

におけるダイオキシン類の脳への蓄積率は、成獣よりも高いことが報告されている(3,4)。これらの事実から考えた場合、TCDDによる後世代影響が胎仔期特異的である要因として、胎仔脳へのTCDDの移行率、もしくは曝露量の大きさが深く関与している可能性が挙げられる。また、これが事実であれば、成獣ラットの脳に直接高用量のTCDDを投与することにより、胎仔と同様の現象を再現できるのではないかと予想された。以上のような背景のもと、本研究では、ダイオキシン類による後世代影響発症機構の解明を目的として、成獣ラットへのTCDDの脳室内直接投与を行い、精巣におけるステロイドホルモン合成酵素への影響を検討した。

B. 方法・結果

TCDD 脳室内投与によるラット精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現変動

ステロイドホルモンは、産生臓器において細胞質に存在するコレステロールを原料として生合成される。この合成には、cytochrome P450 (Cyp) を始めとする様々な機能性タンパク質が関与する (Fig. 1)。当研究室におけるこれまでの検討から、TCDD 母体曝露時における胎仔精巣において、steroidogenic acute regulatory protein (StAR)、CYP11A1、CYP11B1、CYP17 並びに 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase の発現量がコントロールに比べ有意に低下することが明らかとなっている。そこで、本研究では、この中からステロイドホルモン生

合成の律速段階を司る StAR に注目し、成獣ラットへの TCDD 脳室内投与による影響を検討した。

7 週令の Wistar 系雄性ラットに TCDD (10 μ g/kg) を脳室内投与し、その 5 日後に目的の臓器を摘出した。脳室内投与については、実験動物用脳定位固定装置 (アイテック株式会社製) を用い、ペントバルビタール麻酔下で行った。コントロール群には、溶媒である corn oil を同量投与し、同様の処理を行った。摘出した臓器よりそれぞれ mRNA を抽出し、逆転写反応を行い cDNA を調製した。

Fig. 2 に、精巣における StAR の mRNA 量を半定量的 RT-PCR 法を用いて定量した結果を示す。これまでの検討から、TCDD 母体曝露時の胎仔精巣において、StAR mRNA 量は、コントロールの 40% 程度にまで低下することが明らかとなっている。これに対し、成獣雄ラットへの TCDD の脳室内投与では、精巣 StAR mRNA 量に変動は認められなかった。

TCDD 脳室内投与による下垂体性腺刺激ホルモンの発現変動

胎仔精巣におけるステロイドホルモン生合成酵素の発現の上位因子は、脳下垂体より分泌される性腺刺激ホルモンであると考えられている。事実、当研究室におけるこれまでの検討から、TCDD 母体曝露時における胎仔精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現低下は、脳下垂体での LH β -subunit の合成低下に起因することが明らかとなっている。先の検討から、ラ

ット成獣に対する TCDD の脳室内投与は、精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現量に影響を与えなかった。そこで、その原因を明らかにするため、TCDD の脳室内投与が下垂体の性腺刺激ホルモンの発現量に及ぼす影響について検討した。

先の検討と同様の方法にて処理したラット成獣より下垂体を摘出し、同様の方法で cDNA を調製した。これをサンプルとして、特異的な primer を用いて LH、並びに濾胞刺激ホルモン (follicle-stimulating hormone: FSH) のそれぞれの β -subunit の mRNA 量を定量した。この検討の前に、TCDD の脳下垂体への移行を確認する目的で、CYP11A1 mRNA 量を定量した。その結果、TCDD 処理群では、顕著な mRNA 量の増加が認められた (Fig. 3)。CYP11A1 は、ダイオキシン類依存的に誘導されることが知られている薬物代謝酵素の一つであり、ダイオキシン類曝露の指標の一つである。従って、本検討で用いた脳室内投与方法により、下垂体は TCDD に曝露されていることが確認された。次に、LH と FSH の β -subunit の mRNA 量を定量した。その結果、いずれについても、TCDD 処理群とコントロール群との間に差は認められなかった (Fig. 4)。以上の結果から、TCDD 曝露胎仔の脳下垂体において観察される性腺刺激ホルモンの発現量の低下は、胎仔の脳特異的な現象であり、成獣ラット脳の下垂体への TCDD 曝露では惹起されないことが明らかとなった。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は、「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

TCDD による影響の中でも、性行動異常等に見られる後世代影響は、その影響の大きさから、発症機構の解明、および予防法の開発が重要な研究課題となっている。その発症機構については不明な点も多いが、当研究室における検討から、胎仔脳への影響が深く関与していると考えられる。本研究では、TCDD の脳への曝露量が後世代影響発症の主要因であると考え、成獣ラットへの TCDD 脳室内直接投与による影響を観察した。その結果、成獣ラットの精巣におけるステロイドホルモン合成酵素、並びに下垂体における性腺刺激ホルモンの発現量は、TCDD 処理により変化しなかった (Fig. 2 および 4)。これらの結果から、少なくとも成獣の脳への TCDD の曝露では性ステロイド合成系への悪影響は惹起されない可能性が示唆された。

これまでの報告から、母体に TCDD が曝露された場合、胎仔への移行率は投与量の 0.062%程度であると報告されている (3,4)。さらに、このうち脳内に移行する量は、曝露量の 13%程との報告があることから (3,4)、胎仔脳内に移行する量は極微量 (母体曝露量の 0.008%程度) であると予想される。当研究室における検討から、TCDD 母体曝露による胎仔ステロイドホルモン合成酵素の発現低下は、TCDD 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の用量では惹起されな

かった (1)。TCDD 1 µg/kg が母体に曝露された場合、上記の比率から胎仔の脳における TCDD の曝露量は、極めて微量であると予想される。本検討で用いた TCDD の用量 (10 µg/kg) はこれに対して非常に高い用量であることから、脳室内投与における TCDD の曝露量が不十分であったとは考えにくい。また、脳室内投与後の下垂体において、CYP1A1 mRNA が顕著に増加していたことから (Fig. 3)、TCDD は、下垂体まで到達し、作用を発揮したと考えられる。以上より、胎仔特異的な TCDD の後世代影響は、TCDD の脳内への移行率、もしくは曝露量が要因ではなく、胎仔の脳自身の TCDD への反応性が要因である可能性が考えられる。

脳に関する研究は現在でも活発になされているが、未解明な点も多い。特に、胎仔期における脳機能の発達、もしくは外的因子に対する応答性については、成獣におけるそれとは異なっていると予想されているものの、詳細については未だ不明である。本研究より、TCDD に対する胎仔脳での性腺刺激ホルモン分泌の低下は、曝露量ではなく脳自身の反応性に起因する可能性が示唆された。このため、今後は、脳の発達、並びに環境応答機構も視野に入れ研究を展開する必要があると考えられる。

D. 参考文献

1) Mutoh, J., Taketoh, J., Okamura, K., Kagawa, T., Ishida, T., Ishii, Y. and Yamada, H., Fetal pituitary gonadotropin as an initial target of dioxin in its impairment of cholesterol transportation and steroidogenesis

in rats. *Endocrinology*, 147, 927-936 (2005).

2) Taketoh, J., Mutoh, J., Takeda, T., Ogi shima, T., Takeda, S., Ishii, Y., Ishida, T. and Yamada, H., Suppression of fetal testicular cytochrome *P450 17* by maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin: A mechanism involving an initial effect on gonadotropin synthesis in the pituitary. *Life Sci.*, 80, 1259-1267 (2007).

3) Pohjanvirta, R., Vartiainen, T., Unsi-Rauva, A., Monkkonen, J. and Tuomisto, J., Tissue distribution, metabolism, and excretion of ¹⁴C-TCDD in a TCDD-susceptible and a TCDD-resistant rat strain. *Pharmacol. Toxicol.*, 66, 93-100 (1990).

4) Hurst, C. H., DeVito, M. J., Setzer, R. W. and Birnbaum, L. S., Acute administration of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in pregnant Long Evans rats: association of measured tissue concentrations with developmental effects. *Toxicol. Sci.*, 53, 411-220 (2000).

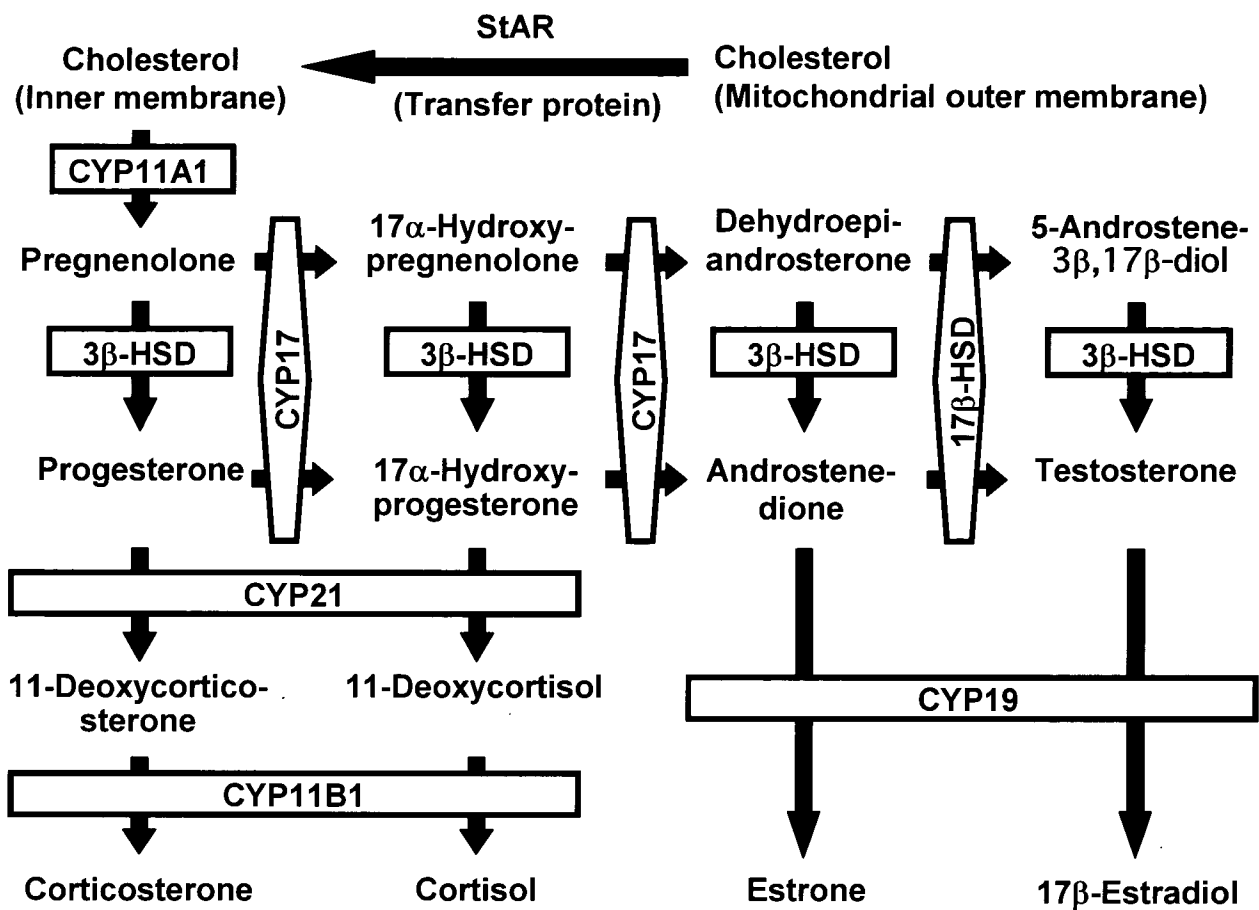


Fig. 1. The pathways of steroidogenesis

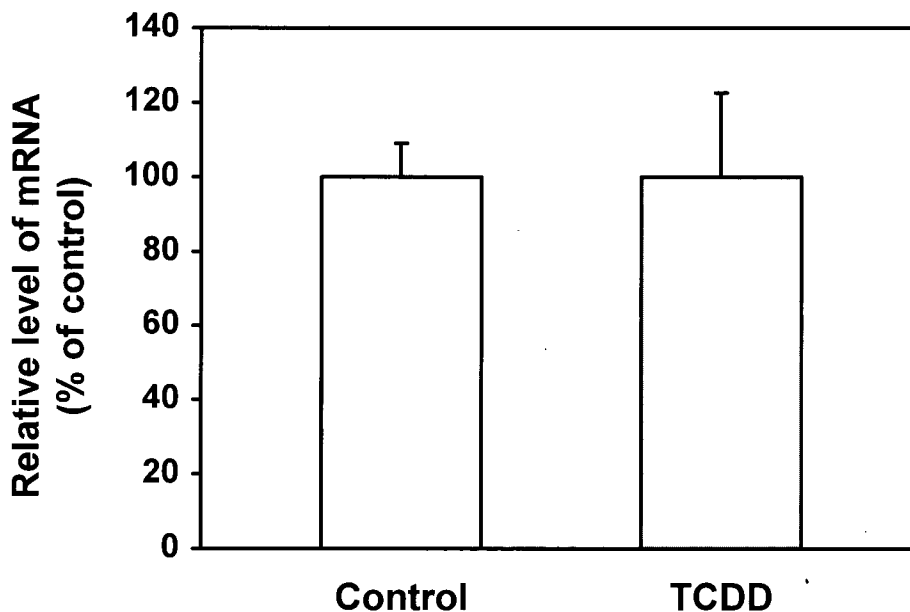


Fig. 2. Change in the expression of testicular StAR mRNA in rat treated with intraventricular injection of TCDD (10 µg/kg). The values represent the mean \pm S.E. of 4 mice. The expression levels of the mRNA were normalized by β -actin used as a standard mRNA.

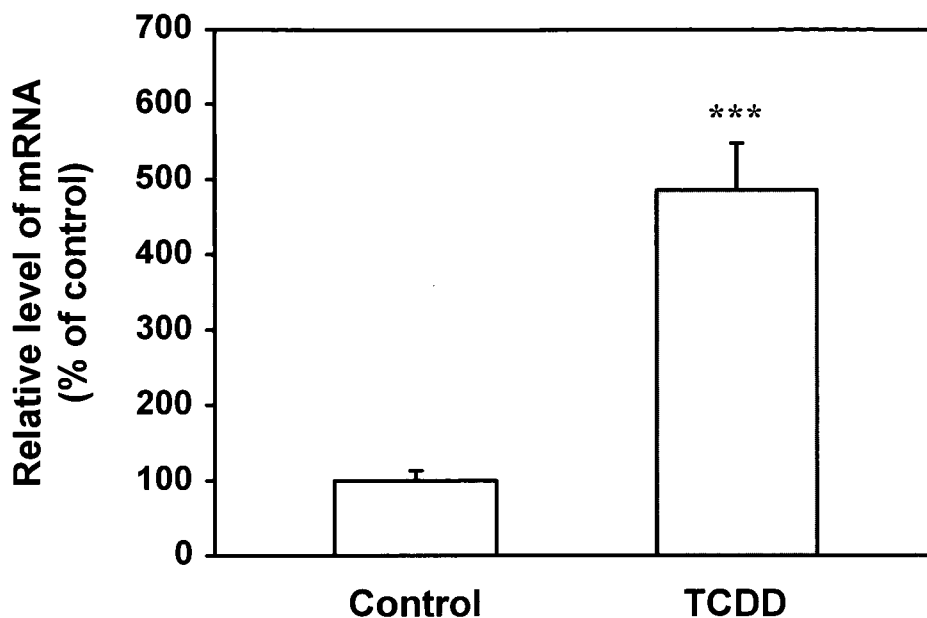


Fig. 3. Induction of pituitary CYP1A1 mRNA in rat treated with intraventricular injection of TCDD (10 µg/kg). The values represent the mean \pm S.E. of 4 or 5 mice. The expression levels of the mRNA were normalized by β -actin used as a standard mRNA. Significant different from control: *, $p < 0.001$.

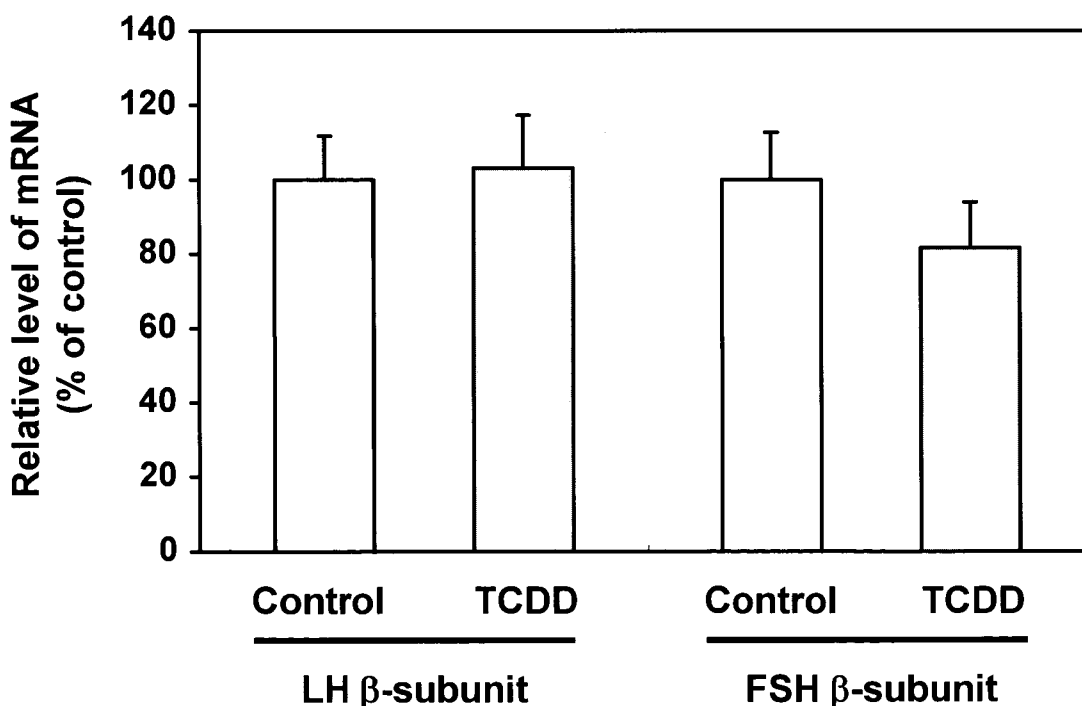


Fig. 4. Change in the expression of pituitary LH and FSH β -subunit mRNAs in rat treated with intraventricular injection of TCDD (10 µg/kg). The values represent the mean \pm S.E. of 4 or 5 mice. The expression levels of the mRNA were normalized by β -actin used as a standard mRNA.

分担研究報告書

2,2',3,4',5,5'-六塩素化ビフェニル(CB146)の動物肝によるin vitro代謝

分担研究者 古賀 信幸 中村学園大学栄養科学部 教授

研究要旨

4-水酸化(OH)-CB146はPCB代謝物のうち、哺乳動物血液中で、4-OH-CB187に次いで、2番目に高濃度で検出されている。本代謝物の親PCBとしてCB146、CB138およびCB153が考えられることから、本研究ではまず、CB146からの生成の有無を明らかにするため、ラット、モルモット、ハムスターおよびヒト肝マイクロゾーム(Ms)によるin vitro代謝を調べた。その結果、3種類の1-水酸化体(M-1、M-2およびM-3)が生成され、このうち、M-1とM-2はそれぞれ3'-OH-CB146と4-OH-CB146であることが明らかとなった。特に4-OH-CB146 (M-2)はラットで生成活性が高いこと、驚いたことにラットに次いでヒト肝で高いことも明らかとなった。なお、4-OH-CB146の生成はモルモットを除き、PBおよびMC前処理ラットおよびハムスター肝Msでほとんど増加しなかった。この結果は、4-OH-CB146の生成にPB誘導性のP450、すなわちCYP2B酵素があまり関与していないことを示唆している。一方、3'-OH-CB146の生成はPB前処理ラット、モルモットおよびハムスター肝Msのいずれでも著しく増加したことから、CYP2B酵素の強い関与が示唆された。

A. 研究目的

ヒトを含む哺乳動物の血中に、PCB代謝物である4-水酸化(OH)体が高濃度で検出されている¹⁻⁵⁾。最も多いのは、4-OH-CB187で、次いで4-OH-CB146および4-OH-CB107である。当研究室では、まず4-OH-CB187の親PCBを明らかにするため、CB187とCB183の代謝について検討したところ、4-OH-CB187はCB187から生成されるが^{6,7)}、CB183からは全く生成されないことが明らかとなった⁸⁾。一方、4-OH-CB146は、CB146からだけでなく、CB138やCB153からも4,5-エポキシドの生成およびNIH転位を経由して生成される可能性がある。本研究では、2番目に多く検出される4-OH-CB146が、CB146から生成されるか否かについてラット、モルモット、ハムスターおよびヒト肝マイクロゾーム(Ms)を用いて検討した。

B. 研究方法

① CB146の合成: 2,4,5-トリクロロアニリンお

よび1,2,4-トリクロロベンゼンをテトラクロロエチレンで溶かし、亜硝酸イソアミルを加え、油浴中で、110°C、24時間反応させた。反応残渣は、n-ヘキサンで溶解後、アルミナおよびシリカゲルカラムに付した。次に、CB146を含む画分を濃縮後、HPLCに付して精製した(保持時間39.6min;純度99%)。HPLC条件: カラム、YMC-Pack ODS (250×20mm I.D.); 溶離液、100%アセトニトリル; 流速、4.0ml/min; 検出波長、254nm。実験動物および薬物処理: 実験動物はWistar系雄性ラット(体重約200g)、Hartley系雄性モルモット(体重約280g)およびGolden syrian雄性ハムスター(体重約90g)を用いた。動物肝Msの調製は、未処理、フェノバルビタール(PB、80 mg/kg/day×3, ip)および3-メチルコラントレン(MC、20 mg/kg/day×3, ip)前処理の各動物より肝を摘出し、常法により行った。ヒト肝Ms(9名分)はBD Gentest社から購入した。代謝活性: 40μM CB146を、動物肝Ms、NADPH生成系、6mM MgCl₂、100mM

HEPES 緩衝液(pH 7.4)とともに、37°Cで1時間インキュベートした後、クロロホルム-メタノール(2:1)および n-ヘキサンで3回抽出し、さらにジアゾメタンでメチル化後、GC-ECD および GC-MS により測定した。代謝物の定量は CB146 未変化体の検量線を用いて行った。

(倫理面への配慮)

「中村学園大学における動物実験のための指針」に従い、動物肝 Ms の調製に際しては、動物の苦痛をできるだけ軽減するため、軽くエーテル麻酔後さらに後頭部を強打して気絶させ、頸動脈からの脱血により死亡させた。

C. 研究結果

Fig. 1 には、CB146 をラット、モルモットおよびヒト肝 Ms とともに 37°Cで 60 分間インキュベートして得られた代謝物の GC クロマトグラムを示す。未処理動物肝 Ms の場合、モルモットでのみ保持時間 16.11min、16.74min および 17.23min に 3 本の代謝物ピークが検出された。これらをそれぞれ M-1、M-2 および M-3 とした。なお、未処理ラットでは M-2 のみが検出されたが、未処理ハムスターでは代謝物ピークは全く見られなかった。一方、ヒト肝 Ms の場合、個人差が多少あるものの、M-2 と M-3 はほとんどのヒトで生成された。男性 5 名のうち 2 名はさらに M-1 も生成した。

次に、これら代謝物を定量するとともに、実験動物では P450 誘導剤前処理の効果も調べた(Table 1)。まず、未処理モルモットの場合、M-1、M-2 および M-3 はそれぞれ 28.2、1.3 および 4.7 pmol/hr/mg protein であった。また、未処理ラットでの M-2 は 24.2 pmol/hr/mg protein であった。次に、PB 前処理の場合、モルモットでは、M-1 と M-2 はそれぞれ未処理の 4.2 倍と 5.6 倍に増加したが、M-3 は全く検出されなかった。一方、

ラットおよびハムスターでは M-1 が新たに著しく増加し、その生成量はラットとハムスターで、それぞれ 51.7 と 31.9 pmol/hr/mg protein であった。なお、ラットの M-2 は未処理の 1.2 倍にすぎなかった。さらに、MC 前処理の場合、モルモットでは、未処理と比べ M-2 が 5.1 倍、M-3 が 3.9 倍に増加したが、M-1 はほとんど変化なかった。また、ラットでは、M-2 は未処理の約 50%にまで激減した。ハムスターでは未処理と同様に、代謝物は全く検出されなかった。

次に男性 5 名と女性 4 名の肝 Ms を用いて代謝を調べたところ、M-2 と M-3 が主代謝物であった。これらの生成速度はそれぞれ、男性で 8.0 と 4.2 pmol/hr/mg protein、女性では 8.9 と 4.0 であり、特に大きな性差および個人差は観察されなかった(Table 2)。ただし、M-1 は、女性では全く生成されず、男性でも 5 名中 2 名しか生成されなかった。

次に、これらの代謝物の化学構造を明らかにするため、予想代謝物として 4-MeO-CB146、3-MeO-CB153、4'-MeO-CB133 および 3'-MeO-CB146 を別途合成し、GC-MS におけるマスフラグメンテーションと GC-ECD における保持時間を比較した。その結果、Table 3 に示すように、3種の代謝物(メチル化体)はいずれも分子量 388 を有していることから、一水酸化体であることが明らかとなった。このうち、M-1(メチル化体)と M-2(メチル化体)はそれぞれ 3'-MeO-CB146 と 4-MeO-CB146 の GC 保持時間と完全に一致するとともに、マスフラグメンテーションもほとんど一致した。ただし、M-3 については一致するものがなく、現在のところ不明である。

D. 考察

本研究により、4-OH-CB146 (M-2)は CB146 から生成されることが初めて明らかとなった。特にラットで生成活性が高いこと、驚

いたことにラットに次いでヒト肝で高いことも明らかとなった。この結果は、ヒト血清中に本代謝物が高濃度存在していることを示唆している。さらに、PB前処理した実験動物肝Msでは、3'-OH-CB146(M-1)の生成が著しく増加していたが、これはPB誘導性のP450 (CYP2B)がこの生成に関与していることを示している。なお、モルモット肝とヒト肝で生成されたM-3の化学構造については、現在検討中である。

E. 参考文献

1. Å. Bergman, E. Klasson-Wehler and H. Kuroki, *Environ. Health Perspect.*, **102**, 464-469 (1994).
2. C. D. Sandau, P. Ayotte, E. Dewailly, J. Duffe and R. J. Norstrom, *Environ. Health Perspect.*, **108**, 611-616 (2000).
3. B. Fängström, M. Athanasiadou, P. Grandjean, P. Weihe, Å. Bergman, *Environ. Health Perspect.*, **110**, 895-899 (2002).
4. 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).
5. J. S. Park, L. Linderholm, M. J. Charles, M. Athanasiadou, J. Petrik, A. Kocan, B. Drobná, T. Trnovec, A. Bergman, I. Hertz-Picciotto, *Environ. Health Perspect.*, **115**, 20-27 (2007).
6. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, and N. Koga, *Xenobiotica*, **35**, 319-330 (2005).
7. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, and N. Koga, *Organohalogen Compounds*, **67**, 2343-2345 (2005).
8. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, M. Matsuoka, T. Endo and N. Koga, *Organohalogen Compounds*, **69**, 1761-1764 (2007).

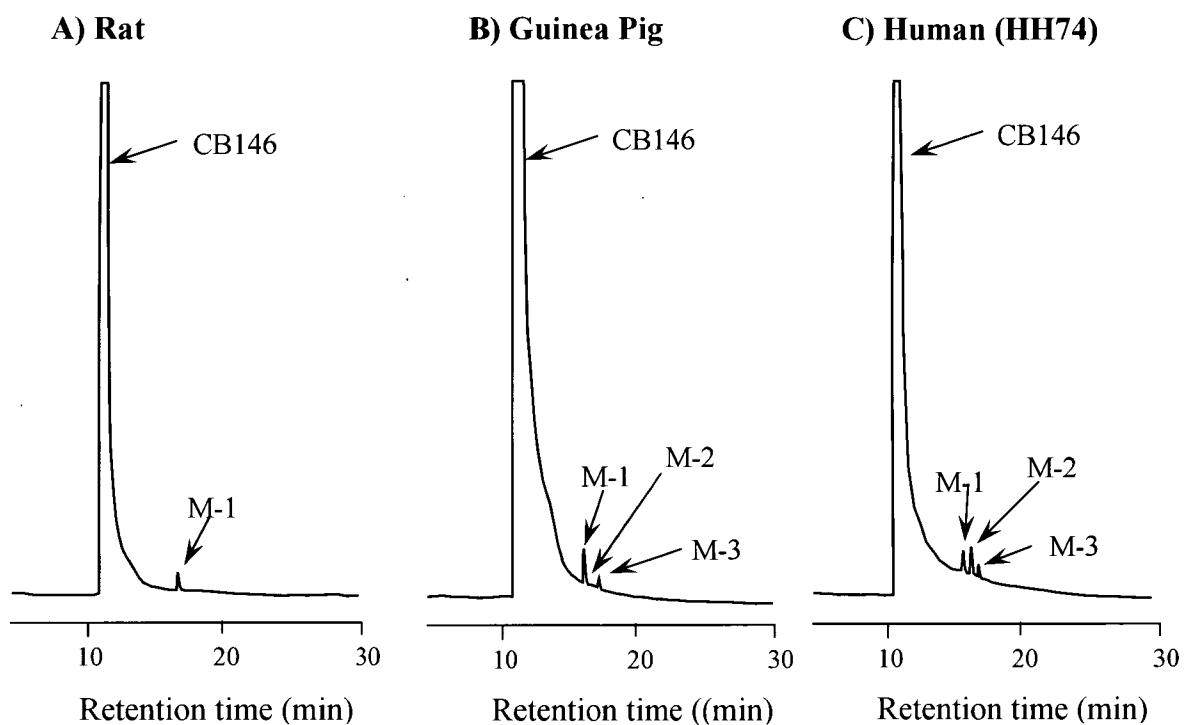


Fig. 1 GC-ECD chromatograms of the methylated derivatives of CB146 metabolites formed by liver microsomes of untreated rats (A), untreated guinea pigs (B) and human HH 74 (C).

The column used for GC-ECD was a DB-1 capillary column (30 m long).

Table 1 Effects of P450 inducers on CB146 metabolism with liver microsomes of rats, guinea pigs and hamsters

Treatment	Metabolite formed (pmol/hr/mg protein)		
	M-1	M-2	M-3
Rat			
Untreated	N.D.	24.2 ± 2.3 (1.00)	N.D.
PB-treated	51.7 ± 8.6*	28.0 ± 3.4 (1.16)	N.D.
MC-treated	N.D.	12.7 ± 5.6* (0.52)	N.D.
Guinea pig			
Untreated	28.2 ± 5.4 (1.00)	1.3 ± 1.6 (1.00)	4.7 ± 5.8 (1.00)
PB-treated	117.0 ± 13.2* (4.15)	7.1 ± 1.8* (5.62)	N.D.
MC-treated	26.1 ± 14.6 (0.93)	6.4 ± 5.2 (5.12)	18.2 ± 3.2* (3.85)
Hamster			
Untreated	N.D.	N.D.	N.D.
PB-treated	31.9 ± 5.5*	N.D.	N.D.
MC-treated	N.D.	N.D.	N.D.

N.D., not detected.

Each value represents the mean ± S.D. of four animals and those in parentheses are the relative ratio of untreated animals.

* Significantly different from untreated animals ($p < 0.05$).

Table 2 *In vitro* metabolism of CB146 by liver microsomes prepared from nine humans.

No.	Sex	Metabolite formed (pmol/hr/mg protein)		
		M-1	M-2	M-3
HG32	♂	N.D.	5.4	N.D.
HG64	♂	3.0	7.7	3.1
HG74	♂	N.D.	11.0	8.9
HH74	♂	5.6	6.3	3.6
HH81	♂	N.D.	9.6	5.5
Ave. ± S.D.	♂	1.7 ± 2.5	8.0 ± 2.5	4.2 ± 3.3
HH77	♀	N.D.	9.5	5.1
HH91	♀	N.D.	8.3	2.7
HH101	♀	N.D.	10.9	4.2
HK37	♀	N.D.	6.9	4.3
Ave. ± S.D.	♀	N.D.	8.9 ± 1.7	4.0 ± 1.0

N.D., not detected.

Table 3 Mass spectral data and retention times of the methylated derivatives of three CB146 metabolites and its synthetic compounds in GC-MS

Compound	Molecular weight [M ⁺ -113]	Mass spectral data (relative abundance, %)					Retention [M ⁺ -50] in GC-ECD
		[M ⁺] time (min)	[M ⁺ -15]		[M ⁺ -43]		
M-1	388	100	9	26	10	41	16.11
M-2	388	100	32	22	-	48	16.75
M-3	388	100	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	17.23
6-MeO-CB146	388	100	-	-	134	39	14.14
3'-MeO-CB146	388	100	8	37	12	37	16.11
4'-MeO-CB133	388	100	36	33	-	40	16.27
3-MeO-CB153	388	100	7	45	13	42	16.67
4-MeO-CB146	388	100	44	36	-	46	16.75

N.D., not determined.

CB133, 2,2',3,3',5,5'-hexaCB; CB153, 2,2',4,4',5,5'-hexaCB.

DB-1 capillary column (30 m long) was used for GC-MS and GC-ECD.

The oven temperature in GC-MS was programmed from 70°C (2 min) to 230°C at a rate of 20°C/min and then to 280°C at a rate of 4°C /min. The temperatures in the injection port and the detector were 250°C. The oven temperature used in GC-ECD was 230°C.

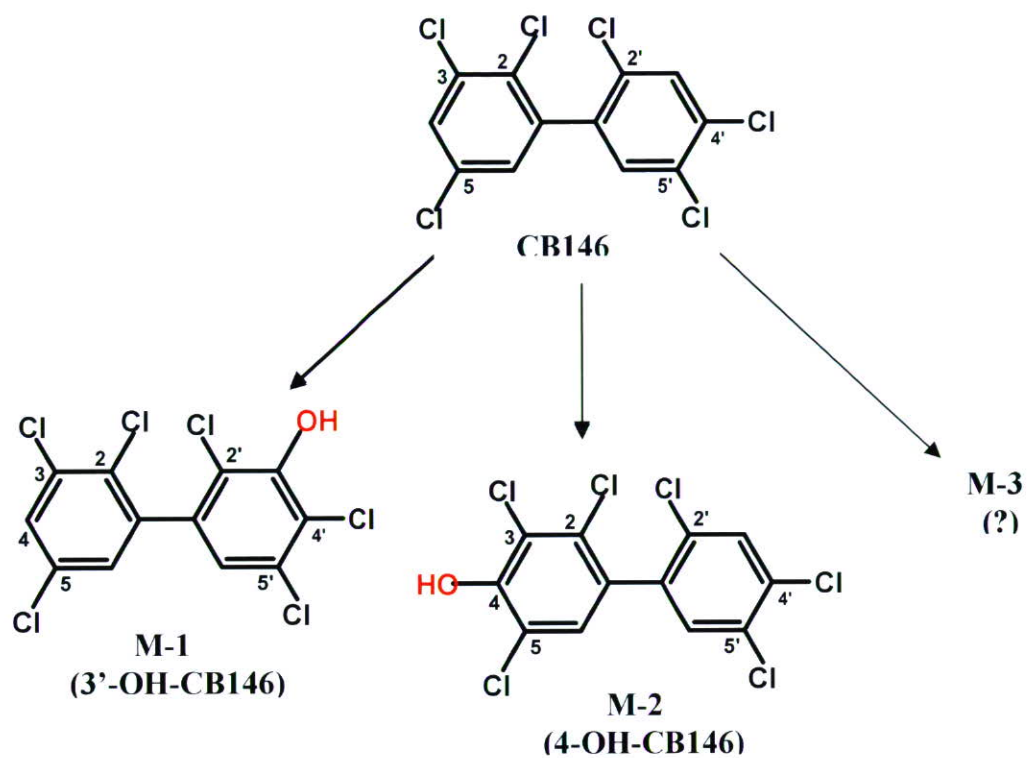


Fig. 2 Postulated metabolic pathways of CB146 in animal and human liver.

ダイオキシン曝露による気道上皮傷害の検討

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細胞内分子動態について検討を行った。TCDD 曝露により気道上皮細胞株の Aryl Hydrocarbon Receptor、CYP1A1 の発現の亢進が認められ、酸化ストレスが発生することが明らかになった。CYP1A1 の発現を抑えることにより、酸化ストレスの発生は現弱した。また抗酸化作用をもつ Vitamine E に併用により酸化ストレスは減弱したものの CYP1A1 の発現には変化が認められなかった。

A. 研究目的

PCB/ダイオキシン類の曝露により様々な症状が惹起される。呼吸器症状として慢性の咳、痰などいわゆる慢性気管支炎の症状が認められる。PCB/ダイオキシン類の毒性として酸化ストレスの関与が考えられている。今回我々は気道上皮細胞の酸化ストレス障害の分子機序を明らかにするために検討を行った

B. 研究方法

細胞内分子の定量：気道上皮由来の細胞株 (BEAS2B) に TCDD を曝露し Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR)、CYP1A1 の蛋白発現レベルを Western blotting にて検討した。

酸化ストレスの計測：気道上皮由来の細胞株 A549 に TCDD 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 (1)。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 30 分培養し、FACS にて蛍光 (excitation 490nm emission 526nm) を測定した。

C. 研究結果

BEAS2B 細胞へのダイオキシン類 (TCDD) を曝露の結果、細胞内の Aryl Hydrocarbon receptor、CYP1A1 の蛋白発現レベルは亢進し (図 1A)、酸化ストレスも増強していることがわかった (図 2)。AHR のアンタゴニストである ANF を併用すると CYP1A1 の誘導はおこらず (図 1B) 酸化ストレスも発生しなかった。

抗酸化作用を有するとされる Vitmine E を用いてダイオキシン類曝露による酸化ストレスを低減できるか否かの検討を行なった。両者をダイオキシン類と共に曝露することにより酸化ストレスは低下したが (図 2)、CYP1A1 の発現レベルには変化が無かった (図 1C)。

D. 考察

ダイオキシンの曝露により AHR から CYP1A1 の発現が誘導されること、酸化ストレスが発生することが明らかになった。この酸化ストレスは AHR-CYP1A1 の系を抑制することによって減弱できることも明らかになった。抗酸化作用をもつとされる Vitamin E もダイオキシンによる

酸化ストレスの発生を抑制するが、これは AHR-CYP1A1 の系は抑制されていなかった。Sidorova らの報告によるとベンツピレンと Vitamin E の併用でラットの肝臓の CYP1A1 発現量は変化ないものの活性が落ちるとされており、蛋白への翻訳後に作用していることが示唆されている(2)。今回の結果からダイオキシン類の細胞傷害性の軽減に関していくつかのアプローチがあることが示唆された。

参考文献

- (1) Jakubowski W et al. Estimation of oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae* with fluorescent probes. *Int J Biochem Cell Biol.* 29, 1297-1301, 1997
- (2) Sidorova YA and Grishanova AY. Inhibitory effect of alpha-tocopherol on benzo(a)pyrene-induced CYP1A1 in rat liver, *Bull Exp Biol Med*, 140, 517-520, 2005

図1.

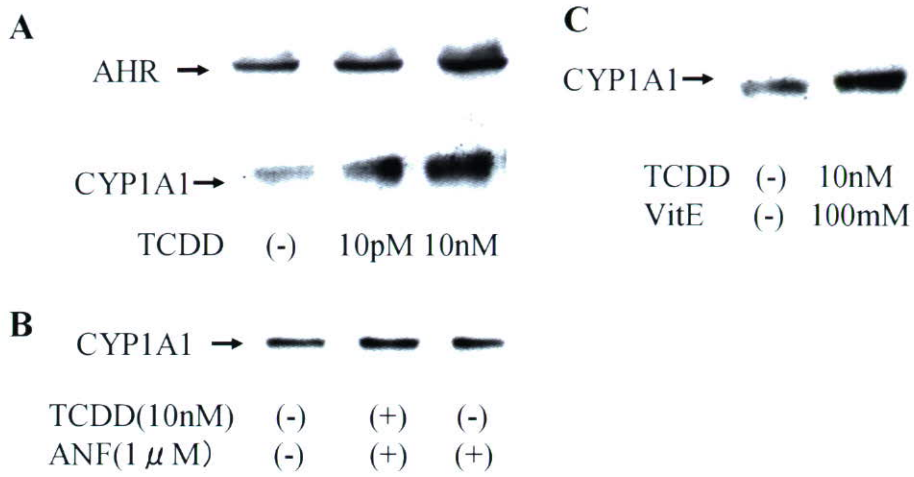
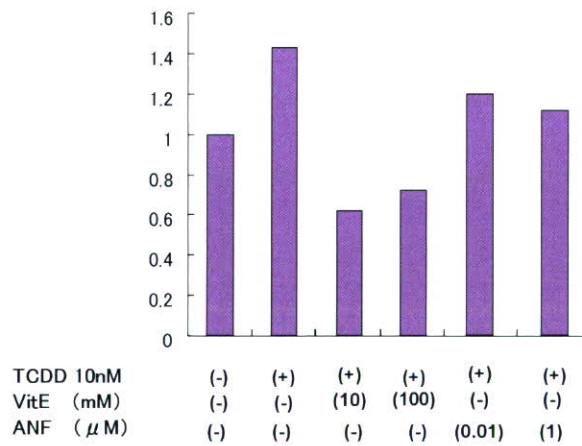


図1A. 気道上皮細胞BEAS2BにTCDD曝露後24時間の蛋白の発現レベルを検討した。
 図1B.AHRのアンタゴニストであるANFを併用するとCYP1A1の発現亢進がみとめられなかった。
 図1C.VitEとTCDDをともに曝露した場合CYP1A1の発現レベルの低下は認められなかった。

図2.



TCDDを気道上皮細胞(BEAS2B)に曝露し24時間後の酸化ストレスをDCFassayにて計測した。Controlの蛍光強度を1とした。

研究成果の刊行に関する一覧表

(2007 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
古江増隆	序言	福岡医学雑誌	98(5)	127-128	2007
神奈川芳行, 松本伸哉, 田島文一, 上ノ土武, 柴田智子, 古江増隆, 今村知明	2001~2003 年度に血中 PCDFs 濃度を測定した油症患者の平均値と現在残留する症状等の比較	福岡医学雑誌	98(5)	129-135	2007
柴田智子, 徳永章二, 古江増隆	尿中ジアセチルスペルミンと油症に関する検討	福岡医学雑誌	98(5)	136-140	2007
清水和宏, 小川文秀, 佐藤伸一	油症認定患者血中 Total Antioxidant Power の検討	福岡医学雑誌	98(5)	141-142	2007
吉村俊朗, 中野治郎, 片岡英樹	カネミ油症検診者の血清アルドラーゼ	福岡医学雑誌	98(5)	143-148	2007
高尾佳子, 小野塚大介, 片岡恭一郎, 戸高尊, 平川博仙, 梶原淳睦, 吉村健清	油症患者血液中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の 4 年間の傾向	福岡医学雑誌	98(5)	149-152	2007
松本伸哉, 神奈川芳行, 田島文一, 上ノ土武, 柴田智子, 古江増隆, 今村知明	カネミ油症患者における, ダイオキシン濃度と, 最近及び過去の臨床症状の関係	福岡医学雑誌	98(5)	153-159	2007
徳永章二, 柴田智子, 古江増隆	油症患者の既往歴頻度と血中脂質 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF レベルとの関連	福岡医学雑誌	98(5)	160-165	2007
辻博, 池田正春	油症における性腺機能の検討	福岡医学雑誌	98(5)	166-169	2007
橋口勇, 吉嶺嘉人, 前田英史, 後藤康治, 石河真幸, 藤井慎介, 友清淳, 福山宏, 奥村英彦, 赤峰昭文	油症患者における歯周疾患ならびに口腔内色素沈着の疫学的調査(第六報)	福岡医学雑誌	98(5)	170-175	2007
堀就英, 安武大輔, 戸高尊, 平川博仙, 井上英, 梶原淳睦, 中川礼子, 芦塚由紀, 飯田隆雄, 吉村健清	福岡県油症検診(2006 年度)受診者における血液 PCB 濃度と性状	福岡医学雑誌	98(5)	176-181	2007
増田義人, 吉村健清, 梶原淳睦, John Jake Ryan	油症発生より 38 年間の患者血液中 PCBs, PCDFs の濃度変遷	福岡医学雑誌	98(5)	182-195	2007
松枝隆彦, 梶原淳睦, 岩本眞二, 飯田隆雄, 伊津野知佳, 吉村健清	油症認定患者と一般人におけるダイオキシン類の血中残留性と暴露経路の関連性について	福岡医学雑誌	98(5)	196-202	2007

武藤純平, 石田卓巳, 石井祐次, 山田英之	ダイオキシン類母体曝露が マウス胎仔精巢の性ステロ イドホルモン生合成系発現 に及ぼす影響	福岡医学雑誌	98(5)	203-207	2007
Susumu BAN, Tomoko KONDO, Mayumi ISHIZUKA, Seiko SASAKI, Kanae KONISSHI1, Noriaki WASHINO, Syoichi FUJITA, Reiko KISHI	Using Microarray Analysis to Evaluate Genetic Poly morphisms Involved in the Metabolism of Environmen tal Chemicals	福岡医学雑誌	98(5)	208-214	2007
Junya NAGAYAMA, Hironori HIRAKAWA, Junboku KAJIWARA, Takao IIDA, Takashi TODAKA, Takeshi UENOTSUCHI, Satoko SHIBATA, Hiroshi TSUJI, Teruaki IWASAKI.	Excretion of Causative PC DFs Congeners of Yusho by One Year Intake of FBRA in Patients with Yusho	福岡医学雑誌	98(5)	215-221	2007
Takashi TODAKA, Hironori HIRAKAWA, Jumboku KAJIWARA, Tsuguhide HORI, Kazuhiro TOBUSHI, Daisuke ONOZUKA, Takao IIDA, Takesumi YOSHIMURA, Masutaka FURUE	Dioxin Concentration in t he Blood of Patients Coll ected during Medical Chec k-up for Yusho in 2004-20 05	福岡医学雑誌	98(5)	222-231	2007
芦塚由紀, 中川礼子, 平川博仙, 堀就英, 梶 原淳睦, 飯田隆雄, 吉 村健清	2005 年度油症検診における 血液中ポリ塩化クアテルフ ェニルの分析	福岡医学雑誌	98(5)	232-235	2007
太田千穂, 忝岡樹子, 原口浩一, 加藤善久, 遠藤哲也, 古賀信幸	2, 2', 4, 5, 5'-五塩素化ビフ ェニル(CB101)のラット, ハ ムスターおよびモルモット 肝ミクロゾームによる代謝	福岡医学雑誌	98(5)	236-244	2007
Imamura T, Kanagawa Y, Matsumoto S, Tajima B, Uenotsuchi T, Shibata S, Furue M	Relationship between clini cal features and blood lev els of pentachlorodibenzof uran in patients with Yush o	Environ Toxicol	22(2)	124-131	2007
Imamura T, Kanagawa T, Matsumoto S, Tajima B, Uenotsuchi T, Shibata S, Furue M	Epidemiological aspects of Yusho ; Clinical features and blood levels of penta chlorodibenzofuran in Yush o patients	DIOXIN 2007 Organohalogen Compounds	69	87-90	2007
Imamura T, Ide H, Yasunaga H:	History of public health c rises in Japan	J Public Health Policy	28(2)	221-237	2007
Tomoaki Imamura, Shinya Matsumoto, Yoshiyuki Kanagawa, Bunichi Tajima, Shiro Matsuya, Masutaka Furue and Hiroshi Oyama:	A technique for identifyin g three diagnostic finding s using association analys is.	Medical and Biological Engineering and Computing	45(1)	51-59	2007

Takao Iida, Takashi Todaka, Hironori Hirakawa, Tsuguhide Hori, Kazuhiro Tobiishi, Takahiko Matsueda, Shaw Watanabe, Taketo Yamada	Concentration and distribution of dioxins and related compounds in human tissues	chemosphere	67	S263-S271	2007
Takashi Todaka, Hironori Hirakawa, Tsuguhide Hori, Kazuhiro Tobiishi, Takao Iida, Masutaka Furue	Concentration of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-ortho and mono-ortho polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients	Chemosphere	66	1983-1989	2007
Kajiwarara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Inoue S, Tobiishi K, Onozuka D, Takao Y, Nakagawa R, Iida T, Yoshimura T, Furue M	TIME TREND OF CONCENTRATIONS OF DIOXIN LIKE PCBs, PCDFs, AND PCDDs IN BLOOD OF YUSHO PATIENTS	Organohalogen Compounds	69	91-93	2007
Masuda Y, Yoshimura T, Kajiwarara J, Ryan JJ	TRANSITION OF PCB AND PCDF CONCENTRATIONS IN YUSHO PATIENTS FOR 38 YEARS	Organohalogen Compounds	69	94-97	2007
Todaka T, Hirakawa H, Kajiwarara J, Tobiishi K, Onozuka D, Iida T, Yoshimura T, Furue M	DIOXIN CONCENTRATION IN THE BLOOD OF PATIENTS COLLECTED DURING MEDICAL CHECK-UP FOR YUSHO IN 2006.	Organohalogen Compounds	69	2129-2132	2007
Hori T, Inoue S, Yasutake D, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwarara J, Nakagawa R, Ashizuka Y, Iida T, Yoshimura T, Furue M	PCBs CONCENTRATIONS IN BLOOD OF YUSHO PATIENTS: 2006 YUSHO ANNUAL INSPECTION IN FUKUOKA, JAPAN	Organohalogen Compounds	69	2137-2140	2007
Koga N, Ohta C, Haraguchi K, Matsuoka M, Kato Y, Endo T	The formation of a catechol metabolite of 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101) by liver microsomes from rats, hamsters, guinea pigs and humans	Organohalogen Compounds	69	1757-1760	2007
Ohta C, Haraguchi K, Kato Y, Matsuoka M, Endo T, Koga N,	The distribution of metabolites of 2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl (CB183) in rats and guinea pigs	Organohalogen Compounds	69	1761-1764	2007
Y. Kato, S. Ikushiro, R. Takiguchi, K. Haraguchi, N. Koga, S. Uchida, T. Sakaki, S. Yamada, J. Kanno, and M. Degawa	A novel mechanism for polychlorinated biphenyls-induced decrease in serum thyroxine level in rats	Drug Metab Dispos	35(10)	1949-1955	2007
Shimizu K, Ogawa F, Thiele JJ, Bae S, Sato S.	Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning with polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan	J Appl Toxicol	27(2)	195-197	2007
内博史, 吹譯紀子, 柴田智子, 古江増隆	ダイオキシンと皮膚	アレルギーの臨床	27(12)	938-944	2007