

ダイオキシン母体曝露による発達児の甲状腺ホルモンへの影響

服部, 友紀子
九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

武田, 知起
九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

田浦, 順樹
九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

黒木, 広明
第一薬科大学薬学部環境化学教室

他

<https://doi.org/10.15017/1518356>

出版情報 : 福岡醫學雑誌. 106 (5), pp.127-134, 2015-05-25. 福岡医学会
バージョン :
権利関係 :

ダイオキシン母体曝露による発達児の甲状腺ホルモンへの影響

¹⁾九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学分野

²⁾第一薬科大学薬学部 環境化学教室

服部友紀子¹⁾, 武田知起¹⁾, 田浦順樹¹⁾, 黒木広明²⁾, 石井祐次¹⁾, 山田英之¹⁾

The Effect of Maternal Exposure to Dioxins on the Level of Thyroid Hormone in Developing Pups

Yukiko HATTORI¹⁾, Tomoki TAKEDA¹⁾, Junki TAURA¹⁾, Hiroaki KUROKI²⁾, Yuji ISHII¹⁾ and Hideyuki YAMADA¹⁾

¹⁾Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

²⁾Daiichi College of Pharmaceutical Sciences

Abstract

Maternal exposure to dioxins causes a number of developmental disorders in the offspring. Previous studies have suggested that lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) reduces the pup level of thyroid hormone after weaning, leading to the damage to their development including neural maturation. However, the specificity for age and dioxin congeners as well as dose dependency in terms of a reduction in pup thyroid hormone remains to be clarified. To address this issue, we investigated whether TCDD or 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF), one of the dioxins which caused 'Yusho' incident, affects the status of thyroid hormone during the fetal and neonatal periods. Treating pregnant rats at gestational day (GD)15 with 1 μ g/kg TCDD scarcely affected the serum concentration of thyroxine, although a significant reduction by TCDD was detected at limited endpoints [GD21 and postnatal day (PND)21]. In addition, maternal exposure to TCDD (0.05-30 μ g/kg) or PenCDF (1-1,000 μ g/kg) did not have any change in the serum level of thyroxine in GD20 fetuses even at the maximum dose. Neither the expression of pituitary thyroid-stimulating hormone β (TSH β) nor hypothalamic thyrotropin-releasing hormone was sensitive to TCDD treatment. In pregnant dams, TCDD decreased the serum level of thyroxine at GD20 and 21, while the pituitary expression of TSH β was induced. These results suggest that a single administration of dioxins to pregnant rats at GD15 have little effect on the level of thyroxine in the fetuses and infants, while a reduced level of this hormone observed in the offspring at GD21 and PND21 and pregnant dams at GD20 and 21.

Key words : Dioxin · Thyroid hormone · Development · Rat

はじめに

ダイオキシン類は、現在も環境中に広く分布する環境汚染物質であり、生体に対して多岐にわたる毒性を惹起する¹⁾。中でも、妊娠期や授乳期の母体への曝露により出生児に出現する発育障害は、障害発現に要する用量が小さく、成長後にまで障

害形質が残ることから問題が大きい²⁾。具体的には、妊娠ラットがダイオキシンの曝露を受けることにより、出生児に低身長・低体重³⁾⁴⁾、学習記憶能力障害⁵⁾⁶⁾並びに社会行動の低下⁷⁾などに代表される成長遅延や、生殖器官の委縮⁸⁾および交尾行動障害⁸⁾⁹⁾などの性未成熟が生じる。九州北部および台湾で発生した油症事件の追跡調査により、

Corresponding author : Hideyuki YAMADA
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University
Tel : +81-92-642-6585 Fax : +81-92-642-6588
E-mail : hyamada@phar.kyushu-u.ac.jp

被害者から出生した子供において低体重¹⁰⁾や認知発達の遅延¹¹⁾等が示唆されている。さらに、ごく最近の健常者を対象とした疫学研究によって、ダイオキシン類による子供の発育への影響は、母親の食事由来の微量なダイオキシン類により引き起こされる可能性が懸念されている¹²⁾¹³⁾。このように、ダイオキシンによる発育障害の機構解明とそれに基づく解決策の構築は、ヒト次世代の健康を衛る上で今なお重要な課題である。

これまでの研究により、最強毒性のダイオキシンである2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)を妊娠 (gestational day; GD) 15日目のラットに投与することにより、離乳児において血中甲状腺ホルモン濃度が低下することが明らかとされている¹⁴⁾¹⁵⁾。さらに最近、妊娠期および授乳期の継続的なTCDD処理によって母体の甲状腺ホルモンが低下し、これと付随して児のレベルも減少することが見い出されている¹⁶⁾。これらと関連して、ヒト疫学調査においても、母体の血中ダイオキシン類濃度と胎盤あるいは新生児血中の甲状腺ホルモン濃度には負の相関があることが報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。甲状腺ホルモンは、神経の発達や骨格形成に重要であることから¹⁹⁾²⁰⁾、ダイオキシンは発達期の本ホルモン低下を起点として発育障害を惹起するとの学説が提唱されている^{14)~16)21)}。しかし、上記の実験動物を用いた既存研究の殆どは離乳後の児を対象として行われており、ダイオキシンが胎児や乳児のどの時期から甲状腺ホルモンを抑制するのことは十分に解析されていない。さらに、TCDD以外のダイオキシンによる障害性も検討されていない。これらを明らかにすることは、障害機構における甲状腺ホルモン減少の寄与を明らかにする上で重要と思慮される。そこで本研究では、妊娠ラットへのTCDD単回経口投与が児の血中甲状腺ホルモンに及ぼす影響の出現時期を明らかにすると共に、2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PenCDF)が胎児の血中甲状腺ホルモンに影響を及ぼすか否かを解析した。

実験方法

1. 実験材料

TCDDは、AccuStandard社 (New Haven, CT, USA)より購入した。PenCDFは、我々の過去の

報告²²⁾に基づいて合成した。Corn oilは、味の素株式会社の市販品を購入した。その他の試薬は、実験に適した純度のものを使用した。

2. 動物実験

TCDD (99% > purity) および PenCDF (99% > purity)²²⁾は、40 μ g TCDD/mL acetone あるいは 130 μ g PenCDF/mL acetone 溶液として使用まで-30 $^{\circ}$ Cに保存した。用時に必要量 corn oil と混和したのち、acetone を窒素ガスで留去して調製した。

Wistar系雌性ラット (7週齢) および雄性ラット (10週齢) は、九動株式会社 (佐賀県鳥栖市)より購入した。雌雄ラットを一晩交配し、翌日膈内に精子が確認された日をGD0とした。GD15に、TCDD (0.05-30 μ g/kg) および PenCDF (1-1,000 μ g/kg) 溶液または、コントロールとして corn oil 油を単回経口投与した。GD17~21 および生後 (postnatal day; PND) 0, 4, 7, 10, 14, 21 および 28日目の児より視床下部、脳下垂体および血液を採取した。また、GD16~21の母体より脳下垂体および血液を採取した。採取した血液は、室温にて2時間程度放置したのち、4 $^{\circ}$ C, 3,000 rpmにて15分間遠心分離を行い血清とした。臓器および血清は、使用まで-80 $^{\circ}$ Cに保存した。

3. リアルタイム reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

mRNA発現量は、リアルタイム RT-PCR法を用いて解析した²³⁾。摘出した臓器より、RNeasy Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)を用いて total RNA を抽出した。Total RNA は、PrimeScript RT reagent kit with gDNA Eraser (タカラバイオ株式会社、滋賀県大津市)を用いて、添付説明書に従って cDNA を合成した。リアルタイム PCRには、Fast SYBR Green Master Mix (Life Technologies社、Carlsbad, CA, USA)を使用し、反応条件は [95 $^{\circ}$ C, 20秒-40サイクル (95 $^{\circ}$ C, 3秒-60 $^{\circ}$ C, 30秒)] とした。この反応ののち、増幅産物の特異性を確認するために融解曲線 [95 $^{\circ}$ C, 15秒-60 $^{\circ}$ C, 1分-60 to 95 $^{\circ}$ C (0.3 $^{\circ}$ Cずつ上昇, 各15秒)] を作製した。使用したプライマー配列は Table 1 に示す。目的遺伝子の発現量は、 β -actin に対する相対値として解析した。

Table 1 The primer sequences used for real-time PCR

Target mRNA	Forward (5' → 3') Reverse (5' → 3')	Product size (bp)	Accession No. ^a
TRH	TTGTGAAAGACCTCCAGCG CTCCCCTCTCTCAGCTTCA	127	NM_013046
TSH β	CAGAACGGTGGAAATACCGG GAATGTCTGTGGCTTGGTGC	157	NM_013116
β -actin	CACCATGTACCCAGGCATCGC AGCCACCAATCCACACAGAG	122	V01217

^aGenbank accession No. is shown.

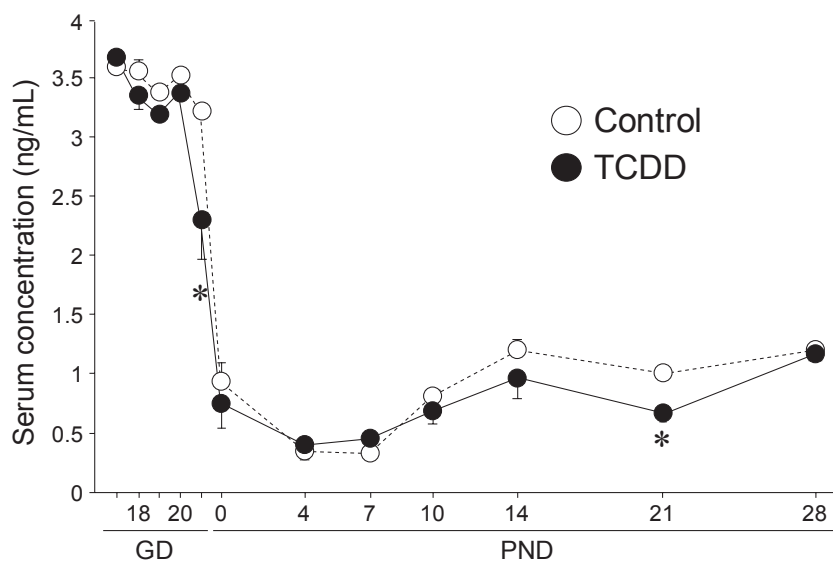


Fig. 1 Effect of maternal exposure to TCDD (1 μ g/kg at GD15) on the serum concentration of thyroxine in male pup.

Pregnant rats (GD15) were orally treated with TCDD (1 μ g/kg). Each plot represents the mean \pm S.E.M. of 3-4 pups which were removed (born) from different dams. Significantly different from control: * p < 0.05.

4. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

血清 free-thyroxine (T₄) 濃度は、市販の free-Thyroxine ELISA Microwells (Monobind 社, Lake Forest, CA, USA) を用いて、添付説明書に従って測定した。胎児血清は測定時に滅菌水にて 3 倍希釈して使用した。

結 果

GD15 の妊娠ラットへの TCDD 単回経口投与が胎児および出生児の血中甲状腺ホルモン濃度に与える影響とその出現時期を明らかにするため、胎児から出生後にかけて児の血中 T₄ 濃度を測定した。その結果、TCDD は胎児期や授乳期における児の血中 T₄ 濃度には殆ど影響を与えず、出生

直前 (GD21) および離乳時期 (PND21) における一過性の減少を惹起するに止まった (Fig. 1)。さらに、TCDD および PenCDF 母体曝露が GD20 胎児の T₄ レベルに与える影響とその濃度依存性を解析した結果、両ダイオキシン共にいずれの濃度においても影響は認められなかった (Fig. 2)。これらの結果から、GD15 の妊娠ラットへのダイオキシン単回処理による甲状腺ホルモン減少は、少なくとも GD20 までは生じないこと、並びに授乳期においても影響は生じないことが明らかとなった。しかし、本検討においても 1 μ g/kg TCDD 母体曝露により離乳児の T₄ レベルの減少が確認され、既報¹⁴⁾¹⁵⁾ と一致した結果が得られた。

T₄ 低下の機構解析のため、胎児および出生児

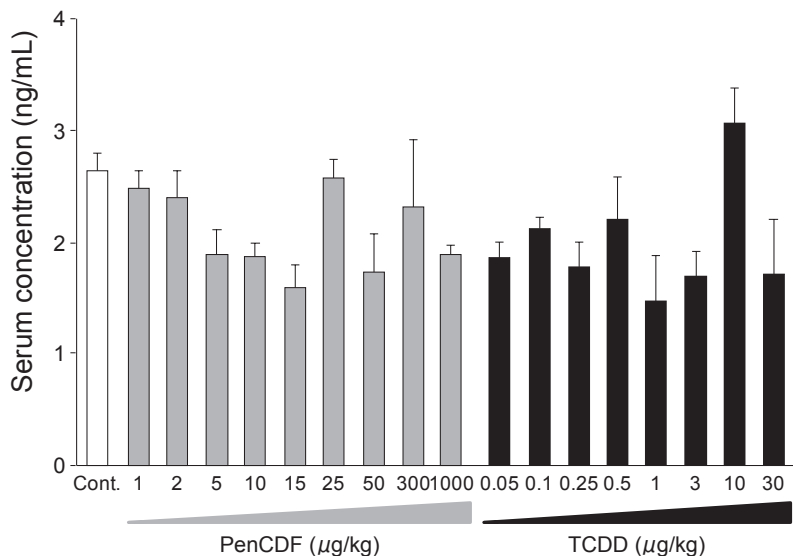


Fig. 2 Absence of the effect of maternal exposure to TCDD (0.05–30 µg/kg) or PenCDF (1–1,000 µg/kg) on the serum level of thyroxine in male fetuses at GD20. Pregnant rats (GD15) were orally treated with TCDD (0.05–30 µg/kg) or PenCDF (1–1,000 µg/kg). Each bar represents the mean ± S.E.M. of 3–4 fetuses which were removed from different dams.

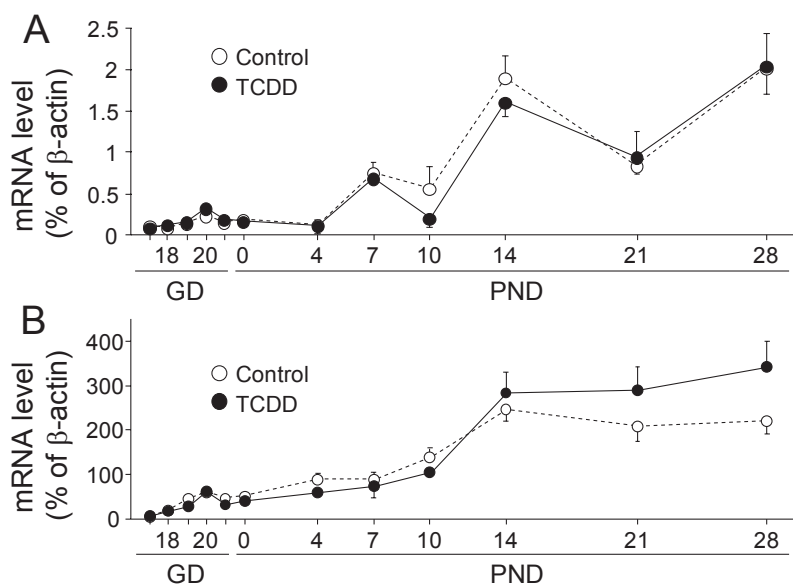


Fig. 3 Absence of the effect of maternal exposure to TCDD on the hypothalamic expression of TRH (A) and pituitary expression of TSHβ (B) in male pups. The expression of target mRNAs was normalized by β-actin mRNA. Each plot represents the mean ± S.E.M. of 4–10 pups which were removed (born) from different dams.

において T_4 合成の上位制御因子である視床下部の甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (thyrotropin-releasing hormone; TRH) 並びに脳下垂体の甲状腺刺激ホルモン (thyroid-stimulating hormone β; TSHβ) の遺伝子発現に対する影響を解

析した。その結果、両ホルモン発現に対する影響はいずれの時期においても観察されなかった (Fig. 3)。一方、TCDD が母体の血中 T_4 濃度に及ぼす影響を解析した結果、GD20 および GD21 において有意に低下することが明らかとなった

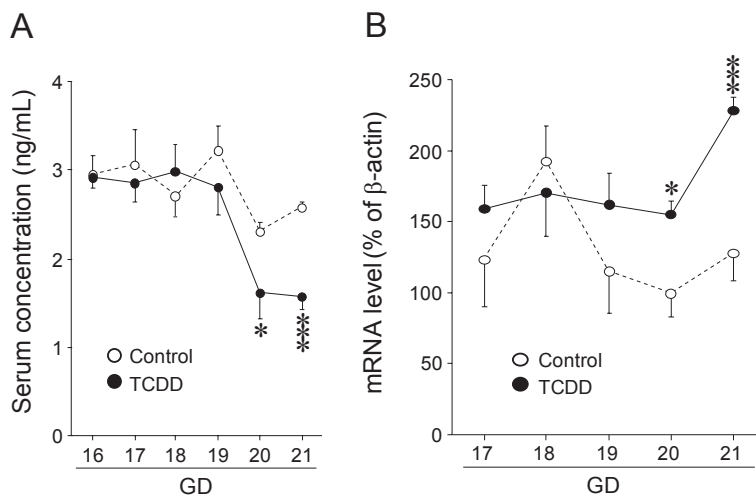


Fig. 4 Effect of TCDD (1 μ g/kg at GD15) on the serum concentration of thyroxine (A) and the pituitary expression of TSH β (B) in dam rats. Each plot represents the mean \pm S.E.M. of 4 rats. Significantly different from control: * p < 0.05 and *** p < 0.001.

(Fig. 4A). 母体脳下垂体における TSH β mRNA 発現は同時期に TCDD により逆に増加し (Fig. 4B), これは T₄ 減少による脳下垂体へのフィードバックのためと考えられた。

考 察

本研究では、ダイオキシン母体曝露が胎児および出生児の血中 T₄ 濃度に及ぼす影響を解析した。その結果、GD15 母体へのダイオキシン曝露は、GD20 までの胎児および乳児の血中 T₄ 濃度には全く影響を及ぼさず、出生直前および離乳期の限定された時期においてのみ T₄ レベルを低下させることが明らかになった。さらに、GD20 胎児の T₄ レベルは TCDD および PenCDF 共に高用量曝露によっても影響を受けないことが確認された。これらの結果から、本検討におけるダイオキシン曝露条件下においては、胎児および新生児の甲状腺ホルモンレベルに対する影響は小さいことが明らかとなった。我々はこれまでに、本研究で用いたダイオキシン処理条件である GD15 母体への 1 μ g/kg の TCDD 処理により、GD20 以前より胎児において luteinizing hormone (LH) および growth hormone (GH) が減少し、出生児の発育が障害されること^{24)~31)}、並びに TCDD と同様に PenCDF によっても用量依存的に胎児 LH/GH の減少が起こることを突き止めている²⁹⁾。従って、

胎児および新生児の T₄ への影響はこれらへの影響と比較して小さく、妊娠後期のダイオキシン単回処理に基づく胎児や新生児の発育障害に対しては甲状腺ホルモン減少の寄与は少ないことが強く示唆された。一方、離乳後においては LH や GH の低下は観察されないことから²⁷⁾²⁸⁾、離乳期である PND21 の T₄ 低下は無視できないかもしれない。しかし、PND28 には T₄ 減少が消失する事実から、これの一過性の減少が発育障害にどの程度寄与するかはさらなる検討を要する。

TCDD は胎児期および出生後の視床下部 TRH および下垂体 TSH β 発現には影響を及ぼさず、妊娠期のダイオキシン曝露は児の甲状腺ホルモン合成制御系に影響を及ぼさないこと、並びに一過性の血中 T₄ 濃度の低下はこれらの変動では説明できないことが示唆された。胎生期のラット甲状腺は未熟であり、出生後から生後 3 週齢の間にホルモン分泌が高まる²⁰⁾。すなわち、胎児期においては胎盤を介して移行する母体由来のホルモンが胎児での恒常性を維持し、発育に重要な役割を果たすことが知られている³²⁾。本結果もこれをよく支持しており、胎児期の T₄ レベルは母体と同程度であるが、出生直後に顕著に減少し、GD20 および GD21 の母体での T₄ 低下と共に出生直前に胎児でも低下した。さらにこれと関連して、GD1 から離乳期に至るまでの持続的な TCDD 曝露に

よって、GD16より出産後まで継続して母体の甲状腺ホルモンが低下し、これと付随して児のホルモンレベルが減少することが示されている¹⁶⁾。本検討とは曝露量や時期が異なるが、より早い段階での曝露によって妊娠母体に影響が生じた場合には、胎児や新生児の甲状腺ホルモン減少を介した発育への影響に注意が必要と思われる。ヒトの場合、母親が日常的に食事から微量のダイオキシンを摂取し続ける問題から、妊娠期の持続的な低用量曝露による母子の甲状腺ホルモンへの影響の有無を明確にすることがヒト次世代へのリスクを考える上で重要である。

TCDDが離乳児の甲状腺ホルモンを減少させる機構には、代謝酵素であるUDP-glucuronosyl-transferase (UGT)の誘導が寄与する可能性が見い出されている¹⁴⁾¹⁵⁾。我々は、妊娠後期の母体肝臓においてもUGT発現が増加することを確認しており³⁰⁾、離乳児のみならず母体のT₄低下も、UGTによる代謝の亢進が一つの要因であると考えられる。さらに本検討では、離乳児で認められるT₄の減少がPND28には既に消失することも見出した。一般に、授乳を介して児に移行するダイオキシン量は、胎盤から移行する量の約150倍にもものぼるため³³⁾、乳児期の進行に従ってダイオキシン濃度は増加し、離乳以降は急激に減少する³⁴⁾。従って、PND21においては、ダイオキシン濃度が高いために肝臓でのUGT発現が誘導されT₄が低下するが、以降はダイオキシン濃度の低下により影響が消失したと考えられる。ダイオキシンによって高感度に誘導される遺伝子であるCYP1A1のTCDD依存的な発現上昇が、PND14の出生児視床下部では劇的に生じるが、PND28においては数倍程度に止まる事実も²⁸⁾、上記の推定をよく支持する。

結 論

GD15の妊娠ラットへのダイオキシン曝露は、GD20までの胎児並びに乳児の甲状腺ホルモンレベルには影響を及ぼさず、本処理条件下においては甲状腺ホルモンへの影響は小さいことが明らかになった。

謝 辞

本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金

(食品の安心・安全確保推進研究事業)(課題番号:H 24-食品-指定-014)および九州大学QRECアカデミックチャレンジ2014研究助成によった。

引 用 文 献

- 1) Poland A and Knutson JC : 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons : examination of the mechanism of toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 22 : 517-554, 1982.
- 2) Peterson RE, Theobald HM and Kimmel GL : Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds : cross-species comparisons. *Crit. Rev. Toxicol.* 23 : 283-335, 1993.
- 3) Thiel R, Koch E, Ulbrich B and Chahoud I : Peri- and postnatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin : effects on physiological development, reflexes, locomotor activity and learning behaviour in Wistar rats. *Arch. Toxicol.* 69 : 79-86, 1994.
- 4) Myllymäki SA, Haavisto TE, Brokken LJ, Viluksela M, Toppari J and Paranko J : In utero and lactational exposure to TCDD ; steroidogenic outcomes differ in male and female rat pups. *Toxicol. Sci.* 88 : 534-544, 2005.
- 5) Nishijo M, Kuriwaki J, Hori E, Tawara K, Nakagawa H and Nishijo H : Effects of maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on fetal brain growth and motor and behavioral development in offspring rats. *Toxicol. Lett.* 30 : 41-47, 2007.
- 6) Hojo R, Kakeyama M, Kurokawa Y, Aoki Y, Yonemoto J and Tohyama C : Learning behavior in rat offspring after in utero and lactational exposure to either TCDD or PCB126. *Environ. Health Prev. Med.* 13 : 169-180, 2008.
- 7) Negishi T, Shimomura H, Koyama T, Kawasaki K, Ishii Y, Kyuwa S, Yasuda M, Kuroda Y and Yoshikawa Y : Gestational and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin affects social behaviors between developing rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Toxicol. Lett.* 160 : 233-244, 2006.
- 8) Gray LE Jr and Ostby JS : In utero 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) alters reproductive morphology and function in female rat offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 133 : 285-294, 1995.
- 9) Bjerke DL and Peterson RE : Reproductive toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in male rats : different effects of in utero versus

- lactational exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 127 : 241-249, 1994.
- 10) Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N and Furue M : Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. *Environ. Int.* 38 : 79-86, 2012.
 - 11) Chen YC, Guo YL, Hsu CC and Rogan WJ : Cognitive development of Yu-Cheng ("oil disease") children prenatally exposed to heat-degraded PCBs. *JAMA.* 268 : 3213-3218, 1992.
 - 12) Stølevik SB, Nygaard UC, Namork E, Haugen M, Meltzer HM, Alexander J, Knutsen HK, Aaberge I, Vainio K, van Loveren H, Løvik M and Granum B : Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins from the maternal diet may be associated with immunosuppressive effects that persist into early childhood. *Food Chem. Toxicol.* 51 : 165-172, 2013.
 - 13) Papadopoulou E, Kogevinas M, Botsivali M, Pedersen M, Besselink H, Mendez MA, Fleming S, Hardie LJ, Knudsen LE, Wright J, Agramunt S, Sunyer J, Granum B, Gutzkow KB, Brunborg G, Alexander J, Meltzer HM, Brantsæter AL, Sarri K, Chatzi L, Merlo DF, Kleinjans JC and Haugen M : Maternal diet, prenatal exposure to dioxin-like compounds and birth outcomes in a European prospective mother-child study (NewGeneris). *Sci. Total Environ.* 484 : 121-128, 2014.
 - 14) Nishimura N, Yonemoto J, Miyabara Y, Sato M and Tohyama C : Rat thyroid hyperplasia induced by gestational and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Endocrinology.* 144 : 2075-2083, 2003.
 - 15) Nishimura N, Yonemoto J, Nishimura H, Ikushiro S and Tohyama C : Disruption of thyroid hormone homeostasis at weaning of Holtzman rats by lactational but not in utero exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Toxicol. Sci.* 85 : 607-614, 2005.
 - 16) Ahmed RG : Perinatal TCDD exposure alters developmental neuroendocrine system. *Food Chem. Toxicol.* 49 : 1276-1284, 2011.
 - 17) Maervoet J, Vermeir G, Covaci A, Van Larebeke N, Koppen G, Schoeters G, Nelen V, Baeyens W, Schepens P and Viaene MK : Association of thyroid hormone concentrations with levels of organochlorine compounds in cord blood of neonates. *Environ. Health Perspect.* 115 : 1780-1786, 2007.
 - 18) Wang SL, Su PH, Jong SB, Guo YL, Chou WL and Pöpke O : In utero exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls and its relations to thyroid function and growth hormone in newborns. *Environ Health Perspect.* 113 : 1645-1650, 2005.
 - 19) Porterfield SP and Hendrich CE : The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development-current perspectives. *Endocr. Rev.* 14 : 94-106, 1993.
 - 20) Forhead AJ and Fowden AL : Thyroid hormones in fetal growth and parturition. *J. Endocrinol.* 221 : 87-103, 2014.
 - 21) Sher ES, Xu XM, Adams PM, Craft CM and Stein SA : The effects of thyroid hormone level and action in developing brain : are these targets for the actions of polychlorinated biphenyls and dioxins? *Toxicol. Ind. Health.* 14 : 121-158, 1998.
 - 22) Kuroki H, Haraguchi K and Masuda Y : Synthesis of polychlorinated dibenzofuran isomers and their gas chromatographic profiles. *Chemosphere.* 13 : 561-573, 1984.
 - 23) Matsumoto Y, Ishida T, Takeda T, Koga T, Fujii M, Ishii Y, Fujimura Y, Miura D, Wariishi H and Yamada H : Maternal exposure to dioxin reduces hypothalamic but not pituitary metabolome in fetal rats : a possible mechanism for a fetus-specific reduction in steroidogenesis. *J. Toxicol. Sci.* 35 : 365-373, 2010.
 - 24) Mutoh J, Taketoh J, Okamura K, Kagawa T, Ishida T, Ishii Y and Yamada H : Fetal pituitary gonadotropin as an initial target of dioxin in its impairment of cholesterol transportation and steroidogenesis in rats. *Endocrinology.* 147 : 927-936, 2006.
 - 25) Taketoh J, Mutoh J, Takeda T, Ogishima T, Takeda S, Ishii Y, Ishida T and Yamada H : Suppression of fetal testicular cytochrome *P450 17* by maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin : a mechanism involving an initial effect on gonadotropin synthesis in the pituitary. *Life Sci.* 80 : 1259-1267, 2007.
 - 26) Takeda T, Matsumoto Y, Koga T, Mutoh J, Nishimura Y, Shimazoe T, Ishii Y, Ishida T and Yamada H : Maternal exposure to dioxin disrupts gonadotropin production in fetal rats and imprints defects in sexual behavior. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 329 : 1091-1099, 2009.
 - 27) Takeda T, Fujii M, Taura J, Ishii Y and Yamada H : Dioxin silences gonadotropin expression in perinatal pups by inducing histone deacetylases : a new insight into the mechanism for the imprinting of sexual immaturity by dioxin. *J. Biol. Chem.* 287 : 18440-18450, 2012.

- 28) Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Yamamoto M, Shimazoe T, Ishii Y, Himeno M and Yamada H : Maternal exposure to dioxin imprints sexual immaturity of the pups through fixing the status of the reduced expression of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Mol. Pharmacol.* 85 : 74-82, 2014.
- 29) Taura J, Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Ishii Y, Kuroki H, Tsukimori K, Uchi H, Furue M and Yamada H : 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran is far less potent than 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in disrupting the pituitary-gonad axis of the rat fetus. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 281 : 48-57, 2014.
- 30) Hattori Y, Takeda T, Fujii M, Taura J, Ishii Y and Yamada H : Dioxin-induced fetal growth retardation : the role of a preceding attenuation in the circulating level of glucocorticoid. *Endocrine.* 47 : 572-580, 2014.
- 31) Takeda T, Taura J, Hattori Y, Ishii Y and Yamada H : Dioxin-induced retardation of development through a reduction in the expression of pituitary hormones and possible involvement of an aryl hydrocarbon receptor in this defect : a comparative study using two strains of mice with different sensitivities to dioxin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 278 : 220-229, 2014.
- 32) Loubière LS, Vasilopoulou E, Bulmer JN, Taylor PM, Stieger B, Verrey F, McCabe CJ, Franklyn JA, Kilby MD and Chan SY : Expression of thyroid hormone transporters in the human placenta and changes associated with intrauterine growth restriction. *Placenta.* 31 : 295-304, 2010.
- 33) Van den Berg M, Heeremans C, Veenhoven E and Olie K : Transfer of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans to fetal and neonatal rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 9 : 635-644, 1987.
- 34) Nau H, Bass R and Neubert D : Transfer of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) via placenta and milk, and postnatal toxicity in the mouse. *Arch. Toxicol.* 59 : 36-40, 1986.

(Received for publication March 13, 2015)