

経上皮細胞の増殖活性を維持する働きをしているものと考えられた。修復期にはまた、発生期の脳のマクロファージに発現し、マクロファージの侵入と食食作用に関与している osteopontin 遺伝子の発現増加が認められ、アポトーシスに陥った神経上皮細胞の除去に寄与しているものと思われた (Katayama et al.: *Develop.Reprod.Toxicol.*, in press)。

#### E. 結論

本年度は、まず、本プロジェクトの重要課題の一つである化学物質による肝毒性の性状に関する in vivo と in vitro での検索結果の相関について、糖尿病モデル作出に汎用されている SZ を用いて検討した。その結果、遺伝子発現プロファイルについては両者の結果は良く相関していたが、形態学的変化については相違がみられた。その原因については今後の検討に待ちたい。ついで、本プロジェクトでも取り上げられている NF の示す肝細胞 mitogen 作用の発現機構について詳細に検索した。その結果、NF による mitogen 作用の発現に関与する遺伝子群は他の mitogen 物質のそれと類似していること、および、フリーラジカルが全ての変化の引き金となることを明らかにした。さらに、本プロジェクトを補完する目的で、DNA 傷害物質である ENU による胎児中枢神経毒性に関するマイクロアレイ解析を行い、傷害期におけるアポトーシスおよび細胞周期停止関連遺伝子の発現増加に加え、コレステロール生合成に関与する酵素関連遺伝子や CL-6 遺伝子の発現減少の重要性を明らかにした。また、修

復期にける Id 遺伝子および osteopontin 遺伝子の発現増加の意義を明らかにした。

現在、上記以外の化学物質 (5-azacytidine, hydroxyurea, Ara-C, etoposide, CYP inducers, T-2 toxin, NMDA, foreign serum) についても、その肝毒性および胎児毒性の発現機構に関する検討を継続中である。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

##### (1) 論文発表

1. Ito K., Kajikawa S., Nii A., Hanada T., and Doi K. Nitrofurazone-induced gene expressions in rat hepatocytes and their modification by N-acetylcysteine. *Exp. Toxicol.Pathol.*, in press.
2. Katayama K., Ueno M., Yamauchi H., Nakayama H., and Doi K. Microarray analysis of genes in the fetal central nervous system after ethylnitrosourea administration. *Develop.Reprod.Toxicol.*, in press.
3. Ejiri N., Katayama K., Kiyosawa N., Baba Y., and Doi K. Microarray analysis on CYPs expression in pregnant rats after treatment with pregnerolone-16alpha-carbonitrile and Phenobarbital. *Exp.Mol.Pathol.*, 78, 71-77, 2005.
4. Ejiri N., Katayama K., and Doi K. Induction of cytochrome P450 isozymes by phenobarbital in pregnant rat fetal livers and placenta. *Exp.Mol.Pathol.*, 78,150-155,

2005.

5. Kume E., Aruga C., Takahashi K., Miwa S., Ito M., Fujimura H., Toriumi W., Kitamura K., and Doi K. Gene expression profiling in streptozotocin treated mouse liver using DNA microarray. *Exp.Toxicol.Pathol.*, 56,235-244, 2005.

6. Kume E., Aruga C., Takahashi K., Miwa S., Dekura E., Ito M., Fujimura H., Toriumi W., and Doi K. Morphological and gene expression analysis in mouse primary culturehepatocytes exposed to streptozotocin. *Exp.Toxicol.Pathol.*, 56,245-253, 2005.

7. Katayama K., Ueno M., Yamauchi H., Nagata T., Nakayama H., and Doi K. Ethylnitrosourea induces neural progenitor cell apoptosis after S-phase accumulation in a p53-dependent manner. *Neurobiol.Dis.*, 18, 218-225, 2005.

8. He X.J., Ejiri N., Nakayama H., and Doi K. Effects of pregnancy on CYPs protein expression in rat liver. *Exp.Mol.Pathol.*, 78,64-70,2005.

9. Yamauchi H., Katayama K., Ueno M., Uetsuka K., Nakayama H., and Doi K. Involvement of p53 in 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine-induced trophoblastic cell apoptosis and impaired proliferation in rat placenta. *Biol.Reprod.*, 70, 1762-1767, 2004.

10. Yamauchi H., Katayama K., Ueno M., Uetsuka K., Nakayama H., and Doi K. Involvement of p53 in 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine-induced

rat fetal brain lesions. *Neurotox.Teratol.*, 26, 579-586, 2004.

11. Sehata S., Kiyosawa N., Makino T., Atsumi F., Ito K., Yamoto T., Teranishi M., Baba Y., Uetsuka K., Nakayama H., and Doi K. Morphological and microarray analysis of T-2 toxin-induced fetal brain brain lesion. *Food Chem.Toxicol.*, 42, 1727-1736, 2004.

12. Sehata S., Kiyosawa N., Sakuma S., Ito K., Yamoto T., Teranishi M., Uetsuka K., Nakayama H., and Doi K. Gene expression profiles in pregnant rats treated with T-2 toxin. *Exp.Toxicol.Pathol.*, 55, 357-366, 2004.

13. Baba Y. and Doi K. MHC class II-related genes expression in porcine-serum-induced rat hepatic fibrosis. *Exp.Mol.Pathol.*, 77,214-221,2004.

14. Sehata S., Teranishi M., Yamoto T., Matsunuma N., and Doi K. T-2 toxin-induced toxicity in pregnant rats-histopathology and gene expression profiles- Proceedings of International Symposium of Mycotoxicology, Kagawa. Japanese Association of Mycotoxicology, pp33-39, 2004.

15. Kume E., Fujimura H., Matsuki N., Ito M., Aruga C., Toriumi W., Kitamura K., and Doi K. Hepatic changes in the acute phase of streptozotocin (SZ)-induced diabetes in mice. *Exp.Toxicol.Pathol.*, 55,467-480,2004.

## (2) 学会発表

1. 篠塚淳子、瀬畑信哉、鈴木雅実、石上紀明、アルバレンケ・ステラ・マリス、鳥海 亘、土井邦雄「T-2 トキシンによる

多細胞種でのアポトーシス」第21回日本毒性病理学会、2005年1月20—21日、浜松

2. He X.J., Ejiri N., Nakayama H., and Doi K. Effects of pregnancy on CYPs protein expression in rat liver. 第21回日本毒性病理学会、2005年1月20—21日、浜松

3. 瀬畑信哉、清沢直樹、渥美房子、伊藤和美、矢本 敬、寺西宗広、上塚浩司、中山裕之、土井邦雄「T-2 toxin 投与妊娠ラットの肝臓、胎盤および胎児肝臓病変のマイクロアレイ解析」第21回日本毒性病理学会、2005年1月20—21日、浜松

4. 馬場也須子、土井邦雄「ラットブタ血清誘発肝線維化モデルにおける線維化関連因子の変化」第21回日本毒性病理学会、2005年1月20—21日、浜松

5. 三上貴史、上野将紀、上塚浩司、中山裕之、土井邦雄「Ochratoxin A による胎仔中枢神経毒性に関する検索」第138回日本獣医学会、2004年9月10—12日、札幌

6. Ueno M., Katayama K., Nakayama H., and Doi K. Delay in translocation of neuronal stem cells due to chemical-induced cell cycle arrest. The 15th Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, Aug. 4-7, 2004, Edinburgh, Scotland.

7. Baba Y., Uetsuka K., Nakayama H., and Doi K. Porcine-serum-induced hepatic fibrosis in Brown Norway and Wistar rats. The 23rd Annual Society of Toxicologic

Pathology, June 13-17, Salt Lake City, USA.

8. Uetsuka K., Yamauchi H., Nakayama H., and Doi K. Impaired liver regeneration in db/db mice after 2/3 partial hepatectomy. The 23rd Annual Society of Toxicologic Pathology, June 13-17, Salt Lake City, USA.

9. Woo G.H., Katayama K., Bak, E.J., Uetsuka K., Nakayama H., and Doi K. Hydroxyurea (HU)-induced apoptosis in fetal mouse. The 23rd Annual Society of Toxicologic Pathology, June 13-17, Salt Lake City, USA.

10. 山内啓史、片山圭一、上野将紀、上塚浩司、中山裕之、土井邦雄「ラットにおける 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine の胎児中枢神経毒性と p53 の関与」第93回日本病理学会、2004年6月9—11日、札幌

11. 馬場也須子、中山裕之、土井邦雄「ラットブタ血清誘発肝線維化モデルにおける免疫グロブリンの変化」第93回日本病理学会、2004年6月9—11日、札幌

12. 白井真人、中山裕之、上塚浩司、土井邦雄「イヌの脳の加齢による遺伝子発現プロファイルの変化」第137回日本獣医学会、2004年4月2—4日、藤沢

13. Ueno M., katayama K., Nakayama H., and Doi K. Analysis of cell cycle, migration and apoptosis of neuronal stem cell in the 5-azacytidine (5AzC)-treated rat fetal brain. JSTP/IFSTP Joint Meeting, Feb. 15-18, 2004, Kobe.

14. Woo G.H., Bak E.J., Uetsuka K., Nakayama H., and Doi K. Hydroxyurea (HU)-induced apoptosis and changes in

apoptosis-related genes expression in the mouse fetal lung. JSTP/IFSTP Joint Meeting, Feb. 15-18, 2004, Kobe.

15. Takai H., Ito T., Tatsuyama K., Suzuki M., Katayama K., and Doi K. Neuronal cell death in the fetal rat spinal cord following NMDA-treatment to dams. JSTP/IFSTP Joint Meeting, Feb. 15-18, 2004, Kobe.

16. Sehata S., Kiyosawa N., Makino T., Atsumi F., Ito K., Yamoto T., Teranishi M., Manabe S., Uetsuka K., Nakayama H., and Doi K. T-2 toxin-induced changes in the rat fetal brain. JSTP/IFSTP Joint Meeting, Feb. 15-18, 2004, Kobe.

17. Baba Y., Uetsuka K., Nakayama H., and Doi K. Porcine-serum-induced hepatic fibrosis in Brown Norway rats. JSTP/IFSTP Joint Meeting, Feb. 15-18, 2004, Kobe.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

I. 特許出願  
なし

薬物誘発ラット肝病変の発現機構と  
遺伝子発現プロファイルに関する研究

(1) CYP誘導剤(Phenobarbital)投与による  
母体肝—胎盤—胎児肝における遺伝子  
およびタンパク質の発現プロファイル

## 背景

ラット胎盤におけるCYPタンパク質の発現

→ 妊娠全期間を通じて栄養膜細胞層の巨細胞にCYP3A1が発現する。

Dexamethasone および Pregnenolone-16 $\alpha$ -carbonitrile投与による母体肝、胎盤および胎児肝におけるCYP3A1タンパク質の発現誘導

→ 母体肝および胎児肝ではCYP3A1タンパクの著しい誘導が観察されるが胎盤では顕著な誘導は起こらない。

## 材料と方法

### ○ 動物および処置

妊娠13日目から連続4日間、F344ラット(n=5)にPB 80mg/kgをi. p. 投与 対照群にはSalineを用いる。妊娠17日目に母体肝、胎盤および胎児肝を採材する。

### ○ 検索

Western blot解析  
組織学的および免疫組織化学的検索

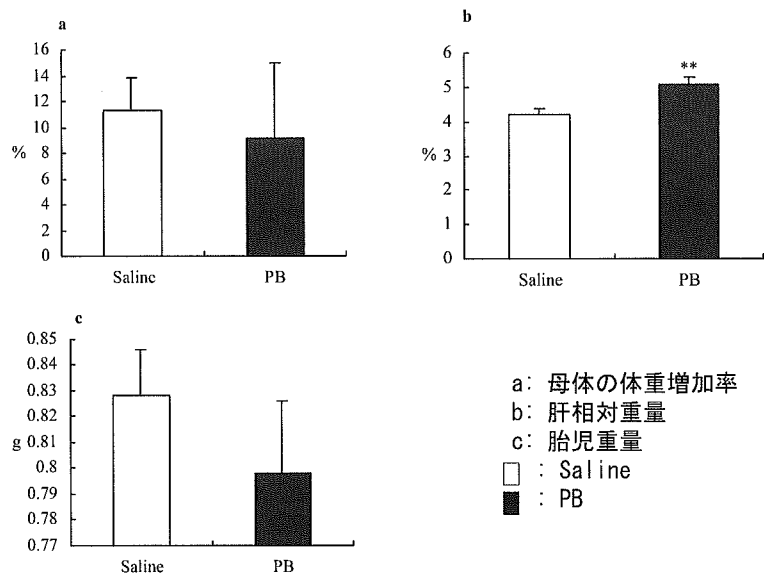
### ○ 使用した抗体

抗ラットCYP1A1、CYP2B1、CYP2C6、CYP2C12、CYP2D1、CYP2D4、CYP2E1、CYP3A1、CYP4A1

### ○ DNA microarray

GeneChip解析 : Affymetrix Rat Expression Array 230A  
RT-PCR : mRNAの発現を確認

## 結果



## Western blot解析および免疫染色結果

Western blot 解析		CYP1A1	CYP2B1	CYP2C6	CYP2C12	CYP2D1	CYP2D4	CYP2E1	CYP3A1	CYP4A1
母体肝	→	↑↑	→	→	↓↓	-	→	↑↑	→	
胎盤	-	-	-	-	-	-	-	→	-	
胎児肝	-	-	↑	-	→	-	→	↑↑	→	

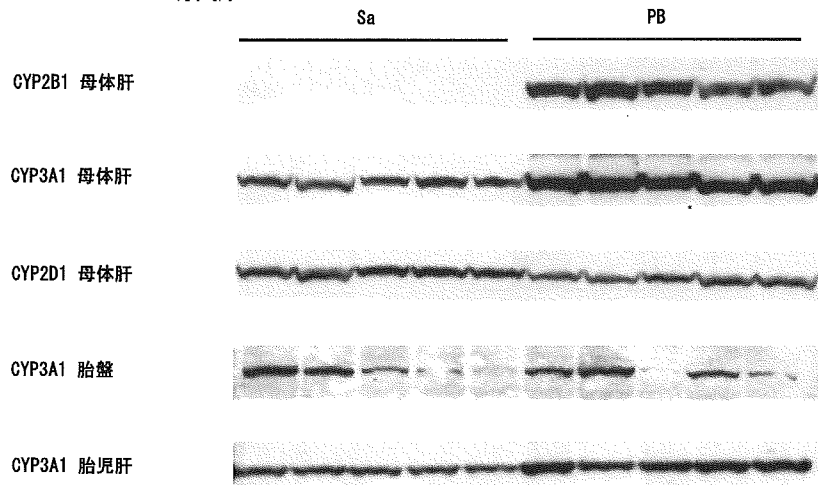
- : 検出されず  
 → : 発現あり、有意差なし  
 ↑ : 発現増加、有意差あり、P<0.05  
 ↑↑ : 発現増加、有意差あり、P<0.01  
 ↓ : 発現減少、有意差あり、P<0.01

### 免疫組織化学的検索

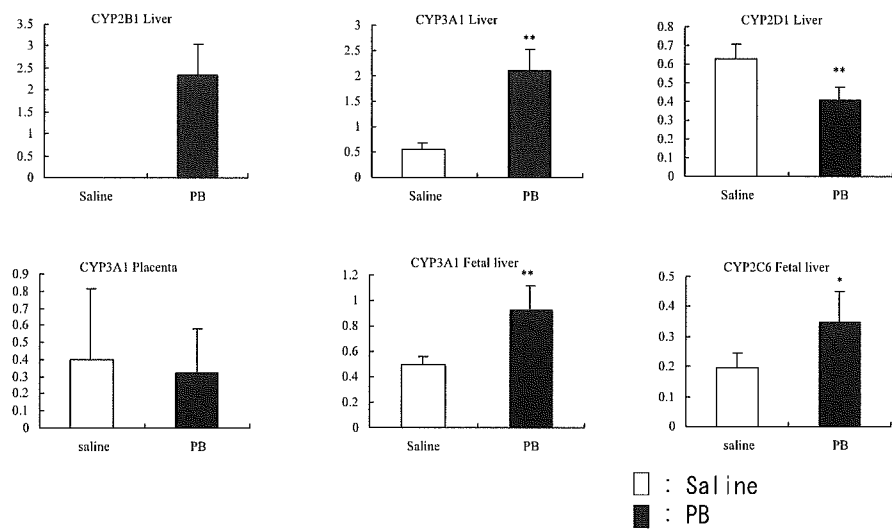
	CYP1A1	CYP2B1	CYP2C6	CYP2C12	CYP2D1	CYP2D4	CYP2E1	CYP3A1	CYP4A1
母体肝	+	↑↑	+	+	↓↓	-	+	↑↑	+
胎盤	-	-	-	-	-	-	-	+	-
胎児肝	-	-	±	-	-	-	-	±	-

- : 陰性  
 ± : ごく少数で陽性  
 + : 対照群、処置群ともに陽性  
 ↑↑ : 処置群で陽性像の増加  
 ↓↓ : 処置群で陽性像の減少

### Western blot解析



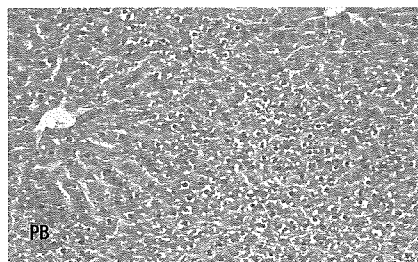
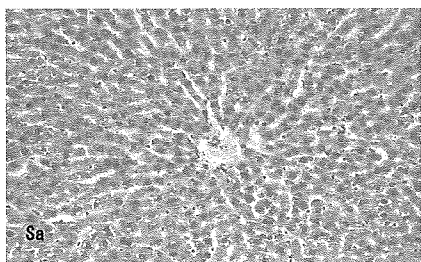
### Western blot解析





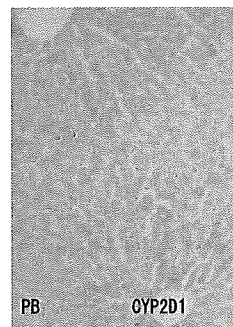
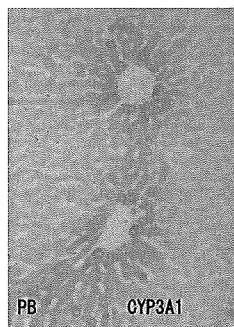
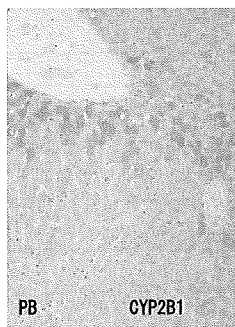
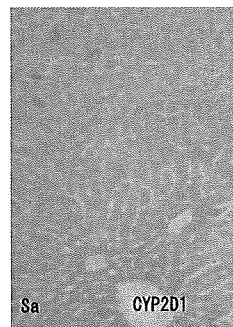
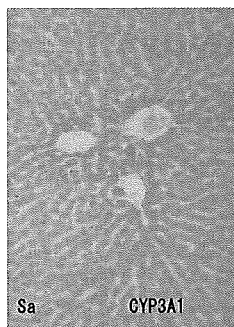
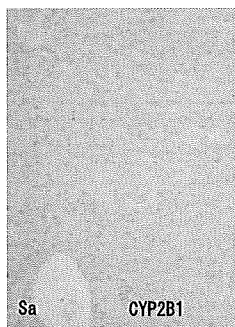
## HE染色

母体肝



## 免疫染色

母体肝



## PB 投与母体肝 Upregulated

Up-regulated	category	gene	fold change
P450	GST	cytochrome P-450c (phenobarbital-inducible)	12.975
		cytochrome P-450PCN (PNCN inducible) (Cyp3A1)	2.006
		glutathione S-transferase, mu 1 (Gstm1)	5.769
		S-transferase Yc2 subunit	4.493
		glutathione S-transferase	2.712
		Glutathione S-transferase, mu type 2 (Yb2) (Gstm2)	2.124
		glutathione S-transferase, mu 4 (Gstm4)	1.819
		Glutathione S-transferase 1 (theta) (Gstt1)	1.708
		similar to Microsomal glutathione S-transferase 2	1.686
		similar to GLUTATHIONE S-TRANSFERASE 8 (GST 8-8)	1.516
		UDP-glucuronosyltransferase, phenobarbital-inducible form (UDPGTR-2)	3.047
		UDP-glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1 (Ugt1a1)	1.704
UDP-glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1 (Ugt1a1)	1.654		
Sprague-Dawley UDP-glucuronosyltransferase (UGT3B12)	1.594		
UDP-glucuronosyltransferase	1.575		
Metabolism		epoxide hydrolase 1 (Ephx1)	4.048
		malic enzyme	3.028
		malic enzyme 1 (Me1)	2.198
		P450 (cytochrome) oxidoreductase (Por)	1.973
		NADPH-cytochrome P-450 oxidoreductase	1.971
		aldehyde oxidase (Aox1)	1.737
		similar to protoporphyrinogen oxidase	1.505
		glutathione reductase (Gsr)	1.857
		mRNA for serum carboxylesterase	1.531
		2-amino-3-carboxymuconate-6-semialdehyde decarboxylase (acmsd)	1.825
		UDP-glucose dehydrogenase (Ugdh)	1.706
		similar to Glutamate carboxypeptidase-like protein 1	1.616
		thymidine kinase processed pseudogene	1.596
		similar to Glucose-6-phosphate isomerase (GPI) (Phosphoglucose isomerase)	1.587
		6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 1 (Pfkfb1)	1.567
		transketolase (Tkt)	1.528
		stearoyl-Coenzyme A desaturase 2 (Scd2)	1.561
		long chain fatty acyl elongase (Lce-pending)	1.526
		pyruvate kinase M1 and M2 subunit genes	1.516
		Other	
Amyloid beta (A4) precursor protein (App)	1.539		
Williams-Beuren syndrome chromosome region 14 homolog (human) (Wbser14)	1.501		
Transport		vesicle-associated membrane protein, associated protein B and C (Vapb)	1.882
		solute carrier family 21 (organic anion transporter), member 5 (Slc21a5)	1.629
		sodium-dependent urate transporter (Slc6a6)	1.538
		ATP-binding cassette, sub-family C (CFR/MRP), member 2 (Abcc2)	1.533
Proteolysis		similar to HIV-1 tat interactive protein 2, 30 kDa homolog	1.708
Cell structure		similar to tubulin, beta, 2	1.7
Cell Signaling		Me2+-dependent protein phosphatase beta isoform	1.604
Protein Synthesis		similar to mitochondrial ribosomal protein L56	1.585
Proteasomal Proteins		proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 9 (Psmu9)	1.533
Cell Proliferation		similar to cellular repressor of E1A-stimulated genes	1.526
Cell Cycle		nucleosome binding protein 1 (Nsbp1)	1.504

## PB 投与母体肝 Downregulated

Down-regulated	category	gene	fold change
P450		cytochrome P-450 ISF/BNF-G	0.651
		cytochrome P450, 8b1, sterol 12 alpha-hydroxylase (Cyp8b1)	0.195
Metabolism		uridine-cytidine kinase 2 (Uck2-pending)	0.658
		partial HSD17B7 gene for 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase	0.644
		heme oxygenase gene	0.634
		squalene epoxidase (Sqle)	0.579
		fatty acid binding protein 7 (Fabp7)	0.491
		sterol-C4-methyl oxidase-like (Sc4mol)	0.558
		glutamine synthetase (EC 6.3.1.2.)	0.546
		3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 1 (Hmgcs1)	0.519
		Flavin-containing monooxygenase 1 (Fmo1)	0.508
		carboxypeptidase A1 (Cpa1)	0.488
serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A (alpha-1 antitrypsin, antitrypsin), member 7 (Serpin7)	0.287		
Cell Structure		nidogen 1 (Nid1)	0.647
Cell-Cell Signaling?		maternal G10 transcript (G10)	0.647
Transport		gap junction membrane channel protein alpha 1 (Cj1a1)	0.637
		mitochondrial Ca2+-dependent solute carrier (Mesc)	0.374
Cell Cycle		Regucalcin (Rgn)	0.616
		mRNA for cyclin D1	0.512
Other		Serine protease inhibitor (Spin2c)	0.612
Cell Proliferation		GATA binding protein 6 (Gata6)	0.592
		zinc finger, DHHC domain containing 14 (Zdhc14)	0.583
		fos-related antigen DNA	0.556
		Transforming growth factor beta stimulated clone 22 (Tgfb14)	0.497
		v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog (Myc)	0.478
		clone 65 growth hormone-inducible soluble protein mRNA	0.425
Stress		GADD45gamma	0.575
Transcription		WD repeat and FYVE domain containing 1 (WDFY1), transcript variant 1	0.519
Proteolysis		disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 1 (ADAMTS-1)	0.358

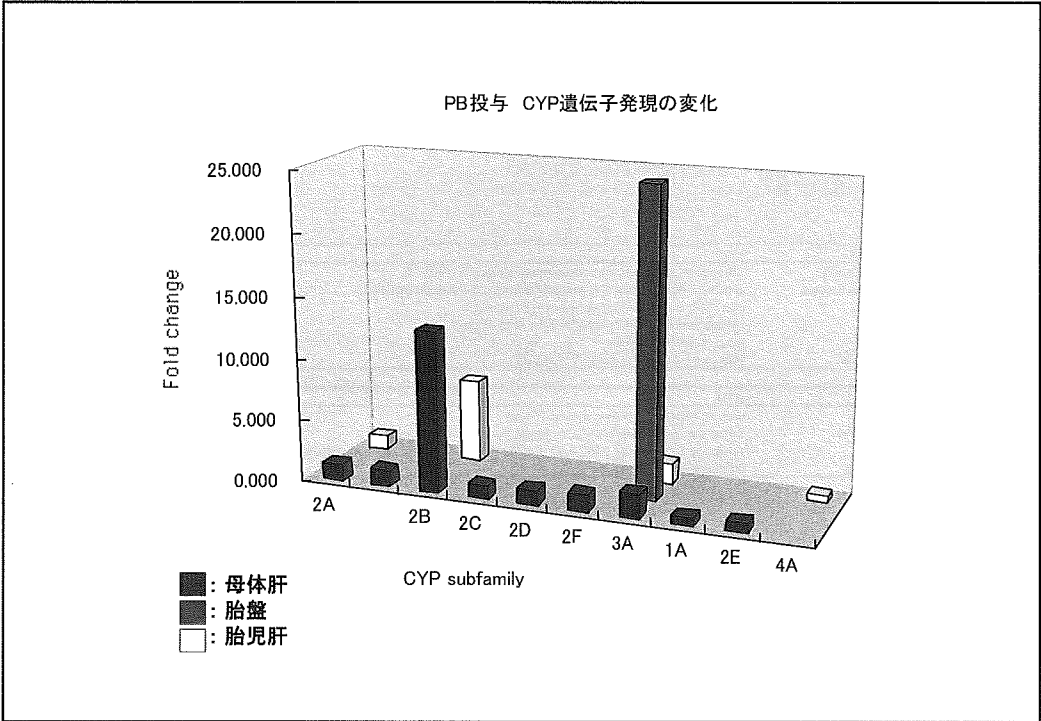
## PB 投与胎盤

<i>Up-regulated</i>	category	gene	fold change
	P450	cytochrome P-450PCN (PNCN inducible) (Cyp3A1)	24.784
	Other	gene for keratin 6 alpha	1.7
	Cell Structure	similar to Myosin Vc (Myosin 5C) (LOC208943)	1.586
	Cell Proliferation	transmembrane protein with EGF-like and two follistatin-like domains 1 (Tmeff1)	1.565
<i>Down-regulated</i>	category	gene	fold change
	Immune	scavenger receptor class B, member 1 (Scarb1)	0.643
	Metabolism	lanosterol 14-demethylase	0.627
	Cell proliferation	Rat Skn11	0.589
	Transport	solute carrier family 2, (facilitated glucose transporter) member 8 (Slc2a8)	0.448
	Other Enzymes	ubiquitin-conjugating enzyme E2D 1, UBC4/5 homolog (yeast) (Ube2d1)	0.410

## PB 投与胎仔肝

<i>Up-regulated</i>	category	gene	fold change
	Inflammation	fibronectin leucine rich transmembrane protein 2 (FLRT2)	1.709
	Cell proliferation	similar to Protein kinase C and casein kinase II substrate protein 3	1.669
	Immune	non MHC restricted killing associated (Nmrk)	1.665
	P450	cytochrome P-450PCN (PNCN inducible) (Cyp3A1)	1.664
	Other	gene for keratin 6 alpha	1.633
	Cell Cycle	Mus musculus, clone IMAGE:3592221	1.557
<i>Down-regulated</i>	category	gene	fold change
	Other	nebulin-related anchoring protein (Nrap)	0.659
	Metabolism	3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2 (Hmgcs2)	0.641
	P450	similar to Cytochrome P450 4A3 (CYP1VA3) (Lauric acid omega-hydroxylase) (P450-LA-omega 3)	0.542
	Apoptosis	thymosin beta-like protein	0.541

	Category	dam liver	placenta	fetus liver
Up-regulated	P450	2	1	1
	GST	8		
	UDPGT	5		
	Metabolism	19		
	Other	3	1	1
	Transport	4		
	Proteolysis	1		
	Cell structure	1	1	
	Cell Signaling	1		
	Protein Synthesis	1		
	Proteosomal Proteins	1		
	Cell Proliferation	1	1	1
	Cell Cycle	1		1
	Inflammation			1
	Immune			1
Down-regulated	P450	2		1
	Metabolism	11	1	1
	Cell structure	1		
	Cell-Cell Signaling?	1		
	Transport	2	1	
	Cell Cycle	2		
	Other	1		
	Cell Proliferation	6	1	
	Stress	1		
	Transcription	1		
	Proteolysis	1		
	Immune		1	
	Other enzyme		1	1
	Apoptosis			1

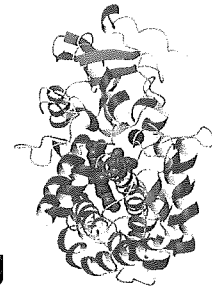


## まとめ

- ・ PB投与により、母体肝および胎児肝でCYP3A1タンパク質の著しい発現が認められたが、胎盤では認められなかった。
- ・ PB投与により、母体肝ではCYP2B1タンパク質の発現が認められたが、対照群では認められなかった。
- ・ 胎児肝では母体肝に比べて、非誘導時に発現しているCYPの数は少なく、また薬物誘導により発現誘導されるCYPの数も少ない。
- ・ 有意な発現増加を示したCYP酵素は母体肝で9種類、胎盤で1種類、胎児肝では4種類であり、これらはおもにCYP3A subfamily と CYP2B subfamilyの酵素であった。
- ・ 母体肝、胎児肝、胎盤では遺伝子およびタンパク質の発現に大きな差が認められ、これら臓器の薬物代謝能の相違が示された。

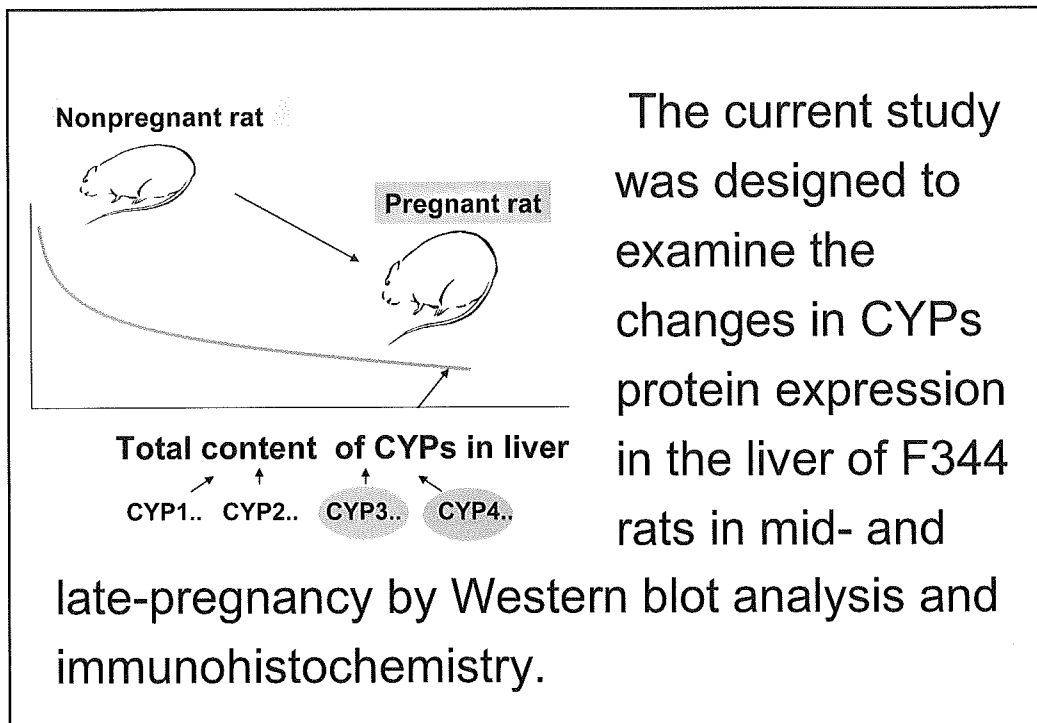
## (2) 妊娠・泌乳が母体肝における遺伝子発現プロファイルに及ぼす影響

## Introduction



CYP isozymes (CYPs) are a widespread family of heme-containing monooxygenases . Expression of CYPs is known to be influenced by a variety of endogenous and foreign factors such as inflammation, age, gender, nutritional status, pregnancy and chemical exposure.

Previous studies have demonstrated that normal pregnancy is associated with a decrease in total CYP450 content and/or reduced activity of microsomal drug metabolizing enzyme in the liver. However, there were only a few reports of the effects of pregnancy on the expression of each CYP isozyme.



## Materials

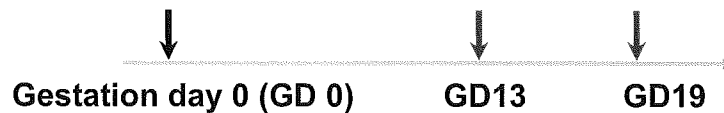
### ***Animals:***

12 pregnant and 6 age-matched non-pregnant female F344 rats (11 weeks of age)

### ***Antibodies:***

Monoclonal anti-rat CYP1A1, CYP2B1/2, CYP2C6, CYP2C12, CYP2D1, CYP2D4, CYP2E1, CYP3A1 and CYP4A1 antibodies.

## ***Experimental design***



↓ : sacrifice and obtain the livers

### ***Methods:***

Western blot analysis

for quantitatively evaluating the changes  
in CYPs protein expression

Immunohistochemical staining

for evaluating the distribution and  
immunostainability of nine CYPs

Statistical analysis



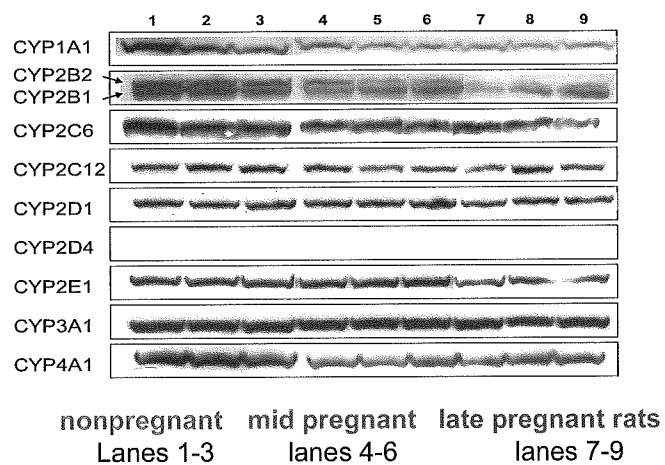
# Results 1

## *Changes in body and liver weight*

Gestation day	Body weight (g)	Liver weight (g)
Non-pregnant	144.35±3.72	5.69±0.39
Day 13 of gestation	161.83±5.94*	6.06±0.35
Day 19 of gestation	201.13±8.66**	8.91±0.19**

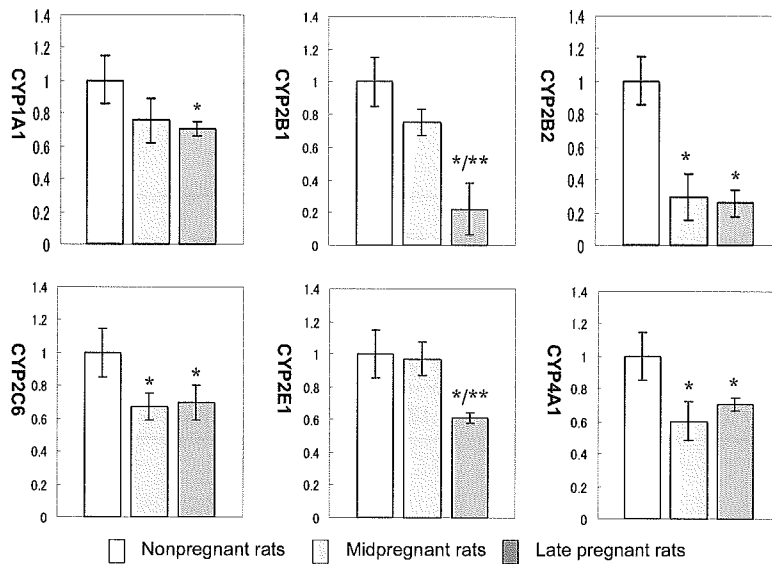
# Results 2

## *Western blot analysis*



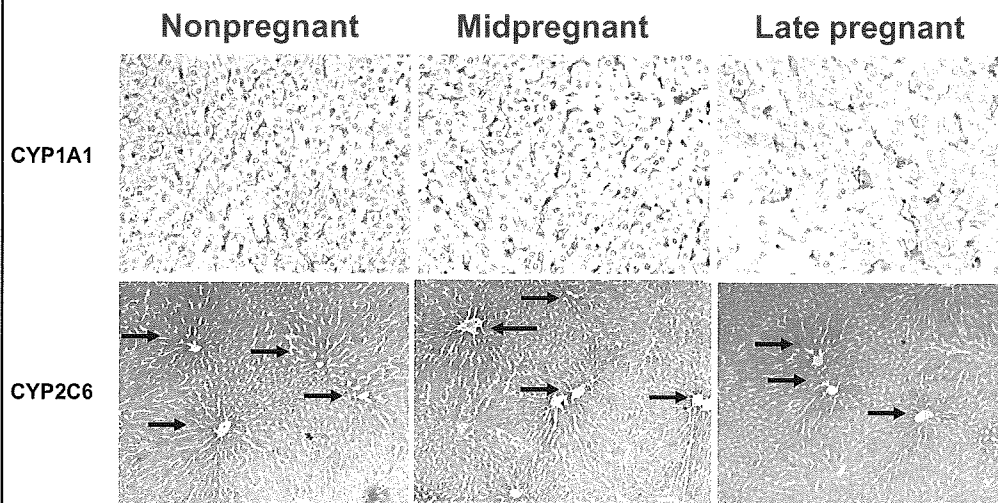
## Western blot analysis

### Densitometry of Western blotting

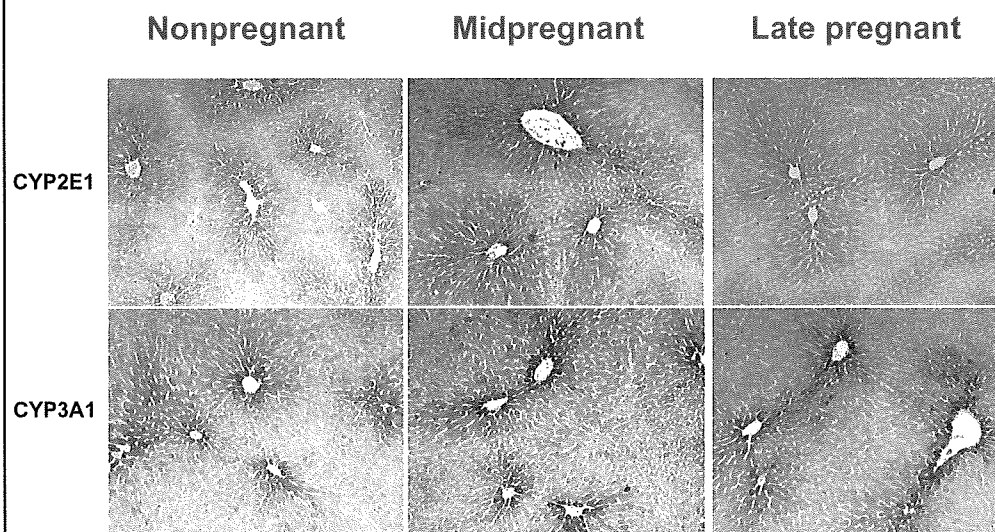


## Results III

### Immunohistochemical findings



## ***Immunohistochemical findings***



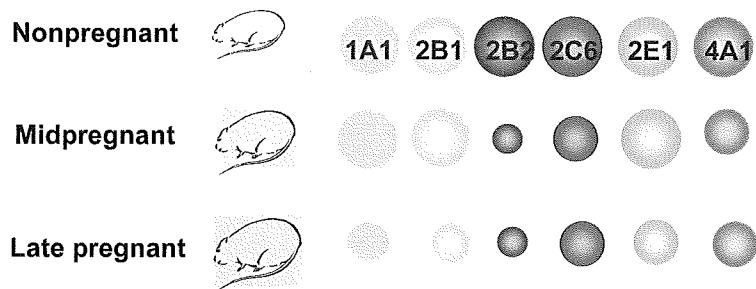
## ***Immunohistochemical findings***

CYPs	Cell type	
	Hepatocytes	Endothelial cells of sinusoids and veins
CYP1A1	—	++
CYP2B1/2	+	—
CYP2C6	++	—
CYP2C12	+++	—
CYP2D1	+++	—
CYP2D4	—	—
CYP2E1	++	—
CYP3A1	+++	—
CYP4A1	±	±

**Distribution and degree of immunostainability for CYPs in the liver**

## Conclusions and Discussion

**1. Pregnancy was linked to down-regulation of some CYPs in rat liver.**



**2. Unlike other CYPs, CYP1A1 was expressed in endothelial cells of both sinusoids and veins in rat liver.**

