

## II 甲状腺

### 甲状腺機能亢進症

# 新生児甲状腺機能亢進症と甲状腺中毒症

Neonatal hyperthyroidism and thyrotoxicosis

Key words: 新生児甲状腺機能亢進症, 新生児甲状腺中毒症, TSH 受容体抗体, 新生児一過性中枢性甲状腺機能低下症, TSH 受容体遺伝子変異

松浦信夫

### 1. 概念・定義

新生児甲状腺機能亢進の状態には甲状腺機能亢進症 (hyperthyroidism) と甲状腺中毒症 (thyrotoxicosis) がある。前者は新生児バセドウ病とも呼ばれ、母親から経胎盤的に児に移行した甲状腺受容体抗体により児の甲状腺が刺激され、甲状腺ホルモン産生が増加して発症する。移行した抗体は時間とともに消退するので、症状は自然に改善し一過性の病態をとる<sup>1,2)</sup>。一方、甲状腺中毒症は母親の T4 が経胎盤的に児に移行し、一過性に甲状腺機能亢進状態になる。この場合、児の甲状腺自体のホルモン合成促進はない。出生後急速に T4 は低下し、中枢性甲状腺機能低下症に移行する。

近年新生児永続性甲状腺機能亢進症の病因が TSH 受容体遺伝子の機能獲得性変異 (gain-of-function mutation) によることが明らかにされた<sup>3)</sup>。

### 2. 病 因

表 1 に病因別の分類を示した。

#### a. TSH 受容体抗体による甲状腺機能亢進症

##### 1) 甲状腺機能亢進症の母親より移行した TSH 受容体抗体

最も一般的な病型である。母親の多くは強い TSH 受容体抗体活性を有している<sup>1,2)</sup>。TRAb 活性 70% 以上、TSAb 活性 500% 以上のときに発症が考えられる。

##### 2) 甲状腺機能低下の自己免疫性甲状腺疾患の母親よりの遅発性新生児甲状腺機能亢進症

前述の 1) に比較すると、頻度は著しく低い。自己免疫性甲状腺疾患で甲状腺機能低下症の治療を受けている母親より出生した児が、やや遅れて甲状腺機能亢進症を発症する<sup>4)</sup>。自己免疫性甲状腺疾患を有する母親の血清中には TSH 受容体刺激抗体、刺激阻害抗体が混在している。母親の抗体活性は総和として甲状腺機能低下症になっているが、児に移行した抗体はその抗体活性が減衰してくる過程で、阻害活性がより早く活性を失い、結果として相対的に刺激抗体が強くなり遅発性に機能亢進症を呈すると考えられる<sup>4)</sup>。

表 1 新生児甲状腺機能亢進症の病因的分类

- |  |
|--|
| 1. 母親より経胎盤的に移行した TSH 受容体抗体による新生児甲状腺機能亢進症                       |
| 1) 甲状腺機能亢進症の母親より経胎盤的に移行した TSH 受容体抗体                            |
| 2) 甲状腺機能低下の自己免疫性甲状腺疾患の母親より経胎盤的に移行した TSH 受容体抗体による遅発性新生児甲状腺機能亢進症 |
| 2. 母親から経胎盤的に移行した T4 による甲状腺中毒症                                  |
| 3. TSH 受容体遺伝子の機能獲得性遺伝子変異による新生児持続性甲状腺機能亢進症                      |
| 4. 下垂体性甲状腺ホルモン不応症  |

Nobuo Matsuura: Department of Early Childhood Education, Faculty of Humanities, Seitoku University 聖徳大学  
人文学部 児童学科

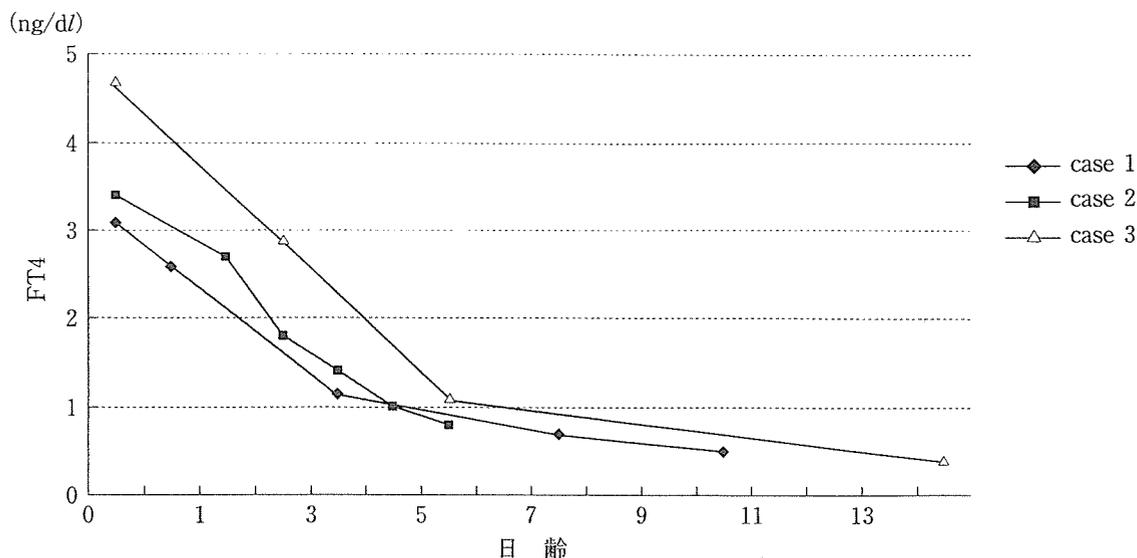


図1 母親から経胎盤的に移行したT4による甲状腺中毒症

母親が甲状腺クリーゼで緊急帝王切開で娩出した。化骨促進があり、頻脈を認めたが治療後急速にFT4値は低下し、中枢性甲状腺機能低下症に陥った(case 1)。case 2, 3は既報文献<sup>5,11)</sup>の症例のFT4値をプロットしたものである。

## b. 新生児甲状腺中毒症

妊娠後期に母親から胎児へのT4転送の存在が明らかにされてきた。未治療ないし妊娠後期に発症または再燃した母親が甲状腺機能亢進状態にあると、母親から児へ高濃度のT4が転送され、胎児は甲状腺機能亢進の状態になる。間脳-下垂体-甲状腺系は抑制され、出生後母親からのT4移行が停止すると急速に中枢性甲状腺機能低下症に移行する<sup>5,6)</sup>(図1)。

## c. TSH受容体遺伝子機能獲得性遺伝子変異 (germline-activating thyrotropin receptor gene mutation)

非免疫性家族性甲状腺機能亢進症の病因がTSH受容体遺伝子変異によることが明らかになった<sup>3)</sup>。発症年齢は新生児期から成人まで広く分布し、その遺伝形式は常染色体性優性遺伝形式を呈する<sup>3)</sup>。

## d. 下垂体性甲状腺ホルモン不応症

下垂体性甲状腺ホルモン不応症のため、正常のnegative-feedbackが働かず、TSH過剰分泌による甲状腺機能亢進症を呈するまれな疾患である<sup>7)</sup>。

## 3. 病態・症状

母親の治療の有無にかかわらず、低出生体重児が多く、新生児甲状腺機能亢進症、甲状腺中毒症の症状はしばしば見逃されることがあるので注意が必要である<sup>8)</sup>。

### a. 新生児甲状腺機能亢進症(バセドウ病)

本症は妊娠後期のTSH受容体抗体活性の強い母親から生まれた新生児に発症する。

#### 1) 母親が抗甲状腺剤治療中の症例

通常は抗甲状腺剤を服用しているので、その薬物の半減期と刺激抗体の半減期の違いにより、日齢4-5頃に発症する。抗体活性の強い母親からの児は出生時しばしば眼窩の浮腫、眼球突出、甲状腺腫を認める(図2)。頻脈、易刺激性、心不全の症状が出現する。妊娠中の母親の抗体活性で児の発症を予測する試みもあるが、治療により抗体活性は容易に変化するので、必ずしも確実な方法はない<sup>12)</sup>。

#### 2) 母親が未治療の場合

妊娠後期に発症または再発して、主治医が気付かなかった場合と甲状腺亜全摘手術、<sup>131</sup>I療法を受けて母親の甲状腺機能が正常に維持されている場合とがある。特に後者でTSH受容体抗体



図2 新生児甲状腺機能亢進症(新生児バセドウ病)の顔貌  
 眼球突出, 眼窩の浮腫を認める. 易刺激性があり, 落ち着きがない.

活性が強い場合は胎児期に甲状腺機能亢進症を発症することがあり非常に危険である<sup>9,10)</sup>. 胎児期に発症し, 頻脈, 心不全, 胎児死亡に陥ることがある. 胎児頻脈が主症状で母親の甲状腺機能が正常な場合は抗甲状腺薬とL-T4の併用療法が必要である<sup>10)</sup>.

**b. 新生児甲状腺中毒症**

出生時, 頻脈, 化骨促進などの症状を認めるが, 眼球突出, 甲状腺腫はない. 最も特徴的なことは治療の有無にかかわらず血清T4は日齢4-5までに急速に低下し, 中枢性甲状腺機能低下の病態に陥る. T4, TSHスクリーニングで見いだされる, 新生児一過性中枢性甲状腺機能低下症はこの病態によって起きている<sup>5,6)</sup>. TSH受容体抗体活性は特徴的で, TRAb活性の強弱にかかわらず, TSAb活性が弱い特徴がある<sup>15)</sup>. 従来, 新生児甲状腺機能亢進症と報告された症例の中に, この病態が混在している可能性が考えられる<sup>11)</sup>.

**c. TSH受容体 gain-of-function mutation および下垂体性ホルモン不応症**

この新生児甲状腺機能亢進症は家族性の集積があること, 永続性であることが特徴で, 新生児期に甲状腺腫を認める<sup>3)</sup>. 下垂体性甲状腺ホルモン不応症の場合, TSH高値に伴う甲状腺機能

亢進症である<sup>7)</sup>.

**4. 診断と鑑別診断**

新生児期に甲状腺機能が亢進する病態である. 母親の甲状腺機能, TSH受容体抗体, 新生児の経過より診断する.

**5. 治療と予後**

甲状腺機能亢進症状ならびに心不全の治療が中心になる.

**a. 新生児甲状腺機能亢進症の治療**

最も速効性の薬物は無機ヨード(ルゴール液)である. 4-5滴(無機ヨードとして30-40mg)を1日3回投与する. 最も簡単な効果判定は安静時の脈拍数である. 無機ヨード療法にはエスケープ現象があり治療効果が薄れることがある. この場合, 抗甲状腺薬, PTU(5mg/kg)またはメルカゾール(0.5mg/kg)を用いる. 症状により漸増, 正常化すれば漸減する. 機能低下状態になれば, ときに長期に中枢性甲状腺機能低下症の病態をとることがある<sup>12)</sup>. 直ちにL-T4を補充する. 通常3カ月ぐらいの治療が必要である.

母親が未治療で母親のTSH受容体抗体活性が高い場合, 新生児早期から甲状腺機能亢進症の症状, 検査所見を示す. 治療薬は前述のもの

同じである。心不全に対して酸素投与、 $\beta$  ブロッカー (Inderal<sup>®</sup> 1 mg/kg), 強心薬を併用する。

### b. 甲状腺中毒症

出生時頻脈, 心不全の症状を認め, 心不全に対する治療を行う。5日ぐらいすると中枢性甲状腺機能低下症の病態に陥る。血清 FT4 が 1.0 ng/dl 以下に低下した場合, 直ちに L-T4 の補充が必要である<sup>5,6)</sup>。

### c. その他の病因による本症の治療

TSH 受容体遺伝子異常, 下垂体性ホルモン不応症の治療に抗甲状腺薬, D-thyroxine の薬物治療が有効であったと報告されている<sup>13)</sup>。しかし, 治療は長期に及び, 怠薬により甲状腺機能亢進症が再燃する。この状態が続くと, 甲状腺腫, 特に多発性の結節を伴った甲状腺腫が出現する。この場合, 甲状腺亜全摘または<sup>131</sup>I療法が行われる。

母親が治療を受けている新生児甲状腺機能亢進症の予後は悪くない。3カ月ほどの治療で症状は消失し, 再発はない。不適切な治療で craniosinostosis, 小頭症を発症することがある。新生児甲状腺中毒症, これに引き続く中枢性

甲状腺機能低下症の長期予後の報告はない。少なくとも3カ月はこの病態が続くので, 診断したら直ちに L-T4 の補充を開始する<sup>5)</sup>。

未治療の母親または TSH 受容体遺伝子異常による症例は胎児期から発症し, ときに胎児死亡の原因となる。胎児期からの化骨促進の結果, craniosinostosis, 小頭症を来し精神運動発達遅滞を来することが報告されている。

### おわりに

バセドウ病, 慢性甲状腺炎ともに女性に多い疾患であり, 妊娠する機会も多い。妊娠中の母親の甲状腺機能低下症が児の知的発達に影響するとの報告が行われた<sup>14,15)</sup>。これは母親からの T4 の経胎盤移行が胎児・新生児の中枢性神経系の分化に重要であることを明らかにしたものである。妊娠期間中, 血清 FT4 値を正常の上半分以上 (1.5 ng/dl 以上) に保つことが必要である。妊娠に伴う多様な症状が, 甲状腺機能異常と混同され, 未治療で放置されていることも多い。新生児の甲状腺機能異常の発症を防ぐには, 妊婦の甲状腺の管理が重要である。

## ■ 文 献

- 1) Matsuura N, et al: TSH-receptor antibodies in mothers with Graves' disease and outcome in their offspring. *Lancet* **i**: 14-17, 1988.
- 2) Tamaki H, et al: Universal predictive criteria for neonatal overt thyrotoxicosis requiring treatment. *Am J Perinatol* **5**: 152-158, 1988.
- 3) Tonacchera M, et al: Sporadic nonautoimmune congenital hyperthyroidism due to a strong activating mutation of the thyrotropin receptor gene. *Thyroid* **10**: 859-863, 2000.
- 4) Zakarija M, et al: Prediction and therapy of intrauterine and late-onset neonatal hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* **62**: 368-371, 1986.
- 5) Matsuura N, et al: The mechanism of transient hypothyroxinemia in infants born to mothers with Graves' disease. *Pediatr Res* **42**: 214-218, 1997.
- 6) Kempers MJ, et al: Central congenital hypothyroidism due to gestational hyperthyroidism: Detection where prevention failed. *J Clin Endocrinol Metab* **88**: 5851-5857, 2003.
- 7) Blair JC, et al: Neonatal thyrotoxicosis and maternal infertility in thyroid hormone resistance due to a mutation in the TR $\beta$  gene (M313T). *Clin Endocrinol* **57**: 405-409, 2002.
- 8) Phoojaroenchananachai M, et al: Effect of maternal hyperthyroidism during pregnancy on the risk of neonatal low birth weight. *Clin Endocrinol* **54**: 365-370, 2001.
- 9) Smith C, et al: Congenital thyrotoxicosis in premature infants. *Clin Endocrinol* **54**: 371-376, 2001.
- 10) Wallace C, et al: Fetal thyrotoxicosis: A case report and recommendations for prediction, diagnosis, and treatment. *Thyroid* **5**: 125-128, 1995.
- 11) Higuchi R, et al: Short-term hyperthyroidism followed by transient pituitary hypothyroidism in a very low birth weight infants born to a mother with uncontrolled Graves' disease. *Pediatrics*

- 107(4): E57, 2001.
- 12) Hashimoto H, et al: Central hypothyroidism resulting from pituitary suppression and peripheral thyrotoxicosis in a premature infant born to mother with Graves' disease. *J Pediatr* 127: 809-811, 1995.
  - 13) Dorey F, et al: Thyrotoxicosis due to pituitary resistance to thyroid hormones, successful control with D-thyroxine: A study in three patients. *Clin Endocrinol* 32: 221-228, 1990.
  - 14) Matsuura N, Konishi J: Transient hypothyroidism in infants born to mothers with chronic thyroiditis—A nationwide study of twenty-three cases. *Endocrinol Jpn* 37: 369-379, 1990.
  - 15) Haddow JE, et al: Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med* 341: 549-555, 1999.

## ダイオキシン類による母乳汚染の経年推移 —「ダイオキシン類対策特別措置法」の効果—

小西 良昌<sup>1)</sup>, 田中 之雄<sup>1)</sup>, 堀 伸二郎<sup>2)</sup>, 多田 裕<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>大阪府立公衆衛生研究所食品医薬品部 (〒537-0025 大阪市東成区中道1-3-69)

<sup>2)</sup>関西医科大学 (〒570-8506 大阪府守口市文園町10-15)

<sup>3)</sup>東邦大学医学部 (〒143-0015 東京都大田区大森西5-21-16)

[平成18年7月19日受理]

### Trends of Dioxin Contamination of Human Breast Milk — Effect of “Dioxin special measures law” —

Yoshimasa KONISHI<sup>1)</sup>, Yukio TANAKA<sup>1)</sup>,  
Shinjiro HORI<sup>2)</sup> and Hiroshi TADA<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Osaka Prefectural Institute of Public Health  
(1-3-69 Nakamichi, Higashinari, Osaka, Osaka 537-0025)

<sup>2)</sup>Kansai Medical University  
(10-15 Fumizono, Moriguchi, Osaka 537-8506)

<sup>3)</sup>Toho University of Medicine  
(5-21-16 Ohmorinishi, Ohta Tokyo 143-0015)

[Received July 19, 2006]

#### Summary

Dioxins are difficult to decompose and are readily soluble in fat; these are characteristics of organic chlorine system compounds. The Ministry of the Environment has enforced “Dioxin special measures law” in 1999. The influences of the enforcement on the concentration of dioxins in human biological samples have not yet been elucidated. This study used high-resolution gas chromatography/high resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS) to measure the dioxins in breast milk from 1973 to 2004 and about the changes of the concentration of dioxins in human breast milk after the enforcement of the law.

Dioxins emitted into the environment there for a long period of time; they enter the food cycle and accumulate in humans and animals. The source of the dioxin contained in human breast milk changes with the compounds present in the environment. Dioxins and co-PCBs from agricultural chemicals and PCBs greatly decreased, while the rate of reduction of those of combustion origin was small.

The main sources of dioxins can be classified into large two groups, the combustion of garbage and industrial waste and the other. From 1973 to 2000, dioxins (high-chlorinated PCDDs, PCDFs, and low-chlorinated PCBs) derived from the manufacturing process pesticides and PCB products were yearly decreased. However, the pentachlorodibenzo-*p*-dioxin (PeCDD)

and hexachlorodibenzo-*p*-dioxin (HxCDD) derived from the combustion, which are having high TEF, decreased slightly. After 2001, two years past from the enforcement of the law, the changes of the trends of dioxins in human breast milk have been observed. The contribution of PCDDs derived from the combustion to the total TEQ are decreasing. This would be one of the effects brought by the enforcement of the law. The law could change the trends of dioxins in biological samples of human and animals in the near future.

**Key words:** dioxin, polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin, polychlorinated dibenzofuran, coplanar-PCB, human breast milk

## 1. はじめに

化学工業の発展、高度経済成長に伴い、石油を原料とした多くの有機化合物が合成と多用され、人類は多大な恩恵と多様な利便性を獲得した。特に、農薬等に用いられた有機化合物は天然に存在せず、化学的に非常に安定なため、自然環境中で分解されずに残留する<sup>1)</sup>。現在、これら化合物は残留性有機汚染物質 (Organic Pollutants, POPs) と呼ばれる。POPs は人体に有害、かつ難分解性で生体内に蓄積しやすく<sup>2)</sup>、大気や海洋を經由して地球全体を汚染する<sup>3-5)</sup>。

大阪府では、POPs による環境汚染が国内で問題となり始めた1972年より、「大阪府母乳栄養推進事業」を開始し、厚生労働省の支援と協力のもと、POPs の長期モニタリングを行っており、POPs 類 (クロルデンを除く) の母乳中濃度が経年的に減少していることを突きとめた<sup>6,7)</sup>。

POPs の一つである、ダイオキシン類は、廃棄物の焼却過程や有機塩素化合物の生産過程で非意図的に生成される<sup>8-10)</sup>。毒性が非常に強いことから1980年代以降大きな社会問題となった。ダイオキシン類は、POPs の特徴である難分解性・高脂溶性のため、食物連鎖を経てヒトや動物に蓄積・濃縮される。授乳期間中では、蓄積されたダイオキシン類が母乳を通して乳児に移行するため、乳幼児への影響が懸念される。環境省は1999年に「ダイオキシン対策特別措置法」を制定・施行して対策にあたった。著者らも、「大阪府母乳栄養推進事業」で使用した乳脂肪の一部を冷凍保存したことから、これを活用して国の調査の一翼を担い、1973年から1996年までの母乳中のダイオキシン類経年推移について、その概要を明らかにした<sup>13)</sup>。しかしながら、当時 *Mono-ortho* PCB はダイオキシン類の定義から除外されていた。魚介類を好んで摂取する日本人には、*Mono-ortho* PCB の寄与は大きいことが考えられる。また PCDDs, PCDFs の毒性等価係数 (Toxic Equivalency factors, TEF) も1998年のWHO 値<sup>14)</sup>ではなく、北大西洋条約機構 (NATO) で定められた値<sup>15)</sup>を用いているため、再計算すると毒性等量 (Toxic Equivalency quantity, TEQ) は大きく異なる。

2006年2月25日、WHO は TEF 値の再評価結果を公表し

た<sup>16)</sup>。この再評価で TEF 値は、OCDD と OCDF が0.0001から0.0003に、*non-ortho* PCB #81が0.0001から0.0003に、PCB #169が0.01から0.03に、それぞれ加増された。一方、1,2,3,7,8-PeCDFが0.05から0.03に、2,3,4,7,8-PeCDFが0.5から0.3に、*mono-ortho* PCB は一律0.00003に減算された。この再評価により、母乳中ダイオキシン類の TEQ レベルの減少パターンは、以前とは大きく異なると考えられる。本報では WHO 2005 TEF 値で母乳中のダイオキシン類の経年推移を再計算するとともに、前報告<sup>13)</sup>以降のデータを加えた2004年までの汚染実態を把握し、1999年に施行された「ダイオキシン類対策特別措置法」の効果を、母乳汚染の観点から明らかにしたので報告する。

## 2. 調査対象者および試薬

1973年以降冷凍保存していた乳脂肪を測定に用いた。母乳中の POPs 濃度は経産よりも初産の方が高く、また母乳中の POPs 濃度は産婦の年齢と正の相関があることが知られている<sup>17,18)</sup>。これらの変動因子を最小限にするため、試料は25~29歳の初産婦のみとした。乳脂肪は母乳採取年度別に等量混合した (各年度19~39人)。1973年から2004年まで (1987年を除く) 32年間、31試料を分析した。それぞれの年度別の試料対象者数は Table 1 と Table 2 に示した。インフォームドコンセントに従い、母乳試料の使用は大阪府健康福祉部地域保健課を通じて試料提供者の承諾を得た。

ダイオキシン類の標準品は Wellington Laboratories 社製を使用した。エタノール、*n*-ヘキサン、アセトン、ジクロロメタン、ベンゼンおよび酢酸エチルは和光農薬試験用 (5000) を、塩化ナトリウムと無水硫酸ナトリウムは和光残留農薬試験用を、*n*-ノナンと多層シリカゲルカラムの作製時に用いる化学修飾シリカゲルは和光ダイオキシン類分析用を、活性炭はクロマトグラフ用の和光純薬社製試薬を使用した。水酸化カリウムは Fluka 製 Micro Select を使用した。シリカゲルとアルミナ (中性、活性度 I) は Merck 製を使用した。

Table 1 Concentrations (pg/g-fat) of dioxins in human breast milk from 1973 to 2004 in Osaka, JAPAN

Sampling year	Sample numbers	PCDDs						Total-PCDDs	PCDFs						Total-PCDFs	PCDDs+PCDFs					
		2,3,7,8-TCDD	1,2,3,7,8-PeCDD	1,2,3,4,7,8-HxCDD	1,2,3,6,7,8-HxCDD	1,2,3,7,8,9-HxCDD	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD		2,3,4,7,8-PeCDF	1,2,3,7,8,9-HxCDF	2,3,4,6,7,8-HxCDF	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	OCDF							
1973	24	3.42	9.12	4.90	21.2	8.60	175	1070	1290	3.27	1.94	16.7	12.7	8.02	N.D.	4.02	9.88	N.D.	N.D.	59.6	1350
1974	19	3.69	8.91	5.05	23.4	8.28	156	1260	1470	2.73	2.17	27.9	16.1	9.52	N.D.	4.85	7.50	N.D.	N.D.	70.8	1540
1975	27	3.59	11.1	5.11	22.3	9.18	165	1450	1670	2.70	2.32	22.5	14.1	7.50	N.D.	3.70	7.66	N.D.	N.D.	60.5	1730
1976	21	3.14	9.83	3.48	20.6	7.98	118	1120	1280	1.95	1.48	19.5	11.5	7.26	N.D.	3.57	7.98	N.D.	N.D.	53.2	1340
1977	29	2.89	8.39	5.28	22.1	7.24	119	1080	1250	2.34	1.57	21.7	13.8	6.93	N.D.	3.46	7.70	N.D.	N.D.	57.6	1310
1978	28	3.04	9.46	5.61	24.7	8.80	90.3	978	1120	2.24	1.35	21.4	8.80	6.93	N.D.	4.13	5.54	N.D.	N.D.	50.4	1170
1979	32	2.90	9.93	3.75	23.2	6.23	84.1	937	1070	2.88	1.60	21.9	10.3	6.78	N.D.	3.98	6.03	N.D.	N.D.	53.4	1120
1980	30	2.29	8.34	4.53	24.8	6.79	70.3	840	957	2.26	1.24	19.1	9.11	6.00	N.D.	3.87	5.89	N.D.	N.D.	47.5	1000
1981	30	2.80	10.0	3.28	24.6	6.44	68.0	746	861	1.69	1.30	15.8	5.65	7.38	N.D.	3.20	4.96	N.D.	N.D.	40.0	901
1982	22	3.28	9.42	3.21	28.7	7.41	63.8	764	880	1.96	0.819	16.5	7.61	7.24	N.D.	3.30	5.45	N.D.	N.D.	42.8	953
1983	20	3.23	11.0	3.92	31.7	6.77	49.5	604	710	2.00	0.943	15.9	7.64	7.45	N.D.	3.25	6.04	N.D.	N.D.	43.3	754
1984	24	2.72	10.7	3.12	40.5	8.97	49.2	515	631	2.01	1.06	16.0	7.91	6.61	N.D.	3.97	6.93	N.D.	N.D.	44.5	675
1985	30	2.46	9.49	2.94	32.0	7.39	33.3	426	513	2.49	0.609	14.5	7.06	5.36	N.D.	3.32	4.37	N.D.	N.D.	37.7	551
1986	33	1.87	8.61	2.54	34.4	8.41	30.5	367	454	3.26	0.622	12.7	6.14	5.80	N.D.	3.21	4.18	N.D.	N.D.	35.9	490
1988	30	2.34	8.97	1.85	46.2	11.7	27.3	310	409	2.58	0.543	13.1	5.63	5.38	N.D.	3.34	3.26	N.D.	N.D.	33.8	443
1989	28	2.38	9.42	1.72	52.1	11.3	23.7	239	340	2.50	0.494	11.6	4.80	5.55	N.D.	3.08	3.08	N.D.	N.D.	31.1	371
1990	30	1.95	8.59	2.29	45.5	8.44	19.3	192	278	2.06	0.443	14.2	5.44	5.65	N.D.	3.57	3.02	N.D.	N.D.	34.4	312
1991	39	1.55	7.88	2.40	40.6	9.98	16.0	166	245	1.53	0.750	11.9	5.00	4.68	N.D.	2.75	2.60	N.D.	N.D.	29.2	274
1992	30	1.22	8.22	2.28	41.1	8.67	16.8	151	230	1.72	0.444	10.1	5.56	5.44	N.D.	3.11	2.67	N.D.	N.D.	29.0	259
1993	33	1.54	8.58	1.25	41.9	7.24	13.7	121	196	1.09	0.672	10.5	4.95	5.22	N.D.	2.76	3.56	N.D.	N.D.	28.7	225
1994	32	1.63	8.78	2.60	45.0	7.60	14.2	110	189	1.25	0.600	11.1	5.10	4.95	N.D.	2.93	3.03	N.D.	N.D.	29.0	218
1995	26	1.23	7.30	2.15	33.5	6.56	10.4	66.2	127	1.32	0.890	9.48	4.36	5.46	N.D.	3.71	1.84	N.D.	N.D.	27.1	154
1996	32	1.45	8.19	1.32	30.5	6.06	9.87	67.1	124	1.37	0.415	11.1	4.17	4.12	N.D.	2.69	1.99	N.D.	N.D.	25.8	150
1997	27	1.38	7.01	1.25	34.0	5.05	9.08	60.1	118	0.891	0.562	9.54	2.46	2.47	N.D.	1.54	1.79	N.D.	N.D.	19.3	137
1998	35	1.46	5.48	1.57	28.6	4.62	9.07	56.4	107	0.842	0.275	10.2	2.82	2.77	N.D.	1.79	1.90	N.D.	N.D.	20.6	128
1999	30	1.49	6.56	1.60	24.0	5.44	7.40	41.8	88.3	0.611	0.788	12.3	2.09	2.54	N.D.	1.65	1.35	N.D.	N.D.	21.3	110
2000	27	1.55	7.38	2.80	31.4	6.69	9.01	58.3	117	1.21	N.D.	5.23	1.84	5.94	N.D.	1.76	N.D.	N.D.	N.D.	16.9	134
2001	31	1.43	4.04	2.27	27.5	1.70	5.32	41.4	83.7	0.649	0.411	10.7	3.42	3.31	N.D.	1.18	1.49	N.D.	N.D.	21.5	105
2002	29	1.45	3.49	2.39	21.2	1.85	5.88	43.9	80.1	0.686	0.364	8.54	2.11	2.47	N.D.	1.93	1.51	N.D.	N.D.	17.6	97.7
2003	20	0.991	4.06	1.43	18.8	2.10	5.32	32.2	65.0	0.664	0.256	9.01	2.94	3.16	N.D.	1.10	2.80	N.D.	N.D.	19.9	84.9
2004	13	0.864	2.62	0.761	14.8	1.39	5.26	37.4	63.1	0.689	0.620	7.45	1.27	1.66	N.D.	1.06	2.48	N.D.	N.D.	15.2	78.4

N.D. = not detected

Table 1 Continued. (Coplanar-PCBs)

Sampling year	Sample numbers	3,3',4,4'-TCB (#77)	3,4,4',5-TCB (#81)	3,3',4,4',5-PeCB (#126)	3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	Non-ortho co-PCBs	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	2,3,4,4',5-PeCB (#114)	2,3,4,4',5'-PeCB (#118)	2,3,4,4',5-PeCB (#123)	2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	2,3,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	Mono-ortho co-PCBs	Total co-PCBs	Total-Dioxins
		<i>Non-ortho co-PCBs</i>															
1973	24	277	76.6	310	34.6	697	27000	3190	64200	2940	11000	2140	3680	692	115000	116000	117000
1974	19	203	38.1	310	37.4	588	24700	3510	78000	2740	11700	2340	4030	775	128000	128000	130000
1975	27	193	26.5	275	41.5	536	22900	3230	66700	2610	13100	2580	4270	750	116000	117000	118000
1976	21	140	30.3	226	33.7	430	19900	2980	66500	2240	10700	2160	3470	564	109000	109000	110000
1977	29	128	21.5	218	37.1	405	17900	2660	54100	2230	11300	2300	3720	711	94800	95200	96600
1978	28	149	16.0	248	40.9	454	20100	3370	69100	1980	11900	2350	3910	696	113000	114000	115000
1979	32	99.0	17.1	197	41.0	354	15400	2600	57900	1920	10500	2090	3540	675	94600	94900	96000
1980	30	83.5	12.1	161	41.4	298	12000	2370	48600	1260	9720	1790	3050	584	79400	79700	80700
1981	30	79.3	12.5	152	39.7	283	11300	2490	46600	1380	10100	2000	3120	824	77900	78200	79100
1982	22	70.5	10.9	146	40.8	268	10700	2180	32900	1150	10500	2040	2970	754	63200	63500	64400
1983	20	74.9	11.5	159	46.6	292	9900	2330	32500	1200	10800	2240	3250	991	63200	63500	64200
1984	24	57.0	7.94	122	43.1	230	8460	1960	31400	871	9340	1700	2690	646	57100	57300	58000
1985	30	45.1	9.54	107	38.0	199	6970	1930	26300	836	8010	1550	2180	609	48400	48600	49100
1986	33	53.3	8.66	106	35.7	203	5680	1270	21900	585	6840	1310	1920	567	40000	40200	40700
1988	30	55.7	9.95	123	40.5	229	5600	1350	21500	761	7540	1570	1980	671	41000	41200	41700
1989	28	51.8	9.23	111	39.2	211	4700	1270	21800	751	6950	1450	1860	599	39300	39500	39900
1990	30	34.9	8.05	103	40.3	187	4510	1350	21700	777	7000	1430	1900	693	39400	39600	39900
1991	39	33.8	7.16	102	41.0	184	4100	1140	19600	683	5750	1170	1670	585	34700	34900	35200
1992	30	21.1	4.72	82.8	35.6	139	3380	931	15300	503	4950	976	1450	458	27900	28100	28300
1993	33	21.7	4.12	84.6	38.0	148	3340	1070	15600	657	5600	1180	1620	532	29600	29700	29900
1994	32	22.4	4.68	79.0	40.3	146	3420	890	14400	453	4810	938	1370	463	26800	26900	27200
1995	26	16.9	17.4	75.2	34.2	144	3120	810	12900	611	4170	840	1250	337	24000	24200	24300
1996	32	18.1	4.38	74.6	36.0	133	2930	754	12300	612	4150	819	1290	368	23200	23400	23500
1997	27	18.9	4.30	51.0	31.2	105	2710	600	11500	584	3350	714	1120	296	20800	20900	21100
1998	35	11.5	3.21	45.2	34.3	94.3	2630	597	10400	538	3500	748	1010	330	19800	19800	20000
1999	30	6.75	3.59	44.7	34.0	89.1	2910	713	12900	573	3260	711	1090	265	22400	22500	22600
2000	27	6.96	3.27	53.2	27.8	91.3	3810	702	11000	337	3570	792	1330	227	21700	21800	21900
2001	31	12.6	1.72	44.7	26.7	85.7	1870	550	8300	422	2740	592	860	171	15500	15600	15700
2002	29	11.4	2.50	35.2	19.9	69.0	1550	423	7240	432	2710	635	830	116	13900	14000	14100
2003	20	10.3	1.44	38.7	24.2	74.7	1720	439	7580	359	2890	665	792	187	14600	14700	14800
2004	13	10.6	1.80	25.1	18.4	55.8	1240	329	5230	261	1830	415	597	120	10000	10100	10200

Table 2 Concentrations (pg-TEQ/g-fat) of dioxins in human breast milk from 1973 to 2004 in Osaka, JAPAN

Sampling year	Sample numbers	PCDDs					PCDFs							Total-PCDFs	PCDDs+PCDFs							
		2,3,7,8-TCDD	1,2,3,7,8-PeCDD	1,2,3,4,7,8-HxCDD	1,2,3,6,7,8-HxCDD	1,2,3,7,8,9-HxCDD	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	OCDD	Total-PCDDs	2,3,7,8-TCDF	1,2,3,7,8-PeCDF	2,3,4,7,8-PeCDF	1,2,3,4,7,8-HxCDF			1,2,3,6,7,8-HxCDF	1,2,3,7,8,9-HxCDF	2,3,4,6,7,8-HxCDF	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	OCDF	
1973	24	3.42	9.12	0.490	2.12	0.860	1.75	0.321	18.1	0.327	0.0583	5.02	1.27	0.802	N.D.	0.402	0.0988	N.D.	N.D.	N.D.	7.98	26.1
1974	19	3.69	8.91	0.505	2.34	0.828	1.56	0.379	18.2	0.273	0.0652	8.36	1.61	0.952	N.D.	0.485	0.0750	N.D.	N.D.	N.D.	11.8	30.0
1975	27	3.59	11.1	0.511	2.23	0.918	1.65	0.436	20.5	0.27	0.0695	6.76	1.41	0.750	N.D.	0.370	0.0766	N.D.	N.D.	N.D.	9.71	30.2
1976	21	3.14	9.83	0.348	2.06	0.798	1.18	0.336	17.7	0.195	0.0443	5.84	1.15	0.726	N.D.	0.357	0.0798	N.D.	N.D.	N.D.	8.39	26.1
1977	29	2.89	8.39	0.528	2.21	0.724	1.19	0.325	16.3	0.234	0.0470	6.52	0.880	0.693	N.D.	0.346	0.0770	N.D.	N.D.	N.D.	9.30	25.6
1978	28	3.04	9.46	0.561	2.47	0.880	0.903	0.293	17.6	0.224	0.0404	6.42	0.880	0.693	N.D.	0.413	0.0554	N.D.	N.D.	N.D.	8.73	26.3
1979	32	2.90	9.93	0.375	2.32	0.623	0.841	0.281	17.3	0.288	0.0480	6.56	1.03	0.678	N.D.	0.398	0.0603	N.D.	N.D.	N.D.	9.06	26.3
1980	30	2.29	8.34	0.453	2.48	0.679	0.703	0.252	15.2	0.226	0.0371	5.74	0.911	0.600	N.D.	0.387	0.0589	N.D.	N.D.	N.D.	7.96	23.2
1981	30	2.80	10.0	0.328	2.46	0.644	0.680	0.224	17.1	0.169	0.0391	4.74	0.565	0.738	N.D.	0.320	0.0496	N.D.	N.D.	N.D.	6.62	23.8
1982	22	3.28	9.42	0.321	2.87	0.741	0.638	0.229	17.5	0.196	0.0246	4.94	0.761	0.724	N.D.	0.330	0.0545	N.D.	N.D.	N.D.	7.03	24.5
1983	20	3.23	11.0	0.392	3.17	0.677	0.495	0.181	19.1	0.200	0.0283	4.78	0.764	0.745	N.D.	0.325	0.0604	N.D.	N.D.	N.D.	6.90	26.0
1984	24	2.72	10.7	0.312	4.05	0.897	0.492	0.155	19.4	0.201	0.0317	4.81	0.791	0.661	N.D.	0.397	0.0693	N.D.	N.D.	N.D.	6.96	26.3
1985	30	2.46	9.49	0.294	3.20	0.739	0.333	0.128	16.6	0.249	0.0183	4.34	0.706	0.536	N.D.	0.332	0.0437	N.D.	N.D.	N.D.	6.22	22.9
1986	33	1.87	8.61	0.254	3.44	0.841	0.305	0.110	15.4	0.326	0.0187	3.80	0.614	0.580	N.D.	0.321	0.0418	N.D.	N.D.	N.D.	5.70	21.1
1988	30	2.34	8.97	0.185	4.62	1.17	0.273	0.0931	17.6	0.258	0.0163	3.92	0.563	0.538	N.D.	0.334	0.0326	N.D.	N.D.	N.D.	5.66	23.3
1989	28	2.38	9.42	0.172	5.21	1.13	0.237	0.0718	18.6	0.250	0.0148	3.47	0.480	0.555	N.D.	0.308	0.0308	N.D.	N.D.	N.D.	5.11	23.7
1990	30	1.95	8.59	0.229	4.55	0.844	0.193	0.0575	16.4	0.206	0.0133	4.27	0.544	0.565	N.D.	0.357	0.0302	N.D.	N.D.	N.D.	5.99	22.4
1991	39	1.55	7.88	0.240	4.06	0.998	0.160	0.0499	14.9	0.153	0.0225	3.56	0.500	0.468	N.D.	0.275	0.0260	N.D.	N.D.	N.D.	5.01	19.9
1992	30	1.22	8.22	0.228	4.11	0.867	0.168	0.0454	14.9	0.172	0.0133	3.02	0.556	0.544	N.D.	0.311	0.0267	N.D.	N.D.	N.D.	4.64	19.5
1993	33	1.54	8.58	0.125	4.19	0.724	0.137	0.0363	15.3	0.109	0.0201	3.14	0.495	0.522	N.D.	0.276	0.0356	N.D.	N.D.	N.D.	4.60	19.9
1994	32	1.63	8.78	0.260	4.50	0.760	0.142	0.0329	16.1	0.125	0.0180	3.34	0.510	0.495	N.D.	0.293	0.0303	N.D.	N.D.	N.D.	4.81	20.9
1995	26	1.23	7.30	0.215	3.35	0.656	0.104	0.0199	12.9	0.132	0.0267	2.84	0.436	0.546	N.D.	0.371	0.0184	N.D.	N.D.	N.D.	4.37	17.2
1996	32	1.45	8.19	0.132	3.05	0.606	0.0987	0.0201	13.5	0.137	0.0124	3.32	0.417	0.412	N.D.	0.269	0.0199	N.D.	N.D.	N.D.	4.59	18.1
1997	27	1.38	7.01	0.125	3.40	0.505	0.0908	0.0180	12.5	0.0891	0.0169	2.86	0.246	0.247	N.D.	0.154	0.0179	N.D.	N.D.	N.D.	3.63	16.2
1998	35	1.46	5.48	0.157	2.86	0.462	0.0907	0.0169	10.5	0.0842	0.00824	3.07	0.282	0.277	N.D.	0.179	0.0190	N.D.	N.D.	N.D.	3.92	14.4
1999	30	1.49	6.56	0.160	2.40	0.544	0.0740	0.0126	11.2	0.0611	0.0236	3.69	0.209	0.254	N.D.	0.165	0.0135	N.D.	N.D.	N.D.	4.42	15.7
2000	27	1.55	7.38	0.280	3.14	0.669	0.0901	0.0175	13.1	0.121	N.D.	1.57	0.184	0.594	N.D.	0.176	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.65	15.8
2001	31	1.43	4.04	0.227	2.75	0.170	0.0532	0.0124	8.68	0.0649	0.0123	3.21	0.342	0.331	N.D.	0.118	0.0149	N.D.	N.D.	N.D.	4.09	12.8
2002	29	1.45	3.49	0.239	2.12	0.185	0.0588	0.0132	7.55	0.0686	0.0109	2.56	0.211	0.247	N.D.	0.193	0.0151	N.D.	N.D.	N.D.	3.31	10.9
2003	20	0.991	4.06	0.143	1.88	0.210	0.0532	0.00967	7.35	0.0664	0.00769	2.70	0.294	0.316	N.D.	0.110	0.0280	N.D.	N.D.	N.D.	3.52	10.9
2004	13	0.864	2.62	0.0761	1.48	0.139	0.0526	0.0112	5.24	0.0689	0.0186	2.23	0.127	0.166	N.D.	0.106	0.0248	N.D.	N.D.	N.D.	2.75	7.99

N.D. = not detected

Table 2 Continued. (Coplanar-PCBs)

Sampling year	Sample numbers	Non-ortho co-PCBs						Mono-ortho co-PCBs						Total co-PCBs	Total-Dioxins	
		3,3',4,4'-TCB (#77)	3,4',4',5'-TCB (#81)	3,3',4,4',5'-PCB (#126)	3,3',4,4',5',5'-HxCB (#169)	2,3,3',4,4'-PCB (#105)	2,3,4,4',5'-PCB (#114)	2,3,4,4',5'-PCB (#118)	2,3,4,4',5'-PCB (#123)	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	2,3',4,4',5',5'-HxCB (#167)	2,3,3',4,4',5',5'-HxCB (#189)	Mono-ortho co-PCBs	Total co-PCBs	Total-Dioxins
1973	24	0.0277	0.0230	31.0	1.04	0.810	0.0958	1.93	0.0882	0.329	0.0642	0.110	0.0208	3.44	35.5	61.5
1974	19	0.0203	0.0114	31.0	1.12	0.741	0.105	2.34	0.0821	0.352	0.0701	0.121	0.0233	3.83	36.0	66.0
1975	27	0.0193	0.00796	27.5	1.25	0.686	0.0968	2.00	0.0782	0.392	0.0773	0.128	0.0225	3.48	32.2	62.4
1976	21	0.0140	0.00909	22.6	1.01	0.598	0.0893	2.00	0.0671	0.322	0.0648	0.102	0.0169	3.26	26.8	52.9
1977	29	0.0128	0.00646	21.8	1.11	0.536	0.0799	1.62	0.0669	0.339	0.0689	0.112	0.0213	2.85	25.8	51.4
1978	28	0.0149	0.00481	24.8	1.23	0.604	0.101	2.07	0.0593	0.358	0.0706	0.117	0.0209	3.40	29.5	55.8
1979	32	0.00990	0.00513	19.7	1.23	0.462	0.0780	1.74	0.0577	0.314	0.0626	0.106	0.0203	2.84	23.8	50.1
1980	30	0.00835	0.00363	16.1	1.24	0.360	0.0711	1.46	0.0378	0.292	0.0538	0.0915	0.0175	2.38	19.8	42.9
1981	30	0.00793	0.00374	15.2	1.19	0.340	0.0747	1.40	0.0413	0.303	0.0599	0.0937	0.0247	2.34	18.7	42.5
1982	22	0.00705	0.00326	14.6	1.22	0.321	0.0653	0.988	0.0345	0.315	0.0613	0.0890	0.0226	1.90	17.7	42.2
1983	20	0.00749	0.00344	15.9	1.40	0.297	0.0700	0.974	0.0359	0.324	0.0673	0.0975	0.0297	1.90	19.2	45.2
1984	24	0.00570	0.00238	12.2	1.29	0.254	0.0587	0.943	0.0261	0.280	0.0509	0.0807	0.0194	1.71	15.3	41.6
1985	30	0.00451	0.00286	10.7	1.14	0.209	0.0579	0.789	0.0251	0.240	0.0465	0.0654	0.0183	1.45	13.3	36.2
1986	33	0.00533	0.00260	10.6	1.07	0.170	0.0381	0.656	0.0176	0.205	0.0394	0.0577	0.0170	1.20	12.8	34.0
1988	30	0.00557	0.00298	12.3	1.21	0.168	0.0406	0.645	0.0228	0.226	0.0472	0.0595	0.0201	1.23	14.7	38.0
1989	28	0.00518	0.00277	11.1	1.18	0.141	0.0380	0.653	0.0225	0.208	0.0434	0.0557	0.0180	1.18	13.4	37.2
1990	30	0.00349	0.00242	10.3	1.21	0.135	0.0404	0.652	0.0233	0.210	0.0428	0.0570	0.0208	1.18	12.7	35.1
1991	39	0.00338	0.00215	10.2	1.23	0.123	0.0342	0.588	0.0205	0.172	0.0352	0.0500	0.0176	1.04	12.5	32.4
1992	30	0.00211	0.00142	8.28	1.07	0.101	0.0279	0.459	0.0151	0.148	0.0293	0.0435	0.0138	0.838	10.2	29.7
1993	33	0.00217	0.00124	8.46	1.14	0.100	0.0322	0.467	0.0197	0.168	0.0354	0.0487	0.0160	0.887	10.5	30.4
1994	32	0.00224	0.00140	7.90	1.21	0.103	0.0267	0.433	0.0136	0.144	0.0281	0.0410	0.0139	0.804	9.91	30.8
1995	26	0.00169	0.00522	7.52	1.03	0.0935	0.0243	0.387	0.0183	0.125	0.0252	0.0375	0.0101	0.721	9.27	26.5
1996	32	0.00181	0.00132	7.46	1.08	0.0879	0.0226	0.370	0.0184	0.125	0.0246	0.0386	0.0110	0.697	9.24	27.4
1997	27	0.00189	0.00129	5.10	0.936	0.0812	0.0180	0.344	0.0175	0.101	0.0214	0.0336	0.00889	0.625	6.66	22.8
1998	35	0.00115	0.000962	4.52	1.03	0.0788	0.0179	0.312	0.0161	0.105	0.0224	0.0304	0.00989	0.593	6.14	20.6
1999	30	0.000675	0.00108	4.47	1.02	0.0874	0.0214	0.386	0.0172	0.0978	0.0213	0.0328	0.00795	0.671	6.17	21.8
2000	27	0.000696	0.000981	5.32	0.834	0.114	0.0211	0.329	0.0101	0.107	0.0238	0.0398	0.00682	0.652	6.81	22.6
2001	31	0.00126	0.000516	4.47	0.801	0.0561	0.0165	0.249	0.0127	0.0822	0.0178	0.0258	0.00513	0.465	5.74	18.5
2002	29	0.00114	0.000750	3.52	0.597	0.0464	0.0127	0.217	0.0130	0.0812	0.0190	0.0249	0.00347	0.418	4.54	15.4
2003	20	0.00103	0.000452	3.87	0.727	0.0517	0.0132	0.228	0.0108	0.0866	0.0199	0.0238	0.00562	0.439	5.04	15.9
2004	13	0.00106	0.000540	2.51	0.551	0.0373	0.00987	0.157	0.00782	0.0549	0.0124	0.0179	0.00361	0.301	3.36	11.3

### 3. 分析方法

#### 3.1 乳脂肪のアルカリ分解

精秤した乳脂肪約 2 g に内標準物質 ( $^{13}\text{C}$ -2,3,7,8-PCDDs,  $^{13}\text{C}$ -2,3,7,8-PCDFs と  $^{13}\text{C}$ -co-PCBs のアセトン溶液) を添加した。0.5mol/l-水酸化カリウム-エタノール溶液100ml を加えて、スターラーで約 2 時間、室温で攪拌して脂肪を分解した。この溶液を分液ロートに移して、ヘキサン洗浄水100ml と *n*-ヘキサン80ml を加えて10分間振とう抽出を行った。水層を別の分液ロートに移し計 3 回の抽出を行った。ヘキサン層はヘキサン洗浄水100ml で 2 回洗浄して無水硫酸ナトリウムで脱水後、濃縮した。

#### 3.2 クリーンアップ

上記の試料溶液を湿式充填した多層シリカゲルカラムに負荷して *n*-ヘキサン80ml で溶出した。得られた溶出液は濃縮後アルミナカラムに負荷して 4%ジクロロメタン/*n*-ヘキサン50ml で溶出した (1 st フラクション)。次いで 50%ジクロロメタン/*n*-ヘキサン50ml で溶出した (2 nd フラクション)。

1 st フラクションは濃縮後、活性炭カラムに負荷した。30%ジクロロメタン/*n*-ヘキサン75ml で溶出・濃縮して *n*-ノナンで 500 $\mu\text{l}$  に定容し、*mono-ortho* PCBs 分析用試料溶液とした。次いで 50%ベンゼン/酢酸エチル75ml で溶出・濃縮して *n*-ノナンで 100 $\mu\text{l}$  に定容し、*non-ortho* PCBs 分析用試料溶液とした。

2 nd フラクションは濃縮後、インジェクションスパイク用の内標準液 ( $^{13}\text{C}$ -1,2,3,4-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD),  $^{13}\text{C}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD) を加えて *n*-ノナンで 50 $\mu\text{l}$  に定容し、PCDDs と PCDFs の分析用試料溶液とした。

#### 3.3 高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS) による測定

分析試料 2  $\mu\text{l}$  を HRGC/HRMS (日本電子製 Mstation JMS700) に注入して、selected ion monitoring (SIM) により PCDDs, PCDFs および co-PCBs を定量した。測定条件を以下に示した。

TCDD, PeCDD, HxCDD, TCDF, PeCDF, HxCDF: SP<sup>TM</sup>-2331 fused silica capillary column (Supelco, 0.25 mm $\times$ 60m $\times$ 0.2 $\mu\text{m}$  film thickness, USA), カラムプログラム: 130°C (2min) - 15°C/min - 200°C - 3°C/min - 260°C (30min); 注入口温度: 270°C。

HpCDD, HpCDF, OCDD, OCDF, *non-ortho* PCB: 5% phenyl-95% dimethylsiloxane fused silica capillary column (DB-5MS, J&W, 0.25mm $\times$ 30mm $\times$ 0.25 $\mu\text{m}$  film thickness, USA), カラムプログラム: 130°C (2min)

- 15°C/min - 230°C - 4°C/min - 300°C (20min); 注入口温度: 290°C。

*Mono-ortho* PCB: DB-5MS (J & W, 0.25m $\times$ 30m $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness), カラムプログラム: 130°C (2min) - 15°C/min - 180°C - 3°C/min - 300°C (0min); 注入口温度: 290°C。

MS 条件: イオン化 EI: 270°C, 38eV, エミッション電流: 600A, SEM 電圧: 1.8kV, 分解能: 10,000。

測定したダイオキシン類は WHO で TEF 値が定められている PCDDs 7 種, PCDFs 10 種, *non-ortho* PCBs 4 種, *mono-ortho* PCBs 8 種とした。検出下限値は, TCDD, PeCDD, TCDF, PeCDF は 0.25pg/g-fat, HxCDD, HpCDD, HxCDF, HpCDF は 1.25pg/g-fat, OCDD, OCDF および *non-ortho* PCB は 2.5pg/g-fat, *mono-ortho* PCB は 100pg/g-fat とした。検出下限値以下は 0 として計算した。TEQ は 2005 年 WHO の TEF 再評価<sup>19)</sup> に基づき計算した。

### 4. 結果

1973年から2004年の乳脂肪中のダイオキシン類の濃度を Table 1 (実濃度値) および Table 2 (TEQ 値) に示した。乳脂肪中のダイオキシン類 TEQ 濃度 (co-PCBs を含む) は 1974 年の 66.0pg-TEQ/g-fat を最高に年々減少して、1998 年は 20.6pg-TEQ/g-fat になったが、「ダイオキシン類対策特別措置法」施行後の 2000 年を境に急激に減少し、2004 年は 11.3pg-TEQ/g-fat と数年間で半減した。各化合物 (実濃度値) 別にみると、OCDD は 1975 年の 1450pg/g-fat から 2003 年の 32.2pg/g-fat (2.2%) と激減した。1,2,3,4,6,7,8-HpCDD も 1973 年の 175pg/g-fat から 2004 年の 5.26pg/g-fat (3.0%) と減少した (Fig. 1)。それに対して、5 塩素と 6 塩素の PCDDs の減少率は相対的に小さく、特に 1,2,3,6,7,8-HxCDD は 1970 年代から 1980 年代の後半にかけて増加、その後減少という特異的な様相を示した (Fig. 2)。PCDFs はすべての化合物が減少した。

*Non-ortho* PCBs 濃度は 1973 年では 697pg/g-fat だったが 2004 年は 55.8pg/g-fat と約 1/12 に減少した。3,3',4,4'-TeCB (PCB #77) は 1973 年の 277pg/g-fat から 1999 年の 6.75pg/g-fat (2.5%) と激減した。3,3',4,4',5,5'-HxCB (PCB #169) は 1974 年から 2000 年までは濃度変化がほとんどなかったが、2001~2004 年にかけて PCB #126 と PCB #169 の減少がみられ、「ダイオキシン類対策特別措置法」の影響と思われる汚染パターンの変化が認められた。*Non-ortho* PCBs の TEQ は PCB #126 がそのほとんどを占めた。

母乳中 *Mono-ortho* PCBs 濃度は他のダイオキシン類に比べて極めて高濃度だが、TEF が低いので TEQ への寄与は *non-ortho* PCBs よりもはるかに小さい (Fig. 3)。31

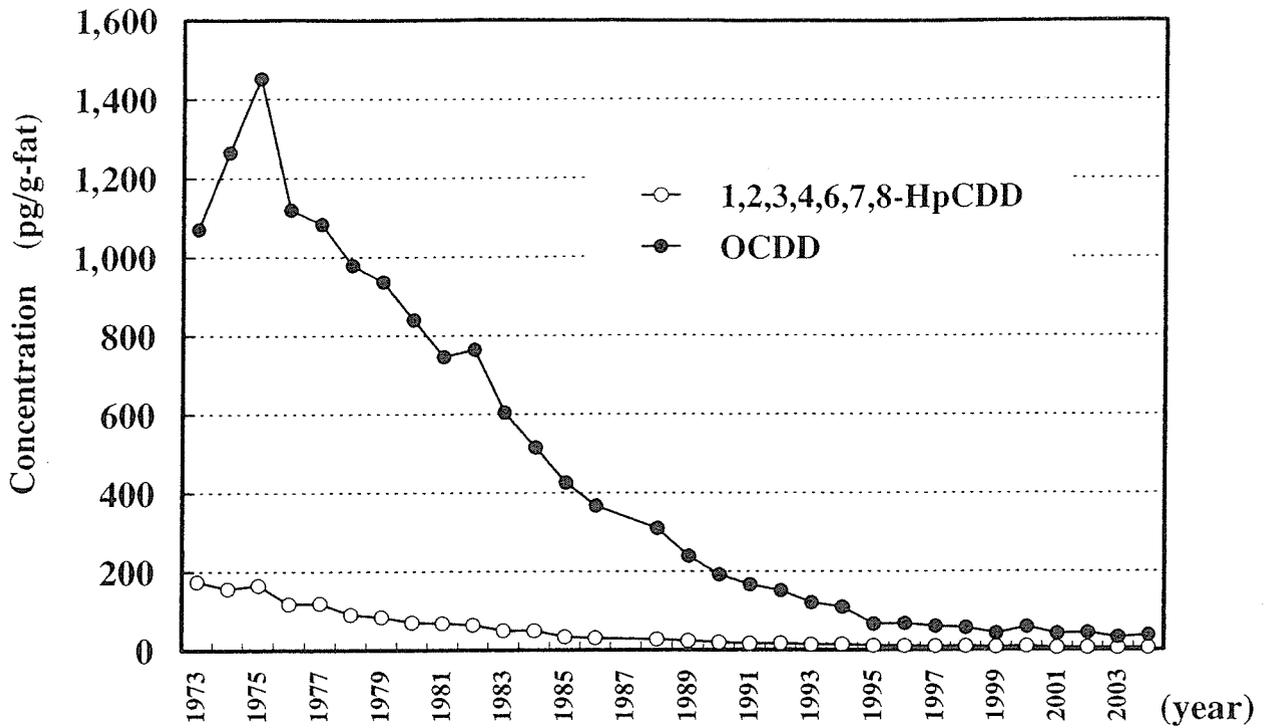


Fig. 1 Time-courses of HpCDD and OCDD in human breast milk on a fat basis (25 to 29 year-old mothers, no data for 1987)

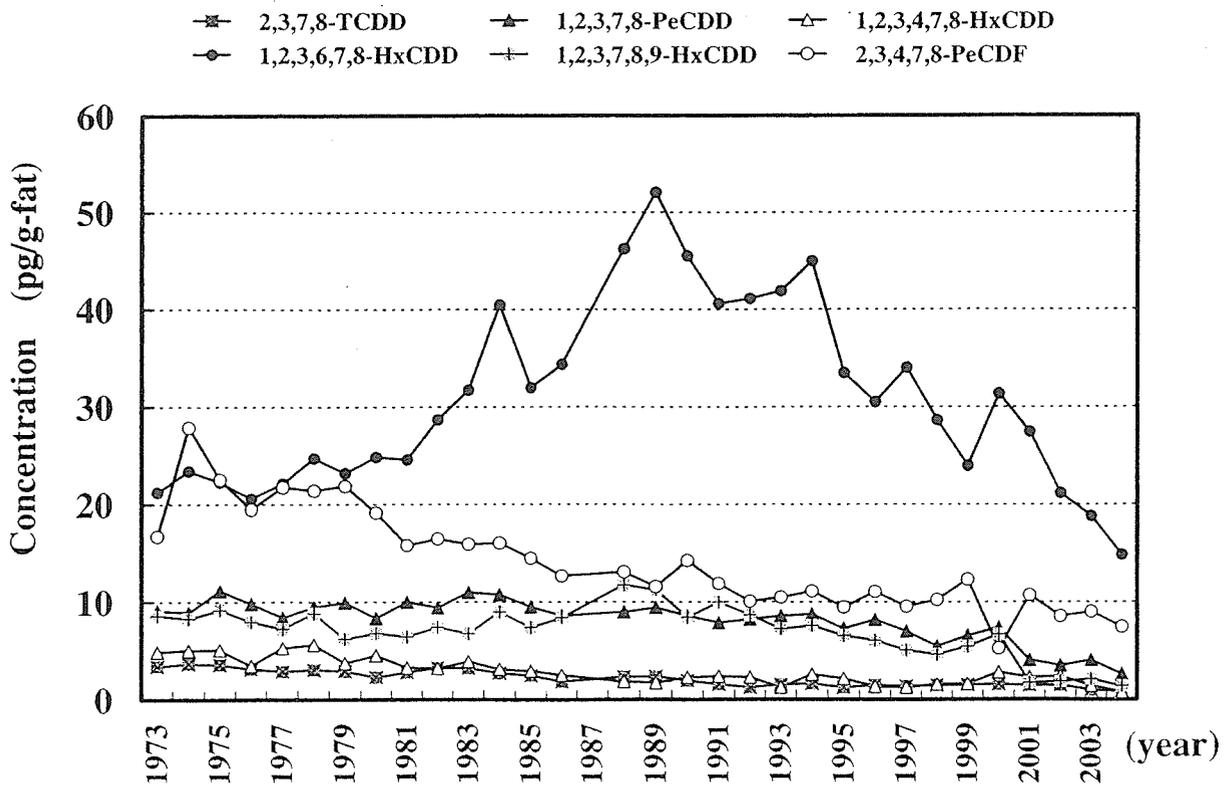


Fig. 2 Time-courses of PCDDs and PeCDF in human breast milk on a fat basis (25 to 29 year-old mothers, no data for 1987)

年間で乳脂肪中総 *non-ortho*PCBs 濃度は10%に減少したが、それぞれの減少率は異なり、塩素数の多い *mono-ortho* PCB (PCB #189) は塩素数の少ない PCB #105、#118 (5塩素) に比べて減少率は低く、*non-ortho* PCB 同様、高塩素 *co*-PCB ほど母乳への高蓄積性が認められた。

乳脂肪中のダイオキシン類は、1974年から1998年の24年間で約30%に減少したが、この減少の要因は *co*-PCBs の減少に起因するところが大きい。2000年以降は PCDDs の減少も認められ、2004年では最高汚染時の17%に減少した (Fig. 4)。

## 5. 考察

ダイオキシン類汚染の起源は、① PCB 製品の不純物<sup>19)</sup>、② 農薬由来<sup>20)</sup>、③ パルプ等漂白による塩素処理<sup>21)</sup>、④ 燃焼起源<sup>22)</sup> の4つが主な汚染源と考えられる。その中で特に問題とされたのは、④の生活廃棄物を含む廃棄物焼却を発生源とする「人間活動に伴って非意図的に生成する化学物質」として生活の身近で発生しているダイオキシン類である。塩素化合物の燃焼により前駆物質が生成された後、主に PCDDs が生成 (*de novo* 合成) される。焼却温度が300°C 弱と低い時ほど多くのダイオキシン類が生成される<sup>23)</sup>。産業廃棄物等の野焼きでも多量に発生する<sup>24)</sup>。不完全燃焼により発生するダイオキシン類には多くの異性体が含まれるが、5塩素と6塩素 PCDD の占める割合は①や②に比べて、④が圧倒的に多い<sup>25)</sup>。2000年まで母乳汚染レベルの減少が認められない5塩素と6塩素 PCDD は、これにあたると思われる。*non-ortho* PCB #169のほとんどと、PCB #126の一部も燃焼によって発生する<sup>24)</sup>。Choi, J.W. らは1970年と1971年および2000年の人体脂肪中の *co*-PCBs を測定したが<sup>26)</sup>、今回の著者らの調査結果と同様、4塩素と5塩素 *co*-PCBs が減少し、PCB #169 (*non-ortho* HxCB) と PCB #189 (*mono-ortho* HpCB) は増加したと報告した。別途、著者らは母乳中の PCBs 同族体・異性体別の汚染推移を報告し<sup>27,28)</sup>、その中で高塩素 PCBs ほど母乳に蓄積されやすいことを明らかにした。これらの事実は *co*-PCBs による環境汚染が年々変化していることを示唆する。

「ダイオキシン類対策特別措置法」の施行は、排出源からの排出量および大気汚染濃度の減少に極めて効果をもたらした。一方、ダイオキシン類の人体汚染の90%以上は食事経由、特に魚介類摂取によるが、食事経由のダイオキシン類摂取量は、厚生労働省の調査結果では2000年度の1.45pg-TEQ/kg/day から2004年度の1.41pg-TEQ/kg/day とほぼ一定であり、また、環境省による魚介類汚染と直結する公共用水域底質調査結果においても1998年度～2004年度は平均8pg-TEQ/g 程度と濃度減少は認められていない。し

かしながら、著者らは、過去 PCBs をはじめとした POPs のトータルダイエット調査で<sup>29,30)</sup>、母乳分析の減衰パターンと食事の POPs 濃度は必ずしも一致しないことを認めている<sup>6,7)</sup>。他方、現在までの調査で、PCBs 等 POPs の母乳中濃度は使用禁止となって約2年後から減少するのを見いだした。ダイオキシン類は2次の生成物でこれら POPs と同様の経過をたどるとは言えないが、酷似した傾向があるのではないかと推察される。

WHO 1998 TEF を用いた母乳中のダイオキシン類 TEQ 濃度は、前報告 (NATO 値)<sup>16)</sup> に比べて各年度とも増加したが、今回の WHO 2005再評価により TEQ 濃度は低くなった。WHO 1998 TEF では、母乳中ダイオキシン類に最も寄与率の高い PeCDD の TEF が0.5から1になり、*co*-PCBs もダイオキシン類として計算されたことから、最高汚染時の1974年は NATO 値に比べて約1.4倍となった。今回の WHO 2005再評価では、母乳中に高濃度存在する *mono-ortho* PCB の TEF 値が大きく減算されたため、1974年の濃度は87.7pg-TEQ/g-fat から66.0pg-TEQ/g-fat に、2004年は14.1pg-TEQ/g-fat から11.3pg-TEQ/g-fat と減少した (Fig. 4)。

欧米等の先進諸国では母乳中のダイオキシン類レベルは減少傾向にある<sup>31-33)</sup>。日本でも母乳のダイオキシン類調査、食事調査の結果、危険性は低減したと言う意見もある。しかしながら、著者らの調査・研究では、母乳中のダイオキシン類濃度が急速に減少したのは HpCDD、OCDD、PCDFs および *co*-PCBs であり、TEF の高い PeCDD、HxCDD は2000年までほとんど減少していない。最も問題である燃焼起源由来のダイオキシン類は、各自治体が焼却施設の改善を行っているにもかかわらず、母乳汚染の減少が、ようやく見え始めたに過ぎない<sup>27,30)</sup>。

ダイオキシン類の毒性評価に用いる TEQ は Ah レセプターを介して生じる生殖・発生毒性、内分泌攪乱、免疫毒性、発癌性を指標としている<sup>37,38)</sup>。1998年5月の WHO 専門家会合で「耐容1日摂取量 (Tolerable daily intake, TDI) は1~4pg-TEQ/kg/day とし、4pg-TEQ/kg/day を当面の最大耐容摂取量、究極的な目標としては1pg-TEQ/kg/day 未満に削減が適当」とした。我が国でも1999年6月、TDI を4pg-TEQ/kg/day に設定した。この曝露量は現在の日本一般成人の耐容しえる量と考えられる<sup>39)</sup>。しかしながら、初産婦の母乳中ダイオキシン類濃度は曝露量が減少した現在でも平均で約11.3pg-TEQ/g-fat である。乳児が体重1 kg 当たり1日に4.5 g の脂肪を母乳から摂取した場合、ダイオキシン類の摂取量は51.0pg-TEQ/kg/day となる。この摂取量はゆるい目標値の12倍であり、不確実係数10を超える<sup>40)</sup>。70年代、80年代に母乳哺育された乳児はこの比ではなく、1974年では300pg-TEQ/kg/day と目標値の75倍にもなる。感受性の高い乳児期に、これだけ高濃度の汚染物質に曝露されれば何ら

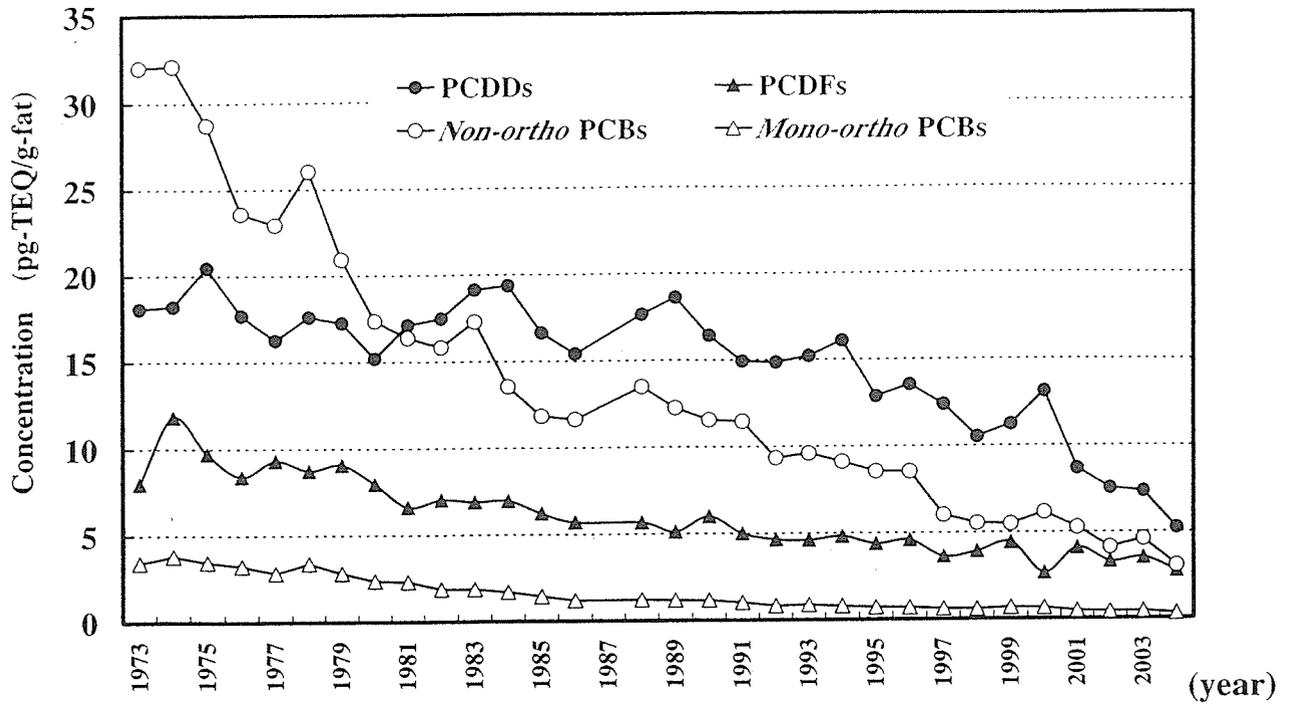


Fig. 3 Time-courses of dioxin TEQs in human breast milk on a fat basis  
(25 to 29 year-old mothers, no data for 1987)

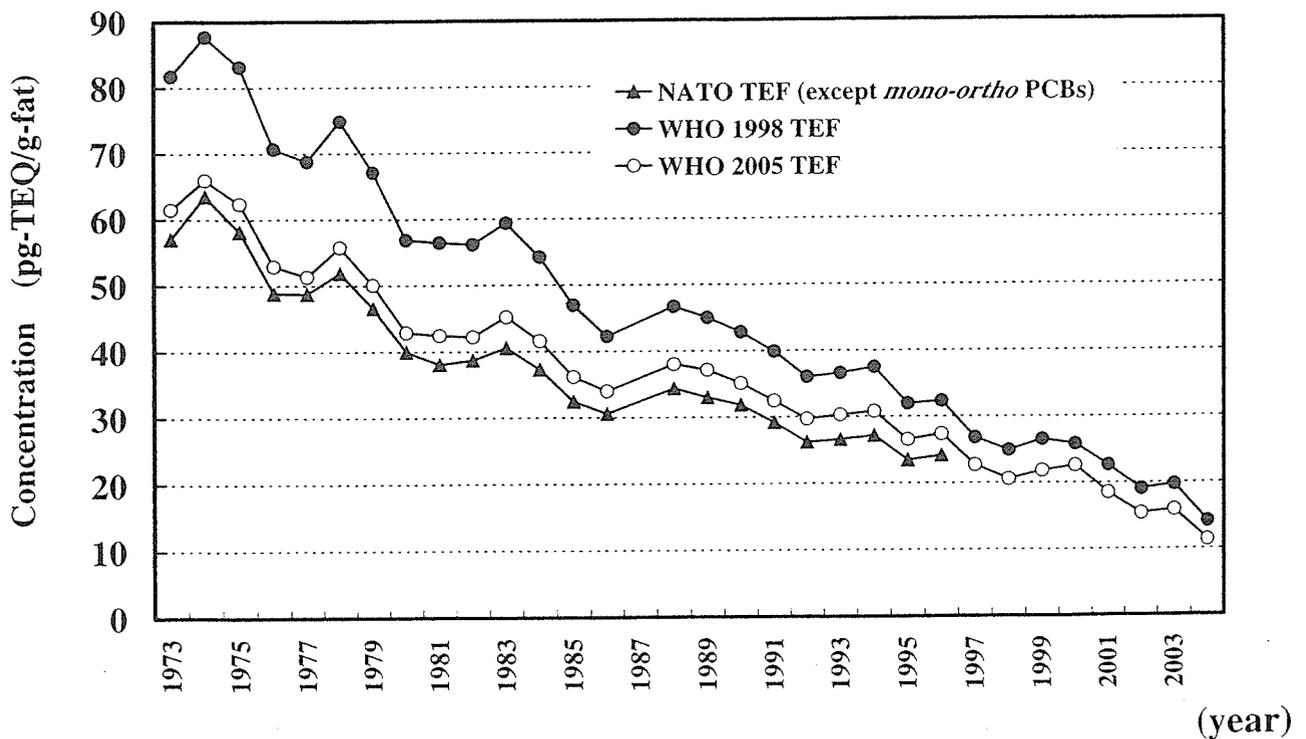


Fig. 4 Time-courses of dioxin TEQs in human breast milk on a fat basis  
(comparison between NATO and WHO TEF value)

かの影響が現れても不思議ではないが、現在のところ明らかな症例は報告されていない。影響が現れない理由あるいは影響が現れても立証が難しい理由として、次のいくつかの事項が考えられる。TDI は人が生涯にわたり摂取する量を基に算出しているため、授乳という短期間の曝露では指標とならない。TDI はラット等の動物実験で得た値を参考にするため、ヒトと感受性の差が大きく、乳児に影響を与えるほどの毒性は無い。人工乳で哺育された乳児と母乳哺育児の比較は出産以前の胎児期に母親から汚染を受けた可能性もあり区別が難しい<sup>40)</sup>。20数年前に高濃度のダイオキシン類に汚染された母乳で哺育された乳児と現在ダイオキシン類汚染の少ない母乳で育った乳児を比べることは、食生活を含めたライフスタイルの変化や他の POPs による大気汚染などの要因が大きく関与するため困難である。以上の理由から、ダイオキシン類の乳児への影響を考察・検討するには、検知するための新たな医学的方法と多くの調査・研究が必要である。

母乳中で最も濃度の高い PCB #153 (*di-ortho* PCB) は血清中の T4 (サイロキシン) レベルを低下させることから、PCB #153 の甲状腺ホルモン作用の可能性が報告されている<sup>41)</sup>。この事実は PCBs のヒト影響を評価する上で、co-PCBs のダイオキシン類だけではなく、それ以外の PCB 異性体の毒性評価も検討する必要性があることを示唆する。

最近の研究で、授乳期におけるダイオキシン曝露が甲状腺ホルモン系に作用すること、免疫機能に関しては TCDD 曝露により IgE 抗体レベルが上昇することが、動物実験で確認された<sup>42)</sup>。これらは授乳期におけるダイオキシン曝露がアトピー発症に関与する可能性を示唆する。一方、肉食中心の欧米型の食生活は肥満等の成人病の原因の一つであり<sup>43)</sup>、*n-3*系多価不飽和脂肪酸を多く摂取する日本古来の魚介類中心の食事が見直されている。しかしながら、魚介類は他の食品よりもダイオキシン類等の POPs に汚染されている<sup>29,30)</sup>。従って、リスクを低くするためには、汚染状況の把握と PCBs 等の管理・廃棄処分を徹底し、動植物、海水、汚泥、食品等のモニタリングや、母乳を指標とした曝露調査を継続して行く必要がある。

## 謝 辞

本研究は、PCBs 汚染調査のために冷凍保存していた乳脂肪を使用した。母乳の採取および搬入を担当された大阪市健康福祉局、堺市健康福祉局、東大阪市健康福祉部および府保健所・センターの各位に感謝の意、ならびに「母乳栄養推進事業」の主体である大阪府健康福祉部地域保健福祉室精神保健疾病対策課母子グループの各位

には、インフォームドコンセントの手続き等に関して御支援、御協力頂いた。深甚の謝意を表す。

なお、当研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)「ダイオキシンの乳幼児への影響その他の汚染実態の解明に関する研究—特に母乳中のダイオキシン類濃度の経年変化と乳幼児発育発達に及ぼす影響—(主任研究者 多田 裕)」の協力を受け行った。

## 要 約

1999年に施行された「ダイオキシン対策特別措置法」の効果がヒトにどの程度影響を及ぼしているかを明らかにするため、母乳汚染の観点から、年推移を通じて考察した。大阪府健康福祉室精神健康疾病対策課の協力の基、試料提供了解の承諾(インフォームド・コンセント)を得た25~29歳初産婦の乳脂肪を、各年度毎に等量混合(各年度13~33人)、1サンプルとして、その年度の試料とし、WHOによりTEFが定められている、PCDDs、PCDFsおよびCo-PCBs、29化合物をHRGC/HRMSを用いて測定した。農薬やPCBs製品中の不純物が主な汚染源と思われる。高塩素PCDDs、PCDFs、低塩素PCBsは、1974年を最高に2004年度まで年々大きく減少したが、塩素化合物の燃焼が主な汚染源である。TEF値の高い5塩素化および6塩素化PCDDsの減少率は少なく、特に6塩素の1,2,3,6,7,8-HxCDDは、1970年代から1980年代後半にかけて増加しており、塩素数が同じでも他のHxCDDとは異なった。しかしながら、「ダイオキシン対策特別措置法」の施行により排出規制された2年後の2001年度からは、母乳中ダイオキシン類の毒性等量(TEQ)に対する各化合物の寄与率の変化が現れはじめた。総TEQに対して最も寄与率の高い5塩素PCDDsが大きく減少し、総TEQに与えるダイオキシン類それぞれの寄与率が2001年以降変化していることが認められた。これらの結果から、1999年に施行された「ダイオキシン対策特別措置法」により、TEF値の高いダイオキシン類による母乳汚染、人体曝露は徐々に低減しており、その効果は着実に現れていると推察された。また、WHO 2005 TEF再評価で*mono-ortho* PCBのTEF値が大きく減算されたため、母乳中ダイオキシン類濃度はTEQレベルで約20%少なくなった。

## 文 献

- 1) Wakimoto, T., Tatsukawa, R. and Ogawa, T.: Analysis for residues of polychlorinated biphenyls in waters, soils and biological materials. *J. Environ. Pollution Control.*, 7, 517-522 (1973)
- 2) 田辺信介: VI-2. 海洋におけるPCBの地球化学的お

- よび化学生態的挙動. 水産海洋研究会25周年記念誌. 218-227 (1988)
- 3) Tanabe, S., Tatsukawa, R., Kawano, M. and Hidaka, H.: Global distribution and atmospheric transport of chlorinated hydrocarbons: HCH (BHC) isomers and DDT compounds in the Western Pacific, Eastern India and Antarctic Oceans. *J. Ocean. Sci. Japan*, **38**, 137-148 (1982)
  - 4) 田辺信介: 海洋におけるPCBの分布と挙動. 日本海洋学会誌, **41**, 358-370 (1985)
  - 5) Perfect, J.: The environmental impact of DDT in a tropical agro-ecosystem. *Ambio*, **9**, 16-21 (1980)
  - 6) 小西良昌, 桑原克義, 田中之雄, 堀伸二郎: 母乳の有機塩素系化合物汚染調査 (第17報). 大阪府立公衛研所報食品衛生編, **36**, 87-92 (1998)
  - 7) Konishi, Y., Kuwabara, K. and Hori, S.: Continuous surveillance of organochlorine compounds in human breast milk from 1972 to 1998 in Osaka, Japan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **40**, 571-578 (2001)
  - 8) Corsolini, S., Focardi, S., Kannan, K., Tanabe, S. and Tatsukawa, R.: Isomer-specific analysis of polychlorinated biphenyls and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin equivalents (TEQs) in red fox and human adipose tissue from central Italy. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **29**, 61-68 (1995)
  - 9) Gonzalez, M.J., Jimenez, B., Hernandez, L.M. and Gonnord, M.F.: Levels of PCDDs and PCDFs in human milk from populations Madrid and Paris. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **56**, 197-204 (1996)
  - 10) Gregory, G.O., Udaya-Sankar, D., Larry, W.R. and Ramesh, C.G.: Oxidative DNA damage induced by activation of polychlorinated biphenyls (PCBs), implications for PCB-induced oxidative stress in breast cancer. *Chem. Res. Toxicol.*, **9**, 1285-1292 (1996)
  - 11) Wuthe, J., Piechotowski, I., Papke, O., Zier, B., Gabrio, T., Kramer, D., Kouros, B., Schwenk, M. and Pfaff, G.: First data on background levels of *non-ortho* and *mono-ortho* PCBs in blood of residents from southern Germany. *Chemosphere*, **32**, 567-574 (1996)
  - 12) Guo, Y., Lambert, G.H. and Hsu, C.: Growth abnormalities in the population exposed in utero and early postnatal to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Environ. Health Perspectives*, **103**, 117-122 (1995)
  - 13) Hori, S., Konishi, Y. and Kuwabara, K.: Decrease of PCDDs, PCDFs and co-PCBs levels in human milk from Osaka (1973-1996). *Organohalogen Compounds*, **44**, 141-144 (1999)
  - 14) Hanberg, A., Hasegawa, R. and Kennedy, S.W.: Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ. Health Perspectives*, **106**, 775-792 (1998)
  - 15) ごみ処理に係るダイオキシン類の発生防止技術-人体影響から新ガイドラインへの対応まで-, p. 29, エヌ・ティー・エス, 東京 (1997)
  - 16) Van den Berg, M., Birnbaum, S., Denison, M., Vito, M.D., Farland, W., Feeley, M., Fiedler, H., Hakansson, H., Hanberg, A., Haws, L., Rose, M., Safe, S., Schrenk, D., Tohyama, C., Tritscher, A., Tuomisto, J., Tysklind, M., Walker, N. and Peterson, R.E.: The 2005 world health organization re-evaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol. Sci.*, ToxSci Advance Access published online on July 7 (2006)
  - 17) Hooper, K., Chuvakova, T., Kazbekva, G., Hayward, D., Tulenova, A., Petreas, M.X., Wada, T.J., Benedict, K., Cheng, Y.Y. and Grassman, J.J.: Analysis of breast milk to assess exposure to chlorinated contaminants in Kazakhstan: Sources of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) exposure in an agricultural region of southern Kazakhstan. *Environ. Health Perspectives*, **107**, 447-457 (1999)
  - 18) Iida, T., Hirakawa, H., Matsueda, T., Takenaka, S. and Nagayama, J.: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and related compounds in breast milk of Japanese primiparas and multiparas. *Chemosphere*, **38**, 2461-2466 (1999)
  - 19) 堀伸二郎, 西宗高弘: 蛍光灯用コンデンサー中のPCBに含まれるPCDFs及びKC-300中のPCDFsの分析. 大阪府立公衆衛生研究所報食品衛生編, **19**, 55-61 (1988)
  - 20) 益永茂樹, 中西準子: 日本の農薬中のダイオキシン類, 第8回環境化学討論会講演要旨集, p. 212 (1999)
  - 21) 宮田秀明: ダイオキシン, p. 96, 岩波新書, 東京 (1999)
  - 22) Olie, K., Vermeulen, P.L. and Hutzinger, O.: Chlorodibenzo-*p*-dioxins and chlorodibenzofurans are trace compounds of fly ash and flue gas of some municipal incinerators in the Netherlands. *Chemosphere*, **6**, 455-459 (1977)
  - 23) Vogt, H. and Stieggilitz, L.: Thermal behavior of

- PCDD/PCDF in fly ash from municipal incinerators. *Chemosphere*, 15, 1373-1378 (1986)
- 24) Sakai, S., Hiraoka, M., Takeda, N. and Shiozaki, K.: Behavior of coplanar PCBs and PCNs in oxidative conditions of municipal waste incineration. *Chemosphere*, 32, 79-88 (1996)
- 25) ごみ処理に係るダイオキシン類の発生防止技術－人体影響から新ガイドラインへの対応まで－, p.69, エヌ・ティー・エス, 東京 (1997)
- 26) Choi, J.W., Miyabara, Y., Hashimoto, S. and Morita, M.: Comparison of PCDD/F and coplanar PCB concentrations in Japanese human adipose tissue collected in 1970-1971, 1994-1996 and 2000. *Chemosphere*, 47, 591-597 (2002)
- 27) Konishi, Y., Nakano, T., Masho, R. and Tohyama, C.: Surveillance of PCB congener and isomeric patterns in human breast milk from 1973 to 2000 in Osaka, Japan. *PCB Workshop 2004*, Illinois, USA (2004)
- 28) Konishi, Y., Kitagawa, M., Akutsu, K. and Tanaka, Y.: Surveillance of PCB congenic patterns in human breast milk from 1973 to 2004 in Osaka, Japan. *Environ. Health Prev. Med.*, 11, 38-44 (2006)
- 29) 桑原克義, 松本比佐志, 村上保行, 堀 伸二郎: 19年間 (1977年～1995年)におけるトータルダイエットスタディー法による大阪在住成人のPCB及び有機塩素系農薬の1日摂取量の推移, 食品衛生学雑誌, 38, 286-295 (1997)
- 30) 阿久津和彦, 桑原克義, 小西良昌, 松本比佐志, 村上保行, 田中之雄, 松田りえ子, 堀 伸二郎: GC/MSによる食品中のポリ塩化ビフェニルの異性体分析, 食品衛生学雑誌, 46, 99-108 (2005)
- 31) Becher, G., Skaare, J.U., Polder, A., Sletten, B., Rossland, O.J., Hansen, H.K. and Ptashkas, J.: PCDDs, PCDFs, and PCBs in human milk from different parts of Norway and Lithuania. *J. Toxicol. Environ. Health*, 46, 133-148 (1995)
- 32) Alawi, M.A., Wichmann, H., Lorenz, W. and Bahadir, M.: Dioxin and furans in the Jordanian environment, Part 2: levels of PCDD and PCDF in human milk samples from Jordan. *Chemosphere*, 33, 2469-2474 (1996)
- 33) Alcock, R.E. and Jones, K.C.: Dioxin in the environment: a review of trend data. *Environ. Sci. Technol.*, 30, 3133-3143 (1996)
- 34) Hochstein, J.R., Bursian, S.J. and Aulerich, R.J.: Effect of dietary exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in adult female milk (*Mustela vison*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 35, 348-353 (1998)
- 35) LaKind, J.S., Berlin, C.M. and Naiman, D.Q.: Infant exposure to chemicals in breast milk in the United States: What we need to learn from a breast milk monitoring program. *Environ. Health Perspectives*, 109, 75-88 (2001)
- 36) Konishi, Y., Kuwabara, K. and Hori, S.: Continuous monitoring of PCB isomers in human breast milk from 1973 to 2000 in Osaka, JAPAN. *Organohalogen Compounds*, 63, 441-444 (2003)
- 37) 森田昌敏: ダイオキシン入門, p.39, (財)日本環境衛生センター, 川崎 (1997)
- 38) 宮田秀明: ダイオキシン, p.96, 岩波新書, 東京 (1999)
- 39) 桑原克義, 小西良昌, 尾花裕孝, 起橋雅浩, 北川幹也, 堀 伸二郎, 浜田勝幸: 食品のダイオキシン類汚染調査－魚介類について－, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, 36, 93-103 (1998)
- 40) Koopman-Esseboom, C., Morse, D.C., Weisglas-Kuperus, N., Lutkeschipholt, I.J., van der Paauw, C.G., Tuinstra, L.G.M.T., Brouwer, A. and Sauer, P.J.J.: Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls on thyroid hormone status of pregnant women and their infants. *Pediatric Research*, 36, 468-473 (1994)
- 41) Ilsen, A., Briet, J.M., Koppe, J.G., Pluim, H.J. and Oosting, J.: Signs of enhanced neuromotor maturation in children due to perinatal load with background levels of dioxins. *Chemosphere*, 33, 1317-1326 (1996)
- 42) 遠山千春: 低用量ダイオキシン曝露と健康リスク, 環境ホルモン学会, 第6巻, 第3号, 3 (2003)
- 43) 角田和彦: 化学物質とアレルギー, 環境ホルモン学会, 第6巻, 第4号, 2 (2004)
- 44) 宮澤陽夫: 不飽和脂肪酸の過酸化, 食の科学, 138, 65-70 (1989)

## Assays for Thyroid-stimulating Antibodies and Thyrotropin-binding Inhibitory Immunoglobulins in Children with Graves' Disease

KEIKO SHIBAYAMA, YOSHIHIDE OHYAMA, YUKIFUMI YOKOTA, SHIGEYUKI OHTSU, NORIYUKI TAKUBO AND NOBUO MATSUURA

*Department of Pediatrics, Kitasato University School of Medicine, 1-15-1 Kitasato, Sagami-hara, Kanagawa 228-8555, Japan*

**Abstract.** Studies on thyrotropin receptor autoantibodies (TRAb) by measurement of both thyroid-stimulating antibodies (TSAb) and thyrotropin-binding inhibitory immunoglobulins (TBII) in serum from children with Graves' disease are limited in number of studies. The aim of this study was to investigate the levels of serum TSAb and TBII in children with Graves' disease, and to evaluate the clinical significance of these antibodies. We measured the serum TSAb and TBII at diagnosis and during management in 65 children with Graves' disease. Patients were divided into four groups according to their metabolic state: those with untreated active Graves' disease, those receiving treatment with antithyroid drugs, those in remission, and those in relapse. At diagnosis, both TSAb and TBII assays had high sensitivities and high specificities. In follow-up, the levels of both TSAb and TBII paralleled the course of the disease. There was a strong positive correlation between TSAb and TBII. TBII levels were significantly higher in the patients with ophthalmopathy than those without ophthalmopathy in untreated Graves' children. It was concluded that TSAb and TBII measurements are valuable in the diagnosis and management of children with Graves' disease.

**Key words:** Graves' disease, Child, Thyrotropin receptor autoantibodies (TRAb), Thyroid-stimulating antibodies (TSAb), Thyrotropin-binding inhibitory immunoglobulins (TBII)

*(Endocrine Journal 52: 505–510, 2005)*

**THE** pathogenetic role of thyrotropin receptor autoantibodies (TRAb) in the serum of patients with Graves' disease has been widely accepted [1, 2]. Today, two kinds of assays are used to detect TRAb [3, 4]. One is based on the competition between the antibody and thyrotropin (TSH) for binding to the TSH receptor [thyrotropin-binding inhibitory immunoglobulins (TBII)]. The other is a functional assay that measures the production of cAMP in response to a TSH receptor interaction with stimulating antibodies [thyroid-stimulating antibodies (TSAb)] or blocking antibodies [thyroid stimulation blocking antibodies (TSBAb)]. The competitive assay does not distinguish

between the TRAb that stimulates or blocks the TSH receptor. Only functional assays can identify whether the antibody is a stimulating antibody or a blocking antibody.

TRAb has a heterogeneous nature and multiple forms of TRAb are found [3, 5–7]. TSAb and TBII reflect different aspects of TRAb, hence the simultaneous measurement of both TSAb and TBII is clinically useful [3, 8, 9].

However, studies on TRAb by measurement of both TSAb and TBII in serum from children with Graves' disease are limited in number [10–13], and the use of TRAb testing in routine clinical practice in diagnosis and follow-up of Graves' disease is debated [14, 15]. The aim of the present study was to investigate the prevalence of serum TSAb and TBII in children with Graves' disease, and to evaluate the clinical significance of these antibodies. Furthermore, to investigate the influence of age on disease characteristics, we com-

Received: August 11, 2003

Accepted: May 25, 2005

Correspondence to: Keiko SHIBAYAMA, M.D., Department of Pediatrics, Kitasato University School of Medicine, 1-15-1 Kitasato, Sagami-hara, Kanagawa 228-8555, Japan

pared our experience with the clinical and biochemical findings in younger (age <13 yr) and older (age ≥13 yr) children with untreated Graves' disease.

## Subjects and Methods

### Patients

Sixty-five serum samples obtained from children with Graves' disease were studied. Their median age at diagnosis was 12.4 years (range 5.1 to 17.5 years). A diagnosis of Graves' disease was made on the basis of clinical and biochemical evidence of hyperthyroidism (suppressed TSH, elevated 3,5,3'-triiodothyronine (T<sub>3</sub>), thyroxine (T<sub>4</sub>), free T<sub>3</sub> or free T<sub>4</sub>, goiter, increased thyroidal uptake of <sup>123</sup>I, and signs of Graves' ophthalmopathy when present). Patients who had eyelid retraction, eyelid lag, or proptosis were defined as subjects with ophthalmopathy. Patients were divided into four groups according to their metabolic state: those with untreated active Graves' disease (group I, n = 35), those receiving treatment with antithyroid drugs for longer than 4 weeks (group II, n = 19), those in remission (group III, n = 6), and those in relapse (group IV, n = 5). Sera for control measurements were obtained from 34 euthyroid individuals undergoing treatment of non-thyroidal illness (growth hormone deficiency, type 2 diabetes mellitus) at the Pediatric Endocrine Clinic of Kitasato University Hospital (group V, n = 34). The clinical data of the patients are summarized in Table 1.

Serum thyroid hormones and TSH were measured at the time the patients were seen. Before December 2001, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> and TSH were measured by immunoradiometric assay kits with T-3 Riabead, T-4 Riabead and TSH Riabead (Abbott Japan, Chiba, Japan), respectively, and free T<sub>3</sub> and free T<sub>4</sub> were measured with Amerlite-MAB FT<sub>3</sub> and Amerlite-MAB FT<sub>4</sub> (Ortho-Clinical Diagnostics, Buckinghamshire, UK), respectively. After December 2001, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, free T<sub>3</sub>, free T<sub>4</sub> and TSH were measured by electrochemiluminescence immunoassay system with Elecsys T<sub>3</sub>, Elecsys T<sub>4</sub>, Elecsys free T<sub>3</sub>, Elecsys free T<sub>4</sub> and Elecsys TSH, respectively (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). The reference ranges used for serum T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, free T<sub>3</sub>, free T<sub>4</sub> and TSH were 70 to 180 ng/dl, 5.2 to 12.4 µg/dl, 2.5 to 4.3 pg/ml, 1.0 to 1.8 ng/dl, and 0.30 to 4.00 mU/L before December 2001, and after then, 80 to 160 ng/dl, 6.10 to 12.4 µg/dl, 2.30 to 4.30 pg/ml, 0.90 to 1.70 ng/dl, and 0.500 to 5.00 mU/L, respectively.

Furthermore, group I was divided into younger (age <13 yr, n = 15) and older (age ≥13 yr, n = 20) patients.

### Autoantibody measurements

Sera for TSAb and TBII measurements were collected and stored at -30°C until assay.

**TSAb Assays.** TSAb was measured as a percent increase in cAMP production by porcine thyroid cells with TSAb assay kit Yamasa (Yamasa Co., Choshi, Chiba, Japan) [16, 17]. Sera whose TSAb levels were

**Table 1.** Clinical data for the patients in the five groups

Group No.	n	Patients with Graves' disease and controls	Age (yrs)	Gender (female : male)	Number of patients with ophthalmopathy at diagnosis (%)	Basal TSH (mU/L)	T <sub>3</sub> (ng/dl)	T <sub>4</sub> (µg/dl)	free T <sub>3</sub> (pg/ml)	free T <sub>4</sub> (ng/dl)
I	35	Untreated Graves' disease	13.1 (6.6-17.5)	30 : 5	42.9	0.05>(n = 32) 0.005>(n = 3)	482 (213-1020)	19.7 (11.7-36.5)	17.5 (6.4-34.2)	7.6 (2.4-12.3)
II	19	Treated Graves' disease	14.9 (6.9-17.7)	16 : 3	52.6	1.91 (n = 12) (0.10-7.5) 0.05>(n = 7)	178 (145-736)	6.6 (4.4-17.7)	3.8 (2.9-9.1)	1.1 (0.5-6.4)
III	6	Graves' disease in remission	16.6 (15.1-18.5)	6 : 0	16.7	1.95 (0.70-5.0)	118 (65-147)	8.0 (6.3-8.9)	3.3 (1.9-4.0)	1.0 (0.9-3.9)
IV	5	Graves' disease in relapse	15.2 (11.5-19.9)	5 : 0	40.0	0.06 (n = 4) (0.02-0.53) 0.05>(n = 1)	460 (198-949)	22.6 (9.3-24.6)	12.9 (4.0-20)	5.6 (1.4-8.0)
V	34	Controls	11.3 (6.8-18.6)	15 : 19	—	1.37 (0.52-3.24)	185 (175-221)	8.8 (5.9-10.2)	3.6 (3.2-4.3)	1.3 (1.0-1.6)

Values given are medians, with the range in parentheses.