

甲状腺に対する化学物質の影響を評価する手法の研究

研究代表者 豊田武士 国立医薬品食品衛生研究所病理部 室長

研究要旨

内分泌攪乱物質のヒト健康への影響は広く検討されているが、化学物質による抗甲状腺作用の評価方法については、いまだコンセンサスが得られていない。本研究では、ラット組織を用いた病理組織学的・免疫組織化学的検索による、化学物質の甲状腺影響の *in vivo* 評価法確立を目指す。令和 3 年度は、計 4 種の抗甲状腺物質をラットに 28 日間反復経口投与し、血清ホルモン値と各種検索項目との比較を行った。甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤（PTU・MMI）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。一方、病理組織学的検査での甲状腺濾胞上皮肥大および免疫組織化学的検索での甲状腺の T4 発現低下は、血清 T3・T4・TSH 値の有意な変動を伴わない、より低い用量から認められた。また、甲状腺重量および下垂体前葉における TSH 陽性面積率の増加が、血清 T4 値の減少と同用量で認められ、これらの指標も抗甲状腺作用の評価に有用と考えられた。さらに、甲状腺・下垂体における網羅的遺伝子発現解析により、新規マーカー候補が多数見出された。以上の結果は、甲状腺の病理組織学的検索および T4 免疫染色が、化学物質の抗甲状腺作用の早期検出において鋭敏な指標となり得ることを示唆する。今後、他の機序による甲状腺機能阻害剤について検討を継続する予定である。

研究分担者

小川久美子 国立医薬品食品衛生研究所病理部 部長
石井雄二 国立医薬品食品衛生研究所病理部 室長
赤根弘敏 国立医薬品食品衛生研究所病理部 主任研究官

A. 研究目的

内分泌攪乱物質のヒト健康への影響は以前より広く検討されてきた。甲状腺機能低下を引き起こす化学物質についても、次世代影響を含め、人体に影響を及ぼすことは広く知られている。OECD は、2014 年に甲状腺ホルモンの伝達経路に影響を与える化学物質の検出法に関する Scoping Document を発出し、機序に基づく検索手法案を取りまとめた。また、2018 年の試験法ガイドライン改定では、90 日間反復経口投与毒性試験（TG 408）に内分泌攪乱関連指標の検索が追加され、甲状腺関連ホルモン（トリヨードサイロニン；T3、サイロキシン；T4、甲状腺刺激ホルモン；TSH）および甲状腺重量の測定、ならびに血中総コレステロール・LDL・HDL 値の測定が求められることとなった。2019 年には欧州食品安全機関（EFSA）から甲状腺に影響を及ぼす農薬に関する検討が必要とする報告、2020 年には EU から甲状腺ホルモン攪乱化学物質検索法の必要性に関する論文、米国環境保護庁（EPA）からも残留性有機汚染物質（POPs）としても知られる perfluorohexane sulfonate（PFHxS）の長期曝露影響に関連して甲状腺ホルモン攪乱作用の高感度な検索法が必要であるとする報告がなされている。しかしながら、血清ホルモン値は採取時の条件による変動が大きく、化学物質曝露による甲状腺機能調節の評価方法については、いまだコンセンサスが得られていない。

我々は、厚生労働行政推進調査事業費・化学物質リスク研究事業（H30-化学-指定-003）（平成 30 年～令和 2 年度）において、甲状腺に毒性を示す種々の化学物質を単一用量でラットに 28 日間経口投与し、血清 T3・T4・TSH 濃度および甲状腺 T4・下垂体 TSH 発現を免疫組織化学的に検索した。その結果、血清 T4 値低下および TSH 増加を、組織を用いた免疫組織化学染色によって簡便かつ鋭敏に検出可能であることが明らかになった。内分泌攪乱は、甲状腺ホルモンの異常のみならず、発がん性、発達神経毒性、生殖発生毒性にも関わることから、より詳細な検討が必要と考えられる。

本研究では、国際機関および諸外国等における、甲状腺ホルモン攪乱化学物質の判定に利用可能な評価手法ならびに評価実績の情報収集を実施するとともに、ラット組織を用いた病理組織学的・免疫組織化学的検索による、化学物質の甲状腺影響の *in vivo* 評価法確立を目指す。

B. 研究方法

甲状腺機能に影響を及ぼす種々の化学物質をラットに 28 日間、複数用量で経口投与し、各種内分泌器官の臓器重量および血清ホルモン値を測定する。また、甲状腺・下垂体等について、病理組織学的・免疫組織化学的・分子生物学的検索を実施する。これらの中から、最も鋭敏あるいは毒性学的意義（機序の特定に有用等）を有するパラメータの組み合わせを検索し、化学物質の甲状腺影響の *in vivo* 評価法確立を目指す。また、研究期間を通じて、諸外国・国際機関における甲状腺機能評価に関する情報を収集する。

1. ラットを用いた 28 日間反復経口投与試験（豊田・

赤根)

6週齢のSDラット(各群雌雄5匹;日本チャールス・リバー)に対し、甲状腺ホルモン動態への影響が想定される計4物質を28日間反復経口投与した。

Propylthiouracil (PTU)/Methimazole (MMI)

甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤であるPTUおよびMMIを、それぞれ0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 mg/kgおよび0.3, 1, 3, 10 mg/kgの用量で28日間強制経口投与した。最終投与翌日に採血および解剖し、甲状腺・下垂体・副腎等の重量測定ならびに病理組織学的検索を実施した。また、採取した血清を用いて、T3・T4・TSH・副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)・プロラクチン(PRL)・卵巣刺激ホルモン・黄体ホルモン・エストラジオール・プロゲステロン・テストステロンの測定を実施した。さらに、甲状腺におけるT4、下垂体におけるTSH・ACTH・PRLの免疫組織化学的検索を実施した。TSHについては、下垂体前葉における陽性細胞の面積率を測定した。

Phenobarbital sodium salt (NaPB)/Nicardipine hydrochloride (NCD)

甲状腺ホルモンの代謝促進により抗甲状腺機能を示す物質として、NaPBおよびNCDをそれぞれ10, 30, 100 mg/kgおよび15, 50, 150 mg/kgの用量で、PTU・MMIと同様の方法・検索項目による28日間反復投与試験を実施した。

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討するため、抗甲状腺物質2種(PTU・MMI)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;日本チャールス・リバー)に、溶媒(精製水)、1 mg/kg PTU、10 mg/kg MMIを28日間強制経口投与した。投与用量は前述の豊田・赤根らの研究で、抗甲状腺作用の明らかな影響が認められた用量として設定した。各群7例のうち3例は病理組織学的検索用とし、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・下垂体は直ちに1 mLのIsogen(ニッポン・ジーン社)でホモジナイズし、-80°Cで凍結保存後、total RNAを抽出した。

RNA濃度はNanoDrop ND-1000(Thermo Fisher Scientific社)で測定し、RINの評価はRNA6000 Nano kitおよびAgilent 2100 バイオアナライザ(Agilent社)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社)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)

国際学会への直接参加が困難な状況であるため、インターネットを介して欧州毒性学会、米国毒性学会における甲状腺ホルモン関連毒性についてのトピックスを検索した。さらに、JECFA, EFSA, WHO, FDA等からの情報発信およびPubMedをはじめとする検索エンジンを用いて甲状腺ホルモン変動に関する論文等の情報収集を行った。

(倫理面への配慮)

動物の数は最小限にとどめ、実験は国立医薬品食品衛生研究所の実験動物取扱規定に基づき、動物の苦痛を最小限とするよう配慮して行った。

C. 研究結果

1. ラットを用いた28日間反復経口投与試験

1-1. 血清ホルモン値(Table 1)

PTU投与群では、雄1 mg/kg以上および雌3 mg/kgでT3の低下、雌雄の1 mg/kg以上でT4の低下、雄0.3 mg/kg以上および雌1 mg/kg以上でTSHの増加が、統計学的有意差をもって認められた(Table 1-1)。雄0.03 mg/kg投与群でみられたT4増加は、用量依存性を欠くことから偶発的な変化と考えられた。

MMI投与群では、雄3 mg/kg以上でT3・T4低下およびTSH増加が、雌10 mg/kgでT4低下およびTSH増加が認められた(Table 1-2)。

NaPB投与群では、雄100 mg/kgでT4の低下が認められた(Table 1-3)。

NCD投与群では、雄150 mg/kgでT4の低下、雌雄150 mg/kgでTSH増加が認められた(Table 1-4)。

PRLおよび測定した他の血清ホルモン値については、いずれも投与に関連する変化は認められなかった。

1-2. 臓器重量(Table 2)

PTU投与群では、雌雄1 mg/kg以上で甲状腺絶対/相対重量の増加、雄1 mg/kg以上で下垂体相対重量の増加、雄1 mg/kg以上および雌3 mg/kgで副腎絶対/相対重量の低下がみられた(Table 2-1)。

MMI投与群では、雄3 mg/kg以上および雌10 mg/kgで甲状腺絶対/相対重量の増加、雄10 mg/kgで下垂体相対重量の増加、雄10 mg/kgで副腎絶対重量の低下、雌10 mg/kgで副腎絶対/相対重量低下が認められた(Table 2-2)。

NaPB投与群では、雌雄100 mg/kgで肝絶対重量の増加、雄30 mg/kg以上および雌100 mg/kgで肝相対重量の増加、雌雄100 mg/kgで甲状腺絶対/相対重量の増加、雌100 mg/kgで副腎絶対/相対重量の増加がみられた(Table 2-3)。

NCD投与群では、雌雄50 mg/kg以上で肝絶対/相対重量の増加、雌150 mg/kgで甲状腺絶対/相対重量の増加が認められた(Table 2-4)。

1-3. 病理組織学的検索(Table 3)

PTU投与群の甲状腺では、甲状腺濾胞上皮細胞の肥大/過形成およびコロイド退縮の発生頻度増加が雌雄0.1

mg/kg 以上で認められ、このうち濾胞上皮細胞肥大は 0.1 mg/kg においても統計学的に有意な増加を示した (Table 3-1)。下垂体前葉では、肥大/空胞化の有意な発生頻度増加が雄 0.3 mg/kg 以上および雌 1 mg/kg 以上で認められた。また、副腎皮質の萎縮が雄 1 mg/kg 以上および雌 3 mg/kg で観察された。

MMI 投与群では、甲状腺濾胞上皮細胞肥大、過形成およびコロイド退縮の発生頻度増加がそれぞれ雌雄 0.3, 1, 3 mg/kg 以上で観察され、このうち濾胞上皮細胞肥大は雄 0.3 mg/kg においても統計学的に有意であった (Table 3-2)。下垂体前葉では、雄 1 mg/kg 以上で肥大/空胞化、雌 10 mg/kg で肥大の有意な発生頻度増加認められた。また、副腎皮質の萎縮が、雄 3 mg/kg 以上で観察された。

1-4. 免疫組織化学的検索：甲状腺 T4

PTU および MMI 投与群の甲状腺における T4 発現を、免疫染色により検索した。対照群では濾胞上皮細胞の細胞質および管腔表面における T4 発現が認められた (Figure 1)。これらの T4 発現レベルは、病理組織学的検索において濾胞上皮細胞の肥大が認められた用量と一致し、PTU 投与群では雌雄 0.1 mg/kg 以上、MMI 投与群では雄 0.3 mg/kg および雌 1 mg/kg 以上で、有意な低下が観察された (Table 3, Figure 1)。

1-5. 免疫組織化学的検索：下垂体 TSH・PRL・ACTH

PTU および MMI 投与群の下垂体前葉における TSH・PRL・ACTH 発現を、免疫染色により検索した。PTU 投与群では雌雄 1 mg/kg 以上で、MMI 投与群では雄 3 mg/kg 以上および雌 10 mg/kg で、TSH 陽性細胞面積率の有意な増加が認められた (Figure 2, 3)。また、TSH 陽性面積率は、血清 TSH レベルと明瞭な相関関係を有することが示された (Figure 4)。

一方、下垂体前葉における PRL および ACTH 発現については、対照群と各投与群との間で明らかな差は認められなかった。

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

2-1. 体重・摂餌量・臓器重量 (Figure 5)

PTU・MMI 投与群では投与 2 週目から摂餌量の減少がみられ、対照群に比して PTU 投与群では 3 週目から、MMI 投与群では 2 週目から有意な体重増加抑制が認められた (Figure 5)。PTU・MMI 投与群における甲状腺の臓器重量は、絶対/相対重量ともに対照群に比して明らかな高値を示した。

2-2. 病理組織学的検索 (Figure 6)

PTU・MMI 投与群では検索した全例において甲状腺濾胞上皮細胞の肥大/過形成とコロイド退縮が (Figure 6)、下垂体前葉では肥大/空胞化が認められた。

2-3. マイクロアレイ解析 (Table 4, Figure 7)

甲状腺および下垂体のいずれにおいても、対照群と投与群は異なるクラスターとして分類された (Figure 7)。また、下垂体では PTU・MMI 投与群は異なるクラス

ターとして分類された一方、甲状腺では両者は類似した集団として認識された。

甲状腺では、PTU・MMI 投与によって発現増加した遺伝子がそれぞれ 398・444 あり、うち 336 遺伝子が共通していた。また、発現低下した遺伝子が PTU で 772、MMI で 775 あり、うち 676 遺伝子が共通していた。下垂体では、PTU・MMI 投与によって発現増加した遺伝子がそれぞれ 271・293 あり、うち 239 遺伝子が共通していた。発現低下した遺伝子が PTU で 352、MMI で 322 あり、うち 275 遺伝子が共通であった。PTU・MMI 投与群に共通して発現増加を示した遺伝子のうち、変動が大きい上位 100 遺伝子を Table 4 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

欧州毒性学会では生涯教育コースのセッション “Thyroid hormones, brain development and toxicity testing” として以下の講演があった。

- ・発達期における甲状腺ホルモンの作用と攪乱: 妊娠、脳、ラット対ヒトについて
- ・妊娠中の甲状腺ホルモン低下と神経発達への影響
- ・甲状腺機能の安全性: *in vitro* 試験バッテリー開発
- ・将来への提言: OECD/EPA ガイドライン研究における甲状腺ホルモン測定からの教訓
- ・発達中の脳における有害作用のエンドポイント検索
- ・テストガイドラインの現状: まだ何が足りないか?

これらは、Korevaar (Lancet Diabetes Endocrinol, 4: 35-43, 2016) および Levie (J Clin Endocrinol Metab, 103: 296702979, 2018) による、妊娠初期の母体における甲状腺機能低下が子供の IQ 等の神経発達に影響するとの臨床報告に基づき、EPA 等から提案された化学物質曝露による甲状腺機能攪乱作用の制御が必要との議論 (Gilbert et al., Endocrinology, 161: 1-17, 2020)、EFSA の甲状腺に影響を及ぼす農薬の累積リスク評価の必要性に関する報告 (EFSA J, 17: 5801, 2019) および欧州の ATHENA Project (Assays for the identification of Thyroid Hormone axis-disrupting chemicals: Elaborating Novel Assessment strategies) による甲状腺ホルモン攪乱化学物質検索法の必要性に関する論文 (Kortenkamp et al., Int J Mol Sci, 21: 3123, 2020) に沿った内容と考えられた。

第 61 回米国毒性学会では、甲状腺に関連する毒性影響について、シンポジウムおよび 12 題のポスターが欧州・米国の大学・企業ならびに EPA から発表された。ポスター発表のうち 6 題は *in vivo* 研究 (アフリカツノガエル 1 題、ラット胎内曝露試験 5 題)、5 題は機序に基づく検討 (physiologically based kinetic 2 題、数理モデルおよび AOP を考慮した検討 3 題)、1 題はヒト甲状腺細胞の 3 次元培養に関するものであった。State-of-the-Science on Thyroid Hormone Regulation and Disruption during Neurodevelopment と題するシンポジウムでは、胎児の脳の発達における甲状腺ホルモン変動の影響に関して、AOP のデータギャップおよび齧歯類における肝酵素誘導による二次的影響等も考慮した議論がなされた。1 題はヒトの臨床データから、TSH よ

りも T4 の値が IQ と関連している可能性、および甲状腺ホルモン値の高低に関わらず神経発達への影響がみられるものの、機序については不明としていた。2 題は AOP に関する演題であり、T4 の低下が 5 つの AOP のキーイベントとなっていること、どのような情報が不足しているのか、等について議論された。他の 2 題は、ラットを用いた次世代影響に関する演題であり、NaPB または PFHxS を母動物に投与した場合の母動物および仔動物の酵素・ホルモン変動、遺伝子誘導について発表されていた。特に、NaPB を 75 mg/kg 体重/日までの用量で妊娠期のラットに投与した場合、肝臓における CYP2A1・UGT2b1 誘導はそれぞれ母動物・仔動物で高い一方、T4 のクリアランスを示す T4-gIuc は母動物では増加しながら、仔動物では変動しなかった。また、血清 T4・T3 の低下は母/仔動物ともに観察され、TSH の変動は両者とも伴わなかったことから、仔動物の T4 低下は母動物の T4 低下による二次的変化と考察されており、各方面からの議論があった。本演題では、脳関連パラメータについても検討中とされており、今後の結果が注目される。また EPA から、ラットへの PFHxS または PTU 投与によって脳で発現誘導される遺伝子は、共通するものがないほど異なっているとの発表があった。

論文発表については、欧米企業のグループから、母体の甲状腺ホルモン攪乱による子供の神経発達への影響評価に関する総説 (Marty et al., Critic Rev Toxicol, 51: 328-58, 2021) が報告されている。また、EPA から報告された PFHxS による甲状腺機能攪乱作用 (Ramhøj et al., Sci Rep, 10: 2672, 2020) については、イタリアのグループ (Coperchini et al., Frontier Endocrinol, 11: 1, 2021) も注目している。

さらに、欧州消費者安全科学委員会 (Scientific Committee on Consumer Safety, SCCS) が 2021 年 10 月の会議の結論として、甲状腺機能への影響に対する懸念等からコウジ酸の化粧品への配合濃度を従来の 1% から 0.04% に引き下げる提言 (https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/scs_s_o_259.pdf) を発表しており、本邦への影響も注視が必要と考えられた。当該案件については、SCCS と企業との議論によって最終案は 0.7% とされたが、特に欧州での甲状腺機能影響に対する感心の高さを反映していると考えられた。

D. 考察

1. ラットを用いた 28 日間反復経口投与試験

OECD ガイドラインおよび化審法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、抗甲状腺物質をラットに複数用量で投与し、臓器重量測定および病理組織学的・免疫組織化学的検索を実施し、血清ホルモン値との比較を行った。

令和 3 年度の被験物質として、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である PTU および MMI を用いた。その結果、両物質とも用量依存的な血清 T3・T4 低下および TSH 増加を引き起こした。甲状腺重量および下垂体前葉の TSH 陽性面積率の有意な増加が、雌雄ともに血清 T4 値の減少と同

用量で認められ、これらの指標は抗甲状腺作用の評価に有用と考えられた。また、下垂体前葉の TSH 陽性面積率は、血清 TSH 値と明瞭な相関を示したことから、血清 TSH レベルの変動は病理組織標本によっても予測可能であることが示唆された。

最も重要な結果として、病理組織学的検査における甲状腺濾胞上皮細胞の肥大および免疫組織化学的検索における甲状腺の T4 発現低下は、血清 T3・T4 (PTU: 1 mg/kg 以上、MMI: 3 mg/kg 以上) および TSH (PTU: 0.3 mg/kg 以上、MMI: 1 mg/kg 以上) 値の有意な変動を伴わない、より低い用量 (PTU: 0.1 mg/kg 以上、MMI: 0.3 mg/kg 以上) から、統計学的有意差をもって認められた。この結果は、甲状腺の病理組織学的検索および T4 免疫染色が、甲状腺機能に影響を及ぼす物質の検出において、より鋭敏な指標である可能性を示唆するものである。

甲状腺ホルモン動態への影響は酵素阻害だけではなく、ヨウ素の取り込み阻害など、他の複数の機序で起こることが知られている。甲状腺組織を用いた検索手法が、他のメカニズムによる甲状腺機能阻害をも検出し得るか検討が必要と考えられる。そこで、本年度の追加被験物質として、肝薬物代謝酵素の発現誘導を介した抗甲状腺機能が知られる NaPB および NCD について、28 日間反復投与試験を同様に実施した。

その結果、両物質の投与群で血清 T4 低下および肝・甲状腺重量の増加、NCD 投与群で血清 TSH 増加が認められた。ラットでは肝薬物代謝酵素 UDPGT の発現亢進によって血清 T4 の排泄が促進され、TSH の分泌亢進と甲状腺刺激が誘導されることが知られており、これに沿う結果と考えられた。今後令和 4 年度にかけて、病理組織学的検索および免疫組織化学的検索を実施し、これらの検索手法の有用性を検討する予定である。

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

体重・臓器重量測定および病理組織学的検索の結果、前述のラットを用いた PTU・MMI の 28 日間反復経口投与試験と同様の傾向が認められ、甲状腺・下垂体への影響が再現されたことを確認した。同条件下において、両臓器では多数の遺伝子の発現変動が認められ、甲状腺では発現変動した遺伝子の 73.5% が、下垂体では 71.0% が PTU・MMI 投与群で共通していた。これは両物質の甲状腺への作用機序 (ペルオキシダーゼ阻害) が同じであることに起因すると考えられた。これら遺伝子のうち、特に発現増加した遺伝子について精査し、抗甲状腺機能を示唆する新規バイオマーカーとしての探索とともに、メカニズム特定への応用を今後検討していく予定である。

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

欧州毒性学会および米国毒性学会においては、引き続き甲状腺ホルモンの神経発達への影響が話題とされ、化学物質の長期曝露による甲状腺発がんに対する懸念のみならず、母体における甲状腺機能低下が短期間であっても子供の神経発達に影響を及ぼす可能性が注目

されていた。EPAからもラットを用いた *in vivo* 研究が発表されており、一部予測と異なる結果が得られていた。特に、仔動物における T4・T3、TSH 等の値を得ることが求められるが、技術的な問題もあるものと推察された。また、過去の試験について、血清の保存がされていない場合でも、パラフィン包埋ブロックとして通常保存される病理組織サンプルを用いた評価が可能であれば、より多くの情報が得られると考えられた。

E. 結論

令和3年度の研究結果から、甲状腺の病理組織学的検索およびT4免疫染色が、甲状腺ペルオキシダーゼ阻害剤による抗甲状腺作用の早期検出において鋭敏な指標となり得ることが示唆された。甲状腺・下垂体を用いた網羅的遺伝子発現解析の結果から、多数の新規バイオマーカー候補が見出された。今後、肝臓における甲状腺ホルモン代謝促進等、他の機序に基づく甲状腺機能阻害物質についても検討を継続する予定である。国際学会・機関からの情報収集では、甲状腺機能の調節には多くの因子が関与していることから、遺伝子発現変動を含めた機序解明にはさらなる検討が必要とされていた。また、甲状腺機能攪乱を簡便に評価する方法とともに、神経発達毒性に対する影響をも検討可能な方法が求められていた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- [1] [Akane H](#), [Toyoda T](#), Mizuta Y, Cho YM, Ide T, Kosaka T, Tajima H, Aoyama H, [Ogawa K](#). Histopathological and immunohistochemical evaluation for detecting changes in blood hormone levels caused by endocrine disruptors in a 28-day repeated-dose study in rats. *J Appl Toxicol*. In press.
- [1] [Toyoda T](#), Matsushita K, [Akane H](#), Morikawa T, [Ogawa K](#). A 13-week subchronic toxicity study of 2-(*I*-menthoxy)ethanol in F344 rats. *J Toxicol Pathol*. 2021; 34: 309-17.
- [2] Yamada T, [Toyoda T](#), Matsushita K, Cho YM, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, [Ogawa K](#). Expression of stem cell markers as useful complementary factors in the early detection of urinary bladder carcinogens by immunohistochemistry for γ -H2AX. *Arch Toxicol*. 2021; 95: 715-26.
- [3] Yamada T, [Toyoda T](#), Ide T, Matsushita K, Morikawa T, [Ogawa K](#). Neuromuscular and vascular hamartoma of the small intestine in an F344 rat. *J Toxicol Pathol*. 2021; 34: 113-7.
- [4] Kobayashi T, [Toyoda T](#), Tajima Y, Kishimoto S, Tsunematsu Y, Sato M, Matsushita K, Yamada T, Shimamura Y, Masuda S, Ochiai M, [Ogawa K](#), Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. *o*-Anisidine dimer, 2-methoxy-*N*⁴-(2-methoxyphenyl) benzene-1,4-diamine, in rat urine associated with urinary

- bladder carcinogenesis. *Chem Res Toxicol*. 2021; 34: 912-9.
- [5] Matsushita K, Takasu T, [Ishii Y](#), [Toyoda T](#), Yamada T, Morikawa T, [Ogawa K](#). *In vivo* mutagenicity and tumor-promoting activity of 1,3-dichloro-2-propanol in the liver and kidneys of *gpt* delta rats. *Arch Toxicol*. 2021; 95: 3117-31.
- [6] Matsushita K, [Toyoda T](#), Yamada T, Morikawa T, [Ogawa K](#). Specific expression of survivin, SOX9, and CD44 in renal tubules in adaptive and maladaptive repair processes after acute kidney injury in rats. *J Appl Toxicol*. 2021; 41: 607-17.
- [7] Yamamoto E, Taquahashi Y, Kuwagata M, Saito H, Matsushita K, [Toyoda T](#), Sato F, Kitajima S, [Ogawa K](#), Izutsu K, Saito Y, Hirabayashi Y, Iimura Y, Homma M, Okuda H, Goda Y. Visualizing the spatial localization of ciclesonide and its metabolites in rat lungs after inhalation of 1- μ m ciclesonide aerosol by desorption electrospray ionization-time of flight mass spectrometry imaging. *Int J Pharm*. 2021; 595: 120241.
- [8] Mitsumoto T, [Ishii Y](#), Namiki M, Nakamura K, Takasu S, [Ogawa K](#). A 90-day subchronic toxicity study of Myrrh in F344 rats. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2021; 127: 105076.
- [9] Nakamura K, [Ishii Y](#), Takasu S, Nohmi T, Shibutani M, [Ogawa K](#). Chromosome aberrations induced by the non-mutagenic carcinogen acetamide involve in rat hepatocarcinogenesis through micronucleus formation in hepatocytes. *Arch Toxicol*. 2021; 95: 2851-65.
- [10] Nishikawa A, Nagano K, Kojima H, [Ogawa K](#). A comprehensive review of mechanistic insights into formaldehyde-induced nasal cavity carcinogenicity. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2021; 123: 104937.
- [11] Matsushita K, [Ishii Y](#), Kijima A, Takasu S, Kuroda K, Takagi H, Nohmi T, [Ogawa K](#), Umemura T. Background data of 2-year-old male and female F344 *gpt* delta rats. *J Toxicol Pathol*. 2021; 34: 3-31.
- [12] Yasui M, Fukuda T, Ukai A, Maniwa J, Imamura T, Hashizume T, Yamamoto H, Shibuya K, Narumi K, Fujiishi Y, Okada E, Fujishima S, Yamamoto M, Otani N, Nakamura M, Nishimura R, Ueda M, Mishima M, Matsuzaki K, Takeiri A, Tanaka K, Okada Y, Nakagawa M, Hamada S, Kajikawa A, Honda H, Adachi J, Masaki K, [Ogawa K](#), Honma M. Weight of evidence approach using a TK gene mutation assay with human TK6 cells for follow-up of positive results in Ames tests: a collaborative study by MMS/JEMS. *Genes Environ*. 2021; 43: 7.
- [13] Ide T, Cho YM, Oishi Y, [Ogawa K](#). Spontaneous

- adenolipoma of the mammary gland in a male F344 rat. *J Toxicol Pathol.* 2021; 34: 231-4.
- [14] Nakamura K, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K. A 90-day subchronic toxicity study of 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal in F344 rats. *Food Chem Toxicol.* 2021; 150: 112041.
- [15] Ishii Y, Takasu S, Grúz P, Masumura K, Ogawa K, Nohmi T, Umemura T. The role of DNA polymerase ζ in benzo[*a*]pyrene-induced mutagenesis in the mouse lung. *Mutagenesis.* 2021; 36: 155-64.
- [16] Marques MM, Beland FA, Lachenmeier DW, Phillips DH, Chung FL, Dorman DC, Elmore SE, Hammond SK, Krstev S, Linhart I, Long AS, Mandrioli D, Ogawa K, Pappas JJ, Parra Morte JM, Talaska G, Tang MS, Thakur N, van Tongeren M, Vineis P, Benbrahim-Tallaa L, Chung F, Das S, El Ghissassi F, Grosse Y, Guyton KZ, Korenjak M, Lauby-Secretan B, Liu Y, Mattock H, Middleton D, Miranda-Filho A, Schubauer-Berigan MK, Suonio E, Talukdar FR. Carcinogenicity of acrolein, crotonaldehyde, and arecoline. *Lancet Oncol.* 2021; 22:19-20.
- ## 2. 学会発表
- 1) 豊田武士、小林琢磨、三好規之、松下幸平、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. オルト-トルイジンおよびオルト-アニシジン代謝物の 28 日間反復経口投与によるラット膀胱への影響. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 2) 豊田武士、赤根弘敏、小川久美子. γ -H2AX 免疫染色によるラット腎発がん物質早期検出法の開発. 第 80 回日本癌学会学術総会、神奈川県、(2021 年 10 月)
 - 3) 豊田武士、山田貴宣、松下幸平、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. γ -H2AX 免疫染色を用いた芳香族アミンのラット膀胱に対する傷害性および発がん性短期評価手法. 第 48 回日本毒性学会学術年会、兵庫県、(2021 年 7 月)
 - 4) 石井雄二. 脱離エレクトロスプレーイオン化法 (DESI) による質量分析イメージングを用いた組織切片上における化学物質及び代謝物の局在評価. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 5) 石井雄二、中村賢志、瀧本憲史、満元達也、並木萌香、渋谷淳、小川久美子. F344 ラットにおける acetamide 誘発肝腫瘍の全ゲノム解析. 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回記念大会、神奈川県、(2021 年 11 月)
 - 6) 石井雄二、中村賢志、並木萌香、高須伸二、小川久美子. 脱離エレクトロスプレーイオン化-質量分析イメージング (DESI-MSI) による腎発がん物質アカネ色素構成成分のラット腎臓における分布解析. 第 48 回日本毒性学会学術年会、兵庫県、(2021 年 7 月)
 - 7) 石井雄二、中村賢志、並木萌香、高須伸二、小川久美子. 質量分析イメージングを用いたラット腎臓におけるアントラキノン系色素成分の分布解析. 日本食品化学学会第 27 回総会・学術大会、Web 開催、(2021 年 6 月)
 - 8) 赤根弘敏、豊田武士、松下幸平、森川朋美、小坂忠司、田島均、青山博昭、小川久美子. ラットにおける化学物質誘発抗甲状腺作用検出における病理組織学的及び免疫組織化学的手法と血中ホルモン値との比較. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 9) 赤根弘敏、豊田武士、小川久美子. ラット膀胱発がん物質早期検出における γ -H2AX 免疫染色の特異性. 第 80 回日本癌学会学術総会、神奈川県、(2021 年 10 月)
 - 10) 赤根弘敏、豊田武士、水田保子、小坂忠司、田島均、青山博昭、小川久美子. 内分泌攪乱物質による血中ホルモン値変動と病理組織学的・免疫組織化学的評価. 第 48 回日本毒性学会学術年会、兵庫県、(2021 年 7 月)
 - 11) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. 薬剤性腎障害の慢性化を予測するバイオマーカーとしての CD44 の有用性の検証. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 12) 高須伸二、石井雄二、並木萌香、中村賢志、能美健彦、小川久美子. *gpt* delta ラットを用いた 3-acetyl-2,5-dimethylfuran の一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括的毒性評価. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 13) 瀧本憲史、石井雄二、満元達也、並木萌香、高須伸二、能美健彦、渋谷淳、小川久美子. 細胞質内封入体が示す methyl carbamate の染色体異常と肝発がんへの関与. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 14) 満元達也、石井雄二、瀧本憲史、並木萌香、高須伸二、能美健彦、小川久美子. Rubiadin の腎臓における局在と病理組織学的変化が示す部位特異的な遺伝毒性. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 15) 赤木純一、水田保子、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子. F344 ラットを用いたナノサイズ酸化チタン (IV) の 28 日間反復経口投与毒性試験. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 16) 水田保子、曹永晩、赤木純一、井手鉄哉、小川久美子. マウス腹腔内投与におけるポリビニルピロリドンでコートされた銀ナノ球と銀ナノプレートの急性毒性の差異. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 17) 相馬明玲、日比大介、高須伸二、石井雄二、梅村隆志. 肝発がん物質フランの葉特異的毒性発現. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、兵庫県、(2022 年 1 月)
 - 18) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. 急性腎障害後に発現する CD44 は部分的上皮間葉転換を生じた尿細管において細胞外基質産生を誘導し、慢性腎臓病への移行を促進する. 第 4 回医薬品毒性機序研究会、Web 開催、(2021 年 12 月)
 - 19) 増田寛喜、豊田武士、野村幸世. ラット外科的逆流

- モデルにおけるバレット食道に対する MEK インヒビターの治療効果の検討. 第 32 回日本消化器癌発生学会総会、Web 開催、(2021 年 11 月)
- 20) 小林琢磨、豊田武士、吉岡泰淳、岸本真治、松下幸平、山田貴宣、小川久美子、渡辺賢二、高村岳樹、戸塚ゆ加里、若林敬二、三好規之. 単環芳香族アミンの遺伝毒性に関わる代謝活性化機構. 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回記念大会、神奈川県、(2021 年 11 月)
- 21) 並木萌香、石井雄二、中村賢志、瀧本憲史、満元達也、高須伸二、小川久美子. CHL/IU 細胞と RL-34 細胞を用いたラット肝発がん物質 acetamide の *in vitro* 小核試験. 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回記念大会、神奈川県、(2021 年 11 月)
- 22) 満元達也、石井雄二、瀧本憲史、並木萌香、高須伸二、能美健彦、小川久美子. 腎発がん物質 rubiadin のグアニン DNA 付加体に対する DNA Polymerase ζ の選択的作用. 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回記念大会、神奈川県、(2021 年 11 月)
- 23) 松下幸平、高須伸二、石井雄二、豊田武士、山田貴宣、森川朋美、小川久美子. *gpt delta* ラットを用いた中期遺伝毒性・発がん性試験法による 1,3-dichloro-2-propanol の発がん機序の解明. 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回記念大会、神奈川県、(2021 年 11 月)
- 24) 田中美咲、竹入章、松崎香織、田中健司、小川久美子、安井学、杉山圭一、本間正充、三島雅之. Ames 試験陽性フォローアップとしての TK6 細胞 γ H2AX 評価系の有用性検討；構造異性体および類縁体からの検証. 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回記念大会、神奈川県、(2021 年 11 月)
- 25) 孫雨晨、齊藤公亮、牛木淳人、安部光洋、齋藤好信、柏田建、堀益靖、弦間昭彦、巽浩一郎、服部登、津島健司、荒川憲昭、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子、佐藤元信、高松一彦、森和彦、西矢剛淑、泉高司、大野泰雄、齋藤嘉朗、花岡正幸. メタボローム解析を用いた薬剤性間質性肺炎のバイオマーカー探索. 第 65 回日本薬学会関東支部大会、Web 開催、(2021 年 9 月)
- 26) 小林琢磨、田島悠也、豊田武士、岸本真治、松下幸平、山田貴宣、小川久美子、渡辺賢二、高村岳樹、戸塚ゆ加里、若林敬二、三好規之. 単環芳香族アミン化合物の試験管内反応による二量体形成. がん予防学術大会 2021、Web 開催、(2021 年 9 月)
- 27) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. シスプラチン誘発 AKI to CKD モデルラットにおける CD44 の病態生理学的役割. 第 164 回日本獣医学会学術集会、Web 開催、(2021 年 9 月)
- 28) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. シスプラチン誘発急性腎障害から慢性腎臓病への進展における CD44 の発現. 第 48 回日本毒性学会学術年会、兵庫県、(2021 年 7 月)
- 29) 中村賢志、石井雄二、河上強志、田原麻衣子、高須伸二、並木萌香、渋谷淳、小川久美子. Acetamide のラット肝発がん性における系統差に基づいた肝発がん機序に関する検討. 第 48 回日本毒性学会学術年会、兵庫県、(2021 年 7 月)
- 30) 高須伸二、石井雄二、中村賢志、並木萌香、能美健彦、小川久美子. *gpt delta* ラットを用いた 1,3-dichloro-2-propanol の肝発がん機序の検索. 第 48 回日本毒性学会学術年会、兵庫県、(2021 年 7 月)
- 31) 赤木純一、曹永晩、豊田武士、水田保子、曾根瑞季、小川久美子. 肝発がん物質検出のためのバイオマーカーとしての EpCAM および CD13 の有用性検討. 第 48 回日本毒性学会学術年会、兵庫県、(2021 年 7 月)
- 32) 森川朋美、豊田武士、松下幸平、赤根弘敏、小川久美子. ラットを用いたヘム鉄の 90 日間亜慢性反復経口投与毒性試験. 日本食品化学学会第 27 回総会・学術大会、Web 開催、(2021 年 6 月)
- 33) 高須伸二、石井雄二、中村賢志、並木萌香、能美健彦、小川久美子. *gpt delta* ラットを用いた 1,3-dichloro-2-propanol の *in vivo* 変異原性の評価. 日本食品化学学会第 27 回総会・学術大会、Web 開催、(2021 年 6 月)
- 34) 並木萌香、石井雄二、高須伸二、中村賢志、小川久美子. ラットを用いたミルラの 90 日間反復経口投与毒性試験. 日本食品化学学会第 27 回総会・学術大会、Web 開催、(2021 年 6 月)
- 35) 水田保子、曹永晩、赤木純一、井手鉄哉、小川久美子. モウソウチク乾留物の SD ラットにおける 90 日間反復投与毒性試験. 日本食品化学学会第 27 回総会・学術大会、Web 開催、(2021 年 6 月)
- 36) 山本栄一、高橋祐次、栗形麻樹子、齋藤洋克、松下幸平、豊田武士、佐藤太、北嶋聡、小川久美子、伊豆津健一、齋藤嘉朗、平林容子、飯村康夫、本間正充、奥田晴宏、合田幸広. 脱離エレクトロスプレーイオン化-飛行時間型質量分析イメージングによるシクレソニドの 1 μ m エアロゾル吸入後のラット肺におけるシクレソニドとその代謝物の空間的局在の可視化. 日本薬学会第 36 年会、徳島県、(2021 年 5 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. Serum hormone levels in SD rats treated with PTU for 28 days

| Dose (mg/kg) | 0 | 0.03 | 0.1 | 0.3 | 1 | 3 |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|---------------|
| No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | | | | | | |
| T3 (ng/mL) | 0.56 ± 0.08 | 0.52 ± 0.07 | 0.54 ± 0.08 | 0.52 ± 0.10 | 0.33 ± 0.08** | 0.26 ± 0.03** |
| T4 (µg/dL) | 3.4 ± 0.4 | 4.9 ± 1.1* | 4.0 ± 0.8 | 2.4 ± 0.9 | 1.1 ± 0.3** | 1.0 ± 0.4** |
| TSH (ng/mL) | 1.9 ± 1.0 | 2.1 ± 1.3 | 4.0 ± 2.6 | 6.6 ± 2.4* | 18.1 ± 4.9** | 23.7 ± 1.7** |
| PRL (ng/mL) | 1.7 ± 2.0 | 2.9 ± 4.9 | 1.8 ± 2.3 | 1.8 ± 1.8 | 1.5 ± 1.4 | 0.8 ± 0.3 |
| Female | | | | | | |
| T3 (ng/mL) | 0.55 ± 0.10 | 0.58 ± 0.11 | 0.61 ± 0.03 | 0.61 ± 0.22 | 0.60 ± 0.22 | 0.24 ± 0.03* |
| T4 (µg/dL) | 3.2 ± 0.8 | 3.7 ± 1.4 | 2.6 ± 0.5 | 2.3 ± 0.8 | 1.4 ± 0.4** | 1.1 ± 0.6** |
| TSH (ng/mL) | 1.7 ± 1.1 | 1.6 ± 0.4 | 2.3 ± 1.2 | 3.1 ± 0.8 | 21.1 ± 10.7** | 26.8 ± 6.6** |
| PRL (ng/mL) | 3.4 ± 2.9 | 1.1 ± 1.1 | 0.5 ± 0.4 | 1.3 ± 1.3 | 2.1 ± 0.8 | 3.1 ± 2.5 |

Each value represents the mean ± S.D.

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

Table 1-2. Serum hormone levels in SD rats treated with MMI for 28 days

| Dose (mg/kg) | 0 | 0.3 | 1 | 3 | 10 |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------------|
| No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | | | | | |
| T3 (ng/mL) | 0.56 ± 0.08 | 0.68 ± 0.10 | 0.60 ± 0.10 | 0.40 ± 0.07* | 0.29 ± 0.04** |
| T4 (µg/dL) | 3.4 ± 0.4 | 3.9 ± 1.0 | 4.1 ± 0.7 | 1.7 ± 0.3** | 1.1 ± 0.5** |
| TSH (ng/mL) | 1.9 ± 1.0 | 2.1 ± 0.3 | 2.8 ± 1.8 | 14.4 ± 3.5** | 23.8 ± 6.2** |
| PRL (ng/mL) | 1.7 ± 2.0 | 0.7 ± 0.6 | 0.6 ± 0.4 | 0.5 ± 0.3 | 1.1 ± 1.1 |
| Female | | | | | |
| T3 (ng/mL) | 0.55 ± 0.10 | 0.61 ± 0.09 | 0.63 ± 0.12 | 0.59 ± 0.08 | 0.41 ± 0.03 |
| T4 (µg/dL) | 3.2 ± 0.8 | 3.0 ± 0.9 | 3.3 ± 1.1 | 2.3 ± 0.7 | 1.0 ± 0.2** |
| TSH (ng/mL) | 1.7 ± 1.1 | 1.6 ± 0.2 | 1.5 ± 0.6 | 3.1 ± 2.5 | 17.2 ± 6.1** |
| PRL (ng/mL) | 3.4 ± 2.9 | 0.6 ± 0.9 | 0.5 ± 0.4 | 0.5 ± 0.4 | 2.8 ± 1.6 |

Each value represents the mean ± S.D.

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

Table 1-3. Serum hormone levels in SD rats treated with NaPB for 28 days

| Dose (mg/kg) | 0 | 10 | 30 | 100 |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | | | | |
| T3 (ng/mL) | 0.63 ± 0.11 | 0.58 ± 0.10 | 0.57 ± 0.04 | 0.51 ± 0.08 |
| T4 (µg/dL) | 4.4 ± 0.8 | 4.7 ± 0.6 | 3.8 ± 0.8 | 3.0 ± 0.7* |
| TSH (ng/mL) | 1.4 ± 0.7 | 1.5 ± 0.8 | 1.5 ± 0.4 | 2.3 ± 1.3 |
| PRL (ng/mL) | 3.9 ± 6.9 | 3.1 ± 5.1 | 1.5 ± 1.9 | 1.1 ± 0.6 |
| Female | | | | |
| T3 (ng/mL) | 0.53 ± 0.03 | 0.51 ± 0.03 | 0.56 ± 0.06 | 0.51 ± 0.03 |
| T4 (µg/dL) | 3.1 ± 1.9 | 2.8 ± 0.8 | 2.7 ± 0.6 | 1.8 ± 0.3 |
| TSH (ng/mL) | 0.7 ± 0.1 | 0.9 ± 0.2 | 1.2 ± 0.4 | 1.0 ± 0.4 |
| PRL (ng/mL) | 1.3 ± 1.9 | 2.1 ± 3.7 | 1.3 ± 1.2 | 0.6 ± 0.4 |

Each value represents the mean ± S.D.

*: Significantly different from the control group at p<0.05.

Table 1-4. Serum hormone levels in SD rats treated with NCD for 28 days

| Dose (mg/kg) | 0 | 15 | 50 | 150 |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | | | | |
| T3 (ng/mL) | 0.63 ± 0.11 | 0.71 ± 0.22 | 0.64 ± 0.09 | 0.56 ± 0.03 |
| T4 (µg/dL) | 4.4 ± 0.8 | 3.7 ± 0.5 | 3.7 ± 0.5 | 3.1 ± 1.0* |
| TSH (ng/mL) | 1.4 ± 0.7 | 1.9 ± 0.9 | 1.7 ± 0.6 | 4.0 ± 2.2* |
| PRL (ng/mL) | 3.9 ± 6.9 | 1.9 ± 2.0 | 1.8 ± 1.9 | 1.2 ± 0.9 |
| Female | | | | |
| T3 (ng/mL) | 0.53 ± 0.03 | 0.58 ± 0.09 | 0.50 ± 0.04 | 0.54 ± 0.10 |
| T4 (µg/dL) | 3.1 ± 1.9 | 3.8 ± 1.5 | 4.1 ± 1.2 | 4.1 ± 0.7 |
| TSH (ng/mL) | 0.7 ± 0.1 | 1.0 ± 0.2 | 1.2 ± 0.4 | 1.5 ± 0.6* |
| PRL (ng/mL) | 1.3 ± 1.9 | 1.6 ± 1.8 | 0.7 ± 0.4 | 0.4 ± 0.2 |

Each value represents the mean ± S.D.

*: Significantly different from the control group at p<0.05.

Table 2-1. Organ weights in SD rats treated with PTU for 28 days

| Dose (mg/kg) | 0 | 0.03 | 0.1 | 0.3 | 1 | 3 |
|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|----------------|
| No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | | | | | | |
| Body weight (g) | 355.7 ± 19.4 | 377.9 ± 16.0 | 369.7 ± 17.7 | 358.0 ± 21.9 | 338.9 ± 38.1 | 278.1 ± 20.6** |
| Thyroids (mg) | 24.6 ± 3.7 | 25.0 ± 3.0 | 20.4 ± 1.3 | 32.2 ± 2.4 | 75.4 ± 22.3** | 79.9 ± 8.0** |
| (mg%) | 6.9 ± 0.8 | 6.6 ± 0.7 | 5.5 ± 0.3 | 9.0 ± 0.6 | 21.9 ± 4.4** | 28.9 ± 3.9** |
| Pituitary (mg) | 13.1 ± 1.3 | 13.5 ± 1.6 | 13.2 ± 0.9 | 13.4 ± 1.5 | 15.1 ± 2.1 | 15.4 ± 2.3 |
| (mg%) | 3.7 ± 0.2 | 3.6 ± 0.4 | 3.6 ± 0.2 | 3.7 ± 0.2 | 4.5 ± 0.4* | 5.5 ± 0.7** |
| Adrenals (mg) | 51.5 ± 3.9 | 53.8 ± 7.0 | 45.1 ± 3.3 | 47.7 ± 4.8 | 36.0 ± 12.2** | 31.0 ± 5.4** |
| (mg%) | 14.5 ± 1.3 | 14.2 ± 1.5 | 12.2 ± 0.8 | 13.3 ± 1.3 | 10.4 ± 2.3** | 11.2 ± 2.3* |
| Female | | | | | | |
| Body weight (g) | 224.5 ± 17.7 | 217.2 ± 15.4 | 229.1 ± 7.6 | 219.5 ± 12.0 | 222.1 ± 13.9 | 188.0 ± 5.9** |
| Thyroids (mg) | 17.6 ± 2.8 | 17.0 ± 2.5 | 22.0 ± 4.5 | 28.8 ± 2.4 | 66.7 ± 15.4** | 67.3 ± 12.3** |
| (mg%) | 7.8 ± 1.1 | 7.8 ± 1.1 | 9.6 ± 2.0 | 13.2 ± 1.6 | 30.0 ± 6.0** | 35.9 ± 6.8** |
| Pituitary (mg) | 17.4 ± 2.1 | 16.4 ± 1.5 | 16.1 ± 3.3 | 16.2 ± 1.3 | 18.4 ± 3.6 | 14.6 ± 2.7 |
| (mg%) | 7.8 ± 1.0 | 7.6 ± 1.0 | 7.0 ± 1.4 | 7.4 ± 0.6 | 8.3 ± 1.3 | 7.8 ± 1.6 |
| Adrenals (mg) | 61.6 ± 11.1 | 53.4 ± 6.7 | 55.9 ± 7.0 | 56.4 ± 8.5 | 54.1 ± 6.4 | 32.8 ± 3.8** |
| (mg%) | 27.4 ± 3.8 | 24.7 ± 3.3 | 24.4 ± 2.8 | 25.8 ± 4.8 | 24.3 ± 1.6 | 17.5 ± 2.1** |

Each value represents the mean ± S.D.

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

Table 2-2. Organ weights in SD rats treated with MMI for 28 days

| Dose (mg/kg) | 0 | 0.3 | 1 | 3 | 10 |
|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------------|
| No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | | | | | |
| Body weight (g) | 355.7 ± 19.4 | 386.2 ± 30.7 | 371.8 ± 24.4 | 360.9 ± 16.7 | 298.8 ± 29.1** |
| Thyroids (mg) | 24.6 ± 3.7 | 25.2 ± 2.1 | 28.6 ± 2.0 | 37.5 ± 5.7** | 47.8 ± 7.9** |
| (mg%) | 6.9 ± 0.8 | 6.5 ± 0.5 | 7.7 ± 0.6 | 10.4 ± 1.3** | 16.0 ± 1.9** |
| Pituitary (mg) | 13.1 ± 1.3 | 13.7 ± 2.2 | 12.9 ± 2.3 | 13.7 ± 1.7 | 13.9 ± 1.9 |
| (mg%) | 3.7 ± 0.2 | 3.5 ± 0.5 | 3.5 ± 0.4 | 3.8 ± 0.3 | 4.7 ± 0.8* |
| Adrenals (mg) | 51.5 ± 3.9 | 55.3 ± 13.8 | 52.1 ± 7.7 | 44.5 ± 4.3 | 33.3 ± 6.5** |
| (mg%) | 14.5 ± 1.3 | 14.4 ± 3.7 | 14.0 ± 1.6 | 12.3 ± 1.0 | 11.1 ± 1.7 |
| Female | | | | | |
| Body weight (g) | 224.5 ± 17.7 | 224.7 ± 20.1 | 214.7 ± 14.2 | 221.7 ± 15.2 | 223.7 ± 12.5 |
| Thyroids (mg) | 17.6 ± 2.8 | 19.3 ± 2.9 | 22.5 ± 2.4 | 24.1 ± 4.1 | 53.2 ± 12.3** |
| (mg%) | 7.8 ± 1.1 | 8.6 ± 1.1 | 10.5 ± 0.9 | 11.0 ± 2.4 | 23.8 ± 5.4** |
| Pituitary (mg) | 17.4 ± 2.1 | 16.6 ± 2.3 | 17.0 ± 1.8 | 16.5 ± 2.5 | 16.8 ± 2.7 |
| (mg%) | 7.8 ± 1.0 | 7.4 ± 0.9 | 7.9 ± 0.7 | 7.5 ± 1.2 | 7.5 ± 1.1 |
| Adrenals (mg) | 61.6 ± 11.1 | 58.8 ± 11.6 | 58.6 ± 9.6 | 55.2 ± 5.7 | 43.4 ± 4.0* |
| (mg%) | 27.4 ± 3.8 | 26.0 ± 3.1 | 27.2 ± 3.2 | 25.0 ± 3.6 | 19.4 ± 1.8** |

Each value represents the mean ± S.D.

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

Table 2-3. Organ weights in SD rats treated with NaPB for 28 days

| Dose (mg/kg) | 0 | 10 | 30 | 100 |
|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | | | | |
| Body weight (g) | 354.8 ± 22.3 | 347.9 ± 19.0 | 366.2 ± 33.0 | 353.2 ± 27.4 |
| Liver (g) | 9.9 ± 0.8 | 10.6 ± 0.9 | 12.4 ± 2.0 | 14.2 ± 2.0** |
| (g%) | 2.8 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 | 3.4 ± 0.3** | 4.0 ± 0.3** |
| Thyroids (mg) | 22.7 ± 3.0 | 27.0 ± 3.6 | 28.0 ± 6.2 | 29.6 ± 2.9* |
| (mg%) | 6.4 ± 1.0 | 7.7 ± 0.8 | 7.6 ± 1.2 | 8.4 ± 0.6** |
| Pituitary (mg) | 12.6 ± 0.6 | 12.9 ± 1.4 | 13.4 ± 1.3 | 13.4 ± 1.4 |
| (mg%) | 3.6 ± 0.2 | 3.7 ± 0.2 | 3.7 ± 0.4 | 3.8 ± 0.1 |
| Adrenals (mg) | 44.4 ± 4.7 | 49.9 ± 10.2 | 53.7 ± 0.9 | 56.3 ± 13.0 |
| (mg%) | 12.5 ± 1.0 | 14.3 ± 2.4 | 14.8 ± 1.2 | 15.8 ± 2.7 |
| Female | | | | |
| Body weight (g) | 239.2 ± 23.3 | 233.0 ± 21.1 | 234.5 ± 22.2 | 237.3 ± 11.6 |
| Liver (g) | 6.7 ± 0.8 | 6.8 ± 0.9 | 7.3 ± 0.6 | 9.4 ± 1.5** |
| (g%) | 2.8 ± 0.2 | 2.9 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 | 4.0 ± 0.5** |
| Thyroids (mg) | 17.5 ± 3.1 | 18.6 ± 1.5 | 18.5 ± 2.6 | 23.3 ± 2.0** |
| (mg%) | 7.3 ± 0.8 | 8.0 ± 0.7 | 8.0 ± 1.5 | 9.8 ± 0.6** |
| Pituitary (mg) | 16.2 ± 1.1 | 13.9 ± 1.8 | 15.1 ± 2.7 | 16.4 ± 1.2 |
| (mg%) | 6.8 ± 0.4 | 6.0 ± 1.0 | 6.4 ± 0.6 | 6.9 ± 0.2 |
| Adrenals (mg) | 64.6 ± 11.8 | 69.1 ± 7.7 | 62.4 ± 8.1 | 79.5 ± 7.0* |
| (mg%) | 26.9 ± 3.3 | 29.7 ± 3.4 | 26.9 ± 4.9 | 33.6 ± 1.0* |

Each value represents the mean ± S.D.

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

Table 2-4. Organ weights in SD rats treated with NCD for 28 days

| Dose (mg/kg) | 0 | 15 | 50 | 150 |
|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | | | | |
| Body weight (g) | 354.8 ± 22.3 | 352.0 ± 16.9 | 348.3 ± 27.8 | 332.2 ± 16.6 |
| Liver (g) | 9.9 ± 0.8 | 11.0 ± 0.8 | 12.5 ± 1.4* | 15.8 ± 2.5** |
| (g%) | 2.8 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 | 3.6 ± 0.2** | 4.7 ± 0.5** |
| Thyroids (mg) | 22.7 ± 3.0 | 21.9 ± 2.4 | 25.2 ± 4.2 | 25.8 ± 4.1 |
| (mg%) | 6.4 ± 1.0 | 6.2 ± 0.7 | 7.2 ± 1.1 | 7.8 ± 1.2 |
| Pituitary (mg) | 12.6 ± 0.6 | 14.0 ± 0.9 | 12.9 ± 1.4 | 12.2 ± 1.6 |
| (mg%) | 3.6 ± 0.2 | 4.0 ± 0.2 | 3.7 ± 0.3 | 3.7 ± 0.4 |
| Adrenals (mg) | 44.4 ± 4.7 | 50.6 ± 9.0 | 46.4 ± 8.9 | 42.2 ± 4.3 |
| (mg%) | 12.5 ± 1.0 | 14.4 ± 2.2 | 13.4 ± 2.5 | 12.7 ± 1.1 |
| Female | | | | |
| Body weight (g) | 239.2 ± 23.3 | 224.3 ± 10.5 | 234.0 ± 13.3 | 234.4 ± 14.2 |
| Liver (g) | 6.7 ± 0.8 | 6.5 ± 0.3 | 9.3 ± 1.0** | 12.8 ± 1.0** |
| (g%) | 2.8 ± 0.2 | 2.9 ± 0.1 | 4.0 ± 0.2** | 5.4 ± 0.2** |
| Thyroids (mg) | 17.5 ± 3.1 | 18.8 ± 1.5 | 20.3 ± 2.8 | 22.9 ± 0.4** |
| (mg%) | 7.3 ± 0.8 | 8.4 ± 0.7 | 8.7 ± 1.1 | 9.8 ± 0.7** |
| Pituitary (mg) | 16.2 ± 1.1 | 16.8 ± 2.6 | 16.1 ± 1.3 | 14.8 ± 1.4 |
| (mg%) | 6.8 ± 0.4 | 7.5 ± 1.4 | 6.9 ± 0.5 | 6.3 ± 0.4 |
| Adrenals (mg) | 64.6 ± 11.8 | 59.9 ± 4.5 | 55.5 ± 8.2 | 63.4 ± 7.4 |
| (mg%) | 26.9 ± 3.3 | 26.7 ± 1.1 | 23.7 ± 3.7 | 27.0 ± 2.7 |

Each value represents the mean ± S.D.

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

Table 3-1. Histopathological findings in SD rats treated with PTU for 28 days

| Sex | Organs and findings | Dose (mg/kg) | 0 | 0.03 | 0.1 | 0.3 | 1 | 3 |
|---------|------------------------------|--|-------------------------|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | | No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | Thyroid | Hypertrophy, follicular cell (±, +, ++) | 0 | 1(1, 0, 0) | 5(4, 1, 0)** | 5(0, 5, 0)** | 5(0, 0, 5)** | 5(0, 0, 5)** |
| | | 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) | 3(3, 0, 0) | 5(5, 0, 0)** | 5(0, 5, 0)** | 5(0, 5, 0)** |
| | | Decrease in T4 level (±, +, ++, +++) ^{a)} | 0 | 1(0,1,0,0) | 4(3,1,0,0)* | 5(1,4,0,0)** | 5(0,0,4,1)** | 5(0,0,0,5)** |
| | Pituitary | Vacuolation, pars distalis (±, +) | 0 | 1(1, 0) | 2(2, 0) | 5(5, 0)** | 5(0, 5)** | 5(0, 5)** |
| | | Hypertrophy, pars distalis (±, +) | 0 | 1(1, 0) | 2(2, 0) | 5(5, 0)** | 5(0, 5)** | 5(0, 5)** |
| Adrenal | Atrophy, cortical (±, +, ++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 5(0, 1, 4)** | 5(0, 1, 4)** | |
| Female | Thyroid | Hypertrophy, follicular cell (±, +, ++) | 0 | 0 | 5(5, 0, 0)** | 5(0, 5, 0)** | 5(0, 1, 4)** | 5(0, 0, 5)** |
| | | Hyperplasia, follicular cell (±, +, ++) | 0 | 0 | 3(3, 0, 0) | 5(2, 3, 0)** | 5(0, 0, 5)** | 5(0, 0, 5)** |
| | | Colloid depletion (+) | 0 | 0 | 2(2, 0, 0) | 4(4, 0, 0)* | 5(0, 5, 0)** | 5(0, 5, 0)** |
| | | Decrease in T4 level (±, +, ++, +++) ^{a)} | 0 | 0 | 5(5,0,0,0)** | 5(2,2,1,0)** | 5(0,3,2,0)** | 5(0,0,0,5)** |
| | Pituitary | Vacuolation, pars distalis (±, +) | 0 | 0 | 0 | 0 | 3(3, 0) | 5(5, 0)** |
| | | Hypertrophy, pars distalis (±, +) | 0 | 0 | 0 | 0 | 5(5, 0)** | 5(0, 5)** |
| Adrenal | Atrophy, cortical (±, +, ++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5(2, 2, 1)** | |

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

^{a)}: Immunohistochemistry for T4

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

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

| Sex | Organs and findings | Dose (mg/kg) | 0 | 0.3 | 1 | 3 | 10 |
|---------|------------------------------|--|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | | No. of animals examined | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Male | Thyroid | Hypertrophy, follicular cell (±, +, ++) | 0 | 5(5, 0, 0)** | 5(1, 4, 0)** | 5(0, 2, 3)** | 5(0, 1, 4)** |
| | | Hyperplasia, follicular cell (±, +, ++) | 0 | 0 | 3(2, 1, 0) | 5(0, 4, 1)** | 5(0, 2, 3)** |
| | | Colloid depletion (+) | 0 | 2(2, 0, 0) | 1(1, 0, 0) | 5(2, 3, 0)** | 5(0, 5, 0)** |
| | | Decrease in T4 level (±, +, ++, +++) ^{a)} | 0 | 4(2,2,0,0)* | 5(3,2,0,0)** | 5(1,3,1,0)** | 5(0,0,5,0)** |
| | Pituitary | Vacuolation, pars distalis (±, +) | 0 | 2(2, 0) | 5(5, 0)** | 5(2, 3)** | 5(0, 5)** |
| | | Hypertrophy, pars distalis (±, +) | 0 | 2(2, 0) | 5(4, 1)** | 5(0, 5)** | 5(0, 5)** |
| Adrenal | Atrophy, cortical (±, +, ++) | 0 | 0 | 0 | 4(2, 2, 0)* | 5(0, 2, 3)** | |
| Female | Thyroid | Hypertrophy, follicular cell (±, +, ++) | 0 | 3(3, 0, 0) | 5(4, 1, 0)** | 5(4, 1, 0)** | 5(0, 0, 5)** |
| | | Hyperplasia, follicular cell (±, +, ++) | 0 | 0 | 3(2, 1, 0) | 5(2, 3, 0)** | 5(0, 3, 2)** |
| | | Colloid depletion (+) | 0 | 0 | 0 | 3(3, 0, 0) | 5(0, 5, 0)** |
| | | Decrease in T4 level (±, +, ++, +++) ^{a)} | 0 | 3(3,0,0,0) | 5(5,0,0,0)** | 5(3,2,0,0)** | 5(0,2,3,0)** |
| | Pituitary | Vacuolation, pars distalis (±, +) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1(1, 0) |
| | | Hypertrophy, pars distalis (±, +) | 0 | 0 | 0 | 1(1, 0) | 5(4, 1)** |
| Adrenal | Atrophy, cortical (±, +, ++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1(1, 0, 0) | |

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

^{a)}: Immunohistochemistry for T4

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

Table 4-1. Overexpressed genes in the thyroid gland of male SD rats treated with PTU and MMI for 28 days

| Probe Name | Gene Symbol | Fold change | | Probe Name | Gene Symbol | Fold change | |
|---------------|--------------|----------------|----------------|--------------|-------------|----------------|----------------|
| | | PTU vs Control | MMI vs Control | | | PTU vs Control | MMI vs Control |
| A_64_P034090 | Adm2 | 57.1 | 52.5 | A_64_P108009 | Nrarp | 5.0 | 3.9 |
| A_64_P056674 | Ly6l | 42.4 | 56.5 | A_42_P464378 | Itih3 | 5.0 | 8.0 |
| A_64_P120679 | Cck | 25.7 | 34.4 | A_64_P087380 | Efna3 | 4.9 | 5.5 |
| A_44_P457203 | Banf2 | 21.3 | 19.5 | A_44_P353739 | Kcne3 | 4.8 | 3.8 |
| A_64_P082281 | Grid1 | 20.6 | 2.2 | A_44_P166206 | Nostrin | 4.7 | 4.7 |
| A_44_P1032771 | Fxyd4 | 17.4 | 22.7 | A_44_P540517 | RGD1564664 | 4.7 | 4.8 |
| A_44_P505902 | Grin2a | 16.0 | 4.1 | A_44_P449858 | Krt20 | 4.7 | 7.7 |
| A_42_P708068 | Egr4 | 15.8 | 18.8 | A_42_P703023 | Slc38a3 | 4.6 | 4.7 |
| A_64_P148906 | Aspg | 13.4 | 15.1 | A_44_P333078 | Adamtsl2 | 4.6 | 5.5 |
| A_64_P052887 | LOC501396 | 12.9 | 24.0 | A_64_P015562 | Meiob | 4.5 | 3.7 |
| A_42_P662543 | Atp6v0d2 | 12.0 | 12.7 | A_64_P067000 | Prima1 | 4.5 | 5.3 |
| A_42_P637189 | Apln | 11.7 | 7.0 | A_44_P915843 | Nectin4 | 4.4 | 4.0 |
| A_64_P061760 | Scgb1d2 | 10.3 | 7.0 | A_64_P162112 | Galp | 4.4 | 5.3 |
| A_44_P317639 | Vash2 | 9.6 | 8.6 | A_64_P034244 | Olr1 | 4.3 | 5.1 |
| A_64_P101404 | Moxd1 | 9.2 | 9.3 | A_64_P114759 | LOC501223 | 4.3 | 7.3 |
| A_42_P811256 | Vmn1 | 9.0 | 8.1 | A_64_P011489 | Gdf15 | 4.3 | 5.6 |
| A_44_P468468 | Lbp | 9.0 | 8.7 | A_64_P012813 | Mab2113 | 4.3 | 7.0 |
| A_44_P835847 | C1qtnf3 | 8.2 | 8.0 | A_64_P017053 | Dnah9 | 4.2 | 2.1 |
| A_64_P054568 | Vash2 | 7.7 | 7.6 | A_64_P117658 | Dync1i1 | 4.2 | 5.3 |
| A_44_P138838 | Krt76 | 7.6 | 7.7 | A_64_P005626 | Anxa9 | 4.2 | 2.8 |
| A_64_P129945 | Krt75 | 7.4 | 6.2 | A_64_P087424 | F2rl1 | 4.2 | 4.5 |
| A_64_P101499 | Bmp3 | 7.3 | 5.6 | A_44_P214900 | Pzp | 4.1 | 3.5 |
| A_44_P428739 | Shc3 | 7.1 | 7.0 | A_64_P068847 | Ltbp2 | 4.1 | 5.7 |
| A_64_P138011 | Adra1b | 7.0 | 8.4 | A_64_P157504 | Ehf | 4.1 | 4.3 |
| A_42_P504653 | F10 | 6.8 | 8.4 | A_44_P370052 | Ldhc | 4.1 | 2.5 |
| A_43_P12996 | Crym | 6.7 | 5.6 | A_42_P709423 | Mlph | 4.1 | 4.6 |
| A_44_P578061 | Mab2113 | 6.6 | 10.0 | A_64_P093522 | Dtna | 4.1 | 3.7 |
| A_64_P144278 | Snph | 6.5 | 8.4 | A_64_P055607 | Elf5 | 4.0 | 3.7 |
| A_64_P149071 | Glis1 | 6.4 | 5.8 | A_44_P577705 | Nectin4 | 4.0 | 3.3 |
| A_42_P738549 | Napsa | 6.3 | 11.6 | A_64_P111903 | Mmp17 | 4.0 | 3.0 |
| A_64_P126030 | Slc22a7 | 6.2 | 5.8 | A_64_P093899 | Elf3 | 4.0 | 3.3 |
| A_64_P007688 | Tlx1 | 5.9 | 4.9 | A_64_P155103 | Vnn3 | 4.0 | 3.7 |
| A_64_P155771 | Upk3bl1 | 5.9 | 3.1 | A_43_P11794 | Tacr3 | 4.0 | 3.3 |
| A_64_P047542 | Tmem54 | 5.8 | 4.4 | A_64_P068363 | Dync1i1 | 3.9 | 5.0 |
| A_42_P586154 | Vwa1 | 5.7 | 6.7 | A_64_P046552 | Sdcbp2 | 3.9 | 4.1 |
| A_64_P031806 | Upk3bl1 | 5.7 | 3.1 | A_44_P447373 | Ass1 | 3.8 | 3.4 |
| A_44_P1026848 | Cryba4 | 5.7 | 8.1 | A_44_P142925 | Tprg1 | 3.8 | 5.5 |
| A_64_P010028 | LOC103692985 | 5.4 | 2.6 | A_44_P409965 | Dnah14 | 3.8 | 4.3 |
| A_64_P101056 | Padi2 | 5.4 | 7.8 | A_42_P698240 | Ptgr1 | 3.8 | 4.1 |
| A_44_P144591 | Cthrc1 | 5.3 | 5.9 | A_44_P264299 | Ckb | 3.7 | 4.0 |
| A_64_P080233 | Slc5a5 | 5.2 | 6.1 | A_42_P791677 | Areg | 3.7 | 9.2 |
| A_64_P006097 | Gjc2 | 5.2 | 5.1 | A_64_P025548 | Tmem26 | 3.7 | 2.6 |
| A_44_P154513 | Tmem40 | 5.2 | 5.6 | A_44_P438863 | Serpine2 | 3.7 | 4.2 |
| A_64_P111898 | Mmp17 | 5.2 | 3.8 | A_64_P005208 | Nqo1 | 3.6 | 4.1 |
| A_44_P1046787 | Sbspon | 5.1 | 8.7 | A_64_P040176 | Nrip3 | 3.6 | 3.2 |
| A_44_P286788 | Ncf4 | 5.1 | 8.4 | A_64_P130025 | Dll1 | 3.6 | 3.4 |
| A_44_P545193 | Hsd11b2 | 5.1 | 6.1 | A_64_P051636 | Pde4c | 3.6 | 4.0 |
| A_42_P559414 | Wnt4 | 5.1 | 5.1 | A_43_P17060 | Them5 | 3.6 | 2.6 |
| A_43_P11560 | Aqp5 | 5.1 | 3.3 | A_64_P078880 | Prm2 | 3.6 | 3.3 |
| A_42_P510565 | Cdhr4 | 5.1 | 4.8 | A_42_P684264 | Tnik | 3.6 | 3.9 |

Table 4-2. Overexpressed genes in the pituitary gland of male SD rats treated with PTU and MMI for 28 days

| Probe Name | Gene Symbol | Fold change | | Probe Name | Gene Symbol | Fold change | |
|---------------|-------------|----------------|----------------|---------------|-------------|----------------|----------------|
| | | PTU vs Control | MMI vs Control | | | PTU vs Control | MMI vs Control |
| A_43_P22979 | Tyrp1 | 210.8 | 173.3 | A_64_P109854 | Fads2b | 4.3 | 3.0 |
| A_42_P771373 | Npy | 161.6 | 104.6 | A_44_P372958 | Tsga13 | 4.2 | 4.2 |
| A_64_P137042 | Npy | 143.6 | 91.7 | A_64_P033765 | Zar1 | 4.1 | 3.1 |
| A_64_P140025 | Tyrp1 | 134.3 | 119.2 | A_64_P137609 | Hs6st2 | 4.0 | 3.9 |
| A_64_P103537 | Cftr | 77.5 | 53.6 | A_64_P044156 | Slc7a3 | 4.0 | 4.0 |
| A_64_P015527 | Dnah14 | 70.6 | 43.9 | A_42_P497225 | Mfge8 | 4.0 | 4.7 |
| A_44_P438272 | Crisp3 | 65.5 | 14.9 | A_64_P072938 | Sfrp5 | 3.9 | 3.7 |
| A_64_P109292 | LOC690507 | 35.9 | 39.6 | A_44_P118874 | Trpc5 | 3.9 | 3.8 |
| A_64_P127526 | LOC690507 | 33.6 | 35.8 | A_44_P236255 | Calb1 | 3.9 | 3.3 |
| A_64_P040563 | Tchhl1 | 27.8 | 16.9 | A_64_P041223 | Creb3l1 | 3.8 | 3.2 |
| A_64_P096924 | Vip | 27.4 | 19.6 | A_64_P019851 | Fads2b | 3.8 | 2.5 |
| A_64_P009996 | Tac1 | 24.7 | 20.2 | A_44_P323754 | Serpinb1b | 3.8 | 2.8 |
| A_44_P179986 | Hpd | 21.6 | 19.6 | A_44_P437896 | Bdnf | 3.7 | 3.6 |
| A_64_P009999 | Tac1 | 20.0 | 16.1 | A_64_P064675 | Capn8 | 3.7 | 2.3 |
| A_64_P048790 | Rln3 | 19.8 | 15.8 | A_44_P224631 | Dao | 3.7 | 4.4 |
| A_44_P314969 | Slc6a3 | 16.3 | 18.0 | A_42_P536741 | Derl3 | 3.6 | 3.2 |
| A_44_P1026848 | Cryba4 | 15.2 | 11.2 | A_64_P024474 | Stum | 3.6 | 3.3 |
| A_44_P170382 | Slc18a2 | 11.9 | 7.5 | A_64_P109118 | Kcnk10 | 3.6 | 2.2 |
| A_42_P809101 | Tctex1d1 | 11.8 | 12.9 | A_44_P257326 | Cacna2d3 | 3.6 | 3.1 |
| A_64_P078619 | Vtn1 | 11.3 | 10.4 | A_64_P011489 | Gdf15 | 3.6 | 3.7 |
| A_42_P487686 | Agr2 | 10.8 | 10.0 | A_64_P138145 | Trex2 | 3.5 | 3.3 |
| A_44_P1001451 | Pga5 | 10.8 | 20.3 | A_44_P548559 | Derl3 | 3.5 | 3.5 |
| A_64_P103542 | Cftr | 10.7 | 7.6 | A_44_P337311 | Thbs4 | 3.5 | 3.4 |
| A_42_P506076 | Ptpn5 | 10.5 | 8.1 | A_64_P089170 | Cxadr1l | 3.4 | 3.7 |
| A_44_P409965 | Dnah14 | 9.4 | 7.1 | A_64_P023250 | Ascl2 | 3.3 | 2.7 |
| A_64_P058087 | Rbp4 | 9.2 | 7.9 | A_64_P019401 | Sdf2l1 | 3.3 | 3.3 |
| A_64_P144968 | Calb2 | 8.0 | 7.3 | A_44_P347368 | Glb1 | 3.3 | 3.9 |
| A_64_P043619 | Slc38a5 | 7.9 | 6.7 | A_64_P035843 | RGD1561251 | 3.3 | 3.1 |
| A_44_P541397 | Procr | 7.6 | 9.7 | A_64_P035544 | Il27ra | 3.3 | 2.8 |
| A_64_P060977 | Fam110c | 7.4 | 6.2 | A_64_P010852 | Lix1 | 3.3 | 3.1 |
| A_64_P065185 | Magel2 | 7.3 | 5.5 | A_64_P089541 | Lix1 | 3.2 | 3.3 |
| A_44_P448431 | Cd8a | 6.8 | 6.9 | A_44_P492025 | Oasl | 3.2 | 2.9 |
| A_64_P072548 | Serpini2 | 6.6 | 6.1 | A_64_P034090 | Adm2 | 3.2 | 3.0 |
| A_64_P067749 | Sst | 6.4 | 4.0 | A_42_P665941 | Glb1 | 3.2 | 3.0 |
| A_43_P13384 | Lrit1 | 6.4 | 5.0 | A_42_P716512 | Cmya5 | 3.2 | 2.8 |
| A_43_P19034 | Magel2 | 6.2 | 6.4 | A_64_P055679 | Il1rapl2 | 3.1 | 3.0 |
| A_43_P14933 | Ggh | 6.1 | 5.7 | A_64_P108200 | Kif22 | 3.1 | 2.4 |
| A_44_P1032042 | Tmem35a | 5.8 | 5.8 | A_64_P084163 | Myh15 | 3.1 | 4.5 |
| A_64_P023381 | Col6a5 | 5.7 | 6.1 | A_44_P414460 | Rnd3 | 3.1 | 2.4 |
| A_64_P026398 | Ntn3 | 5.6 | 6.7 | A_44_P1013851 | Bmp2 | 3.1 | 2.7 |
| A_44_P476160 | Spag16 | 5.6 | 4.7 | A_44_P328256 | Nlrp12 | 3.1 | 3.2 |
| A_44_P398193 | Cgref1 | 5.5 | 6.7 | A_64_P077162 | Wdr49 | 3.1 | 3.5 |
| A_43_P12451 | Slc16a3 | 5.5 | 5.1 | A_43_P14045 | Sema4g | 3.0 | 2.5 |
| A_44_P454227 | Npb | 5.4 | 4.5 | A_42_P540972 | Ras11b | 3.0 | 2.8 |
| A_44_P122386 | Hspb3 | 5.2 | 4.8 | A_44_P440878 | Agpat2 | 3.0 | 2.6 |
| A_44_P506980 | Kcnk13 | 4.9 | 2.3 | A_44_P117148 | Baz1a | 3.0 | 2.4 |
| A_64_P113695 | Myo7a | 4.7 | 4.3 | A_44_P1024703 | Cyb561d2 | 3.0 | 3.0 |
| A_64_P141420 | Serpinb1a | 4.6 | 3.7 | A_64_P006514 | Atp5f1d | 3.0 | 2.1 |
| A_64_P038887 | Cdca7l | 4.4 | 3.8 | A_44_P241448 | MGC109340 | 3.0 | 2.8 |
| A_64_P023472 | Serpinb1a | 4.4 | 3.6 | A_64_P090777 | LOC680045 | 2.9 | 3.0 |

Figure 1-1. Immunohistochemistry for T4 in the thyroid gland of male SD rats treated with PTU for 28 days

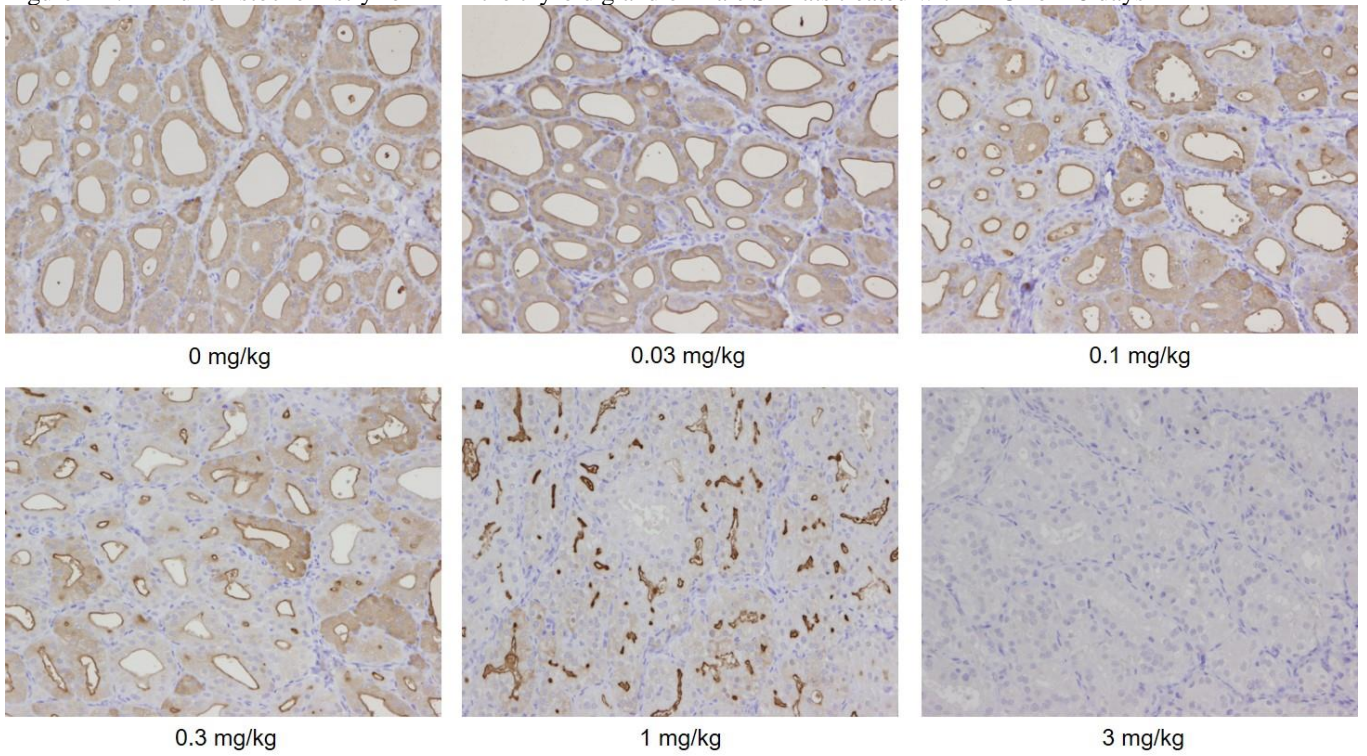


Figure 1-2. Immunohistochemistry for T4 in the thyroid gland of male SD rats treated with MMI for 28 days

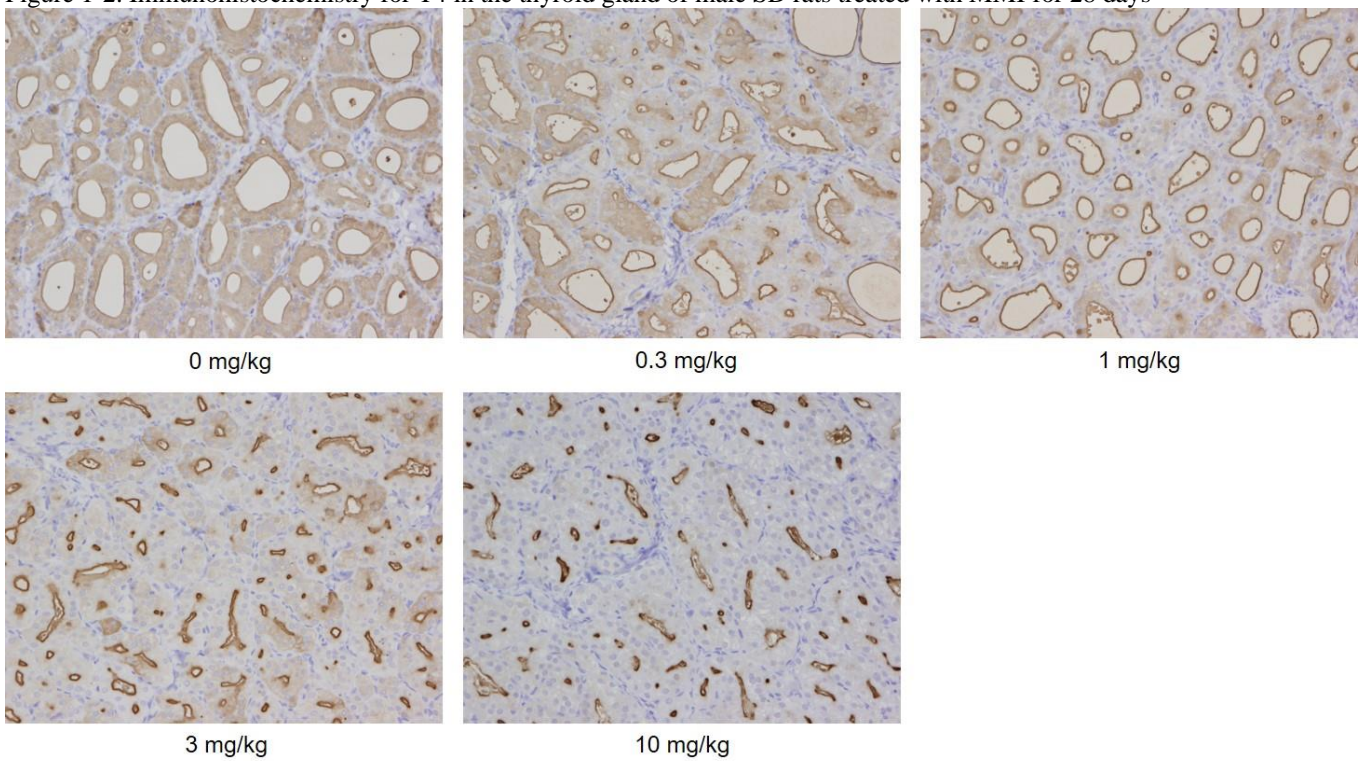


Figure 2-1. Immunohistochemistry for TSH in the pituitary gland of male SD rats treated with PTU for 28 days

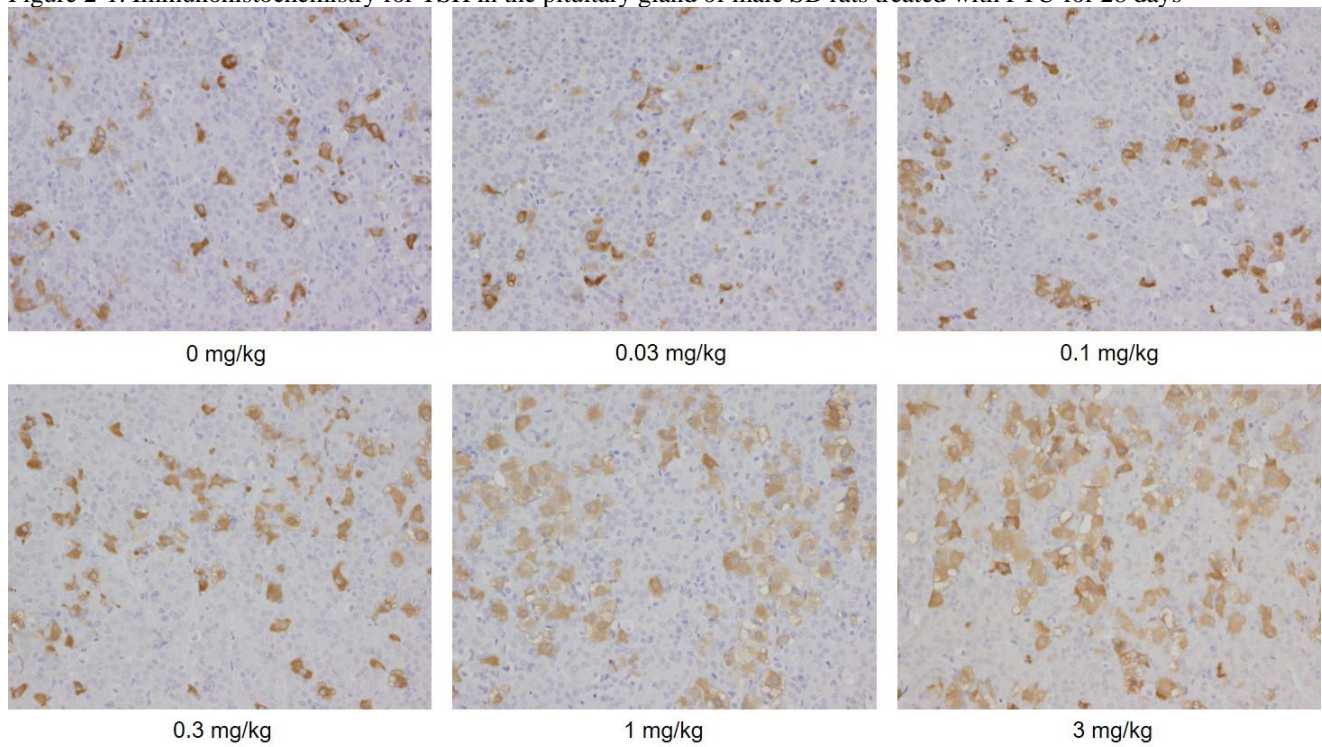


Figure 2-2. Immunohistochemistry for TSH in the pituitary gland of male SD rats treated with MMI for 28 days

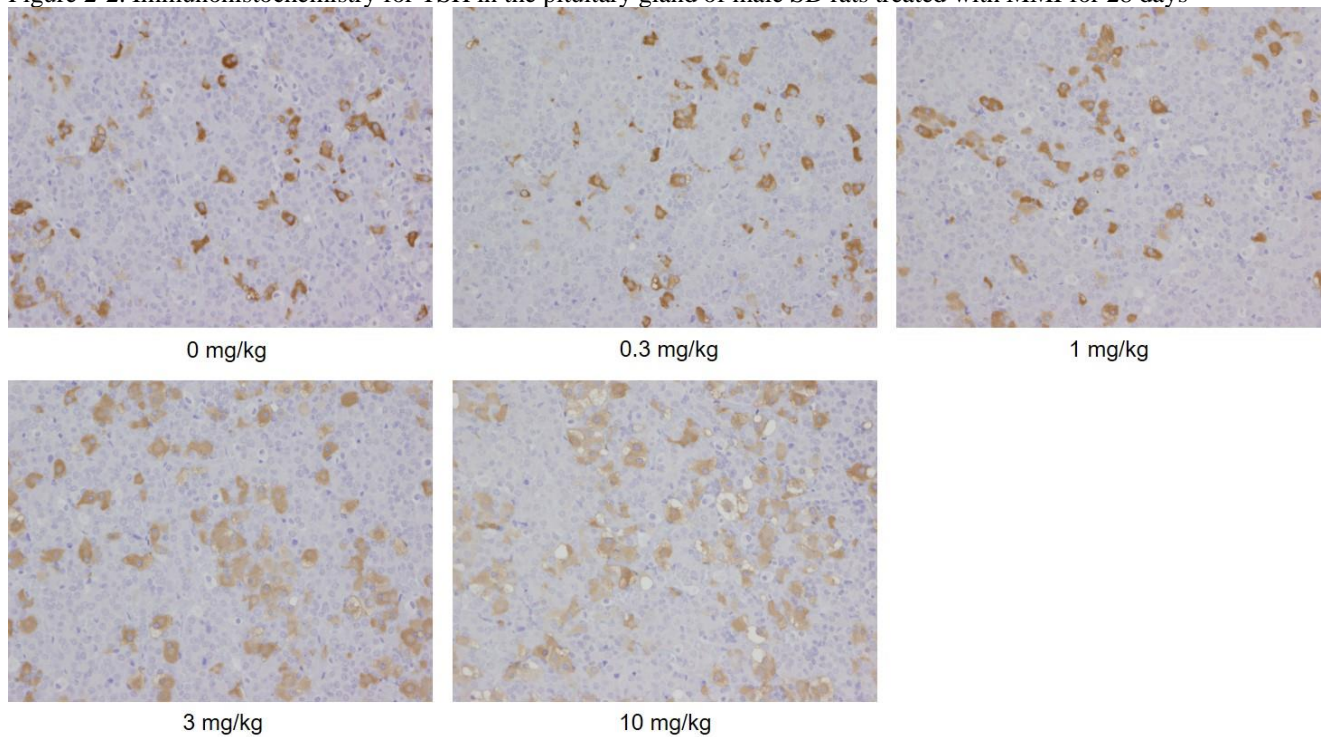


Figure 3. The ratios of TSH-positive area in the pituitary gland of SD rats treated with PTU and MMI for 28 days

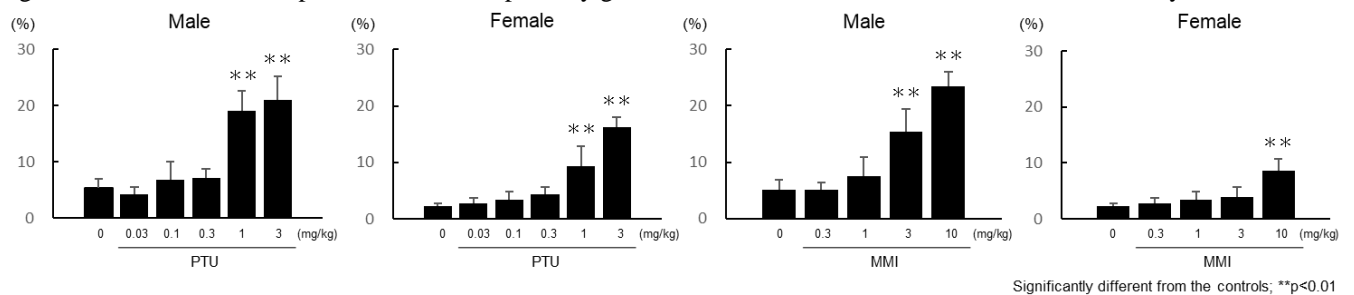


Figure 4. The correlation between the serum TSH level and the ratio of TSH-positive area in the pituitary gland

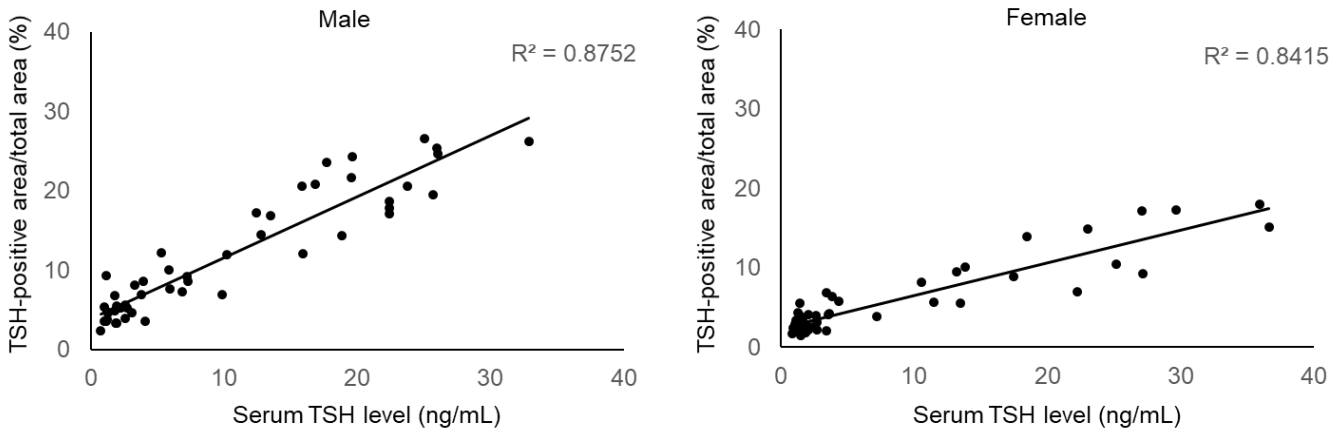


Figure 5. Mean body weight (left) and food consumption (right). *, **: Significantly different from the control group at $P < 0.05$, 0.01 , respectively

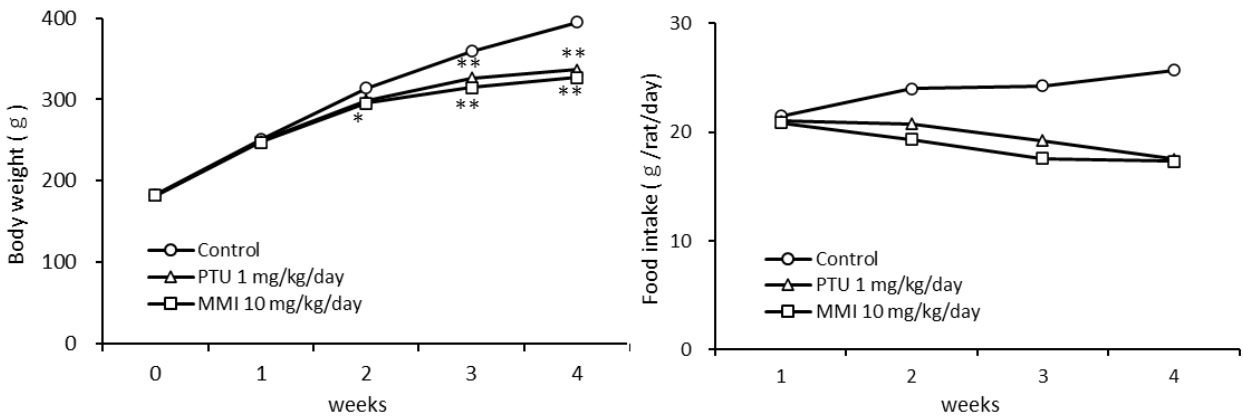


Figure 6. Histopathological findings in the thyroid gland of SD rats treated with PTU and MMI for 28 days

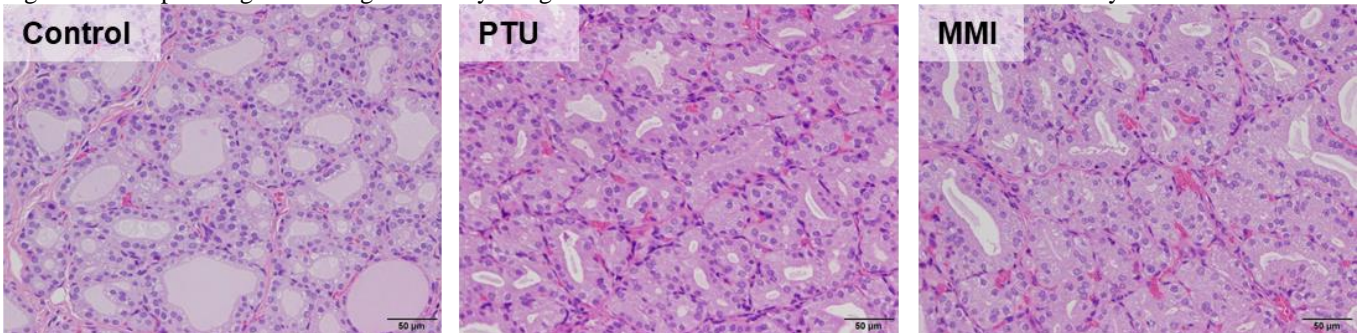


Figure 7. Cluster analysis of microarray data obtained from thyroid (left) and pituitary (right) glands

