

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）  
**化学物質による抗甲状腺作用および周産期の甲状腺機能低下に伴う  
 次世代影響の評価に関する総合研究（24KD2003）**

令和 7 年度分担研究報告書

**分担研究課題：化学物質による抗甲状腺作用の評価に関する研究**

研究代表者：豊田武士（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 病理部 部長）  
 研究分担者：小川久美子（星薬科大学 薬学部 毒性学研究室 教授）  
 研究分担者：石井雄二（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 病理部 室長）  
 研究分担者：赤根弘敏（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 病理部 主任研究官）

## 研究要旨

化学物質による妊娠期の甲状腺機能低下は発達神経毒性（DNT）等の次世代影響を誘発することが知られているが、抗甲状腺物質の検出および次世代影響の有無を適切に評価するためのエンドポイントは未だ確立されていない。本研究では、化学物質の抗甲状腺作用の評価および機序推定に有用なパラメータを特定し、効率的な *in vivo* 評価法を確立することを目的とする。

令和 7 年度までの解析結果から、ラット 28 日間反復経口投与試験における甲状腺の病理組織学的解析が、①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤、②ヨウ素取込み阻害剤、③脱ヨウ素酵素阻害剤、④甲状腺ホルモン代謝促進剤の検出において最も鋭敏な指標であることが示された。網羅的遺伝子発現解析により新たに見出された DPP4・SNPH を用いた免疫染色は、病理解析結果をサポートする指標として利用できる可能性がある。また、甲状腺 T3・NIS、下垂体 TSH および肝 UGT1A6 等の各種免疫染色を併用することで、抗甲状腺作用の機序推定が可能であることが示された。本手法は、既存の OECD ガイドライン試験（TG407）に容易に組み込みが可能であり、化学物質の抗甲状腺作用検出のための簡便かつ効率的な *in vivo* 評価法として利用し得る。

国際的には、OECD・EPA/ICCVAM 等の専門家会議において、甲状腺機能低下に関する *in vitro* 評価系の開発およびバリデーションが進められている。一方、提案されている評価法はいずれもリスク評価ではなく、ハザード評価を主眼としている点に留意すべきであり、使用する培養細胞の安定供給やヒト由来細胞の使用における倫理的な課題についても継続的な情報収集が必要と考えられた。

## A. 研究目的

化学物質による妊娠期の甲状腺機能低下は、発達神経毒性（DNT）等の次世代影響を誘発することが懸念されている。2018 年に改定された OECD 試験ガイドライン（TG407、408 および 414）では、甲状腺ホルモン等、関連指標の検索が必須あるいは推奨項目となった。しかし、血中ホルモン測定は採血/測定時の条件による変動等の問題があることに加え、抗甲状腺物質を効率的に検出するための指標はいまだ明らかではなく、次世代影響の発現機序および適切に評価するためのエンドポイントも不明である。

我々は、厚生労働科学研究費補助金・化学物質リスク研究事業（令和 3～5 年度；21KD1003）において、抗甲状腺物質をラットに 28 日間経口投与した際、甲状腺の病理組織学的所見が最も鋭敏な指標となること、臓器重量および免疫組織化学的解析によりその機序を推定し得ることを報告した（Akane *et al.*, *J Appl Toxicol*, 2024）。

本研究では、先行研究をさらに発展させ、既存ガイドライン試験を活用した抗甲状腺物質の効率的な検出および機序推定を可能とする *in vivo* 試験法の確立を目的とする。

## B. 研究方法

### 1. ラット 28 日間反復経口投与試験（赤根・豊田）

令和 6 年度までに、6 週齢の SD ラット（ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン）（雄 5 匹/群）に対し以下の 6 種の機序に基づく計 12 種の抗甲状腺物質を 28 日間反復経口投与した。

- ①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害：Propylthiouracil (PTU) および Methimazole (MMI)
- ②ヨウ素取込み阻害：Ammonium perchlorate (APC) および Potassium thiocyanate (PTC)
- ③脱ヨウ素酵素阻害：Iopanoic acid (IOP) および Erythrosine (ER)
- ④肝臓における甲状腺ホルモン代謝促進：Phenobarbital sodium salt (NaPB) および Nicardipine hydrochloride (NCD)
- ⑤TSH 産生阻害：Bexarotene (BEX) および LG100268 (LG)
- ⑥TSH 受容体拮抗：VA-K-14 および LM224 (LM)

令和 7 年度は、昨年度に投与実験を実施した 2 物質（LG・LM）について、病理組織学的・免疫組織化学的解析を行った。また、新規被験物質として、④甲状腺ホルモン代謝促進剤である Pregnenolone 16 $\alpha$ -

carbonitrile (PCN) の投与実験を実施した。さらに予備検討として、以下の計 7 種の抗甲状腺物質を、各物質 1 用量にて 28 日間反復経口投与した。

- ② ヨウ素取込み阻害: Ammonium perrhenate (APR)、Potassium hexafluorophosphate (PHF)、Oxyfluorfen (OFF) および Etozazole (ETX)
- ③ 脱ヨウ素酵素阻害: Fluazinam (FLU)、Chlorothalonil (PTN) および Octhilonone (OIT)
- その他の物質について、令和 7 年度は新たなバイオマーカー候補を用いた免疫組織化学的解析を実施した。各物質の投与用量は以下の通りである(下線は令和 7 年度実施分。APC, PTC, ER 以外は強制経口投与)。

- ①PTU: 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 mg/kg  
MMI: 0.3, 1, 3, 10 mg/kg
- ②APC: 1, 10, 100, 1000 ppm (飲水)  
PTC: 10, 100, 1000, 2000, 5000 ppm (飲水)
- ③IOP: 3, 10, 30, 100, 300 mg/kg  
ER: 0.06, 0.25, 1, 4% (混餌)
- ④NaPB: 10, 30, 100 mg/kg  
NCD: 15, 50, 150 mg/kg  
PCN: 8, 25, 80 mg/kg
- ⑤BEX: 0.1, 0.3, 1, 3, 10 mg/kg  
LG: 0.016, 0.8, 0.4, 2 mg/kg
- ⑥VA-K-14: 1, 3, 10, 30, 100 mg/kg  
LM: 1, 3, 10 mg/kg

予備検討試験 (APR, PHF 以外は強制経口投与)

- ②APR: 2000 ppm (飲水)  
PHF: 2000 ppm (飲水)  
OFF: 300 mg/kg  
ETX: 500 mg/kg
- ③FLU: 100 mg/kg  
TPN: 300 mg/kg  
OIT: 200 mg/kg

各実験において、最終投与翌日に採血および解剖を実施し、甲状腺・下垂体・肝臓等の重量測定ならびに病理組織学的解析を実施した。また、血清中の甲状腺関連ホルモン (T3・T4・TSH) の測定を行った。さらに、甲状腺における T3・T4・Ki67・ナトリウム/ヨウ素共輸送体 (NIS; sodium-iodide symporter)・NAD(P)H quinone dehydrogenase 1 (NQO1)・glutathione peroxidase 2 (GPX2)、dipeptidylpeptidase 4 (DPP4) および syntrophin (SNPH)、下垂体前葉における TSH、肝臓における甲状腺ホルモン代謝に関与するグルクロン酸転移酵素 (UGT1A6) の免疫組織化学的解析を実施した。Ki67 については甲状腺濾胞上皮における陽性細胞率、NIS・NQO1・GPX2・DPP4・SNPH (甲状腺)、TSH (下垂体) および UGT1A6 (肝臓) についてはそれぞれ陽性面積率を測定した。

## 2. ラット甲状腺および下垂体における網羅的遺伝子発現解析 (石井)

甲状腺機能阻害物質投与時のラット甲状腺および下垂体における遺伝子発現変動を検索するため、令和 7 年

度は⑤TSH 産生阻害剤 (LG) の 28 日間反復経口投与を実施した。6 週齢の SD ラット (各群雄 7 匹; ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン) に、コーン油に懸濁した LG を 2 mg/kg/day の用量で強制経口投与した。投与濃度は令和 6 年度の赤根・豊田らの検討結果に基づき、抗甲状腺作用が認められた用量として設定した。各群 7 例のうち 3 例は病理組織学的解析用とし、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定後、甲状腺および下垂体重量を測定した。残る 4 例は RNA 抽出用とし、採材した甲状腺および下垂体は直ちに ISOGEN (ニッポンジーン) でホモジナイズした後、-80℃で凍結保存した。

また、令和 7 年度の追加検討物質として、①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤 4,4'-Oxydianiline (ODA) および Sulfamethazine (SMT)、③脱ヨウ素酵素阻害剤 (TPN) を用いたラット 28 日間反復経口投与試験を実施した。各群 4 匹の雄 SD ラットを用い、投与方法は混餌投与とし、抗甲状腺作用が認められる濃度として ODA は 400 ppm、SMT は 3200 ppm、TPN は 6000 ppm を設定した。なお、本実験は前項の赤根らの試験と同時に実施するため、病理所見確認用の群は設けなかった。甲状腺および下垂体の重量測定、RNA 抽出用組織の採材は、前述の LG と同様に実施した。

凍結組織から total RNA を抽出後、RNA 濃度を NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific) で測定し、RIN の評価を RNA6000 Nano kit および Agilent 2100 バイオアナライザ (Agilent) により測定した。200 ng の total RNA からビオチン標識 cRNA を合成し、1.65 μg の cRNA にて Whole Rat Genome Microarray Ver3.0 4x44K (G2519F#28282, Agilent) にハイブリダイズした。アレイのスキャンは、Agilent Microarray Scanner で解析した。階層クラスタリングなどのアレイデータマイニング解析には GeneSpring GX ver. 14.9 を用い、擬陽性率 (FDR; False discovery rate) を 0.05 以下、かつ Cut off 値を発現量比 (FC; fold change) >2.0 で条件を満たす転写産物をマイクロアレイデータから抽出した。

## 3. 国際機関および諸外国等における甲状腺機能評価に関する情報収集 (小川)

令和 7 年 7 月 9 日に開催された、米国動物実験代替法検証省庁間連絡委員会 (ICCVAM; Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods) の要請による甲状腺機能評価法のバリデーション (VMT; Validation Management Team) に関する専門家作業部会の Web 会議に参加し、米国環境保護庁 (EPA; Environmental Protection Agency) が提案する 3D Human Thyroid Microtissue Assay のバリデーションの進捗状況について、情報収集を行った。

令和 7 年 9 月 22 日および 10 月 1 日に開催された、OECD Thyroid Disruption Methods Expert Group の Web 会議に参加し、本専門家会議参加団体における甲状腺機能障害評価法の開発動向を調査した。さらに、OECD の専門家会議の議論の元となるデータを提供している EU-NETVAL (European Union Network of Laboratories for the Validation of Alternative Methods)、PEPPER (Public-Private Platform for the Validation of

Endocrine Disruptors Characterization Method) および PARC (The European Partnership for the Assessment of Risks from Chemicals) 等の諸団体の動向調査を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験は国立医薬品食品衛生研究所における動物実験に係る規定に基づく審査・承認を得た上で、使用する動物数ならびに動物が受ける苦痛を最小限とするよう配慮して行った。

## C. 研究結果

### 1. ラット 28 日間反復経口投与試験

#### 1-1. 血清中の甲状腺関連ホルモン値

血清 T3・T4・TSH 値の測定結果を Figure 1 に示す。令和 7 年度に解析を実施した抗甲状腺物質では、以下の変動が統計学的有意差をもって認められた。

LG : T4 低下 ; 0.4 mg/kg 以上、T3 低下 ; 2 mg/kg  
LM : 有意な変動なし  
PCN : T4 低下 ; 25 mg/kg 以上、TSH 増加 ; 80 mg/kg  
予備検討試験 :  
APR・PHF : T4 低下、TSH 増加  
OFF・FLU : T4 低下  
TPN : TSH 増加  
OIT : T4 増加

なお、前年度までに実施した投与実験においては、①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤 (PTU・MMI)、②ヨウ素取込み阻害剤 (APC・PTC)、④甲状腺ホルモン代謝促進剤 (NaPB・NCD) は、用量依存的な血清 T3・T4 低下および TSH 増加を引き起こした。③脱ヨウ素酵素阻害剤 (IOP・ER) では TSH の有意な増加に加え、IOP で血清 T3・T4 の有意な増加がみられた。⑤TSH 産生阻害剤 (BEX) では T3・T4 の有意な減少がみられたが、TSH の有意な変動は認められなかった。

#### 1-2. 臓器重量

LG・LM・PCN の投与実験および 7 物質 (APR・PHF・OFF・ETX・FLU・TPN・OIT) の予備検討試験について、解剖時体重ならびに臓器重量 (甲状腺・下垂体・副腎・肝臓) の測定結果を Table 1 に示す。以下の変動が統計学的有意差をもって認められた。

LG (Table 1-1) : 2 mg/kg で肝絶対/相対重量の増加  
LM (Table 1-2) : 有意な変動なし (1 mg/kg 群の下垂体相対重量の増加は、用量依存性を欠くことから偶発的变化と考えられた)  
PCN (Table 1-3) : 80 mg/kg で甲状腺絶対/相対重量の増加、25 mg/kg 以上で肝絶対/相対重量の増加、8 mg/kg で肝相対重量の増加  
予備検討試験 (Table 1-4、1-5) :  
APR・PHF : 甲状腺絶対/相対重量の増加  
OFF・ETX : 肝絶対/相対重量の増加  
FLU : 甲状腺相対重量の増加、肝絶対/相対重量の増加  
TPN : 甲状腺絶対/相対重量の低下  
OIT : 甲状腺絶対重量の低下、肝絶対重量の低下、副

腎絶対/相対重量の増加

### 1-3. 病理組織学的解析

LG・LM・PCN の投与実験および 7 物質の予備検討試験における甲状腺・下垂体・肝臓の病理組織学的所見を Table 2 に示す。

LG (Table 2-1) : 甲状腺におけるコロイド退縮が 0.08 mg/kg 以上の各 1 例で観察された。

LM (Table 2-2) : 甲状腺におけるコロイド退縮が 10 mg/kg の 1 例で観察された。下垂体前葉では、統計学的有意差はないものの、空胞化/肥大が 1 mg/kg 以上で散見された。

PCN (Table 2-3) : 甲状腺における濾胞上皮細胞肥大/過形成 (全群で有意) およびコロイド退縮 (25 mg/kg 以上で有意) の発生頻度が全群で用量依存的に増加した。下垂体前葉では、肥大/空胞化が全群で散見された。肝臓の小葉中心性/辺縁性肝細胞肥大が全群で観察され、中心性肥大は 80 mg/kg、辺縁性肥大は 25 mg/kg 以上で有意に増加した。

予備検討試験 (Table 2-4、2-5) :

甲状腺 : 7 物質すべての投与群において濾胞上皮細胞肥大/過形成が観察され、肥大の発生頻度の有意な増加が APR・PHF・ETX・FLU・TPN 投与群で認められた。

下垂体 : APR・PHF・ETX・FLU・TPN 投与群で前葉の肥大/空胞化がみられ、APR・PHF 投与群で有意な発生頻度増加を示した。

肝臓 : OFF・ETX・FLU 投与群で小葉中心性肝細胞肥大が観察され、FLU 投与群で有意な発生頻度増加を示した。

なお、前年度までに投与実験を実施した①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤 (PTU・MMI)、②ヨウ素取込み阻害剤 (APC・PTC)、③脱ヨウ素酵素阻害剤 (IOP・ER)、④甲状腺ホルモン代謝促進剤 (NaPB・NCD) の各物質においては、甲状腺濾胞上皮細胞の肥大が、血中ホルモン値の有意な変動がみられた用量よりも低用量からもしくは同用量で、統計学的有意差をもって認められた。また、NaPB・NCD 投与群では、血中ホルモン値の有意な変動がみられた用量よりも低用量から、小葉中心性肝細胞肥大が有意な増加を示した。これらのうち PTU・APC・IOP・NaPB・BEX の甲状腺および肝臓の病理組織学的所見を Table 2-6~2-10 に示す。

#### 1-4. 免疫組織化学的解析 : 甲状腺 T4・T3

令和 7 年度は、LG・LM・PCN の投与実験および 7 物質の予備検討試験について、甲状腺における T4・T3 産生を免疫染色により検索した。

その結果、LG・LM・PCN 投与群ではいずれも、T4・T3 染色性の低下は認められなかった (Figure 2~3, Table 2-1~3)。予備検討の 7 物質のうち、APR・PHF は T4・T3 の有意な低下を引き起こした。一方、OFF・ETX・FLU・TPN・OIT 投与群では T4・T3 の低下はみられなかった。

なお、前年度までに実施した甲状腺における T4・T3 の検索において、①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤 (PTU・MMI) および②ヨウ素取込み阻害剤 (APC・PTC) では、用量依存的な T4・T3 の有意な低下が認められ、PTU・MMI では病理組織学的解析において濾胞上皮細胞

肥大が認められた用量と一致していた。一方、③脱ヨウ素酵素阻害剤 (IOP・ER)、④甲状腺ホルモン代謝促進剤 (NaPB・NCD) および⑤TSH 産生阻害剤 (BEX) では、いずれの投与群においても T4・T3 の明らかな低下は認められなかった。これらのうち PTU・APC・IOP・NaPB・BEX の検索結果を Figure 2~3、Table 2-6~2-10 に示す。

#### 1-5. 免疫組織化学的解析：甲状腺 NIS

前年度までに実施した甲状腺を用いたマイクロアレイ解析において、PTU・MMI・APC・PTC 投与群で発現増加を、IOP 投与群で発現低下を示した NIS について、免疫染色を用いて新規マーカーとしての可能性を検討した。令和 7 年度は、LG・LM・PCN および 7 物質の予備検討試験について甲状腺における NIS 発現 (陽性面積率) を検索した (Figure 4)。

LG・LM：有意な変動なし

PCN：80 mg/kg で有意に増加

予備検討試験：APR・PHF・ETX 投与群で有意に増加

なお、前年度までに実施した甲状腺 NIS 発現解析では、PTU・MMI・APC・PTC・VA-K-14 投与群において有意な増加が、IOP・ER 投与群では対照的に有意な低下が認められた。⑤TSH 産生阻害剤である BEX 投与群では有意な変化は認められず、今回の LG の結果と一致していた。これらのうち、PTU・APC・IOP・BEX の検索結果を Figure 4 に示す。

#### 1-6. 免疫組織化学的解析：甲状腺 NQO1 および GPX2

前年度までに実施した甲状腺のマイクロアレイ解析の結果、PTU・MMI・IOP 投与群に共通して発現増加を示した NQO1 および GPX2 について、甲状腺における発現 (陽性面積率) を免疫染色により検索した。令和 7 年度は、LG・LM の 2 物質について解析を実施した。その結果、LG・LM ともに NQO1・GPX2 発現の有意な変動は認められなかった (Figure 5~6)。

なお、令和 6 年度に実施した発現解析では、PTU・MMI・APC・PTC・IOP 投与群で NQO1 発現の有意な増加、PTU・MMI・PTC・IOP・ER 投与群で GPX2 発現の有意な増加が検出された。⑤TSH 産生阻害剤である BEX 投与群では有意な変化は認められず、今回の LG の結果と一致していた。これらのうち PTU・APC・IOP・NaPB・BEX の検索結果を Figure 5~6 に示す。

#### 1-7. 免疫組織化学的解析：甲状腺 DPP4 および SNPH

前年度までに実施した甲状腺のマイクロアレイ解析の結果、PTU・APC・PTC 投与群に共通して発現増加を示した DPP4、および PTU・MMI・APC・PTC・NaPB・NCD 投与群に共通して発現増加を示した SNPH について、それぞれ PTU・MMI・APC・PTC 投与群の甲状腺における発現 (陽性面積率) を免疫染色により検索した (Figure 7~8)。

DPP4：①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤 (PTU・MMI) では、病理組織学的解析における濾胞上皮細胞肥大の増加に一致した増加傾向を示し、3 mg/kg PTU および 10 mg/kg MMI で有意であった。②ヨウ素取込み阻害剤 (APC・PTC) では、100 ppm 以上 APC、1000 および 5000

ppm PTC で統計学的有意差をもって増加した。

SNPH：血清 TSH 増加に一致した増加傾向を示し、①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤 (PTU・MMI) では 1 mg/kg 以上 PTU および 10 mg/kg MMI、②ヨウ素取込み阻害剤 (APC・PTC) では 100 ppm 以上 APC で有意に増加した。

#### 1-8. 免疫組織化学的解析：下垂体 TSH

令和 7 年度は、LG・LM・PCN および予備検討試験の 7 物質について、下垂体前葉における TSH 発現 (陽性面積率) を免疫染色により検索した (Figure 9)。

LG：0.4 mg/kg 以上で有意に低下

LM：有意な変動なし

PCN：全ての投与群で有意に増加

予備検討試験：APR・PHF・OFF・ETX・FLU・TPN・OIT 投与群で有意に増加

なお、前年度までに実施した下垂体前葉における TSH 発現解析では、PTU・MMI・APC・PTC・IOP・NCD・VA-K-14 投与群で TSH 発現の有意な増加が認められた。対照的に、⑤TSH 産生阻害剤である BEX 投与群では有意な低下が認められ、今回の LG の結果と一致していた。これらのうち、PTU・APC・IOP・BEX の検索結果を Figure 9 に示す。

#### 1-9. 免疫組織化学的解析：甲状腺 Ki67

令和 7 年度は、LG について甲状腺における Ki67 発現 (陽性細胞率) を免疫染色により検索した結果、有意な変動は認められなかった (Figure 10)。

なお、前年度までに実施した甲状腺における Ki67 発現解析では、PTU・MMI・APC・NaPB・NCD 投与群で Ki67 発現の有意な増加が検出された。⑤TSH 産生阻害剤である BEX 投与群では有意な変化は認められず、今回の LG の結果と一致していた。これらのうち、PTU・APC・IOP・NaPB・BEX の検索結果を Figure 10 に示す。

#### 1-10. 免疫組織化学的解析：肝臓 UGT1A6

令和 7 年度は、LG・LM・PCN および予備検討試験の 7 物質について、肝臓における UGT1A6 発現 (陽性面積率) を免疫染色により検索した (Figure 11)。

LG・LM：有意な変動なし

PCN：全ての投与群で有意に増加し、特に小葉周辺域において顕著に認められた

予備検討試験：OFF・FLU・OIT 投与群で有意に増加

なお、前年度までに実施した解析では、NaPB・NCD 投与群で有意な増加が認められ、病理組織学的解析で認められた肝細胞肥大に一致していた。その他、PTU・MMI・IOP 投与群でも有意な増加が認められたが、血清ホルモン値変動および甲状腺の病理組織学的所見がみられた用量よりも高用量であった。これらのうち、NaPB・NCD・PTU・IOP の検索結果を Figure 11 に示す。

## 2. ラット甲状腺および下垂体における網羅的遺伝子発現解析

### 2-1. 体重・摂餌量・臓器重量

LG 投与群では、対照群と比較し摂餌量の増加がみら

れ、最終体重は対照群に比して 5%の高値を示した (Figure 12A)。

ODA、SMT および TPN 投与群では、いずれの群においても投与 2 週目で摂餌量の減少がみられた。ODA 投与群では投与 2 週目以降に体重増加抑制が認められ、最終体重は対照群に比して 6.6%の低値を示した。一方、SMT・TPN 投与群では、体重への影響は認められなかった (Figure 12B)。

## 2-2. マイクロアレイ解析

甲状腺および下垂体では、対照群および LG 投与群はそれぞれ異なるクラスターとして分類された (Figure 13)。甲状腺では、LG 投与群において発現増加した遺伝子が 7、発現低下した遺伝子が 21 認められた。下垂体では、LG 投与群において発現増加した遺伝子は認められず、22 遺伝子で発現低下が認められた。発現変動を示した遺伝子の一覧を Table 3-1~3-3 に示す。

甲状腺では、甲状腺ペルオキシダーゼ阻害作用を示す ODA・SMT 投与群の一部は重なりが認められたものの、対照群・TPN 群はそれぞれ異なるクラスターとして分類された (Figure 14)。発現増加した遺伝子数は、ODA 投与群で 32、SMT 投与群で 42、TPN 投与群で 126 であり、このうち 4 遺伝子が共通していた。発現低下した遺伝子数は ODA 投与群で 366、SMT 投与群で 397、TPN 投与群で 1046 であり、このうち 164 遺伝子が共通していた (Figure 15)。発現変動を示した遺伝子の一覧を Table 3-4~3-9 に示す。

## 3. 国際機関および諸外国等における甲状腺機能評価に関する情報収集

令和 7 年 7 月 9 日に開催された ICCVAM による、米国 EPA の 3D Human Thyroid Microtissue Assay のバリデーション進捗報告に関する Web 会議には、事務局の Inotiv、開発者の EPA および NIEHS・CPSC・EC・JRC・NIHS/JaCVAM から合計 9 名の参加者があった。4 施設におけるバリデーションの結果が示され、試験法そのものは一定の再現性を保持したデータが得られると考えられた。一方で、ヒトの正常甲状腺組織を用いた検討のため、必要な甲状腺組織の入手については、安定供給や倫理的な問題点も残ると考えられた。

令和 7 年 9 月 22 日および 10 月 1 日に開催された OECD の Thyroid Disruption Method Expert Group の Web 会議には、OECD 事務局に加えてカナダ (議長)・EC・JRC・フランス・米国・スウェーデン・ベルギー・デンマーク・ドイツ・オランダ・英国・スイス・ノルウェー・スロバキア・日本・ECHA・EFSA・BIAC・ICAPO から合計 48 名の参加者があった。以下の内容について、報告と質疑が行われた。

- 1) アッセイ開発者から本専門家会議に対して評価依頼のあった NIS、TPO および 2 種類の DIO アッセイについて、評価内容を元に議論された。

・NIS assay (KalyCell)

4 名のレビュアーの評価は概ね肯定的であり、本アッセイが他の類似した NIS アッセイと同等であること (同等の活性、陽性反応) を示した。結

論として、本アッセイはバリデーションへ移行する準備が整っており、PEPPER への提案が可能であるとされた。一方、ライセンス契約および将来のユーザーにとっての受容性について若干の疑問が提起された。

・TPO inhibition (guaiacol oxidation, using of microsomes from multiple species) (CLS)  
4 名のレビュアーが評価し、マイクロソームの使用による問題と、それに伴う結果のばらつきが議論された。また、ヒト由来マイクロソームの場合、商業目的での使用に関する倫理的問題が提起された。可能な限り *in vitro* 由来の試料を使用することが推奨され、これにより上記 2 つの問題が同時に解決される (細胞株に関連するその他の問題としては、認証・維持のための生物資源センターへの保護・寄託等がある)。その他の制限事項: 1) 現在のアッセイは酸化反応における色干渉に対処していない; 2) 検出技術 (グアヤコール酸化に基づく) は AUR よりも感度が低い。

・DIO の 2 アッセイ (Kalycell および CLS) のうち Kalycell のアッセイ評価には小川も参加したが、レビュアー数がいずれも 2 名と不十分であったことから、グループでの評価は見送られた。

- 2) PEPPER project のバリデーション報告

・DIO 1 アッセイの検証: 第 2 段階が進行中。1 施設から得られたデータの品質が不十分であった。BfR (ドイツ) は 2026 年に追加で 2 施設を支援し、この検証において 3 カ所の独立した施設のセットを構築する予定。

・FITC-T4 TTR: 移転可能性の検証は完了。参加ラボすべてが盲検試験を適切に実施中。VMG は 2026 年の盲検リング試験移行を承認予定。

・TYRO-IOD アッセイ: ECCAC (欧州細胞培養認定コレクション) における細胞株寄託の問題により、検証開始が遅延している。

- 3) ドイツにおける 3 種のアッセイ (DIO 1, 2, 3-SK、NIS-SK、TPO-AUR) の検証に関する状況報告

・3 施設 (BASF、BfR、Charite Berlin) における 3 アッセイのバリデーション計画が紹介された。

・アッセイ担当者の熟練度、被験物質の EU-NETVAL との重複が限られていること、酵素源が Pepper と異なることなどが議論された。

- 4) 米国 EPA による 3D マイクロ組織法の状況

・4 施設 (バイエル、ライフネットヘルス、EPA、コルテバ) がバリデーションに参加している。この取り組みは ICCVAM-NICEATM が調整を担当している。試験システムは 4 人のドナー由来の一次甲状腺細胞 (プールなし) で構成される。実験設定: 4 プレート (4 物質/プレート)、6 日間処理、T4 産生測定は 14 日目に実施する。陽性対照として PTU を使用。施設間で一貫性が確認され、受容基準を満たしている。報告書はほぼ完成し、論文は投稿済み。

- ・T4 産生測定法は ELISA を使用しており、細胞計数は標準化が必要との意見があった。
- ・ヒト組織の使用に関連し、倫理的配慮と一次細胞の商業利用可能性について質問があり内部協議することとなった。
- ・T4 測定の信頼性問題が指摘され、これは高濃度 T4 のみに関わる可能性がある。

- 5) プロジェクト 2.64 の魚類試験法への甲状腺エンドポイントの追加について
- ・検証中の 4 種の新規甲状腺関連エンドポイントは、TG236 (FET) および TG210 (FELS) の付属書として追加される予定である。標準操作手順書 (SOP) は現在、提携研究所と協議中である。欧州、日本、米国の計 16 施設がこの活動に参加している。4 種の生物種が試験対象となる。
- 6) 甲状腺機能障害に関する PARC IATA 作成プロジェクトの進捗について
- ・魚類および *in vitro* 法を用いた甲状腺ホルモン影響に焦点を当てた IATA の現状が提示された。
  - ・ECHA および EFSA と協議しながら、さらに多くのケーススタディ (約 10 種類の化学物質) を開発する予定である。
  - ・OECD 事務局は、PARC の IATA 活動の進捗状況を事前に把握していなかったものの、*in vitro* 試験法の評価で得られた知見に基づき、TDM EG が戦略策定において取る可能性のある方向性について、出発点を策定した。事務局は、IATA で使用される方法が必ずしも試験ガイドラインである必要はないことを参加者に説明した。
  - ・一部の反応として、*in vitro* で検証済みの方法が存在せず、OECD レベルで IATA を開発するリソースが不十分であることから、IATA の開発は時期尚早である可能性が示唆された。また、規制上の問題 (分類かあるいは有害性評価か) を明確にする必要があるとの意見があった。

## D. 考察

### 1. ラット 28 日間反復経口投与試験

OECD ガイドライン (TG407) および化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律に規定される齧歯類を用いた 28 日間反復経口投与試験に準じて、様々な機序に基づく抗甲状腺物質をラットに複数用量で投与し、臓器重量測定、病理組織学的・免疫組織化学的解析を実施し、血清ホルモン値との比較を行った。

令和 6 年度までに、①甲状腺ホルモン合成に必須の酵素である甲状腺ペルオキシダーゼの阻害剤 (PTU・MMI)、②甲状腺ホルモンの重要な構成成分であるヨウ素の濾胞上皮細胞内への取込み阻害剤 (APC・PTC)、③末梢における T4→T3 変換を担う脱ヨウ素酵素 (DIO) の阻害剤 (IOP・ER)、④肝薬物代謝酵素の発現誘導を介した甲状腺ホルモンの代謝促進による抗甲状腺物質 (NaPB・NCD)、⑤下垂体における TSH 産生抑制による甲状腺機能低下誘発物質 (BEX・LG)、⑥*in vitro* において TSH 受容体拮抗作用が報告されている物質 (VA-K-

14・LM) を用いた、ラット 28 日間反復経口投与試験を実施してきた。

令和 7 年度は、上記のうち LG・LM の詳細な検索、新たな被験物質として④甲状腺ホルモン代謝促進剤 PCN、および各物質 1 用量を用いた予備試験として③ヨウ素取込み阻害剤 4 種 (APR・PHF・OFF・ETX) と④脱ヨウ素酵素阻害剤 3 種 (FLU・TPN・OIT) の検討を実施した。

④PCN 投与群では、血清 T4 減少が中用量から、TSH 増加が高用量で検出された一方、病理組織学的解析における甲状腺濾胞上皮細胞肥大が低用量から、肝細胞肥大が中用量から観察された。また、肝重量および肝 UGT1A6 発現の有意な増加が低用量から、甲状腺重量および甲状腺 NIS 発現の増加が高用量で認められた。

⑤LG 投与群では、用量依存的な血清 T3・T4 の低下が検出された一方、血清 TSH、甲状腺・下垂体重量の変動は認められなかった。病理組織学的解析では、甲状腺のコロイド退縮が散見され、免疫染色により下垂体における TSH 発現の有意な減少が観察された。

⑥LM 投与群では、血清 T3・T4・TSH 値および甲状腺・下垂体重量の有意な変動は認められなかった。病理組織学的解析では下垂体前葉の肥大/空胞化が散見された一方、免疫染色において甲状腺 T3・T4 産生、NIS・NQO1・GPX2 発現および下垂体 TSH 発現の変動はいずれも認められなかった。

令和 6 年度までに得られた最も重要な結果として、①～④の機序の各物質において病理組織学的解析における甲状腺濾胞上皮細胞の肥大が、血清ホルモン値の変動がみられた用量と同等もしくは低用量から、統計学的有意差をもって認められた。令和 7 年度に実施した④PCN 投与群においても同様の結果が得られ、①～④の抗甲状腺物質の検出に際し、甲状腺の病理組織学的解析が最も高感度な指標となり得ることが示された。一方、⑤LG 投与群では、BEX と同様に濾胞上皮細胞肥大は認められなかったが、コロイド退縮が誘発され、TSH 産生阻害による影響を反映した変化である可能性がある。また、⑥LM 投与群では、⑤と同様に濾胞上皮細胞肥大は認められなかったものの、下垂体前葉の肥大/空胞化が誘発され、TSH 受容体拮抗作用による影響を反映した特徴である可能性が考えられた。

免疫染色による甲状腺 T3・T4 染色性の低下が①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤および②ヨウ素取込み阻害剤により誘発された一方で、令和 7 年度検討分 (LG・LM・PCN) を含む、他の機序による抗甲状腺物質では同様の低下は認められなかった。したがって、甲状腺における T3・T4 産生を直接的に阻害する物質 (①・②) と、他の機序を介した間接的な抗甲状腺物質を区別するために、T3・T4 免疫染色が有用であることが示された。

免疫染色による甲状腺 NIS の検索では、②ヨウ素取込み阻害剤 (APC・PTC) による発現増加が、血清ホルモン値変動、病理組織学的所見、甲状腺 T3・T4 染色と比較してより低い用量から検出された。対照的に、③脱ヨウ素酵素阻害剤 (IOP・ER) では、血清ホルモン値変動・病理組織学的所見と同用量またはより低用量から NIS 発現の低下が観察された。令和 7 年度検討分の⑤LG お

よび⑥LM では NIS 発現変動は認められず、④PCN では発現が増加したものの、血清 T4 低下の方が高感度であった。以上の結果から、NIS 免疫染色は②および③の機序を高感度に鑑別可能な指標であることが示された。

網羅的遺伝子発現解析の結果からバイオマーカー候補として見出された NQ01 および GPX2 について、①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤、②ヨウ素取込み阻害剤、③脱ヨウ素酵素阻害剤について免疫染色を実施した結果、血清ホルモン値変動と同用量で有意な発現増加が検出された。これらの結果は①～③の機序を有する抗甲状腺物質の検出に利用可能であることを示している。また、統計学的有意差はないものの、④ (NaPB・NCD) で血清ホルモン変動・甲状腺肥大に伴う NQ01・GPX2 発現の増加傾向、対照的に⑤ (BEX・LG) および⑥ (LM) で NQ01 または GPX2 発現の減少傾向がみられたことから、TSH 産生抑制等、④～⑥の機序予測への利用可能性も示唆された。

網羅的遺伝子発現解析の結果から、令和 7 年度に新たなバイオマーカー候補として DPP4・SNPH が見出された。DPP4 は②ヨウ素取込み阻害剤投与群の甲状腺において、血清ホルモン値変動と同用量 (APC) またはより低用量 (PTC) から発現が有意に増加したことから、同機序を有する抗甲状腺物質の検出に有用な指標であることが示された。加えて①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤では、濾胞上皮細胞肥大の程度に伴った発現増加傾向を示した。また SNPH は、①・②の各投与群の甲状腺において、血清ホルモン変動と同用量で発現増加傾向を示した。以上の結果から、いずれも病理組織学的解析をサポートする所見として有用である可能性が示唆された。

甲状腺重量、免疫染色による下垂体 TSH 発現および甲状腺 Ki67 発現の増加が、①・②・④の各物質において血清 T4 または TSH の変動と同程度の感度で検出されたから、これらの解析は同機序による抗甲状腺物質の検出に有用と考えられた。一方、⑤TSH 産生阻害剤 (LG) は、BEX と同様に下垂体 TSH 発現低下を誘発した。LG 投与群における発現低下は血清 T4 値の有意な減少と同用量から統計学的有意差をもって認められたことから、TSH 免疫染色は TSH 発現亢進のみならず、TSH 産生阻害の機序の推定に有用である可能性が示された。

齧歯類では肝臓における UGT の発現亢進によって血中 T4 の代謝・排泄が促進され、間接的な抗甲状腺作用が誘導されることが知られている。令和 7 年度の解析を含め、④ (NaPB・NCD・PCN) による UGT1A6 発現の増加は、血清ホルモン値の変動ならびに病理組織学的所見と同用量またはより低用量から認められ、血清ホルモン値の変動がより鋭敏であった①・③の各物質とは対照的であった。以上の結果から、肝臓の重量測定・病理検査と UGT1A6 免疫染色は、④甲状腺ホルモン代謝促進剤の検出に有用であると考えられた。

令和 7 年度に予備検討実験を実施した 7 種の抗甲状腺物質は、*in vitro* における②ヨウ素取込み阻害または③脱ヨウ素酵素阻害作用が知られる一方、*in vivo* で

の血中ホルモン値への影響に関する情報は乏しい。今回のラットを用いた 28 日間反復投与試験において、以下の結果が得られた。

②ヨウ素取込み阻害剤では、APR・PFH 投与群において血清 T4 減少および TSH 増加が検出され、病理組織学的解析における甲状腺濾胞上皮細胞肥大、免疫染色における甲状腺 T3・T4 減少および NIS 発現増加、下垂体 TSH 発現増加が認められ、同機序の検討済物質 (APC・PTC) の結果と一致した。OFF 投与群では血清 T4 減少および下垂体 TSH 発現増加が同様に検出されたが、濾胞上皮細胞肥大の有意な増加は認められなかった。ETX 投与群では甲状腺濾胞上皮細胞肥大、下垂体 TSH および甲状腺 NIS 発現増加が同様に誘発されたが、血清および甲状腺の T3・T4 低下はみられなかった。

③脱ヨウ素酵素阻害剤では、TPN 投与群において血清 TSH 増加、下垂体 TSH 発現増加および甲状腺濾胞上皮細胞肥大が誘発され、NIS 発現は減少傾向を示し、これらの結果は同機序の検討済物質 (IOP・ER) と一致した。FLU 投与群では血清 T4 減少が検出されたが、④代謝促進物質 (NaPB) と同様の小葉中心性肝細胞肥大および顕著な UGT1A6 発現増加が認められたことから、*in vivo* では④肝臓を介した抗甲状腺作用の影響が大きいことが示唆された。OIT 投与群では IOP と同様に血清 T4 増加がみられたが、濾胞上皮細胞肥大の有意な増加は認められなかった。

以上の結果を考慮し、令和 8 年度に実施する複数用量を設定した 28 日間反復投与実験の被験物質として、②ヨウ素取込み阻害剤：APR・PHF および③脱ヨウ素酵素阻害剤：TPN の 3 物質を選択した。また、評価法としての信頼性向上のため、①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤についても、新たに追加の被験物質として ODA および SMT を用いた検索を実施する。

## 2. ラット甲状腺および下垂体における網羅的遺伝子発現解析

令和 6 年度までに、①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤 (PTU・MMI)、②ヨウ素取込み阻害剤 (APC・PTC)、③脱ヨウ素酵素阻害剤 (IOP)、④甲状腺ホルモン代謝促進物質 (NaPB・NCD) および⑤TSH 産生阻害剤 (BEX) の計 8 物質について、ラット甲状腺および下垂体における網羅的遺伝子発現解析を行ってきた。令和 7 年度は新たに、①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤 (ODA・SMT)、③脱ヨウ素酵素阻害剤 (TPN) および⑤TSH 産生阻害剤 (LG) の 4 物質を被験物質として選定し、LG は甲状腺・下垂体のマイクロアレイ解析を、ODA・SMT・TPN は甲状腺のマイクロアレイ解析を実施した。

LG 投与群では、対照群と比較して体重の増加傾向がみられたが、甲状腺および下垂体重量に変化は認められなかった。同様の傾向は、今年度に先行して実施された赤根らの結果とも一致しており、本試験の再現性が確認された。

マイクロアレイ解析の結果、LG 投与群では甲状腺および下垂体における遺伝子発現変動はわずかであり、過去に実施した⑤TSH 産生阻害剤 BEX と同様の傾向を示した。ODA・SMT 投与群の甲状腺では、過去に検討した①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤 PTU・MMI に比較し

て遺伝子発現変動は軽度であったが、これは抗甲状腺作用の程度を反映したものと考えられた。また、TPN 投与群の甲状腺では、③脱ヨウ素酵素阻害剤 IOP と同程度の発現増加遺伝子が認められた。今後は、作用機序ごとにデータの再解析を行い、機序特異的な遺伝子変化について検討する予定である。また、マイクロアレイ解析の詳細なデータは豊田・赤根らに提供し、新たなバイオマーカーとしての活用に加え、抗甲状腺作用機序の特定への応用を目指す。

### 3. 国際機関および諸外国等における甲状腺機能評価に関する情報収集

OECD の専門家会議においては、甲状腺機能障害を誘発する種々の機序に基づく複数の *in vitro* 評価法が開発されつつあり、一部ではあるものの着実にバリデーション評価が進められている。また、EU-NETVAL 以外の組織 (PEPPER、PARC 等) との協力や魚類を用いた評価法など多様化していく可能性もみられた。

EPA のヒト甲状腺細胞を用いた評価系については、4 施設におけるバリデーション結果が一定の精度をもって示され、その内容が論文化された (*Toxicol Sci.* 2024; 199: 89-107; *Toxicol Sci.* 2025; 207: 415-34; *Toxicol Sci.* 2025; kfaf166.)。一方で、EPA での主担当であった研究者の退任が報告されており、研究の継続性については不透明な部分が見られた。

一方、これらの評価法はいずれもリスク評価ではなく、ハザード評価を主眼としている点は留意が必要と考えられた。また、アッセイに必要な培養細胞の恒常的な供給および血清や細胞を含むヒトサンプルを用いた評価系の倫理的な問題に関する意見も提起されており、継続的な情報収集が必要と考えられた。

### E. 結論

令和 7 年度までの解析結果から、ラット 28 日間反復経口投与試験を用いた①甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤、②ヨウ素取込み阻害剤、③脱ヨウ素酵素阻害剤、④甲状腺ホルモン代謝促進剤の検出において、甲状腺の病理組織学的解析が、血中ホルモン値測定よりも鋭敏かつ最も高感度な指標となり得ることが示された。網羅的遺伝子発現解析により、令和 7 年度に新たに見出された DPP4・SNPH を用いた免疫染色は、これらの病理所見をサポートする指標として有用である可能性が示された。また、甲状腺 T3・T4・NIS、下垂体 TSH および肝 UGT1A6 等の各種免疫染色を併用することで、抗甲状腺作用の機序推定が可能であることが示された (Figure 16)。本手法は、既存の OECD ガイドライン試験であるラット 28 日間反復経口投与毒性試験 (TG407) に容易に組み込みが可能であり、化学物質の抗甲状腺作用検出のための簡便かつ効率的な *in vivo* 評価法として利用し得る。

国際的には、EU-NETVAL を中心とした OECD および EPA が主導する ICCVAM の専門家会議において、甲状腺機能低下に関する *in vitro* 評価系の開発が検討されている。進行中のバリデーションによって、これら複数の *in vitro* 評価系についてそれぞれ適切な利用範囲および改良すべき課題が明らかになると期待された。一方、提

案されている評価法はいずれもリスク評価ではなく、ハザード評価を主眼としている点は留意が必要と考えられた。また、OECD の専門家会議では、アッセイに必要な培養細胞の恒常的な供給、および血清や細胞を含むヒトサンプルを用いた評価系の倫理的な問題に関する意見も提起された。さらに、EPA の組織再編による影響も懸念され、今後の動向について継続的な情報収集が必要と考えられた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- [1] Matsushita K, Akane H, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, Ogawa K, Toyoda T. Possible involvement of tubular interleukin-34 in macrophage recruitment during colistin-induced nephrotoxicity in rats. *J Toxicol Sci.* (in press)
- [2] Murata Y, Akagi J, Doi Y, Iso T, Umamo T, Masumura K, Matsumoto M, Toyoda T, Ogawa K. Evaluation of 13-week repeated-dose oral toxicity of zirconium(IV) butoxide in Crl:CD(SD) rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2026; 164: 105968.
- [3] Mitsumoto T, Ishii Y, Takimoto N, Takasu S, Namiki M, Toyoda T, Ogawa K. Evaluation of 2-isopropyl-N-2,3-trimethylbutyramide by a comprehensive toxicity study using *gpt* delta rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2026; 507: 117686.
- [4] Akane H, Toyoda T, Matsushita K, Uneyama M, Morikawa T, Kosaka T, Tajima H, Aoyama H, Ogawa K. Comparisons of the sensitivity of histopathological and immunohistochemical analyses with blood hormone levels for early detection of antithyroid effects in rats treated with promoters of thyroid hormone metabolism. *Toxicol Pathol.* 2025; 53: 251-66.
- [5] Takimoto N, Ishii Y, Mitsumoto T, Takasu S, Namiki M, Toyoda T, Shibutani M, Ogawa K. Involvement of nuclear atrophy of binucleated hepatocytes in the large micronucleus formation induced by rat hepatocarcinogen acetamide. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2025; 496: 117243.
- [6] Matsushita K, Tsuji G, Akane H, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K, Ito T, Yokoo H, Sennari G, Iwatsuki M, Hirose T, Hanaki H, Demizu Y, Hirabayashi Y, Saito Y, Honma M, Toyoda T. A 28-day subacute toxicity study of puberulic acid in Crl:CD(SD) rats. *J Toxicol Pathol.* 2025; 38: 223-36.
- [7] Yoshida A, Hashimoto Y, Akane H, Matsuyama S, Toyoda T, Ogawa K, Saito Y, Kikura-Hanajiri R, Arakawa N. Analysis of stratifin expression and proteome variation in a rat model of acute lung injury. *J Proteome Res.* 2025; 24: 1941-55.

#### 2. 学会発表

- 1) 豊田武士、赤根弘敏、石井雄二、小川久美子. ラット反復経口投与毒性試験における抗甲状腺物質の検出および機序推定. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 2) 豊田武士. 抗甲状腺物質の *in vivo* 評価法開発および *in vitro* 系との比較. 第 32 回 HAB 研究機構学術年会 (2025 年 5 月)
- 3) Akagi J, Mizuta Y, Matsushita K, Toyoda T, Ogawa K. Characterization of remaining titanium dioxide in Peyer's patches of rats after subchronic oral exposure. 65th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2026.3)
- 4) 赤木純一、水田保子、松下幸平、豊田武士、小川久美子. F344 ラットへの反復経口投与によりパイエル板に沈着した二酸化チタン粒子の休薬後動態の検討. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026 年 1 月)
- 5) 西村拓也、高橋祐次、豊田武士、角田聡、鈴木睦、佐藤玄、小川久美子、平林容子. 毒性試験用語の標準化に向けた用語集改訂と継続的な更新が可能なデータベース化への取り組み. 第 8 回医薬品毒性機序研究会 (2025 年 12 月)
- 6) 赤木純一、横井雅幸、三宅ゆみ、松下幸平、菅澤薫、岩井成憲、豊田武士. アクリルアミド代謝物により誘導される多様な DNA 修飾とその生理的影響. 第 48 回日本分子生物学会年会 (2025 年 12 月)
- 7) Akagi J, Yokoi M, Miyake Y, Matsushita K, Sugawara K, Iwai S, Toyoda T. Distinct replicative and mutagenic consequences of different glycidamide DNA adducts in human cells. ISNAC 2025 (2025.11)
- 8) 赤木純一、曹永晚、横井雅幸、花岡文雄、松下幸平、豊田武士、小川久美子. 野生型および Pol $\kappa$  欠損マウスにおけるベンゾ[a]ピレン誘発前胃腫瘍の突然変異解析. 第 84 回日本癌学会学術総会 (2025 年 9 月)
- 9) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、赤木純一、森川朋美、水田保子、小川久美子. 急性腎障害から慢性腎臓病への移行における CD44 の予測指標としての有用性の検証. 第 168 回日本獣医学会学術集会 (2025 年 9 月)
- 10) 井上亮、松下幸平、西銘千代子、豊田武士、畠山雅彦、文随友花、山本大地、小川久美子、鈴木雅実. コモンマーモセットを用いた免疫毒性評価における T 細胞依存性抗体産生試験. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 11) 西村次平、豊田武士、西川秋佳、小川久美子. WoE 評価を用いたがん原性評価の留意事項について - 規制当局の視点から -. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 12) 小川久美子、赤根弘敏、豊田武士. 機序に基づく抗甲状腺物質の *in vivo* 評価法開発と国際動向. 日本動物実験代替法学会第 38 回大会 (2025 年 11 月)
- 13) 小川久美子、松下幸平、豊田武士. 非ヒト霊長類の代替法に関する研究 -免疫毒性の視点から-. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 14) 西村拓也、平林容子、小川久美子、角田聡、鈴木睦、佐藤玄、豊田武士、高橋祐次. 『毒性試験用語集』の改訂と利活用可能なデータベースの構築の取り組み. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 15) 石井雄二、山上洋平、高須伸二、相馬明玲、豊田武士、小川久美子. Acetamide のラット肝発がんに寄与する大型小核の形成機序. 日本薬学会第 146 年会 (2026 年 3 月)
- 16) 石井雄二、高須伸二、山上洋平、相馬明玲、豊田武士、小川久美子. カルバミン酸メチルのラット肝発がん過程におけるクロモスリプシスの関与. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026 年 1 月)
- 17) 石井雄二、高須伸二、山上洋平、相馬明玲、豊田武士、小川久美子. カルバミン酸メチルのラット肝発がんにおけるクロモスリプシス様染色体再構成の関与の検討. 日本環境変異原ゲノム学会第 54 回大会 (2025 年 11 月)
- 18) 石井雄二、高須伸二、山上洋平、相馬明玲、豊田武士、小川久美子. カルバミン酸メチルのラット肝発がん機序の検討. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 19) 石井雄二、瀧本憲史、山上洋平、高須伸二、相馬明玲、豊田武士、渋谷淳、小川久美子. ラットを用いたカルバミン酸メチルの *in vivo* 遺伝毒性評価. 日本食品化学学会第 31 回総会・学術大会 (2025 年 6 月)
- 20) 山上洋平、石井雄二、高須伸二、相馬明玲、豊田武士、村上智亮、小川久美子. アセトアミドのラット肝発がんに寄与する肝細胞質内封入体の形成機構. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026 年 1 月)
- 21) 山上洋平、石井雄二、高須伸二、相馬明玲、豊田武士、村上智亮、小川久美子. アセトアミド誘発大型小核によるクロモスリプシス様染色体再構成と肝発がんへの寄与. 日本環境変異原ゲノム学会第 54 回大会 (2025 年 11 月)
- 22) 高須伸二、石井雄二、相馬明玲、豊田武士、小川久美子. レポーター遺伝子導入動物を用いた香料化合物の *in vivo* 遺伝毒性・発がん性の評価. 第 38 回発癌病理研究会 (2025 年 8 月)
- 23) 相馬明玲、石井雄二、山上洋平、高須伸二、豊田武士、小川久美子. アセトアミドの大型小核形成に関わる構造的特徴の検討. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 24) 山上洋平、石井雄二、中村賢志、原島洋文、高須伸二、相馬明玲、豊田武士、村上智亮、小川久美子. アセトアミド誘発ラット肝腫瘍で見られた染色体外環状 DNA の特徴とクロモスリプシスの関与. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 25) 増村健一、安東朋子、堀端克良、石井雄二、杉山圭一. マウスを用いたアクリルアミドの *in vivo* 変異原性と次世代に誘発される生殖細胞系列突然変異の解析. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 26) 赤根弘敏、高須伸二、畠山瑞穂、森川朋美、小坂忠司、青山博昭、小川久美子、豊田武士. 免疫組織化学的解析を用いたヨウ素取込み及び脱ヨウ素酵素阻害剤のラットにおける抗甲状腺作用の評価. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026 年 1 月)

- 27) 赤根弘敏、松下幸平、畝山瑞穂、森川朋美、高須伸二、小川久美子、豊田武士. 病理組織学的及び免疫組織化学的解析を用いた VA-K-14 のラットにおける抗甲状腺作用機序の評価. 第 84 回日本癌学会学術総会 (2025 年 9 月)
- 28) 赤根弘敏、畝山瑞穂、森川朋美、小坂忠司、青山博昭、小川久美子、豊田武士. ラット 28 日間反復投与毒性試験における病理組織学的及び免疫組織化学的解析による TSH 産生阻害剤の検出および機序推定. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 29) Matsushita K, Akane H, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, Ogawa K, Toyoda T. CD44 expression in renal tubules during maladaptive repair in AKI to CKD transition. World Congress of Nephrology 2026 (2026.3)
- 30) 畝山瑞穂、高須伸二、赤根弘敏、森川朋美、豊田武士. 雄性 Cr1:CD(SD) ラットを用いた 2, 2, 3, 3, 4, 4, 4-heptafluoro-1-butanol の 28 日間反復経口投与毒性試験. 第 13 回日本獣医病理学専門家協会学術集会 (2026 年 3 月)
- 31) 高須伸二、赤根弘敏、畝山瑞穂、森川朋美、豊田武士. フラン誘発肝傷害の早期に生じる肝漿膜下領域における変化の経時的解析. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026 年 1 月)
- 32) 松下幸平、赤根弘敏、赤木純一、森川朋美、水田保子、小川久美子、豊田武士. シクロスポリン誘発ラット AKI to CKD モデルにおける CD44 陽性尿細管の特徴の経時的解析. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026 年 1 月)
- 33) 畝山瑞穂、高須伸二、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子、豊田武士. 免疫染色結果に基づく決定木分析によるラット肝発がん物質の早期検出法の検討. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026 年 1 月)
- 34) 赤木純一、水田保子、畝山瑞穂、赤根弘敏、松下幸平、豊田武士、小川久美子. ラットを用いたさまざまな結晶子径の二酸化チタンの反復経口投与毒性の検討. 第 8 回医薬品毒性機序研究会 (2025 年 12 月)
- 35) 吉田彩夏、橋本由弥、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子、齋藤嘉朗、花尻(木倉)瑠理、荒川憲昭. 薬剤性間質性肺炎における Stratifin の発現変動の機序解析. 第 46 回日本臨床薬理学会学術総会 (2025 年 12 月)
- 36) Yoshida A, Hashimoto Y, Akane H, Toyoda T, Ogawa K, Saito Y, Kikura-Hanajiri R, Arakawa N. Proteomics-based study on expression dynamics of a novel biomarker candidate in interstitial lung disease rat models. 12th Asia Oceania Human Proteome Organisation (2025.10)
- 37) 畝山瑞穂、赤根弘敏、森川朋美、高須伸二、小川久美子、豊田武士. 免疫染色を用いたラット肝発がん物質早期検出法の開発. 第 11 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2025 年 9 月)
- 38) 赤木純一、水田保子、畝山瑞穂、赤根弘敏、松下幸平、豊田武士、小川久美子. 反復経口投与によりラット小腸パイエル板に取り込まれた二酸化チタンによる免疫毒性影響の検討. 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会 (2025 年 9 月)
- 39) 吉田彩夏、橋本由弥、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子、齋藤嘉朗、花尻(木倉)瑠理、荒川憲昭. Stratifin の発現変動と DAD 病態の関連: 肺組織および BALF のプロテオーム解析. 日本プロテオーム学会 2025 年大会 (2025 年 8 月)
- 40) 赤木純一、水田保子、畝山瑞穂、赤根弘敏、松下幸平、豊田武士、小川久美子. 異なる結晶子径の二酸化チタン粒子の 90 日間反復経口投与によるラット小腸パイエル板における免疫毒性影響の検討. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 41) 畝山瑞穂、赤根弘敏、森川朋美、豊田武士. Cr1:CD(SD) ラットにおける Perfluorobutanesulfonic acid の生体影響解析. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 42) 松下幸平、辻巖一郎、赤根弘敏、石井雄二、高須伸二、小川久美子、伊藤貴仁、横尾英知、出水庸介、平林容子、齋藤嘉朗、本間正充、豊田武士. プベール酸のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月)
- 43) 水田保子、赤木純一、畝山瑞穂、赤根弘敏、六鹿元雄、磯貴子、松本真理子、小川久美子、豊田武士. ラットを用いた 4-(ベンジルオキシ)フェノールの 13 週間反復経口投与毒性試験. 日本食品化学学会第 31 回総会・学術大会 (2025 年 6 月)

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

Table 1-1. Organ weight data for male SD rats treated with LG for 28 days

Dose (mg/kg)	0	0.016	0.08	0.4	2
No. of animals examined	5	5	5	5	5
Males					
Body weight (g)	385 ± 38	395 ± 28	388 ± 26	381 ± 29	415 ± 21
Thyroids (mg)	21.9 ± 2.4	21.0 ± 1.7	19.6 ± 2.5	21.4 ± 3.0	23.2 ± 2.6
(mg%)	5.7 ± 0.4	5.4 ± 0.6	5.0 ± 0.6	5.6 ± 0.8	5.6 ± 0.5
Pituitary (mg)	13.2 ± 1.1	14.5 ± 1.1	14.0 ± 1.8	13.5 ± 2.0	15.0 ± 1.5
(mg%)	3.4 ± 0.2	3.7 ± 0.3	3.6 ± 0.3	3.6 ± 0.6	3.6 ± 0.3
Adrenals (mg)	55.9 ± 11.3	51.0 ± 5.5	52.1 ± 7.6	52.8 ± 7.5	61.5 ± 6.0
(mg%)	14.6 ± 2.8	13.0 ± 1.9	13.4 ± 1.9	13.9 ± 1.6	14.8 ± 1.1
Liver (g)	11.14 ± 1.81	11.02 ± 0.99	10.99 ± 0.76	10.57 ± 0.95	13.57 ± 1.10*
(g%)	2.88 ± 0.23	2.79 ± 0.10	2.83 ± 0.16	2.78 ± 0.15	3.27 ± 0.13**

Each value represents the mean ± SD.

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

Table 1-2. Organ weight data for male SD rats treated with LM for 28 days

Dose (mg/kg)	0	1	3	10
No. of animals examined	5	5	5	5
Males				
Body weight (g)	385 ± 38	364 ± 13	376 ± 31	366 ± 31
Thyroids (mg)	21.9 ± 2.4	23.8 ± 3.5	20.6 ± 2.7	20.7 ± 2.9
(mg%)	5.7 ± 0.4	6.5 ± 0.8	5.5 ± 0.4	5.6 ± 0.6
Pituitary (mg)	13.2 ± 1.1	14.5 ± 1.2	14.4 ± 1.0	13.5 ± 1.9
(mg%)	3.4 ± 0.2	4.0 ± 0.2*	3.9 ± 0.4	3.7 ± 0.4
Adrenals (mg)	55.9 ± 11.3	49.9 ± 5.9	49.5 ± 5.3	48.3 ± 5.8
(mg%)	14.6 ± 2.8	13.7 ± 1.8	13.2 ± 0.8	13.2 ± 1.1
Liver (g)	11.14 ± 1.81	10.15 ± 0.59	10.88 ± 1.41	9.95 ± 1.67
(g%)	2.88 ± 0.23	2.79 ± 0.09	2.89 ± 0.16	2.70 ± 0.23

Each value represents the mean ± SD.

\*: Significantly different from the control group at  $P < 0.05$ .

Table 1-3. Organ weight data for male SD rats treated with PCN for 28 days

Dose (mg/kg)	0	8	25	80
No. of animals examined	5	5	5	5
Males				
Body weight (g)	424 ± 30	437 ± 23	451 ± 32	412 ± 25
Thyroids (mg)	24.4 ± 2.7	24.8 ± 1.9	27.8 ± 3.9	34.4 ± 2.5**
(mg%)	5.8 ± 0.6	5.7 ± 0.6	6.2 ± 1.1	8.4 ± 1.0**
Pituitary (mg)	14.0 ± 0.3	13.7 ± 1.2	14.3 ± 1.6	14.8 ± 2.1
(mg%)	3.3 ± 0.2	3.1 ± 0.4	3.2 ± 0.1	3.6 ± 0.4
Adrenals (mg)	55.3 ± 7.8	53.8 ± 5.6	61.1 ± 4.1	53.6 ± 7.5
(mg%)	13.1 ± 2.4	12.3 ± 1.0	13.7 ± 1.7	13.1 ± 2.6
Liver (g)	12.15 ± 1.14	14.31 ± 1.09	14.68 ± 2.06*	16.26 ± 1.12**
(g%)	2.87 ± 0.19	3.27 ± 0.14**	3.25 ± 0.27*	3.95 ± 0.09**

Each value represents the mean ± SD.

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

Table 1-4. Organ weight data for male SD rats treated with iodide uptake inhibitors for 28 days

Dose (ppm · mg/kg)	0	APR	PHF	0	OFF	ETX
		2000	2000		300	500
No. of animals examined	5	5	5	5	5	5
Males						
Body weight (g)	407 ± 33	411 ± 25	422 ± 36	389 ± 32	404 ± 30	406 ± 22
Thyroids (mg)	23.2 ± 3.6	46.6 ± 4.2**	42.4 ± 6.4**	25.1 ± 1.8	24.9 ± 2.5	24.8 ± 2.9
(mg%)	5.67 ± 0.49	11.38 ± 1.34**	10.15 ± 2.18**	6.46 ± 0.46	6.18 ± 0.66	6.12 ± 0.78
Pituitary (mg)	16.1 ± 2.3	14.9 ± 2.4	15.8 ± 0.7	14.2 ± 1.5	13.6 ± 1.6	13.9 ± 1.6
(mg%)	3.95 ± 0.37	3.62 ± 0.55	3.75 ± 0.22	3.66 ± 0.35	3.36 ± 0.31	3.42 ± 0.36
Adrenals (mg)	54.6 ± 3.2	55.5 ± 6.6	56.3 ± 11.0	52.5 ± 4.7	47.6 ± 16.2	53.7 ± 8.5
(mg%)	13.5 ± 1.8	13.5 ± 1.6	13.3 ± 2.1	13.6 ± 1.8	11.7 ± 3.6	13.2 ± 2.0
Liver (g)	11.19 ± 1.75	11.04 ± 1.25	11.77 ± 1.20	10.35 ± 1.01	12.30 ± 1.55*	13.81 ± 0.86**
(g%)	2.74 ± 0.27	2.68 ± 0.16	2.79 ± 0.12	2.66 ± 0.11	3.04 ± 0.23*	3.40 ± 0.11**

Each value represents the mean ± SD.

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

Table 1-5. Organ weight data for male SD rats treated with deiodinase inhibitors for 28 days

Dose (mg/kg)	0	FLU	TPN	OIT
		100	300	200
No. of animals examined	5	5	5	5
Males				
Body weight (g)	424 ± 30	406 ± 30	410 ± 11	381 ± 15
Thyroids (mg)	24.4 ± 2.7	28.8 ± 4.7	20.3 ± 1.9*	20.4 ± 2.3*
(mg%)	5.78 ± 0.64	7.08 ± 0.71*	4.96 ± 0.46*	5.35 ± 0.52
Pituitary (mg)	14.0 ± 0.3	14.4 ± 1.5	14.6 ± 1.3	13.7 ± 0.7
(mg%)	3.32 ± 0.22	3.56 ± 0.39	3.56 ± 0.35	3.61 ± 0.30
Adrenals (mg)	55.3 ± 7.8	53.4 ± 8.1	56.4 ± 2.2	76.3 ± 6.3**
(mg%)	13.1 ± 2.4	13.2 ± 1.8	13.8 ± 0.7	20.1 ± 1.8**
Liver (g)	12.15 ± 1.14	15.53 ± 1.60**	12.29 ± 1.10	10.33 ± 0.53*
(g%)	2.87 ± 0.19	3.83 ± 0.25**	3.00 ± 0.22	2.71 ± 0.09

Each value represents the mean ± SD.

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

Table 2-1. Histopathological findings in male SD rats treated with LG for 28 days

Sex	Organs and findings	Dose (mg/kg)	0	0.016	0.08	0.4	2
			No. of animals examined	5	5	5	5
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell	0	0	0	0	0
		Hyperplasia, follicular cell	0	0	0	0	0
	Colloid depletion (±)	0	0	1	1	1	
	Decrease in T4 level <sup>a)</sup>	0	0	0	0	0	
	Decrease in T3 level <sup>b)</sup>	0	0	0	0	0	
	Pituitary	Vacuolation, pars distalis	0	0	0	0	0
		Hypertrophy, pars distalis (±)	0	0	1	0	0
Liver		0	0	0	0	0	

±, minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

No significant difference was detected from the control group.

Table 2-2. Histopathological findings in male SD rats treated with LM for 28 days

Sex	Organs and findings	Dose (mg/kg)	No. of animals examined			
			0	1	3	10
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell	0	0	0	0
		Hyperplasia, follicular cell	0	0	0	0
		Colloid depletion ( $\pm$ )	0	0	0	1
		Decrease in T4 level <sup>a)</sup>	0	0	0	0
		Decrease in T3 level <sup>b)</sup>	0	0	0	0
	Pituitary	Vacuolation, pars distalis	0	1	1	1
		Hypertrophy, pars distalis ( $\pm$ )	0	2	2	3
Liver		0	0	0	0	

$\pm$ , minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

No significant difference was detected from the control group.

Table 2-3. Histopathological findings in male SD rats treated with PCN for 28 days

Sex	Organs and findings	Dose (mg/kg)	No. of animals examined			
			0	8	25	80
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell ( $\pm$ , +, ++)	0	5(5, 0, 0)**	5(1, 4, 0)**	5(0, 3, 2)**
		Hyperplasia, follicular cell ( $\pm$ , +, ++)	0	4(4, 0, 0)*	5(2, 3, 0)**	5(0, 4, 1)**
		Colloid depletion ( $\pm$ , +, ++)	0	3(3, 0, 0)	5(4, 1, 0)**	5(2, 2, 1)**
		Decrease in T4 level <sup>a)</sup>	0	0	0	0
		Decrease in T3 level <sup>b)</sup>	0	0	0	0
	Pituitary	Vacuolation, pars distalis ( $\pm$ )	0	1	2	2
		Hypertrophy, pars distalis ( $\pm$ , +)	0	1(1, 0)	3(2, 1)	3(1, 2)
	Liver	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular ( $\pm$ )	0	1	3	5**
		Hypertrophy, hepatocyte, periportal ( $\pm$ , +, ++)	0	2(0, 2, 0)	5(2, 3, 0)**	5(0, 3, 2)**

$\pm$ , minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

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

Table 2-4. Histopathological findings in male SD rats treated with iodide uptake inhibitors for 28 days

Sex	Organs and findings	Dose (ppm*mg/kg)	APR		PHF	0	OFF		ETX
			2000	2000			300	500	
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell ( $\pm$ , +, ++, +++)	0	5(0, 0, 5, 0)**	5(0, 0, 4, 1)**	0	3(3, 0, 0, 0)	5(4, 1, 0, 0)**	
		Hyperplasia, follicular cell ( $\pm$ , +, ++)	0	5(0, 5, 0, 0)**	5(0, 2, 3, 0)**	0	3(3, 0, 0, 0)	5(4, 1, 0, 0)**	
		Colloid depletion ( $\pm$ , +, ++, +++)	0	5(0, 2, 3, 0)**	5(0, 1, 3, 1)**	0	0	4(4, 0, 0, 0)*	
		Decrease in T4 level <sup>a)</sup> ( $\pm$ , +)	0	5(3, 2)**	5(2, 3)**	0	0	0	
		Decrease in T3 level <sup>b)</sup> ( $\pm$ , +, ++, +++)	0	5(0, 1, 4, 0)**	5(0, 0, 2, 3)**	0	0	0	
	Pituitary	Vacuolation, pars distalis ( $\pm$ , +)	0	1(1, 0)	4(4, 0)*	0	0	1(1, 0)	
		Hypertrophy, pars distalis ( $\pm$ , +)	0	4(4, 0)*	4(2, 2)*	0	0	3(3, 0)	
	Liver	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular ( $\pm$ )	0	0	0	0	1	3	

$\pm$ , minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

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

Table 2-5. Histopathological findings in male SD rats treated with deiodinase inhibitors for 28 days

Sex	Organs and findings	Dose (mg/kg)	No. of animals examined			
			0	FLU 100	TPN 300	OIT 200
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell (±, +)	0	5(2, 3)**	4(4, 0)*	3(3, 0)
		Hyperplasia, follicular cell (±, +)	0	5(3, 2)**	3(3, 0)	2(2, 0)
		Colloid depletion (±, +)	0	3(2, 1)	2(2, 0)	1(1, 0)
		Decrease in T4 level <sup>a)</sup>	0	0	0	0
		Decrease in T3 level <sup>b)</sup>	0	0	0	0
	Pituitary	Vacuolation, pars distalis (±)	0	1	2	0
		Hypertrophy, pars distalis (±)	0	1	2	0
	Liver	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular (±)	0	4*	0	0

±, minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

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

Table 2-6. Histopathological findings in male SD rats treated with PTU for 28 days

Sex	Organs and findings	Dose (mg/kg)	No. of animals examined					
			0	0.03	0.1	0.3	1	3
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell (±, +, ++, +++)	0	1(1,0,0,0)	5(4,1,0,0)**	5(0,5,0,0)**	5(0,0,3,2)**	5(0,0,2,3)**
		Hyperplasia, follicular cell (±, +, ++)	0	0	3(2, 1, 0)	5(2, 3, 0)**	5(0, 0, 5)**	5(0, 0, 5)**
		Colloid depletion (±, +, ++, +++)	0	1(1,0,0,0)	3(2,1,0,0)	5(2,3,0,0)**	5(0,0,3,2)**	5(0,0,3,2)**
		Decrease in T4 level (±, +, ++, +++) <sup>a)</sup>	0	1(1,0,0,0)	4(4,0,0,0)*	5(1,4,0,0)**	5(0,0,4,1)**	5(0,0,0,5)**
		Decrease in T3 level (±, +, ++, +++) <sup>b)</sup>	0	0	5(5,0,0,0)**	5(0,2,3,0)**	5(0,0,0,5)**	5(0,0,0,5)**
	Liver		0	0	0	0	0	0

±, minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

\*, \*\*: Significantly different from the control group at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

Table 2-7. Histopathological findings in male SD rats treated with APC for 28 days

Sex	Organs and findings	Dose (ppm)	No. of animals examined				
			0 10 <sup>c)</sup>	1	10	100	1000
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell (±, +, ++, +++)	0	1(1,0,0,0)	4(4,0,0,0)*	5(1,4,0,0)**	5(0,0,4,1)**
		Hyperplasia, follicular cell (±, +, ++)	0	0	2(2,0,0)	4(2,2,0)*	5(0,1,4)**
		Colloid depletion (±, +, ++, +++)	0	0	2(2,0,0,0)	5(1,2,2,0)**	5(0,0,1,4)**
		Decrease in T4 level (±, +, ++) <sup>a)</sup>	0	0	1(1,0,0)	2(2,0,0)	5(0,2,3)**
		Decrease in T3 level (±, +, ++, +++) <sup>b)</sup>	0	0	0	5(0,4,1,0)**	5(0,0,0,4)**
Liver		0	0	0	0	-	

±, minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

<sup>c)</sup>: Total of two experiments

\*, \*\*: Significantly different from the control group at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

**Table 2-8. Histopathological findings in male SD rats treated with IOP for 28 days**

Sex	Organs and findings	Dose (mg/kg)	No. of animals examined							
			0	3	10	30	0	30	100	300
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell (±, +)	0	4(4, 0)*	5(4, 1)**	5(4, 1)**	0	5(4, 1)**	5(2, 3)**	5(1, 4)**
		Hyperplasia, follicular cell (±, +)	0	3(3, 0)	5(4, 1)**	5(5, 0)**	0	4(4, 0)*	4(4, 0)*	5(4, 1)**
		Colloid depletion (±)	0	2	1	0	0	0	0	1
		Colloid alteration (±, +)		4(4, 0)*	4(3, 1)*	5(5, 0)**	0	5(4, 1, 0)**	5(2, 2, 1)**	5(1, 2, 2)**
		Decrease in T4 level <sup>a)</sup>	-	-	-	-	0	0	0	0
		Decrease in T3 level <sup>b)</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pituitary	Vacuolation, pars distalis (±, +)	0	1(1, 0)	0	2(2, 0)	1(1, 0)	3(3, 0)	4(4, 0)	5(2, 3)*
		Hypertrophy, pars distalis (±, +)	0	1(1, 0)	0	3(3, 0)	1(1, 0)	4(4, 0)	5(4, 1)*	5(2, 3)*
	Adrenal		0	0	0	0	0	0	0	0
	Liver	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular (±)	0	0	0	0	0	0	1	5**

±, minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

-: not examined

\*, \*\*: Significantly different from the control group at p<0.05 and p<0.01, respectively.

**Table 2-9. Histopathological findings in male SD rats treated with NaPB for 28 days**

Sex	Organs and findings	Dose (mg/kg)	No. of animals examined			
			0	10	30	100
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell (±, +)	0	2(2, 0)	4(3, 1)*	5(3, 2)**
		Hyperplasia, follicular cell (±)	0	0	2	5**
		Colloid depletion (±)	0	1	3	4*
		Decrease in T4 level <sup>a)</sup>	0	0	0	0
		Decrease in T3 level <sup>b)</sup>	0	0	0	0
	Liver	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular (±, +, ++, +++)	0	4(4,0,0,0)*	5(0,4,1,0)**	5(0,0,3,2)**

±, minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

\*, \*\*: Significantly different from the control group at p<0.05 and p<0.01, respectively.

**Table 2-10. Histopathological findings in male SD rats treated with BEX for 28 days**

Sex	Organs and findings	Dose (mg/kg)	No. of animals examined							
			0	0.1	0.3	1	0	1	3	10
Males	Thyroid	Hypertrophy, follicular cell	0	0	0	0	0	0	0	0
		Hyperplasia, follicular cell	0	0	0	0	0	0	0	0
		Colloid depletion (±)	0	1	1	1	0	0	1	3
		Decrease in T4 level <sup>a)</sup>	-	-	-	-	0	0	0	0
		Decrease in T3 level <sup>b)</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pituitary	Vacuolation, pars distalis	0	0	0	0	0	0	0	0
		Hypertrophy, pars distalis	0	0	0	0	0	0	0	0
	Adrenal		0	0	0	0	0	0	0	0
	Liver	Glycogen accumulation (±, +)	0	0	0	0	0	0	2(2, 0)	3(1, 2)

±, minimal; +, mild; ++, moderate; +++, severe

<sup>a)</sup>: Immunohistochemistry for T4

<sup>b)</sup>: Immunohistochemistry for T3

-: not examined

No significant difference was detected from the control group.

Table 3-1. Upregulated genes in the thyroid gland of SD rats treated with LG for 28 days

Probe Name	Gene Symbol	Fold change
A_43_P11558	Apod	4.0
A_44_P308925	Abat	3.5
A_44_P377886	Smtnl2	2.8
A_42_P826938	LRRTM1	2.4
A_64_P042292	Lrtm1	2.4
A_44_P262593	Ankrd2	2.3
A_64_P147225	Plagl1	2.3

Table 3-2. Downregulated genes in the thyroid gland of SD rats treated with LG for 28 days

Probe Name	Gene Symbol	Fold change
A_64_P069729	Hapl1	-5.0
A_44_P126938	Csap1	-3.6
A_64_P064873	RGD1563590	-3.4
A_64_P131224	LOC102556709	-2.8
A_64_P081972	Ppcdc	-2.7
A_64_P136716	Arid3c	-2.5
A_64_P011959	Slc2a2	-2.5
A_44_P313272	Slc6a13	-2.4
A_64_P156523	Olr551	-2.4
A_64_P391760	Hrh3	-2.2
A_64_P008166	Slc19a3	-2.0

Table 3-3. Downregulated genes in the pituitary gland of SD rats treated with LG for 28 days

Probe Name	Gene Symbol	Fold change
A_64_P072900	Astl	-3.9
A_64_P395073	Kcnj1	-3.9
A_43_P15837	Ntrk2	-3.1
A_64_P118447	Adgrl4	-3.0
A_64_P156523	Olr551	-2.8
A_44_P560485	RGD1560110	-2.7
A_64_P053751	LOC684208	-2.5
A_64_P131224	LOC102556709	-2.4
A_44_P461917	Cacna2d4	-2.4
A_64_P159019	Olr1413	-2.3
A_64_P209731	Tet3	-2.2
A_64_P095635	Niban3	-2.0

Table 3-4. Upregulated genes in the thyroid gland of SD rats treated with ODA for 28 days

Probe Name	Gene Symbol	Fold change
A_64_P071478	RGD1565660	13.3
A_64_P129891	pramef20l	4.8
A_64_P029268	LOC501901	4.1
A_64_P120679	Cck	4.1
A_44_P1032771	Fxyd4	4.0
A_64_P059710	LOC691921	3.0
A_44_P447373	Ass1	2.9
A_43_P17060	Them5	2.8
A_64_P163386	LOC691921	2.8
A_64_P101056	Padi2	2.7
A_44_P289637	Slc4a1	2.7
A_44_P142925	Tprg1	2.7
A_42_P534172	Cd52	2.7
A_44_P1034209	Lamb3	2.4
A_44_P252483	Ackr3	2.4
A_64_P010648	Ccl12	2.4
A_64_P045927	Ap3b2	2.4
A_43_P12437	Hhex	2.3
A_42_P529550	Gng8	2.3
A_64_P142625	Gprc5a	2.3
A_64_P149071	Glis1	2.2
A_44_P541461	Alas2	2.2
A_64_P048927	Hbe2	2.2
A_64_P156319	Hbb-bs	2.1
A_64_P024720	Ripply1	2.1
A_44_P306307	Hbb	2.1
A_44_P577899	Myt1	2.1
A_64_P068363	Dync1i1	2.1
A_64_P119588	Tmem163	2.0
A_64_P163822	Cks2	2.0
A_64_P034414	Tnf	2.0

Table 3-5. Top 100 downregulated genes in the thyroid gland of SD rats treated with ODA for 28 days

Probe Name	Gene Symbol	Fold change	Probe Name	Gene Symbol	Fold change
A_42_P614984	Ucp1	-13	A_64_P021601	Nkx6-1	-2.9
A_44_P1017367	Alb	-8.6	A_44_P690802	LOC498236	-2.9
A_44_P346408	Egfr	-4.4	A_44_P139291	Prodh1	-2.9
A_64_P039923	Pkd1l1	-4.2	A_64_P139549	Scara3	-2.9
A_64_P037313	Zscan4f	-4.1	A_44_P164138	Flacc1	-2.9
A_42_P464974	Ly6d	-4	A_44_P545935	Klb	-2.9
A_44_P517258	Pck1	-4	A_64_P119602	Xcr1	-2.9
A_44_P515417	Scgb3a2	-3.7	A_64_P055659	LOC500948	-2.9
A_64_P147929	RGD1560436	-3.6	A_64_P186630	Vom2r60	-2.9
A_64_P037150	Olr12	-3.5	A_44_P304432	Tcp10b	-2.9
A_44_P556556	Trhde	-3.5	A_64_P120827	Krt82	-2.9
A_44_P1030258	Cnr1	-3.5	A_64_P080484	Hmgb4	-2.8
A_64_P016978	Ccl11	-3.5	A_44_P284915	Ccn6	-2.8
A_64_P104895	Olr1128	-3.5	A_44_P185613	Pip5kl1	-2.8
A_44_P337064	Slc36a2	-3.5	A_64_P109297	Olr87	-2.8
A_44_P104776	Olr1743	-3.5	A_64_P025583	RGD1311343	-2.8
A_64_P095005	Mmd2	-3.4	A_44_P332545	Olr184	-2.8
A_64_P220198	LOC679045	-3.4	A_64_P118227	Hhat	-2.8
A_64_P120729	Olr499	-3.4	A_42_P749184	Penk	-2.7
A_64_P000452	Cyp2c7	-3.4	A_64_P011764	Plin1	-2.7
A_64_P080598	Cntnap5a	-3.3	A_44_P498981	T2	-2.7
A_64_P122497	Erc2	-3.3	A_64_P024585	RGD1559903	-2.7
A_64_P028849	LOC680190	-3.3	A_43_P13086	P2rx5	-2.7
A_44_P121063	Aqp7	-3.2	A_44_P365584	Il1rl1	-2.7
A_64_P147438	Slc35f4	-3.2	A_64_P111310	Olr1687	-2.7
A_64_P102196	Olr1219	-3.2	A_64_P055062	Mast3	-2.7
A_64_P051054	Prss33	-3.2	A_64_P026052	Olr229	-2.7
A_44_P698466	Lrrtm2	-3.2	A_64_P138874	RGD1559772	-2.7
A_64_P036285	Scgb1c1	-3.2	A_64_P050918	Gpa33	-2.6
A_64_P127858	Ntrk3	-3.2	A_44_P121875	RGD1304745	-2.6
A_64_P074029	Slc14a2	-3.2	A_44_P621475	Iqub	-2.6
A_44_P302043	Ccdc63	-3.2	A_44_P408395	Ugt2a1	-2.6
A_44_P557487	Cpb2	-3.1	A_64_P154548	Kcnd2	-2.6
A_64_P077950	Zg16b	-3.1	A_44_P971836	Nup62cl	-2.6
A_64_P078025	LOC360933	-3.1	A_44_P498905	Itga8	-2.6
A_44_P1071620	Mmp27	-3.1	A_64_P114420	Olr1137	-2.6
A_64_P113079	LOC690686	-3.1	A_44_P543439	Slc35d3	-2.6
A_64_P090971	Olr896	-3.1	A_64_P103414	Dkk2	-2.6
A_64_P162442	LOC100911984	-3.1	A_64_P064684	Spem2	-2.6
A_44_P349273	F13b	-3	A_64_P140025	Tyrp1	-2.6
A_44_P527117	Mcpt3	-3	A_64_P107509	Garem2	-2.6
A_64_P116981	Suv39h1l1	-3	A_64_P154469	Ccdc166	-2.6
A_64_P104319	Tas2r139	-3	A_64_P023068	Ccbe1	-2.5
A_44_P698124	MGC94891	-3	A_44_P899127	Depp1	-2.5
A_64_P082768	Olr1073	-3	A_64_P009142	Olr327	-2.5
A_64_P021085	LOC680227	-3	A_64_P132309	LOC685125	-2.5
A_43_P13131	Fgf19	-3	A_64_P080530	Nrxn3	-2.5
A_64_P013802	Dcp2	-3	A_44_P278794	Etv2	-2.5
A_64_P047137	Olr137	-3	A_64_P018236	Lyz1l	-2.5
A_64_P012009	Mov101l	-3	A_64_P014366	Sorbs2	-2.5

Table 3-6. Upregulated genes in the thyroid gland of SD rats treated with SMT for 28 days

Probe Name	Gene Symbol	Fold change
A_42_P540920	Arpp21	8.7
A_64_P120679	Cck	8.0
A_64_P071478	RGD1565660	6.6
A_44_P1032771	Fxyd4	5.2
A_64_P019200	Lbhd2	4.9
A_64_P101056	Padi2	4.2
A_44_P142925	Tprg1	4.1
A_64_P154122	Rpe65	4.0
A_44_P930152	Mpped1	3.3
A_44_P447373	Ass1	3.2
A_43_P12258	Hpse	3.1
A_64_P129891	pramef20l	3.1
A_64_P010648	Ccl12	3.1
A_64_P059710	LOC691921	2.9
A_64_P129945	Krt75	2.8
A_64_P163386	LOC691921	2.8
A_64_P068363	Dync1i1	2.8
A_44_P289637	Slc4a1	2.8
A_64_P149071	Glis1	2.8
A_44_P409965	Dnah14	2.6
A_64_P117658	Dync1i1	2.6
A_64_P034414	Tnf	2.6
A_64_P089400	Hpse	2.5
A_64_P029268	LOC501901	2.4
A_42_P738549	Napsa	2.4
A_64_P004539	Rnase12	2.2
A_64_P045927	Ap3b2	2.2
A_43_P16491	Col16a1	2.2
A_44_P545193	Hsd11b2	2.2
A_44_P175041	Nr1d1	2.1
A_43_P17060	Them5	2.1
A_64_P054676	Tmprss6	2.1
A_64_P005501	Evx1	2.0
A_64_P087380	Efna3	2.0
A_64_P065789	Mcub	2.0
A_42_P838822	Slc52a3	2.0
A_64_P083474	Ttc9	2.0

Table 3-7. Top 100 downregulated genes in the thyroid gland of SD rats treated with SMT for 28 days

Probe Name	Gene Symbol	Fold change	Probe Name	Gene Symbol	Fold change
A_42_P614984	Ucp1	-5.6	A_64_P072288	Lcn8	-2.9
A_64_P036285	Scgb1c1	-4.0	A_44_P392359	Myrip	-2.9
A_64_P045696	Spef2	-3.7	A_64_P220198	LOC679045	-2.9
A_44_P295376	LOC102548927	-3.7	A_64_P086781	Vom1r92	-2.9
A_44_P498981	T2	-3.7	A_64_P037150	Olr12	-2.9
A_64_P082062	Olr78	-3.6	A_64_P062665	Chst9	-2.9
A_44_P899127	Depp1	-3.6	A_64_P020203	Olr1629	-2.9
A_64_P138874	RGD1559772	-3.5	A_64_P044380	Olr1570	-2.9
A_64_P098636	Sptlc3	-3.5	A_64_P009937	Dbx1	-2.9
A_64_P071302	Olr468	-3.5	A_64_P078884	Olr271	-2.8
A_64_P055813	Olr562	-3.5	A_64_P127858	Ntrk3	-2.8
A_64_P055659	LOC500948	-3.5	A_64_P155059	Slc22a12	-2.8
A_44_P510738	Pigr	-3.5	A_64_P022461	Eomes	-2.8
A_44_P447344	Slc26a5	-3.4	A_64_P018361	RGD1559804	-2.8
A_44_P353446	Afm	-3.4	A_64_P104713	Xkr4	-2.8
A_44_P1030258	Cnr1	-3.4	A_64_P085971	Arntl2	-2.8
A_64_P032258	LOC102547811	-3.4	A_64_P056806	Olr367	-2.8
A_64_P007880	Frmf1	-3.4	A_42_P749184	Penk	-2.8
A_64_P137063	Kng1	-3.4	A_64_P132309	LOC685125	-2.8
A_64_P073829	Lcn3	-3.4	A_44_P918404	LOC682102	-2.8
A_44_P187120	Ear1	-3.3	A_43_P14764	Nrxn1	-2.8
A_64_P025729	Olr1545	-3.3	A_64_P137877	Olr581	-2.8
A_44_P304432	Tcp10b	-3.3	A_44_P346408	Egfr	-2.8
A_64_P073382	Cbx3	-3.3	A_44_P118695	LOC286960	-2.8
A_64_P141888	Noto	-3.2	A_64_P154650	Slc7a15	-2.8
A_64_P104895	Olr1128	-3.2	A_44_P519871	Srd5a1	-2.7
A_44_P698466	Lrrtm2	-3.2	A_64_P018236	Lyz11	-2.7
A_44_P363009	Scin	-3.2	A_64_P016423	Kb23	-2.7
A_64_P000930	Spta1	-3.2	A_44_P302043	Ccdc63	-2.7
A_44_P635089	Etv5	-3.2	A_44_P1071620	Mmp27	-2.7
A_64_P027814	Zfp488	-3.2	A_64_P025853	Hmgb4	-2.7
A_64_P027615	Olr255	-3.2	A_64_P108120	LOC688691	-2.7
A_44_P693350	Ccdc38	-3.1	A_64_P020358	Pla2g4e	-2.7
A_44_P423765	Olr610	-3.1	A_44_P168637	Ogfod1	-2.7
A_64_P086714	Zc3h12b	-3.1	A_64_P004929	LOC690348	-2.7
A_64_P108484	Dnajc27	-3.1	A_64_P032375	Ddx43	-2.7
A_44_P210668	Pdilt	-3.1	A_44_P563049	C8a	-2.7
A_43_P13131	Fgf19	-3.1	A_44_P1017367	Alb	-2.7
A_64_P026815	Defb49	-3.1	A_44_P116660	Clec4m	-2.7
A_64_P093912	Olr1326	-3.0	A_64_P090971	Olr896	-2.7
A_44_P609518	RGD1564053	-3.0	A_64_P021080	LOC108350921	-2.7
A_64_P092020	Ankrd36	-3.0	A_44_P116369	Smoc1	-2.6
A_64_P013666	Pde6a	-3.0	A_44_P515417	Scgb3a2	-2.6
A_64_P162010	H2ac21	-3.0	A_44_P157087	Lrrc74a	-2.6
A_64_P080821	Olr473	-3.0	A_64_P053666	Aox3	-2.6
A_44_P698124	MGC94891	-3.0	A_64_P036168	Olr1718	-2.6
A_64_P050918	Gpa33	-3.0	A_64_P000452	Cyp2c7	-2.6
A_64_P049921	Sned1	-2.9	A_64_P024585	RGD1559903	-2.6
A_44_P454331	Olr1086	-2.9	A_64_P115086	Capn12	-2.6
A_44_P775974	C2cd6	-2.9	A_64_P147929	RGD1560436	-2.6

Table 3-8. Top 100 upregulated genes in the thyroid gland of SD rats treated with TPN for 28 days

Probe Name	Gene Symbol	Fold change	Probe Name	Gene Symbol	Fold change
A_42_P540920	Arpp21	12.0	A_64_P100559	Asphd1	2.5
A_64_P027449	Mepe	6.1	A_44_P527809	Celf6	2.5
A_44_P572699	Rasgef1a	5.9	A_64_P152154	Aldh1b1	2.5
A_64_P010648	Ccl12	4.8	A_44_P339518	Scg3	2.5
A_64_P019200	Lbhd2	4.6	A_64_P156840	Slco4a1	2.5
A_44_P941612	Elavl4	4.0	A_43_P12658	Kcnh1	2.5
A_44_P577899	Myt1	3.9	A_64_P147878	Hs3st6	2.5
A_42_P614984	Ucp1	3.8	A_64_P087856	Slc7a14	2.5
A_64_P005586	Slc25a53	3.6	A_64_P080509	Fut1	2.5
A_44_P290656	Dnah3	3.5	A_43_P12258	Hpse	2.4
A_64_P011854	Elavl4	3.2	A_44_P121063	Aqp7	2.4
A_64_P027971	Dnase2b	3.1	A_64_P058430	Cnpy1	2.4
A_64_P010333	Edn2	3.1	A_64_P064606	Dll3	2.4
A_64_P138216	Gch1	3.0	A_64_P034654	Ndrgr4	2.4
A_64_P136805	Celf4	3.0	A_42_P637279	Foxa2	2.4
A_43_P22561	Sox6	3.0	A_64_P080429	Hoxb6	2.4
A_64_P079870	Vwa5b2	3.0	A_43_P22556	Cidea	2.4
A_44_P175041	Nr1d1	3.0	A_64_P080434	Hoxb7	2.4
A_64_P059710	LOC691921	3.0	A_64_P156333	Cidea	2.4
A_43_P12992	Kcnh2	2.9	A_44_P536825	Lhfp15	2.4
A_64_P046948	Rundc3a	2.9	A_64_P038873	A2m	2.3
A_42_P511187	Hgfac	2.9	A_42_P626447	Csdc2	2.3
A_44_P379347	Ppp1r17	2.9	A_43_P14867	Sult5a1	2.3
A_64_P134445	Timem179	2.8	A_64_P154919	Rundc3a	2.3
A_64_P038872	A2m	2.8	A_64_P129925	Serpini1	2.3
A_64_P163386	LOC691921	2.8	A_42_P787410	Cacna1b	2.3
A_44_P482629	Pcsk2	2.8	A_64_P077648	Hs3st6	2.3
A_64_P041219	Pcsk1	2.8	A_44_P555767	Unc79	2.3
A_64_P153045	Abcc8	2.8	A_64_P132852	Insc	2.3
A_64_P048043	Krt7	2.7	A_64_P153091	Sel1l3	2.3
A_44_P1029805	Krt7	2.7	A_64_P109202	Ctxn3	2.3
A_64_P081287	Klhd8a	2.6	A_42_P724510	Epdr1	2.3
A_64_P017505	Slc7a14	2.6	A_64_P150876	Cst6	2.3
A_44_P360501	Gabrb1	2.6	A_44_P489608	Gfra4	2.3
A_64_P031581	Sgsm1	2.6	A_64_P150662	Corin	2.3
A_64_P109018	Hs3st3a1	2.6	A_64_P004307	Pipox	2.2
A_64_P070208	Gdap111	2.6	A_44_P768777	Klf14	2.2
A_64_P157044	Cbx2	2.6	A_64_P121926	Sun5	2.2
A_44_P242958	Ttpa	2.6	A_64_P111020	Mslnl	2.2
A_64_P092342	Camk2b	2.6	A_44_P214288	Cabp7	2.2
A_44_P691593	Celf3	2.6	A_64_P006285	Lhx1	2.2
A_42_P630269	Rbm38	2.6	A_44_P192083	Ffar4	2.2
A_44_P129412	Dcx	2.6	A_64_P066631	Smarcc1	2.2
A_44_P421375	Ina	2.5	A_44_P761505	Syt4	2.2
A_64_P101185	Slc45a1	2.5	A_64_P032683	Mest	2.1
A_64_P034414	Tnf	2.5	A_64_P038877	LOC297568	2.1
A_44_P601699	LOC102555659	2.5	A_64_P093737	Tubg2	2.1
A_64_P160484	Trem3	2.5	A_64_P147149	Tubg2	2.1
A_42_P593020	Rln1	2.5	A_64_P041507	Slamf8	2.1
A_64_P014096	Htr3a	2.5	A_64_P249785	Sez6	2.1

Table 3-9. Top 100 downregulated genes in the thyroid gland of SD rats treated with TPN for 28 days

Probe Name	Gene Symbol	Fold change	Probe Name	Gene Symbol	Fold change
A_64_P028642	Olr1165	-8.2	A_64_P107534	Prame	-4.9
A_64_P108029	RGD1559970	-8.2	A_64_P027940	Olr1196	-4.9
A_64_P092299	Olr1666	-7.7	A_44_P187120	Ear1	-4.9
A_44_P307064	Rhox13	-6.8	A_64_P048466	Pramel6	-4.9
A_64_P044380	Olr1570	-6.8	A_64_P072288	Lcn8	-4.9
A_64_P078884	Olr271	-6.7	A_64_P006207	Oxgr1	-4.9
A_64_P010683	Olr363	-6.7	A_44_P107220	Olr395	-4.8
A_44_P444247	Tmf1	-6.4	A_44_P928825	Msr1	-4.8
A_64_P070636	LOC689730	-6.4	A_44_P498905	Itga8	-4.8
A_64_P144253	Shank2	-6.3	A_64_P089316	Syt15	-4.8
A_64_P080821	Olr473	-6.3	A_44_P215808	Fer116	-4.8
A_64_P141888	Noto	-6.2	A_44_P729113	Igbp1b	-4.8
A_64_P078025	LOC360933	-6.1	A_44_P392359	Myrip	-4.8
A_64_P131611	Depdc5	-6.1	A_64_P028046	Olr1625	-4.7
A_64_P047137	Olr137	-6.1	A_44_P552670	LOC499715	-4.7
A_44_P121347	Serpina6	-6.1	A_44_P529994	Stox1	-4.7
A_64_P165376	Nrcam	-6.1	A_64_P131395	Defb33	-4.7
A_64_P108474	Olr1055	-5.9	A_64_P153566	Padi6	-4.7
A_64_P119602	Xcr1	-5.9	A_64_P037150	Olr12	-4.7
A_64_P001294	Ssx1	-5.8	A_64_P117149	LOC100912405	-4.7
A_64_P003639	Olr67	-5.8	A_64_P057412	Samt3	-4.7
A_64_P082768	Olr1073	-5.8	A_64_P165031	Olr1445	-4.6
A_64_P033011	LOC102546495	-5.7	A_64_P086365	Nxf3	-4.6
A_64_P011479	Spint5p	-5.7	A_64_P088655	Olr878	-4.6
A_64_P020591	Piezo2	-5.7	A_64_P025729	Olr1545	-4.6
A_64_P082062	Olr78	-5.6	A_64_P008371	Olr811	-4.6
A_64_P130937	Insyn2b	-5.6	A_64_P037313	Zscan4f	-4.6
A_64_P094352	Vom1r96	-5.5	A_44_P349273	F13b	-4.6
A_44_P271569	Olr1376	-5.5	A_64_P034814	P22k15	-4.6
A_64_P156403	LOC100364769	-5.5	A_64_P074126	Efcc1	-4.6
A_64_P123944	Olr324	-5.4	A_64_P016941	Olr477	-4.6
A_64_P095231	LOC503116	-5.4	A_64_P085966	Olr74	-4.6
A_44_P250144	Olr1686	-5.3	A_64_P055813	Olr562	-4.5
A_44_P227132	RGD1564324	-5.3	A_44_P408395	Ugt2a1	-4.5
A_64_P009937	Dbx1	-5.3	A_64_P148971	Mageb3	-4.5
A_64_P066231	Olr778	-5.2	A_64_P145163	LOC685303	-4.5
A_44_P339490	Ica11	-5.2	A_44_P501536	Armc4	-4.5
A_64_P136056	Olr883	-5.2	A_64_P006511	Akp3	-4.5
A_64_P068463	Olr848	-5.2	A_64_P114455	Olr1737	-4.5
A_44_P353446	Afin	-5.2	A_64_P110679	Olr1235	-4.5
A_64_P019460	Olr614	-5.2	A_44_P510442	Trim50	-4.5
A_64_P104895	Olr1128	-5.2	A_44_P422356	Trim80	-4.4
A_64_P041737	Olr852	-5.1	A_64_P154054	Olr439	-4.4
A_64_P022220	LOC103690896	-5.1	A_64_P153402	Olr475	-4.4
A_44_P516160	Abca12	-5.0	A_64_P098523	LOC102549174	-4.4
A_64_P065071	Lpal2	-5.0	A_64_P120827	Krt82	-4.4
A_44_P419079	Olr465	-5.0	A_64_P161640	Sorcs3	-4.4
A_44_P470808	Nab1	-4.9	A_64_P036158	Olr1218	-4.4
A_64_P016525	Ffar3	-4.9	A_64_P055062	Mast3	-4.4
A_44_P304432	Tcp10b	-4.9	A_64_P150794	LOC102550256	-4.3

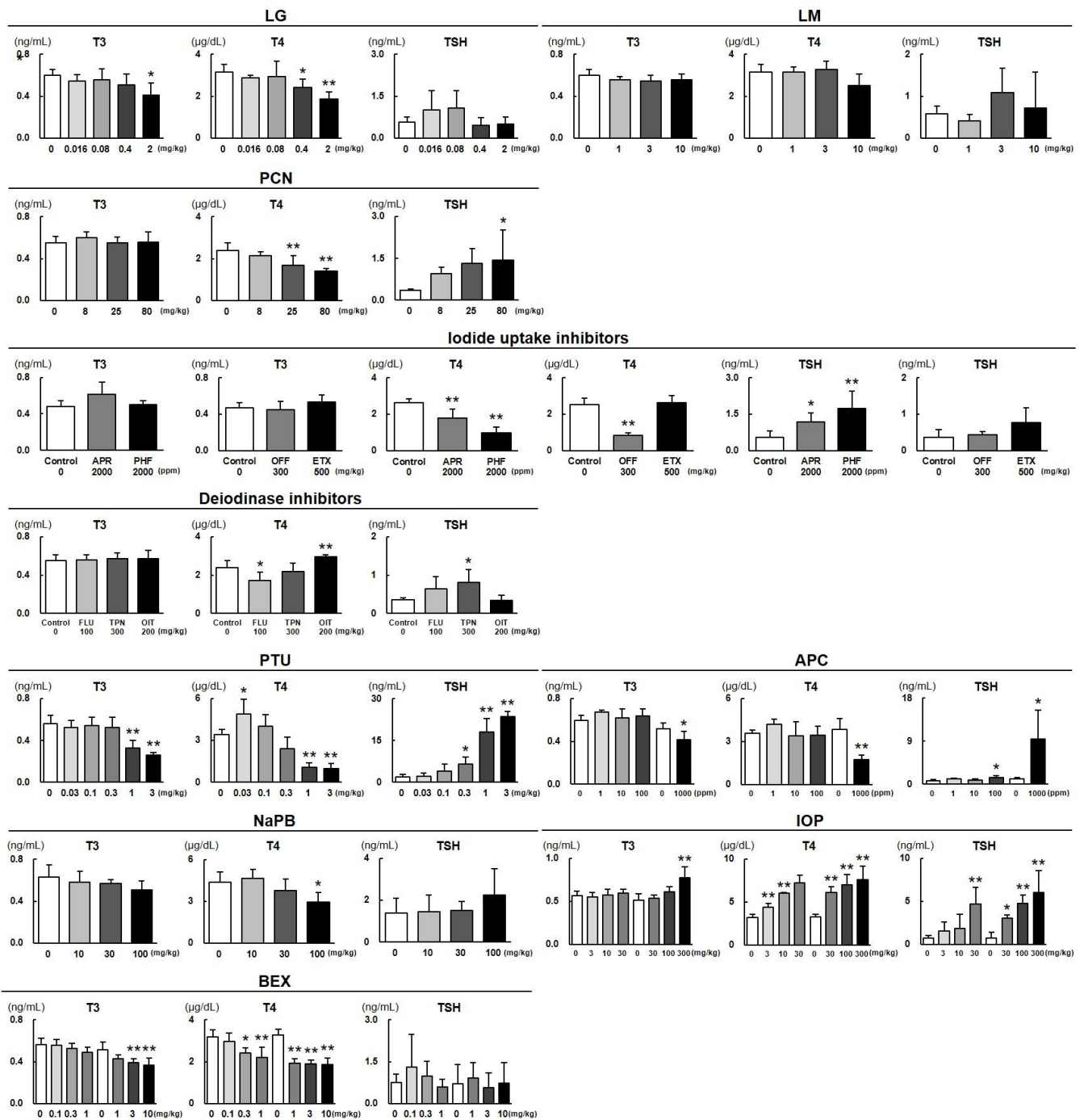


Figure 1. Serum hormone levels in male SD rats. \* and \*\*: significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $0.01$ , respectively.

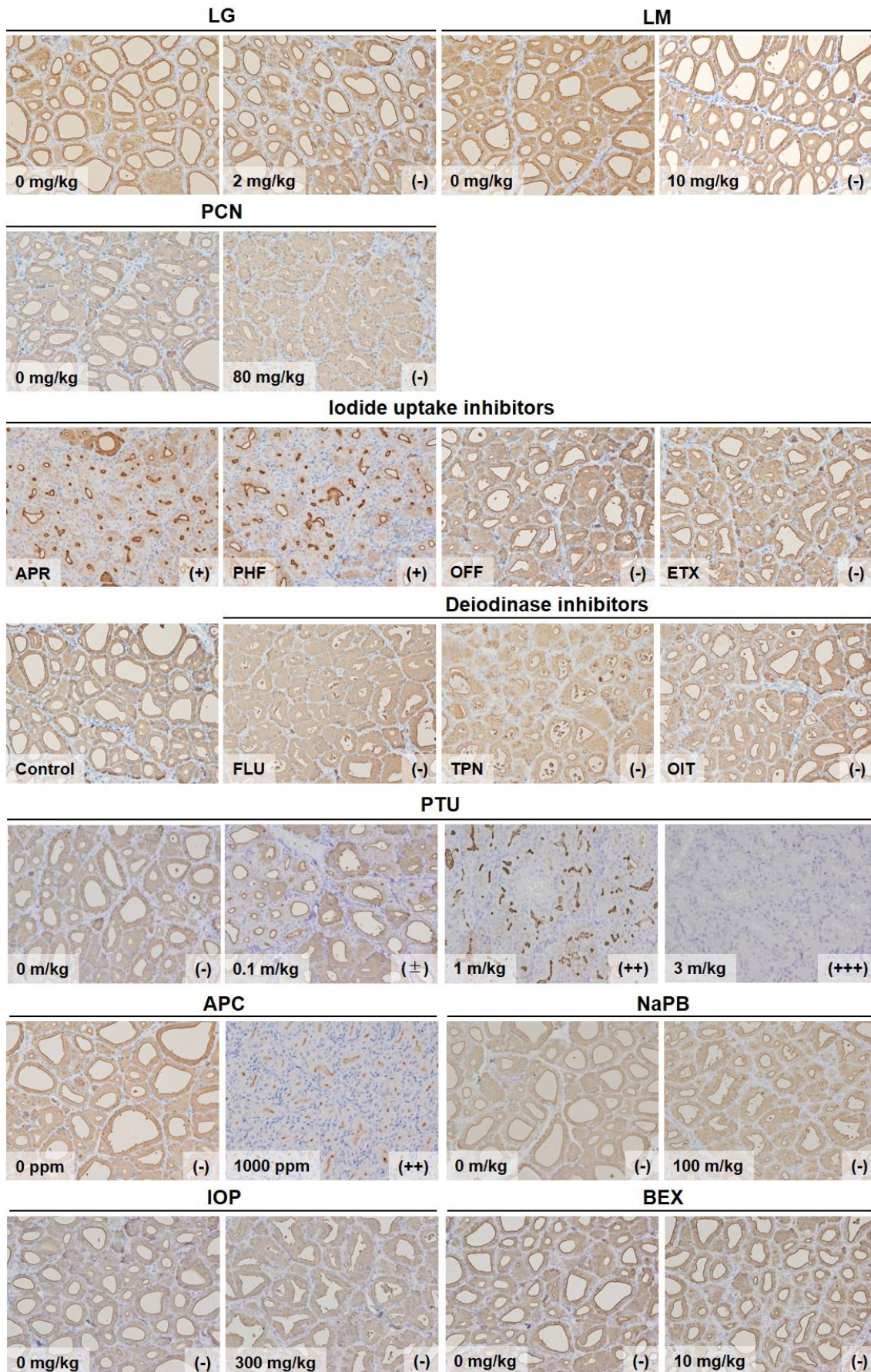


Figure 2. Immunohistochemistry for T4 in the thyroid gland of male SD rats.

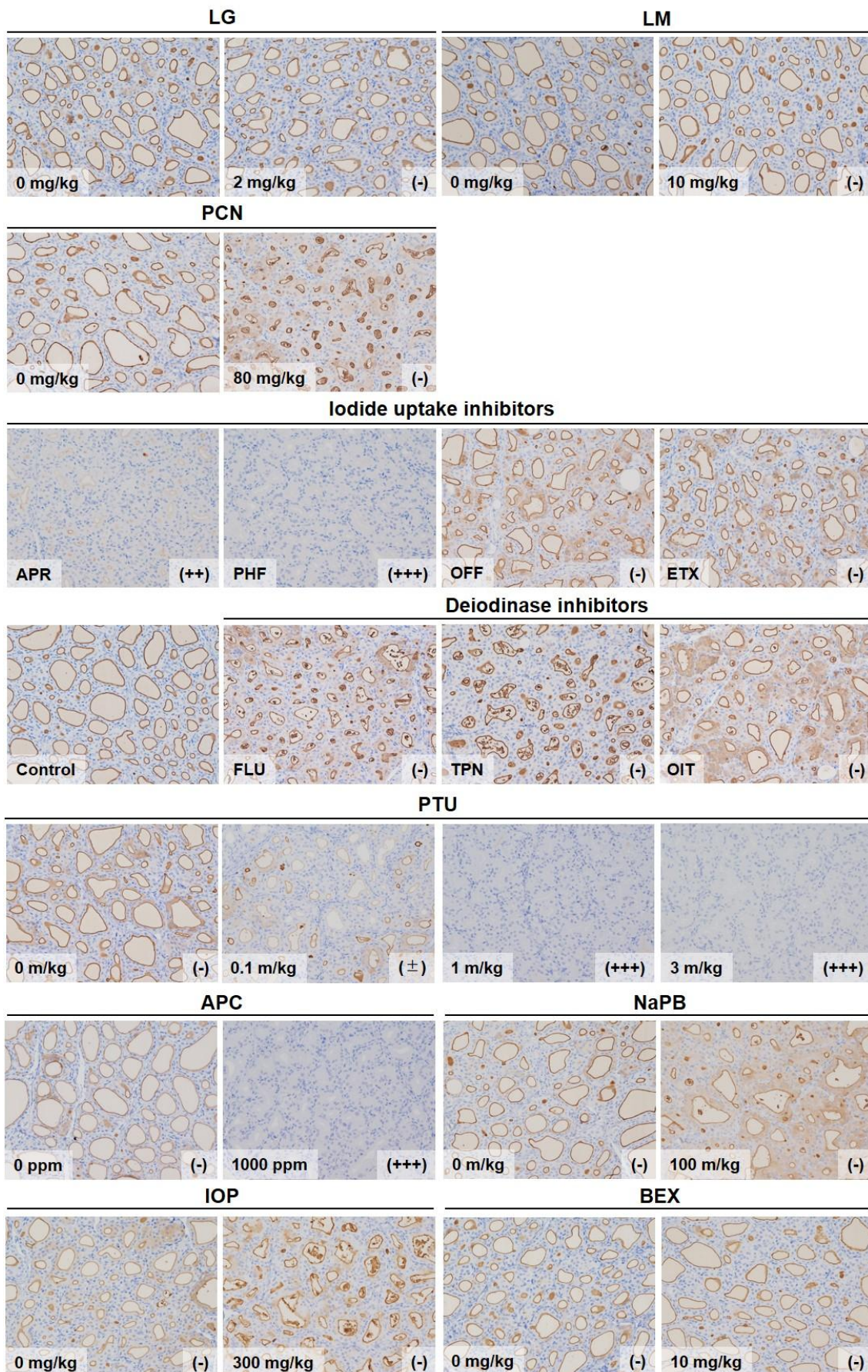


Figure 3. Immunohistochemistry for T3 in the thyroid gland of male SD rats.

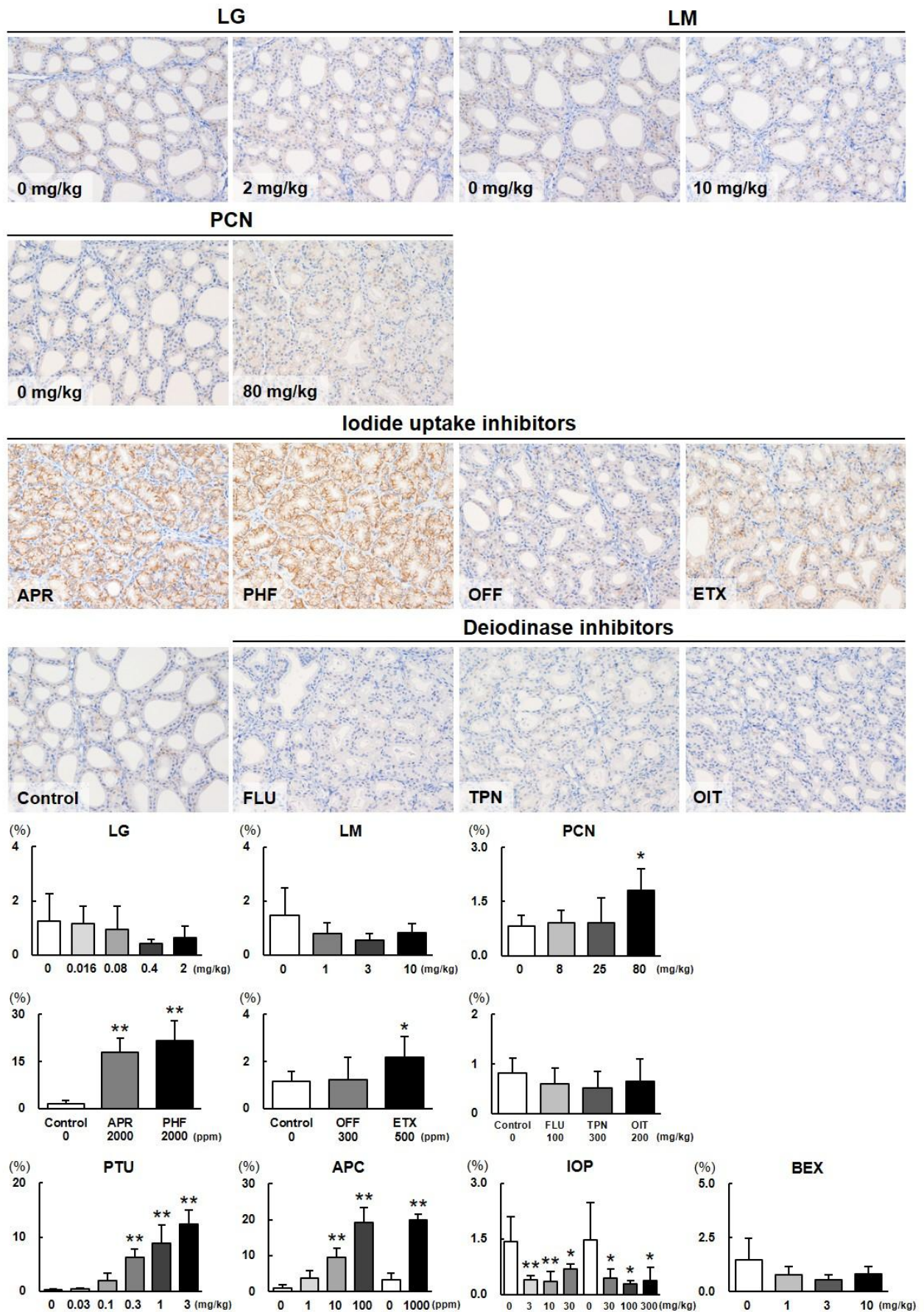


Figure 4. Immunohistochemistry for NIS in the thyroid gland of male SD rats. \* and \*\*: significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $0.01$ , respectively.

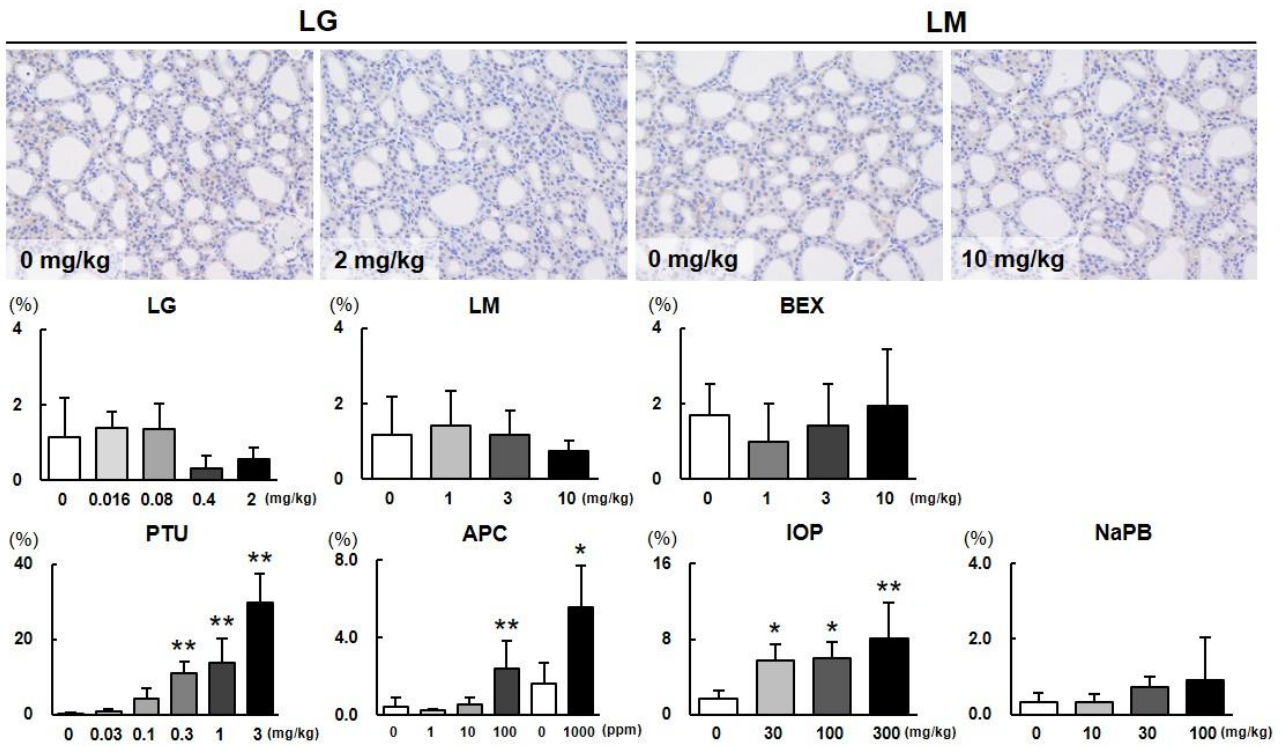


Figure 5. Immunohistochemistry for NQO1 in the thyroid gland of male SD rats. \* and \*\*: significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $0.01$ , respectively.

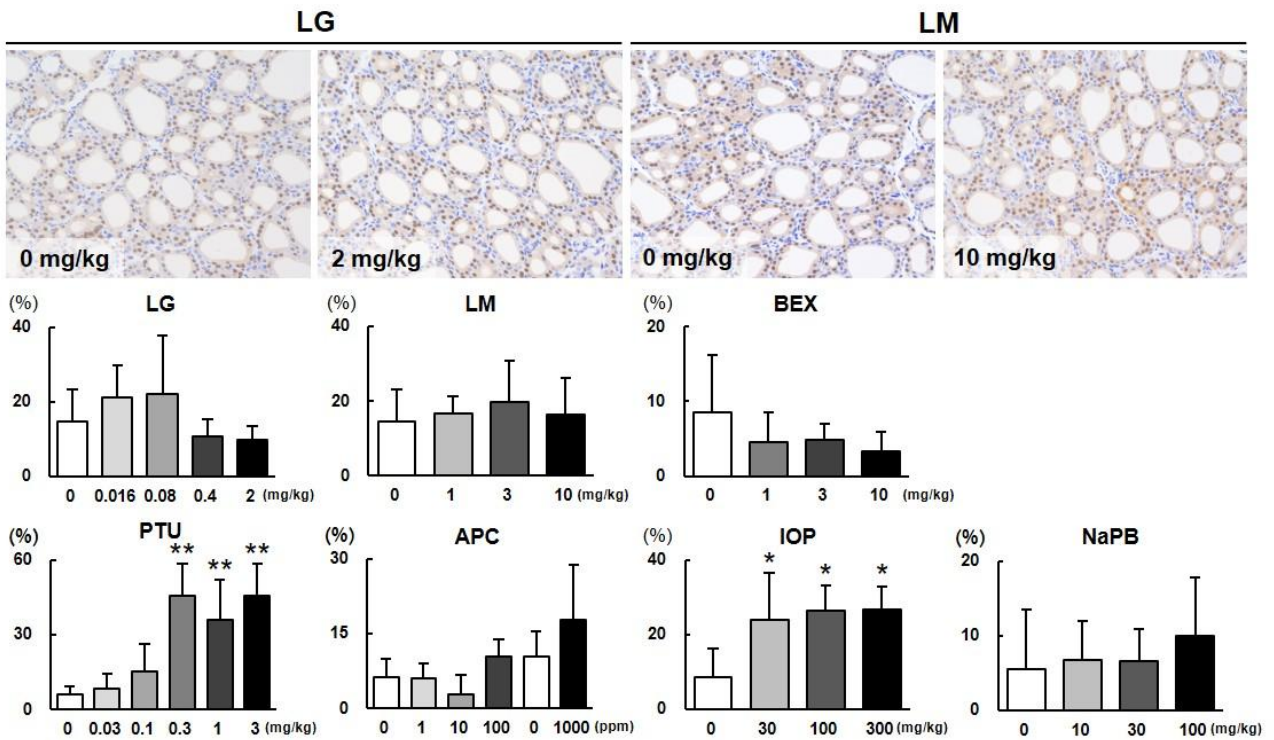


Figure 6. Immunohistochemistry for GPX2 in the thyroid gland of male SD rats. \* and \*\*: significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $0.01$ , respectively.

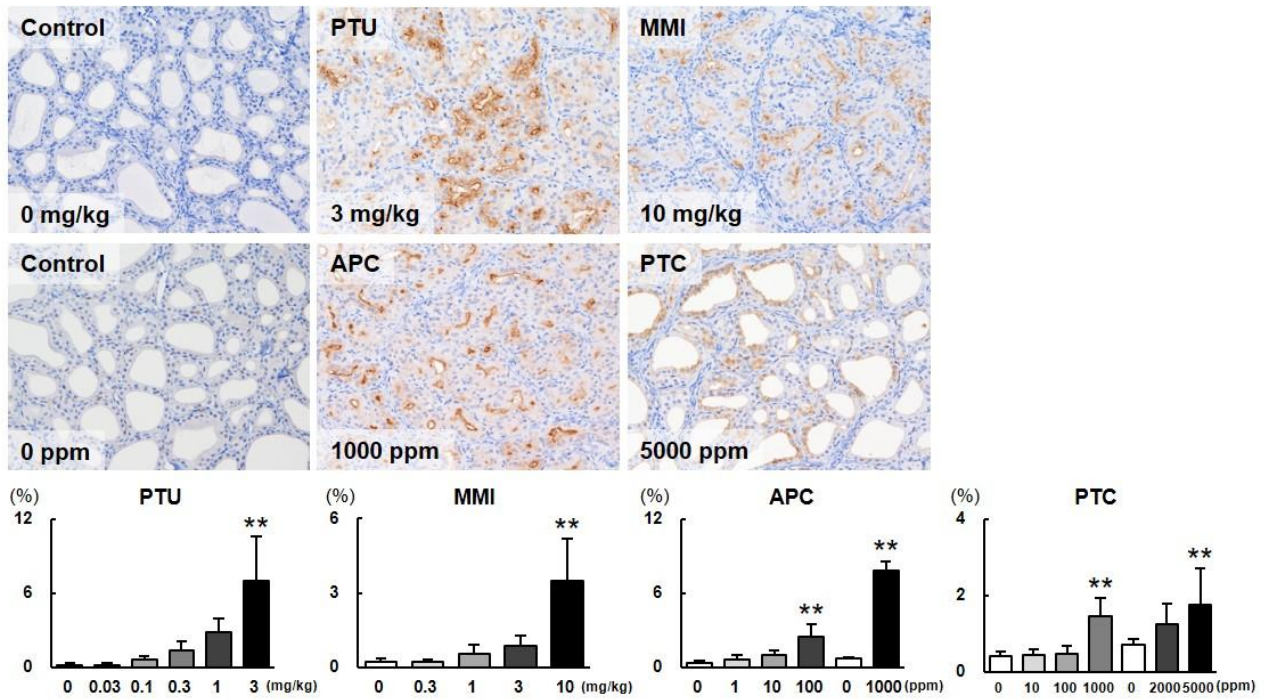


Figure 7. Immunohistochemistry for DPP4 in the thyroid gland of male SD rats. \*\*: significantly different from the controls at  $P < 0.01$ .

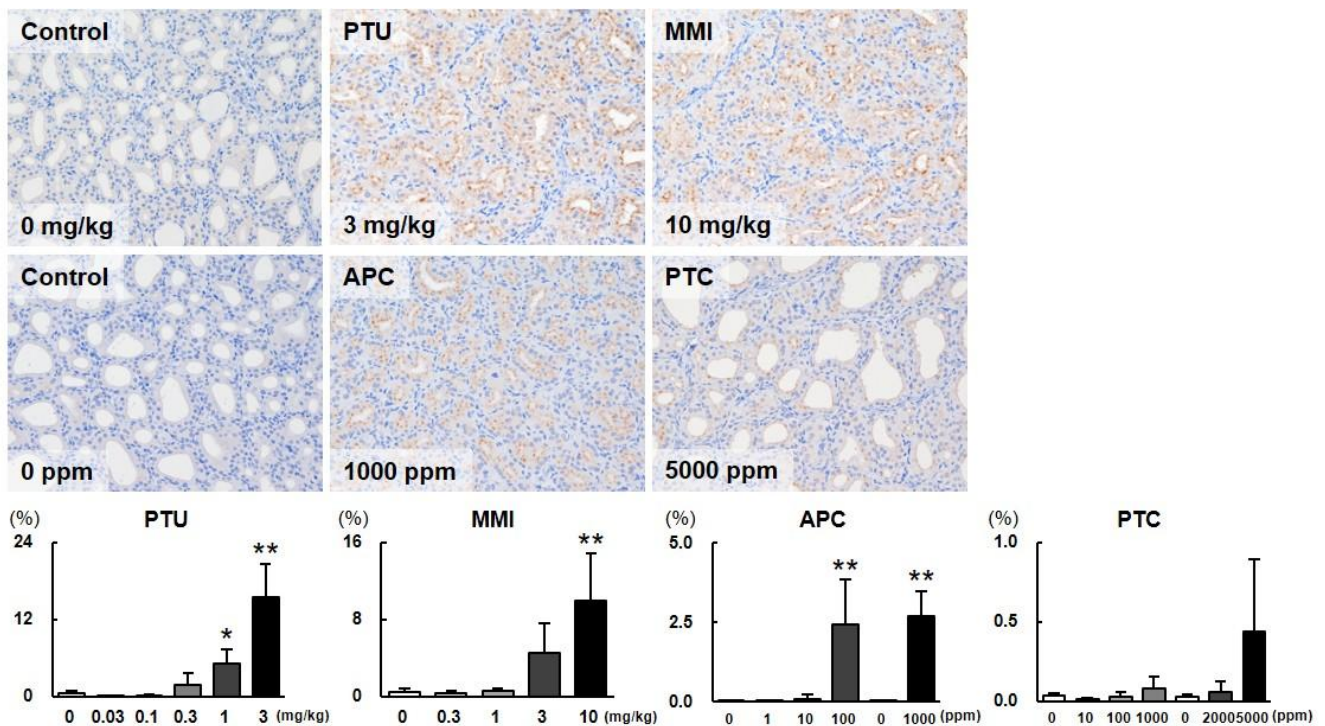


Figure 8. Immunohistochemistry for SNPH in the thyroid gland of male SD rats. \* and \*\*: significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $0.01$ , respectively.

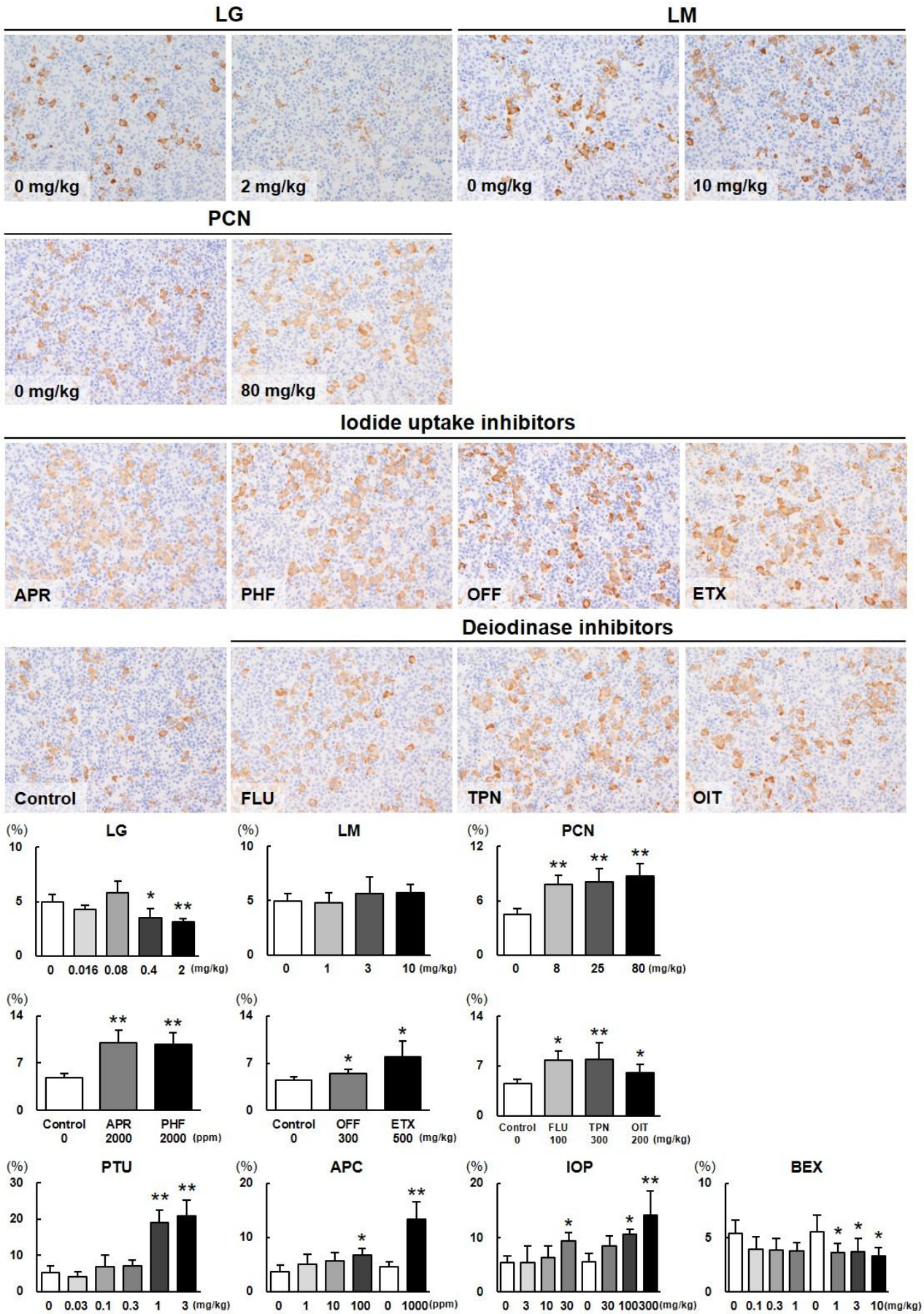


Figure 9. Immunohistochemistry for TSH in the pituitary gland of male SD rats. \* and \*\*: significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $0.01$ , respectively.

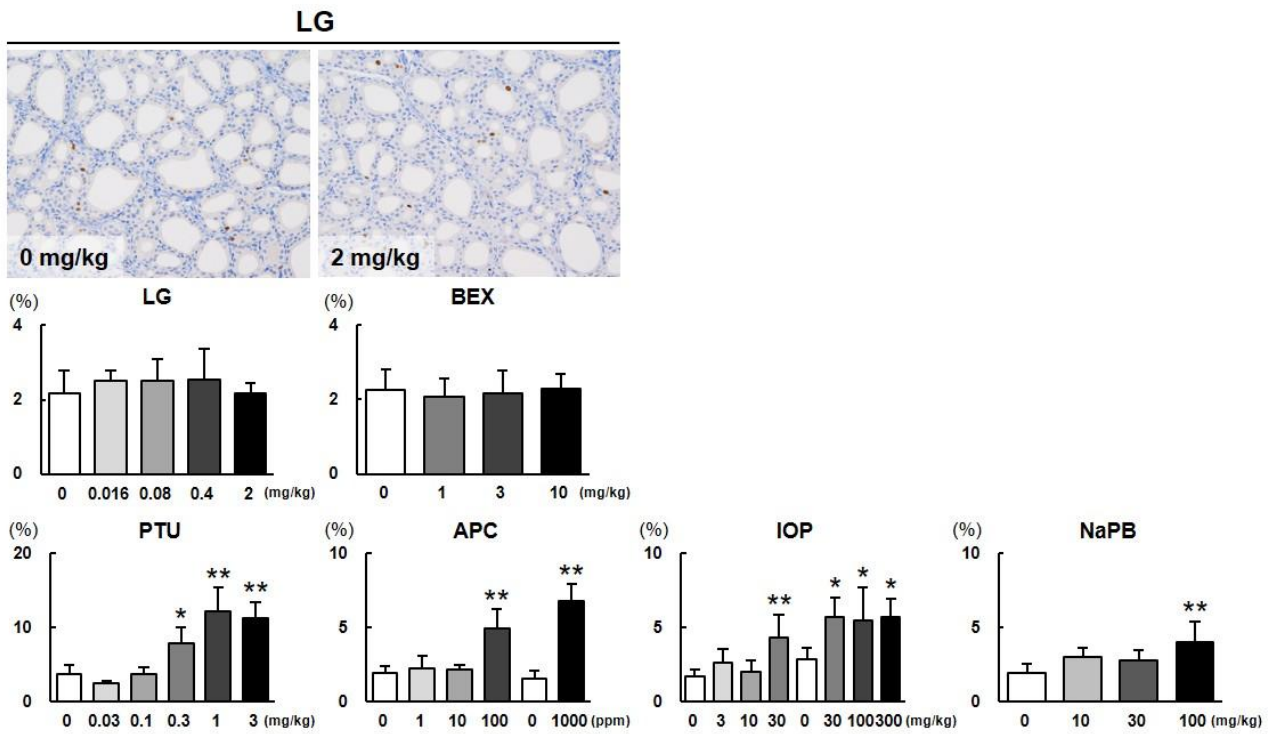


Figure 10. Immunohistochemistry for Ki67 in the thyroid gland of male SD rats. \* and \*\*: significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $0.01$ , respectively.

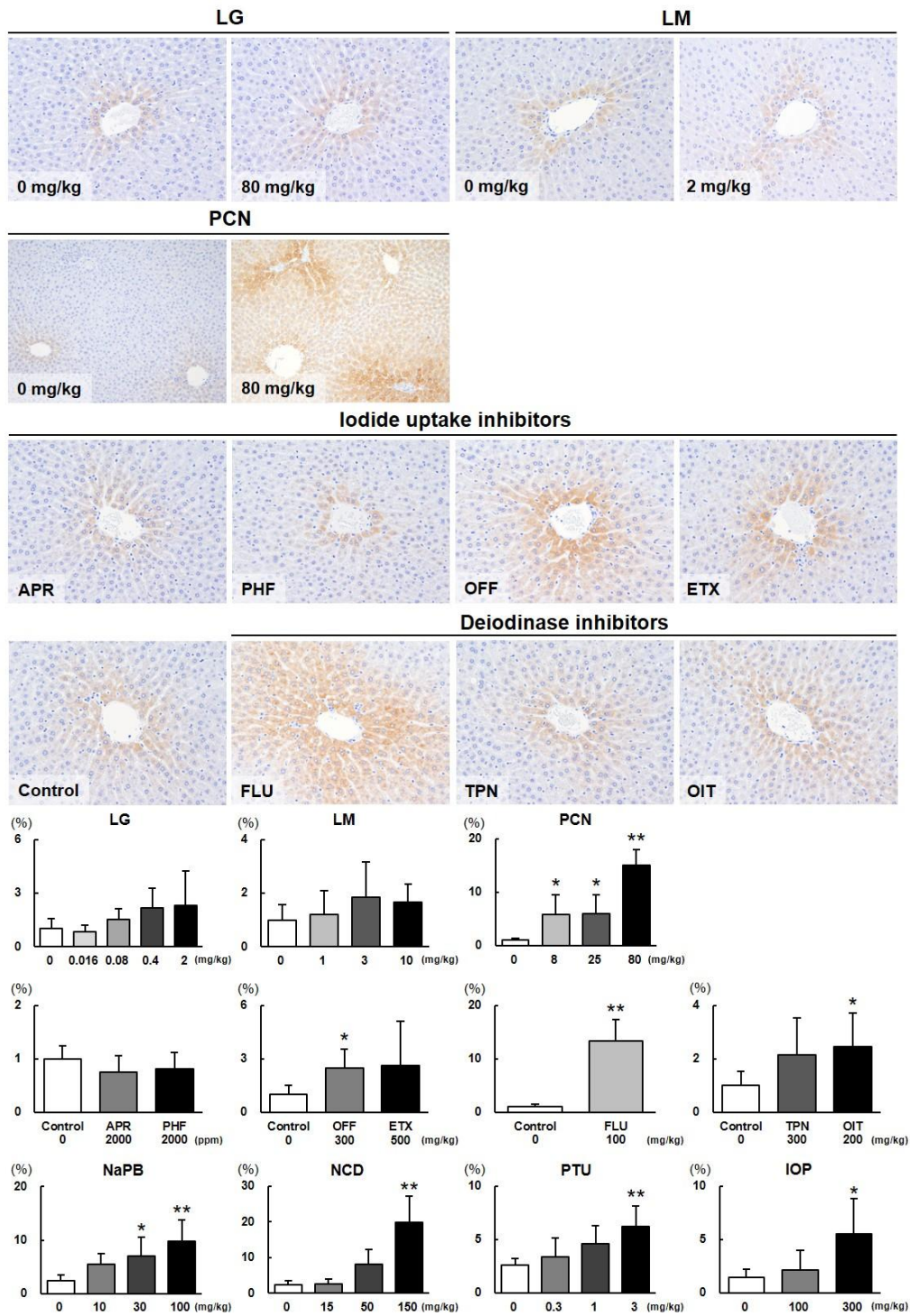


Figure 11. Immunohistochemistry for UGT1A6 in the liver of male SD rats. \* and \*\*: significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $0.01$ , respectively.

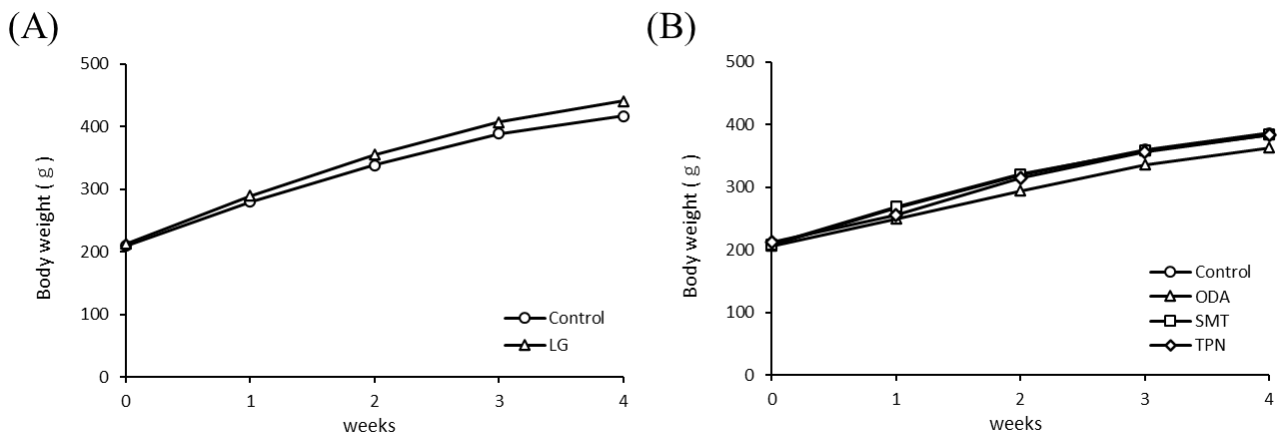


Figure 12. Mean body weight for SD rats treated with LG (A), ODA, SMT, and TPN (B) for 28 days.

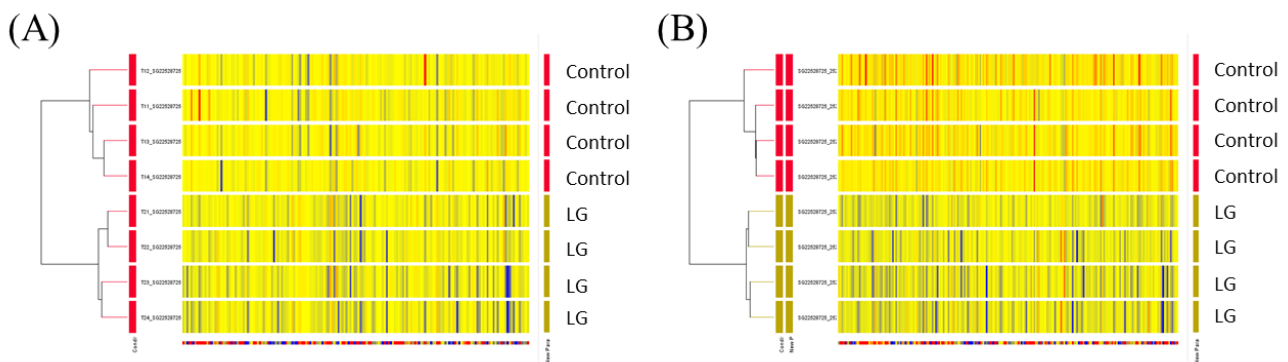


Figure 13. Cluster analysis of microarray data obtained from thyroid gland (A) and pituitary gland (B) of SD rats treated with LG for 28 days.

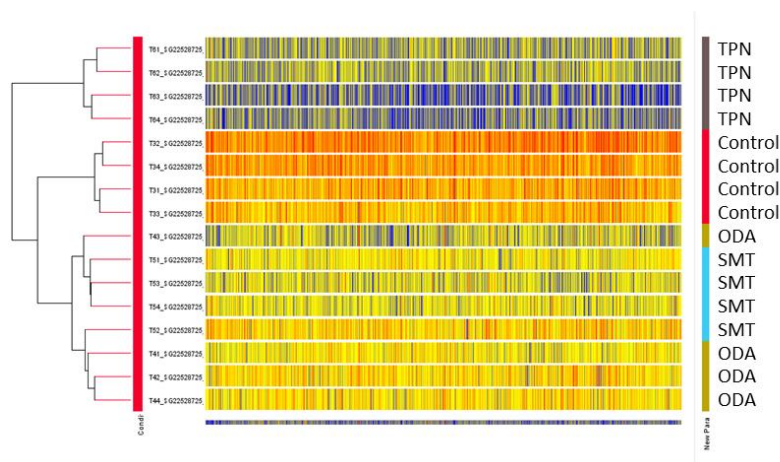


Figure 14. Cluster analysis of microarray data obtained from thyroid gland of SD rats treated with ODA, SMT, and TPN for 28 days.

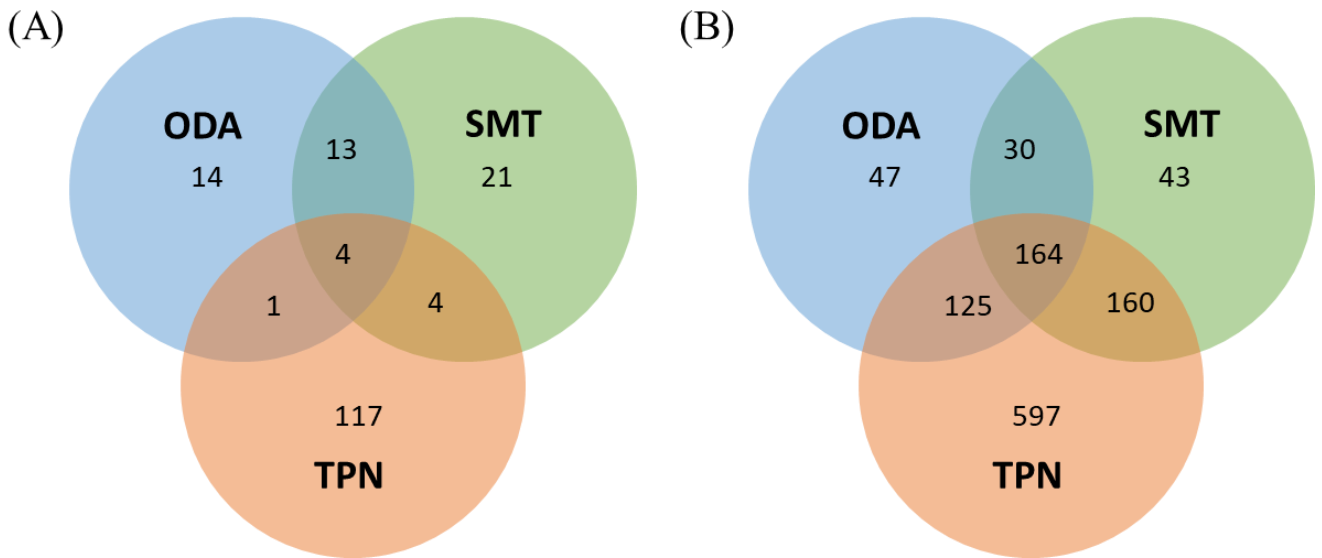


Figure 15. Ven diagrams of upregulated genes (A) and downregulated genes (B) in the thyroid gland of SD rats treated with ODA, SMT, and TPN for 28 days.

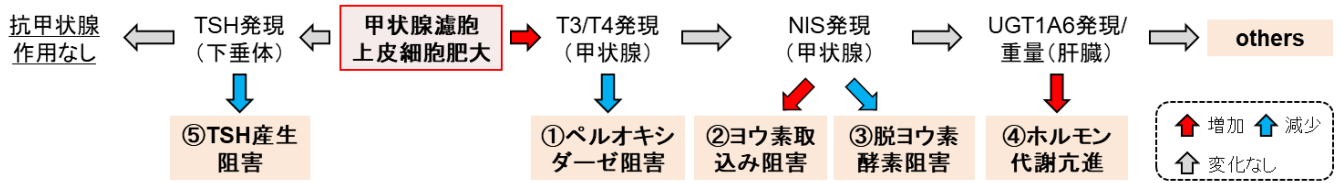


Figure 16. Flowchart for detection and mechanism estimation of antithyroid chemicals in 28-day repeated-dose oral toxicity studies in rats.