

## 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）

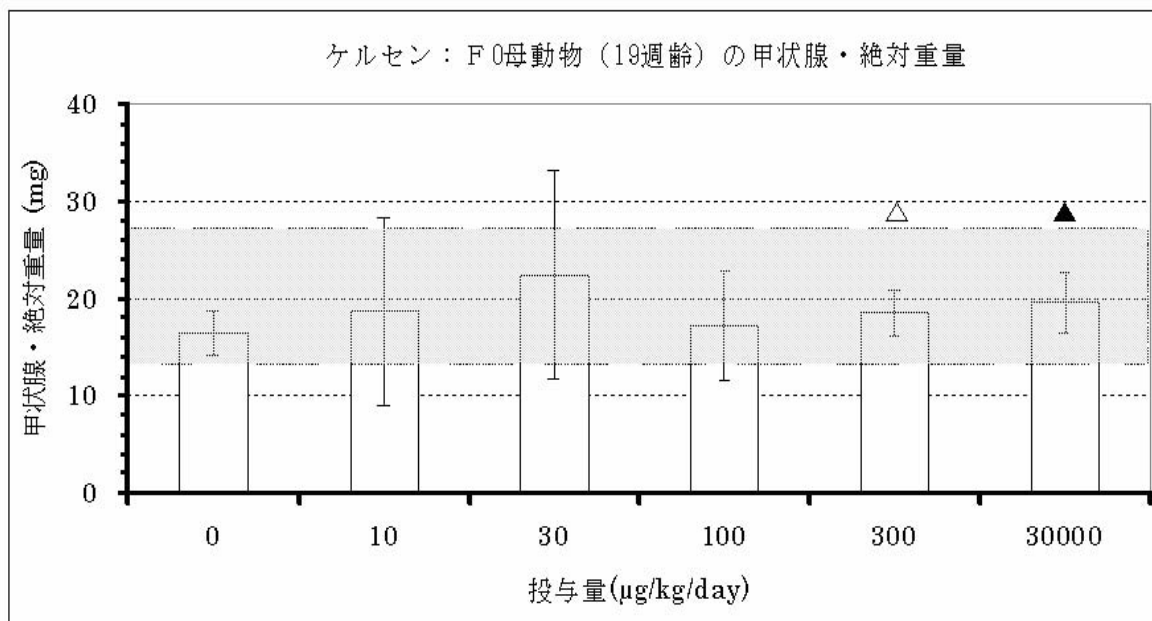
### 平成 15 年度優先物質の試験結果について

#### 1. 試験結果の評価を保留した項目と対応

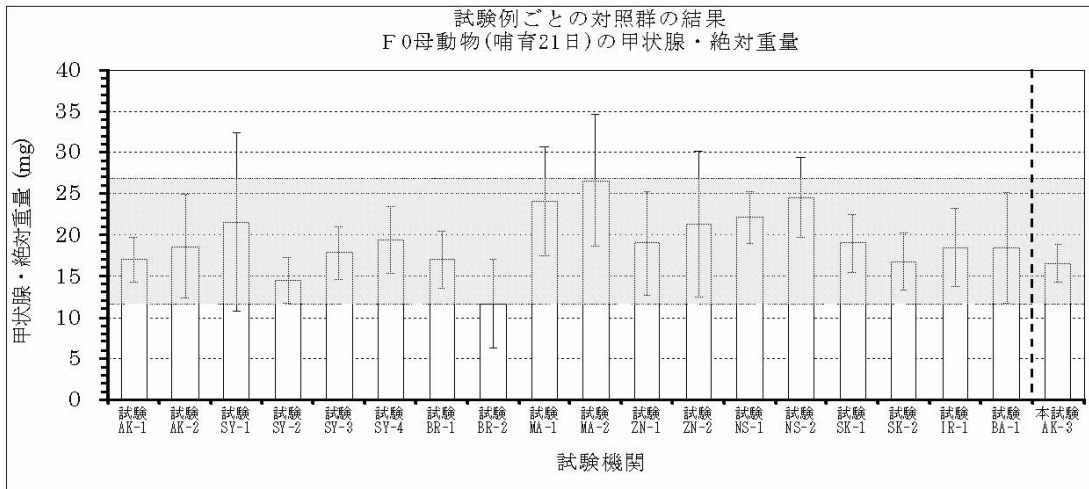
平成 15 年度優先物質の試験結果については平成 17 年度第 2 回化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会(平成 17 年 10 月 31 日開催)において、ケルセンについて、F0 母動物において背景データに含まれる甲状腺(絶対、相対)重量の統計学的に有意な高値(下図参照)が認められ、投与後、甲状腺に分布するとの報告が得られており、甲状腺の病理組織学的検査を実施し、その結果を踏まえて評価を行うこととしていた。なお、繁殖成績を含むその他の項目には有意な変化は認められなかった。

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。

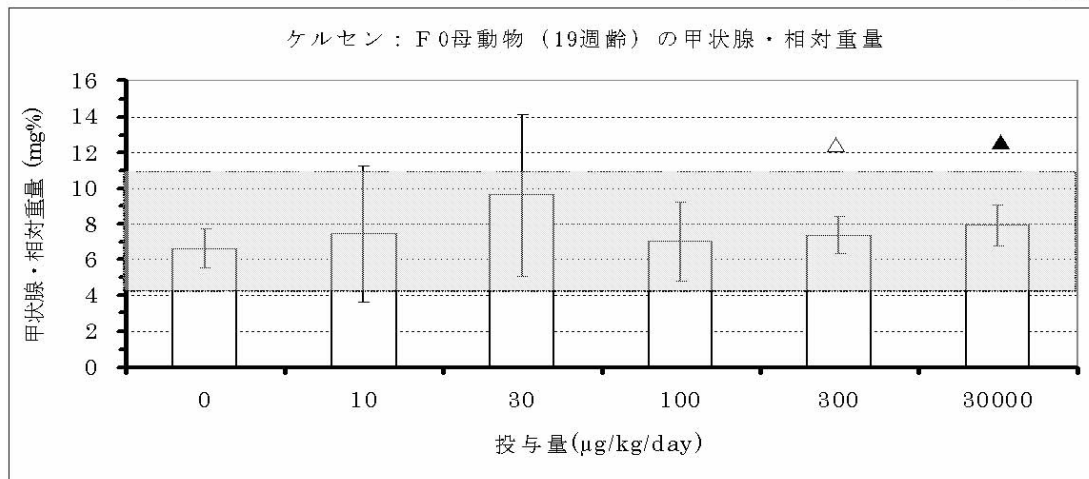
11.6-26.59



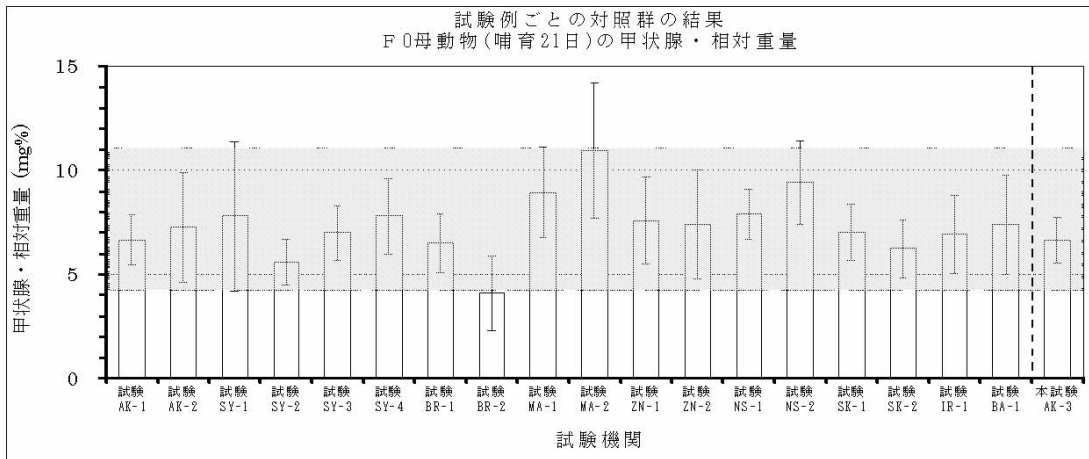
注1) ▲：統計学的に有意な高値(<0.01)  
注2) △：統計学的に有意な高値(<0.05)  
注3) 網掛部分：背景データの範囲（平均値）



注) 網掛部分: 背景データの範囲 (平均値)



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。

最高用量(30mg/kg/day)において 12 個体中 7 例において認められた甲状腺組織の変化は、「濾胞上皮細胞肥大」\*と考えられた(写真参照)。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 例、1 例及び 3 例観察された。

\*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。

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 例、3 例及び 1 例観察された甲状腺組織の変化は、「濾胞上皮細胞変性」\*\*と考えられた(写真参照)。これらの個体は肉眼的に甲状腺の肥大がみられ、重量の高値であった個体と一致した。

\*\*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。

追加検査結果(淡黄色表示)：

世代		親: F0						
投与量(µg/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	247.1
		±	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
		±	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
		±	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
	±	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	
	±	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	
	甲状腺の肥大(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	
	濾胞上皮細胞変性**	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嚢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肥大。

(写真添付)

## (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、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7エクソンの欠失(deletion)が認められた。

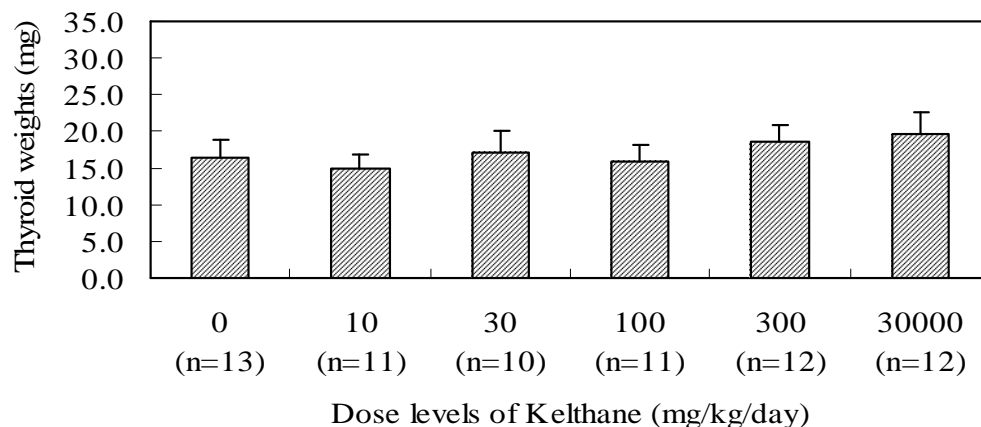
mRNA に検出される第7エクソンの欠失は、ゲノム DNA 上で第6イントロンの末尾に起こった「g」から「t」への1塩基置換(single nucleotide polymorphism, SNP)によることをシーケンシングにより確認した。

突然変異ヘテロ個体には甲状腺腫大(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「濾胞上皮細胞変性」が認められ、甲状腺重量が高値であった個体を除外して、統計処理を実施したところ、最高用量(30mg/kg/day)未満で認められた有意な高値は認められなかった(下図参照)。また、測定値のばらつきも全投与群でほぼ等しくなった。遺伝的解析において、Wistar Hannover 系統のラットには甲状腺腫大(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。



以上より、F0 母動物において認められた甲状腺(絶対、相対)重量の統計学的に有意な高値は、自然発生的な突然変異による異常と考えられ、ケルセンについては、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曝露量を考慮した比較的 low 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)。

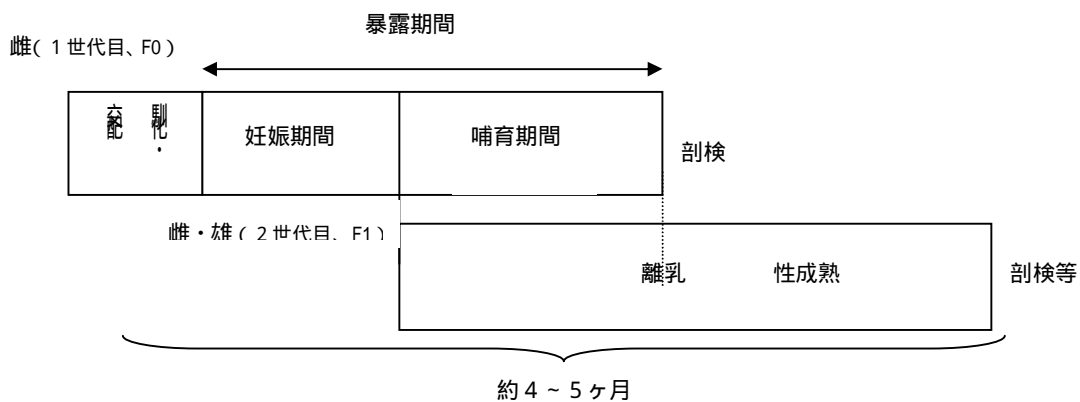
表 哺乳類（ラット）を用いた改良1世代試験の結果

物質名	試験結果
アズピリン酸ジ-2-エチルヘキシル	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
アミトロール	文献情報等により得られたヒト推定暴露量を考慮した用量(3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。
アルトリン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
塩化トリフェニルス	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
塩化トリフェニルス	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
エンドリン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
オクタロステリン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
4-t-オキシルフェニール	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
cis-クロルデン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
ケルセン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
2,4-ジクロロフェニール	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
デイルドリン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
4-ニトロトルエン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
trans-ナクロール	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
4-ニルフェニール(分岐型)	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
ビスフェニール A	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
フタル酸ジエチル	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
フタル酸ジシクロヘキシル	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
フタル酸ジ-n-ブチル	文献情報等により得られたヒト推定暴露量を考慮した用量(5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。
フタル酸ジプロピル	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
フタル酸ジヘキシル	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
フタル酸ジペンチル	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
フタル酸ジフェニル	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
-ヘキサクロシクロヘキサン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
ヘキサクロヘンセン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
ヘプタクロル	文献情報等により得られたヒト推定暴露量を考慮した用量(3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。
ヘルマトリン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
ヘンゾフェノン	文献情報等により得られたヒト推定暴露量を考慮した用量(3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。
ヘンタクロロフェニール	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
マイルックス	文献情報等により得られたヒト推定暴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。
マラチオン	文献情報等により得られたヒト推定暴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。

物質名	試験結果
p,p'-D D D	文献情報等により得られたヒト推定暴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'-D D E	文献情報等により得られたヒト推定暴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'-D D T	文献情報等により得られたヒト推定暴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'-D D T	文献情報等により得られたヒト推定暴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暴露される。

図 ラット改良1世代試験の概要