

肝の retinol 濃度および CYP2B 活性では拮抗作用が見られたが、部分的であり、相加作用を考える上で相互作用を考慮する必要はないと考えられた (Van Birgelen et al., 1994b)。PCB-126 および PCB-156 と TCDD の同時投与では肝 porphyrin の増加は相加作用以下であった。一方、non-coplanar である 2,2',4,4',5,5'-HexaCB (PCB-153) と TCDD の同時投与では相乗的な肝 porphyrin の蓄積が認められた。これは uroporphyrinogen III の酸化抑制と δ -aminolevulinic acid 合成酵素活性の増加による相乗作用と考えられた (Van Birgelen et al., 1996a)。

雌の SD ラットに PCB 混合物の 2-20mg/kg と TCDD の 2.5-1000ng/kg を種々の組み合わせで 28 日間の強制経口投与した結果、肝ミクロゾーム EROD、MROD 活性の増加が TCDD の 250 および 1000ng/kg で認められたが、PCB 投与により減少した。甲状腺への影響は、TCDD と PCB の最大用量でさえ小さく、共同効果はなかった。胸腺に対しては共同効果があり、最大用量での組み合わせが強い変化を示した。血清コレステロールと TCDD の最大投与群のタンパクを除いて、血清生化学値が TCDD、PCB または共同投与によって影響を受けなかった。TCDD の hematological な共同効果は、低用量 PCB によって増やされるが、高い用量の PCB によって、部分的に拮抗的であった。このように、PCB と TCDD の共同効果は、非常に複雑である (Van Birgelen et al., 1985)。

問題点として、PCB の一般毒性に基づいたリスク評価を行うためには、少なくとも評価できる反復投与毒性試験が必要である。しかし、上述したように、PCB-126 についてのラットの 13 週混餌投与試験では最低用量でも胸腺萎縮が認められていること、病理組織学的検査については実行されたことが記載されていないことから、評価に耐え得る毒性試験とは言えない。したがって、現状では一般毒性に基づいた NOAEL を推定できないため、TDI を求めることが出来ない。

b)慢性毒性

TCDD のラットでの最も重要な研究は Kociba ら (1978, 1979) のもので、一群 50 匹の雌雄 SD ラットを 0.001、0.01、0.1 μ g/kg bw/day の用量で 2 年間混餌投与したものである。雄雌それぞれ 86 匹の対照ラットには溶媒のみを含む餌を与えた。死亡率の増加は雌の 0.1 μ g/kg bw/day 群で認められたが、この用量では雄の死亡率の増加は認められなかった。また、0.01 及び 0.001 μ g/kg bw/day 群では雌雄とも死亡率増加は認められなかった。最高用量群で雌雄とも 6 ヶ月以降投与終了時まで体重増加抑制が認められ、0.01 μ g/kg bw/day 群の雌でも程度は弱い体重増加抑制が認められた。試験中頃に低用量群でも体重が時折対照群より低い値を記録したが、後期には対照群と同じレベルであった。雌で 0.01 及び 0.1 μ g/kg bw/day 群で尿中のコプロポロフィリンとウロポロフィリン量の増加が認められたが雄では認められなかった。最終解剖時の血清生化学検査で、0.1 μ g/kg 群の雌で肝障害に関連した酵素活性の増加が認められた。投与終了時の剖検で肝への作用は雌雄とも最も共通の変化で、病理組織学的には肝臓に多数の退行性、炎症性、壊死性変化が特に雌で強く認められた。また、多核肝細胞と胆管過形成も認められた。肝障害は用量相関性を示したが、低用量では変化は認められなかった。NOAEL は 0.001 μ g/kg bw/day であった。この投与量で、実験終了時の脂肪組織と肝臓の TCDD 濃度は 540ppt であった。

雄のスイスマウスに 0.007、0.7、7.0 μ g/kg bw/week で TCDD を 1 年間経口投与したところアミロイドーシスと皮膚炎が認められた。これらの病変発生率は対照群、低用量群、中用量群、高用量群でそれぞれ、0/38、5/44、10/44 および 17/43 であった。この実験では最低用量の 0.001 μ g/kg bw/day が LOAEL であった。一方、雄雌 B6C3F1 マウスを用いた NTP の経口投与試験では最低用量 (雄雌それぞれ 0.01 および 0.04 μ g/kg bw/week; 雌で $\sim$ 1.4ng/kg bw/day、雌で 6ng/kg bw/day に相当) が NOAEL であった (NTP, 1982)。

アカゲザルを用いた 9-20 ヶ月の試験で毒性症状は短期試験で認められたものと同様で (Schantz,

et al., 1978; Barsotti, et al., 1979)、20 ヶ月試験での有害作用は最低投与量群(〜2-3ng/kgbw/day)まで認められた(Schantz et al., 1978)。

以上の長期試験結果から、ラットでの NOAEL は 1ng/kg bw/day でその時の脂肪組織および肝臓の TCDD 濃度は 540ppt であった。マウスでは雄のスィスマウスの実験から、LOAEL は 1ng/kg bw/day であったが、B6C3F1 マウスでの NOAEL は雄で 1.4ng/kg bw day、雌で 6ng/kg bw/day であった。アカゲザルでは同様の評価は出来なかったが、有害作用は最低用量の〜2-3ng/kg bw/day でも認められた。

(3) 発がん性

1. 序

ダイオキシン類のヒトでの発がん性評価に関する研究においては、ダイオキシン類化合物の暴露とがんの死亡率上昇との関連性を示す報告が多い。このことは、ダイオキシン暴露が発がんの一因であることを示唆しているが、他の発がん物質との多重同時曝露の可能性の存在等、関連する他の要因の影響を除外する事が困難であり、ダイオキシン暴露とがん発生の増加との直接的な因果関係はまだ証明されていない。それ故、ヒトにおける発がん性評価には、この様な疫学的研究の他に、動物及び細胞等を用いた実験データを蓄積し、総合的に判断する必要がある。現在までのヒトに関する研究は、曝露対象が主に男性であったことから、男性に焦点を当ててきたのに対して、女性におけるデータは少ない。一方、実験動物データおよびメカニズムに関する研究によってダイオキシンに対する反応が男女で異なる可能性が示されており、これらの反応の差を解明する研究が望まれている。

2. 発がんのメカニズム

げっ歯類の発がん性試験では、2,3,7,8-TCDD は、マウス、ラットとも多臓器に発がん性を示し、非遺伝毒性発がん物質と位置づけられている。この化合物は polychlorinated dibenzo-para-dioxin(PCDD) や polychlorinated

dibenzo furan(PCDF)を含めたダイオキシン類中、最も毒性が強いが、これらの毒性は Ah レセプターを介したメカニズムによるものである。2,3,7,8-TCDD や PCDD,PCDF の発がんメカニズムは同様なものとみなされている(Poland&Knutson,1982; Goldstein&Safe,1989)。急性毒性において 2,3,7,8-TCDD 感受性の Long-Evans ラットと抵抗性の Han/Wistar ラットを用いて、肝二段階発がんモデルにおける発がん感受性を検討した結果、両者に 100 倍の差を認めている(Viluksela et al., 2000)。Han/Wistar ラットは AhR の transactivation domain が変化しており、このことが発がん感受性に影響を与えているものと考えられる。発がんに関して Ah レセプターの明確な役割についてはなお不明であるが、酸化ストレスへの関与(Puga et al., 2000)、エストロジェンの活性に対する修飾作用(Sarkar et al., 2000)が考えられる。一方では、2,3,7,8-TCDD は標的臓器によっては、エストロジェン応答性配列とともに抑制性ダイオキシン応答性配列をプロモーター領域に有する遺伝子のエストロジェンに対する応答性を阻害する抗エストロジェン作用を示し、乳腺などの臓器では腫瘍の発達に抑制性の影響を示す(Safe et al., 1998; Chen et al., 1998)。

2,3,7,8-TCDD は細胞にトランスフォーメーション(Abernethy et al.,1985; Tanaka et al.,1989; Wolfle & Marquardt, 1996)、8-OH-dG DNA adduct の生成(Tritscher et al.,1996)を誘発するが、これらの反応は反応性の活性酸素分子の生成ないし脂質過酸化(Alsharif et al., 1994)等に起因する二次的な変化と考えられる。また、雌ラットは雄と比較して、2,3,7,8-TCDD の肝発がん性に対する感受性が高い。エストロジェンの 2,3,7,8-TCDD 発がんに対する修飾作用も同様に酸化ストレスに随伴する二次的な DNA 傷害によるとの報告もある(Liehr, 1990; Yager&Liehr, 1996)。トランスフォーメーションの誘発に関与する細胞内シグナル伝達経路は、phospholipase C 共役シグナルの down-regulation と protein kinase C のいくつかの isozyme の活性化が関与するとの報告もある(Yang, 1998)。また、ヒト

乳腺上皮由来の細胞では 2,3,7,8-TCDD により細胞増殖が亢進するが、それには phosphatidylinositol 3-kinase 活性の亢進が関与するとの報告もある(Tannheimer et al., 1998)。

その他、2,3,7,8-TCDD の発がんプロモーション作用を示唆する研究としてラット肝二段階発がんモデルを用いて、125ng/kg, 経口/回/2 週, 30 週間の投与により肝細胞の増殖活性の亢進及び前癌病変と考えられる酵素変異巢の増加 (Maronpot et al., 1993)、3.5-125ng/kg, 経口/回/2 週, 30 週間の投与により用量依存性の P450 アイソザイム CYP1A1、CYP1A2 蛋白の選択的な誘導(Tritscher et al., 1992)、コネクシンファミリー蛋白の発現の変化として表現される細胞間連絡の障害 (Neveu et al., 1994)等の報告がある。細胞間連絡の障害は、PCDD や PCDF でも観察され、培養細胞でのその障害と CYP1A1 の誘導活性とはよく相関したとの報告がある(De Haan et al., 1994)。また、2,3,7,8-TCDD によりラット、マウスに甲状腺腫瘍が誘発されるが、そのメカニズムとして、ラットを用いた実験により、血中 T4 の枯渇によるネガティブフィードバックを介した下垂体 TSH の放出による二次的な甲状腺ろ胞上皮に対する増殖刺激が考えられている (Sewall et al., 1995)。この研究では、TCDD 投与により誘導される肝代謝酵素 UDP-glucuronosyltransferase 1 が、血中 T4 のグルクロン酸抱合の促進による血中 T4 の減少、TSH レベルの上昇を招くこと、さらに長期の TCDD 投与により甲状腺ろ胞上皮の過形成を誘発する事を明らかにしている。

以上をまとめると、2,3,7,8-TCDD は直接的遺伝子傷害性ではなく、あらかじめイニシエーションを受けた細胞での発がんプロモーション作用により標的臓器での発がんを促進し、非遺伝子傷害性発がん物質として位置づけられる。

3. がん原性試験を含む長期発がん性試験

2,3,7,8-TCDD はマウス、ラットにおいて明らかに多臓器の発がん性を示す。現在までのマウスを用いた 2,3,7,8-TCDD のがん原性試験の報告に共通

する標的臓器は肝臓であるが、その他にリンパ腫、肺腫瘍、甲状腺腫瘍、皮膚線維肉腫の発生の増加が報告されている(Toth et al., 1979: 0.7 µg/kg, 経口/回/週, 1 年; United States National Toxicology Program(NTP), 1982a: 0.5 µg/kg(male), 2.0 µg/kg(female), 経口, 2 回/週, 104 週; Della Porta et al. 1987: 2.5 µg/kg, 経口/週, 52 週)。一方、ラットを用いた場合、肝臓を標的とした発がんに明らかに性差がみられ、雌に高率に肝細胞腫及び癌の発生を認めている(Kociba et al., 1978: 10 ng/kg, 混餌/日, 105 週; NTP 1982 a: 0.5 µg/kg, 経口, 2 回/週, 104 週) Kociba らが行った実験の雌動物の肝標本スライドを再評価した結果、肝細胞癌発生に対する無影響量は、2,3,7,8-TCDD 0.01 µg/kg/日と考えられた(Keenan et al., 1991)。ラットで 2,3,7,8-TCDD の標的腫瘍として他に報告されているものとして肺の扁平上皮腫瘍、胆管癌、硬口蓋あるいは鼻甲介の扁平上皮癌、舌の扁平上皮癌、甲状腺ろ胞上皮腺腫がある (Van Miller et al., 1977: 0.00014 µg/kg, 混餌/日; Kociba et al., 1978; NTP 1982b)。その他、マウスの幼弱な時期からの 2,3,7,8-TCDD 投与(30, 60 µg/kg, 腹腔内, 5 回/週, 78 週)により、胸腺リンパ腫、肝細胞腺腫の発生率が増加すること(Della Porta et al., 1987)、マウス皮膚への 2,3,7,8-TCDD の長期間塗布により、線維肉腫の発生が増加すること(NTP 1982b)、雄シリアンゴールデンハムスターへの 2,3,7,8-TCDD の長期間投与(100 µg/kg, 腹腔内ないし皮下投与/4 週, 6 回, 1 年観察)により、表皮扁平上皮癌が発生すること(Rao et al., 1988)等が報告されている。

2,3,7,8-TCDD の類縁物質である HxCDDs は、2,3,7,8-TCDD と同様に雌ラットおよび雌雄のマウスに肝細胞腺腫及び癌を誘発するとの報告がある(ラット: 1.25 µg/kg/day, 2 回/週; マウス: 2.5 µg/kg/day, 2 回/週, NTP 1980)。更に、2,7-DCDD(650 mg/kg/day, 混餌)は雄性マウスにこれら肝腫瘍の他、白血病、リンパ肉腫、血管腫血管肉腫を誘発するとの報告がある(NTP 1979a)。これとは対照的にラットを用いた実験では

2,7-DCDD(500 mg/kg/day, 混餌)は発がん性を認めていない(NTP 1979b)。

以上をまとめると、2,3,7,8-TCDDおよびHxCDDsはげっ歯類において発がん性を有することが明らかである。また、2,7-DCDD はマウスにおいて発がん性を示したが、ラットにおける発がん性は明らかではない。

4. 腫瘍のイニシエーション

ダイオキシン類の代表的な化学物質である2,3,7,8-TCDD は非遺伝子毒性発がん物質であり、イニシエーション作用は明らかではない。現在まで知られているイニシエーション作用に関する報告として、雌CD1 マウスに対するTPAをプロモーターとして用いて 2,3,7,8-TCDD(2 µg/animal)の皮膚発がんに関するイニシエーション活性を検索した研究があるが、明らかなイニシエーション活性は認められていない(DiGiovanni et al.,1977)。

5. 腫瘍のプロモーション

ダイオキシン類のプロモーション活性に関する研究は、主として2,3,7,8-TCDD について皮膚、肺及び肝発がんモデルを用いて行われており、皮膚及び肝臓において明らかなプロモーション作用が証明されている。

まず、無毛マウスを用いた二段階皮膚発がんモデルで 2,3,7,8-TCDD の皮膚発がんプロモーション活性が明らかにされている(Poland et al.,1982: 0.00375 µg/day, 2 回/週, 20 週; Hebert et al.,1990: 0.0025 µg/day, 2 回/週, 20 週)が、有毛の一般のマウスではその活性が見いだされていない(Berry et al.,1978: 0.1µg/day, 2 回/週, 30 週)。また、無毛マウスを用いての同様な皮膚プロモーション活性を他のダイオキシン化合物である2,3,7,8-Tetrachloro-dibenzofuran(TCDF: 1 µg/day, 2 回 / 週, 20 週)、2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran(PeCDF: 25 ng/day, 2 回 / 週, 20 週)、1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzofuran(HxCDF: 250 ng/day, 2 回/週, 20 週)について検討したところ、明らかなプロ

モーション作用が認められている(Poland et al 1982, Hebert et al 1990)。

マウスの肺二段階発がんモデルを用いた2,3,7,8-TCDD の肺発がんプロモーション作用に関しては、用いる系統により作用が異なるとの報告がある(Beebe et al.,1995a, b: 0.05 µg/kg/週, 腹腔内, 20 週)。一方、ラットを用いて卵巣摘出の影響を検討した報告では、卵巣摘出群においてプロモーション作用を認めている(Clark et al.,1991: 1.4 µg/kg, 経口/2 週, 60 週)。

次に、肝二段階発がんモデルを用いた2,3,7,8-TCDD のプロモーション作用に関する報告として、マウスでは用いる系統により作用が異なることが報告されている(Beebe et al., 1995b: 0.05 µg/kg/週, 腹腔内, 20 週)。ラット肝二段階発がんモデルを用いた報告は多数あり、2,3,7,8-TCDD の肝発がんに関してラットでは性差のあることから、全ての報告で雌ラットを用いており、前がん病変と考えられる酵素変異巢の発生数及びその面積において、ないし発生腫瘍の頻度においてプロモーション作用を認めている(Pitot et al.,1987: 0.14 µg/kg, 皮下投与/2 週, 24 週; Waern et al., 1991: 0.22 µg/kg, 1 回, 次週より0.044 µg/kg/週, 皮下投与, 19 週; Dragan et al.,1991: 0.14 µg/kg, 皮下投与/2 週, 6 カ月; Dragan et al.,1992: 0.14 µg/kg, 皮下投与/2 週, 1, 3, 5 カ月; Maronpot et al.,1993: 3.5-125 ng/kg, 経口/2週, 30 週間; Buchmann et al.,1994: 1.4 µg/kg, 皮下投与/2 週, 最高 17 週間; Schrenk et al.,1994: 2-200 ng/kg, 皮下投与/2 週, 13 週; Sills et al.,1994: 7 ng/kg/day, 混餌投与, 450 日; Tritscher et al., 1995: 1.75 µg/kg, 経口投与/2 週, 30 週)。最近の報告では、0.01 ng/kg/day の TCDD 投与により酵素変異巢(G6Pase(-), ATPase(-))の発生増加が検出されている(Teeguarden et al., 1999)。修飾作用として、Vitamine A 欠乏状態では2,3,7,8-TCDD のプロモーション作用は増強する(Flodstrom et al.,1991)、卵巣摘出は 2,3,7,8-TCDD による肝プロモーション作用を減弱させる(Lucier et al.,1991)等の報告がある。また 2,3,7,8-TCDD と

3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl (PCB126)の併用により、各々の単独投与に比べ、プロモーション作用が増強したとの報告がある(Hemming et al., 1995)。他のダイオキシン類に関しても2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PeCDF), 1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzofuran (HxCDF)は明らかな肝プロモーション作用を有することが報告されている(Nishizumi & Masuda, 1986: PeCDF 10 µg/kg, 皮下投与/週, 24 週間; Waern et al., 1991: HxCDF 0.8-13 µg/kg, 腹腔内投与, 14-20 週, 引き続き 0.16-2.6 µg/kg, 19 週間)。また、同様のラット肝二段階発がんモデルにおいて、2,3,7,8-TCDD の 125 ng/kg/day の割合での投与により、60 週目で気管支上皮過形成の有意な増加を認め(Tritscher et al., 2000)、卵巣でのセルトリ細胞型の性索・間葉系腫瘍の誘発を 60 週目に至るまでの間に認めている(Davis et al., 2000)。

また、マウスを用いた dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)誘発乳腺二段階発がんモデルでは、プロモーション時期での 2,3,7,8-TCDD の投与により、乳腺発がんに対して抑制性の影響を示すことが報告されている(DeVito et al., 1992)。一方では、ラットでの 2,3,7,8-TCDD の出生前投与に続く性成熟後での DMBA 誘発乳腺腺癌の発生を増強するとの報告がある(Brown et al., 1998)。

(4)変異原性

ダイオキシン類の遺伝毒性に関しては平成9年度の報告書に1997年に発行されたIARCモノグラフをもとに詳しく述べられている。それ以降に発表されたダイオキシン類の遺伝毒性に関する報告は殆どなされていないのが現状であるが、関連したものを紹介する。

2,3,7,8-TCDD に関しては、単独ではないが、健康日本人に残存するのと同様の組成を有する有機塩素化合物混合物のヒトリンパ球を用いる小核試験を行い、小核の誘発を観察した報告がある(Nagayama et al., 1997)が、2,3,7,8-TCDD が小核の誘発にどれだけ寄与しているかは不明である。

TCDD を C57BL/6J を腹腔内に投与すると、尿中の 8-OHdG レベルが投与後 8 週間にわたり 20 倍に上昇し、マウスに aromatic hydrocarbon receptor を介した酸化ストレスを与えていることが報告されている(Shertzer et al., 1998)。また、B6C3F1 妊娠マウスに TCDD を投与した結果、酸化ストレスの上昇および DNA 単鎖切断がマウス胎児で検出され、これらの影響はビタミンEおよびエラグ酸の同時投与により軽減した(Hassoun et al., 1997)。また、B6C3F1 マウスに TCDD を 13 週にわたり経口投与した結果、DNA 単鎖切断が用量依存的に増加し、その他の酸化ストレスの上昇も観察された(Hassoun et al., 1998)。ラット初代肝細胞を TCDD で前処理することにより、P450 1A1 の誘導が起こり、多環芳香化合物の DNA 付加体生成が認められたが、ニトロ芳香化合物の付加体生成は顕著に減少した(Topinka et al., 1998)。このように TCDD の直接作用による明確な遺伝毒性の証拠となるような報告はないが、酸化ストレスを動物に与えること、また、薬物代謝酵素の誘導を行う結果 DNA 付加体の生成に影響を及ぼしていることを示す報告がなされている。

現状においても当時の結論である「ダイオキシン類には直接的な遺伝子傷害性はないものと考えられる」を覆すような情報は得られていない。

(5)免疫毒性

1. はじめに

すでに多種の実験動物で、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)曝露が、胸腺萎縮を始めとする免疫毒性をもたらすことが報告されているが、今年度は、平成9年度以降に発表されたTCDD及び構造の類似したハロゲン化芳香族炭化水素(PHAH)(PCDD, PCDF, PCB等)に関する免疫毒性について報告を行う。動物実験では、胸腺萎縮の作用メカニズムのAh受容体ノックアウトマウス等を用いた詳細な研究、動物の週令による影響の差の検討、胸腺萎縮以外の他の免疫影響(例えば遅延型アレルギー反応)の検討がなされている。免疫に関する細胞並びに分子生物学的理解が進歩に伴い、

TCDDの免疫毒性に関する研究も生化学的及び分子論的メカニズムの解明に関する研究がすすめられてきている。ヒトへの影響としては、事故、職業あるいは環境的影響によりPCDD, PCDF, PCBに暴露されたヒトを対象に、血清タンパク質レベル他の血液学的パラメーターの変化、末梢血リンパ球ポピュレーション構成比の変化等の免疫影響が調べられている。

2. ハロゲン化芳香族炭化水素(HAH)の免疫毒性におけるAh locusの役割

HAHの生化学的及び毒性学的作用の多くはAh受容体(またはTCDD受容体)により媒介されるものと推定されている。活性化されたAh(aryl hydrocarbon)受容体はdioxin-responsive element (DRE)またはxenobiotic-responsive element (XRE)と呼ばれるエンハンサー領域に結合し、CYP1A1(cytochrome P450 1A1)を始めとする多くの遺伝子の発現を促す。PHAHのtoxic potencyの違いは、一般にAhR結合活性の違いに依存する。最も毒性が強いのが、2,3,7,8-TCDDで、少なくとも芳香族環に3~4個のハロゲンのついたものが、毒性が強いとされている。Ah受容体介在性の毒性指標の代表例としては胸腺萎縮がよく知られているところである(後述)が、抗体産生及び細胞性免疫においても、ダイオキシン類によるAh受容体介在性の抑制が多数報告されている。

マウスにおいては、遺伝的解析により、TCDDによる抗ヒツジ赤血球(SRBC)抗体産生の抑制とAh locusの間に相関が認められている。また、活性構造相関によっても、ダイオキシン類の抗SRBC抗体産生抑制がAh受容体介在性の機構によっていることが示されている。マウスでは、Ah部位の対立遺伝子の変異が報告されている。Ah^{bb}-C57Bl/6(B6)マウスは、高応答性の種で、TCDD毒性に感受性であるが、一方Ah^{dd}-DBA/2(D2)マウスは、非応答性であり、同じ毒性を示すのに、高濃度のTCDDを必要とする。また、Ah^d locusのみ組み換えた

低感受性のcongeneicマウス(Ah^{dd}-B6)の場合、Ah^{bb}-B6マウスに比べ、TCDDが毒性を表すのに、より高濃度を必要とする。また、T細胞非依存性の抗原であるTNP-LPSに対する応答への抑制のED₅₀は、B6マウス(Ah^{bb})で7 µg/kg, Ah^{dd}-B6マウスで30 µg/kgであるので、Ah受容体依存性のB細胞応答が示されている。Ah受容体ノックアウトマウス(Ah^{-/-})を用いた研究では(Fernandez-Salguero et al., 1996), Ah^{+/+}マウスに比べ、胸腺萎縮に対する対するTCDD作用量が10倍以上高いことが、報告されている。また、胸腺萎縮のメカニズム解析の研究としては、Ah^{+/+}マウスの胸腺間質細胞と、Ah^{-/-}マウスの造血幹細胞のキメラマウスを作ることにより、TCDDの胸腺萎縮に対する作用部位が、間質細胞でなく、造血幹細胞であることが、明確に示されてきた(Staples et al., 1998a)。今後Ah受容体ノックアウトマウスを用いた研究はさらに進むものと予想される。胸腺萎縮の作用メカニズムとしては、Fas-Fas ligandを介する胸腺のアポトーシスの誘導が報告されている(Kamath et al. 1997, 1999)一方、アポトーシスがTCDD誘発性の胸腺萎縮の主要原因でないという報告もある(Staples et al. 1998b)。また、Ah受容体非介在性の抑制作用もあることが推定されており(Hossain et al 1998), Ah受容体非介在性の作用機構に関しても、今後進んでいくものと予想される。

CTL(細胞障害性T細胞)生成抑制に関しても、Ah受容体に依存性の機構が示されているが、抗体産生に比べると感受性が低い。

マウスにおけるTCDDによる胸腺萎縮及び末梢T細胞機能の抑制には、Ah受容体の他に、Fas分子の存在や、MHC表現型が関連することが報告されている(Kamath et al., 1999)。また、最近、AhRの役割を直接的に示すものとして、TCDD誘発性IgM分泌の抑制を、AhRの発現量の違うB cell line (AhR発現陽性CH12.LX cell及びAhR発現陰性BCL-1

cells)を用いて行った研究が、Sulentic らにより示されている(Sulentic 1998).3nM TCDDは、CH12.LX細胞のLPS刺激に伴うAhR発現誘導、CYP1A1誘導並びにIgM分泌を阻害するが、BCL-1細胞のそれは、抑制しないことより、TCDDによるIgM分泌の抑制にAhRが必須の因であることが示唆されている。

もし、TCDD及び関連HAHの免疫毒性がAh受容体介在性のものであれば、複数のAh受容体リガントは飽和濃度以下では、相加的に作用するはずである。1,2,3,6,7,8-HxCDDと1,2,3,4,6,7,8-HpCDDの間の相加的作用が報告されているが、AroclorsやPCBsによるTCDDに対する拮抗作用、2,3,7,8-TCDFのTCDDに対する拮抗作用も報告されている。さらに、食品中にはindole-3-carbinol等の非常に弱いAh受容体アゴニストが含まれているが、これらはTCDD作用に拮抗すると云われている(Safe, 1998)。

3 ダイオキシン類の実験動物における免疫毒性及びその標的

多くの報告にも拘わらず、ダイオキシン類の免疫毒性に関係する一次標的細胞は完全には、特定されていない。

インビトロに比べて、マウスのインビボ抗SRBC抗体産生に対するTCDDの作用は、再現性が高い。C57BL/6(B6)マウスへの腹腔内単回投与では、ED₅₀=700 ng/kg前後の値が報告されている。また、B6C3F1マウスでは、ED₅₀=90 ng/kgの報告もある(Narashimhan et al. 1994)。一方、F344ラット、LEラット及びSDラットのインビボ抗SRBC抗体産生に対するTCDDの作用はマウスに比べると弱い、逆に亢進がみられる(Fan et al. 1996)。

抗体産生は、抗原提示細胞、ヘルパーT細胞、サプレッサーT細胞、B細胞の相互作用に依存し、さらに、ホルモンや栄養因子を始めとする多くの非免疫学的因子の調節を受けている。B6マウスにおいては、TCDDによるT細胞依

存性抗原SRBC及びT細胞非依存性抗原TNP-LPSに対する抗体産生の抑制のED₅₀値は、それぞれ約0.7及び1.5 µg/kgであり、ヘルパーT細胞または抗原提示細胞のTCDD感受性がB細胞より高いことが予想される。TCDDがインビトロでLPSによるポリクローナル抗体産生を抑制すること、また、TNP-LPSに対する抗体産生をインビボ及びインビトロで抑制することは、TCDDのB細胞への直接作用を示唆している。また、PCBが、LPSによるマウス脾臓細胞の活性化を抑制し、直接B細胞に作用するとの報告もある(Stack et al 1999)。

B6マウスへのTCDD(15 µg/kg)単回経口投与により、CTL生成抑制とともに、Th1タイプのサイトカイン産生の低下、IgM及びIgG2クラスの抗同種抗原抗体産生の抑制が示されている。この系では、免疫応答の開始に必要とされるヘルパーT細胞の機能をTCDDが抑制する可能性も推定されている(Kerkvliet et al., 1996)。

TCDDの細胞性免疫への影響として、DTH(delayed-type hypersensitivity)や、GVH(the graft versus host)反応に関しても、検討されている。ツベルクリンに対するDTHの抑制が、40ng/kg TCDDを8週間投与(total 320ng/kg)したモルモットで示されているが、ラットでは、5 µg/kg TCDD6週投与で無影響である(total 30,000ng/kg)(Vos et al. 1973)。GVH反応は、マウスで、5 µg/kgの4週投与で抑制している(20,000ng/kg)。また、モルモットでの免疫抑制効果は、マウスやラットより強いことが報告されている(McConnel et al., 1978)。

TCDD暴露では、しばしば、好中球の増加が認められたり、活性化マクロファージと好中球集積を特徴とする炎症性反応が肝と皮膚でみられる。TCDDは、ラット腹腔マクロファージのO₂⁻産生を増大させたり、SRBC惹起による皮膚反応を促進する。しかし、炎症反応の経時変化の質的変化はみられない。また、SRBC

投与後のマウス腹腔浸出細胞においては、マクロファージ活性化マーカー(IAやF4/80)発現や抗原提示機能には変化が認められない(Kerkvliet and Oughton, 1993)。

HAH暴露動物では、TNFおよびIL-6等の炎症性サイトカインのレベルの上昇が報告されており、HAHが炎症性反応を増加させる機構の一つとして、IL-1やTNF等の炎症性サイトカインの産生の増大が考えられている。TCDDやPCB暴露動物におけるendotoxinへの感受性増加も、IL-6やTNFの産生増大による可能性が考えられ、methylprednisoloneによりTCDD/endotoxin毒性が軽減される。また、TNF- α 特異的阻害剤を用いることにより、TCDD誘発性の炎症の抑制もみられている。同様に、カラゲナンやデキストランによるラット足浮腫反応のTCDDによる促進は、炎症性メディエーターの産生増大に基づくものと予想される。実際に、TCDD暴露マウス腹腔マクロファージからのLPS刺激によるTNF α 放出が増強されること、またインビトロでマクロファージ細胞株のLPSによるTNF α 放出がTCDD添加(1 nM)により促進されることが報告されている(Moos et al., 1997)。しかし、B6マウスの抗SRBC抗体産生に対するTCDDの抑制作用にはTNF α が関与しないことが示されている(Moos and Kerkvliet, 1995)。

また、TCDD処理B6C3F1マウスでは、血清補体価(CH50)の低下が認められる(LOAEL=10 ng/kg/day; White et al., 1986)が、1,2,3,6,7,8-HxCDDの低用量暴露では回復時の補体価の増加も報告されている。

TCDDによる炎症性因子の産生促進は宿主抵抗性を増強する方向にも働き得ると予想されるが、TCDDは同時に免疫抑制作用を有するため、特異的免疫応答の低下をもたらす場合が多い。炎症反応の促進と炎症抑制反応は、直接は、連結していないと思われる。

以上、ダイオキシン類で誘発される免疫毒性

の標的は、Bリンパ球、Tリンパ球を含め多岐にわたる。後述するように、胸腺皮質上皮細胞(未成熟胸腺リンパ球)や骨髄のリンパ球前駆細胞もTCDDによって影響を受けられる。

4 疾病や腫瘍に対する宿主抵抗性へのTCDDの影響

ウイルス、細菌、寄生虫、腫瘍への抵抗性は宿主の非特異的及び特異的な免疫機能によって決定されている。リスクアセスメントにおいて、宿主抵抗性の変化は、関連する免疫毒性エンドポイントの中で最も重要なものである。

グラム陰性菌である*Salmonella*による感染への感受性に関しては、1 μ g/kg/week(4回)の暴露が*S. bern*感染による雄性C57BL/6Jfマウスの死亡率を増加させる。しかし、*Herpesvirus suis*感染の抵抗性を弱めることはない。食餌投与の場合には、50及び100 ppb(8週)で、*S. typhimurium* var. copenhagen感染による雌性Swiss Websterマウスの死亡率を上昇させ、期間の短縮をもたらし、10 ppbでも、血中細菌数の増加が認められている。TCDD暴露マウスでは、*S. typhimurium* LPSに対する感受性が増加することから、*Salmonella*感染に対するTCDDの感受性増大は、この細菌由来のendotoxinによる可能性がある。

グラム陽性菌、*Streptococcus pneumoniae*への雌性B6C3F1マウスの宿主抵抗性も、1 μ g/kg(14日)のTCDD暴露により低下する。また、1,2,3,6,7,8-HxCDDも*S. pneumoniae*への感受性を高める。*Herpes simplex type II strain 33*ウイルス感染では、40 ng/kg/week(4週)以上で、死亡率の上昇が認められるとする報告がある。*influenza A/Taiwan/1/64 (H2N2)*ウイルスでも100 ng/kg単回腹腔内投与で抵抗性の減少が報告されている。100 ng/kgの結果は再確認され、さらに、10 ng/kg(単回経口投与)における死亡

率上昇も示されている(NOEL=5 ng/kg; Burleson et al., 1996). ラットのTCDD暴露においても、肺でのinfluenzaウイルス増殖の増加がみられ、この作用がウイルスにより誘起されるNK細胞活性の増大の抑制と相関することが報告されている(Yang et al., 1994).

TCDD暴露は寄生虫感染も増悪させる。B6C3F1マウスへの5または10 μ g/kg単回経口投与で、*Plasmodium yoelii* 17 XNLの感染への感受性が高まる。また、B6C3F1マウスへの10または30 μ g/kg単回腹腔内投与で、*Trichinella spiralis*成虫の排除を遅らせ、1 μ g/kgで寄生虫抗原へのリンパ球分裂反応を低下させる(Luebke et al., 1994)。一方、F344ラットでは、30 μ g/kg単回腹腔内投与で、影響が認められず、逆に寄生虫抗原によるリンパ球分裂の促進がみられるという。

また、最近の研究で、76週令の老齢F344ラットを、*Trichinella spiralis*に感染させた場合、10 μ g/kg、30 μ g/kg TCDD単回経口投与で、若令のラット(10週令)より感染に対する抵抗力の落ちていることが報告されている(Luebke et al., 1999)。このことは、TCDDが、年齢に伴う寄生虫に対する抵抗力の低下を悪化させる可能性を示唆している。

腫瘍への抵抗性に関しては、1 μ g/kgの用量で、B6C3F1マウスへの胎児期及び母乳により暴露されたマウスで、移植腫瘍の拒絶反応の抑制がみられている(5 μ g/kgでは、抑制が認められない)。

結論としては、TCDD暴露が宿主抵抗性の低下をもたらすことは明らかである。かなり低用量で抑制が起きることより、免疫機構が介すると思われるが、その機能については、明らかにされる必要がある。また、非免疫機構の関与の可能性、また、Ah受容体介在性の機構の解析も進んでゆくものと思われる。

5 ダイオキシン類免疫毒性における胸腺の役割

胸腺萎縮はTCDD暴露により認められる顕著な兆候の一つであり、Ah受容体介在性の機構で生ずることが示されている。急性の胸腺萎縮のED50値は、SDラット、モルモット、C57BL/6マウス、ハムスターで、各々、26, 0.8, 280, 48 μ g/kgとする報告がある(Hanberg et al., 1989)。最も感受性が高いといわれるモルモットでは、5 ng/kg/dayの経口投与(90日)で有意な胸腺相対重量の減少が認められている(DeCaprio et al., 1986)。

胸腺は、Tリンパ球分化に重要な役割を果たすことから、胸腺萎縮は、しばしば免疫毒性作用として語られている。しかし、成人期における胸腺の役割は不明である。動物モデルにおいては、既に成熟した成体動物の胸腺摘出は、Tリンパ球の質的及び量的な変化をもたらさない。ヒトにおいても、成人期及び小児期の胸腺摘出により明瞭な変化は生じないとされている。この点では、成体動物でも、TCDDによる胸腺萎縮と免疫抑制の間の直接的な関係は明らかにされていない。実際に、成体胸腺摘出を、HAH暴露の前に行っても、TCDDまたはHpCDDによる抗SRBC応答の抑制には影響が認められない。また、胸腺萎縮をもたらすTCDD用量よりもさらに低い用量で免疫抑制作用がみられる。従って、成体動物においては、胸腺萎縮が必ずしもTCDD免疫毒性の代替マーカーとなりうるという保証があるわけではない。しかし、慢性のTCDD暴露が慢性の胸腺萎縮を起こし、免疫機能に遅延性の影響をもたらす可能性は否定できない。

成体胸腺摘出に対して、先天性胸腺欠損や新生仔胸腺摘出は、Tリンパ球の数と機能の低下をもたらす。TCDDやPCBにより出生前後に暴露を受けた齧歯類動物の細胞性免疫機能が低下することが既に報告されている。これらの免疫抑制は、胸腺における胸腺Tリンパ球成熟の変化によるものと推定される。しかし、TCDDは、ニワトリ胚のファブリキウス嚢におけるB細胞分化、マウス胎仔肝や骨髓に

おけるリンパ球幹細胞に影響をもたらすので、他の免疫毒性機構も否定されていない。

6 胎生期/新生仔期暴露によりもたらされるダイオキシン類の免疫毒性

HAH免疫毒性に対する幼若動物の高感受性を考慮すると、出生前後の暴露による免疫毒性に関しては、慎重にこれらの報告を検討する必要がある。

胎盤経由または母乳経由によるTCDDまたはPCB暴露の後に仔動物にみられる免疫毒性の研究の中で、比較的感度の高いパラメータは、移植腫瘍細胞の成長であり、B6C3F1マウス(1 μ g/kg/week, 4週)の仔マウスでみられている。TCDD含有食餌(7週)により暴露されたSwissマウスの仔マウスでは、1 ppbでendotoxin感受性の増大、5 ppb(摂取量より、1.25 μ g/kg/dayに相当するものと推定される)で抗SRBC応答及び遅延型過敏症反応の低下が示されている。ラットでは、5 μ g/kg TCDD(4回)で細胞性免疫の抑制がみられるが、1 μ g/kgでは認められない(Vos and Moore, 1973)ので、マウスに比べると感受性が低いものと考えられる。

子宮内暴露のみの影響としては、3 μ g/kg TCDDの母体投与(2回)で、出生仔に胸腺萎縮及び低形成が認められる。生後7-8週で、仔マウスのマイトジェン反応及び抗SRBC応答に影響は認められないが、CTL応答は有意に抑制されることから、出生前のTCDD暴露は、抗体産生のヘルパーT細胞ではなくCTLに選択的であることが示唆されている。一方、F344ラットのGD14における母体への経口投与(3 μ g/kg)では、新生仔の胸腺細胞組成の変化、16週令のPFC応答及び17週の遅延型過敏症反応の低下が報告されている(Gehrs et al., 1997)。F344ラットのGD14における母体へのより低濃度の投与による研究から、オスで、0.1 μ g/kgで、メスで、0.3 μ g/kgで、14週のBSAの遅延型過敏症反応の低下が

報告されている(Gehrs and Smialowicz, 1999)。

また、100または400 μ g/kg体重/日のAroclor 1254に3か月間暴露されたCynomolgusサル(カニクイサル)の仔サルでの抗SRBC抗体産生の低下が報告されている。

鳥類に関しては、8.6ng/day TCDDを6週投与されたニワトリの14日F1子ニワトリで、B細胞の活性化の低下が認められている(Peden-Adams M et al. 1998)。

7 ヒトにおけるダイオキシン類の免疫毒性

ヒトにおけるダイオキシン類免疫毒性研究は、事故や労働環境下での暴露から得られたデータによっているが、暴露による有意な免疫指標の変化を示す結果が得られていない場合が多い。

日本(1968年)と台湾(1979年)のPCBsで汚染された米油摂取患者のケース台湾の汚染コメ油を摂取した患者でも、呼吸器や皮膚を始めとする種々の感染症の増大が認められ、塩素座瘡や肝毒性などの臨床症状との相関が認められた。1年後の調査では、血清IgAおよびIgMの低下、末梢血T細胞総数及びヘルパーT細胞の減少、遅延型過敏症の低下がみられている。一方、末梢血リンパ球のPHA, PWM, PPDの刺激によるリンパ球分裂反応は有意に増加する。さらに3年後には、回復がみられているものの、CD4⁺ T細胞の減少及びCD8⁺ T細胞の増加、リンパ球分裂反応の増加がまだ認められている。台湾の油症の病歴の母を持つ児童(n=103)と、対照児童(n=96)と比較した時、前者のグループで中耳炎の発症の高いことが報告されている(Chao et al., 1997)。さらに、1995年夏、油症の病歴の母を持つ児童(n=105)と、対照児童(n=101)の健康診断が行われ、前者で、インフルエンザの発症頻度の高いが、抗体産生等の免疫機能への異常は認められなかったことが報告されている(Yu et al., 1998)。

イタリア, Sevesoの農薬工場の爆発事故で TCDD 暴露を受けた44名の小児のうち, 20名が塩素座瘡を呈したが, 血清免疫グロブリン及び補体のレベル, T及びB細胞マイトジェンに対する分裂反応には異常が認められない (Mocarelli et al., 1986). 一方, 爆発事故の6年後の異なる集団を対象とした調査では, 補体レベルの上昇が認められ, 塩素座瘡, 末梢血リンパ球数の増加, リンパ球分裂反応の増大と相関する. しかし, これらの小児では, 健康異常とTCDD暴露の間の相関は認められていない.

Missouri州 Times BeachにおけるTCDD汚染に関する疫学調査(41名)では, 16名の脂肪組織TCDDレベルは20 ppt以下, 13名が20-60 ppt, 12名が60 ppt以上であり, 最高レベルは750 pptであった. TCDDレベルとTリンパ球(CD8⁺及びT11⁺ T細胞)数増加の相関が示されている. Con A, PHA, PWM, TTによるリンパ球分裂及びCTL応答には変化がみられず, 血清IgAレベルが上昇する. 2人に塩素座瘡の既往歴があるものの, TCDDレベルと相関する有害な臨床的病状は認められていない(Webb et al., 1989). これに反して, Quail Run Mobile Park住民では, T細胞(T3⁺, CD4⁺, T11⁺)数及び細胞性免疫の低下が示されている(Hoffman et al., 1986).

英国の2,4,5-T生産工場の事故で暴露を受けた労働者(18人)の17年後の調査では, NK細胞数及び自己免疫指標の有意な上昇が認められている. Tonnら(1996)によると, TCP生産工場労働者において, リンパ球サブセットに変化は認められないものの, 同種抗原刺激に対する反応性に軽度であるが有意な低下が認められとされている. また, 1951年~1972年に米国2,4,5T生産工場に働いていた労働者の追跡調査の結果が, Halperin(1998)らにより報告されている. 256人の暴露を受けた労働者(TCDD平均血中濃度229ppt)と, 243人の対照労働者(TCDD

平均血中濃度6ppt)との間で, 比較を行っているが, 調べた免疫指標の中では, 暴露群でCD26⁺T細胞(活性化T細胞)の有意な減少以外は, 両群での差は観察されなかった.

末梢血リンパ球構成比の変化に関する限りでは, ヒトはマウスよりも, TCDD感受性が低いことが示唆されている. 末梢血リンパ球のマイトジェン刺激による分裂に関しても同様な報告がある(Neubert et al., 1995). SCID-Hu及びSCID-Raマウスを利用したTCDDによる胸腺萎縮でも, ヒトとWistarラットのTCDD感受性がほぼ同様であることが推定されている.

1962年から1971年にベトナムで農薬散布に関与した軍人の追跡調査が1992年に行われ, 1999年 Michalck J.E.らにより報告されている. 全2233人の軍人(農薬群;n=952;対照群;n=1281)の調査が行われた. 農薬群は, 血液中Dioxin濃度からさらにbackground(平均5.7ppt), low(平均52.8ppt) high(平均194.7ppt)の3グループにわけ解析を行っている. 農薬群と対照群で, 2点の違いが得られている. 1つは, 農薬のbackground群でのCD20⁺B細胞数の増加, 及び農薬のhigh群でのCD16⁺CD56⁺CD3⁺T細胞数の減少, 2つめは, 農薬のlow群で, 甲状腺に対する自己抗体の上昇である. 他の自己抗体や血液中抗体濃度(IgA, IgG, IgM)には, 違いがみられなかった.

Dutch infantの実験オランダの小児(207名; 生後~18ヶ月)に関する疫学調査では, PCBレベルとして, 2.25 ng/ml血液, 66.59 pg TEQ/g脂肪の平均値が得られている. 母乳中の含量より計算されたPCB/dioxin暴露レベルと免疫抑制の明瞭な関係は示されないが, PCB/dioxin暴露レベルに相関する免疫関連パラメーターの変化が認められている. 出生時の $\gamma\delta$ TcR⁺細胞の増加, 3ヶ月のB細胞, 単球, 顆粒球の減少, 18ヶ月のT細胞, CD8⁺細胞及び $\alpha\beta$ TcR⁺細胞の増加と PCB/dioxinレベルの間に相関がみられている

(Weisglas-Kuperus et al., 1995). また、生後42ヶ月の免疫機能検査で、はしかやおたふくかぜに対する抗体価が、PCB/dioxin暴露レベルと逆相関することより、胎生期のPCBやダイオキシンへの暴露が、感染症への感受性の増大につながる可能性が示唆されている(Weisglas-Kuperus et al. 2000)。

以上、ヒトにおけるこれらの研究からは、ダイオキシン類の免疫毒性の明瞭なパターンは得られない。ダイオキシン類暴露に関連する一定の有意な作用が得られない理由は不明であるが、その一因に、遺伝的に雑系であるヒトにおいて、臨床的に軽度の免疫変化を検出することが難しいこともある。大部分の免疫学的アッセイには、正常な反応の範囲が広く、小さな変化を有意に検出することが難しい。また、ヒトにおいては、マウスのようにAh遺伝子型が分かっていない。多くの場合、TCDD暴露後長時間を経て免疫機能が評価されており、回復が起きた可能性も高い。

ヒトリンパ球に対する直接作用がインビトロで調べられている。ヒト扁桃リンパ球(HTL)のPMW刺激による抗体産生(IgM)は、 3×10^{-8} ~ 3×10^{-10} Mで影響を受けないが、Toxin shock syndrome toxin(TSST-1)刺激による抗体産生は抑制される。この抑制は個体差が大きいとされる。この系でのIgM産生の抑制と‘バックグラウンド’のリンパ球分裂の抑制は、培養する際の細胞密度が低く大部分の細胞が活性化状態にある時にのみ認められる(Wood et al., 1993)。また、TCDDは、LPS/T細胞因子による扁桃B細胞の分裂とIgG抗体産生も抑制する。これらの結果は、TCDDが扁桃リンパ球(低密度)に直接作用することを示唆している。また、ヒト培養Bリンパ球(IM-9)を用いた研究で、25nM TCDDで、Ah受容体が、B細胞特異的活性化蛋白(BSAP)の結合部位を競合してしまうことによりB細胞表面抗原CD19遺伝子の発現が抑えられることが報告されている(Master S.A. and Shiverick K.T., 1995)。

(6) 生殖発生毒性

1. PCDDの生殖発生毒性

雌ラットに 25, 60 または 300 $\mu\text{g/kg}$ の 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)を交配前2週に皮下投与し、交配前、交配中、妊娠中及び授乳中を通じて、週1回 5, 12 または 60 $\mu\text{g/kg}$ のTCDDを皮下投与した(Faqi et al., 1998)。300/60 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で母ラットの妊娠率が低下し、雄児の血清中テストステロン濃度の低下が認められた。全TCDD投与群の雄児で精巣上体の精子数、1日精子産制数及び精子通過率が低下し、異常精子の割合が上昇し、性行動に異常が観察された。最小毒性量は 0.8 $\mu\text{g/kg/day}$ (25/5 $\mu\text{g/kg}$)であった。

SD ラットの妊娠15日に 0.2 または 1.0 $\mu\text{g/kg}$ のTCDDを単回強制経口投与した(Cooke et al., 1998)。両TCDD投与群で母体体重が低下し、1.0 $\mu\text{g/kg}$ 投与群では出生児数の減少がみられたが、雄児の成長にはTCDD投与の影響は観察されなかった。雄児の30日齢に 1.0 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で17-hydroxylase 活性及び精巣上体重量が低下し、45日齢で精巣の 3β -及び 17β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD)、 5α -reductase 活性が高くなり、血清中アンドロゲン濃度が低下した。

Holtzman ラットの妊娠15日に 0.25 $\mu\text{g/kg}$ のTCDDを単回強制経口投与した(Loeffler and Peterson, 1999)。TCDD投与の雄児に精巣上体精子数の低下、前立腺重量の低下が観察されたが、肛門生殖突起間距離、性成熟の日齢、1日精子産制数、精巣重量及び前立腺を除く副生殖器重量にTCDD投与の影響は認められなかった。

Holtzman ラットの妊娠15日に 1.0 $\mu\text{g/kg}$ のTCDDを単回強制経口投与した(Dienhart et al., 2000)と、投与後4日の雌胎児でミューラー管尾部の間充組織の厚さが増加し、ミューラー管の癒合を阻害し、ウラルフ管の退行の阻害が観察され、これらが永久的な vaginal thread の原因であることが示唆された。

Long Evans ラットの妊娠15日に 1.0 $\mu\text{g/kg}$ の

TCDD を単回強制経口投与し (Hamm et al., 2000)、雄児の精囊について調べた。雄児体重及び精囊重量には生後32日まで TCDD 投与群と対照群との間に差はみられなかったが、49日以降では TCDD 投与群において低下が認められた。TCDD 投与群では精囊上皮の分岐及び分化を低下させることによって、精囊の発生を傷害することが示唆された。

Syrian ハムスターの妊娠 11.5 日に 2.0 µg/kg の TCDD を強制経口投与し (Wolf et al., 2000) た。母体の生存率及び体重、児数に TCDD 投与の影響はみられなかった。TCDD 投与群の F1 児の体重増加抑制、膈開口遅延、膈性周期の変化が認められた。雌 F1 では陰核の完全分裂が観察されたが、vaginal thread は観察されなかった。雌 F1 を無処置の雄と交配させたところ、TCDD 投与群で妊娠率低下し、妊娠ハムスターの死亡率上昇、分娩生存児数減少、離乳率低下が観察された。これらの結果から、妊娠母体に有害な作用を示さない投与量の TCDD が雌児の成長、繁殖機能、生殖器の形態に悪影響を及ぼすことが明らかになった

2. コプラナーPCB の生殖発生毒性

CrI:Wi(WU)BR ラットの妊娠1日に、0.2, 0.6 または 1.8 mg/kg の 3,4,5,3',4',5'-hexachlorobiphenyl (HCB、純度99%以上)を単回強制経口投与し、自然分娩させたF1の交配実験を行った (Smits-van Prooij et al., 1993)。母体毒性としては、1.8 mg/kg 投与群において体重増加抑制、0.6 mg/kg 以上の投与群で摂餌量減少がみられた。出生児に対する影響としては、1.8 mg/kg 投与群において同腹児数減少、低児体重及び死亡率上昇が認められた。膈開口及び精巣下降等の発育指標には HCB 投与の影響は観察されなかった。同投与群の雌雄の交配実験を行ったところ、1.8 mg/kg 投与群で交配率及び妊娠率の低下が認められた。更に、1.8 mg/kg 投与群の雌雄を無処置の雌雄ラットと交配した実験でも、雌雄ともに交配率及び妊娠率の低下が観察された。

Lewis ラットの妊娠 10, 12, 14, 16, 18 及び 20 日

に 10 または 20 µg/kg の 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB-126) を強制経口投与し、分娩児について検査した (Bernhoft et al., 1994)。両 PCB-126 投与群で母体体重低下がみられ、20 µg/kg で生存児数の減少が認められた。10 及び 20 µg/kg で児体重増加抑制が生後8週でもみられ、児の肝臓比重量増加も観察された。両群の母児で、Cytochrome P450 1A1 の酵素活性は高かった。PCB-126 が母児の肝臓で検出されたが、脳では検出されなかった。児の正向反射、背地走性には PCB-126 投与の影響は認められなかった。両 PCB-126 投与群で頭部持ち上げ、握力及び歩行の遅れ、眼瞼開裂の促進がみられた。児の学習能力及び活動量には PCB-126 投与の影響は観察されなかった。

Lewis ラットの妊娠 9, 11, 13, 15, 17 及び 19 日に 2 µg/kg の PCB-126 を強制経口投与し、分娩児について検査した (Holene et al., 1995)。PCB-126 投与群においても母体体重、同腹児数、児体重、児の性比、児の正向反射、背地走性、頭部持ち上げ、握力、歩行及び眼瞼開裂には投与の影響は観察されなかった。視覚弁別学習の低下及び活動量増加が PCB-126 投与群に認められた。

SD ラットの妊娠 10-16 日に 2, 8 mg/kg の 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (PCB-77) または 0.25, 1.0 µg/kg の PCB-126 を強制経口投与し、分娩児について検査した。母体体重、母体肝重量、妊娠期間、同腹児数及び児体重には PCB-77 及び PCB-126 投与の影響は認められなかった。児動物において、PCB-77 及び PCB-126 の高投与量群で胸腺重量低下および肝重量増加、高及び低投与量群でマイクロゾーム酵素活性の上昇が観察された。PCB-126 低投与量群、PCB-77 の高及び低投与量群において放射型迷路でのエラー数の低下が認められた (Schantz et al., 1996)。生後 21 日の児血清中チロキシンレベルの低下が、PCB 77 低投与量群の雌でみられたが、PCB 77 投与群の雄及び PCB 126 投与群の雌雄には認められなかった。児の眼瞼開裂の促進が PCB 77 高投与群、PCB126 の高及び低投与群に観察された

(Schantz et al., 1997)。

Wistar ラットの妊娠 7-18 日に 1 mg/kg の PCB-77 を皮下投与し、分娩児について検査した (Wenand-Harer et al., 1997)。妊娠中の母体体重、母体の脳及び肝重量、同腹児数及び離乳までの児体重には投与の影響はみられなかった。PCB-77 投与群においてドーパミンレセプターブロッカー-haloperidol により惹起される強直症の潜時が延長し、脳におけるドーパミンレベルの変化またはドーパミンレセプターの密度の変化が示唆された。PCB-77 投与群で受動回避学習行動における傷害が観察された。

Wistar ラットの妊娠 15 日に 100 µg/kg の PCB-77 または 10 µg/kg の PCB-126 を単回強制経口投与し、自然分娩児について調べた (Faqi et al., 1998)。母体の死亡は観察されず、また母体体重への投与の影響はみられなかった。PCB-77 投与群では、雄児で脳重量、精巣重量及び1日精子産制数の増加、精囊重量低下が観察された。PCB-126 投与群では、雄児で肛門生殖突起間距離 (AGD) 及び AGD/body weight の低値、脳重量増加、腹部前立腺重量低下、性行動の変化 (マウント及び挿入回数の増加) が認められ、雌児で膣開口遅延がみられた。PCB-77 及び PCB-126 の両投与群で、出生児体重の増加抑制、140 日齢における血清テストステロン濃度低下が認められたが、無処置雌ラットとの交配実験では両群の雄ラットとも繁殖成績に投与の影響はみられなかった。

雌 Long Evans ラットの妊娠前5週から妊娠中及び授乳中の週5回 0.25, 1.0 µg/kg の PCB-126 を Corn Pop breakfast cereal に注入して食べさせた。無処置の雌 Long Evans ラットとの交配で得た児の行動試験を行った。各腹の雌雄各1匹についての試行間隔を一定にした強化学習試験を行ったところ PCB-126 投与の影響は認められず、妊娠前、妊娠中及び授乳中の PCB-126 投与は児に行動毒性を示さないことが示唆された (Rice and Hayward, 1998)。同腹児数、生存率及び発育指標 (耳介進展、切歯崩出、乳頭保持、正向反射、膣開口、包皮分離、精巣下降) には PCB-126 投与の影響は

認められなかった。PCB-126 の児体重には離乳まで増加抑制がみられたが、その後は対照群と同様であった。PCB-126 投与群の雄児で AGD の体重補正值のわずかな低下がみられた。PCB-126 投与群の離乳時の児における血清サイロキシンレベル、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値の低下、GGT 及び BUN レベルの上昇がみられた。空間的オペラント行動試験では PCB-126 投与の影響は観察されなかった (Rice, 1999)。雄児について学習行動試験を行ったところ、学習獲得能には PCB-126 投与の影響は認められなかったが、高投与量群で注意傷害を示唆する成績が得られた (Bushnell and Rice, 1999)。各腹の雌雄各1匹についての試行間隔を偶然化した強化学習試験を行ったところ、高投与量群で反応の正確性が対照群に比べて低かった (Rice and Hayward, 1999)。

(7) 生化学的影響

Ah レセプターは、動物に 3-メチルコラントレンやダイオキシン類などの多環芳香族化合物を投与した場合に、CYP1A1 (P450 1A1) などの薬物代謝酵素の誘導を仲介する核内レセプターの一つであり、ダイオキシン類の毒性発症のメカニズムに深く関わっていると考えられている (Hankinson, 1995; Sogawa and Fujii-Kuriyama, 1997; Whitlock et al, 1997)。Ah レセプターは、リガンドを結合していないときは細胞質内に存在し、HSP 90 と結合しているが、細胞内にダイオキシン類などのリガンドが入ってくるとこれと結合して HSP90 を放し、核に移行することが知られている。最近では、AhR と相互作用する新しいタンパクとして AIP (XAP2 または Ara9 と呼ばれる) が見つかってきている。AIP は AhR と Hsp90 の両方に結合すると共に、AIP と AhR に結合には、Hsp90 が必要である他、AIP-AhR-Hsp90 コンプレックスを安定化する作用のあることも明らかになった (Bell and Poland, 2000)。核内に移行したレセプター-リガンド複合体は、さらに DNA 結合の補助因子である Arnt とヘテロダイマーを作り、XRE と呼ばれる DNA 上のエンハンサー配列に結合する。エンハンサー配列に結合したヘテロダイマーは、

さらなる核内補助因子 (Cofactor) と共に、RNA ポリメラーゼ II を含む遺伝子の転写因子を活性化して、様々な遺伝子の発現を促進すること考えられている。ダイオキシン類による毒性のほとんどは、この Ah レセプターを介した遺伝子発現調節機構を開始点とした様々な生化学的なカスケード反応の結果引き起こされるものと考えられている。

Ah レセプターにより誘導されることが知られている遺伝子は、CYP1A1 の他に、CYP1A2、CYP2A8、UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ Ya サブユニット、NAD(P)H:キノン酸化還元酵素、アルデヒド脱水素酵素など数多く知られているが、いずれの遺伝子のエンハンサープロモーター領域にも共通性がある (Kobayashi et al, 1997)。CYP1A1 などの薬物代謝酵素の誘導は、発がん過程におけるプロモーション活性と深い関わりがあることは良く知られているが、上記のような多岐にわたる遺伝子発現の誘導が、Ah レセプターを介したダイオキシン類による様々な毒性発現に寄与しているものと考えられる。また、ダイオキシン類の暴露は、TGF、Fos、Jun 等の細胞増殖制御に関わる因子やアポトーシスに関わる因子の転写活性に影響を与えることも知られており (Hankinson, 1995)。これらの細胞増殖制御に関わる因子のすべてが、Ah レセプターを介したものであるというは証明された訳ではないが、ダイオキシン類による発がんのプロモーション活性や胸腺萎縮など免疫抑制機構を説明するメカニズムにおいて、Ah レセプターが一役かっているものと思われる。

Ah レセプターを介した毒性発現の分子生物学的メカニズムが明らかになると共に、in vivo における Ah レセプターを介したダイオキシン類の毒性発現メカニズムの解析も進められている。Ah レセプター遺伝子が単離される以前は、主にマウスの系統差や系統間の掛け合わせによる手法により、ダイオキシン類や多環芳香族化合物の毒性に対する感受性を解析する実験が免疫機能や発がん性に関して行われてきており (Whitlock et al, 1997)、特にダイオキシン類による胸腺萎縮や 3-メチルコラン

トレンによる発がん性は、Ah レセプター依存性であることが示されている (Whitlock et al, 1997)。このことより、TCDD と Ah レセプターの結合活性が調べられているが、解離定数の解析から親和性の強さと in vivo での毒性の強さに正の相関関係があることが推定されている。ヒトの Ah レセプターの TCDD との親和性の強さ ($K_d=1.58\text{nM}$) は、マウスの高親和性系統 (C57BL) の解離定数 ($K_d=0.27\text{nM}$) よりも低親和性系統 (DBA/2) のそれに近い値 ($K_d=1.66\text{nM}$) であった (Ema et al, 1994)。ヒトの Ah レセプターの多型における親和性がすべて調べられたわけではなく、また、種差における毒性の感受性の違いが Ah レセプターの親和性の違いだけで説明されるかどうかは今のところ明らかでない。

しかし、最近 TCDD の致死毒性に対して、耐性を示す H/W ラットやハムスターの Ah-レセプター遺伝子のクローニングが行われ、Ah-レセプターの C 末側転写活性化領域の構造が、ダイオキシンによる毒性の感受性に関与している可能性が示唆された (Pohjanvirta et al, 1998; Tuomisto et al, 1999; Korkalainen, et al, 2000)。さらに、致死毒性に対する耐性ラットの系統は、肝発がん性や TDI の設定の根拠となった胎児・新生児期暴露における精巢毒性に対しても著しく耐性であることが判明した (Viluksela et al, 2000; Tuomisto et al, 2000; Simanainen et al, 2001)。

また、Ah レセプターノックアウトマウスの作製が 3 つのグループによって行われ (Fernandez-Salguero et al., 1995; Schmidt et al., 1996; Mimura et al., 1997)、より直接的にダイオキシン類の毒性発現における Ah レセプター依存性に関する研究も行われている。特に、肝障害や胸腺の萎縮、免疫抑制、マウスの口蓋裂や水腎症が、ホモ欠失マウスでは TCDD によって誘発されなくなり、明らかに Ah レセプター依存性であることが示された (Mimura et al., 1997, Vorderstrasse et al., 2001)。さらに、ヘテロ欠失マウスの解析から胸腺萎縮と口蓋裂は Ah レセプターの発現量に依存しているが、肝障害や水腎症はヘテロ型でも野生型と同様に誘発され (Fernandez-Salguero et al, 1996)、同じ Ah レセプタ

一依存性の毒性でもその発現メカニズムに違いのあることが推定された。

ダイオキシン類による内分泌障害性については、ホルモン合成や代謝亢進、ホルモンレセプターのダウンレギュレーションを引き起こすというような二次的な作用のためであると説明されてきた。しかし、最近では Ah レセプターとエストロゲンやプロゲステロンレセプターによるシグナル伝達系とがクロストークを行い、直接転写レベルで相互作用していることが明らかにされてきている(Kharat and Saatcioglu, 1996; Gillesby et al, 1997a, 1997b; Kuil et al, 1998)。良く知られている抗エストロゲン作用は、エストロゲンレセプターの転写調節領域への結合を、Ah レセプター複合体が直接的に抑制していることによるものであることが判明している(Krisnam et al, 1994, Wang et al, 2001)。

一方、TDI の設定の根拠となった胎児・新生児期暴露における生殖器官に対する影響に関するメカニズムの解析に関しては、妊娠 15 日の Long Evans ラットに 0.05~1.0 $\mu\text{g TEQ/kg}$ のダイオキシン類混合物を経口投与しところ、TCDD 単独で出た毒性が再現され、概ね TEF アプローチが、発生毒性に対しても妥当であることが、TCDD による低用量域での発生毒性に対しても Ah レセプター依存性であることを裏付けていると考えられる(Chu I et al., 1999)。

また、妊娠ラットへの TCDD 投与により、雌の児に引き起こされる膈系形成について経時的な病理学的解析を行ったところ、TCDD の投与により、膈系形成の起源になると考えられる Mullerian duct(MD)の融合の異常が認められた。これは、発生過程におけるMD間の間充細胞の増殖あるいはアポトーシスに対して TCDD が影響を与えていることを示唆しており、病理組織学的にはMDの周辺の細胞における TGF- β の発現量の増加が観察された(Hurst, 1999)。

さらに、雄の児の前立腺の発達に対する影響については、後外側葉のアンドロゲン反応性を TCDD が特異的に阻害することが明らかされた(Theobald et al., 2001)。

上記のように、ダイオキシン類の毒性発現のほとんどが Ah レセプターと関わりにおいて研究されてきているが本格的なメカニズムの解析はこれからである。ノックアウト動物を用いる手法はかなり直接的な結果を示したが、ヒトに対する毒性評価を行うためには、さらに詳細な Ah レセプターによる転写調節やシグナル伝達などを解析する必要がある。

(8) 疫学

以下では、1999~2000年に発刊された論文から、疫学研究を中心に、ダイオキシン類(PCDD/F、Co-PCB)の人への影響に関して検討してあるものを選び、その特徴などを中心に記載する。次ページ以降には、個々の研究についてその概要をPCDD/FとPCBに分けて記載したが、ここでは特に分けては記載していない。

近年、検討対象としている汚染レベルであるが、事故や職業曝露といったような高濃度汚染による健康被害から、一般環境レベルにおける健康被害の影響の有無、さらには影響の程度や量-反応関係を調べる研究が増えてきている。従来の研究と比較すると、体内でのダイオキシン負荷量を直接測定する研究が増えては来ているが、全般的には量的な曝露評価に関しては、精度や正確さの面で未だに多くの課題が残されていると言えよう。量-反応関係の検討に適用できる研究はまださほど多くない。

セヴェンや 1990 年代はじめ頃に報告されてきたのは、ガン発生・死亡をエンドポイントとして考えたものがほとんどであったと考えられるが、最近では、これらに加えて糖尿病をはじめ、その他の疾患に関する議論も増えてきている傾向にある。また、生殖影響や次世代影響という観点から、女性や小児を対象とした検討も増えてきており、PCDD/F に関しては小児のアトピー性皮膚炎、甲状腺ホルモンなどについて、PCB に関しては乳ガンや子宮内膜症などをエンドポイントとする研究が増えている。またベトナム退役軍人を対象とした研究も見受けられる。研究そのものが始まったばかりのものも比較的多く存在し、現段階では進行状態を示すにとどま

っているものもある。

検討した疫学研究は、従来見受けられていたような、一般的なコホート研究やケース・コントロール研究(ネステッド・ケースコントロール研究も含む)といった枠組みには組み込みにくい研究デザインの研究が増えてきている。ダイオキシンや PCB 問題そのものへの論点が変化してきている傾向にあること、つまり高濃度汚染から低濃度汚染へ、死亡から疾患発症へと関心が移ってきたことなどから、研究に適切な対象者を選択する事が難しくなり、従来とは異なる研究スタイルをとらざるを得ないことになってきたことによると推察されるが、選択バイアスをはじめ、その他のバイアスが生じる可能性もあることが著者からも指摘されている。一部の研究を除き、サンプルサイズが比較的小さいことも特徴の一つとして挙げられる。

PCDD/F や PCB の健康影響に関しては、特に一般環境レベルの研究で健康影響は認められていない。影響が認められている研究結果であっても、上記のように曝露評価、サンプルサイズが小さいなどの理由から、必ずしも信頼できる結果とはなっていないと考えられる。結論的、と言うよりも従来は考えられてこなかった部位等への健康影響に対する第一段階的な検討結果と考える方が合理的かもしれない。従来行われてきた高濃度曝露 (IARC コホート、セヴェソ、Yuchengら) の研究では、これまで得られてきた知見と比較的合致する結果がおおよそ認められている。

一般環境レベルでのダイオキシンの影響は、後向き研究が比較的多いこともあり潜在的交絡要因と考える変数の入手が困難となっていると思われる。類似の研究においても、研究で考慮されている交絡要因は異なっている場合が多く、交絡要因として何を考えているのか論文からは把握しにくい研究も存在する。研究結果の解釈や研究の比較をする際には注意が必要であろう。

1. PCDD/PCDF

Persistent health effects of dioxin contamination in

herbicide production. Neuberger M, et al. Environ Res Section A. 1999; 81: 206-214.

研究目的:クロロアクネ患者のその後の健康状態を
探る

研究デザイン:後向きコホート研究(?)

対象者:1969-1975 年にクロロアクネに罹った人
(159名)のうち1996年に存命であり、採血や
問診等の調査に協力してくれた人(50名)。
および性、年齢でマッチングした2種類のコ
ントロール(化学製品等の職業曝露がない人、
化学工場での曝露はないがアスベストセメン
ト従業者)

研究期間:1996 年

研究方法:上記3群間で病歴、血液中生化学検査
結果等の比較

交絡要因:性、年齢(マッチングで交絡は除去)

結果:BSR、白血球、 γ -GT、SGOT、SGPT は曝露
群の方が有意に高い。曝露群の中でも、肝
臓疾患歴のある人の方がいない人より、血中
TCDD 濃度が高かった(801 pg/g lipid vs.
407 pg/g lipid, 平均値)。

幼児のアトピー性皮膚炎と母乳の関係

中村好一, 他. 日本公衆衛生雑誌. 1999; 46:
298-303.

研究目的:乳児期の栄養方法とアトピー性皮膚炎
の発生状況を観察し、母乳中のダイオキシン
が関与しているかどうかを調べる

研究デザイン:断面研究

対象者:栃木県内で開催された3歳児検診受診者
(2,968名)

研究期間:1997 年9月、10月

研究方法:調査票により乳児期の栄養状態、出生
順位、アトピー性皮膚炎の既往を把握。乳児
期の栄養方法、他の変数のアトピー性皮膚
炎へのロジスティック回帰によって把握する。

交絡要因:乳児期の栄養方法、出生児の母親の
年齢、出生順位、アレルギー関連の既往(母
親

結果：母乳栄養児（オッズ比：1.37、95%CI (1.02-1.83)）、人口栄養児（オッズ比：1.21；95%CI (1.21-2001.1)）

備考（考察）：母乳栄養がアトピー性皮膚炎の危険因子であると考えられるが、学生のモチベーションを受けついで以下になる可能性もあり。ダイオキシン濃度は、環境媒体、体内のいずれにおいても測定されていない。

Serum dioxin and cancer in veterans of Operation Ranch Hand. Ketchum N, et al. Am J Epidemiol. 1999; 149: 630-639.

研究目的：Operation Ranch Hand 退役軍人のガン有病状況と 2,3,7,8-TCDD への曝露との関連性を探る

対象者：Air Force Health Study の対象者のうち、Operation Ranch Hand に参加した退役空軍軍人（曝露群）、および年齢、人種でマッチングした同時期に東南アジアに在籍していたが Operation に参加していなかった人（非曝露群、血液中濃度レベルが 10ng/kg lipid 以下）

研究期間：1982-1997 年7月 10 日（この期間中にがんと判明した人をケース）

研究方法：血中ダイオキシン濃度測定は 1987 年、または 1992 年に実施。ケースとガン非発症の人（コントロール）について、曝露との関係をロジスティック回帰により検討（曝露群は、濃度レベルによりさらに 3 群に分割：Background (0-10ppt), Low (27-94ppt), High (94-3290ppt)）

交絡要因：生年、軍の中の職種、人種、喫煙歴、飲酒歴、アスベスト曝露など（皮膚ガン以外のガンについて）

結果：腎臓または膀胱ガンについてはオッズ比：4.5 (Low 群、95%CI: 1.0-20.4)、全ガンでは差は認められなかった。潜伏期間を考慮した場合、除隊後 20 年未満群で、皮膚ガンを除くガンで、Low 群がオッズ比：3.4 (95%CI: 1.5-8.0)、High 群が 2.7 (0.9-8.0) であった。

20 年以上ではオッズ比が 1 を下回った。

備考（考察）：本研究の検出力は小さい。潜伏期間 20 年以内で観察されたオッズ比の上昇は、ダイオキシン曝露以外の影響であると考えられる。曝露群の 40%が、バックグラウンド濃度との閾値である、10ppb 以下。

Blood lipid concentrations of dioxins and dibenzofurans causing chloracne. Coenraads P, et al. Br Assoc Dermatol. 1999; 141: 694-697.

研究目的：クロロアクネが出現する血液中ダイオキシン類濃度を調べる

対象者：ペンタクロロフェノール工場の従業者でクロロアクネが現れている群、クロロアクネはないが曝露している群、非曝露の従業者群、この工場に勤務しておらず、かつ工場のそばにも住んでいない人（コントロール群）。対象人数は不明

研究方法：断面研究の区分

結果：クロロアクネが出現している群での血中ダイオキシン濃度は、1168 ~ 22308 pg-TEQ(WHO)/g lipid、曝露しているがクロロアクネが現れていない群での濃度は 424 ~ 662 pg-TEQ/g lipid。このことよりクロロアクネが出現するのは 650 ~ 1200pg-TEQ/g lipid の範囲であると考えられる。

備考（考察）：総 TEQ に寄与しているのは HxCDD/Fs で、脂肪ベースでは HxCDD が 2 ~ 3.5ng/g、HxCDF が 2-5ng/g でクロロアクネが出現する可能性あり

Cancer, Heart disease, and diabetes in workers exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Steenland K, et al. JNCI. 1999; 91: 779-786.

研究目的：IARC コホートの追跡期間を最大で 6 年間延長し、TCDD とガンその他の影響との関連を調べる。さらにコホートの 69%の人のデ

ータを用いて曝露-反応関係に関しても検討する。

研究デザイン:コホート研究

対象者:12のU.S.プラント従業員(5132人、男性)

研究期間:1993年まで観察を延長

研究方法:生命表分析を用いてSMR(対照は全米人口)を算出し、かつコックス回帰(比例ハザードモデル)を用いて率比を算出

交絡要因:生年、年齢(喫煙などのライフスタイルやhealthy worker effectは濃度群ごとの比較をすることで避けられていると考えられる)

結果:全ガンのSMRは1.13(95%CI: 1.02-1.25)、量反応的傾向が全ガンと肺ガンに観察される。最も高曝露群に関しては全ガンのSMR=1.60、心臓病に関してはやや弱い関連性、糖尿病に関しては負の曝露-反応関係。コックス回帰からは、全ガンに関しては15年のタイムラグがある、そして心臓病に関してはタイムラグのない傾向性が見いだされた。

備考(考察):TCDDへの高濃度曝露が過剰死亡(全ガン)を見いだすことを示唆、しかしこの過剰死亡は一般集団の曝露レベルの100-1000倍のレベルで、動物実験レベルとほぼ同様なレベルでの検討に限られる。

Serum dioxin and immunologic response in veterans of Operation Ranch Hand. Michalek J, et al. Am J Epidemiol. 1999; 149: 1038-1046.

研究目的:Operation Ranch Hand 退役軍人を対象として、2,3,7,8-TCDDへの曝露と免疫応答との関連性を探る

対象者:Air Force Health Studyの対象者のうち、Operation Ranch Handに参加した退役空軍軍人(曝露群)、および年齢、人種でマッチングした同時期に東南アジアに在籍していたがOperationに参加していなかった人(非曝露群、血液中濃度レベルが10ng/kg lipid以下)。抗炎症剤あるいは免疫抑制剤を使用している人、最近がんに対する放射線治

療あるいは化学療法を受けた人、HIV陽性の人も除いた。

研究方法:遅延型皮膚過敏反応を調べた(Candida albicans, mumps, Trichophyton, Bacterial antigen made from Staphylococcus aureus:4種の抗原抗体反応どれも陽性ではなかった場合、異常として判断)

交絡要因:年齢、軍の中の職種、人種、喫煙歴、飲酒歴、

結果:ダイオキシン曝露と免疫系の変化には一貫した傾向は認められなかった。

備考(考察):ベトナム退役軍人のダイオキシン曝露(負荷量)と免疫変化に関して調べた唯一の研究

Olestra increases faecal excretion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin.

Geusau A, et al. Lancet. 1999; 354: 1266-1267.

研究目的:患者のクロロアクネ発症の原因を調べる
研究デザイン:疫学研究ではなく、2名の患者対象の調査

対象者:クロロアクネ発症の30歳の女性およびニキビ等が出現した27歳の同僚

研究期間:1998年

研究方法:クロロアクネ発症に関してはTCDDの関与が考えられたため、血液中TCDD濃度を測定

結果:上記2名の血液中TCDD濃度はそれぞれ144,000pg/m³、26,000pg/m³。TCDDの摂取経路は不明であった。オレストラ(代用脂肪)の摂取により、糞への排出が8倍から10倍程度増大した。

Serum dioxin level in relation to diabetes mellitus among air force veterans with background levels of exposure. Longneker M, et al. Epidemiology. 2000; 11: 44-48.

研究目的:バックグラウンドレベルでの、血中ダイオキシン(2,3,7,8-TCDD)濃度と糖尿病(有病)

との関係、さらには血中(血清中)グルコース
およびインシュリンレベルとの関連性を探る

対象者: Air Force Health Study の対象者のうち、
Operation Ranch Hand に参加していない比
較対照群の退役空軍軍人。1982 年から継続
調査が行われているが、1992 年の調査に参
加した人のうち、血液中ダイオキシンデータ
が存在し、かつ濃度レベルが 10ng/kg lipid
以下だった人(1197 名)

研究期間: ケース・コントロール研究の形態(考察
で断面研究と書いているが)

研究方法: ロジスティック回帰を用いて、血中ダイ
オキシン濃度と糖尿病との関連性を調べる。
ダイオキシン濃度は四分位を用いて四群に
分類

交絡要因: 年齢、1992 年の BMI、採血時の BMI、
人種、軍での職種、家族歴(糖尿病)など

結果: もっともダイオキシン濃度が低い群
($<2.8\text{ng/kg}$) に比べて、もっとも高い群($\geq$
 5.2ng/kg) の調整オッズ比は 1.71 (95%CI:
1.00-2.91) となり関連性が認められた。しか
し、血中トリグリセリドで補正を加えると 1.56
(95%CI: 0.91-2.67) に減少した。

備考(考察): 糖尿病の診断は、1995 年までに医師
の診断を受けたと答え、かつ医療記録で確
認がとれた場合、あるいは 1992 年に糖負荷
後の血糖値が 200mg/dL 以上であった人。
結果として得られた関係については、メカニ
ズムの検討が必要。また参加者の偏りの可
能性も示唆。

Breast-fed infants, possibly exposed to dioxins in
milk, have unexpectedly lower incidence of
endometriosis in adult life. Tsutsumi O, et al.
Int J Gynecol Obstet. 2000; 68: 151-153.

研究目的: 小児期の(汚染された)母乳摂取と、将
来での子宮内膜症の発症との関連性

研究デザイン: ケース・コントロール研究

対象者: ケースは日本子宮内膜症協会(?)に属し

ているか、東大病院で手術を受けた経験の
ある人(567 名)、コントロールは月経困難で
はなく、妊娠可能年齢にある、健康な日本人
ボランティア(2281 名)

研究方法: 自記式調査票により、乳児期の栄養法
を調査(ダイオキシン測定は行われていな
い)

交絡要因: 記載なし

結果: コントロール群の母乳栄養は 68%であり、
ケース群の 51%よりも高かった

備考(考察): 小児期のダイオキシン半減期は成人
よりも短い、あるいは母乳と子宮内膜症との
関連性が疑われる

コメント: 対象者に関する属性や交絡要因などの情
報が少なく、また母乳を考慮することがその
ままダイオキシンの検討につながるのか、な
どいった点に関して不明な点が多く残される

Health effects of chronic exposure to
polychlorinated dibenzo-p-dioxins(PCDD),
dibenzofurans(PCDF) and coplanar
PCB(Co-PCB) of municipal waste
incinerator workers. Kitamura K, et al. J
Epidemiol. 2000; 10: 262-270.

研究目的: ゴミ処理施設(豊能郡美化センター)労
働者のダイオキシン曝露と健康影響との関
連性

研究デザイン: 断面研究

対象者: 1988 年以降同施設に勤務した 16 歳から
78 歳の人で、健康調査を希望し、 200mL の
採血を行った 92 名

研究期間: 1998 年 10 月

研究方法: 産業医による聞き取り調査、カネミ油症
皮膚診断のエキスパート医師による皮膚検
査、調査票による食事や日常生活の把握、
血液中ダイオキシン濃度、およびその他の
生化学検査、を行い、種々のダイオキシン類
と他の変数との関連性、さらにはロジスティ
ック回帰を用いて、ダイオキシンの健康影響評