

- by TCDD in female rats. Gallo, M. A., R. J. Scheuplein and K. A. Van Der Heijden (Eds.). Banbury Report, 35. Biological basis for risk assessment of dioxins and related compounds: Second Banbury Center Meeting, 1990. Cold Spring Harbor Laboratory Press 389-400.
- Della-Porta, G., Dragani T. A. and Sozzi, G. (1987): Carcinogenic effects of infantile and long-term 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin treatment in the mouse. *Tumori*, 73: 99-107.
- Flodstrom, S. and Ahlberg, U. G. (1991): Promotion of hepatocarcinogenesis in rats by PCDDs and PCDFs. Gallo, M. A., R. J. Scheuplein and K. A. Van Der Heijden (Eds.). Banbury Report, 35. Biological basis for risk assessment of dioxins and related compounds: Second Banbury Center Meeting, 1990. Cold Spring Harbor Laboratory Press 405-412.
- 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., Smialowics, 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.
- Hebert, C. D., Harris, M. W., Elwell, M. R. and Birnbaum, L. S. (1990): Relative toxicity and tumor-promoting ability of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PCDF), and 1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzofuran (HCDF) in hairless mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 102: 362-377.
- 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.
- Koopman-Esseboom, C., Morse, D. C., Weisglas-Kuperus, N., Lutkeschipholt, I. J., Van der Paauw, C G., Tuinstar, L. G., Brouwer, A. and Sauer, P J., (1994): Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls on thyroid hormone status of pregnant woman and their infants. *Pediatr. Res.*, 36: 468-73.
- Krishnan, V., Porter, W., Santostefano, M., Wang, X. and Safe, S. (1995): Molecular mechanism of inhibition of estrogen-induced cathepsin D gene expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in MCF-7 cells. *Mol. Cell. Biol.*, 15: 6710-6719.
- Lucier, G. W., Tritscher, A., Goldsworthy, T., Foley, J., Clark, G., Goldstein, J. and Maronpot, R. (1991): Ovarian hormones enhance 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-mediated increases in cell proliferation and preneoplastic foci in a two-stage model

- for rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Res.*, 51: 1391-1397.
- Murray, F. J., Smith, F. A., Nitschke, K. D., Humiston, C. G., Kociba, R. J. and Scwetz, B. A. (1979): Three-generation reproduction study of rats given 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the diet. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 50: 241-251
- 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
- Poland, A. Palen, D. and Glover, E. (1982): Tumor promotion by TCDD in skin of HSR/J hairless mice. *Nature*, 300: 271-273.
- Rao, M. S., Subbarao, V., Prasad, J. D. and Scarpelli, D. G. (1988): Carcinogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the Syrian golden hamster. *Carcinogenesis*, 9: 1677-1679.
- USNTP (United States National Toxicology Program) (1979): Bioassay of 2,7-dichlorodibenzo-p-dioxin (DCDD) (CAS No. 33857-26-0) for possible carcinogenicity. (Technical Report Series No. 123: DHEW Publication No. (NIH)79-1378), Bethesda, MD, National Cancer Institute.
- USNTP (United States National Toxicology Program) (1980): Bioassay of a mixture of 1,2,3,6,7,8-Hexachlorodibenzo-p-dioxin and 1,2,3,7,8,9-Hexachlorodibenzo-p-dioxin (CAS No. 19408-74-3) for possible carcinogenicity (gavage study). (Technical Report Series No. 198: DHEW Publication No. (NIH)80-1754), Bethesda, MD, National Cancer Institute.
- USNTP (United States National Toxicology Program) (1982a): Carcinogenesis bioassay of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (CAS No. 1746-01-6) in Osborn-Mendel rats and B6C3F1 mice. (Technical Report Series No. 209: DHEW Publication No. (NIH)82-1765), Research Triangle Park, NC.
- USNTP (United States National Toxicology Program) (1982b): Carcinogenesis bioassay of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (CAS No. 1746-01-6) in Swiss-Webster mice (dermal study). (Technical Report Series No. 201: DHEW Publication No. (NIH)82-1757), Research Triangle Park, NC.
- 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(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

主要論文評価シート（1）

1. 著者及び文献名

Gehrs, B.C., Smialowics, 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.

2. 方法

動物種	F344 ラット
動物数	児 5~7 匹/群、親の匹数不明
投与量	0.1、0.3、1.0 μ g/kg
投与期間	妊娠 14 日、1 回
投与方法等	強制経口投与

3. 論文内容の概要

妊娠 14 日の母動物に TCDD を 1 回強制経口投与した場合に、児の BSA に対する遅延型過敏症の抑制が、0.1 μ g/kg 以上の投与で認められる。3.0 μ g/kg の投与では、抑制が 19 ヶ月齢まで継続する。一方、胸腺やリンパ節でのリンパ球サブセットの変化と遅延型過敏症の抑制の間に明瞭な相関関係は見出せなかった。

4. 評価

(1) 試験方法の信頼性に関する事項

- ・投与した親動物の数が不明である他は、児の動物数、実験方法、実験管理、データ処理等において、実験の信頼性に関わる問題は特にないと考えられる。

(2) 実験結果の科学的評価に関する事項

- ・児の 4 ヶ月齢の雄に対する遅延型過敏症の抑制は最高用量（1.0 μ g/kg）では約 50%と有意に認められているが、0.1 及び 0.3 μ g/kg では用量依存性はあるもの統計学的有意差はない。また、14 ヶ月齢では、0.1 μ g/kg 以上の雌雄に抑制が認められ、雄では 0.1 μ g/kg でも統計学的に有意である。しかし、これらの 14 ヶ月齢での影響は雌雄ともに用量依存性が認められず、かつ最高用量の 1.0 μ g/kg でも約 15~20%の抑制効果しか認められていない。以上のことから、0.1 μ g/kg は NOAEL に近い LOAEL であると考えられる。

(3) エンドポイントの毒性学的意義に関する事項

- ・過敏症反応に対して抑制効果が示唆されることから、ある種の感染免疫への抑制作用が推定される。

(4)その他、問題点、留意点

5.他の実験結果との関連

(1)データの再現性に関する事項

- ・低用量 ($1\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満) での児の遅延型過敏症の抑制影響を観察したのはこの論文だけであるが、 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上では、同グループの他の報告や他グループの報告でも認められており、再現性は高いと考えられる。

(2)体内負荷量の算出に関する事項

- ・ $0.1\mu\text{g}/\text{kg}$ を妊娠 14 日の母ラットに投与した場合の体内負荷量を算出する上で参考となる他の測定データは無い

6.総合評価

- ◎LOAEL : $0.1\mu\text{g}/\text{kg}$ 、児の BSA に対する遅延型過敏症の抑制
- ◎LOAEL (及び NOAEL) に対応する体内負荷量 : $86\text{ng}/\text{kg}$
- ◎その他

7.その他特記すべき事項

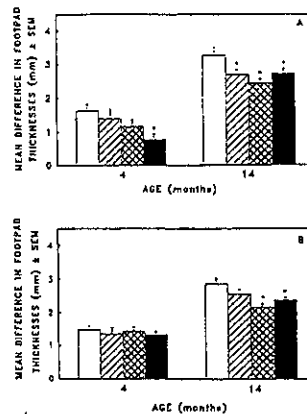


Fig. 2. Dose effects on the DTH response to BSA in 4- and 14-month-old male (A) and female (B) F344 rats with perinatal TCDD exposure. Maternal exposure was (open box) $0\mu\text{g TCDD}/\text{kg}$, (open box with one diagonal line) $0.1\mu\text{g TCDD}/\text{kg}$, (open box with two diagonal lines) $0.3\mu\text{g TCDD}/\text{kg}$, or (closed box) $1.0\mu\text{g TCDD}/\text{kg}$. * $P < 0.05$ versus control ($n = 5-7$).

作成者 黒川雄二 澤田純一 広瀬明彦

主要論文評価シート（2）

1. 著者及び文献名

Burleson, G.R., Lebec, 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.

2. 方法

動物種	B6C3F1 マウス
動物数	20 匹/群
投与量	0.001、0.005、0.01、0.05、0.1 μ g/kg
投与期間	1 回
投与方法等	強制経口投与（コーン油）

3. 論文内容の概要

0.01 μ g/kg 以上の投与群で、香港インフルエンザウイルス感染による死亡率の増加が認められた。この死亡率の増加は肺におけるウイルス力価とは関連しなかった。また、0.1 μ g/kg までの投与では、胸腺重量や感染した肺の体重比重量に何の影響も示さなかった。

4. 評価

(1) 試験方法の信頼性に関する事項

- ・動物数、実験方法、実験管理、データ処理等において、実験の信頼性に関わる問題は特にないと考えられる。

(2) 実験結果の科学的評価に関する事項

- ・0.01 μ g/kg 以上の投与では、明らかに香港インフルエンザウイルス感染による死亡率の増加が認められるが、その増加の強さは、 $0.05 < 0.01 \leq 0.1$ という順になり、用量依存性が認められていない。

(3) エンドポイントの毒性学的意義に関する事項

- ・ウイルス感染に対する宿主抵抗性に関して抑制効果が示唆される。

(4) その他、問題点、留意点

- ・生存率を見る実験のため、明瞭な用量依存性がみられない場合が多い。

5.他の実験結果との関連

(1)データの再現性に関する事項

- ・本論文の中でも死亡率への影響は独立して2回行われている。また同グループの以前の報告でも $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ (単回、腹腔内投与) 以上で明らかなウイルス感染による死亡率の増加が確認されており、この影響自体には明らかな再現性が認められることより、少なくとも LOAEL が $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ であることが推定できる。また、別の報告でマウスに $0.04 \mu\text{g}/\text{kg}$ (1回/週、4週間、腹腔内投与) 以上でヘルペスウイルス感染による死亡率の増加が認められている。

(2)体内負荷量の算出に関する事項

- ・ $0.01 \mu\text{g}/\text{kg}$ をラットに投与した場合の体内負荷量を算出する上で参考となる他の負荷量の測定データは無い

6.総合評価

- ◎LOAEL : $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、ウイルス感染による死亡率の増加
- ◎LOAEL (及び NOAEL) に対応する体内負荷量 : $86\text{ng}/\text{kg}$
- ◎その他

7.その他特記すべき事項

ラットのウイルス感染に関する NOAEL は $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ であると考えられ、マウスはラットより10倍以上感受性が高い。

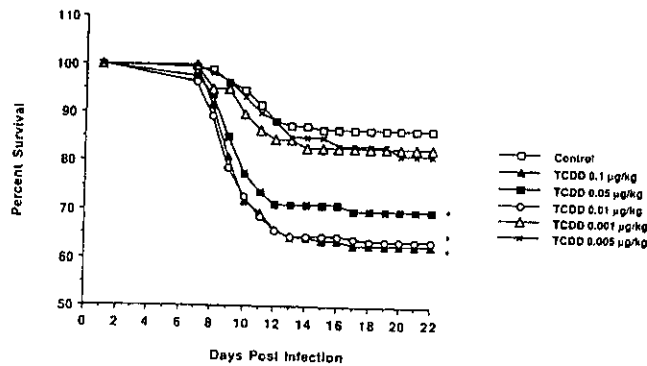


FIG. 1. Effect of TCDD on host resistance to influenza virus. B6C3F1 mice were dosed per os with 0.1, 0.05, 0.01, 0.001, or 0.005 µg/kg TCDD or corn oil and challenged intranasally 7 days later with a dose of influenza virus calculated to result in a mortality of 30% in control mice. *Significant difference ($p < 0.05$) from corn oil controls. Two replicate experiments were performed for each TCDD dose and each group of animals consisted of 20 mice per group. Mice exposed to TCDD at 0.1, 0.05, or 0.01 µg/kg were not statistically different from each other.

作成者 黒川雄二 澤田純一 広瀬明彦

主要論文評価シート (3)

1. 著者及び文献名

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.

2. 方法

動物種	B6C3F1 マウス
動物数	3 匹/群
投与量	0.005、0.01、0.025、0.05、0.1、1.0、5.0 μ g/kg
投与期間	1 回
投与方法等	腹腔内投与 (コーン油)

3. 論文内容の概要

0.1 μ g/kg 以上の投与で、羊赤血球 (SRBC) に対する抗体産生の抑制が有意に認められた。また、CYP 1 A1 mRNA、CYP 1 A 2 mRNA およびエトキシレゾルシン-O-デエチラーゼ (EROD) 活性の誘導がそれぞれ、0.025 μ g/kg、1.0 μ g/kg、0.1 μ g/kg 以上で有意に認められた。その他に、[3H] TCDD の投与 24 時間後の体内分布において、子宮に肝臓と同レベルの分布が認められることと、肝細胞分画において、細胞質及び核内への分布が高投与量よりも低投与量の 0.025 μ g/kg を投与したときに最も高く約 60% に達していることが示された。

4. 評価

(1) 試験方法の信頼性に関する事項

- ・ 1 群あたりの動物数が少ないように思われるが、それ以外の実験方法、実験管理、データ処理等において、実験の信頼性に関わる問題は特にないと考えられる。

(2) 実験結果の科学的評価に関する事項

- ・ 羊赤血球に対する抗体産生抑制が、明瞭な用量依存性を示しており、0.1 μ g/kg 以上で 50% 以上の抑制が認められている。また、CYP 1 A1 mRNA の誘導が 0.025 μ g/kg 以上で統計学的に有意に認められているが、0.05 μ g/kg 以下ではその誘導は、極めて弱いものであった。さらに、CYP 1 A1 mRNA、CYP 1 A 2 mRNA およびエトキシレゾルシン-O-デエチラーゼ (EROD) 活性の誘導は、それ自体で有害影響とは考えにくい。

(3)エンドポイントの毒性学的意義に関する事項

- ・生体外異物に対する抗体産生に関して抑制効果が示唆される。

(4)その他、問題点、留意点

5.他の実験結果との関連

(1)データの再現性に関する事項

- ・ダイオキシン類による抗体産生の抑制は他の報告にも認められており、さらに、抗原としては SRBC に限らず、ジニトロフェニル化 Ficoll(DNP-Ficoll)及びトリフェニルハプテン化リポポリサッカライド(TNP-LPS)に対する抗体産生も抑制することは明らかなようである。しかし、この報告における抗体産生抑制の ED50 値は 90ng/kg と算定されているが、これ以外の報告でのマウスに対する ED50 値は約 700ng/kg 前後と少し弱い。
- ・ラットではマウスよりも感受性が低いと考えられているが、高感受性の系統のラットを用いた Badesha ら(1995)の報告で、授乳期の母動物に TCDD を 18 日間投与した場合の児動物における抗体産生の抑制が 0.011 μ g/kg 以上から認められている。

(2)体内負荷量の算出に関する事項

- ・0.005 から 5.0 μ g/kg をラットに腹腔内投与した場合の 24 時間後の各主要臓器中の TCDD 濃度が求められている。たとえば、0.1 μ g/kg 投与の場合の肝臓及び脾臓の臓器中濃度は、それぞれ約 240ng/kg、77ng/kg であった。

6.総合評価

- ◎LOAEL : 0.1 μ g/kg、抗 SRBC 抗体産生の抑制
- ◎LOAEL (及び NOAEL) に対応する体内負荷量 : 100ng/kg
- ◎その他

7.その他特記すべき事項

TABLE 1
Hepatic EROD Activity and Cyp1a-1 and Cyp1a-2 mRNA Levels in B6C3F1 Mice 24 hr Following Exposure to TCDD

Administered dose (ng/kg) (nmol/kg)	TCDD liver concentration (fmol/g)	EROD activity (pmol/mg/min) ^b	Relative RNA units ^a	
			Cyp1a-1 ^c	Cyp1a-2 ^c
0 (0)	—	156 ± 58	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.01
5 (0.02)	0.11	235 ± 43	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.01
10 (0.04)	0.10	168 ± 5	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01
25 (0.08)	0.09	139 ± 60	0.19 ± 0.03*	0.05 ± 0.01
50 (0.16)	0.25	170 ± 11	0.14 ± 0.01*	0.05 ± 0.03
100 (0.32)	0.75	327 ± 16*	0.47 ± 0.06*	0.05 ± 0.01
500 (1.56)	2.36	549 ± 95*	0.70 ± 0.35*	0.11 ± 0.02
1000 (3.15)	11.50	995 ± 199*	0.95 ± 0.17*	0.24 ± 0.05*
5000 (15.53)	53.16	3053 ± 323*	1.92 ± 0.26*	0.31 ± 0.12*

^a The Cyp1a-1 and Cyp1a-2 mRNA units were standardized by comparison with β -tubulin mRNA as described under Materials and Methods; the mRNA results were obtained in a separate experiment using unlabeled TCDD; the EROD activity was determined in the experiment using [³H]TCDD.

^b Data expressed as means ± SD; three animals per dose group.

* Significantly different ($p < 0.05$) from control (0) or lowest dose (5 ng/kg) used in the study based on Dunnett's test for multiple comparisons to the control.

TABLE 5
Dose-Response Effects of TCDD on the Splenic PFC Response to SRBCs in B6C3F1 Mice^a

Dose (ng/kg)	PFCs/spleen	PFCs/10 ⁴ cells
0	1.05 ± 0.19	939 ± 207
5	1.11 ± 0.15	1012 ± 270
10	1.12 ± 0.19	1114 ± 274
25	1.04 ± 0.21	917 ± 203
50	0.73 ± 0.14	316 ± 68
100	0.47 ± 0.04*	116 ± 30*
500	0.35 ± 0.04*	350 ± 76*
1000	0.12 ± 0.02*	146 ± 29*
2500	0.05 ± 0.02*	70 ± 24*

^a The mice were treated with different doses of TCDD (5 to 2500 ng/kg) and after 5 days the animals were injected with SRBCs; after an additional 4 days, the mice were terminated, the spleens were removed and weighed, and the splenic PFC response to SRBCs was determined as described under Materials and Methods.

* Significantly different ($p < 0.05$) from values in the 5-ng/kg dose group based on Dunnett's test for multiple comparisons.

作成者 黒川雄二 澤田純一 広瀬明彦

主要論文評価シート（４）

1.著者及び文献名

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. Exp. Pathol.*, 76, 425-439.

2.方法

動物種	Leeds Wistar ラット
動物数	3 匹(親)／群に投与、8 児／親で授乳、雌雄各 6 児／群を解析
投与量	0.011、0.056、0.28 μ g/kg/day(0.2、1.0、5.0 μ g/kg total)
投与期間	授乳期間、18 日間
投与方法等	混餌投与 (0.1、0.5、2.5ppb)

3.論文内容の概要

授乳期間中に母ラットに TCDD を投与すると 0.11 μ g/kg/day 以上で、児（130 日齢）の羊赤血球(SRBC)、ジニトロフェニル化 Ficoll(DNP-Ficoll)及びトリフェニル化リポポリサッカライド(TNP-LPS)に対するインビトロでの抗体産生抑制が認められ、LPS に対しても 0.056 μ g/kg/day 以上で認められる。また、インビトロでのインターロイキン-1(IL-1)および IL-2 の産生が、それぞれ 0.056 および 0.11 μ g/kg/day 以上から有意に抑制される。さらに、雌の児に対して体重、肝臓及び脾臓重量の減少が認められたが、胸腺萎縮はどの群でも認められなかった。

4.評価

(1)試験方法の信頼性に関する事項

- ・投与した母動物数が少ない他は、児の動物数、実験方法、実験管理、データ処理等において、実験の信頼性に関わる問題は特にないと考えられる。

(2)実験結果の科学的評価に関する事項

- ・児の SRBC、DNP-Ficoll、TNP-LPS、LPS に対する抗体産生抑制は、雄の SRBC への影響を除いては、雌雄共に用量依存的に認められる。特に、SRBC に対する抑制が感受性が高く、0.011 μ g/kg/day で雌雄共に約 40%の抗体産生の抑制が認められる。
- ・IL-1 及び IL-2 産生抑制も用量依存的に認められ、IL-2 の方が感受性が高い。しかし、IL-1 および IL-2 産生に関しては、用量や産生臓器によって逆の変化を示すことがあり、毒性的意義は明らかではない。

- ・体重や肝臓及び脾臓重量の減少も認められているが、わずかな変化であり、 $0.011 \mu\text{g/kg/day}$ で有意な体重減少は雌のみである。また、肝臓重量の減少は、高用量を投与した場合に一般にみられる反応とは逆の変化である。これらの変化は、投与群の授乳期における体重増加抑制に関係しているものと考えられ、この時期は親の哺育行動にも影響を受けることから、児に対する直接的な影響であるかどうかは疑わしい。

(3)エンドポイントの毒性学的意義に関する事項

- ・生体外異物に対する抗体産生に関して抑制効果が示唆される。但し、インビトロの抗体産生系を用いているので、インビボにおける抗体産生抑制との相関関係が必ずしも明瞭にされている訳ではない。

(4)その他、問題点、留意点

- ・使用されたラットは、TCDD に対して高感受性の系統である。

5.他の実験結果との関連

(1)データの再現性に関する事項

- ・抗体産生の抑制はラット・マウスでこの他にも多数報告されている。その中でも、最も低用量で認められる報告としては、マウスを用いた Narasimhan ら(1994)があり、 $0.1 \mu\text{g/kg}$ 以上の単回投与で SRBC に対する抗体産生抑制が認められる。

(2)体内負荷量の算出に関する事項

- ・ $0.011 \mu\text{g/kg}$ を 18 日間の母ラットに投与した場合の体内負荷量を算出する上で参考となる他の測定データは無い

6.総合評価

- ◎LOAEL : $0.011 \mu\text{g/kg}$ 、児の抗 SRBC 抗体産生の抑制
- ◎LOAEL (及び NOAEL) に対応する体内負荷量 : 約 $\sim 100\text{ng/kg}$
- ◎その他

7.その他特記すべき事項

Maternal TCDD exposure ($\mu\text{g}/\text{kg}$ b.wt)	SRBC	DNP-FicolI	TNP-LPS	LPS
Control* A	20547 \pm 2134	39029 \pm 5185	27166 \pm 1629	37191 \pm 2007
B	(79 \pm 4)	(72 \pm 9)	(54 \pm 5)	(48 \pm 5)
C	(100)	(100)	(100)	(100)
0.2 A	13910 \pm 857	30956 \pm 3664	23121 \pm 3765	35957 \pm 3841
B	(52 \pm 2)	(57 \pm 4)	(45 \pm 3)	(46 \pm 8)
C	(66)	(78)	(83)	(96)
1.0 A	9126 \pm 613	18863 \pm 2993	13823 \pm 1888	28691 \pm 4212
B	(32 \pm 4)	(34 \pm 7)	(28 \pm 10)	(36 \pm 3)
C	(41)	(47)	(48)	(75)
5.0 A	9293 \pm 1163	9744 \pm 1894	6477 \pm 1267	16401 \pm 1087
B	(33 \pm 3)	(17 \pm 11)	(11 \pm 4)	(20 \pm 5)
C	(41)	(23)	(20)	(42)
No antigen control	1211 \pm 501	876 \pm 84	1093 \pm 1387	1387 \pm 144
Total ^{51}Cr release	25006 \pm 1406	53042 \pm 3203	49214 \pm 3582	76100 \pm 4096
Spont. ^{51}Cr release	600 \pm 6	517 \pm 16	550 \pm 10	1091 \pm 145

C.P.M. ^{51}Cr release from target sheep red blood cells as: A, counts/minute (c.p.m.); B, % of ^{51}Cr release calculated from mean c.p.m.s for each group; and C, as % of controls.
Values in parentheses are percentages.

* Control values are for male and female offspring.

Table 4. Effect of exposure of lactating rats to TCDD on the humoral immunocompetence of their male offspring: production of antibodies to SRBC, DNP-FicolI, TNP-LPS and LPS) *in vitro*

TCDD exposure ($\mu\text{g}/\text{kg}$ b.wt)	SRBC	DNP-FicolI	TNP-LPS	LPS
Control A	20547 \pm 2134	30929 \pm 5185	27166 \pm 1692	37191 \pm 2007
B	(79 \pm 4)	(73 \pm 9)	(54 \pm 5)	(48 \pm 5)
C	(100)	(100)	(100)	(100)
0.2 A	12183 \pm 700	30484 \pm 2765	21891 \pm 3408	3672 \pm 3061
B	(45 \pm 6)	(56 \pm 4)	(43 \pm 2)	(47 \pm 7)
C	(63)	(77)	(80)	(98)
1.0 A	8204 \pm 652	18657 \pm 2366	14736 \pm 2213	27931 \pm 3916
B	(29 \pm 7)	(34 \pm 8)	(28 \pm 9)	(36 \pm 2)
C	(40)	(47)	(52)	(75)
5.0 A	6052 \pm 2316	9257 \pm 1299	7630 \pm 1538	17932 \pm 1536
B	(20 \pm 2)	(16 \pm 7)	(13 \pm 3)	(22 \pm 4)
C	(28)	(22)	(24)	(46)
No-antigen control	1211 \pm 501	876 \pm 85	1093 \pm 165	1387 \pm 144
Total ^{51}Cr release	25006 \pm 1406	53042 \pm 3203	49214 \pm 3582	76100 \pm 4096
Spont. ^{51}Cr release	600 \pm 60	517 \pm 16	550 \pm 10	1091 \pm 145

^{51}Cr release from target sheep red blood cells as: A, counts/minute (c.p.m.); B, % of ^{51}Cr release calculated from mean c.p.m. for each group; and C, as % of control.

* Control values are for male and female offspring.

Table 5. Effect of exposure of lactating rats to TCDD on the humoral immunocompetence of their female offspring: production of antibodies to SRBC, DNP-FicolI, TNP-LPS and LPS) *in vitro*

作成者 黒川雄二 澤田純一 広瀬明彦

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

(ダイオキシン類の体内負荷量に関する評価に関する研究)

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 大野泰雄
(国立医薬品食品衛生研究所)

ダイオキシン類の体内負荷量に関する評価に関する研究

—TCDDの毒性と体内負荷量との関係および毒性発現体内負荷量と ヒトにおける一日摂取量との関係についての検討—

分担研究者 大野泰雄 国立医薬品食品衛生研究所・薬理部長

研究要旨

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。

A. 序

TCDD 類の消失半減期ラットで約 24 日であるのに対してヒトは約 8 年と、ヒトと動物の間には TCDD 類の消失半減期に大きな差がある。従って、同じ量の TCDD を摂取しても、体内における蓄積量には大きな差が生じうる。一方、多くの化学物質の毒性は投与量と毒性との関係よりも、毒性発現における標的部位に存在する量と毒性との間により密接な関係がある。TCDD においても毒性発現における critical な時期において体内に存在する量に応じて毒性が発現するものと思われる。そこで、本研究においては、実験動物における TCDD の毒性試験において毒性の現れた用量における体内負荷量 (Body Burden) を計算するとともに、それに達するに必要なヒトにおける一日摂取量を計算し、一日耐容摂取量 (TDI) 設定ための材料とした。

B. 方法及び仮定

(1) 体内負荷量の計算法

One compartment model を用いて体内負荷量を計算した。この際、以下の仮定をした。

1) 生物を薬物速度論的に 1 コンパートメン

トモデルで記述できる。

- 2) 体からの排泄速度は全体として 1 次の排泄速度定数で記述できる。
- 3) 体からの排泄速度に比較して経口吸収速度は十分に大きい。

1) と 2) の仮定は独立したものではなく、同じ仮定を別の言葉で述べたものである。この仮定は TCDD のように自己を代謝する酵素を誘導する薬物の場合は必ずしも成り立たない場合がある。これについてはこの項の最後に再度考察する。3) の仮定については動物においても半減期が 20 日程度と長く、シミュレーションの結果は誤差が生じてもせいぜい 10% 程度であり、特に問題とはならない。

以下に一定の間隔で反復投与した時の時間と体内負荷量の関係についての数式を記載する。次に、薬物を毎週月曜日から金曜日まで毎日投与する状況について発展させた。また、定常状態の体内負荷量を記述する数式と定常状態の体内負荷量の一定の割合まで達する時間についての数式も述べる。

Do: 投与した用量 ($\mu\text{g}/\text{kg bw}$)

F: 吸収率

$C_b(i)$: 特定の投与スケジュールにおける i 時間単位後の体中の薬物濃度

k : 一次の排泄速度定数(time⁻¹)

τ : 投与間隔 (時間)

n : 投与回数

t : 最終投与時点からの時間

$0 < t < 1$ 日: 月曜日から金曜日まで

$0 < t < 2$ 日: 土曜日から日曜日まで

$0 < t$: 投与終了後の時間

m : 投与開始以後に経過した週

$C_{ss} = C_b(\infty)$: 定常状態の時点での体内負荷量

(2) 一定の間隔で反復投与した場合体内負荷量の計算

一定の間隔で反復投与した場合においては、体中の濃度は投与直後に最高、投与直前に最低となる。 n 回投与後の投与直後の最高濃度は以下のように現せる。

$$C_{max,b}(n) = fDo(1 + \exp(-k\tau) + \exp(-2k\tau) + \exp(-3k\tau) + \dots + \exp(-(n-1)k\tau)) \dots \dots \dots (1)$$

これは以下のように変換できる。

$$C_{max,b}(n) = fDo (1 - \exp(-nk\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) \dots \dots \dots (2)$$

N 回投与後の最低濃度は以下のように現せる。

$$C_{min,b}(n) = fDo (1 - \exp(-nk\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) \exp(-k\tau) \dots \dots \dots (3)$$

定常状態は体内負荷量は $n = \infty$ とすることにより、以下のように変換される。

$$C_{ss,min} = fDo * \exp(-k\tau) / (1 - \exp(-k\tau)) \dots \dots (4)$$

同様に

$$C_{ss,max} = fDo / (1 - \exp(-k\tau)) \dots \dots \dots (5)$$

となる。この式をから逆に一定の体内負荷量に達するのに必要な一日摂取量が計算できる。

なお、定常状態の一定割合 P_{ss} に達するための投与回数は以下の計算から求められる。

$$\begin{aligned} P_{ss} &= C_{min,b} / C_{min,ss} * 100 \\ &= C_{max,b} / C_{max,ss} * 100 \\ &= (1 - \exp(-nk\tau)) * 100 \dots \dots \dots (6) \end{aligned}$$

(6)式から n を求めると

$$n = (-\ln(100 - P_{ss}) / 100) / k\tau \dots \dots \dots (7)$$

即ち、 P_{ss} に達する時間 $t(P_{ss})$ は以下のようになる。

$$t(P_{ss}) = n\tau = (-\ln(100 - P_{ss}) / 100) / k \dots \dots (8)$$

(3) 週末に投与中断の入る反復投与の場合

月曜日から金曜日までは毎日投与し、土日が投与しない場合の1週、2週、--- m 週後の最大体内負荷量は以下のように現せる。($\tau = 1$ と仮定)

$$\begin{aligned} C_{max,b}(m) &= fDo (1 + \exp(-k\tau) + \exp(-2k\tau) + \exp(-3k\tau) \\ &+ \exp(-4k\tau)) * (1 + \exp(-7k\tau) + \exp(-14k\tau) \\ &+ \exp(-21k\tau) + \dots + \exp(-7*(m-1)k\tau)) \dots (9) \end{aligned}$$

最初の括弧のなかは以下のようになる。

$$\begin{aligned} (1 + \exp(-k\tau) + \exp(-2k\tau) + \exp(-3k\tau) + \exp(-4k\tau)) \\ = (1 - \exp(-4k\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) \dots \dots \dots (10) \end{aligned}$$

二番目の括弧のなかは以下のようになる。

$$\begin{aligned} (1 + \exp(-7k\tau) + \exp(-14k\tau) + \exp(-21k\tau) + \dots + \exp(-7*(m-1)k\tau)) \\ = (1 - \exp(-7mk\tau)) / (1 - \exp(-7k\tau)) \dots (11) \end{aligned}$$

(10), (11)を(9)に代入すると

$$\begin{aligned} C_{max,b}(m) &= fDo (1 - \exp(-4k\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) * (1 - \\ &\exp(-7mk\tau)) / (1 - \exp(-7k\tau)) \dots \dots \dots (12) \end{aligned}$$

同様に、最小体内負荷量は

$$\begin{aligned} C_{min,b}(m) &= fDo (1 - \exp(-4k\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) * (1 - \\ &\exp(-7mk\tau)) / (1 - \exp(-7k\tau)) \exp(-2k\tau) \dots (13) \end{aligned}$$

定常状態の体内負荷量は $m = \infty$ とすることにより

$$C_{max,ss} = fDo (1 - \exp(-4k\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) / (1 - \exp(-7k\tau)) \dots \dots \dots (14)$$

$$C_{min,ss} = fDo (1 - \exp(-4k\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) * \exp(-2k\tau) / (1 - \exp(-7k\tau)) \dots \dots \dots (15)$$

定常状態に対する一定の割合に達するに必要

な投与回数 m は以下のように計算される。

$$m(P_{ss}) = -\ln((100 - P_{ss})/100)/7k\tau \cdots \cdots (16)$$

註

1) 式 (1) から式 (2) が導き出せることの証明

$$\begin{aligned} C_{max,b(n)} &= fDo(1 + \exp(-k\tau) + \exp(-2k\tau) + \exp(-3k\tau) + \cdots + \exp(-(n-1)k\tau) \cdots \cdots (1) \\ &= fDo(1 + \exp(-k\tau) + \exp(-2k\tau) + \exp(-3k\tau) + \cdots + \exp(-(n-1)k\tau) * (1 - \exp(-k\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) \\ &= fDo(1 + \exp(-k\tau) + \exp(-2k\tau) + \exp(-3k\tau) + \cdots + \exp(-(n-1)k\tau) \cdot (\exp(-k\tau) + \exp(-2k\tau) + \exp(-3k\tau) + \cdots + \exp(-(n-1)k\tau) + \exp(-nk\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) \\ &= fDo(1 - \exp(-nk\tau)) / (1 - \exp(-k\tau)) \end{aligned}$$

(4) Body Burden (体内負荷量) 計算における問題点

体内負荷量からヒトにおける一日摂取量の計算は、以下の仮定の基で計算される。1) 食餌中のダイオキシン濃度が一定、2) 食物摂取量が一定、3) 体の大きさが一定、4) 体の構成成分が一定、5) 酵素誘導の影響が無視できる。ヒトにおいて、これらの仮定は必ずしも成り立たない。1) および2) の仮定はやむを得ない仮定である。本来ならば、3-5) の変化を考慮した Carrier らの理論に基づき計算することが望ましいが、カナダ人の成長過程を基準にした彼らの方法をそのまま日本人に当てはめることはできない。また、彼らの推定値と one compartment model に基づく今回の推定値とは大きな差とはならなかった(私信)。また、彼らは酵素誘導が TCDD の半減期に及ぼす影響を重視しているが、Abraham et al (1988)によれば、ラットに 300ng/kg の TCDD の単回投与により Ethylresorfin deethylase 活性が 15 倍位まで上昇し、その最高は投与 7 日位であり、その後、急速に低下し、35 日以降では対照群のほぼ 3 倍程度まで低下する。しかし、TCDD の肝臓中濃度や脂肪中濃度は投与 7 日位から

91 日まで直線的に低下してくる。即ち、肝での AHH 活性の低下に応じて、排泄が遅くはならない。ヒトと動物とで同じような誘導がかかるとは必ずしも保証できないという問題もある。

C. 計算結果

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。その結果を表に示した。なお、投与経路、投与間隔、および投与回数が実験毎に異なることから、それぞれの実験条件に併せて適切に変化させ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、同じ表に示した。なお、直接動物で体内負荷量を測定した一部の報告については、計算値ではなく、実測値を示した。

D. 参考文献

- 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.
- 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
- 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-tetrachlorodibenzeno-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

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

表 ダイオキシンの生物影響の LOEL と体内負荷量、及びそれに対応するヒトの1日あたりの暴露レベル

動物種	生物影響	LOEL or LOAEL ng/kg	投与条件	体内負荷量	ヒト暴露レベル*	文献 **
				ng/kg	pg/kg/day	
ラット	P450 酵素誘導	1	po, 単回投与	1	0.44	1
マーモセット	リンパ球構成の変化	0.3	po, 1回/週, 24週。 その後 1.5ng/kg/週を 12 週	10	4.37	1
マーモセット	リンパ球構成の変化	10	sc, 単回投与	10	4.37	1
マウス肝臓	ビールス感受性増大	10	po (未確認), 単回投与、7日後に 感染処置	10	4.37	1
マウス肝臓	P450 酵素誘導	1.5	po (未確認), 5回/週, 13週	23	10.04	1
ウサギ	クロルアクネ	4.0	po (未確認), 5回/週, 4週	23	10.04	1
ラット	精子数の低下	25	母獣に sc 単回投与後、 sc 5 ng/kg/週、初回投与後 2 週 間目に交配開始。離乳まで投与	27	11.79	2
モルモット	糖ホメオスタシスの変化	30	ip, 単回投与	30	13.10	1
サル	Object learning	0.151	母獣に po, 300日	42	18.34	1
ヒト	testosterone 低下			44-122	19.2-53.2	1
ラット	精子数の低下	64	母獣に po, 単回投与	64	27.94	1
サル	子宮内膜炎	0.15	po, 4年	69	30.12	1
ラット	免疫毒性	100	母獣に po, 単回投与	86	37.54	3
ヒト	クロルアクネ			95-3,000	41-1,309	1
ヒト	糖ホメオスタシスの変化			99-140	43.2-61.1	1
ラット	肝 sequestration			100	43.66	1
ヒト	ガン			109-7,000	47-3,055	1
ラット	vaginal thread	200	母獣に po, 単回投与	172	75.09	4
ヒト	肝 sequestration			300	130.97	1
アカゲザル	出生仔死亡率増加	0.76	po, 4年	345	150.61	1
ラット	誕生時体重の低下	400	母獣に po, 単回投与	400	174.62	1
マウス皮膚	発ガンプロモーション	375	po (未確認), 20週	830	362.34	1
マウス	発がん	71.4	経口? 経皮? (未確認), 2年	944	412.11	1
サル	クロルアクネ	1000	po, 単回投与	1,000	436.56	1
ラット	出生仔死亡率増加	1000	po, 単回投与	1,000	436.56	1
ラット	成長遅延	1000	母獣に po, 単回投与	1,000	436.56	1
ハムスター	誕生時体重の低下	2000	母獣に po (未確認), 単回投与	2,000	873.12	1
ラット	糖ホメオスタシスの変化	100	po, 30日	2,000	873.12	1
ヒト	成長遅延			2,130	929.87	1
ヒト	誕生時体重の低下			2,130	929.87	1
ヒト胎盤	酵素誘導 CYP1A1 最大作用			2,130	929.87	1
ヒト	成長指標の遅延			2,130	929.87	1
ヒト胎盤	EGFR の down regulation			2,130	929.87	1
ラット肝臓	EGFR の down regulation	125	po, 30週	2,582	1,127.20	1
ラット肝臓	発ガンプロモーション	125	po, 30週	2,582	1,127.20	1
ラット	発ガン	100	混餌, 2年	2,976	1,299.20	1

*: ヒトでの半減期 8.7 年、吸収率 0.5 として定常状態の時の一日摂取量を計算した。

$$\text{ヒト一日摂取量} = (\text{body burden} \times \ln 2) / (T_{1/2} \times \text{吸収率})$$

** : 1 は DeVito の報告値、2, 3, 4 はそれぞれ Faqi et al (1998)、Gehr et al (1997)、Gray et al (1997) の実験条件からの計算値。

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

(ダイオキシン類の生殖・発生毒性に関する評価に関する研究)

平成 1 1 年度厚生科学研究費
生活安全総合研究事業

分担研究者 江馬眞
(国立医薬品食品衛生研究所)