

用を及ぼす物質は見いだされなかった。このことは、AP-1 を介するエストロゲン応答におけるその転写活性化機構は、その応答様式の違いにもかかわらず、ERE と共通性があることを示唆している。

E. 結 論

ER 依存性の AP1 部位を介する転写活性化においては、ER α 型と β 型で違った役割を果たす。一方で ERE 応答においては α 型と β 型の応答はほとんど区別されないと考えられる。ヒト ER においては、2 つの受容体は拮抗的に働くことが示唆されたが、ラット ER においては、2 つの型の間転写活性の違いはあっても差は明確でない。これらは、ER α 型と β 型の生理学的役割を理解する上で極めて重要な結果であり、内分泌かく乱物質のエストロゲン作用を検討するときトランスクリプショナルな ERE 応答とともに確認されるべき応答である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Sugihara, K., Kitamura, S., Sanoh, S., Ohta, S., Fujimoto, N., Maruyama, S., Ito, A. Metabolic activation of the proestrogens trans-stilbene and trans-stilbene oxide by rat liver microsomes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 167, 46-54 (2000)
2. Maruyama, S., Fujimoto, N., Asano, K., Ito A., Usui, T. Expression of estrogen receptor α and β mRNAs in prostate cancers treated with leuprorelin acetate. *Euro Urol.* In press (2000).

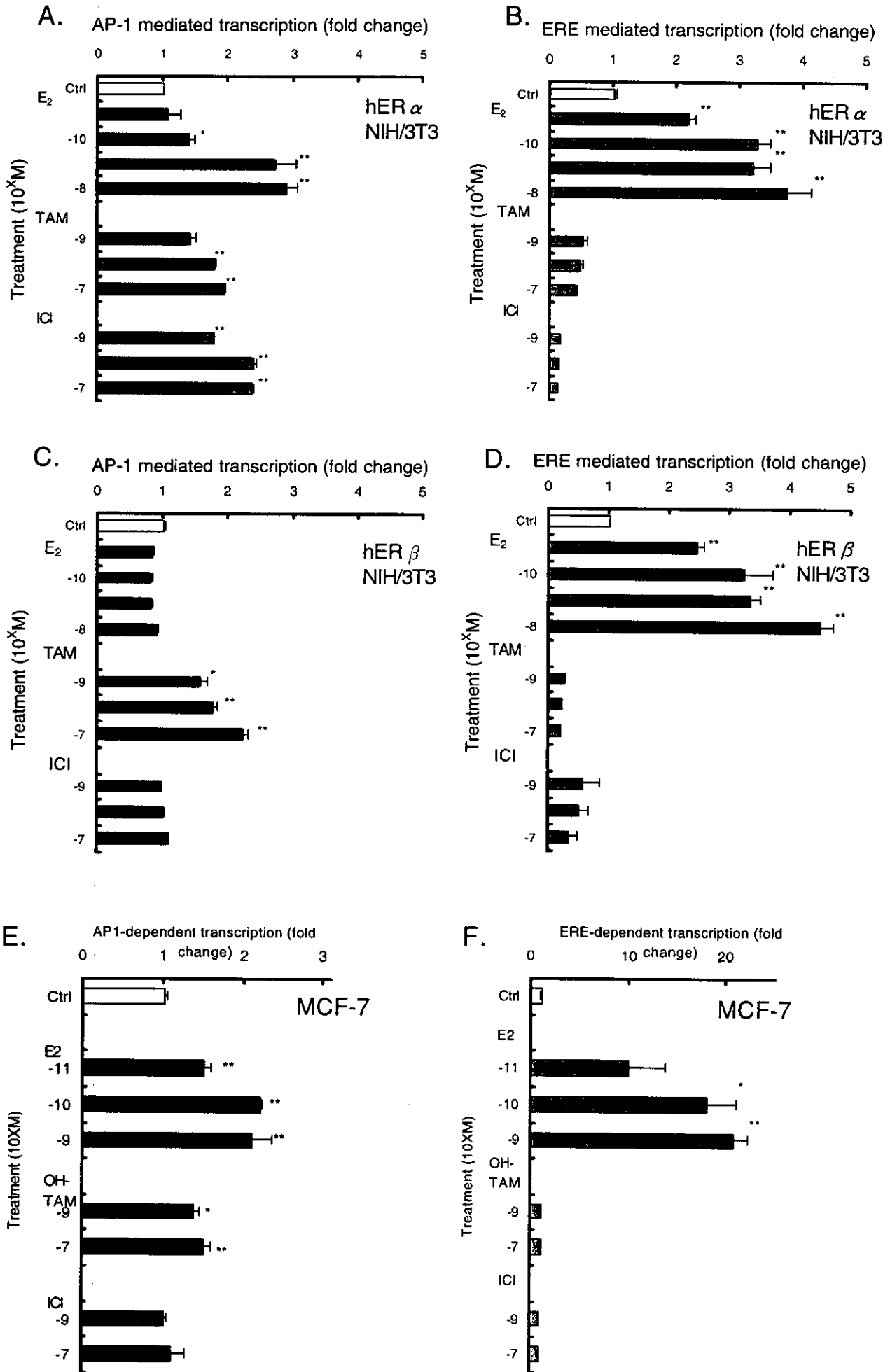
2. 学会発表

1. 藤本成明, 丸山聡, 浅野耕助, 伊藤明弘: ラット下垂体における pttg のエストロゲンによる調節第73回日本内分泌学会学術総会, 京都, 2000 (日本内分泌学会雑誌, 76, 119, 2000).
2. 浅野耕助, 藤本成明, 丸山聡, 碓井亞, 伊藤明弘: ラット下垂体のエ

- ストロジェン受容体調節における 2 種のプロモ-タ-の関与について 第 73 回日本内分泌学会学術総会, 京, 2000(日本内分泌学会雑誌, 76, 237, 2000).
3. 丸山聡, 藤本成明, 浅野耕助, 碓井亞, 伊藤明弘: ヒト前立腺癌におけるエストロジェン受容体 α , β mRNA の発現 第 88 回日本泌尿器科学会総会, 札幌, 2000.
 4. 藤本成明, 丸山聡, 伊藤明弘: エストロジェンによるラット下垂体腫瘍化と pttg 発現 第 59 回日本癌学会総会, 横浜, 2000(日本癌学会総会記事, 59, 3315, 2000).
 5. 丸山聡, 藤本成明, 伊藤明弘, 浅野耕助, 碓井亞: 前立腺の転写依存性増殖とエストロジェンレセプターの発現 第 59 回日本癌学会総会, 横浜, 2000.(日本癌学会総会記事, 59, 3330, 2000).
 6. Fujimoto, N., Maruyama, S., Ito, A. Opposite roles of ER α and ER β on estrogen receptor - AP-1 mediated transactivation. Keystone Symposia, Co. USA, 2000
 7. Fujimoto N., Yin H., Maruyama S., Asano K., Ito A. Strain difference in estrogen regulation of pttg (pituitary tumor transforming gene) in the rat pituitary gland International congress of endocrinology, Sydney, Australia, 2000.
 8. Maruyama S., Fujimoto N., Asano K., Ito A., Usui T. regulation of estrogen receptor α and β in rat prostate. Sydney, Australia, 2000.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし



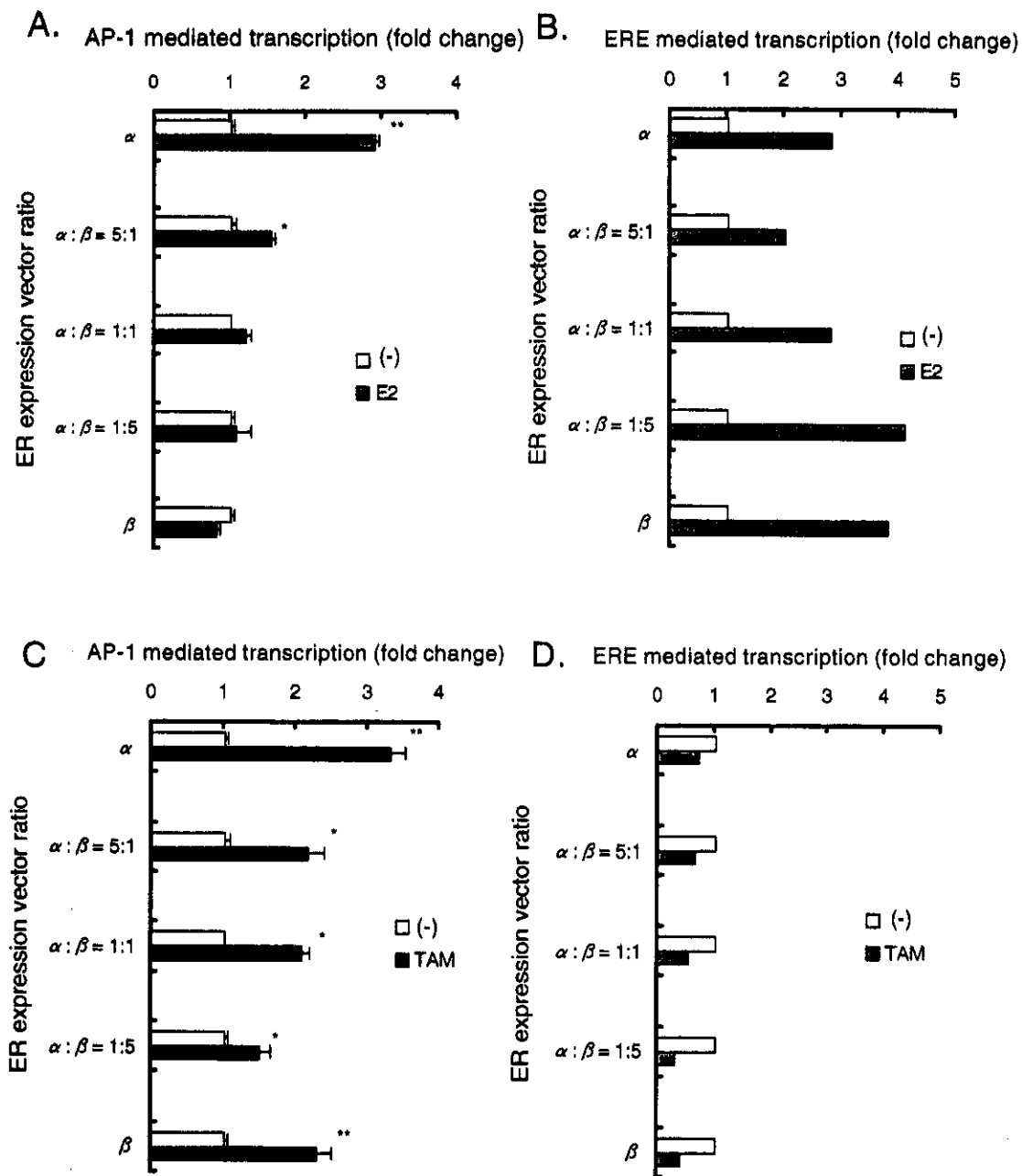
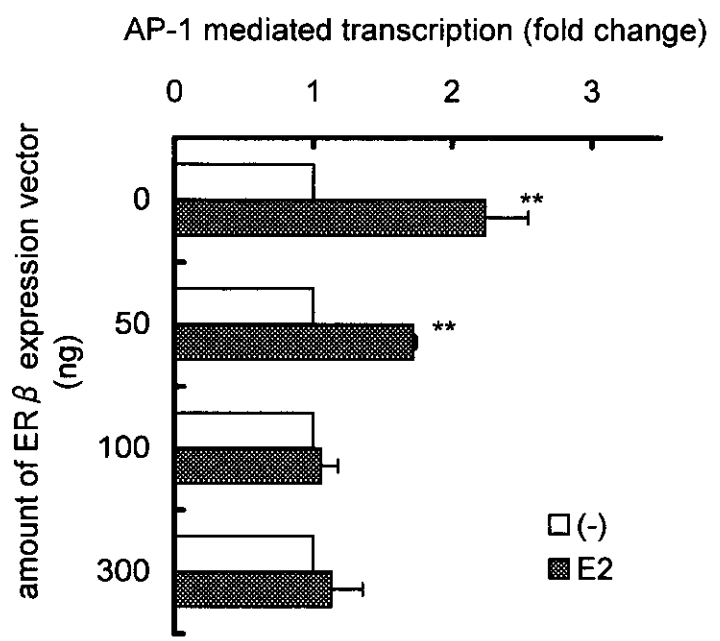


Fig. 3



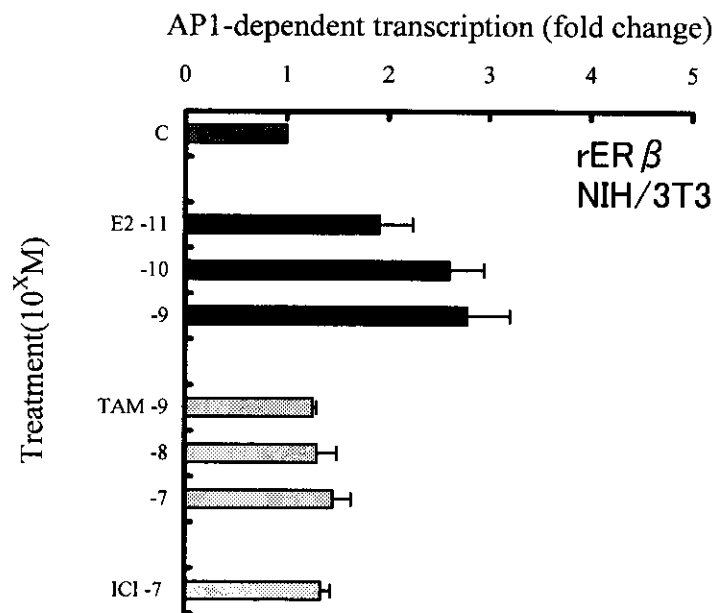
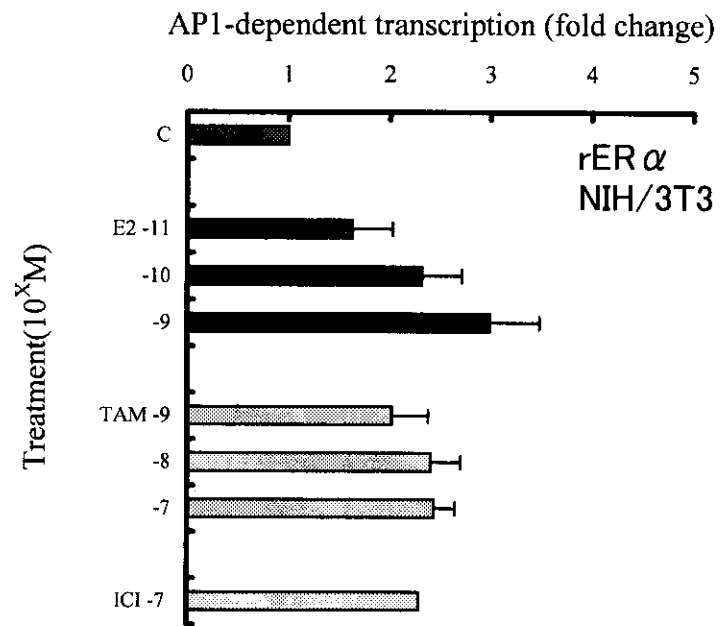
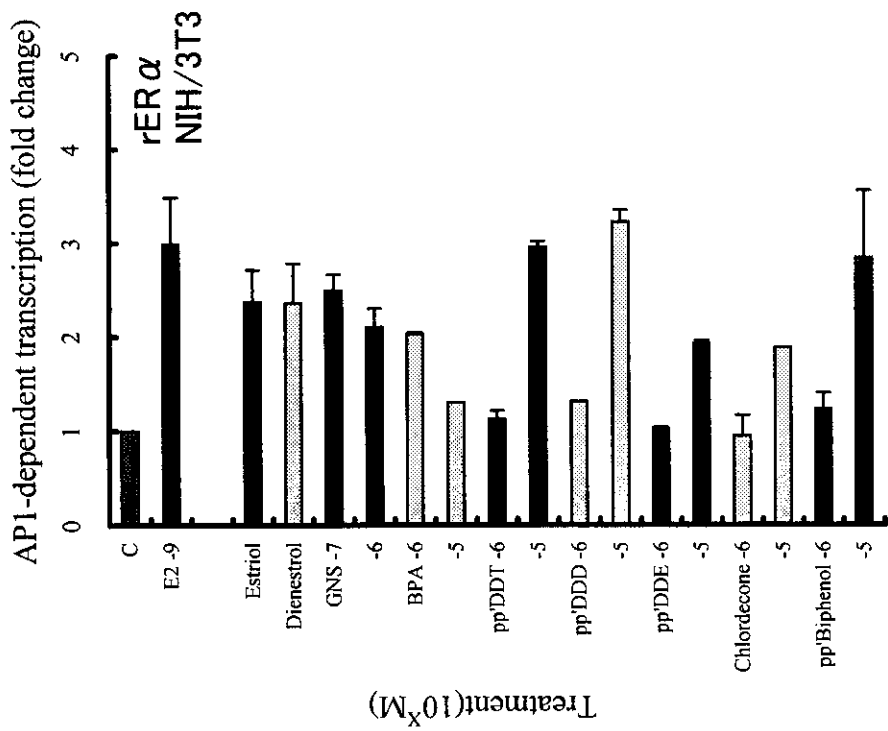
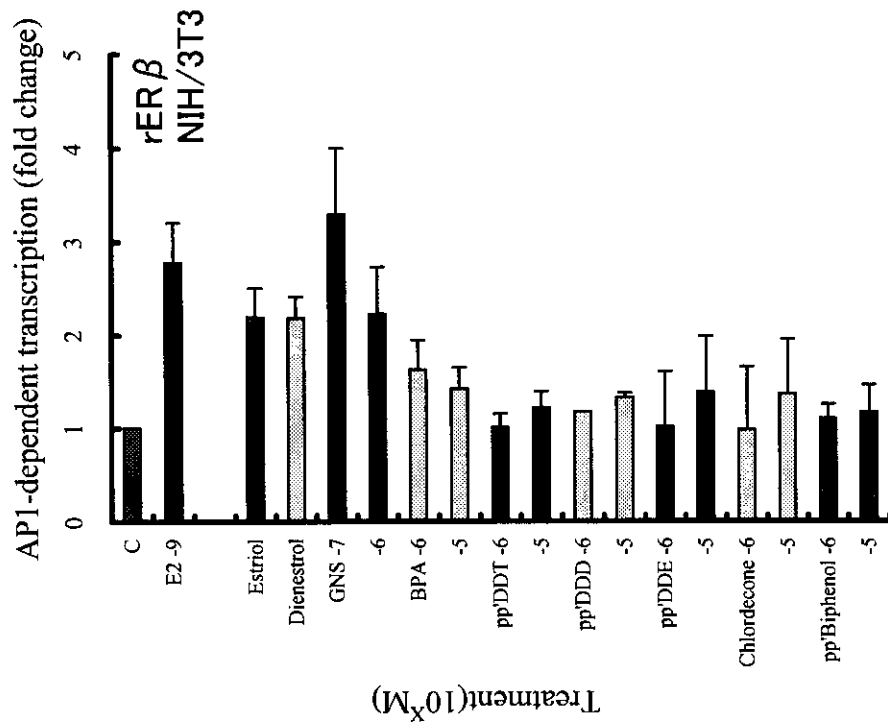


Fig. 5



8. ヒト組織における性ステロイド代謝酵素と受容体の検索

分担研究者 笹野公伸

東北大学大学院医学系研究科医科学専攻病理学講座病理診断学分野 教授

研究要旨

我々は、Estradiol (E2) と Estrone (E1) に変換する 2 型 17β -hydroxysteroid dehydrogenase がヒト消化管の吸収上皮で発現しており、DES, genistein などを中心とする内分泌かく乱物質によってその作用が阻害される事を示した。この事は内分泌かく乱物質の幾つかのものは経口的に摂取された外因性の性ステロイドの分解、代謝を阻害する事によっても内分泌環境に対して影響を与えている可能性が示唆された。

A. 研究目的

17β -hydroxysteroid dehydrogenase (17β -HSD) は、生物学的活性の高いエストロゲンである estradiol (E2) と低い estrone (E1) とを相互に変換することにより、エストロゲン活性のレベルを制御している酵素である。 17β -HSD の type 1 アイソザイム (17β -HSD1) は、C18 ステロイドに特異性が高く、主として E1 をエストロゲン活性の高い E2 へ変換している。一方、 17β -HSD の type 2 アイソザイム (17β -HSD2) は、E2 を E1 へ変換してエストロゲン活性を弱めるだけでなく、アンドロゲンに関しても生物学的活性の高い Testosterone から低い Androstenedione に変換する働きを持っている。すなわち 17β -HSD2 は、エストロゲンやアンドロゲンの活性を弱め

ることによって、これらの性ステロイドの局所における活性を制御している。さらに 17β -HSD2 は、C21 ステロイドの 20α -oxidation にも関与しており、 20α -dihydroprogesterone から progesterone に変換してプロゲステロン活性を高める役割も果たしている。大部分の内分泌かく乱物質は経口摂取されて体内に入るものが大部分であり、これらの物質は一度体内に蓄積されると脂肪組織に蓄積されてなかなか代謝されて排出されない。そこでヒトの体内では消化管粘膜がこれらの内分泌かく乱物質暴露に対する重要な防御機構となっていることが想定される。我々は昨年ヒト胎児においては消化管粘膜で極めて高い 17β -HSD 2 の発現及び活性が見られる事を報告している。そこで今回は男女双方の様々な年代を含む食道から直腸までの消

化管においてこの 17β -HSD 2 の発現及び活性を総合的に検討し、ヒト成人におけるこの酵素の生物学的意義を検討した。

また化学的構造から多くの内分泌かく乱物質はこの酵素に対しては必ずしも親和性は示さない事が考えられる。そこで内分泌かく乱物質がこの性ステロイド代謝において重要な役割をしている 17β -HSD 2 の活性を制御することによっても生体内の内分泌環境をかく乱しているのではないかという仮定にたって、ヒト胎児の消化管他の組織ならびに 17β -HSD 2 を transfection させた培養細胞で酵素活性に対して与える内分泌かく乱物質の影響を検討した。

B. 研究方法

①ヒト成人消化管ならびに肝臓における 17β -HSD type 2 の検討

1. 対象

食道から直腸に至るヒト正常消化管 80 例を免疫組織化学の対象とした。組織としては食道 10 例、胃 14 例、12 指腸 14 例、小腸 14 例、結腸 14 例並びに直腸 14 例である。症例の年齢は 19 歳から 85 歳で平均年齢 52 歳であり、男女比は 1 : 1 である。これらの組織は、東北大学医学部附属病院病理部の病理組織標本から取り出した 10%ホルマリン固定パラフィン包埋標

本である。これらの標本はいずれも病理組織学的には異常を認めなかった。Enzyme assay 及び RNA 抽出のための標本は各々 18 例、8 例であり、詳細は表 1, 2 にまとめてある。これらの標本は東北大学医学部附属病院での手術にて採取後素早く凍結させ使用まで -80°C で凍結保存した。

2. ヒト消化管組織における 17β -HSD 活性の検討

ヒト胎児の各組織のホモジネートに、E2 あるいは E1 と補酵素を加えてインキュベートし、E1 あるいは E2 へどの程度変換されるのかを検討することにより、ヒト消化管組織における 17β -HSD 活性の検討を行った。

まず、これらのヒト消化管組織をリン酸バッファー (100mM KCl、10mM KH_2PO_4 、10mM Na_2HPO_4 、1mM EDTA、pH7.5) 中で、Potter-Elvehjem glass-Teflon homogenizer を用いてホモジナイズした。それを軽く遠心して残渣を沈殿させた後、その上清を、 $1\mu\text{M}$ の ^{14}C でラベルされた基質 (E2 または E1) と 10mM の補酵素 (NAD^+ 、 NADP^+ 、 NADH 、 NADPH のうちどれかひとつ) を含んだリン酸バッファー 0.5ml 中に加え、 37°C で 30 分間インキュベートした。反応は 2ml のジエチルエーテルを加えて攪拌することにより停止させた。

有機層を分離し、溶媒を蒸発させ、その沈渣を cyclohexane/ ethyl acetate (1:1, v/v)へ溶解して薄層クロマトプレートへスポットした後、cyclohexane/ ethyl acetate (1:1, v/v) を developing solvent として薄層クロマトグラフィーを施行した。プレートを乾燥させ室温で 18 時間感光させた後、GS-250 MOLECULAR IMAGER (BIO-RAD Laboratories, 2000 Alfred Nobel Drive, Hercules, CA)を用い、生成された E1 あるいは E2 の検出、定量を行った。ホモジネートの蛋白量は、ウシ血清アルブミンを標準とし、Lowry 法にて測定した。ヒト消化管組織間における 17β -HSD 活性の差異は、Bonferroni 法により検定した。また、補酵素間の 17β -HSD 活性の差異は Student's t-test により検定した。いずれも p 値が 0.01 以下の場合を有意とみなした。

3. 17β -HSD1 と 17β -HSD2 の RT-PCR

蛍光プライマー (fluorescent dye-labeled primer) を用いて RT-PCR を施行し、画像解析装置を利用することにより、ヒト消化管各組織における 17β -HSD1 と 17β -HSD2 mRNA の半定量を行った。

今回の検討では、抽出した total RNA と、 17β -HSD1、 17β -HSD2 及び β

-actin の standard RNA を用いて RT-PCR を行った。ヒト消化管組織からの total RNA は塩化セシウム超遠心法にて抽出し、 17β -HSD1、 17β -HSD2 及び β -actin の standard RNA はこれらの cDNA を鋳型とし、T7 RNA polymerase により合成した。total RNA (0.2~2 μ g) と standard RNA (0.02~2 amol) から SUPERScript reverse transcript (Gibco-BRL, Grand Island, N.Y.) を用いて cDNA を合成し、続いて 23~28 サイクルの PCR を施行した。PCR 産物は 2% agarose gel に電気泳動した後、Gene Scanner 362 Fluorescent Fragment Analyzer (Perkin-Elmer Co., Foster City, CA) を用いてバンドの検出、定量を行った。用いた蛍光標識の primer の sequence を表 1 に示す。

4. 免疫組織化学

(1) 1 次抗体

17β -HSD2 の免疫組織化学には、Dr. Stefan Andersson (Cecil H. and Ida Green Center for Reproductive Biology Sciences, University of Texas Southwestern medical Center, Dallas, Texas) より供与されたマウス抗ヒト 17β -HSD2 モノクローナル抗体、mAb-C2-12 (subclass IgG1/ κ) を用いた。これは、 17β -HSD2 の C 末端の 375 番か

ら 387 番のアミノ酸残基の合成タンパクに対する抗体である(20)。

(2)免疫組織化学

免疫組織学は Histofine Kit (Nichirei Co. Ltd, Tokyo, Japan) を用い、Avidin-biotin complex 法にて施行した。

まず、パラフィン包埋された組織を 3.0 μm に薄切し、シランコートされたスライドガラスにのせた。脱パラフィン後、抗原賦活化のため、10 mmol/L のクエン酸バッファー(pH6.0)に浸し、120°C、5 分にてオートクレーブ処置を施行した。その後、0.3%過酸化水素含メタノールに 30 分間浸して内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止し、つづいて非特異的な反応を阻止するため、正常ウサギ血清と 30 分間反応させた。次に一次抗体を至適濃度に調製し、滴下、4°C で約 18 時間反応させた。各抗体の希釈倍率は、1:5 である。洗浄後、biotin 標識抗マウス IgG 抗体を 30 分反応させた後、peroxidase 標識 ストレプトアビジンを 30 分反応させた。最後に、0.06mM 3,3'-diaminobenzidine (DAB) + 2mM H₂O₂ in 0.05M Tris (pH7.6) で発色させた後、ヘマトキシリンにて核染色、透徹封入した。

②17 β -HSD2 活性に対する内分泌かく乱物質の影響

1. 対象

ヒト胎児腎臓由来の 293 細胞に対して 17 β -HSD2 を transfection させた細胞モデルを作成した。transfection 後 48 時間で細胞を集めて 50mM potassium phosphate buffer, pH 7.4, containing 20% glycerol and 1 mM EDTA の溶液中に 2mg/ml 蛋白となるように調整した。

東北大学医学部倫理委員会の手承を得ている合併症のない健常な妊婦に対して施行された elective termination の際に採取した 2 例の 14 週の胎児の肝臓ならびに小腸の組織、および full term の胎盤から採取した胎盤組織を 17 β -HSD2 の活性の検討の目的で用いた。

2. 内分泌かく乱物質

①DES、②Flutamide、③Vinclozolin、④ Testosterone propionate、⑤ Genistein、⑥Estradiol、⑦BPA(ビスフェノール A)、⑧フタル酸ベンジル n-ブチル、⑨BBP(ブチルベンジルフタレート)、⑩2,3,7,8-TCDD、⑪エタノールのみ、⑫DMSO のみ、⑬Corn oil のみの 13 種類の化合物について 17 β -HSD2 の活性に対する変化を調べた。①~⑦については 1mM に調製した。③は DMSO に溶解させた(エタノールに溶解しなかったため)。他はエタノールに溶解させた。⑧⑨は常温で液体である。⑩は Corn oil に溶解した。⑪⑫⑬は

negative control.として、⑥は positive control.として用いた。

3. 酵素活性の検討

transfection させた細胞を用いた実験では 17β HSD2 は 400ng を用いて、Co-factor として NAD 1mM、基質として Testosterone(T) 100nM を用いて上述の化合物とは 37 度で 10 分間反応させた。まず、すべての化合物について、final concentration で $10\mu\text{M}$ となるように加え検討した。胎児組織における酵素活性の検討は成人の消化管組織における検討に準じた。

(倫理面への配慮)

なお、今回の実験プロトコールに関しては、東北大学医学部倫理委員会の了承を得ている。

C. 研究結果

①ヒト成人消化管ならびに肝臓における 17β -HSD type 2 の検討

1. 酵素活性

結果を表 1 にまとめる。 17β -HSD2 活性は胃、12 指腸、回腸、結腸そして直腸において認められた。食道においては有意の 17β -HSD 2 の活性は認められなかった。 17β -HSD 1 の活性はいずれの消化管組織においても認められな

かった。検討した男性例と女性例の間に 17β -HSD 2 活性の有意の差は認められなかった。

2. RT-PCR

結果を表 2 に示す。数値は、 β -actin の発現量を基準とし、各組織において発現している 17β -HSD1 と 17β -HSD2 の mRNA 量を相対的に表したものである。 17β -HSD1 はいずれの消化管組織においても検出限界以下であった。 17β -HSD2 は、食道、胃、十二指腸、回腸、結腸そして直腸で発現が認められた。一番多い発現量は回腸で認められた。

3. 免疫組織化学

胎児組織における 17β -HSD2 の免疫染色の結果を表 4 に示す。 17β -HSD2 は食道の扁平上皮には認められず、小腸、結腸そして直腸では 17β -HSD2 は吸収上皮においてのみ認められた。胃においては 17β -HSD2 は腸上皮化生を呈している上皮のみにおいて認められており、腸上皮化生を呈していない被蓋上皮では発現は認められなかった。消化管の筋層では 17β -HSD2 の陽性所見は認められなかった。

② 17β -HSD2 活性に対する内分泌かく

乱物質の影響

1. 17β HSD2 を transfection させた細胞における検討。

結果を表5にまとめる。

この表から分かるようにエタノールと DMSO は酵素活性に影響しないが、Corn oil が酵素活性を阻害してしまうことが判明した。DES と genistein は 17β -HSD2 活性を $10\mu\text{M}$ で各々83% and 63%と阻害することが分かり、BBP も $10\mu\text{M}$ も30%と阻害することが判明した。一方 BPA, vinclozolin そして flutamide は 17β -HSD2 活性に対しての阻害効果は認められなかった。次にこれら DES, genistein, BBP に関して濃度を変えて検討したところ BPA に関しては阻害効果はなかったが、DES, Genistein は各々IC50 が約 $5\mu\text{M}$ 、約 $7\mu\text{M}$ と著名な阻害効果を示した。

2. ヒト胎児組織における DES, genistein, BBP の 17β -HSD2 活性に対する阻害効果の検討

上述の細胞による検討から 17β -HSD2 活性に対する阻害効果を示した DES, genistein, BBP の3種類の化合物に関してヒト胎児組織の homogenate を用いて実際の組織における 17β -HSD2 活性に対する影響を検討した。結果を図1にまとめるが、培養細胞における結果と

同様に DES と genistein は 17β -HSD2 活性を胎盤、肝臓そして小腸組織において同様に阻害したことが分かった。BBP ではこのような阻害効果は認められなかった。

D. 考察

17β -HSD1 は、NADPH を補酵素として E1 を E2 へと還元し、エストロゲン活性を高める役目をしている。一方 17β -HSD2 は、NAD⁺ を補酵素として E2 を E1 へ、あるいは Testosterone を Androstenedione に酸化し、エストロゲンやアンドロゲンを生物学的活性の低い方へ変換する働きをしている。従って、 17β -HSD1 と 17β -HSD2 の発現のパターンは、組織におけるエストロゲン活性の制御に重要な役割を果たしていると考えられる。

今回のヒト消化管を用いた検討では、E2 を E1 に転換する 17β HSD2 は消化管の吸収上皮を中心に認められ、活性、mRNA 発現共脂質類などがもっとも活発に吸収される小腸で一番高い値を示した。近年傾向的に摂取されるテストステロン、エストロゲンなどは投与後直ちに分解もしくは代謝されてしまい血中にはほとんど入っていない事が示されている。また 17β HSD2 は経口避妊薬や合成エストロゲン製剤などを代謝しその生物学的活性を低下させる事も報告されて

きている。このようにヒト消化管の吸収上皮における 17β HSD2 は、同様にこの酵素の存在が報告されておる肝臓と併せて経口的に摂取された様々な性ステロイドホルモンの生物学的活性を低下させる事により外因性のステロイドホルモンの作用を制御しており、人体における性ステロイド代謝において極めて重要な役割を果たしている事が考えられる。そしてこの消化管における 17β HSD2 は近年注目を集めている内分泌かく乱物質や大腸菌に由来するエストロゲン、植物性のエストロゲンに対しても経口的に摂取される性ステロイドホルモン同様にこのような分解もしくは代謝作用を示す事が考えられる。

しかしこれらの化合物、特に内分泌かく乱物質とされている物質の多くは化学構造を考えると 17β HSD2 の代謝を受けることは極めて考えにくい。そこで我々はこれらの外因性の内分泌かく乱物質がこの人体の性ステロイド代謝において極めて重要な働きをしている 17β HSD2 の活性を変化させる事によっても作用をしているのではないかと考えた。このように外因の物質が種々の代謝酵素の活性、発現動態を制御して生体に作用を及ぼすという概念は従来から提唱されてきてはいるが、内分泌かく乱物質に関して今まで研究報告がなされた例はまったくなく今回の検討が初めてである。そ

こで我々はまず種々の内分泌かく乱物質のこの酵素活性に対しての影響を 17β HSD2 を transfection させたヒト胎児腎臓由来の 293 細胞を用いて検討した。これらの内分泌かく乱物質の中で DES ならびに植物性エストロゲンである genistein、BBP が酵素活性を阻害し、特に DES ならびに genistein が阻害効果は極めて著名であった。そして次にこれらの酵素活性が報告されているヒト胎児の小腸、肝臓、胎盤を用いて 17β HSD2 に対するこれら 3 種類の内分泌かく乱物質の影響を検討したところ、実際のこれらの組織では DES、genistein は阻害作用を示したが BBP は示さなかった。以上の結果から DES、genistein はこれらの物質そのものが性ステロイド作用を示すことに加えて、消化管での経口的に摂取された外因性の性ステロイドの分解、代謝を阻害する事によっても人体の性ステロイド代謝、作用に対して影響を与えているものと考えられた。このように内分泌かく乱物質の幾つかのものではその化合物そのものが性ステロイドとしてエストロゲンなどの性ステロイド受容体と結合して作用する事以外に、生体内の性ステロイドホルモンの代謝動態を変えて作用させる可能性もあるという点で今回の検討から極めて興味深く重要な知見を得たと考えられる。

今後、内分泌かく乱物質が既知の性ス

テロイド代謝、合成酵素の発現に対してどのような影響を与えるのかという事を更に検討することにより、人体に対する内分泌かく乱物質の作用機序に関して新たな視点を提供出来る事が期待される。今回の検討では 17β HSD2 だけを対象として検討したが、他の酵素に対しての影響を検討することにより人体における個々の性ステロイド合成、代謝酵素に対するこれらの物質の影響を考えるのに際しての基礎データを作成する事が出来る。さらにこの方向での検討をすすめることにより、内分泌かく乱物質の化学構造や受容体レベルでの検索に加えて、これらの性ステロイド合成、代謝酵素に対しての影響を検討する方法は内分泌かく乱物質のスクリーニングの一つとなりうる可能性を有していると思われる。

E. 結論

ヒト消化管では小腸を中心とする吸収上皮を中心としてエストラジオールをエストロンに転換する 17β -HSD2 の活性、発現が認められており、経口的に摂取された外因性の性ステロイドが体内循環に入る前の段階でのすみやかな分解、代謝に大きな役割を果たしているものと考えられる。すなわちこのヒト消化管粘膜吸収上皮における 17β -HSD2 は経口的に摂取された過剰のエストロゲンへの曝露に対するバリアとして重要な役割を果た

しているものと考えられた。さらに内分泌かく乱物質がこの酵素の活性を変化させる事によっても生体内の内分泌環境に対して影響を与えているのではないのかという仮定に立ち、 17β -HSD2 を transfection させた培養細胞ならびにこれらの酵素が存在している胎児の胎盤、小腸、肝臓組織を用いて内分泌かく乱物質の 17β -HSD2 に対する阻害作用を検討した。検討した内分泌かく乱物質の中で DES, genistein はこの 17β -HSD2 の作用を培養細胞、組織双方において有意に阻害した。以上の結果から DES, genistein はこれらの物質そのものが性ステロイド作用を示すことに加えて、消化管での経口的に摂取された外因性の性ステロイドの分解、代謝を阻害する事によっても人体の性ステロイド代謝、作用に対して影響を与えているものと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takeyama J, Suzuki T, Hirasawa G, Muramatsu Y, Nagura H, Iinuma K, Nakamura J, Kimura KI, Yoshihama M, Harada N, Andersson S, Sasano H: 17β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 2 expression in the human fetus.. Journal of Clinical Endocrinology &

Metabolism 85:410-416 2000

2. Moriya T, Sakamoto K, Sasano H, Kawanaka M, Sonoo H, Manabe T, Ito J: Immunohistochemical analysis of Ki-67, p53, p21, and p27 in benign and malignant apocrine lesions of the breast: its correlation to histologic findings in 43 cases. Modern Pathology 13:13-18 2000

3. Kimura K, Sasano H, Shimosegawa T, Mochizuki S, Nagura H, Toyota T: Ultrastructure of cells undergoing apoptosis. Vitamin and Hormone 58:257-266 2000

4. Suzuki T, Moriya T, Ariga N, Kaneko C, Kanazawa M, Sasano H: 17Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and type 2 in human breast carcinoma: a correlation to clinicopathological parameters., British Journal of Cancer 82:518-523 2000

5. Speiser PW, Susin M, Sasano H, Bohrer S, Markowitz J: Ovarian hyperthecosis in the setting of portal hypertension., Journal of Clinical

Endocrinology & Metabolism 85:873-877 2000

6. Hirasawa G, Takeyama J, Sasano H, Fukushima K, Suzuki T, Muramatu Y, Darnel AD, Kaneko C, Hiwatashi N, Toyota T, Nagura H, Krozowski ZS: 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II and mineralocorticoid receptor in human placenta., Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 85:1306-1309 2000

7. Sone M, Takahashi K, Murakami O, Totsune K, Arihara Z, Satoh F, Sasano H, Ito H, Mouri T: Binding sites for melanin-concentrating hormone in the human brain., Peptides 21:245-50 2000

8. Suzuki S, Suzuki T, Tsubochi H, Koike K, Tateno H, Krozowski ZS, Sasano H: Expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and mineralocorticoidreceptor in primary lung carcinomas. Anticancer Research 20:323-328 2000

9. Kaaijk EM, Sasano H, Suzuki T, Beek JF, van Der Veen F:

- Distribution of steroidogenic enzymes involved in androgen synthesis in polycystic ovaries: an immunohistochemical study., *Molecular Human Reproduction* 6:443-447 2000
10. Tashiro A, Sasano H, Nishikawa T, Yabuki N, Muramatsu Y, Coughtrie MW, Nagura H, Hongo M: Expression and activity of dehydroepiandrosterone sulfotransferase in human gastric mucosa., *Journal of Steroid Biochemistry Molecular Biology* 72:149-154 2000
11. Arai K, Muro H, Suzuki M, Oba N, Ito K, Sasano H: Adrenal rest tumor of the liver: A case report with immunohistochemical investigation of steroidogenesis., *Pathology International* 50:244-248 2000
12. Yoshimoto T, Naruse M, Ito Y, Naruse K, Ueda T, Tanabe A, Harada S, Nishikawa T, Sasano H: Obara T, Demura H, Adrenocortical carcinoma manifesting pure primary aldosteronism: a case report and analysis of steroidogenic enzymes., *Journal of Endocrinological Investigation* 23:112-117 2000
13. Ariga N, Moriya T, Suzuki T, Kimura M, Ohuchi N, Satomi S, Sasano H: 17beta-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and type 2 in ductal carcinoma in situ and intraductal proliferative lesions of the human breast. *Anticancer Research* 20:1101-1108 2000
14. Iwabuchi M, Sasano H, Hiwatashi N, Masuda T, Shimosegawa T, Toyota T, Nagura H: Serrated adenoma: a clinicopathological, DNA ploidy, and immunohistochemical study., *Anticancer Research* 20:1141-1147 2000
15. Tsubochi H, Suzuki T, Suzuki S, Ohashi Y, Ishibashi S, Moriya T, Fujimura S, Sasano H: Immunohistochemical study of basaloid squamous cell carcinoma, adenoid cystic and mucoepidermoid carcinoma in the upper aerodigestive tract., *Anticancer Research* 20:1205-1212 2000
16. Arihara Z, Takahashi K,

- Murakami O, Totsune K, Sone M, Satoh F, Ito S, Hayashi Y, Sasano H, Mouri T: Orexin-A in the human brain and tumor tissues of ganglioneuroblastoma and neuroblastoma., *Peptides* 21:565-570 2000
17. Murakami M, Nakagawasai O, Fujii S, Hosono M, Hozumi S, Esashi A, Taniguchi R, Okamura T, Suzuki T, Sasano H, Yanagisawa T, Tan-no K, Tadano T, Kitamura K, Kisara K: Antinociceptive effect of cilnidipine, a novel N-type calcium channel antagonist., *Brain Research* 868:123-127 2000
18. Matsuzaki S, Fukaya T, Uehara S, Murakami T, Sasano H, Yajima A: Characterization of messenger RNA expression of estrogen receptor-alpha and -beta in patients with ovarian endometriosis., *Fertility and Sterility* 73:1219-1225 2000
19. Matsuzaki S, Murakami T, Sato S, Moriya T, Sasano H, Yajima A: Endomyometriosis arising in the uterosacral ligament: A case report including a literature review and immunohistochemical analysis., *Pathology International* 50:493-496 2000
20. Semba S, Moriya T, Youssef EM, Sasano H: An autopsy case of ovarian hyperstimulation syndrome with massive pulmonary edema and pleural effusion., *Pathology International* 50:549-552 2000
21. Sasano H, Suzuki T, Moriya T: Recent advances in surgical pathology of adrenal incidentaloma., *Biomed & Pharmacother* 54 Suppl 1:169s-174s 2000
22. Bulun SE, Zeitoun KM, Takayama K, Sasano H: Estrogen biosynthesis in endometriosis: molecular basis and clinical relevance., *Journal of Molecular Endocrinology* 25:35-42 2000
23. Iino K, Oki Y, Sasano H : A case of adrenocortical carcinoma associated with recurrence after laparoscopic surgery., *Clinical Endocrinol (Oxf)* 53:243-248 2000

24. Yamanaka K, Iitaka M, Inaba M, Morita T, Sasano H, Katayama S : A case of renin-producing adrenocortical cancer., *Endocrine Journal* 47:119-125 2000
25. Suzuki T, Takahashi K, Darnel AD, Moriya T, Murakami O, Narasaka T, Takeyama J, Sasano H : Chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor II in the human adrenal cortex and its disorders. , *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 85:2752-2757 2000
26. Hasegawa T, Zhao L, Caron KM, Majdic G, Suzuki T, Shizawa S, Sasano H, Parker KL : Developmental roles of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) as revealed by StAR knockout mice. , *Molecular and cellular Endocrinology* 14:1462-1471 2000
27. Suzuki T, Moriya T, Darnel AD, Takeyama J, Sasano H: Immunohistochemical distribution of chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor II in human tissues., *Molecular and cellular Endocrinology* 164:69-75 2000
28. 笹野公伸, 鈴木貴
ACTH independent macronodular adrenocortical hyperplasia (AIMAH) の一例
病理と臨床 18:54-55, 2000
29. 笹野公伸, 鈴木貴, 宇都宮裕貴, 伊藤潔
子宮内膜増殖症における性ステロイドホルモン -intracrinology との関連について-
産科と婦人科 67:57-62, 2000
30. 笹野公伸
液性内分泌学から組織・細胞内分泌学へ
東北医誌 111:191-193, 2000
31. 森谷卓也, 渡辺みか, 笹野公伸
粘液性境界悪性腫瘍 (低悪性度腫瘍)
病理と臨床 18:419-424;2000
32. 笹野公伸, 鈴木貴
エストロゲン産生臓器としての脂肪組織ホルモンと臨床 臨時増刊号 31-34:2000
33. 笹野公伸, 伊達文子
免疫二重染色
組織細胞科学 2000 96-101;2000
34. 鈴木貴, 金子智香, 笹野公伸
固定法
病理と臨床 臨時増刊号 18:8-10;2000
35. 笹野公伸, 鈴木貴, 森谷卓也
細胞増殖関連抗原
病理と臨床 臨時増刊号 18:85-90;2000
36. 笹野公伸
自動化
病理と臨床 臨時増刊号 18:290-292;2000

37. 笹野公伸、金子智香、伊達文子
市販抗体の免疫組織化学における使い方
と注意点
病理と臨床 臨時増刊号 18:69-
71;2000
38. 鈴木貴、Andrew D.Darnel、武山
淳二、
笹野公伸
ステロイドホルモンの免疫組織化学
病理と臨床 臨時増刊号 18:99-
103;2000
39. 笹野公伸、鈴木貴
内分泌 e. 副腎
病理と臨床 臨時増刊号 18:164-
165;2000
40. 鈴木貴、志澤聡一郎、奈良坂俊明、
笹野公伸
免疫組織化学の画像処理
病理と臨床 臨時増刊号 18:313-
317;2000
41. 笹野公伸、鈴木貴
エストロゲン産生臓器としての脂肪組織
内分泌・糖尿病科 11:190-195;2000
42. 渡辺みか、隈部俊宏、白根礼造、吉
本高志、笹野公伸
pilocytic astrocytoma (毛細胞性星状膠
細胞腫)
病理と臨床 18:1043-1050;2000
43. 笹野公伸、奈良坂俊明、鈴木貴
ヒト副腎、肝臓疾患における
Dehydroepiandrosterone
Sulfotransferase
(DHEA-ST)の発現動態
ホルモンと臨床 48:71-76;2000
44. 志澤聡一郎、森谷卓也、笹野公伸、
増田高行、名倉宏
暗号化電子メールを用いたインターネッ
ト経由の病理診断情報送受信の試み
—PGP (Pretty Good Privacy)
により電子メールの暗号化、電子署名の
病理 診断学分野への応用 病理と
臨床 18:969-974;2000
45. 志澤聡一郎、笹野公伸
病理検査室の小規模データベースにおけ
る暗号化ソフトウェアの利用
—ファイルメーカーPro と Troi Coding
Plug-In を用いて— 病理と臨床
18:814-816;2000
2. 学会発表
1. Expression of Estrogen Receptors
 α and β , 17 β -Hydroxysteroid
Dehydrogenase Types 1 and 2 in
Human Fetus