

令和元年6月18日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02989

研究課題名(和文)オミックス解析によるイエネコの毒性発現機構の解明

研究課題名(英文) Toxicological assessment of organohalogen contaminants in cat (Felis catus) omics approach

研究代表者

野見山 桂 (Nomiyama, Kei)

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・准教授

研究者番号：30512686

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：ネコを対象にPCBs12異性体混合物の曝露試験を実施し、血液・肝臓・脳を対象にトランスクリプトームおよびメタボローム解析を実施した。

トランスクリプトームでは、21890遺伝子のうちPCBs曝露群で531遺伝子が有意に変動した。パスウェイ解析の結果、炎症や感染症関連経路への影響が認められ、PCBsによる免疫系への影響が示唆された。

血清を対象としたメタボローム解析では、122種のメタボロームが有意な変動を示した。パスウェイ解析の結果、ペントースリン酸回路、ヒスチジン代謝系等の中心炭素代謝に関連するメタボロームが減少しており、PCBs曝露に伴うこれらの代謝経路の抑制が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりネコが有機ハロゲン化合物に高濃度曝露され、免疫系や甲状腺系、酸化ストレスの増大等の多様な悪影響を受けていることが示唆された。ネコのin vivo試験を実施した研究は極めて少なく、ペット動物の汚染実態と生理学的健康リスクの評価といった包括的なアプローチを試みた研究は世界的にみても例がなく、本申請研究成果は先導的である。

ネコは身近なペット動物であるにも関わらず、化学物質による汚染の実態と生体影響を調査した事例は乏しい。ヒトと生活環境を共にすることで、ネコは多種多様な化学物質に曝露されていることが予想される。本研究で化学物質の曝露と影響の一端が示され、学術的・社会的波及効果は大きい。

研究成果の概要(英文)：In vivo exposure of 12 PCB congeners mixture were conducted on cats, and analyzed transcriptome and metabolome in blood, liver and brain.

Of the 21890 genes in the transcriptome, 531 genes showed significant differences in the PCBs-exposed group. As a result of the pathway analysis, the inflammation and infection related pathways are affected, and the influence on the immune system by PCBs was suggested.

In metabolome analysis of serum, 122 metabolites showed significant difference. As a result of pathway analysis, metabolome related to central carbon metabolism such as pentose phosphate pathway and histidine metabolic system decreased, suggesting suppression of these metabolic pathways accompanying PCBs exposure.

研究分野：環境分析化学・環境毒性学・異物代謝学

キーワード：ネコ PCBs OH-PCBs トランスクリプトーム メタボローム in vivo PBDEs

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ポリ塩化ビフェニル (PCBs) および電子・電気機器やプラスチック製品に含まれる難燃剤のポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDEs) は、難分解性、生物蓄積性を有し、発ガン性、内分泌攪乱性などの毒性を示すことが知られている。

近年、イエネコ (*Felis silvestris catus*) は有機ハロゲン化合物の代謝力・排泄能が弱く、これらの汚染物質を高蓄積していることが報告されている。米国の先行研究では、ペットのネコ血中から高濃度の PBDEs が検出されており、増加する甲状腺機能亢進症との関連性が強く疑われている (Dye et al., 2007, *Environ. Sci. Technol.*, 41, 6350-6356)。さらに、甲状腺機能の攪乱には PCBs, PBDEs が体内に吸収された後に生成する水酸化代謝物 (OH-PCBs, OH-PBDEs, プロモフェノール: BPhs) の関与も疑われている (図 1)。しかしながら、ペットのネコを対象とした化学物質汚染に関する国内の研究事例は極めて少ない。水酸化代謝物の一部は甲状腺ホルモン (THs) と構造が類似しているため、血中で甲状腺ホルモン輸送タンパクに競合結合し、THs の恒常性を攪乱することが示唆されている。したがって、ペットの血中 THs を正確に分析することは重要な課題であるが、現在の臨床試験において一般的に用いられている免疫測定法では、抗体の特異性による異常値の出現が指摘されており、ヒト以外の動物における分析精度は疑問視されている (Kunisue et al., 2011, *Environ. Sci. Technol.*, 45, 10140-10147)。そのため、ペットの THs 濃度を高精度で分析した報告は少なく、化学物質汚染による影響は明らかにされていない。

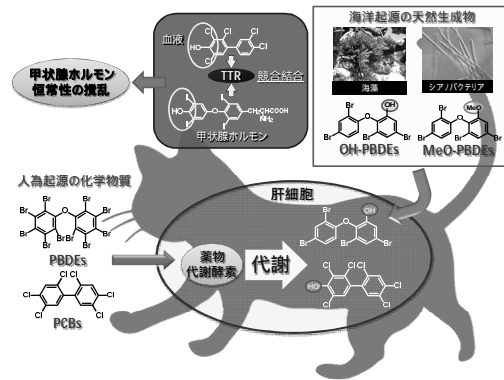


Fig. 1. 有機ハロゲン化合物の曝露による甲状腺ホルモンへの影響

2. 研究の目的

イエネコは有機ハロゲン化合物の代謝・排泄能が弱く、これら汚染物質を高蓄積することが明らかにされており、そのリスクが注目されている。本申請研究「オミックス解析によるイエネコの毒性発現機構の解明」では、ペット動物として社会的関心の高いイエネコを対象に、PCBs および PBDEs の *in vivo* 曝露試験を実施し、肝臓での代謝と血液を介した臓器・組織への分配について明らかにする。さらに、血清、脳、肝臓を対象としたメタボローム・プロテオーム解析を組み合わせた多元的オミックス解析により、毒性作用機序を包括的に理解する。とくに甲状腺機能に及ぼす影響に注目し、その曝露リスクを評価する。

3. 研究の方法

ネコの *in vivo* PCBs 曝露試験、および 54 週間の *in vivo* BDE209 長期曝露試験を実施し、血清、尿、糞中の残留レベルの変化を明らかにした。また、曝露に伴う血清中甲状腺ホルモンの変化を LC-MS/MS で高精度に分析し、甲状腺機能亢進症の発現を検証した。曝露試験後に各臓器・組織を採取して PCBs、BDE209 およびその生体内代謝物を分析し、肝臓における CYP や UDP グルクロン酸転移酵素の発現レベルの変動を明らかにした。さらに血清や臓器・組織について次世代シーケンズによるトランスクリプトーム解析、LC-MS/MS によるメタボローム解析を試み、化学物質曝露に伴う生体内変化と、毒性発現機構を明らかにした。

(1) ネコの *in vivo* PCBs 曝露試験

ネコの期投与試験は北海道大学および同大学大学院獣医学研究院の実験動物委員会の承認のもと (14015, 獣 14-0054) 同大学の動物実験規程に従い国際実験動物管理公認協会の認証を受けた施設で実施した。イエネコ 8 検体を対照群と PCBs 投与群に分け (ネコ: $n = 4$ /群) 投与群には 12 種の PCBs 各異性体 (CB18, 28, 70, 77, 99, 101, 118, 138, 153, 180, 187, 202) 0.5 mg/kg を腹腔内投与した。曝露後 0, 6, 24, 48, 72, 96, 120 時間後に血清を採取し、120 時間後に放血安楽死させ、臓器組織を採取した。血清中 PCBs、OH-PCBs の分析は既報に従い (Nomiyama et al., 2014, *Environ. Sci. Technol.*, 48, 13530-13539)、抽出・クリーンアップ後、GC-MS で定性・定量した。総甲状腺ホルモン (Total-THs) および、遊離型甲状腺ホルモン (Free-THs) の分析は、当研究グループが新規に開発した分析法を用いて (Tanoue et al., *J. chromatography. A*, 2018, 1539 30-40)、血清試料を限外濾過後、固相抽出し、LC-MS/MS で定性・定量した。

(2) ネコの *in vivo* PCBs 曝露試験: 肝臓のトランスクリプトーム解析

上記で採取した肝臓は液体窒素で瞬間凍結し、分析まで -80°C で保存した。肝臓から RNA を

抽出後、cDNA を合成し Illumina HiSeq による次世代シーケンサー解析を用いて網羅的に遺伝子発現量を測定した。得られた発現量データから、対象群と比較して有意に変動した遺伝子群を抽出した。これらの遺伝子群を用いて、パスウェイ解析をおこない、遺伝子群が関与する代謝経路や生物学的機能の抽出と遺伝子の相互作用を考察した。

(3) ネコの *in vivo* PCBs 曝露試験:血清のメタボローム解析

メタボローム解析は既報を一部変更し(Yuan, et al., 2012. *Nature protocols* 7 (5), 872.)、上記採取した血清 30 μ L を限外ろ過 (UltrafreeMC-PLHCC 250/pk for Metabolome Analysis) 後、得られたる液を LC-MS/MS [Prominence UFLC system (SHIMAZU) with QTRAP 4500 (AB SCIEX)] で定性・定量した。本研究では 287 種の代謝物を測定対象物質とした。

(4) ネコの *in vivo* BDE209 の長期曝露試験

in vivo 試験は、「国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定」に基づき、北海道大学大学院 獣医学研究院で実施した (承認番号 14-0054)。ネコ (*Narc: Catus*) 6 匹を 1 週間馴化後、コントロール群と投与群に分けた ($n=3$ /群)。コントロール群は空のカプセルを、投与群は BDE209 (28 mg) を含むカプセルを週に 1 回、計 53 週間に渡り経口投与した。投与 54 週目に安楽死させ、臓器・組織を採取した。また、血液、尿、糞は投与した翌日に毎週採取した。血清・臓器中 PBDEs、OH-PBDEs の分析は既報に従い (Eguchi, et al., 2014. *Talanta* 118, 253-261)、抽出・クリーンアップ後、GC-MS で定性・定量した。甲状腺ホルモンの分析は既報に従い LC-MS/MS で定性・定量した。生化学マーカーの分析は血清試料を用いて、COBAS Ready SP-4410 で測定した。

4. 研究成果

(1) ネコの *in vivo* PCBs 曝露試験による OH-PCBs の生成と血清中甲状腺ホルモン恒常性への影響

ネコ血清中 PCBs 濃度は、曝露後 6 時間で最高値 (70 ng/g wet wt.) を示し、その後 24 時間後から 96 時間後までは 40 ng/g 前後で定常状態、120 時間後にかけて減少傾向 (28 ng/g) が認められた。OH-PCBs 濃度は曝露後 72 時間から 96 時間まで濃度の上昇 (380 ng/g) が見られ、その後 120 時間目で減少に転じた。曝露後の各臓器、組織中 PCBs・OH-PCBs 濃度に注目すると、PCBs・OH-PCBs 濃度は糞中で最も高く、他の臓器、組織と比べ 1-2 桁高値で検出された。一方、脳中の OH-PCBs 濃度は他臓器・組織よりも低値を示し、脳移行性の低いことが示された。同族体組成に注目すると、PCBs 組成は胆汁と腹腔内脂肪で 3-4 塩素化体が高割合を占め、その他の臓器、糞中では 5-8 塩素化体が相対的に高割合を示した。一方、OH-PCBs 組成はいずれの臓器、組織においても 3、4 塩素化体が主体であった。異性体別にみると CB18、CB70、CB77 の代謝物である 4'-OH-CB18、4OH-CB70、4OH-CB79 が主要異性体として検出され、5 塩素化体以上の OH-PCBs 濃度は低値であった。以上の結果から、ネコは特定の低塩素化 PCBs を代謝できるが、代謝物を排出する抱合化能が欠落しているため、それらが体内へ残留・蓄積しているものと考えられた。この理由として、ネコ肝臓中では主に PCBs の第一相酸化的代謝を担う CYP2B6 の発現がみられないことが報告されている。そのため、PCBs の代謝は主に CYP1A が担っていることが推察され、その結果として高塩素化 PCBs を代謝できず、低塩素化 PCBs の代謝のみに留まることが示唆された。また、ネコは第二相抱合酵素 UGT1A6 の偽遺伝子化が知られており、フェノール化合物に対する抱合・排泄能が極めて低い。本研究グループでも、鰯脚類とイヌ、ネコ、ラットの肝ミクロソームを用いた酵素活性試験を実施し、エストラジオール、1-ヒドロキシピレンおよびアセトアミノフェンを基質として、UGT 活性効率 (V_{max}/K_m) を測定した結果、UGT1A および UGT2B31 の偽遺伝子化が認められないイヌで酵素効率が最大値を示したのに対し、鰯脚類およびネコではイヌの 10 分の 1 以下の低値であることが示された (Kakehi et al., 2015, *Toxicol. Sci.*, 147(2), 360-369; Kondo et al., 2017, *Toxicol. Sci.*, 158(1), 90-100)。このことから、ネコは、UGT1A6 を介したフェノール化合物の排泄能が低く、低塩素化 OH-PCBs も容易に体外へ抱合・排泄出来ないことが強く推察された。

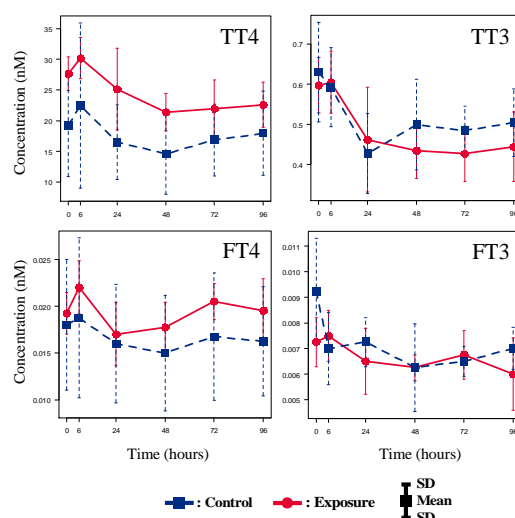


Fig. 2. ネコ血清中 Total および Free-THs 濃度の経時変化; TT4: Total-T4, TT3: Total-T3, FT4: Free-T4, FT3: Free-T3

ネコの甲状腺ホルモン濃度を分析した結果、ネコ血清中 THs 濃度は、Total-THs、Free-THs ともにすべての時間において、対照群と投与群の間に有意な変化は認められなかった(Fig. 2)。血清中の T4-like OH-PCBs が低濃度であることに加え、THs のグルクロン酸抱合反応を担う UGTs の活性が低いことに起因すると考えられる。

(2) ネコの *in vivo* PCBs 曝露試験: 肝臓のトランスクリプトーム解析結果

次世代シーケンスによる遺伝子発現を測定した結果、対照群と PCBs 投与群との間で異なるプロファイルを示した。また、対象とした 21890 遺伝子のうち、コントロール群と比較して有意に変動した遺伝子数は 531 であった。これらの遺伝子セットについてパスウェイ解析したところ、ファゴソーム、黄色ブドウ球菌感染、単純ヘルペス感染症、抗原処理・抗原提示、ウイルス性心筋炎、サルモネラ感染症、炎症性腸疾患など多くの炎症や感染症に関連する経路が同定された (Table 1)。以上より、ネコでは PCBs 曝露による免疫系のかく乱が予想される。

Table 1. PCB 曝露ネコで変動したパスウェイ (KEGG) と関連遺伝子群

KEGG Pathway	Official gene symbol	p-Value	Fold Enrichment
Phagosome	RILP, OLR1, NCF1, MRC2, ITGB5, EEA1, COLEC12, TLR6, LOC101098301, MARCO, SLC26A3, TUBA8, FCGR2B, LOC101090265, CD209, TAP1, FCGR3A, LOC101080790	2.69E-06	3.9
Staphylococcus aureus infection	CIQA, CIQB, ICAM1, SLC26A3, LOC101090265, FCGR2B, FCGR3A, LOC101098301, CLIC	1.34E-04	5.7
Osteoclast differentiation	FOS, FCGR2B, NCF1, CSF1, JUN, SPI1, ACP5, FCGR3A, JUNB, TGFB1, CSF1R, TYROBP	0.0022	3.0
Herpes simplex infection	OAS3, OAS2, LOC101098301, CD74, CFP, SLC26A3, FOS, IFIT1, SRSF5, LOC101090265, SRSF6, JUN, IRF7, TAP1, LOC101080790	0.0026	2.5
Leishmaniasis	SLC26A3, FOS, LOC101090265, NCF1, JUN, FCGR3A, LOC101098301, TGFB1	0.0055	3.7
Rheumatoid arthritis	ICAM1, SLC26A3, FOS, LOC101090265, CSF1, JUN, ACP5, LOC101098301, TGFB1	0.0065	3.2
Spliceosome	SF3B1, SRSF5, DDX46, TCEG1, SRSF6, UZSURP, SNRNP70, THOC2, RBM25, PRPF38B, PRPF40A	0.0080	2.7
Antigen processing and presentation	SLC26A3, LOC101090265, IGMW1, TAP1, LOC101098301, LOC101080790, CD74	0.011	3.7
Tuberculosis	SLC26A3, FCGR2B, CASP9, LOC101090265, IL10RA, CD209, MRC2, EEA1, TLR6, FCGR3A, LOC101098301, TGFB1, CD74, LOC101098301, CDH5, LOC101080790, SDC3	0.012	2.3
Cell adhesion molecules	ALCAM, SIGLEC1, ICAM1, SLC26A3, LOC101090265, CDH2, SDC4, LOC101098301, CDH5, LOC101080790, SDC3	0.015	2.4
TGF-beta signaling pathway	NBL1, ROCK1, ZFYVE16, FST, ID3, BAMB1, CHR1, TGFB1	0.016	3.0
HTLV-I infection	EGRI, ZFP36, ICAM1, SPI1, ATR, CDC27, LOC101098301, TGFB1, SLC26A3, FOS, CDKN1A, LOC101090265, JUN, JAK3, LOC101080790, APC	0.018	1.9
PPAR signaling pathway	CPT1B, ACADM, OLR1, APOA5, AQP7, ACSL4, ANGPTL4	0.026	3.0
Viral myocarditis	ICAM1, SLC26A3, LOC101090265, CASP9, LOC101098301, LOC101080790	0.028	3.5
Retinol metabolism	LOC101083281, CYP3A131, CYP11A1, CYP11A2, RDH5	0.039	3.8
Influenza A	ICAM1, SLC26A3, LOC101090265, CASP9, JUN, IRF7, LOC101088449, OAS3, OAS2, MX1, LOC101098301	0.044	2.0
Salmonella infection	RILP, FOS, ROCK1, ROCK2, JUN, LOC101088449, PKN2	0.047	7.0
Inflammatory bowel disease	SLC26A3, LOC101090265, IL4R, JUN, LOC101098301, TGFB1	0.048	3.0

とくに、PCBs 曝露によって免疫細胞 (ヘルパーT 細胞) の分化に関連した遺伝子 (TGFB1, IL4R, JAK3, FOS, JUN) の mRNA 発現量が減少したことから、ファゴサイトーシス (食作用) ならびに抗原処理・提示が抑制され、炎症性疾患、感染性疾患を引き起こす可能性が示された。一方、脂肪酸酸化および輸送に関連する複数の遺伝子 (CPT1, ACADM, OLR1, ACSL4) および糖新生関連遺伝子 (AQP7) の発現量が増加したことから、ネコでは PCBs 曝露により PPAR シグナル伝達経路が活性化されたと考えられる。既報では、PCBs 投与によって糖新生に関わるメタボロームが変動することも報告されており、PCBs による糖新生への影響が懸念された。また、CPT1 は脂肪酸の β 酸化反応の基質となるアシル CoA のミトコンドリア内への流入を制御する酵素であり、ミトコンドリアにおける長鎖脂肪酸の β 酸化の律速酵素として考えられている。本研究では CPT1 遺伝子発現の増加が認められたことから、脂肪酸酸化の促進が予想される。生化学マーカーの分析結果では中性脂肪 (TG) と OH-PCBs に有意な負の相関も認められており、PCBs 曝露による脂質代謝系への影響が示唆された。

(3) ネコの *in vivo* PCBs 曝露試験: 血清のメタボローム解析結果

PCBs 曝露群と対照群を比較した結果、アミノ酸、アミン等を含む 122 種のメタボロームが有意な変動を示した。これらメタボロームのパスウェイを解析した結果、糖分解・糖新生、ペントースリン酸回路、ヒスチジン代謝系、プリン代謝系等の中心炭素代謝に関連するメタボロームが減少しており、PCBs・OH-PCBs 曝露に伴うこれらの代謝経路の抑制が示唆された。次にメタボロームと血清中 PCBs・OH-PCBs 濃度との相関を Maximal Information Coefficient (MIC) を用いて解析した結果、PCBs では 20 種、OH-PCBs では 19 種の代謝物で寄与率が >0.4 を示した。とくに寄与率の高かったメタボロームに注目すると、抗酸化物質である酸化型グルタチオン (GSSG) が PCBs 濃度と高い寄与率を示し (寄与率: 0.73)、OH-PCBs 濃度に対してはペントースリン酸経路に関わる Sedoheptulose 1,7-bisphosphate (SBP) が高い寄与率を示した (寄与率: 0.73)。

GSSG は還元型グルタチオン (GSH) が細胞内の酸化ストレス原因物質である過酸化水素や活性酸素種 (ROS) を還元することで生じる。GSSG は電子伝達物質 (NADPH) によって直ちに GSH へ再還元される為、通常では細胞内・細胞外共に両者の濃度は一定に保たれている。酸化ストレスを受けていない細胞では GSH の濃度は優位であるが、酸化ストレスを受けるこ

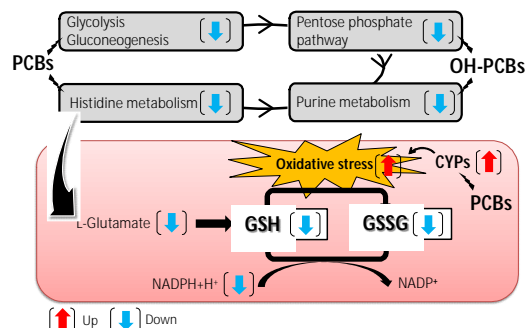


Fig. 3. PCBs曝露により中枢性炭素代謝の抑制、および酸化ストレス発生によって引き起こされる GSH および GSSG の恒常性攪乱機構

とで GSH の濃度は減少し GSSG の割合が上昇する。また、GSH の許容量を超える ROS が発生した場合は新たに GSH が合成される為、GSH と GSSG の濃度が共に上昇する。しかしながら、本研究では GSH、GSSG 共に PCBs 曝露群で有意に減少していた。これは PCBs 曝露に伴い中心炭素代謝が抑制され、GSSG から GSH への還元能力が低下するとともに、グルタチオン自体の生産量も低下したためと考えられる。また先行研究により、薬物代謝酵素(CYPs)の誘導に伴う ROS の生産が報告されている⁵⁾。以上の結果より、PCBs 曝露によって CYPs が誘導され、酸化ストレスの増大と、NADPH の生産の攪乱が予測された。(Fig. 3)

(4) ネコの *in vivo* BDE209 長期曝露試験による血清中甲状腺ホルモン恒常性への影響

BDE209 の代謝、動態：血清の分析からネコ体内に取り込まれた BDE209 の脱臭素は 7 臭素化体まで進行することを確認した。一方で、水酸化代謝物 (OH-PBDEs、BPhs) は検出されなかったため、イエネコにおける BDE209 の代謝過程は脱臭素が主体であると推察される。分析した全ての臓器・組織から BDE209 および脱臭素代謝物 (7-9 臭素化 PBDEs) が検出され、その濃度 (ng/g wet weight; 平均値) は腎臓において最も高く (4400 ng/g wet wt.)、次いで肝臓 (1100 ng/g)、心臓 (1600 ng/g)、肺 (430 ng/g)、胆汁 (300 ng/g)、大脳 (前頭葉: 260 ng/g、その他: 230 ng/g) の順であった。腎臓への PBDEs 高集積はこれまで他の野生動物の調査では確認されておらず、ネコ特異な体内挙動であると考えられる。その理由として、ネコは他の動物と比較して腎臓の近位尿細管に脂肪小滴が多く存在しており、この脂肪小滴中への PBDEs の蓄積が示唆された。

甲状腺ホルモン、生化学マーカーへの影響評価

血清中における各甲状腺ホルモン濃度の 54 週間の経時変化を示す (Fig. 4)。T4 および T3 はコントロール群と投与群で有意差が認められなかった。一方、遊離型 T4 に注目すると、24 週でコントロール群に対する曝露群の有意な上昇が認められたが、36 週以降では有意差は見られなかった。この理由として、イエネコの BDE209 に対する代謝能が弱く、血清中から水酸化代謝物が検出されなかったこと、あるいは BDE209 の高曝露によりフィードバック機構が働き、甲状腺ホルモンの分泌量を調節したことが推察される。以上の結果から、BDE209 曝露によるイエネコの血清中甲状腺ホルモンへの影響は少ないことが示唆された。

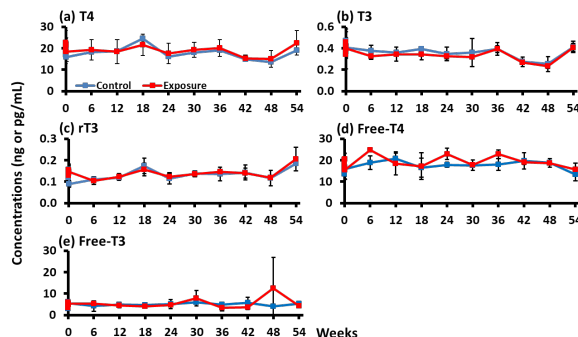


Fig. 4. BDE 曝露によるイエネコ甲状腺ホルモン濃度の長期変化 (control and BDE209 exposure group); T4(a), T3(b), rT3(c), Free-T4(d) and Free-T3(e).

生化学マーカー分析の結果、善玉コレステロール (HDL-c) 、中性脂肪 (TG) 、アルブミン (Alb) において一部有意差が見られたが、曝露群において顕著な差は見られず、BDE209 曝露による影響は低いと考えられる。

今回、甲状腺ホルモン濃度や血液検査において PCBs および BDE209 曝露によるイエネコへの明瞭な影響は確認されなかったが、他の影響 (神経伝達物質、ステロイドホルモンなど) に注目した継続的な調査が必要である。また、腎臓中に PBDEs を高蓄積することが明らかになり、今後は腎疾患との関係について注目した調査が必要である。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

Ochiai M, Iida M, Agusa T, Takaguchi K, Fujii S, Nomiyama K, Iwata H. Effects of 4-Hydroxy-2,3,3',4',5-Pentachlorobiphenyl (4-OH-CB107) on Liver Transcriptome in Rats: Implication in the Disruption of Circadian Rhythm and Fatty Acid Metabolism. *Toxicological sciences*, 2018, 165(1), 118-130. (査読有) <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy123>

野見山 桂 薬物・環境化学物質代謝の種差と甲状腺機能 *日本甲状腺学会雑誌*, 2018, 42-47. (査読無)

Tanoue R, Kume I, Yamamoto Y, Takaguchi K, Nomiyama K, Tanabe S, Kunisue T. Determination of free thyroid hormones in animal serum/plasma using ultrafiltration in combination with ultra-fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography. A.*, 2018 1539, 30-40. (査読有) <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.01.044>

Mizukawa H, Nomiyama K, Nakatsu S, Yamamoto M, Ishizuka M, Ikenaka Y, Nakayama SMM, Tanabe S. Anthropogenic and Naturally Produced Brominated Phenols in Pet Blood and Pet Food in Japan. *Environmental science & technology*, 2017, 51(19), 11354-11362. (査読有)

<https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01009>

Kondo T, Ikenaka Y, Nakayama SMM, Kawai YK, Mizukawa H, Mitani Y, Nomiya K, Tanabe S, Ishizuka M. Uridine Diphosphate-Glucuronosyltransferase (UGT) 2B Subfamily Interspecies Differences in Carnivores. *Toxicological sciences*, 2017, 158(1) 90-100. (査読有) <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx072>

Nomiya K, Takaguchi K, Mizukawa H, Nagano Y, Oshihoi T, Nakatsu S, Kunisue T, Tanabe S. Species- and Tissue-Specific Profiles of Polybrominated Diphenyl Ethers and Their Hydroxylated and Methoxylated Derivatives in Cats and Dogs. *Environmental science & technology*, 2017, 51(10), 5811-5819. (査読有) <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01262>

〔学会発表〕(計26件)

田中啓介・野見山 桂・水川葉月・高口倅暉・田上瑠美・横山 望・市居 修・滝口満喜・中山翔太・池中原徳・石塚真由美・国末達也・田辺信介 (2018): ネコの *in vivo* BDE209 長期曝露試験による体内動態の解明および甲状腺ホルモンへの影響評, 第27回環境化学討論会, 沖縄, 5月, 講演要旨集, 1A-03, PA-13.

近藤誉充・池中原徳・中山翔太・水川葉月・三谷曜子・田辺信介・野見山 桂・石塚真由美 (2018): 野生哺乳類における硫酸転移酵素の動物種差解明, 第27回環境化学討論会, 沖縄, 5月, 講演要旨集, 2A-09, PA-18.

水川葉月・Khidkhan. K.・高口倅暉・横山 望・市居 修・滝口満喜・笹岡一慶・池中原徳・中山翔太・Tsendayush, S.・野見山 桂・田辺信介・石塚真由美 (2018): 有機ハロゲン化合物曝露によるネコの生化学マーカーの変化および甲状腺機能に及ぼす影響評価, 第27回環境化学討論会, 沖縄, 5月, 講演要旨集, 2A-10.

野見山 桂・江口哲史・西川博之・水川葉月・山本恭央・滝口満喜・中山翔太・池中原徳・石塚真由美・田辺信介 (2018): 血清中メタボローム解析によるペットネコ (*Felis catus*) の有機ハロゲン化合物毒性影響評価, 第27回環境化学討論会, 沖縄, 5月, 講演要旨集, 2A-11.

小野純華・高口倅暉・田上瑠美・国末達也・田辺信介・野見山 桂 (2018): LC-MS/MSを用いた脳中甲状腺ホルモンの高感度分析法の開発, 第27回環境化学討論会, 沖縄, 5月, 講演要旨集, 2B-02, PA-11.

高口倅暉・野見山 桂・西川博之・水川葉月・田上瑠美・草木桃子・横山 望・市居 修・滝口満喜・中山翔太・池中原徳・石塚真由美・岩田久人・国末達也・田辺信介 (2018): ポリ塩化ビフェニル曝露によるイヌ・ネコの甲状腺ホルモン恒常性への影響, 第45回日本毒性学会学術年会, 大阪, 7月, プログラム・要旨集, S-245.

※他20件の学会発表

〔図書〕(計1件)

野見山 桂: 環境化学物質の代謝活性化と甲状腺ホルモンへの影響, *Endocrine Disrupter News Letter*, 2018, 21(2), p2-3.

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 国末 達也

ローマ字氏名: Kunisue Tatsuya

所属研究機関名: 愛媛大学

部局名: 沿岸環境科学研究センター

職名: 教授

研究者番号(8桁): 90380287

研究分担者氏名: 水川 葉月

ローマ字氏名: Mizukawa Hazuki

所属研究機関名: 愛媛大学

部局名: 大学院農学研究科

職名: 准教授

研究者番号(8桁): 60612661

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 石塚 真由美

ローマ字氏名: Ishizuka Mayumi

研究協力者氏名: 岩田 久人

ローマ字氏名: Iwata Hisato

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。