

エピジェネティック毒性研究の現状と今後の展開

五十嵐勝秀,^{*,a} 大塚(出田)まき,^a 成田 年^{a,b}

The Current State and Future Development of Epigenetic Toxicology

Katsuhide Igarashi,^{*,a} Maky Ideta-Otsuka,^a and Minoru Narita^{a,b}

^aLife Science Tokyo Advanced Research Center (L-StaR), Hoshi University School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences; 2-4-41 Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8501, Japan; and ^bDepartment of Pharmacology, Hoshi University School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences; 2-4-41 Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8501, Japan.

(Received September 2, 2016)

Epigenetics has drawn much attention as a mechanism of transcriptional regulation involving modifications to genomic DNA and histone, without changes to nucleotide sequences. Epigenetics is related to various biological phenomena. We defined one of these phenomena as “epigenetic toxicity”, in which chemicals affect epigenetic regulation and result in undesirable effects on living organisms. We then detailed the importance of epigenetics and the need for intensive research. Epigenetics is a mechanism that might explain the long-lasting effects of chemicals in an organism, and the formation of a predisposition to various diseases. Recent significant technological advancement in the study of epigenetics could break through the barrier of the mysterious black box of epigenetic toxicity. However, at present it is difficult to say whether the epigenetic point of view is being fully utilized in the evaluation of chemical safety. In this review, we will first summarize the epigenetic toxicity research field, with examples of epigenetic toxicities and technologies for epigenetic analysis. Following that, we will point out some challenges in which an epigenetic viewpoint may be essential for the evaluation of chemical safety, and we will show some current approaches. We hope this review will trigger a discussion about epigenetic toxicity that will lead to encouraging research advancements.

Key words—epigenetic toxicity; epigenetic priming; epigenetic toxicity reporter mouse; chemical safety evaluation

1. はじめに

私たちの生活環境には様々な化学物質が存在し、元素、天然物、一般工業化学品、食品添加物、容器包装、洗浄剤、農薬、肥料、飼料、医薬品、化粧品など、多岐に渡っている。その安全性は、毒性試験から得られる科学的情報に基づく規制によって適切に管理されている。しかし、内分泌かく乱化学物質のように、従来の毒性試験の考え方ではその毒性を見落とす可能性が否定できないものもあることが分かり、新たな概念の毒性を考慮する必要もあると考えられてきている。

そのような毒性として注目されているものの1つに、エピジェネティック毒性がある。エピジェネ

ティック毒性では、化学物質の作用により、エピゲノムの変化が誘導され、それが毒性につながる。

私達は「エピジェネティック毒性」を定義し、日本毒性学会年会において継続的にシンポジウムを開催し、その重要性を指摘するとともに、重点的な研究の必要性を訴えてきた。エピジェネティック毒性は、化学物質の長期に渡る影響や、化学物質を含む環境要因による疾患素因形成を説明し得る可能性があり、解析技術の大幅な進展に伴うブレイクスルーにより、その現象の理解が大きく進むことが期待されている。一方で現状は、エピジェネティックな視点が化学物質の安全性評価に十分に生かされているとは言い難い。

本レビューではまず、エピジェネティック毒性の概念・特徴を概説し、エピジェネティック毒性の事例を紹介する。それを受け、エピジェネティックな視点を化学物質の安全性評価に生かすために必要な課題を指摘し、それに向けた取り組みを紹介したい。本レビューがエピジェネティック毒性研究進展

^a星薬科大学先端生命科学研究センター先端生命科学研究センター (L-StaR) (〒142-8501 東京都品川区荏原 2-4-41),

^b星薬科大学薬理学教室 (〒142-8501 東京都品川区荏原 2-4-41)

*e-mail: k-igarashi@hoshi.ac.jp

本総説は、日本薬学会代 136 年会シンポジウム S66 で発表した内容を中心に記述したものである。

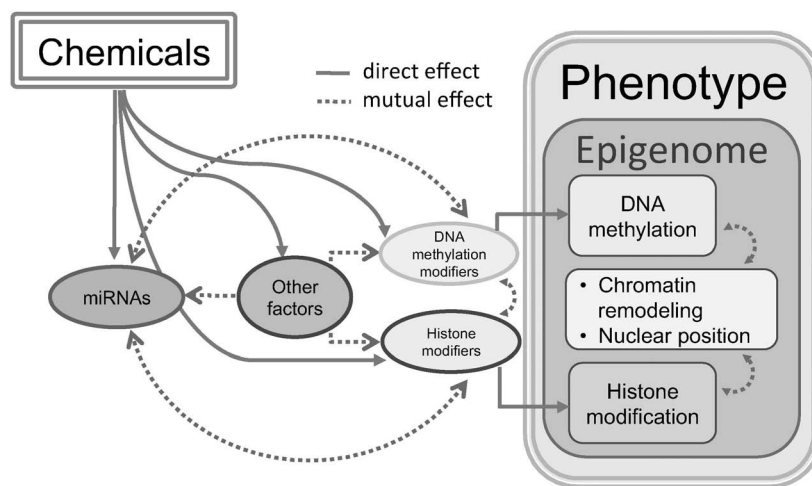


Fig. 1. Definition of Epigenetic Toxicity

We defined chemical toxicity that affects epigenetic regulators, causes epigenomic changes and results in phenotypic changes as “Epigenetic Toxicity”.

の一助となれば幸いである。

2. エピジェネティック毒性の概念と特徴

2-1. エピジェネティック毒性の概念

私達は、化学物質がエピジェネティック制御に係わり生体影響を及ぼす現象を「エピジェネティック毒性」として取り上げ、今後の毒性研究におけるトピックの1つとして重視している。実際、2011年の米国毒性学会における生涯教育講習会では、エピジェネティック毒性に関するコースが2つ取り上げられた。私達も、2011年の日本毒性学会年会でのシンポジウムを皮切りに、2012年の日本毒性学会・生涯教育講習会での講義に加え、例年のシンポジウムでもエピジェネティック毒性を取り上げ、基礎研究の進展、疾患や化学物質影響におけるエピジェネティック制御メカニズム研究について多くの研究者と議論している。

私達が考えているエピジェネティック毒性の概念図を Fig. 1 に示した。すなわち、化学物質が細胞内のエピジェネティック制御システムに作用し、そのシステムの働きによって、DNA メチル化やヒストン修飾といったエピゲノムが変化し、細胞、ひいては個体レベルの表現形を変化させるという概念である。エピジェネティック制御は、修飾を直接書き込み消去する酵素以外に様々な階層での制御を受けていることから、エピジェネティック毒性には多様な作用点が考えられる (Fig. 2)。よって、エピジェネティック毒性作用を持つ化学物質は今後多く見い出されるとの想定が成り立つ。

2-2. エピジェネティック毒性の3つの特徴

塩基配列の変化を伴わずにゲノム DNA やヒストンの後天的修飾により転写を制御する仕組みであるエピジェネティック制御の原理からこの毒性の特徴を考察すると、次の3つの特徴を挙げることができる。A) 遺伝子配列自体の変更を伴わない、B) タイムラグが生じ、エピジェネティックプライミングとして刻まれる、C) 作用が持続する、である。

A) の、遺伝子配列自体の変更を伴わないという特徴は逆に言えば、単純に遺伝子配列を調べる手法では検知できず、特有の検知法が必要であることを意味する。ある化学物質にエピジェネティック毒性があると結論づけるためには、現時点で最も確定的なデータが得られる技術手法を用いる必要があるが、そのためには技術のバリデーションを行い、標準化が必要であると考えられる。

2つ目の特徴として、B) では「エピジェネティックプライミング」を取り上げた。エピジェネティック毒性は、遺伝子発現制御に係わるゲノム領域の修飾状態の変化であり、発達過程では不要で成長後に



五十嵐勝秀

1992 年東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学修士、1998 年同農学博士取得、新日本製鐵、東京医科歯科大学、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部室長を経て、2014 年から星薬科大学・先端生命科学研究センター特任准教授。エピゲノム解析、編集を軸に創薬応用とエピジェネティック毒性研究を進めている。

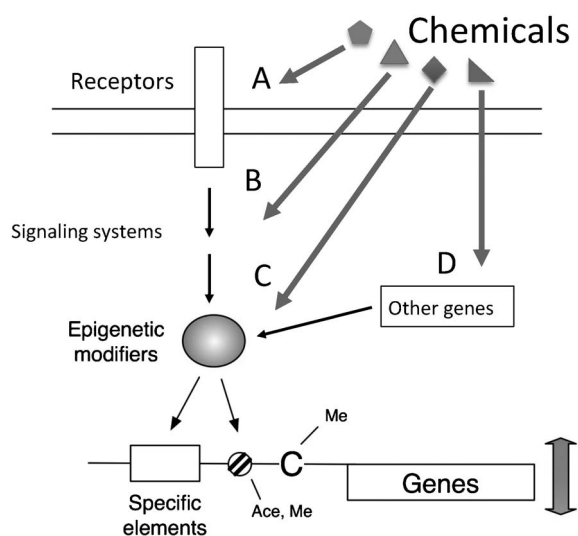


Fig. 2. Possible Sites of Action of Epigenetic Toxicity

There may be various sites of action of epigenetic toxicity. For example, A: effects on extracellular receptors, B: effects on the intracellular signal transduction pathway, C: effects on epigenetic regulators, D: effects through the expression of other genes.

必要となる遺伝子では、当座はその変化が特に問題にならないという状況があり得る。よって、影響が表面化するまでタイムラグが生じ、化学物質によるエピゲノム影響がゲノムに潜在的に刻み込まれた「エピジェネティックプライミング」の状態が生じる可能性がある。

エピジェネティック修飾は遺伝毒性のように遺伝子配列の変化を伴うものではないが、それが細胞分裂を経て維持される仕組みがあり、ある程度堅牢に保たれる。そのため発達段階にかかわらず常に必要となる遺伝子の場合は、持続した影響として表出することが考えられる。これが C) の特徴である。私達は、エピジェネティック毒性を研究する際には、これらの特徴を踏まえて検討を進めていくことが重要であると考えている。

3. エピジェネティック毒性の例

近年、重金属を始め、エピジェネティック毒性が見い出される化学物質が増え始めている。¹⁾ そのような化学物質の例として、bisphenol A と valproic acid を紹介したい。

3-1. Bisphenol A (BPA) : エピジェネティック作用が疑われる物質

3-1-1. BPA とは BPA は、主にポリカーボネート、エポキシ樹脂等のプラスチック原料として使用される化学物質である。弱いエストロゲン作

用を持ち、内分泌かく乱化学物質としての作用が疑われている。急性毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性、発がん性等の毒性試験結果から 5 mg/kg 体重/日が無毒性量と設定され、種差や個体差などに起因する不確実性を考慮し、ヒトに対する耐容一日摂取量は 50 μ g/kg 体重/日と設定されている。

一方で BPA は、毒性試験から有害な影響がないとされた量より低い用量でも、中枢神経系や行動、^{2,3)} 乳腺、⁴⁾ 前立腺への影響、^{5,6)} 思春期早発等⁷⁾ が認められるという報告がなされており、BPA の低用量影響が示唆されている。

3-1-2. BPA のエピゲノム作用 2007 年に Dolinoy らが、バイアブルイエローアグーチマウスを用いて BPA に DNA メチル化を低下させる作用があると報告した。⁸⁾ アグーチマウスは、マウスの毛色を規定する *Agouti* 遺伝子上流にレトロトランスポゾン (intracisternal A particle; IAP) が挿入された変異アレルを持つ。挿入された IAP の DNA がメチル化されていれば、IAP の強力なプロモーター活性が抑制され、毛周期に依存した転写が起り、マウスは正常の毛色を示す。一方で、挿入された IAP の DNA が脱メチル化されると、IAP のプロモーターによる恒常的な発現が起り、マウスは黄色の毛色を示す。⁹⁾ Dolinoy らは、飼料に BPA を混ぜて交配前から離乳までアグーチマウスに投与すると、産仔の毛色の分布がこげ茶色から黄色方向にシフトし、植物性のエストロゲンとして知られるゲニステインを添加しておくとも BPA の効果が薄れ、毛色分布はコントロールと変わらなくなったと報告した。⁹⁾ 黄色方向へのシフトは *Agouti* の恒常的発現を意味するため、BPA が IAP の DNA メチル化を低下させる作用を有すると予想され、*Agouti* 上流の IAP の 9 ヲ所の CpG 配列と、別の遺伝子座として CDK5 activator-binding protein の上流に挿入された IAP (*CabpIAP*) の 9 ヲ所の CpG 配列の DNA メチル化程度を調べたところ、いずれも低下傾向にあった。よって、BPA が IAP の DNA 脱メチル化を促進することで *Agouti* の恒常的発現が誘導され、毛色が黄色方向へシフトしたと結論された。この報告は非常に注目を集め、BPA が DNA メチル化に影響するという説のきっかけとなった。一方、別のグループが産仔数 2800 匹にも及ぶ大規

模な検証実験を行い、BPAによる毛色のシフトは認められず、再現性は得られなかったと報告した。¹⁰⁾ 毛色による評価は、個体レベルでDNAメチル化影響を評価し得る利点を持つ評価系ではあるが、毛色の判定を観察者の主観に頼らざるを得ないためそもそも定量化に難があり、結果の評価が分かれてしまっているのかもしれない。

BPAはDNAメチル化を変化させるとの仮説はDolinoyらの報告を皮切りに、確定されたかのような流れができていたが、¹¹⁾ 現在の状況は、根拠となるデータが確定的な手法を適切に用いたものであるか、慎重な判断が必要であることを再確認させるものである。あいまいさが残るデータでリスクを煽るようなことがないように、細心の注意を払わなければならない。

また、日本の研究者により、マウス胎生期のBPA曝露が神経細胞の分化や移動を促進することが報告されている。^{12,13)} 伏木らはこれがDNAメチル化変化を伴っていることを示しており、¹⁴⁾ その変化がBPAによる生体影響と関連するか更なる検討が待たれている。

このようにBPAのDNAメチル化作用はコンセンサスが得られた状況ではない。コンセンサスを得るためには、BPAがどのようにDNAメチル化を変化させるのか、誰もが納得するメカニズムを解明することが必要である。

3-2. Valproic acid (VPA) : エピジェネティック作用を持つ物質

3-2-1. VPAの胎生期曝露に伴う影響 VPAは、てんかん患者に対して世界中で頻用されている抗てんかん薬である。その作用として、GABAの不活性化の抑制が知られているが、ヒストン脱アセチル化酵素阻害作用も有することが示されている。¹⁵⁾ 私達は、VPAのようにエピジェネティック作用を持つことが明らかな物質が、逆にどのような毒性作用を示すかに興味を持ち、胎生期におけるVPAの一過性の曝露が生まれた仔の脳に及ぼす影響をマウスを用いて検討した。その結果、胎生期VPA曝露を受けた仔の脳で神経細胞産生能が低下し、学習・記憶能力に影響が生じることを見出した。¹⁶⁾ 実際、胎生12-14日までVPAを300 mg/kg母親に経口投与すると、胎生15日で既に神経幹細胞から神経細胞への分化が促進していて、神経幹細胞

の増殖が抑えられていることが分かった。これを受け成体期では神経幹細胞の数が少なくなっており、新生される神経細胞の数も減少していた。さらには、胎生期VPA曝露マウスは新生神経細胞に形態的・機能的な異常があり、行動試験系を用いた検討により、学習・記憶機能に異常があることも分かった。

すなわち、化学物質によって胎生期にヒストンの脱アセチル化を阻害すると、脳、特に神経幹細胞に影響し、成体期に神経幹細胞が枯渇し、神経新生が量的にも質的にも障害されることによって、学習・記憶能力に異常が生じる可能性が示唆されたと考えられる。てんかんを有する妊婦に対するVPA治療は子供の認知機能に悪影響を与えることが報告されており、¹⁷⁻²⁰⁾ これらの結果はそのメカニズムを示すものとして重要であると考えている。

興味深いことに、胎生期VPA曝露マウスに対し、飼育ケージに設置した回し車による自発的運動を行わせると、成体期における神経幹細胞の増殖、神経新生が改善し、学習・記憶機能も改善することが明らかとなった。これは、ヒトにおいても神経幹細胞機能を改善することで胎生期のエピジェネティック毒性を緩和できる可能性を示したものと考えられる。一方で、こういった運動療法をヒトへ応用するには、どのように行うのが効果的か検討すべき点が多く、運動療法以外の方法による神経幹細胞機能改善手法を含め、マウスでの更なる検討も必要であろう。

4. エピジェネティックプライミングの例

ここで、エピジェネティック毒性を理解する上で極めて重要な報告として、エピジェネティックプライミングの例を紹介する。幼少期トラウマを経験したヒトにおいて、ストレス反応性制御遺伝子*Fkbp5*のグルココルチコイド応答配列におけるDNAメチル基が、遺伝子多型のリスクアレルと幼少期トラウマによる高グルココルチコイドの両方に依存する形で脱メチル化される。その結果、*Fkbp5*の遺伝子発現が亢進し易くなり、グルココルチコイド受容体の機能が抑制され、ストレスに過敏に反応するようになり、心的外傷後ストレス障害(posttraumatic stress disorder; PTSD)発症のリスクが高まるという報告である。^{21,22)} 遺伝子多型のリスクアレルという遺伝要因と、幼少期トラウマとい

う環境要因が結びついてゲノム DNA に物理的な影響を及ぼし、ストレス耐性という表現型を左右することを示した報告として注目される。

この報告の場合、症状が発症（顕在化）するためにはなんらかのストレスが加えられる必要がある。すなわち、リスクアレルを持ち、幼少期トラウマを経験した人であっても、それ自体でかならず PTSD を発症するのではなく、もし穏やかに過ごすことができれば発症せずに済む可能性がある。その意味で、幼少期トラウマによる高グルココルチコイドは、リスクアレルと相まって DNA 脱メチル化を介して病気の素因を形成したに過ぎないとも言える。

エピジェネティック毒性はもしかするとこの例のように、病気の素因を形成する性質のものであるかもしれない。そうであるなら、実はエピジェネティック毒性作用が検知し易い形で症状として表出することは少なく、上記 B) の特徴として挙げたエピジェネティックプライミングの状態でゲノムに潜んでいることが多いのかもしれない。BPA の作用が検知し難いのもゲノムに潜在化するためであり、リスク評価にあたってはそれを表出させ、顕在化させるための工夫が必要である可能性がある。

5. 化学物質安全性評価に生かすために必要な課題と私達の取り組み

これまでエピジェネティック毒性とは何か、どのような特徴を有するかを、化学物質の例を交えて説明してきたが、現状ではエピジェネティックな視点が化学物質の安全性評価に生かされているとは言えない。その理由として私達が考えているのは、エピジェネティック作用を検出する実験系が生化学的な解析を有するものばかりで毒性試験となじまない、というものである。例えば、DNA メチル化を定量しようとする、ゲノム DNA を精製し、バイサルファイト変換²³⁾を施し、その配列を読む必要がある。ヒストン修飾の場合は、その修飾のみを検出する特異的抗体を用いたクロマチン免疫沈降法を行う必要がある。こういった作業は通常の毒性試験の項目に組み込み難いと考えられる。一方で毒性試験を実施する立場から考えれば、試験に用いるマウスがそのままエピジェネティック変化を提示するものであれば状況が改善するだろうと考えられる。そこで、エピゲノム変化を GFP などの蛍光タンパク質として検出可能なレポーター系を設計し、それを組

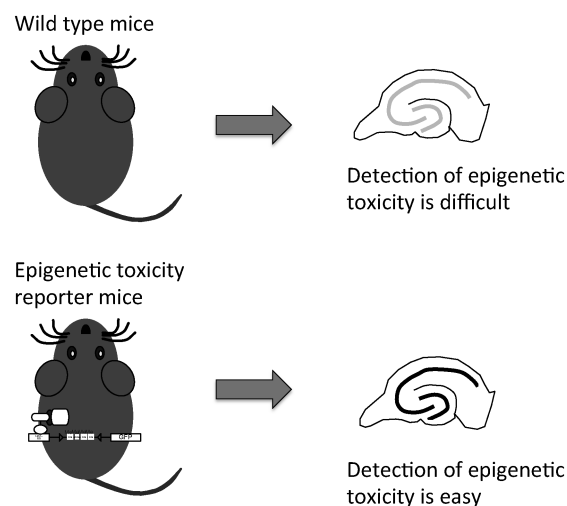


Fig. 3. Development of Reporter Mouse for Epigenetic Toxicity

The concept of a reporter mouse for the detection of epigenetic toxicity is depicted. It is difficult to detect epigenetic toxicity through the usual pathological analysis using wild type mice, so we designed and started to develop a reporter mouse that shows epigenetic changes, such as DNA methylation, with fluorescent protein.

み込んだマウスの開発を進めている (Fig. 3)。現在、レポーター系の培養細胞での検証に成功し、マウスへの組み込みを始めたところである。既知のエピジェネティック毒性物質の作用を確実に検出できるかなど、検証が必要であるが、このマウスが開発できれば通常の毒性試験のプロトコルで同時にエピジェネティック毒性作用の検出も行うことができ、エピジェネティック毒性物質のスクリーニングの一助となると期待している。

6. おわりに

本レビューでは、エピジェネティック毒性の概念・特徴・今後の課題について、BPA や VPA の例を交えて紹介した。BPA のように低用量でエピジェネティック毒性が疑われる化学物質はほかにもある。例えば、以前、内分泌かく乱作用を持つとして注目されたトリブチルスズが、マウス発達期の曝露により成体期の体重増加を促進する作用を持つこと、その作用が世代を超えて伝わることが明らかになり、²⁴⁾ エピジェネティック作用の関与が考えられている。²⁵⁾

エピジェネティック毒性の研究はまだその緒に就いたばかりである。アグーチマウスモデルを用いた解析の例を見ても、エピジェネティック毒性作用の有無を、個体レベルで簡便かつ確実に判定し得る系は存在せず、それが環境化学物質のエピジェネ

ティック作用を確定する障壁の1つになっている。
また、エピジェネティック作用の有無を判定する評価技術はいまだコンセンサスがとられておらず、研究者の独自の判断にまかされてしまっており、標準化に向けた改善が必要である。

エピジェネティック毒性のヒト健康に対する影響の大きさを踏まえ、これらの課題を克服する「エピジェネティック毒性リスク評価システム」の構築が今こそ必要である。

謝辞 本研究を進めるにあたって、日本バイオアッセイ研究センター 所長 菅野 純先生、ファイザー 顧問 堀井郁夫先生、九州大学大学院医学研究院基盤幹細胞学分野 教授 中島欽一先生、東北大学農学研究科動物生殖科学分野 教授 種村健太郎先生、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部の皆様、星薬科大学・薬理学教室、先端生命科学研究センターの皆様のご指導・ご協力を頂きました。ここに感謝の意を表します。また、本研究の一部は JSPS 科研費 JP25281028 の助成を受けて行われています。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Marczylo E. L., Jacobs M. N., Gant T. W., *Crit. Rev. Toxicol.*, **8444**, 1–25 (2016).
- 2) Wolstenholme J. T., Edwards M., Shetty S. R. J., Gatewood J. D., Taylor J. A., Rissman E. F., Connelly J. J., *Endocrinology*, **153**, 3828–3838 (2012).
- 3) Beronius A., Johansson N., Rudén C., Hanberg A., *Toxicology*, **311**, 13–26 (2013).
- 4) Tharp A. P., Maffini M. V., Hunt P. A., Vandervoort C. A., Sonnenschein C., Soto A. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 8190–8195 (2012).
- 5) Arase S., Ishii K., Igarashi K., Aisaki K., Yoshio Y., Matsushima A., Shimohigashi Y., Arima K., Kanno J., Sugimura Y., *Biol. Reprod.*, **84**, 734–742 (2011).
- 6) Tang W.-Y., Morey L. M., Cheung Y. Y., Birch L., Prins G. S., Ho S.-M., *Endocrinology*, **153**, 42–55 (2012).
- 7) Losa-Ward S. M., Todd K. L., McCaffrey K. A., Tsutsui K., Patisaul H. B., *Biol. Reprod.*, **87**, 28 (2012).
- 8) Dolinoy D. C., Huang D., Jirtle R. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 13056–13061 (2007).
- 9) Jaenisch R., Bird A., *Nat. Genet.*, **33** (Suppl.), 245–254 (2003).
- 10) Rosenfeld C. S., Sieli P. T., Warzak D. A., Ellersieck M. R., Pennington K. A., Roberts R. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 537–542 (2013).
- 11) Kundakovic M., Champagne F. A., *Brain Behav. Immun.*, **25**, 1084–1093 (2011).
- 12) Nakamura K., Itoh K., Yaoi T., Fujiwara Y., Sugimoto T., Fushiki S., *J. Neurosci. Res.*, **84**, 1197–1205 (2006).
- 13) Komada M., Asai Y., Morii M., Matsuki M., Sato M., Nagao T., *Toxicology*, **295**, 31–38 (2012).
- 14) Itoh K., Yaoi T., Fushiki S., *Neuropathology*, **32**, 447–457 (2012).
- 15) Hsieh J., Nakashima K., Kuwabara T., Mejia E., Gage F. H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 16659–16664 (2004).
- 16) Juliandi B., Tanemura K., Igarashi K., Tominaga T., Furukawa Y., Otsuka M., Moriyama N., Ikegami D., Abematsu M., Sanosaka T., Tsujimura K., Narita M., Kanno J., Nakashima K., *Stem Cell Reports*, **5**, 996–1009 (2015).
- 17) Meador K. J., Baker G. A., Browning N., Cohen M. J., Bromley R. L., Clayton-Smith J., Kalayjian L. A., Kanner A., Liporace J. D., Pennell P. B., Privitera M., Loring D. W., NEAD Study Group, *Neurology*, **78**, 1207–1214 (2012).
- 18) Meador K. J., Baker G. A., Browning N., Clayton-Smith J., Combs-Cantrell D. T., Cohen M., Kalayjian L. A., Kanner A., Liporace J. D., Pennell P. B., Privitera M., Loring D. W., NEAD Study Group, *N. Engl. J. Med.*, **360**, 1597–1605 (2009).
- 19) Meador K. J., Baker G. A., Browning N., Cohen M. J., Clayton-Smith J., Kalayjian L. A., Kanner A., Liporace J. D., Pennell P. B., Privitera M., Loring D. W., NEAD Study Group, *Brain*, **134**, 396–404 (2011).
- 20) Meador K. J., Baker G. A., Browning N., Cohen M. J., Bromley R. L., Clayton-Smith J., Kalayjian L. A., Kanner A., Liporace J. D.,

- Pennell P. B., Privitera M., Loring D. W., NEAD Study Group, *Lancet Neurol.*, **12**, 244–252 (2013).
- 21) Klengel T., Mehta D., Anacker C., Rex-Haffner M., Pruessner J. C., Pariante C. M., Pace T. W. W., Mercer K. B., Mayberg H. S., Bradley B., Nemeroff C. B., Holsboer F., Heim C. M., Ressler K. J., Rein T., Binder E. B., *Nat. Neurosci.*, **16**, 33–41 (2013).
- 22) Szyf M., *Nat. Neurosci.*, **16**, 2–4 (2013).
- 23) Frommer M., McDonald L. E., Millar D. S., Collis C. M., Watt F., Grigg G. W., Molloy P. L., Paul C. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 1827–1831 (1992).
- 24) Chamorro-García R., Sahu M., Abbey R. J., Laude J., Pham N., Blumberg B., *Environ. Health Perspect.*, **121**, 359–366 (2013).
- 25) Schmidt C. W., *Environ. Health Perspect.*, **121**, A298–A303 (2013).