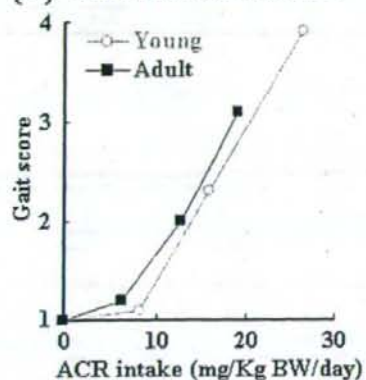
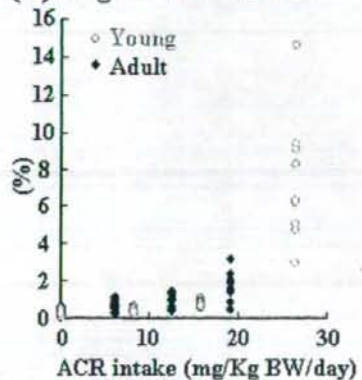


Fig. 3 Histopathology of the testis of young and adult rats given ACR at 0 or 200 ppm for 4 weeks. (A) Normal seminiferous tubules of a young rat from 0 ppm group. (B-D) Degeneration of spermatids (black arrowheads), loss or decreased of elongated spermatid (†) and multinucleated giant cells (arrow) are apparent in a young rat at 200 ppm. In severely affected cases, many seminiferous tubules showed marked germ cell depletion (*). (E) Normal seminiferous tubules of an adult rat from 0 ppm group. (F) In adults, only small number of exfoliated germ cells (white arrowhead) was found in lumen of tubules at 200 ppm. Hematoxylin and eosin All bars=50 μ m.

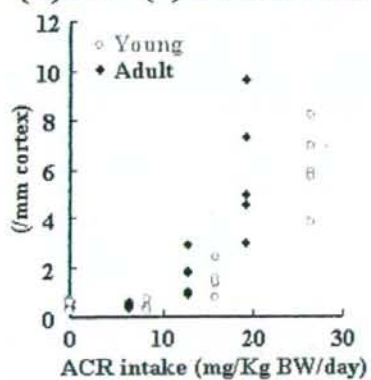
(A) Gait score at week 4



(B) Degenerated axons



(C) SYP (+) aberrant dots



(D) Affected tubules

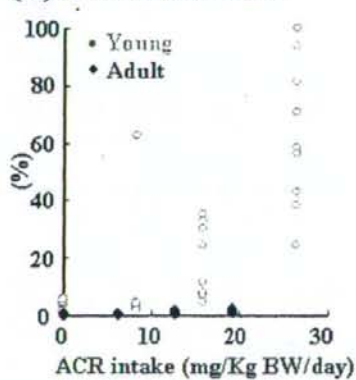


Fig. 4 Relationship between ACR intake per body weight and changes in neurotoxicity and testicular toxicity parameters in young and adult rats.

Table 1 Mean daily intake of ACR in young and adult rats.

Group	No. of animals examined	ACR in the drinking water (ppm)			
		0	50	100	200
Young	(mg/kg/day)	0 ± 0 ^a	8.27 ± 0.32	15.73 ± 1.51	26.37 ± 3.51
Adult	(mg/kg/day)	0 ± 0	6.26 ± 1.10	12.63 ± 1.97	19.07 ± 3.46

^a: Mean ± SD.

Table 2 Body and organ weights of young and adult rats given ACR in the drinking water for 4 weeks.

	No. of animals examined	Acrylamide in the drinking water (ppm)			
		0	50	100	200
Young		10	10	10	10
Body weight	(g)	287.4 ± 24.6 ^a	273.5 ± 15.7	263.7 ± 14.4 [*]	210.4 ± 24.3 ^{**}
Brain	(g)	1.97 ± 0.05	1.94 ± 0.09	1.83 ± 0.09 [*]	1.66 ± 0.04 ^{**}
	(g%)	0.69 ± 0.06	0.71 ± 0.05	0.69 ± 0.03	0.80 ± 0.08 ^{**}
Testes	(g)	2.57 ± 0.15	2.44 ± 0.22	2.39 ± 0.19	1.87 ± 0.36 ^{**}
	(g%)	0.90 ± 0.07	0.90 ± 0.09	0.91 ± 0.07	0.89 ± 0.12
Epididymides	(g)	0.40 ± 0.04	0.35 ± 0.02 ^{**}	0.37 ± 0.04	0.30 ± 0.02 ^{**}
	(g%)	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.02
Adult					
Body weight	(g)	444.3 ± 38.0	433.0 ± 42.0	426.7 ± 42.1	409.2 ± 45.5
Brain	(g)	2.07 ± 0.06	2.08 ± 0.11	2.02 ± 0.09	1.99 ± 0.07
	(g%)	0.47 ± 0.03	0.48 ± 0.04	0.48 ± 0.04	0.49 ± 0.06
Testes	(g)	3.30 ± 0.26	3.39 ± 0.39	3.25 ± 0.20	3.19 ± 0.24
	(g%)	0.74 ± 0.07	0.78 ± 0.08	0.77 ± 0.08	0.79 ± 0.09
Epididymides	(g)	0.97 ± 0.05	1.04 ± 0.09	0.97 ± 0.07	0.84 ± 0.06 ^{**}
	(g%)	0.22 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.21 ± 0.02

^a: Mean ± SD.

^{*}, ^{**}: p<0.05, p<0.01 vs. 0 ppm group.

Table 3 Data for histopathology and morphometry of lesions developed in the nervous system.

		Acrylamide in the drinking water (ppm)			
		0	50	100	200
Young	No. of animals examined	10	10	10	10
<i>Trigeminal nerve</i>					
	Central chromatolysis (+/+/+/+) ^a	0	3 (3/0/0)	10 ^{##} (0/5/5)	10 ^{##} (0/0/10)
<i>Sciatic nerve (distal portion)</i>					
	Density (/100 μm^2)	2.56 \pm 0.32 ^b	2.73 \pm 0.17	2.92 \pm 0.25 ^{**}	2.42 \pm 0.25
	Degenerated axons (%)	0.28 \pm 0.15	0.39 \pm 0.14	0.82 \pm 0.19 ^{**}	7.51 \pm 3.25 ^{**}
	Myelinated axons, <3 μm in diameter (%)	18.01 \pm 3.45	16.74 \pm 2.79	18.80 \pm 2.73	21.57 \pm 4.07
<i>Cerebellar cortex, molecular layer</i>					
	SYP-immunoreactive aberrant dots (/mm cortex)	0.50 \pm 0.20	0.41 \pm 0.18	1.49 \pm 0.59	6.09 \pm 1.62 [*]
Adult					
<i>Trigeminal nerve</i>					
	Central chromatolysis (+/+/+/+) ^a	0	3 (3/0/0)	10 ^{##} (3/7/0)	10 ^{##} (0/3/7)
<i>Sciatic nerve (distal portion)</i>					
	Density (/100 μm^2)	2.10 \pm 0.23	2.03 \pm 0.15	2.10 \pm 0.24	2.15 \pm 0.24
	Degenerated axons (%)	0.39 \pm 0.16	0.65 \pm 0.27	0.96 \pm 0.37 [*]	1.74 \pm 0.77 ^{**}
	Myelinated axons, <3 μm in diameter (%)	13.96 \pm 2.75	12.30 \pm 2.39	13.45 \pm 2.68	14.16 \pm 2.82
<i>Cerebellar cortex, molecular layer</i>					
	SYP-immunoreactive aberrant dots (/mm cortex)	0.54 \pm 0.12	0.47 \pm 0.09	1.71 \pm 0.81	5.88 \pm 2.61 [*]

^a: Grade of change: +; mild, ++; moderate, +++; severe.

^b: Mean \pm SD.

^{*}, ^{**}: $p < 0.05$, $p < 0.01$ vs. 0 ppm group.

^{##}: $p < 0.01$ vs. 0 ppm group (Fisher's exact test).

Abbreviation: SYP, synaptophysin.

Table 4 Histopathological data of the testis of young and adult rats given ACR in the drinking water for 4 weeks.

Findings (%) ^a	No. of animals examined	Acrylamide in the drinking water (ppm)			
		0	50	100	200
Young		10	10	10	10
Affected tubules ^b		3.51 ± 1.68 ^c	9.03 ± 18.81	16.93 ± 12.23 [*]	66.59 ± 26.96 ^{**}
Exfoliation of germ cells		3.39 ± 1.61	3.93 ± 3.07	9.80 ± 6.22 [*]	10.44 ± 9.87
Multinucleated gaint cells		0.02 ± 0.06	0.07 ± 0.14	0.57 ± 0.71	1.67 ± 3.06 ^{**}
Degeneration of spermatids		0.10 ± 0.18	0.84 ± 2.54	3.95 ± 6.47	20.90 ± 13.37 ^{**}
Loss or decrease of elongated spermatids		0 ± 0	4.99 ± 15.74 [*]	5.62 ± 8.87 ^{**}	20.43 ± 14.61 ^{**}
Loss or decrease of round spermatids		0.02 ± 0.06	0 ± 0	1.51 ± 3.19	12.68 ± 10.97 ^{**}
Degenerated tubules ^d		0 ± 0	0.17 ± 0.54 ^{**}	0.12 ± 0.38 ^{**}	24.03 ± 30.83 ^{**}
Sertoli cell vacuolation		0.60 ± 0.57	1.07 ± 0.55	0.99 ± 0.62	1.06 ± 0.92
Adult					
Affected tubules ^b		0.47 ± 0.30	0.58 ± 0.23	1.17 ± 0.60 [*]	1.53 ± 0.67 ^{**}
Exfoliation of germ cells		0.45 ± 0.30	0.56 ± 0.23	1.17 ± 0.60 [*]	1.46 ± 0.71 ^{**}
Multinucleated gaint cells		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.07 ± 0.17
Degeneration of spermatids		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Loss or decrease of elongated spermatids		0.02 ± 0.06	0.02 ± 0.07	0 ± 0	0 ± 0
Loss or decrease of round spermatids		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Degenerated tubules ^d		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Sertoli cell vacuolation		0.62 ± 0.45	0.53 ± 0.50	0.72 ± 0.43	0.81 ± 0.53

^a: Approximately 400-650 tubules/rat were examined.

^b: Affected tubules represent total tubules with below findings, except for the tubules showing only Sertoli cell vacuolation.

^c: Mean ± SD.

^d: Degenerated tubules are those showing marked germ cell depletion.

^{*}, ^{**}: p<0.05, p<0.01 vs. 0 ppm group.

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）
平成 20 年度 分担研究報告書

ライフステージによるアクリルアミドの発がん感受性に関する研究

研究分担者 今井俊夫 国立がんセンター研究所 実験動物管理室 室長
研究協力者 高見成昭 国立医薬品食品衛生研究所 病理部

研究要旨

ラットの乳幼児期に AA を投与することにより、その後に投与する *N*-メチル-*N*-ニトロソ尿素 (MNU) 誘発性発がんに対する相加作用があるか否かを検討するため、ラット多臓器中期発がん実験を行った。すなわち、AA をラットの 0~6 週齢時に 0 (対照)、20、40 及び 80 ppm 濃度で飲水投与し、その後 7 週齢時に多臓器に対して標的性を示す発がん物質である MNU を単回腹腔内投与し、50 週齢時まで基礎飼料及び脱イオン水あるいは抗甲状腺剤のスルファジメトキシンを 125 ppm 濃度で混じた飲料水を自由摂取させた。観察期間終了後剖検し、病理組織学的検索を行った。病理組織学的に、AA の標的臓器である甲状腺、乳腺及び精巣鞘膜を含む諸臓器、組織において前がん病変あるいは腫瘍の発生がみられたが、それらの発生率に群間の明らかな差は認められなかった。以上、AA の乳幼児期投与は、MNU 誘発性ラット多臓器発がんに対して明らかな影響を示さなかった。

A. 研究目的

加工食品中に種々の濃度で含まれていることが明らかにされたアクリルアミド (AA) については、実験的に神経毒性、精巣毒性、遺伝毒性及び発がん性を示すことが知られ、中でも遺伝毒性を伴う発がん性のヒトへのリスクが懸念されている。しかしながら、AA の職業暴露に対するリスク評価を主な目的とした実験データは多数報告されているものの、食品を介する暴露を想定した毒性データは十分ではない。そこで、米国を中心に AA あるいはその代謝物で生体内活性の高いグリシドアミド (GA) の発がん性試験及び発達期神経毒性試験により、低用量長期間投与による毒性評価を目的とした研究が行われており、それら

の結果が明らかにされた際に再度リスク評価をすべきであるとされている。また AA の発がん性については、乳腺、甲状腺、副腎、子宮などに標的性を示すことから、遺伝毒性のみならず、内分泌系に対する影響の関与している可能性が指摘されている。第 48 回米国トキシコロジー学会 (2009 年 3 月、ボルティモア) における情報交換では、GA のラットにおける発がん性試験においても AA と同様の発がん標的性がみられたとされている (George DR, U.S. National Center for Toxicological Research)。しかし、AA 投与による内分泌系への影響、特に長期投与によるデータは乏しく、今後の研究成果が期待される。

一方、AA の実験的毒性研究のもう一つの課題として、動物モデルとして主に成熟ラット

などを用いた研究結果を中心に報告され、胎児、乳幼児期あるいは春機発動期におけるデータの極めて少ないことが挙げられる。胎児、乳幼児期の動物は化学物質の代謝様式や臓器組織の発育速度、成熟度のみならず、臓器への血流量や血液-脳関門の機能など生理的な違いにより化学物質に対する毒性反応も成熟動物と異なる可能性がある。特に AA に関しては、小児は高摂取群であり (JECFA, 2005; Dybing E ら, 2005)、また母親から胎児へ胎盤移行する可能性も示されていることから (Sorgel F ら, 2002; Schettgen T ら, 2004)、当該期投与による毒性の比較評価を早急に実施することが重要である。

本研究では、AA の乳幼児期投与による発がん感受性に及ぼす影響を実験的に明らかにすることを目的としている。特に用量反応性を考慮した検索を行うことにより、AA の高摂取群とされる小児を含むヒトに対するリスク管理に資する情報を得ることが可能となる。

B. 研究方法

実験デザインを Figure 1 に示した。妊娠 F344 ラット 36 匹を日本チャールスリバーより購入し、各群 6 匹の第 1 群～第 6 群に分けた。出生後の児動物は、原則として雌雄各群 24 匹に揃えたが、第 6 群については母動物 6 匹中 1 匹の出産児数が 1 匹で、児動物の発育も不良であったことから除外したため、雌雄各 20 匹となった。第 1 群～第 4 群の母動物には、出産直後より 3 週後の離乳まで、AA を 0 (対照)、20、40 及び 80 ppm 濃度で飲料水に混じて自由摂取させた。第 5 群及び第 6 群については実験途中より抗甲状腺剤処置を行うサテライト群として AA を 0 (対照) 及び 40 ppm 濃度で投与した。AA の投与量は、乳幼児～春機発動期投与の予備実験で、一般状態、体重、摂餌量及び飲水量

に顕著な影響のみられなかった 20 及び 40 ppm に加え、より高い用量として 80 ppm を設定した。離乳後、母動物はエーテル麻酔下で安楽殺した。離乳後の各群の児動物には、母動物と同様の方法で AA を 3 週間投与し、その 1 週後の 7 週齢時に発がん物質処置として肝臓、腎臓、肺及び甲状腺、乳腺などの多臓器に発がん標的性を示す *N*-メチル-*N*-ニトロソ尿素 (MNU) を第 1 群～第 6 群の雌雄の児動物に 40 mg/kg 体重の用量で 1 回腹腔内投与した。第 5 群、第 6 群の雌雄には、8 週齢時以降、抗甲状腺剤のスルファジメトキシシン (SDM) を 125 ppm 濃度で飲水投与した。実験期間中、一般状態は毎日観察し、体重及び摂餌量は生後 20 週齢までは週 1 回、その後は 4 週間に 1 回測定した。また、MNU 投与後は触診により皮下結節/腫瘍の発生状況を週 1 回観察してノギスにてその大きさ (たて×よこ×高さ) を測定した。50 週齢時に実験を終了し、エーテル深麻酔下にて動物を放血殺した。剖検時、雌については剥皮後、皮下結節/腫瘍を詳細に観察して大きさを測定するとともに、雌雄について肝臓、腎臓、肺、脾臓、胸腺、リンパ節、甲状腺、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、脳、乳腺、膀胱及び肉眼的異常部位を摘出した。摘出臓器、組織を 10% 中性緩衝ホルマリン液にて固定し、常法に従いヘマトキシリン・エオジン染色標本作製、病理組織学的解析を実施した。なお、次の式により、触診及び剖検時に測定した腫瘍 (腫瘍) の大きさから体積を計算した。

$$\text{体積} = (\text{たて}) \times (\text{よこ}) \times (\text{高さ}) \times \pi / 6$$

統計方法：体重、臓器重量及び乳腺腫瘍の発生数あるいは体積については Bertlett 検定の後、ANOVA あるいは Kruskal Wallis 検定を行い、群間差が認められた場合は Dunnett の多重比較で判定した。乳腺腫瘍及び他臓器の病理組織所見の発生頻度については Fisher の直接確率検定法を用いた。

(倫理面への配慮)

使用する動物は最小限に留めた。投与実験は飲水による経口投与が主体であり、また動物は全てエーテル深麻酔下で大動脈からの脱血により安楽殺し、その他の実験手技についても動物の愛護に十分配慮して行った。実験の開始に当っては、「国立医薬品食品衛生研究所 動物実験の適正な実施に関する規定」あるいは「国立がんセンターにおける動物実験に関する指針」に従い、事前に動物実験(倫理)委員会に計画書を提出して実施承認を得た。

C. 研究結果

母動物については、AA 投与による一般状態の変化はみられず、体重についても 80 ppm 群で対照群に比し低値傾向を示したが、統計学的有意差はなかった (Figure 2)。摂餌量及び飲水量は、80 ppm 群において低値傾向を示し、飲水量より算出した母動物の平均 AA 摂取量は、20、40 及び 80 ppm の各群において、4.1、8.0 及び 14.7 mg/kg 体重/日であった (Table 1)。

児動物については、離乳前、雌雄の対照群を含む各群に死亡が散見されたが、実験期間を通して AA 投与に起因すると考えられる死亡及び一般状態の変化は認められなかった。実験期間中の死亡率の推移に群間の明らかな差は認められなかった (Figure 3)。体重は生後 3 週目より実験期間を通し、雌雄の全ての AA 投与群において用量反応性を伴う有意な ($p < 0.05$, 0.01) 低値を示した (Figure 4, 5)。摂餌量及び飲水量には AA 投与による明らかな影響はみられず、飲水量より算出した児動物の平均 AA 摂取量は、20、40 及び 80 ppm の各群において、雄では 3.4、7.0 及び 14.1 mg/kg 体重、雌では 3.6、7.2 及び 14.9 mg/kg 体重であった (Table 2)。触診により経時的に観察、測定した皮下に形成された乳腺腫瘍の発現状況に関しては、AA

投与による明らかな影響はみられなかった (Figure 6)。剖検時の臓器重量については、雌の 40 ppm 群の肝臓及び 40 ppm 以上の群の腎臓相対重量が低値、80 ppm 群の肝臓相対重量が高値を示した。対照群と 0 ppm+SDM 群の比較では、雌の腎臓相対重量の低値、雌雄の甲状腺相対重量の高値がみられた。SDM 投与群では AA の投与により雄の肝臓相対重量が高値を示し、雌雄の甲状腺相対重量が低値傾向を示した (Table 3)。病理組織学的検索では対照群に比し、雄の 0 ppm+SDM 群及び 40 ppm+SDM 群において甲状腺における濾胞上皮の巣状過形成、腺腫及び腺腫/腺癌の発生頻度が、雌の 0 ppm+SDM 群において巣状過形成、40 ppm+SDM 群において巣状過形成、腺腫及び腺腫/腺癌の発生頻度が増加した。SDM を投与しなかった雄の 80 ppm 群では、対照群に比し甲状腺の濾胞上皮の巣状過形成の発生頻度が増加傾向を示したが、統計学的有意差は認められなかった。SDM を投与した群間の比較において、雄では AA 投与による影響はみられず、雌では 0 ppm+SDM 群に比し 40 ppm+SDM 群で腺腫及び腺腫/腺癌の増加傾向がみられたが、統計学的有意差はなかった。雄の 0 ppm+SDM 群において口腔における扁平上皮過形成の発生頻度が増加したが、40 ppm+SDM 群に影響はみられなかった。肺においては、雄の 20 及び 80 ppm 群で肺胞上皮過形成の発生頻度が低下したが、80 ppm 群では肺腺癌の発生頻度が増加した。雄の 0 ppm+SDM 群及び 40 ppm+SDM 群においては、肺胞上皮過形成の発生頻度が低下したが、腺腫、腺癌あるいは腺腫/腺癌の発生頻度は増加した。雌の 40 ppm+SDM 群において巣状の子宮腺過形成が増加したが、0 ppm+SDM 群との間に統計学的有意差はなかった。その他、AA の標的臓器を含む多臓器において種々の頻度で前がん病変あるいは腫瘍の発生が認められたが、AA あるいは SDM 投与による明らかな影響は認められな

かった (Table 4, 5)。

D. 考察

AA の乳幼児期投与による MNU 誘発発がんおよびその影響を検索する中期発がん実験において、母動物では、授乳期間中の 80 ppm 濃度での AA 投与により、体重、摂餌量及び飲水量が低値傾向を示したが、飲水量より算出した平均 AA 摂取量は 20、40 及び 80 ppm の各群において用量に応じた増加を示した。児動物については、雌雄の全ての AA 投与群において用量反応性を伴う体重の有意な低値がみられたが、その程度は最大約 5% の増加抑制であり、摂餌量及び飲水量には AA 投与による明らかな変化は認められず、AA の摂取量あるいは諸臓器における発がん性の評価に著しく影響を及ぼすものではないと考えられた。雌雄の SDM 投与群における甲状腺相対重量の高値は、SDM の抗甲状腺作用によるものと考えられた。雌雄の 0 ppm+SDM 群に比し 40 ppm+SDM 群で甲状腺相対重量が低値傾向を示した原因は明らかではなかった。肝臓及び腎臓における相対重量の変化については用量反応性がなく、病理組織学的変化を伴っていないことからその意義は乏しいものと考えられた。

病理組織学的検索において、甲状腺では雌雄ともに SDM の投与により濾胞上皮の巣状過形成あるいは腺腫の発生頻度が増加したが、AA 投与による明らかな影響はみられなかった。雄の 0 ppm+SDM 群における口腔の扁平上皮過形成の増加については、40 ppm+SDM 群では対照群と差がみられなかったため、偶発的なものと考えられた。肺では雄の AA 投与群において肺胞上皮過形成の発生頻度の低下がみられたが用量反応性に乏しく、80 ppm 群において肺腺癌の発生頻度が逆の変動を示し、肺腺腫と肺腺癌を合わせて評価した場合には群間に差が認

められなかったことから、AA の肺発がんに及ぼす影響はないものと判断された。雄の SDM 投与群では肺腺腫及び腺癌の発生頻度の増加がみられたか、その機序は明らかではなかった。雌の 40 ppm+SDM 群では対照群に比し巣状の子宮腺過形成の発生頻度が増加したが、0 ppm+SDM 群との比較において有意差はみられず、AA による影響とは判断されなかった。

E. 結論

AA の乳幼児期投与によるラット多臓器中期発がん実験を行った結果、本実験条件下では AA のラット乳幼児期における投与は甲状腺及び乳腺をはじめとする AA の標的臓器を含む各臓器、組織における前がん病変及び腫瘍性病変の発生に影響を明らかな及ぼさないことが示された。

F. 健康危険情報

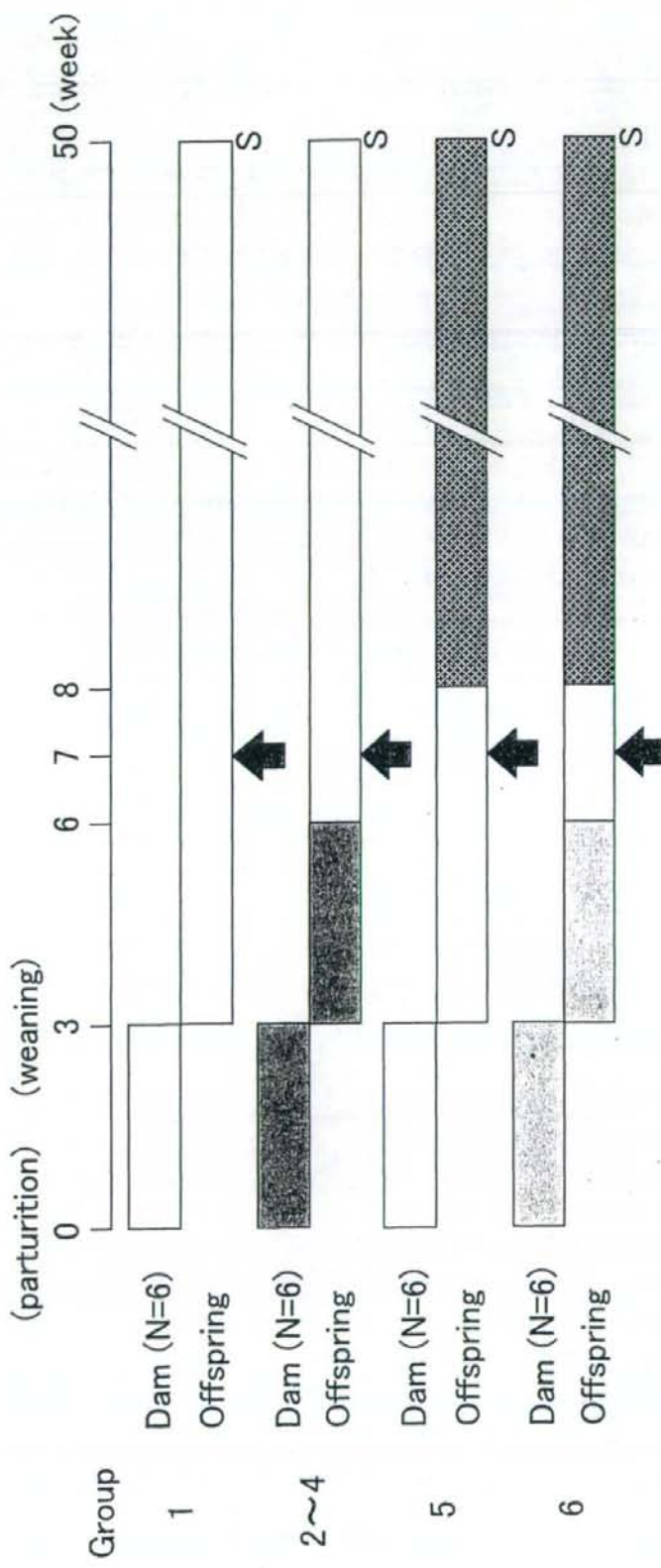
該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Onose, J., Imai, T., Hasumura, M., Ueda, M., Ozeki, Y., Hirose, M.: Evaluation of subchronic toxicity of dietary administered Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* HD-1 in F344 male rats with chemically induced gastrointestinal impairment. *Food Chem. Toxicol.*, 46, 2184-2189 (2008)
- (2) Takami, S., Imai, T., Hasumura, M., Cho, Y.M., Onose, J., Hirose, M.: Evaluation of toxicity of green tea catechins with 90-day dietary administration to F344 rats.

- Food Chem. Toxicol., 46, 2224-2229
(2008)
- (3) 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., 36, 459-464 (2008)
- (4) Hirata-Koizumi, M., Matsuyama, T., Imai, T., Hirose, A., Kamata, E., Ema, M. : Gender-related difference in the toxicity of ultraviolet absorber 2-(3',5'-di-*tert*-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chloro-benzotriazole in rats. Drug Chem. Toxicol., 31, 383-398 (2008)
- (5) Takasuka, T., Takahashi, M., Hori, Y., Kitahashi, T., Iigo, M., Imai, T., Yoshimi, N., Sugimura, T., Wakabayashi, K. : Promotion of mouse two-stage skin carcinogenesis by diacylglycerol-rich edible oil. Cancer Lett. 275, 150-157 (2009)
- (6) Imai, T., Takami, S., Cho, Y.M., Hirose, M., Nishikawa, A. : Modifying effects of prepubertal exposure to potassium perchlorate and tetrabromobisphenol A on susceptibility to *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine- and 7,12-dimethylbenz(*a*)anthracene-induced carcinogenesis in rats. Toxicol. Lett. 185, 160-167 (2009)
- (7) Ota, Y., Imai, T., Onose, J., Takami, S., Cho, Y.M., Hirose, M., Nishikawa, A. : A 55-week chronic toxicity study of dietary administered kojic acid in male F344 rats. J. Toxicol. Sci. (In press)
2. 学会発表
- (1) 高見成昭、今井俊夫、曹永暁、広瀬雅雄、西川秋佳 : アクリルアミドのラット乳幼児期投与による発がん感受性への影響. 第67回日本毒学会総会 (2008. 10)
- (2) Takami, S., Imai, T., Cho, Y.M., Maeda, M., Hirose, M., Nishikawa, A. : Effects of prepubertal exposure to acrylamide on *N*-methyl-*N*-nitrosourea induced multi-organ carcinogenesis in rats. 48th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2009. 3)
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。) 該当なし。



Animals: F344 rat, 36 dams and the offspring (male and female)

□ : distilled water and basal diet (GRF-1)

▨ : 40 ppm acrylamide in drinking water

■ : 20, 40 or 80 ppm acrylamide (AA) in drinking water

▩ : 125 ppm sulfadimethoxine (SDM) in drinking water

⬆ : *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU; 40 mg/kg, i.p.) S: sacrifice

Figure 1 Experimental design

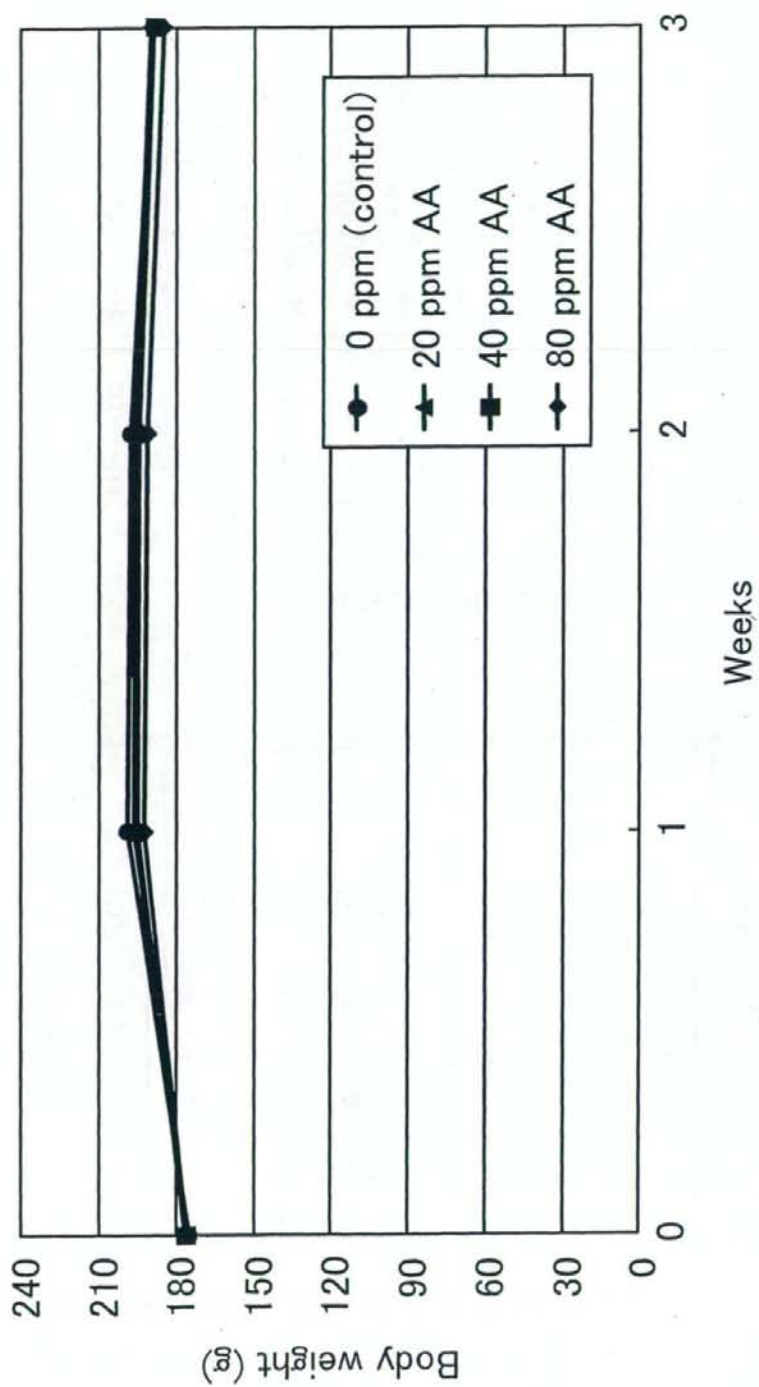


Figure 2 Body weight curves of dams (from parturition until weaning)

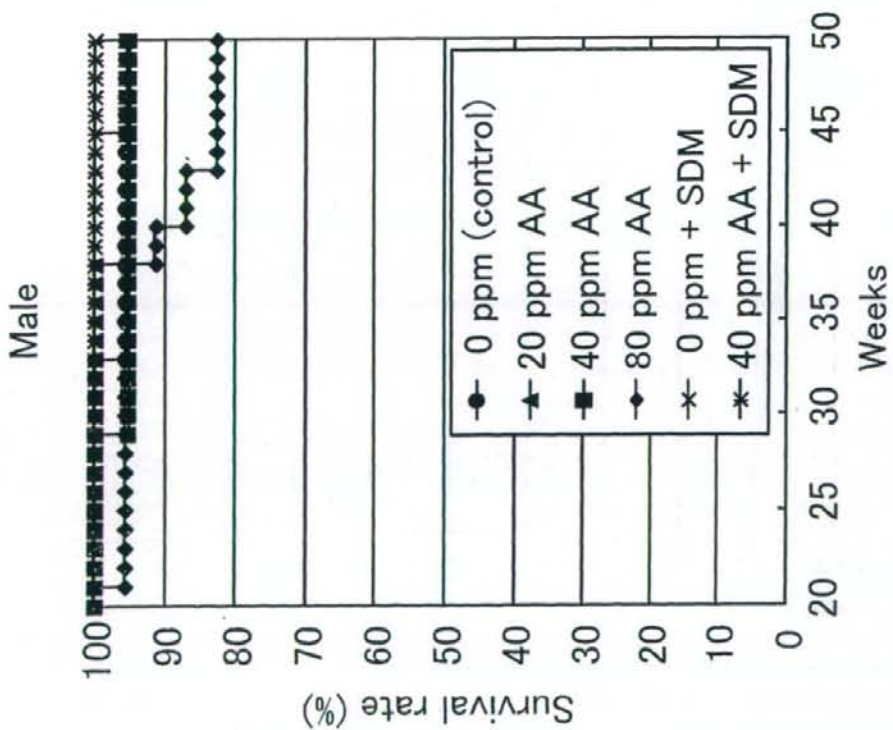
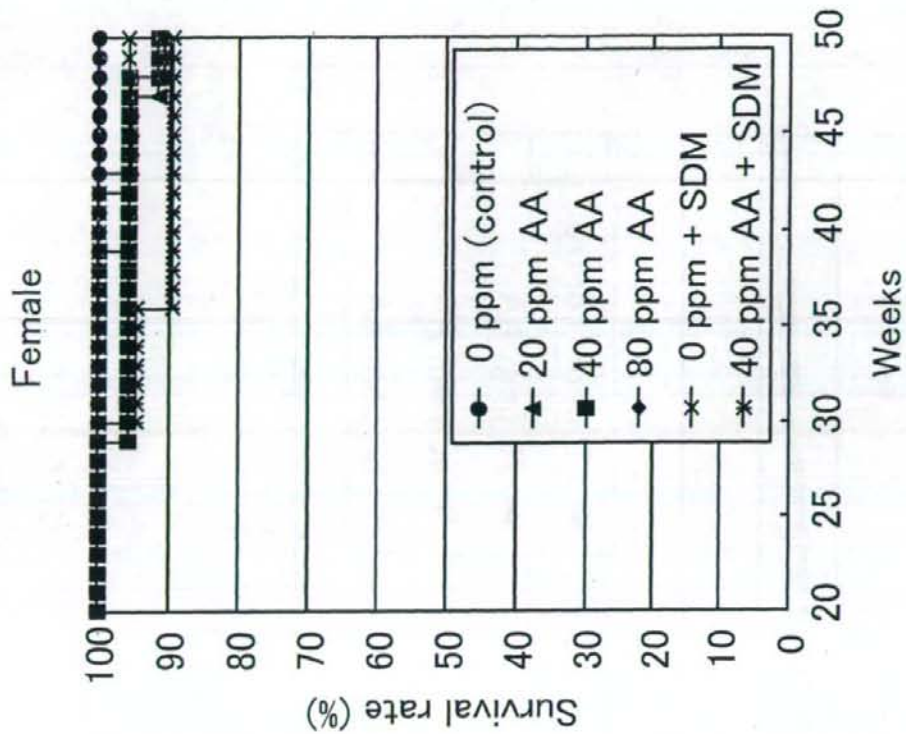


Figure 3 Survival rates of offspring

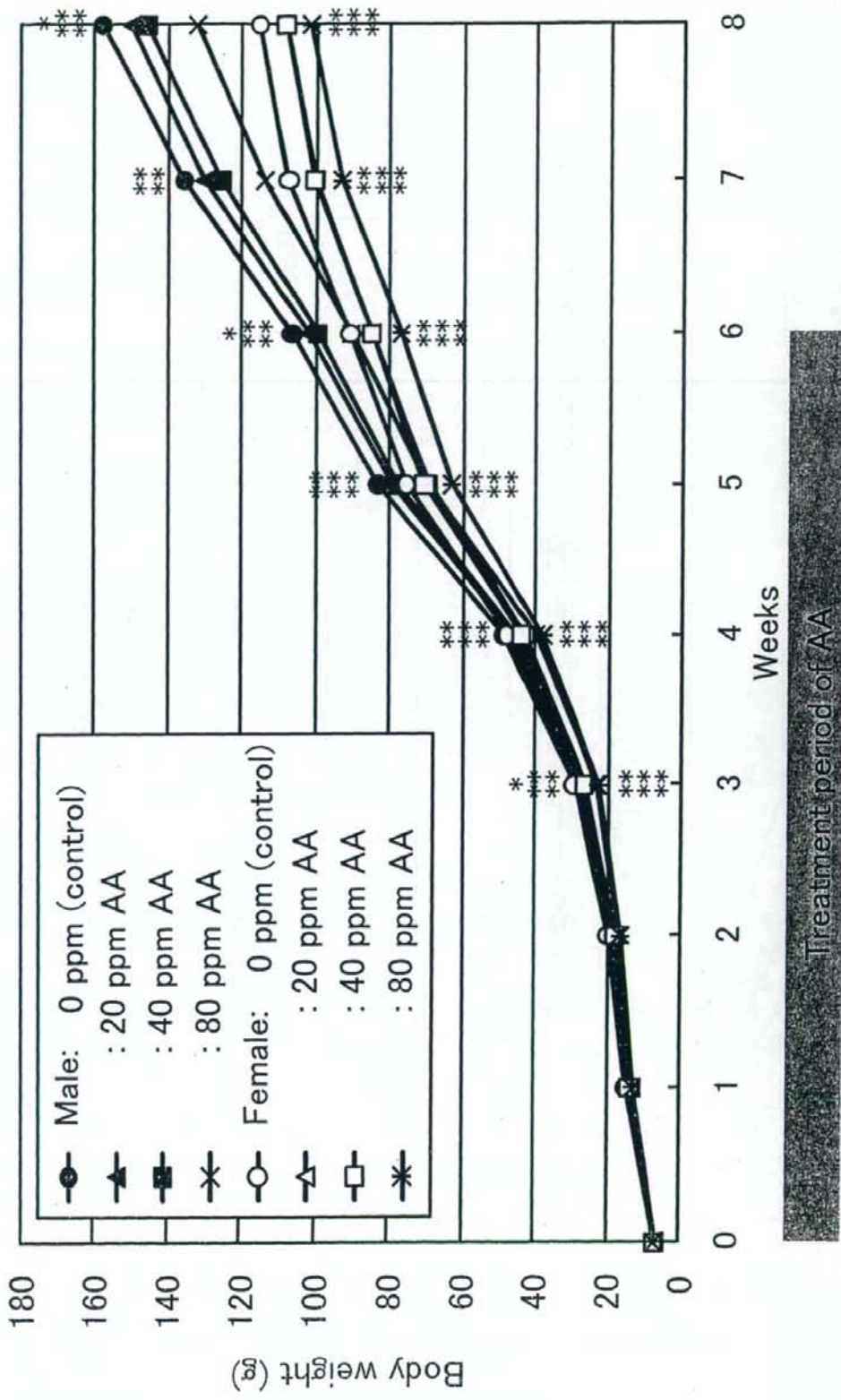


Figure 4 Body weight curves of offspring (from birth until 8 weeks of age)

*, **, ***: Significantly different from the control values at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively

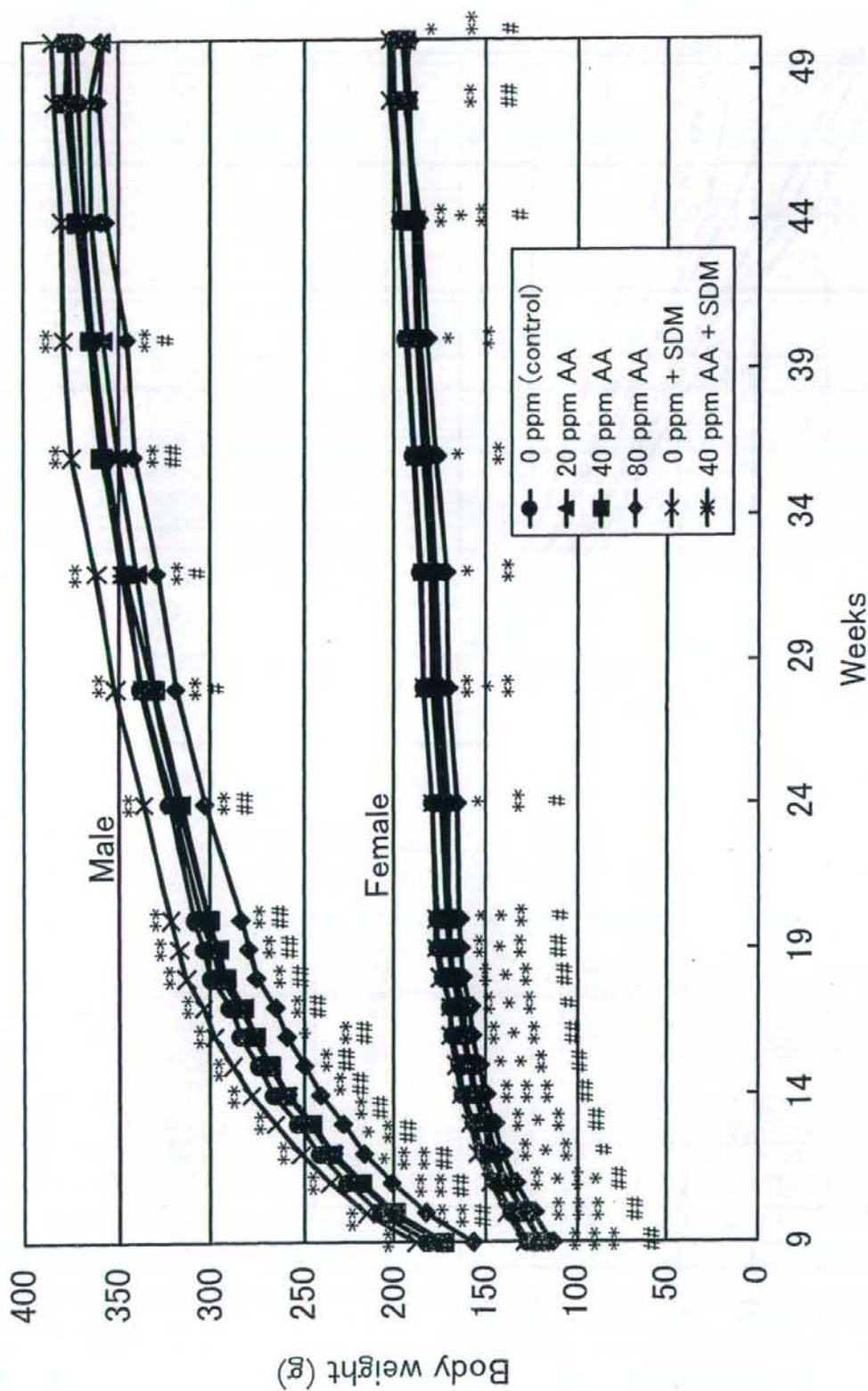


Figure 5 Body weight curves of offspring (from 9 until 50 weeks of age)

*, **: Significantly different from the control values at $P < 0.05$ and 0.01, respectively

#, ##: Significantly different from the values of 0 ppm + SDM group at $P < 0.05$ and 0.01, respectively

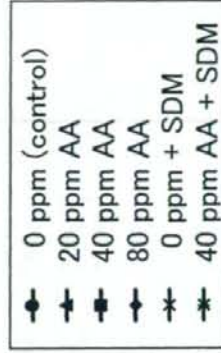
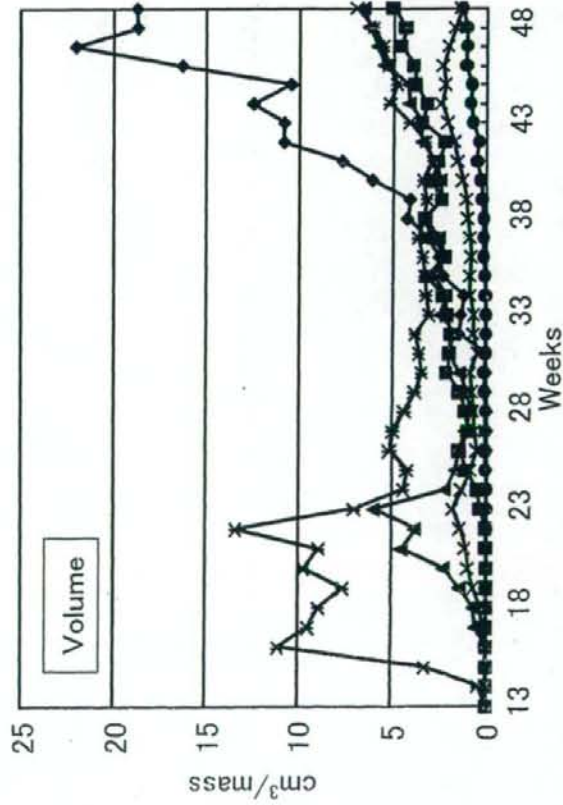
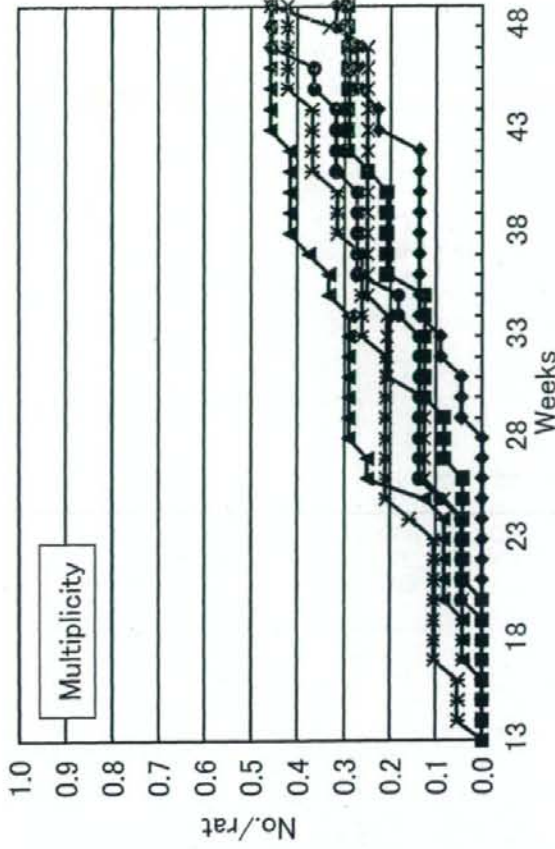
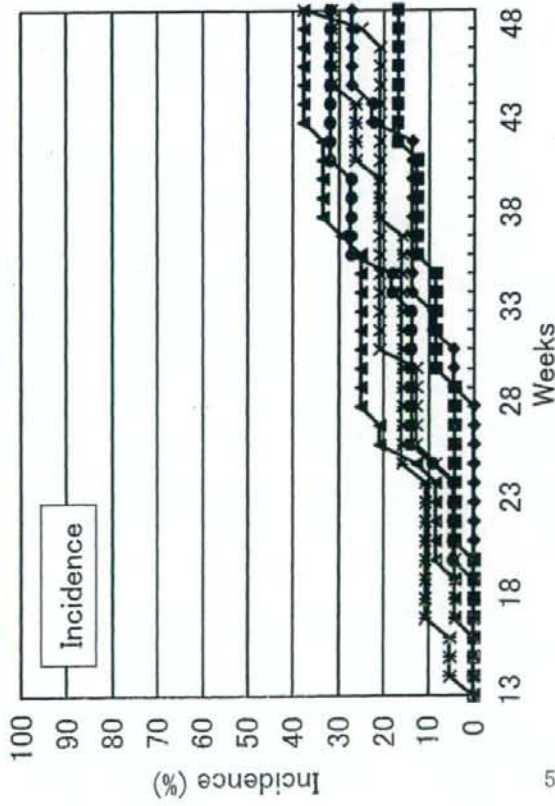


Figure 6 Sequential changes in the incidence, multiplicity and volume of palpable mammary tumor in females administered AA followed by MNU/SDM treatment

Table 1 Food and water consumption and intake of AA in dams
(from parturition until weaning)

Groups	Food consumption		Water consumption		Intake of AA (mg/kg/day)
	g/rat/day	g/kg/day	g/rat/day	g/kg/day	
0 ppm	28.8	147.9	41.3	212.7	—
20 ppm	28.4	146.2	40.0	206.4	4.1
40 ppm	27.4	142.3	38.5	200.4	8.0
80 ppm	25.2	132.9	34.7	183.1	14.7

Table 2 Food and water consumption and intake of AA in offspring
(from 4 until 6 weeks of age)

Sexes	Groups	Food consumption		Water consumption		Intake of AA (mg/kg/day)
		g/rat/day	g/kg/day	g/rat/day	g/kg/day	
Male	0 ppm	7.7	96.4	12.6	162.0	-
	20 ppm	7.5	99.2	12.6	169.2	3.4
	40 ppm	7.5	101.1	12.6	173.9	7.0
	80 ppm	6.9	103.4	11.4	176.6	14.1
Female	0 ppm	6.9	97.2	11.9	169.6	-
	20 ppm	6.6	101.6	11.6	178.3	3.6
	40 ppm	6.7	101.2	11.7	179.7	7.2
	80 ppm	6.3	105.9	10.9	186.6	14.9

Table 3 Final body and relative organ weights of rats administered AA followed by MNU/SDM treatment

Sexes	Items	Groups	0 ppm (control)	20 ppm	40 ppm	80 ppm	0 ppm + SDM	40 ppm + SDM
Male	No. of animals	22	22	20	19	22	20	20
	Final body weight (g)	372.0 ± 22.8 ^a	358.6 ± 31.3	377.4 ± 22.0	358.7 ± 20.6	384.5 ± 24.2	375.9 ± 20.6	
	Relative organ weights							
	Liver (g/100g B.W.)	2.71 ± 0.21	3.08 ± 1.90	2.74 ± 0.14	2.79 ± 0.21	2.72 ± 0.15	2.85 ± 0.15 [#]	
	Kidneys (g/100g B.W.)	0.74 ± 0.90	0.63 ± 0.37	0.56 ± 0.02	0.55 ± 0.03	0.54 ± 0.02	0.54 ± 0.02	
	Thyroids (g/100g B.W.)	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.003	0.005 ± 0.001	0.011 ± 0.022 [*]	0.007 ± 0.003	
Female	No. of animals	22	22	22	20	23	17	
	Final body weight (g)	200.8 ± 7.8	193.4 ± 10.4 [*]	196.3 ± 7.6	191.5 ± 9.3 ^{**}	202.7 ± 13.0	194.1 ± 10.4 [#]	
	Relative organ weights							
	Liver (g/100g B.W.)	2.69 ± 0.18	2.66 ± 0.17	2.56 ± 0.15 [*]	2.90 ± 0.22 ^{**}	2.78 ± 0.22	2.93 ± 0.27	
	Kidneys (g/100g B.W.)	0.64 ± 0.04	0.64 ± 0.04	0.60 ± 0.03 ^{**}	0.61 ± 0.03 [*]	0.60 ± 0.06 [*]	0.63 ± 0.04	
	Thyroids (g/100g B.W.)	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.014 ± 0.020 ^{**}	0.009 ± 0.001	

^a: Mean ± S.D.

^{*}, ^{**}: Significantly different from the control values at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively

[#], ^{##}: Significantly different from the values of 0 ppm + SDM group at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively

Table 4-1 Histopathological findings for male rats administered AA followed by MNU/SDM treatment

Organs	Findings	Groups					
		0 ppm (control)	20 ppm	40 ppm	80 ppm	0 ppm + SDM	40 ppm + SDM
		No. of animals					
		23	23	21	23	23	20
Thyroid	Focal hyperplasia	2 (9)	1 (4)	2 (10)	5 (22)	17 (74) ***	14 (70) ***
	Follicular adenoma	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4)	10 (43) ***	4 (20) *
	Follicular carcinoma	0 (0)	0 (0)	1 (5)	0 (0)	1 (4)	3 (15)
	Adenoma + Carcinoma	0 (0)	0 (0)	1 (5)	1 (4)	10 (43) ***	7 (35) **
Mammary gland	Fibroadenoma	1 (4)	0 (0)	0 (0)	1 (4)	0 (0)	0 (0)
Testis/Epididymis	Mesothelioma	10 (43)	5 (22)	7 (33)	10 (43)	5 (22)	5 (25)
Spinal cord	Malignant meningioma	1 (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Malignant astrocytoma	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4)	0 (0)	0 (0)
Pituitary	Adenoma	0 (0)	0 (0)	1 (5)	1 (4)	0 (0)	0 (0)
Oral cavity	Squamous cell hyperplasia	2 (9)	3 (13)	2 (10)	3 (13)	8 (35) *	3 (15)
	Papilloma	1 (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

*, **, ***: Significantly different from the control values at $P < 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively.