

以上より、マウスではTCE曝露により、アポトーシスが抑制され、ラットでは促進される可能性が強く示唆された。

(3) 代謝

脂質代謝

● K01934 mRNA #2 Rat hepatic product spot 14, gene and flanks /cds=(21,473) /gb=K01934 /gi=207047

Spot14 は脂肪酸を合成する酵素の遺伝子を活性化する機能を持つ。この遺伝子がラットの高曝露群で2倍以上の発現増加を示したことは、ラットでは脂肪酸合成が活性化されたことを示唆する。

● L07736 Rat carnitine palmitoyltransferase I mRNA, complete cds /cds=(102,2423) /gb=L07736 /gi=294520

ミトコンドリアにおける long-chain fatty acids の酸化は CPT-1、CPT-2 の連続的な活性化によって始まる。malonyl-CoA は CPT-1 を特異的に阻害することでこの脂肪酸酸化過程は主に調節されている。よって CPT1 は脂肪代謝における重要な役割を担っていると言える。(Bitton et al.1995) CPT-1 はミトコンドリア内膜を貫通する carnitine-dependent な転送の key enzyme であり、CPT-1 が減じると脂肪酸のβ酸化が減少すると言われている。CPT-1 遺伝子はラットにおいて高曝露群で量反応的な減少が観察された。このことは、ラットではミトコンドリアにおける脂肪酸のβ酸化が増加したことを示唆する。

● S69874 C-FABP=cutaneous fatty acid-binding protein

Acyl-coA synthetase(ACS)は脂肪酸、ATP、CoA から acyl-CoA を合成する作用を触媒する。この反応は脂肪酸の代謝にとって重要な反応である。更に、ACS は fatty acid transporter protein と共同して、脂肪酸を細胞内に取り込む作用を担っている。

ラットにおいて、ACS は高曝露群で2倍以上の発現増加を示した。このことは、acyl-CoA の合成が促進されていることを示唆する。

グルタチオン抱合

TCE による腎癌の発生は SD, F344, Osborn-Mendel ラットのオスで報告されている。

TCE は minor pathway であるグルタチオン抱合により、s-dichlorovinyl-glutathione (DCVG)、に代謝される。この代謝物はγ-glutamyltransferase (GGT) と dipeptidase(DP) によって S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine(DCVC)を生成する。DCVC は N-acetylation により N-acetyl-S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine(NAcDCVC)あるいは、β-lyase により活性化され、活性 thiol を生成する。thiol はアシル化剤となってタンパクや DNA のアシル化を引き起こし、細胞毒性や変異原性を示すことより、TCE による腎癌の発癌メカニズムに関わっている可能性が提議されている。マウスのβ-lyase の活性はラットの10%にすぎないので、これにより腎癌発生の種差が説明出来るのではないかとされている。

GST

● X98056:Glutathione S-transferase,
theta 2 /cds=(0,734) /gb=X98056
/gi=1340077

● S82820mRNA GSTA5=glutathione
S-transferase Yc2 subunit

マウスでは theta2 subunit 遺伝子が高曝露群で増加し、ラットでは Yc2 subunit 遺伝子 (ヒトの $\alpha 2$ に対応) が、低、高曝露群で 2 倍以上の発現増加が観察された。TCE を代謝する GST の subunit は現在のところはまだ明らかとなっていない。Xenobiotics による非特異的遺伝子発現増加の可能性はある。

● U30509:Mus musculus
gamma-glutamyl transpeptidase (GGT)
mRNA, complete cds /cds=(160,1866)
/gb=U30509 /gi=1263191

● M57672mRNA#2 Rat
gamma-glutamyltransferase gene, 5
end /cds=(275,300) /gb=M57672
/gi=204304

γ -glutamyltransferase (GGT) と dipeptidase(DP)は DNA チップ上に載っている遺伝子ではあるが、恐らく、遺伝子発現レベルが低いために、DNA チップでは正確な検出が出来なかった。

● S61960 cysteine conjugate beta-lyase
[rats, kidney, mRNA, 1892 nt

β -lyase はラットでは高曝露群において 2 倍近い遺伝子発現の増加が認められた。マウスは DNA チップ上にラットの β lyase に相同する遺伝子が載っていなかった。

CytochromeP450(CYP)

TCE は CYP により Chloral hydrate(CH) に代謝される。CH は ALDH と ADH によりそれぞれ TCA と TCOH に代謝される。

TCOH は UDPglucuronyltransferase により TCOH グルクロン酸抱合体を形成し、尿中に主要代謝物として排出されるが、一部は CYP により CH を経由して TCA として尿中に排出される。マウスやラットにおいて TCE の主な代謝酵素は CYP のアイソザイムのうち、CYP2E1 であることが種々の研究から明らかとなっている。(Nakajima et al .1997) 一方ヒトにおいては、TCE 代謝速度と CYP2E1 特異的活性は良い相関性が見られたが、CYP1A/2, CYP3A の特異的活性とは相関が見られなかったという報告がされている。(Lipscomb et al. 1997)

一方、ペルオキシゾーム増殖薬の脂質代謝系酵素の誘導として、ミクロゾームでは脂肪酸の ω 酸化に関与する CYP4A1 と CYP4A10 の mRNA の発現が選択的に増加することが報告されている。(Lock et al. 1989)

● M20131cds RATCYP45I Rat
cytochrome P450IIE1 gene, complete cds
CYP2E1 : ラットにおいては遺伝子発現の増加は認められなかった。むしろ、高曝露群で発現の低下傾向を示した。DNA チップ上の別のプローブでは低曝露で 1/2 以下の低下が観察された。マウスでは DNA チップ上に載っておらず、定量 PCR の結果から判断すると、ラットと同様に遺伝子発現の増加は認められなかった。

● X62086mRNA RNCYP3A1
R.norvegicus CYP3A1 gene for

cytochrome P450 PCN1

● U39943 RNU39943 *Rattus norvegicus*
cytochrome P450 monooxygenase
(CYP2J3) mRNA, complete cds

● M13646 Rat pregnenolone
16- α -carbonitrile-inducible

cytochrome P450(CYP3A2), complete cds
/cds=(66,1580) /gb=M13646 /gi=203827

ラットにおけるその他の CYP アイソザイ
ムの遺伝子発現は、高濃度曝露群で
CYP3A1, CYP 3A2, CYP2J3 が 1/2 以下の
発現低下を示した。

● M19319: Cytochrome P450, 2a4
/cds=(97,1581) /gb=M19319 /gi=201976

● M21856: Cytochrome P450, 2b10,
phenobarbitol inducible, type b
/cds=UNKNOWN /gb=M21856
/gi=201968

● M64863: Cytochrome P450, 17
/cds=(30,1553) /gb=M64863 /gi=200192

マウスでは、CYP2A4 が量反応的な遺伝子
発現増加を示し、高曝露群では 9 倍以上の
発現増加が観察された。CYP2B10 は低曝露
群のみに於いて、マウスで 2 倍位以上の発
現増加が観察された。

これらの結果は、既知のデータから得られ
た知見から予測され得る遺伝子発現変化と
は異なっていた。即ち、TCE の主要代謝酵
素である CYP2E1 の発現増加と脂質の ω
酸化系酵素の CYP4A の遺伝子発現増加が
観察されなかった。

薬物代謝酵素 CYP の薬物による誘導は、そ
の薬物を代謝する酵素が誘導される訳では
なく、その阻害においてはなお複雑である。
但し、マウスとラットでは TCE による CYP

の誘導には明らかに種差が存在しているこ
とがこの実験により見出された。

ペルオキシゾーム関連酵素

β 酸化系酵素

catlase

● M29394: Mouse catalase mRNA, 3
end /cds=(0,77) /gb=M29394 /gi=192377

● M11670 Rat liver catalase mRNA,
complete cds /cds=(83,1666) /gb=M11670
/gi=203344

AOX

● AF006688: Mus musculus peroxisomal
acyl-CoA oxidase (muspaox) mRNA,
complete cds /cds=(80,2065)
/gb=AF006688 /gi=2253379

● J02752 Rat acyl-coA oxidase mRNA,
complete cds /cds=(73,2058)
/gb=J02752 /gi=202677

peroxisomal enoyl-CoA-
hydrotase-3-hydroxyacyl-CoA
bifunctional enzyme

● AJ011864: Mus musculus mRNA for
L-specific multifunctional
beta-oxidation protein, partial CDS
/cds=(0,854) /gb=AJ011864
/gi=5830359

● Rat peroxisomal enoyl-CoA-
hydrotase-3-hydroxyacyl-CoA
bifunctional enzyme
mRNA, complete cds /cds=(21,2189)
/gb=K03249 /gi=206068

3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase

● D29639: Mouse embryonal carcinoma
cell mRNA for 3-hydroxyacyl CoA
dehydrogenase,

●EST195165 Rattus norvegicus cDNA, 3
end /clone=RHEAT10 /clone_end=3
/gb=AA891362 /gi=3018241complete cds
/cds=(53,964) /gb=D29639 /gi=1125025
long chain fatty acyl CoA synthetase

●U15977:Mus musculus long chain fatty
acyl CoA synthetase mRNA, complete cds
/cds=(0,2099) /gb=U15977 /gi=563830

●Rat mRNA for long-chain acyl-CoA
synthetase (EC 6.2.1.3) /cds=(13,2112)
/gb=D90109 /gi=220717

Urate oxidase

●M27695:Urate oxidase /cds=(10,921)
/gb=M27695 /gi=202294

●Rat uricase mRNA, 3 end
/cds=(0,870) /gb=J03959 /gi=207618

ペルオキシゾームにおける β 酸化に関わる
酵素の遺伝子の変化を図5に示す。 β 酸化
系酵素の遺伝子発現変化は、2倍以上の発
現増加や減少はマウスでもラットでも見ら
れなかった。ただし、2倍以上の変化は見
られなかったが、マウスでは高曝露群で遺
伝子発現が増加する傾向、ラットでは逆に
高曝露群では減少する傾向にあった。

ラットへの単回投与実験において、ペルオ
キシゾーム増殖薬の誘導による β 酸化系酵
素のmRNAの発現は非常に早く、4時間で
既にその遺伝子発現は出現していると言わ
れている。(Reddy et al. 1986, McQuaid et
al. 1987) peroxisomal bifunctional
enzyme は12時間でその発現が最高に達
し、(Fukami et al. 1986) AOXのmRNA量
は2時間後から増加していたという報告が
ある。よって、今回我々が観察したm
RNAはラット及びマウスの腹腔内に単回

投与し、24時間後の肝臓から得られたもの
なので、曝露後からの時間がもっと早い時
期に観察していたら、ペルオキシゾーム β
酸化系の酵素の遺伝子発現が如実に捉えら
れた可能性がある。

PPAR α

●X57638:Mouse mRNA for peroxisome
proliferator activated receptor
/cds=(166,1572) /gb=X57638 /gi=53764

●Rattus rattus peroxisome proliferator
activated receptor (PPAR) mRNA,
complete cds /cds=(377,1783)
/gb=M88592 /gi=206317

PPAR α ノックアウトマウスでは、ペルオキ
シゾーム増殖薬によるペルオキシゾーム増
殖や酵素誘導、肝癌の発生が見られず、ペ
ルオキシゾーム増殖薬による発癌には
PPAR α が必須であることが明らかとなっ
ている。

ペルオキシゾーム増殖薬による酵素誘導の
大きさには種差が存在する。ヒトではマウ
スやラットに比べて酵素誘導がほとんど認
められない。また、ヒトの肝臓における
PPAR α レベルはとマウスの1/10以下であ
ると言われている。また、ラットとヒトで
はミトコンドリアとペルオキシゾームの比
率が異なっていることも報告されている。
以上のようなヒトのペルオキシゾーム増殖
薬に対する応答の低さがヒトではペルオキ
シゾーム増殖薬によって肝癌が発生しない
理由であると指摘されているが、ヒトでも、
ペルオキシゾーム増殖薬によるPPAR α を
介する脂質低下が認められることなどより、
PPAR α だけではペルオキシゾーム増殖薬
に対する生体反応の種差は十分に説明出来

ない。PPAR α はマウスの高曝露群でほぼ2倍の発現増加が観察された。

(4) その他の機能の遺伝子

マウスとラットの低、及び高曝露群で2倍以上もしくは2倍以下の発現変化を示し上記の分類に属さない遺伝子のうち、機能的に重要な遺伝子やマウスとラットで相反する発現変化を示した遺伝子について述べる。

細胞周期

●U82122:Ubiquitin conjugating enzyme E3A /cds=(0,2549) /gb=U82122 /gi=1843534

UBE3AはE3 ubiquitin-protein ligaseで、ubiquitin-dependentなp53の分解を誘導する。(Huibregtse et al. 1991, Scheffner et al. 1993)

UBE3A遺伝子はマウスにおいてTCEの高濃度曝露で発現増加が観察された。このことは、ubiquitin-dependentなp53の分解が誘導されている可能性を示唆する。p53は細胞周期捕獲とアポトーシスに直接関与する多数の遺伝子を活性化し、この過程を抑える働きをする遺伝子を抑制するがん抑制タンパク質である。このタンパク質が欠損すると、損傷したゲノムを持つ細胞が細胞周期チェックポイントを回避してしまう。

ユビキチン

● AI846522:UI-M-AN1-aff'e-09-0-UI.s1 Mus musculus cDNA, 3 end /clone=UI-M-AN1-aff'e-09-0-UI /clone_end=3 /gb=AI846522 /gi=5490428

このESTはUbiquitin-specific protease,

41-KD (UPB41)であることが同定された。

Ubiquitinは細胞内タンパクのbreakdown、細胞周期の調節、ストレス反応を調節する。Ubiquitin依存性のタンパク分解経路では、polyubiquitine chains分解シグナルとして機能し、proteasomeに提示し、標的タンパク質はATP依存的に分解されるが、Ubiquitin-specific proteaseはこの反応のmediatorである。

このESTがマウスの低、高曝露群で2倍以上の発現増加を示したことより、Ubiquitinを介するタンパク質分解系の働きが活性化されたことが推測出来る。

ユビキチン

● AB012276:Mus musculus mRNA for ATF α , partial cds /cds=(0,254) /gb=AB012276 /gi=2988372

ATF5はubiquitin proteasomeのタンパク質分解システムの標的になるタンパク質である。

この遺伝子はマウスにおいてTCEの高曝露でその遺伝子発現が低下した。

シグナル伝達系

● X61940:Mouse mRNA for a growth factor-inducible immediate early gene (3CH134) /cds=(139,1242) /gb=X61940 /gi=49735

growth factor-inducible immediate early geneのラットとヒトにおける相同遺伝子はDual-specificity phosphatase 1(DUSP1)で、MAP kinase phosphatase 1(MKP1)とも呼ばれている遺伝子である。この遺伝子はMAP kinaseを不活性化する作用を持ち、oxidative stressやheat shockによつ

て強く誘導される。この遺伝子はマウスで量反応的な発現の増加が観察された。

シグナル伝達系

● U94828:Mus musculus retinally abundant regulator of G-protein signaling mRGS-r (RGS-r) mRNA, complete cds /cds=(109,714) /gb=U94828 /gi=2605641

RGS16はG-protein signalingのregulatorである。RGS16のover expressionはG-protein-coupled mitogenic signal transductionを抑制し、MAPK signaling cascadeを活性化する。

この遺伝子はマウスにおいてTCEの低曝露で2倍以上の発現増加が観察された。

酸化ストレス

● J02679 Rat NAD(P)H-menadione oxidoreductase mRNA, complete cds /cds=(74,898) /gb=J02679 /gi=205741

NAD(P)H dehydrogenase (quinone)はNAD(P)H-dependent two-electron reductionを触媒し、free radicalや活性酸素による細胞の障害から保護する作用を有する。この遺伝子はラットにおいて低、高曝露で2倍以上の量反応的な発現増加を示した。このことは、TCE

曝露によりfree radicalや活性酸素の産生が増加したことを推測させる。実際、ペルオキシゾーム増殖薬はペルオキシゾームβ酸化系酵素の一つであるAOXはその酵素反応過程において副産物として過酸化水素を産生する。ペルオキシゾーム増殖薬はペルオキシゾームの増殖に伴い、AOXを著しく誘導するが、この誘導の結果、細胞内過

酸化水素の産生量が増加した可能性は十分に考えられる。

この過酸化水素がDNAに対して酸化的損傷を与えることがペルオキシゾーム増殖薬の肝癌発癌のメカニズムの一端を担うという仮説がある。しかし、ペルオキシゾームβ酸化活性の誘導とその発癌性に比例的関係が見出せなかったという報告もある。(Hayashi et al. 1994)

● M88694:Mus musculus thioether S-methyltransferase mRNA, complete cds /cds=(8,802) /gb=M88694 /gi=202031

TEMTはdimethyl sulfoxideをtrimethylsulfoxoniumへ触媒するmethyltransferaseである。この酵素はS-adenosyl-L-methionine(SAM)をmethyl donorとしている。Chemical carcinogensがSAMを介してDNA methylationを阻害する作用が一般的に報告されている。

(Riggs and Jones,1983)

DCA,TCA,TCEは、protooncogeneのc-jun,c-myc遺伝子のpromotor regionのメチル化を減少させて、そのmRNAとタンパク質の発現を増加させる作用があることが報告されている。このDNA hypomethylationはDCA、TCA、TCEの発ガン性のメカニズムの一部を担っていると言われている。更に、DCA、TCA、TCEはS-adenosyl-L-methionine (SAM)のレベルを下げることで発ガン性が活性化されていることが推測されている。(Tao et al.2000)

この遺伝子はマウスのTCE高曝露群で10倍近い発現の増加が観察された。このことは、TEMTがSAMを介したDNA

methylation を阻害する作用が生じていることを推測させる。

● AF053062:Mus musculus receptor interacting protein 140 mRNA, complete cds /cds=(371,3856) /gb=AF053062 /gi=3820493

RIP140 は estrogen receptor の transcriptional activation domain に直接的に関与するタンパクである。(cavaillès et al.1995)

マウスにおいて、RIP140 遺伝子が低、高曝露群で2倍位以上の発現増加を示した。

●D49730:Mouse mRNA for V1a agrinine vasopressin receptor, complete cds /cds=(312,1583) /gb=D49730 /gi=1722700

●EST196054 Rattus norvegicus cDNA, 3 end /clone=RKIAO21 /clone_end=3 /gb=AA892251 /gi=3019130

G protein-coupled membrane receptor である AVPR1A は細胞構造、細胞増殖、血小板凝集、凝固因子の放出、糖新生を媒介する。V1A receptor を介する AVP の働きは活性化 phospholipase C を介し、phosphatidylinositol の turnover を増し、細胞内のカルシウムイオンを増加させる。脳における V1A receptor 遺伝子の発現パターンは種特異的な、脊椎動物のオスの社会行動と生殖能力に関連があるとされている。(Young et al. 1999)

この遺伝子はマウスでは TCE の高曝露群で2倍以上の低下が観察されたが、ラットでは低、高曝露で量反応的な2倍以上の増加を示した。

なお、ペルオキシゾーム増殖薬はラットの

in vitro と in vivo において細胞膜 Ca^{2+} ATPase 活性を低下させ、細胞内 Ca^{2+} の濃度を増加させるという報告がある (Bennett et al.1993)。

● J02596cds RATAPOA02 Rat apolipoprotein C-III gene, complete cds

●X03468 Rat mRNA for apolipoprotein apoA-II /cds=(0,308) /gb=X03468 /gi=55748

●U79573:Mus musculus apolipoprotein A-I gene, complete cds /cds=(0,791) /gb=U79573 /gi=2145136

アポ蛋白 C-III はアポ蛋白 C-II などと共に VLDL を構成するアポ蛋白のひとつで、LPL 活性を阻害し、レムナントの肝への取り込みを阻害するとされている。peroxisome proliferator による PPAR α の活性化はアポ蛋白 C-III の遺伝子発現を抑制し、血中の VLDL 並びにレムナントの低下をもたらすと推測されている。(Sabine et al.1995)

また、ペルオキシゾーム増殖薬である抗高脂質血症薬は血中 HDL-C の上昇作用を有するが、PPAR α の活性化が HDL の主用構成タンパクである、アポ蛋白 A-I、A-II の mRNA の発現を亢進させることが報告されている。(Vu-Dac et al. 1994, Neele et al. 1998)

ラットでは、apolipoprotein C-III の遺伝子発現が低、高曝露で 1/2 以下の低下を示したが、apolipoprotein A-II 遺伝子も同様に量反応的な発現の低下が認められた。一方マウスでは apolipoprotein A-I 遺伝子は量反応的に発現が低下し、高曝露群では 1/10 以下近くまで低下が観察された。このこと

は、TCEはPPAR α を介するアポ蛋白 C-IIIの遺伝子発現の抑制は行うが、一部のペルオキシゾーム増殖薬が示すようなアポ蛋白 A-I、A-IIのmRNAの発現亢進機能は伴わないことが推測される。

● serum amyloid A-1: Murine serum amyloid A-1 (SAA-1) gene.

● U60438: Serum amyloid A 2 /cds=(0,368) /gb=U60438 /gi=1698579

● X03505: Serum amyloid A 3 /cds=(0,368) /gb=X03505 /gi=54028

● L22190mRNA MUSAMYAFF Mus musculus serum amyloid A protein mRNA, complete cds

SAAは炎症の際に大いに合成が増加するacute-phase response proteinである。また、SAAはHDLの代謝に関与していると言われている。(Malle et al.1993) SAAはマウスの高曝露群でその発現が1/10以下に低下した。これは、HDLの主用構成タンパクであるアポ蛋白 A-IのmRNAの発現が低下したと関連した反応である。一方ラットではSAAは低曝露で2倍以上の発現増加が観察された。

● L41631: Glucokinase activity /cds=(122,1519) /gb=L41631 /gi=1008869

● X53588 Rat mRNA for glucokinase, alternatively spliced GK2 (EC 2.7.1.1) /cds=(91,1488) /gb=X53588 /gi=56239

glucoseはglucose-6 phosphateにリン酸化され、解糖系へ入る。この反応は肝実質細胞ではglucokinaseによって触媒される。glucokinaseは誘導酵素で栄養状態により活性が変化する。血中glucoseが高濃度

の際にglucoseを肝臓へ取り込む作用を有する。glucokinaseは肝細胞と膵臓の β 細胞でのみ発現している遺伝子である。NIDDMの一部はglucokinaseの不足が起因していると言われている。(Velho et al. 1992)

マウスでは量反応的にglucokinase遺伝子の発現が低下したが、ラットでは反対に高濃度曝露においてその発現が増加していた。このことより、マウスでは血液中のglucose濃度は低く、ラットでは高かった可能性が考えられる。

今回、マウス及びラットへの腹腔内単回投与実験では以下のことが観察された。

- 1) クラスター解析では、マウスとラットにおけるTCEによる遺伝子の発現変化は明らかに異なっていることが示された。
- 2) マウスとラットそれぞれの種内でクラスター解析を行うと、曝露濃度による明らかなクラスター分類はなされず、曝露濃度による差よりも個体差の方が大きい可能性が示された。よって大きいn数で実験することの重要性が示唆された。
- 3) アポトーシス関連の遺伝子はマウスでは抑制されていた。この反応は曝露濃度が高い程、顕著に現れていた。一方ラットではアポトーシスに関わる遺伝子は亢進する方向に変化を示した。
- 4) 細胞増殖関連の遺伝子はマウスで増加していた。この反応は曝露濃度が高い程、顕著に現れていた。一方ラットでは細胞増殖に関わる遺伝子に明らかな変化は見られなかった。
- 5) 肝癌発生のメカニズムに大きく関与す

るであろう PPAR α はマウスで発現増加していたが、ラットでは変化が見られなかった。

- 6) 脂質代謝に関わる遺伝子は、ペルオキシゾームの β 酸化関連の遺伝子はマウスでもラットでも明らかな変化が見られなかった。
- 7) ミトコンドリアや細胞質内などで脂肪酸代謝に関わる遺伝子はラットでその発現の増加が観察された。
- 8) TCE の CYP を介する主要代謝経路の遺伝子には明らかな発現の増加が見られなかったが、マイナー代謝経路であるグルタチオン抱合に関わる遺伝子は発現の増加がマウスとラットで観察された。
- 9) マウスでは、細胞増殖制御機構への変調が生じている兆しが見えたが、ラットでは脂質代謝の活性化が見えたに過ぎなかった。

以上の結果は、これまでの知見を十分に裏付けるものであり、また、マウスとラットの TCE 曝露による種差を浮き彫りにしたと言える。しかし、曝露からの時間的経過の問題等により、本来得られるべきペルオキシゾーム増殖に関連する遺伝子の変化は十分に捉えることが出来なかった。

TCE を2週間経口投与すると、電顕でペルオキシゾームの増殖が確認されており、また、PPAR α 遺伝子及びペルオキシゾームにおける β 酸化系酵素の増加が観察されたという報告がある。(Nakjima et al. 2000) そこで我々は、2週間の経口投与実験を行い、時間的に遺伝子発現がどのように変化を観察し、その遺伝子発現変化にはどのよ

うな種差があるのかを検証するか実験を行った。この実験の詳細については経口投与実験の項で述べる。

健康危害情報、研究発表、知的財産権の出願・登録状況については経口投与実験の項であわせて記載する。

表1A 腹腔内投与 マウス 24時間尿中TCE代謝産物総排泄量

TCE 曝露群	Mouse 24hUrine	TCA(mg)	mmol	BW (g)	TCA(mol/kg)
Low	7	0.65	3.96	20.86	0.190
Low	8	0.07	0.42	21.13	0.020
Low	9	0.27	1.62	21.44	0.076
Low	10	0.15	0.89	21.63	0.041
Low	11	0.38	2.32	20.40	0.113
Low	12	0.07	0.42	22.00	0.019
	Mean SD	0.26 0.22	1.61	21.24	0.077
High	1	2.36	14.47	24.93	0.580
High	2	1.15	7.05	20.80	0.339
High	3	0.14	0.88	21.43	0.041
High	4	0.48	2.92	21.75	0.134
High	5	2.95	18.03	21.10	0.855
High	6	0.50	3.05	20.96	0.145
	Mean SD	1.26 1.14	7.73	21.83	0.349

TCE 曝露群	Mouse 24hUrine	TCOH(mg)	mmol	BW (g)	TCOH(mol/kg)
Low	7	2.79	18.76	20.86	0.899
Low	8	0.76	5.12	21.13	0.242
Low	9	4.66	31.41	21.44	1.465
Low	10	0.00	0.00	21.63	0.000
Low	11	2.21	14.86	20.40	0.728
Low	12	1.52	10.25	22.00	0.466
	Mean SD	1.99 1.64	13.40	21.24	0.633
High	1	5.74	38.65	24.93	1.550
High	2	3.61	24.28	20.80	1.167
High	3	3.80	25.58	21.43	1.193
High	4	3.59	24.15	21.75	1.110
High	5	1.38	9.26	21.10	0.439
High	6	3.95	26.63	20.96	1.270
	Mean SD	3.68 1.39	24.76	21.83	1.122

表1B 腹腔内投与 ラット 24時間尿中TCE代謝産物総排泄量

TCE 曝露群	Rat 24hUrine	TCA(mg)	mmol	BW (g)	TCA(mol/kg)
Low	7	0.40	2.46	308.65	0.008
Low	8	0.11	0.66	313.27	0.002
Low	9	0.20	1.21	302.51	0.004
Low	10	0.34	2.10	292.63	0.007
Low	11	0.21	1.29	329.14	0.004
Low	12	0.28	1.69	308.93	0.005
	Mean SD	0.26 0.11	1.57	309.19	0.005
High	13	0.47	2.90	331.94	0.009
High	14	0.26	1.61	318.78	0.005
High	15	0.33	2.01	317.84	0.006
High	16	0.30	1.87	301.29	0.006
High	17	0.51	3.15	311.11	0.010
High	18	0.43	2.63	308.18	0.009
	Mean SD	0.39 0.10	2.36	314.86	0.008

TCE 曝露群	Rat 24hUrine	TCOH(mg)	mmol	BW (g)	TCOH(mol/kg)
Low	7	21.36	143.82	308.65	0.466
Low	8	15.46	104.11	313.27	0.332
Low	9	23.67	159.42	302.51	0.527
Low	10	15.29	102.96	292.63	0.352
Low	11	16.98	114.33	329.14	0.347
Low	12	24.93	167.91	308.93	0.544
	Mean SD	19.62 4.26	132.09	309.19	0.427
High	13	23.17	156.05	331.94	0.470
High	14	28.95	194.97	318.78	0.612
High	15	27.15	182.82	317.84	0.575
High	16	28.70	193.28	301.29	0.642
High	17	33.15	223.22	311.11	0.718
High	18	29.35	197.65	308.18	0.641
	Mean SD	28.41 3.25	191.33	314.86	0.608

表2A 腹腔内投与 マウス 血中TCE代謝産物濃度

Blood Mouse	Sample	TCA (ug/ml)	TCA M(mol/l)	BW (g)	TCA(M/Kg)
Low	7	14.46	0.09	20.86	4.24
	8	8.67	0.05	21.13	2.51
	9	22.83	0.14	21.44	6.52
	10	10.57	0.06	21.63	2.99
	11	16.08	0.10	20.40	4.82
	12	8.26	0.05	22.00	2.30
High	Mean	13.48	0.08	21.24	3.90
	SD				
	1	16.95	0.10	24.93	4.16
	2	22.03	0.13	20.80	6.48
	3	13.97	0.09	21.43	3.99
	4	8.44	0.05	21.75	2.37
	5	46.31	0.28	21.10	13.43
	6	7.72	0.05	20.96	2.25
	Mean	19.24	0.12	21.83	5.45
	SD				

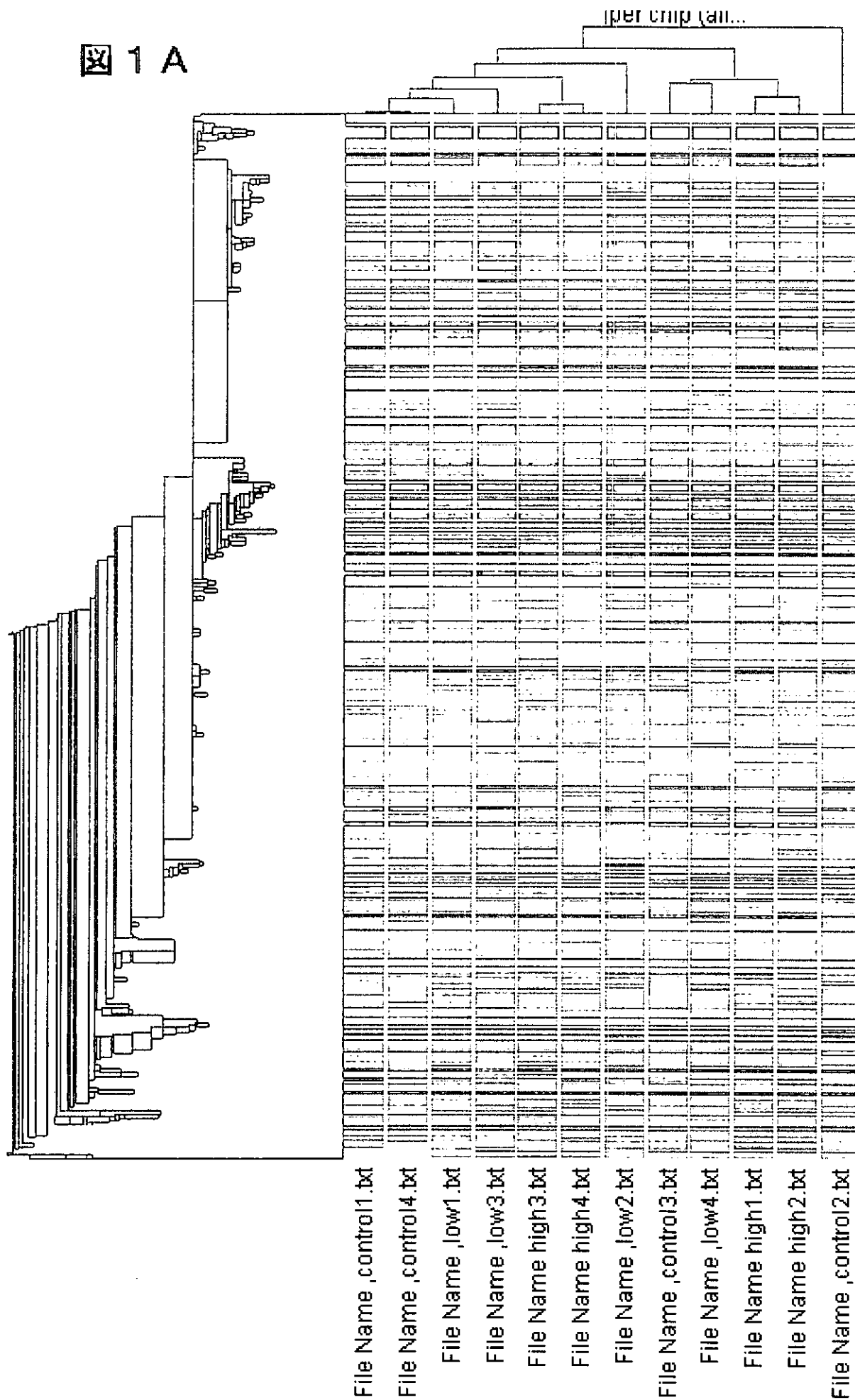
表2B 腹腔内投与 ラット 血中TCE代謝産物濃度

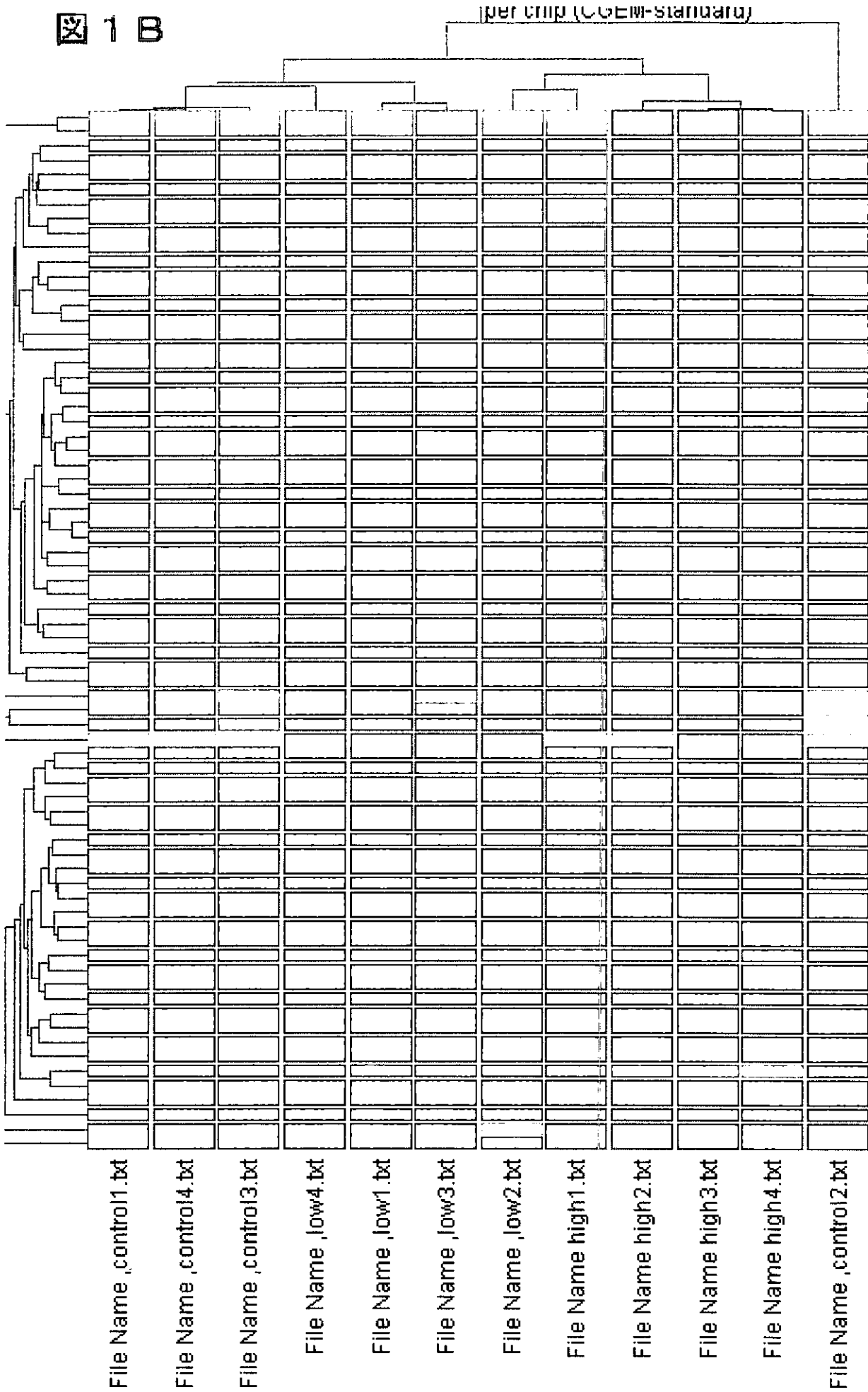
Blood Rat	Sample	TCA (ug/ml)	TCA M(mol/l)	BW (g)	TCA(M/Kg)
Low	7	10.52	0.06	308.65	0.21
	8	12.61	0.08	313.27	0.25
	9	15.64	0.10	302.51	0.32
	10	4.66	0.03	292.63	0.10
	11	4.92	0.03	329.14	0.09
	12	9.38	0.06	308.93	0.19
High	Mean	9.62	0.06	309.19	0.19
	SD				
	13	29.34	0.18	331.94	0.54
	14	58.77	0.36	318.78	1.13
	15	38.21	0.23	317.84	0.74
	16	9.22	0.06	301.29	0.19
	17	27.60	0.17	311.11	0.54
	18	26.52	0.16	308.18	0.53
	Mean	31.61	0.19	314.86	0.61
	SD				

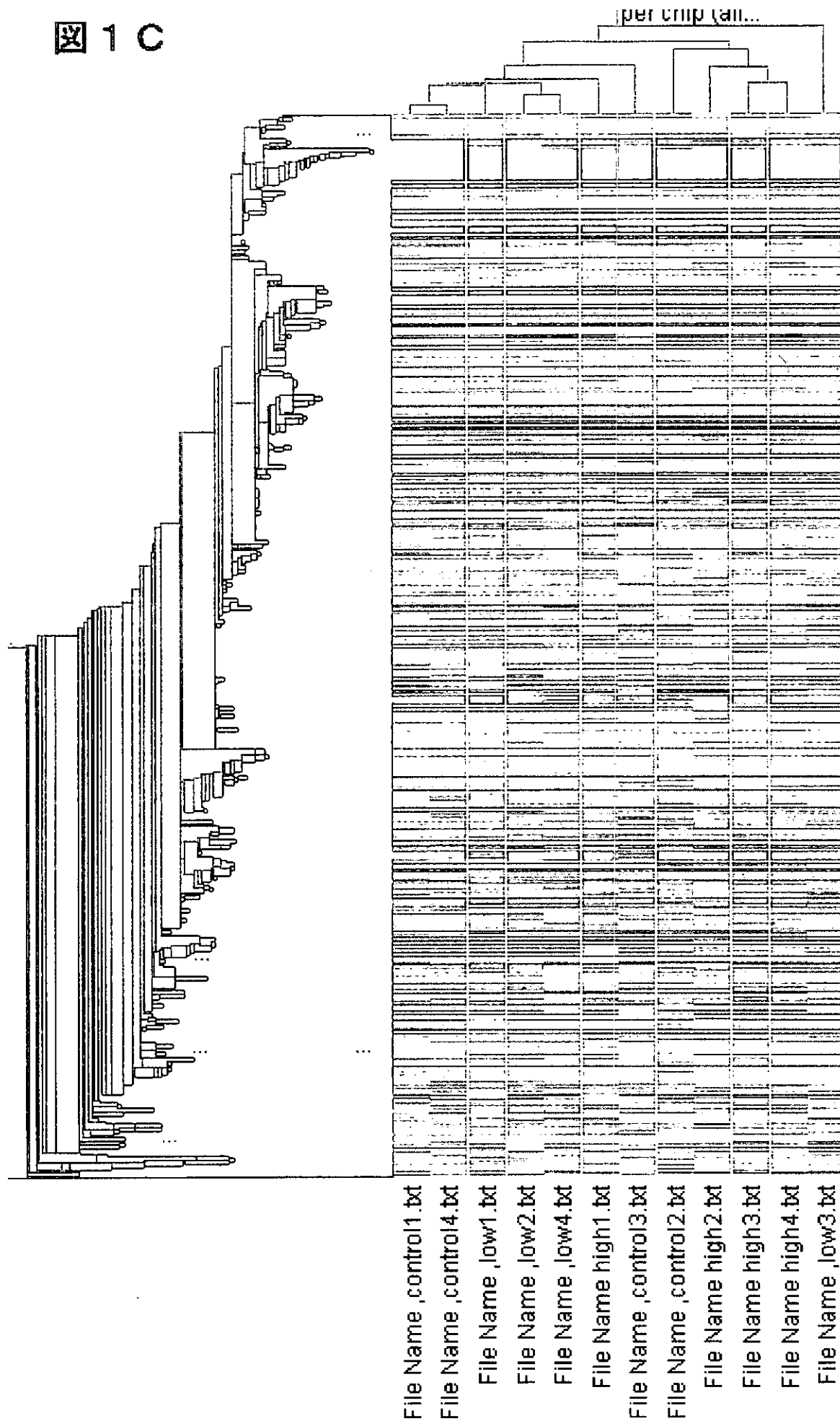
表3 腹腔内投与 ラット 生化学的肝機能データ

Blood Rat	Sample	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	LDH (IU/L)
Control	5	115	34	4220
	6	127	32	2860
	Mean	121	33	3540
	SD			
	7	136	45	4050
	8	123	39	6090
Low	9	93	29	723
	10	101	39	616
	11	278	54	1100
	12	255	74	601
	Mean	164.3333	46.66667	2196.667
	SD	80.93372	15.70563	2324.303
High	13	274	78	596
	14	885	423	1785
	15	135	38	808
	16	85	35	405
	17	617	189	6140
	18	411	122	863
	Mean	401.1667	147.5	1766.167
	SD	305.8604	146.7988	2194.841

图 1 A







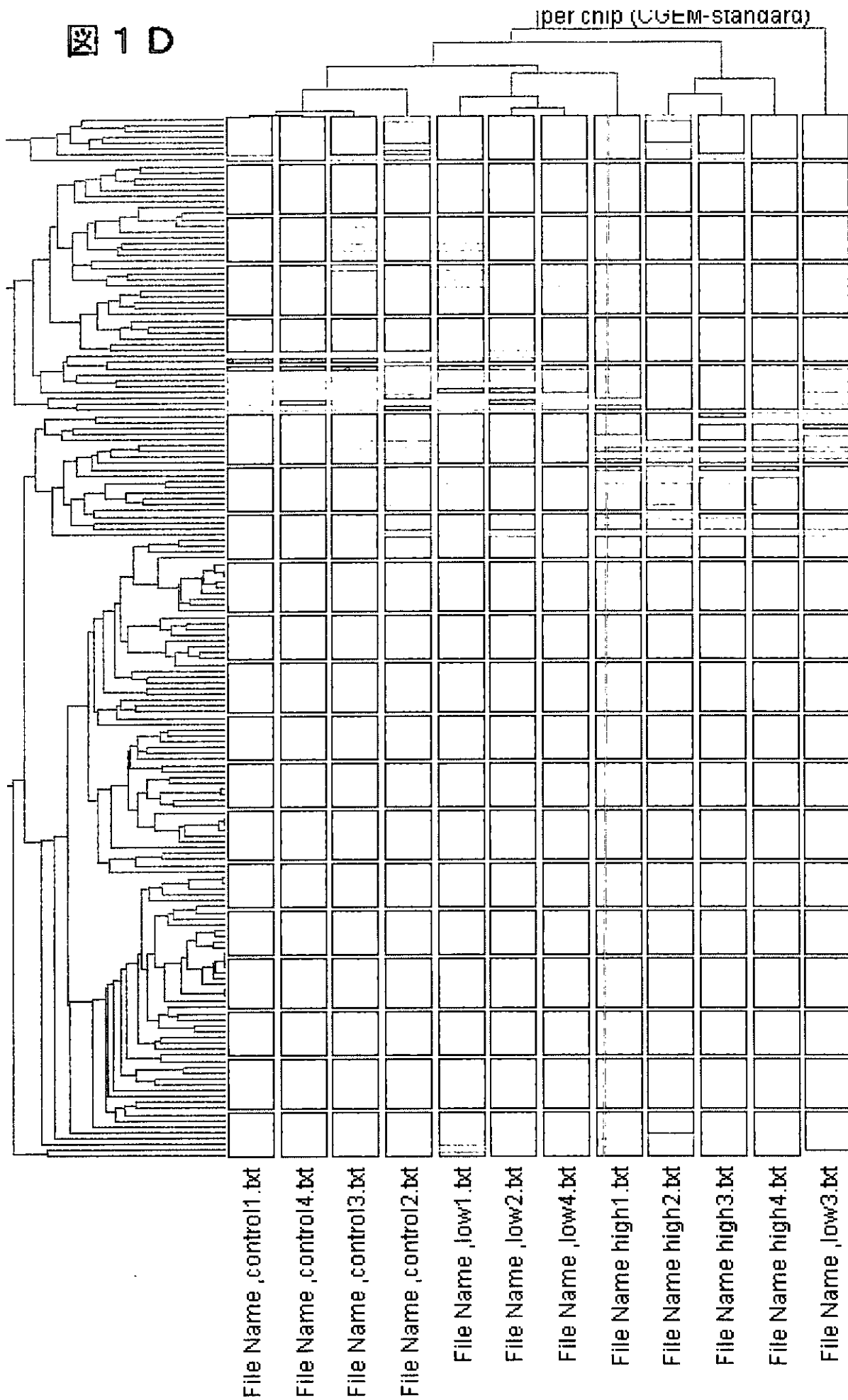


図 2 B

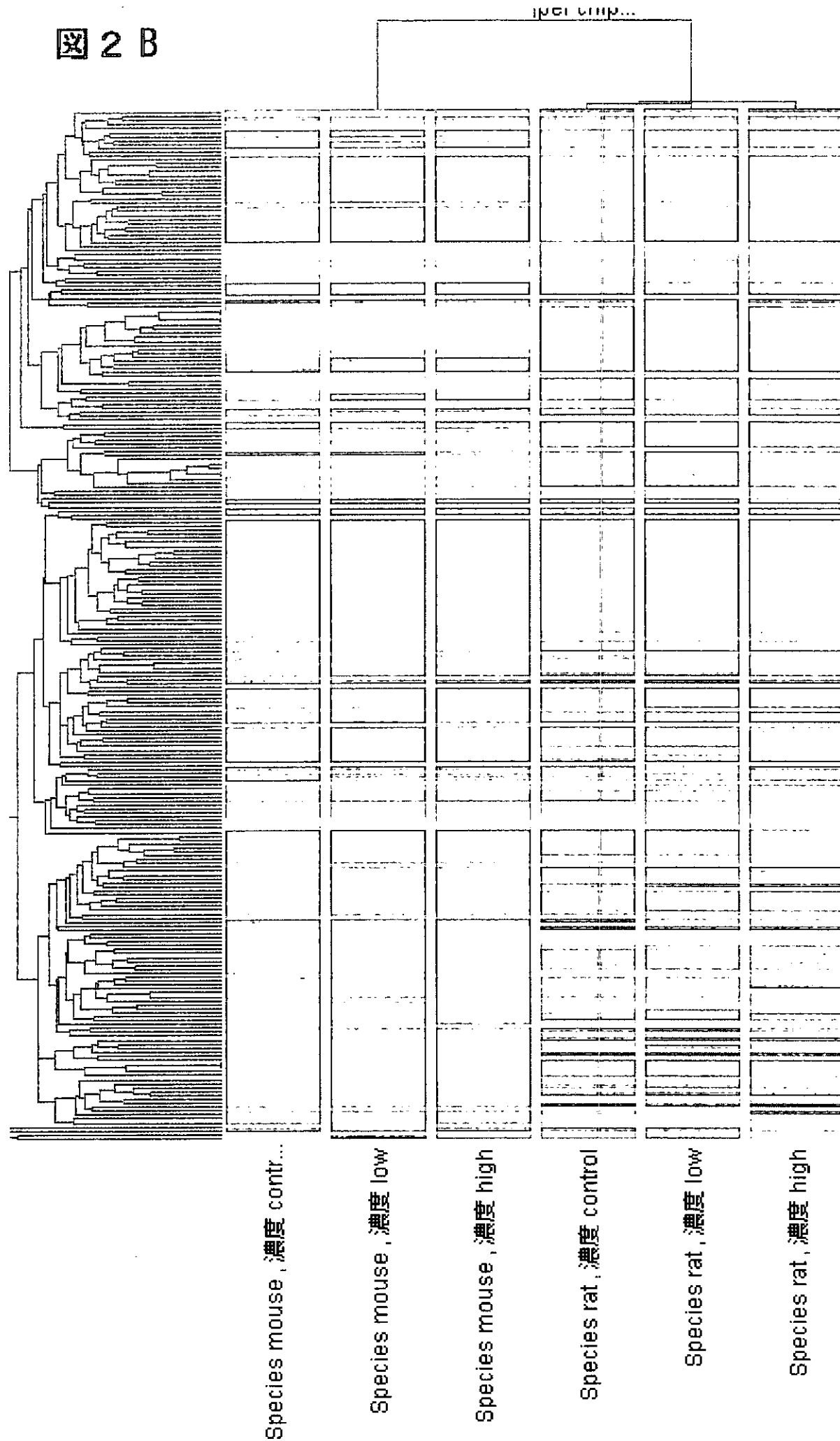
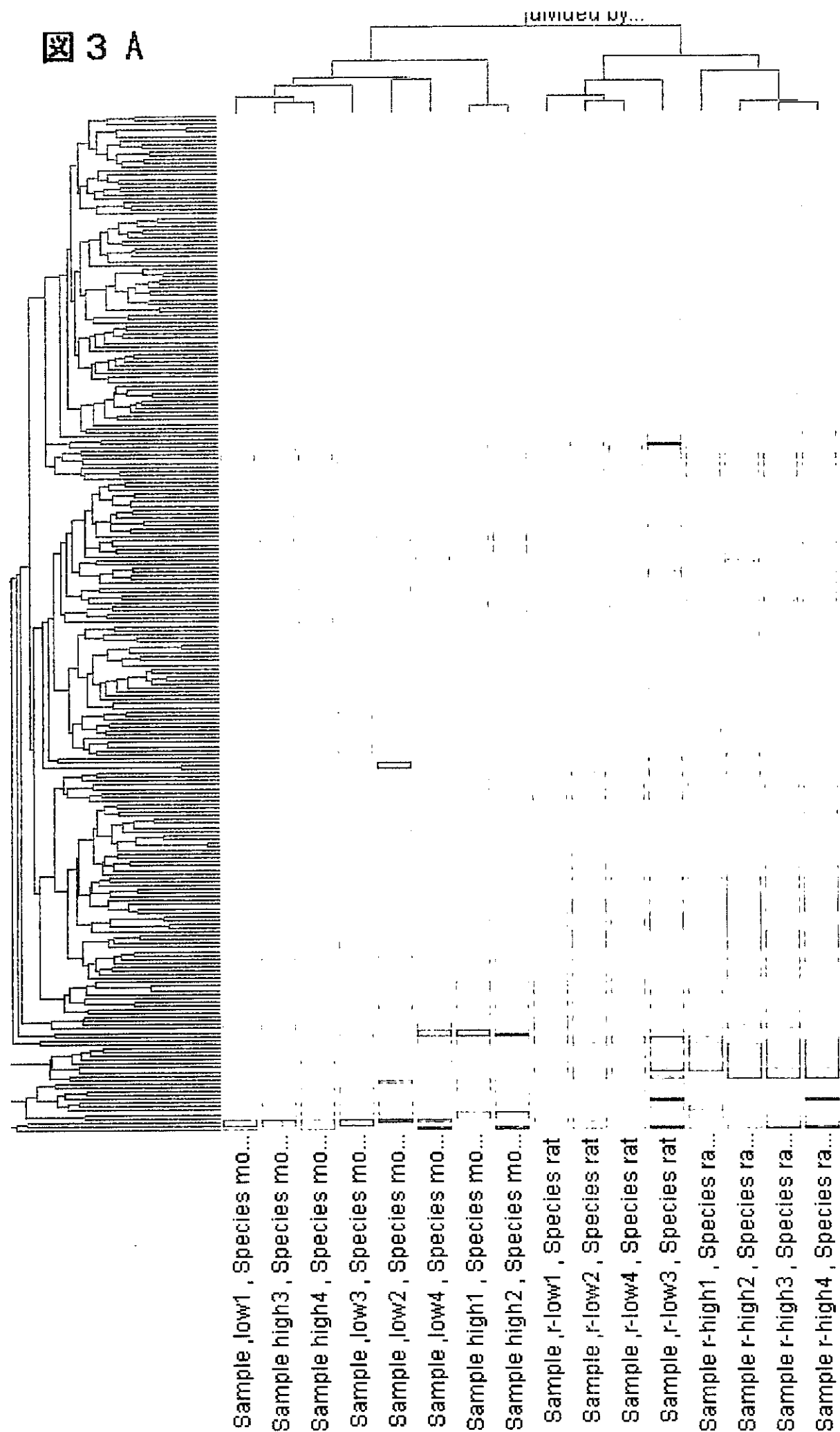


Figure 3 A



Selected Gene Tree: divided by control (...
 Selected Experiment Tree: divided by control (...

Colored by: N/A
 Gene List: all genes (263)

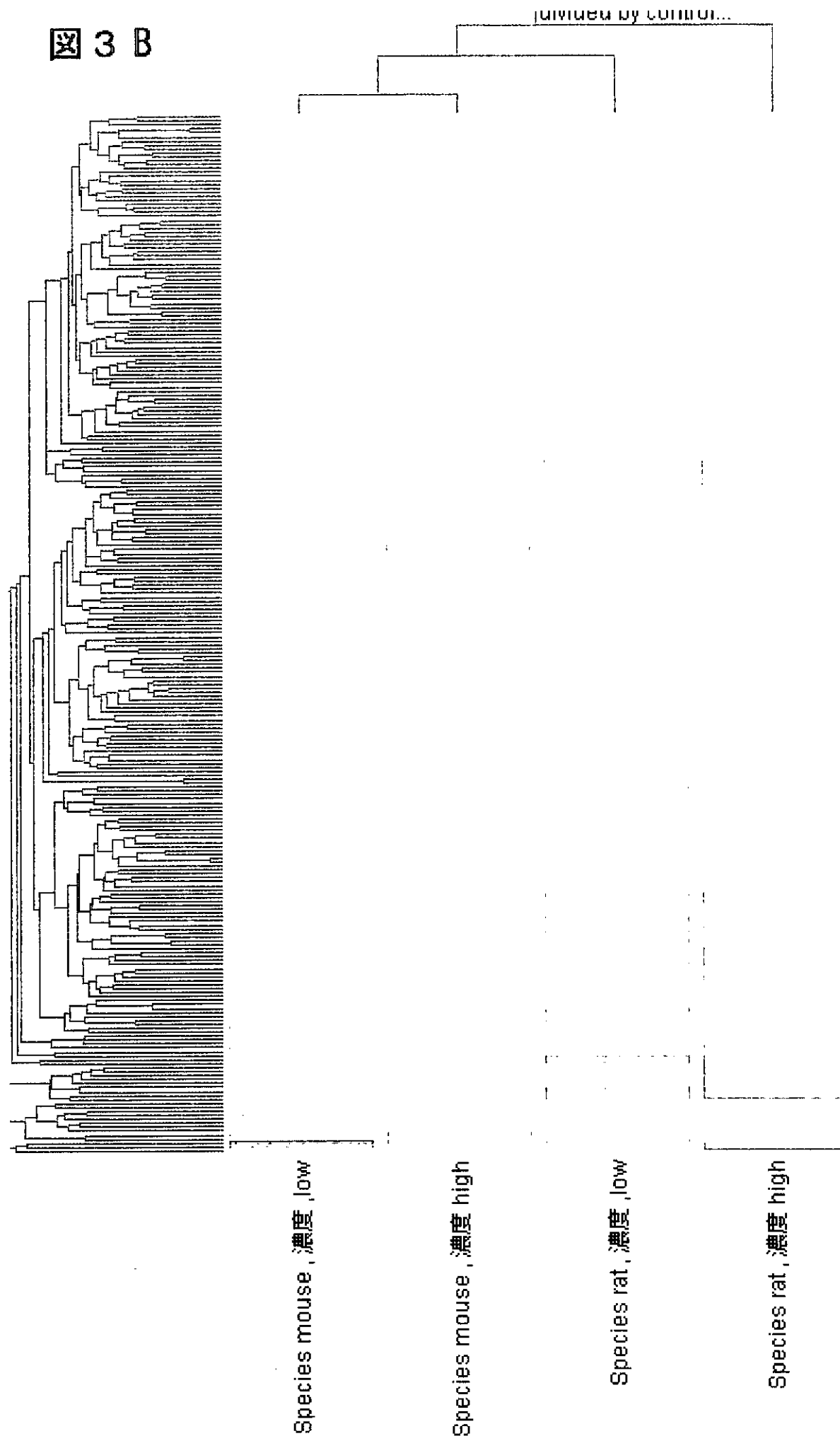


図4A マウス 定量PCR vs DNA chip

