

15	Hossain A, Tsuchiya S, Minegishi M, Osada M, Ikawa S, Tezuka FA, Kaji M, Konno T, Watanabe M, Kikuchi H.	The Ah receptor is not involved in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- p-dioxin-mediated apoptosis in human leukemic T cell lines.	J Biol Chem. 1998 Jul 31;273(31):19853-8. [PubMed]	免疫
16	Kekeyama M, Tohyama C.	Developmental neurotoxicity of dioxin and its related compounds.	Ind Health. 2003 Jul;41(3):215-30. Review. [PubMed]	神経
17	Kimmel CA, Makris SL.	Recent developments in regulatory requirements for developmental toxicology.	Toxicol Lett. 2001 Mar 31;120(1-3):73-82. Review. [PubMed]	免疫
18	Kolker S, Ahlemeyer B, Huhne R, Mayatepek E, Kriegstein J, Hoffmann GF.	Potentiation of 3-hydroxyglutarate neurotoxicity following induction of astrocytic iNOS in neonatal rat hippocampal cultures.	Eur J Neurosci. 2001 Jun;13(11):2115-22. [PubMed]	神経
19	Kolker S, Ahlemeyer B, Kriegstein J, Hoffmann GF.	Contribution of reactive oxygen species to 3-hydroxyglutarate neurotoxicity in primary neuronal cultures from chick embryo telencephalons.	Pediatr Res. 2001 Jul;50(1):76-82. [PubMed]	神経
20	Konno N.	[Neurotoxicity of organophosphorus and dithiocarbamate compounds]	Nippon Eiseigaku Zasshi. 2003 Jan;57(4):645-54. Review. Japanese. [PubMed]	神経
21	Kroes R, Galli C, Munro I, Schiiter B, Tran L, Walker R, Wurtzen G.	Threshold of toxicological concern for chemical substances present in the diet: a practical tool for assessing the need for toxicity testing.	Food Chem Toxicol. 2000. Feb-Mar;38(2-3):255-312. Review. PMID: 10717364 [PubMed - indexed for MEDLINE]	-
22	Mizuhashi S, Ikegaya Y, Matsuki N.	Cytotoxicity of tributyltin in rat hippocampal slice cultures.	Neurosci Res. 2000 Sep;38(1):35-42. [PubMed]	免疫
23	Moser VC	Increased susceptibility of adults following developmental exposure to neurotoxicants: another susceptible population?	Neurotoxicology 2001 Dec;22(6):872 [DART]	神経
24	Nielsen JB, Strand J.	Butyltin compounds in human liver.	Environ Res. 2002 Feb;88(2):129-33. [PubMed]	免疫
25	Schwetz BA	Developmental neurotoxicity of endocrine disruptors: focus on estrogens.	Neurotoxicology 2000 Feb-Apr;21(1-2):250 [DART]	神経
26	Tyl RW, Friedman MA.	Effects of acrylamide on rodent reproductive performance.	Reprod Toxicol. 2003 Jan-Feb;17(1):1-13. Review. [PubMed]	神経
27	van Leeuwen EX, FEELY M, Schrenk D, Larsen JC, Farland W, Younes M	Dioxins : WHO's tolerable daily intake (TDI) revisited.	Chemosphere. 2000 May-Jun;40(9-11):1095-101. PMID: 10739051 [PubMed - indexed for MEDLINE]	-
28	Weiss B	Sexually dimorphic nonreproductive behaviors as indicators of endocrine disruption	Environ Health Perspect. 2002 Jun; 110 Suppl 3:387-91.Review. PMID: 12060833 [PubMed - indexed for MEDLINE]	神経
29	Winneke G, Walkowiak J, Lilienthal H.	PCB-induced neurodevelopmental toxicity in human infants and its potential mediation by endocrine dysfunction.	Toxicology. 2002 Dec 27;181-182:161-5. Review. [PubMed]	神経

付録11 第6回日本内分泌攪乱化学物質学会要旨集から抽出された神経/行動毒性または免疫毒性関連の発表

発表 番号	タイトル	著者名	標的器官	物質	生物	影響	時期
PD-100	ラット脳海馬の性ステロイド合成に与えるビスフェノールAの影響	北條森嗣、木本哲也、榎並太平、渡部晶、堤治、川戸佳	NEURO	BPA	rat	neurosteroid synthesis/hippocampus	perinatal exposure
PD-37	周産期ビスフェノールAおよびノニルフェノール暴露が行動に及ぼす影響	根岸隆之、川崎勝義、石井寿幸、久和茂、黒田洋一郎、吉川泰弘	NEURO	lowdose-BPA	rat	behavioral alteration	perinatal exposure
PD-55	ラット培養神経細胞のカルシウムホメオスタシスにおけるPCBの影響	岡田淳一、佐藤栄秀、鯉淵典之	NEURO	lowdosePCB-OH	rat	Ca homeostasis	
PE-25	免疫担当細胞の一酸化窒素合成酵素活性に及ぼすエストロゲン様物質の影響	坂崎文俊、井戸良子、高谷千寿子、田川友之、上野仁、中室克彦	IMMUNE	E2	macrophage	NO synthase	
PE-26	マウス遅延型過敏反応とサイトカイン産生における $17\beta$ -estradiolの影響	藤井一憲、坂崎文俊、石川康則、児玉清香、上野仁、中室克彦	IMMUNE	E2	mouse	Delayed type hypersensitivity /II-4	adult
PE-32	EFFECTS OF PCDDs, PCDFs AND COPLANAR PCBs ON IMMUNE RESPONSE AND THYROID HORMONE SYSTEMS IN JAPANESE MOTHERS	Junya Nagayama, Hiroshi Tsuji, Takao Iida, Takashi Yanagawa, Jun ichiro Fukushige, Tadayoshi Watanabe	THYROID, IMM	PCDD-PCDF-PCB	Human/Japanese mother	T3, T4, TSH, TBG in blood of mother	perinatal
PG-3	ホルムアルデヒド暴露によるマウス大脳皮質のPKC活性変化	唐崎祐治、苗田由紀子、櫻田尚樹、保利一、嵐谷一	NEURO/brain	formaldehyde	mouse	PKC	
A3-3	PCBsによる甲状腺ホルモン受容体を介した転写活性の抑制機構	宮崎航、岩崎俊晴、竹下彰、黒田洋一郎、鯉淵典之	THYROID	PCB	cell mammalian two-hybrid	coactivator and corepressor interaction with TR	
B1-8	SEXUAL DISTINCTION IN EFFECTS OF PERINATAL EXPOSURE TO ORGANIC CHLORINE PESTICIDES, PCBs AND THYROID HORMONE SYSTEMS IN JAPANESE INFANTS	Junya Nagayama, Hiroshi Tsuji, Takao Iida, Takashi Yanagawa, Jun ichiro Fukushige, Tadayoshi Watanabe	THYROID	Organochlorine pesticides, PCB	Japanese infant	T3, T4, TSH, TBG in blood of infant	perinatal exposure
B4-3	ビスフェノールAに曝露されたマウスの行動異常-脳内エストロゲンレセプター発現やセロトニン機能の検討-	河合啓介、村上修二、仙波恵美子、高倉修、野崎剛弘、龍井正人、久保千春	NEURO/brain	BPA	mouse	contact time and aggression, serotonin production	prenatal
B4-6	内分泌攪乱化学物質と脳の発達障害	石堂正美、増尾好則、岡修一、森田昌敏	NEURO	20 EDCs including phthalates	rat	ADHD	postnatal

PD-102	NEURO-SPECIFIC PROTEINS IN REPRODUCTIVE ORGANS AS POSSIBLE BIOMARKERS FOR ASSESSING ADVERSE EFFECTS OF 1-BROMOPROPANE	Ohailan Wang, Hidenori Ito, Kanefusa Kato, Weihua Li, Yasuhiro Takeuchi, Tamie Nakajima, Gaku Ichihara	NEURO	Bromopropane	rat	neuro-specific proteins synthesis	adult
PD-18	ディーゼル排ガスの周産期曝露によるマウス脳の性分化関連因子への影響	渡邊学、机直美、高野裕久、武田健	NEURO	DEP	mouse	behavioral sex differentiation	perinatal exposure
PD-76	周産期内分泌かく乱物質曝露がマウスの視床下部と扁桃体領域におけるMAP/ERKkinaseおよびエストロゲン受容体	田中美加、大谷金子律子、横須賀誠、渡辺知保	NEURO	lowdose-BPA	mouse	hippocampal formation	perinatal exposure
PD-77	ラット脳海馬における環境ホルモンビスフェノール-Aの作用の解析	田辺伸聡、高橋泰城、岡田和、船江良彦、川戸佳	NEURO	lowdosePCB	rat	cerebellar differentiation	postnatal
PD-78	低濃度水酸化PCBによる甲状腺ホルモン依存性小脳プルキンエ細胞発達分化の阻害	木村・黒田純子、永田功、黒田洋一郎	NEURO	PCB	Purkinje cell	inhibition of cellular development and differentiation	
PD-87	ダイオキシンの経胎盤・経母乳曝露によるマウス免疫反応への影響	井上薫、藩小青、伊藤智彦、今井統隆、藤巻秀和、遠山千春、野原池田真紀、川上智史、門脇武博、相澤好治、坂部 貢	IMMUNE	dioxin	mouse	IL-4-antiOVAIgE increase	perinatal exposure
PD-88	フタル酸エステル類の一次免疫中枢の機能形態に及ぼす影響		IMMUNE	lowdose-phthalate	rat	lymphocyte apoptosis	adult
PD-91	Transient neonatal exposure of brain to testosterone surge initiates amplification of testosterone production in astrocytes.	Ojoji Tsunada, Mayumi Ishizuka, testostosterone surge initiates amplification of Akio Kazusaka and Shoichi Fujita	NEURO	testosterone	rat & glyoma cell	amplification of testosterone production in astrocytes	neonatal
PD-94	マウスの一般活動性ならびに学習・記憶に及ぼすニルフェノールの影響	粟田英光、高橋茜、松尾美恵子、山下樹三裕	NEURO	nonylphenol	mouse	locomotor activity-passive avoidance	adult
PD-97	内分泌攪乱化学物質の周産期曝露は、ラット行動と青斑核の性差を変える	久保和彦、栗生修司、荒井興夫	NEURO	BPA DEHP TBT	rat	open-field behavior-locus coeruleus size	perinatal
PD-99	極微量ビスフェノールAの胎生期曝露による高次中枢機能への影響	藤本哲也、久保和彦、内田典子、栗生修司	NEURO	lowdose-BPA	rat	behavioral	fetal
PE-12	環境由来化学物質の周産期曝露が児の発達に及ぼす影響に関するコホート調査-生体資料におけるPCBs及びダイオキシン類の分析戦略-	中村朋之、仲井邦彦、鈴木恵太、岡知子、斉藤善則、	NEURObehavioral	halogenated organic pollutants/heavy metals	Human	epidemiological study design	perinatal
PE-28	環境由来化学物質の周産期曝露が児の発達に及ぼす影響に関するコホート調査-甲状腺ホルモンと新生児の神経行動学的発達	鈴木恵太、仲井邦彦、岡知子、細井徹、岡村州博、堺武男、佐藤洋	NEURO	halogenated organic pollutants & heavy metals	Human	neurobehavioral	perinatal

NEURO: 神経、NEURObehavioral: 神経行動、NEURO/brain: 神経/脳、IMMUNE: 免疫、THYROID: 甲状腺

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

食品中のホルモン様物質と人工のホルモン様物質による生物影響の  
差異に関する文献調査研究

分担研究者 松井三郎 京都大学地球環境学堂

研究要旨

食品中には植物ホルモンなど様々なホルモン様物質が存在している。人間のこれらの摂取量は、環境汚染物質よりもはるかに大きいため、食品中のホルモン様物質は活性が弱くても環境汚染物質よりも大きな影響を与えている可能性がある。本研究では、内分泌攪乱と密接に関係する AhR リガンドに焦点を当て、食品中や生体中に天然に存在している AhR リガンドについて調査を行った。その結果、様々な食品（ジャガイモ、コーヒー、リンゴ、トウモロコシ、唐辛子、ピーマン、キャベツ、ブロッコリー）中に強い AhR リガンドとその阻害剤が存在していることや、ジェニステイン、ダイゼインなどのイソフラボン類にも AhR リガンド活性があることが明らかとなった。また、AhR リガンドの多くは様々なキナーゼを阻害する活性があり、両者になんらかの関係があることが示唆された。

A. 研究目的

AhR は TCDD の引き起こす様々な毒性に関与する。しかし、我々が発見したインディルピンをはじめとして、食品中や天然に存在する AhR リガンドも多く存在することが明らかとなっている。本研究では、これらの知見をまとめそれらの活性を比較することにより、AhR の役割について考察する。

B. 研究方法

食品中や天然に存在する AhR に関する文献を収集し、情報をまとめて考察した。

C. 研究結果

現在までに知られている天然の AhR リガンドには、人間の尿中に存在し、活性の強いインディルピンおよびインディゴ、豚の肺組織から単離された ITE、ブロッコリーや芽キャベツ中に含まれる ICZ および DIM、トリプトファンに紫外線を照射して生成する FICZ および dFICZ、などがあり、これらはすべてインドール環を持つ化合物である。一方 Jeuken らは 2003 年の J. Agric. Food Chem. において様々な食品中（ジャガイモ、コーヒー、リンゴ、

トウモロコシ、唐辛子、ピーマン、キャベツ、ブロッコリー）に強い AhR リガンドが存在することを報告している。これらの構造はまだ明らかになっていないが、上記のようなインドール化合物である可能性が高いと考えられる。このほか食品中では、ファイトエストロゲン類のダイゼイン、ジェニステイン、ワイン中に含まれるレズベラトロールなども AhR を活性化する。また生体中ではリポキシン A4、ビリルビン、7ケトコレステロールなどが AhR リガンド活性を持つことが報告されている。

D. 考察

AhR リガンドの性質を調べると、多くのリガンドがリン酸化に影響を与える活性も併せ持っていることが目に付く。例えば薬剤では、SU5416（血管新生阻害剤、Receptor tyrosine kinase inhibitor）および SP600125（Jun N-terminal kinase inhibitor）など、インドール構造を有する物質に AhR リガンド活性があることが報告されている。今回リストアップされた天然の AhR リガンドのうち、インディルピンとジェニステインにキナーゼ阻

害活性が報告されている。また、TCDD、B(a)P もキナーゼの阻害活性を持つ。レズベラトロールはキナーゼを活性化する。これらを考え合わせると、AhR は細胞内のリン酸化カスケードを攪乱するような物質群を代謝するために発達したものかもしれない。今後注意深くこの仮説を検証したい。

#### E. 結論

数種類の天然の AhR リガンドが単離されており、また、食品中にも様々な AhR リガンドが存在していることが文献調査で明らかとなった。これら AhR リガンドはリガンド活性以外にも様々な生理活性を持つことが報告されており、特に細胞のリン酸化シグナルに影響を与える活性がある。これらにはなんらかの必然的な関係があるのかもしれない。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得      なし
2. 実用新案登録   なし
3. その他          なし

厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)  
分担研究報告書

低用量 estrogenic chemicals による前立腺重量、発育などに対する影響の研究

分担研究者 杉村芳樹 三重大学医学部教授

研究要旨

発生初期の前立腺における低用量 estrogenic chemicals による前立腺重量、形態変化に対する影響について検討するため、生直後の雄マウスに 3 日間 diethylstilbestrol (DES) を投与して、前立腺の腹葉と後側葉を微小解剖して形態測定と組織学的検討を行った。前立腺重量および前立腺腺管分枝形態発生は  $10\mu\text{g}\cdot 1\mu\text{g}$  投与群において抑制されたが、 $1\text{ng}\cdot 1\text{pg}$  投与群ではこの変化は認められなかった。前立腺発生初期における estrogenic chemicals 暴露は濃度依存的に長期間にわたる形態学的影響を及ぼすことが示唆された。

A. 研究目的

前立腺にはエストロゲン受容体が存在することから、胎児期および新生児期に estrogenic chemicals に暴露されることにより前立腺の発生に影響を与えると推察される。本研究では低用量の diethylstilbestrol (以下 DES) を投与することにより、前立腺発生初期における estrogenic chemicals の暴露が、生長後における前立腺形態発生に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

生後 1~3 日の雄 BALB/c マウスに DES を投与し 7、15、30、60 日後に前立腺の腹葉 (Ventral Prostate ; VP) と後側葉 (Dorsolateral Prostate ; DLP) を摘出し湿重量を測定した。DES 投与量は  $10\mu\text{g}$ 、 $1\mu\text{g}$ 、 $1\text{ng}$ 、 $1\text{pg}/\text{g}/\text{body}$ 、コントロールとしては sesame oil を同用量投与した。重量測定後、Microdissection 法にて 2 次元的な腺管分枝構造に注目し形態変化を検討。エストロゲン受容体の発現については免疫染色にて検討した。

(倫理面への配慮)

本研究では、やむを得ず実験動物を使用した。その使用数は最小限にとどめ、当大学の実験動物取り扱い倫理規定に準拠し、十分な配慮を行った。

C. 研究結果

前立腺重量および腺管先端数は  $10\mu\text{g}$ 、 $1\mu\text{g}$  群において減少を認めたが、 $1\text{ng}\cdot 1\text{pg}$  群では変化は無かった。また  $10\mu\text{g}$ 、 $1\mu\text{g}$  群の特に DLP において結節状の異常腺管構造を認めた。

前立腺重量は 60 日後でみると VP は Control 群と比較し  $10\mu\text{g}\cdot 1\mu\text{g}$  群で有意な減少 (VP は  $10\mu$  群で 27%、 $1\mu\text{g}$  群では 30% の重量減少、DLP は  $10\mu\text{g}$  で有意な減少 (44% の重量減少) を認めたが、 $1\text{ng}\cdot 1\text{pg}$  群では変化は認められなかった。この重量変化の傾向は 7、15 日目では有意差は認められなかったが 30 日後において、VP では  $10\mu\text{g}$  群の重量減少 (38% の減少)、DLP では  $10\mu\text{g}\cdot 1\mu\text{g}$  投与群 ( $10\mu\text{g}$  群で 46%、 $1\mu\text{g}$  群で 29% の重量減少) で重量減少を認めた。前立腺腺管の形態発生の指標として腺管先端数を比較すると VP および DLP ともに  $10\mu\text{g}\cdot 1\mu\text{g}$  群で腺管先端数は減少を認めたが (VP は  $10\mu\text{g}$  で 58%、 $1\mu\text{g}$  群で 49%、DLP は  $10\mu\text{g}$  で 46%、 $1\mu\text{g}$  で 54% の減少)。 $1\text{ng}\cdot 1\text{pg}$  群において腺管先端数は Control 群と較べ変化は認められなかった。この  $10\mu\text{g}\cdot 1\mu\text{g}$  群における腺管先端数の減少は 7、15、30、60 日目のいずれにおいても認められた。また DES を投与すると腺管分枝形態発生の抑制と一結節状の異常腺管構造が出現することが知られているが、この結節状の異常腺管

構造は本実験で DLP においては  $10\mu\text{g} \cdot 1\mu\text{g}$  群に、VP においては  $10\mu\text{g}$  投与群にのみ認められたが  $1\text{ng} \cdot 1\text{pg}$  群においては認められなかった。ただし、VP の異常腺管構造はごく一部の腺管にのみ認めただけであった。DLP において異常腺管構造は 15 日目より出現し、経時的に増加し 60 日目において  $10\mu\text{g}$  群では全体の腺管の約 75%、 $1\mu\text{g}$  群では約 35%に異常腺管構造を認めた。組織学的には DLP における結節状の異常腺管構造は炎症細胞浸潤と異型上皮細胞を含むものの癌組織病変は認めなかった。

#### D. 考察

発生初期の前立腺に対するエストロゲン暴露は生長後の前立腺の増殖および分化を抑制し催奇形性をもたらすことが知られているが(Rajfer et al. Urol. 1978)、この作用は高用量のエストロゲン暴露により発現すると考えられている。一方 vom Saal ら(Proc Natl Acad Sci. 1997)らが胎児期に  $0.2\text{ng/g/body}$  の DES を投与して前立腺重量の増加を認めたとの報告し、いわゆる低用量効果として認識されている。今回我々の実験においては、高用量と考えられる DES 投与量として  $10\mu\text{g}$  を、低用量の DES 投与量として  $1\text{pg}$  を投与したが、 $10\mu\text{g} \cdot 1\mu\text{g}$  投与群はその重量の減少を認めたが、 $1\text{ng} \cdot 1\text{pg}$  群において重量の変化は認められず、いわゆる低用量効果は認められなかったが、今後  $1\text{pg}$  群よりさらに低用量の DES 投与の結果が必要であると思われる。催奇形性に関しては我々の実験では、 $10\mu\text{g} \cdot 1\mu\text{g}$  投与群の DLP において異常腺管構造の発生が強く認められ、また  $10\mu\text{g}$  投与群の VP においても若干の異常腺管構造が認められたが、 $1\text{ng} \cdot 1\text{pg}$  群においてはこの異常腺管構造は認められなかったことから DES の前立腺に対する催奇形性は  $1\mu\text{g/g/body}$  以上の投与で起こると考えられる。前立腺の発生・増殖・分化は主に間質細胞に存在する ER- $\alpha$  と増殖因子、上皮に存在する ER- $\beta$  が重要な役割を果たす。Prins ら(Cancer Research. 2001)も ER- $\alpha$  および ER- $\beta$  ノックアウトマウス ER- $\alpha$  と増殖因子、上皮に存在する ER- $\beta$  が重要な役割を果たす。Prins ら(Cancer

Research. 2001)も ER- $\alpha$  および ER- $\beta$  ノックアウトマウスを用いて DES  $2\mu\text{g}$  の 5 日間の投与により同様の異常形態の発生を観察し、前立腺に対するこれらの作用は ER- $\alpha$  を介して異常形態発生を促すと報告している。しかしながらより詳細なシグナル伝達経路や分子機能は未解決であり、今後この研究システムにおいては ER- $\alpha$  および ER- $\beta$  を介した前立腺に対するこれらの分子機能のさらなる検討が必要である。

#### E. 結論

生長初期の前立腺において、短期間のエストロゲン暴露により生長後の長期間にわたる影響が明らかとなった。とくに腺管構造の異常が認められ、間質細胞のエストロゲン受容体を介した直接作用が示唆された。今後さらにエストロゲンの前立腺に対する直接作用の分子機構についての検討が必要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ogawa K, Hiraku Y, Oikawa S, Murata M, Sugimura Y, Kawamura J, Kawanishi S. Molecular mechanisms of DNA damage induced by procarbazine in the presence of Cu(II). *Mutat Res.* 539:145-55, 2003.
2. Franco OE, Onishi T, Yamakawa K, Arima K, Yanagawa M, Sugimura Y, Kawamura J. Mitogen-activated protein kinase pathway is involved in androgen-independent PSA gene expression in LNCaP cells. *Prostate.* 56:319-25, 2003.
3. Yamanaka M, Watanabe M, Yamada Y, Takagi A, Murata T, Takahashi H, Suzuki H, Ito H, Tsukino H, Katoh T, Sugimura Y, Shiraishi T. Altered methylation of multiple genes in carcinogenesis of the prostate. *Int J Cancer.* 106:382-7, 2003.

5. Franco OE, Onishi T, Umeda Y, Soga N, Wakita T, Arima K, Yanagawa M, Sugimura Y.  
Phenylacetate inhibits growth and modulates cell cycle gene expression in renal cancer cell lines.  
*Anticancer Res.* 23(2B):1637-42, 2003.
6. Uchida K, Chaudhary LR, Sugimura Y, Adkisson HD, Hruska KA.  
Proprotein convertases regulate activity of prostate epithelial cell differentiation markers and are modulated in human prostate cancer cells.  
*J Cell Biochem.* 88:394-9, 2003.
7. Takahashi S, Suzuki S, Inaguma S, Ikeda Y, Cho YM, Hayashi N, Inoue T, Sugimura Y, Nishiyama N, Fujita T, Chao J, Ushijima T, Shirai T.  
Down-regulated expression of prostaticin in high-grade or hormone-refractory human prostate cancers.  
*Prostate.* 54:187-93, 2003.

2. 学会発表  
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他(データベース等)  
なし

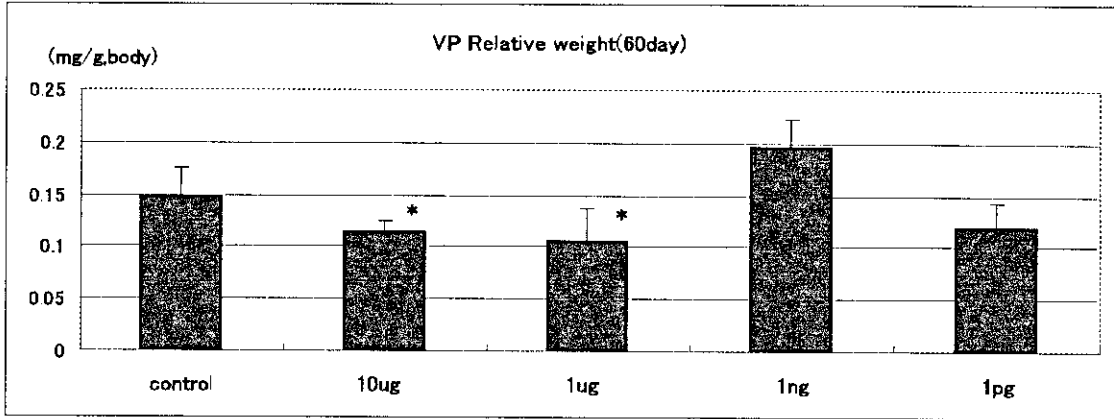


I. 図版等

Fig 1. Relative wet weight for (A) ventral prostate (VP) and (B) dorso- lateral prostate (DLP) of adult mice treated neonatally with oil and DES.

\*P<0.05 versus control

(A)



(B)

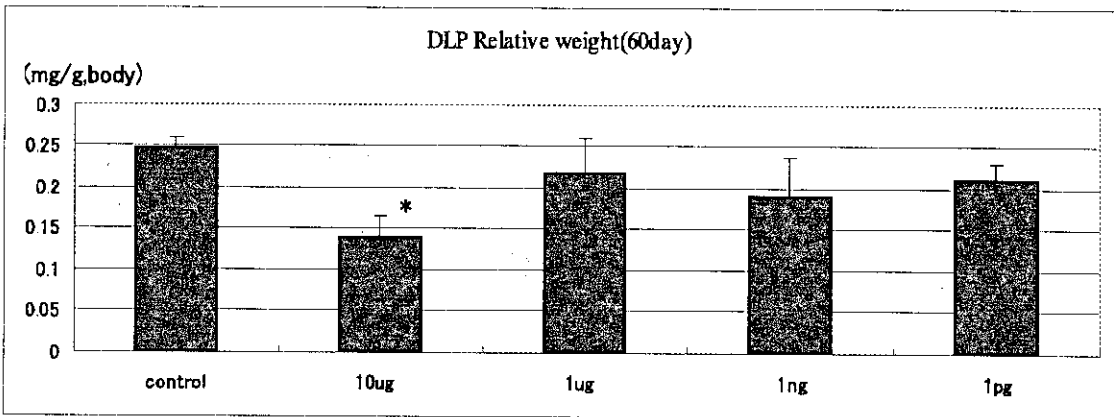
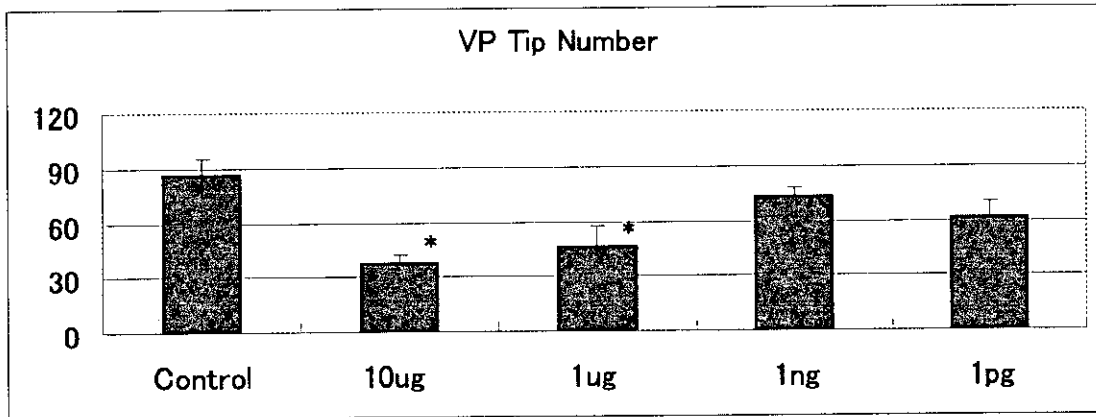


Fig 2. Ductal tip number for (A) ventral prostate (VP) and (B) dorso-lateral prostate (DLP) of adult mice treated neonatally with oil and DES.

\* P<0.05 versus control

(A)



(B)

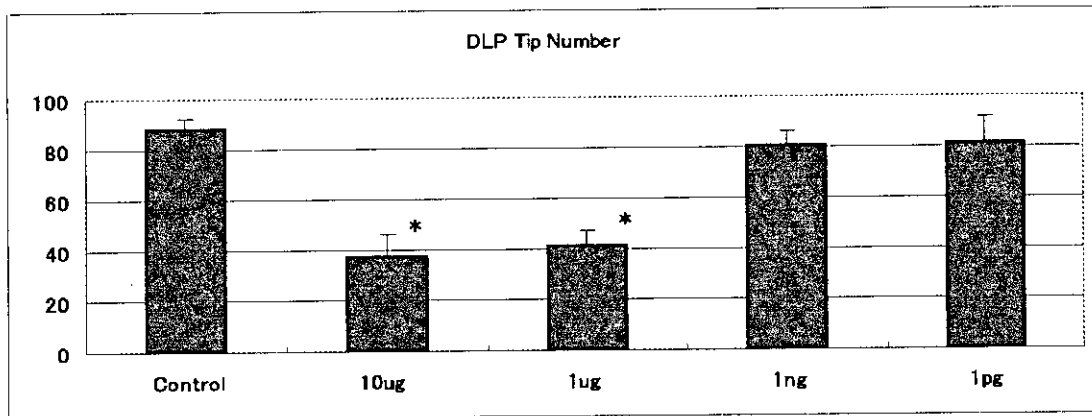


Fig 3. Wholemout photographs of dorsolateral prostate from 60day old mice.

(A) Control (B)10 $\mu$ g (C) 1 $\mu$ g (D) 1ng (E) 1pg (F) abnormal tip. DLP treated neonatally with 10 $\mu$ g and 1 $\mu$ g DES contain abnormal tip(arrows).

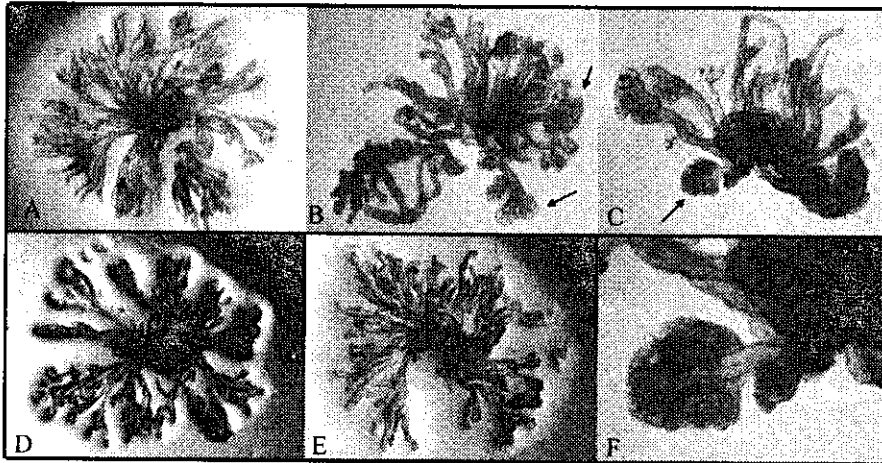


Fig 4. Wholemout photographs of ventral prostate from 60day old mice.

(A) Control (B,C)10 $\mu$ g (D) 1 $\mu$ g (E) 1ng (F) 1pg. VP treated neonatally with 10 $\mu$ g DES contain abnormal tip(arrows)

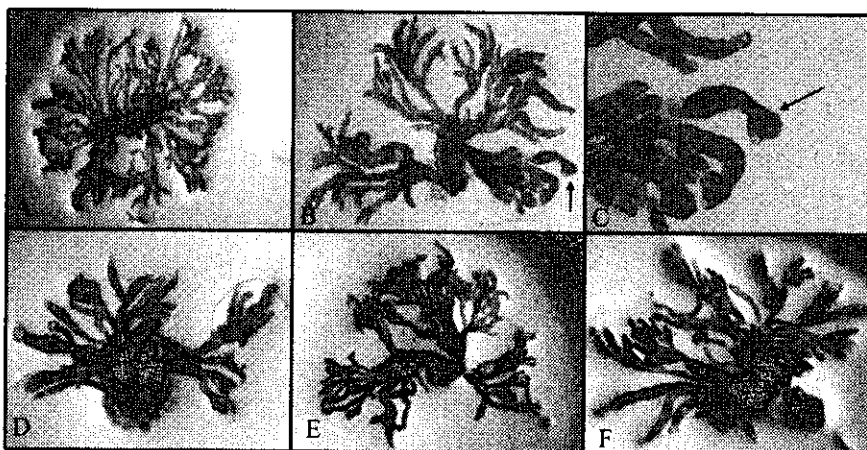


Fig 5

H&E stain of DLP treated neonatally with DES  $10\mu\text{g}$  at PNDs 60.

DLP treated neonatally with DES  $10\mu\text{g}$  at PNDs 60 day(A,  $40\times$ ). Abnormal tip contains epithelial hyperplasia(B,  $200\times$ ). DLP contains multilayered epithelial hyperplasia(C,  $200\times$ ) and inflammatory cell infiltration(D,  $200\times$ ).

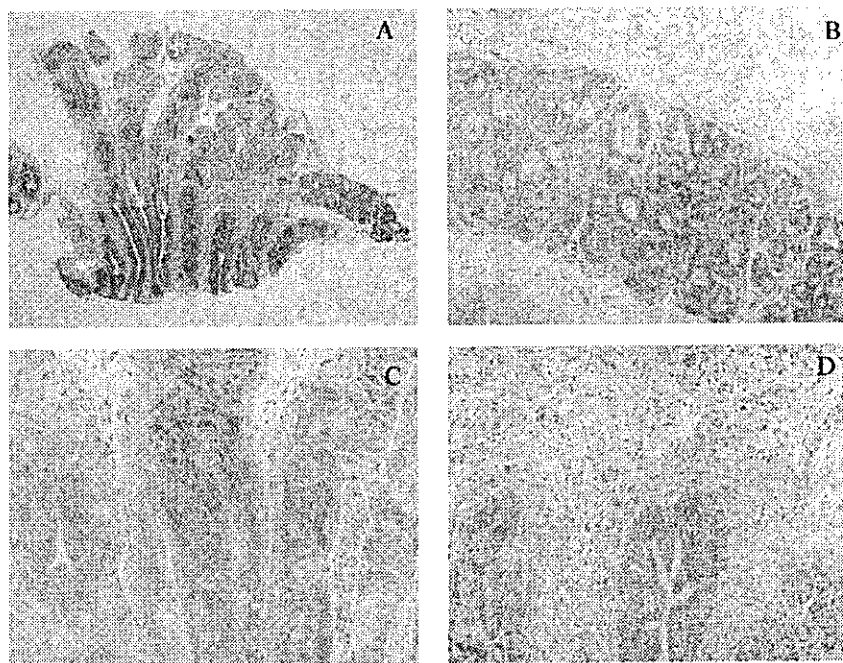
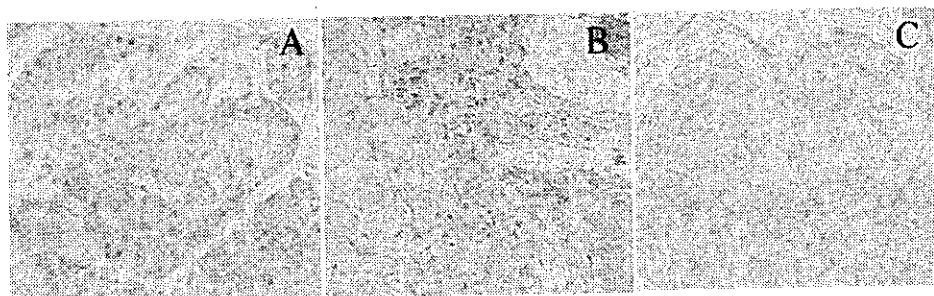


Fig 6.

ER $\alpha$  immunostain of DLP treated with  $10\mu\text{g}$  DES (A, B) and oil(C) at PNDs 60. Neonatal exposure of  $10\mu\text{g}$  DES up-regulated ER $\alpha$  expression in epithelial cell(A) and stroma cell(B). In contrast ER $\alpha$  expression was negative in the control group.



## Reference

1. Cunha GR, Fujii H, Neubauer BL, Shanon JM, Sawyer L and Reese BA. Epithelial-mesenchymal interactions in prostatic development. I. Morphological observations of prostatic induction by urogenital sinus mesenchyme in epithelium of adult rodent urinary bladder. *J Cell Biol* 96: 1662- 1670
2. Lau KM, Leav I, Ho SM. Rat estrogen receptor- alpha and – beta, and progesterone receptor mRNA expression in various prostatic lobes and microdissected normal and dysplastic epithelial tissues of the Noble rats. *Endocrinology* 1998; 139: 424- 427
3. Sugimura Y, Cunha GR and Donjacour AA. Morphogenesis of ductal networks in the mouse prostate. *Biol. Reprod* 1986; 34: 961- 971
4. Rajfer J and Coffey DS. Sex steroid imprinting of the immature prostate. *Investig Urol.* 1978; 16: 186- 190
5. Prins GS. Neonatal estrogen exposure induces lobe- specific alterations in adult rat prostate androgen receptor expression. *Endocrinology* 1992; 130: 3703- 3714
6. Pylkkanen L, Santi R, Newbold R. Regional differences in the prostate of the neonatally estrogenized mouse. *Prostate.* 1991; 18:117- 129
7. Prins GS, Birch L, John FC, Inho C, Benita K and Korach KS. Estrogen imprinting of the developing prostate gland is mediated through stromal estrogen receptor  $\alpha$ ; Studies with  $\alpha$ ERKO and  $\beta$ ERKO mice. *Can Res* 2001; 61. 6089- 6097
8. Vom saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P et al. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proc. Natl. Acad. Sci* 1997; 94:2056- 61
9. Odum J, Lefevre PA, Tinwell H, Vanmiller JP, Jonior RL, Chapin RE, Wallis NT and Ashby J. *Toxicol. Sci* 2002; 68:147- 163
10. Shrape RM and Skakkebaek NE. Are oestrogen involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* 1993; 341: 1392- 95
11. Skakkaekback NE, Rajpert- DM and Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common development disorder with environmental aspects. *Hum Reprod* 2001; 16: 972- 78
12. William CS, Kenneth LN, Robert NH, Stanley JR, Julie RP, Linda TE, Raymond HK, Ervin AL and Elizabeth EH. Cancer risk in men exposed in utero to diethylstilbestrol. *J Natl Cancer Inst* 2002; 93: 545- 51

13. Sugimura Y, Cunha GR, Yonemura CY, Kawamura J. Temporal and spatial factors in diethylstilbestrol- induced squamous metaplasia of the developing human prostate. *Hum Pathol* 1988; 19: 133- 9.
14. Yonemura CY, Cunha GR, Sugimura Y, Mee SL. Temporal and spatial factors in diethylstilbestrol- induced squamous metaplasia in the developing human prostate. II. Persistent changes after removal of diethylstilbestrol. *Acta Anat* 1995; 153: 1-11

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

低用量暴露による遺伝子発現、たんぱく発現データの解析による  
ホメオスタシスに関する研究

分担研究者 福島 昭治 大阪市立大学大学院医学研究科教授

研究要旨

$\alpha$ -Benzene hexachloride ( $\alpha$ -BHC) のラット肝発がん作用を diethylnitrosamine (DEN) をイニシエーターとする発がん二段階法を用いて検討した。 $\alpha$ -BHC の高用量投与では、glutathione S-transferase (GST) 酵素の活性は上昇し、肝前がん病変である glutathione S-transferase placental form (GST-P) 陽性細胞巢の発生を促進した。逆に、低用量投与では抑制をもたらした。また、酸化ストレスのマーカーである 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の形成レベルは $\alpha$ -BHC 高用量では増加し、 $\alpha$ -BHC 低用量では減少した。CYP2B1 蛋白量は低用量で減少傾向を示した。以上、GST-P 陽性細胞巢の結果から、 $\alpha$ -BHC の発がん作用にはホルミシスの現象があることが判明した。

A. 研究目的

我々は発がん物質 Phenobarbital のホルミシス現象を明らかにした。本研究では発がん性をもつ $\alpha$ -BHC の作用にホルミシス現象があるかどうかを検証する。すなわち、内分泌攪乱化学物質には齧歯類へ高用量長期投与により発がん性を発揮するものがあるが、農薬として日本でも使われていた $\alpha$ -BHC もその一つである。そこで、低用量での作用について検討する。

B. 研究方法

6 週齢の雄性 F344 ラット、84 匹を用いた。DEN(100mg/kg 体重)を週 1 回、3 週にわたって腹腔内に投与した後、プロモーションの段階に $\alpha$ -BHC を 0、0.01、0.05、0.1、1、50、500ppm の用量で 10 週間、混餌投与した。実験開始 13 週にてラットを屠殺し、肝臓について種々の方法で検索した。すなわち、GST-P 陽性

細胞巢、肝チトクロム P450 アイソザイム活性、Western Blot、8OHdG 形成レベル、mRNA 発現 (RT-PCR 及び cDNA Microarray)を検索した。

(倫理面での配慮)

屠殺にあたってはエーテル麻酔下に脱血して行った。また、医学研究科の実験動物取り扱い規定に対応してラットを飼育した。

C. 研究結果

$\alpha$ -BHC の高用量投与では肝前がん病変である GST-P 陽性細胞巢の発生を促進し、低用量投与では逆に抑制を示した。同様に高用量投与では、glutathione S-transferase (GST) 酵素の活性は上昇し、低用量投与では減少傾向をもたらした。また、酸化ストレスのマーカーである 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 形成レベルは $\alpha$ -BHC (500 ppm)では増加し、 $\alpha$ -BHC (0.1, 1 ppm)では減少した。CYP450

蛋白質は低用量(0.1, 1 ppm)で減少傾向を示し高用量(500 ppm)で著明に増加した。また、 $\alpha$ -BHC に関係するとされる CYP2B1 蛋白質は高用量で増加傾向を示した。CYP3A2 蛋白質の変化も CYP2B1 と同様であった。CYP2B1 及び CYP2A2 の mRNA 発現は高用量で増加傾向を示した。アポトーシスに関連する遺伝子である Bad は低用量で増加し高用量で減少した。

#### D. 考察

GST-P 陽性細胞巢の結果から、 $\alpha$ -BHC の発がん作用にはホルミシス現象があることが判明した。8-OHdG の形成レベル、CYP450 蛋白質、cDNA microarray による mRNA の発現量もこれを支持する結果となっている。

#### E. 結論

$\alpha$ -BHC のラット肝発がん作用を DEN をイニシエーターとするラット肝二段階法で検討した。肝前がん病変である GST-P 陽性細胞巢の発生は高用量投与群では増加し、低用量群では抑制を示すというホルミシス現象が認められた。

#### F. 健康危険情報

無し。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) ©Fukushima, S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Nakae, D., Konishi, Y., Tsuda, H., Takasuka, N., Imaida, K., Shirai, T., Tatemetsu, M., Tsukamoto, T., Hirose, M. and Furukawa, F.: Lack of initiation activity in rat liver of low doses of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline. *Cancer Lett.*, 191, 35-40, 2003.

2) ©Tsuda, H., Fukushima, S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Nakae, D., Imaida, K., Tatemetsu, M., Hirose, M., Wakabayashi, K. and Moore, M.A.: Value of GST-P positive preneoplastic hepatic foci in dose-response studies of hepatocarcinogenesis: Evidence for practical thresholds with both genotoxic and nongenotoxic carcinogens. A review of recent work. *Toxicol. Pthol.*, 31, 80-86, 2003.

3) Seike, N., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Nishikawa, T., Hirata, K., Yoshikawa, J. and Fukushima, S.: Enhancement of lung carcinogenesis by nonylphenol and genistein in a F344 rat muliorgan carcinogenesis model. *Cancer Lett.*, 192, 25-36, 2003.

4) ©Karim, R., Wanibuchi, H., Wei, M., Morimura, K., Salim, E. I. and Fukushima, S.: Enhancing risk of ethanol on MeIQx-induces rat hepatocarcinogenesis is accompanied with increased levels of cellular proliferation and oxidative stress. *Cancer Lett.*, 192, 37-47, 2003.

5) Fukushima, S., Moore, M.A. and Tsuda, H.: Appropriate models and an understanding of carcinogenic mechanisms - requirements for hazard risk assessment. *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, 4, 75-78, 2003.

6) Ogawa M., Wanibuchi, H., Nishikawa, M., Yano, Y., Otani, S., Totsuka, Y., Wakabayashi, K., Nakae, D. and Fukushima, S.: Post-initiation



- inhibition of MeIQx hepatocarcinogenesis in rats by cysteine. *Osaka City Med. J.*, 49, 21-30, 2003.
- 7) ©Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Shen, J., Imaoka, S., Funae, Y. and Fukushima, S.: Phenobarbital at low dose exerts hormesis in rat hepatocarcinogenesis by reducing oxidative DNA damage, altering cell proliferation, apoptosis and gene expression. *Carcinogenesis*, 24, 1389-1399, 2003.
- 8) Kitano, M., Ariki, Y., Wada, J., Tanabe, Y., Kikuzaki, H., Nakatani, N., Wanibuchi, H., Morimura, K., Hidaka, T. and Fukushima, S.: Lack of inhibitory effects of coumapherine from pepper on the promotion stage of chemical hepatocarcinogenesis in the rat. *J. Toxicol. Pathol.*, 16, 161-164, 2003.
- 9) Mori, S., Murai, T., Morimura, K., Wanibuchi, H. and Fukushima, S.: Lack of influence of testicular castration or sialoadenectomy on sodium L-ascorbate promotion of urinary bladder carcinogenesis in male F344 rats. *J. Toxicol. Pathol.*, 16, 165-170, 2003.
- 10) Salim, E. I. and Fukushima, S.: Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutrition and Cancer*, 45, 195-202, 2003.
- 11) ©Fukushima, S., Morimura, K. and Wanibuchi, H.: Thresholds for carcinogenicity of environmental carcinogens. *J. Toxicol. Sci.*, 28, 241, 2003.
- G. 学会発表
- 1) Fukushima, S., Wanibuchi, H. and Morimura, K.: Low dose carcinogenicity of environmental carcinogens and their combination effects. International Symposium on Innovative Technology for Radiation Risk Study 2003, March 12-14, Tokyo, 2003 (International Symposium on Innovative Technology for Radiation Risk Study 2003 program & abstracts p.54)
- 2) 鰐渕英機: 発がん物質の低用量発がんリスクの評価. 第92回日本病理学会, 4月23-25日, 福岡, 2003 (日本病理学会誌第92巻第1号WS12-3, p.165)
- 3) 福島昭治: 環境因子の発がんリスクー発がんの閾値. 学会長講演, 日本食品化学学会第9回総会・学術大会, 6月13-14, 東京, 2003 (日本食品化学学会第9回総会・学術大会講演要旨集 p.9-10)
- 4) Shen, J., Wanibuchi, H., Salim, E. I., Wei, M., Doi, K. and Fukushima, S.: Liver tumorigenicity of trimethylarsine oxide in male Fischer 344 rats; Association with oxidative DNA damage and enhanced cell proliferation. 94<sup>th</sup> Annual Meeting, American Association for Cancer Research, July 11-14, Washington, D.C., U.S.A., 2003 (AACR proceedings, vol.44, March 2003, 429, p.81-82)

- 5) Doi, K., Wanibuchi, H., Wei, M., Morimura, K., Mitsuhashi, M., Hoshi, M., Shen, J. and Fukushima, S.: PhIP, a genotoxic carcinogen, has a practical threshold; evidence in AOM-PHIP-induced rat colon carcinogenesis. 94<sup>rd</sup> Annual Meeting, American Association for Cancer Research July 11-14, Washington, D.C., U.S.A., 2003 (AACR proceedings, vol.44, March 2003, R1467, p.286-287)
- 6) Wanibuchi, H., Karim, R., Puatanachokchai, R., Kang, J. S., Morimura, K. and Fukushima, S.: Enhancing risk by ethanol in low-dose MeIQx-induced rat hepatocarcinogenesis. 94<sup>rd</sup> Annual Meeting, American Association for Cancer Research July 11-14, Washington, D.C., U.S.A., 2003 (AACR proceedings, vol.44, March 2003, 2426, p.475)
- 7) Moku, M., Wanibuchi, H., Kang, J. S., Naito, S., Kinoshita, A. and Fukushima, S.: The inhibitory effects of arctiin on rat multiorgan carcinogenesis. 94<sup>rd</sup> Annual Meeting, American Association for Cancer Research, July 11-14, Washington, D.C., U.S.A., 2003 (AACR proceedings, vol.44, March 2003, R2454, p.475)
- 8) 福島昭治、鰐渕英機、森村圭一郎: 環境発がんの閾値. シンポジウム講演, 第30回日本トキシコロジー学会学術年会, 7月18-20日, 神奈川, 2003 (第30回日本トキシコロジー学会学術年会プログラム・要旨集 S3-3, p.134)
- 9) 福島昭治: 動物実験からヒトがん予防に向けて. パネルディスカッション, 第62回日本癌学会総会, 9月25-27日, 名古屋, 2003 (日本癌学会総会記事 P1, p.26)
- 10) Kinoshita, A., Morimura, K., Wanibuchi, H. and Fukushima, S.: Hormetic effect of non-genotoxic carcinogens in rat hepatocarcinogenesis. Toxicogenomics International Forum 2003, Oct. 9-10, Nagai Memorial Hall, Japan, 2002 (Book of Abstracts, p.52)
- 11) 鰐渕英機、木下アンナ、福島昭治: OGG1 ノックアウトマウスにおける DMA の発がん性. シンポジウム講演, 第11回ヒ素シンポジウム, 10月14日-15日, 札幌, 2003 (第11回ヒ素シンポジウム講演要旨集 2A-16, p.79-80)
- 12) Salim, E. I., Wanibuchi, H., Morimura, K. and Fukushima, S.: Increased levels of oxidative stress with alterations in DNA damage and repair genes in urinary bladder carcinomas, associated and non-associated with schistosomiasis. The First Regional Meeting of the Asian Pacific Organization for Cancer Prevention, Oct. 14-16, Izmir, Turkey, 2003 (Book of abstracts, p.13)
- H. 知的所有権の所得状況
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他 (データベース等)

甲状腺ホルモンかく乱物質に対する感受性の動物種差の解明

分担研究者 加藤 善久 静岡県立大学 薬学部講師

研究要旨

ポリ塩化ビフェニル (PCB) による甲状腺ホルモンかく乱作用機構とその動物種差について検討した。マウス、ハムスター、ラットおよびモルモットに Kanechlor-500 (KC500) を投与し、サイロキシシン( $T_4$ ) の体内動態を調べた。KC500 投与により、血中 $[^{125}I]T_4$  のクリアランスおよび肝臓への移行量は、4 種の動物で著しく増加し、胆汁中 $[^{125}I]T_4$  のグルクロン酸抱合体の排泄量は、ラットでのみ増加した。また、 $[^{125}I]T_4$  とトランスサイレチンの結合率は、ラットとモルモットで低下した。以上、これまでの結果を考え合わせると、用いた全動物において、KC500 投与による血清中 $T_4$  濃度の低下には、 $T_4$  の肝臓への移行が大きく寄与していることが示唆された。

A. 研究目的

PCB 投与による血清中サイロキシシン( $T_4$ ) 濃度の低下作用メカニズムを明らかにするとともに、その低下作用メカニズムに動物種差があるか否かを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

4 種の動物に Kanechlor-500 (KC500) を投与し、 $T_4$  の体内動態を調べた。すなわち、ddY 系マウス、Syrian 系ハムスター、Wistar 系ラットあるいは Hartley 系モルモットに、KC500 (37.5 および 100 mg/kg) を (投与ルートにより) 投与し、血清中 total  $T_4$  および free  $T_4$  濃度を測定した。さらに、投与後 4 日に $[^{125}I]T_4$  を静脈内投与し、血中からの $[^{125}I]T_4$  の消失クリアランス、胆汁中 $[^{125}I]T_4$  のグルクロン酸抱合体 ( $[^{125}I]T_4$ -Glu) の排泄量、トランスサイレチン (TTR) に対する血清中 $[^{125}I]T_4$  の結

合率、 $[^{125}I]T_4$  の組織への移行量を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究では、*in vivo* での甲状腺ホルモンの体内動態の動物種差を再現しうる培養系細胞あるいはそれに代わる実験系がないため、やむを得ず実験動物を使用した。その使用数は最小限にとどめ、実験動物に対して苦痛を与えない十分な配慮をした。

C. 研究結果

KC500 投与により、血中 $[^{125}I]T_4$  のクリアランスおよび肝臓への移行量は、4 種の動物で著しく増加し、胆汁中 $[^{125}I]T_4$ -Glu の排泄量は、ラットでのみ増加した。また、 $[^{125}I]T_4$  と TTR の結合率は、ラットとモルモットで低下した。すなわち、KC500 投与により、血清中 total  $T_4$  および free  $T_4$  濃度は、いずれの動物でもほぼ用量依存的に低下した。また、KC500 (100 mg/kg)

投与後4日に $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ を投与し、血中 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ のクリアランスや胆汁中 $\text{T}_4\text{-Glu}$ の排泄量への影響を調べた結果、血中からの消失クリアランスは用いた全動物で、また、胆汁中 $\text{T}_4\text{-Glu}$ の排泄量は、ラットでのみ有意な増加が見られた。また、KC500投与による $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ とTTRの結合への影響を調べた結果、ラットとモルモットでは用量依存的な低下が認められ、ハムスターでは、100 mg/kg投与時のみ若干の低下が見られたが、マウスでは、本低下は全く認められなかった。また、この時、ラットでは $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ とアルブミンとの結合量の顕著な増加が、ハムスターやモルモットでは若干の増加が認められ、マウスでは全く増加は認められなかった。なお、ハムスターやモルモットでは、血中非結合型 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の増加が認められた。さらに、各動物にKC500を投与し、 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の組織移行量を詳しく調べた結果、 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の肝臓への移行量は、4種の動物で顕著に増加し、それぞれ投与量のマウス：34%、ハムスター：55%、ラット：37%、モルモット：17%となった。

#### D. 考察

一般に、PCBによる血清中 $\text{T}_4$ 濃度の低下の要因として、甲状腺濾胞上皮細胞における $\text{T}_4$ の合成系の抑制、 $\text{T}_4$ のグルクロン酸抱合をはじめとする $\text{T}_4$ の代謝系の促進が考えられる。また、PCBの水酸化体は血中 $\text{T}_4$ の輸送タンパクであるTTRと競合的に結合し、 $\text{T}_4$ とTTRの結合を阻害する。このことが、血中 $\text{T}_4$ 濃度を低下させる一因になるとも報告されている。

すでに、著者は、マウス、ハムスター、ラットおよびモルモットに2,2',4',5,5'-pentachloro- biphenyl (PentaCB)、2,2',3',4',5,6-hexachloro- biphenyl (HexaCB)およびKC500を投与する時、血清中 $\text{T}_4$ 濃度の低下には、甲状腺への直接作用の可能性は低いこと、血清中 $\text{T}_4$ 濃度

の低下作用を有するメチルスルホン( $\text{MeSO}_2$ )代謝物の関与および肝臓の $\text{T}_4\text{-UDP-グルクロン酸抱合酵素}$  ( $\text{T}_4\text{-UDP- GT}$ )の関与はほとんどないことを示唆した。そこで、4種の動物のKC500投与による血清中 $\text{T}_4$ 濃度の低下にTTRが関与しているか否かを検討した。ラットおよびモルモットでは、KC500により $\text{T}_4$ とTTRの結合阻害が起こっていることが示され、その結果、血清中 $\text{T}_4$ 濃度が低下した可能性が考えられる。ハムスターでは、血清中 $\text{T}_4$ とTTRとの結合阻害がわずかに起こり、このことが、血清中 $\text{T}_4$ 濃度の低下の一部となっている可能性が考えられる。一方、マウスでは、TTRの関与は考えにくく、血清中 $\text{T}_4$ 濃度の低下は、他のメカニズムにより引き起こされている可能性が示唆された。

これらの結果から、PCBによる血清中 $\text{T}_4$ 濃度の低下の作用機序について十分に説明することは困難であった。そこで、 $\text{T}_4$ の体内動態に注目してさらに検討を加えた。KC500投与後、いずれの動物においても、 $\text{T}_4$ の血中からの消失クリアランスおよび分布容積は、用量依存的に増加した。この結果より、各動物において、KC500投与後の血清中 $\text{T}_4$ 濃度の低下は、血清中 $\text{T}_4$ の組織への急速な移行による可能性が示唆された。そこで、血清中から消失した $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ がどこの組織に移行したかを明らかにするために、 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の組織移行について検討した。その結果、KC500投与により、用いた全ての動物において $\text{T}_4$ は血中から速やかに肝臓に移行していた。また、胆汁中 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4\text{-Glu}$ の排泄量の結果から、KC500投与後、ラットでは胆汁中への $\text{T}_4$ のグルクロン酸抱合体の排泄が促進することが示された。

以上の結果をまとめると、KC500投与後、用いた全種の動物において、血清中 $\text{T}_4$ 濃度の低下には、 $\text{T}_4$ の肝臓への移行が大きく寄与していることが示唆された。この $\text{T}_4$ の肝臓への移行には、何らかの輸送担体が関与している可能性が考えられる。さ