

油症の最新の知見と治療開発に向けて

三苦, 千景
九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター

内, 博史
九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野

辻, 学
九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター

古賀, 沙緒里
九州大学大学院医学研究院附属総合コホートセンター

他

<https://doi.org/10.15017/1518708>

出版情報：福岡醫學雑誌. 106 (5), pp.184-194, 2015-05-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：

油症の最新の知見と治療開発に向けて

¹⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

³⁾九州大学大学院医学研究院 附属総合コホートセンター

三 苦 千 景¹⁾, 内 博 史²⁾, 辻 学¹⁾, 古賀沙緒里³⁾, 古江増隆¹⁾²⁾

Latest Findings of Yusho and Its Therapeutic Development

Chikage MITOMA¹⁾, Hiroshi UCHI²⁾, Gaku TSUJI¹⁾, Saori KOGA³⁾ and Masutaka FURUE¹⁾²⁾

¹⁾*Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka 812-8582, Japan*

²⁾*Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan*

³⁾*Center for Cohort Studies, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan*

Abstract

Yusho incident is an unprecedented mass food poisoning that occurred in the western area of Japan in 1968. It was caused by the ingestion of rice bran oil contaminated with polychlorinated biphenyls (PCBs) and various dioxins and dioxin-like compounds, such as polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs). The victims of Yusho have suffered from characteristic skin manifestations in company with systemic, ophthalmological, and mucosal symptoms for a long period. Since the outbreak of Yusho, the Study Group of Yusho has been conducting annual medical check-ups on Yusho victims. We describe here the latest research findings of chronic dioxin-induced toxicity to Yusho patients and the mechanisms of toxicities of dioxins through the aryl hydrocarbon receptor (AhR) pathway. High amounts of PCBs and PCDFs are still present in a number of patients with Yusho. The patients have persistent various symptoms, some of which were significantly associated with blood levels of PCBs, dioxins, or dioxin-like compounds. The adverse effects on the next generation are also found. According to the findings of recent basic studies, the biological and toxicological effects mediated by the AhR system have been becoming clear; therefore, the therapeutic interventions may be found in the near future.

Key words : Yusho · Aryl hydrocarbon receptor (AhR) · 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran · PCBs

はじめに

1968年に福岡県、長崎県を中心とした西日本で、高温で熱抽出する過程で熱媒体として使用されていたカネクロール (KC-400) が混入したカネミ米ぬか油 (カネミ油) による食中毒事件 (以下、油症) が発生した¹⁾。KC-400は polychlorinated

biphenyls (PCBs) の製剤で、後に油症治療研究班 (以下、油症班) によって、汚染したカネミ油には PCBs だけでなく、PCBs が高熱化学反応によって変化して新生した polychlorinated dibenzodioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) などのダイオキシンおよびダイオキシン類化合物 (以下、ダイオキシン類) も含まれて

Correspondence author : Chikage MITOMA
Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka 812-8582, Japan
Tel : + 81-92-642-5211 Fax : + 81-92-642-5201

いることが明らかになった²⁾。こうして、油症は人類未曾有の複数の有機塩素化合物による中毒として認識されるようになった。油症発生後、1976年にイタリアのSevesoで化学工場爆発による2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (2,3,7,8-TCDD)による汚染(以下、Seveso)³⁾、1979年に台湾でPCBsとダイオキシン類で汚染された食用油摂取による被害(以下、Yucheng)⁴⁾が発生した。

ダイオキシン類は脂質に親和性が高く代謝されにくいいため、生体内に長期間残存する⁵⁾。毒性が最も高い2,3,7,8-TCDDの毒性に対する、個々の有機塩素化合物の毒性相対比、毒性等価係数(toxic equivalency factor (TEF)⁶⁾)に個々の異性体の濃度を乗じて算出されるtoxic equivalents (TEQs)⁷⁾は、油症患者の体内に残存した複数のダイオキシン類異性体の毒性を把握する上で重要である。油症患者が摂取した有機塩素化合物の中でも、PCDFs、とくに2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF)の毒性は高く、油症の病態を考える上で重要な化合物である⁸⁾⁹⁾。PCDFsの毒性は、汚染したカネミ油の総TEQに対する77%、2,3,4,7,8-PeCDFはその58%を占め¹⁰⁾、さらにPCDFsは、患者血液でもその総TEQに対して65%もの毒性を占めていた¹¹⁾。最新のWorld Health Organization 2005の国際基準⁷⁾によると、2,3,4,7,8-PeCDFのTEFは0.3であった。2003年、少量の血液量でダイオキシン類濃度を測定する技術が改良されたのをうけ¹²⁾、2004年、油症診断基準に血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度が追加された。それ以降、患者に残存する症状、所見、検査値の経時的変化、次世代への影響、生体内でのダイオキシン類の代謝、推定半減期、患者に残存する症状とPCBsやダイオキシン類の血液濃度との関連についての解析が次々に行われ、ダイオキシン類の人体に及ぼす慢性毒性が明らかになりつつある。

さらに、基礎研究による新しい知見も蓄積している。1990年代に、2,3,7,8-TCDDの毒性がaryl hydrocarbon receptor (AhR)ノックアウトマウスで消失すること¹³⁾が明らかになって以来、AhRはいわゆるダイオキシン受容体として広く知られるようになった。近年、AhRの活性化はダイオキシン類や環境化学物質による酸化ストレスや毒性作用だけでなく、免疫反応の調節、細胞

の分化など多彩な反応を惹起すること¹⁴⁾、さらに、AhRのリガンドによっては、抗酸化ストレスのように生体にとって有益な反応も起こしうることが分かってきた。このように、AhRの基礎研究は、ダイオキシン類が生体に及ぼす慢性毒性機構を解明するのみならず、油症患者の症状を緩和する治療薬の開発への糸口にもなりうる。本稿では油症班の研究により得られた最新の知見、および油症患者の治療方法開発に向けての展望について概説する。

1. 最新の知見

1.1. 油症患者の現在の状況¹⁵⁾

油症の患者の現在の状況を把握するために、2008年に厚生労働省によって実施された油症患者実態調査(生存している油症患者1,420名のうち1,131名が参加したアンケート調査)と、一般成人対照群1,212名(性別・年齢補正)におけるアンケート調査結果を比較検討した。その結果、診断基準に含まれる症状以外にも、これまでの油症研究によって血液中ダイオキシン類濃度との関連が示唆されていた症状のなかで、神経痛、頭痛、認知症、多汗症、不眠、鼻血が止まりにくい、心肥大、動悸、動脈硬化、糖尿病、十二指腸潰瘍、高脂血症、骨粗鬆症、紫斑、手足のしびれなどが、一般対照群よりも1.5あるいは3倍以上の頻度で油症患者にみられた。アンケート調査に基づく調査の限界や、一般的な非特異的症状であることに留意は必要だが、今後の油症患者の健康管理や研究に活用できる可能性があると考えている。

1.2. 油症患者の血液中ダイオキシン類濃度の変遷

全国の各自治体では毎年油症患者の一斉検診(油症検診)を行い、患者の自覚症状、内科、皮膚科、眼科、歯科の所見、血液尿検査、および血液中PCBsおよびダイオキシン類濃度を測定してその経過の観察を行っている。体内に取り込まれたダイオキシン類は徐々に排泄され、現在の油症患者の血液中ダイオキシン類濃度は油症発生当時と比べると低い。しかし、油症が発生して45年以上経過した現在でも、多くの患者の血液中PCBsやダイオキシン類の濃度は一般対照群と比べると高値である。2002年の279名の油症患者を対象

にした研究では¹¹⁾、油症患者血液中の PCDDs, PCDFs, non-ortho PCBs や mono-ortho PCBs の総 TEQ は、平均 161.4 pg/g lipid で対照群と比べて 3.5 倍ほど高く、PCDFs の濃度は対照群と比べて約 10.3 倍、2,3,4,7,8-PeCDF は 11 倍も高値を示した。一方、PCBs も、2004 年に 242 名の油症患者を対象にした研究¹⁶⁾で、hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181 や heptaCB-189 などの化合物の血液中濃度が対照群と比べ 3.4-3.9 倍の高値を示した。また、男性と女性の患者では、2001-2009 年に採取された血液で、2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2, 3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF や 3,3', 4,4',5, 5'-HxCB (#169) の濃度が男性より女性でそれぞれ 2.9, 3.7, 2.4, および 1.3 倍高かった¹⁷⁾。

1.3. 油症患者のダイオキシン類の半減期

ダイオキシン類は脂溶性で皮下脂肪組織の中で安定した形で残存し、その半減期は動物種、性別、年齢、体内の濃度により異なる¹⁸⁾¹⁹⁾。2001 から 2006 年の 326 人の油症患者の血液検体をもとに血液中 2,3,4,7,8-PeCDF の半減期を推定したところ、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50 pg/g lipid 以上の高濃度を示す患者群では、今までの報告²⁰⁾とほぼ同様に半減期が 7 年ほどの患者群と、半減期がかなり長いために血液中濃度がほとんど変わらない患者群に分かれることが明らかになった²¹⁾。また、2004 年と 2010 年の血液中 PCDDs, PCDFs, PCBs の濃度をそれぞれ比較したところ、顕著な低下は見られなかった²²⁾。油症患者の中には、生体内に発生当初の予測より高濃度のダイオキシン類が残存し、長期間にわたってその毒性の影響を受けている集団が存在することが明らかになった。

1.4. 血液中ダイオキシン類濃度と症状、検査所見との相関

2001 年、低容量の血液で血液中 2,3,4,7,8-PeCDF を高精度で測定できるようになって以来、油症班はダイオキシン類が生態に及ぼす慢性影響を解明すべく、油症検診で得られた血液中 PCBs やダイオキシン類濃度と、症状、所見、各種検査結果との間との相関について調べている。2001-2003 年に行われた解析²³⁾では、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度はざ瘡様皮疹、面皰、口腔粘膜、色

素沈着、手足のしびれなどの有症率、および尿糖、血沈値、血液中総 PCB 濃度と相関を認めた。さらに、2001-2004 年の解析²⁴⁾では、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF は関節痛の有症率、PCB 濃度は眼科所見の有症率、PCQ 濃度は総コレステロール値の上昇と特に相関を認めた。いずれも油症発生当初から認められる油症に特徴的な症状で、診断基準に含まれている。また、2,3,4,7,8-PeCDF の濃度測定が始まった 2001 年以前の患者の症状を検証すべく行われたデータマイニング法による解析²⁵⁾によると、最近 (2001-2004 年) の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は、最近の症状よりも過去の (1969-1989 年) 症状とより強い相関を認めた。また、末梢血液中赤血球数の増加、マイボーム腺分泌過多、黒色面皰や重度のスギ花粉アレルギーの存在など、ダイオキシン類の体外排泄を促すような症状や所見と、2,3,4,7,8-PeCDF の半減期の短縮との間に相関がみられた²⁶⁾。

1.5. 相対生存率、発がん性、死亡率への影響

これまでの報告によると、ダイオキシン類曝露による発がんには、種差、性差、臓器差があるようである。Seveso の研究^{27)~29)}では、悪性新生物 (全がん) の発生が高率²⁸⁾で、血液系の悪性腫瘍²⁷⁾²⁹⁾、とくに男性の直腸がんや肺がん、女性の胆管がんの増加²⁷⁾を認めた。Yucheng の研究³⁰⁾では、悪性新生物 (全がん) の発生、男性の胃がんおよび血液系の悪性腫瘍による死亡率の増加が報告されている。油症患者の 86.8%、1,664 人を対象にして算出した推定相対生存率は、年齢、性別を合わせた一般対照群と比較して差がなかった³¹⁾。1968 年から 2007 年の 1,596 人を対象にした油症追跡調査によると³²⁾、男性患者では悪性新生物 (全がん) および肺がんの標準化死亡率 (SMR) が有意に高い値だった (全がん: 1.26 (95% Confidence intervals (CI): 1.03, 1.53), 肺がん: 1.56 (95% CI: 1.03, 2.27))。また、肝がんの SMR は男女とも高い傾向を示した (男: 1.67 (95% CI: 0.99, 2.36), 女: 1.87 (95% CI: 0.81, 3.69))。悪性新生物以外の死因については、一般対照群と差はみられなかった。なお、油症患者の死亡リスクは、油症発生から年数を経るにつれて減少傾向がみられ、近年は一般集団のそれに近づいている可能性が示唆されている。

1.6. 性腺機能・胎児・次世代への影響

ダイオキシン曝露は、直接摂取した患者のみならず、次世代、さらにそれ以降の世代への影響も懸念される。油症班では、ダイオキシン類曝露が妊娠、胎児の成長、発達、胎児の性比に及ぼす影響について研究を行っている。動物実験では、ダイオキシン投与によって性腺機能異常、成長ホルモン減少に伴う胎児の発育異常³³⁾、体表奇形、継代的にオスが少なくなるという報告がある³⁴⁾³⁵⁾。Sevesoの研究では、被害女性の卵巣機能（血清中プロゲステロン値やエストロゲン値）に異常を認めなかったが³⁶⁾、乳児期から思春期に曝露した男性、もしくは曝露した女性から出生した男児で、精子の数の減少や精子移動能の低下を認めた³⁷⁾。Yuchengの研究では、曝露女性の月経周期の短縮³⁸⁾や不妊傾向³⁹⁾があることが指摘されている。

油症発生後の10年間をみると、発生前の10年間と比べ、人工流産、早産が増加し、自然流産、胎児死亡が多い傾向にあった⁴⁰⁾。また、母親の血液中 non-ortho PCBs, PCDDs および, PCDFs それぞれの総 TEQ は男児の出生体重と負に相関していた⁴¹⁾。母親の血液中4種の coplanar PCBs, 7種の PCDDs および 10種の PCDFs 濃度と胎児油症（いわゆる black baby）の発症リスクの関連を検討したところ、これらの化合物の濃度は胎児油症発生のリスクと正に相関し、中でも、血液中 1,2,3,6,7,8-hexaCDD 濃度は胎児油症の発生を10倍高くしていた⁴²⁾。また、これらの化合物の母親と児の血液中濃度を比較したところ、母児間で最も濃度差が大きかったのは2,3,4,7,8-PeCDF で、母親は一般対照群と比べ17-30倍高濃度を示したのに対して、人工乳で育った児は一般対照群とほぼ変わらず、母乳で育った児は対照群の約1.5倍の高濃度を示すにとどまった⁴³⁾。一方、1,2,3,4,6,7,8-hepta CDD 濃度は母児間で最も濃度差が小さかった⁴³⁾。正常妊娠でダイオキシン類の経胎盤移行の違いを調べた結果⁴⁴⁾と同様に、油症患者でも大半のダイオキシン類の母から胎児への経胎盤移行は少量で、その移行率は化合物によって異なると推測された。また、油症患者、なかでも20歳未満で油症に曝露した患者が母親になった場合には、出生した児（次世代）

の男児出生比率（男児数/男児+女児数）は0.450と低い傾向（ $p=0.06$ ）を示し、さらにこの次世代が母親となった場合の児（次々世代）の男児出生比率は0.348と一般対照群の値（0.514）と比べて有意に低値（ $p=0.02$ ）だった⁴⁵⁾。

2. 治療法

2.1. 歴史的背景

油症発生当初より、ダイオキシン類の体外排泄を促す治療法の確立を目指して基礎研究が行われてきた。1980年代、活性炭⁴⁶⁾やスクアレン⁴⁷⁾を実験動物に経口投与したところ、2,3,4,7,8-PeCDFの糞便中への排泄が対照群と比べ2-5倍増加した。その後、消化管から吸収されない高分子化合物で、コレステロールなどの脂肪を吸着して便として体外に排泄し、高コレステロール血症に保険適応になっている、コレステミドの効果が検討された。基礎研究⁴⁸⁾、少数の患者を対象にした臨床試験⁴⁹⁾の結果、コレステミド内服にて血液中ダイオキシン類濃度、ダイオキシン類の糞便中への排泄が若干増加するものの、ダイオキシン類の毒性によると思われる症状の改善はみられなかった。現在のところ、ダイオキシン類の排泄を促進し、患者の症状を軽減する治療法は見つかっていない。

2.2. 漢方方剤による臨床試験

油症患者の各症状の緩和を目的に種々の漢方方剤の臨床試験を行ったところ、用いた漢方方剤の中で、麦門冬湯は血液中ダイオキシン類濃度に影響を与えることなく、咳・痰といった呼吸器症状を改善した⁵⁰⁾。麦門冬湯は6種の生薬で構成される。これらの生薬に含まれるいずれの成分が作用を及ぼしたのか同定すべく、基礎研究を行っている。

3. 油症の治療開発に向けて

3.1. AhRの細胞内シグナル伝達

古くからダイオキシン受容体として知られている AhR は、リガンドと結合すると核内へ移行する転写因子である。AhR ノックアウトマウスを用いた検討¹³⁾で2,3,7,8-TCDDの毒性が消失したことより、ダイオキシン類による毒性反応は AhR に仲介されていることが証明された。図1

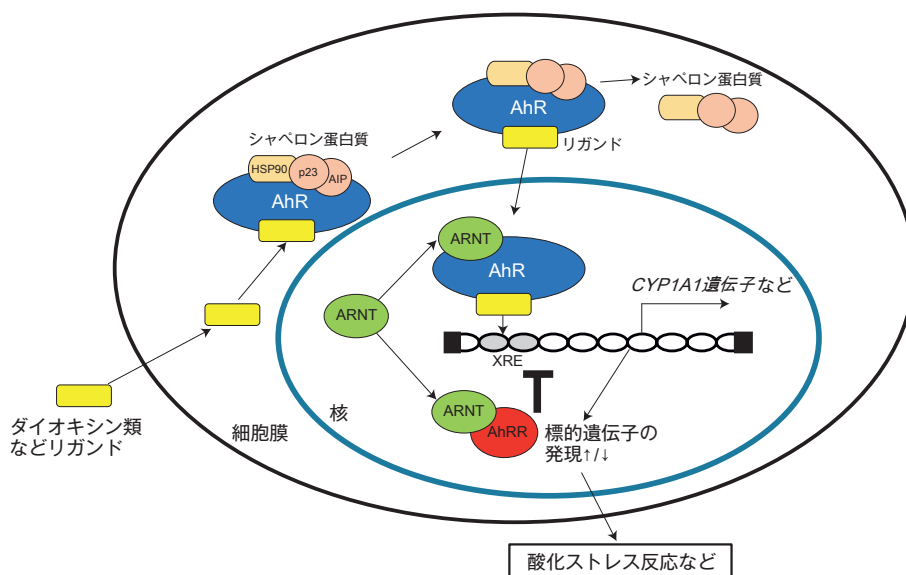


図1 AhRの細胞内シグナル伝達

に AhR の細胞内シグナル伝達のシエマを示す。AhR は多種多様な細胞，例えば，リンパ球や樹状細胞などの免疫細胞⁵¹⁾⁵²⁾ や，皮膚のほとんどの構成細胞（ケラチノサイト⁵³⁾，メラノサイト⁵⁴⁾，線維芽細胞⁵⁵⁾）に発現している。AhR は細胞質内に存在し，heat shock protein 90 (HSP90)，AhR-interacting protein (AIP) や p23 などと複合体を形成している。リガンドが AhR に結合すると，活性化した AhR が核内へ移動し，AhR nuclear translocator (ARNT) とヘテロ二量体を形成する。リガンド-AhR-ARNT 複合体は様々な遺伝子上の xenobiotic-responsive element (XRE) というエンハンサー配列に結合し，薬物代謝酵素などの標的遺伝子の転写が促進あるいは抑制される。ネガティブフィードバック機構として，AhR repressor (AhRR) が発現すると，AhR/ARNT 結合が阻害され，AhR 活性化が抑制される⁵¹⁾。

3.2. AhR リガンド

AhR には，ダイオキシン類だけでなく，外因性，内因性の多様な物質が様々な親和性をもって結合する。外因性リガンドでは，ダイオキシン類の他，環境化学物質である benzo[a]pyrene (B[a]P) などの多環芳香族炭化水素 (polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH) や黴菌の代謝産物⁵⁶⁾ がある。フラボノイドやポリフェノールなど食用植物

性化学物質の中にも，AhR への結合が確認されている成分が存在する⁵⁷⁾。内因性リガンドには，必須アミノ酸のトリプトファン⁵⁷⁾ の光代謝産物である 6-formylindolo [3,2-b] carbazole (FICZ) やキヌレンなどがある。

3.3. AhR の作用

2,3,7,8-TCDD に代表されるダイオキシン類が AhR に結合し，AhR が活性化すると薬物代謝酵素の cytochrome P4501A1 (*CYP1A1*) など標的遺伝子の転写が促進し，過剰な活性酸素の産生，つまり酸化ストレスがおこる。油症患者では，一般対照群と比べて酸化ストレスのマーカーである尿中 8-isoprostane⁵⁸⁾，および血中 total antioxidant power 値⁵⁹⁾ の上昇が確認されている。

近年，AhR の基礎研究は目覚ましく，そのリガンドによって表皮細胞の分化⁶⁰⁾，免疫反応の調節⁵²⁾，色素産生機構⁵⁴⁾，光老化⁶¹⁾ など多彩な作用に関与することが明らかになった。我々の今までの研究では，タバコの煙の主成分の一つである B[a]P は，表皮細胞に発現している AhR に作用して *CYP1A1* の発現を誘導し，活性酸素や IL-8 の産生を促した⁵³⁾。一方，B[a]P は呼吸器上皮細胞の AhR に作用して，産生される活性酸素を介して mucin 5AC (MUC5AC) の発現を増強し，ムチンの産生を促した⁶²⁾。さらに B[a]P や FICZ は，ヒト表皮細胞の AhR に作用して，ケモカイ

ン的一种である CC-chemokine ligan 5 (CCL5) の発現を抑制した⁶³⁾。また、以前の報告⁶⁴⁾と同様に、古来より皮膚疾患の外用治療薬である脱脂大豆乾留タール（グリテール）は、ヒト表皮細胞の AhR に作用して、表皮バリア機構に重要なフィラグリンの発現を増強するのが確認された⁶⁵⁾。

酸化ストレスは、AhR 活性の代表的な作用である。その一方で、表 1⁶⁶⁾に示すような野菜や植物の成分の中に、AhR 活性を抑制する作用を有する植物性化学物質が存在する。ケルセチン、ルテオリン、ケンフェロールなどは AhR と 2,3,7,8-TCDD の結合に競合し⁵⁷⁾⁶⁷⁾、また、赤ワイン

の主成分であるレスベラトロールは 2,3,7,8-TCDD-AhR 複合体が細胞質から核内に移行するのを抑制し⁶⁸⁾、2,3,7,8-TCDD が惹起する酸化ストレスに対して防御的な機能を発揮する。我々の動物実験においても、クルクミン⁶⁹⁾やレスベラトロール⁷⁰⁾をダイオキシン感受性のマウスに投与すると、2,3,7,8-TCDD 投与によって引き起こされる体重増加抑制が改善した。また、resveratrol 投与にて肝臓への脂質蓄積が軽減し、AhR 活性化の指標である ethoxyresorufin O-deethylase 活性、および酸化ストレスの指標である thiobarbituric acid-reactive substance 値が有意に改善した⁷⁰⁾。

表 1 ダイオキシン類の毒性を抑制する可能性がある食物とその成分⁶⁶⁾

ダイオキシン類の毒性を抑制する可能性がある食物とその成分	
野菜	果物
トマト …… ナリゲニン、ケルセチン、ケンフェロール	レモン …… ヘスペレチン
セロリ …… アピグニン、ルテオリン	ミカン …… ヘスペレチン
ピーマン …… アピグニン、ルテオリン	リンゴ …… ルテオリン、ケルセチン
シュンギク …… ルテオリン、ケンフェロール	イチゴ …… ケルセチン
レタス …… ルテオリン、ケルセチン、ケンフェロール	ブドウ …… ケルセチン、ミリセチン
ニンジン …… ルテオリン	畜産科/ハーブ
タマネギ …… ケルセチン、ケンフェロール	バセリ …… アピグニン、ルテオリン
ブロッコリー …… ケルセチン、ケンフェロール	パプリカ …… ヘスペレチン
カボチャ …… ケルセチン	シソ …… ルテオリン
ニラ …… ケンフェロール	ミント …… ルテオリン
ダイコン …… ケンフェロール	ローズマリー …… ルテオリン
ホウレンソウ …… ケンフェロール	ショウガ …… クルクミン
ハクサイ …… ケンフェロール	ウコン …… クルクミン
アーチチョーク …… シナロピクリン	コショウ …… ビベリン
豆/雑穀	トウガラシ …… ケルセチン
大豆 …… ダイゼイン、グニステイン	クダモノクサ …… 成分不明
ピーナッツ …… ルテオリン、レスベラトロール	アザミ …… 成分不明
ソバ …… ケルセチン	アザミ …… 成分不明
	嗜好品など
	茶 …… ケルセチン、クロロフィル
	赤ワイン …… レスベラトロール
	ビール …… ケルセチン、ケンフェロール

■油症に関する情報について詳しくは、以下のホームページをご覧ください。
<http://www.kyudai-derm.org/part/yusho/index.html>
<http://www.yusho.hosp.kyushu-u.ac.jp> (経路ダイオキシン研究センター)

3.4. AhR と Nrf2

—酸化ストレスと抗酸化ストレス機構—

抗酸化ストレス機構においては、多様な抗酸化蛋白酵素を誘導する転写因子、nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) が重要な役割を担っている⁷¹⁾。Nrf2 は、活性酸素産生などの刺激により Keap1 のトラップが外れると、細胞質から核内移行が誘導され、NAD (P) H : quinone oxidoreductase 1 (Nqo1), superoxide dimustase (SOD) など様々な抗酸化蛋白酵素の遺伝子のプロモーター領域の antioxidant response element (ARE) 配列に結合し、その転写を亢進する¹⁴⁾。近年、AhR は他の転写因子とクロストークすることが分かり、中でも AhR と Nrf2 のクロストーク⁷²⁾⁷³⁾の経路は複雑で、リガンドによって酸化ストレス、抗酸化ストレスの相

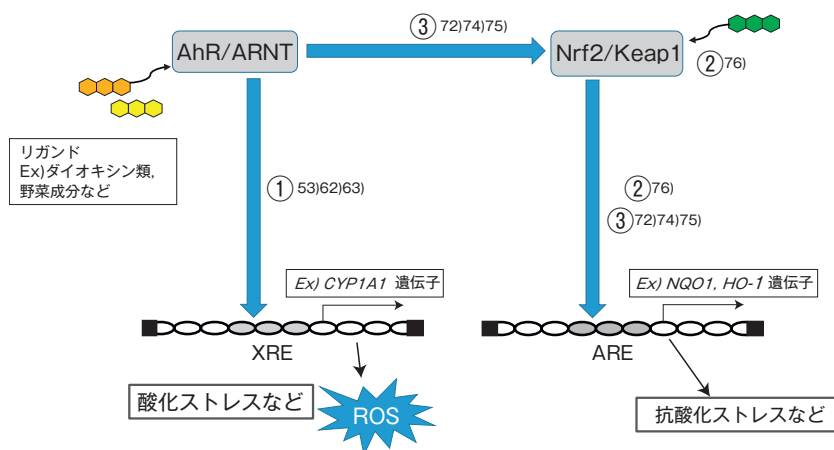


図 2 AhR-Nrf2 のクロストーク (仮説)
HO-1 : heme oxygenase 1

反する反応が起こる。図2に今までの報告を元にした AhR-Nrf2 経路の仮説を示す。2,3,7,8-TCDD が結合した AhR は、マウス Nrf2 プロモーター領域の xenobiotic responsive element (XRE) 配列に結合し、Nrf2 の発現を直接的に誘導する、つまり Nrf2 は AhR の標的遺伝子であるという報告がある⁷²⁾。我々の研究では、ケトコナゾールは、ヒト表皮細胞の AhR に作用して Nrf2 の活性化、および Nqo-1 の産生を誘導し、TNF- α や B[a]P により誘導される活性酸素や IL-8 の産生、いわゆる酸化ストレスおよび炎症反応を抑制した⁷⁴⁾。また、古来より高血圧などの成人病に効果があるとされている、タチアワユキセンダングサ (学名: ビデンス・ピローサ) 茶の成分は、血管内皮細胞の AhR に作用して同様の機序で活性酸素を低減した⁷⁵⁾。

一方、緑茶 (*Camellia sinensis*) やウコンのように、AhR 非依存性に直接 Nrf2 活性化をきたし抗酸化ストレスを惹起する植物性化学物質⁷⁶⁾ や、活性酸素産生を介して Nrf2 を活性化する化合物もある⁷⁷⁾。炎症性皮膚疾患やざ瘡に処方される漢方方剤、治頭瘡一方の生薬、センキュウ (*Cnidium officinale*) やトウキ (*Angelica acutiloba*) の主成分である Z-Ligustilide は、ヒト表皮細胞に作用して AhR 非依存性に活性酸素を産生し、さらに活性酸素依存性に Nrf2 の活性化を誘導し、B[a]P による CYP1A1 発現を抑制した⁷⁷⁾。このように、AhR 依存性、および非依存性に Nrf2 が活性化されることで、抗酸化ストレス機構が機能し、生体を酸化ストレスから防御すると考えられる。

4. 今後の展望

ダイオキシン受容体である AhR の基礎研究は、当初、生体内に残存するダイオキシン類の影響を長期間にわたり受けている油症患者の病態を解明するために開始された。それに加えて、最近の基礎研究の成果にて、AhR リガンドはダイオキシン類以外にも多数存在し、リガンドによっては AhR の活性化に拮抗したり、AhR を活性化後に抗酸化ストレス機構で重要な Nrf2 とクロストークして抗酸化ストレスを発揮したり、また AhR 非依存性に Nrf2 経路を直接活性化したり、活性酸素産生を介して Nrf2 を活性化するなど、AhR による酸化ストレスを抑制する化合物が次々に明ら

かになっている。興味深いことに、このような化合物の多くは、野菜や果物や嗜好品の主成分や、漢方方剤の生薬や医薬品の成分で、毎日経口摂取することが可能である。バランスのいい菓食を日々摂取すると、油症患者のダイオキシン類による慢性毒性が緩和できるかもしれない。今後、さらなる基礎研究の発展が期待される。

謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金によるものである。ここに記して謝辞を表します。

参 考 文 献

- 1) Masuda Y and Yoshimura H: Chemical analysis and toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in relation to yusho. *J Toxicol Sci.* 7: 161-175, 1982.
- 2) Masuda Y and Yoshimura H: Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with yusho and their toxicological significance: a review. *Am J Ind Med.* 5: 31-44, 1984.
- 3) Caramaschi F, del Corno G, Favaretti C, Giambelluca SE, Montesarchio E and Fara GM: Chloracne following environmental contamination by TCDD in Seveso, Italy. *Int J Epidemiol.* 10: 135-143, 1981.
- 4) Chen PH, Chang KT and Lu YD: Polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans in the toxic rice-bran oil that caused PCB poisoning in Taichung. *Bull Environ Contam Toxicol.* 26(4): 489-495, 1981.
- 5) van den Berg M, De Jongh J, Poiger H and Olson JR: The toxicokinetics and metabolism of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) and their relevance for toxicity. *Crit Rev Toxicol.* 24: 1-74, 1994.
- 6) Safe S: Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol.* 21: 51-88, 1990.
- 7) van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, Fiedler H, Hakansson H, Hanberg A, Haws L, Rose M, Safe S, Schrenk D, Tohyama C, Tritscher A, Tuomisto J, Tysklind M, Walker N and Peterson RE: The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency

- factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci.* 93 : 223-241, 2006.
- 8) Nagayama J, Kuratsune M and Masuda Y : Determination of chlorinated dibenzofurans in kanechlors and "yusho oil". *Bull Environ Contam Toxicol.* 15 : 9-13, 1976.
 - 9) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'yusho'. *Food Cosmet Toxicol.* 15 : 195-198, 1977.
 - 10) Yao Y, Takasuga T, Masunaga S and Nakanishi J : Detailed study on the levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in Yusho rice oil. *Chemosphere.* 46 : 1461-1469, 2002.
 - 11) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Iida T and Furue M : Concentrations 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.
 - 12) Iida T and Todaka T : Measurement of dioxins in human blood : improvement of analytical method. *Ind health.* 41 : 197-204, 2003.
 - 13) Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM and Gonzalez FJ : Aryl-hydrocarbon receptor-deficient mice are resistant to 2, 3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 140 : 173-179, 1996.
 - 14) Furue M, Takahara M, Nakahara T and Uchi H : Role of AhR/ARNT system in skin homeostasis. *Arch Dermatol Res.* 306 : 769-779, 2014.
 - 15) <http://www.kyudai-derm.org/kanemi/image/kanemi.pdf>
 - 16) Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, Iida T and Furue M : Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident. *Chemosphere.* 74 : 902-909, 2009.
 - 17) Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Onozuka D, Takao Y, Hirata T, Iida T, Uchi H and Furue M : The difference between male and female dioxin concentrations in the blood of Yusho patients. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 102 : 140-144, 2011.
 - 18) Warner M, Mocarelli P, Brambilla P, Wesselink A, Patterson DG Jr, Turner WE and Eskenazi B : Serum TCDD and TEQ concentrations among Seveso women, 20 years after the explosion. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 24 : 588-594, 2014.
 - 19) Leung HW, Kerger BD, Paustenbach DJ, Ryan JJ and Masuda Y : Concentration and age-dependent elimination kinetics of polychlorinated dibenzofurans in Yucheng and Yusho patients. *Toxicol Ind Health.* 23 : 493-501, 2007.
 - 20) Masuda Y, Haraguchi K, Kuroki H and Ryan JJ : Change of PCDF and PCB concentrations in the blood of Yucheng and Yusho patients for 25 years. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 86 : 178-183, 1995.
 - 21) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Koike S, Yoshimura T, Mitoma C, Shibata S, Uchi H, Furue M and Imamura T : Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. *Chemosphere.* 77 : 658-662, 2009.
 - 22) Todaka T, Uchi H, Hirakawa H, Takao Y, Kajiwara J and Furue M : The changes in dioxin concentrations in the blood of Yusho patients from 2004 to 2010. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 104 : 118-127, 2013.
 - 23) Imamura T, Kanagawa Y, Matsumoto S, Tajima B, Uenotsuchi T, Shibata S and Furue M : Relationship between clinical features and blood levels of pentachlorodibenzofuran in patients with Yusho. *Environ Toxicol.* 22 : 124-131, 2007.
 - 24) Kanagawa Y, Matsumoto S, Koike S, Tajima B, Fukiwake N, Shibata S, Uchi H, Furue M and Imamura T : Association of clinical findings in Yusho patients with serum concentrations of polychlorinated biphenyls, polychlorinated quarterphenyls and 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran more than 30 years after the poisoning event. *Environ Health.* 7 : 47, 2008. doi : 10.1186/1476-069X-7-47.
 - 25) Matsumoto S, Kanagawa Y, Koike S, Akahane M, Uchi H, Shibata S, Furue M and Imamura T : Twenty-year changes of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) level and symptoms in Yusho patients, using association analysis. *BMC Res Notes.* 3 : 129, 2010. doi : 10.1186/1756-0500-3-129.
 - 26) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Todaka T, Yasukawa F, Uchi H, Furue M and Imamura T : Individuals' half-lives for 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) in blood : correlation with clinical manifestations and laboratory results in subjects with Yusho. *Chemosphere.* 92 : 772-777, 2013.
 - 27) Pesatori AC, Consonni D, Bachetti S, Zocchetti C, Bonzini M, Baccarelli A and Bertazzi PA : Short-and long-term morbidity and mortality in the population exposed to dioxin after the "Seveso accident". *Ind Health.* 41 : 127-138,

- 2003.
- 28) Warner M, Mocarelli P, Samuels S, Needham L, Brambilla P and Eskenazi B : Dioxin exposure and cancer risk in the Seveso Women's Health Study. *Environ Health Perspect.* 119 : 1700-1705, 2011.
- 29) Pesatori AC, Consonni D, Rubagotti M, Grillo P and Bertazzi PA : Cancer incidence in the population exposed to dioxin after the "Seveso accident": twenty years of follow-up. *Environ Health* 8 : 39, 2009. doi : 10.1186/1476-069X-8-39.
- 30) Li MC, Tsai PC, Chen PC, Hsieh CJ, Leon Guo YL and Rogan WJ : Mortality after exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans : 30 years after the "Yucheng accident". *Environ Res.* 120 : 71-75, 2013. doi : 10.1016/j.envres.2012.09.003.
- 31) Onozuka D, Hirata T and Furue M : Relative survival after exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins : a follow-up of Japanese patients affected in the Yusho incident. *Sci Total Environ.* 409 : 2361-2365, 2011.
- 32) Onozuka D, Yoshimura T, Kaneko S and Furue M : Mortality after exposure to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans : a 40-year follow-up study of Yusho patients. *Am J Epidemiol.* 169 : 86-95, 2009.
- 33) Hattori Y, Takeda T, Fujii M, Taura J, Ishii Y and Yamada H : Dioxin-induced fetal growth retardation : the role of a preceding attenuation in the circulating level of glucocorticoid. *Endocrine.* 47 : 572-580, 2014.
- 34) Lamb JC 4th, Harris MW, McKinney JD and Birnbaum LS : Effects of thyroid hormones on the induction of cleft palate by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in C57BL/6N mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 84 : 115-124, 1986.
- 35) Koga T, Ishida T, Takeda T, Ishii Y, Uchi H, Tsukimori K, Yamamoto M, Himeno M, Furue M and Yamada H : Restoration of dioxin-induced damage to fetal steroidogenesis and gonadotropin formation by maternal co-treatment with α -lipoic acid. *PLoS One* 7 : e40322, 2012. doi : 10.1371/journal.pone.0040322.
- 36) Warner M, Eskenazi B, Olive DL, Samuels S, Quick-Miles S, Vercellini P, Gerthoux PM, Needham L, Patterson DG and Mocarelli P : Serum dioxin concentrations and quality of ovarian function in women of Seveso. *Environ Health Perspect.* 115 : 336-340, 2007.
- 37) Mocarelli P, Gerthoux PM, Needham LL, Patterson DG Jr, Limonta G, Falbo R, Signorini S, Bertona M, Crespi C, Sarto C, Scott PK, Turner WE and Brambilla P : Perinatal exposure to low doses of dioxin can permanently impair human semen quality. *Environ Health Perspect.* 119 : 713-718, 2011.
- 38) Yang CY, Huang TS, Lin KC, Kuo P, Tsai PC and Guo YL : Menstrual effects among women exposed to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Environ Res.* 111 : 288-294, 2011.
- 39) Yang CY, Wang YJ, Chen PC, Tsai SJ and Guo YL : Exposure to a mixture of polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans resulted in a prolonged time to pregnancy in women. *Environ Health Perspect.* 116 : 599-604, 2008.
- 40) Tsukimori K, Tokunaga S, Shibata S, Uchi H, Nakayama D, Ishimaru T, Nakano H, Wake N, Yoshimura T and Furue M : Long-term effects of polychlorinated biphenyls and dioxins on pregnancy outcomes in women affected by the Yusho incident. *Environ Health Perspect.* 116 : 626-630, 2008.
- 41) Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N and Furue M : Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. *Environ Int.* 38 : 79-86, 2012.
- 42) Tsukimori K, Uchi H, Tokunaga S, Yasukawa F, Chiba T, Kajiwara J, Hirata T and Furue M : Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants : association with fetal Yusho disease. *Chemosphere.* 90(5) : 1581-1588, 2013.
- 43) Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Fukushima K, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Wake N and Furue M : Comparison of the concentrations of polychlorinated biphenyls and dioxins in mothers affected by the Yusho incident and their children. *Chemosphere.* 84 : 928-935, 2011.
- 44) Suzuki G, Nakano M and Nakano S : Distribution of PCDDs/PCDFs and Co-PCBs in human maternal blood, cord blood, placenta, milk, and adipose tissue : dioxins showing high toxic equivalency factor accumulate in the placenta. *Biosci Biotechnol Biochem.* 69 : 1836-1847, 2005.
- 45) Tsukimori K, Yasukawa F, Uchi H, Furue M and Morokuma S : Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. *Epidemiology.* 23 : 349-350, 2012.
- 46) Kamimura H, Koga N, Oguri N, Yoshimura H,

- Honda Y and Nakano M : Enhanced faecal excretion of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran in rats by a long-term treatment with activated charcoal beads. *Xenobiotica*. 18 : 585-592, 1988.
- 47) Yoshimura H, Kamimura H, Oguri K and Saeki S : Stimulating effect of squalene on fecal excretion of a high toxic 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) in rats. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 76 : 184-189, 1985.
- 48) Ishida T, Sakai Y, Ishii Y, Furue M and Yamada H : The accelerated excretion of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran by Cholebine. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 100 : 210-216, 2009.
- 49) Iida T, Nakagawa R, Hirakawa H, Matsuda T, Morita K, Hamamura K, Nakayama J, Hori Y, Guo YL, Chang FM, Hsiao PW, Lin KC, Yu ML, Lai TJ, Chen SJ and Hsu CC : Clinical trial of a combination of rice bran fiber and cholestyramine for promotion of fecal excretion of patients. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 86 : 226-233, 1995.
- 50) Uchi H, Tokunaga S, Mitoma C, Shibata S, Hamada N, Nakanishi Y, Kajiwara J, Yoshimura T and Furue M : A clinical trial of kampo formulae for the treatment of symptoms of yusho, a poisoning caused by dioxins and related organochlorine compounds. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011 : 589724, 2011. doi : 10.1093/ecam/nep209.
- 51) Mimura J, Ema M, Sogawa K and Fujii-Kuriyama Y : Identification of a novel mechanism of regulation of Ah (dioxin) receptor function. *Genes Dev*. 13 : 20-25, 1999.
- 52) Veldhoen M, Hirota K, Westendorf AM, Buer J, Dumoutier L, Renaud JC and Stockinger B : The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins. *Nature*. 453 : 106-109, 2008.
- 53) Tsuji G, Takahara M, Uchi H, Takeuchi S, Mitoma C, Moroi Y and Furue M : An environmental contaminant, benzo (a) pyrene, induces oxidative stress-mediated interleukin-8 production in human keratinocytes via the aryl hydrocarbon receptor signaling pathway. *J Dermatol Sci*. 62 : 42-49, 2011.
- 54) Leucke S, Backlund M, Jux B, Esser C, Krutmann J and Rannug A : The aryl hydrocarbon receptor (AHR), a novel regulator of human melanogenesis. *Pigment Cell Melanoma Res*. 23 : 828-833, 2010.
- 55) Tigges J, Weighardt H, Wolff S, Götze C, Förster I, Kohne Z, Huebenthal U, Merk HF, Abel J, Haarmann-Stemmann T, Krutmann J and Fritsche E : Aryl hydrocarbon receptor repressor (AhRR) function revisited : repression of CYP1 activity in human skin fibroblasts is not related to AhRR expression. *J Invest Dermatol*. 133 : 87-96, 2013.
- 56) Magiatis P, Pappas P, Gaitanis G, Mexia N, Melliou E, Galanou M, Vlachos C, Stathopoulou K, Skaltsounis AL, Marselos M, Velegraki A, Denison MS and Bassukas ID : Malassezia yeasts produce a collection of exceptionally potent activators of the Ah (dioxin) receptor detected in diseased human skin. *J Invest Dermatol*. 133 : 2023-2030, 2013.
- 57) Amakura Y, Tsutsumi T, Sasaki K, Nakamura M, Yoshida T and Maitani T : Influence of food polyphenols on aryl hydrocarbon receptor-signaling pathway estimated by in vitro bioassay. *Phytochemistry*. 69 : 3117-3130, 2008.
- 58) Shimizu K, Ogawa F, Thiele JJ, Bae S and Sato S : Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning with polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. *J Appl Toxicol*. 27 : 195-197, 2007.
- 59) Shimizu K, Ogawa F and Sato S : Estimation of total antioxidant power in the serum of Yusho victims. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 98 : 141-142, 2007.
- 60) Ray SS and Swanson HI : Alteration of keratinocyte differentiation and senescence by the tumor promoter dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol*. 192 : 131-145, 2003.
- 61) Krutmann J, Morita A and Chung JH : Sun exposure : what molecular photodermatology tells us about its good and bad sides. *J Invest Dermatol*. 132 : 976-984, 2012.
- 62) Chiba T, Uchi H, Tsuji G, Gondo H, Moroi Y and Furue M : Arylhydrocarbon receptor (AhR) activation in airway epithelial cells induces MUC5AC via reactive oxygen species (ROS) production. *Pulm Pharmacol Ther*. 24 : 133-140, 2011.
- 63) Morino-Koga S, Uchi H, Tsuji G, Takahara M, Kajiwara J, Hirata T and Furue M : Reduction of CC-chemokine ligand 5 by aryl hydrocarbon receptor ligands. *J Dermatol Sci*. 72 : 9-15, 2013.
- 64) van den Bogaard EH, Bergboer JG, Vonk-Bergers M, van Vlijmen-Willems IM, Hato SV, van der Valk PG, Schröder JM, Joosten I, Zeeuwen PL and Schalkwijk J : Coal tar induces AHR-dependent skin barrier repair in atopic dermatitis. *J Clin Invest*. 123 : 917-927, 2013.
- 65) Takei K, Mitoma C, Hashimoto-Hachiya A, Uchi H, Takahara M, Tsuji G, Kido-Nakahara M,

- Nakahara T and Furue M : Antioxidant soybean tar Glyteer rescues T-helper-mediated downregulation of filaggrin expression via aryl hydrocarbon receptor. *J Dermatol* 42 : 171-180, 2015.
- 66) http://www.kyudai-derm.org/member/image/yusho_leaf.pdf
- 67) Ciolino HP, Daschner PJ and Yeh GC : Dietary flavonols quercetin and kaempferol are ligands of the aryl hydrocarbon receptor that affect CYP1A1 transcription differentially. *Biochem J.* 340 : 715-722, 1999.
- 68) Ciolino HP, Daschner PJ and Yeh GC : Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 in vitro by preventing activation of the aryl hydrocarbon receptor. *Cancer Res.* 58 : 5707-5712, 1998.
- 69) Ishii Y, Ishida T, Mutoh J, Yamada H and Oguri K : Possible candidates for the compound which is expected to attenuate dioxin toxicity. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 96 : 204-213, 2005.
- 70) Ishida T, Takeda T, Koga T, Yahara M, Ike A, Kuramoto C, Taketoh J, Hashiguchi I, Akamine A, Ishii Y and Yamada H : Attenuation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity by resveratrol : A comparative study with different routes of administration. *Biol Pharm Bull* 32 : 876-881, 2009.
- 71) Surh YJ, Kundu JK and Na HK : Nrf2 as a master redox switch in turning on the cellular signaling involved in the induction of cytoprotective genes by some chemopreventive phytochemicals. *Planta Med.* 74 : 1526-1539, 2008.
- 72) Miao W, Hu L, Scrivens PJ and Batist G : Transcriptional regulation of NF-E2 p45-related factor (NRF2) expression by the aryl hydrocarbon receptor-xenobiotic response element signaling pathway : direct cross-talk between phase I and II drug-metabolizing enzymes. *J Biol Chem.* 280 : 20340-20348, 2005.
- 73) Köhle C and Bock KW : Coordinate regulation of Phase I and II xenobiotic metabolisms by the Ah receptor and Nrf2. *Biochem Pharmacol.* 73 : 1853-1862, 2007.
- 74) Tsuji G, Takahara M, Uchi H, Matsuda T, Chiba T, Takeuchi S, Yasukawa F, Moroi Y and Furue M : Identification of ketoconazole as an AhR-Nrf2 activator in cultured human keratinocytes : the basis of its anti-inflammatory effect. *J Invest Dermatol.* 132 : 59-68, 2012.
- 75) Kohda F, Takahara M, Hachiya A, Takei K, Tsuji G, Yamamura K and Furue M : Decrease of reactive oxygen species and reciprocal increase of nitric oxide in human dermal endothelial cells by *Bidens pilosa* extract : a possible explanation of its beneficial effect on livedo vasculopathy. *J Dermatol Sci.* 72 : 75-77, 2013.
- 76) Reuland DJ, Khademi S, Castle CJ, Irwin DC, McCord JM, Miller BF and Hamilton KL : Upregulation of phase II enzymes through phytochemical activation of Nrf2 protects cardiomyocytes against oxidant stress. *Free Radic Biol Med.* 56 : 102-111, 2013.
- 77) Wu Z, Uchi H, Morino-Koga S, Nakamura-Satamura A, Kita K, Shi W and Furue M : Z-Ligustilide inhibits benzo (a) pyrene-induced CYP1A1 upregulation in cultured human keratinocytes via ROS-dependent Nrf2 activation. *Exp Dermatol.* 23 : 260-265, 2014.

(Received for publication March 13, 2015)