

機関番号：36102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20510070

研究課題名（和文）PCBの甲状腺ホルモン攪乱作用機構の解明に向けた統合的研究：ヒトへの応用

研究課題名（英文）A novel mechanism for polychlorinated biphenyl-induced decrease in serum thyroxine level

研究代表者

加藤 善久 (YOSHIHISA KATO)

徳島文理大学・薬学部・教授

研究者番号：90161132

研究成果の概要（和文）：

これまで、polychlorinated biphenyl(PCB)による血中サイロキシン(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)の誘導が主因であると報告されてきたが、本研究では、マウス、ハムスター、ラットおよびモルモットの PCB による血中 T_4 濃度の低下は、主に肝臓への T_4 の蓄積（移行量の増加）に起因していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

In general, PCBs, including 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB126) and Aroclor 1254, have the abilities to decrease serum thyroid hormone levels in rats and mice, and the decreases are thought to occur through the induction of thyroxine (T_4)-UDP-glucuronosyltransferases (UDPGTs), especially UGT1A1 and UGT1A6. The present findings indicate that for the first time the PCB-mediated decrease in the serum T_4 level in mice, hamsters, rats and guinea pigs occurs mainly through an increase in the accumulation level of T_4 in the liver.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響評価

キーワード：甲状腺ホルモン攪乱、サイロキシン、PCB、UDP-glucuronosyltransferase、トランスサイレチン

1. 研究開始当初の背景

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。これらの毒性の発現機構は複雑であり、動物種によって感受性や標的臓器、

病理所見などは様々である。さらに、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がされている。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、特に甲状腺ホルモン攪乱作用メカニズムに関する研究、及びその作用メカニズムの動物種差、さらにヒトにおけるその作用メカニズムの応用研究はほとんど進められていない。

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。甲状腺ホルモンは、先天的な理由、内因性あるいは環境由来因子により変動する。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あるいは分泌系への作用、甲状腺ホルモンの代謝あるいは分解系への作用が複雑に絡み合っていると考えられる。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 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。しかし、それらに関して矛盾や疑問も多く、未だに血中 T_4 濃度の低下メカニズムは、野性動物やヒトどころか、実験動物でさえ十分に明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、PCB の血中 T_4 濃度低下作用機構は、 T_4 の肝臓への移行量の増加に起因しているという著者らの仮説を証明し、 T_4 の肝臓への移行メカニズムの実体を解析し、その作用メカニズムを解明することを目的としている。さらに、本研究では、ほ乳動物及びヒトに発展させて 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低下作用）の発現メカニズムを解明し、そのメカニズムの動物種間の違いを明らかにするとともに、PCB の甲状腺ホルモン攪乱作用を含む PCB により誘発される毒性のヒトに対するリスク評価に応用する。

3. 研究の方法

(1) PCB による血中 T_4 濃度の低下メカニズムは、従来報告されている T_4 -UDP-GT 活性の増

加による T_4 の胆汁排泄の増加によるものではなく、肝臓への T_4 の移行量の増加に起因しているという著者らの仮説を証明するために、3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB126) 及び Kanechlor-500 (KC500)を C57BL/6 系マウス(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)に高感受性マウス)、DBA/2 系マウス(TCDD に低感受性マウス)に投与し、①、②、③を測定し、それらの関係を調べた。

① 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

② 甲状腺ホルモンの代謝に関わる UGT 分子種の発現量及び T_4 -UDP-GT 活性、脱ヨード化酵素活性、硫酸抱合酵素活性

③ 血清及び肝臓中母化合物及びその水酸化体濃度

また、各 PCB を各動物に投与し、さらに [125 I] T_4 を静脈内投与し、④を算出し、⑤、⑥を測定した。

④ 血中 [125 I] T_4 の消失速度定数、半減期、分布容積

⑤ 血中 [125 I] T_4 と血中 T_4 輸送タンパクである TTR、サイロキシン結合グロブリン(TBG)、アルブミンとの結合量

⑥ [125 I] T_4 の各種組織(脳、甲状腺、肺、心臓、肝臓、腎臓、消化管、脂肪など)への移行量
(2) PCB の水酸化代謝物は、血中 T_4 の輸送タンパクである TTR と親和性を持ち、 T_4 と競合的に結合することが報告されている。そこで、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、4-OH-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (4-OH-CB187)を TTR 遺伝子欠損マウスに投与し、(1)①～③を測定し解析した。また、TTR 遺伝子欠損マウスに 4-OH-CB187 を投与し、続いて [125 I] T_4 を静脈内投与し、(1)④を算出し、(1)⑤、⑥を測定した。

(3) PCB による血中 T_4 濃度の低下メカニズムの動物種間の違いを明らかにするために、マウス、ハムスター、ラット、モルモットに KC500 および典型的な薬物代謝酵素誘導剤であるフェノバルビタール(PB)を投与し、(1)①～③を測定し解析した。また、マウス、ハムスター、ラット、モルモットに KC500 及び PB を投与し、さらに [125 I] T_4 を静脈内投与し、(1)④を算出し、⑤、⑥を測定した。

以上、PCB、PB 及び OH-PCB による遺伝子組み換え動物を含めた各種動物の血中甲状腺

ホルモン濃度の低下に関わるさまざまな作用を総合的に解析し、PCBによる血中甲状腺ホルモン濃度低下作用の発現メカニズムを統合的に考え合わせて解明し、その動物種差を明らかにするとともに、ヒトでの甲状腺ホルモン攪乱作用の発現メカニズムを解き明かすことを試みた。

4. 研究成果

本研究では、CB126による血清中 T_4 濃度の低下は、肝臓の T_4 -UDP-GT活性の増加及び肝肥大による肝臓への T_4 の移行量の亢進によって起こることを明らかにした。次に、4-OH-CB187には、血清中 T_4 濃度を低下させる強力な作用があることを見出した。また、4-OH-CB187による血清中 T_4 濃度の低下は、主に血中 T_4 の肝臓への移行量の亢進、また血中 T_4 とTTRとの結合阻害によって起こることを明らかにした。さらに、マウス、ハムスター、ラット、モルモットにおいて、KC500による血清中 T_4 濃度の低下は、 T_4 -UDP-GTの誘導によって起こるのではなく、主に T_4 の肝臓への蓄積(血清から肝臓への移行量の増加)に起因していることを明らかにした。さらに、ハムスター、ラット、モルモットのKC500による肝臓への T_4 の蓄積は、血中 T_4 とTTRとの結合阻害によって起こることを示唆した。さらに、マウス、ハムスター、ラットにおいて、PBによる血清中 T_4 濃度の低下は、主に T_4 の肝臓への蓄積に起因していることを明らかにした。また、PB投与後の T_4 の肝臓への蓄積は、ラットおよびハムスターにおいては主に肝肥大によること、マウスにおいては肝臓への T_4 の取り込みの増加によって起こることを示唆した。

以上、本研究では、検討したいずれの動物種においても、PCB投与による血中 T_4 濃度の低下は、主に肝臓への T_4 の蓄積に起因していることを明らかにした。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の甲状腺ホルモン攪乱作用機構の解明を目的とし、その新しい作用メカニズムを解明した学術的に独創性のある研究であると考えられる。ヒトを含む多くの動物種のPCBによる血中甲状腺ホルモン濃度の低下機構の解明はまだまだ不十分であり、今後のさらなる追究が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

1. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Makiko Kubota, Yoshiki Seto, Takashi Okura, Shin-ichi Ikushiro, Nobuyuki Koga, Shizuo Yamada and Masakuni Degawa: A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by a 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin-like polychlorinated biphenyl congener, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in mice. *Drug Metab. Dispos.*, (2010) **38**, 150-156. 査読有
2. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Yuriko Ito, Aki Fujii, Tomoaki Yamazaki, Tetsuya Endo, Nobuyuki Koga, Shizuo Yamada and Masakuni Degawa: Polychlorinated biphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in rodents. *Drug Metab. Dispos.*, (2010) **38**, 697-704. 査読有
3. Yoshihisa Kato, Hiroshi Suzuki, Koichi Haraguchi, Shinichi Ikushiro, Yoshihiko Ito, Shinya Uchida, Shizuo Yamada and Masakuni Degawa: A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by phenobarbital in rodents. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, (2010) **249**, 238-246. 査読有
4. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Makiko Kubota, Yoshiki Seto, Shin-ichi Ikushiro, Toshiyuki Sakaki, Nobuyuki Koga, Shizuo Yamada and Masakuni Degawa: 4-Hydroxy-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice occurs through increase in accumulation of thyroxine in the liver. *Drug Metab. Dispos.*, (2009) **37**, 2095-2102. 査読有
5. Yoshihisa Kato, Syohei Okada, Kazutaka Atohe, Tetsuya Endo, Futoshi Matsubara, Takayoshi Oguma and Koichi Haraguchi: Simultaneous determination by APCI-LC/MS/MS of hydroxylated and methoxylated polybrominated diphenyl ethers found in marine biota. *Anal. Chem.*, (2009) **81**, 5942-5948. 査読有
6. Koichi Haraguchi, Akio Koizumi, Kayoko Inoue, Kouji H. Harada, Toshiaki Hitomi, Mutsuko Minata, Miyako Tanabe, Yoshihisa Kato, Eri Nishimura, Yoshiaki Yamamoto, Takao Watanabe, Katsunobu Takenaka, Shigeki Uehara, Hye-Ran Yang, Min-Young Kim, Chan-Seok Moon, Hae-Sook Kim, Peiyu Wang, Aiping Liu and Nguyen Ngoc Hung: Levels and regional trends of persistent organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in Asian breast milk demonstrate POPs signatures unique to individual countries. *Environ. Int.*, (2009) **35**, 1072-1079. 査読有
7. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲

也、古賀信幸：2,2',5,5'-四塩素化ビフェニル(CB52)のウサギ肝ミクロゾームによる代謝。福岡医学雑誌、(2009) **100**, 200-209. 査読無

8. Yoshihisa Kato, Shin-ichi Ikushiro, Yoshikazu Emi, Sekihiro Tamaki, Hiroshi Suzuki, Toshiyuki Sakaki, Shizuo Yamada and Masakuni Degawa: Hepatic UDP-glucuronosyltransferases responsible for glucuronidation of thyroxine T₄ in humans. *Drug Metab. Dispos.*, (2008) **36**, 51-55. 査読有
9. Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato, Kazutaka Atohe, Syohei Okada, Tetsuya Endo, Futoshi Matsubara and Takayoshi Oguma: Negative APCI-LC/MS/MS method for determination of natural persistent halogenated products in marine biota. *Anal. Chem.*, (2008) **80**, 9748-9755. 査読有

[学会発表] (計24件)

1. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、古賀信幸 (2011). 「PCB149のラット肝による *in vitro* 代謝：CYP3A 酵素の関与」日本薬学会第131年会、講演要旨集3、p.237、3月28~31日、静岡。
2. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、松原大、古賀信幸 (2010). 「2,3',4,5'-五塩素化ビフェニル(PCB120)のラットおよびモルモット肝ミクロゾームによる代謝」フォーラム2010：衛生薬学・環境トキシコロジー、講演要旨集、p.211、9月9~10日、東京。
3. 松原加奈、佐能正剛、岩瀬恵理、藤本成明、浦丸直人、杉原数美、加藤善久、北村繁幸、太田茂 (2010). 「環境化学物質による甲状腺ホルモン応答の高感度評価」フォーラム2010：衛生薬学・環境トキシコロジー、講演要旨集、p.212、9月9~10日、東京。
4. Chiho Ohta, Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato, Tetsuya Endo, Futoshi Matsubara and Nobuyuki Koga : Species difference in the *in vitro* metabolism of 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (CB180). 30th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, *Organohalogen Compounds*, (2010) **72**, 1796-1799, September 12-17, San Antonio, USA.
5. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、古賀信幸 (2010). 「2,2',3,4,4',5'-六塩素化ビフェニル (PCB138) のモルモットにおける *in vivo* 代謝」日本薬学会第130年会、講演要旨集3、p.247、3月28~30日、岡山。
6. 佐能正剛、岩瀬恵理、杉原数美、加藤善久、浦丸直人、藤本成明、北村繁幸、太田茂 (2009). 「環境化学物質の甲状腺ホルモン受容体結合活性とその代謝変動」環境ホルモン学会第12回研究発表会、講演要旨集、p.124、12月7~8日、東京。
7. 内山智晴、関本征史、加藤善久、原口浩一、山田景太、根本清光、出川雅邦 (2009). 「PCB水酸化体(4-OH-CB187)投与による雄性マウスでの腎重量の増加」日本病院薬剤師会東海ブロック日本薬学会東海支部合同学術大会2009、講演要旨集、p.100、11月23日、三重。
8. 岡田将平、加藤善久、跡部一孝、松原大、遠藤哲也、尾熊隆嘉、原口浩一 (2009). 「APCI-LC/MS/MSによる天然のポリ臭素化ジフェニルエーテル関連化合物の探索：海綿抽出物から創薬への応用を目指して」第48回日本薬学会・日本薬剤師会日本病院薬剤師会中四国支部学術大会、講演要旨集、p.189、11月7~8日、徳島。
9. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、古賀信幸 (2009). 「2,2',3,4,4',5,5'-七塩素化ビフェニル(PCB180)の動物肝ミクロゾームによる *in vitro* 代謝」フォーラム2009：衛生薬学・環境トキシコロジー、講演要旨集、p.306、11月5~6日、沖縄。
10. 岩瀬恵理、佐能正剛、今岡進、岡田和嗣、加藤善久、小島弘幸、浦丸直人、杉原数美、北村繁幸、黒木広明、太田茂 (2009). 「TR、PDIへの親和性に対する臭素化難燃剤の構造活性相関」フォーラム2009：衛生薬学・環境トキシコロジー、講演要旨集、p.314、11月5~6日、沖縄。
11. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Makiko Kubota, Shin-ichi Ikushiro, Toshiyuki Sakaki, Nobuyuki Koga, Shizuo Yamada and Masakuni Degawa : A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by TCDD-like PCB, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in mice. 29th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, *Organohalogen Compounds*, (2009) **71**, 119-122, August 23-28, Beijing, China.
12. Chiho Ohta, Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato, Tetsuya Endo and Nobuyuki Koga : Metabolism of 2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (CB149) by liver microsomes from rats, hamsters, guinea pigs and humans. 29th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, *Organohalogen Compounds*, (2009) **71**, 308-311, August 23-28, Beijing, China.
13. 加藤善久、原口浩一、久保田万紀子、古賀信幸、山田静雄、出川雅邦 (2009). 「4-OH-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenylによる血中甲状腺ホルモン濃度の低下作

- 用機構の解明」第36回日本トキシコロジー学会学術年会、講演要旨集、J. Toxicol. Sci., **34 Supp.**, S104, 7月6~8日、盛岡。
14. 加藤善久、岡田将平、跡部一孝、松原大、遠藤哲也、尾熊隆嘉、原口浩一(2009). 「APCI-LC/MS/MSによる臭素系汚染物質、polybrominated diphenyl ethers (PBDEs)、methoxy PBDEs、hydroxy (OH-) PBDEsの同時定量法の確立：サメ肝臓よりOH-PBDEsを検出」第36回日本トキシコロジー学会学術年会、講演要旨集、J. Toxicol. Sci., **34 Supp.**, S146, 7月6~8日、盛岡。
 15. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、杣岡樹子、古賀信幸(2009). 「六塩素化ビフェニルのヒト肝ミクロゾームによる代謝」日本薬学会第129年会、講演要旨集3, p.247, 3月26~28日、京都。
 16. 加藤善久、岡田将平、跡部一孝、松原大、遠藤哲也、尾熊隆嘉、原口浩一(2008). 「APCI-LC/MS/MSによる天然ハロゲン化合物の定量：海洋哺乳動物における蓄積特性」第11回環境ホルモン学会研究発表会、講演要旨集、p.69, 12月13~14日、東京。
 17. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、古賀信幸(2008). 「2,2',3,4',5',6-六塩素化ビフェニル(PCB149)の動物肝ミクロゾームによる代謝」フォーラム2008：衛生薬学・環境トキシコロジー、講演要旨集、p.244, 10月17~18日、熊本。
 18. 久道洋輔、遠藤哲也、加藤善久、太田千穂、古賀信幸、原口浩一(2008). 「GC/MS-EI/SIMによる天然ハロゲン化合物の定量：サメにおける蓄積特性」フォーラム2008：衛生薬学・環境トキシコロジー、講演要旨集、p.290, 10月17~18日、熊本。
 19. 原口浩一、久道洋輔、遠藤哲也、加藤善久、太田千穂、古賀信幸(2008). 「海洋哺乳動物におけるPCB代謝物：鯨類の肝臓中にみられるmethylsulfoneおよびdihydroxy体の残留特性」フォーラム2008：衛生薬学・環境トキシコロジー、講演要旨集、p.291, 10月17~18日、熊本。
 20. Yoshikazu Emi, Shin-ichi Ikushiro and Yoshihisa Kato (2008). Thyroxine-metabolizing rat UDP-glucuronosyltransferase 1A7 is regulated by thyroid hormone receptor. The 12th International Glucuronidation and UGT Workshop, Abstract p.90, July 24-27, Québec.
 21. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Makiko Kubota, Shin-ichi Ikushiro, Toshiyuki Sakaki, Nobuyuki Koga, Shizuo Yamada and Masakuni Degawa: A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by 4-OH-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl in mice. 28th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, *Organohalogen Compounds*, (2008) **70**, 1601-1604, August 17-22, Birmingham, UK.
 22. Chiho Ohta, Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato, Tetsuya Endo, Mikiko Matsuoka and Nobuyuki Koga : Metabolism of 2,2',3,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB146) by liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs. 28th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, *Organohalogen Compounds*, (2008) **70**, 1185-1188, August 17-22, Birmingham, UK.
 23. 原口浩一、西村恵理、久道洋輔、遠藤哲也、太田千穂、古賀信幸、加藤善久(2008). 「母乳中に残留する天然有機ハロゲン化合物の環境起源調査」第128年会日本薬学会、講演要旨集3, p.175, 3月26~28日、横浜。
 24. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、杣岡樹子、遠藤哲也、古賀信幸(2008). 「2,2',4,5,5'-五塩素化ビフェニル(PCB101)のラット、ハムスター、モルモットおよびヒト肝ミクロゾームによる代謝」第128年会日本薬学会、講演要旨集3, p.181, 3月26~28日、横浜。
- [図書] (計2件)
1. Chiho Ohta, Koichi Haraguchi, Yoshihisa Kato, Mikiko Matsuoka, Tetsuya Endo and Nobuyuki Koga: The distribution of metabolites of 2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl (CB183) in rats and guinea pigs. In: Persistent Organic Pollutants (POPs) Research in Asia, Edited by Masatoshi Morita, (2008) pp. 236-241, The DIOXIN2007 International symposium organizing committee.
 2. Nobuyuki Koga, Chiho Ohta, Koichi Haraguchi, Mikiko Matsuoka, Yoshihisa Kato and Tetsuya 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. In: Persistent Organic Pollutants (POPs) Research in Asia, Edited by Masatoshi Morita, (2008) pp. 292-297, The DIOXIN2007 International symposium organizing committee.
- [その他]
ホームページ等
<http://kp.bunri-u.ac.jp/index.html>
6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 善久 (YOSHIHISA KATO)

徳島文理大学・薬学部・教授

研究者番号：90161132