

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

ダイオキシンのリスク評価における不確実性の検討に関する研究

(平成 10 年度、今井)

ダイオキシンによる人と動物への生殖・発生毒性における不確実性の解析

(平成 11 年度、関澤・今井)

新生児におけるダイオキシン類同族体の体内半減期の推定 (平成 11 年度、吉田)

ダイオキシン曝露による出産時性比の偏りに及ぼす父親の血中濃度の統計的解析
および、わが国出産児の性比の経年変化に関する解析 (平成 12 年度、関澤・安田)

分担研究者	今井 清	食品薬品安全センター秦野研究所副所長
	関澤 純	国立医薬品食品衛生研究所
	吉田喜久雄	(株)三菱化学安全科学研究所
	安田 峯生	広島大学医学部第一解剖学教室教授
(研究協力者)	大屋 幸江	国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨 (平成 10-12 年度)

(1) ダイオキシン類が動物間で大きな種差を生ずる要因について、体内動態、作用機序、生理的状态の寄与について、検討した。ラット、マウス、モルモット、サルなどで体内動態に著しい差が認められており、このことが四塩化ダイキオキシン (TCDD) の毒性に著しい種族差を生む大きな要因即ちリスク評価の不確実性要因のひとつとなっている。10 年度収集可能であった TCDD に関する 51 編の公表された論文の中から主として急性毒性、体内動態に関する成績を整理して、50% 致死量、作用機序、TCDD の吸収、分布、代謝、排泄などに関する実験動物相互あるいは人と実験動物の間の種差を比較し、リスク評価に際しての、不確実性の要因を明らかにするための検討を行った。TCDD の毒性発現は TCDD の体内分布とほぼ一致しており、移行率の高い組織ほど毒性も強く現れる傾向にある。ラットより TCDD に対する 50% 致死量が低いモルモットでは、正常肝においてもラットに比較して薬物代謝酵素活性が低く、TCDD 投与による薬物代謝酵素の誘導は認められていない。TCDD に感受性の高い幼若ラットあるいは雌ラットでは、感受性の低い雄ラットに

比較して、肝臓における薬物代謝酵素活性は低く、さらに、雄の幼若ラットを用いてフェノバタールあるいはメチルコラントレンにより肝臓の薬物代謝酵素を誘導した後、TCDD を投与すると 50%致死量が上昇することが明らかにされている。

このように薬物動態のパターンが毒性反応を質的あるいは量的に左右する大きな要因になっており、TCDD の場合においてもラット、マウス、モルモット、サルなどでその体内動態に著しい差が認められており、このことが TCDD の毒性に著しい種族差を生む大きな要因即ちリスク評価の不確実性の要因の 1 つとなっている。

(2) ダイオキシンによる人へのリスクを評価するためには不確実な要因がさまざまある。事故により高濃度曝露された集団で見られた出生児の性比の偏りについて、性比の偏りが起る確率と両親の血中ダイオキシン濃度との関係についてデータを基に、いくつかの仮定を導入して統計的な解析を行った。

(3) わが国でダイオキシンの耐容一日摂取量を評価する際にクリティカルな影響と考えられた動物試験データのうち、ダイオキシンを投与して生まれた雌ラットの生殖器に形態異常が出現する確率と投与量の関係についても、同様な解析を行った。

(4) The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs - DIOXIN '99 (September 12-17, 1999, Venice)と、日本内分泌攪乱化学物質学会第 2 回研究発表会 (1 2 月 9-10 日, 神戸)の発表要旨を添付する。

(5) 4 種類のポリ塩化ジベンゾ-*p*-ジオキシン (PCDDs) とポリ塩化ジベンゾフラン (PCDFs) 同族体の新生児における体内半減期を既報データから推定した。測定データ数も少なく、胎児期の負荷量, 出生後の体重, 脂肪含量等の被験者の個人差に起因する濃度のバラツキも大きいため、不確実性を考慮して、半減期を 95%信頼上限と下限の区間として求めた。

推定された新生児における同族体の体内半減期は成人に対して報告されている値に比べて短く、成人に対して報告されている体内半減期を用いることは、幼児期のダイオキシン類同族体の体内負荷量を過大に推定すると考えられた。

(6) イタリアのセベソで1976年におきたダイオキシンの大量放出事故後の約8年間に生まれた17人の子供のうち、両親の血清中の2,3,7,8-ジベンゾパラダイオキシンの濃度が脂肪あたり100 ppt以上の場合、出生児12人がすべて女兒であった。昨年度は母親の血漿中のダイオキシン濃度データにlog logistic modelを適用しこのような事象が10%の確率で発現するベンチマーク量を推計したが、この件についての統計的解析から父親のダイオキシン曝露が子供の性比(男 / 女の比)の偏りに影響しているとする報告が発表

されたので、今年度は父親の血清中濃度について同様な手法を適用した。女兒ばかり生まれるという事象を父親のデータから推定すると、血清中ダイオキシン濃度として約80 pptが10%発現確率のベンチマーク量と推定された。

わが国の人口動態統計を分析すると出産児の性比は 1950 年代から 1970 年にかけては一貫して上昇し、1970 年以降は一貫して減少していることが知られた。この間の増減は 1970 年の前後それぞれ 20-30 年の間に3%づつという値であり、このような大きな性比の変化は他の先進国には見られない顕著なものである。この間における母親の出産年齢の高年齢化は性比の変化に影響を及ぼしていなかったが、少子化に伴う出産児中の第1子の比率の増大との関連で出産順序と性比の関連を調査すると、年次によって第1子とそれ以外の子との間で性比に有意な差が見られることがわかった。また親のダイオキシンとPCB負荷量についていえば 1970 年代には現在の2 - 3倍のレベル(約 40-60 ppt)にあったと推定され、イタリアの事故において顕著なかたちで観察された事象から推算されたベンチマーク量との比較すると無視しえないレベルにあったと考えられる。さらに 1970 年以降の死産児の性比はここ 30 年間で急激に上昇(男児死産が相対的に増加)しており、この現象は特に妊娠 12 週から 22 週において顕著であり、一定傾向としてその割合が年を追って増加する背景には何らかの要因の存在が推定される。人における事象の背景には、生体側や環境側の要因だけでなく、社会的な要因も関与していると考えられ、この要因を探る研究を行った。

ダイオキシンのリスク評価における不確実性の検討に関する研究

(平成 10 年度、今井)

A. 研究目的

化学物質のリスク評価においては、実験動物を用いて得られた試験成績をもとに人への外挿を行う場合に、実験動物相互あるいは人と実験動物の間の種差など様々な要因が介在するため、正確な外挿が困難な事例も少なくない。内分泌攪乱物質のリスク評価を行うための不確実性の要因を明らかにするための研究の一環として、内分泌攪乱物質の一つと考えられているダイオキシン(2,3,7,8,-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin 以下 TCDD)を例に取り、特に、今年度は TCDD の急性毒性に関する文献を中心に調査・検討を行った。

B. 研究方法

今年度収集可能であった TCDD に関する 51 編の公表された論文の中から主として急性毒性、体内動態に関する成績を整理して、50% 致死量、作用機序、TCDD の吸収、分布、代謝、排泄などに関する実験動物相互あるいは人と実験動物の間の種差を比較検討して、リスク評価に際しての、不確実性の要因を明らかにするための検討を行った。

C. 研究結果

C.1 TCDD の毒性発現と体内動態との関係

第 1 表に示すように、TCDD の 50% 致死量は動物種間できわめて大きな差がみられ、最も感受性の高いモルモットと最も感受性の低いハムスターでは 5000 倍

以上の開きがあることが明らかにされている。一方、第 2 表～第 4 表に示す成績から、1) 血中に吸収された TCDD は速やかに主として肝臓および脂肪組織に移行し、組織内に蓄積して体内からの消失(半減期)はきわめて緩徐であること、2) 生体内に吸収された TCDD は肝で代謝を受けてより毒性の低い代謝物に変換すること、3) TCDD の分布、代謝、排泄には動物種間で著しい差が認められ、TCDD の毒性発現は TCDD の体内分布とほぼ一致しており、移行率の高い組織ほど毒性も強く現れる傾向にあると考えられる。すなわち TCDD に感受性の高い幼若ラットあるいは雌ラットでは、感受性の低い雄ラットに比較して、肝臓における薬物代謝酵素活性は低く、さらに、雄の幼若ラットを用いてフェノバタールあるいはメチルコラントレンにより肝臓の薬物代謝酵素を誘導した後、TCDD を投与すると 50%致死量が上昇することが明らかにされている。また、ラットとモルモットを比較すると、ラットより TCDD に対する 50% 致死量が低いモルモットでは、正常肝においてもラットに比較して薬物代謝酵素活性が低く、TCDD 投与による薬物代謝酵素の誘導は認められていない。TCDD による毒性変化として、各動物共通に著明な摂餌量の低下とそれに伴う体重減少、消瘦(wasting syndrome)、血糖値の低下(低血糖ショック)、胸腺および全身のリンパ系組織の著明な萎縮が認められているが、さらに TCDD の肝臓への

移行率あるいは糞中への排泄率が非常に高いラットでは肝細胞壊死が、腎臓への移行率あるいは尿中の排泄率が高いサルでは尿路系障害が報告されている（第5表）。

C.2 ダイオキシン類のリスク評価における考え方の相違

現在、各国において動物実験成績を基に人の許容摂取量を推定しているが（第6表）各国で定めた人の許容摂取量に大きな差が認められている。人の許容摂取量の算定にあたっては、日本、カナダ、ヨーロッパ、米国いずれも Kochiba et al, Toth et al あるいは NTP が報告したラット、マウスを用いた慢性毒性試験あるいは発癌性試験などが基本となっているが、発癌性試験結果に対する解釈の違いが、許容摂取量にこのような差を生んだ大きな要因の1つと考えられる。すなわち、米国では、TCDD の発癌性試験の結果から TCDD は発癌イニシエーターであり「閾値は存在しない」との立場から、 10^{-6} の危険率で実質安全量 (VSD) を算定し人の許容摂取量とした。一方、日本、カナダ、ヨーロッパでは、TCDD の変異原性はないというこれまでの成績から、TCDD は発癌イニシエーターではないと判断して、毒性試験成績から無毒性量と考えられる 1 ng/kg/day を基準に安全係数を $100 \sim 1000$ として一日耐容摂取量 (TDI) を算出し人の許容摂取量とした。つまり、化学物質の作用機序に対する解釈の相違が不確実性の要因の1つになった例と考えられる。

D. 考察

前述のように薬物動態のパターンが毒性反応を質的あるいは量的に左右する大きな要因になっており、TCDD の場合においてもラット、マウス、モルモット、サルなどでその体内動態に著しい差が認められており、このことが TCDD の毒性に著しい種族差を生む大きな要因即ちリスク評価の不確実性の要因の1つとなっていることは明らかである。また今回の調査から、TCDD の急性毒性においても毒性のプロファイルには大きな種族差が認められているが、これらの種族差の原因の1つとして TCDD の体内動態の差が大きく関与していることが明確にされた。

今回は、TCDD の一般毒性とくに急性毒性試験成績に関する文献調査から、リスク評価における不確実性の要因を検討したが、第7表に示すように最近の報告では、TCDD の毒性として発癌性のみならず内分泌攪乱作用、免疫機能攪乱作用による毒性が発現する可能性が指摘されており、これらの毒性は、胎児あるいは新生児に対してより強く現れる可能性が示唆されていることから、今後さらに胎児あるいは新生児を含め内分泌攪乱作用、免疫機能攪乱作用など現時点では十分な解析がなされていない毒性の実態およびその作用機序を解明し、標的細胞におけるレセプタ - 特に Ah レセプターなどの生理的状态の種差などの情報を収集・分析することにより TCDD のリスク評価の不確実性の要因がさらに明らかとなり、リスク評価がより確実になるものと思われる。

以上のような点を考慮すると、今後、

化学物質のリスク評価に際しては、動物実験の各種毒性試験成績の用量作用反応から算出した VSD あるいは TDI などの量的な判断に加えて、その化学物質の作用機序、体内動態、生理的状态などの種差を考慮に入れたリスク評価の方策を新たに確立して行く必要があると思われる。

第 1 表

LD₅₀ of 2,3,7,8,-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) after a single administration

Species/strain	Sex	Age	Route	Vehicle	LD50 (μ g/kg)	Time to death(days)	Reference
Rat							
Sharman	M	NR	oral	corn oil/	22	9-27	Schwetz et al 1973
	F	NR	oral	acetone(9:1)	45	13-43	
F-334/CR	M	11-12(w)	oral	corn oil	164	25	Ealden et al 1985
F-344/F	M	11-12(w)	oral	corn oil	303	26	
F-334/H	M	11-12(w)	oral	corn oil	340	28	
CD/CR	M	10-11(w)	oral	corn oil	297	25	
Han/Wistar	M	NR	oral	corn oil	>3000	NR	Pohjanvirta et al 1986
Sprague- Dawley	M	Adult	ip	olive oil	60	NR	Beatty et al 1978
	F	Adult	ip	olive oil	25	NR	
	M	25 days	ip	olive oil	25	NR	
Guinea-pig							
Hartley	M	NR	oral	corn oil/	0.6	5-34	Schwetz et al 1973
	M	NR	oral	acetone(9:1)	2.1	9-42	
Hartley	M	3-4 (w)	oral	corn oil	2	17-20	McConnel et al 1978
Hartley	F	NR	oral	corn oil	2.5	32-42	Silkworth et al 1982
Hartley	F	NR	oral	CMC	19	12-427	
Mouse							
C57BL/6j	M		oral	corn oil	182	24	Chapman et al 1985
DBA/2	M		oral	corn oil	2570	21	
B6D2F1	M		oral	corn oil	296	25	
C57BL/6j	M		ip	corn oil	132	NP	Neal et al 1982
DBA/2	M		ip	corn oil	620	NP	
B6D2F1	M		ip	corn oil	300	NP	
Rhesus monkey	F		oral	corn oil	< 70	14-34	McConnel et al 1978
Golden Syrian Hamster	M		oral	olive oil	1157	2-47	Olson et al 1980
	M		oral	corn oil/ acetone(9:1)	5051	9-43	Henck et al 1981
	M		ip	corn oil/	> 3000	1-5	Olson et al 1980
	F		ip	acetone(9:1)	> 3000	14-32	

* NR : No Reported

第2表 TCDD の薬物動態

1. 血中に吸収された TCDD は速やかに肝、脂肪組織に移行する。

Metabolism and excretion of TCDD in several animal species

Species/Strain	Dose and Route	Ratio of % of dose excreted (feces/urine)	Half-life (Whole body) (days)	Reference
Rat				
Sprague-Dawley	50 µg/kg, po	4.0	17.4	Pirkle et al 1989
	1 µg/kg, po	9.9	31	Rose et al 1976
Han/Wistar	5 µg/kg, ip	14.1	21.9	Pohjanvirta et al 1990
Long-Evans	5 µg/kg, ip	12.0	28.8	Pohjanvirta et al 1990
Guinea pig				
Hartley	0.5 µg/kg, ip	15.7	32.2	Gasiewicz et al 1979
Hartley	0.5 µg/kg, ip	11.2	93.7	Olson et al 1986
Mouse				
C57BL/6J	0.5 µg/kg, po	2.1	9.7	Birnbaum et al 1980
DBA/2J	0.5 µg/kg, po	6.8	11.1	Birnbaum et al 1980

Total tritium excretion in the 7 days following administration of a single ip dose of H₃-TCDD to three groups of experimental animals (Van Miller 1976)

Route of excretion	³ H excretion(% of dose) in		
	Adult monkeys	Infant monkeys	Rays
Urine	1.06 ± 0.25	1.96 ± 0.42	0.51 ± 0.05
Faeces	3.75 ± 0.91	1.26 ± 0.34	4.96 ± 0.30

TCDD concentrations in liver and adipose tissue following different doses, and calculated concentration ratios (liver/adipose tissue). Concentrations were measured 7 days after injection (Abraham et al 1988)

Dose (ng/kg)	n	TCDD Concen. liver (ng/g)	TCDD Concen. adipose tissue (ng/g)	Concen. ratio: liver/adipose tissue
1	6	0.0031 ± 0.0009		
3	6	0.0102 ± 0.0020	0.0139 ± 0.0015	0.74 ± 0.15
10	12	0.0406 ± 0.0121	0.0494 ± 0.0084	0.82 ± 0.20
30	6	0.162 ± 0.032	0.139 ± 0.021	1.16 ± 0.07
100	6	0.699 ± 0.130	0.335 ± 0.065	2.10 ± 0.27
300	6	3.38 ± 0.22	0.819 ± 0.075	4.14 ± 0.31
1000	6	10.7 ± 2.2	2.02 ± 0.17	5.27 ± 0.96
3000	5	27.9 ± 2.4	3.66 ± 0.31	7.65 ± 0.64

第3表 TCDD の薬物動態 (2)

2. TCDD は肝で代謝を受けて、より毒性の低い代謝物に変わる。

Effect on hepatic mixed-function oxidase activity and toxicity of 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin of castration of male rats or testosterone treatment of female rats (Beatty et al 1978)

Sex	Treatment	Aminopyrine demethylase	Aniline hydroxylase	LD ₅₀ (μg/kg, mean ± SE)
Male	None	1.641 ± 0.209	0.0143 ± 0.0007	60.2 ± 7.8
	Castration	1.207 ± 0.043	0.0098 ± 0.0007	39.1 ± 2.1
Female	None	1.089 ± 0.148	0.0084 ± 0.0007	24.6 ± 2.0
	Testosterone	1.298 ± 0.185	0.0124 ± 0.0015	44.5 ± 1.5

Microsomal mixed-function oxidase activity and toxicity of TCDD to male weanling rats pretreated with phenobarbital, 3-methylcholanthrene or TCDD (Beatty et al 1978)

Treatment	Aniline hydroxylase	Benzopyrene hydroxylase	LD ₅₀ (μg/kg, mean ± SE)
None	0.012 ± 0.001	10.3 ± 3.68	25.2 ± 1.4
Phenobarbital	0.015 ± 0.001	55.4 ± 8.35	40.9 ± 1.3
3-methylcholanthrene	0.014 ± 0.000	213 ± 25.4	44.1 ± 1.2
TCDD	0.028 ± 0.001	226 ± 0.001	36.8 ± 1.8

Rate of ¹⁴C-TCDD metabolite formation in isolated hepatocytes in suspension (Worblewshi et al 1985)

	pmol mg hepatocyte protein ⁻¹ hr ⁻¹		
	Control	TCDD pretreated	Phenobarbital pretreated
Rat	0.70 ± 0.10	2.26 ± 0.43	0.98 ± 0.13
Guinea pig	0.25 ± 0.07	0.26 ± 0.14	ND

第4表 TCDD の薬物動態 (3)-1

3. サルでは、ラットに比較すると TCDD の主な標的臓器である皮膚への移行率が高く、毒性の現れ難い肝への移行率は低い。

Tissue concentrations of tritium in three groups of experimental animals
7 days after administration of a single ip dose of TCDD (Van Miller 1976)

³ H level (% of dose/g tissue)# in			
Tissue	Adult monkeys	Infant monkeys	Rats
Liver	0.09 ± 0.06***	0.13 ± 0.07***	4.54 ± 0.45
Brain	0.006 ± 0.004**	0.018 ± 0.019**	0.13 ± 0.04
Kidney	0.017 ± - **	0.051 ± 0.037***	0.33 ± 0.07
Lung	0.009 ± 0.003*	0.030 ± 0.014*	0.21 ± 0.09
Spleen	0.008 ± 0.004*	0.031 ± 0.021**	0.83 ± 0.36
Stomach	0.010 ± 0.007*	0.059 ± 0.043*	0.30 ± 0.13
Small intestine	0.015 ± 0.006*	0.059 ± 0.025	0.17 ± 0.08
Large intestine	0.015 ± 0.003*	0.051 ± 0.026	0.18 ± 0.07
Thymus	-	0.15 ± 0.06	0.44 ± 0.15
Adrenal	0.096 ± 0.058	0.19 ± 0.05	-
Muscle	0.004 ± 0.001	0.096 ± 0.05	0.058 ± 0.03
Skin	0.028 ± 0.014**	0.24 ± 0.07**	0.13 ± 0.02
Adipose tissue	0.16 ± 0.06***	0.49 ± 0.12***	3.46 ± 0.21

Values are means ±SD for groups of three adult monkeys, four infant monkeys and five rats. Those marked with asterisks differ significantly (Student's T test) from the corresponding value for the rats:* P<0.02; ** P<0.01; ***P<0.001

Tritium retention in tissue of three groups of experimental animals 7 days
after administration of a single ip dose of TCDD (Van Miller 1976)

³ H level (% of dose/total weight of tissue)# in			
Tissue	Adult monkeys	Infant monkeys	Rats
Liver	10.4 ± 6.9***	4.51 ± 1.60***	43.0 ± 4.7
Brain	0.58 ± 0.34	1.41 ± 1.40	0.21 ± 0.07
Spleen	0.028 ± 0.013*	0.026 ± 0.004**	0.48 ± 0.17
Small intestine	0.87 ± 0.39	1.47 ± 0.64	0.93 ± 0.44
Large intestine	1.29 ± 0.12**	0.64 ± 0.24	0.45 ± 0.21
Muscle	8.62 ± 2.39	35.6 ± 14.4**	4.63 ± 2.52
Skin	13.1 ± 4.9*	22.7 ± 8.8**	4.39 ± 0.52
Adipose tissue	16.2 ± 5.8	-	-

Values are means ±SD for groups of three adult monkeys, four infant monkeys and five rats. Those marked with asterisks differ significantly (Student's T test) from the corresponding value for the rats:* P<0.02; ** P<0.01; ***P<0.001

第4表 TCDD の薬物動態 (3)-2

4. TCDD に対する感受性の高いモルモットでは、感受性の低いラットに比較すると脂肪組織への移行率が高く、半減期も長い。

Liver, kidney and adipose tissue distribution of TCDD in rat and guinea pig							
Species/Strain	Dose and Route	1 day			15 day		
		% Liver	Li/Ap	Ki/Ap	% Liver	Li/Ap	Ki/Ap
Rat							
Han/Wistar	5 µg/kg, ip a)	10.75	2.02	0.12	10.75	2.02	0.12
Long-Evans	5 µg/kg, ip a)	9.41	0.98	0.18	9.41	0.98	0.18
Guinea pig							
Hartley	2 µg/kg, ip b)	11.4	0.34	0.09	11.4	0.34	0.09

Species/Strain	Dose and Route	32 day			45 day		
		% Liver	Li/Ap	Ki/Ap	% Liver	Li/Ap	Ki/Ap
Rat							
Han/Wistar	5 µg/kg, ip a)	10.56	1.42	0.12			
Long-Evans	5 µg/kg, ip a)	12.59	1.53	0.08			
Guinea pig							
Hartley	0.5 µg/kg, ip c)				7.01	0.23	0.08

a) Pohjanvirta et al 1990 b) Gasiewicz et al 1979 c) Olson et al 1986

第 5 表

Species difference in toxic responses following exposure to TCDD

(R. Pohjanvirta & J. Tuomisto 1994)

	Rat	Mouse	Guinea Pig	Monkey	Rabbit
LD ₅₀ (μg/kg)	22-340	114-284	0.6-2.5	< 70	115-275
Time to death (day)	9-43	15-38	12-42	14-34	6-39
Body weight loss (Wasting syndrome)	+	+	+	+	+
Serum glucose	↓	↓	→	↓	
Serum triglyceride	↑	→	↑	↑	↑
Serum cholesterol	↑	↓	↑	↓	
Hypoplasia/atrophy/necrosis					
Thymus and lymphatic organs	+	+	+	+	
Bone marrow	+	+	+	+	
Testis	-	+	+	-	
Adrenal cortical necrosis	-	-	+	-	
Liver hepatic cell necrosis	+	+#	-	-	+
Hyperplasia/metaplasia					
Urinary tract	-	-	+	+	
Skin (chloracne)	-	+	-	+	+
Other responses					
Pophyria	+	+	-	-	
Edema	-	+	-	-	
Hormonal imbalance	+	NP	NP	NP	NP
Hemorrhage	-	-	+	-	

* NP : data not provided

chronic toxicity

第6表 - (1)

Two-year chronic toxicity and oncogenicity study of TCDD in Sprague-Dawley rats (Kochiba 1978)

Pathological lesions	Dose ($\mu\text{g/kg/day}$)							
	0		0.1		0.01		0.001	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Hepatotoxicity								
hepatocellular deg/necrosis	-	-	+	+	-	-	-	-
foci of celllural alteration	-	-	+	+	-	+	-	-
swelling of hepatic cells	-	-	+	+	-	+	-	-
inflammation	-	-	+	+	-	-	-	-
Neoplastic lesions								
hepatocellular hyperplastic nodules	6	8	2	23	3	18	0	3
hepatocellular carcinoma	2	1	1	11	0	2	0	0
bile duct adenoma	0	0	1	2	0	0	0	1
squamous cell carcinoma of hard plate/nasal turbinates	0	0	4	4	0	1	0	0
squamous cell carcinoma of lung	0	0	1	7	0	0	0	0

18-month carcinogenicity testing of TCDD in male Swiss mice (Toth 1979)

Pathological lesions	Dose ($\mu\text{g/kg/day}$)			
	0	7.0	0.7	0.007
Skin lesions	0/38	25/43	13/44	5/44
with amyloidosis	0/38	17/43	10/44	5/44
Neoplastic lesions				
liver	7/38 (18)	13/43 (30)	21/44 (48)	13/44 (29)
lung	15/38	11/43	18/44	27/44
lymphoma	6/38	12/43	12/44	10/44
other organs	7/38	4/43	4/44	6/44

第6表 - (2)

実験動物を用いた慢性毒性実験における TCDD の無毒性量、最小毒性量 (宮田 1997)				
動物(系統)	性	対象病変	無毒性量または 最小毒性量	報告者または 研究期間
ラット (SD)	雄	肝機能障害、病理所見	1 ng/kg/day*	Kociba ら (1978, 79)
	雌	肝機能障害、病理所見	1 ng/kg/day*	
マウス (Swiss)	雄	アミロイドーシス、 皮膚症状	1 ng/kg/day**	Toth ら (1979)
マウス (B6C3F1)	雄	肝機能障害、病理所見	1.4 ng/kg/day*	NTP (1982)
	雌	肝機能障害、病理所見	6 ng/kg/day*	
サル (Macaca mulatta)	雌	血液学的障害 皮膚症状	2 ~ 3 ng/kg/day**	Allen ら (1977, 78, 79)

*: 無毒性量、**: 最小毒性量

各国におけるダイオキシン類の耐容1日摂取量 (TDI) または
実質安全量 (VSD) (宮田 1997)

国名あるいは規制機関名	TDI または VSD (pgTEQ/kg/day)
日本	10
カナダ	10
WHO 欧州地域事務局	10
オランダ	10 (現在 1 を提案中)
スウェーデン	5*
ドイツ	10 (目標値 1)
イギリス	10
イタリア	1
米国環境保護庁	0.01**
米国カリフォルニア州	0.007**
米国食品医薬品庁	0.06*

*: 実際の規制値である 35 pgTEQ/kg/week を1日あたりに換算した値

**: ダイオキシン類を発癌物質として、閾値なしの立場で設定した値

第 7 表

人に対する TCDD の毒性 (ATSDR 1997)				
Duration of exposure	System	Effect	Body burdens ng/kg body weight	Reference
< 1 year	Dermal	Chloracne (children)	2357	Mocarelli et al 1991
Not specified	Dermal	Chloracne	80.5 18	Schechter et al 1993
11 year	Dermal	Chloracne	646	Jansing et al 1994
6.5 year	Immunologic	Immuno-suppression	156-176	Tonn et al 1996
> 15 year	Reproductive	High LH and low testosterone	31	Egeland et al 1994
> 1 year	Cancer	Increased cancer mortality risk	124-459	Fingerhut et al 1991
> 20 year	Cancer	Increased cancer mortality risk	69-461	Manz et al 1991

Health effects of TCDD in human infants (ATSDR 1997)

- 1) Late-type hemorrhage disease of newborn
- 2) Decreased vitamin K1 and decarboxylated prothrombin levels in infants
- 3) Higher plasma levels of TSH in infants
- 4) Reduced neonatal neurologic optimality
- 5) Increase in total T cells and lower monocyte and granulocyte counts
- 6) Alteration of plasma ALT and AST activities
- 7) Increased thyroxine levels
- 8) Alteration of the human sex ratio in their offspring ?

ダイオキシンによる人と動物への生殖・発生毒性における不確実性の解析

(平成 11 年度、関澤・今井)

A 研究目的

関心を呼び膨大な知見があるダイオキシンについて、人および動物における生殖・発達影響リスクの不確実性分析を行う。

B 研究方法

(1) 1976 年イタリアのセベソで事故により高濃度曝露された集団の間で見られた出生児の性比の偏り¹⁾について、そのような事象が起りうる確率と両親の血中ダイオキシン濃度との関係について、米国環境保護庁(EPA)が開発した Benchmark Dose 推計ソフト(BMDS)を用い統計的な解析を行った。

(2) ダイオキシンを投与して生まれた雌ラットの生殖器において Vaginal thread が消失しない事象が起きる確率についても、同様な解析を行った。

C 研究結果

(1) 人に生じた影響でダイオキシン曝露と関連する可能性が高い事象で、曝露レベルが知られている例として、曝露した両親から生まれた子の性比の偏りをとりあげた。

イタリアのセベソで 1976 年におきたダイオキシンの大量放出事故後約 8 年間に生まれた 17 人の子供のうち、両親の血清脂肪中 TCDD (Tetrachloro dibenzo-p-dioxin) の濃度が 100 ppt 以上の場合 12 人がすべて女兒であった。

このデータに log logistic model を適用しある濃度以上の TCDD に曝露した場合に女兒ばかり生まれるように切り替わるような事象に

ついて、血清脂肪当たりの 10% 発現確率のベンチマークドーズ(このような事象が 10% の確率で起ってしまう指標濃度)を推計すると約 60 ppt となった(表 1)。

出生児が女兒ばかりであった 9 人の母親(12 人の女兒が出生)のうち血漿中の TCDD 濃度が最低の濃度(126 ppt)の母親から生まれた子供が、偶然に女兒であった可能性が無視できないので、この女兒が男児であったと仮定すると 10% 発現確率のベンチマークドーズは 121 ppt となった。

これらの値は最近のドイツ、米国、ベトナム、日本の成人の平均的な血清中ダイオキシン類濃度(TEQ: 毒性等量)¹⁻⁵⁾が 20 から 40 ppt であること(表 2)と比べると、やや高いものであった。

(2) わが国でダイオキシンの耐容摂取量を 4 pg/kg bw/日と評価⁶⁾した際に、ひとつのクリティカルな事象と考えられた雌ラット生殖器の形態異常(Vaginal thread が消失しない)⁷⁾について同様な検討を行った。すなわち、妊娠 8 日目のラットに TCDD (2,3,7,8-tetrachloro dibenzo-p-dioxin) を単回投与した時に観察された形態異常(Vaginal thread が消失しない)について 10% 発現確率のベンチマークドーズを投与量から血中脂肪当たりの濃度を推計すると、309 ppt という値が得られた(表 3)。

D 考察

(1) ダイオキシン類のリスク評価における不

確実性としては、メカニズムに関連した不確実性の要因が大きい。たとえばCYP酵素の誘導は補償的な反応であり、ダイオキシン類の毒性影響のいくつかはCYP酵素の誘導とは直接関係しない可能性がある。したがってCYP酵素の誘導活性を有力な指標として決められている毒性等価指数(TEF)は、ダイオキシン類の毒性を評価する上で適切ではないかも知れない。人および動物におけるもっともクリティカルな影響と確認された生殖・発生影響のダイオキシンによる発症の生物学的なメカニズムは良く知られていない。

(2) 人におけるダイオキシン曝露は慢性的なものが中心だが、生殖・発生影響については、曝露のクリティカルなウィンドウ(臨界期)が想定される。人においてもいくつかの影響を及ぼしたことが判明している例は、事故による比較的短期間の高濃度曝露によるものである。曝露の期間について、評価の根底に不確実性が残っている。

(3) ダイオキシンの耐容一日摂取量を評価する上で重要な知見として扱われた生殖・発生影響データは単回投与によるものであった。動物試験から人に外挿する際には、人と動物における影響の共通性と違いを明確にしておかねばならない。たとえばダイオキシンはある種に対してはたいへん強い急性毒性を示すが、ほかの種(おそらく人も含まれる)に対してはそれまで強い急性毒性を示さない。催奇形性、生殖・発生影響、免疫毒性、知能・学習障害などが、人や動物において観察されているが、それらが検出される用量にはどれだけの違いがあるのか感受性の差を明確にする必要がある。

(4) ダイオキシンによるリスクについては、いくつかの新しい手法をとりいれた耐容摂取量の評価がなされたが、その後さまざまな重要な新しい知見が輩出している。またダイオキシン類としてPCBなどが一括して扱われたが、毒性影響のあり方や影響等量の評価にも問題が多くあり検討が必要となっている。

E 結論

(1) 事故により高濃度曝露された集団で見られた出生児の性比の偏りについて、性比の偏りが起る確率と両親の血中ダイオキシン濃度との関係についてデータを基にいくつかの仮定を導入して統計的な解析を行った。

log logistic model を適用し女兒のみ生まれるようになってしまうように変化することが10%の確率で発現するベンチマークドーズ(血漿中脂肪当たりのTCDD濃度)を推計すると約60 pptとなる。女兒のみ生まれた9人の母親(12人の女兒を出産)のうち血漿中のTCDD濃度が最低の濃度(126 ppt)の母親から生まれた子供が男であったと仮定すると、10%発現確率のベンチマークドーズは121 pptとなった。

(2) これらの値は最近のドイツ、米国、日本の成人の平均的な血清中ダイオキシン類濃度(TEQ: 毒性等量)20 から40 pptと比べると、やや高いものであった。

(3) ダイオキシン投与により雌ラットの生殖器に形態異常が出現する確率と投与量の関係についても、同様な解析を行った。

ダイオキシンの人における影響のあり方

と、曝露の分布、影響の感受性の種差・
個体差を考慮した不確実性解析をさらに
進める。

引用文献

- 1) Mocarelli P, Brambilia P, Gerthoux PM, Patterson DG Jr, Needham LL (1996) Change in sex ratio with exposure to dioxin, Lancet 348, 409
- 2) Papke O (1998) PCDD/PCD: Human background data for Germany, a 10-year experience, Environmental Health Perspectives, 106, Suppl 2, 723-731
- 3) Schechter A, Furst P, Furst C, Papke O, Ball M, Ryan JJ, Cau HD, Dai LC, Quynh HT, Cuong HQ, Phuong NTN, Phiet PH, Beim A, Constable J, Startin J, Samedy M, Seng YK (1994) Environmental Health Perspectives, 102, Suppl 1, 159-171
- 4) Schechter A, Startin J, Wright C, Papke O, Ball M, Lis A (1996) Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in human placental and fetal tissues from the U.S. and in placentas from Yu-Cheng exposed mothers, Chemosphere, 32 551-557
- 5) Watanabe S, Kitamura K, Nagahashi M, Waechter G, Takada T (1999) Health effects of chronic exposure of municipal incinerator workers to PCDD, PCDF and Co-PCB, The 19th '99, September 12-17, 1999, Venice

International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants

and POPs -DIOXIN '99, September 12-17, 1999, Venice

- 6) Masuda Y (1999) Fate of exposed PCDFs and PCBs in patients with Yusho PCB poisoning, The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs - DIOXIN '99, September 12-17, 1999, Venice
- 7) Gray LE Jr, Wolf C, Mann P, Ostby JS (1997) In utero exposure to low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters reproductive development of female Long Evans hooded rat offspring, Toxicol. Appl. Pharmacol, 146, 237-244

F. 研究発表

1 . 論文発表

なし

2 . 学会発表

- 1) Sekizawa J, Imai K, Ohya Y (1999) Uncertainty analysis of dioxin toxicity - its implication to human risk assessment, The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs- DIOXIN
- 2) Sekizawa J (1999) Benchmark dose estimation for reproductive and

developmental effects of dioxins, 日本内分泌攪乱化学物質学会第2回研究発表会要旨集, 12月9-10日, 神戸

学会第12回研究発表会講演論文集、200
- 207

3) 関澤 純(1999)内分泌攪乱化学物質
のリスク評価における総合的なリスク
評価のアプローチ, 日本リスク研究

G. 知的所有権の取得状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. 実用新案登録 | なし |

新生児におけるダイオキシン類同族体の体内半減期の推定(平成 11 年度、吉田)

A．研究目的

ダイオキシン類による有害影響については、実験動物を用いてかなり詳細に試験が行われている。2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-*p*-ジオキシン(TCDD)の生殖毒性試験では、母動物より胎児や出生後の児動物に影響が強く発現し、妊娠中及び授乳中の投与により、児動物での口蓋裂や水腎症の発現、受胎率の低下、生殖器への影響等が報告されている[1]。

ダイオキシン類への胎児の経胎盤曝露については、既に Van Wijnen ら[2]により報告されており、さらに、Kreuzer らの研究においても、死産児の脂肪組織と肝

B．研究方法

Kreuzer らは、幼児突然死症候群で死亡した3死産児及び17幼児(0.43～44週齢)の脂肪と肝臓試料をドイツのミュンヘン地域で検死解剖時に採取し、性別、体重、身長、授乳期間及び生存期間を個別に記録するとともに、両試料中の2,3,7,8-TCDD及び16種のPCDD/PCDF同族体の含有量を測定している。彼等の報告によれば、17同族体のI-TEQベースの濃度は、脂肪組織の脂質中で1.55～29.63 ng/kg(n=20)、肝臓脂質中で2.05～57.73

臓脂質中のTCDD濃度は、母乳試料の脂質中濃度と同じ範囲であると報告されている[3]。

ダイオキシン類の各同族体の体内半減期は体内負荷量を推定する上で非常に重要なパラメータであり、Flesch-Janys ら[4]により、成人での同族体別の体内半減期が報告されているが、胎児期後期あるいは新生児に対する値は報告されていない。このため、Kreuzer らの報告に基づいて、いくつかのPCDDsとPCDFs同族体の新生児での体内半減期について不確実性を考慮しつつ推定を行った。

ng/kg(n=19)であり、成人に対して報告されている範囲内あるいはそれよりも低い。さらに、母乳授乳児の脂質中TCDD濃度(脂肪組織：0.38～4.1 ng/kg, n=9, 肝臓：0.49～3.9 ng/kg, n=8)は、母乳を授乳されていない幼児での濃度(脂肪組織：0.16～0.76 ng/kg, n=8, 肝臓：0.29～0.71 ng/kg, n=7)に比べて高い。

Kreuzer らは、母乳を授乳されていない9例の突然死症候群で死亡した幼児の脂肪組織と肝臓中のPCDDsとPCDFs同族体濃度についても同じ論文で報告している。

表 - 1 脂肪組織及び肝臓中の PCDD/PCDF 濃度測定値

被検者	1		2		3	
	脂肪組織	肝臓	脂肪組織	肝臓	脂肪組織	肝臓
	ng/kg 脂質		ng/kg 脂質		ng/kg 脂質	
2,3,7,8-TCDD	2.1	1.5	1.4	0.8	1.3	0.76
1,2,3,7,8-PCDD	3.0	2.4	3.7	2.0	3.4	2.6
1,2,3,4,7,8-HxCDD	4.7	2.3	1.3	1.1	1.4	1.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	12.0	8.4	7.3	3.6	7.2	4.5
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.4	1.6	1.2	0.85	1.3	1.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCD	19.2	35.6	9.3	8.7	10.1	15.6
D	54.8	186	48.5	60.0	50.4	36.4
OCDD	1.7	4.4	1.2	1.4	1.3	2.4
2,3,7,8-TCDF	-(0.3)		-(0.4)	0.31	0.31	0.47
1,2,3,7,8-PCDF	7.0	0.80	11.2	5.8	9.5	5.7
2,3,4,7,8-PCDF	3.5	4.7	4.0	3.2	3.6	3.4
1,2,3,4,7,8-HxCDF	2.9	5.8	2.3	1.7	2.0	1.8
1,2,3,6,7,8-HxCDF	-(0.3)	2.3	-(0.1)	-(0.1)	-(0.1)	-(0.2)
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.4	-(0.5)	0.86	0.59	0.84	0.79
2,3,4,6,7,8-HxCDF	6.6	1.5	2.0	4.8	2.3	10.4
1,2,3,4,6,7,8-HpCD	0.81	34.0	0.26	0.62	-(0.1)	1.0
F	-(3.4)	7.1	1.5	10.4	3.2	34.1
1,2,3,4,7,8,9-HpCD		56.2				
F						
OCDF						
I-TEQ (NATO, 1988)	10.18	8.83	10.83	6.17	9.70	6.83

注： - は検出限界（括弧内の値）未満であることを示す。

表 - 2 被験者に関するデータ

被	性別	身長, cm	体重, kg	授乳期間, 週	生存期間, 週
1	女性	47	2.3	0	0
2	男性	50	2.6	0	0
3	女性	50	2.1	0	0

死産児においても PCDDs と PCDFs は検出されており、I-TEQ ベースの濃度は、9.70 ~ 10.83 ng/kg（脂肪組織脂質）及び 6.17 ~ 8.83 ng/kg（肝臓脂質）であり、TCDD、脂肪組織脂質：1.3 ~ 2.1 ng/kg、肝臓脂質：0.76 ~ 1.5 ng/kg、n=3）である（表

- 1）。被験者に関するデータを表 - 2 に示す。新生児の脂肪組織の重量は体重の 12 ~ 16% であると報告されている [5]。一方、我がにおける新生児の肝臓重量は 129 ± 32 g と報告されており [6]、これは体重の 5 ~ 6% に相当する。このため、新

生児での PCDDs と PCDFs 同族体の体内半減期は ,Kreuzer らが報告している脂肪組織中濃度に着目して推定した。推定に際しては , 母乳を授乳されない幼児は , 出生後のダイオキシン類摂取はなく , 生後 t 週後の新生児の脂肪中同族体濃度 ($C_{fat}(t)$) は次式で表わされると仮定した。

C . 研究結果

1) 2,3,7,8-TCDD

図 - 1 に 2,3,7,8-TCDD の脂肪組織中濃度の減衰を示す。図に示すように , 濃度には大きなバラツキが認められるが , 両変数間の相関係数は , -0.73 であり , Student の t 検定の結果 , 有意に相関 (有意水準 : 0.05) が確認された。

線型最小二乗法で求めた排泄速度定数は 0.028 1/week (1.45 1/year) で , 体内半減期は 0.48 年であった。しかし , 図に示

されるように , 脂肪組織中濃度には , 胎児期の母親を通じての体内負荷量 , 出生後の体重 , 脂肪含量等の被験者の個人差に起因するバラツキが認められることから , 推定の不確実性を考慮して , 半減期を 95%信頼上限と下限値の範囲で示すことがより妥当と考えられる。傾きの 95%信頼限界値は , 0.0082 ~ 0.048 1/week と算出されたことから , 半減期は 0.28 ~ 1.6 年の範囲と推定された。

2) 1,2,3,7,8-PeCDD

図 - 2 に 1,2,3,7,8-PeCDD の脂肪組織中濃度の減衰を示す。図に示すように , この同族体でも , 濃度と時間には大きなバラツキが認められるが , 両変数間の相関係数は , -0.80 であり , Student の t 検定の結果 , 有意に相関 (有意水準 : 0.05) があると判断された。

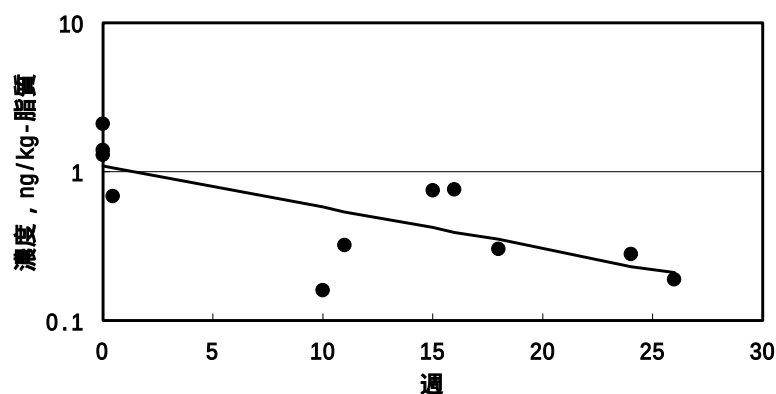


図 - 1 新生児の脂肪組織中での 2,3,7,8-TCDD 濃度の減衰

線型最小二乗法で求めた傾き（排泄速度定数）は、 0.034 1/week （ 1.79 1/year ）で体内半減期は 0.39 年であった。同様に、傾きの 95% 信頼限界値は、 $0.015 \sim 0.054 \text{ 1/week}$ と算出され、半減期は 0.25 ～ 0.89 年の範囲と推定された。

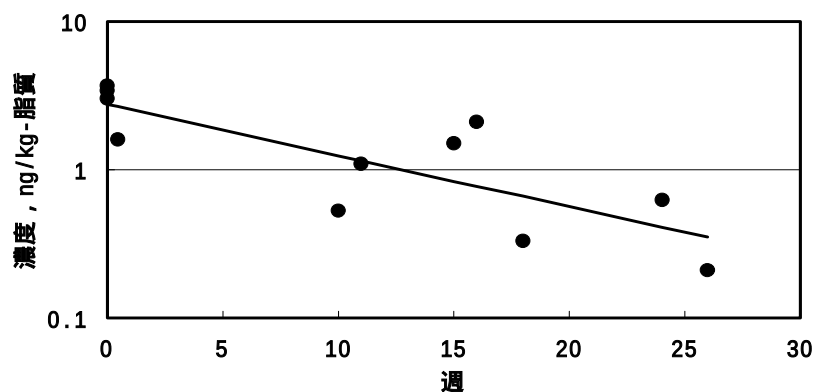


図 - 2 新生児の脂肪組織中での 1,2,3,7,8-PeCDD 濃度の減衰

3) 1,2,3,7,8,9-HxCDD

図 - 3 に 1,2,3,7,8,9-HxCDD の脂肪組織中濃度の減衰を示す。図に示すように、この同族体でも、濃度と時間には大きなバラツキが認められるが、両変数間の相関係数は、 -0.66 であり、Student の t 検定の結果、有意に相関（有意水準：0.05）があると判断された。

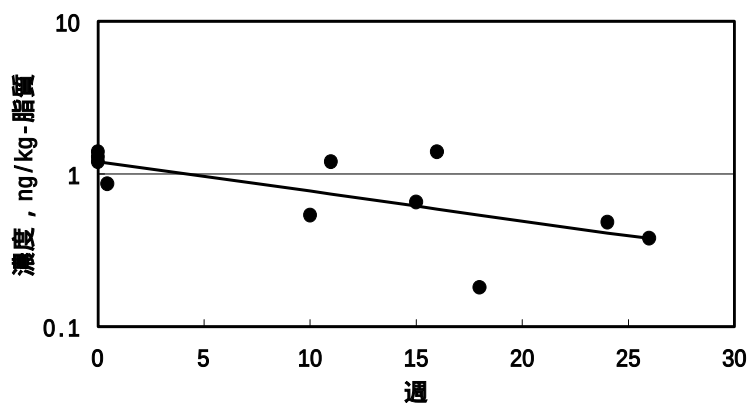


図 - 3 新生児の脂肪組織中での 1,2,3,7,8,9-HxCDD 濃度の減衰

4) 2,3,4,7,8-PeCDF

図 - 4 に 2,3,4,7,8-PeCDF の脂肪組織中濃度の減衰を示す。図に示すように、この同族体でも、濃度と時間には大きな

バラツキが認められるが、両変数間の相関係数は、 -0.65 であり、Student の t 検定の結果、有意に相関（有意水準：0.05）があると判断された。

線型最小二乗法で求めた傾き（排泄速度定数）は、0.025 1/week（1.30 1/year）で体内半減期は0.53年であった。同様に、傾きの95%信頼限界値は、0.0029～0.047 1/week と算出され、半減期は0.28～4.6年の範囲と推定された。

上記4同族体以外の2,3,7,8-位に塩素が置換したPCDD及びPCDFの13同族体については、データに検出限界未満の値が含まれる（1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8,9-HxCDF, 2,3,4,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF, OCDF）、あるいは測定値のバラツキが

大きく、濃度と時間の間に有意な相関関係がない（1,2,3,4,7,8-HxCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD, 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF）と判断されたため、半減期は算出しなかったが、今回、体内半減期を推定した4同族体はI-TEQ濃度の63～82%を占めることから、主要な同族体については体内半減期が推定できたと考えられる。

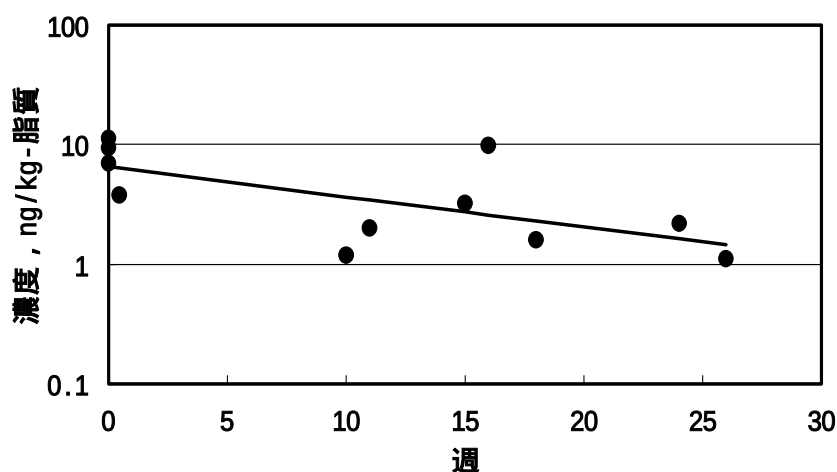


図 - 4 新生児の脂肪組織中での2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の減衰

D．考察

胎児期には胎盤を通して母親と平衡状態にあるため、胎児の脂質当たりのダイオキシン類濃度は母親と同レベルとなる。したがって、新生児における現実的なダイオキシン類体内負荷量を推定する際に必要な初期負荷量と母乳中経由の摂取量は、母乳中ダイオキシン類濃度から推定

できる。

一方、データ数が少なく被験者の個人差に伴う測定値のバラツキを考慮した新生児における2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,7,8,9-HxCDD及び2,3,4,7,8-PeCDFの体内半減期の95%信頼区間は、それぞれ0.28～1.6年、0.25～0.89年、0.37～4.9年及び0.28～4.6

年であり，Flesch-Janys らが同じ同族体に対して報告している成人における体内半減期（7.2 年，15.7 年，4.9 年及び 19.6 年）に比べて短く，成人に対して報告されている半減期を使用することは，幼児での体内負荷量を過大に推定すると考えられる。

厚生省の調査[7]によれば，母乳中ダイオキシン類による 1 歳児の感染に対する抵抗性，アレルギー，甲状腺機能及び発育発達には影響が認められないとのことであるが，胎児を含む新生児におけるダイオキシン類の体内負荷及び体内半減期については，さらにデータを収集し解析することが必要と思われる。

参考文献

- 1) 中央環境審議会環境保健部会，生活環境審議会，食品衛生調査会（1999）：ダイオキシン類の耐容一日摂取量について
- 2) Van Wijnen, J., B. Van Bavel, G. Lindstrom, J.G. Koppe, and K. Olie（1990）：Placental Transport of PCDDs and PCDFs in Humans. *Organohalogen Compounds* **1** 47-50.
- 3) Kreuzer, P.E., Csanady, Gy.A., Baur, C., Kessler, W. Papke, O., Greim, .H., and Filse, J.G.（1997）：2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and Congeners in Infants. A Toxicokinetic Model of Human Lifetime Body Burden by TCDD with Special Emphasis on Its Uptake by Nutrition. *Arch Toxicol.* **71** 383-400.
- 4) Flesch-Janys, D., H. Beher, P. Gurn, D. Jung, J. Konietzko, A. Manz, and O. Papke.（1996）：Elimination of PCDDs and PCDFs in Occupationally Exposed Persons. *J. Toxicol. Environ. Health.* **47** 363-378.
- 5) International Commission on Radiological Protection (ICRP)（1975）：Report of Task Group on Reference Man. Report ICRP No.23. Pergamon Press.
- 6) Ogiu, N., Y. Nakamura, I. Ijiri, K. Hiraiwa, and T. Ogiu（1997）：A Statistical Analysis of the Internal Organ Weights of Normal Japanese People. *Health Physics.* **72** 368-383.
- 7) 厚生省児童家庭局（1999）：母乳中のダイオキシン類に関する調査

ダイオキシン曝露による出産時性比の偏りに及ぼす父親の血中濃度の統計的解析および、わが国出産児の性比の経年変化に関する解析（平成 12 年度、関澤・安田）

A. 研究目的

- (1) ダイオキシンによる影響のうち、セベソにおける出生児の性比（男児の女児に対する比）の偏りと、その父親の血清中ダイオキシン濃度のデータからこのような事象が一定の確率で起こるベンチマークドーズを試算し、近年の日本におけるダイオキシンによる人体汚染の状況と比較検討する。
- (2) わが国の人口動態統計からここ 50 年間の出生児の性比についてのトレンドを調査し、トレンドの背景となる事由について検討を加える。

B. 研究方法

- (1) Mocarelli ら（1996）が報告したセベソにおける出生児の性比のデータとその父親の血漿中ダイオキシン濃度のデータについて、Log-logistic モデルを適用し米国環境保護庁（US EPA）の Benchmark Dose Software（BMDS）を用いて一定確率でこのような事象が起こる血漿中ダイオキシン濃度をベンチマークドーズとして推算した。
- (2) わが国の人口動態統計データから最近 50 年間の出生児および死産児の性比の変化およびその要因について調査し統計的な検討を行った。両親のダイオキシン負荷量との関係について考察を加えた。

C. 研究結果

- (1) ダイオキシン曝露による出産時性比の偏りに及ぼす父親の血中濃度の統計的解析
ダイオキシンによる生物影響のうち実験

動物では観察されていないが、ヒトの事故時に観察された注目すべき事象として高濃度曝露者からの出生児の性比の偏りの問題がある。

イタリアのセベソで 1976 年におきたダイオキシンの大量放出事故後の約 8 年間に生まれた 17 人の子供のうち、両親の血清中の 2,3,7,8-ジベンゾパラダイオキシンの濃度が脂肪あたり 100 ppt 以上の場合、出生児 12 人がすべて女児であった（Mocarelli ら 1996）。

Sekizawa ら（1999）は、事故後、数年間の出産児における特定の性への偏りというような影響を与える可能性がより高いと思われた母親の血中ダイオキシン濃度データに基づいて、このような事象が 10% の確率で発現するダイオキシン濃度のベンチマーク量を推計したところ、約 60 ppt となった。

しかしその後 Mocarelli ら（2000）は、かれら自身のデータの統計的な解析の結果、出産児の性の偏りについては父親のダイオキシン曝露量の高さが関係していると報告した。そこで今年度は同様な方法を用いて父親の血中濃度におけるベンチマーク量を推算したところ 10% 発現確率のベンチマーク量（BMD）は、対照として用いる集団の血中濃度により相当左右されるがおよそ血清中ダイオキシン濃度として約 80 ppt がベンチマーク量と推定された（表 1）。

表 1 では、父親の血中濃度の対照群として、現在の先進国における成人の標準的な曝露レベルと考えられる血清中ダイオキシン濃度 20 ppt の父親から、出産児の標準的

な性比に対応する 513 人の男児と 487 人の女児が生まれるケースなど、3 種類の場合を想定して計算した結果を示した。またこのベンチマーク量の 95% 信頼限界は 22-26 ppt であった。

(2) わが国出産児の性比の経年変化に関する解析

わが国の人口動態統計を基に、1947 年から 1999 年の間に出産児の性比(男児と女児に対する比)を解析した結果、次の傾向が見られた。すなわち 1950 年から 1970 年にかけては一貫して上昇し、1970 年以降は一貫して減少していることが知られた(図 1)。

この間の増減はそれぞれ 20-30 年の間に 3% づつという値である。さらにグラフからわかるように 1970 年前後における変化はきわめて顕著である。

同様な傾向の有無を他の先進国について調査したところ、1970 年以降に相対的に男児の出産が減少している例がいくつかの先進国で見られたが、わが国の統計に見られるような顕著な傾向はなく、性比の減少率もたかだか 0.3% 程度であってわが国の約 10 分の 1 の範囲に収まっている。したがってこのような顕著な性比の変化はわが国に特徴的というべきである。

この背景にはさまざまな要因の寄与が考えられるが、比較的わかりやすい事柄のいくつかのひとつに女性の初産年齢の高年齢化があげられる。母親の 5 歳階級別に出産児の性比の経年変化を図 2 に示したが、母親の出産年齢別に出生児の性比に顕著な差は見られなかった。

次に最近は一人の女性の生む子供の数は急速に減少しつつあり、ほとんどが 1 人か、あるいは 2 人までとなりつつある。そこで第 1 子と第 2 子以下とで性比の差があるか、

あるいはそのような違いが近年に顕著になりつつあるかについて検討した。

図 3 には第 1 子、第 2 子、第 3 子の性比を経年的に比較したものであるが、1970 年までと 1970 年以降では生まれた順序別の性比に変化が見られ、1950 年以降 12 年ごとに分割してそれぞれの分割された期間ごとの出産順位による性比の違いに統計的に有意な差があるかを検定した。

結果は表 2 に示すように 1950-1961 年の間では第 1 子と第 2 子、第 3 子の性比の間に有意な差があり、1962-1973 年の期間については第 1 子と第 3 子の性比の間にのみ有意な差があり、1974-1988 年では第 1 子と第 2 子、第 3 子の性比の間に有意な差はなく、1986-1999 年では第 1 子と第 2 子、第 3 子の性比の間に有意な差があるがグラフから見られるように第 1 子における性比が比較的一定であるのに対して第 2 子、第 3 子における性比が経年的に変化し、結果的に最近の 12 年間は 1973 年より以前に比べると第 1 子の性比と第 2 子、第 3 子における性比の関係は逆転している。しかしこのことの原因は現在のところ、よくわからない。

さらに 1970 年以降の死産児の性比はここ 30 年間で急激に上昇(男児死産が相対的に増加)していることが報告されているが、詳細に見ると、この現象は特に性分化が外見的に判断可能となる妊娠 12 週から 22 週においてもっとも顕著であった。

D. 考察

ダイオキシンの生物影響について多くの試験研究がなされているが実験動物の種間また、実験動物とヒトの間では影響のあり方が定性的にも定量的にも大きく異なる場合がありうることも知られている。昨年度

は出産児への影響の可能性がより高いと考えられた母親の血清中のダイオキシン濃度データに log logistic model を適用しこのような事象が 10% の確率で発現するベンチマーク量を推計したところ、約 60 ppt となった。今回父親の血中ダイオキシン濃度と出生児の性比の偏りを示すベンチマーク量の関係を調べた結果、約 80 ppt がベンチマーク量と推定された。

表 3 にはダイオキシンの体内負荷レベルについての各国の調査結果を要約した。父親におけるベンチマーク量の値は最近のドイツ、米国、日本の成人の平均的な血清中ダイオキシン類濃度 (TEQ: 毒性等量) が 20 から 40 ppt であることと比べると、やや高いといえるものであった。しかし 1970 年代の前半には成人の血中のダイオキシンと PCB 濃度は現在の約 2 - 3 倍であったと推定されており、さらにベンチマーク量レベルに近づくことになる。

人口動態統計に見られた出生児の性比の経年的変化には明らかに一定の傾向が見られ、この背景には何らかの要因の存在が推定される。しかもこのような顕著な性比の変化は先進国の中でもわが国に特徴的というべきである。

ひとつの要因として、もし第 1 子と第 2 子以降の間で出生児の性比に違いが起こっているなら最近の少子化傾向との関係により何らかの影響が考えられる。これまでの解析の結果から少なくとも戦後の一定時期と最近では、出生順による性比の違いが見られその関係は 1970 年代以降逆転した関係になっていることがわかった。

さらにわが国でも他の先進国と同様に 1970 年代の前半には成人の血中のダイオキシンと PCB 濃度がもっとも高い時期があったと推定されているが、ダイオキシン

による出生児の性比に対する影響があるとするならば、この寄与はどのように考えられるかを検討する必要がある。

この事象の背景には、生体側や環境側の要因だけでなく、社会的な要因も関与していると考えられ、この要因を明らかにすることはわが国のヒトのレベルで実際に見られている生殖における変化をとおして、現在関心を呼んでいる内分泌かく乱化学物質問題について、ひとつの解答を示す可能性がある。

E. 結論

(1) ダイオキシンの生殖・発達影響の不確実性分析のため、事故によりダイオキシンに曝露された両親から生まれた子供に見られた性比 (男児と女児に対する比) の偏りの問題をとりあげ、実際のデータを基に統計的に解析し、このような事象が 10% の確率で発現するベンチマーク量を推計したところ、父親の血中ダイオキシン濃度として約 80 ppt がベンチマーク量と推定された。

(2) わが国の人口動態統計を基に、1947 年から 1999 年における出生児の性比を解析した結果、1950 年から 1970 年にかけては一貫して上昇し、1970 年以降は一貫して減少していることが知られた。しかもこの傾向は先進国に共通しているとはいえ、わが国において特に顕著なものであった。母親の 5 歳階級別の出生児の性比の経年変化を調べたが、母親の出生年齢別に出生児の性比に顕著な差は見られなかった。少子化傾向が急速に進みつつあることから、第 1 子と第 2 子、第 3 子の性比の間に有意な差があるか否かについて調べたところ、1950 年以降 12 年ごとに分割してそれぞれの分割された期間ごとの出生順位による性比の違いに統計的に有意な差が見られた。1970 年

代の前半には成人の血中のダイオキシンと P C B 濃度が高かったこととの関係について今後さらに検討を要する。

引用文献

Davis DL, Gottlieb MB, Stampnitzky JR (1998) Reduced ratio of male to female births in several industrial countries : a sentinel health indicator? JAMA 279, 1018

Mizuno R (2000) Lancet, 356, 738

Mocarelli P, Brambilla P., Gerthoux P.M., Patterson Jr D.G. & Needham L.L. (1996) Change in sex ratio with exposure to dioxin, The Lancet, 348, 409

Mocarelli P., Gerthoux P.M., Ferrari E., Patterson Jr D.G., Kieszak S.M., Brambilla P., Vincoli N., Signorini S., Tramacere P., Carreri V., Sampson E.J., Turner W.E. & Needham L.L. (2000) Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offspring, The Lancet, 355, 1838

Sekizawa J, Imai K & Ohya Y (1999) Uncertainty analysis of dioxin toxicity - its implication to human risk assessment DIOXIN 1999 (Venice, September 1999)

F. 研究発表

1. 論文発表

Sekizawa J & Hamada C 投稿準備中

2. 学会発表

Sekizawa J, Saito M, Yanagida Y & Endo M (2001) Investigation of possible causes of the change in the sex ratio of live births in Japan: Putative relation to dioxin body burden, DIOXIN 2001 (Gyeongju, September 2001)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

表1 Benchmark Dose and Benchmark Dose Lower Limit Values with
Several Putative Background Populations

Dataset	Background population	BMD Level	BMD (ppt)	BMDL (ppt)
Sevesofather3	20ppt (513 males/487 females)	BMD2	79.6	21.5
		BMD5	80.6	26.2
Sevesofather2	14-24 ppt (mix of 3 female and 3 males)	BMD2	76.9	18.3
		BMD5	77.6	26
		BMD10	78.2	44.3
Sevesofather	20 ppt (51males/49 females)	BMD2	91.6	46.9
		BMD5	92.1	47.5
		BMD10	92.6	47.9
Sevesomother	14-24 ppt (6 damy)	BMD10	59.6	9.9

Extra risk was estimated with 95% confidence limit using
log-logistic model

BMD : Benchmark Dose BMDL: Benchmark Dose Lower Limit

BMDx: Benchmark level of an effect at x% increase

Sevesofather3, sevesofather2 and sevesofather : father's serum blood data
used.

Sevesomother : data of mother's serum blood data used

図1 わが国の出産児の性比の経年変化
(人為的な操作による影響を排除するために移動平均で示した)

