

表3-2. Diisononylphthalateの周産期曝露による影響評価実験の経過

Dose(ppm)	400	4000	20000
Intake(mg/kg/day)	30.7-66.2	306.7-656.7	1164.5-2656.7
体重及び摂餌量			
母動物 妊娠中			
授乳中			
児動物 出生時体重			
P2-P10 増体量			
P10-P21 増体量			
離乳後増体量			
生殖関連パラメータ			
出生時 AGD			
P10 遺伝子発現			
P21 体重			
臓器重量			
組織検査			
春期発動			
性周期			
W11 体重			
臓器重量			
組織検査			

網掛け：変化なし, AGD: anogenital distance, ()内の数値は% of control, P: Postnatal day
 ↑: 上昇, ↓: 減少, *: p<0.05, **: p<0.01

表3-3. Nonylphenolの周産期曝露による影響評価実験の経過

Dose(ppm)	60	600	3000
Intake(mg/kg/day)	4.8-9.1	48.2-87.2	270.4-455.3
体重及び摂餌量	↓** (増体量; 75%)		
母動物			
妊娠中	↓ (♂90%, ♀88%)		
授乳中			
児動物	↓ (♂73%, ♀76%)		
出生時体重			
P2-P10 増体量			
P10-P21 増体量			
離乳後増体量	↓** (♀82%, 対体重値は変化なし)		
生殖関連パラメータ	解析中		
出生時	解析中		
P10	遺伝子発現		
P21	↓* (♂87%, ♀82%)		
体重	解析中		
臓器重量			
臓器重量	解析中		
組織検査	解析中		
春期発動	解析中		
性周期	解析中		
W11	↑*副腎 (♀相対 117%)		
体重	解析中		
臓器重量			
臓器重量	解析中		
組織検査	解析中		

網掛け: 変化なし, AGD: anogenital distance, ()内の数値は% of control, P: Postnatal day

↑: 上昇, ↓: 減少, *: p<0.05, **: p<0.01

表3-4. Methoxychlorの周産期曝露による影響評価実験の経過

Dose(ppm)	24	240	1200
Intake(mg/kg/day)	1.9-3.8	18.7-35.9	81.4-167.9
体重及び摂餌量	↓ (増体量** ; 74%, 摂餌量 ; 87%) ↓ ** (摂餌量 ; 84%) ↓ (♂90%, ♀91%) ↓ ** (♂65%, ♀66%)		
母動物 妊娠中			
授乳中			
児動物 出生時体重	↓ ** (♂90%, ♀91%)		
P2-P10 増体量	↓ ** (♂65%, ♀66%)		
P10-P21 増体量			
離乳後増体量			
生殖関連パラメータ			
出生時 AGD			
P10 遺伝子発現	解析中		
P21 体重	↓ (♂84%, ♀94%)		
臓器重量	↓ ** 精巣 (絶対 68%, 相対 81%) ↓ 卵巣 (絶対 64%, 相対 70%)		
組織検査	解析中		
春期発動	♂ ; ↑ * (day, cont.41 vs. 43) ♀ : ↓ ** (day, cont. 33 vs. 31) ↓ * (体重, 85%) 発情期あるいは休止期の延長		
性周期			
W11 体重	♀ : 卵巣 ↓, 子宮 ↑		
臓器重量	♀ : 卵巣・子宮の組織変化		
組織検査			

網掛け: 変化なし, AGD: anogenital distance, ()内の数値は% of control, P: Postnatal day
 ↑: 上昇, ↓: 減少, *: p<0.05, **: p<0.01

表3-5. Bisphenol Aの周産期曝露による影響評価実験の経過

Dose(ppm)	60	600	3000			
Intake(mg/kg/day)	5.1-8.5	49.1-80.2	231.8-384.4			
体重及び摂餌量						
母動物						
授乳中						
出生時体重						
P2-P10 増体量						
P10-P21 増体量						
離乳後増体量						
生殖関連パラメータ						
出生時 AGD						
P10 遺伝子発現				解析中		
P21						
体重						
臓器重量	解析中					
組織検査						
春期発動						
性周期						
W11						
体重						
臓器重量						
組織検査						
解析中						

網掛け：変化なし, AGD: anogenital distance, ()内の数値は% of control, P: Postnatal day

↑:上昇, ↓:減少, *:p<0.05, **:p<0.01

表3-6. Tamoxifenの周産期曝露による影響評価実験の経過

Dose(ppm)	0.005	0.05	0.25
Intake(ug/kg/day)	0.4-0.8	3.8-8.0	20.5-30.8
体重及び摂餌量			
母動物			
授乳中			
児動物			
出生匹数			
出生時体重			
P2-P10 増体量			
P10-P21 増体量			
離乳後増体量			
生殖関連パラメータ			
出生時 AGD			
P10 遺伝子発現			
P21 体重			
臓器重量			
組織検査			
春期発動			
性周期			
W11 体重			
臓器重量			
組織検査			

減少傾向

解析中

解析中

解析中

網掛け: 変化なし, AGD: anogenital distance, ()内の数値は% of control, P: Postnatal day

表4. メトキシクロールを周産期に曝露されたラットの性成熟後における
内分泌関連器官の病理組織変化

Male		Methoxychlor in diet (ppm)			
		0	24	240	1200
Finding	Animals examined	5	5	5	5
No abnormalities detected		5	5	5	5
Female		Methoxychlor in diet (ppm)			
		0	24	240	1200
Finding	Animals examined	5	5	5	8
Ovary					
-Multiple follicular cysts (Total)		0	0	0	7
	(±)	0	0	0	2
	(+)	0	0	0	1
	(++)	0	0	0	3
	(+++)	0	0	0	1
Uterus					
-Endometrial hyperplasia (Total)		0	0	0	7
	(±)	0	0	0	1
	(+)	0	0	0	3
	(++)	0	0	0	3
-Squamous metaplasia, endometrium (Total)		0	0	0	1
	(++)	0	0	0	1
Vagina					
-Mucosal hyperplasia (Total)		3	1	1	6
	(±)	3	1	1	0
	(+)	0	0	0	1
	(++)	0	0	0	5
-Mucinous degeneration associated with scattered keratinization of epithelia (Total)		0	0	0	4
	(±)	0	0	0	1
	(+)	0	0	0	1
	(++)	0	0	0	1
	(+++)	0	0	0	1
Pituitary					
-Diffuse hyperplasia, anterior lobe (Total)		0	0	0	7

表 5. DINP を周産期に曝露された雄性ラットの性成熟後における
精巣・精巣上体の病理組織変化

Male		DINP in diet (ppm)			
		0	400	4000	20000
Finding	Animals examined	5	5	5	5
Testis					
-Degeneration of dividing spermatocytes at stage XIV					
	(Total)	0	0	0	4
	(±)	0	0	0	0
	(+)	0	0	0	4
-Vacuolar degeneration of Sertoli cells					
	(Total)	0	0	0	4
	(±)	0	0	0	4
Epididymis					
-Scattered cell debris in tubules					
	(Total)	0	0	0	4
	(±)	0	0	0	4

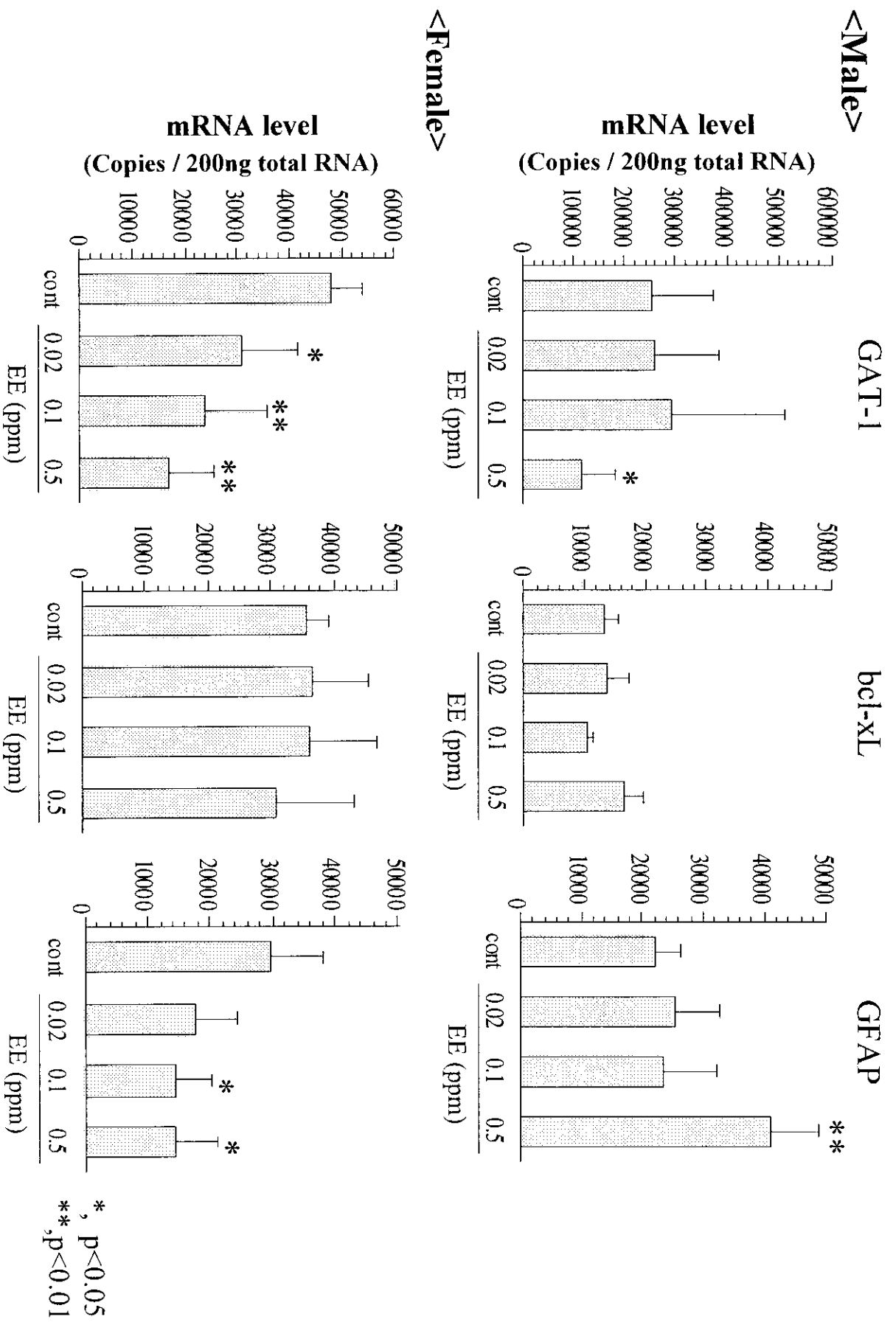


図1. エチニルエストラジオールを周産期に曝露した出生ラットの生後9日でのSDN-POA領域における遺伝子発現変動

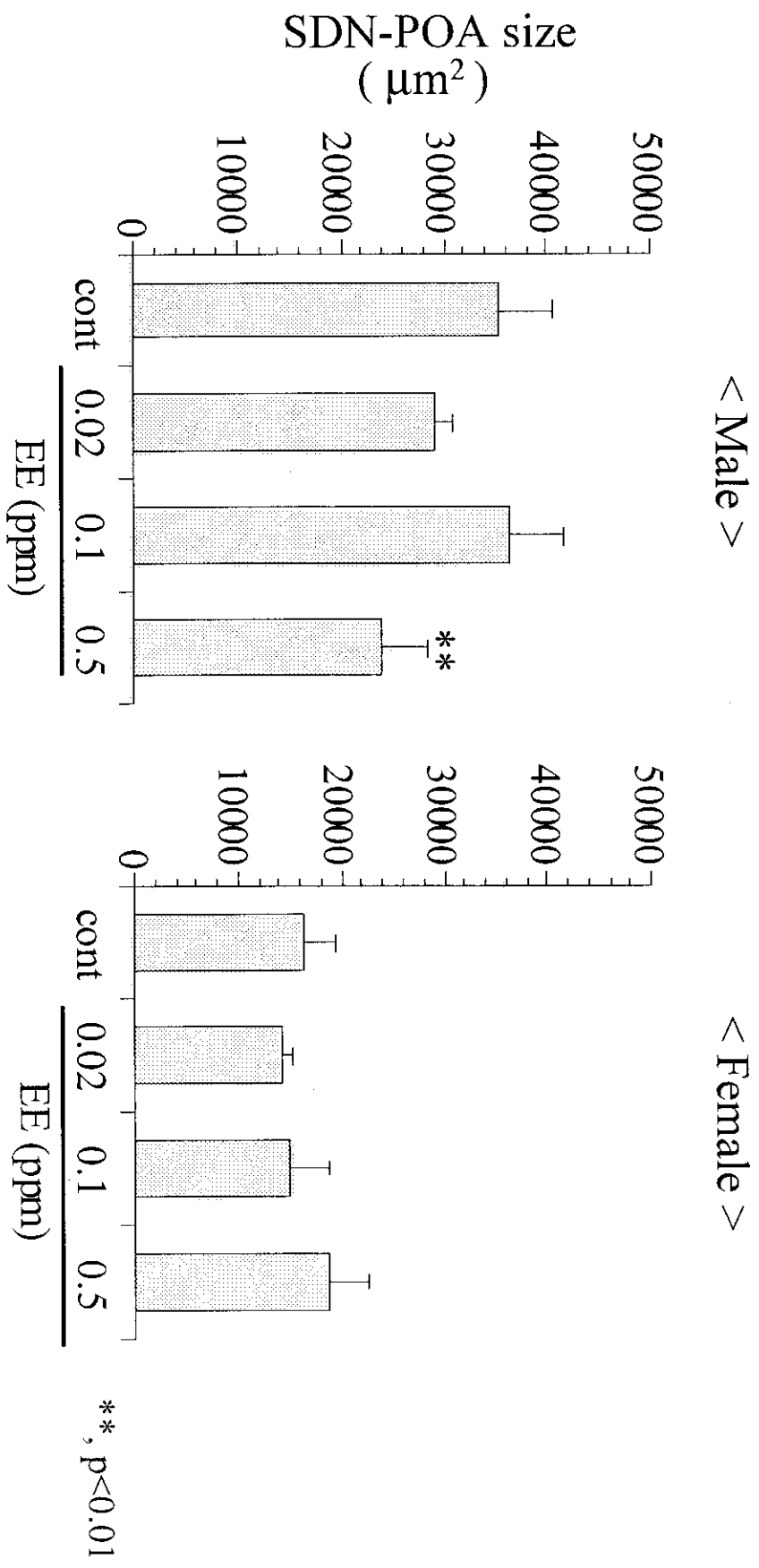


図2. エチニルエストラジオールを周産期に曝露したラットの生後11週時のSDN-POAのサイズ

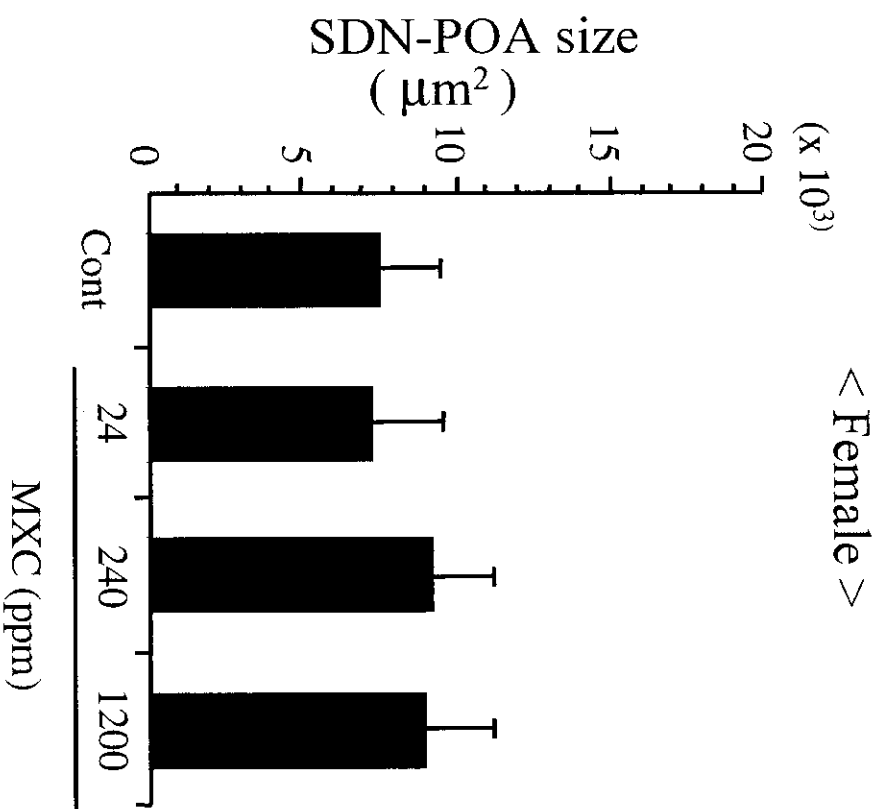
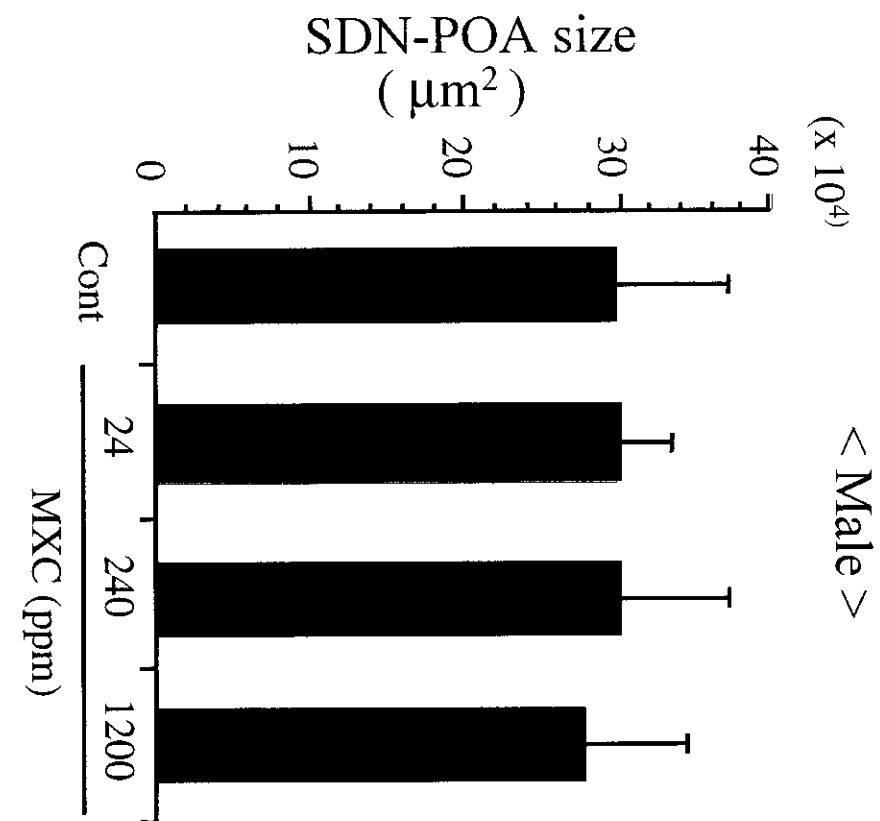


図 3. メトキシクロールの周産期曝露後，生後11週時のSDN-POAのサイズ

視床下部機能の神経内分泌学的解析

分担研究者 西原 真杉 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医生理学教室 教授

周生期における内分泌かく乱化学物質の暴露による、新生期の視床下部における遺伝子発現への影響および成熟期での生殖内分泌系や性行動への影響を検討するための基礎実験を行った。新生期の視床下部における遺伝子発現への影響の検討として、新生ラットにおいて発現に雌雄差のある遺伝子を DNA マイクロアレイ法により同定した。その結果、雄において発現の高いクローンが 38 個、雌において発現の高いクローンが 41 個単離された。また成熟後の雌での性周期回帰や性行動への影響の検討として、エチニルエストラジオールを妊娠・哺乳ラットに経口投与し、胎盤あるいは乳汁を経由して胎仔あるいは新生仔に移行させた。成熟後、雌ラットの性周期を膣スメアーにより観察したところ、性周期の回帰パターンに異常が見られた。また、雄ラットの性行動を観察したところ、挿入および射精の頻度には影響は見られなかったが、マウント頻度は有意に上昇した。今回マイクロアレイにより新たに同定された遺伝子の新生期での発現、雌における性周期の回帰パターンおよび雄における雄性行動は、胎仔期、新生仔期における内分泌かく乱化学物質暴露の脳に対する影響を解析するための有用なパラメータとなりうるものと考えられる。

A. 研究目的

哺乳動物における性行動の発現パターンや性腺刺激ホルモンの分泌パターンなどの雌雄差は、脳の機能的・形態的な雌雄差に起因している。ラットの場合、出生後数日の特定の時期（臨界期）に精巣から分泌されるアンドロジェンが脳内で芳香化酵素によりエストロジェンへと代謝され、未分化な脳に作用して雄型に分化誘導することが知られている。本研究は、内分泌かく乱化学物質がこのような脳の性分化の過程に *in vivo* においてどのように作用し、生殖機能に影響を与えるかを解明を目的としている。そこで平成 12 年度では、1) 新生期における脳の性分化関連遺伝子の DNA マイクロアレイ法による探索、2) 周生期における内分泌かく乱化学物質の暴露による成熟後の雌での性周期回帰や性行動への影響の検討、を行った。

1) 研究方法

1) 新生期における脳の性分化関連遺伝子の DNA マイクロアレイ法による探索

5 日齢の雌雄ラットより視床下部全体を含む組織ブロックを回収した。DNA マイクロアレイに

よる解析は、CLONTECH 社の Custom Atlas Hybridization & Analysis Service へ依頼した。

アレイは Atlas Rat cDNA Expression Arrays 1.2 I 及び II（ラット 2,352 遺伝子）を用いた。

2) 周生期における内分泌かく乱化学物質の暴露による成熟後の雌での性周期回帰や性行動への影響の検討

エチニルエストラジオール (EE) などの合成エストロジェンを妊娠・哺乳ラットに経口投与し、胎盤あるいは乳汁を経由して胎仔あるいは新生仔に移行させた。処置群としては 1) EE を妊娠ラットに経口投与し、胎盤あるいは乳汁を経由して胎仔あるいは新生仔に移行させたもの (EE 群)、2) 出生 2 日齢のラットにエストラジオールベンゾエート (EB) を 25 μ g 皮下投与したもの (EB 群)、3) 対照群 (control ; CO 群) の 3 群を設けた。これら処置群の雌雄ラットの成熟後、生殖内分泌系や性行動にどのような影響を与えるかを検討した。

雌ラットの生殖機能の検討としては、8 週齢の雌ラットの性周期の回帰を膣スメアー法により観察した。

雄ラットについては雄性行動の観察を行った。発情雌ラット(去勢雌ラットにエストロゲン・プロゲステロン処置したもの)と雄ラットをアクリルケージに入れ、暗視野ビデオカメラにて30分間の雄性行動を観察した。マウント、挿入、射精の頻度と各パラメータの初回行動までの時間、初回の射精後から再びマウントの発現する時間(射精後マウント潜時)を計測した。

なおこれらの研究を行うに当たっては、東京大学農学部動物実験委員会に実験計画書を提出し、承認を得た上で実施している。

2) 研究結果

1) ラット 2,352 遺伝子を対象にした DNA マイクロアレイにより、5日齢のラット視床下部において雄において発現の高いクローンが38個、雌において発現の高いクローンが41個単離された。これら単離された遺伝子のうち代表的なものを表1に示した。

2) 雌ラットの生殖機能の検討として、8週齢のEE処置の雌ラット性周期の回帰パターンに対する効果を、図1および表2に示した。CO群の性周期は、発情期(estrus; E)、発情前期(Proestrus; P)、発情休止期(diestrus; D)第1日、第2日の正常な4日周期が確認された。EE群については、発情期の日が2日連続するという、性周期回帰パターンの異常が観察された。性周期の異常を示す個体数は、EE 0.025ppm 処置群では13匹中の7匹(53.8%)、EE 0.0025ppm 処置群では12匹中の8匹(66.7%)であった。EB群については連続発情(constant estrus)を示した。

EE 処置の雄ラットの性行動に対する効果を表3、図2に示した。EE 処置群については、挿入および射精の頻度には影響は見られなかったが、マウント頻度は有意に上昇した。さらに初回までのマウント、挿入までの時間については、EE 処置群において短くなる傾向が観察された。EB 処置群のマウント頻度は変化なかったが、挿入頻度は有意に減少した。さらに EB 群は射精まで至る

個体が無かった。

D. 考察

新生期における脳の性分化関連遺伝子をの生雌雄ラットの視床下部を対象にした DNA マイクロアレイを行った。我々は、上皮系の細胞の成長を調節する因子として知られるグラニューリン(grn)が脳の性分化誘導因子であること、さらには grn が内分泌かく乱化学物質の標的分子である可能性の高いことなどを昨年度までに示している。今回新たに同定された遺伝子群も、grn 遺伝子と同様に内分泌かく乱化学物質の標的分子である可能性が高い。

新生期のエストロゲン処置により、成熟後の雌ラットの性周期の回帰パターンの異常が観察された。EB 処置群では連続発情を示したが、これは新生期の大量のエストロゲン暴露による脳の性分化の異常により、ゴナドトロピンサージが起こらなくなった結果によるものと考えられている。さらに EE 処置群で、発情期の日が2日連続するという、性周期回帰パターンの異常が観察された。この異常についても脳の性分化の異常による可能性が高い。

EE 処置の雄ラットの性行動については、マウント頻度の上昇、初回までのマウント、挿入までの時間の短縮が観察された。EE 処置により性行動に対する動機付けが高まったと解釈できる結果であり、性ステロイドへの感受性の変化が起きている可能性が考えられる。

5) 結論

我々は昨年度までに、上皮系の細胞の成長を調節する因子として知られるグラニューリン遺伝子が、性分化期の視床下部における内分泌攪乱化学物質の標的遺伝子である可能性が高いことを示した。これに加えて、マイクロアレイにより新たに同定された遺伝子の新生期での発現、成熟期での雌における性周期の回帰パターン、および雄における雄性行動が、胎仔期、新生仔期における内分泌かく乱化学物質暴露の脳に対する影響を解析するた

めの有用なパラメータとなりうるものと考えられた。

6) 研究発表

1. 論文発表

1) Induction of granulin precursor gene expression by estrogen treatment in neonatal rat hypothalamus. *Neuroscience Letters*, 297,199-202, 2001(鈴木らと共著)

2) 脳の性分化誘導機構に関する分子生物学的解析-グラニューリン遺伝子の単離とその機能-
Journal of Reproduction and Development, 46, j51-j57 2001 (鈴木らと共著)

3) Granulin is a sex-steroid inducible gene in the hypothalamus and involved in sexual differentiation of the rat brain. *Journal of Reproduction and Development*, 46 (sup), 51-52, 2000 (鈴木らと共著)

4) Suppression of copulatory behavior by intracerebroventricular infusion of antisense oligodeoxynucleotide of granulin in neonatal male rats. *Physiology&Behavior*, 68,707-713, 2000 (鈴木らと共著)

5) 哺乳動物における脳の性分化誘導機構の分子生物学的解析-グラニューリン遺伝子の単離とその機能- 比較内分泌学会ニュース, 98, 25-29, 2000

2. 学会発表

1) 新生ラット視床下部におけるグラニューリン前駆体遺伝子のエストロゲン処置による発現誘導 (鈴木らと共著) 第 23 回 日本神経科学大会、2000 年 9 月、横浜

2) 脳の性分化誘導機構に関する分子生物学的解析-グラニューリン遺伝子の単離とその機能- (鈴木らと共著) 第 93 回 日本繁殖生物学会シンポジウム、2000 年 10 月、神戸

3) 新生ラット視床下部におけるグラニューリン前駆体遺伝子の性ステロイドによる発現誘導- 内分泌かく乱化学物質の標的因子としての可能性- (鈴木らと共著) 第 3 回 日本内分泌攪乱化学物質学会、2000 年 12 月、横浜

G. 知的所有権の取得状況

特になし

Male / Female Ratio	Gene	
Cell cycle regulator		
0.42	p27Kip1	CDK inhibitor
0.17	p130	Oncogene & tumor suppressor
Cell surface/adhesion molecule		
2.05	Jagged homolog 1 (JAG1)	Extracellular communication
2.00	Developmentally regulated intestinal protein (OCI-5)	Proteoglycan
0.59	Neuroglycan C precursor	Proteoglycan
G-protein		
0.56	Ras-related protein rab1A	G protein
0.56	Rab12, ras related GTPase	G protein
0.42	Guanine nucleotide-binding protein G(i)/G(s)/G(t) beta subunit 3 (GNB3)	G protein
Growth factor/hormone		
2.33	Beta-type calcitonin gene-related peptide	Peptide hormone
1.91	Chemokine CX3C	Chemokine
0.50	Heparin-binding growth associated protein	Growth factor
0.44	Insulin like growth factor I (IGF-I)	Growth factor
Growth factor/hormone receptor		
2.00	Putative vomeronasal organ receptor 6 (VN6)	Receptor (by ligands)
1.87	GFI2 protein	Interleukin receptor
0.56	Mannose-6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor	Growth factor receptor
0.50	BDNF/NT-3 growth factor receptor precursor	Growth factor receptor
Immune system protein		
2.11	Natural killer cell protein group 2C (NKG2C)	Immune system protein
1.89	Complement component 4-binding protein alpha precursor (C4BPA)	Immune system protein
1.77	MHC class I-related protein (MR1)	MHC protein
Metabolic enzyme		
1.87	GTP cyclohydrolase I feedback regulatory protein	Metabolism enzyme
0.20	Lipoprotein lipase precursor (LPL)	Lipid metabolism
0.13	Cytochrome c oxidase, subunit VIa, heart	Energy metabolism
Neurotransmitter receptor		
2.00	Acetylcholine receptor, nicotinic, epsilon, muscle	Neurotransmitter receptor
1.71	N-methyl-D-aspartate receptor-like subunit (NMDARL)	Neurotransmitter receptor
0.56	D(4) dopamine receptor	Neurotransmitter receptor
0.44	Glutamate receptor 1 precursor (GluR-1)	Neurotransmitter receptor
Signal transducer		
0.50	cAMP-dependent protein kinase type II-beta regulatory chain	Kinase network member
0.20	Phospholipase C beta 3 (PLC-beta 3)	Phospholipase
0.20	Protein tyrosine phosphatase PTP-S	Protein phosphatase
0.09	Adenylyl cyclase 4	Adenylate cyclase
Transcription/Translation factor		
2.25	Myogenin	Transcription factor
2.00	N5 DNA-binding protein	Transcription factor
1.88	Eukaryotic hemin-sensitive initiation factor 2a kinase (eIF-2a)	Protein involved in translation
0.56	Eukaryotic translation initiation factor 2 alpha subunit (EIF-2-alpha)	Translation factor
0.53	c-jun proto-oncogene	Transcription factor
Transporter and ion channel		
2.10	Renal osmotic stress-induced NaCl organic solute cotransporter (ROSIT)	Symporter & antiporter
1.83	Mannose-binding protein A (serum) gene	Extracellular transporter & carrier
0.50	Potassium channel, voltage gated, KV3.4	Voltage-gated ion channel
Others		
0.59	Synaptotagmin IV (SYT4)	Trafficking & targeting protein
0.50	Heat shock 70-kDa protein (HSP70)	Heat shock protein
0.08	Osteoprotegerin (OPG)	Extracellular communication

* CLONTECH Atlas membrane (2,352 genes)により解析

表1 DNAマイクロアレイ法により単離された発現に雌雄差のある遺伝子

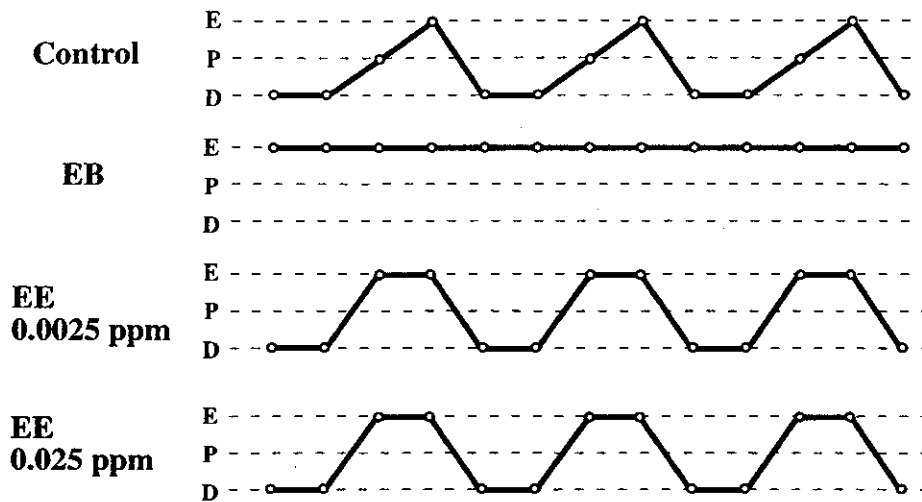


図1 エストロジェンを投与した雌ラットの成熟後の性周期回帰パターン

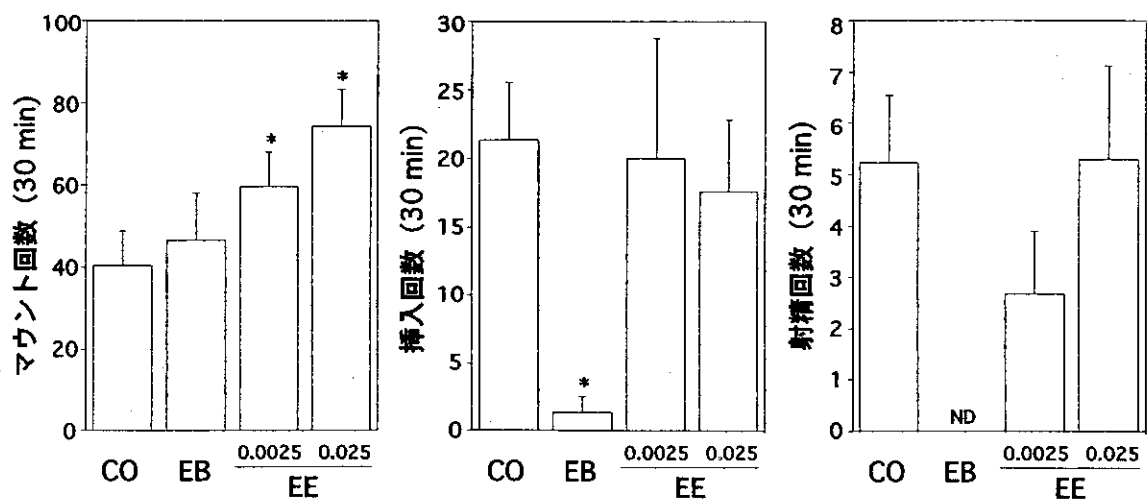
	総数	異常	パーセント(%)
Control	14	1	7.14
EB	8	6	75.0
EE0.0025ppm	13	7	53.8
EE0.025ppm	12	8	66.7

表2 エストロジェンを投与した雌ラットの性周期の異常が観察された個体数とそのパーセント

	CO群	EB群	EE 0.0025ppm	EE 0.025 ppm
検査雄動物数	5	4	5	6
マウントした雄動物数	5	4	5	6
初回マウントまでの時間 (sec)	192.2±30.3	110.0±55.5	79.6±15.0*	60.7±11.6*
挿入した雄動物数	5	2	5	6
初回挿入までの時間 (sec)	270.0±48.1	153.5±73.5	419.8±213.2	221.5±60.8
射精した雄動物数	5	0	3	5
初回射精までの時間 (sec)	876.2±136.1	ND	836.7±127.1	783.0±156.6
射精後マウント潜時 (sec)	336.4±10.0	ND	375.3±6.2	347.4±24.9

*: P<0.05 vs.CO, ND: not detected

表3 新生仔時期に性ステロイドに暴露された雄ラットの交尾行動のマウント、挿入、射精の初回行動までの時間と射精後マウント潜時



*: P<0.05 vs.CO, ND: not detected

図2 新生仔時期に性ステロイドに暴露された雄ラットの交尾行動における30分間のマウント、挿入、射精の頻度

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Yamagishi, S., Hatanaka, H. et al.	p38 Mitogen-activated protein kinase regulates low potassium-induced apoptosis in cultured cerebellar granule neurons	J. Biol. Chem.	276	5129-5133	2001
Ishikawa, Y., Hatanaka, H. et al.	Brain-derived neurotrophic factor accelerates nitric oxide donor-induced apoptosis of cultured cortical neurons	J. Neurochem.	75	494-502	2000
Satoh, T., Hatanaka, H. et al.	Facilitatory roles of novel compounds designed from cyclopentenone prostaglandins on neurite outgrowth-promoting activities of nerve growth factor	J. Neurochem.	75	1092-1102	2000
Araki, T., Hatanaka, H. et al.	BIT/SHPS-1 enhances BDNF-promoted neuronal survival in cultured cerebral cortical neurons	J. Neurochem.	75	1502-1510	2000
Nishio, C., Hatanaka, H. et al.	Involvement of cystatin C in oxidative stress-induced apoptosis of cultured rat CNS neurons.	Brain Res.	873	252-262	2000
Yoneda, N., Asai, K. et al.	Regulation of aquaporin-4 expression in astrocytes.	Mol Brain Res.			(in press)
Yamamoto, M., Asai, K. et al.	Alterations in the expression of the AQP family in cultured rat astrocytes during hypoxia and reoxygenation.	Mol Brain Res.			(in press)
Morikawa, M., Asai, K. et al.	Isolation and characterization of a new immortal rat astrocyte with a high expression of NGF mRNA.	Neurosci. Res.	39	205-212	2001
Miyachi, T., Asai, K. et al.	Interleukin-1 β induces the expression of lipocortin 1 mRNA in cultured rat cortical astrocytes.	Neurosci. Res.			(in press)
Kataoka, H., Asai, K. et al.	Alpha-fetoprotein producing gastric cancer lacks transcription factor ATF1.	Oncogene	20	869-873	2001
Higashida, H., Asai, K. et al.	Cyclic ADP-ribose as a potential second messenger for neuronal Ca ²⁺ signaling.	J. Neurochem.	76	321-331	2001
Fujita, M., Asai, K. et al.	Regulation of rat hippocampal neural cadherin in the kainic acid induced seizures.	Neurosci. Lett.	297	13-16	2001
Aoyama, M., Asai, K. et al.	Human neuroblastomas with unfavorable biologies express high levels of brain-derived neurotrophic factor mRNA and a variety of its variants.	Cancer Lett.	164	51-60	2001
Tsuiki, H., Asai, K. et al.	Cloning of a rat glia maturation factor-gamma (rGMFG) cDNA and expression of its mRNA and protein in rat organs.	J. Biochem.	127	517-523	2000
Hotta, T., Asai, K. et al.	Membrane-bound form of ADP-ribosyl cyclase in rat cortical astrocytes in culture.	J. Neurochem.	74	669-675	2000
Shibutani, M. et al.	Methacarn fixation, a novel tool for analysis of gene expressions in paraffin-embedded tissue specimens.	Lab. Invest.	80	199-208	2000
Uneyama, C., Shibutani, M. et al.	Methacarn, a fixation tool for multipurpose gene expression analysis from paraffin-embedded tissue materials.	Current Topics in Biochem. Res.			(in press)

別添6

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Suzuki, M., Nishihara, M., et al.	Induction of granulin precursor gene expression by estrogen treatment in neonatal rat hypothalamus.	Neurosci. Lett.	297	199-202	2001
西原真杉	哺乳動物における脳の性分化誘導機構の分子生物学的解析-グラニューリン遺伝子の単離とその機能-	比較内分泌学会ニュース	98	25-29	2000
Suzuki, M., Nishihara, M., et al.	Suppression of copulatory behavior by intracerebroventricular infusion of antisense oligodeoxynucleotide of granulin in neonatal male rats.	Physiol. Behav.	68	707-713	2000
Suzuki, M., Nishihara, M., et al.	Granulin is a sex-steroid inducible gene in the hypothalamus and involved in sexual differentiation of the rat brain.	J. Reprod. Develop.	46 (sup)	51-52	2000
鈴木正寿, 西原真杉ら	脳の性分化誘導機構に関する分子生物学的解析-グラニューリン遺伝子の単離とその機能	J. Reprod. Develop.	46	j51-j57	2001