

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）  
分担研究報告書

ヒト成人及び胎児組織における SXR の発現に関する研究

東北大学大学院 医学系研究科 医科学専攻 病理学講座 病理診断学分野  
笹野 公伸

研究要旨

SXR は成人及び胎児の肝臓、小腸、大腸、腎臓、肺において発現しており、これらの組織においては CYP3A4、CYP3A5、MDR1 が有意に高い発現量を示した。肝臓における SXR の発現は胎児期から 0 才児で低く、その後、漸増して 30-50 歳でプラトーに達した後は減少し、60-80 歳では胎児期の値まで減少した。他の組織でも、出生後は同様であったが、腎、肺、大腸では SXR の発現が胎児期に高いなど、組織による発現動態の差異が認められた。人体において SXR は薬物代謝を担う組織において発現し、CYP3A や MDR1 の発現と密接に関連していることが示唆された。またこれらの組織における SXR の発現量は発達、加齢の影響を強く受けることが示唆された。

A. 研究目的

SXR はヒト肝、小腸、大腸での発現が報告されているが、その制御下にある CYP3A 及び MDR1 はさらに広く全身に分布しており、他の組織での SXR の関与も示唆される。さらに CYP3A や MDR1 の胎児組織における発現は成人の発現動態とは異なることが知られているが、SXR の胎児における発現動態は不明である。そこで今回我々は、ヒト胎児及び成人各組織での SXR、CYP3A、MDR1 の発現量を比較し、さらに SXR の発現が認められた組織でこれらの遺伝子の加齢による変化についても検討した。

B. 研究方法

対象

成人組織は、死後 2 時間以内に開始された剖検例より採取し、また胎児組織については elective termination により得られた胎児より採取した。なお、採取した組織はいずれも病理組織学的な異常は認められなかった。

Real-Time PCR

PCR 反応は、Light Cycler System (Roch) を使用し、定量的に解析した。陽性対照は全て肝癌細胞 (HuH7) を用いた。

なお、同一サンプルの glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を同様に定量して、各遺伝子の発現量を GAPDH mRNA の発現量に対しての比率として算出した。それらの値について、陽性対照での発現を 100%とした時の割合を求めて実験の評価に用いた。

Laser Capture Microdissection/RT-PCR

Laser Capture Microdissection (LCM) は Laser Scissors™ (Cell Robotics) を使用した。腎臓の糸球体、尿細管及びその間質をそれぞれ切り出し、定法に従って RT-PCR を行った。

(倫理面への配慮)

本研究を遂行するにあたっては、東北大学医学部倫理委員会の承認を得た。(承認番号：1999-54、2000-98)

C. 研究結果

要約

SXR は成人及び胎児の肝、腎、肺、小腸、大腸に発現が認められ、それらの組織では CYP3A4、CYP3A5 及び MDR1 発現が高かった。SXR の発現量は肝臓、小腸で得に高かったが、胎児肝臓での発現は低

かった。各組織での SXR の発現は発達・加齢によって大きく変動し、その変動は組織によって異なるものだった。

#### Real-Time PCR

成人男性 (54 歳) 及び胎児 (16 週齢男児) 各 1 例での検索では、SXR はの肝、腎、肺、小腸、大腸に発現が認められた。CYP3A4、CYP3A5、MDR1 はさらに他の組織にも広く分布していた。成人組織では CYP3A4、CYP3A5 及び MDR1 の発現量が SXR の発現している組織において有意に高かった (図 1A、C、E)。また、胎児組織においても有意差は得られなかったものの、同様の傾向が認められた (図 1B、D、F)。

SXR の発現が認められた組織間におけるその発現量の差異を、成人 25 例、胎児 6 例で検討した。成人では肝臓、腎臓及び小腸での発現が高かった (図 2A)。胎児では肝臓での発現が低く、腎臓、小腸及び大腸での発現が高かった (図 2A)。また、CYP3A4 の発現量は、成人の肝臓及び小腸での発現が非常に高く、腎臓、肺及び大腸での発現は低かった (図 2B)。胎児では各組織での発現は成人のそれと比して低かったが、肝臓、小腸及び大腸での発現が比較的高かった (図 2B)。MDR1 の発現量は、成人の肝臓で非常に高く、その他の胎児組織を含めた各組織での発現は低かった (図 2C)。胎児肺ではほとんど MDR1 の発現が認められなかった (図 2C)。

SXR の発現が認められた各組織において、その発現量に対する発達・加齢による影響を検討した。肝臓における SXR の発現量は、胎児期から 0 歳で低く、その後増加して 30-50 歳でプラトーに達し、60-80 歳では胎児期の値まで減少した (図 3A)。腎臓においては胎児期に発現が高く、出生後はほとんど発現量に変動は認められなかった (図 3B)。肺においては胎児期：14-15 週で発現が高く、その後増減するが一定の傾向は認められなかった (図 3C)。小腸及び大腸では、小腸での発現が 20-30 才で高く、その他では低い発現だった。一方大腸では、胎児期：14-15 週で非常に

高かった。出生直後までは大腸も小腸同様の発現量であったのに対して、成人では大腸の発現は非常に低かった (図 3D)。

#### LCM/RT-PCR

成人 (n=3) 及び胎児 (n=1) 腎臓における SXR mRNA の局在を検討した (図 4)。SXR mRNA は成人では 3 例いずれの尿細管においても発現が認められた。間質においては 3 例中 1 例に発現が認められた。胎児組織では明らかな発現が間質に認められ、微量な発現が尿細管にも認められた。糸球体には成人及び胎児組織ともに SXR mRNA の発現は認められなかった。

#### D. 考察

チトクローム P-450 (CYP) は生体外の薬物・異物や生体内のステロイドなどの物質を代謝し、生体の防御に努めている酵素群である。CYP3A サブファミリーは 150 種類以上もの薬物の代謝に関わることが知られており、CYP3A サブファミリーが生体防御に非常に重要な役割を担っていることが示唆される。ヒトにおける CYP3A は少なくとも 3A4、3A5 及び 3A7 の 3 種類が知られている。CYP3A4 は成人肝臓及び小腸の CYPs の 30%、70%をそれぞれ占めている。しかし、胎児期において CYP3A4 の発現はほとんど認められないことが報告されており、今回データ提示はしていないが、我々の研究においてもその mRNA の発現は胎児期から出生直後まで低い傾向にあった。胎児期では CYP3A7 が重要な役割を担っており、成人では逆にこの酵素の発現はほとんど認められない。CYP3A5 は腎臓に普遍的に発現しているという報告もあるが、我々の定量的 PCR での検索では必ずしも腎臓での発現は高くなかった。CYP3A5 の発現はおよそ 20% のヒトの肝ミクロゾームに存在するという報告例から、非常に個体差が大きいことが示唆される。一方、P-糖タンパク (P-gp) は MDR1 遺伝子によってコードされており、その過剰発現が多剤耐性の癌細胞に認められている。さらに腎近位尿細管、脳毛細血管、肝細胞、消化管上皮細胞などの正常組織においても発現が認められ、異物や

代謝産物を生体外に排出するトランスポーターとして機能している。CYP3A mRNA/タンパク及び MDR1/P-gp はともに薬物動態に深く関わる組織において発現しており、本研究においても発現量の多い組織は一致した。また、その基質においても非常にオーバーラップする点が多い。

SXR はマウス PXR (Pregnane X Receptor) に類似するヒトの核内レセプターとして、1998 年に B. Blumberg らによってクローニングされた。SXR は CYP3A 及び MDR1 の上流領域に位置するレスポンスエレメント (DR3 及び ER6) に結合し、その転写を活性化する。SXR は肝臓、小腸及び大腸に発現することが知られていたが、マウス PXR はさらに腎臓や肺にも発現し、ヒトにおいても今回、新たに腎臓とわずかであるが肺にも発現が認められた。腎臓及び肺は肝臓や消化管と同様に薬物代謝や排出に関与する組織であり、実際にこれら組織での CYP3A 及び MDR1 mRNA の発現が高いことが確認できた。また、本研究ではさらに胎児期においても成人と同組織に SXR mRNA の発現が認められ、CYP3A 及び MDR1 mRNA の発現も高かった。これらのことから、SXR による代謝・排泄に関する制御システムが肝臓、消化管と同じく、腎臓及び肺にも備わっており、それは胎児期からすでに発現、機能していることが示唆された。今回、胎児の肝臓においては SXR mRNA の発現が低く、同様に CYP3A4、MDR1 の発現が低いことが観察されたことから、両遺伝子と SXR が密接に関与していることが考えられる。

本研究では、SXR の発現は発達・加齢の影響を受けることが確認された。肝臓においては、SXR mRNA の発現が低かった胎児期-0 才児及び老齢期に CYP3A4 及び MDR1 mRNA の発現も低いなど、SXR と制御を受ける因子の動向に類似点が認められた。消化管においては、小腸では 20-30 才代で SXR mRNA 発現のピークであったのに対して、大腸ではむしろ胎児期や 0 才児で高い結果となり、同じ消化管でもその発現状況には解離が見られた。消化管に

おける CYP3A4 mRNA の発現は成人の小腸と比較するとかなり低い値であったが、大腸では胎児期の方が 20 倍程度高い値であった。MDR1 については成人小腸で高く、成人大腸、胎児小腸/大腸での発現は低かった。これらのことから、胎児消化管は小腸と同様の代謝能が大腸にも備わっており、成人になると小腸における代謝能が際立ち、大腸では衰退して機能分担が確立されると考えられた。腎臓においては胎児期に SXR mRNA の発現が高く、出生後はほとんど変動認められなかった(データには示していない)。このことから腎臓においては CYP3A4 より MDR1 との関係が示唆されるが、胎児期での動向が異なり、さらなる検討が必要である。また、腎臓においては LCM によってその遺伝子レベルでの局在を明らかにした。成人と胎児では SXR mRNA の局在が一部異なり、このことから発生に伴って SXR の発現意義が異なってくるのかも知れないと考えられる。肺においては胎児期：14-15 週で発現が高く、その後増減するが一定の傾向は認められなかった。CYP3A4 も同様の変動が確認されたが、MDR1 は胎児期は低値であった。肺においては組織内の環境が出生前後で劇的に変動するため、SXR の発現とその意義に対する影響について、詳細な検討が必要であるとも考えられた。

## E. 結論

人体において SXR は生体異物やステロイドホルモンなどに対するセンサーとしての役割が示唆される。SXR は DES などの内分泌かく乱科学物質によって誘導されることが知られている。今回、精巣などの生殖器官での発現は認められず、別途、検査した子宮内膜でも各 phase で陰性であった。しかし、胎児期では成人同様の分布を示していることから、今後、低容量の暴露を含む内分泌かく乱科学物質と SXR との関係、さらに代謝・排泄システムへの影響を追求していくことが必要であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1. Inoue T, Akahira JI, Suzuki T, Darnel AD, Kaneko C, Takahashi K, Hatori M, Shirane R, Kumabe T, Kurokawa Y, Satomi S, Sasano H. Progesterone Production and Actions in the Human Central Nervous System and Neurogenic Tumors. *J Clin Endocrinol Metab.*87: 5325-5331 2002
- 2. Miki Y, Nakata T, Suzuki T, Darnel AD, Moriya T, Kaneko C, Hidaka K, Shiotsu Y, Kusaka H, Sasano H. Systemic distribution of steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in human adult and fetal tissues. *J Clin Endocrinol Metab.*87: 5760-5768 2002
- 3. Sano T, Hirasawa G, Takeyama J, Darnel AD, Suzuki T, Moriya T, Kato K, Sekine H, Ohara S, Shimosegawa T, Nakamura J, Yoshihama M, Harada N, Sasano H. 17beta-Hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression and enzyme activity in the human gastrointestinal tract. *Clinical Science (Lond).*101:485-491 2002
4. Sasano H, TJ Anderson, SG Silverberg, DB Evans, DP Edwards, RJ Santen, P Ramage, ER Simpson, AS Bhatnagar and WR Miller The Validation of New Aromatase Monoclonal Antibodies *J Steroid Biochem Mol Biol* in press
5. Kimura Y, Suzuki T, Kaneko C, Darnel AD, Moriya T, Suzuki S, Handa M, Ebina M, Nukiwa T, Sasano H. Retinoid receptors in the developing human lung. *Clin Sci (Lond).*103:613-621 2002
- 6. Suzuki T, Moriya T, Ishida T, Kimura M, Ohuchi N, Sasano H. In situ Production of Estrogens in Human Breast Carcinoma. *Breast Cancer*1.9:296-302 2002
7. Ioka RX, Kang MJ, Kamiyama S, Kim DH, Magoori K, Kamataki A, Ito Y, Takei YA, Sasaki M, Suzuki T, Sasano H, Takahashi S, Sakai J, Fujino T, Yamamoto TT. Expression cloning and characterization of a novel GPI-anchored HDL binding protein, GPI-HBP1. *J Biol Chem.* 2002
- 8. Suzuki T, Nakamura Y, Moriya T, Sasano H. Effects of steroid hormones on vascular functions. *Microsc Res Tech.*1:76-84 2003
- 9. Suzuki T, Murry BA, Darnel AD, Sasano H. Progesterone metabolism in human leukemic monoblast U937 cells. *Endocr J.*49:539-546 2002
10. Ito A, Yamaguchi K, Onogawa T, Unno M, Suzuki T, Nishio T, Suzuki T, Sasano H, Abe T, Tamai M. Distribution of Organic Anion-Transporting Polypeptide 2 (oatp2) and oatp3 in the Rat Retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 43:858-863 2002
11. Omura M, Sasano H, Fujiwara T, Yamaguchi K, Nishikawa T. Unique cases of unilateral hyperaldosteronemia due to multiple adrenocortical micronodules, which can only be detected by selective adrenal venous sampling. *Metabolism* 51:350-355 2002
12. Maeda S, Suzuki S, Suzuki T, Endo M, Moriya T, Chida M, Kondo T, Sasano H. Analysis of intrapulmonary vessels and epithelial-endothelial interactions

in the human developing lung. *Laboratory Investigation*. 82:293-301 2002

13. Sasano H, Suzuki T, Moriya T. Discerning malignancy in resected adrenocortical neoplasms. *Endocrine Pathology* 12:397-406 2002

14. Iwabuchi M, Endoh M, Hiwatashi N, Kinouchi Y, Shimosegawa T, Masuda T, Moriya T, Sasano H. Three-dimensional Reconstruction and Fractal Geometric Analysis of Serrated Adenoma. *Japanese Journal of Cancer Research* 93:259-266 2002

15 . Noguchi K, Kato K, Moriya T, Suzuki T, Saito M, Kikuchi T, Yang J, Imatani A, Sekine H, Ohara S, Toyota T, Shimosegawa T, Sasano H. Analysis of cell damage in Helicobacter pylori-associated gastritis. *Pathology International* 52:110-118 2002

16. Tsuda H, Sasano H, Akiyama F, Kurosumi M, Hasegawa T, Osamura RY, Sakamoto G. Evaluation of interobserver agreement in scoring immunohistochemical results of HER-2/neu (c-erbB-2) expression detected by HercepTest, Nichirei polyclonal antibody, CB11 and TAB250 in breast carcinoma. *Pathology International* 52:126-134 2002

○ 17. Yang S, Fang Z, Suzuki T, Sasano H, Zhou J, Gurates B, Tamura M, Ferrer K, Bulun S. Regulation of Aromatase P450 Expression in Endometriotic and Endometrial Stromal Cells by CCAAT/Enhancer Binding Proteins (C/EBPs): Decreased C/EBPbeta in Endometriosis Is Associated with Overexpression of Aromatase. *Journal of Clinical*

*Endocrinology and Metabolism* 87:2336-2345 2002

○ 18. Tamura M, Sebastian S, Yang S, Gurates B, Ferrer K, Sasano H, Okamura K, Bulun SE. Up-regulation of cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin synthesis in endometrial stromal cells by malignant endometrial epithelial cells: A paracrine effect mediated by prostaglandin E2 and nuclear factor-kappaB. *Journal of Biochemistry* 2002

19. Ogawa Y, Matsumoto K, Maeda T, Tamai R, Suzuki T, Sasano H, Fernley RT. Characterization of Lacrimal Gland Carbonic Anhydrase VI. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 50:821-8 2002

20. Yamahara K, Itoh H, Yamamoto A, Sasano H, Masatsugu K, Sawada N, Fukunaga Y, Sakaguchi S, Sone M, Yurugi T, Nakao K. New diagnostic procedure for primary aldosteronism: adrenal venous sampling under adrenocorticotrophic hormone and angiotensin II receptor blocker—application to a case of bilateral multiple adrenal microadenomas. *Hypertension* 25:145-152 2002

21. Kageyama Y, Ishizaka K, Iwashina M, Sasano H, Kihara K. A case of ACTH-independent bilateral macronodular adrenal hyperplasia successfully treated by subtotal resection of the adrenal glands: four-year follow-up. *Endocrine Journal* 49:227-229 2002

○ 22. Ito K, Suzuki T, Akahira J, Moriya T, Kaneko C, Utsunomiya H, Yaegashi N, Okamura K, Sasano H. Expression of androgen receptor and

5alpha-reductases in the human normal endometrium and its disorders. *International Journal of Gynecological Cancer* 10:99:652-657 2002

○ 23. Honma W, Shimada M, Sasano H, Ozawa S, Miyata M, Nagata K, Ikeda T, Yamazoe Y. Phenol Sulfotransferase, ST1A3, as the Main Enzyme Catalyzing Sulfation of Troglitazone in Human Liver. *Drug metabolism and disposition* 30:944-952 2002

24. Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Sone M, Noshiro T, Hayashi Y, Sasano H, Shibahara S. Expression of prolactin-releasing peptide and its receptor in the human adrenal glands and tumor tissues of adrenocortical tumors, pheochromocytomas and neuroblastomas. *Peptides* 23:1135-1140 2002

○ 25. Rainey WE, Carr BR, Sasano H, Suzuki T, Mason JI. Dissecting human adrenal androgen production. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 13:234-239. 2002

○ 26. Akahira J, Suzuki T, Ito K, Kaneko C, Darnel AD, Moriya T, Okamura K, Yaegashi N, Sasano H. Differential expression of progesterone receptor isoforms a and B in the normal ovary, and in benign, borderline, and malignant ovarian tumors. *Japanese Journal of cancer Research* 93:807-815 2002

27. Sasano H, Suzuki T, Irle J, Kawal K, Alba M, McNicol AM, Takami H. Adrenal cortical diseases: international case conference. *Endocrine Pathology*. 13:141-148 2002

○ 28. Gurates B, Sebastian S, Yang S,

Zhou J, Tamura M, Fang Z, Suzuki T, Sasano H, Bulun SE. WT1 and DAX-1 inhibit aromatase P450 expression in human endometrial and endometriotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 87:4369-4377 2002.

29. Yamakita N, Murai T, Miyamoto K, Matsunami H, Ikeda T, Sasano H, Mune T, Yasuda K. Variant of pre-clinical Cushing's syndrome: hypertension and hypokalemia associated with normoreninemic normoaldosteronism. *Hypertens Res.* 25:623-630 2002

## 2. 学会発表

1. MINERALOCORTICOID RECEPTOR, TYPE1 AND 2 11BETA-HUDROXYSTEROID DEHYDROGENASE AND TYPE 3 COLLAGEN IN HUMAN AND SHR RAT HEART Akinobu Konishi, Takashi Suzuki, Yasuhiro Miki, Andrew D. Darnel, Takuya mariya, Koichi Tabayashi and Hironobu Sasano. TWENTY-EIGHI INTERNATIONAL ALDOSTERONE CONFERENCE SAN FRANCISCO, CA JUNE 17-18. 2002

○ 2. Analysis of Effects of Diethylstilbestrol on primitive Mullerian cells using Microarray Hironobu sasano, Chika Kaneko, Takashi Szuki Gonryo International Symposium Japan. July 3. 2002

3. Mineralocorticoid Receptor, type 1 and 2 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase and type 3 collagen in human and SHR rat heart Hironobu Sasano, Akinobu Konishi, Takashi Suzuki, Yasuhiro Miki, Chika Tazawai, Yosio Ohta International Congress on Hormonal Steroids and Hormones and

Cancer Fukuoka, October 21-25, 2002

4. Regulation of 11 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase (11 $\beta$ -HSD) in the Early Gestational Fetal Lung-Possible Impact on Lung Development? Andrew D. Darnel, Takasi Suzuki, Hideaki Nakajuma, Akinobu Konisi, Chika Kaneko, Junji Takeama, Hironobu Sasano. International Congress on Hormonal Steroids and Hormones and Cancer Fukuoka, October 21-25, 2002

○ 5. DAX-1, WT1, COUP-TF II and Ad4BP Yoko Sato, Takasi Suzuki, Kumiko Hidaka, Hiroshi Sato, Sadayoshi Ito, Hironobu Sasano. International Congress on Hormonal Steroids and Hormones and Cancer Fukuoka, October 21-25, 2002

○ 6. Steroid Xenobiotic Receptor and Cytochrome P450 3A subfamily in Human Adult and Fetal Tissues Yasuhiko Miki, Takashi Suzuki, Chika Tazawa, Bruce Blumberg, Hironobu Sasano International Congress on Hormonal Steroids and Hormones and Cancer Fukuoka, October 21-25, 2002

7. Aldosterone secretion in patients with idiopathic hyperaldosteronism combined with Cushing's syndrome due to cortisol-producing adrenal adenoma. Yoshihiko Yamada, Masao Omura, Satoshi Itou, Hirohisa Ysuchiya, Kazuhiko Hoshino, Masamichi Mori, Hironobu Sasano and Hisashiko Sekihara International Congress on Hormonal Steroids and Hormones and Cancer Fukuoka, October 21-25, 2002

8. The regulation of in situ estrogen activity in human endometrial carcinoma Hiroki Utsunomiya, Takashi

Suzuki, Chika Kaneko, Takako Kitamura, Nobuhiro Harada, Kiyoshi Ito, Nobuo Yaegashi, Kunihiro Okamura, and Hironobu Sasano International Congress on Hormonal Steroids and Hormones and Cancer Fukuoka, October 21-25, 2002

9. The validation of new aromatase monoclonal antibodies for immunohistochemistry H Sasano, TJ Anderson, SG Silverberg, DB Evans, DP Edwards, RJ Santen, P Ramage, ER Simpson, AS Bhatnagar, WR Miller Aromatase 2002 Kyoto October 26-30 2002

○ 10. Steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in human breast carcinoma T Suzuki, Y Miki, T Nakata, Y Shiotsu, S Akinaga, T Moriya, H Sasano Aromatase 2002 Kyoto October 26-30 2002

○ 11. Estrogen metabolism in situ in atherosclerotic human aorta Y Nakamura, Y Miki, T Suzuki, AD Darnel, T Moriya, C Tazawa, H Saito, T Ishibashi, S Takahashi, S Yamada, H Sasano Aromatase 2002 Kyoto October 26-30 2002

○ 12. Steroid and Xenobiotic Receptor and estrogen synthesis/metabolic enzymes in human breast carcinoma Y Miki, T Suzuki, C Tazawa, M Matsui, T Ishida, M Kimura, B. Blumberg, H Sasano Aromatase 2002 Kyoto October 26-30 2002

13. 機能性右副腎腫瘍を合併した Cushing 病の一例 村上治、在原善英、戸恒和人、佐藤文俊、伊藤貞嘉、曾根正彦、高橋和弘、池田秀敏、鈴木貴、笹野公信、毛利虎一 第4回日本内分泌学会東北地方会 仙台 2002.04.13

○14. ヒト成人及び胎児組織における steroid sulfatase 及び estrogen sulfotransferase の分布 三木康宏、鈴木貴、金子智香、日高久美子、中田泰介、塩津行正、日下英昭、笹野公伸 第4回日本内分泌学会東北地方会 仙台 2002.04.13

15. ヒト胎児気道上皮細胞株における  $11\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase ( $11\beta$ -HSD) Types 1 and 2 の発現調査機構の解析 鈴木貴、鈴木総、木村雄一郎、小西章敦、金子智香、武山淳二、笹野公伸 第4回日本内分泌学会東北地方会 仙台 2002.04.13

16. ヒト乳癌組織における estrogen sulfotransferase の発現 鈴木貴、中田泰介、三木康宏、金子智香、日高久美子、森谷卓也、石田孝宣、秋永士郎、木村道夫、笹野公伸 第4回日本内分泌学会東北地方会 仙台 2002.04.13

17. ヒト肺癌組織における性ステロイド受容体の発現 呂良英、鈴木貴、菊池歩美、日高久美子、鈴木総、半田政志、近藤丘、笹野公伸 第4回日本内分泌学会東北地方会 仙台 2002.04.13

18. 胸腺腫における性ステロイドホルモン受容体の検討 石橋洋則、鈴木貴、鈴木総、近藤丘、半田政志、笹野公伸 第4回日本内分泌学会東北地方会 仙台 2002.04.13

19. 過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome: IBS) 大腸粘膜におけるマクロファージの動態と CRH neuro peptide family 太田達郎、福土審、唐橋晶子、大谷明夫、本郷道夫、名倉宏、笹野公伸 第4回日本内分泌学会東北地方会 仙台 2002.04.13

20. 電線ブロックを利用した脂肪染色方法 (電線・光顕連続観察の有用帥 H) 望

月静枝、長沼廣、森谷卓也、斎藤喬雄、笹野公伸 第18回学術講演会および総会 埼玉 2002.04.26~28

21. シンポジウム4 脳とステロイドホルモン 岡本光弘、笹野公伸 第75回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

○22. ヒト脳および脳腫瘍におけるプロゲステロンの産生と作用 井上宰、鈴木貴、隈部俊宏、白根礼造、鳥羽正仁、高橋和広、黒川良望、里見進、笹野公伸 第75回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

23. 副腎皮質腫瘍の良悪性の鑑別の最近の進歩 笹野公伸、鈴木貴 第75回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

24. アルドステロン産生微小副腎皮質病変の病理 笹野公伸、鈴木貴 第75回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

25. 慢性関節リウマチ滑膜組織における性ステロイド受容体の発現 石塚正人、鈴木貴、三木康宏、金子智香、笹野公伸 第75回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

26. 動脈硬化病変でヒト大動脈に発現するエストロゲンレセプターのサブタイプの検討 中村保宏、鈴木貴、三木康宏、金子智香、笹野公伸 第75回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

○27. ヒト全身組織における Dosage-Sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia gene on the X chromosome gene-1(DAX)の発現一免液体疫組織学的検討 佐藤容子、鈴木貴、森谷卓也、笹野公伸 第75回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

28. 原発性アルドステロン症における責任病巣の確定診断法と手術的応に関する検討 大村昌夫、斎藤淳、山田佳彦、笹野公伸、関原久彦、西川哲男 第75回日本内分泌



学会 大阪 2002.06.28~30

29. ACTH 非依存性大結節性副腎皮質過形成による preclinical Cushing 症候群 4 例；内分泌学的特徴と治療方法の検討 小出尚史、内田大学、大塚優子、布施まさみ、吉田知彦、龍野一郎、斎藤康、市川智彦、笹野公伸 第 75 回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

30. 機能性右副腎腫瘍を合併した Cushing 症の一例 村上治、在原善英、戸恒和人、佐藤文俊、伊藤貞嘉、曾根正彦、高橋和彦、池田英敏、鈴木貴、毛利虎一 第 75 回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

○ 31. ヒト乳癌組織における steroid sulfatase 及び estrone sul-fotransferase の発現 鈴木貴、三木康宏、森谷卓也、石田孝宣、中田康介、塩津行正、秋永士郎、井上謙吾、木村道夫、笹野公伸 第 75 回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

32. ジエチルスチルベステロール (DES) による遺伝子発現制御の解析 金子智香、鈴木貴、仙波秀峰、五来逸雄、笹野公伸 第 75 回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

33. 高血圧の急激な増悪が発見の端緒となったアルドステロン産生副腎癌の 1 例 山下りか、黒沢正喜、浜田明子、橋本重厚、緑川早苗、渡辺毅、笹野公伸 第 75 回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

34. ヒト胎児気道上皮細胞株 (W1-26VA4) における  $11\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase ( $11\beta$ -HSD) の局所調節機構の解析 打音流アンドリュウ、鈴木貴、鈴木聡、小西章敦、武山淳二、木村雄一郎、金子智香、笹野公伸 第 75 回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

35. 片側副腎の double adenoma による Cushing 症候群の一例 小澤恵、沖隆、

中村浩淑、笹野公伸 第 75 回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

36. 胸腺腫細胞における性ステロイドホルモン受容体の検討 石橋洋則、鈴木貴、鈴木聡、明石功、滝沢登一郎、砂盛誠、半田政志、近藤丘、笹野公伸 第 75 回日本内分泌学会 大阪 2002.06.28~30

37. in situ ハイブリダイゼーションの基礎とトラブルシューティング 笹野公伸 第 27 回組織細胞化学講習会 群馬 2002.08.07

38. G コース in situ Hybridization 法の講義とマイクロプローブを用いたラビット in situ Hybridization 法の実習 笹野公伸、佐藤雄一 第 27 回組織細胞化学講習会 群馬 2002.08.08

39. G コース MicroProbe 法を用いた mRNA in situ hybridization の研究への応用 笹野公伸 第 27 回組織細胞化学講習会 群馬 2002.08.08

40. 終糸発生傍神経節腫の一例 渡辺みか、相澤俊峰、森谷卓也、笹野公伸 第 6 回日本内分泌病理学会総会 東京 2002.10.18~19

41. ヒト乳癌組織における monoamine-sulfating phenol sulfotransferase (M-PST) の発現 鈴木龍児、鈴木貴、三木康宏、田澤智香、中田泰介、笹野公伸 第 5 回日本内分泌学会東北地方会 秋田 2002.9.28

42. ヒト組織における  $17\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $17\beta$ -HSD) type 11 の局在 鈴木貴、福富玲子、笹野公伸 第 5 回日本内分泌学会東北地方会 秋田 2002.9.28

○ 43. ヒト成人及び胎児組織における Steroid and Xenobiotic Receptor の発現 三木康宏、鈴木貴、田澤智香、Bruce

Blumberg、笹野公伸 第5回日本内分泌学会東北地方会 秋田 2002.9.28

44. 乳腺 cystic hyperetory hyperplasia の一例 森谷卓也、秋保伸彦、武山淳二、遠藤希之、平川久、木村道夫、笹野公伸 第41回日本臨床細胞学会秋期大会 2002.10.31

45. 多彩な細胞形態を示した乳腺化生性癌の一例 戸村弘樹、星川友紀、三浦弘守、森谷卓也、笹野公伸 第41回日本臨床細胞学会秋期大会 2002.10.31

46. 乳腺原発血管肉腫の1例 秋保信彦、森谷卓也、三浦弘守、高崎健司、遠藤希之、武山淳二、平川久 第41回日本臨床細胞学会秋期大会 2002.10.31

47. 小円形細胞から成る骨軟部腫瘍の細胞形態学的特徴—ユーイング肉腫を中心に— 三浦弘守、渡辺みか、森谷卓也、高崎健司、遠藤希之、笹野公伸 第41回日本臨床細胞学会秋期大会 2002.10.31

48. 両側副腎腫瘍を有し局在診断に苦慮した原発性アルドステロン症の一例 菅原明、竹内和久、鈴木貴、笹野公伸、伊藤貞嘉 第4回東北副腎研究会 仙台 2002.12.7

49. 画像診断で確認できなかった微小腺腫を伴う原発性アルドステロン症の一例 佐藤文俊、井根省三、阿部高明、種本雅之、阿部倫明、在原善英、竹内和久、伊藤貞嘉、石戸谷滋人、荒井陽一、鈴木貴、笹野公伸、石橋忠司 第4回東北副腎研究会 仙台 2002.12.7

50. カテコールアミン過剰を呈した副腎腺腫による preclinical Cushing 症候群について 小島元子、田中健一、亙理裕昭、横山純、内海康文、笹野公伸 第4回東北副腎研究会 仙台 2002.12.7

○ 51. 乳癌組織における steroid and xenobiotic receptor の発現 三木康宏、

鈴木貴、金子智香、松井恵、石井孝宣、木村道夫、Bruce Blumberg、笹野公伸 第3回ホルモンと癌研究会 仙台 2002.8.2-3

52. ヒトミューラー管細胞における diethylstilbestrol(DES)作用 田澤智香、鈴木貴、笹野公伸 第3回ホルモンと癌研究会 仙台 2002.8.2-3

53. ヒト肺癌における性ステロイド受容体の発現意義 呂良英、鈴木貴、鈴木聡、半田政志、近藤丘、笹野公伸 第3回ホルモンと癌研究会 仙台 2002.8.2-3

54. 胸腺腫における性ステロイドホルモン受容体の検討 石橋洋則、鈴木貴、鈴木聡、明石巧、滝沢登一郎、砂盛誠、半田政志、近藤丘、笹野公伸 第3回ホルモンと癌研究会 仙台 2002.8.2-3

55. 皮膚附属器腫瘍における性ステロイドホルモンレセプターの免疫組織学的検討 荻谷嘉之、森谷卓也、鈴木貴、笹野公伸 第3回ホルモンと癌研究会 仙台 2002.8.2-3

図1 SXR 発現組織群及び非発現組織群における CYP3A4、CYP3A5 及び MDR1 の発現量の比較

成人1例(54才、男性)の全身組織において、SXR mRNAの発現している組織群(肝臓、腎臓、肺、小腸及び大腸)と発現していない組織群にわけ、CYP3A4、CYP3A5 及び MDR1 mRNAの発現量を比較した。値は GAPDHの定量値で補正し、陽性対象の発現に対する割合(%)で評価した。A: 成人組織、B: 胎児組織における CYP3A4 mRNA 発現量の比較。A: 成人組織、B: 胎児組織における CYP3A5 mRNA 発現量の比較。A: 成人組織、B: 胎児組織における MDR1 mRNA 発現量の比較。+: SXR 発現組織群、-: SXR 非発現組織群

図2 SXR の発現が認められた組織間におけるその発現量の比較

SXR、CYP3A4 及び MDR1 mRNA の各発現量は GAPDH の定量値で補正し、陽性対象の発現に対する割合(%)で評価した。症例数は成人25例、胎児6例(小腸及び大腸は成人16例、胎児5例)。A: SXR mRNA の発現量、B: SXR mRNA の発現量、C: MDR1 mRNA の発現量、エラーバーは標準誤差、a):  $223 \pm 31.88$ 、b):  $47.5 \pm 24.3$ 、c):  $16.8 \pm 4.22$

図3 SXR の発現量に対する発達・加齢の影響

胎児組織は14-15 week (n=3)、16-18 week (n=3)でそれぞれ1グループとし、出生後は0才(n=4)、10-20才(n=3)、30才(n=3)、40-50才(n=4)、60才(n=3)、70才(n=4)及び80才(n=4)にグループわけした。小腸及び大腸は14-15 week (n=3)、17-18 week (n=2)、0才(n=4)、20-30才(n=6)、70-80才(n=6)にわけた。SXR mRNAの発現量はGAPDHの定量値で補正し、陽性対象の発現に対する割合(%)で評価した。A: 肝臓組織、B: 腎臓組織、C: 肺組織、D: 小腸及び大腸組織

図4 成人及び胎児腎臓における SXR mRNA の局在

成人(n=3: データにはこのうち1例の結果を示した。)及び胎児(n=1)腎臓における SXR mRNA の局在を検討した。SXR mRNA は成人では3例いずれの尿細管においても発現が認められた。GAPDH はいずれのサンプルにおいても発現を認めた。Gl: 糸球体、T: 尿細管、S: 間質、K: 腎臓組織、PC: 陽性対象(HuH7)、NC: 陰性対象(cDNAを含まない)、M: マーカ―(100bp)、SXR: 218bp、GAPDH: 317bp

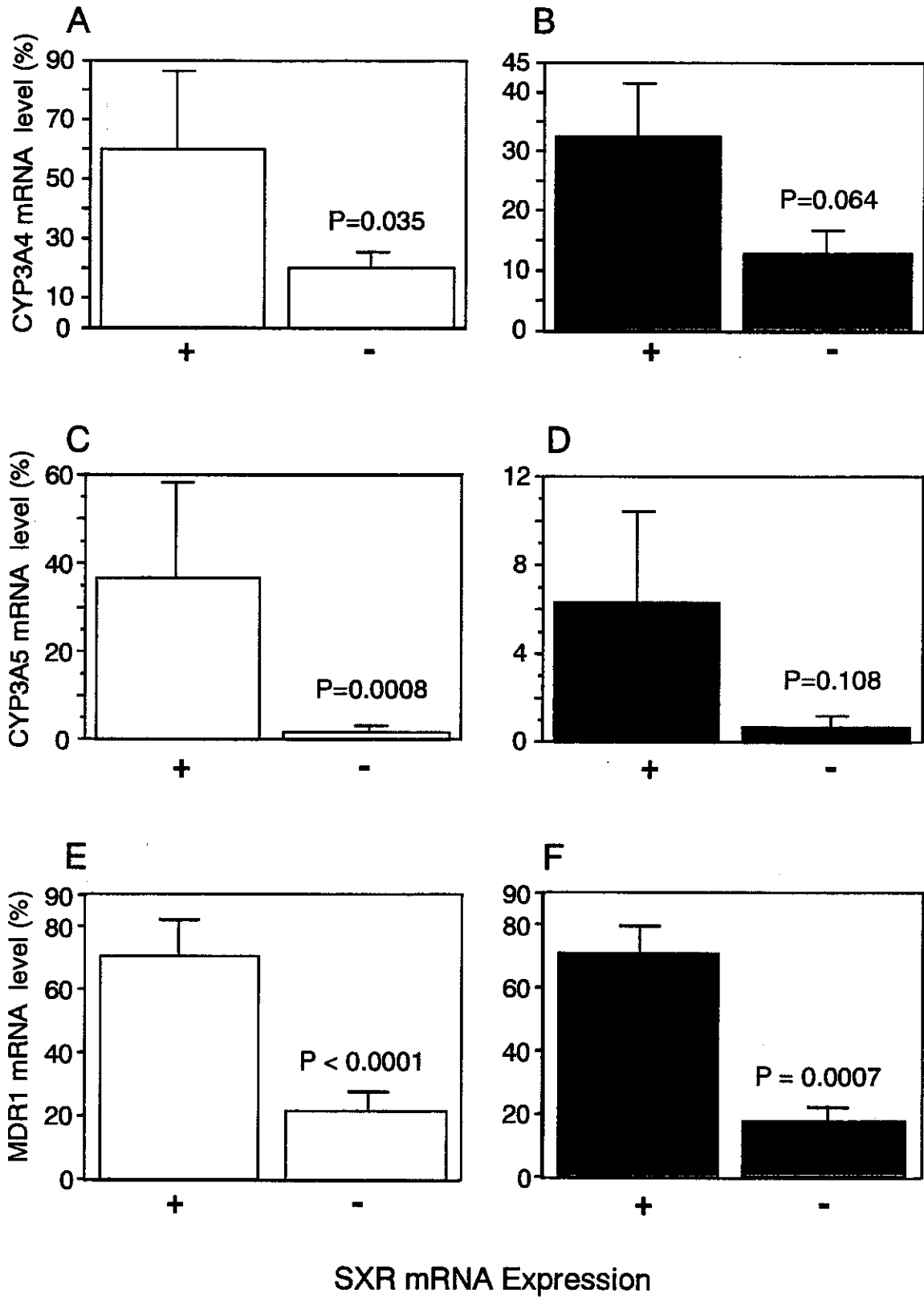


図1 SXR 発現組織群及び非発現組織群における CYP3A4、CYP3A5 及び MDR1 の発現量の比較

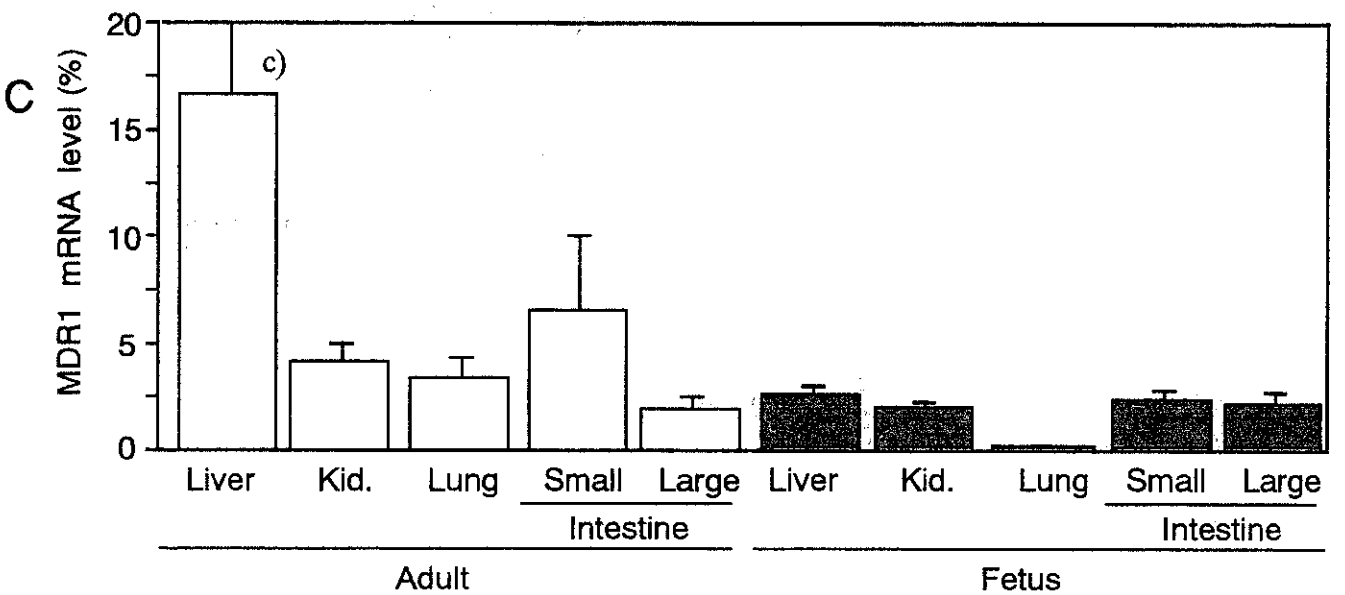
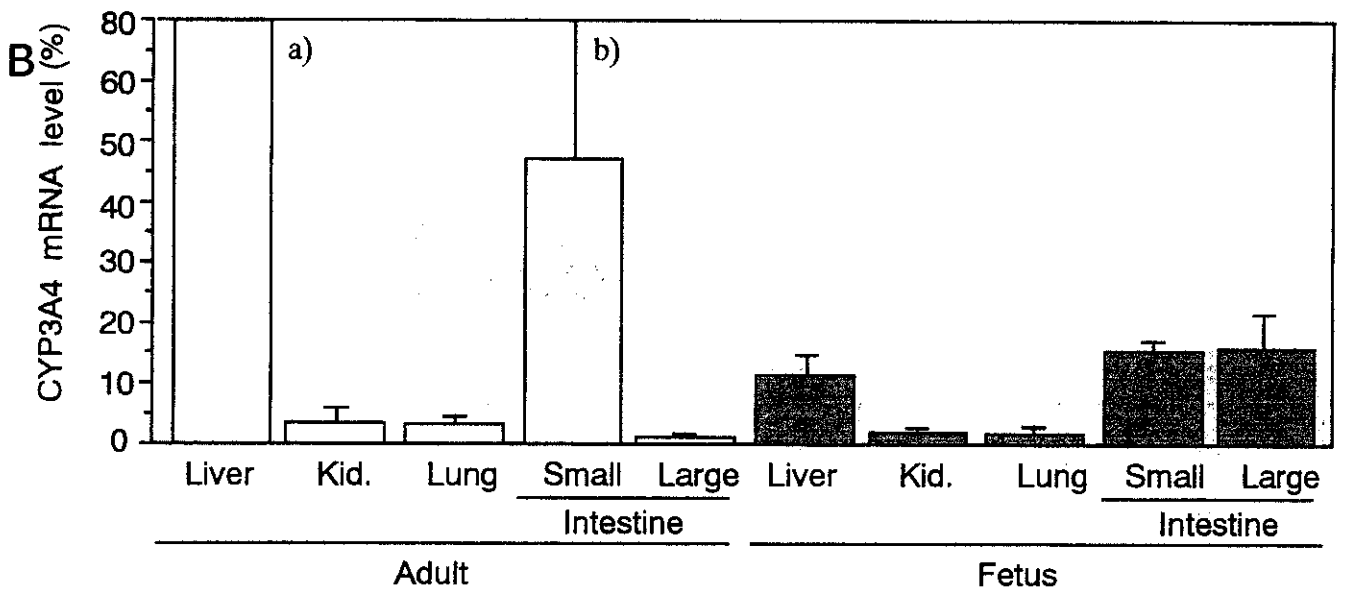
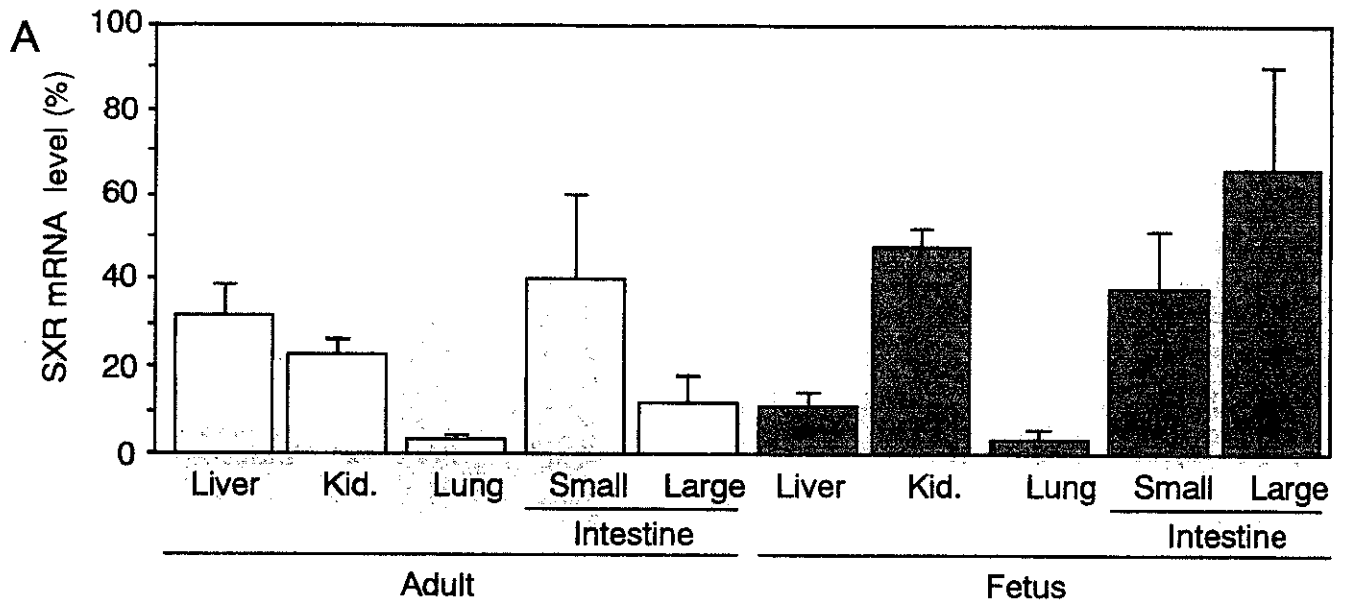


図2 SXRの発現が認められた組織間におけるその発現量の比較

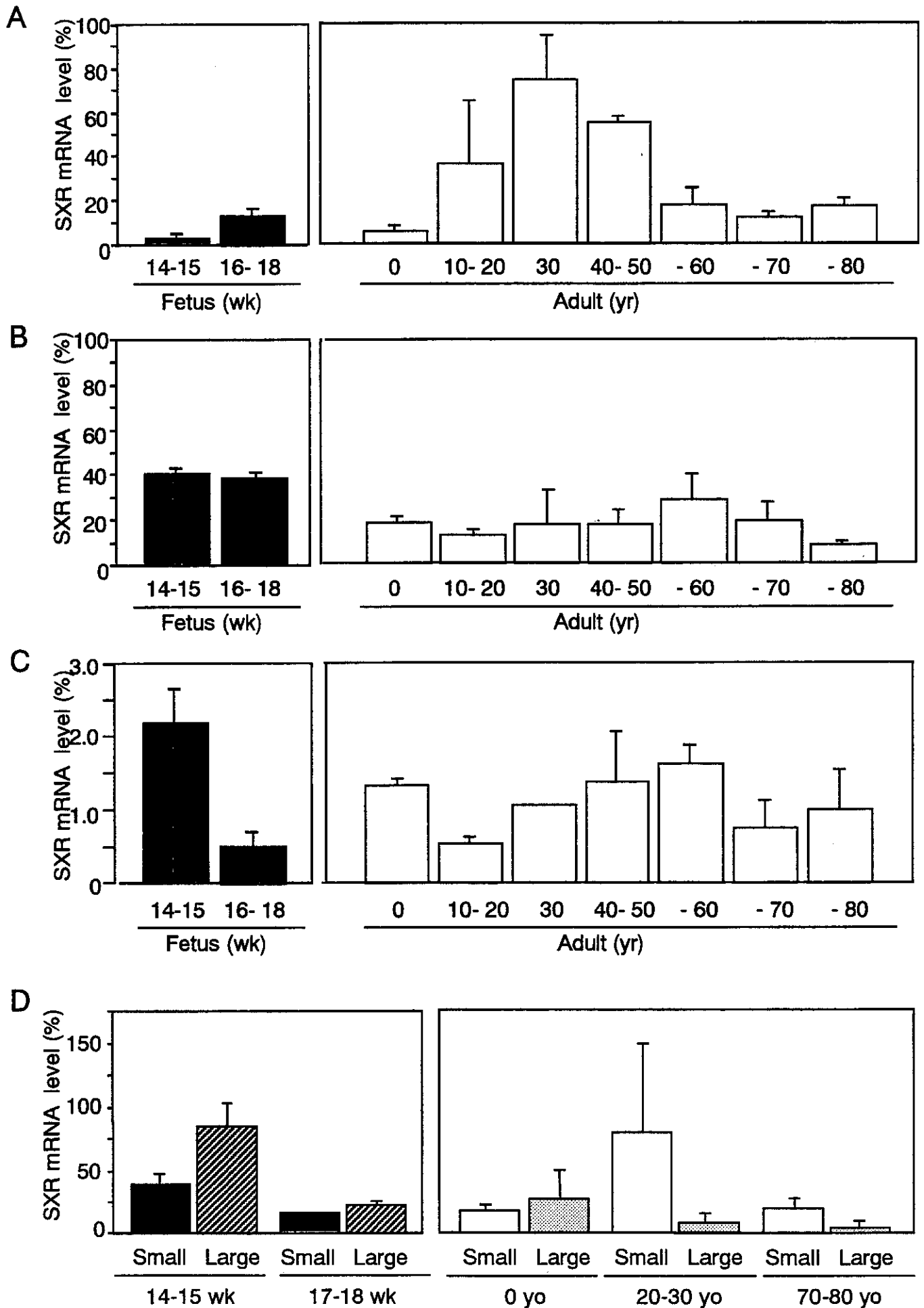


図3 SXRの発現量に対する発達・加齢の影響

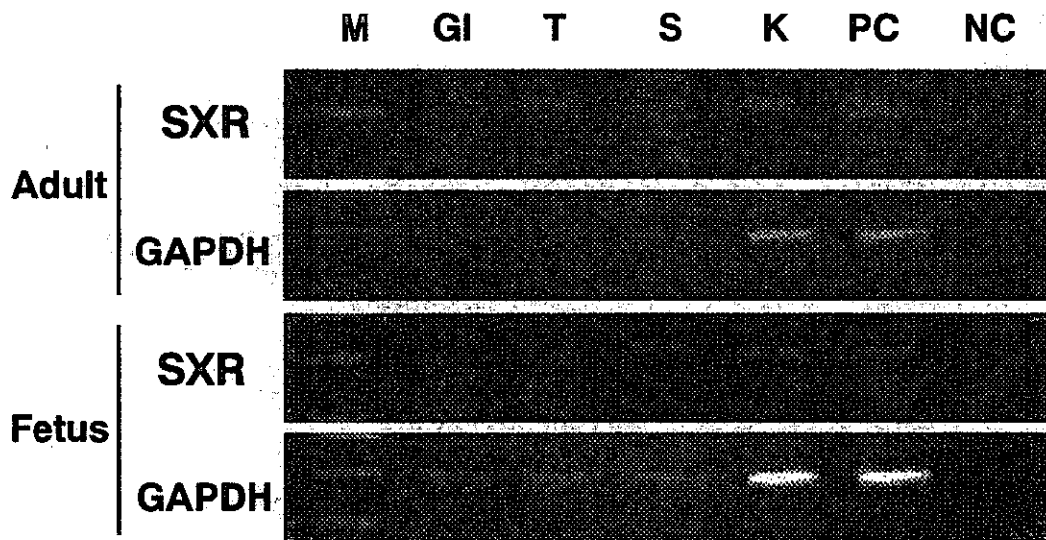
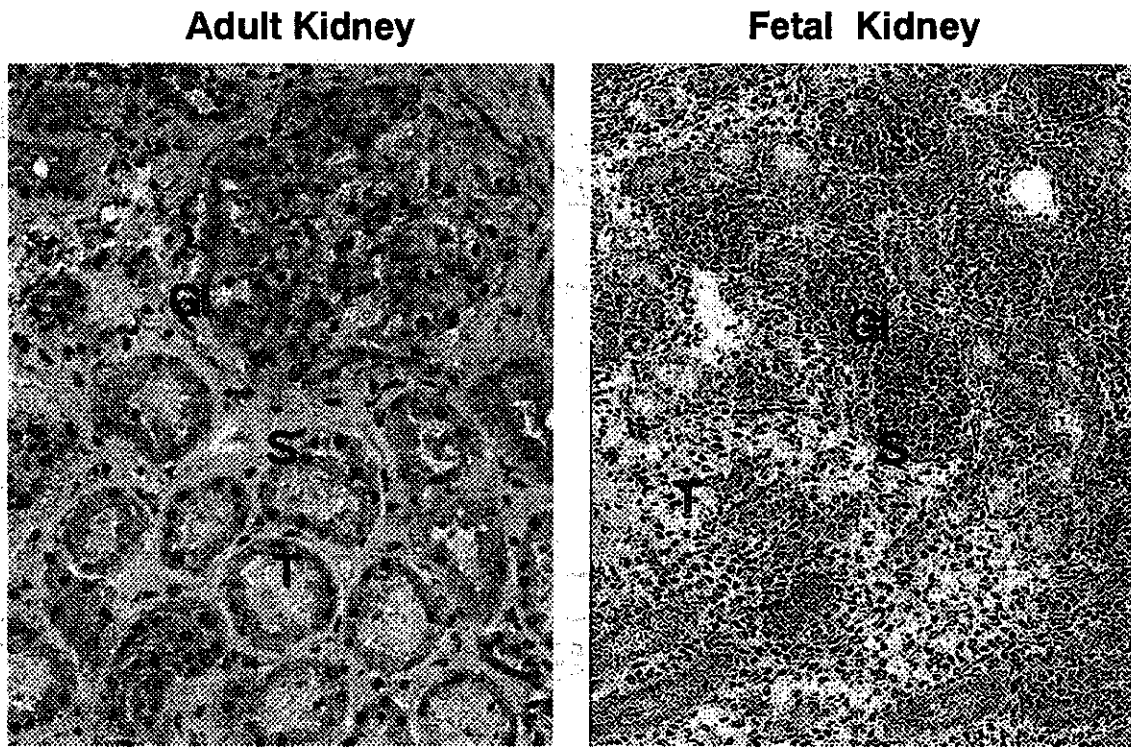


図4 成人及び胎児腎臓における SXR mRNA の局在

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）  
分担研究報告書

低用量内分泌かく乱化学物質の免疫系に及ぼす影響に関する研究

廣川 勝昱  
東京医科歯科大学

研究要旨

内分泌かく乱化学物質(EDCs、5種類)の胸腺リンパ球の増殖・分化に与える影響を胎仔胸腺器官培養システムを用いた *in vitro* の実験系で検討した。昨年度の報告より更に低用量の EDCs 添加でも未熟胸腺リンパ球亜集団である CD44<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>から CD44<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>への分化が抑制された。

これらの結果は低用量の EDCs が生体内に取り込まれた場合、T 細胞の分化過程が抑制され、免疫系に影響を及ぼす可能性のある事が示唆された。また、胎仔胸腺器官培養システムが低容量の EDCs の免疫系へ

A. 研究目的

免疫系は感染に対する生体防御機構として働くと共に、内部環境のホメオスターシスを維持する上で重要な役割を果たしている。ホメオスターシスの維持においては、免疫系は神経系と内分泌系との緊密な総合作用をしながらその役割を果たしている。免疫系の主要構成細胞であるリンパ球は抗体やサイトカインを作るだけでなく、エンドルフィンなどの神経伝達物質や各種下垂体ホルモンを産生し、それらに対する受容体も持つ。リンパ球はステロイドを作らないが、副腎皮質ホルモンや性ホルモンに対する受容体を持ち、ステロイドの影響を受け易いようになっている。従って、環境にある EDCs が免疫系に影響を及ぼすことは必至である。

本実験では内分泌かく乱化学物質(EDCs)として、合成ホルモン(Diethylstilbestrol: DES)、天然エストロゲン(17β-Estradiol)、ビスフェノール(Bisphenol A)、アルキルフェノール類(p-n-Octylphenol) およびフタル酸類(Benzyl n-butyl phthalate)を用い、これら EDCs のマウス胸腺リンパ球への影響について、*in vitro* の実験系で検討した。

B. 研究方法

1. 動物：胎生 15 日齢 C57BL/6 マウスを用いた。

2. 内分泌かく乱化学物質：Diethylstilbestrol

(DES, Sigma: D4628)、Bisphenol A (BPA, Wako: 025-13541)、17β-Estradiol (E2 Nakarai: 14541-61)、p-n-Octylphenol (OP, Wako: 159-0261)、Benzyl n-butyl phthalate (BBP, Wako:023-06371) を DMSO に溶解して用いた。

3. 胸腺微小環境内における未熟胸腺リンパ球の増殖・分化への影響：

胎生 15 日齢 C57BL/6 マウス胎仔胸腺を用い、V 底マイクロプレート内で高酸素下胎仔胸腺器官培養(70%O<sub>2</sub>・5%CO<sub>2</sub>・25%N<sub>2</sub>:HOS-FTOC)を行い、DMSO に溶解した各種内分泌かく乱物質(最終濃度：1nM～0.01nM)を添加し、7日後に培養胸腺組織から胸腺細胞を回収し FITC-抗 CD4 抗体と PE-抗 CD8 抗体を用いた 2 重染色および FITC-抗 CD25 抗体、PE-CD44 抗体、PerCP-抗 CD4 抗体、PerCP-抗 CD8 抗体を用いた 3 重染色を施しフローサイトメトリーにて胸腺リンパ球の増殖・分化への影響を検討した。

(倫理面への配慮)

所属施設である東京医科歯科大学実験動物委員会発行の「東京医科歯科大学における動物実験の手引きに」に従い動物実験を実施した。

C. 研究結果



## 1. 未熟胸腺細胞の胸腺内における分化・増殖への影響:

フローサイトメトリー解析では胎生 15 日齢未熟胸腺細胞は CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> (DN) のサブセットのみで構成され、前方散乱光(FSC)強度の高いサイズの大きい細胞からなる。分化成熟すると FSC 強度が低下し、細胞のサイズが小さくなるとともに CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> (DN) から CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (DP)、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> (4SP)、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (8SP) のサブセットに分化する。この DN サブセットの中では更に CD44<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> (DN1) → CD44<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (DN2) → CD44<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (DN3) → CD44<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> (DN4) と分化過程をたどる。このような生体内での動態が *in vitro* でも観察することが出来るのが HOS-FTOC の特徴である。HOS-FTOC 7 日間培養によりコントロールでは胸腺細胞の小さな細胞が増加し、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> (DN) から CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (DP) が主をなす 4 つのサブセットに分化・増殖する。一方、EDCs が添加された HOS-FTOC では対照群に比べ生存する細胞数が少なく、DP 細胞も低値を示し未熟胸腺細胞の割合が高かった。この未熟胸腺細胞の CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> サブセットのなかでも CD44<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> (DN1) の割合がコントロールに比べ高値を示し、CD44<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> (DN1) → CD44<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (DN2) の分化過程が抑制された。この抑制効果は昨年度の研究報告より更に低用量の 1 nM 以下の添加でも認められた。(図-1) また、5 種類の EDCs の中では作用に差は見られなかった。

## D. 考察

胎生 15 日齢 C57BL/6 マウス胎仔胸腺用いた器官培養システム (HOS-FOOC) により、1nM 以下の低容量の EDCs の免疫系への影響を検出できる事が明らかになった。

その結果 EDCs による抑制が未熟胸腺細胞の早期の分化段階に作用していることが分かった。

今後は EDCs による胸腺リンパ球の抑制の機構を細胞レベルで調べる必要があると考え

ている。

## E. 結論

0.01 nM の低用量の EDCs が *in vitro* における胸腺内における胸腺リンパ球の増殖・分化を抑制し、それがかなり早期の分化過程に作用していることが分かった。この事から、環境にある低用量の EDCs が生体内に取り込まれれば、胸腺を始めとする T 細胞系免疫系に影響を及ぼす可能性が十分にあることが示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

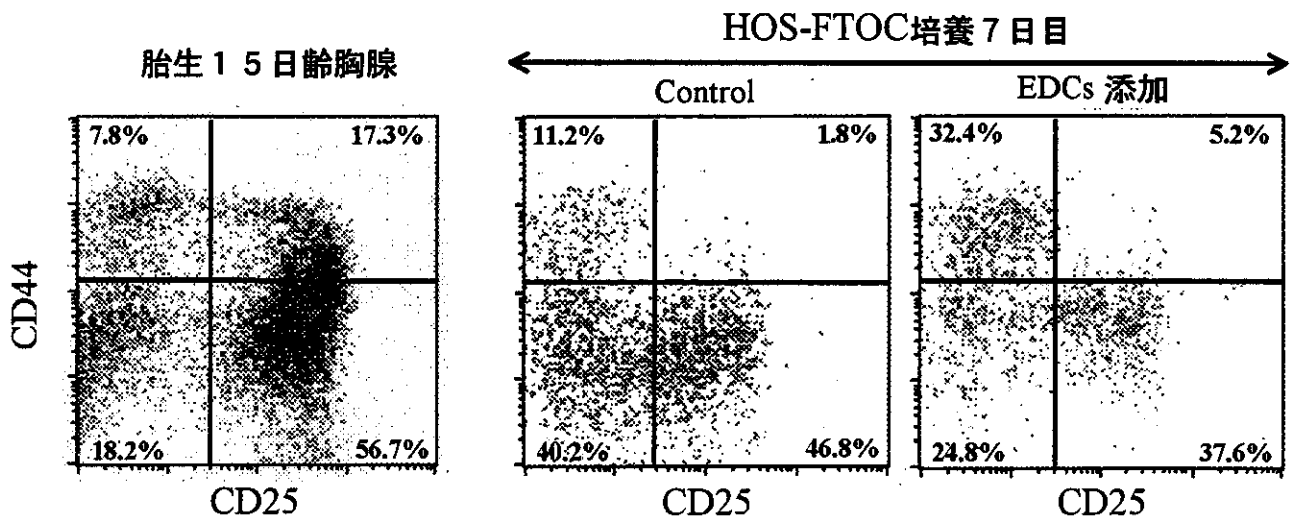
Utsuyama M, Kanno J, Seidler H, Inoue T, Hirokawa K.: Age/sex dependent and non-monotonous dose-response effect of Diethylstilbestrol (DES) on the immune functions in mice. *Toxicol Lett.* 135:145-153 (2002).

Hirokawa K, Utsuyama M. Animal models and possible human application of immunological restoration in the elderly. *Mech Ageing Dev.* 123:1055-1063 (2002).

Utsuyama M, Hirokawa K.: Differential expression of various cytokine receptors in the brain after stimulation with LPS in young and old mice. *Exp Gerontol.* 37: 411-420 (2002).

Kitagawa M, Yamaguchi S, Hasegawa M, Tanaka K, Sado T, Hirokawa K, Aizawa S. Friend leukemia virus infection enhances DNA damage-induced apoptosis of hematopoietic cells, causing lethal anemia in C3H hosts. *J Virol.* 2002 76: 7790-7798 (2002).

図-1 : CD4-CD8 亜集団におけるCD44、CD25の発現



内分泌かく乱物質の免疫機能に及ぼす影響及び低用量影響に関する研究

分担研究者 山崎聖美 国立健康・栄養研究所生活習慣病研究部 主任研究員

#### 研究要旨

内分泌系は免疫系と密接に関係しており、内分泌かく乱物質のアレルギーや化学物質過敏症との関連も危惧されている。そこで、内分泌かく乱物質が免疫機能に及ぼす影響に関して研究することを目的として、内分泌かく乱物質がリンパ球のサイトカイン産生およびチロシンリン酸化に及ぼす影響について調べた。その結果、ある内分泌かく乱物質がリンパ球のマイトジェン刺激によるサイトカイン産生に影響を及ぼすことが明らかになった。また、内分泌かく乱物質が、Jurkat 細胞において、細胞内のタンパク質のチロシンリン酸化をおこすことが明らかになった。

#### A. 研究目的

内分泌系は免疫系と密接に関係しており、内分泌かく乱物質のアレルギーや化学物質過敏症との関連も危惧されている。そこで、内分泌かく乱物質が免疫機能に及ぼす影響に関して研究することを目的とする。

本年度は、内分泌かく乱物質がリンパ球のサイトカイン産生およびチロシンリン酸化に及ぼす影響について調べる。

#### B. 研究方法

ヒト末梢血よりリンパ球を調製し、フェノールレッドフリー、無血清、低蛋白溶液を添加した RPMI1640 培地中で、内分泌かく乱物質添加後 4 時間培養し、

Con A を添加し 24 時間後の培養上清中の各種サイトカイン濃度を測定した。

Jurkat 細胞に内分泌かく乱物質を添加し 5 分後に細胞を可溶化し、ウェスタンブロッティングを行いチロシンリン酸化について調べた。

用いた内分泌かく乱物質は、ノニルフェノール(NP)、ビスフェノール A(BPA)、フタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)、フタル酸ジエチル(DEP)、フタル酸ジブチル(DBP)、フタル酸ブチルベンジル(BBP)、フタル酸ジシクロヘキシル(DCHP)である。

#### C. 研究結果

内分泌かく乱物質がリンパ球からの

IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$ といったサイトカイン産生に影響を及ぼし、また Jurkat 細胞のあるタンパク質のチロシンリン酸化をおこすことが明らかになった。

#### 1. リンパ球のサイトカイン産生に及ぼす内分泌かく乱物質の影響

IL-2、IL-4、IL-5、IL-8、IL-10、IFN- $\gamma$ について測定したところ、用いた内分泌かく乱物質の全てが  $10^{-4}\text{M}$  という高濃度ではこれらサイトカイン産生を抑制した。 $10^{-5}\text{M}$  以下の濃度では、IL-4、IL-5、IL-8 産生には影響を及ぼさなかったが、IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$  産生には影響を及ぼすものもあった。NP は  $10^{-9}\sim 10^{-5}\text{M}$  で IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$  産生を増強し、BPA は  $10^{-7}\sim 10^{-5}\text{M}$  で IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$  産生を増強し、BBP は  $10^{-7}\text{M}$  で IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$  産生を増強し、DBP は  $10^{-7}\sim 10^{-5}\text{M}$  で IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$  産生を増強した。

#### 2. Jurkat 細胞のチロシンリン酸化に及ぼす内分泌かく乱物質の影響

用いた内分泌かく乱物質の全てが、 $10^{-8}\sim 10^{-4}\text{M}$  で Jurkat 細胞のタンパク質のチロシンリン酸化を起こすことが明らかになった。チロシンリン酸化を受けるタンパク質の分子量は 130kDa、110kDa、60kDa、45kDa であった。

#### D. 考察

NP、BPA、BBP、DBP といった内分

泌かく乱物質が  $10^{-7}\text{M}$  付近の濃度でリンパ球のマイトジェン刺激による IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$  といったサイトカイン産生を増強することが明らかになった。リンパ球のマイトジェン刺激によるサイトカイン産生には幾つかのチロシンキナーゼによるタンパク質のチロシンリン酸化が関与していることが知られている。ヒト T リンパ球系細胞である Jurkat 細胞において、内分泌かく乱物質単独でもいくつかのタンパク質のチロシンリン酸化がおこることが観察されたことから、サイトカイン産生増強においてもこれらタンパク質のチロシンリン酸化がかかわっているものと推測される。培養乳がん細胞においても E2 刺激により ERK1 及び ERK2 がチロシンリン酸化を受けることが報告されている。15 分ほどでこのような現象がみられることから、メカニズムについては解明されていないが、エストロゲンレセプターに結合してさらに ERE に結合した結果とは考えられない。リンパ球においてもジェノミックな反応を介さずに作用している可能性がある。

#### E. 結論

NP、BPA、BBP、DBP といった内分泌かく乱物質が  $10^{-7}\text{M}$  付近の濃度でリンパ球のマイトジェン刺激による IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$  といったサイトカイン産生を増強することが明らかになった。また、NP、BPA、BBP、DBP、DCHP、DEHP、DEP といった内分泌かく乱物