

hydroxylase represents CYP1B1, and not CYP1A1, in human freshly isolated white cells: trimodal distribution of Japanese population according to induction of CYP1B1 mRNA by environmental dioxins, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 12: 1118, 2003

Masahiko Ando, Nobuyuki Hamajima, Noritaka Ariyoshi, Tetsuya Kamataki, Keitaro Matsuo and Yoshiyuki Ohno: Association of CYP2A6 gene deletion with cigarette smoking status in Japanese adults, *J Epidemiol.*, 13(3):176-182, 2003

Tetsuya Saito, Mari Egashira, Kazuma Kiyotani, Masaki Fujieda, Hiroshi Yamazaki, Chikako Kiyohara, Hideo Kunitoh and Tetsuya Kamataki: Novel nonsynonymous polymorphisms of the *CYP1A1* gene in Japanese, *Drug Metabol. Pharmacokin.*, 18(3):SNP20(218)-SNP23(221), 2003

Takashi Satoh, Haruka Munakata, Ken-ichi Fujita, Shinji Itoh, Shungo Itoh, Tetsuya Kamataki and Itsuo Yoshizawa: Studies on the interactions between drug and estrogen. II. on the inhibitory effect of 29 drugs reported to induce gynecomastia on the oxidation of estradiol at C-2 or C-17, *Biol. Pharm. Bull.*, 26(5):695-700, 2003

Masaki Fujieda, Hiroshi Yamazaki, Kazuma Kiyotani, Asami Muroi, Hideo Kunitoh, Hirotohi Dosaka-Akita, Yuichi Sawamura and Tetsuya Kamataki: Eighteen novel polymorphisms of the *CYP2A13* gene in Japanese, *Drug Metabol. Pharmacokin.*, 18(1):86-90, 2003

Kenji Toide, Hiroshi Yamazaki, Rikako Nagashima, Keisuke Itoh, Shunsuke Iwano, Yoshiki Takahashi, Shaw Watanabe and Tetsuya Kamataki: Aryl hydrocarbon hydroxylase represents CYP1B1, and not CYP1A1, in human freshly isolated white cells: trimodal distribution of Japanese population according to induction of CYP1B1 mRNA by environmental dioxins,

Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 12:219-222, 2003

Yuichi Kanamori, Ken-ichi Fujita, Kazuo Nakayama, Hideki Kawai and Tetsuya Kamataki: Large-scale production of genetically engineered CYP3A4 in *E. coli*: Application of a jar fermenter, *Drug Metabol. Pharmacokin.*, 18(1):42-47, 2003

S. Hikage, K. Nakayama, T. Saito, Y. Takahashi, T. Kamataki, S. Suzuki, T. Hongo and A. Sato: Cytotoxicity of bisphenol a glycidyl methacrylate on cytochrome P450 producing cells, *J. of Oral Rehabil.*, 30(5):544-549, 2003

2. 学会発表

鎌滝哲也: Genetic Polymorphism of CYP2A6 as One of the Potential Determinants of Tobacco-related Cancer Risk, 第 25 回札幌がんセミナー国際シンポジウム, 山形, 2005, 8

鎌滝哲也: CYP2A6 の遺伝的多型と喫煙による発がんリスクの相関, 第 32 回日本トキシコロジー学会学術年会, 東京, 2005, 6

Tetsuya Kamataki: Genetic Polymorphism of CYP2A6 is One of the Potential Determinants of Tobacco-related Cancer Risk, 14th International Conference on Cytochromes P450, Dallas, 2005, 6

鎌滝哲也: ラットにおける薬物代謝の性差とその発現調節機構, 第 52 回日本実験動物学会総会, 東京, 2005, 5

鎌滝哲也: ヒト CYP3A7 トランスジェニックマウスについて, 第 12 回 HAB 研究機構学術年会, 東京, 2005, 5

Kazuma Kiyotani, Masaki Fujieda, Tsutomu Shimada, F. Peter Guengerich, Andrew Parkinson, Goro Honda, Kazuko Nakagawa, Hiroshi Yamazaki, and Tetsuya Kamataki: Haplotype and functional analyses of novel genetic polymorphisms of CYP2A6, 12th Annual Meeting of the Pacific Rim

Association for Clinical Pharmacogenetics (PRACP2005), Kyoto, Japan, 2005, 4

Hiroshi Yamazaki, Takaaki Gunji, Tetsuya Kamataki: A novel deleterious mutation in the flavin-containing monooxygenase 3 (FMO3) gene probably as a cause of trimethylaminuria in a Japanese population, PRACP & IPS 2005 (Pacific Rim Association for Clinical Pharmacogenetics), Kyoto, Japan, 2005, 4

中田智久, 樋口進, 横山顕, 藤枝正輝, 鎌滝哲也: 食道がんリスクに及ぼす CYP2A6 および ALDH2 の遺伝子多型の影響, 第 125 年会日本薬学会, 東京, 2005, 3

郡司貴彰, 清谷一馬, 藤枝正輝, 鎌滝哲也, 山崎浩史: 日本人におけるトリメチルアミン尿症の原因となる新規 FMO3 遺伝子変異, 日本薬学会 第 125 年会, 東京, 2005, 3

山崎浩史, 村井景子, 川合良成, 鎌滝哲也: 日本人肝ミクロゾームのレトロゾール酸化酵素活性に及ぼす CYP2A6 遺伝子多型の影響, 日本薬学会第 125 年会, 東京, 2005, 3

清谷一馬, 藤枝正輝, 島田力, F. Peter Guengerich, Andrew Parkinson, 本田五郎, 中川和子, 山崎浩史, 鎌滝哲也: CYP2A6 の基質認識に及ぼす Arg203Ser (CYP2A6*16) の影響, 日本薬学会第 125 年会, 東京, 2005, 3

松永眞幸, 山崎浩史, 清谷一馬, Leeder JS, Rogan PK, 小林真一, 木下盛敏, 鎌滝哲也: 日本人における CYP2D6 の poor metabolizer (PM) 原因遺伝子多型 (CYP2D6*44), 日本薬学会第 125 年会, 東京, 2005, 3

Tetsuya Kamataki: CYP2A6 genetic polymorphism is one of the determinants of tobacco-related cancer risk, 日米医学協力計画 40 周年記念国際会議 Fortieth Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program, 京都 Kyoto, 2004, 12

Kazuma Kiyotani, Masaki Fujieda, Tsutomu Shimada, F. Peter Guengerich, Andrew

Parkinson, Goro Honda, Kazuko Nakagawa, Hiroshi Yamazaki, Tetsuya Kamataki: Functional Analysis of novel single nucleotide polymorphisms in exon 4 of CYP2A6 gene, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2004, 12

Norihito Shibahara, Shunsuke Iwano, Tetsuya Saito, Kazuma Kiyotani, Tetsuya Kamataki: Novel Regulatory Mechanisms of the Human CYP1A1 Gene via PXR and CAR, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2004, 12

Shunsuke Iwano, Manabu Nukaya, Tetsuya Saito, Fumie Asanuma, Tetsuya Kamataki: Disruption of Liver X Receptor Signal Pathways by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons via Aryl Hydrocarbon Receptor, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2004, 12

Takanori Hayashi, Keiko Matsumura, Tetsuya Saito, Goro Honda, Kazuko Nakagawa, and Tetsuya Kamataki: Regulation of CYP3A4 Expression Level in Japanese Liver, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2004, 12

Tetsuya Kamataki: Impact of genetic polymorphism of CYP2A6 on tobacco-related cancer risk: From molecular epidemiology to translational research, International Symposium of the Korean Association of Human Genomic Research: Genome Variations and Disease Association, Seoul, 2004, 12

Tomohisa Nakada, Susumu Higuchi, Akira Yokoyama, Hiromasa Ishii, Masaki Fujieda and Tetsuya Kamataki: GENETIC POLYMORPHISMS OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES AND ESOPHAGEAL CANCER RISK, 第 19 回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Asami Muroi, Hideki Ishikawa, Kanehisa Morimoto, Tatsuya Takeshita, Masaki Fujieda, and Tetsuya Kamataki: INFLUENCE OF CYP2A6 GENETIC POLYMORPHISMS AND CIGARETTE SMOKING ON RISK OF COLORECTAL TUMORS IN JAPANESE, 第 19 回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Masayuki Matsunaga, Hiroshi Yamazaki, Kazuma Kiyotani, Junji Saruwatari, Kazuko Nakagawa, Akiko Soyama, Shogo Ozawa, Jun-ichi Sawada, Moritoshi Kinoshita and Tetsuya Kamataki: New CYP2D6*10 haplotype found in Japanese causes impaired O-demethylation but 7-hydroxylation of dextromethorphan mediated by CYP2D6.10 with F120I, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Kazuma Kiyotani, Masaki Fujieda, Tsutomu Shimada, F. Peter Gunegerich, Andrew Parkinson, Goro Honda, Kazuko Nakagawa, Hiroshi Yamazaki, Tetsuya Kamataki : Functional Analysis of CYP2A6*15 and CYP2A6 *16, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Norihito Shibahara, Tetsuya Saito, Kaoru Nagata, Shunsuke Iwano, Shaw Watanabe, Tetsuya Kamataki: Spl AS THE CAUSAL FACTOR OF INTERINDIVIDUAL VARIATION OF CYP1B1 mRNA LEVELS IN HUMAN LEUKOCYTES, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Tetsuya Kamataki, Masaharu Akita, Mitsuyoshi Ishida, Takeharu Morishita, Jun Shimada, Shiro Suzuki, Shunsuke Iwano and Motoya Katsuki: DEVELOPMENT OF TRANSGENIC MICE CARRYING THE GENES OF ENZYMES PRESENT IN HUMAN FETAL LIVERS TO PREDICT EMBRYO TOXICITY OF CHEMICALS, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Takanori Hayashi, Keiko Matsumura, Tetsuya Saito, Goro Honda, Kazuko Nakagawa, and Tetsuya Kamataki: INTERINDIVIDUAL VARIABILITY OF CYP3A4 EXPRESSION IN JAPANESE LIVER, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Masakazu Shinoda, Masaki Fujieda, Masahiro Togashi, Tetsuya Kamataki, and Hiroshi Yamazaki: INDIVIDUAL DIFFERENCES IN CONTENTS OF FLAVIN-CONTAINING MONOOXYGENASE FORM 3 (FM03) IN LIVER MICROSOMES FROM JAPANESE, 第19回日本薬

物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Masafumi Miyazaki, Masaki Fujieda, Hiroshi Yamazaki, Hijiri Takeuchi, Katsumi Imaida, and Tetsuya Kamataki: DOSE-DEPENDENT INHIBITION BY 8-METHOXYPSORALEN, A POTENT CYP2A6 INHIBITOR, OF LUNG TUMORIGENESIS INDUCED BY 4-(METHYLNITROSAMINO)-1-(3-PYRIDYL)-1-BUTANONE IN FEMALE A/J MICE, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Shunsuke Iwano, Manabu Nukaya, Tetsuya Saito, Fumie Asanuma, and Tetsuya Kamataki: INHIBITION OF LXR SIGNAL TRANSDUCTIONS BY POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS THROUGH ARYL HYDROCARBON RECEPTOR, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Hiroshi Yamazaki, Masaki Fujieda, and Tetsuya Kamataki: Mild trimethylaminuria seen in Japanese subjects with liver damage, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Tomohisa Nakada, Susumu Higuchi, Akira Yokoyama, Hiromasa Ishii, Masaki Fujieda, and Tetsuya Kamataki: GENETIC POLYMORPHISMS OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES AND ESOPHAGEAL CANCER RISK, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

Yasuhiro Uno, Go Kito, Tetsuya Kamataki, and Ryoichi Nagata: GENOMIC STRUCTURE OF NOVEL CYP2C IN CYNOMOLGUS MONKEY, 第19回日本薬物動態学会年会, 金沢, 2004, 11

鎌滝 哲也: CYP2A6 の遺伝的多型と肺がんリスク: 肺がん予防を目指して, 第45回日本肺癌学会総会, 横浜, 2004, 10

Tetsuya Kamataki: CYP2A6 polymorphism and tobacco-related cancer, Biologie Prospective - Santorini Conference 2004 3rd Annual Meeting of the International Society of Pharmacogenomics (ISP), Santorini, 2004, 10

山崎 浩史, 鎌滝 哲也: 至適投与設計の基礎

としての抗がん薬代謝酵素の個人差について、第 63 回日本癌学会総会、福岡、2004、10
山崎浩史、鎌滝哲也：抗がん薬の酸化的代謝の個人差に及ぼす P450 遺伝子多型の影響、第 25 回日本臨床薬理学会年会、静岡、2004、9

Tetsuya Kamataki: Genetic Polymorphism of CYP2A6 As a Key Factor Determining the Risk of Tobacco-related Cancers, 7th International ISSX Meeting, Vancouver, 2004, 9

鎌滝哲也：チトクローム P450 の遺伝的多型と喫煙者における発がんリスク、第 6 回応用薬理シンポジウム、新潟、2004、8

Tetsuya Kamataki: Molecular mechanisms responsible for the fetus- and adult-specific expression of respective CYP3A7 and CYP3A4, 15th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations, Mainz, 2004, 7

Hiroshi Yamazaki, Masaki Fujieda, Masahiro Togashi, Tetsuya Saito, George Preti, John R. Cashman, and Tetsuya Kamataki : Improvement of trimethylaminuria by activated charcoal and copper chlorophyllin , 15th International Symposium on MDO, Mainz, Germany, 2004, 7

Tetsuya Kamataki: Impressive high impact of CYP2A6 polymorphism on tobacco-related cancer risks, 15th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations, Mainz, 2004, 7

Tetsuya Kamataki: Gene regulation of fetus and adult specific forms of CYP3As in humans, Pharmaceutical Science World Congress 2004, Kyoto, 2004, 6

Asami Muroi, Hideki Ishikawa, Masaki Fujieda, Kanehisa Morimoto, Tatsuya Takeshita, Hiroshi Yamazaki, and Tetsuya Kamataki: CYP2A6 genetic polymorphisms influence colorectal tumor risk in Japanese smokers , PHARMACEUTICAL SCIENCES

WORLD CONGRESS (PSWC2004), Kyoto, 2004, 6

Masayuki Matsunaga, Hiroshi Yamazaki, Kazuma Kiyotani, Satoshi Tsubuko, Masaki Fujieda, Tetsuya Saito, Moritoshi Kinoshita, Jun Miura, Shinichi Kobayashi, and Tetsuya Kamataki: Novel haplotypes of CYP2D6 gene with impaired drug metabolizing function in a Japanese population, PHARMACEUTICAL SCIENCES WORLD CONGRESS (PSWC2004), Kyoto, 2004, 6

Kazuma Kiyotani, Hiroshi Yamazaki, Masaki Fujieda, Shunsuke Iwano, Tsutomu Shimada, F. Peter Gunegerich, Andrew Parkinson, Goro Honda, Kazuko Nakagawa, Takashi Ishizaki, Tetsuya Kamataki : Decreased expression levels and catalytic activity of CYP2A6 in humans caused by CYP2A6*9, 2004PSWC, Kyoto, Japan, 2004, 6

Shunji Kuribayashi, Shinsaku Naito, Nobuhiko Ueda, Hiroshi Yamazaki, Tetsuya Kamataki: Species Differences between Human and Rat in Metabolism of OT-7100, Pharmaceutical Science World Congress 2004, Kyoto, 2004, 6

Masaki Fujieda, Hiroshi Yamazaki, Masahiro Togashi, Tetsuya Saito, Tetsuya Kamataki: Two Novel Single Nucleotide Polymorphisms of the FMO3 Gene in Japanese, Pharmaceutical Science World Congress 2004, Kyoto, 2004, 6

Hiroshi Yamazaki, Masaki Fujieda, Masahiro Togashi, Tetsuya Saito, George Preti, John R. Cashman, and Tetsuya Kamataki 1: Effects of activated charcoal and copper chlorophyllin on urinary excretion of trimethylamine in trimethylaminuria patients, 2004PSWC, Kyoto, Japan, 2004, 6

宇野泰広、鬼頭剛、斎藤鉄也、山崎浩史、鎌滝哲也、永田良一：カニクイザル CYP2C 遺伝子の発現解析、第 124 回日本薬学会年会、大阪、2004、3

富樫正浩、山崎浩史、藤枝正輝、斎藤鉄也、

鎌滝哲也：日本人における魚臭症候群患者の探索およびその原因の解明，日本薬学会第124年会，大阪，2004，3

藤枝正輝，山崎浩史，富樫正浩，斎藤鉄也，鎌滝哲也：日本人における新規 FM03 遺伝子多型の発見，第124回日本薬学会年会，大阪，2004，3

清谷一馬，藤枝正輝，山崎浩史，島田力，F. Peter Guengerich，Andrew Parkinson，本田五郎，中川和子，石崎高志，鎌滝哲也：クマリンおよびニコチン代謝に及ぼす CYP2A6 遺伝子多型の影響，第124回日本薬学会年会，大阪，2004，3

林崇憲，松村慶子，斎藤鉄也，清谷一馬，藤枝正輝，村井景子，山崎浩史，本田五郎，中川和子，石崎高志，鎌滝哲也：日本人における CYP3A4 発現量の個人差の原因：肝バンクを用いた検討，日本薬学会第124年会，大阪，2004，3

山崎浩史，藤枝正輝，富樫正浩，斎藤鉄也，鎌滝哲也：魚臭症候群患者のトリメチルアミン代謝に及ぼす食品成分の影響，日本薬学会第124年会，大阪，2004，3

室井麻美，石川秀樹，藤枝正輝，山崎浩史，鎌滝哲也：CYP2A6 遺伝子多型と日本人喫煙者の大腸がんリスクの相関，日本薬学会第124年会，大阪，2004，3

清谷一馬，藤枝正輝，山崎浩史，島田力，F. Peter Guengerich，Andrew Parkinson，本田五郎，中川和子，石崎高志，鎌滝哲也：新規 CYP2A6 遺伝子多型のハプロタイプおよび機能解析，第24回日本臨床薬理学会年会，横浜，2003，12

鎌滝哲也：ファーマコジェネティクスー臨床現場へのアプローチとその問題点ー，第24回日本臨床薬理学会，横浜，2003，12

松永眞幸，山崎浩史，清谷一馬，津布子智志，藤枝正輝，斎藤鉄也，木下盛敏，小林真一，鎌滝哲也：新規 CYP2D6 遺伝子多型がデキストロメトルフアン代謝に及ぼす影響，第24回日本臨床薬理学会年会，横浜，2003，12

宇野泰広，鬼頭剛，斎藤鉄也，山崎浩史，井ノ上逸郎，鎌滝哲也，永田良一：カニクイザル肝臓における CYP をコードする cDNA クローンの検出および解析，第26回日本分子生化学学会年会，神戸，2003，12

Hiroshi Yamazaki, Masaki Fujieda, Masahiro Togashi, Tetsuya Saito, George Preti, John R. Cashman, and Tetsuya Kamataki: Improvement of Trimethylaminuria: Effects of activated charcoal and copper chlorophyllin on urinary excretion of trimethylamine, 12TH NORTH AMERICAN ISSX MEETING, Providence, 2003, 10

Tetsuya kamataki, mitsuyoshi ishida, tamotsu niki, shiro suzuki, and motoya katsuki: Development of transgenic mice to predict embryo toxicity of chemical in humans, 12th ISSX North America, Providence, 2003, 10

糠谷学，高橋芳樹，斎藤鉄也，Frank J, Gonzalez, 鎌滝哲也：多環芳香族炭化水素による資質代謝異常の分子レベルにおける発現機構の解明，第18回日本薬物動態学会年会，札幌，2003，10

栗林 俊治，原田 大輔，内藤 真策，上田 信彦，山崎 浩史，鎌滝 哲也：OT-7100 の代謝における種差と非可逆的結合物の生成，第18回日本薬物動態学会年会，札幌，2003，10

山崎浩史，藤枝正輝，富樫正浩，Pailin Ujjan, 中山佳都夫，斎藤鉄也，鎌滝哲也：アジアにおける魚臭症候群患者のトリメチルアミン代謝の変動要因，第18回日本薬物動態学会年会，札幌，2003，10

松村慶子，斎藤鉄也，清谷一馬，藤枝正輝，村井景子，山崎浩史，島田力，F. Peter Guengerich，Andrew Parkinson，中川和子，石崎高志，鎌滝哲也：肝バンクにおける CYP3A4 発現量の個人差，第18回日本薬物動態学会年会，札幌，2003，10

宇野泰広，鬼頭剛，斎藤鉄也，山崎浩史，鎌滝哲也，永田良一：ヒト CYP2C と相同性の低

いカニクイザル CYP2C, 第 18 回日本薬物動態学会年会, 札幌, 2003, 10

柴原憲仁、都出健治、山崎浩史、永島理香子、伊藤圭介、岩野俊介、高橋芳樹、斎藤鉄也、渡辺昌、鎌滝哲也: CYP1B1 mRNA 量を指標としたヒトにおけるダイオキシン類暴露の定量的評価法の確立, 第 18 回日本薬物動態学会年会, 札幌, 2003, 10

清谷一馬, 藤枝正輝, 山崎浩史, 島田力, F.Peter Guengerich, Andrew Parkinson, 中川和子, 石崎高志, 鎌滝哲也: 新規 CYP2A6 遺伝子多型の機能解析, 第 18 回日本薬物動態学会年会, 札幌, 2003, 10

木村美由紀, 山崎浩史, 藤枝正輝, 清谷一馬, 室井麻美, 猿渡淳二, 中川和子, 石崎高志, 鎌滝哲也: カフェインテストを利用した新規 CYP2A6 フェノタイピング, 第 18 回日本薬物動態学会年会, 札幌, 2003, 10

松永眞幸, 山崎浩史, 清谷一馬, 津布子智志, 藤枝正輝, 斎藤鉄也, 小林真一, 鎌滝哲也: Poor metabolizer (PM) の原因となりうる新規 CYP2D6 遺伝子多型, 第 18 回日本薬物動態学会年会, 札幌, 2003, 10

宮崎雅史, 山崎浩史, 木村美由紀, 鎌滝哲也: マウス CYP2A によるニコチン代謝: ヒトとの類似性, 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 2003, 9

木村美由紀, 山崎浩史, 藤枝正輝, 室井麻美, 猿渡淳二, 中川和子, 石崎高志, 鎌滝哲也: カフェイン代謝物を指標にした抗がん薬代謝酵素 CYP2A6 のフェノタイピング, 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 2003, 9

室井麻美, 石川秀樹, 藤枝正輝, 森本兼囊, 竹下達也, 山崎浩史, 鎌滝哲也: 喫煙者の大腸がんリスクに及ぼす CYP2A6 遺伝子多型の影響, 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 2003, 9

山崎浩史, 藤枝正輝, 鎌滝哲也: チトクローム P450 の遺伝子多型に基づいた抗悪性腫瘍薬の至適投与法の確立, 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 2003, 9

糠谷学、高橋芳樹、Farnk J Gonzalez、鎌滝哲也: 多環芳香族炭化水素による脂質代謝異常の発現機構の分子レベルでの解明, 第 30 回日本トキシコロジー学会学術年会, 神奈川, 2003, 7

Tetsuya Kamataki: Development of Transgenic Mice to Predict Toxicity of Chemicals in Human Fetus, 8th European ISSX Meeting, Dijon, 2003, 4

宮崎雅史, 山崎浩史, 井上朋子, 清谷一馬, 藤田健一, 鎌滝哲也: ヒトと実験動物の CYP2A の N-ニトロソアミン類の変異原活性化における機能解析, 日本薬学会第 123 年会, 長崎, 2003, 3

清谷一馬, 山崎浩史, 藤枝正輝, 岩野俊介, 松村慶子, Satarug S, Ujjin P, 島田力, 尾田恭, 八木泰志, 本田五郎, 中川和子, 石崎高志, 鎌滝哲也: 肝におけるヒト CYP2A6 の発現および触媒活性に及ぼす CYP2A6*9 の影響, 日本薬学会第 123 年会, 長崎, 2003, 3

清谷一馬, 藤枝正輝, 山崎浩史, 島田力, Guengerich FP, Parkinson A, 中川和子, 石崎高志, 鎌滝哲也: 21 種類の新規 CYP2A6 遺伝子多型, 日本薬学会第 123 年会, 長崎, 2003, 3

村井景子, 山崎浩史, 木村美由紀, 清谷一馬, 藤枝正輝, 鎌滝哲也: ヒトチトクローム P450 による抗がん薬フェアドロゾールの立体選択的代謝, 日本薬学会第 123 年会, 長崎, 2003

栗林俊治, 内藤真策, 上田信彦, 山崎浩史, 鎌滝哲也: OT-7100 の代謝に関するラットおよびヒトにおける種差, 第 123 年回日本薬学会年会, 長崎, 2003, 3

木村美由紀, 藤枝正輝, 山崎浩史, 猿渡淳二, 進藤順一, 中川和子, 石崎高志, 鎌滝哲也: カフェイン代謝における 17X の水酸化反応は CYP2A6 によって触媒される, 第 123 年回日本薬学会年会, 長崎, 2003, 3
斎藤鉄也、高橋芳樹、鎌滝哲也: 胎児期特異的に発現する CYP3A7 遺伝子の C/EBP α による転写抑制機構, 日本薬学会第 123 回年会,

長崎, 2003, 3

糠谷学、高橋芳樹、Farnk J. Gonzalez、鎌
滝哲也: 多環芳香族炭化水素による AHR を介
した PPAR α シグナル伝達の抑制とその分子機
構, 第 123 回日本薬学会年会, 長崎, 2003, 3

H. 知的財産所有権の出願、登録状況

1. 特許取得

該当なし.

2. 実用新案登録

該当なし.

3. その他

該当なし.

8. 齧歯類前立腺を用いた内分泌かく乱化学物質の新生仔暴露の作用

分担研究者 藤本 成明

広島大学 助教授

研究要旨

新生仔期のマウス前立腺の発達に対する EDC 暴露の障害作用のメカニズムを明らかにするため、アンドロゲン応答性遺伝子を同定し、それに対する 3-メチルコランスレン (3MC) およびエストラジオール (E2) の作用を検討した。プロテオーム解析および cDNA マイクロアレイにより、新規に同定された応答遺伝子および既知増殖因子等を解析した結果、3MC はこれらアンドロゲン応答遺伝子の発現を抑制すること示され、それにより前立腺発達が阻害されると考えられた。

A. 研究目的

新生仔マウス (PND0-15) の前立腺に対する内分泌かく乱物質の障害作用は、前立腺腺管分岐発達へ関わるものである。これはアンドロゲンにより惹起される過程であるので、まずこの時期の前立腺におけるアンドロゲンに反応する遺伝子群を検索同定する。さらに、それらの遺伝子発現に対するダイオキシン類およびエストロゲン作用物質応答性を検討することにより、障害作用のターゲット遺伝子を同定する。

本年度は、1) プロテオーム解析によりマウス前立腺より新規に同定した分泌タンパク質のアンドロゲン応答性を明らかにしたうえで、メチルコランスレン (3MC) およびエストラジオール (E2) の作用を検討した。2) 新生仔前立腺における増殖因子群の発現についても同様の検討をおこなった。3) 器官培養系を用いて、上記遺伝子の応答性を確認した。

B. 研究方法

1) 動物: 生後 5 日目、および 10 週齢の C57BL

雄マウスを Charles River Japan より購入した。前立腺分泌タンパクの解析には、11 週齢の正常 C57BL マウスを用いた。Testosterone propionate (T), 5mg/kg, 17 β -estradiol (E2) 50 μ g/kg, 3-methylcholanthrene (3MC) 10 mg/kg を i. p. 投与した。新生仔マウスは、PND 6 でホルモン投与を行った。成熟動物は、10 週齢動物を去勢して一週間おいた後にホルモン投与をおこなった。前立腺組織については、腹葉 (V)、背側葉 (DL)、前葉 (AP) を解剖学的に区別して保存した。

2) 器官培養: PND6 マウスの前立腺を解剖学的に切り出し、MC フィルター上に置いて培養した。培地は、DME/F12/albumin/insulin/transferrin とした。

3) 二次元電気泳動と MALDI-TOF/MS 解析によるタンパク質同定: 前立腺組織 (VP, DLP, AP) をプロテアーゼ阻害剤含有の PBS 中で切断して内容物を溶出した。これを pI レンジ

3-11 で等電点電気泳動した後、5-20%グラジエント SDS-PAGE で二次元目泳動を行った。Sypro Ruby 染色により定量的にスポットを検出した。さらに各スポットを切り出してタンパク質を抽出し、トリプシン消化後、MALDI-TOF 質量分析機によりマススペクトルを測定した。これに peptide mass fingerprinting 法および MS/MS 解析を適用してタンパク質を同定した。

4) mRNA 定量： 前立腺の各組織および培養片から RNA 抽出キットにより全 RNA を精製し cDNA 化後、Sybr Green による real time PCR 法により mRNA の発現レベルを測定した。内部標準としてリボソームタンパク質 L13a の mRNA を定量した。

5) cDNA マイクロアレイ解析： 各組織より全 RNA を抽出した後、これを鋳型に、cDNA 化、cRNA 化し、Affymetrix 社 GeneChip mouse シリーズにより変動遺伝子を検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験においては、苦痛の少ない方法を用いるなど、本大学の動物取り扱い倫理規定に沿っておこなった。

C. 研究結果

1) マウス前立腺分泌タンパク質の同定

主要分泌物は、VP で spermine binding protein (SBP) と serine protease inhibitor KT3 (SPI-KT3)、DLP と AP では、IgG binding protein like protein (IgGBLPK) と experimental autoimmune prostatitis antigen 2 (EAPA2) であった。さらに、既知の PSP94、probasin (pb) に加え、peroxiredoxin 6、GRP78、phospholipase C、scavenger receptor like protein (91KDa

protein) 等が新規に同定された (Fig. 1)。

2) 新規に同定されたタンパク質 mRNA の新生仔前立腺での発現と T 応答性

PND7 の時点で、SBP、PSP94、91K protein、IgBPLP、EAPA2、SPI-KT の mRNA の発現検出可能であった。T の投与後 48 時間で、いずれの遺伝子も発現が強く誘導され、約 15 倍の発現上昇がみられた (Table 1A)。一方で、DLP/AP における IgBPLP、EAPA2 はともに T 応答性を示さなかった。

3) cDNA マイクロアレイ解析により同定された新生仔期前立腺の T 応答性遺伝子

PND6 で、T 応答性に発現上昇が見られる遺伝子として、defensin beta 1, estrogen sulfotransferase, Purkinje cell protein 4 等が同定された (Table 2)。

4) 新生仔期のホルモン受容体、増殖因子群の mRNA 発現と T 依存性

新生仔前立腺の AR、ER α 、AhR、Arnt mRNA 発現レベルは、成体前立腺組織と同程度であった。ER β の発現は観察されなかった。T 投与により、AR、ER α の発現は約 1/2 に低下した。増殖因子 mRNA では、IGF-1 発現が、2.2 倍上昇したのに対し、KGF は半減していた。また、Hedgehog シグナル系の遺伝子発現には T の有意な作用はなかった。

5) 新生仔期 T 依存性遺伝子発現に対する 3MC および E2 投与の作用

3MC の同時投与は、T 単独投与による前立腺 SBP、PSP94、SPI-KT3、defensin beta1、estrogen sulfotransferase の発現上昇および AR と ER α 発現低下の双方を抑制した (Table 1B)。E2 同時投与は、T による IGF-1 発現に促進作用を示した。

5) 器官培養での T と 3MC の作用

VP の器官培養において、DHT 添加群では腺管の成長が観察されたが、これは 3MC の同時投与により抑制された (Fig. 2A)。一方 DLP では、3MC による有意な形態学的変化は観察されなかった。

培養組織で遺伝子発現を検討したところ、T 投与により SBP、IGF-1 mRNA の有意な上昇、また、KGF の有意な低下が観察された。3MC の同時投与は、*in vivo* 同様 T による IGF-1 の上昇および KGF 低下を抑制した (Fig. 2B)。

D. 考察

一般に前立腺においてアンドロゲンにより調節されている代表的なタンパク質は、前立腺分泌タンパク質があるが、これまでマウスについては未解明であった。そこで、プロテオーム解析により分泌タンパク質を同定した結果、IgGBPLK、EAPA 2、peroxiredoxin 6、GRP78 等が新規に同定された。同定したタンパク質は、成体においては全て T 応答性転写活性を示したが、その程度はタンパク質種と前立腺部位 (葉) により異なっていた。さらに分泌タンパク質のうち SBP、SPI-KT3、probasin、PSP94 は、新生仔期においても、T 応答性ターゲット遺伝子であることが示された。また既知の増殖因子、受容体遺伝子について検索した結果、PND 6 での T 応答性遺伝子として IGF-1、KGF が同定された。

より直接のアプローチとして、T 投与後の新生仔前立腺を材料に GeneChip 解析をおこない、T 応答遺伝子として estrogen sulfotransferase および defensin β 1 等が同定された。

これら明らかになった新生仔前立腺のアンドロゲン応答性遺伝子について、3MC の発現修飾作用を検討した。その結果、IGF-1 を除

く全ての遺伝子について、3MC の同時投与により T 依存性発現変化が抑制されることが示された。すなわち、3MC の作用は、遺伝子転写レベルでのアンドロゲン応答性の抑制であることが示唆された。今後、器官培養を用いた検討により、1) 3MC が直接ターゲットとするアンドロゲン応答性遺伝子の同定および 2) その遺伝子産物の腺管分化作用について明らかにしたい。

E. 結論

新生仔期マウス前立腺における、アンドロゲン応答性遺伝子群を明らかにした。これらの T 依存性遺伝子発現は、3MC により抑制されることから、新生仔前立腺におけるダイオキシン作用は、アンドロゲン応答性転写の直接的な抑制であると考えられた。

F. 健康危惧情報

なし。

G. 研究発表

G1. 書籍

- 1) Kitamura S., Sugihara K., Fujimoto N. Endocrine Disruption by organophosphate and Carbamate pesticides In: R. C. Gupta (ed.) *Toxicology of organophosphate and carbamate compounds*, Elsevier Academic Press, London, pp481-494.

G2. 論文発表

- 1) Kohno Y., Kitamura S., Sanoh S., Sugihara K., Fujimoto N., Ohta S. Metabolism of the alpha,beta-unsaturated ketones, chalcone and trans-4-phenyl-3-buten-2-one, by rat

- liver microsomes and estrogenic activity of the metabolites. *Drug Metab Dispos.* 33, 1115-23, 2005.
- 2) Fujimoto, N., Asano, K., Usui, T., Honda, H., Kitamura, S. Cloning and characterization of the 5'-flanking region of the rat estrogen receptor β gene *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 94, 15-21 (2005)
 - 3) Kitamura, S., Kato, T., Iida, M., Jinno, N., Suzuki, T., Ohta, S., Fujimoto, N., Hanada, H., Kashiwagi, K., Kashiwagi, A. Anti-thyroid hormonal activity of tetrabromobisphenol A, a flame retardant, and related compounds: affinity to the mammalian thyroid hormone receptor, and effect on tadpole. *Life Sci.* 76, 1589-1601 (2005).
 - 4) Kitamura, S., Jinno, N., Suzuki, T., Sugihara, K., Ohta, S., Kuroki, H., Fujimoto, N. Thyroid hormone-like and estrogenic activity of hydroxylated PCBs in cell culture. *Toxicology*, 208, 377-387 (2005)
 - 5) Suzuki, T., Kitamura, S., Khota, R., Sugihara, K., Fujimoto, N., Ohta, S. Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used as UV stabilizers and sunscreens. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 203, 9-17 (2005)
 - 6) Kitamura, S., Suzuki, T., Sanoh, S., Kohta, R., Jinno, N., Sugihara, K., Yoshihara, S., Fujimoto, N., Watanabe, H., Ohta, S. Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicol. Sci.*, 84, 1-12 (2005)
 - 7) Fujimoto, N., Suzuki, T., Honda, H., Kitamura, S. Estrogen enhancement of androgen responsive gene expression in hormone induced hyperplasia in the ventral prostate of F344 Rats. *Cancer Sci.* 95, 711-715 (2004).
 - 8) Fujimoto, N., Igarashi, K., Kanno, J., Honda, H., Inoue, T. Identification of estrogen responsive genes in the GH3 cell line by cDNA microarray analysis, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 91, 121-129 (2004).
 - 9) Fujimoto, N., Jinno, N., Kitamura, S. Activation of ERE responses by thyroid hormone with increase in estrogen receptor levels in a rat pituitary cell line, GH3. *J. Endo.* 181, 77-83 (2004).
 - 10) Yoshihara, S., Mizutare, T., Makishima, M., Suzuki, N., Fujimoto, N., Igarashi, K., Ohta, S. Potent estrogenic metabolites of bisphenol A and bisphenol B formed by rat liver S9 fraction: their structures and estrogenic potency. *Toxicol. Sci.* 78, 50-59 (2004).
 - 11) Fujimoto, N., Honda, H., Kitamura, S. Effects of environmental estrogenic chemicals on AP1 mediated transcription with estrogen receptors alpha and beta, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 88, 53-59 (2003).
 - 12) Fujimoto, N., Kohta, R., Kitamura, S.,

- Honda, H. Estrogenic activity of an antioxidant, nordihydroguaiaretic acid (NDGA), *Life Sci.* 74, 1417-1425 (2003).
- 13) Fujimoto, N., Honda, H. Effects of environmental estrogenic compounds on growth of a transplanted estrogen responsive pituitary tumor cell line in rats. *Food Chem. Toxicol.* 41, 1711-1717 (2003).
- 14) Kitamura, S., Suzuki, T., Fujimoto, N., Ohta, S. Antiandrogenic activity of the organophosphorus pesticide fenthion and related compounds, and the effect of metabolism. *Env. Health Persp.* 111, 503-508. (2003)
- 15) Asano, K., Maruyama, S., Usui, T., Fujimoto, N. Regulation of estrogen receptor α and β expression by testosterone in the rat prostate gland. *Endocrine J.* 50, 281-287 (2003)
- 16) Kitamura, S., Ohmegi, M., Sanoh, K., Sugihara, K., Yoshihara, S., Fujimoto, N., Ohta, S. Estrogenic Activity of Styrene Oligomers after Metabolic Activation by Rat Liver Microsomes. *Env. Health Persp.* 111: 329-334 (2003)
- 17) Fujimoto, T., Kitamura, S., Sanoh, S., Sugihara, K., Yoshihara, S., Fujimoto, N., Ohta, S. Estrogenic activity of an environmental pollutant, 2-nitrofluorene, after metabolic activation by rat liver microsomes. *Biochem Biophys Res Commun.* 303, 419-426 (2003).
- 18) Yin, H., Bhattacharjee, D., Fujimoto, N., Nakatani, T., Ito, A. : Tumorigenesis in infant C3H/HeN mice exposed to tritiated water (HTO), *J. Radiat. Res.*, 43, 345-351 (2003).
- G3. 学会発表
- 1) 藤本成明、浅野耕助、碓井亜 マウス・エストロゲン受容体 β 遺伝子上流域の in vivo プロモーター機能解析 第 13 回日本ステロイドホルモン学会、名古屋 2005 (日本内分泌学会雑誌)
- 2) 鈴木智晴、藤本成明、本田浩章、太田茂、北村繁幸 マウス前立腺各葉における分泌タンパク質同定とそのアンドロゲン応答性転写 第 13 回日本ステロイドホルモン学会、名古屋 2005 (日本内分泌学会雑誌)
- 3) Fujimoto, N., Suzuki, T., Akimoto, Y., Kitamura, S. Identification of mouse prostatic proteins and their hormonal regulation, Gordon Research Conferences, South Hadley, U.S.A. 2005.
- 4) 荒木瑞、杉原教美、北村繁幸、藤本成明、太田茂 病院排水中医薬品の探索及び環境影響 衛生薬学・環境トキシコロジーフォーラム 2005 抄録集 P12 徳島 2005 年 10 月
- 5) 杉原教、美荒木瑞、北村繁幸、藤本成明、太田茂 病院排出下水による環境汚染の調査 日本薬学会第 125 回年会 抄録集 30-0913 東京 2005 年 3 月
- 6) Araki, M., Sugihara, K., Kitamura, S., Fujimoto, N., Ohta, S. Endocrine-disrupting activity in hospital sewage International Symposium of

- the Environmental Risk of Endocrine Disrupter, Kyoto, 2005
- 7) 浅野耕助、藤本成明、碓井亜 ラットエストロゲン受容体 β 遺伝子プロモーターの同定 第12回日本ステロイドホルモン学会、大阪、2004 (日本内分泌学会雑誌 80, 402)
 - 8) 鈴木智晴、藤本成明、本田浩章、太田茂、北村繁幸 ラット前立腺各葉における特異的遺伝子発現とそのアンドロゲン応答性 第12回日本ステロイドホルモン学会、大阪、2004 (日本内分泌学会雑誌 80, 415)
 - 9) 藤本成明、本田浩章、五十嵐勝秀、菅野純、井上達 エストロゲンによるラット前立腺過形成とアンドロゲン応答遺伝子発現 第63回日本癌学会総会、福岡、2004 (日本癌学会総会記事 318)
 - 10) 藤本成明、鈴木智晴、本田浩章、北村繁幸 ラット前立腺におけるアンドロゲン応答遺伝子発現に対するエストロゲンの相乗作用 第77回日本内分泌学会学術総会、京都、2004 (日本内分泌学会雑誌 80, 140)
 - 11) 浅野耕助、藤本成明、碓井亜 ラットのエストロゲン受容体 β 遺伝子プロモーターの同定 第77回日本内分泌学会学術総会、京都、2004 (日本内分泌学会雑誌 80, 202)
 - 12) Fujimoto, N., Honda, H. and Kitamura, S. Cloning and characterization of the 5'flanking region of rat estrogen receptor beta gene. 16th International Symposium Of The Journal Of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, Seefeld, Austria, 2004.
 - 13) 藤本成明、本田浩章、五十嵐勝秀、菅野純、井上達 エストロゲン応答ラット下垂体細胞 GH3 における低濃度ビスフェノール A (BPA) 応答遺伝子の cDNA マイクロアレイによる検索 第76回日本内分泌学会学術総会、横浜、2003 (日本内分泌学会雑誌 79, 10404)
 - 14) 鈴木智晴、北村繁幸、太田公規、遠藤泰之、藤本成明、太田茂 カルボラン骨格を含む創製アンドロゲンアンタゴニストの構造活性相関 日本薬学会 第123回年会、長崎、2003 (要旨集 P2I-402)
 - 15) 吉原新一、水垂亨、藤本成明、五十嵐一雄、太田茂 Bisphenol A のエストロゲン活性代謝物の構造決定 日本薬学会 第123回年会、長崎、2003 (要旨集 P2I-399)
 - 16) 藤本成明、本田浩章、五十嵐勝秀、菅野純、井上達 ラット下垂体細胞エストロゲン応答遺伝子の cDNA マイクロアレイによる解析、内分泌攪乱化学物質特別シンポジウム、湘南、2003.
 - 17) 藤本成明、本田浩章、五十嵐勝秀、菅野純、井上達 cDNA マイクロアレイによるエストロゲン依存性下垂体腫化関連遺伝子の検索 第62回日本癌学会総会、名古屋、2003 (日本癌学会総会記事 2644PP)
 - 18) 幸田龍紀、北村繁幸、鈴木智晴、佐能正剛、杉原数美、太田茂、藤本成明 スチルベン誘導体の内分泌攪乱活性発現における構造要因およびその代謝的活性化 環境ホルモン学会第6回研究発表会、仙台 2003
 - 19) 北村繁幸、鈴木智晴、幸田龍紀、佐能

正剛、杉原数美、吉原新一、太田茂、
藤本成明 エストロゲン活性を示すビス
フェノール類の構造と活性の相関性
およびその前駆物質の活性化 環境ホ
ルモン学会第6回研究発表会、仙台
2003

- 20) 鈴木智晴、北村繁幸、太田茂、藤本成
明 抗アンドロゲン物質の代謝による
活性変動 環境ホルモン学会第6回研
究発表会、仙台 2003

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

9. 甲状腺ホルモンかく乱物質の作用機構の解明：ラットからヒトへ

分担研究者 加藤 善久 静岡県立大学 薬学部講師

研究要旨：ラットに polychlorinated biphenyl (PCB) を連続投与することにより、PCB の血中甲状腺ホルモンに対する影響を検討し、PCB の血中サイロキシン(T_4) 濃度低下作用機構を解明することを目的として本研究を行った。これまで PCB による血中 T_4 濃度の低下は、主に肝臓の T_4 -グルクロン酸転移酵素の誘導が主因とされてきたが、本研究結果から、本酵素誘導は単に一つの要因であるに過ぎないことが明らかになり、その血中 T_4 濃度の低下は、 T_4 の血中から肝臓への移行が重要な役割を果たしていることが明確に示された。また、その T_4 の移行量の増加には肝肥大とともに、血中の T_4 とトランスサイレチンとの結合阻害が関与していることが示唆された。

A. 研究目的

Polychlorinated biphenyl (PCB) は、多くの野生生物の組織のみならず、ヒトの血清、母乳中から検出されている。PCB は化学的に安定で、高脂溶性であることから、食物連鎖を介して生体内に蓄積しやすく、日常的な曝露による健康への影響が懸念されている。すでに、多くの PCB 投与によりラットの血中サイロキシン(T_4) 濃度が低下することが報告され、この低下は、一般に T_4 のグルクロン酸転移酵素 (T_4 -UDP-GT) 活性の増加による T_4 の胆汁排泄の促進に起因すると考えられている。しかし、PCB による血中 T_4 濃度の低下と肝臓の T_4 -UDP-GT 活性の増加とは定量的に相関しないなど不明な点も多い。すでに、著者らは、Kanechlor-500 (KC500) 100 mg/kg 単回投与による血中 T_4 濃度の低下は、 T_4 -UDP-GT 活性の増加による T_4 の代謝促進により十分に説明できないことを報告した。そこで、ラットに KC500 を単回投与しても血中 T_4 濃度に影響を与えない用量を連続投与することにより、PCB の血中甲状腺ホルモンに対する影響を検討すること、さらに血中 T_4 濃度の低下に肝

の T_4 -UDP-GT 活性が関与するか否かを明確にし、PCB の血中 T_4 濃度低下作用機構を解明することを目的として本研究を行った。本研究では、実験動物で示唆された PCB による血中 T_4 濃度の低下作用機序がヒトにおいて適用できるか否かを追究する。

B. 研究方法

Wistar 系ラット及び UGT1A ファミリー酵素を欠損したラット (Gunn ラット) に KC500 10 mg/kg を 10 日間連続腹腔内投与し、最終投与後 4 日に血清中甲状腺ホルモン濃度、肝ミクロソームにおける抱合活性及び特異的ペプチド抗体を用いた UGT 分子種の発現量を測定した。また、両ラットに KC500 を連続投与し、最終投与後 4 日に [125 I] T_4 を静脈内投与し、 [125 I] T_4 の血清クリアランス、血清タンパクとの結合率及び組織分布量を測定した。さらに、ラットに KC500 (100 mg/kg) を単回投与後 4 日に、肝実質細胞懸濁液を調製し、肝実質細胞への [125 I] T_4 の取り込み量を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究では、*in vivo* での甲状腺ホルモンに対する影響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。また、実験者及び飼育者は PCB による汚染を受けないように十分に保護対策を施し、また PCB 曝露動物、廃液等は保管し、曝露・漏洩を防止する対策についても万全を期して実施した。

C. 研究結果

Wistar 系ラット及び Gunn ラットに KC500 を連続投与すると、血清中 total T_4 および free T_4 濃度は両ラットにおいていずれも有意に低下した。また、KC500 を連続投与した Wistar 系ラットでは、UGT1A の発現量及び T_4 -UDP-GT 活性は著しく増加したが、Gunn ラットでは、それらは全く変化しなかった。

また、KC500 を連続投与した Wistar 系ラット及び Gunn ラットの血中から $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の消失は、両ラットとも著しく亢進した。また、 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の全身クリアランス及び分布容積も、両ラットにおいて有意に増加した。 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の血清-肝臓間分配係数 (K_p 値) 及び $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の肝臓への分布量は、KC500 を連続投与した両ラットにおいて有意に増加した。一方、肝臓単位重量当たりの分布量は、KC500 連続投与により、Wistar 系ラットにおいて有意に増加したが、Gunn ラットでは変化しなかった。また、KC500 連続投与により、両ラットの $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ と T_4 輸送タンパクであるトランスサイレチン (TTR) との結合率は有意に減少し、アルブミンとの結合率が増加した。

さらに、KC500 を投与したラット肝実質細胞への $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の取り込み量は有意に増加したが、 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の輸送の半飽和濃度 (K_m)、最

大輸送速度 (V_m) および輸送活性 (V_m/K_m) は変化しなかった。

D. 考察

両ラットに KC500 を連続投与したときの血清中甲状腺ホルモン濃度、肝臓の UGT1A の発現量及び T_4 -UDP-GT 活性の結果から、KC500 を連続投与した Gunn ラットの血清中 T_4 濃度の低下には、肝臓の T_4 -UDP-GT 活性は関与していないことが示唆された。また、Gunn ラットの親系統が Wistar 系ラットであることを考え合わせると、Wistar 系ラットにおける血清中 T_4 濃度の低下には、 T_4 -UDP-GT の誘導に加えて、少なくとも一部、別の作用機序が存在する可能性が考えられる。

そこで、KC500 連続投与による血清中 T_4 濃度の低下作用機構を追究するため、KC500 を連続投与した Wistar 系ラット及び Gunn ラットに *ex vivo* で血清中から $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の消失について検討した。KC500 を連続投与することにより、両ラットの血清中 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の消失は $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ 投与後 5 分から著しく亢進した。また、両ラットにおいて $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の全身クリアランス及び分布容積はいずれも顕著に増加し、Gunn ラットでは $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の半減期も有意に増加した。これらの結果から、KC500 を連続投与した両ラットの血中 T_4 濃度の低下には、血中 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の分布容積の増加が関与していること、また Gunn ラットでは、 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の分布過程の変化に加え、消失速度の増加も関与していることが示唆された。

そこで、KC500 連続投与後の $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の分布容積の増加の要因を明らかにするため、 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の組織分布量について検討を加えた。両ラットとも、 $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の移行量は肝臓でも多く、KC500 の連続投与によりその移行量及び肝臓の $[^{125}\text{I}]\text{T}_4$ の K_p 値は著しく増加した。また、肝臓重量及び肝臓単位重量当たりの

[¹²⁵I]T₄の移行量は、Wistar系ラットでは有意に増加したが、Gunnラットでは変化しなかった。これらの結果から、両ラットにKC500を連続投与することによる[¹²⁵I]T₄の分布容積の増加は、[¹²⁵I]T₄が、血中から主に肝臓へ移行することが示された。さらに、Wistar系ラットにおける肝臓への[¹²⁵I]T₄の移行量の増加には、肝臓の肥大による量的変化及び肝臓のトランスポーターなどの質的変化が関与し、Gunnラットでは質的変化のみが関与していることが示唆された。

次に、KC500連続投与後の両ラットの血中[¹²⁵I]T₄と血中タンパクとの結合率の変化について検討を加えた。Wistar系ラット及びGunnラットに[¹²⁵I]T₄を投与すると、血中[¹²⁵I]T₄は主にTTRと結合していたが、KC500を連続投与すると、両ラットにおいて血中[¹²⁵I]T₄とTTRとの結合は阻害され、[¹²⁵I]T₄とアルブミンとの結合が有意に増加した。これらの結果から、Wistar系ラット及びGunnラットにKC500を連続投与することにより血中[¹²⁵I]T₄とTTRとの結合が阻害されるが、このことも血清中T₄濃度の低下の一因であると考えられる。

次に、肝臓へのT₄の移行の特徴について、さらに検討するため、肝実質細胞への[¹²⁵I]T₄の取り込み量について検討を加えた。KC500を投与したラットの肝臓から単離した肝実質細胞において、[¹²⁵I]T₄の濃度の増加に伴って肝実質細胞への[¹²⁵I]T₄の取り込み量は、T₄の存在下、非存在下で有意に増加したが、K_m、V_m、V_m/K_mには変化が見られなかった。これらの結果から、KC500を投与したラットの肝実質細胞への[¹²⁵I]T₄の取り込み量の増加は、肝実質細胞の膜透過性が変化したため、[¹²⁵I]T₄の受動輸送(単純拡散)が亢進した可能性が示唆される。

以上のことから、Wistar系ラット及びGunn

ラットにKC500 10 mg/kgを10日間連続投与することにより、両ラットとも血中T₄濃度が低下することが明らかになった。また、KC500連続投与によるGunnラットの血中T₄濃度低下には、T₄の血中から肝臓への移行量の増加が大きく寄与していることが示唆された。また、このT₄の移行量の増加には、主に肝臓の質的な変化によるものであると考えられる。すなわち、KC500を連続投与したWistar系ラットにおいて、T₄-UDP-GTが誘導され、それに伴ってT₄-グルクロン酸抱合体の胆汁排泄が促進され、胆汁からT₄とT₄のグルクロン酸抱合体が排泄されるが、それを上回る血中から肝臓へのT₄の移行が起こり、このことが原因で血清中T₄濃度が低下するものと考えられる。

E. 結論

これまで、PCBによる血中T₄濃度の低下は、主に肝臓のT₄-UDP-GTの誘導が主因とされてきたが、本研究結果から、本酵素誘導は、単にひとつの要因であるに過ぎないことが明らかになり、T₄の血中から肝臓への移行が重要な役割を果たしていることが明確に示された。また、そのT₄の移行量の増加には肝肥大とともに、血中のT₄とTTRとの結合阻害が関与していることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 書籍

1. 加藤善久：甲状腺ホルモン攪乱物質の生体作用の動物種差. 井上達、井口泰泉編、生体統御システムと内分泌攪乱、シュプリンガー・フェアラーク東京、東

京、2005, pp. 123-129

2) 雑誌

1. Shinichi Ikushiro, Yoshikazu Emi, Yoshihisa Kato, Shizuo Yamada, and Toshiyuki Sakaki: Monospecific antipeptide antibodies against human hepatic UDP-glucuronosyltransferase 1A family (UGT1A) isozymes. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, (2006) in press.
2. Yoshihisa Kato, Hiroshi Suzuki, Shinichi Ikushiro, Shizuo Yamada and Masakuni Degawa: Decrease in serum thyroxine level by phenobarbital in rats is not necessarily dependent on increase in hepatic UDP-glucuronosyltransferase. *Drug Metab. Dispos.*, **33**, 1608-1612 (2005)
3. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Tomoaki Yamazaki, Ryohei Kimura, Nobuyuki Koga, Shizuo Yamada and Masakuni Degawa: The decrease in level of serum thyroxine by 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl in rats and mice: No correlation with formation of methyl-sulfonyl metabolites. *Drug Metab. Dispos.*, **33**, 1661-1665 (2005)
4. Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato, Nobuyuki Koga and Masakuni Degawa: Species differences in the tissue distribution of catechol and methylsulphonyl metabolites of 2,4,5,2',5'-penta- and 2,3,4,2',3',6'-hexachlorobiphenyls in rats, mice, hamsters and guinea pigs. *Xenobiotica*, **35**, 85-96 (2005)
5. Koichi Haraguchi, Nobuyuki Koga and Yoshihisa Kato: Comparative metabolism of polychlorinated biphenyls and tissue distribution of persistent metabolites in rats, hamsters, and guinea pigs. *Drug Metab. Dispos.*, **33**, 373-380 (2005)
6. Chiho Ohta, Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato and Nobuyuki Koga: *In vitro* metabolism of 2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (CB187) by liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs. *Xenobiotica*, **35**, 319-330 (2005)
7. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、古賀信幸: 2,3',4,4',5-五塩素化ビフェニル (CB118) のモルモット肝ミクロゾームによる代謝. 福岡医学雑誌、**96**、232-240 (2005)
8. Yoshihisa Kato, Shinichi Ikushiro, Koichi Haraguchi, Tomoaki Yamazaki, Yuriko Ito, Hiroshi Suzuki, Ryohei Kimura, Shizuo Yamada, Tohru Inoue and Masakuni Degawa: A possible mechanism for decrease in serum thyroxine level by polychlorinated biphenyls in Wistar and Gunn rats. *Toxicol. Sci.*, **81**, 309-315 (2004)
9. Kelly J. Gauger, Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Hans-Joachim Lehmler, Larry W. Robertson, Ruby Bansal and R. Thomas Zoeller: Polychlorinated biphenyls (PCBs) exert thyroid hormone-like effects in the fetal rat brain but do not bind to thyroid hormone receptors. *Environ. Health Perspect.*, **112**, 516-523 (2004)
10. 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)

11. 加藤善久、木村良平、山田静雄、出川雅邦: PCB 類による甲状腺ホルモンかく乱作用とその作用機構: 動物種差. 環境変異原研究、26、101-106 (2004)

12. 加藤善久、山田静雄、出川雅邦: Polychlorinated biphenyls による血中サイロキシン濃度低下作用機構. *Endocrine Disrupter News Letter*, 7(3)、2 (2004)

13. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Tomoaki Yamazaki, Yuriko Ito, Shoji Miyajima, Kiyomitsu Nemoto, Nobuyuki Koga, Ryohei Kimura and Masakuni Degawa: Effects of polychlorinated biphenyls, Kanechlor-500, on serum thyroid hormone levels in rats and mice. *Toxicol. Sci.*, 72, 235-241 (2003)

14. 古賀信幸、金丸知代、黒木広明、原口浩一、加藤善久、木村良平: 2,3,3',4,4'-五塩素化ビフェニル (CB105) のハムスターにおける代謝. 福岡医学雑誌、94、174-182 (2003)
プロシーディング

1. Chiho Ohta, Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato and Nobuyuki Koga: In vivo metabolism of 2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (CB187) in guinea pigs. *Organohalogen Compd. (proceedings)*, 67, 2343-2345 (2005)

2. Makiko Kubota, Mao Onishi, Hiroshi Suzuki, Shinichi Ikushiro, Koichi Haraguchi, Shizuo Yamada and Yoshihisa Kato: Mechanistic study for the decrease in serum thyroxine level in

PCB-treated mice. *J. Toxicol. Sci. (proceedings)*, 30, S67 (2005)

3. Rie Takiguchi, Hiroshi Suzuki, Mao Onishi, Shizuo Yamada and Yoshihisa Kato: Species difference among mice, hamsters, rats, and guinea pigs in phenobarbital-induced alteration of serum thyroxine level. *J. Toxicol. Sci. (proceedings)*, 30, S68 (2005)

4. Nobuyuki Koga, Chiho Ohta, Koichi Haraguchi, Tomoyo Kanamaru, Yoshihisa Kato and Shizuo Yamada: In vitro metabolism of 2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (CB187) with liver microsomes of rats, hamsters and guinea pigs. *Organohalogen Compd. (proceedings)*, 66, 2882-2886 (2004)

5. Hiroshi Suzuki, Yoshihisa Kato, Rie Takiguchi, Mao Onishi, Shinichi Ikushiro and Ryohei Kimura: Species difference among mice, hamsters, rats and guinea pigs in phenobarbital-induced alteration of serum thyroid hormone level. *J. Toxicol. Sci. (proceedings)*, 29, 399 (2004)

6. Mao Onishi, Yoshihisa Kato, Hiroshi Suzuki, Shinichi Ikushiro and Ryohei Kimura: Mechanistic study for the decrease in serum thyroid hormone level in PCB-treated mice. *J. Toxicol. Sci. (proceedings)*, 29, 464 (2004)

7. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Shinichi Ikushiro, Tomoaki Yamazaki, Yuriko Ito, Aki Fujii, Atsushi Shiga, Akinori Shoji, Takashi Iyanagi, Masakuni Degawa and Ryohei Kimura: Species difference among mice, hamsters, rats and guinea pigs in

- 2,2',4',5,5'-pentachlorobiphenyl and 2,2',3',4',5,6-hexachlorobiphenyl-induced alterations of serum thyroid hormone level. *Organohalogen Compd. (proceedings)*, **64**, 332-335 (2003)
8. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Shinichi Ikushiro, Yuriko Ito, Tomoaki Yamazaki, Aki Fujii, Takashi Iyanagi, Ryohei Kimura and Masakuni Degawa: Species difference among mice, hamsters, rats and guinea pigs in Kanechlor-500-induced alterations of serum thyroid hormone level. *Organohalogen Compd. (proceedings)*, **64**, 316-319 (2003)
9. Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato, Nobuyuki Koga, Rie Aoshima, Masakuni Degawa and Ryohei Kimura: Identification and tissue distribution of catechol metabolites of polychlorinated biphenyls in rodents dosed with Kanechlor 500. *Organohalogen Compd. (proceedings)*, **64**, 345-348 (2003)
10. Nobuyuki Koga, Hiroaki Kuroki, Koichi Haraguchi, Tomoyo Kanamaru, Yoshihisa Kato and Ryohei Kimura: Metabolism of 2,3,3',4,4'-pentachloro-biphenyl in hamsters. *Organohalogen Compd. (proceedings)*, **64**, 427-430 (2003)
11. Yoshihisa Kato, Yuriko Ito, Tomoaki Yamazaki, Aki Fujii, Shinichi Ikushiro, Koichi Haraguchi, Takashi Iyanagi, Masakuni Degawa and Ryohei Kimura: Species difference among mice, hamsters, rats, and guinea pigs in Kanechlor-500-induced alteration of serum thyroid hormone level. *J. Toxicol. Sci. (proceedings)*, **28**, 321 (2003)
12. Yoshihisa Kato, Aki Fujii, Koichi Haraguchi, Shinichi Ikushiro, Tomoaki Yamazaki, Yuriko Ito, Takashi Iyanagi, Masakuni Degawa and Ryohei Kimura: Species difference among mice, hamsters, rats, and guinea pigs in 2,2',4',5,5'-pentachlorobiphenyl or 2,2',3',4',5,6-hexachlorobiphenyl induced alteration of serum thyroid hormone level. *J. Toxicol. Sci. (proceedings)*, **28**, 322 (2003)
2. 学会発表
1. 滝口理恵、加藤善久、伊藤由里子、藤井亜紀、湯浅博昭、山田静雄：Kanechlor-500による血清中サイロキシン濃度低下メカニズムの解明。第125年会日本薬学会（東京）、講演要旨集2、p122、2005年3月29日
2. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、古賀信幸：モルモットにおける2,2',3,4',5,5',6-七塩素化ビフェニル(PCB187)のin vivo代謝。第125年会日本薬学会（東京）、講演要旨3、p172、2005年3月30日
3. 久保田万紀子、大西真央、鈴木寛、生城真一、原口浩一、山田静雄、加藤善久：異なるタイプのPCBによる血清中甲状腺ホルモン濃度の低下作用機構。第32回日本トキシコロジー学会学術年会（東京）、講演要旨集、p.143、2005年6月30日
4. 滝口理恵、鈴木寛、大西真央、山田静雄、加藤善久：フェノバルビタールによる血清中サイロキシン濃度低下作用機構：動物種差。第32回日本トキシコロジー