

Cynaropicrinが油症原因物質2,3,4,7,8-PentachlorodibenzofuranによるWasting Syndromeおよび酸化ストレスに及ぼす影響

山田, 健一
九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

石井, 祐次
九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

武田, 知起
九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

黒木, 廣明
第一薬科大学

他

<https://doi.org/10.15017/1518363>

出版情報：福岡醫學雑誌. 106 (5), pp.169-175, 2015-05-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：



Cynaropicrin が油症原因物質 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran による Wasting Syndrome および酸化ストレスに及ぼす影響

¹⁾九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学分野

²⁾第一薬科大学

³⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

⁴⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

山田 健一¹⁾, 石井 祐次¹⁾, 武田 知起¹⁾, 黒木 廣明²⁾,
三 苦 千 景³⁾, 内 博 史⁴⁾, 古 江 増 隆³⁾⁴⁾, 山 田 英 之¹⁾

Effect of Cynaropicrin on 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran-induced Wasting Syndrome and Oxidative Stress

Ken-ichi YAMADA¹⁾, Yuji ISHII¹⁾, Tomoki TAKEDA¹⁾, Hiroaki KUROKI²⁾,
Chikage MITOMA³⁾, Hiroshi UCHI⁴⁾, Masutaka FURUE³⁾⁴⁾ and Hideyuki YAMADA¹⁾

¹⁾Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

²⁾Daiichi University of Pharmacy

³⁾Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka, Japan

⁴⁾Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences,
Kyushu University, Fukuoka, Japan.

Abstract

The effect of cynaropicrin that is the major component of an edible plant, artichoke (*Cynara scolymus*) on 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF)-induced toxicity in mice was studied. We evaluated the effect of cynaropicrin on the wasting syndrome and oxidative stress elicited by PenCDF. However, the PenCDF dose-response relationship on the wasting syndrome has been superficial. Therefore, we determined the dose which causes wasting syndrome in C57BL/6J mice, a responsive strain to dioxins. Since 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (0.1 mg/kg, p.o.) induces hepatic ethoxyresorfin *O*-deethylase (EROD) activity in mice, we set the doses of PenCDF at 0.3, 1.0, 3.0, 5.0 and 10 mg/kg (once, p.o.) on the basis of its toxic-equivalency factor (0.3). The wasting syndrome was evaluated by measuring the daily changes of body weight. Thiobarbituric acid-reactive substances were used as an index of oxidative stress. Of PenCDF doses examined, wasting syndrome and oxidative stress took place most markedly in 5 mg/kg. In disagreement with this, EROD activity which is the marker of the aryl hydrocarbon receptor-dependent induction of cytochrome P450 1a1 was elevated most abundantly at 0.3 mg/kg. Then, we examined the effect of cynaropicrin on the wasting syndrome and oxidative stress provoked by PenCDF at 5 mg/kg. However, this compound up to 20 mg/kg (p.o.) did not attenuate PenCDF-induced wasting syndrome. On the contrary, PenCDF-induced oxidative stress was suppressed by cynaropicrin at the highest dose (20 mg/kg), although EROD activity was increased rather than reduced by cynaropicrin at lower doses. Thus, it is suggested that cynaropicrin has an ability to reduce oxidative stress caused by PenCDF.

Key words : Wasting syndrome · Dioxins · PCDF · Cytochrome P450 · Oxidative stress

Corresponding author : Hideyuki YAMADA, Ph.D.

Laboratory of Molecular Life Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

E-mail : hyamada@phar.kyushu-u.ac.jp

はじめに

油症では、皮膚症状や脂質代謝異常を始めとする多岐にわたる障害が発生し、発生後40年以上経過した現在もなお、多くの患者が苦しんでいる。油症原因物質は、polychlorinated biphenyl (PCB) およびその加熱により生じた非意図的生成物であるダイオキシン類であると考えられている¹⁾。中でも、2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) は、油症患者の体内でのダイオキシン類としての毒性指標である TEQ (Toxicity Equivalency Quantity : 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) 換算量, TEF (Toxicity Equivalency Factor) と存在量との積) が全体の約70%と最も高く、発症への寄与が最も高い原因物質と考えられている²⁾³⁾。動物実験では、高用量のダイオキシン類によって、体重増加抑制作用を特徴とする消耗症 (wasting syndrome)、肝肥大および胸腺や脾臓の萎縮などの発症が知られている⁴⁾。

ダイオキシン類の毒性には、aryl hydrocarbon receptor (AhR) が関与することが、AhR ノックアウトマウスを用いた研究から示唆されている⁵⁾⁶⁾。ダイオキシンが細胞質の AhR に結合すると、AhR は核内に移行したのち、AhR nuclear translocator と結合し、ヘテロダイマーを形成後、標的遺伝子に存在する xenobiotic responsive element に結合する。これにより、転写が活性化され、cytochrome P450 (CYP) 1A1 を始めとするさまざまな酵素が誘導される⁷⁾。

当研究室では、現在までに、geranylgeranylacetone, resveratrol, および curcumin などの物質が TCDD による wasting syndrome を抑制することを報告している^{8)~12)}。一方、artichoke (朝鮮アザミ) *Cynara scolymus* には、抗酸化作用があり¹³⁾、主成分である cynaropicrin は、消化不良や食欲不振の改善作用、抗炎症作用があると報告されている¹⁴⁾。また、本研究班班員らによる in vitro 実験からは、cynaropicrin に AhR アンタゴニストとしての作用も示唆されている¹⁵⁾。

本研究では、マウスでの cynaropicrin の有効性検証を目的とした。すなわち、cynaropicrin が PenCDF 毒性に対する軽減作用を有するか否かを検討した。Cynaropicrin が期待通りの効果を

有すれば、CYP1A1, 1A2, および 1B1 などの AhR に制御される酵素の誘導が抑制され、また、酸化ストレスが抑制されると期待された。PenCDF 毒性指標としては、wasting syndrome および酸化ストレスを用いた。マウスでは、PenCDF が wasting syndrome を惹起する用量が、正確には分かっていない。そこで、まず、PenCDF 毒性の用量依存性を調べ、wasting syndrome を惹起する用量を確認し、その後、cynaropicrin の有効性を検証した。

実験方法

1. PenCDF の合成

PenCDF は、既報に従い合成した¹⁶⁾。PenCDF の構造と純度は融点 (非校正)、196–196.5°C ; EI-MS における分子イオンピーク (m/z , M^+), 338 ; NMR スペクトル [$CDCl_3$, δ in ppm (signal pattern)], 7.97 (s), 7.91 (s) and 7.77 (s) およびガスクロマトグラフにより決定した。下記のガスクロマトグラフの条件下に単一ピークが保持時間 21.8 分に観察され、ピーク面積から純度は 98%以上と見積もられた。ガスクロマトグラフ装置 : Shimadzu GC-17A (Kyoto, Japan); カラム : DB-5 (0.25 mm I.D. $\times$ 30 m) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA); カラムオープン温度 (昇温分析) : 70°C で 2 min 保持, 2°C/min で 220°C まで昇温し 220°C で 1 min 保持, 3°C/min で 280°C まで昇温し、以降分析中は 280°C に保持。インジェクションポート温度 : 250°C ; 検出器温度 330°C ; キャリアガス : 高純度窒素ガス N_2 (99.999%) ; 流速 : 0.8 ml/min ; 検出器 : 電子捕獲型検出器 (^{63}Ni)。

2. 動物処理

動物実験は、すべて九州大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。PenCDF 用量依存性に関する実験は、九州大学薬学研究院動物舎において行った。また cynaropicrin による PenCDF 毒性軽減効果の検証実験は、株式会社新日本科学に受託して行った。マウスは日本クレア(株)より購入し、1週間の馴化ののち使用した。PenCDF 毒性の用量依存性 : ダイオキシン類に対して高親和性の AhR を発現するマウス (C57BL/6J 系統) を使用した。PenCDF の TEF=0.3¹⁹⁾ と、CYP1A1 の

マーカー活性である ethoxyresorfin O-deethylase (EROD) 活性を強く誘導し, wasting syndrome を惹起する TCDD の用量 0.1 mg/kg (p.o.)⁸⁾ を基にして, PenCDF の最低用量を 0.3 mg/kg (p.o.) に設定した。すなわち, 7 週令の C57BL/6J 系雄性マウスに PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 および 10 mg/kg/2 mL コーン油) を単回経口投与した。対照群には, コーン油を経口投与した。投与 7 日後に体重を測定したのち臓器を採取した。Cynaropicrin による PenCDF 毒性の軽減: PenCDF 用量は, 5.0 (mg/kg/5 mL コーン油) に設定した。PenCDF 経口投与 1 時間前に, cynaropicrin (1, 5, 10 および 20 mg/kg/5 mL 9.6% デキストリン) を経口投与した。対照群には, 水および cynaropicrin の溶媒であるデキストリン溶液を投与した。翌日から, 1 日 1 回 6 日間, 同じ用量の cynaropicrin を投与した。投与最終日, PenCDF 投与 7 日後は, 解剖直前に cynaropicrin を投与した。

3. 体重および臓器重量

PenCDF 投与前から, 投与後に解剖を行う日まで, 毎日体重を測定した。解剖日には, 肝臓, 脾臓および胸腺の湿重量を測定した。

4. Thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) の測定

Ohkawa らの方法に従い¹⁷⁾, 肝臓のホモジネートを用い, 脂質過酸化により生じるマロンジアルデヒドをチオバルビツール酸と反応させ, 生成物の吸光度 (532 nm) を測定した。

5. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) 活性の測定

摘出した肝臓を 3 倍量の 1.15% KCl にてホモジナイズした。これを 9,000xg で 20 分間遠心分離した。得られた上清 (S9) 分画を用い, Burke らの方法に従って¹⁸⁾, 7-ethoxyresorufin の O-脱アルキル化反応により生じる resorufin の蛍光を測定した (励起光, 544 nm; 測定光, 590 nm)。

結 果

PenCDF による wasting syndrome に対する cynaropicrin の毒性軽減作用を調べるのに先立ち,

まず, C57BL/6J マウスにおいて wasting syndrome を惹起し得る PenCDF 曝露条件を調べた。体重増加抑制, 肝肥大, 胸腺および脾臓の萎縮を wasting syndrome の指標として検討を行った。その結果, PenCDF の用量依存的に体重増加の抑制が観察された (Fig. 1)。PenCDF 1 mg/kg 以上の用量では, 投与 7 日後において, 有意な体重増加抑制が認められた。5 および 10 mg/kg では, 著しい体重減少が認められ, wasting syndrome が惹起されたことが明らかだった。肝肥大は, 0.3 mg/kg より観察されたが, 今回調べた用量の範囲では, 用量依存性は認められなかった。胸腺の萎縮は 0.3 mg/kg より PenCDF 用量依存的に観察された。また, 脾臓の萎縮は 5.0 mg/kg 以上で観察された (Table 1)。脂質過酸化の指標となる肝臓の TBARS 値も PenCDF 用量依存的に増加し, 5.0 mg/kg の用量で最大となった (Fig. 2)。一方, Cyplal 誘導の指標である EROD 活性は, 今回検討した最低用量の 0.3 mg/kg において最も強く誘導された (Fig. 3)。これらの結果から, C57BL/6J マウスに wasting syndrome を惹起する用量として PenCDF 5 mg/kg を選択した。

PenCDF 5 mg/kg によって惹起される体重増加抑制作用に対して, cynaropicrin は改善作用を示さなかった (Fig. 4)。また, 肝肥大, 脾臓および胸腺萎縮に対する抑制効果も見られなかった (Table 2)。一方, TBARS は, cynaropicrin 1~10 mg/kg の併用では, PenCDF 単独投与時よりも更に上昇する傾向があったが, 20 mg/kg の最大用量の cynaropicrin ではコントロール群と有意差がないレベルに回復した (Fig. 5)。一方, EROD 活性の誘導は cynaropicrin の 5 および 10

Table 1 Effects of PenCDF on the organ weight of mice

Treatment of PenCDF	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	5.77 ± 0.07	0.29 ± 0.01	0.31 ± 0.01
PenCDF			
0.3 mg/kg	7.71 ± 0.09**	0.30 ± 0.01	0.22 ± 0.02***
1.0 mg/kg	7.96 ± 0.03***	0.28 ± 0.01	0.12 ± 0.01***
5.0 mg/kg	7.31 ± 0.10***	0.21 ± 0.01**	0.09 ± 0.00***
10 mg/kg	6.80 ± 0.32*	0.22 ± 0.01**	0.07 ± 0.01***

Mice were given an oral dose of PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 or 10 mg/kg) on day 0. Mice were sacrificed 7 days after PenCDF treatment. Each value represents the mean ± S. E. of 5 mice. Significantly different from the control (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$).

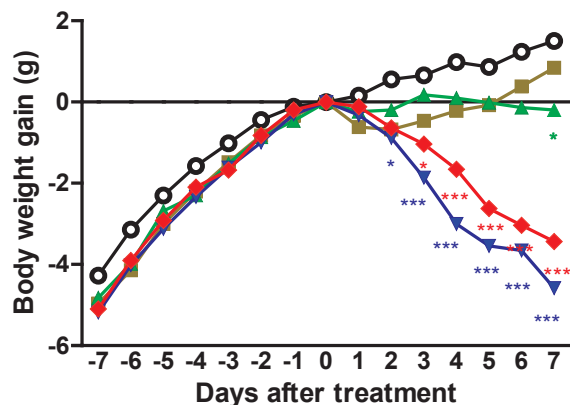


Fig. 1 Effect of PenCDF on body weight gain in mice. Mice were given an oral dose of PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 or 10 mg/kg) on day 0. Each plot represents the mean of 5 mice. Mouse body weight was measured in every morning (9 a.m.) from the beginning at 7 days before treatment. Significantly different from control (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$).
○: control (corn oil); ■: 0.3 mg/kg PenCDF; ▲: 1.0 mg/kg PenCDF; ▼: 5.0 mg/kg PenCDF; ◆: 10 mg/kg PenCDF

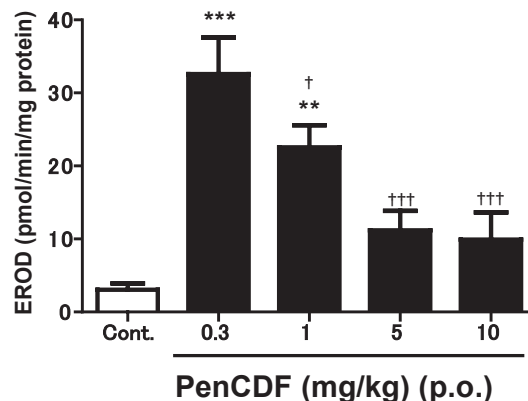


Fig. 3 Effect of PenCDF on hepatic EROD activity of C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 or 10 mg/kg). Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 mice. EROD activity in the S9 is used as the index of the induction of Cyp1a1. Significantly different from control (**, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$). Significantly different from 0.3 mg/kg group (†, $p < 0.05$; †††, $p < 0.001$).

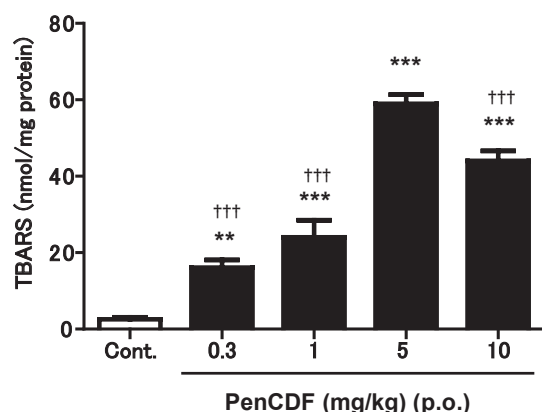


Fig. 2 Effect of PenCDF on hepatic lipid peroxidation in C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 or 10 mg/kg). Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 mice. TBARS was used as the index of lipid peroxidation. Significantly different from control (**, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$). Significantly different from PenCDF 5.0 mg/kg group (†††, $p < 0.001$).

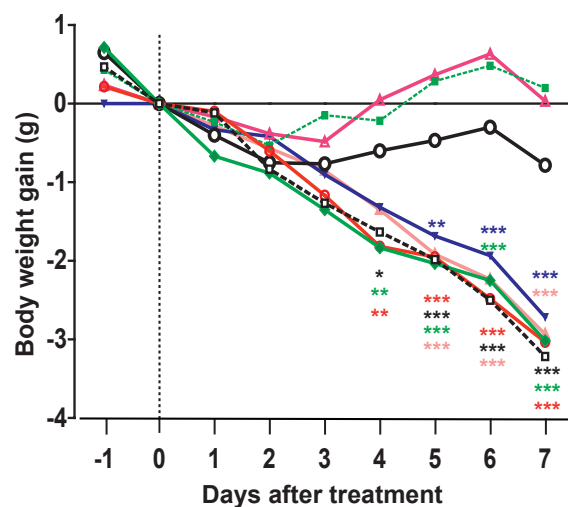
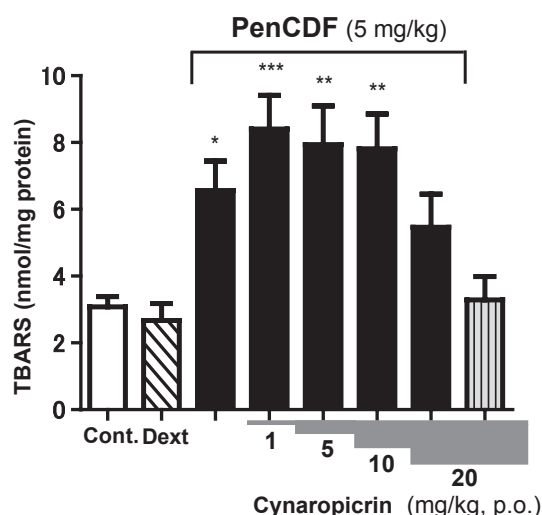
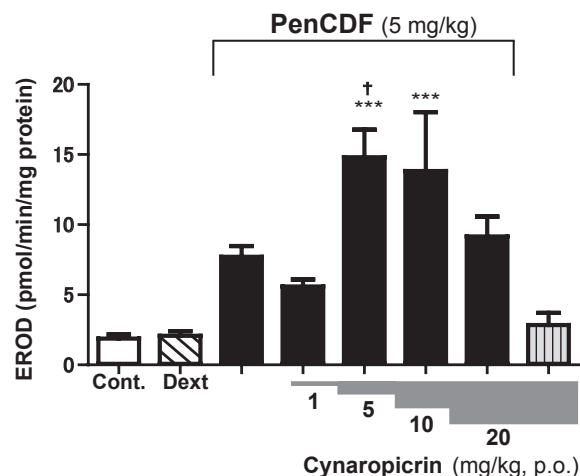


Fig. 4 Effect of cynaropicrin on PenCDF-induced body weight loss in C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of cynaropicrin (1, 5, 10 or 20 mg/kg) or dextrin 60 minutes prior to PenCDF (5.0 mg/kg) treatment. The same dose of cynaropicrin was given orally once a day for subsequent 6 days. On the 8th day, cynaropicrin was also administered 30 minutes before dissection. Significantly different from control (corn oil) (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.0001$).
○, corn oil (control) + dextrin; △, 20 mg/kg cynaropicrin; ■, dextrin; ▼, PenCDF 5 mg/kg + dextrin; ◆, PenCDF + 1 mg/kg cynaropicrin; ◇, PenCDF + 5 mg/kg cynaropicrin; □, PenCDF + 10 mg/kg cynaropicrin; ▲, PenCDF + 20 mg/kg cynaropicrin

Table 2 Effects of cynaropicrin on the organ weight in C57BL/6J mice

Treatment of Drug	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	5.69 ± 0.09	0.26 ± 0.01	0.22 ± 0.01
Dextrin	5.62 ± 0.13	0.29 ± 0.02	0.22 ± 0.04
20 Cyna	5.79 ± 0.22	0.26 ± 0.01	0.22 ± 0.02
PenCDF (5 mg/kg)			
+ dextrin	8.04 ± 0.16***	0.22 ± 0.01	0.05 ± 0.01***
+ 1.0 Cyna	7.80 ± 0.24***	0.21 ± 0.01*	0.05 ± 0.00***
+ 5.0 Cyna	8.04 ± 0.17***	0.19 ± 0.00***	0.05 ± 0.00***
+ 10 Cyna	7.53 ± 0.10***	0.20 ± 0.01**	0.05 ± 0.01***
+ 20 Cyna	7.97 ± 0.10***	0.22 ± 0.01	0.05 ± 0.01***

Mice were given an oral dose of either cynaropicrin (Cyna) (1.0, 5.0, 10 or 20 mg/kg) or dextrin 60 min prior to PenCDF (5.0 mg/kg) treatment. The same dose of cynaropicrin was given orally once a day for subsequent 6 days. On 8th day, cynaropicrin was also administrated to mice before sacrifice. Each value represents the mean ± S.E. of 6 mice. Significantly different from control (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$).

**Fig. 5** Effect of cynaropicrin on PenCDF-induced hepatic lipid peroxidation in C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of either cynaropicrin (1, 5, 10 or 20 mg/kg) or dextrin 60 min prior to PenCDF (5.0 mg/kg) treatment. The same dose of cynaropicrin was given orally once a day for subsequent 6 days. On the 8th day, cynaropicrin was also administrated to mice before sacrifice. Each value represents the mean ± S.E. of 6 mice. TBARS was used as the index of lipid peroxidation. Significantly different from control (corn oil) (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$).**Fig. 6** Effect of cynaropicrin on the PenCDF-induced EROD activity in the liver of C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of cynaropicrin (1, 5, 10 or 20 mg/kg) or dextrin 60 min prior to PenCDF (5.0 mg/kg) treatment. The same dose of cynaropicrin was given orally once a day for subsequent 6 days. On the 8th day, cynaropicrin was also administrated to mice before sacrifice. Each value represents the mean ± S.E. of 6 mice. EROD (ethoxyresorufin-O-deethylase) activity is used as the index of the induction of CYP1A1. Significantly different from control (corn oil) (***, $p < 0.001$). Significantly different from treatment with PenCDF alone (5 mg/kg) (†, $p < 0.05$).

mg/kg 投与により増強した。特に、5 mg/kg の cynaropicrin では PenCDF 単独投与群に対しても有意差が生じた (Fig. 6)。

考 察

PenCDF の効果発現における用量依存性を調べた結果、wasting syndrome が強く惹起される用量と Cyplal の指標となる (EROD) 活性が最も強く誘導される用量は明らかに異なっており、前者は 5.0 mg/kg、後者は 0.3 mg/kg であった。TCDD での解析では、0.1 mg で処理した C57BL/6J マウスで、Cyplal が強く誘導されるという当研究室での先行研究と⁸⁾、PenCDF の TEF = 0.3 から考えて¹⁹⁾、今回の最低用量は、0.3 mg とした。PenCDF 0.3 mg/kg において Cyplal の誘導が顕著であったことは、TEF で規定される毒性強度と符合すると思われる。一方、wasting syndrome を惹起するには、TEF より高用量が必要であることが示唆された。EROD 活性は今回用いた PenCDF の用量では、0.3 mg/kg をピー

クに、用量依存的に弱くなった。一方、過酸化脂質の指標である肝 TBARS は、用量依存的に増加した。この違いの原因は現時点では明らかではない。今回は、wasting syndrome を指標にしたため、5 mg/kg の用量を選択し、この後の検討を行った。

今回検討した最高用量の 20 mg/kg の cynaropicrin は、体重、TBARS および EROD 活性に有意な変動を与えず、これらの指標で評価する限り、この用量では cynaropicrin 自体の毒性は現れないと考えられた。PenCDF 5 mg/kg によって惹起される体重増加抑制作用、肝肥大、脾臓および胸腺委縮に対して、cynaropicrin は改善作用が見られなかった (Fig. 4, Table 2)。従って、wasting syndrome に対する cynaropicrin の毒性軽減作用は極めて低い、もしくはないものと考えられる。一方、高用量の cynaropicrin には、PenCDF による脂質過酸化への抑制作用があることが示唆された (Fig. 5)。EROD 活性に対しては、5.0 および 10 mg/kg の用量で有意に促進したことから、PenCDF と cynaropicrin の用量に依存して、むしろ毒性を強める可能性もあると考えられた。一方、cynaropicrin は、Ah-アンタゴニスト作用も期待されている。PenCDF による用量依存性では、5.0 mg/kg よりも低用量の 0.3 mg/kg で著しい EROD 活性の誘導が認められていた (Fig. 2)。従って、cynaropicrin が Ah-レセプターを阻害したと仮定すれば、cynaropicrin 併用時には、むしろ PenCDF 低用量での作用に類似した結果が得られ、EROD 活性が高くなったと考えることもできる。

今回の検討では、wasting syndrome を指標にしたため、体重増加抑制作用が最も顕著だった 5 mg/kg PenCDF に対する cynaropicrin の影響を調べたが、EROD 活性が著しく誘導された、0.3 mg/kg など、より低用量の PenCDF に対する cynaropicrin の影響を再検討が必要と考えられた。

結 論

食用植物 artichoke の成分である cynaropicrin が油症原因物質 PenCDF 毒性に対する軽減作用を有するか否かをマウスを用いて検討した。

1. マウスにおける PenCDF 毒性の用量依存性を

調べた結果、5 mg/kg の PenCDF により酸化的ストレスの指標である肝臓 TBARS が著しく上昇することが明らかになった。Wasting syndrome は 5 mg/kg が最も顕著であった。

2. PenCDF の投与量を 5 mg/kg として、cynaropicrin による PenCDF 毒性軽減作用を検討した。この用量では、cynaropicrin には PenCDF による wasting syndrome に対する毒性軽減作用は見られなかった。
3. PenCDF によって誘起される TBARS の上昇は、高用量の cynaropicrin の投与により、コントロール群と有意差がないレベルに回復した。

PenCDF により惹起される wasting syndrome に対する cynaropicrin の毒性軽減作用は極めて低い、もしくはないものと考えられる。しかし、高用量の cynaropicrin には、PenCDF による脂質過酸化への抑制作用があることが示唆された。今後、低用量の PenCDF に対する cynaropicrin の影響の再検討が望まれる。

謝 辞

本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）（課題番号：H24-食品-指定-014）によった。

参 考 文 献

- 1) Masuda Y : Behavior and toxic effects of PCBs and PCDFs in Yusho patients for 35 years. J. Dermatological Sci. 1 : S11-S20, 2005.
- 2) Masuda Y, Schecter A, and Papke O : Concentrations of PCBs, PCDFs and PCDDs in the blood of Yusho patients and their toxic equivalent contribution. Chemosphere 37 : 1773-1780, 1998.
- 3) Tanabe S, Kannan N, Wakimoto T, Tatsukawa R, Okamoto T, and Masuda Y : Isomer-specific determination and toxic evaluation of potentially hazardous coplanar PCBs, dibenzofurans and dioxins in the tissues of "Yusho" PCB poisoning victim and in the casual oil. Toxicol. Environ. Chem. 24 : 215-231, 1989.
- 4) Poland A and Knutson JC : 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons : examination of the mechanism of toxicity. Annu. Rev. Pharmacol.

- Toxicol. 22 : 517-554, 1982.
- 5) 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, 1995.
 - 6) Mimura J, Yamashita K, Nakamura K, Morita M, Takagi TN, Nakao K, Ema M, Sogawa K, Yasuda M, Katsuki M, and Fujii-Kuriyama Y : Loss of teratogenic response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in mice lacking the Ah (dioxin) receptor. *Genes Cells* 2 : 645-654, 1997.
 - 7) Hankinson O : The aryl hydrocarbon receptor complex. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 35 : 307-340, 1995.
 - 8) Ishida T, Oshimo T, Nishimura A, Mutoh J, Ishii Y, Koga N, Yamada H, Hashiguchi I, Akamine A, and Oguri K : Reduction of the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in mice using an antiulcer drug, geranylgeranylacetone. *Biol. Pharm. Bull.* 27 : 1397-1402, 2004.
 - 9) Ishida T, Taketoh J, Nakatsune E, Kan-o S, Naito E, Takeda S, Mutoh J, Ishii Y, and Yamada H : Curcumin anticipates the suppressed body weight gain 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in mice. *J. Health Sci.* 50 : 474-482, 2004.
 - 10) Ishida T, Naito E, Mutoh J, Takeda S, Ishii Y, and Yamada H : The plant flavonoid, quercetin, reduces some forms of dioxin toxicity by mechanism distinct from aryl hydrocarbon receptor activation, heat-shock protein induction and quenching oxidative stress. *J. Health Sci.* 51 : 410-417, 2005.
 - 11) Ishida T, Ishizaki M, Tsutsumi S, Ishii Y, and Yamada H : Piperine, a pepper ingredient, improves the hepatic increase in free fatty acids caused by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *J. Health Sci.* 54 : 551-558, 2008.
 - 12) Ishida T, Takeda T, Koga T, Yahata 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.
 - 13) Sonnante G, D'Amore R, Blanco E, Pierri CL, Palma MD, Luo J, Tucci M, and Martin C : Novel hydroxycinnamoyl-Coenzyme A quinate transferase genes from artichoke are involved in the synthesis of chlorogenic acid. *Plant Physiol.* 153 : 1224-1238, 2010.
 - 14) Cho JY, Baik KU, Jung JH, and Park MH : In vitro anti-inflammatory effects of cynaropicrin, a sesquiterpene lactone, from *Saussurea lappa*. *Eur. J. Pharmacol.* 398 : 399-407, 2000.
 - 15) Takei K, Hashimoto-Hachiya A, Takahara M, Tsuji G, Nakahara T, and Furue M : Cynaropicrin attenuates UVB-induced oxidative stress via the AhR-Nrf2-Nqo1 pathway. *Toxicol. Lett.* 234 : 74-80, 2015.
 - 16) Kuroki H, Haraguchi K, and Masuda Y : Synthesis of polychlorinated dibenzofuran isomers and their gas chromatographic profiles. *Chemosphere* 13 : 561-573, 1984.
 - 17) Ohkawa H, Ohishi N, and Yagi K : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95 : 351-358, 1979.
 - 18) Burke MD and Mayer RT : Inherent specificities of purified cytochromes P-450 and P-448 toward biphenyl hydroxylation and ethoxyresorufin deethylation. *Drug Metab. Dispos.* 3 : 245-253, 1975.
 - 19) Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, DeVito MJ, Farland W, Freely M, Fielder H, Hankinson H, Hanberg A, Haws L, Rose M, Safe S, Schrenck D, Tohyama C, Tritscher A, Tuomisto J, Tysklind M, Waker 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.

(Received for publication March 13, 2015)