

厚生科学研究費補助金研究報告書

ダイオキシン類の健康影響
に関する総合的評価研究

厚生科学研究費補助金総括研究報告書

(ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価研究)

平成11年度厚生科学研究費
生活安全総合研究事業

主任研究者 長谷川隆一
(国立医薬品食品衛生研究所)

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）研究報告書

ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価研究

(総括研究報告書)

主任研究者 長谷川隆一 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室長
分担研究者 黒川 雄二 国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター長
分担研究者 江馬 眞 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 生物試験部室長
分担協力者 大野 泰雄 国立医薬品食品衛生研究所・薬理部長
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
研究協力者 金子 豊蔵 国立医薬品食品衛生研究所・毒性部室長
研究協力者 渋谷 淳 国立医薬品食品衛生研究所病理部室長
研究協力者 林 眞 国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部長
研究協力者 澤田 純一 国立医薬品食品衛生研究所・機能生化学部部長
研究協力者 金城芳秀 沖縄県立看護大学・助教授

研究要旨

ダイオキシン類の耐容1日摂取量(TDI)を算定するにあたり、その体内負荷量が最も低いところで発現すると思われる毒性学的影響に関する文献情報について評価を行った。その結果、WHOでの再評価でも取り上げられたように母動物に投与した場合の児動物において免疫学的異常や生殖器への影響が、体内負荷量が約80ng/kg付近から発現していること考えられた。これより低い体内負荷量低用量で薬物代謝酵素誘導やTリンパ球の分化への影響が認められているが、adverse effectsを引き起こすとは考えにくい。

臭素化ダイオキシン類に関する毒性情報を体内動態及び代謝、一般毒性、発がん性、免疫毒性、生殖発生毒性、生化学的影響および疫学情報に分類し、各種文献情報から最新の毒性学的知見を収集・整理した。体内動態については、多くの研究が2,3,7,8-TeBDD(TBDD)について言及している。PCDD/PCDFの場合と同様に、ヒトについて計算された半減期は、ラットの半減期より長く、TBDDについては3~11年であり、2,3,7,8-TeBDF(TBDF)については1~2年と推算されている。ポリ臭素化ジベンゾ-p-ダイオキシン(PBDD)の単回投与投与ラットでは、用量依存的な細胞質の空胞化、希薄化や細胞肥大といった肝毒性と、組織球によるリンパ球の貪食作用を特徴とする胸腺萎縮が認められた。TCDDと比べ、TBDDの亜慢性投与による毒性のスペクトルは似ているが、活性はTCDDより弱い様である。変異原性試験及び、発がん性を含む動物を用いた長期毒性試験は行われていない。TBDD及びTBDFは、免疫毒性や生殖発生毒性においてもTCDDやTCDFに類似した免疫毒性を示す。毒性学的関連情報の多くは、TBDDとTCDDの2,3,7,8-置換ジベンゾ-p-ダイオキシンの同族体を扱っており、両方の同族体に対して同じTEF値を用いてもかまわないことを示していると考えられる。

A. 研究目的

ダイオキシン類は、特定の使用目的をもって生産される化学物質ではなく、各種有機化学物質の生産工程や廃棄物の処理過程等で生成する非意図的な化学物質である。各種の化学製品への不純物としての混入、廃棄物の焼却炉からの排出等、多岐にわたる発生源が知られており、更に動物実験や人での疫学調査で非常に強い毒性を有することが明らかにされている等、その制御は世界的に大きな問題となっている。また、ダイオキシン類は、分解しにくく、野生生物や人体中の脂肪組織に蓄積することが知られており、暴露による健康への影響が懸念されている。

国際的には、ダイオキシン問題に取り組む研究者による、国際ダイオキシン学会が毎年度開催されている。平成10年度はスウェーデンにおいて開催され、ダイオキシンの毒性・暴露に関する各種研究報告が行われた。また、ダイオキシンの発がん性について、最も毒性が強い2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ・パラジオキシンに関して、平成9年2月に、国際がん研究機関(IARC)において、グループ1(人に発がん性あり)と判断されたところである。さらに、平成9年には、WHO欧州事務局においてダイオキシン類の毒性評価に用いられる毒性等価係数(TEF)の見直し、平成10年には、WHO欧州事務局においてダイオキシンの耐容一日摂取量(TDI)が再評価された。我が国においても、各省庁が連携してダイオキシン類に対する総合的な調査研究を実施するとともに、厚生省と環境庁が合同で、我が国のダイオキシンのTDIの見直しに関する検討を行ったところである。しかしながら、本研究で実施するダイオキシン類似化合物や健康影響の評価手法に関する基礎的かつ網羅的な調査研究は、現在までに行われていない。ダイオキシン対策には、発生源対策、人体暴露調査、食品暴露調査、ダイオキシンの発生機構の解明等各種の取り組みがあるが、この

うち本研究で実施する健康影響に対する総合的評価の結果は、総合的なダイオキシン対策を推進していく上で最も重要であり、その波及効果は非常に大きなものとなる。

B. 研究方法

今年度は、ダイオキシン類の健康評価上、重要な位置を占める耐容一日摂取量(TDI)の算定根拠となりうる有害影響について、そのキーポイントなる実験の評価および体内負荷量の算出に関わる研究を行った。また、99年9月にイタリアのベニスで行われたダイオキシン99国際シンポジウムに参加し、最新の国際動向の収集を行った。

さらに、今年度は、塩素化ダイオキシン類と同様な毒性を示すと考えながら、その健康影響上の評価が余り行われていない臭素化ダイオキシン類に関する毒性情報を収集し、各種毒性(体内動態及び代謝、一般毒性、発がん性、変異原性、免疫毒性、生殖発生毒性、生化学的影響および疫学情報)について分類・整理を行った。

C. 研究結果と考察

(1)ダイオキシン類のTDI設定に関わる実験および手法の評価

1. 一般毒性、発がん性、及び免疫毒性

実験動物に対する2,3,7,8-TCDDの発がん性については、Kocibaら(1978)が、ラットの実験により肝細胞がんの発生を観察、報告しているが、その他に、マウス・ラットを用いた長期試験で甲状腺濾胞腺腫、口蓋・鼻甲介・舌および肺の扁平上皮がん、リンパ腫の誘発が認められている。発がんメカニズムについては、遺伝子障害性を検出するための複数の実験系で陰性の結果が得られ、マウス・ラットを用いる二段階発がんの試験系でプロモーション作用が証明されている。肝毒性としては、肝細胞肥大や脂質代謝異常が適切な指標になる。免疫毒性としては、胸腺萎縮や細胞性および体液性免疫異常を引き

起こし、ウイルス感染に対する宿主抵抗性や抗体産生能の抑制が認められる。また、母ラットへ投与すると、仔動物における遅延型過敏反応の抑制や抗体産生能の抑制がみられる。これらの影響は、体内負荷量 86ng/kg 以上で明瞭に発現すると考えられる。その他に、肝臓の薬物代謝酵素誘導やTリンパ球の分化への影響が上記より低い体内負荷量低用量 (23ng/kg 以下) で認められる。これらの変化は各 adverse effects を引き起こす因子に属するものであると捉えることはできるが、生体の恒常性の観点からこれらの体内負荷量によって adverse effects を引き起こすとは考えにくい。

2. 生殖発生毒性

生殖発生毒性においては、TCDD の投与により高用量でラット、マウスで口蓋裂や水腎症が誘発される。母動物よりも胎児及び出生後の児動物への影響が強く、ラットでの繁殖性試験で、次世代以降に受胎率の低下が認められる。また、母ラットに TCDD を投与した場合の児動物における精子数の減少などが見られるが、わが国での追試では再現性は認められていない。妊娠 15 日に母ラットに投与した場合の児動物における雌性生殖器の形態異常が、172 ng/kg の体内負荷量から認められている。アカゲザルを用いた実験では、母動物に TCDD を 4 年間投与後、10 年後に子宮内膜症を誘発し、また、交配前 7 または 26 ヶ月前から離乳期 (出生後 4 ヶ月) まで母動物に投与した場合の児動物には、学習能力の低下が観察されている。これらの実験から投与終了後の体内負荷量はそれぞれ 69 と 42 ng/kg となる。しかし、本実験には科学的に見て不確定要素があり、絶対的数値として採用することは困難である。

3. 作用機序及び TEF

研究要旨ダイオキシン類の毒性は、細胞内にあるアリール炭化水素受容体 (arylhydrocarbon receptor、以下 Ah レセプター) という蛋白を介して発現すると考えられてきた。近年 Ah レセプターを欠くマウスを用

いた実験により、主な毒性である肝臓や胸腺への毒性や発生毒性が Ah レセプター依存性であることが証明されている。ダイオキシンが Ah レセプターに結合すると、さらにいくつかの蛋白と共同して、遺伝子の発現を変化させ、その結果としていろいろな毒性が引き起こされる。ダイオキシンと Ah レセプターの親和性には動物種、系統により違いがあり、ヒトのレセプターはマウスの感受性の低い系統のものに類似している。TCDD による発がん性は直接遺伝子を傷をつけることによるのではなく、発がんを促進するプロモーション作用によるとされている。この作用や、内分泌かく乱作用も Ah レセプターが仲介していると考えられている。また、暴露評価にあたっては、ダイオキシン類 (PCDD と PCDF) およびコプラナー PCB (co-PCB) の毒性発現は共通の作用機構として Ah レセプターを介するメカニズムを想定し、それぞれの同族体の毒性強度を毒性等価係数 (TEFs: Toxicity Equivalency Factors) として表す。通常、これらの物質は混合して環境中に存在するので、その毒性の強さは各物質の TEF に存在量を乗じたものを総和した毒性等量 (TEQ: Toxic Equivalents) として表すことができる。TEF は毒性の最も強い 2,3,7,8-TCDD を 1 としたときの値で、各種の実験から長期毒性、短期毒性、in vivo および in vitro の生化学反応の順でそれらの結果を採用・比較し、設定されたものである。現在までにダイオキシン同族体についての数多くの追加研究が行われ、概ねそれぞれの同族体の TEF は適正であることが支持されており、現時点では 1997 年に WHO で再評価された最新の TEF をもとに、TEQ を算出してダイオキシン類の暴露評価に用いることが妥当であると考えられる。

4. 体内負荷量の算出

ダイオキシンについては、主として、最も毒性の強い 2,3,7,8-TCDD を被験物質として多くの毒性試験が行われている。1990 年以降に報告された各種の毒性試験の中から、それぞれに

ついて、反応を引き起こす極めて低い用量についてのデータを集め、それらに対応する体内負荷量を求めた。低用量と毒性の現れた事例について、当該動物における TCDD の吸収率、および半減期を基に毒性発現用量を投与した時の最高推定体内負荷量を計算した。また、その値に対応するヒトにおける一日摂取量計算結果も計算した。なお、今回調査した各種試験においては、適切な無毒性量 (NOAEL) のデータがほとんどないため、TDI 算定には最小毒性量 (LOAEL) のデータを用いた。

5. ダイオキシン 99 出張報告

Dioxin99' では、TDI の設定根拠にもなっている生殖発生毒性のメカニズムの解析や、Ah レセプター依存性を示唆する結果や、ダイオキシン類の混合投与による TEF/TEQ を検証した実験から、ダイオキシン類によるほとんどの毒性が Ah レセプター依存性であるという今までのコンセプトを補強した研究が報告されていた。一方で、そのメカニズムに関しては、ダイオキシン類による細胞増殖能への影響の他に、アポトーシスを介した系の重要性も示唆されていた。

(2) 臭素化ダイオキシン類に関する毒性情報収集

1. 体内動態及び代謝

多くの研究が 2,3,7,8-TeBDD について言及しているが、1,2,7,8-TeBDF については少ない。半減期の計算は、他の同族体についても行われている。

2,3,7,8-TeBDD を経口、気管内および経皮により投与するとラット体内に吸収されるが、吸収率は経路および用量によって変化する。1nmol の 2,3,7,8-TeBDD/kg 体重の単回投与では、投与量の 80% (経口あるいは気管内の場合)、または 12% (経皮の場合) が吸収された。1nmol の 1,2,7,8-TeBDF/kg 体重の経皮吸収は、約 29% であった。2,3,7,8-TeBDD の経口吸収は、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin

(2,3,7,8-TeCDD ; TCDD) のそれに匹敵する

ものであった。しかし、2,3,7,8-TeBDD の経皮吸収は、等モル用量の 2,3,7,8-TeCDD の場合の約 3 分の 1 であった。

2,3,7,8-TeBDD あるいは 1,2,7,8-TeBDF をラットに投与すると、どの経路の場合も、体全体に分布するが、主たる蓄積部位は肝臓と脂肪組織であり、皮膚と筋肉がこれに続いた。例えば、2,3,7,8-TeBDD (1nmol/kg 体重) を単回経口投与してから 3 日後、これらの組織中への分布は、それぞれ投与した量の 20% (肝臓)、20% (脂肪組織)、11% (皮膚)、4% (筋肉) であったが、これに対して、胸腺と副腎ではそれぞれ 0.03% と 0.4% であった。ラットの肝臓と脂肪組織への 2,3,7,8-TeBDD の分配は、投与量、曝露経路および投与後の経過時間によって影響を受けることが明らかになった。異なった条件下で測定された、肝臓：脂肪の濃度比率は、0.2 から 6.5 の範囲であった (2,3,7,8-TeBDD をラットに単回投与した場合)。PBDD/PBDF の胎児や乳汁への移行についての実験データはない。

TetraBDD/BDF の代謝物が、ラットの胆汁および糞便で検出された。それらは主として、芳香環水酸化と加水分解的脱臭素化によって生成された。(胆汁排出率として間接的に測定される) 代謝率は、2,3,7,8-TeBDD (約 7%) と 1,2,7,8-TeBDF (約 50%) で異なっていた。静脈内への 2,3,7,8-TeBDD の投与 (1nmol/kg 体重) から 3 日後、投与量の 14% がラットの糞中代謝産物として確認された。

ラットに 2,3,7,8-TeBDD を経口、静脈内、気管内、あるいは経皮投与し、その消失および排泄が検討された。ラットに投与して研究が行われた。いずれの研究においても、排出の主な経路は糞便を通じてであり、例えば、糞便中に排出された放射能は投与量 (1nmol[3H]2,3,7,8-TeBDD/kg 体重) の 2% (皮膚経路) から 42% (経口) であり、また、尿中では 0.2% から 1% であった。同様にラットにおける 1,2,7,8-TeBDF の研究では、主な排泄は糞便によるものであり、尿中への排泄は静脈内、

経口、経皮による投与量の2~3%にすぎなかった。経口投与後の最初の1日間に糞便中に排出された化合物の多くは、吸収されなかったものといったん吸収された後に胆汁中に排出されたものであると思われる。1nmolの2,3,7,8-TeBDD/kg体重を投与したあとのラットの糞便中に検出されたもののうち53% (経口)、43% (気管内経路)、および10~20% (静脈内経路)が母化合物であった。2,3,7,8-TeBDDを経口投与(1nmol/kg体重)した後、数日で投与量の約20%が母化合物のまま排出された。

PBDD/PBDFのうちいくつかについては、体内貯留と代謝回転に関するデータが得られている。ラットにおける2,3,7,8-TeBDD(および他の同族体)の相対体内蓄積量は、吸収能の違いを反映して、曝露経路と投与量に影響を受ける。ラットの様々な組織や糞便において、いくつかのPBDD/PXDDおよびPBDFの半減期が計算されている。それらは、1日(1,2,7,8-TeBDF、身体)から99日(2,3,4,7,8-PeBDF、肝臓)までの範囲であった。2,3,7,8-TeBDDの推定半減期は、肝臓、糞便、脂肪組織において、それぞれ17日、18日、58日であった。この数字は、肝臓および糞便中での2,3,7,8-TeCDDで報告されたものと同様であるが、脂肪組織中での2,3,7,8-TeCDDについての報告より高い(>2倍)ものである。初期段階での貯留の違いにもかかわらず、肝臓中の2,3,7,8-TeBDFと2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran(2,3,7,8-TeCDF; TCDF)の半減期は類似していた。

PCDD/PCDFの場合と同様に、ヒトについて計算された半減期は、ラットの半減期より長い。2,3,7,8-TeBDDについては3~11年(平均:5.9年)であり、2,3,7,8-TeBDFについては1~2年(平均:1.5年)と推算されている。これらの化合物のヒトにおける残存性は、2,3,7,8-TeBDDと2,3,7,8-TeCDDを1956年に合成した化学者の例によっても見ることができ

る。曝露から35年たっても、彼の血中には、著しく高濃度の2,3,7,8-TeBDDが見られたのである。

2. 一般毒性

ポリ臭素化ジベンゾ-p-ダイオキシン(PBDD)の単回投与投与ラットでは、用量依存的な細胞質の空胞化、希薄化や細胞肥大といった肝毒性と、組織球によるリンパ球の貪食作用を特徴とする胸腺萎縮が認められた。TCDDと比べ、TBDDの亜慢性投与による毒性のスペクトルは似ているが、活性はTCDDより弱い様である。ラットにおけるTBDDの亜慢性NOELは、5日/週投与で0.01μg/kgである。

ポリ臭素化ジベンゾフラン(PBDF)の単回投与モルモットでは、胸腺皮質のリンパ球減少および腎盂、尿管、膀胱の内皮細胞の異常増殖がみられ、ジベンゾ-p-ダイオキシン/ジベンゾフランに曝露した際の主要な標的器官が、他の齧歯類やウサギでは、肝臓であるのと対照的に、モルモットでは肝臓の障害が起きなかった。皮膚におけるPCDD/PCDF、PCB、PBBなどのダイオキシン様化合物の毒性に共通する特徴にヒトといくつかの動物種における過角化活性が認められる。

3. 発がん性

PBDDs/PBDFsについては、限られた実験データベースしか存在せず、変異原性試験及び、発がん性を含む動物を用いた長期毒性試験は行われていない。また、ヒトの疫学的研究においてもPBDDs/PBDFsによる癌死亡率についての報告はない。一方、検索したいくつかのPBDDs/PBDFs同族体は、それに対応する塩素化体と同様にAryl hydrocarbon受容体と結合することが知られ、両者の間に高い毒性学的類似性が報告されている。塩化ダイオキシン類(PCDDs/PCDFs)は、げっ歯類を用いた二段階発がん性試験において、いくつかの臓器で明らか発がんプロモーション作用を示し、その中で2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ダイオキシン(TCDD)、ヘキサクロロジベンゾ-p-ダイオキ

シン、2,7-ジクロロジベンゾ-p-ダイオキシンはげっ歯類で長期発がん性試験において多臓器発がん性を示すことが知られている。代表的な塩化体である2,3,7,8-TCDDの発がん機序の検索により、この化学物質は直接的な遺伝子傷害性をもたない非遺伝子傷害性発がん物質と位置づけられている。塩化ダイオキシン類と臭化ダイオキシン類の極めて近似した毒性学的特性から、臭化ダイオキシン類も非遺伝子傷害性発がん物質と推定されるが、現段階の情報量ではそれによる発がんのリスクアセスメントはできない。

4. 変異原性

PBDD/PBDFの遺伝毒性および関連した指標に関する情報は見あたらない。

PCDDの遺伝毒性については報告の数も限られており、また、結果も相矛盾したものである。ただ、PCDDは他の化学物質と同時に作用したときに変異原性や組換え活性を増強する作用のあることがマウスの毛色スポットテストで報告されている。

十分にバリデートされた手法とは言い難いが、マウスの宿主経路法で、マクロファージに対して形質転換作用のあることが報告されている。NMRIマウスの腹腔に0.39nmolのTBDDまたはTCDDを投与後、耐性マクロファージを腹腔より分離し、軟寒天中で5-6日培養した結果、TBDDの形質転換作用は弱く、TCDDの作用の1/7程度であることがわかった。

5. 免疫毒性

TBDD及びTBDFは、胸腺萎縮等のTCDDやTCDFに類似した免疫毒性を示す。WistarラットにTBDDを経口で13週間投与すると、胸腺重量の変化などの徴候が観察され、NOAELは、0.01 µg/kg 体重/日であった。TBDFをSDラットに4週間経口投与すると、用量依存的に胸腺組織の変化を引き起こし、NOAELは1 µg/kg 体重/日であった。マーモセットに、30 ng/kg 体重のTBDD及び2,3-Cl₂-7,8-Br₂DDの単回投与を行うと、末梢血リンパ球サブポピュレーションの構成比に変

化が見られた。ラットとサルにおけるTBDDの免疫毒性はTCDDとほぼ同等であると考えられる。

6. 生殖発生毒性

2,3,7,8-TeBDDを雄ラットに単回強制経口投与したときに精巣比体重重量の増加が認められ、13週間強制経口投与したときに精巣内の精子産生が低下し、異常精子細胞が精巣上体で認められた。妊娠9日のマウスにTBDDを単回皮下投与したところ、口蓋裂を有する胎児及び母体の発現頻度が投与量依存的に有意に増加したが、胎児体重及び生存胎児数には投与の影響は認められなかった。妊娠10日のマウスTBDD、TBDF、1,2,3,7,8-PeBDF及び2,3,4,7,8-PeBDFを単回強制経口投与したとき、すべての化合物により胎児に水腎症と口蓋裂がを発現した。口蓋裂よりも低い投与量で水腎症は発現が観察された。

7. 生化学的影響

PBDD/PBDFは、TCDDや他の環境汚染物質と同様、特定のチトクロームP-450(CYP)依存性酵素の強い誘導物質であり、ラジオイムノアッセイ(RIA)またはマーカー酵素による直接測定によってチトクロームCYP1A1の活性が最もよく調べられている。

分子レベルにおける毒性発現メカニズムとしては、全部ではないにしても、ほとんどの生化学的効果および毒性効果が、細胞質内タンパク質であるAh受容体を介しているとする証拠が増えつつある。しかし、TCDD毒性におけるAh受容体の中心的な役割が一般的に受け入れられている一方で、Ah受容体とは無関係な他のメカニズムが存在することもいくつかの知見から指摘されている。

8. 疫学

一般人口におけるPBDD/PBDFの曝露について報告はなく、PBDD/PBDFが原因と疑われた癌死亡に関する報告もない。現段階では実験室内や化学プラント内で作業中にPBDD/PBDFに曝露した事例の報告がある。実験室

内の偶発的な曝露では急性的に健康が損なわれた。最初は米国人化学者から、塩素座瘡、頭痛および背中と足の痛みが報告された。この症例から PBDD/PBDF の体内負荷量は 13,005ppt から 146,726ppt と推定された。二つ目は日本人大学院生から、曝露量は不明であるが、油症患者と同様な座瘡様発疹が報告された。一方、化学プラントの男性作業員については、工場内の作業歴に基づいて PBDD/PBDF の曝露群と対照群が設定され、特異的免疫学的試験を含む一般健康診断の検査成績が比較された。全体的な臨床評価の結果、推定された PBDD/PBDF の曝露が免疫系に有害な影響を与えたとはいえないと結論された。この研究から得られた曝露群の 2,3,7,8-TBDD と 2,3,7,8-TBDF の血中脂質濃度 (pg/g) は、それぞれ検出限界以下 ~478 ppt と検出限界以下 ~112 ppt であった。しかし対照群については PBDD/PBDF の測定が行われず、PCDD や PCDF などの関連化合物に関する測定データも示されていない。このように欠けている曝露情報は研究者自ら補完すべきである。この研究に限らず、潜在的な PBDD/PBDF の曝露環境とその環境に曝される人々のモニタリングが必要であり、PBDD/PBDF の人体への移行経路とその量、さらには健康影響を明らかにする研究が今後さらに必要である。

D. 参照文献

Badesha, J.S., Maliji, G., Flaks, B. (1995)

Immunotoxic effects of exposure of rats to xenobiotics via maternal lactation.

Part I

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Int. J. Path.*, 76, 425-439

Burleson, G.R., Lebrec, H., Yang, Y.G., Ibanes,

J.D., Pennington, K.N., Birnbaum, L.S. (1996) Effect of

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on influenza virus host resistance

in mice. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 29, 40-47

DeVito, M. J., Birnbaum, L.S., Farland, W. H. and Gasiewicz, T. A. (1995)

Comparisons of Estimated Human Body Burdens of Dioxinlike Chemicals and TCDD Body Burdens in Experimentally Exposed Animals. *Environmental Health Perspectives* 103: 820-831.

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

Gehrs, B.C., Riddle, M.M., Williams, W.C.,

Smialowicz, R.J. (1997) 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

Gehrs, B.C., Smialowicz, R.J. (1999)

Persistent suppression of delayed-type hypersensitivity in adult F344 rats after perinatal exposure to

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicology*, 134, 79-88.

Gray LE Jr, Kelce WR, Monosson E, Ostby

JS, Birnbaum LS (1995a) 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 androgenic status.

- Toxicol. Appl. Pharmacol., 131, 108-118
- Gray LE Jr, Kelce WR, Monosson E, Ostby JS, Birnbaum LS (1995b) 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 androgenic status. Toxicol. Appl. Pharmacol., 131, 108-118
- Gray LE Jr, Ostby JS (1995) In utero 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) alters reproductive morphology and function in female offspring. Toxicol. Appl. Pharmacol., 131, 285-294
- Gray LE Jr, Ostby JS, Kelce WR (1997a) A dose-response analysis of the reproductive effects of a single gestational dose of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in male Long Evans hooded rat offspring. Toxicol. Appl. Pharmacol., 146, 11-20
- Gray LE Jr, Wolf C, Mann P, Ostby JS (1997b) 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
- Gray, L. E., Jr., Wolf, C., Mann, P., Ostby, J. S. (1997b) 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
- Kociba, R. J., Keyes, D. G., Beyer, J. E., Carreon, R. M., Wade, C. E., Dittenber D. A., Kalnins, R. P., Frauson, L. E., Park, C. N., Barnard, S. D., Hummel, R. A. and Humiston C. G. Results of two-year chronic toxicity and oncogenicity study of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats. (1978): Toxicol. Appl. Pharmacol., 46: 279-303.
- Mably TA, Bjerke DL, Moore RW, Gendron-Fitzpatrick A, Peterson RE (1992c) In utero and lactational exposure of male rats to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 3. Effects on spermatogenesis and reproductive capability. Toxicol. Appl. Pharmacol., 114, 118-126
- Mably TA, Moore RW, Goy RW, Peterson RE (1992b) In utero and lactational exposure of male rats to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 2. Effects on Sexual behavior and the regulation of luteinizing hormones secretion in adulthood. Toxicol. Appl. Pharmacol., 114, 108-117
- Mably TA, Moore RW, Peterson RE (1992a) In utero and lactational exposure of male rats to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 1. Effects on androgenic status. Toxicol. Appl. Pharmacol., 114, 97-107
- Narasimhan, T., Craig, A., Arellano, L., Harper, N., Howie, L., Menache, M., Birnbaum, L., Safe, S. (1994) Relative sensitivities of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced Cyp1a-1 and Cyp1a-2 gene expression and immunotoxicity in female B6C3F1 mice. Fundam. Appl. Toxicol., 23, 598-607

- Ohsako S, Miyabara Y, Sakaue M,
Kurosawa S, Nishimura N, Aoki Y,
Tohyama C, Sone H, Ishizuka M,
Jana NR, Sarkar S, Yonemoto J
(1999) Effects of 2, 3, 7,
8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)
on the development of male
reproductive organs in the rats.
Organohalogen Compounds, 42,
19-21.
- Organohalogen Compounds* (1999) 42
- Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski,
WP, Becker JL (1993) Endometriosis
in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*)
following chronic exposure to 2, 3, 7,
8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin.
Fundam Appl. Toxicol., 21, 433-441
- Schantz SL, Bowman RE (1989) Learning
in monkeys exposed perinatally to 2,
3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin
(TCDD). *Neurotoxicol. Teratol.*, 11,
13-19
- Van den Berg, M., Birnbaum, L., Bosveld,
A.T.C., Brunstrom, B., Cook, P., Feeley,
M., Giesy, J.P., Hanberg, A., Hasegawa,
R., Kennedy, S.W., Kubiak, T., Larsen,
J.C., van Leeuwen, F.X.R., Liem, A.K.D.,
Nolt, C., Peterson, R.E., Poellinger, L.,
Safe, S., Schrenk, D., Tillitt, D.,
Tysklind, M., Younes, M., Warn, F. and
Zacharewski, T., (1998) Toxic
Equivalency Factors (TEFs) for PCBs,
PCDDs, PCDFs for Humans and
Wildlife. *Environ. Health Perspect.*, 106,
775-792
- WHO/IARC (1997): Polychlorinated
Dibenzo-para-dioxins and
Dibenzofurans (IARC Monographs on
the Evaluation of Carcinogenic Risk to
Humans; Volume 69), Geneva.
- WHO/IPCS (1989): Polychlorinated
Dibenzo-para-dioxins and
Dibenzofurans. (*Environmental Health
Criteria* 88), Geneva.
- WHO/IPCS (1998): Polybrominated
Dibenzo-para-dioxins and
Dibenzofurans. (*Environmental Health
Criteria* 205), Geneva.
- WHO/IPCS(1999) Executive Summary
Report of "Assessment of the health
risks of dioxins: re-evaluation of the
Tolerable Daily Intake (TDI)
- 環境庁 (1996): : ダイオキシンリスク評価検討
会中間報告, 1996.12.19.
- 厚生省 (1996): : ダイオキシンのリスクアセス
メントに関する研究班 中間報告書,
1996.6.28.
- 黒川雄二、井上達(1998): : 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。
国立医薬品食品衛生研究所報告、116:1-12
- 廣瀬明彦、長谷川隆一、黒川雄二(1998): : ダイ
オキシン類の生体毒性。 *J.Toxicol.Sci.*,
23; App.93-106.
- E. 研究業績
中央環境審議会、生活環境審議会、食品衛生調
査会 (平成11年6月): : ダイオキシンの
耐容一日摂取量 (TDI) について
黒川雄二(2000) 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*、
Vol.50

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

(ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価研究)

平成11年度厚生科学研究費
生活安全総合研究事業

分担研究者 長谷川隆一
(国立医薬品食品衛生研究所)

ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価に関する研究

—臭素化ダイオキシン類の健康影響に関する文献調査研究—

分担研究者 長谷川隆一 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室長

研究研究者 江馬 眞 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 生物試験部

研究協力者 大野 泰雄 国立医薬品食品衛生研究所・薬理部長

研究協力者 金子 豊蔵 国立医薬品食品衛生研究所・毒性部室長

研究協力者 金城芳秀 沖縄県立看護大学・助教授

研究協力者 澤田 純一 国立医薬品食品衛生研究所・機能生化学部部長

研究協力者 渋谷 淳 国立医薬品食品衛生研究所病理部室長

研究協力者 林 真 国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部長

研究協力者 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

臭素化ダイオキシン類に関する毒性情報を体内動態及び代謝、一般毒性、発がん性、免疫毒性、生殖発生毒性、生化学的影響および疫学情報に分類し、各種文献情報から最新の毒性学的知見を収集・整理した。

体内動態については、多くの研究が 2,3,7,8-TeBDD (TBDD) について言及している。PCDD/PCDF の場合と同様に、ヒトについて計算された半減期は、ラットの半減期より長く、TBDD については 3~11 年 (平均: 5.9 年) であり、2,3,7,8-TeBDF (TBDF) については 1~2 年 (平均: 1.5 年) と推算されている。ポリ臭素化ジベンゾ-p-ダイオキシン (PBDD) の単回投与投与ラットでは、用量依存的な細胞質の空胞化、希薄化や細胞肥大といった肝毒性と、組織球によるリンパ球の貪食作用を特徴とする胸腺萎縮が認められた。TCDD と比べ、TBDD の亜慢性投与による毒性のスペクトルは似ているが、活性は TCDD より弱い様である。ラットにおける TBDD の亜慢性 NOAEL は、5 日/週投与で 0.01 μ g/kg である。変異原性試験及び、発がん性を含む動物を用いた長期毒性試験は行われていない。TBDD 及び TBDF は、胸腺萎縮等の TCDD や TCDF に類似した免疫毒性を示す。精巣内精子産生のが低下や、異常精子細胞等の生殖系への影響が TBDD で、口蓋裂等の発生毒性が TBDD や TBDF で認められている。毒性学的関連情報の多くは、TBDD と TCDD の 2,3,7,8-置換ジベンゾ-p-ダイオキシンの同族体を扱っており、両方の同族体に対して同じ TEF 値を用いてもかまわないことを示していると考えられる。

A. 研究目的

ダイオキシン類は、特定の使用目的をもって生産される化学物質ではなく、各種有機化学物質の生産工程や廃棄物の処理過程等で生成する非意図的な化学物質で、動物を用いた試験で強い毒性を有することが明らかにされている。し

かし、これまで多くの研究は塩素化ダイオキシンに対して行われているが、難燃剤として使用されることの多い臭素化化学物質の熱や光による分解または熱による変質により生成する PBDD/PBDF などの臭素化ダイオキシン類も塩素化ダイオキシンと同様の毒性を示すと

考えられている。そこで、本研究では臭素化ダイオキシン類の毒性情報を文献などから入手し、整理することにより、ヒトへの健康影響を評価する上での材料とすることを目的としている。

B. 研究方法

臭素化ダイオキシン類に関する毒性情報を体内動態及び代謝、一般毒性、発がん性、免疫毒性、生殖発生毒性、生化学的影響および疫学情報に分類し、各種文献情報から最新の毒性学的知見を収集・整理した。

C. 研究結果と考察

(1) 体内動態及び代謝

1 吸収

1.1 ジベンゾ - p - ダイオキシン

PBDD の吸収についてのすべての研究は、ラットにおける 2,3,7,8-TeBDD の吸収について述べたものである (Table-1 参照)。それは、経口、経皮、気管内投与により吸収され、その吸収率は投与経路と用量によって異なる。

1nmol/kg 体重を単回投与すると、経口および気管内経路では約 80% 吸収されるが、皮膚を通してはわずか約 12% しか吸収されない。単回投与での経口吸収性は、低用量 (1~10nmol/kg 体重) での 80% から、高用量 (500nmol/kg 体重) での約 50% まで減少した。従って吸収過程は用量に対して非線形吸収であることが示唆された。

一方、TBDD と等モルの 2,3,7,8-TeCDF を同じ実験条件で経口及び肺投与したときの吸収率はそれぞれ、88% および 95% だった (Diliberto ら、1996)。また、TBDD の皮膚からの吸収は、等モルの TCDD の約 3 分の 1 であった (Jackson ら、1991; Diliberto ら、1993)。TBDD と TCDD の肺と皮膚での吸収の違いは、オクタノール/水分配係数およびハロゲン置換度によって説明できるであろう。

多くの PHDD/PHDF の経腸吸収性はばら

つきが大きく、不完全である (特に高塩素化同族体で示されている) ことが分かっている。関連した研究で皮下投与が用いられていることもいくつかある。塩素化同族体の大部分では、数日以内に著明な量の吸収が報告されている (例外: octachlorodibenzo - p - dioxin ; OCDD)。ラットにおける皮下投与での投与部位からの消失率は、TBDD (600ng/kg 体重) では投与後 14 日間で 99% で、TCDD (300ng/kg 体重) と同じ程度であったという報告がある (Nagao ら、1995/96)。

1.2 ジベンゾフラン

雄性 Fischer 344 ラットに 1nmol/kg 体重を単回投与し、1,2,7,8-TeBDF の経皮吸収性を調べた (Kedderis ら、1994)。皮膚部を除く体組織中で見つかった量 (4%) および 72 時間以内に排泄された量に基づいて定量化したところ、投与量の約 29% が吸収されていた。この経皮吸収量は、等モル量を単回投与した場合の TBDD (12%; 1.1 節参照)、TCDD (41%: Banks と Birnbaum、1991)、TCDF (48%: Brewster ら、1989) と比べると、それらの中間にあった。

2 分布

2.1 組織内と血液中の濃度

2.1.1 ジベンゾ - p - ダイオキシン

PBDD の分布についてのほとんどすべての研究は、ラットにおける 2,3,7,8-TeBDD の分布について述べている。Table-2 に示したように、TBDD は全身に分布し、特に肝臓と脂肪組織で大きな蓄積が認められ、皮膚と筋肉がそれに次いだ (Kedderis ら、1991a; Diliberto ら、1993)。副腎および胸腺においても、かなりの量の [3H] TBDD が認められた (Diliberto ら、1993)。[3H] TBDD を経口投与してから 3 日後、体内蓄積量の 65% 以上が肝臓と脂肪組織に含まれていた (Diliberto ら、1993)。TBDD の分布は、血液コンパートメントと 5 つの組織コンパートメント: 肝臓、脂肪、皮膚、ゆっくり

灌流される組織、十分灌流される組織から構成される生理学的薬物動態学モデルによって説明することができる (Kedderis ら、1992b、1993)。Buckley (1995)は血液コンパートメントと4つの組織コンパートメント (肝臓、脂肪、ゆっくり灌流される組織、十分灌流される組織) から構成される生理学的薬物動態学モデルで説明できた。

肝臓と脂肪組織の間での TBDD の分配を、 $[^3\text{H}]$ TBDD に曝露した Fischer 344 ラットを用いて研究し (Diliberto ら、1990a、b、1991、1993 ; Kedderis ら、1990、1991a、b、1992a、1993 ; Jackson ら、1991)、それが用量、曝露経路、投与後経過時間に影響されることを見出した (代表的データについては Table-2 を参照)。

静脈投与研究および経口投与研究において、分配比率の用量依存的な変化が観察された (Table-3 参照)。1nmol/kg 体重の低い用量と比べて、高い用量では肝臓中の TBDD 濃度は、用量増加比以上に高くなった (高用量と低用量による、肝臓と脂肪の濃度比は、静脈投与の場合 2.6 と 0.2、経口投与の場合、 >5 と 2.9)。しかし、1nmol/kg 体重の経口投与に比べて 10nmol/kg 体重では肝臓中の TBDD 濃度は用量増加比以上に高くなるのに対し、10~100nmol/kg 体重の用量範囲での分布の増加量は用量増加量と対応していた。TBDD の組織分布の用量依存性に影響する因子について Kedderis ら (1993) が論じている。

1nmol/kg 体重の $[^3\text{H}]$ TBDD を、静脈内、経口、気管内、経皮の各経路で投与すると3日後の肝臓と脂肪の濃度比は、それぞれ 3.4、2.9、2.0、1.5 になった (Table-3 参照)。皮膚曝露での比率が低いのは、吸収量の差異 (内部曝露が低い ; 6.1 節参照) および用量に関連した組織分布によって説明できる。

TBDD は TCDD と同様に CYP1A1 を誘導する ($\text{ED}_{50}=0.8\text{-}1.0\text{nmol/kg}$ 体重)。TCDD との結合性を有する CYP1A2 の誘導はより感度良く現れる。しかし、CYP1A1 の誘導と XBDD

の分布量の比較の結果は投与用量と分布量との間の非線形性を十分に説明する者ではなかった (Kedderis ら 1991b)。

静脈投与実験で、分布パターンが時間に依存して変化することが示された。単回静脈投与後、3日および56日に観察された肝臓と脂肪の分配比率は、それぞれ 3.4 と 0.2 であり、投与後時間の経過とともに脂肪組織への分布が増加することが示された (Table-3)。再分布に加え、組織特異的の排出も起きているのかもしれない。

非標識 TBDD (溶媒 : 5%トルエンを含むラッカセイ油) や他の系統 (Wistar ラット) を用いた他の研究においても、単回経口投与2日後 (Neupert ら、1989 ; Ivens ら、1992) および91日間の連続経口投与後 (Ivens ら、1990、1993) における TBDD 濃度は、脂肪組織よりも肝臓の方が高かった。

TCDD および TBDD はどちらも同様の様式で分布すると思われる。一方、経皮曝露後などに見られる違いは、TBDD の親油性が高いことが原因と考えられる (Diliberto ら、1993 ; Kedderis ら、1993)。脂肪組織と血液の間の分布については、TCDD に比べて TBDD は、2.7倍も高い脂肪/血液分配係数をもっていると推定された (Kedderis ら、1993)。

同じ実験条件で、TBDD (皮下単回投与、Wistar ラット、600ng/kg 体重) および TCDD (300ng/kg 体重) について、組織中濃度と肝臓と脂肪組織濃度比が比較された (Nagao ら、1995/96)。Table-4 に示したように、脂肪組織に対する肝臓中濃度の比は、両者の投与量が増加するにつれて増加した。対照的に、TCDD/TBDD の濃度比は脂肪組織ばかりでなく肝臓においても、どちらかと言えば用量非依存的であった。肝臓中の濃度が TBDD および TCDD の用量と非常に近かったのに対し、脂肪組織での濃度は全用量の範囲において TBDDの方が高かった。用量を30から3000ng/kg-体重まで100倍上げると、肝臓濃度は、TCDDが174倍に、TBDDが256倍に増加した。対照的

に、脂肪組織での濃度は、わずかに TCDD で 26 倍、TBDD で 21 倍にすぎなかった。

2 種類の対応する塩素化および臭素化 1,2,3,7,8-penta ハロゲン化ジベンゾ - p - ダイオキシン (PeHDD) をそれぞれ 2nmol/kg 体重で混合液を作り、Wistar ラットに皮下投与したところ、同族体はどちらも最大組織濃度において、同じ組織分布 (肝臓と脂肪組織の濃度比はおおよそ 7) を示した (Golor ら、1993)。

雌の Wistar ラットに、2,3,7-トリハロゲン化ジベンゾ - p - ダイオキシン (TrHDD: Cl3DD、Br3DD、Cl2BrDD) を、それぞれ 3, 10, 50 μ g/kg-体重を含有する混合液を単回静脈注射すると、肝臓、脂肪組織、胸腺の組織内濃度が用量および時間に依存して変化することが分かった。これら 3 種類の同族体の濃度はいずれも脂肪組織で最大であり、肝臓で最低であった (注射後数時間で 2 桁低くなった) のは注目すべきことである。驚いたことに、胸腺での濃度が高く、肝臓よりもほぼ 1 桁高かった (Golor ら、1995)。

2.1.2 ジベンゾフラン

[4,6-3H]-1,2,7,8-TeBDF を用いて、ラットにおけるジベンゾフランの体内動態研究が行われた (Kedderis ら、1994)。TBDD と同様に、1nmol/kg 体重の用量を静脈内、経口、経皮で単回投与したところ、1~72 時間後の主な貯溜組織は、肝臓、脂肪組織、皮膚などであった。副腎でも比較的高濃度の 1,2,7,8-TeBDF が観察された。一般に、肝臓での濃度が脂肪含量を上回り、腎周囲の脂肪の方が精巣上体の脂肪より多量に含んでいた。例えば、経口投与 72 時間後における、肝臓と脂肪の濃度比はおおよそ 2 であった。1,2,7,8-TeBDF の肝臓濃度は、静注後 1 時間~24 時間まで減少するのが見られた。これは代謝的排泄および脂肪組織での軽度蓄積と関係がある。

Fischer 344 ラットの肺、小腸、心臓、胃、脾臓、胸腺での、1,2,7,8-TeBDF の静脈投与後

1 時間における組織内濃度は、0.2~1.3%の用量/g 組織の範囲であった。対応する結果は、肝臓、腎臓、腎周囲脂肪、副腎、皮膚でそれぞれ、4.9, 0.5, 0.1, 5.1, 0.1 であった。1,2,7,8-TeBDF の経口投与 72 時間後の組織レベルは、用量/g 組織で、0.11% (肝臓)、0.07% (腎周囲脂肪)、0.10% (副腎)、0.03% (皮膚) であった (Kedderis ら、1994)。

マーモセット (n = 3) に、2,3,4,7,8-PeBDF を 420ng/kg 体重の用量で皮下単回投与してから 7 日後、肝臓と脂肪での濃度比は 12.2 と観測された (Schulz ら、1993)。塩素置換同族体でも同様の高い蓄積率が肝臓でも認められたが、TCDD では肝臓と脂肪での濃度比はおおよそ 1 であった。

2.2 胎児及び乳児への移行

PCDD/PCDF の胎児及び乳児への移行に関する実験データはない。

しかしながら、種々の PCDD/PCDF の胎盤および/またはミルクを介した移行については、ラット、マウス、ヤギ、乳牛 (WHO, 1989)、マーモセット (Hagenmaier ら、1990b)、およびヒト (Schechter と Ryan, 1994; Schechter ら、1994b、1995、1996a、b) で実証されている。PCDD/PCDF の母乳からのバイオアベイラビリティは、ヒト乳児で >95% と高いことが分かっている (Jödicke ら、1992; McLachlan、1993; Pluim ら、1993)。

3 代謝

3.1 ジベンゾ - p - ダイオキシン

ラットに 2,3,7,8-TeBDD を経口または静注して、PBDD の代謝を調べた。代謝物は、肝臓ではまったく見つからなかったが (Kedderis ら、1991a)、ラットの胆汁中から検出された (雄 Fischer 344 ラットまたは雌 Sprague - Dawley ラット) (Kedderis ら、1991a; De Jongh ら、1992、1993)。

[³H] TBDD を 1nmol/kg-体重の用量で静脈投

与した3日後、F344ラットの糞便中(6.4節も参照)には、投与した量の約3%の母化合物および約14%の代謝物が含まれていた(Kedderisら、1991a)。静脈内投与後における糞便と胆汁からの放射活性排泄の約80~90%が、TBDD代謝物であった(Kedderisら、1991a、b)。

TBDD由来放射活性の胆汁排泄が、代謝の間接的評価と見なせるならば、TBDDは比較的ゆっくり代謝されると言える。5時間以内に、静注した1nmol/kg体重の[3H]TBDDの6.6%が雄Fischer 344ラットの胆汁中に排泄された(Kedderisら、1991b)。

ラットにおいて、TBDDおよびTCDD前処置は、*in vivo*で自らの代謝を誘導しなかった(Kedderisら、1991b、1992a)。

同定された主要代謝物(3つのヒドロキシプロモジベンゾ-p-ダイオキシンおよび1つのジヒドロキシテトラプロモエーテル)は、芳香族の水酸化および加水分解脱臭素化によって生成され、これはFig.1に示した代謝経路を示唆するものである(De Jonghら、1993)。TBDDおよびTCDDの代謝経路の類似点および相違点が、De Jonghら(1993)によって議論されている。

まとめると、数個の代謝物は同じようなものであった。定量的には、ダイオキシン開環経路は、TBDD代謝よりもTCDD代謝(PoigerとBuser、1984)の方が多く考えられ、定性的には、第2メトキシトリプロモジベンゾダイオキシンの欠除がTCDD代謝と異なっている。

3.2 ジベンゾフラン

[3H]1,2,7,8-TeBDFの代謝に関する情報は、[3H]1,2,7,8-TeBDF由来放射活性の胆汁排泄実験から入手することができる(Kedderisら、1994)。投与した[3H]1,2,7,8-TeBDF量の約50%が、8時間後にラットの胆汁中に排泄された。HPLC分析により、胆汁中に1,2,7,8-TeBDFの代謝物が存在することが確認された

(Kedderisら、1994)。何人かの研究者(Kedderisら、1991b; McKinleyら、1993)によって想定されたように、PHDD/PHDFの胆汁排泄が間接的な代謝の指標として使えるならば、この結果は、1,2,7,8-TeBDFの代謝がかなり起きていることを示しており、2,3,7,8-TeBDDの代謝がゆっくりとしている(上述)のと対照的である。両方の同族体における違いは、2,3,7,8-対1,2,7,8-の異なった構造から説明できる。後者は1,2-臭素環に2つの隣接非置換炭素原子が存在することにより、代謝に対する感受性がより高いのである(Kedderisら、1994)。

4 排出と排泄

PHDD/PHDFは、主として肝臓において極性代謝物に転換され、胆汁中に排出される。胆汁への未変化同族体の排出は、明らかにまったく起きないか、起きててもごくわずかである。しかしながら、数種の塩素化同族体で、未変化体の腸管内腔への排出があり、その後糞便によって排泄されることが証明された(Abrahamら、1989)。脂溶性PCDD/PCDFも同様に腸管内腔に向けて排出される可能性がある。

4.1 ジベンゾ-p-ダイオキシン

TBDDおよび1,2,3,7,8-PeBDD投与されたラットで排出が調べられた(糞便中排泄はTBDDについてのみラットでモニターされた)。TBDDまたは[1,6-3H]TBDDは動物に、経口(Dilibertoら、1990a、b、1993; Ivensら、1992)、静脈内(Kedderisら、1991a)、気管内(Dilibertoら、1991、1993)、あるいは経皮(Jacksonら、1991; Dilibertoら、1993)の経路から単回投与された。1,2,3,7,8-PeBDDは皮下投与された(Golorら、1993)。

すべての研究で、主要な排泄経路は糞便であった(Table-5参照)。2~3日後に排泄された糞便中の放射活性は、[3H]TBDDの投与量1nmol/kg体重の2%から42%の範囲であり、尿

中では0.2%から1%の範囲であった。糞便中排泄化合物の多くは吸収されなかったもの、あるいは吸収後胆汁中に排泄されたものであると考えられる。

静注および経口投与による研究に基づけば (Table-5)、糞便中に累積的に排泄される放射活性は用量依存的であった。高用量であれば、排泄速度が早くなる傾向があった。経口投与後における用量と関連のある違いは、それぞれの群における1日目と2日目に排泄された量の違いの結果であり、吸収率の違いによるものであると思われる (通過に対して取り込み過程が競合するためか、あるいはTBDDの水溶性が低いことによるため高用量での水への溶解が少ないことによるのかもしれない)。56日間静注実験において、低用量 (1nmol/kg 体重) の場合に比較して高用量 (100nmol/kg 体重) での排泄が、不相応に高くなる現象が、処理3週間以後に観察された (Kedderis ら、1991a、1992a)。

静脈実験の糞便中排泄曲線を分析したところ、低用量 (1nmol/kg 体重) では3次式的で、高用量 (100nmol/kg 体重) では2次式的であり、投与後初期及び最後期の半減期はそれぞれ、1日以下および18日であった (5.1節のTable-9参照)。

経口投与実験 (Table-5) のすべての投与群において、尿中排泄されたのは投与量の0.3%以下であった。しかし、尿中排泄の相対量は2つの低用量群で高いことが見付き、これらの投与量における吸収が高いことと一致した (Diliberto ら、1993)。

[³H]TBDD の1nmol/kg 体重投与後、最初の3日間の糞便中への放射活性排泄は、経口および気管内投与群で比較的高く、静注および経皮投与群で低かった (Table-5参照)。経皮投与した量のうち糞便中排泄されたのはわずか2%で、このことは経皮曝露後の排泄が非常に少ないことを意味している。しかし、経皮吸収量に対するパーセンテージで表すと17%という値が得られた。これは同モル量の静注による糞便中排

泄に匹敵する量である (Kedderis ら、1991a ; Diliberto ら、1993)。

Kedderis ら (1992b) によれば、[³H]TBDD の単回静脈内投与後、最初の数日以内に、尿中と糞便中に排泄される量のかなりの部分は、放射標識したTBDD中に含まれた不純物の急速な排泄によるものであり、これは通常のラジオ-HPLC技術では検出できない。一方、事前に糞便をヘキサン抽出してHPLCを行うことにより、糞便中のTBDD由来放射活性分析におけるTBDD自体とTBDD代謝物を分離することに成功したとの報告がある (Kedderis ら、1991a ; Diliberto ら、1993)。結果をTable-6にまとめた。[³H]TBDDを1nmol/kg体重でラットに、経口、気管内、静脈内投与してから3日後、糞便から抽出した母化合物に由来すると考えられる割合は、それぞれ投与量の22、18、3%であった。3日間の糞便中から測定された全放射活性との関連で、TBDD親化合物の含量は、静脈内、気管内、経口投与後、10%から67%の範囲 (Table-7参照) であった (Kedderis ら、1991a ; Diliberto ら、1993)。投与量の18%~24% (経口実験) および14% (静注実験) に相当する量が代謝物によるものとみなすことができた (Diliberto ら、1993)。TBDD母化合物のほとんどは、1日目と2日目に回収した糞便中に認められ (Table-6およびTable-5中のIvens ら、1992を参照)、これは少なくとも経口および静注実験では、材質中の一部は消化管を通過する際に吸収されないとする仮説と辻つまがあう。吸収されたTBDDの排泄は代謝速度によって制約されていると考えられる (Kedderis ら、1991a)。

4.2 ジベンゾフラン

ラットにおける1,2,7,8-TeBDFは、主として代謝物の胆汁中排出 (3節を参照) を介して、糞便中に排泄される (Kedderis ら、1994)。[³H]-1,2,7,8-TeBDFを1nmol/kg体重でラットに静脈内投与すると、24時間後には用量の39%

が糞便中に認められ、55%が腸管に含まれていた。同じ量を経口および経皮投与すると、それぞれ用量の58%および23%が72時間以内に糞便中へと排泄された。尿中排泄は、静脈内、経口、経皮投与した用量の2%~3%にすぎなかった (Kedderis ら、1994)。

5 貯留と代謝回転

貯留と代謝回転に関しては、ラットにおける PBDD (臭素数: 3・5)、tetraXDD、PBDF のデータ、ヒトにおける 2,3,7,8-TeBDD のデータがある。

5.1 動物

それぞれの PHDD/PHDF に対する見かけ上の排出半減期は、いろいろな理由により複雑である。

- ・ TCDD でよく知られているように (Abraham ら、1988)、肝臓および脂肪組織といった主要な臓器からの排出は、期待されるような半対数型ではなく少なくとも双峰性である。

- ・ 肝臓および脂肪組織 (および胸腺などのいくつかの組織) からの排出半減期は、しばしば等しくないことがある。これは、肝臓での代謝変化と排出および脂肪組織内での (おそらく脂溶性に依存した) いくぶん急速な平衡状態が原因である。

- ・ 組織分布は用量依存性である。肝臓と脂肪組織の濃度比は、用量が大きく増加するとき (あるいは、排出中の減少で) は、数桁のレベルで変化するかもしれない。

- ・ 種々の齧歯類の系統間で排出の役割は異なり、さらにそれは、種々の動物の種間で劇的に異なる (例えば、TCDD について齧歯類とヒトでは数桁の違いがある)。この理由により、定常状態における累積率は (ある設定用量および用量間隔で)、TCDD の場合、ラットとヒトでおおよそ 100 倍異なる。PBDD/PBDF の排出半減期についてラットとヒトを比べた比較データは存在しないが、同様な差が予想される。

ラットで放射標識した TBDD の相対体内負荷量は、曝露経路および投与量に依存し (Table-8 参照)、吸収の違いを反映している。しかしながら、パーセント体内負荷量をパーセント吸収量で調整すると、[3H]TBDD を 1nmol/kg 体重での結果は、経口、気管内、経皮、静脈内投与で、より近い値になる (Table-8 参照)。体内負荷量の半分以上が、ラットの肝臓および脂肪組織に認められた (Diliberto ら、1993; 2 節を参照)。

主要な組織への貯溜における TBDD の分布パターンは、単回投与実験においても (Kedderis ら、1991a、1993; Diliberto ら、1993)、短期実験においても (Ivens ら、1990)、用量および時間とともに変化した (2 節も参照)。例えば、肝臓と脂肪組織の TBDD 濃度比は、TBDD を 1nmol/kg 体重で、静脈内単回投与した後 56 日間の間に、最大値の 30 から 0.2 まで減少した (Kedderis ら、1991)。この用量では、肝臓内の放射活性レベルは 7 時間でピークに達し、その後、徐々に低下した。同時に脂肪組織内にゆっくりと蓄積し、14 日で最大濃度に達した (Kedderis ら、1990)。血液中の TBDD 由来放射活性レベルは、投与後 1 日目に、投与量の >2% へと急速に低下した (Kedderis ら、1991a)。ラットにおける TBDD の肝臓濃度は、600ng (1.2nmol) /kg 体重の単回皮下投与後 1~78 日の間では、投与後 3 日目に最大値を示した (Nagao ら、1990c)。91 日間経口実験で、TBDD の濃度は処理期間中ラットの肝臓と脂肪組織で増加した。それに続く回復期で、肝臓の TBDD 濃度は双峰的に減少することが観察された。一方で、脂肪組織の TBDD 濃度はほぼ一定で、それは回復期の 30 日目以後に低下し始めるまで続いた (Ivens ら、1990)。

TBDD および他の PBDD/PBDF 同族体の推定半減期を Table-9 にまとめた。

TBDD について計算された半減期は、脂肪組織および皮膚で 58 日の長さだった。血液、筋

肉、肝臓、および全身における半減期は、もっと短かった（～27日）（Table-9）。TCDDと比べると、TBDDの半減期は肝臓および全身で同じくらいであったが、脂肪組織ではもっと高かった（39～58日に対して17～25日）（Kedderisら、1991aとその参考文献；Nagaoら、1995/96とその参考文献）。

対応する3組のポリ塩素化およびポリ臭素化PHDD/PHDFの体内動態を比較するために、6種類の物質の混合物（2,3,7,8-テトラハロゲン化ジベンゾフラン[THDF]、2,3,4,7,8-ペンタハロゲン化ジベンゾフラン[2,3,4,7,8-PeHDF]、1,2,3,7,8-PeHDD）がWistarラット（それぞれ1～2nmol/kg体重）に皮下単回投与された。肝臓および脂肪組織における濃度変化が95日間モニターされた（Golorら、1993）。塩素化および臭素化した2,3,4,7,8-PeHDFの動態は、肝臓でも脂肪組織においても同様であったが、濃度は肝臓の方が10倍以上多くも高かった。塩素化および臭素化した1,2,3,7,8-PeHDDの減少率も同様に、肝臓とそして脂肪組織で非常によく似ていたが、動態プロファイルは、2つの組織の間で異なっていた。肝臓内の濃度が1桁以上高いということとは別に、肝臓組織中の濃度は比較的安定して低下したのに対し、脂肪組織中の濃度は、おそらく再分布現象が原因で、最初の1ヵ月は増加し、その後ゆっくりと低下した。

塩素化および臭素化した同族体の中で最も顕著な違いは、THDFの場合に認められた。塩素化同族体（TCDF）は、ラットの肝臓で、脂肪組織同様、急速に低下することが知られている。肝臓からの低下は明らかに双峰性であった。対照的に、臭素化同族体（TBDF）は肝臓と脂肪組織の両方から、ずっとゆっくり低下した。肝臓での動態にもかかわらず、全体的な排出速度は、塩素化同族体の2番目の排出相（投与してから約2週間後）の排出速度に類似しており、脂肪組織での排出速度は、投与後の2週間おけ

る初期の濃度上昇の後には比較的遅かった。従って、THDFは塩素化型と臭素化型の間で大きな動態学的差を示し、ラットでTBDFはTCDFよりずっと長く残留した。他の種では、この同族体ペアについてのデータはない。

5.2 ヒト

2,3,7,8-TeBDDと2,3,7,8-TeBDFについては、ヒトにおける貯留および代謝回転に関するいくつかのデータがある。

ヒト組織中のPBDDに関する最初の報告は、これらの化合物の非常に長い残留性を示している。曝露から35年後、1956年にTBDDおよびTCDDを合成していた化学者の血中から、著しく高濃度のTBDD（625pg/g血中脂質）が検出された（SchecterとRyan、1990、1991、1992；Schecter、1992）。しかし、初期の濃度が測定されていないため、実際の半減期を計算することはできなかった。

TBDDおよびTBDFの見かけ上の半減期を概算するためのデータがある（Zoberら、1992）。臭素系難燃剤（OBDEおよびDBDE）を扱った結果、PBDD/PBDFが身体に蓄積している化学プラントの従業員を、1989年から1991年までの3年間モニターした。3人の被験者からのデータに基づき、以下の半減期が算出された。

2,3,7,8-TeBDD: 2.9～10.8年（平均: 5.9年）

2,3,7,8-TeBDF: 1.1～1.9年（平均: 1.5年）

これらの半減期は、ラットで報告された半減期（6.5.1節）よりもはるかに長いですが、これらに対応する塩素化体での知見と一致した。ヒトにおけるTCDDの推定半減期は、5年から11年の範囲であった（PoigerとSchlatter、1986；Pirkleら、1989；Wolfeら、1994）。

(2) 一般毒性

1. 単回投与毒性