

頭、死亡例 1 頭で、腎皮質の一部の尿細管の破壊・萎縮・脱落、間質の増生が認められる。糸球体はやや未熟なものが多く、一部に好酸性無構造物質の沈着や硬化像を伴う。コントロール群と 30ng/kg 群の腎に著変なし。

④電顕所見：300ng/kg 群の病変部の糸球体内のメサンギウム領域に無構造物質の沈着が認められる。

⑤形態計測的研究：300ng/kg 群の病変腎では糸球体面積の増加、未熟な糸球体の増加が明らかとなった。

⑥蛋白解析：腎病変部の 1 型コラーゲンの増加が免疫染色で明らかとなり、ウェスタンブロッティング法で、病変腎における AhR 蛋白の減少傾向が認められた。

4. 追加実験における仔アカゲザル(第 1 仔) (F1a)の腎病変
本解析の対象となったアカゲザルを以下に示した。

コントロール群：1 頭 (屠殺)

30 ng/kg 群：3 頭 (屠殺)

300 ng/kg 群：1 頭 (屠殺)、2 頭 (流産)

300ng/kg の屠殺例 1 頭に腎の形成異常が認められた。

5. 腎病変のまとめ

①病変分布が様々：腎被膜直下の少数の糸球体と尿細管からなる小病変から、腎全体に及び腎萎縮・変形を伴う病変までみられる。乳頭萎縮の存在。限局型の存在。しかし、分布には一定の規則性の可能性がある。

②病変の強さが様々：糸球体では未熟なものから硝子化まで、尿細管では萎縮から広範な脱落まで、尿細管の一部の病変から広範な病変まで。

③病変の多彩性 (heterogeneity)：分布や強さが様々な組合せで出現。

④腎病変の性差は明らかでなかった。

⑤これらの腎病変は形成異常あるいは分化の異常 abnormal renal differentiation として理解可能であった。

6. 網羅的遺伝子解析結果

解析された約 16,600 種類の遺伝子の中で、仔アカゲザル F1a (動物番号 106a) の腎組織では対照と比較して、211 個の遺伝子が発現変動し、132 個の遺伝子が発現増強、79 個の遺伝子が発現減少を示し、仔アカゲザル F1b

(動物番号 39) の腎組織では対照と比較して、650 個の遺伝子が発現変動し、273 個の遺伝子が発現増強、377 個の遺伝子が発現減少を示していた。

D. 考察

F1a および F1b、さらに追加実験群において、対照群と比べ TCDD 300 ng/kg 投与群で仔アカゲザルの腎病変が多発した。30ng/kg 群ではわずか 1 頭の腎に軽微な腎病変が認められたのみであったことから、この腎病変は 300ng/kg 群で高頻度・高度に起こっていることは明らかである。その腎病変の病理組織所見は TCDD による腎障害としての報告は乏しいものの、これまでヒトや動物、実験動物で報告されている腎の発生異常・形成異常に類似している。しかし、その病理像は広範で多様性に富んでおり、TCDD の影響が腎組織の長い形成期間・分化期間の中で長期間にわたって及んでいたことを示唆している。この腎病変は、生後 3 年余になっても腎組織内に観察され、修復が困難な可能性を示唆していた。また、

高度な場合、腎不全をきたしており、死因となる可能性も示していた。しかも、300 ng/kg 投与群の仔アカゲザルで比較的特異的に認められ、用量依存性が明らかであったことは TDI の設定の議論に貴重なデータを提供するものと判断された。

形態計測の結果は通常の組織学的観察の結果を裏付けるように糸球体形成の異常を示していた。

網羅的遺伝子解析で多数の遺伝子の発現変動が明らかにされた。今回の網羅的遺伝子解析で使用された DNA チップは約 16,600 種のヒト遺伝子を搭載したものであるが、私どものこれまでの研究結果ではアカゲザルとヒトの遺伝子の間に約 96% のホモロジーがあることから、ヒト遺伝子を用いた DNA チップによる解析も意味あるもの解釈され、遺伝子数は少ないがアカゲザルの遺伝子を搭載したマイクロアレイの結果と比較・照合検討を開始・継続している。

E. 結論

本研究においては、より妥当な TDI

値の設定に役立てるためダイオキシン類, 特に TCDD のアカゲザルにおける臓器障害性の解析を行った. ヒトに最も近縁の霊長類の1種であるアカゲザルを用いて, 妊娠 20 日から分娩後 90 日までの期間 TCDD を単回投与した本実験では, 対照群と比較して TCDD 300 ng/kg 投与群の仔アカゲザルにおいて腎病変が多発した(F1a). 病変の発生に用量依存性が認められた. 腎病変は F1a と F1b および追加実験群でも同様に認められ, 再現性が明らかであった. 以上の結果は, TDI の設定の議論に貴重なデータを提供するものと判断された.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mari Ohta, Satoshi Akema, Masami Tsuzuki, Tatsumi Korenaga, Toshio Fukusato, Kazuo Asaoka, Nobuo Murata, Motoyoshi Nomizu, Akihiro Arima, Shunichiro Kubota (2004) Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin

(TCDD) on signal transduction pathway-related protein expression in liver and cerebrum of rhesus monkey. Organohalogen Compounds 66, 3299-3304.

- 2) Korenaga Tatsumi, Shunichiro Kubota, Mari Ohta, Kazuo Asaoka, Nobuo Murata, Motoyoshi Nomizu, Akihiro Arima, Toshio Fukusato (2004) Liver injury in Rhesus monkeys subcutaneously injected with 2,3,7,8 -tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. Organohalogen Compounds 66, 3315-3320
- 3) Mari Ohta, Satoshi Akema, Masami Tsuzuki, Tatsumi Korenaga, Toshio Fukusato, Kazuo Asaoka, Nobuo Murata, Akihiro Arima, Shunichiro Kubota (2005) Long-term Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on Signal Transduction Pathway-related Protein Expression in Precentral gyrus, Amygdaroid Body and

Liver of Rhesus Monkey.

Chemosphere submitted.

- 4) Tatsumi Korenaga, Toshio Fukusato, Mari Ohta, Kazuo Asaoka, Nobuo Murata, Akihiro Arima, Shunichiro Kubota (2005) Long-term Effects of Subcutaneously Injected 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin on the Liver of Rhesus Monkeys. Chemosphere submitted.

2. 学会発表

[国際学会]

- 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Berlin, September 6-10, 2004, Mari Ohta, Satoshi Akema, Masami Tsuzuki, Tatsumi Korenaga, Toshio Fukusato, Kazuo Asaoka, Nobuo Murata, Motoyoshi Nomizu, Akihiro Arima, Shunichiro Kubota (2004) Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on signal transduction pathway-related protein expression in liver and cerebrum of rhesus monkey.

- 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Berlin, September 6-10, 2004, Korenaga Tatsumi, Shunichiro Kubota, Mari Ohta, Kazuo Asaoka, Nobuo Murata, Motoyoshi Nomizu, Akihiro Arima, Toshio Fukusato, (2004) Liver injury in Rhesus monkeys subcutaneously injected with of 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin.

- 25th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Toronto, August 21-26, 2005, Toshio Fukusato, Tatsumi Korenaga, Mari Ohta, Kazuo Asaoka, Hiroshi Sumida, Mineo Yasuda, Akihiro Arima, Nobuo Murata, Shunichiro Kubota (2004), In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induces abnormal renal development in rhesus monkeys. (in preparation)

[国内学会]

- Toshio Fukusato, Tatsumi

Korenaga, Mari Ohta, Kazuo Asaoka, Hiroshi Sumida, Mineo Yasuda, Akihiro Arima, Nobuo Murata, Shunichiro Kubota (2004) Prenatal and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) induces renal injury in rhesus monkeys. 日本環境ホルモン学会第7回研究発表会 (2004年12月14-15日, 名古屋)

- 太田万理, 明間聡史, 都築正実, 是永龍巳, 福里利夫, 浅岡一雄, 村田宣夫, 野水基義, 有馬明宏, 安田峯生, 久保田俊一郎 (2004) Long term effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on signal transduction pathway-related protein expression in liver and cerebrum of TCDD-treated rhesus monkeys during pregnancy. 妊娠期に TCDD 曝露を受けたアカゲザルの長期経過後のシグナル伝達系タンパク質の変動, 日本環境ホルモン学会第7回研究発表会 (2004年12月14-15日, 名古屋)
- 是永龍巳, 久保田俊一郎, 太田万理, 浅岡一雄, 樋田壽々子, 村

田宣夫, 野水基義, 有馬昭宏, 福里利夫 (2004) Hepatic injury in rhesus monkeys injected with low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin during gestation and lactation. 妊娠および授乳期ダイオキシン暴露による雌親アカゲザルの肝障害, 日本環境ホルモン学会第7回研究発表会 (2004年12月14-15日, 名古屋)

- 是永龍巳, 久保田俊一郎, 太田万理, 有馬昭宏, 樋田壽々子, 福里利夫 (2005) 妊娠および授乳期ダイオキシン暴露により仔アカゲザルの新規腎障害, 第94回日本病理学会総会 (2005年4月14-16日, 横浜) (発表予定)
 - 是永龍巳, 久保田俊一郎, 太田万理, 有馬昭宏, 樋田壽々子, 福里利夫 (2005) 妊娠および授乳期ダイオキシン暴露により牝親アカゲザルの肝障害, 第94回日本病理学会総会 (2005年4月14-16日, 横浜) (発表予定)
- G. 知的所有権の取得状況
なし

仔アカゲザル(F1)生後死亡例の 剖検所見

TCDD 量	頭数	諸臓器の主要所見				その他
		腎線維化	肺炎	髄膜炎	肝軽度脂肪化	
0 ng/kg	6	0	0	0	0	肝軽度脂肪化
30 ng/kg	3	0	0	0	0	特になし
300 ng/kg	9	5	1	1	1	精巢線維化、膵・ 胆管・毛嚢上皮 過形成、石灰化

肉眼所見

L

R



SBL 89-05-02
2g
No. 9 (F1)



25

L

R



SBL 89-05-02
2g
No. 9 (F1)



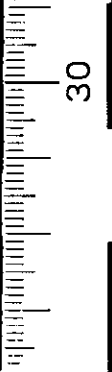
25

L

R



SBL 89-05-02
2g
No. 9 (F1)



30

L

R



SBL 89-05-02
2g
No. 9 (F1)



30

臓器重量:

F1群の2頭で
片側に高度萎
縮があり。

F1a38 (rt/lt):

1.52/2.93)

F1a8 (rt/lt):

1.80/3.0)

SBL 89-05
No.106(F1)
腎臓 (右)

SBL 89-05
No.106(F1)
腎臓 (左)

SBL 89-05
No.109(F1)
腎臓 (右)

SBL 89-05
No.109(F1)
腎臓 (左)



10

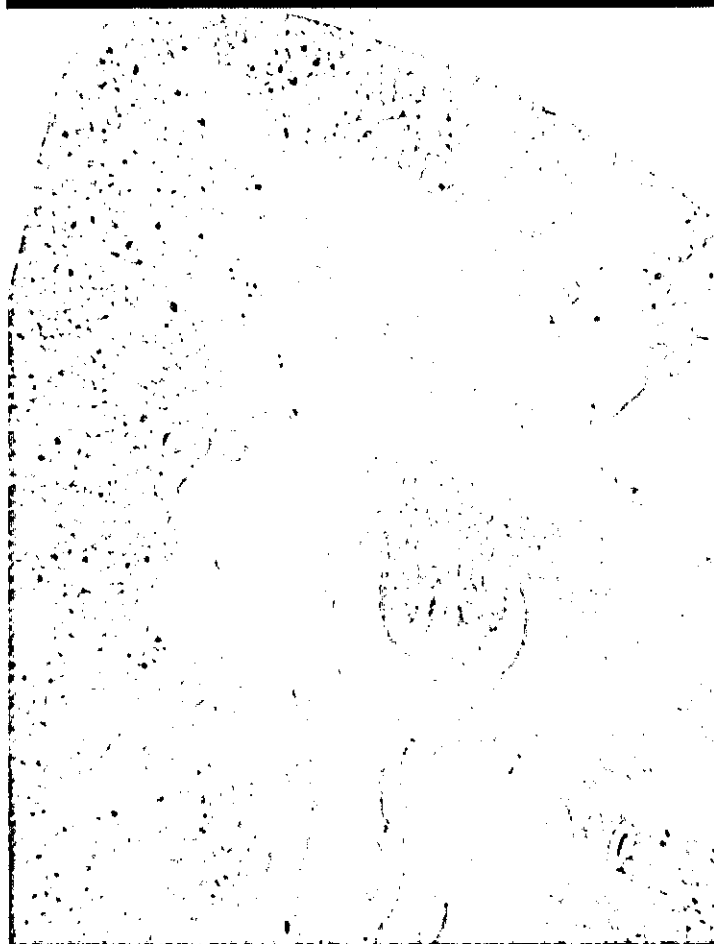


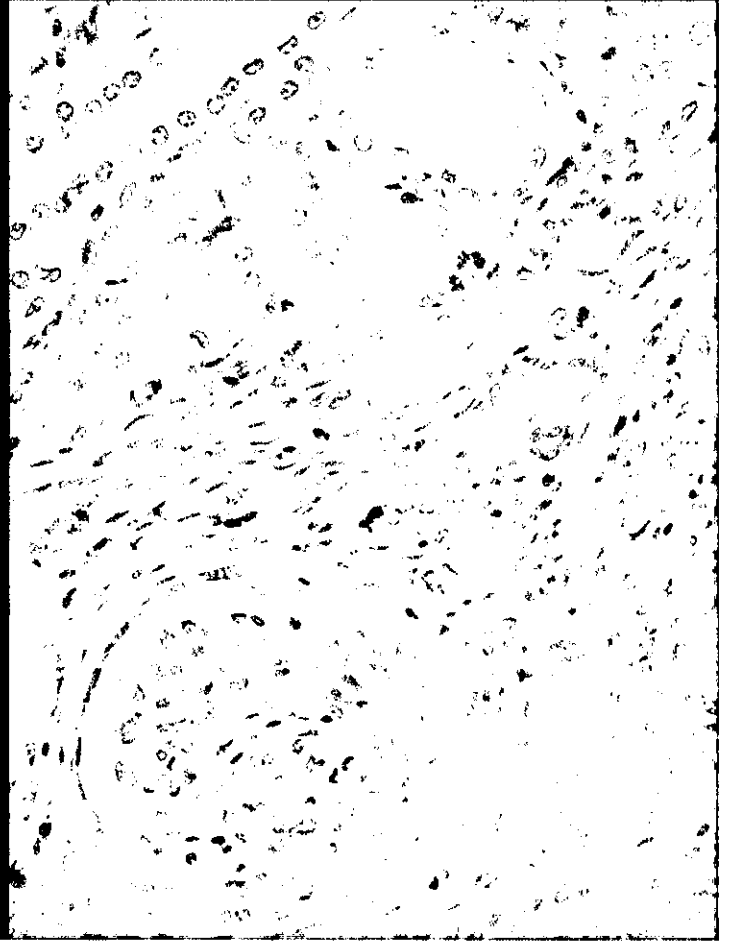
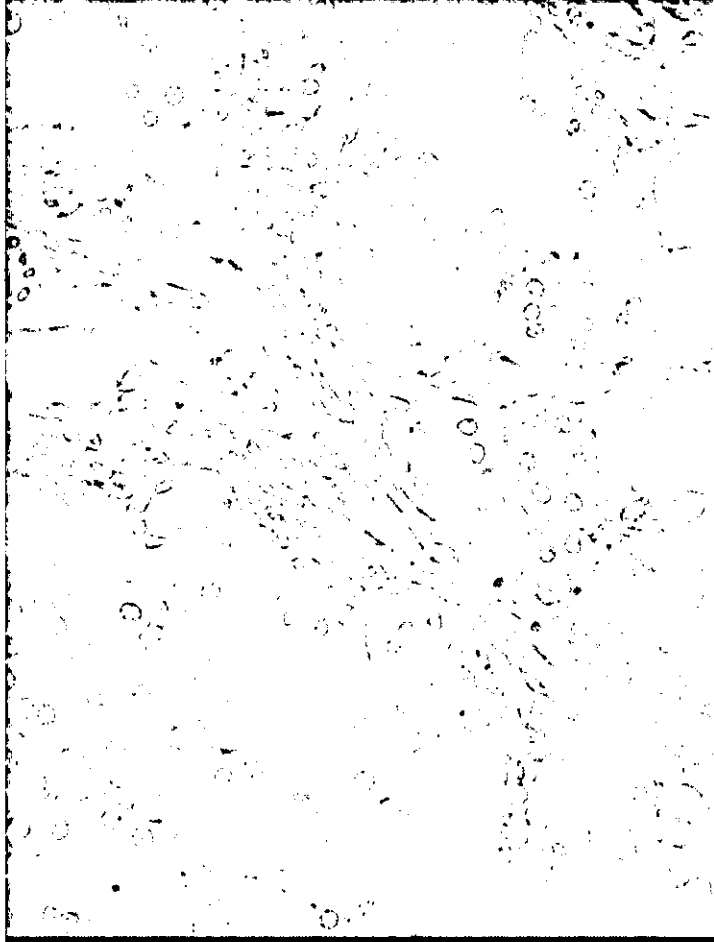
10



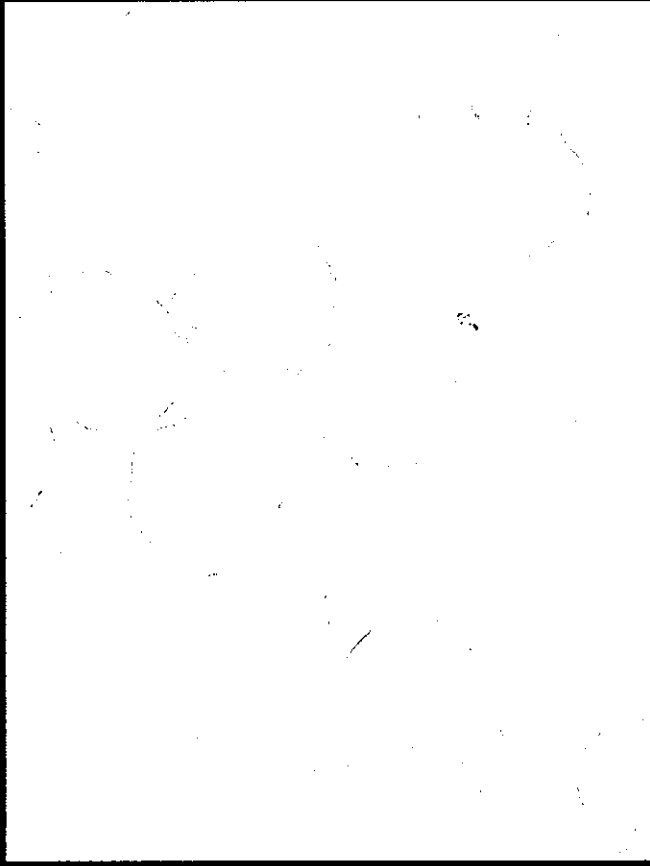
10

組織所見

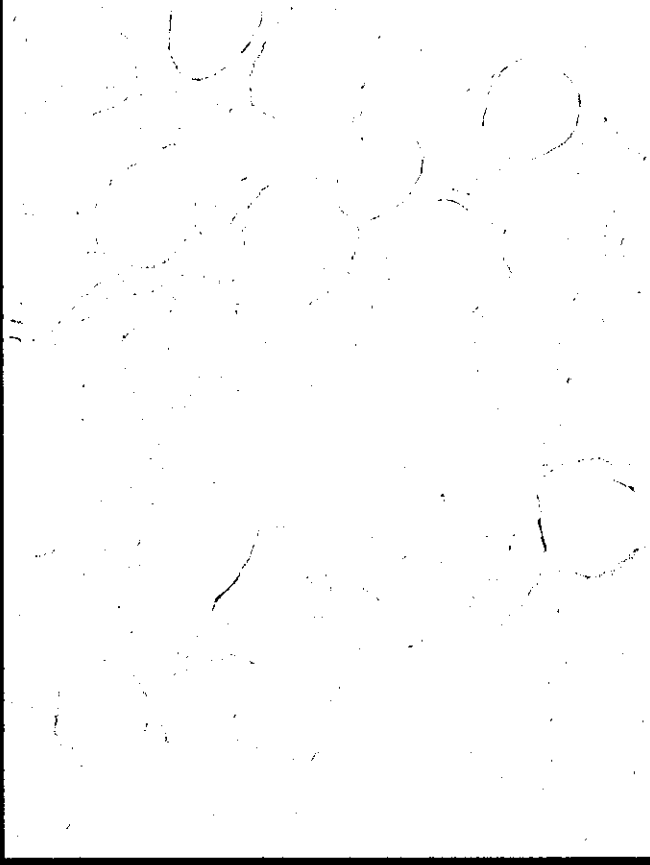




AZAN染色	Vimentin 免疫染色
LCA陽性 リンパ球	



Control群



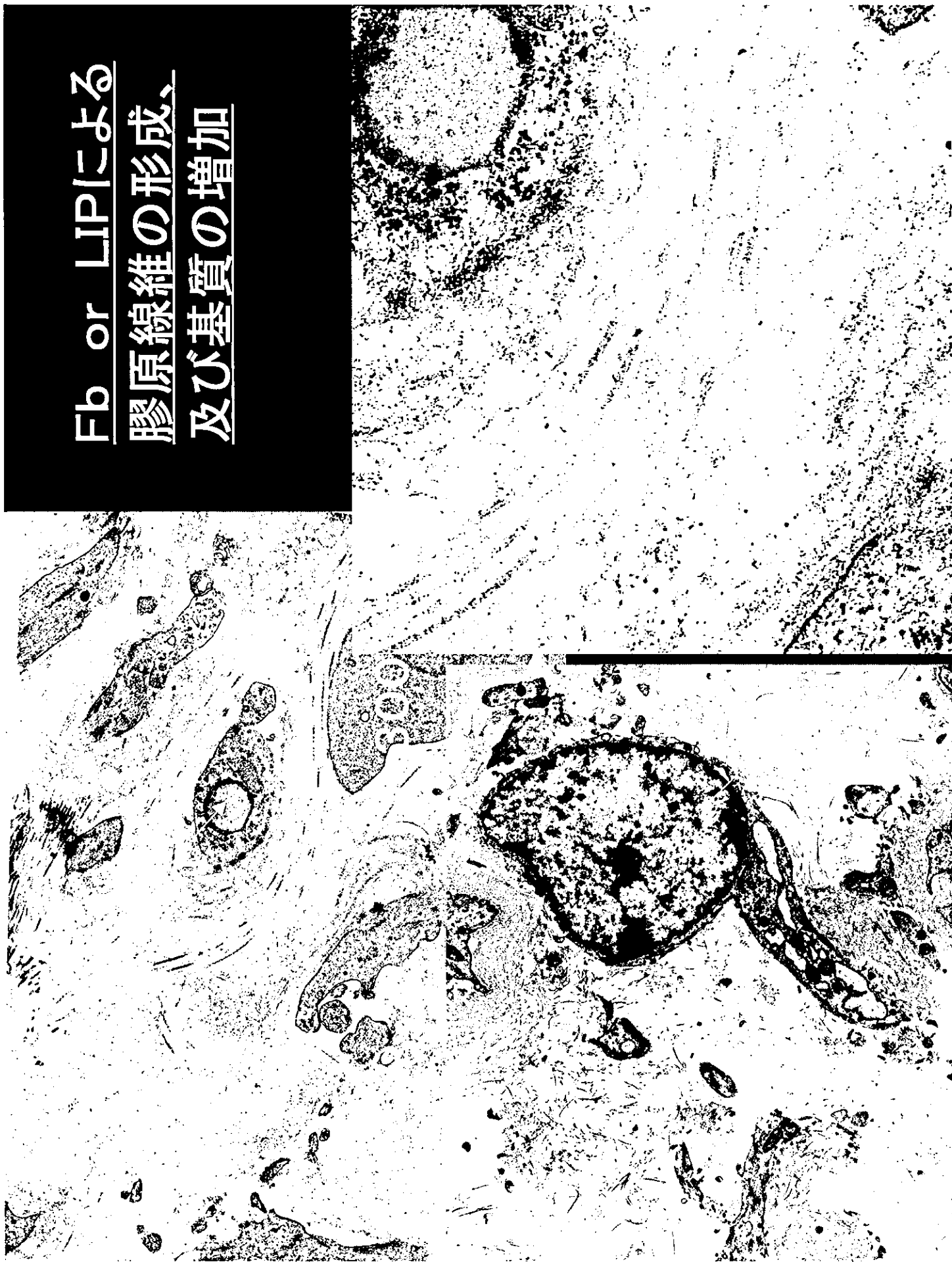
300ng群Fibrosis

電顯所見

皮質;糸球体被膜下のつぶれた糸球体(散在)

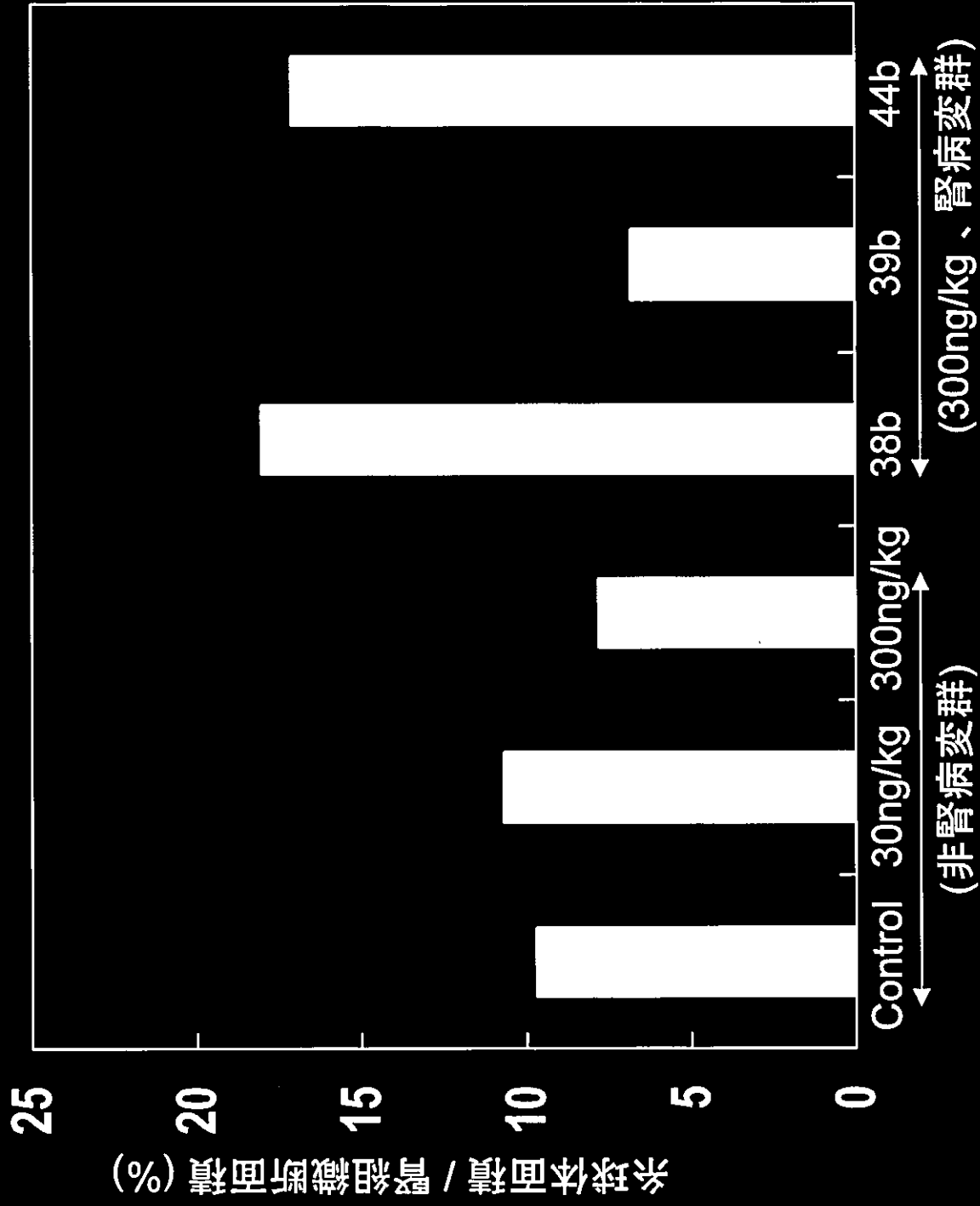


Fb or LIPによる
膠原線維の形成、
及び基質の増加

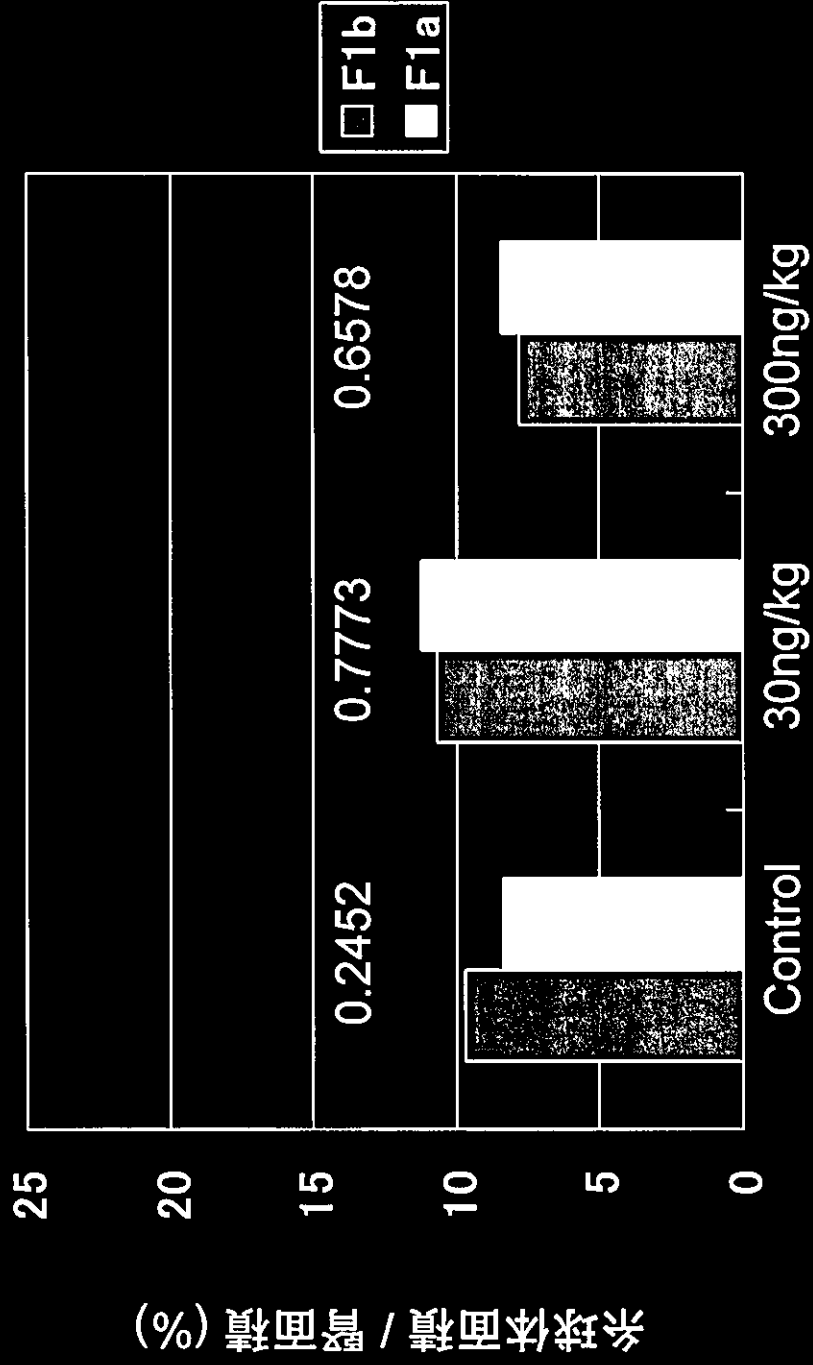


腎病変形態計測

腎組織断面積に占める糸球体面積の割合 (F1b)

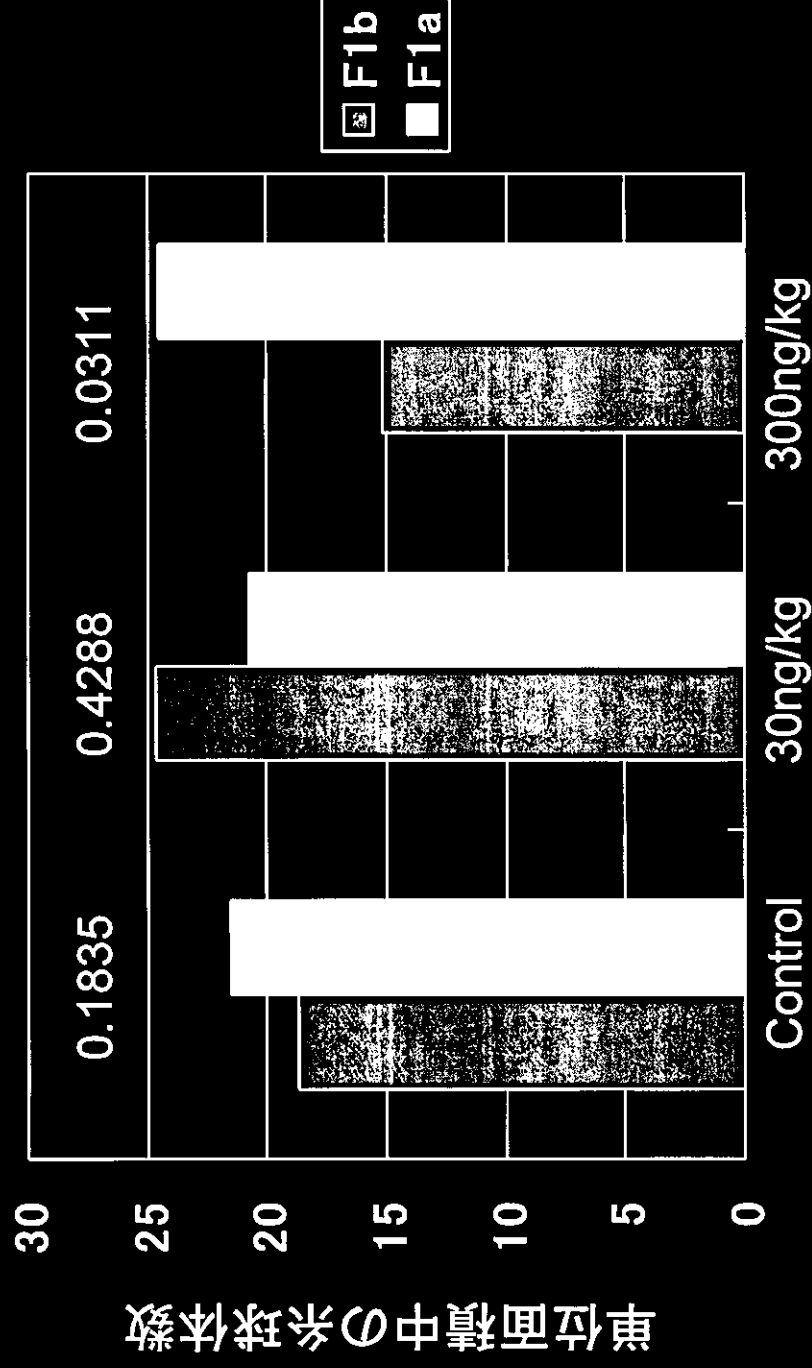


腎臓断面積に占める糸球体面積の割合 (非病変群)



数字はF1aF1b間でのP値

腎臓断面積中の糸球体数 (非病変群)



数字はF1aF1b間でのP値