

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：36102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K11660

研究課題名(和文) PCBなどの化学物質の甲状腺ホルモン濃度低下作用発現メカニズムの全容解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism for the chemical substances such as polychlorinated biphenyls induced decrease in the serum thyroxine level

研究代表者

加藤 善久 (KATO, Yoshihisa)

徳島文理大学・薬学部・教授

研究者番号：90161132

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、PCBなどの化学物質の血中甲状腺ホルモン濃度の低下作用発現メカニズムを解析し、Kanechlor-500 (KC500)による血清サイロキシン(T4)濃度の減少がトランスサイレチン非依存的に起こること、KC500による肝臓へのT4の蓄積の促進は、血清から肝臓へのT4の輸送の促進により起こることが示唆された。また、フェノバルビタール(PB)による血清中T4濃度の低下は、PCB同様にT4-UDP-グルクロン酸転移酵素の関与しない機序によって起こること、PBによるラットの肝臓へのT4の移行量の増加は、Oatp2の発現量の増加に起因していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、ヒトを含む多くの動物種に対する内分泌系への影響が懸念されているPCBおよびフェノバルビタールなどの化学物質の甲状腺ホルモン攪乱作用、特に血中甲状腺ホルモン濃度の低下作用発現に関する新規メカニズムを解明し、T4濃度低下作用メカニズムの本質となるT4の肝臓への蓄積メカニズムの実体解析を試みた点において、学術的に意義深い研究であると考えられる。本研究の成果は、血中甲状腺ホルモン濃度の低下作用を誘発するPCBなどの化学物質の毒性に対する安全性対策、医薬品(フェノバルビタールなど)のリスク評価や副作用の回避に応用できることから社会的に価値ある研究であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The present studies indicate that Kanechlor-500 (KC500)-mediated decrease in serum thyroxine (T4) level occurs in a transthyretin (TTR)-unrelated manner and further suggest that KC500-promoted T4 accumulation in the liver occurs through the development of liver hypertrophy and the promotion of T4 transportation from serum to liver. The present studies demonstrate that the decrease in serum total T4 level by phenobarbital (PB) in Gunn rats is not dependent on the increase in hepatic UDP-glucuronosyltransferase (T4-UDP-GT) activity and suggest that even in Wistar rats, the PB-induced decrease in serum T4 level does not occur only through increase in hepatic T4-UDP-GT. The present studies suggest that PB-mediated increase in hepatic T4 accumulation occurs, at least in part, through the increase in the expression of hepatic T4-transporters, such as Oatp2.

研究分野：薬物の体内動態と薬効・毒性発現メカニズムの解明

キーワード：甲状腺ホルモン攪乱 サイロキシン polychlorinated biphenyl phenobarbital 肝臓

1. 研究開始当初の背景

PCB は、日本では「カネミ油症事件」あるいは台湾の「Yu-cheng 事件」の原因物質であると考えられ、患者に見られる肝臓障害、内分泌機能障害、特に甲状腺機能障害などの慢性症状は、体内に残留している PCB と深い関係があることが報告されている。PCB は世界の先進諸国では、現在使用禁止あるいは制限されているが、食物連鎖や生物濃縮により、ヒト及び多くの野生生物から検出されている。PCB の実験動物に対する主な毒性は、体重増加の抑制、胸腺や脾臓の萎縮、肝臓の薬物代謝酵素の誘導、肝臓及び甲状腺障害などである。サルなどの動物種においては、それらに加えて血中の甲状腺ホルモンやステロイドホルモンバランスの異常などの内分泌機能障害、癌の誘発などを引き起こすことが知られている。また、バルト海や米国五大湖などの多くの野生動物において、PCB をはじめとする環境汚染物質が、生体内でホルモン様作用を示し、血中甲状腺ホルモン濃度の異常、生殖能力の低下、免疫機能の低下などを引き起こしている可能性が指摘されている。ヒトにおいても、PCB 類が蓄積した魚を摂取した妊婦から生まれた子供は、頭囲が小さい、言語テストや記憶テストの成績が悪い、集中力や視聴覚性ワーキングメモリーが低下しているなど、甲状腺ホルモンの異常と考えられる症例が報告されている。さらに、PCB などの化学物質と子供の注意欠陥多動性障害 (ADHD)、学習障害 (LD)、高機能自閉症 (アスペルガー症候群) との関連性が指摘されている。しかし、ヒトにおいては、疫学的研究にとどまり、このような報告がわずかにされている程度である。従って、PCB 類の内分泌攪乱作用に関する毒性の中で、特に甲状腺ホルモン攪乱作用発現メカニズムの解明に関する研究、及びそのメカニズムの動物種差に関する研究、さらにヒトにおけるその作用発現メカニズムの解明に関する応用研究はほとんど進められていない。最近、双極性精神疾患のリチウム投与による長期治療や C 型慢性肝炎の薬物治療、糖尿病治療患者などの医薬品による甲状腺機能低下症が問題となっているが積極的な解決策は見出されていない。

甲状腺ホルモンは、生物の恒常性、正常な脳の発達に必須であり、胎児にとって極めて重要であるが、先天的な理由、環境由来因子や薬物摂取によって変動する。その変動のメカニズムは複雑で十分に解明されていない。甲状腺ホルモンの変動メカニズムは、主に視床下部、下垂体、甲状腺のレセプターへの作用、甲状腺ホルモンの合成・分泌系への作用、代謝・分解系への作用が複雑に絡み合っている。特に、PCB などの化学物質によるラットの血中 T_4 濃度の低下は、 T_4 のグルクロン酸抱合の律速酵素である UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGP-GT) 活性の増加により血中 T_4 の代謝が促進されること、あるいは PCB の水酸化 (OH) 代謝物などが血中 T_4 の輸送タンパクであるトランスサイレチン (TTR) と競合的に結合し、 T_4 の生体内動態が変化することにより引き起こされると報告され、これまで信じられてきた。それらに関して矛盾や疑問も多かったが、血中 T_4 濃度の低下メカニズムは、ヒトや野性動物どころか、実験動物でさえ解明されていなかった。申請者らは、PCB 投与による血中 T_4 濃度の低下は、主に肝臓への T_4 の蓄積量 (移行量) の増加に起因していることを示唆し、この低下作用における新規メカニズムを提唱した。しかし、PCB の血中 T_4 濃度低下作用発現に関する新規メカニズムの実体は解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では、新たに提唱した PCB の血中 T_4 濃度低下作用メカニズムの本質となる T_4 の肝臓への蓄積メカニズムの実体を解析し、本作用メカニズムの全容を解明する。特に、 T_4 の肝臓への取り込み、排出に関わるトランスポーターと薬物代謝酵素の絡み合った機構を明らかにする。また、異なる核内レセプターに結合する PCB の甲状腺ホルモン濃度低下作用発現メカニズムの違いを解明する。さらに、その作用発現メカニズムの動物種間の相違を解明し、ヒトでの PCB の甲状腺ホルモン攪乱作用 (特に血中甲状腺ホルモン濃度の低下作用) 発現メカニズムを解明することを本研究の目的とする。さらに、本研究の成果を、血中甲状腺ホルモン濃度の低下作用を誘発する PCB などの化学物質や医薬品 (フェノバルビタール)、リファンピシリン、カルバマゼピンなど) の毒性に対する安全性対策、医薬品のリスク評価や副作用の回避に応用する。

3. 研究の方法

(1) PCB 投与による血中 T_4 濃度の低下に TTR が関与しているか否かについて明らかにするため、PCB 同族体を成分として含み「油症」の原因となった市販の PCB 混合物である KC500 を TTR ノックアウトマウスに投与し、続いて $[^{125}I]T_4$ を静脈内投与し、次の測定を行い解析した。

血清中甲状腺ホルモン (総 T_4 、遊離 T_4 、総トリヨードサイロニン (T_3)、遊離 T_3 、甲状腺刺激

ホルモン(TSH))濃度

甲状腺ホルモンの代謝に関わる UGT 分子種の発現量及び T₄-UDP-GT 活性

血中[¹²⁵I]T₄の消失速度定数、半減期、分布容積、

血中[¹²⁵I]T₄と TTR、サイロキシン結合グロブリン(TBG)、アルブミン(AIb)への結合量、

[¹²⁵I]T₄の各種組織(下垂体、甲状腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、十二指腸、小腸など)への移行量

血清中 PCB 濃度と水酸化体濃度

(2) 甲状腺ホルモンの血管側の細胞膜から肝実質細胞への取り込みにおいて、トランスポーターの関与を明らかにするため、AhR リガンドの 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB126; coplanar PCB)、CAR リガンドの 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB153; non-planar PCB)、AhR 及び CAR リガンドの 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB118; mono-ortho PCB)を、AhR の反応性が高い TCDD 高感受性 C57BL/6 系マウス及び AhR の反応性が低い TCDD 低感受性 DBA/2 系マウスに投与し、血清中甲状腺ホルモン(総 T₄、遊離 T₄、総 T₃、遊離 T₃、TSH)濃度、甲状腺ホルモンやそのグルクロン酸抱合体の輸送に関わるトランスポーター(L型アミノ酸トランスポーター(LAT1)、有機アニオン輸送ポリペプチド(Oatp2)、モノカルボン酸トランスポーター(MCT8)の遺伝子及び一部のタンパクレベルの発現変動を測定し、それらの関係を調べた。また、甲状腺ホルモンの肝細胞の側底膜及び胆管側膜で働くトランスポーターの関与を明らかにするため、甲状腺ホルモンやそのグルクロン酸抱合体の輸送に関わるトランスポーターとして、ATP 結合カセットトランスポーター(Mrp2、Mrp3)の遺伝子の発現変動を測定した。

(3) また、フェノバルビタールを、ラット、マウス、ハムスター、モルモットに投与し、血清中甲状腺ホルモン(総 T₄、遊離 T₄、総 T₃、遊離 T₃、TSH)濃度、甲状腺ホルモンやそのグルクロン酸抱合体の輸送に関わるトランスポーター(L型アミノ酸トランスポーター(LAT1)、有機アニオン輸送ポリペプチド(Oatp2)、モノカルボン酸トランスポーター(MCT8)の遺伝子及び一部のタンパクレベルの発現変動を測定し、それらの関係を調べた。さらに、甲状腺ホルモンやそのグルクロン酸抱合体の輸送に関わるトランスポーターとして、ATP 結合カセットトランスポーター(Mrp2、Mrp3)の遺伝子の発現変動を測定した。

(4) フェノバルビタール投与による血中 T₄濃度の低下において、T₄-UDP-GT 活性の増加による T₄の胆汁排泄の増加の関わりについて明らかにするため、フェノバルビタールを Gunn ラット(遺伝的に UGT1 欠損ラット)に投与し、次の測定を行い解析した。

血清中甲状腺ホルモン(総 T₄、遊離 T₄、総トリヨードサイロニン(T₃)、遊離 T₃、甲状腺刺激ホルモン(TSH))濃度

甲状腺ホルモンの代謝に関わる UGT 分子種の発現量及び T₄-UDP-GT 活性、脱ヨード化酵素活性

血中[¹²⁵I]T₄と TTR、サイロキシン結合グロブリン(TBG)、アルブミン(AIb)への結合量

4. 研究成果

(1) 野生型(C57BL/6 系)マウス及び TTR ノックアウトマウスに KC500 投与後、血清中総 T₄及び肝臓の T₄レベルに対する影響を調べた。KC500 による血清 T₄レベルの減少が TTR 非依存的に起こることを示した。さらに、KC500 による肝臓への T₄の蓄積の促進は、肝臓肥大の発症、血清から肝臓への T₄の輸送の促進及び肝臓から T₄の流出の抑制を通して起こることが示唆された。

(2) ラット、マウス、ハムスター、モルモットにフェノバルビタールを投与し実験を行った。フェノバルビタール投与後、血清中総 T₄濃度は、ラット、マウス、ハムスターで低下したが、モルモットでは変化が見られなかった。フェノバルビタールによるラットの肝臓への T₄の移行量の増加は、Oatp2 の発現量の増加に起因していることが示唆された。一方、フェノバルビタールを投与したマウスにおける肝臓への T₄の移行量の増加に特定のトランスポーターが関与していることは示唆されなかった。

(3) C57BL/6 系マウス及び DBA/2 系マウスに CB77、CB118、CB153 投与の場合にも、血中 T₄の肝臓への移行の増加に Oatp2 及び LAT1 が関与の可能性がないことが示唆された。

(4) Wistar 系ラットと UGT1A ファミリーを欠損した Gunn ラットにフェノバルビタール投与し実験を行った。ラットにおいて、フェノバルビタール投与による血清中 T₄濃度の低下は、T₄-UDP-GT の関与しない機序によって起こることが示唆された。

PCB 及びフェノバルビタールなどの化学物質によるラット、マウス、ハムスター、モルモットにおける T₄濃度低下作用メカニズムの本質となる肝臓への T₄の移行量の増加メカニズムについての説明は十分ではなく、さらに追究する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 太田千穂、加藤善久、藤井由希子、原口浩一、木村 治、古賀信幸	4. 巻 112
2. 論文標題 2,2',4,4',6,6'-六塩素化ピフェニル(PCB155)のラット、モルモットおよびヒト肝マイクロゾーム、およびヒトチトクロムP450による代謝	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 福岡医学雑誌	6. 最初と最後の頁 127-135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujii Yukiko, Harada Kouji H., Nakamura Tsubasa, Kato Yoshihisa, Ohta Chiho, Koga Nobuyuki, Kimura Osamu, Endo Tetsuya, Koizumi Akio, Haraguchi Koichi	4. 巻 263
2. 論文標題 Perfluorinated carboxylic acids in edible clams: A possible exposure source of perfluorooctanoic acid for Japanese population	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Pollution	6. 最初と最後の頁 114369 ~ 114369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envpol.2020.114369	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kimura Osamu, Fujii Yukiko, Haraguchi Koichi, Kato Yoshihisa, Ohta Chiho, Koga Nobuyuki, Endo Tetsuya	4. 巻 24
2. 論文標題 Effects of perfluoroalkyl carboxylic acids on the uptake of sulfobromophthalein via organic anion transporting polypeptides in human intestinal Caco-2 cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 100807 ~ 100807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2020.100807	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoshihisa Kato, Sekihiro Tamaki, Koichi Haraguchi, Shin ichi Ikushiro, Yukiko Fujii, Chiho Ohta, Kazutaka Atobe, Osamu Kimura, Tetsuya Endo, Nobuyuki Koga, Shizuo Yamada, Masakuni Degawa	4. 巻 39
2. 論文標題 Kanechlor 500-mediated changes in serum and hepatic thyroxine levels primarily occur in a transthyretin-unrelated manner	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Appl. Toxicol.	6. 最初と最後の頁 1701- 1709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jat.3895	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 太田千穂、山本健太、加藤善久、藤井由希子、原口浩一、木村 治、遠藤哲也、古賀信幸	4. 巻 110
2. 論文標題 2,2',3,4',5,6,6'-七塩素化ビフェニル(CB188)のラットおよびモルモット肝ミクロゾームによる代謝	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 福岡医学雑誌	6. 最初と最後の頁 83-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yukiko Fujii, Hayato Tuda, Yoshihisa Kato, Osamu Kimura, Tetsuya Endo, Kouji H.Harada, Akio Koizumi, Koichi Haraguchi	4. 巻 247
2. 論文標題 Levels and profiles of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in Pacific cod from 14 sites in the North Pacific Ocean	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environ. Pollut.	6. 最初と最後の頁 312-318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envpol.2019.01.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 加藤善久	4. 巻 21-2
2. 論文標題 Polychlorinated biphenylsによる血中甲状腺ホルモン濃度低下作用機構の解明：動物種差	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Endocrine Disrupter News Letter	6. 最初と最後の頁 4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujii, Y., Kato, Y., Kozai, M., Matsuishi, T., Harada, K.H., Koizumi, A., Kimura, O., Endo, T., Haraguchi, K.	4. 巻 137
2. 論文標題 Different profiles of naturally produced and anthropogenic organohalogenes in the livers of cetaceans from the Sea of Japan and the North Pacific Ocean.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mar. Pollut. Bull.	6. 最初と最後の頁 230-242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.marpolbul.2018.08.051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 太田千穂、藤井由希子、原口 浩一、加藤善久、木村治、古賀信幸
2. 発表標題 2,2',4,4',5,6'-六塩素化ビフェニル(PCB154)のラット肝ミクロゾームによる代謝
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤善久
2. 発表標題 医薬品や化学物質による血中甲状腺ホルモン濃度低下作用機構の薬物動態学的解明
3. 学会等名 香川県薬剤師会 第9回薬剤師のかかりつけ機能強化のための研修シラバスを活用した研修会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 太田千穂、加藤善久、藤井由希子、原口浩一、木村治、遠藤哲也、古賀信幸
2. 発表標題 2,2',4,4',6,6'-六塩素化ビフェニル(PCB155)のヒト肝ミクロゾームおよびチトクロムP450分子種による代謝
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 太田 千穂、加藤 善久、原口 浩一、藤井 由希子、木村 治、遠藤 哲也、古賀 信幸
2. 発表標題 2,2',4,4',6,6'-六塩素化ビフェニル(PCB155)の動物肝ミクロゾームによる代謝
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fujii Y., Nakamura T., Harada K.H., Kato Y., Ohta C., Koga N., Kimura O., Endo T., Koizumi A., Haraguchi K.
2. 発表標題 Seafood in lower trophic level is a possible source of human dietary exposure: perfluorinated carboxylic acids in Manila clam (<i>Ruditapes philippinarum</i>) in Japan
3. 学会等名 39th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤善久
2. 発表標題 医薬品や化学物質による血中甲状腺ホルモン濃度低下作用機構の薬物動態学的解明
3. 学会等名 中村学園大学大学院栄養科学研究科博士後期課程講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤善久
2. 発表標題 PCBによる血中甲状腺ホルモン濃度低下作用機構の解明
3. 学会等名 環境ホルモン学会第32回講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kato Y., Tamaki S., Haraguchi K., Fujii Y., Kimura O., Ohta C., Endo T., Koga N., Degawa M.
2. 発表標題 Involvement of transthyretin to Kanechlor-500-mediated changes in serum and hepatic thyroxine levels in mice.
3. 学会等名 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Haraguchi K., Fujii Y., Ohta C., Koga N., Kimura O., Endo T., Kato Y.
2. 発表標題 Human exposure to brominated phenoxy phenols: seaweeds as source of hydroxylated and methoxylated PBDEs in Asia-Pacific.
3. 学会等名 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ohta C., Yamamoto K., Fujii Y., Haraguchi K., Kimura O., Endo T., Kato Y., Koga N.
2. 発表標題 In vitro metabolism of 2,2',3,4',5,6,6'-heptachlorobiphenyl (CB188) by rat liver microsomes.
3. 学会等名 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

徳島文理大学香川薬学部薬物動態学講座 http://kp.bunri-u.ac.jp/kph17/index.html

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------