

された。一方, GEN, MXC, NP 投与例での発現プロファイルとの比較では, NP 以外に近似する発現プロファイルが得られなかった。このことは, 肝臓における ER サブタイプに対する親和性, 他のステロイド受容体との親和性, あるいは化学物質固有の細胞毒性など, 各化合物に特異的な反応性に留意すべきことを指し示しており, 今後は, 内分泌かく乱作用に関する発現プロファイリングに関しては, 受容体親和性も含めた化学物質固有の影響を弁別しながら, 検索対象臓器におけるプロファイルを細分類してゆく方向性が必要であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Masutomi, N., Shibutani, M., Takagi, H., Uneyama, C., Takahashi, N., Hirose, M.: Impact of dietary exposure to methoxychlor, genistein, or diisononyl phthalate during the perinatal period on the development of the rat endocrine/reproductive systems in later life. *Toxicology* 192: 149-170, 2003

Takagi, H., Shibutani, M., Masutomi, N., Uneyama, C., Takahashi, N., Mitsumori, K., Hirose, M.: Lack of maternal dietary exposure effects of bisphenol A and nonylphenol during the critical period for brain sexual differentiation on the reproductive/endocrine systems in later life. *Arch Toxicol.* 2004, in press.

Masutomi, N., Shibutani, M., Takagi, H., Uneyama, C., Lee, K.-Y., Hirose, M.: Alteration of pituitary hormone-immunoreactive cell populations in rat offspring after maternal dietary exposure to endocrine-active chemicals. *Arch Toxicol.* 2004, in press.

Masutomi, N., Shibutani, M., Takagi, H., Uneyama, C., Hirose, M. Dietary influence on the impact of ethinylestradiol-induced alterations in the endocrine/reproductive system with perinatal maternal exposure. *Reprod Toxicol.*, 18:23-33, 2004

Kato, N., Shibutani, M., Takagi, H., Uneyama, C., Lee, K.-Y., Takigami, S., Mashima, K., Hirose, M.: Gene expression profile in the livers of rats orally administered ethinylestradiol for 28 days using a microarray technique. *Toxicology.* in press.

2. 学会発表

特になし

G. 知的所有権の取得状況

特になし。

Table 1. Number of genes up- or down-regulated in the liver of rats treated orally with endocrine-acting chemicals for 28 days.

EE

Dose (ppm)	Fold increase vs. 0 ppm	No. of genes up-regulated		Fold decrease vs. 0 ppm	No. of genes down-regulated	
		Male	Female		Male	Female
0.01	2~5	38	95	0.2~0.5	87	27
	5~10	2	5	0.1~0.2	7	0
	> 10	0	0	< 0.1	11	0
0.1	2~5	84	446	0.2~0.5	32	190
	5~10	2	5	0.1~0.2	3	5
	> 10	0	0	< 0.1	0	3
1.0	2~5	93	566	0.2~0.5	39	192
	5~10	8	23	0.1~0.2	0	1
	> 10	0	1	< 0.1	0	3

Genistein

Dose (mg/kg)	Fold increase vs. 0 mg/kg	No. of genes up-regulated		Fold decrease vs. 0 mg/kg	No. of genes down-regulated	
		Male	Female		Male	Female
120	2~5	30	14	0.2~0.5	12	47
	5~10	0	1	0.1~0.2	0	4
	> 10	0	0	< 0.1	0	1
400	2~5	38	7	0.2~0.5	12	35
	5~10	0	0	0.1~0.2	0	0
	> 10	0	0	< 0.1	0	0
1000	2~5	39	20	0.2~0.5	35	139
	5~10	0	0	0.1~0.2	1	1
	> 10	0	0	< 0.1	0	0

Methoxychlor

Dose (mg/kg)	Fold increase vs. 0 mg/kg	No. of genes up-regulated		Fold decrease vs. 0 mg/kg	No. of genes down-regulated	
		Male	Female		Male	Female
20	2~5	29	490	0.2~0.5	222	57
	5~10	0	20	0.1~0.2	12	0
	> 10	1	1	< 0.1	6	3
100	2~5	140	224	0.2~0.5	632	145
	5~10	0	6	0.1~0.2	32	8
	> 10	0	1	< 0.1	13	3
500	2~5	72	456	0.2~0.5	566	691
	5~10	1	51	0.1~0.2	18	21
	> 10	0	10	< 0.1	8	4

Nonylphenol

Dose (mg/kg)	Fold increase vs. 0 mg/kg	No. of genes up-regulated		Fold decrease vs. 0 mg/kg	No. of genes down-regulated	
		Male	Female		Male	Female
10	2~5	98	224	0.2~0.5	34	160
	5~10	7	2	0.1~0.2	0	3
	> 10	0	0	< 0.1	0	1
50	2~5	413	381	0.2~0.5	436	96
	5~10	19	8	0.1~0.2	11	3
	> 10	5	0	< 0.1	0	3
250	2~5	460	341	0.2~0.5	485	167
	5~10	27	10	0.1~0.2	46	7
	> 10	5	1	< 0.1	17	23

Table 2. List of genes showing dose-dependent expression changes in the liver of rats after 28-day administration of EE.

Accession. no.	Gene name	Relative level at 0 ppm ^a	Average fold-changes in response to EE in the liver			
			0	0.01	0.1	1.0
Up-regulated						
Male						
M76733	Odorant-metabolizing protein (RY2D1)	0.4	1.0(238.1) ^b	2.6(202.4)	3.4(120.9)	9.1(54.3)
AF041083	Solute carrier family 11 member 1 (natural resistance-associated macrophage protein 1)	0.4	1.0(752.5)	5.1(95.4)	6.1(104.2)	8.4(41.5)
M74716	β -Adrenergic receptor	0.9	1.0(193.5)	2.1(187.7)	2.3(37.1)	5.3(38.1)
M80826	Intestinal trefoil factor	0.6	1.0(195.4)	0.55(103.6)	0.95(233.8)	6.29(45.5)
Female						
U00475	δ Opioid receptor (dor1)	51.4	1.0(45.3)	3.1(97.9)	5.1(27.1)	10.9(42.4)
X17455	B-myc transforming protein	22.8	1.0(19.2)	4.9(108.0)	6.0(38.8)	9.6(27.6)
X52498	Transforming growth factor- β 1	11.0	1.0(30.1)	1.2(100.8)	5.2(49.5)	8.1(56.4)
L22079	Secretory carrier membrane protein 37 (SCAMP 37)	35.7	1.0(53.4)	1.0(127.4)	1.3(77.9)	7.7(105.8)
X14776	Transition protein 2	42.4	1.0(30.6)	2.1(59.3)	4.7(23.5)	7.3(62.0)
M76533	Connexin31.1 (CXN-311)	18.1	1.0(3.7)	2.3(31.6)	5.6(37.6)	6.7(33.8)
AF113516	Ventral anterior homeobox 2 (Vax2)	51.3	1.0(58.7)	2.0(66.2)	5.9(61.2)	6.6(51.8)
AF041241	Hypocretin (orexin) neuropeptide precursor	89.4	1.0(9.8)	1.9(85.5)	4.0(28.0)	6.6(71.3)
Y13148	p53-activated gene, PAG608	350.6	1.0(21.0)	2.4(96.3)	4.0(30.7)	6.3(29.6)
X04240	Mitochondrial malate dehydrogenase	303.6	1.0(13.7)	1.4(26.9)	3.6(14.5)	6.2(40.6)
AF082834	4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase	30.5	1.0(17.1)	1.6(78.7)	2.4(44.9)	6.2(42.2)
X53232	Preoptic regulatory factor-2 (PORF-2)	75.5	1.0(46.9)	2.0(58.1)	4.4(24.5)	5.8(41.5)
AF031384	TWIK-related acid-sensitive K ⁺ channel (TASK)	77.1	1.0(55.1)	2.1(69.7)	2.6(11.6)	5.8(52.0)
U90448	CXC chemokine LIX	90.4	1.0(7.8)	1.3(74.4)	3.6(35.5)	5.7(66.2)
NM_013021	Peripherin 2	11.0	1.0(67.6)	2.1(51.1)	4.1(42.2)	5.5(41.4)
AF044908	Ras guanine nucleotide-releasing factor 1 (RasGRF1)	157.8	1.0(11.7)	1.5(46.2)	3.3(25.3)	5.4(57.8)
AF002281	α -Actinin-2 associated LIM protein	26.6	1.0(14.2)	1.6(13.0)	3.2(36.5)	5.4(96.1)
D82945	NeuroD	89.1	1.0(11.7)	1.9(65.6)	3.3(10.5)	5.3(49.1)
AF202887	Apolipoprotein A5 (ApoA5)	88.3	1.0(11.9)	2.0(92.0)	3.2(29.8)	5.3(45.1)
D89863	M-Ras	91.0	1.0(9.7)	1.3(65.3)	3.2(30.8)	5.3(77.9)
M86389	Heat shock protein 27 (Hsp27)	18.5	1.0(28.8)	1.7(46.1)	3.8(27.4)	5.2(70.9)
AF041854	Calcium/calmodulin kinase II inhibitory protein	22.9	1.0(28.9)	1.6(67.1)	3.3(24.6)	5.2(63.9)
M17526	GTP-binding protein, α_0	228.6	1.0(18.0)	1.2(66.9)	3.0(32.1)	5.2(55.8)
AF095576	Adaptor protein with pleckstrin homology and src homology 2 domains	9.8	1.0(41.3)	1.9(68.5)	2.8(34.9)	5.1(49.8)
Down regulated						
Male						
M21622	High-affinity IgE receptor (Fc-epsilon-R-I)	8.1	1.0(145.4)	0.39(157.7)	0.19(76.8)	0.23(54.7)
Female						
AB032551	Proline-rich inositol polyphosphate 5-phosphatase (PIPP)	5.2	1.0(96.9)	0.5(128.2)	0.5(141.8)	0.2(356.8)
M80545	Calcium channel, voltage-dependent, β 2 subunit	2.5	1.0(41.1)	0.73(254.3)	1.48(92.9)	n.d.
D88034	Peptidyl arginine deiminase, type III	7.6	1.0(20.3)	1.25(24.6)	0.39(106.4)	n.d.
D86215	NADH: ubiquinone oxidoreductase, subunit B13	15.3	1.0(27.6)	0.95(13.0)	0.35(74.2)	n.d.

^a Relative expression at 0 ppm was calculated by dividing the mean intensity from mean total intensity ($\times 10^5$).

^b Values in parenthesis represent coefficient of variance.

Abbreviation: n.d., non detected.

Table 3. List of genes showing dose-dependent expression changes in the liver of rats after 28-day administration of GEN.

Accession no.	Gene name	Relative expression level ^a	Average fold-changes in response to Gen in the liver			
			0	120	400	1000
Down-regulated						
Male						
X17455	B-myc transforming protein	115.3	1.0 (37.4) ^b	0.4 (6.8)	0.4 (32.8)	0.2 (35.0)
Female						
U72620	Lost on transformation 1	192.7	1.0 (31.9)	0.8 (19.1)	0.5 (65.2)	0.1 (116.0)

^a Relative expression at 0 mg/kg b.w. was calculated by dividing the mean intensity from mean total intensity ($\times 10^5$)

^b Values in parenthesis represent coefficient of variance.

Table 4. List of genes showing dose-dependent expression changes in the liver of rats after 28-day administration of MXC.

Accession no.	Gene name	Relative expression level ^a	Average fold-changes in response to MXC in the liver			
			0	20	100	500
Up-regulated						
Male						
J00696	Orosomucoid f	9.6	1.0 (23.6) ^b	1.7 (69.8)	2.8 (50.0)	6.5 (33.3)
Female						
J05231	Acetylcholine receptor alpha 5	0.4	1.0 (58.1)	2.4 (112.7)	4.0 (13.2)	8.7 (31.8)
X16476	Potassium voltage gated channel, Shab-related subfamily, member 1	0.8	1.0 (31.9)	3.8 (45.9)	5.6 (59.0)	8.6 (31.3)
L31619	C holinergic receptor, nicotinic, alpha polypeptide 7 (neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 7) (bungarotoxin alpha)	0.8	1.0 (29.8)	2.5 (38.2)	2.8 (37.0)	5.1 (18.3)
U15098	Solute carrier family 1, member 2	0.9	1.0 (24.2)	4.1 (45.1)	4.2 (17.5)	6.4 (30.2)
L22788	Fatty acid binding protein 6 (bile acid-binding protein)	1.1	1.0 (34.5)	3.6 (13.4)	3.7 (29.3)	5.6 (41.3)
U38938	RATF2	1.3	1.0 (40.8)	2.5 (41.7)	2.7 (31.1)	5.1 (34.1)
D14013	G1/S-specific cyclin C (CCNC)	1.4	1.0 (13.3)	2.6 (44.5)	3.0 (48.5)	6.0 (30.7)
X83580	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 4	1.6	1.0 (36.7)	3.7 (42.0)	3.8 (10.7)	5.3 (15.3)
U38376	Phospholipase A2 group 4 (PLA2G4); cytosolic phospholipase A2 (CPLA2); phosphatidylcholine 2-acylhyd	1.6	1.0 (66.4)	2.6 (40.2)	2.8 (37.2)	5.5 (24.2)
L31612	Glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2D	1.8	1.0 (51.4)	2.3 (41.5)	2.5 (27.6)	5.2 (19.4)
D38492	Contactin 1	0.1	1.0 (317.7)	30.3 (41.3)	31.3 (50.8)	63.6 (57.3)
L24389	Galactosyltransferase associated kinase (GTA)	0.5	1.0 (64.0)	7.9 (57.8)	8.1 (23.7)	14.2 (42.6)
Down-regulated						
Male						
M31155	Protactin-like protein B	4.6	1.0 (88.4)	0.7 (89.3)	0.4 (62.4)	0.2 (315.1)
M31173	Epididymal glycoprotein	4.7	1.0 (81.5)	0.8 (85.5)	0.6 (57.9)	0.2 (265.3)
M29472	Mevalonate Kinase	5.4	1.0 (81.8)	0.5 (61.6)	0.2 (43.8)	0.1 (14.9)
M76767	Fatty acid synthase	5.5	1.0 (91.8)	0.5 (78.5)	0.3 (35.2)	0.2 (27.3)
D37920	Squalene epoxidase	5.7	1.0 (75.2)	0.6 (51.2)	0.4 (58.3)	0.2 (46.5)
M22756	24-kDa subunit of mitochondrial NADH dehydrogenase	5.8	1.0 (59.1)	0.4 (50.7)	0.3 (101.0)	0.2 (81.9)
M63122	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1a	6.7	1.0 (59.0)	0.3 (119.2)	0.2 (166.3)	0.2 (176.4)
M31725	Transient axonal glycoprotein 1 (TAG-1)	7.0	1.0 (78.3)	0.7 (63.9)	0.4 (39.3)	0.1 (97.2)
M91808	Sodium channel, voltage-gated, type I, beta polypeptide	7.8	1.0 (67.4)	0.6 (65.9)	0.4 (10.5)	0.1 (192.7)
X55288	CD28 antigen	8.1	1.0 (87.8)	0.4 (88.5)	0.2 (72.3)	0.2 (256.9)
D63834	Solute carrier 16 (monocarboxylic acid transporter), member 1	8.3	1.0 (39.5)	0.8 (28.5)	0.3 (14.5)	0.2 (55.9)
M88592	Peroxisome proliferator activated receptor alpha	9.3	1.0 (79.2)	0.4 (65.4)	0.2 (29.6)	0.1 (117.4)
D13376	Adenylate kinase 1	9.4	1.0 (36.4)	0.5 (55.8)	0.4 (32.5)	0.2 (40.3)
M22631	Propionyl Coenzyme A carboxylase, alpha polypeptide	12.2	1.0 (97.2)	0.3 (12.8)	0.3 (57.9)	0.1 (73.4)
L22654	Anti-acetylcholine receptor antibody gene, gamma-2a chain	15.0	1.0 (101.1)	0.3 (63.5)	0.2 (29.5)	0.2 (101.3)
M20559	Annexin A3	4.5	1.0 (87.8)	1.0 (80.3)	0.2 (71.1)	0.0 (5267.7)
M24393	Myogenin	5.5	1.0 (39.6)	0.6 (88.6)	0.2 (58.8)	0.0 (312.9)
M83196	Microtubule-associated protein 1a	6.9	1.0 (88.9)	0.6 (51.1)	0.3 (100.2)	0.1 (169.5)
L31621	Acetylcholine receptor alpha 3 (neuronal nicotine)	6.4	1.0 (56.1)	0.3 (79.9)	0.2 (48.3)	0.1 (276.8)
M29591	Histidine decarboxylase	7.1	1.0 (80.8)	0.4 (52.8)	0.2 (36.9)	0.1 (109.9)
Female						
AF036335	NonO/p54nrb homolog	5.0	1.0 (22.1)	0.9 (14.8)	0.8 (92.9)	0.2 (79.3)
U17253	Transcriptional repressor NAB1	7.9	1.0 (47.1)	0.7 (24.0)	0.7 (80.1)	0.1 (73.5)
X78605	Ras-related GTP-binding protein 4b	10.4	1.0 (27.1)	0.6 (45.1)	0.5 (7.4)	0.1 (101.1)
AF015949	Heat-responsive protein 12	30.0	1.0 (11.1)	0.7 (15.6)	0.2 (56.6)	0.1 (26.6)
D13127	Oligomycin sensitivity conferring protein	55.3	1.0 (13.9)	1.0 (72.4)	0.4 (78.6)	0.1 (79.3)
U43534	Adenosine deaminase, RNA-specific, B1	63.9	1.0 (9.6)	1.0 (36.8)	0.9 (17.0)	0.1 (17.5)
AF093139	Tip associating protein	90.8	1.0 (50.5)	0.5 (22.8)	0.3 (23.0)	0.2 (62.2)
X81395	Carboxylesterase 1	138.4	1.0 (6.5)	0.6 (26.1)	0.2 (76.6)	0.1 (37.5)
J00750	Metallothionein	181.8	1.0 (31.6)	0.6 (24.3)	0.2 (29.1)	0.2 (39.6)
AF188699	Sulfoltransferase-related protein	187.5	1.0 (36.9)	0.5 (85.3)	0.2 (107.0)	0.1 (101.2)
AF030243	Cytokine receptor-like protein CYRL	1910.6	1.0 (23.5)	0.8 (29.2)	0.3 (19.1)	0.2 (80.0)
V01222	Albumin	2392.7	1.0 (24.3)	0.7 (9.3)	0.2 (23.1)	0.1 (51.2)
AF087696	Membrane protein, palmitoylated 2 (MAGUK p55 subfamily member 2)	240.2	1.0 (27.7)	0.2 (35.3)	0.2 (50.1)	0.1 (56.2)

^a Relative expression at 0 mg/kg b.w. was calculated by dividing the mean intensity from mean total intensity ($X \pm \sigma$)

^b Values in parenthesis represent coefficient of variance.

Table 5. List of genes showing dose-dependent expression changes in the liver of rats after 28-day administration of NP.

Accession no.	Gene name	Relative expression level ^a	Average fold-changes in response to NP in the liver			
			0	10	50	250
Up-regulated						
Male						
AB031482	Ras-like protein	0.7	1.0 (93.5) ^b	2.8 (59.8)	4.1 (29.9)	6.0 (29.5)
X53724	Achaete-scute homolog 2	0.7	1.0 (134.2)	2.9 (144.7)	3.9 (97.4)	6.3 (54.3)
AJ001044	Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 5	0.9	1.0 (79.2)	2.3 (100.6)	3.3 (67.6)	5.2 (75.9)
AJ000347	3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase	1.0	1.0 (108.5)	2.5 (99.1)	4.5 (62.5)	5.3 (43.9)
AF034577	Pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 4	1.1	1.0 (30.9)	2.1 (59.4)	3.1 (38.8)	5.1 (28.1)
AB003505	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily d, member 2	1.6	1.0 (90.8)	2.2 (118.9)	4.1 (59.9)	5.8 (53.0)
J03179	D site albumin promoter binding protein	1.6	1.0 (46.6)	1.3 (72.3)	6.4 (55.3)	6.4 (44.3)
K02816	RNA polymerase II transcriptional coactivator	1.7	1.0 (24.6)	1.5 (52.7)	3.9 (28.8)	8.6 (53.3)
M83679	Ras-related protein RAB15	1.7	1.0 (24.7)	1.1 (41.8)	1.8 (47.1)	5.2 (82.7)
L03556	Homeo box A5	1.8	1.0 (77.1)	1.4 (60.3)	3.3 (39.0)	7.5 (52.1)
J00710	Casein alpha	2.2	1.0 (62.9)	1.4 (22.8)	4.9 (67.2)	5.5 (68.0)
L08595	Nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2	3.4	1.0 (56.3)	1.5 (22.8)	5.8 (44.7)	8.6 (23.3)
L06441	Decidual prolactin-related protein	3.9	1.0 (52.5)	1.5 (30.8)	4.5 (45.5)	7.4 (17.1)
U56853	Cytochrome P450, subfamily XXI (steroid 21-hydroxylase)	5.1	1.0 (37.9)	1.4 (82.7)	2.8 (48.9)	5.4 (18.7)
L13619	Growth response protein (CL-6)	9.0	1.0 (36.6)	1.1 (2.6)	2.2 (53.0)	5.5 (26.0)
D10393	Calciuretin B-like protein	0.5	1.0 (230.0)	3.6 (175.2)	7.5 (64.9)	14.3 (23.8)
K02932	Ribosomal protein L30	2.6	1.0 (41.5)	1.5 (43.4)	18.3 (50.5)	20.9 (41.1)
L08812	Transcription factor EC	2.9	1.0 (63.1)	1.3 (54.7)	10.8 (43.5)	19.7 (27.6)
L11002	Ankyrin binding glycoprotein-1 related	3.4	1.0 (38.3)	1.1 (30.0)	6.2 (50.2)	17.3 (14.3)
Female						
K01930	Ferritin light chain 1	12.3	1.0 (36.1)	1.8 (29.8)	3.6 (22.7)	6.6 (80.9)
D85100	Solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 2	14.8	1.0 (34.2)	1.9 (7.6)	6.1 (86.5)	6.1 (77.3)
M84000	Alpha-1-macroglobulin	28.9	1.0 (56.8)	4.0 (52.2)	7.1 (17.6)	7.6 (60.1)
M83231	Pre-alpha-inhibitor, heavy chain 3	37.8	1.0 (45.4)	3.8 (39.1)	4.0 (11.5)	6.1 (56.2)
M62642	Hemopexin	41.8	1.0 (9.1)	2.5 (15.2)	2.5 (28.9)	6.5 (71.9)
J00750	Metallothionein	41.4	1.0 (73.6)	2.1 (63.0)	3.0 (46.9)	6.1 (62.2)
AJ242926	Fetuin beta	61.5	1.0 (18.8)	1.5 (16.1)	3.0 (24.9)	6.7 (102.8)
J00696	Orosomucoid 1	15.8	1.0 (28.0)	1.2 (14.2)	1.9 (54.2)	11.1 (71.9)
Down-regulated						
Male						
J05231	Acetylcholine receptor alpha 5	3.4	1.0 (54.5)	0.8 (126.0)	0.8 (95.5)	0.2 (564.0)
D42145	Inwardly rectifying potassium channel gene, subfamily J-B (ATP sensitive)	4.7	1.0 (54.3)	0.8 (102.7)	0.8 (18.1)	0.2 (412.9)
U14414	Purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 2	4.6	1.0 (37.6)	0.9 (96.3)	0.7 (87.8)	0.1 (604.4)
M22631	Propionyl Coenzyme A carboxylase, alpha polypeptide	4.6	1.0 (27.7)	1.0 (57.1)	0.9 (33.0)	0.1 (569.8)
K03242	Myelin protein zero (Charcot-Marie-Tooth neuropathy 1B)	4.7	1.0 (47.3)	0.6 (128.2)	0.4 (126.5)	0.1 (833.4)
L48619	Potassium voltage gated channel, Shal-related family, member 2	5.0	1.0 (19.7)	0.7 (89.6)	0.7 (19.8)	0.2 (282.9)
U11031	Plasmacytoma-associated neuronal glycoprotein (neural cell adhesion molecule BIG-1)	5.8	1.0 (45.0)	0.7 (63.1)	0.4 (125.4)	0.1 (467.7)
U53211	Amiloride-sensitive cation channel 1, neuronal (degenerin)	5.9	1.0 (44.7)	0.6 (79.7)	0.6 (92.1)	0.2 (452.7)
L10077	Neuronal acetylcholine receptor protein alpha 2 subunit (NACHRA2); cholinergic receptor nicotinic alpha	6.0	1.0 (34.9)	0.9 (67.7)	0.5 (88.4)	0.1 (397.9)
L19927	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, gamma polypeptide 1	6.0	1.0 (35.4)	0.9 (55.5)	0.3 (140.2)	0.1 (544.7)
X76489	CD9 antigen (p24)	6.2	1.0 (39.0)	0.7 (87.5)	0.4 (165.7)	0.2 (289.9)
U00995	Tumor-associated protein 1	6.5	1.0 (36.1)	0.6 (61.6)	0.3 (152.4)	0.2 (281.7)
AB004276	Protocadherin 4	6.8	1.0 (27.5)	0.7 (86.4)	0.5 (121.8)	0.1 (432.3)
M84488	Vascular cell adhesion molecule 1	7.0	1.0 (36.6)	0.6 (88.2)	0.3 (150.8)	0.2 (172.8)
U09357	Protein tyrosine phosphatase, receptor-type, zeta polypeptide	7.6	1.0 (20.6)	0.7 (49.8)	0.5 (107.1)	0.2 (117.5)
L19931	Solute carrier family 20, member 2	8.2	1.0 (20.6)	0.6 (88.3)	0.4 (107.1)	0.1 (291.1)
M10072	Leukocyte common antigen (LCA); CD45 antigen; T200; PTPRC	11.9	1.0 (16.0)	0.6 (51.9)	0.4 (85.0)	0.2 (120.5)
D70816	Complexin 2	23.7	1.0 (29.1)	0.5 (21.3)	0.5 (81.6)	0.2 (148.6)
D85435	Protein kinase C delta-binding protein	40.6	1.0 (30.8)	0.6 (35.6)	0.4 (43.8)	0.1 (142.4)
AB023134	Activation-inducible lymphocyte immunomediatory molecule	46.7	1.0 (52.9)	0.7 (81.8)	0.3 (43.6)	0.2 (22.1)
D86580	Nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2	81.2	1.0 (5.4)	0.6 (44.0)	0.4 (58.2)	0.1 (149.3)
M63510	Uromodulin (Tamm-Horsfall protein)	90.1	1.0 (35.9)	0.8 (6.4)	0.4 (29.2)	0.2 (44.4)
AB012759	Prolyl endopeptidase	91.0	1.0 (32.1)	0.5 (55.7)	0.1 (33.3)	0.1 (15.8)
L06482	Retinoid X receptor alpha	94.3	1.0 (24.4)	0.8 (67.8)	0.2 (19.4)	0.1 (43.1)
AB016532	Period homolog 2 (Drosophila)	105.0	1.0 (27.7)	0.7 (80.5)	0.1 (30.9)	0.1 (35.5)
M88469	F-spondin	134.7	1.0 (30.4)	0.8 (34.1)	0.3 (39.3)	0.2 (2.5)
D12820	G protein-coupled receptor 27, gustatory receptor 27 (GUST27)	136.5	1.0 (27.0)	0.8 (55.0)	0.2 (4.8)	0.2 (17.6)
D70817	Complexin 1	155.8	1.0 (45.1)	0.9 (77.6)	0.5 (62.5)	0.2 (22.3)
AF109674	Late gestation lung protein 1 (Lgt1)	168.1	1.0 (50.2)	0.5 (45.2)	0.2 (38.1)	0.2 (66.1)
Y08616	A disintegrin and metalloproteinase domain 1 (fertilin alpha)	181.9	1.0 (80.9)	1.0 (63.7)	0.2 (47.9)	0.1 (37.1)
AF022729	HNK-1 sulfotransferase	304.3	1.0 (41.1)	0.7 (73.4)	0.2 (8.5)	0.1 (19.1)
L19694	Granzyme K	4.1	1.0 (60.8)	0.5 (142.4)	0.4 (123.3)	0.1 (1106.6)
X55519	Cyclic nucleotide gated channel 4	4.5	1.0 (44.0)	0.6 (115.4)	0.6 (80.6)	0.0 (12904.7)
L31619	Cholinergic receptor, nicotinic, alpha polypeptide 7 (neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 7) (bungarotoxin alpha)	4.6	1.0 (41.5)	1.0 (102.2)	0.9 (55.9)	0.0 (6645.7)
U12425	Olfactory cyclic nucleotide-gated channel	4.9	1.0 (57.6)	1.0 (77.6)	0.8 (31.7)	0.1 (957.1)
M21730	Annexin V	5.2	1.0 (47.6)	0.6 (108.3)	0.6 (100.7)	0.0 (6279.4)
U17133	Solute carrier family 30 (zinc transporter), member 1	5.8	1.0 (23.7)	0.7 (79.7)	0.6 (33.8)	0.0 (2658.9)
X74834	Cholinergic receptor, nicotinic, gamma polypeptide	6.5	1.0 (36.4)	0.6 (94.7)	0.5 (89.8)	0.1 (715.3)
AF072411	CD36 antigen (collagen type I receptor, thrombospondin receptor)	6.6	1.0 (38.2)	0.6 (90.4)	0.4 (82.6)	0.1 (542.8)
U17978	Solute carrier family 2 A3 (neuron glucose transporter)	13.6	1.0 (50.2)	0.9 (73.7)	0.7 (55.1)	0.1 (251.1)
Female						
U03763	Phospholipase A2, group V	6.4	1.0 (64.8)	0.7 (54.3)	0.7 (71.0)	0.1 (333.8)
M20623	Cytochrome C, testis specific	16.7	1.0 (142.8)	0.8 (31.3)	0.2 (58.6)	0.2 (100.3)
J04563	Phosphodiesterase 4B, cAMP-specific (dunce (Drosophila)-homolog phosphodiesterase E4)	18.7	1.0 (61.8)	0.6 (59.2)	0.4 (24.2)	0.2 (31.7)

^a Relative expression at 0 mg/kg b.w. was calculated by dividing the mean intensity from mean total intensity (X10⁶)

^b Values in parenthesis represent coefficient of variance.

Table 6. Expression changes of genes selected from EE study in females of GEN, MXC, and NP studies.

Accession no	Gene name	EE 1.0 (ppm)	Average fold-changes in response to each chemical in the liver											
			Gen				MXC				NP			
			0	120	400	1000	0	20	100	500	0	10	50	250
Up-regulated														
Female														
U00475	δ -Opioid receptor (dor1)	10.9	1.0	1.7	0.9	0.5	1.0	1.6	0.6	0.8	1.0	2.2	4.0	2.7
X17455	B-myc transforming protein	9.6	1.0	2.0	0.6	0.3	1.0	1.3	0.7	0.4	1.0	0.8	1.8	1.8
X52498	Transforming growth factor- β 1	8.1	1.0	2.5	0.6	0.6	1.0	1.7	0.8	1.7	1.0	0.5	0.6	0.6
L22079	Secretory carrier membrane protein 37 (SCAMP 37)	7.7	1.0	1.4	1.2	0.4	1.0	1.8	0.6	0.5	1.0	1.5	1.3	1.7
X14776	Transition protein 2	7.3	1.0	1.3	1.4	0.8	1.0	2.0	1.1	0.9	1.0	0.5	3.1	3.2
M76533	Connexin31.1 (CXN-311)	6.7	1.0	1.6	1.1	0.9	1.0	1.4	0.9	1.0	1.0	0.9	1.8	2.2
AF113516	Ventral anterior homeobox 2 (Vax2)	6.6	1.0	0.8	0.9	0.6	1.0	1.3	0.5	0.5	1.0	2.8	3.9	4.1
AF041241	Hypocretin (orexin) neuropeptide precursor	6.6	1.0	1.5	1.0	0.8	1.0	0.7	0.6	0.5	1.0	1.1	1.9	1.7
Y13148	p53-activated gene, PAG608	6.3	1.0	2.5	0.6	0.4	1.0	0.7	0.5	0.5	1.0	1.0	1.3	0.9
X04240	Mitochondrial malate dehydrogenase	6.2	1.0	1.2	0.8	0.6	1.0	0.8	0.5	0.5	1.0	1.8	2.6	2.2
AF082834	4-Hydroxyphenylpyruvic acid dioxygenase	6.2	1.0	0.9	1.1	0.4	1.0	0.8	0.4	0.4	1.0	1.3	1.7	2.0
X53232	Preoptic regulatory factor-2 (PORF-2)	5.8	1.0	1.2	0.8	0.5	1.0	1.5	0.6	0.3	1.0	0.8	3.4	3.4
AF031384	Twik-related acid-sensitive K ⁺ channel (TASK)	5.8	1.0	1.5	1.0	0.7	1.0	0.8	0.5	0.3	1.0	1.3	3.5	2.6
U90448	CXC chemokine LIX	5.7	1.0	1.2	0.9	0.7	1.0	0.9	0.6	0.6	1.0	1.0	1.6	1.9
NM_013021	Peripherin-2	5.5	1.0	1.0	1.1	0.5	1.0	2.4	1.2	0.8	1.0	0.6	1.6	1.4
AF044908	Ras guanine nucleotide-releasing factor 1 (RasGRF1)	5.4	1.0	0.9	0.6	0.6	1.0	1.5	1.1	1.3	1.0	1.1	2.0	1.7
AF002281	α -Actinin-2 associated LIM protein	5.4	1.0	1.6	1.7	1.1	1.0	0.9	0.8	0.7	1.0	0.8	1.1	1.2
D82945	NeuroD	5.3	1.0	1.4	1.1	0.6	1.0	1.7	1.0	0.8	1.0	1.3	1.9	3.4
AF202887	Apolipoprotein A5 (ApoA5)	5.3	1.0	1.5	1.2	0.7	1.0	0.9	0.5	0.6	1.0	1.3	2.3	2.5
D89863	M-Ras	5.3	1.0	1.9	0.8	1.0	1.0	0.9	0.8	0.6	1.0	0.7	1.4	2.2
M86389	Heat shock protein 27 (Hsp27)	5.2	1.0	1.3	1.1	0.9	1.0	1.8	0.9	1.1	1.0	1.3	1.8	2.1
AF041854	Calcium/calmodulin kinase II inhibitory protein	5.2	1.0	0.9	0.8	0.4	1.0	2.3	1.1	0.6	1.0	2.6	2.9	2.1
M17526	GTP-binding protein, α	5.2	1.0	1.8	0.9	0.7	1.0	0.9	0.6	0.5	1.0	0.9	2.2	2.2
AF95576	Adaptor protein with pieckstrin homology and src homology 2 domains	5.1	1.0	1.1	0.7	0.8	1.0	0.8	0.8	0.7	1.0	0.9	1.2	2.1

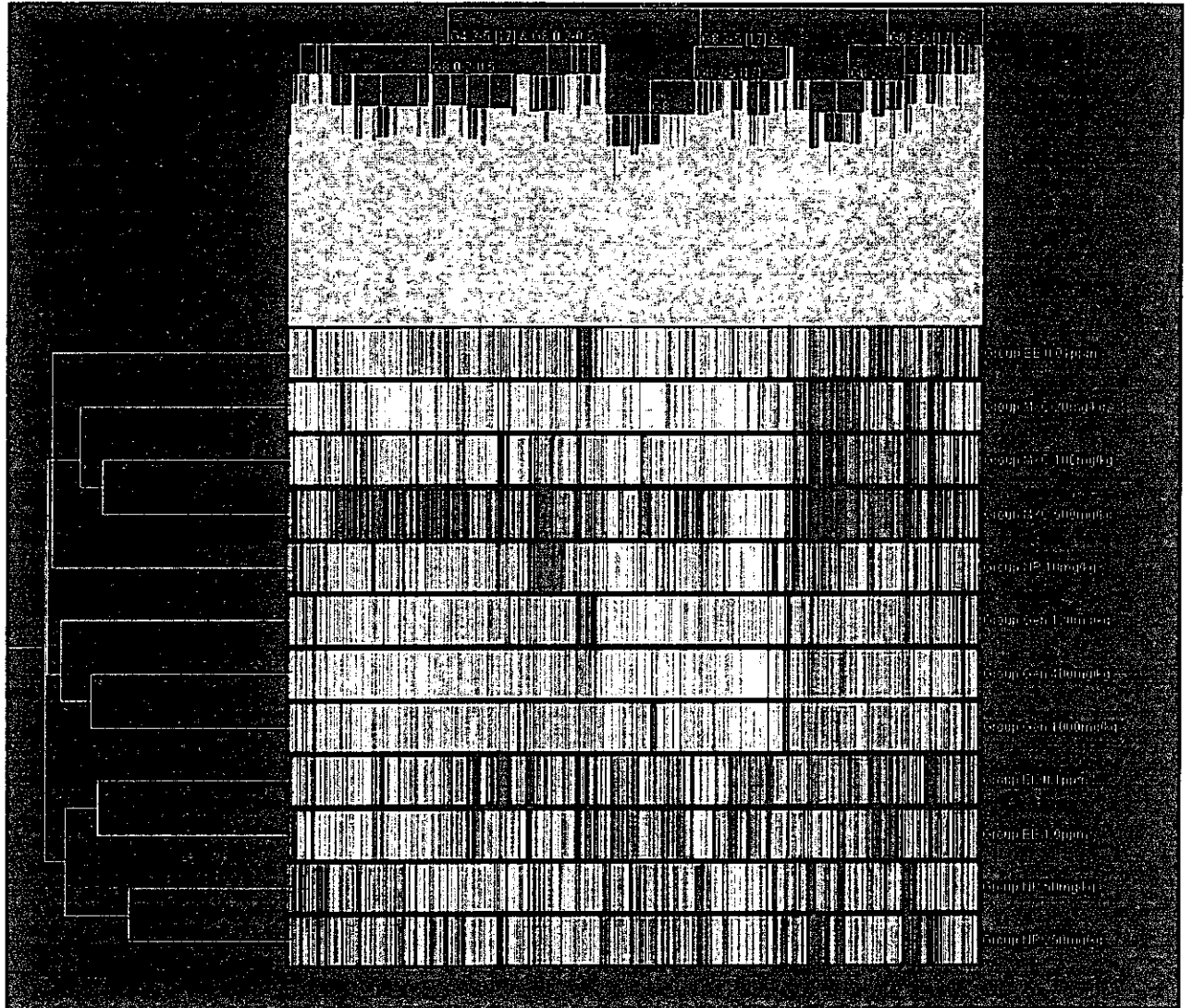


Fig. 1. Cluster analysis of whole genes between EE, GEN, MXC, and NP studies (females).

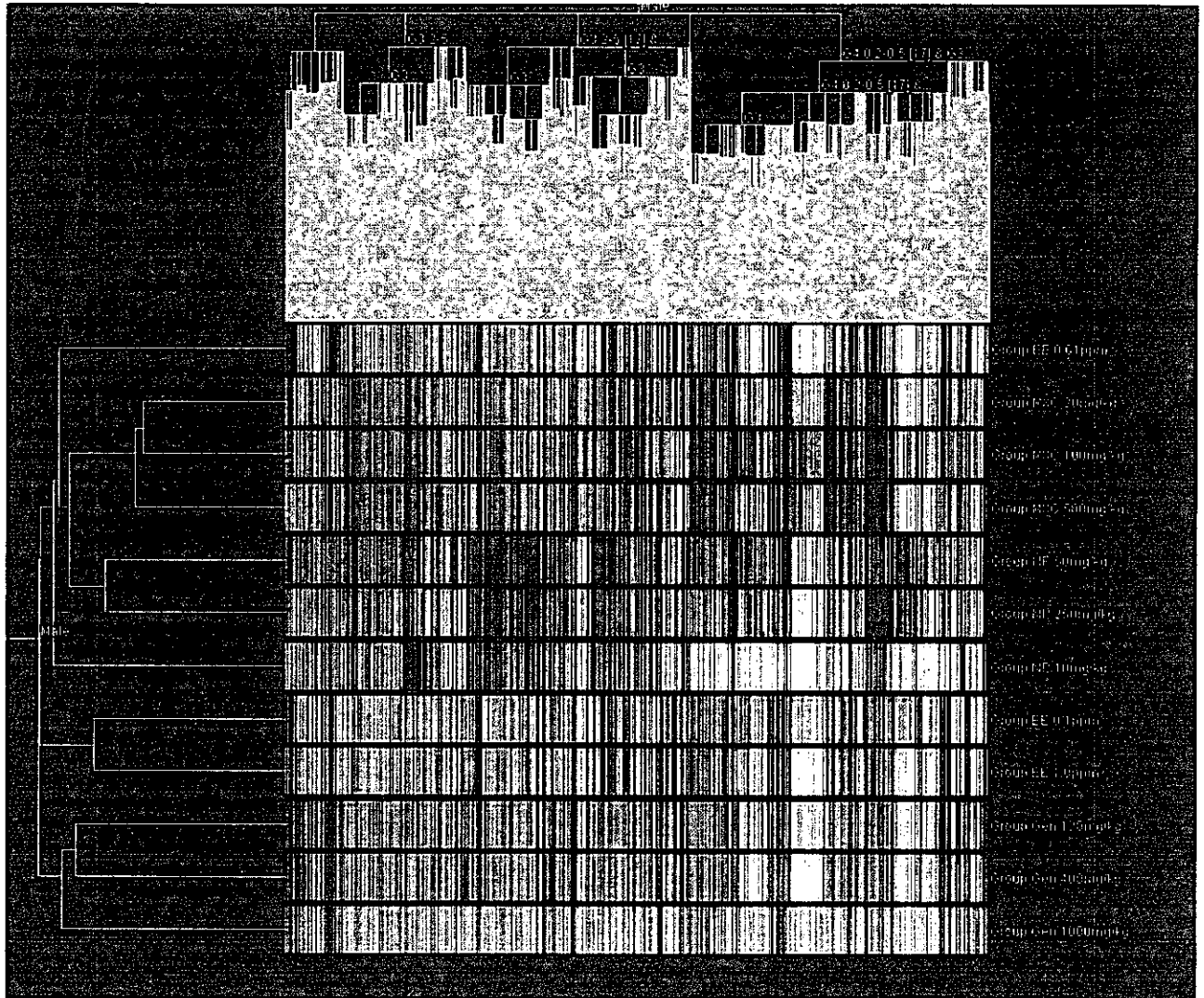


Fig. 2. Cluster analysis of whole genes between EE, GEN, MXC, and NP studies (males).

15. 内分泌かく乱化学物質検出試験の技術移転普及に関する研究

分担研究者 菅野 純

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター毒性部長

研究要旨：ラット内側視索前野に存在する神経核には雌雄差があることが知られており、化学物質の内分泌かく乱作用を調べる際に、指標となり得ると考えられている。そこで、この性的二型核の測定法について、また、併せて幼若期ラットへの内分泌かく乱物質影響評価のための経口投与法についてのビデオ撮影を実施した。

A. 目的

内分泌かく乱化学物質の検索に用いる検査方法をビデオ撮影し、その映像を国内のみならず海外にも配信することにより、検査法の普及に努めるとともに、これまで各施設で独自に実施してきた測定法の統一化を図る。ラット内側視索前野に存在する神経核には雌雄差があることが知られており、化学物質の内分泌かく乱作用を調べる際に、指標となり得ると考えられている。そこで、本年度は、この性的二型核の測定法について、また、併せて幼若期ラットへの内分泌かく乱物質影響評価のための経口投与法についてのビデオ撮影を実施する。

B. 方法

ラットを実際に飼育し、以下に示す検査項目についてビデオ撮りを実施する。

検査項目：ラット新生児への経口投与法、脳の還流固定法、凍結切片作製法、染色法、神経核の解析法。

C. D. 結果および考察

現在、シナリオを作製し、一連のビデオ撮影の準備を行っている。（3月10日に撮影予定）

F. 健康危惧情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

書籍

○Kanno J, Reverse toxicology as a future predictive toxicology, T. Inoue, W.D. Pennie Eds, Toxicogenomics, pp. 213-218, Springer-Verlag Tokyo, 2002

雑誌

○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.

Yoon BL, 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.

○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, Issue 2, : 213-222

○Yoon BI, Hirabayashi Y, Kawasaki Y, Kodama Y, Kaneko T, Kanno J, Kim DY, Fujii-Kuriyama Y, Inoue T. Aryl hydrocarbon receptor mediates benzene-induced hematotoxicity. Toxicol Sci. 2002 Nov;70(1):150-6.

Utsuyama M, Kanno J, Inoue T, Hirokawa K. Age/sex dependent and non-monotonous dose-response effect of diethylstilbestrol on the immune

functions in mice. Toxicol Lett. 2002 Sep 5;135(1-2):145-53.

2. 学会発表

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」、平成 15 年 7 月 20 日、相模原

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、平成 15 年 12 月 3 日、東京

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

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、平成 15 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

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

16. OECD/WHO 関連総括

分担研究者 井上 達

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター長

研究要旨 分担研究は、国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センターのセンター長として、所轄の業務関連物質の毒性試験、薬理学試験、病理学的試験、変異原性・遺伝毒性に関する試験、それらの試験結果の総合評価と、評価手法の開発に関する総括業務に携わっている。

国内外の当該会議および学会における内容は、職務に密接に関連し、その成果の職務への反映が期待されるものである。更に、当班を始めとする研究プロジェクトを円滑に進めるために、重要な意義を持つ。

今年度も国内外の会議および学会へ出席し、それらの専門家との意見交換および情報収集を行い、得られた成果の研究発表、雑誌を通して最新の情報を紹介している。

A. 研究目的

分担研究は、国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センターのセンター長として、所轄の業務関連物質の毒性試験、薬理学試験、病理学的試験、変異原性・遺伝毒性に関する試験、それらの試験結果の総合評価と、評価手法の開発に関する総括業務に携わっている。

国内外の当該会議および学会における内容は、職務に密接に関連し、その成果の職務への反映が期待されるものである。更に、当班を始めとする研究プロジェクトを円滑に進めるために重要な意義を持ち、(1) 集

会における発表と集会参加者と討論することにより、当研究所における当該課題の今後の推進、(2) 集会参加者間の当該研究課題を中心とした科学的認識の研究交流、(3) それらの情報の関係指導所轄省庁への報告と、これによる科学的情報の行政への反響などの諸面で、成果が期待され多大な貢献を果たすものである。

B. 研究方法

国内外の会議および学会へ出席し、それらの専門家との意見交換および情報収集を行い、得られた成果の研究発表、雑誌を通して、最新の情報

を紹介している。

(主な出張先)

①経済開発協力機構(OECD)主催の「第4回ほ乳類を用いた試験法部会」に出席した。

平成15年4月13日～17日の5日間、フランス・パリ。

②ゴードンリサーチコンファランス(GRC)主催の討論会(トキシコゲノミックスに関する研究)に出席した。

平成15年6月21日～28日の8日間、米国・メイン州・リューストン市。

③化学物質安全アセスメント；毒物性病理および特に発ガン性に関する研究討論会に出席した。

平成15年9月20日～24日の5日間、米国・ニューヨーク。

④世界保健機関・国際化学物質安全性計画事務局(WHO/IPCS)主催の国際化学物質安全性プログラム研究検討会に出席した。平成15年11月14日～20日の7日間、ドイツ・ベルリン。

⑤代替法欧州評価センター(European Center for the Validation of Alternative Methods(ECVAM))主催のワークショップ「毒性の評価法の原則とトキシコゲノミックスを用いた試験法の試み」へ出席した。

平成15年12月10日～14日の5日間、イタリア・イスプラ市。

⑥世界保健機関・国際化学物質安全

性計画事務局(WHO/IPCS)主催の国際化学物質安全性プログラム研究検討会フォローアップ会議(トキシコゲノミックス)に出席した。

平成16年2月7日～2月11日の4日間、スイス・ジュネーブ。

⑦米国トキシコロジー学会(SOT)の主催する2004年総会及び、国立環境健康科学研究所(NIEHS)トキシコゲノミックス編集委員会に出席した。引き続きトキシコゲノミックス、ファーマコゲノミックス、バイオマーカーの研究討議および情報収集のためファイザーNew Londonを訪問した。

平成16年3月21日～28日の8日間、メリーランド州、バルモチア市、コネチカット州 ニューロンドン市、米国。

C、D 研究結果および考察

これまでの会議および学会からの知見として、特に、2003年12月7～9日に東京で開催されたWHO/IPCSグローバルアセスメント・東京フォローアップ会議の内容を中心として、以下にまとめる。

近年、人々の内分泌かく乱化学物質(EDCs)に対する理解が日本でも大きく進んだ。ことに野生生物に関しては、環境中のホルモン類似作用をもつ化学物質の曝露によって、明確な傷害を受けている事実を確認する

に至った。実験動物においても、内在性ホルモンに対して生体には防御作用が備わっていながら、この内在性のホルモン自身が制御からはずれて障害を引き起こすことがあることも知られるようになり（思春期早発、経口避妊薬、閉経後のホルモン補充療法など）、ヒトへの影響の蓋然性が取り上げられるに至っている。なお、ヒトでの発がん性に予防効果が期待されているいわゆる植物ホルモン（phytoestrogene）については、そうした予防効果の反面、日常用量との乖離は大きいものの、可能性の問題として機構上はエピジェネティックな発がん性を示唆する指摘がなされている。今後、内分泌かく乱化学物質問題で解決すべき課題として残されているもの、また、解決されるべきものとして新たに明らかになったものは、大きくは二つあり、第1に、引き続き低用量問題を巡る高感受性問題、第2にマイクロアレイゲノム解析による今後の内分泌かく乱のメカニズムの解明を挙げることが出来る。

- ・ 前者については、まず、ヒトの受精を人為的に抑制するような adverse effect を引き起こす用量での影響が、通常の実験動物の試験法で検知できないという、EDCs での試験法の根本問題である。こ

れは受容体原性障害にリンクしたすべての対象に共通した問題であり、結果として多くの毒性試験に根本的な改良が求められるに至っている。

- ・ 後者については、マイクロアレイを用いたゲノミクス手法による EDCs の研究があるが、これにも用量相関などの課題を含む低用量問題が関連している。またこれは、今後のリスクアセスメントの問題にもつながってゆくものである。

（出張報告）

①経済開発協力機構(OECD)主催の「第4回ほ乳類を用いた試験法部会」平成15年4月13日～17日の5日間、フランス・パリ

内分泌かく乱化学物質のバリデーション運営委員会が上記のタイトルで開催された。この会議は、子宮肥大試験、ハーシュバーガー試験など、ほ乳類の個体レベル試験利用法についての実験結果の検討を行うが、とりわけ、日本はこれらのうち子宮肥大試験についてはリードカントリーとして、各国の協力を得て、試験法バリデーションの音頭を取ってきた経緯がある。これらについて日本の果たしてきた役割を説明し、ガイドライン化に努める。当該会議において議論された様々の課題は、当班を

始めとする研究プロジェクトを円滑に進めるために重要な意義を持ち、当該課題の今後の推進、研究交流、これら情報の関係指導所轄省庁への報告と、行政への反映の諸面で成果が期待される。

②ゴードンリサーチコンファレンス(GRC)主催の討論会(トキシコゲノミックスに関する研究)に出席。

平成15年6月21日～28日の8日間、米国・メイン州・リューストン市

ヒューマンサイエンス振興財団、創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「創薬における毒性回避のための戦略；cDNA マイクロアレイ解析による関連分子の探索と毒性作用予見技術確立」の研究発表テーマは、トキシコゲノミックスであり、生体の毒性発現と遺伝子の挙動での諸課題を各国、特に米国の研究者と意見を交換する機会が与えられ、今後の職務における試験研究方針の貴重な情報を得ることができた。

③化学物質安全アセスメント；毒性病理および特に発ガン性に関する研究討論会に出席した。

平成15年9月20日～24日の5日間。

米国・ニューヨーク

ニューヨーク医科大学では、定期的に毒性病理学に関する研究討論会を

おこなっており、今回、化学物質の安全性に関する発ガン性に焦点をおいた動物実験からヒトへの影響を外挿する手法に関する研究会を開催した。主催者のゲーリー・ウィリアムズ教授はこの研究会での当研究所における職務関連の研究成果の発表を求めており、この研究会における他の発表者の研究内容は、また、当分担研究者の研究と隣接しており、相互の研究成果の交流による成果の期待される内容であった。

④世界保健機関・国際化学物質安全性計画事務局(WHO/IPCS)主催の国際化学物質安全性プログラム研究検討会に出席。

平成15年11月14日～20日の7日間。ドイツ・ベルリン

世界保健機関・国際化学物質安全性計画事務局(WHO/IPCS)の役割は、化学物質の世界的視野でみたヒトへの健康の影響を正しく把握し、その知見を普及することにより、当分担研究者の所轄常務に重なり合うものである。今回、WHO/IPCS トキシコゲノミックスが以上の業務にどの様に貢献するかを各国の学識経験者を集めてベルリンにてセミクロード・ワークショップをおこなって検討することとなった。この会議のオーガナイザーとして情報を発信する

のみならず、コーディネーターをする役割を持って出席した。これらのことは、当班を始めとする研究プロジェクトを円滑に進めるためにも重要な意義を持ち、さらに行政への反響など諸面で、成果が期待される。

⑤代替法欧州評価センター(European Center for the Validation of Alternative Methods(ECVAM))主催のワークショップ「毒性の評価法の原則とトキシコゲノミックスを用いた試験法の試み」へ出席。

平成15年12月10日～14日の5日間。イタリア・イスプラ市。

代替法欧州評価センター(ECVAM)は、トキシコゲノミックスの手法を用いた試験法のバリデーションのためのワークショップを企画し、各国のこの方面の学識経験者をイタリアのイスプラに集めて検討した。ECVAMはこの会議に、専門的な立場からの協力を求めており、所轄業務の立場からこれに対する情報発信すべく出席した。また、これらのことは、当班を始めとする研究プロジェクトを円滑に進めるに当たり重要な意義を持つ。

⑥世界保健機関・国際化学物質安全性計画事務局(WHO/IPCS)主催の国際化学物質安全性プログラム研究検

討会フォローアップ会議(トキシコゲノミックス)に出席した。

平成16年2月7日～2月11日の4日間。スイス・ジュネーブ

国際化学物質安全性プログラム研究検討会フォローアップ会議(トキシコゲノミックス)は、先のベルリンにおける同主催者によって開催された、マイクロアレイによる大量のゲノム解析を化学物質安全に応用する為の会議を受けて、今回そこで討議された内容の最終的なまとめの会議を行った。この会議は、所轄の業務、すなわちマイクロアレイを安全性試験に応用するトキシコゲノミックス研究と重なり合うものであり、当分担研究者は、これらの研究において豊富な経験と実績を持っている。この会議での成果は、当班を始めとする研究プロジェクトを円滑に進めるためにも重要な意義を持ち、また、行政への反映などの諸点で成果が期待され、多大に貢献を果たすものと期待される。

⑦米国トキシコロジー学会(SOT)の主催する2004年総会及び、国立環境健康科学研究所(NIEHS)トキシコゲノミックス編集委員会に出席した。引き続きトキシコゲノミックス、ファーマコゲノミックス、バイオマーカーの研究討議および情報収集のため

ファイザーNew London を訪問した。
平成 16 年 3 月 21 日～28 日の 8 日間。
メリーランド州、バルモチア市、コ
ネチカット州 ニューロンドン市、
米国

米国トキシコロジー学会(SOT)の主
催する 2004 年総会は、毒性学方面に
おける基盤と応用にかかる幅広い研
究を集積する学会であり、成果の発
表と情報収集のため、これに出席し
た。引き続き、ファイザー社 New
London 支社をトキシコゲノミクス、
ファーマコゲノミクス、バイオマ
ーカーの研究討議および情報収集の
ために訪問した。今回の米国毒性学
会(SOT)の主催する研究検討会は、職
務としている生体の毒性発現と遺伝
子の挙動との関連での諸課題を各国、
特に米国の研究者と意見を交換する
機会が与えられたことにより、今後
の職務における試験研究の方針の貴
重な情報収集の機会が期待されると
共に所属研究機関の科学水準と成果
を世界的に発信する重要な機会とも
なるものと期待される。

E. 結論

近年、人々の内分泌かく乱化学物
質に対する理解が大きく進んだと確
認した。内分泌かく乱化学物質問題
について解決すべき課題として残さ
れているもの、また、解決されるべ

きものとして新たに明らかになった
ものについて、まず低用量問題を巡
る高感受性問題は、ヒトの受精を人
為的に抑制する用量での影響が、通
常の実験動物での試験法では感知で
きないという結果として、多くの毒
性試験の根本的な改良が求められる。
次に、マイクロアレイゲノム解析に
よる今後の内分泌かく乱のメカニズ
ムの解明を研究する手法でも、用量
相関などの課題を含む低用量問題が
関連しており、今後のリスクアセス
メントの問題にもつながっていく。

今後も、引き続き、国際的な視野
に立ち、科学的認識に基づいた研究
交流、科学的情報の行政への反響等
を継続してゆくことの重要性が確認
された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

原著

Yoon, B.I., G.X. Li, K. Kitada, Y.
Kawasaki, K. Igarashi, Y. Kodama, T.
Inoue, K. Kobayashi, J. Kanno, D.Y. Kim,
T. Inoue and Y. Hirabayashi (2003).
Mechanisms of benzene-induced
hematotoxicity and leukemogenicity:
cDNA microarray analyses using mouse
bone marrow tissue. Environ Health

Perspect 111:1411-20.

Hirabayashi, Y., K. Yoshida, S. Aizawa, Y. Kodama, J. Kanno, Y. Kurokawa, I. Yoshimura and T. Inoue (2003). Evaluation of nonthreshold leukemogenic response to methyl nitrosourea in p53-deficient C3H/He mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 190:251-61.

Tanaka, M., Y. Hirabayashi, T. Sekiguchi, T. Inoue, M. Katsuki and A. Miyajima (2003). Targeted disruption of oncostatin M receptor results in altered hematopoiesis. *Blood* 102: 3154-62.

Takahashi, Y., T. Inoue, A. Gossler and Y. Saga (2003). Feedback loops comprising Dll1, Dll3 and Mesp2, and differential involvement of Psen1 are essential for rostrocaudal patterning of somites. *Development* 130: 4259-68.

著書・総説など

Inoue, T. Introduction: Toxicogenomics - a New Paradigm of Toxicology. In: T. Inoue and W. D. Pennie (eds.), *Toxicogenomics*, pp. 3-11. Tokyo: Springer-Verlag Tokyo, 2003.

Hirabayashi Y, Yoon BI, Kawasaki Y, Li GX, Kanno J, and Inoue T. On the Mechanistic Differences of Benzene-

induced Leukemogenesis between Wild type and p53 Knockout Mice. In: K. Tanaka, T. Takabatake, K. Fujikawa, T. Matsumoto, and F. Sato (eds.), *Molecular Mechanisms for Radiation-induced Cellular Response and Cancer Development*, pp. 110-116. Aomori: Institute for Environmental Sciences, 2003.

2. 学会発表

Hirabayashi Y, Li GX, Yoon BI, Kawasaki Y, Kodama Y, Yodoi J, Kanno J, Inoue T. Leukemia-Prevention in vivo-Model: Attenuation of Spontaneous and Benzene-Induced Thymic Lymphoma by Absorption of Reactive Oxygen Species (ROS) using Thioredoxin Over-Expression Mouse. 6th Joint conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association *Advances in Cancer Research: Molecular and Cellular Biology, Genomics and Proteomics, Targeted Therapeutics, Novel Clinical Trials, Molecular and Genetic Epidemiology / Prevention* (2004.1.28) [Waikoloa, HI, (Conference proceedings, pp158, 2004)]

Hirabayashi Y, Li GX, Yoon BI, Kawasaki Y, Kodama Y, Kaneko T, Yodoi J, Kanno J, Inoue T: Prevention of

benzene-induced leukemogenesis by Trx/ADF requires of p53-expression. The45th Annual Meeting of the American Society of Hematology (2003.12.8) [San Diego, CA, (Blood 102 (11): pp829a, 2003)]

Inoue T: The Next Step of the TOXICIGENOMICS- From forward to reverse, a predicting genomics - Toxicogenomics International Forum (2003.10.13) [Seoul Korea, (Meeting abstract p6-7, 2003)]

I Yoon BI, Li GX, Kitada K, Kawasaki Y, Igarashi K, Kodama Y, Inoue T, Kobayashi K, Kanno J, Kim DY, Inoue T, Hirabayashi Y: Exploration of the hematotoxic mechanism of benzene based on the cDNA microarray analyses in the mouse bone marrow tissue. Toxicogenomics International Forum 2003 (2003.10.9) [Tokyo, (Meeting abstract, p89-90, 2003)]

Inoue T: Mechanisms of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: cDNA microarray analyses using mouse bone marrow tissue. A symposium in Honor of Wagner BM, MD at NewYork Medical College, Chemical Safety Assessment: Contributions

of Toxicological Pathology and Mechanistic Investigations モ , (2003.9.23) [Valhalla, NY]

Hirabayashi Y, Li GX, Yoon BI, Fujii-Kuriyama Y, Kaneko T, Kanno J, Inoue T: AhR suppresses hemopoiesis during steady state but accelerates cell cycle as an early response: a study of AhR-knockout mice. DIOXIN 2003 (2003.8.26) [Boston, MA, (Organo-halogen Compounds 64:270-273, 2003)]

Hirabayashi Y, Yoon BI, Kitada K, Kawasaki Y, Igarashi K, Kodama Y, Li GX, Kanno J, Kim DY, Inoue T: cDNA microarray analysis addressing the mechanisms of benzene-induced epigenetic and genotoxic changes. Gordon Research Conference on Toxicogenomics (2003.6.25) [Lewiston, ME]

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

(4) 〈確定試験等開発研究〉

1 7. 内分泌かく乱化学物質の性腺構築過程に及ぼす影響に関する研究 —継世代試験の改良—

分担研究者 ○長尾 哲二¹、斉藤義明²、白見憲司²、吉村慎介²

¹近畿大学理工学部生命科学科 発生生物学研究室 教授

²(財)食品薬品安全センター秦野研究所 病理学研究室

研究要旨：性腺構築過程における傷害性の有無が、内分泌かく乱化学物質の次世代生殖影響を早期かつ短期に検出できるエンドポイントになり得るかを結論するために、ジエチルスチルベステロール (DES)、 17β -エストラジオール、エチニルエストラジオール、タモキシフェン、クロミフェンあるいはアトラジンを、生殖巣の初期発生段階にあるマウス胎児に経胎盤的に暴露し、生殖巣の超微形態的变化ならびに過剰細胞死がみられるかを検討した。その結果、対照群の生殖巣と比較して暴露胎児の生殖巣では、間質細胞に多数の脂肪滴の存在を認めた。さらにグリコーゲンの蓄積も観察された。次いで、暴露後の胎児生殖巣あるいは新生児精巣に過剰細胞死アポトーシスの誘発を観察した結果、胎児生殖巣に Tunel 陽性細胞の増加は観察されなかったが、新生児の精巣に顕著な Tunel 陽性細胞の増加が観察された。したがって、マウス胎児期に経胎盤的に暴露した内分泌かく乱化学物質は、暴露後の早期に生殖巣に形態学的変化を惹起し、さらに新生児期には、生殖細胞に過剰細胞死を高頻度に誘発し、成熟後には生殖器官の異常として確認できると考えられた。

A. 研究目的

胎児期初期あるいは新生児期早期の内分泌かく乱化学物質曝露による成熟後の生殖影響を、生殖器官発生・発達期に検出し得る可能性を探ることは重要であると思われる。

そこで、本研究では、内分泌かく乱化学物質のマウス胎児期曝露による生殖巣原基における傷害と、生後の生殖器官の発達障害ならびに成熟後の生殖機能の障害との関連について検討し、性腺構築過程における組織変化および過剰アポトーシス誘発が、内分泌かく乱化学物質の次世代生殖影響を早期かつ短期に検出するエンドポイントになり得るかを結論

した。

B. 研究方法

[実験 1] ICR マウス (チャールズ・リバー株式会社) の妊娠 10~13 日 (膣栓発見日=妊娠 0 日と規定) に、ジエチルスチルベステロール (DES) 17β -エストラジオール (E_2)、エチニルエストラジオール (EE)、タモキシフェン (TAM)、クロミフェン (CLOM) の 100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ あるいはアトラジン (ATZ) (いずれも Sigma Chem. 製) の 100 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ をコーン油に懸濁して連日背部皮下に注射した。最終投与の 24 時間後 (妊娠 14 日) あるいは妊娠 17 日にエーテル麻酔下で頸椎