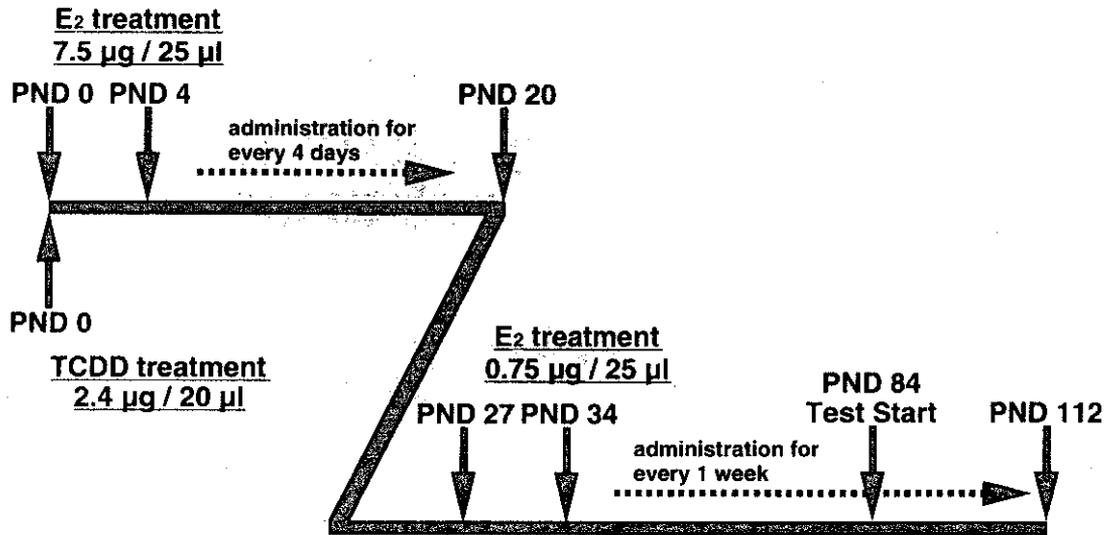


Fig. 1. Genotyping of knockout mice. PCR products were electrophoresed (2.0 % agarose gel). The genotypes of mice are indicated as +/+ (wild-type), +/- (heterozygous-type) and -/- (homozygous aromatase knockout mice).

(A)



(B)

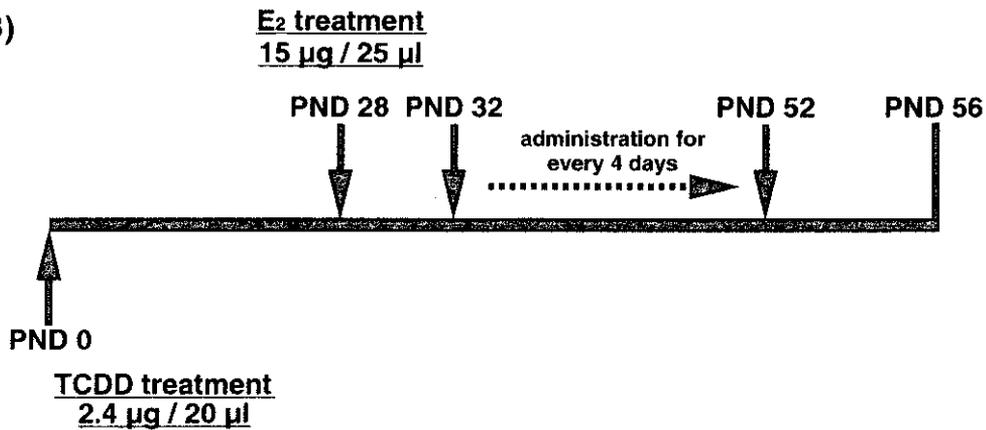


Fig. 2. Schematic representation of dose and dosing schedule of TCDD and 17 β - estradiol for newborn Ar (-/-) male (A) and female (B) mice. The number attached to " PND" means the age (day) of mice after birth (birth day = PND 0). See Experimental section for details.

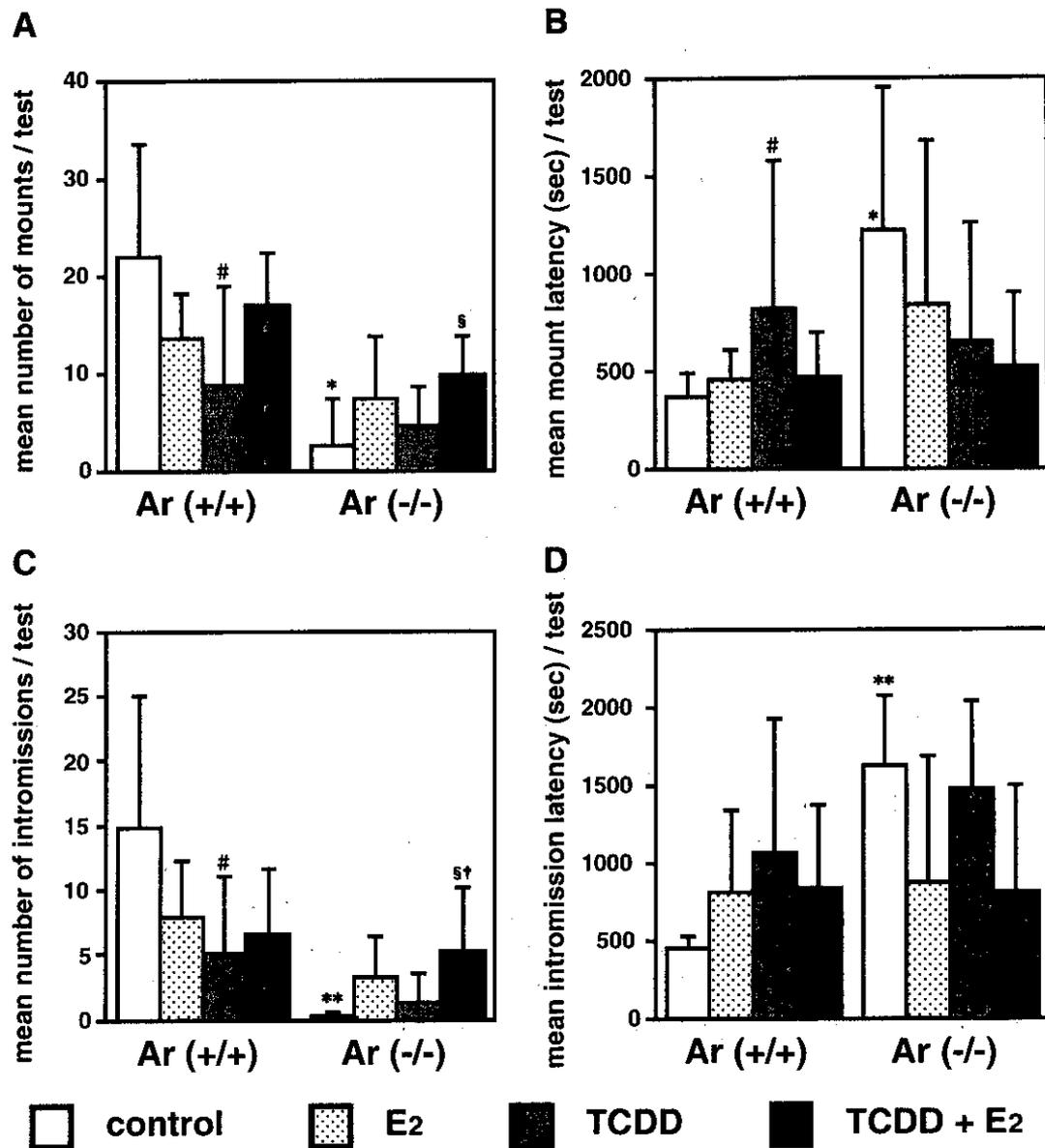


Fig. 3. Effect of TCDD on the sexual behavior and on 17 β -estradiol (E2) - dependent reversion of sexual activity in Ar (+/+) and Ar (-/-) mice. Sexual behavior was estimated by mounting frequency (A), and latency for first mounting (B), intromission frequency (C), and latency for first intromission (D). Sexual behavior was monitored for 30 min against wild-type female mice which were activated by E2/progesterone pre-treatment. See Fig. 4 and Experimental section for the treatment of mice with E2 and TCDD. Each bar represents the mean \pm S.D. of 4 - 7 mice. The numbers of mice used were : control Ar (+/+), n=7; E2-treated Ar (+/+), n=6; TCDD-treated Ar (+/+), n=4; E2/TCDD-treated Ar (+/+), n=6; control Ar (-/-), n=6; E2-treated Ar (-/-), n=5; TCDD-treated Ar (-/-), n=6; E2/TCDD-treated Ar (-/-), n=5. Significant difference: * and # ($P < 0.05$) from control Ar (+/+), § ($P < 0.05$) from control Ar (-/-), † ($P < 0.05$) from TCDD-treated Ar (-/-), ** ($P < 0.01$) from control Ar (+/+).

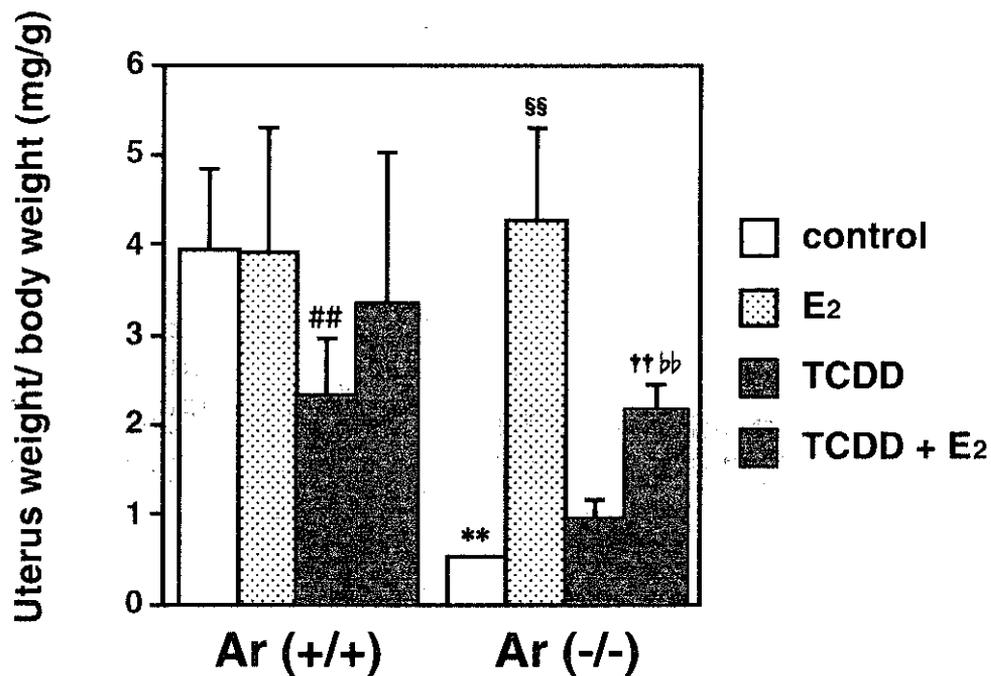


Fig. 4. Effect of TCDD on 17 β -estradiol (E2) -mediated reversion of uterus atrophy. Uterus was removed from mice at PND 56. See Fig. 3 and Experimental section for the treatment of mice with E2 and TCDD. Each bar represents the mean \pm S.D. of 4 - 8 mice. The numbers of mice used were : control Ar (+/+), n= 8; E2-treated Ar (+/+), n=7; TCDD-treated Ar (+/+), n=4; E2 / TCDD-treated Ar (+/+), n=5; control Ar (-/-), n=4; E2-treated Ar (-/-), n=5; TCDD-treated Ar (-/-), n=5; E2 / TCDD-treated Ar (-/-), n=4. Significant difference: ** and ## ($P < 0.01$) from control Ar (+/+), § § ($P < 0.01$) from control Ar (-/-), † † ($P < 0.01$) from E2-treated Ar (-/-), † † bb ($P < 0.01$) from TCDD-treated Ar (-/-).

分担研究報告書

4-メチルチオ-2,5,2',4',5'-五塩素化ビフェニル(CB101)の肝における S-酸化反応の動物種差に関する研究

分担研究者 古賀 信幸 中村学園大学・栄養科学部・教授

研究要旨 本年度は 4-MeS-2,5,2',4',5'-五塩素化ビフェニル(CB101)からメチルスルホン(MeSO₂)体への酸化活性につき、ラット、ハムスターおよびモルモット肝ミクロゾームを用いて比較した。また、性差も調べた。その結果、4-MeS-CB70 の場合と同様に、モルモットで最も高い活性を示し、ハムスター、ラットの順であった。また、P450 誘導剤前処理の結果から、いずれの動物においても、フェノバルビタール(PB)で顕著に増加した。一方、性差についてはモルモットとハムスターでは全く認められなかったが、ラットでは雌に比べ、雄で雌の約5倍と有意に高かった。

以上の結果から、4-MeSO₂ 体の生成には PB 誘導性 P450 (すなわち CYP2B サブファミリー) およびラットではさらに CYP2C11 が関与することが示唆された。

A. 研究目的

現在、PCBの主要な代謝物であるメチルスルホン体の毒作用(生理作用)が注目されている。これまでに薬物代謝酵素の強い誘導能を示すこと¹⁾、さらに、肝への蓄積性が明らかにされている。また、内分泌攪乱作用を有する可能性も指摘されている^{2,3)}。昨年度、3-および4-メチルチオ-2,5,3',4'-四塩素化ビフェニル(CB70)を用いて、これらのメチルスルホン体生成に関与する肝の酵素系について調べたところ、チトクロムP450が最も重要であることを明らかにした⁴⁾。また、酸化活性はモルモットで最も高く、ついでハムスターであり、ラットはモルモットの10分の1以下と低いものであった。今年度はCB70より塩素数が1つ多い4-メチルチオ-CB101を用いて同様に検討し、本酸化活性の動物種差を明らかにする。

B. 研究方法

1) **肝Msの調製**: 未処理あるいはP450誘導剤のフェノバルビタール(PB)(80 mg/kg)または3-メチルコラントレン(MC)(20

mg/kg)を3日間腹腔内に投与した上記実験動物より肝を摘出し、常法によりMsを調製した。

2) **S-酸化活性**: 40 μM 4-MeS-CB101を6 mM MgCl₂、牛血清アルブミン(0.8 mg/ml)、NADPH存在下、好氣的に肝Msとともに100 mM HEPES(pH 7.4)中において、37°Cで5~30分間インキュベート後、有機溶媒で抽出し、電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフィー(GC/ECD)にて測定した。

3) **抗血清による代謝阻害**: 肝Msを抗血清とともに、30分間室温放置後、上記と同様に行った。

C. 結果

1) **代謝物の化学構造**: GC/ECDの結果、いずれの動物肝Msを用いた場合にも2種類の代謝物が保持時間24.88 min (M-1)と28.56 min (M-2)に検出された。次にこれらの分子量を調べるために、反応液をシリカゲルカラムに通した後、GC/MSに供したところ、M-1とM-2はそれぞれ分子量386と分子量402であることが判明した。これらはそれぞれ酸素が1個と2個添加さ

れたもので、4-MeSO体と4-MeSO₂体であると推定された。

2) **種差(Fig.1)**: 未処理Msにおいて、M-2(MeSO₂体)の生成活性はモルモットで3.8 nmol/min/mg proteinであり、この値は、ハムスターの2.5倍、ラットの5.9倍であった。また、M-2の生成はいずれもPB前処理により増加し、未処理Msに比べラットで3.0倍、ハムスターで5.0倍、モルモットでは3.2倍であった。なお、未処理MsにおけるM-1(MeSO体)の生成活性もモルモットで最も高く、ハムスターの2.0倍、ラットの6.1倍であった。

3) **性差**: ハムスターとモルモットではM-2体生成に性差は認められなかったが、ラットでは顕著な性差がみられ、雌の活性は雄の約20%と低かった。

4) **抗体阻害実験**: 抗ハムスターHPB-1(CYP2B)抗血清を添加したところ、PB前処理ハムスター肝MsにおけるM-2の生成は20%までに阻害された。また、抗モルモットCYP2B18抗血清の添加では未処理およびPB前処理モルモット肝MsにおけるM-2の生成は著しく阻害された。

D. 考察

4-MeS-CB101 から MeSO₂ 体への酸化活性の強さを動物間で比較したところ、4-MeS-CB70 の場合と同様にモルモット>ハ

ムスター>ラットの順であった。ただし、比活性はCB70よりもCB101の4-MeS体の方がラットとハムスターで数倍高く、このことから、CB101の4-MeS体の方が酸化されやすいことが明らかとなった。また、P450誘導剤および抗体阻害実験により、4-MeS-CB101の酸化に参与するP450分子種として、ラットではCYP2B1、ハムスターではHPB-1、モルモットではCYP2B18が重要であることが示唆された。さらに、ラットにおいては雄特異的なP450であるCYP2C11も4-MeS-CB101に対し、高い酸化活性を有することが示唆された。

E. 参考文献

- 1) Y. Kato, K. Haraguchi, M. Kazashima, S. Yamada, R. Kimura, *Chem.- Biol. Interaction*, 95, 257 (1995).
- 2) Y., Kato, K. Haraguchi, T. Shibahara, Y. Shinmura, Y. Masuda, R. Kimura, *Chem.- Biol. Interaction*, 125, 107 (2000).
- 3) Y., Kato, K. Haraguchi, T. Shibahara, Y. Masuda, R. Kimura, *Arch. Toxicol.*, 72, 541 (1998).
- 4) N. Koga, K. Haraguchi, T. Kanamaru, N. Oishi, H. Kuroki, Y. Masuda and H. Yoshimura, *Organohalogen Compounds*, 49, 193 (2000).

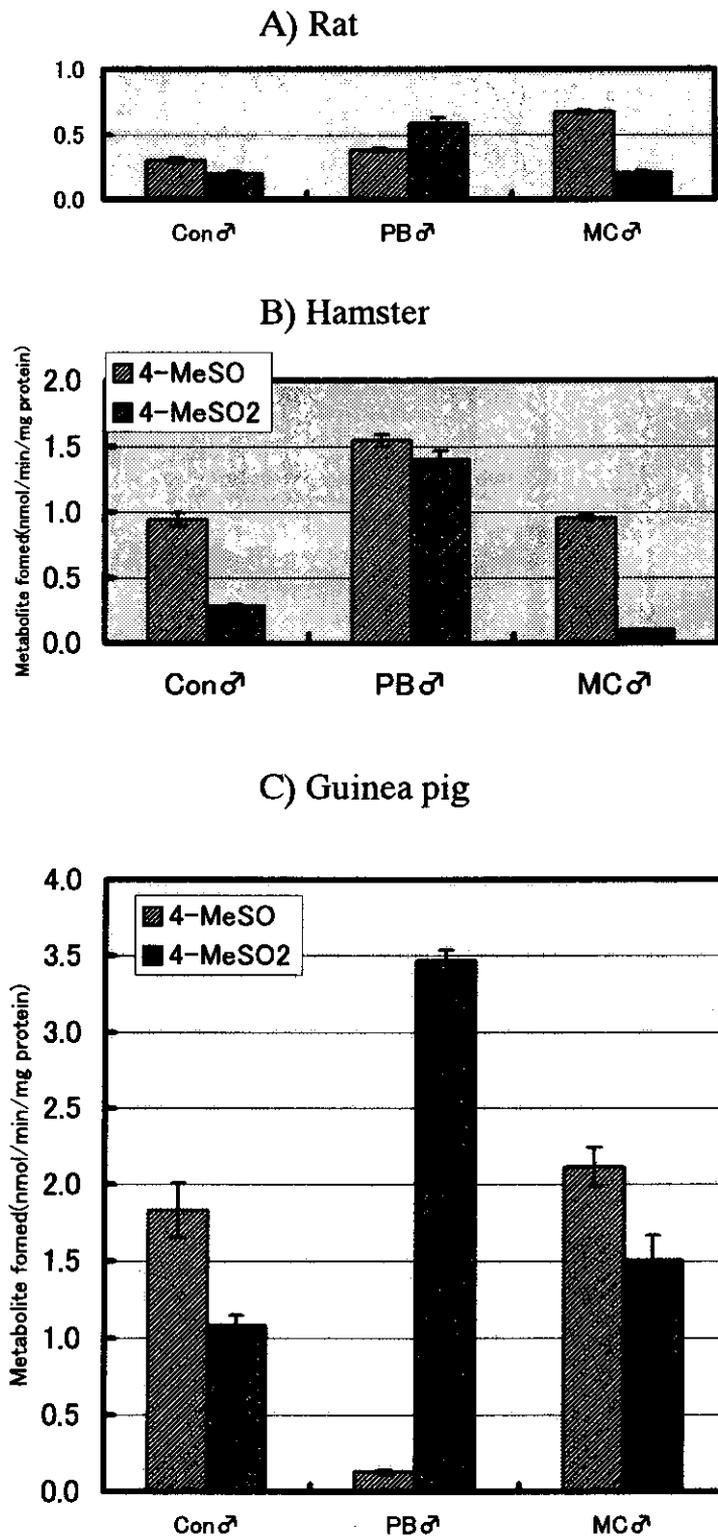


Fig. 1 動物肝ミクロソームによる 4-MeS-CB101 の S-酸化活性

PCBs による細胞死に関する研究

分担研究者 中西洋一 九州大学大学院医学研究院附属胸部疾患研究施設 助教授

研究要旨 PCBs が気道上皮に与える影響について分子生物学的に検討した。PCBs 曝露によりリンパ球、肺癌細胞株、気道上皮細胞 (BEAS-2B) は細胞死をきたした。また、PCBs 曝露により BEAS-2B 細胞に grp78 蛋白の蓄積、XBP1 のスプライシングに変化が起こる事より、小胞体ストレスが惹起されている可能性が示唆された。本実験系においては p53、Caspase-3 の活性化は明らかでなかった

A. 研究目的

PCBs は環境汚染物質の一つであり、その毒性は CC-10 (PCB-binding protein) を発現している細胞のみに与えることが知られている。マウスを使った実験では、リンパ球、クララ細胞の細胞死が認められている。ヒトにおいてもその毒性はほぼ同等であるようである。一回の暴露量が少なくとも、その蓄積性は高く、長期暴露が個体に影響を与えると考えられているが、未だその分子レベルにおける細胞死の機序はわかっていない。現在までに、リンパ球、肺癌細胞株、BEAS-2B (transformed lung epithelial cells) において PCBs 暴露により細胞死が引き起こされることを明らかにしてきた。しかし、肺癌細胞 (A549 細胞) においてその細胞死は p53 非依存性であり、これまでその機構を解明する手がかりがなかった。近年、小胞体ストレスという新しい概念が出現した。これは何らかの影響により異常蛋白の蓄積、蛋白質輸送障害などのストレスが細胞にかかった場合、Caspase-12 が活性化され、細胞死を起こすというものである。これは、Caspase-12 KO mouse が小胞体ストレスに対して抵抗性であり、Caspase-3 阻害剤 (DEVD-CHO) により部分的にレスキューされることから推測されている。しかし、Caspase-12 以下の cascade の詳細は不明である。

小胞体ストレスの指標として考えられている分子は grp 78 や grp 94 である。小胞体ストレスがあった場合これらの分子の mRNA の上昇が起こり、タンパク質の合成を抑制し、異常蛋白の除去などが行われるが、ストレスが大きい場合には細胞死が起こると考えられている。BEAS-2B に PCBs を暴露後 12 時間後の蛋白を抽出したところ、少なくとも 10 ~ 15 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で grp 78 蛋白の蓄積が認められ、小胞体ストレスの関与が考えられた。PCBs がいかなる機序で細胞内に取り込まれるのかすらはっきりした証拠はないが、CC-10 発現細胞が PCBs によって障害を受けることから、CC-10 と結合した PCBs が細胞内に逆輸送されるのではないかと予想することができる。CC-10 は分泌蛋白であるから、細胞内では小胞体、Golgi 装置に多く存在するのではないかと予想され、そうすると小胞体に蓄積した PCBs が何らかのストレスを与える可能性があるのではないかと考えた。

B. 研究方法

- 1) Apoptosis の検出 : Propidium iodine 染色により flowcytometry にて sub G1 fraction の検出を行った。Trypan Blue 染色において細胞死の検出を行った。
- 2) 細胞全蛋白を抽出し、抗 grp78 抗体

等の抗体を用いて Western blot にてその定量（半定量）を行った。caspase の活性化は cleaved caspase が検出されるかどうかにて判定した。

- 3) 抽出した RNA を、XBP1 cDNA (412-431, 834-853) のプライマーを用いて rt-PCR を行った。
- 4) CC10 の cDNA より expression vector の作成を行っている。

C. 研究結果

BEAS-2B は検討した他の細胞に比較して、5~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の PCBs 存在下で培養すると細胞死が起こってくる事がわかった (A549 は 20~40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ は必要である)。また、Propidium iodine 染色により sub G1 fraction の上昇を認めた。これは DNA の分断化が起こってきていることを示す所見であり、細胞が apoptosis を起こしている可能性が高いと考えられた。以前報告したように、apoptosis に関与すると考えられている p53 蛋白自体の量は変化がなかったため、直接的な DNA damage が細胞内で起こっている可能性は低いと考え、他の細胞傷害性因子の関与が疑われた。

そこで、小胞体ストレスに注目し、PCBs 存在下にて BEAS-2B を培養し、小胞体ストレス時に活性化が認められる grp78 蛋白の蓄積の有無を検討したところ、時間及び濃度依存的 grp78 蛋白の蓄積が起こってくる事が判明した。その反応は比較的速く、数時間単位で起こってくるようである。また、小胞体ストレス時に XBP1 mRNA のスプライシングに変化が起こる事が知られている。このような特性を利用し、rt-PCR 法を用いて mRNA を検出すると非ストレス下においては mRNA は 1 本のバンドとして検出されるが、小胞体ストレス時には 2 本のバンドとして検出される。この方法を用いて、BEAS-2B で PCBs 存在下に mRNA の検出を試みた所、弱いながらも 2 本のバンドとして検出された。これらの現象は PCBs により小胞体ストレスが起こっている事を示唆すると思われる。PCBs は体内に比較的長く停滞

する物質であり、このような細胞ストレスが肺上皮細胞（特にクララ細胞）の傷害に関与している可能性を示唆する所見と思われるため、細胞死実行因子である caspase の活性化について検討を行ったが、Caspase-3 の cleaving は明らかでなかった。

D. 考察

PCBs はその環境に与える影響が懸念されているにも関わらず、その細胞傷害性に関する知見は少ない。その詳細を解明することは意義があると考えられる。小胞体ストレスという概念自体が最近の知見であり、不明な点も多いが、小胞体ストレスが細胞死を引き起こすであろう事は過去の報告でも明らかであり (T. Nakagawa et. al. Nature, 403, 98-103, 2000 等)、PCBs による細胞死の一端を担っている可能性はある我々の知る限り、*in vitro* の実験において PCBs により小胞体ストレスが惹起されるという事を示したという報告は今までの所なく、興味深い所見と考えられた。

しかし、本実験において明らかな細胞死誘導機構について言及する事はできていない。その一つの原因として PCBs の蓄積の key molecule である CC10 の発現が十分で無く、解析に不向きであった可能性がある。実際、培養細胞においては CC10 の発現が著しく低下する事が知られている。現在、我々は CC10 cDNA をコードする発現ベクターの作成にとりかかっている。これを用いる事により、CC10 高発現細胞に対する PCBs 短期暴露実験モデルを作成できる可能性も高く、また、CC10 を恒久的に発現する細胞株を作成する事ができる可能性もあると思われる。今後はまず、発現ベクターの作成、CC10 高発現細胞を用いた PCBs 暴露実験系の確立し、その発癌、細胞死における分子機構の研究を行っていきたいと考えている。CC10 を発現していないもしくは低発現の肺由来の細胞株にベクターを導入し、一過性高発現細胞に PCBs を暴露する。解析対象分子として、細胞死関連蛋白（カスパーゼ、

Fas、小胞体ストレス) 及び生存シグナルの発現、活性化の有無を Western blotting、Flow cytometry などで解析し、mRNA の発現については RT-PCR や Northern blotting にて解析する予定である。

E. 結論

PCBs 暴露により気道上皮細胞 BEAS-2B において比較的低濃度にて細胞死が誘導され、それは grp78 蛋白の蓄積を伴っていた。この現象は、PCBs により小胞体ストレスが起こっている可能性を示唆するもので、興味深い所見と考えられた。さらなる解析のため、CC10 発現ベクターを作成し、細胞死の分子機構について解析を行いたいと考えている。

F. 健康危険情報

現状では明らかなものはなし

G. 研究発表

準備中

H. 知的財産権の出願・登録状況

予定無し

研究成果の刊行に関する一覧表

(2001, 2002 年度分)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Yoshito Masuda, Yueliang Leon Guo	Human Experience; Yusho and Yucheng	Jae-Ho Yang	DIOXIN2001 Summary	DIOXIN2001	Gyongjyu, Korea	2001	43-45
吉村健清 (分担単著)	油症	荒記 俊一	中毒学 - 基礎・臨床・社会医学	朝倉書店	東京	2002	357-359

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
小栗一太	序言	福岡医学雑誌	92(5)	105-106	2001
古賀哲也、古江増隆、 桐生美麿、中山樹一郎、 旭 正一	1999・2000 年度の福岡県年次 検診における皮膚症状	福岡医学雑誌	92(5)	107-111	2001
辻 博、鈴木統久、 向坂彰太郎、	油症におけるリンパ球機能の 検討	福岡医学雑誌	92(5)	112-114	2001
橋口 勇、山座孝義、 小石裕子、後藤康治、 吉嶺嘉人、赤峰昭文、 福山 宏、奥村英彦	油症患者における歯周疾患なら びに口腔内色素沈着の疫学的 調査(第四報)	福岡医学雑誌	92(5)	115-119	2001
清水和宏、塚崎直子、 小川文秀、片山一朗	油症患者における血中一酸化 窒素濃度と臨床症状および検 査データとの検討	福岡医学雑誌	92(5)	120-121	2001
Shoji Tokunaga, Kyoichiro Kataoka	Association between blood concentration of polychlorinated biphenyls and manifestations of symptoms and sign in chronic "Yusho" patients from 1986 to 1997.	Fukuoka Acta Medica	92	122-133	2001

金子 聰 吉村健清 池田正人 西阪和子	油症患者追跡調査と人口動態 死亡テープの照合による死亡 原因の同定	福岡医学雑誌	92(5)	134-138	2001
竹中重幸、平川博 仙、中村又善、中川 礼子、飯田隆雄、戸 高 尊	油症患者血中ダイオキシン類 レベルの追跡調査(1998年～ 1999年)	福岡医学雑誌	92(5)	139-148	2001
増田義人、原口浩 一、黒木宏明、John Jake Ryan	油症患者における PCBs, PCDFs の30年間の変遷と症状	福岡医学雑誌	92(5)	149-157	2001
黒木広明、米倉さゆ り、迫田智子、藤野 恭子、中岡ひとみ、 荒巻弘範、古賀信 幸、西川淳一、西原 力	酵母 Two-hybrid 法による PCB 水酸化体のエストロゲン様物 質としての評価	福岡医学雑誌	92(5)	158-166	2001
古賀信幸、金丸知 代、大石奈穂子、加 藤善久、木村良平、 原口浩一、増田義 人、	2,4,5,2',3',4'-六塩素化ビフ ェニルの in vitro 代謝におけ る動物種差	福岡医学雑誌	92(5)	167-176	2001
Junya Nagayama, Mayumi Nagayama, Takao Iida, Hironori Hirakawa, Takahiko Matsueda, Takashi Yanagawa, Jun'ishiro Fukushige	Effect of Dioxins in Mother's Milk on Sister Chromatid Exchange Frequency in Infant Lymphocytes	Fukuoka Acta Medica	92(5)	177-183	2001
吉村俊朗、沖田 実、中尾洋子、福田 卓、藤本武士	カネミ油症検診者における血 清CK上昇の意義 -ラット筋細胞膜の Freeze fracture 法による変化-	福岡医誌	92	184-189	2001
Ishii, Y., Kato, H., Hatsumura, M., Ishida, T., Ariyoshi, N., Yamada, H., and Oguri, K.	Effects of a highly toxic coplanar polychlorinated biphenyl, 3,3',4,4',5- pentachlorobiphenyl on intermediary metabolism: reduced triose phosphate content in rat liver cytosol.	Fukuoka Acta Med.	92(5)	190-200	2001
吉岡優子、石井祐 次、石田卓巳、山田 英之、小栗一太、本 島清人	コプラナー PCB による小胞体 局在性ストレス蛋白質の発現 抑制に関する研究-第2報-	福岡医誌	92(5)	201-216	2001

Yoshito Masuda	Fate of PCDF/PCB congeners and change of clinical symptoms in patients with PCB poisoning	Chemosphere	43	925-930	2001
Yoshito Masuda	Behavior of PCBs/PCDFs in patients with Yusho PCB poisoning and clinical symptoms	Organohalogen Compounds	54	297-300	2001
John Jake Ryan, Yue-Liang Guo, Yoshito Masuda	Long term human elimination and half-lives of PCDFs in Yu-Cheng individuals	Organohalogen Compounds	54	304-307	2001
Ishida, T., Ishii, Y., Yamada, H., and Oguri, K.	The induction of hepatic selenium-binding protein by aryl hydrocarbon (Ah)-receptor ligands in rats	J. Health Sci.	48 (1)	62 - 68	2002
Ishii, Y., Kato, H., Hatsumura, M., Ishida, T., Ariyoshi, N., Yamada, H., and Oguri, K.	Role of the dioxin-like toxic compound coplanar polychlorinated biphenyl, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in reducing hepatic alcohol dehydrogenase levels in rats in vivo.	J. Health Sci.	47 (6)	575-578	2001
Yoshimura, T. Kaneko, S. Hayabuchi, H.	Sex ratio in offspring of those affected by dioxin and dioxin-like compounds: Yusho, Seveso, and Yucheng	Occup Environ Med	58	540-541	2001
Yoichi Nakanishi, Feng Bai, Koji Inoue, et al.	Polycyclic biphenyls promote 1-nitropyrene-induced lung tumorigenesis without the induction of K-ras gene mutation in A/J mice.	Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis	21	395-403	2001
J. Nagayama, M. Nagayama, T. Iida, H. Hirakawa, T. Matsueda, M. Ohki and H. Tsuji	Effects of donor age and contamination level of dioxins and related chemicals on frequency of sister chromatid exchanges in human lymphocytes cultured in vitro	Chemosphere	43	845-849	2001
J. Nagayama, M. Nagayama, T. Iida, H. Hirakawa, T. Matsueda, M. Ohki and H. Tsuji	Comparison between "Yusho" patients and healthy Japanese in contamination level of dioxins and related chemicals and frequency of sister chromatid exchanges	Chemosphere	43	931-936	2001

J. Nagayama, H. Tsuji, T. Iida, H. Hirakawa, T. Matsueda and M. Ohki	Effects of contamination level of dioxins and related chemicals on thyroid hormone and immune response systems in patients with "Yusho"	Chemosphere	43	1005-1010	2001
J. Nagayama, T. Takasuga, H. Tsuji and T. Iwasaki	Decrease blood levels of dioxins after the one year intake of FBRA in Japanese	Organohalogen Compounds	52	293-296	2001
J. Nagayama, M. Nagayama, T. Iida, H. Hirakawa, T. Matsueda, T. Yanagawa and J. Fukushige	Frequency of sister chromatid exchanges in Japanese infants perinatally exposed to chlorinated dioxins and related compounds	Organohalogen Compounds	53	100-102	2001
J. Nagayama, H. Tsuji, T. Iida, R. Nakagawa, T. Matsueda, H. Hirakawa, E. T. Astuti, T. Yanagawa, J. Fukushige and T. Watanabe	Status of helper and suppressor T lymphocyte subpopulations in Japanese infants lactationally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins	Organohalogen Compounds	53	121-125	2001
J. Nagayama, T. Iida, R. Nakagawa, T. Matsueda, H. Hirakawa, E. T. Astuti, T. Yanagawa, J. Fukushige and T. Watanabe	Thyroid hormone status in Japanese infants lactationally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins	Organohalogen Compounds	53	140-144	2001
J. Nagayama, T. Takasuga, H. Tsuji and T. Iwasaki	Decrease in blood levels and body burdens of highly toxic dioxin congeners after one year intake of FBRA in Japanese	Organohalogen Compounds	55	327-330	2002
J. Nagayama, H. Tsuji, T. Iida, R. Nakagawa, T. Matsueda, H. Hirakawa, J. Fukushige and T. Watanabe	Effects of organochlorine compounds such as pesticides, PCBs and dioxins on immune response system in Japanese mothers	Organohalogen Compounds	55	425-428	2002

J. Nagayama, M. Nagayama, T. Iida, R. Nakagawa, T. Matsueda, H. Hirakawa, J. Fukushige and T. Watanabe	Frequency of sister chromatid exchanges in Japanese infants lactationally exposed to organochlorine pesticides and dioxins	Organohalogen Compounds	55	429-432	2002
J. Nagayama, T. Iida, R. Nakagawa, T. Matsueda, H. Hirakawa, J. Fukushige and T. Watanabe	Effects of organochlorine compounds such as pesticides, PCBs and dioxins on thyroid hormone system in Japanese mothers	Organohalogen Compounds	56	115-118	2002
J. Nagayama, H. Tsuji, T. Iida, H. Hirakawa, T. Matsueda, J. Fukushige and T. Watanabe	Sexual difference in effects of dioxins on immune response system in Japanese infants	Organohalogen Compounds	59	135-138	2002
J. Nagayama, T. Iida, H. Hirakawa, T. Matsueda, H. Tsuji, J. Fukushige and T. Watanabe	Sexual difference in effects of dioxins on thyroid hormone system in Japanese infants	Organohalogen Compounds	59	457-460	2002
T. Takasuga, H. Tsuji and J. Nagayama	Gender specific dynamics of PCDD/DFs, PCBs PBDEs and organochlorines in blood of Japanese families over two-year study period	Organohalogen Compounds	58	297-300	2002
倉橋典絵、岸玲子	停留精巢の発症要因に関する疫学研究—特に内分泌攪乱物質について	日本衛生学雑誌	57(4)	636-644	2003
笠井世津子、岸玲子	尿道下裂発生率とリスク要因	日本衛生学雑誌	投稿中		2003
Shimizu K, Tsukazaki N, Watanabe M, Ogawa F, Kondo T and Katayama I.	Serum concentration of nitric oxide in Yusho patients over 30 years after the accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Japan.	Toxicol Indust Health	18(1)	In press	2003