

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590735

研究課題名(和文) ベトナムにおける母乳中ダイオキシン濃度とステロイドホルモンの関連

研究課題名(英文) Relationship between breast milk dioxin concentrations and steroid hormone levels in Vietnamese

研究代表者

岡本 理恵 (OKAMOTO, Rie)

金沢大学・保健学系・准教授

研究者番号：50303285

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ベトナムの枯葉剤汚染地区と非汚染地区の比較により、母親の母乳中ダイオキシンと血清中・唾液中ステロイドホルモン、第1子の発達の関連を明らかにすることであった。対象は20歳から30歳の母親と生後4週から16週の第一子各50組であった。

ダイオキシン濃度はほとんどの異性体において撒布地区の方が高かった。ダイオキシン濃度といくつかのステロイドホルモン値の間にU字型相関を示した。また、男児よりも女児において発達計測値とダイオキシン濃度、ステロイドホルモン値に強い相関を示す傾向が見られた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the association of dioxin in breast milk and steroid hormone in serum and saliva, primiparae's growth by comparing the defoliant sprayed area and non-sprayed area in Vietnam. The subjects were mother aged between 20 and 30 years old and their primiparae aged between 4 and 16 weeks, each 50 pairs.

Almost Dioxin isomer concentrations from sprayed area were higher than non-sprayed area. Dioxin concentrations showed U-shaped relationship with some steroid hormone levels. Girl's growth showed stronger relationship with dioxin concentrations and steroid hormone levels than boy's growth.

研究分野：公衆衛生看護学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：環境保健 ダイオキシン 健康被害

1. 研究開始当初の背景

アメリカ軍は1961年～1971年に及ぶベトナム戦争において、除草目的で枯葉剤の撒布を行った(Lunch Hand 計画)。7200万リットルもの枯葉剤が旧南ベトナムの10-12%にあたる土地に撒布された(Westing, 1984)。撒布された枯葉剤の61%は1965年～1970年までの間に使用された2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)と2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸(2,4,5-T)の混合によるAgent Orange 剤であり、その精製過程でダイオキシン類(以下、ダイオキシンと略す)の中でも最も猛毒性の強い2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-1,4-ジオキシン(TCDD)が副産物として含まれていた(IOM, 2001)。旧南ベトナムに撒布されたダイオキシンの量は600kgに換算される(Stellman et al., 2003)。

ダイオキシンは脂溶性であり、母乳中に高濃度であることが知られている。高齢になるにつれ母乳中濃度が高くなり、出産・授乳により濃度は低くなる。我が国でも母親自身が乳児期に母乳栄養であった者、特にその中でも第1子である者で、母乳中ダイオキシンの濃度が高い傾向が観察されている(厚生科学研究, 1999)。

ダイオキシンの生態影響は、一般には催奇形性が広く知られているが、免疫系、神経系、内分泌系と広範に及んでいることが明らかにされている(Dioxins and Health, Eds. A. Schecter & TA Gasiewicz, 2003)。中でもダイオキシンは内分泌攪乱化学物質の一つと位置づけられ、動物実験においては、ダイオキシンの外因性内分泌攪乱化学物質作用についての報告がある(Moran et al., 2003)。人体ではイタリアのセベソにおける化学工場爆発においてダイオキシン濃度が高い夫婦ほど女性が生まれる確率が高いと報告された(Mocarelli et al., 1996)。また、ダイオキシンへの暴露による子宮内膜症増加(Mayani et al., 1997, Eskenazi et al., 2002)についての報告もあるが、これらは一方で相反する結果も報告されており未だ確証を得るに至っていない。児の発達についてKonishiらは母体への低濃度暴露が新生児の低体重に影響を与える可能性を示唆しているが(2009)低濃度暴露環境下での調査の限界がある。ダイオキシンの内分泌攪乱化学物質としてのこれらの性ホルモンをはじめステロイドホルモンに対する影響についてはさらなる研究調査が必要であり、ダイオキシンの早期健康影響指標の確立が課題である。

2. 研究の目的

本研究の目的は外因性内分泌攪乱物質としてのダイオキシン類の健康影響について、ベトナムの枯葉剤撒布地区と非撒布地区の20代から30代の母親とその第一子を対象とし、母親の母乳中ダイオキシン濃度とステロイドホルモン値、第一子の発育についての関連を明らかにすることである。詳細は以下に

示す。

- 1) 血液と唾液より同一対象者のステロイドホルモンを測定し、相関関係について考察することにより、生体試料としての唾液によるステロイドホルモン測定の妥当性を検証する。
- 2) ダイオキシンの個人暴露量を測定し、枯葉剤撒布地区と非撒布地区間の体内暴露量を比較検討する。
- 3) 両地区内において母親のダイオキシンとステロイドホルモンの関連性を明らかにする。
- 4) 母親の第1子の発達測定を行い、母親のダイオキシンとステロイドホルモン、第1子の成長発達の関連について明らかにする。

3. 研究の方法

《研究対象地区》図1

枯葉剤撒布地区; ベトナム南部のDong Nai省 Bien Hoa 地区、旧米軍基地周辺。

対照地区; ベトナム北部 Ha Nam 省 Kim Bang 地区。ハノイから南に30 kmの農村地帯。

《研究対象》

対象地区から無作為抽出した20歳から30歳の母親とその第1子(生後4週から16週)。撒布地区と非撒布地区それぞれ約50人。

《調査時期》平成23年度8月は枯葉剤撒布地区、24年度8月は非撒布地区の各地区において調査研究を実施した。

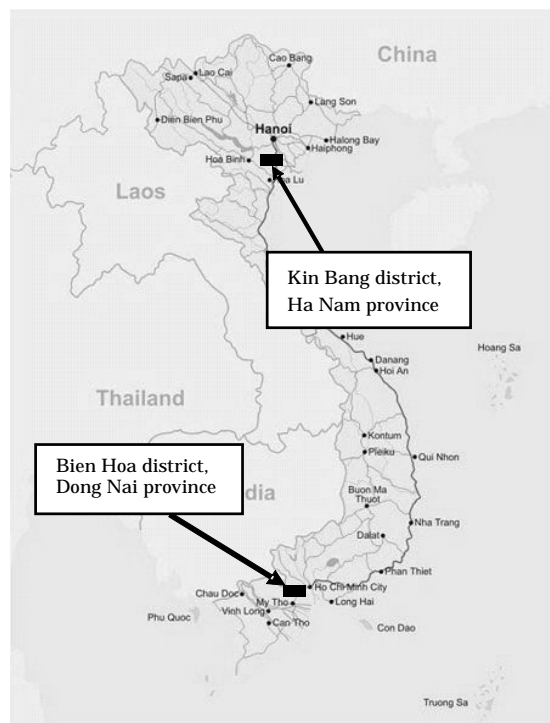


図1. 研究対象地区

《分析方法》

母親からは母乳20ml、血液3ml、唾液2mlを採取し、母乳からはダイオキシン類の分析、血液と唾液からはステロイドホルモンの分析を行った。採取試料は-70℃で保存し日本への空輸を行った。母乳中のダイオキシン類分析は金沢医科大学において高分解能の

GC-MAS 装置を用いて分析を行った。血液中、唾液中ステロイドホルモンの分析はあすか製薬メディカルにおいて液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置(LC/MS/MS)を用いて行った。

《倫理的配慮》

研究対象者に対しては、各地区の人民委員会を通じて研究趣旨を説明し、参加の同意を得た。また、当日調査会場である診療所に来場したすべての参加者に対し、ベトナム語で書かれた文書で研究説明を行い、研究参加への同意を得た。さらに海外共同研究機関である 10-80 委員会を通して個別に分析結果の説明を行うと共に、対象地区住民に対し研究成果の報告会を実施した。尚、当研究は金沢大学医学倫理審査委員会の承認を得て実施した(承認番号 329)。

4. 研究成果

枯葉剤撒布地区では 55 組、非撒布地区では 58 組の母子に対し調査を実施した。そのうちすべてのデータを解析できたのは撒布地区では 49 組、非撒布地区では 53 組であった。

1) 撒布地域・非撒布地域における母子の属性、ダイオキシン類濃度、ステロイドホルモン、児の成長発達の比較

母親、第 1 子の属性の比較

表 1. 母親の属性の比較

項目	Bien Hoa n=49	S.D	Kim Bang n=53	S.D	p 値
年齢 (才)	25.5	2.8	23.3	4.4	0.0031 *
身長 (cm)	150.7	4.9	153.0	5.0	0.0189
体重 (kg)	48.9	6.5	48.6	5.1	0.7879
BMI	21.7	3.0	20.8	1.9	0.0705 *
世帯収入 (×10 ⁴ VND/月)	515.5	339.8	421.1	294.6	0.1363
居住年数 (年)	13.6	10.6	18.6	9.5	0.0136 *

t検定

*Welchの検定

表 2. 第 1 子の発育状況の比較 (男児)

項目	Bien Hoa n=32	S.D	Kim Bang n=27	S.D	p 値
月齢 (ヶ月)	3.3	1.2	1.8	0.7	<0.001
身長 (cm)	62.8	4.0	59.1	4.4	0.0011
体重 (g)	6514.1	1300.81	5211.5	1058.75	0.0001
頭囲 (cm)	39.9	1.9	38.7	1.6	0.0114
胸囲 (cm)	41.9	3.1	38.8	3.0	0.0003

t検定

表 3. 第 1 子の発育状況の比較 (女児)

項目	Bien Hoa n=17	S.D	Kim Bang n=26	S.D	p 値
月齢 (ヶ月)	2.8	1.2	1.8	0.9	0.0042
身長 (cm)	59.8824	4.59799	57.1231	4.50487	0.0583
体重 (g)	5446.5	899.7	4819.6	1084.0	0.0547
頭囲 (cm)	38.6	1.7	37.9	1.8	0.2373
胸囲 (cm)	39.3706	2.44202	37.7769	3.06703	0.0793

t検定

母親の年齢は撒布地域が 25.5 歳に対し、非撒布地域では 23.3 歳で撒布地区が高かつ

た。身長にも差が認められたが、BMI では差は認められなかった。

第 1 子男児の発育状況の比較では、撒布地区の男児の月齢 3.3 カ月に対し、非撒布地区では 1.8 カ月で差が認められた。身長、体重、頭位、胸囲においても撒布地区が高かった。女児においても撒布地域の月齢が 2.8 カ月に対し非撒布地域では 1.8 カ月と差が認められた。しかし身長、体重、頭位、胸囲については差は認められなかった。

ダイオキシン類濃度の比較

表 4. ダイオキシン類濃度の比較

Pg/g lipid	Bien Hoa, n=49		Kim Bang, n=53		P value
	Geo-mean	median (inter-quartile range)	Geo-mean	median (inter-quartile range)	
2,3,7,8-TeCDD	2.2	2.0 (1.2 4.3)	0.6	0.50 (0.4 0.9)	<0.0001 *
1,2,3,7,8-PeCDD	2.9	2.8 (2.0 4.3)	1.0	1.1 (0.6 1.6)	<0.0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.6	1.5 (1.1 2.1)	0.8	0.7 (0.5 1.4)	<0.0001 *
1,2,3,6,7,8-HxCDD	4.9	5.1 (2.8 7.4)	1.2	1.3 (0.9 1.6)	<0.0001
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.7	1.5 (1.1 2.5)	0.6	0.5 (0.4 0.9)	<0.0001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	9.6	9.2 (5.5 14.8)	2.4	2.6 (1.8 3.2)	<0.0001
OCDD	60.4	54.3 (39.7 78.8)	15.8	15.3 (10.3 23.5)	<0.0001
2,3,7,8-TeCDF	0.4	0.5 (0.2 0.7)	0.6	0.6 (0.4 0.9)	0.0016 *
1,2,3,7,8-PeCDF	0.5	0.5 (0.4 0.7)	0.4	0.4 (0.2 0.7)	0.0285
2,3,4,7,8-PeCDF	4.4	4.2 (3.4 5.4)	3.0	3.1 (2.4 3.8)	<0.0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	7.1	6.4 (5.1 10.2)	1.6	1.6 (1.3 2.0)	<0.0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	4.3	4.0 (2.9 5.9)	1.3	1.4 (1.0 1.6)	<0.0001 *
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.4	0.4 (0.2 0.6)	0.3	0.3 (0.2 0.4)	0.2951 *
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.7	0.7 (0.5 1.0)	0.5	0.5 (0.3 0.8)	0.0044
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	4.8	4.1 (3.2 5.8)	1.0	1.1 (0.8 1.5)	<0.0001
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.7	0.7 (0.3 1.1)	0.2	0.2 (0.2 0.3)	<0.0001 *
OCDF	0.6	0.6 (0.5 0.9)	0.6	0.6 (0.5 0.8)	0.6289
Total PCDDs	86.1	80.3 (56.1 123.8)	23.3	23.2 (16.0 30.9)	<0.0001
Total PCDFs	25.0	23.7 (17.8 30.6)	10.3	10.0 (8.9 11.7)	<0.0001 *
Total PCDDs + PCDFs	113.3	108.5 (75.4 167.5)	34.2	33.6 (24.9 43.1)	<0.0001 *
TEQ Total PCDDs	6.6	6.7 (3.9 10.0)	2.0	2.0 (1.5 2.6)	<0.0001 *
TEQ Total PCDFs	2.8	2.5 (2.0 3.4)	1.4	1.4 (1.2 1.6)	<0.0001 *
TEQ Total PCDDs + PCDFs	9.7	9.3 (5.9 14.0)	3.5	3.4 (2.7 4.1)	<0.0001 *

t検定

*Welchの検定

ダイオキシン濃度はほとんどの異性体において、撒布地区が高い濃度であった。Total PCDDs、Total PCDFs、Total PCDDs+PCDFs の毒性等価量 (TEQ) はそれぞれ撒布地区では 9.7、2.8、9.7、非撒布地域では 2.0、1.4、3.5 pg-TEQ/g lipid であった。

血清ステロイドホルモン値の比較

表 5. 血清ステロイドホルモン値の比較

	Bien Hoa, n=49		Kim Bang, n=53		P 値
	Geo-mean	median (inter-quartile range)	Geo-mean	median (inter-quartile range)	
Cortisol (ng/ml)	95.3	91.7 (75.1 121.9)	86.5	89.5 (67.9 108.7)	0.2521
DHEA (pg/ml)	3.1	3.1 (2.2 4.1)	3.0	2.8 (2.3 4.0)	0.7580
A-dione (pg/ml)	1.8	1.7 (1.3 2.2)	0.6	0.6 (0.4 0.7)	<0.0001
Estradiol (pg/ml)	17.7	20.6 (13.9 28.9)	9.4	15.1 (4.2 23.5)	0.0077

Wilcoxon's test

コルチゾール、デヒドロエピアンドロステロン (DHEA)、アンドロステジオン (A-dione)、エストラジオールについて、撒布地区と非撒布地区の比較を行った。その内アンドロステジオン、エストラジオールについては撒布地区の方が高い濃度を示した。

2) 血清中・唾液中ステロイドホルモン値の相関

撒布地区において、母親の血液と唾液を採取し、血液、唾液中に含まれるステロイドホルモン値を測定した。以下の図に一次直線回帰を示した。

図2、血清中・唾液中コルチゾール値の相関

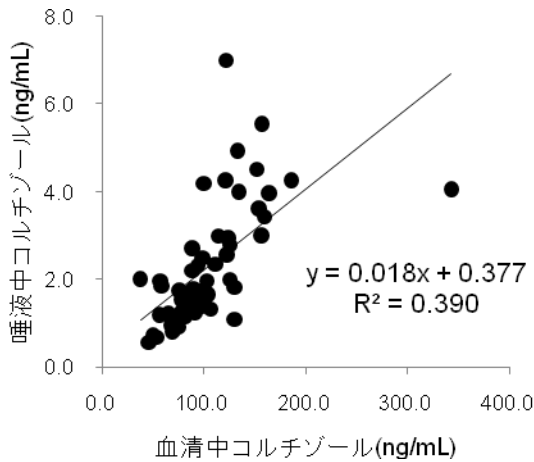
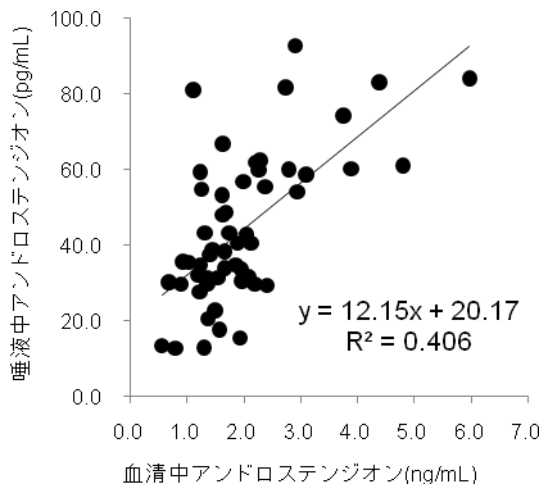


図3、血清中・唾液中 A-dione 値の相関

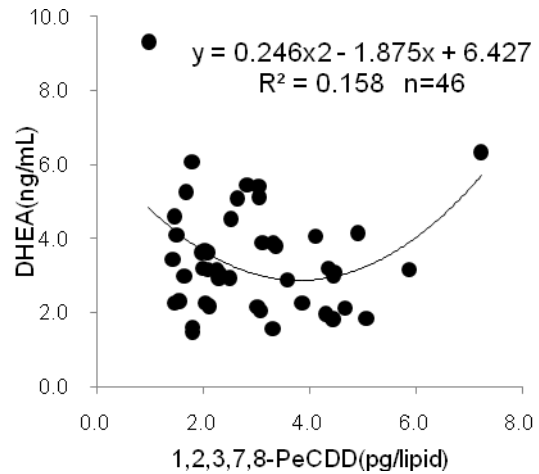


各ホルモンの決定係数 (R^2 値) はコルチゾール 0.390、A-dione 0.406、DHEA 0.155、エストラジオール 0.053 であった。

3) 撒布地区、非撒布地区におけるダイオキシン濃度、ステロイドホルモン値の関連性

各ステロイドホルモンとダイオキシン異性体の2次曲線回帰の決定係数を計算した。0.1以上を関連ありとみなした結果、血清中DHEAは撒布地区においては1,2,3,7,8-PeCDD、1,2,3,4,7,8-HxCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、2,3,7,8-TCDF、1,2,3,4,6,7,8-HpCDF、1,2,3,4,7,8,9-HpCDFの6つのダイオキシン異性体で関連がみられた。また、これらの相関はU字型相関を示した。しかし、非撒布地区では関連は認められなかった。

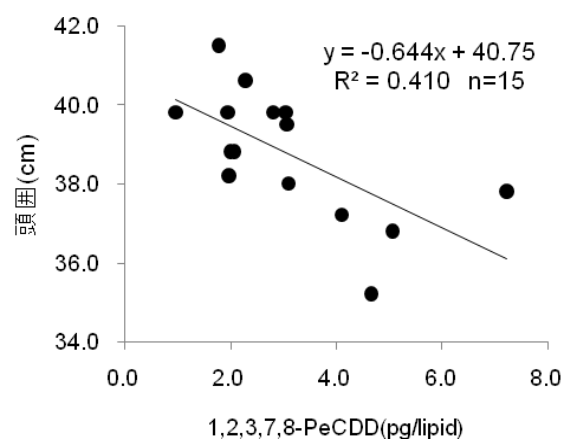
図4 撒布地区における血清中 DHEA と母乳中ダイオキシン濃度との相関



4) 撒布地区、非撒布地区における児の発育とダイオキシン濃度の関連性

単回帰直線の母親の異性体母乳中ダイオキシン濃度と児の身体計測値の決定係数を計算した。性別でみると男児よりも女児の方が有意な負の相関が多く見られた。頭囲と有意な負の関連が多く、特に、1,2,3,7,8-PeCDDの決定係数は0.41であった(図5)。また、女児では頭囲に次いで胸囲も相関が多く見られ、4つのダイオキシン異性体と関連がみられた。2,3,7,8-TCDFとの決定係数が0.38であった。非撒布地区では撒布地区と同様の傾向はみられたものの男女ともに強い相関は認められなかった。

図5 女児の頭囲と母乳中ダイオキシンレベルとの関連



5) 撒布地区、非撒布地区における児の発育とステロイドホルモン値の関連性

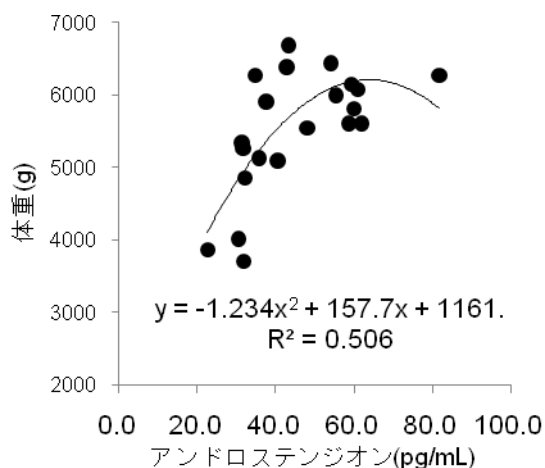
各ステロイドホルモンと児の身体計測値の二次曲線回帰の決定係数を計算した。性別でみると、男児よりも女児で多くの関連が見られた。特に唾液中ステロイドホルモンで検討すると、女児の体重とアンドロステノジオンとの決定係数は0.506であった(図6)。

非撒布地区においては血液中のステロイ

ドホルモンのみを測定している。撒布地区と同様に男児よりも女児において関連が多く見られたが、撒布地区のような顕著な値は見られなかった。最も決定係数が高かったのは女児の体重と DHEA で 0.243 であった。

丸銭 笑子 (MARUZENI, Syoko)
金沢大学・保健学系・研究員
研究者番号：50599404
(平成 24 年 3 月 31 日付退職)

図 6 . 女児の体重と唾液中アンドロステンジオンレベルとの関連



今後はさらに詳細な分析を実施し、論文化を行っていく。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

岡本 理恵 (OKAMOTO, Rie)

金沢大学・保健学系・准教授

研究者番号：50303285

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

城戸 照彦 (KIDO, Teruhiko)

金沢大学・保健学系・教授

研究者番号：20137373

中川 秀昭 (NAKAGAWA, Hideaki)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：00097437