

厚生労働科学研究補助金(化学物質リスク研究事業)

分担研究報告書

ダイオキシン暴露によるアカゲザル肝酵素類への影響に関する研究

分担研究者 広島大学医学部総合薬学科 教務員 杉原数美

ダイオキシン(TCDD)は体内で Ah receptor(AhR)と結合して多様な作用を発現するが、中でも肝薬物代謝酵素が著しく誘導されることが知られている。肝薬物代謝酵素のうち CYP1A1/2 誘導は数 pg/kg の TCDD 投与でも観察することが可能なことより、TCDD 暴露の指標とされている。本研究では、妊娠時 TCDD 投与を受けたサル F0 個体で、蓄積 TCDD の影響として CYP1A1/2 活性を調べたが 0, 30 および 300 ng/kg 各投与群で有意な差は観察されなかった。これは投与後 5 年を経過したため、TCDD が代謝排泄され体内濃度が薬物代謝酵素誘導の検出限界以下になっていたためと考えられる。

A. 研究目的

サルを用いた TCDD の生体影響調査として、妊娠時 TCDD 投与を受けた F0 個体での肝薬物代謝酵素活性の比較を行った。げっ歯類を用いた研究では、TCDD による薬物代謝酵素誘導は発現が早く、暴露 1 日後には活性上昇が観察され、誘導能は投与量に相関することが知られている。さらに、TCDD は脂肪組織や肝組織中に長期残存し、誘導も長期間継続するため薬物代謝酵素活性を TCDD 体内残存のおおまかな指標とすることも可能と考えられる。そこで、本研究では TCDD によって著しい酵素誘導を受ける CYP1A1/2 および、研究分担者が TCDD による誘導を見出したキサンチン酸化酵素(XO)活性を測定することにより、妊娠時 TCDD 暴露サルの 5 年経過後の時点での TCDD による生体影響を予測する。

B. 研究方法

1999 年 12 月-1 月に TCDD を 0(vehicle), 30 および 300 ng/kg 皮下投与、その後、妊娠期間中 30 日毎に初回投与量の 5%を維持量として追加投与された F0 メスアカゲザルの

肝を 2004 年 2 月に採取、液体窒素にて凍結保存。解凍後、肝より常法に従いマイクロゾーム(Ms)およびサイトソール(Cs)画分を調製し、薬物代謝酵素活性を測定した。CYP1A1 活性として ethoxyresorufin-O-dealkylase (EROD)、CYP1A2 として methoxyresorufin-O-dealkylase (MROD)を蛍光光度計で測定した。また、キサンチン酸化酵素活性(XO)は 1-methylxanthine を基質として、酸化生成物 1-methyluric acid を HPLC で測定した。

C. 研究結果

Vehicle3 匹、30 ng/kg 投与群 4 匹、300 ng/kg 投与群 3 匹での、肝 Ms の EROD, MROD 活性および肝サイトソールの XO 活性を測定し、各個体での測定値を Table 1 (A)に、各群での平均±S. D. 値を Table 1 (B)に示した。各活性とも、個体間でのばらつきが多少認められたが、各群での有意な差は認められなかった。個体番号 12 は、どの酵素活性も著しく低く、何らかの生体異常があった可能性が考えられる。

D. 考察

肝薬物代謝酵素の誘導は TCDD による AhR を介する作用としてよく知られている。マウスを用いた実験で、この誘導作用は TCDD の投与量に相関して高くなり、長期間誘導が継続し、TCDD の体内濃度を反映することが知られている。本研究では、約5年前に TCDD 投与されたサル肝の薬物代謝酵素活性を調べた。結果、vehicle および各投与群での有意な差が認められず、現時点での TCDD による誘導作用は検出限界以下であった。これは、TCDD が僅かずつだが代謝排泄され、体内濃度が低下していることを示していると考えられる。

E. 結論

サルでの TCDD による肝薬物代謝酵素誘導を暴露5年後の個体で調査したところ、ほとんど観察されなかった。これは TCDD がわずかながらも代謝排泄を受け、体内濃度が低下し、酵素誘導の検出限界以下になったためと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) S. Sanoh, S. Kitamura, K. Sugihara, N. Fujimoto and S. Ohta
Estrogenic Activity of Stilbene Derivatives. *Journal of Health Science*, 49(5), 359-367 (2003).
- 2) S. Kitamura, S. Sanoh, R. Kohta, T. Suzuki, K. Sugihara, N. Fujimoto and S. Ohta
Metabolic activation of proestrogenic diphenyl and related compounds by rat liver microsomes. *Journal of Health Science*, 49(4), 298-310 (2003).
- 3) Fujimoto, S. Kitamura, S. Sanoh, K. Sugihara, S. Yoshihara, N. Fujimoto and S. Ohta
Estrogenic Activity of an Environmental Pollutant, 2-Nitrofluorene, after Metabolic Activation by Rat Liver Microsomes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 303, 419-426 (2003)..
- 4) S. Kitamura, M. Ohmegi, S. Sanoh, K. Sugihara, S. Yoshihara, N. Fujimoto and S. Ohta
Estrogenic Activity of Styrene Oligomers after Metabolic Activation by Rat Liver Microsomes. *Environmental Health Perspectives*, 111(3), 329-334 (2003).
- 5) S. Sanoh, S. Kitamura, K. Sugihara and S. Ohta,
Cytochrome P450 1A1/2 Mediated Metabolism of *trans*-Stilbene in Rats and Humans. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(3), 397-400 (2002).
- 6) S. Kitamura, S. Sanoh, M. Ohmegi, T. Fujimoto, Y. Kohno, K. Sugihara, N. Fujimoto and S. Ohta,
Metabolic Activation of Proestrogens by Rat Liver Microsomes. *Environmental Sciences*, 9(2&3), 98 (2002).
- 7) K. Sugihara, T. Yamada, S. Kitamura, S. Ohta, K. Yamashita, S. Okamura, M. Yasuda, Y. Fujii-Kuriyama, K. Saeki, S. Matsui and T. Matuda,
AhR-mediated Induction of Drug-Metabolizing enzymes by Indirubin and Indigo. *Environmental Sciences*, 9(2&3), 133 (2002).
- 8) S. Sanoh, K. Sugihara, S. Kitamura, S. Yoshihara, N. Fujimoto, H. Watanabe and S. Ohta,
Structure-Activity Relationship and Effects of Estrogenic Stilbenes on Reproductive Organs. *Environmental Sciences*, 9(2&3), 134 (2002).
- 9) T. Fujimoto, S. Kitamura, K. Sugihara, S. Sanoh, S. Yoshihara and S. Ohta,
Metabolic Activation of Proestrogen, 2-Nitrofluorene.

Environmental Sciences, 9(2&3),
135 (2002).

2. 学会発表

1) DIOXIN2003 August 24-29. 2003
Boston, USA

©K. Sugihara, S. Kitamura, S.
Ohta,, S. Okamura, K. Yamashita,
M. Yasuda, S. Matsui and T.
Matsuda, Metabolism of
indirubin and indigo, endogenous
aryl hydrocarbon receptor ligand
candidates, and competitive
effect with respect to
2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-di
oxin (TCDD). *Organohalogen
Compounds*, 65, 134-137 (2003)

2) 第76回 日本生化学会大会 2003
年10月15-18日

Kazumi Sugihara, Shigeyuki
Kitamura, Takashige Okayama,
Shigeru Ohta, Keisuke Yamashita,
Mineo Yasuda, Ken'ich Saeki,
Saburo Matsui and Tomonari
Matsuda

Aryl Hydrocarbon
Receptor-Mediated Induction of

Microsomal Drug-Metabolizing
Enzyme Activity by Indirubin and
Indigo

3) 第18回 日本薬物動態学会 2003
年10月8-10日

AhR内在性リガンド候補インディル
ビンの in vivoでの誘導と代謝
北村 繁幸, 岡山 幸誠, 原田 亜紀
子, 杉原 数美, 太田 茂

4) 第6回環境ホルモン学会 2003年
12月2-3日

Indirubinの生体内代謝と AhR 結合
活性の変動

杉原数美¹⁾、北村繁幸¹⁾、岡山幸剛¹⁾、
太田 茂¹⁾、山下敬介¹⁾、岡村
さおり¹⁾、安田峯生²⁾、佐伯憲一³⁾、
松井三郎⁴⁾、松田知成⁴⁾、関澤 純⁶⁾

1) 広島大・医歯薬、2) 広島国際大・
保健医療、3) 筑波大・先端、4) 名
古屋市大・5) 京都大院・工 6) 徳
島大・総合科学
講演要旨集 p228

Table 1 サルF0個体の肝薬物代謝酵素活性

(A) 各検体のEROD, MRODおよびキサンチン酸化酵素活性

sample No.	TCDD ng/kg	EROD pmol/min/mg protein	MROD pmol/min/mg protein	Xanthine oxidase nmol/min/mg protein
6	0	264.67	175.31	0.87
12	0	103.41	34.03	0.26
15	0	215.36	101.65	1.11
19	30	258.96	111.93	0.54
28	30	320.24	100.58	0.60
29	30	354.40	135.12	0.88
30	30	204.93	77.16	0.60
34	300	202.29	111.22	1.14
40	300	163.32	80.27	1.04
57	300	276.08	123.05	0.93

(B) 各群の平均値±S. D.

TCDD ng/kg	EROD pmol/min/mg protein	MROD pmol/min/mg protein	Xanthine oxidase nmol/min/mg protein
Vehicle	194.5±82.6	103.7±82.6	0.75±0.44
30	284.6±66.2	106.2±24.1	0.65±0.15
300	213.9±57.3	104.8±22.1	1.04±0.10

厚生労働科学研究補助金(化学物質リスク研究事業)
分担研究報告書
ダイオキシン暴露によるアカゲザル免疫系への影響に関する研究

分担研究者 隅田 寛 広島国際大学保健医療学部教授
浅岡 一雄 京都大学霊長類研究所助手
(研究協力者 徳田 信子 山口大学医学部助手)

研究要旨 ダイオキシン類は暴露された生体の免疫系に影響を及ぼすことが知られている。本研究では、妊娠中にダイオキシン (TCDD) 投与を受けたサル F0 個体から最終投与後約 600 日に採血して、白血球数とその分画数を調べた。また、リンパ球については表面抗原 (CD3、4、8、20) の陽性細胞の割合をフローサイトメーターで解析した。その結果、TCDD 暴露群では白血球数、CD3⁺CD4⁺細胞 (CD4⁺T 細胞) 数、CD20⁺細胞 (B 細胞) 数が、対照群と比較して減少している傾向が見られた。また、一部の F0 を剖検し、胸腺を組織学的に観察したところ、皮質と髄質の境界が不明瞭になっているなどの異常所見を示すものがあった。

A. 研究目的

ダイオキシン類は胸腺萎縮を誘発するなど、免疫系に悪影響を及ぼすことが知られている。本研究では次年度に胎生期・授乳期に TCDD 暴露を受けた F1 世代の免疫機能を精査する計画であるが、F0 の一部を屠殺し、剖検することとなったので、予備的な実験として、F0 世代の血液と胸腺を検索した。

陽性細胞の割合をフローサイトメーターで解析した。一部の F0 については剖検時に胸腺を採取し、パラフィン包埋ヘマトキシリン・エオシン染色標本を作り、光学顕微鏡で観察した。

倫理面への配慮

実験動物は愛護的に扱い、また実験者が TCDD からの悪影響を受けないように配慮した。

B. 研究方法

アカゲザルを交配し、約 60 匹を 3 群に分け、妊娠 20 日に TCDD 0 (溶媒)、30 または 300 ng/kg を皮下投与し、その後 30 日毎に初回投与量の 5% 量を維持量として投与した。妊娠動物は自然分娩させ、児を哺育させた。母体への TCDD 投与は分娩後 90 日まで続けた。初産児 (F1a) の離乳後、期間において母体を再度交配、妊娠させ、同様に TCDD を投与して第二産児 (F1b) を得た。TCDD の最終投与後約 600 日に母体から末梢血を採取し、白血球数および白血球のそれぞれの分画数を計測した。また、リンパ球については表面抗原 (CD3、4、8、20) の

C. 研究結果

対照群 10 例、30 ng/kg 群 10 例、300 ng/kg 群 12 例について血液を解析した。各群の総白血球数および分画白血球数を表 1 に示す。対照群に比べて TCDD 暴露群では白血球数とくにリンパ球数が少ない傾向が見られたが、差は有意ではなく、用量反応関係も認められなかった。各群のリンパ球サブセット数を表 2 に示す。TCDD 暴露群では CD3⁺CD4⁺細胞 (CD4⁺T 細胞) 数や CD20⁺細胞 (B 細胞) 数が、対照群と比較して減少している傾向が見られた。一部の F0 については剖検し、胸腺を組織学的に観察したが皮質と髄質の境界が不明瞭になっているなどの異

常所見を示すものがあった。

D. 考察

今回観察したアカゲザルは、TCDDの最終投与からかなりの時間を経ており、TCDDの成体の免疫系に対する影響が可逆的なものであれば、継続暴露中に受けた影響が観察されなくても不思議はない。しかし、一部の母体の胸腺の組織像に異常が認められたことは、TCDDが成体胸腺組織に不可逆的な影響を及ぼした可能性を示唆している。TCDD暴露群でT細胞サブセットの一部について細胞数が対照群より少ない傾向にあったが、これも胸腺への影響の結果によるものかも知れない。妊娠中の母体にとっては本来異物であるはずの胎仔が存在するにも関わらず妊娠が維持されるのは、T細胞やNK細胞が免疫反応を調節するからであると言われている。NK細胞はT細胞によって制御されており、このサブセットの減少が母ザルの妊娠の維持に影響を与えるという考え方もある。妊娠中にTCDDを投与すると流産が多発したとの報告があるが、このようなメカニズムがはたらいたのかもしれない。

TCDDを投与された母ザルはB細胞数や白血球数が対照群より少ない傾向にあった。B細胞が産生するIgGは胎盤を通過する。また、初乳には分泌型IgAや白血球が含まれており、免疫力の低い新生児に対してそれを補うものと考えられている。母ザルのB細胞数や白血球数の減少は、仔の免疫

力の低下、引いては胎仔・新生児期における免疫力の低下を導く可能性がある。母ザルが病気になりやすくなり、育仔が困難になるという状態も考えられる。

母ザルの免疫系に異常があった場合の児への長期的影響については未だ不明な点が多い。母ザルの免疫系だけではなく、児の免疫系について合わせて検討してゆくことは、広く免疫系の疾患に対する研究にも寄与すると考えられる。

今回の予備的な実験で、F1児についても血液を材料に免疫系の検索を行う目処がついたので、平成16年度にはさらに研究を展開する予定である。

E. 結論

妊娠・哺乳アカゲザルにTCDDを負荷し、最終投与から約600日後に採血して白血球を調べたところ、TCDD暴露群では白血球数、T細胞サブセットの一部の細胞数が対照群より少ない傾向が見られた。この所見の意義については、今後さらに検討する必要がある。

F. 健康危惧情報

なし。

G. 研究発表

なし。

表 1 白血球分画数 (x1,000/ μ l)

0 ng/kg 群	総白血球数	好中球	リンパ球	単球	好酸球	好塩基球	大不染細胞
平均	9.89	3.44	4.94	0.45	0.85	0.03	0.19
標準偏差	3.31	1.27	1.28	0.14	1.20	0.02	0.18

30 ng/kg 群	総白血球数	好中球	リンパ球	単球	好酸球	好塩基球	大不染細胞
平均	7.59	2.93	3.77	0.32	0.47	0.02	0.09
標準偏差	2.41	0.89	1.56	0.08	0.73	0.01	0.04

300 ng/kg 群	総白血球数	好中球	リンパ球	単球	好酸球	好塩基球	大不染細胞
平均	8.45	3.82	3.80	0.34	0.39	0.02	0.09
標準偏差	2.89	1.75	1.64	0.10	0.39	0.01	0.04

表 2 リンパ球サブセット数(血球数は x1,000/ μ l、割合は%)

0 ng/kg 群	リンパ球数	CD3+		CD3+CD8+		CD3+CD4+		CD20		CD3-CD8+	
		割合	細胞数	割合	細胞数	割合	細胞数	割合	細胞数	割合	細胞数
平均	4.94	74.6	3.67	38.7	1.44	52.9	1.92	16	0.81	9.83	0.35
標準偏差	1.28	9.28	1.01	7.51	0.52	7.32	0.56	9.96	0.58	5.79	0.23

30 ng/kg 群	リンパ球数	CD3+		CD3+CD8+		CD3+CD4+		CD20		CD3-CD8+	
		割合	細胞数	割合	細胞数	割合	細胞数	割合	細胞数	割合	細胞数
平均	3.77	72.3	2.75	44.8	1.28	45.7	1.22	14.4	0.58	14	0.32
標準偏差	1.56	10.1	1.19	8	0.64	7.81	0.52	6.97	0.5	9.67	0.2

300 ng/kg 群	リンパ球数	CD3+		CD3+CD8+		CD3+CD4+		CD20		CD3-CD8+	
		割合	細胞数	割合	細胞数	割合	細胞数	割合	細胞数	割合	細胞数
平均	3.8	73.7	2.84	38	1.06	55.1	1.58	12.5	0.49	12	0.27
標準偏差	1.64	11.2	1.48	6.47	0.55	7.43	0.89	6.34	0.35	9.1	0.14

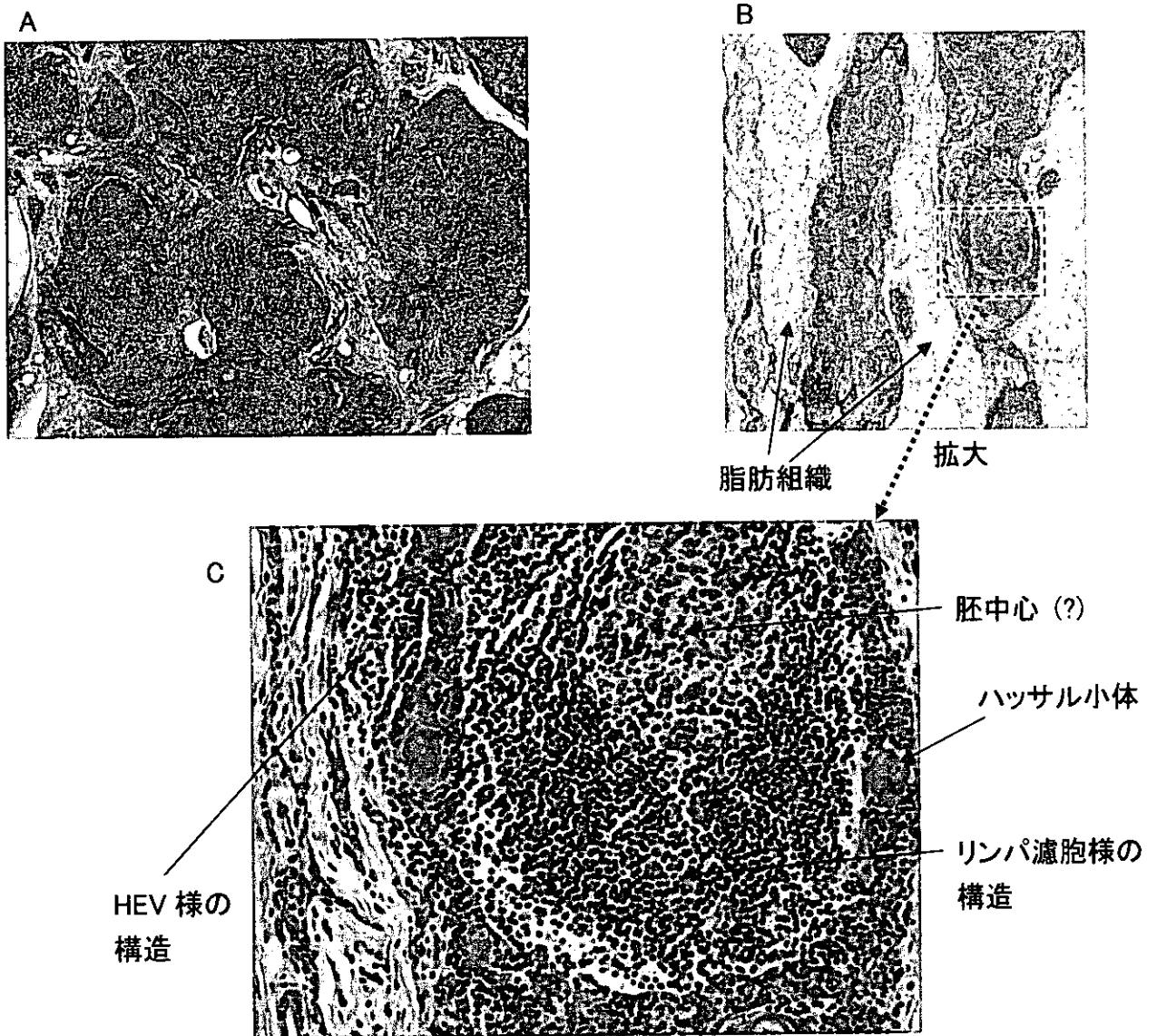


図1 300 ng/kg の1例 (No. 57) の胸腺の組織像

- (1) ハツサル小体は散見されるが(B、C)、皮質・髄質の構築は崩れており、皮髄の境界部は鮮明でない(A、B)。
- (2) 胚中心を持つリンパ濾胞様の構造が見られる(B、C)。
- (3) 高内皮細静脈 HEV と考えられる特殊な血管が見られる(C)。
- (4) 脂肪化(退縮)した部分が見られる(B)。

2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン (TCDD) の
胎生・授乳期暴露による腎線維化に関する研究

分担研究者 隅田 寛 広島国際大学保健医療学部教授
山下 敬介 広島大学大学院医歯薬総合研究科助教授

研究要旨： 2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン (以下TCDD) は、間質の増殖を引き起こすことが示唆されている。TCDD を妊娠 20 日のアカゲザルに 300 ng/kg 皮下投与した。対照には溶媒のみを同様に投与した。その後 30 日毎に初回投与量の 5 %を維持量として投与して、その児の腎発生にあたえる影響を調べた。TCDD 暴露を受けた児で生後死亡した 2 例 (死亡日齢生後 406 日) と (死亡日齢生後 425 日) の腎臓について異形成が認められた。異形成腎の組織切片標本についてコラーゲン線維の特異的染色であるピクリシリウス赤染色を行い、線維化の程度を検討した。

その結果、異形成腎はコラーゲン増殖が著しく、線維化をおこしていると考えられた。コラーゲン増殖は尿細管周囲、あるいは血管外膜に顕著であったが、1 例についてはほとんどの腎小体と尿細管が間質に置換されている部が認められた。また、異形成腎では、いくつかの血管の内膜の肥厚が著しく、ほとんど内腔が閉塞している血管も観察された。以上の結果より TCDD 300 ng/kg の母体負荷は児の腎発生に何らかの悪影響を及ぼしていることが示唆された。

A. 研究目的

人体に生殖機能の低下や発ガン等の影響を及ぼすとされるダイオキシン類の毒性発現は一日当りの暴露量より、血中濃度や体内負荷量に依存するといわれる。母親の体内に蓄積されたダイオキシン類は胎児へ移行する。また母乳中に分泌されるので乳汁を通して児に移行する。現在、わが国におけるヒトのダイオキシン類の耐容一日摂取量 (TDI) は 4 pg/kg とされている。この値は胎生期に TCDD の暴露を受けたラットの実験から算定したものである。ところが、

ダイオキシン類の生体内半減期は、齧歯類とヒトでは大きく異なるものと考えられ、齧歯類のデータを単純にヒトに応用することができるかどうか検討の余地がある。本研究の目的は、長期間、微量のダイオキシン類の暴露を受けた霊長類を使用し、長期的スパンの見地から次世代への影響を調べることである。

2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン (以下TCDD) は、間質の増殖を引き起こすことが示唆されている。最近の研究によれば、低投与量の TCDD がマーマセットの

心筋の線維化を引き起こすことが報告された。心筋の線維化は急性的に生じており、線維化した心筋組織では、コラーゲンのみならず、フィブロネクチンやラミニンなどの細胞外基質も増加していたことが合わせて報告された。また、0.15 ng/kg/日の TCDD を雌サルに4年間投与したところ、子宮内膜症を引き起こしたとの報告もある。いくつかの研究において、TCDD は、TGF- β 1 やその受容体を活性化させることにより、細胞外基質の増殖を引き起こしていると考えられている。しかし一方で、TCDD が TGF- β 1 の活性に関連した機構で線維化を促進するならば、TCDD 暴露された胎児の器官にも線維化が生じる可能性があるが、TCDD を胎生期に投与した場合、胎児組織の間質の増殖を引き起こすか否かについては不明であった。TCDD は、マウス母体に投与した時、その胎仔で腎発生において細胞外基質を変化させることが報告されている。しかし、この報告ではフィブロネクチンや IV 型コラーゲンなどの細胞外基質は減少すると結論されている。最近、我々は胎生期・授乳期に TCDD を暴露し、TCDD が児に与える影響を調べている。この実験で、TCDD を暴露された母体から出生し、生後死亡した児に、腎の異形成例を見出した。この研究では、異形成腎に、コラーゲン増殖が認められるか否かを検索し、TCDD が腎線維化にあたる影響について検討した。

B. 研究方法

妊娠 20 日のアカゲザルに TCDD 300 ng/kg を皮下投与し、30 日毎に初回投与量の 5% を追加投与することにより体内負荷量を維持する条件で妊娠を継続させ、自然分娩の後 90 日まで投与を続けた。つまり、

母動物の体内負荷量を一定に保つように投与した。この投与量は、耐容一日摂取量の 3 倍量に相当する。溶媒のみの投与群を対照とした。対照については生後 169 日の児の腎を使用した。TCDD 投与群については、生後死亡した 2 例の児（♂、生後 406 日に死亡）（♂、生後 425 日に死亡）の腎について検索した。

ピクリシリウス赤染色

腎臓組織は 10% 緩衝ホルマリン液中で固定し、パラフィン包埋した。薄切後、脱パラフィンを施した切片はコラーゲンに特異的な染色である 0.1% ピクリシリウス赤で約 10 分間染色した。

C. 研究結果

TCDD 暴露は 20 母体に対して行われた。その中で、出生は 16 例であった。生後死亡 8 例の中で、顕微鏡的に腎異形成が認められたのは 2 例であった。したがって、腎異形成は生後死亡例の少なくとも 25% に出現した割合となる。その他の 6 例の死亡例については、腎異形成について検索中である。

正常腎組織は、ピクリシリウス赤にほとんど染色されない（図 1A）。対して、異形成腎は線維化をおこなっていると考えられ、ピクリシリウス赤に強く染色された（図 1B）。異形成腎では腎小体と尿細管の低形成が認められた。また、血管周囲あるいは血管外膜の結合組織が増殖していた。間質では増殖したコラーゲン線維が認められた。ボウマン囊の肥厚も認められた（図 1B）。

いくつかの血管内腔は内膜の肥厚により閉塞していた。また、腎の線維皮膜の肥厚も同時に認められた（図 1B）。

低倍率の観察では、ピクリシリウス赤に

よる染色は、腎柱部に認められた (図 2A)。腎小体周囲あるいは尿細管周囲はあまり濃染されていなかった。しかし、高倍率での観察では、いくつかの腎小体周囲あるいは尿細管周囲のコラーゲン線維の増殖が認められた (図 2B)。

1 例の腎においては、強度に線維化していた (図 3)。線維化部はコラーゲン線維の増殖が著しく、ほとんどの腎小体と尿細管が消失しており、間質に置換されていた。このような所見は、顕微鏡所見としては水腎症と類似するが、今回検索した 2 例については、肉眼的に水腎症は認められなかった。

D. 考察

本研究結果から、TCDD 暴露群の腎に線維化が生じる可能性があることが判明した。これまでの組織化学的研究では、TCDD を暴露されたマウス母体からの胎仔の腎では、IV 型コラーゲンの減少が報告されていた。しかし、本研究により、一部ではあるが TCDD 投与群での腎でのコラーゲン増殖が明確に確認された。これらの結果の差は、マウスとサルでの TCDD の代謝スパンの差が反映したと思われる。マウスでは、発生期間が約 20 日と短いため、TCDD の短期的な発生毒性が表れただけかも知れない。

いくつかの血管内腔は内膜の肥厚により閉塞を起こしていた。血管閉塞による虚血は、線維化を促進したと思われるが、TCDD が動脈硬化を促進する可能性について、さらなる研究が必要と思われる。

今回得られた顕微鏡所見は、水腎症の所見と類似している。マウス母体に TCDD を投与した場合、その胎仔に高率に水腎症が発症する。TCDD による胎仔の水腎症発症は、ノックアウトマウスを使用した実験か

ら、AhR を介して引き起こされることが確認されており、サルでも水腎症が発症する可能性は大いにあった。しかし、今回検索した 2 例については、肉眼的に水腎症は認められていない。また、その他の生後死亡例 6 例についても水腎症は認められなかった。このことから、所見を総合すると、今回検索した 2 例は、高度の慢性腎盂腎炎であった可能性があるが、基本的に腎硬化症と診断されるものと思われる。

TCDD の腎でのコラーゲン増殖促進について、TGF- β 1 が関与しているかも知れない。TGF- β 1 は種々の器官では線維化を促進することが知られており、腎においても顕著に線維化を引き起こすことが報告されている。また、TCDD 暴露されたマーマセットでは、心筋の線維化が起こることが報告されている。この研究においては、TCDD 暴露群の心筋内では TGF- β 1 が有意に発現増加していたことが合わせて報告されている。TCDD 暴露と、TGF- β 1 などの成長因子の増加あるいは活性化との関連についての解明が次の課題と思われる。

E. 結論

胎生・授乳期のアカゲザルに TCDD 300 ng/kg 暴露したところ、児の腎形成に腎小体の萎縮を中心とする異形成が認められた。異形成腎についてコラーゲン線維の増殖が認められ、線維化と考えられた。TCDD は妊娠および授乳期母体へのこの暴露量において、児の腎形成に悪影響をおよぼす可能性が示唆される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sumida H, Tsusaki H, Inouye M, and Yasuda M

Renal fibrosis induced by in utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in rhesus monkeys. *Organohalogen Compounds*, 64: 374-377 (2003)

2. 学会発表

1) Sumida H, Tsusaki H, Inouye M, and Yasuda M

Renal fibrosis induced by in utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in rhesus monkeys. (23rd International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, August 24-29, Boston, USA)

2) 隅田寛、上塚翼、安田峯生、山下敬介、角崎英志、井上稔
2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン (TCDD) の胎生・授乳期暴露を受けたアカゲザル肝細胞の形態解析。日本内分泌攪乱化学物質学会第6回研究発表会要旨集 325 (抄録)、2003 (日本内分泌攪乱化学物質学会第6回研究発表会、2003年12月2-3日、仙台)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

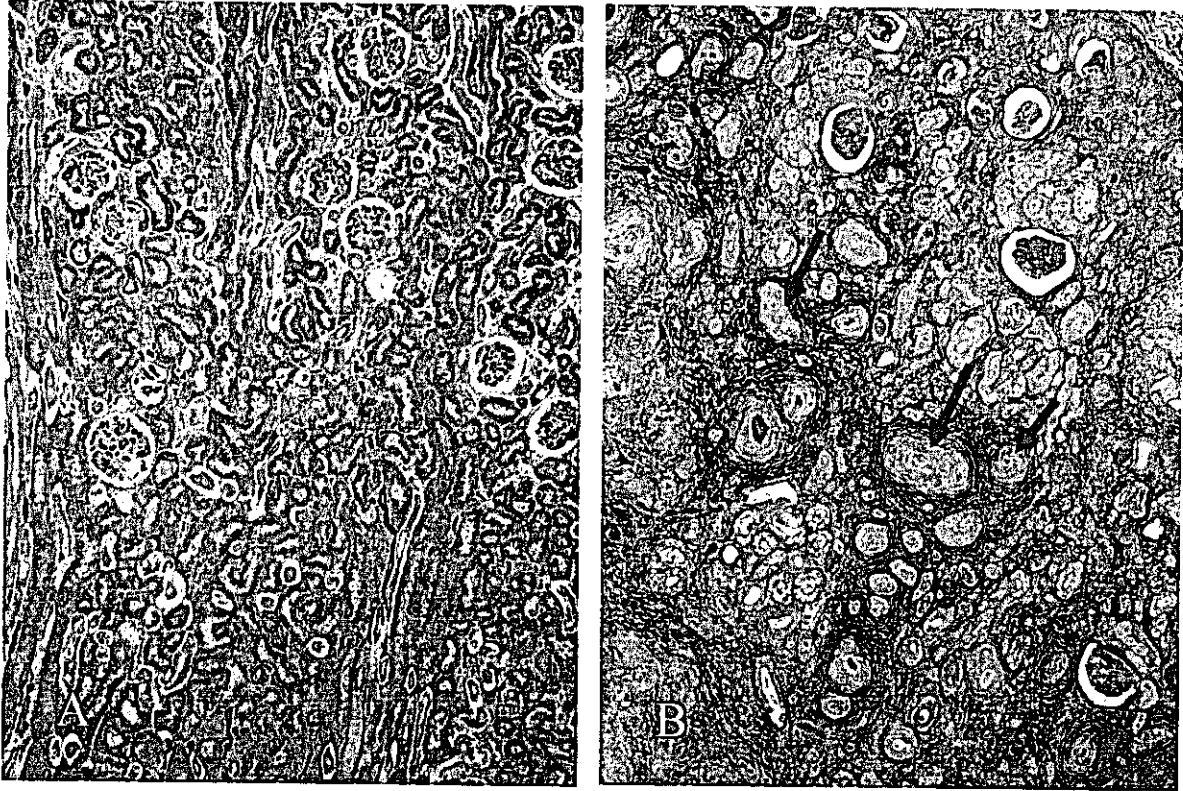


図1 A:対照群の腎。ほとんどの組織はピクリシリウス赤染色に陰性である。 B:300 ng/kg 投与群に認められた異形成腎のピクリシリウス赤染色像。腎小体および尿細管は高度な低形成を呈している。腎柱部には線維化が認められ、ピクリシリウス赤に濃染している。いくつかの血管では、内膜が肥厚して内腔が閉塞している(矢印)。

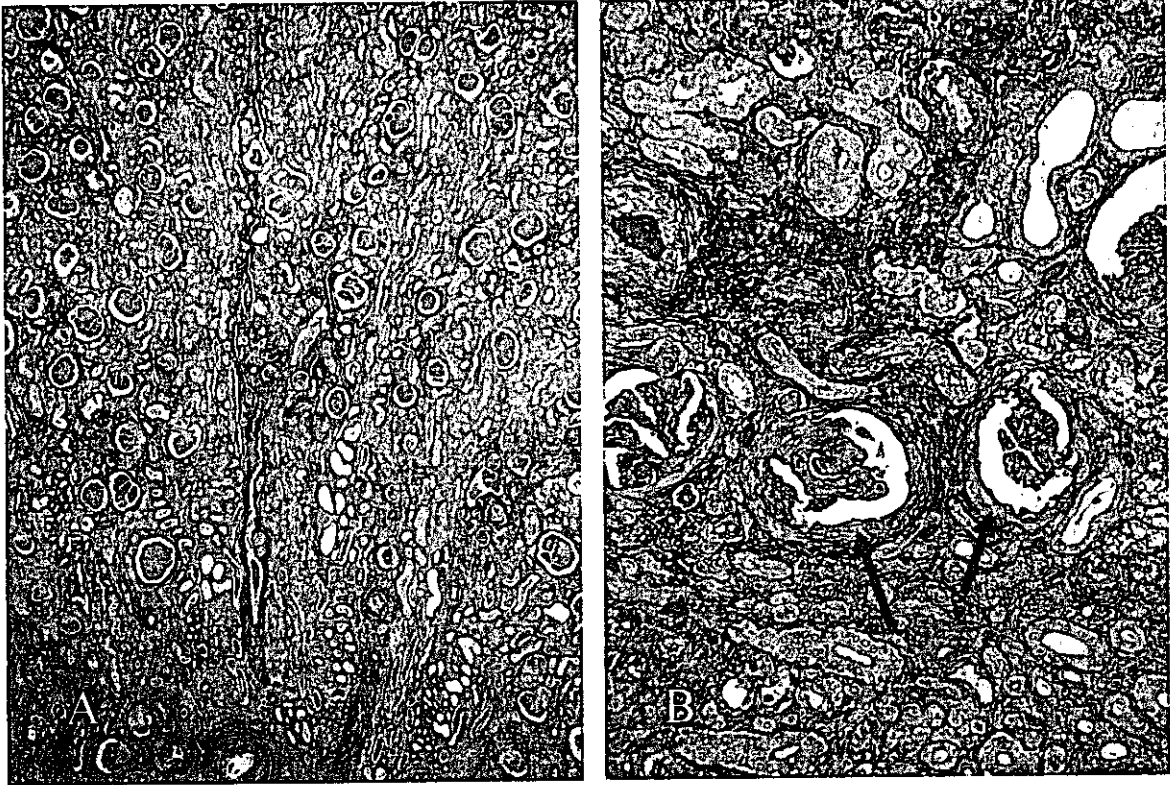


図2 A:線維化腎ピクリシウス赤染色の低倍率像。腎柱部がピクリシウス赤に濃染している。ほとんどの腎小体および尿細管はピクリシウス赤に染色されていない。B:線維化腎ピクリシウス赤染色の高倍率像。いくつかの尿細管周囲は増殖したコラーゲン線維で囲まれている。ボウマン囊壁の肥厚が認められる(矢印)。

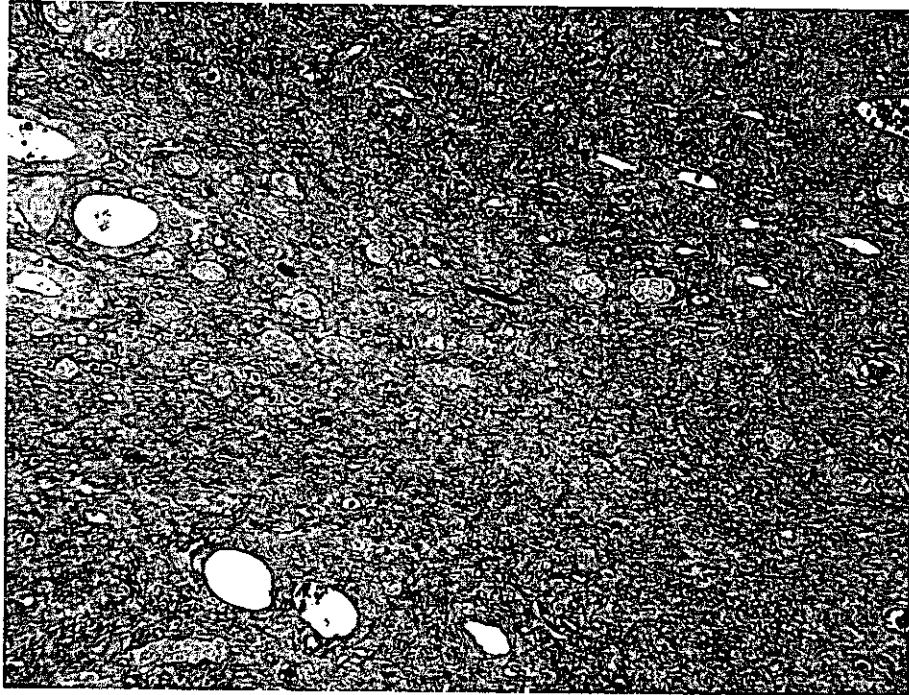


図3 高度に線維化した腎。ほとんどの腎小体と尿細管は消失し、増殖したコラーゲン線維によって置換されている。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

1. 論文発表

- 1) Yasuda I, Yasuda M, Sumida H, Tsusaki H, Inouye M, Tsuga K, Akagawa Y: Effect of *in utero* and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on tooth development in rhesus monkeys. *Organohalogen Compounds*, 64, 431-434, 2003.
- 2) Sumida H, Tsusaki H, Inouye M, Yasuda M: Renal fibrosis induced by *in utero* and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in rhesus monkeys. *Organohalogen Compounds*, 64, 453-456, 2003.
- 3) Sugihara K, Kitamura S, Ohta S, Okamura S, Yamashita K, Yasuda M, Matsui S, Matsuda T: Metabolism of indirubin and indigo, endogenous aryl hydrocarbon receptor ligand candidates, and competitive effect with respect to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). *Organohalogen Compounds*, 65, 134-137, 2003.

2. 学会発表

- 1) 安田以久, 安田峯生, 隅田寛, 角崎英志, 井上稔, 津賀一弘, 赤川安正: ダイオキシン胎生期暴露のアカゲザル歯形成への影響. 第43回日本先天異常学会学術集会要旨集, 118 (抄録), 2003. (第43回日本先天異常学会学術集会, 2003年7月2-4日, 大阪)
- 2) 安田峯生, 安田以久, 隅田寛, 角崎英志, 井上稔, 津賀一弘, 赤川安正: ダイオキシン胎生期暴露のアカゲザル口蓋ヒダ形成への影響. 第43回日本先天異常学会学術集会要旨集, 119 (抄録), 2003. (第43回日本先天異常学会学術集会, 2003年7月2-4日, 大阪)
- 3) 隅田寛, 上塚翼, 安田峯生, 山下敬介, 角崎英志, 井上稔: 2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン (TCDD) の胎児・授乳期暴露を受けたアカゲザル肝細胞の形態解析. 環境ホルモン学会第6回研究発表会要旨集, 325 (抄録), 2003. (環境ホルモン学会第6回研究発表会, 2003年12月2-3日, 仙台)

20031308

以降は雑誌/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。