

										Runyan RB, Potts JD, Sharma RV, Loeber CP, Chiang JJ, Bhalla RC	Signal transduction of a tissue interaction during embryonic heart development.	Cell Regul., 1 ISS 3: 301-313
rat(Raleigh, NC)	1-10 days	100 µg	1000µg SC injection							Faber KA, Hughes C.L JR	The effect of neonatal exposure to diethylstilbestrol, genistein, and zearalenone on pituitary responsiveness and sexually dimorphic nucleus volume in the castrated adult rat.	Biol. Reprod., 45(4): 649-653
										Faber KA, Hughes C.L JR	Dose-response characteristics of neonatal exposure to genistein on pituitary responsiveness to gonadotropin releasing hormone and volume of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area (SDN-POA) in postpubertal castrated female rats.	Reprod. Toxicol., 7(1): 35-39
in vitro	10min.	12µM		V						Huang XY, Morielli AD, Peralta EG	Tyrosine kinase-dependent suppression of a potassium channel by the G protein-coupled m1 muscarinic acetylcholine	Cell, 75, ISS6: 1145-1156
in vitro	150min.	2.0, 20.0, 200.0 mg/L		V						Neki R, Matsuzaki N, Yamanaka K, Shimoya K, Okada T, Saji F, Iwashita M, Tanizawa O	The interleukin-6 (IL-6)/IL-6 receptor system induces human chorionic gonadotropin production by activating tyrosine kinase-dependent signal transduction pathway different from pathways triggered by protein kinase activators including gonadotropin releasing hormone.	J. Clin. Endocrinol. Metab., 77, ISS3: 704-709
										White JR, Lee JC	Effect of protein kinase inhibitors on IL-8/NAP-1 release from human umbilical vein endothelial cells.	Agents Actions, 39 Spec: 73-76
in vitro fetal rat (Sprague-Dawley)		5µM	culture	V						Hajimohammadreza I, Probert AW, Coughenour LL, Borsky SA, Marcoux FW, Boxer PA, Wang KK	A specific inhibitor of calcium/calmodulin-dependent protein kinase- II provides neuroprotection against NMDA- and hypoglycemia-induced cell death.	J. Neurosci., 15 ISS 5 Pt 2: 4093-101
in vitro	10min	50µg/ml	culture	V						Mangoura D, Sogou V, Pelletiere C, Dawson G	Differential regulation of phospholipases C and D by phorbol esters and the physiological activators carbachol and glutamate in astrocytes from chicken embryo cerebrum and cerebellum.	Brain Res. Mol. Brain Res., 87, ISS1: 12-21
in vitro	1h	50, 100, 200µM		V						Dogra SC, May BK	Phenobarbital-induced activation of CYP2H1 and 5-aminolevulinatase synthase genes in chick embryo hepatocytes is blocked by an inhibitor of protein phosphorylation.	Arch. Biochem. Biophys., 327, ISS2: 271-278
			Review							Gullette LJ JR, Arnold SF, Melachlan JA	Ecoestrogens and embryos: Is there a scientific basis for concern?	Animal Reproduction Science, 42(1-4): 13-24

rats F	G1D15-20	100µg, 300µg			R	genistein			1998	Hlilakivi-Clarke L, Cho E, Raygada M, Onojafel, Clarke R	Maternal Genistein Exposure During Pregnancy Increases Breast Cancer Risk Prostate Weight and Alters Aggressive Behavior among Offspring	Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting, 39(0): 20-21
in vitro	(-5min), 0min, 30min	1µg/ml			V	genistein			1998	Hlilakivi-Clarke L, Cho E, Clarke R	Maternal Genistein exposure mimics the effects of estrogen on mammary gland development in female mouse offspring.	Oncol. Rep., 5, ISS3: 609-616
in vitro	24 h	1-4µg/ml	incubation		V	genistein			1998	Nishizaki T, Matsunaka T, Nomura T, Sumikawa K	Modulation of Ach receptor currents by oncostatin M regulates endothelin-1 production in human endothelial cells.	Brain Res. Mol. Brain Res., 57, ISS1: 173-179
Rats (Long-Evans hooded) pregnant	45 day	25, 50, 100, 200	gavage (corn oil)		R,D	methoxychlor			1989	Sajjoman O, Nyman T, Pack P, Fyfequist F, Gray LE, Ostby J, Ferrell J, Reinberg G, Linder R, Cooper R, Goldman J, Slot V, Laskey J	A Dose-Response Analysis of Methoxychlor-Induced Alterations of Reproductive Development and Function in the Rat	Fundamental and Applied Toxicology 12: 92-108
p53(+/-)mice, p53(+++)mice	26 weeks	5-2000 ppm	diet		O	methoxychlor			1999	Mitsumori K, Onodera H, Yasuhara K, Takagi H, Kotajima T, Hirose M	Modifying Effects of Methoxychlor in Uterine Carcinogenesis Model Using Heterozygous P53 Deficient CBA Mice Treated with N-Ethyl-N-Nitrosourea	DIOXIN 99
Rat (Noble)F		7,12mg/day 0,01mg/day			D	mono- <i>n</i> -benzyl phthalate			1996	Ema M, Kurosaka R, Harazono A, Amano H, Ogawa Y	Phase Specificity of Developmental Toxicity After Oral Administration of Mono- <i>n</i> -Butyl Phthalate in Rats	Ach. Environ. Contam. Toxicol. 31: 170-176
Rat (Noble)F					R	nonylphenol	25154-52-3		1996	Colerangle JB & Roy D	Exposure of environmental estrogenic compound nonylphenol to noble rats alters cell-cycle kinetics in the	Endocrine 4(2): 115-122
Rat M(3-34)					R	nonylphenol	25154-52-3	Review	1997	Daston GP, Grooch JW, Breslin WJ, Shuey DL, Nikiforov AI, Fico TA, Gorsuch JW	Environmental estrogens and reproductive health: a discussion of the human and environmental data	Reproductive Toxicology 11(4): 465-481
Rat(SD)	days 1 to d 15 and d 31 after birth	0.08, 0.8, 8.0			R	nonylphenol	25154-52-3		1998	Lee PC	Disruption of male reproductive tract development by administration of the xenoestrogen, nonylphenol, to male newborn rats	Endocrine 9(1): 105-111
		9-35, 30-100, 100-350	in feed		R	4-nonylphenol			1999	Chapin R.E., et al	The effects of 4-nonylphenol in rats: A multigeneration reproduction study	Toxicological Sciences 52: 80-91
					A	polychlorinated naphthalenes			1999	Gevao B, Harner T, Jones KC	Historical Record of Polychlorinated Naphthalenes in a Semi-Rural Lake Sediment, Cumbria UK	DIOXIN 99
Human(50)					A	2,3-,7,8-tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin			1988	Patterson DG, Needham LI, Pirkle JL, Roberts DW, Bagby J, Garrett WA, Andrews JS, Falk H, Bernert JT, Sampson EJ, Houk VN	Correlation between serum and adipose tissue levels of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin in 50 persons from Missouri	Arch. Environ. Toxicol. 17: 139-143
Mice (B6C3F1): F		5, 10, 25, 50, 100, 500, 1000, 5000ml/kg	intraperitoneal injection		I	2,3-,7,8-tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin			1994	Narasimhan FR, Craig A, Arellano L, Harper N, Howie L, Menache M, Birnbaum L, Safe S	Relative Sensitivities of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin-Induced Cyp1a-1 and Cyp1a-2 Gene Expression and Immunotoxicity in Female B6C3F1 Mice	Fundamental and Applied Toxicology 23: 598-607

Rat (LE) M, Hamster	GD8, 15 GD11	1 µg/kg	Gavage (corn oil)	TCDD	1995	Gray LE, Kelce WR, Monosson E, Oxby JS, Birnbaum LS	Exposure to TCDD during development permanently alters reproductive function in male long evans rats and hamsters: reduced ejaculated and epididymal sperm numbers and sex accessory gland weights in offspring with normal Weitzel 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) alters reproductive morphology and function in female rat offspring	Toxicology and Applied Pharmacology 131: 108-118
Rat (LE) F	GD8, 15	1 µg/kg	Gavage (corn oil)	2,3,7,8- tetrachlorodibenzo- p-dioxin	1995	Gray LE, & Oxby JS	In utero 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) alters reproductive morphology and function in female rat offspring	Toxicology and Applied Pharmacology 133: 285-294
Mice (B6C3F1); F	8 weeks of age	0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, or 6.0 µg/kg	Gavage (corn oil)	2,3,7,8- tetrachlorodibenzo- p-dioxin	1996	Burleson GR, Lebec H, Yang YG, Ibanes JD, Pennington KN, Birnbaum LS	Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on influenza virus host resistance in mice	Fundamental and Applied Toxicology 29: 40-47
				TCDD, PCB	1996	Gray LE, Kelce WR,	Latent Effects of Pesticides and Toxic Substances on Sexual Differentiation of rodents	Toxicology and Industrial Health 12(3/4): 515-531
Rat(F344)	GD14	3.0 µg/kg 1.0 µg/kg	Gavage (corn oil)	2,3,7,8- tetrachlorodibenzo- p-dioxin	1997	Gehrs BC, Riddle MM, Williams WC, Smialowicz RJ	Alterations in the developing immune system of the F344 rat after perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin II. Effects on the pup and adult	Toxicology 122: 229-240
Rat	GD15-dup21 after birth	0.064, 0.16, 0.40, 1.0µg/kg	Gavage	2,3,7,8- tetrachlorodibenzo- p-dioxin	1998	Peterson R.E., Moore R.W., Mabley T.A., Bjertke D.L., Goy R.W.	Male Reproductive System Ontogeny: Effects of Perinatal Exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin	J Clean Technol., Environ. Toxicol., & Occup. Med. 7(1): 89-105
Rat (Wistar) F	GD21	25,60,300 ng/kg body wt	injection	2,3,7,8- tetrachlorodibenzo- p-dioxin	1998	Faqi AS, Dalsenter PR, Merker HJ, Chahoud I	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	Toxicology and Applied Pharmacology 150: 383-392
Mice	GD10	25µg/kg	Gavage (corn oil)	TCDD	1999	Peters JM, et al.	Amelioration of TCDD-induced teratogenesis in aryl hydrocarbon receptor (AhR)-null mice	Toxicol. Sci. 47: 86-92
Sprague-Dawley rats: F		0.01, 0.1, 0.3, 1.0, 10.0µg/kg	oral (corn oil)	TCDD	1999	Satostefano M.J., Richardson V.M, Walker N.J, Blanton J, Lindros K.O., Lucier G.W., Alcaisey S.K., Birnbaum L.S.	TCDD Localization in Centrilobular and Periportal Hepatocytes	DIOXIN 99
				tributyltin	1998	Harazono A, Enma M, Kawashima A	Evaluation of Malnutrition as a Cause of Tributyltin-Induced Pregnancy Failure in Rats	Bull. Environ. Contam. Toxicol. 61: 224-230
				tributyltin chloride	1991a	Ena M, Itami T, Kawasaki H	Changes of Spontaneous Motor Activity of Rats after Acute Exposure to Tributyltin Chloride	Drug and Chemical Toxicology 14(1&2): 161-171
				tributyltin chloride	1991c	Ena M, Itami T, Kawasaki H	Behavioral Effects of Acute Exposure to Tributyltin Chloride in Rats	Neurotoxicology and Teratology 13: 489-493

									1995a	1995a	Further evaluation of the developmental toxicity of tributyltin chloride in rats	Emma M, Kurosaka R, Amano H, Ogawa Y	Toxicology 96: 195-201
									1996	1996	Pre-implantation embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats	Harazono A, Emma M, Ogawa Y	Toxicology Letters 89: 185-190
									1997	1997	Effects of the Day of Administration on the Developmental Toxicity of Tributyltin Chloride in Rats	Emma M, Harazono A, Miyawaki E, Ogawa Y	Arch. Environ. Contam. Toxicol. 33: 90-96
									1998	1998	Evaluation of Early Embryonic Loss Induced by Tributyltin Chloride in Rats: Phase- and Dose-Dependent Antifertility Effects	Harazono A, Emma M, Ogawa Y	Arch. Environ. Contam. Toxicol. 34: 94-99
									1997	1997	Effects of Triphenyltin Chloride on Implantation and Pregnancy in Rats	Emma M, Miyawaki E, Harazono A, Ogawa Y	Reproductive Toxicology 11(2/3): 201-206
									1998	1998	Inhibition of Decidual Cell Response as a Cause of Implantation Failure Induced by Triphenyltin Chloride (TPTCl) in Developmental Toxicity of Triphenyltin Chloride After Administration on Three Consecutive Days During Organogenesis in Rats	Emma M, Miyawaki E, Kawashima K	Toxicological Sciences 42(1-S) 261
									1999	1999	Suppression of uterine decidualization as a cause of implantation failure induced by triphenyltin chloride in rats	Emma M, Miyawaki E, Kawashima K	Bull. Environ. Contam. Toxicol. 62: 363-370
									1999	1999	Developmental Effects of an Environmental Antiandrogen: The Fungicide Vinclozolin Alters Sex Differentiation of the Male Rat	Gray LE, Oxby JS, Kelce WR,	Arch. Toxicol. 73: 175-179
									1997	1997	Evaluation of Alternative Methods for Establishing Safe Levels of Occupational Exposure to Vinyl Halides	Storm JE, Rozman KK	Toxicol. Appl. Pharmacol. 129: 46-52
									1999	1999	Xenestrogen Tissue Concentrations Correlated to Biological Responses in Mice	Ulrich EM, Caparelli-Grant A, Hites RA, Bigsby RM	Regul. Toxicol. Pharmacol. 25: 240-255
ICR mice: F									1995	1995	A Variety of Environmentally Persistent Chemicals, Including Some Phthalate Plasticizers, Are Weakly Estrogenic	Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter JP	DIOXIN 99
									1997	1997	The Estrogenic Activity of Phthalate Esters In Vitro	Harris CA, Henttu P, Parker MG, Sumpter J	Environ. Health Perspect. 103(6): 582-587
									1998	1998	Identification of Unknown Substances in Food Contact Polystyrene	Kawamura Y, Sugimoto N, Takeda Y, Yamada T	Environ. Health Perspect. 105 (8): 802-811
									1999	1999	Hydro Priority Pollutants (HPP) - a chemical ranking and scoring system for effective risk management.	Gundersen J, Einarsen S, Musdalalen UI, Hegge HJ, Lunde KE, Halvorsen HO	食衛誌 39(2): 110-119
													DIOXIN 99

分担研究報告書

「ダイオキシンによる人と動物への生殖・発生毒性における不確実性の解析」

分担研究者 (研究協力者)	関澤 純 大屋幸江 今井 清	国立医薬品食品衛生研究所 同上 食品薬品安全センター秦野研究所
------------------	----------------------	---------------------------------------

研究要旨

(1) ダイオキシンによる人へのリスクを評価するためには不確実な要因がさまざまある。事故により高濃度曝露された集団で見られた出生児の性比の偏りについて、性比の偏りが起る確率と両親の血中ダイオキシン濃度との関係についてデータを基に、いくつかの仮定を導入して統計的な解析を行った。

(2) わが国でダイオキシンの耐容一日摂取量を評価する際にクリティカルな影響と考えられた動物試験データのうち、ダイオキシンを投与して生まれた雌ラットの生殖器に形態異常が出現する確率と投与量の関係についても、同様な解析を行った。

(3) The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs - DIOXIN '99 (September 12-17, 1999, Venice)と、日本内分泌攪乱化学物質学会第2回研究発表会（12月 9-10 日、神戸）の発表要旨を添付する。

A 研究目的

関心を呼び膨大な知見があるダイオキシンについて、人および動物における生殖・発達影響リスクの不確実性分析を行う。

ような事象が起りうる確率と両親の血中ダイオキシン濃度との関係について、米国環境保護庁（EPA）が開発した Benchmark Dose 推計ソフト(BMDS)を用い統計的な解析を行った。

B 研究方法

(1) 1976 年イタリアのセベソで事故により高濃度曝露された集団の間で見られた出生児の性比の偏り¹⁾について、その

(2) ダイオキシンを投与して生まれた雌ラットの生殖器において Vaginal thread が消失しない事象が起きる確率についても、同様な解析を行った。

C 研究結果

(1) 人に生じた影響でダイオキシン曝露と関連する可能性が高い事象で、曝露レベルが知られている例として、曝露した両親から生まれた子の性比の偏りを取りあげた。

イタリアのセブソで 1976 年におきたダイオキシンの大量放出事故後約 8 年間に生まれた 17 人の子供のうち、両親の血清脂肪中 TCDD (Tetrachloro dibenzo-p-dioxin) の濃度が 100 ppt 以上の場合 12 人がすべて女兒であった。

このデータに log logistic model を適用しある濃度以上の TCDD に曝露した場合に女兒ばかり生まれるように切り替わるような事象について、血清脂肪当たりの 10% 発現確率のベンチマークドーズ (このような事象が 10% の確率で起ってしまう指標濃度) を推計すると約 60 ppt となった(表1)。

出生児が女兒ばかりであった 9 人の母親 (12 人の女兒が出生) のうち血漿中の TCDD 濃度が最低の濃度 (126 ppt) の母親から生まれた子供が、偶然に女兒であった可能性が無視できないので、この女兒が男児であったと仮定すると 10% 発現確率のベンチマークドーズは 121 ppt となった。

これらの値は最近のドイツ、米国、ベトナム、日本の成人の平均的な血清中ダイオキシン類濃度 (TEQ: 毒性等量)¹⁻⁵⁾ が 20 から 40 ppt であること(表2)と比べると、やや高いものであった。

(2) わが国でダイオキシンの耐容摂取量を 4 pg/kg bw/日と評価⁶⁾した際に、ひとつのクリティカルな事象と考えられた雌ラット生殖器の形態異常 (Vaginal thread が消失しない)⁷⁾ について同様な検討を行った。すなわち、妊娠 8 日目のラットに TCDD (2,3,7,8-tetrachloro dibenzo-p-dioxin) を単回投与した時に観察された形態異常 (Vaginal thread が消失しない) について 10% 発現確率のベンチマークドーズを投与量から血中脂肪当たりの濃度を推計すると、309 ppt という値が得られた(表3)。

D 考察

(1) ダイオキシン類のリスク評価における不確実性としては、メカニズムに関連した不確実性の要因が大きい。たとえば CYP 酵素の誘導は補償的な反応であり、ダイオキシン類の毒性影響のいくつかは CYP 酵素の誘導とは直接関係しない可能性がある。したがって CYP 酵素の誘導活性を有力な指標として決められている毒性等価指数 (TEF) は、ダイオキシン類の毒性を評価する上で適切ではないかも知れない。人および動物におけるもっともクリティカルな影響と確認された生殖・発生影響のダイオキシンによる発症の生物学的なメカニズムは良く知られていない。

(2) 人におけるダイオキシン曝露は慢性的なものが中心だが、生殖・発生影響については、曝露のクリティカルなウィンドウ (臨界期) が想定される。人においてもいくつかの影響を及ぼしたことが判明し

ている例は、事故による比較的短期間の高濃度曝露によるものである。曝露の期間について、評価の根底に不確実性が残っている。

(3) ダイオキシンの耐容一日摂取量を評価する上で重要な知見として扱われた生殖・発生影響データは単回投与によるものであった。動物試験から人に外挿する際には、人と動物における影響の共通性と違いを明確にしておかねばならない。たとえばダイオキシンはある種に対してはたいへん強い急性毒性を示すが、ほかの種(おそらく人も含まれる)に対してはそれまで強い急性毒性を示さない。催奇形性、生殖・発生影響、免疫毒性、知能・学習障害などが、人や動物において観察されているが、それらが検出される用量にはどれだけの違いがあるのか感受性の差を明確にする必要がある。

(4) ダイオキシンによるリスクについては、いくつかの新しい手法をとり入れた耐容摂取量の評価がなされたが、その後さまざまな重要な新しい知見が輩出している。またダイオキシン類としてPCBなどが一括して扱われたが、毒性影響のあり方や影響等量の評価にも問題が多くあり検討が必要となっている。

E 結論

(1) 事故により高濃度曝露された集団で見られた出生児の性比の偏りについて、性比の偏りが起る確率と両親の血中ダイオキシン濃度との関係についてデータを基にいくつかの仮定を導入して統計的

な解析を行った。

log logistic model を適用し女兒のみ生まれるようになってしまうように変化することが 10%の確率で発現するベンチマークドーズ(血漿中脂肪当たりの TCDD 濃度)を推計すると約 60 ppt となる。女兒のみ生まれた 9 人の母親(12 人の女兒を出産)のうち血漿中の TCDD 濃度が最低の濃度(126 ppt)の母親から生まれた子供が男であったと仮定すると、10%発現確率のベンチマークドーズは 121 ppt となった。

(2) これらの値は最近のドイツ、米国、日本の成人の平均的な血清中ダイオキシン類濃度(TEQ:毒性等量)20 から 40 ppt と比べると、やや高いものであった。

(3) ダイオキシン投与により雌ラットの生殖器に形態異常が出現する確率と投与量の関係についても、同様な解析を行った。

ダイオキシンの人における影響のあり方と、曝露の分布、影響の感受性の種差・個体差を考慮した不確実性解析をさらに進める。

引用文献

- 1) Mocarelli P, Brambilia P, Gerthoux PM, Patterson DG Jr, Needham LL (1996) Change in sex ratio with exposure to dioxin, Lancet 348, 409
- 2) Papke O (1998) PCDD/PCD: Human background data for Germany, a 10-year experience, Environmental Health Perspectives, 106, Suppl 2,

723-731

- 3) Schechter A, Furst P, Furst C, Papke O, Ball M, Ryan JJ, Cau HD, Dai LC, Quynh HT, Cuong HQ, Phuong NTN, Phiet PH, Beim A, Constable J, Startin J, Samedy M, Seng YK (1994) Environmental Health Perspectives, 102, Suppl 1, 159-171
- 4) Schechter A, Startin J, Wright C, Papke O, Ball M, Lis A (1996) Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in human placental and fetal tissues from the U.S. and in placentas from Yu-Cheng exposed mothers, Chemosphere, 32 551-557
- 5) Watanabe S, Kitamura K, Nagahashi M, Waechter G, Takada T (1999) Health effects of chronic exposure of municipal incinerator workers to PCDD, PCDF and Co-PCB, **The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs -DIOXIN '99, September 12-17, 1999, Venice**
- 6) Masuda Y (1999) Fate of exposed PCDFs and PCBs in patients with Yusho PCB poisoning, **The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs - DIOXIN '99, September 12-17, 1999, Venice**
- 7) Gray LE Jr, Wolf C, Mann P, Ostby JS (1997) In utero exposure to low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters reproductive development of female Long

Evans hooded rat offspring, Toxicol. Appl. Pharmacol, 146, 237-244

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) Sekizawa J, Imai K, Ohya Y (1999) Uncertainty analysis of dioxin toxicity – its implication to human risk assessment, **The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs- DIOXIN '99, September 12-17, 1999, Venice**
- 2) Sekizawa J (1999) Benchmark dose estimation for reproductive and developmental effects of dioxins, 日本内分泌攪乱化学物質学会第2回研究発表会要旨集, 12月 9-10 日, 神戸
- 3) 関澤 純(1999)内分泌攪乱化学物質のリスク評価における総合的なリスク評価のアプローチ, 日本リスク研究学会第 12 回研究発表会講演論文集、200-207

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. 実用新案登録 なし

19990631

以降は P.27-28 は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

「研究成果の刊行に関する一覧表」

- 1) Sekizawa J, Imai K, Ohya Y (1999)
Uncertainty analysis of dioxin toxicity
– its implication to human risk assessment, The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs- DIOXIN '99, September 12-17, 1999, Venice

- 2) Sekizawa J (1999) Benchmark dose estimation for reproductive and developmental effects of dioxins, 日本内分泌攪乱化学物質学会第2回研究発表会要旨集, 12月 9-10 日, 神戸

表1 ベンチマーク法を用いた母親の血中ダイオキシンレベルによる子供の性比の変化の可能性の推定

イタリヤ・セベンでダイオキシンに 高濃度曝露された両親から生まれた子供の性 母親の血中 ダイオキシン濃度 (pg/g脂肪)		子供の性
14 *2	*1	男 *2
16 *2		女 *2
18 *2		男 *2
20 *2		女 *2
22 *2		男 *2
24 *2		女 *2
26.6		男
27.7		男
36.5		男
126		女, 女#1
238		女
245		女
257		女
434		女
463		女
485		女, 女
960		女
1650		女, 女

*1 事故後10ヶ月(妊娠期間)から7.5年

(ダイオキシンの半減期に相当)後までの間に
生まれた子供のみ

→*2 統計処理の必要からダミーとして背景曝露
のデータを導入

ベンチマーク法による影響の現れる血中濃度の
統計的推定

仮定	発生割合 %	血中濃度 (pg/g 脂肪)	
		最頻確率濃度	95%信頼限界
A	5	58.5	7.4
	10	59.6	9.9
B#1	5	118	6.0
	10	121	9.5

#1: 観察された最低濃度における子供の性が女でなく、実際には
男であったと仮定した場合(このレベルが影響が起らない濃度
ならば真実かも知れない)

説明

ベンチマーク法では、観察された生物現象にふさわしい統計モデル
(この場合はログロジスティックモデル)を適用して、観察された事象が
対象集団にある確率(たとえばここでは5%と10%)で起こる時の影響因子
(ダイオキシン)の血中濃度がどの程度なら起こるといえるか
を推定する。

つまり従来行われているように無毒性量(NOAEL)という実験データ
のうちの1点のみを使うのではなくデータ全体と分布のあり方を基に推定する
と同時に、事象が起こる割合を指定してその時の濃度をも推定する。

→ 同じ時期に同地区で生まれた子供全体では女48人、男26人の割合だった
(カイ二乗検定; $p < 0.001$)。さらにその後、9年間のフォローアップによると
子供の性比は女64人、男60人に戻ったとされている。
なお同地区では敬度なカトリック信者がほとんどのために中絶はほとんど
行われていなかった。

表2 ドイツ、米国、ベトナム、日本人の組織中ダイオキシン濃度

数値は脂肪あたりの毒性等量(TEQ pg/g)で表示。括弧内に組織の脂肪含量を%で、Nは対象の人数を表す。
 化合物#: PCDD=ダイオキシン、PCDF=ジベンゾフラン、*1数値はPCDD/PCDFのように左に示した化合物(の組み合わせ)に対応して表示

国と地域 など: 文献番号	化合物#	血液 *1	子宮 *1	胎児 *1	脂肪組織 *1
一般人の体内レベル					
ドイツ: 1	PCDD+PCDF	16.0 (男性, N=113) 範囲: 9.1-26.9*2 16.8 (女性, N=29) 範囲: 10.3-26.7*2			
米国女性: 2	PCDD/PCDF	30/11 (N=100)	7.2/2.9 (0.85%, N=14)	4.0/1.3 (0.65%, N=10)	
ベトナム(ハノイ): 3	PCDD/PCDF	6/6 (N=32)			
大阪能勢・住民: 5	PCDD	25.3			
事故などによる曝露の体内レベル					
台湾(油症患者): 4	PCDD/PCDF		5.8-72.7/604-8940 (0.5-2.17%)		
ベトナム(ダナン): 3	PCDD/PCDF	46/31 (N=50)			
大阪能勢・焼却場作業員: 5	PCDD	39.7 (男性, N=94) 範囲: 13.3 - 831			
日本(油症患者): 6	2,3,4,7,8-PCDF				20,000 - 30,000 *3

文献 1: Papke (1998) 2: Schecter et al. (1994, 1996) 3: Schecter et al. (1994) 4: Schecter (1996)

5: Watanabe et al. (1999) 6: Masuda (1999)

*2 5th%値-95th%値 *3 推定値

表3 ラットに1, 10, 50% 発現確率で Vaginal thread を残させる用量の推定値

**Benchmark Dose and Blood Level Estimation
for Permanent Vaginal "Thread" in Female Offsprings*1**

BMR*2 %	BMD*3 ng/kg bw	Blood level*4	
		pg/g blood	pg/g fat*5
1	48.8	0.58	116
10	131	1.55	309
50	333	3.95	790

*1 Data of vaginal thread taken from Gray et al (1997)

*2 Benchmark Response

*3 Benchmark dose calculated using US EPA
BenchMark Dose Software beta version 1.1b

*4 Blood levels were estimated using data from Hurst et al (1998) which was published by the same group as Gray et al with assumptions and the data shown below.

- (1) Concentrations of TCDD in blood is assumed to parallel with the doses of 0.05 - 1.15 μ g/kg bw.
- (2) Pregnant rats received a single oral dose of 1.15 μ g [H3]TCDD/kg bw on gestation day 8 (GD8).
- (3) TCDD levels on GD9, GD16 and GD21 were as follows.
 - Blood of dams : 15, 18 & 8 ng/g (Average: 13.7 ng/g)
 - Whole embryo/fetus: 39.6, 18.1 & 22.1 pg/g tissue
 - Placenta: Not assayed, 32.2 & 23.2 pg/g tissue

*5 Estimated assuming fat content of 0.5%.

分担研究報告書

「新生児におけるダイオキシン類同族体の体内半減期の推定」

分担研究者 吉田喜久雄 (株)三菱化学安全科学研究所

研究要旨

4 種類のポリ塩化ジベンゾ-*p*-ジオキシン (PCDDs) とポリ塩化ジベンゾフラン (PCDFs) 同族体の新生児における体内半減期を既報データから推定した。測定データ数も少なく、胎児期の負荷量、出生後の体重、脂肪含量等の被験者の個人差に起因する濃度のバラツキも大きいため、不確実性を考慮して、半減期を 95% 信頼上限と下限の区間として求めた。

推定された新生児における同族体の体内半減期は成人に対して報告されている値に比べて短く、成人に対して報告されている体内半減期を用いることは、幼児期のダイオキシン類同族体の体内負荷量を過大に推定すると考えられた。

A. 研究目的

ダイオキシン類による有害影響については、実験動物を用いてかなり詳細に試験が行われている。2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-*p*-ジオキシン (TCDD) の生殖毒性試験では、母動物より胎児や出生後の児動物に影響が強く発現し、妊娠中及び授乳中の投与により、児動物での口蓋裂や水腎症の発現、受胎率の低下、生殖器への影響等が報告されている [1]。

ダイオキシン類への胎児の経胎盤曝露については、既に Van Wijnen ら [2] により報告されており、さらに、Kreuzer らの研究においても、死産児の脂肪組織と肝臓脂質中の TCDD 濃度は、母乳試料の脂質中濃度と同じ範囲であると報告されている [3]。

ダイオキシン類の各同族体の体内半減期は体内負荷量を推定する上で非常に重要なパラメータであり、Flesch-Janys ら [4] により、成人での同族体別の体内半減期が報告されているが、胎児期後期あるいは新生児に対する値は報告されていない。このため、Kreuzer らの報告に基づいて、いくつかの PCDDs と PCDFs 同族体の新生児での体内半減期について不確実性を考慮しつつ推定を行った。

B. 研究方法

Kreuzer らは、幼児突然死症候群で死亡した 3 死産児及び 17 幼児 (0.43~44 週齢) の脂肪と肝臓試料をドイツのミュンヘン地域で検死解剖時に採取し、性別、体重、身長、授乳期

間及び生存期間を個別に記録するとともに、両試料中の 2,3,7,8-TCDD 及び 16 種の PCDD/PCDF 同族体の含有量を測定している。彼等の報告によれば、17 同族体の I-TEQ ベースの濃度は、脂肪組織の脂質中で 1.55~

29.63 ng/kg (n=20), 肝臓脂質中で 2.05~57.73 ng/kg (n=19) であり, 成人に対して報告されている範囲内あるいはそれよりも低い。さらに, 母乳授乳児の脂質中 TCDD 濃度 (脂肪組織: 0.38~4.1 ng/kg, n=9, 肝臓: 0.49~3.9 ng/kg, n=8) は, 母乳を授乳されていない幼児

での濃度 (脂肪組織: 0.16~0.76 ng/kg, n=8, 肝臓: 0.29~0.71 ng/kg, n=7) に比べて高い。

Kreuzer らは, 母乳を授乳されていない 9 例の突然死症候群で死亡した幼児の脂肪組織と肝臓中の PCDDs と PCDFs 同族体濃度についても同じ論文で報告している。

表-1 脂肪組織及び肝臓中の PCDD/PCDF 濃度測定値

被検者	1		2		3	
	脂肪組織	肝臓	脂肪組織	肝臓	脂肪組織	肝臓
	ng/kg 脂質		ng/kg 脂質		ng/kg 脂質	
2, 3, 7, 8-TCDD	2.1	1.5	1.4	0.8	1.3	0.76
1, 2, 3, 7, 8-PCDD	3.0	2.4	3.7	2.0	3.4	2.6
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD	4.7	2.3	1.3	1.1	1.4	1.1
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD	12.0	8.4	7.3	3.6	7.2	4.5
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD	1.4	1.6	1.2	0.85	1.3	1.1
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD	19.2	35.6	9.3	8.7	10.1	15.6
OCDD	54.8	186	48.5	60.0	50.4	36.4
2, 3, 7, 8-TCDF	1.7	4.4	1.2	1.4	1.3	2.4
1, 2, 3, 7, 8-PCDF	-(0.3)	0.80	-(0.4)	0.31	0.31	0.47
2, 3, 4, 7, 8-PCDF	7.0	4.7	11.2	5.8	9.5	5.7
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF	3.5	5.8	4.0	3.2	3.6	3.4
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF	2.9	2.3	2.3	1.7	2.0	1.8
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDF	-(0.3)	-(0.5)	-(0.1)	-(0.1)	-(0.1)	-(0.2)
2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF	1.4	1.5	0.86	0.59	0.84	0.79
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF	6.6	34.0	2.0	4.8	2.3	10.4
1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-HpCDF	0.81	7.1	0.26	0.62	-(0.1)	1.0
OCDF	-(3.4)	56.2	1.5	10.4	3.2	34.1
I-TEQ (NATO, 1988)	10.18	8.83	10.83	6.17	9.70	6.83

注: -は検出限界 (括弧内の値) 未満であることを示す。

表-2 被験者に関するデータ

被	性別	身長, cm	体重, kg	授乳期間, 週	生存期間, 週
1	女性	47	2.3	0	0
2	男性	50	2.6	0	0
3	女性	50	2.1	0	0

死産児においても PCDDs と PCDFs は検出されており, I-TEQ ベースの濃度は, 9.70~10.83 ng/kg (脂肪組織脂質) 及び 6.17~8.83 ng/kg (肝臓脂質) であり, TCDD, 脂肪組織脂質: 1.3~2.1 ng/kg, 肝臓脂質: 0.76~1.5

ng/kg, n=3) である (表-1)。被験者に関するデータを表-2に示す。新生児の脂肪組織の重量は体重の 12~16% であると報告されている[5]。一方, 我がにおける新生児の肝臓重量は 129±32 g と報告されており[6], これは体

重の 5~6%に相当する。このため、新生児での PCDDs と PCDFs 同族体の体内半減期は、Kreuzer らが報告している脂肪組織中濃度に着目して推定した。推定に際しては、母乳を授乳されない幼児は、出生後のダイオキシン類摂取はなく、生後 t 週後の新生児の脂肪中同族体濃度 ($C_{in}(t)$) は次式で表わされると仮定した。

C. 研究結果

1) 2,3,7,8-TCDD

図-1に 2,3,7,8-TCDD の脂肪組織中濃度の減衰を示す。図に示すように、濃度には大きなバラツキが認められるが、両変数間の相関係数は、 -0.73 であり、Student の t 検定の結果、有意に相関(有意水準:0.05)が確認された。線型最小二乗法で求めた排泄速度定数は 0.028 1/week (1.45 1/year) で、体内半減期は

0.48 年であった。しかし、図に示されるように、脂肪組織中濃度には、胎児期の母親を通じての体内負荷量、出生後の体重、脂肪含量等の被験者の個人差に起因するバラツキが認められることから、推定の不確実性を考慮して、半減期を 95%信頼上限と下限値の範囲で示すことがより妥当と考えられる。傾きの 95%信頼限界値は、 $0.0082 \sim 0.048$ 1/week と算出されたことから、半減期は $0.28 \sim 1.6$ 年の範囲と推定された。

2) 1,2,3,7,8-PeCDD

図-2に 1,2,3,7,8-PeCDD の脂肪組織中濃度の減衰を示す。図に示すように、この同族体でも、濃度と時間には大きなバラツキが認められるが、両変数間の相関係数は、 -0.80 であり、Student の t 検定の結果、有意に相関(有意水準:0.05)があると判断された。

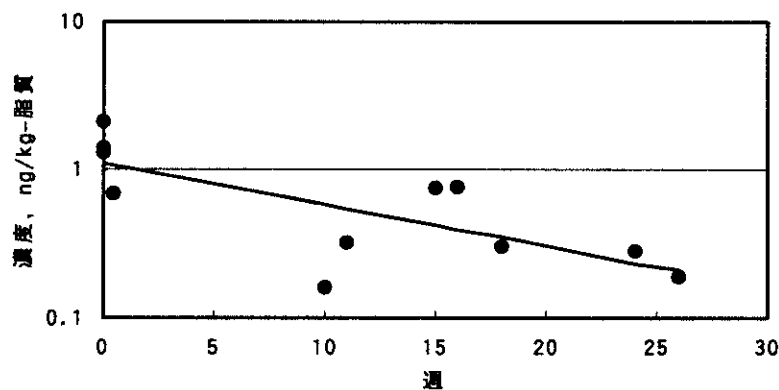


図-1 新生児の脂肪組織中での 2,3,7,8-TCDD 濃度の減衰

線型最小二乗法で求めた傾き(排泄速度定数)は、0.034 1/week (1.79 1/year)で体内半減期は0.39年であった。同様に、傾きの95%信頼限界値は、0.015~0.054 1/weekと算出され、半減期は0.25~0.89年の範囲と推定された。

有意に相関(有意水準:0.05)があると判断された。

線型最小二乗法で求めた傾き(排泄速度定数)は、0.019 1/week (1.01 1/year)で体内半減期は0.69年であった。同様に、傾きの95%信頼限界値は、0.0027~0.036

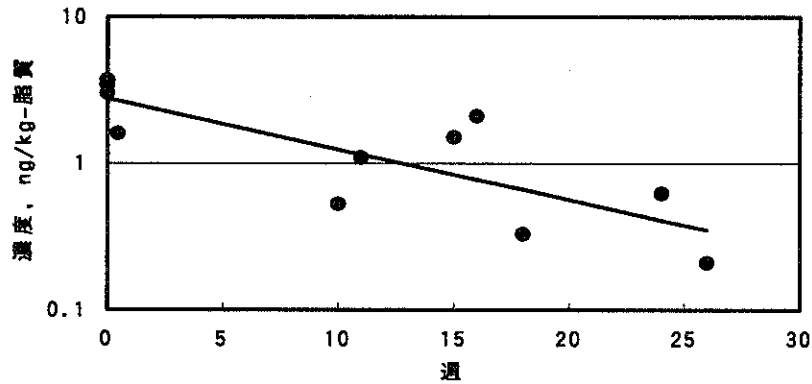


図-2 新生児の脂肪組織中での1,2,3,7,8-PeCDD濃度の減衰

3) 1,2,3,7,8,9-HxCDD

1/weekと算出され、半減期は0.37~4.9年の範囲と推定された。

図-3に1,2,3,7,8,9-HxCDDの脂肪組織中濃度の減衰を示す。図に示すように、この同族体でも、濃度と時間には大きなバラツキが認められるが、両変数間の相関係数は、-0.66であり、Studentのt検定の結果、

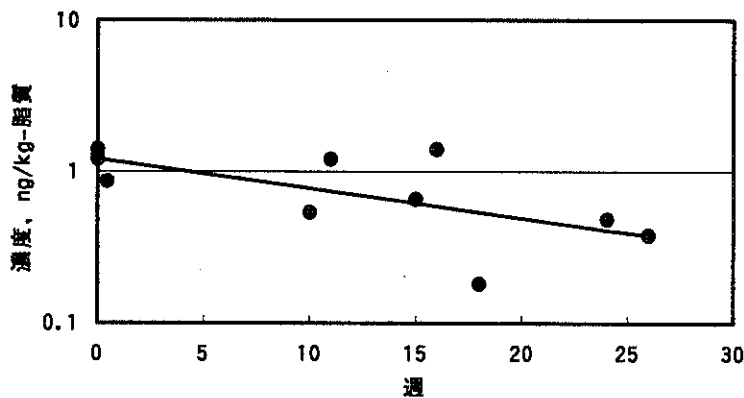


図-3 新生児の脂肪組織中での1,2,3,7,8,9-HxCDD濃度の減衰

4) 2,3,4,7,8-PeCDF

図-4に2,3,4,7,8-PeCDFの脂肪組織中濃度の減衰を示す。図に示すように、この同族体でも、濃度と時間には大きなバラツキが認められるが、両変数間の相関係数は、-0.65であり、Studentのt検定の結果、有意に相関(有意水準:0.05)があると判断された。

線型最小二乗法で求めた傾き(排泄速度定数)は、0.025 1/week (1.30 1/year)で体内半減期は0.53年であった。同様に、傾きの95%信頼限界値は、0.0029~0.047 1/weekと算出され、半減期は0.28~4.6年の範囲と推定された。

上記4同族体以外の2,3,7,8-位に塩素が

置換したPCDD及びPCDFの13同族体については、データに検出限界未満の値が含まれる(1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8,9-HxCDF, 2,3,4,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF, OCDF),あるいは測定値のバラツキが大きく、濃度と時間の間に有意な相関関係がない(1,2,3,4,7,8-HxCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD, 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF)と判断されたため、半減期は算出しなかったが、今回、体内半減期を推定した4同族体はI-TEQ濃度の63~82%を占めることから、主要な同族体については体内半減期が推定できたと考えられる。

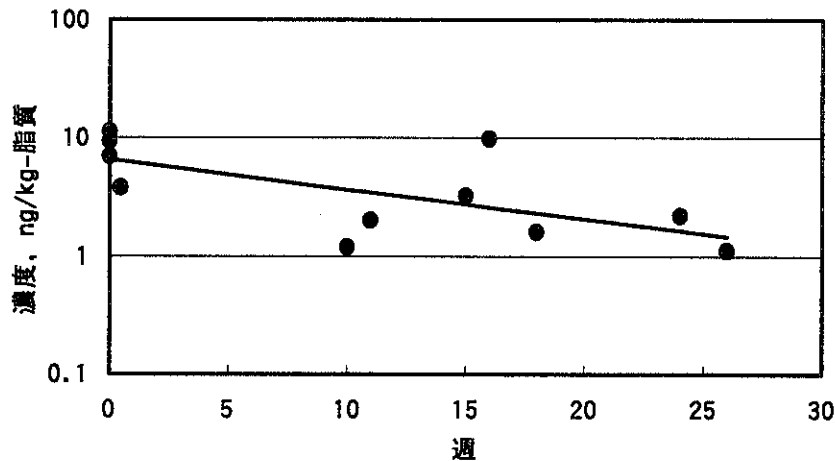


図-4 新生児の脂肪組織中での2,3,4,7,8-PeCDF濃度の減衰

D. 考察

胎児期には胎盤を通して母親と平衡状態にあるため、胎児の脂質当たりのダイオキシン類濃度は母親と同レベルとなる。したがって、新生児における現実的なダイオキシン類体内負荷量を推定する際に必要な初期負荷量と母乳中経由の摂取量は、母乳中ダイオキシン類濃度から推定できる。

一方、データ数が少なく被験者の個人差に伴う測定値のバラツキを考慮した新生児における2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,7,8,9-HxCDD及び2,3,4,7,8-PeCDFの体内半減期の95%信頼区間は、それぞれ、0.28~1.6年、0.25~0.89年、0.37~4.9年及び0.28~4.6年であり、Flesch-Janysらが同じ同族体に対して報告している成人における体内半減期(7.2年、15.7年、4.9年及び19.6年)に比べて短く、成人に対して報告されている半減期を使用することは、幼児での体内負荷量を過大に推定すると考えられる。

厚生省の調査[7]によれば、母乳中ダイオキシン類による1歳児の感染に対する抵抗性、アレルギー、甲状腺機能及び発育発達には影響が認められないとのことであるが、胎児を含む新生児におけるダイオキシン類の体内負荷及び体内半減期については、さらにデータを収集し解析することが必要と思われる。

参考文献

- 1) 中央環境審議会環境保健部会, 生活環境審議会, 食品衛生調査会 (1999): ダイオ

キシン類の耐容一日摂取量について

- 2) Van Wijnen, J., B. Van Bavel, G. Lindström, J.G. Koppe, and K. Olie (1990): Placental Transport of PCDDs and PCDFs in Humans. *Organohalogen Compounds* 1 47-50.
- 3) Kreuzer, P.E., Csanády, Gy.A., Baur, C., Kessler, W. Pöpke, O., Greim, .H., and Filse, J.G. (1997): 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and Congeners in Infants. A Toxicokinetic Model of Human Lifetime Body Burden by TCDD with Special Emphasis on Its Uptake by Nutrition. *Arch Toxicol.* 71 383-400.
- 4) Flesch-Janys, D., H. Beher, P. Gurn, D. Jung, J. Konietzko, A. Manz, and O. Pöpke. (1996): Elimination of PCDDs and PCDFs in Occupationally Exposed Persons. *J. Toxicol. Environ. Health.* 47 363-378.
- 5) International Commission on Radiological Protection (ICRP) (1975): *Report of Task Group on Reference Man.* Report ICRP No.23. Pergamon Press.
- 6) Ogiu, N., Y. Nakamura, I. Ijiri, K. Hiraiwa, and T. Ogiu (1997): A Statistical Analysis of the Internal Organ Weights of Normal Japanese People. *Health Physics.* 72 368-383.
- 7) 厚生省児童家庭局 (1999): 母乳中のダイオキシン類に関する調査

分担研究報告書

「植物エストロゲン物質によるリスク・ベネフィットと不確実性の解析」

分担研究者 関澤 純 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

前年度は日本人が食品から多量に摂取する大豆中のエストロゲン物質(genistein, daidzein)について、これら物質の日本人の血中濃度あるいは尿中排泄量と、これらを指標とした乳がんリスクの疫学データ、これら化合物摂取と女性の生理周期との関係についての臨床データなどを検討し、日本人の尿中排泄レベルから日本人女性に乳がんが少ないことへのこれら物質による寄与の可能性を定量的に示した。今年度は、女子大生を対象とした食生活と健康についての独自のアンケート調査により、前年度の推定がどの程度正しいかその確からしさを検証し、調査結果に基づいて解析を進めた。その結果、大豆を含む食生活が女性の生理の順調さや健康に大きな影響を及ぼしている可能性が指摘できた。

た。

A 研究目的

(1) 日本人が多量に摂取している大豆中のイソフラボンは植物エストロゲンといわれ乳がんを抑制する可能性などが指摘されているが、日本人女性の生理機能に及ぼす大豆イソフラボンの影響について詳しく検討した例は少ない。

(2) 女子大生に、日常生活、大豆摂取を含む食生活、女性ホルモンに関係する疾病歴等のアンケート調査を行う。大豆エストロゲンの摂取を含むこれら要因と、女性の健康の関連性を検討し、エストロゲン活性を持つ物質の摂取が健康に及ぼす影響の評価における不確実性要因の解明を目的とする。

B 研究方法

(1) アンケートは、都内短期大学女子学生365名を対象として、1999年11月に行った。249名から回答を回収(回収率 68.2%)し

(2) アンケートの方法は、プライバシーに関わる項目もあるため、インフォームド・コンセント(添付1)を採り無記名とし、解析はコード化して行った。

(3) アンケート項目は、以下のとおりである(アンケート調査用紙は、添付2を参照)。

日常生活に関する項目:

年齢、居住地、家族構成、サークル・アルバイト・スポーツ実施状況、喫煙の有無と量、飲酒量、睡眠時間

食生活に関する項目:

各種食品の摂取量、大豆製品の摂取量と摂取頻度、食事の規則性、主食・動物性脂肪・緑黄色野菜の摂取量、栄養バランスの配慮

健康状態に関する項目:

身長、体重、女性ホルモン関連疾病歴、現在の疾病、処方中の薬剤・栄養剤、便秘、ダイエット経験、ストレス、過労、初潮、生理の規則性、月経前症候群、生理の様子、