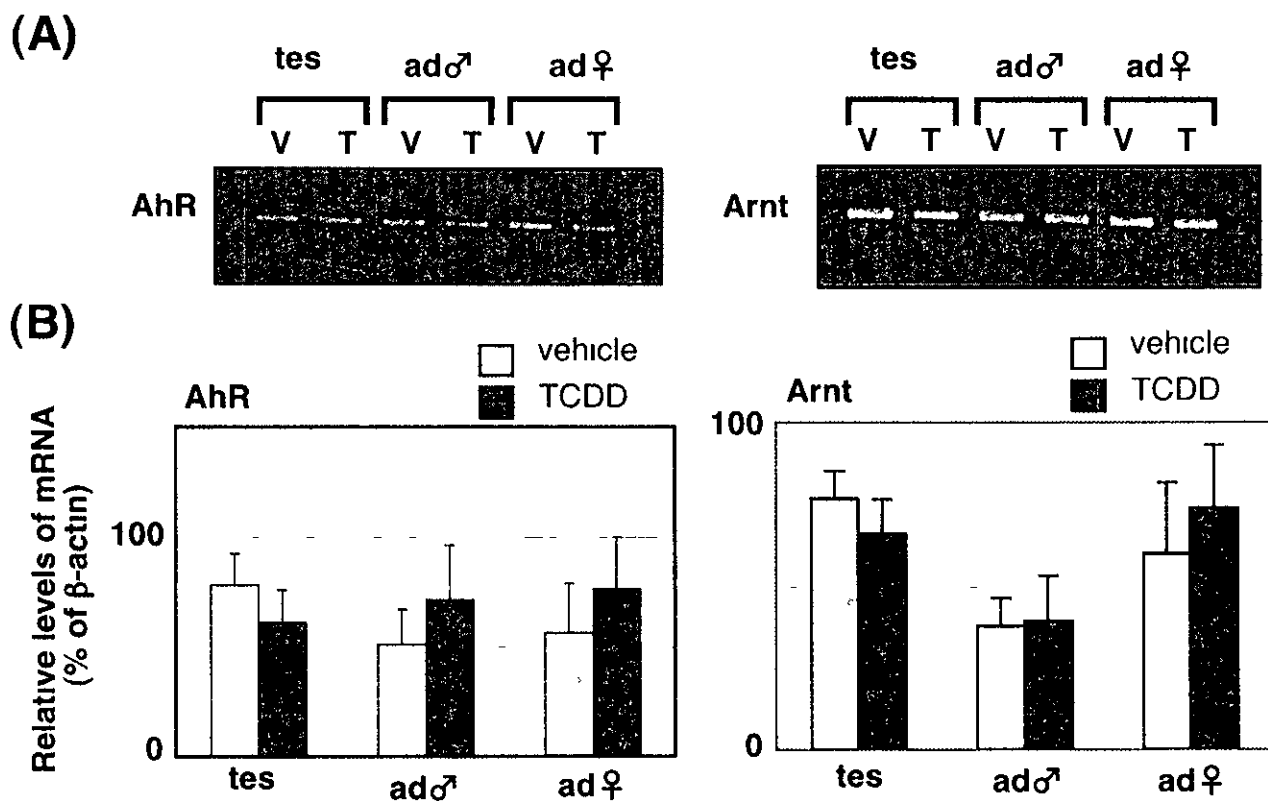
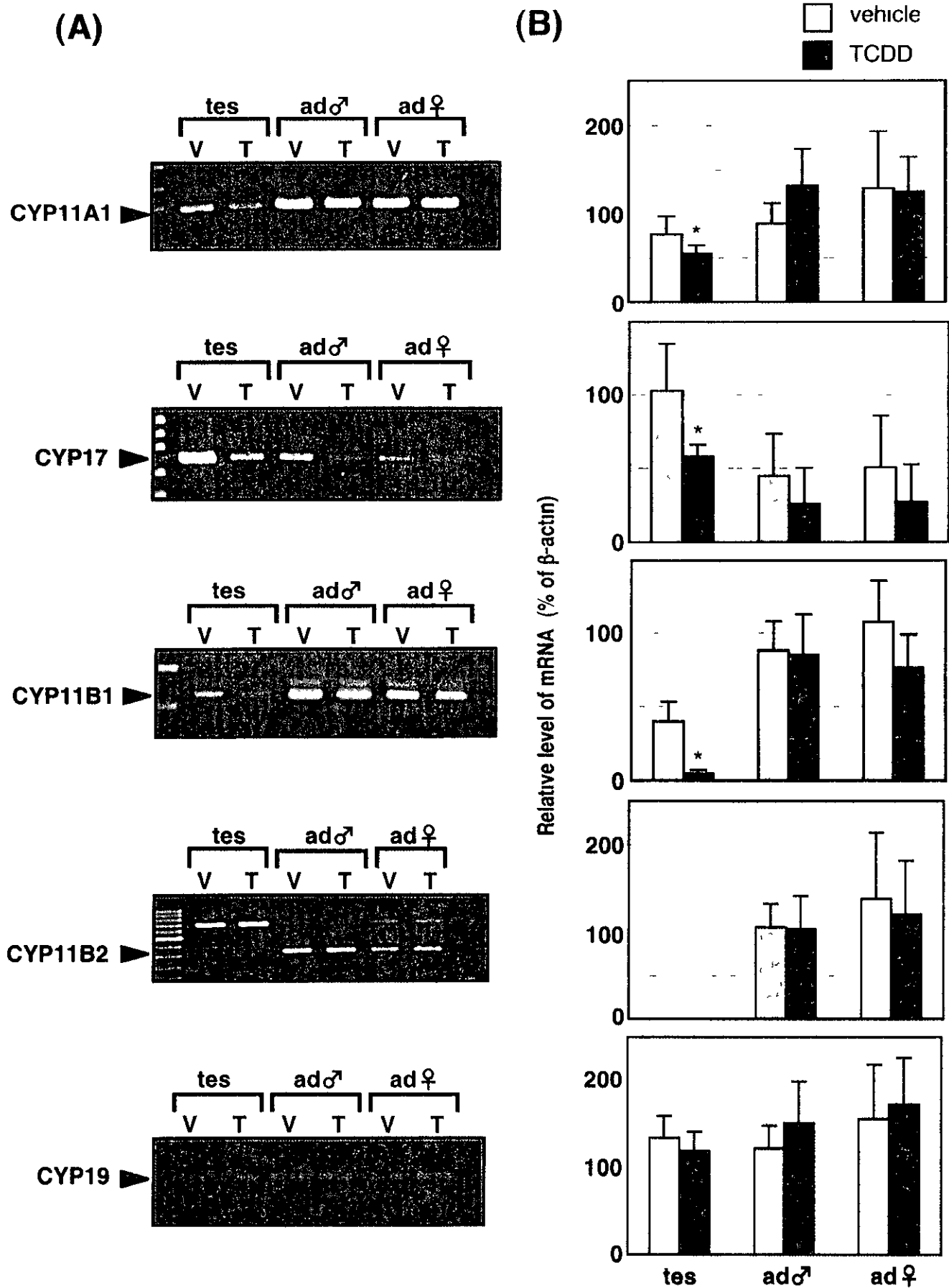


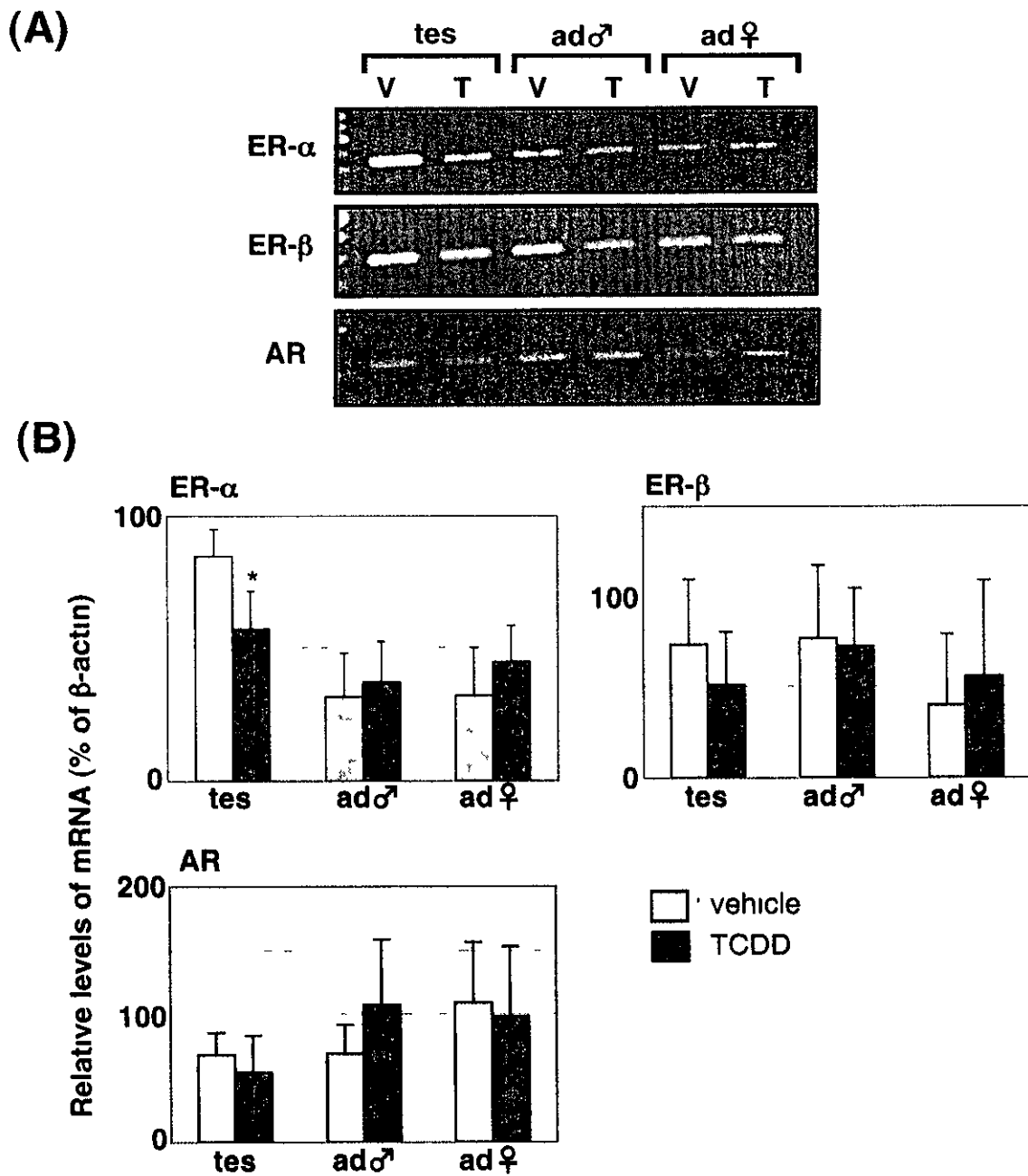
**Fig. 2 Induction of CYP1A1 mRNA in liver of fetal rats by TCDD.**  
Agarose gel electrophoresis pattern for CYP1A1 and β-actin is shown



**Fig. 3 Semi-quantitative RT-PCR analysis of AhR and Arnt mRNA levels in testis and adrenal of fetal rats treated with TCDD.** (A) Expression of AhR and Arnt mRNA analyzed by RT-PCR (B) Relative abundances of AhR and Arnt mRNA estimated by semi-quantitative RT-PCR. Results are represented as the means  $\pm$  S.D. of six fetuses. Abbreviations used are: V, vehicle; T, TCDD; tes, testis; ad, adrenal.



**Fig. 4 Semi-quantitative RT-PCR analysis of steroidogenic CYP mRNAs in testis and adrenal of fetuses born from TCDD-treated rats.** (A) Expression of steroidogenic CYPs analyzed by RT-PCR (B) Relative abundances of steroidogenic CYP mRNAs estimated by semi-quantitative RT-PCR. Results are represented as the means  $\pm$  S.D. of six fetuses. Significant difference from control \*,  $p < 0.05$ . Abbreviations used are: V, vehicle, T, TCDD, tes, testis, ad, adrenal.



**Fig. 5** Semi-quantitative RT-PCR analysis of ER- $\alpha$ , ER- $\beta$  and AR mRNAs in testis and adrenal of fetuses born from TCDD-treated rats. (A) Expression of ER- $\alpha$ , ER- $\beta$  and AR mRNAs analyzed by RT-PCR (B) Relative abundances of ER- $\alpha$ , ER- $\beta$  and AR mRNAs estimated by semi-quantitative RT-PCR. Results are represented as the means  $\pm$  S.D. of six fetuses. Significant difference from control \*,  $p < 0.05$ . Abbreviations used are V: vehicle, T: TCDD, tes: testis, ad: adrenal.

## 分担研究報告書

### ダイオキシン類による消化管機能に対する影響

分担研究者	山田 英之	九州大学大学院薬学研究院	分子衛生薬学分野	教授
分担研究者	赤峰 昭文	九州大学大学院歯学研究院	歯内疾患制御学研究分野	教授
研究協力者	石井 祐次	九州大学大学院薬学研究院	分子衛生薬学分野	助教授
	石田 卓巳	九州大学大学院薬学研究院	分子衛生薬学分野	助手
	橋口 勇	九州大学大学院歯学研究院	歯内疾患制御学研究分野	助手

**研究要旨** 本研究では、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) の小腸に及ぼす影響に注目し、形態および機能の両面から検討を行った。まず、TCDD 曝露 C57BL/6J マウスの小腸内腔粘膜形態に対する影響を観察した。その結果、小腸絨毛の上皮細胞における核/細胞比が増加する傾向にあることが明らかとなった。次に、小腸の生理的機能の一つであるグルコース吸収能に対する TCDD の影響を検討した。その結果、TCDD 曝露 C57BL/6J マウスでは、小腸におけるグルコース吸収能が増加することが明らかとなった。また、その機構として、小腸における糖輸送担体 sodium glucose co-transporter (SGLT) 1 および glucose transporter 2 mRNA の増加並びに SGLT1 タンパク質の増加、さらに小腸上部における二糖類分解酵素ラクターゼおよびマルターゼ活性の増加が関与する可能性が示唆された。これらの変化は、TCDD 曝露 DBA/2J マウスでは観察されなかったことから、arylhydrocarbon receptor 依存的な機構により惹起されている可能性が示唆された。グルコース吸収促進はタイオキシンによる体内の糖利用効率低下を相補するための生体応答と考えられた。

#### A. 研究目的

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) に代表されるダイオキシン類は、その難分解性および高脂溶性から食物連鎖を通して生体内に蓄積するため、ヒトを含む野生動物への影響が危惧されている。ダイオキシン類による生体への影響は多岐に亘っており、その毒性発現機構の解明は、

中毒症状に対する治療や予防の観点から非常に重要な問題となっている。当研究室では、これまでにタイオキシン類の毒性発現機構の解明に向け研究を行ってきたか、その中で、TCDD 曝露マウスの解剖時の所見から、TCDD が小腸に対し何らかの影響を及ぼしている可能性を見出していた（成績未発表）。小腸は食物由来のタイオ

キシシンに高濃度曝露される組織であることから<sup>1)</sup>、組織変化が生起されても不思議ではないと考えられた。また、TCDD 曝露マウスやラットにみられる体重増加抑制の発現機序については、食欲の減退に伴う calorie 不足が一因であるとする報告がなされている<sup>2)</sup>。しかし、TCDD 曝露動物が摂取する摂餌量と同量の飼料を与えた群である pair-fed コントロール群における体重増加抑制が TCDD 曝露群に比へ軽度であることから<sup>3)</sup>、栄養の摂取不足以外の機構が関与する可能性も示唆されている。

以上のような背景のもと、本研究では、TCDD の小腸に及ぼす影響について、形態および機能の両面から検討を行った。本検討を行うにあたり、初めに TCDD の小腸内腔粘膜の形態に対する影響を観察した。さらに、機能に及ぼす影響として、生理的機能の一つであるグルコース吸収能を指標として検討を行った。

## B 方法・結果

### TCDD 処理によるマウス小腸形態への影響

初めに小腸の形態に及ぼす TCDD の影響を明らかにするため、TCDD 曝露マウス小腸における内腔粘膜の組織像変化を光学顕微鏡にて観察した。5 週令雄性 C57BL/6J マウスに TCDD を 100  $\mu$ g/kg/6 ml の用量で単回経口投与したのち、10 日目に小腸を摘出した。対照としては、同量のコーンオイルを投与した群を設けた。小腸摘出後、TCDD 投与群およびコントロール群における湿重量および

長さを測定したか、両群の値に有意な差は認められなかった (Table 1)。次に、各群より得られた小腸の十二指腸付近を起点として 3 等分した位置 (それぞれ、十二指腸側から小腸上部、中部、下部とする、各 10 cm 程度) から切片を切り出し、その断片を組織染色し観察した (Fig 1)。(a)、(b) および (c) は、それぞれコントロール群における小腸上部、中部、下部の切片であり、(d)、(e) および (f) は TCDD 処理群における小腸上部、中部、下部の切片を示している。これより、小腸絨毛を覆っている上皮細胞において、コントロール群に比へ、TCDD 処理群では核、細胞質ともに縮小していることが明らかとなった。また、この変化は小腸上部、中部、下部のいずれにも観察され小腸は広い範囲に渡って TCDD の影響を受けることが確認された。

### TCDD 処理によるマウス小腸機能への影響

#### 1) グルコース吸収能に関する検討

次に、小腸のグルコース吸収能に対する TCDD の影響を検討するため、経口グルコース負荷試験 (Oral Glucose Tolerance Test) を行った。また、タイオキシシン類の毒性発現に深く関与することか知られている arylhydrocarbon receptor (AhR) との関連性についても明らかにするため、タイオキシシン類の毒性に対して比較的高い感受性を示すマウス (C57BL/6J) と低い感受性を示すマウス (DBA/2J) の 2 系統のマウス<sup>4) 5)</sup>を用いて検討した。C57BL/6J および DBA/2J マウスに

TCDD を 100  $\mu\text{g}/\text{kg}/6\text{ ml}$  の用量で経口投与し、10 日間飼育したのち 12 時間絶食した。そののち、グルコース (1  $\text{g}/\text{kg}$ ) を経口的に負荷投与し、負荷した時間を 0 分として、0、5、10、15、30、60、90 および 120 分後における血糖値を測定した。その結果、C57BL/6J マウスでは、TCDD 処理群において、コントロール群に比へグルコース負荷 15 分後を最大として血糖値が有意に増加することか明らかとなった (Fig 2(A))。これに対し、DBA/2J マウスでは、TCDD 曝露による血糖値の変動に差は認められなかった (Fig 2(B))。以上の結果から、TCDD 曝露小腸におけるグルコース吸収能の増加には、AhR を介した機構が関与する可能性が示唆された。

## 2) グルコース輸送担体に関する検討

小腸におけるグルコースの吸収については、輸送担体の関与が報告されている。すなわち、グルコースは小腸上皮刷子縁膜に存在する  $\text{Na}^+$ /グルコース共輸送担体 (sodium glucose co-transporter, SGLT) アイソフォームの一つである SGLT1 を介して  $\text{Na}^+$  濃度依存的に細胞内に取り込まれ、側基底膜に存在する促進拡散型糖輸送担体 (glucose transporter, GLUT) アイソフォームの一つである GLUT2 により濃度依存的に血液側に輸送されることか明らかとなっている<sup>6,7)</sup>。そこで、TCDD による小腸グルコース吸収能増加機構を明らかにするため、小腸における SGLT1 および GLUT2 の発現変動について検討した。

はじめに、SGLT1 および GLUT2 mRNA の発現量を半定量的 reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法により検討した。5 週令雄性 C57BL/6J マウスおよび DBA/2J マウスに TCDD を 100  $\mu\text{g}/\text{kg}/6\text{ ml}$  単回経口投与し、投与 10 日目に小腸を摘出した。そののち、total RNA を調製し、逆転写反応を行い complementary-DNA (cDNA) を調製した。コントロール群についても同様の方法で cDNA を調製した。これを鋳型として、SGLT1 および GLUT2 それぞれの配列に特異的なプライマー (Table 2) を用いて PCR を行った。また、内標準物質として、 $\beta$ -actin の mRNA 量を定量することにより、SGLT1 および GLUT2 mRNA の発現量を補正した。C57BL/6J マウスにおいては、TCDD 処理による有意な SGLT1 および GLUT2 mRNA の発現量の増加が明らかとなった (Fig 3(A) and (B))。これに対し、DBA/2J マウスでは、両群における SGLT1 および GLUT2 mRNA のレベルに差は認められなかった (Fig 3(C) and (D))。

次に、SGLT1 および GLUT2 タンパク質の発現量の変動を検討するため、特異的な抗体を用いたイムノフロットを行った (Fig 4)。その結果、C57BL/6J マウスでは、TCDD 処理により SGLT1 タンパク質の発現量のみ増加することか明らかとなった (Fig 4(A) and (B))。これに対し、DBA/2J マウスでは、SGLT1 および GLUT2 タンパク質の発現量に変化は認め

られなかった (Fig 4(C) and (D))。以上の結果から、TCDD 曝露マウスの小腸における SGLT1 は、AhR を介した機構により転写レベルで誘導されるが、GLUT2 は、mRNA の発現量の増加か認められるものの、タンパクレベルでは変動しないことか明らかとなった。

### 3) 二糖類分解酵素に関する検討

小腸における糖輸送担体の調節機構については、現在、一部ではあるものの解明が進んでおり、食物から摂取された糖類は、唾液アミラーゼおよび膵液アミラーゼにより二糖類にまで分解されたのち、腸液中の二糖類分解酵素により単糖にまで分解され吸収されることか明らかとなっている。この際、吸収細胞に存在する糖センサーか腸管内腔の単糖を受容したのち、糖輸送担体の発現量か正に調節されるという報告かなされている<sup>8)</sup>。これより、小腸における糖輸送担体の発現変動に関わる機構として、TCDD か、小腸の二糖類分解酵素活性に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられた。そこで、これを検討するため、TCDD による小腸のマルターゼ、ラクターゼおよびスクラーゼ活性の変化を観察した。5 週令雄性 C57BL/6J および DBA/2J マウスより小腸を摘出し、十二指腸側から約 10 cm までを小腸上部 (Proximal, P)、それ以降の約 10 cm までを中部 (Medial, M)、さらにそれ以降の約 10 cm までを下部 (Distal, D) として検討を行った (Fig 5)。その結果、C57BL/6J マウスの小腸上部 (P) におい

て、TCDD 処理により、スクラーゼ活性およびラクターゼ活性の増加か明らかとなった (Fig 5(A))。また、マルターゼ活性については、TCDD 処理 C57BL/6J マウス小腸のいずれの部位においても影響は認められなかった。これに対し、DBA/2J マウスにおいては、小腸のいずれの部位においても酵素活性に差は認められなかった (Fig 5(B))。この結果から、TCDD 処理 C57BL/6J マウスの小腸上部において観察されたスクラーゼ活性およびラクターゼ活性の上昇は、AhR 依存的な機構により生じた可能性か示唆された。

### C 考察

本研究より、TCDD 曝露マウス小腸において、上皮細胞の核/細胞比か増加する傾向にあることが明らかとなった。さらに、TCDD 曝露小腸におけるクルコース吸収能は、増加しており、その機構として糖輸送担体である SGLT1 および GLUT2 mRNA や SGLT1 タンパク質の増加、および小腸上部におけるラクターゼおよびマルターゼ活性の上昇か関与する可能性か示唆された。また、これらの変化は、ダイオキシン類に対して高親和性の AhR を発現している C57BL/6J マウスにのみ観察され、低親和性の AhR を発現している DBA/2J マウスでは観察されなかったことから、AhR 依存的な機構により惹起されている可能性か示唆された。これまでも、ダイオキシン類により糖代謝に関与する多くの酵素活性か低下することか報告されている<sup>9) 10)</sup>ことから、今回の結果は



TCDD により糖代謝のホメオスタシスが逸脱した状態に対する生体のフィードバック応答の結果である可能性が考えられた。本検討では小腸における糖質吸収の検討に終始したが、小腸は、無機物を含む他の栄養素の消化や吸収といった機能も有しており、それらへの影響についても興味もたれる。今後は、脂質やタンパク質といった他の栄養素の吸収能についても検討を加え、さらに TCDD 曝露早期における影響についても検討を行うことにより、ダイオキシン類による毒性発現機構、特に食物を介したエネルギー摂取との関与が予想される wasting syndrome の成因機序の解明に新たな知見を与えるものと考えている。

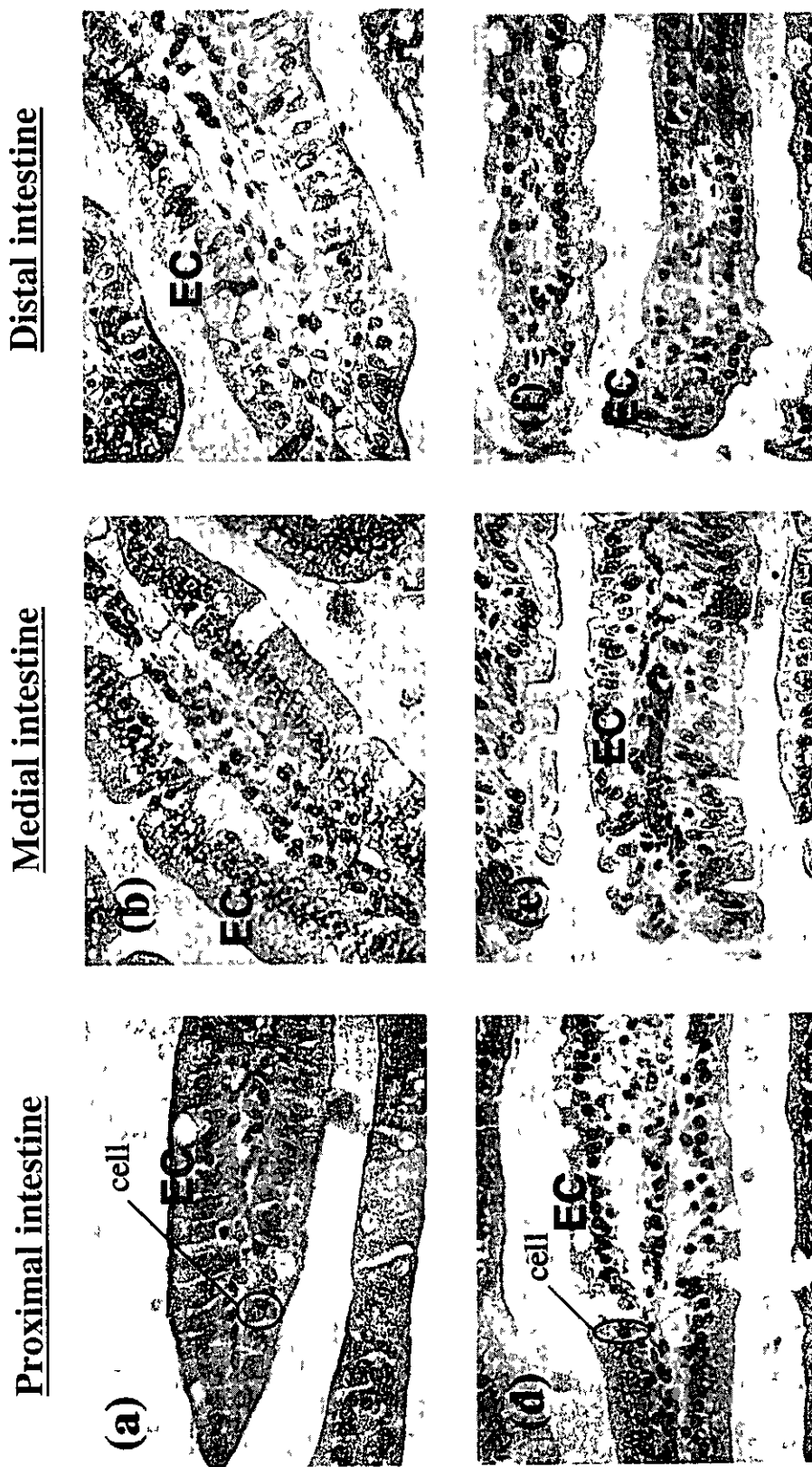
#### D. 参考文献

- 1) R A Brooks, N J Gooderham, R J Edwards, A R Boobis and D J Winton, *Carcinogenesis*, **20**, 109-114 (1999)
- 2) R E Peterson, M D Seefeld, B J Christian, C L Potter, C K Kelling and R E Keeseey, *Banbury Report*, **18**, 291-308 (1984)
- 3) G Muzi, J R Gorski and K Rozman, *Arch Toxicol*, **61**, 34-39 (1987)
- 4) M Ema, N Ohe, M Suzuki, J Mimura, K Sogawa, S Ikawa and Y Fujii-Kuriyama, *J Biol Chem*, **269**, 27337-27343 (1994)
- 5) J V Schmidt and C A Bradfield, *Annu Rev Cell Dev Biol*, **12**, 55-89 (1996)

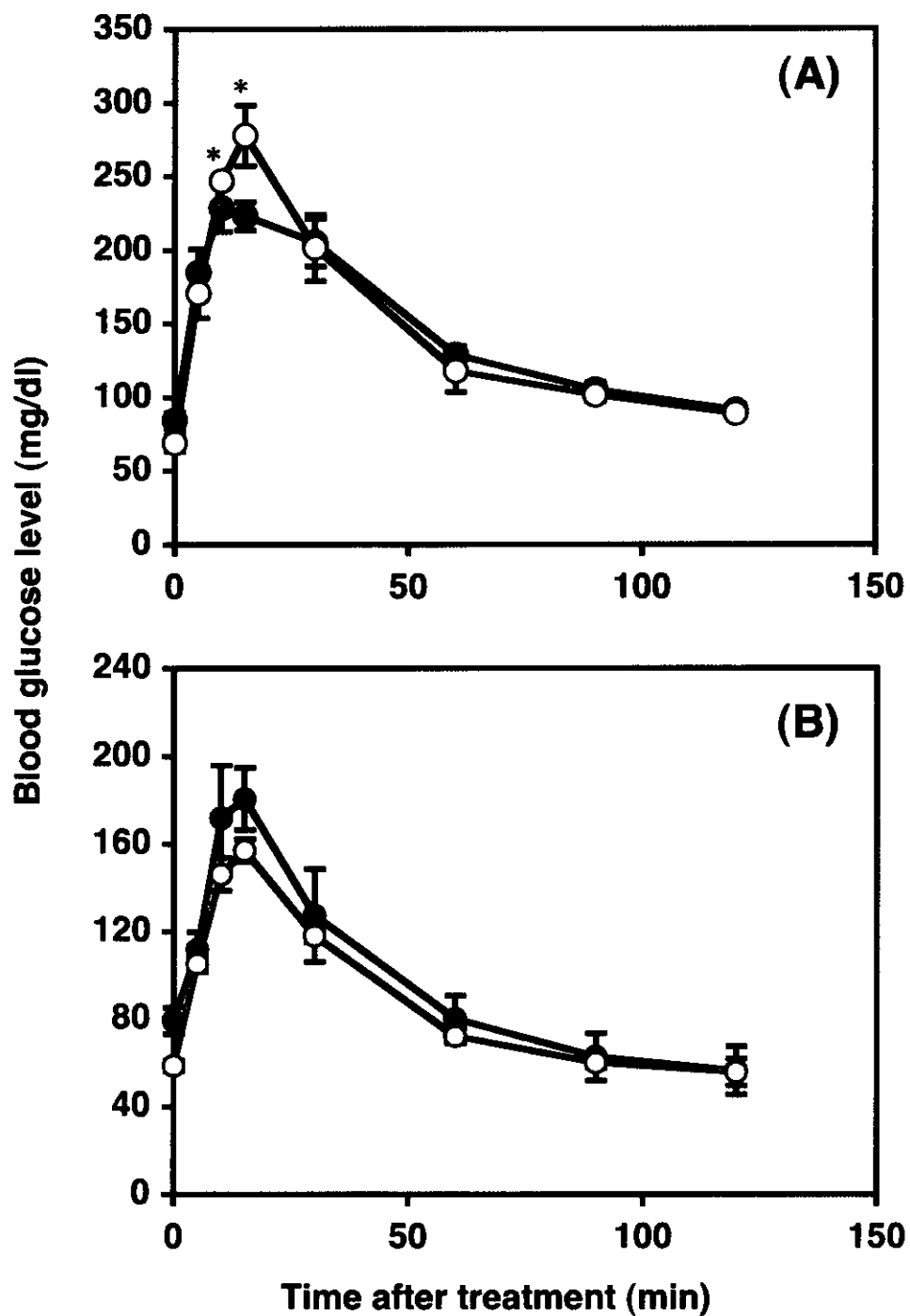
- 6) M A Hediger, M J Coady, T S Ikeda and E M Wright, *Nature*, **330**, 379-381 (1987)
- 7) N O Davidson, A M Hausman, C A Ifkovits, J B Buse, G W Gould, C F Burant and G I Bell, *Am J Physiol*, **262**, C795-800 (1992)
- 8) J Dyer, S Vayro, T P King, and S P Shirazi-Beechey, *Eur J Biochem*, **270**, 3377-3388 (2003)
- 9) L W Weber, M Lebofsky, B U Stahl, J R Gorski, G Muzi, and K Rozman, *Toxicology*, **66**, 133-144 (1991)
- 10) Y Ishii, H Kato, M Hatsumura, T Ishida, N Ariyoshi, and K Oguri, *Toxicology*, **116**, 193-199 (1997)

#### E 研究発表

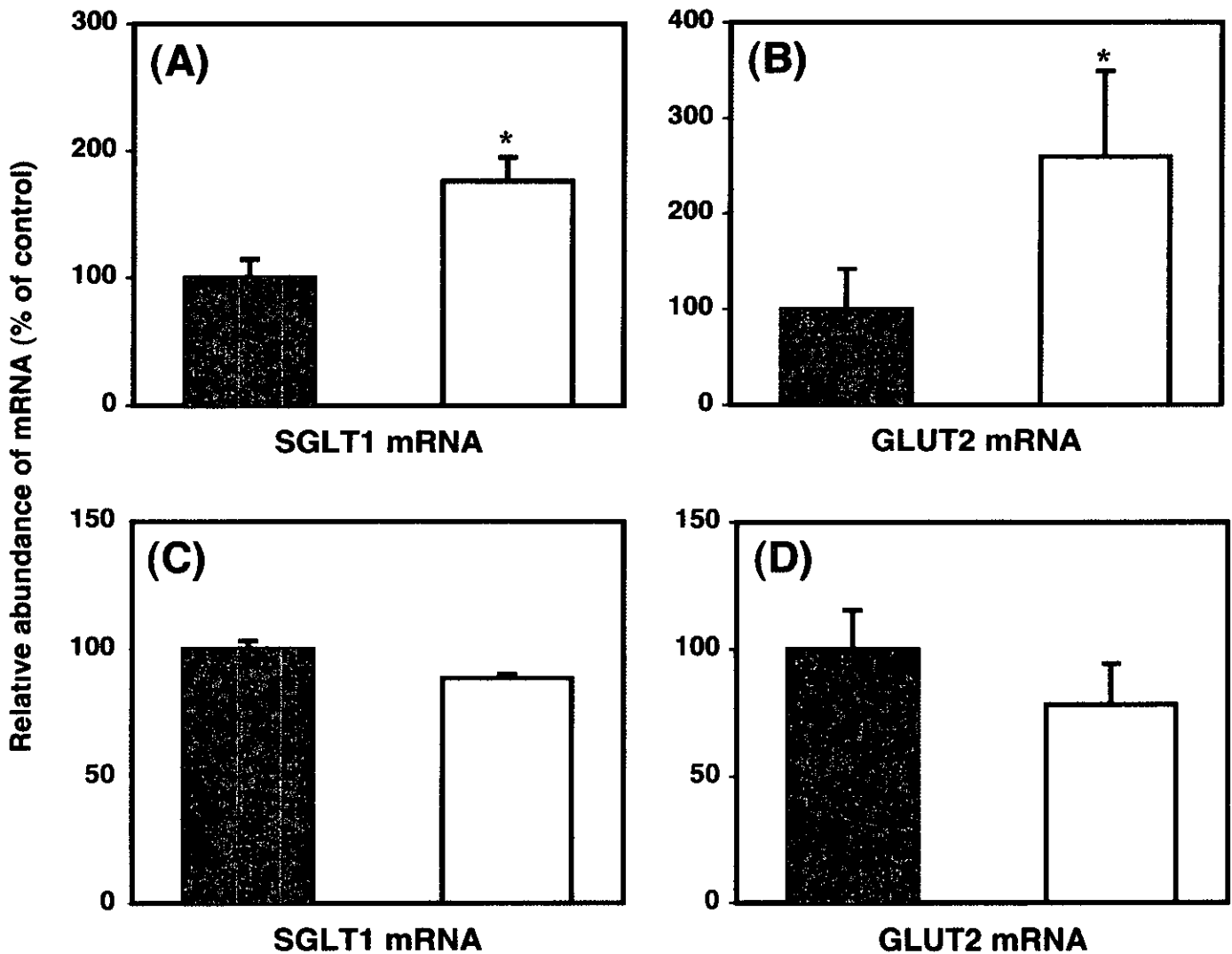
- 1) フォーラム 2003 衛生薬学・環境トキシコロシー (仙台、2003 年 10 月)
- 2) 第 20 回日本薬学会九州支部大会 (福岡、2003 年 11 月)



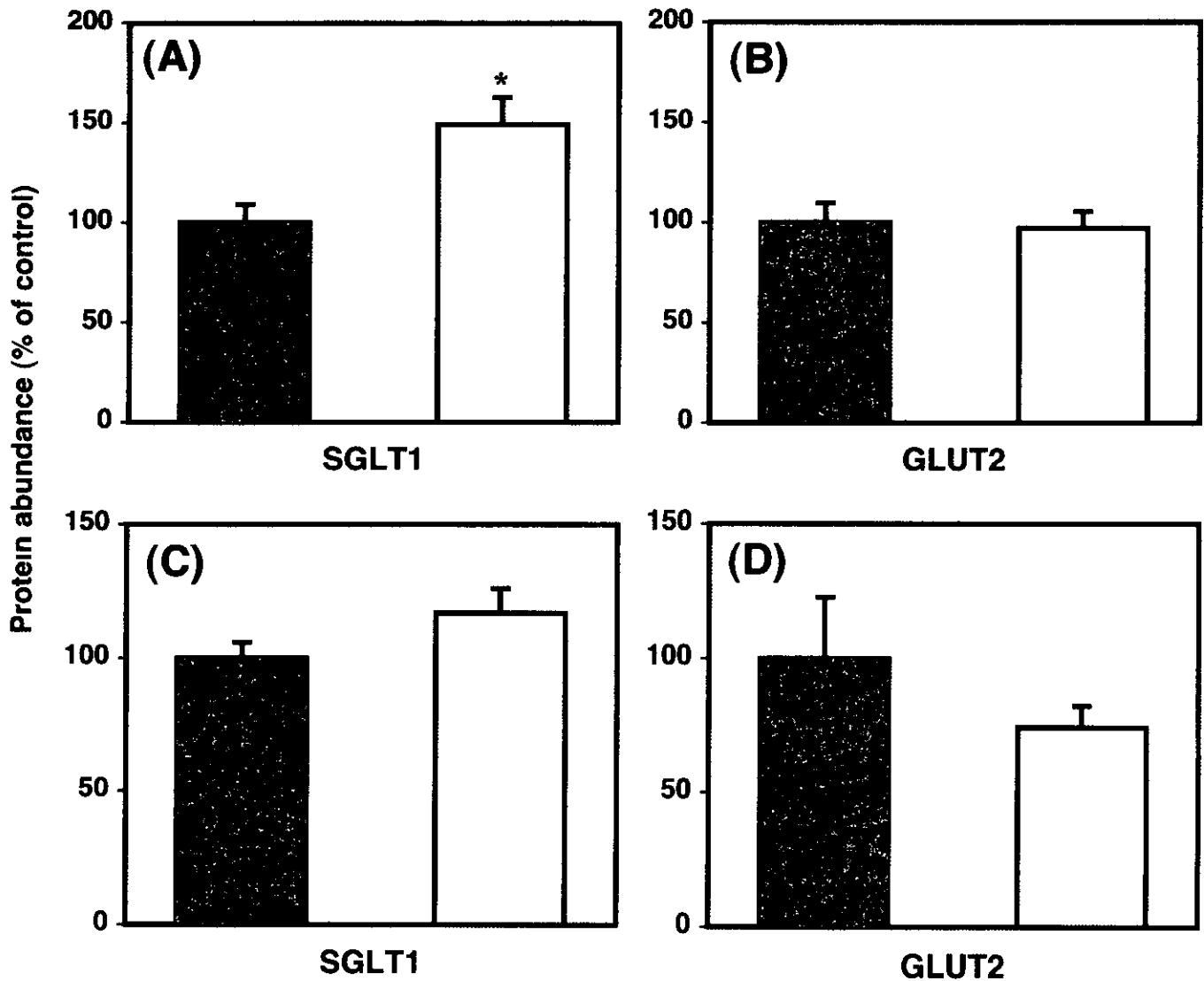
**Fig. 1** Morphometric study of intestine from mice treated with TCDD. Panel (a), (b), and (c) Control (x 640), Panel (d), (e), and (f) TCDD treatment (x 640) EC, epithelial cell



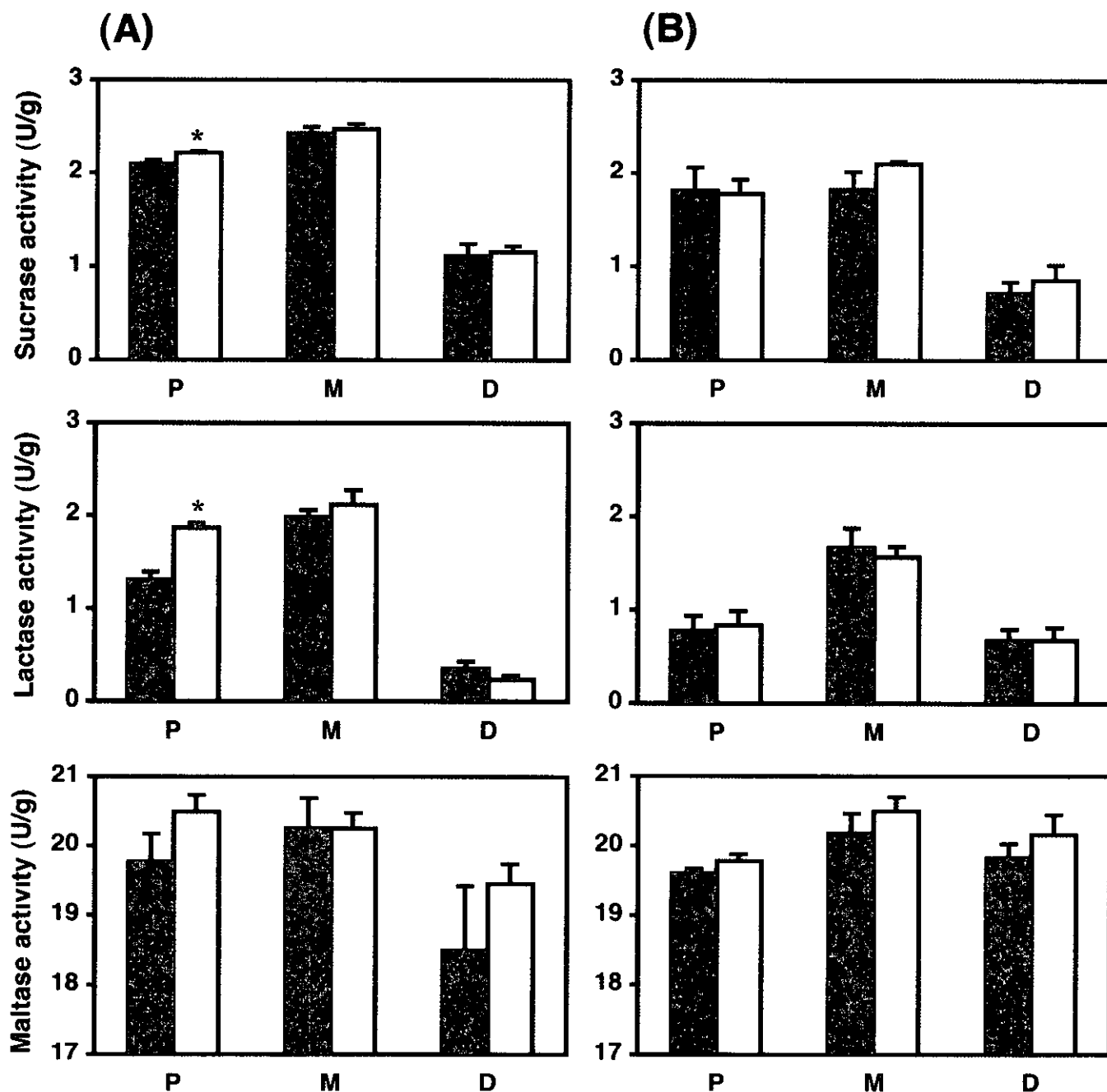
**Fig. 2 Oral glucose tolerance test. Changes of the blood glucose levels in C57BL/6J (A) and DBA/2J (B) mice.** Values represent the mean  $\pm$  S E of mice (n=4) Significantly different from control \*,  $p < 0.05$  Closed circle, Control, Open circle, TCDD treatment



**Fig. 3 Analysis of the expression of SGLT1/GLUT2 mRNAs in the intestine of C57BL/6J (A and B) and DBA/2J (C and D) mice by RT-PCR.** Total RNA was extracted from intestine of mice SGLT1/GLUT2 mRNAs were analyzed by semi-quantitative RT-PCR. PCR products were separated by an agarose gel (2 %) electrophoresis followed by staining with ethidium bromide.  $\beta$ -Actin was used as a standard for mRNA loaded. Relative expression (% of control) of SGLT1/ $\beta$ -actin mRNA in the intestine of C57BL/6J mice (A) and DBA/2J mice (C), and that of GLUT2/ $\beta$ -actin mRNA in C57BL/6J mice (B) and DBA/2J mice (D) are shown. Closed and open bars show the control and TCDD-treated mice, respectively. Values represent the mean  $\pm$  S.E. of mice (n=3 or 4). Significantly different from control \*,  $p < 0.05$ .



**Fig. 4 Immunoblot analysis of SGLT1/GLUT2 in intestine of C57BL/6J (A and B) and DBA/2J (C and D) mice treated with TCDD.** Intestinal homogenates (20  $\mu$ g) were subjected to SDS-PAGE (10% gel) followed by immunostaining with anti-SGLT1 and anti-GLUT2 antibodies, respectively. Relative abundance of SGLT1/GLUT2 was estimated by the blots. Closed and open bars show the control and TCDD-treated mice, respectively. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. of mice (n=5 or 4). Significantly different from control \*,  $p < 0.05$ .



**Fig. 5 Disaccharidase activity in the small intestine of C57BL/6J (A) and DBA/2J (B) mice.** Activities of the enzymes were expressed as U/g tissue. Closed and open bars show the control and TCDD-treated mice, respectively. Upper, middle and lower figures in panels A and B show the activities of sucrase, lactase and maltase, respectively. See text for the abbreviation of symbols (P, M and D). Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of mice (n=4). Significantly different from control \*,  $p < 0.05$ .

**Table 1 Relative intestinal weight and length of C57BL/6J mice treated with TCDD**

	weight (% of body weight)	length (cm)
Control	4.15 ± 0.26	28.8 ± 2.31
TCDD	4.70 ± 0.33	25.3 ± 2.52

Values represent the mean ± S.E. of mice (n=3)

**Table 2 Sequence primers and product size**

Primer	Primer sequence	Product size (bp)
SGLT1 sense	GAC ATC CAG TCA TCG TCA TC	501
antisense	TGT GAT TGT ATA AAG GGC AGT G	
GLUT2 sense	TGG GAT GAA GAG GAG ACT GAA	752
antisense	GTG ACA TCC TCA GTT CCT CCT AG	
$\beta$ -actin sense	CAC CAT GTA CCC AGG CAT CCG C	194
antisense	AGG GGC CGG ACT CAT CGT ACT	



## 分担研究報告書

### PCBメチルスルホン体生成酵素の検索 —小腸および腎での検討—

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-メチルチオ(MeS)-CB70 および 4-MeS-CB101 を用いて、ラットおよびモルモットの小腸および腎における S-酸化活性を調べ、肝 Ms と比較した。その結果、4-MeS-CB70 はラットおよびモルモット小腸 9000xg 上清により 4-メチルスルホキシト(MeSO)体へと酸化されたか、4-メチルスルホン(MeSO<sub>2</sub>)体の生成は全く認められなかった。しかしながら、4-MeS-CB101 は MC 前処理モルモット小腸で活性は低いものの、4-MeSO<sub>2</sub> 体まで酸化された。一方、腎 9000xg 上清では、ラットとモルモットいずれでも 4-MeSO 体の生成が CB70 および CB101 の両方で見られた。なお、4-MeSO<sub>2</sub> 体の生成は小腸の場合と同様に、MC 前処理モルモットにおいて、4-MeS-CB101 で見られ、活性は小腸の 4 倍高いものであった。免疫染色により、モルモット腎における 4-MeSO<sub>2</sub> 体の生成酵素として、チトクロム P450 である CYP1A1 あるいは CYP1A2 が重要であることが示唆された。

#### A 研究目的

現在、PCB の S 含有代謝物、すなわちメチルスルホン(MeSO<sub>2</sub>)体の毒性評価が重要な課題となっている。ある種の MeSO<sub>2</sub>体は肝に残留しやすいこと、また肝ミクロソーム(Ms)に局在するチトクロム P450(P450)を著しく誘導することから明らかになっている<sup>1)</sup>。また、血中甲状腺ホルモンレベルを低下させることも示唆されている<sup>2)</sup>。しかしながら、PCB から MeSO<sub>2</sub>体までの代謝経路についてはよくわかっていない。当研究室ではこれまでに、4-メチルチオ(MeS)-2,5,3',4'-四塩素化ヒフェニル(CB70)および4-MeS-2,5,2',4',5'-五塩素化ヒフェニル(CB101)をモデル化合物として用い、4-MeS体からメチルスルホキシト(MeSO)体、さらに4-MeSO<sub>2</sub>体へといったS-酸化反応に関与する酵素系について、ラット、ハムスターおよびモルモット肝Msを用いて調べた。その結果、P450分子種としてラットではCYP2B1および雄特異的な

CYP2C11か、また、ハムスターではHPB-1(CYP2B)か、モルモットではCYP2B18か最も重要であることが明らかとなった<sup>3)</sup>。また、S-酸化活性はモルモットで最も高く、ハムスター、ラットの順であること、塩素が1個多い4-MeS-CB101の方が、4-MeS-CB70より酸化されやすいことも明らかとなった。そこで本年度は、上記の2つの4-MeS体を用いてラットおよびモルモットの小腸および腎におけるS-酸化活性を調べ、肝Msと比較した。

#### B 研究方法

1) 小腸および腎9000×g上清の調製  
未処理あるいはP450誘導剤のフェノールヒタール(PB) (80mg/kg×3)、3-メチルコラントレン(MC) (20mg/kg×3)またはテキサメサゾン(Dex) (300mg/kg×2)前処理した上記実験動物より小腸および腎を摘出し、常法により9000×g上清を調製した。なお、9000×g上清調製時にはトリプシンインヒビター(0.3mg/ml)を添加した。2) S-酸化活性 40μM 4-MeS-

CB70および4-MeS-CB101をMgCl<sub>2</sub>、NADPH存在下、好氣的に小腸あるいは腎9000×g上清とともにHEPES緩衝液(pH 7.4)中、37℃で60分間インキュベートした。代謝物は、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)にて定量した。

3) 小腸および腎9000×g上清中P450分子種の検出 小腸あるいは腎(30μg protein)を、電気泳動後、フロンテイングを行った。染色は、1次抗体(ヤキ抗ラットP450抗体)および2次抗体(ウサキ抗ヤキIgG抗体-HRP複合体)を用い、コニカイムノステインキントにより行った。

## C 結果

小腸のS-酸化活性 (Fig. 1) CB70の4-MeSO<sub>2</sub>体の生成はいずれの動物小腸でも観察されたか(ラット>モルモット)、4-MeSO<sub>2</sub>体は全く生成されなかった。一方、CB101の場合は、CB70と異なり、4-MeSO<sub>2</sub>体の生成はモルモットの方がラットより多く、加えてMC前処理モルモット小腸では4-MeSO<sub>2</sub>体が生成された(8pmol/60min/mg protein)。

腎のS-酸化活性 (Fig. 2) CB70の場合、小腸の結果と全く同様に、4-MeSO<sub>2</sub>体はいずれの動物でも生成されたか(ラット>モルモット)、4-MeSO<sub>2</sub>体は全く生成されなかった。ところか、CB101の場合、4-MeSO<sub>2</sub>体はMC前処理の両動物において、未処理に比へラットで4.3倍、モルモットで8.4倍と有意に増加していた。さらに、4-MeSO<sub>2</sub>体は、MC前処理モルモット腎でのみ生成された(32pmol/60min/mg protein)。

免疫染色 ラットおよびモルモットの小腸と腎9000×g上清を数種類のラット抗血清を用いて免疫染色をしたところ、両動物の腎において、CYP1A1と思われる1本の染色バンドがMC前処理で顕著に増加していた。なお、ラット小腸において

はPB前処理でCYP2B1/2か、MC前処理でCYP1A1/2が増加していることが確認された。

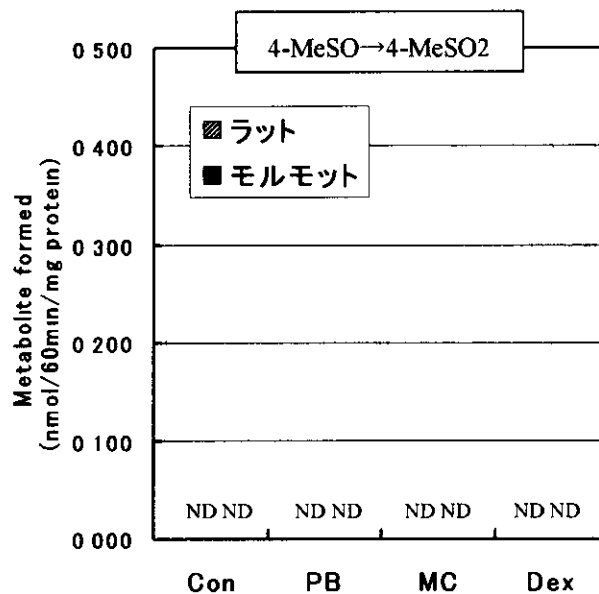
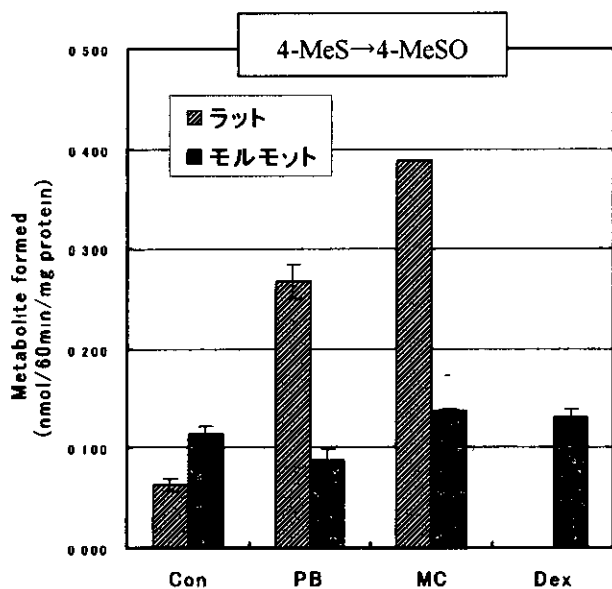
## D 考察

昨年報告のラットとモルモット肝の結果では、いずれの動物でもPB誘導性のP450、特にラットではCYP2B1/2、モルモットではCYP2B18の関与が大きかった。しかしながら、今回、小腸および腎における4-MeSO<sub>2</sub>体の生成活性を調べたところ、腎の方が小腸に比へ数倍高いこと、また、MC誘導性のP450、特にCYP1A1/2が重要であることが明らかとなった。これらの結果は、臓器の違いによって、S-酸化反応に関与するP450が異なることを示唆している。また、MC前処理の両動物腎においていずれもCYP1A1/2と思われるタンパク質が顕著に増加していたか、4-MeSO<sub>2</sub>体の生成活性に大きな種差があった。これはラットとモルモット腎CYP1A1/2の基質特異性が大きく異なることを示していると考えられる。現在のところ、モルモットCYP1A1/2についてはほとんど報告がないことから、今後の検討課題である。

## 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. Masuda, R. Kimura, *Arch Toxicol*, 72, 541 (1998)
- 3) N. Koga, K. Haraguchi, T. Kanamaru, N. Oishi, H. Kuroki, Y. Masuda and H. Yoshimura, *Organohalogen Compounds*, 49, 193 (2000)

### A) 4-MeS-CB70



### B) 4-MeS-CB101

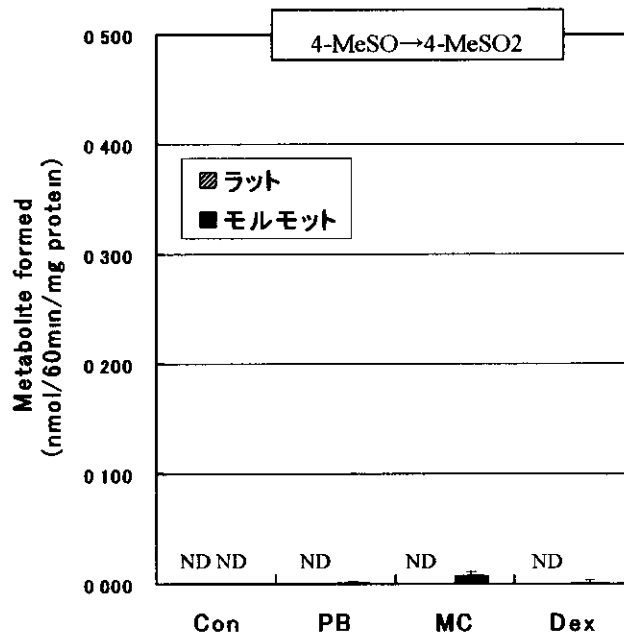
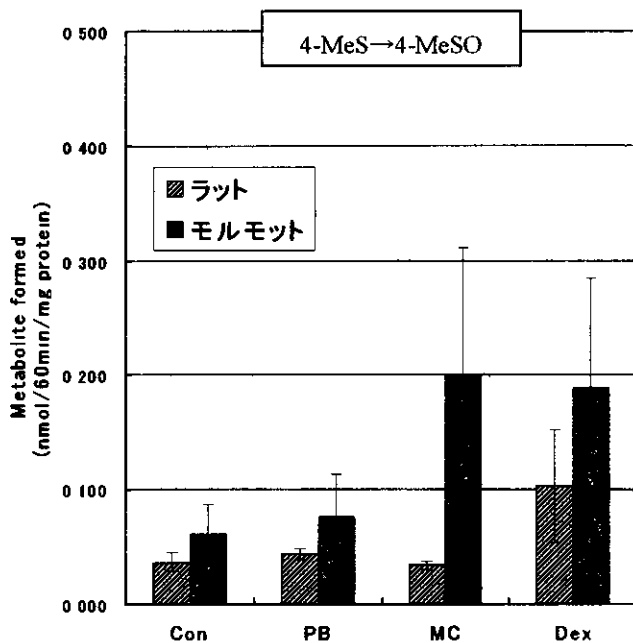
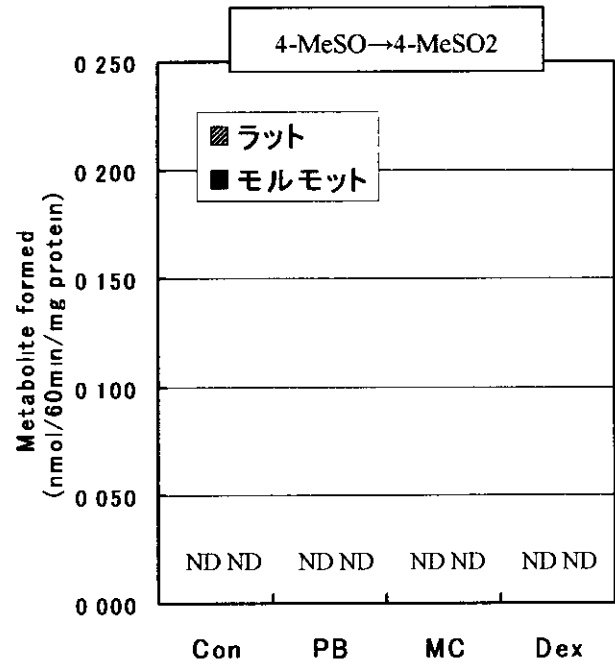
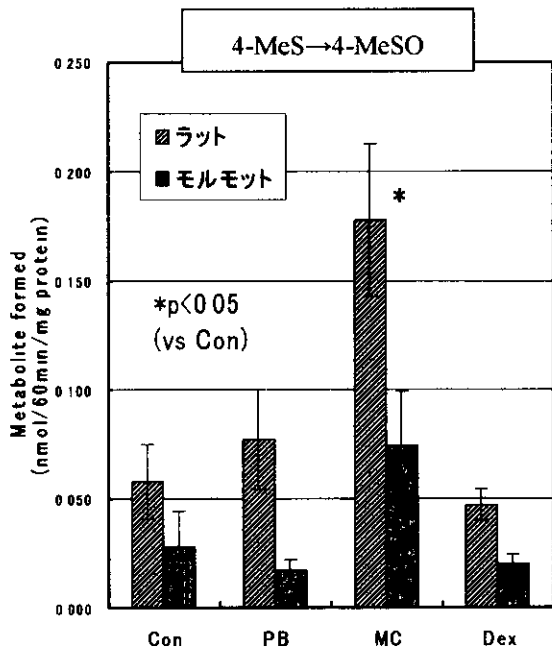


Fig 1 Metabolism of 4-MeS-CB70 and 4MeS-CB101 by small intestine 9000xg supernatant of rats and guinea pigs

### A) 4-MeS-CB70



### B) 4-MeS-CB101

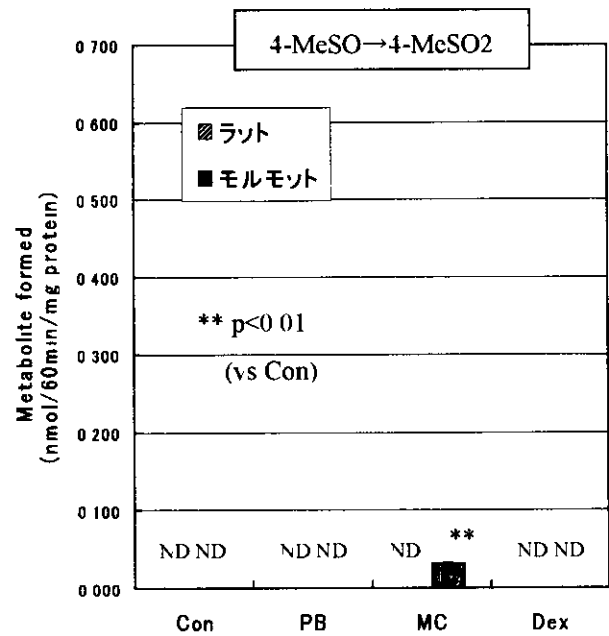
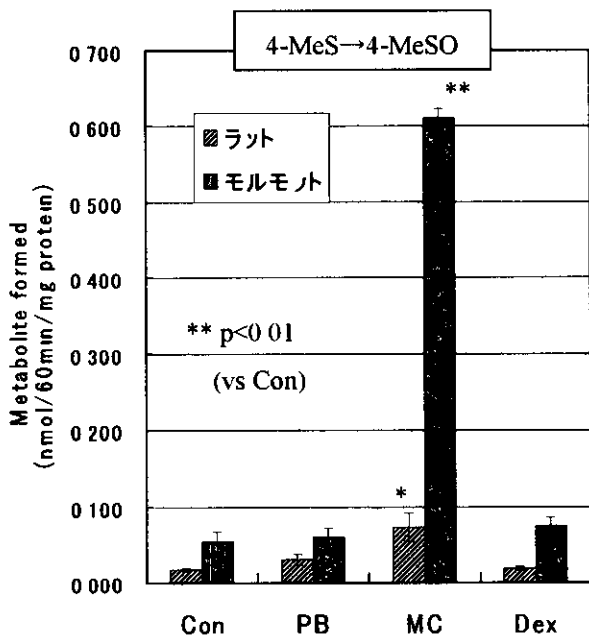


Fig 2 Metabolism of 4-MeS-CB70 and 4MeS-CB101 by kidney 9000xg supernatant of rats and guinea pigs