

図を用いて手触り（テクスチャー）の感覚認知に關与する脳活動を同定する研究を行った。今年度は、より実用的な検査を確立するために、昨年度までに得られたデータの、標準化された解析方法の確立を試みた。

B. 研究方法

対象は健常成人 10 名。テクスチャーの弁別に関わる脳活動を検出するため、ピエゾ型非磁性触覚刺激装置（KGS 社製）にて、右母指を刺激し、306-ch 全頭型脳磁計（Elekta 社製、Neuromag）を用いて、脳活動を記録した。ピエゾ型非磁性触覚刺激装置は 2.4 mm の等間隔で配列され、先端が丸みを帯びたプラスチック製ピン（2×4 個）から構成されており、各ピンの直径は 1.3 mm で点字様に配置されている（図 1）。1500 ms の間に、各ピンを 15 回連続で突出・後退させて皮膚を圧迫し、テクスチャーを実験的に再現した。今回の実験では、二種類の実験刺激を用いた。一つ目は、ピンが規則的な時間間隔（100ms）で突出・後退する「規則的的刺激」で、これは滑らかな手触りを再現したものである。もう一つは、ピンが不規則な時間間隔（40ms～160ms）で突出・後退する「不規則的的刺激」であり、これは粗い手触りを再現したものである。2 種類の刺激をランダムに 100 回施行し、被験者には、「規則的」か「不規則的」かの弁別を行ってもらった。脳磁図は、サンプリング周波数 1 kHz、周波数帯域 0.1-330 Hz で記録し、各刺激につき 100 回加算平均し、誘発される脳誘発磁界を記録した。次に、脳 MRI 画像から、画像解析ソフトウェア（FreeSurfer）を用いて、各被験者の脳表を抽出し（図 2）、minimal norm estimation（MNE）法¹²⁾を用いて、脳表上の電流源を推定した。このようにして得られた、各個人の脳活動マップを、FreeSurfer を用いて標準脳の脳表上に変換し、被験者に共通する活動領域を同定し、関心領域とした（図 3）。最後に、この関心領域における脳活動の詳細な解析を行った。

（倫理面での配慮）

個人情報とは原則的に検証の対象としていないが、個人のプライバシーが侵害されぬよう配慮した。

C. 研究結果

刺激によって、テクスチャー認知に關連する考えられる低周波（5 Hz 以下）の誘発磁界を認めた。個人ごとに、この成分の電流源推定を行い、標準脳表上に変換して比較したところ、右大脳半球の二次体性感覚野（SII）に、被験者に共通した活動部位を認めた（図 3 右）。これに関心領域として、脳活動を解析したところ、能動的な規則性弁別に関連した振幅差を認め（図 4）、これが健常者に共通した、テクスチャー弁別に關与する脳活動であると考えられた。

D. 考察

解析手法の標準化により、健常者に共通した、テクスチャー弁別に關与する脳磁界活動を検出することが出来た。その発生源は、右大脳半球の二次体性感覚野（SII）に同定された。動物実験や、ヒトの機能的 MRI 研究によって、SII がテクスチャー弁別に關与することが報告されており¹³⁻¹⁴⁾、今回の結果の妥当性を示唆した。近年、「急性疾患の通常経過あるいは創傷の治癒に要する適切な時間を超えて持続する痛み」である、所謂「慢性疼痛」において、大脳レベルの認知機構の關与を示唆する研究報告が相次いでいる。機能的 MRI を用いた研究では、機械的侵害刺激を加えた場合、慢性疼痛患者群においては visual analog scale（VAS）において健常者群よりも強い痛みが観察されたにもかかわらず、末梢からの痛みの主な中枢である視床の活動性は検出されず、一次体性感覚野（SI）、SII、帯状回、運動野、補足運動野の活動が出現する事が報告されている¹⁵⁾。即ち、慢性疼痛患者では、大脳レベルで疼痛認知機構が変化しており、これが、通常急性疼痛の治癒期間を超

えて持続する痛みの一因となっていることが示唆されている。冒頭で述べたように、油症患者では、異常感覚の一次的な原因と考えられる末梢神経障害は、客観的には経時的に改善しているものの、主観的な異常感覚の割合はむしろ増加している。この現象は、慢性疼痛と類似している点があり、油症患者においても、大脳レベルの感覚認知機構が変容した結果、末梢神経障害の程度からは説明のつかない主観的異常感覚を生じている可能性がある。従って、脳磁図を用いた大脳感覚認知機構の評価方法は、油症患者における主観的異常感覚のメカニズムを探る上で有用であると考えられる。また、今回確立した標準化解析手法は、油症患者と健常者の比較を容易にしておき、油症患者における異常感覚の病態解明への寄与が期待される。今回は実験装置の制約から、ピン型の刺激装置を用いて、テクスチャーを模した刺激を構築したが、実際のテクスチャーとは異なるため、より自然な条件での刺激が望ましい。今後は、より自然なテクスチャー刺激を用いた、新たに刺激装置を開発し、より多面的に大脳感覚認知機能を評価することを計画している。

E. 結論

脳磁図による計測と、標準化解析手法によって、健常者に共通したテクスチャー弁別に関わる脳活動を同定することができた。今後、油症患者と比較検討することで、油症患者の異常感覚に関与する脳活動を、非侵襲的かつ客観的に評価できると期待される。

F. 文献

- 1) 黒岩ら：福岡医誌 60: 462-463, 1969
- 2) 岩下ら：福岡医誌 68: 139-144, 1977
- 3) 柴崎ら：福岡医誌 72: 230-234, 1981
- 4) 古谷ら：福岡医誌 96: 152-156, 2005
- 5) 重藤ら：食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究, 平成 19 年

度 総括・分担研究報告書, 2008

- 6) Michalek JE, et al: Neurotoxicology 22: 479-490, 2001
- 7) Thömke F, et al: Acta Neurol Scand 100: 1-5, 1999
- 8) Barbieri S, et al: Neuroepidemiology 7: 29-37, 1988
- 9) Chia LG, et al: J Neurol Neurosurg Psychiatry 48: 894-901, 1985
- 10) Murai Y, et al: Neurology 21: 1173-1176, 1971
- 11) 重藤ら：食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究「感覚認知機能の客観的評価法の開発」, 平成 23 年度 分担研究報告書, 2012
- 12) Hämäläinen MS & Ilmoniemi RJ: Medical & biological engineering & computing 32: 35-42, 1994
- 13) Romo R, et al: Neuron 38: 649-57, 2003
- 14) Simões-Franklin C, et al: Hum Brain Mapp 32:1067-80, 2011
- 15) Ikemoto T, et al : Pain Research 18 : 137-144, 2003

G. 研究発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

図1. 刺激装置



図2. FreeSurferを用いた脳表抽出

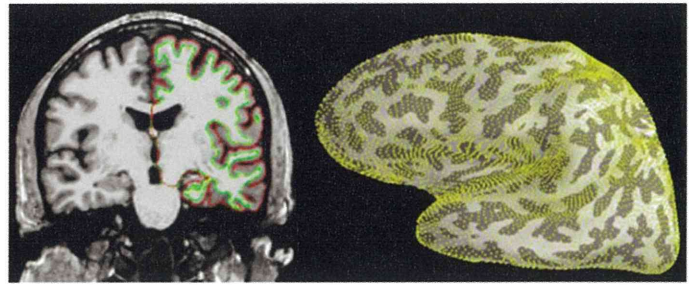


図3. FreeSurferを用いた脳表の標準化と関心領域の同定

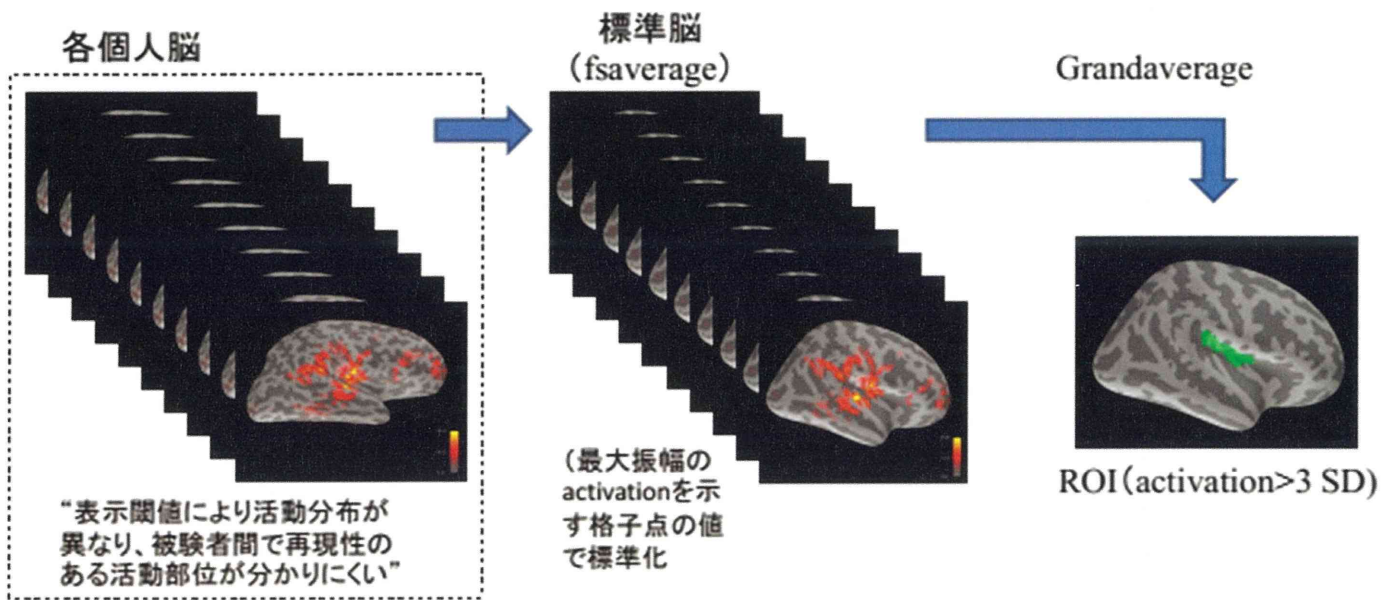
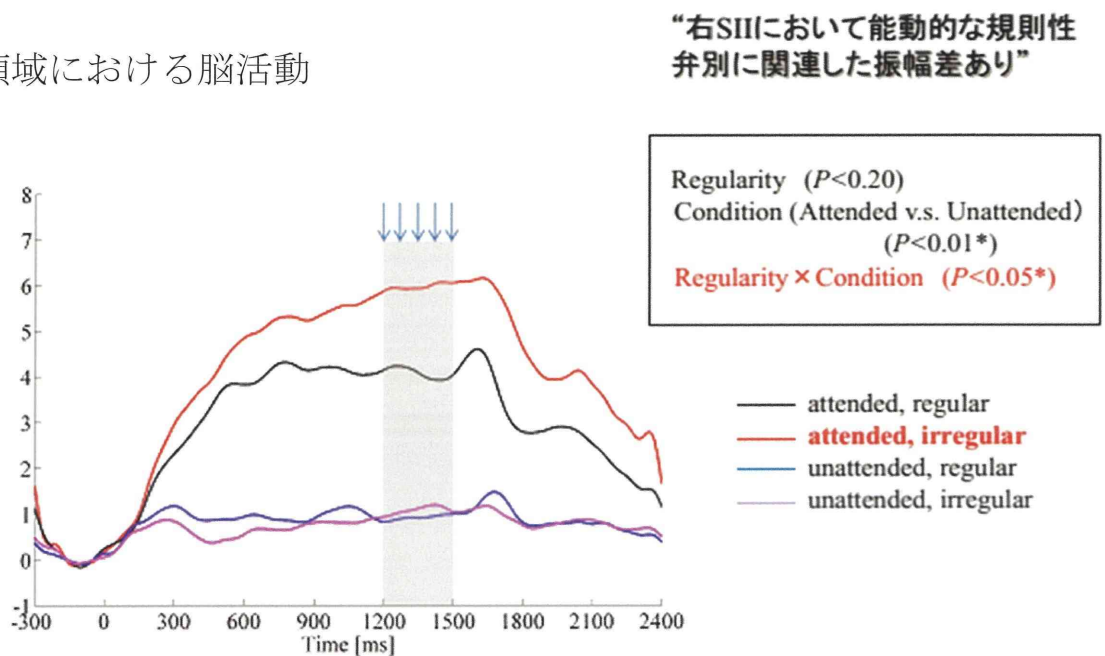


図4. 関心領域における脳活動



分担研究報告書

「クロレラ服用と血中ダイオキシン濃度との関連」の検証解析

研究分担者 徳永章二 九州大学病院メディカル・インフォメーションセンター 講師

研究要旨 カネミ油症患者がクロレラを服用すると血中ダイオキシン濃度が減少したという主張がなされた。本研究ではこの根拠となるデータを解析し、主張の妥当性を検証した。解析の結果、クロレラ服用後の血中ダイオキシン類濃度(脂質ベース)減少を示す明確な結果は得られなかった。一部のダイオキシン類では血中濃度が増加した可能性が示唆されるなど、解釈しがたい解析結果も得られた。

A. 研究目的

長山淳哉氏(福岡工業大学環境科学研究所、以下N氏と略す)によりカネミ油症患者に市販のクロレラ製品による介入研究が行われた。N氏はクロレラ投与により油症患者の血中ダイオキシン類濃度が低下したと主張している。本研究はN氏により提供された臨床試験の原データを解析し、クロレラ投与と血中ダイオキシンレベルとの関連を検証した。

B. 研究方法

対象者と方法

N氏の試験対象者は44名で、試験デザインはクロスオーバー・デザインであった。症例数の設定根拠は不明である。適格基準、除外基準は明確でない。22人ずつの2群に分け、片方には最初の8ヶ月間クロレラを投与し、次の8ヶ月間はクロレラを投与しなかった。残りの片方には最初の8ヶ月間クロレラを投与せず、次の8ヶ月間はクロレラを投与した。無作為な割付と推測されるが、層別化の有無や無作為化の方法など割付方法の詳細は不明である。

統計学的方法

ダイオキシン類の血中濃度は脂質中濃度を採用した。ダイオキシン類、及び、TEQのいずれも血中濃度は強く裾を引いた分布を示したため、対数変換を行った値を解析した。

ダイオキシン類の毒性等価量(TEQ)の計算にはWHOが1998年及び2005年に発表した毒性等価係数を用いて計算した。検出限界以下の異性体は検出限界値の1/2の値を代入した。

変化量については個人で複数回測定される事を考慮して変量効果モデル(random effects model)を適用し、パラメーターを最尤推定法により推定した。現在ではダイオキシン類血中濃度が環境から取り込まれるなどの要因で増加するとは考えにくいため、クロレラ投与後にダイオキシン類濃度が変化しない事を仮定したモデルとした。採用したモデルのシェーマを図1に示す。

感度分析:血中濃度がこのモデルに適合しない挙動を示す可能性を検討するため、モデルに依らない単純な比較も行った。対数変換した濃度変化値を同一患者でのク

クロレラ投与期間の前後で 1 標本 *t*-検定により比較した。加えて、クロレラ投与期間での変化値と無投与期間での変化値を 1 標本 *t*-検定により比較した。

対数変換値を解析したため、結果は変化割合を百分率 (%) で表した。検定にあたっては変化が起きた可能性を可能な限り検出するため片側検定を採用し、 $P < 0.05$ をもって統計学的に有意と判定した。統計学的解析は統計解析ソフト Stata ME Release 13.1 (Stata Corp. College Station, Texas, USA) によった。

(倫理面への配慮)

本研究においては匿名情報のみを取り扱った。解析用コンピュータ、及び、バックアップ用機器内のデータは暗号化された。機器のアクセスにはパスワードを不可欠とするなど、個人情報保護に厳重な配慮がなされた。

今回の解析データが得られた N 氏による臨床試験については試験計画が倫理委員会で承認されたのか不明である。患者に文書による同意が取られたかも不明である。

C. 結果

割付状況や試験期間中の対象者数の変化を図 1 に示す。適格性の検討が行われた人数は不明で、不適格者や拒否者の人数も不明である。ランダム化の対象は 44 人で、22 人ずつの 2 群に割り付けられた。試験期間前半にクロレラを投与された群は 2 人脱落し、3 回目のダイオキシン類濃度測定の対象となったのは 20 人であった。一方、後半にクロレラを投与された群は、前半の無投与の期間は脱落が無く、後半のクロレラ投与期間に 5 人の脱落があり、3 回目のダイオキシン類濃度測定の対象とな

ったのは 17 人であった。

患者の背景要因を表 1 に示す。性、居住県の分布は 2 群で同じであったが、理由は不明である。女性が 72.7% を占め、長崎県に居住する患者が 54.5% とやや多かった。1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDF、1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-HpCDF、OCDF は全症例で検出限界未満であったため解析項目から除外した。

解析結果を表 2 に示す。クロレラ投与後に血中濃度が統計学的に有意な減少を示したのは 2, 3, 7, 8-TCDF のみであった。1, 2, 3, 7, 8-PeCDD、33' 44' 55' -HxCB (#169) では統計学的に有意な増加が見られた。他に、Non-ortho PCBs 合計、Coplanar PCB 合計でも有意な増加を示し、TEQ では、PCDDs-TEQ (WHO-98)、PCDDs-TEQ (WHO-2005)、Non-ortho PCBs-TEQ (WHO-2005)、Coplanar-PCBs-TEQ (WHO-2005) のいずれでも有意な増加が見られた。

感度分析として、クロレラ投与期間での血中濃度変化、及び、クロレラ投与期間での変化値と無投与期間での変化値についても検討したが、クロレラ投与期間に有意な減少が見られたのは 2, 3, 7, 8-TCDD のみで、有意な増加が見られた場合もあった(解析結果の詳細は示していない)。

D. 考察

本研究はクロレラ投与の血中ダイオキリン類濃度減少効果を検証したとされる介入試験のデータを再解析しものである。その結果、明確な血中ダイオキリン類濃度減少効果は確認できなかった。

対象とした本試験では、計画や実施の段階における倫理性や研究デザインを確認する為に必要な情報が得られなかった。介入試験の結果を報告する国際的なガイドラインである CONSORT Statement では研究の倫理性や研究デザインなどの情報を

報告する事を求めているが、N氏はそれらの情報を明らかにしていない。例えば、患者の書面による試験参加の同意が得られたか、適格基準や除外基準、症例数の設定根拠が不明である。割付方法やデータの管理体制も不明である。

実施時の情報にも欠けている点がある。何人に参加の希望をつのり、拒否や不適格が何人なのか不明である。クロレラ投与時には脱落が 7 例見られたが無投与時には脱落が報告されていない。脱落は有害事象によるものかもしれないが、これについても情報は無い。このような情報の欠落は N 氏の試験の結果の評価を困難にしている。

本研究では血中ダイオキシン類濃度や T EQ を 34 項目解析したが、クロレラ投与後に統計学的に有意に減少したのは 1 種類のみで、統計学的に有意に増加した項目も複数あった。

感度分析 (sensitivity analysis) として単純な差を検討したが、クロレラ投与で減少することが示唆された 1 項目は主たる解析で減少が見られた項目とは異なっていた。

本解析では 30 以上の項目を検定しているので、 α エラーが 0.05 であることを考慮すると、全くランダムな変動によっても 1 項目の減少が見られた事は説明可能である。

以上のように N 氏の試験結果はクロレラ投与が血中ダイオキシン濃度を減少させる明確な根拠を提供できなかった。試験デザインや倫理的配慮について明確でなかったため、結果の妥当性の評価も困難であった。

E. 結論

N 氏が提出した臨床試験データを再解析した結果、クロレラ投与が血中ダイオキシ

ン類濃度を減少させる効果を示唆する解析結果は得られなかった。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

Schulz KF, Altman DG, Moher D for the CONSORT group. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Int Med* 2010;152:1-27.

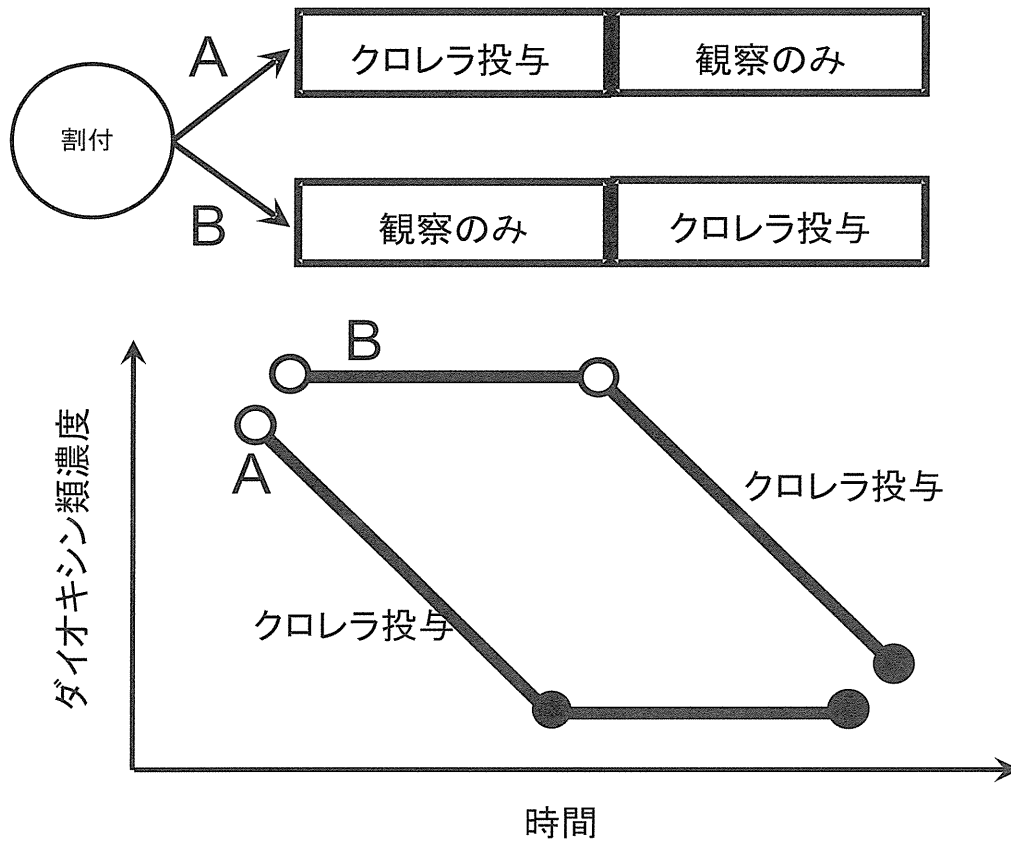


図 1. 変量効果モデルのシェーマ

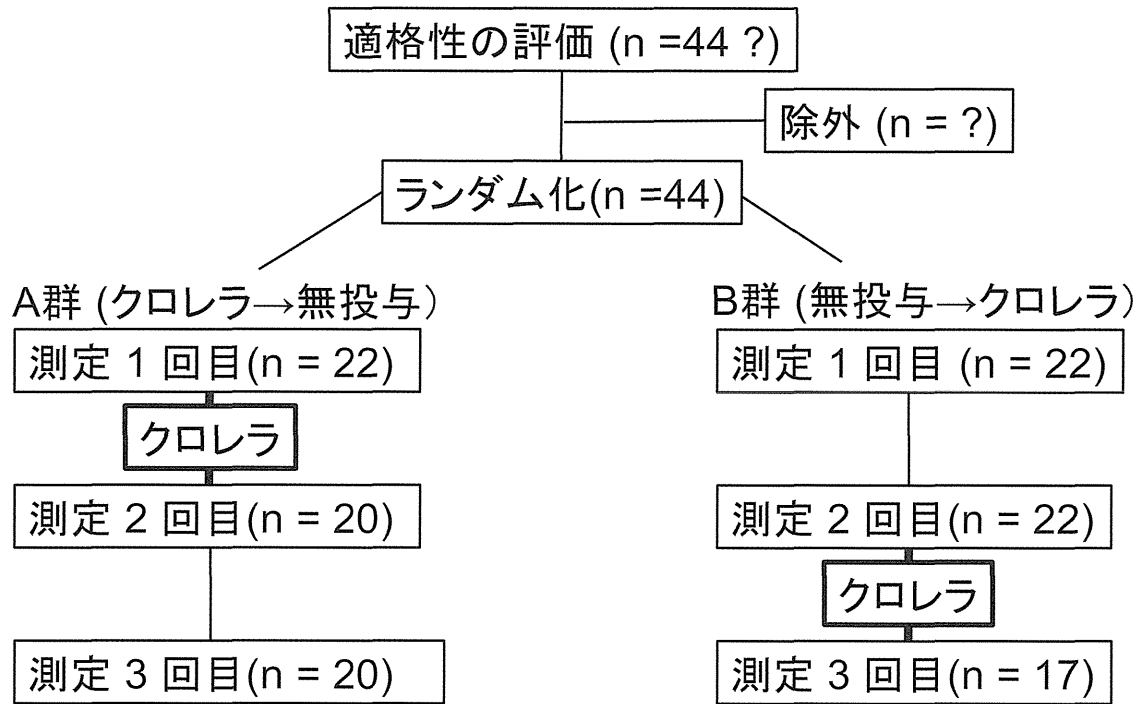


図 2. 被験者数のフローチャート

表 1. 参加者の背景要因

項目	割付群		合計 N=44
	A 群 (投与→無投与) N=22	B 群 (無投与→投与) N=22	
性			
男性	6 (27.3)	6 (27.3)	12 (27.3)
女性	16 (72.7)	16 (72.7)	32 (72.7)
年齢 (2010 年 3 月 31 日)	69.0 (39-75)	68.5 (54-76)	69.0 (39-76)
県			
福岡	10 (45.5)	10 (45.5)	20 (45.5)
長崎	12 (54.5)	12 (54.5)	24 (54.5)
脱落			
1 回目の測定後脱落	2 (9.1)	0 (0.0)	2 (4.5)
2 回目の測定後脱落	0 (0.0)	5 (22.7)	5 (11.4)
完遂	20 (90.9)	17 (77.3)	37 (84.1)
ダイオキシン類 (pg/lipid)			
2, 3, 7, 8-TCDD	1.8 (0.5-4.4)	2.0 (0.5-4.4)	1.9 (0.5-4.4)
1, 2, 3, 7, 8-PeCDD	10.6 (2.7-26.3)	9.9 (6.5-24.9)	10.4 (2.7-26.3)
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD	2.5 (1.0-8.1)	2.9 (1.0-6.7)	2.8 (1.0-8.1)
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD	37.9 (9.2-129.9)	35.3 (16.1-121.0)	35.5 (9.2-129.9)
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD	2.8 (1.0-8.4)	3.0 (1.0-10.8)	3.0 (1.0-10.8)
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD	38.5 (15.6-90.3)	37.0 (19.0-64.6)	38.1 (15.6-90.3)
OCDD	683 (304-1489)	685 (435-1462)	685 (304-1489)
2, 3, 7, 8-TCDF	2.2 (0.5-19.6)	1.9 (0.5-6.9)	2.1 (0.5-19.6)
1, 2, 3, 7, 8-PeCDF	1.4 (0.5-13.8)	0.8 (0.5-7.7)	1.1 (0.5-13.8)
2, 3, 4, 7, 8-PeCDF	123.3 (8.0-875.8)	122.3 (29.8-621.4)	122.3 (8.0-875.8)
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF	30.9 (1.0-221.3)	23.9 (3.5-135.0)	27.6 (1.0-221.3)
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF	13.9 (1.0-78.6)	14.7 (3.7-51.2)	14.4 (1.0-78.6)
2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF	1.0 (1.0-3.9)	1.0 (1.0-8.2)	1.0 (1.0-8.2)
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF	2.3 (1.0-6.1)	1.5 (1.0-24.2)	2.2 (1.0-24.2)
344'5-TCB(#81)	5.0 (5.0-41.7)	5.0 (5.0-16.5)	5.0 (5.0-41.7)
33'44'-TCB(#77)	5.0 (5.0-118.3)	5.0 (5.0-51.1)	5.0 (5.0-118.3)
33'44'5-PenCB(#126)	118.2 (15.9-475.5)	98.2 (46.5-325.1)	106.2 (15.9-475.5)
33'44'55'-HxCB(#169)	206.1 (24.6-560.0)	188.4 (121.3-418.4)	197.3 (24.6-560.0)

人数 (%) または中央値 (最小値-最大値)

注: 1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDF、1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-HpCDF、OCDF も測定しているが、全患者で検出限界未満であったため示していない。

表 2. クロレラ投与とダイオキシン類濃度及び TEQ の変化

ダイオキシン類	変化量(単位%) (90% 信頼区間)	P-value*
2, 3, 7, 8-TCDD	-2.37 (-5.48, 0.85)	0.11
1, 2, 3, 7, 8-PeCDD	2.47 (0.72, 4.26)	0.01
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD	0.01 (-4.63, 4.87)	0.50
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD	1.77 (0.61, 2.93)	0.006
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD	3.01 (-2.31, 8.61)	0.18
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD	2.23 (-0.47, 5.01)	0.09
OCDD	1.16 (-0.88, 3.24)	0.18
2, 3, 7, 8-TCDF	-4.30 (-8.08, -0.36)	0.037
1, 2, 3, 7, 8-PeCDF	-1.64 (-6.64, 3.63)	0.30
2, 3, 4, 7, 8-PeCDF	0.97 (-1.73, 3.74)	0.28
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF	-0.40 (-3.63, 2.93)	0.42
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF	-0.02 (-2.70, 2.73)	0.49
2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF	-0.26 (-3.08, 2.64)	0.44
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF	1.02 (-2.26, 4.41)	0.31
344'5-TCB(#81)	-1.21 (-2.69, 0.29)	0.09
33'44'-TCB(#77)	-2.75 (-6.22, 0.85)	0.10
33'44'5-PenCB(#126)	1.84 (-0.16, 3.88)	0.07
33'44'55'-HxCB(#169)	4.26 (2.63, 5.92)	<0.0001
Total PCDD	1.33 (-0.62, 3.31)	0.13
Total PCDF	0.45 (-1.91, 2.87)	0.38
Total PCDD/PCDF	1.35 (-0.31, 3.04)	0.09
Total Non-ortho PCBs	3.11 (1.61, 4.63)	<0.001
Total Coplanar PCB	3.11 (1.61, 4.63)	<0.001
Total PCDDs-TEQ (WHO-98)	1.84 (0.62, 3.08)	0.007
Total PCDFs-TEQ (WHO-98)	0.84 (-1.79, 3.53)	0.30
Total PCDDs/PCDFs-TEQ (WHO-98)	1.24 (-0.95, 3.48)	0.18
Total Non-ortho PCBs-TEQ (WHO-98)	2.35 (0.53, 4.20)	0.017
Total TEQ (WHO-98)	1.51 (-0.42, 3.48)	0.10
Total PCDDs-TEQ (WHO-2005)	1.84 (0.62, 3.08)	0.006
Total PCDFs-TEQ (WHO-2005)	0.78 (-1.82, 3.44)	0.31
Total PCDDs/PCDFs-TEQ (WHO-2005)	1.30 (-0.74, 3.38)	0.15
Total Non-ortho PCBs-TEQ (WHO-2005)	2.85 (1.19, 4.54)	0.002
Total Coplanar PCBs-TEQ (WHO-2005)	2.85 (1.19, 4.54)	0.002
Total TEQ (WHO-2005)	1.74 (0.00, 3.51)	0.05

*片側検定

分担研究報告書

ダイオキシンの大腸上皮細胞に与える影響

研究分担者 江崎 幹宏 九州大学大学院病態機能内科学 講師
研究協力者 東 晃一 九州大学大学院病態機能内科学

研究要旨 ダイオキシンの大腸上皮細胞に与える影響を研究するために、ヒト結腸癌由来細胞株 HCT-116 ならびに MUTYH 関連ポリポーシスモデルを用いて大腸癌に対する化学予防効果を有する celecoxib と 2,5-dimethyl-celecoxib (DMC) の腫瘍抑制効果を検討した。両薬剤は Wnt/ β カテニン系を介した細胞増殖抑制とアポトーシス亢進により腫瘍抑制効果を発揮した。さらには MUTYH 関連ポリポーシスモデルにおいて腫瘍数ならびに腫瘍径が抑制されることを確認した。今後は大腸炎症から腫瘍発生の過程におけるダイオキシンの関与を検討したい。

A. 研究目的

ダイオキシンが大腸癌発生のリスクか否かは未だ不明である。CA-AhR 受容体に影響を及ぼし、gain of function による腫瘍化の可能性が推測される。一方で、Wnt/ β カテニンシグナル系に対して抑制的に作用し抗腫瘍効果を有する可能性もある。そこで、ダイオキシンの大腸上皮細胞に与える影響を検討するために、celecoxib および 2,5-dimethyl-celecoxib (DMC) を用いて *in vitro* ならびに *in vivo* における抗腫瘍効果を検討した。なお、DMC は celecoxib の抗腫瘍活性を探る過程で生成された COX-2 阻害活性を有さず抗腫瘍活性を示す構造類似体である。

B. 研究方法

ヒト結腸癌由来細胞株 HCT-116 を用いて、celecoxib と DMC の影響を検討した。検討方法として、細胞増殖数、Wnt/ β カテニンシグナル伝達経路の主要な転写因子である TCF7L2 の発現に及ぼす効果、および同シグナル伝達系の標的遺伝子である c-myc と cyclin D1 発現に及ぼす効果を検討した。さらに、caspase-3 活性、

survivin 発現についても検討した。Tcaspase-3 活性は比色法により、その他の蛋白発現は western blotting を用いて測定した。

C. 研究結果

Celecoxib、DMC はそれぞれ 30 μ M、50 μ M、100 μ M の濃度で投薬し、24 時間後の細胞数を評価した。DMC では 30 μ M から、celecoxib は 50 μ M からコントロールに比べて有意な細胞数の低下を認めた。

次に、Wnt/ β カテニンシグナル伝達経路に対する両薬剤の影響を検討するために、TCF7L2 発現を検討した。その結果、いずれの薬剤においても、濃度依存的かつ時間依存的に TCF-7L2 の蛋白発現を抑制したが、DMC の方が celecoxib より低濃度での作用発現を認めた。Wnt/ β カテニンシグナル伝達経路の標的蛋白である cyclin D1 および c-Myc の発現は、celecoxib (100 μ M)、DMC (50 μ M) で有意な発現抑制を認めた。

一方、アポトーシス作用に対する celecoxib と DMC の影響を検討するために、caspase-3 活性および survivin の発現を検討した。その結果、両薬剤ともに

caspase-3 活性は上昇し、survivin 発現は低下していた。

次に、4 週齢の *Mutyh*^{-/-}マウスに対し 0.2%臭酸化カリウム水を 12 週間飲水させ酸化ストレスを負荷し、腸管の腫瘍発生を促進させた後、対象群、celecoxib 投与群、DMC 投与群に振り分け、腫瘍発生数を計測した。その結果、celecoxib 群、DMC 群のいずれにおいても、腫瘍数 (>1mm)、腫瘍径ともに有意に抑制されていた。

D. 考察

本研究では、最初に大腸癌由来の培養細胞を用いて、COX-2 選択的阻害剤である celecoxib と COX-2 阻害活性を有しない構造類似体である DMC の抗腫瘍効果を検討した。その結果、celecoxib と DMC はいずれも細胞増殖活性を抑制かつアポトーシス作用を増強させることにより、ヒト結腸癌由来細胞株 HCT-116 の増殖を抑制することが確認できた。すなわち、DMC は COX-2 阻害活性を有しないことから、非ステロイド性消炎鎮痛薬の抗腫瘍効果はプロスタグランジン非依存性に発現する可能性が示唆された。

次に、*Mutyh*^{-/-}マウスを用いて celecoxib および DMC を 4 週間経口投与させたところ、いずれの薬剤においても腫瘍数、腫瘍径が対照群に比べて抑制されることが確認されたことから、培養系実験で確認された両薬剤の抗腫瘍効果は生体内でも認められることが確認できた。

以上のように、モデルマウスを用いた実験でも培養系実験と同様の結果を得られたことから、これら一連の実験系はダイオキシシンによる大腸上皮細胞への影響を検討し得る実験系であることが示唆された。

一方で、ダイオキシシンは大腸癌のみならず再燃・寛解を繰り返す原因不明の難治性炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎との関連についてもその関連が示唆されて

いる。さらに、潰瘍性大腸炎は長期経過例では高率に大腸癌合併頻度が増大することが知られている。今後は大腸炎から腫瘍発生過程において、ダイオキシシンを用いた検討を行っていきたい。

E. 結論

HCT-116 の細胞培養系ならびに *Mutyh*^{-/-}マウスを用いることで、ダイオキシシンが腫瘍細胞に与える影響を検討することが可能と思われた。

F. 健康危険情報

現時点ではない。

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

分担研究報告書

PCB101代謝に関与する新たなチトクロムP450分子種の解明

研究分担者 古賀 信幸 中村学園大学栄養科学部 教授
 研究協力者 太田 千穂 中村学園大学栄養科学部 講師

研究要旨 PCB52、PCB101およびPCB149は、phenobarbital (PB)誘導性チトクロムP450(CYP2B)により代謝され、主にmeta位が水酸化される。一方、PBはCYP2B酵素以外にもCYP3A酵素も誘導することが知られている。当研究室では昨年までにPCB149のラット肝ミクロゾーム(Ms)による代謝がCYP2B酵素だけではなく、CYP3A酵素によっても触媒されることを明らかにした。そこで本研究ではPCB101代謝におけるCYP3A酵素の関与を明らかにするため、CYP3A誘導剤(DEX: dexamethasone)とCYP3A阻害剤(KCZ: ketoconazole)の効果を調べた。PCB101は、主に3'-OH体へと代謝されるが、その他4'-OH体と3',4'-diOH体も生成される。その結果、DEX前処理ラット肝Msでは、3'-OH体が未処理ラット肝Msの18倍に増加し、新たに3',4'-diOH体の生成も見られた。次に、KCZを添加したところ、25 μ Mで3'-OH体の生成が約40%までに阻害された。以上の結果から、PCB101の3'位水酸化において、ラットCYP2B1だけではなくラットCYP3A1も強く関与することが明らかになった。

A. 研究目的

2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl (PCB52)、2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (PCB101)、2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (PCB149)、2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (PCB153) および 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (PCB 183)はortho位に2個以上の塩素が置換されたPCB異性体である。このうち、PCB52、PCB101およびPCB149などのように、meta-para位に塩素が置換されていないPCB異性体は、塩素数が多いにもかかわらず、比較的容易に代謝される¹⁻⁴⁾。また、共通してphenobarbital (PB)誘導性チトクロムP450、すなわちCYP2B酵素により、主にmeta位が水酸化される¹⁻⁴⁾。

これまでPCBの水酸化反応にはCYP1A、CYP2BおよびCYP2A酵素の関与が知られているが⁴⁾、一方、PBはCYP2B酵素以外にCYP3A酵素も誘導することから⁵⁾、PCB代謝におけるCYP3A酵素の関与に興味を持たれる。また、CYP3A酵素はヒト肝において最も

含量が多く、薬物代謝の約50%に関与する重要な代謝酵素として知られている。

これまでに、当研究室ではラット肝ミクロゾーム(Ms)によるPCB149代謝を調べ、主代謝物の5-OH体がCYP3A誘導剤のdexamethasone (DEX)前処理により顕著に増加すること、またCYP3A阻害剤のketoconazole (KCZ)添加で5-OH体の生成が強く阻害されることを明らかにした。そこで本年度は、PCB101代謝におけるCYP3A酵素の関与を明らかにするため、PCB149同様に、CYP3A酵素の誘導剤と阻害剤を用いて検討した。

B. 研究方法

① 実験動物および薬物処理: Wistar 系雄性ラット(体重約 250g)を用いた。肝 Ms の調製は未処理および DEX 前処理ラットより肝を摘出し、常法により行った。DEX は 100mg/kg (コーン油に溶解)の用量を毎日1回、3日間腹腔内に投与した。最終投与後翌日に屠殺

し、直ちに肝を摘出した。

② PCB101 代謝活性: PCB101 を NADPH 存在下、好氣的にラット肝 Ms とともに HEPES 緩衝液(pH 7.4)中で、37°C、20~60 分間インキュベート後、chloroform-methanol (2:1, v/v) および *n*-hexane で抽出し、diazomethane でメチル化後、GC-ECD にて測定した。代謝物の定量は PCB101 の検量線を用いて行った。

③ 代謝阻害実験: PCB101 代謝の阻害は、CYP3A 阻害剤の ketoconazole (KCZ)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、ラットの屠殺に際しては、苦痛をできるだけ軽減するため、軽くエーテル麻酔後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

PCB101 は未処理 Ms により 3'-OH 体と 4'-OH 体に代謝された(Fig. 1)。次に PCB101 の検量線を用いて生成活性を調べたところ、いずれも約 2 pmol/min/mg protein であった。一方、DEX 前処理 Ms では、3'-OH 体は未処理 Ms の 18 倍に顕著に増加したが、4'-OH 体は未処理 Ms の 6% まで激減した(Fig. 2)。また、未処理 Ms で見られなかった 3',4'-diOH 体が、新たに生成された(5.5 pmol/min/mg protein)。

次に、KCZ による PCB101 代謝の阻害を試みた結果、DEX 前処理 Ms では 25 μM 添加で 3'-OH 体の生成は KCZ 未添加時の約 40% までに有意に阻害された(Fig. 3)。また、4'-OH 体および 3',4'-diOH 体の生成は、もともと少なかったのであるが、いずれも DMSO のみの添加で生成が全く見られなくなった。

D. 考察

今回、DEX 前処理の結果、ラット肝 Ms に

よる PCB101 代謝において、3'-OH 体の顕著な増加と 3',4'-diOH 体の新たな生成が観察された。さらに、これらの活性の増加は、CYP3A1 タンパクの顕著な増加とよく一致していた(未掲載)。また、CYP3A 酵素の特異的な阻害剤 KCZ の添加により、3'-OH 体の生成が強く阻害された。これらの結果から、ラット肝における PCB101 の 3'位水酸化には、ラット CYP2B1 に加えラット CYP3A1 も関与することが示唆された。

E. 結論

ラット肝において PCB101 は、PCB149 と同様に、主に CYP2B1 と CYP3A1 により代謝されることが明らかになった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 太田千穂, 原口浩一, 加藤善久, 遠藤哲也, 古賀信幸, 2,2',3,4',5,5'-六塩素化ビフェニル(CB146)の *in vitro* 代謝の動物種差. 福岡医誌, **104**(4), 161-169 (2013).
- 2) K. Yamamoto, A. Yahada, K. Sasaki, A. Funakoshi-Yoshida, C. Ohta, N. Koga, and H. Ohta, Detection of adulterated Shiikuwasha juice by sensory evaluation, colorimetric value and volatile compounds. Food Sci. Technol. Res., **19**(5), 843-848 (2013).
- 3) Y. Kato, M. Onishi, K. Haraguchi, S. Ikushiro, C. Ohta, N. Koga, T. Endo, S. Yamada and M. Degawa, A possible mechanism for 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice. Biol. Pharm. Bull., **36**(10), 1594-1601 (2013).
- 4) O. Kimura, C. Ohta, N. Koga, K. Haraguchi, Y. Kato, and T. Endo, Carrier-mediated uptake of nobiletin, a citrus polymethoxy-

flavonoid, in human intestinal Caco-2 cells.
Food Chem., **154**, 145-150 (2014).

2. 学会発表

1) C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, O. Kimura, N. Koga, In vitro metabolism of 2,2',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB99) by rat and guinea pig liver microsomes.

Organohalogen Compounds, **75**, 1475-1478 (2013). 33th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Interburgo Hotel, Daegu, Korea)

平成 25 年 8 月 25~30 日

2) 西村恵理、太田千穂、原口浩一、遠藤哲也、加藤善久、古賀信幸、海洋生物由来 2,2'-dimethoxy-BB80 のラット肝ミクロゾームによる代謝と抗酸化活性. フォーラム 2013: 衛生薬学・環境トキシコロジー (九大医学部百年講堂、福岡市) 平成 25 年 9 月 13, 14 日

3) N. Koga, M. Matsuoka, C. Ohta, Y. Kato, K. Haraguchi, O. Kimura, T. Endo, In vitro metabolism of 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone by rat liver microsomes. IUNS 20th International Congress of Nutrition (Granada, Spain) 平成 25 年 9 月 15-20 日

4) C. Ohta, Y. Kato, K. Haraguchi, N. Koga, In vitro metabolism of diosmetin and hesperetin by rat liver microsomes. IUNS 20th International Congress of Nutrition (Granada, Spain) 平成 25 年 9 月 15-20 日

5) 緒方 瞳、太田千穂、原口浩一、遠藤哲也、木村 修、加藤善久、山本健太、古賀信幸、テトラメトキシフラボノイド類のラット肝ミクロゾームによる代謝. 日本栄養・食糧学会九州沖縄支部会 (九州大学農学部、福岡市) 平成 25 年 10 月 18, 19 日

6) 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、古賀信幸、海洋生物由来 tetrabromoveratrole (TBV)の動物肝ミクロゾームによる代謝. 日本薬学会第 134 年会 (熊本大学、熊本市) 平成 26 年 3 月 28~31 日

7) 加治佐彰悟、河村忠彦、原 雄一、西村恵理、原口浩一、太田千穂、古賀信幸、二枚

貝(Spondylus sp.)に検出される臭素化カテコールおよびグアヤコールの濃縮特性. 日本薬学会第 134 年会 (熊本大学、熊本市) 平成 26 年 3 月 28~31 日

8) 遠藤哲也、木村 治、原口浩一、太田千穂、古賀信幸、Caco-2 細胞におけるアリストロキア酸の細胞内取込み機構. 日本薬学会第 134 年会 (熊本大学、熊本市) 平成 26 年 3 月 28~31 日

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

I. 参考文献

1) N. Koga, C. Ohta, K. Haraguchi, M. Matsuoka, Y. Kato, T. Endo, 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).

2) 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. 福岡医誌, **98**, 236-244 (2007).

3) C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, N. Koga, Metabolism of 2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (CB149) by liver microsomes from rats, hamsters, guinea pigs and humans. *Organohalogen Compounds*, **71**, 298-301 (2009).

4) 古賀信幸、太田千穂、油症研究Ⅱ—治療と研究の最前線—(古江増隆ら、編). 九州大学出版会, pp. 200-218 (2010).

5) H. Kim, D.A. Putt, R.C. Zangar, C.R. Wolf, F.P. Guengerich, R.J. Edwards, P.F. Hollenberg, R.F. Novak, Differential induction of rat hepatic cytochromes P450 3A1, 3A2, 2B1, 2B2, and 2E1 in response to pyridine treatment. *Drug Metab. Dispos.*, **29**, 353-360 (2001).

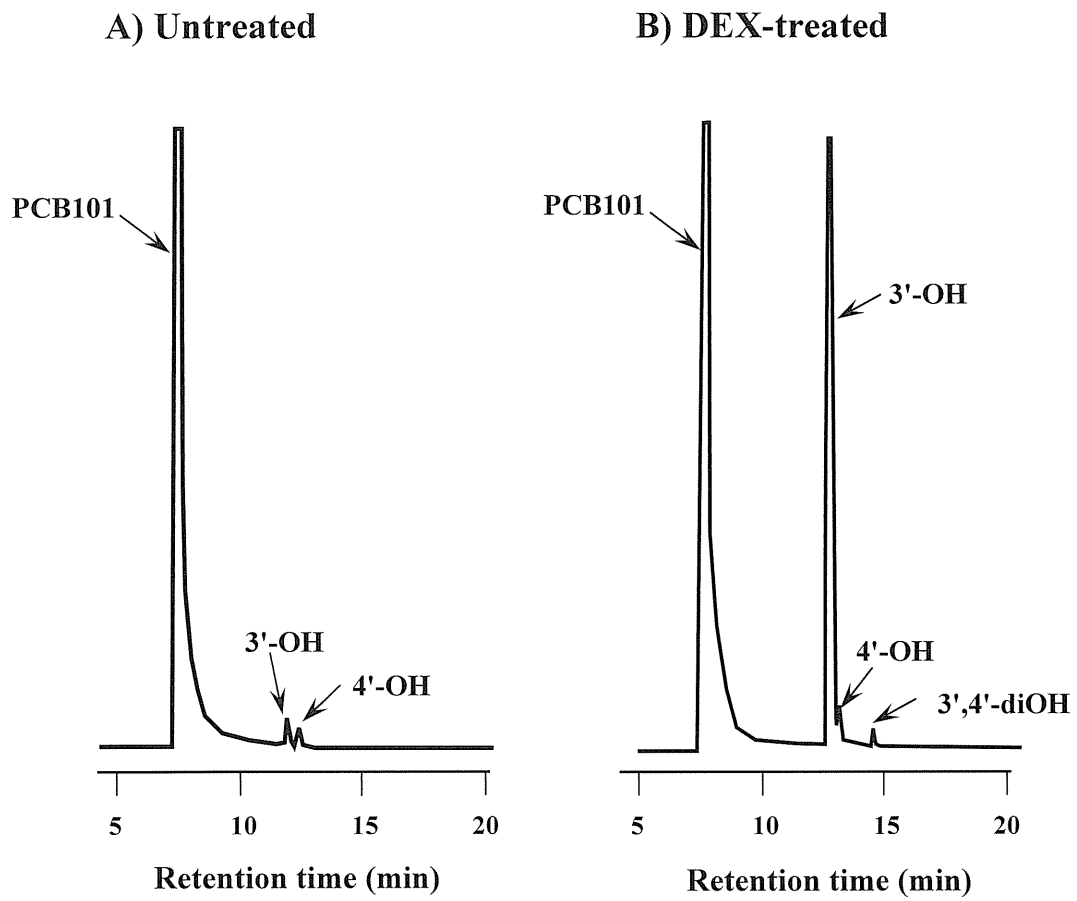


Fig. 1 PCB101 代謝物(メチル化体)の GC-ECD クロマトグラム

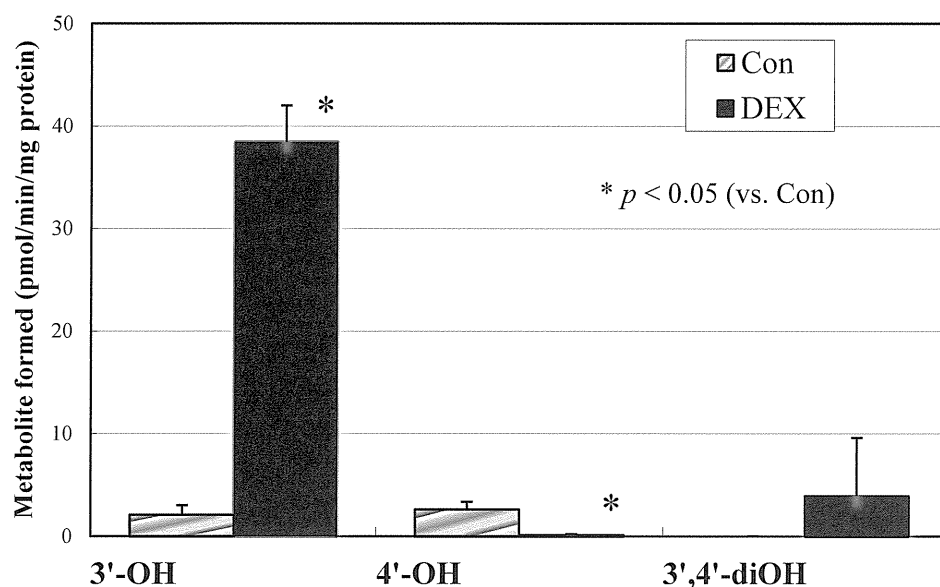


Fig. 2 DEX 前処理ラット肝ミクロゾームによる PCB101 代謝物

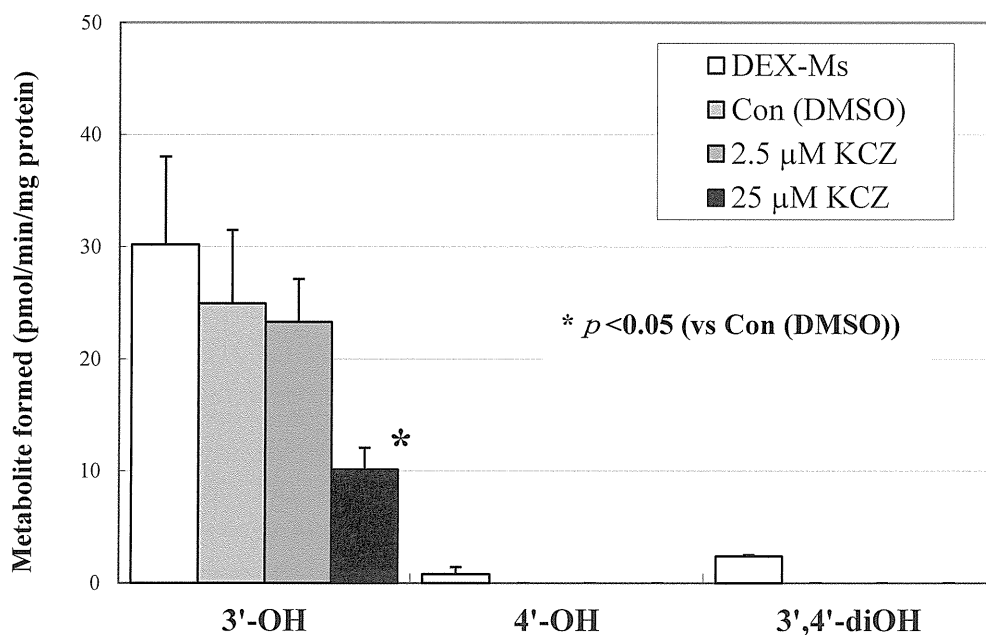


Fig. 3 DEX 前処理ラット肝 Ms による PCB101 代謝物生成に及ぼす KCZ の添加効果

分担研究報告書

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義の検討

研究分担者	山田 英之	九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野	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分野	准教授
研究協力者	武田 知起	九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野	助教

研究要旨 昨年度までの研究により、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) がラット肝臓において leukotriene (LT) B4 合成系の亢進を介して LTB4 を蓄積させる可能性を見出した。引き続き本年度は、この毒性学的意義の検討を行った。メタボローム解析の結果、昨年度までの成果と一致して、TCDD 曝露により肝臓において LTB4 増加ならびに LTC4 減少が示唆され、LTB4 の増加の程度はおおよそ 20 倍程度と推測された。さらに、LTB4 作用のマーカーである myeloperoxidase (MPO) 活性が TCDD 曝露により有意に増加し、LTB4 の肝への蓄積を支持した。続いて、LTB4 増加の毒性学的意義を検討するため、LTB4 を充填した浸透圧ポンプを腹腔内に埋め込むことで LTB4 を持続的に処理し、ダイオキシンと同様の毒性が生じるか否かを解析した。その結果、LTB4 持続注入により、肝 MPO 活性が TCDD 曝露時と同程度にまで増加し、肝において LTB4 作用が生じていることが確認された。しかし、TCDD において認められる肝肥大、胸腺萎縮ならびに体重増加抑制は LTB4 処理では出現しなかった。以上の結果から、少なくともこれらの毒性指標で見ると、LTB4 はその発現決定因子ではないことが示唆された。

A. 研究目的

ダイオキシンは、消耗症、肝障害および免疫機能障害等の多様な毒性を引き起こす (1)。これらの多くは、細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体 (AhR) の活性化を起点とした遺伝子発現変動に基づくと考えられている (2, 3)。ダイオキシン依存的に変動する遺伝子は 200 種類以上も存在するが (3, 4)、どの変動が毒性に直結するかは殆ど理解されていない。当教室ではこの問題解決の糸口を得るための新たな試みとして、超分解能液体クロマトグラフィー／飛行時間型質量分析計 (UPLC-TOF-MS) を用いたメタボローム解析を実施し、最強毒性のダイオキシンである 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) がラット肝臓の leukotriene (LT) B4 を蓄積させる可能性を見出した (平成

23 年度分担研究報告書)。さらに、肝 LTB4 蓄積は LT 合成の律速酵素である 5-lipoxygenase の誘導と、LTC4 synthase の減少に基づく可能性も示した (平成 24 年度分担研究報告書)。LTB4 は、強力な白血球遊走作用をもつ脂質炎症メディエーターである (5)。従って、これの肝への異常蓄積は毒性学的観点から重要と考えられる。そこで本研究では、LTB4 増加の毒性学的意義の検討を行うため、ラットへの LTB4 投与が TCDD と同様の毒性を惹起しうるか否かを解析した。

B. 研究方法

1. 実験動物および薬物処理

Wistar 系雄性ラット (4 週齢) を一週間馴化させたのち、以下に従って TCDD および LTB4 処理を行った。TCDD は 60

$\mu\text{g}/\text{kg}/2 \text{ mL}$ コーン油の用量で単回経口投与した。対照群にはコーン油を投与した。投与 7 日後に臓器 (肝臓、脾臓および胸腺) を採取し重量を測定した。肝臓は採取したのち実験に供した。LTB4 の処理では、本物質を充填した浸透圧ポンプを体内に埋設し、持続注入法によって処理を行った。すなわち、セボフルラン吸入麻酔下において腹部を 2 cm 程度切開し、あらかじめ LTB4 を充填し先端にゴム管を装着した浸透圧ポンプ (流出速度: $10 \mu\text{L}/\text{時間}$) を腹腔内に留置した。切開部を縫合および消毒したのち継続飼育した。LTB4 は 0.75 および $7.5 \text{ ng}/\mu\text{L}$ の濃度で PBS に溶解しポンプに充填した。なお、対照群も同様の手術を施し、溶媒のみを充填したポンプを埋め込んだ。手術翌日より一日一回体重を測定し、手術 7 日後に臓器 (肝臓および胸腺) を採取し重量を測定するとともに、摘出した肝臓は実験に供した。

2. メタボローム解析

肝臓は、4 倍量の 50 mM Tris-HCl [$\text{pH}7.4$; 1 mM EDTA、 1 mM EGTA、 $1 \times \text{protease inhibitor cocktail}$ (Roche Diagnostic 社)、 1 mM NaF] にてホモジナイズしたのち、 $2000 \times \text{g}$ で 10 分間遠心分離した。得られた上清を、水-メタノールを用いて極性成分を抽出したのち、C18 カラムを装着した UPLC-TOF/MS に付してメタボローム変動を解析した。データ解析は、主成分分析法および直交型部分的最小二乗法を用いて行った。後者により得られた S-plot をもとに有意な変動 (相関係数が 0.8 以上または -0.8 以下) を示す質量イオン (m/z) を抽出し、質量と保持時間をデータベースと照合することにより変動成分を推定した。参照したデータベースは以下の通り: Human Metabolome Database (URL: <http://www.hmbd.ca>) および Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (URL: <http://www.genome.jp>)。

3. Myeloperoxidase (MPO) 活性 (6)

本解析には、上記のメタボローム解析と同様の手法にて調製した肝 $2000 \times \text{g}$ 上清を用いた。本サンプル $3 \mu\text{L}$ に 50 mM リン酸バッファー [$\text{pH} 6.0$; $0.157 \text{ mg}/\text{mL}$ O-dianisidine (Sigma-Aldrich 社)、 0.005% 過酸化水素] を $100 \mu\text{L}$ 加えて 5 分間室温放置したのち、 450 nm の吸光度を測定した。活性算出のための基準活性は、ヒト MPO (Carlbiochem 社) を使用し、サンプルと同様に反応させたのちに吸光度を測定して求めた。

(倫理面への配慮)

本研究における全ての動物実験は、「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上で、動物の苦痛を排除して実施した (動物実験承認番号: A25-037-0)。

C. 研究結果

LTB4 処理による影響を検討するに先立ち、TCDD による急性毒性の発現と LTB4 増加等のメタボローム変動が惹起されることの再確認を試みた。検討の結果、 $60 \mu\text{g}/\text{kg}$ TCDD の単回経口投与により、代表的な急性毒性である体重増加抑制、肝肥大ならびに胸腺萎縮が生じ (Fig. 1)、LTB4 増加ならびに LTC4 減少をはじめとする多数のメタボローム変動が推定された (Fig. 2 and Table 1)。また、今回の解析によって TCDD 依存的な LTB4 増加の程度はおよそ 20 倍であることが示唆された。さらに、LTB4 の肝臓への集積を支持して、LTB4 作用 (好中球活性化作用) のマーカーである MPO 活性が TCDD 依存的に誘導されることが明らかになった (Fig. 3A)。

LTB4 増加の毒性学的意義を検討するため、ラットへの LTB4 投与により TCDD と同様な毒性が再現できるか否かを解析した。浸透圧ポンプを用いた LTB4 持続的投与により、肝 MPO 活性は用量依存的に増大し (Fig. 3B)、投与した LTB4

が肝臓にも作用することが示唆された。なお、高用量の LTB₄ 処理 (7.5 ng/μL) による MPO 活性の上昇は、TCDD 処理とほぼ同程度にまで認められた。しかし、TCDD 処理により認められる体重増加抑制、肝肥大、並びに胸腺萎縮は、LTB₄ 処理によっては観察されなかった (Fig. 4)。

D. 考察

本年度の研究では、TCDD 依存的な肝 LTB₄ 増加と毒性との関連性を検討するため、LTB₄ を充填した浸透圧ポンプをラット腹腔内に埋め込み、LTB₄ が体重増加および臓器重量に及ぼす影響を解析した。その結果、本検討で用いた条件の LTB₄ 処理においては、TCDD により認められる体重増加抑制や臓器重量変化は生起せず、肝 LTB₄ 蓄積はこれらの発現に寄与しないことが示唆された。

本検討では、LTB₄ の消失半減期が 1 分未満であるという事実 (7)、並びに予備的に行った静脈内投与方法による検討では MPO 活性に影響が生じなかった結果に基づき、持続的投与方法によって LTB₄ の影響を評価した。さらに、肝臓中 LTB₄ 含量が 1~2 ng/g tissue 程度であること (8)、並びにメタボローム解析によって TCDD による増加倍率が 20 倍程度と推定されたことから、7.5 および 75 ng/hr を曝露濃度として設定した。本検討では、肝臓中の LTB₄ レベルの定量は行っていないが、MPO 活性の誘導で見ると、本検討での処理条件は 60 μg/kg TCDD によって出現する LTB₄ 蓄積状況に近似すると考えられる。しかし、MPO は LTB₄ 以外の複数の炎症性サイトカインによっても誘導されるので (9)、TCDD による MPO 活性の上昇が LTB₄ の増加だけで誘起されるか否かは今後の解析が必要である。昨年度の研究結果から、TCDD は少なくとも肺においては LTB₄ 合成系酵素の発現を変動させないことから、LTB₄ 増加には臓

器選択性が存在する可能性が考えられる。一方、本実験では腹腔内への投与での検討であったため、全身において LTB₄ が上昇していると予想される。すなわち、LTB₄ が他の臓器において炎症を誘発し、生じた炎症性サイトカインによって二次的に肝臓での MPO 活性が上昇した可能性も否定できない。LTB₄ の肝への蓄積の毒性学的意義をより明確にするため、今後 LTB₄ レベルの定量結果に基づいて投与量を設定して解析を行うとともに、肝臓に選択的に集積する LTB₄ 処理法による解析や他の毒性を対象とした検討も必要と思慮される。

E. 結論

TCDD による肝 LTB₄ 増加は、肝肥大、胸腺萎縮ならびに体重増加抑制の発現に対して寄与は低いものと推定された。

F. 研究発表

1. フォーラム 2013: 衛生薬学・環境トキシコロジー (福岡、2013 年 9 月)
2. 日本薬学会第 134 年会 (熊本、2014 年 3 月)

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

H. 参考文献

- 1) Poland, A., Knutson, J.C., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **26**: 371-399 (1982).
- 2) Fernandez-Salguero, P.M., Hilbert, D.M., Rudikoff, S., Ward, J.M., Gonzalez, F.J. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **140**: 173-179 (1996).
- 3) Mimura, J., Fujii-Kuriyama, Y., *Biochim. Biophys. Acta*, **1619**: 263-268 (2003).
- 4) Frueh, F.W., Hayashibara, K.C., Brown, P.O., Whitlock, J.P. Jr., *Toxicol.*