

索の結果、DHPN + EB 0.1 mg 群で甲状腺濾胞上皮の増殖性病変が 20%程度に発生したが、DHPN + EB 0.004 mg 群でも一例に甲状腺濾胞腺癌が認められた (Table 8)。

#### D. 考察

農薬として使用される atrazine はラットの乳腺発がんを促進する可能性が指摘されているが、抗エストロゲン作用をもち、標的細胞に対するエストロゲン刺激活性を抑制することが知られている。DHPN 誘発ラット二段階甲状腺発がんモデルのポストイニシエーション期に、atrazine を 500 ppm、50 ppm および 5 ppm の 3 段階の用量で 24 週間混餌投与した結果、血清 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> および TSH のレベルには顕著な影響は認められなかった。また、病理組織学的に、atrazine の投与に起因する腫瘍性病変の発生増加は甲状腺を含めたいずれの臓器にも観察されなかった。このことは、昨年度までに同一の実験モデルを用いて実施した大豆イソフラボン、genistein および nonylphenol と同様に、食品中に存在する濃度レベルの atrazine は甲状腺発がんを促進しない可能性を示す。

エストロゲンによる甲状腺発がん促進の用量相関性を検討するため、雌雄の去勢ラットを用いた二段階甲状腺発がんモデルのポストイニシエーション期に、動物当たり 0.1 mg、0.02 mg および 0.004 mg の合成エストロゲン EB を 32 週間皮下埋植した結果、雌雄ともに EB 処置に伴う下垂体や甲状腺を含めた諸臓器の重量および血清 T<sub>4</sub> や TSH 値への影響がみられたが、その程度は雄ラットにおいてより強い傾向が認められた。病理組織学的検索の結果、雌では甲状腺濾胞腺腫が 0.1 mg 群に観察されたのみであったが、雄では明らかな用量相関性はないものの甲状腺濾胞腺癌が 0.004 mg 群の一例に観察された。一方、投与期間を 12 週間とした昨年度の実験では、卵巣摘除ラットにおいて、EB は 0.5 mg の用量で下垂体腺腫の誘発をはじめ諸臓器に対して著明なエストロゲン作用を示したが、甲状腺

発がんにはほとんど影響を及ぼさなかった。したがって、観察期間を 36 週間とした今回の成績と考え合わせると、外来のエストロゲンに基づく甲状腺発がん促進効果は本来あまり強いものではないが、低濃度でも長期間にわたる持続的な曝露によって、性腺の機能が十分でない老人や小児の甲状腺発がんを促進する可能性を示唆する。

#### E. 結論

農薬である atrazine は甲状腺発がんを促進しない可能性が示された。外来のエストロゲン EB は、0.004 mg の低濃度でも長期間にわたる持続的な曝露により甲状腺発がんを促進する可能性が示された。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Son, H-Y., Nishikawa, A., Ikeda, T., Imazawa, T., Kimura, S., Hirose, M. Lack of effect of soy isoflavone on thyroid hyperplasia in rats receiving an iodine-deficient diet. *Jpn. J. Cancer Res.* 92: 103-108, 2001.
- 2) Ikeda, T., Nishikawa, A., Son, H-Y., Nakamura, H., Miyauchi, M., Imazawa, T., Kimura, S., Hirose, M. Synergistic effects of high-dose soybean intake with iodine deficiency, but not sulfadimethoxine or phenobarbital, on rat thyroid proliferation. *Jpn. J. Cancer Res.* 92: 390-395, 2001.
- 3) Hirose, M., Nishikawa, A., Shibutani, M., Mitsumori, K. Environmental agents, endocrine disrupting chemicals and rat thyroid carcinogenesis. *J. Toxicol. Pathol.* 14: 71-77, 2001.
- 4) Okazaki, K., Okazaki, S., Nishimura, S., Nakamura, H., Kitamura, Y., Hatayama, K., Nakamura, A., Tsuda, T., Katsumata, T., Nishikawa, A., Hirose, M.: A repeated 28 days oral

dose toxicity study of methoxychlor in rats, based on the 'enhanced OECD test guideline 407' for screening endocrine-disrupting chemicals. Arch. Toxicol. 75: 513-521, 2001.

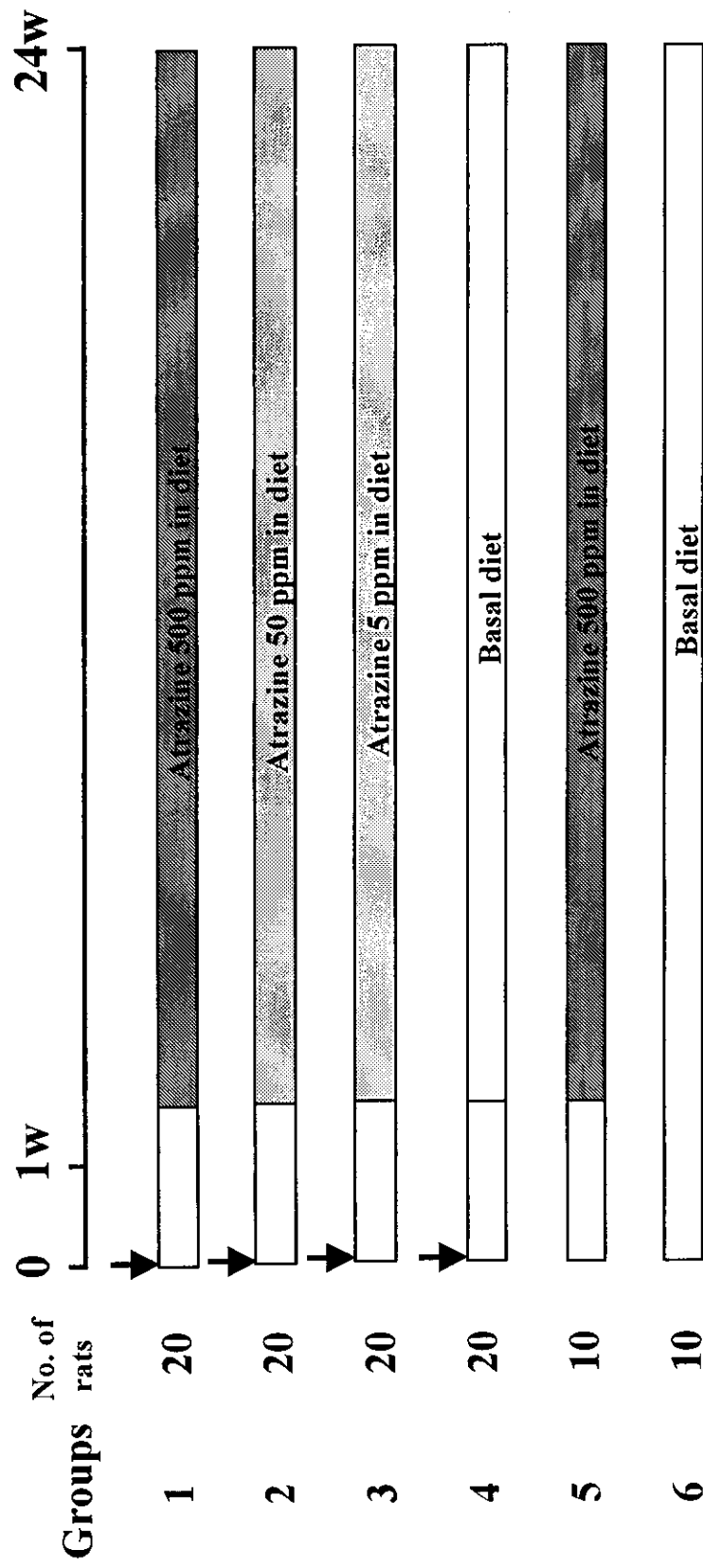
- 5) Okazaki, K., Imazawa, T., Nakamura, H., Furukawa, F., Nishikawa, A., Hirose, M.: A repeated 28 days oral dose toxicity study of 17 $\alpha$ -methyltestosterone in rats, based on the 'enhanced OECD test guideline 407' for screening the endocrine-disrupting chemicals. Arch. Toxicol. 75: 635-642, 2002.
2. 学会発表
- 1) Son, H-Y., Nisikawa, A., Yamagishi, M., Okazaki, K., Imazawa, T., Furukawa, F. and Hirose, M. : Synergistic effects of caffeine with iodine deficiency on the development of thyroid proliferative lesions in rats. 第 17 回日本毒性病理学会 (2001. 1)
- 2) Nishikawa, A., Ikeda, T., Son, H-Y., Imazawa, T., Kimura, S. and Hirose, M. : Synergistic promotion effects of excess soybean and deficient iodine on DHPN-induced thyroid tumorigenesis in rats. 92nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (2001. 3)
- 3) 岡崎和志, 西川秋佳, 池田尚子, 孫 和永, 中村英明, 山岸 恵, 広瀬雅雄 : ラット DHPN 甲状腺発がんに対する脱脂大豆投与の影響 第 17 回日本毒性病理学会総会 (2001. 1)
- 4) Okazaki, K., Okazaki, S., Nishimura, S., Nakamura, H., Kitamura, Y., Hatayama, K., Nakamura, A., Tsuda, T., Katsumata, T., Nishikawa, A., Hirose, M. : A repeated 28 days oral dose toxicity study of methoxychlor in rats, based on the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening endocrine-disrupting

chemicals 第 28 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2001.6)

- 5) 西川秋佳, 孫 和永, 山岸 恵, 岡崎和志, 今沢孝喜, 古川文夫, 広瀬雅雄 : カフェインと甲状腺刺激要因によるラット甲状腺発がんの相乗的促進 第 60 回日本癌学会総会 (2001. 9)

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし



↓ : DHPN 2800 mg/kg B.W., s.c.

**Fig. 1 Experimental design for atrazine**

**Table 1 Relative thyroid and pituitary weights of male rats given DHPN and/or atrazine**

Treatment	No. of animals	Final body weight (g)	Thyroid (g%)	Pituitary (g%)
1. DHPN+Atrazine 500 ppm	20	295.0 ± 13.6 <sup>a)</sup>	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2. DHPN+Atrazine 50 ppm	20	328.3 ± 18.0	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.000
3. DHPN+Atrazine 5 ppm	20	330.5 ± 16.0	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.000
4. DHPN+Basal diet	20	333.8 ± 14.3	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.000
5. Atrazine 500 ppm	10	289.2 ± 16.4	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.000
6. Basal diet	10	335.1 ± 19.5	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.000

<sup>a)</sup> Mean ± SD

**Table 2 Serum T3, T4 and TSH levels of male rats given DHPN and/or atrazine**

DHPN	Treatment	T3 (ng/mL)	T4 ( $\mu$ g/mL)	TSH (ng/mL)
+	Atrazine 500 ppm	0.74 $\pm$ 0.11 <sup>a)</sup>	5.08 $\pm$ 0.36**	6.98 $\pm$ 1.79
+	Basal diet	0.76 $\pm$ 0.09	6.04 $\pm$ 0.51	6.98 $\pm$ 0.29
-	Atrazine 500 ppm	0.74 $\pm$ 0.05	5.90 $\pm$ 0.16	7.58 $\pm$ 0.70
-	Basal diet	0.72 $\pm$ 0.04	5.64 $\pm$ 0.37	7.08 $\pm$ 0.76

<sup>a)</sup> Mean  $\pm$  SD

\* p<0.05, \*\*p<0.01 vs. DHPN alone group.

**Table 3 Relative thyroid and pituitary weights of ovariectomized rats given DHPN and/or EB**

Treatment	Final body weight (g)	Thyroid (mg/100gBW)	Pituitary (mg/100g BW)
DHPN+EB 0.1 mg	207.7 ± 9.7* a)	9.03 ± 0.79*#	104.74 ± 46.76*
DHPN+EB 0.02 mg	200.1 ± 9.5*	8.39 ± 0.68*	15.23 ± 1.90#
DHPN+EB 0.004 mg	214.7 ± 8.4*	6.69 ± 0.83	8.63 ± 0.70#
DHPN	238.4 ± 8.4#	5.57 ± 1.08#	4.49 ± 0.03#
EB 0.1 mg	205.4 ± 12.1*	7.67 ± 0.85	136.48 ± 33.22*
Control	231.1 ± 17.6#	6.60 ± 0.63	4.90 ± 0.32#

a) Mean ± SD

\* p<0.05 vs. Control group.

# p<0.05 vs. EB alone group.

**Table 4 Serum T3, T4 and TSH levels of ovariectomized rats given DHPN and/or EB**

DHPN	Treatment	T3 (ng/mL)	T4 ( $\mu$ g/mL)	TSH (ng/mL)
+	EB 0.1 mg	0.88 $\pm$ 0.08* a)	3.64 $\pm$ 0.50**	9.04 $\pm$ 4.36
+	EB 0.02 mg	0.86 $\pm$ 0.11	3.12 $\pm$ 0.36**	6.52 $\pm$ 0.51
+	EB 0.004 mg	0.78 $\pm$ 0.08	4.78 $\pm$ 0.34	6.32 $\pm$ 0.64
+	Basal diet	0.78 $\pm$ 0.04	4.66 $\pm$ 0.34	5.80 $\pm$ 0.75
-	EB 0.1 mg	0.98 $\pm$ 0.04	3.74 $\pm$ 0.35	6.04 $\pm$ 0.25

a) Mean  $\pm$  SD

\* p<0.05, \*\*p<0.01 vs. DHPN alone group.

**Table 5 Incidence (%) of thyroid proliferative lesions  
ovariectomized rats given DHPN and/or EB**

Treatment	No. of animals	Follicular			C-cell	
		Hyperplasia	Adenoma	Carcinoma	Hyperplasia	Adenoma
DHPN+EB 0.1 mg	10	—	1 (10)	—	—	—
DHPN+EB 0.02 mg	10	—	—	—	—	1 (10)
DHPN+EB 0.004 mg	10	—	—	—	—	—
DHPN	10	—	—	—	1 (10)	—
EB 0.1 mg	7	—	—	—	—	—
Control	10	—	—	—	—	—



**Table 6 Relative thyroid and pituitary weights of castrated rats given DHPN and/or EB**

Treatment	Final body weight (g)	Thyroid (mg/100gBW)	Pituitary (mg/100g BW)
DHPN+EB 0.1 mg	236.3±7.0 <sup>a)</sup>	26.17±37.44**#	71.26±32.51**
DHPN+EB 0.02 mg	248.9±12.4*	7.63±0.54	7.48±1.18
DHPN+EB 0.004 mg	302.8±11.5	7.11±1.65	5.90±0.42
DHPN	294.0±11.8	6.07±0.72	4.94±0.34
EB 0.1 mg	239.3±11.4*	8.93±0.88	74.27±21.57**
Control	295.8±12.6	5.91±0.71	4.64±0.37

<sup>a)</sup> Mean ±SD

\* p<0.05, \*\*p<0.01 vs. Control group.

# p<0.05 vs. EB alone group.

**Table 7 Serum T3, T4 and TSH levels of castrated rats given DHPN and/or EB**

DHPN	Treatment	T3 (ng/mL)	T4 ( $\mu$ g/mL)	TSH (ng/mL)
+	EB 0.1 mg	0.92 $\pm$ 0.04 <sup>a)</sup>	3.48 $\pm$ 0.13**	7.78 $\pm$ 1.00**
+	EB 0.02 mg	1.08 $\pm$ 0.05**	3.84 $\pm$ 0.15**	7.06 $\pm$ 0.95**
+	EB 0.004 mg	0.96 $\pm$ 0.05	4.08 $\pm$ 0.36*	5.96 $\pm$ 0.18**
+	Basal diet	0.92 $\pm$ 0.04	4.58 $\pm$ 0.29	5.12 $\pm$ 0.34
-	EB 0.1 mg	0.92 $\pm$ 0.08	3.60 $\pm$ 0.16	7.14 $\pm$ 0.58

<sup>a)</sup> Mean  $\pm$  SD

\* p<0.05, \*\*p<0.01 vs. DHPN alone group.

**Table 8 Incidence (%) of thyroid proliferative lesions  
castrated rats given DHPN and/or EB**

Treatment	No. of animals	Follicular			C-cell Adenoma
		Hyperplasia	Adenoma	Carcinoma	
DHPN+EB 0.1 mg	10	2 (20)	2 (20)	2 (20)	—
DHPN+EB 0.02 mg	10	1 (10)	—	—	—
DHPN+EB 0.004 mg	10	—	—	1 (10)	—
DHPN	10	—	—	—	—
EB 0.1 mg	10	—	—	—	1 (10)
Control	10	—	—	—	—

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

食品中内分泌かく乱物質等の発がん修飾作用に関する実験的研究

平成13年度分担研究報告書

食品中内分泌かく乱物質等の乳腺発がん修飾作用に関する研究

分担研究者 広瀬雅雄 国立医薬品食品衛生研究所病理部長

研究要旨： 乳腺腫瘍の発生及び増殖に対する内分泌かく乱物質の影響を検討する目的で以下の実験を行った。雌のSDラットに50mg/kg体重の7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)を強制経口投与し、19週後まで観察した時点で全例の卵巣を摘出した。乳腺腫瘍の発生が見られたラットと見られなかったラットの2群に分け、各群に0(対照)、5、50および500ppmのAtrazine (Atz)を混餌投与した。53週で全動物を屠殺し、乳腺腫瘍の発生頻度、個数および大きさについて検討した。その結果、Atzの50および500ppm群では、乳腺腫瘍の発生および増殖が促進した。現在同様の実験系で40、200及び1000ppmのArctiin (Arc)を投与する実験を行っている。

A. 研究目的

本実験はエストロゲン様作用を示すトリアジン系除草剤のatrazine (Atz)および植物リグナン的一种であるarctiin (Arc)のラット乳腺腫瘍の発生あるいは増殖について実験的に検討し、内分泌かく乱化学物質のヒト乳がん発生に対する危険度を評価するための資料とすることを目的としている。なお前年度は、弱いエストロゲン様作用を示す植物性イソフラボンの一種であるgenisteinおよび界面活性剤などとして広く使われているnonylphenolを投与し、いずれの物質も乳腺腫瘍の増殖および発生を促進せず、むしろgenisteinについては抑制的に作用する傾向を見出している。

B. 研究方法

【実験1】7週令のSD系雌ラットに7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA、50mg/kg体重)を1回胃内強制投与した。乳腺腫瘍の発生を週1回触診により観察し、腫瘍発生頻度が50%に達した19週の時点で卵巣を摘出した。腫瘍の発生が見られたラットと見られなかったラットの2群に分け、それぞれに0(対照)、5、50及び500ppmの

用量でatrazine(Atz) (和光純薬株式会社)の混餌投与を行った。また、DMBAを投与しないで卵巣摘出とAtz(500ppm)投与のみを行った群も設けた(Fig. 1)。乳腺腫瘍の発生頻度、発生部位、個数及び大きさを経時的に観察し、実験開始後53週ですべての動物を屠殺し、乳腺腫瘍を中心に病理組織学的に観察した。組織学的に卵巣摘出後の癒痕組織中に卵巣組織の残存が確認されたものあるいは下垂体に完全な卵巣除去を示す去勢細胞の認められないものについては評価対象から除外した。また最終屠殺時に採取した血清中プロラクチン、エストロゲン、プロゲステロン、黄体化ホルモンの濃度測定を現在実施中である。

【実験2】7週令のSD系雌ラットにDMBA(50mg/kg体重)を1回胃内強制投与した。実験1と同様、腫瘍発生頻度が50%に達した時点で卵巣を摘出し、腫瘍の発生が見られたラットと見られなかったラットの2群に分け、それぞれに0(対照)、40、200及び1000ppm Arctiin (Arc) (アルプス薬品工業株式会社)の混餌投与を32から40週行い、乳腺腫瘍の発生状況を観察する。またDMBAを投与しないで卵巣摘出とArc

(1000 ppm)投与のみを行った対照群も設ける(Fig. 2)。

(倫理面への配慮)

卵巣摘除術はエーテル麻酔下で、屠殺はエーテル麻酔下大動脈からの脱血により行い、動物に与える苦痛をできる限り少なくした。

### C. 研究結果

【実験1】生存率、最終体重および臓器重量にAtz投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。(Table 1)。

Atz投与開始時に腫瘍の認められた群では、対照群で27週ごろまでにおおよそ半数例の乳腺腫瘍が消失しその後漸増に転じたのに対しAtz 500 ppm群ではその減少率が少ない傾向が観察された(Fig. 3)。最終剖検時における退縮腫瘍数および腫瘍発生頻度に各群間の差は認められなかった(Table 2)。同様に平均腫瘍体積は21週目ごろまでは各群とも縮小するものが観察されたが以降は増加に転じ、統計学的に有意な差を示さなかったが、Atzの50および500 ppm群ではその増加率は明らかに大きく、最終屠殺時には対照群に見られない大きさの腫瘍が散見され、両群とも平均値では対照群の約2倍の値を示した(Table 2, Fig. 5, 6)。腫瘍の発生個数については各群間に差は認められなかった(Table 2, Fig. 4)。

投与開始時に腫瘍が認められなかった群では25週頃から腫瘍が発生しはじめたが41週頃からAtzの50および500 ppm群で高い発生頻度を示し、最終屠殺時には500 ppm群で腺癌の発生が有意に増加した

( $p < 0.05$ ) (Table 2, Fig. 3)。同様に腫瘍体積も50および500 ppm群では対照群に見られない大きな腫瘍が観察され、最終屠殺時の平均値は対照群に比較して50 ppm群では約7倍( $p < 0.05$ )、500 ppm群で約5倍の値を示した。腫瘍の発生個数についても50および500 ppm群で高い値を示す傾向が観察された(Table 2, Fig. 4)。なお、5 ppm群でも平均腫瘍体積が大きな値を示したが、腫瘍の発生個数も少なく、個々の腫瘍間のばらつきも大きいためAtz投与による影響は大きくないと判断した(Table 2, Fig. 6)。DMBAを

投与しない群では特に変化は見られなかった。

【実験2】DMBA投与後12週が経過し、乳腺腫瘍の発生率が約30%である。現在経過を観察中である。

### D. 考察

実験1では卵巣摘出により内因性エストロジェンの影響を除去した状態でAtzを投与した結果、投与開始時に腫瘍の認められた動物では、卵巣摘出による腫瘍の退縮を500 ppm群では抑制する傾向が観察され、50 ppm以上の投与群では平均腫瘍体積の増加傾向が認められた。また投与開始時に腫瘍の認められなかった動物では500 ppm群で腺癌の発生が有意に増加した他、50 ppm以上の投与群で腫瘍の数および体積の増加あるいは増加傾向が観察された。

AtzをSDラットに長期間投与すると乳腺腫瘍の発生が早期化しその頻度も増加することがすでに報告されている。この原因の1つとして、Atzは雌SDラットに対して特異的にその性周期を延長させ、相対的に内因性エストロジェンおよびプロゲステロン暴露時間を延長することで乳腺腫瘍の発生を促進するものと考えられている。また卵巣摘出したSDラットにAtzを投与すると血中プロラクチン濃度が上昇することも報告されており、Atzはエストロジェン受容体に親和性を持たないことから、レセルピンなどの薬物と同様、視床下部-下垂体系による中枢性の内分泌環境の制御を攪乱して乳腺腫瘍の発生を増加させると考えられている。本実験においては現在血清プロラクチン濃度を測定中であり、内分泌環境の詳細については現時点では明らかでないが、これまで得られた結果はこれら過去の報告とメカニズム的に矛盾するものではない。

なおレセルピンやドーパミンアンタゴニストを長期間ラットに投与すると下垂体からのプロラクチン分泌を促進し乳腺腫瘍を誘発することが知られているが、プロラクチンを介した乳腺腫瘍の発生はラットに特異的な事象でありヒトには外挿されないと考えられている。したがって今回Atzで認められた乳腺発が

んの促進作用もラット特異的なものであり、ただちにヒトにあてはまるものではないと考えられる。

実験2で検索対象としているArcはリグナンの一種であり、腸内細菌によりエストロゲン様作用のあるエンテロラクトンやエンテロジオールに代謝される。Arcは2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP)による乳腺化学発がんモデルにおいてそのプロモーション期には抑制的に作用することが報告されているが発がんのプログレッション期における作用についての検討はなされておらず、本実験によってこれらの点が解明されるものと期待される。

#### E. 結論

ラット乳腺発がんモデルにおいてAtzは50 ppm以上を混餌投与することにより乳腺腫瘍の発生および増殖を促進することが示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kimoto, N., Hirose, M., Futakuchi, M., Iwata, T., Kasai, M. and Shirai, T. Site-dependent modulating effects of conjugated fatty acids from safflower oil in a rat two-stage carcinogenesis model in female Sprague-Dawley rats. *Cancer Lett.*, 168, 15-21, 2001.

Hirose, M., Nishikawa, A., Shibutani, M. and Mitsumori, K. Environmental agents, endocrine disrupting chemicals and rat thyroid carcinogenesis, *J. Toxicol. Pathol.*, 14, 71-77, 2001.

Ueda, M., Mitsumori, K., Onodera, H., Takagi, H., Yasuhara, K., Takizawa, T., Hirose, M. Lack of modifying effects of bisphenol A and roasted soybean (Kinako) on *N*-ethyl-*N*-nitrosourea-induced uterine carcinogenesis in heterozygous *p53* deficient CBA mice. *J. Toxicol. Pathol.*, 14, 129-134, 2001.

Takagi, H., Mitsumori, K., Onodera, H., Nasu, M., Tamura, T., Yasuhara, K., Takegawa, K., Hirose, M. Modifying effects of endocrine disrupting chemicals on *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosoamine and sulfadimethoxine-induced thyroid carcinogenesis in rats. *J. Toxicol. Pathol.*, 14, 121-128, 2001.

Okazaki K, Okazaki S, Nishimura S, Nakamura H, Kitamura Y, Hatayama K, Nakamura A, Tsuda T, Katsumata T, Nishikawa A, Hirose M. A Repeated 28-day oral dose toxicity study of methoxychlor in rats, based on the 'enhanced OECD test guideline 407' for screening the endocrine-disrupting chemicals. *Arch Toxicol.* 75: 513-521, 2001.

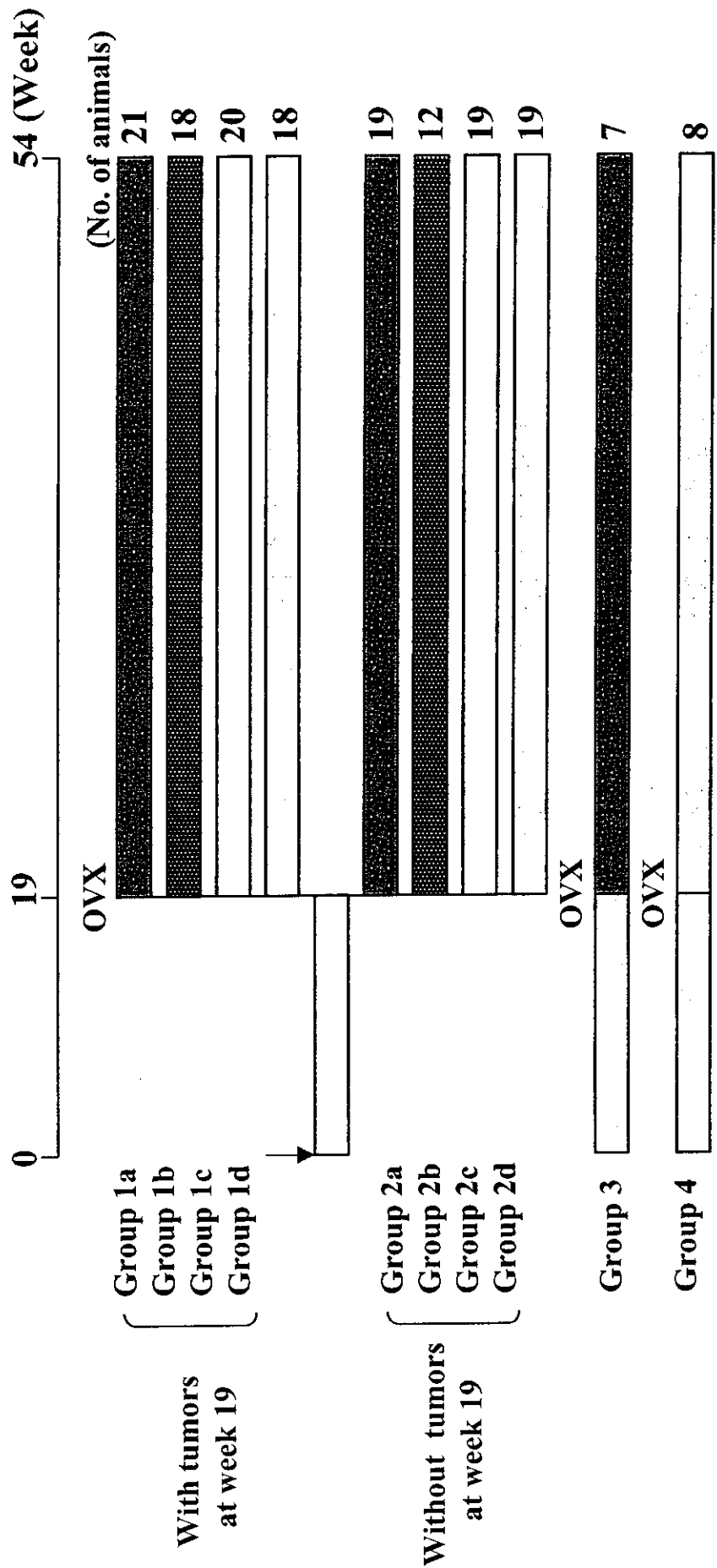
##### 2. 学会発表

上田 誠、仁保直子、小野寺博志、瀧澤保、渋谷 淳、今井俊夫、広瀬雅雄：GenisteinのDMBA誘発ラット乳腺腫瘍に対する修飾作用、第60回日本癌学会総会（2001.9 横浜）

上田 誠、仁保直子、今井俊夫、小野寺博志、瀧澤保、渋谷 淳、広瀬雅雄：NonylphenolのDMH-DMBA誘発ラット乳腺および大腸腫瘍に対する修飾作用、第18回日本毒性病理学会（2002.1 東京）

#### G. 知的所有権の取得状況

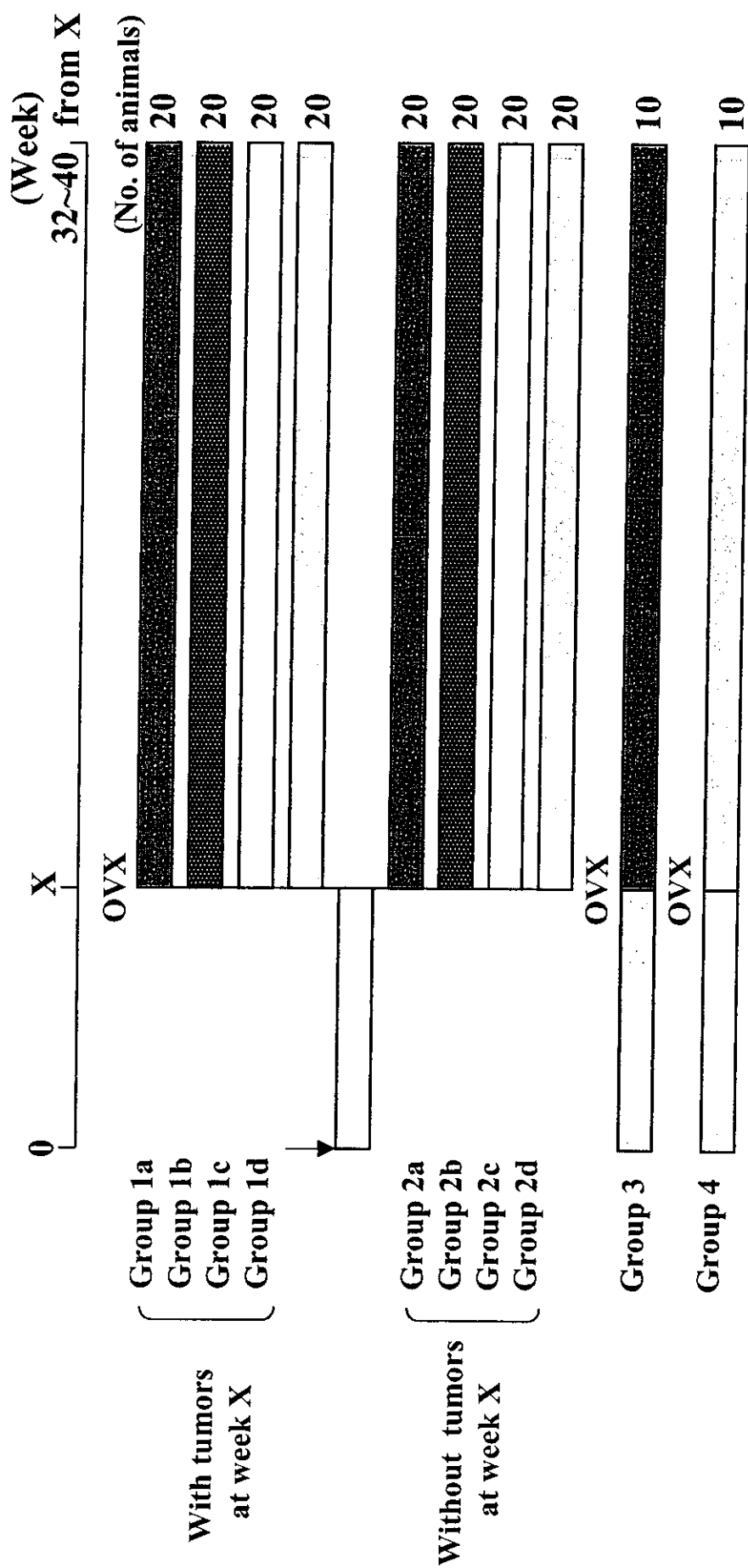
なし



Animals : Virgin Sprague Dawley female rats, 7 weeks old  
 ↓ : DMBA, 50mg/kg body weight, i.g.  
 OVX : Ovariectomy  
 (Week when the incidence of palpable mammary tumors reached at 50%)

: Atrazine 500ppm in diet  
 : Atrazine 50ppm in diet  
 : Atrazine 5ppm in diet  
 : Basal diet (Soybean free)

**Fig. 1 Experimental Protocol (Experiment 1)**



Animals : Virgin Sprague Dawley female rats, 7 weeks old

↓ : DMBA, 50mg/kg body weight, i.g.

OVX : Ovariectomy

(Week when the incidence of palpable mammary tumors reached at 50%)

: Arctiin 0.1% in diet  
 : Arctiin 0.02% in diet  
 : Arctiin 0.004% in diet  
 : Basal diet (Soybean free)

**Fig. 2 Experimental Protocol (Experiment 2)**



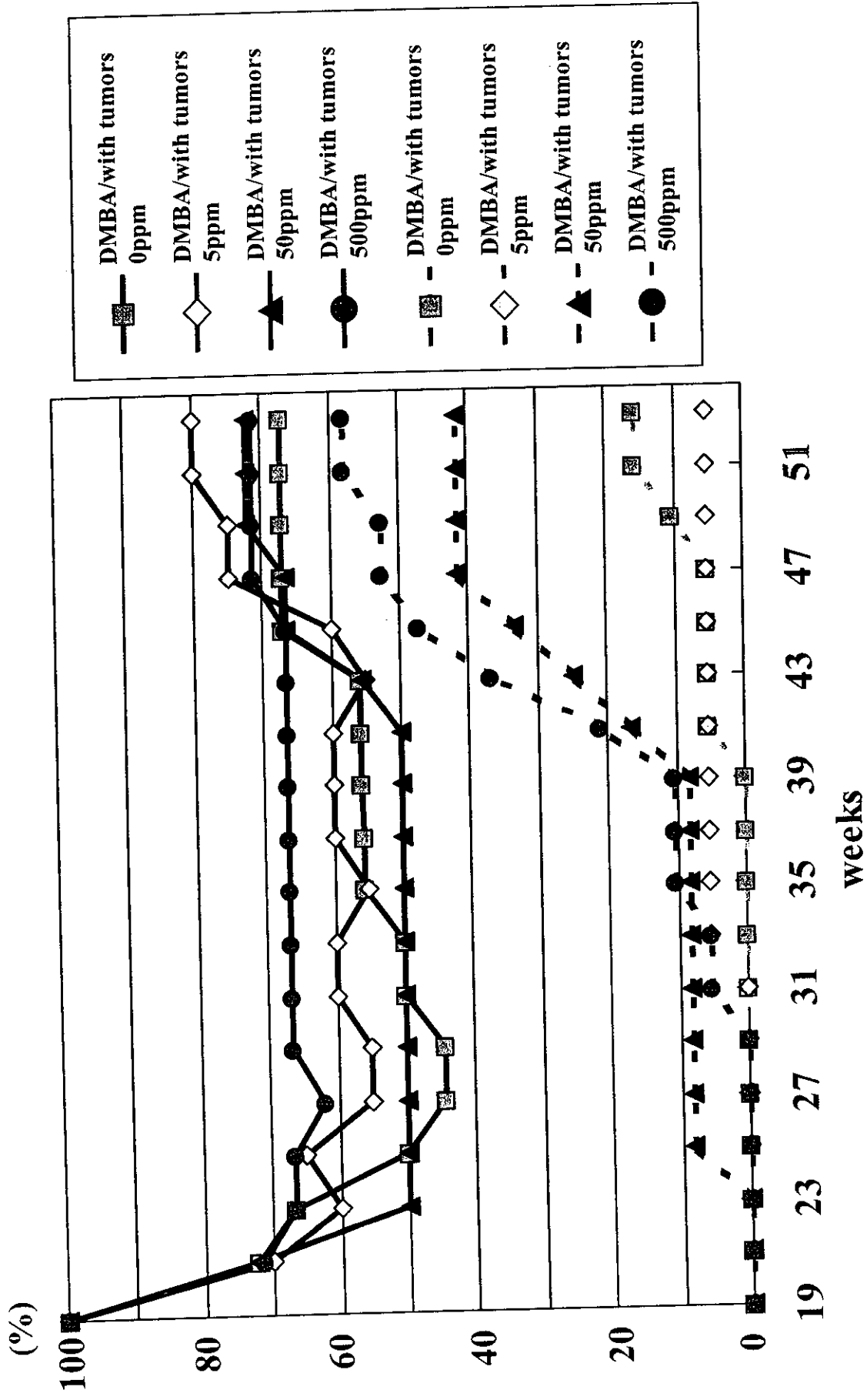


Fig. 3 Incidence of palpable tumors in atrazine-treated-ovariectomized rats

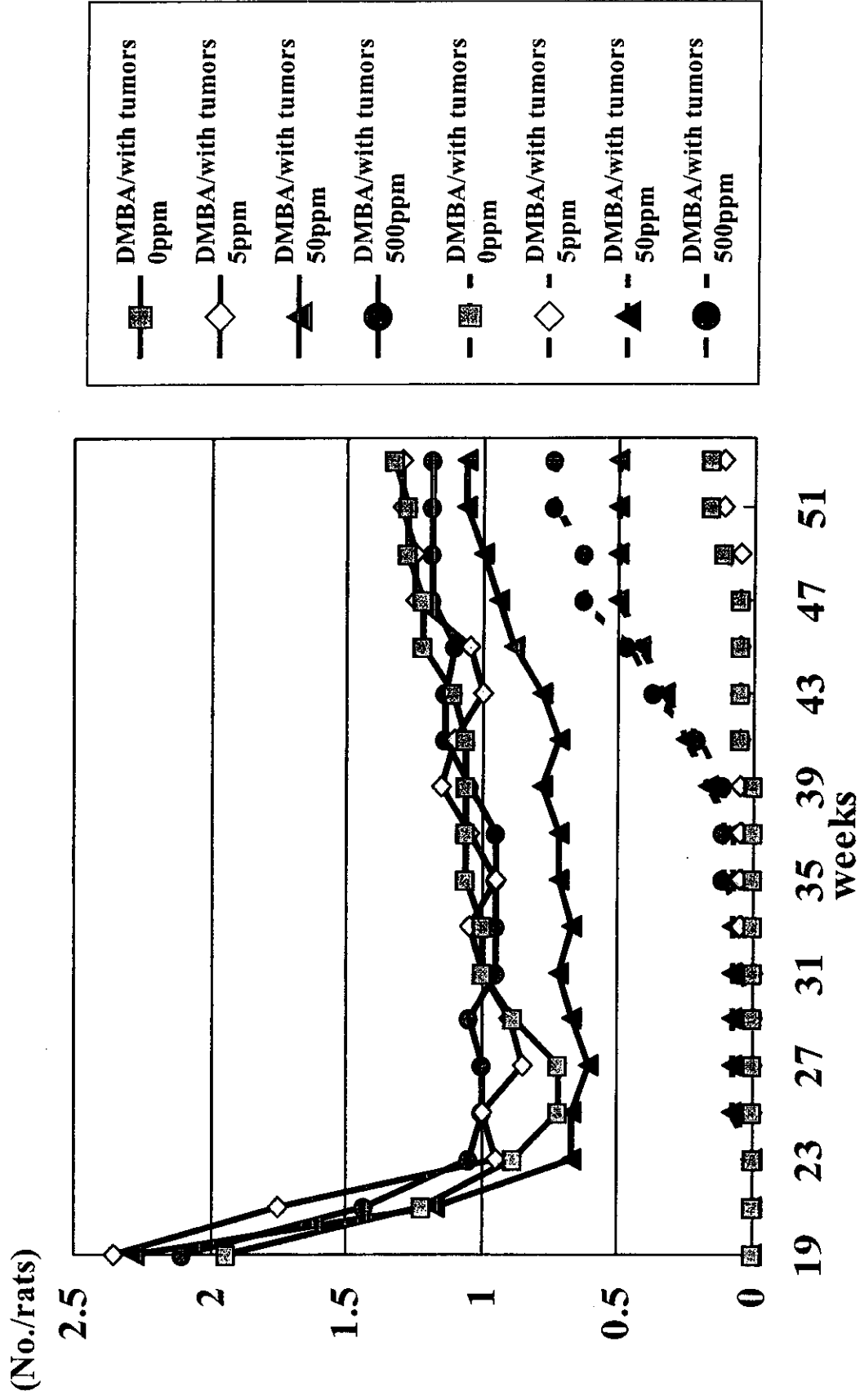


Fig. 4 Multiplicity of palpable tumors in atrazine-treated-ovariectomized rats

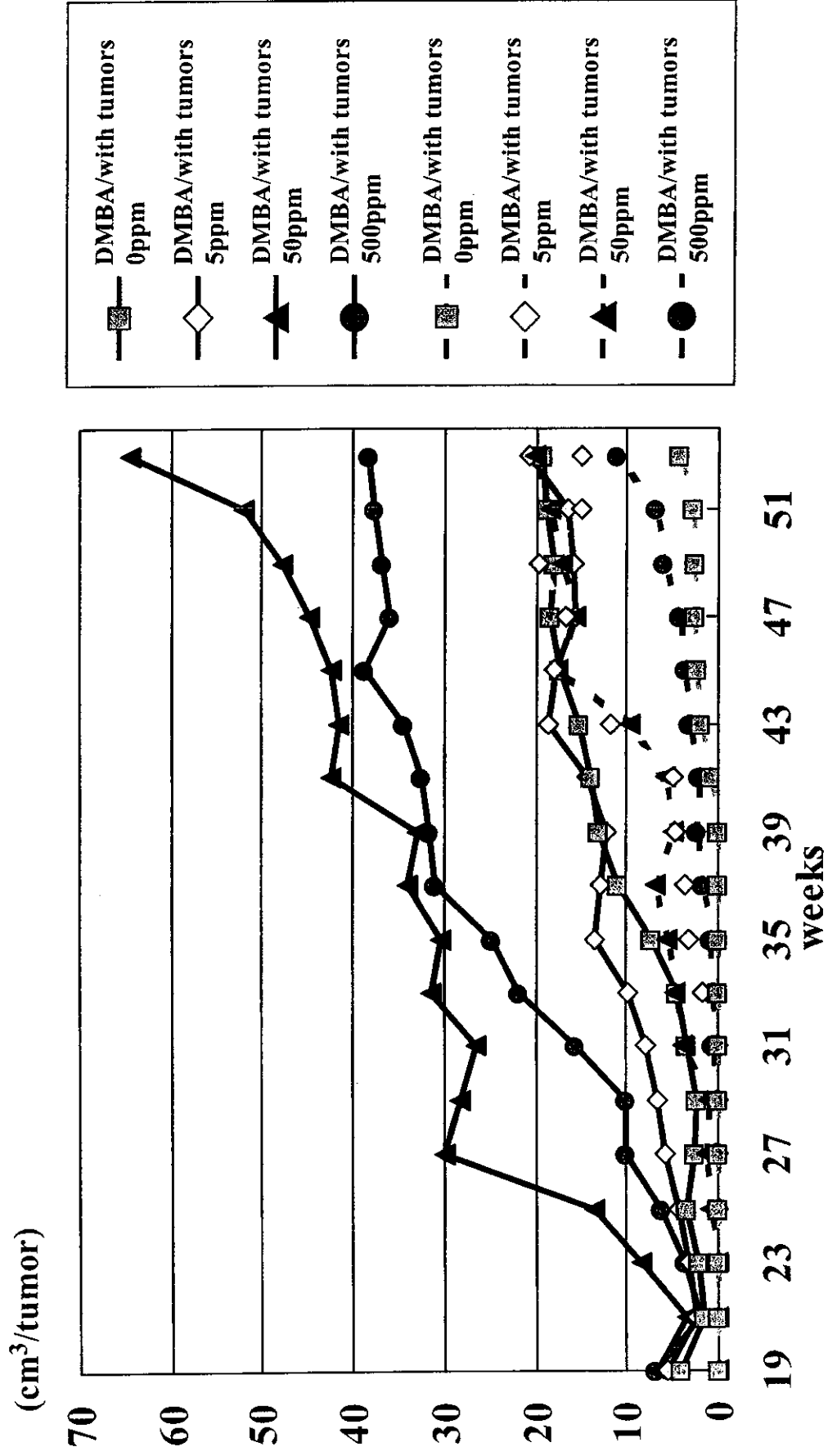
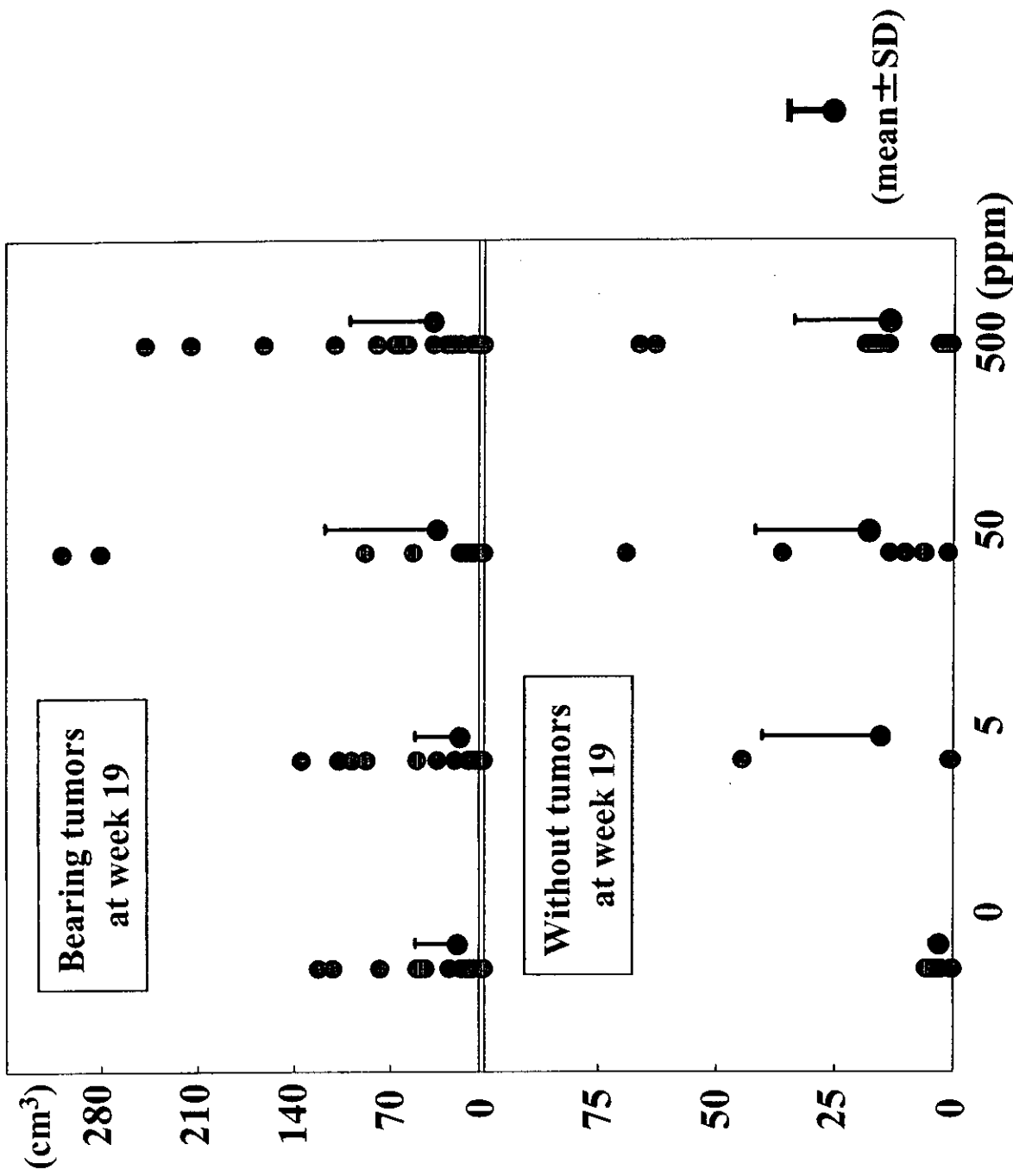


Fig. 5 Volume of palpable tumors in atrazine-treated-ovariectomized rats



**Fig. 6 Individual volume of mammary tumors in atrazine-treated-ovariectomized rats at necropsy**