

令和元年5月29日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H05285

研究課題名(和文) ベトナムのダイオキシンや残留性有機汚染物質の小児ステロイドホルモンへの長期的影響

研究課題名(英文) Long-term effects on steroid hormone in children by dioxins and persistent organic pollutants in Vietnam

研究代表者

城戸 照彦 (KIDO, TERUHIKO)

金沢大学・保健学系・教授

研究者番号：20167373

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,450,000円

研究成果の概要(和文)：2002年より、ベトナムで枯葉剤に含有されたダイオキシン(DXN)の健康影響調査を始め、撒布地区の母親の母乳中DXNは対照地区より有意に高値であることを明らかにした。2008年より、母子のステロイドホルモンの測定を始め、母親の血清コルチゾールと母乳中DXN濃度との間に正の相関を認めた。本研究期間中に、小児のコホート研究で、5歳児・7歳児のテストステロンが汚染地区で有意に低下していることを明らかにした。また、母親のコルチゾールが高い場合に、低体重児(2,500g未満)の出現頻度が、汚染地区では12%と対照地区の4%に対して3倍も高く、DXNが小児の発育に悪影響を与えていることが強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々のベトナムでの小児コホート研究では、7歳児の血中ステロイドホルモンは枯葉剤汚染地区の方が非汚染地区より有意に低く、その値は母乳中ダイオキシン(DXN)濃度と有意な負の相関を示した。DXNの生物学的半減期が7-11年であることから、出生時のDXN暴露の影響が続いていると考えられる。

我が国では環境省が大規模な疫学調査「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」を2011年より実施している。本研究はこの全国調査より先行しており、その成果は日本社会へ還元できるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：Since 2002, the adverse health effects by herbicides containing dioxins sprayed during the Vietnamese War have been investigated and it was found that dioxins levels of lactating milk of mothers in heavily polluted area were significantly higher than those in the non-polluted area. Since 2008, steroid hormones of mothers and their children have been analyzed and significant positive correlation was shown between cortisol of serum and dioxin of breast milk in mothers.

During the research period on the children cohort, testosterone levels of 5 and 7 years old children in the sprayed area were significantly lower than those in the non-polluted area, respectively.

When cortisol levels of mothers were higher, it was found that 12% of low birth body weight infants (less than 2,500 g) in heavily polluted area were 3 times higher than 4% of those in the non-polluted area. From results, dioxins are strongly suspected the main cause of growth retardation of children in the polluted area.

研究分野：環境保健

キーワード：ダイオキシン 残留性有機汚染物質 小児 ステロイドホルモン 長期的影響 ベトナム

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ダイオキシン類(以下、DXN と略す)の生態影響は、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)。我が国でも環境省が DXN を外因性内分泌かく乱化学物質の1つに分類している。動物実験においては、DXN の外因性内分泌かく乱化学物質作用についての報告はある。しかし、人体における性ホルモンへの影響については、十分に解明されておらず、DXN の早期健康影響指標については未だ確立していない。DXN の人体への暴露については、我が国における油症やイタリアのセブソにおける化学工場爆発がある。また、ベトナム戦争中に旧南ベトナムを中心に散布された枯葉剤に混入していた DXN による暴露は広範な人々に及んだ。特に、近年、ベトナム国内の旧米軍基地の周辺地区が高濃度汚染地区(hot spot)であることが明らかにされ、「ベトナムはダイオキシンの世界の実験場」と呼ばれている。さらに、DXN をはじめ、殺虫剤や防火剤等に広範に使用されている残留性有機汚染物質(POPs)による複合影響が世界各国で懸念されている。

我々は、2002年よりベトナムのハノイ医科大学や厚生省、資源環境省と共同で「枯葉剤による健康影響」について、枯葉剤散布地区住民と対照地区住民を対象にした疫学調査を継続してきた。2008年以降は hot spot で継続している。これまでに得た主な知見は、以下の5点である。

- (1) 枯葉剤が散布されて30年以上が経過しても、散布地区住民の母乳中の DXN 濃度は対照地区住民より有意に高値を示した。これは DXN の半減期が7-11年と比較的長いことを反映していると考えられる。(Kido T, 2008, 2013)
- (2) 母乳中 DXN と母親の血清・唾液中ステロイドホルモン(以下、SH と略す)の間には二次関数に近似した関連を認めた。特に、Cortisol や Cortisone は上に凸の、Estradiol は下に凸の近似二次曲線が得られた。(Kido T, 2011, 2012, 2013, Nhu DD, Kido T, 2010, 2011,)
- (3) 60歳以上の男性で、初めて個人の血清 DXN 濃度を測定した結果、以前として枯葉剤散布地区で高値を示したが、SH や前立腺特異抗原(PSA)では統計的な有意差は認めなかった。(Manh HD, Kido T, 2014, Sun XL, Kido T, 2014,)
- (4) 小児の微量な唾液中 SH の検査はタンデム法 LC-MS/MS で実施し、血清中と唾液中 SH の間に良好な相関を確認した。(Arai S, Honma S, 2010)
- (5) 母乳中 DXN と3歳児の唾液中 DHEA(dehydroepiandrosterone)の間に負の相関を認めた。本結果は、DXN が小児の SH に影響することを世界に初めて報告した。(Kido T, [招待講演], 2013) DHEA は性ホルモンの前駆物質であり、特に女性では二次性徴に影響することが知られている。また、女兒の方が男児より著明に DXN と強い負の相関を示している。一方、1歳児では、散布地区の方で有意に DHEA が高く、3歳児と逆な結果になった。DHEA は成長と共に変動することが知られているので、DXN が外因性内分泌かく乱物質(いわゆる「環境ホルモン」)として、この変動に関与している可能性がある。但し、この2つの結果は、異なる集団での結果なので、同一集団のコホート研究が待たれる。

### 2. 研究の目的

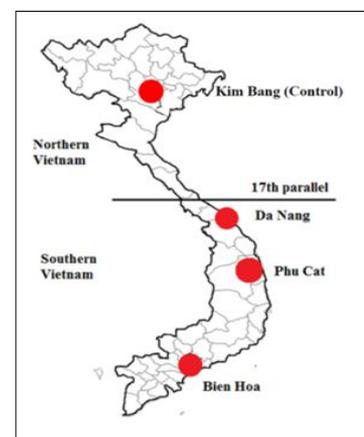
本研究の目的は以下の3点である。

- (1) 継続中の2つのコホート研究より、母乳中 DXN の児の唾液中 SH への影響を明らかにする。
- (2) タンデム法による SH の精密分析をベトナム国内で確立する。
- (3) 母乳中の DXN 以外の残留性有機汚染物質(POPs)を計測し、複合汚染の実態を解明する。本研究により、唾液中 SH の環境疫学研究における有用性を示し、DXN 暴露等による早期健康影響指標として普及させる。また、コホート研究により小児の成長や二次性徴への影響を継続的に解明する。

### 3. 研究の方法

- (1) 研究地区 枯葉剤散布地区； Binh Dinh 省 Phu Cat 県、Ho Chi Minh 市に隣接する Bien Hoa 市の2地区は、いずれも旧米軍基地を有し、基地の周辺地区が高濃度汚染地区(hot spots)であることが確認されている。(Dwernychuk LW. *Chemosphere* 60. 998-999. 2005) (図1) 対照地区；ベトナム北部 Ha Nam 省 Kim Bang 地区。Hanoi から南に30 km の農村地帯。
- (2) 旅行経路 金沢から関西空港まで陸路国内移動。関西空港から Hanoi まで航空機で移動。Hanoi から Kim Bang 地区までは、車で移動。Phu Cat へは Hanoi から航空機で移動。Bien Hoa へは Ho Chi Minh 市に航空機で移動後、車で移動。日本へは空路 Ho Chi Minh 市経由で戻る。
- (3) 研究対象 継続調査は2枯葉剤散布地区と1対照地区の児、約180人を対象とした。

図1 .ダイオキシンの hot spots と対照地区



(4) 研究時期 平成 27 年 5 月現地の共同研究者、医療機関と事前に打ち合わせて、8 月に調査を実施した。以後、平成 30 年まで、毎年ベトナム現地での調査を行った。

(5) サンプルング 第 1 次・第 2 次コホートの hot spots の Phu Cat, Bien Hoa 及び対照地区 Kim Bang では、追跡中の児から唾液と血液を採取した。合わせて、身体計測、質問紙による健康状況を実施した。

(6) 分析

DXN 分析は高分解能の GC-MS 装置を有する専用の測定室が必要である。特に、生体試料中の DXN は超微量であるため、習熟した分析技術を要する。そのため、従来から共同研究を実施してきた金沢医科大学に分析を依頼する。

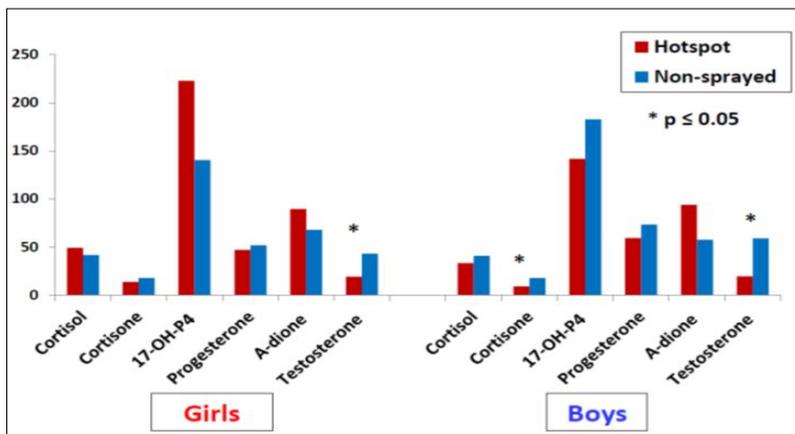
POPs の分析も DXN 同様超微量分析であるため、高度な分析技術を要する。そのため、実績のある中野や高菅が分析の指導や評価を担当する。

SH の分析は、本間、Manh らを中心に実施する。この間、共同研究を継続している本間に試料の前処理を依頼する。ベトナム人留学生の Manh 等が補助者として分析に参加するとともに、分析技術の習得に努める。SH のうち、Cortisol, Cortisone と Dehydroepiandrosterone (DHEA) の 3 種類の測定が小児では可能である。SH はタンデム法による高感度精密分析が実施可能であるハノイの研究施設で実施する。

#### 4. 研究成果

DXN の hot spots の 1 つである Phu Cat の小児コホート (2008 年開始) では、2013 年に採取して保存していた 5 歳児の血液中のホルモン分析を実施した。すでに、3 歳では DHEA が hot spot で有意に低値を示し、ダイオキシン類と負の相関を示したことを明らかにしている。DHEA は性ホルモンの前駆物質であり、小児に内分泌かく乱を引き起していることを示唆してきたが、今回は男性ホルモンである血清中 Testosterone を 5 歳児で初めて測定した。その結果、血清中 Testosterone は hot spot の方が対照地区より有意に低値であった。(図 2) 7 歳児でも同様の傾向が見られた。

図 2. 5 歳児の血清ステロイドホルモン値の 2 地区間の男女別比較



また、小児の SH は母乳中のダイオキシン濃度と有意な相関を示した (表 1)。このことは、単にホルモンのかく乱が 7 歳まで持続しているという事実だけではなく、授乳中のダイオキシン暴露や推定ではあるが妊娠中の胎児へのダイオキシン暴露が小児の成長時期まで影響している可能性を示している。

表 1. 母乳中ダイオキシン濃度と小児のステロイドホルモンとの関連

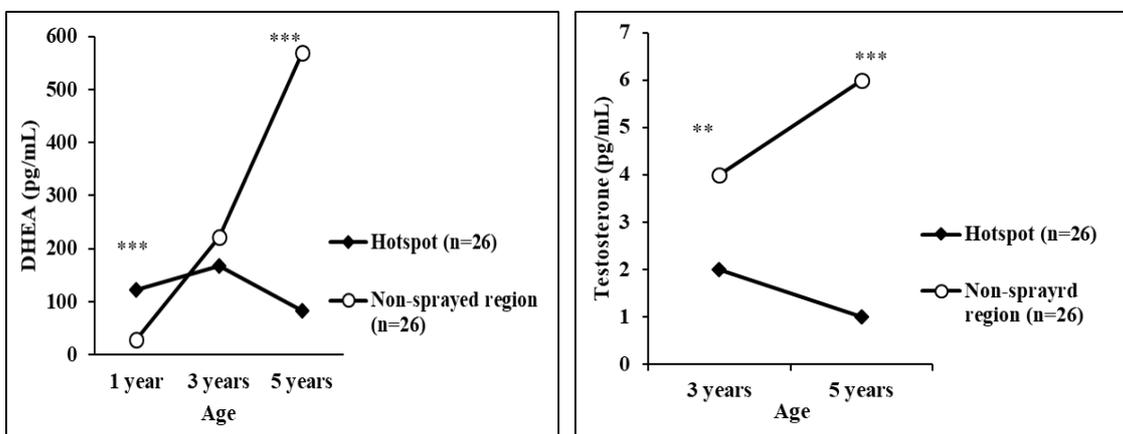
Year	Hormone	TEQ total PCDDs		TEQ total PCDFs		TEQ total PCDDs/Fs	
		r	p	r	p	r	p
		<b>Female</b>					
3 years (Saliva)	Cortisol	-0.09	0.561	0.03	0.834	-0.03	0.868
	Cortisone	0.06	0.724	0.01	0.936	0.02	0.899
	DHEA	-0.18	0.266	-0.12	0.456	-0.19	0.217
5 years (Serum)	Cortisol	0.30	0.055	0.12	0.447	0.17	0.277
	Cortisone	-0.03	0.840	-0.11	0.479	-0.12	0.435
	17-OH-P4	0.42	0.005	0.32	0.037	0.42	0.006

	Progesterone	-0.08	0.609	-0.11	0.475	-0.06	0.700
	A-dione	0.34	0.026	0.18	0.262	0.25	0.117
	Testosterone	-0.34	0.023	-0.32	0.041	-0.32	0.039
7 years (Serum)	Cortisol	-0.13	0.404	0.01	0.938	-0.03	0.828
	Cortisone	-0.16	0.312	0.08	0.598	0.00	0.988
	17-OH-P4	-0.13	0.399	-0.09	0.593	-0.17	0.296
	Progesterone	0.42	0.005	0.53	0.000	0.48	0.001
	A-dione	0.28	0.073	0.46	0.002	0.37	0.016
	Testosterone	-0.30	0.054	-0.20	0.196	-0.27	0.087
<b>Male</b>							
3 years (Saliva)	Cortisol	0.09	0.588	0.01	0.938	0.07	0.675
	Cortisone	-0.12	0.499	-0.05	0.759	-0.09	0.590
	DHEA	-0.18	0.307	-0.27	0.117	-0.22	0.202
5 years (Serum)	Cortisol	0.11	0.524	0.13	0.443	0.14	0.414
	Cortisone	-0.23	0.179	-0.24	0.153	-0.22	0.204
	17-OH-P4	0.14	0.403	0.08	0.643	0.14	0.425
	Progesterone	-0.06	0.719	-0.21	0.226	-0.13	0.439
	A-dione	0.39	0.018	0.35	0.036	0.40	0.017
	Testosterone	-0.53	0.001	-0.54	0.001	-0.55	0.001
7 years (Serum)	Cortisol	0.08	0.645	0.09	0.961	0.03	0.865
	Cortisone	-0.28	0.104	-0.26	0.125	-0.28	0.102
	17-OH-P4	-0.23	0.177	-0.33	0.048	-0.30	0.071
	Progesterone	0.44	0.008	0.46	0.005	0.43	0.009
	A-dione	0.40	0.016	0.29	0.086	0.36	0.030
	Testosterone	-0.58	0.0002	-0.56	0.0004	-0.55	0.0005

\* 有意な相関を示したステロイドホルモンとその相関係数を黄色のマーカーで示した。

別の hot spots の Bien Hoa の小児コホート（2010 年開始）では、1 歳から 5 歳まで隔年の唾液中の DHEA の推移を明らかにした。（図 3 左）DHEA は 1 歳児では Bien Hoa の方が有意に高値であったが、5 歳児では逆に有意に低値を示した。Cortisol は 2 地区間で差はなかった。Testosterone は 3 歳と 5 歳で比較したが、Bien Hoa では低下、対照地区では増加と両地区で反対の変化を示した。（図 3 右）

図 3 . 小児の唾液中ステロイドホルモンの Bien Hoa(hotspot)と対照地区との推移



## 5 . 主な発表論文等

### [雑誌論文](計 9 件)

- Oanh NTP, Kido T, Honma S, Oyama Y, Anh LT, Phuc HD, Viet NH, Manh HD, Okamoto R, Nakagawa H, Nakayama SF, Nhu DD, Van Tung D, Van Chi V, Minh NH, Van Toan N.  
Androgen disruption by dioxin exposure in 5-year-old Vietnamese children: Decrease in serum testosterone level. *Sci Total Environ.* 1; 640-641. 466-474. 2018. 査読有. 10.1016/j.scitotenv.2018.05.257
- Anh LT, Kido T, Honma S, Manh HD, Koike I, Oyama Y, Phuc HD, Okamoto R, Nakagawa H, Nakayama SF, Nhu DD, Minh NH, Toan NV, Son LK.  
A relationship in adrenal androgen levels between mothers and their children from a dioxin-exposed region in Vietnam. *Sci Total Environ.* 607-608. 32-41. 2017. 査読有. 10.1016/j.scitotenv.2017.06.264
- Kishi R, Zhang JJ, Ha EH, Chen PC, Tian Y, Xia Y, Tsuchiya KJ, Nakai K, Kim S, Hong SJ, Hong YC, Lee JR, Mohamed HBB, Parajuli RP, Adair LS, Chong YS, Guo SL, Wang, Nishijo M, Kido T, Tai PT, Nandasena S.  
Birth Cohort Consortium of Asia (BiCCA) - Current and Future Perspectives. *Epidemiology. Suppl.* 1. S19-S34. 2017. 査読有. 10.1097/EDE.0000000000000698
- Sun XL, Kido T, Honma S, Koh E, Okamoto R, Manh HD, Maruzeni S, Nishijo M, Nakagawa H, Nakano T, Takasuga T, Nhu DD, Hung NN, Son LK.  
The relationship between dioxins exposure and risk of prostate cancer with steroid hormone and age in Vietnamese men. *Sci Total Environ.* 595. 842-848. 2017. 査読有. 10.1016/j.scitotenv.2017.04.013
- Van Tung D, Kido T, Honma S, Manh HD, Nhu DD, Okamoto R, Maruzeni S, Nishijo M, Nakagawa H, Ngoc PT, Van Toan N, Hung NN, Minh NH, Son LK.  
Reply to the letter to the editor "TCDD and birth weight of Vietnamese infants". *Environ Sci Pollut Res Int.* 23(21). 22218-22219. 2016. 査読有. 10.1007/s11356-016-7518-z
- Kido T, Honma S, Nhu DD, Manh HD, Tung DV, Liang SX, Anh LT, Okamoto R, Maruzeni S, Nakagawa H, Hung NN, Son LK.  
Inverse association of highly chlorinated dioxin congeners in maternal breast milk with dehydroepiandrosterone levels in three-year-old Vietnamese children. *Sci Total Environ.* 550. 248-255. 2016. 査読有. 10.1016/j.scitotenv.2016.01.025
- Sun XL, Kido T, Honma S, Okamoto R, Manh HD, Maruzeni S, Nishijo M, Nakagawa H, Nakano T, Koh E, Takasuga T, Nhu DD, Hung NN, Son LK.  
Influence of dioxin exposure upon levels of prostate-specific antigen and steroid hormones in Vietnamese men. *Environ Sci Pollut Res Int.* 23(8). 7807-7813. 2016. 査読有. 10.1007/s11356-015-5931-3
- Van Tung D, Kido T, Honma S, Manh HD, Nhu DD, Okamoto R, Maruzeni S, Nishijo M, Nakagawa H, Ngoc PT, Van Toan N, Hung NN, Minh NH, Son LK.  
Low birth weight of Vietnamese infants is related to their mother's dioxin and glucocorticoid levels. *Environ Sci Pollut Res Int.* 23(11). 10922-10929. 2016. 査読有. 10.1007/s11356-016-6233-0
- Manh HD, Kido T, Tai PT, Okamoto R, Honma S, Liang SX, Anh LT, Maruzeni S, Nghi TN, Nishijo M, Nakagawa H, Nhu DD, Van Tung D, Hung NN, Son LK.  
Levels of polychlorinated dibenzodioxins and polychlorinated dibenzofurans in breast milk samples from three dioxin-contaminated hotspots of Vietnam. *Sci Total Environ.* 511. 416-422. 2015. 査読有. 10.1016/j.scitotenv.2014.12.083

### [学会発表](計 9 件)

- Kido T. Two cohort studies on effects of dioxin levels in breast milk to steroid hormone concentrations in Vietnamese children. International Conference: Achievements In Overcoming Consequences Of Agent Orange/Dioxin Effects On Human Being And Environment (招待講演)(国際学会) 2018
- Kido T, Oanh NTP, Honma S, Oyama Y, Anh LT, Phuc HD, Nakagawa H, Nakayama SF, Nhu DD, Tung DV, Minh NH, Toan NV. Steroid hormones disruption in 5-year-old children in two dioxin hotspot areas in Vietnam. 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs) - DIOXIN 2018 (国際学会) 2018
- Nguyen Thi Phuong Oanh, Teruhiko Kido, Seiji Honma, Hoang Duc Phuc, Le Thai Anh, Yuko Oyama, Shoji Nakayama, Dang Duc Nhu, Ngo Van Toan, Nguyen Hung Minh.  
ベトナムの2つのダイオキシン汚染地域における5歳児へのステロイドホルモン攪乱. 第88回日本衛生学会. 2018
- 尾山木綿子, 城戸照彦, 本間誠次郎, Nguyen Thi Phuong Oanh, Le Thai Anh, Hoang Duc Phuc,

中山祥嗣, Dang Duc Nhu, Nguyen Hung Minh, Ngo Van Toan.  
7 歳児のダイオキシン曝露後の成長発達とステロイドホルモンにおける性差への影響. 第 88 回日本衛生学会. 2018

Kido T, Honma S, Kido Y, Oanh NTP, Phuc HD, Oyama Y, Anh LT, Viet NH, Nishijo M, Nakagawa H, Manh HD, Nhu DD, Tung DV, Tan NM, Hung NN, Toan NV, Minh NN, Son LK.

The effect of dioxin levels in breast milk on the steroid hormone concentrations in serum of seven-year-old Vietnamese children. 37th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs) - DIOXIN 2017 (国際学会) 2017

Nguyen Thi Phuong Oanh, Teruhiko Kido, Seijiro Honma, Hoang Duc Phuc, Le Thai Anh, Yuko Oyama, Shoji Nakayama, Dang Duc Nhu, Ngo Van Toan, Nguyen Hung Minh.

The effect of postnatal dioxin exposure on growth and sera steroid hormone of Vietnamese children. 第 87 回日本衛生学会. 2017

尾山木綿子, 城戸照彦, 本間誠次郎, Nguyen Thi Phuong Oanh, Le Thai Anh, Hoang Duc Phuc, 中山祥嗣, Dang Duc Nhu, Nguyen Hung Minh, Ngo Van Toan.

ベトナムでのダイオキシン曝露と 5 歳児のホルモン変化における性差の検討. 第 87 回日本衛生学会. 2017

Kido T, Honma S, Kido Y, Oanh NTP, Phuc HD, Oyama Y, Anh LT, Viet NH, Nishijo M, Nakagawa H, Manh HD, Nhu DD, Tung DV, Tan NM, Hung NN, Toan NV, Minh NN, Son LK.

The effect of dioxin levels in breast milk on the steroid hormone concentrations in serum of seven-year-old Vietnamese children. 36th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs) - DIOXIN 2016 (国際学会) 2016

Kido T, Honma, Manh HD, Anh LT, Nishijo M, Nakagawa H, Nhu DD, Tung DV, Hung NN, Son LK. Low DHEA levels in three-year-old children from Vietnamese mother-child pairs

are associated with high-chloride dioxin isomers in maternal breast milk. 35th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs) - DIOXIN 2015 (国際学会) 2015

[ その他 ]

ホームページ等

金沢大学 医薬保健研究域保健学系 公衆衛生・在宅看護学分野 城戸照彦

<http://square.umin.ac.jp/k-chiiki/kido/index.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：中川 秀昭

ローマ字氏名：NAKAGAWA, hideaki

所属研究機関名：金沢医科大学

部局名：総合医学研究所

職名：教授

研究者番号(8桁):(00097437)

研究協力者氏名：本間 誠次郎

ローマ字氏名：HONMA, seijiro

研究協力者氏名：西条 旨子

ローマ字氏名：NISHIJO, muneko

研究協力者氏名：中野 武

ローマ字氏名：NAKANO, takeshi

研究協力者氏名：高菅 卓三

ローマ字氏名：TAKASUGA, takumi

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：岡本 理恵

ローマ字氏名：OKAMOTO, rie

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。