

## ダイオキシン投与後のアカゲザルにおける肝組織の電顕的検討

F 0 No.

1 2 ; 対照群

1 5 ; "

2 9 ; 低量投与群 ( 3 0 n g / k g )

5 7 ; 高量投与群 ( 3 0 0 n g / k g )

F 1 No. 3 8 b ; 高量投与群 ( 3 0 0 n g / k g )

(電顕所見)

### 1) 高量 (No. 5 7)

- a. 肝細胞の変性巣が巣状に見られる。
- b. 肝細胞の変性のない部分では、対照に比して変化に乏しく、軽度の類洞内皮のリソゾーム増加 ( 3、E、矢印) や軽度の毛細胆管の拡大 ( 写真4, B) が見られる。
- c. 変性がある部分では、肝細胞は明るくみえ ( 写真5、H)、滑面小胞体 ( s) は小型化・集積状で、斑状～線状に集積する ( 写真6、s)。グリコーゲン野はグリコーゲン顆粒 ( 6、7、矢印) のみで、滑面小胞体は目立たない。(滑面小胞体は通常はグリコーゲン野に同時に見られる。cont, 2、s参照)。粗面小胞体は不規則で、目立たない ( 6、7、r)。ミトコンドリアの腫大 ( edema) ( 6、7、M) を見る。毛細胆管 ( 7、B) は絨毛の減少、萎縮があり、軽度に拡大する。
- d. 変性がある部分では、c. と同時に、類洞内皮の変性が目立ち ( 5、8、9、E)、リソゾームの増加 ( 8、9、矢印) や胞体の崩壊がある。伊東細胞は比較的变化に乏しい ( 5、8、I)。クッパー細胞は目立たない。一部の類洞 ( 5、C) 内に、好中球 ( 5、矢印) を見る。
- e. グリソン領域の胆管は著変がない。

### 2) 低量 (No. 2 9)

- a. 高量と同様の変性巣があり、同部は、高量と類似の所見があるが、毛細胆管の変化はより乏しい。(変性巣の拡がり(量)については電顕像からは、組織が少量のため、高量との量的比較は困難)。

## 写真説明

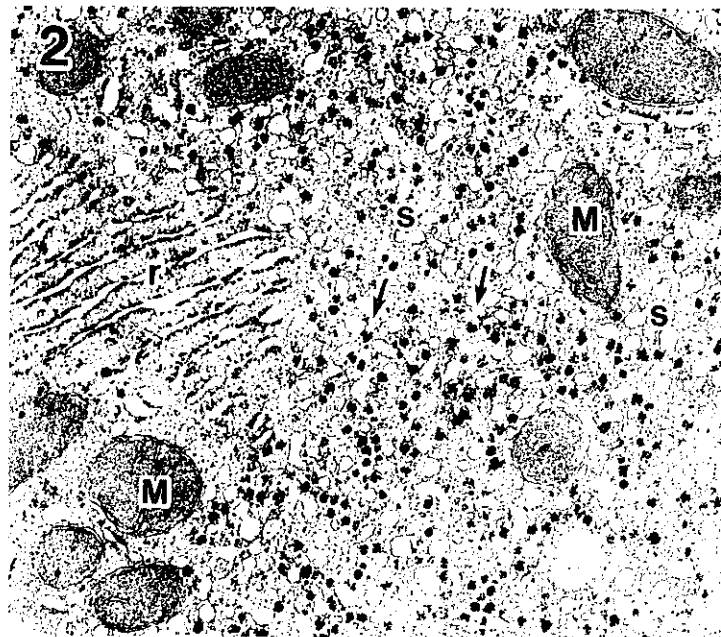
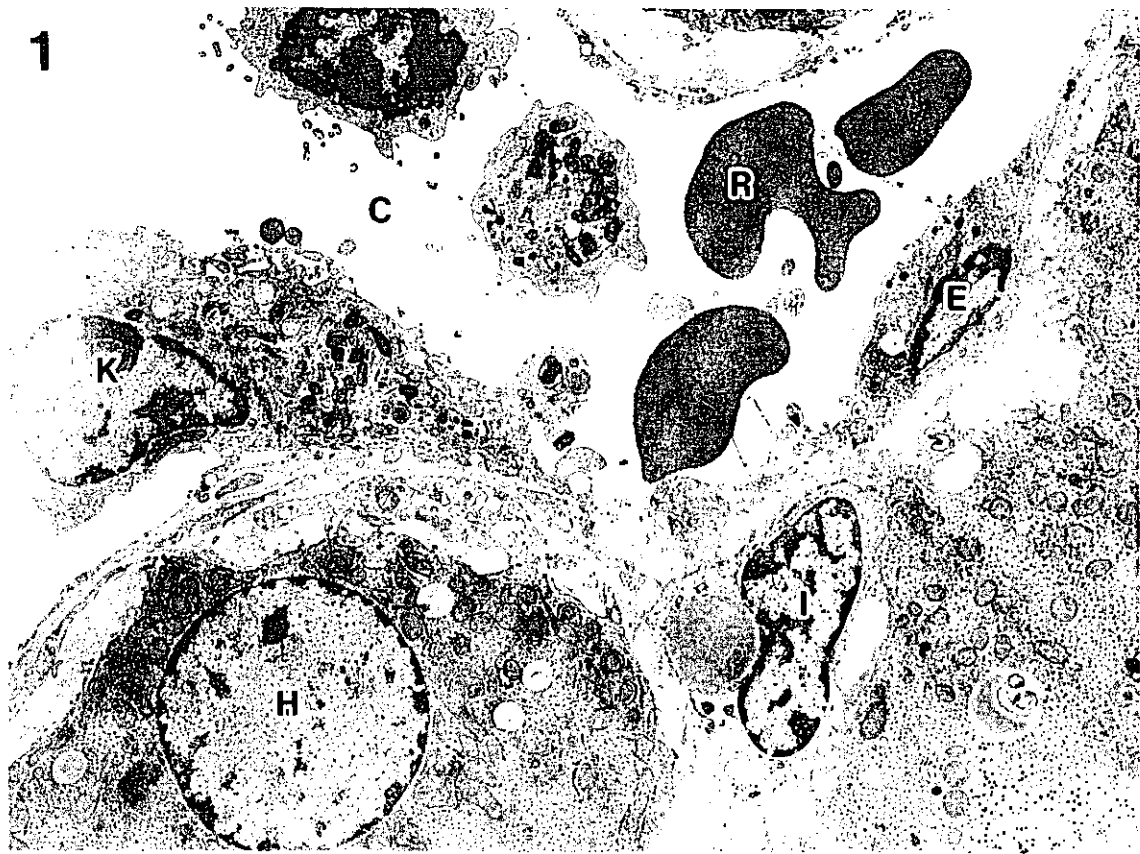
写真1、2；Cont (No.15)。1；x5,000、2；x22,900。

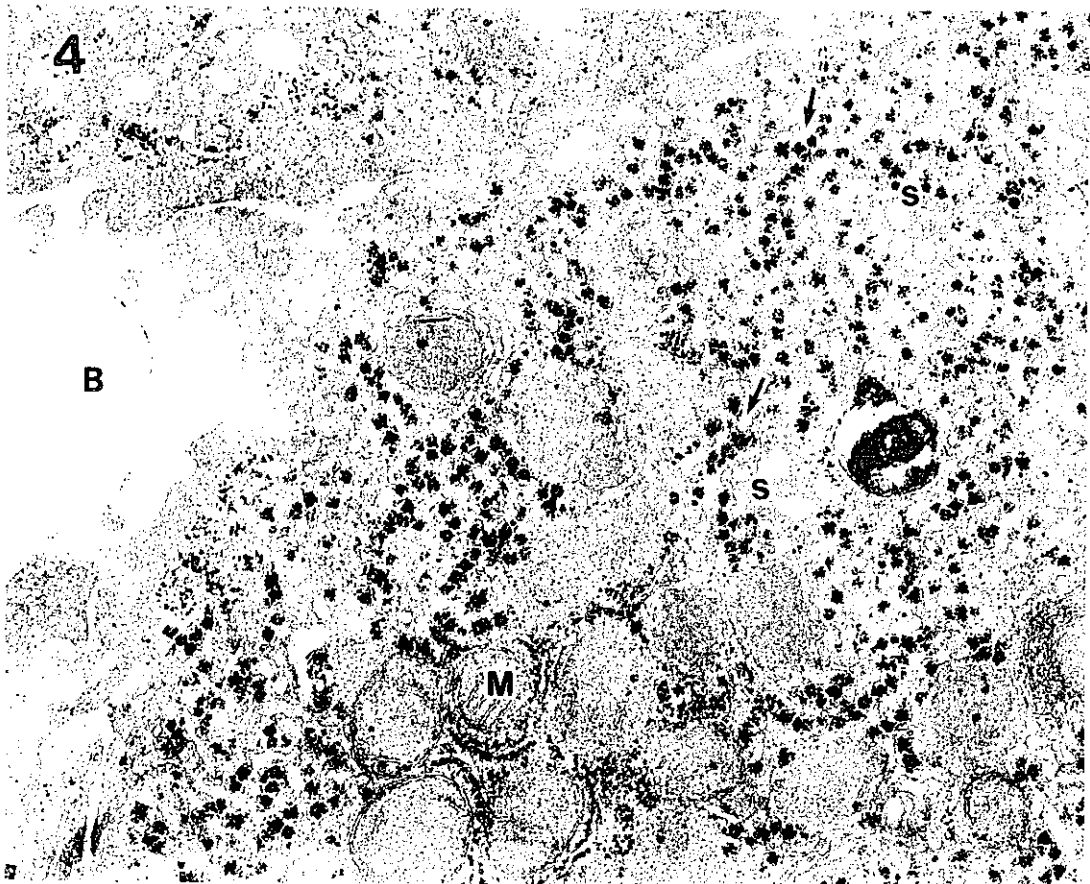
写真3～9；高量 (No. 57)。

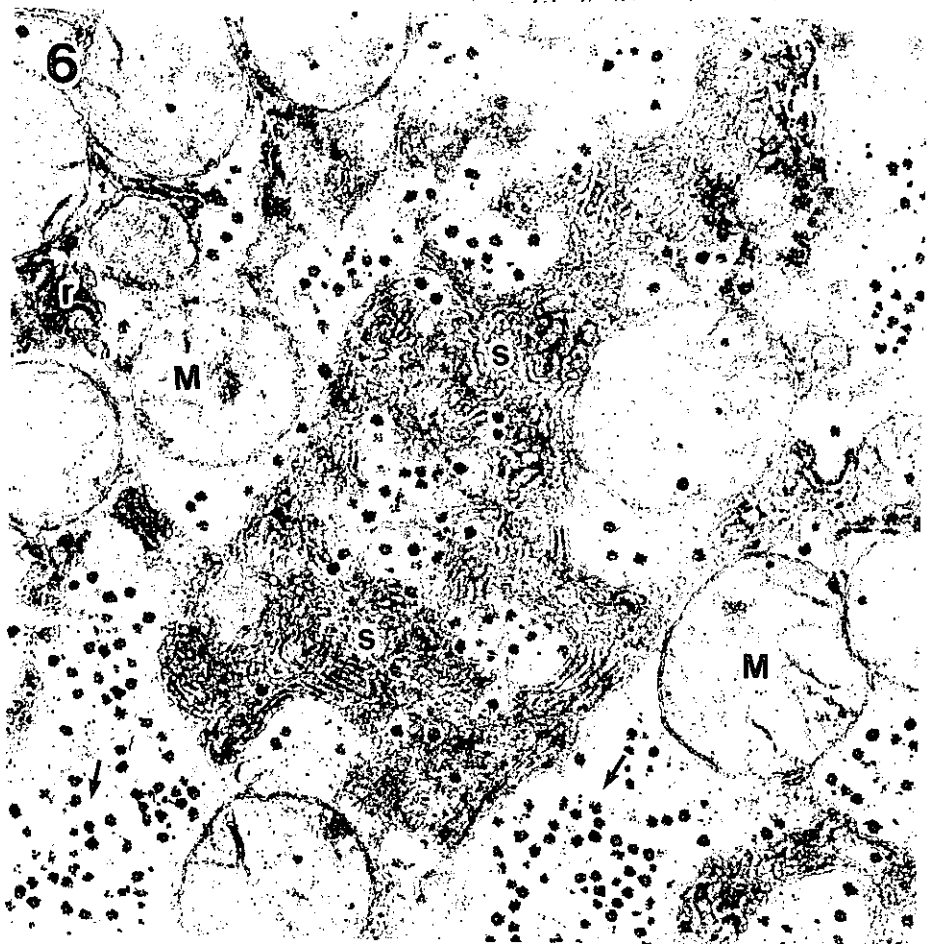
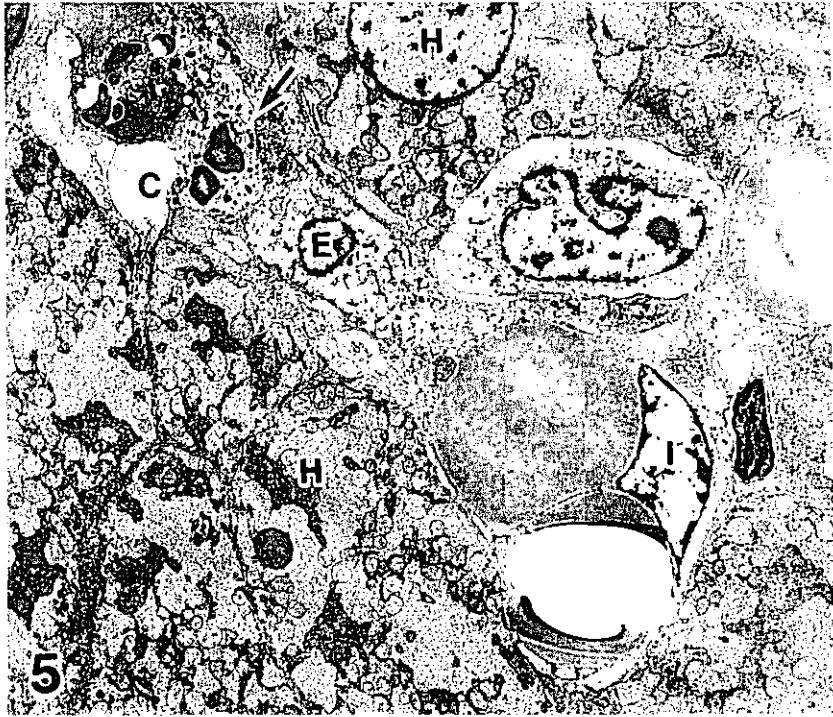
変化の乏しい部分；3；x4,500、4；x33,200。

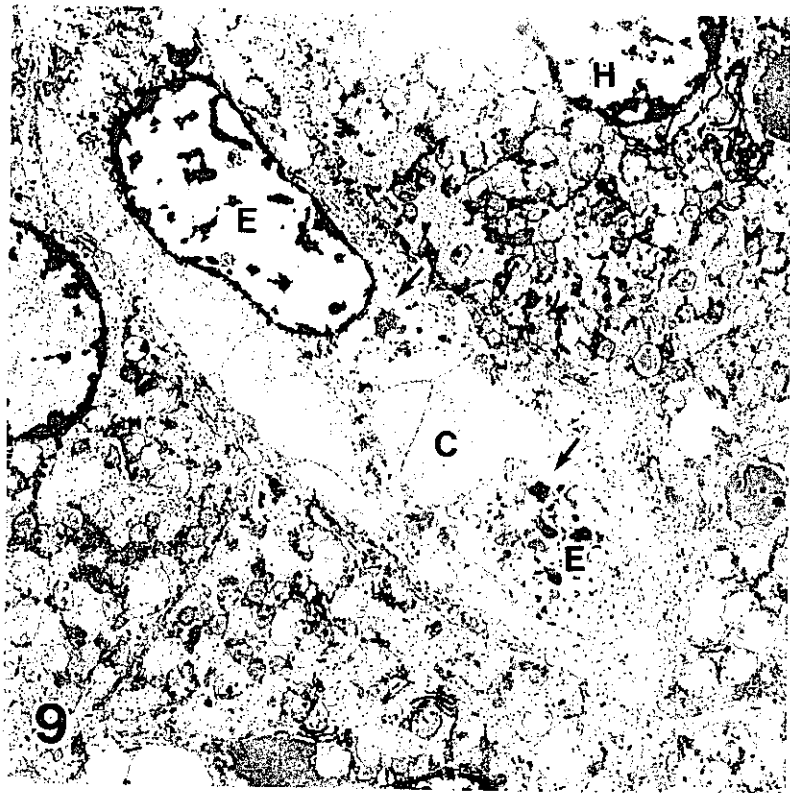
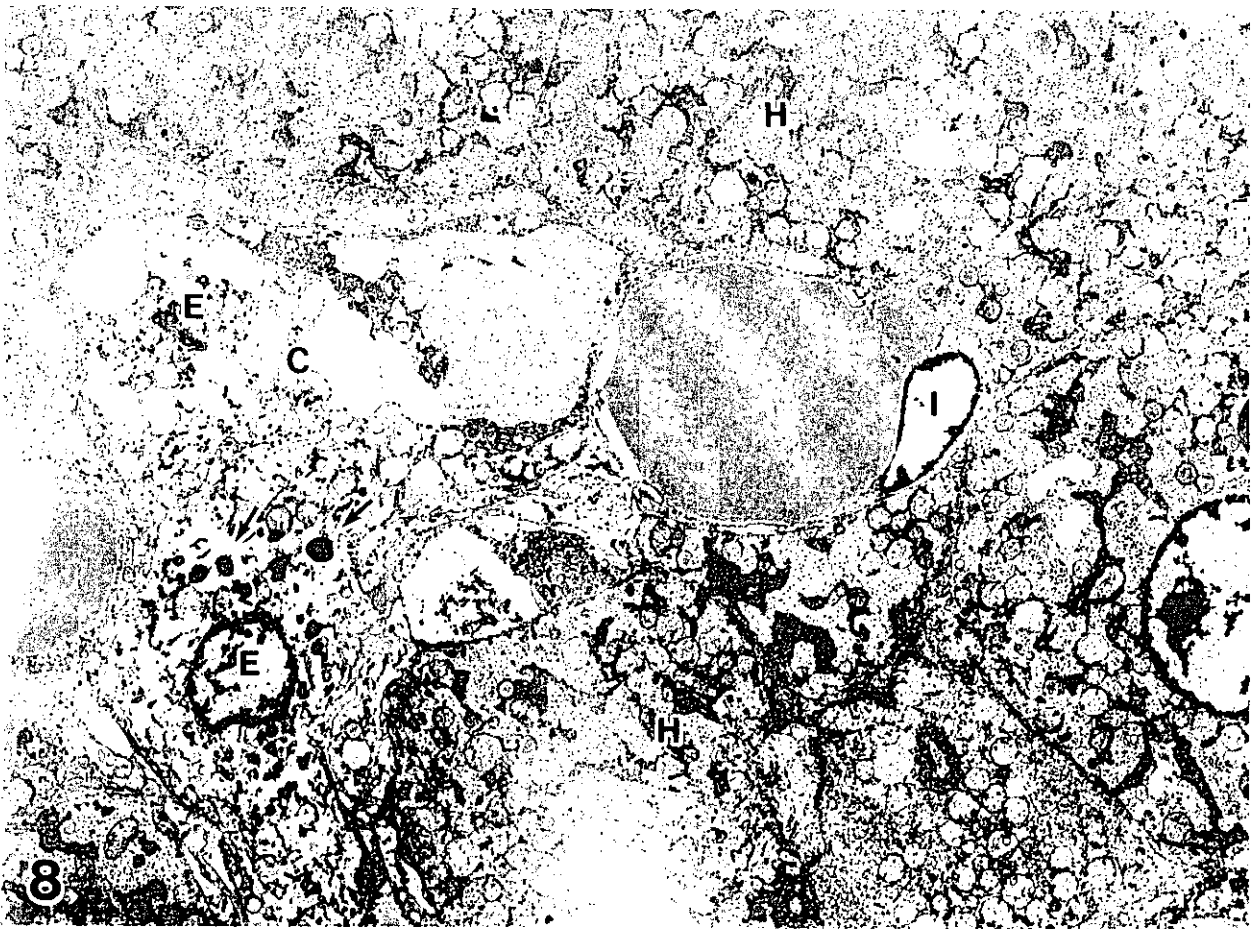
変性のある部分；5；x3,000、6；x26,800、7；x24,300、8；x3,700  
9；x4,300。

写真内の記号　H；肝細胞、類洞；C、E；内皮細胞、I；伊東細胞  
K；クッパー細胞、赤血球；R、ミトコンドリア；M  
滑面小胞体；s、粗面小胞体；r、毛細胆管；B









3) F1 No. 38b ; (♂、仔)

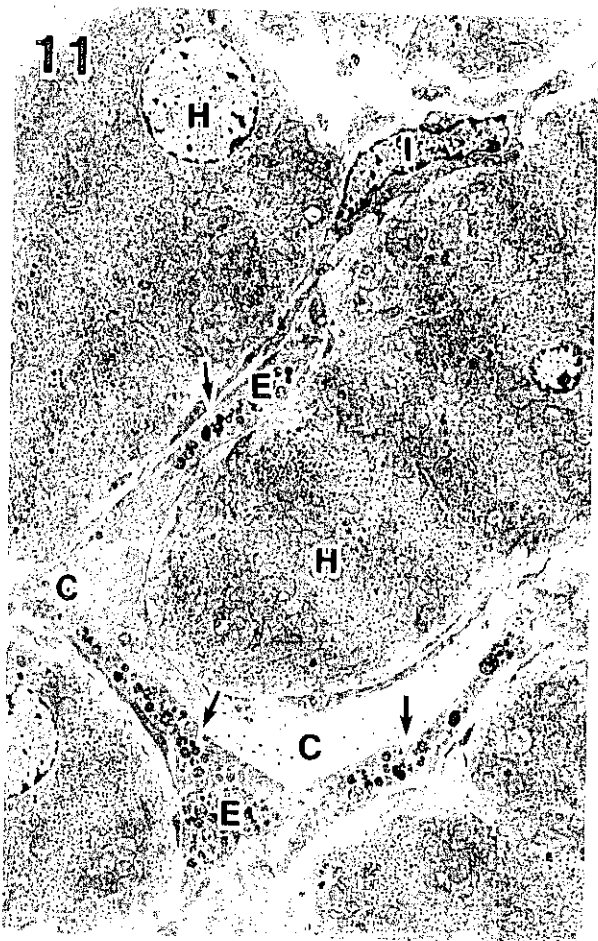
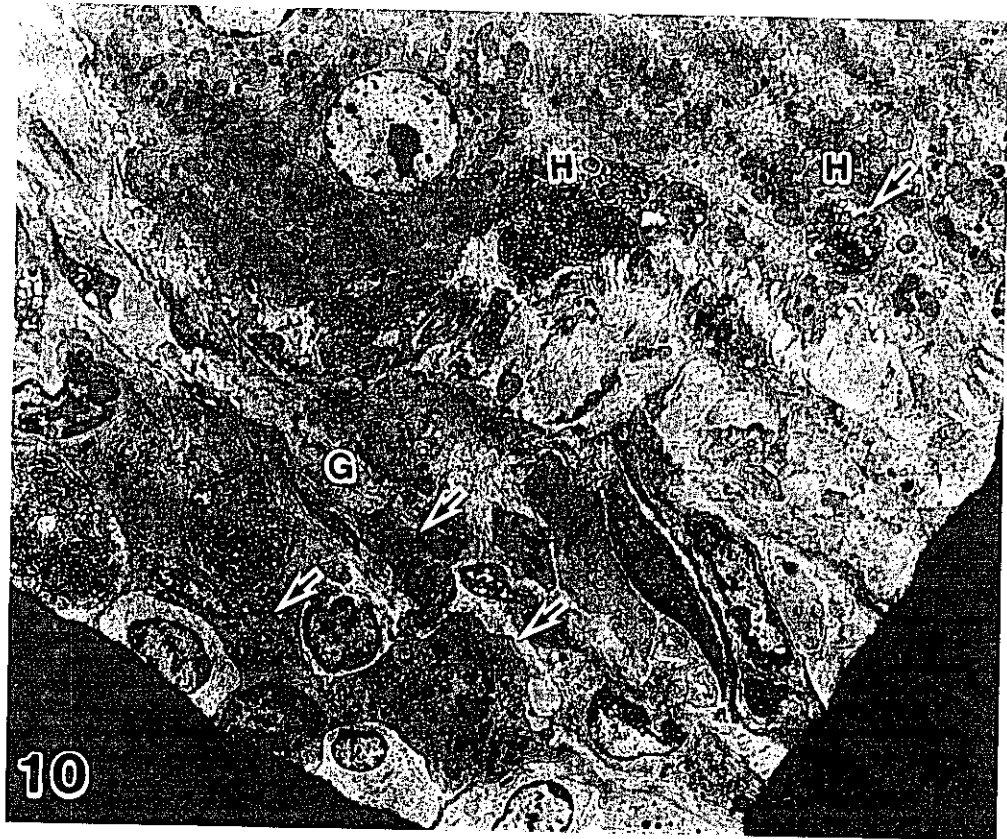
- a. グリソン鞘 (10, G) 及び肝細胞間に線維の増加が見られる。グリソン鞘の炎症性細胞浸潤は軽度で、著明に貪食したマクロファージの集団～散在 (10、矢印) が見られる。
- b. 小葉周辺帯の肝細胞により多く変性が散在する (10、H)。全体に肝細胞のリソゾームが目立つ (10, 12、矢印)。
- c. 類洞は内皮の変性 (リソゾーム) (11、矢印) が目立ち、内皮が消失又は内腔が閉塞している部も見られる。クッパー細胞は変性があり、増加していない。伊東細胞の脂肪滴は著減し、線維芽細胞型に変化し (11、I)、周囲にわずかな膠原線維を見る (12、I、2重矢印)、毛細胆管の軽度の拡大 (12、B) が見られる。

## 写真説明

写真10～12；38b（♂、仔）。10；x2,300、11；x2,300、12；x9,200。

写真内の記号　グリソン鞘；G、　H；肝細胞、　類洞；C、　E；内皮細胞、  
I；伊東細胞、　毛細胆管；B





# TCDD 投与 F1 病理組織学的解析

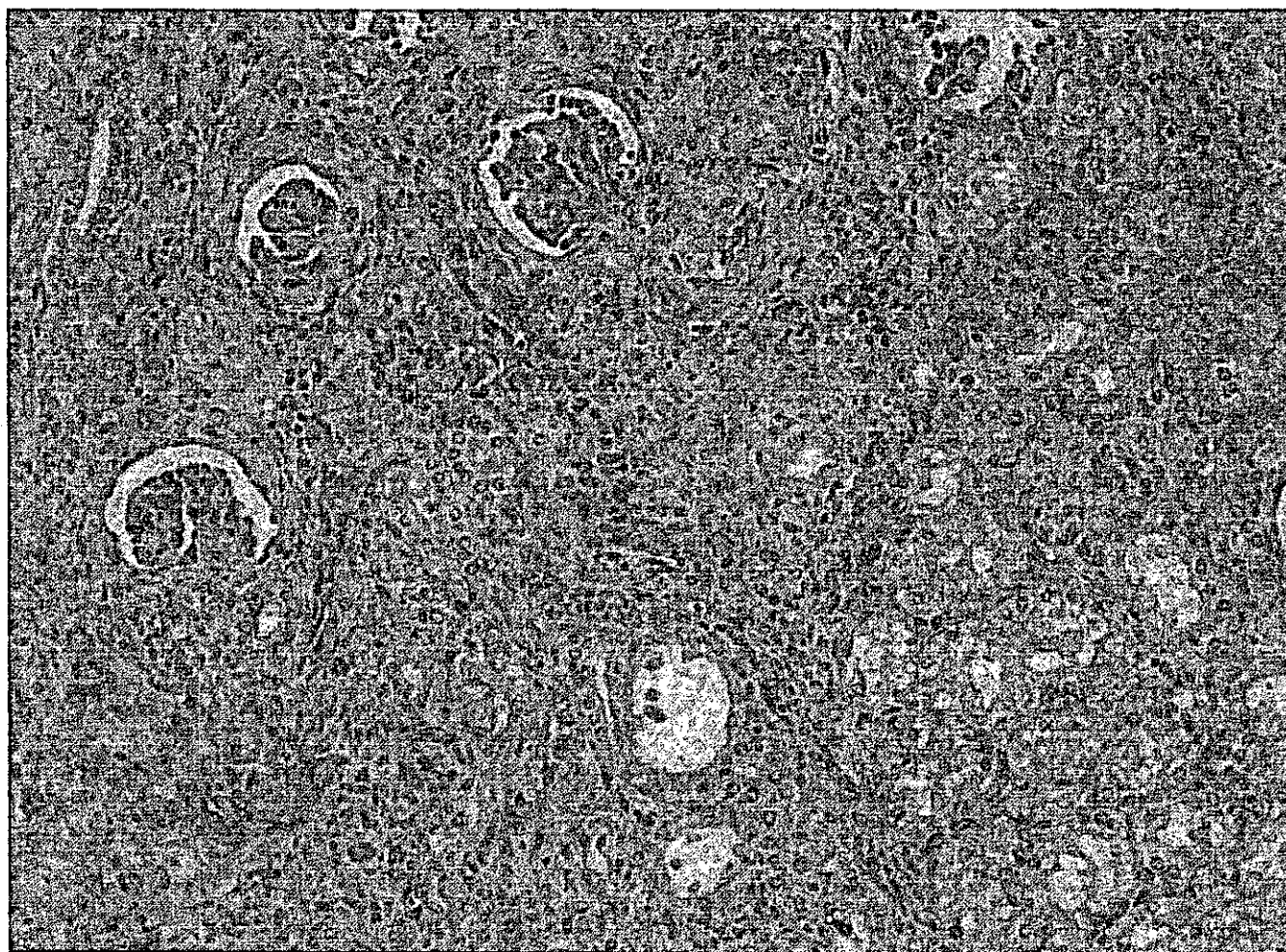
F1a 38 および 51

TCDD により惹起された間質性腎炎所見があり、死因と考えられた

# F1 死亡例 病理組織解析

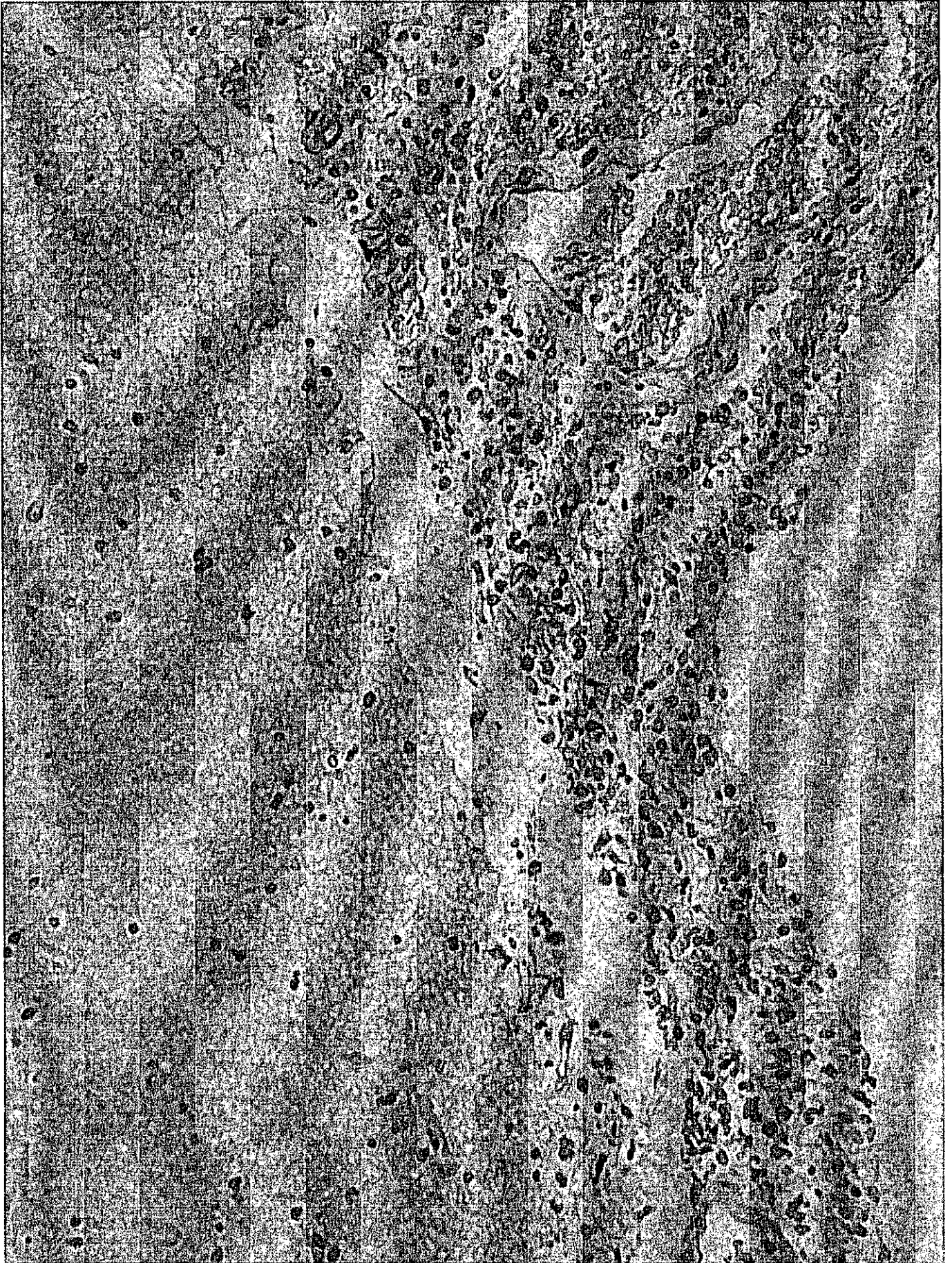
TCDD300ng/kg 投与 (サル番号 38)

所見 間質性腎炎



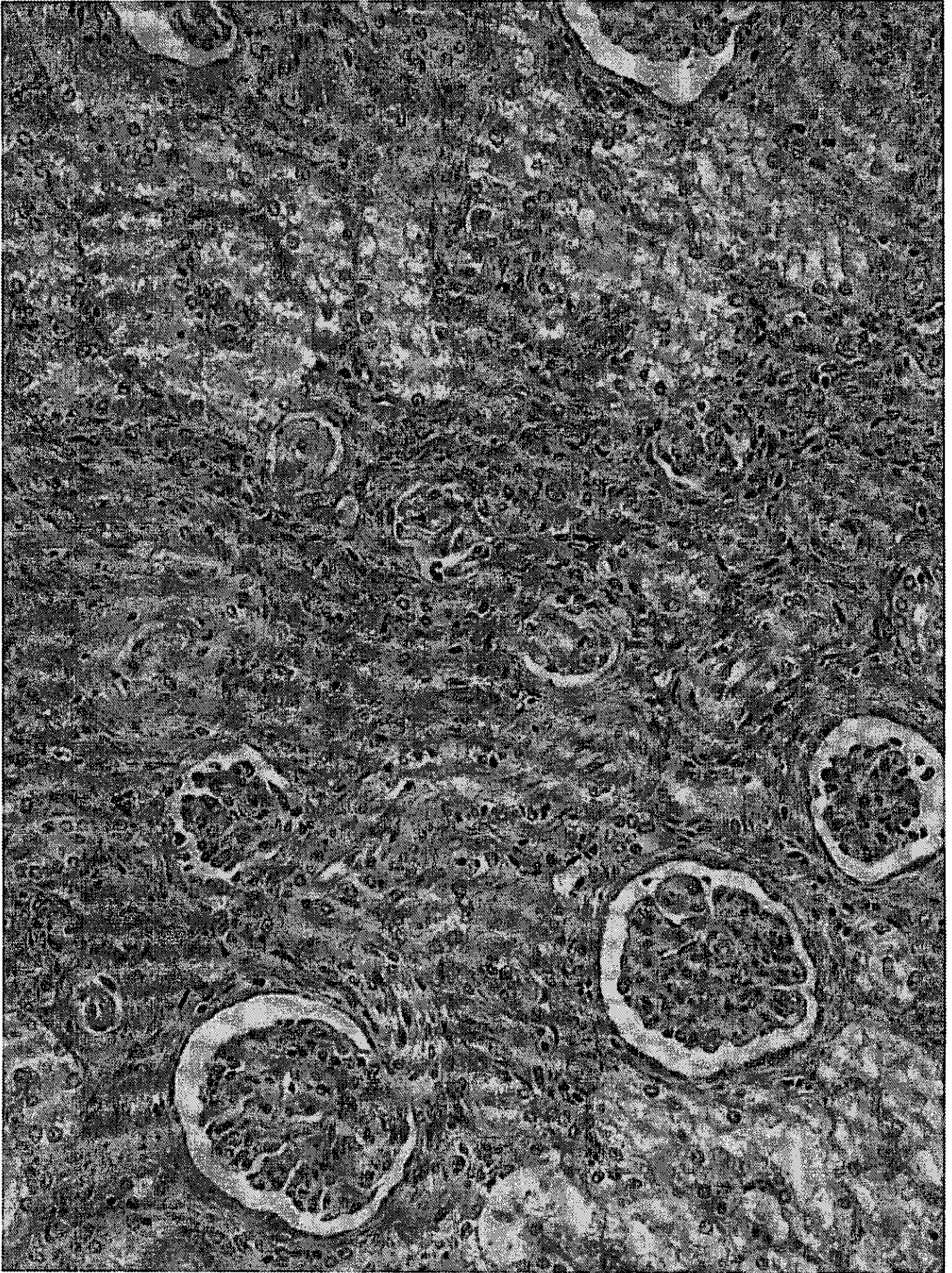
38-kidney-nephritis-02.jpg





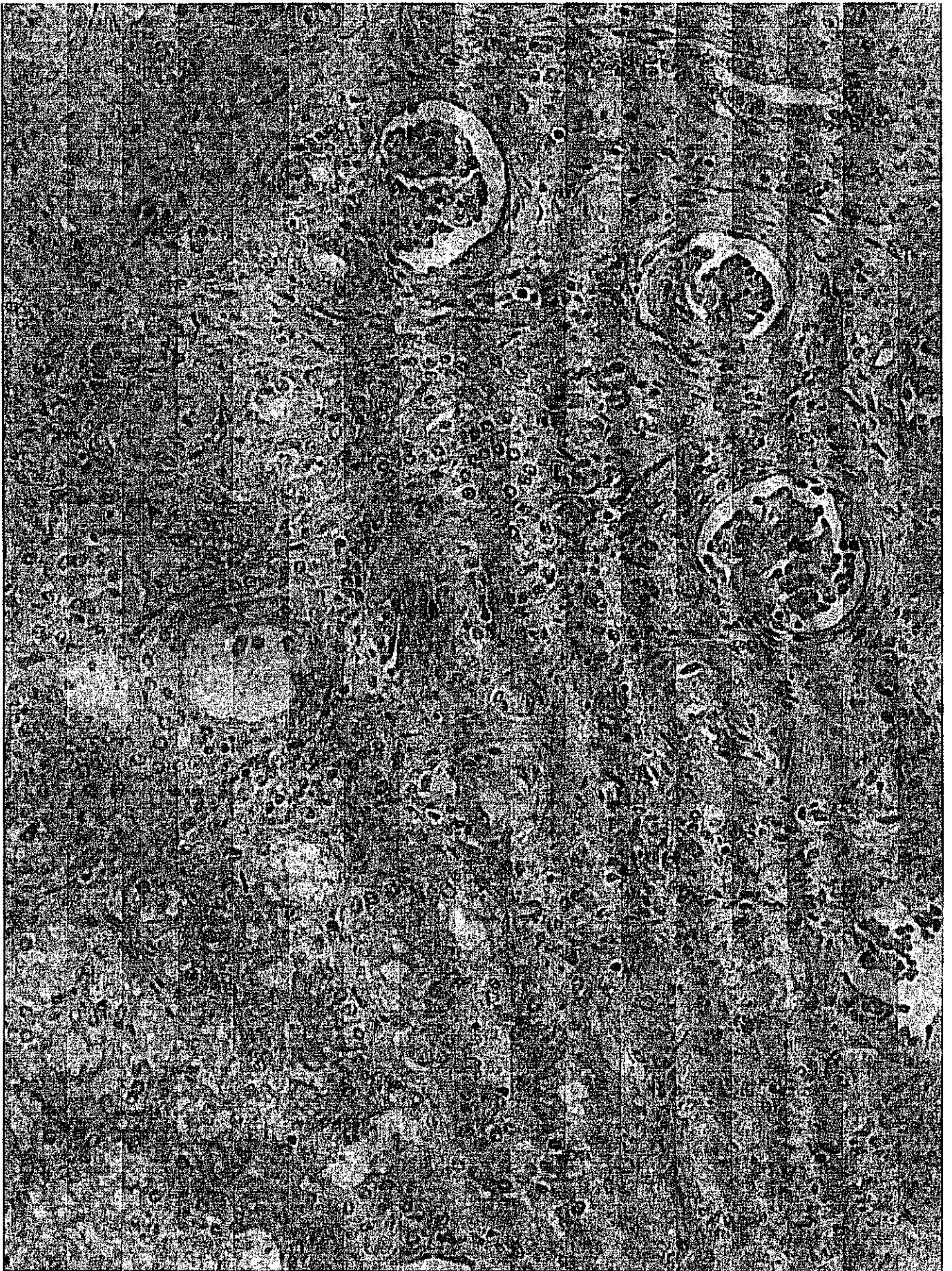
Cerebrum, meningitis (No.38)



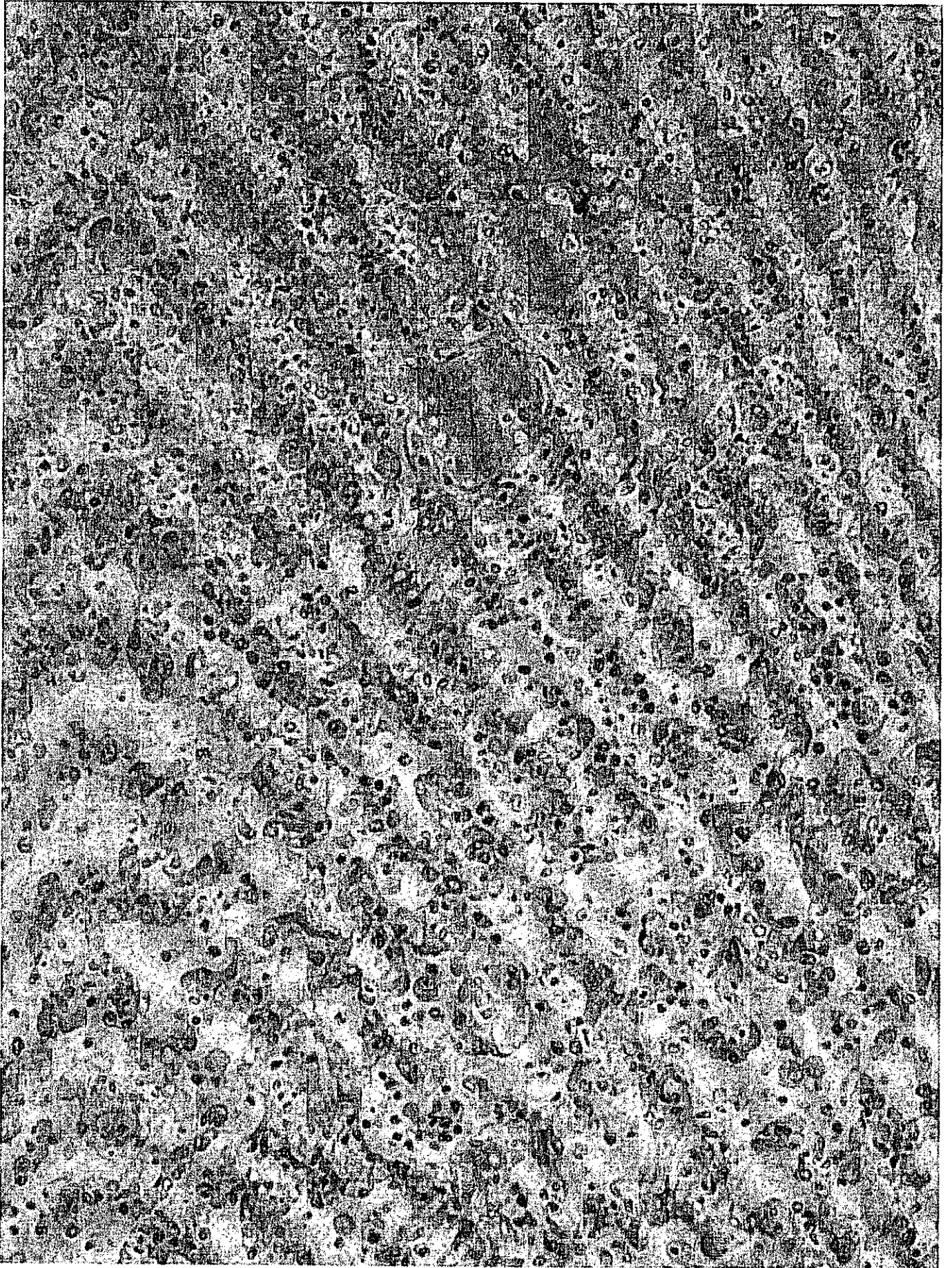


Kidney, nephritis-01 (No.38)



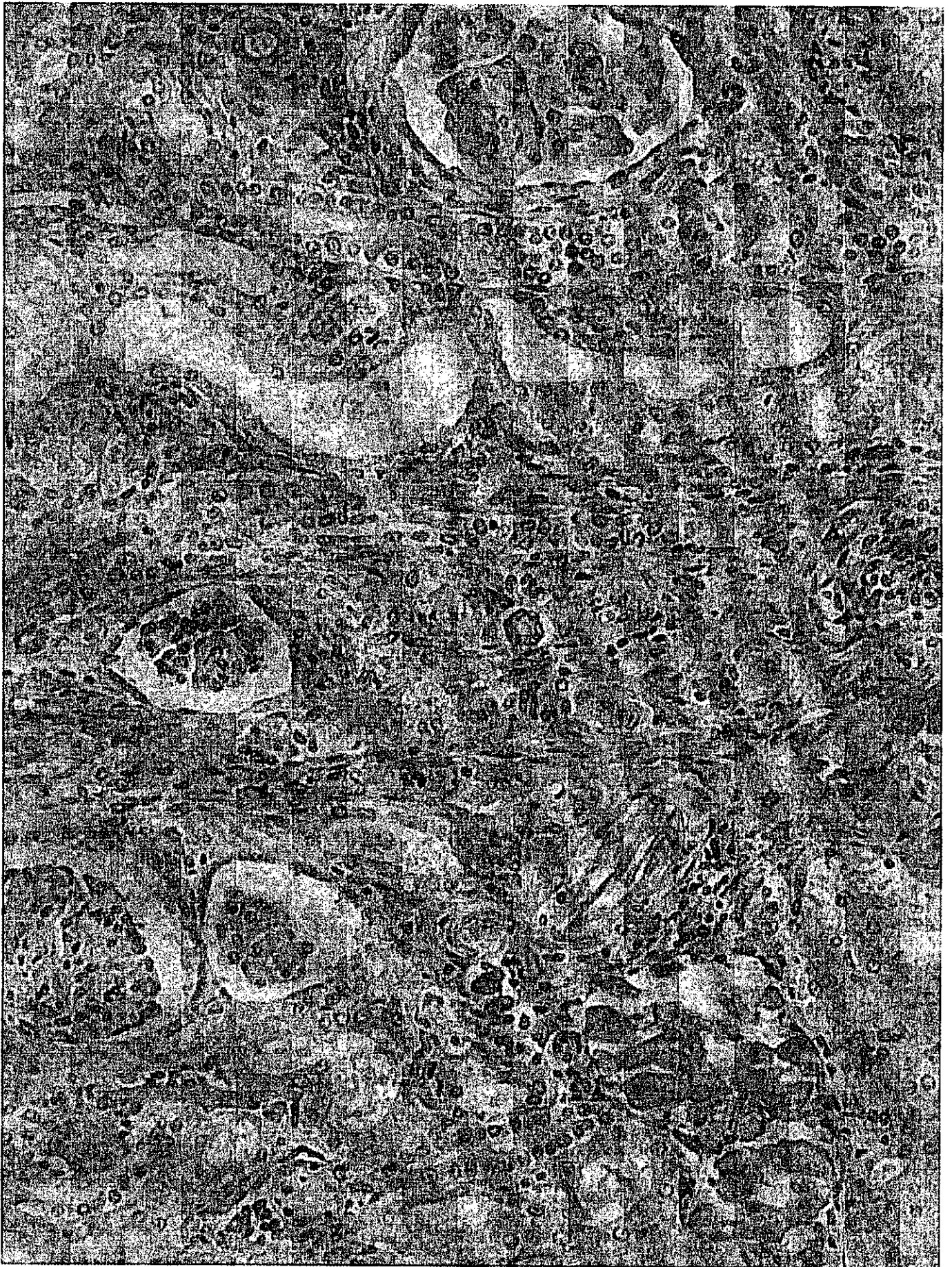


Kidney, nephritis-02 (No.38)



Lung, pneumonia and hemorrhage (No.51)



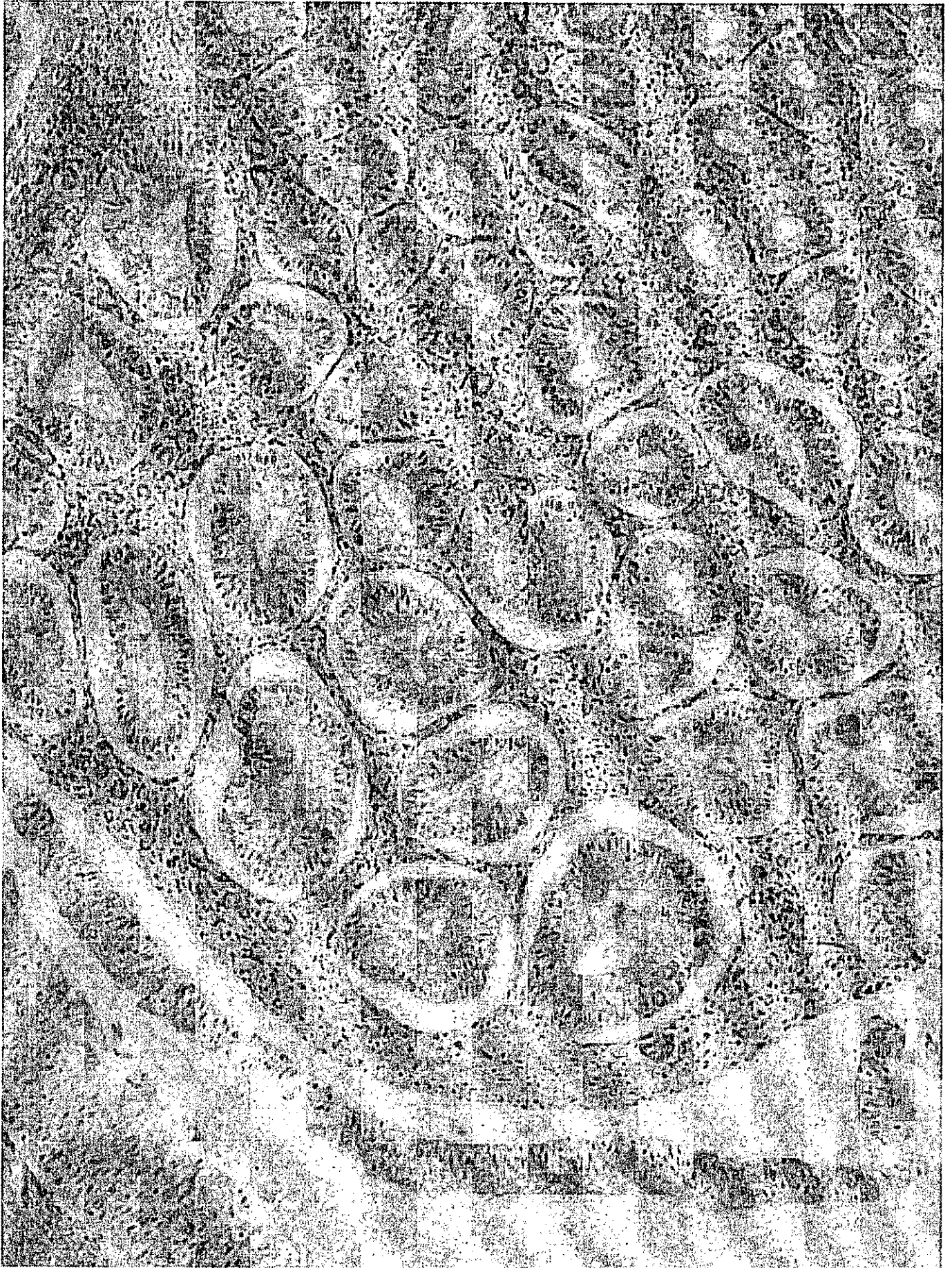


Kidney, nephritis-01 (No.51)





Kidney, nephritis-02 (No.51)



Kidney, dysplasia (No.51)



平成15年度厚生労働科学研究費  
分担研究報告書

ダイオキシン類の生体障害性のタンパク質解析による解明

分担研究者 野水 基義 北海道大学助教授  
久保田俊一郎 東京大学大学院 教授  
研究協力者 太田 万理 日本食品衛生協会  
リサーチレジデント

研究要旨

ダイオキシン類による健康への影響が、親世代から次世代へ及ぶことが懸念されている。平成10年に、ダイオキシン類のTDIが、4pg/kg/dayと設定された。これは、齧歯類の実験結果を参考にして設定されたため、より妥当なTDIの設定およびより有効なダイオキシン対策をたてるべく、ヒトに最も近縁の霊長類であるアカゲザルを用いて本研究を遂行してきている。アカゲザルを用いて、母体に2,3,7,8-TCDD(30, 300 ng/kg)を皮下投与し母体および胎児での体内動態、さらに、F1世代の成長、生殖、神経発達、発癌を長期にわたって解析しつつある。TCDD投与群(特に300 ng/kg)は、胎児死亡及び流産、死産および生後死亡が多いという結果を得た(F1a)。F1bでも流死産、生後死は起こったが、F1aに見られた顕著な影響は見られなかったTCDD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、タンパク質レベルでの解析を行った。肝臓、脳などに多くの異常が見出された。特に、30ng/kg投与でも異常が見られたため、3ng/kg TCDD投与の実験を開始した。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が、タンパク質解析の結果からは、30ng/kgの影響も大きいと考えられた。TDIの妥当性は、今後の解析結果も含めて総合的な判断が必要と考えられる。

## A. 研究目的

妊娠アカゲザルに TCDD を皮下投与した時の母動物、雌雄出生児 (F 1) の生体への影響を調べる。TCDD の影響を、タンパク質レベルで解析する。この研究によりダイオキシンの最も妥当な TDI の設定に有用な情報を提供し、厚生労働行政に貢献することが研究目的である。

## B. 研究方法

### 1. ダイオキシンの調整および投与

TCDD は、Wellington Lab.あるいは関東化学で 30 及び 300 ng/mL に調製済みの 2, 3, 7, 8-TCDD を使用した。投与量は、0, 30 ng/kg, 300ng/kg で、サルの背部皮下に投与した。対照群は、トルエン/DMSO (1:2 v/v)を TCDD 投与群と同様の方法で背部皮下に投与した。妊娠 20 日から分娩後 90 日まで、初回投与後 30 日毎に初回投与量の 5%量を追加した。

### 2. 試験動物

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、異常のないアカゲザル (年齢:5~7 歳, 体重:4~6 kg) を用いた。妊娠動物の実験は、約 20 匹/群, 計 約 60 匹を用いた。妊娠動物は、自然分娩させて、児 (F 1) を哺育させた。F1a および F1b を得た (詳細は、アカゲザルの交配、分娩、生存状況表(F1a および F1b)、血統一覧表を参照)。

### 3. タンパク質解析

組織を破砕し、ブラッドフォード法でタンパク質量を行った。50 $\mu$ g-100 $\mu$ g のタンパク質を用いてウェスタンブロット法でタンパク質発現を解析した。

ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、膜に転写後、種々のタンパク質およびリン酸化抗体を用いてタンパク質およびリン酸化の発現レベルをフォトトープキットを用いて検出した。検出機器として ChemiDoc を用いた。必要に応じて、タンパク質をクロマトグラフィーにて分画して解析した。

(倫理面への配慮)

サルは愛護的に扱い、サルを麻酔下で、放血安楽死させた。実験関係者に TCDD の影響が及ば