

表(II)-16 臟器重量 (出生兒 -哺育21日-)

		Dose (mg/kg b.w.)		
		0 (Control)	1	10
<Male Pups>				
No. of pups examined		15	16	10
Body weight	(g)	56.7 ± 6.7	58.8 ± 6.1	53.3 ± 6.0
Liver	(g)	2.169 ± 0.356	2.448 ± 0.350	2.611 ± 0.444 *
	(%)	3.808 ± 0.238	4.152 ± 0.253 **	4.880 ± 0.386 **
Kidneys	(g)	0.633 ± 0.084	0.665 ± 0.076	0.657 ± 0.115
	(%)	1.116 ± 0.055	1.131 ± 0.059	1.226 ± 0.102 **
Thymus	(g)	0.205 ± 0.021	0.230 ± 0.040	0.173 ± 0.043
	(%)	0.365 ± 0.044	0.392 ± 0.058	0.321 ± 0.055
Spleen	(g)	0.332 ± 0.069	0.372 ± 0.093	0.363 ± 0.106
	(%)	0.583 ± 0.083	0.631 ± 0.147	0.672 ± 0.134
Brain	(g)	1.421 ± 0.069	1.441 ± 0.041	1.392 ± 0.072
	(%)	2.535 ± 0.283	2.478 ± 0.272	2.638 ± 0.289
Testes	(g)	0.034 ± 0.006	0.035 ± 0.008	0.030 ± 0.004
	(%)	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.007 ± 0.001
Epididymides	(g)	0.058 ± 0.008	0.058 ± 0.005	0.057 ± 0.010
	(%)	0.102 ± 0.013	0.100 ± 0.012	0.107 ± 0.012
Prostate (ventral)	(g)	0.030 ± 0.005	0.036 ± 0.009	0.021 ± 0.009 *
	(%)	0.054 ± 0.008	0.061 ± 0.013	0.039 ± 0.015 **
Seminal vesicles	(g)	0.017 ± 0.005	0.018 ± 0.004	0.014 ± 0.003
	(%)	0.030 ± 0.009	0.031 ± 0.008	0.027 ± 0.007
<Female Pups>				
No. of dams examined		13	16	14
Body weight	(g)	53.7 ± 5.2	57.5 ± 5.0	49.2 ± 3.8 *
Liver	(g)	2.027 ± 0.265	2.332 ± 0.313 *	2.355 ± 0.311 *
	(%)	3.768 ± 0.200	4.042 ± 0.232 *	4.776 ± 0.327 **
Kidneys	(g)	0.619 ± 0.060	0.667 ± 0.066	0.613 ± 0.051
	(%)	1.154 ± 0.054	1.159 ± 0.053	1.247 ± 0.066 **
Thymus	(g)	0.208 ± 0.041	0.246 ± 0.030	0.169 ± 0.037
	(%)	0.391 ± 0.083	0.430 ± 0.053	0.342 ± 0.055
Spleen	(g)	0.315 ± 0.052	0.336 ± 0.071	0.287 ± 0.050
	(%)	0.586 ± 0.069	0.579 ± 0.082	0.583 ± 0.088
Brain	(g)	1.364 ± 0.060	1.394 ± 0.041	1.343 ± 0.052
	(%)	2.564 ± 0.276	2.438 ± 0.200	2.743 ± 0.191
Ovaries	(g)	0.027 ± 0.005	0.028 ± 0.005	0.025 ± 0.005
	(%)	0.051 ± 0.008	0.050 ± 0.008	0.051 ± 0.010
Uterus	(g)	0.043 ± 0.007	0.048 ± 0.006	0.045 ± 0.007
	(%)	0.080 ± 0.009	0.084 ± 0.012	0.092 ± 0.015 *

Data represent mean ± S.D.

* Significantly different from control, $p \leq 0.05$

** Significantly different from control, $p \leq 0.01$

表(Ⅱ)-17 肝臓の病理組織学的所見 (出生児 -哺育21日-)

	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg b.w.}$)		
	0 (Control)	1	10
Male pups			
No. of pups examined	8	8	7
vacuolic change : liver cell <slight>	0	0	7
Female pups			
No. of pups examined	7	8	7
vacuolic change : liver cell <slight>	0	0	7

表(Ⅱ)-18 肝臓中の誘導酵素量 (出生児 -哺育21日-)

	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w.)		
	0 (Control)	1	10
Male Pups			
No. of pups examined	8	8	7
microsomal protein (mg protein/g liver)	25.5 \pm 3.2	25.6 \pm 4.0	28.0 \pm 4.0
ECOD (nmol/mg protein/min)	1.31 \pm 0.11	2.47 \pm 0.46 **	8.63 \pm 1.81 **
EROD (nmol/mg protein/min)	0.10 \pm 0.02	0.79 \pm 0.26 **	2.51 \pm 1.02 **
AHH (nmol/mg protein/min)	0.10 \pm 0.03	0.27 \pm 0.07 **	0.88 \pm 0.08 **
UDPGT (nmol/mg protein/min)	11.0 \pm 2.4	19.5 \pm 4.4 **	128.0 \pm 18.9 **
Female Pups			
No. of pups examined	8	8	7
microsomal protein (mg protein/g liver)	20.4 \pm 3.4	22.7 \pm 2.1	27.2 \pm 2.9 **
ECOD (nmol/mg protein/min)	1.35 \pm 0.16	2.31 \pm 0.44 **	9.07 \pm 1.16 **
EROD (nmol/mg protein/min)	0.24 \pm 0.07	1.14 \pm 0.33 **	3.83 \pm 0.85 **
AHH (nmol/mg protein/min)	0.07 \pm 0.03	0.26 \pm 0.08 **	0.81 \pm 0.05 **
UDPGT (nmol/mg protein/min)	12.3 \pm 2.4	19.2 \pm 5.4 **	129.7 \pm 19.3 **

Data represent mean \pm S.D.

* Significantly different from control, $p \leq 0.05$

** Significantly different from control, $p \leq 0.01$

表(II)-19 体内負荷量 (処女雌と妊娠・出産雌の組織中TBDD濃度)
 - 10mg/kg b.w TBDD 単回強制経口投与群 -

	Tissue concentration (ng/kg tissue) of TBDD		Liver / Adipose ratio
	Liver	Adipose	
Vargin females			
No. of animals examined	3	3	
Days after exposure			
2	32.3 ± 2.9	7.7 ± 0.9	4.19
12	16.0 ± 3.0	20.3 ± 2.5	0.79
35	5.4 ± 0.5	10.4 ± 1.4	0.52
Pregnant / Lactated females			
No. of animals examined	3	3	
Days after exposure			
2 (Day 10 of gestation)	29.3 ± 6.7	7.8 ± 1.2	3.76
12 (Day 20 of gestation)	3.0 ± 0.4	10.3 ± 0.6	0.29
35 (Day 21 of lactation)	0.3 ± 0.1	8.4 ± 0.8	0.04

Data of tissue concentration of TBDD represent mean ± S.D.

表(II)-20 子宮内胎児の組織中TBDD濃度

Maternal dose of TBDD ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw)	Tissue concentration (ng/kg tissue) of TBDD		Liver / Whole ratio
	Liver (pooled)	Whole fetus	
1	0.0098 \pm 0.0013 (3)	0.0118 \pm 0.0045 (3)	0.83
10	0.1400 \pm 0.0200 (3)	0.0947 \pm 0.0155 (3)	1.48
100	7.4 ^{a)} (2)	1.2367 \pm 0.6458 (3)	5.98

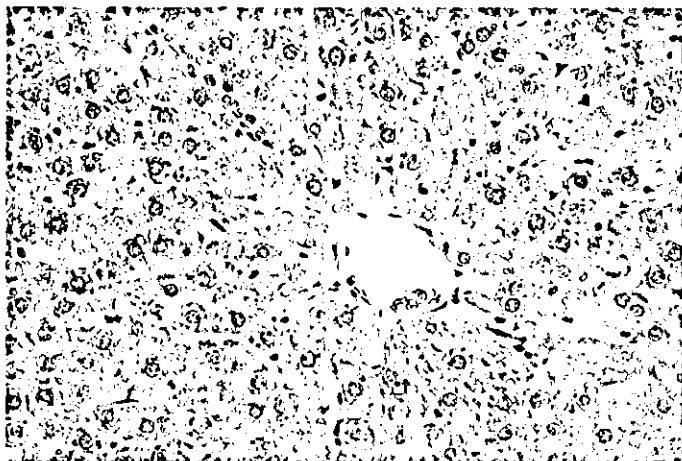
Data represent mean \pm S.D.

Parentheses indicate the number of litters.

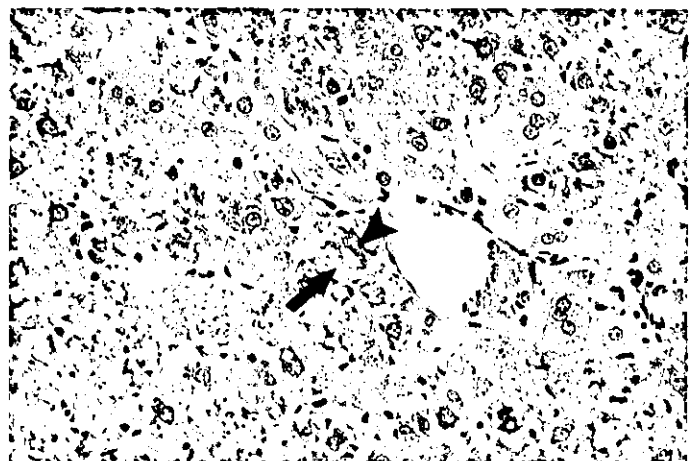
^{a)} Data indicate mean value. (5.0 and 9.8, individually)

表(II)-21 出生児（哺育4日）の胃内ミルクおよび出生児（哺育21日）の肝臓中TBDD濃度

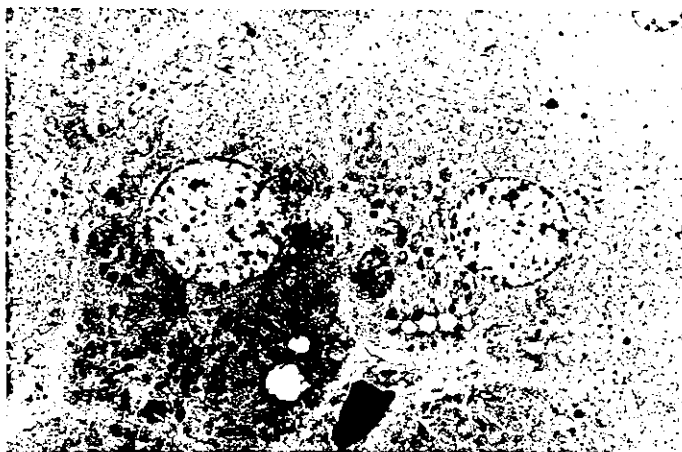
		TBDD concentration (ng/kg tissue)	
Milk in day 4 of lactation			
Maternal dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw)			
	10	2.3 ± 0.2	(6)
Liver of 21-day old pup			
Maternal dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw)			
1	Male	0.26 ± 0.10	(3)
	Female	0.23 ± 0.12	(3)
10	Male	7.93 ± 0.51	(3)
	Female	6.93 ± 0.67	(3)



写真(II)-1
対照群, 母動物, 肝臓 (HE 染色)



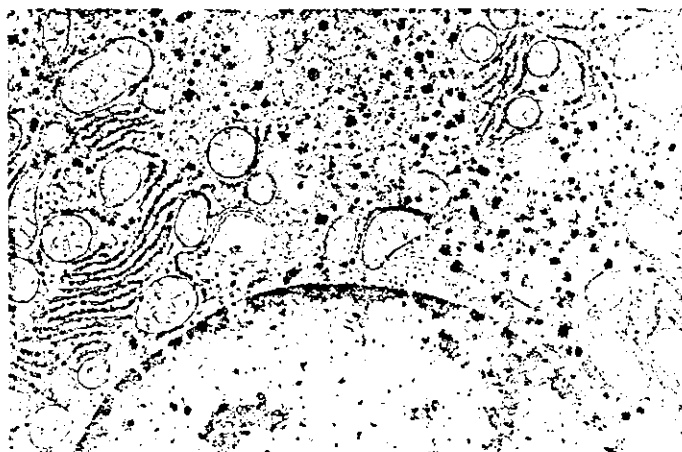
写真(II)-2
100 μg/kg 群, 母動物, 肝臓
肝細胞の好塩基性変化 (矢頭) と
空胞化 (矢印) (HE 染色)



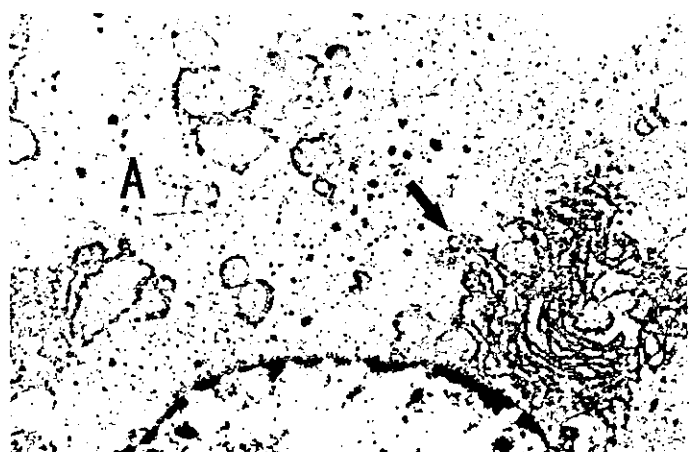
写真(II)-3
対照群, 母動物, 肝細胞 (透過型電顕像, ×3000)



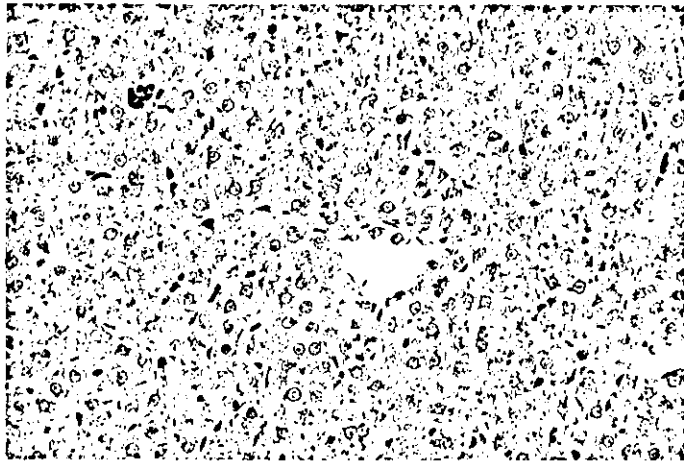
写真(II)-4
100 μg/kg 群, 母動物, 肝細胞 (透過型電顕像, ×3000)
粗面小胞体の凝集 (矢印) と細胞内小器官密度の低い
領域 (A) の増加



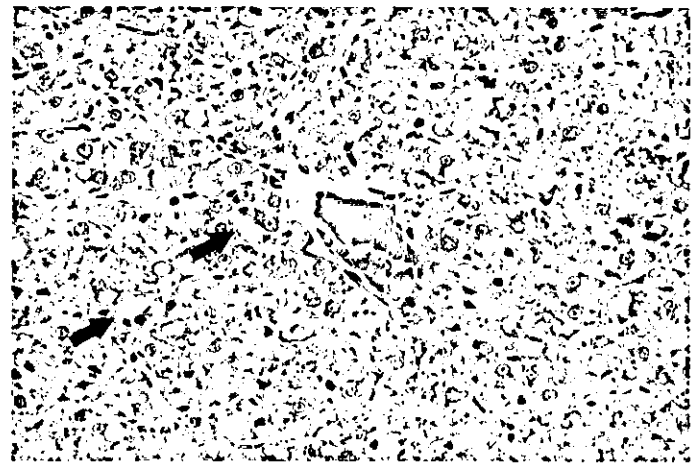
写真(II)-5
対照群, 母動物, 肝細胞 (透過型電顕像, ×14000)



写真(II)-6
100 μg/kg 群, 母動物, 肝細胞 (透過型電顕像, ×14000)
粗面小胞体の凝集 (矢印) と細胞内小器官密度の低い
領域 (A) の増加



写真(Ⅱ)-7
対照群, 生後21日児 雄, 肝臓 (HE染色)



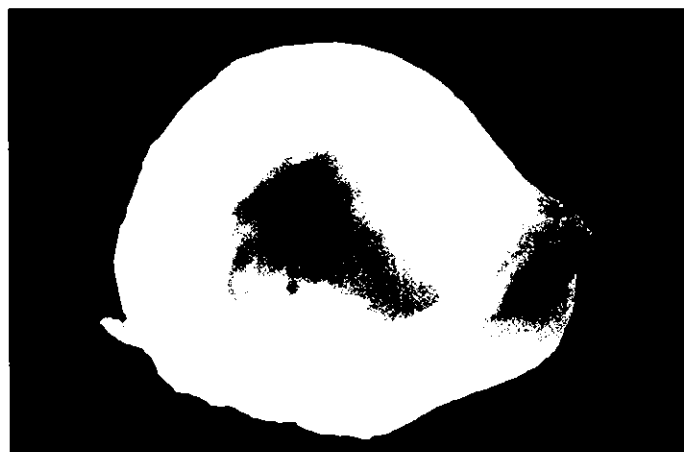
写真(Ⅱ)-8
100 μg/kg群, 生後21日児 雄, 肝臓
肝細胞の空胞変性 (矢印) (HE染色)



写真(Ⅱ)-9
100 μg/kg群, 胎児
全身性浮腫



写真(Ⅱ)-10
100 μg/kg群, 胎児, 上顎
口蓋裂 (矢印)



写真(Ⅱ)-11
100 μg/kg群, 胎児, 腎臓
水腎症, 拡張した腎盂 (P)



写真(Ⅱ)-12 (心尖寄り心底で横断, 左心室壁は切除)
100 μg/kg群, 胎児, 心臓
心室中隔欠損 (矢印), 心室中隔 (S), 右心室 (V),
大動脈 (A), 肺動脈 (P)

(Ⅲ) 経気道投与による毒性および体内負荷量に関する研究 (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 (表(Ⅲ)-1,2 および図(Ⅲ)-1)

体重推移に 0.455µg/kg 群および 1.2µg/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 (表(Ⅲ)-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、1.2µg/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。

5) 血液学検査所見 (表(Ⅲ)-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 1.2µg/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。

6) 血液生化学検査所見 (表(Ⅲ)-7,8)

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 1.2µg/kg 群の LDH 活性 ($p<0.05$) と雄の 0.455µg/kg 群および 1.2µg/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。

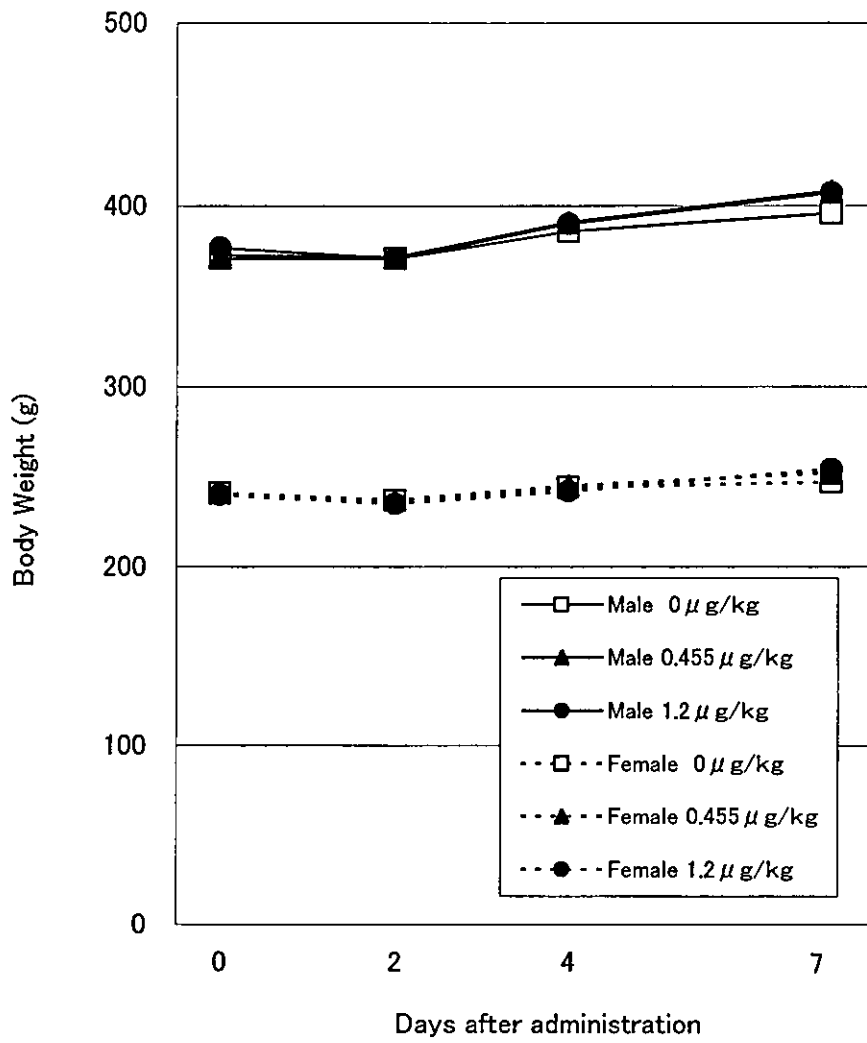
7) TBDD の組織中濃度(表(Ⅲ)-9,10)

肝臓：投与後 2 日では 1.2µg/kg 群で雄：8.2ng/g、雌：8.0ng/g、0.455µg/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、1.2µg/kg

群で雄：3.0ng/g、雌：3.5ng/g、0.455µg/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 1.2µg/kg 群で雄：21ng/g、雌：20ng/g、0.455µg/kg 群で雄：12ng/g、雌：15ng/g、投与後 7 日には、1.2µg/kg 群で雄：21ng/g、雌：20ng/g、0.455µg/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 1.2µg/kg 群で雄：4.0ng/g、雌：5.4ng/g、0.455µg/kg 群で雄：1.4ng/g、雌：1.8ng/g、投与後 7 日には、1.2µg/kg 群で雄：4.5ng/g、雌：5.6ng/g、0.455µg/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。



図(Ⅲ)- 1 体重の推移

表(Ⅲ)-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。

表(Ⅲ)-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。

表(III)- 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
Kidnys (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
Kidnys (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, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

表(III)- 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
Kidneys (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
Kidneys (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, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

表(III)-5 血液学的检查 (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
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, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

表(III)-6 血液学的检查 (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
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, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

表(III)-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, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

表(Ⅲ)-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, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

表(Ⅲ)- 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)

表(Ⅲ)- 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)

D. 考察

まず、(I)、(II)および(III)の研究結果を個々に考察する。

(I) 単回経口投与による毒性および体内負荷量に関する研究 (考察)

1. 生死状況、一般状態観察所見および体重

動物の致死作用およびTBDD投与量に対応した体重増加の抑制作用に性差がみられた。この性差は、TBDDを10 μ g/kg、33 μ g/kg、100 μ g/kg、300 μ g/kgをWistar系ラットに単回経口投与した28日間試験報告 (Ivens等, 1992年) にもみられた。しかし、この報告では、動物の死亡は雄の300 μ g/kg群および雌の100 μ g/kg群と300 μ g/kg群にみられ、死亡例の体重は投与後減少した。

我々の研究結果は、Ivens等の報告とくらべ、TBDDの投与影響が低かった。その原因としては、使用動物の投与時体重が高かったこと、飼育形態の違い、すなわちステンレス製網ケージ (ケージ床が網) を使用し、一方、Ivens等らはプラスチック製の箱型ケージ (中に木屑を入れている。) を使用していることが考えられた。

2. 血液系への影響

TBDDの投与により、血液学的検査で血小板、赤血球および白血球への影響がみられ、病理組織学的には骨髄での造血低下が認められた。

血小板数の低下は雌雄ともに投与7日後からみられ、血小板数の低下がみられる用量は雄では100 μ g/kg群以上、雌では30 μ g/kg群以上であった。赤血球については、赤血球数や、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低下が、雌雄とも投与36日後に30 μ g/kg以上の用量で認められた。なお、網赤血球の比率は、投与後7日に低下が認められたが、投与36日後では増加していた。白血球については、白血球数の減少が投与後36日に雄の

300 μ g/kgと雌の100 μ g/kg以上の用量で認められた。なお、各白血球の比率は、後述する好酸球以外には変化が認められなかった。骨髄には、病理組織検査で造血低下、すなわち造血組織の減少が観察された。造血低下は、雌雄とも投与後7日から300 μ g/kg群に軽度な変化が認められた。投与後36日には100 μ g/kg以上の群に変化がみられ、300 μ g/kgの用量では骨髄組織全体に造血組織の強い減少が観察される動物もあり、時間経過とともに増強することが示された。

IvensらのTBDDの単回投与の報告でも、赤血球、血小板、および白血球の減少が指摘されているが、その変化は僅かであると述べられている。また、300 μ g/kg群の死亡動物に消化管の出血、生存動物では1匹に前肢と精巣上体に出血が観察され、病理組織検査で骨髄に細胞数の減少がみられないことから、血液細胞のパラメーターの変化はこれらの組織の出血に起因した変化であると考察している。

本研究では、赤血球と血小板の減少が明らかに認められ、特に血小板の減少は顕著であり、投与後36日の雌の300 μ g/kg群では対照群の30%になっていた。病理学的検査では、雌の300 μ g/kg群の死亡動物に脳や脊髄、皮下組織、鼻腔の出血がみられた。また、雄の300 μ g/kg群の1匹にみられた皮下組織の出血、血液凝固能の低下の原因は、血小板の減少が主因と考えられた。脳や脊髄の出血は死亡動物の死因になりえる変化であり、血小板の減少がその原因であった可能性があるとして推察した。また、赤血球と血小板の減少の原因については、Ivensらの報告と異なり、病理組織学的に骨髄での造血組織の減少が明らかに認められることから、骨髄での造血低下が主因になっていると考察した。

3. 免疫系臓器への影響

TBDDの投与により、胸腺の萎縮が認められた。また、白血球分類では好酸球比の低下も示された。

胸腺の重量低下は雄では投与後 2日から、また雌では投与後 7日から認められ、重量低下がみられる用量は雌雄とも30 μ g/kg以上であった。病理組織学的には胸腺の皮質からのリンパ球の消失や核崩壊を示す像が、雌雄とも投与後 7日から100 μ g/kg以上の用量で観察された。特に投与後36日には重度な萎縮がみられた。IvensらのTBDDの単回投与の報告でも、胸腺重量が投与用量に対応して低下すること、また、病理組織学的には33 μ g/kgから胸腺萎縮の初期像がみられ、皮質からの明らかなリンパ球の消失が100 μ g/kg以上の用量からみられることが記載されている。本研究の結果はIvensらの報告と一致しており、胸腺への影響に関するIvensらの記載が確認された。なお、Ivensらは、脾臓に関しても33 μ g/kgからリンパ球の消失が観察されたと報告している。しかし、本研究では脾臓の重量低下は認められず、病理組織学的でも雌の300 μ g/kg群にのみ投与36日後に白脾髄の萎縮がみられただけであった。

また、白血球分類により好酸球比の低下を認めた。好酸球比の低下は雌雄とも投与後 2日から投与後36日までみられ、この変化は雄では30 μ g/kg以上、雌は10 μ g/kgまでの用量で認められた。好酸球の数は正常値が低く、その減少の意味は明らかでない。しかし、好酸球はアレルギーとの関連がある細胞であり、

TBDDの免疫機能への影響を考慮する上で注目する必要がある変化と考える。

なお、Ivensらは白血球分類の検査を行っていない。

4. 血清中のホルモン濃度

雄のT4が投与後 2日、7日で低値を示した。

TCDD類では、Ahレセプターを介して肝臓でUGT1が誘導され、T4はグルクロン酸抱合体となって胆汁から排出されやすくなり、そのため血中T4が減少し、フィードバック機構が働いて結果として甲状腺への影響が現れると推察されている。

今回のTBDDの投与でもT4の減少と対応して肝臓酵素の誘導があり、また、甲状腺の臓器重量(体重比)のわずかな増加も見られている。しかし、TSH、T3の増加や甲状腺組織の変化はなかった。

5. 肝臓中の誘導酵素量

AHH、ECODおよびERODはすべての投与群で高値を示し、増加の程度は各投与群とも同程度であった。投与後 2日、7日、36日でその値は同じ範囲で継続したが、最少投与量群の10 μ g/kg群でもすでにこれらの酵素の誘導がみられることはTBDDの毒性発現を考える上で重要であると思われた。肝臓での体内負荷量の測定から、100、300 μ g/kg群で投与後36日でもTBDDが存在している事を確認しており、極少量のTBDDの曝露でも一定量の酵素が誘導され、持続する事が示された。TCDDで知られている様にTBDDの投与によりAhレセプターとの結合を介してこれらの酵素が誘導されたものと推察した。ECODについては雄の10、30 μ g/kg群、また、雌の10、30、100 μ g/kg群で、ERODについては雌雄とも全投与群で経時的に肝臓中のTBDD濃度の減少に対応した減少傾向を示したが、投与後36日でもそれぞれの酵素量に対照群の値までの回復はみられなかった。

6. 体内負荷量

投与後 2日の肝臓中および脂肪中のTBDDは雌雄共に投与量に対応した値を示した。それぞれの臓器中濃度を比較すると肝臓中の濃度は脂肪中の濃度よりやや高い値を示した。

肝臓中のTBDD濃度は100 μ g/kgおよび300 μ g/kgとともに投与後7日、36日と徐々に減少したが、投与後36日においても投与後2日に比較して約10~20%が残留していた。一次式を仮定して横軸に時間、縦軸に肝臓中のTBDD濃度を取り、各解剖日ごとの濃度をプロットすると良い直線