

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)

総括研究報告書

ダイオキシン類の体内動態及び細胞障害性の解明に関する研究
研究報告書

主任研究者 久保田俊一郎 東京大学大学院 医学系研究科 助教授

研究要旨

ダイオキシン類の体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を主目的とし、ダイオキシンのヒトでの体内動態を類推するために、ヒトに最も近縁の動物であるサル(アカゲザル)を用いて、ダイオキシン類のうちで最も毒性の強いTCDDを皮下投与し、経時的に各臓器、体液中、尿中、糞便中のTCDDとその代謝産物を定量測定し、その代謝動態を解析することが、本研究の主題である。平成11年度は、その予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果から、全血約20ml(血漿にして約10ml)で可能であることが明らかとなった。また、TCDD投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと考えられた。平成11年11月より交配をスタートさせ、本試験を開始した。妊娠アカゲザルに2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)の皮下投与を開始し、経過観察中である。妊娠日齢の最も進んだサルは124日、最も遅いサルは28日である。12年5月下旬より出産開始予定である。なお、3H-TCDD 300 ng/kg投与群の投与7日後の組織中の2,3,7,8-TCDDの濃度は、2頭の平均値で以下の通りであった。母獣では、血中 5.71 pg eq/ml, 血漿 3.40 pg eq/ml, 肝臓 121.10 pg eq/g, 乳腺 50.97 pg eq/g, 脂肪組織 165.05 pg eq/g, 胎盤 199.02 pg eq/g, 臍帯 5.03 pg eq/g, 臍帯血漿 1.64 pg eq/g, 胎児では、血中 5.46 pg eq/ml, 血漿 1.84 pg eq/ml, 肝臓 351.41 pg eq/g, 脂肪組織 146.54 pg eq/g, 卵巣 60.64 pg eq/gであった。

分担研究者氏名・所属施設
及び職名

福里利夫・群馬大学助教授
野水基義・北海道大学助教授

堀久枝・東京医科歯科大学助手
小林孝志・千葉大学付属病院助手

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)

総括研究報告書

A. 研究目的

ダイオキシン類の体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を主目的とする。ダイオキシンのヒトでの体内動態を類推するために、ヒトに最も近縁の動物であるサル(アカゲザル)を用いて、ダイオキシン類のうちで最も毒性の強いTCDDを皮下投与し、経時的に各臓器、体液中、尿中、糞便中のTCDDとその代謝産物を定量測定し、その代謝動態を解析し、さらに、妊娠アカゲザルおよび哺育中のアカゲザルにTCDDを皮下投与した時の母動物、胎児および出生児への組織移行性やその組織障害性を調べる。また、広島大学安田峯生教授との共同研究で、妊娠アカゲザルおよび哺育中のアカゲザルにTCDDを皮下投与した時の雌雄出生児(F1)の生後発育、生殖器の形態、精子形成および生殖能に及ぼす影響も調べる。平成11年度は、予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。組織標本を作成し、光学顕微鏡的解析も行なった。

B. 研究方法

1. ダイオキシンの調整および投与

2,3,7,8-TCDDは、Wellington Lab.において、トルエン/DMSO(1:2 v/v)を溶媒として、濃度を300ng/mlに調整されたものを用いた。投与量は、0, 30 ng/ml(0.1 ml/kg), 300ng/ml(1ml/kg)とし、背部皮下に投与した。対照群は、トルエン/DMSO(1:2 v/v) 1ml/kgをTCDD投与群と同様の方法で投与した。

2. 試験動物

雌アカゲザルは、China National Scientific Instruments & Materials Import/Export Corporationから購入し、株式会社新日本科学で検疫、予備飼育を行った。一般状態の観察、摂餌量測定、体重測定、血液生化学検査を行い、異常のないサル(6~9才、4.7~5.9kg)を用いた。

3. 血漿中TCDD濃度測定

投与後、5, 14, 21, 28, 及び49日に大腿静脈から約20ml/サル、ヘパリン採血した。血漿に分離後、島津テクノリサーチ分析部にてガスクロマトグラフィー質量分析法にて分析した。

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)

総括研究報告書

4. 病理組織学的解析

投与後49日にペントバルビタールナトリウムを静脈注射し、放血安楽死させ、器官および組織の肉眼的観察および病理組織学的解析のための標本を採取した。

(倫理面への配慮)

上記の病理組織標本採取にあたり、サルを麻酔下で、放血安楽死させた。

C. 研究結果

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザルに単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果、0, 30, 300 ng/kgを投与したサルの2,3,7,8-TCDDの濃度は、それぞれ、5日後(N.D., 0.92, 9.2 pg/g wet), 21日後(N.D., 0.82, 20 pg/g)、49日後(N.D., 0.52, 11 pg/g)であった。脂肪重量あたりに換算した場合は、それぞれ、5日後(N.D., 320, 2600 pg/g fat), 21日後(N.D., 610, 7400 pg/g)、49日後(N.D., 170, 9000 pg/g)であった。

剖検では、TCDD投与群で、投与部位皮下の出血および心外膜下の点状出血が見られた。30ng/kg投与群で、左肺の赤色点、左肺と胸壁の癒着および肛門周囲直腸

粘膜の暗赤色化が、また、300 ng/kg投与群では、肝臓辺縁部での小葉像明瞭化が見られた。対照群でも、投与部位の皮膚にか皮形成及び軽度の皮下出血が見られた。組織標本を作成し、光学顕微鏡的解析も行なったところ、TCDD投与群で内分泌系、生殖系、消化器系の臓器に異常を認めた。内分泌系では、副腎、特に網状層の萎縮、甲状腺の萎縮、下垂体に過形成が認められた。生殖系では、卵巣の萎縮、濾胞細胞の壊死が認められた。消化器系では、小腸、大腸に粘膜萎縮が見られた。胆嚢に浮腫、筋層離開が認められた。これらの異常所見は、予備試験のため各群1匹であり、個体差を見ている可能性もあり慎重に評価する必要がある。

平成11年11月より本試験を開始しているが、その途中経過の結果は、下記のとおりである。3H-TCDD 300 ng/kg投与群の投与7日後の組織中の2,3,7,8-TCDDの濃度は、2頭の平均値で以下の通りであった。母獣では、血中 5.71 pg eq/ml, 血漿 3.40 pg eq/ml, 肝臓 121.10 pg eq/g, 乳腺 50.97 pg eq/g, 脂肪組織 165.05 pg eq/g, 胎盤 199.02 pg eq/g, 臍帯 5.03 pg eq/g, 臍帯血漿 1.64 pg eq/g, 胎児では、血中 5.46 pg eq/ml,

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)

総括研究報告書

、血漿 1.84 pg eq/ml, 肝臓 351.41 pg eq/g, 脂肪組織 146.54 pg eq/g, 卵巣 60.64 pg eq/gであった。

D. 考察

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で行なった実験結果から、全血約 20 ml (血漿にして約 10 ml) で可能であり、投与後 49 日までは血漿中の TCDD の濃度の推移に大きな変動はないと判断した。血漿中の TCDD 濃度を湿重量あたりあるいは脂肪重量あたりで表示する場合、実験結果からは、脂肪重量あたりで表示すると、ばらつきが大きい傾向があり、湿重量あたりで表示するほうがばらつきが小さいと考えられた。

組織標本の光学顕微鏡的解析で、TCDD 投与群で内分泌系、生殖系 消化器系の臓器に異常を認めた実験結果を得たが、予備実験のため、1 群 1 頭であり、個体差を見ている可能性を否定できないが、コントロールでは変化が見られなかったことから、TCDD の影響の可能性もある。この原因を明らかにするためには頭数を増やして実験を行う必要がある。

E. 結論

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目

的で行なった実験結果から、全血約 20 ml (血漿にして約 10 ml) で可能であることが明らかとなった。また、TCDD 投与後 49 日までは血漿中の TCDD の濃度の推移に大きな変動はないと考えられた。

剖検では、TCDD 投与群で、投与部位皮下の出血および心外膜下の点状出血が見られた。30 ng/kg 投与群で、左肺の赤色点、左肺と胸壁の癒着および肛門周囲直腸粘膜の暗赤色化が、また、300 ng/kg 投与群では、肝臓辺縁部での小葉像明瞭化が見られた。対照群でも、投与部位の皮膚にか皮形成及び軽度の皮下出血が見られた。組織標本の光学顕微鏡的解析で、TCDD 投与群で内分泌系、生殖系 消化器系の臓器に異常を認めた実験結果を得た。しかしながら、予備実験のため、1 群 1 頭であり、個体差を見ている可能性を否定できないため、この原因を明らかにするためには頭数を増やして実験を行う必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

久保田俊一郎

ダイオキシンの体内動態

Bio Clinica 15: 39-42, 2000

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

ダイオキシン類の体内動態及び細胞障害性の解明に関する研究

分担研究者 福里利夫 群馬大学医学部助教授

ダイオキシン類の体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を主目的とし、ダイオキシンのヒトでの体内動態を類推するために、ヒトに最も近縁の動物であるアカゲザルを用いて、ダイオキシン類の代表であるTCDDを皮下投与し、経時的に各臓器、体液中、尿中、糞便中のTCDDとその代謝産物を定量測定し、その代謝動態を解析することが、本研究の主題である。平成11年度は、その予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果から、全血約20ml(血漿にして約10ml)で可能であることが明かとなった。また、TCDD投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと考えられた。予備試験ではあるが、組織障害性について病理標本を作成して光学顕微鏡による解析を行い、TCDD皮下投与群で内分泌系、生殖系 さらに消化器系の臓器に異常を認めた。内分泌系では、副腎、特に網状層の萎縮、甲状腺の萎縮、下垂体に過形成が認められた。生殖系では、卵巣の萎縮、濾胞細胞の壊死が認められた。消化器系では、小腸、大腸に粘膜萎縮が見られた。胆嚢に浮腫、筋層離開が認められた。これらの異常所見は、予備試験のため各群1匹であり、個体差を見ている可能性もあり慎重に評価する必要がある。

A. 研究目的

ダイオキシン類の体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を主目的とする。ダイオキシンのヒトでの体内動態を類推するために、ヒトに最も近縁の動物であるアカゲザルを用いて、ダイオキシン類の代表であるTCDDを皮下投与し、

経時的に各臓器のTCDDとその代謝産物を定量測定し、その代謝動態を解析する。また、TCDDによる臓器障害性を解析する。平成11年度は、予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。組織標本を作成し、光学顕微鏡的解析も行なった。

B. 研究方法

1. ダイオキシンの調整および投与

2,3,7,8-TCDDは、Wellington Lab.において、トルエン/DMSO (1:2 v/v)を溶媒として、濃度を300ng/mlに調整されたものを用いた。投与量は、0, 30 ng/ml (0.1 ml/kg), 300ng/ml (1ml/kg)とし、背部皮下に投与した。対照群は、トルエン/DMSO (1:2 v/v) 1ml/kgをTCDD投与群と同様の方法で投与した。

2. 試験動物

雌アカゲザルは、China National Scientific Instruments & Materials Import/Export Corporationから購入し、株式会社新日本科学で検疫、予備飼育を行った。一般状態の観察、摂餌量測定、体重測定、血液生化学検査を行い、異常のないサル(6~9才、4.7~5.9kg)を用いた。

3. 血漿中TCDD濃度測定

投与後、5, 14, 21, 28, 及び49日に大腿静脈から約20ml/サル、ヘパリン採血した。血漿に分離後、島津テクノロジー分析部にてガスクロマトグラフィー質量分析法にて分析した。

4. 病理組織学的解析

投与後49日にベントバルビタールナトリウムを静脈注射し、放血安楽死させ、器官および組織の肉眼的観察および病理組織学的解析のための標本を採取した。

(倫理面への配慮)

上記の病理組織標本採取にあたり、サルを麻酔下で、放血安楽死させた。

C. 研究結果

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザルに単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果、0, 30, 300 ng/kgを投与したサルの2,3,7,8-TCDDの濃度は、それぞれ、5日後(N.D., 0.92, 9.2 pg/g wet), 21日後(N.D., 0.82, 20 pg/g)、49日後(N.D., 0.52, 11 pg/g)であった。

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

剖検では、TCDD投与群で、投与部位皮下の出血および心外膜下の点状出血が見られた。30ng/kg投与群で、左肺の赤色点、左肺と胸壁の癒着および肛門周囲直腸粘膜の暗赤色化が、また、300 ng/kg投与群では、肝臓辺縁部での小葉像明瞭化が見られた。対照群でも、投与部位の皮膚にか皮形成及び軽度の皮下出血が見られた。病理組織標本を作成し、光学顕微鏡的解析も行なったところTCDD投与群で内分泌系、生殖系 消化器系の臓器に異常を認めた。内分泌系では、副腎、特に網状層の萎縮、甲状腺の萎縮、下垂体に過形成が認められた。生殖系では、卵巣の萎縮、濾胞細胞の壊死が認められた。消化器系では、小腸、大腸に粘膜萎縮が見られた。胆嚢に浮腫、筋層離開が認められた。これらの異常所見は、予備試験のため各群1匹であり、個体差を見ている可能性もあり慎重に評価する必要がある。

D. 考察

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で行なった実験結果から、全血約20ml (血漿にして約10ml) で可能であり、投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推

移に大きな変動はないと判断した。組織標本の光学顕微鏡的解析で、TCDD投与群で内分泌系、生殖系 消化器系の臓器に異常を認めた実験結果を得たが、予備実験のため、1群1頭であり、個体差を見ている可能性を否定できないため、頭数を増やして実験を行う必要がある。

E. 結論

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で行なった実験結果から、全血約20ml (血漿にして約10ml) で可能であることが明らかとなった。また、TCDD投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと考えられた。

剖検では、TCDD投与群で、投与部位皮下の出血および心外膜下の点状出血が見られた。30ng/kg投与群で、左肺の赤色点、左肺と胸壁の癒着および肛門周囲直腸粘膜の暗赤色化が、また、300 ng/kg投与群では、肝臓辺縁部での小葉像明瞭化が見られた。対照群でも、投与部位の皮膚にか皮形成及び軽度の皮下出血が見られた。組織標本の光学顕微鏡的解析で、TCDD投与群で内分泌系、生殖系 消化器系の臓器に異常を認めた実験結果を得た。しかしながら、予

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

備実験のため、1群1頭であり、
個体差を見ている可能性を否定で
きないため、頭数を増やして実験
を行う必要がある。

F. 研究発表
なし

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

ダイオキシン類の体内動態及び細胞障害性の解明に関する研究

分担研究者 野水基義 北大大学院助教授

ダイオキシン類のヒトでの体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を目的とし、アカゲザルを用いて、TCDDを皮下投与し、経時的に各臓器でのTCDDとその代謝産物を定量測定し、その代謝動態を解析することが、本研究の最終課題である。平成11年度は、その予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果から、全血約20ml(血漿にして約10ml)で可能であることが明かとなった。また、TCDD投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと考えられた。平成11年11月より交配を開始した。妊娠アカゲザルに2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)の皮下投与を開始し、経過観察中である。12年5月下旬より出産開始予定である。なお、3H-TCDD 300 ng/kg投与群の投与7日後の組織中の2,3,7,8-TCDDの濃度は、2頭の平均値で以下の通りであった。母獣では、血中 5.71 pg eq/ml, 血漿 3.40 pg eq/ml, 肝臓 121.10 pg eq/g, 乳腺 50.97 pg eq/g, 脂肪組織 165.05 pg eq/g, 胎盤 199.02 pg eq/g, 臍帯 5.03 pg eq/g, 臍帯血漿 1.64 pg eq/g, 胎児では、血中 5.46 pg eq/ml, 血漿 1.84 pg eq/ml, 肝臓 351.41 pg eq/g, 脂肪組織 146.54 pg eq/g, 卵巣 60.64 pg eq/gであった。ダイオキシン類の細胞障害性を検討するため、培養細胞系を準備し、予備実験を始めた。

A. 研究目的

ダイオキシン類の体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を主目的とする。アカゲザルを用いて、ダイオキシン類の代表であるTCDD

を皮下投与し、経時的に各臓器のTCDDとその代謝産物を定量測定し、その代謝動態を解析する。また、TCDDによる臓器障害性およ

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

び培養細胞系での細胞外マトリックスと細胞の相互関係への影響を解析する。平成11年度は、予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。

B. 研究方法

1. ダイオキシンの調整および投与

2,3,7,8-TCDDは、Wellington Lab.において、トルエン/DMSO (1:2 v/v)を溶媒として、濃度を300ng/mlに調整されたものを用いた。投与量は、0, 30 ng/ml (0.1 ml/kg), 300ng/ml (1ml/kg)とし、背部皮下に投与した。対照群は、トルエン/DMSO (1:2 v/v) 1ml/kgをTCDD投与群と同様の方法で投与した。

2. 試験動物

雌アカゲザルは、China National Scientific Instruments & Materials Import/Export Corporationから購入し、株式会社新日本科学で検疫、予備飼育を行った。一般状態の観察、摂餌量測定、体重測定、血液生化学検査

を行い、異常のないサル(6~9才、4.7~5.9kg)を用いた。

3. 血漿中TCDD濃度測定

投与後、5, 14, 21, 28, 及び49日に大腿静脈から約20ml/サル、ヘパリン採血した。血漿に分離後、島津テクノリサーチ分析部にてガスクロマトグラフィー質量分析法にて分析した。

4. 病理組織学的解析

投与後49日にベントバルビタールナトリウムを静脈注射し、放血安楽死させ、器官および組織の肉眼的観察および病理組織学的解析のための標本を採取した。

(倫理面への配慮)

上記の病理組織標本採取にあたり、サルを麻酔下で、放血安楽死させた。

C. 研究結果

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザルに単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果、0, 30, 300 ng/kgを投与したサルの2,3,7,8-TCDDの濃度は、それぞれ、5日後(N.D., 0.92, 9.2 pg/g wet), 21日後

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

(N.D., 0.82, 20 pg/g)、49日後 (N.D., 0.52, 11 pg/g)であった。剖検では、TCDD投与群で、投与部位皮下の出血および心外膜下の点状出血が見られた。30ng/kg投与群で、左肺の赤色点、左肺と胸壁の癒着および肛門周囲直腸粘膜の暗赤色化が、また、300 ng/kg投与群では、肝臓辺縁部での小葉像明瞭化が見られた。対照群でも、投与部位の皮膚にか皮形成及び軽度の皮下出血が見られた。培養細胞系で、細胞外マトリックスへのダイオキシン類の影響を解析する系を構築した。

D. 考察

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で行なった実験結果から、全血約20ml (血漿にして約10ml)で可能であり、投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと判断した。

E. 結論

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で行なった実験結果から、全血約20ml (血漿にして約10ml)で可能であることが明らかとなった。また、TCDD投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の

推移に大きな変動はないと考えられた。

F. 研究発表
なし

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

ダイオキシン類の体内動態及び細胞障害性の解明に関する研究

分担研究者 堀久枝 東京医科歯科大学助手

ダイオキシン類のヒトでの体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を目的とし、アカゲザルを用いて、TCDDを皮下投与し、経時的に各臓器でのTCDDとその代謝産物を定量測定し、その代謝動態を解析することが、本研究の最終課題である。平成11年度は、その予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果から、全血約20ml(血漿にして約10ml)で可能であることが明かとなった。

また、TCDD投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと考えられた。平成11年11月より交配を開始した。妊娠アカゲザルに2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)の皮下投与を開始し、経過観察中である。12年5月下旬より出産開始予定である。なお、3H-TCDD 300 ng/kg投与群の投与7日後の組織中の2,3,7,8-TCDDの濃度は、2頭の平均値で以下の通りであった。母獣では、血中 5.71 pg eq/ml, 血漿 3.40 pg eq/ml, 肝臓 121.10 pg eq/g, 乳腺 50.97 pg eq/g, 脂肪組織 165.05 pg eq/g, 胎盤 199.02 pg eq/g, 臍帯 5.03 pg eq/g, 臍帯血漿 1.64 pg eq/g, 胎児では、血中 5.46 pg eq/ml, 血漿 1.84 pg eq/ml, 肝臓 351.41 pg eq/g, 脂肪組織 146.54 pg eq/g, 卵巣 60.64 pg eq/gであった。平成12年度にダイオキシンによる血管新生への影響を含めて細胞内情報伝達系を解析するため、培養細胞を用いた予備実験を行った。

A. 研究目的

ダイオキシン類の体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を主な目的とする。アカゲザルを用いて、2,3,7,8-TCDDを皮下投与し、経

時的に各臓器におけるTCDDを定量測定し、その代謝動態を解析する。また、TCDDによる臓器障害性および培養細胞系での細胞外基

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

質 (メロシン、コラゲナーゼなど) の発現への影響を解析する。平成11年度は、予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。

B. 研究方法

1. ダイオキシンの調整および投与

2,3,7,8-TCDDは、Wellington Lab.において、トルエン/DMSO (1:2 v/v)を溶媒として、濃度を300ng/mlに調整されたものを用いた。投与量は、0, 30 ng/ml (0.1 ml/kg), 300ng/ml (1ml/kg)とし、背部皮下に投与した。対照群は、トルエン/DMSO (1:2 v/v) 1ml/kgをTCDD投与群と同様の方法で投与した。

2. 試験動物

雌アカゲザルは、China National Scientific Instruments & Materials Import/Export Corporationから購入し、株式会社新日本科学で検疫、予備飼育を行った。一般状態の観察、摂餌量測定、体重測定、血液生化学検査を行い、異常のないサル (6~9

才、4.7~5.9kg)を用いた。

3. 血漿中TCDD濃度測定

投与後、5, 14, 21, 28, 及び49日に大腿静脈から約20ml/サル、ヘパリン採血した。血漿に分離後、島津テクノリサーチ分析部にてガスクロマトグラフィー質量分析法にて分析した。

4. 病理組織学的解析

投与後49日にペントバルビタールナトリウムを静脈注射し、放血安楽死させ、器官および組織の肉眼的観察および病理組織学的解析のための標本を採取した。

(倫理面への配慮)

上記の病理組織標本採取にあたり、サルを麻酔下で、放血安楽死させた。

C. 研究結果

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザルに単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果、0, 30, 300 ng/kgを投与したサルの2,3,7,8-TCDDの濃度は、それぞれ、5日後 (N.D., 0.92, 9.2 pg/g wet), 21日後 (N.D., 0.82, 20 pg/g)、49日後

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

(N.D., 0.52, 11 pg/g)であった。剖検では、TCDD投与群で、投与部位皮下の出血および心外膜下の点状出血が見られた。30ng/kg投与群で、左肺の赤色点、左肺と胸壁の癒着および肛門周囲直腸粘膜の暗赤色化が、また、300 ng/kg投与群では、肝臓辺縁部での小葉像明瞭化が見られた。対照群でも、投与部位の皮膚にか皮形成及び軽度の皮下出血が見られた。培養細胞系で、コラゲナーゼやメロシンの発現へのダイオキシン類の影響を解析するための培養細胞系(血管内皮細胞)を構築した。

D. 考察

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で行なった実験結果から、全血約20ml(血漿にして約10ml)で可能であり、投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと判断した。

E. 結論

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で行なった実験結果から、全血約20ml(血漿にして約10ml)で可能であることが明らかとなった。また、TCDD投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の

推移に大きな変動はないと考えられた。

F. 研究発表
なし

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

ダイオキシン類の体内動態及び細胞障害性の解明に関する研究

分担研究者 小林孝志 千葉大学医学部附属病院助手

ダイオキシン類のヒトでの体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を目的とし、アカゲザルを用いて、TCDDを皮下投与し、経時的に各臓器でのTCDDとその代謝産物を定量測定し、その代謝動態を解析することが、本研究の最終課題である。平成11年度は、その予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果から、全血約20ml(血漿にして約10ml)で可能であることが明らかとなった。

また、TCDD投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと考えられた。平成11年11月より交配を開始した。妊娠アカゲザルに2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)の皮下投与を開始し、経過観察中である。12年5月下旬より出産開始予定である。なお、3H-TCDD 300 ng/kg投与群の投与7日後の組織中の2,3,7,8-TCDDの濃度は、2頭の平均値で以下の通りであった。母獣では、血中 5.71 pg eq/ml, 血漿 3.40 pg eq/ml, 肝臓 121.10 pg eq/g, 乳腺 50.97 pg eq/g, 脂肪組織 165.05 pg eq/g, 胎盤 199.02 pg eq/g, 臍帯 5.03 pg eq/g, 臍帯血漿 1.64 pg eq/g, 胎児では、血中 5.46 pg eq/ml, 血漿 1.84 pg eq/ml, 肝臓 351.41 pg eq/g, 脂肪組織 146.54 pg eq/g, 卵巣 60.64 pg eq/gであった。分担項目は、平成12年度にダイオキシンによる皮膚病変あるいは皮膚障害性を解析するため、皮膚繊維芽細胞系を準備し、予備実験を始めた。

A. 研究目的

ダイオキシン類の体内動態(吸収、代謝、排泄)の解析を主な目的とする。アカゲザルを用いて、2,3,7,8-TCDDを皮下投与し、経

時的に各臓器におけるTCDDを定量測定し、その代謝動態を解析する。また、TCDDによる臓器障害性(特に皮膚)および培養細胞系

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

での細胞と細胞外基質の相互作用をマトリックスプロテアーゼおよびそのインヒビターの発現への影響の観点から解析する。平成11年度は、予備試験として、血中濃度の測定に必要な採血量および採決間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザル各1匹に単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。

B. 研究方法

1. ダイオキシンの調整および投与

2,3,7,8-TCDDは、Wellington Lab.において、トルエン/DMSO (1:2 v/v)を溶媒として、濃度を300ng/mlに調整されたものを用いた。投与量は、0, 30 ng/ml (0.1 ml/kg), 300ng/ml (1ml/kg)とし、背部皮下に投与した。対照群は、トルエン/DMSO (1:2 v/v) 1ml/kgをTCDD投与群と同様の方法で投与した。

2. 試験動物

雌アカゲザルは、China National Scientific Instruments & Materials Import/Export Corporationから購入し、株式会社新日本科学で検疫、予備飼育を行った。一般状態の観察、摂餌量

測定、体重測定、血液生化学検査を行い、異常のないサル(6~9才、4.7~5.9kg)を用いた。

3. 血漿中TCDD濃度測定

投与後、5, 14, 21, 28, 及び49日に大腿静脈から約20ml/サル、ヘパリン採血した。血漿に分離後、島津テクノリサーチ分析部にてガスクロマトグラフィ-質量分析法にて分析した。

4. 病理組織学的解析

投与後49日にベントバルビタールナトリウムを静脈注射し、放血安楽死させ、器官および組織の肉眼的観察および病理組織学的解析のための標本を採取した。

(倫理面への配慮)

上記の病理組織標本採取にあたり、サルを麻酔下で、放血安楽死させた。

C. 研究結果

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で2,3,7,8-TCDD(0, 30, 300 ng/kg)を雌アカゲザルに単回皮下投与し、投与後5, 21, 49日後にTCDDを測定した。その結果、0, 30, 300 ng/kgを投与したサルの2,3,7,8-TCDDの濃度は、それぞれ、5日後(N.D.,

厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

0.92, 9.2 pg/g wet), 21日後 (N.D., 0.82, 20 pg/g)、49日後 (N.D., 0.52, 11 pg/g)であった。剖検では、TCDD投与群で、投与部位皮下の出血および心外膜下の点状出血が見られた。30ng/kg投与群で、左肺の赤色点、左肺と胸壁の癒着および肛門周囲直腸粘膜の暗赤色化が、また、300 ng/kg投与群では、肝臓辺縁部での小葉像明瞭化が見られた。対照群でも、投与部位の皮膚にか皮形成及び軽度の皮下出血が見られた。ダイオキシン類による皮膚障害性および培養細胞系での細胞と細胞外基質の相互作用をマトリックスプロテアーゼおよびそのインヒビターの発現への影響の観点から解析するための培養細胞系(皮膚繊維芽細胞および内皮細胞)を構築した。

D. 考察

血中濃度の測定に必要な採血量および採血間隔を明らかにする目的で行なった実験結果から、全血約20ml(血漿にして約10ml)で可能であり、投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと判断した。

E. 結論

血中濃度の測定に必要な採血量

および採血間隔を明らかにする目的で行なった実験結果から、全血約20ml(血漿にして約10ml)で可能であることが明らかとなった。また、TCDD投与後49日までは血漿中のTCDDの濃度の推移に大きな変動はないと考えられた。

F. 研究発表

なし

4. 研究成果

1. 久保田俊一郎　ダイオキシンの体内動態　Bio Clinica 15:39-42, 2000
2. T. Obata and S.Kubota　Effects of nonylphenol on DHBA production in rat caudate. manuscript preparation
3. S. Kubota　Effects of bisphenol on matrixmetalloprotease secretion in vitro. manuscript preparation

19990670

以降 p.23-p.26 は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

「研究成果の刊行に関する一覧表」

ダイオキシンの体内動態.

久保田俊一郎

Bio Clinica. 15(2), pp.39-42, 2000

5 研究成果による特許権等の知的財産権の取得状況

なし