

2,2',3,5,5',6-hexaCB (CB151)、M-2 は 4'-OH-2,2',3,3',5,5',6-heptaCB (CB178)、M-3 は 4-OH-CB187 であることが明らかとなった(Table 1)。

D. 考察

今回の結果から、CB187 の場合も、CB138 および 153 の代謝と同様に、その代謝活性はモルモットで高いこと、これらの代謝に CYP2B subfamily の P450 が強く関与することが明らかとなった(Fig. 2)。また、M-3(4-OH-PCB187)は微量代謝物であり、モルモットとラットで生成が観察された。以上のことから、肝で生成された CB187 の 4-OH 体は微量ながらも血中に移行し、そこに長期間保持されることが示唆された。

E. 参考文献

1. Å. Bergman, E. Klasson-Wehler and H. Kuroki, *Environ. Health Perspect.*, **102**, 464-469 (1994).
2. G. M. Sandala, , C. Sonne-Hansen, R. Dietz, D. C. Muir, K. Valters, E. R. Bennett, E. W. Born and R. J. Letcher, *Sci. Total Environ.*, **331**, 125-141 (2004).
3. C. D. Sandau, P. Ayotte, E. Dewailly, J. Duffe and R. J. Norstrom, *Environ. Health Perspec.*, **108**, 611-616 (2000)
4. 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, 福岡医誌, **92**, 167-176 (2001).
5. N. Ariyoshi, N. Koga, H. Yoshimura and K. Oguri, *Xenobiotica*, **27**, 973-983 (1997).

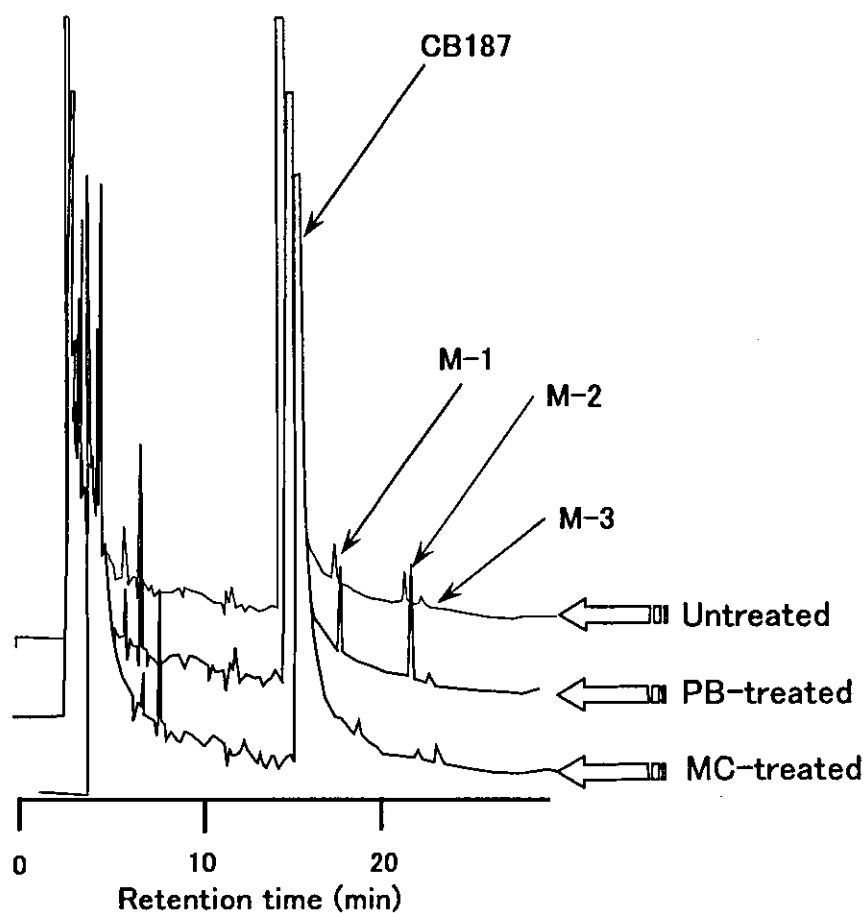


Fig. 1 モルモット肝MsによるCB187の代謝

Table 1 CB187代謝物とその関連化合物のGC-MSデータ

Compound	Molecular weight	Mass spectral data						Retention time(min)
		[M ⁺]	[M ⁺ -15]	[M ⁺ -35]	[M ⁺ -43]	[M ⁺ -70]	[M ⁺ -113]	
CB187	392	100	-	26	-	84	-	14.57
M-1*	388	100	5	-	36	8	43	15.67
M-2*	422	100	26	-	31	-	55	16.63
M-3*	422	100	26	-	40	-	58	16.88
4'-MeO-CB151	388	100	4	-	32	6	39	15.67
4'-MeO-CB178	422	100	30	-	38	-	57	16.63
4-MeO-CB187	422	100	15	-	46	-	54	16.88

* ジアゾメタンによりメチル化している。

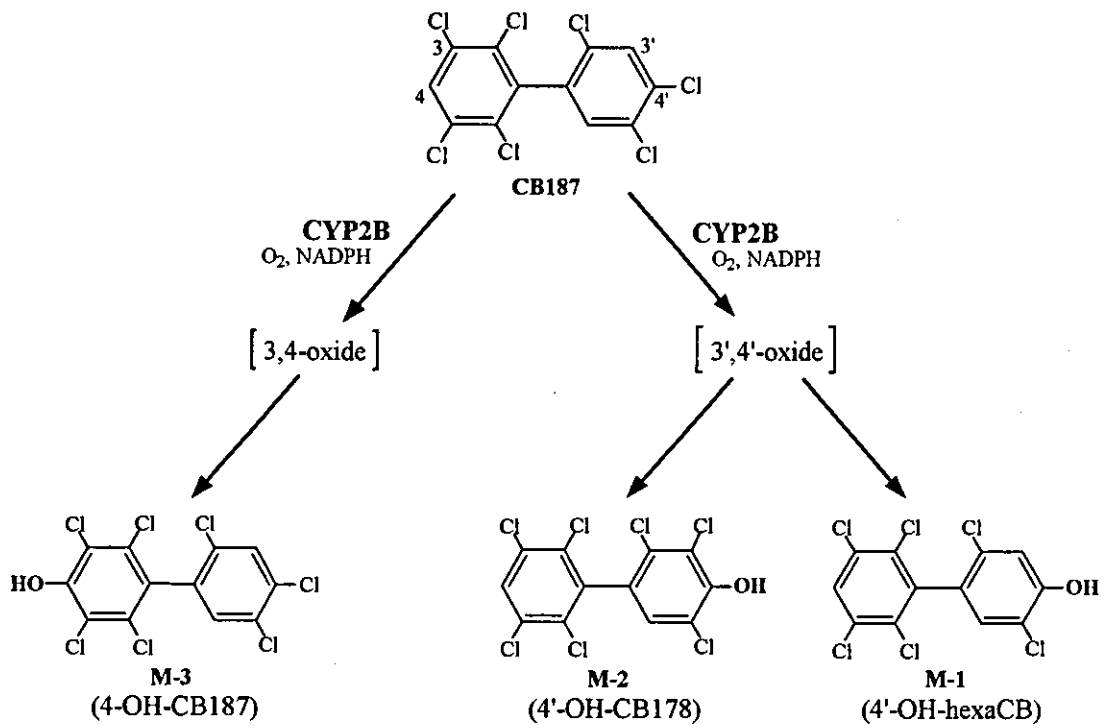


Fig. 2 動物肝におけるCB187の代謝経路

分担研究報告書

aryl hydrocarbon receptor 活性化が細胞に及ぼす影響に関する研究

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 教授

研究要旨 PCB/ダイオキシン類曝露による気道上皮細胞の傷害に関して検討を行った。TCDD 曝露により気道上皮細胞は酸化傷害を受けることが明らかになった。この酸化傷害は aryl hydrocarbon receptor のアンタゴニストを投与することにより抑制された。

A. 研究目的

油症の症状の一つに気管支炎があり、咳、痰などの症状がみとめられる。PCB/ダイオキシン類の曝露により気道上皮の傷害が起こるものと考えられる。気道上皮細胞株を用いてダイオキシン類の曝露による細胞傷害の機構を明らかにするために今回の研究を行った。

B. 研究方法

気道上皮由来の細胞株 A549 に PCB/ダイオキシン類を曝露し、細胞の酸化ストレスを測定した。酸化傷害の測定は DCF assay にて測定した。細胞に PCB/ダイオキシン類を 3 時間曝露した後に 10 μ M の H2DCFDA にて 1 時間培養し、FACS にて蛍光 (excitation 490nm emission 526nm) を測定した。AHR をノックダウンする siRNA をアンピオン社の siRNA カクテル kit により作成し、A549 細胞に導入した。SiRNA 導入株にて酸化ストレスを同様に測定した。

C. 研究結果

A549 細胞に PCB/ダイオキシン類を曝露した後に酸化傷害を検討した結果、コントロールと比較して酸化傷害が強くおこっていることが判明した (図 1)。TCDF 曝露では TCDD 曝露と比較して高い濃度で酸化ストレスの発生が認められた。KC400 では濃度を上げていくと酸化ストレスが減弱する現象が認められた。

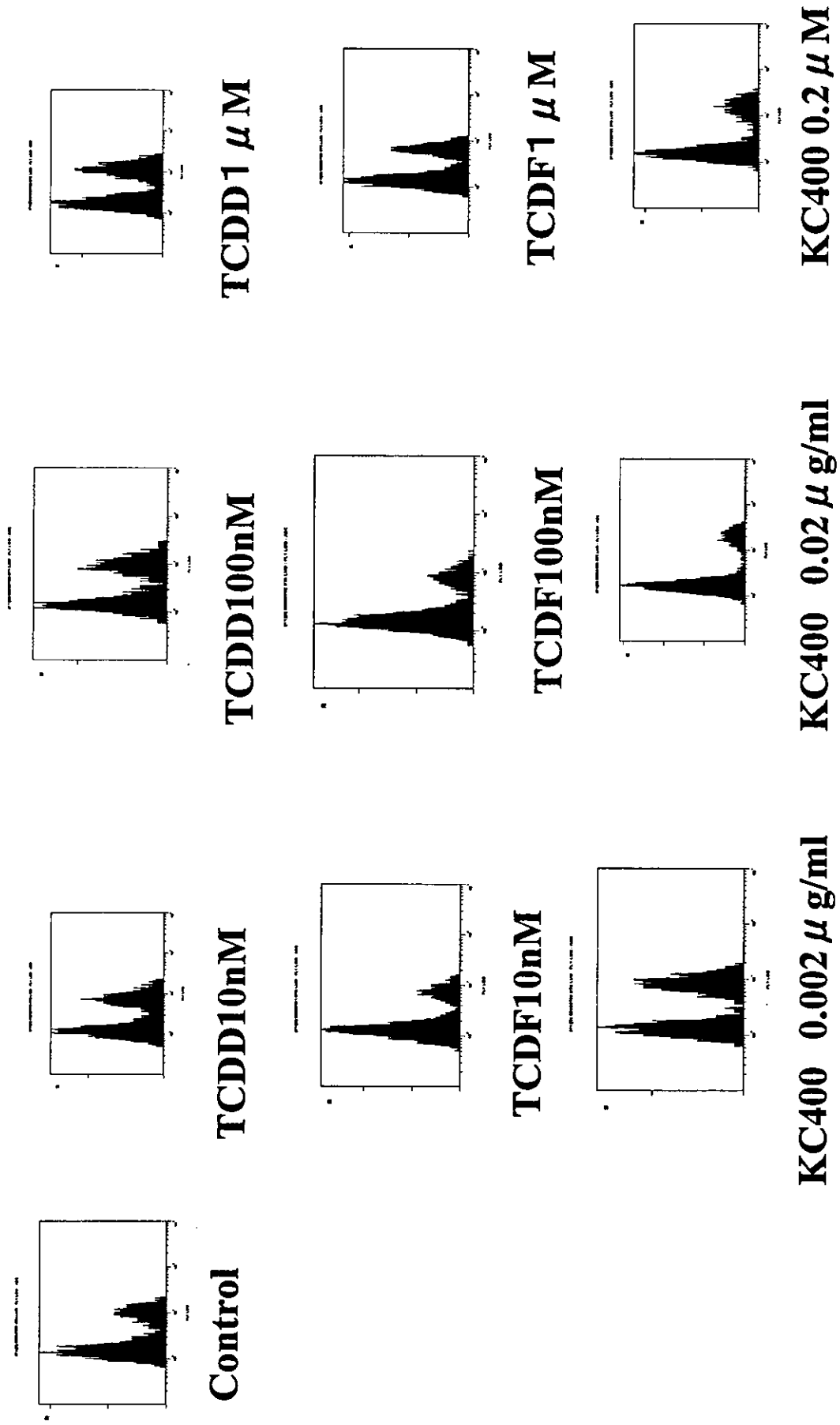
ダイオキシン類はその毒性の発現に aryl hydrocarbon receptor (AHR) が関与していることがこれまでの報告にて明らかになっているため、AHR のアンタゴニストである alpha naphthoflavone (α -NF) を用いた実験を次に行った。TCDD と α -NF を同時に曝露すると α -NF の濃度を上昇させるにつれ酸化ストレスは減弱した (図 2)。

AHR をノックダウンする siRNA を A549 細胞へ導入し同様の実験を行ったところ酸化ストレスは減弱した (図 3)。

D. 考察

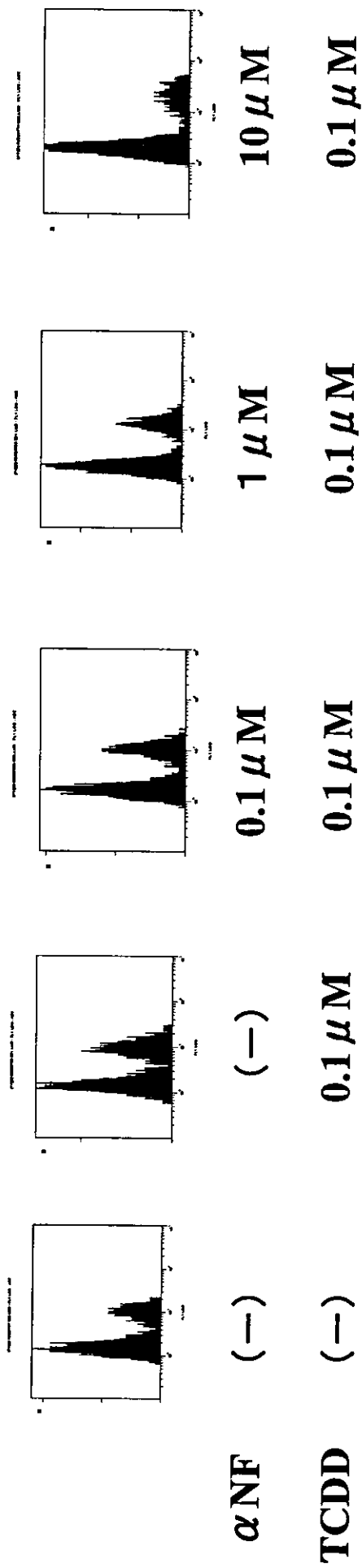
油症の主な症状一つに気管支炎があるが、今回の検討にてダイオキシン/PCBを気道上皮に曝露すると酸化ストレスが発生することが明らかになった。また今回の結果からこの酸化ストレスはAHRを介して発生することが示唆された

Fig.1



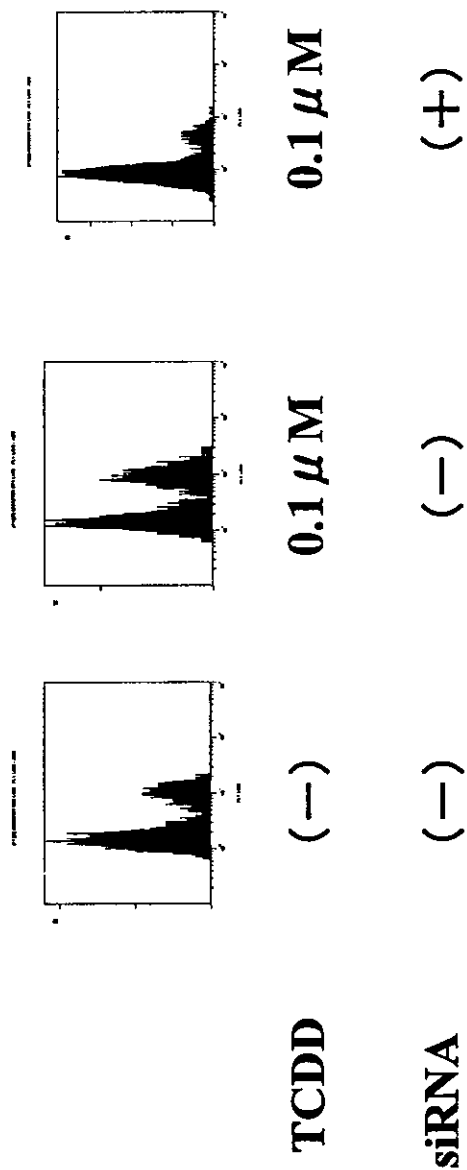
A549細胞にPCB/ダイオキシン類を各種濃度で3時間曝露の後にDCFassayにて酸化ストレスを計測した。X軸が蛍光強度、Y軸が細胞数。

Fig.2



A549細胞にTCDD0.1 μ Mとともに α NFを各種濃度で曝露した後にDCFassayにて酸化ストレスを計測した。X軸が蛍光強度、Y軸が細胞数。

Fig.3



A549細胞AHRをノックダウンするsiRNAを導入後にTCDD0.1 μ Mを曝露した。DCFassayにて酸化ストレスを計測した。X軸が蛍光強度、Y軸が細胞数。

研究成果の刊行に関する一覧表

(2004年度分)

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
Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato, Nobuyuki Koga, and Masakuni Degawa	Metabolism of Polychlorinated Biphenyls by Gunn Rats: Identification and Serum Retention of Catechol Metabolites	Chem. Res. Toxicol.	17	1684-1691	2004
Takumi Ishida, Tomomi Oshimo, Akihisa Nishimura, Junpei Mutoh, Yuji Ishii, Nobuyuki Koga, Hideyuki Yamada, Isao Hashiguchi, Akifumi Akamine, and Kazuta Oguri	Reduction of the Toxicity of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin in Mice Using an Antiulcer Drug, Geranylgeranylacetone	Biol. Pharm. Bull.	27(9)	1397-1402	2004
Takumi Ishida, Junko Taketoh, Emi Nakatsune, Shoko Kan-o, Eri Naito, Shuso Takeda, Junpei Mutoh, Yuji Ishii and, Hideyuki Yamada	Curcumin Anticipates the Suppressed Body Weight Gain with 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -Dioxin in Mice	Journal of Health Science	50(5)	474-482	2004
Yoshito Masuda, Koichi Haraguchi, Suminori Kono, Hiroshi Tsuji and Olaf Pöpke	Concentrations of dioxins and related compounds in the blood of Fukuoka residents	Chemosphere	58	329-344	2005
Kazuhiro Shimizu, Fumihide Ogawa, Masahisa Watanabe, Takahito Kondo, and Ichiro Katayama	Serum antioxidant levels in Yusho victims over 30 years after the accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan	Toxicology and Industrial Health	19	37-39	2003
倉橋典絵, 笠井世津子, 西條泰明, 佐田文宏, 岸 玲子	内分泌攪乱物質曝露に関する疫学研究の実際と課題 —特に尿道下裂と停留精巣について	日衛誌 (Jpn. J. Hyg.)	60	15-22	2005
N. kurahashi, F. Sata, S. Kasai, T. Shibata, K. Moriya, H. Yamada, H. kakizaki, H. Minakami, K. Nonomura, and R. Kishi	Maternal genetic polymorphisms in CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 and the risk of hypospadias	Molecular Human Reproduction	11(2)	93-98	2005