

Fig. 1. Plasma concentration of resveratrol after its oral administration.

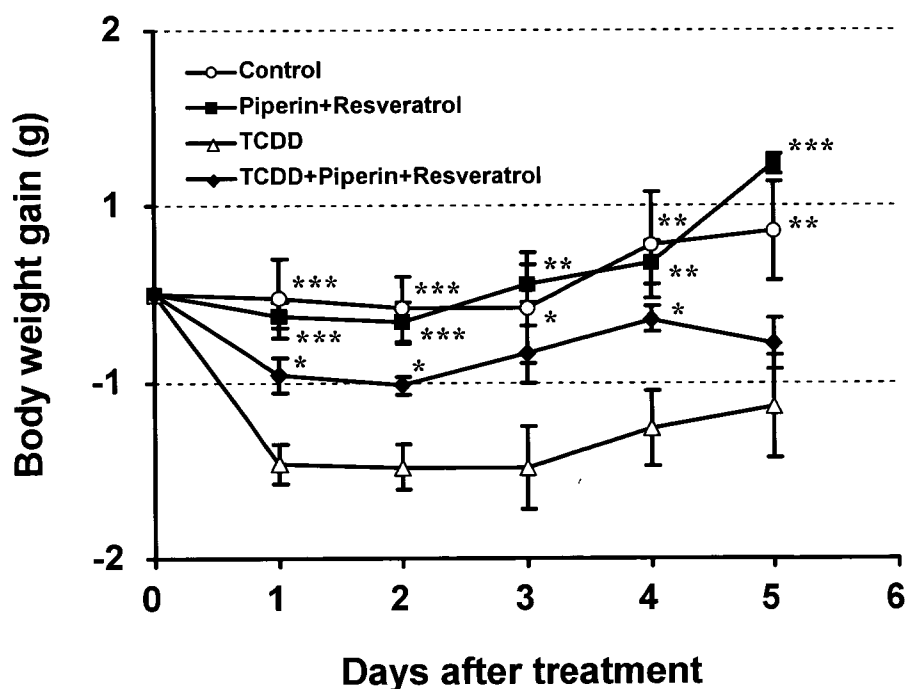
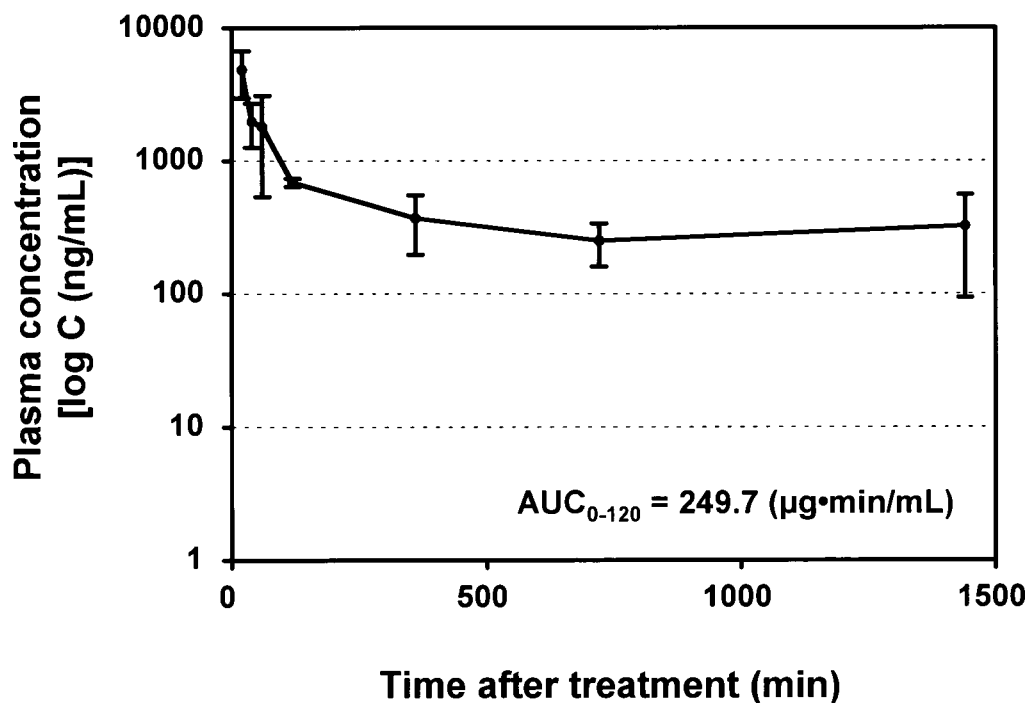


Fig. 2. Effect of piperine and resveratrol on wasting syndrome induced by TCDD in C57BL/6J mice. The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 mice. The initial body weights of mice in control, piperine+resveratrol-treated, TCDD-treated and TCDD+piperine+resveratrol-treated groups were  $22.08 \pm 0.31$ ,  $20.66 \pm 0.22$ ,  $22.08 \pm 0.36$  and  $21.88 \pm 0.13$  g, respectively. Significant differences from TCDD-treated group: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .

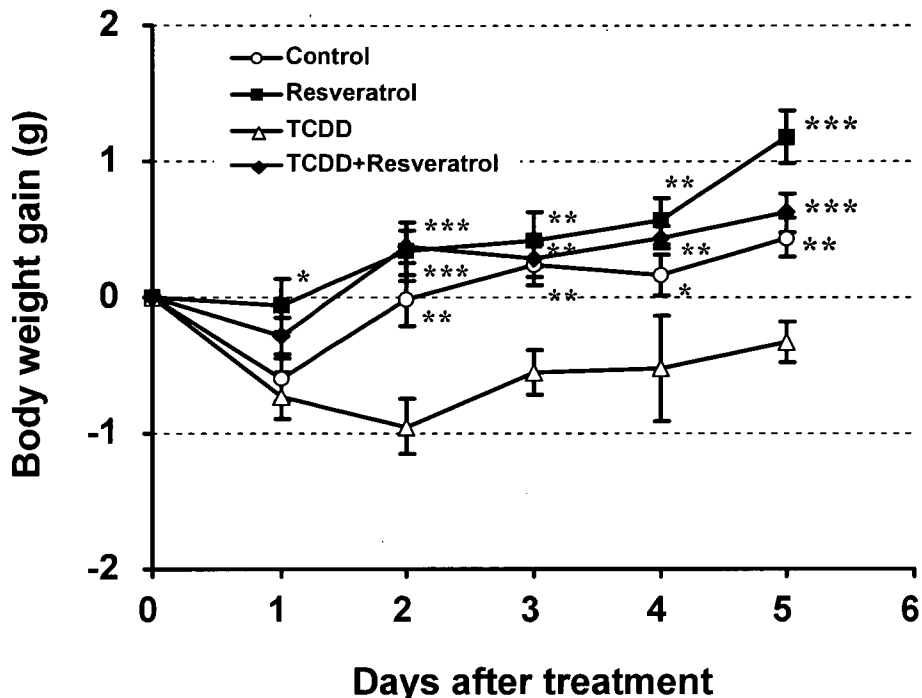
**Table 1. Effect of piperine and resveratrol on the tissue weight changes induced by TCDD in C57BL/6J mice.**

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	5.68 ± 0.09	0.27 ± 0.00	0.19 ± 0.01
Piperine+Resveratrol	4.85 ± 0.11 ***	0.24 ± 0.01*	0.18 ± 0.01
TCDD	7.46 ± 0.04 ***	0.25 ± 0.01	0.08 ± 0.01 ***
TCDD+ Piperine+Resveratrol	6.85 ± 0.12 ***	0.26 ± 0.01	0.08 ± 0.00 ***

The values represent the mean ± S.E. of 5 mice. Significant difference from control group: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .



**Fig. 3. Plasma concentration of resveratrol after its subcutaneous injection.**

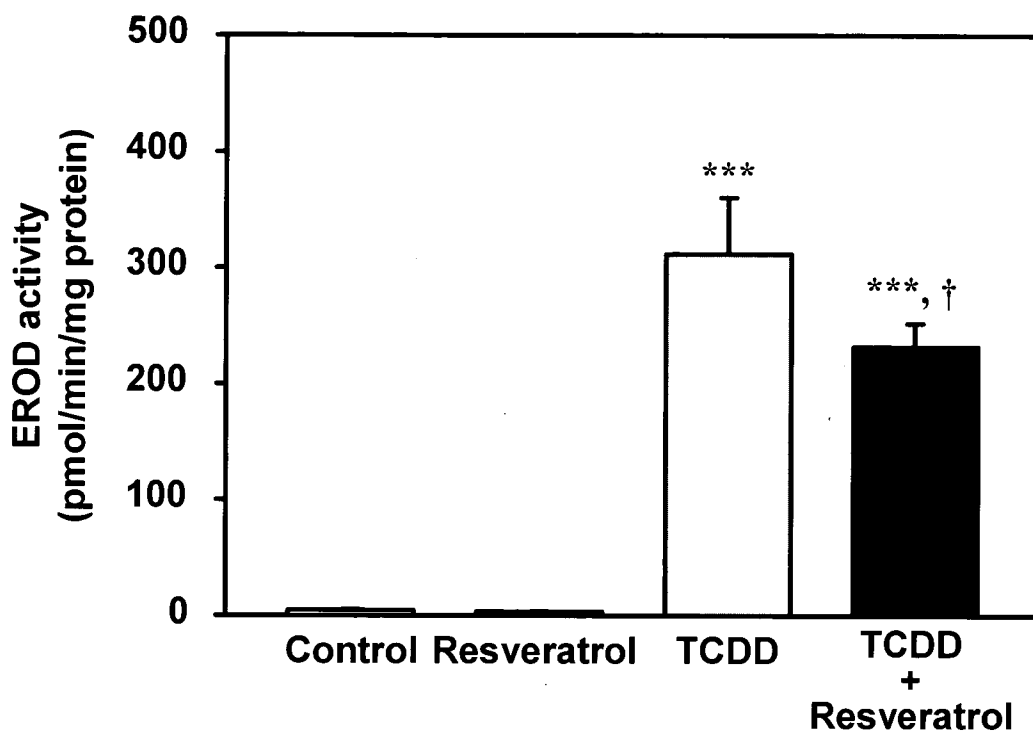


**Fig. 4. Effect of subcutaneous injection of resveratrol on wasting syndrome induced by TCDD in C57BL/6J mice.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 4 or 5 mice. The initial body weights of mice in control, resveratrol-treated, TCDD-treated and TCDD+resveratrol-treated groups were  $21.92 \pm 0.24$ ,  $22.06 \pm 0.28$ ,  $20.90 \pm 0.51$  and  $21.08 \pm 0.26$  g, respectively. Significant differences from TCDD-treated group: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .

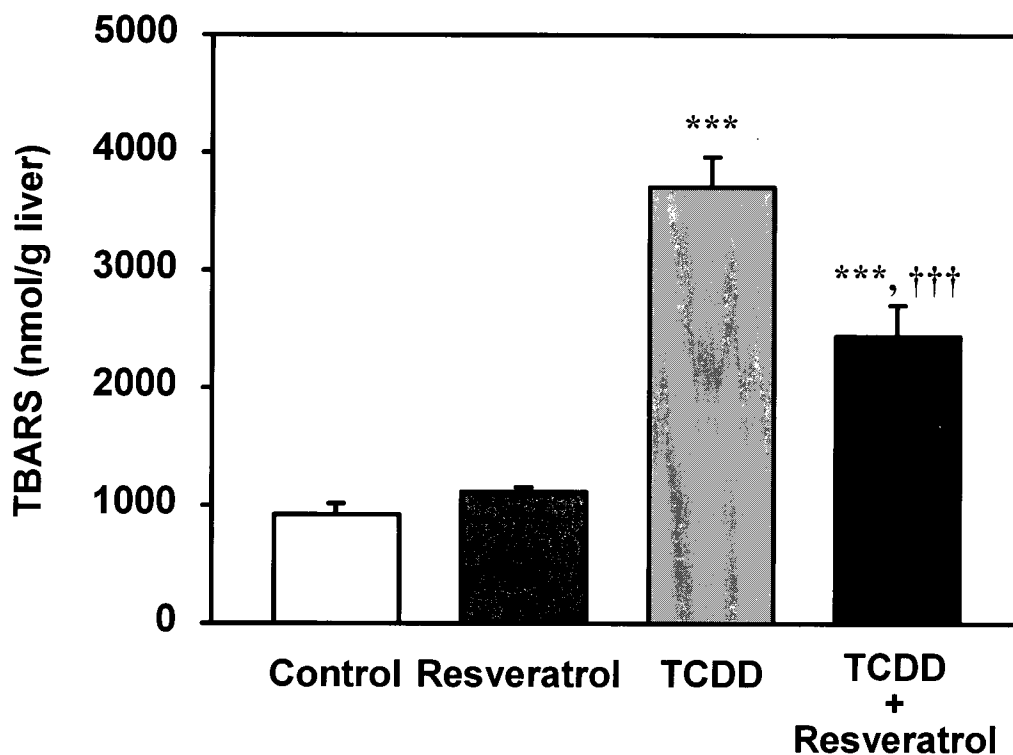
**Table 2. Effect of subcutaneous injection of resveratrol on changes of the tissue weights induced by TCDD of C57BL/6J mice.**

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	$5.90 \pm 0.11$	$0.324 \pm 0.01$	$0.232 \pm 0.01$
Resveratrol	$6.20 \pm 0.04$	$0.367 \pm 0.01$	$0.214 \pm 0.01$
TCDD	$7.11 \pm 0.07$ ***	$0.263 \pm 0.01$ *	$0.088 \pm 0.01$ ***
TCDD + Resveratrol	$6.78 \pm 0.32$ **	$0.294 \pm 0.03$	$0.080 \pm 0.01$ ***

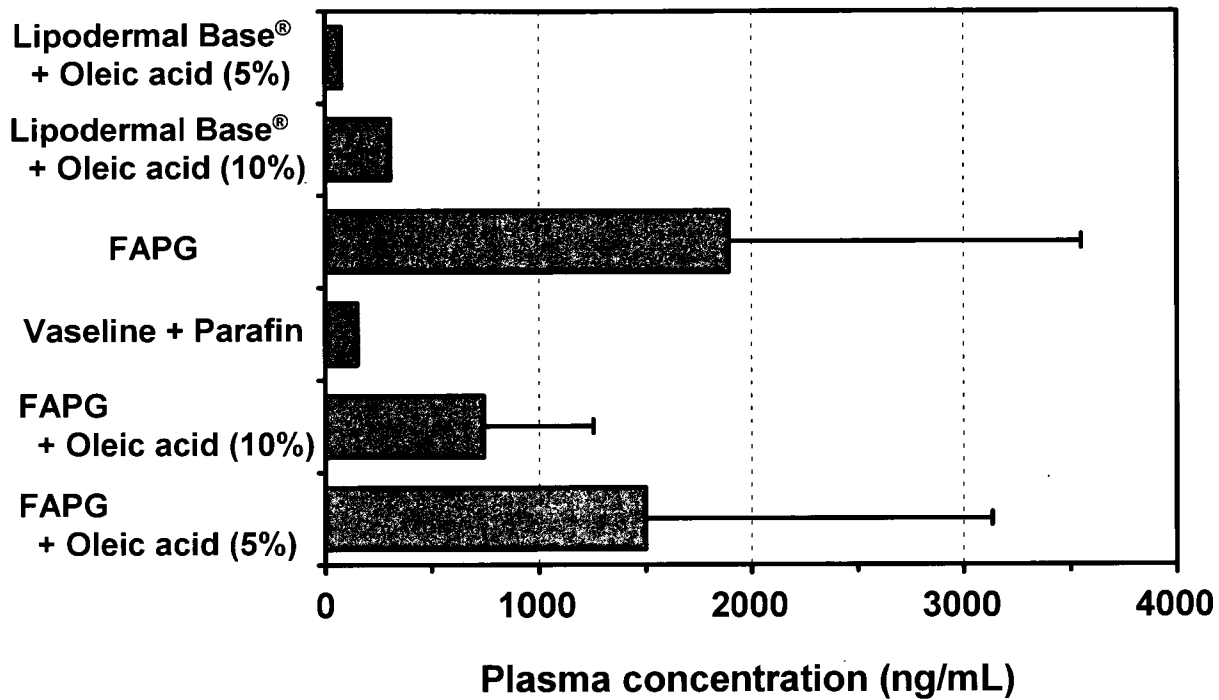
The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 4 or 5 mice. Significant difference from control group: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .



**Fig. 5. EROD activity of hepatic 9,000xg supernatant from C57BL/6J mice after exposure to resveratrol and TCDD.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 4 or 5 mice. Significant difference from control group: \*\*\*,  $p < 0.05$ . Significant difference from TCDD-treated group: †,  $p < 0.05$ .



**Fig. 6. Hepatic TBARS contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 4 or 5 mice. Significant different from control: \*\*\*,  $p < 0.001$ . Significant different from TCDD-treated group: †††,  $p < 0.001$ .



**Fig. 7. Effects of various basements on transdermal absorption of resveratrol.**

## 分担研究報告書

### 食物成分 piperine によるダイオキシン類毒性軽減の試み

分担研究者 山田 英之 九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 教授  
研究協力者 石井 祐次 九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 准教授  
石田 卓巳 九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 助教

**研究要旨** 当研究室では、ダイオキシン類の中毒症状に対する有効な予防法の開発を目的として、黒胡椒の辛味成分である piperine に注目し、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 毒性に対する効果を検討した。その結果、piperine 自体は、高用量をマウスに与えた場合、体重増加抑制、並びに脾臓や胸腺の重量低下が観察された。しかし、このような影響が現れない用量では、TCDD による体重増加抑制および脂肪肝の誘発を軽減することが明らかとなった。また、piperine の作用機構について検討を行った結果、TCDD により増加する酸化ストレスの軽減を通じて発揮されている可能性が示された。一方、piperine と curcumin を併用して curcumin の最高血中濃度、およびその維持時間を改善した場合、curcumin による酸化ストレス除去能、および遊離脂肪酸代謝能が減弱することが明らかとなった。本研究より、piperine は、ダイオキシン類の中毒症状に対して有効であると考えられた。しかし、他の有効成分と併用した場合、その効果を減弱化させる可能性も示された。

#### A. 研究目的

当研究室では、ダイオキシン類の毒性軽減を目的として、主に日常的な摂取が可能な食物成分に注目し、有効成分の探索とその評価を行ってきた (1)。本研究では、その研究の一環として、黒胡椒の辛味成分である piperine に注目し検討を行った。Piperine は、*in vitro* におけるダイオキシン類毒性バイオアッセイ法を用いたスクリーニングの結果から、芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor: AhR) に対してアンタゴニスト様作用を示すことが示唆されている (2)。現時点では、*in vivo*

における piperine のダイオキシン類毒性に対する効果を検証した報告はなされていない。しかし、ダイオキシン類の毒性のほとんどが AhR を介して発揮されることが考えられていることから、piperine の AhR に対する作用は、ダイオキシン類毒性に対して有効であると予想される。また、piperine は、生体内における代謝反応であるグルクロン酸抱合反応の阻害、並びにそれに伴う生物学的利用能増強作用をもつことも報告されている (3,4)。事実、ウコンの主要成分である curcumin と piperine を併用した場合、ラットとヒトに

において curcumin の吸収促進、並びに血中濃度の上昇が報告されている (5)。curcumin については、以前、当研究室における検討から、ダイオキシン類の毒性の一部を軽減する可能性が示唆されている (1)。このことから、curcumin と piperine を併用することにより、curcumin の効果の増強が期待された。

以上のような背景のもと、本研究では、上記の仮説を検証するため、ダイオキシン類の中でも最強の急性毒性を示す 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) を用いて、その毒性に対する piperine 自身の効果、並びに curcumin と piperine の併用による効果を検討した。

## B. 方法・結果

### Piperine の毒性に関する検討

まず、piperine 自身の生体への影響を明らかにするため、検討を行った。3 週令の C57BL/6J 系雄性マウスを 1 週間馴化し、各群 5 匹として、piperine を 15、30 および 45 mg/kg の用量で 1 日 1 回連続経口投与した。また、コントロール群 (0 mg/kg 投与群) として、溶媒である 0.5% methylcellulose 溶液を他の群と同量となるように経口投与した。投与翌日より同量の piperine を 14 日間経口投与し、最終投与 24 時間後に臓器を摘出して重量を測定した。肝臓については、1.15% KCl で灌流し、10% ホモジネートを調製したのち、その一部を使用時まで -80 °C に保存した。また、残りについては、9,000 x g で

20 分間遠心したのち、その上清を -80 °C で保存した。また、ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) 活性、並びにチオバルビツール酸反応性物質 (TBARS) 値の測定は、Burke らの方法 (6)、並びに Ohkawa らの方法 (7) に従い、それぞれ 9,000 x g 上清、並びにホモジネートを用いて行った。

Fig. 1 に各群における経日的体重変化を示す。Piperine 15 および 30 mg/kg 投与群では、コントロール群と比べ差は認められなかった。これに対し、piperine 45 mg/kg 投与群では、投与 10 日目前後より、コントロール群に比べ有意な体重増加抑制が観察された。また、投与 14 日目における臓器重量を測定した結果、piperine 45 mg/kg 投与群では、脾臓と胸腺重量の有意な低下が観察された (Table 1)。次に、ダイオキシン類の毒性発現の主要機構と考えられている AhR を介した酵素誘導、並びに酸化ストレス惹起に対する piperine 自身の影響を観察するため、EROD 活性と TBARS 値を測定した。その結果、piperine 30 および 45 mg/kg 投与群において、EROD 活性の有意な増加が観察された (Fig. 2)。これに対し、TBARS 値に差は認められなかった (Fig. 3)。

以上の結果から、piperine 自身は、30 mg/kg 以上の投与量で、予想に反して AhR に対するアゴニスト様作用を示し、かつ 45 mg/kg の投与量では、体重増加抑制、並びに脾臓や胸腺の萎縮を惹起することが確認された。以上の結果を考慮し、TCDD 毒性軽減の検討では、piperine の投与量を 20 mg/kg として検討を行うこと

とした。

### Piperine の TCDD 毒性に対する影響

次に、piperine による TCDD 毒性への影響について検討するため、5 週令の C57BL/6J 系雄性マウスに piperine を 20 mg/kg 経口投与し、その 90 分後に TCDD を 100 µg/kg 単回経口投与した。また、piperine 投与の対照群には、0.5% methylcellulose 溶液を、また TCDD 投与の対照群には、corn oil をそれぞれ同量投与した。投与翌日より、同量の piperine あるいは溶媒のみを 1 日 1 回、28 日間連続経口投与し、最終投与 24 時間後に臓器を摘出した。肝 EROD 活性と TBARS 値は、前述の実験と同様に測定した。肝臓のトリグリセリド含量および遊離脂肪酸含量は、肝ホモジネートよりイソプロパノールにて抽出したのち、市販のキット（トリグリセライド E-テストワコー、および NEFA C-テストワコー、和光純薬工業株式会社）を用いて測定した。

Fig. 4 に、投与期間中の体重変化を測定した結果を示す。コントロール群と piperine 投与群では、飼育日数に伴う体重の増加が観察されたのに対し、TCDD 処理群では、投与初日より体重の抑制が観察された。一方、piperine の併用群 (TCDD+piperine) では、投与 17 日目まで TCDD 処理群とほぼ同様の推移を示したものの、それ以降、僅かではあるが TCDD 処理群に比べ体重増加抑制の軽減が認められた。さらに、最終投与後における臓器重量を測定した結果、piperine の併

用は、TCDD による脾臓の萎縮を軽減することが明らかとなった (Table 2)。一方、肝肥大と胸腺の萎縮に対しては、piperine は効果を示さなかった。次に、TCDD により惹起される脂肪肝に対する効果を検討するため、肝臓におけるトリグリセリド含量および遊離脂肪酸含量を測定した。その結果、両指標は TCDD 投与によって増加するが、piperine はこのうちの遊離脂肪酸量の増加を有意に抑制した (Fig. 5 および 6)。次に、piperine による効果が発揮される機構を推察するため、EROD 活性と TBARS 値を測定した。その結果、piperine は、EROD 活性に対しては影響を示さなかったが、TBARS 値に対しては、TCDD による値の上昇を低下させる傾向が観察された (Fig. 7 および 8)。

### Piperine と curcumin の併用による TCDD 毒性への影響

次に、piperine による他の食物成分の作用への影響を検証するため、piperine と curcumin の併用による TCDD 毒性への影響を検討した。5 週令の C57BL/6J 系雄性マウスを 3 日間馴化し、piperine 20 mg/kg と curcumin 100 mg/kg を 5 分間の間隔を空けて経口投与したのち、60 分後に TCDD を 100 µg/kg 経口投与した。コントロール群には、piperine および curcumin の溶媒である 5% gum arabic/0.5% Tween 80/0.9% saline 溶液および TCDD の溶媒である corn oil を、それぞれ同量経口投与した。投与翌日より、1 日 1 回、同量の piperine と curcumin を、



必ず piperine、curcumin の順番となるように 28 日間経口投与し、最終投与 60 分後に臓器を摘出した。摘出した臓器の処置、並びに各指標の測定方法については、前述の実験と同様に行った。

Fig. 9 には、実験期間中における経日的体重変化を示す。以前の当研究室での結果と同様、curcumin の併用により、TCDD による体重増加抑制の軽減傾向が観察された。しかし、piperine と curcumin を併用しても、体重増加抑制の軽減傾向は、curcumin のみの処理と大差なかった。同様に、TCDD による肝肥大と胸腺の萎縮に対しても、curcumin の併用および piperine と curcumin の併用は回復効果を示さなかった (Table 3)。次に、EROD 活性と TBARS 値についても検討を行った結果、EROD 活性について影響は見られなかったものの、TBARS 値においては、curcumin 自身が、TCDD による TBARS 値の上昇をコントロールレベルにまで回復させることが明らかとなった。しかし、piperine を併用すると、その curcumin の効果が却って減弱される傾向が明らかとなった (Fig. 10 および 11)。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は全て、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認を受けたのち実施した。

### C. 考察

本年度は、TCDD 中毒症状に対する新たな有効成分の探索を目的として、食物成

分である piperine に注目し検討を行った。その結果、この物質は TCDD による体重増加抑制、並びに脂肪肝の惹起に対して効果がある可能性が示唆された (Fig. 4, 5 および 6)。特に、TCDD 誘発性脂肪肝に対しては、大きな効果が期待できるものと予想された。また、この piperine による毒性軽減の機構について検討を行った結果、piperine は、TCDD による酸化ストレスの惹起を軽減する傾向が明らかとなった (Fig. 8)。しかし、この軽減は微弱であり、これだけで piperine の効果を説明するのは不十分であると思われた。このため、piperine による TCDD 毒性の軽減機構には、酸化ストレスの軽減は関与するものの、それ以外の要因の寄与が大きい可能性が示唆された。一方、piperine と curcumin を同時に投与した場合、TCDD による体重増加抑制は、curcumin 単独に比べ軽減される傾向にあることが明らかとなった (Fig. 9)。しかし、TCDD による酸化ストレスの惹起に対しては、curcumin 自身に効果があったものの、piperine を同時投与することで、curcumin の効果が減弱される傾向が示された (Fig. 11)。また、この効果は、TCDD の有無に関わらず観察されたことから、piperine と curcumin の同時投与によって生じる現象であると予想された。一般に、食物中や医薬品中の有効成分は、その作用を発揮するためには、ある程度の血中濃度が維持される必要があり、また、高い血中濃度を長時間維持することにより、効果を増強することができると考えられる。今回得られた結果は、このような一般的概念とは矛盾

する結果となった。すなわち、piperine はグルクロン酸抱合の抑制剤として、curcumine の代謝反応を抑制するにもかかわらず (3,4)、curcumine の効果を増強せず、むしろ却って減弱させる効果を示した。このような結果が得られた理由について、本検討で明らかにすることはできなかったが、一つの可能性として、curcumin による抗酸化ストレス作用や遊離脂肪酸代謝促進作用は、curcumin 自身ではなく、その代謝物によって引き起こされるため、piperine による代謝低下が、そのまま作用の減弱化に繋がったことが予想される。また、piperine により、curcumin の体内分布に変化が生じ、curcumin の肝臓における効果が低下した可能性も否定できない。しかし、本検討で得られた結果は、有効と考えられる食物成分同士の飲み合わせを考える上で、問題点を提起することとなった。

最近、多くの食物成分がサプリメントの形で消費者の手に渡っている。Piperine に関しても、それ自身の効果を期待して単体のサプリメントとして販売されているものや、他の栄養成分の bioavailability を上昇させる成分として配合されたものが販売されている。本検討の結果から、piperine はダイオキシン類毒性の一部に対して有効である可能性が示唆された。しかし、高用量の摂取が生体に対して悪影響を及ぼす可能性も明らかになったと共に、他の成分との同時摂取が、かえって効果を減弱化させてしまう可能性も示唆された。ダイオキシン類中毒の予防薬としての適応を考えた場合、今後は、これらの問題を考慮した上で検討を進めていく必要があると思

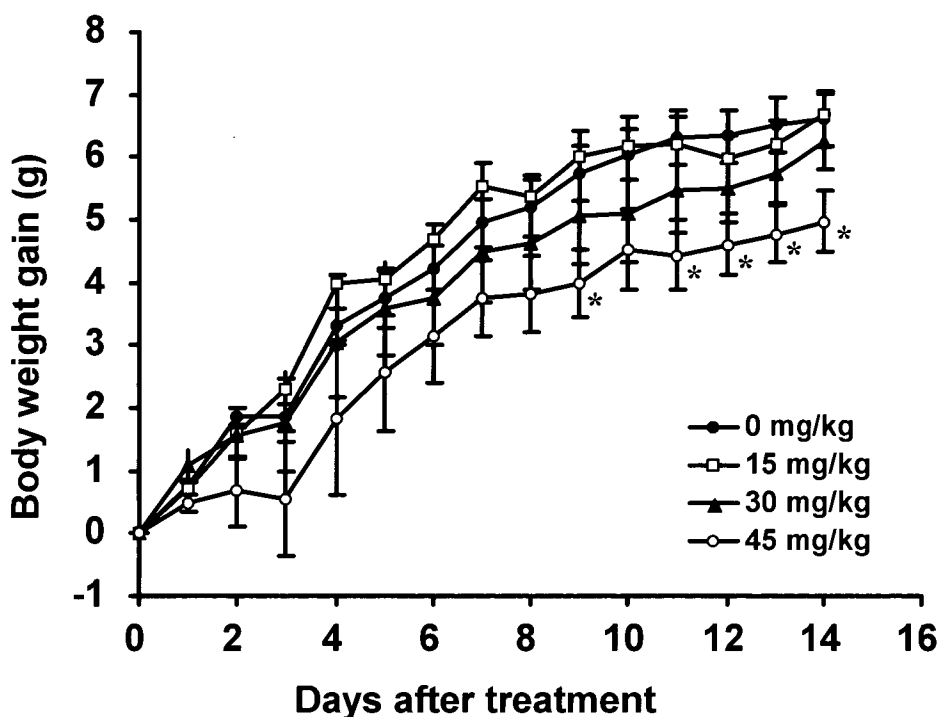
われた。

#### D. 参考文献

- 1) Ishii, Y., Ishida, T., Mutoh, J., Yamada, H. and Oguri, K., Possible candidates for the compound which is expected to attenuate dioxin toxicity. *Fukuoka Igaku Zasshi*, 96, 204-213 (2005).
- 2) Amakura, Y., Tsutsumi, T., Yoshida, T. and Maitani, T., Screening of the inhibitory effect of vegetable constituents on the aryl hydrocarbon receptor-mediated activity induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Biol. Pharm. Bull.*, 26, 1754-1760 (2003).
- 3) Atal, C. K., Dubey, R. K. and Singh, J., Biochemical basis of enhanced drug bioavailability by piperine: evidence that piperine is a potent inhibitor of drug metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 232, 258-262 (1985).
- 4) Singh, J., Dubey, R. K. and Atal, C. K., Piperine-mediated inhibition of glucuronidation activity in isolated epithelial cells of the guinea-pig small-intestine: evidence that piperine lowers the endogenous UDP-glucuronic acid content. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 236, 488-493 (1986).
- 5) Guido, S., David, J., Thangam, J., Majeed, M., Rajendran, R. and Srinivas, P. S. S. R., Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Med.*, 64, 353-356 (1998).
- 6) Burke, M. D. and Mayer, R. T., Inherent specificities of purified cytochrome P-450 and

P-448 toward biphenyl hydroxylation and ethoxyresorufin deethylation. *Drug Metab. Dispos.*, 3, 245-253 (1975).

7) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95, 351-358 (1978).

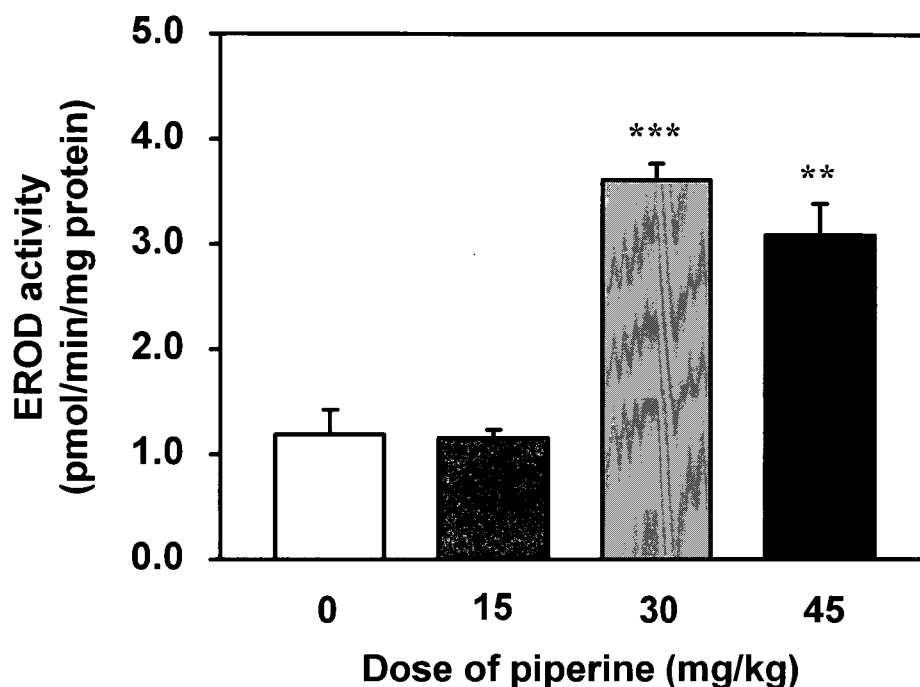


**Fig. 1. Effects of piperine on body weight gain in C57BL/6J mice.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 mice. The initial body weights of mice in control, 15 mg/kg piperine, 30 mg/kg piperine and 45 mg/kg piperine-treated mice were  $14.72 \pm 1.53$ ,  $15.06 \pm 0.84$ ,  $14.60 \pm 0.41$  and  $15.12 \pm 0.27$  g, respectively. Significant difference from the control group; \*,  $p < 0.05$ .

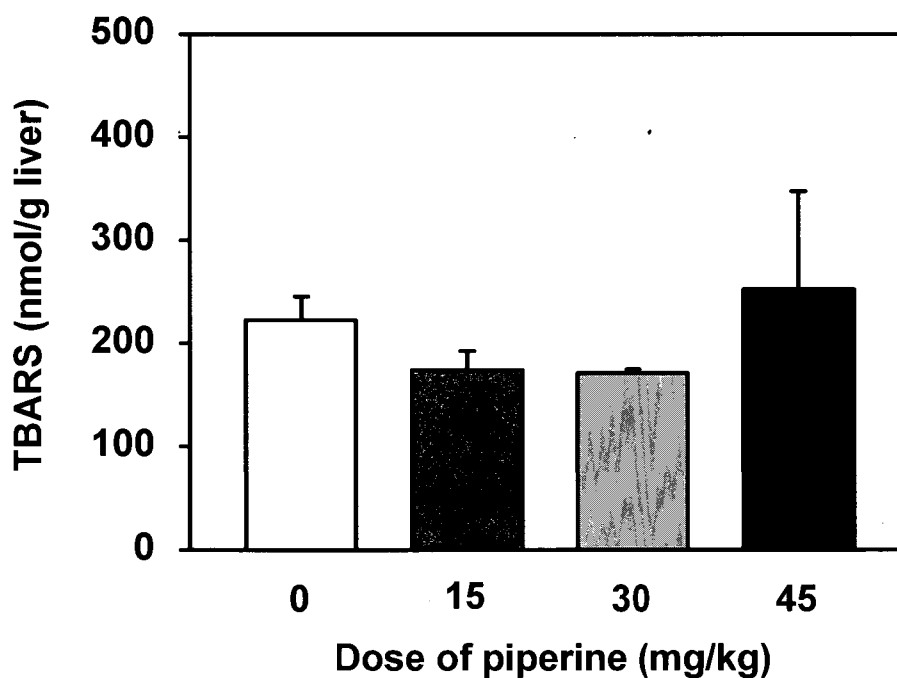
**Table 1. Effect of piperine on the tissue weights of C57BL/6J mice.**

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	$5.71 \pm 0.34$	$0.31 \pm 0.01$	$0.30 \pm 0.02$
15 mg/kg piperine	$5.45 \pm 0.32$	$0.31 \pm 0.02$	$0.25 \pm 0.01^*$
30 mg/kg piperine	$5.72 \pm 0.07$	$0.29 \pm 0.03$	$0.24 \pm 0.02$
45 mg/kg piperine	$5.81 \pm 0.10$	$0.23 \pm 0.01^{***}$	$0.19 \pm 0.01^{***}$

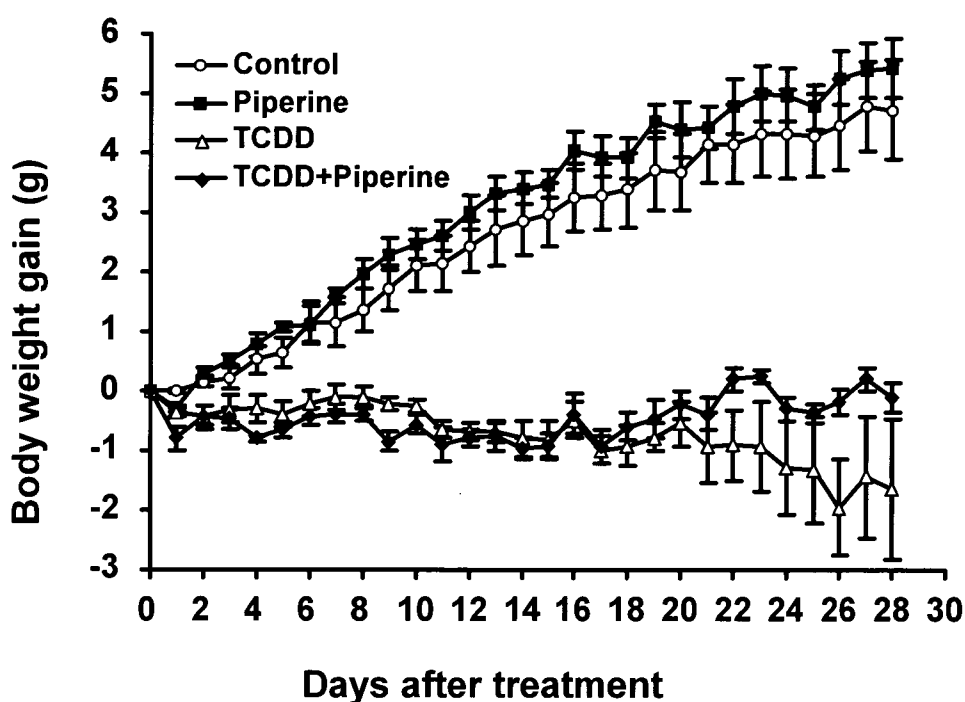
The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 mice. Significant difference from control (0 mg/kg piperine): \*,  $p < 0.05$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .



**Fig. 2. EROD activity of liver microsomes for C57BL/6J mice after exposure to piperine.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 mice. Significant difference from control (0 mg/kg piperine): \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .



**Fig. 3. Hepatic TBARS contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 mice.

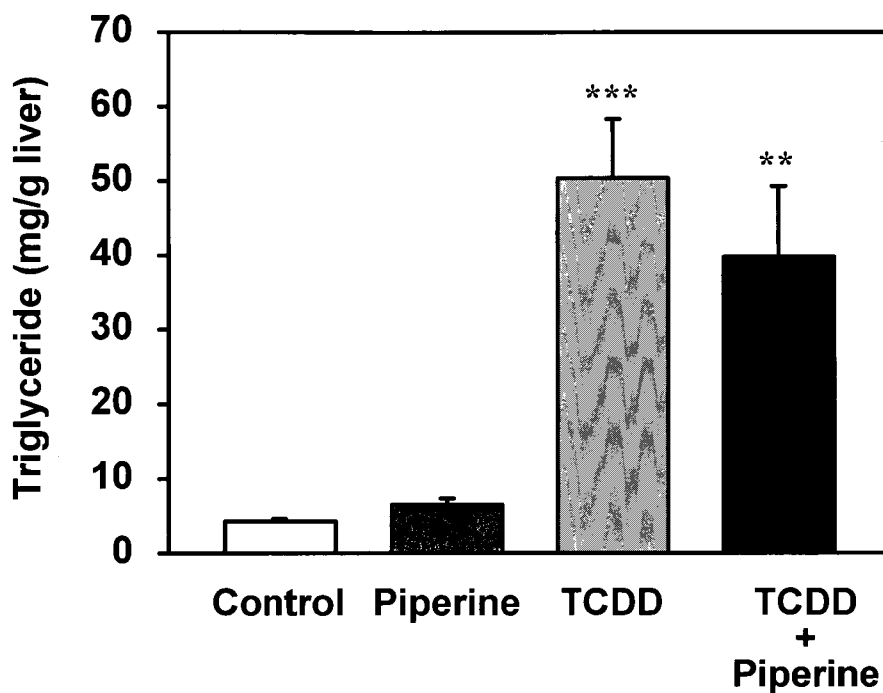


**Fig. 4. Effect of piperine and TCDD on body weight gain in C57BL/6J mice.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 or 6 mice. The initial body weights of mice in control, piperine-treated, TCDD-treated and TCDD+piperine-treated groups were  $19.92 \pm 0.29$ ,  $19.86 \pm 0.16$ ,  $19.70 \pm 0.24$  and  $19.74 \pm 0.38$  g, respectively.

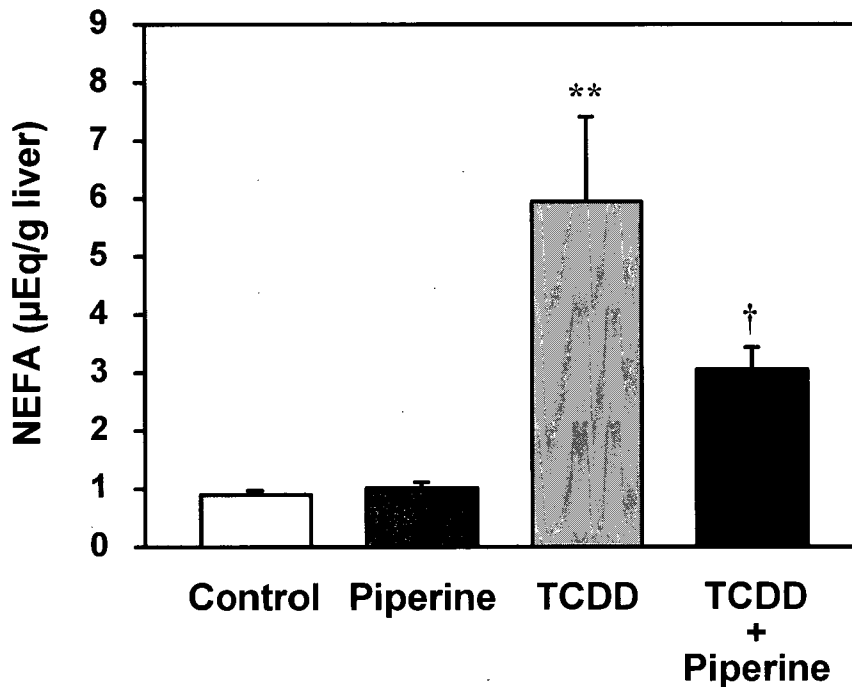
**Table 2. Effect of piperine and TCDD on the tissue weights of C57BL/6J mice.**

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	$5.17 \pm 0.11$	$0.25 \pm 0.01$	$0.17 \pm 0.02$
Piperine	$5.08 \pm 0.10$	$0.25 \pm 0.01$	$0.13 \pm 0.01^*$
TCDD	$7.90 \pm 0.36^{***}$	$0.21 \pm 0.01^{**}$	$0.03 \pm 0.01^{***}$
TCDD + Piperine	$8.20 \pm 0.24^{***}$	$0.23 \pm 0.02$	$0.04 \pm 0.01^{***}$

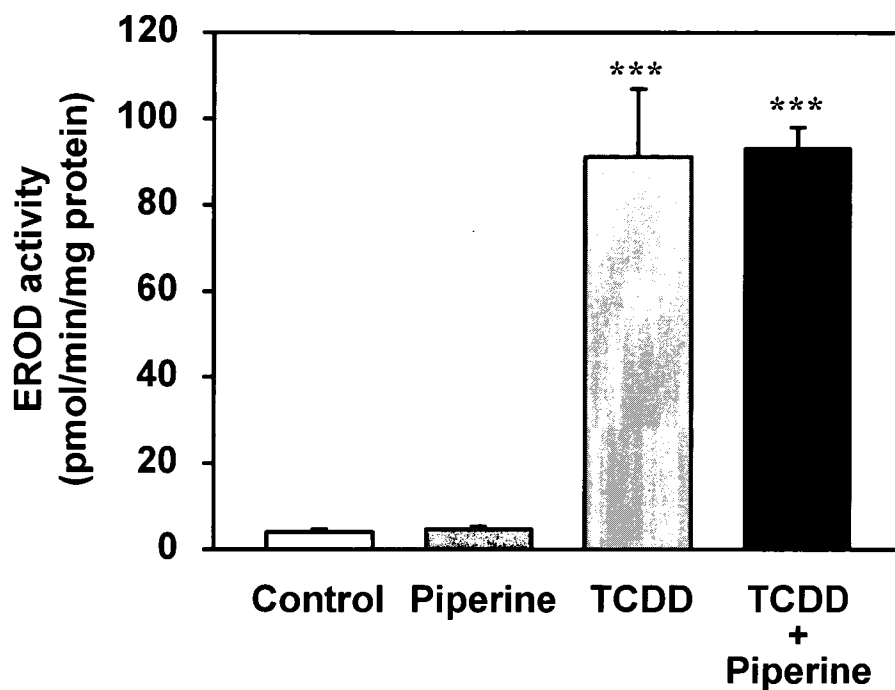
The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 or 6 mice. Significant difference from control group: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .



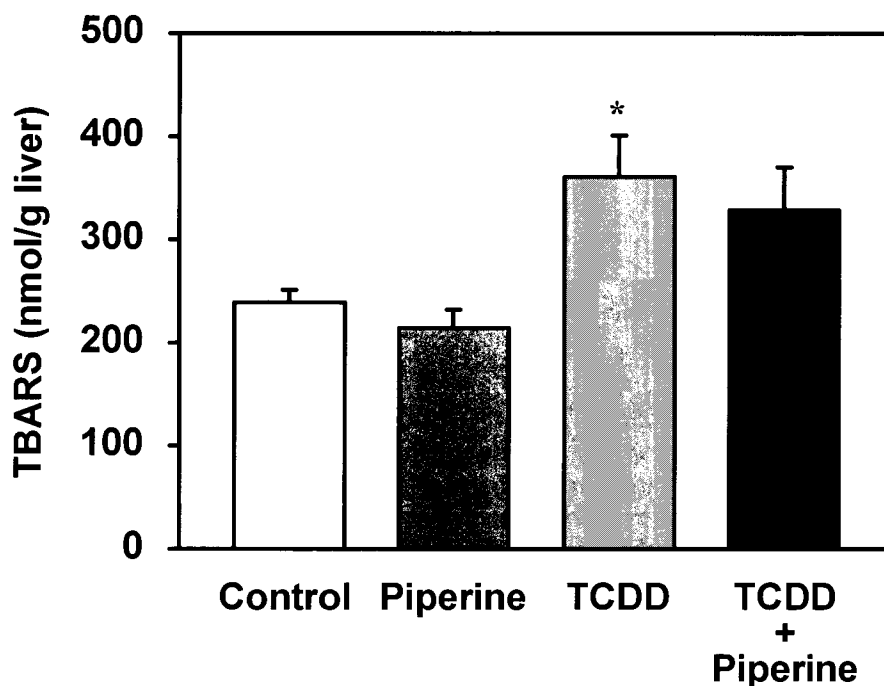
**Fig. 5. Hepatic triglyceride contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 3 mice. Significant difference from control group: \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .



**Fig. 6. Hepatic non-esterified fatty acid (NEFA) contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 3 mice. Significant difference from control group: \*\*,  $p < 0.01$ ; from TCDD-treated group: †,  $p < 0.05$ .

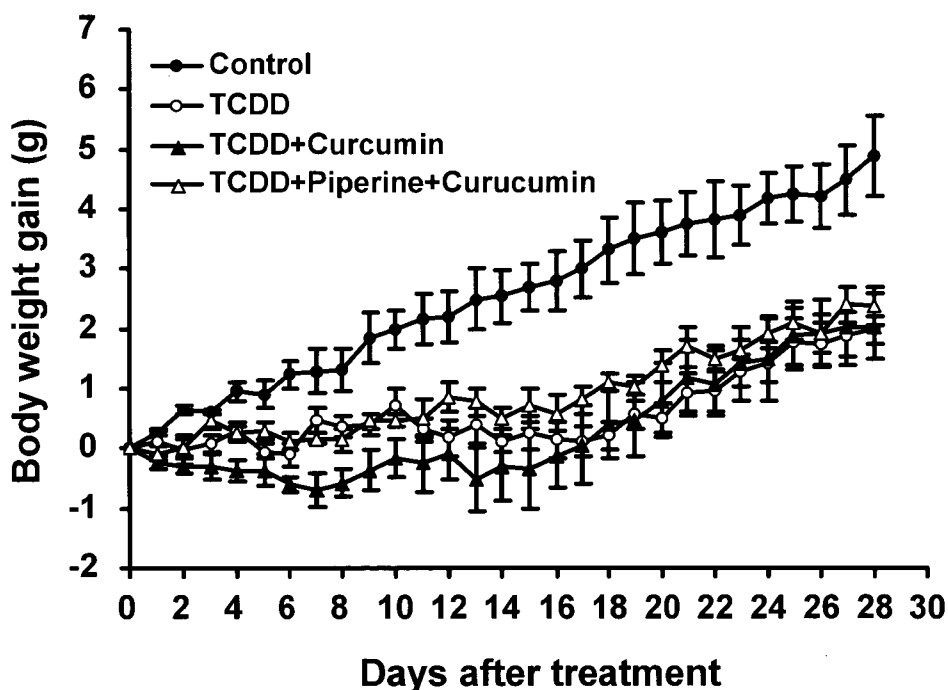
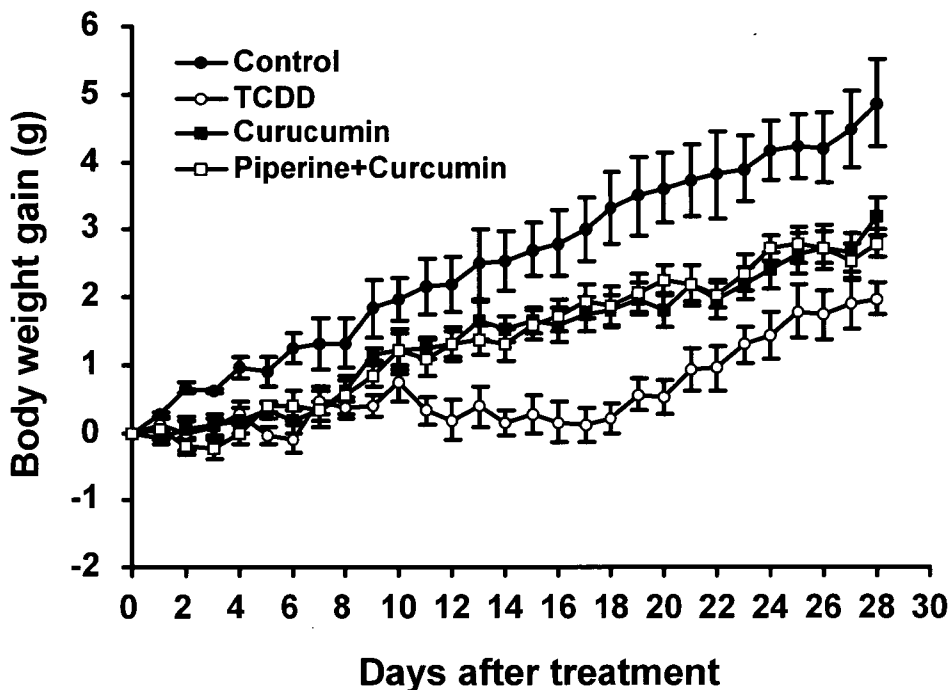


**Fig. 7. EROD activity of liver microsomes for C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 or 6 mice. Significant difference from control group: \*\*\*,  $p < 0.05$ .



**Fig. 8. Hepatic TBARS contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 or 6 mice. Significant different from control: \*,  $p < 0.05$ .



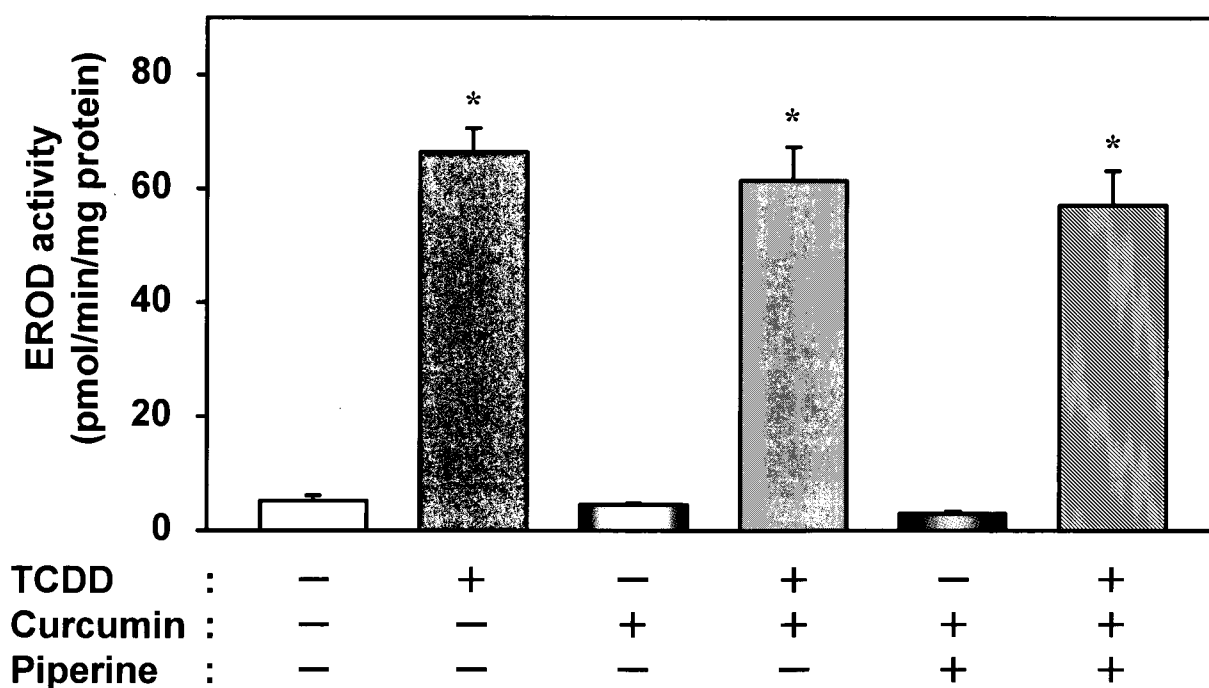


**Fig. 9. Effects of curcumin, piperine and TCDD on body weight gain in C57Bl/6J mice.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 or 6 mice. The initial body weights of mice in control, TCDD-treated, curcumin-treated, TCDD+curcumin-treated, piperine+curcumin-treated and TCDD+piperine+curcumin-treated group were  $19.4 \pm 0.23$ ,  $18.8 \pm 0.33$ ,  $18.8 \pm 0.29$ ,  $19.7 \pm 0.51$ ,  $19.9 \pm 0.47$  and  $18.7 \pm 0.44$  g, respectively.

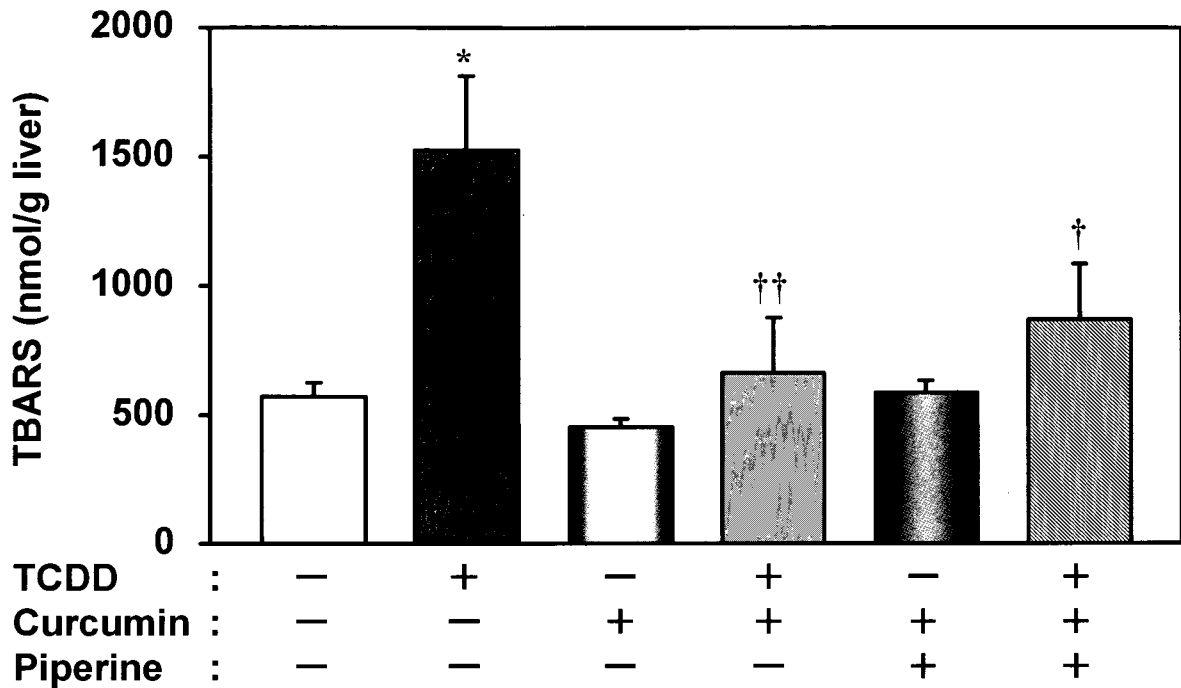
**Table 3. Effect of curcumin, piperine and TCDD on the tissue weights of C57BL/6J mice.**

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	4.90 ± 0.16	0.26 ± 0.01	0.19 ± 0.01
TCDD	6.80 ± 0.25**	0.26 ± 0.02	0.05 ± 0.01**
Curcumin	5.07 ± 0.07	0.24 ± 0.01	0.18 ± 0.01
TCDD + Curcumin	6.40 ± 0.28**	0.24 ± 0.02	0.06 ± 0.00**
Piperine + Curcumin	4.55 ± 0.12	0.24 ± 0.01	0.15 ± 0.02
TCDD + Piperine + Curcumin	6.52 ± 0.26**	0.25 ± 0.02	0.06 ± 0.01**

The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. Significant difference from control group: \*\*,  $p < 0.01$ .



**Fig. 10. EROD activity in liver microsomes of C57BL/6J mice after exposure to curcumin, piperine and TCDD.** The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. Significant differences from control group: \*,  $p < 0.05$ .



**Fig. 11. Hepatic TBARS contents of C57BL/6J mice after exposure to curcumin, piperine and TCDD.** The values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 or 6 mice. Significant differences from control group: \*,  $p < 0.05$ . Significant differences from TCDD-treated group: †,  $p < 0.05$ ; ††,  $p < 0.01$ .

## 分担研究報告書

### ダイオキシンのステロイドホルモン合成障害機構の解明：成獣への脳室内投与による週令依存性に関する検討

分担研究者 山田 英之 九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 教授  
研究協力者 石井 祐次 九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 准教授  
石田 卓巳 九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 助教

**研究要旨** ダイオキシン類による後世代影響は、その感受性の高さ、並びに影響の大きさから社会的な関心を集めている。当研究室における検討から、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 母体曝露時の胎仔精巣において、ステロイドホルモン合成酵素の発現量が顕著に低下することが明らかにされている。さらに、この発現量の低下が、脳下垂体において生合成される性腺刺激ホルモンの分泌量の低下より引き起こされることも明らかとなっている。この TCDD による作用は胎仔特異的なものであり、成獣雄ラットへの TCDD 曝露では惹起されない。本研究では、TCDD 曝露による後世代影響の胎仔期特異性の原因を明らかにするため、TCDD を脳室内投与した成獣雄ラットの精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現量の変化を検討した。その結果、TCDD の直接的な脳への曝露にもかかわらず、成獣では精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現量に変化は認められなかった。また、脳下垂体より分泌される黄体形成ホルモンと濾胞刺激ホルモンの発現量も、TCDD による低下は観察されなかった。以上の結果から、TCDD による胎仔期特異的な後世代影響は、TCDD の脳内移行率、もしくは曝露量に依存的な機構によるものではなく、胎仔の脳自身の反応性に起因して発症する可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

当研究室では、ダイオキシン類による後世代影響の発症機構を解明するため、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) をモデル化合物として検討を行っている。これまでに、胎仔期における母体への TCDD の曝露が、胎仔精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現を低下させることを明らかにした (1,2)。また、

この TCDD における影響の作用部位が、精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現を制御する上位因子である黄体形成ホルモン (luteinizing hormone: LH) の分泌量低下にあることも明らかにしている (1)。一方、成獣雄ラットに TCDD を経口投与した場合、精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現量は変化しない (1)。さらに、ラットの場合、胎仔に