

課題名 C-0903 妊婦におけるダイオキシン摂取が胎児健康に及ぼす影響のリスク評価に関する研究

課題代表者名 月森 清巳 福岡市立こども病院

研究実施期間 平成21～23年度

累計予算額 46,000千円（うち平成23年度：13,700千円）
予算額は、間接経費を含む。

研究体制

- (1) ダイオキシン類の母体から胎児への移行に関する研究
(産業医科大学、九州大学、福岡県保健環境研究所)
- (2) 子宮内ダイオキシン類曝露とそれによる児の健康影響との関連に関する研究
(福岡市立こども病院、九州大学)
- (3) ダイオキシン類の胎盤毒性に関する基礎的研究
(九州大学、順天堂大学)

研究概要

1. はじめに（研究背景等）

近年、環境汚染物質の管理が徐々に進み、目に見えない環境汚染は少なくなってきた。しかし、脂溶性が高く難分解性の化学物質は食物連鎖を通してヒトの生体内に蓄積し、健康などに悪影響を及ぼす可能性が増大している時期ではないかと懸念がもたれている。また、小児においては、器官の発育・発達過程により大きな影響となる化学物質の曝露を受けやすく、この影響はその後化学物質のなかでダイオキシン類はホルモンのような化学物質である。と加えて、わが国ではゴミの処分のほとんどが焼却に依存しており大気中へのダイオキシン類の放出が多いこと、日本人は魚食が評価は、わが国における環境リスク対策の重要な柱であり、なかでも胎児期におけるダイオキシン類曝露の影響のリスク評価および毒性発現機構の解明は、重要なかつ緊急に対処すべき課題であると考へられる。しかしながら、ヒトにおける胎児期のダイオキシン曝露の影響のリスク評価および毒性発現機構についてはこれまで検討がなされていないのが現状である。さらには小児の環境保健に関する影響を明らかにするために、実験を中心としたメカニズムの解明を図ると共に、小児を取り巻く環境と健康との関連性に関する疫学調査も併せて推進を図るよう提言された。



図1 研究目的

2. 研究開発目的

本研究では、妊婦におけるダイオキシン類摂取が胎児の発育・発達に及ぼす影響を観察することによって、ダイオキシン類のヒトの健康に及ぼす影響のリスク評価を行うことを目的とした。この主旨に沿って、(1)ダイオキシン類の母体から胎児への移行に関する研究、(2)子宮内ダイオキシン類曝露とそれによる児の健康影響との関連に関する研究、(3)ダイオキシン類の胎盤毒性に関する基礎的研究の3課題を設定し、研究をすすめた(図1)。

(1)では母体並びに胎児関連の様々な生体試料を採取し、当該試料中のダイオキシン類濃度を計測することによって、ダイオキシン類の母体側から胎児側への移行量やダイオキシン類異性体別の移行の傾向、母体-胎児間の濃度分布等を把握すること、(2)では高濃度のダイオキシン類、なかでも2,3,4,7,8-ペンタクロロジベンゾフラン (PeCDF) に曝露したカネミ油症患者における母体-胎児ダイオキシン類移行と児の健康影響との関連の観察を介して、子宮内ダイオキシン類曝露による児の健康影響を明らかにすること、ダイオキシン類の子宮内膜や絨毛細胞に対する細胞生物学的影響を明らかにすること、によって、ダイオキシン類の母体側から胎児側への移行量やダイオキシン類異性体別の移行の傾向、母体-胎児間の濃度分布等を把握すること、(3)ではテトラクロロジベンゾダイオキシン (TCDD) がヒト絨毛外栄養膜細胞 (EVT) の生物学的性質に与える影響を明らかにすること、ヒトアシル炭化水素受容体 (AHR) のプロモータ領域一塩基多型 (SNP) sによるAHR転写制御への影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究開発の方法

(1) ダイオキシン類の母体から胎児への移行に関する研究

九州大学病院で29名の妊産婦 (正常出産例19名及び胎児発育遅延例 (FGR) 10名) の協力を得て生体試料 (胎盤、羊水、母体血、母体脂肪、臍帯、臍帯血 (臍帯動脈血及び臍帯静脈血)、胎脂、胎便、新生児尿、母乳) の合計217件を採取した。大容量型高速溶媒抽出装置及び大量試料注入装置付き高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計を用いて、各生体試料中のダイオキシン類を分析する方法を確立し、測定を実施した。

(2) 子宮内ダイオキシン類曝露とそれによる児の健康影響との関連に関する研究

子宮内ダイオキシン類曝露が児の健康に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、高濃度のダイオキシン類に曝露したカネミ油症患者より出生した児の健康状態と母体出産時血中ダイオキシン類推定濃度との関連について解析した。また、カネミ油症患者におけるダイオキシン類の胎盤を介する母児間移行について正常妊娠、早産・胎児発育不全と対比検討した。

(3) ダイオキシン類の胎盤毒性に関する基礎的研究

TCDDがヒト不死化絨毛細胞に与える影響について、細胞数の計測、WST試験により細胞増殖を、ポイデンチャンパー法およびスクラッチ試験により細胞の浸潤運動能を、チューブフォーメーションアッセイにより血管内皮分化能を、ウエスタンブロット法により絨毛細胞の分化への関与が知られている、HIF1A、ITGタンパク質発現を検討した。

TCDDが絨毛細胞SP細胞に与える影響については、幹細胞分画を多く含んだSide-population(SP)細胞とnon-SP細胞を分取培養しRNAを抽出、SP細胞で発現が亢進している遺伝子をマイクロアレイでスクリーニングしリアルタイムPCRで同定するとともにAhRの発現も解析した。E2存在下とE2-低下の条件(phenol-red free DMEM+10%charcoal-treated FCS)でSP細胞とNSP細胞を培養し、TCDD添加による細胞増殖能およびSP細胞の出現率を比較した。

AhRプロモータ領域の一塩基多型については、一精子受精の全奇胎50例を用いて、AhR, ARNTプロモータ領域-1~-6000の塩基配列を決定し、各SNPの種類、頻度、転写因子結合サイトを解析し、SNP haplotypeを有するプロモーターをLuciferaseレポータに接続して作成し、ヒト細胞に遺伝子を導入し、Luciferase assayを行い、SNP haplotypeがどのようにAhR、ARNT発現制御に関与するか解析した。

4. 結果及び考察

(1) ダイオキシン類の母体から胎児への移行に関する研究

母体血試料中のダイオキシン類濃度は、正常例(n=19)で平均15 pg-毒性等量 (TEQ) /g lipid (範囲: 6.5~44 pg-TEQ/g lipid)であり、FGR例(n=10)では平均8.7 pg-TEQ/g lipid(範囲: 2.1~19 pg-TEQ/g lipid)であった。これらの濃度レベルはいずれも過去の分析事例と比較して同等かやや低いレベルであり、一般的な生活環境から偏りのある環境(例えば職業性の曝露等)に由来する特異的な高濃度例は認められなかった。29名の母体血中濃度は、妊産婦の出産時年齢や出産回数に対応して分布していた。これらの結果から、29名の妊産婦から採取された各種生体試料は、本研究の主たる目的である一般環境下での胎児へのダイオキシン類の移行を調べるうえで適切な試料と考えられた。胎盤試料中のダイオキシン類濃度は、正常出産例(n=15)で13 pg-TEQ/g (範囲5.2~36 pg-TEQ/g)、FGR例(n=9)で平均12 pg-TEQ /g (範囲4.5~25 pg-TEQ/g)であった。臍帯静脈血(臍帯V血)中のダイオキシン類濃度は、正常例(n=19)で平均5.9 pg-TEQ /g (範囲1.9~18 pg-TEQ/g)、FGR例(n=10)では平均6.8 pg-TEQ /g (範囲2.7~10pg-TEQ/g)であった。正常出産15名において、母体血、胎盤組織、臍帯V血の順にダイオキシン類濃度が低下する傾向が総じて認められ、母体から胎児側に近い試料ほどダイオキシン類濃度は低くなる傾向が認められた。母体血-臍帯V血及び母体血-胎盤の各組織の濃度間に良好な正の相関が認められ、臍帯V血のダイオキシン類濃度は母体血に対して概ね60%低い値を示し、母体内でのダイオキシン類の胎児への透過は、胎盤部位で一定の抑制がなされ、胎児へ移行する毒性量は軽減されることが示唆された。母体から胎児へのダイオキシン類の透過性は異性体種で異なり、高毒性の異性体(毒性等価係数(TEF)値が高い異性体)は胎盤で保持されやすく、一方で毒性の低い化合物は胎盤から臍帯V血へ移行しやすいことが示された。胎脂及び胎便試料からダイオキシン類が検出・定量され、母体に取り込まれた当該物質が、胎児へ確実に移行していることが裏付けられた。

(2) 子宮内ダイオキシン類曝露とそれによる児の健康影響との関連に関する研究

カネミ油症患者では、母体血中PCDDs、PCDFsおよび*non-ortho*ポリ塩化ビフェニル(PCB)s濃度は児の出生体重の減少と相関することが分かった。このダイオキシン類による出生体重への影響は、異性体の有するAhRとの親和性、すなわちTEF値とは関係なく、母体血中ポリ塩化ジベンゾパラダイオキシン(PCDD)s、なかでもヘキサクロロジベンゾパラダイオキシン(HxCDD)sの濃度に関連し、また男児の方が女児より影響を受けやすいことが分かった。さらに、カネミ油症患者より出生した児のなかで、皮膚色素沈着を発症した群では母体血中ダイオキシン類濃度が高く、一方、アレルギー疾患や甲状腺機能低下症の有無による母体血中ダイオキシン類濃度の差異は認めないことが分かった。加えて、カネミ油症患者の女系の2世、3世では男児出生率が低下することが分かった。これらの成績から、母体の高濃度のダイオキシン類曝露による児の健康影響としては、出生体重の減少、皮膚色素沈着、男

児出生率の低下が示された。また、これらダイオキシン類曝露による児への健康影響は、男児の方が女児より影響を受けやすいこと、次々世代にも影響、すなわち継代的な影響があることが示された。さらに、ダイオキシン類の母児間移行に関する観察から、母体から児へのダイオキシン類の移行はAhRとの親和性とは関係なく、PCDDs、なかでもオクタクロロジベンゾダイオキシン（OCDD）が移行しやすいこと、カネミ油症患者ではダイオキシン類の児への移行量は少なく、児の血中ダイオキシン類濃度は一般集団と差異はないことが分かった。これらの成績から、高濃度のダイオキシン類曝露による児への健康影響の発現には、胎盤を介して児に移行したダイオキシン類の量的な問題ばかりでなく、ダイオキシン受容体を介する細胞内毒性シグナル伝達機構の個体差（遺伝子多型）やエピジェネティックな遺伝子発現の制御などが関与することが考えられた。これら高濃度のダイオキシン類に曝露した群における次世代への健康影響の観察は、一般集団におけるダイオキシン類曝露による次世代への健康影響を明らかにするうえで重要な基礎資料となるものと考えられる。

（3）ダイオキシン類の胎盤毒性に関する基礎的研究

0.1, 1, 10nMのTCDDの暴露ではHTR-8細胞、TCL1細胞の細胞数、WST活性、浸潤能、運動能、チューブフォーメーション、TCL1細胞におけるHIF1A, VEGF, ITGA1, A6, AVB3タンパク発現に変化は見られなかった。

10%血清添加DMEM培地で培養したHTR-SVneo細胞を解析したところ、SP細胞をみとめた。分離したHTR-Svneo-SP細胞においてNSP細胞に比べ、約2倍のAhR mRNAの発現亢進がみとめられた。DMEM with 10% serum(通常の培地)培養条件下では、TCDD添加により、SP細胞は増殖が抑制、NSP細胞は増殖が促進される傾向がみられたが、有意差はなかった。E2低下条件の培養条件下でも同様に、TCDD添加により、SP細胞は増殖が抑制、NSP細胞は増殖が促進され 10^{-9} Mでは有意差がみられた。エストロゲン除去条件下で培養したHTR-SVneo親細胞を用いて、SP細胞の比率を解析したところ、 10^{-9} M TCDDはHTR-SVneo親細胞のSP細胞の出現率を低下させた。

AHR転写開始点（TSS）より-452から-122bpの間に高い転写活性を認めた。しかし-122からTSSの間にも転写活性が残っているため、TSSから-452bpをAHRのプロモーター領域と決定した。特徴的なSNPsはTSSより-59bpにあるGGGGCリピートと-130bpにあるC/Tであった。GGGGCリピートの数は転写活性には関係なく、C/Tの違いがAHR転写活性を制御していた。

考察

臍帯血中のダイオキシン類濃度（Total TEQ）は母体血より約60%低く、濃度は母体血、胎盤、臍帯血の順に低くなり、胎児側に近い組織ほどダイオキシン類濃度は低くなる傾向が認められた。母体内でのダイオキシン類の胎児への透過は胎盤で一定の抑制がなされていることが明らかになった。

胎盤によるダイオキシン類の透過抑制には異性体差が認められた。胎盤組織中のAhRとの親和性の高い異性体は抑制を受けやすく、逆にOCDD等の親和性の低い異性体は胎盤から臍帯血に比較的移行しやすいものと考えられた。生体組織試料中のダイオキシン類濃度は、母体年齢とともに増大し出産経験数とともに低下する傾向が認められた。日常の食事を介したダイオキシン類の摂取と生体内での蓄積、出産後の経母乳による体外排泄が主な要因と考えられる。

母体油症曝露においては母体血中PCDDs、ポリ塩化ジベンゾフラン（PCDF）sおよび*non-ortho* PCBs濃度は児の出生体重の減少と相関することが分かった。このダイオキシン類による出生体重の減少は異性体の有するtoxic equivalency quantities（TEF）値とは関係なく母体-胎児移行性の高い異性体の影響を受けやすく、また男児の方が女児より影響を受けやすいことが分かった。また、カネミ油症患者より出生した児のなかで、皮膚色素沈着を発症した群では母体血中ダイオキシン類濃度が高く、一方、アレルギー疾患や甲状腺機能低下症の有無による母体血中ダイオキシン類濃度の差異は認めないことが分かった。さらに、カネミ油症患者の女系の2世、3世では男児出生率が低下することが分かった。これらの成績から、母体の高濃度のダイオキシン類曝露による児の健康影響としては、出生体重の減少、皮膚色素沈着、男児出生率の低下が示された。これらダイオキシン類曝露による児への健康影響は、男児の方が女児より影響を受けやすいこと、次々世代にも影響を受けることから、これら児への健康影響の発現には、高濃度ダイオキシン類の母児間移送によるものとは異なる機序、たとえばダイオキシン受容体を介する細胞内毒性シグナル伝達機構の個体差（遺伝子多型）やエピジェネティックな遺伝子発現の制御などが存在することが考えられた（図2）。

TCDDは絨毛由来細胞株の増殖、浸潤や血管内皮分化に関わるタンパク質の発現には影響を与えないことがわかった。一方、エストロゲン低下条件や幹細胞のレベルでその作用が異なる可能性も示唆された。TCDDのレセプターであるAhRのプロモーター領域について、SNPの存在を確認し、SNPsによる活

性の差が存在することを示した。これらの結果は、TCDDの胎盤に与える影響は、単なる細胞毒性ではなく、幹細胞への影響やSNPsの個体差として表現される可能性をしめしたものと考えられる。今後SNPsと個体におけるTCDDの感受性の関連について明らかにし高感受性の個体への影響などを明らかにする必要がある。

ダイオキシン類曝露による次世代健康影響の発現機序は・・・

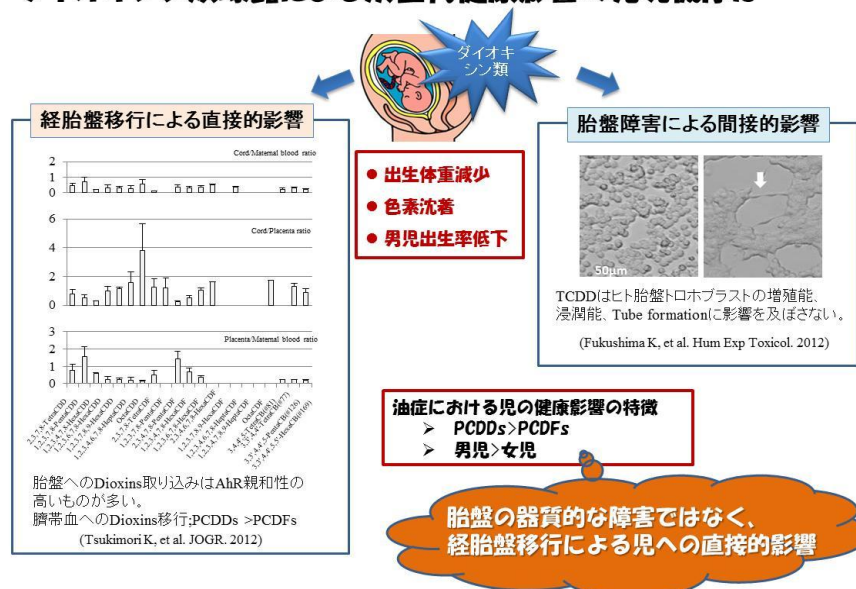


図2 ダイオキシン類曝露による次世代健康影響の発現機序

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

母体から胎児へのダイオキシン類移行量を調べた研究は例数が極めて少ない。過去の調査をみると、母体血、臍帯血、胎盤を分析対象として移行量の評価が試みられている。本研究ではこれらの試料に加えて、同一の妊産婦から胎脂、胎便、臍帯等の一連の試料（計10種類）を採取してダイオキシン類の分析を行い、胎児への移行量・移行動態を明らかにする、世界的にも希な研究である。現在のところ、母体血、胎盤、臍帯血の分析値が得られてきている。今後、その他の採取試料の分析に順次着手する計画であり、これらの定量値を用いて胎児へのダイオキシン類移行の詳細が解明できると思われる。本研究における科学的意義として特筆すべきは、一部の臍帯血試料を動脈血と静脈血に分別して採取できた点である（現在のところ未分析）。これは、同一の妊産婦から得られた臍帯動脈血と臍帯静脈血を個別に分析し、胎盤部位でのダイオキシン類の透過抑制に関して何らかの裏付けや考察を得ることを意図したものである。

カネミ油症患者では母体血中PCDDsおよびPCDFs濃度は出生体重と負の相関を示すこと、このダイオキシン類による出生体重への影響は男児のみに認められることが分かった。さらに、このダイオキシン類による出生体重への影響は、異性体の有するTEF値とは関係なく、PCDDs、なかでもHxCDDsは、PCDFsやPCBsよりも出生体重の減少に影響を及ぼすことが示された。これらの成績は、子宮内における高濃度のダイオキシン類曝露では胎児発育を抑制すること、この胎児発育に及ぼす影響には性差があること、さらにこの胎児発育抑制機序としてはダイオキシン類による胎盤障害というよりはむしろ母体から胎児へ移行したダイオキシン類のホルモン様作用などの直接的な影響である可能性を示唆するものと考えられた。

ダイオキシン類の胎児発育に及ぼす影響における性差の機序やダイオキシン類による胎児発育抑制の発現機序を明らかにすることは、ダイオキシン類による児への健康影響を評価するためのひとつの指標となり、ダイオキシン類に関する環境政策への根拠を提供することに繋がるものと思われる。

EVTの増殖、浸潤は、一般的な血中濃度を大きく超える濃度のTCDD曝露では明らかな変化をしめさなかった。一方、TCDDのレセプターであるAhRのプロモーター領域について検討したところ、4種類の一塩基変異がみられること、そのうちの1種類は転写活性が他のSNPsに比して高いことがわかった。これらの結果から、TCDDのヒト絨毛細胞への影響は単純な毒性ではなく、他の液性因子の効果を修飾するような作用を示しているような可能性、あるいは個々の個体での、レセプター発現やSNPsによる差が

表現型の発現に大きく影響する可能性を示唆するものと考えられた。

(2) 環境政策への貢献

研究で採取している生体試料は母体血のほか、胎脂、胎便や羊水など、これまでダイオキシン類の測定事例が殆ど報告されていない試料である。本調査研究では、これらの様々な種類の生体試料の分析に対応するために、分析法の改良・開発を並行して実施している。新しい分析方法は、国内外の多くの研究者にとって有益な情報であって、本分野の研究の進展に寄与するとともに環境政策に役立つ科学データの蓄積が図られることになる。また調査手順の全般（試料採取方法や試料保管方法など）で得られた知見や課題は、今後想定される大規模な調査プロジェクトにおいて、調査手法の設計・立案に役立つと考えられる。

ダイオキシン類の胎児発育に及ぼす影響における性差の機序やダイオキシン類による胎児発育抑制の発現機序を明らかにすることは、ダイオキシン類による児への健康影響を評価するためのひとつの指標となり、ダイオキシン類に関する環境政策への根拠を提供することに繋がるものと思われる。SNPsと個体におけるTCDDの感受性の関連について明らかとなれば、TCDDの影響を受けやすい高感受性の個体への暴露防止策などあらたな対策がとれるものと思われる。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

1) K. TSUKIMORI, H. UCHI, C. MITOMA, F. YASUKAWA, K. FUKUSHIMA, T. TODAKA, J. KAJIWARA, T. YOSHIMURA, T. HIRATA, N. WAKE and M. FURUE: *Chemosphere*, 84, 7, 928-35 (2011)

“Comparison of the concentrations of polychlorinated biphenyls and dioxins in mothers affected by the Yusho incident and their children”

2) K. TSUKIMORI, H. UCHI, C. MITOMA, F. YASUKAWA, T. CHIBA, T. TODAKA, J. KAJIWARA, T. YOSHIMURA, T. HIRATA, K. FUKUSHIMA, N. WAKE and M. FURUE: *Environ Int*, 38, 1, 79-86 (2012)

“Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease”

3) K. TSUKIMORI, F. YASUKAWA, H. UCHI, M. FURUE and S. MOROKUMA: *Epidemiology*, 23, 72, 349-350 (2012)

“Sex ratio in two generations of the Yusho Cohort”

4) K. FUKUSHIMA, K. TSUKIMORI, D. LI, T. TAKAO, S. MOROKUMA, K. KATO, H. SEKI, S. TAKEDA, S. MATSUMURA and N. WAKE: *Hum Exp Toxicol*, (2012)

“Effect of transient TCDD exposure on immortalized human trophoblast-derived cell lines.”
(in press)

5) K. TSUKIMORI, S. MOROKUMA, T. HORI, K. TAKAHASHI, T. HIRATA, Y. OTERA, K. FUKUSHIMA, T. KAWAMOTO and N. WAKE: *J Obstet Gynaecol Res*, (2012)

“Characterization of placental transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in normal pregnancy”

(in press)

(2) 主な口頭発表 (学会等)

1) Koji TAKAHASHI, Tsuguhide HORI, Daisuke YASUTAKE, Seiichi MOROKUMA, Yuka OTERA, Kotaro FUKUSHIMA, Takamitsu YAMAMOTO, Jumboku KAJIWARA, Toshihiro KAWAMOTO, Teruaki HIRATA, Kiyomi TSUKIMORI, and Masutaka FURUE: 31st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants - Dioxin 2011, Brussels, Belgium, 2011

“Determination of Dioxins in Umbilical Cord Blood Samples Using Accelerated Solvent Extraction”

2) Tsuguhide HORI, Koji TAKAHASHI, Daisuke YASUTAKE, Seiichi MOROKUMA, Yuka OTERA, Takashi TODAKA, Takamitsu YAMAMOTO, Hironori HIRAKAWA, Jumboku KAJIWARA, Toshihiro KAWAMOTO, Teruaki HIRATA, and Kiyomi TSUKIMORI: 31st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants - Dioxin 2011, Brussels, Belgium, 2011

“Concentrations of Dioxins in Sets of Placental Tissue, Maternal Blood and Umbilical Cord Blood Samples Collected from Japanese Pregnant Women”

3) 堀 就英、高橋浩司、諸隈誠一、川本俊弘、平田輝昭、月森清巳：環境ホルモン学会
第14回研究発表会（2011）

「高速溶媒抽出法を用いた妊産婦血液、臍帯血及び胎盤組織試料のダイオキシン類分析」

4) 諸隈誠一、大寺由佳、福嶋恒太郎、藤田恭之、湯元康夫、穴見 愛、月森清巳、和氣徳夫：第63
回日本産科婦人科学会学術講演会（2011）

「ダイオキシン類の母体から胎児への移行に関する検討」

7. 研究者略歴

課題代表者：月森清巳

1959年生まれ、宮崎医科大学卒業、医学博士

現在福岡市立こども病院 産科科長

研究参画者

(1)：ダイオキシン類の母体から胎児への移行に関する研究

平田輝昭 1950年生まれ、1975年山口大学医学部卒、1984年グラスゴー大学公衆衛生修士修了

現在福岡県保健医療介護部理事・保健環境研究所長

堀 就英 1968年生まれ、1992年徳島大学薬学部卒、博士（農学）

川本 俊弘 1956年生まれ、山口大学医学部卒業、山口大学医学部助手、産業医科大学講師、助教授

現在産業医科大学医学部衛生学講座 教授

諸隈 誠一 1967年生まれ、九州大学医学部卒業、九州大学医学部助手、

現在九州大学 大学病院助教

(2) 子宮内ダイオキシン類曝露とそれによる児の健康影響との関連に関する研究

月森 清巳（同上）

古江 増隆 1956年生まれ、東京大学医学部卒業、東京大学講師、東京大学助教授

九州大学大学院教授

内 博史 1972年生まれ、九州大学医学部卒業 九州大学病院助教を経て

九州大学病院准教授。

(3) 子宮内ダイオキシン類曝露とそれによる児の健康影響との関連に関する研究

和氣 徳夫 1947年生まれ、北海道大学医学部卒業、北海道大学医学部助手、講師

現在九州大学 教授

福嶋恒太郎 1966年生まれ、九州大学医学部卒業、九州大学医学部助手、助教

現在九州大学 講師

加藤 聖子 1960年生まれ、九州大学医学部卒業、九州大学医学部助手、講師

現在順天堂大学准教授

C-0903 妊婦におけるダイオキシン摂取が胎児健康に及ぼす影響のリスク評価に関する研究

(1)ダイオキシン類の母体から胎児への移行に関する研究

福岡県保健環境研究所 平田輝昭

九州大学医学部 諸隈誠一

産業医科大学医学部 川本俊弘

福岡県保健環境研究所 堀 就英

福岡市立こども病院 月森清巳

<研究協力者>

九州大学医学部 大寺由佳

九州大学医学部 戸高 尊(平成21年度)

福岡県保健環境研究所 高橋浩司(平成22、23年度)

福岡県保健環境研究所 安武大輔(平成22、23年度)

福岡県保健環境研究所 梶原淳睦

福岡県保健環境研究所 平川博仙(平成21年度)

(財)北九州生活科学センター 山本貴光(平成22、23年度)

平成21～23年度累計予算額：40,416円（うち平成23年度：11,620千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

母体から胎児へのダイオキシン類の移行実態を明らかにするために、平成21年10月～23年3月に九州大学病院で29名の妊産婦(正常出産例19名及び胎児発育遅延例(FGR)10名)の協力を得て生体試料(胎盤、羊水、母体血、母体脂肪、臍帯、臍帯血(臍帯動脈血及び臍帯静脈血)、胎脂、胎便、新生児尿、母乳)の合計217件を採取した。大容量型高速溶媒抽出装置及び大量試料注入装置付き高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計を用いて、各生体試料中のダイオキシン類を分析する方法を確立し、測定を実施した。母体血試料中のダイオキシン類濃度は、正常例(n=19)で平均15 pg-毒性等量(TEQ)/g lipid(範囲:6.5～44 pg-TEQ/g lipid)であり、FGR例(n=10)では平均8.7 pg-TEQ/g lipid(範囲:2.1～19 pg-TEQ/g lipid)であった。これらの濃度レベルはいずれも過去の分析事例と比較して同等かやや低いレベルであり、一般的な生活環境から偏りのある環境(例えば職業性の曝露等)に由来する特異的な高濃度例は認められなかった。29名の母体血中濃度は、妊産婦の出産時年齢や出産回数に対応して分布していた。これらの結果から、29名の妊産婦から採取された各種生体試料は、本研究の主たる目的である一般環境下での胎児へのダイオキシン類の移行を調べるうえで適切な試料と考えられた。胎盤試料中のダイオキシン類濃度は、正常出産例(n=15)で13 pg-TEQ/g(範囲5.2～36 pg-TEQ/g)、FGR例(n=9)で平均12 pg-TEQ/g(範囲4.5～25 pg-TEQ/g)であった。臍帯静脈血(臍帯V血)中のダイオキシン類濃度は、正常例(n=19)で平均5.9 pg-TEQ/g(範囲1.9～18 pg-TEQ/g)、FGR例(n=10)では平均6.8 pg-TEQ/g(範囲2.7～10pg-TEQ/g)であった。正常出産15名において、母体血、胎盤組織、臍帯V血の順にダイオキシン類濃度が低下する傾向が総じて認められ、母体から胎児側に近い試料ほどダイオキシン類濃度は低くなる傾向が認められた。母体血－臍帯V血及び母体血－胎盤の各組織の濃度間に良好な正の相関が認められ、臍帯V血のダイオキシン類濃度は母体血に対して概ね60%低い値を示し、母体内でのダイオキシン類の胎児への透過は、胎盤部位で一定の抑制がなされ、胎児へ移行する毒性量は軽減されることが示唆された。母体から胎児へのダイオキシン類の透過性は異性体種で異なり、高毒性の異性体(毒性等価係数(TEF)値が高い異性体)は胎盤で保持されやすく、一方で毒性の低い化合物は胎盤から臍帯V血へ移行しやすいことが示された。胎脂及び胎便試料からダイオキシン類が検出・定量され、母体に取り込まれた当該物質が、胎児へ確実に移行していることが裏付けられた。

[キーワード]

PCB、臍帯血、胎盤、胎脂、胎便

1. はじめに

ダイオキシン類は難分解性の有害化学物質であり、環境中で長期間にわたり安定的かつ持続的に残留することが知られている。近年ゴミ焼却等の発生源の対策が進み、環境基準値を上回る汚染事例はほとんど認められなくなった。一方、環境中に残留する微量ダイオキシン類の持続的摂取によって健康に影響が及ぶ可能性が指摘されている。高濃度のダイオキシン類曝露による急性毒性と同様に、内分泌かく乱作用に代表される微量ダイオキシン類による長期間曝露のリスクを正確に見積もることが重要となっている。

一般人のダイオキシン類の主たる摂取経路は食品である。平均的な食事を介したダイオキシン類の摂取量が、成人に対して直ちに健康被害をもたらす量であるかは、既に一定の評価がなされている。厚生労働省研究班の調査結果によると、マーケットバスケット方式で求めたダイオキシン類の平均摂取量は、近年ほぼ横ばいで1～2 pg-TEQ/kg体重/日を推移している。この量は、厚生労働省の定める耐容一日摂取量

(TDI)の4 pg-TEQ/kg体重/日を下回っている¹⁾。ダイオキシン類の主たる摂取源は魚介類であるが、魚介類の摂取量寄与が低下に向かう将来予測はなく、平均的なダイオキシン類曝露量は今後も同程度のレベルで持続するものと考えられる。食事経由のダイオキシン類平均摂取量は、ただちに健康被害をもたらす量に達しておらず、環境省は摂取リスクの高い食品に偏らない、バランスの良い食生活を推奨している²⁾。

環境省が実施した「ダイオキシン類の人への蓄積量調査(2002-2007)」報告書によると、全国の一般市民450名から採取した陰膳食事試料を分析した結果、8名のダイオキシン類摂取量がTDIを超過していた³⁾。このように、実地的なダイオキシン類摂取量は個人でバラツキの大きいことがわかる⁴⁾。また、国内にダイオキシン類のTDIを超過する高リスクの人々が少なからず存在することが示唆されている。

TDIによって示されるダイオキシン類の健康リスクは一般成人を対象にしており、生体防御機構の未発達な胎児や乳児期におけるリスク、影響等は正確に見積もられていない。近年、胎児の発育や発達、さらに小児期から青年期にかけての健康は胎児期における環境要因に影響を受けるという指摘がなされている⁵⁾。ダイオキシン類の高濃度曝露事例である油症では、母体から胎児へのダイオキシン類の移行が示唆されている⁶⁾。食事を介したダイオキシン類の持続的な摂取、さらにそれらの体内への蓄積に起因する健康影響の解明が必要である。とりわけ胎児期における母体を介してのダイオキシン類曝露実態と影響を明らかにすることが重要である。

2. 研究開発目的

本分担研究では、母体並びに胎児関連の様々な生体試料を採取し、当該試料中のダイオキシン類濃度を測定する。ダイオキシン類の母体側から胎児側への移行量やダイオキシン類異性体別の移行の傾向、母体－胎児間の濃度分布等を把握することを目的とした。

3. 研究開発方法

(1) 試料採取

平成21年10月～23年3月に九州大学病院(福岡市)における出産事例において、インフォームドコンセントを得た妊産婦から母体及び胎児関連試料の採取を行った。試料採取は主に正常出産例、ほかに胎児発育遅延例(FGR)を対象とした。試料の内訳は、胎盤、羊水、母体血、母体脂肪、臍帯、臍帯血(臍帯動脈血(A血)及び臍帯静脈血(V血))、胎脂、胎便、新生児尿、母乳の10種であった。採取後の試料はガラスまたはテフロンを材質とする清浄な密閉容器に移し、分析を始めるまで凍結保存された。正常出産例19名から158件、FGR例の10名から59件の計217件の生体試料を採取した(表(1)-1)。なお表中の出産回数0は初産者を示し、出産回数4は今回が5回目の出産であることを意味している。妊産婦の平均年齢は正常出産例で31.8才、FGR例で32.3才であった。

(2) 使用機器

高速溶媒抽出(ASE)にはダイオネクス製の大容量型装置ASE-350を使用した。抽出セルは33、66及び99 mLの各容量3種類を用途に応じ使用した。抽出温度は150 °C、抽出圧力は1500 psiであり、抽出溶媒はアセトン/ヘキサン(1:3, v/v)を使用した。ダイオキシン類の異性体分離分析には大量試料注入装置(アイスティサイエンス製LVI-S200)付き高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(Agilent 7890A/Micromass AutoSpec Premier、HRGC/HRMS)を使用した。キャピラリーカラムは、バリアン製のVF-5ms(内径0.25 mm, 膜厚0.25 µm, 長さ30m)を使用した。

(3) 試薬、器材等

アセトン、ヘキサン、トルエン、ジクロロメタン、無水硫酸ナトリウムは関東化学製のダイオキシン分析用を使用した。ノナンはWellington Laboratories 製を、硝酸銀シリカゲルは和光純薬製のダイオキシン分析用を、濃硫酸は同社製の有害金属測定用をそれぞれ使用した。活性炭(ナカライテスク製)はトルエンで約30時間還流洗浄し、無水硫酸ナトリウムに対して0.1% (w/w)になるよう混合して用いた。珪藻土粉末(抽出操作)はInternational Sorbent Technology製のBULK ISOLUTE SORBENT HM-NをASEで洗浄して使用した。同様に硝酸銀シリカゲル、無水硫酸ナトリウム及び珪藻土粉末は、ブランクレベルの低減を目的として、あらかじめASEで溶媒洗浄して使用した。クリーンアップスパイク並びにシリンジスパイク用の各内部標準溶液はWellington Laboratories製を用い、適宜ノナンで希釈して使用した。本研究で使用したダイオキシン類標準品およびそれらの組成、濃度等を表(1)-2に示す。

ブランクレベルの低減と維持を目的として、各種ガラス製器材(ピペット、フラスコ、スピッツ管等)は、すべて生体試料中ダイオキシン類を分析する専用品として調達し、一般化学分析用と厳重に区別して使用した。使用するガラス器材は、あらかじめ重クロム酸カリウム・硫酸混液に一夜浸漬したのち、精製水で表面を十分にすすぎ、クリーンボックス内で乾燥させた。母体血、臍帯血の保存容器には50mL容のテフロン製ねじ口サンプル管を、上記以外の試料には200mL容のガラス製ねじ口保存瓶をそれぞれ使用した。保存容器は新品を使用し、使用する前に有機溶剤(アセトン、ヘキサン)で繰り返し洗浄し、十分に乾燥させて使用した。

(4) 分析方法

図(1)-1にダイオキシン類の分析フロー図を示した。冷凍保存の生体試料を自然解凍して分析に用いた。ASE-350用の抽出セル(容量33mL)の1ないし2本を用い、母体血の場合は計5~6g、臍帯血は計7~12g、母乳は計10g、胎脂は計0.5~3g、胎便は計0.5~5gを珪藻土粉末に混合してセルに充填し、凍結乾燥機を用いて試料中の水分を除去した。胎盤試料は解剖ハサミ等を用いてあらかじめ十分に細切・均一化し、ビーカーへ約20gを正確に量り取り、凍結乾燥した。乾燥した試料に珪藻土を加えて混合し99mL容の抽出セルに充填した。臍帯はビーカーに移して全重量を測定し凍結乾燥した後、5mm角程度の断片状に細切し、珪藻土とよく混合して抽出操作に供した。各試料に定量用内部標準(クリーンアップスパイク)として¹³Cラベル化ポリ塩化ジベンゾパラダイオキシン(PCDD)/ジベンゾフラン(DF)s及び¹³Cラベル化ポリ塩化ジフェニル(PCB)s標準品(ノナン溶液)を正確に添加し、セルキャップを装着して抽出装置に装てんし、抽出を行った。母体脂肪組織は、400~500mgを乳鉢に正確に量り取り、無水硫酸ナトリウムと混合した後、クリーンアップスパイクを添加し、抽出溶媒にアセトン/ヘキサン(1:3, v/v)を用いて液-液抽出を行い、抽出液を調製した。得られた抽出液をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、風袋を量った秤量瓶に移して乾燥させ、脂肪重量を測定した。

脂肪重量を確定後、脂肪を少量のヘキサンで溶解させ、10 mL容のスピッツ管に移し硫酸処理を行った。ガラス製クロマト管に硝酸銀シリカゲル(0.5 g)及び活性炭(0.5 g)を各々充填して上下に連結し、カラムの最上端より硫酸層と分離した試料溶液を負荷後、ヘキサン15 mLで溶出した。硝酸銀シリカゲルカラムを取り外し、活性炭カラムの上端から10% (v/v)ジクロロメタン/ヘキサンを注ぎ、non-ortho PCBsを除く大部分のPCBsを溶出させた。次いでトルエン25 mLを注ぎ入れ、PCDDs、PCDFs及びnon-ortho PCBsを溶出させた。得られたトルエン画分を減圧濃縮してヘキサンに転容し、窒素ガス気流による濃縮を経て1.5 mL容の濃縮バイアルに移し、シリンジスパイクを添加して最終検液量を40~50 µLとしたものを測定試料とした。調製した測定試料のうち20 µLを大量試料注入装置付きHRGC/HRMSに注入し、測定した。得られたSIMクロマトグラムを解析し、2,3,7,8位に置換塩素を持つ4~8塩素化のPCDD/DFs17種類、ダイオキシン様PCBsの

non-ortho PCBs4種の計21種同族体を同定・定量した。

本研究で得られた各種生体試料中ダイオキシン類の測定例(ダイオキシン類標準品、臍帯血及び胎盤試料の分析クロマトグラム)を図(1)-2~40に示した。なお、各図において、上段及び中段は目的化合物のネイティブ体を測定対象とする設定質量数、下段はラベル体(クリーンアップスパイク)を対象とする設定質量数のクロマトグラムを示す。

ダイオキシン類濃度(pg/g)の2,3,7,8-TCDDのTEQへの換算には、2,3,7,8-TCDD毒性等価係数(WHO-TEF(2005))を用いた。なお、本報告におけるダイオキシン類の濃度値は特に注釈のない限り、脂肪重量あたりの濃度(lipid weight basis)で表記するものとする。

4. 結果及び考察

(1) 各種生体試料中ダイオキシン類の分析法の検討と構築

分析を実施するにあたり、各種生体試料中のダイオキシン類分析法、特に抽出方法に関する条件検討を行った。既に福岡県保健環境研究所ではASE-200(ダイオネクス社製)を使用して少量の血液試料(5 g)からダイオキシン類を高効率で抽出する方法(以下、従来法)を確立している⁷⁾。本法は、従来法に比べて抽出効率が高く、自動抽出によって抽出時間も短縮できる。特に、従来法の液-液分配と比べてエマルジョンが形成しにくく、抽出条件を適切に設定すれば均一な抽出液を得ることができるため、測定値の再現性、精密性の向上に寄与するものである。

ASE-200では、目的に応じて容量の異なる3タイプの抽出セルを選択できる。しかし、セル容量は最大で33 mLであり、生体試料の中でもダイオキシン類の濃度がとりわけ低いとされる臍帯血や胎盤等の組織状試料の抽出を行うにはセル容量が十分でなく、適用が困難であった。我々が実施した予備抽出試験では、臍帯血の抽出脂肪量は母体血に対して約40%低いことが確認されている。文献によれば、母体血10 gを用いてダイオキシン類分析を行うとすると、より高感度分析が必要な臍帯血では20 g以上の試料量を要することが示されている⁸⁾。ASE-200を用いた場合、珪藻土粉末とともに33 mL容の抽出セルに保持できる血液量は5 g程度である。一方、ASE-200の改良機種であるASE-350は抽出セルの最大サイズが99 mLで、大容量試料の抽出に対応でき、10 g以上の血液の抽出にも適用可能と考えられた。

そこで本分担研究では、大容量型高速溶媒抽出装置ASE-350を使用し、種々の生体試料からダイオキシン類を抽出する方法を新たに検討した。ダイオキシン類は高い脂溶性を有し、生体試料中の脂肪成分と挙動は同等と考えられる。生体試料中ダイオキシン類の抽出率は脂肪成分の抽出率に近似され、ダイオキシン類の抽出法の妥当性を脂肪成分の抽出率を目安に評価した。

本研究における抽出装置の設定パラメータを表(1)-3に示した。ASE-350における抽出操作では、抽出サイクルの時間を従来法よりも長めに変更し(10分→12分)、かつ抽出サイクル数を多く(2→3)設定した。本条件下で保存血清試料を繰り返し抽出した際の抽出脂肪量は平均0.40%(n=4)であり、従来法から得られている値(平均0.34%)とほぼ一致し、繰り返し再現性も良好であった。同時に、保存血清試料中のダイオキシン類濃度が、従来法による定量値と良く一致することを確認した。

臍帯血、胎盤、母乳、臍帯の各試料においては、抽出された脂肪量を文献値等⁸⁻¹¹⁾と比較して十分な抽出効率が得られるか検討した。ASE-350による各種生体試料における抽出脂肪量(含量%)を表(1)-4aにまとめた。胎盤試料の抽出脂肪量は比較できる参考データが限られているが、国内の調査例の平均1.25%に対して本研究の値は同等か、若干低い値となった。これは胎盤の個体差によるほか、両者で抽出に使用した溶媒が異なっており、極性成分の抽出液への移行量の多少によって生じたと考えられる。同様の傾向は

母乳試料の抽出においても認められた。臍帯血の抽出脂肪含量値は、参考データとよく一致していた。臍帯19試料の抽出脂肪量(含量%)は、平均0.067%(範囲:0.031~0.113%)であり、過去の臍帯中ダイオキシン類の分析事例(n=61)における平均0.123%(範囲:0.058~0.201%)と比較してほぼ同等であった¹²⁾。母乳試料3件の抽出を各々2回繰り返し行ったときの脂肪含量を表(1)-4bに示した。試料量が限られていたため、繰り返し例数は2回のみであったが、値に大きな変動は認められなかった。

この他、①全操作ブランク値が分析精度に影響を与えないレベルであること、②標準品添加回収率が50~120%にあること、③クリーンアップスパイクとして用いる内部標準溶液に分析精度に影響を及ぼす不純物が含まれていないことの各項目を確認し、各種生体試料の分析を実施した。

(2) 母体血中のダイオキシン類濃度

母体血29件(正常例19件及びFGR10件)のダイオキシン類分析結果を表(1)-5、6に示した。ダイオキシン類のうち最も毒性が高い2,3,7,8-TCDD(TEF=1)は、正常例19件中の8件、FGR10件中1件の計9件の血液試料から検出された。油症の主たる原因物質とされる2,3,4,7,8-ペンタクロロジベンゾフラン(PeCDF)(TEF=0.3)は、FGRの1件を除く28件から検出された。正常例におけるダイオキシン類濃度(Total dioxins)は平均15 pg-TEQ/g lipid(範囲:6.5~44 pg-TEQ/g lipid)であり、FGRにおける濃度は平均8.7 pg-TEQ/g lipid(範囲:2.1~19 pg-TEQ/g lipid)であった。29名の平均濃度は13 pg-TEQ/g lipidであった。濃度は正常例よりFGR例の方が低い傾向を示したが、測定例数も十分でないため両母集団間の有意差は検定できなかった。

母体血のダイオキシン類濃度を過去の血液分析事例と比較した。2002年に油症認定患者279名(平均年齢64才)から採取した血液において平均136 pg-TEQ/g lipidのダイオキシン類が検出された¹³⁾。従って母体血29件のダイオキシン類平均濃度は、油症認定患者血液に対し約1/10の濃度に相当した。

2002年に福岡県内に居住する一般市民127名(平均年齢68才)から採取された血液中のTotal dioxins濃度の平均値は37 pg-TEQ/g lipidと報告されている¹⁴⁾。従って本分担研究での母体血中濃度の平均値は、報告値に対して65%低い値であった。これは、集団間の平均年齢及び性別の違いによるものと推察される。一般に年齢と血中ダイオキシン類濃度には正の相関が認められる。これはダイオキシン類の人体への蓄積性の高さ、さらに環境汚染の改善によって次第にダイオキシン類曝露量が低下している(世代を経て食事経由のダイオキシン類摂取量が低下している)ことが主な要因と考えられる¹⁵⁾。母集団の年齢層が近く、性別も女性に限定した血液調査例としては、2002~2004年に札幌市で妊婦195名を対象に行った報告がある¹⁶⁾。この調査結果によると、初産者の101名において平均17 pg-TEQ/g lipid(範囲:6.4~42 pg-TEQ/g lipid)、経産者の94名で平均14 pg-TEQ/g lipid(範囲:3.3~27 pg-TEQ/g lipid)の値が得られた。本分担研究の29名の妊産婦では、初産者平均(n=8)で16 pg-TEQ/g lipid、経産者平均(n=21)で11 pg-TEQ/g lipidとなり、既報とほぼ同等の結果であった。

図(1)-41に母体の出産時年齢に対する血液中ダイオキシン類濃度の分布を示した。年齢の増加とともに血中濃度は高くなる傾向が認められた。また、初産の2名の血中濃度は、出産回数1回及び3回の妊婦と同等か、やや高い傾向があった。すでに3回の出産を経験している2名の血中濃度は、出産回数の少ない人(0~2回)よりも濃度の低い傾向が認められた。

ダイオキシン類の人体曝露評価に最も広く用いられる調査媒体は血液であり、国内外での調査・分析事例が比較的豊富である。今回、妊産婦29名の血液中ダイオキシン類濃度を測定した結果、それらの濃度レベルはいずれも健常な成人女性を対象とする分析事例と比較し、同等かやや低いレベルとなり、一般的な生活環境から偏りのある環境(例えば職業性の曝露等)に由来する特異的な高濃度例は認められなかった。

従って調査対象の29名の妊産婦から採取された生体試料は、本研究の主たる目的である一般環境下での胎児へのダイオキシン類の移行を調べるうえで、適切な試料と考えられた。

(3) 胎盤中のダイオキシン類濃度

胎盤試料のダイオキシン類分析結果を表(1)-7、8に示す。正常出産例(n=15)におけるダイオキシン類濃度は平均13 pg-TEQ/g(範囲5.2~36 pg-TEQ/g)、FGR例(n=9)で平均12 pg-TEQ/g(範囲4.5~25 pg-TEQ/g)であった。

今回の分析結果を国内調査例と比較した。2005年のNakanoらの論文によると、初産者10名平均の胎盤中のダイオキシン類濃度は35 pg-TEQ/g、経産者11名平均では33 pg-TEQ/gとなり、本研究と同様に経産者で僅かではあるが低い濃度となっている¹⁷⁾。また、1997年度に報告された20名の妊産婦を対象とした調査⁹⁾では平均41 pg-TEQ/g(範囲24~73 pg-TEQ/g)が得られている。これらの調査結果と比較すると、我々の測定値(正常例平均13 pg-TEQ/g)は全般に低い値となっている。これは母集団間の年齢構成や居住地、食習慣の違いによるほか、近年の環境汚染レベルの低下傾向も背景にあるものと推察される。海外の胎盤分析事例としては米国で5名の妊産婦を対象にした1998年の報告があり、平均11 pg-TEQ/g(範囲6.4~20 pg-TEQ/g)であった¹⁸⁾。

(4) 臍帯血中のダイオキシン類濃度

臍帯血試料の分析結果を表(1)-9~11に示す。正常出産例19名から得られた臍帯静脈血(以下臍帯V血)中のダイオキシン類濃度は、平均5.9 pg-TEQ/g(範囲1.9~18 pg-TEQ/g)、正常出産例3名から得られた臍帯動脈血(以下臍帯A血)中のダイオキシン類濃度は、平均4.9 pg-TEQ/g(範囲1.9~10 pg-TEQ/g)であった。

FGR例10名から得られた臍帯V血中のダイオキシン類濃度は、平均6.8 pg-TEQ/g(範囲2.7~10 pg-TEQ/g)、FGR例8名から得られた臍帯A血中のダイオキシン類濃度は、平均6.6 pg-TEQ/g(範囲3.9~12 pg-TEQ/g)であった。

正常出産例3名(N17~N19)から得られたV血とA血について、ダイオキシン類濃度を相互比較した。臍帯V血中の濃度(Total TEQ)はNo.17から順に3.3、8.5及び5.4 pg-TEQ/g lipid であった。臍帯A血濃度は、同様に2.3、10及び1.9 pg-TEQ/g lipid であった。FGR例の妊産婦8名(F2~F7、F9、F10)から得られたV血とA血について、同様にダイオキシン類濃度を相互比較したところ、臍帯V血よりA血が高い事例が5例、逆の事例が3例であった。以上の結果から、FGR例においても臍帯V血と臍帯A血との間にダイオキシン類濃度の違いは認められなかった。

(5) 母体血、胎盤、臍帯V血のダイオキシン類濃度の比較

上記(2)~(4)の分析結果より、正常出産例19名のうち、母体血、胎盤、臍帯V血の得られた15名についてダイオキシン類濃度(Total TEQ)の比較を行ったところ、母体血、胎盤組織、臍帯V血の順に低くなる傾向が認められた。母体血-臍帯血の濃度間に良好な正の相関($r^2=0.905$ 、 $y=0.367x+0.0562$)が認められた。同様に母体血-胎盤の濃度間に良好な正の相関($r^2=0.821$ 、 $y=0.698x+1.92$)が認められた(図(1)-42)。

各試料中の平均ダイオキシン類濃度は、母体血16 pg-TEQ/g lipid (100)、胎盤組織13 pg-TEQ/g lipid (82)、臍帯血5.8 pg-TEQ/g lipid (37)であった(カッコ内は母体血濃度を100と仮定したときの濃度割合)。国内で東北地方の49名の妊産婦から採取した臍帯血ならびに母体血のダイオキシン類分析値が報告されている⁸⁾。これによると、母体血の平均15 pg-TEQ/g(範囲5.2~33 pg-TEQ/g)に対し臍帯血濃度は平均10 pg-TEQ/g(範囲3.2~23 pg-TEQ/g)と、臍帯血は母体血に対して概ね40%低い値を示し、我々の測定結果

と一致する傾向であった。

母体血、胎盤及び臍帯血のダイオキシン類濃度(Total TEQ)を比較すると、母体から胎児側に近い部位ほど低下する傾向が認められた。母体内でのダイオキシン類の胎児への透過は、胎盤部位で一定の抑制がなされ、胎児へ移行する毒性量は軽減されることが示唆された。

(6) 臍帯中のダイオキシン類濃度

臍帯試料のダイオキシン類分析結果を表(1)-12、13に示す。正常出産例から得られた15件とFGR例9件の合計24件の分析を行った。正常例では平均濃度11 pg-TEQ/g lipid(範囲:2.8~28 pg-TEQ/g lipid)、FGR例では6.0 pg-TEQ/g lipid(範囲:2.1~11 pg-TEQ/g lipid)であった。これらの結果は、過去に日本の妊産婦61名から得られた値(平均値13 pg-TEQ/g lipid、範囲:3.8~40 pg-TEQ/g lipid)よりもやや低い値であった。

(7) 母体脂肪中のダイオキシン類濃度

母体脂肪試料のダイオキシン類分析結果を表(1)-14に示す。正常出産例から得られた13件とFGR例1件の合計14件の分析を行った。正常例では平均濃度8.9 pg-TEQ/g lipid(範囲:3.3~27 pg-TEQ/g lipid)、FGR1例は6.1 pg-TEQ/g lipidであった。

(8) 母乳中のダイオキシン類濃度

母乳試料のダイオキシン類分析結果を表(1)-15に示す。正常出産例から得られた13件とFGR例4件の合計17件の分析を行った。正常例では平均濃度5.2 pg-TEQ/g lipid(範囲:1.7~9.0 pg-TEQ/g lipid)、FGR例では7.5 pg-TEQ/g lipid(範囲:4.1~12 pg-TEQ/g lipid)であった。2002~2004年に札幌市で採取された経産者30名の母乳中濃度(平均9.4 pg-TEQ/g)よりやや低い値であった¹⁹⁾。

(9) 胎脂及び胎便中のダイオキシン類濃度

胎脂及び胎便試料については、血中濃度の比較的高い妊産婦2名(N12及びN13)を選び分析を実施した。この結果を表(1)-16に示す。胎脂中のダイオキシン類濃度は、N12で11 pg-TEQ/g lipid、N13では23 pg-TEQ/g lipidが検出された。胎便中のダイオキシン類濃度は、N12で3.4 pg-TEQ/g lipid、N13では8.2 pg-TEQ/g lipidであった。胎脂は母胎内で胎児の皮膚を保護する役割を果たし、また胎便は胎内で胎児が取り込んだ主に羊水に由来している。このように胎児体内及び胎児の成育環境を反映する胎脂や胎便からダイオキシン類を検出・定量したことは新しい知見であり、ダイオキシン類が母体から胎児へ確実に移行することを裏付けるものである。

(10) 各組織中ダイオキシン類濃度と血中濃度、母体出産時年齢及び出産経験との関連

母体血中のダイオキシン類濃度(分析例数(n)=29)と妊産婦の出産時年齢、及び出産経験数との関連性は(2)項で記述した通りであるが、同様に胎盤(n=24)、母体脂肪(n=14)、臍帯(n=24)、母乳(n=17)及び臍帯V血(n=29)について検討した(図(1)-43)。ダイオキシン類濃度が妊産婦年齢とともに増大し、また出産経験数に応じて低下する傾向は、概ね全ての試料で認められた。母乳は他の試料と比較して年齢や出産経験に対する関連性が顕著でなく、これは妊産婦の出産後の授乳経過や状況が個々に異なることが背景にあると考えられる。出産に伴う授乳や胎盤の摘出により、結果として母体内に蓄積したダイオキシン類の排泄が促進されることが示唆された。

(11) ダイオキシン類異性体の各生体組織における分布傾向

(5)項で示したように、母体血、胎盤及び臍帯V血のダイオキシン類濃度(Total TEQ)は、母体から胎児側に近い部位ほど低下していた。ここでは、正常出産15名の母体血、胎盤、臍帯V血中のダイオキシン類

濃度を、個別の異性体濃度を指標に比較した。各試料で検出頻度の高かった1,2,3,7,8-PeCDD (TEF=1)、PCB126 (TEF=0.1)、PCB169 (TEF=0.03) 及びOCDD (TEF=0.0003) の4異性体を指標に選んだ。

この比較結果を図(1)-44に示した。1,2,3,7,8-PeCDD濃度 (pg/g lipid) をみると、胎盤組織で最も高く、全般に胎盤組織>臍帯V血の傾向が顕著に認められた。当該物質は胎盤組織で保持されやすく、臍帯V血への移行は少ないことが示唆された。これに対して他の3種異性体は、1,2,3,7,8-PeCDDの場合と傾向が明らかに異なり、胎盤での保持量が少なく、臍帯V血に移行しやすい傾向が認められた。特にTEFが最も小さいOCDD濃度をみると、臍帯V血>胎盤組織の傾向が顕著であった。

以上のように、母体内でのダイオキシン類の胎児への透過は、胎盤部位で一定の抑制がなされ、胎児へ移行する毒性量は軽減されることが示唆された。比較的毒性が高くTEF値の大きい低塩素化合物は胎盤で保持されやすいが、毒性の低い化合物は保持されにくく、胎児側(臍帯V血)へ移行しやすいことが示された。このことは胎盤組織に存在するAhRへの各化合物の結合性(親和性)の強弱によって説明できると考えられる。

正常出産2名(N12とN13)について胎脂と母体脂肪のダイオキシン類濃度を比較した。N12のダイオキシン類濃度は胎脂で11 pg-TEQ/g lipid、母体脂肪は12 pg-TEQ/g lipidであった。個別異性体濃度を指標にした場合には、1,2,3,7,8-PeCDD濃度は胎脂と母体脂肪でともに3.6 pg/g lipidとなり、OCDD濃度は胎脂で110 pg/g lipid、母体脂肪では160 pg/g lipidであった。N13のダイオキシン類濃度は、胎脂で23 pg-TEQ/g lipid、母体脂肪では27pg-TEQ/g lipidであった。異性体濃度を比較すると、1,2,3,7,8-PeCDD濃度は胎脂で7.5 pg/g lipid、母体脂肪で6.9 pg/g lipid、OCDD濃度は胎脂で210 pg/g lipid、母体脂肪では360 pg/g lipidであった。結論として、胎脂と母体脂肪の間では顕著な濃度差は認められなかった。胎脂のダイオキシン類には、母体脂肪組織に含まれるダイオキシン類の組成や濃度が、ほぼそのまま反映されることが分かった。

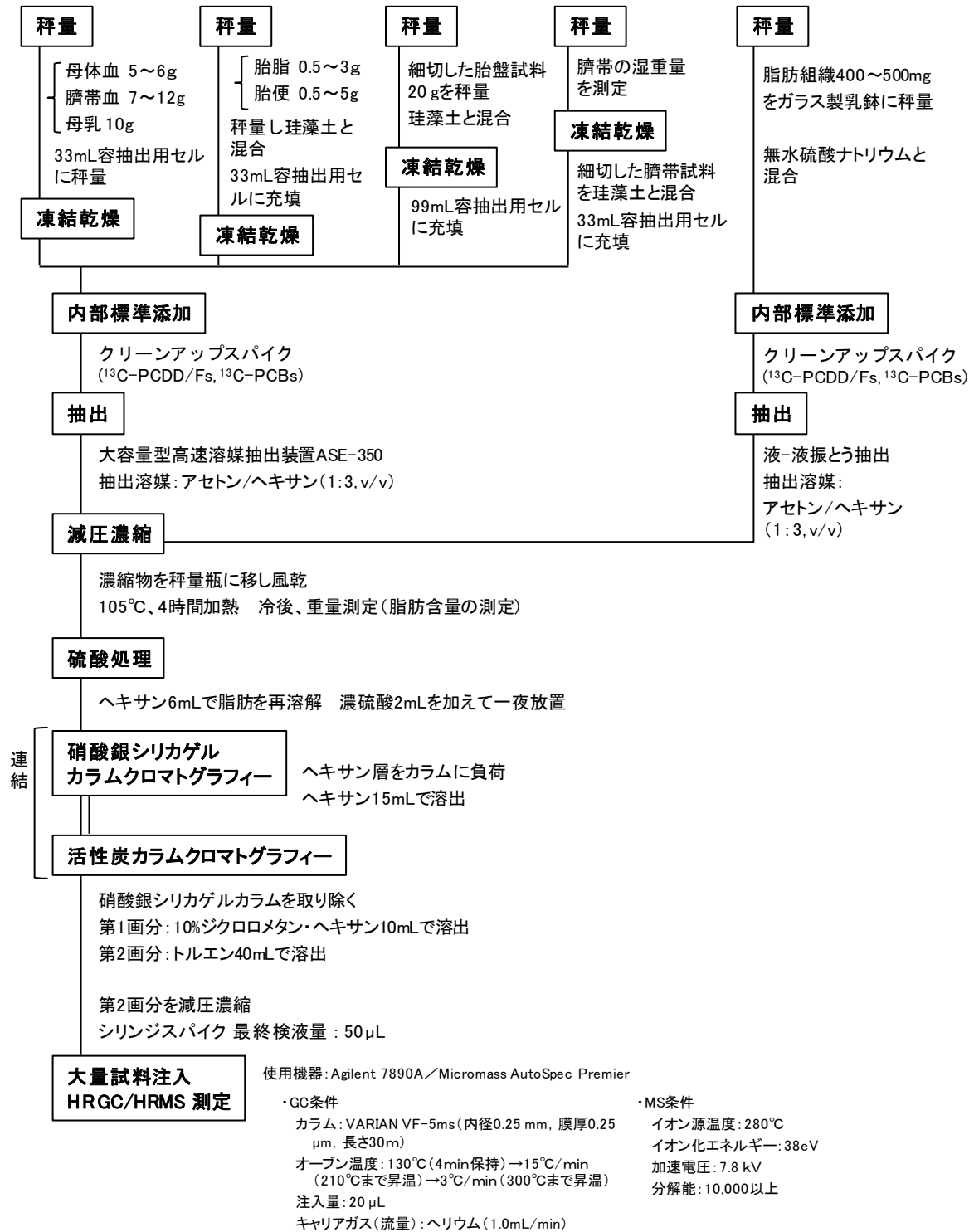
表(1)-1 本研究で採取、分析した妊産婦由来生体試料一覧

	妊産婦 整理番 号	出産時 年齢	出産回 数	母体血	胎盤	臍帯血		母乳	母体脂 肪	臍帯	胎脂	胎便	羊水	新生児 尿
						V血	A血							
正常出産例	N01	36	1	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N02	37	1	○	○	○	-	(○)	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N03	39	3	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	-	(○)
	N04	28	1	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N05	26	1	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N06	31	0	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N07	30	1	○	○	○	-	○	-	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N08	33	3	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N09	28	1	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N10	33	1	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N11	33	1	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N12	42	1	○	○	○	-	○	○	○	○	○	(○)	(○)
	N13	41	0	○	○	○	-	(○)	○	○	○	○	(○)	(○)
	N14	34	1	○	-	○	-	-	-	-	-	-	-	-
	N15	32	0	○	○	○	-	-	-	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N16	22	1	○	○	○	-	○	○	○	(○)	(○)	(○)	(○)
	N17	20	1	○	-	○	○	○	-	-	-	-	-	-
	N18	33	1	○	-	○	○	-	-	-	-	-	-	-
	N19	26	1	○	-	○	○	-	-	-	-	-	-	-
FGR例	F01	23	0	○	○	○	-	○	-	○	-	-	-	-
	F02	33	1	○	○	○	○	○	○	○	(○)	(○)	(○)	-
	F03	24	1	○	○	○	○	-	-	○	-	(○)	-	-
	F04	34	1	○	○	○	○	-	-	○	-	-	(○)	(○)
	F05	30	0	○	-	○	○	○	-	-	-	-	-	-
	F06	27	0	○	○	○	○	○	-	○	-	-	-	-
	F07	38	4	○	○	○	○	-	-	○	-	-	-	-
	F08	38	1	○	○	○	-	-	-	○	-	-	(○)	-
	F09	38	0	○	○	○	○	-	-	○	-	(○)	-	-
	F10	38	0	○	○	○	○	-	-	○	-	-	-	-
採取試料数				29	24	29	11	19	14	24	16	18	17	16
分析数				29	24	29	11	17	14	24	2	2	0	0

○ : 試料を採取し、分析を実施したもの
 - : 試料を採取していないもの
 (○) : 試料を採取したが分析未実施のもの

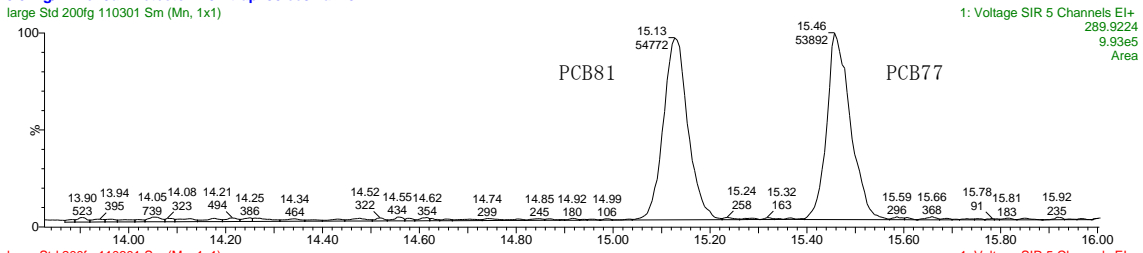
表(1)-2 本研究で使用したダイオキシン類標準品の組成、濃度及び添加量

Compounds	Calibration and verification standards on HRGC/HRMS (concentration, ng/mL)					Cleanup standards for cleanup spike* (amounts added per sample, pg)	Internal atandards for syringe spike (amounts added per sample, pg)
	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5		
2,3,7,8-tetraCDD	0.1	0.4	2	4	20	—	—
1,2,3,7,8-pentaCDD	0.5	2	10	20	100	—	—
1,2,3,4,7,8-hexaCDD	0.5	2	10	20	100	—	—
1,2,3,6,7,8-hexaCDD	0.5	2	10	20	100	—	—
1,2,3,7,8,9-hexaCDD	0.5	2	10	20	100	—	—
1,2,3,4,6,7,8-heptaCDD	0.5	2	10	20	100	—	—
octaCDD	1	4	20	40	200	—	—
2,3,7,8-tetraCDF	0.1	0.4	2	4	20	—	—
1,2,3,7,8-pentaCDF	0.5	2	10	20	100	—	—
2,3,4,7,8-pentaCDF	0.5	2	10	20	100	—	—
1,2,3,4,7,8-hexaCDF	0.5	2	10	20	100	—	—
1,2,3,6,7,8-hexaCDF	0.5	2	10	20	100	—	—
2,3,4,6,7,8-hexaCDF	0.5	2	10	20	100	—	—
1,2,3,7,8,9-hexaCDF	0.5	2	10	20	100	—	—
1,2,3,4,6,7,8-heptaCDF	0.5	2	10	20	100	—	—
1,2,3,4,7,8,9-hepraCDF	0.5	2	10	20	100	—	—
octaCDF	1	4	20	40	200	—	—
3,3',4,4'-tetraCB(#77)	0.1	0.4	2	4	20	—	—
3,4,4',5-tetraCB(#81)	0.1	0.4	2	4	20	—	—
3,3',4,4',5-pentaCB(#126)	0.1	0.4	2	4	20	—	—
3,3',4,4',5,5'-hexaCB(#169)	0.1	0.4	2	4	20	—	—
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-tetraCDD	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-pentaCDD	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-hexaCDD	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-hexaCDD	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-hexaCDD	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-heptaCDD	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -octaCDD	20	20	20	10	10	20	—
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-tetraCDF	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-pentaCDF	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-pentaCDF	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-hexaCDF	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-hexaCDF	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-hexaCDF	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-hexaCDF	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-heptaCDF	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-heptaCDF	20	20	20	10	10	10	—
¹³ C ₁₂ -octaCDF	20	20	20	10	10	20	—
¹³ C ₁₂ -3,3',4,4'-tetraCB(#77)	20	20	20	10	10	200	—
¹³ C ₁₂ -3,4,4',5-tetraCB(#81)	20	20	20	10	10	200	—
¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5-pentaCB(#126)	20	20	20	10	10	200	—
¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5,5'-hexaCB(#169)	20	20	20	10	10	200	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-tetraCDD	40	40	40	20	20	—	10

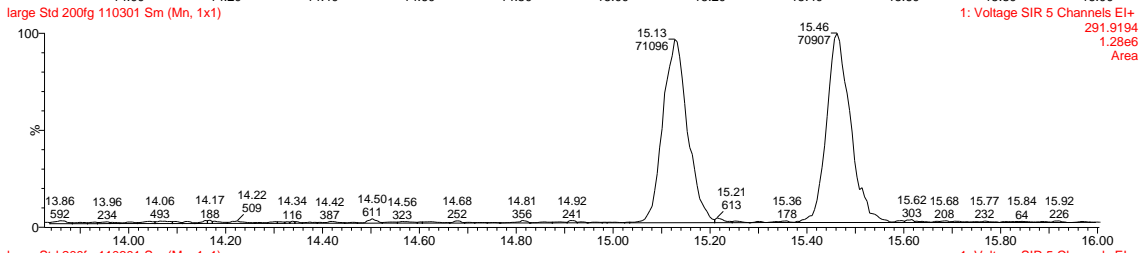


図(1)-1 各種生体試料中のダイオキシン類分析フロー

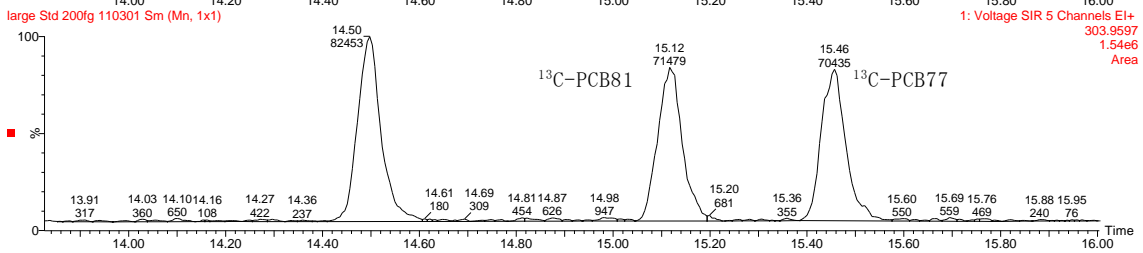
0.01ng/mlwo20ul Detector410V trap750 ee37 av78
 large Std 200fg 110301 Sm (Mn, 1x1)



large Std 200fg 110301 Sm (Mn, 1x1)

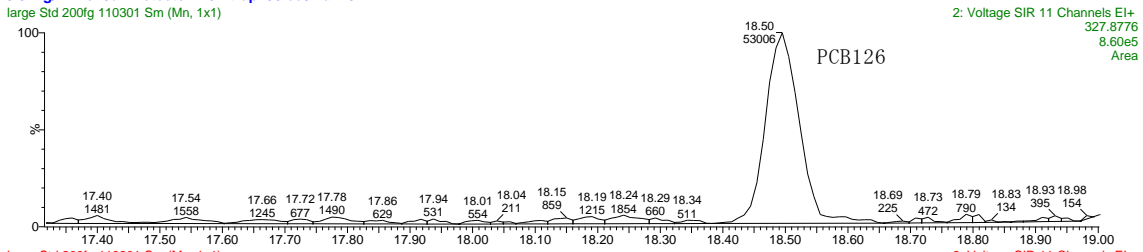


large Std 200fg 110301 Sm (Mn, 1x1)

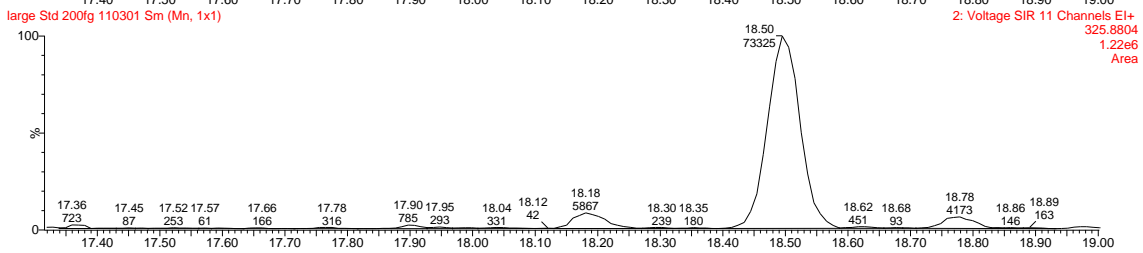


図(1)-2 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(TCB、注入量200fg)

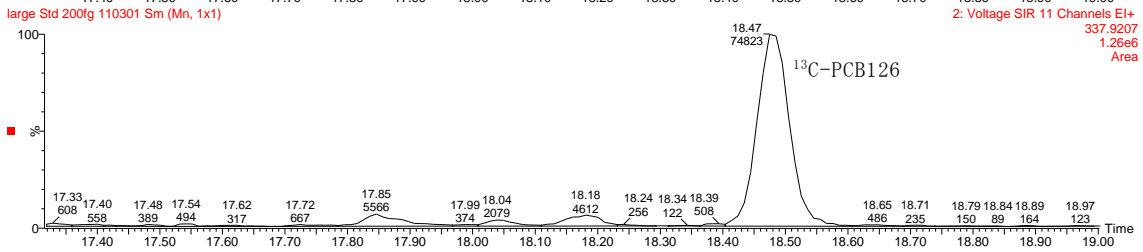
0.01ng/mlwo20ul Detector410V trap750 ee37 av78
 large Std 200fg 110301 Sm (Mn, 1x1)



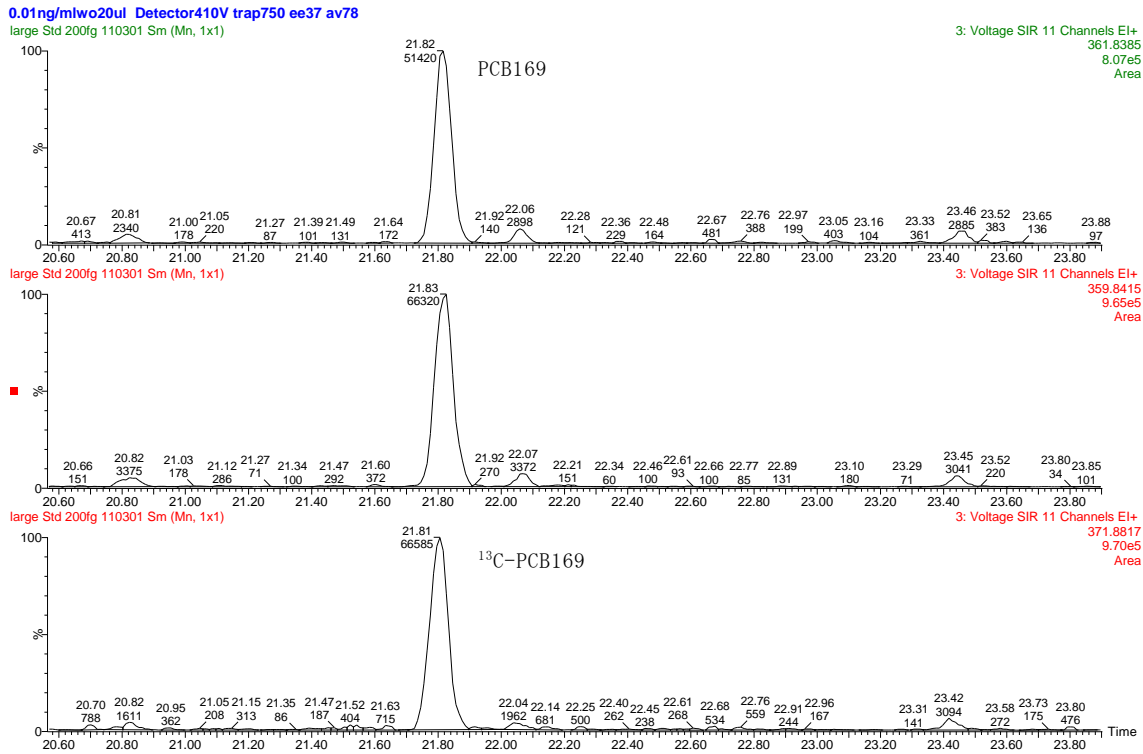
large Std 200fg 110301 Sm (Mn, 1x1)



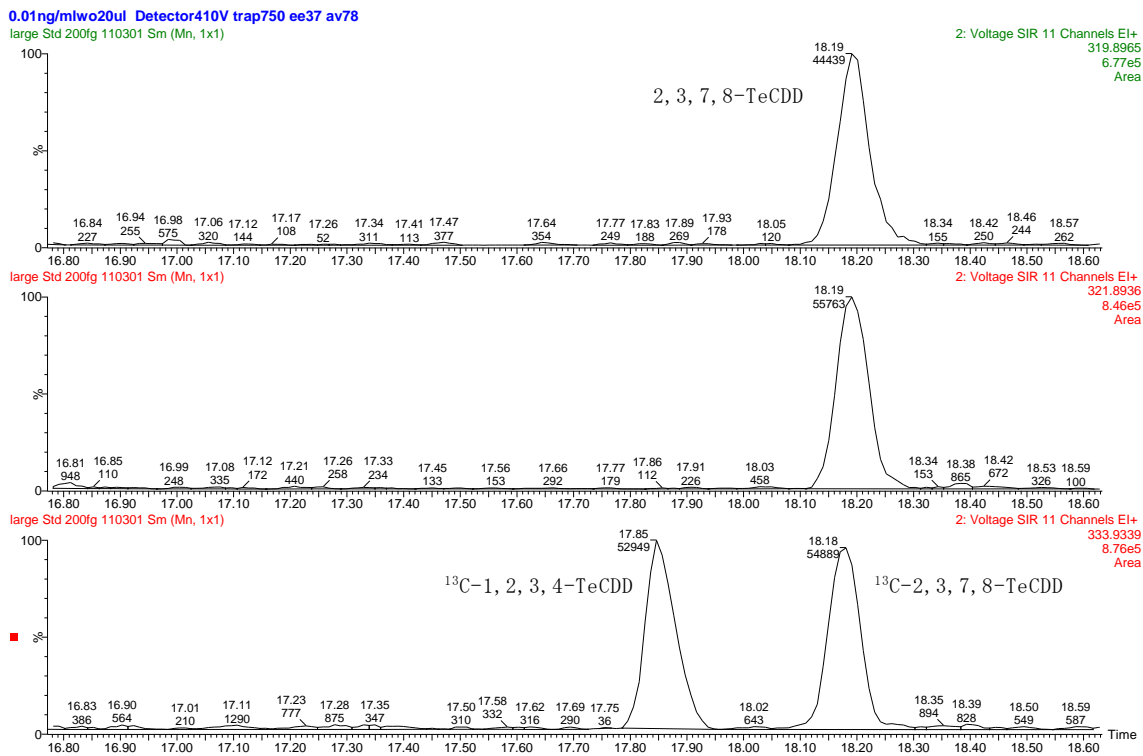
large Std 200fg 110301 Sm (Mn, 1x1)



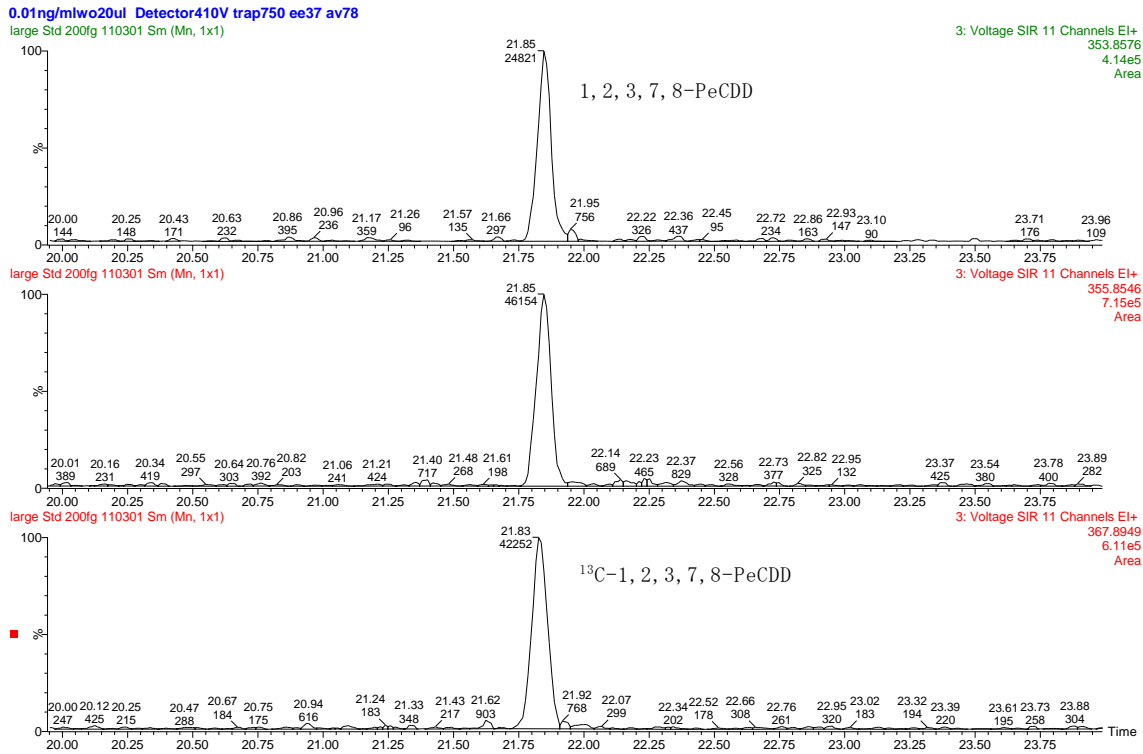
図(1)-3 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(PeCB、注入量200fg)



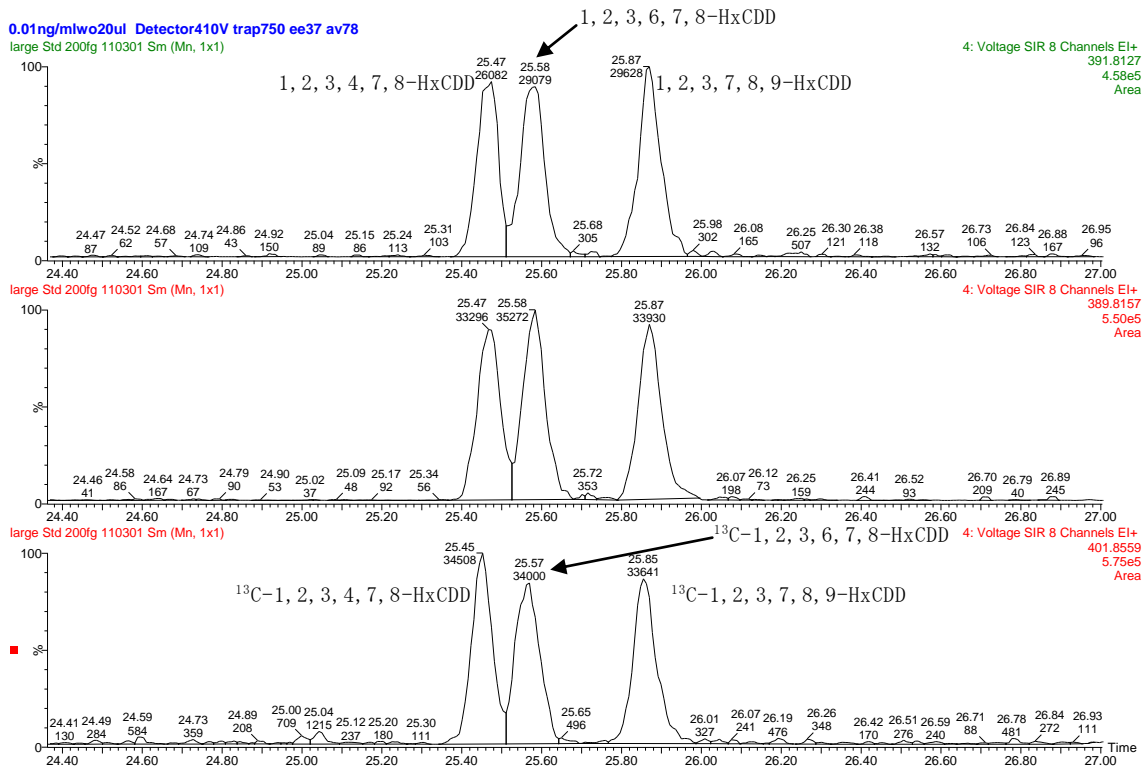
図(1)-4 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(HxCB、注入量200fg)



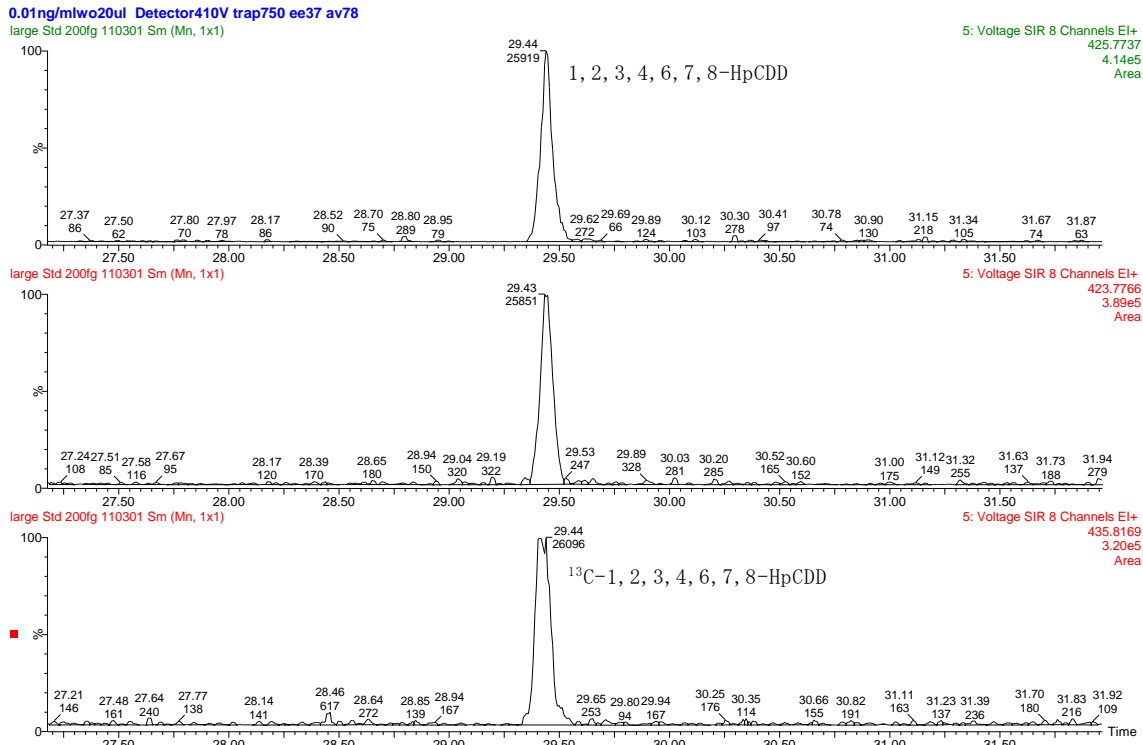
図(1)-5 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(TCDD、注入量200fg)



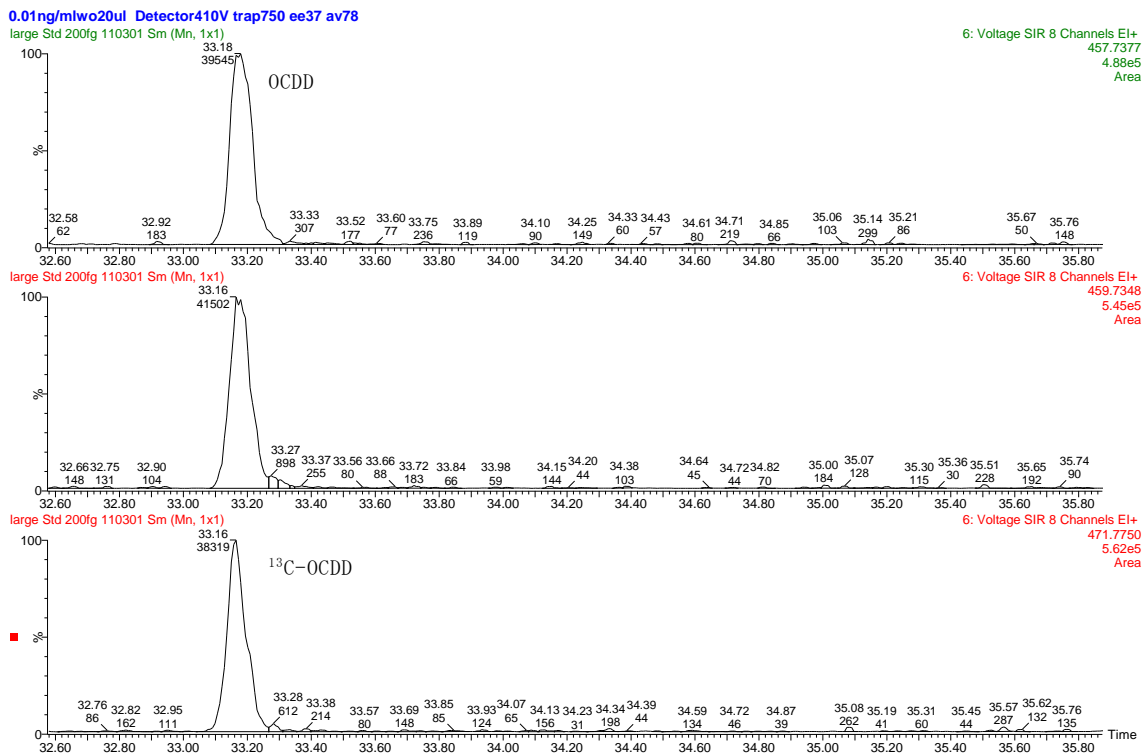
図(1)-6 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム (PeCDD、注入量200fg)



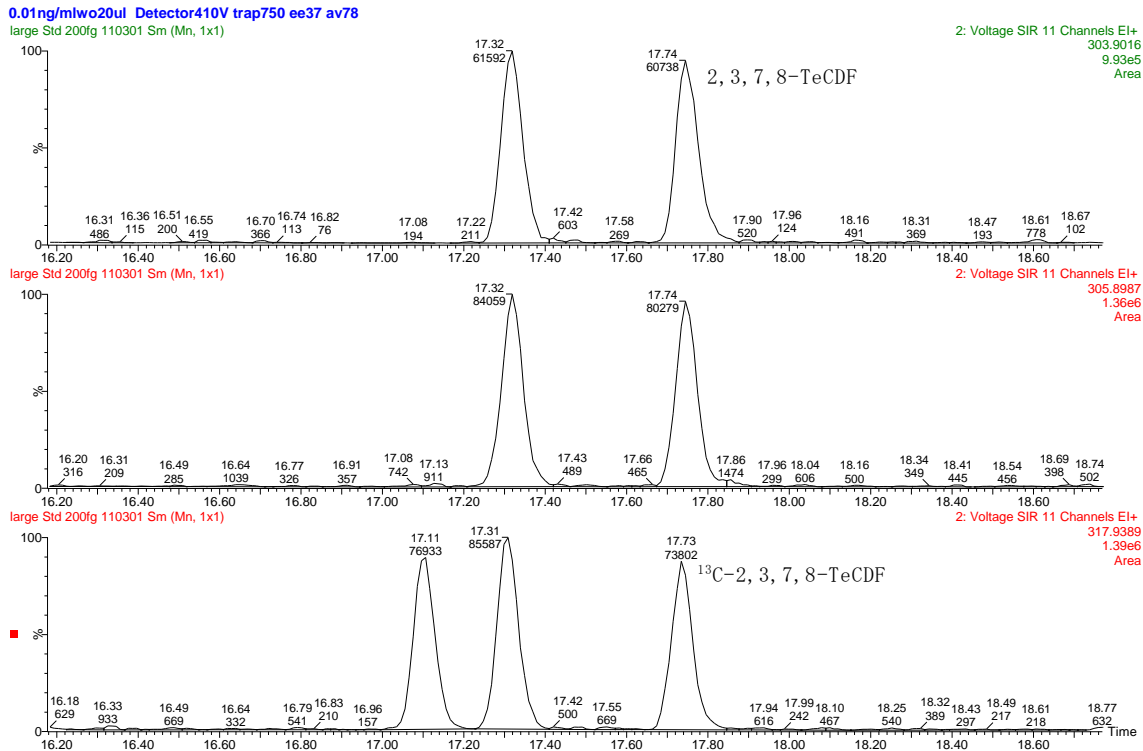
図(1)-7 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム (HxCDD、注入量200fg)



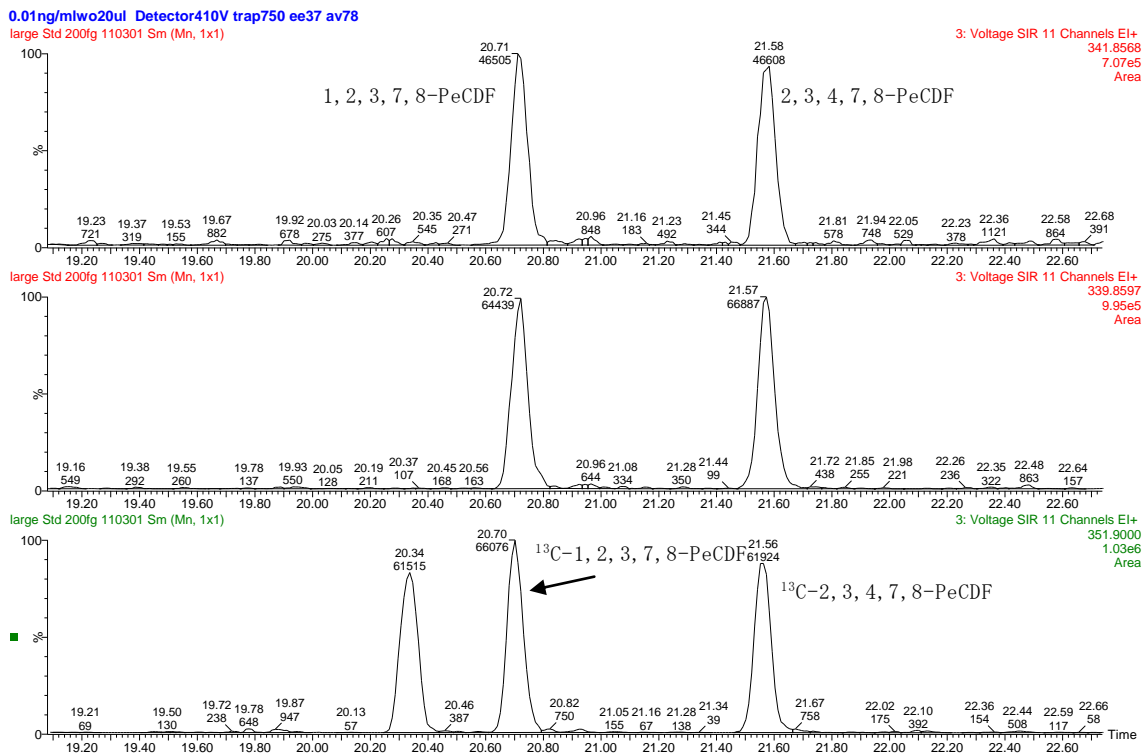
図(1)-8 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(HpCDD、注入量200fg)



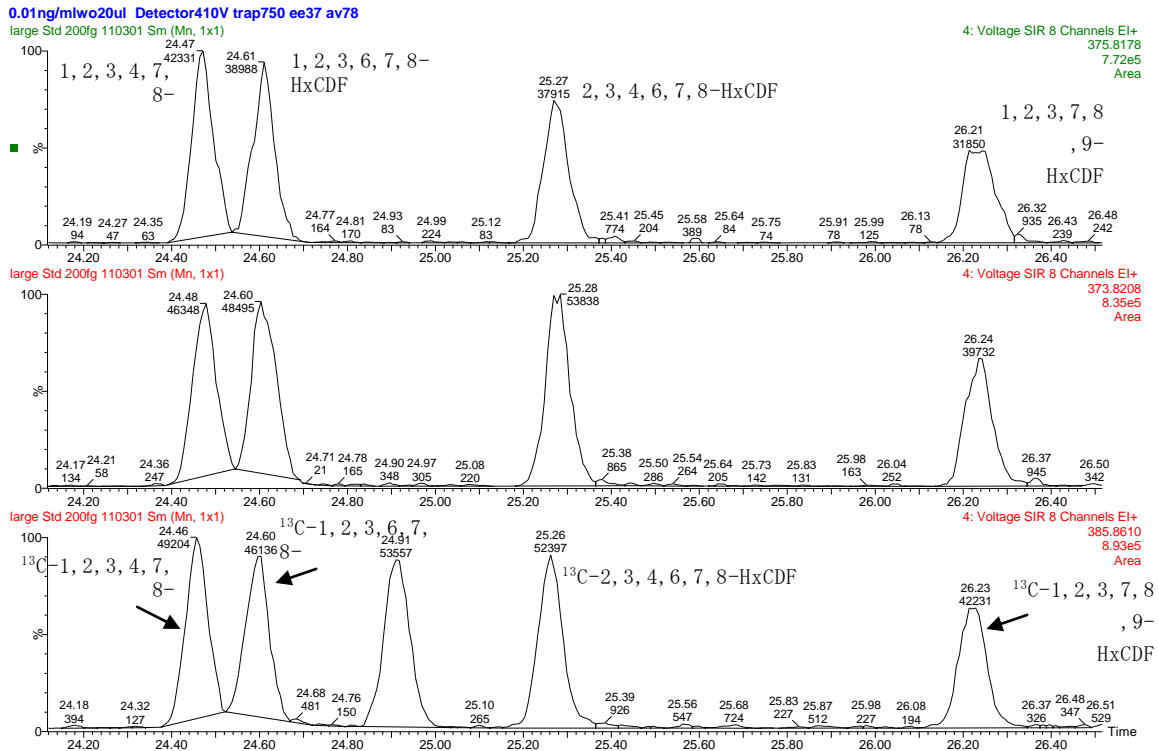
図(1)-9 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(OCDD、注入量400fg)



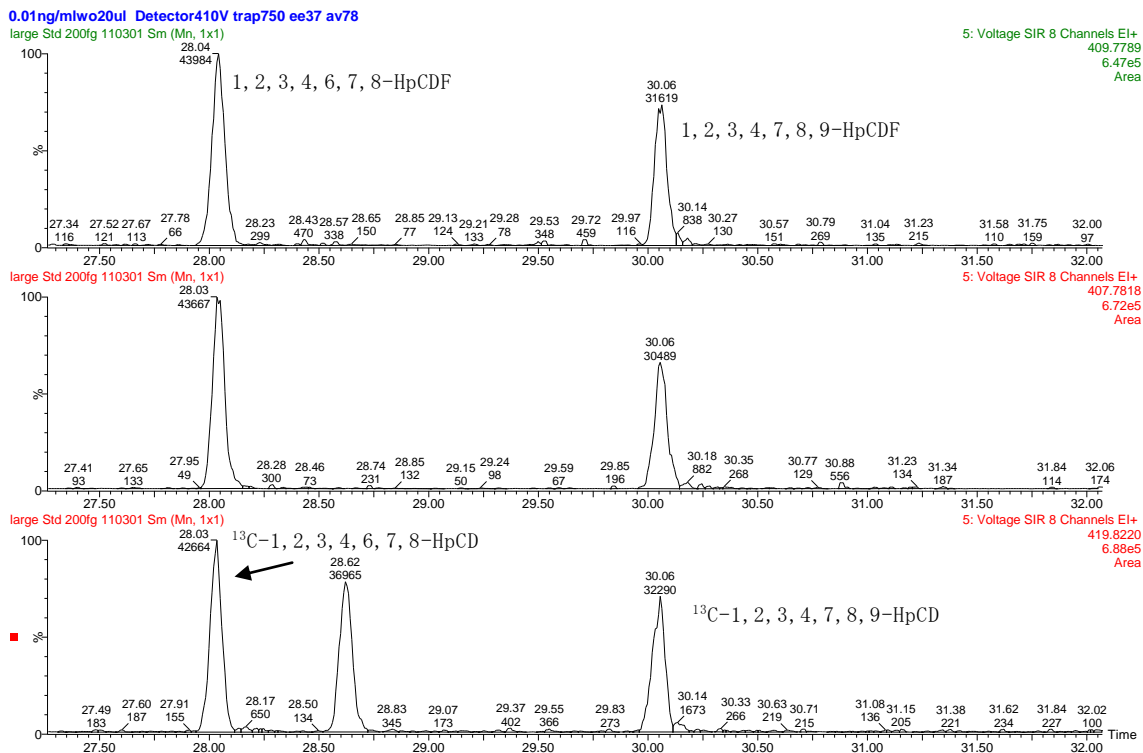
図(1)-10 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(TCDF、注入量200fg)



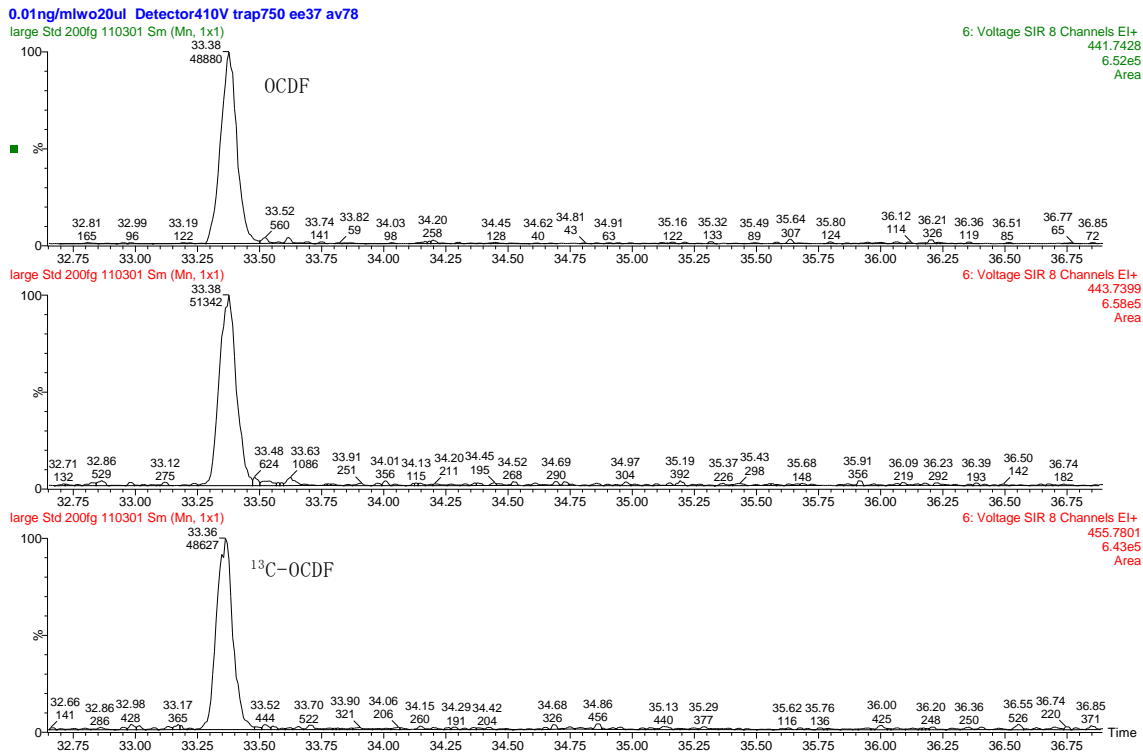
図(1)-11 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(PeCDF、注入量200fg)



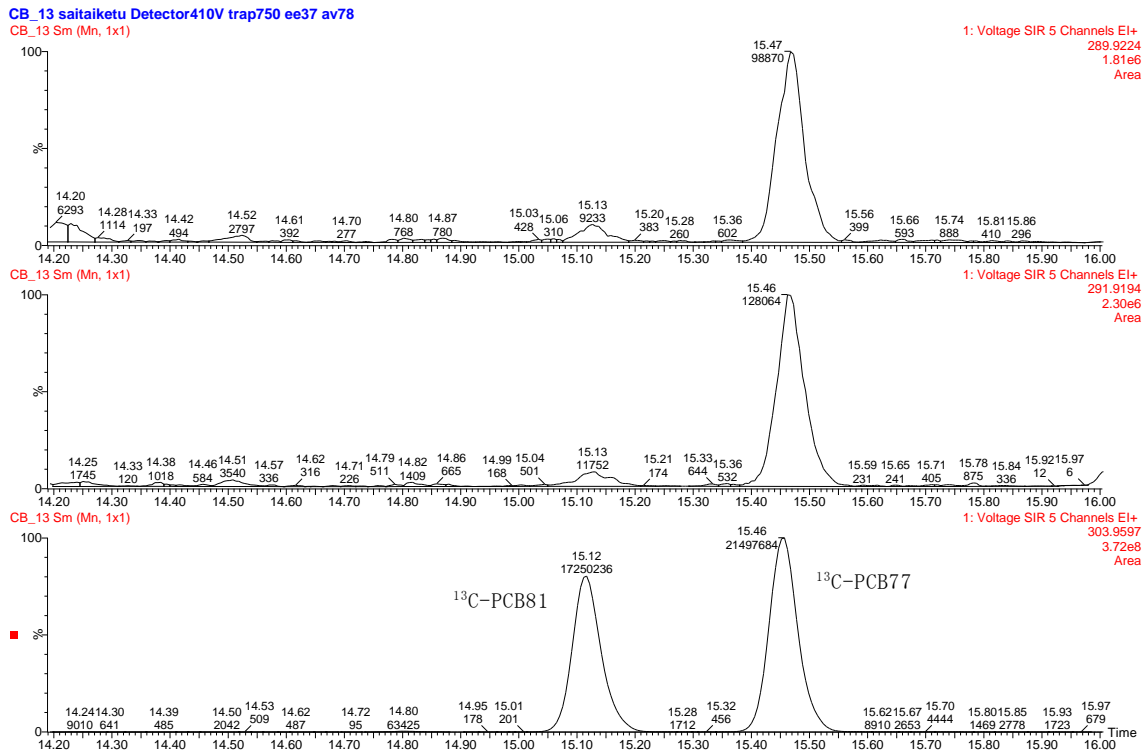
図(1)-12 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(HxCDF、注入量200fg)



図(1)-13 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(HpCDF、注入量200fg)

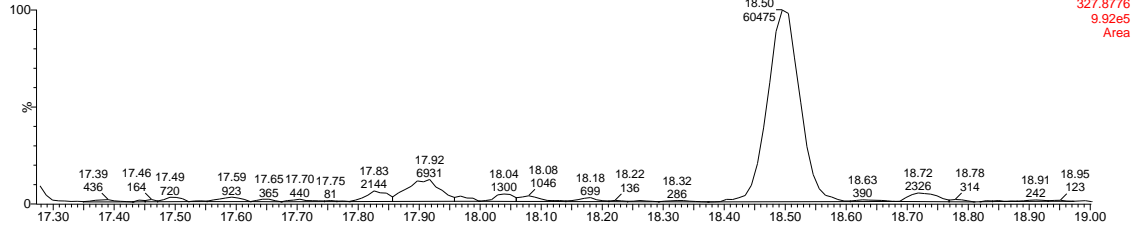


図(1)-14 ダイオキシン類標準品の測定クロマトグラム(OCDF、注入量400fg)

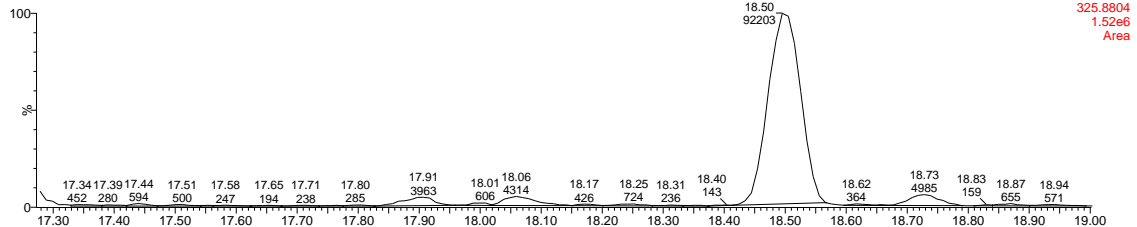


図(1)-15 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(TCB)

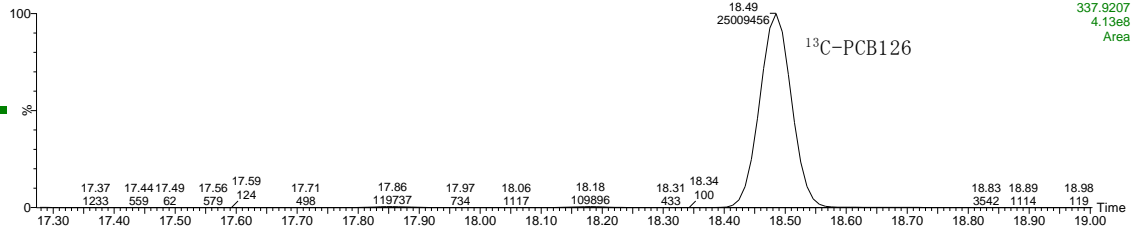
CB_13 saitaku Detector410V trap750 ee37 av78
 CB_13 Sm (Mn, 1x1)



CB_13 Sm (Mn, 1x1)

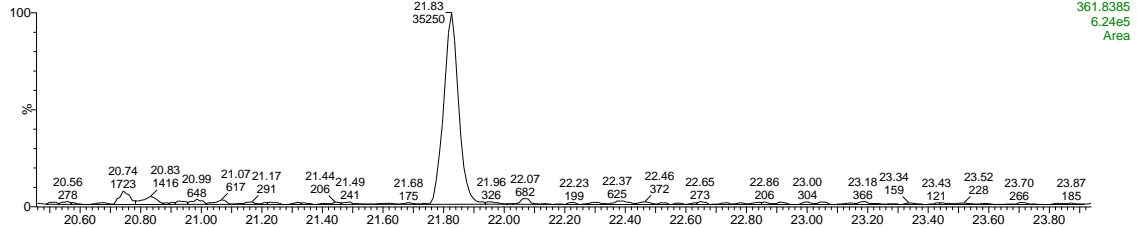


CB_13 Sm (Mn, 1x1)

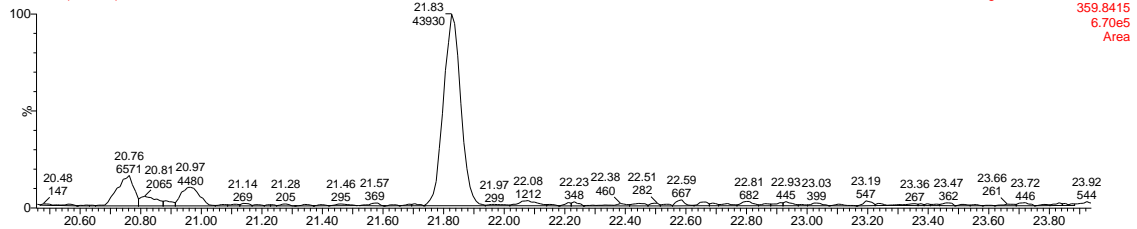


図(1)-16 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(PeCB)

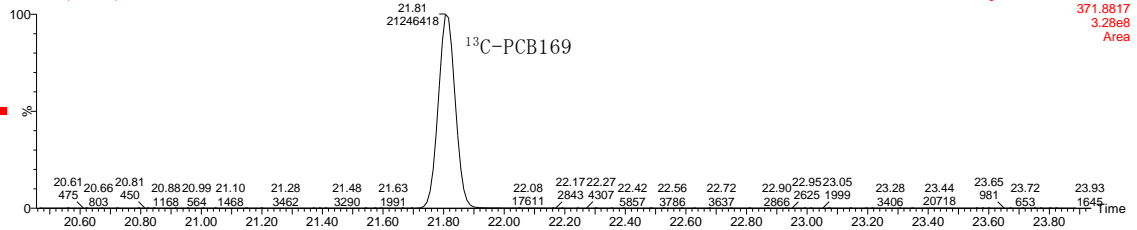
CB_13 saitaku Detector410V trap750 ee37 av78
 CB_13 Sm (Mn, 1x1)



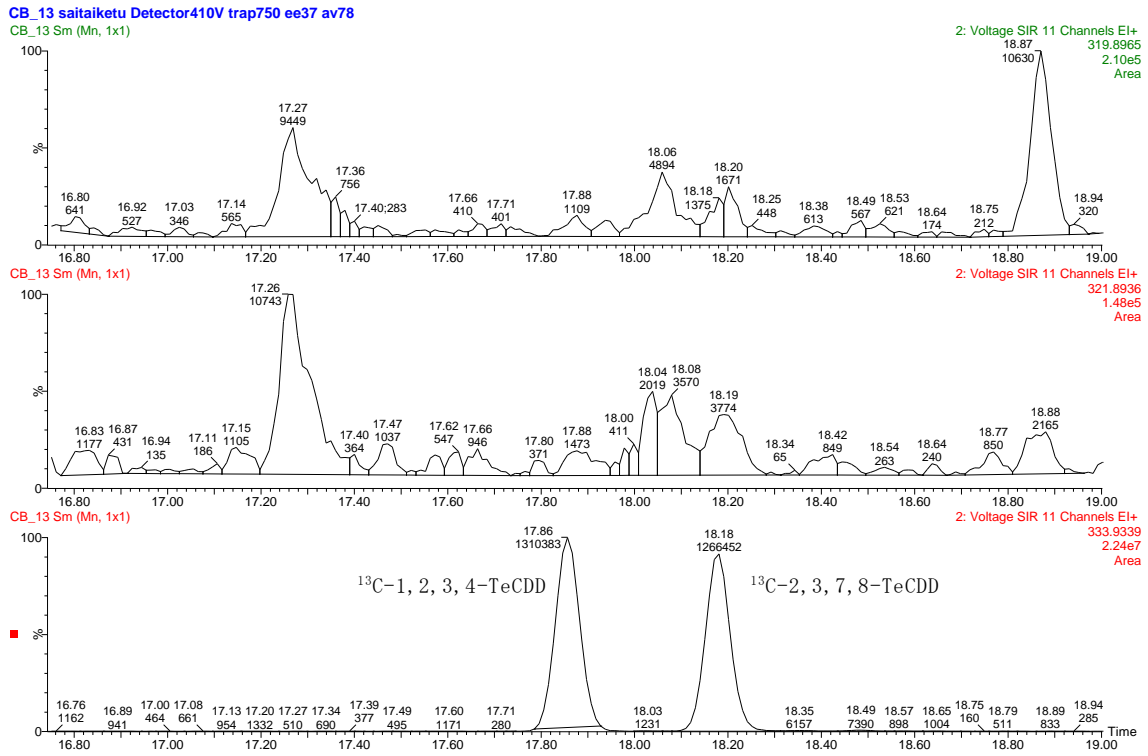
CB_13 Sm (Mn, 1x1)



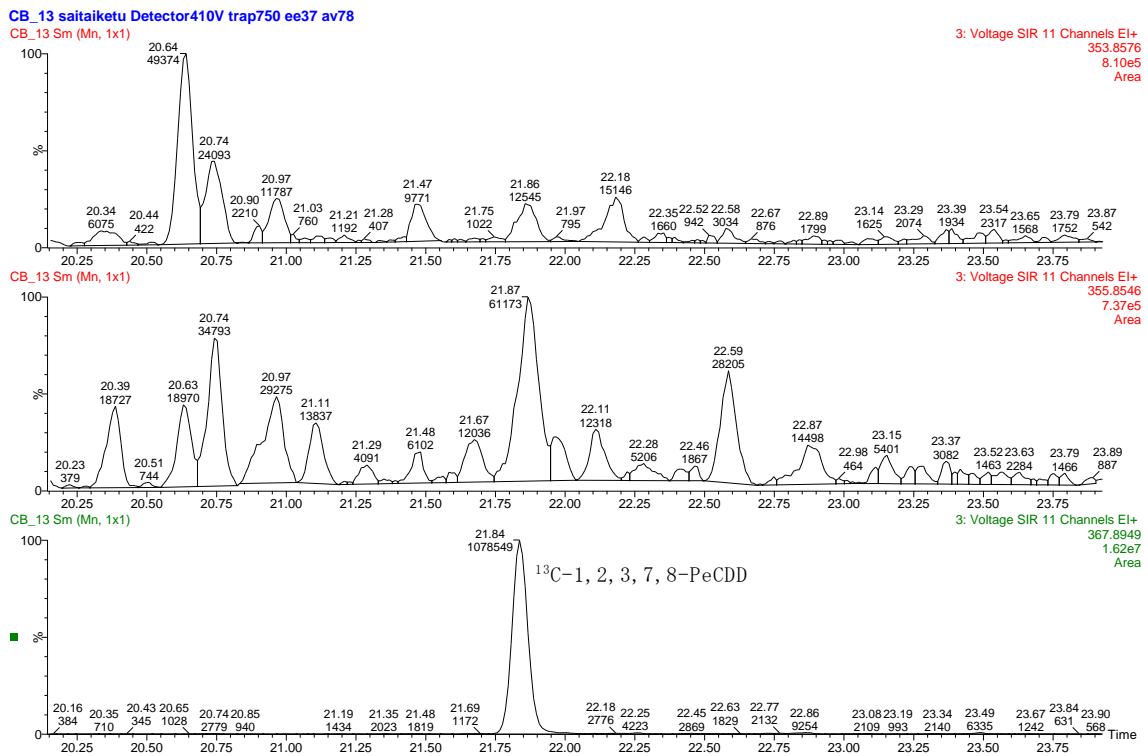
CB_13 Sm (Mn, 1x1)



図(1)-17 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(HxCB)

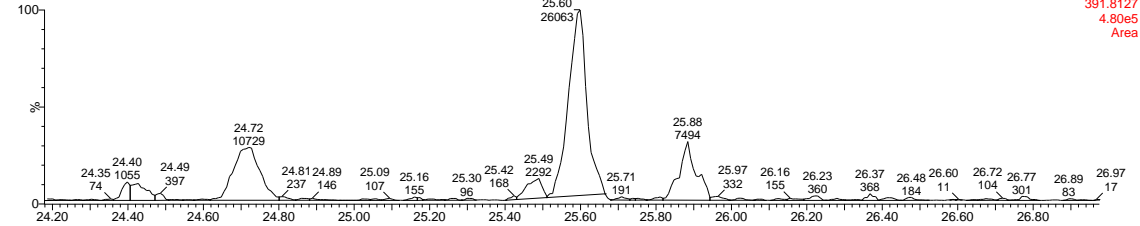


図(1)-18 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(TCDD)



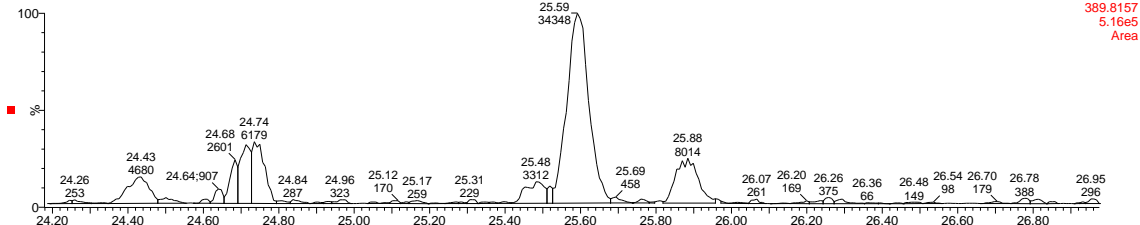
図(1)-19 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(PeCDD)

CB_13 saitaku Detector410V trap750 ee37 av78
 CB_13 Sm (Mn, 1x1)



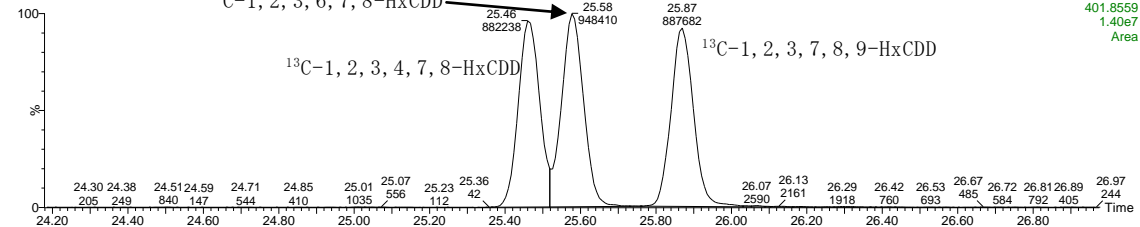
4: Voltage SIR 8 Channels EI+
 391.8127
 4.80e5
 Area

CB_13 Sm (Mn, 1x1)



4: Voltage SIR 8 Channels EI+
 389.8157
 5.16e5
 Area

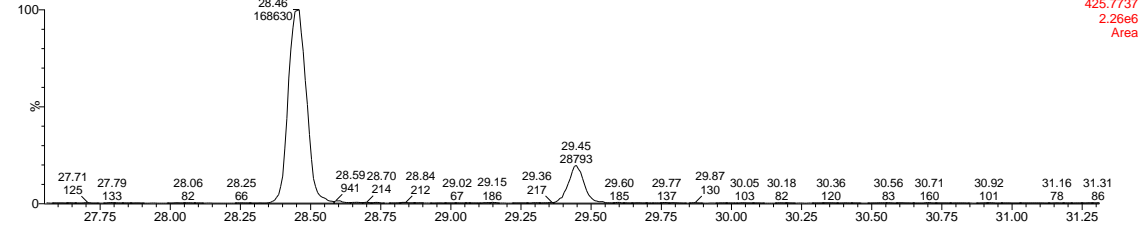
CB_13 Sm (Mn, 1x1)



4: Voltage SIR 8 Channels EI+
 401.8559
 1.40e7
 Area

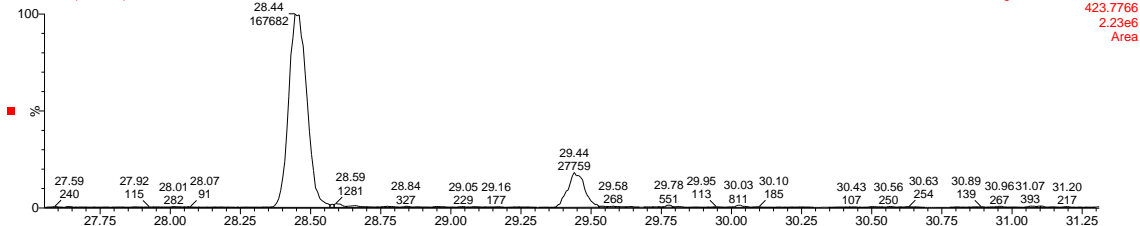
図(1)-20 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(HxCDD)

CB_13 saitaku Detector410V trap750 ee37 av78
 CB_13 Sm (Mn, 1x1)



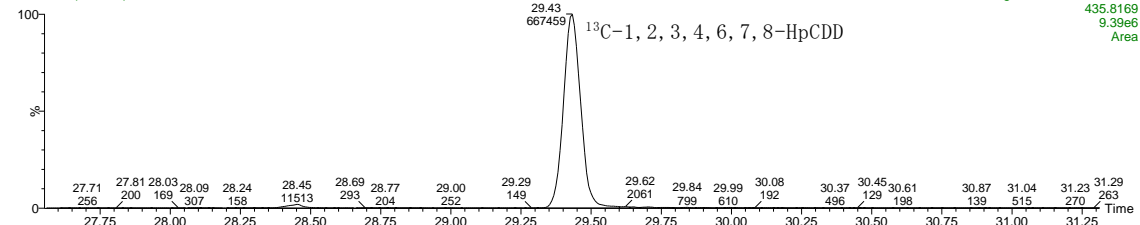
5: Voltage SIR 8 Channels EI+
 425.7737
 2.26e6
 Area

CB_13 Sm (Mn, 1x1)



5: Voltage SIR 8 Channels EI+
 423.7766
 2.23e6
 Area

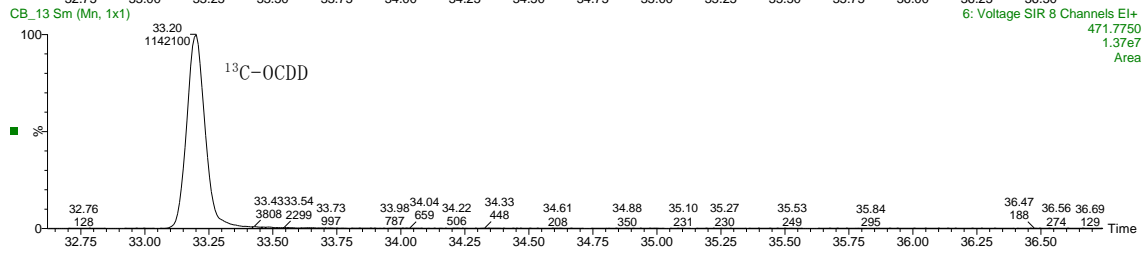
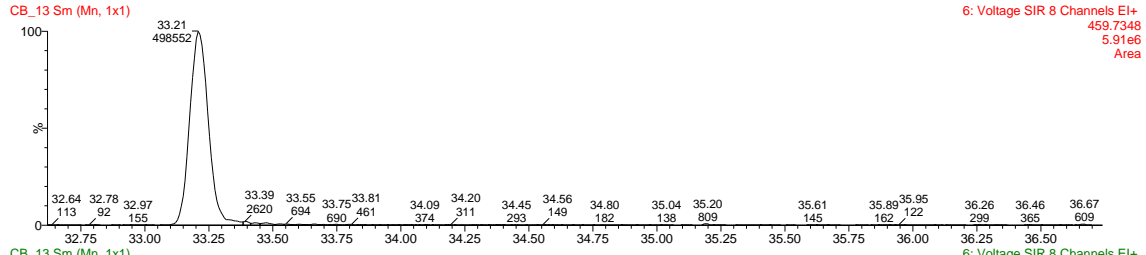
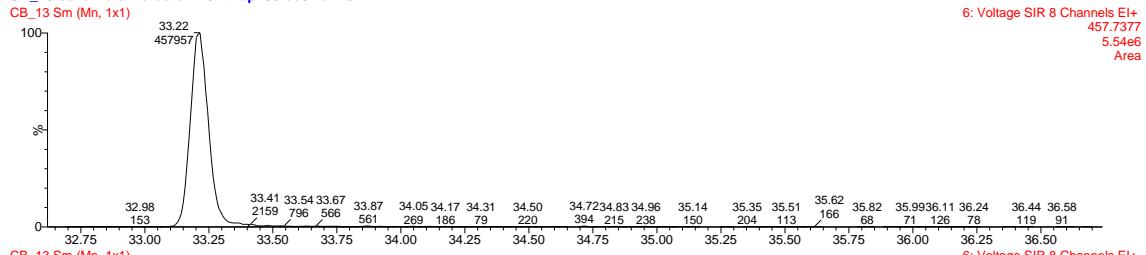
CB_13 Sm (Mn, 1x1)



5: Voltage SIR 8 Channels EI+
 435.8169
 9.39e6
 Area

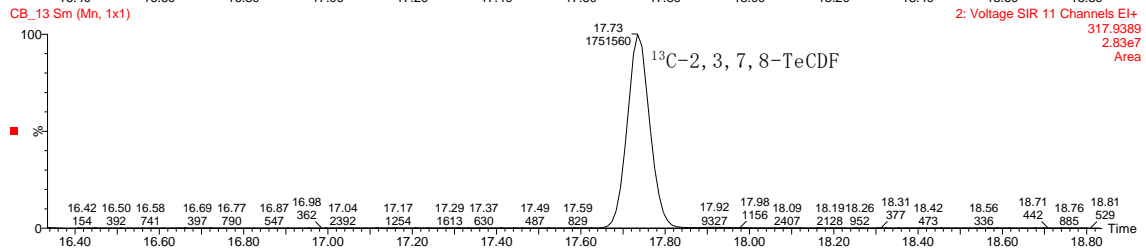
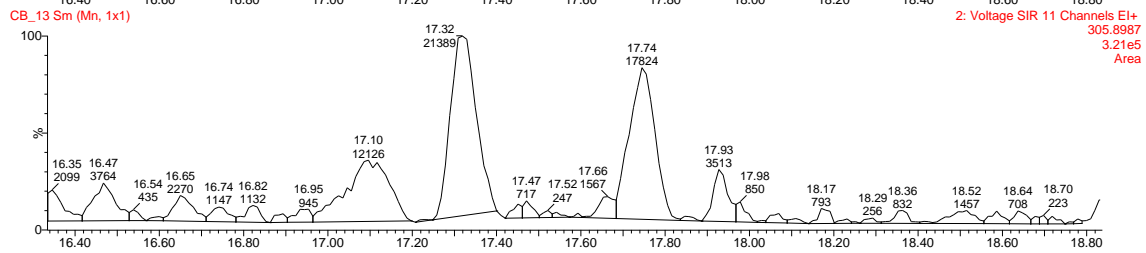
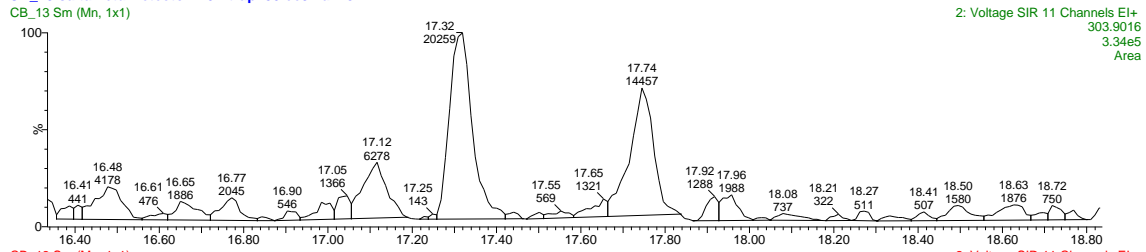
図(1)-21 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(HpCDD)

CB_13 saitaku Detector410V trap750 ee37 av78

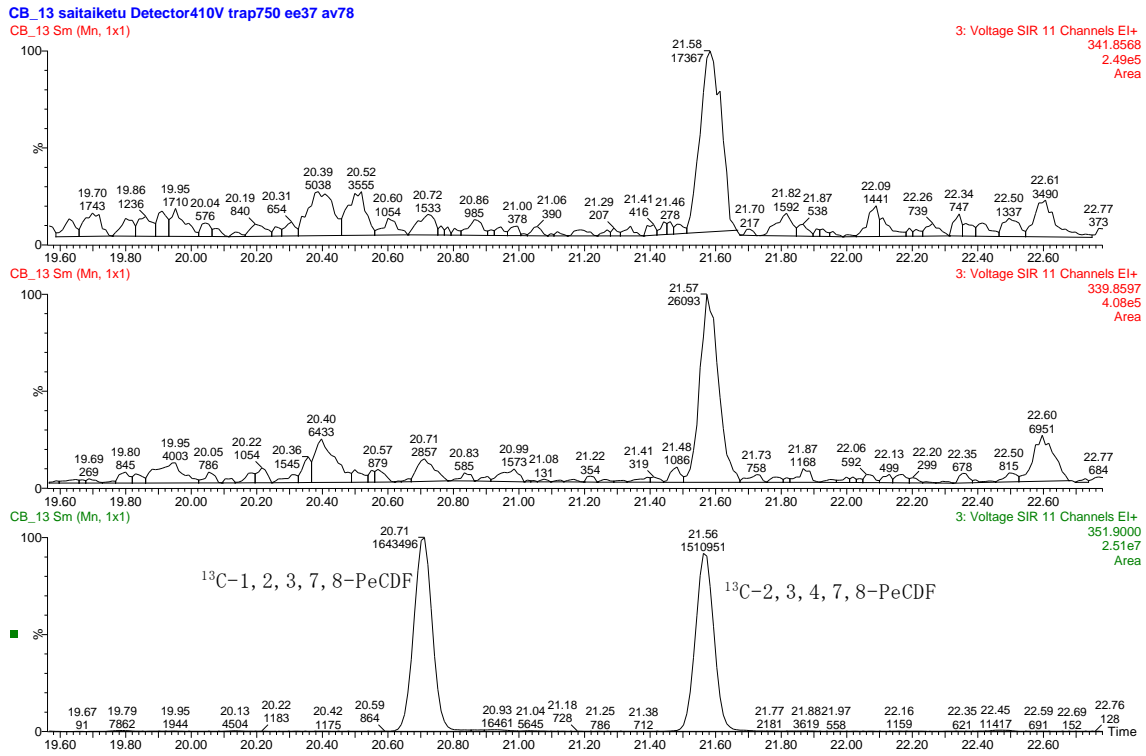


図(1)-22 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(OCDD)

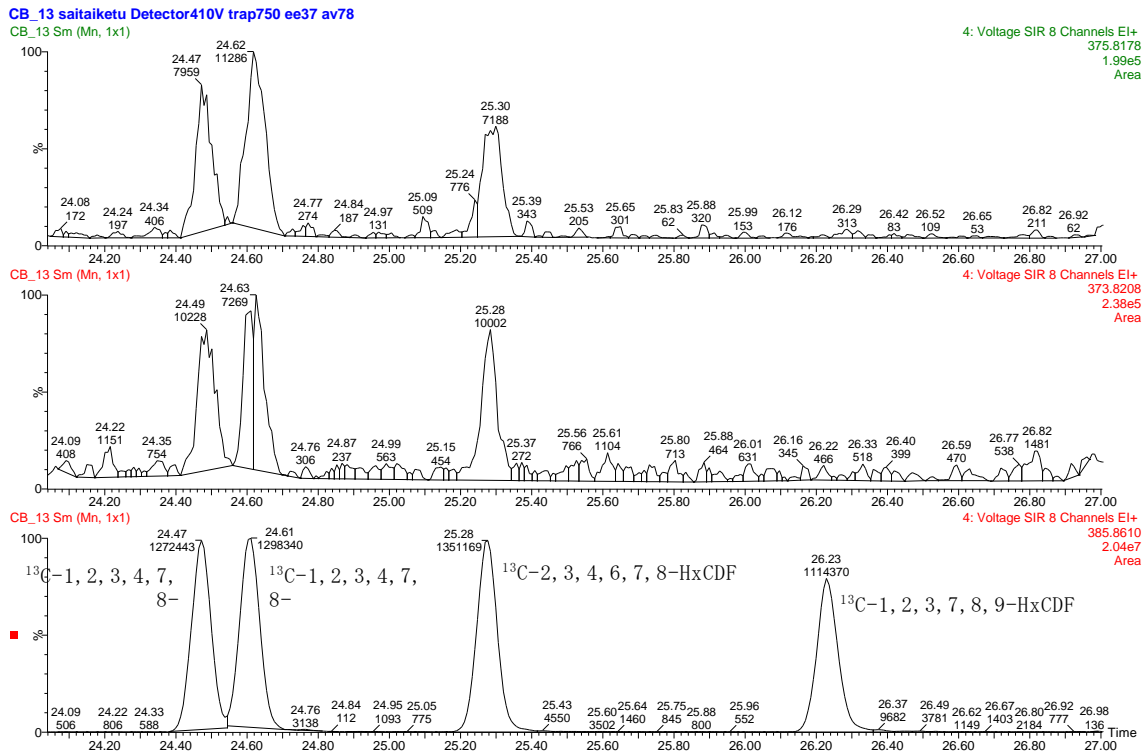
CB_13 saitaku Detector410V trap750 ee37 av78



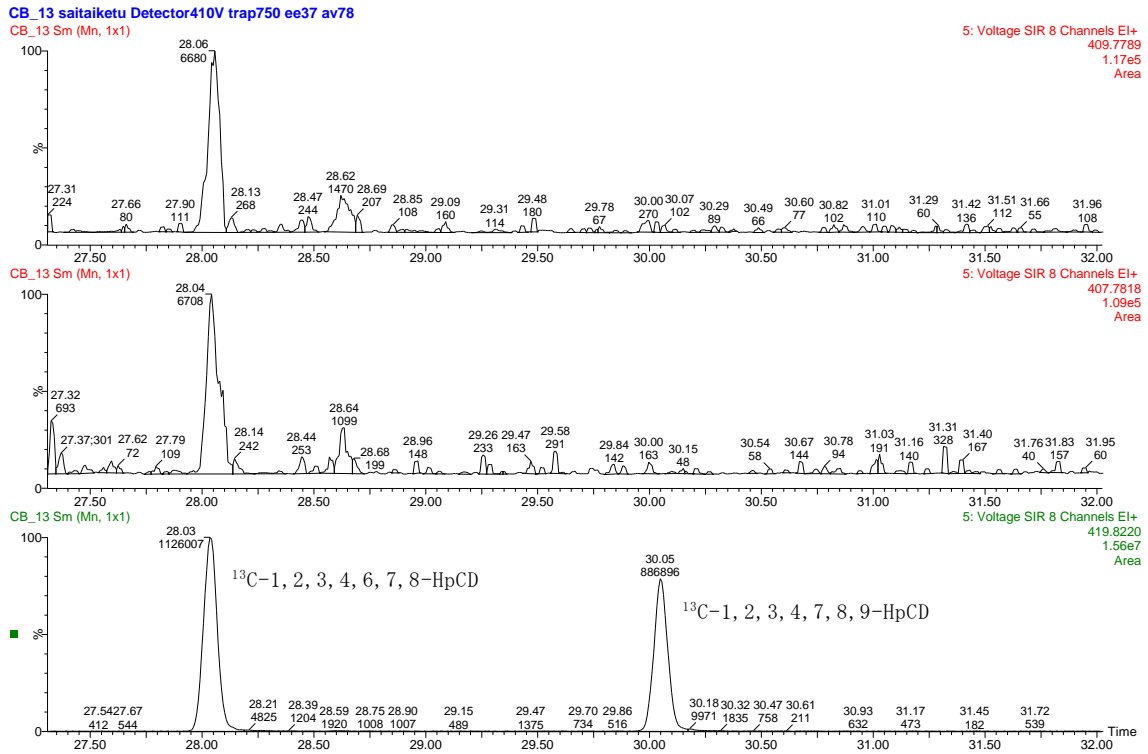
図(1)-23 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(TeCDF)



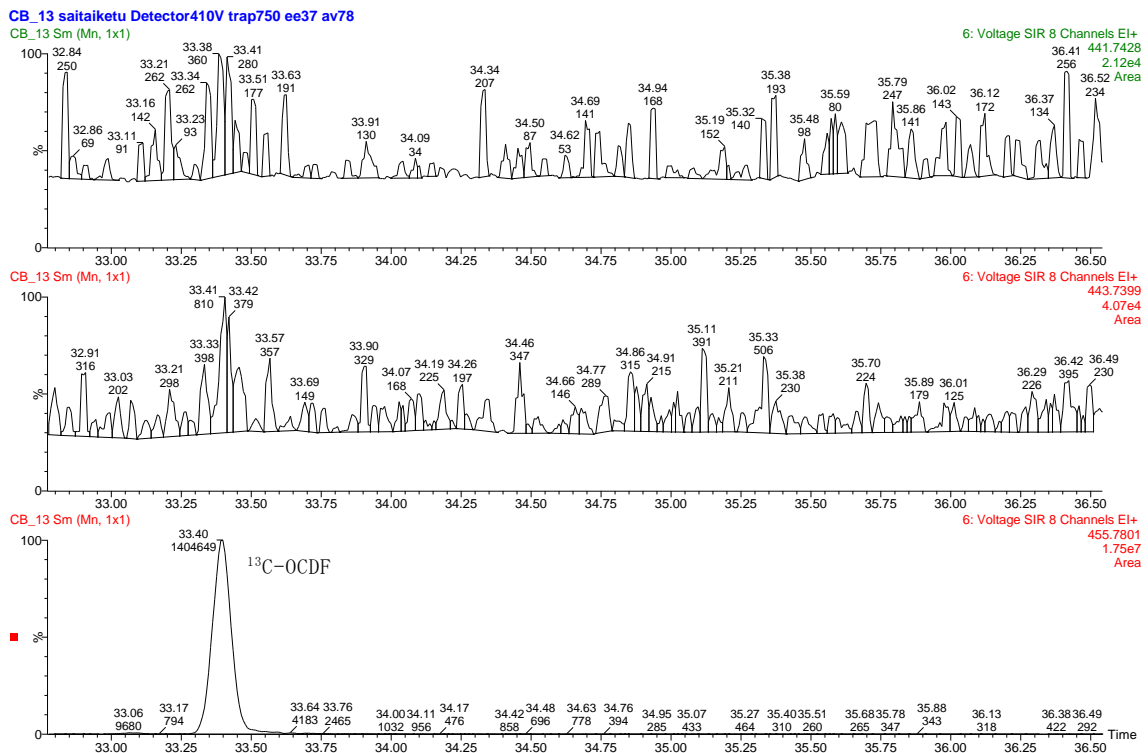
図(1)-24 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(PeCDF)



図(1)-25 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(HxCDF)

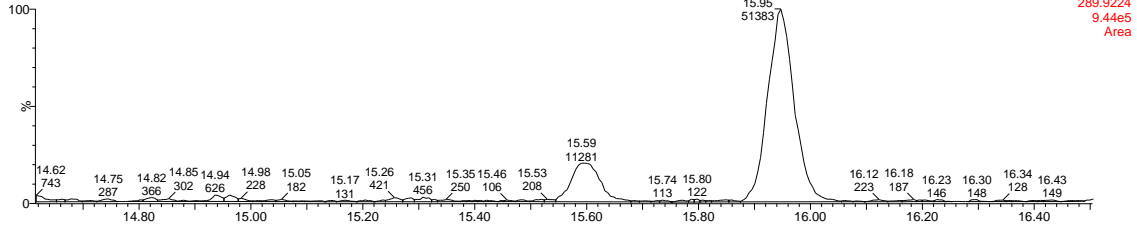


図(1)-26 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(HpCDF)

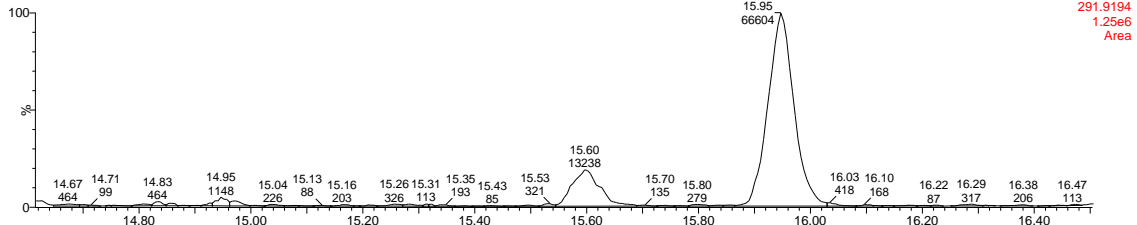


図(1)-27 臍帯血試料(N13)の測定クロマトグラム(OCDF)

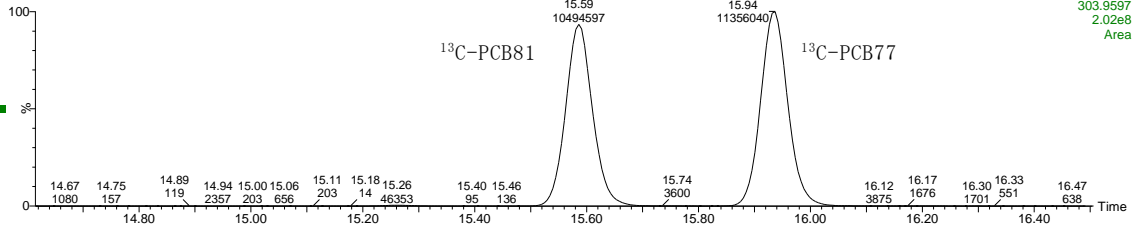
P_13 taiban Detector410V trap750 ee38 av78
 P_13 Sm (Mn, 1x1)



P_13 Sm (Mn, 1x1)

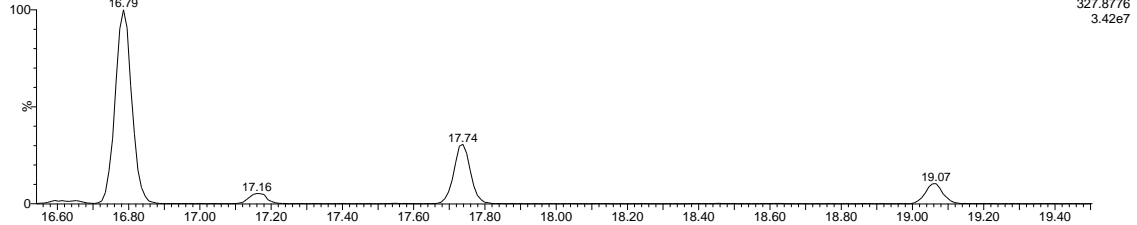


P_13 Sm (Mn, 1x1)

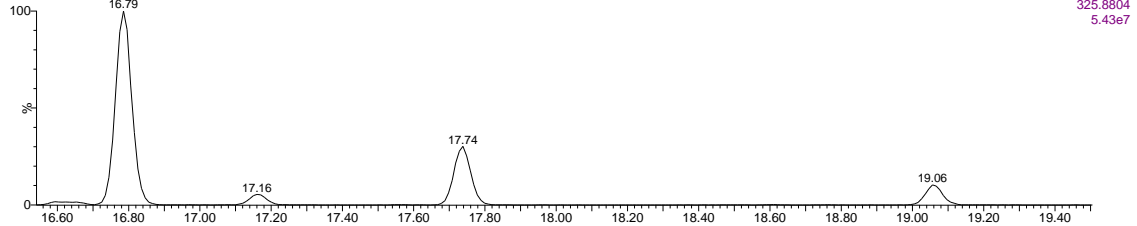


図(1)-28 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(TCB)

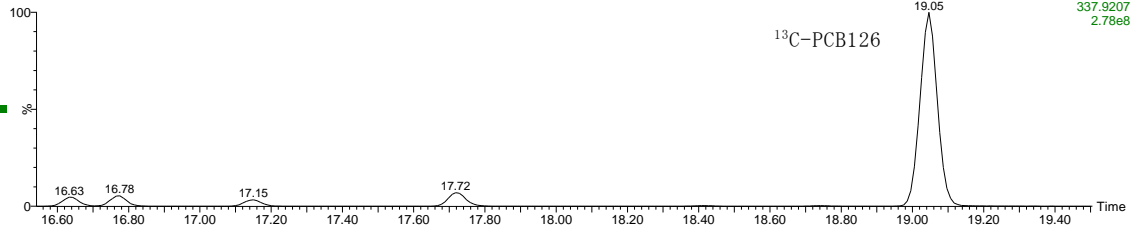
P_13 taiban Detector410V trap750 ee38 av78
 P_13



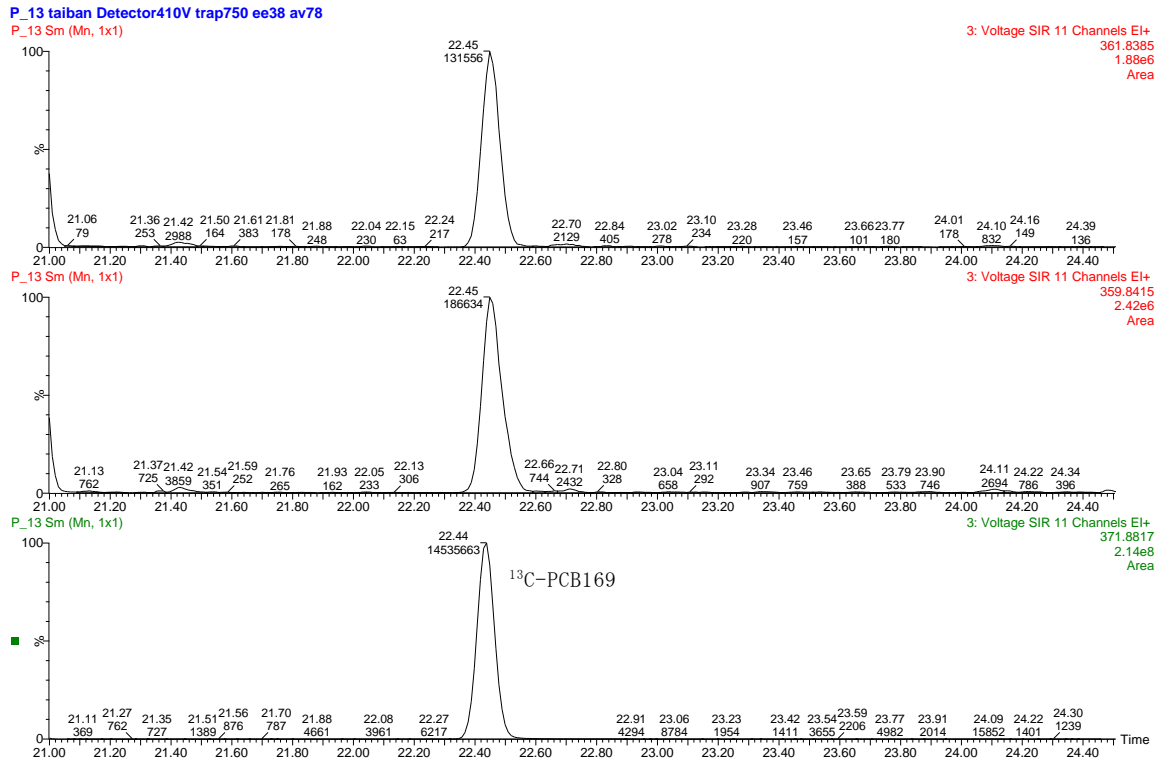
P_13



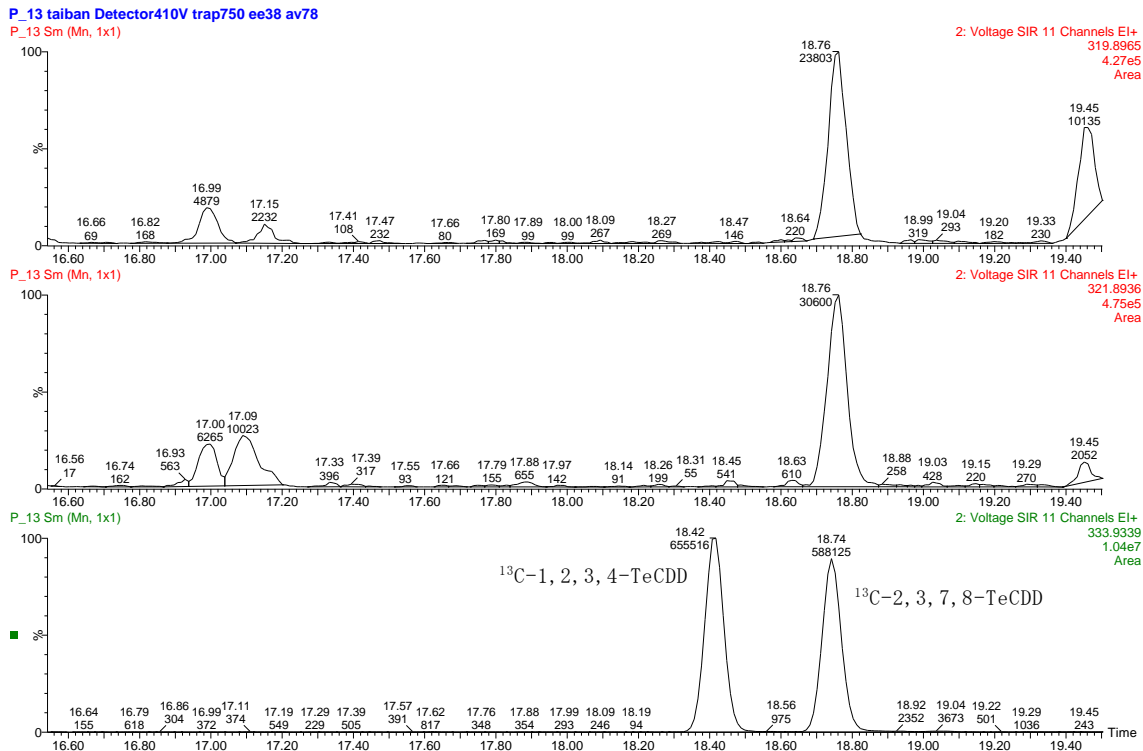
P_13



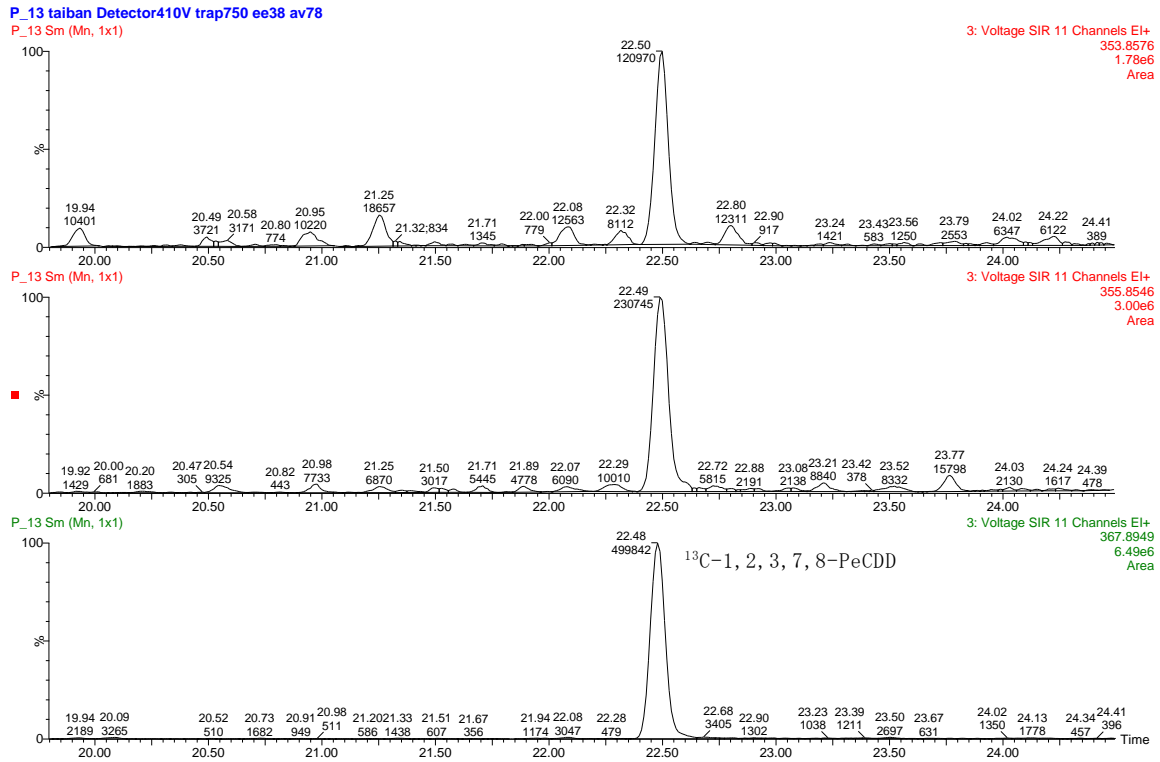
図(1)-29 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(PeCB)



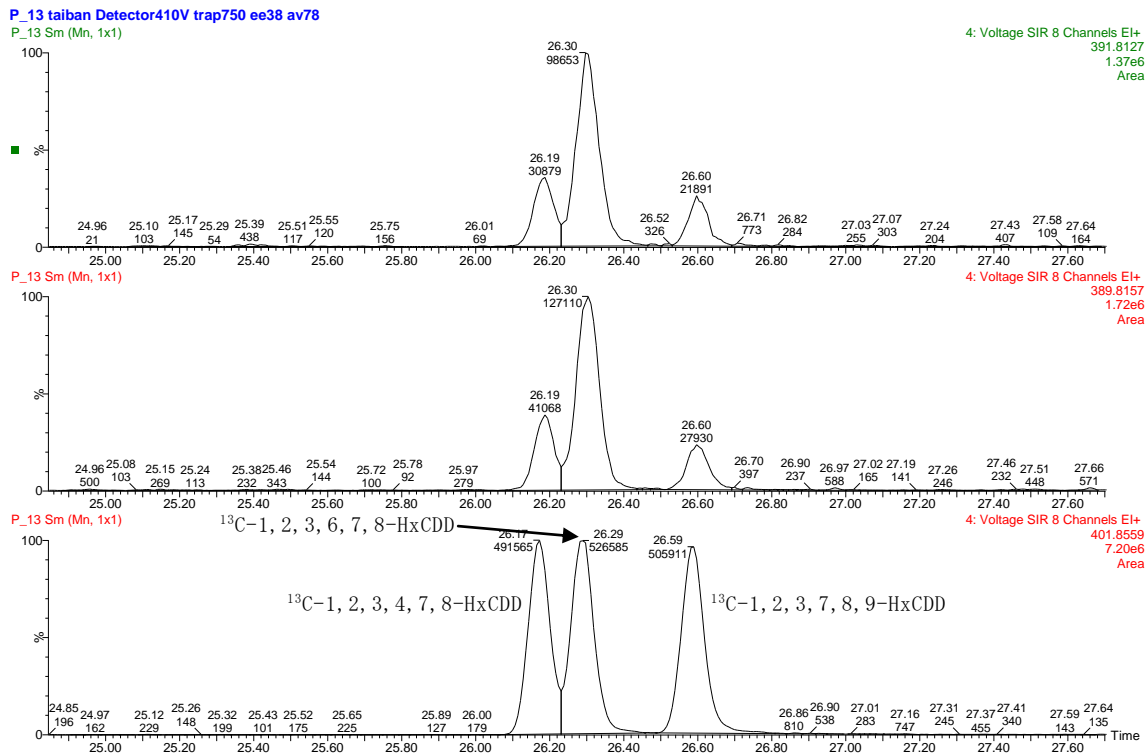
図(1)-30 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(HxCB)



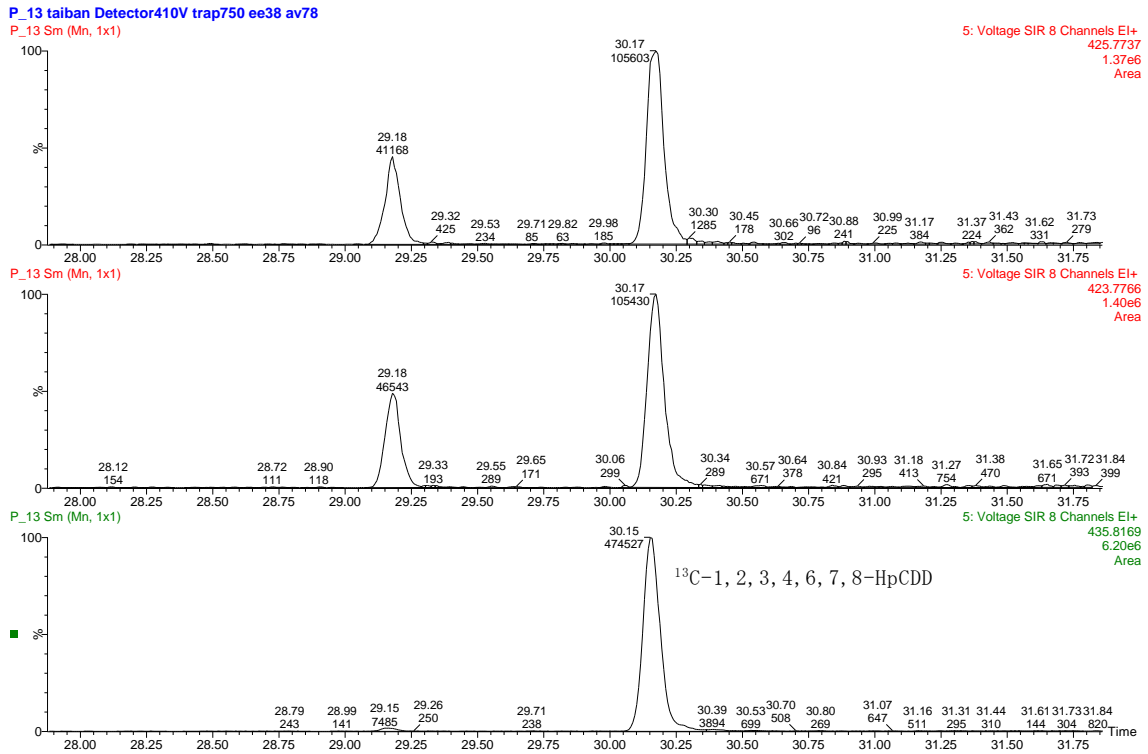
図(1)-31 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(TCDD)



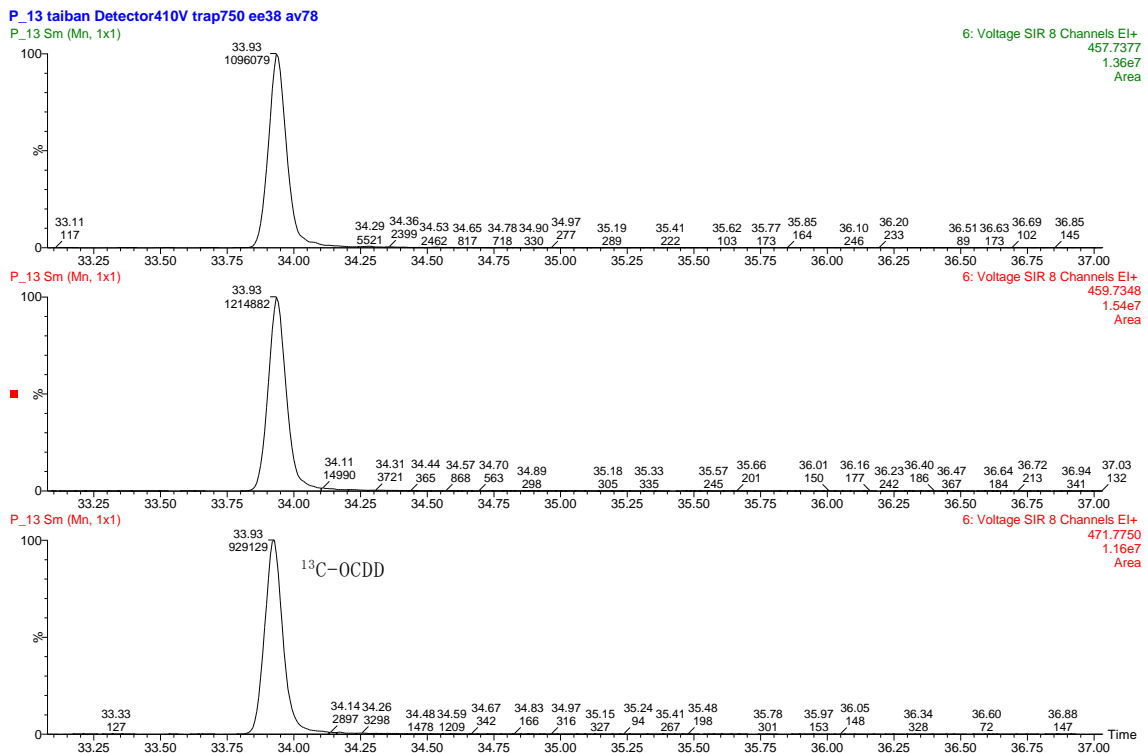
図(1)-32 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(PeCDD)



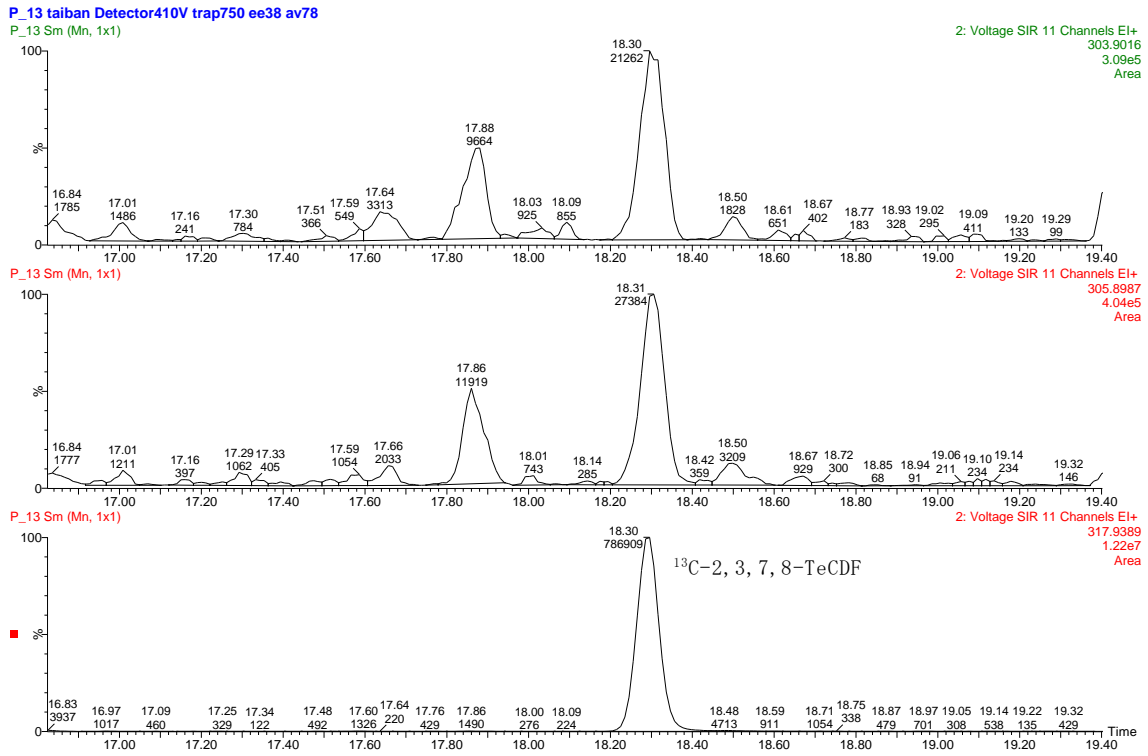
図(1)-33 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(HxCDD)



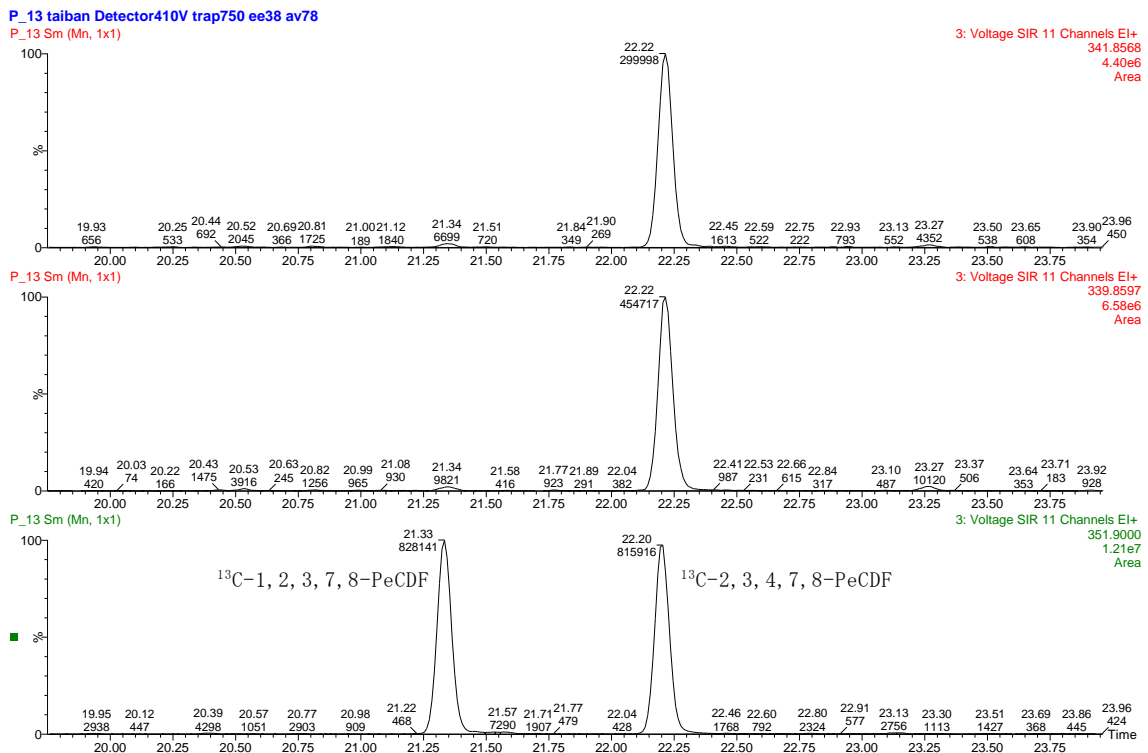
図(1)-34 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(HpCB)



図(1)-35 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(OCDD)

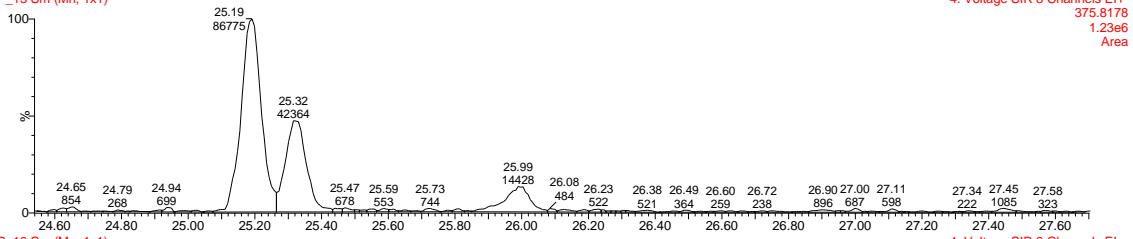


図(1)-36 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(TCDF)

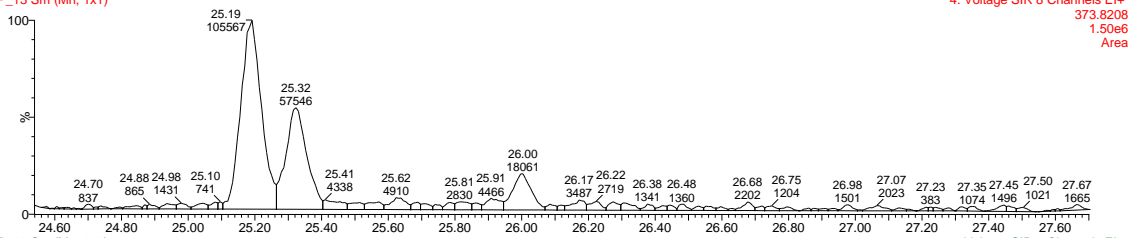


図(1)-37 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(PeCDF)

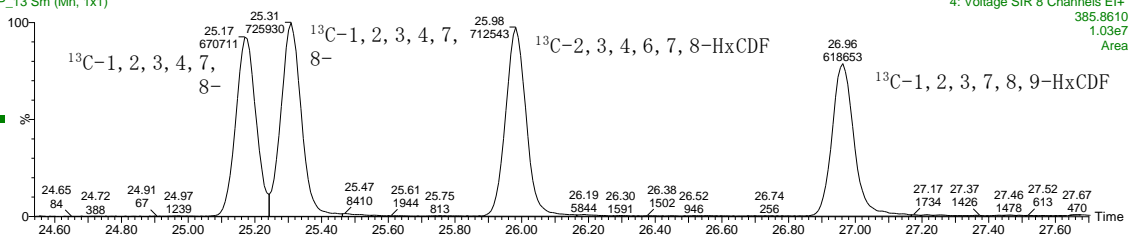
P_13 taiban Detector410V trap750 ee38 av78
 P_13 Sm (Mn, 1x1)



P_13 Sm (Mn, 1x1)

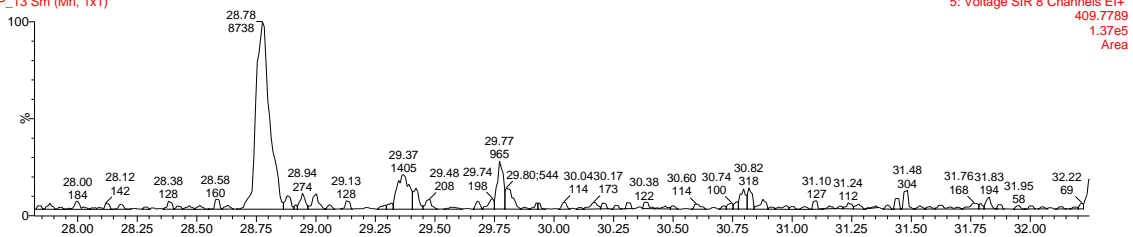


P_13 Sm (Mn, 1x1)

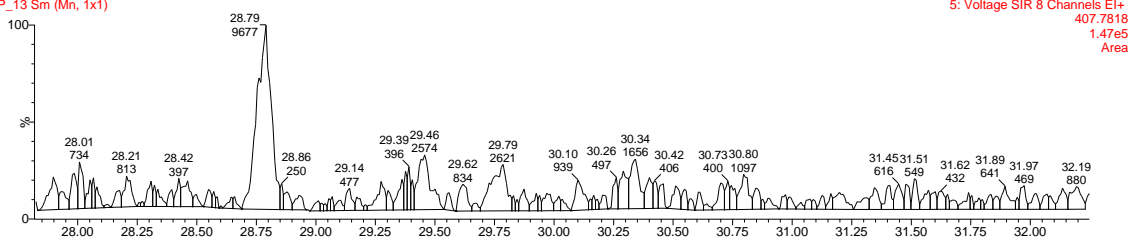


図(1)-38 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(HxCDF)

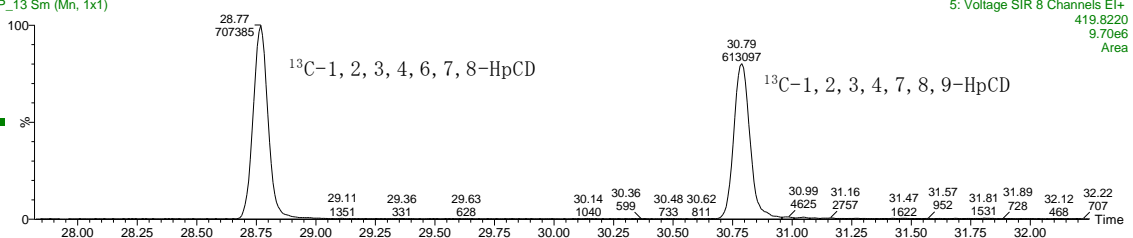
P_13 taiban Detector410V trap750 ee38 av78
 P_13 Sm (Mn, 1x1)



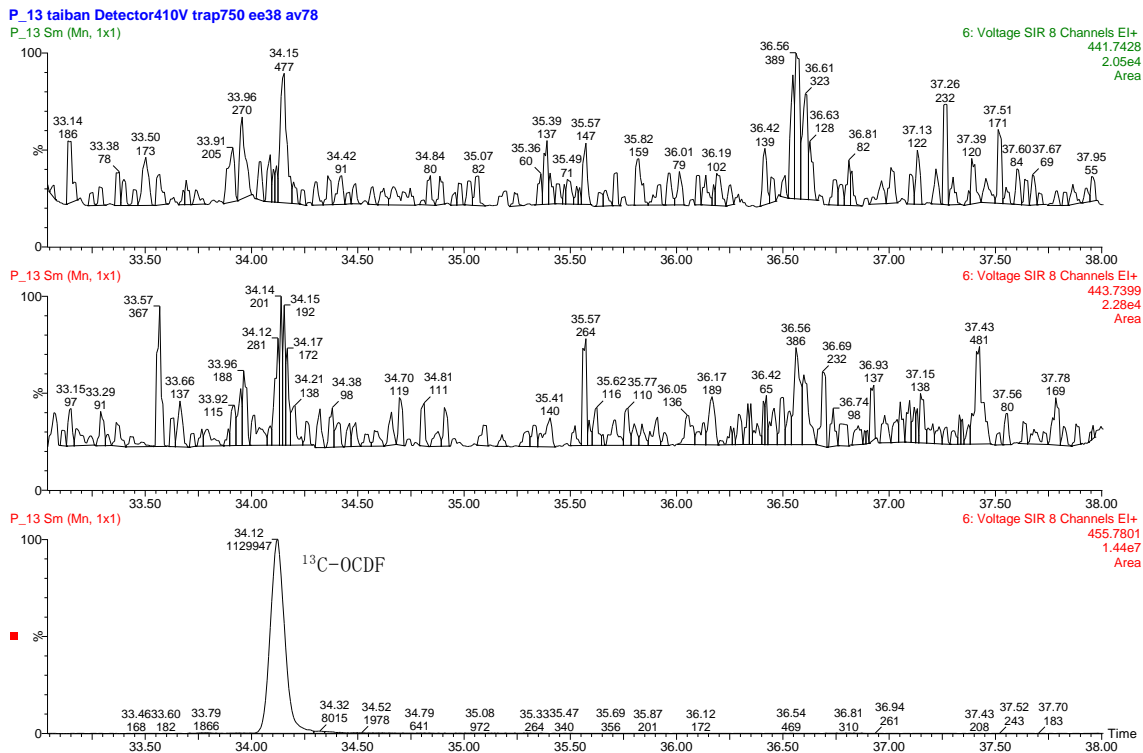
P_13 Sm (Mn, 1x1)



P_13 Sm (Mn, 1x1)



図(1)-39 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(HpCDF)



図(1)-40 胎盤試料(N13)の測定クロマトグラム(OCDF)

表(1)-3 高速溶媒抽出装置ASE-350における抽出条件

抽出装置	試料	秤取量	使用セルの容量と本数、 充填時の操作等	抽出圧力	静置時間と サイクル数	抽出 回数	合計抽出液量
ASE-350	母体血	5-6g	33mL容セル1本に分注 凍結乾燥後抽出	1500psi (固定値)	12分×3	2	約200mL
	母乳	10g	5gずつ33mL容セル2本に分注 凍結乾燥後抽出	1500psi (固定値)	12分×3	2	約400mL
	臍帯血	10-12g	5-6gずつ33mL容セル2本に分注 凍結乾燥後抽出	1500psi (固定値)	12分×3	2	約400mL
	胎盤	20g	ビーカー秤量, 凍結乾燥 珪藻土粉末と混合 99mL容セル1本に充填し抽出	1500psi (固定値)	12分×3	2	約300mL
	臍帯	10-40g	ビーカー秤量, 凍結乾燥 珪藻土粉末と混合 33mL容セル1または2本に充填し抽出	1500psi (固定値)	12分×3	2	約200mL または 約400mL
	胎脂・胎便	0.7~5g	ガラス製乳鉢に秤量, 珪藻土粉末と混合 33mL容セル1本に充填 凍結乾燥後抽出	1500psi (固定値)	12分×3	2	約200mL

表(1)-4 高速溶媒抽出法による抽出脂肪量. a)参考文献との比較、b)母乳抽出における再現性.

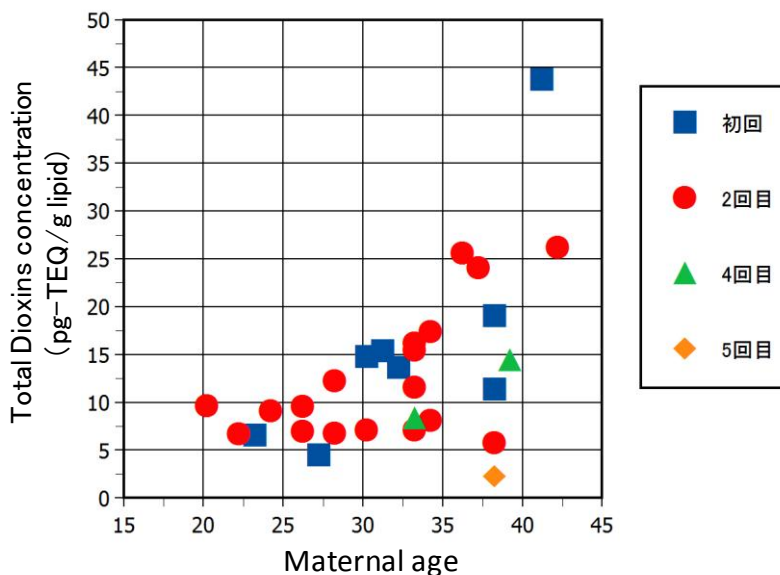
	本研究			参考値			引用文献No.	b)	
	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値		1回目	2回目
胎盤 (n=18)	0.99	0.81	1.13	1.25	1.10	1.60	9)	Sample A	2.16 2.10
臍帯血 (n=14)	0.28	0.21	0.31	0.28	0.18	0.39	8)	Sample B	1.30 1.21
母乳 (n=18)	3.28	1.30	5.30	4.22	1.58	10.1	8)	Sample C	4.29 4.20
				4.0	1.0	8.7	11)		

表(1)-5 母体血試料中のダイオキシン類濃度 (pg/g, 脂肪重量当たり、正常例)

化合物	検出下限値 No.																		
	N01	N02	N03	N04	N05	N06	N07	N08	N09	N10	N11	N12	N13	N14	N15	N16	N17	N18	N19
2,3,7,8-TCDD	1	1.3	1.2	1.3	ND	ND	ND	ND	1.1	ND	1.7	2.2	2.7	ND	ND	ND	1.2	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDD	1	7.4	8.4	3.8	1.4	1.9	4.2	2.8	2.0	4.6	4.5	8.8	12	4.5	5.0	2.6	3.1	6.0	3.2
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2	2.3	3.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.8	5.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2	25	21	11	5.8	6.2	12	6.9	8.0	12	17	11	34	52	22	6.9	1.6	4.1	18
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2	3.3	3.6	ND	ND	2.1	2.7	ND	ND	2.4	2.2	2.7	4.6	9.7	3.0	ND	ND	2.1	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2	63	30	28	31	26	27	17	25	17	19	22	39	71	36	11	7.4	5.9	28
OCDD	4	870	280	410	300	270	410	250	350	270	350	360	570	910	400	220	210	150	350
2,3,7,8-TCDF	1	2.4	ND	2.3	ND	ND	ND	ND	ND	2.3	3.2	1.2	1.4	ND	ND	ND	6.6	6.1	5.1
1,2,3,7,8-PeCDF	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	1	17	13	8.1	3.2	2.4	7.8	3.7	2.5	5.7	7.0	13	22	9.9	6.4	3.5	5.5	6.9	4.8
1,2,3,4,7,8-HxCDF	2	3.9	3.1	2.1	ND	ND	2.6	ND	ND	2.9	2.7	4.8	11	3.1	ND	ND	ND	2.9	3.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2	4.1	4.7	3.0	ND	ND	3.5	ND	ND	2.4	2.8	2.2	5.2	12	4.5	2.3	ND	2.0	2.8
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2	2.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.1	3.3	ND	ND	ND	ND	2.9	2.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2	2.4	3.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.4	2.5	2.9	4.3	ND	ND	ND	ND	8.7	ND
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(#81)	10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4',4'-TCB(#77)	10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	11	10	14	ND	ND	ND	ND
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	10	45	53	33	15	15	48	ND	25	12	ND	31	32	91	40	45	18	17	30
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	10	58	36	26	17	16	19	13	21	26	18	34	53	66	35	33	23	14	31
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		13	13	6.8	3.1	3.7	6.6	4.5	3.8	7.5	7.7	8.0	16	23	8.1	5.9	2.9	4.8	8.4
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		6.5	4.8	3.4	1.4	1.2	3.2	1.6	1.2	2.5	2.6	3.1	5.4	9.7	4.0	2.1	1.1	2.5	3.7
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		6.2	6.4	4.0	2.0	2.0	5.4	0.90	3.1	2.0	1.1	4.1	4.8	11	5.1	5.5	2.5	2.1	3.9
Total dioxins (pg-TEQ/g)		25	24	14	6.6	6.8	15	6.9	8.2	12	11	15	26	44	17	13	6.5	9.5	16

表(1)-6 母体血試料中のダイオキシン類濃度 (pg/g、脂肪重量当たり、FGR)

化合物	検出下限値 (pg/g)	No.									
		F01	F02	F03	F04	F05	F06	F07	F08	F09	F10
2,3,7,8-TCDD	1	ND	ND	ND	ND	1.2	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDD	1	3.3	ND	3.7	ND	6.0	ND	1.4	4.5	4.7	11
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2	4.4	3.5	4.1	6.0	8.8	ND	ND	2.3	4.5	8.8
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2	9.4	6.4	9.9	11	12	36	7.5	8.1	11	19
OCDD	4	230	200	150	330	210	330	170	200	240	370
2,3,7,8-TCDF	1	ND	9.8	ND	15	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1	ND	ND	1.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1
2,3,4,7,8-PeCDF	1	3.3	5.8	5.1	4.3	6.2	ND	2.1	2.3	5.9	7.9
1,2,3,4,7,8-HxCDF	2	ND	ND	2.1	2.7	2.1	ND	ND	ND	ND	5.6
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2	ND	ND	3.3	2.6	3.7	ND	ND	ND	2.3	4.4
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2	ND	ND	2.3	0.88	3.1	ND	ND	ND	2.4	3.0
1,2,3,7,8,9-HxCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2	ND	ND	4.1	2.2	3.1	ND	ND	ND	2.3	2.9
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(#81)	10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4',4'-TCB(#77)	10	ND	ND	ND	33	9.9	ND	ND	ND	ND	5.8
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	10	12	29	19	29	28	33	ND	ND	30	21
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	10	11	27	13	25	25	18	ND	ND	19	17
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		3.9	0.47	4.2	0.81	8.3	0.46	1.5	4.9	5.3	12
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		1.0	2.7	2.4	3.5	2.8	0	0.62	0.69	2.3	3.7
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		1.5	3.7	2.3	3.6	3.5	3.8	0	0	3.6	2.6
Total dioxins (pg-TEQ/g)		6.4	6.9	8.9	7.9	15	4.3	2.1	5.6	11	19



図(1)-41 妊産婦年齢と血中ダイオキシン類濃度との関連。凡例は出産回数を示す。

表(1)-7 胎盤試料中のダイオキシン類濃度(pg/g、脂肪重量当たり、正常例)

化合物	検出下限値 (pg/g)	No.															
		N01	N02	N03	N04	N05	N06	N07	N08	N09	N10	N11	N12	N13	N15	N16	
2,3,7,8-TCDD	0.3	0.93	1.7	0.91	0.60	0.42	1.2	0.32	0.40	0.69	0.42	0.66	1.0	2.2	1.5	0.82	
1,2,3,7,8-PeCDD	0.3	8.3	11	6.9	3.8	3.8	11	3.0	2.8	5.6	4.0	5.7	8.0	20	8.8	5.0	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.7	1.4	2.1	1.5	ND	0.71	1.8	0.79	ND	0.98	0.76	1.2	2.0	3.7	1.6	1.0	
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.7	3.2	4.4	2.6	1.1	1.0	3.0	1.2	1.3	2.7	3.7	2.0	6.9	11	2.9	1.2	
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.7	ND	0.82	ND	ND	ND	0.87	ND	ND	ND	ND	0.94	2.5	0.70	ND		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.7	3.9	4.7	3.6	25	2.1	4.4	2.2	2.4	2.1	2.5	1.8	5.6	10	3.4	2.5	
OCDD	2	68	30	60	48	43	43	38	31	39	76	34	94	110	41	34	
2,3,7,8-TCDF	0.3	1.8	0.44	0.72	0.55	0.59	0.85	1.1	0.71	0.79	0.41	0.75	0.90	0.91	1.1	0.54	
1,2,3,7,8-PeCDF	0.3	0.58	0.31	0.34	ND	ND	0.60	ND	0.36	ND	ND	0.40	ND	0.60	0.66	0.31	
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	9.9	16	8.4	5.7	4.9	12	4.4	3.8	8.6	5.9	8.8	11	27	15	7.1	
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.7	1.9	2.5	1.6	0.97	1.4	2.9	0.97	1.2	1.8	1.9	1.4	2.6	7.1	2.1	1.4	
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.7	1.5	1.5	0.86	0.85	ND	1.5	ND	ND	1.0	1.1	0.86	1.6	3.7	1.2	0.75	
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.97	ND	ND	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
OCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
3,4,4',5'-TCB(#81)	0.6	0.91	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.76	ND	ND	
3,3',4',4'-TCB(#77)	1	1.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.2	2.7	ND	ND	
3,3',4',4',5'-PeCB(#126)	0.3	6.7	12	7.5	3.0	4.0	10	2.5	4.7	3.0	1.5	4.6	7.2	19	12	4.5	
3,3',4',4',5,5'-HxCB(#169)	0.3	8.7	8.8	5.8	3.9	3.7	4.3	2.7	3.1	5.6	3.8	4.5	11	12	7.6	4.9	
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		9.8	14	8.3	4.8	4.5	12	3.6	3.3	6.7	5.0	6.7	10	24	11	6.0	
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		3.5	5.3	2.8	1.9	1.7	4.0	1.5	1.3	2.9	2.1	2.9	3.8	9.4	4.8	2.4	
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		0.93	1.5	0.92	0.42	0.51	1.2	0.33	0.57	0.47	0.26	0.60	1.1	2.3	1.4	0.60	
Total dioxins (pg-TEQ/g)		14	21	12	7.1	6.6	18	5.4	5.2	10	7.3	10	15	36	17	9.1	

表(1)-8 胎盤試料中のダイオキシン類濃度(pg/g、脂肪重量当たり、FGR)

化合物	検出下限値 (pg/g)	No.									
		F01	F02	F04	F05	F06	F07	F08	F09	F10	
2,3,7,8-TCDD	0.3	0.57	0.40	0.92	0.38	1.4	0.31	0.33	0.46	1.3	
1,2,3,7,8-PeCDD	0.3	4.3	5.4	9.1	4.4	12	2.4	2.6	4.6	11	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.7	0.81	0.75	1.1	0.86	4.8	0.75	0.84	0.83	3.2	
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.7	1.1	ND	4.1	ND	5.8	1.0	1.1	1.5	4.7	
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.7	ND	ND	1.2	ND	2.2	ND	ND	ND	1.1	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.7	4.0	2.0	6.0	2.2	13	5.0	2.4	2.9	8.4	
OCDD	2	59	31	87	25	60	46	28	34	79	
2,3,7,8-TCDF	0.3	0.68	0.81	0.80	0.55	0.63	0.25	0.49	0.43	0.48	
1,2,3,7,8-PeCDF	0.3	ND	ND	ND	0.46	0.48	0.43	ND	ND	ND	
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	5.1	8.9	11	7.4	22	3.2	4.1	4.6	15	
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.7	1.5	1.2	7.9	2.2	6.2	1.4	1.2	1.6	5.4	
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.7	0.86	ND	7.4	0.81	3.7	0.71	ND	0.79	2.2	
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	1.7	ND	ND	ND	ND	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	0.82	1.1	ND	ND	ND	0.85	
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
OCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
3,4,4',5'-TCB(#81)	0.6	ND	ND	0.76	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
3,3',4',4'-TCB(#77)	1	ND	ND	9.0	ND	2.0	5.6	1.6	ND	1.4	
3,3',4',4',5'-PeCB(#126)	0.3	3.5	7.2	11	5.8	15	3.2	3.3	9.3	8.4	
3,3',4',4',5,5'-HxCB(#169)	0.3	3.2	4.0	12	4.3	8.6	1.5	2.2	4.8	8.2	
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		5.2	5.9	11	4.9	15	2.9	3.1	5.4	13	
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		1.8	2.9	5.0	2.6	7.8	1.2	1.4	1.7	5.4	
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		0.44	0.83	1.4	0.71	1.8	0.37	0.40	1.1	1.1	
Total dioxins (pg-TEQ/g)		7.4	9.6	17	8.2	25	4.5	4.9	8.1	19	

表(1)-9 臍帯静脈血(V血)中のダイオキシン類濃度(pg/g, 脂肪重量当たり、正常例)

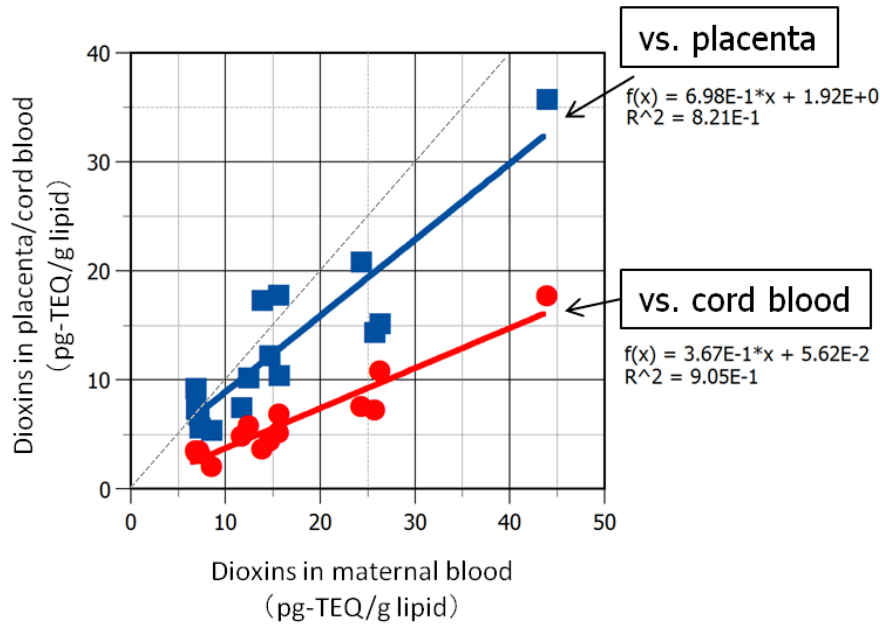
化合物	検出下限値 No.																			
	(pg/g)	N01	N02	N03	N04	N05	N06	N07	N08	N09	N10	N11	N12	N13	N14	N15	N16	N17	N18	N19
2,3,7,8-TCDD	0.3	0.72	0.80	ND	ND	0.38	ND	ND	0.31	0.47	0.61	0.71	0.58	1.1	0.63	ND	ND	ND	1.1	ND
1,2,3,7,8-PeCDD	0.3	3.9	3.7	2.7	2.2	2.2	2.7	2.4	0.35	3.2	2.5	4.1	6.8	8.2	3.5	ND	1.4	1.7	3.4	2.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.7	3.7	2.6	0.83	ND	ND	3.1	ND	ND	3.1	4.6	ND	6.8	13	ND	3.6	1.1	1.3	7.4	3.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	2.6	1.3	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.7	10	2.8	2.9	4.0	2.9	4.1	3.5	4.9	3.9	3.9	5.9	7.5	14	7.3	6.5	4.9	4.4	8.5	6.3
OCDD	2	390	72	170	170	99	110	110	120	160	140	260	250	320	340	310	150	130	310	150
2,3,7,8-TCDF	0.3	ND	0.80	ND	0.90	0.63	ND	ND	ND	ND	ND	0.40	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	0.3	0.31	ND	0.42	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.33	0.30	0.70	0.36	ND	0.72	ND	ND	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	1.9	3.3	1.5	1.1	0.70	1.8	0.77	1.5	2.4	1.6	2.0	3.4	6.5	2.3	3.3	2.3	2.0	3.7	2.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	0.83	ND	ND	1.3	1.1	0.79	1.0	3.3	0.91	ND	0.81	ND	0.79	0.74
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.7	1.1	1.4	ND	ND	ND	1.1	ND	ND	1.3	1.3	0.80	1.7	3.9	1.4	ND	0.92	ND	1.7	1.5
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.6	ND	ND	0.95	1.1	1.6	1.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.7	0.84	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.84	ND	ND	1.5	ND	ND	0.83	1.1	4.0	1.4
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(#81)	1	ND	1.3	ND	ND	ND	1.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4',4'-TCB(#77)	1	12	13	8.9	8.8	5.7	9.2	12	ND	1.4	1.6	ND	ND	3.1	1.6	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.3	9.0	13	7.9	3.9	3.5	11	2.9	6.0	4.4	2.4	7.9	8.5	29	11	18	6.1	5.8	12	10
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.3	7.7	5.3	4.0	2.3	1.8	3.1	1.9	3.2	4.9	3.5	5.8	8.2	17	8.3	8.0	5.8	3.4	11	6.8
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		5.2	4.8	2.9	2.3	2.7	3.1	2.5	0.75	4.1	3.6	5.0	8.3	11	4.4	0.52	1.6	1.9	5.4	3.1
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		0.71	1.2	0.46	0.43	0.27	0.74	0.23	0.45	1.0	0.72	0.80	1.3	2.9	0.92	0.99	0.98	0.73	1.6	1.1
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		1.1	1.4	0.91	0.46	0.40	1.2	0.35	0.70	0.59	0.3	1.0	1.1	3.4	1.3	2.0	0.8	0.7	1.5	1.2
Total dioxins (pg-TEQ/g)		7.1	7.4	4.2	3.2	3.3	5.0	3.1	1.9	5.6	4.7	6.7	11	18	6.7	3.5	3.4	3.3	8.5	5.4

表(1)-10 臍帯静脈血(V血)中のダイオキシン類濃度(pg/g、脂肪重量当たり、FGR)

化合物	検出下限値 (pg/g)	No.									
		F01	F02	F03	F04	F05	F06	F07	F08	F09	F10
2,3,7,8-TCDD	0.3	0.82	ND	0.69	1.2	0.68	1.0	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDD	0.3	8.3	3.5	2.8	3.5	2.7	4.2	1.1	5.4	2.3	6.4
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	1.4	ND	ND	ND	0.50
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.7	1.5	1.0	1.5	3.5	1.8	4.2	1.4	1.1	1.8	2.7
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	1.6	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.7	3.7	3.5	5.0	7.0	2.9	11	6.7	4.2	4.6	8.4
OCDD	2	93	130	110	200	64	210	180	160	140	260
2,3,7,8-TCDF	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	0.3	0.68	ND	1.3	1.3	1.2	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	1.9	1.5	2.8	2.6	2.5	5.3	2.1	0.81	2.6	2.9
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	0.91	ND	ND	ND	0.72	1.6
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.7	0.83	ND	2.1	ND	0.80	6.4	ND	0.92	1.3	3.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.7	ND	ND	1.8	0.86	0.77	1.9	ND	ND	1.0	1.1
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(#81)	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4',4'-TCB(#77)	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.3	3.4	6.6	10	10	6.7	16	6.6	4.2	12	7.0
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.3	2.1	4.4	4.2	7.4	4.2	6.8	2.3	2.2	4.8	4.3
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		9.3	3.7	3.7	5.2	3.6	6.1	1.3	5.6	2.5	7.3
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		0.66	0.44	1.1	0.83	1.0	2.3	0.63	0.33	1.0	1.5
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		0.41	0.79	1.1	1.3	0.80	1.8	0.73	0.49	1.4	0.83
Total dioxins (pg-TEQ/g)		10	4.9	5.9	7.3	5.3	10	2.7	6.5	4.9	10

表(1)-11 臍帯動脈血(A血)中のダイオキシン類濃度(pg/g、脂肪重量当たり)

化合物	検出下限値 (pg/g)	No.			No.							
		N01	N02	N03	F02	F03	F04	F05	F06	F07	F09	F10
2,3,7,8-TCDD	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDD	0.7	ND	6.7	ND	2.4	3.1	5.6	1.9	7.1	3.2	4.4	3.4
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1.5	ND	7.3	2.8	1.7	2.4	4.2	2.6	5.1	1.1	2.2	4.3
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.5	5.8	7.2	4.7	4.6	7.7	6.8	5.4	11	5.1	4.7	11
OCDD	5	160	280	130	160	140	240	130	200	100	120	330
2,3,7,8-TCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.8	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	0.7	3.3	3.3	ND	1.7	2.7	2.6	2.8	6.5	ND	3.1	3.9
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.5	ND	ND	ND	ND	2.0	ND	ND	2.1	ND	1.5	2.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.5	ND	ND	1.7	ND	2.3	ND	ND	3.3	ND	ND	2.3
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.5	1.6	2.0	1.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.5	ND	4.4	ND	ND	2.4	ND	ND	2.1	ND	ND	2.4
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(#81)	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4',4'-TCB(#77)	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.5	9.2	13	11	8.9	13	11	10	17	4.2	13	8.9
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.5	3.7	8.9	5.1	5.9	5.8	7.2	6.9	7.0	1.3	6.1	4.6
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		0.11	7.6	0.37	2.6	3.5	6.1	2.3	7.8	3.4	4.7	4.0
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		1.2	1.2	0.36	0.52	1.3	0.77	0.83	2.5	0	1.1	1.6
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		1.0	1.6	1.2	1.1	1.4	1.3	1.2	1.9	0.46	1.5	1.0
Total dioxins (pg-TEQ/g)		2.3	10	1.9	4.2	6.2	8.2	4.3	12	3.9	7.3	6.7



図(1)-42 正常出産15名の妊産婦における母体血ダイオキシン類濃度に対する臍帯V血濃度および胎盤中濃度の相関

表(1)-12 臍帯中のダイオキシン類濃度 (pg/g、脂肪重量当たり、正常例)

化合物	検出下限値 (pg/g)	No.															
		N01	N02	N03	N04	N05	N06	N07	N08	N09	N10	N11	N12	N13	N15	N16	
2,3,7,8-TCDD	0.3	ND	2.7	ND	0.81	0.25	0.43	ND	ND	ND	0.72	ND	ND	2.5	0.60	ND	
1,2,3,7,8-PeCDD	0.3	12	6.6	1.8	1.9	2.5	4.2	1.8	ND	4.1	1.6	ND	3.6	7.4	6.2	3.4	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.7	0.87	2.2	1.6	0	0	0.82	0.71	ND	ND	ND	ND	ND	2.3	ND	ND	
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.7	6.2	8.7	4.0	4.5	2.7	4.8	2.6	3.3	3.5	4.3	3.5	6.2	20	6.6	1.9	
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.7	2.1	1.2	ND	ND	ND	1.4	0.73	ND	ND	0.96	0.86	ND	4.3	1.6	ND	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.7	14	9.9	7.5	3.7	5.8	8.8	4.9	3.0	5.4	2.5	5.4	5.0	16	9.5	2.9	
OCDD	2	380	93	140	180	94	80	75	66	95	88	150	123	330	220	89	
2,3,7,8-TCDF	0.3	53	24	10	10	6.7	9.2	5.7	3.1	5.6	3.4	8.8	4.5	3.1	14	ND	
1,2,3,7,8-PeCDF	0.3	6.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	20	16	5.6	5.1	5.4	6.3	2.6	2.7	7.2	3.9	6.5	6.7	12	10	3.4	
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.7	3.0	3.5	2.2	1.2	2.0	1.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.3	3.2	ND	
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.7	3.7	2.9	0.87	1.6	1.3	1.4	ND	ND	ND	ND	ND	1.9	7.4	5.3	2.7	
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.7	1.5	ND	ND	ND	ND	1.3	ND	2.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.7	1.0	1.6	0.90	1.8	1.5	1.0	ND	ND	1.1	1.4	1.4	1.9	2.1	1.6	ND	
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
OCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
3,4,4',5'-TCB(#81)	0.6	43	6.1	7.9	4.8	5.0	5.6	6.7	5.1	0.63	1.9	5.2	2.5	6.0	6.7	3.2	
3,3',4',4'-TCB(#77)	1	53	47	47	50	70	27	36	35	51	26	32	36	13	65	16	
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.3	18	32	15	8.3	10	31	5.5	9.5	4.7	2.0	21	8.7	40	37	5.1	
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.3	17	15	8.3	5.5	6.1	9.2	5.0	4.5	6.9	5.0	12	11	18	15	7.3	
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		13	11	2.5	3.2	3.1	5.4	2.3	0.38	4.6	2.9	0.5	4.3	13	7.7	3.7	
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		12	7.9	3.0	2.9	2.6	3.3	1.3	1.3	2.7	1.5	2.8	2.7	5.4	5.2	1.3	
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		2.3	3.7	1.7	1.0	1.2	3.4	0.71	1.1	0.68	0.35	2.4	1.2	4.6	4.2	0.73	
Total dioxins (pg-TEQ/g)		28	22	7.2	7.1	6.9	12	4.4	2.8	8.0	4.8	5.8	8.2	23	17	5.7	

表(1)-13 臍帯中のダイオキシン類濃度 (pg/g、脂肪重量当たり、FGR)

化合物	検出下限値 (pg/g)	No.									
		F01	F02	F03	F04	F06	F07	F08	F09	F10	
2,3,7,8-TCDD	0.3	ND	ND	0.54	0.56	0.54	0.32	ND	ND	0.79	
1,2,3,7,8-PeCDD	0.3	2.2	2.6	2.2	4.6	2.5	1.1	ND	1.6	5.4	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.7	ND	ND	ND	ND	1.8	ND	ND	ND	1.3	
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.7	1.6	1.5	15	3.2	4.8	1.7	1.7	2.4	3.8	
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.7	1.1	ND	0.92	1.1	1.8	0.76	ND	ND	1.1	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.7	5.4	2.0	3.1	6.5	7.0	7.6	2.7	4.9	7.1	
OCDD	2	150	96	74	180	120	92	100	100	190	
2,3,7,8-TCDF	0.3	0.30	ND	0.38	1.3	0.79	13	1.9	ND	0.60	
1,2,3,7,8-PeCDF	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	2.4	1.9	ND	4.2	6.7	2.4	2.7	4.1	7.6	
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.7	ND	ND	1.2	2.3	1.9	1.0	ND	1.1	ND	
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	2.1	2.5	1.2	ND	1.3	1.8	
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.7	0.71	ND	1.3	ND	1.8	1.1	1.1	1.2	1.2	
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
OCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
3,4,4',5'-TCB(#81)	0.6	2.9	1.2	2.0	4.4	2.1	16	3.1	2.8	2.1	
3,3',4',4'-TCB(#77)	1	16	5.8	10	46	8.0	373	10	3.3	4.0	
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.3	5.9	6.8	7.2	11	15	8.4	6.4	16	11	
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.3	3.6	4.8	5.0	9.1	9.0	2.2	4.3	7.4	8.4	
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		2.5	2.8	4.4	5.7	4.0	1.8	0.2	1.9	6.9	
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		0.76	0.58	0.17	1.9	2.6	2.3	1.1	1.5	2.6	
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		0.70	0.83	0.87	1.4	1.8	0.95	0.77	1.8	1.3	
Total dioxins (pg-TEQ/g)		4.0	4.3	5.5	9.0	8.4	5.1	2.1	5.3	11	

表(1)-14 母体脂肪組織中のダイオキシン類濃度 (pg/g、脂肪重量当たり)

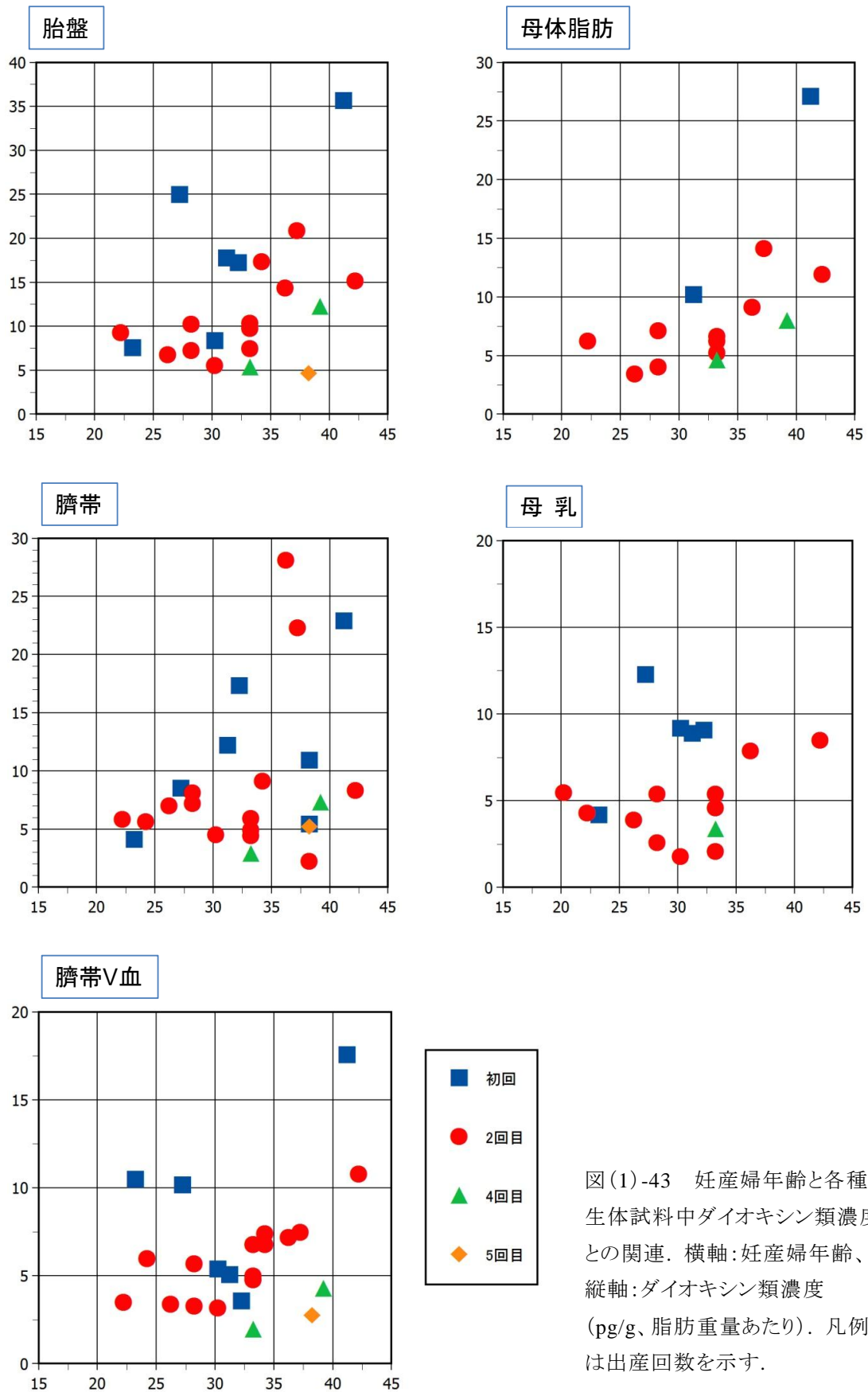
化合物	検出下限値 (pg/g)	No.													
		N01	N02	N03	N04	N05	N06	N08	N09	N10	N11	N12	N13	N16	F02
2,3,7,8-TCDD	0.2	0.67	0.99	0.50	0.30	0.21	0.63	0.34	0.52	0.29	0.36	0.93	1.4	0.36	ND
1,2,3,7,8-PeCDD	0.2	2.6	4.3	2.3	0.98	0.90	2.7	0.97	2.3	1.8	1.9	3.6	6.9	1.6	1.8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.2	1.4	1.8	1.1	0.48	0.37	1.3	0.62	0.87	0.80	0.72	2.3	4.3	0.70	ND
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.2	7.5	9.7	5.7	2.8	2.3	7.1	3.2	7.3	8.5	4.7	17	32	3.1	3.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.2	0.80	1.4	0.60	0.52	0.53	1.1	0.57	0.91	0.98	0.62	1.7	4.5	0.64	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.2	5.6	6.8	5.3	3.4	3.4	8.1	4.8	4.9	3.6	4.0	12	30	6.7	3.5
OCDD	0.3	35	38	48	44	41	83	40	63	74	44	160	360	62	41
2,3,7,8-TCDF	0.2	0.62	0.56	0.44	0.30	0.27	1.0	0.63	0.25	ND	0.57	0.48	0.87	0.42	0.57
1,2,3,7,8-PeCDF	0.2	0.23	0.31	0.30	ND	ND	0.52	0.26	0.23	ND	ND	ND	0.57	0.23	0.25
2,3,4,7,8-PeCDF	0.2	5.4	8.0	4.2	2.6	2.0	4.9	1.8	4.7	3.2	3.6	6.6	15	3.6	3.4
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.2	1.3	1.7	1.2	0.56	0.62	1.5	0.50	1.6	1.2	0.93	1.7	5.6	1.1	0.80
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.2	1.5	2.1	1.1	0.67	0.79	1.8	0.70	1.3	1.3	1.1	2.2	6.0	1.0	1.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.3	0.86	0.89	0.54	0.24	0.27	1.0	0.30	0.41	0.28	0.39	0.85	2.3	0.43	0.58
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.2	0.86	1.4	0.77	0.76	0.65	1.2	0.57	1.0	0.93	0.80	1.3	2.2	1.2	0.72
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(#81)	0.2	2.0	ND	ND	ND	ND	3.4	2.9	ND	ND	3.2	2.2	4.0	2.4	2.8
3,3',4',4'-TCB(#77)	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	2.2	ND	ND	ND	ND	ND	2.6	ND	ND
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.2	20	35	21	8.6	7.4	34	15	8.1	3.6	16	16	66	16	20
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.2	23	25	18	11	8.1	14	12	21	12	19	31	49	20	22
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		4.3	6.7	3.6	1.7	1.5	4.3	1.8	3.8	3.2	2.9	6.7	13	2.5	2.1
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		2.0	3.0	1.6	0.97	0.8	2.0	0.75	1.8	1.2	1.4	2.5	5.9	1.4	1.3
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		2.7	4.3	2.7	1.2	0.99	3.8	1.9	1.4	0.71	2.2	2.6	8.1	2.2	2.7
Total dioxins (pg-TEQ/g)		9.0	14	7.9	3.9	3.3	10	4.5	7.0	5.1	6.5	12	27	6.1	6.1

表(1)-15 母乳中のダイオキシン類濃度 (pg/g、脂肪重量当たり)

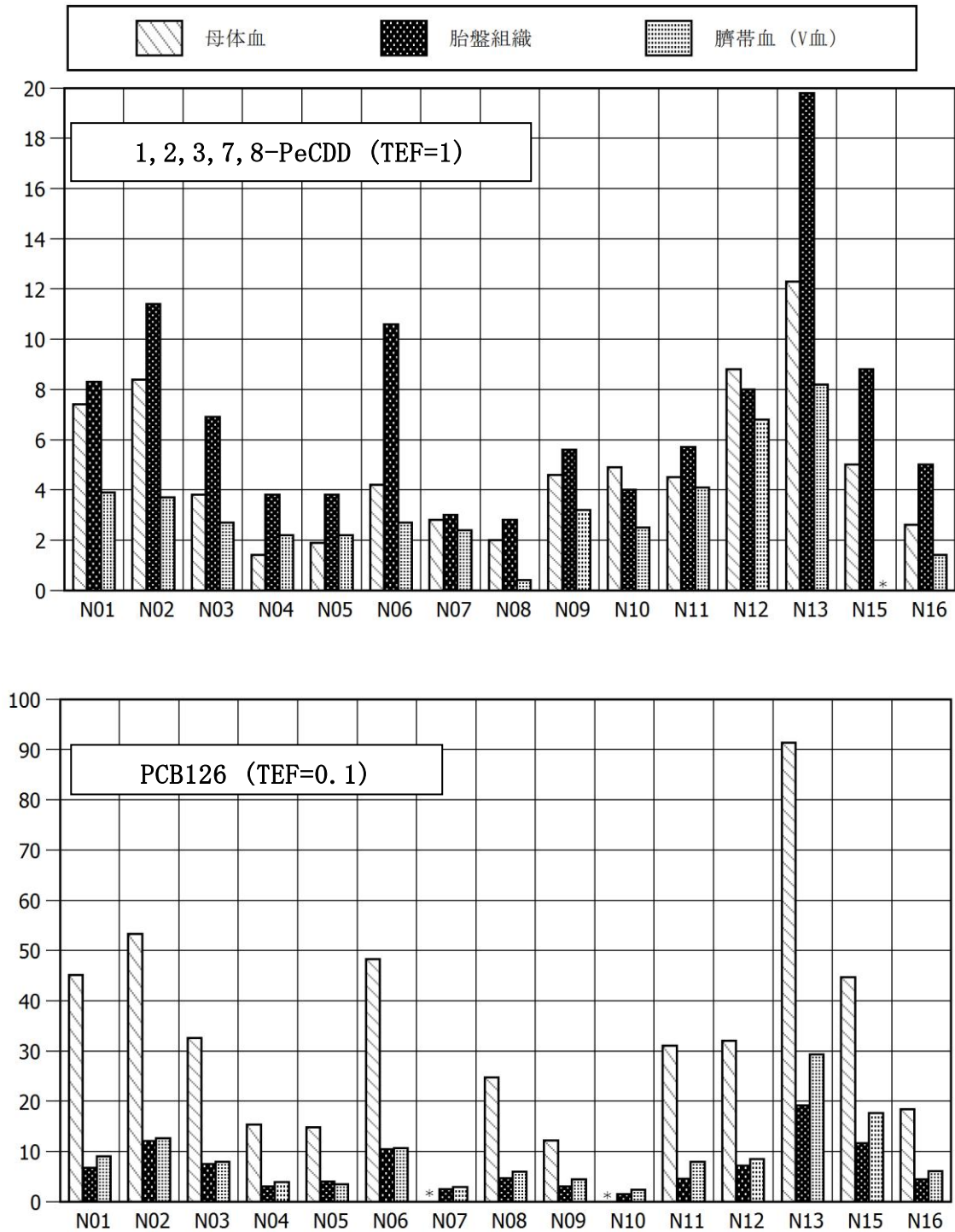
化合物	検出下限値 (pg/g)	No.														No.			
		N01	N04	N05	N06	N07	N08	N09	N10	N11	N12	N15	N16	N17	F01	F02	F05	F06	
2,3,7,8-TCDD	0.3	0.47	ND	0.37	0.63	ND	ND	0.40	ND	ND	0.63	0.57	ND	0.33	ND	ND	0.61	0.66	
1,2,3,7,8-PeCDD	0.3	2.2	0.70	1.2	1.9	0.58	0.69	1.8	0.79	1.9	2.6	2.1	1.3	1.1	1.9	1.0	2.1	3.3	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.7	0.78	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.3	
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.7	5.8	1.5	2.2	3.8	1.5	2.5	4.2	2.6	2.3	8.8	4.8	1.8	2.8	1.8	1.4	4.3	4.9	
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.7	ND	ND	ND	0.94	ND	ND	0.77	ND	ND	1.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.7	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.7	3.3	1.5	2.9	3.6	1.9	3.2	1.8	0.89	2.4	5.4	3.7	2.4	1.9	1.7	1.2	4.0	6.9	
OCDD	2	18	19	25	23	17	18	25	21	17	58	17	16	17	23	11	23	23	
2,3,7,8-TCDF	0.3	0.64	ND	ND	0.94	ND	0.49	ND	ND	ND	ND	0.36	ND	0.46	ND	0.58	0.59	0.34	
1,2,3,7,8-PeCDF	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	4.3	1.7	1.9	3.6	0.85	1.1	3.4	1.4	3.3	4.6	4.2	2.8	3.8	2.2	2.6	4.4	7.1	
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.7	1.0	ND	ND	1.1	ND	ND	1.2	ND	0.82	1.7	1.0	ND	0.95	ND	ND	0.79	1.7	
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.7	1.0	ND	0.86	1.4	ND	ND	1.1	ND	ND	1.3	0.78	0.74	0.80	ND	ND	9.0	2.8	
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.7	0.71	ND	0.86	0.80	ND	ND	ND	ND	ND	0.77	ND	ND	ND	0.92	ND	ND	1.9	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.7	ND	ND	0.81	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.83	ND	ND	ND	ND	0.75	0.90	
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
OCDF	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
3,4,4',5'-TCB(#81)	1.5	ND	ND	ND	2.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.7	
3,3',4',4'-TCB(#77)	2	2.1	4.8	2.2	3.7	ND	2.9	ND	ND	ND	ND	3.5	ND	ND	ND	ND	ND	2.3	
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.3	22	8.9	11	39	5.6	17	8.9	2.6	17	15	38	14	20	11	21	27	40	
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.3	20	8.4	6.9	8.8	4.8	9.4	15	6.5	14	24	21	13	12	6	13	28	16	
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		3.3	0.87	1.8	3.1	0.75	1.0	2.7	1.1	2.1	4.5	3.2	1.5	1.7	2.1	1.2	3.2	4.9	
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		1.6	0.52	0.75	1.5	0.25	0.37	1.3	0.43	1.1	1.8	1.5	0.92	1.4	0.74	0.83	2.4	2.8	
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		2.8	1.1	1.3	4.2	0.70	1.9	1.3	0.45	2.1	2.2	4.4	1.8	2.3	1.3	2.5	3.6	4.5	
Total dioxins (pg-TEQ/g)		7.8	2.5	3.8	8.8	1.7	3.3	5.3	2.0	5.3	8.4	9.0	4.2	5.4	4.1	4.5	9.1	12	

表(1)-16 胎脂及び胎便中のダイオキシン類濃度 (pg/g、脂肪重量当たり)

化合物	検出下限値 (pg/g)	胎脂		胎便	
		N12	N13	N12	N13
2,3,7,8-TCDD	0.3	0.86	1.6	0.33	ND
1,2,3,7,8-PeCDD	0.3	3.6	7.5	0.75	1.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.7	1.6	2.0	ND	1.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.7	12	24	5.0	9.0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.7	1.6	3.4	0.70	1.6
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.7	6.6	18	4.7	8.9
OCDD	2	110	210	100	150
2,3,7,8-TCDF	0.3	1.1	1.7	1.6	2.3
1,2,3,7,8-PeCDF	0.3	ND	0.44	ND	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	6.9	14	2.1	6.1
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.7	2.3	5.5	0.88	2.3
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.7	1.5	5.1	0.91	1.8
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.7	0.91	2.6	ND	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.7	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.7	ND	1.5	ND	0.83
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.7	ND	ND	ND	ND
OCDF	2	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(#81)	0.6	ND	ND	ND	ND
3,3',4',4'-TCB(#77)	1	15	22	21	30
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.3	12	42	4.9	23
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.3	25	43	6.3	14
Total PCDDs (pg-TEQ/g)		6.0	12	1.7	3.0
Total PCDFs (pg-TEQ/g)		2.6	5.7	1.0	2.5
Total non-ortho PCBs (pg-TEQ/g)		1.9	5.4	0.69	2.7
Total dioxins (pg-TEQ/g)		11	23	3.4	8.2

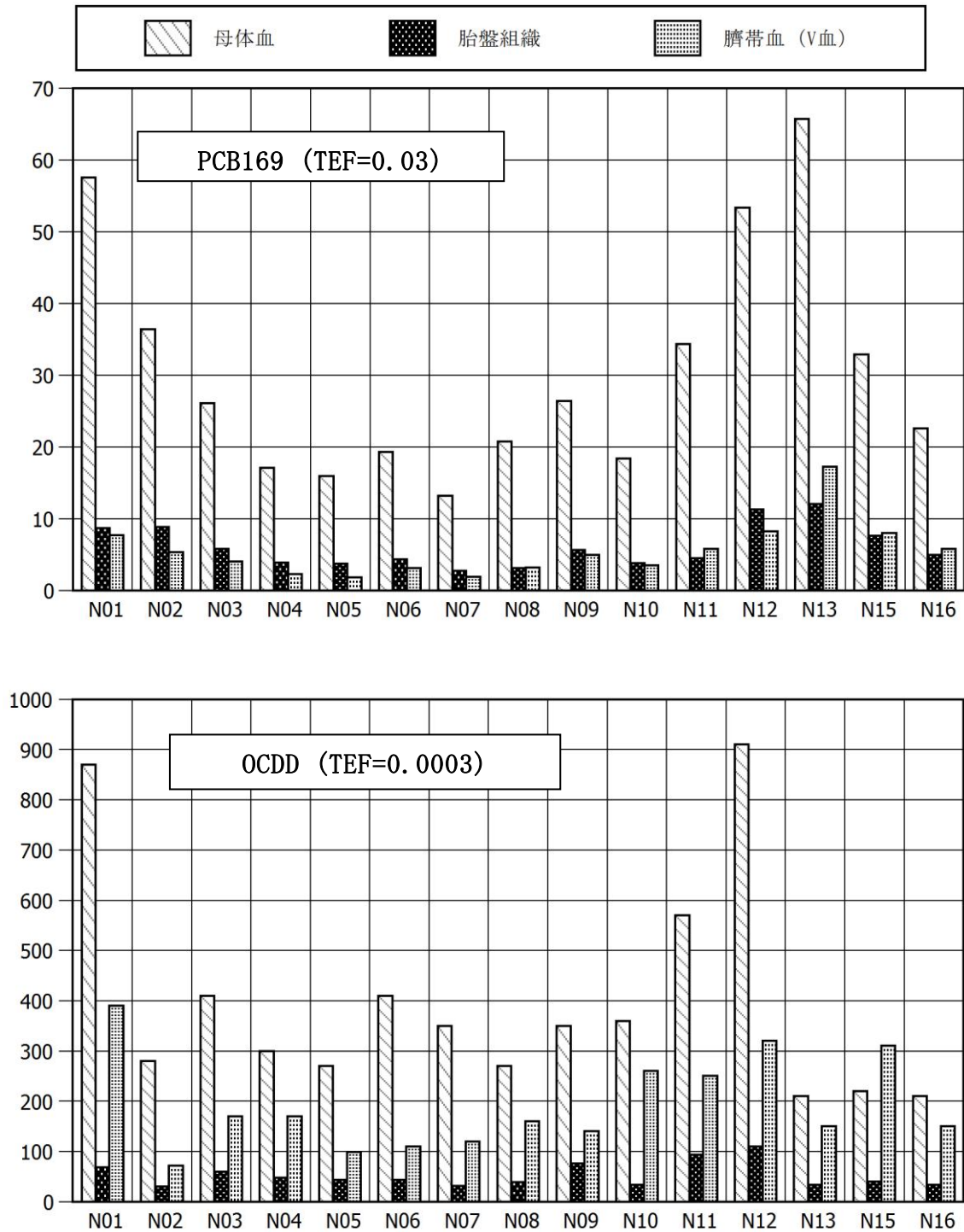


図(1)-43 妊産婦年齢と各種生体試料中ダイオキシン類濃度との関連. 横軸:妊産婦年齢、縦軸:ダイオキシン類濃度 (pg/g、脂肪重量あたり). 凡例は出産回数を示す.



図(1)-44 正常出産15名の母体血、胎盤及び臍帯V血中のダイオキシン類濃度の比較
(上段:1,2,3,7,8-PeCDD、下段:PCB126)。 縦軸:濃度(pg/g、脂肪重量あたり)。

* :不検出のため表示せず。



図(1)-44 正常出産15名の母体血、胎盤及び臍帯V血中のダイオキシン類濃度の比較
(上段:PCB169、下段:OCDD). 縦軸:濃度 (pg/g、脂肪重量あたり).

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

各種生体試料中の微量ダイオキシン類を高精度かつ迅速に分析できる手法を確立した。抽出工程に高速溶媒抽出法を採用し、抽出条件を最適化した。厚生省(当時)が血液、臍帯血等の分析ガイドラインにより定めた従来の抽出方法は、煩雑で労力を要し、長時間が必要であった。また抽出中にエマルジョンを生成するなどして一定の抽出効率が得られにくく、データの信頼性に影響を与える要素として大きかった。本研究で確立した方法を用いれば、安定的に高い抽出効率を得ることができ、自ずと分析精度の向上に寄与することとなる。本法を用いた場合の抽出脂肪量(含量%)は従来法とほぼ一致することを確認した。このことは本法と従来法とで得られたデータの相互比較が可能であることを意味する。

確立した試験法を用いて、母体から胎児へのダイオキシン類の移行について実態を明らかにした。各種生体試料からダイオキシン類を同定・定量した結果、ダイオキシン類濃度は過去の分析事例と比較して同等もしくは低くなる傾向が認められ、これは近年の環境汚染レベルの低下が一因と考えられる。また、母体中のダイオキシン類は胎盤部位で胎児側へ透過が抑制されること、母体から胎児への移行性には異性体間で差のあることが明らかとなった。胎盤を介したダイオキシン類の胎児への移行は一定の抑制がなされる(毒性量が軽減される)一方、過去に調査事例が無かった胎脂、胎便の分析データは、主に食事を介して母体に取り込まれたダイオキシン類が、胎児の成育環境や胎児体内に確実に到達していることを裏付けていた。本研究で採取した生体試料では、試料採取量が分析必要量に満たず分析が不可能だったもののほか、研究期間(3か年)内に分析条件の確立に至らなかった等の事情から分析未実施のものがあり、これらについては今後継続して分析を行い、学会や論文誌上等で公表していく計画である。

(2) 環境政策への貢献

本調査研究では、種々のヒト生体試料中のダイオキシン類分析に対応するために、分析法の構築・開発を行った。確立した分析方法は、国内外における本分野の研究進展に寄与し、環境政策に役立つ科学データの蓄積が図られることになる。また調査手順の全般(試料採取方法や試料保管方法など)で得られた知見や課題は、今後想定される大規模な調査プロジェクトにおいて、調査手法の設計・立案に役立つと考えられる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

- 1) K. TSUKIMORI, S. MOROKUMA, T. HORI, K. TAKAHASHI, T. HIRATA, Y. OTERA, K. FUKUSHIMA, T. KAWAMOTO, N. WAKE: The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, 2012 in press.

“Characterization of placental transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in normal pregnancy”

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) K. TAKAHASHI, T. HORI, D. YASUTAKE, S. MOROKUMA, Y. OTERA, K. FUKUSHIMA, T. YAMAMOTO, J. KAJIWARA, T. KAWAMOTO, T. HIRATA, K. TSUKIMORI, and M. FURUE:

31st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants – Dioxin 2011, Brussels, Belgium, 2011

“Determination of Dioxins in Umbilical Cord Blood Samples Using Accelerated Solvent Extraction”

- 2) T. HORI, K. TAKAHASHI, D. YASUTAKE, S. MOROKUMA, Y. OTERA, T. TODAKA, T. YAMAMOTO, H. HIRAKAWA, J. KAJIWARA, T. KAWAMOTO, T. HIRATA, and K. TSUKIMORI: 31st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants – Dioxin 2011, Brussels, Belgium, 2011

“Concentrations of Dioxins in Sets of Placental Tissue, Maternal Blood and Umbilical Cord Blood Samples Collected from Japanese Pregnant Women”

- 3) 堀 就英、高橋浩司、諸隈誠一、川本俊弘、平田輝昭、月森清巳：環境ホルモン学会第14回研究発表会(2011)

「高速溶媒抽出法を用いた妊産婦血液、臍帯血及び胎盤組織試料のダイオキシン類分析」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナーの開催(主催のもの)

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

8. 引用文献

1. 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「ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究」平成 20 年度総括・分担報告書.
2. 環境省 水・大気環境局総務課 ダイオキシン対策室、関係省庁共通パンフレット「ダイオキシン類 2005」.
3. 環境省環境保健部環境リスク評価室「日本人におけるダイオキシン類の蓄積量についてーダイオキシン類の人への蓄積量調査(2002-2007)ー」報告書
4. Hori, T., Ashizuka, Y., Tobiishi, K., Nakagawa, R., and Iida, T.: *Organohalogen Compounds*, 52, 251-255 (2001).
“Dietary intake of dioxins and their daily variations estimated by duplicate diet study.”
5. 環境省「小児の環境保健に関する懇談会小児の環境保健に関する懇談会報告書」平成 18 年 8 月.
6. 梶原淳睦、戸高 尊、平川博仙、堀就英、安武大輔、中川礼子、飯田隆雄、長山淳哉、吉村健清、古江増隆：油症患者の保存さい帯(へその緒)中のダイオキシン類濃度. *福岡医学雑誌*、100、179-182(2009).
7. Todaka, T., Hirakawa, H., Tobiishi, K., and Iida, T.: *Fukuoka Acta Medica*, 94, 148-157 (2003).
“New protocol of dioxins analysis in human blood”
8. Nakamura, T., Nakai, K., Matsumura, T., Suzuki, S., Saito, Y., and Satoh, H: *Science of the total environment*.394, 39-51 (2008).
“Determination of dioxins and polychlorinated biphenyls in breast milk, maternal blood and cord

- blood from residents of Tohoku, Japan”
9. 厚生科学研究費補助金(心身障害研究費補助金)「臍帯血等のダイオキシン類濃度に関する研究」平成9年度総括報告書.
 10. 環境省請負調査「平成16年度ヒト臍帯におけるダイオキシン類等化学物質の蓄積・曝露状況の継続的調査」報告書. 平成17年3月.
 11. Guan, P., Tajimi, M., Uehara, R., Watanabe, M., Oki, I., Ojima, T., Nakamura, Y.: *Chemosphere*, 62, 1161-1166 (2006)
“Congener profiles of PCDFs, PCDFs, and dioxin-like PCBs in the breast milk samples in Tokyo, Japan”
 12. 環境省請負調査「ヒト臍帯におけるダイオキシン類等化学物質の蓄積・曝露状況の継続的調査、平成11年度より平成16年度総括報告書」. 平成17年3月.
 13. Todaka, T., Hirakawa, H., Hori, T., Tobiishi, K., Iida, T., and Furue, M.: *Chemosphere*, 66, 1983-1989 (2007)
“Concentrations of polychlorinated dibenzo -p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-ortho polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients”
 14. Todaka, T., Hirakawa, H., Kajiwara, J., Hori, T., Tobiishi, K., Onozuka, D., Iida, T., Yoshimura, T., and Furue, M.: *Fukuoka Acta Medica*, 98, 222-231 (2007).
“Dioxin concentration in the blood of patients collected during medical check-up for Yusho in 2004-2005”
 15. Toyoda, M., Uchibe, H., Yanagi, T., Kono, Y., Hori, T., and Iida, T.: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 40, 494-499 (1999).
“Decreased daily intake of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs from foods in Japan from 1977 to 1988”
 16. Todaka, T., Hirakawa, H., Kajiwara, J., Hori, T., Tobiishi, K., Onozuka, D., Kato, S., Sasaki, S., Nakajima, S., Saijo, Y., Sata, F., Kishi, R., Iida, T., and Furue, M.: *Chemosphere*, 69, 1228-1237 (2007).
“Concentrations of polychlorinated dibenzo -p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan”
 17. Nakano, S., Noguchi, T., Takekoshi, H., Suzuki, G., and Nakano, M.: *Chemosphere*, 61, 1244-1255 (2005).
“Maternal-fetal distribution and transfer of dioxins in pregnant woman in Japan, and attempts to reduce maternal transfer with chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*) supplements”
 18. Schecter, A., Kassis, I., and Pöpke, O.: *Chemosphere*, 37, 1817-1823 (1998).
“Partitioning of dioxins, dibenzofurans, and coplanar PCBs in blood, milk, adipose tissue, placenta and cord blood from five American women”
 19. Todaka, T., Hirakawa, H., Kajiwara, J., Hori, T., Tobiishi, K., Onozuka, D., Kato, S., Sasaki, S., Nakajima, S., Saijo, Y., Sata, F., Kishi, R., Iida, T., and Furue, M.: *Chemosphere*, 72, 1152-1158 (2008).
“Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and

dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from 60 mothers in Sapporo City, Japan”

C-0903 妊婦におけるダイオキシン摂取が胎児健康に及ぼす影響のリスク評価に関する研究

(2) 子宮内ダイオキシン類曝露とそれによる児の健康影響との関連に関する研究

福岡市立こども病院 産科	科長	月森清巳
九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野	教授	古江 増隆
九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター	准教授	内 博史

平成21～23年度累計予算額：3,718千円（うち平成23年度：1,040千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨] 子宮内ダイオキシン類曝露が児の健康に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、高濃度のダイオキシン類に曝露したカネミ油症患者より出生した児の健康状態と母体出産時血中ダイオキシン類推定濃度との関連について解析した。また、カネミ油症患者におけるダイオキシン類の胎盤を介する母児間移行について正常妊娠、早産・胎児発育不全と対比検討した。カネミ油症患者では、母体血中ポリ塩化ジベンゾパラダイオキシン (PCDD) s、ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) sおよび*non-ortho* ポリ塩化ビフェニル (PCB) s濃度は児の出生体重の減少と相関することが分かった。このダイオキシン類による出生体重への影響は、異性体の有するアシル炭化水素受容体 (AhR) との親和性、すなわち毒性等量 (TEQ) 値とは関係なく、母体血中PCDDs、なかでもヘキサクロロジベンゾダイオキシン (HxCDD) sの濃度に関連し、また男児の方が女児より影響を受けやすいことが分かった。さらに、カネミ油症患者より出生した児のなかで、皮膚色素沈着を発症した群では母体血中ダイオキシン類濃度が高く、一方、アレルギー疾患や甲状腺機能低下症の有無による母体血中ダイオキシン類濃度の差異は認めないことが分かった。加えて、カネミ油症患者の女系の2世、3世では男児出生率が低下することが分かった。これらの成績から、母体の高濃度のダイオキシン類曝露による児の健康影響としては、出生体重の減少、皮膚色素沈着、男児出生率の低下が示された。また、これらダイオキシン類曝露による児への健康影響は、男児の方が女児より影響を受けやすいこと、次々世代にも影響、すなわち継代的な影響があることが示された。さらに、ダイオキシン類の母児間移行に関する観察から、母体から児へのダイオキシン類の移行はAhRとの親和性とは関係なく、PCDDs、なかでもオクタクロロジベンゾダイオキシン (OCDD) が移行しやすいこと、カネミ油症患者ではダイオキシン類の児への移行量は少なく、児の血中ダイオキシン類濃度は一般集団と差異はないことが分かった。これらの成績から、高濃度のダイオキシン類曝露による児への健康影響の発現には、胎盤を介して児に移行したダイオキシン類の量的な問題ばかりでなく、ダイオキシン受容体を介する細胞内毒性シグナル伝達機構の個体差 (遺伝子多型) やエピジェネティックな遺伝子発現の制御などが関与することが考えられた。これら高濃度のダイオキシン類に曝露した群における次世代への健康影響の観察は、一般集団におけるダイオキシン類曝露による次世代への健康影響を明らかにするうえで重要な基礎資料となるものと考えられる。

[キーワード] カネミ油症、正常妊娠、ダイオキシン類、母児間移行、児健康影響

1. はじめに

ダイオキシン類のヒトの健康への影響、なかでも感受性が高いと考えられる胎児期曝露によるその後の児の健康にどのような影響をいかに及ぼすのかという継代的な健康影響に世界的な関心が高まっている。ヒトが妊娠中に低濃度のダイオキシン類に曝露した例における児への健康影響に関する検討では、胎児期のダイオキシン類曝露により胎児発育不全^{1,2)}、神経学的発達障害^{3,4)}、生殖障害⁵⁾、免疫抑制^{4,6)}、甲状腺機能低下⁷⁾をきたすことが報告されているが、一定した見解が得られていない。

一方、高濃度のダイオキシン類、なかでも2,3,4,7,8-5塩化ジベンゾフラン (PeCDF) に曝露したカネミ油症や台湾油症では、胎児発育不全や児の神経学的発達障害の発症頻度が高くなることが報告されている^{8,9)}。これら高濃度のダイオキシン類に曝露した例において、妊娠中のダイオキシ

ン類曝露と児の健康影響との関連を検討することは、子宮内でのダイオキシン類曝露が児の健康にどのような影響を及ぼすのかを明らかにするうえで極めて有用な知見をもたらすと考えられる。

2. 研究目的

本研究では、子宮内ダイオキシン類曝露とそれによる健康影響との関連を明らかにすることを目的とした。この主旨に沿って、まずカネミ油症患者における母体血中ダイオキシン類濃度と児の健康状態との関連の観察を介して、高濃度の子宮内ダイオキシン類曝露による児の健康影響を明らかにすること、ついで、カネミ油症患者におけるダイオキシン類の胎盤を介する母児間移行について正常妊娠、早産・胎児発育不全と対比検討することによって、胎盤を介して児へ移行したダイオキシン類と児の健康影響との関連を明らかにすることを目的とした。

3. 研究方法

カネミ油症患者より出生した児の健康状態と母体出産時血中ダイオキシン類推定濃度との関連について解析した。児の健康状態の指標には、出生体重、皮膚色素沈着(black baby)、アレルギー疾患(気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アトピー性鼻炎)、代謝内分泌疾患(甲状腺機能低下症)、生殖機能(出生児の性別)を用いた。また、カネミ油症患者、正常妊娠および早産・胎児発育不全におけるダイオキシン類の母児間移行について解析した。本研究については、福岡市立こども病院倫理委員会(承認番号62)および九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会(承認番号20-58)の承認を得たうえで実施した。本研究を開始する前に対象者全員よりインフォームドコンセントを得た。

① 児の出生体重に与える影響

カネミ油症発症後に妊娠・出産となった油症患者101例(190出産)を対象とした(表(2)-1)¹⁰⁾。カネミ油症患者101例のうち4例(4%)は子宮内曝露で、97例(96%)は出生後の曝露であった。出生後の曝露時年齢(mean ± SD)は、16.8 ± 8.6歳であった。出産時年齢は28.4 ± 4.3歳で、出産から血液採取までの期間は25.1 ± 9.8年であった。出生児190例のうち109例(57.4%)は男児で、出産時妊娠週数は39.1 ± 1.1週、出生体重は3024 ± 403gであった。6例(3.2%)は早産で、17例(8.9%)は低出生体重児(<2500g)であった。油症一斉検診時に血液を採取し、7種類のポリ塩化ジベンゾパラジオキシン(PCDDs)、10種類のポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)、4種類のnon-orthoポリ塩化ビフェニル(non-ortho PCBs)を測定した。血中ダイオキシン類の測定には、大量試料注入装置(アイスティサイエンス製LVI-S200)付き高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(Agilent 6890/Micromass AutoSpec Premier、HRGC/HRMS)を用いた。また、アンケート調査により妊娠・出産情報(経妊産回数、出産時年齢、出産日、出産時妊娠週数、出生体重、児性別、喫煙の有無、母乳栄養期間、魚介類摂取回数)を得た。出産時の血中ダイオキシン類濃度は、検査時血中濃度×2^[出産から血液検体採取までの期間(年)/ダイオキシン類の半減期(年)]の式を用いて推定し¹¹⁾、母体推定血中ダイオキシン類濃度と児の出生体重との関連について出生体重に与える交絡因子(母体年齢、出産回数、喫煙の有無、出産時妊娠週数、児性別)と母体血中ダイオキシン類濃度の推定に与える交絡因子(母乳栄養期間と魚介類摂取回数)を調整した重回帰分析を用いて検討した。ダイオキシン類の半減期はLiemら¹²⁾およびMasuda¹³⁾の報告より推定した。また、児の男女別に母体推定血中ダイオ

キシシ類濃度と児の出生体重との関連について出生体重に与える交絡因子(母体年齢、出産回数、喫煙の有無、出産時妊娠週数)と母体血中ダイオキシシ類濃度の推定に与える交絡因子(母乳栄養期間と魚介類摂取量)を調整した重回帰分析を用いて検討した。

表(2)-1 カネミ油症患者101例の臨床像(TSUKIMORI et al. Environ Int 2012¹⁰)より引用)

Characteristics	Number (%)
Mothers	101 (100)
Age at exposure (years)	
Prenatal	4 (4.0)
0-10	25 (24.8)
11-20	37 (36.6)
21-35	35 (34.6)
Age at blood sampling (years)	54.2 ± 9.3 (32-75) ^a
Date of blood sampling (years)	2006 (2002-2008) ^b
Number of birth	
1	36 (35.6)
2	48 (47.5)
3	12 (11.9)
4	3 (3.0)
5	2 (2.0)
Breast fed their children	59 (58.4)
Duration of breast feeding (years)	1.93 ± 1.36 (0.1-6) ^a
Frequency of seafood consumption	
Every day	18 (17.8)
3-4 Times/week	42 (41.6)
1-2 Times/week	37 (36.6)
1-2 Times/month	4 (4.0)
Almost never	0 (0)
Age at delivery (years)	28.4 ± 4.3 (18-41) ^a
Date of delivery (year)	
1968-1977	82 (43.2)
1978-1988	61 (32.1)
1988-1997	38 (20.0)
1998-2006	9 (4.7)
Interval between delivery and blood sampling (years)	25.8 ± 9.1 (0-38) ^a
Maternal smoking status during pregnancy	
Non-smoking	93 (92.1)
Smoking	8 (7.9)
Infants	190 (100)
Gestational age at delivery (weeks)	39.1 ± 1.1 (32-42) ^a
Preterm birth	6 (3.2)
Term birth	184 (96.8)
Birth weight (g)	3024 ± 403 (1900-4000) ^a
<2500	17 (8.9)
≥2500	173 (91.3)
Gender	
Male	109 (57.4)
Female	81 (42.6)

^a Mean ± SD (range).

^b Median (range).

② 児の皮膚色素沈着、アレルギー疾患、甲状腺機能低下症に与える影響

九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターに登録されているカネミ油症女性患者737例を対象として妊娠分娩歴および児の健康状態に関するアンケート調査を施行した。581例(78.8%)より回答を得、カネミ油症発生後に妊娠・出産となった油症患者は206例であった。この206例のうち64例(117出生児)(31.1%)より血液を採取し、7種類のPCDDs、10種類のPCDFs、4種類のnon-ortho PCBsを測定した。血中ダイオキシン類の測定には、大量試料注入装置(アイスティサイエンス製LVI-S200)付き高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(Agilent 6890/Micromass AutoSpec Premier、HRGC/HRMS)を用いた。これら油症患者より出生した児の皮膚色素沈着、アレルギー疾患、甲状腺機能低下症の有無による母体出産時ダイオキシン類推定血中濃度の差異についてMann-Whitney U-testを用いて検討した。

また、正常妊娠17例より母体血、臍帯血を採取し、甲状腺刺激ホルモン(TSH)濃度と7種類のPCDDs、10種類のPCDFs、4種類のnon-ortho PCBsを測定した。血中TSH濃度はCLIA法(chemiluminescent immunoassay:化学発光免疫測定法)を用いて測定した。ダイオキシン類の測定には、大量試料注入装置(アイスティサイエンス製LVI-S200)付き高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(Agilent 7890A/Micromass AutoSpec Premier、HRGC/HRMS)を用いた。母体血および臍帯血ダイオキシン類濃度と臍帯血TSH濃度の関連についてスピアマンの順位相関を用いて検討した。

③ 児の性別に与える影響

九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターに登録されているカネミ油症患者1420例のなかで、カネミ油症発症後に児を得た油症曝露世代437名とその次世代572名、次々世代346名を対象とし、次世代および次々世代のsex ratio(男児出生割合)について検討した¹⁴⁾。統計学的解析には、 χ^2 検定を用いて一般集団のsex ratio(0.514)と比較した。

④ カネミ油症患者、正常妊娠および早産・胎児発育不全におけるダイオキシン類の母児間移行

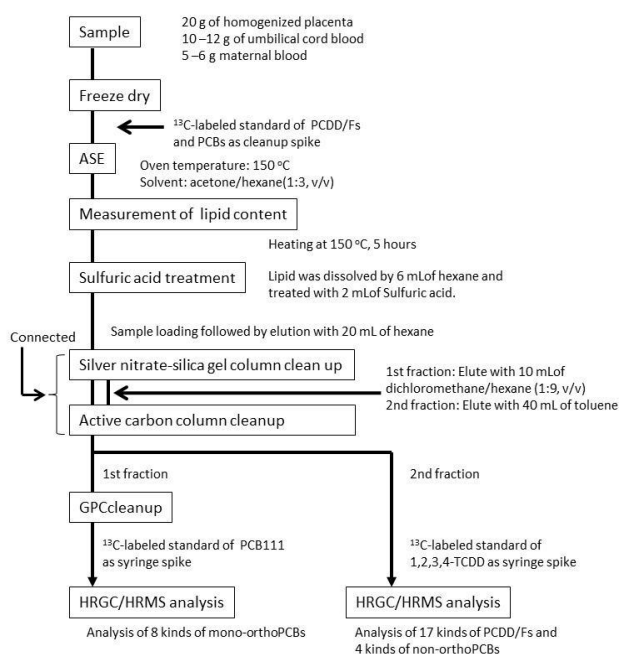
カネミ油症発生後に妊娠・出産となった油症患者26例(母親19例)を対象とし、ダイオキシン類の母児間移行について検討した¹⁵⁾。ダイオキシン類の母児間移行の経路としては、胎盤を介する移行と母乳を介する移行の2つ経路が存在するので、児の栄養方法により人工栄養群11例(母親9例)(胎盤移行群)、母乳栄養群15例(母親10例)(胎盤移行+母乳移行群)の2群に分類した(表(2)-2)。母児双方より血液を採取し、7種類のPCDDs、10種類のPCDFs、4種類のnon-ortho PCBsを測定した。血中ダイオキシン類の測定には、大量試料注入装置(アイスティサイエンス製LVI-S200)付き高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(Agilent 6890/Micromass AutoSpec Premier、HRGC/HRMS)を用いた。各群における母児間の血中ダイオキシン類濃度差について解析した。また、母児それぞれの血中ダイオキシン類濃度について一般集団の値(n=152)¹⁶⁾と比較検討した。さらに、両群間における母児それぞれの血中ダイオキシン類濃度について比較検討した。統計学的解析には、母児間の差異にはpaired t-検定を、一般集団との比較および両群間の比較にはStudent's t-検定を用いた。

表(2)-2 カネミ油症患者26例の臨床像(TSUKIMORI et al. Chemosphere 2011¹⁵⁾より引用)

	Formula-fed	Breast-fed
Mother		
Number	10	9
Residence		
Fukuoka	6 (60%)	6 (67%)
Other	4 (40%)	3 (33%)
Age at exposure (y)	24.3 ± 4.3 (15-29)	19.3 ± 3.8 (13-26)
Date of delivery (y)	1971 (1968-1978)	1972 (1968-1983)
Age at delivery (y)	28.4 ± 4.2 (19-35)	25.6 ± 3.4 (20-33)
Date of blood sampling (y)	2006 (2006-2008)	2006 (2002-2008)
Age at blood sampling (y)	63.6 ± 4.6 (54-70)	58.6 ± 3.2 (54-66)
Child		
Number	12	14
Residence		
Fukuoka	7 (58%)	7 (50%)
Other	5 (42%)	7 (50%)
Sex	Male 8, female 4	Male 7, female 7
Date of birth (y)		
1968(at exposure)-1972	10 (84%)	8 (57%)
1973-1977	1 (8%)	3 (21.5%)
1977-1983	1 (8%)	3 (21.5%)
Duration of breast feeding (i)	NA	8.9 ± 6.5 (1-24)
<12	NA	8 (57%)
12-24	NA	6 (43%)
Date of blood sampling (y)	2006 (2002-2008)	2006 (2002-2008)
Age at blood sampling (y)	34.8 ± 3.0 (28-38)	32.9 ± 4.7 (24-40)

Data are shown as number (%), mean ± SD (range) or median (range).
NA, not applicable.

また、正常妊娠16例、早産・胎児発育不全10例を対象として母体血、胎盤、臍帯血を採取し、7種類のPCDDs、10種類のPCDFs、4種類のnon-ortho PCBsを測定した¹⁷⁾。母体血、胎盤、臍帯血のダイオキシン類の測定には、大量試料注入装置(アイスティサイエンス製LVI-S200)付き高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(Agilent 7890A/Micromass AutoSpec Premier、HRGC/HRMS)を用いた(図(2)-1)¹⁸⁾。正常妊娠および早産・胎児発育不全におけるこれらダイオキシン類の母体-胎盤移行率、胎盤-臍帯移行率、母体-臍帯移行率について検討した。統計学的解析には、Wilcoxon signed-rank検定、Steel-Dwass検定、Kruskal-Wallis検定を用いた。



図(2)-1. 母体血、胎盤、臍帯血のダイオキシン類の測定法

4. 結果・考察

① 児の出生体重に与える影響

検体採取時の血中ダイオキシン類濃度を表(2)-3に示す。血中ダイオキシン類の平均TEQ濃度(範囲)は、total PCDDsは16.01 (3.05-47.07)、total PCDFsは41.98 (1.35-305.23)、total non-ortho PCBsは10.93 (1.77-33.66)、total TEQは68.92 (6.17-376.67) TEQ pg/g lipidであった。これら血中ダイオキシン類濃度は一般集団の値¹⁶⁾と比して有意に高値を示した。異性体毎の検討では、9種類の異性体(1,2,3,7,8-ペンタクロロジベンゾダイオキシン(PeCDD)、1,2,3,6,7,8-ヘキサ(Hx)CDD、1,2,3,7,8,9-HxCDD、1,2,3,4,6,7,8-ヘプタ(Hp)CDD、OCDD、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF、1,2,3,6,7,8-HxCDF、3,3',4,4',5,5'-HxCB)においてカネミ油症患者血中TEQ濃度が一般集団の値と比して有意に高値を示した。この成績は、これまでのカネミ油症患者におけるダイオキシン類血中濃度に関する報告¹³⁾と合致するものであった。

表(2)-3. カネミ油症患者における検体採取時の血中ダイオキシン類濃度(TSUKIMORI et al. Environ Int 2012¹⁰⁾より引用)

Variable	Yusho (n = 101)					General Population (n = 77 females, aged 20-59) ^b			P value ^c
	n ^a	Mean	SD	Min	Max	n ^a	Mean	SD	
Total level									
Total PCDDs TEQ	101	16.01	9.37	3.05	47.07	77	10.66	4.42	<0.001
Total PCDFs TEQ	101	41.98	56.23	1.35	305.23	77	4.09	2.04	<0.001
Total non-ortho PCBs TEQ	101	10.93	6.92	1.77	33.66	77	8.49	8.69	0.038
Total TEQ	101	68.92	68.07	6.17	376.67	77	23.36	13.99	<0.001
Congener level									
2,3,7,8-TCDD	67	1.37	0.88	0.50	4.59	65	1.64	0.96	0.053
1,2,3,7,8-PeCDD	101	8.87	5.21	1.24	26.67	77	5.87	2.30	<0.001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	74	0.29	0.18	0.10	1.17	61	0.31	0.17	0.453
1,2,3,6,7,8-HxCDD	101	4.26	3.52	0.65	16.46	77	2.12	0.94	<0.001
1,2,3,7,8,9-HxCDD	89	0.46	0.29	0.10	1.66	70	0.37	0.20	0.021
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	101	0.53	0.29	0.15	1.78	77	0.23	0.15	<0.001
OCDD	101	0.22	0.12	0.06	0.80	77	0.12	0.14	<0.001
2,3,7,8-TCDF	58	0.17	0.17	0.05	0.97	7	0.09	0.08	NA
1,2,3,7,8-PeCDF	31	0.03	0.03	0.02	0.18	9	0.02	0.03	NA
2,3,4,7,8-PeCDF	101	37.15	50.18	0.86	271.02	77	2.56	1.41	<0.001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	96	3.04	4.84	0.10	26.91	77	0.56	0.36	<0.001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	96	1.29	1.48	0.10	7.97	77	0.49	0.25	<0.001
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0	0.10	NA	NA	NA	0	0.10	0.00	NA
2,3,4,6,7,8-HxCDF	11	0.13	0.10	0.10	0.71	57	0.21	0.18	NA
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	63	0.06	0.28	0.01	2.78	36	0.04	0.05	0.537
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1	0.01	0.00	0.01	0.04	7	0.01	0.01	NA
OCDF	2	0.001	0.004	0.001	0.041	2	0.00	0.00	NA
3,3',4,4'-TCB(#77)	15	0.001	0.001	0.001	0.005	1	0.00	0.00	NA
3,4,4',5'-TCB(#81)	2	0.002	0.000	0.002	0.004	33	0.00	0.00	NA
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	100	6.89	4.83	0.50	24.78	67	7.34	7.53	0.629
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	101	4.04	3.50	0.36	18.62	77	1.15	0.65	<0.001

NA, not applicable because many values were less than the limit of detection. The calculation of TEQ was estimated based on the WHO 2005 toxic equivalent factor values (Van den Berg et al., 2006).

^a Number of samples with a concentration higher than or equal to the detection limit.

^b Data for the general population are from Masuda (2001).

^c Student's *t*-test. Values under the detection limit were replaced by one-half the detection limit.

カネミ油症患者における血中ダイオキシン類の出産時血中推定濃度を表(2)-4に示す。血中ダイオキシン類の平均TEQ推定濃度(範囲)は、total PCDDsは328.5 (5.5-1775.5)、total PCDFsは661.4 (2.3-7155.5)、total non-ortho PCBsは44.1 (2.4-204.5)、total TEQは1077.1 (10.6-532.9) TEQ pg/g lipidであった。これら血中ダイオキシン類濃度は一般集団の値¹⁶⁾と比してそれぞれ30.8、161.7、5.2、46.1倍の値を示した。なかでも2,3,4,7,8-PeCDFの出産時推定TEQ濃度は一般集団の値の229倍高値を示した。

表(2)-4. カネミ油症患者における出産時の血中ダイオキシン類推定濃度 (TSUKIMORI et al. Environ Int 2012¹⁰⁾より引用)

Variable	Half-life (years)	TEQ concentration (TEQ pg/g lipid)				
		Mean	SD	Min	Median	Max
<i>Total level</i>						
Total PCDDs TEQ	7 ^a	328.5	353.1	5.5	199.5	1775.5
Total PCDFs TEQ	7.7 ^a	661.4	1109.4	2.3	221.8	7155.5
Total non-ortho PCBs TEQ	14.6 ^a	44.1	38.7	2.4	32.9	204.5
Total PCDDs/PCDFs and non-ortho PCBs TEQ	7.7 ^a	1077.1	1462.1	10.6	532.9	8926.9
<i>Congener level</i>						
2,3,7,8-TCDD	6.2 ^b	63.7	54.4	0.8	53.1	286.0
1,2,3,7,8-PeCDD	8.6 ^b	101.3	101.7	2.0	65.1	516.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	8.4 ^b	4.5	3.7	0.2	3.5	24.7
1,2,3,6,7,8-HxCDD	13.1 ^b	19.2	19.8	0.9	12.5	122.9
1,2,3,7,8,9-HxCDD	8.5 ^b	6.1	5.6	0.3	4.3	29.3
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	6.6 ^b	12.4	13.1	0.2	7.2	88.0
OCDD	5.6 ^b	9.8	11.9	0.1	5.0	88.1
2,3,7,8-TCDF	0.4 ^b	NA				
1,2,3,7,8-PeCDF	0.9 ^b	NA				
2,3,4,7,8-PeCDF	7.7 ^a	587.4	996.9	1.5	189.8	6397.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	5.1 ^a	238.3	444.6	0.2	48.6	3166.5
1,2,3,6,7,8-HxCDF	5.1 ^a	100.1	153.1	0.2	36.0	1033.4
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.1 ^b	NA				
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.4 ^b	NA				
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	3.5 ^a	18.6	25.1	0.0	6.7	124.3
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	3.2 ^b	NA				
OCDF	0.2 ^b	NA				
3,3',4,4'-TCB(#77)	14.6 ^a	NA				
3,4,4',5'-TCB(#81)	14.6 ^a	NA				
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	14.6 ^a	28.4	26.9	1.9	20.0	150.5
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	14.6 ^a	15.9	15.9	0.5	9.7	88.4

NA, not applicable because many values were under the detection limit.

^a Half-life data are from Masuda (2001).

^b Half-life data are from Liem and Theelen (1997).

母体の出産時推定血中ダイオキシン類濃度と児の出生体重との関連に関する重回帰分析の成績を表(2)-5に示す。total PCDD、total PCDF、total non-ortho PCBsおよびtotal TEQ濃度は出生体重と有意に負の相関を示し、TEQ濃度が10倍上昇した場合には出生体重がそれぞれ161.9g、105.9g、178.4gおよび137.9g減少した。低濃度のダイオキシン類に曝露した例における検討においても、母体total PCDDおよびtotal PCDF濃度は児の出生体重と有意に負の相関を示すことが報告されている^{1,2)}。以上の成績から、子宮内におけるダイオキシン類、なかでもPCDDsおよびPCDFsの高濃度の曝露では胎児発育を抑制する可能性が示唆された。

表(2)-5. 母体出産時推定血中ダイオキシン類濃度と児の出生体重との関連(TSUKIMORI et al. Environ Int 2012¹⁰⁾より引用)

Log ₁₀ scale (TEQ pg/g lipid)	TEF ^a	Total ^b			Female ^c			Male ^c		
		Beta ^d	95%CI	p value	Beta ^d	95%CI	p value	Beta ^d	95%CI	p value
<i>Total level</i>										
Total PCDDs TEQ		-161.9	-265.3 to -58.6	0.002	-105.9	-286.9 to 75.2	0.248	-201.9	-334.0 to -69.8	0.003
Total PCDFs TEQ		-105.9	-179.5 to -32.2	0.005	-67.8	-203.6 to 68.0	0.323	-130.0	-220.9 to -39.2	0.005
Total non-ortho PCBs TEQ		-178.4	-318.3 to -38.5	0.013	-141.6	-392.1 to 108.8	0.263	-206.2	-384.3 to -28.1	0.024
Total TEQ		-137.9	-228.9 to -47.0	0.003	-92.3	-257.8 to 73.2	0.270	-168.2	-281.6 to -54.8	0.004
<i>Congener level</i>										
2,3,7,8-TCDD	1	-130.2	-225.6 to -34.9	0.008	-76.3	-241.8 to 89.2	0.361	-164.0	-286.6 to -41.4	0.009
1,2,3,7,8-PeCDD	1	-176.4	-290.7 to -62.1	0.003	-117.6	-316.1 to 80.8	0.241	-218.0	-365.0 to -71.0	0.004
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	-155.2	-276.1 to -34.2	0.012	-80.8	-292.3 to 130.7	0.449	-203.7	-359.0 to -48.5	0.011
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	-189.2	-318.7 to -59.6	0.004	-134.6	-358.7 to 89.5	0.235	-239.3	-408.3 to -70.2	0.006
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	-178.8	-285.5 to -52.1	0.005	-129.0	-327.9 to 69.8	0.200	-204.4	-357.1 to -51.7	0.009
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	-177.8	-296.9 to -58.6	0.004	-91.0	-303.2 to 121.3	0.396	-242.6	-393.0 to -92.1	0.002
OCDD	0.0003	-162.1	-264.6 to -59.7	0.002	-107.8	-284.8 to 69.1	0.228	-204.0	-336.5 to -71.4	0.003
2,3,7,8-TCDF	0.1	NA								
1,2,3,7,8-PeCDF	0.03	NA								
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	-90.4	-170.3 to -28.5	0.006	-64.1	-194.2 to 66.1	0.330	-122.1	-209.8 to -34.4	0.007
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	-91.1	-150.7 to -31.5	0.003	-66.7	-179.7 to 46.3	0.243	-105.6	-178.0 to -33.3	0.005
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	-108.7	-178.9 to -38.5	0.003	-71.5	-201.3 to 58.2	0.275	-132.0	-218.1 to -45.9	0.003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	NA								
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	NA								
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	-114.1	-187.7 to -40.5	0.003	-58.7	-190.5 to 73.0	0.377	-151.0	-242.1 to -59.9	0.001
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	NA								
OCDF	0.003	NA								
3,3',4,4'-TCB(#77)	0.0003	NA								
3,4,4',5'-TCB(#81)	0.0001	NA								
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.1	-177.8	-317.1 to -38.4	0.013	-188.8	-439.6 to 61.9	0.138	-174.5	-351.5 to 2.5	0.053
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.03	-146.5	-269.1 to -23.9	0.019	-70.1	-290.2 to 150.1	0.528	-198.3	-352.8 to -43.7	0.012

NA, not applicable because many values were under the detection limit.

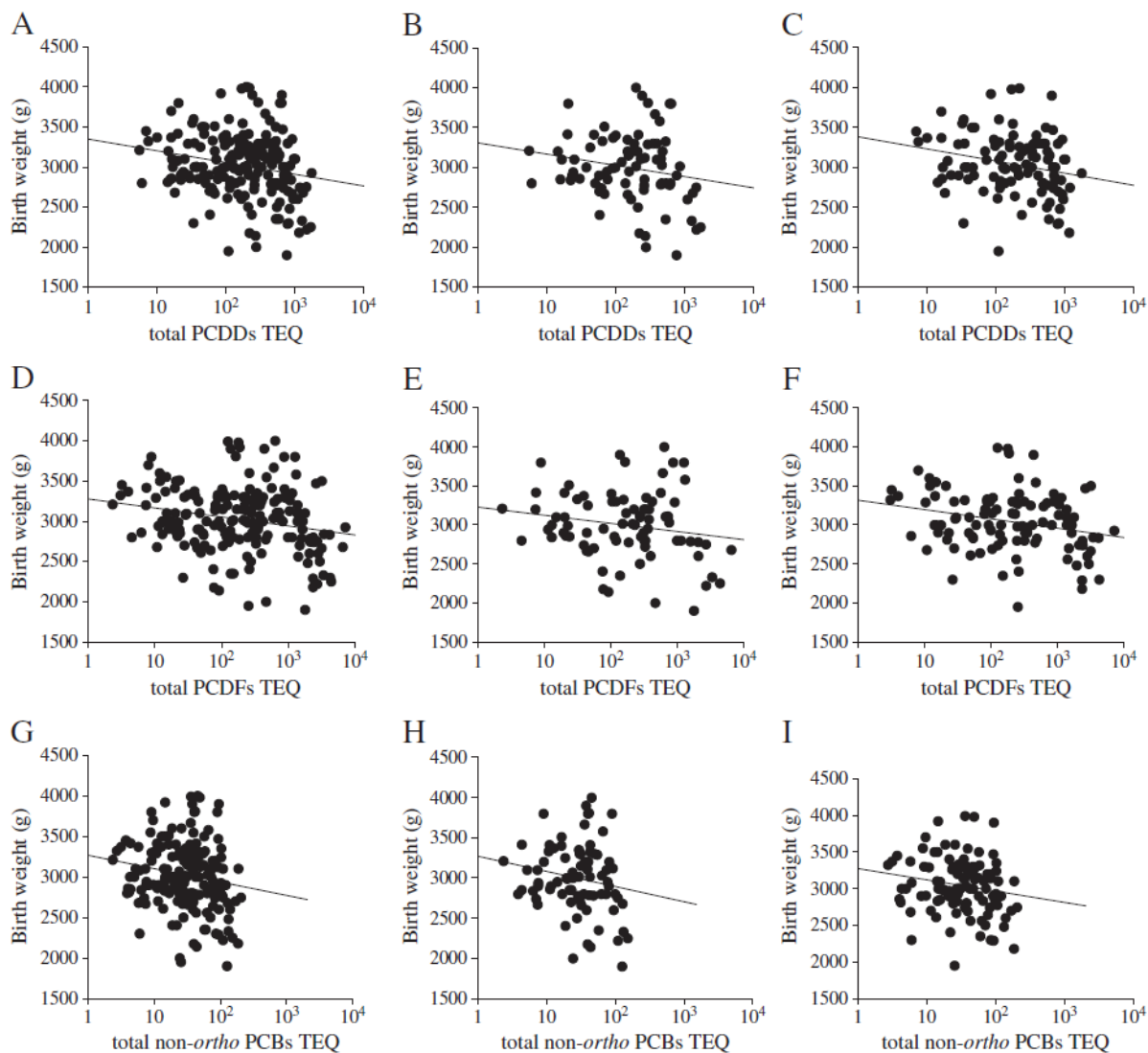
^a WHO 2005 toxic equivalent factor values (Van den Berg et al., 2006).

^b Results were calculated as multiple linear regression models adjusted for gestational age, maternal age at delivery, parity at delivery, smoking status during pregnancy, infant gender, number of births, duration of breast feeding and frequency of seafood consumption.

^c Results were calculated as multiple linear regression models adjusted for gestational age, maternal age at delivery, parity at delivery, smoking status during pregnancy, number of births, duration of breast feeding and frequency of seafood consumption.

^d Beta coefficients represent the change in birth weight (g) for a 10-fold increase in the levels of PCDDs/PCDFs and non-ortho PCBs.

つぎに児の性差により母体血中ダイオキシン類濃度の出生体重に及ぼす影響が異なるかどうかについて検討した。男児においてはtotal PCDD、total PCDF、total non-ortho PCBsおよびtotal TEQ濃度は出生体重と有意に負の相関を示すが、女児においてはこれらダイオキシン類濃度と出生体重との間には有意な相関はなかった(表(2)-5、図(2)-2)。母体出産時推定血中ダイオキシン類濃度は男児と女児の間に有意な差はなかった(表(2)-6)。フィンランドにおける正常妊婦167例から採取した母乳中のダイオキシン類濃度と出生体重との関連に関する検討では、男児では母乳中PCDD/PCDF濃度と出生体重は有意に負の相関(相関係数= -0.239、p=0.038)を示すが、女児ではこれらの間に有意な相関はなかった(相関係数= -0.0806、p=0.450)¹⁹⁾。また、わが国における正常妊娠514例を対象とした検討でも、男児では母体血中PCDD/PCDF濃度と出生体重との間には有意に負の相関(p=0.022)を示すが、女児ではこれらの間に有意な相関はなかった(p=0.195)²⁾。これらの成績から、母体血中ダイオキシン類濃度の増加による出生体重への影響は、男児の方が女児に比べて影響を受けやすいことが示唆された。



図(2)-2. 母体出産時推定血中ダイオキシン類濃度と児の出生体重との関連 (TSUKIMORI et al. Environ Int 2012¹⁰)より引用)

(A) Among all infants, total PCDD TEQ, (B) Among females, total PCDD TEQ, (C) Among males, total PCDD TEQ, (D) Among all infants, total PCDF TEQ, (E) Among females, total PCDF TEQ, (F) Among males, total PCDF TEQ, (G) Among all infants, total non-ortho PCB TEQ, (H) Among females, total non-ortho PCB TEQ, (I) Among males, total non-ortho PCB TEQ.

表(2)-6. 男児と女児における母体出産時推定血中ダイオキシン類濃度 (TSUKIMORI et al. Environ Int 2012¹⁰)より引用)

Variable	Female(n = 81)		Male(n = 109)		p value
	Mean	SD	Mean	SD	
Total PCDDs TEQ	323.2	375.8	332.4	336.9	0.771
Total PCDFs TEQ	574.1	1043.1	726.2	1156.8	0.544
Total non-ortho PCBs TEQ	41.0	33.9	46.4	41.9	0.562
Total TEQ	969.9	1416.1	1156.7	1496.9	0.506

さらに異性体毎に母体血中ダイオキシン類濃度が出生体重に及ぼす影響について検討した(表(2)-5)。21異性体のうち検出された13異性体すべてにおいて母体血中TEQ濃度と出生体重との間に有意な負の相関があった。血中濃度が10倍上昇した場合の出生体重の変化量、すなわちadjusted beta値は、1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD が最大値(-189.2 g)、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF が最小値(-90.4 g)を示した。これまでのダイオキシン類異性体の母体血中あるいは母乳中の濃度と出生体重との関連については、TEF値の高い2, 3, 4, 7, 8-PeCDF、1, 2, 3, 7, 8-PeCDDおよび2, 3, 7, 8-TCDDは出生体重と有意に負の相関を示すことが報告されている^{2,19)}。一方、イタリアのセブソで発生した高濃度2, 3, 7, 8-TCDD曝露における観察では、母体血中2, 3, 7, 8-TCDD濃度と出生体重との間には有意な相関はなかった²⁰⁾。また、わが国における正常妊婦240例の観察においては、母乳中OCDD濃度のみ出生体重と有意に負の相関を示すことが報告されている²¹⁾。このようにダイオキシン類異性体の出生体重に及ぼす影響については報告者により異なっている。今回の成績から、高濃度のPCDDs、PCDFs、PCBs曝露ではダイオキシン類による児出生体重への影響は、異性体の有するTEF値とは関係なく、PCDDs、なかでもHxCDDsは、PCDFsやPCBsよりも出生体重の減少に影響を及ぼすことが示された。胎盤にはAhRが発現しているので、TEF値が高いダイオキシン類異性体は母体-胎盤移行量が多いことが報告されている^{22,23)}。一方、母体-胎児移行量はダイオキシン類異性体のTEF値に関係なく、PCDDsがPCDFsやPCBsよりも多い^{22,23)}。これらの成績から、母体ダイオキシン類曝露によって児出生体重が減少する機序は、ダイオキシン類による胎盤障害というよりはむしろ母体から胎児へ移行したダイオキシン類のホルモン様作用などの直接的な影響である可能性が考えられた。興味深いことに、ラットではHxCDDはinsulin-like growth factor I (IGF-1)を抑制することによって体重減少作用を有することが報告されている²⁴⁾。ヒトにおいては、臍帯血のIGF-1濃度は出生体重と正の相関を示し、女兒の方が男児よりも臍帯血のIGF-1濃度は高く、性差があることが報告されている^{25,26)}。これらの報告から、PCDDsによるIGF-1抑制作用がダイオキシン類による出生体重に及ぼす影響の性差に関わっている可能性が示唆された。

② 児の皮膚色素沈着、アレルギー疾患、甲状腺機能低下症に与える影響

カネミ油症発生後に油症患者64例より出生した児117例のなかで、皮膚色素沈着は10例(8.5%)、気管支喘息は11例(9.4%)、アトピー性皮膚炎は16例(13.7%)、アレルギー性鼻炎は11例(9.4%)、甲状腺機能低下症は1例(0.8%)に認められた。

②-1 児の皮膚色素沈着の有無と母体血中ダイオキシン類濃度との関連

カネミ油症患者より出生した児に皮膚色素沈着を認めた群(色素沈着群)と皮膚色素沈着を認めなかった群(非色素沈着群)の臨床像を表(2)-7に示す。両群間において油症曝露時年齢、血液検体採取時年齢と採取年に有意な差異はなかった。児の在胎週数、出生体重、性差、血液検体採取時年齢と採取年は両群間において有意な差異はなかったが、色素沈着群における出生年は非色素沈着群に比して有意に早かった($p=0.0020$)。カネミ油症患者より出生した児の皮膚色素沈着は、油症発生後5年以内に多く認められることが報告されているので⁸⁾、カネミ油症発生後5年以内に出生した29例をサブグループとして解析を加えた。

表(2)-7. 色素沈着群と非色素沈着群の臨床像

Characteristics	All subjects			Born within the first 5 years after exposure		
	Black baby	non-Black baby	p values ^c	Black baby	non-Black baby	p values ^c
Mother						
Number	9	61		7	17	
Maternal age at exposure (years)	20.3 ± 6.1 (7-27) ^a	15.4 ± 8.4 (0-29) ^a	0.1052	21.3 ± 3.4 (16-26) ^a	24.1 ± 3.3 (20-29) ^a	0.0784
prenatal	0 (0)	3 (4.9)		0 (0)	0 (0)	
0-10	1 (11.1)	17 (27.9)		0 (0)	0 (0)	
11-20	2 (22.2)	21 (34.4)		2 (28.6)	17 (100)	
21-35	6 (66.7)	20 (32.8)		5 (71.4)	0 (0)	
Age at blood sampling (years)	57.4 ± 5.9 (45-64) ^a	52.5 ± 9.1 (32-68) ^a	0.1079	58.7 ± 4.1 (53-64) ^a	62.2 ± 3.4 (58-68) ^a	0.0908
Date of blood sampling (years)	2006 (2002-2006) ^b	2006 (2002-2008) ^b	0.0582	2006 (2002-2006) ^b	2006 (2002-2008) ^b	0.2455
Number of birth	1.8 ± 0.7 (1-3) ^a	1.9 ± 0.8 (1-5) ^a	0.9153	1.7 ± 0.8 (1-3) ^a	1.8 ± 0.9 (1-4) ^a	0.8636
1	3 (33.3)	21 (34.4)		3 (42.85)	7 (41.2)	
2	5 (55.6)	31 (50.8)		3 (42.85)	7 (41.2)	
3	1 (11.1)	6 (9.8)		1 (14.3)	2 (11.8)	
4	0 (0)	2 (3.3)		0 (0)	1 (5.8)	
5	0 (0)	1 (1.7)		0 (0)	0 (0)	
Breast fed their children	4 (44.4)	33 (54.1)	0.7257 ^d	4 (57.1)	10 (58.8)	1.0000 ^d
Duration of breast feeding (years)	0.5 ± 0.5 (0-1) ^a	0.7 ± 1.2 (0-6) ^a	0.6268	0.5 ± 0.5 (0-1) ^a	1.0 ± 1.7 (0-6) ^a	1.0000
Frequency of seafood consumption			0.4381 ^e			0.5747 ^e
every day	3 (33.3)	8 (13.1)		3 (42.85)	4 (23.5)	
3-4 times/week	3 (33.3)	25 (41.0)		3 (42.85)	8 (47.1)	
1-2 times/week	3 (33.3)	25 (41.0)		1 (14.3)	5 (29.4)	
1-2 times/month	0 (0)	3 (4.9)		0 (0)	0 (0)	
almost never	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
Age at delivery (years)	23.9 ± 4.1 (18-32) ^a	27.1 ± 4.0 (19-36) ^a	0.0258	21.9 ± 2.7 (18-26) ^a	26.2 ± 2.7 (22-31) ^a	0.0020
Smoking status during pregnancy			0.4308 ^d			0.2917 ^d
Non-smoking	8 (88.9)	58 (95.1) ^c		6 (85.7)	17 (100)	
Smoking	1 (11.1)	3 (4.9) ^c		1 (14.3)	0 (0)	
Infant						
Number	10	107		8	21	
Date of birth (year)	1969.5 (1968-1988) ^b	1982 (1968-2006) ^b	0.0002	1968.5 (1968-1972) ^b	1970 (1968-1972) ^b	0.1323
1968-1972	8 (80)	21 (19.6)		8 (100)	21 (100)	
1973-1977	1 (10)	18 (16.8)		0 (0)	0 (0)	
1978-1987	0 (0)	32 (29.9)		0 (0)	0 (0)	
1988-2006	1 (10)	36 (33.7)		0 (0)	0 (0)	
Gestational age at birth (weeks)	39.2 ± 0.4 (39-40) ^a	39.1 ± 1.1 (32-42) ^a	0.7442	39.2 ± 0.4 (39-40) ^a	38.5 ± 1.8 (32-40) ^a	0.5577
Birth weight (g)	2994 ± 457 (2140-3800) ^a	3056 ± 369 (1950-3980) ^a	0.5103	3036 ± 353 (2750-3800) ^a	3007 ± 456 (2000-3900) ^a	0.9805
Infant gender			0.1006			0.0667
Male	3 (30)	63 (58.9)		3 (37.5)	17 (81.0) ^c	
Female	7 (70)	44 (41.1)		5 (62.5)	4 (19.0) ^c	
Number of blood sampling	7	29		4	7	
(number of male:female)	male:female=2:5	male:female=21:8	0.0733 ^d	male:female=1:3	male:female=5:2	0.2424 ^d
Age at blood sampling (years)	36.1 ± 7.1 (21-41) ^a	30.8 ± 10.1 (11-45) ^a	0.0884	38.2 ± 3.7 (34-41) ^a	37.9 ± 2.7 (33-41) ^a	0.3885
Date of blood sampling (years)	2009 (2007-2010) ^b	2009 (2002-2010) ^b	0.9669	2009 (2007-2010) ^b	2009 (2006-2010) ^b	0.7690
Formula fed in infancy	4 (57.1)	12 (41.4)	0.6750 ^d	4 (100)	7 (100)	1.0000 ^d

Data are shown Number (%). ^a Mean ± SD (range), ^b Median (range), ^c Mann-Whitney U test, ^d Fisher's exact test, ^e chi-square test. Bold fonts show p < 0.05.

色素沈着群と非色素沈着群における母体の出産時推定血中ダイオキシン類濃度を表(2)-8に示す。母体出産時のtotal PCDD、total PCDF、total non-ortho PCBsおよびtotal TEQ平均濃度は、色素沈着群で736.5、1923.9、57.6および2719.7 TEQ pg/g lipidで、非色素沈着群の値(243.0、460.7、31.8および761.7 TEQ pg/g lipid)と比して有意に高値を示した。また、21異性体のなかで測定が可能であった13異性体すべてにおいて色素沈着群の値は非色素沈着群の値に比して有意

に高値を示した。一方、カネミ油症発生後5年以内に出生したサブグループで検討してみると、母体出産時のtotal PCDD、total PCDF、total non-ortho PCBsおよびtotal TEQ平均濃度は両群間で有意な差異はなかった。異性体毎に比較検討すると、1, 2, 3, 6, 7, 8-HexaCDD濃度は色素沈着群の値(48.7 TEQ pg/g lipid)は非色素沈着群の値(27.3 TEQ pg/g lipid)に比して有意に高値を示した(p=0.0359)。

表(2)-8. 色素沈着群と非色素沈着群における母体出産時推定血中ダイオキシン類濃度

Variables	All subjects										Born within the first 5 years after exposure												
	half life (years)	Black Baby (n=10)					Non-black Baby (n=107)					p value ^e	Black Baby (n=8)					Non-black Baby (n=21)					p value ^e
		% >DL	TEQ concentration			% >DL	TEQ concentration			% >DL	TEQ concentration			% >DL	TEQ concentration								
			Mean	SD	Median		Mean	SD	Median		Mean		SD		Median	Mean	SD	Median					
Total levels																							
Total PCDDs	7 ^a	100	736.5	526.5	647.0	100	243.0	275.9	139.0	0.0004	100	878.1	488.7	699.0	100	607.2	253.4	494.5	0.1184				
Total PCDFs	7.7 ^a	100	1923.9	2273.8	1313.1	100	460.7	905.3	141.6	0.0090	100	2390.5	2324.4	1719.0	100	977.7	1020.9	458.6	0.1303				
Total coplanar PCBs	14.6 ^b	100	57.6	30.4	45.6	100	31.8	29.7	27.1	0.0022	100	64.5	29.3	56.7	100	64.5	39.5	51.3	0.5581				
Total PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs TEQ	7.7 ^a	100	2719.7	2706.8	1969.1	100	761.7	1164.0	410.8	0.0019	100	3328.7	2700.5	2397.5	100	1718.0	1220.3	1075.8	0.0876				
Congener levels																							
PCDDs																							
2,3,7,8-TetraCDD	6.2 ^b	70	87.2	60.8	96.9	54	33.6	47.1	14.0	0.0026	75	103.2	56.4	102.4	81	101.7	63.4	90.4	0.6255				
1,2,3,7,8-PentaCDD	8.6 ^b	100	213.7	153.1	180.9	100	75.0	78.4	52.4	0.0005	100	251.6	147.2	196.0	100	175.0	68.5	162.6	0.2045				
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	8.4 ^b	70	5.4	3.7	5.4	62	2.8	3.5	1.6	0.0096	75	6.4	3.3	5.9	81	7.2	5.0	6.9	0.9805				
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	13.1 ^b	100	41.1	34.0	33.8	100	15.2	16.9	10.0	0.0009	100	48.7	34.0	40.2	100	27.3	17.8	20.1	0.0359				
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	8.5 ^b	100	9.0	5.0	8.4	79	4.2	4.8	2.2	0.0018	100	10.5	4.3	9.3	90	10.3	6.0	9.3	0.8836				
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	6.6 ^b	100	21.8	13.6	19.7	100	9.3	10.2	5.5	0.0014	100	25.8	12.0	23.9	100	21.8	8.9	22.7	0.4349				
OctaCDD	5.6 ^b	100	19.2	13.7	16.6	100	7.5	9.2	3.6	0.0011	100	22.6	13.2	18.7	100	20.4	9.2	17.7	0.9611				
PCDFs																							
2,3,7,8-TetraCDF	0.4 ^b	40	NA			50	NA		NA		50	NA			48	NA		NA					
1,2,3,7,8-PentaCDF	0.9 ^b	30	NA			24	NA		NA		38	NA			48	NA		NA					
2,3,4,7,8-PentaCDF	7.7 ^a	100	1728.4	2032.4	1191.4	100	404.9	805.8	122.8	0.0095	100	2148.6	2074.0	1601.7	100	864.1	925.1	387.6	0.1303				
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	5.1 ^a	100	689.9	988.9	355.4	90	153.6	350.9	28.5	0.0053	100	859.7	1045.2	393.5	100	357.1	390.8	165.7	0.0789				
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	5.1 ^a	100	254.1	307.2	167.7	90	66.8	117.5	18.6	0.0023	100	314.2	317.3	179.6	100	169.5	124.4	113.6	0.1182				
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	1.1 ^b	0	NA			0	NA		NA		0	NA			0	NA		NA					
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	2.4 ^b	0	NA			10	NA		NA		0	NA			19	NA		NA					
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	3.5 ^a	70	41.2	39.2	27.2	60	11.1	17.9	2.6	0.0016	75	50.6	38.4	39.8	57	35.0	25.1	30.1	0.2509				
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	3.2 ^b	0	NA			3	NA		NA		0	NA			0	NA		NA					
OctaCDF	0.2 ^b	0	NA			4	NA		NA		0	NA			5	NA		NA					
Coplanar PCBs																							
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	14.6 ^d	0	NA			1	NA		NA		0	NA			5	NA		NA					
3,4,4',5'-TetraCB(#81)	14.6 ^d	20	NA			8	NA		NA		25	NA			10	NA		NA					
3,3',4,4',5'-PentaCB(#126)	14.6 ^d	100	32.5	19.3	27.0	99	20.3	20.4	13.9	0.0103	100	34.8	20.3	27.0	100	45.1	30.2	40.2	0.4068				
3,3',4,4',5,5'-HexaCB(#169)	14.6 ^d	100	25.1	20.1	23.2	100	11.5	13.6	7.2	0.0076	100	29.7	20.0	23.9	100	19.4	15.4	14.5	0.1303				

^a, Half-life data are from Masuda (2001). ^b, Half-life data are from Liem (1997). ^c, Mann-Whitney U-test.

Calculations were performed when the detection rate in the sample was > 50%.

DL, detection limit; NA, not applicable; CDD, chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF, chlorinated dibenzofurans; CB, chlorinated biphenyls.

Bold fonts show p < 0.05.

色素沈着群と非色素沈着群における児の血中ダイオキシン類濃度を表(2)-9に示す。児の血中total PCDD、total PCDF、total non-ortho PCBsおよびtotal TEQ平均濃度は色素沈着群と非色素沈着群との間に有意な差異はなかった。異性体毎に検討すると、測定が可能であった9異性体すべてにおいて平均濃度は両群間で有意な差異はなかった。一方、カネミ油症発生後5年以内に出生し、人工栄養で育てられた児、すなわち母乳を介するダイオキシン類移行のない児で検討してみると、

児の血中total PCDD、total PCDF、total non-ortho PCBsおよびtotal TEQ平均濃度は両群間で有意な差異はなかった。しかしながら、異性体毎に比較検討すると、1, 2, 3, 6, 7, 8-HexaCDDは色素沈着群の値(2.49 TEQ pg/g lipid)は非色素沈着群の値(1.35 TEQ pg/g lipid)に比して有意に高値を示した(p=0.0233)。

カネミ油症患者より出生した色素沈着を伴う児、いわゆる胎児油症(Fetal Yusho disease)と血中ダイオキシン類濃度との関連についてはこれまで報告がなされていない。今回の検討により、胎児油症においては、母児双方の血中1, 2, 3, 6, 7, 8-HexaCDD濃度が高値を示すことが分かった。ヘキサクロロシクロヘキサン(Hexachlorocyclohexane)を取り扱う化学工場の従業員を対象とした検討によれば、ざ瘡様発疹や色素沈着などの皮膚症状を伴った症例では血中1, 2, 3, 6, 7, 8-HexaCDD濃度がダイオキシン類のなかで最も高値を示すことが報告されている²⁷⁾。これらの成績から、1, 2, 3, 6, 7, 8-HexaCDDはダイオキシン類曝露による皮膚症状をきたす主たる原因物質であることが示唆された。

表(2)-9. 色素沈着群と非色素沈着群における児の血中ダイオキシン類濃度

Variables	All subjects									Born within the first 5 years after exposure and formula-fed in infancy									
	Black Baby (n=7)			Non-black Baby (n=29)						p value ^a	Black Baby (n=4)			Non-black Baby (n=7)					
	% >DL TEQ concentration			% >DL TEQ concentration			% >DL TEQ concentration				% >DL TEQ concentration			% >DL TEQ concentration					
	Mean	SD	Median	Mean	SD	Median	Mean	SD	Median		Mean	SD	Median	Mean	SD	Median			
Total levels																			
Total PCDDs	100	7.47	3.32	8.71	100	7.09	4.39	5.96	0.8573	100	9.1	2.5	9.2	100	6.77	1.91	5.98	0.7055	
Total PCDFs	100	5.31	6.09	3.43	100	3.83	2.19	3.34	0.8887	100	7.7	7.5	5.3	100	3.28	0.77	3.30	0.1859	
Total coplanar PCBs	100	3.16	1.63	2.70	100	3.66	2.24	3.00	0.9363	100	3.1	0.8	2.8	100	3.78	1.92	3.25	0.8501	
Total PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs TEQ	100	15.94	9.00	15.38	100	14.58	7.68	12.56	0.9522	100	19.9	9.0	19.2	100	13.83	3.05	12.75	0.4497	
Congener levels																			
PCDDs																			
2,3,7,8-TetraCDD	29	0.74	0.41	0.50	21	0.67	0.36	0.50	NA	50	0.92	0.49	0.91	14	0.61	0.28	0.50	NA	
1,2,3,7,8-PentaCDD	100	4.16	2.11	4.91	97	4.12	2.51	3.59	0.9671	100	5.05	1.68	5.04	100	4.09	1.02	3.59	0.4497	
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	14	0.12	0.05	0.10	31	0.16	0.10	0.10	NA	0	0.10	0.00	0.10	29	0.16	0.12	0.10	NA	
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	100	1.85	1.06	1.55	100	1.52	1.33	1.10	0.2383	100	2.49	0.89	2.46	100	1.35	0.54	1.10	0.0233	
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	57	0.20	0.10	0.25	41	0.21	0.20	0.10	NA	75	0.23	0.09	0.26	43	0.16	0.10	0.10	NA	
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	100	0.27	0.15	0.24	100	0.27	0.15	0.23	0.9841	100	0.22	0.03	0.22	100	0.28	0.13	0.27	0.1306	
OctaCDD	100	0.12	0.04	0.11	100	0.13	0.06	0.10	0.9204	100	0.12	0.03	0.12	100	0.12	0.06	0.09	0.8501	
PCDFs																			
2,3,7,8-TetraCDF	29	0.16	0.24	0.05	34	0.11	0.15	0.05	NA	50	0.24	0.30	0.11	14	0.07	0.04	0.05	NA	
1,2,3,7,8-PentaCDF	14	0.02	0.02	0.02	10	0.02	0.01	0.02	NA	25	0.03	0.02	0.02	0	0.02	0.00	0.02	NA	
2,3,4,7,8-PentaCDF	100	4.25	5.44	2.28	100	2.94	1.85	2.57	0.6747	100	6.25	6.80	3.92	100	2.58	0.65	2.58	0.7055	
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	57	0.36	0.48	0.21	62	0.25	0.20	0.22	0.9660	75	0.52	0.61	0.28	43	0.18	0.11	0.10	NA	
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	57	0.29	0.22	0.26	58	0.28	0.24	0.25	0.5307	75	0.40	0.25	0.39	57	0.21	0.12	0.23	0.1573	
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	0	0.10	0.00	0.10	0	0.10	0.00	0.10	NA	0	0.10	0.00	0.10	0	0.10	0.00	0.10	NA	
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	0	0.10	0.00	0.10	0	0.10	0.00	0.10	NA	0	0.10	0.00	0.10	0	0.10	0.00	0.10	NA	
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	0	0.01	0.00	0.01	48	0.02	0.02	0.01	NA	0	0.01	0.00	0.01	14	0.01	0.00	0.01	NA	
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	0	0.01	0.00	0.01	0	0.01	0.00	0.01	NA	0	0.01	0.00	0.01	0	0.01	0.00	0.01	NA	
OctaCDF	0	0.0006	0.0000	0.0006	0	0.0006	0.0000	0.0006	NA	0	0.0006	0.0000	0.0006	0	0.0006	0.0000	0.0006	NA	
Coplanar PCBs																			
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	0	0.0015	0.0000	0.0015	0	0.0015	0.0000	0.0015	NA	0	0.0015	0.0000	0.0015	0	0.0015	0.0000	0.0015	NA	
3,4,4',5'-TetraCB(#81)	14	0.0008	0.0008	0.0005	10	0.0006	0.0003	0.0005	NA	25	0.0010	0.0010	0.0005	0	0.0005	0.0000	0.0005	NA	
3,3',4,4',5'-PentaCB(#126)	71	2.07	1.39	2.02	90	2.58	1.90	1.89	0.3902	75	1.86	1.01	1.99	100	2.76	1.81	1.72	0.5688	
3,3',4,4',5,5'-HexaCB(#169)	100	1.09	0.66	0.84	100	1.08	0.56	0.94	0.9204	100	1.27	0.68	1.10	100	1.02	0.30	0.92	0.7055	

^a, Statistical comparisons were made with Mann-Whitney U-test when the detection rate in the sample was > 50%.

DL, detection limit; NA, not applicable; CDD, chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF, chlorinated dibenzofurans; CB, chlorinated biphenyls.

Bold fonts show p < 0.05.

②-2 児のアレルギー疾患の有無と母体出産時血中ダイオキシン類濃度との関連

児のアレルギー疾患の有無と母体出産時血中ダイオキシン類濃度との関連を表(2)-10に示す。気管支喘息を伴った群における母体血中total PCDD TEQ、total PCDF TEQ およびtotal *non-ortho* PCB TEQ濃度は254.1、151.1、46.0および23.2 TEQ pg/g lipidで、気管支喘息を伴わない群の値(466.0、162.2、181.5および29.1 TEQ pg/g lipid)と比して有意な差異はなかった。また、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎を認めた各群においても母体血中total PCDD TEQ、total PCDF TEQ およびtotal *non-ortho* PCB TEQ濃度は各々認めなかった群に比して有意な差異はなかった。また、出産時母体血中ダイオキシン類推定濃度が10倍上昇した場合の児合併症の発症リスクは、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎のすべてにおいてオッズ比は1以下であったが、有意な差異はなかった(表(2)-11)。これらの成績から、妊娠中の高濃度のダイオキシン類曝露では、児のアレルギー疾患の発症には影響を及ぼさないことが示唆された。

表(2)-10. 児のアレルギー疾患の有無と母体出産時血中ダイオキシン類濃度との関連

	n	発症 頻度	Total TEQ				Total PCDDs				Total PCDFs				Total non-ortho PCBs				
			median	Min	Max	P	median	Min	Max	P	median	Min	Max	P	median	Min	Max	P	
喘息	あり	11	9.4%	254.1	13.9	1367.4	0.544	151.1	7.4	556.6	0.852	46.0	3.0	1050.4	0.262	23.2	2.7	105.6	0.563
	なし	106		466.0	10.6	8926.9		162.2	5.5	1775.5		181.5	2.3	7155.5		29.1	2.4	184.2	
アトピー性皮膚炎	あり	16	13.7%	331.1	13.9	2886.0	0.152	110.2	7.4	494.5	0.161	74.9	3.0	2356.2	0.152	24.2	2.7	40.4	0.179
	なし	101		482.2	10.6	8926.9		169.9	5.5	1775.5		178.3	2.3	7155.5		29.8	2.4	184.2	
アレルギー性鼻炎	あり	11	9.4%	68.4	13.9	1293.5	0.130	32.5	7.4	797.0	0.218	28.9	3.0	1050.4	0.063	11.2	2.7	74.2	0.089
	なし	106		475.5	10.6	8926.9		162.2	5.5	1775.5		196.2	2.3	7155.5		30.1	2.4	184.2	

Mann-Whitney 検定

表(2)-11. 出産時母体血中ダイオキシン類濃度が10倍上昇した場合の児合併症の発症リスク

	Total TEQ			Total PCDDs			Total PCDFs			Total coplanar PCBs						
	odds	95% CI	p	odds	95% CI	p	odds	95% CI	p	odds	95% CI	p				
喘息	0.76	0.28	2.11	0.599	0.98	0.32	3.05	0.977	0.65	0.28	1.52	0.321	0.85	0.17	4.14	0.840
アトピー性皮膚炎	0.59	0.24	1.48	0.261	0.54	0.19	1.49	0.232	0.63	0.30	1.34	0.234	0.49	0.12	2.00	0.318
アレルギー性鼻炎	0.37	0.12	1.13	0.080	0.37	0.11	1.27	0.114	0.43	0.17	1.09	0.075	0.20	0.04	1.16	0.073

OR for 10-fold increase in lipid blood level (95% CI) adjusted for gestational age, maternal age at delivery, parity, smoking status during pregnancy, gender, birth weight and infant.

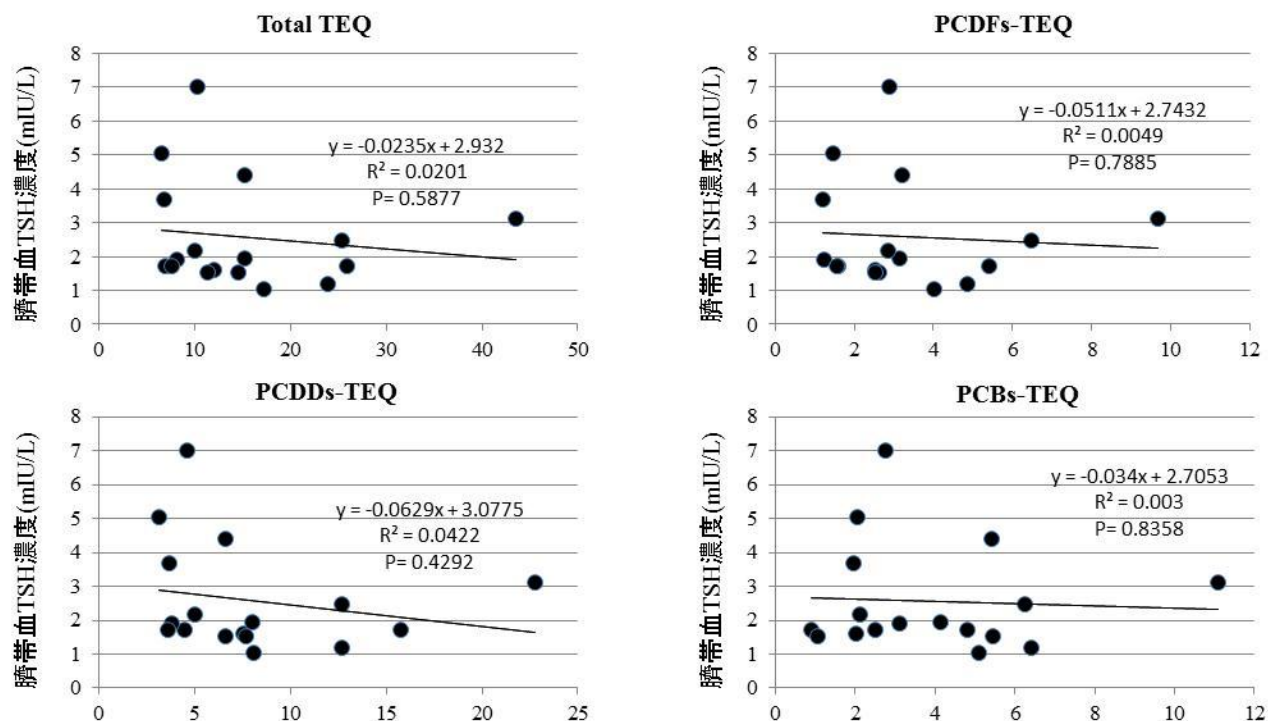
②-3 児の甲状腺機能と母体出産時血中ダイオキシン類濃度との関連

カネミ油症発生後に油症患者より出生した児117例のなかで、甲状腺機能低下症は1例(0.8%)のみであった。そこで、正常妊娠における母体血中ダイオキシン類濃度と臍帯血TSH濃度との関連について検討した。

正常妊娠における母体血中total PCDD TEQ、total PCDF TEQ、total *non-ortho* PCB TEQおよびtotal TEQ濃度は 8.0 ± 5.0 、 3.4 ± 2.1 、 4.0 ± 2.4 、 15.4 ± 9.1 TEQ pg/g lipid (平均値

± 標準偏差)であった。また、臍帯血中total PCDD TEQ、total PCDF TEQ、total *non-ortho* PCB TEQおよびtotal TEQ濃度は 3.9 ± 2.6 、 0.9 ± 0.6 、 1.1 ± 0.7 、 5.9 ± 3.6 TEQ pg/g lipid (平均値± 標準偏差)であった。臍帯血TSH濃度は 2.6 ± 1.6 (範囲: 1.04-6.99)であった。

母体血中ダイオキシン類濃度と臍帯血TSH濃度との相関を図(2)-3に示す。母体血中ダイオキシン類濃度と臍帯血TSH濃度との間に有意な相関はなかった(total PCDD TEQ [$r^2=0.0422$, $p=0.4292$]、total PCDF TEQ [$r^2=0.0049$, $p=0.7885$]、total *non-ortho* PCB TEQ [$r^2=0.0030$, $p=0.8358$]およびtotal TEQ [$r^2=0.0201$, $p=0.5877$])。また、臍帯血中ダイオキシン類濃度と臍帯血TSH濃度との間に有意な相関はなかった(total PCDD TEQ [$r^2=0.0025$, $p=0.8477$]、total PCDF TEQ [$r^2=0.0001$, $p=0.9934$]、total *non-ortho* PCB TEQ [$r^2=0.0006$, $p=0.9276$]およびtotal TEQ [$r^2=0.0010$, $p=0.9038$])。これらの成績から、妊娠中の高濃度のダイオキシン類曝露では、児の甲状腺機能には影響を及ぼさないことが示唆された。



図(2)-3. 母体血中ダイオキシン類濃度と臍帯血TSH濃度との相関

③ 児の性別に与える影響

母親油症曝露および父親油症曝露から出生した児(次世代)のsex ratio(男児出生割合)は各々0.501、0.505でgeneral populationの値(0.514)と比較して有意な差はなかった(表(2)-12)。母親油症曝露および父親油症曝露から出生した孫(次々世代)のsex ratio(男児出生割合)は各々0.470、0.489でgeneral populationの値(0.514)より低値を示したが有意な差はなかった。一方、20歳未満で母親が油症曝露した場合には、出生した児(次世代)のsex ratio(男児出生割合)は0.450と低い傾向($p=0.06$)を示し、さらにこの次世代が母親となった場合の児(次々世代)のsex ratio(男児出生割合)は0.348と一般集団(0.514)と比較して有意に低値を示した。

表(2)-12. カネミ油症患者より出生した児のsex ratio (男児出生割合) (TSUKIMORI et al. Epidemiology 2012¹⁴⁾より引用)

Exposure Status	Generation (Parent)	No. Children	Sex Ratio (95% CI)	P ^a
Exposed at any age				
Maternal exposure	F ₁	373	0.501 (0.451–0.552)	0.62
	F ₂	264	0.470 (0.409–0.530)	0.15
	F ₂ (F ₁ mothers)	136	0.441 (0.358–0.525)	0.09
	F ₂ (F ₁ fathers)	128	0.500 (0.413–0.587)	0.75
Paternal exposure	F ₁	313	0.505 (0.449–0.560)	0.74
	F ₂	270	0.489 (0.429–0.549)	0.41
	F ₂ (F ₁ mothers)	146	0.473 (0.392–0.554)	0.32
	F ₂ (F ₁ fathers)	124	0.508 (0.420–0.596)	0.89
Exposed at age <20 years				
Maternal exposure	F ₁	220	0.450 (0.384–0.516)	0.06
	F ₂	70	0.443 (0.326–0.559)	0.23
	F ₂ (F ₁ mothers)	46	0.348 (0.210–0.485)	0.02
	F ₂ (F ₁ fathers)	24	0.625 (0.431–0.819)	0.28
Paternal exposure	F ₁	215	0.465 (0.398–0.532)	0.15
	F ₂	79	0.532 (0.422–0.642)	0.75
	F ₂ (F ₁ mothers)	55	0.491 (0.359–0.623)	0.73
	F ₂ (F ₁ fathers)	24	0.625 (0.431–0.819)	0.28

これらの成績から高濃度のダイオキシン類を胎児期に曝露した場合には、次世代、次々世代において男児出生率が低下する傾向を示すこと、なかでも女系曝露では男児出生率が有意に低下することが明らかとなった。

受精時の母体の性ホルモン状態は児の性の決定に影響を及ぼすことが報告されている²⁸⁾。すなわち、受精時に母体の高エストロゲン状態、高アンドロゲン状態では男児が増加する。ダイオキシン類は抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用を有するとともに、卵巣のエストロゲン受容体のエピジェネティックな変化をきたし、継代的な生殖機能の障害をきたすことが報告されている²⁹⁾。これらの成績から、カネミ油症患者で観察された次世代、次々世代における男児出生率の低下には、ダイオキシン類の胎児期曝露によるエピジェネティックな遺伝子発現制御の破綻がひとつの要因となっている可能性が示唆された。

④ カネミ油症患者、正常妊娠および早産・胎児発育不全におけるダイオキシン類の母児間移行

④-1 カネミ油症患者におけるダイオキシン類の母児間移行

人工栄養群における血中total PCDDs、total PCDFs、total coplanar PCBs のTEQ濃度(平均値)は母親では各々22.21、85.87、12.65 TEQ pg/g lipid、児では各々8.11、4.01、3.85 TEQ pg/g lipidであった(表(2)-13)。これら児の血中ダイオキシン類濃度は母親の値と比して有意に低値を示した。異性体毎にみると、12異性体のうち測定可能であった9異性体において児の値は母親の値と比して有意に低値を示した。なかでもカネミ油症患者に特徴的な2,3,4,7,8-PeCDF血中濃度は、児は3.11 TEQ pg/g lipidと母親の77.46 TEQ pg/g lipidと比して有意に低値を示した。

表(2)-13. 人工栄養群における母児の血中ダイオキシン類濃度 (TSUKIMORI et al. Chemosphere 2011¹⁵⁾より引用)

Congeners	Mother (n = 10)				Child (n = 12)				Ratio Child/ mother	p-Value ^a		
	Numbers detected	TEQ concentration (pg TEQ g ⁻¹ lipid)				Numbers detected	TEQ concentration (pg TEQ g ⁻¹ lipid)					
		Mean	SD	Min	Max		Mean	SD			Min	Max
2,3,7,8-TetraCDD	9	1.80	0.73	0.50	3.18	1	0.55	0.16	0.50	1.04	NA	NA
1,2,3,7,8-PentaCDD	10	12.76	5.78	5.51	24.16	12	4.61	1.69	1.40	7.11	0.36	0.002
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	10	0.37	0.13	0.21	0.62	5	0.16	0.08	0.10	0.30	0.44	0.002
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	10	6.08	3.96	1.79	16.46	12	1.89	1.00	0.78	3.87	0.31	0.002
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	10	0.44	0.15	0.20	0.76	10	0.31	0.14	0.10	0.57	0.70	0.049
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	10	0.53	0.14	0.37	0.84	12	0.42	0.14	0.24	0.67	0.79	0.099
OctaCDD	10	0.23	0.07	0.12	0.33	12	0.17	0.05	0.09	0.26	0.75	0.060
2,3,7,8-TetraCDF	10	0.28	0.14	0.05	0.46	2	0.06	0.03	0.05	0.12	NA	NA
1,2,3,7,8-PentaCDF	7	0.04	0.02	0.02	0.06	0	0.02	0.00	0.02	0.02	NA	NA
2,3,4,7,8-PentaCDF	10	77.46	62.84	5.53	209.13	12	3.11	1.41	1.08	6.38	0.04	0.002
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	10	5.72	5.72	0.33	18.10	9	0.28	0.14	0.10	0.54	0.05	0.002
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	10	2.13	1.75	0.22	5.91	9	0.30	0.15	0.10	0.55	0.14	0.002
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	0	0.10	0.00	0.10	0.10	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA	NA
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	1	0.11	0.04	0.10	0.23	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA	NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	8	0.04	0.02	0.01	0.08	7	0.02	0.01	0.01	0.05	0.65	0.103
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	0	0.01	0.00	0.01	0.01	0	0.01	0.00	0.01	0.01	NA	NA
OctaCDF	0	0.001	0.00	0.001	0.001	0	0.001	0.00	0.001	0.001	NA	NA
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	2	0.001	0.00	0.001	0.002	2	0.001	0.00	0.001	0.002	NA	NA
3,4,4',5'-TetraCB(#81)	0	0.002	0.00	0.002	0.002	0	0.002	0.00	0.002	0.002	NA	NA
3,3',4,4',5'-PentaCB(#126)	10	6.57	3.23	2.84	13.59	12	2.84	1.51	0.50	5.35	0.43	0.003
3,3',4,4',5,5'- HexaCB(#169)	10	6.08	2.78	2.42	11.24	12	1.02	0.36	0.51	1.94	0.17	0.002
Total PCDDs TEQ	10	22.21	9.45	8.71	41.22	12	8.11	2.94	3.38	12.88	0.37	0.002
Total PCDFs TEQ	10	85.87	69.96	7.43	233.90	12	4.01	1.65	1.57	7.57	0.05	0.002
Total coplanar PCBs TEQ	10	12.65	5.12	7.45	22.95	12	3.85	1.71	1.01	6.32	0.30	0.002
Total TEQ	10	120.73	80.12	32.39	291.81	12	15.97	5.30	5.97	26.16	0.13	0.002

CDD, chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF, chlorinated dibenzofurans; CB, chlorinated biphenyls.

^a Wilcoxon signed-rank test. NA, not applicable because many values were under the detection limit. Bold fonts show $p < 0.05$.

母乳栄養群における血中total PCDDs、total PCDFs、total coplanar PCBs のTEQ濃度(平均値)は母親では各々17.53、49.30、10.64 TEQ pg/g lipid、児では各々7.68、4.76、3.27 TEQ pg/g lipidであった(表(2)-14)。これら児の血中ダイオキシン類濃度は母親の値と比して有意に低値を示した。異性体毎にみると、14異性体のうち測定可能であった11異性体において児の値は母親の値と比して有意に低値を示した。カネミ油症患者に特徴的な2,3,4,7,8-PeCDF血中濃度は、児は3.75 TEQ pg/g lipidと母親の44.03 TEQ pg/g lipidと比して有意に低値を示した。

児の血中ダイオキシン類濃度と母親の血中ダイオキシン類濃度の比率(児/母親比)をみると、人工栄養群ではtotal PCDDsは0.37、total PCDFsは0.05、total coplanar PCBsは0.30、母乳栄養群ではtotal PCDDsは0.44、total PCDFsは0.10、total coplanar PCBsは0.31であった。異性体毎にみると、人工栄養群では児/母親比は0.04~0.79、母乳栄養群では児/母親比は0.09~0.75の範囲内であった。両群ともに母児間較差が最も大きい異性体は2,3,4,7,8-PeCDFで、最も小さい異性体は1,2,3,4,6,7,8-HpCDDであった。

人工栄養群と母乳栄養群の両群間における母児の血中ダイオキシン類濃度を比較した成績を表(2)-15に示す。母親の血中ダイオキシン類濃度の両群間の比較では、人工栄養群における血中total PCDDs、total PCDFs、total TEQ濃度は母乳栄養群の値と比して各々有意に高値を示した。また、測定可能であった15異性体のなかで7つの異性体(1,2,3,7,8-PeCDD, 2,3,7,8-TeCDF, 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)において人工栄養群における母親の血中濃度は母乳栄養群の値と比して有意に高値を示した。一方、児の血中ダイオキシン類濃度の両群間の比較では、両群間に有意な差異はなかった。

表(2)-14. 母乳栄養群における母児の血中ダイオキシン類濃度 (TSUKIMORI et al. Chemosphere 2011¹⁵⁾より引用)

Congeners	Mother (n = 9)				Child (n = 14)				Ratio Child/Mother	p-Value ^a		
	Numbers detected	TEQ concentration (pg TEQ g ⁻¹ lipid)			Numbers detected	TEQ concentration (pg TEQ g ⁻¹ lipid)						
		Mean	SD	Min		Max	Mean	SD			Min	Max
2,3,7,8-TetraCDD	7	1.56	0.75	0.50	2.78	3	0.66	0.33	0.50	1.45	0.42	0.017
1,2,3,7,8-PentaCDD	9	8.92	3.29	4.79	15.35	14	4.05	1.54	1.93	5.94	0.45	<0.001
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	7	0.30	0.14	0.10	0.48	8	0.19	0.10	0.10	0.40	0.64	0.075
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	9	5.44	3.64	2.44	12.30	14	1.95	0.90	0.78	3.75	0.36	<0.001
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	9	0.53	0.17	0.38	0.91	12	0.28	0.10	0.10	0.48	0.52	<0.001
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	9	0.53	0.17	0.19	0.73	14	0.40	0.11	0.25	0.62	0.75	0.084
OctaCDD	9	0.24	0.10	0.09	0.45	14	0.15	0.03	0.11	0.21	0.63	0.035
2,3,7,8-TetraCDF	6	0.16	0.10	0.05	0.29	3	0.07	0.04	0.05	0.17	0.42	0.049
1,2,3,7,8-PentaCDF	3	0.02	0.01	0.02	0.04	1	0.02	0.01	0.02	0.04	NA	NA
2,3,4,7,8-PentaCDF	9	44.03	52.93	2.28	143.96	14	3.75	4.15	0.97	16.04	0.09	<0.001
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	9	3.33	4.35	0.21	11.22	9	0.33	0.35	0.10	1.43	0.10	0.002
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	9	1.47	1.49	0.37	4.35	14	0.35	0.17	0.10	0.70	0.24	0.003
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	0	0.10	0.00	0.10	0.10	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA	NA
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	1	0.14	0.13	0.10	0.49	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA	NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	7	0.03	0.02	0.01	0.07	8	0.02	0.01	0.01	0.04	0.70	0.345
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	0	0.01	0.00	0.01	0.01	0	0.01	0.00	0.01	0.01	NA	NA
OctaCDF	0	0.001	0.00	0.001	0.001	0	0.001	0.00	0.001	0.001	NA	NA
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	2	0.001	0.00	0.001	0.002	1	0.001	0.00	0.001	0.001	NA	NA
3,4,4',5'-TetraCB(#81)	0	0.002	0.00	0.002	0.002	0	0.002	0.00	0.002	0.002	NA	NA
3,3',4,4',5'-PentaCB(#126)	9	6.52	2.84	3.18	11.51	10	2.27	1.60	0.50	5.50	0.35	<0.001
3,3',4,4',5,5'-HexaCB(#169)	9	4.12	3.96	0.97	11.19	14	1.00	0.57	0.15	2.18	0.24	<0.001
Total PCDDs TEQ	9	17.53	7.16	9.11	30.74	14	7.68	2.57	4.49	11.20	0.44	<0.001
Total PCDFs TEQ	9	49.30	58.68	3.16	160.52	14	4.76	4.60	1.68	18.46	0.10	0.001
Total coplanar PCBs TEQ	9	10.64	4.98	5.20	19.35	14	3.27	1.81	1.02	6.92	0.31	<0.001
Total TEQ	9	77.47	69.29	17.47	210.61	14	15.71	7.36	7.68	30.86	0.20	<0.001

CDD, chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF, chlorinated dibenzofurans; CB, chlorinated biphenyls.

^a Wilcoxon signed-rank test. NA, not applicable because many values were under the detection limit. Bold fonts show $p < 0.05$.

表(2)-15. 母児の血中ダイオキシン類濃度の人工栄養群と母乳栄養群の比較 (TSUKIMORI et al. Chemosphere 2011¹⁵⁾より引用)

Congeners	Mothers p-Values ^a	Children p-Values ^a
2,3,7,8-TetraCDD	0.119	0.306
1,2,3,7,8-PentaCDD	0.020	0.471
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	0.195	0.379
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	0.050	0.681
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	0.502	0.606
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	0.757	0.643
OctaCDD	0.918	0.237
2,3,7,8-TetraCDF	0.003	NA
1,2,3,7,8-PentaCDF	0.020	NA
2,3,4,7,8-PentaCDF	0.010	0.537
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	0.013	0.695
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	0.030	0.470
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	NA	NA
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	NA	NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	0.717	0.915
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	NA	NA
OctaCDF	NA	NA
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	NA	NA
3,4,4',5'-TetraCB(#81)	NA	NA
3,3',4,4',5'-PentaCB(#126)	0.918	0.380
3,3',4,4',5,5'-HexaCB(#169)	0.003	0.681
Total PCDDs	0.039	0.837
Total PCDFs	0.010	0.643
Total coplanar PCBs	0.088	0.440
Total TEQ	0.013	0.797

NA, not applicable because many values were under the detection limit. Bold fonts show $p < 0.05$.

CDD, chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF, chlorinated dibenzofurans; CB, chlorinated biphenyls.

^a Mann-Whitney U-test.

母親の血中2, 3, 4, 7, 8-PentaCDF TEQ濃度をマッチさせた人工栄養群(8例)と母乳栄養群(6例)における児の血中ダイオキシン類濃度を比較すると、母乳栄養群における児の血中total TEQ、total PCDFs TEQおよび2, 3, 4, 7, 8-PentaCDF TEQ濃度は人工栄養群の値と比して有意に高値を示した(表(2)-16)。

表(2)-16. 母親の血中PCDF濃度をマッチさせた人工栄養群と母乳栄養群における児の血中ダイオキシン類濃度の比較(TSUKIMORI et al. Chemosphere 2011¹⁵⁾より引用)

Congeners	Formula feeding					Breast feeding					p-Value ^a
	Numbers detected	TEQ concentration (pg TEQ g ⁻¹ lipid)				Numbers detected	TEQ concentration (pg TEQ g ⁻¹ lipid)				
		Mean	SD	Min	Max		Mean	SD	Min	Max	
Mother	8					6					
2,3,7,8-TetraCDD	7	1.77	0.78	0.50	3.18	6	1.85	0.50	1.44	2.78	0.999
1,2,3,7,8-PentaCDD	8	11.776	4.629	5.510	20.860	6	10.617	2.433	9.020	15.350	0.796
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	8	0.35	0.14	0.21	0.62	5	0.33	0.15	0.10	0.48	0.897
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	8	6.23	4.47	1.79	16.46	6	6.83	3.82	2.84	12.30	0.897
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	8	0.43	0.16	0.20	0.76	6	0.46	0.07	0.39	0.58	0.605
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	8	0.47	0.07	0.37	0.57	6	0.49	0.16	0.19	0.67	0.244
OctaCDD	8	0.22	0.07	0.12	0.33	6	0.24	0.07	0.09	0.28	0.698
2,3,7,8-TetraCDF	8	0.28	0.15	0.05	0.46	6	0.23	0.06	0.15	0.29	0.301
1,2,3,7,8-PentaCDF	6	0.036	0.020	0.015	0.061	3	0.025	0.011	0.015	0.037	0.251
2,3,4,7,8-PentaCDF	8	81.01	70.08	5.53	209.13	6	70.26	49.31	5.53	143.96	0.897
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	8	6.40	6.25	0.33	18.10	6	4.90	4.65	0.55	11.22	0.698
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	8	2.30	1.91	0.22	5.91	6	2.03	1.56	0.79	4.35	0.897
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	1	0.12	0.05	0.10	0.23	1	0.16	0.16	0.10	0.49	NA
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	0	0.10	0.00	0.10	0.10	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	6	0.04	0.03	0.01	0.08	5	0.03	0.02	0.01	0.07	0.897
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	0	0.01	0.00	0.01	0.01	0	0.01	0.00	0.01	0.01	NA
OctaCDF	0	0.001	0.000	0.001	0.001	0	0.001	0.000	0.001	0.001	NA
3,4,4',5'-TetraCB(#81)	0	0.002	0.00	0.002	0.002	0	0.002	0.00	0.002	0.002	NA
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	2	0.001	0.001	0.001	0.002	2	0.001	0.001	0.001	0.002	NA
3,3',4,4',5'-PentaCB(#126)	8	6.25	3.32	2.84	13.59	6	5.82	2.09	3.18	9.08	0.999
3,3',4,4',5,5'-HexaCB(#169)	8	6.11	3.05	2.42	11.24	6	6.12	3.66	2.42	11.19	0.796
Total PCDDs TEQ	8	21.25	9.40	8.71	41.22	6	20.82	6.28	15.50	30.74	0.999
Total PCDFs TEQ	8	90.29	77.89	7.43	233.90	6	77.75	55.29	7.43	160.52	0.897
Total coplanar PCBs TEQ	8	12.37	5.34	7.45	22.95	6	11.94	5.01	7.61	19.35	0.897
Total TEQ	8	123.91	88.83	32.39	291.81	6	110.52	65.60	32.43	210.61	0.999
Child	8					6					
2,3,7,8-TetraCDD	0	0.50	0.00	0.50	0.50	2	0.78	0.44	0.50	1.45	NA
1,2,3,7,8-PentaCDD	8	4.10	1.61	1.40	6.48	6	5.36	0.53	4.61	5.94	0.071
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	3	0.15	0.08	0.10	0.29	4	0.23	0.12	0.10	0.40	0.168
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	8	1.60	0.65	0.78	2.73	6	2.57	0.91	1.46	3.75	0.053
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	6	0.25	0.12	0.10	0.41	6	0.34	0.08	0.28	0.48	0.070
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	8	0.36	0.11	0.24	0.56	6	0.38	0.09	0.25	0.45	0.699
OctaCDD	8	0.15	0.05	0.09	0.22	6	0.16	0.03	0.12	0.18	0.897
2,3,7,8-TetraCDF	1	0.06	0.02	0.05	0.12	2	0.07	0.04	0.05	0.13	NA
1,2,3,7,8-PentaCDF	0	0.02	0.00	0.02	0.02	0	0.02	0.00	0.02	0.02	NA
2,3,4,7,8-PentaCDF	8	2.66	1.05	1.08	3.78	6	6.58	5.23	2.87	16.04	0.039
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	6	0.26	0.12	0.10	0.40	6	0.55	0.45	0.23	1.43	0.070
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	5	0.26	0.15	0.10	0.46	6	0.44	0.15	0.28	0.70	0.069
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	0	0.10	0.00	0.10	0.10	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	0	0.10	0.00	0.10	0.10	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	4	0.02	0.02	0.01	0.05	4	0.02	0.01	0.01	0.04	0.893
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	0	0.01	0.00	0.01	0.01	0	0.01	0.00	0.01	0.01	NA
OctaCDF	0	0.001	0.000	0.001	0.001	0	0.001	0.000	0.001	0.001	NA
3,4,4',5'-TetraCB(#81)	0	0.002	0.000	0.002	0.002	0	0.002	0.000	0.002	0.002	NA
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	1	0.001	0.000	0.001	0.001	0	0.001	0.000	0.001	0.001	NA
3,3',4,4',5'-PentaCB(#126)	7	2.36	1.44	0.50	4.99	5	2.76	1.69	0.50	5.50	0.561
3,3',4,4',5,5'-HexaCB(#169)	8	1.02	0.43	0.51	1.94	6	1.40	0.44	0.95	2.18	0.093
Total PCDDs TEQ	8	7.11	2.40	3.38	10.96	6	9.81	1.40	7.65	11.20	0.053
Total PCDFs TEQ	8	3.49	1.27	1.57	4.86	6	7.89	5.78	3.68	18.46	0.039
Total coplanar PCBs TEQ	8	3.38	1.72	1.01	6.16	6	4.16	1.51	2.68	6.92	0.197
Total TEQ	8	13.98	4.33	5.97	19.68	6	21.87	6.02	14.71	30.86	0.028

CDD, chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF, chlorinated dibenzofurans; CB, chlorinated biphenyls.

^a Mann-Whitney U-test. NA, not applicable because many values were under the detection limit. Bold fonts show $p < 0.05$.

カネミ油症母児とgeneral populationにおける血中ダイオキシン類濃度を比較すると、両群ともに母親の血中total TEQ濃度、total PCDDsおよびtotal PCDFsのTEQ濃度は一般集団の値と比して有意に高値を示した(表(2)-17)。異性体毎にみると、両群ともに母親の血中1, 2, 3, 7, 8-PeCDD、1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD、OCDD、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF、1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF、1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDFおよび3, 3', 4, 4', 5, 5' - HxCB(#169)のTEQ濃度は、一般集団の値と比して有意に高値を示した。なかでも、カネミ油症の母親の2, 3, 4, 7, 8-PeCDF血中濃度は、一般集団の値(2.48 TEQ pg/g lipid)の17~30倍高値を示した。一方、児の血中total TEQおよびtotal PCDF TEQ濃度は、両群ともに一般集団の値と比して有意な差はなかった。児の血中1, 2, 3, 4, 6, 7, 8- HpCDDおよび OCDD TEQ濃度は、両群ともに健常者の値と比して有意に高値を示した。血中2, 3, 4, 7, 8-PeCDF濃度については母乳栄養群の児の値は一般集団の値の1.5倍(0.5~6.5倍)高値を示したが、人工栄養群の児の値は有意な差はなかった。

表(2)-17. カネミ油症母児とgeneral populationにおける血中ダイオキシン類濃度の比較(TSUKIMORI et al. Chemosphere 2011¹⁵⁾より引用)

Congeners	General population (n = 152)			Formula feeding		Breast feeding	
	Numbers detected	TEQ concentration (TEQ pg g ⁻¹ lipid)		Mother p-value ^a	Child p-value ^a	Mother p-value ^a	Child p-value ^a
		Mean	SD				
2,3,7,8-TetraCDD	123	1.67	0.91	0.659	NA	0.734	0.056
1,2,3,7,8-PentaCDD	151	5.68	2.28	<0.001	0.112	<0.001	0.010 ^b
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	120	0.30	0.17	0.214	0.006 ^b	0.943	0.024 ^b
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	152	2.05	0.96	<0.001	0.585	<0.001	0.694
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	135	0.34	0.19	0.097	0.612	0.003	0.248
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	152	0.20	0.15	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
OctaCDD	151	0.12	0.02	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
2,3,7,8-TetraCDF	21	0.10	0.08	<0.001	0.096	0.029	0.142
1,2,3,7,8-PentaCDF	20	0.02	0.04	NA	NA	NA	NA
2,3,4,7,8-PentaCDF	152	2.48	1.33	<0.001	0.116	<0.001	0.010
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	151	0.51	0.30	<0.001	0.010 ^b	<0.001	0.033 ^b
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	151	0.43	0.20	<0.001	0.030 ^b	<0.001	0.157
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	0	0.10	NA	NA	NA	NA	NA
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	109	0.21	0.16	NA	NA	NA	NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	63	0.03	0.04	0.654	0.563	0.979	0.412
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	10	0.01	0.00	NA	NA	NA	NA
OctaCDF	2	0.001	NA	NA	NA	NA	NA
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	1	0.000	NA	NA	NA	NA	NA
3,4,4',5'-TetraCB(#81)	58	0.000	0.00	NA	NA	NA	NA
3,3',4,4',5'-PentaCB(#126)	131	7.49	7.71	0.708	0.039 ^b	0.708	0.013 ^b
3,3',4,4',5,5'-HexaCB(#169)	152	1.35	0.90	<0.001	0.205	<0.001	0.151
Total PCDDs TEQ	152	10.28	4.21	<0.001	0.082	<0.001	0.025 ^b
Total PCDFs TEQ	152	3.90	2.77	<0.001	0.895	<0.001	0.301
Total coplanar PCBs TEQ	152	8.84	7.93	0.136	0.032 ^b	0.502	0.010 ^b
Total TEQ	152	23.02	12.91	<0.001	0.063	<0.001	0.069

Data for the general population are from Masuda (2005). NA, not applicable because many values were under the detection limit. Bold fonts show $p < 0.05$. CDD, chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF, chlorinated dibenzofurans; CB, chlorinated biphenyls.

^a Mann-Whitney U-test.

^b Significantly lower TEQ concentrations.

今回、カネミ油症患者より出生した児を栄養方法により母乳栄養群と人工栄養群の2群に分け、母児双方のダイオキシン類血中濃度について比較検討した。油症患者より児へのダイオキシン類の移行経路としては、人工栄養群では胎盤を介する移行、母乳栄養群では胎盤+母乳を介する移行が考えられる。人工栄養群においては油症患者より出生した児におけるダイオキシン類の血中TEQ濃度は母親の値と比して有意に低値を示し、一般集団の値と有意な差はみられないこと、異性体の種類により母児間の血中濃度較差が異なることが分かった。これらの成績から高濃度の子宮内ダイオキシン類曝露においてもダイオキシン類の児への経胎盤移行は少なく、胎盤のバリア機

能が存在することが示唆された。

一方、母乳栄養群においては油症の原因物質である2,3,4,7,8-PeCDFの児血中TEQ濃度は人工栄養群の児ならびに一般集団の値と比して有意に高値を示した。カネミ油症患者(2名;1988年4月と1990年5月に検体採取)および9名の健常者の母乳中のPCDDs、PCDFs、Coplanar PCBs濃度の観察から、油症患者の母乳は健常者の母乳と比較してPCDDsレベルは2.2~3.5倍、Coplanar PCBsレベルは1.1~2.5倍であるが、PCDFsレベルは33~82倍、2,3,4,7,8-PeCDFレベルは36~88倍と顕著に高い値を示すことが報告されている³⁰⁾。これらの成績から、油症患者より出生した児のなかで母乳栄養を行った児は出生後30数年経過した時点でも2,3,4,7,8-PeCDFは血中に高濃度に存在し、その曝露源としては母乳を介する母児間移行であることが示唆された。

④-2 正常妊娠におけるダイオキシン類の母児間移行

正常妊娠におけるtotal PCDD TEQ、total PCDF TEQ およびtotal *non-ortho* PCB TEQ濃度は、母体血で各々8.03、3.39、3.95 pg TEQ/g lipid、胎盤で8.78、3.61、0.87 pg TEQ/g lipid、臍帯血で4.33、1.25、1.08 pg TEQ/g lipidであった(表(2)-18)。これらの成績は、PCDDsおよびPCDFsのTEQ濃度は母体血、胎盤、臍帯血のなかで胎盤で最も高く、一方、*non-ortho* PCB TEQ濃度は胎盤において最も低いことを示した。異性体毎の検討では、胎盤の1,2,3,7,8-PeCDDと2,3,4,7,8-PeCDFのTEQ濃度は母体血の濃度と比して各々有意に高値を示し、胎盤のOCDDおよび3,3',4,4',5-PeCBのTEQ濃度は母体血、臍帯血の濃度と比して各々有意に低値を示した。このことは、ダイオキシン類異性体毎に母体血-胎盤-臍帯血の移行がそれぞれ異なることが示された。

ダイオキシン類濃度の胎盤-母体血比、臍帯血-胎盤比、臍帯血-母体血比を図(2)-4に示す。胎盤-母体血比においては、*non-ortho* PCBsの値(0.23)はPCDFs(1.18)およびPCDDs(1.05)の値と比して有意に低値を示した。臍帯血-胎盤比においては、*non-ortho* PCBsの値(1.21)はPCDFs(0.36)およびPCDDs(0.55)の値と比して有意に高値を示した。臍帯血-母体血比においてはPCDDsの値(0.55)はPCDFs(0.38)および*non-ortho* PCBs (0.25)の値と比して有意に低値を示した。

ダイオキシン類異性体毎の胎盤-母体血比、臍帯血-胎盤比、臍帯血-母体血比を図(2)-5に示す。1,2,3,7,8-PeCDDと2,3,4,7,8-PeCDFは胎盤-母体血比が1.0より大きい値を示し、OCDDは臍帯血-胎盤比が最も大きな値(3.83)を示した。臍帯血-母体血比においては、測定が可能であった16異性体すべてにおいて1.0以下の値を示した。

ダイオキシン類異性体毎の胎盤-母体血比、臍帯血-胎盤比、臍帯血-母体血比を基にしたクラスター解析の成績を図(2)-6に示す。ダイオキシン類異性体はつぎの3つのクラスターに分類された。1番目のクラスターは1,2,3,7,8-PeCDDと2,3,4,7,8-PeCDFで構成、2番目のクラスターはHxCDDs、HxCDFsや*non-ortho* PCBsで構成、3番目のクラスターはOCDDのみで構成されていた。それぞれのクラスターを母体血-胎盤-臍帯血の濃度較差でみると、1番目のクラスターは胎盤>母体血>臍帯血の順、2番目のクラスターは母体血>胎盤>臍帯血の順、3番目のクラスターは母体血>臍帯血>胎盤の順で濃度が高かった。

表(2)-18. 母体血、胎盤、臍帯血のダイオキシン類濃度(TSUKIMORI et al. J Obstet Gynaecol Res 2012¹⁷⁾より引用)

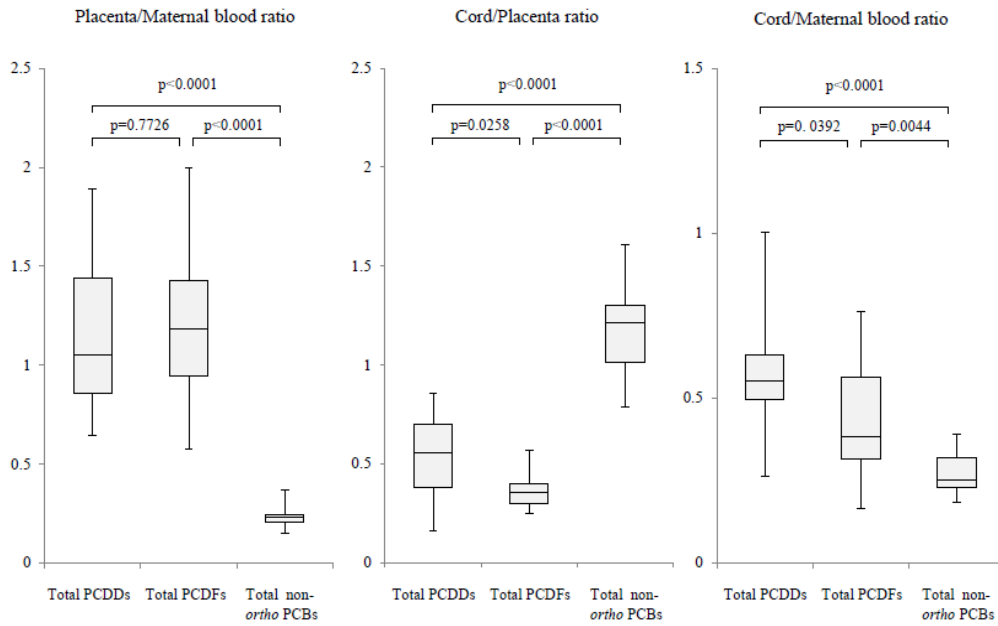
Congeners	Maternal blood (n=19)						Placenta (n=15)						Cord blood (n=19)					
	%>DL	TEQ concentration			Mean ratio†	p value†	%>DL	TEQ concentration			Mean ratio‡	p value‡	%>DL	TEQ concentration			Mean ratio§	P value§
		Mean	Min	Max				Mean	Min	Max				Mean	Min	Max		
PCDDs																		
2,3,7,8-TetraCDD	42	0.96	0.5	2.71	0.74	NA	100	0.96	0.5	2.23	0.79	0.006	58	0.62	0.5	1.11	0.46	NA
1,2,3,7,8-PentaCDD	100	4.82	1.43	12.31	1.56	0.0022	100	7.17	2.78	19.79	0.5	0.0007	95	3.07	0.5	8.19	0.71	0.0003
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	21	0.16	0.1	0.59	0.59	NA	87	0.15	0.1	0.37	0.33	NA	5	0.1	0.1	0.12	0.2	NA
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	100	1.46	0.16	5.21	0.25	0.0007	100	0.32	0.1	1.14	0.99	0.8203	68	0.32	0.1	1.35	0.32	0.0001
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	58	0.24	0.1	0.97	0.25	NA	33	0.11	0.1	0.25	1.13	NA	16	0.11	0.1	0.26	0.32	NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	100	0.27	0.06	0.71	0.19	0.0007	100	0.05	0.02	0.25	1.56	0.0535	100	0.06	0.03	0.14	0.28	0.0001
OctaCDD	100	0.11	0.05	0.27	0.14	0.0007	100	0.02	0.01	0.03	3.83	0.0007	100	0.06	0.02	0.12	0.58	0.0003
PCDFs																		
2,3,7,8-TetraCDF	47	0.19	0.05	0.66	0.48	NA	100	0.08	0.05	0.18	1.25	NA	21	0.05	0.05	0.09	0.13	NA
1,2,3,7,8-PentaCDF	0	0.02	0.02	0.02	NA	NA	60	0.02	0.02	0.02	1.21	NA	37	0.02	0.02	0.02	NA	NA
2,3,4,7,8-PentaCDF	100	2.33	0.73	6.72	1.41	0.0231	100	2.95	1.13	8.06	0.23	0.0007	100	0.7	0.21	1.95	0.35	0.0001
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	63	0.27	0.1	1.09	0.69	0.0691	100	0.21	0.1	0.71	0.52	0.0012	53	0.11	0.1	0.33	0.31	0.0022
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	74	0.32	0.1	1.24	0.37	0.0051	80	0.13	0.1	0.37	1.03	0.8886	63	0.13	0.1	0.39	0.38	0.001
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	26	0.14	0.1	0.33	NA	NA	7	0.1	0.1	0.1	1.62	NA	26	0.11	0.1	0.16	0.52	NA
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	0	0.1	0.1	0.1	NA	NA	0	0.1	0.1	0.1	NA	NA	0	0.1	0.1	0.1	NA	NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	37	0.02	0.01	0.087	NA	NA	0	0.01	0.01	0.01	NA	NA	37	0.012	0.01	0.04	0.38	NA
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	0	0.01	0.01	0.01	NA	NA	0	0.01	0.01	0.01	NA	NA	0	0.01	0.01	0.01	NA	NA
OctaCDF	0	0.0006	0.0006	0.0006	NA	NA	0	0.0006	0.0006	0.0006	NA	NA	0	0.0006	0.0006	0.0006	NA	NA
non-ortho PCBs																		
3,4,4',5'-TetraCB(#81)	0	0.0015	0.0015	0.0015	NA	NA	13	0.0015	0.0015	0.0015	1.72	NA	16	0.0015	0.0015	0.0015	NA	NA
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	16	0.0006	0.0005	0.0014	0.24	NA	20	0.0005	0.0005	0.0005	NA	NA	58	0.0007	0.0005	0.0013	0.22	NA
3,3',4,4',5'-PentaCB(#126)	89	3.06	0.5	9.13	0.22	0.0007	100	0.68	0.15	1.92	1.3	0.0018	100	0.9	0.24	2.93	0.3	0.0001
3,3',4,4',5,5'-HexaCB(#169)	100	0.89	0.4	1.97	0.2	0.0007	100	0.18	0.08	0.36	0.88	0.1398	100	0.18	0.05	0.51	0.2	0.0001
Total dioxins																		
Total PCDD TEQ	100	8.03	3.12	22.78	1.25	0.5321	100	8.78	3.64	23.92	0.48	0.0007	100	4.33	1.39	11.23	0.54	0.0002
Total PCDF TEQ	100	3.39	1.22	9.68	1.39	0.2115	100	3.61	1.65	9.48	0.26	0.0007	100	1.25	0.71	3.03	0.35	0.0001
Total non-ortho-PCB TEQ	100	3.95	0.9	11.1	0.27	0.0007	100	0.87	0.27	2.28	1.19	0.0146	100	1.08	0.34	3.45	0.32	0.0001
Total dioxins TEQ	100	15.38	6.61	43.56	0.94	0.0535	100	13.25	5.86	35.67	0.47	0.0007	100	6.67	3.02	17.71	0.43	0.0001

Statistical comparisons were made using the Wilcoxon signed-rank test when the detection rate in the sample was $\geq 50\%$; †, placenta to maternal blood;

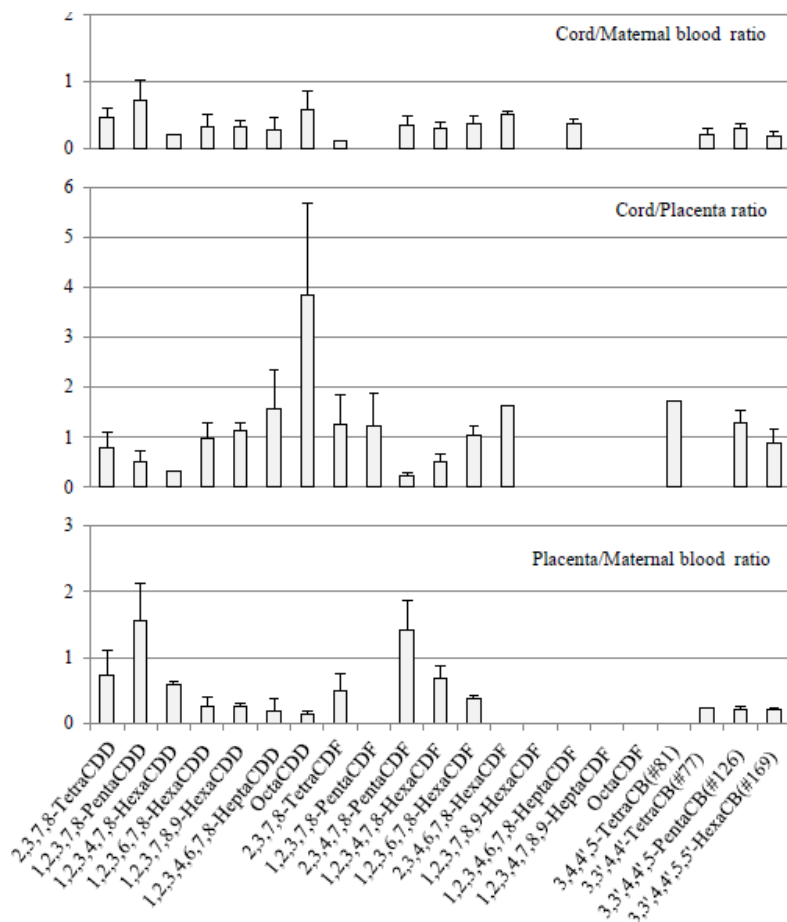
‡, cord blood to placenta; §, cord blood to maternal blood. CDD, chlorinated dibenzo-*p*-dioxin; CDF, chlorinated dibenzofuran; CB, chlorinated biphenyl; NA, not applicable.

Bold fonts show significant difference

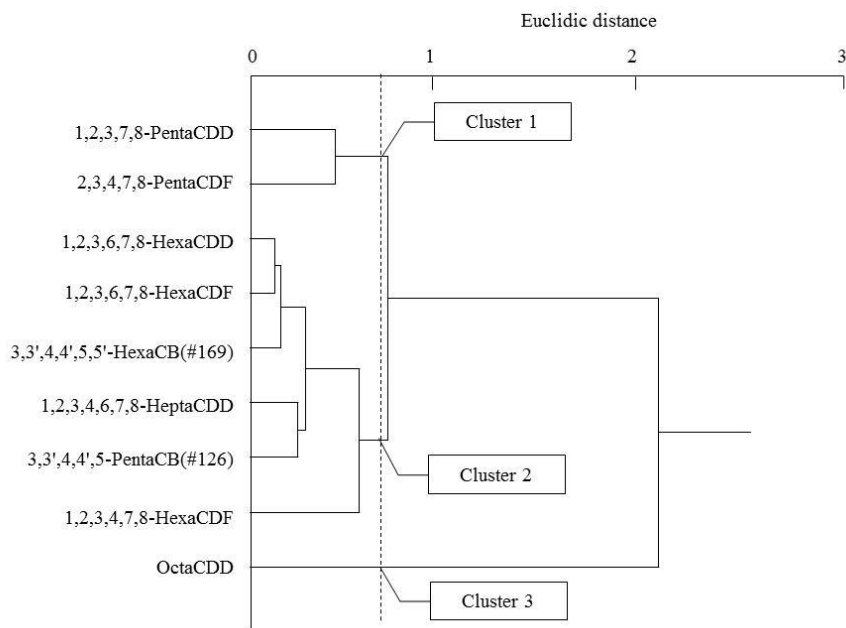
ダイオキシン類の胎盤への移行には、ダイオキシン受容体であるAhRとの親和性が関連することが報告されている。胎盤にはAhRが存在し、AhRとの親和性の高いダイオキシン類である2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PeCDDおよび2,3,4,7,8-PeCDFの胎盤組織中の濃度は母体血濃度よりも有意に高く、胎盤に蓄積することが報告されている²³⁾。今回の検討においてもAh receptorとの親和性の高いダイオキシン類の胎盤組織中濃度は母体血濃度よりも有意に高値を示した。一方、臍帯血への移行は、母体血の約50%で、PCDDs、なかでもOCDDがPCDFsや*non-ortho* PCBsよりも移行しやすいことが分かった。これらの成績から、ダイオキシン類の胎児への移行には、ダイオキシン類の血清蛋白との結合能、オクタノール/水分配係数(Kow)、胎盤トランスポーターなどが関与する可能性が示唆された。



図(2)-4. ダイオキシン類濃度の胎盤-母体血比、臍帯血-胎盤比、臍帯血-母体血比 (TSUKIMORI et al. J Obstet Gynaecol Res 2012¹⁷⁾より引用)



図(2)-5. ダイオキシン類異性体毎の胎盤-母体血比、臍帯血-胎盤比、臍帯血-母体血比 (TSUKIMORI et al. J Obstet Gynaecol Res 2012¹⁷⁾より引用)



図(2)-6. ダイオキシン類異性体の胎盤-母体血比、臍帯血-胎盤比、臍帯血-母体血比によるクラスター解析 (TSUKIMORI et al. J Obstet Gynaecol Res 2012¹⁷⁾より引用)

④-3 胎児発育不全におけるダイオキシン類の母児間移行

正常妊娠および胎児発育不全における母体血、胎盤、臍帯血のダイオキシン類濃度を表(2)-19に示す。胎児発育不全における母体血中total PCDDs、total PCDFs およびtotal *non-ortho* PCBs濃度は、各々5.14、2.03および2.88で、正常妊娠の値(各々8.29、3.38および4.14)と比して有意な差はなかった。また、胎児発育不全における胎盤および臍帯血のこれらダイオキシン類濃度も正常妊娠の値と比して有意な差はなかった。一方、ダイオキシン類の臍帯血-母体血比で検討すると、胎児発育不全ではtotal PCDDsは1.81、total PCDFsは0.50、total dioxinsは0.84で、正常妊娠の値(各々0.48、0.30および0.38)と比して有意に高値を示した。ダイオキシン類の胎盤-母体血比においては、正常妊娠と胎児発育不全の両群間に有意な差異はなかった。

これらの成績から、胎児発育不全では、正常妊娠と比してダイオキシン類の母体から胎児への移行が亢進することが示された。今回の検討では、胎盤機能不全によると考えられる胎児発育不全を対象に用いたので、ダイオキシン類の母体から胎児への移行が亢進する機序としては、胎盤機能不全に伴う胎盤バリア機能の破綻が関与していることが示唆された。

表(2)-19. 正常妊娠および胎児発育不全における母体血、胎盤、臍帯血のダイオキシン類濃度

Samples	Dioxin concentration (pg-TEQ/g)				p
	Normal		FGR		
	mean	SD	mean	SD	
Maternal blood					
Total PCDDs	8.29	5.34	5.14	3.79	0.178
Total PCDFs	3.38	2.32	2.03	1.14	0.126
Total non- <i>ortho</i> PCBs	4.14	2.59	2.88	0.90	0.302
Total dioxins	15.81	9.88	9.33	5.38	0.066
Cord blood					
Total PCDDs	3.93	2.73	4.84	2.37	0.225
Total PCDFs	0.88	0.62	0.97	0.56	0.598
Total non- <i>ortho</i> PCBs	1.07	0.78	0.95	0.42	0.916
Total dioxins	5.88	3.82	6.77	2.57	0.268
Placenta					
Total PCDDs	8.66	5.34	7.36	4.46	0.531
Total PCDFs	3.36	2.03	3.31	2.27	0.698
Total non- <i>ortho</i> PCBs	0.87	0.54	0.90	0.49	0.788
Total dioxins	12.89	7.88	11.57	7.14	0.655
Cord/Maternal blood ratio					
Total PCDDs	0.48	0.17	1.81	2.47	0.012
Total PCDFs	0.30	0.19	0.50	0.25	0.014
Total non- <i>ortho</i> PCBs	0.26	0.06	0.31	0.10	0.376
Total dioxins	0.38	0.09	0.84	0.45	0.004
Placenta/Maternal blood ratio					
Total PCDDs	1.16	0.47	2.83	4.69	0.916
Total PCDFs	1.17	0.50	1.43	0.53	0.341
Total non- <i>ortho</i> PCBs	0.23	0.05	0.29	0.08	0.176
Total dioxins	0.87	0.25	1.12	0.51	0.245

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

高濃度ダイオキシン類曝露によるカネミ油症患者では、母体血中PCDDs、PCDFsおよび*non-ortho* PCBs濃度は児の出生体重の減少と相関することが分かった。このダイオキシン類による出生体重への影響は、異性体の有するAhRとの親和性、すなわちTEFとは関係なく、母体血中PCDDs、なかでもHxCDDsの濃度に関連し、また男児の方が女児より影響を受けやすいことが分かった。さらに、カネミ油症患者より出生した児のなかで、皮膚色素沈着を発症した群では母体血中ダイオキシン類濃度が高く、一方、アレルギー疾患や甲状腺機能低下症の有無による母体血中ダイオキシン類濃度の差異は認めないことが分かった。加えて、カネミ油症患者の女系の2世、3世では男児出生率が低下することが分かった。これらの成績から、母体の高濃度のダイオキシン類曝露による児の健康影響としては、出生体重の減少、皮膚色素沈着、男児出生率の低下が示された。また、これらダイオキシン類曝露による児への健康影響は、男児の方が女児より影響を受けやすいこと、次々世代にも影響、すなわち継代的な影響があることが示された。さらに、ダイオキシン類の母児間移行に関する観察から、母体から児へのダイオキシン類の移行はAhRとの親和性とは関係なく、PCDDs、なかでもOCDDが移行しやすいこと、カネミ油症患者ではダイオキシン類の児への移行

量は少なく、児の血中ダイオキシン類濃度は一般集団と差異はないことが分かった。これらの成績から、高濃度のダイオキシン類曝露による児への健康影響の発現には、胎盤を介して児に移行したダイオキシン類の量的な問題ばかりでなく、ダイオキシン受容体を介する細胞内毒性シグナル伝達機構の個体差（遺伝子多型）やエピジェネティックな遺伝子発現の制御などが関与することが考えられた。これら高濃度のダイオキシン類に曝露した群における次世代への健康影響の観察は、一般集団におけるダイオキシン類曝露による次世代への健康影響を明らかにするうえで重要な基礎資料となるものと考えられる。

（２）環境政策への貢献

ダイオキシン類の胎児発育に及ぼす影響における性差の機序やダイオキシン類による胎児発育抑制の発現機序を明らかにすることは、ダイオキシン類による児への健康影響を評価するためのひとつの指標となり、ダイオキシン類に関する環境政策への根拠を提供することに繋がるものと思われる。

6. 引用文献

- 1) S. PATANDIN, C. KOOPMAN-ESSEBOOM, MA. DE RIDDER, N. WEISLAS-KUPERUS and P.J. SAUER: *Pediatr Res* 44, 4, 538-545 (1998)
“Effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxin on birth size and growth in Dutch children”
- 2) K. KONISHI, S. SASAKI, S. KATO, S. BAN, N. WASHINO, J. KAJIWARA, T. HIRAKAWA, T. HORI, D. YASUTAKE and R. KISHI: *Environ Res* 109, 7, 906-913 (2009)
“Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight”
- 3) M. HUISMAN, C. KOOPMAN-ESSEBOOM, V. FIDLER, M. HADDERS-ALGRA, CG. VAN DER PAAUW, LG. TUINSTRAN, N. WEISGLAS-KUPERUS, P.J. SAUER, B. TOUWEN and ER. BOERSMA: *Early Hum Dev* 41, 2, 111-127 (1995)
“Perinatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins and its effect on neonatal neurological development”
- 4) N. WEISGLAS-KUPERUS: *Chemosphere* 37, 9-12, 1845-1853 (1998)
“Neurodevelopmental, immunological and endocrinological indices of perinatal human exposure to PCBs and dioxins”
- 5) YL. GUO, PC. HU, CC. HSU and GH. LAMBERT: *Lancet* 356, 9237, 1240-1241 (2000)
“Semen quality after prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans”
- 6) N. WEISGLAS-KUPERUS, S. PATANDIN, GA. BERBERS, TC. SAS, PG. MULDER and P.J. SAUER: *Environ Health Perspect* 108, 12, 1203-1207 (2000)
“Immunologic effects of background exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins in Dutch preschool children”
- 7) HJ. PLUIM, JJ. DE VIJLDER, K. OLIE, JH. KOK, T. VULSMA, DA. VAN TIJIN, JW. VAN DER SLIKKE

- and JG. KOPPE: Environ Health Perspect 101,6,504-508(1993)
“Effects of pre- and postnatal exposure to chlorinated dioxins and furans on human neonatal thyroid hormone concentrations”
- 8) F. YAMASHITA and M. HAYASHI: Environ Health Perspect. 59,41-45(1985)
“Fetal PCB syndrome: clinical features, intrauterine growth retardation and possible alteration in calcium metabolism”
- 9) WJ. ROGAN, BC. GLADEN, KL. HUNG, SL. KOONG, LY. SHIH, JS. TAYLOR, YC. YU, D. YANG, NB. RAGAN and CC. HSU: Science 241,4863,334-336(1988)
“Congenital poisoning by polychlorinated biphenyls and their contaminants in Taiwan”
- 10) K. TSUKIMORI, H. UCHI, C. MITOMA, F. YASUKAWA, T. CHIBA, T. TODAKA, J. KAJIWARA, T. YOSHIMURA, T. HIRATA, K. FUKUSHIMA, N. WAKE and M. FURUE: Environ Int, 38,1,79-86 (2012)
“Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease”
- 11) K. TSUKIMORI, S. TOKUNAGA, S. SHIBATA, H. UCHI, D. NAKAYAMA, T. ISHIMARU, H. NAKANO, N. WAKE, T. YOSHIMUA and M. FURUE: Environ Healt Persp 116,5,626-630(2008)
“Long-Term Effects of Polychlorinated Biphenyls and Dioxins on Pregnancy Outcomes in Women Affected by the Yusho Incident”
- 12) AKD. LIEM and RMC. THEELEN: Chemical Analysis, Exposure and Risk Assessment (Thesis), Research Institute of Toxicology (RITOX), University of Utrecht, The Netherlands; ISBN: 90-393-2012-8(1997)
“Dioxin”
- 13) Y. MASUDA: Chemosphere 43,4-7,925-930(2001)
“Fate of PCDF/PCB congeners and change of clinical symptoms in patients with Yusho PCB poisoning for 30 years”
- 14) K. TSUKIMORI, F. YASUKAWA, H. UCHI, M. FURUE and S. MOROKUMA: Epidemiology, 23,72,349-350(2012)
“Sex ratio in two generations of the Yusho Cohort”
- 15) K. TSUKIMORI, H. UCHI, C. MITOMA, F. YASUKAWA, K. FUKUSHIMA, T. TODAKA, J. KAJIWARA, T. YOSHIMURA, T. HIRATA, N. WAKE and M. FURUE: Chemosphere, 84,7,928-35(2011)
“Comparison of the concentrations of polychlorinated biphenyls and dioxins in mothers affected by the Yusho incident and their children”
- 16) Y. MASUDA, K. HARAGUCHI, S. KONO, H. TSUJI and O. PÄPKE: Chemosphere 58,3,329-344 (2005).
“Concentrations of dioxin and related compounds in the blood of Fukuoka residents”
- 17) K. TSUKIMORI, S. MOROKUMA, T. HORI, K. TAKAHASHI, T. HIRATA, Y. OTERA, K. FUKUSHIMA, T. KAWAMOTO and N. WAKE: J Obstet Gynaecol Res, (2012)
“Characterization of placental transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in normal pregnancy”
(in press)
- 18) T. HORI, K. TAKAHASHI, D. YASUTAKE, S. MOROKUMA, Y. OTERA, T. TODAKA, T. YAMAMOTO, H.

- HIRAKAWA, J. KAJIWARA, T. KAWAMOTO, T. HIRATA, and K. TSUKIMORI: Organohalogen Compd, 73, 1600-1603 (2011)
 "Concentrations of Dioxins in Sets of Placental Tissue, Maternal Blood and Umbilical Cord Blood Samples Collected from Japanese Pregnant Women"
- 19) T. VARTIAINEN, J.J. JAAKKOLA, S. SAARIKOSKI and J. TUMISTO: Environ Health Perspect 106, 2, 61-66 (1998)
 "Birth weight and sex of children and the correlation to the body burden of PCDDs/PCDFs and PCBs of the mother"
- 20) B. ESKENAZI, P. MOCARELLI, M. WARNER, WY. CHEE, PM. GERTHOUS, S. SAMUELS, LL. NEEDHAM and DG. JR PATTERSON: Environ Health Perspect 111, 7, 947-953 (2003)
 "Maternal serum dioxin levels and birth outcomes in women of Seveso, Italy"
- 21) M. TAJIMI, R. UEHARA, M. WATANABE, I. OKI, T. OJIMA and Y. NAKAMURA: Chemosphere 61, 3, 383-388 (2005)
 "Relationship of PCDD/F and Co-PCB concentrations in breast milk with infant birthweights in Tokyo, Japan"
- 22) A. SCHECTER, I. KASSIS and O. PÄPKE: Chemosphere. 37, 9-12, 1817-1823 (1998)
 "Partitioning of dioxins, dibenzofurans, and coplanar PCBS in blood, milk, adipose tissue, placenta and cord blood from five American women"
- 23) G. SUZUKI, M. NAKANO and S. NAKANO: Biosci Biotechnol Biochem. 69, 10, 1836-1847 (2005)
 "Distribution of PCDDs/PCDFs and Co-PCBs in human maternal blood, cord blood, placenta, milk, and adipose tissue: dioxins showing high toxic equivalency factor accumulate in the placenta"
- 24) CR. CROUTCH, M. LEBOFKY, KW. SCHRAMM, PF. TERRANOVA and KK. ROZMAN: Toxicol Sci 85, 1, 560-571 (2005)
 "2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and 1, 2, 3, 4, 7, 8-hexachlorodibenzo-p-dioxin (HxCDD) alter body weight by decreasing insulin-like growth factor I (IGF-I) signaling"
- 25) LJ. VATTEN, ST. NILSEN, RA. ODEGÅRD, PR. ROMUNDSTAD and R. AUSTGULEN: Pediatrics 109, 6, 1131-1135 (2002).
 "Insulin-like growth factor I and leptin in umbilical cord plasma and infant birth size at term"
- 26) MP. GEARY, PJ. PRINGLE, CH. RODECK, JC. KINGDOM and PC. HINDMARSH: J Clin Endocrinol Metab 88, 8, 3708-3714 (2003)
 "Sexual dimorphism in the growth hormone and insulin-like growth factor axis at birth"
- 27) PJ. COENRAADS, K. OLIE and NJ. TANG: Br J Dermatol 141, 4, 694-697 (1999)
 "Blood lipid concentrations of dioxins and dibenzofurans causing chloracne"
- 28) WH. JAMES: J Endocrinol 198, 1, 3-15 (2008)
 "Evidence that mammalian sex ratios at birth are partially controlled by parental hormone levels around the time of conception"

- 29) AM. ZAMA and M. UZUMCU: Front Neuroendocrinol 31, 4, 420-439 (2010)
“Epigenetic effects of endocrine-disrupting chemicals on female reproduction: an ovarian perspective”
- 30) T. MATSUEDA, T. IIDA, H. HIRAKAWA, K. FUKAMACHI, H. TOKIWA and J. NAGAYAMA: Fukuoka Igaku Zasshi 84, 5, 263-272 (1993)
“Concentration of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs in breast milk of Yusho patients and normal subjects”

7. 国際共同研究等の状況
特に記載すべき事項はない

8. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) K. TSUKIMORI, H. UCHI, C. MITOMA, F. YASUKAWA, K. FUKUSHIMA, T. TODAKA, J. KAJIWARA, T. YOSHIMURA, T. HIRATA, N. WAKE and M. FURUE: Chemosphere, 84, 7, 928-35 (2011)
“Comparison of the concentrations of polychlorinated biphenyls and dioxins in mothers affected by the Yusho incident and their children”
- 2) K. TSUKIMORI, H. UCHI, C. MITOMA, F. YASUKAWA, T. CHIBA, T. TODAKA, J. KAJIWARA, T. YOSHIMURA, T. HIRATA, K. FUKUSHIMA, N. WAKE and M. FURUE: Environ Int, 38, 1, 79-86 (2012)
“Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease”
- 3) K. TSUKIMORI, F. YASUKAWA, H. UCHI, M. FURUE and S. MOROKUMA: Epidemiology, 23, 72, 349-350 (2012)
“Sex ratio in two generations of the Yusho Cohort”
- 4) K. FUKUSHIMA, K. TSUKIMORI, D. LI, T. TAKAO, S. MOROKUMA, K. KATO, H. SEKI, S. TAKEDA, S. MATSUMURA and N. WAKE: Hum Exp Toxicol, (2012)
“Effect of transient TCDD exposure on immortalized human trophoblast-derived cell lines.”
(in press)
- 5) K. TSUKIMORI, S. MOROKUMA, T. HORI, K. TAKAHASHI, T. HIRATA, Y. OTERA, K. FUKUSHIMA, T. KAWAMOTO and N. WAKE: J Obstet Gynaecol Res, (2012)
“Characterization of placental transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in normal pregnancy”
(in press)

<その他誌上発表（査読なし）>

1) K. TAKAHASHI, T. HORI, D. YASUTAKE, S. MOROKUMA, Y. OTERA, K. FUKUSHIMA, T. YAMAMOTO, J. KAJIWARA, T. KAWAMOTO, T. HIRATA, K. TSUKIMORI, and M. FURUE: Organohalogen Compd, 73, 645-648 (2011)

“Determination of Dioxins in Umbilical Cord Blood Samples Using Accelerated Solvent Extraction”

2) T. HORI, K. TAKAHASHI, D. YASUTAKE, S. MOROKUMA, Y. OTERA, T. TODAKA, T. YAMAMOTO, H. HIRAKAWA, J. KAJIWARA, T. KAWAMOTO, T. HIRATA, and K. TSUKIMORI: Organohalogen Compd, 73, 1600-1603 (2011)

“Concentrations of Dioxins in Sets of Placental Tissue, Maternal Blood and Umbilical Cord Blood Samples Collected from Japanese Pregnant Women”

(2) 口頭発表（学会等）

1) Koji TAKAHASHI, Tsuguhide HORI, Daisuke YASUTAKE, Seiichi MOROKUMA, Yuka OTERA, Kotaro FUKUSHIMA, Takamitsu YAMAMOTO, Jumboku KAJIWARA, Toshihiro KAWAMOTO, Teruaki HIRATA, Kiyomi TSUKIMORI, and Masutaka FURUE: 31st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants - Dioxin 2011, Brussels, Belgium, 2011

“Determination of Dioxins in Umbilical Cord Blood Samples Using Accelerated Solvent Extraction”

2) Tsuguhide HORI, Koji TAKAHASHI, Daisuke YASUTAKE, Seiichi MOROKUMA, Yuka OTERA, Takashi TODAKA, Takamitsu YAMAMOTO, Hironori HIRAKAWA, Jumboku KAJIWARA, Toshihiro KAWAMOTO, Teruaki HIRATA, and Kiyomi TSUKIMORI: 31st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants - Dioxin 2011, Brussels, Belgium, 2011

“Concentrations of Dioxins in Sets of Placental Tissue, Maternal Blood and Umbilical Cord Blood Samples Collected from Japanese Pregnant Women”

3) 堀 就英、高橋浩司、諸隈誠一、川本俊弘、平田輝昭、月森清巳：環境ホルモン学会第14回研究発表会（2011）

「高速溶媒抽出法を用いた妊産婦血液、臍帯血及び胎盤組織試料のダイオキシン類分析」

4) 諸隈誠一、大寺由佳、福嶋恒太郎、藤田恭之、湯元康夫、穴見 愛、月森清巳、和氣徳夫：第63回日本産科婦人科学会学術講演会（2011）

「ダイオキシン類の母体から胎児への移行に関する検討」

C-0903 妊婦におけるダイオキシン摂取が胎児健康に及ぼす影響のリスク評価に関する研究

(3) 「ダイオキシン類の胎盤毒性に関する基礎的研究」

九州大学医学研究院生殖病態生理学	教授	和氣 徳夫
九州大学病院総合周産期母子医療センター	講師	福嶋恒太郎
順天堂大学産婦人科	准教授	加藤 聖子

〈研究協力者〉

九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学	浅野間和夫
九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学	高尾 知佳
九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学	李 丹

平成21～23年度累計予算額：1,866千円（うち平成23年度：1,040千円）

予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

本課題では、ヒト胎盤を構成する絨毛細胞に対する、2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-1,4-ジオキシン (TCDD) をはじめとするダイオキシンの直接的影響とその機構を細胞生物学的に明らかにすることを目的とした。ヒト不死化絨毛細胞株を用いてTCDD曝露による細胞生物学的影響を細胞増殖能、細胞浸潤能について検討した。その結果、48時間までの曝露では、細胞の増殖、浸潤、アポトーシスにはTCDDは影響を与えないことがわかった。しかしながら、絨毛幹細胞においては、TCDDは増殖・維持には抑制的に作用すること、エストロゲンの存否により与える作用が異なる可能性があることが示唆された

また、TCDDのレセプターであるアリル炭化水素受容体 (AhR) のプロモータ領域について、胞状奇胎検体を用いて検討したところ、4種類の一塩基変異がみられること、そのうちの1種類は転写活性が高いことがわかった。

これらの結果から、絨毛細胞に対するTCDDの効果は単純な細胞毒性ではなく他の液性因子の効果を修飾するような作用として表現される可能性や、転写領域の一塩基変異などによるレセプターの発現量の差が表現型に関与している可能性があることを示唆するものと考えられ、今後妊娠中のダイオキシン感受性の個体差について検討を加える必要があることが示された。

【キーワード】 絨毛細胞、aryl hydrocarbon 受容体、ダイオキシン、遺伝子多型

1. はじめに

妊娠中の低レベルのダイオキシン曝露は低出生体重児の増加と関連するとの報告がある¹⁻⁴⁾。低出生体重児は、発達の遅れや学習障害⁵⁾、将来の高血圧⁶⁾や心血管疾患^{7, 8)}の危険性を増すとされている。つまり妊娠中のダイオキシン曝露が児に及ぼす影響を明らかにする中で、出生体重に影響を及ぼすメカニズムを決定することは重要である。

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) の作用は、アリル炭化水素受容体 (AhR) を介して表現される。AhRは、シトクロムP450 (CYP) 酵素の誘導を調節する。これらのCYP酵素の誘導は最終的に活性酸素種 (Reactive oxygen species, ROS) の発生を惹起する。そして、このROSによりDNAの損傷⁹⁾がもたらされる。動物モデルでは、低酸素と相まって、TCDDへの子宮内曝露はトロフォブラストのアポトーシスと、子宮内胎児死亡の増加を起こすことが知られている。低酸素への反応はhypoxia-inducible factor (HIF) を介して行われるが、この経路とAhRによって媒介される経路の間のクロストークがこのプロセス¹⁰⁾で重要な役割を演じる。HIF1Aは、また、絨毛外栄養膜細胞 (EVT) 分化¹¹⁻¹⁶⁾の調節で、鍵となる役割を演じている。従って、TCDD曝露は、ROSの増加により胎盤形成に必須なEVT機能に直接影響を及ぼし、結果的に胎盤の機能障害を通して胎児発育制限を引き起こすことが考えられる。しかし、TCDDがヒトEVT^{9, 10)}の生物学的性質に影響を及ぼすというエビデンスはほとんどない。AHRは環境汚染物質のような生体異物に応答して遺伝子転写を調節する¹⁷⁻¹⁸⁾。AHRは哺乳類の組織に幅広く発現しており、TCDD, benzo [a] pyrene (BaP) そして3-methylcholanthrene (3MC)のようなダイオキシン類の受容体として知られているリガンド活性転写因子である¹⁹⁻²¹⁾。ダイオキシンはAhRに結合し、エストロゲン作用あるいは抗エストロゲン作用などの内分泌かく乱物質としての性質を示すことが報告されているが、その効果は細胞によって多様である^{22, 23)}。核内受容体ERとの相互作用も報告されているが、まだ一定の見解は得られ

ていない。また、AhRシグナルは外因性リガンド非依存的に増殖、分化、細胞周期停止やアポトーシスのような生理的影響にも関与する^{22,23)}。AhRを介するシグナル伝達経路についてはいくつかの報告があり、活性型AhRは肝細胞癌発生や胃癌腫瘍形成を誘導する事が報告されている²⁴⁾。一方でAhR経路が抗増殖的に機能すると示している研究もある^{25,26)}。しかしAhRの病理学的意義はまだ議論の余地はあるが、AhRの発現上昇は様々なヒト癌種、例えば肺癌、乳癌、膵臓で報告されている^{27,29,30)}。これらの報告に対して、正常細胞でAhR上昇メカニズムを解明しようとする研究はほとんどない。最近、AhR遺伝子のSNPと癌リスクまたは癌発生間における関連性について肺癌や乳癌で報告された³¹⁻³⁶⁾。これらの研究は発癌や癌発生におけるAhR上昇メカニズムにはいくつかのSNPsが関与することを示唆する。癌患者で見つかっている多型の中でいくつかのSNPsはAhRの上昇に応答している³⁷⁻⁴⁰⁾。しかしながらAhR発現メカニズムにおけるAhR多型の影響を研究する報告はない。

2. 研究開発目的

本サブテーマでは、TCDDがヒトEVTの生物学的性質に与える影響を明らかにすることを目的として、TCDD暴露時のEVTの細胞増殖、浸潤、Tube-like formationならびに分化に関わるタンパク質の発現の評価およびエストロゲンの影響を検討するとともにサイドポピュレーション (SP) 細胞を分離・培養し、ダイオキシンの絨毛幹細胞への影響を解析した。さらにヒトAhRのプロモータ領域SNPsによるAhR転写制御への影響を明らかにする事を目的としAhRプロモータ領域を同定し、プロモータ上のSNPを探索し、遺伝子多型による、ダイオキシンへの感受性が変化するかどうかを検討した。

3. 研究開発方法

(1) TCDDがヒトEVTに与える生物学的影響についての検討

1) 細胞培養

TCL1細胞は、選択的帝王切開の時に絨毛膜から分離された細胞から不死化され樹立された。HTR-8/Svneoは第一三半期のトロフォブラストから不死化され樹立された^{15,16)}。TCL1、HTR-8/Svneoとも10%の胎仔血清 (fetal calf serum, FCS, Gibco Invitrogen) を加えたRPMI1640 (Nipro, Tokyo, Japan)培地または調整培地で、37° C、5%CO2条件で培養した。

2) WST細胞増殖試験

細胞増殖は、コールターカウンターを用いた計測ないしWST-分析で評価した。WST細胞増殖試験は、メーカーのプロトコルに従って市販のキット (WST-1細胞増殖分析システム (Takara, Shiga, Japan)) を使用した。5x10³ 個のTCL1細胞は96穴マイクロプレートに播種し、24時間TCDD/DMSOに暴露した後、WST試薬を加え2時間培養し、450nmでの吸収度をマイクロプレートリーダーを用いて計測した。

3) アポトーシスの検出

アポトーシスはTUNEL法 (a terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated digoxigenin uridine triphosphate (dUTP) nick-end labeling (TUNEL)) により、メーカーのプロトコルに従って市販のキット (TUNEL Label Mix; Roche Diagnostics, Tokyo Japan) を用いて行った。顕微鏡BZ-8100 (KEYENCE, Tokyo, Japan) を用いて (拡大×40-x400)、写真を撮影し、アポトーシス細胞の数は、TUNELに対して陽性の細胞の数を計測した。ひとつの実験に少なくとも3

フィールド計測を行った。

4) 細胞浸潤試験

TCL1細胞の浸潤能は、ボイデンチェンバー (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) を用い、メーカーのプロトコルに従って評価した。それぞれの濃度のTCDD暴露の後、無血清培地を用いて懸濁したTCL1の懸濁液0.5ml、 2×10^5 細胞/ウェルの濃度でボイデンチェンバーの上室に加え、下室は10%胎仔血清を添加したRPMI培地を加え37°Cで24時間培養し、上質側の細胞を綿棒で拭き除去した後細胞を固定し染色した(Diff-Quick Stain Set, Dade Behring, Inc., Newark, DE)。フィルターをNikon Eclipse TS100 (Nikon, Tokyo, Japan)で鏡検し計測した。

5) 細胞スクラッチ試験

24ウェルプレートにTCL1細胞を播種し、単層でコンフルエントになるまで培養した後に200の μ Lピペットを用いて中央部を搔爬した。6、12時間後に、BZ-8100顕微鏡(KEYENCE, Tokyo, Japan)にて写真を撮影し、視野内の空白部をNIHイメージで計測し定量化した。

6) Tube-like formation 試験

Growth factor-reduced Matrigel (BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ)を24ウェルプレートに加え(300 μ L)、37°Cで1時間重合させた。それぞれの濃度のTCDDと2時間暴露し、無血清培地を用いて懸濁したTCL1の懸濁液0.5ml、 2×10^5 細胞/ウェルの濃度でマトリゲル上に加え、Olympus IX71 microscope (Olympus, Tokyo, Japan)を用いて、経時的に鏡検し撮影した。connected capillary bridge (15)を計測し定量化した。ひとつの実験に少なくとも3フィールドは計測を行った。

ウエスタンブロット法

7) 細胞を62.5mM Tris-HCl (pH 6.8), 100mM dithiothreitol, 2%(w/v) sodium dodecyl sulfate (SDS), and 10% glycerolを含む溶解バッファで溶解し細胞タンパクを抽出、pre-stained molecular weight marker (BioRad Laboratories, Hercules, CA)と共にSDSゲル電気泳動を行い、イモビロン-P (ミリポア、ベッドフォード、MA)に転写した。immunoblotting system (GE Healthcare Japan, Tokyo, Japan)を用いて解析した。

(2) TCDDが絨毛幹細胞に与える生物学的影響とエストロゲンの関与についての検討

1) HTR SVneo細胞におけるAhR, ER, ARNTの発現をWestern blotで解析した。

2) HTR SVneo細胞をphenol-red free DMEM+10%chacoal-treated FCSで培養し、 10^{-12} ~ 10^{-8} Mのestradiol (E2)ならびに 10^{-12} ~ 10^{-8} MのTCDDを培養液中に添加し4日目までの生細胞数を測定した。HTR SVneo細胞にプロモーター領域にエストロゲン反応配列を含むルシフェラーゼベクターを形質導入し、 10^{-12} ~ 10^{-8} Mのestradiol (E2)ならびに 10^{-12} ~ 10^{-8} MのTCDDを含むphenol-red free DMEM+10%chacoal-treated FCSで培養し、3日目のルシフェラーゼ活性を測定した。

3) 絨毛細胞株HTR SVneo細胞をHoechst33342で染色後、FACS Vantageを用いて幹細胞分画を多く含んだSP細胞と分化細胞を多く含む分画のnon-SP細胞を分取し、培養した。

それぞれの細胞からRNAを抽出し、SP細胞で発現が亢進している遺伝子をマイクロアレイでスクリーニングしリアルタイムPCRで同定した。同時にAhRの発現も解析した。

4) E2存在下の条件 (DMEM+10%FCS) とE2-低下の条件 (phenol-red free DMEM+10%chacoal-treated FCS)でSP細胞とNSP細胞を培養し、TCDD添加による細胞増殖能を解析した。phenol-red free DMEM+10%chacoal-treated FCSで培養したHTR SVneo親細胞にTCDDを添加し、SP細胞出現率を比較した。

(3) AhR発現メカニズムにおけるAhR多型の影響についての検討

1) 細胞培養

HeLa、TYL-nu、HEC-116そしてHEK293T細胞は10%胎仔血清を加えたDMEM (NACALAI TESQUE, INC., Kyoto, Japan)で培養で37°C、5%CO₂条件で培養した。

2) 組織サンプル

全胎状奇胎 (CHM) 50検体はJSOG分類に従いCHMと診断されたものを用いた。母親由来のものが含まれていない父親由来のものだけで構成されている事を確認する為、17のマイクロサテライト座のジェノタイピングを行い、すべて同一であることを確認し実験に用いた。CHM組織採取にあたり、日本人男性パートナー及び日本人女性ドナー共にインフォームドコンセントの元、同意を得ている。正常子宮内膜は子宮筋腫や子宮内膜症などの理由で子宮摘出を受ける任意の20人より同意を得て採取した。これらは九州大学倫理委員会承認の元に行われた研究の一環で採取された検体である。これらの検体よりRNAとゲノムDNAはAllPrep DNA/RNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)を用いて抽出した。

3) 血液サンプル

血液サンプルは福岡市東区に住む49歳から76歳まで計7132人の中より任意に130検体を選択した。これらのサンプルは九州大学倫理委員会承認の元に行われたコホート研究の一環で採取された検体である。遺伝学的研究の為、同意の元健康な正常女性より採取した。

4) シークエンス解析

CHM検体を用いてヒトAhR転写開始点 (TSS) より上流740bpをPCRし、EXO-SAP後ABI PRISM BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, California, USA)を用いてシーケンスを行った。

5) 一過性トランスフェクション及びルシフェラーゼ解析

ヒトAHR -TSSより-2376 bp, -1417 bp, -452 bp and -122 bp上流をPCRし、pGL-2 Luciferase basic vectorに組み込んだ。各1 μ gルシフェラーゼレポーターとpcDNA3.1- His-LacZをHeLa細胞 (3 \times 10⁵細胞数)にLipofectamine 2000 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)を用いてトランスフェクションした。

6) 蛋白質抽出及びウエスタンブロット

蛋白抽出はice-cold lysis buffer (20 mM Tris-HCl [pH 8.0], 1 % TritonX-100, 10 % glycerol, 137 mM NaCl, 1.5M MgCl₂, 1 nM EGTA, 50 mM NaF, 1 mM Na₂V₀4, 1mM PMSF, 1 μ g/ml leupeptin, 10 μ g/ml aprotinin)を用いて抽出した。15 μ gの蛋白質を10%SDS-PAGEで泳動し、PVDF膜に転写した後5%nonfat dry milkでブロッキングした。一次抗体はNF1 (H-300) (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), GAPDH (FL-335) (Santa Cruz Biotechnology) and NF1C (abcam, Cambridge, UK)を用いて行った。二次抗体はhorseradish peroxidase-linked anti-rabbit antibodies (Promega Madison, WI, USA) or anti-mouse antibodies (Promega)を用いた。検出にはenhanced chemiluminescence system (Chemi-Lumi One L, Nacalai Tesque)を用いて検出した。

7) ChIP解析

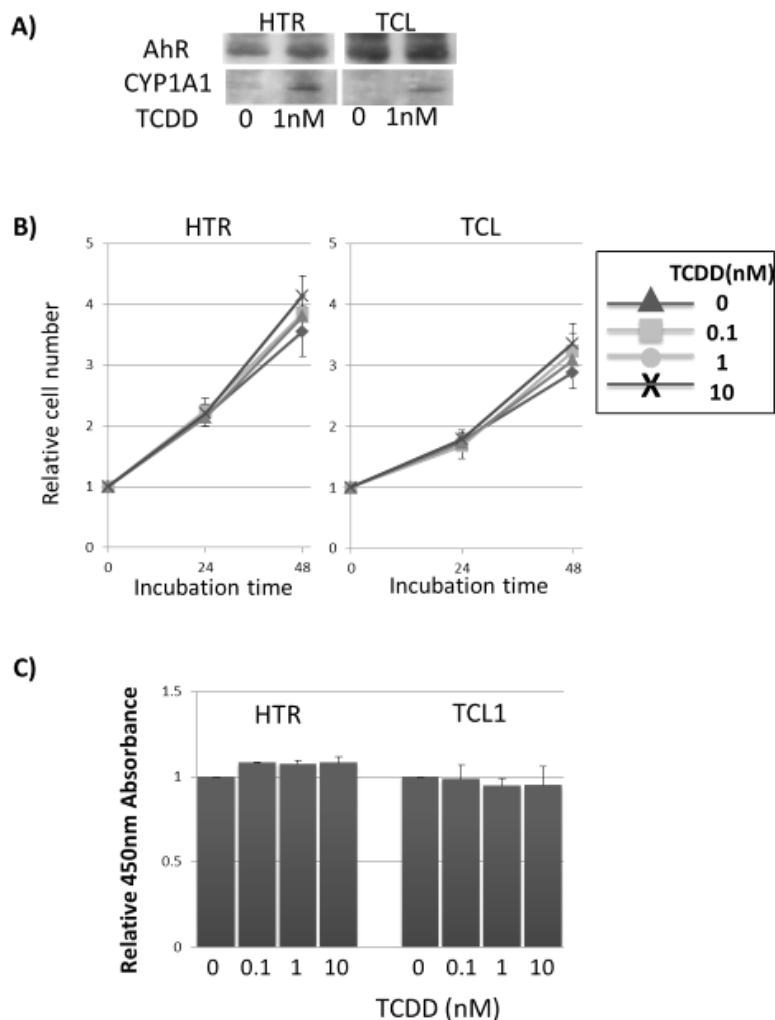
ChIP解析は報告されている方法で行った (19)。細胞を0.4%ホルムアミドで固定及びクロスリン

クシ0.125Mグリシンで中和した。1 μ g mouse control IgG and 40 μ l Protein A/G agarose beads (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA) でプレクリアし、免疫沈降に用いる抗体は2 μ g of anti-NF1C (abcam, ab89516) or Histone H3 (Millipore, Billerica, MA, USA) 抗体を用いた。その後洗浄プロテインK処理後、PCRを行う。プライマーは follows: pAHR-NBS forward, 5' -GTCCTACGTCATCACGTGCC-3' ; pAHR-NBS reverse, 5' -TCCTGCTTGCCCCGCCCAT-3; pAHR-unrelated forward, 5' - AACTGAAAGGTGGCTTACTG-3' ; pAHR-unrelated reverse, 5' -CAAGGAAGTAGATGGACATC-3' を用いた。

4. 結果及び考察

(1) TCDDがヒトEVTに与える生物学的影響についての検討

1) HTR-8/SV40, TCL1細胞におけるAhR発現



図(3)-1) -1 : TCDDがヒト絨毛細胞株増殖能に与える影響

HTR-8/SV40とTCL1細胞が機能的なTCDD受容体を発現しているかどうかを確認するために、AhRと

CYP1A1 (図(3)-1) -1A) についてウエスタンブロット法を行った。両方の細胞とも、AhRタンパク質を発現していた。さらに1nMのTCDDを加えて培養したところ、CYP1Aタンパク質がAhRとともに誘導された。

2) TCDDは、HTR-8/SV40およびTCL1細胞の細胞増殖、アポトーシスに影響を及ぼさない

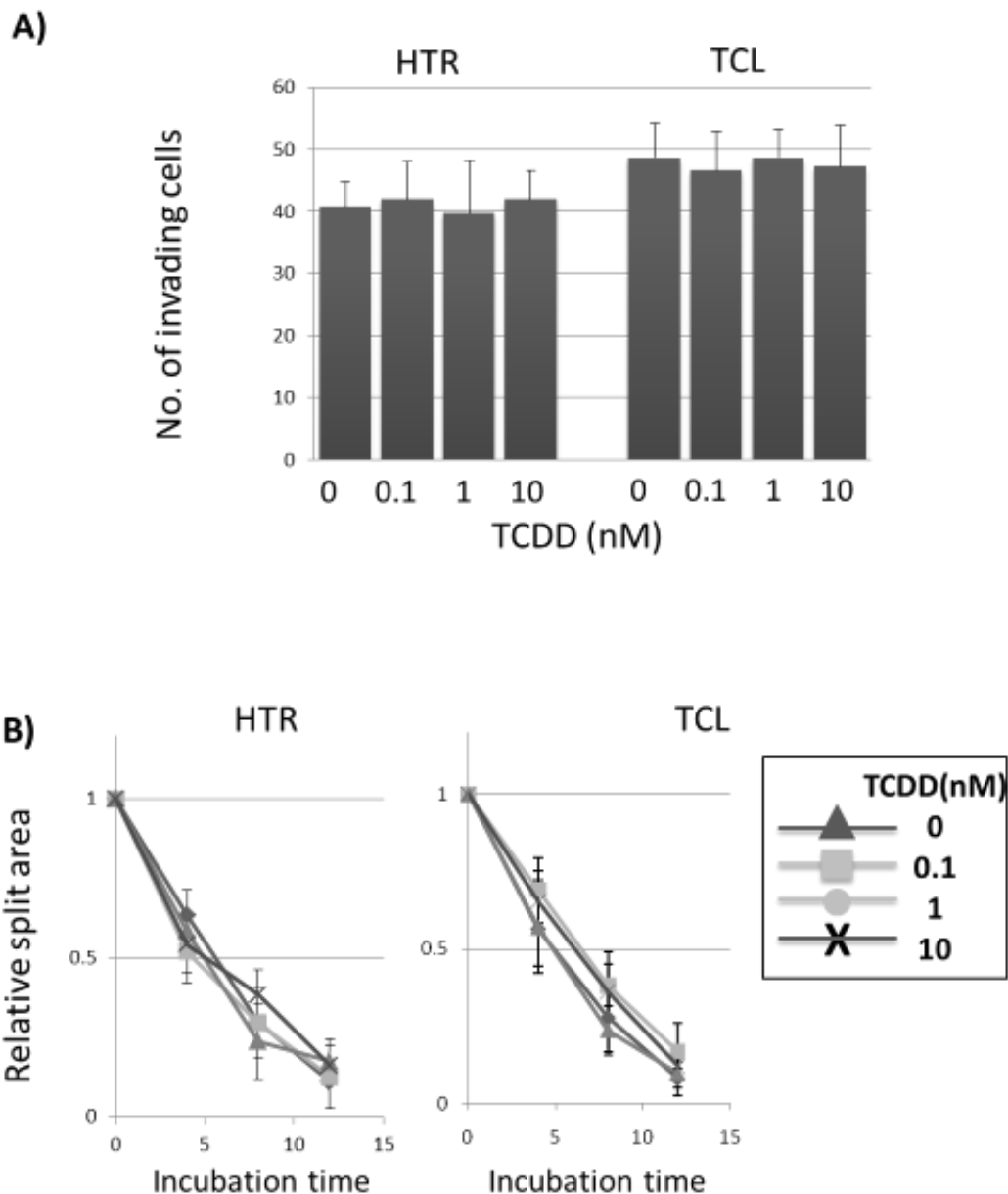
TCDDのEVTの細胞増殖に対する効果を調べるために、細胞増殖曲線を計測した。0.1、1、10nMのTCDD存在、非存在下にTCL、HTR細胞 (図(3)-1) -1B) の細胞数を24、48時間後に計測した。0、0.1、1、10nMのTCDDによるインキュベーションの後の相対細胞数はHTR-8/SV40細胞では、24時間では 2.17 ± 0.19 、 2.25 ± 0.38 、 2.14 ± 0.11 または 2.20 ± 0.11 で、48時間では、 3.55 ± 0.41 、 3.85 ± 0.23 、 3.80 ± 0.15 、 4.14 ± 0.26 細胞であった。(図(3)-1) -1A左)。TCL細胞では0、0.1、1、10nMのTCDDによるインキュベーションの後の相対細胞数は、24時間では 1.76 ± 0.15 、 1.68 ± 0.21 、 1.73 ± 0.09 または 1.79 ± 0.11 、48時間では、 2.88 ± 0.33 、 3.23 ± 0.30 、 3.09 ± 0.12 、 3.36 ± 0.26 であった。(図(3)-1) -1B)

WST細胞増殖試験では、TCL1細胞 (図(3)-1) -1C) の0.1、1、10nMのTCDD24時間暴露後の吸光度値は、対照に比し、 1.08 ± 0.01 、 1.08 ± 0.02 倍、HTR細胞では同じく 1.47 ± 0.13 と 0.98 ± 0.08 倍であった。TUNEL法を用いて評価した0、0.1、1または10nMのTCDD24時間暴露後の、TCL1とHTR-8/SV40細胞のアポトーシス細胞の割合はTCDDの濃度で差はなかった

3) TCDDは、HTR-8/SV40、TCL1細胞の浸潤、運動能に影響を与えない

TCDDのTCL1とHTR-Neoの細胞浸潤能に対する効果を調べるために、ボイデンチェンバー法を行った。0.1、1または10nMのTCDDで24時間培養後の浸潤細胞数はHTR細胞では、 40.7 ± 4.0 、 42.0 ± 6.1 、 39.7 ± 8.5 、or 42.0 ± 4.6 、TCL1細胞では、 48.7 ± 5.5 、 46.7 ± 6.1 、 48.7 ± 4.5 、or 47.3 ± 6.5 であった。

次いでスクラッチ法でHTR-8/SV40とTCL1細胞の運動能へのTCDDの影響を評価した。0、0.1、1または10nMのTCDD12時間暴露後の相対的な無細胞領域の広さはHTR細胞 (図(3)-1) -2) では 0.11 ± 0.08 、 0.13 ± 0.10 、 0.18 ± 0.07 and 0.16 ± 0.02 倍、TCL細胞では (図(3)-1) -2) と 0.08 ± 0.06 、 0.17 ± 0.09 、 0.10 ± 0.02 and 0.12 ± 0.07 倍でTCDD暴露による用量依存的な影響は見られなかった。



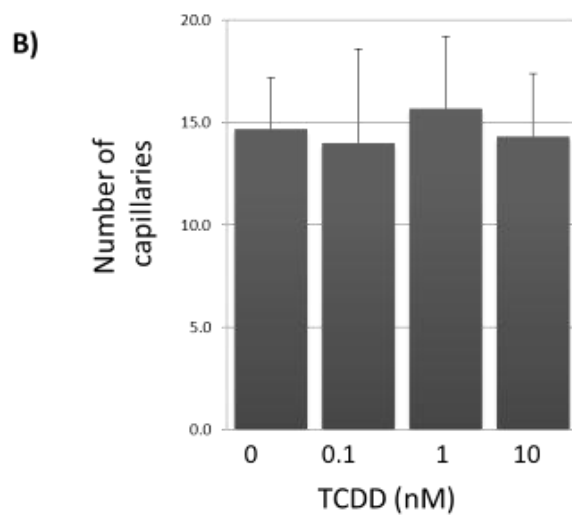
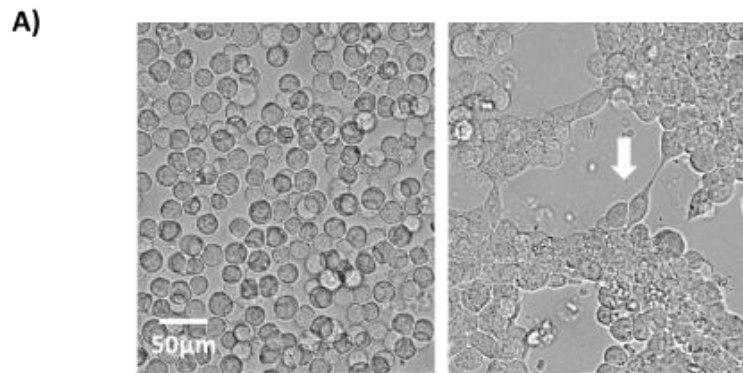
図(3)-1) -2 : TCDDがヒト絨毛細胞株浸潤能に与える影響

4) TCDDは、TCL1でチューブ-構造活動に影響を及ぼさない

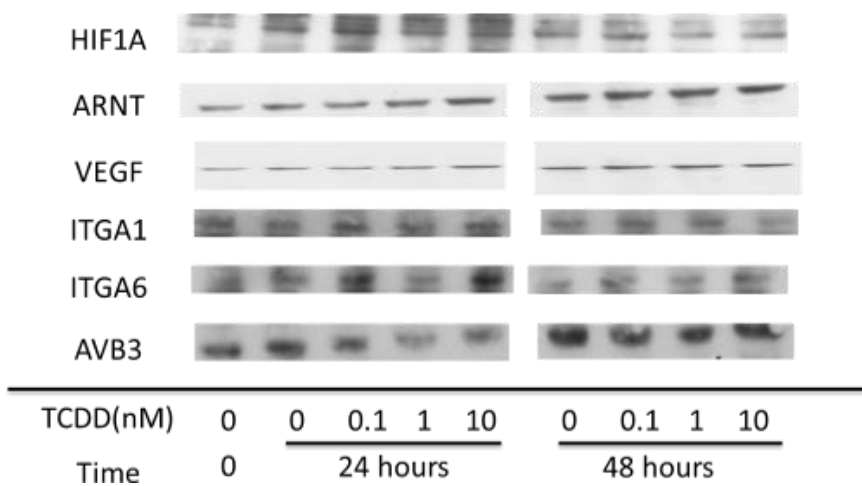
マトリゲル上でTCL1細胞は血管内皮細胞に特異的な形質であるTube-like formationを呈する(図(3)-1) -3)。0.1, 1, 10nMのTCDD存在、非存在下に8時間培養したTCL1細胞におけるcapillary networks (矢印) の数は、 14.7 ± 2.5 、 14.0 ± 4.6 、 15.7 ± 3.5 または 14.3 ± 3.1 であった。

5) TCDDは、EVT分化に関連したタンパク質の表現度に影響を及ぼさない

次いで、TCDDがTCL1細胞の分化と関連していることが知られているHIF1A、VEGF、ITGA1、A6、AVB3のタンパク発現に与える影響を調べるためにウエスタンブロット解析を行った。0.1, 1または10nMのTCDDへの24または48時間暴露では、タンパク発現には差はみられなかった(図(3)-1) -4)



図(3)-1) -3

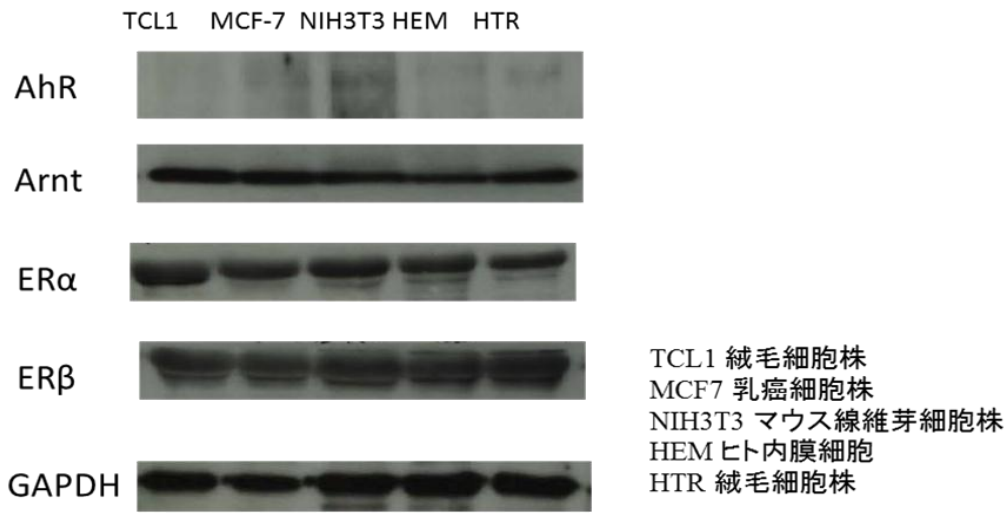


図(3)-1) -4 : TCDDがヒト絨毛細胞株分化関連マーカー発現に与える影響

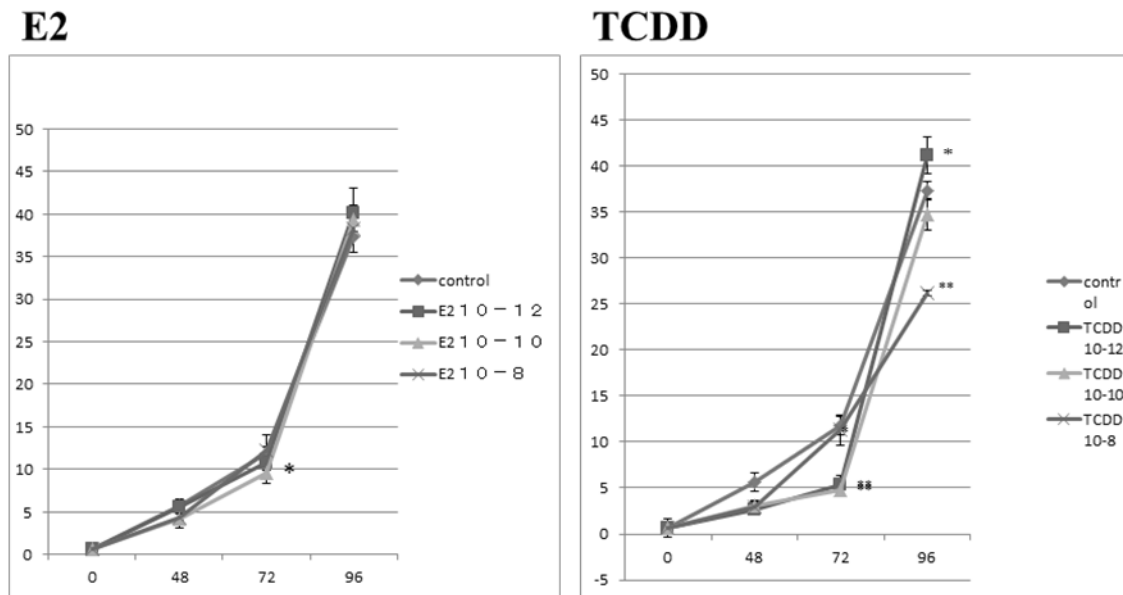
(2) TCDDがヒトEVTに与える生物学的影響へのエストロゲンの関与についての検討

1) エストロゲン、TCDDの絨毛細胞増殖能への影響

HTR SVneo細胞におけるAhR, ER, ARNTの発現をWestern blotで確認した(図(3)-2)-1)。 10^{-12} ~ 10^{-8} Mのestradiol (E2)添加は無添加群にくらべ、HTR SVneo細胞の増殖能に変化はなかった。TCDD添加は 10^{-10} ~ 10^{-8} M では細胞増殖に変化はなかったが、 10^{-8} Mの高濃度では抑制した(図(3)-2)-2)。



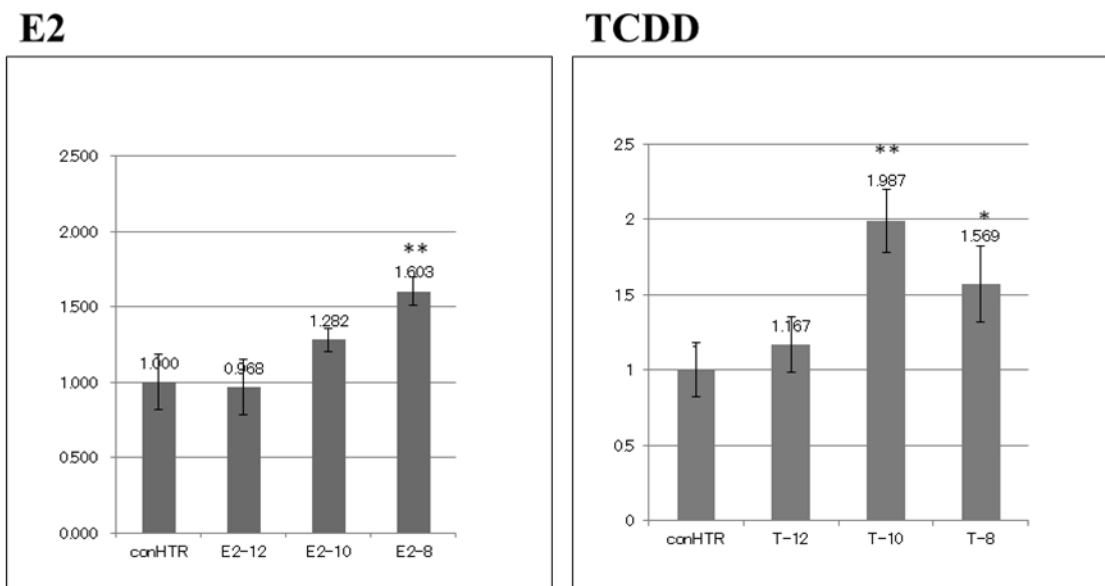
図(3)-2)-1



図(3)-2-2: エストロゲン、TCDDの絨毛細胞増殖能への影響

2) エストロゲン、TCDDの絨毛細胞におけるエストロゲンレセプター転写能への影響
 10^{-8} Mのestradiol (E2) 添加と 10^{-10} MのTCDD添加群は無添加群に比べ有意にHTR SVneo細胞におけるエストロゲンレセプター転写能を亢進させた (図(3)-2) -3)。

Luciferase assay



図(3)-2) -3 : エストロゲン、TCDDの絨毛細胞におけるエストロゲンレセプター転写能への影響

3) 絨毛SP細胞の分離

DMEM with 10% serumで培養したHTRSVneo細胞を解析したところ、SP細胞をみとめた(図(3)-2)-4)。このSP分画はVerapamil処理で消失した。今回分離したHTR SVneo-SP細胞とNSP細胞を用いてマイクロアレイ解析を施行したところ、SP細胞においてNSP細胞に比べ代表的なstemness geneであるALDH3とSOX2の発現亢進がみとめられたことよりSP細胞は幹細胞を多く含む分画であることが示された。

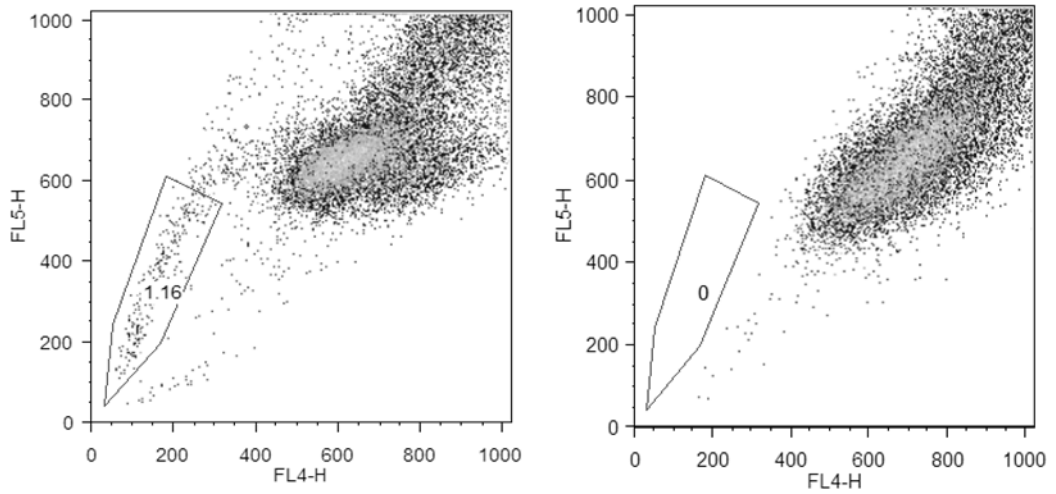
これらの遺伝子の発現をリアルタイムPCRで確認したところ、ALDH3は58倍、SOX2は2.24倍の発現亢進をみとめた(図(3)-2)-4)。

4) 絨毛SP細胞におけるAhRの発現増加とシグナル解析

マイクロアレイ解析ではAhRも発現がNSP細胞に比べSP細胞で亢進しており、同様にリアルタイムPCRで確認したところ約2倍の発現亢進がみとめられた(図(3)-2)-5)。

HTR SV neo細胞におけるSP細胞の存在

HTR SVneo

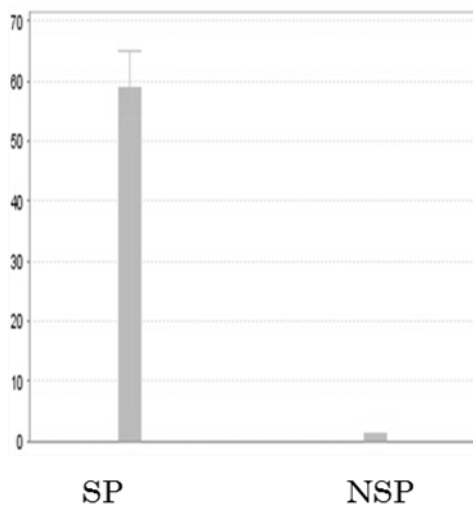


Verapamil -

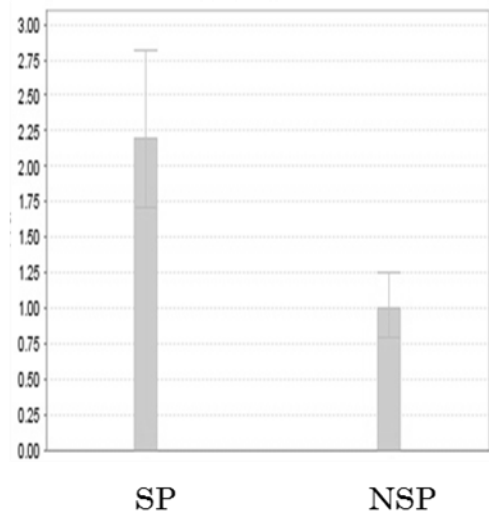
+

(DMEM with 10% serum培養条件下)

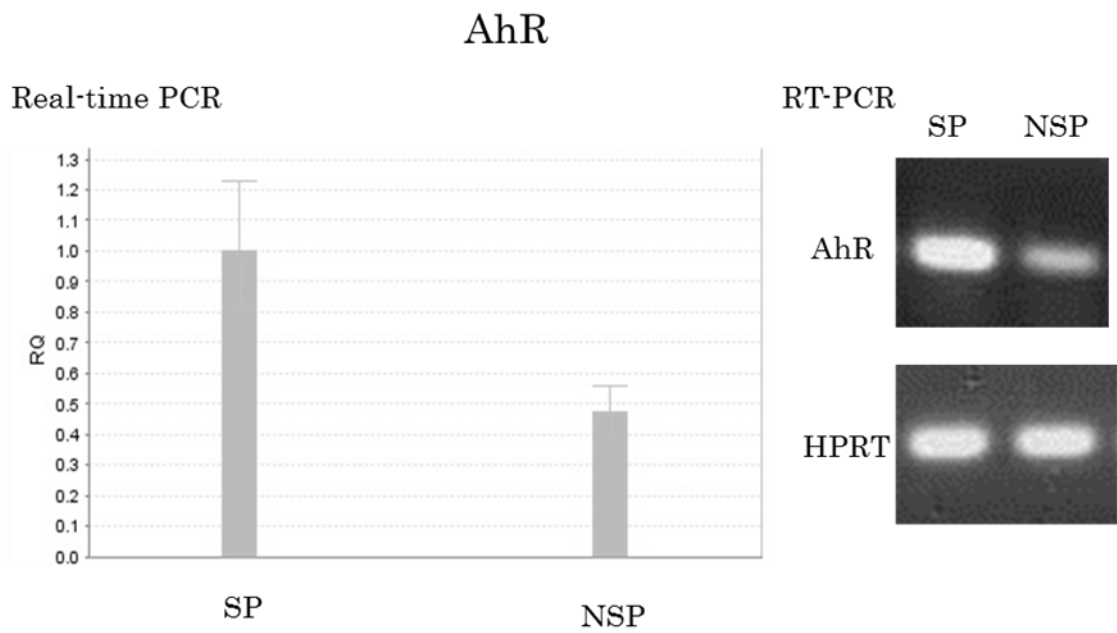
ALDH3 (58倍)



SOX2 (2.24倍)



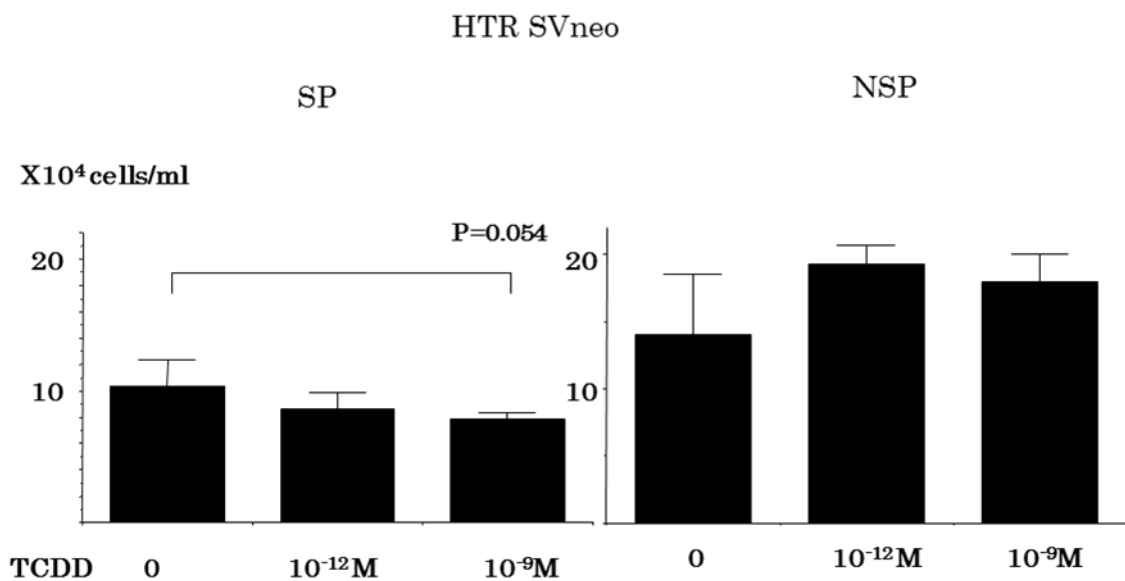
図(3)-2) -4) : 絨毛SP細胞の分離



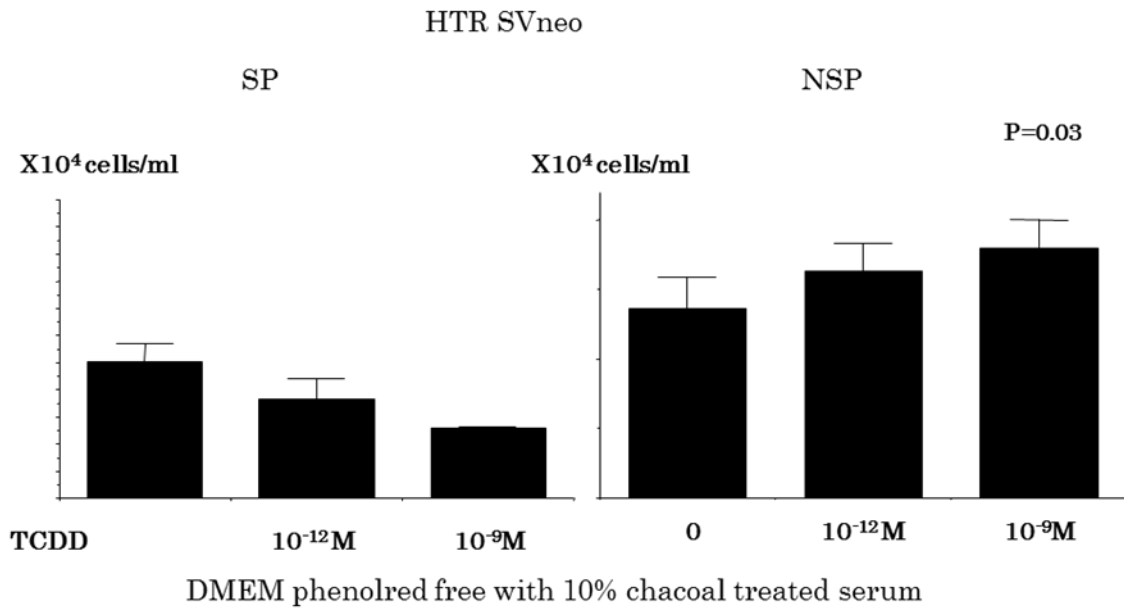
図(3)-2) -5 : 絨毛SP細胞におけるAhRの発現

5) TCDDの絨毛SP細胞とNSP細胞増殖能に対する効果

DMEM with 10% serum培養条件下では、TCDD添加により、SP細胞は増殖が抑制、NSP細胞は増殖が促進される傾向がみられたが、有意差は出なかった（図(3)-2) -6）。DMEM phenolred free with 10% charcoal treated serum(E2低下条件の培地)培養条件下でも同様に、TCDD添加により、SP細胞は増殖が抑制、NSP細胞は増殖が促進され 10^{-9}M では有意差がみられた（図(3)-2) -7）。



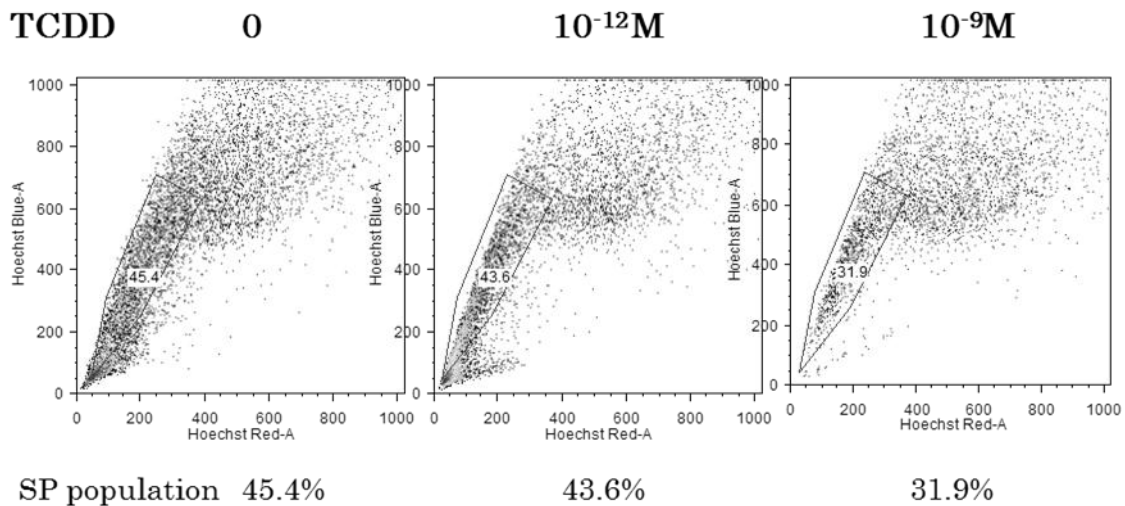
図(3)-2) -6 : TCDDの絨毛SP細胞とNSP細胞増殖能に対する効果1



図(3)-2) -7 : TCDDの絨毛SP細胞とNSP細胞増殖能に対する効果2

6) TCDDのSP細胞出現率への影響

DMEM phenolred free with 10% chacoal treated serum条件下で培養したHTRSV_{neo}親細胞を用いて、SP細胞の比率を解析したところ、10⁻⁹M TCDDは HTRSV_{neo}親細胞のSP細胞の出現率を低下させた(図(3)-2) -8)。

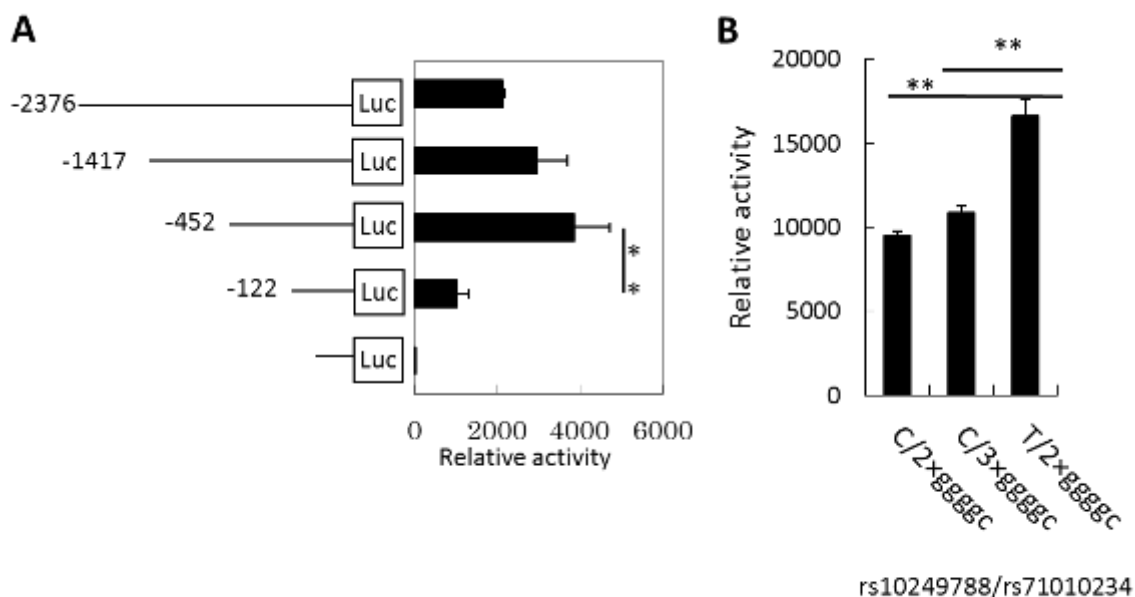


図(3)-2) -8 : TCDDのSP細胞出現率への影響

(3) AhR発現メカニズムにおけるAHR多型の影響についての検討

1) ヒトAhRプロモータの同定

ヒトAhRのプロモータを決定する為、AhR上流-1から-2376bpまでの各コンストラクト (pAhR-2376, pAhR -1417, pAhR -452とpAhR -122) をルシフェラーゼベクターに組み込み、HeLa細胞を用いてルシフェラーゼレポーター解析を行った。pAhR-2376からpAhR -452のレポーター活性は類似していた。それに対してpAhR -122ではより低い活性を示した。しかし、その活性もプロモータを含まないコントロールレポーターに比べて1000倍も高い活性を示した。(図(3)-3) -1)



図(3)-3) -1 : ヒトAhRプロモータの同定

2) ヒトAhRプロモータ上のSNPの探索

Fig1AでヒトAhRプロモータ領域を決定したので、我々は日本人集団の中でこの領域のSNPsを調べた。50人の日本人全胎状奇胎(CHM)検体と健常女性130人の血液検体を用いた。AhR上流-1から-452bpまでの間でNCBIのdbSNPで報告されているSNPsは9個あり、50人のCHM検体の中で、そのうちSNP rs10249788 (-130, C>T) と rs71010234 (-59, ggggcggggc, also described as 2×ggggc)が見つかった(表(3)-3) -1)。

SNP rs10249788 (-130, C>T)はC:T=76.0%:24.0%の頻度で、SNP rs71010234はほとんどが3×ggggc (54.0%)、2×ggggc (42.0%)であった。これら2つのSNPsはTSSから-130と-59bpに位置していた。

ハプロタイプとは同一染色体上で統計学的に遺伝的に連鎖している多型の組み合わせの事を示す。ある一定の範囲について少数の対立遺伝子を同定する事により他の多型座位を決める事が出来、これらの情報により癌などの疾病の遺伝的要因を調べるのに有用である。そこでハプロタイプを決めるため、SNP rs10249788とrs71010234のコンビネーションパターンを調べた。94%が3つ

のパターンに分けられた ; (C, 2×ggggc; T, 2×ggggc; C, 3×ggggc) (表(3)-3) -2)。

表(3)-3) -1) CHMにおけるAhR上流部位のSNP遺伝子型

SNP局在	遺伝子型	n	割合 (%)	
-59	rs71010234	1×ggggc	1	2.0
		2×ggggc	21	42.0
		3×ggggc	26	54.0
		4×ggggc	1	2.0
		5×ggggc	1	2.0
-67	rs72152648	ggcggggcg	0	0
		-	50	100
-72	rs72286154	gggcggggcggggcg	0	0
		-	50	100
-130	rs10249788	C	38	76.0
		T	12	24.0
-188	rs71010233	G	0	0
		-	50	100
-195	rs41446044	G	50	100
		C	0	0
-196	rs11330131	G	0	0
		-	50	100
-222	rs41351350	G	50	100
		A	0	0
-268	rs74739585	T	48	96.0
		C	2	4.0

表(3)-3) -2. CHM由来AHRプロモータにおけるSNPsのコンビネーション

rs10249788	rs71010234	n	ratio (%)
C	3×ggggc	26	52.0
T	2×ggggc	12	24.0
C	2×ggggc	9	18.0
C	1×ggggc	1	2.0
C	4×ggggc	1	2.0
C	5×ggggc	1	2.0

AHR転写上のこれらの多型パターンの評価を行うため、この3つのパターンを含むルシフェラーゼレポーターを作成し、プロモータ活性の比較を行った。C, 2×ggggcとC, 3×ggggcの間ではプロモータ活性に違いは見られなかったが、C, 2×ggggcに比べてT, 2×ggggcでは1.75±0.37倍高いAHRプロモータ活性が認められた(図(3)-3) -1B: **, p<0.01)。このデータはSNP rs10249788の多型で活性が変化している事が示唆された。次に130人の健常人血液検体を用いてCHM検体と同様のSNPs解析を行った。SNP rs10249788の遺伝子型頻度を表(3)-3)-3に示した。この値はHardy-Weinberg equilibriumに一致している(p=0.751)。SNP rs10249788のCとTアレルの頻度は67.3%と32.7%であった。CHM検体及び血液検体でCアレルがドミナントであり、統計学的有意差は認められなかった(表(3)-3) -1, 3:p=0.478)。

表(3)-3) -3. 血液サンプル由来の rs10249788 遺伝子型頻度

Samples group (n)	C/C	C/T	T/T
Healthy women (130)	57 (43.9 %)	61 (46.9 %)	12 (9.2 %)
HEC (107)	49 (46.2 %)	44 (41.5 %)	13 (12.3 %)
Early stages (87)	41 (47.1 %)	39 (44.8 %)	7 (8.1 %)
Advanced stages (20)	8 (40.0 %)	6 (30.0 %)	6 (30.0 %)

4) SNP rs10249788はAHRプロモータ活性に影響した

遺伝子制御部位上のSNPsは転写因子のDNA結合部位を欠失させるあるいは生じることにより転写に影響する事が報告されている。我々はSNP rs10249788により影響を受ける転写因子の探索をデータベースALIBABA2.1を用いて行った。これより我々はSNP rs10249788により影響を受ける転写因子結合部位としてNF1結合部位に注目した。NF1は以下の下線部で構成されるパルンドロームに結合する: 5' -TTGG(C/A)(N)₅(G/T)CCAA-3' ^{20,21)}。AhRプロモータ上の候補となるNF1結合部位は5' -A(C/T)GGAATGGAATCCAG-3' であり、標準のコンセンサス配列とは一部異なるが、p53制御部位上のNF1C結合部位に類似していた ²²⁾。NF1CはNF1ファミリーに属し、腫瘍抑制剤として働くことが知られている ^{22,23)}。

5) SNP rs10249788はAHRプロモータへのNF1C結合に影響した

NF1が特異的にSNP rs10249788に結合するか否かを調べるため、SNP rs10249788部位のC/CまたはT/Tを持つ細胞株HeLa細胞とTYK-nu細胞株におけるNF1の蛋白質発現をウエスタンブロット法で調べた。両細胞は同等量のNF1蛋白質を発現した(図(3)-3) -2A, B)。クロマチン免疫沈降(ChIP)解析はSNP rs10249788のCまたはTにおけるNF1の結合、特にNF1Cの結合力を評価する為に抗NF1C抗体を用いて両細胞間で行った。HeLa細胞及びTYK-nu細胞共にSNP rs10249788を含む部位でNF1Cの結合が認められた(図(3)-3) -2C, D)。リアルタイムPCRによりHeLa細胞(C/C)ではTYK-nu細胞

(T/T) に比べ 1.47 ± 0.77 倍強く AHR 制御部位と NF1C 間の結合が認められた (図 (3)-3)
 -2D:*, $p < 0.05$)。次に SNP rs10249788 部位に C/T アレルを持つ Hec116 細胞株を用いて実験を行った。
 Hec116 細胞は NF1C の発現が弱いことから、Flag タグを付けた全長 NF1C が組み込まれた発現ベクター
 を用いて Hec116 細胞に遺伝子導入を行った (図 (3)-3) -2E)。その細胞溶解物は抗 NF1C 抗体で
 免疫沈降し、沈澱してきた DNA を増幅しサブクローニングした後、SNP rs10249788 を含む部位のシ
 ークエンス解析を行った。各 20 コロニーを各 5 回の独立した実験でそれぞれ任意に選択し解析し
 た結果、SNP rs10249788 の塩基配列は 17.4 ± 4.4 コロニーが C、 3.2 ± 1.1 コロニーが T であった
 (Fig. (3)-3) -2F)。このデータは NF1C が結合の為に T より C を選択する事を裏付けた。

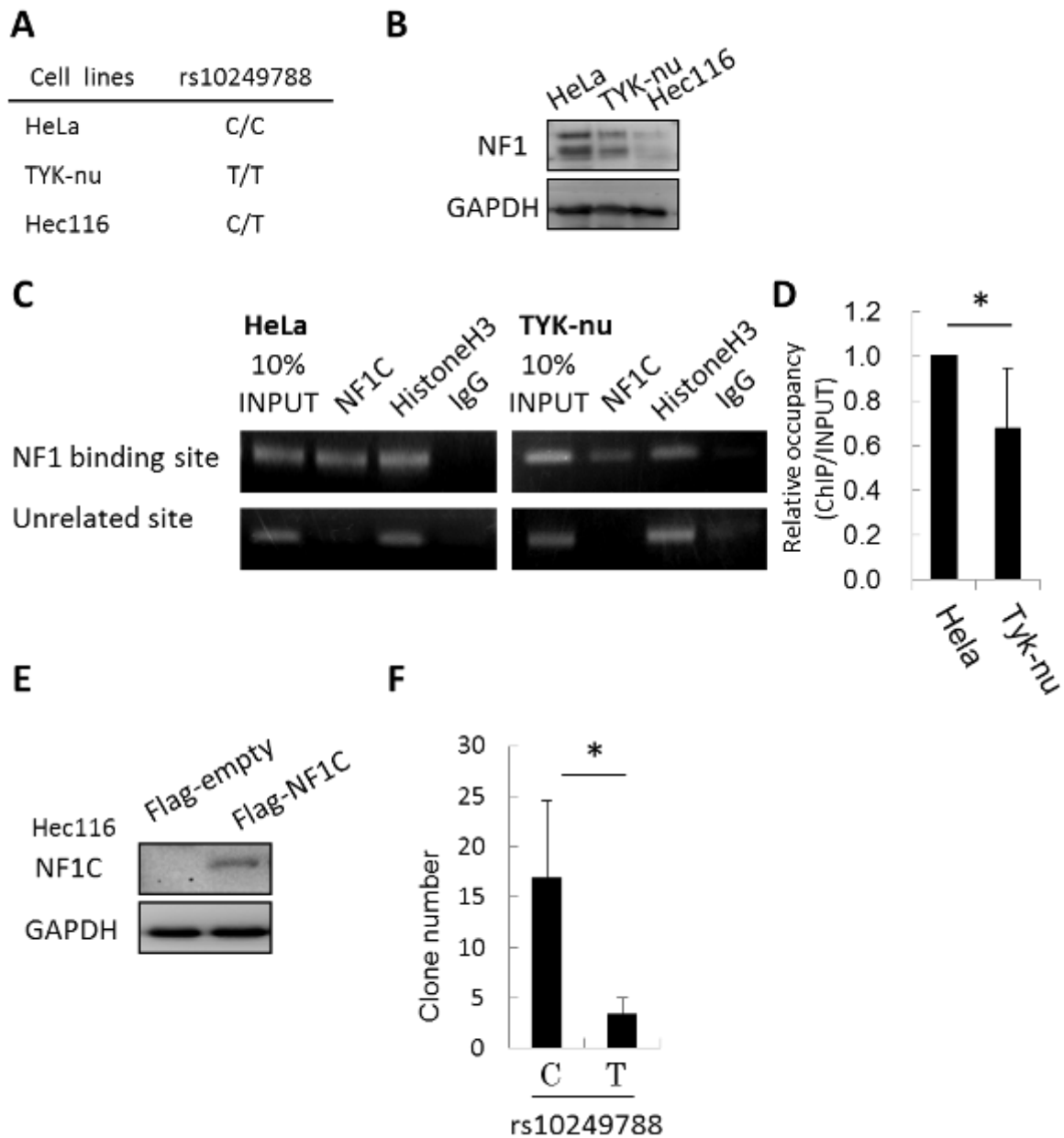


図 (3)-3) -2 : SNP rs10249788 の AHR プロモータへの NF1C 結合に対する影響

考察

TCDDは直接のみならず、胎盤の形成障害や、内分泌機能への間接的な影響など、様々なメカニズムによって胎児の発育に影響を及ぼしていると考えられる。暴露期間によっても、TCDDは影響を生じるかもしれないが、少なくとも、今回の我々の研究では短期TCDD暴露は、EVTの細胞増殖や浸潤、分化機能に対して影響がなかった。

TCDDが絨毛細胞機能に与える影響についての研究は少なく、未だ結論はでていない⁴¹⁻⁴⁴⁾。JAR細胞ではTCDDは用量依存的にアポトーシスを誘導する。一方絨毛がん由来のJEG-3細胞ではTCDD、PCDD/PCDFのいずれもDNA損傷やアポトーシスを起こさないと報告されている。加えて、絨毛の一次培養では、妊娠時期によってもTCDDの影響は異なるとの報告もある。しかしながらアポトーシスを誘導するTCDD濃度には報告により大きな際があることも加味すれば、TCDD暴露で起こる初期流産は内分泌環境の破綻による胎盤機能不全と胚への循環不全とによっておこる可能性があると考えられる。

今回の研究において、ヒトへの暴露濃度としては比較的高濃度である0.1-10nmのTCDD⁴¹⁻⁴⁵⁾は、EVT由来培養細胞の増殖や、機能的分化またはタンパク質発現に影響を及ぼさなかった。これは油症研究におけるダイオキシン暴露妊婦の追跡調査において、胎児の発育制限と流産が増加していた一方、絨毛細胞障害によって発症が増加する妊娠高血圧症候群⁴⁵⁻⁴⁷⁾の発生率が変化していなかったことと合致する所見であった。

ラットにおいてはTCDDとHxCDDは、insulin-like growth factor I (IGF-I) のシグナル伝達阻害により胎仔の成長が妨げられることが知られている⁴⁸⁾。TCDDとPCDD/PCDF暴露は、同様にトロフォブラスト由来細胞であるJEG-3細胞のhCG分泌を阻害することが報告されている⁴¹⁾。今回の結果は、胎児の発育に対するTCDDの影響は絨毛細胞の機能障害ではなく、内分泌機能など、他の経路を介する可能性を指示するものと考えられる。

HTR-Svneo細胞にはSP細胞が存在し、複数のstemnessに関与する遺伝子群の発現亢進がみとめられること、ダイオキシンレセプターAhRのmRNAはNSP細胞に比べ、SP細胞で発現が増加していること、TCDDは濃度依存性にSP細胞に対して増殖抑制、NSP細胞に対しては増殖促進効果を持つ傾向があり、特にE2非存在下でその効果は優位であること、TCDDはSP細胞（特にpure stem cells）を減少させることを示した。以上より、TCDDは絨毛幹細胞の増殖・維持には抑制的に作用することが示唆された。最近、乳癌幹細胞の増殖がAhR agonistにより抑制されること、AhR antagonistがヒト血液幹細胞の増殖を抑制すること⁴⁹⁾、AhRの活性化はMCF細胞において、乳癌幹細胞の特性のひとつであるmammosphereの形成を抑制すること⁵⁰⁾などが報告されている。また、我々の結果では、分化細胞であるNSP細胞の増殖は促進していた。白血病幹細胞においても、AhRの活性化がレチノイン酸で誘導される分化を促進するという報告があり⁵¹⁾、分化細胞に対しては、促進的に作用する可能性がある。

ダイオキシン類を含む生体異物化合物による暴露は動物やヒトへ様々な毒性及び発癌性応答をもたらす。AhRは標的遺伝子を活性化する為、暴露により結合したダイオキシン類により活性化され核内へと移行すると考えられている。転写を活性化する従来の機能に加え、AhR細胞増殖、分化、細胞周期停止やアポトーシスにも関与する²⁴⁾。本課題ではヒトAhRのプロモータ領域SNPsによるAhR転写制御への影響を明らかにする事を目的とした。

我々はAhR-TSS上流-452bp間のプロモータ上にSNP rs71010234 (2×ggggc) とrs10249788 (C>T)

をみつけ、rs71010234はAhRの転写活性を制御する特徴なSNPではない事を明らかにした。しかしSNP rs10249788ではCに比べTで高いAhRプロモータ活性を示す事が明らかとなった。この活性の違い理由には転写因子が結合することが予想され、結果としてSNP rs10249788部位に1つのNF1結合部位を見出した。癌細胞におけるAhR転写制御の研究に繋げるため、我々はNF1Cに注目した。NF1Cは腫瘍サプレッサーとして知られているNF1ファミリーの転写因子である^{41,42}。AhRプロモータ上のNF1結合部位はp53制御部位上のNF1C結合部位と類似していた⁴¹。また、すでに報告されているAhRプロモータの特徴として、基本的なTATA-boxを欠損し、転写因子Sp1の結合部位を含むGC-boxが存在する事が分かっている⁵²。AhRプロモータ上のSp1の結合はAhRの発現を上昇させる事が報告されている⁵³。一方、NF1ファミリーメンバーのNF1XはSp1と相互作用し、プロモータのSp1結合を拮抗する事でPDGF-Aの転写を抑制することが報告されている⁵⁴。AhRプロモータ上のNF1結合部位の隣接部にもGC-boxが存在する。これらの背景よりNF1CはAhRプロモータ上のSp1の結合を拮抗する事によってAhRの転写を抑制すると考えられる。SNP rs10249788部位への結合はTアレルに比べCアレルで強く結合する事も明らかとなった。これらのことからAhRプロモータ上のSNP rs10249788によりAhRの転写が制御されている可能性が考えられる。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

EVT由来細胞株を用いた検討では、その増殖、浸潤は、一般的な血中濃度を大きく超える濃度のTCDD曝露でも明らかな変化をしめさなかった。一方、TCDDのレセプターであるAhRのプロモーター領域について、胞状奇胎検体を用いて検討したところ、4種類の一塩基変異がみられること、そのうちの1種類は転写活性が高いことがわかった。これらの結果から、TCDDのヒト絨毛細胞への影響は単純な毒性ではなく、他の液性因子の効果を修飾するような作用を示しているような可能性、あるいは個々の個体での、レセプター発現やSNPsによる差が表現型の発現に大きく影響する可能性を示唆するものと考えられた。

(2) 環境政策への貢献

SNPsと個体におけるTCDDの感受性の関連について明らかとなれば、TCDDの影響を受けやすい高感受性の個体への暴露防止策などあらたな対策がとれるものと思われる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

Fukushima K, Tsukimori K, Li D, Takao T, Morokuma S, Kato K, Seki H, Takeda S, Matsumura S, Wake N. Hum Exp Toxicol, (2012)

“Effect of transient TCDD exposure on immortalized human trophoblast-derived cell lines.”

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない

（２）口頭発表（学会等）

特に記載すべき事項はない

（３）出願特許

特に記載すべき事項はない

（４）シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

特に記載すべき事項はない

（５）マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない

８．引用文献

1. Hertz-Picciotto I, Charles MJ, James RA, Keller JA, Willman E, Teplin S. :Epidemiology 16, 648-656 (2005)
“In utero polychlorinated biphenyl exposures in relation to fetal and early childhood growth”
2. Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J Environ Res 109, 906-913(2009)
“Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight”
3. Sagiv SK, Tolbert PE, Altshul LM, Korrick SA: Epidemiology 18, 120-129(2007)
“Organochlorine exposures during pregnancy and infant size at birth”
4. Sonneborn D, Park HY, Petrik J, Kocan A, Palkovicova L, Trnovec T: Paediatr Perinat Epidemiol 22, 202-213(2008)
“Prenatal polychlorinated biphenyl exposures in eastern Slovakia modify effects of social factors on birth weight”
5. Weindrich D, Jennen-Steinmetz C, Laucht M, Schmidt MH. Dev Med Child Neurol 45, 463-469(2003)
“Late sequelae of low birthweight: mediators of poor school performance at 11 years”
6. Law CM, Shiell AW, Newsome CA, Syddall HE, Shinebourne EA, Fayers PM: Circulation 105, 1088-1092(2003)
“Fetal, infant, and childhood growth and adult blood pressure: a longitudinal study from birth to 22 years of age”
7. Barker DJ. : Trends Endocrinol Metab 13, 364-368(2002)

- “Fetal programming of coronary heart disease”
8. Barker DJ, Osmond C, Kajantie E, Eriksson JG. : *Ann Hum Biol* 36,445-458(2009)
“Growth and chronic disease: findings in the Helsinki Birth Cohort”
 9. Mimura J, Fujii-Kuriyama Y. : *Biochim Biophys Acta* 1619,263-268(2003)
“Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD”
 10. Ishimura R, et al. : *Toxicol Sci.* 91,265-74(2006)
“Suppressive effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on vascular remodeling that takes place in the normal labyrinth zone of rat placenta during late gestation”
 11. Miyamoto S, Komatsu H, Tsukimori K, Kobayashi H, Seki H, Takeda S, Nakano H: *Biol Reprod* 68,1771-1778(2003)
“TNF-Induced Apoptosis and Integrin Switching in Human Extravillous Trophoblast Cell Line”
 12. Fukushima K, Miyamoto S, Tsukimori K, Kobayashi H, Seki H, Takeda S, Kensuke E, Ohtani K, Shibuya M, Nakano H: *Biol Reprod* 73,172-9(2005)
“Tumor Necrosis Factor and Vascular Endothelial Growth Factor Induce Endothelial Integrin Repertoires, Regulating Endovascular Differentiation and Apoptosis in a Human Extravillous Trophoblast Cell Line”
 13. Fukushima K, Murata M, Hachisuga M, Tsukimori K, Seki H, Takeda S, Kato K, Wake N: *Placenta* 29,898-904(2008)
“Gene Expression Profiles by Microarray Analysis during Matrigel-induced Tube Formation in a Human Extravillous Trophoblast Cell line: Comparison with Endothelial Cells”
 14. Fukushima K, Murata M, Hachisuga M, Tsukimori K, Seki H, Takeda S, Asanoma K, Wake N: *Placenta* 29,324-31(2008)
“Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha Regulates Matrigel-induced Endovascular Differentiation under Normoxia in a Human Extravillous Trophoblast Cell Line”
 15. Clements M, Takeda S, Kirby PL, Seki H, Lonsdale LB, Sullivan MH, Elder MG, White JO: *Placenta* 17:137-146(1996)
“Partial characterization of an immortalized human trophoblast cell-line, TCL1, which possesses a CSF-1 autocrine loop”
 16. Graham CH, Hawley TS, Hawley RG, MacDougall JR, Kerbel RS, Khoo N, Lala PK. : *Exp Cell Res* 206,204-11(1993)
“Establishment and characterization of first trimester human trophoblast cells with extended lifespan”
 17. Crews, S. T. and Fan, C. M. : *Current opinion in genetics & development*, 9, 580-587(1999)
“Remembrance of things PAS: regulation of development by bHLH-PAS proteins”
 18. Gu, Y. Z., Hogenesch, J. B. and Bradfield, C. A. : *Annual review of pharmacology and toxicology*, 40, 519-561 (2000)
“The PAS superfamily: sensors of environmental and developmental signals”

19. Denison MS., Nagy SR.: *Annual review of pharmacology and toxicology*, 43, 309-334(2003)
“Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals”
20. Bock KW, Kohle C: Ah receptor: *Biochemical pharmacology*, 72, 393-404(2006)
“dioxin-mediated toxic responses as hints to deregulated physiologic functions”
21. Furness SG, Whelan F: *Pharmacology & therapeutics*, 124, 336-353(2009)
“The pleiotropy of dioxin toxicity--xenobiotic misappropriation of the aryl hydrocarbon receptor's alternative physiological roles”
22. Pocar P, Fischer B, Klonisch T, Hombach-Klonisch S: *Reproduction*. 129, 379-89(2008)
“Molecular interactions of the aryl hydrocarbon receptor and its biological and toxicological relevance for reproduction”
23. Ohtake F, Baba A, Fujii-Kuriyama Y, Kato S: *Biochem Biophys Res Commun* 370, 541-6. (2008)
“Intrinsic AhR function underlies cross-talk of dioxins with sex hormone signaling”
24. Marlowe JL., Puga A: Aryl hydrocarbon receptor, cell cycle regulation, toxicity, and tumorigenesis. *Journal of cellular biochemistry*, 96, 1174-1184(2005)
25. Moennikes O, Loeppen S, Buchmann A., Andersson P, Ittrich C, Poellinger L, Schwarz M: *Cancer research*, 64, 4707-4710(2004).
“A constitutively active dioxin/aryl hydrocarbon receptor promotes hepatocarcinogenesis in mice”
26. Andersson P, McGuire J, Rubio C, Gradin K, Whitelaw ML, Pettersson S, Hanberg A, Poellinger L: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 9990-9995 (2002).
“A constitutively active dioxin/aryl hydrocarbon receptor induces stomach tumors”
27. Koliopoulos A, Kleeff J, Xiao Y, Safe S, Zimmermann A, Buchler MW, Friess H: *Oncogene*, 21, 6059-6070 (2002)
“Increased arylhydrocarbon receptor expression offers a potential therapeutic target for pancreatic cancer”
28. Bradshaw TD, Trapani V, Vasselin DA, Westwell AD: *Current pharmaceutical design*, 8, 2475-2490(2002)
“The aryl hydrocarbon receptor in anticancer drug discovery: friend or foe?”
29. Lin P, Chang H, Tsai W, Wu, MH, Liao YS, Chen JT, Su JM: *Toxicologic pathology*, 31, 22-30(2003)
“Overexpression of aryl hydrocarbon receptor in human lung carcinomas”
30. Schlezinger JJ, Liu D, Farago M, Seldin DC, Belguise K, Sonenshein GE, Sherr DH: *Biological chemistry*, 387, 1175-1187 (2006)
“A role for the aryl hydrocarbon receptor in mammary gland tumorigenesis”
31. Anttila S, Tuominen P, Hirvonen A, Nurminen M, Karjalainen A, Hankinson O, Elovaara E: *Pharmacogenetics*, 11, 501-509(2001)
“CYP1A1 levels in lung tissue of tobacco smokers and polymorphisms of CYP1A1 and

- aromatic hydrocarbon receptor”
32. Smart J, Daly AK: *Pharmacogenetics*, 10, 11-24(2000)
 “Variation in induced CYP1A1 levels: relationship to CYP1A1, Ah receptor and GSTM1 polymorphisms”
 33. Cauchi S, Stucker I, Solas C, Laurent-Puig P, Cenee S, Hemon D, Jacquet M, Kremers P, Beaune P, Massaad-Massade L: *Carcinogenesis*, 22, 1819-1824(2001)
 “Polymorphisms of human aryl hydrocarbon receptor (AhR) gene in a French population: relationship with CYP1A1 inducibility and lung cancer”
 34. Wong JM, Okey AB, Harper PA: *Biochemical and biophysical research communications*, 288, 990-996(2001)
 “Human aryl hydrocarbon receptor polymorphisms that result in loss of CYP1A1 induction”
 35. Kim JH, Kim H, Lee KY, Kang JW: *Lung Cancer*, 56, 9-15(2007).
 “Aryl hydrocarbon receptor gene polymorphisms affect lung cancer risk”
 36. Long JR, Egan KM, Dunning L, Shu XO, Cai Q, Cai H, Dai Q, Holtzman J, Gao YT, Zheng W: *Pharmacogenetics and genomics*, 16, 237-243(2006)
 “Population-based case-control study of AhR (aryl hydrocarbon receptor) and CYP1A2 polymorphisms and breast cancer risk”
 37. Nagata K, Guggenheimer RA, Hurwitz J: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80, 6177-6181(1983)
 “Specific binding of a cellular DNA replication protein to the origin of replication of adenovirus DNA”
 38. Hay RT: *The EMBO journal*, 4, 421-426(1985)
 “The origin of adenovirus DNA replication: minimal DNA sequence requirement in vivo”
 39. Johansson EM, Kannius-Janson M, Bjursell G, Nilsson J: *Oncogene*, 22, 6061-6070(2003).
 “The p53 tumor suppressor gene is regulated in vivo by nuclear factor 1-C2 in the mouse mammary gland during pregnancy”
 40. Nilsson J, Helou K, Kovacs A, Bendahl PO, Bjursell G, Ferno M, Carlsson P, Kannius-Janson M: *Cancer research*, 70, 2020-2029 (2010)
 “Nuclear Janus-activated kinase 2/nuclear factor 1-C2 suppresses tumorigenesis and epithelial-to-mesenchymal transition by repressing Forkhead box F1”
 41. Vicovac L, Aplin JD: *Acta Anat* 156, 202-216(1996)
 “Epithelial-mesenchymal transition during trophoblast differentiation”
 42. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. *Obstet Gynecol Annu* 1, 177-191(1072)
 “The role of spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia”
 43. McMaster MT, Zhou Y, Fisher SJ. *Semin Nephrol* 24, 540-7(2004)
 “Abnormal placentation and the syndrome of preeclampsia”
 44. James JL, Whitley GS, Cartwright JE. *J Pathol* 221, 363-78(2010)
 “Pre-eclampsia: fitting together the placental, immune and cardiovascular pieces”

45. Chen SC, Liao TL, Wei YH, Tzeng CR, Kao SH: *Mol Hum Reprod.* 16, 361-72 (2010)
“Endocrine disruptor, dioxin (TCDD)-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis in human trophoblast-like JAR cells”
46. Augustowska K, Magnowska Z, Kapiszewska M, Gregoraszczyk EL: *Hum Exp Toxicol* 26, 407-417 (2007)
“Is the natural PCDD/PCDF mixture toxic for human placental JEG-3 cell line? The action of the toxicants on hormonal profile, CYP1A1 activity, DNA damage and cell apoptosis”
47. Chen J, Laughlin LS, Hendrickx AG, Natarajan K, Overstreet JW, Lasley BL: *Toxicology* 186, 2131 (2003)
“The effect of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on chorionic gonadotrophin activity in pregnant macaques”
48. Prudhomme GJ, Glinka Y, Toulina A, Ace O, Subramaniam V, Jothy S: *PLoS One* 5, e13831 (2010)
“Breast cancer stem-like cells are inhibited by a non-toxic aryl hydrocarbon receptor agonist”
49. Boitano AE, Wang J, Romeo R, Bouchez LC, Parker AE, Sutton SE, Walker JR, Flaveny CA, Perdew GH, Denison MS, Schultz PG, Cooke MP: *Science* 329, 1345-8 (2010)
“Aryl hydrocarbon receptor antagonists promote the expansion of human hematopoietic stem cells”
50. Zhao S, Kanno Y, Nakayama M, Makimura M, Ohara S, Inouye Y. *Cancer Lett.* 317, 192-8 (2012)
“Activation of the aryl hydrocarbon receptor represses mammosphere formation in MCF-7 cells”
51. Bunaciu RP, Yen A. *Cancer Res* 71, 2371-80 (2011)
“Activation of the aryl hydrocarbon receptor AhR Promotes retinoic acid-induced differentiation of myeloblastic leukemia cells by restricting expression of the stem cell transcription factor Oct4”
52. Eguchi H, Hayashi S, Watanabe J, Gotoh O, Kawajiri K: *Biochemical and biophysical research communications*, 203, 615-622 (1994)
“Molecular cloning of the human AH receptor gene promoter”
53. Tang T, Lin X, Yang H, Zhou L, Wang Z, Shan G, Guo, Z: *Free radical biology & medicine*, 49, 487-492 (2010)
“Overexpression of antioxidant enzymes upregulates aryl hydrocarbon receptor expression via increased Sp1 DNA-binding activity”
54. Rafty LA, Santiago FS, Khachigian LM: *The EMBO journal*, 21, 334-343 (2002)
“NF1/X represses PDGF A-chain transcription by interacting with Sp1 and antagonizing Sp1 occupancy of the promoter”

Investigation on risk assessment for maternal dioxin exposure during pregnancy on fetal, neonatal and infantile health and development

Principal Investigator: Kiyomi TSUKIMORI

Institution: Fukuoka Children's Hospital
2-5-1 Tojinmachi, Chuo-ku, Fukuoka, 810-0063, Japan
Tel: +81-92-713-3111/ Fax: +81-92-713-3120
E-mail: tsukimori.k@fcho.jp

Cooperated by: University of Occupational and Environmental Health
Kyushu University
Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

[Abstract]

Keywords: Dioxin, Feto-maternal transfer, Pregnancy, Placenta, Yusho

To clarify the mother-fetus transfer of dioxins, biological samples (placenta, amniotic fluid, maternal blood, maternal fat, umbilical cord, umbilical blood, vernix caseosa, meconium, neonate urine, breast milk) were collected from deliveries at Kyushu University Hospital. The Yusho cohort was used to evaluate the effect of maternal exposure on birth weight.

The dioxin concentration was determined in placenta samples obtained from normal pregnancy deliveries and placenta samples obtained from FGR deliveries. Blood samples, obtained from Yusho women who gave birth after exposure, were analyzed. We also investigated the molecular effect of dioxin on placental trophoblast in cellular growth and invasion property and determined the DNA sequence of promoter region of AhR.

Comparison among the dioxin concentration of placenta umbilical cord blood, maternal blood, in the mothers of normal delivery and patients with fetal growth restriction revealed that it lowered in order of mother's body blood, umbilical cord blood, mother's body adipose tissue. There was a significant relationship between concentration of the placenta and parity, and also maternal age.

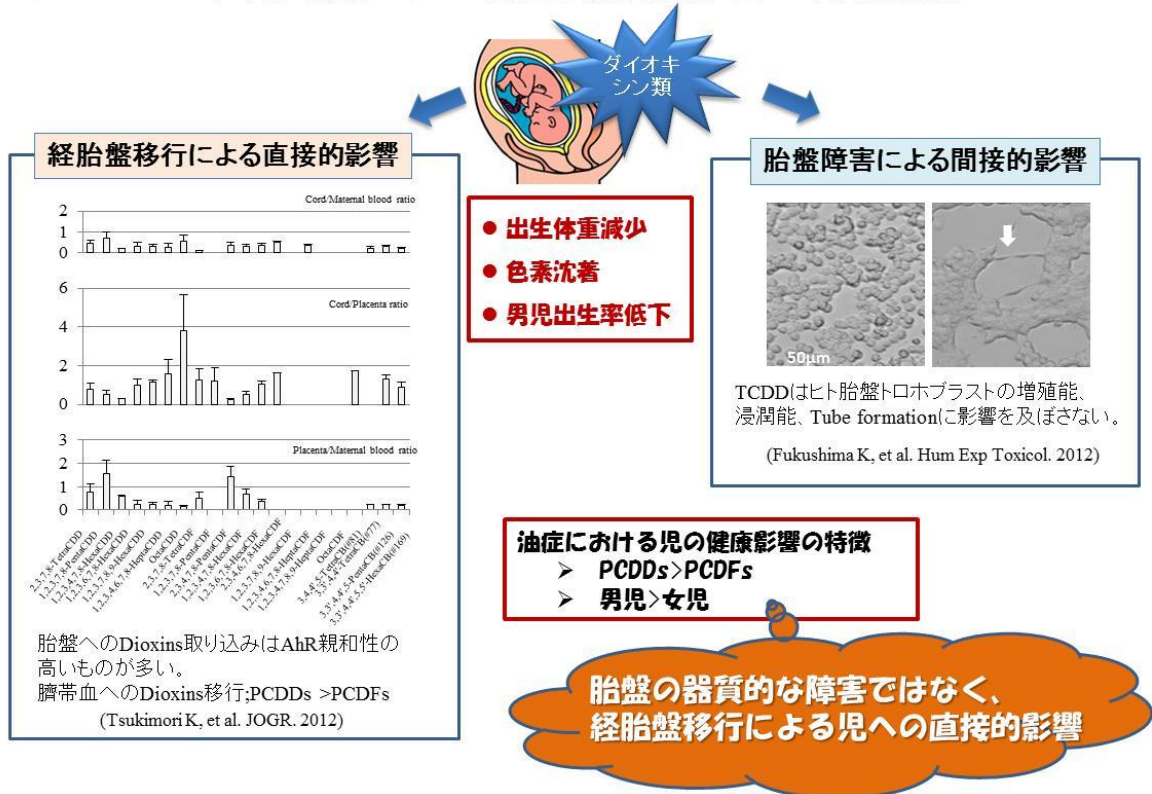
The maternal dioxin concentration showed significant negative correlation with birth weight. PCDDs give more influence on birth weight than PCDFs and this effect is specific in male. The elevation of maternal dioxin concentration increased the risk of Black baby. Only female offspring born to Yusho mothers had a borderline significantly lower sex ratio in the F₂ generation

TCDD did not show any significant direct effect on cellular growth or invasive property in EVT

derived cell line. On the contrary, there was significant difference in AhR promoter activity among 4 SNPs in this region.

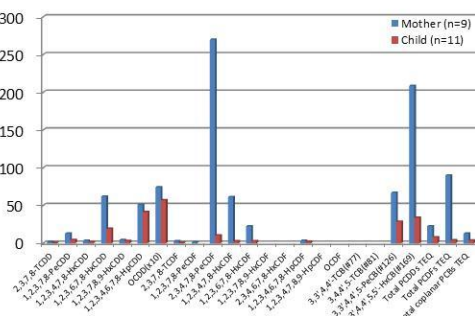
These results suggest that the placental tissue suppress transfer of dioxin molecules to cord blood and fetus. In the setting of exposure to high levels of dioxins, maternal blood levels of PCDDs and PCDFs are associated with lower birth weight in Yusho patients. The association exhibited gender-specific differences, as male infants are more susceptible than females to growth restriction induced by *in utero* dioxin exposures. It was suggested that the influence on human trophoblast of the TCDD is not manifested by direct action but modification of another soluble factors. It was also suggested that the individual sensitivity may differ depending of AhR promoter haplotype.

ダイオキシン類曝露による次世代健康影響の発現機序は・・・



今後検討すべき課題

- 児の血中ダイオキシン類濃度は、母親に比べて有意に低く、正常健康人と比して有意な差を認めない。
(Tsukimori K et al. Chemosphere 2011)
- 次世代健康影響の発現には性差がある。
(Tsukimori K et al. Environ Int 2012)
- 次世代、次々世代にわたる健康影響がある。
(Tsukimori K et al. Epidemiology 2012)



▼ 継世代影響の発現は、高濃度ダイオキシン類の母児間移送によるものとは異なる機序が存在することが推察される。

ダイオキシン受容体を介する細胞内毒性シグナル伝達機構の個体差(遺伝子多型)やエピジェネティックな遺伝子発現制御の破綻の解析