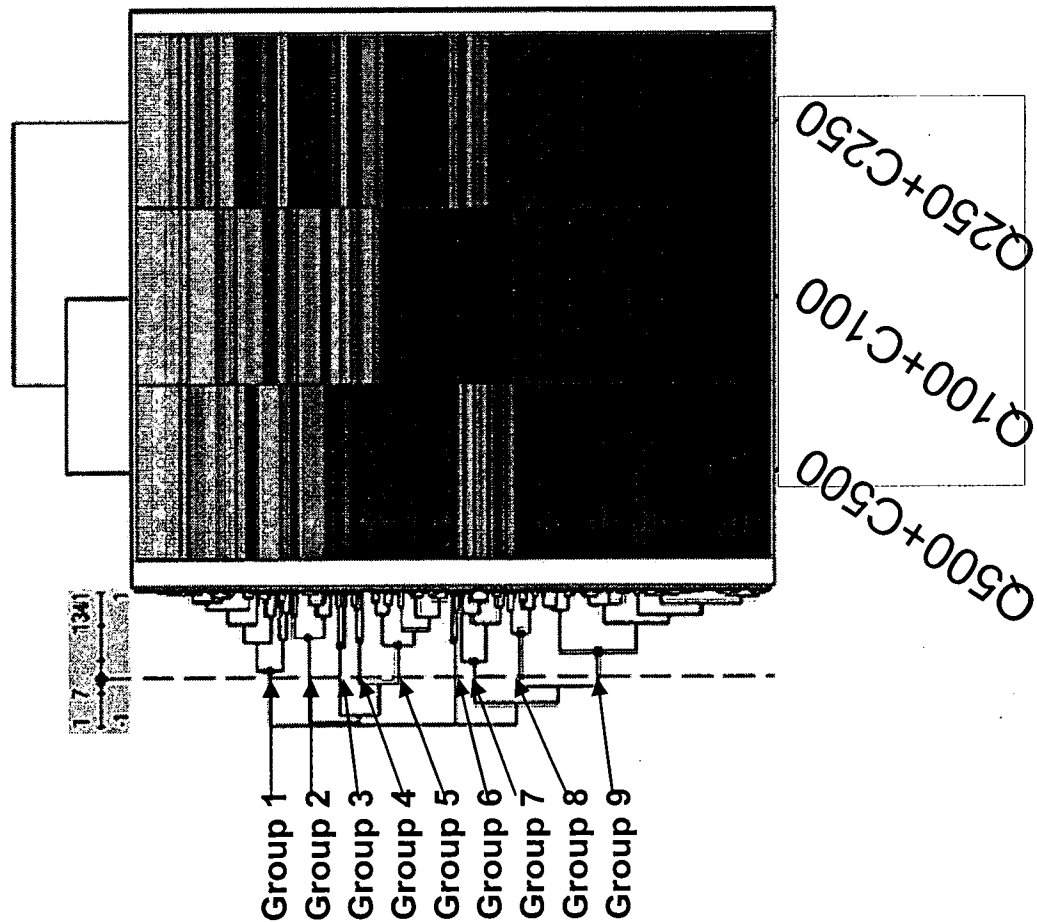


図2. 雄マウス肝における遺伝子発現変化(クラスターリング結果)

A. 投与量の比較(雄)



B. 投与種別の比較(雄)

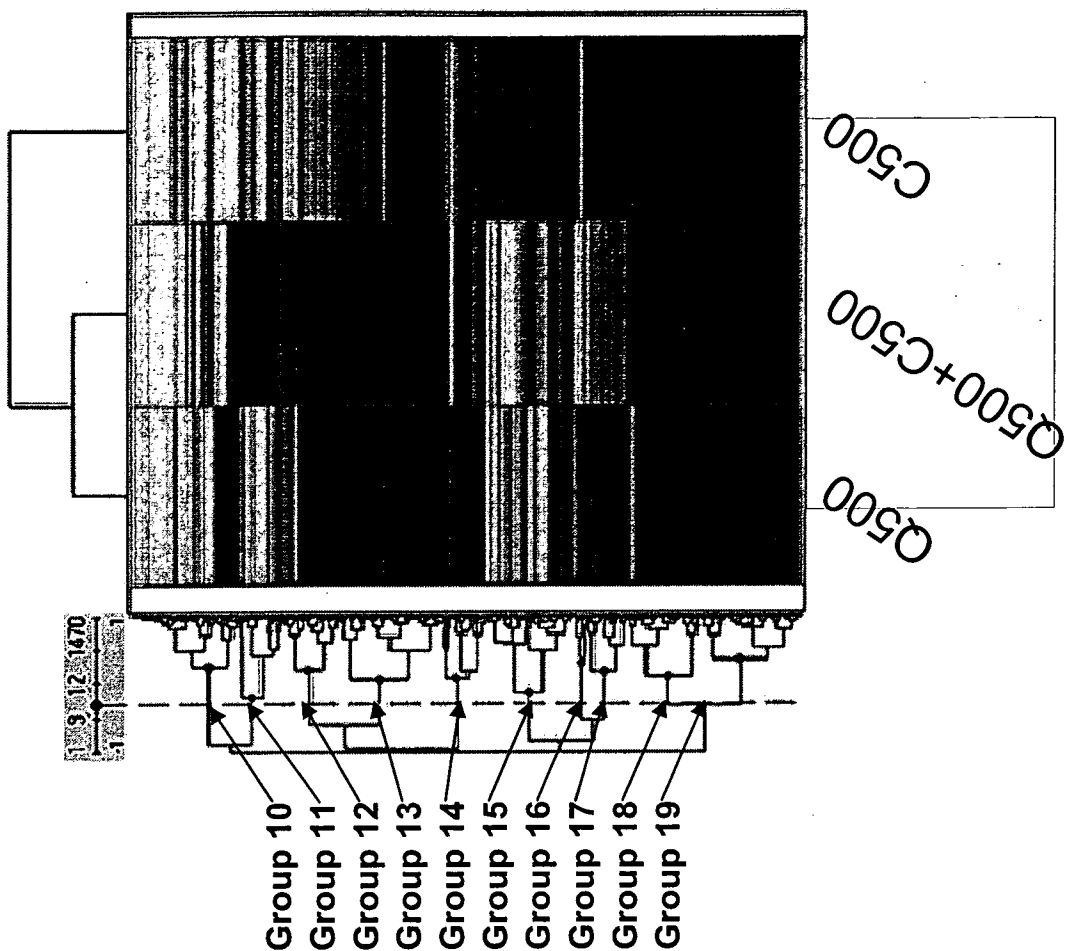
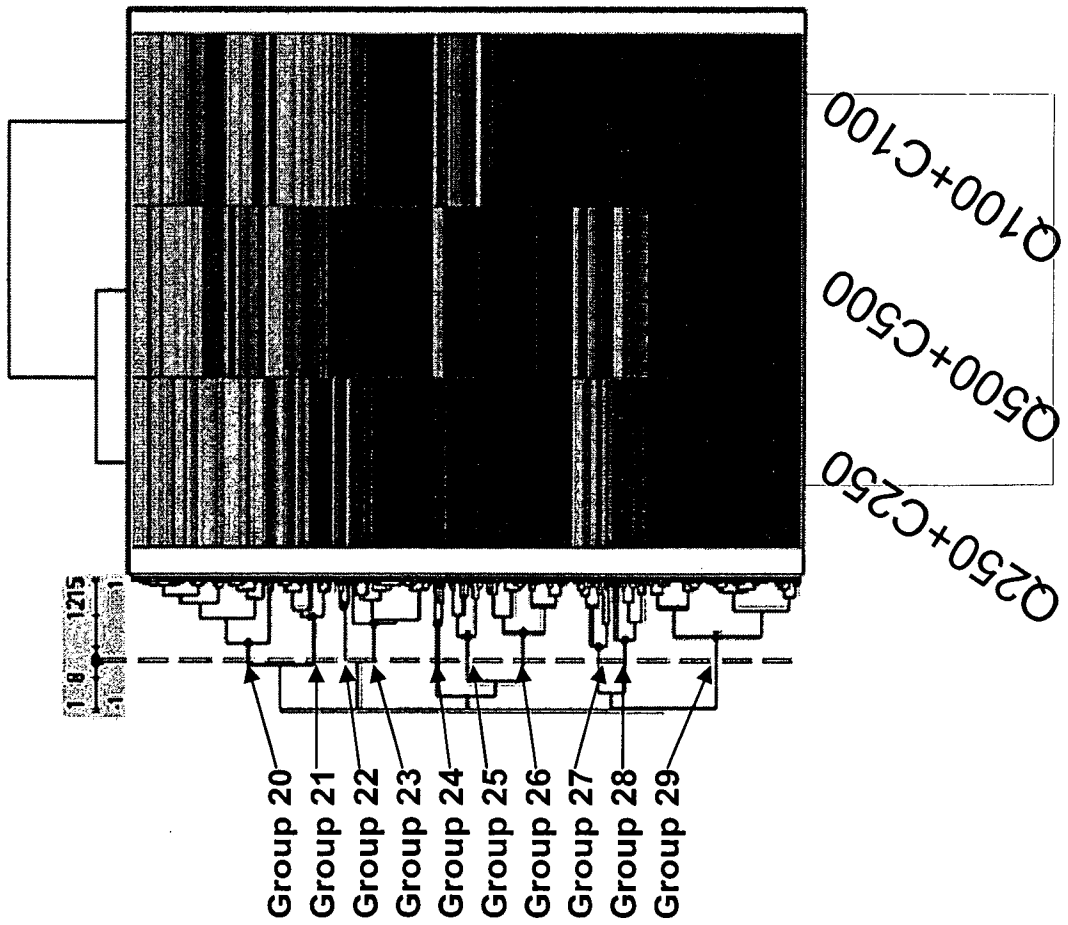


図3. 雌マウス肝における遺伝子発現変化(クラスターリング結果)

A. 投与量の比較(雌)



B. 投与種別の比較(雌)

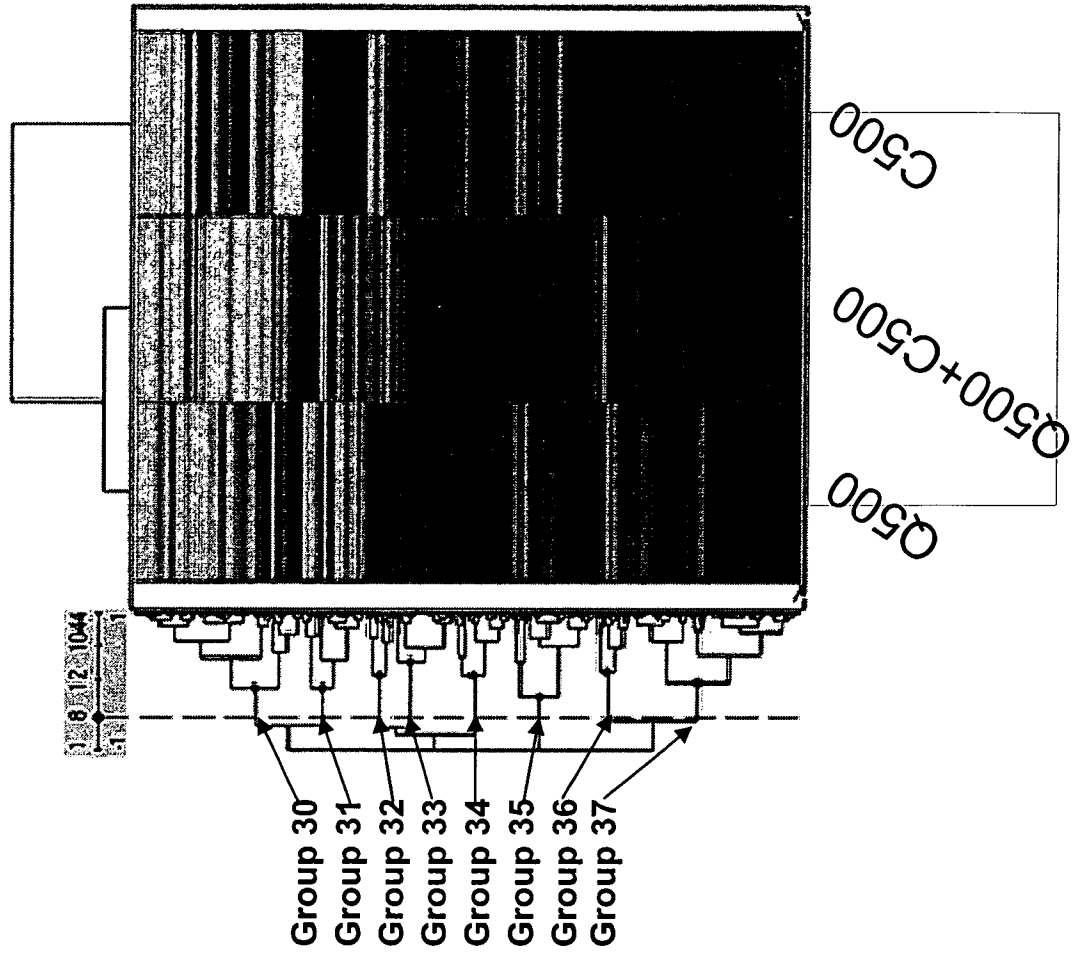


表 1. 平均体重、肝重量、脾重量、腎重量：4 週時、雄

実験群 (♂)	処置	体重(g)	肝重量(g)	相对肝重量 (g/100 g 体重)	脾重量(g)	腎 (左+右) 重量(左+右、g)
G1 n=5	Quercetin (100 ppm) + Curcumin (100 ppm)	26.41±0.32 <sup>a</sup>	1.35±0.04	5.10±0.12	0.079±0.005	0.36±0.02*
G2 n=5	Quercetin (250 ppm) + Curcumin (250 ppm)	26.78±0.43	1.42±0.04	5.29±0.17	0.070±0.004	0.37±0.01
G3 n=5	Quercetin (500 ppm) + Curcumin (500 ppm)	25.55±1.01	1.36±0.04	5.31±0.19	0.079±0.009	0.36±0.02*
G4 n=5	Quercetin (500 ppm)	26.97±1.30	1.37±0.09	5.07±0.15	0.078±0.003	0.38±0.02
G5 n=5	Curcumin (500 ppm)	27.02±0.74	1.34±0.07	4.97±0.23	0.075±0.004	0.38±0.02
G6 n=5	無処置	27.10±1.00	1.43±0.09	5.26±0.26	0.076±0.007	0.40±0.02

<sup>a</sup> Mean±SD.

\*P<0.05 vs. G6 (One-way ANOVA, Bonferroni Multiple Comparison Test).

表 2. 平均体重、肝重量、脾重量、腎 (左右) 重量: 4 週時、雌

実験群 (♀)	処置	体重(g)	肝重量(g)	相对肝重量 (g/100 g 体重)	脾重量(g)	腎 (左+右) 重量(左+右、g)
G1 n=5	Quercetin (100 ppm) + Curcumin (100 ppm)	18.82±0.48 <sup>a</sup>	0.93±0.07	4.93±0.30	0.086±0.009	0.27±0.02
G2 n=5	Quercetin (250 ppm) + Curcumin (250 ppm)	20.39±0.18	1.02±0.05	4.98±0.23	0.085±0.007	0.28±0.01
G3 n=5	Quercetin (500 ppm) + Curcumin (500 ppm)	18.98±0.64*	0.94±0.07	4.97±0.26	0.084±0.009	0.27±0.02
G4 n=5	Quercetin (500 ppm)	19.93±0.63	0.93±0.07	4.67±0.21	0.081±0.007	0.27±0.02
G5 n=5	Curcumin (500 ppm)	20.25±0.71	0.99±0.05	4.89±0.15	0.083±0.007	0.29±0.02
G6 n=5	無処置	19.45±0.22	0.90±0.03	4.65±0.12	0.074±0.005	0.28±0.01

<sup>a</sup> Mean±SD.

\*P<0.05 vs. G5 (One-way ANOVA, Bonferroni Multiple Comparison Test).

表 3. 平均体重、肝重量、脾重量、腎重量、結腸長：8 週時 (実験終了時)、雄

実験群 (♂)	処置	体重(g)	肝重量(g)	相对肝重量 (g/100 g 体重)	脾重量(g)	腎 (左+右) 重量 (左+右、g)	結腸長(cm)
G1 n=5	Quercetin (100 ppm) + Curcumin (100 ppm)	31.78±1.02 <sup>a</sup>	1.50±0.09	4.74±0.25	0.088±0.008	0.45±0.02	10.30±0.76
G2 n=5	Quercetin (250 ppm) + Curcumin (250 ppm)	30.06±1.49	1.41±0.10	4.70±0.19	0.084±0.010	0.64±0.44	9.60±0.89
G3 n=5	Quercetin (500 ppm) + Curcumin (500 ppm)	29.86±1.49	1.42±0.12	4.76±0.18	0.088±0.009	0.45±0.04	9.70±0.45
G4 n=5	Quercetin (500 ppm)	31.67±1.41	1.47±0.14	4.65±0.34	0.082±0.005	0.45±0.04	9.30±0.27
G5 n=5	Curcumin (500 ppm)	29.54±1.30	1.43±0.05	4.84±0.14	0.089±0.012	0.43±0.02	9.92±0.29
G6 n=5	無処置	30.33±1.04	1.45±0.06	4.77±0.25	0.084±0.006	0.46±0.07	9.46±0.75

<sup>a</sup> Mean±SD.

表 4. 平均体重、肝重量、脾重量、腎(左右)重量、結腸長: 8 週時(実験終了時)、雌

実験群 (♀)	処置	体重(g)	肝重量(g)	相對肝重量 (g/100 g 体重)	脾重量(g)	腎(左+右)重量 (左+右、g)	結腸長(cm)
G1 n=5	Quercetin (100 ppm) + Curcumin (100 ppm)	20.86±0.83 <sup>a</sup>	0.98±0.06	4.68±0.22	0.088±0.007	0.29±0.01	8.00±0.14*
G2 n=5	Quercetin (250 ppm) + Curcumin (250 ppm)	22.13±0.66	1.05±0.05**	4.72±0.14	0.089±0.011	0.31±0.02	8.30±0.47***
G3 n=5	Quercetin (500 ppm) + Curcumin (500 ppm)	20.81±1.51	0.99±0.07	4.77±0.17	0.085±0.012	0.30±0.04	8.10±0.74*
G4 n=5	Quercetin (500 ppm)	20.78±0.63	0.94±0.03	4.53±0.14	0.088±0.005	0.29±0.02	8.76±0.51
G5 n=5	Curcumin (500 ppm)	21.69±0.94	1.01±0.05	4.65±0.16	0.087±0.010	0.31±0.03	9.38±0.45
G6 n=5	無処置	20.38±0.25	0.92±0.07	4.53±0.35	0.077±0.004	0.28±0.01	8.98±0.39

<sup>a</sup> Mean±SD.

\*P<0.01 vs. G5; \*\*P<0.05 vs. G6; \*\*\*P<0.05 vs. G5 (One-way ANOVA, Bonferroni Multiple Comparison Test).

表 5. 血清生化学検査：4 週時、雄

実験群 (♂)	G1 (n=5)	G2 (n=5)	G3 (n=5)	G4 (n=5)	G5 (n=5)	G6 (n=5)
処置	Quercetin (100 ppm) + Curcumin (100 ppm)	Quercetin (250 ppm) + Curcumin (250 ppm)	Quercetin (500 ppm) + Curcumin (500 ppm)	Quercetin (500 ppm)	Curcumin (500 ppm)	無処置
総蛋白(g/dL)	5.56±0.27 <sup>a</sup>	5.70±0.14	5.46±0.13	5.46±0.09	5.42±0.33	5.50±0.10
アルブミン(g/dL)	1.98±0.08	2.00±0.08	1.92±0.08	1.90±0.00	1.94±0.05	1.94±0.05
A/G 比	0.554±0.01	0.543±0.02	0.542±0.02	0.532±0.01	0.560±0.03	0.546±0.01
GOT (AST) (U/L)	50.2±10.83	42.8±2.36	43.6±2.30	42.0±3.74	45.4±8.76	47.0±6.40
GPT (ALT) (U/L)	35.4±19.1	22.8±0.50	25.6±1.95	27.6±7.13	23.6±5.64	26.4±3.65
ALP (U/L)	445.0±15.51	479.5±25.42	472.8±30.03	454.8±38.75	453.4±10.55	431.8±28.44
γ-GTP (U/L)	2.2±2.77	0.75±0.50	0.4±0.55	0.6±0.55	2.2±2.77	2.0±0.71
総コレステロール(mg/dL)	106.0±4.24	113.0±4.08	101.8±5.76	111.6±5.32	101.8±8.17	111.8±4.27
中性脂肪(mg/dL)	111.2±24.39	131.8±41.03	88.2±14.13	106.8±107.96	71.2±12.19	97.6±7.50
HDL コレステロール(mg/dL)	68.0±2.92*	74.5±3.00	67.4±3.05*, ***	73.2±2.77	66.8±2.59**, ***	74.0±2.35
LDL コレステロール(mg/dL)	9.4±1.14	9.0±1.15	7.4±0.55	8.8±1.48	7.6±0.89	8.4±1.14

<sup>a</sup> Mean±SD.

\*P<0.05 vs. G6; \*\*P<0.01 vs. G6; P<0.05 vs. G4 (One-way ANOVA, Bonferroni Multiple Comparison Test).

表6. 血清生化学検査：4週時、雌

実験群 (♀)	G1 (n=5)	G2 (n=5)	G3 (n=5)	G4 (n=5)	G5 (n=5)	G6 (n=5)
処置	Quercetin (100 ppm) + Curcumin (100 ppm)	Quercetin (250 ppm) + Curcumin (250 ppm)	Quercetin (500 ppm) + Curcumin (500 ppm)	Quercetin (500 ppm)	Curcumin (500 ppm)	無処置
総蛋白(g/dL)	4.98±0.13 <sup>a</sup>	5.04±0.19	5.12±0.26	4.96±0.22	5.08±0.23	5.02±0.13
アルブミン(g/dL)	1.78±0.08	1.82±0.08	1.82±0.08	1.80±0.00	1.82±0.04	1.78±0.04
A/G 比	0.556±0.02	0.568±0.02	0.550±0.02	0.562±0.02	0.450±0.22	0.552±0.004
GOT (AST) (U/L)	43.0±5.74	40.2±1.92	41.6±2.41	42.2±3.11	41.4±4.88	40.0±1.87
GPT (ALT) (U/L)	19.6±2.51	19.4±2.07	20.8±1.30	19.4±1.82	20.2±1.92	18.4±1.82
ALP (U/L)	529.2±29.89	529.2±36.91	550.6±44.95	516.4±20.27	541.6±15.29	523.2±16.60
γ-GTP (U/L)	1.0±1.73	0.6±0.55	0.2±0.45	1.4±1.67	1.4±0.55	0.0±0.00
総コレステロール(mg/dL)	78.4±4.51	75.2±4.97	77.8±9.09	76.4±9.99	79.6±11.33	75.6±4.16
中性脂肪(mg/dL)	36.2±8.70	45.0±3.08	56.0±12.39	65.8±7.56*, **	45.0±6.28	46.0±7.54
HDL コレステロール(mg/dL)	42.0±1.87	40.0±2.92	42.0±6.36	39.0±3.39	41.4±4.16	40.0±1.58
LDL コレステロール(mg/dL)	11.2±0.84	10.0±1.22	10.2±1.30	10.6±1.52	11.4±2.61	9.2±0.84

<sup>a</sup> Mean±SD.

\*P<0.01 vs. G5; \*\*P<0.05 vs. G6 (One-way ANOVA, Bonferroni Multiple Comparison Test).



表 7. 血清生化学検査：8 週時（実験終了時）、雄

実験群 (♂)	G1 (n=5)	G2 (n=5)	G3 (n=5)	G4 (n=5)	G5 (n=5)	G6 (n=5)
処置	Quercetin (100 ppm) + Curcumin (100 ppm)	Quercetin (250 ppm) + Curcumin (250 ppm)	Quercetin (500 ppm) + Curcumin (500 ppm)	Quercetin (500 ppm)	Curcumin (500 ppm)	無処置
総蛋白(g/dL)	6.06±0.39 <sup>a</sup>	5.90±0.20	6.08±0.11	5.88±0.04	5.82±0.23	5.76±0.30
アルブミン(g/dL)	2.12±0.13	2.08±0.08	2.12±0.04	2.06±0.05	2.04±0.11	2.02±0.11
A/G 比	0.538±0.004	0.546±0.013	0.538±0.011	0.538±0.018	0.538±0.019	0.538±0.029
GOT (AST) (U/L)	64.4±12.44	61.2±7.50	57.0±4.69	54.6±4.39	62.0±8.22	58.6±2.51
GPT (ALT) (U/L)	36.6±8.08	35.6±7.23	34.6±2.30	30.2±0.84	34.4±3.97	32.0±2.74
ALP (U/L)	309.8±24.27	316.4±24.34	335.0±17.28	286.8±21.35	326.4±44.89	310.8±12.32
γ-GTP (U/L)	6.8±3.11	6.8±2.39	6.4±1.67	6.8±2.28	6.8±5.40	5.0±0.71
総コレステロール(mg/dL)	120.4±12.22	109.6±9.79	119.0±9.30	119.0±8.51	110.4±12.03	117.2±16.95
中性脂肪(mg/dL)	136.6±45.92	105.0±13.71	113.0±7.65	108.4±22.57	104.4±31.25	105.4±38.32
HDL コレステロール(mg/dL)	78.0±4.80	73.2±6.10	78.2±4.76	77.6±4.56	70.8±6.65	76.2±7.92
LDL コレステロール(mg/dL)	11.2±1.48	9.8±1.48	10.8±1.79	11.0±1.00	10.4±2.07	11.2±2.68

<sup>a</sup> Mean±SD.

表 8. 血清生化学検査 (♀) : 8 週時 (実験終了時)、雌

実験群 (♀)	G1 (n=5)	G2 (n=5)	G3 (n=5)	G4 (n=5)	G5 (n=5)	G6 (n=5)
処置	Quercetin (100 ppm) + Curcumin (100 ppm)	Quercetin (250 ppm) + Curcumin (250 ppm)	Quercetin (500 ppm) + Curcumin (500 ppm)	Quercetin (500 ppm)	Curcumin (500 ppm)	無処置
総蛋白(g/dL)	5.36±0.17 <sup>a</sup>	5.28±0.13	5.30±0.12	5.32±0.24	5.16±0.25	5.38±0.08
アルブミン(g/dL)	1.94±0.05	1.88±0.04	1.92±0.08	1.92±0.08	1.88±0.08	1.94±0.05
A/G 比	0.570±0.020	0.554±0.017	0.570±0.019	0.566±0.009	0.572±0.016	0.564±0.018
GOT (AST) (U/L)	55.0±2.45	52.2±4.09	57.6±3.71	55.2±7.95	54.8±5.54	58.0±4.58
GPT (ALT) (U/L)	29.4±1.67	25.4±1.82	30.0±1.41	26.8±6.18	30.6±4.56	25.4±3.13
ALP (U/L)	432.8±34.19	425.0±18.76	449.0±30.89	452.2±20.64	431.0±62.57	462.4±39.08
γ-GTP (U/L)	2.8±0.84	5.0±1.87	4.8±1.48	4.8±3.83	3.6±1.82	4.4±2.61
総コレステロール(mg/dL)	76.6±7.06	76.4±3.58	76.6±6.80	84.0±5.15	75.8±7.82	78.4±5.18
中性脂肪(mg/dL)	33.6±8.65	39.6±10.53	32.8±5.54	34.8±8.35	35.6±9.86	34.8±4.49
HDL コレステロール(mg/dL)	44.2±3.70	44.2±3.27	43.4±3.65	46.8±3.11	43.0±4.74	44.6±3.13
LDL コレステロール(mg/dL)	11.4±2.07	12.2±1.30	10.8±1.79	12.6±1.52	9.8±1.10	12.4±1.14

<sup>a</sup> Mean±SD.

表 9. 複合投与の用量による比較 (雄)

	含まれる 遺伝子数	Fold of change vs. untreated			特徴的な Pathway
		Q100+C100	Q250+C250	Q500+C500	
Group 1	325	0.235	0.280	0.232	<b>Maturity onset diabetes of the young</b> Circadian rhythm MAPK signaling pathway Pantothenate and CoA biosynthesis Insulin signaling pathway Jak-STAT signaling pathway
Group 2	91	0.521	4.042	0.590	Colorectal cancer Cell adhesion molecules
Group 3	33	0.387	0.626	1.653	<b>Nucleotide sugars metabolism</b> Porphyrin and chlorophyll metabolism Glycine, serine and threonine metabolism Tyrosine metabolism Starch and sucrose metabolism
Group 4	32	0.506	1.425	1.661	Glycosphingolipid biosynthesis-lactoseries Ubiquitin mediated proteolysis Keratan sulfate biosynthesis Cysteine metabolism
Group 5	180	1.121	1.298	3.798	<b>Prostate cancer</b> <b>Biosynthesis of steroids</b> <b>ErbB signaling pathway</b> Type I diabetes mellitus Dorso-ventral axis formation O-Glycan biosynthesis Glutamate metabolism Terpenoid biosynthesis Bladder cancer
Group 6	21	1.694	0.568	1.919	Melanogenesis Reductive carboxylate cycle (CO2 fixation)
Group 7	102	3.645	0.783	0.568	<b>Type I diabetes mellitus</b> <b>Arachidonic acid metabolism</b>

Group 8	71	1.692	3.725	1.119	<b>Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450</b> Basal cell carcinoma Prion disease <b>Cytokine-cytokine receptor interaction</b> <b>Type II diabetes mellitus</b> Sulfur metabolism Cell cycle Dentatorubropallidolusian atrophy (DRPLA)
Group 9	486	2.672	1.800	1.734	<b>Cell adhesion molecules (CAMs)</b> <b>Type I diabetes mellitus</b> Hematopoietic cell lineage Antigen processing and presentation MAPK signaling pathway Prion disease Hedgehog signaling pathway Non-small cell lung cancer

Q=ケルセチン、C=クルクミン

表 10. 最高用量 (500 ppm) の複合投与と単独投与での比較 (雄)

	含まれる 遺伝子数	Fold of change vs. untreated			特徴的な Pathway
		Q500+C500	Q500	C500	
Group 10	236	0.215	0.227	0.174	<b>MAPK signalin pathway</b> Pantothenate and CoA biosynthesis Basal cell carcinoma Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450 Arachidonic acid pathway Alanine and aspartate metabolism
Group 11	96	3.720	0.454	0.700	<b>Axon guidance</b> Tyrosine metabolism Taurine and hypotaurine metabolism Methane metabolism Prostate cancer
Group 12	123	1.411	0.962	0.464	<b>beta-Aranine metabolism</b> Urea cycle and metabolism of amino groups Alanine and aspartate metabolism
Group 13	229	2.501	1.695	0.922	<b>Biosynthesis of steroids</b> Prostate cancer ErbB signaling pathway Dorso-ventral axis formation Novobiocin biosynthesis O-Glycan biosynthesis Galactose metabolism Adherens junction
Group 14	94	0.933	2.866	0.777	Fc epsilon RI signaling pathway Cytokine-cytokine receptor interaction Fatty acid biosynthesis
Group 15	192	0.511	0.511	1.955	<b>Arachidonic acid metabolism</b> Axon guidance Jak-STAT signaling pathway Melanogenesis Fatty acid metabolism Type II diabetes mellitus

Group 16	29	0.370	1.052	0.685	Glycosphingolipid biosynthesis-neo-lactoseries Parkinson's disease Maturity onset diabetes of the young
Group 17	88	0.575	1.098	1.968	Circadian rhythm Glyoxylate and dicarboxylate metabolism One carbon pool by folate
Group 18	162	1.590	1.070	3.348	<b>Natural killer cell mediated cytotoxicity</b> PPAR signaling pathway Alanine and aspartate metabolism ABC transporters-General Bladder cancer Endometrial cancer
Group 19	221	1.717	2.261	2.038	<b>Cell adhesion molecules (CAMs)</b> <b>Chronic myeloid leukemia</b> Prostate cancer ErbB signaling pathway Renal cell carcinoma Pancreatic cancer

Q=ケルセチン、C=クルクミン

表 11. 複合投与の用量による比較 (雌)

	含まれる 遺伝子数	Fold of change vs. untreated			特徴的な Pathway
		Q100+C100	Q250+C250	Q500+C500	
Group 20	259	0.395	0.295	0.325	<b>Biosynthesis of steroids</b> <b>Terpenoid biosynthesis</b> <b>Endometrial cancer</b> <b>Prostate cancer</b> <b>p53 signaling pathway</b> Melanoma Bladder cancer Colorectal cancer TGF-β signaling pathway MAPK signaling pathway Maturity onset diabetes of the young Thyroid cancer Glioma
Group 21	107	0.323	0.640	0.582	Spingolipid metabolism Long-term potentiation Calcium signaling pathway PPAR signaling pathway
Group 22	30	0.520	0.538	2.269	<b>Toll-like receptor signaling pathway</b> Cysteine metabolism Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) Type II diabetes mellitus Glycine, serine and threonine metabolism
Group 23	151	1.305	0.984	5.175	<b>Cell cycle</b> <b>Type I diabetes mellitus</b> <b>Cell adhesion molecules (CAMs)</b> <b>Antigen processing and presentation</b> Type II diabetes mellitus Glycolysis/Gluconeogenesis Insulin signaling pathway Streptomycin biosynthesis p53 signaling pathway
Group 24	25	0.675	2.404	0.471	Olfactory transduction

Group 25	69	0.491	1.645	1.588	Long-term depression Gap junction <u>Sulfur metabolism</u> Androgen and estrogen metabolism Basal cell carcinoma Caffeine metabolism
Group 26	156	1.163	3.428	1.630	<u>Glyoxylate and dicarboxylate metabolism</u> Androgen and estrogen metabolism
Group 27	78	1.480	0.465	0.616	Methane metabolism
Group 28	60	2.531	0.965	0.534	<u>C21-Steroid hormone metabolism</u> Parkinson's disease Neurodegenerative Diseases Androgen and estrogen metabolism Terpenoid biosynthesis Prion disease
Group 29	280	3.206	1.772	1.594	<u>Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450</u> Circadian rhythm Glutathione metabolism Glutamamate metabolism

Q=ケルセチン、C=ケルケミン



表 12. 最高用量 (500 ppm) の複合投与と単独投与での比較 (雌)

	含まれる 遺伝子数	Fold of change vs. untreated			特徴的な Pathway
		Q500+C500	Q500	C500	
Group 30	261	0.293	0.370	0.365	<b>Biosynthesis of steroids</b> <b>Caprolactam degradation</b> <b>Adipocytokine signaling pathway</b> PPAR signaling pathway Valine, leucine and isoleucine degradation Fatty acid metabolism Butanoate metabolism ErbB signaling pathway TGF- $\beta$ signaling pathway MAPK signaling pathway $\beta$ -Alanine metabolism Limonene and pinene degradation Benzoate degradation via CoA ligation Propanoate metabolism
Group 31	101	0.594	0.458	1.239	<b>Biosynthesis of steroids</b> <b>Terpenoid biosynthesis</b> Bile acid biosynthesis Porphyrin and chlorophyll metabolism Glycine, serine and threonine metabolism mmu00281
Group 32	43	0.617	1.658	0.556	<b>p53 signaling pathway</b> Prion disease Chondroitin sulfate biosynthesis $\gamma$ -Hexachlorocyclohexane degradation
Group 33	94	1.025	5.775	1.302	<b>C21-Steroid hormone metabolism</b> Androgen and estrogen metabolism Melanogenesis
Group 34	94	2.174	2.764	0.948	Starch and sucrose metabolism
Group 35	129	5.061	1.000	0.973	<b>Type II diabetes mellitus</b> <b>Type I diabetes mellitus</b> Insulin signaling pathway Cell adhesion molecules (CAMs)

Group 36	58	0.926	0.689	2.352	<b>Antigen processing and presentation</b> Bladder cancer Glycolysis/Gluconeogenesis Streptomycin biosynthesis Pancreatic cancer Sulfur metabolism <u><b>Biosynthesis of steroids</b></u> Butanoate metabolism Terpenoid biosynthesis Tetrachloroethene degradation PPAR signaling pathway Sulfur metabolism
Group 37	264	2.030	1.487	3.275	<b>Cell cycle</b> <b>Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450</b> Glyoxylate and dicarboxylate metabolism ECM-receptor interaction Nitrogen metabolism Arachidonic acid metabolism

Q=ケルセチン、C=ケルケミン

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）  
分担研究報告書

残留農薬の複合影響による神経毒性に関する研究

分担研究者	原田孝則	(財)	残留農薬研究所	理事・毒性部長
協力研究者	小坂忠司	(財)	残留農薬研究所	毒性部免疫・急性毒性研究室
	首藤康文	(財)	残留農薬研究所	毒性部神経毒性研究室
	上田英夫	(財)	残留農薬研究所	毒性部免疫・急性毒性研究室
	福山朋季	(財)	残留農薬研究所	毒性部免疫・急性毒性研究室
	林 宏一	(財)	残留農薬研究所	毒性部免疫・急性毒性研究室
	小嶋五百合	(財)	残留農薬研究所	毒性部病理研究室
	富田真理子	(財)	残留農薬研究所	毒性部病理研究室

研究要旨

殺虫剤の有機リン剤（パラチオン）とカーバメート剤（MPMC）の複合暴露影響を明らかにするため、雌性ラットを用い両剤を同時に2週間にわたり反復経口投与し、一般毒性、神経毒性及び免疫毒性関連項目を指標に相加・相乗毒性の有無を検索した。一般毒性関連では、パラチオンとMPMCの複合投与群で血漿グロブリンと総コレステロール値の有意な増加が観察された。神経毒性関連項目では、パラチオン単独投与群で血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性の抑制が認められたが、複合投与群ではコリンエステラーゼ活性抑制がみられたのは赤血球のみであり、複合投与による増強効果は認められなかった。免疫毒性関連では、パラチオン単独投与群でB細胞の増加が、MPMC単独投与群ではヘルパーT細胞の減少がそれぞれ観察されたが、複合投与群では特に影響は認められなかった。これらの結果から、本試験条件下ではパラチオンとMPMCの反復複合投与は血漿中のグロブリンと総コレステロールに影響を及ぼすものの、神経毒性あるいは免疫毒性関連項目に対しては増強効果を示さないことが示唆された。

A. 研究目的

農薬の複合毒性については、社会的関心は高いものの、実験上および評価上の困難性などの理由から毒性情報の蓄積が不足しており、特に近年懸念されている食品中の残留農薬の乳幼児・子供への累積暴露影響に関しては不明な点が多く、今後の研究課題である。従って、これらの課題を解明することは社会的かつ医学的にも有意義なことと考えられる。本研究においては、有機リン剤などの殺虫剤を対象に、食品中の残留農薬が複合的に反復暴露された場合の一般毒性影響、神経系及び免疫系への

影響を実験動物を用い調査し、ヒト健康影響へのリスク評価に必要な基礎的毒性情報を収集する事を目的とした。平成19年度では、代表的な有機リン剤及びカーバメートを成獣に複合的に反復暴露し、一般毒性、神経毒性及び免疫毒性関連項目を指標に相加・相乗毒性の有無を検索した。

B. 研究方法

本研究では、殺虫剤の有機リン剤（パラチオン）とカーバメート剤（MPMC）を組合せ、雌性ラットに複合的に2週間反復経口投与し、以下の実験条件下で一般毒性、

神経毒性及び免疫毒性関連項目を指標にして複合暴露影響を検索した。

### 1. 被験物質

本試験の被験物質として、有機リン剤のパラチオン (Parathion、*O,O*-Diethyl *O*-4-Nitrophenyl Phosphorothiate、99.6%、和光純薬工業株式会社) 及びカーバメート剤のMPMC (Xylylcarb、3-4-Xylyl Methylcarbamate、98.9%、和光純薬工業株式会社) を使用した。被験物質は受領後冷蔵庫 (許容範囲 1~10℃) で保管した。

### 2. 試験動物

日本クレア株式会社富士生育場 (静岡県) で生産された Wistar Hannover 系 SPF ラット (BrlHan:WIST@Jcl[GALAS]) の雌を 9 週齢にて 45 匹購入し、10 日間試験環境に馴化した後、10 週齢で試験に用いた。馴化期間中毎日一般状態を観察した。動物は温度 22 ± 2℃、湿度 50 ± 20%、換気回数 10 回以上/時間 (オールフレッシュエアー方式)、照明時間 12 時間/日 (午前 7 時点灯、午後 7 時消灯) に設定された動物飼育室で飼育した。投与開始日の前日に全ての動物の体重を測定し、体重値に基づいた層別無作為抽出法で各用量群に 10 匹ずつ配分し、群分けを実施した。群分け後の個体識別は耳鑑札法で行なった。基礎飼料には保証飼料 MF 粉末 (オリエンタル酵母工業株式会社) を用い、ステンレス鋼製粉末給餌器に入れて動物に自由に摂取させた。飲料水は、市上水 (常総市) をプラスチック製給水びんに入れて動物に自由に摂取させた。

#### (倫理面への配慮)

動物の取り扱いに関しては残留農薬研究所で定める倫理規定に従い実施した。

### 3. 試験群

当該試験に先立ち、1 群 5 匹ずつの雌性

Wistar Hannover 系 SPF ラットを用いて対照群、パラチオン 0.25 mg/kg 群、MPMC 30 mg/kg 群及びパラチオン 0.125 mg/kg と MPMC 15 mg/kg の複合投与群の 4 群で 7 日間の反復強制経口投与による予備試験を実施した。その結果、パラチオン 0.25 mg/kg 群において、血漿中コリンエステラーゼ活性の低下がみられたが、脳内コリンエステラーゼ活性に変化はみられなかった。臓器重量検査において、パラチオン 0.25 mg/kg 群及び MPMC 30 mg/kg 群で胸腺重量の減少傾向が認められた。これらの予備試験結果に基づいて、明らかな毒性変化が予想される予備試験用量の 2 倍用量を選択した。投与用量は対照群 (0 mg/kg)、パラチオン 0.5 mg/kg 群、MPMC 60 mg/kg 群及びパラチオン 0.25 mg/kg と MPMC 30 mg/kg の複合投与群の 4 群を設定した。

### 4. 被験物質投与液の調製

各用量の被験物質投与液を週に 1 回調製した。投与液調製時には純度換算を行なった。投与容量は 5 mL/kg とした。所定量の被験物質を秤量した後、パラチオンではコーン油にて 0.1 mg/mL の濃度に、MPMC では 1% Tween80 水溶液 (Tween80、和光純薬工業株式会社) にて 12 mg/mL の濃度に溶解あるいは懸濁させた。パラチオンと MPMC の複合投与液は、上記 2 液を 1:1 にてスターラーで懸濁し、使用した。対照群では、コーン油及び 1% Tween80 水溶液の 1:1 混合液を媒体として用いた。各濃度の投与液は小分けし、冷蔵・遮光 (5℃) 条件下にて保存した。投与液は投与直前に室温に戻して使用した。

### 5. 一般状態の観察

全動物について、投与期間中 1 日 2 回瀕死状態ないし死亡の有無を、1 日 1 回被験物質投与後に一般状態を観察した。