

写真 1

300 μ g/kg 群、雌、死亡動物の脳
髄膜下の出血。(HE 染色)

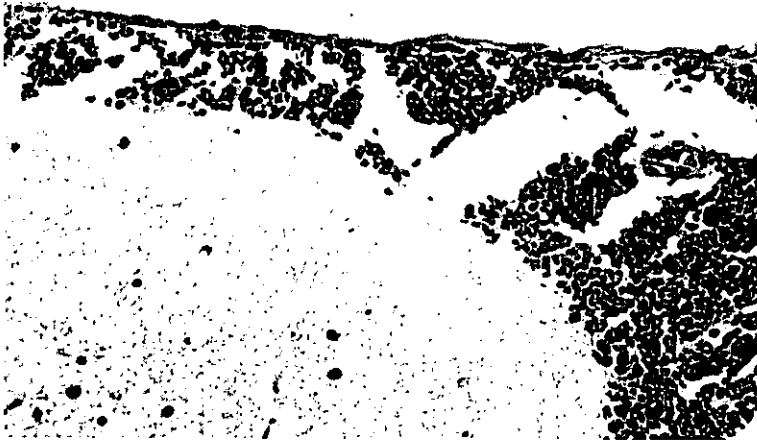


写真 2

- ① 対照群、雌、投与後 36 日
定期解剖動物の肝臓 (正常)
- ② 300 μ g/kg 群、雌、投与後 36 日
定期解剖動物の肝臓
肝細胞は腫大し、多核化した細胞 (A)
がみられる。肝細胞の配列は不整に
なり、管状に配列する像 (B) がみら
れる。
(HE 染色)

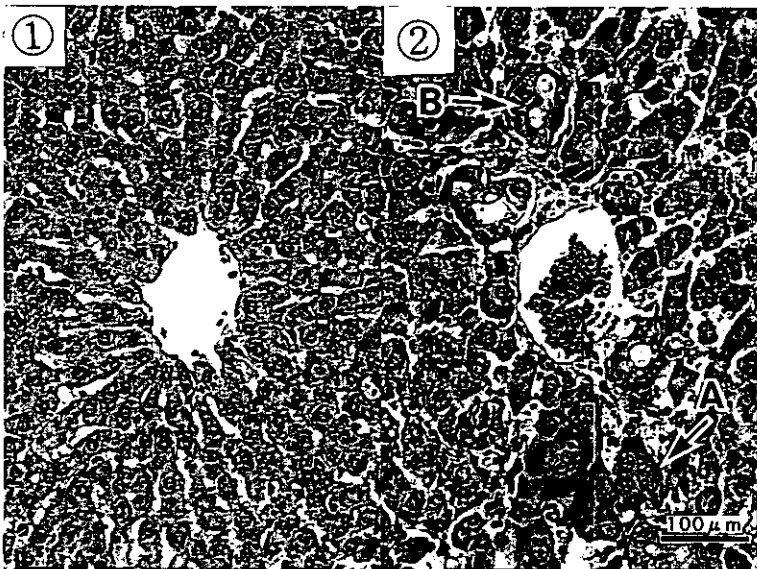
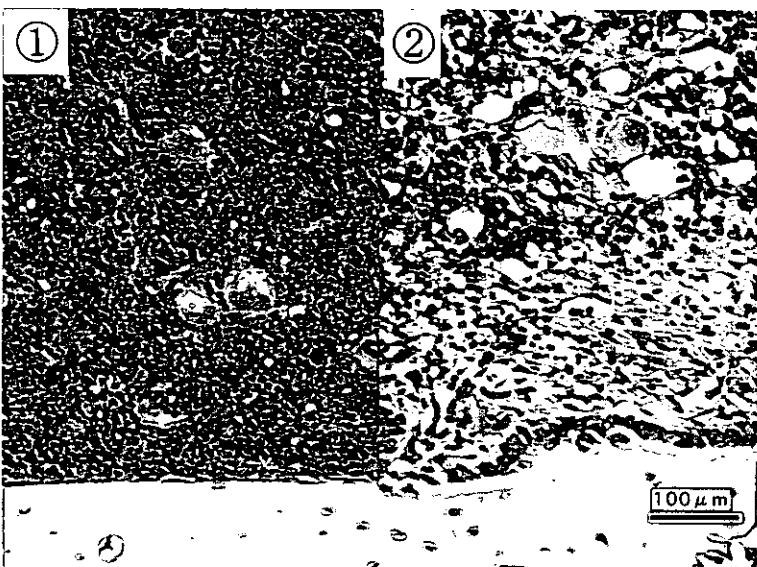


写真 3

- ① 対照群、雄、投与後 36 日
定期解剖動物の骨髄 (正常)
- ② 300 μ g/kg 群、雄、投与後 36 日
定期解剖動物の骨髄
造血組織の減少と線維化がみられる。
(HE 染色)



II. 経気道投与技術の開発・検討

A. 研究目的

臭素化ダイオキシンによる労働者の健康障害を防止する施策を行うための基礎データを得ることを目的として、臭素化ダイオキシン類の労働現場における暴露形態に合わせた経気道投与による毒性（動物への吸入暴露代替法としての経気道投与技術の開発・検討を含む）を評価するための研究を3年計画で行う。

動物への吸入暴露代替法として、少量の被験物質を安全且つ効率的に暴露可能な経気道投与法の開発・検討を行う。この経気道投与法では、体内負荷量の算出に際し、全身暴露法では推定値としてしか得られない投与量を正確に把握することが出来る。

本研究は、TBDDの経気道投与に用いる動物種及び投与方法・器材の選定等を目的とした投与技術の基礎的検討を行った。

B. 研究方法

1. 使用動物

動物は、Crj:Wistar ラット雄と Crj:BDF1 マウス雄を日本チャールス・リバー株式会社から購入し、10週齢で使用した。

2. 麻酔方法

エーテル吸入麻酔とイソフルラン吸入麻酔を比較した。

(1) エーテル吸入麻酔

麻酔瓶（ガラス製、直径15cm、高さ直径22cm）にジエチルエーテル（株和光純薬工業、

2cm）にジエチルエーテル（株和光純薬工業、試薬特級）（以下エーテルと記載。）を注入し、動物を麻酔瓶に入れ、正向反射の消失まで静置した。

(2) イソフルラン吸入麻酔

小動物用吸入麻酔器（株イソハン、TK-4）を使用し、イソフルラン（株ダイナボット、吸入麻酔剤フォーレン）を正向反射の消失まで吸入させた。

3. 投与方法及び投与器材

気管内注入法、液体気管内噴霧法及び粉末気管内噴霧法により、墨汁または炭粉を経気道投与した後、動物を解剖し、剖検観察を行った。

(1) 気管内注入法

① 器材

- ・プラスチック製注射筒（株テルモ、ツベルクリン用1ml）
- ・挿管用ゾンデ
 - a) ステンレス製ゾンデ
 - b) プラスチック製ゾンデ

② ①の器材を使用し、気管内に墨汁を注入した。

(2) 液体気管内噴霧法

① 器材

- ・液体気管内投与器具（株イナリサーチ、マイクロスプレイヤー）
- ・液体用スプレー管（株イナリサーチ）

② ①の器材を使用し、気管内に墨汁を噴霧

した。

(3) 粉末気管内噴霧法

① 器材

- ・粉末気管内投与器具（株式会社イナリサーチ、粉末用）
- ・粉末用スプレー管（株式会社イナリサーチ）

② ①の器材を使用し、気管内に炭粉を噴霧した。

(倫理面への配慮)

本研究は、動物愛護の観点から、当センターの「動物実験に関する指針」に基づき実施した。

C. 研究結果

1. 動物種の選択

ラットではゾンデあるいはスプレー管を気管内に挿入することが可能であった。一方、マウスでは、喉頭の目視が難しく、ゾンデあるいはスプレー管の気管内への挿入が困難であった。

また、肝臓重量はラットは平均 14.3 g、マウスは平均 1.3 g であり、臭素化ダイオキシン (TBDD) の体内負荷量の測定に必要な肝臓組織量を考慮した場合、特に低用量の TBDD 投与による体内負荷量を測定する場合、実験動物としてマウスの使用は適していないと考えられた。従って、経気道投与研究においてはラットの使用が適していると考えた。

2. 麻酔方法の比較

(1) エーテル吸入麻酔

正向反射の消失を確認した直後に麻酔瓶から取り出すと、短時間（1 分以内）で覚醒する動物があり、麻酔持続時間に個体差がみられた。動物の覚醒は、確実な気管内挿管操作及び投与溶液の投与を困難にした。操作中の動物の覚醒防止のためにエーテルを鼻から吸わせた場合、動物へのエーテル使用量が変わり、投与条件が一定にできなかった。さらに麻酔時間を長くした場合には、麻酔から覚醒せず、死亡する動物もみられた。

(2) イソフルラン吸入麻酔

吸入麻酔器を使用してイソフルランを一定濃度に保ち、安定した麻酔状態を維持することができた。また、麻酔中は、動物が覚醒することがなかったため、確実な気管内挿管操作及び投与溶液の投与が可能であった。さらに、イソフルランの供給停止後の動物の覚醒状態は良好であり、麻酔による動物の死亡はなかった。

3. 投与方法及び投与器材の検討結果

(1) 気管内注入法

気管内注入法においては、ステンレス製ゾンデ及びプラスチック製ゾンデを用いた検討結果はほぼ共通していた。すなわち、肺に黒色部が観察され、墨汁が肺内に投与されたことが確認された。しかし、肺の各葉への分布は偏りが多く、一部の葉だけに黒色部が観察されることが多かった。

(2) 液体気管内噴霧法

液体気管内投与器具マイクロスプレイヤーを用いラット気管内に挿入した液体用スプレー管から墨汁を噴霧したところ、肺全

プレー管から墨汁を噴霧したところ、肺全体に黒色部が観察され、墨汁が肺内に投与されたことが確認された。また黒色部は肺の各葉に均一に認められ、肺の各葉への分布に偏りが少なかった。

(3) 粉末気管内噴霧法

0.1mg以下の量では、肺に黒色部が観察されないことが多かった。

D. 考察

マウスでは、気管内投与が困難であり、また、臓器の採取可能量も少ないため、動物種はラットが適していると判断した。

麻酔方法は、イソフルラン吸入麻酔では、小動物用吸入麻酔器の使用により安定した麻酔を継続できたため、確実な気管内挿管操作及び投与溶液の投与が可能であった。従って、イソフルラン吸入麻酔はエーテル吸入麻酔より適切であると判断した。

投与方法は、化学物質を肺内に確実に投与することが可能で、また肺の各葉に均一に投与することが可能な液体気管内投与器具マイクロスプレーヤーを使用した液体気管内噴霧法が適切と判断した。

E. 結論

- 1) 動物種は、ラットを選定した。
- 2) 麻酔法は、イソフルランを使用した吸入麻酔法が有効であった。
- 3) 投与方法は、液体気管内投与器具を使用した液体気管内噴霧法が最も良好であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし