

性が得られ、One-Compartment Modelの適用が可能であると考察された。この結果をもとにTBDDの肝臓中の半減期を求めると雌雄で大きな差はなく11日～15日の値が得られた。

脂肪中のTBDD濃度は100, 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ でもともに投与後7日に最大値を持ち、投与後36日で雄では肝臓中濃度とほぼ同じ値を、雌では肝臓中濃度よりやや高い値を示し、肝臓中のTBDDの挙動とやや異なっており、投与後36日においても投与後2日に比較して約25～50%が残留していた。Ivensらは100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をラットに単回経口投与した時の肝臓と脂肪中のTBDD濃度を投与後2日（雄）と28日（雌雄）に測定している。この報告によると投与後2日の肝臓中の濃度は脂肪中の濃度よりもやや高い値を示し、今回の結果と同様な傾向を示した。しかし、投与後2日の雄のそれぞれの臓器中濃度の絶対量を比較すると、肝臓中濃度が53ppb、脂肪中濃度が約20ppbで、今回の試験結果の約20%程度であった。さらに投与後28日の脂肪中のTBDD濃度は検出限界以下と報告しており、本研究の投与後36日の結果はより高い蓄積量であった。

7. 肝臓への影響

TBDDの投与により、肝臓に臓器重量の増加と病理組織学的変化が認められ、血液生化学的検査パラメーターの変化も示された。

投与2日後には、臓器重量の増加、病理組織学的変化が認められた。臓器重量の増加は雌雄とも30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量まで認められた。重量の増加の程度は、雄の30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ は対照群に対し1.3倍、300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ でも1.4倍、雌は30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とも300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の1.3倍であり、投与用量間の差が少ない。病理組織学的にも、投与後2日には肝細胞に軽度な好塩基性化、すなわち肝細胞の細胞質内に粗大な好塩基性斑が増加する所見が、雌雄とも10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量までみられた。Ivensらは、TBDDを単回投与した後28日目に検査した結果、肝細胞の空胞化や

腫大とともに細胞質の好塩基性がみられ、この所見は小胞体の変化による結果であろうと指摘している。本研究では、肝細胞の細胞質の好塩基性が投与後2日からすでに発現し、この時期には肝細胞に他の所見が認められないことから、この変化がTBDDの肝臓に対する影響の初期変化であると推察した。また、この変化は本研究の最低用量である10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ でも発現し、臓器重量の変化と同様に好塩基性化の程度は高用量群から低用量群まで軽度であり、用量間の差が少なかった。また、血液生化学的検査では、雄に30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上で総コレステロールの増加が認められた。

投与後7日には、臓器重量の増加とともに、より明瞭な病理組織学的変化や血液生化学的検査パラメーターの変化が認められた。臓器重量の増加は雌雄とも10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上で認められた。重量の増加の程度は、雌雄とも300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群でも1.3倍であり、投与後2日の重量増加と比較して差がなかった。これに対し、病理組織学的には好塩基性化とともに、肝細胞の腫大や細胞質内封入体の出現が雌雄とも認められ、雌では単細胞壊死および線維化の発生もみられた。好塩基性化は、投与後2日と同様に雌雄とも10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群以上でみられ、程度も軽度であった。これに加えて、投与後7日の肝臓には肝細胞の軽度な腫大が肝小葉の中心域にみられた。この変化が認められる用量は、雄では30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上、雌では10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の用量であり、雌においてはより低用量まで肝細胞の腫大が発生した。また、雌では、肝小葉の中心域にみられた単細胞壊死と線維化という肝細胞の傷害性変化が100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の用量で発生し、雌の感受性が高いことが示された。このように、肝小葉の中心域がTBDDによる影響を受けやすいことが示され、Ivensらの報告とも一致していた。さらに、雌雄とも300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群で肝細胞に細胞質内封入体が出現する所見については、Ivensらも300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群で同様の所見を見出し、空胞に赤血球が含まれているものと考察している。本研究で観察

された細胞質内封入体はIvensらの報告にある「エオジンに染まる物質を含む空胞」に相当する所見と考えられるが、封入体の大きさは赤血球より大きいものがあり、赤血球とは異なる物質であると推察した。血液生化学的検査では、雄では総コレステロールの増加が30 μ g/kg群以上、総蛋白とアルブミンの増加が100 μ g/kg群以上で認められた。雌では総コレステロールとリン脂質の増加が10 μ g/kg群以上、総蛋白の増加が100 μ g/kg群以上で認められた。また、雌ではGOTの増加が30 μ g/kg群以上で認められ、特に300 μ g/kg群は顕著に高い値であり、病理組織学的検査の結果と同様に、TBDDによる肝臓への傷害性変化は雌で感受性が高く、30 μ g/kgの用量まで肝臓への傷害性変化があると推察された。

投与後36日には、高用量のTBDDを投与された動物に、顕著な病理組織学的変化や血液生化学的検査パラメーターの変化が認められた。臓器重量の増加が認められる用量は、雄は30 μ g/kg以上、雌は100 μ g/kg以上になり、低濃度での重量増加がみられなくなった。これに対し、病理組織学的には肝細胞の軽度な好塩基性化と腫大が雌雄とも10 μ g/kg以上で認められた。これに加えて、雌には中心性の線維化が30 μ g/kg以上、肝細胞の多核化が100 μ g/kg以上でみられ、300 μ g/kgは生存動物と死亡動物に肝細胞の配列異常等、顕著な変化が認められた。また、死亡動物にはpeliosisや炎症細胞の浸潤も観察された。雄は、300 μ g/kgの1匹に肝細胞の配列異常や中心性の線維化がみられただけであった。雌は、投与後7日でもGOTの増加が30 μ g/kg群以上でみられ、この用量まで肝臓に傷害性の変化があると推察したが、中心性の線維化はこの時期には100 μ g/kg以上の用量でのみ観察された。投与後36日では中心性の線維化が30 μ g/kg以上で多くの動物に観察されており、30 μ g/kg以上で肝臓の傷害性の変化が起きることが病理組織学的にも確認された。Ivensらは、TBDDの単回投与の報告で、peliosisの前段階と

考えられる類洞の拡張が、雄の100 μ g/kg以上の用量でみられたと記載している。本研究でも300 μ g/kgで雌の死亡動物にpeliosisの発生が認められており、Ivensらの記載が確認された。さらに、本研究では、100 μ g/kg以上に肝細胞の多核化、300 μ g/kgでは肝細胞の配列異常が発生することを見出した。特に配列異常が顕著な部位では肝細胞が管状に配列する像が観察されており、肝臓の基本的な構築から逸脱していた。肝細胞の多核化や配列異常の所見はTBDDによる肝細胞の傷害では再生した肝細胞に正常とは異なるものが出現している可能性を示唆するものであり、TBDDの肝臓への影響を評価する上で注目する必要がある変化と考えた。血液生化学的検査パラメーターについては、総コレステロールとリン脂質の増加が、雄では30 μ g/kg以上、雌では10 μ g/kg以上で認められた。また、病理組織検査で肝臓に顕著な変化が観察された雄300 μ g/kgの1匹でGOT、GPT、ALPおよび γ -GTPが高い値を示した。雌ではGOTの増加が100 μ g/kg以上で認められた。

(II) 生殖発生毒性に関する研究 (考察)

1. TBDDの次世代への移行

ラットに投与されたTBDDは、TCDDと同様に、主に肝臓と脂肪組織に蓄積され、糞中に主に排泄される(Nagao et al. 1996, Abraham et al. 1989, Kedderis et al. 1991^a)。ラットにおけるTBDDの算出半減期は、肝臓では12~27日、脂肪組織では58日で、肝臓からの排泄はTCDDに比べて早いか、あるいは同じであり、脂肪組織からの排泄はTCDDに比べて非常に遅いと報告されている(Ivens et al. 1990, Kedderis et al. 1991^a, Nagao et al. 1996)。前年度の研究結果も、ラット肝臓中のTBDDの算出半減期は11-15日であることを示した。これらの研究から、TBDDはラットに1回投与されることにより、長期間にわ

たって体内に残存していることが判明した。そこで、まず初めに、妊娠8日のラットおよび同じ週齢の処女ラットにTBDDを経口投与し、その後のTBDD組織中濃度を経時的に測定し、両者を比較した。なお、ラットの妊娠8日は着床胚が形成期に入る時期に相当する(谷村 1989)ため、TBDDが母親から胎盤を介して胚・胎児に、さらに、乳汁を介して乳児に移行する現象をみるのには適切な投与時期であると言える。投与2日後(妊娠10日)の妊娠ラットと処女ラットの肝臓1g当りのTBDD濃度に違いはなかったが、投与12日後(妊娠20日)の妊娠ラットの濃度は、処女ラットに比較して低く、投与35日後(哺育21日)においては、妊娠ラットの濃度は処女ラットの約6%にまで低下していた。投与2日後の肝臓1g当りのTBDD濃度と比較すると、処女ラットでは肝臓からTBDDの約83%が排泄されたのに対し、妊娠・哺育ラットでは約99%が排泄された。すなわち、妊娠・哺育中のラット肝臓からのTBDD排泄は、著しく速いことが証明された。

一方、脂肪組織中のTBDD濃度の時間的推移は肝臓での推移とは異なる動態を示した。投与2日後(妊娠10日)の妊娠ラットと処女ラットの脂肪1g当りのTBDD濃度に違いは認められなかったが、投与12日後(妊娠20日)には、妊娠ラットと処女ラットともに投与2日後(妊娠10日)に比較して脂肪中の濃度は増加し、その値は処女ラットの方が高かった。投与35日後(哺育21日)には、哺育ラットと処女ラットともに脂肪中のTBDD濃度は低下したが、投与2日後よりもまだ高い値であった。ただし、投与12日後(妊娠20日)からの脂肪からのTBDDの排泄は、処女ラットのほうが多かった。すなわち、ラットに投与されたTBDDの脂肪への蓄積は、肝臓に比較して時間を要し、また、妊娠中の脂肪への蓄積量は未妊娠状態と比較して少ないことが示された。肝臓と脂肪組織中のTBDD濃度の時間経過を肝臓/脂肪比に換算して比較すると、処女ラットに比べて妊

娠・哺育ラットの肝臓/脂肪比の低下が大きく、特に、投与35日後(哺育21日)には哺育ラットは処女ラットの約1/10になっていた。これらの結果が示すことは、ラットでは妊娠・哺育中の体内からのTBDD排泄は、主に肝臓から行われるということである。

妊娠・哺育動物の体内からのダイオキシン類の排泄は、糞中だけではなく、胎盤や乳汁を介しての排泄、すなわち次世代に移行することで母親の体内から除去されることが知られている(Nau et al. 1981, Van Den Berg et al. 1987, Schecter et al. 1996)。妊娠8日にTBDDを投与したラットを妊娠20日に帝王切開して胎児を摘出し、胎児全身および胎児肝臓中のTBDD濃度を測定した結果、母ラットへのTBDD投与量に対応して胎児全身および胎児肝臓中のTBDD濃度が増加した。胎児肝臓/胎児全身比からもわかるように、 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ のTBDDを母動物に投与した場合の胎児肝臓中のTBDD濃度は、胎児全身の濃度よりやや低い値であった。しかし、 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与では胎児肝臓中のTBDD濃度は胎児全身の濃度よりやや高い値を呈した。さらに、母動物へ $100\mu\text{g}/\text{kg}$ のTBDDを投与した場合では、胎児肝臓中のTBDD濃度は胎児全身の約6倍の値を示した。TCDDあるいはTBDDの成熟ラットへの投与後の体内分布は、投与濃度に対応して、肝臓中に分布、蓄積する割合が高くなると言われている(Abraham et al. 1988, Kedderis et al. 1991^a)。が、胎盤通過後の胎児組織分布においても、この現象が認められた。ただし、母親にTBDD $10\mu\text{g}/\text{kg}$ を投与したときの胎児肝臓中のTBDD濃度は、そのときの母親の肝臓中の濃度の約5%にしかすぎなかった。Nauら(1981)は、TCDDを妊娠マウスに投与し、母マウス肝臓と胎児肝臓中のTCDD濃度を比較したところ、胎児肝臓中のTCDD濃度は母肝臓中の濃度の約4%であったと報告している。使用した動物種は異なるものの、母親に蓄積したTBDDあるいはTCDDが胎児に移行する量はそれほど多く

はなく、胎盤バリアが強く働いていることが示唆された。

ヒトの母親の体内に蓄積しているダイオキシン類は、乳汁を介して児に移行される (Tsutsumi et al. 2000)。現在のダイオキシン類の1日耐用摂取量 (TDI) は、日本では4pg/kg/dayと定められているのに対し、母乳中のダイオキシン類量は、50-100pg/kg/dayとTDIをはるかに超えている (Tsutsumi et al. 2000)。よって、母乳から乳児へのダイオキシンの移行が、児の生体に様々な障害をおよぼす危険性があることが危惧されている (Feeley et al. 2000; Tsutsumi et al. 2000)。そこで本研究では、TBDD10µg/kgを投与した母ラットの哺育4日目の乳汁を集めてTBDDの検出を試みたところ、乳汁1g当り平均2.3ngという高濃度のTBDDが検出され、母親の体内に蓄積したTBDDが乳汁を介して児へ移行することが証明された。TBDDを含む乳汁で育てられた児について、哺育終了時、すなわち21日齢に肝臓を摘出しTBDD濃度を検査した。すると、児動物の肝臓中のTBDD濃度は、胎児肝臓の濃度と比較した場合、母ラットへのTBDD1µg/kg投与で約26倍、10µg/kg投与で約53倍に増加、濃縮されていた。また、それはTBDD10µg/kgを投与した母ラットの哺育21日目の肝臓1g当りのTBDD濃度の約25倍であった。哺育をした母ラットの肝臓中のTBDDがほとんど排泄されたのに対して、その児動物の肝臓の濃度は非常に高い値を示した。これらの結果は、TBDDの母親から次世代への移行は、胎盤を介してよりも、乳汁による量が多いことを示していた。西村ら (2002) の研究によると、TCDDを投与した母ラットに哺育された生後21日齢の児の肝臓中TCDD量は、生後49日齢では激減したと報告している。本研究では、離乳後の児動物の飼育を継続していないため、検査できなかったが、同様に推移するものと推測される。

Van Den Bergら (1987) は、妊娠18日の母ラットの肝臓中TCDD濃度と哺育10日の母ラットの

肝臓中濃度はほとんど同じだが、脂肪中の濃度は哺育ラットで低下することから、児へのTCDD移行は母親の脂肪組織から乳汁を介して移行すると報告している。これに対し、本研究において、妊娠・哺育中のラット体内からのTBDD排泄は、主に肝臓から行われていることが確認されていることから、児へのTBDD移行は母親の肝臓から乳汁を介して移行することが示唆された。TBDDはTCDDに比較して脂肪中の半減期が長いという性質 (Nagao et al. 1996) と関連しているのかも知れない。

2. TBDDによるラット胎児の催奇形作用

TCDDを用いた以前の研究での最も特徴的な影響は、マウスにみられる強い催奇形作用、特に母親に影響がみられない投与量において胎児に口蓋裂や水腎症が誘発されることであった (Neubert et al. 1973)。TCDDによるマウスの催奇形性実験は、その後も多く報告されている。TBDDの催奇形作用については、マウスを用いた催奇形性実験で、TCDDと同様に、母体毒性がほとんど認められず、かつ、胎児死亡のみ認められない投与量で口蓋裂や水腎症を誘発することが認められ、マウスにおけるTBDDの催奇形作用はTCDDの約1/2であると報告されている (Nagao et al. 1990^b, Birnbaum et al. 1991)。一方、TCDDのSDラットを用いた催奇形性実験 (Sparschu et al. 1971) では、TCDDを0.03, 0.125, 0.5, 2.0および8.0µg/kg体重の用量で、妊娠6日から15日に毎日経口投与した結果、0.03µg/kgの用量では胎児に全く影響はなかったが、0.125µg/kgで皮下の浮腫や腸管出血がみられるようになり、0.5µg/kgから生存胎児数が低下、8.0µg/kgでは全胎児が死亡、さらに母親にも毒性影響が認められた。しかしながら、マウスで報告されたような口蓋裂や水腎症の増加はなかった。TBDDのラットを用いた催奇形性実験はこれまでに報告されておらず、本研究でラットを用いた

催奇形性実験を行った結果、以下のような結果が得られた。妊娠8日のラットへ体重1kg当り100 μ gのTBDDを経口投与したことにより、妊娠20日の帝王切開時に多くの胎児の死亡が確認され、また、生存胎児では体重の低値が認められた。生存胎児の外表、内臓および骨格の形態観察から、TBDDはラットに全身浮腫、口蓋裂、水腎症および心室中隔欠損の奇形を誘発した。なお、骨奇形は認められなかった。この投与量は25匹中2匹の母親を死亡させ、また、母親の体重増加の抑制も顕著である用量であった。母親に死亡や体重低下がみられなかった10 μ g/kg体重の用量では、胎児の死亡は僅かに増加し、生存胎児には内臓の変異の増加はみられたが、胎児体重の低値や奇形は認められなかった。1 μ g/kg体重の用量では、母親および胎児ともに影響はみられなかった。すなわち、TBDDは母毒性がみられる用量で、胚・胎児致死作用を認め、また、催奇形作用も認めることが確認できた。Sparschuら(1971)がラットを用いて行ったTCDDの投与実験では、1日0.125 μ g/kgの10日間の投与、体内総摂取量に換算すると1.25 μ g/kgの投与量から胎児に変化がみられるようになり、体内総摂取量5 μ g/kg以上で胎児の死亡がみられるようになる。本研究の胎児の変化は10 μ g/kg以上でみられるようになったことから、マウスでの催奇形性実験結果に類似して、ラットでのTBDDの催奇形性作用はTCDDよりも弱く、TCDDの1/2以下であることが示唆された。しかし、本研究ではSparschuら(1971)によるTCDDでのラットを用いた催奇形性実験ではみられなかった水腎症や口蓋裂の発生も増加し、ラットへのTBDD投与により認められる奇形のタイプがTCDDやTBDDを投与したマウスでの結果と類似していることが示唆された。また、TCDDの投与はマウスに骨奇形を誘発しない(Birnbaum et al. 1989)という結果とも一致していた。本研究では、先に述べたように母親に投与したTBDDの胎児および胎児肝臓中に移行したTBDD量を測

定している。胎児死亡、あるいは胎児奇形がみられた投与量での胎児のTBDD濃度は胎児1g当り約1ng、肝臓1g当りでは約7ngであった。また、胎児奇形は誘発されなかったが、変異が認められたTBDD濃度は、胎児および肝臓1g当り、約0.1ngであった。胎児および肝臓1g当り、約0.01ngでは胎児に影響はみられなかった。

3. 乳汁を介してTBDDを摂取した児にみられた変化

動物実験では、ダイオキシンの毒性は、発がん性、生殖発生毒性、皮膚障害、ホルモン代謝異常、免疫抑制など多岐にわたって認められているが、その毒性は種差や系統差が大きく、また、ヒトはダイオキシンに対して感受性が低い動物種であるとみなされている(Jana et al. 1998)。これは、ヒトの疫学調査において、ダイオキシンとその影響を明確に関連付けるような証拠は得られていないことから言える。しかし、ヒトでの疫学調査の中には、母親の血中あるいは母乳中のダイオキシンとその子供でみられた影響との関連性を疑うような報告もみられる。日本での調査では、母乳中のダイオキシン類の量と乳児の血清中T4値やTSH値との間に関連性が疑われると報告されている(Nagayama et al. 1998)。また、オランダの調査では、ダイオキシン類の経胎盤あるいは乳汁を介して、児の単球や顆粒球が減少したり、Tリンパ球分類比が変化、さらに、母親の母乳中のダイオキシン類の濃度が高いグループでは子供の認知能力が低下したと報告されている(Lanting et al. 1998, Patandin et al. 1999)。先に述べたように、本研究において、母ラットに投与されたTBDDは胎盤を経由し、特に乳汁を介して次世代に移行することが示された。TCDDを用いて行った母動物に投与されたダイオキシンが児に与える影響に関する研究報告は多い。しかし、母親へのTBDD投与による出生児への影響をみた研究報告はまだない。そこで、TBDDによる

出生児への影響を検査したところ、以下のような結果が得られた。

(1) 乳児の身体・行動発達への影響

胎児死亡および奇形のみられたTBDD 100 μ g/kgを投与した母親から生まれた児は、すべて死亡していた。10 μ g/kgおよび1 μ g/kgを投与した母動物から生まれた児の数、外表および体重には影響はみられず、乳児の生存状況や体重推移にもTBDD投与によると判断できるような明らかな変化はみられなかった。また、肛門生殖器間距離や行動発達の指標として実施した背地走性と空中正向反射に変化はなかった。しかし、TBDD10 μ g/kgを投与した母親から生まれた児では、眼瞼開裂および上顎切歯萌出の完成がわずかに早まることが示された。特に、眼瞼開裂の完成はTBDD1 μ g/kgを投与した母親から生まれた児においても早まる傾向が示された。ダイオキシン暴露による眼瞼開裂の早期完成は、Mablyら(1992a)は妊娠15日のHoltzmanラットにTCDD1.0 μ g/kg体重を単回経口投与した母親から生まれた児で観察されており、また、Grayら(1997)は、妊娠15日のLong EvansラットにTCDD0.05 μ g/kg体重を単回経口投与した母親から生まれた児で認められたと報告している。ただし、本研究を含めて、何れの報告でも僅かな早期化が認められたに過ぎなかった。なお、上顎切歯萌出の完成が早まることについての報告はない。

(2) 肝ミクロゾーム酵素の誘導と甲状腺ホルモン濃度

ダイオキシンはAhレセプターと結合した後に、薬物代謝酵素系のチトクロームP450 (CYP1A1 や 1A2) や UDP-glucuronosyl-transferase (UDPGT) を誘導し、毒性を発現する (Andersen et al. 1997, Kedderis et al. 1991^b)。TCDDあるいはTBDDを投与したときの肝臓のEROD活性は、類似していると報告されている (Nagao et al. 1990^a, Schulz-Schalge

et al. 1991)。また、Ivensら(1993)は、TBDDのラットを用いた亜慢性投与実験においてTBDD投与によりUDPGTの活性が亢進することを示した。先に述べたように、本研究では、TBDDを投与した母親に哺育された生後21日齢の肝臓中のTBDD量が非常に高いことを示した。21日齢児の剖検の結果、母親への1 μ g/kgの投与により、児には肝臓の重量増加や、EROD、ECOD、AHHおよびUDPGTの活性の亢進が認められた。母親への10 μ g/kgの投与では、児には組織学的に肝細胞の細胞質に空胞が認められたが、壊死などの不可逆的変化はみられなかった。また、血液生化学検査でもGOT活性に変化はなく、GPT活性には低下が認められた。西村ら(2002)はTCDDを投与した母親からの授乳により哺育された21日齢児の肝臓中のTCDD量は、離乳した後の49日齢には激減し、また、ミクロゾーム酵素活性も低下したと報告している。先に述べたように、ラット肝臓中からのTBDDの排泄速度は速いため、離乳後には児の肝臓からTBDDは激減し、酵素活性も正常値に近くものと推測される。

しかし、離乳前の乳児におけるUDPGTの活性の亢進は、児の発育、特に脳の発育に問題が生じる恐れがある。肝臓のミクロゾーム酵素のUDPGTは、甲状腺ホルモンの代謝、排泄に重要な役割を担っている。すなわち、UDPGT活性の亢進は結果的に血中のT4濃度を減少させる。成熟ラットへのTCDD投与が甲状腺に形態的、機能的変化を起こし、また、UDPGT活性を亢進させ、血中T4の低下を起こすことが報告されている (Van Birgelen et al. 1995, Sewall et al. 1995, Nishimura et al. 2002)。TBDDでも同様な影響がみられることが報告され (Ivens et al. 1992, 1993)、また、前年度の研究においてもTBDD投与による血中T4の低下がみられている。Seoら(1995)は、PCBを含むダイオキシン類を妊娠ラットに投与し、哺育された児の甲状腺

機能への影響を検査したところ、離乳児のUDPGT活性は亢進し、T4濃度は減少したと報告している。本研究では母親へのTBDD 1 μ g/kg以上の投与により児動物のUDPGT活性が亢進し、10 μ g/kgの投与では雌雄児動物のT4濃度を減少させた。また、雄児動物では、TSHの増加も認められた。ただし、血中T4濃度の低下は10 μ g/kgを投与した母ラットでは認められなかった。甲状腺ホルモンは物質代謝に関わっているのみならず、胎児期や乳児期の甲状腺ホルモン不足は、知能低下、発育遅延、神経系の異常をもたらす原因となる（Porterfield et al. 1993）。そして、ダイオキシン類の摂取が児の脳の発達に影響をおよぼすことも示唆されている（MacLusky et al. 1998）。ヒトでは脳の発達中に甲状腺ホルモンが低下すると重篤な知的発達障害を伴うクレチン症を引き起こすことはよく知られている。本研究結果でみられた児動物のT4濃度の減少は、知能低下や神経系の異常などの障害を起こす可能性を示唆していた。

(3) 血液細胞および胸腺への影響

前年度の研究において、TBDDの成ラットへの30 μ g/kg以上の単回経口投与により、赤血球数、白血球数および血小板数の減少がみられ、骨髄の組織学検査で造血巣の減少が認められたことから、TBDDの造血機能への影響を疑った。また、Ivensら（1992）による、TBDDの単回投与実験においても、血球パラメーターに変化がみられたと報告しているが、彼らは骨髄には組織学的変化を認めていない。本研究でTBDDを投与した母ラットでは、体重増加抑制が顕著で、また、生存児を分娩できなかった100 μ g/kgの投与量で、血小板数の減少がみられたが、赤血球数や白血球数の減少は認められなかった。しかしながら、10 μ g/kgを投与した母ラットにより授乳された児には、雄で赤血球数、白血球数および血小板数が減少、また、雌で血小板数が減少した。ただし、組織学的に、骨髄での造血巣の

減少はみられなかった。母ラットでみられたのと同様に、児動物でみられた血球数の減少は、母親から移行したTBDDが児の造血機能障害を起こす可能性があることを示唆していた。一方、ダイオキシン投与による造血系への影響については、主に免疫毒性として成熟ラットで研究され、また、次世代への影響として、胸腺の萎縮や免疫機能の変化に関する研究報告が多くみられる（Vos et al. 1998, Blaylock et al. 1992, Gehrs et al. 1997^{a,b}, Nohara et al. 2000）。本研究では10 μ g/kg体重の用量で母動物では胸腺重量が低下していたが、児の胸腺重量および組織学的には変化はなかった。

(4) 生殖機能への影響

TCDDの周産期暴露が雄児動物に精子数の減少、精巣重量の低下、テストステロン濃度の低下、AGDの減少、前立腺や精囊重量の低下などの生殖器および生殖機能への影響をおよぼすことがラットやマウスの実験で多数報告されている（Mably et al. 1992^{a,b,c}, Gray et al. 1997, Faqi et al. 1998, Bjerke et al. 1994, Hamm et al. 2000, Ohsako et al. 2001, Theobald et al. 1997）。本研究は、21日齢で児の飼育を終了したため、離乳以降の性成熟等への影響をみることはできなかったが、母親にTBDD10 μ g/kgを投与したときの21日齢児の前立腺重量の低下が認められた。なお、精巣や精巣上体重量、生後4日に測定したAGDには変化はみられなかった。

また、TCDDが雌ラットやマウスの生殖機能に影響を与えることも報告されている（Theobald et al. 1997, Li et al. 1995, Gray et al. 1995）。しかし、本研究は21日齢で児の飼育を終了したため、性成熟などへの影響は検査できなかった。母親にTBDD10 μ g/kgを投与した児の子宮相対重量が僅かに増加したが、TBDD投与と関連したものではないと推測される。なお、生後4日に測定したAGDや卵巣重量には変化はみられなかった。

(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 (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およ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、気管内投与とを図にまとめた(図(Ⅳ))。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。これは気管内投与では、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実濃度は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1.2μg/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10μg/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。

(Ⅳ) 総合考察

本研究でTBDDについて得られた主な毒性データとこれまで報告されているTCDDの毒性データを比較した(表(Ⅳ)参照)。

動物の生死

TBDDによる動物の死亡は300 μg/kgを単回経口投与した雌にみられた。また、妊娠雌では100 μg/kgの単回経口投与でも死亡がみられた。TCDDによる致死量はLEラットで9.8 - 17.7 μg/kg、SDラットで100 - 297 μg/kg、CDラットで50 - 100 μg/kg (Harris 1973)と報告されており、TCDDに最も感受性が高いと言われているLEラットを除くとほぼ同様な致死量であった。また、死亡までの期間も、TCDDでは14日以上(Harris 1972)、TBDDでは21日以上であり、TBDDもTCDDと同様に死亡までの期間が長いという特徴がみられた。

死因については、TCDDでは言及した報告がないが、本研究ではTBDDによる死亡動物の脳や脊髄に出血が認められ、血小板数の減少や骨髄の造血低下がみられることから、死因は血液凝固系の障害による出血死である可能性が示された。

免疫系への影響

胸腺の萎縮はTCDD投与による最も特徴的な毒性作用として知られており、胸腺重量の低下

は5 µg/kgの投与量でもみられる (Harris1973) 。本研究では、TBDDも胸腺重量の低下が 30 µg/kgの経口投与でみられ、100 µg/kg以上では胸腺の皮質からのリンパ球の消失や核崩壊が認められており、TCDDに比較して高用量ではあるが、胸腺への影響が示された。

血液への影響

TBDDによるヘモグロビンやヘマトクリット値の低下が30 µg/kg以上の単回経口投与によりみられた。100 µg/kg以上では骨髓での造血低下が観察されることから、血液の変化は造血機能の抑制によると考えられた。また、凝固系への影響として、血小板の減少が30 µg/kg以上の投与量でみられた。TCDDでも、13週間の経口投与によって総投与量10・100 µg/kgでヘマトクリット値の低下や血小板の減少が起きることが報告されており (Vilksera 1998) 、TBDDとTCDDの血液への影響は近似していると考えられる。

肝臓への影響

肝臓重量は、本研究ではTBDDの単回経口投与による重量増加が10 µg/kgまで認められた。TCDDは単回投与では重量増加が認められていないが、総投与量がほぼ等しい0.1 µg/kg /日、13週間経口投与で肝臓重量が増加したことが報告されている (Harris 1973) 。

病理組織学的変化については、本研究では、TBDD の300 µg/kgの単回経口投与で肝細胞の好塩基性化、腫大、多核化、配列不正および空胞化、ならびに線維化がみられ、10 µg/kgまで好塩基性化、腫大、線維化が認められた。TCDDでは、2年間の経口投与により0.01 µg/kg /日の投与量で好塩基性化、腫大、多核化、小葉構造の不整、空胞化、線維化がみられ、0.1 µg/kg/日の投与量で肝細胞癌が発生することが報告されている (Kociba 1978) 。この結果は、TBDDが TCDDと同様な肝傷害を発生させることを示している。特に、TBDDは単回投与にもかかわらず、TCDDの長期間投与と類似した肝細胞の変化を示すことは注目に値する。

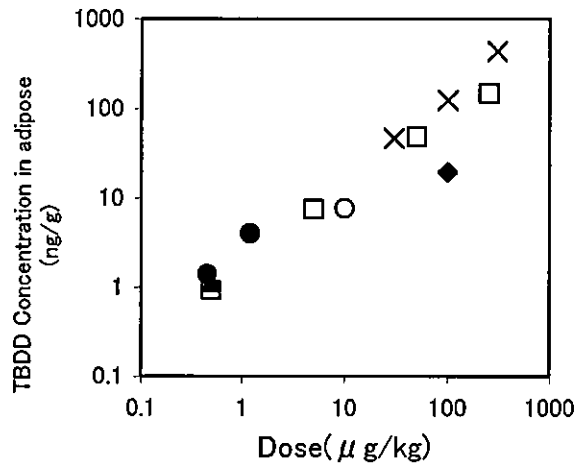
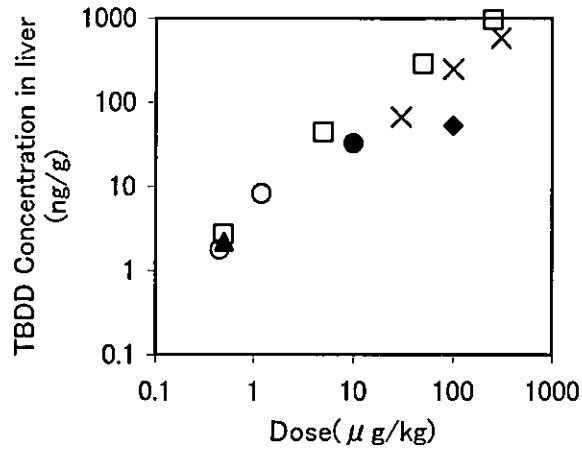
AHHとECODの誘導が、TCDDの単回投与では20 µg/kgの投与量で観察されている (Aitio 1992) 。本研究でも、TBDDの単回投与によってAHH、ECODおよびERODの誘導が10 µg/kgでも発現しており、TCDDとTBDDは肝ミクロゾーム酵素に対して同様の誘導作用を示すものと考えられた。

生殖発生毒性

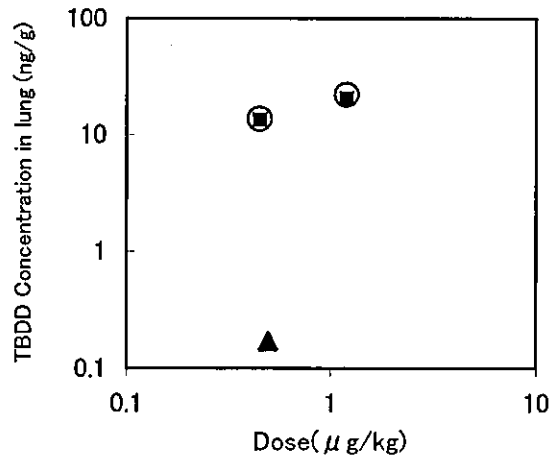
TBDDの単回投与により、100 µg/kgで母体毒性が見られ、この投与量では胎児の死亡、体重の低値、外表異常 (全身浮腫、口蓋裂) および内臓奇形 (水腎症、心室中隔欠損) が誘発された。

10 µg/kgでは、胎児の死亡の増加と内臓変異の増加がみられた。TCDDの催奇形性試験 (妊娠6から15日目に投与) では、1日当たりの投与量が0.125 µg/kgで胎児の皮下の浮腫および腸管出血がみられ、0.5 µg/kgから生存胎児数の低下、8.0 µg/kgでは母体毒性がみられ、全胎児が死亡したと報告されており (Sparschu 1971) 、変化の種類はTBDDでの観察結果と類似していた。ただし、口蓋裂や水腎症の報告例はなかった。

TBDDを投与した母親から生まれた児への影響については、10 µg/kgで身体発達の早期化 (眼瞼開裂、上顎切歯萌出等) がみられ、肝臓には空胞化および酵素 (AHH、ECOD、ERODおよび UDPGT) の上昇が認められた。児の肝臓酵素の上昇は1µg/kgの投与量まで認められた。出生児では、TCDD0.8 µg/kgの投与で膈開口の遅れや前立腺重量の低下、0.2 µg/kgで包皮分離の遅れ、膈開口の遅れや前立腺重量の低下、0.0125 - 0.05 µg/kgで性比の変化があると報告されており (Yonemoto 2005) 、TBDDとTCDDの出生児への影響は異なっていた。



◆ 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)

図(IV) 脂肪、肝臓、肺のTBDD濃度の比較
 Oral : 経口投与、Itr. : 気管内投与

表(IV) TBDDとTCDDのラットへの影響の比較

TBDD	DOSE($\mu\text{g}/\text{kg}$)							
	0.1<	<1	1	1.2	10	30	100	300
単回経口投与(2002年の本研究報告書)								
動物の生死								死亡 (雌 3/5)
体重増加					体重増加の抑制 (雌)	体重増加の抑制 (雌)	体重増加の抑制 (雌)	体重増加の抑制 (雌)
免疫系					免疫系への影響 (雌) 胸腺重量の減少	免疫系への影響 (雌) 胸腺重量の減少 胸腺皮質からの リンパ球消失 核崩壊	免疫系への影響 (雌) 胸腺重量の減少 胸腺皮質からの リンパ球消失 核崩壊	免疫系への影響 (雌)
血液					造血機能の抑制 (雌) ヘモグロビン、 ヘマトクリット	造血機能の抑制 (雌) 赤血球、ヘモグロ ビン、ヘマトクリット 骨髓の造血低下	造血機能の抑制 (雌) 赤血球、ヘモグロ ビン、ヘマトクリット 骨髓の造血低下	造血機能の抑制 (雌)
肝臓					重量増加 好塩基性化 腫大、線維化	重量増加 好塩基性化 腫大、線維化	重量増加 好塩基性化 腫大、線維化 多核化	重量増加 好塩基性化 腫大、線維化 多核化 肝細胞配列異常 空胞化
					誘導酵素の上昇 AHH、EROD、 ECOD	誘導酵素の上昇 AHH、EROD、 ECOD	誘導酵素の上昇 AHH、EROD、 ECOD	誘導酵素の上昇 AHH、EROD、 ECOD
単回気管内投与(2004年の本研究報告書)								
肝臓					重量増加			
単回経口投与生殖試験(2003年の本研究報告書)								
生死								妊娠雌の死亡
胚・胎児 の生死					胚・胎児死亡数の 増加			産児の全例死亡
胎児の異常					胎児の内臓変異			胎児の外観異常 内蔵奇形
児の異常					児の身体発達の 早期化 児の肝細胞の 空胞化 肝臓誘導酵素 の上昇			—
					児の肝臓誘導 酵素の上昇			
TCDD								
TCDDの投与濃度($\mu\text{g}/\text{kg}$)は各データの最上行に記した。								
生死					9.8-17.7 LEラット		100-297 SDラット	Geyer et al.(1997)
						50 CDラット 死亡雌(1/6)	100 CDラット 死亡雌(3/8) 死亡雌(3/6)	Harris et al.(1973)
急性毒性					5 胸腺重量 の減少	25 体重増加の抑制 (雌)		Harris et al.(1973)
						20 肝臓誘導酵素 の上昇 AHH、ECOD		Aitio et al.(1978)
亜慢性毒性		0.1(13W) 肝臓重量の増加	1(17w) 胸腺重量 の減少					Harris et al.(1973)
						50-100(13W) 血小板の増加 ヘマトクリット の低下		Viluksera et al.(1998)
慢性毒性 がん原性	0.01(2Y) SDラット 肝臓 好塩基性化 腫大、線維化 多核化 小葉構造の 不整 空胞化	0.1(2Y) SDラット 腫瘍の増加 雄 硬口蓋鼻甲介、 舌の扁平上皮癌 雌 肝細胞癌 硬口蓋鼻甲介、 肺の扁平上皮癌						Kociba et al.(1978)
胚・胎児 の生死	0.01 胚・胎児死亡数 の増加							Murray et al.(1979)
		0.125(GD6-15) 児に皮下の浮腫や 腸管出血	8(GD6-15) 全胎児の死亡					Sperschu et al.(1971)
	0.0125-0.05 (GD15) 児の性比の 変化	0.5(GD6-15) 生存胎児数の低下						Yonemoto et al.(2005)
		0.8(GD15) 産開口の遅れ 前立腺重量の低下 0.2(GD15) 包皮分離の遅れ						

E. 結論

(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 (結論)

TBDDをラット雌雄に300、100、30、10および0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (対照群：溶媒のみ) 単回強制経口投与し、以下の結果を得た。

- 1) 雌300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の3匹が観察期間の後期に死亡し、それらには体重減少と健康状態の悪化がみられた。生存動物では、投与後4日以降、雄の100、300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ および雌の30、100、300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で投与量に対応した体重増加の抑制がみられたが、一般状態への影響はみられなかった。
- 2) 血液系への影響として、血小板と骨髄での造血低下が投与後7日からみられ、36日には赤血球と白血球も減少した。血小板の減少は顕著であり、死亡動物にみられた脳や脊髄などの出血の原因となった可能性がある。また、血液系への影響の主因は骨髄での造血低下であると考察した。血液系への影響は雌雄とも30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の用量で認められた。
- 3) 免疫系臓器への影響として、胸腺に投与後2日から重量低下、7日には皮質からのリンパ球の消失や核崩壊がみられた。胸腺への影響は雌雄とも30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の用量で認められた。また、白血球分類で好酸球比の低下が示された。
- 4) 血清中のホルモン濃度 (TSH、T4、T3) の測定では、雄のT4のみが低値を示した。
- 5) 肝臓中の誘導酵素 (AHH、ECOD、EROD) 量の測定では、各酵素量ともにすべての投与群で高値を示し、観察期間を通してその値は同じ範囲で継続した。
- 6) 体内負荷量の測定では、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TBDDの肝臓中の濃度は脂肪中の濃度よりやや高い値を示したが、観察期間終了後では脂肪中の濃度が高かった。

7) 肝臓には臓器重量の増加、病理組織学的変化および血液生化学的検査パラメーターの変化がみられた。TBDD投与後2日後から臓器重量の増加と肝細胞の軽度な好塩基性化、総コレステロールの増加が認められた。投与後7日には、より明瞭な病理組織学的変化 (肝細胞の腫大、細胞質内封入体の出現、雌では単細胞壊死と線維化) や血液生化学的検査パラメーターの変化 (リン脂質、総蛋白の増加、雌ではGOTの増加) がみられた。さらに、投与後36日には肝細胞の配列異常や多核化が主に雌の300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に発生した。肝臓への影響は雌雄とも10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上で認められた。

8) 生殖系臓器 (精巣、精巣上体、卵巣、子宮、膣および乳腺) や腎臓への影響は認められなかった。

(II) 生殖発生毒性に関する研究 (結論)

2,3,7,8-TBDDを体重1kg当り0 (溶媒対照)、1、10および100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で、妊娠8日のラット (25匹/群) に単回経口投与し、TBDDの次世代への移行、そして胚・胎児および乳児への影響を調べた結果、以下の結論を得た。

1) 次世代への移行

TBDDは、胎盤と乳汁を介して次世代に移行した。乳汁を介する移行が顕著であった。

2) 胚・胎児への影響

TBDDは、母体毒性がみられる用量 (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) で、強い胚致死作用と催奇形作用 (全身性浮腫、口蓋裂、水腎症、心室中隔欠損) を誘発した。

3) 乳児への影響

TBDDを母親に投与したことにより、

- ① 児の上顎切歯萌出と眼瞼開裂の早期化 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。
- ② 肝臓の ECOD、EROD、AHH および UDPGT の各酵素活性が高かった (1、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。

- ③ 血中の甲状腺ホルモン (T4) 濃度が低下した (10 μ g/kg)。
- ④ 赤血球数、白血球数および血小板数が減少した (10 μ g/kg)。
- ⑤ 前立腺重量が低下した (10 μ g/kg)。
- ⑥ なお、100 μ g/kg を投与された母親からは、生存児は分娩されなかった。

以上から、TBDDは経胎盤移行により胚致死や奇形を誘発し、また、経胎盤および乳汁移行により児の身体発育や機能、脳の発育や機能、そして造血機能や生殖機能に影響をおよぼす可能性があることが示唆された。

(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、0.455 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。

(Ⅳ) 総合結論

本研究で TBDD について得られた主な毒性データとこれまで報告されている TCDD の毒性データを比較して、下記の結論を得た。

- 1) TBDDによるラットの致死量はTCDDとほぼ同等であり、TCDDと同様に死亡までの期間が

長いという特徴がみられた。死因については、TCDDでは言及した報告がないが、TBDDによる死因は血液凝固系の障害による出血死である可能性が示された。

- 2) 免疫系への影響として、TBDDはTCDDと同様に胸腺への影響が示されたが、影響のみられる用量はTCDDに比較して高かった。
- 3) 造血機能の抑制による血液系への影響がみられ、その用量はTCDDに近似していた。
- 4) 肝臓への影響として、肝臓重量の増加、肝ミクロゾーム酵素 (AHH、ECODおよびEROD) の誘導が起き、これらの変化は発生する用量とともにTCDDと類似していた。また、病理組織学的変化もTCDDと同様にみられたが、TBDDは単回投与にもかかわらず、TCDDの長期間投与と類似した肝細胞の変化が認められた。
- 5) 妊娠動物への投与により、胎児の死亡、体重の低値、外表異常および内臓奇形が誘発され、TCDDの胎児への影響に類似していたが、ラットでは報告されていない口蓋裂や水腎症の発生もみられた。一方、TBDDを投与した母親から生まれた児には、身体発達の早期化、肝臓の空胞化および酵素 (AHH、ECOD、ERODおよびUDPGT) の上昇がみられ、TCDDの出生児への影響とは異なっていた。

結論として、TBDD の生体内挙動は気管内投与と経口投与で類似していた。また臓器毒性、生殖発生毒性は多くの点で TCDD に類似していたが、TCDD にはみられない影響も認められた。

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

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

- Abraham K, Wiesmüller T, Brunner H, Krowke R, Hagenmaier H, Neubert D. (1989). Elimination of various polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDDs and PCDFs) in rat faeces. *Arch Toxicol.* 63, 75-78.
- Aitio A, Parkki MG. (1978). Organ specific induction of drug metabolizing enzymes by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 44,107-114.
- Andersen ME, Birnbaum LS, Barton HA, Eklund CR. (1997). Regional hepatic CYP1A1 and CYP1A2 induction with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin evaluated with a multi-compartment geometric model of hepatic zonation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 144, 145-155.
- Birnbaum LS, Morrissey RE, Harris MW. (1991). Teratogenic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and three polybrominated dibenzofurans in C57BL/6N mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 107, 141-152.
- Birnbaum LS, Harris MW, Stocking LM, Clark AM, Morrissey RE. (1989). Retinoic acid and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin selectively enhance teratogenesis in C57BL/6N mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 98, 487-500.
- Bjerke DL, Sommer RJ, Moore RW, Peterson RE. (1994). Effects of in utero and lactational 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure on responsiveness of the male rat reproductive system to testosterone stimulation in adulthood. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 127, 250-257.
- Blaylock BL, Holladay SD, Comment CE, Heindel JJ, Luster MI. (1992). Exposure to tetrachloro-dibenzo-p-dioxin (TCDD) alters fetal thymocyte maturation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 112, 207-213.
- Buser H-R. (1988). Rapid photolytic decomposition of brominated and brominated / chlorinated dibenzo-dioxins and dibenzofurans. *Chemosphere* 17, 889-903.
- Courtney KD, Moore JA. (1971). Teratology studies with 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Appl. Pharmacol.* 20, 396-403.
- 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.
- Faqi AS, Dalsenter PR, Merker H-J, Chahoud I. (1998). Reproductive toxicity and tissue concentrations of low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in male offspring rats exposed throughout pregnancy and lactation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 150, 383-392.
- Feeley M, Brouwer A. (2000). Health risks to infants from exposure to PCBs, PCDDs and PCDFs. *Food Addit. Contam.* 17, 325-333.
- Geyer HJ, Schramm KW, Scheunert I, Schughart K, Buters J, Wurst W, Greim H, Kluge R, Steinberg CE, Kettrup A, Madhukar B, Olson JR, Gallo MA. (1997). Considerations on genetic and environmental factors that contribute to resistance or sensitivity of mammals including humans to toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds. Part 1: Genetic factors affecting the toxicity of TCDD. *Ecotoxicol Environ Saf.* 36, 213-30.
- Gehrs BC, Riddle MM, Williams WC, Smialowicz RJ. (1997^a). Alterations in the developing immune system of the F344 rat after perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. II. Effects on the fetus and the neonate. *Toxicology* 122, 219-228.
- Gehrs BC, Riddle MM, Williams WC, Smialowicz RJ. (1997^b). Alterations in the developing immune system of the F344 rat after perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. II. Effects on the pup and the adult. *Toxicology* 122, 229-240.
- Gray LE, Ostby JS. (1995). In utero 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)

- alters reproductive morphology and function in female rat offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 133, 285–294.
- Gray LE, Ostby Jr. JS, Kelce WP. (1997). A dose–response analysis of the reproductive effects of a single gestational dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in male Long Evans Hooded rat offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 146, 11–20.
- Hamm JT, Sparrow BR, Wolf D, Birnbaum LS. (2000). In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters postnatal development of seminal vesicle epithelium. *Toxicol. Sci.* 54, 424–430.
- Harris MW, Moor JA, Vos JG, and Gupta BN.(1973). General biological effects of TCDD in laboratory animals. *Environ. Health Perspect.* 5.101-109.
- Ivens IA, Neupert M, Löser E, Thies J. (1990). Storage and elimination of 2,3,7,8-tetrabromodibenzo-p-dioxin in liver and adipose tissue of the rat. *Chemosphere* 20, 1209–1214.
- Ivens IA, Löser 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.
- Ivens IA, Löser E, Rinke M, Schmidt U, Mohr U. (1993). Subchronic toxicity of 2,3,7,8-tetrabromo-debenzo-p-dioxin in rats. *Toxicology* 83, 181–201.
- Jana NR, Sarkar S, Yonemoto J, Tohyama C, Sone H. (1998). Strain differences in cytochrome P4501A1 gene expression caused by 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxin in the rat liver: role of the aryl hydrocarbon receptor and its nuclear translocator. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 248, 554–558.
- Kedderis LB, Diliberto JJ, Birnbaum LS. (1991^a). Disposition and excretion of intravenous 2,3,7,8-tetrabromodibenzo-p-dioxin (TBDD) in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 108, 397–406.
- Kedderis LB, Diliberto JJ, Linko P, Goldstein JA, Birnbaum LS. (1991^b). Disposition of 2,3,7,8-tetra-bromodibenzo-p-dioxin in the rat: Biliary excretion and induction of cytochromes CYP1A1 and CYP1A2. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 111, 163–172.
- Kedderis LB, Diliberto JJ, Jackson JA, Linko P, Goldstein JA, Birnbaum LS. (1992). Effects of dose and rout of exposure on dioxin disposition. *Chemosphere* 25, 7–10.
- Kociba RJ, Keyes DG, Beyer JE, Carreon RM, Wade CE, Dittenber DA, Kalnins RP, Frauson LE, Park CN, Barnard SD, Hummel RA, Humiston CG.(1978). Results of a two-year chronic toxicity and oncogenicity study of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 46, 279-303.
- Lanting CI, Patandin S, Fidler V, Weisglas-Kuperus N, Sauer PJJ, Boersma ER, Touwen BCL. (1998). Neurological condition in 42-month-old children in relation to pre- and postnatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins. *Early Hum. Develop.* 50, 283–292.
- Larsen JC, Farland W, Winters D. (2000). Current risk assessment approaches in different countries. *Food Addit Contam.* 17, 359–369.
- Li X, Johnson DC, Rozman KK. (1995). Reproductive effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in female rats: Ovulation, hormonal regulation, and possible mechanism(s). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 133, 321–327.
- Mably TA, Moore RW, Peterson RE. (1992^a). In utero and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 1. Effects on androgenic status. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114, 97–107.
- Mably TA, Moore RW, Goy RW, Peterson RE. (1992^b). In utero and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 2. Effects on sexual behavior and the regulation of luteinizing hormone secretion in adulthood. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114, 108–117.

- Mably TA, Bjerke DL, Moore RW, Gendron-Fitzpatrick A, Peterson RE. (1992c). In utero and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxin. 3. Effects on spermatogenesis and reproductive capability. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114, 118-126.
- MacLusky NJ, Brown TJ, Schantz S, Seo BW, Peterson RE. (1998). Hormonal interactions in the effects of halogenated aromatic hydrocarbons on the developing brain. *Toxicol. Ind. Health* 14, 185-208.
- Mason G, Denomme MA, Safe L, Safe S. (1987a). 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. (1987b). Polybrominated dibenzo-p-dioxins and related compounds: quantitative in vivo and in vitro structure-activity relationships. *Toxicology* 44, 245-255.
- Murray FJ, Smith FA, Nitschke KD, Humiston CG, Kociba RJ, Schwetz BA. (1979). Three-generation reproduction study of rats given 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the diet. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 50,241-252.
- Nagao T, Neubert D, Löser E. (1990a). Comparative studies on the induction of ethoxyresorufin o-deethylase by 2,3,7,8-TCDD and 2,3,7,8-TBrDD. *Chemosphere* 20, 1189-1192.
- Nagao T, Golor G, Krowke R, Neubert D. (1990b). Comparative study on the teratogenic potency of 2,3,7,8-TBrDD and 2,3,7,8-TCDD in mice. *Teratology* 42, 27A.
- Nagao T, Yamashita K, Golor G, Bittmann H, Körner W, Hagenmaier H, Neubert D. (1996). Tissue distribution after a single subcutaneous administration of 2,3,7,8-tetrabromo-dibenzo-p-dioxin in comparison with toxicokinetics of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in female Wistar rats. *Life Sci.* 58, 325-336.
- Nagayama J, Okamura K, Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Tsuji H, Hasegawa M, Sato K, Ma HY, Yanagawa T, Igarashi H, Fukushima J, Watanabe T. (1998). Postnatal exposure to chlorinated dioxins and related chemicals on thyroid hormone status in Japanese breast-fed infants. *Chemosphere* 37, 1789-1793.
- Nau H, Bass R. (1981). Transfer of 2,3,7,8-tetra-chloro-dibenzo-p-dioxin (TCDD) to the mouse embryo and fetus. *Toxicology* 20, 299-308.
- Neubert D, Zens O, Rothenwaller A, Mercker HJ. (1973). A study of the embryotoxic effects of TCDD in mammalian species. *Environ. Health Perspect.* 5, 67-79.
- Neupert M, Grupe A, Weis H. (1988). Stability of polybrominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans under laboratory handling conditions. *Chemosphere* 17, 1089-1097.
- Nishimura N, Miyabara Y, Sato M, Yonemoto J, Tohyama C. (2002). Immunohistochemical localization of thyroid stimulating hormone induced by a low oral dose of 2,3,7,8-tetrachloro dibenzo-p-dioxin in female Sprague-Dawley rats. *Toxicology* 171, 73-82.
- 西村典子. (2002). ダイオキシン類 (TCDD) 暴露による甲状腺機能への影響とそのメカニズム. 日本獣医学会 日本獣医病理学会会報特集号. 7-12.
- Nohara K, Fujimori H, Tsukumo S, Ushio H, Miyabara Y, Kijima M, Tohyama C, Yonemoto J. (2000). The effects of perinatal exposure to low doses of 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxin on immune organs in rats. *Toxicology* 154, 123-133.
- Ohsako S, Miyabara Y, Nishimura N, Kurosawa S, Sakaue M, Ishimura R, Sato M, Takeda K, Aoki Y, Sone H, Tohyama C, Yonemoto J. (2001). Maternal exposure to low dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) suppressed the development of reproductive organs of male rats: Dose-dependent increase of mRNA levels of 5-reductase type 2 in contrast to decrease of androgen receptor in the pubertal ventral prostate. *Toxicol. Sci.* 60, 132-143.

- Patandin S, Lanting CI, Mulder GH, Boersma ER, Sauer PJJ, Weisglas-Kuperus N. (1999). Effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on cognitive abilities in Dutch children at 42 months of age. *J. Pediatr.* 134, 33-41.
- Porterfield SP, Hendrich CE. (1993). The Role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development-Current perspectives. *Endocrine Reviews* 14, 94-106.
- Schechter A, Pöpke O, Lis A, Ball M, Ryan JJ, Olson JR, Li L, Kessler H. (1996). Decrease in milk and blood dioxin levels over two years in a mother nursing twins: estimates of decreased maternal and increased infant dioxin body burden from nursing. *Chemosphere* 32, 543-549.
- Schulz-Schalge T, Koch E, Schwind K-H, Hutzinger O, Neubert D. (1991). Inductive potency of TCDD, TBDD and three 2,3,7,8-mixed-halogenated dioxins in liver microsomes of male rats. Enzyme kinetic considerations. *Chemosphere* 23, 1925-1931.
- Sewall CH, Flagler N, Vanden Heuvel JP, Clark GC, Tritscher AM, Maronpot RM, Lucier GW. (1995). Alterations in thyroid function in female Sprague-Dawley rats following chronic treatment with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 132, 237-244.
- Seo B-W, Li M-H, Hansen LG, Moore RW, Peterson RE, Schantz SL. (1995). Effects of gestational and lactational exposure to coplanar polychlorinated biphenyl (PCB) congeners or 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on thyroid hormone concentrations in weanling rats. *Toxicology Letters* 78, 253-262.
- Sparschu GL, Dunn FL, Rowe VK. (1971). Study of the teratogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the rat. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 9, 405-412.
- 谷村 孝. (1989). 毒性試験講座. 発生毒性. 地人書館.
- Theobald HM, Peterson RE. (1997). In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetra-chloro-dibenzo-p-dioxin: Effects on development of the male and female reproductive system of the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 145, 124-135.
- Tsutsumi O, Momoeda M, Takai Y, Ono M, Taketani Y. (2000). Breast-fed infants, possibly exposed to dioxins in milk, have unexpectedly lower incidence of endometriosis in adult life. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 68, 151-153.
- Van Birgelen APJM, Smit EA, Kampen IM, Groeneveld CN, Fase KM, Van der Kolk J, Poiger H. (1995). Subchronic effects of 2,3,7,8-TCDD or PCBs on thyroid hormone metabolism: use in risk assessment. *Eur. J. Pharmacol* 293, 77-85.
- Van Den Berg M, Heeremans C, Veenhoven E, Olie K. (1987). Transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to fetal and neonatal rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 9, 635-644.
- Viluksela M, Stahl BU, Brinbaum LS, Schramm K-W, Kettrup A, Rozman KK. (1998). Subchronic/chronic toxicity of a mixture of four chlorinated dibenzo-p-dioxin in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 151, 57-69.
- Vos JG, Heer CD, Loveren HV. (1998). Immunotoxic effects of TCDD and toxic equivalency factors. *Teratogenesis Carcinog. Mutagen.* 17, 275-284.
- Yonemoto J. (2000). The effects of dioxin on reproduction and development. *Ind. Health* 38, 259-268.
- Yonemoto J, Ichiki T, Takei T, Tohyama C. (2005). Maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and the body burden in offspring of Long-Evans rats. *Environ. Health. Prev. Med.* 10, 21-32.