

CYP1B1 mRNA by environmental dioxins, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2003, in press.

Manabu Nukaya, Yoshiki Takahashi, Frank J. Gonzalez and Tetsuya Kamataki, Aryl hydrocarbon receptor-mediated suppression of expression of the low-molecular-weight prekininogen gene in mice, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001, 287, 301-304.

## 2. 学会発表

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による PPAR $\alpha$  シグナル伝達の抑制とその分子機構, 日本分子生物学会, 第 25 回年会 (横浜), 944, 2002.

柴原憲仁, 糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による血液凝固第 V 因子遺伝子の発現抑制とその影響, 日本分子生物学会, 第 25 回年会 (横浜), 944, 2002.

Manabu Nukaya, Yoshiki Takahashi, Frank J. Gonzalez and Tetsuya Kamataki, Aryl hydrocarbon receptor-mediated suppression of PPAR $\alpha$  signal caused by polycyclic aromatic hydrocarbons, North American International Society for the Study of Xenobiotics, 11<sup>th</sup> Meeting (Orlando), 35, 2002.

柴原憲仁, 糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による血液凝固カスケードの阻害について, 日本薬物動態学会, 第 17 回年会 (東京), 223, 2002.

Manabu Nukaya, Yoshiki Takahashi, Frank J. Gonzalez and Tetsuya Kamataki, Aryl hydrocarbon receptor-mediated suppression of growth hormone signal caused by polycyclic aromatic hydrocarbons, Microsomes and Drug Oxidation, 14<sup>th</sup> International Symposium (Sapporo), 169, 2002.

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による PPAR $\alpha$  標的遺伝子の抑制とその分子機構, 日本トキシコロジー学会, 第 29 回年会 (名古屋), 226, 2002.

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による脂質代謝阻害の分子機構の解明, 日本分子生物学会, 第 24 回年会 (横浜), 78, 2001.

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による脂質代謝酵素の発現抑制とその分子機構, 日本薬物動態学会, 第 16 回年会 (神戸),

189, 2001.

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による JAK-STAT シグナル伝達の阻害とその分子機構, 日本癌学会, 第 60 回年会 (横浜), 163, 2001.

Manabu Nukaya, Yoshiki Takahashi, Frank J. Gonzalez and Tetsuya Kamataki, Aryl hydrocarbon receptor (AHR) target genes involved in the toxicity caused by polycyclic aromatic hydrocarbons, International Congress of Toxicology, 9<sup>th</sup> Meeting (Brisbane), 22, 2001.

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による成長ホルモン応答シグナル伝達の阻害とその分子機構, 日本トキシコロジー学会, 第 28 回年会 (東京), 81, 2001.

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: ディファレンシャルディスプレイ法によるダイオキシン受容体の新規標的遺伝子の探索とその機能解析, 日本薬学会, 第 121 回年会 (札幌), 89, 2001.

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による脂質代謝阻害の分子機構の解明, 日本分子生物学会, 第 24 回年会 (横浜), 78, 2001.

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: ダイオキシン受容体の新規標的遺伝子の探索と機能解析, 日本分子生物学会, 第 23 回年会 (神戸), 541, 2000.

糠谷学, 高橋芳樹, Gonzalez FJ, 鎌滝哲也: ダイオキシン受容体の新規標的遺伝子の探索, 日本薬物動態学会, 第 15 回年会 (福岡), 32, 2000.

## H. 知的財産所有権の出願、登録状況

1. 特許取得  
該当なし.
2. 実用新案登録  
該当なし.
3. その他  
該当なし.

ダイオキシン類の幼若ラットに対する誘起排卵抑制モデルにおける Toxic Equivalency Factors (TEF)の検証

(財) 食品薬品安全センター秦野研究所 松木 容彦、代田 真理子  
国立医薬品食品衛生研究所 金子豊蔵

研究要旨

昨年度の実験結果から、まず、ケミカルハザード対応飼育が排卵誘起に影響を及ぼさないことを確認した。次いで、幼若雌ラットに TEF の陽性対照物質である 2,3,7,8-tetrachloro dibenzo-*p*-dioxin (TCDD)を単回経口投与し、その翌日にウマ絨毛性性腺刺激ホルモン (eCG) を投与して3日後に排卵検査を行い、既報を追試した。また、血漿および組織中 TCDD 濃度を ELSIA 法により測定した。その結果、肝臓および胸腺重量はそれらの組織中 TCDD 濃度の増加に伴って変化し、投与後 96 時間には有意な相関が認められた。しかし、排卵数および卵巣重量は排卵検査時まで血漿中に TCDD が検出された用量でも変化しなかった。また、aryl hydrocarbon receptor (AhR)に対して TCDD と同等の親和性を有する indigo は、胸腺および肝臓重量に影響を及ぼさなかった。これらの結果から、ダイオキシン類の TEF 検証において肝臓および胸腺重量は有効な指標であるが、雌性生殖に関しては、さらに高い用量の TCDD を投与して既報を追試するとともに、TEF の小さいダイオキシン類の検証のために卵胞発育関連遺伝子の発現量を定量する必要があると結論された。

A. 研究目的

ダイオキシン類の生体影響評価において用いられている Toxic Equivalency Factors (TEF)が、雌性生殖に対する影響評価にも適用しようという科学的実証は充分に行われていない。本研究は、ダイオキシン類の雌性生殖に及ぼす影響評価においても TEF が適用され得るかどうかを、Gao ら (1999) が、ダイオキシン類の前投与によって抑制すると報告している、幼若ラットに対する誘起排卵モデルを用いて検証しようとするものである。

初年度において 2,3,7,8-tetrachloro dibenzo-*p*-dioxin (TCDD)を用いて、既報の追試を行ったが、TCDD 投与を原因としない不規則な排卵抑制が認められた。そこで本年度は、まず、TCDD 投与実験を行う動物飼育室の点灯および消灯時刻の設定を、誘起排卵の条件検討を行った秦野研究所の設定と同様にして1) ケミカルハザード対応飼育環境が排卵誘起に影響を及ぼすかどうか検討した。次いで、2) TCDD を用いて、既報を再度追試するとともに、その際採取した血漿、肝臓および胸腺を初年

度に検討した方法で前処理して ELISA 法により TCDD 濃度を測定し、重量と TCDD 濃度との相関性を検討した。また、2) に認められたのと同様の変化が、ダイオキシン類以外の aryl hydrocarbon receptor (AhR)アゴニストにも認められるのかどうかを検討するために、3) 幼若ラットに対する誘起排卵モデルを用いて AhR に対して TCDD と同等の親和性を有する indigo について、TCDD と同様の影響が認められるかどうかを調べた。さらに、排卵あるいは組織重量に現れない影響を検出するための方法として4) 卵胞発育関連遺伝子発現量の定量システムをセットアップした。

B. 研究方法

1) ケミカルハザード対応飼育環境下における排卵誘起

国立医薬品食品衛生研究所において、養母による哺育下にある Sprague-Dawley (SD)系 [Crj:CD (SD) IGS、SPF] (日本チャールスリバー、厚木飼育センター生産) 幼若雌ラット 50 匹 (養母 5 匹) を

購入し、午前7時点灯、午後7時消灯の照明条件下で、養母1匹当たり10匹を哺育させた。21日齢に離乳して体重を測定し、体重別無作為層化法により6匹ずつ8群に分けた。8群中4群(第1~第4群)は1ケージに6匹ずつ収容し、残りの4群はそれぞれ3匹(第5、第6群)あるいは2匹(第7、第8群)ずつ収容した。さらに、第1、2、5および7群はビニールアイソレーター内で飼育し、その他の群はビニールアイソレーターの設置されている飼育室の通常環境下で飼育した。25日齢の午前9時に、全例にウマ絨毛性性腺刺激ホルモン(eCG)5IUを1回皮下投与し、3日後に剖検して排卵検査を行うとともに、卵巢重量および子宮重量を測定した。

## 2) 既報の再追試および組織中 TCDD 濃度と影響の相関性に関する検討

### 動物実験

国立医薬品食品衛生研究所において、1)と同系統の養母哺育下にあるSD系幼若雌ラット50匹を購入した。動物は1)と同様の照明環境下で養母に哺育させ、21日齢に離乳して体重別無作為層化法により6匹ずつ8群に分けて群毎に飼育した。その後、毎日体重を測定し、既報より1日遅い、24日齢の午前9時にTCDDを経口投与した。TCDDの用量は、既報において、排卵数が50%以下に抑制された量を上回る16mg/kgを高用量に設定し、以下公比4で除して、4あるいは1mg/kgの3用量を設定した。8群に分けた動物のうち、1~3群にはTCDDの媒体であるコーン油を、4あるいは5群には1あるいは4mg/kgを、6~8群には16mg/kgをそれぞれ投与した。これらのうち1および6群はTCDD投与後6時間に剖検した。残りの動物は全てTCDD投与後24時間の25日齢にeCG5IUを1回皮下投与し、2および7群はeCG投与後48時間に、その他の群はeCG投与後72時間に剖検した。

### 観察および標本の採取

剖検に先立ち、動物をエーテル麻酔し、ヘパリン処理ガラス注射筒を用いて後大静脈から採血を行った。さらに、放血して致死させ、肝臓、胸腺、卵巢および子宮を採取し、それらの重量を測定した。また、eCG投与後72時間における剖検では、卵管を採取し、実体顕微鏡下で、黄体数、および

排卵数を数えた。血液は、4℃、2500rpmで25分間遠心分離して血漿を得、測定まで-20℃で保存した。右側卵巢、子宮および肝臓の一部は、それぞれ氷冷保存液(RNAlater)に浸漬し、4℃で約24時間保管した後、-20℃で保存した。左側卵巢、胸腺および残りの肝臓は液体窒素で凍結し、-20℃で保存した。

### 生体試料中のTCDD濃度測定

凍結した生体試料は、測定前に融解し、水酸化カリウムで処理した後、n-ヘキサンでダイオキシン類を抽出し、ヘキサン相を濃硫酸で洗浄した。ヘキサン相はさらに固相抽出(Wako gel)により精製した。これらについて、TEFの大きいダイオキシン同族体(TCDD、PeCDD、PeCDF)に親和性の高いモノクローナル抗体を用いるELISAによりTCDD濃度を測定した。

### 統計解析

得られた成績は、5%を有意水準として分散分析を用いて解析した。分散分析で有意差が認められた項目については、Dunnettの多重比較検定あるいはStudent's t-testを用いてコーン油投与群との有意差を検定した。また、回帰分析を行って用量反応性の有無について解析した。

## 3) 幼若ラットに対する誘起排卵モデルを用いたAhRアゴニストindigoの影響評価

### 動物

秦野研究所において、1)および2)と同系統の養母哺育下にあるSD系幼若雌ラット50匹を購入した。動物は1)および2)と同様に、午前7時点灯、午後7時消灯の照明条件下で、養母1匹当たり10匹を哺育させた。21日齢に離乳して体重別無作為層化法により10匹ずつ5群に分けて5匹ずつケージに収容して飼育した。

### Indigo懸濁液の調製

Indigo(Sigma)は、秤量して乳鉢で磨砕しながらコーン油に懸濁し、5mg/mLおよび20mg/mLに調製した。

### IndigoおよびeCG投与

各濃度のindigoは24日齢の午前9時に1回あるいは、24日齢の午前9時から24時間おきに27日齢まで4回、5mL/kgずつ経口投与した。対照群の動物のうち、5匹は24日齢の午前9時に1回だけ、残りの5匹は24日齢から24時間おきに27日齢ま

で4回コーン油 5 mL/kg を経口投与した。コーン油あるいは indigo の投与量は毎日測定する体重を基に算出した。eCG は全例の動物に対して、25日齢の午前9時に5IUを皮下投与した。

#### 剖検および観察

動物はペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死させ、肝臓、胸腺、卵巣および子宮を採取し、それらの重量を測定した。また、卵管を採取し、実体顕微鏡下で、黄体数、および排卵数を数えた。さらに、後日の解析に備えて、各群の約半数の動物について、肝臓の一部および卵巣を氷冷保存液 (RNAlater) に浸漬し、4°Cで約24時間保管した後、-20°Cで保存した。

#### 4) 卵胞発育関連遺伝子発現量の定量システム確立

麻布大学の協力を得て、Real-Time RT-PCR 装置を用いた mRNA 定量システムの確立を計った。初年度は、ダイオキシン関連遺伝子の定量システムをセットアップしたので、今年度は、卵胞の発育に伴って、卵胞の顆粒膜細胞、莢膜細胞あるいは卵細胞に発現してくる、c-kit、kit ligand、bone morphogenetic protein (BMP)-15、inhibin  $\alpha$ 、inhibin/activin  $\beta$  A および  $\beta$  B、cytochrome P450 aromatase、follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) ならびに luteinizing hormone receptor (LHR) をそれぞれコードする mRNA 定量システムを構築した。すなわち、市販ソフトウェア Primer Express v. 1.5 (Applied Biosystems) を用いて、プライマーおよび TaqMan 標識プローブの塩基配列を選定し、入手した。成熟ラットの卵巣から、TriZol (GIBCO BRL) を用いて総 RNA を抽出した。得られた総 RNA を DNase I で処理し、それを鋳型として oligo-dT (GIBCO BRL) をプライマーにして逆転写酵素 (SuperScript II RT、GIBCO BRL) を用いて cDNA を合成した。得られた cDNA を段階希釈して、入手したプライマーおよび TaqMan 標識プローブとともにプリズム 7700 で増幅し、各 mRNA について希釈段階毎の threshold cycle (Ct) 値を求めた。

#### 倫理面への配慮

使用した各飼育施設の規定に従って動物実験を行った。また、ダイオキシン類の取り扱いに関しては EPA Method 8280 に準拠して実施した。

#### C. 研究結果

##### 1) ケミカルハザード対応飼育環境下における排卵誘起

排卵検査結果ならびに器官重量を図1に示した。

ビニールアイソレーター内で1ケージ当たり2匹を収容して飼育した群(4群)の1例を除き、全例に排卵が誘起された。また、数えられた排卵数に、群間で差は認められなかった。

誘起排卵が認められなかった例の卵巣重量は他の動物と比較して低く、子宮は内腔に水様液が貯留し、重量が増加していた。その他の動物の子宮重量および卵巣重量は群間で差は認められなかった。

##### 2) 既報の再追試および組織中 TCDD 濃度と影響の相関性に関する検討

体重増加、器官重量の推移、排卵数、ならびに血漿および組織中の TCDD 濃度を図2~5に示した。

対照群と比較して、TCDD 16 mg/kg 投与群の体重は低値の傾向を示したが、いずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった(図2)。

肝臓重量(図3)は、対照群および TCDD 投与群のいずれにおいても投与後の日時の経過に伴って増加したが、TCDD 16 mg/kg 投与群では、その程度が著しく、投与後72時間には、対照群との間で有意差が認められ、投与後96時間には対照群の約1.2倍の値となった。投与後96時間における肝臓重量は、TCDDの用量と正の相関性を示し( $R=0.638$ ,  $p=0.0008$ )、対照群と比較すると、4 mg/kg 以上の投与群において有意差が認められた。

胸腺重量(図3)は、対照群では投与後の日時の経過に伴い増加する傾向が認められたが、TCDD 16 mg/kg 投与群では、次第に低下し、投与後72時間には、対照群との間で有意差が認められ、投与後96時間には投与後6時間の約60%の値となった。投与後96時間における胸腺重量は、TCDDの用量と負の相関性を示し( $R=-0.68$ ,  $p=0.0003$ )、対照群と比較すると、4 mg/kg 以上の投与群において有意差が認められた。

卵巣重量および子宮重量(図4)については、TCDDを16 mg/kg 投与しても、その6時間後に

TCDD 投与の影響は認められなかった。TCDD 投与後 24 時間に投与した eCG の性腺刺激作用により、その 48 時間後 (TCDD 投与後 72 時間) における卵巣重量および子宮重量は増加したが、対照群と TCDD 16 mg/kg 投与群との間で有意差は認められなかった。さらに、その翌日 (TCDD 投与後 96 時間) の排卵検査では、いずれの用量の TCDD 投与群においても排卵が認められ、排卵数、卵巣重量および子宮重量には対照群と TCDD 各投与群との間で有意差は認められなかった。

TCDD 16 mg/kg の経口投与により、投与後 6、72 および 96 時間のいずれの時点においても血漿中に TCDD が検出され、その濃度は、投与後 6 時間が最も高く、投与後 72 および 96 時間は同様の値で推移した。TCDD 投与後 96 時間には、すべての用量群について血漿中 TCDD 濃度を測定したが、4 mg/kg 投与群まで測定可能な濃度を示した (図 5)。

TCDD は、肝臓において最も高濃度に検出され、16 mg/kg 投与群では、測定時点の間で明瞭な差は認められなかった。TCDD 投与後 96 時間には全ての用量群について肝臓中 TCDD 濃度を測定したが、対照群以外の肝臓から TCDD が検出され、その濃度は TCDD の用量と正の相関を示した ( $R=0.921$ )。また、肝臓重量あるいは比体重値との間にも、それぞれ有意な正の相関が認められた (肝臓重量:  $R=0.470$ ,  $p=0.02$ ; 比体重値:  $R=0.721$ ,  $p<0.0001$ ) (図 5)。

TCDD は、胸腺においても検出され、16 mg/kg 投与群では、投与後 6 時間における濃度が最も高く、投与後 72 時間および 96 時間は同様の値で推移した。TCDD 投与後 96 時間には全ての用量群について TCDD 濃度を測定したが、対照群以外の胸腺から TCDD が検出され、その濃度は TCDD の用量と正の相関を示した ( $R=0.764$ )。また、胸腺重量あるいは比体重値との間にも、それぞれ有意な負の相関が認められた (胸腺重量:  $R=-0.617$ ,  $p=0.001$ ; 比体重値:  $R=-0.564$ ,  $p=0.004$ ) (図 5)。

### 3) 幼若ラットに対する誘起排卵モデルを用いた AhR アゴニスト indigo の影響評価

剖検時の体重、排卵検査成績および器官重量を図 6 に示した。

Indigo を、単回経口投与しても、また、剖検前日まで毎日経口投与しても、体重に投与の影響は

認められず、また、eCG 投与によって全例に排卵が誘起された。その際、測定した卵巣、子宮、肝臓および胸腺の各重量も対照群と indigo 投与群との間で有意差は認められなかった。

### 4) 卵胞発育関連遺伝子発現量の定量システム確立

卵細胞に発現するをそれぞれコードする mRNA 定量システムを構築した。成熟ラットの卵巣から合成した cDNA を約 3 万倍まで段階希釈して、Real Time RT-PCR 装置を用いて c-kit、kit ligand、BMP-15、cytochrome P450 aromatase、inhibin  $\alpha$ 、inhibin/activin  $\beta$ A および  $\beta$ B、FSHR ならびに LHR をコードする cDNA を定量した。最低濃度の cDNA において増幅が認められる点における蛍光強度 ( $\sigma$ Rn) と最高濃度の cDNA が指数関数的増幅を終える点における  $\sigma$ Rn の中間点を算出し、その  $\sigma$ Rn に到達する増幅回数 (Ct 値) を各濃度について求めた。これを縦軸にとり、対数変換した希釈濃度を横軸にとると、図 7 に示したように、良好な直線性が得られた。

### D. 考察

#### 1) ケミカルハザード対応飼育環境下における排卵誘起

本研究において、eCG 投与により排卵が誘起されることは、TEF 検証のための実験条件を構築する上で最も重要な前提条件である。前年度において、この前提条件が満たされることを、通常の動物飼育環境条件で確認した上で既報の追試を行ったところ、eCG 投与により卵胞は発育したにもかかわらず、排卵しない例が TCDD 投与とは無関係に多数例に認められた。卵巣および子宮の所見から、性腺刺激ホルモンサージが起こらなかったものと、飼育環境が影響を及ぼしているものと推測された。そこで、今回は、まず、雌ラットの生殖リズムを規定する上で大きな影響を及ぼす照明条件について、点灯および消灯時刻を、条件検討を行った飼育環境と同一になるよう 1 時間遅くして、eCG 投与 2 時間前に点灯するように変更した。その上で、ケミカルハザードに対応して飼育するために採用した、ビニールアイソレーター内での群飼育が幼若動物に対する誘起排卵に影響を及ぼすのかどうかを検討した。その結果、1 例を除き全

例に排卵が誘起され、前年度において排卵が誘起されなかった主要な原因は、点灯および消灯時刻の1時間の違いによるものと考えられた。排卵が誘起されなかった1例の子宮および卵巣は、前年度の既報の追試の際に排卵が誘起されなかった例と同様の所見を示しており、eCG 投与により卵胞は発育したものの、性腺刺激ホルモンサージが起こらなかったため、排卵が誘起されなかったものと考えられる。

## 2) 既報の再追試および組織中 TCDD 濃度と影響の相関性に関する検討

既報において排卵数および卵巣重量を 50%以下に低下させると報告されている用量を高用量に設定し、再度既報を追試したが、全例に排卵が誘起され、排卵数および卵巣重量ともに TCDD 投与の影響は認められなかった。一方、TCDD の標的器官として知られている肝臓および胸腺の重量は、TCDD の用量に依存して変化していた。さらに、4 mg/kg 以上の用量では、eCG 投与前である TCDD 投与後 6 時間から排卵検査時まで血漿中に TCDD が検出され、この間、卵巣は、絶えず TCDD の曝露を受けていたことが確認された。従って、本実験条件下では、16 mg/kg までの TCDD には Gao が報告しているような排卵抑制や卵巣重量の増加抑制といった影響はないと考えられた。

本研究と既報との間で、対照群における排卵数あるいは卵巣重量を比較したが著しい差は認められなかった。また、体重増加抑制を指標として、TCDD の影響を既報と本研究との間で比較したが、既報における体重増加抑制に関する最小有効量が 8 mg/kg であり、本研究では、対照群との間に有意差は認められなかったが、16 mg/kg 投与により体重増加抑制傾向が認められたことから、既報と本研究との間で大きな差はないものと考えられる。誘起排卵に対する抑制作用を指標として TEF を検証するためには、既報における高用量の 32 mg/kg あるいはそれ以上の用量を用いて陽性対照物質としての作用を確認する必要があると考えられる。

今回の追試から、誘起排卵に対する影響を指標として TEF が小さいダイオキシン類を検証する場合には、用いる用量はさらに大きくなることが予測される。こうした物質については、用量が低くても変化の認められるエンドポイントが必要と

される。TCDD が培養顆粒膜細胞における遺伝子発現に対して影響を及ぼすことは数多く報告されている。また、TCDD あるいはコプラナー-PCB 類による経胎盤および経乳汁曝露を受けたラットの卵巣では、ステロイドホルモン合成酵素、*inhibin/activin* サブユニット、性腺刺激ホルモン受容体をコードする mRNA の量が低下していることが報告されている (Damahapatra et al., 2000; Sakurada et al., 2002)。さらに、Petroff らは、排卵前後における卵胞の解析から、TCDD の投与によって、卵胞の LHR を介した一連の分子の誘導が影響を受けるため、卵胞の破裂が阻害を受けて排卵が抑制されると提唱している (Petroff et al., 2001)。これらのことから、本研究における実験系においても、ダイオキシン類の投与から誘起排卵処置を経て排卵するまでの間に、卵巣において誘導されてくる遺伝子の発現量は、誘起排卵数が減少しなくても変動しているものと推測される。こうした遺伝子群の発現量をエンドポイントとすることは TEF の小さいダイオキシン類の検証において有用であると考えられる。

今回、肝臓あるいは胸腺中の TCDD 濃度を測定した結果、TCDD 濃度とこれらの器官重量との間に良好な相関性が認められた。卵巣における TCDD 濃度は測定しなかったが、TCDD に対する感受性を推測する上で、卵巣中の TCDD 濃度も知る必要があると考えられる。

## 3) 幼若ラットに対する誘起排卵モデルを用いた AhR アゴニスト indigo の影響評価

Indigo は、AhR に対して TCDD と同等以上の親和性 ( $K_d=1.9$  nM) を有し (Rannung et al., 1992)、*in vitro* において AhR を介して AhR 標的遺伝子を誘導することから (Adachi et al., 2001)、AhR に対する内因性リガンドの候補のひとつとして考えられている。しかし、本研究において 100 mg/kg を 4 日間反復経口投与しても、TCDD 投与にみられたような肝臓あるいは胸腺重量の変化は認められないことが確認された。

## 4) 卵胞発育関連遺伝子発現量の定量システム確立

卵巣から合成した cDNA を用いた検討では、いずれの遺伝子も定量が可能であることを確認した。

ダイオキシン類のひとつである 3,3',4,4',5-pentachloro-biphenyl (PCB 126)の経胎盤および経乳汁曝露を受けた雌ラットは、幼若期における卵巣中インヒビンサブユニット mRNAs、cytochrome P450 aromatase mRNA、FSHR mRNA および LHR mRNA の発現量に低下が認められている。また、eCG 投与を受けた卵巣から得られた顆粒膜細胞に TCDD を添加して培養すると、aromatase 活性および mRNA の発現量の低下することが報告されている(Dasmahapatra et al., 2000)。従って、今回確立した測定システムにより、TCDD によって重量変化が認められない卵巣に生じた変化を検出できるものと期待される。

#### E. 結論

本研究において採用したケミカルハザード対応飼育環境は排卵誘起に影響を及ぼさないことが確認され、再度既報を追試したが、肝臓および胸腺重量には、TCDD の用量あるいは組織中濃度に依存した変化が認められたにもかかわらず、誘起排卵および卵巣重量に対する影響は確認できなかった。また、AhR に対して TCDD と同等の結合親和性を有する indigo には、TCDD 投与によって認められた肝臓あるいは胸腺重量に対する影響は認められなかった。これらのことから、ダイオキシン類の TEF 検証において肝臓および胸腺重量は有効な指標であると結論されたが、雌性生殖については、さらに高い用量の TCDD を投与して陽性対照物質としての作用を確認するとともに、TEF の小さいダイオキシン類の検証のために卵胞発育関連遺伝子の発現量を定量する必要があると結論された。

#### F. 健康危惧情報

現在までのところ、報告すべき情報はまだ得られていない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

##### 1) 書籍

- 1) 代田眞理子. 内分泌攪乱物質の雌性生殖機能への影響. 堤 治 編「内分泌攪乱物質」、Bio Clinica 15 巻、廣川書店 (2000) pp.139-144.

- 2) Okuyama M, Matsuki Y, Nakazawa H. The role of enzyme-immunoassay in analysis of dioxins. Journal of Food Hygienic Society of Japan. 42: J233-J238 (2001).
- 3) 代田眞理子. 内分泌攪乱化学物質. 田谷一善、三宅陽一 編、「新しい家畜繁殖学」、臨床獣医 20 巻、チクサン出版 (2002) pp.174-180.
- 4) 代田眞理子. Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)による組織中 mRNA の定量、秦野研究所年報 25 巻(2002)pp.115-123.

##### 2) 雑誌

- 1) Akutsu K, Obana H, Okihashi M, Kitagawa M, Nakazawa H, Matsuki Y, Makino T, Oda H, Hori S. GC/MS analysis of polybrominated diphenyl ethers in fish collected from the Inland Sea of Seto, Japan. Chemosphere. 44:1325-1333 (2001).
- 2) Shirota M, Soda S, Katoh C, Asai S, Sato M, Ohta R, Watanabe G, Taya K, Shirota K. Effects of reduction of the primordial follicle-stockpile size on follicular development to achieve puberty in female rats. Reproduction 125: 85-94 (2003).

##### 2. 学会発表

- 1) Saito K, Ogawa M, Takekuma M, Kobayashi S, Sugawara Y, Nakazawa H, Matsuki Y. Development of dioxin toxicity evaluation method in human milk by enzyme-linked immunosorbent assay (Part II: Examination of preprocessing technique to make ELISA compatible with GC/MS method): ORGANOHALOGEN COMPOUNDS. 45: 168-171 (2000).
- 2) Sugawara Y, Saito K, Ogawa M, Kobayashi S, Shan G, Hammock BD, Nakazawa H, Matsuki Y. Development of dioxin toxicity evaluation method in human milk by enzyme-linked immunosorbent assay (Part III: Assay validation for human milk). ORGANOHALOGEN COMPOUNDS. 45: 172-175 (2000).
- 3) Nakazawa H, Sugawara Y, Saito K, Ogawa M,

- Kobayashi S, Matsuki Y. Development of dioxin toxicity evaluation method in human milk by enzyme-linked immunosorbent assay (Part I: Basic strategy for methodology construction) *ORGANOHALOGEN COMPOUNDS*. 45: 176-179 (2000).
- 4) Hori S, Akutsu K, Kitagawa M, Oda H, Nakazawa H, Matsuki Y. Development of analysis for polybrominated diphenyl ether in seafood and actual contamination of seafood. *ORGANOHALOGEN COMPOUNDS*. 47: 214-217 (2000).
  - 5) Anjo T, Okuyama M, Satoh M, Kambegawa A, Matsuki Y. Synthesis of new dioxin haptens and development of enzyme immunoassay for dioxins using polyclonal antibodies. *ORGANOHALOGEN COMPOUNDS*. 45: 224-227 (2000).
  - 6) Shirota M, Kitazawa I, Inoue K, Doyama A, Mukai M, Haishima A, Yamamoto K, Katoh C, Soda S, Kawabata A, Akahori F, Shirota K. Adverse effects of *in utero* and lactational exposure to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 126) on the first ovulation in rats. *ORGANOHALOGEN COMPOUNDS*. 49: 356-358 (2000).
  - 7) 代田真理子, 北澤郁恵, 井上薫, 堂山有理, 迎素子, 配島淳子, 山本健二, 加藤千恵, 曾田祥恵, 川端敦, 赤堀文昭, 代田欣二: 3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl (PCB126)の子宮内および経乳汁曝露が雌ラットの春機発動に及ぼす影響. 第93回日本繁殖生物学会要旨集, II-3-33, p.18 (2000).
  - 8) 堂山有理, 井上薫, 北澤郁恵, 迎素子, 配島淳子, 山本健二, 加藤千恵, 川端敦, 曾田祥恵, 赤堀文昭, 代田真理子, 代田欣二: コプラナーPCBの次世代への生体影響: 出生子の腎臓におけるCYP1A1誘導. 第130回日本獣医学会学術集要旨集 10F-2, p.210 (2000).
  - 9) 迎素子, 井上薫, 北澤郁恵, 堂山有理, 配島淳子, 山本健二, 加藤千恵, 川端敦, 曾田祥恵, 池田輝雄, 赤堀文昭, 代田真理子, 代田欣二: コプラナーPCBの次世代への生体影響: 出生子の肝臓におけるCYP1A1誘導. 第130回日本獣医学会学術集要旨集, 10F-3, p.210 (2000).
  - 10) 山本健二, 代田真理子, 井上薫, 迎素子, 堂山有理, 配島淳子, 加藤千恵, 川端敦, 曾田祥恵, 赤堀文昭, 代田欣二: コプラナーPCB曝露ラットの雌出生子に認められた外部泌尿生殖器の形態異常. 第130回日本獣医学会学術集要旨集 10F-4, p.210 (2000).
  - 11) 配島淳子, 迎素子, 堂山有理, 井上薫, 北澤郁恵, 代田真理子, 赤堀文昭, 代田欣二: コプラナーPCB曝露ラットの出生子におけるThy-1腎炎. 第130回日本獣医学会学術集要旨集 P9-5, p.241 (2000).
  - 12) Saito K, Takekuma M, Ogawa M, Kobayashi S, Sugawara Y, Ishizuka M, Nakazawa H, Matsuki Y. Study of extraction and cleanup methods of dioxins in house dust. *ORGANOHALOGEN COMPOUNDS*. 50: 134-137 (2001).
  - 13) Yamamoto K, Shirota M, Inoue K, Doyama A, Mukai M, Haishima A, Katoh C, Soda S, Kawabata A, Shirakura K, Sakurada Y, Akahori F, Shirota K. *In utero* exposure to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 126) induces hypospadias in female rats. *ORGANOHALOGEN COMPOUNDS*. 53: 303-305 (2001).
  - 14) Nakazawa H, Saito K, Takekuma M, Ogawa M, Kobayashi S, Sugawara Y, Ishizuka M, Matsuki Y. Development of dioxin toxicity evaluation method in human milk by enzyme-linked immunosorbent assay (Part IV: A study on simplification of pretreatment). *ORGANOHALOGEN COMPOUNDS*. 54: 55-58 (2001).
  - 15) Ishizuka M, Sugawara Y, Saito K, Takekuma M, Ogawa M, Kobayashi S, Shan G, Hammock BD, Nakazawa H, Matsuki Y. Development of dioxin toxicity evaluation method in human milk by enzyme-linked immunosorbent assay (Part V: A study on



- improvement of stability). ORGANOHALOGEN COMPOUNDS. 54: 59-61 (2001).
- 16) Okuyama M, Endo W, Anjo T, Kambegawa A, Kobayashi N, Goto J, Matsuki Y. Enzyme-linked immunosorbent assay for dioxins based on monoclonal antibodies. ORGANOHALOGEN COMPOUNDS. 54: 77-80(2001).
- 17) 曾田祥恵, 加藤千恵, 代田欣二, 太田亮, 佐藤昌子, 代田眞理子. 幼若ラットの卵巣における卵胞数評価方法に関する検討第 94 回日本繁殖生物学会, The Journal of Reproduction and Development 47 suppl.: P-16 (2001).
- 18) Sakurada Y, Mukai M, Kitazawa I, Inoue K, Doyama A, Haishima A, Akahori F, Shirota M, Shirota K, Induction of CYP1A1 in the liver of offspring by *in utero* and lactational exposure to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. 第 4 回日本内分泌攪乱化学物質学会研究会要旨集 PD-56, p.350 (2001).
- 19) Okuyama M, Endo W, Anjo T, Matsuki Y, Hori S., Kobayashi N., Goto J, Itoh J. Development of simple and rapid purification methods for bioanalytical detection of dioxin. ORGANOHALOGEN COMPOUNDS. 58: 365-368 (2002).
- 20) Shirota M, Soda S, Katoh C, Asai S, Sato M, Ohta R, Watanabe G, Taya K, Shirota K. Effects of reduction in primordial follicle-stockpile size on neonatal follicular development and hormone levels in the rat. 35<sup>th</sup> Annual Meeting of Society for the Study of Reproduction, Biology of Reproduction 64 suppl. 1:212, pp.189-190 (2002).
- 21) 櫻田陽右, 代田眞理子, 代田欣二. コプラナーPCB 曝露ラット出生子卵巣における遺伝子動態の定量的解析. 第 95 回日本繁殖生物学会大会要旨集 PA-2, p.139 (2002).
- 22) 加藤千恵, 曾田祥恵, 代田欣二, 代田眞理子. コプラナーPCB の経胎盤経乳汁曝露がラット乳児の卵巣における卵胞の形成および発育に及ぼす影響. 第 95 回日本繁殖生物学会大会要旨集 PA-3, p.140 (2002).
- 23) Soda, S, Katoh, C, Shirota, K, Shirota, M. The effect of *in utero* and lactational exposure to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl on ovarian follicles of female rats at the first ovulation. 第 5 回日本内分泌攪乱化学物質学会研究会要旨集 PD-69, p.337 (2002).
- H. 知的所有権の取得状況
3. 特許取得  
ダイオキシンに対するモノクローナル抗体 (特願 2000\_315948号)
2. 実用新案登録  
該当なし

図1 飼育環境と誘起排卵数ならびに卵巣および子宮重量

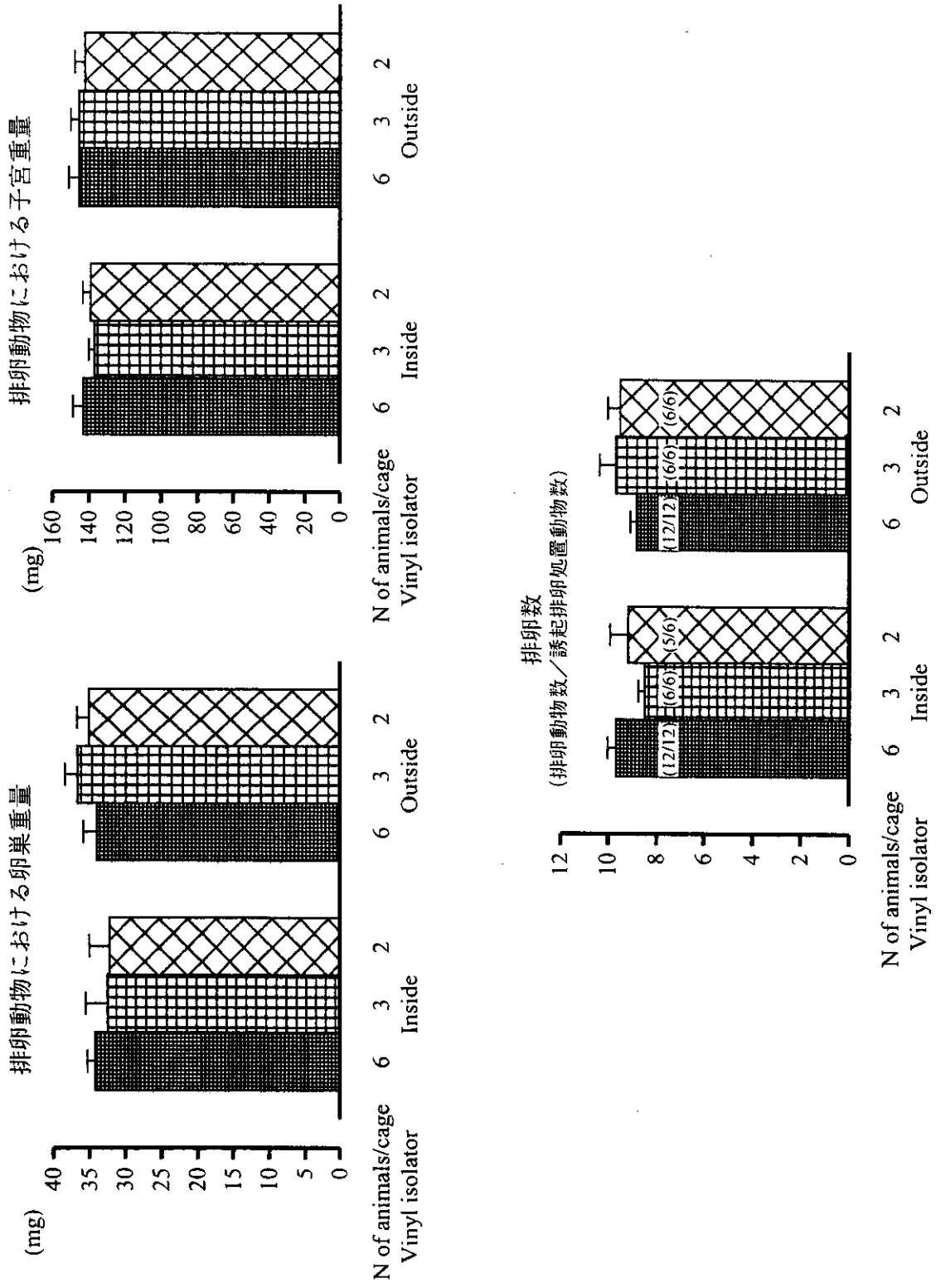


図2 TCDD投与後の体重推移

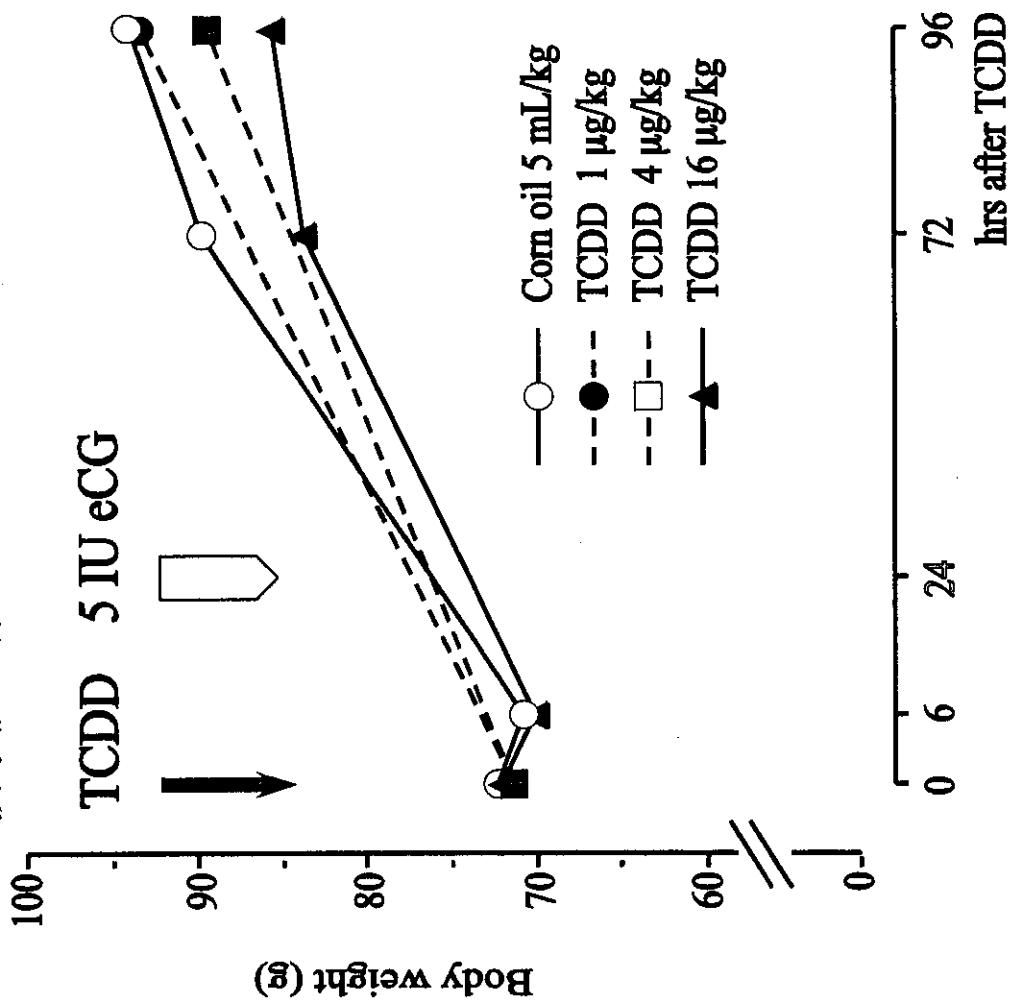


図3 TCDD投与後の肝臓および胸腺重量の推移

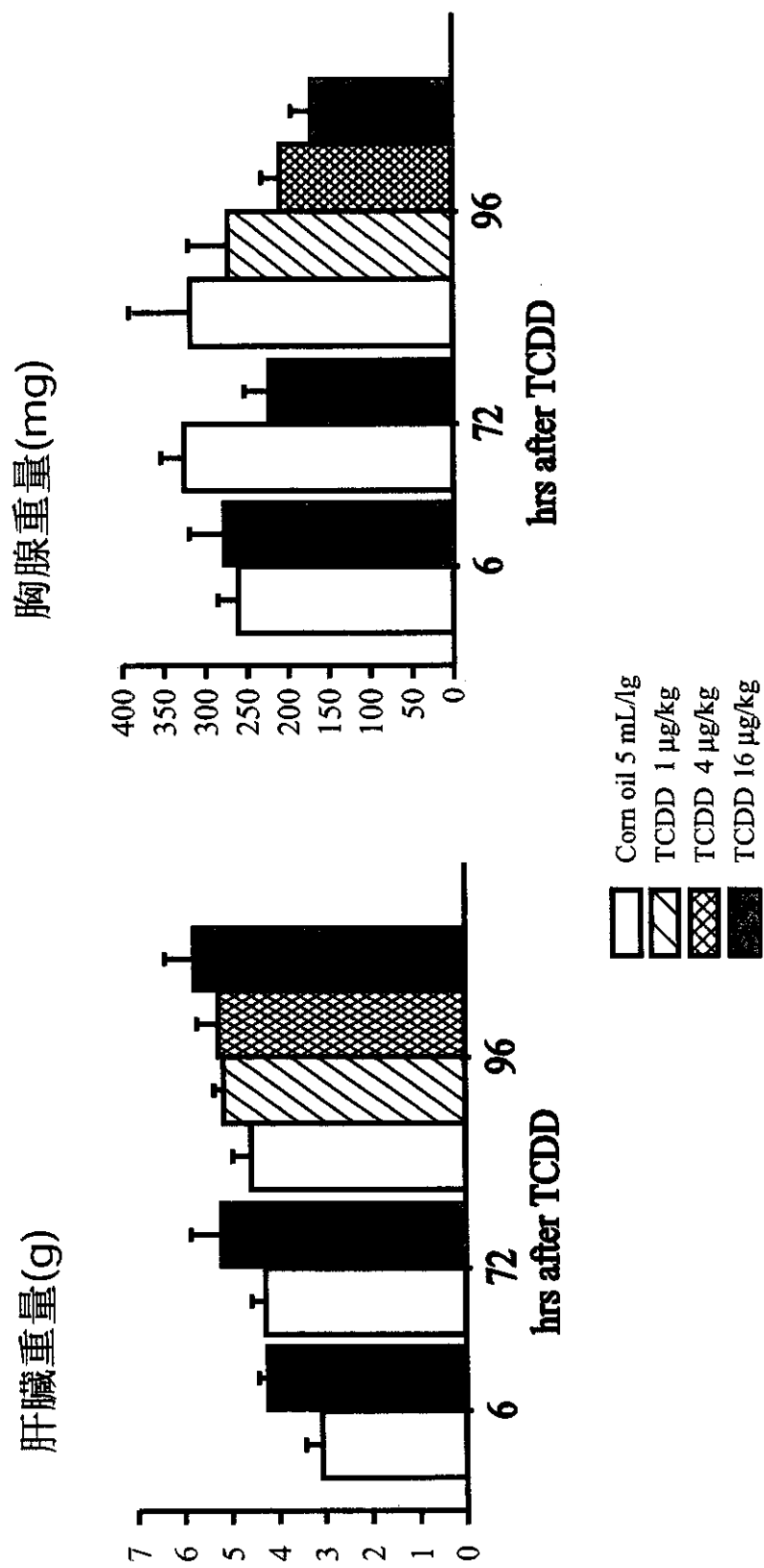


図4 TCDD投与後の卵巣および子宮重量の変化と誘起排卵における排卵数

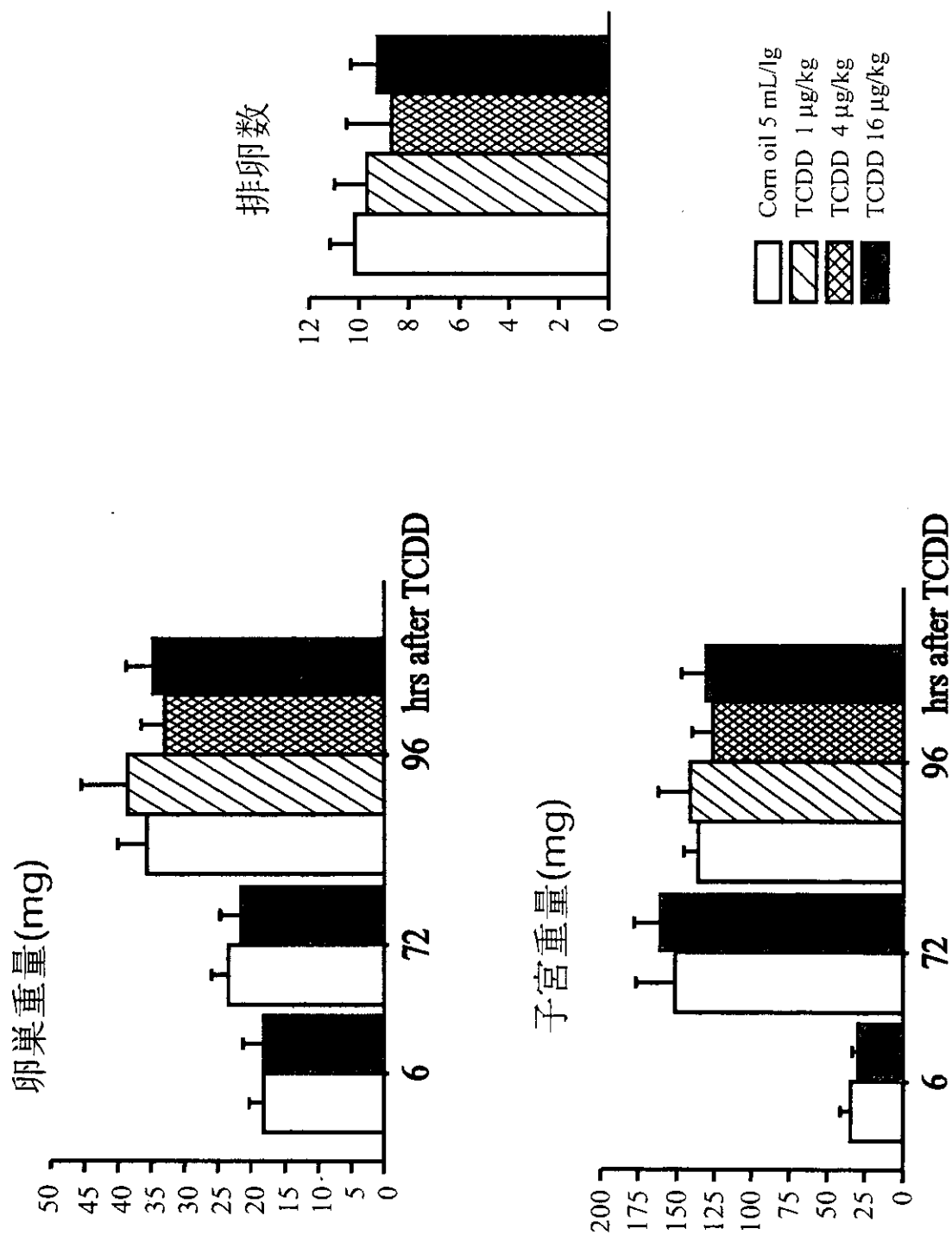


図5 TCDDの体内動態

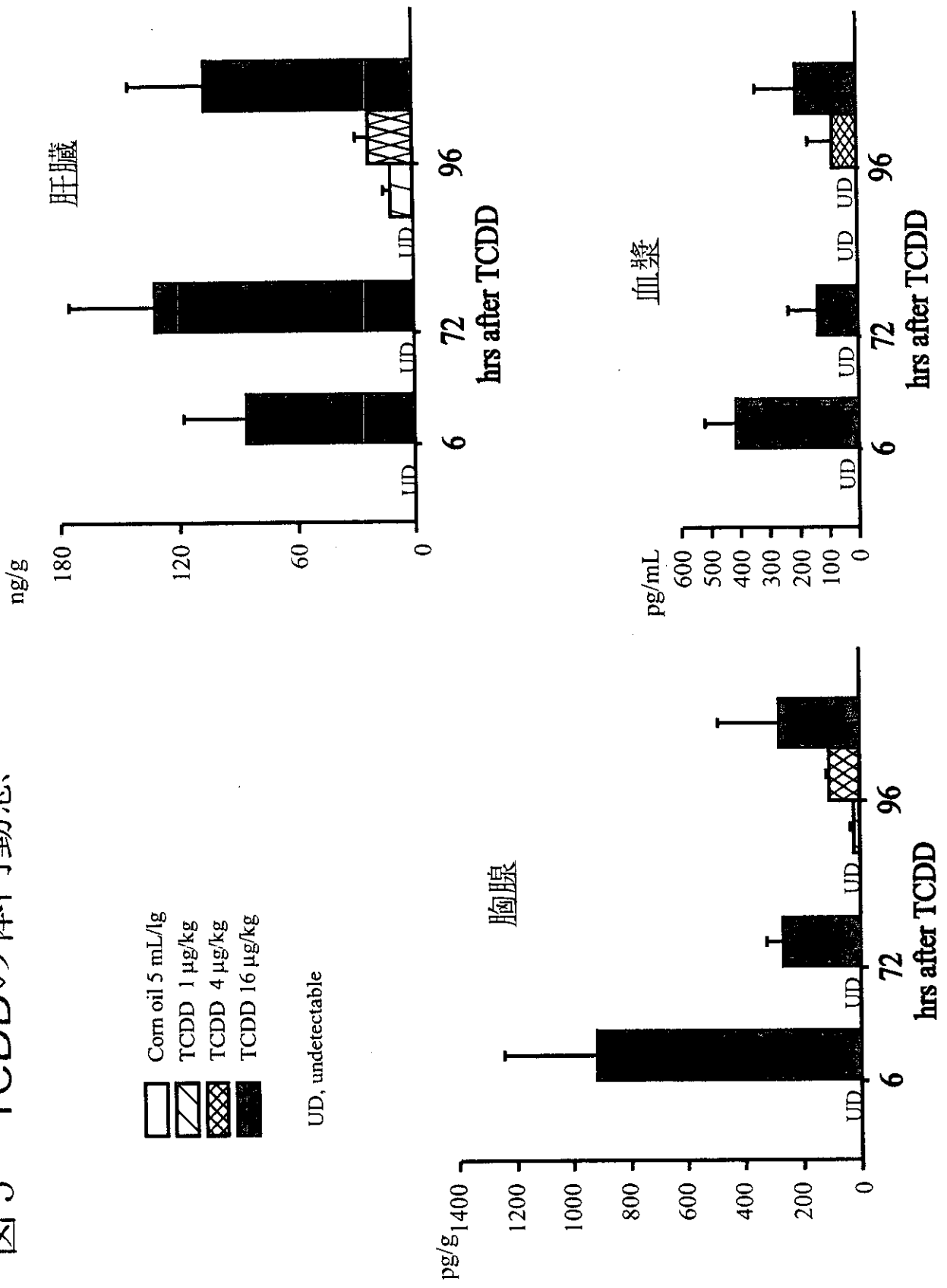


図6 Indigo投与後の体重、誘起排卵数および器官重量

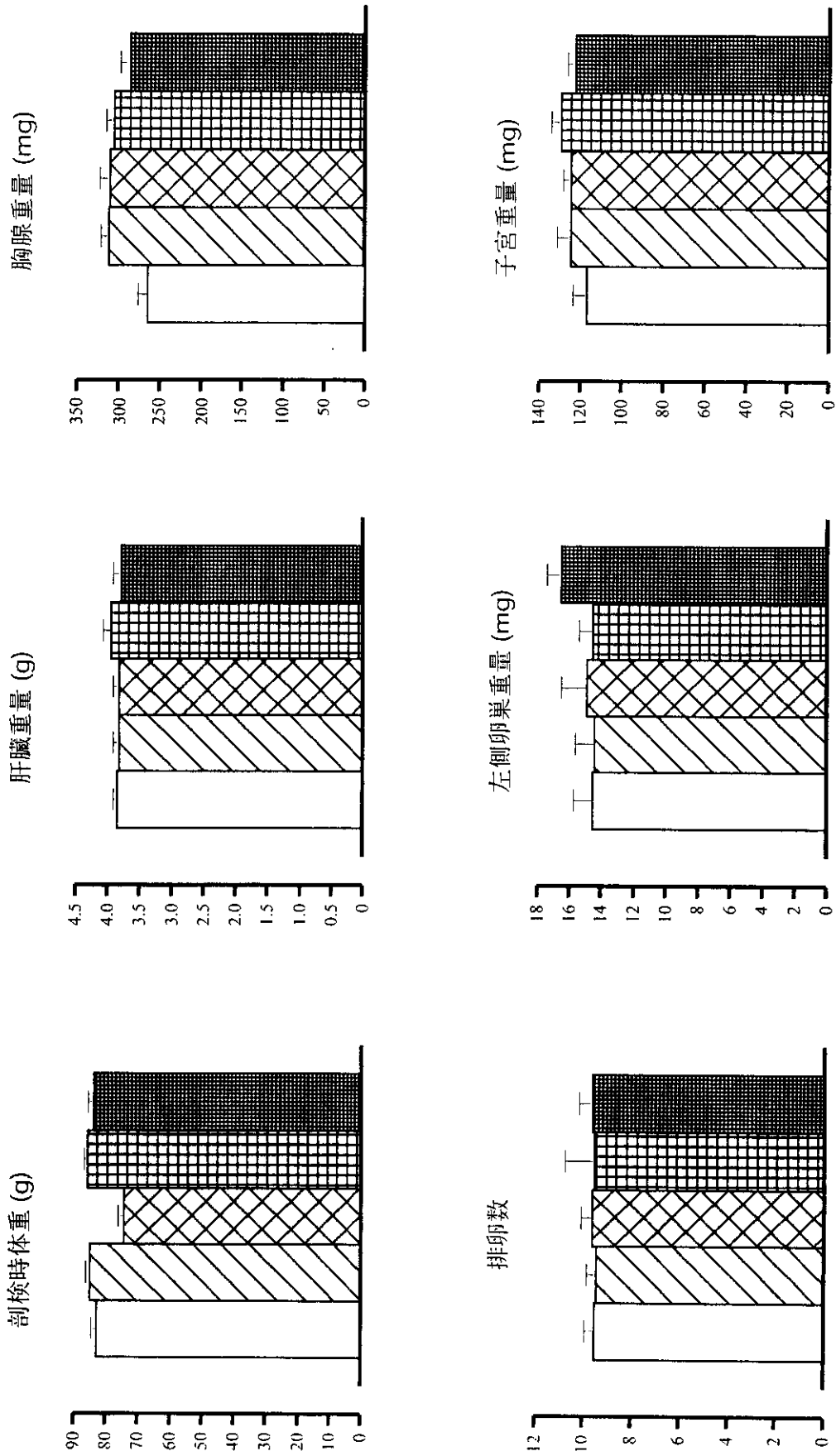
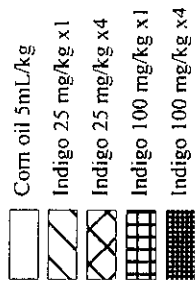
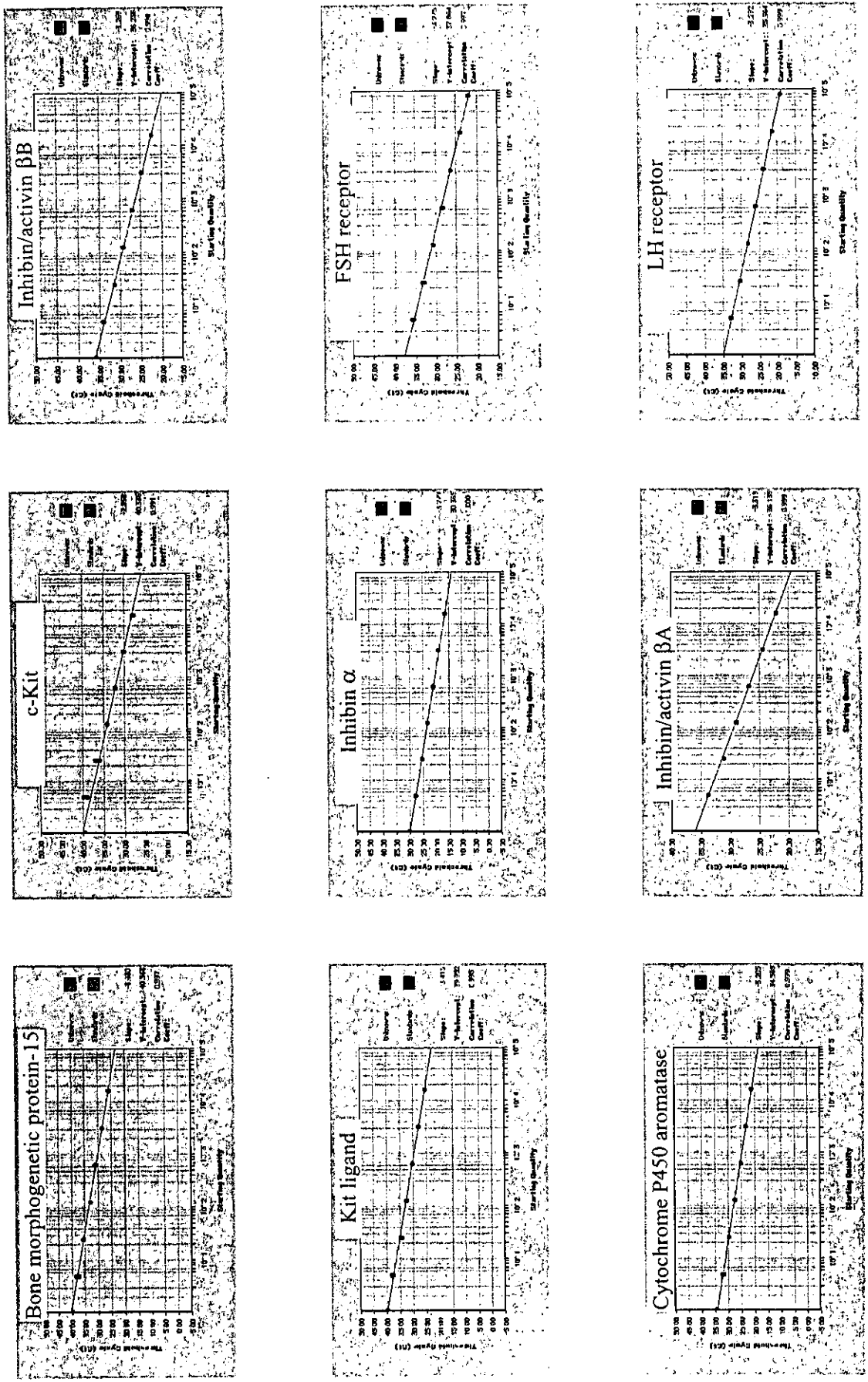


図7 卵胞発育関連遺伝子の定量における卵巣cDNA量とCt値





厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）  
分担研究報告書

ダイオキシン類の短期間雌雄ラットへの暴露が生殖器に及ぼす影響

分担研究者 鈴木 勝士 日本獣医畜産大学教授

研究要旨

TCDD および HxCDD の相対力価を求めるために、卵巣摘出したウィスターイマミチラット近交系の雌に、エストラジオール(E2)の0,0.5,1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  とダイオキシンの存在、不在下で子宮重量増加反応を調べ、生物学的作用の大きさを比較した。TCDD については0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、HxCDD については既存の TEF に鑑み50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  を1回経口投与した。TCDD についてはE2による子宮重量増加に対しその効果を抑制する作用が認められたが、HxCDD については、E2の子宮重量増加作用に何らの修飾もしなかった。肝臓重量に対する影響も2種のダイオキシンで微妙にことなっていた。これらのことは、この2種のダイオキシンが子宮重量増加に関して必ずしも同一の機序で作用しているわけではないことを示唆しており、従来定説となっていた致死作用をもとにしたTEFの決定法には問題があることを示している。今後HB試験を実施してアンドロゲン系の作用との相互作用を検討する必要がある。

A. 研究目的

WHO TEF で最も高値と比較的低値のTCDDとHxCDDについて、UTアッセイを用いて、相対力価を確認する。

B. 研究方法

卵巣摘出ラットにE2および2,3,7,8-TCDDまたは1,2,3,4,7,8-HxCDDを併用投与した際の各TCDDの抗エストロジェン作用の影響を子宮肥大の程度によって検討する。

実施場所：(財)動物繁殖研究所

2,3,7,8-TCDD に関しては以下の時期に実施。

- |          |            |
|----------|------------|
| 1)動物入荷   | 2002年7月30日 |
| 2)卵巣摘出手術 | 2002年7月31日 |
| 3)投与開始   | 2002年8月7日  |
| 4)解剖検査   | 2002年8月21日 |

1,2,3,4,7,8-HxCDD に関しては以下の時期に実施。

- |          |             |
|----------|-------------|
| 1)動物入荷   | 2002年12月13日 |
| 2)卵巣摘出手術 | 2002年12月16日 |
| 3)投与開始   | 2002年12月25日 |
| 4)解剖検査   | 2003年1月8日   |

2,3,7,8-TCDD 試験の化合物：

被験物質-1

- ①名称：2,3,7,8-TCDD(和光純薬)
- ②ロット番号：B1040436
- ③保存条件：密封して冷暗所。

被験物質-2

- ①名称： $\beta$ -estrogen 3 benzoate(シグマ、以降E2と略す)
- ②ロット番号：69F0952
- ③保存条件：室温・暗所

溶媒

- (1)名称：コーンオイル(カラテスカ)
- (2)ロット番号：V5T6868
- (3)保存条件：室温・暗所

1,2,3,4,7,8-HxCDD 試験の化合物

被験物質-1

- ① 名称：1,2,3,4,7,8-HxCDD(和光純薬)
- ②ロット番号：A7090087
- ③ 保存条件：密封して冷暗所。

被検物質-2 および溶媒に関しては TCDD の場合と同じ。

#### F. 投与量および群構成

B. E2 の用量については、本試験に先立ち、E2 の投与量を決定するために実施した予備試験の結果、子宮重量の変化が適切と考えられる用量を用いて下記の用量に設定した。

C. 2,3,7,8-TCDD については、顕著な毒性徴候が認められず、かつ生殖機能に影響が認められる用量として  $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  の用量を設定した。

1,2,3,4,7,8-HxCDD については、TEF に鑑みて  $50 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  を TCDD と同じ影響が見られる用量と考えてその用量を選択した。

#### 動物及び処置

近交系ウィスターイマミチラット

6週齢で卵巣摘出

アイソラック内で維持

TCDD(po)または HxCDD(po)1 回投与、

E2(sc) 14 日間投与：

投与液量： $0.1\text{ml}/100\text{gBW}$  採血および E2 の測定 解剖日にエーテル麻酔下で腹大動脈より全採血する。血液は試験管にとり、遠心分離 ( $3000\text{rpm}$ 、 $10\text{min}$ ) し、血清を得る。血清は  $-80^\circ\text{C}$  で保管する。

#### 病理検査

採血後、病理解剖を行うとともに、卵巣が確実に摘出されていることを確認する。

#### 臓器重量

肝臓、子宮、臈、副腎、甲状腺および下垂体重量を測定する。なお、子宮については、内腔に貯留液がある場合は貯留液を含む重量および貯留液を除いた重量の双方を測定する。子宮については、右側半分をホルマリン固定、残りを液体窒素で凍結した後、 $-80^\circ\text{C}$  で保存する。

#### C. 結果

表 1 および 2 に TCDD および HxCDD の UT 試験における最終剖検時の臓器重量を示し、図 1 および 2 に子宮重量増加に関する影響をグラフで示す。

TCDD については、E2 による子宮重量の用量相関的な増加を一定比率で抑制したが、HxCDD については、E2 単独の影響は再現したものの、その重量増加を何ら修飾しなかった。

#### D. 考察

TCDD は E2 の子宮重量増加作用を一定比率で抑制した。この数値をもとに、TCDD + E2 の効果が E2 単独の何%の効力比に相当するか計算することができるはずである。また、単独群と併用群との

図上の勾配に差がありなお直線で回帰していることから、TCDD は E2 の子宮重量増加作用に対し一定比率で抑制していることが判明したといえる。

それに対して、WHO TEF をもとにすれば、同じ力価であるはずの HxCDD は E2 の子宮重量増加作用に対して何らの修飾も示さなかった。これについては、HxCDD の用量を更に上げて実験しないと、TCDD の場合のような抑制作用が期待できない可能性がある。子宮重量増加作用に関しては WHO TEF はリライアブルな推定根拠を与えていないことが判明した。そのため、効力比を用いて相対力価を求めるためには、HxCDD について予備実験を行い、E2 との併用を行う必要がある。

この点に関しては、単なる用量効果ではなく、メカニズム的に異なっている可能性についても除外できない。

アンドロゲン系に対する作用についても、WHO TEF では説明できない可能性があり、今後同様な実験を行う必要がある。

#### E. 結論

$5 \mu\text{g}/\text{kg}$  TCDD の  $0.5$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  E2 による子宮重量増加に対する抑制効果は、平行移動型ではなく、一定勾配で減少させるタイプのものであった。従って、この抑制効果については、E2 の効力比を用いて表現することができることが確認された。

HxCDD は WHO TEF に基づいて 10 倍高い用量が選ばれたが、TCDD と同等の影響は観察されなかった。

致死作用に基づく TEF が必ずしも、その他の生理作用（毒性を含む）に当てはまらないと考えられた。

#### F. 研究発表

##### 発表論文

1. Takanosu M., Amasaki, H., Iwama, Y., Ogawa, M., Hibi, S. and Suzuki, K. (2002)

Epithelial cell proliferation and apoptosis in the developing murine palatal rugae.

Anat. Histol. Embryol. 31 (1), 9-14.

2.内堀雅隆、横山修一、斉藤賢一、鈴木浩悦、辻隆之、鈴木勝士(2002)癲癇モデル動物の癲癇様睡眠時スパイク波の特徴解析(Analysis of the spike discharges on EEG during sleep in epileptic animal model.)、T. IEE Japan, 122-C(2): 194-200.

3.Uchibori M., K. Saito, S. Yokoyama, H. Suzuki, T. Tsuji and K. Suzuki (2002) Foci of spike discharges in sleeping EEG of E1 mice can be determined mathematically with wavelet transform of multiple monopolar derivations in individual animals based on the electric field model but not current dipole theory. Journal of Neuroscience Method 117(1): 51-63

4.Inomata, A., I. Horii and K. Suzuki (2002) 5-Fluorouracil-induced intestinal toxicity: what determines the severity of damage to murine intestinal crypt epithelia? Toxicol. Letters 133: 231-240.

5.鈴木勝士(2002) 化学物質の内分泌作用判定試験の現状と問題点、医学のあゆみ、202 (2): 147-149.

6.鈴木勝士(2002) 獣医学領域の遺伝性疾患\_1、Small Animal Clinic 127: 14-18.

7.鈴木勝士(2002) 獣医学領域の遺伝性疾患\_2、Small Animal Clinic 128: 18-21.

8.鈴木勝士(2003)獣医学領域の遺伝性疾患 (II)、Small Animal Clinic 130: 13-18. 国際シンポジウム

9.Aoyama, H. and K. Suzuki (2003) Enhanced one-generation reproductive toxicity study in rats for detecting endocrine disrupting effects of chemicals. Proc. Int. Symposium SCOPE/IUPAC (Yokohama 2002)

口頭報告

10.斉藤賢一、鈴木浩悦、鈴木勝士(2002)マウス胎子に見られたマイクロ波照射の熱作用による催奇形、第21回宇宙エネルギーシンポジウム

平成14年度 厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）  
分担研究報告書

研究課題名：ダイオキシン類の健康影響、特にそのTEFを中心としたリスク評価の為の実験  
的基礎研究

分担研究課題名：ダイオキシン類の毒性学的研究における国際動向に関する研究

分担研究者 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

ダイオキシン類による子宮内膜症等の健康影響のリスク評価を行うためには、国内のみならず国際的な動向の最新情報を収集する必要がある。特に、混合物であるダイオキシン類による健康影響を評価するためには、相対的な毒性指標であるTEF (Toxicity equivalent factor) を中心としたリスク評価を行う必要がある。本研究は、海外における最新のダイオキシン類の汚染・暴露状況や健康影響に関する研究の進展状況に関する情報を収集するため、本年度は、スペインのバルセロナで開かれたDioxin'2002 および本年度報告された文献情報で得た知見についてまとめた。未だ評価の確定していない子宮内膜症等の健康影響のリスク評価を確実なものにする為には、国際的な動向の最新情報を収集する必要があり、特に、混合物暴露を受けるダイオキシン類に関しては、その相対的な毒性強度の指標であるTEFを中心にリスク評価を行う必要がある。本研究は、海外における最新のダイオキシン類の汚染・暴露状況や健康影響に関する研究の進展状況に関する情報を収集することを目的とする。特にダイオキシン類による子宮内膜症や胎児期・授乳期暴露による次世代への健康影響に対する研究や、Ah レセプターを介した毒性発現メカニズムに関する情報を収集する。

## A. 研究方法

本年度は、スペインのバルセロナで開かれた22th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and Persistent Organic Pollutants (POPs) : Dioxin'2002 における最新のダイオキシン類の汚染・暴露状況や健康影響に関する研究の進展状況に関する情報を収集した。

## B. 研究結果と考察

### 1. Dioxin'2002

本シンポジウムのセッションは、Topic Analysis、Bioanalysis、Dioxin reduction and prevention、Ecotoxicology、Endocrine Disruptors、Environmental levels and trends、Environmental levels: abiotic compartments、Environmental levels: biotic compartments、Environmental transport and fate、Epidemiology、Food and Feed safety and quality、Formation and Sources、Formation and sources: field

cases

Human Exposure、Levels of PCB、PCDD and PCDF in human milk: 3rd round of WHO-coordinated exposure study、Neurotoxicology、Other halogenated POPs of concern、PCDD/F surrogates and gas monitoring systems for combustion process monitoring、Polybrominated flame retardants、Polychlorinated naphthalenes and DL-PCBs、Quality in POPs analysis

Regulatory aspects related to dioxin、furans and PCBs in the environment、food and feed、Remediation technologies

Risk Assessment、The Ah Receptor and AhR mechanism of action、Toxicology の26セッションに分けられ、それぞれにおいて口頭発表とポスター発表が行われた。本シンポジウムでは、ダイオキシン類を含めた有機化学汚染物質に対して、分析法や生成分解過程、汚染状況、毒性、毒性発現機序、疫学調査、リスクアセスメント・マネジメントと幅広