

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告要旨

甲状腺腫瘍に対する内分泌攪乱物質の影響に関する研究
分担研究者 広瀬 雅雄 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 部長

研究要旨：雌 F344 ラットを卵巣摘出し、一週後に diisopropanolnitrosamine (DHPN)によりイニシエーション処置し、1 週後からサルファジメトキシシン(SDM)を8週間混餌投与した。その後、0.5 ないし 0mg のエストラジオール・ベンゾエート(EB)を皮下に4週間毎に埋植し、25 週後に殺処分した。両群で過形成、腺腫、癌が認められ、DHPN/SDM/EB 群での腺腫の発生頻度・発生個数と癌の PCNA 陽性率は DHPN/SDM 群に比し有意に増加した。雌 F344 ラットを卵巣摘出(OVOX)し、3 週間ヨード欠乏食 (ID) を投与した後、50 ないし 0mg/kg のメチルニトロソ尿素 (MNU) を一回静脈内投与した。その後、0.5 ないし 0mg のエストラジオール・ベンゾエート(EB)を4週間に1回の頻度で皮下埋植し、26 週後に殺処分した。病理組織学的には、ID/MNU/EB 群に甲状腺の濾胞上皮のう胞状過形成、腺腫と癌が、MNU/EB 群で過形成と腺腫が誘発されたが、ID/MNU/EB 群の過形成が有意に増加した。その他の群ではこれらの病変は誘発されなかった。

A.研究目的

甲状腺腫瘍誘発には、ネガティブ・フィードバック機構を介した下垂体からの甲状腺刺激ホルモン(TSH)の分泌促進が大きく関与している。しかし、内分泌攪乱物質のひとつである合成のエストラジオール・ベンゾエート(EB)は、N-methyl-N-nitrosourea(MNU)をイニシエーターとして用いたラット二段階発癌モデルにおいて、甲状腺腫瘍の誘発を増強することが既に報告されており、そのメカニズムとしては誘発された甲状腺腫瘍の estrogen receptor に EB が直接作用して甲状腺腫瘍誘発を増強する可能性が示唆されている (Ito, A.ら J. Toxicol. Pathol. 8: 285-289. 1995)。しかし、その作用発現メカニズムについては必ずしも未だ明確にされていない。また、他の内分泌攪乱物質にこのような作用があるか否かはほとんど調べられていない。

昨年度は、DHPN によりイニシエーション処置を行い、甲状腺発がんプロモーターであるサルファジメトキシシン(SDM)でプロモーション処置し増殖性病変を誘発させたラット甲状腺二段階発がんモデルを用いて、強いエストロゲン作用を有するエチニールエストラジオール(EE)や内分泌攪乱物質のアトラジン、メトキシクロール、ビスフェノールAを投与し、それらの甲状腺発がん促進作用を検討したところ、い

ずれの物質にも促進作用は認められなかった。特に EE 投与群では文献と異なる陰性結果が得られたため、今年度は、EE を EB に変更し、投与方法も混餌投与から皮下埋植に変更し、陽性対照群で明らかな甲状腺腫瘍誘発の増強が引き起こされるか否かについての実験を行った。

B.研究方法

実験1：雌 F344 ラットを卵巣摘出(OVOX)し、一週後に DHPN を一回皮下投与してイニシエーション処置とした。DHPN 処置1 週後から 1000 ppm の SDM を8週間混餌投与した後、第1群には 0.5mg のエストラジオール・ベンゾエート(EB)を4週間に1回の頻度で皮下埋植し、第2群には基礎飼料を25 週間混餌投与した。投与終了後に全動物を殺処分し、血液中の甲状腺関連ホルモンを測定すると共に、甲状腺を組織学的に観察し、EB の甲状腺腫瘍誘発促進作用の有無を比較検討した。

実験2：60 匹の雌 F344 ラットを卵巣摘出(OVOX)し、第1から3群(各群15 匹)には3 週間ヨード欠乏食(ID)を投与し、第4群には基礎食を3 週間投与した。その後、第1、2および4群には 50mg/kg のメチルニトロソ尿素(MNU)を一回静脈内投与してイニシエーション処置とした後、第1、3および4群には 0.5mg のエストラジオール・ベンゾエート(EB)を4週

間に1回の頻度で皮下埋植し、第2群には基礎飼料を26週間混餌投与した。投与終了後に全動物を殺処分し、甲状腺を組織学的に観察し、EBの甲状腺腫瘍誘発促進作用の有無を比較検討した。

C. 研究結果

実験1：第1群(OVOX/DHPN/SDM/EB群)での体重増加抑制は、EBの投与後から著しく顕著となった。血中甲状腺刺激ホルモン(TSH)は第1群と第2群の間に明らかな差異はみられなかった。臓器重量では、第1群の甲状腺の絶対および相対重量の平均値は第2群(OVOX/DHPN/SDM/BD群)に比し、著しく高値を示したが、標準偏差値が大きいので統計学的には有意でなかった。組織学的には、両群に濾胞上皮の過形成、腺腫、癌が発現したが、第1群の腺腫の発生頻度と発生個数は第2群に比し有意に増加した(図1)。また、第1群の癌のPCNA陽性率も第2群に比し有意に増加した(図1)。剖検において、第1群の下垂体は、全例腫瘍化し、その絶対・相対重量は著しく増加した。また、第1群の子宮および肝の絶対・相対重量も第2群に比し、有意に増加した。

実験2：第1群(OVOX/ID/MNU/EB群)、第3群(OVOX/ID/EB群)と第4群(OVOX/MNU/EB群)での体重増加抑制は第2群(OVOX/MNU/EB群)に比しEB投与後から顕著となった。血中TSHは群間に有意な差はみられなかった。第1、3と4群の甲状腺重量の相対重量は第2群に比し有意に増加した。病理組織学的には、第1群に甲状腺の濾胞上皮のう胞状過形成、腺腫と癌が誘発されたが、第2から4群においては甲状腺増殖性病変は認められなかった(図2)。第1群のその過形成の発生頻度と発生個数は第2群に比し有意に増加した(図2)。第4群には過形成と腺腫が発現したが、有意な増加ではなかった。第1、3と4群の下垂体は腫瘍化し、その絶対・相対重量は第2群に比し有意に増加した。第1、3と4群の肝の絶対・相対重量も有意に増加した。

D. 考察

以上の成績より、今回の実験条件下では、EBは甲状腺濾胞上皮の増殖性病変の誘発を増強す

ることが明確となった。その増強メカニズムとしては、血中TSHが第1群で有意に増加しなかったことから、EBが甲状腺濾胞細胞を直接刺激している可能性が考えられ、その直接刺激により甲状腺増殖性病変の発生が増強したものと推察された。従って、前年度に同じプロトコルで実施したメトキシクロール、アトラジンおよびビスフェノールAの実験に関しては、これらの物質にEBのような甲状腺に対する発癌促進作用はないものと結論される。

一方、イニシエーターとしてMNUを使用し、イニシエーション前に甲状腺増殖刺激としてヨード欠乏食を投与していた実験2においては、EB投与により甲状腺増殖性病変が誘発され、EBによる増強作用が認められた。この成績は伊藤らの報告(J. Toxicol. Pathol. 8: 285-289, 1995)を支持するものであるが、血中TSHの増加はみられなかったことから、その甲状腺増殖性病変の誘発促進の原因が何であるかを今後探求しなければならない。

F. 研究発表：

1. 論文発表

Tamura, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M., Funakoshi, T., Yasuhara, K., Takegawa, K., Takagi, H. and Hirose, M.: Time course observation of serum thyroid-related hormone levels and thyroid proliferative lesions in rats treated with kojic acid after DHPN initiation. J. Toxicol. Sci. 24: 145-155. 1999.

2. 学会発表

高木久宜、三森国敏、小野寺博志、安原加壽雄、糀谷高敏、広瀬雅雄：卵巣摘出ラットにおける内分泌攪乱化学物質の甲状腺増殖性病変に対する修飾作用。第26回日本トキシコロジー学会学術年会。1999年7月。

広瀬雅雄：内分泌臓器の毒性変化と内分泌かく乱化学物質：甲状腺。第16回日本毒性病理学会学術年会シンポジウム。2000年1月。

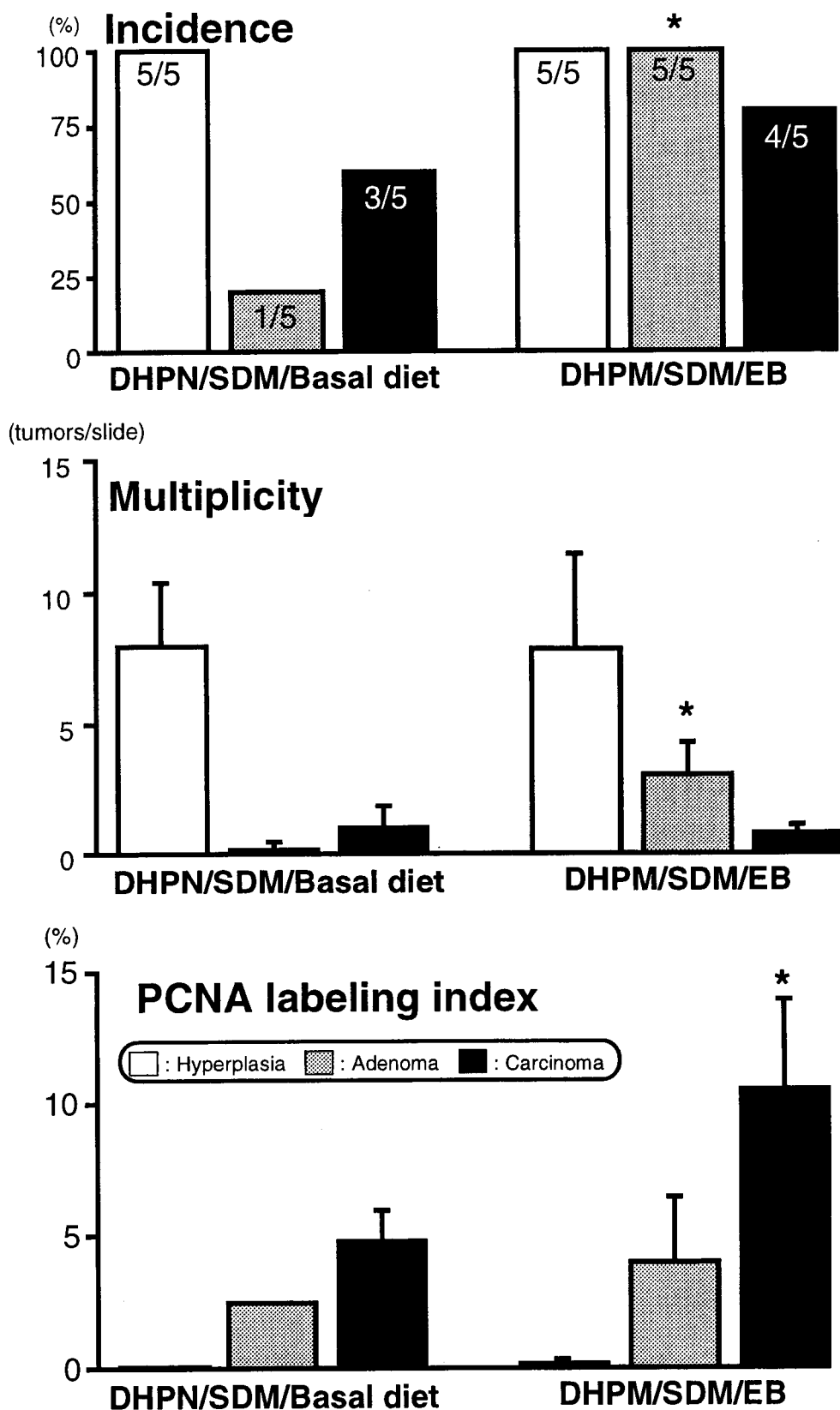
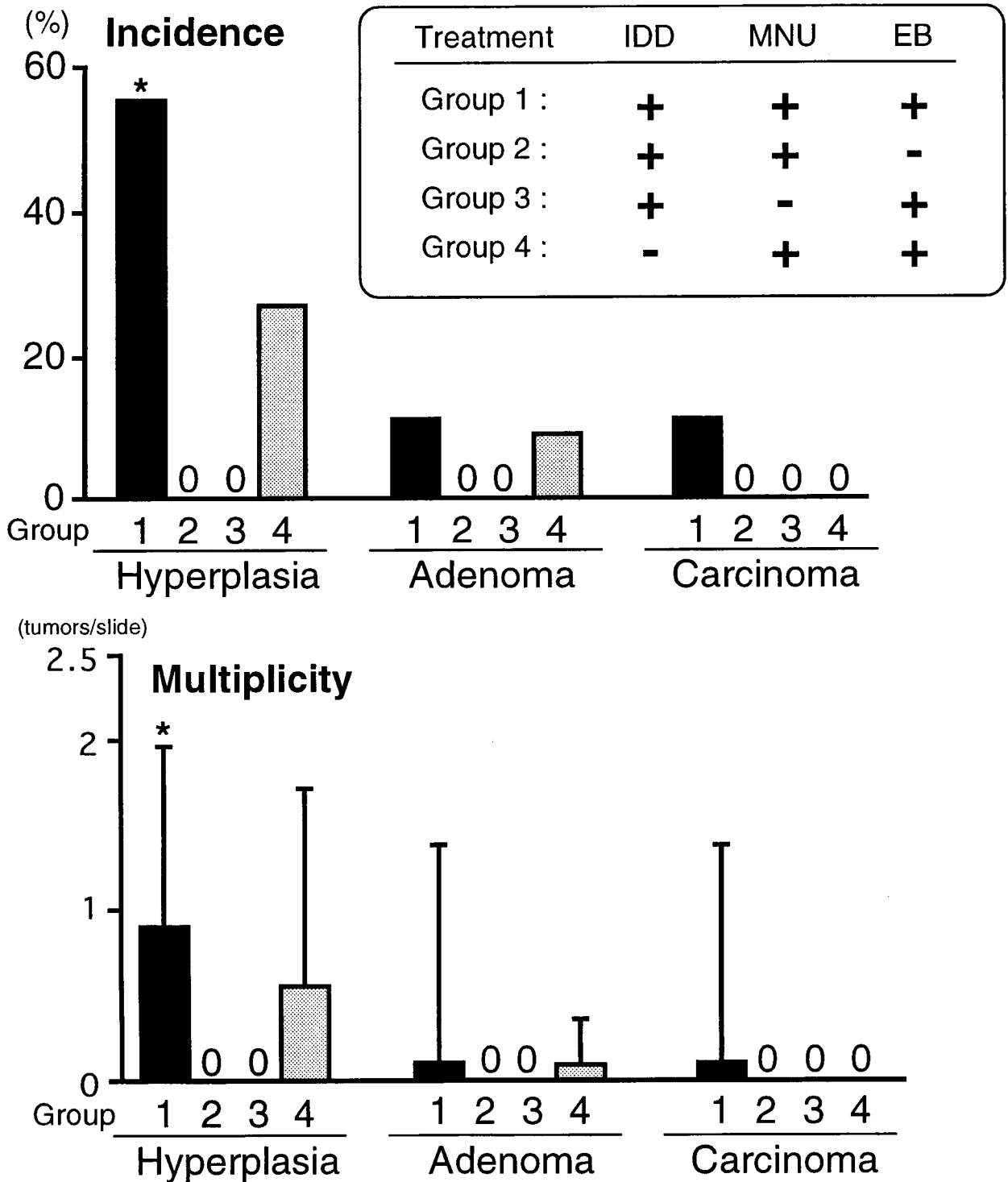


Fig.1 Histological findings of thyroid proliferative lesions in ovariectomized rats given estradiol benzoate (EB) after DHPN and SDM treatment



* : Significantly different from group 2 at $p < 0.05$.

Fig.2 Incidence and multiplicity of thyroid proliferative lesions in ovariectomized rats given estradiol benzoate (EB) after iodine-deficient diet (IDD) and MNU treatment