

Fig. 4

Rcho-1細胞にE2様の活性を持つとされる化合物を曝露し、プロラクチンファミリー遺伝子の発現変化をミニアレイ法により調べた。Rcho-1細胞にそれぞれの化合物を4日間曝露し、RNAを回収した。それぞれ5  $\mu$ gのRNAを32p dCTPの存在下で逆転写反応させ、プローブを作成し、ハイブリダイゼーションに供した。感光は24h行なった。

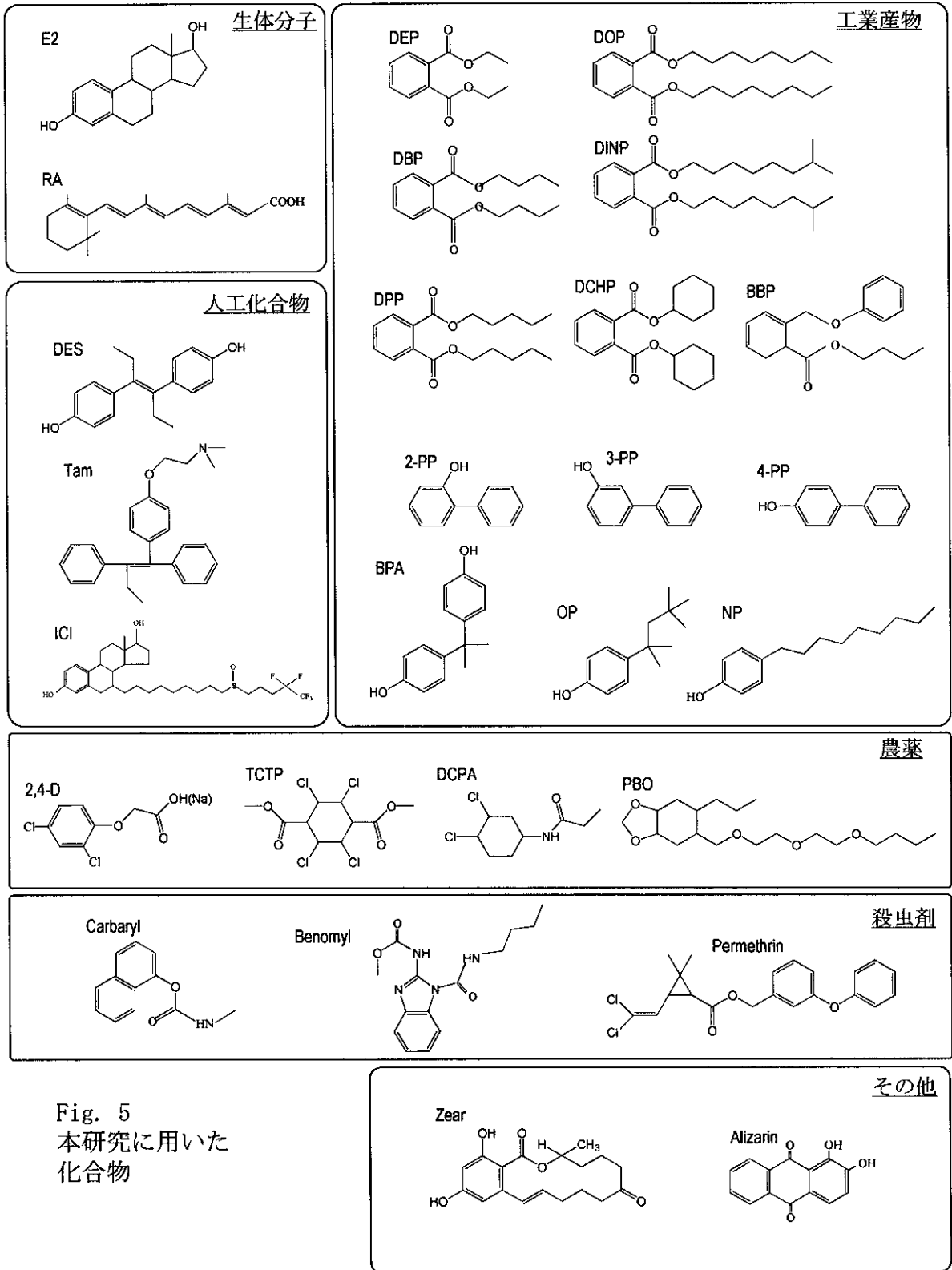


Fig. 5  
本研究に用いた  
化合物

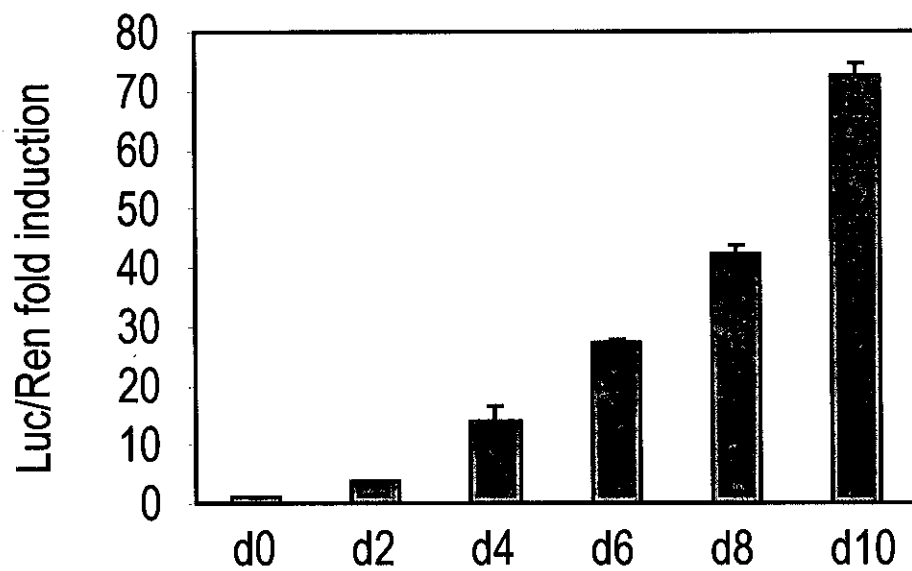


Fig. 6

P450sccプロモーターを用いたリポーター遺伝子は、Rcho-1細胞の分化を測定するのに有効である。Rcho-1細胞のd0にpGL3-P450sccとpRLをトランスフェクトした。d0、d2、d4、d6、d8、d10で細胞を回収し、ルシフェラーゼ活性を測定し、レニラの値で補正を行なった。エラーバーは独立に行なわれた3検体のSE値を示す。

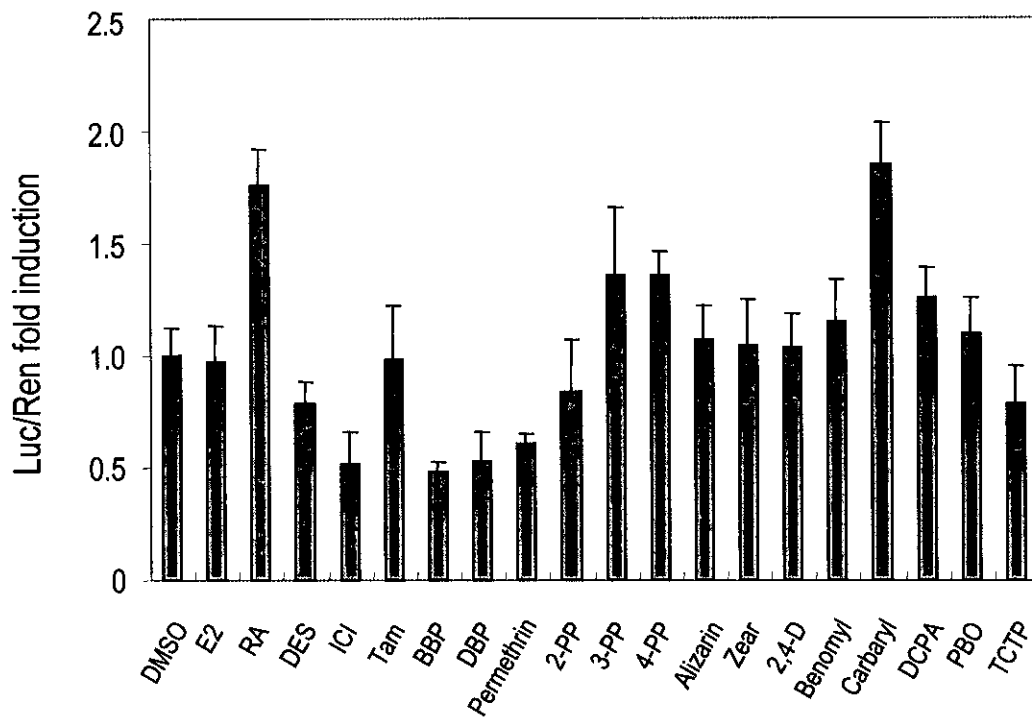


Fig. 7

P450sccプロモーターのリポーター遺伝子アッセイを用い、様々な化合物のRcho-1細胞の分化に対する影響を調べた。Rcho-1細胞のd0にpGL3-P450sccとpRLをトランスフェクトし、各化合物を曝露させ、d6にサンプルを回収した。ルシフェラーゼ活性を測定し、レニラの値で補正を行なった。エラーバーは独立に行なわれた3検体のSE値を示す。

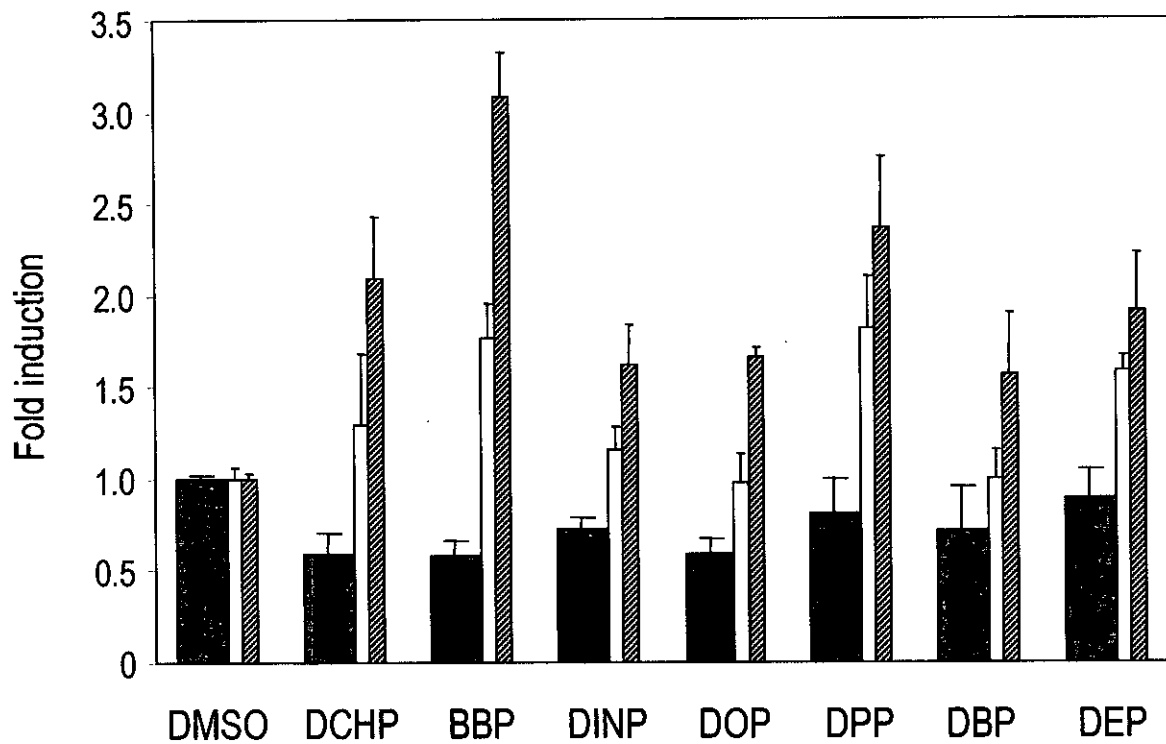


Fig. 8  
 フタル酸類の影響をP450sccプロモーターを用いたリポーター遺伝子アッセイで検討した。Rcho-1細胞のd0にpGL3-P450sccとpRLをトランスフェクトし、d6にサンプルを回収した。黒バーはルシフェラーゼ活性値/レニラ活性値を、白バーはルシフェラーゼ活性値を、斜線バーはレニラ活性値をあらわす。エラーバーは独立に行なわれた3検体のSE値を示す。

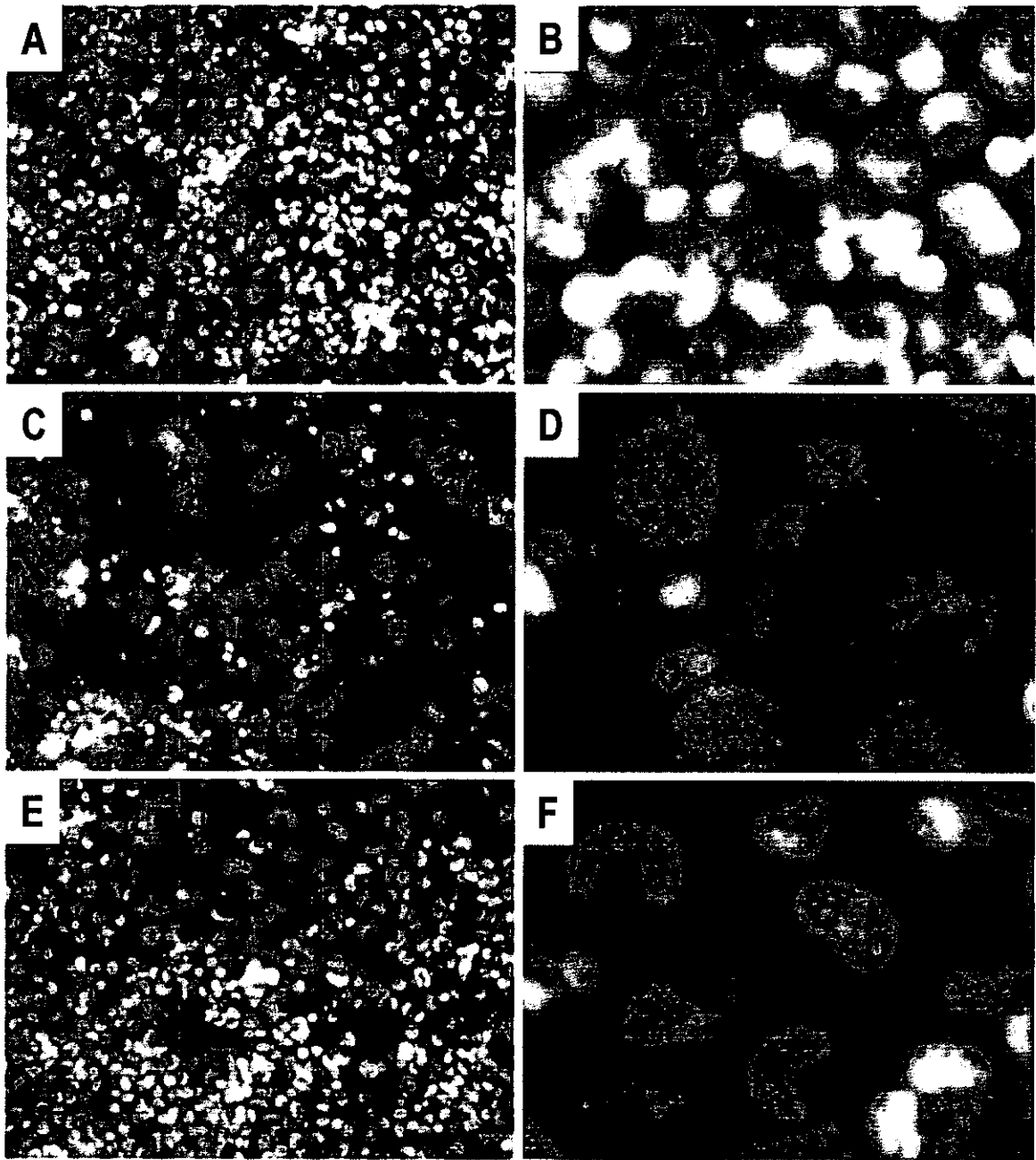


Fig. 9  
 DMSO (A, B)、RA (C, D)、およびICI (E, F)をRcho-1細胞に曝露し、分化に与える影響を核染色により検討した。d0からd6まで曝露し、d6に10  $\mu\text{mol/L}$ のHoechst33342を含んだ培地で1hインキュベートし、核の蛍光観察をおこなった。倍率 100x (A, C, E)、400x (B, D, F)

## E. 参考文献

- Durkee, T. J., McLean, M. P., Hales, D. B., Payne, A. H., Waterman, M. R., Khan, I., and Gibori, G. (1992). P450(17 alpha) and P450SCC gene expression and regulation in the rat placenta. *Endocrinology* **130**, 1309-17.
- Faria, T. N., and Soares, M. J. (1991). Trophoblast cell differentiation: establishment, characterization, and modulation of a rat trophoblast cell line expressing members of the placental prolactin family. *Endocrinology* **129**, 2895-906.
- Hamlin, G. P., Lu, X. J., Roby, K. F., and Soares, M. J. (1994). Recapitulation of the pathway for trophoblast giant cell differentiation in vitro: stage-specific expression of members of the prolactin gene family. *Endocrinology* **134**, 2390-6.
- Ishimura, R., Yoshida, K., Kimura, H., Dohmae, N., Takio, K., Ogawa, T., Tanaka, S., and Shiota, K. (2001). Stage-specific modification of G protein beta subunits in rat placenta. *Mol Cell Endocrinol* **174**, 77-89.
- Nestler, J. E. (1993). Regulation of the aromatase activity of human placental cytotrophoblasts by insulin, insulin-like growth factor-I, and -II. *J Steroid Biochem Mol Biol* **44**, 449-57.
- Siiteri, P. K., and Thompson, E. A. (1975). Studies of human placental aromatase. *J Steroid Biochem* **6**, 317-22.
- Tanaka, S., Kunath, T., Hadjantonakis, A. K., Nagy, A., and Rossant, J. (1998). Promotion of trophoblast stem cell proliferation by FGF4. *Science* **282**, 2072-5.
- Tremblay, G. B., Kunath, T., Bergeron, D., Lapointe, L., Champigny, C., Bader, J. A., Rossant, J., and Giguere, V. (2001). Diethylstilbestrol regulates trophoblast stem cell differentiation as a ligand of orphan nuclear receptor ERR beta. *Genes Dev* **15**, 833-8.
- Warshaw, M. L., Johnson, D. C., Khan, I., Eckstein, B., and Gibori, G. (1986). Placental secretion of androgens in the rat. *Endocrinology* **119**, 2642-8.
- Yamamoto, T., Chapman, B. M., Clemens, J. W., Richards, J. S., and Soares, M. J. (1995). Analysis of cytochrome P-450 side-chain cleavage gene promoter activation during trophoblast cell differentiation. *Mol Cell Endocrinol* **113**, 183-94.
- Yamamoto, T., Roby, K. F., Kwok, S. C., and Soares, M. J. (1994). Transcriptional activation of cytochrome P450 side chain cleavage enzyme expression during trophoblast cell differentiation. *J Biol Chem* **269**, 6517-23.
- Yan, J., Tanaka, S., Oda, M., Makino, T., Ohgane, J., and Shiota, K. (2001). Retinoic acid promotes differentiation of trophoblast stem cells to a giant cell fate. *Dev Biol* **235**, 422-32.

F. 健康危機情報

なし

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin.

Toxicol Appl pharmacol.

2002;178:161-171.

G. 研究発表

誌上発表

Ishimura R, Ohsako S, Kawakami T, Sakaue M, Aoki Y, Tohyama C. Altered protein profile and possible hypoxia in the placenta of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-exposed rats. Toxicol Appl Pharmacol. 2002;185(3):197-206.

Ohsako S, Miyabara Y, Sakaue M, Ishimura R, Kakeyama M, Izumi H, Yonemoto J, Tohyama C. Developmental stage-specific effects of perinatal 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure on reproductive organs of male rat offspring. Toxicol Sci. 2002;66(2):283-292.

Ishimura R, Ohsako S, Miyabara Y, Sakaue M, Kawakami T, Aoki Y, Yonemoto J, Tohyama C. Increased glycogen content and glucose transporter 3 (GLUT3) mRNA level in the placenta of Holtzman rats after exposure to

Sakaue M, Ishimura R, Kurosawa S, Fukuzawa HN, Kurohmaru M, Hayashi Y, Tohyama C, Ohsako S. Administration of estradiol-3-benzoate down-regulates the expression of testicular steroidogenic enzyme genes for testosterone production in the adult rat. J Vet Med Sci. 2002;64(2):107-113.

H. 知的所有権の取得状況

なし