

扱状況に関する情報をデータベース化し、Web ベースの検索ツールを作成し、発生毒性に於ける不確実係数について、更なる解析が必要であることが示された。また、本研究班の各分担研究から得られた定量結果に関して、ベンチマークドースの計算を行い、定量的な指標としての妥当性について検証した。その結果、いくつかのパラメータに於いて、低用量域にベンチマークドースを設定できることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

原著論文

Takagi, H., Shibutani, M., Lee, K-Y, Masutomi, N., Fujita, H., Inoue, K., Mitsumori, K., Hirose, M.: Impact of maternal dietary exposure to endocrine-acting chemicals on progesterone receptor expression in microdissected hypothalamic medial preoptic areas of rat offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 208: 127-136, 2005.

鈴木 勉, 水尾圭祐, 宮川和也, 成田 年: Bisphenol-A の胎児期および授乳期暴露による脳内報酬系に及ぼす影響. *日本神経精神薬理学雑誌* 2005, 25, 125-128.

成田 年, 宮川和也, 富田真理子, 水尾圭祐, 鈴木 勉: Bisphenol-A の胎児期および授乳期慢性暴露による dopamine 神経行動毒性発現. *精神科* 2005, 6, 256-262.

成田 年, 宮竹真由美, 鈴木雅美, 鈴木 勉: 薬物依存時におけるシナプス可塑性とグリア細胞. グリアから依存を考える. *日本薬理学雑誌* 2005, 126, 43-48.

Lee, K-Y, Shibutani, M., Inoue, K., Kuroiwa, K., U, M., Woo, G-H., Hirose, M.: Methacarn fixation – Effects of tissue processing and storage conditions on detection of mRNAs and proteins in paraffin-embedded tissues. *Anal. Biochem.* 351: 36-43, 2006.

Takizawa, T., Imai, T., Ueda, M., Onodera, H., Hirose, M.: Comparison of enhancing effects of different goitrogen treatments in combination with β -estradiol-

3-benzoate for establishing a rat two-stage thyroid carcinogenesis model to detect modifying effects of estrogenic compounds. *Cancer Sci.*, 97, 25-31, 2006.

Onose, J., Imai, T., Hasumura, M., Cho, Y.M., Hirose, M.: A new medium-term rat colon bioassay applying neoplastic lesions as endpoints for detection of carcinogenesis modifiers – validation with known modifiers. *Cancer Lett.*, 232, 272-278, 2006.

Cho, Y.M., Imai, T., Hasumura, M., Hirose, M.: Lack of enhancement of susceptibility to mammary and thyroid carcinogenesis in rats exposed to DMBA and DHPN following prepubertal iodine deficiency. *Cancer Sci.*, 97, 1031-1036, 2006.

Ema, M., Fujii, S., Matsumoto, M., Hirose, A., Kamata, E.: Prenatal developmental toxicity study of basic rubber accelerator, 1,3-di-*o*-tolylguanidine, in rats. *Reprod. Toxicol.*, 22, 672-678, 2006.

Ema, M., Fukunishi, K., Matsumoto, M., Hirose, A., Kamata, E.: Evaluation of developmental toxicity of ultraviolet absorber 2-(3',5'-di-*tert*-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole in rat. *Drug Chem. Toxicol.*, 29, 215-225, 2006.

成田 年, 宮竹真由美, 矢島義識, 鈴木 勉: モルヒネ依存における持続的神経内プロテインキナーゼ C の活性化と細胞-細胞間相互作用. *日本薬理学雑誌* 2006, 127, 32-35.

成田 年, 宮竹真由美, 鈴木雅美, 葛巻直子, 鈴木 勉: 薬物依存形成の分子機構: 細胞間相互作用とグリア細胞の役割. *日本神経精神薬理学雑誌* 2006, 26, 33-39.

Shibutani, M., Lee, K-Y, Igarashi, K., Woo, G-H., Inoue, K., Nishimura, T., Hirose, M.: Hypothalamus region-specific global gene expression profiling in early stages of central endocrine disruption in rat neonates injected with estradiol benzoate or flutamide. *Dev. Neurobiol.*, 67(3): 253-269, 2007.

Nakamura R., Teshima R., Hachisuka A, Sato Y. Takagi K., Gye-Hyeong W., Shibutani M., Sawada J. Effects of developmental hypothyroidism by maternal administration of methimazole or propylthiouracil on the immune system of rats., *Int. Immunopharmacol.* 7, 1630-1638, 2007.

Imai, T., Hasumura, M., Cho, Y.M., Onose, J., Hirose, M.: Depression of T cell-mediated immunity reduces

sulfadi-methoxine-induced capsular inflammation and inhibits associated development of invasive thyroid follicular cell carcinomas in rats. *Cancer Sci.*, 98, 294-298, 2007.

Ema, M., Fujii, S., Ikka, T., Matsumoto, M., Hirose, A., Kamata, E.: Early pregnancy failure induced by dibutyltin dichloride in mice. *Environ. Toxicol.*, 22, 44-52, 2007.

Ema, M., Fukunishi, K., Matsumoto, M., Hirose, A., Kamata, E., Ihara, T.: Developmental toxicity of dibutyltin dichloride in cynomolgus monkeys. *Reprod. Toxicol.*, 23, 12-19, 2007.

Watanabe W., Shimizu T., Hino A., Kurokawa M.: A new assay system for evaluation of developmental immunotoxicity of chemical compounds using respiratory syncytial virus infection to offspring mice. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 25, 69-74, 2008.

Shimizu T., Hino A., Tsutsumi A., Y. K. Park., Watanabe W., Kurokawa M.: Anti-influenza virus activity of propolis in vitro and its efficacy against influenza infection in mice. *Antivir. Chem. Chemother.*, 2008, in press.

Cho, Y.M., Imai, T., Ota, Y., Hasumura, M., Takami, S., Hirose, M., Nishikawa, A.: A new medium-term rat colorectal bioassay applying neoplastic lesions as end points for detection of carcinogenesis modifier - Effects with weak or controversial modifiers. *Toxicol. Pathol.* in press.

Ema, M., Fujii, S., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Hirose, A., Kamata, E.: Two-generation reproductive toxicity study of the rubber accelerator N,N-dicyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in rats. *Reprod. Toxicol.*, 25, 21-38, 2008.

Ema, M., Ihara, H., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Hirose, A., Kamata, E.: Evaluation of developmental neurotoxicity of polysorbate 80 in rats. *Reprod. Toxicol.*, 25, 89-99, 2008.

Hirata-Koizumi, M., Matsuyama, T., Imai, T., Hirose, A., Kamata, E., Ema, M.: Lack of gender-related difference in the toxicity of 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole in preweaning rats. *Drug Chem. Toxicol.*, 31, 275-287, 2008.

Hirata-Koizumi, M., Noda, A., Hirose, A., Kamata, E., Ema, M.: Reproductive and developmental toxicity

screening test of tetrahydrofurfuryl alcohol in rats. *Reprod. Toxicol.*, 25, 231-238, 2008.

書籍

黒川昌彦(分担): ウイルス粒子構造, ウイルスの分類, RNA ウイルス, 抗ウイルス薬, 感染症治療に用いられる生物学的製剤と作用機序. 西島正弘, 後藤直正(編), 薬学領域の病原微生物・感染症学・化学療法学. 廣川書店, 東京, 2007, pp. 129-151, 351-354, 364-400, 534-536, 544-550.

黒川昌彦(分担): アレルギー. 植田 正, 前仲勝実(編), 薬系免疫学. 南江堂, 東京, 2007, pp. 85-99.

黒川昌彦(分担): 免疫疾患とその治療法. 市川厚, 田中智之(編), わかりやすい免疫学. 廣川書店, 東京, 2008, pp. 139-180.

Ema, M., Hirose, A.: Reproductive and developmental toxicity of organotin compounds. Golub MS, Ed. Metals, Fertility, and Reproductive Toxicity, CRC Press, Boca Raton, 2006, pp. 23-64.

2. 学会発表

渋谷 淳, 李 京烈, 井上 薫, 黒岩敬子, 広瀬雅雄: メタカーン固定パラフィン包埋組織の固定・脱水及び保存条件の検討, 第21回日本毒性病理学会, 浜松, 第21回日本毒性病理学会講演要旨集: p97(P-92), 1月, 2005.

高木 広憲, 渋谷 淳, 藤田 春香, 李 京烈, 井上 薫, 広瀬 雅雄: 内分泌かく乱化学物質の周産期暴露によるラット視床下部内側視索前野での progesterone receptor 発現の変化, 第21回日本毒性病理学会, 浜松, 1月, 2005.

渋谷 淳, 李 京烈, 高木 広憲: 分子病理学的手法を用いた毒性発現の分子標的の解析- 内分泌かく乱化学物質による脳の性分化障害について-, 第139回日本獣医学会学術集会 日本獣医病理学会, シンポジウム「生物化学の深化と獣医病理学研究への応用」, 和光, 第139回日本獣医学会学術集会講演要旨集: p109(B-SY-3), 3月31日, 2005.

富士本仁, 渋谷 淳, 禹 桂炯, 井上 薫, 禹麻美, 高橋美和, 広瀬雅雄: 発達期甲状腺機能低下に起因するラット脳の発達遅延における標的脳領域特異的な遺伝子発現変動のプロファイ

リング, 第 23 回日本毒性病理学会, 東京, 1 月, 2007.

富士本仁, 渋谷 淳, 禹 桂炯, 井上 薫, 禹 麻美, 高橋美和, 広瀬雅雄: 難燃剤 decabromodiphenyl ether (DBDE) のラット発達期暴露に起因する脳白質領域特異的な発現変動遺伝子のプロファイリング, 第 34 回日本トキシコロジー学会, 東京, 第 34 回日本トキシコロジー学会学術年会プログラム・要旨集: S141(P-70), 6 月, 2007.

三枝由紀恵, 渋谷 淳, 富士本仁, 禹 桂炯, 高橋美和, 井上 薫, 禹 麻美, 三森国敏, 広瀬雅雄: 難燃剤 decabromodiphenyl ether (DBDE) のラット発達期暴露に起因する脳海馬 CA1 領域特異的な発現変動遺伝子のプロファイリング, 第 34 回日本トキシコロジー学会, 東京, 第 34 回日本トキシコロジー学会学術年会プログラム・要旨集: S140(P-68), 6 月, 2007.

Fujimoto, H., Shibutani, M., Woo, G-H., Inoue, K., U, M., Takahashi, M., Hirose, M., Nishikawa, A.: Gene expression profiling specific to the cerebral white matter of rats exposed developmentally to decabromodiphenyl ether with reference to brain retardation due to developmental hypothyroidism, 6th International Congress of Toxicologic Pathology, バーゼル, 9 月, 2007.

富士本仁, 渋谷 淳, 禹 桂炯, 三枝由紀恵, 井上 薫, 禹 麻美, 高橋美和, 広瀬雅雄, 西川秋佳: 臭素化難燃剤のラット発達期暴露による脳白質障害の標的分子の探索, 第 24 回日本毒性病理学会, 名古屋, 第 24 回日本毒性病理学会講演要旨集: p53(P-11), 2 月, 2008.

三枝由紀恵, 渋谷 淳, 富士本仁, 禹 桂炯, 高橋美和, 井上 薫, 三森国敏, 広瀬雅雄, 西川秋佳: 臭素化難燃剤ヘキサブロモシクロドデカン (HBCD) 及びテトラブロモビスフェノール A (TBBPA) のラット発達期暴露による毒性影響—特に脳発達影響について—, 第 24 回日本毒性病理学会, 名古屋, 第 24 回日本毒性病理学会講演要旨集: p54(P-14), 2 月, 2008.

宮川和也, 成田 年, 湯浅茂樹, 武田 健, 鈴木 勉: 環境化学物質と神経行動毒性, 第 18 回神経行動毒性研究会, 東京, 12 月, 2005.

宮川和也, 成田 年, 押尾 茂, 富田真理子, 宮竹真由美, 水尾圭祐, 武田 健, 鈴木 勉: 薬物依存の研究 (第 410 報) 環境化学物質の胎児期および授乳期慢性暴露による dopamine 神経障害, 第 35 回日本神経精神薬理学会, 大阪, 7 月, 2005.

Miyagawa, K., Narita, M., Miyatake, M., Mizuo, K., Tomita, M., Suzuki, T.: Influence of an endocrine disruptor bisphenol-A in dopamine-dependent rewarding effect and astrocytic activation. CPDD 67th ANNUAL SCIENTIFIC MEETING, Orlando, Florida, 6 月, 2005.

宮川和也, 成田 年, 赤間久彦, 鈴木 勉: 甲状腺ホルモンかく乱環境化学物質の胎児期及び授乳期慢性暴露による中枢神経発達障害, 第 33 回日本トキシコロジー学会, 名古屋, 7 月 3-5 日, 2006.

Nakamura, R., Teshima, R., Hachisuka, A., Sato, Y., Takagi, K., Woo, G-H., Shibutani, M., Sawada J.: Effects of antithyroids on the developing immune system. 20th IUBMB Congress, 京都, 6 月, 2006.

中村亮介, 手島玲子, 蜂須賀暁子, 高木加代子, 禹 桂炯, 渋谷 淳, 澤田純一, 胎児期・新生児期のラット免疫系に及ぼす抗甲状腺薬の影響; 第 13 回日本免疫毒性学会学術大会, 倉敷, 9 月 14-15 日, 2006.

手島玲子, 中村亮介, 中村里香, 蜂須賀暁子, 澤田純一, 渋谷 淳, 臭素化難燃剤 DBDE (decabromo- diphenyl ether) の胎児期・新生児期暴露による免疫影響について: 第 13 回日本免疫毒性学会学術大会, 倉敷, 9 月 14-15 日, 2006.

中村亮介, 手島玲子, 蜂須賀暁子, 高木加代子, 禹 桂炯, 渋谷 淳, 澤田純一, 胎児期・新生児期のラット免疫系に及ぼす HBCD の影響; 第 14 回日本免疫毒性学会学術大会 9 月, 2007.

手島玲子, 中村亮介, 中村里香, 蜂須賀暁子, 澤田純一, 渋谷 淳, 臭素化難燃剤の発達期免疫影響について: 日本薬学会 128 年会 3 月, 2008.

中村亮介, 手島玲子, 蜂須賀暁子, 佐藤雄嗣, 中村里香, 澤田純一, 渋谷 淳, 臭素化難燃剤 TBBPA の周産期暴露の仔ラット免疫系への影

響；日本薬学会 128 年会 3 月, 2008.

清水寛美, 日野あかね, 渡辺 渡, 堤 淳子, 堤重敏, Y. K. Park, 黒川昌彦: インフルエンザ感染症に対するプロポリスの治療効果, 第 16 回抗ウイルス化学療法研究会, 5 月, 2006.

渡辺 渡, 清水寛美, 日野あかね, 黒川昌彦: RS ウイルス感染マウスモデルを用いた化学物質のリスク評価の試み, 第 43 回日本ウイルス学会九州支部総会, プログラム及び抄録 p 28, 9 月, 2006.

清水寛美, 日野あかね, 渡辺 渡, 堤 淳子, 堤重敏, Y. K. Park, 黒川昌彦: インフルエンザ感染症に対するプロポリスの効果, 第 43 回日本ウイルス学会九州支部総会, プログラム及び抄録 p 29, 9 月, 2006.

渡辺 渡, 清水寛美, 日野あかね, 黒川昌彦: RS ウイルス感染マウスモデルを用いた化学物質のリスク評価系の構築, 第 54 回日本ウイルス学会, 学術集会プログラム・抄録集 p 341, 11 月, 2006.

清水寛美, 渡辺 渡, 堤 淳子, 堤 重敏, 黒川昌彦: プロポリスの抗インフルエンザウイルス作用, 第 54 回日本ウイルス学会, 学術集会プログラム・抄録集 p 356, 11 月, 2006.

渡辺 渡, 清水寛美, 日野あかね, 黒川昌彦: RS ウイルス感染マウスモデルを用いた化学物質のリスク評価の試み, 第 23 回日本薬学会九州支部大会, 講演要旨集 p 183, 12 月, 2006.

清水寛美, 日野あかね, 渡辺 渡, 堤 淳子, 堤重敏, Y. K. Park, 黒川昌彦: プロポリスの抗インフルエンザ作用, 第 23 回日本薬学会九州支部大会, 講演要旨集 p 182, 12 月, 2006.

Tolo, F.M., Rukunga, G.M., Muli, F.W., Ochora, J., Kurokawa, M., Orwa, J., Mungai, G.M., Muthaura, C.N., Wanjiku, C.K., Kofi-Tsekpo, M.W.: Antiviral formulations from Kenyan medicinal plants; activity against herpes simplex virus infection in mice. The 27th African Health Sciences Congress, 2006. Dec. Durban, South Africa.

黒川昌彦, 清水寛美, 日野あかね, 渡辺 渡: ウイルス感染動物モデルを用いた免疫賦活(抗ストレス)食品の検索, 科学シンポジウム in 宮崎, 2 月, 2007.

渡辺 渡, 清水寛美, 日野あかね, 黒川昌彦: RS ウイルス感染マウスモデルを用いた化学物質のリスク評価系の構築, 日本薬学会第 127 年会, 3 月, 2007.

清水寛美, 日野あかね, 渡辺 渡, 堤 淳子, 堤重敏, Y. K. Park, 黒川昌彦: プロポリス(AF-08)の抗インフルエンザ作用, 日本薬学会第 127 年会, 3 月, 2007.

渡辺 渡, 清水寛美, 日野あかね, 黒川昌彦: 臭素化難燃物の周産期暴露による RS ウイルス感染への影響, 第 55 回日本ウイルス学会, 札幌, 10 月, 2007.

Watanabe, W., Shimizu, T., Hino, A., Kurokawa, M.: RSV-infected mouse model for evaluation of health risk of brominated flame retardants. The 44th Congress of the European Societies of Toxicology, Amsterdam, Oct., 2007.

渡辺 渡, 清水寛美, 日野あかね, 黒川昌彦: 臭素化難燃物の周産期暴露による RS ウイルス感染への影響, 第 24 回日本薬学会九州支部大会, 福岡, 12 月, 2007.

渡辺 渡, 清水寛美, 日野あかね, 黒川昌彦: 家庭用電化製品に含まれる化学物質の胎児・新生児に対する危険性, 第 4 回高梁学園学術カンファレンス, 岡山, 3 月, 2008.

渡辺 渡, 清水寛美, 黒川昌彦: ウイルス感染モデルの薬学への応用, 薬学研究フォーラム in 東京 2008—九州からの情報発信—, 東京, 3 月, 2008.

渡辺 渡, 清水寛美, 日野あかね, 黒川昌彦: 臭素化難燃物の周産期暴露による RS ウイルス感染への影響, 日本薬学会第 128 年会, 横浜, 3 月, 2008.

高見成昭, 今井俊夫, 曹永晩, 広瀬雅雄, 西川秋佳: Decabromodiphenyl ether の乳幼児期投与によるラット多臓器発がん感受性に及ぼす影響. 第 66 回日本癌学会総会 10 月, 2007.

Hirose A, Aisaki H, Oh K, Matsumoto M, Kamata E, Igarashi K, Kanno J, Ema M. Gene Expression analysis in uterus and ovary of mice treated dibutyltin

dichloride during implantation. The 26th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (DIOXIN 2006, Oslo, 8/24), 2006.

Hirose A, Kamata E, Akiyama H, Takahashi M, Ema M, Hayashi M. Development in silico genotoxicity predictory system on chromosomal aberration for existing chemicals. EUROTOX 2006 (9/20-24, Dubrovnik/Cavtat) 9/21, 2006.

Hirose A, Yamazoe Y, Ema M, Kawamura Y. Toxicity testing schema for the initial risk assessment of food contact plastics based on the concept of ttc and usage probabilistic factors. The 46th Annual Meeting of the Society of Toxicology, 2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許所得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

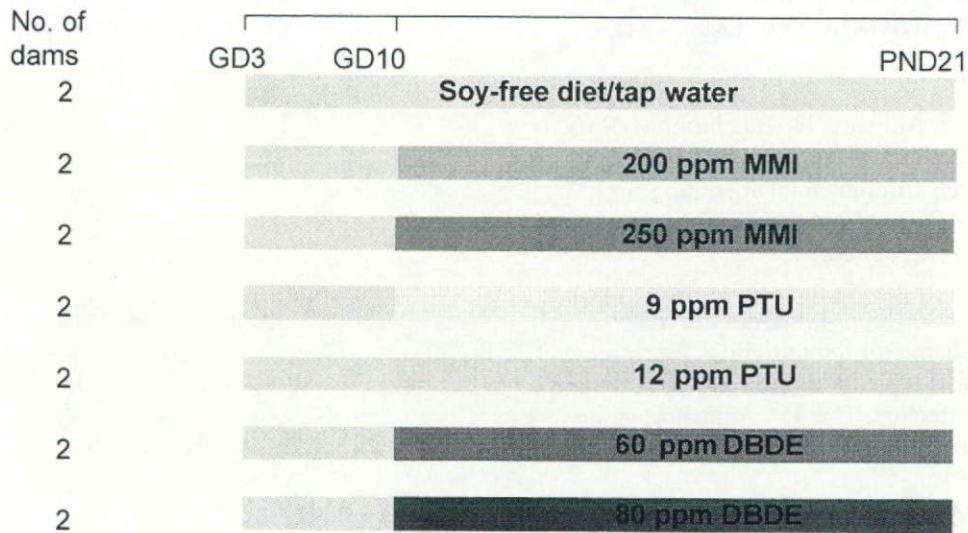
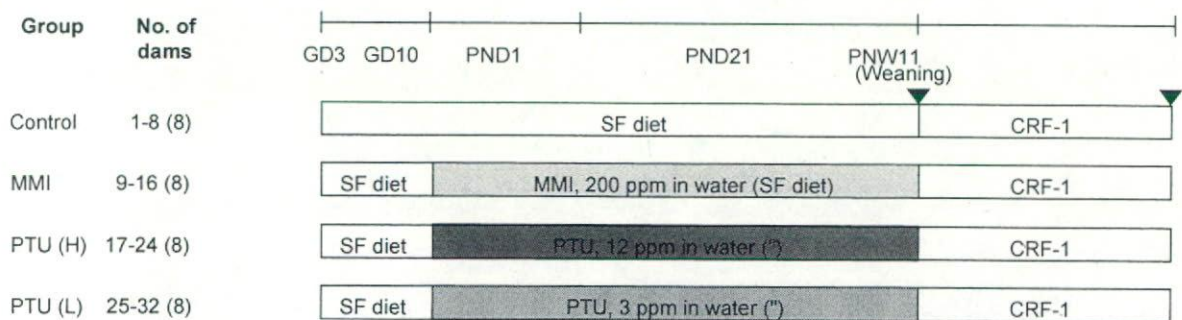


Fig. 1.
Preliminary dose finding study of methimazole (MMI), propylthiouracil (PTU), and decabromodiphenyl ether (DBDE) by a perinatal developmental exposure protocol using rats

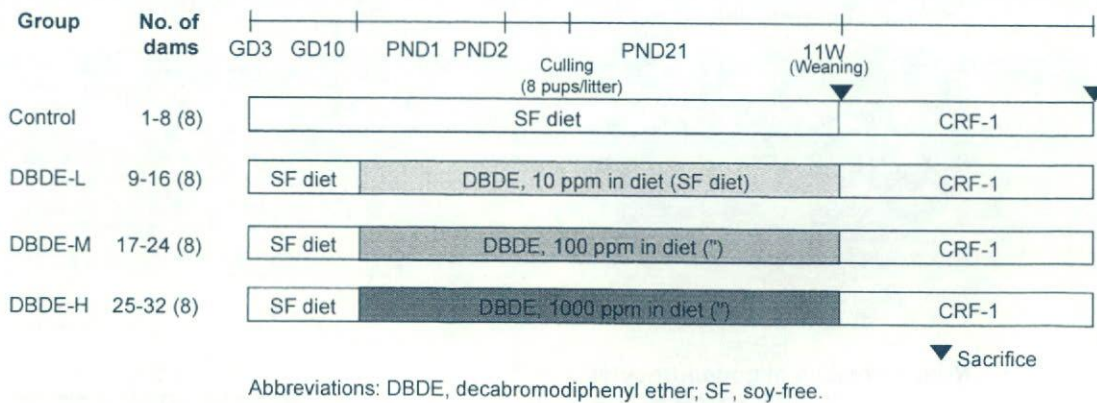


Parameters to be examined

- Implantation (PND21)
- Body and organs weights (Dams and offspring) (PND2)
- Offspring count (PND2)
- Feed and water consumption (throughout the experiment)
- Puberty, vaginal opening, and estrous cycle
- Histology and immunohistochemistry (PND21 & PNW11)
- Serology (T3, T4, TSH) (PND21)
- Gene expression profiling in hippocampus and corpus callosum by microarray and real-time RT-PCR (PND21)

▼ Sacrifice
Abbreviations:
MMI: Methimazole
PTU: Propylthiouracil

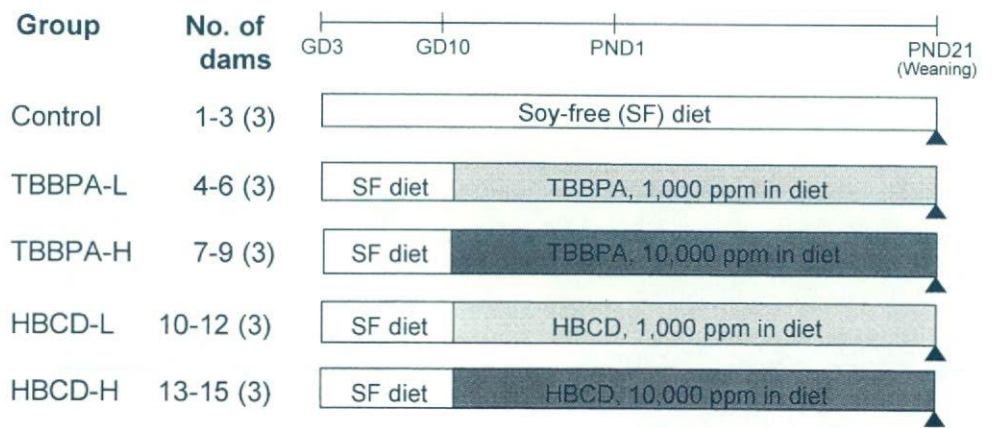
Fig. 2.
Developmental exposure study of anti-thyroid agents using rats to establish an evaluation system of the brain retardation due to hypothyroidism



Parameters to be examined

- Implantation (PND21)
- Body and organs weights (Dams and offspring) (PND2)
- Offspring count (PND2)
- Feed and water consumption (throughout the experiment)
- Puberty, vaginal opening, and estrous cycle
- Histology and immunohistochemistry (PND21 & PNW11)
- Serology (T3, T4, TSH) (PND21)
- Gene expression profiling in the hippocampus and corpus callosum by microarray and real time RT-PCR (PND21, males)

Fig. 3. Developmental exposure study of decabromodiphenyl ether (DBDE) using rats to establish an evaluation system of the brain retardation related to hypothyroidism



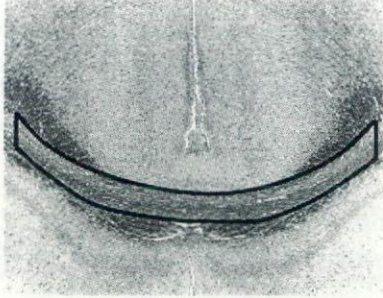
Parameters to be examined

- Implantation
- Body and organs weights (Dams and offspring)
- Offspring count
- Feed consumption
- Histopathology of liver and thyroid (Dams)

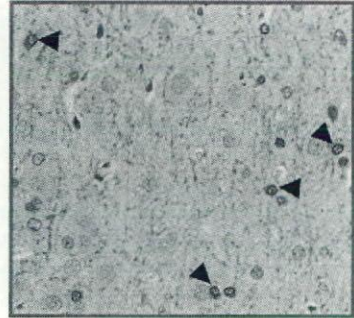
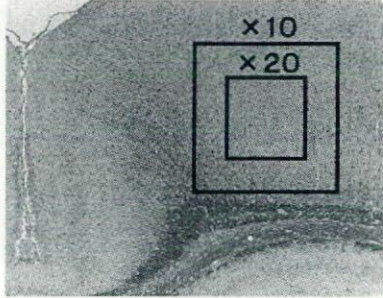
▲: Sacrifice (All animals)

Fig. 4. Preliminary dose finding study of tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecane (HBCD) by a perinatal developmental exposure protocol using rats

<Area of corpus callosum>



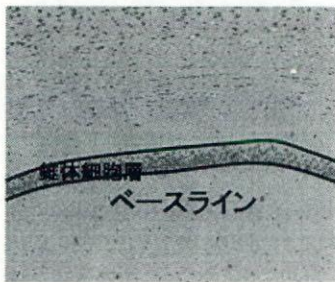
<CNPase-positive oligodendrocytes>



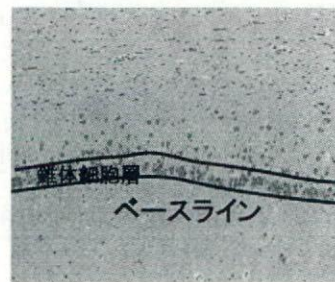
◀ : 陽性細胞

Fig. 5.

Morphometry of white matter components in rats exposed developmentally to anti-thyroid agents or brominated fire retardants



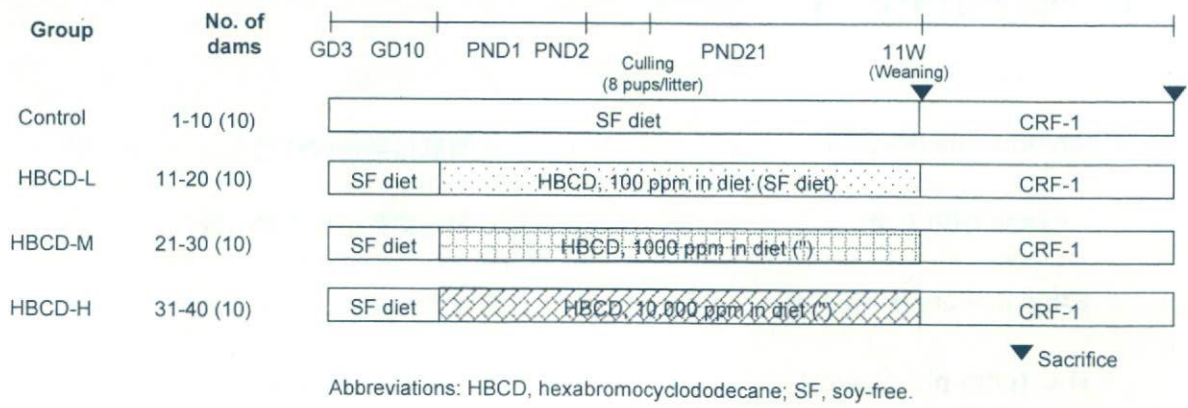
<Control>



<MMI投与>

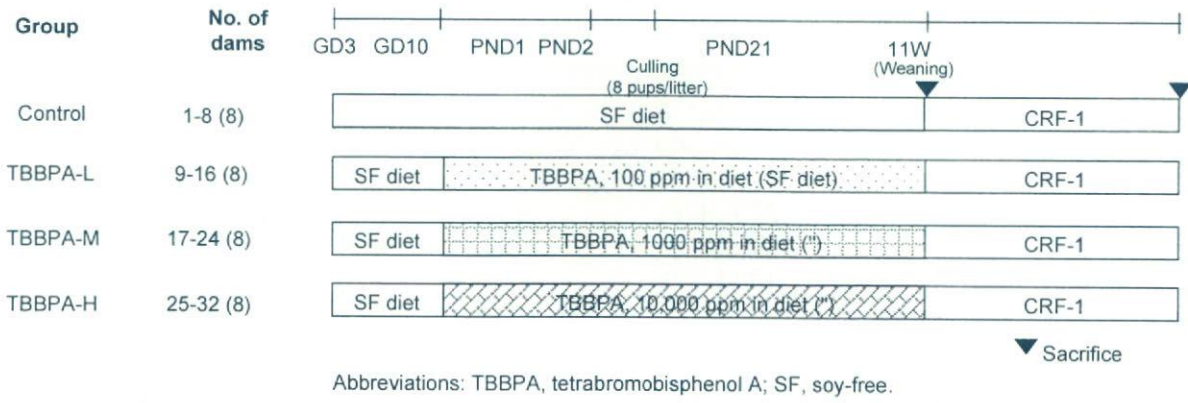
Fig. 6.

Morphometry of hippocampal CA1 neurons of rats exposed developmentally to anti-thyroid agents or brominated flame retardants.



- Parameters to be examined**
- Implantation (PND21)
 - Body and organs weights (Dams and offspring) (PND2)
 - Offspring count (PND2)
 - Feed and water consumption (throughout the experiment)
 - Puberty, vaginal opening, and estrous cycle
 - Histology and immunohistochemistry (PND21 & PNW11)
 - Serology (T3, T4, TSH) (PND21)

Fig. 7. Developmental exposure study of hexabromocyclododecane (HBCD) using rats to establish an evaluation system of the brain retardation related to hypothyroidism.



- Parameters to be examined**
- Implantation (PND21)
 - Body and organs weights (Dams and offspring) (PND2)
 - Offspring count (PND2)
 - Feed and water consumption (throughout the experiment)
 - Puberty, vaginal opening, and estrous cycle
 - Histology and immunohistochemistry (PND21 & PNW11)
 - Serology (T3, T4, TSH) (PND21)

Fig. 8. Developmental exposure study of tetrabromobisphenol A (TBBPA) using rats to establish an evaluation system of the brain retardation related to hypothyroidism.

【 Materials 】

Acetonitrile (HPLC用)	関東化学株式会社
Hexane (HPLC用)	和光純薬工業株式会社
Ethyl acetate (HPLC用)	和光純薬工業株式会社
H ₂ O (ultra pure water)	オルガノ株式会社
Nitrogen gas	仙台日酸株式会社
Tetrabromobisphenol A (standard)	東京化成工業株式会社
Tetrabromobisphenol A ring- ¹³ C ₁₂	Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (internal standard, IS)

Fig. 9.
TBBPA臓器蓄積量測定に用いた材料.

【 LC system 】

Liquid chromatograph Column	NANOSPACE SI-2 (Shiseido) Capcell Pak C ₁₈ MG II (Shiseido 1.5×150 mm , 5 μm)
Mobile phase	Acetonitrile/H ₂ O 70/30 (v/v)
Flow rate	200 μL/min
Sample volume	50 μL
Injection volume	10 μL

【 MS system 】

Mass spectrometer	API 5000 (Applied Biosystems)
Ionization	ESI(-)
SRM	TBBPA <i>m/z</i> 542.7→ <i>m/z</i> 78.8 TBBPA- ¹³ C ₁₂ (IS) <i>m/z</i> 554.8→ <i>m/z</i> 78.9

Fig. 10.
TBBPA臓器蓄積量測定を行ったLC system、MS systemの詳細.

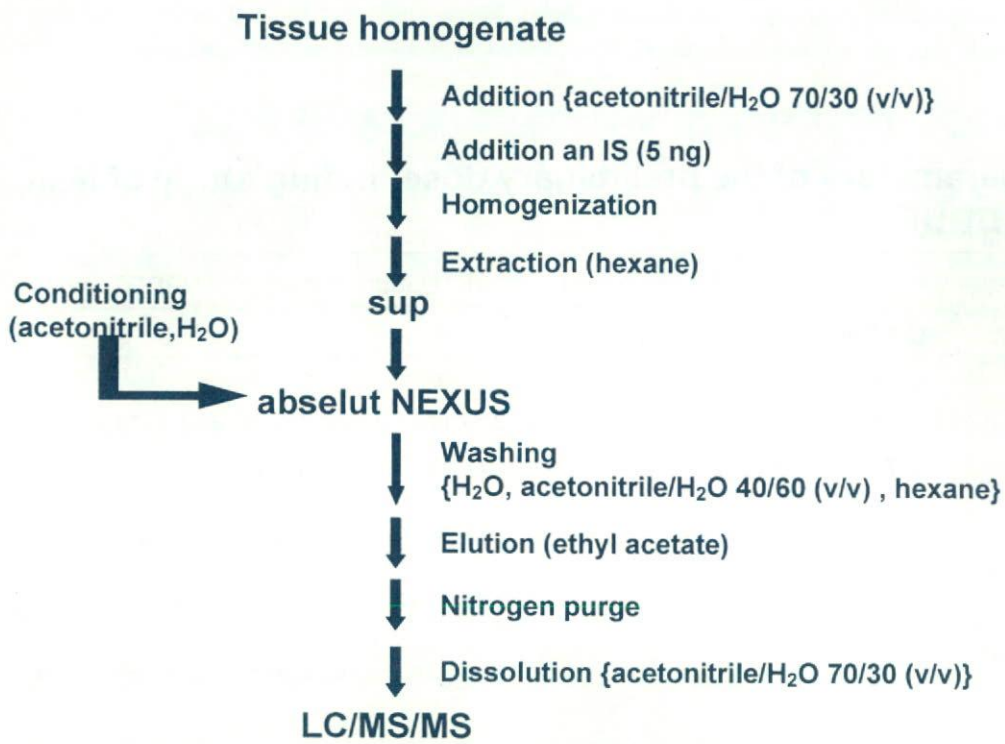


Fig. 11. Procedure of the extraction of TBBPA from tissue homogenate

Table 1
Toxicity parameters of the preliminary dose finding study of MMI, PTU, and DBDE

	Control	MMI (ppm in diet)		PTU (ppm in diet)		DBDE (ppm in diet)	
		200	250	9	12	60	80
No of dams	2	2	2	2	2	2	2
BW at PND21 (g)	335.4±41.6	309.8±29.7	301.6±41.5	310.1±83.2	332.4±2.8	332.1±16.9	337.9±26.3
Thyroid (mg)	13.7±1.1	67.3±22.1	76.2±22.6	47.3±15.6	50.8±7.6	13.3±0.4	20.3±2.1
Thyroid (mg/100gBW)	4.1±0.2	21.5±5.1	25.0±4.1	15.1±1.0	15.3±2.2	4.0±0.3	6.1±1.1
Implantation trace	14±1	16±1	14±1	14±1	15±0	15±1	15±1
No. of offspring at PND21	12.0±1.4	15.5±0.7	9.5±3.5	12.5±0.7	14.5±0.7	14.5±0.7	13.5±0.7
Offspring' BW at PND2 (M+F)	15.7±1.2	10.7±0.4	12.8±2.9	14.1±1.0	12.7±0.1	13.0±1.3	15.2±0.0

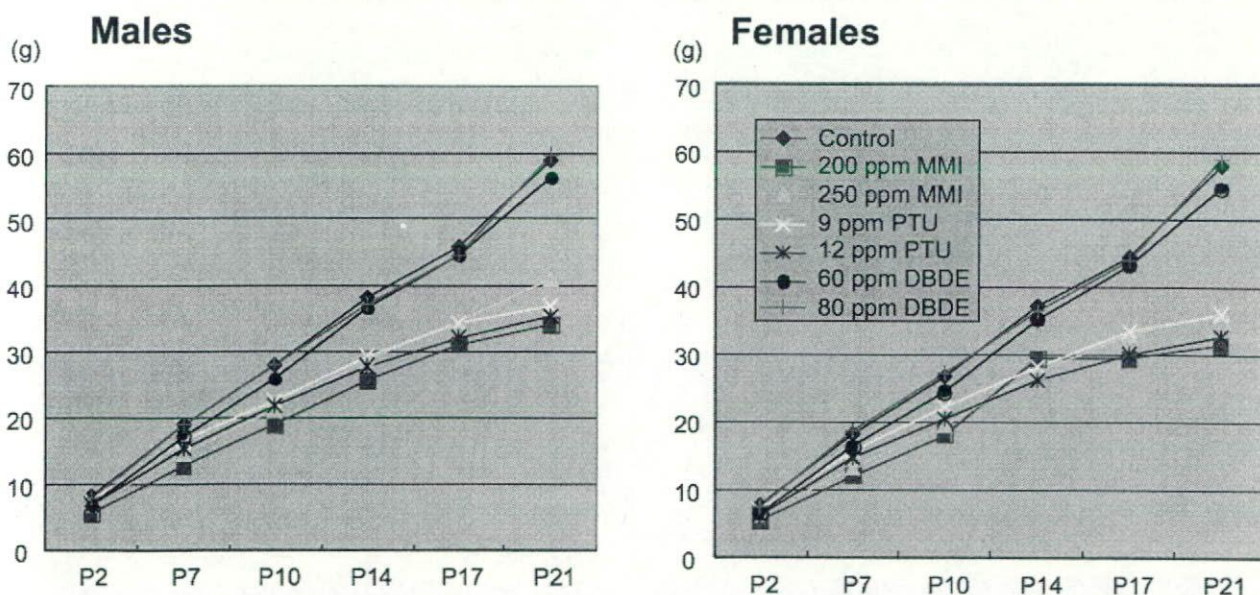


Fig. 12.
Growth curves of offspring perinatally exposed to MMI, PTU, or DBDE. Changes during the lactation period.

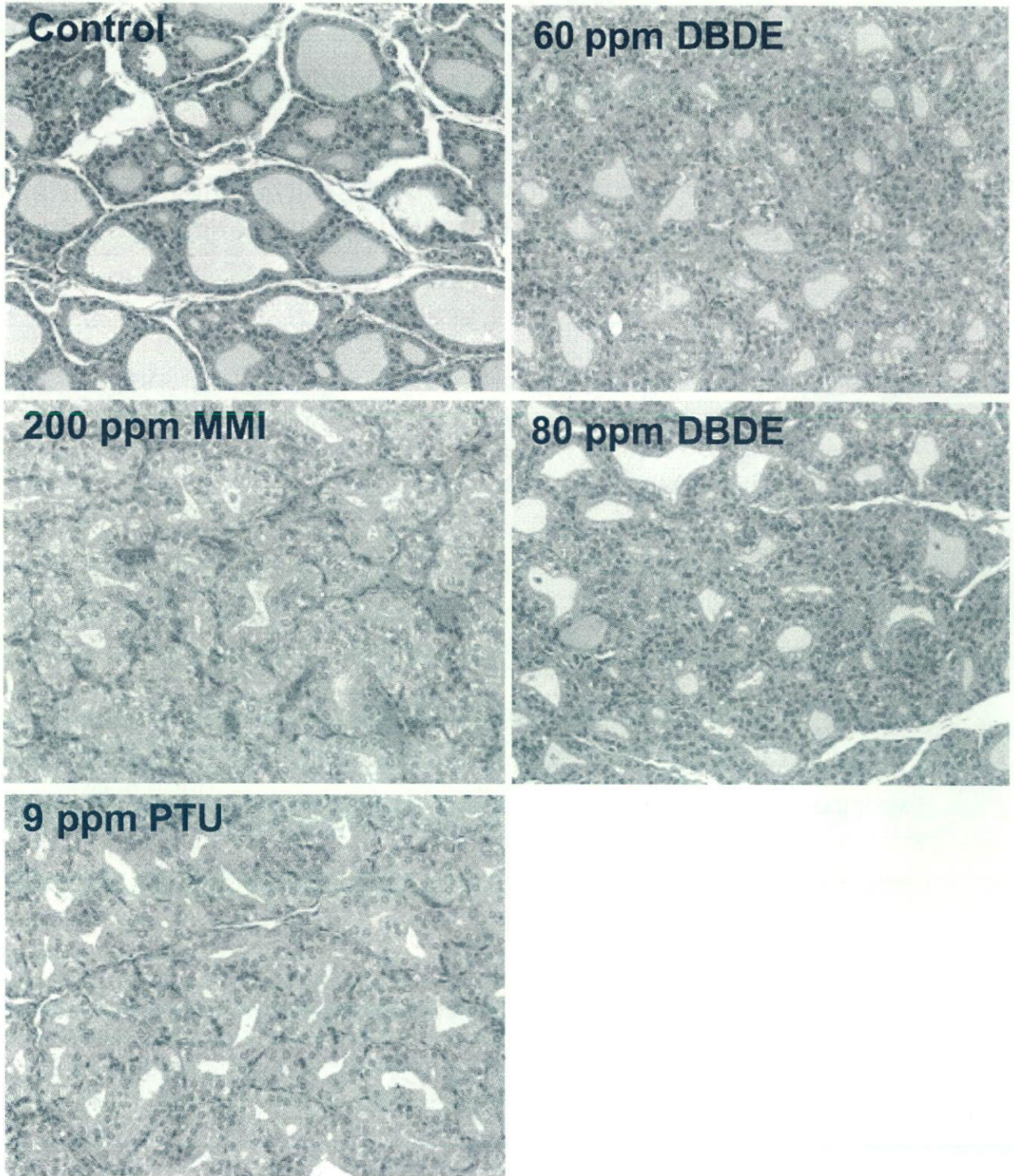


Fig. 13.
Histopathology of the thyroid lesions of dams exposed to MMI, PTU or DBDE during the period from mid-pregnancy and lactation

Table 2.

Thyroid weight of dams exposed to DBDE during the period from mid-pregnancy to lactation. The 2nd preliminary dose-finding study.

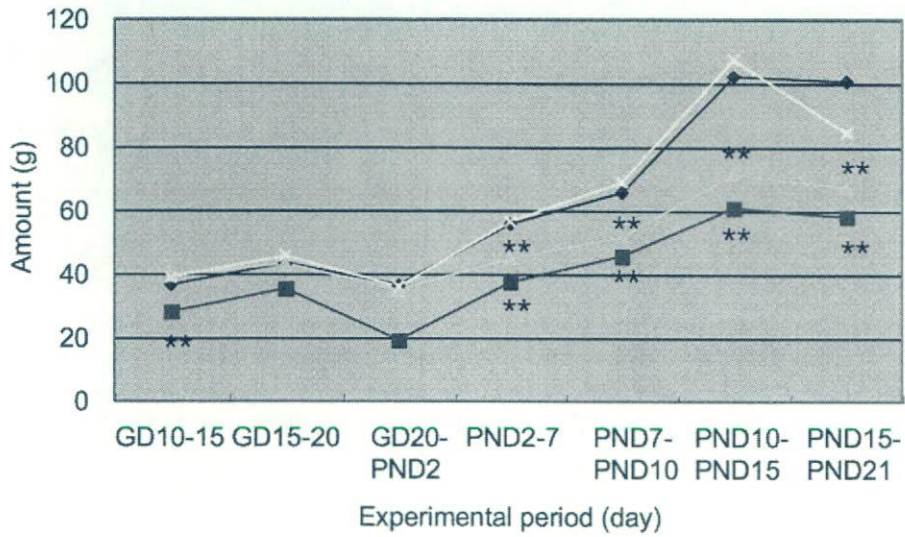
	Control	DBDE (ppm)		
		10	100	10,000
No. of dams	3	3	3	3
Body weight (g)	298.2 ± 25.6	308.2 ± 12.7	305.1 ± 18.1	307.7 ± 27.7
Thyroid weight				
Absolute (mg)	18.7 ± 0.5	22.7 ± 2.3	21.0 ± 1.4	21.7 ± 3.4
Relative (mg/100g BW)	6.3 ± 0.45	7.38 ± 0.89	6.89 ± 0.23	7.09 ± 1.27

Table 3.

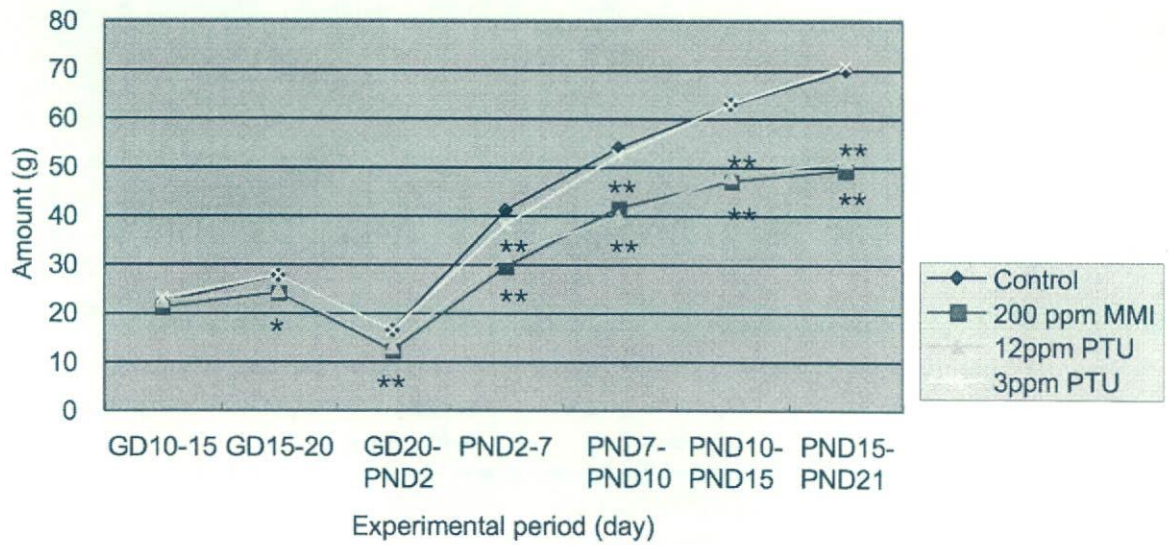
Thyroid histopathology of dams exposed to DBDE during the period from mid-pregnancy to lactation. The 2nd preliminary dose-finding study.

Histopathological finding	Control	DBDE (ppm)		
		10	100	10,000
No. of dams	3	3	3	3
Diffuse follicular cell hypertrophy (± /+)	0	1(1/0)	2(2/0)	3(2/1)

Water consumption



Food intake

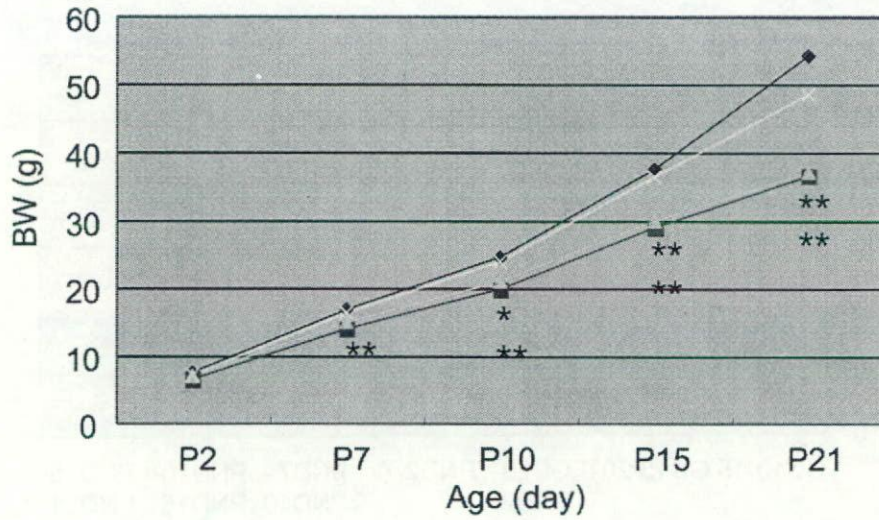


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control

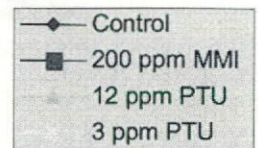
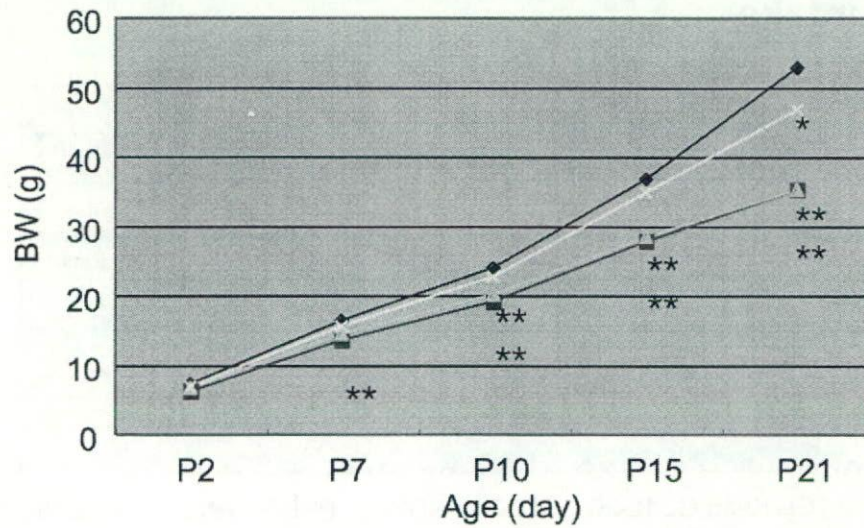
Fig. 14.

Water consumption and food intake of dams during exposure to anti-thyroid agents

Males



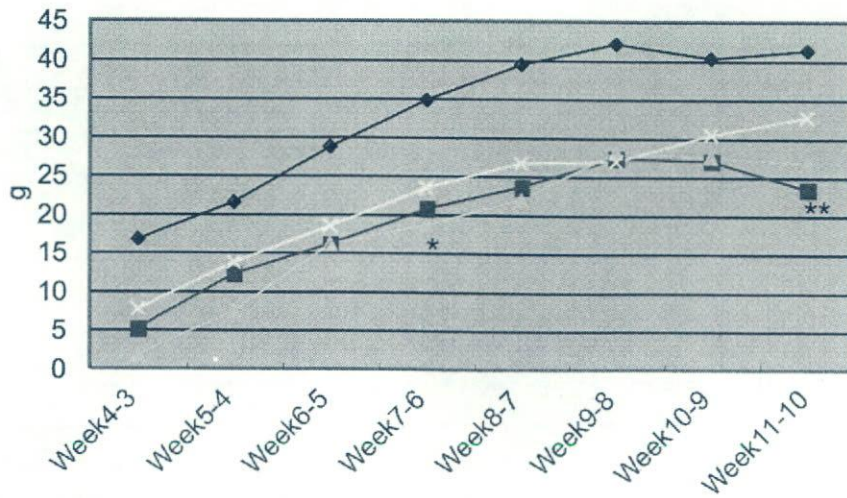
Females



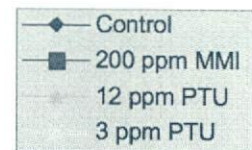
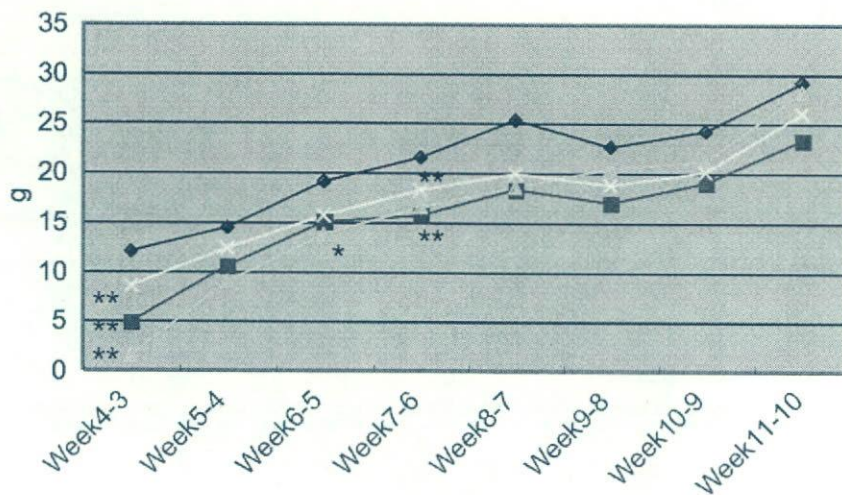
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control

Fig. 15.
Growth curves of offspring perinatally exposed to anti-thyroid agents. Changes during the lactation period.

Males



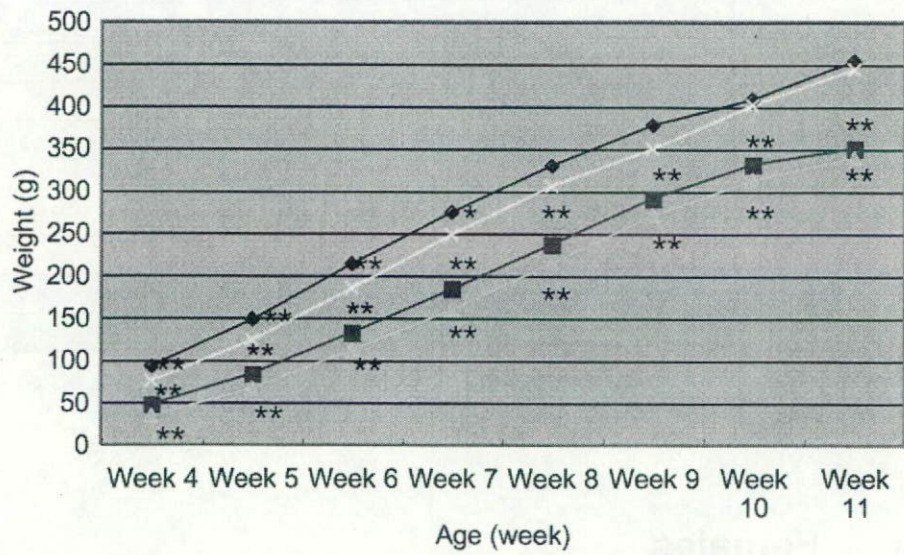
Females



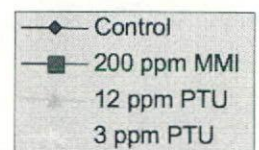
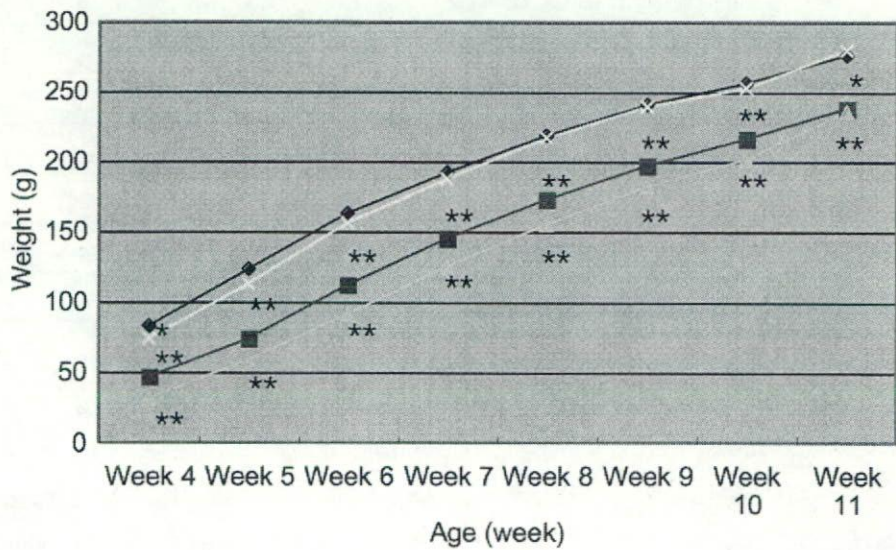
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control

Fig. 16.
Food consumption of offspring after perinatal exposure to anti-thyroid agents until weaning

Males



Females



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control

Fig. 17.

Growth curves of offspring after perinatal exposure to anti-thyroid agents until weaning

Table 4.
Effects on dams and offspring until prepubertal necropsy of
exposure to anti-thyroid agents during the period from mid-gestation
to lactation

	Anti-thyroid agent in the drinking water			
	Untreated control	200 ppm MMI	12 ppm PTU	3 ppm PTU
No. of dams examined	8	8	8	8
Maternal parameter				
Body weight gain (g/day)				
GD 10-GD 20	11.12 ± 1.13 ^a	10.00 ± 1.66	10.42 ± 1.34	11.61 ± 1.34
PND 2-PND 10	4.86 ± 1.66	4.27 ± 1.59	3.48 ± 1.59	5.66 ± 1.38
PND 10-PND 21	-0.67 ± 0.96	0.97 ± 0.71	0.83 ± 1.04	0.21 ± 1.42
PND 21				
BW (g)	304.6 ± 19.1	305.0 ± 26.3	302.2 ± 19.0	322.7 ± 16.8
Thyroid weight (mg/100 g BW)	6.04 ± 1.17	19.64 ± 4.48 **	18.01 ± 4.68 **	8.85 ± 1.58
Offspring parameter				
No. of implantation sites	13.0 ± 1.6	13.6 ± 1.4	13.0 ± 1.6	13.9 ± 1.7
No. of live offspring	12.6 ± 1.6	12.5 ± 2.1	12.3 ± 2.0	12.9 ± 1.4
Male ratio (%)	47.8 ± 9.6	50.8 ± 14.9	41.5 ± 8.5	49.3 ± 9.1
BW, PND 2 (g)				
Males	7.57 ± 0.92	6.56 ± 0.59	6.95 ± 0.83	7.17 ± 0.76
Females	7.22 ± 0.94	6.24 ± 0.61	6.63 ± 0.83	6.78 ± 0.74
AGD, PND 2 (mm)				
Males	4.02 ± 0.25	3.95 ± 0.15	4.14 ± 0.35	3.97 ± 0.22
Females	1.91 ± 0.10	1.88 ± 0.07	1.96 ± 0.13	1.93 ± 0.09
Relative organ weights, PND 21				
No. of offspring examined				
Males				
BW (g)	52.2 ± 4.4	35.1 ± 2.5 **	35.9 ± 2.9 **	46.8 ± 8.4
Liver (g/100g BW)	3.62 ± 0.22	3.91 ± 0.39	3.50 ± 0.30	3.43 ± 0.28
Kidneys (g/100g BW)	1.10 ± 0.09	1.10 ± 0.09	1.17 ± 0.06	1.06 ± 0.07
Brain (g/100g BW)	2.82 ± 0.17	4.00 ± 0.28 **	4.00 ± 0.33 **	3.20 ± 0.42 *
Adrenals (mg/100g BW)	20.0 ± 8.7	22.3 ± 6.5	14.8 ± 9.5	17.4 ± 7.3
Testes (g/100g BW)	0.41 ± 0.63	0.26 ± 0.02 **	0.26 ± 0.04 **	0.29 ± 0.04 **
Epididymides (g/100g BW)	0.062 ± 0.01	0.0889 ± 0.028 *	0.079 ± 0.02	0.0764 ± 0.017
Females				
BW (g)	53.1 ± 2.6	34.1 ± 2.6 **	34.5 ± 3.2 **	45.8 ± 5.5 **
Liver (g/100g BW)	3.63 ± 0.15	3.85 ± 0.29	3.60 ± 0.25	3.47 ± 0.04
Kidneys (g/100g BW)	1.12 ± 0.09	1.12 ± 0.09	1.20 ± 0.08	1.11 ± 0.07
Brain (g/100g BW)	2.74 ± 0.14	4.03 ± 0.35 **	4.03 ± 0.33 **	3.14 ± 0.32 *
Adrenals (mg/100g BW)	14.8 ± 6.7	19.4 ± 7.4	16.6 ± 7.1	18.6 ± 12.0
Ovaries (mg/100g BW)	38.2 ± 15.6	34.2 ± 20.7	24.2 ± 14.6	35.9 ± 11.8
Uterus (g/100g BW)	0.055 ± 0.014	0.064 ± 0.017	0.058 ± 0.018	0.056 ± 0.014

^a Mean ± SD.

Abbreviations: PTU, propylthiouracil; MMI, methimazole; GD, gestational day; PND, postnatal day; BW, body weight; AGD, anogenital

* ** Significantly different from the controls by Dunnett's test or Dunnett-type rank-sum test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

** Significantly different from the controls by Fisher's exact probability test ($p < 0.01$).

Table 5.
Onset of puberty and estrous cyclicity of offspring exposed to anti-thyroid agents during the period from mid-gestation to lactation

	Anti-thyroid agent in the drinking water			
	Untreated control	3 ppm PTU	12 ppm PTU	200 ppm MMI
Onset of puberty				
Males				
No. of animals examined	11	12	6	11
Age by day	40.5 ± 1.0 ^a	43.1 ± 1.6	49.5 ± 3.0 ^{**}	45.0 ± 2.2 ^{**}
BW	204.0 ± 14.1	190.2 ± 32.4	169.0 ± 12.1 [*]	160.1 ± 20.6 ^{**}
Females				
No. of animals examined	12	12	4	12
Age by day	36.2 ± 1.9	37.3 ± 2.8	42.5 ± 3.7 ^{**}	36.7 ± 3.4
BW	135.3 ± 17.1	129.2 ± 26.7	98.1 ± 21.4 [*]	85.6 ± 21.0 ^{**}
Estrous cyclicity during PNW 8-11				
No. of animals examined	10	10	4	10
Irregularity (ED/EE)	1/0	1/0	0/1	0/0

^a Mean ± SD

Abbreviations: PTU, propylthiouracil; MMI, methimazole; PNW, postnatal week; ED, extended diestrus; EE, extended estrus.

^{*}, ^{**} Significantly different from the controls by Dunnett's test or Dunnett-type rank-sum test (^{*} p<0.05, ^{**} p<0.01).

Table 6.
Body and organ weights of offspring exposed to anti-thyroid agents during the period from mid-gestation to lactation. PNW 11

	Anti-thyroid agent in the drinking water			
	Untreated control	3 ppm PTU	12 ppm PTU	200 ppm MMI
Males				
No. of animals examined	10	10	6	10
BW (g)	452 ± 32.2 ^a	451 ± 30.7	332 ± 26 ^{**}	347 ± 36.8 ^{**}
Liver (g/100g BW)	3.84 ± 0.25	3.86 ± 0.26	4.11 ± 0.38	4.03 ± 0.16
Kidneys (g/100g BW)	0.67 ± 0.03	0.64 ± 0.06	0.76 ± 0.07 ^{**}	0.67 ± 0.05
Brain (g/100g BW)	0.47 ± 0.02	0.47 ± 0.03	0.57 ± 0.04 ^{**}	0.57 ± 0.07 ^{**}
Pituitary (mg/100g BW)	3.45 ± 0.22	3.34 ± 0.4	3.33 ± 0.27	3.63 ± 0.49
Thyroid (mg/100g BW)	5.43 ± 0.82	6.66 ± 1.49	9.36 ± 1.82 ^{**}	7.67 ± 1.03 ^{**}
Adrenals (mg/100g BW)	11.6 ± 2.27	11.3 ± 2.11	10.7 ± 1.14	10.4 ± 1.36
Testes (g/100 g BW)	0.73 ± 0.08	0.88 ± 0.09 ^{**}	1.22 ± 0.08 ^{**}	1.09 ± 0.01 ^{**}
Epididymides (g/100g BW)	0.22 ± 0.01	0.23 ± 0.03	0.26 ± 0.03 ^{**}	0.25 ± 0.03 ^{**}
Prostate dorsolateral (g/100 g BW)	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.03	0.14 ± 0.03
Prostate ventral (g/100 g BW)	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.12 ± 0.05	0.12 ± 0.03
Seminal vesicle (g/100 g BW)	0.26 ± 0.03	0.24 ± 0.05	0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.04
Females				
No. of animals examined	10	10	4	10
BW (g)	282 ± 22.6	279 ± 21.3	237 ± 22.1 [*]	247 ± 35.1 [*]
Liver (g/100g BW)	3.34 ± 0.14	3.51 ± 0.34	3.6 ± 0.23	3.59 ± 0.29
Kidneys (g/100g BW)	0.63 ± 0.05	0.64 ± 0.05	0.64 ± 0.03	0.65 ± 0.05
Brain (g/100g BW)	0.68 ± 0.06	0.7 ± 0.06	0.77 ± 0.04	0.76 ± 0.08 [*]
Pituitary (mg/100g BW)	5.8 ± 0.91	4.96 ± 0.9	4.19 ± 0.48 [*]	4.64 ± 0.71 [*]
Thyroid (mg/100g BW)	7.49 ± 1.35	7.39 ± 1.09	8.5 ± 0.69	8.44 ± 1.24
Adrenals (mg/100g BW)	23.8 ± 3.63	20.2 ± 4.93	21.5 ± 2.07	21.8 ± 3.43
Ovaries (mg/100g BW)	28 ± 3.36	31.9 ± 4.83	35.4 ± 6.61	37.5 ± 6.75
Uterus (g/100g BW)	0.21 ± 0.08	0.18 ± 0.02	0.23 ± 0.08	0.18 ± 0.03 ^{**}

^a Mean ± SD.

Abbreviations: PTU, propylthiouracil; MMI, methimazole; PNW, postnatal week.

^{*}, ^{**} Significantly different from the controls by Dunnett's test or Dunnett-type rank-sum test (^{*} p<0.05, ^{**} p<0.01).