

厚生労働科学研究費補助金
労働安全衛生総合研究事業

臭素化ダイオキシン類の毒性評価に関する研究

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 山本 静護

平成17(2005)年3月

目 次

I. 総括研究報告書

臭素化ダイオキシン類の毒性評価に関する研究	1
山本静護	

厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）
総括研究報告書

臭素化ダイオキシン類の毒性評価に関する研究

主任研究者 山本 静護
中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター 副所長

研究要旨

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を得ることを目的として、臭素化ダイオキシン類の（１）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）、および（２）塩素化ダイオキシン類との毒性比較に必要な経口投与による毒性（臓器毒性や生殖毒性等）を評価するための研究を３年計画で行う。

本年度は、前年度までに開発・検討した動物への吸入暴露代替法としての経気道投与技術を用いて、臭素化ダイオキシンの単回気管内投与毒性に関する研究を行った。すなわち、2,3,7,8-四臭化ジベンゾ-パラ-ジオキシン（以下、TBDD）をCrj:Wistar ラット雌雄に1.2 μ g/kg、0.455 μ g/kg および0 μ g/kg（対照群：溶媒のみ）一回気管内投与し、投与後2日および7日にそれぞれ3匹の動物を解剖し、その生体影響および体内負荷量を検索した。

その結果、

- 1) 肝臓、脂肪のTBDD濃度は投与後2日目では経口投与の結果と比較的よく一致した。
- 2) 肺のTBDD濃度は2日と7日ともほぼ同じ値であり、その後の推移については、比較的長い期間肺に残留する可能性が考えられた。
- 3) 肝臓重量の増加が投与後7日に認められ、経口投与と類似した生体影響が認められた。

以上から、TBDDの気管内投与による生体影響および体内負荷量の挙動は、経口投与のそれと類似していることが示唆された。

A. 研究目的

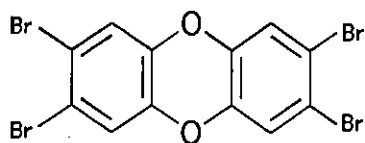
臭素化ダイオキシンのうち、2,3,7,8-tetra-dibromo-p-dioxin(TBDD)は、構造や生物活性が TCDD と類似していることから、ヒトや動物に対して TCDD に類似した生体影響をおよぼすことが推測されている (Mason et al. 1987^{a,b})。しかしながら、臭素化ダイオキシンの経気道曝露による影響に関する研究報告は少ない。

そこで、本研究では、TBDD をラット気管内に単回投与し、その生体影響および体内負荷に関する実験的研究を行った。

B. 研究方法

1. 被験物質

被験物質の 2,3,7,8-四臭化ジベンゾ・パラ・ジオキシンは、Cambridge Isotope Laboratories, Inc. より購入した。



(2,3,7,8-Tetrabromodibenzo-p-dioxin)

2. 溶液の調製および投与

TBDD はエタノール(和光純薬(株)製、試薬特級)と Tween80 (ICN Biomedical INC 製)の 1:1 混合溶液に溶解し、それに水 3 容を加え TBDD 溶液を作った。さらに各設定濃度になるように水:エタノール:Tween80(3:1:1)溶液を加え、マグネチックスターラ (井内盛栄堂(株)製 HS-360) を用いて混合した。

なお、TBDD は紫外線による分解が速いため (Buser et al.1988, Neupert et al.1988)、溶液の調製を投与直前に黄色灯下で行った。

TBDD 溶液中に含まれる被験物質の含量は、島

津テクノリサーチ(株)に測定を依頼し、確認した。

TBDD 投与量は、雌雄ともに 1.2 μ g/kg 体重、0.455 μ g/kg 体重および 0 μ g/kg 体重 (対照群:溶媒のみ投与) とし、各群 6 匹の動物に 1 回気管内投与した。

3. 動物および飼育方法

動物は、10 週齢, SPF Crj: Wistar ラット雌雄 (日本チャールス・リバー(株)筑波飼育センター生産)を用いた。

動物は TBDD 管理区域の動物飼育用チャンパー内でステンレス製単飼 5 連網ケージに収容し飼育した。飼育環境は、温度 23 \pm 2 $^{\circ}$ C、湿度 50 \pm 20%、換気回数 12 回/時、照明 12 時間点灯 (8:00~20:00) / 12 時間消灯 (20:00~8:00) とした。

飼料は、 γ 線照射滅菌した CRF-1 固型飼料 (オリエンタル酵母工業(株))とし、飲水はフィルターろ過し、紫外線照射した水道水とし、それぞれ自由摂取させた。

4. 観察、測定および検査

1) 一般状態観察および体重測定

投与後 7 日間、毎日、動物の一般状態を観察し、投与直前および投与後 2、4、7 日に体重を測定した。

2) 剖検および臓器重量の測定

投与後 2 日および 7 日に各群 3 匹の動物をエーテル麻酔下で解剖し、全例について剖検し、肝臓、腎臓、脾臓、肺、胸腺の重量を測定した。

3) 血液学的検査

投与後 2 日および 7 日に各群 3 匹の動物をエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管およびクエン酸ナトリウム入り採血管(下記 2)検査項目)に採血し、以下の検査を行った。

[検査項目]

赤血球数¹⁾、ヘモグロビン濃度¹⁾、ヘマトクリット値¹⁾、平均赤血球容積¹⁾、平均赤血球ヘモグロビン量¹⁾、平均赤血球ヘモグロビン濃度¹⁾、網赤血球比¹⁾、プロトロンビン時間²⁾、活性化部分トロンボプラスチン時間²⁾、血小板数¹⁾、白血球数¹⁾、白血球分類³⁾

[検査機器]

検査項目 1)は総合血液学検査装置(ADVIVA 120 : パイエル社)、2)は全自動血液凝固測定装置(Sysmex CA-5000: シスメックス(株))および 3)は血液細胞自動分類装置(MICROX HEG-120NA : オムロン(株))を用いて検査した。

4) 血液生化学的検査

定期解剖時(投与後2日目、7日目)に全例について、エーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血し、以下の検査を行った。

[検査項目]

総蛋白、アルブミン、A/G比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、GOT、GPT、LDH、ALP、 γ -GTP、CPK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

[検査機器]

全ての検査項目は自動分析装置(日立 7070 : (株)日立製作所)を用いて検査した。

5) 体内負荷量の測定

投与後2日および7日に1群あたり雌雄各3匹について、肺(右中葉以外)、肝臓(左葉)および脂肪組織(腎臓周囲)を採取し、TBDDの未変化体を測定した(分析依頼先: 島津テクノリサーチ(株))。

5. 統計解析

体重、臓器重量、血液学検査および血液生化学検査などの各データは、最初に Bartlett 法により等分散の予備検定を行い、等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett の多重比較により平均値の差の検定を行った。また、分散の等しくない場合には、各群を通して測定値を順位化して Kruskal-Wallis の順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には Dunnett 型の多重比較を行った。

各検定は5%の有意水準で両側検定を行い、検定結果を表示する場合には5%および1%の有意水準の表示を行った。

(倫理面への配慮)

- ① 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。
- ② 本研究は、研究者の安全衛生対策および周囲環境の汚染防止の観点から当センターの「特定化学物質(2,3,7,8-TBDD)安全管理規定」および「特定化学物質(2,3,7,8-TBDD)の取扱い管理指針」に基づき実施した。

C. 研究結果

1) 生存状況および一般状態

全ての動物に一般状態の異常は観察されなかった。

2) 体重推移 (TABLE 1,2 および FIGURE 1)

体重推移に 0.455 μ g/kg 群および 1.2 μ g/kg 群の雌雄ともに対照群との差は認められなかった。

3) 剖検所見

TBDD 投与に起因した異常は観察されなかった

4) 臓器重量 (TABLE 3,4)

肝臓の実重量および体重比に投与濃度に対応した増加が投与後 2 日および 7 日に雌雄ともに認められ、1.2 μ g/kg 群においては雌雄ともに統計学的に有意 ($p < 0.05$) であった。

3) 血液学検査所見 (TABLE 5,6)

投与後 7 日の検査において、雌雄の赤血球系パラメーター (赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値) に投与濃度に応じた低下傾向が認められ、雌の 1.2 μ g/kg 群のヘモグロビン濃度 ($p < 0.05$) およびヘマトクリット値 ($p < 0.01$) は統計学的に有意であった。その他の項目では雌雄とも両解剖期の全ての動物で TBDD 投与による影響はみられなかった。

4) 血液生化学検査所見 (TABLE 7 および 8)

投与後 7 日の検査において、雌雄の LDH 活性および ALP 活性の投与濃度に対応した増加が認められ、雄の 1.2 μ g/kg 群の LDH 活性 ($p < 0.05$) と雄の 0.455 μ g/kg 群および 1.2 μ g/kg 群の ALP 活性 ($p < 0.05$ および $p < 0.01$) は統計学的に有意であった。

5) TBDD の体内負荷量 (TABLE 9,10 および FIGURE 2-A, 2-B,2-C)

肝臓：投与後 2 日では 1.2 μ g/kg 群で雄：8.2ng/g、雌：8.0ng/g、0.455 μ g/kg 群で雄：1.8ng/g、雌：2.2ng/g であり、投与量に対応した TBDD 濃度が測定された。投与後 7 日には、1.2 μ g/kg 群で雄：3.0ng/g、雌：3.5ng/g、0.455 μ g/kg 群で雄：0.9ng/g、雌：0.9ng/g であり、雌雄の各投与群ともに 1/2 以下に減衰した。

肺：投与後 2 日では 1.2 μ g/kg 群で雄：21ng/g、雌：20ng/g、0.455 μ g/kg 群で雄：12ng/g、雌：15ng/g、投与後 7 日には、1.2 μ g/kg 群で雄：21ng/g、雌：20ng/g、0.455 μ g/kg 群で雄：15ng/g、雌：16ng/g であり、時間の経過に伴う変化はみられなかった。また群間差は、投与量の差に比べ少なかった。

脂肪：投与後 2 日では 1.2 μ g/kg 群で雄：4.0ng/g、雌：5.4ng/g、0.455 μ g/kg 群で雄：1.4ng/g、雌：1.8ng/g、投与後 7 日には、1.2 μ g/kg 群で雄：4.5ng/g、雌：5.6ng/g、0.455 μ g/kg 群で雄：1.8ng/g、雌：2.3ng/g であり、時間の経過に伴い僅かな増加傾向が認められた。また群間差は、投与量の差とほぼ同程度であった。

D. 考察

ラットへの TBDD の気管内投与についての報告は 1 報しかなく、その記述も投与後 3 日目の体内負荷量、糞尿への排出量だけである (Diliberto JJ et al. 1993)。

今回実施した気管内投与による TBDD の体内負荷量について、平成 14 年度に実施した経口投与による体内負荷量及び他の文献と比較した。今回実施した TBDD の気管内投与では、気管内投与にラットが耐えうる条件の溶媒では TBDD の溶解度が低く、経口投与と同じ用量の投与はできなかった。そのため実際の体内負荷量とともに、Diliberto らや昨年度の本研究でも用いた組織中の肝臓と脂肪の TBDD 濃度比を用い、気管内投与と

経口投与によるTBDDの組織での挙動を比較検討した。

今回の気管内投与と、平成14、15年度に実施した経口投与、Ivensら(1992)の経口投与、Dilibertoらの経口投与、気管内投与とを図(Figure 3)にまとめた。今回の気管内投与の体内負荷量は肝臓、脂肪については他の試験と一致した。しかしながら、肺についてはDilibertoらの結果より大きな値であった。

一方、肝臓/脂肪比は投与後2日で気管内投与は1.22~2.05、経口投与は1.32~2.00、投与後7日で気管内投与は0.39~0.67、経口投与は0.76~1.08であった。投与後2日では気管内投与、経口投与とも比較的近い値を示したが、投与後7日では気管内投与の肝臓/脂肪比は経口投与に比べて低下した。この原因は気管内投与では、肝臓のTBDD濃度の低下が経口投与と比較して大きいことによると考えられた。また経口投与の、肝臓/脂肪比はTBDDの投与濃度にかかわらず、気管内投与の値と近いことから投与後2日程度の肝臓、脂肪でのTBDDの挙動は気管内投与と経口投与の違いは少ないものと考えた。

肺のTBDD濃度は2日と7日ともほぼ同じ値で、その後の推移については、比較的長い期間肺に残留する可能性もあり、今後の研究が待たれる。

今回の気管内投与で投与濃度に対応した影響がみられたのは、投与後7日の肝臓の実重量と体重比であった。雌雄の1.2 μ g/kg群で有意な増加を示し、雄のほうが増加率は大きかった。これに対し平成14年度に実施した経口投与では10 μ g/kg群で雄の体重比と雌の実重量と体重比の増加がみられ、その増加率には雌雄の差は見られなかった。

E. 結論

動物への吸入暴露代替法として開発・検討した経気道投与技術を用いて、TBDDをラット雌雄に1.2 μ g/kg、0.455 μ g/kgおよび0 μ g/kg(対照群:溶媒のみ)を単回気管内投与し、その生体影響および体内負荷量を検索した。

その結果、

- 1) 肝臓、脂肪のTBDD濃度は投与後2日目では経口投与の結果と比較的よく一致した。
- 2) 肺のTBDD濃度は2日と7日ともほぼ同じ値であり、その後の推移については、比較的長い期間肺に残留する可能性が考えられた。
- 3) 肝臓重量の増加が投与後7日に認められ、経口投与と類似した生体影響が認められた。

以上から、TBDDの気管内投与による生体影響および体内負荷量の挙動は、経口投与のそれと類似していることが示唆された。

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

I. 参考文献

Buser H-R. (1988). Rapid photolytic decomposition of brominated and brominated / chlorinated dibenzo-dioxins and dibenzofurans. *Chemosphere* 17, 889-903.

Diliberto JJ, Kedderis LB, Jackson JA, Brinbaum LS. (1993). Effects of dose and routes of exposure on the disposition of 2,3,7,8-³H]tetrabromodibenzo-p-dioxin (TBDD) in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 120, 315-326.

Ivens IA, Loser E, Rinke M, Schmidt U, Neupert M. (1992). Toxicity of 2,3,7,8-tetrabromodibenzo-p-dioxin in rats after single oral administration. *Toxicology* 73, 53-69.

Mason G, Denomme MA, Safe L, Safe S. (1987^a). Polybrominated and chlorinated dibenzo-p-dioxins: synthesis biologic and toxic effects and structure-activity relationships. *Chemosphere* 16, 1729-1731.

Mason G, Zacharewski T, Denomme MA, Safe L, Safe S. (1987^b). Polybrominated dibenzo-p-dioxins and related compounds: quantitative in vivo and in vitro structure-activity relationships. *Toxicology* 44, 245-255.

Neupert M, Grupe A, Weis H. (1988). Stability of polybrominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans under laboratory handling conditions. *Chemosphere* 17, 1089-1097.

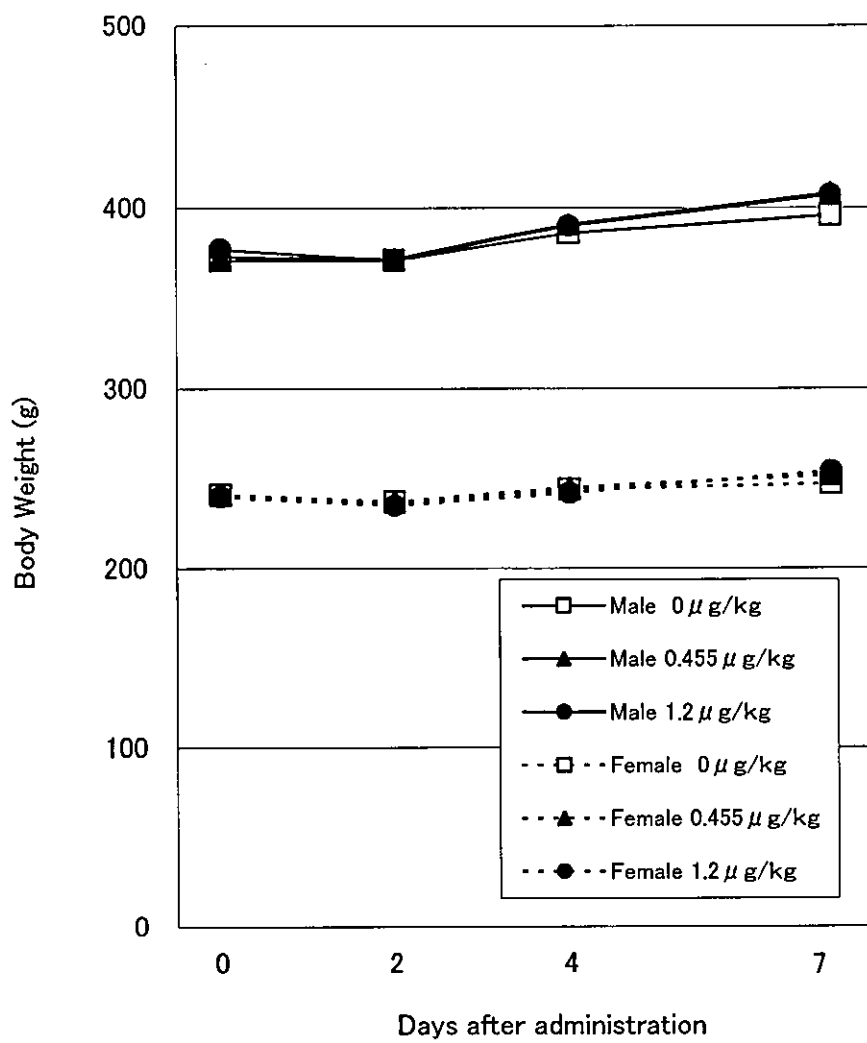


FIGURE 1 体重の推移

TABLE 1 体重推移 (雄)

Days after administration	Dose($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	0(control)	0.455	1.2
0	371 \pm 10	373 \pm 6	377 \pm 6
2	371 \pm 17	372 \pm 14	371 \pm 6
4	386 \pm 18	391 \pm 3	390 \pm 5
7	396 \pm 15	408 \pm 8	407 \pm 8

注1) 投与直前(0日)および投与後2日は各群6匹、投与後4日および7日は各群3匹の平均値および標準偏差を載せた。

注2) Dunnettの多重比較検定を行い、 $0\mu\text{g}/\text{kg}$ 群(control)と各投与群の間に統計学的に有意な差は認められなかった。

TABLE 2 体重推移 (雌)

Days after administration	Dose($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	0(control)	0.455	1.2
0	241 \pm 4	241 \pm 5	240 \pm 2
2	237 \pm 7	237 \pm 9	235 \pm 8
4	244 \pm 6	245 \pm 9	242 \pm 5
7	247 \pm 9	252 \pm 11	254 \pm 11

注1) 投与直前(0日)および投与後2日は各群6匹、投与後4日および7日は各群3匹の平均値および標準偏差を載せた。

注2) Dunnettの多重比較検定を行い、 $0\mu\text{g}/\text{kg}$ 群(control)と各投与群の間に統計学的に有意な差は認められなかった。

TABLE 3 臟器重量 (雄)

Organ	Dose($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	0(control)	0.455	1.2
(2-day sacrificed animals)			
Number of Animals	3	3	3
Body Weight (g)	374 \pm 14	371 \pm 21	372 \pm 8
Liver (g)	14.588 \pm 2.842	14.638 \pm 2.922	16.290 \pm 1.328
(%)	3.889 \pm 0.607	3.952 \pm 0.829	4.381 \pm 0.307
Lungs (g)	1.702 \pm 0.051	1.979 \pm 0.299	1.783 \pm 0.095
(%)	0.456 \pm 0.007	0.536 \pm 0.103	0.480 \pm 0.032
Kidneys (g)	2.680 \pm 0.312	2.871 \pm 0.155	2.696 \pm 0.088
(%)	0.716 \pm 0.056	0.773 \pm 0.003	0.725 \pm 0.024
Thymus (g)	0.550 \pm 0.042	0.664 \pm 0.071	0.591 \pm 0.204
(%)	0.148 \pm 0.015	0.179 \pm 0.021	0.158 \pm 0.051
Spleen (g)	0.935 \pm 0.025	0.893 \pm 0.084	0.899 \pm 0.066
(%)	0.250 \pm 0.003	0.240 \pm 0.010	0.242 \pm 0.013
(7-day sacrificed animals)			
Number of Animals	3	3	3
Body Weight (g)	396 \pm 15	408 \pm 8	407 \pm 8
Liver (g)	14.526 \pm 0.178	16.416 \pm 0.822	18.346 \pm 0.867 *
(%)	3.661 \pm 0.364	4.020 \pm 0.189	4.507 \pm 0.171 *
Lungs (g)	1.532 \pm 0.078	1.583 \pm 0.022	1.571 \pm 0.108
(%)	0.387 \pm 0.011	0.388 \pm 0.012	0.386 \pm 0.020
Kidneys (g)	2.478 \pm 0.113	2.665 \pm 0.069	2.725 \pm 0.099 *
(%)	0.625 \pm 0.012	0.653 \pm 0.025	0.670 \pm 0.037
Thymus (g)	0.634 \pm 0.081	0.605 \pm 0.160	0.542 \pm 0.055
(%)	0.160 \pm 0.015	0.148 \pm 0.036	0.133 \pm 0.013
Spleen (g)	0.983 \pm 0.088	0.949 \pm 0.063	0.888 \pm 0.110
(%)	0.248 \pm 0.018	0.232 \pm 0.011	0.218 \pm 0.023

(Significant difference on the test of Dunnett, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

TABLE 4 臟器重量 (雌)

Organ	Dose($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	0(control)	0.455	1.2
(2-day sacrificed animals)			
<i>Number of Animals</i>	3	3	3
<i>Body Weight (g)</i>	241 \pm 7	236 \pm 6	232 \pm 3
Liver (g)	9.255 \pm 1.191	8.769 \pm 0.747	9.937 \pm 0.149
(%)	3.839 \pm 0.393	3.722 \pm 0.314	4.278 \pm 0.122
Lungs (g)	1.476 \pm 0.234	1.535 \pm 0.226	1.321 \pm 0.064
(%)	0.615 \pm 0.110	0.651 \pm 0.086	0.569 \pm 0.030
Kidnys (g)	1.841 \pm 0.094	1.695 \pm 0.083	1.695 \pm 0.163
(%)	0.765 \pm 0.026	0.719 \pm 0.027	0.730 \pm 0.073
Thymus (g)	0.403 \pm 0.052	0.456 \pm 0.089	0.401 \pm 0.134
(%)	0.168 \pm 0.026	0.194 \pm 0.037	0.172 \pm 0.055
Spleen (g)	0.728 \pm 0.006	0.594 \pm 0.035	** 0.673 \pm 0.017 *
(%)	0.303 \pm 0.009	0.252 \pm 0.021	* 0.290 \pm 0.004
(7-day sacrificed animals)			
<i>Number of Animals</i>	3	3	3
<i>Body Weight (g)</i>	247 \pm 9	252 \pm 11	254 \pm 11
Liver (g)	9.420 \pm 0.736	9.347 \pm 0.679	10.931 \pm 0.459 *
(%)	3.811 \pm 0.182	3.701 \pm 0.170	4.307 \pm 0.213 *
Lungs (g)	1.288 \pm 0.154	1.240 \pm 0.056	1.251 \pm 0.121
(%)	0.521 \pm 0.058	0.491 \pm 0.019	0.492 \pm 0.028
Kidnys (g)	1.686 \pm 0.067	1.696 \pm 0.070	1.783 \pm 0.091
(%)	0.684 \pm 0.050	0.673 \pm 0.043	0.702 \pm 0.007
Thymus (g)	0.357 \pm 0.155	0.389 \pm 0.077	0.341 \pm 0.060
(%)	0.143 \pm 0.058	0.154 \pm 0.030	0.135 \pm 0.027
Spleen (g)	0.654 \pm 0.046	0.689 \pm 0.051	0.728 \pm 0.045
(%)	0.265 \pm 0.012	0.273 \pm 0.022	0.287 \pm 0.021

(Significant difference on the test of Dunnett, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

TABLE 5 血液学的検査 (雄)

Items of Examination	Dose($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	0(control)	0.455	1.2
(2-day sacrificed animals)			
<i>No. of samples</i>	3	3	3
Red blood cell ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7.68 \pm 0.32	7.42 \pm 0.06	7.64 \pm 0.30
Hemoglobin (g/dL)	15.6 \pm 0.5	15.5 \pm 0.4	15.4 \pm 0.3
Hematocrit (%)	43.0 \pm 0.3	42.6 \pm 1.9	42.4 \pm 1.4
MCV (fL)	56.0 \pm 1.9	57.4 \pm 2.7	55.5 \pm 0.3
MCH (pg)	20.3 \pm 0.2	20.9 \pm 0.7	20.2 \pm 0.5
MCHC (g/dL)	36.2 \pm 1.0	36.4 \pm 0.6	36.4 \pm 0.8
Platlet ($10^3/\mu\text{L}$)	1044 \pm 109	1213 \pm 82	1096 \pm 72
Reticulocyte(%)	2.6 \pm 0.7	3.3 \pm 0.3	2.6 \pm 0.5
Prothrombin Time(sec)	13.5 \pm 0.5	13.1 \pm 0.1	12.9 \pm 0.6
APTT (sec)	21.9 \pm 4.67	24.3 \pm 4.45	18.1 \pm 9.7
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	6.90 \pm 1.95	9.97 \pm 3.04	10.43 \pm 1.09
Differential WBC (%)			
NEUTRO	17.3 \pm 4.4	13.6 \pm 4.5	16.1 \pm 0.1
LYMPHO	77.1 \pm 4.5	80.9 \pm 3.6	78.3 \pm 0.4
MONO	2.2 \pm 0.4	2.6 \pm 0.3	3.1 \pm 0.4
EOSINO	2.0 \pm 0.6	0.9 \pm 0.5 *	0.9 \pm 0.1 *
BASO	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.0
LUC	1.3 \pm 0.1	1.8 \pm 0.5	1.5 \pm 0.0
(7-day sacrificed animals)			
<i>No. of samples</i>	3	3	3
Red blood cell ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7.82 \pm 0.17	7.66 \pm 0.28	7.51 \pm 0.39
Hemoglobin (g/dL)	16.0 \pm 0.5	15.4 \pm 0.6	15.4 \pm 0.6
Hematocrit (%)	43.0 \pm 1.3	42.8 \pm 1.8	41.4 \pm 1.4
MCV (fL)	55.0 \pm 2.5	55.8 \pm 1.4	55.2 \pm 1.1
MCH (pg)	20.4 \pm 1.0	20.2 \pm 0.5	20.5 \pm 0.3
MCHC (g/dL)	37.1 \pm 0.1	36.1 \pm 0.3 **	37.2 \pm 0.3
Platlet ($10^3/\mu\text{L}$)	940 \pm 126	1037 \pm 74	1182 \pm 76 *
Reticulocyte(%)	2.3 \pm 0.1	2.4 \pm 0.3	1.9 \pm 0.2
Prothrombin Time(sec)	13.0 \pm 0.5	13.5 \pm 0.6	12.8 \pm 0.2
APTT (sec)	20.9 \pm 1.5	25.4 \pm 6.0	21.1 \pm 1.5
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	10.17 \pm 1.54	10.31 \pm 2.33	8.50 \pm 0.75
Differential WBC (%)			
NEUTRO	13.3 \pm 4.9	13.8 \pm 3.2	16.3 \pm 2.3
LYMPHO	81.4 \pm 5.0	80.6 \pm 4.5	78.3 \pm 2.3
MONO	2.1 \pm 0.2	2.6 \pm 0.5	2.3 \pm 0.6
EOSINO	1.7 \pm 0.6	1.9 \pm 1.2	1.7 \pm 0.3
BASO	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0
LUC	1.2 \pm 0.3	0.8 \pm 0.3	1.5 \pm 0.7

(Significant difference on the test of Dunnett, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

TABLE 6 血液学的検査 (雌)

Items of Examination	Dose($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	0(control)	0.455	1.2
(2-day sacrificed animals)			
<i>No. of samples</i>	3	3	3
Red blood cell ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7.42 \pm 0.18	7.78 \pm 0.44	8.09 \pm 0.20
Hemoglobin (g/dL)	15.4 \pm 0.3	15.4 \pm 0.4	15.9 \pm 0.1
Hematocrit (%)	40.7 \pm 0.8	41.5 \pm 1.4	42.4 \pm 0.2
MCV (fL)	54.9 \pm 0.9	53.5 \pm 2.3	52.5 \pm 1.5
MCH (pg)	20.8 \pm 0.2	19.8 \pm 0.8	19.6 \pm 0.4
MCHC (g/dL)	37.9 \pm 0.4	37.0 \pm 0.5	37.4 \pm 0.3
Platlet ($10^3/\mu\text{L}$)	1075 \pm 196	1155 \pm 116	1016 \pm 152
Reticulocyte(‰)	2.4 \pm 0.2	2.6 \pm 0.6	2.0 \pm 0.1
Prothrombin Time(sec)	13.5 \pm 0.5	13.2 \pm 0.3	12.9 \pm 0.3
APTT (sec)	19.6 \pm 1.7	18.6 \pm 1.9	21.4 \pm 2.2
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	6.94 \pm 2.90	6.02 \pm 1.30	7.94 \pm 1.13
Differential WBC (%)			
NEUTRO	13.5 \pm 1.3	17.5 \pm 7.3	14.6 \pm 4.8
LYMPHO	80.7 \pm 1.3	76.1 \pm 6.5	78.4 \pm 5.9
MONO	2.6 \pm 0.3	2.3 \pm 0.9	3.9 \pm 1.4
EOSINO	2.0 \pm 0.4	2.6 \pm 0.6	1.3 \pm 0.1
BASO	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0
LUC	1.2 \pm 0.3	1.4 \pm 0.6	1.6 \pm 0.2
(7-day sacrificed animals)			
<i>No. of samples</i>	3	3	3
Red blood cell ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7.93 \pm 0.19	7.87 \pm 0.18	7.57 \pm 0.15
Hemoglobin (g/dL)	15.4 \pm 0.1	15.4 \pm 0.5	14.5 \pm 0.3 *
Hematocrit (%)	41.9 \pm 0.2	41.2 \pm 1.2	39.3 \pm 0.5 **
MCV (fL)	52.9 \pm 1.0	52.4 \pm 1.4	51.9 \pm 1.5
MCH (pg)	19.5 \pm 0.3	19.5 \pm 0.3	19.2 \pm 0.8
MCHC (g/dL)	36.8 \pm 0.2	37.3 \pm 0.6	36.9 \pm 0.5
Platlet ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	938 \pm 132	1012 \pm 211	928 \pm 59
Reticulocyte(‰)	2.1 \pm 0.2	2.1 \pm 0.2	2.3 \pm 0.4
Prothrombin Time(sec)	14.1 \pm 0.4	14.5 \pm 2.3	12.8 \pm 0.3
APTT (sec)	32.6 \pm 20.4	59.0 \pm 67.8	21.1 \pm 1.8
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5.10 \pm 2.06	6.06 \pm 1.74	6.15 \pm 0.76
Differential WBC (%)			
NEUTRO	17.0 \pm 5.0	16.6 \pm 6.5	14.4 \pm 4.1
LYMPHO	75.2 \pm 5.0	77.2 \pm 7.4	78.1 \pm 5.9
MONO	2.1 \pm 0.6	2.7 \pm 0.6	3.4 \pm 1.0
EOSINO	4.7 \pm 2.0	2.1 \pm 0.7	2.1 \pm 0.9
BASO	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1
LUC	0.9 \pm 0.1	1.3 \pm 0.5	1.9 \pm 0.8

(Significant difference on the test of Dunnett, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

TABLE 7 血液生化学的检查 (雄)

Items of Examination	Dose($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	0(control)	0.455	1.2
(2-day sacrificed animals)			
<i>No. of samples</i>	3	3	3
Total protein (g/dL)	5.9 \pm 0.1	6.1 \pm 0.3	5.9 \pm 0.3
Albumin (g/dL)	3.4 \pm 0.2	3.4 \pm 0.2	3.4 \pm 0.1
A/G ratio	1.4 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1	1.4 \pm 0.1
Total Bilirubin (mg/dL)	0.16 \pm 0.01	0.18 \pm 0.02	0.15 \pm 0.01
Glucose (mg/dL)	208 \pm 32	200 \pm 17	194 \pm 8
Total Cholesterol (mg/dL)	70 \pm 6	88 \pm 16	81 \pm 8
Triglyceride (mg/dL)	102 \pm 6	136 \pm 39	133 \pm 43
Phospholipid (mg/dL)	130 \pm 11	163 \pm 15 *	149 \pm 10
GOT (IU/L)	51 \pm 6	50 \pm 3	51 \pm 2
GPT (IU/L)	26 \pm 1	25 \pm 2	24 \pm 3
LDH (IU/L)	91 \pm 7	106 \pm 17	113 \pm 11
ALP (IU/L)	408 \pm 33	429 \pm 79	386 \pm 16
γ -GTP(IU/L)	1 \pm 1	1 \pm 1	1 \pm 0
CPK (IU/L)	151 \pm 54	136 \pm 31	159 \pm 25
Urea Nitrogen(mg/L)	18.5 \pm 1.4	19.0 \pm 2.0	17.5 \pm 0.7
Creatinine(mg/dL)	0.5 \pm 0.1	0.4 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0
Sodium (mEq/L)	142 \pm 1	143 \pm 1	141 \pm 1
Potassium (mEq/L)	3.9 \pm 0.3	4.1 \pm 0.1	4.0 \pm 0.6
Chloride (mEq/L)	103 \pm 2	104 \pm 2	102 \pm 1
Calcium(mg/dL)	10.8 \pm 0.2	11.0 \pm 0.1	10.8 \pm 0.3
Inorganic Phosphorus (mg/dL)	7.2 \pm 1.2	7.1 \pm 0.4	6.7 \pm 0.5
(7-day sacrificed animals)			
<i>No. of samples</i>	3	3	3
Total Protein (g/dL)	5.7 \pm 0.2	5.7 \pm 0.0	5.9 \pm 0.2
Albumin (g/dL)	3.3 \pm 0.1	3.3 \pm 0.1	3.5 \pm 0.1
A/G ratio	1.4 \pm 0.2	1.4 \pm 0.1	1.4 \pm 0.2
Total Bilirubin (mg/dL)	0.18 \pm 0.03	0.15 \pm 0.03	0.22 \pm 0.02
Glucose (mg/dL)	199 \pm 7	216 \pm 16	192 \pm 10
Total Cholesterol (mg/dL)	75 \pm 6	69 \pm 5	94 \pm 16
Triglyceride (mg/dL)	161 \pm 40	130 \pm 74	255 \pm 33
Phospholipid (mg/dL)	144 \pm 9	137 \pm 20	187 \pm 15 *
GOT (IU/L)	46 \pm 2	48 \pm 5	54 \pm 1
GPT (IU/L)	26 \pm 1	24 \pm 3	27 \pm 1
LDH (IU/L)	83 \pm 3	94 \pm 7	115 \pm 19 *
ALP (IU/L)	332 \pm 20	413 \pm 34 *	462 \pm 24 **
γ -GTP(IU/L)	1 \pm 1	1 \pm 1	1 \pm 1
CPK (IU/L)	119 \pm 30	143 \pm 32	132 \pm 12
Urea Nitrogen(mg/L)	23.9 \pm 2.0	19.5 \pm 1.4	21.5 \pm 2.6
Creatinine(mg/dL)	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0
Sodium (mEq/L)	141 \pm 1	141 \pm 1	140 \pm 0
Potassium (mEq/L)	4.4 \pm 0.2	4.3 \pm 0.3	4.5 \pm 0.4
Chloride (mEq/L)	104 \pm 2	104 \pm 2	103 \pm 1
Calcium(mg/dL)	10.7 \pm 0.3	10.7 \pm 0.1	11.1 \pm 0.1
Inorganic Phosphorus (mg/dL)	6.1 \pm 0.6	7.2 \pm 0.1 *	7.5 \pm 0.2 **

(Significant difference on the test of Dunnett, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

TABLE 8 血液生化学的检查 (雌)

Items of Examination	Dose($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	0(control)	0.455	1.2
(2-day sacrificed animals)			
<i>No. of samples</i>	3	3	3
Total Protein (g/dL)	6.1 \pm 0.4	5.8 \pm 0.1	6.2 \pm 0.2
Albumin (g/dL)	3.8 \pm 0.4	3.6 \pm 0.1	3.8 \pm 0.2
A/G ratio	1.7 \pm 0.2	1.6 \pm 0.1	1.5 \pm 0.2
Total Bilirubin (mg/dL)	0.15 \pm 0.02	0.15 \pm 0.01	0.14 \pm 0.02
Glucose (mg/dL)	191 \pm 23	182 \pm 10	172 \pm 13
Total Cholesterol (mg/dL)	76 \pm 15	90 \pm 10	79 \pm 13
Triglyceride (mg/dL)	62 \pm 27	50 \pm 19	52 \pm 7
Phospholipid (mg/dL)	136 \pm 9	156 \pm 3	152 \pm 13
GOT (IU/L)	52 \pm 9	50 \pm 3	51 \pm 4
GPT (IU/L)	25 \pm 6	23 \pm 2	24 \pm 3
LDH (IU/L)	94 \pm 18	89 \pm 8	135 \pm 61
ALP (IU/L)	216 \pm 72	280 \pm 12	353 \pm 111
γ -GTP(IU/L)	1 \pm 1	1 \pm 0	1 \pm 1
CPK (IU/L)	97 \pm 37	109 \pm 17	162 \pm 28
Urea Nitrogen(mg/L)	18.2 \pm 2.1	18.3 \pm 4.1	18.9 \pm 3.4
Creatinine(mg/dL)	0.5 \pm 0.1	0.4 \pm 0.0	0.5 \pm 0.1
Sodium (mEq/L)	141 \pm 1	142 \pm 1	141 \pm 1
Potassium (mEq/L)	3.8 \pm 0.4	3.8 \pm 0.3	3.6 \pm 0.5
Chloride (mEq/L)	105 \pm 0	106 \pm 1	104 \pm 1
Calcium(mg/dL)	10.6 \pm 0.2	10.5 \pm 0.1	10.9 \pm 0.2
Inorganic phosphorus (mg/dL)	5.0 \pm 1.2	5.2 \pm 1.2	6.0 \pm 1.3
(7-day sacrificed animals)			
<i>No. of samples</i>	3	3	3
Total protein (g/dL)	6.0 \pm 0.2	5.7 \pm 0.1	6.3 \pm 0.2
Albumin (g/dL)	3.8 \pm 0.1	3.6 \pm 0.2	4.0 \pm 0.2
A/G ratio	1.7 \pm 0.1	1.6 \pm 0.2	1.7 \pm 0.1
Total Bilirubin (mg/dL)	0.16 \pm 0.01	0.15 \pm 0.01	0.19 \pm 0.02 *
Glucose (mg/dL)	187 \pm 14	196 \pm 21	190 \pm 10
Total Cholesterol (mg/dL)	66 \pm 15	73 \pm 8	98 \pm 19
Triglyceride (mg/dL)	95 \pm 45	77 \pm 53	122 \pm 20
Phospholipid (mg/dL)	139 \pm 31	141 \pm 21	198 \pm 27
GOT (IU/L)	45 \pm 9	51 \pm 6	55 \pm 7
GPT (IU/L)	27 \pm 3	26 \pm 3	31 \pm 7
LDH (IU/L)	99 \pm 26	106 \pm 20	115 \pm 18
ALP (IU/L)	230 \pm 13	338 \pm 90	310 \pm 45
γ -GTP(IU/L)	1 \pm 1	1 \pm 1	0 \pm 1
CPK (IU/L)	112 \pm 38	92 \pm 13	85 \pm 12
Urea Nitrogen(mg/L)	21.2 \pm 2.6	23.8 \pm 2.3	21.0 \pm 1.7
Creatinine(mg/dL)	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.0
Sodium (mEq/L)	141 \pm 1	140 \pm 1	140 \pm 2
Potassium (mEq/L)	3.4 \pm 0.2	4.0 \pm 0.0	4.1 \pm 0.7
Chloride (mEq/L)	105 \pm 1	105 \pm 2	104 \pm 1
Calcium(mg/dL)	10.9 \pm 0.3	10.4 \pm 0.3	11.0 \pm 0.1
Inorganic phosphorus (mg/dL)	5.7 \pm 0.7	5.1 \pm 0.4	5.2 \pm 0.7

(Significant difference on the test of Dunnett, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

TABLE 9 体内負荷量 (雄)

tissue	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
	0.455	1.2
(2-day sacrificed animals)		
Liver (ng/gwet tissue)	1.8 \pm 0.5 (3)	8.2 \pm 0.4 (3)
Lung (ng/gwet tissue)	12 \pm 1 (2)	21 \pm 7 (3)
Adipose (ng/gwet tissue)	1.4 \pm 0.2 (3)	4 \pm 0.6 (3)
(7-day sacrificed animals)		
Liver (ng/gwet tissue)	0.9 \pm 0.2 (3)	3.0 \pm 0.8 (3)
Lung (ng/gwet tissue)	11 \pm 1 (3)	21 \pm 4 (3)
Adipose (ng/gwet tissue)	1.9 \pm 0.2 (3)	4.5 \pm 0.4 (3)

TABLE 10 体内負荷量 (雌)

tissue	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
	0.455	1.2
(2-day sacrificed animals)		
Liver (ng/gwet tissue)	2.2 \pm 0.1 (3)	8.0 \pm 1.3 (3)
Lung (ng/gwet tissue)	15 \pm 5 (3)	20 \pm 4 (3)
Adipose (ng/gwet tissue)	1.8 \pm 0.2 (3)	5.4 \pm 0.4 (3)
(7-day sacrificed animals)		
Liver (ng/gwet tissue)	0.9 \pm 0.5 (3)	3.5 \pm 0.9 (3)
Lung (ng/gwet tissue)	16 \pm 7 (3)	23 \pm 9 (3)
Adipose (ng/gwet tissue)	2.3 \pm 0.1 (3)	5.6 \pm 0.7 (3)

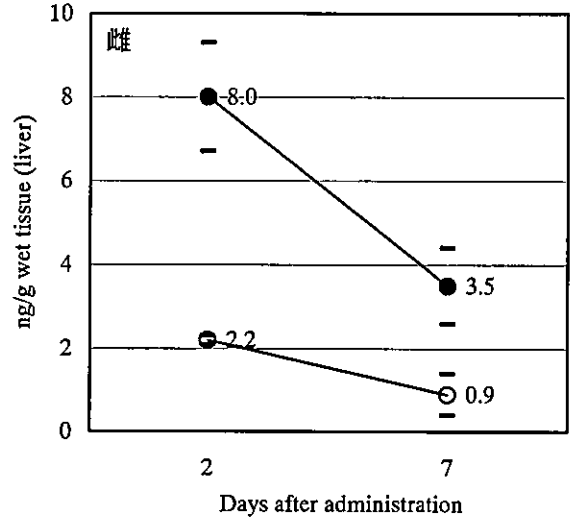
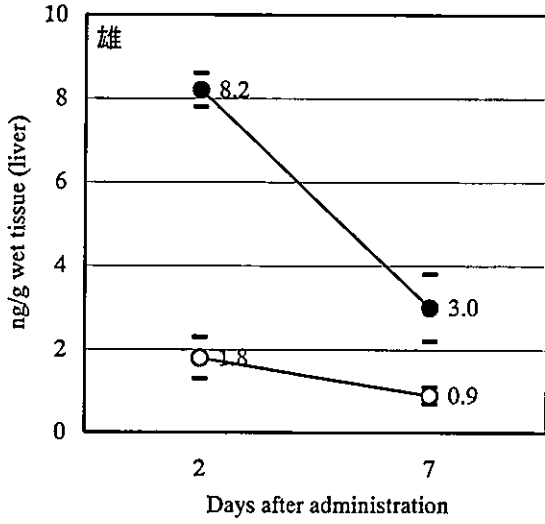


FIGURE 2-A 肝臓のTBDD 濃度(○:0.455 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群, ●:1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群)

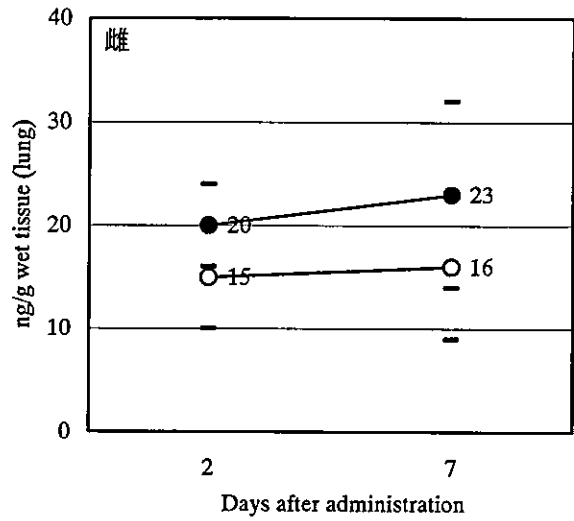
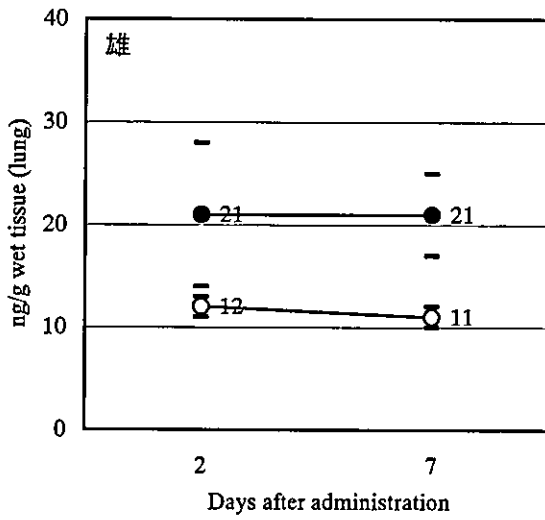


FIGURE 2-B 肺のTBDD 濃度(○:0.455 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群, ●:1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群)

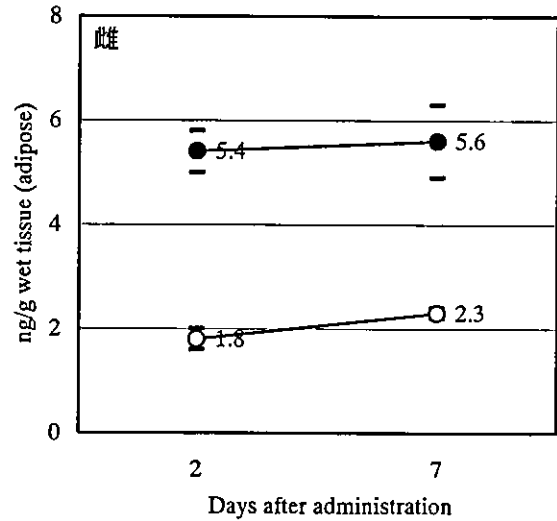
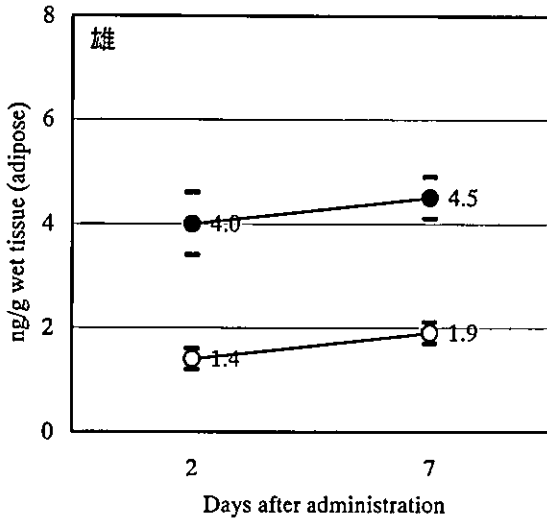
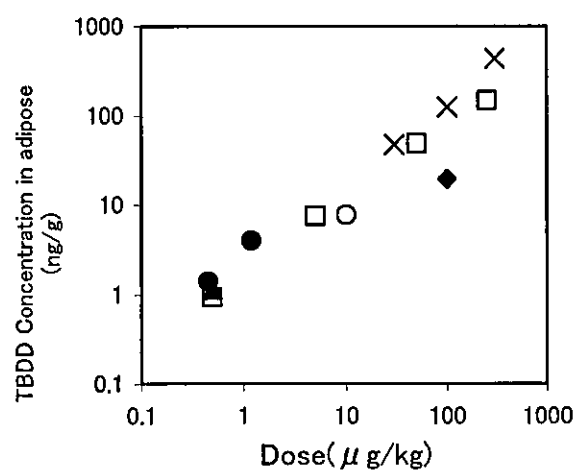
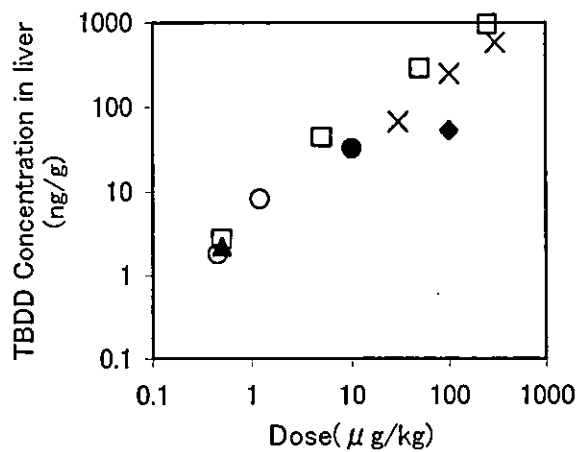
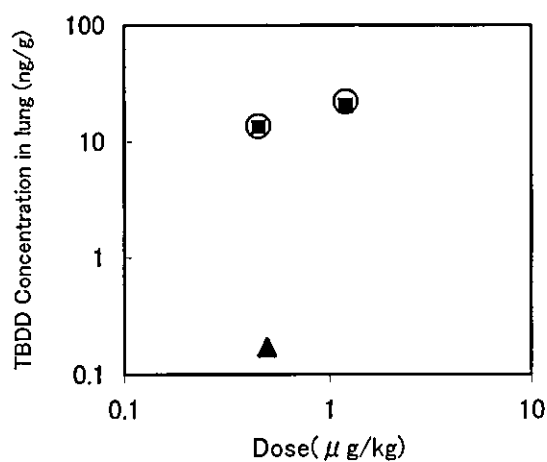


FIGURE 2-C 脂肪のTBDD 濃度(○:0.455 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群, ●:1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群)



◆ Ivens(Oral) □ Diliberto(Oral) ▲ Diliberto(Itr.)
 × Yamamoto(Oral2002) ○ Yamamoto(Oral2003) ● Yamamoto(Itr.2004)



▲ Diliberto(Itr. Day 3) ○ Yamamoto(Itr. Day 7) ■ Yamamoto(Itr. Day 2)

FIGURE 3 脂肪、肝臓、肺のTBDD濃度の比較
 Oral : 経口投与、Itr. : 気管内投与