

を波状とした。ヒダの内側あるいは外側が分岐しているものを分岐，左右のヒダが正中部近くで著しく食い違うものを非対称，ヒダが隣接するヒダの場所に乗り込むものを乗換または交差と名付けた。一見してヒダが太くみえるものを肥厚，ヒダが細く，高まりが低いものを形成不全とした。

各群におけるこれらの形態変異のうち比較的頻度の高かったものを図7に示す。形成不全を除き，多くの型の変異が対照群で観察され，各群間には有意な差は認められなかった。図8には比較的頻度の低かった変異の頻度を示す。肥厚のみ，TCDD 負荷量に伴って頻度が上昇しているように見えるが，対照群では13例中1例，30 ng/kg 群では12例中2例，300 ng/kg 群では10例中3例で，標本数が少ないため，統計的な有意差はなかった。

#### D. 考察

マウスでは口蓋裂誘発時期のダイオキシン類投与により，児の口蓋ヒダ形態変異，とくに短小の頻度が上昇することが報告されている。しかし，アカゲザルでは対照群マウスにほとんどみられない乗換や交差を含む多くの形態変異が対照群

でもみられ，300 ng/kg で有意に増加する型はなかった。しかし，300 ng/kg 群死産児の口蓋ヒダには対照に比べて著しく肥厚し，走行にも乱れがある例が認められており，TCDD が上皮増殖因子としての作用を示すことから，生存児で見られたヒダの肥厚がTCDDの影響を示している可能性も否定はできない。ただ，肥厚を客観的に定義するのは容易ではない。

#### E. 結論

アカゲザルでTCDDの発生毒性を検索する一環として児の口蓋ヒダの形態変異を観察したが，300 ng/kg 群で対照群に比べて有意に増加する変異型は見出されなかった。アカゲザルで口蓋ヒダを発生毒性指標として活用するには，さらに対照群の観察例数を増し，「異常」の定義を確立する必要がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Yasuda I, Yasuda M, Sumida H, Tsusaki H, Arima A, Ihara T, Kubota S, Asaoka K, Tsuga K, Akagawa Y: *In utero* and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin (TCDD) affects tooth development in rhesus monkeys. *Reprod Toxicol*, 20, 2005 (in press).

2) Yasuda I, Yasuda M, Sumida H, Arima A, Ihara T, Kubota S, Asaoka K, Takasuga T, Tsuga K, Akagawa Y: *In utero* and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin (TCDD) affects tooth development in rhesus monkeys. *Organohalogen Compounds*, 66, 3321-3325, 2004.

2. 学会発表

1) 安田峯生, 安田以久, 隅田寛, : ダイオキシン胎生期・授乳期暴露のアカゲザル口蓋ヒダ形成に及ぼす影響. 日本解剖学会第 59 回中国・四国地方会要旨集, 13 (抄録), 2004. (日本解剖学会第 59 回中国・四国地方会, 2004 年 11 月 6-7 日, 岡山)

2) Yasuda I, Yasuda M, Sumida H, Arima A, Ihara T, Kubota S, Asaoka K, Takasuga T, Tsuga K, Akagawa Y: *In utero* and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin (TCDD) affects tooth development in rhesus monkeys. *Organohalogen Compounds*, 66, 3321-3325, (short paper), 2004. (24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, September 6-10, 2004, Berlin, Germany)

G. 知的所有権の取得状況

なし

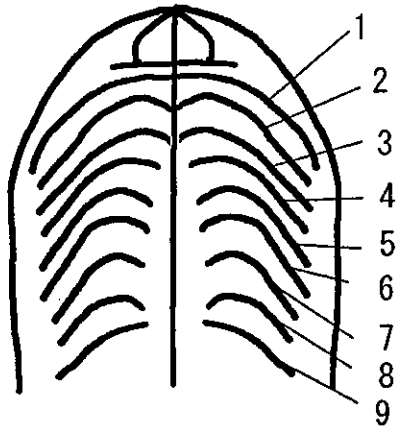


図1 アカゲザル口蓋ヒダ模式図

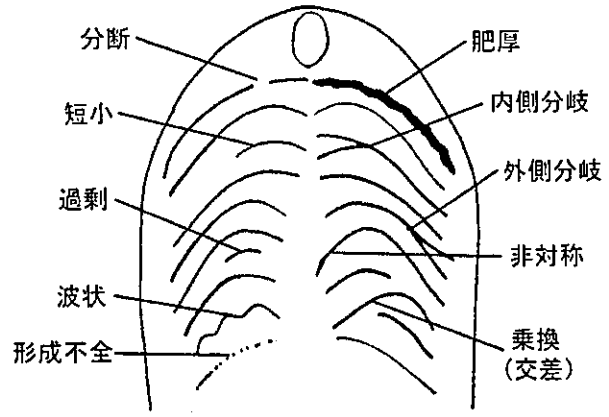


図2 口蓋ヒダ形態変異模式図

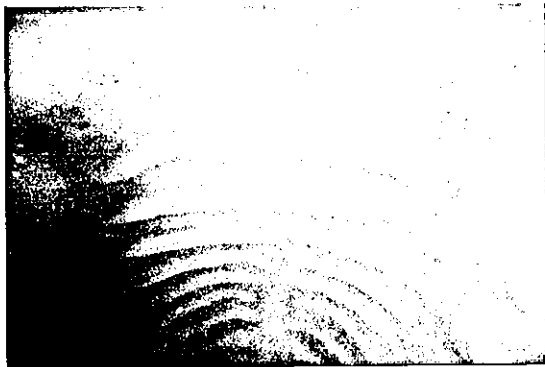


図3 正常口蓋ヒダの例

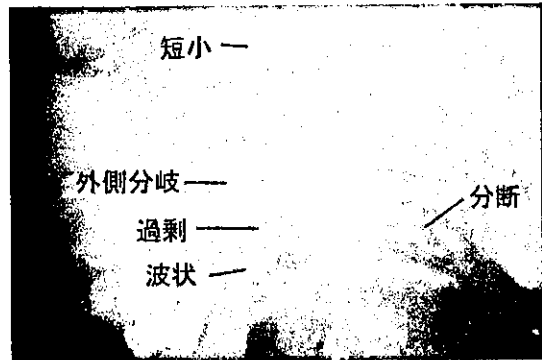


図4 種々の口蓋ヒダ形態変異の例



図5 ヒダ肥厚の例



図6 ヒダ形成不全の例(6以後)

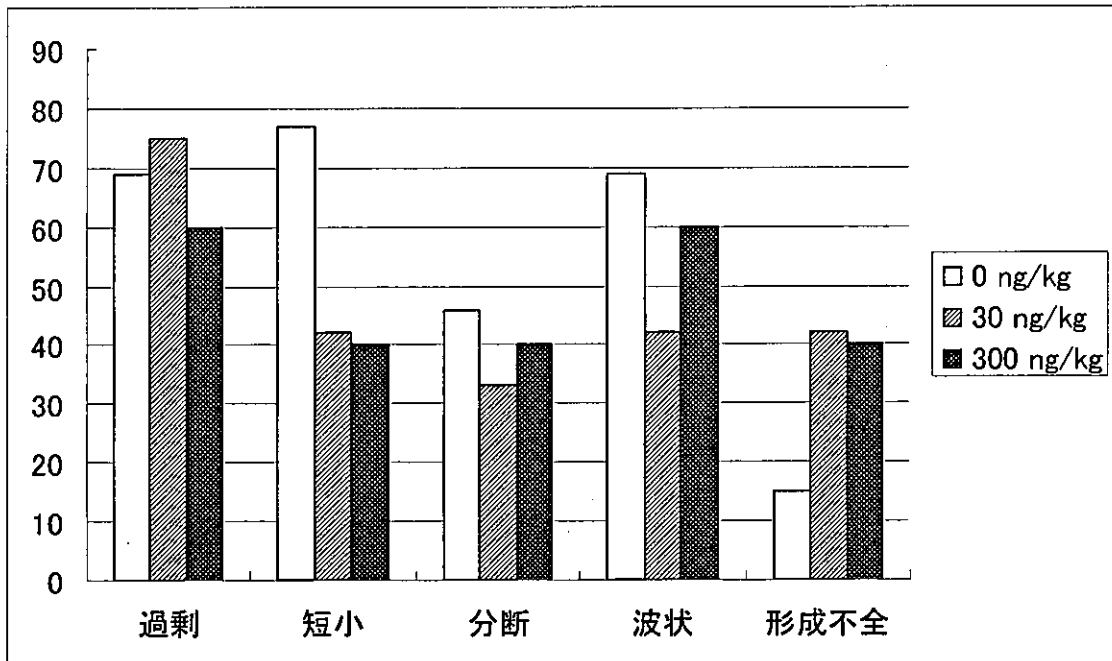


図7 各群における形態変異の頻度(%) (1)

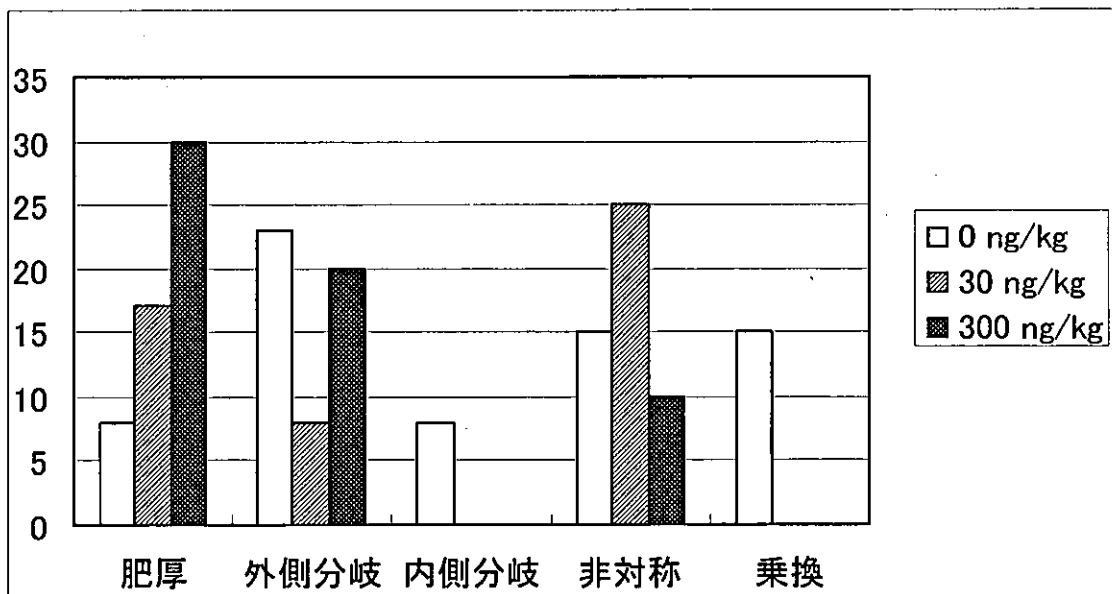


図8 各群における形態変異の頻度(%) (2)



摘されている。今までに多くの動物実験により、ダイオキシン類の毒性に対する感受性は胎生期に極めて高いことが明らかになってきた。平成11年に日本でダイオキシン類の耐容一日摂取量(TDI)を定めた際には胎生期に2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン(TCDD)の暴露を受けたラットの雌児の生殖器系異常を調べた実験データが大ききよりどころとなった。その実験において、ラット妊娠15日にTCDDを投与し、体内負荷量を測定したところ97 ng/kgであり、妊娠21日の体内負荷量は76 ng/kgであったと報告されている。その中間をとって、最小毒性量での妊娠中の母体の体内負荷量はおよそ86 ng/kgであると算定された。ラット母体へのこの体内負荷量のTCDD暴露で雄児の精子数が減少するとの実験結果も報告されている。しかし、ラットのような小動物の体内負荷量と同じ量を大型の動物に負荷した場合に、ダイオキシン類が生殖器の発生に同様な影響を示すか否かを検討した実験はない。そこで今回は、妊娠アカゲザルにTCDDを投与し、その児の精巣に与える影響を調べた。

## B. 研究方法

### 1. 実験動物

観察にはアカゲザル児を用いた。アカゲザルを交配させ、妊娠母体を3群に分け、妊娠20日のアカゲザルの母体に、TCDD 30 ng/kg(低投与量群)あるいは300 ng/kg(高投与量群)をそれぞれ皮下投与した(ラット実験から得られた最低毒性体内負荷量の86 ng/kgを基準とし、この約3分の1と3倍量を投与した)。その後、体内負荷量を維持するために30日毎に初回投与量の5%を維持量とし、対照には溶媒のみを同様に投与した。母へのTCDD投与は自然分娩後90日まで持続した。初産児(F1a)の離乳後、期間において母体を再度

交配、妊娠させ、F1a実験での投与によるTCDDの母体蓄積を考慮に入れ、妊娠20日にTCDD 20 ng/kg(低投与量群)または200 ng/kg(高投与量群)を皮下投与した。その後はF1aと同様にTCDDを投与して第二産児(F1b)を得た。対照にはF1aと同様の処置を行った。その後の調査により、F1a実験投与によるTCDDの母体蓄積は当初予想された数値よりも小さいことが判明したため、厳密に考慮するとTCDDの体内負荷量はF1aとF1bとで異なるが、生後死亡例については例数が少ないため今回はF1aとF1b両方の児を使用した。剖検例についてはF1bを使用した。

この実験により産まれた雄児で、生育途中に死亡した児を解剖し、精巣の単位組織面積に占める精細管面積を測定し、TCDDが精巣に与える影響を評価した。使用した生後死亡児の動物番号を表1に示した。また、生後約850日程度で剖検を行った例について精巣の組織所見を中心にTCDDの影響を検討した。剖検した児の動物番号は表2に示した。

### 精細管面積測定

精巣のヘマトキシリン-エオジン染色組織切片を顕微鏡下で撮影した。各組織切片標本につき2~3カ所の部を撮影した。

顕微鏡写真から精細管の輪郭をトレースし、画像処理を行った。Scion Image を使用してトレース輪郭内の面積を測定した(図1)。

## C. 研究結果

### 1. 生後死亡例

生後死亡例の対照群2例は、死亡時の年齢が大きく異なるが、2例の精巣とも精細管は良く発達しており、精上皮の形成状態はおおむね良好であった(図2a)。間細胞も認められ、精巣中隔の結合組織は明瞭であった。本研究で使用したアカゲザル児の年齢では、

精子形成は認められなかった。対照群の精巣組織単位面積あたりの精細管面積は、58%程度であり(図3)、精巣組織中約6割が精細管であると考えられた。

一方で、TCDD 低投与量群の精巣には、水腫傾向が認められ、血性の水腫も認められた(図2b)。水腫により精細管は圧迫されており、個々の精細管間の間隙も大きくなっていたため、精細管面積-精巣組織面積比は対照群のそれに比較して大幅に減少していた(図3)。水腫の程度には、個体差が認められたが、精細管面積-精巣組織面積比のばらつきは小さく、標準偏差は7%程度であった。そのため、TCDD 低投与量群の精細管面積は対照群のそれに比較して有意に減少していた( $P<0.01$ )。

TCDD 高投与量群の精巣は、TCDD 低投与量群よりもさらに水腫傾向が強かった(図2c)。TCDD 低投与量群に認められた例と同様に、血性の水腫を認める例もあった。対照と比較して個々の精細管間の間隙は大きく、TCDD 低投与量群に認められた水腫と組織学的に大きな差は認められなかった。線維芽細胞の増加は認められなかったが、TCDD 高投与量群の1例に、線維化が著しく明らかに精巣萎縮の症例が認められた(図2d)。この例では、精細管は瘢痕化した線維組織に圧排され、個々の精細管の径もまばらで、かつ腔が不明瞭であった。正常な精子形成細胞を確認することは可能であったが、間細胞集団は、対照群の組織に比較して確認が困難であった。TCDD 高投与量群の精細管面積-精巣組織面積比は低投与量群のそれよりもさらに小さく、対照の約1/2であった(図3)。TCDD 高投与量群の精細管面積-精巣組織面積比のばらつきは、対照群やTCDD 低投与量群のそれと同レベルであり、t検定ではTCDD 低投与量群の精細管面積-精巣組織

面積比との間に有意差を示さなかった。

## 2. 剖検例

剖検例の精巣は、生後死亡例の精巣と類似の組織所見を示した。しかし、対照でも精巣中隔の結合組織にわずかな水腫傾向が認められた(図4a, b)。精子形成は認められなかったが、精子形成細胞の成熟度は良く、精母細胞はよく認められた(図6a, b)。

一方で、TCDD 投与量群の精巣の水腫傾向は対照に比較すると著しかった(図4c, d)。精細管そのものの発達は悪くないが、またTCDD 低投与量群の1例(47b)は精巣自体のサイズが他に比較して減少していた。TCDD 高投与量群の精巣では、水腫傾向が強い個体と、対照に比較して水腫傾向がほとんど変わらない個体が認められ(図5)、水腫程度のばらつきは大きかった。つまり、水腫の程度は必ずしも投与量に依存していない。TCDD 低投与量群、高投与量群とも精巣組織内で水腫はび漫性ではなく、高度な水腫を呈する部は限局していた。一部血性の水腫も認められたが、生後死亡例に認められたものよりも血性の程度は軽微であった。

TCDD 投与群の精子形成細胞の成熟度は個体でまちまちであり、精母細胞の分布が、対照に比較して少ない個体も認められた(図6c, d)。しかし、TCDD 高投与量群にも、対照と比較してほぼ同程度の精子形成細胞の成熟度を示す個体も認められた。したがって、今のところ精子形成細胞の成熟度とTCDD 投与量との間の関連は認められない。ただし、特にTCDD 高投与量群には、間細胞集団を認めにくい個体があった(図6d)。セルトリ細胞の分布はTCDD 高投与量群、TCDD 低投与量群とも対照と同レベルであった。

## D. 考察

生後死亡例の結果では、TCDD 高投与量

群のみならず、TCDD 低投与量群の精巣にも水腫等の変化が認められた。剖検例においても水腫が認められたので、本研究から得られた精巣水腫の所見そのものは死後変化によるものではなさそうである。生後死亡例では水腫傾向は TCDD 投与量に依存していたが、剖検例では水腫の程度と TCDD 投与量との間に相関が認められていない。このため、今のところこの例数では授乳期・胎生期の TCDD 曝露が児の精巣水腫を引き起こすとは結論できない。しかし、ラットによる実験で得られている TCDD の最小毒性は、生殖器に与える影響であり、その中には精子数の減少も含まれている。したがって、本研究結果は、霊長類において TCDD が精巣に与えるリスクを示唆する結果にはなり得る。

生後死亡例での精細管面積測定による形態計測の結果では、水腫によって精細管組織が圧迫されているので、精巣組織にしめる精細管面積は大幅に低下していた。ただし、このことから精巣機能の低下を推測することはできない。剖検例においては、現時点では形態計測のデータは得られていないが、TCDD 投与量群に間細胞密度の低下や精子形成細胞の成熟度の低下が認められた例があるため、以後の年齢における精巣機能の検討が必要である。

一方で、TCDD 高投与量群の生後死亡例の精巣に、高度な線維化が認められた。この例では、精細管の発達は極めて悪く、組織所見からは精巣機能の低下が示唆される。今回線維化が認められたのは 1 例であり、その他の例において、線維化の萌芽を明らかに示す所見は必ずしも得られていない。したがって、線維化が TCDD の影響であるか否かについては早急な結論を導き出すことはできないが、本研究プロジェクトにおいても TCDD 高投与量群の児の腎に線維化が生じた例が

認められたため、TCDD 曝露と器管線維化との関連について今後解明を進めることが必要と考えられる。

## E. 結論

胎生・授乳期のアカゲザルに、TCDD をラット実験から得られている最小毒性量で 1/3 量と 3 倍量(体内負荷量換算)曝露したところ、児の精巣に水腫が認められた。TCDD は妊娠および授乳期母体への曝露において、霊長類においても児の精巣に影響をおよぼす可能性が示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文

なし

### 2. 学会発表

- 1) 隅田寛、松村俊彦、田中領華、青島由記江、安田峯生、有馬宏明、久保田俊一郎  
2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン (TCDD) の胎生・授乳期曝露を受けたアカゲザル児精巣の変化。日本内分泌攪乱化学物質学会第 7 回研究発表会要旨集 303(抄録)、2004 (日本内分泌攪乱化学物質学会第 7 回研究発表会、2004 年 12 月 14-15 日、名古屋)

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許 なし

### 2. 実用新案登録 なし

### 3. その他



表 1 生後死亡例

	動物番号	生存日数
対照群	1b	365
	61a	1297
TCDD 低投与量群	16a	1044
	21b	595
	24b	583
	27b	614
	65b	593
TCDD 高投与量群	31b	536
	32a	467
	68a	361

表 2 剖検例

	動物番号	出生年月日	剖検年月日
対照群	4b	2002/8/8	2004/11/22
	11b	2002/6/13	2004/11/22
TCDD 低投与量群	25b	2002/7/7	2004/11/22
	47b	2002/7/13	2004/11/22
TCDD 高投与量群	42b	2002/5/5	2004/11/22
	44b	2002/6/24	2004/11/22
	45b	2002/6/6	2004/11/22

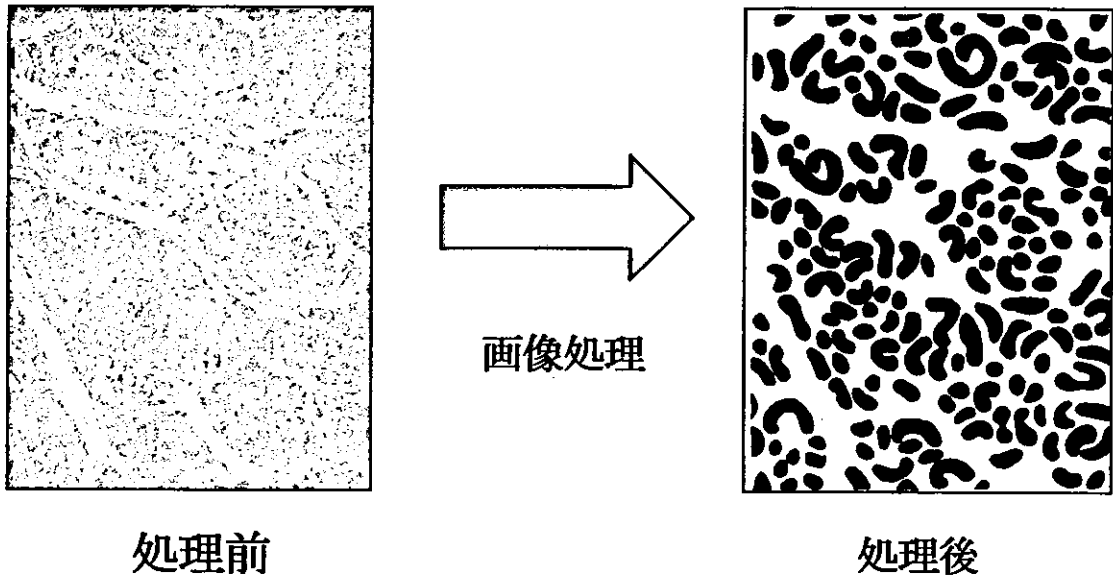


図1 精細管面積測定方法

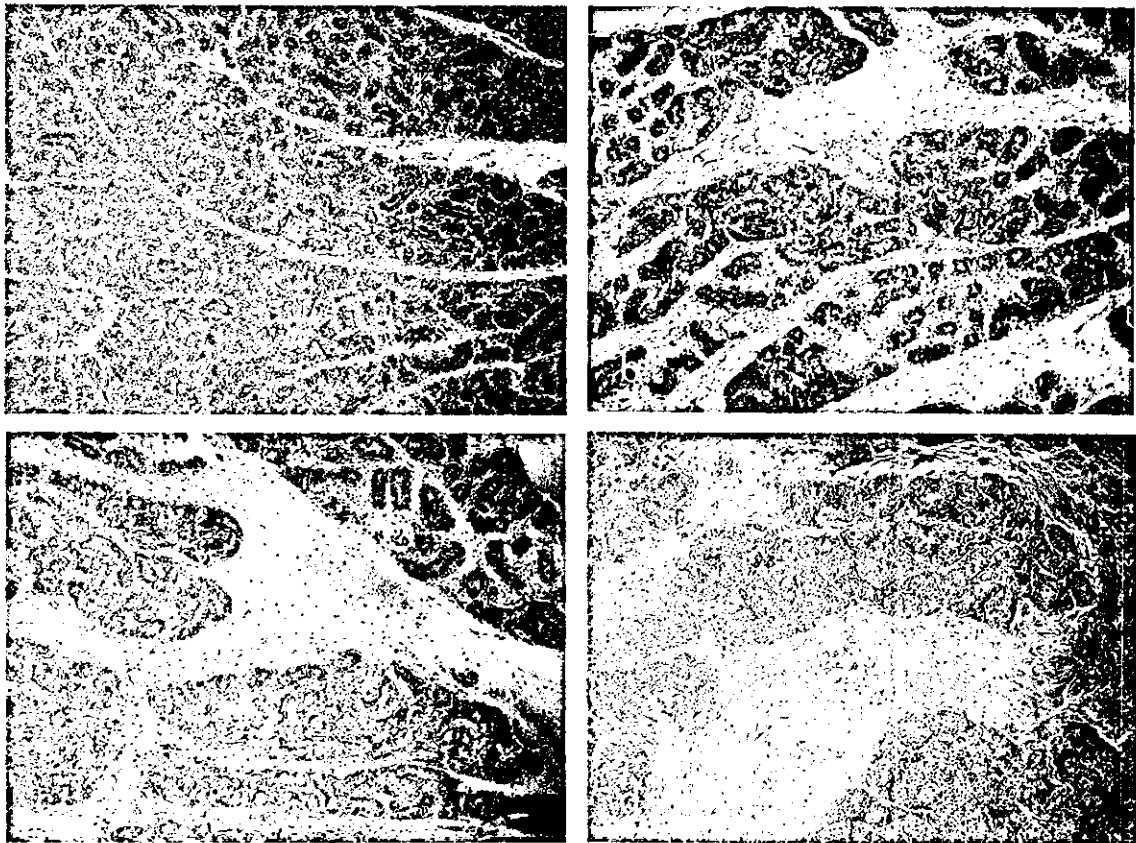


図2 生後死亡例精巣組織

a: 対照群精巣組織、b: TCDD 低投与量群精巣組織、c: TCDD 高投与量群精巣組織、  
d: TCDD 高投与量群に認められた精巣の高度な線維化

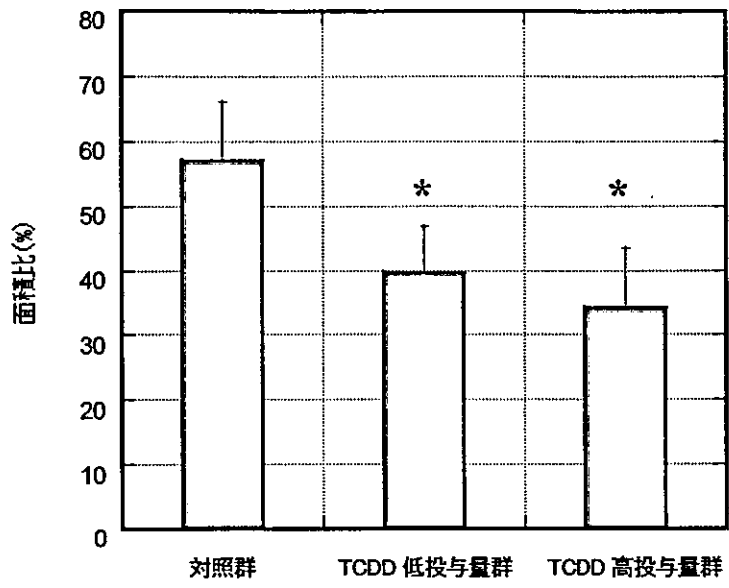


図3 精細管面積—精巢組織面積比(±標準偏差)

\*:  $P < 0.01$

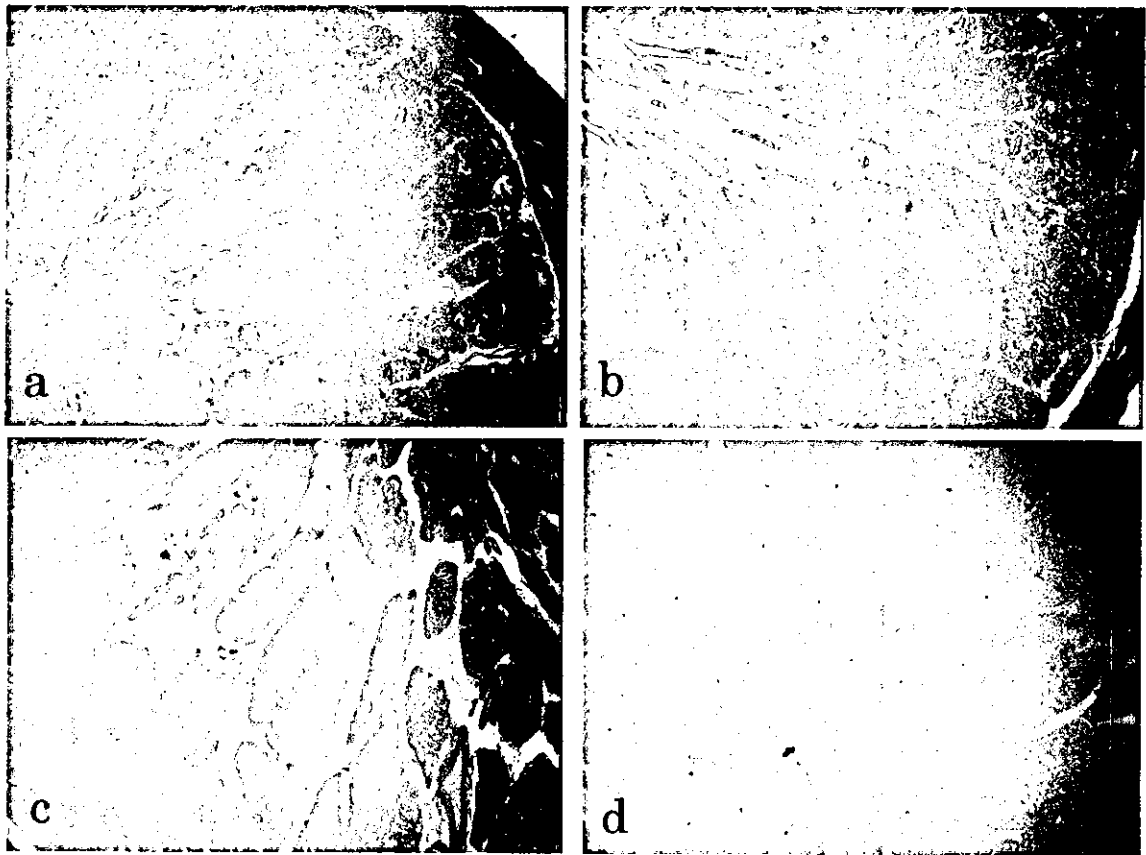


図4 剖検例精巣組織

a: 対照(4b)、b: 対照(11b)、c: TCDD 低投与量群(25b)、d: TCDD 高投与量群(68b)

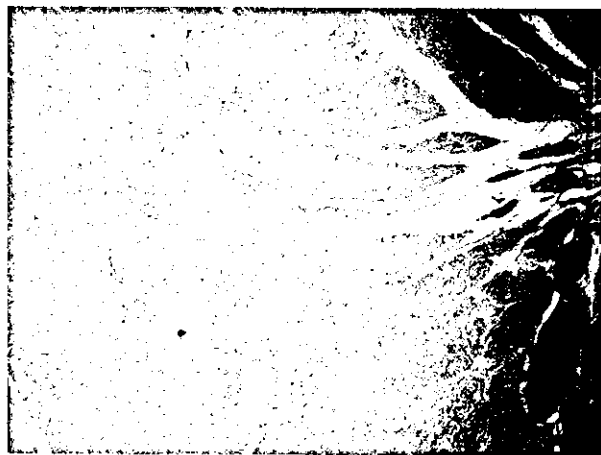


図5 TCDD 高投与量群で変化の乏しい精巣組織(45b)

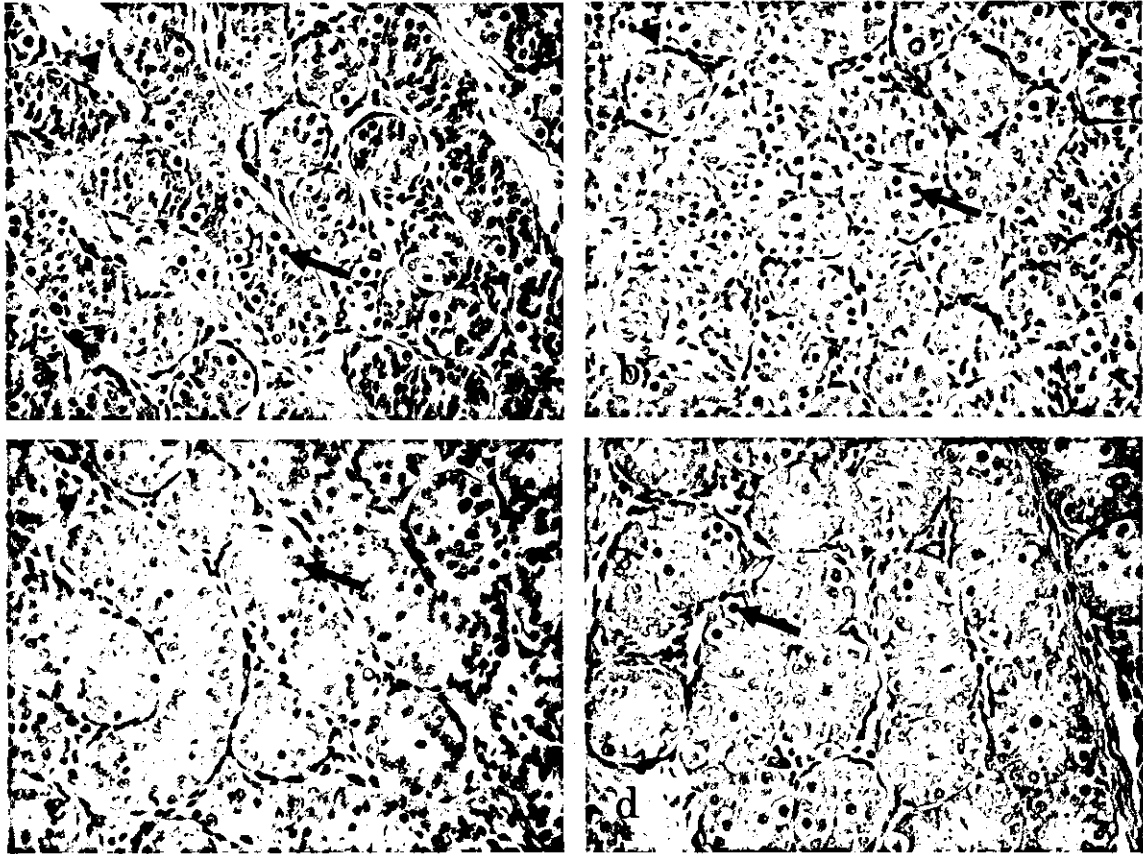


図6 剖検例精巢組織強拡大

a: 对照(4b)、b: 对照(11b)、c: TCDD 低投与量群(25b)、d: TCDD 高投与量群(44b)

矢印: 精母細胞、矢頭: 間細胞

平成16年度 厚生科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン(TCDD)の  
胎生・授乳期暴露によるアカゲザル児の腎弓状動脈・葉間動脈への影響

分担研究者 隅田 寛 広島国際大学保健医療学部教授  
安田峯生 広島国際大学保健医療学部教授

研究要旨: 2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン(以下TCDD)は、胎生期・授乳期に暴露されることにより、児の腎臓に線維化を引き起こすことが示唆されている。TCDDが腎の循環系に与える影響を検討する目的で、妊娠20日のアカゲザルに2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン(TCDD)30 ng/kg(低投与量群)または300 ng/kg(高投与量群)をそれぞれ皮下投与し、その後、体内負荷量を維持するために30日毎に初回投与量の5%を維持量として投与した。また、第一産児が親離れした後、再度妊娠させ、TCDD 20 ng/kg(低投与量群)あるいは200 ng/kg(高投与量群)を皮下投与し、同様に維持投与した。母へのTCDD投与は分娩後90日まで持続し、児への影響を調べた。生育途中で死亡した児サルを解剖し、TCDD低投与量群と高投与量群のうち腎臓の組織切片標本から腎弓状動脈あるいは葉間動脈の内腔面積と内弾性板内面積を比較し、内膜の肥厚程度を評価した。その結果、TCDD高投与量群の腎弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜は肥厚していることが示唆された。内膜肥厚の程度には個体間のばらつきが大きいことも判明し、高度に内膜が肥厚している例もあったが、ほとんど内膜肥厚を示さない例も認められた。低投与量群の内膜面積は、対照群のそれと比較して有意差は認められなかった。また、高投与量群においても、腎弓状静脈あるいは葉間静脈には内膜肥厚は認められなかった。TCDD高投与量群に認められた腎弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜肥厚はTCDDの影響と考えられたが、その機構については今後の検討が必要である。

A. 研究目的

現在、わが国におけるヒトのダイオキシン類の耐容一日摂取量(TDI)は4 pg/kgとされている。この値は胎生期にTCDDの暴露を受けたラットの実験から算定したものである。ところが、ダイオキシン類の生体内半減期は、

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

る。

2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン(以下TCDD)は、間質の増殖を引き起こすことが示唆されている。TCDDを胎生期に投与した場合、胎児組織の間質の増殖を引き起こすか否かについては不明であった。TCDDは、マウス母体に投与した時、その胎仔で腎発生において細胞外基質を変化させることが報告されている。しかし、この報告ではフィブロネクチンやIV型コラーゲンなどの細胞外基質は減少すると結論されている。最近、我々は胎生期・授乳期にTCDDを暴露し、TCDDが児に与える影響を調べている。これまで、胎生期・授乳期にTCDD暴露を受けた児のうちで、生後死亡した児に腎病変が確認されている。TCDD暴露群に認められた異形性腎の腎小体は対照群に比べて矮小化していたため、腎機能の低下が見られた。腎小体の数に差はなかったことから、腎の初期発生における尿管芽の分枝は正常に進行し、その後の分化、成長の過程においてTCDDにより腎臓障害を起こしたと考えられた。

TCDDに暴露されたアカゲザル児の腎への影響を考える上で、腎循環動態が変化している可能性を調べる必要がある。そこで今回、血管変化を確認するために、TCDDを授乳期・胎生期に暴露された児の腎弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜肥厚の程度を検討した。

## B. 研究方法

### 1. 実験動物

観察にはアカゲザル児を用いた。アカゲザルを交配させ、妊娠母体を3群に分け、妊娠20日のアカゲザルの母体に、TCDD 30 ng/kg(低投与量群)あるいは300 ng/kg(高投与量群)をそれぞれ皮下投与した(ラット実験から得られた最低毒性体内負荷量の86 ng/kgを

基準とし、この約3分の1と3倍量を投与した)。その後、体内負荷量を維持するために30日毎に初回投与量の5%を維持量とし、対照には溶媒のみを同様に投与した。母へのTCDD投与は自然分娩後90日まで持続した。初産児(F1a)の離乳後、期間をおいて母体を再度交配、妊娠させ、F1a実験での投与によるTCDDの母体蓄積を考慮に入れ、妊娠20日にTCDD 20 ng/kg(低投与量群)または200 ng/kg(高投与量群)を皮下投与した。その後はF1aと同様にTCDDを投与して第二産児(F1b)を得た。対照にはF1aと同様の処置を行った。その後の調査により、F1a実験投与によるTCDDの母体蓄積は当初予想された数値よりも小さいことが判明したため、厳密に考慮するとTCDDの体内負荷量はF1aとF1bとで異なるが、例数が少ないため今回はF1aとF1b両方の児を使用した。この実験により産まれた児で、生育途中で死亡した児を解剖し、腎臓のパラフィン包埋へマトキシリン-エオシン(H.E.)染色組織切片標本を測定材料に、動脈の内膜肥厚の程度を観察し、評価した。一部の標本にはコラーゲン染色であるピクリシウス赤染色を行った。なお、対照群の1例には、死産児の資料も使用した。今回の実験で観察した各群の例数は、対照群右6例、左7例、TCDD低投与量群右5例、左6例、TCDD高投与量群左右共に6例である。また、アカゲザルの個体番号、性別、生存日数を表1に示す。

### 内膜面積測定

腎臓の組織切片は顕微鏡下で観察し、弓状動脈あるいは葉間動脈のうち、切断面の形状が正円に近いものを選択し撮影した。各組織切片標本につき2~5カ所の動脈切断面を撮影した。

動脈の切断面から内皮と内弾性板をそれぞれ

れトレースした(図1)。Scion Imageを使用してトレース内の面積を測定した。内皮トレース面積を内腔面積、内弾性板トレース面積を内弾性板内面積と定義した(図1)。内弾性板内面積は内膜厚が無い状態での内腔面積を表す指標とした。つまり、内弾性板内面積と内腔面積の差を内膜面積とし、内弾性板内面積との比で提示した。

### C. 研究結果

対照群の弓状動脈あるいは葉間動脈は、内弾性板が明瞭で、良く発達した中膜が観察できた。内皮細胞は内弾性板にほぼ密着しており、ごく一部分に内弾性板と内皮の間に線維芽細胞様の細胞を含む疎性組織が認められた。内膜面積は、内弾性板内面積に対して右腎で10%程度、左腎で15%程度であり、右に比較して左腎の弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜がわずかに厚かった(図2)。

TCDD 低投与量群では、弓状動脈あるいは葉間動脈の組織像には対照群と比較して顕著な差は認められなかった。内膜面積は、右腎に関しては対照群に比較してやや大きいものの、有意差は認められなかった。左腎に関しては、対照群とほぼ同じ内膜面積であった(図2)。

一方で、TCDD 高投与量群の弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜には、組織学的に肥厚が認められた例があった(図3)。内弾性板内面積は対照と比較して同レベルでも、内膜が高度に肥厚している例が認められた。内膜肥厚が著しい例では、一般に内弾性板は不連続かあるいは一部で重複していた。内膜組織は細胞を含み、結合組織様であった。内膜組織内の細胞は線維芽細胞であり、線維様の構造も多少認められた(図4)。これらの線維はピクリシリウス赤に染色された(図5)。炎症細胞の内膜内への浸潤はほとんど認められな

かった。内膜にアテロームの形成は認められず、また、小動脈を含めて動脈壁に硝子変性も認められなかった(図4)。TCDD 高投与量群の弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜面積は、対照群のそれと比較して、右腎で3倍程度、左腎で2.5倍程度大きかった。しかし、TCDD 高投与量群の弓状動脈あるいは葉間動脈にも組織学的に肥厚が認められない例もあった。つまり、TCDD 高投与量群に認められた内膜肥厚の程度は、個体差が大きく、内膜面積のばらつきは極めて大きかった。そのため、t 検定では対照群との間に有意差を認めなかった。

対照群、TCDD 投与群共に、弓状静脈あるいは葉間静脈に内膜肥厚は認められなかった(図6)。

### D. 考察

本研究において、TCDD 高投与量群に腎弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜が肥厚している例が認められた。通常、腎臓の動脈計の内膜肥厚の程度には年齢依存的な側面があり、高血圧によって進行する。したがって、血管系の中で弓状動脈については、小児ではわずかな内膜肥厚が認められることがあるものの、正常小児ではほとんど内膜の肥厚は無いとされる。本研究においても、対照群の腎弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜面積は、内弾性板内面積の10~15%程度である。それに対して、TCDD 高投与量群では、内膜面積は内弾性板内面積の30%程度に達していた。TCDD 高投与量群の児の腎に異常が引き起こされることはすでに平成15年度および16年度の報告書で報告している。今までに確認されたもっとも重篤な腎異常は、高度な線維化と腎小体の矮小化(異形性)である。これらの報告を総合して考慮した場合、TCDD は腎形成に悪影響を及ぼすことが強く示唆される。



なお、本研究において弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜面積は、左側腎において右側腎より大きかった。これは左側腎のほうが大動脈により近いこと、血圧が高く、また、下大静脈により遠いため、うっ血も起こりやすいためであると考えられる。

TCDD 高投与量群において認められ、先に報告された高度線維化の例は、本研究においては内膜面積の測定は行っていない。この例では、内膜肥厚の程度は著しく、内腔がほとんど閉塞していた弓状動脈も認められた。腎線維化の程度も著しく、腎小体や尿細管がほとんど消失し、線維組織に置換されている部も認められた。また、線維化の程度が軽い部でも、腎小体の異形性は著しかった。線維化そのものは腎柱部に強く認められ、葉間血管周囲の結合組織が特に増殖していた。また、本研究において、腎臓の線維化が認められていない例でも弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜肥厚の程度が著しい例があった。つまり、今回観察された弓状動脈あるいは葉間動脈の内膜肥厚は、腎の線維化に伴う二次的な変化ではないと考えられる。

TCDD 投与群の腎病変において、血管病変がまず一次的に引き起こされた場合、児の年齢から、さらに腎の細動脈に関してはその壁にフィブリノイド壊死が認められないことから、血圧異常が血管病変の因子になったとは考えにくい。TCDD が結合組織増殖に積極的に作用する可能性は否定できないが、肝小葉間動脈や心冠状動脈など腎臓の動脈以外の動脈系には内膜肥厚や硬化をきたしていると思われる所見は得られていない。また、腎血管に関しても、内膜肥厚が認められるのは動脈系のみで、静脈には内膜肥厚は認められていない。このように選択的な部に影響を与えることから、TCDD が結合組織増殖に単純に関わっているとは考えにくい。

本研究において、TCDD 低投与量群には、対照と比較して内膜の肥厚は認められなかった。今後、例数の蓄積が必要であると思われるが、今回の結果からは、TCDD の腎組織に与える影響を指標としたときに、現在設定されている TDI は妥当であると考えられた。

## E. 結論

胎生・授乳期のアカゲザルに、TCDD をラット実験から得られている最小毒性量で 3 倍量(体内負荷量換算)暴露したところ、児の腎弓状動脈あるいは葉間動脈に内膜肥厚が認められた例があった。TCDD は妊娠および授乳期母体へのこの暴露量において、児の腎形成に悪影響をおよぼす可能性が示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文

なし

### 2. 学会発表

1) 隅田寛、安田峯生、山下敬介、角崎英志、有馬宏明

2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン(TCDD)の胎生・授乳期暴露を受けたアカゲザル腎弓状動脈の内膜肥厚。第44回日本先天異常学会学術集会抄録集 86(抄録)、2004(第44回日本先天異常学会学術集会、3004年7月15-17日、佐賀)

2) Fukusato T, Korenaga T, Ohta M, Asaoka K, Sumida H, Yasuda M, Arima A, Murata N, Kubota S

Prenatal and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) induces renal injury in rhesus monkeys. 日本内分泌攪乱化学物質学会第7回研

究発表会要旨集 114(抄録)、2004 (日本内分泌攪乱化学物質学会第7回研究発表会、2004年12月14-15日、名古屋)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

表 1

	動物番号	性別	生存日数	右腎	左腎
対照群	3a	♀	453	○	○
	9a	♀	435	○	○
	15a	♀	723	○	○
	49a	♂	死産	○	○
	61a	♂	1297	○	○
	1b	♂	365		○
	3b	♀	615	○	○
低投与量群	16a	♂	1044	○	○
	21b	♂	595	○	○
	23b	♀	616		○
	24b	♂	583	○	○
	27b	♂	614	○	○
	65b	♂	593	○	○
高投与量群	38a	♀	425	○	○
	45a	♀	422	○	○
	51a	♂	406	○	○
	68a	♂	361	○	○
	31b	♂	536	○	○
	38b	♂	631	○	○

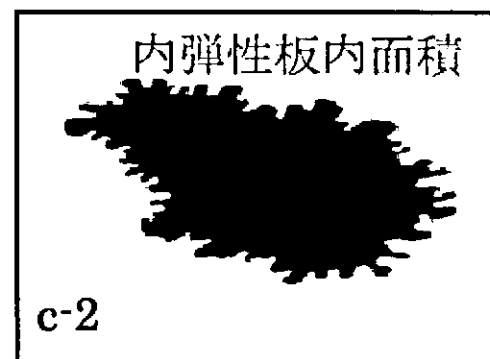
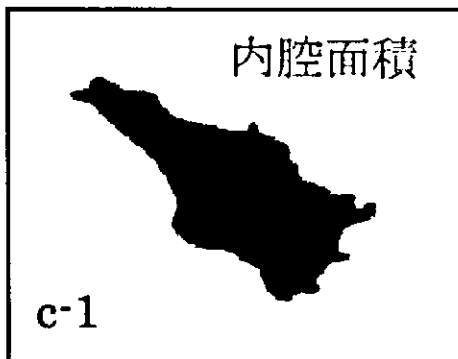
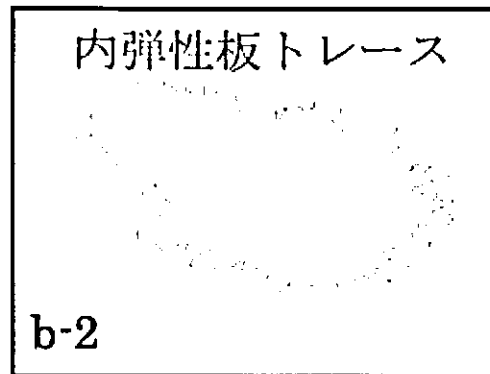
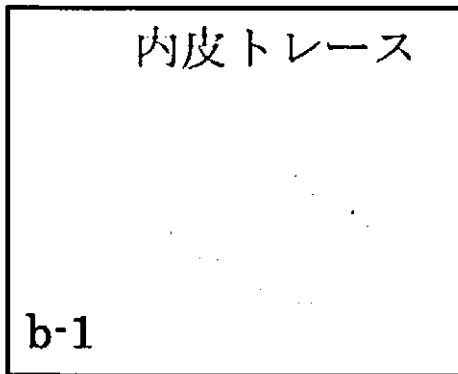
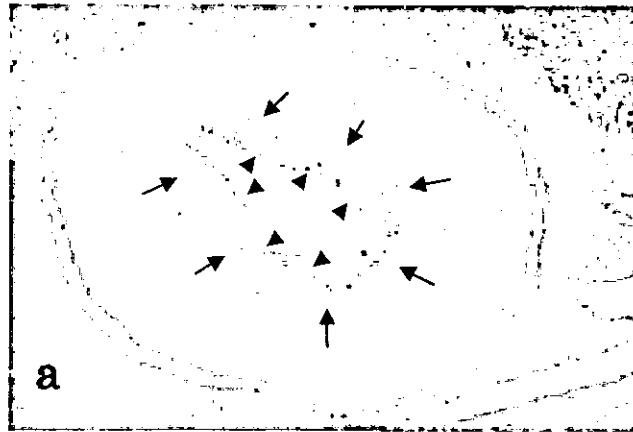


図1 内膜面積測定方法

弓状動脈あるいは葉間動脈の組織断面写真(a)より内皮(矢頭)と内弾性板(矢印)をトレースした。それぞれのトレース図(b-1、b-2)から面積を測定し、内腔面積(c-1)、内弾性板内面積(c-2)とした。