

販売中止となった医薬品・医薬品候補物質」、副作用情報が公示されている医薬品等を含めて検討する点である。これもまた、世界に例を見ない試みであり、種々困難な点はあったものの、本年度中に着手することができた。

次年度以降の課題

本年度までにおいて、実験プロトコル・化合物選択基準を確定させ、データ取得とその格納が軌道に乗り、データベース構築に関しては順調に進行している。今後は、その蓄積されたデータを基に、安全性評価予測システムの構築が課題となる。そのためには、プロジェクトで得られたデータばかりでなく、基盤的分担研究（肝毒性（土井）、腎毒性（遠藤）、発がん性（若林）、及び恒常性維持機構を標的とした毒性（菅野））で得られた先端的な成果を取り入れつつ、毒性発現機序解析に支えられたシステムを作り上げて行かねばならない。この目的から、毒性研究者とコンピュータ科学者が共同で解析・研究するワーキンググループを設置したところである。

本プロジェクトは産官共同プロジェクトである性格上、プロジェクトの成果に関して、具体的データの对外発表は差し控えていた。しかしながら、社会に対する貢献・説明責任を果たすために、本年度以降は、積極的に对外発表を推し進めていくという路線を決定した。

E. 結論

プロジェクト本体としては、「5年間150物質」目標達成に向けて、データ取得を行い、データベース構築に力を注いだ結

果、ほぼスケジュール通りの進捗が得られている。また、安全性評価予測システムの構築に向かって、インフォマティクスの質的向上のために設置した基盤的分担研究もそれぞれの成果を得ている。今後計画に従って研究を進め、利用価値の高いデータベースの完成と、安全性早期予測システムの構築を達成したい。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 学会報告

長尾拓 「トキシコゲノミクスプロジェクト」 第26回日本学術会議トキシコロジー研究連絡委員会シンポジウム
2003年12月3日 東京

Toxicogenomics Project in Japan — Objective and Proposal. T. Urushidani, J. Kanno, T. Miyagishima, and T. Nagao. Society of Toxicology. 43rd Annual Meeting. Mar. 24, 2004 in Baltimore, USA

山内啓史・片山圭一・八十島 昭・上塚浩司・中山裕之・土井邦雄：Ara-C の胎児・胎盤毒性に関する形態学的研究：第135回日本獣医学会、平成15年3月、東京

片山圭一・土井邦雄：化学物質による胎児中枢神経毒性の発現メカニズム：第3

0 回日本トキシコロジー学会教育講演、
平成15年7月20日、神奈川

白井真人・上塚浩司・山内啓史・中山裕
之・土井邦雄：db/db マウスにおける肝
再生障害のメカニズム—アレイ解析から
のアプローチ：第136回日本獣医学
会、平成15年10月、青森

Sehata S., Teranishi M., Yamoto T.,
Matsunuma N. and Doi K. T-2 toxin-
induced toxicity in pregnant rats
—Histology and gene expression
profile— International Symposium of
Mycotoxicology, Nov.3-5, 2003, Kagawa

Ueno M., Katayama K., Nakayama H. and
Doi K. Analysis of cell cycle,
migration and apoptosis of neuronal
stem cells in the 5-azacytidine
(5AzC)-treated rat fetal brain.
JSTP/IFSTP Joint Meeting, Feb. 15-18,
2004, Kobe.

Woo G.H., Bak E.J., Uetsuka K.,
Nakayama H. and Doi K. Hydroxyurea
(HU)-induced apoptosis and changes in
apoptosis-related genes expression in
the mouse fetal lung. JSTP/IFSTP
Joint Meeting, Feb. 15-18, 2004, Kobe.

Baba Y., Uetsuka K., Nakayama H. and Doi K.
Porcine-serum-induced hepatic
fibrosis in Brown Norway rats.
JSTP/IFSTP Joint Meeting, Feb. 15-18,
2004, Kobe.

Takai H., Ito T., Tatsuyama K., Suzuki
M., Katayama K. and Doi K. Neuronal
cell death in the fetal rat spinal cord
following NMDA-treatment to dams.
JSTP/IFSTP Joint Meeting, Feb. 15-18,
2004, Kobe.

Sehata S., Kiyosawa N., Makino T.,
Atsumi F., Ito K., Yamoto T.,
Teranishi M., Manabe S., Uetsuka K.,
Nakayama H. and Doi K. JSTP/IFSTP
Joint Meeting, Feb. 15-18, 2004, Kobe.

遠藤 仁：シンポジウム「腎性低尿酸
血症」。第46回日本腎臓学会学術総会、
東京、平成15年5月22日。

関根孝司， 薦田房子， 稲富 淳， 榎
本 篤， 遠藤 仁， 大田敏之， 松山
健， 池田昌弘， 粟津 緑， 五十嵐
隆：特発性腎性低尿酸血症における尿
酸トランスポーター(hURAT1)遺伝子異常
の解析。第46回日本腎臓学会学術総
会， 東京， 平成15年5月22日。

榎本 篤， 武田理夫， 小野里マリステ
ラリカ， 藤乗嗣泰， 瀧健太郎， 高山
文夫， 丹羽利充， 遠藤 仁：ヒト有
機アニオントランスポータ(hOAT)による
インドキシル硫酸(IS)輸送の意義。第
46回日本腎臓学会学術総会， 東京， 平
成15年5月22日。

田中元子， 伊藤和子， 松下和孝， 脇
田直樹， 安達政隆， 北村健一郎， 細

山田真, 遠藤 仁, 富田公夫: 運動後急性腎不全を来した遺伝子腎性低尿酸血症の兄弟例. 第46回日本腎臓学会学術総会, 東京, 平成15年5月22日.

細山田真, 市田公美, 榎本 篤, 細谷龍男, 遠藤 仁: 尿酸トランスポーター1のマウス腎における機能及び局在の解析. 第46回日本腎臓学会学術総会, 東京, 平成15年5月22日.

安西尚彦, 武田理夫, Habib Hassannejad, 辛 祐禎, 遠藤 仁: ヒト有機アニオントランスポーター(hOAT)と利尿薬との相互作用. 第46回日本腎臓学会学術総会, 東京, 平成15年5月22日.

鈴木喜郎, 安岡有紀子, 細山田真, 遠藤 仁, 河原克雅: 内向き整流性カリウムチャンネルKir7.1の遠位部尿細管由来新規培養細胞における発現. 第46回日本腎臓学会学術総会, 東京, 平成15年5月23日.

細山田真, 西堀由紀野, 楊 國昌, 遠藤 仁: ピューロマイシンアミノヌクレオシドネフローゼモデルにおけるポドシン発現の変化. 第46回日本腎臓学会学術総会, 東京, 平成15年5月24日.

宮崎博喜, 安西尚彦, Shin HoJung, 坂田 武, 野々口博史, 富田公夫, 金井好克, 遠藤 仁: ヒト有機アニオ

ントランスポーター4(OAT4)とPDZドメインタンパク質PDZK1の相互作用. 第46回日本腎臓学会学術総会, 東京, 平成15年5月24日.

安西尚彦, 宮崎博喜, Shin HoJung, 野城理絵, 榎本 篤, 金井好克, 遠藤 仁: 腎臓尿酸トランスポーターURAT1細胞内結合タンパク質の同定. 第46回日本腎臓学会学術総会, 東京, 平成15年5月24日.

脇田直樹, 北村健一郎, 安達政隆, ドサ トウエン, 野々口博史, 小田切優樹, 細山田真, 遠藤 仁, 富田公夫: 家族性腎性低尿酸血症における尿酸トランスポーター(URAT1)遺伝子異常の解析. 第46回日本腎臓学会学術総会, 東京, 平成15年5月24日.

Endou, H.: Urate transport in human kidneys. World Congress of Nephrology, Berlin, June 9, 2003.

Yokoyama H, Anzai N, Chaekuntode S, Shin HJ, Noshiro R, Miyazaki H, Kanai Y and Endou H: Identification of a Novel Organic Anion Transporter OAT8 from the Rat Kidney, World Congress of Nephrology, Berlin, Germany, Berlin, June 9, 2003

野城理絵, 安西尚彦, 宮崎博喜, 辛 祐禎, 坂田 武, 金井好克, 遠藤 仁: Yeast Two-hybrid法を用いたヒトペプチドトランスポーターPEPT2結合蛋白質の

同定. 第108回日本薬理学会関東部会,
東京, 平成15年6月14日.

Promsuk Jutabha, 古屋祥子, 森本絵美
子, 黒田琢磨, Chairoungdua A, 寺岡
秀朗, 斎藤邦夫, 金井好克, 呉屋朝幸,
遠藤 仁: 腫瘍特異アミノ酸トランスポ
ーターの新規高親和性抑制薬による抗腫
瘍効果. 第108回日本薬理学会関東部
会, 東京, 平成15年6月14日.

遠藤 仁: 「創薬におけるトランスポ
ーターの意義」 第2回ゲノムメディ
ア研究会, 東京, 平成15年7月4
日.

金井好克、遠藤 仁: 創薬における新
しい薬物評価システムの応用. 第1回
RFB研究会. 東京, 平成15年7月5
日.

遠藤 仁: 理事長基調講演「Current
status and future perspective on
molecular toxicology」. 第30回日本
トキシコロジー学会学術年会. 神奈川,
平成15年7月18日.

武藤朋子, 金井好克, 和久井信, 遠
藤 仁: 実験肉芽組織内血管新生に関
するマイクロアレイ解析法を用いた予備
的検討. 第30回日本トキシコロジー
学会学術年会. 神奈川, 平成15年7
月18日.

Hitoshi Endou: A new drug target, URAT1,
for the development of uricosuric
agents. PharmaConference 2003,

Pontresina, Switzerland, Aug 20, 2003.

Hitoshi Endou: Special Lecture
“Transporters and new drug
development”. The 9th Southeast
Asian-Western Pacific Regional Meeting
of Pharmacologists, Busan, Korea, Aug
22, 2003.

Sakata T, Anzai N, Hirata T, Jutabha P,
Cha SH, Iribe Y, Kanai Y and Endou H:
Cloning and characterization of a novel
organic anion transporter (OAT5):
apical isoform of the proximal tubules
in rat kidney. 3rd International
Research Conference PharmaConference
2003 Transporters and Drugs,
Pontresina, Switzerland, Aug. 17-21,
2003

Miyazaki H, Anzai N, Sakata T, Hirata
T, Sakamoto S, Chairoungdua A, Kanai Y
and Endou H: The Multivalent PDZ
Domain-containing Protein PDZK1
Regulates the Transport Activity of
Renal Urate-Anion Exchanger URAT1 via
its C-terminal. 3rd International
Research Conference PharmaConference
2003 Transporters & Drugs, Pontresina,
Switzerland, Aug. 17-21, 2003

Ekaratanawong-Chaekuntode S, Anzai N,
Miyazaki H, Kanai Y and Endou H:
Identification of intracellular
binding protein with carnitine
transporter 1 (rCT1) in rat brain. 3rd

International Research Conference
PharmaConference 2003 Transporters &
Drugs, Pontresina, Switzerland, Aug.
17–21, 2003

Jutabha P, Kanai Y, Hosoyamada M, Iribe
Y and Endou H: Identification of a novel
voltage-driven organic anion
transporter present at apical membrane
of renal proximal tubule. 3rd
International Research Conference
PharmaConference 2003 Transporters &
Drugs, Pontresina, Switzerland, Aug.
17–21, 2003

Chairoungdua A, Ellapan B, Kanai Y and
Endou H: Identification of novel system
L amino acid transporters structurally
distinct from heterodimeric amino acid
transporters. 3rd International
Research Conference PharmaConference
2003 Transporters & Drugs, Pontresina,
Switzerland, Aug. 17–21, 2003

Sakamoto S, Kanai Y, Shigeta Y,
Chairoungdua A, Fujimura M, Nesar A,
Itou H and Endou H: A novel missense
mutation of SLC7A9 frequent in Japanese
cystinuria population causing membrane
targeting defect of the transporter
protein. 3rd International Research
Conference PharmaConference 2003
Transporters & Drugs, Pontresina,
Switzerland, Aug. 17–21, 2003

Kusuhara H, Nagata Y, Endou H and

Sugiyama Y: Characterization of the
uptake mechanism for histamine H₂
receptor antagonists in the choroid
plexus. 3rd International Research
Conference PharmaConference 2003
Transporters & Drugs, Pontresina,
Switzerland, Aug. 17–21, 2003

Sabolic I, Ljubojevic M, Herak-
Kramberger CM, Hagos Y, Bahn A, Endou
H, Burckhardt G: Rat renal Oat1
exhibits gender differences that are
determined by both androgen
stimulation and estrogen inhibition
3rd International Research Conference
PharmaConference 2003 Transporters &
Drugs, Pontresina, Switzerland, Aug.
17–21, 2003

Kobayashi Y, Ohshiro N, Shibusawa A,
Kohyama N, Ohbayashi M, Sekine T, Endou
H and Yamamoto T: Roles of mouse organic
anion transporter 3 (mOAT3[Slc22a8])
in renal drug transport 3rd
International Research Conference
PharmaConference 2003 Transporters &
Drugs, Pontresina, Switzerland, Aug.
17–21, 2003

Shin HJ, Enomoto A, Anzai N, Kim DK, Cha
SH, Choi HW, Kanai Y and Endou H:
Identification of a Novel Liver
Specific Organic Anion Transporter
Selective for Conjugated Drugs and
Steroid Hormone. 9th Southeast
Asian-Western Pacific Regional Meeting

of Pharmacologists, Busan, Korea, Aug 21, 2003.

坂本信一, 金井好克, 茂田安弘, Arthit Chairoungdua, 藤村正亮, Nasar Ahmed, 安西尚彦, 宮崎博喜, 伊藤晴夫, 遠藤 仁 : 日本人型シスチン尿症変異が明らかにするトランスポーター細胞膜移行の機序. 第9回分子腎臓研究会, 東京, 平成15年9月6日.

遠藤 仁:平成15年生理学研究所研究会「生体防御の最前線: 上皮輸送制御因子の構造活性相関」, 岡崎, 平成15年10月2日.

細山田真, 遠藤 仁: ピューロマイシンアミノヌクレオシドネフローゼモデルラットにおけるネフリンおよびポドシン発現の経日変化. 第109回日本薬理学会関東部会, 東京, 平成15年10月4日.

Ellapan Babu, 金井好克, Chairoungdua Arthit. 入部雄司, 安西尚彦, 遠藤 仁: 発現クローニング法による新規輸送系Lアミノ酸トランスポーターの同定. 第109回日本薬理学会関東部会, 東京, 平成15年10月4日.

安西尚彦, 宮崎博喜, 野城理絵, shin Ho Jung, 平田 拓, 坂田 武, 金井好克, 遠藤 仁: 尿酸トランスポーターURAT1細胞内結合タンパク質の同定. 第109回日本薬理学会関東部会, 東京,

平成15年10月4日.

Arthit Chairoungdua, Yoshikatsu Kanai, Hitoshi Endou: Amino acid transporters in malignant tumors as a candidate target for anti-cancer therapy. 第76回日本生化学学会大会, 平成15年10月17日.

Shin Ho Jung, 武田理夫, 遠藤 仁: ヒト尿酸トランスポーター (URAT1) と尿酸排泄促進薬との相互作用. 第32回杏林医学会総会, 三鷹, 平成15年11月1日

Hassannejad Habib, 武田理夫, 遠藤 仁: ヒト有機カチオントランスポーター (hOCT) による抗不整脈薬輸送の解析. 第32回杏林医学会総会, 三鷹, 平成15年11月1日

野城理絵, 安西尚彦, Ho Jung Shin, 平田 拓, 金井好克, 遠藤 仁: ヒトペプチドトランスポーターPEPT2細胞内結合蛋白質の同定. 第32回杏林医学会総会, 三鷹, 平成15年11月1日

横山宏和, 安西尚彦, 平田 拓, 金井好克, 遠藤 仁: ラット腎に発現する新規有機アニオントランスポーターOAT8の同定. 第32回杏林医学会総会, 三鷹, 平成15年11月1日

平田 拓, 安西尚彦, 横山宏和, 金井好克, 遠藤 仁: ラット腎近位尿細管管腔側膜に発現する新規硫酸抱合体トランスポーターの同定. 第32回杏林医学会総

会、三鷹、平成 15 年 11 月 1 日

Yue wei Li、Arthit Chairoungdua、入部雄司、金井好克、遠藤 仁：新規塩基性アミノ酸トランスポーターの同定と機能解析。第 32 回杏林医学会総会、三鷹、平成 15 年 11 月 1 日

Sirinun Nilwarangoon、細山田真、土岐昭依、遠藤 仁：マウス尿酸トランスポーターmURAT1 の機能と局在。第 32 回杏林医学会総会、三鷹、平成 15 年 11 月 1 日

黒田琢磨、寺岡秀朗、小林ゆかり、寺戸雄一、金井好克、遠藤 仁、呉屋朝幸：乳癌組織におけるアミノ酸トランスポーター発現に関する免疫組織化学的検討。第 32 回杏林医学会総会、三鷹、平成 15 年 11 月 1 日

遠藤 仁：大学における動物実験実習と代替法の取り組み。第 17 回日本動物実験代替法学会、神奈川、平成 15 年 11 月 7 日。

坂田 武、宮崎博喜、安西尚彦、野城理絵、金井好克、遠藤 仁：新規腎臓尿酸トランスポーターURAT1 の単離とヒト薬物標的の代替法。第 17 回日本動物実験代替法学会、相模原、平成 15 年 11 月 7 日

Endou, H. : Organic anion transporters (OATs). The American Society of

Nephrology, Renal Week 2003, San Diego, U.S.A., Nov, 13, 2003.

Miyazaki H, Anzai N, Hirata H, Iribe Y, Nonoguchi H, Kanai Y, Tomita K and Endou H: Interaction of the PDZ Domain Protein PDZK1 with Urate/Anion Exchanger URAT1. Renal Week 2003, San Diego, Nov, 15, 2003.

Hirata T, Anzai N, Jutabha P, Enomoto A, Miyazaki H, Sakata T, Nonoguchi H, Kanai Y, Tomita K and Endou H: Cloning and Characterization of a Novel Organic Anion Transporter (OAT5): Apical Isoform of the Proximal Tubules in Rat Kidney. Renal Week 2003, San Diego, Nov, 16, 2003.

Chairoungdua, A., Babu, E., Kanai, Y. and Endou, H. : Identification of novel system L amino acid transporters structurally distinct from heterodimeric amino acid transporters. 43rd Annual Meeting, The American Society for Cell Biology, San Francisco, U.S.A., Dec 15, 2003.

Sakamoto S, Kanai Y, Shigeta Y, Ito H and Endou, H. : A novel missense mutation of SLC7A9 frequent in Japanese Cystinuria population causing defect in sorting of the transporter protein. 43rd Annual Meeting, The American Society for Cell Biology, San Francisco, U.S.A., Dec 15, 2003.

安西尚彦, 宮崎博喜, 平田拓, 榎本篤, 坂田 武, 金井好克, 遠藤 仁: 尿酸トランスポーターURAT1 細胞内結合タンパク質の同定. 第26回日本分子生物学会, 神戸, 平成15年12月11日.

武田理夫, Hasannejad Habib, 瀧 健太郎, 榎本 篤, 丹羽利充, 遠藤 仁: ヒト有機アニオントランスポーターによる利尿薬の尿細管分泌機構. 第24回日本臨床薬理学会年会, 横浜, 平成15年12月11日.

Chairoungdua, A., Babu, E., Kanai, Y. and Endou, H.: Identification of novel system L amino acid transporters structurally distinct from heterodimeric amino acid transporters. 43rd Annual Meeting, The American Society for Cell Biology, San Francisco, U.S.A., Dec 15, 2003.

Babu E, Chairoungdua A, Rafiqul I, 金井好克, 遠藤 仁: 輸送系Lアミノ酸トランスポーターLAT3のモデル細胞としてのヒト肝細胞癌FLC4細胞の特性. 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 平成16年3月8日.

入部雄司, Chairoungdua A, 金井好克, 遠藤 仁: CED98の細胞遊走における役割. 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 平成16年3月8日.

Javan M, 金井好克, Chairoungdua A, 坂本信一, 遠藤 仁: 腫瘍細胞株細胞膜

上でのLAT1と関するタンパク質間相互作用の解析. 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 平成16年3月8日.

遠藤 仁: 特別講演「トランスポーターと創薬」. 第77回日本薬理学会年会, 平成16年3月9日.

金井好克, 遠藤 仁: シンポジウム「中性アミノ酸トランスポーターLATsと癌」, 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 平成16年3月9日.

宮崎博喜, 安西尚彦, Promsuk J, Ekaratanawong S, 野城理絵, 辛 祐禎, 坂田 武, 平田 拓, 金井好克, 遠藤 仁: 腎尿細管管腔膜の薬物トランスポーターOAT4の輸送メカニズム. 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 平成16年3月10日.

Chairoungdua A, 金井好克, Babu E, 入部雄司, 高橋美知, 坂間慶子, 遠藤 仁: 輸送系L2の特性を示す中性アミノ酸トランスポーターの同定. 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 平成16年3月10日.

Li YW, 金井好克, 入部雄司, 遠藤 仁: 胎盤型新規輸送系y⁺塩基性アミノ酸トランスポーターの同定. 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 平成16年3月10日.

坂田 武, 安西尚彦, 辛 祐禎, 野城理絵, 平田 拓, 横山宏和, 金井好克, 遠

藤 仁： 有機カチオントランスポーター-OCT1の新規遺伝子多型(NSPs)と輸送機能解析。第77回日本薬理学会年会，大阪，平成16年3月10日。

細山田真，土岐昭依，Nilwarangkoon S，遠藤 仁： マウス尿酸トランスポーター(mURAT1)発現の性差および年齢差。第77回日本薬理学会年会，大阪，平成16年3月10日。

仁保直子、高橋真美、庄司 豊、杉村 隆、若林敬二。PPAR γ リガンドによるAPC欠損マウスの腸ポリープ形成の抑制。第10回日本がん予防研究会（札幌）、PW1(口演)。2003年6月25日。

庄司 豊、渡部浩治、北村知宏、高橋真美、成宮周、杉村 隆、若林敬二。プロスタグランジン E2 受容体サブタイプEP3のAOM誘発大腸発がんおよび影響。第10回日本がん予防研究会（札幌）、PW2(口演)。2003年6月25日。

仁保直子、高橋真美、北村知宏、庄司 豊、野田哲生、杉村 隆、若林敬二。PPAR γ リガンドによるAPC1309ノックアウトマウスの腸ポリープ形成抑制作用。第62回日本癌学会総会（名古屋）、1351-PA(示説)。2003年9月25日。

庄司 豊、高橋真美、渡部浩治、北村知宏、成宮 周、杉村 隆、若林敬二。大腸発がんにおけるプロスタグランジン E2 受容体 EP4 の役割。第62回日本癌学会総会（名古屋）、1209-OP(口演)。2003年

9月25日。

高橋真美、庄司 豊、仁保直子、杉村 隆、若林敬二。iNOS阻害剤ONO-1714のアゾキシメタン(AOM)誘発ラット大腸aberrant crypt foci (ACF)に対する抑制効果。第62回日本癌学会総会（名古屋）、3241-OP(口演)。2003年9月27日。

若林敬二。がん化学予防のための基礎研究。第62回日本癌学会。2003年9月26日。

菅野 純「分子標的」と「全遺伝子トキシコゲノミクス」、がん分子標的治療研究会 2003年6月2日 東京

菅野 純、「トキシコゲノミクスの現状」、第30回トキシコロジー学会学術年会ワークショップ「プロテオミクスとトキシコゲノミクスの現状と問題点」2003年7月20日 相模原

Jun Kanno, Toxicogenomics -A phenotype independent approach-, Annual Meeting of Korean Society of Toxicology, Oct 30, 2003, Seoul, Korea

菅野 純、「トキシコゲノミクスの新展開」、第26回日本学術会議トキシコロジー研究連絡委員会シンポジウム 2003年12月3日 東京

菅野純、「IGSラットを用いたトキシコゲノミクス」、CD(SD)IGS研究会/研究集会 2003年12月19日 東京

Jun Kanno "Focusing on Toxicogenomics Research" The 3rd International Congress of Asian Society of Toxicology : ASIATOX III February 1-6, 2004, Bangkok / Chiang Mai, Thailand

Jun Kanno, Aisaki Ken-ichi, Atsushi Ono, Katsuhide Igarashi "Toxicogenomics using "percellome" and "mille-feuille" data system" The Joint International Meeting of The Japanese Society of Toxicologic Pathology (JSTP) and The International Federation of Societies of Toxicologic Pathology (IFSTP) including The International Academy of Toxicologic Pathology (IATP) February 15-18, 2004, Kobe, Japan

菅野 純 「Toxicogenomics の進捗」 第 240 回 CBI 学会研究講演会, 2004 年 3 月 19 日、東京

2. 論文発表

Takamatsu, H., Nagao, T., Ichijo, H., and Adachi-Akahane, S.: L-type Ca²⁺ channels serve as a sensor of the SR Ca²⁺ for tuning the efficacy of Ca²⁺-induced Ca²⁺ release in rat ventricular myocytes. *J. Physiol.* 552:415-424 (2003).

Yamaguchi, S., Zhorov, B.S., Yoshioka K., Nagao, T., Ichijo, H., and Adachi-Akahane, S.: Key roles of Phe¹¹¹² and Ser¹¹¹⁵ in the pore-forming IIIS5-S6 linker of L-type Ca²⁺ channel α_{1c} subunit (Ca_v1.2) in binding of

dihydropyridines and action of Ca²⁺ channel agonists. *Mol. Pharmacol.* 64: 235-248 (2003).

Kobayashi, H., Miwa, T., Nagao, T., Adachi-Akahane, S.: Negative modulation of L-type Ca²⁺ channels via β -adrenergic receptor stimulation in guinea-pig detrusor smooth muscle cells. *Eur. J. Pharmacol.* 470: 9-15 (2003).

Hagiwara, M., Adachi-Akahane, S. and Nagao, T.: High affinity binding of [³H]DTZ323 to the diltiazem-binding site of L-type Ca²⁺ channels. *Eur. J. Pharmacol.* 466: 63-71 (2003).

K. Tashiro, T. Nagao, H. Kurose, H. Ichijo, and T. Urushidani. Role of Rho in rabbit parietal cell. *J. Cell. Physiol.* 197:409-417, 2003.

J. Matsukawa, K. Nakayama, T. Nagao, H. Ichijo, and T. Urushidani. Role of ADP-ribosylation factor 6 in gastric acid secretion. *J. Biol. Chem.* 278(38):36470-36475, 2003.

Sehata S., Teranishi M., Yamoto T., Matsunuma N. and Doi K. T-2 toxin-induced toxicity in pregnant rats - Histopathology and gene expression profiles - *Mycotoxins*, 54, in press, 2004.

Yamauchi H., Katayama K., Ueno M., Uetsuka K., Nakayama H. and Doi K.

- Involvement of p53 in 1- β -D-arabinofuranosylcytosine-induced trophoblastic cell apoptosis and impaired proliferation in rat placenta. *Biol. Reprod.*, 70, in press, 2004.
- Sehata S., Kiyosawa N., Sakuma K., Ito K., Yamoto T., Teranishi M., Uetsuka K., Nakayama H. and Doi K. Gene expression profiles in pregnant rats treated with T-2 toxin. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 55, in press, 2004.
- Woo G.H., Katayama K., Bak E.J., Ueno M., Yamauchi H., Uetsuka K., Nakayama H. and Doi K. Effects of prenatal hydroxyurea-treatment on mouse offsprings. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 55, in press, 2004.
- Woo G.H., Katayama K., Jung J.Y., Uetsuka K., Bak E.J., Nakayama H. and Doi K. Hydroxyurea (HU)-induced apoptosis in the mouse fetal tissues. *Histol. Histopathol.*, 18, 387-392, 2003.
- Ejiri N., Katayama K. and Doi K. Induction of CYP3A1 by dexamethasone and pregnenolone-16 α -carbonitrile in pregnant rat and fetal livers and placenta. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 54, 273-280, 2003.
- Takai H., Katayama K., Uetsuka K., Nakayama H. and Doi K. Distribution of N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) in the developing rat brain. *Exp. Mol. Pathol.*, 75, 89-94, 2003.
- Takai H., Katayama K., Yasoshima A., Uetsuka K., Nakayama H. and Doi K. NMDA-induced apoptosis in the developing rat brain. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 55, 33-37, 2003.
- Michishita M., Ikeda T., Nakashiba T., Ogawa M., Tashiro K., Honjo T., Doi K., Itohara S. and Endo S. A novel gene, Btcl1 containing CUB and LDLA domains is expressed in restricted areas of mouse brain. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 306, 680-686, 2003.
- Yamauchi H., Katayama K., Yasoshima A., Uetsuka K., Nakayama H. and Doi K. 1- β -D-arabinofuranosylcytosine (Ara-C)-induced apoptosis in the rat fetal tissues and placenta. *J. Toxicol. Pathol.*, 16, 223-230, 2003.
- Ito K., Kajikawa S., Nii A., Hanada T. and Doi K. Antioxidants suppress nitrofurazone-induced proliferation of hepatocytes. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 55, 247-250, 2003.
- Okada T., Uetsuka K., Yamauchi H., Tani Y., Endo K., Nakayama H. and Doi K. Effects of exogenous growth hormone (GH)-treatment on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced acute liver injury in

- GH-deficient Mini rats. *J. Toxicol. Pathol.*, 16, 49-57, 2003.
- Suzuki K., Kanabayashi T., Nakayama H. and Doi K. Kinetics of chemokines and their receptors in mercuric chloride-induced tubulo-interstitial lesions in Brown Norway rats. *Exp. Mol. Pathol.*, 75, 58-67, 2003.
- Ichida, K., Hosoyamada, M., Kimura, H., Takeda, M., Utsunomiya, Y., Hosoya, T., Endou, H. : Urate transport via the human PAH transporter hOAT1 and its gene structure. *Kidney Int.* 63: 143-155, 2003
- Khamdang, S., Takeda, M., Babu, E., Noshiro, R., Onozato, M.L., Tojo, A., Enomoto, A., Huang, X.L., Narikawa, S., Anzai, N., Piyachaturawat, P. and Endou, H. : Interaction of human and rat organic anion transporter 2 with various cephalosporin antibiotics. *Eur. J. Pharmacol.* 465: 1-7, 2003
- Okubo, M., Yamada, K., Hosoyamada, M., Shibasaki, T. and Endou, H. : Cadmium transport by human Nramp 2 expressed in *Xenopus laevis* oocytes. *Toxicol. Applied Pharmacol.* 187: 162-167, 2003
- Enomoto, A., Takeda, M., Taki, K., Takayama, F., Noshiro, R., Niwa, T. and Endou, H. : Interactions of human organic anion as well as cation transporters with indoxyl sulfate. *Euro. J. Pharmacol.* 466: 13-20, 2003
- Satoh, H., Moriyama, N., Hara, C., Yamada, H., Horita, S., Kunimi, M., Tsukamoto, K., Iso-o, N., Inatomi, J., Kawakami, H., Kudo, A., Endou, H., Igarashi, T., Goto, A., Fujita T and Seki G: Localization of $\text{Na}^+\text{-HCO}_3^-$ cotransporter (NBC-1) variants in rat and human pancreas. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 284: C729-C737, 2003
- Kanai, Y. and Endou, H. : Functional properties of multispecific amino acid transporters and their implications to transporter-mediated toxicity. *J. Toxicol. Sci.* 28: 1-17, 2003
- Hasegawa, M., Kusuhashi, H., Endou, H. and Sugiyama, Y. : Contribution of organic anion transporters to the renal uptake of anionic compounds and nucleoside derivatives in rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 305(3): 1087-1097, 2003
- Jutabha, P., Kanai, Y., Hosoyamada, M., Chairoungdua, A., Kim, D.K., Iribe, Y., Babu, E., Kim, J.Y., Anzai, N., Chatsudthipong, V. and Endou, H. : Identification of a novel voltage-driven organic anion transporter present at apical membrane of renal proximal tubule. *J. Biol. Chem.* 278(30): 28930-27938, 2003
- Hosoya K, Tomi M, Ohtsuki S, Takanaga H, Saeki S, Kanai Y, Endou, H., Naito M, Tsuruo T, Terasaki T. : Enhancement of L-cystine transport activity and its relation to xCT gene induction at the blood-brain barrier by diethyl maleate treatment. *J Pharmacol Exp Ther.* Jul;302(1):225-31, 2002
- Tanaka M, Itoh K, Matsushita K, Matsushita K, Wakita N, Adachi M, Nonoguchi H, Kitamura K, Hosoyamada M, Endou, H., Tomita K. : Two male siblings with hereditary renal hypouricemia and exercise-induced ARF. *Am J Kidney*
- Babu E, Kanai Y, Chairoungdua A, Kim do K, Iribe Y, Tangtrongsup S, Jutabha P, Li Y, Ahmed N, Sakamoto S, Anzai N, Nagamori S, Endou, H. : Identification of a novel system L amino acid transporter structurally distinct from

heterodimeric amino acid transporters. J Biol Chem. 2003 Oct 31;278(44):43838-45.

Kim GH, Na KY, Kim SY, Joo KW, Oh YK, Chae SW, Endou H, Han JS. : Up-regulation of organic anion transporter 1 protein is induced by chronic furosemide or hydrochlorothiazide infusion in rat kidney. Nephrol Dial Transplant. 2003 Aug;18(8):1505-11., 2003

Alebouyeh M, Takeda M, Onozato ML, Tojo A, Noshiro R, Hasannejad H, Inotaomi J, Narikawa S, Huang XL, Khamdang, Anzai N, and Endou H : Expression of human organic anion transporters in the choroid plexus and their interactions with neurotransmitter metabolites. J Pharmacol sci. 93:430-436, 2003

Yoon JH, Kim YB, Kanai Y, Endou H, and Kim DK: Sequential Increases in 4F2hc expression during DMBA-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. Anticancer Res. 23:3877-3882, 2003.

Takeda M, Noshiro R, Onozato ML, Tojo A, Hasannejad H, Huang XL, Narikawa S and Endou H : Evidence for a role of human organic anion transporters in the muscular side effects of HMG-CoA reductase inhibitors. Eur. J. Pharmacol. 483: 133-138, 2004.

Sakata T, Anzai N, Shin HJ, Noshiro R, Hirata T, Yokoyama H, Kanai Y and Endou H : Novel single nucleotide polymorphisms of organic cation transporter 1 (*SLC22A1*) affecting transport functions. Biochem Biophys Res Comm. 313: 789-793, 2004.

Koepsell H, Endou H : The SLC22 drug transporter family. Pflugers Arch. 2003 Jul 19, in press

Verrey F, Closs EI, Wagner CA, Palacin M, Endou H, Kanai Y. : CATs and HATs: the

SLC7 family of amino acid transporters. Pflugers Arch. 2003 Jun 11, in press

Hasannejad H, Takeda M, Taki K, Jung SH, Babu E, Jutabha P, Khamdang S, Alebouyeh M, Onodera ML, Tojo A, Enomoto A, Anzai N, Narikawa S, Huang XL, Niwa T, Endou H : Interactions of human organic anion transporters with diuretics. J Pharmacol Exp Ther. 308:1021-29, 2003

遠藤 仁, 宮崎博喜, 安西尚彦: 新規尿酸トランスポーターURT1の同定と尿酸研究の現状. 蛋白質核酸酵素, 48(1): 18-25, 2003

Shibata, H., Iimuro, M., Uchiya, N., Kawamori, T., Nagaoka, M., Ueyama, S., Hashimoto, S., Yokokura, T., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Preventive effects of cladosiphon fucoidan against Helicobacter pylori infection in mongolian gerbils. Helicobacter. (2003), 8: 59-65.

Kawamori, T., Uchiya, N., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Enhancement of colon carcinogenesis by prostaglandin E₂ administration. Carcinogenesis. (2003), 24: 985-990.

Kitamura, T., Itoh, M., Noda, T., Tani, K., Kobayashi, M., Maruyama, T., Kobayashi, K., Ohuchida, S., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Combined effects of prostaglandin E receptor subtype EP₁ and subtype EP₄ antagonists on intestinal tumorigenesis in adenomatous polyposis coli gene

- knockout mice. *Cancer Sci.* (2003), 94: 618-621.
- Mutoh, M., Matsui, H., Takahashi, M., Takamura-Enya, T., Wakabayashi, K. Suppression of transcriptional activity of gene promoter for cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in colon cancer cells. *American Chemical Society* (2003), 851: 100-121.
- Niho, N., Takahashi, M., Kitamura, T., Shoji, Y., Itoh, M., Noda, T., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Concomitant suppression of hyperlipidemia and intestinal polyp formation in Apc-deficient mice by peroxisome proliferator-activated receptor ligands. *Cancer Res.* (2003), 63: 6090-6095.
- Matsubara, S., Shibata, H., Ishikawa, F., Yokokura, T., Takahashi, M., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Suppression of Helicobacter pylori-induced gastritis by green tea extract in Mongolian gerbils. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2003), 310: 715-719.
- Takahashi, M., Mutoh, M., Shoji, Y., Kamanaka, Y., Naka, M., Maruyama, T., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Transfection of K-ras^{Asp12} cDNA markedly elevates IL-1 β - and lipopolysaccharide-mediated inducible nitric oxide synthase expression in rat intestinal epithelial cells. *Oncogene.* (2003), 22: 7667-7676.
- Niho, N., Takahashi, M., Shoji, Y., Takeuchi, Y., Matsubara, S., Sugimura, T., Wakabayashi, K. Dose-dependent suppression of hyperlipidemia and intestinal polyp formation in Min mice by pioglitazone, a PPAR γ ligand. *Cancer Sci.* (2003), 94:960-964.
- Yoon BI, Hirabayashi Y, Kawasaki Y, Tsuboi I, Ott T, Kodama Y, Kanno J, Kim DY, Willileeche K, Inoue T. Exacerbation of benzene pneumotoxicity in connexin 32 knockout mice: enhanced proliferation of CYP2E1-immunoreactive alveolar epithelial cells. *Toxicology.* 2004 Jan 15;195(1):19-29.
- Yoon BI, Li GX, Kitada K, Kawasaki Y, Igarashi K, Kodama Y, Inoue T, Kobayashi K, Kanno J, Kim DY, Inoue T, Hirabayashi Y. Mechanisms of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: cDNA microarray analyses using mouse bone marrow tissue. *Environ Health Perspect.* 2003 Aug;111(11):1411-20.
- Tetsuji Nagao, Kazuyoshi Wada, Makiko Kuwagata, Madoka Nakagomi, Chiaki Watanabe, Shinsuke Yoshimura, Yoshiaki Saito, Kenji Usumi, Jun Kanno

Intrauterine position and postnatal growth in Sprague-Dawley rats and ICR mice. Reproductive Toxicology 18 2004 109-120

Kanno J, Onyon L, Peddada S, Ashby J, Jacob E, Owens W. The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: coded single-dose studies. Environ Health Perspect. 2003 Sep;111 (12):1550-8.

Kanno J, Onyon L, Peddada S, Ashby J, Jacob E, Owens W. The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: dose-response studies. Environ Health Perspect. 2003 Sep;111(12):1530-49.

Matsunaga N, Kanno J, Yoshimura I A statistical method for judging synergism: Application to an endocrine disruptor animal experiment- Synergism in endocrine disruptor studies, Environmetrics 2003, Volume 14, Issue2, : 213-222

H. 知的財産権の出願・登録状況

国内特許申請中（特願 2003-317031）

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書

薬物誘発ラット肝病変の発現機構と遺伝子発現プロファイルに関する研究
分担研究者 土井邦雄 東京大学大学院農学生命科学研究科・教授

研究要旨

本年度はまず、CYP 誘導剤 (pregnenolone-16- α -carbonitrile, phenobarbital) 投与ラットの母体肝・胎盤・胎児肝における薬物代謝関連遺伝子の発現プロファイルを明らかにし、併せて CYP isozymes 蛋白の発現と組織内分布との関連について検討した。ついで、5-azacytidine と T-2 toxin によって誘導される胎児中枢神経毒性（アポトーシス、細胞周期停止）の発現機構を、特に 5-azacytidine については傷害修復時の変化に着目し、病変の推移に伴う遺伝子発現プロファイルの変動の面から解析した。

A. 研究目的

妊娠動物は母体—胎盤—胎児からなる複雑な系で構成されており、妊娠動物における毒性発現機構を考える上で、母体肝・胎盤・胎児肝における代謝系の変動、胎児毒性（特に中枢神経毒性）および胎盤毒性は重要である。本年度は、まず、CYP 誘導剤 (pregnenolone-16- α -carbonitrile (PCN), phenobarbital (PB)) 投与ラットの母体肝・胎盤・胎児肝における病変形成、CYP isozymes 蛋白の発現と組織内分布および薬物代謝関連遺伝子の発現プロファイルについて基礎検討を行う。ついで、cytidine のアナログである 5-azacytidine (5AzC) および *Fusarium* 属マイコトキシンである T-2 toxin による胎児中枢神経毒性について、病変の推移に伴う遺伝子発現プロファイルを明らかにする。さらに、次年度に備え、数種の化学物質による妊娠動物における病変の性状に関する予備検討を開始

する。

B. 研究方法

(1) CYP 誘導剤投与による母体肝・胎盤・胎児肝における薬物代謝関連遺伝子の発現プロファイル

50 mg/kg の PCN あるいは 80 mg/kg の PB を F344 ラットに妊娠 13 日から 4 日間連続腹腔内投与し、妊娠 17 日に剖検して母体肝、胎盤、胎児肝を採材し、組織学的・免疫組織化学的検索、Western blot 解析および薬物代謝関連遺伝子の発現プロファイルの解析を行った。

(2) 胎児中枢神経毒性

妊娠 13 日齢の Wistar ラットあるいは F344 ラットに、10 mg/kg の 5AzC (i. p.) あるいは 2 mg/kg の T-2 toxin (p. o.) を投与し、6 から 24 時間後にかけて、胎児脳における病変の推移と遺伝子発現プロファイルの解析を行った。

(3) 妊娠動物における化学物質誘発病変

の性状に関する予備検討

N-methyl-D-aspartate (NMDA), hydroxyurea (HU) および 1- β -D-arabinofuranosylcytosine (Ara-C) と妊娠マウスあるいはラットとの組み合わせで、誘発される病変の性状に関する予備検討を行った。

C. 研究結果

(1) CYP 誘導剤投与による母体肝・胎盤・胎児肝における薬物代謝関連遺伝子の発現プロファイル

PCN : PCN 投与妊娠ラットでは、母体肝で中等度の、胎児肝で軽度の肝細胞の腫大が観察された。Western blot 解析では、母体肝・胎盤・胎児肝に共通して CYP3A1 の発現が増加しており、CYP3A1 蛋白は母体肝では肝小葉全域の肝細胞に、胎盤では栄養膜巨細胞に、また、胎児肝では多数の肝実質細胞に認められた。

Microarray 解析では、第1相代謝関連遺伝子に関しては、母体肝では CYP3A, CYP2B および CYP2A ならびに胎児肝では CYP3A および CYP2C の発現が増加していた。第2相代謝関連遺伝子に関しては、母体肝で GST- α , GST- μ , UDPGT-1 および UDPGT-2 が、また、胎児肝では GST- α および UDPGT-2 の発現が増加していた。胎盤では特記すべき変化はみられなかった。こうした Microarray 解析の結果は RT-PCR の結果とほぼ一致していた。

PB : PB 投与妊娠ラットでは、母体肝で中程度の肝細胞の空胞化が観察された。Western blot 解析では、母体肝で対照群では観察されない CYP2B1 が高度に発現しており、また、CYP3A1 も対照群に比べ

て発現が増加していた。逆に、CYP2D1 は対照群に比べて発現が抑制されていた。胎児肝では CYP3A1 と CYP2C6、特に前者の発現が有意に増加していた。胎盤では、CYP3A1 のみが認められたが、対照群との間に発現量の差は見られなかった。PB 投与後 CYP3A1 蛋白は肝小葉の中心帯から中間帯にかけての肝細胞に広く認められ、対照群では観察されない CYP2B1 蛋白の高度の発現が小葉中心帯の肝細胞に認められた。逆に、CYP2D1 蛋白陽性肝細胞は減少した。胎児肝では、CYP 蛋白に明瞭な陽性像を示す肝実質細胞はまれであった。胎盤では、栄養膜巨細胞に CYP3A1 蛋白が認められた。

Microarray 解析では、第1相代謝関連遺伝子に関しては、母体肝、胎盤および胎児肝に共通して、CYP3A の発現が顕著に増加していたほか、母体肝および胎児肝では CYP2B の発現も増加していた。第2相代謝関連遺伝子に関しては、母体肝で GST- α , GST- μ および UDPGT-2 の顕著な発現の増加ならびに GST- θ および UDPGT-1 の有意な発現増加が認められた。胎児肝では、GST- μ および UDPGT-2 の軽度の発現増加が認められた。胎盤では特記すべき変化は認められなかった。こうした Microarray 解析の結果は RT-PCR のそれとほぼ一致していた。

(1) 胎児中枢神経毒性

5AzC : 5AzC 投与妊娠ラットの胎児終脳 ventricular zone (VZ) では、細胞周期解析、RT-PCR 解析および組織学的・免疫組織化学的検索で、5AzC が VZ 外側部に位置する S 期の神経上皮細胞に取り込まれた後に DNA 傷害を起こし、投与 6~9

時間後には異常分裂を伴う細胞周期停止 (G2/M 期) を誘導し、投与 12 時間後には p53 を介した p21 による細胞周期停止 (G1 期) やアポトーシスを惹起することを示唆する所見が得られた。また、投与 24 時間後には VZ でのアポトーシスが減少し、cortical plate (CP) の神経芽細胞でアポトーシスが観察された。

Microarray 解析では、投与 6 時間後に、アミノ酸関連遺伝子の発現増加と細胞分裂関連遺伝子 (Myosin heavy chain 11, MAP5, adaptor-related protein complex 2, Rat beta adaptin) の発現減少が認められた。12 時間後には、細胞周期関連遺伝子 (cyclin B, cyclin G1, p55cdc) および p53 転写標的遺伝子 (cyclin G1, p21) の発現増加と細胞周期関連遺伝子 (cyclin E1) および増殖関連遺伝子 (PCNA) の発現の減少傾向が認められた。24 時間後には、細胞周期関連遺伝子 (cyclin D1, cyclin G1)、増殖関連遺伝子 (IGF-BP3)、免疫関連遺伝子 (Aif1, Iba-1, mrf-1, PF4, CXCL4, Mif)、細胞外基質 (procollagen, type 1)、血管関連蛋白遺伝子、HIF-1 の転写標的遺伝子、解糖系酵素遺伝子等、多くの遺伝子の発現が増加していた。また、神経発生関連遺伝子に関しては、発現の増加を示すものと減少を示すものが共に認められた。

T-2 toxin: T-2 toxin 投与妊娠ラットの胎児終脳 ventricular zone (VZ) では、投与 1 時間後から神経上皮細胞のアポトーシスが増加し始め、12 時間後にピークに達し、その後減少したが、24 時間後も対照群より有意に高い値を示した。

Microarray 解析では、投与 6 時間後に、

シグナル伝達関連遺伝子 (RAC protein kinase γ) と脂質代謝関連遺伝子 (liver stearyl-CoA desaturase) の減少が認められた。12 時間後には、酸化ストレス関連遺伝子 (HSP70, metallothionein-1 and 2, HO-1) の発現が顕著に増加し、MAPK シグナル伝達系 (MEKK1, IRS-1) ならびにアポトーシスおよび増殖関連遺伝子 (IGF-BP3, VEGF-A, c-Ha-ras) の発現上昇も認められた。一方、liver stearyl-CoA desaturase 遺伝子の発現は相変わらず減少していた。24 時間後には、アポトーシスおよび増殖関連遺伝子 (adrenomedullin precursor, VEGF-3, RJG-9 for jun)、シグナル伝達関連遺伝子 (MEKK1, caspase-2) および酸化ストレス関連遺伝子 (Cu, Zn-SOD) の発現増加が認められた。一方、代謝関連遺伝子 (mitochondrial NADH-dehydrogenase, liver stearyl-CoA desaturase, ApoE, fatty acid synthetase, GST Yrs-Yrs)、増殖関連遺伝子 (PDGF receptor, GAS-7 protein) およびシグナル伝達関連遺伝子 (INF- γ receptor, GABA transporter) の発現低下が観察された。なお、HSP70, HO-1, IGF-BP3 および VEGF-A 遺伝子について real-time RT-PCR を実施したところ、6, 12 および 24 時間後における発現増加が確認された。

(1) 妊娠動物における化学物質誘発病変の性状に関する予備検討

NMDA については、胎児・新生児脳におけるアポトーシスの発現と分布の推移を、NMDA 受容体の分布と推移との関連で明らかにした。HU に関しては、胎児組織における病変の性状と出生後の成長および形

態への影響について示した。Ara-C については、胎児中枢神経および胎盤毒性の性状とその発現機構の一部を明らかにした。

D. 考察

(1) CYP 誘導剤投与による母胎肝・胎盤・胎児肝毒性

PCN および PB 投与妊娠ラットの母体肝・胎盤・胎児肝における薬物代謝関連遺伝子の発現プロファイルを明らかにした。その結果、PCN および PB ともに、代謝誘導を受けた CYP isozymes ならび GST および UDPGT は母体肝で多く、次いで胎児肝であり、胎盤では遺伝子発現の増加はほとんど見られず、少なくとも PCN および PB は胎盤では顕著な修飾を受けずに胎児に移行するものと推測された。今後は CYP 誘導剤以外の化学物質についても検討を加え、特に胎盤に於ける薬物代謝の特性を明らかにしたい。

なお、上述した遺伝子発現プロファイルの結果と Western blot 解析および免疫組織化学的検索による蛋白発現とは、2, 3 異なっている点が見受けられるが、この点については今後の検討に待ちたい。また、今回は薬物代謝関連遺伝子に関してのみ解析を行ったが、今後は他の遺伝子の発現プロファイルに関しても解析を進める予定である。

(2) 胎児中枢神経毒性

5AzC 誘発胎児終脳神経上皮細胞の病変の推移と遺伝子発現プロファイルとの関連を検索した実験では、投与 6 時間後（異常分裂と G2/M 期での細胞周期停止）には、細胞分裂に関連する遺伝子あるいは

細胞分裂時に発現の現象が確認されている遺伝子の発現が減少しており、M 期での細胞周期停止と関連しているものと考えられた。また、この時点で観察されたアミノ酸関連遺伝子の発現増加の意義については今のところ不明である。投与 12 時間後（G1 期での細胞周期停止とアポトーシス）には、G2 あるいは M 期の離脱に関与する cyclin B や p 5 5 cdc の発現が増加しており、G2/M 期での細胞周期停止が終了し、G1 期へ移行しているものと考えられた。同時に、G1 期から S 期への移行に必要な cyclin E1 や主に S 期の DNA 複製に働く PCNA の発現が減少傾向にあり、一方、p21 の発現が増加しているところから、G1 期での細胞周期停止が示唆された。

投与 24 時間後には、増殖、血管関連蛋白および細胞外基質関連遺伝子の発現が増加しており、同時に、神経発生遺伝子については発現に増減がみられるところから、傷害後の組織発生のリモデリングが行われていることが推測された。また、低酸素や虚血時に発現が増加するとされている転写因子 HIF の標的遺伝子や解糖系酵素遺伝子の発現も上昇しており、傷害により乱れた環境に細胞が適応しようとしているものと考えられた。また、免疫関連遺伝子の発現が上昇していることも重要で、組織修復に係わるミクログリアの浸潤といった現象に相関しているものと推察される。この点に関しては、投与 36 時間後以降に活性型ミクログリアが浸潤し、炎症反応の促進に関与する M-CGF, TNF- α および IL-1 β の mRNA の発現が上昇していることを確認しており、