

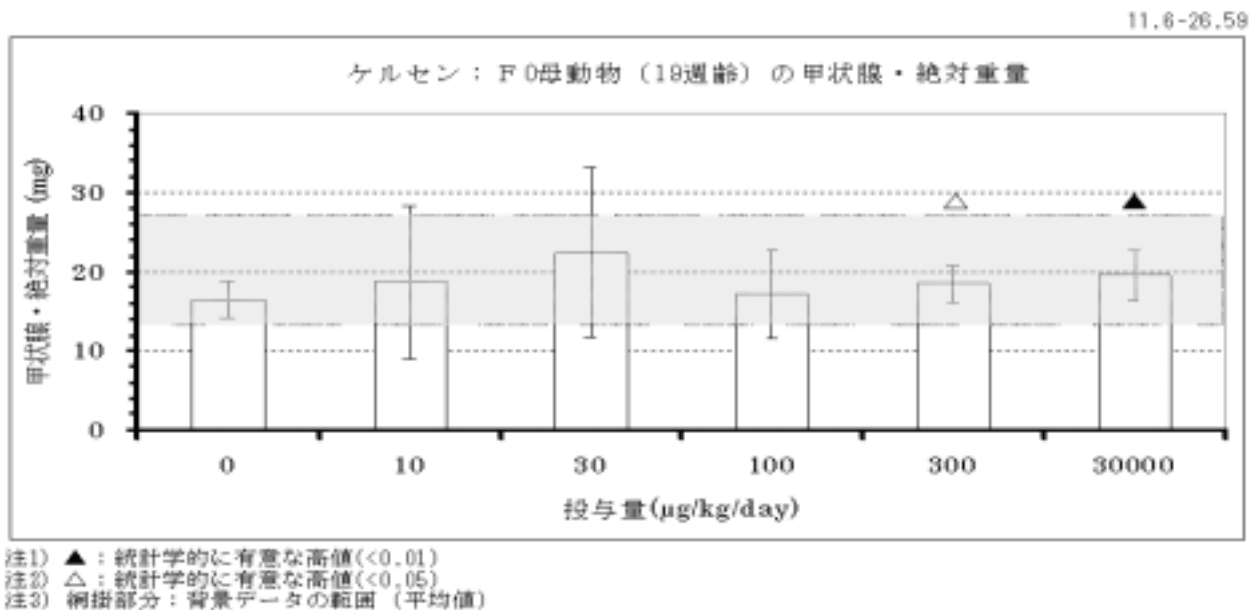
**平成 15 年度選定物質を対象とした  
人健康への内分泌かく乱作用による影響に関する  
哺乳類を用いた試験結果（案）**

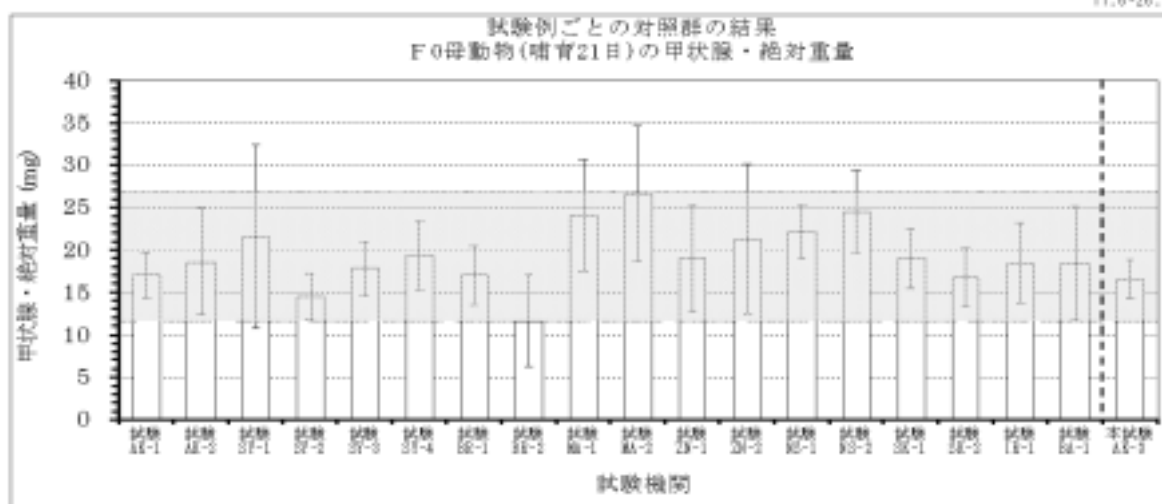
**．平成 15 年度優先物質の試験結果について**

**1．試験結果の評価を保留した項目と対応**

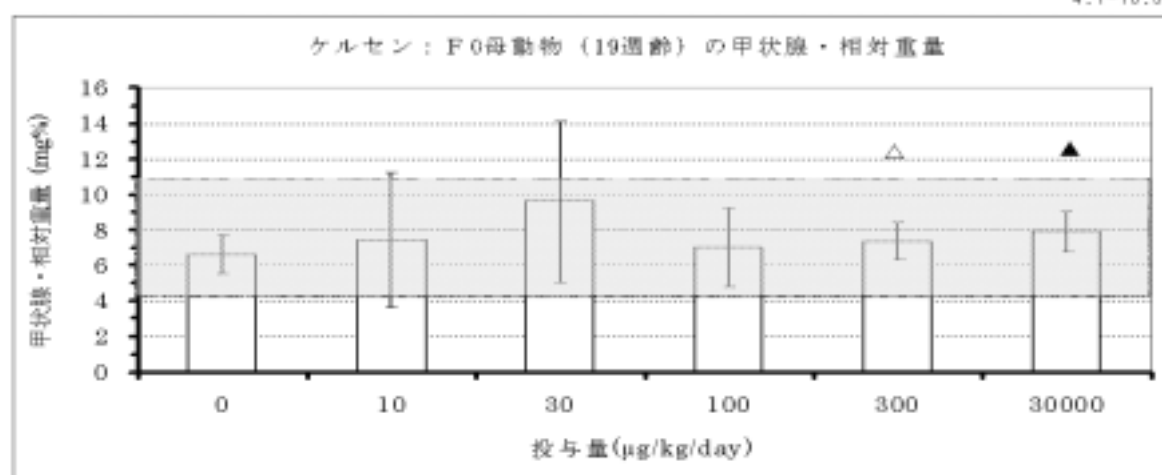
平成 15 年度優先物質の試験結果については平成 17 年度第 2 回化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会(平成 17 年 10 月 31 日開催)において、ケルセンについて、F0 母動物の 300 $\mu$ g/kg/day 投与群及び 30mg/kg/day 投与群において背景データに含まれる甲状腺(絶対、相対)重量の統計学的に有意な高値及び 30 $\mu$ g/kg/day 投与群において背景データに含まれる甲状腺(絶対、相対)重量の高値(下図参照)が認められ、ケルセンは、投与後に甲状腺にも分布するとの報告<sup>3)</sup>が得られており、甲状腺の病理組織学的検査を実施し、その結果を踏まえて評価を行うこととしていた。なお、繁殖成績を含むその他の項目には有意な変化は認められなかった。

今般、甲状腺の病理組織学的検査の結果を踏まえて、ケルセンの試験結果の評価を行った。

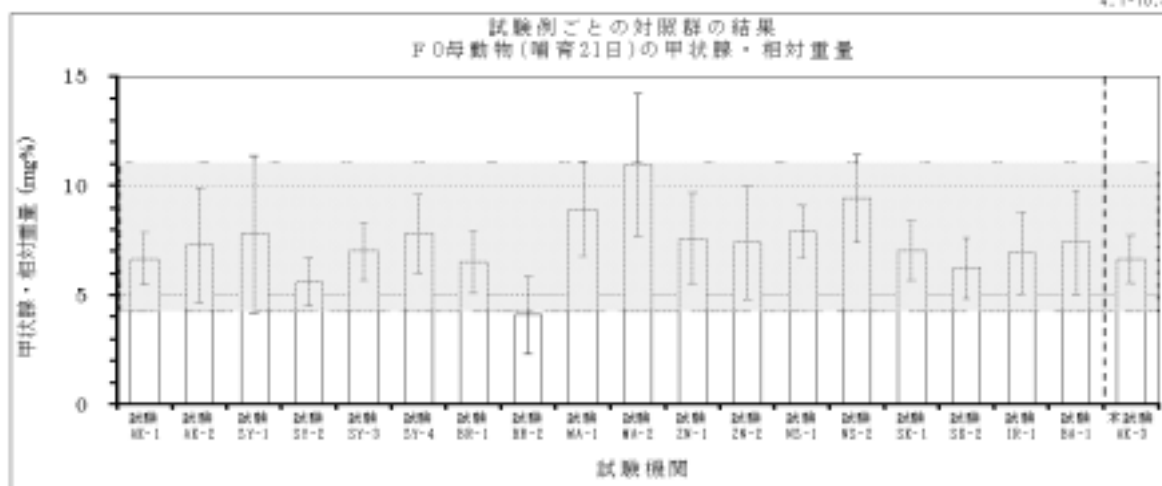




注) 網掛部分：背景データの範囲（平均値）



注1) ▲：統計学的に有意な高値(<0.01)  
注2) △：統計学的に有意な高値(<0.05)  
注3) 網掛部分：背景データの範囲（平均値）



注) 網掛部分：背景データの範囲（平均値）

## 2. 追加検査の結果

### (1) 甲状腺の病理組織学的検査

組織学的変化の有無を確認するために、F0 母動物全例の甲状腺について病理組織学的検査を実施した。

10µg/kg/day 投与群、30µg/kg/day 投与群及び 100µg/kg/day 投与群において、それぞれ 13 個体中、2 個体、3 個体及び 1 個体観察された甲状腺組織の変化<sup>\*\*</sup>は、「濾胞上皮細胞の Vacuolar change (Vacuolar change in the thyroid follicular cells<sup>1)</sup>, Vacuolar change of the follicular epithelium<sup>2)</sup>)」と考えられた (写真 2 参照)。これらの個体は肉眼的に甲状腺の大型化がみられ、甲状腺重量が高値であった個体と一致した。

<sup>\*\*</sup>濾胞上皮細胞の基底側の細胞質内に境界明瞭な嚢状構造が認められ、その中に均質な蛋白様貯留物を含んでいるが、内腔側の細胞質は著しく少ない。濾胞上皮細胞はやや大型化しているが、核は小さく、濃縮しており濾胞の内腔側に位置している。コロイドの軽度の減少や濾胞上皮の脱落も認められるが、吸収窩は認められない。

1) Shimoi, A., C. Kuwayama, M. Miyauchi, C. Kakinuma, M. Kamiya, T. Harada, T. Ogihara, M. Kurokawa and K. Mizuguchi (2001) Vacuolar change in the thyroid follicular cells in Br/Han: WIST®Jcl (GALAS) rats. *Journal of Toxicologic Pathology*, vol. 14, p253-257

2) Doi, T., M. Namiki, M. Ashina, N. Toyota, H. Kokoshima, T. Kanno, Y. Wako, M. Tayama, Y. Nakashima, M. Nasu and M. Tsuchitani (2004) Morphological and endocrinological characteristics of the endocrine systems in Wistar Hannover GALAS rats showing spontaneous dwarfs. *Journal of Toxicologic Pathology*, vol. 17, p197-203

最高用量(30mg/kg/day)投与群の 12 個体中 7 個体において認められた甲状腺組織の変化<sup>\*</sup>は、「濾胞上皮細胞肥大 (Thyroid follicular epithelial hypertrophy<sup>3)</sup>)」と考えられた (写真 3 参照)。この変化は、対照群、100µg/kg 投与群及び 300µg/kg 投与群でそれぞれ 13 個体中、2 個体、1 個体及び 3 個体観察された。

<sup>\*</sup>濾胞上皮細胞の大型化、円柱化が認められ、その細胞質は正常なものと比較して粗造である。濾胞は大小不同で不整形を呈する傾向がみられる。濾胞上皮細胞の核はやや大型でクロマチンは粗であるが、正常な濾胞上皮細胞の核と同様に基底側に位置している。濾胞内腔に貯留するコロイドは網状あるいは泡沫状を呈しており、コロイドの減少が示唆される。

3) IPCS, Dicofol <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v92pr08.htm>

追加検査結果(淡黄色表示) :

世代		親: F0						
投与量( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		0	10	30	100	300	30 mg/kg	
親動物	臓器重量 (19週齢)	検査動物数	13	13	13	12	12	12
		絶対重量	体重(g)	250.4	251.2	250.8	246.1	250.5
	$\pm$		18.0	14.0	22.2	17.1	18.2	16.3
		甲状腺(mg)	16.5	18.7	22.5	17.3	18.5	19.6
		$\pm$	2.3	9.6	10.8	5.7	2.3	3.1
		甲状腺(mg)*	16.5	14.8	17.1	15.8	18.5	19.6
		$\pm$	2.3	2.0	3.0	2.2	2.3	3.1
	相対重量 (%)	甲状腺( $\times 10^{-3}$ )	6.65	7.45	9.06	7.04	7.39	7.93
		$\pm$	1.10	3.84	4.51	2.21	0.99	1.17
		甲状腺( $\times 10^{-3}$ )*	6.65	5.93	6.89	6.45	7.39	7.93
$\pm$		1.10	0.86	1.55	0.87	0.99	1.17	
剖検所見	検査動物数	13	13	13	13	13	13	
	最終生存動物数	13	13	13	12	13	12	
	甲状腺の大型化(両側)	0	2	3	1	0	0	
	肝臓肥大	0	0	0	0	0	1	
	腎盂拡張(片側)	0	0	1	0	0	0	
病理組織 学的検査 : 甲状腺	検査動物数	13	13	13	13	13	12	
	濾胞上皮細胞肥大 (極軽度)	2	0	0	1	3	7	
	濾胞上皮細胞の Vacuolar change**	0	2	3	1	0	0	

および : 統計学的に有意な高値(それぞれ p 0.05 および p 0.01)。

\*: 病理学的特徴(肉眼所見, 重量, 組織所見)から、遺伝的異常を持つと推測される動物の値を除外して計算した。

\*\* : 濾胞上皮の基底側細胞質に囊状の境界明瞭な構造の中に蛋白性の貯留物を伴う軽度の変化。

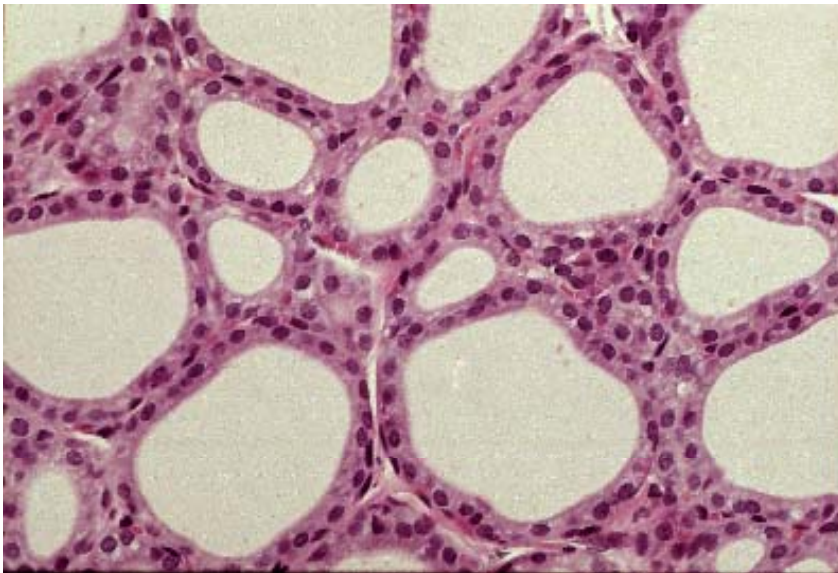


写真1 对照群  
(個体番号 151) :  
異常なし

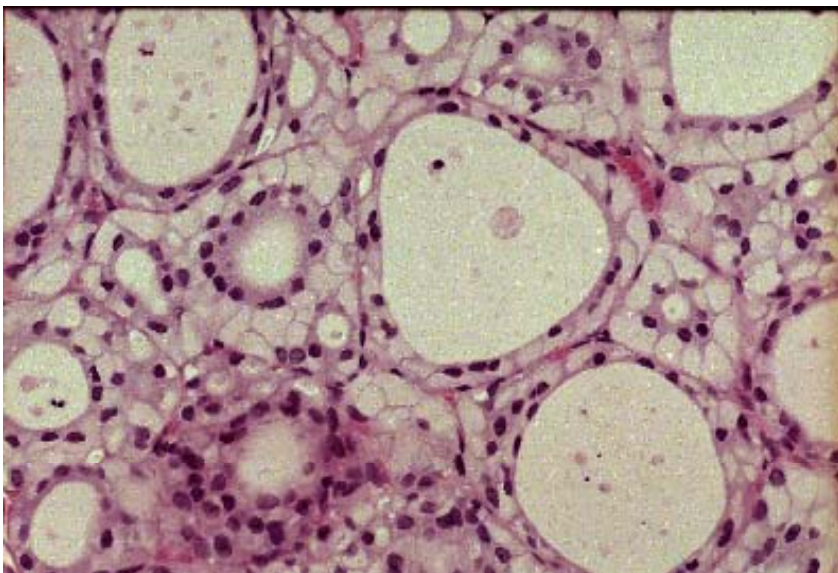


写真2 10 µg/kg/day 投与群  
(個体番号 256) :  
濾胞上皮細胞の Vacuolar change

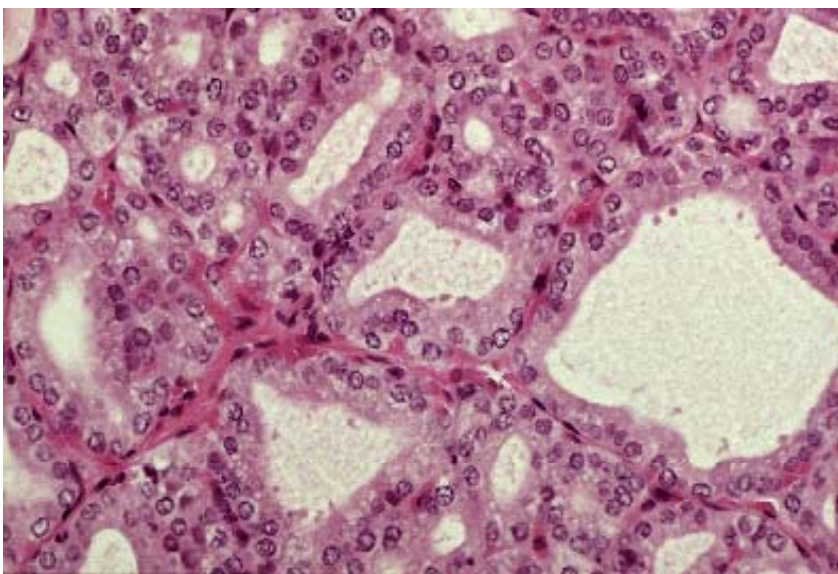


写真3 30 mg/kg/day 投与群  
(個体番号 660) :  
濾胞上皮細胞肥大

## (2) 遺伝学的解析

改良1世代試験に用いてきた Wistar Hannover 系統のラットの中に自然発生的な突然変異によると考えられる異常が紛れ込んでいることが想定され<sup>1,2)</sup>、その結果として、試験を実施した際に被験物質投与に起因する変化なのか、突然変異による異常なのかを判別することは困難であった。このため、遺伝子解析によりこの課題を解決できる可能性を検討するために、平成17年度から ExTEND2005 基盤的研究として「哺乳類試験において観察される変化についての研究」(残留農薬研究所及び日本獣医畜産大学)を実施している。平成17年度の研究成果を以下に示した。

Wistar Hannover 系統には、突然変異ホモ個体、突然変異ヘテロ個体及び正常個体が存在することが、thyroglobulin 遺伝子を解析する事で判明した。

突然変異個体では、thyroglobulin 遺伝子について、mRNA レベルで第8エクソンの欠失 (deletion) が認められた。

mRNA に検出される第8エクソンの欠失は、ゲノム DNA 上で第7イントロンの末尾に起こった「g」から「t」への1塩基置換 (single nucleotide polymorphism, SNP) によることをシーケンシングにより確認した。

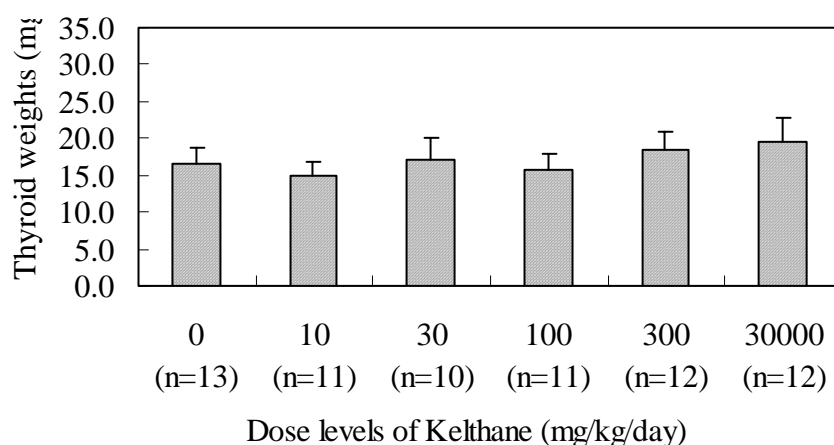
突然変異ヘテロ個体には甲状腺の大型化 (重量の高値) が認められ、突然変異ホモ個体は矮小となることが認められた。

ケルセンの改良1世代試験で得られた F0 母動物の肝臓ホルマリン固定標本からゲノム DNA を抽出し、遺伝子型を判定中。

### 3. 追加検査結果のまとめと評価

病理組織学的検査において甲状腺の「濾胞上皮細胞の Vacuolar change」が認められ、甲状腺重量が高値であった個体の測定値を除外して、統計処理を実施したところ、300 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  投与群での統計学的に有意な高値は、認められなくなった(下図参照)。また、10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  投与群、30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  投与群及び100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  投与群での測定値の比較的大きなばらつきも、対照群、300 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  投与群及び30 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$  投与群とほぼ等しくなった。

遺伝的解析において、Wistar Hannover 系統のラットには甲状腺の大型化(重量の高値)が認められる突然変異ヘテロ個体が混在することが確認された。



甲状腺の組織学的検査結果及び遺伝学的解析結果より、F0 母動物の10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  投与群、30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  投与群及び100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  投与群において認められた甲状腺(絶対、相対)重量の高値は、自然発生的な突然変異による異常と考えられた。

ケルセンについては、繁殖成績を含むその他の項目には有意な変化は認められなかったため、今回の試験結果において、低用量(文献情報等により得られた人推定ばく露量を考慮した比較的低用量)においては、明らかな内分泌かく乱作用は認められないと考えられた。

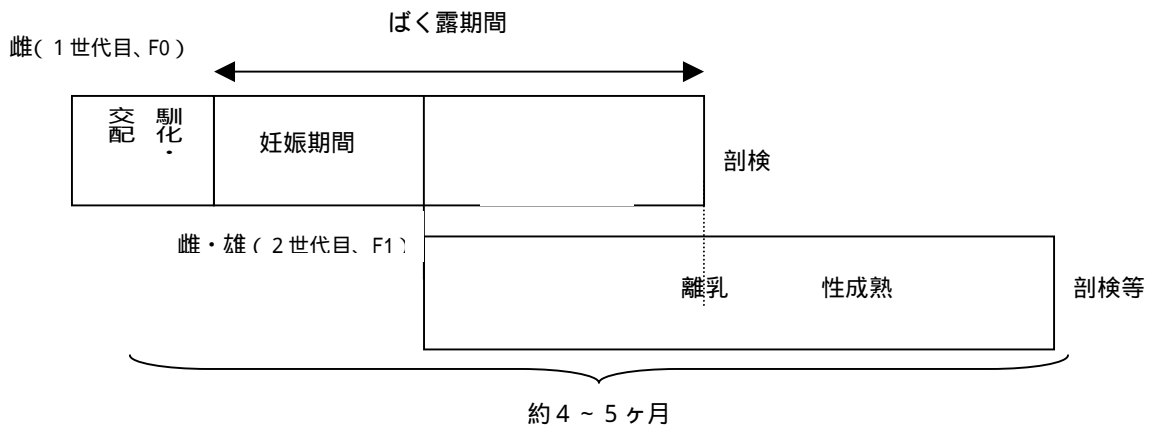
なお、ケルセンについては、既に農薬登録は失効しており(平成16年3月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(平成17年4月)。





物質名	試験結果
p,p'-DDD	文献情報等により得られたヒト推定ばく露量を考慮した用量(4用量群で実施)での明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
p,p'-DDE	文献情報等により得られたヒト推定ばく露量を考慮した用量(4用量群で実施)での明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
o,p'-DDT	文献情報等により得られたヒト推定ばく露量を考慮した用量(4用量群で実施)での明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
p,p'-DDT	文献情報等により得られたヒト推定ばく露量を考慮した用量(4用量群で実施)での明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

(参考)



ラットの妊娠期間はおよそ22日、生後、離乳まで21日。雌の場合、妊娠可能となるまでは離乳後およそ30~35日、雄の場合は、包皮分離まで40日前後である。妊娠期間から離乳までの間およそ43日間にわたり試験物質によりばく露される。

図 ラット改良1世代試験の概要