

動物番号 3, 9, 49 (コントロール) および 32, 38, 45, 51, 68 (TCDD 投与群) について、病理組織学的解析を行った。特記すべきは、サル 38 の肝臓に altered cell foci (腫瘍) が見られたことであった。これに関連した実験として、F0 および F1 の剖検標本を用いて、AhR を免疫染色で発現レベルを解析したところ、TCDD 投与サル肝臓で、非投与群と比較してより強い発現が見られた。

300ng/kg TCDD 投与で死亡した 2 例には、間質組織の増生など腎炎の所見がみられ、腎臓機能不全を示した。髄膜炎、肺炎を併発しており、これらが死亡原因と考えられる。その他の死亡例では、死因に繋がる所見は発見できなかった。

3. F0 の剖検に関して

2004 年 1 月 10 日と 2 月 25 日に F0 サルの剖検 (計 10 頭) を行い、TCDD の長期間 (3 年～) 投与による影響を解析する実験を実施した。30ng/kg, 300ng/kg 群の両方において、肝臓、胆管に増殖性病変および肝臓に循環障害が見られた。

コントロール群 3 頭
サル番号 6, 12, 15
30ng/kg TCDD 投与群 4 頭

サル番号 19, 28, 29, 30
300ng/kg TCDD 投与群 3 頭
サル番号 34, 40, 57

F0 剖検サルの肝臓の病理組織学的解析

コントロールには変化を認めなかったが、30ng/kg, 300ng/kg 投与サル肝臓に以下の変化を認めた。

- (1) 30ng/kg 投与サルでは、小葉内肝臓の核密度の増加
- (2) 30ng/kg 投与サルでは、胆管上皮に増殖性病変 (MIB1 の染色で陽性)
- (3) 300ng/kg 投与サルでは、小葉内肝臓の不規則な核密度の増加 (MIB1 の染色で陽性)

F0 サル肝臓電子顕微鏡による解析の所見

300ng/kg 投与群 (サル番号 57):

- (1) 類洞内皮細胞に変性所見が目立つ。
- (2) 類洞内皮細胞 (あるいは Kupfer 細胞) の腫大、細胞膜の不明瞭化、細胞質の不規則な形の拡大・破壊、細胞小器官の破壊が認められる。核は比較的よく保たれている。ライソゾームの増加が認められる。

- (3) 血管内腔が狭くなっている。
- (4) 星細胞（伊東細胞）は軽度腫大が疑われる。
- (5) 肝細胞では、glycogen の分布と SER（滑面小胞体）の分布・配列に異常が認められる。
- (6) 以上の類洞内所見や肝細胞の所見が、肝小葉内あるいは小葉間でも偏在して認められる（部位差がみられる）。

30ng/kg 投与群でも、程度はやや軽いが、300ng/kg 投与群と同様に認められる。コントロール群（サル番号 15）では、正常肝の所見が認められる。

4. F1 38b の剖検および解析

ビリルビン値が上昇していた F1 38b を観察したところ、明瞭な黄疸を認めため、肝炎ウイルスの検査を行い、陰性と判明した。そこで、TCDD による肝障害の可能性を考えて、F138b の剖検を行い、解析したところ、肝炎よりも、toxic な変化と考えられ、TCDD による影響が第1に考えられた（詳細は添付資料参照）。

D. 考察

F1a では、コントロールと比較して、TCDD300ng/kg 投与で、流死産、生後死が多発した。F1b を誕生させて、追試験を行った。その結果、流

死産、生後死は出現したが、30ng/kg, 300ng/kg 投与での用量依存性は見られず、コントロールでも流死産および死亡が見られており、F1a のような顕著な差が見られなかった。F1a と F1b での実験結果の差の原因は明瞭ではないが、F1a の実験結果を重視して研究を進める必要がある。

肝臓に altered cell foci が見られたことから考察すると、TCDD による発癌性を F1 および F0 の両方で *in vivo* で観察・解析する必要がある。これは、TDI の設定に有力な情報を提供する。

TDI 設定に、AhR を介する TCDD の分子レベル、タンパクレベルでの影響も考慮するべきとの考え方が強くなってきており、我々が行っている AhR の発現解析、AhR を介する情報伝達系の解明が必須の実験となると考えられる。

TCDD3ng/kg の影響を解析する遺伝子、タンパク質、病理組織学的解析実験や TCDD30ng/kg, 300ng/kg の投与による発癌性などの個体レベルでの解析結果が、より妥当な TDI 設定への有力な情報を提供すると考えられる。

F0 および F1 38b の剖検標本を用いて、AhR 発現レベルを免疫染色で解析したところ、TCDD 投与サル肝臓で、非投与群と比較してより強い発

現が見られた。TDI 設定への有用な情報とするべく、さらに詳細な解析を進めている。

E. 結論

ダイオキシン類の体内動態および臓器障害性の解析を行い、より妥当性の高い TDI の設定に役立てるため、平成 11 年より一連の継続的実験を行ってきた。F1 サルの 1 例の肝臓に altered foci が見出されたため、TCDD による発癌性との関連で解析中である。

TCDD(30ng/kg および 300ng/kg)の長期投与(3年以上)の影響を解析するため、F0 サルを剖検し、病理組織的解析およびタンパク質レベルでの解析を行った。

30ng/kg, 300ng/kg 群の両方において、肝臓、胆管に増殖性病変および肝臓に循環障害が見られた。肝臓および脳のタンパク質レベルでの解析をウエスタンブロット法で行った。30ng/kg および 300ng/kg 投与群の両方で多くのタンパク質が変動していた。

F1 で顕著な黄疸および血清肝機能異常を認めた 1 頭の剖検を行い、解析の結果 toxic な変化と考えられ、TCDD による影響(toxic injury)が考えられた。

本研究は、TCDD のヒトへの影響

を、よりヒトに近いサルで行うことを考えて、TCDD30ng/kg と 300ng/kg を投与する実験を設定した。マクロレベルでは、TCDD30ng/kg と比較して、300ng/kg の影響が強く、現行の TDI は概ね妥当と考えられる。病理組織学的解析などの結果を総合的に解析すると、30ng/kg の影響も大きいと考えられた。そこで、TCDD3ng/kg の影響を解析する実験を平成 15 年 12 月より行っている。また、TDI 設定に、TCDD の AhR を介する分子レベル、タンパクレベルでの影響を重視する考え方が強くなってきており、我々の班が行っている AhR の発現解析、AhR を介する情報伝達系の解明が重要と考えられる。TCDD3ng/kg の影響を解析する遺伝子、蛋白、病理組織学的解析実験や TCDD30ng/kg, 300ng/kg の投与による発癌性の個体レベルでの解析結果が、より妥当な TDI 設定への有力な情報を提供すると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Asaoka, K., Iida, H., Suzuki, J., Watanabe, K., Inoue, M., Fukusato, T., Murata, N.,

Nomizu, M., Nagata, R.,
Kubota, S. (2003) Gene
expression disorder in various
tissues in rhesus monkeys
treated with 2,3,7,8-
tetrachlorodibenzo-p-dioxin
via subcutaneous single
injection. Organohalogen
Compounds 64, 423-426
2 学会発表
国際学会
23rd International
Symposium on Halogenated
Organic & Persistent
Organic Pollutants
Boston, Massachusetts,
U.S.A., August 24-29, 2003
Asaoka, K., Iida, H., Suzuki, J.,
Watanabe, K., Inoue, M., Fukusato,

T., Murata, N., Nomizu, M., Nagata,
R., Kubota, S. (2003) Gene
expression disorder in various
tissues in rhesus monkeys treated
with 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-
p-dioxin via subcutaneous single
injection.

国内学会

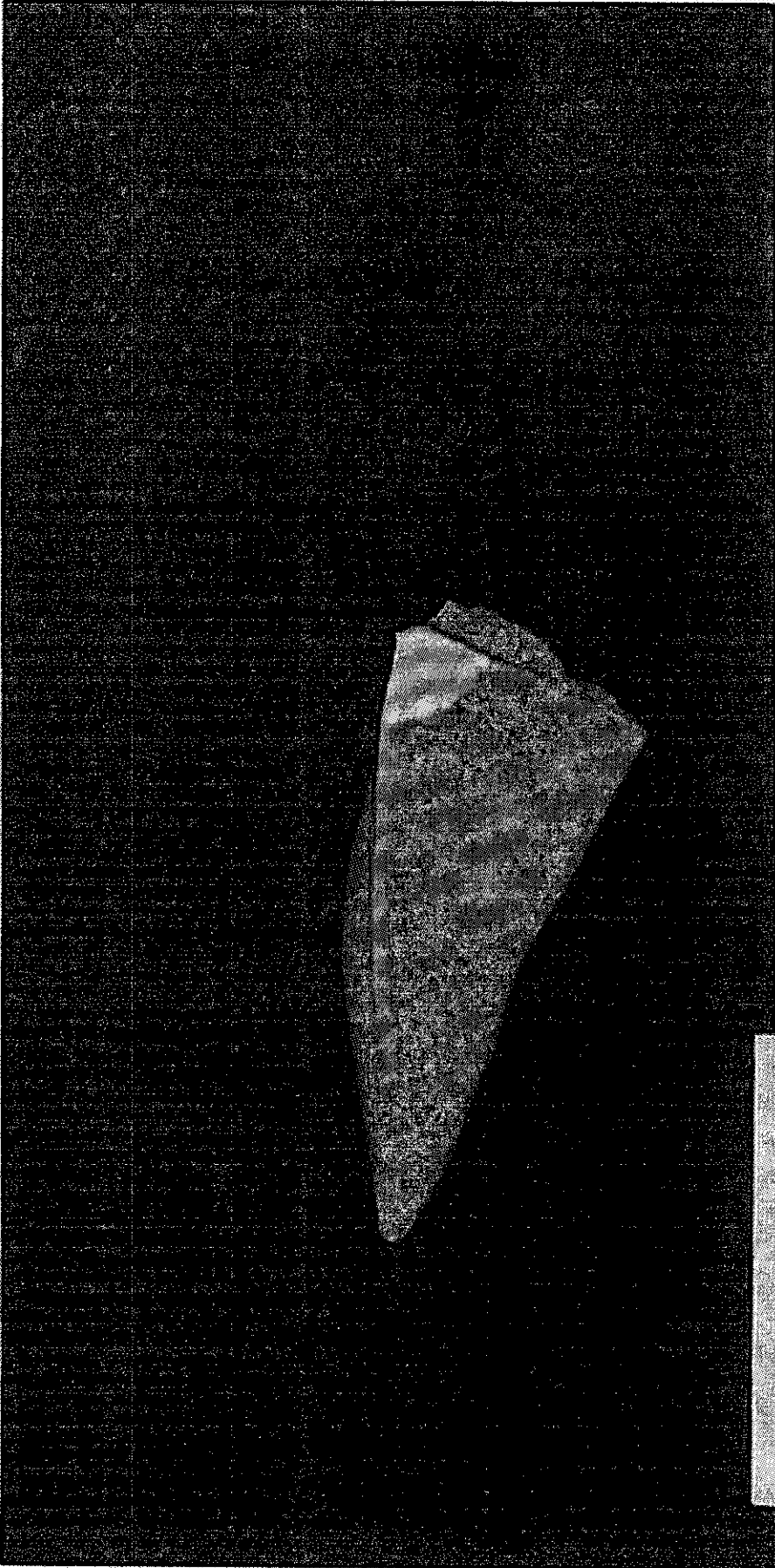
S. Kubota, T. Ihara, Y. Nishida, T.
Fukusato, N. Murata, M. Nomizu,
H. Iida, K. Asaoka (2003) Effect of
2,3,7,8,- TCDD on gene expression
in tissues in rhesus monkeys. 日本
内分泌攪乱化学物質学会第 6 回研究
発表会 (平成 15 年 12 月 2-3 日、仙
台市) 講演要旨集 p.334

G 知的所有権の取得状況
なし

TCDD 長期（3年以上）投与 F0 の病理組織学的解析

Histopathological findings in the liver of F0

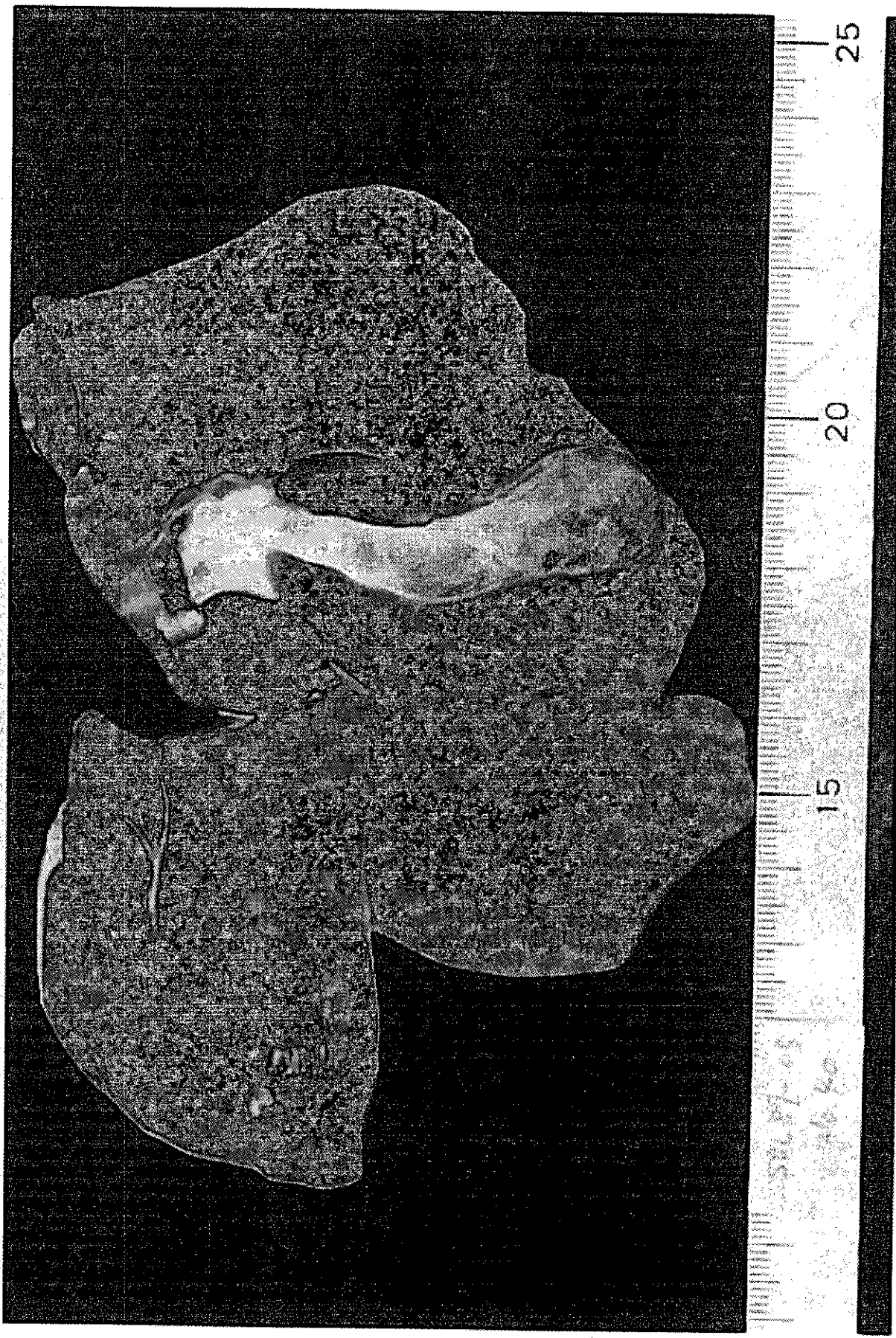
	Control	Group A	Group B
Focal fatty change	0/3	2/4	2/3
Fatty change	0/3	1/4	1/3
Peliotic change	0/3	3/4	2/3
Hemorrhage	0/3	1/4	1/3
Infarction	0/3	1/4	1/3
Microthrombi	0/3	2/4	2/3
Small cell hypercellularity	0/3	2/4	3/3
α SMA positive cell hyperplasia	0/3	3/4	3/3



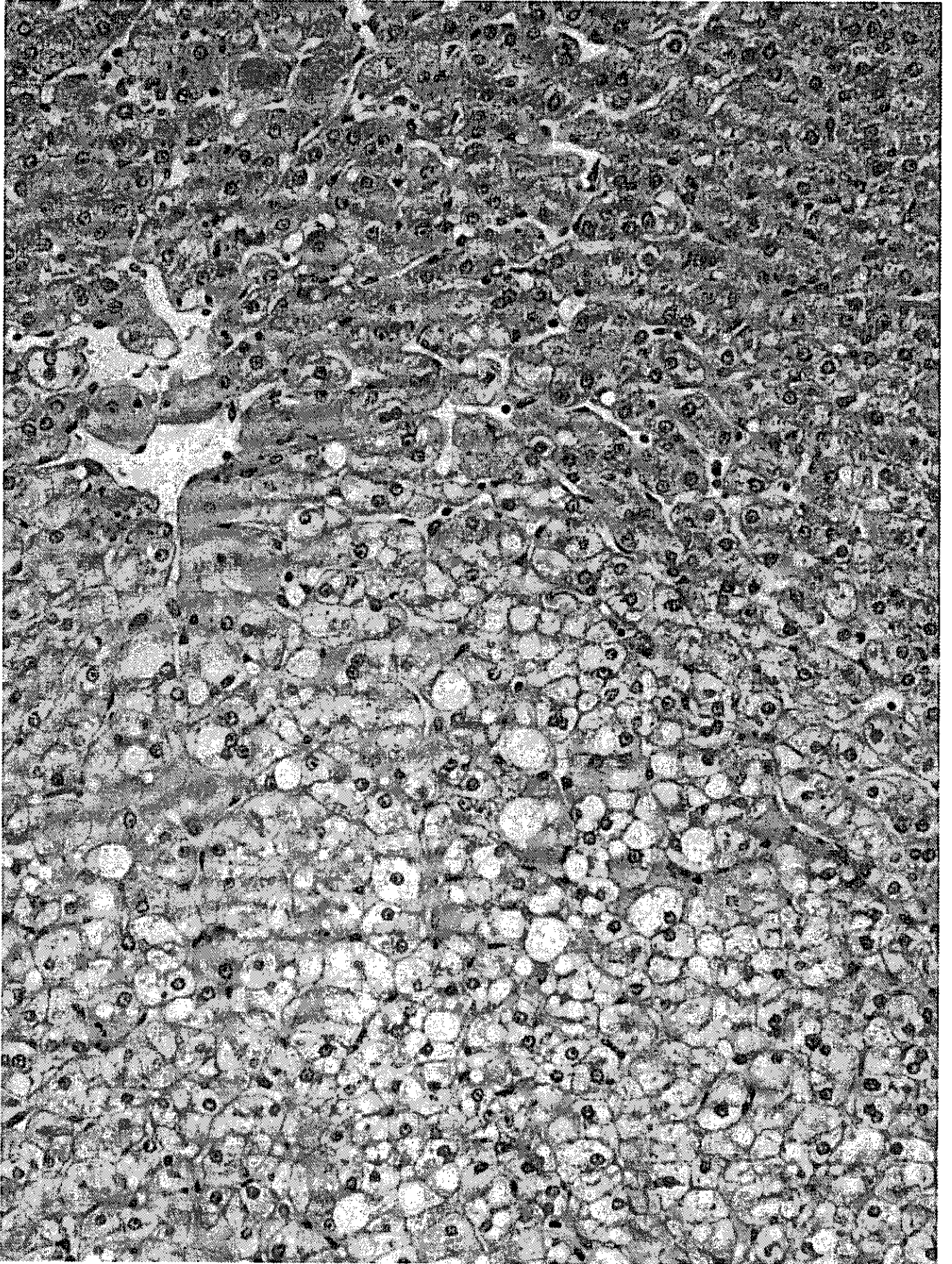
20

SBL 27-03
V. 34

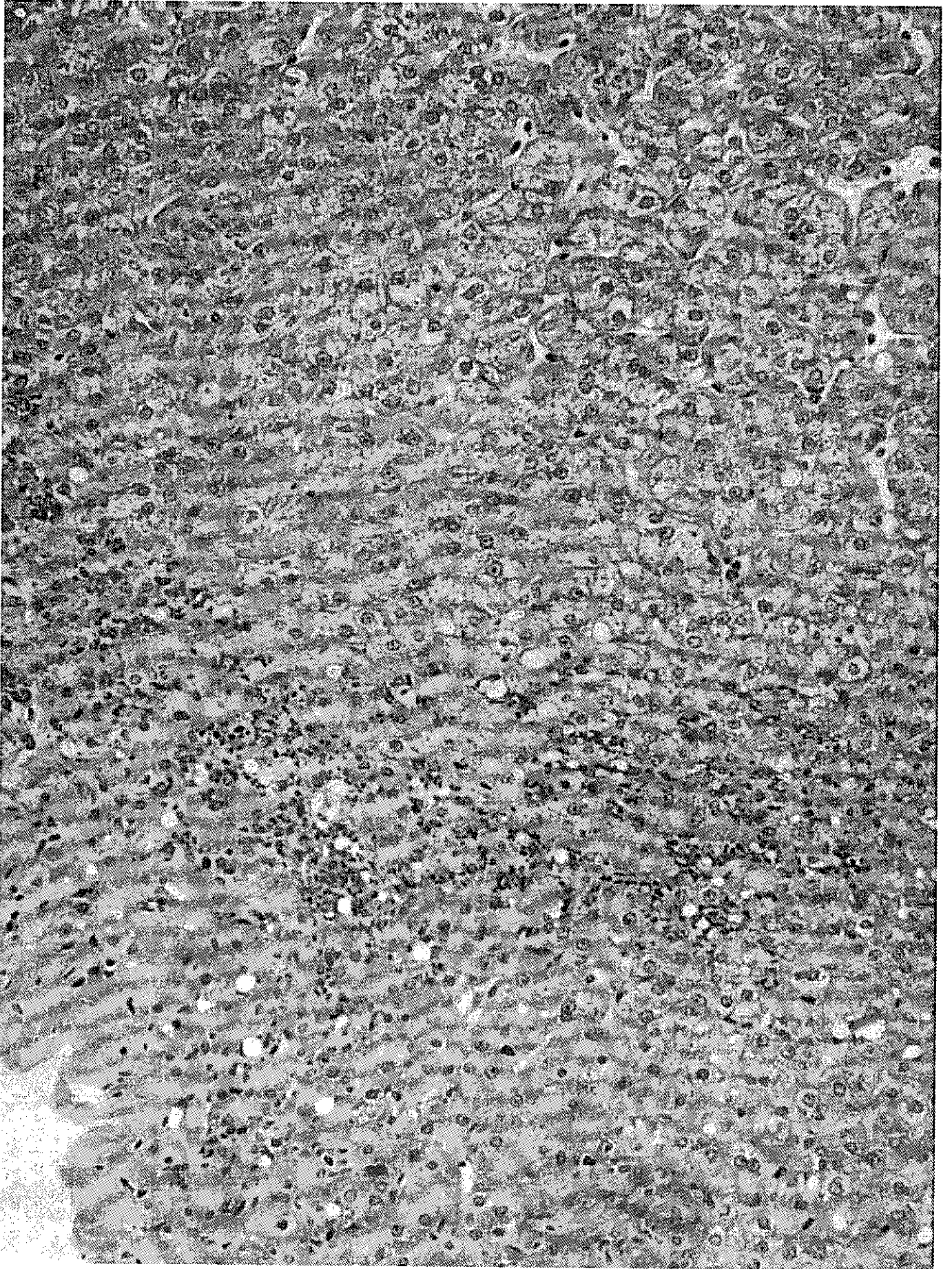
Liver (No.34)



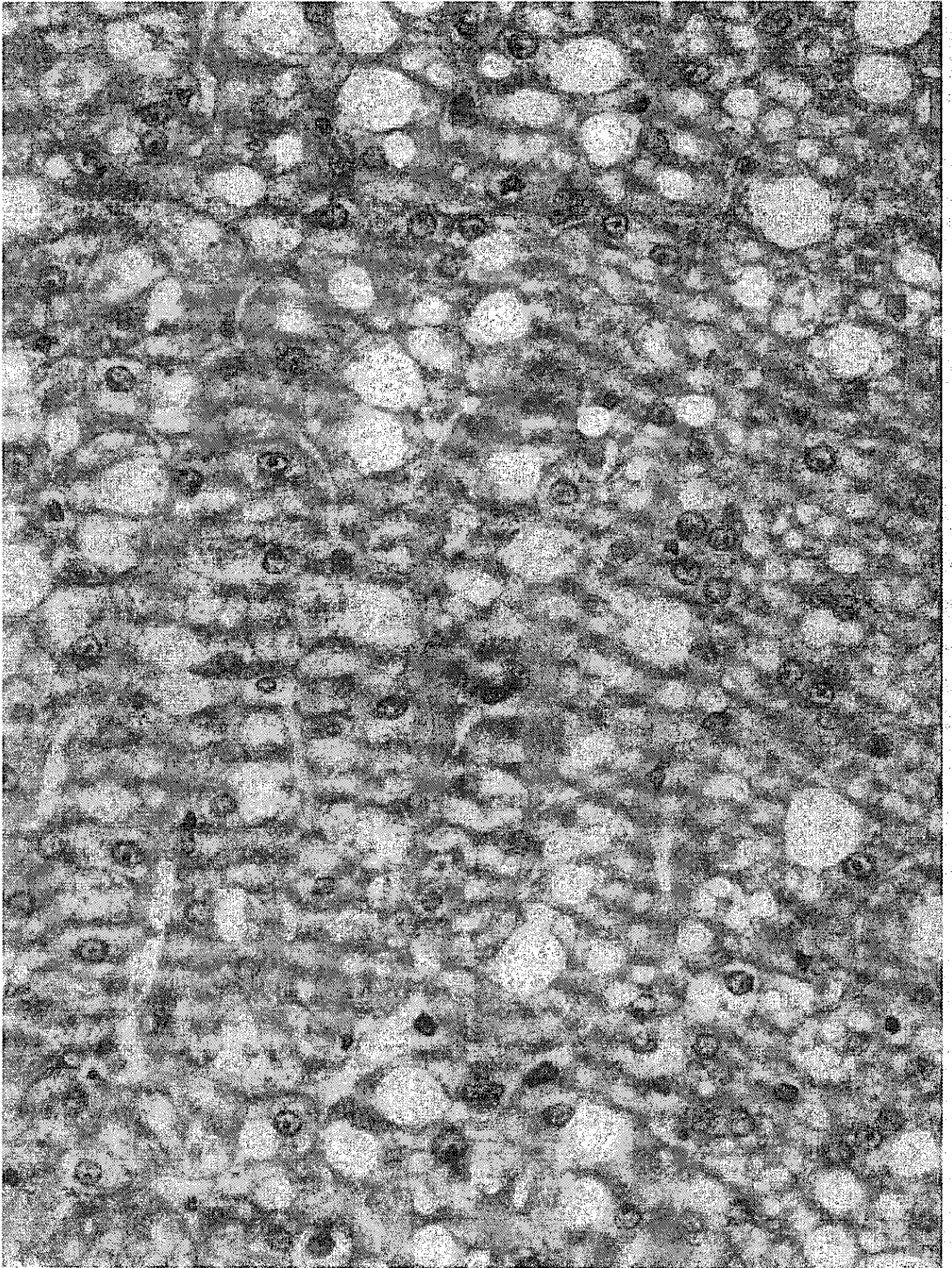
Liver (No.40)



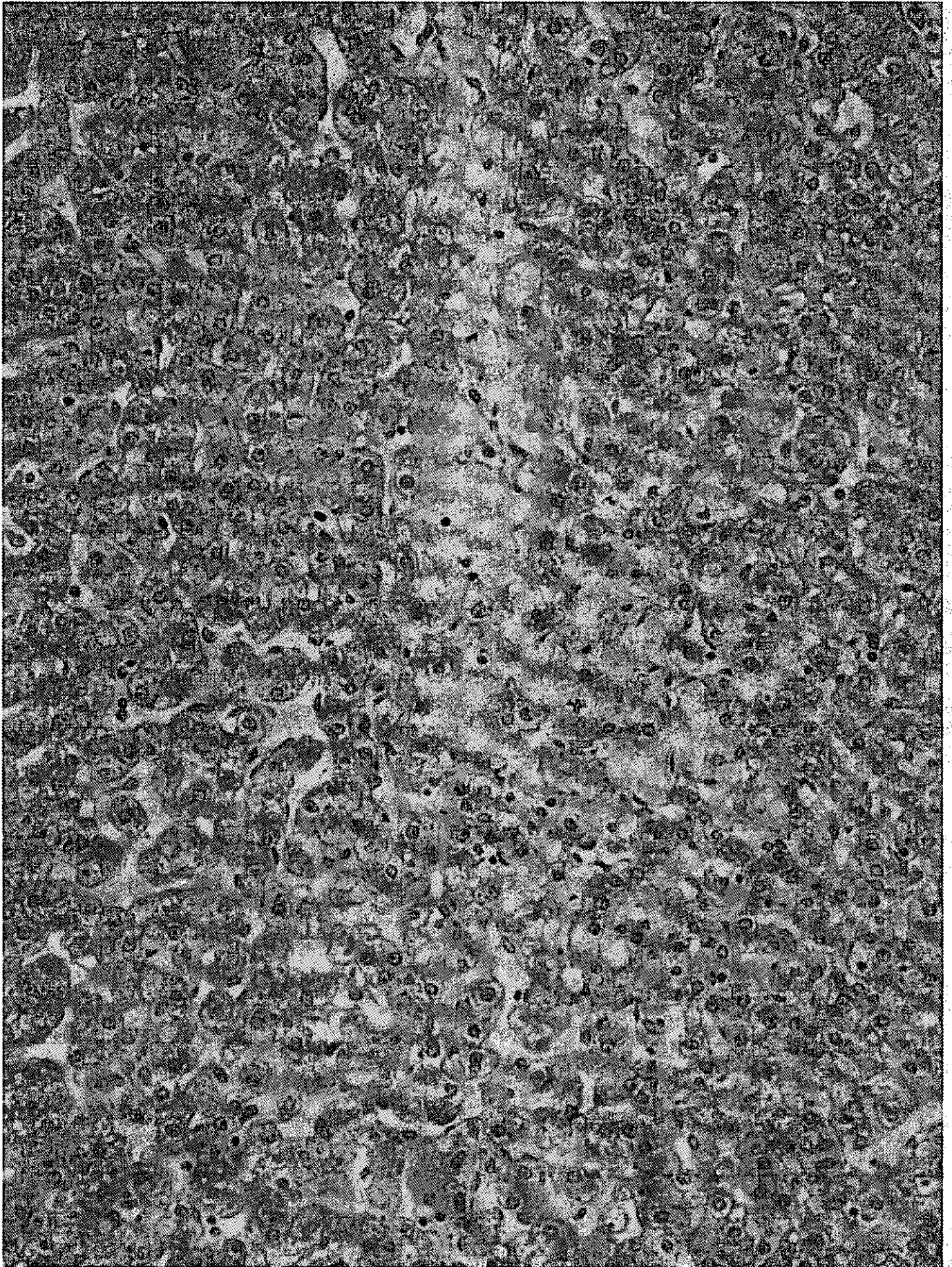
Focal fatty change (No.29)



Hemorrhage (No.29)



Microthrombi (No.29)



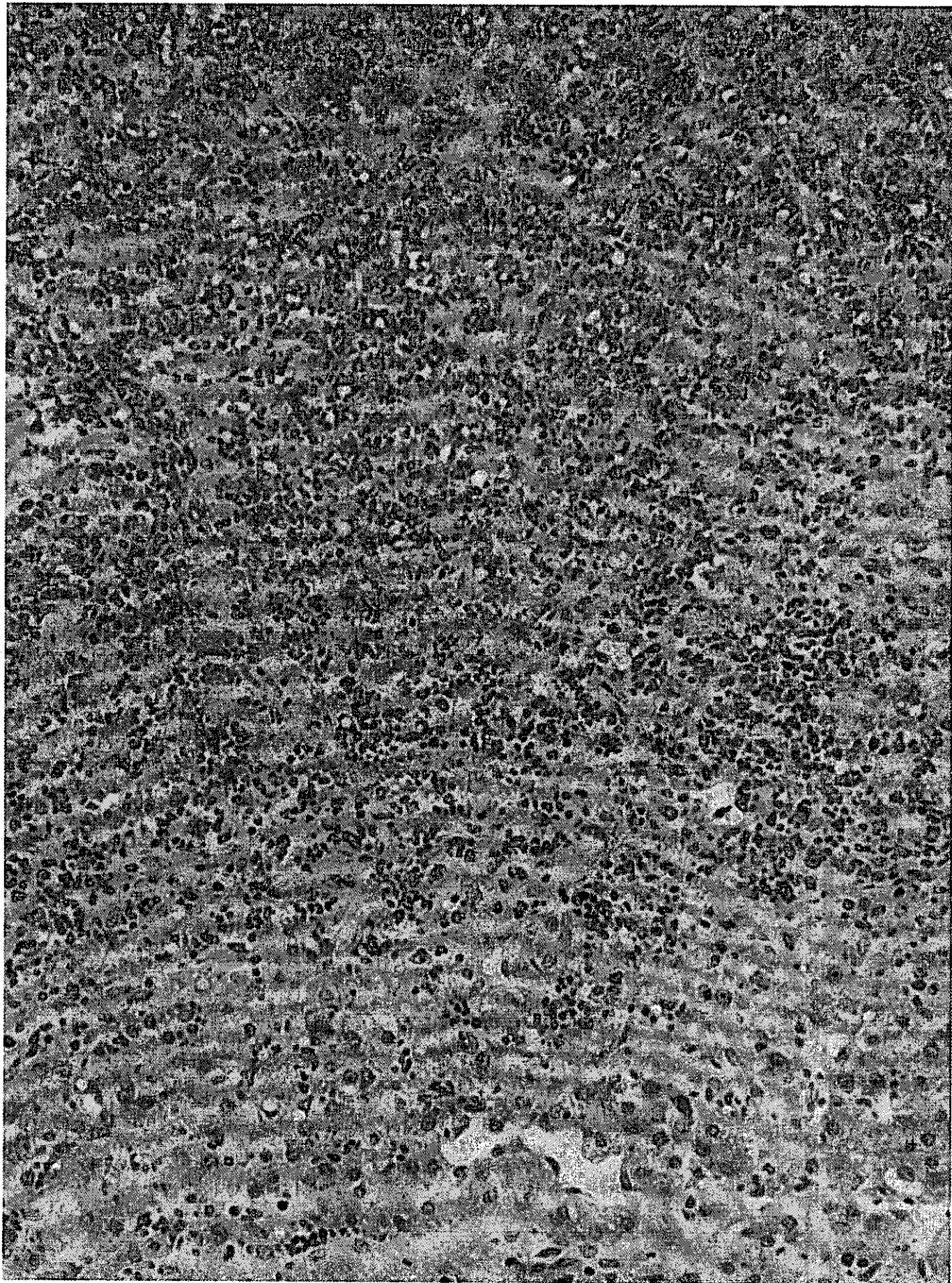
Peliotic change (No.30)



Infraction (No.30)



Focal fatty change (No.34)



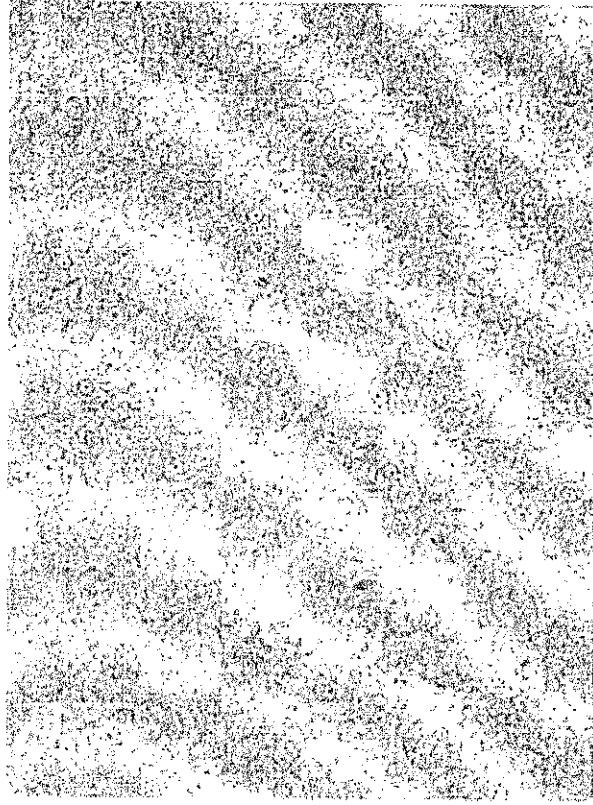
Infraction (No.40)

TCDD 投与黄疸例 F1 38b の解析
(300ng/kg)

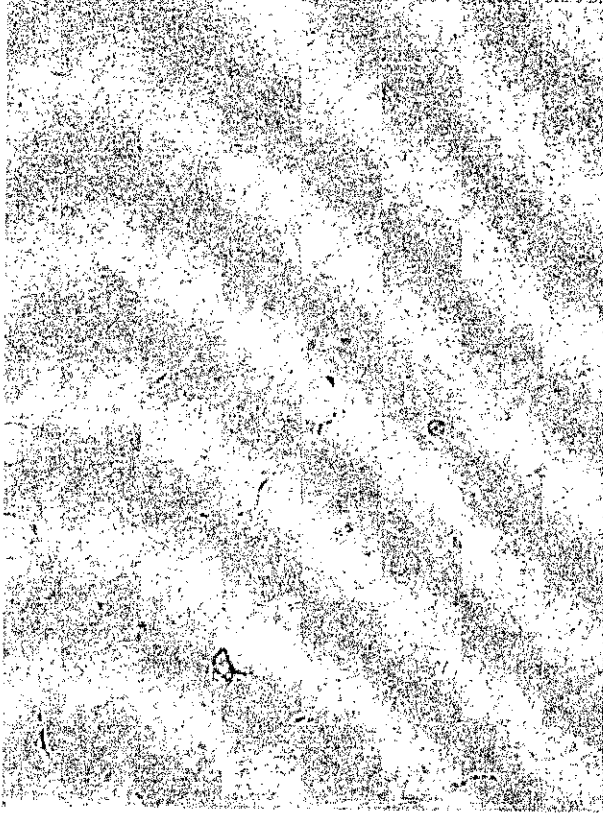
病理組織学のおよび電子顕微鏡的
解析

肝炎よりも toxic な変化で、TCDD
による影響が最も考えられる

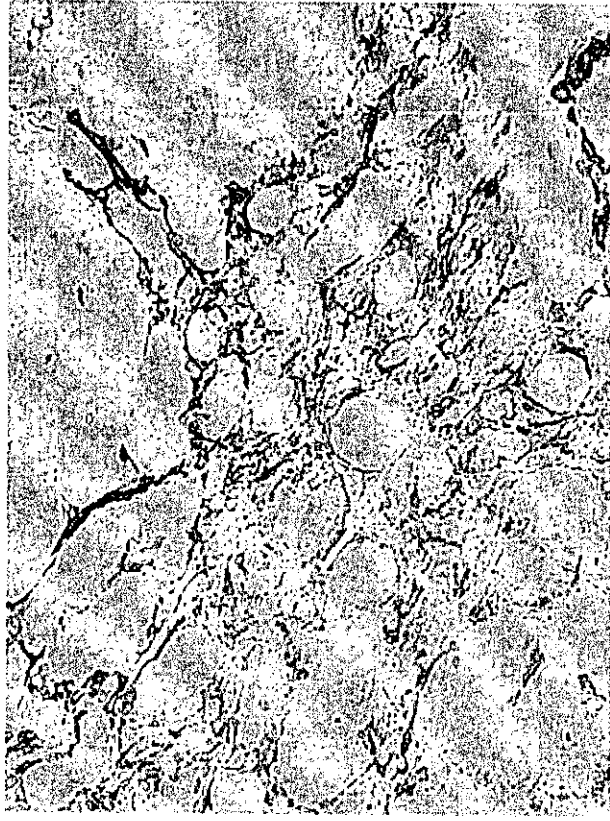
α SMA



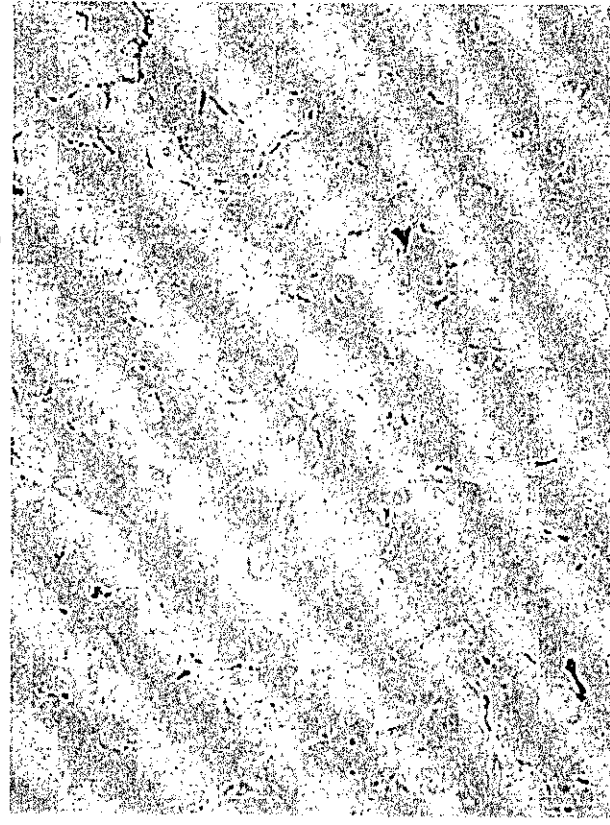
非投与



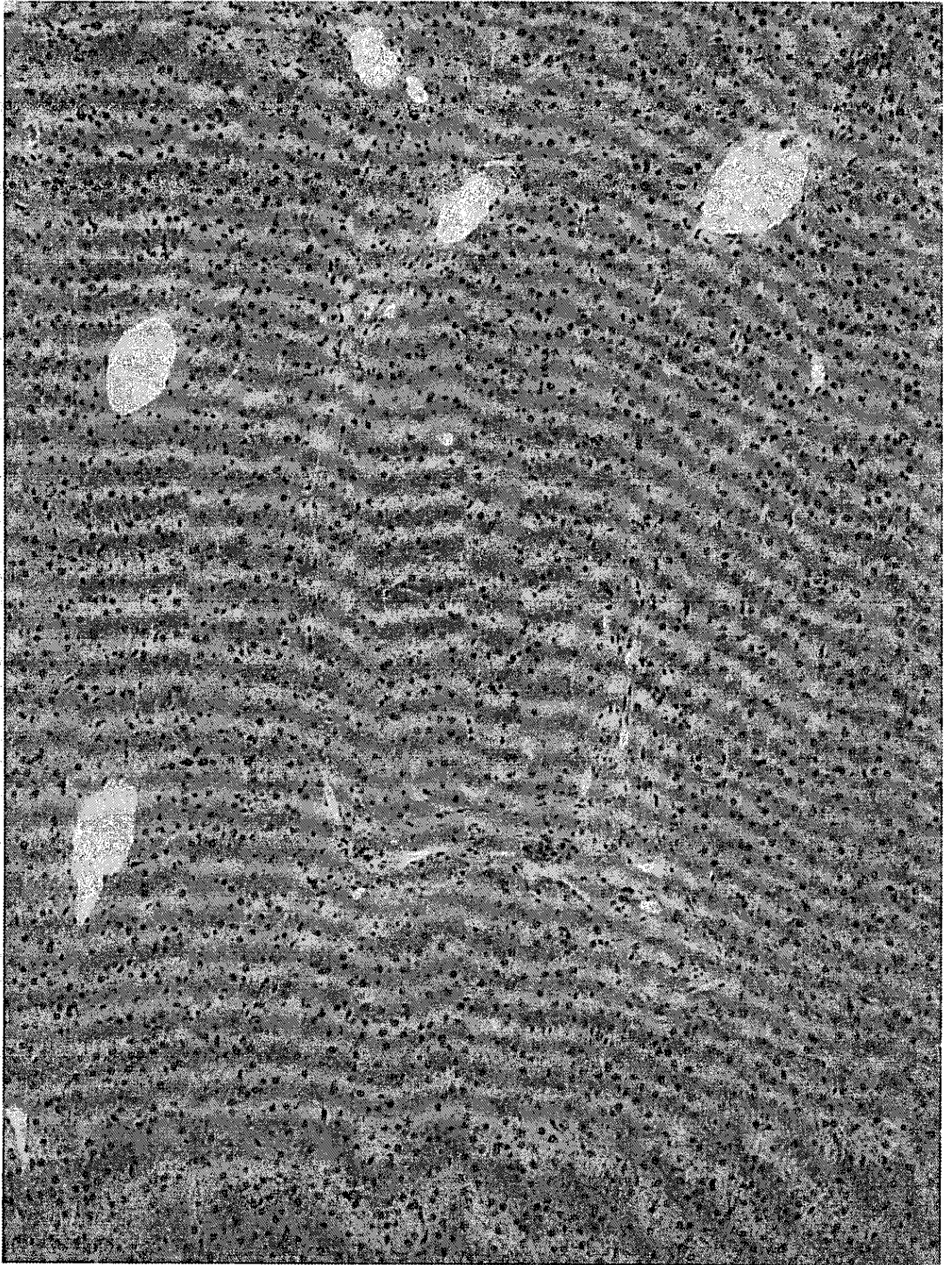
30ng投与群正常肝



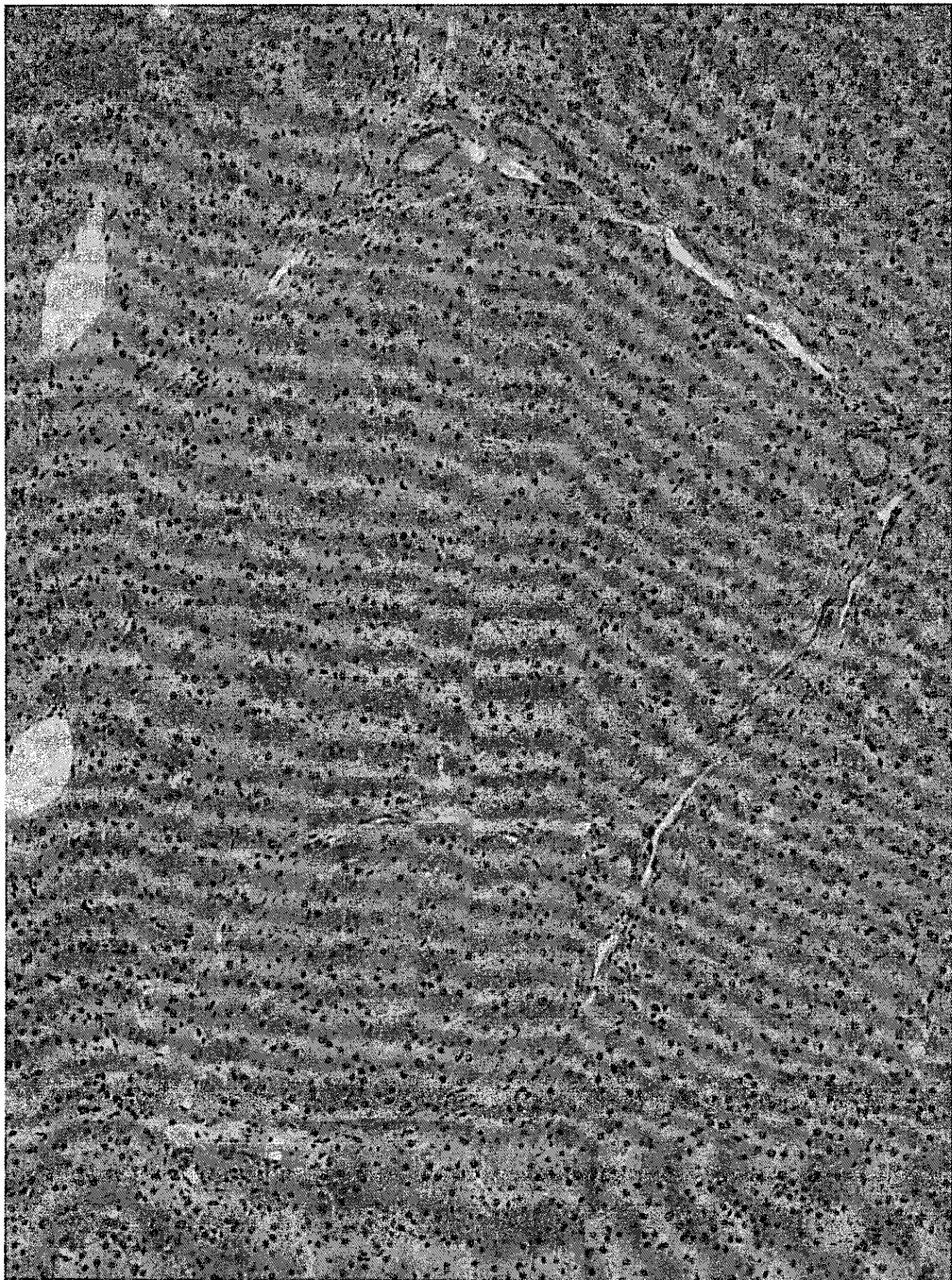
300ng投与の仔黄痘発症例



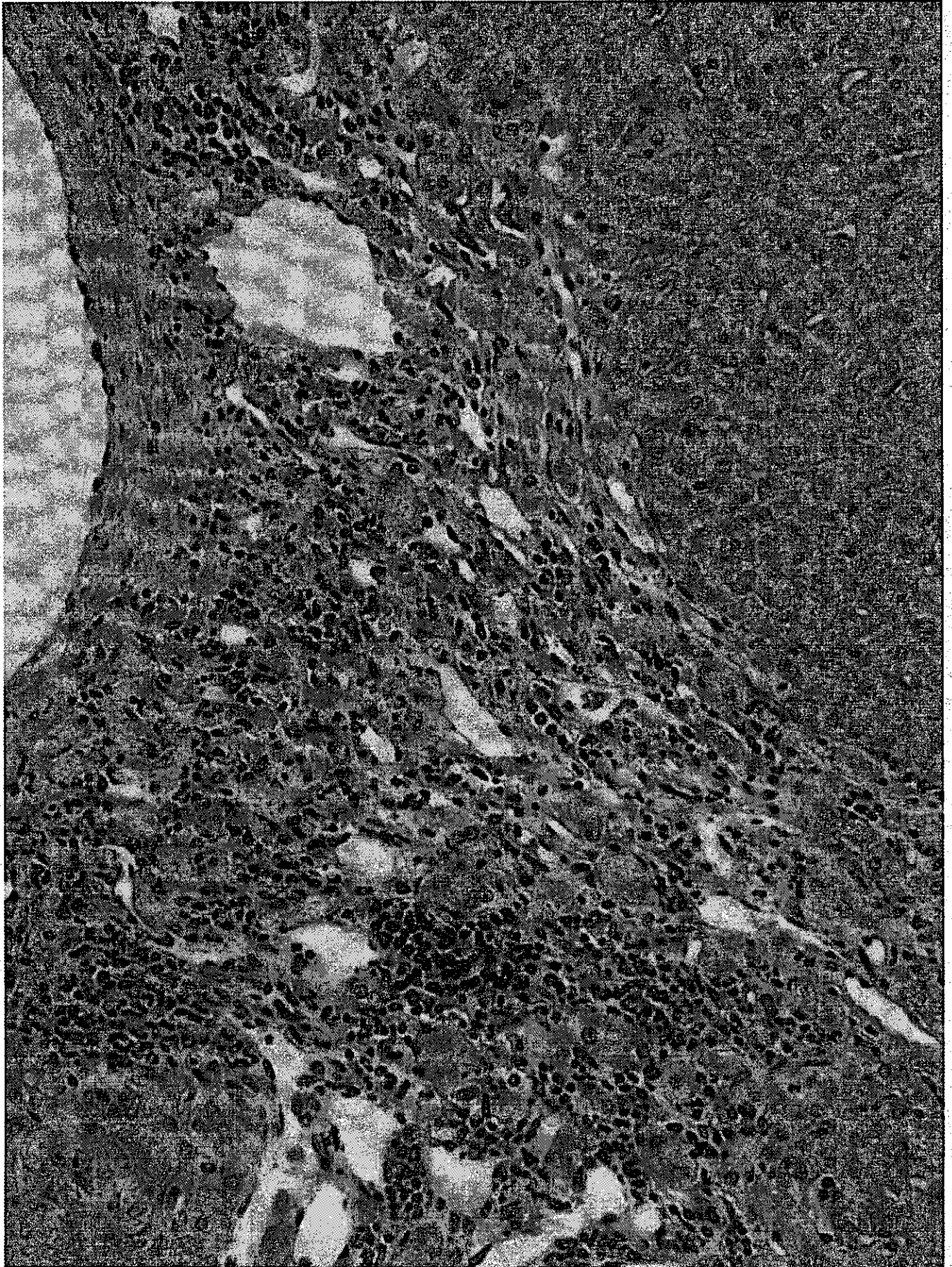
300ng投与群正常肝



Fibrosis 1 (No. 38b)



Fibrosis 2 (No. 38b)



Fibrosis and lymphocytic infiltrate (No. 38b)