

り GeneSpring ソフトウェアを介して任意のチップの Raw data を読み出し、各種解析および比較を行うことが可能となった。ただし、異種間のデータの直接比較はできないため、GeneSpring の Homology Table の機能を利用して、異種の相同遺伝子を検索し、得られた情報を Table として Excel へ移し、Excel 上にて異なる種のチップデータを融合させ、両者を直接比較可能とした。

C. 研究結果

1. 遺伝子傷害性物質による遺伝子発現変化の解析

前年度までの検討により、ヒト培養細胞 TK6 において遺伝子傷害性物質をその発現変化より判別するために選んだ候補遺伝子を表 1 に示す。これらの遺伝子に対し特異的に設計された TaqMan PCR 用試薬

(Assay-on-Demand) を用いて、定量的リアルタイム PCR 法を行うことにより、PCR 反応による増幅速度より算出した各処理群の発現比を GeneChip で得られたデータとの比較を行った結果を表 2 に示す。GeneChip のデータと RT-PCR のデータの相関性は良く、GeneChip データの信頼性が裏付けられた。GeneChip を用いた解析によりあまり変化の見られなかった PQ, MNNG, EMS, KBrO₃ は、RT-PCR でも変化が小さかったため、さらに詳細な検討を行うため、新たな化合物として Ethyl-nitrosourea (ENU) とともに用量とサンプリングタイムを変化させた際の発現変化を、選択した遺伝子に関して RT-PCR を用いて確認した。その結果、表 3 に示すように、高用量、または遅いサンプリングタイムに

おいて新たに変化が検出され、用量およびサンプリングタイムの重要性が示唆された。今回選んだ遺伝子のうち、PLAB, p21, ATF3, LTA, GPR43, CCL2 に関しては比較的多くの化合物で変化が見られたが、EIF5A, PSMD1, CDC, SLC に関しては、特に RT-PCR 法での変化が少なかった。今後それぞれの遺伝子の遺伝子傷害性予測に関する寄与ファクターを考慮することにより、より確実性の高い予測が可能になると考えられる。

2. GeneChip 解析において発現が有意に変化する遺伝子の選択法の確立

GeneChip の解析においては、一般に発現比がコントロールに対して 2 倍変化した場合に有意として選択する方法が簡便な手法として用いられているが、得られた Raw intensity のデータをプロットすると図 1 に示すように低発現量でばらつきの大きい分布を示すため、低用量でより多くの遺伝子が検出され、逆に高用量では検出される遺伝子は少なくなる。広い領域に対して、均一に変化した遺伝子を選択するため、我々は昨年度までに、発現強度に応じて有意水準 (Ratio) を変化させる、いわゆる Step-wise selection 法を開発して、遺伝子の選択に用いてきた。今年度はさらにこの方法を進化させ、回帰曲線を書かせることにより段階的ではなく連続的に有意水準を変化させて遺伝子の選択を行う方法を開発した。その手順を以下に示す。

1. GeneChip データを発現強度の中間値 100 にてスケールング
2. GeneSpring ヘインポート
3. 解析対象のすべての処理において

Absense の遺伝子を削除

4. per chip, per gene でのノーマライゼーション
5. すべてのデータを表として Excel へインポート
6. 発現比の値 1 を境界として全体を二つの群に分ける。
7. それぞれの群に対し発現強度の強い順位に並べ替え、10 のグループに分ける
8. 各グループでの比の値の上位（又は下位）2.5% の位置の値をその領域でのカットオフ値とする
9. 各グループでの発現強度の中間値に対して 8 で求めたカットオフ値をプロットし整次多項式回帰分析法で回帰曲線を求める
10. 回帰式を元に各チップデータの値から有意性を判定する（この回帰曲線の外側に位置する点を変化した遺伝子として選択する）

以上の手法により、得られたチップデータを標準化後、回帰曲線に基づいて発現強度依存的に発現の変化した遺伝子を選択した。なお、7 におけるグループ分けの数および 8 における有意水準はデータ量および目的に応じて任意に設定できる。この手法の利点は、常に一定の割合の遺伝子を発現強度の全領域に渡って選択できることであるが、逆に変化の激しい場合においても一定数の遺伝子しか選択できないという欠点もある。この問題を克服するためには、コントロール群において duplicate でチップデータを取得し、その間で同様の比較を行って得られた回帰曲線をその実験のすべての処理群とコントロールとの比較に用いる

ことにより克服できる。その意味でも、今後は実験計画として、コントロールのみは duplicate でデータを取得することが有効であると考えられる。

3. マウス肝臓におけるグリタゾン系化合物の処理による遺伝子発現変化

トログリタゾン (T)、ロジグリタゾン (R)、ピオグリタゾン (P) 処理によるマウス肝臓での遺伝子発現の解析を、昨年度は高用量である 200 mg/kg に関して行ったが、今年度は低用量である 20 mg/kg に対しても行い、昨年度のデータと併せて再解析をした。なお、本解析においては昨年度のデータとの比較のため、従来用いていた step-wise selection 法による解析を行った。解析の結果、それぞれの化合物にて選ばれた遺伝子数（高用量、低用量を併せて）とその重なりを図 2 に示す。

全体として発現上昇した遺伝子が約 1500 発現低下した遺伝子が約 1000 個選択された。3 つの薬物に共通して選ばれた遺伝子数は上昇 684、低下 128 と、特に上昇した遺伝子で共通性が高かった。一方、化合物間ではロジグリタゾンでの変化が最も数が多く、ロジグリタゾンとピオグリタゾンとの共通性が高かった。

3 つの薬物に共通性高く変化した遺伝子を表 5 に示した。表中に同じ遺伝子が重複している場合があるが、これは Gene Bank 等で異なる ID がついていたため別の遺伝子としてプローブが設計されたものであり、相互に類似した結果を示すことは GeneChip の再現性の高さを物語っている。このうち thyroid hormone responsive SPOT14 homolog 遺伝子は、肝臓や脂肪細胞におい

てホルモンや栄養による発現調節を受けている遺伝子で、脂肪生成に関与する。さらに、この遺伝子の発現が streptozotocin で誘発した糖尿病で変化する (Grillasca et al. (1997)) 点で、関連性が注目される。Lipin1 遺伝子も脂肪酸代謝に関わる遺伝子であり、この遺伝子の変異はヒトで lipodystrophy を起こす。この病気は体脂肪の減少、脂肪肝、hyperglyceridemia、インシュリン抵抗性などを起こすという特徴を持つ点で、今回の PPAR γ 作用薬との関連性が示唆される。さらに、Regulator of G-protein signaling 16 (RGS16) は mitogen にて誘導されることが知られており、MAP キナーゼシグナル系を活性化することが知られている。

共通性が見られた遺伝子を、機能別に分類したのが表 6 である。いずれの時点においても共通に見られた変化として、脂肪酸代謝に関わる遺伝子が特徴的であった。

次に、トログリタゾンに特異的な肝毒性のメカニズムを考える意味で、トログリタゾンに特徴的に変化する遺伝子の解析を行った。得られたデータより、トログリタゾンのみで発現が変化した特徴的な遺伝子を表 7 に示した。トログリタゾン特異的に発現の上昇した遺伝子としては、chemokine (C-X-C motif) ligand 1、orosomuroid 2、serum amyloid A2、lipocalin 2 などが含まれ、発現低下する遺伝子としては、Down syndrome critical region homolog 5、heat shock protein 1B、などが含まれていた。これらの遺伝子は、トログリタゾン特異的な肝毒性発現に何らかの関連性を持つことが期待される。

これらの遺伝子に関して、各時点ごとに

遺伝子の機能別に分類した結果を表 8 に示す。特徴的な遺伝子群としては、ミトコンドリアの機能関連遺伝子、アポトーシス関連遺伝子、酸化ストレス応答遺伝子、炎症関連遺伝子などが挙げられる。

4. マウス肝臓および子宮におけるタモキシフェン誘導体処理による遺伝子発現変化

乳癌治療薬として使われているタモキシフェンは、エストロゲン受容体(ER)の発現が更新している乳癌に対して、抗エストロゲン様作用を示すことにより、癌細胞の増殖を抑える。一方、子宮に対しては逆にエストロゲン様作用を示し、子宮肥大や、子宮癌などの副作用を示すことが知られている。また、Tam およびその活性代謝物である 4-hydroxyTam(4OH) はラットに対して肝発癌性を示す事が知られ、オレフィン部位に結合したエチル基の水酸化による α ヒドロキシタモキシフェンを介した代謝活性化による DNA へのアダクト生成が関与していると考えられている。Tam のエチル基が Cl 化された構造を持つトレミフェン (Tre) は、これらの副作用が少ないことが知られている。また、共同研究者の奥田らにより合成された Tam の脱エチル体 (ΔC_2H_5) はアダクト形成の代謝活性化が起こりにくいと考えられ、副作用の少ない薬として期待される。そこで、マウスを用いてこれらの薬剤のエストロゲン様作用および遺伝子傷害に関する副作用を遺伝子発現の面から考察するため、GeneChip を使った解析を行った。

各群 3 匹のマウスに薬物を投与し、4 時間後および 24 時間後に肝臓および子宮を

回収したが、このとき肉眼的な変化として子宮の肥大作用が観察された。実験では片側の子宮を摘出したが RNA 抽出用にその半分を用いた残りの臓器の大きさを図 4 に示す。RNA 抽出に使った残りの臓器であるため正確な判断はできないが、Tam、4OH ではすでに 4 時間後より子宮の肥大傾向が見られたのに対し、Tre、 ΔC_2H_5 ではその作用は小さかった。

肝臓および子宮において発現変化した遺伝子を、回帰曲線を用いた手法によりした選択した結果、得られた遺伝子の数を表 8 に示す。肝臓においては、上昇、低下ともに約 1000 個の遺伝子が変化し、子宮においてはそれぞれ 2000 個を超える遺伝子が変化を示した。これらの重複を除いたのべの遺伝子数としては、肝臓 1158、子宮 2807 であった。

まず、肝臓において変化した遺伝子のうち誘導体間で共通性の高かったものを表 9 にリストアップした。発現上昇、低下ともに化合物間での共通性は高く、特に Tam と 4OH でのパターンはよく似ていた。遺伝子傷害性と関連する遺伝子の変化を検討するため、遺伝子機能として遺伝子傷害と関連する遺伝子のうち変化が見られたものを表 10 にリストアップした。これからは、化合物間に明らかな差は見られなかった。

一方、肝臓における CYP 遺伝子群の発現変化に着目した場合、表 11 に示すように全体として多くの CYP 遺伝子の発現低下が認められたが、 ΔC_2H_5 体のみ特異的に CYP2b 群の代謝酵素遺伝子の発現誘導が認められた。CYP2b 群の酵素はフェノバルビタールにより誘導される遺伝子であり、肝毒性との関連が懸念される。なお、タモキシフェ

ンは主にヒトでは CYP3A4 にて代謝されるが、この遺伝子のマウスホモログである Cyp3a41、Cyp3a11、Cyp2c37 遺伝子の発現量はいずれの化合物処理においても顕著な変化はみられなかった。

次に、各化合物ごとに変化した遺伝子群の特徴を調べるため、Affymetrix 社のデータ解析システムである NetAffyx の機能として、Gene ontology tree に対して各化合物で選択された遺伝子リストを投げた解析結果を図 5 に示す。Tree 上で赤く示された遺伝子群に関しては、その存在確率が高いことを示すが、その内容を見ると、ステロール合成およびテルペノイド合成、アセテート合成に関与する遺伝子が共通の変化として検出されたが、Tre に特徴的な変化として nitric oxide 合成遺伝子、および ΔC_2H_5 体の特徴として MAP キナーゼの活性化に関わる遺伝子群が注目される。

次に子宮での遺伝子発現変化の解析結果を示す。まず、すべての薬物に関して共通性を持って発現上昇した遺伝子を表 12 にリストアップした。子宮では多くの遺伝子の発現が変化していたこともあり、化合物間の共通性も高かった。ただし、Tre の 4 時間後および ΔC_2H_5 体の 24 時間後のデータは変化が小さく、他とは違う傾向を示した。これは、これらの化合物では子宮肥大の作用が弱かったことと関連している可能性がある。共通性の有りがつ変化の激しかった遺伝子として、kallikrein 遺伝子の多くのホモログが同時に検出された点が注目され、エストロゲン作用との関連に興味を持たれる。この他変化の大きかった遺伝子としては、IL-1 receptor type II、S100 calcium binding protein A14、stratifin、TNF

receptor superfamily member 12aなどが挙げられる。

一方、共通して発現が低下した遺伝子を表13にリストした。こちらも同様に共通性が高く、Treの4時間後および ΔC_2H_5 体の24時間後のデータが他と違う傾向を示した。

子宮では子宮肥大というフェノタイプの変化が見られたことから、エストロゲン様作用が疑われる。そこで、エストロゲンレセプター関連遺伝子に関してその動きを抜き出したのが表14である。エストロゲンの作用は一般にERを介して行われるが、ERがその応答配列に働き直接活性化される場合、および他の転写因子を介して間接的に誘導がかかる場合、さらには、膜上のレセプターからのシグナル伝達によるnon-genomicな作用など複雑な調節を受けている。調節のメカニズムが既知の遺伝子に関してはそれらを分類しながら各化合物間での変化のパターンを比較してみたが、特に化合物ごとの特徴は見られず、いくつかの遺伝子に関して共通して変化が見られる事がわかった。ただし、遺伝子の組み合わせ、変化の方向性およびタイミングは化合物間で微妙に異なっており、その差がフェノタイプとしての子宮肥大作用の差につながった可能性もある。今後より詳細な検討が必要である。

一方、肝臓と同様に遺伝子傷害関連遺伝子に関して変化を解析したところ、やはり化合物間で明らかな差は見られなかったが、我々が他の検討により選択した遺伝子傷害性スクリーニングのための指標遺伝子に関してのみ変化をみたところ、表15に示したように ΔC_2H_5 体のみ変化が小さく、この化合物が子宮では遺伝子傷害性が低い可能性

が示唆された。

次に、化合物ごとの特徴を明らかにするため、肝臓の場合と同様 Gene ontology treeによる解析を行った。その結果を図6に示す。いずれの化合物においてもステロイド関連遺伝子、および細胞周期 (mitosis) 関連の遺伝子群の動きが見られた。化合物に特徴的な遺伝子は4OHに多く、IGFレセプター関連遺伝子、ヒートショック応答遺伝子などがあり、4OHと ΔC_2H_5 体に共通した特徴として抗アポトーシス関連遺伝子、Tamにおける骨ミネラル化遺伝子、Treの免疫応答遺伝子群などが挙げられる。これらの特徴と各化合物ごとの作用の差異に関しては、さらに詳細な検討が必要である。

5. 遺伝子発現データベースの構築とマウスおよびヒト GeneChip データの直接比較解析法の開発

GeneChip 解析より得られたデータは、スケーリング後の生データとしてすべて GeneSpring 解析ソフトで読み込み、実験およびプロジェクトごとに、チップの種類別にデータベース化し、全チップデータを統合したデータベースを構築した。データベースの構造は図7に示すような構造をしており、一枚のチップごとの Raw データが集積されており、同一種のチップデータであれば任意の実験を比較可能になっている。ただし、異なるチップ特にヒトとマウスのデータは遺伝子の情報が異なるため、この解析ソフト上で直接比較することはできない。ただし、機能として、各遺伝子情報から Unigene の IDなどを元に他の種に対する homolog を関連づけるための Homology Table というものを作成することによって、

異種のチップデータへの変換が可能になる。GeneSpring では、この変換機能によりチップ情報に異種チップでの遺伝子 ID を追加できるため、直接両者を比較可視化はできないが、表形式で Excel へと書き出すことにより、Excel 上でデータを結合させ、両者の直接比較を可能とした。その詳細な手順を図 7 に示す。GeneSpring の Homology Table 作成機能を利用し、ホモログの情報をチップデータに追加し、Excel 上に異種チップのデータを直接横並びに結合して表示させる事が可能となった。これにより、ホモログが存在する遺伝子に関して、ヒト細胞とマウスのデータを直接比較し、図 8 に示すような発現比に関する散布図を書かせることができた。ここでは、共同研究機関である第一化学薬品にて取得されたタモキシフェン処理をしたヒト初代培養肝細胞でのデータと、我々のマウス肝臓でのデータを比較しているが、両者の相関性はあまり良くない。最も良い相関を示した遺伝子は、bone morphogenetic protein receptor, type 1A であり、いずれの場合にも 5 倍以上の発現上昇が見られた。同様の検討をグリタゾン化合物処理に関しても行った。同じく第一化学薬品にて取得されたヒト初代培養肝細胞でのデータを使い、vivo と vitro それぞれで共通性の高かった遺伝子に対して、異種での変化はどうかを調べた結果を表 16 に示す。やはり、両者での動きに共通性は低く、特に vitro で発現低下した遺伝子は、vivo において全く変化が見られなかった。一方、発現上昇した遺伝子のうち vivo と vitro で共通性が見られた遺伝子としては、cathepsin Z、P450 oxidoreductase があっ

た。vivo と vitro でのデータを処理群ごとに散布図を作成して比較し、相関係数を計算した結果を表 17 に示す。表中で黒字がマウス vivo での処理、青色がヒト vitro でのデータを示すが、vivo どうしのデータ、ついで vitro どうしのデータは相関が良いの比べ、両者の間の比較ではいずれも相関が低いことがわかる。以上の結果より、マウス肝臓での結果と、ヒト初代培養肝細胞でのデータは相関性が低いことが示唆された。これは、種の差のみならず vitro と vivo のデータの直接比較の難しさを反映した結果であると考えられる。

D. 考察

1. 遺伝子発現変化の解析手法

GeneChip を用いた解析では、一般に個体別データや再現性を見るために複数のチップを用いてデータを取得することにより、発現変化を示した遺伝子を統計的な手法を用いて選択可能になり、データの信頼性も増す。しかし、チップ自体が高価なこともあり、データポイントに対して複数枚のチップを使うことにより、用量やサンプリングタイムの選択が限られることになる。これまでの我々の検討、および他の GeneChip を用いた解析により、RT-PCR データとの相関性の高さからチップデータの信頼性が高いこと、また、マウス個体間でのばらつきが比較的小さいことがわかった。一方で、用量、サンプリングタイムを変化させた場合に結果が大きく変化する傾向にあり、各データポイントでの信頼性を増すよりも、より広く用量、サンプリングタイムを設定する方が有益な情報が得られると考えられる。そこで、本研究では各デ

ータポイントに対して一枚のチップのみを用いたことにより、発現変化した遺伝子の選択にあたっては、統計的な手法を用いる事ができず、発現比の値からの判断が必要となった。一般に用いられている方法では、単純に一定の比の値にて判定されるが、この場合、発現の弱い領域でのノイズの問題と、発現の高い領域での選択漏れの危険性が生じる。そこで、本研究では単純に発現比のみではなく、シグナル強度を考慮して段階的に有意水準を変化させる手法を開発してきた。最終的に回帰曲線を用いることにより、発現強度に応じて連続的に有意水準を変化させ、遺伝子を選択する方法を確立することができた。これにより、発現変化ありと選択された遺伝子に関する信頼性を増すことができたと考える。また、こうして選択した遺伝子に関し、共通する作用を持つ化合物間での共通性を調べることにより、ある意味での再現性を持たせることができ、このようなアプローチがチップデータの解析上有用であると考えられる。

2. TK6細胞での遺伝子傷害性物質に関する検討

これまでに多くの遺伝子傷害性物質に関して検討を行った結果、共通性をもって変化する遺伝子は少なく、全てに共通して変化する遺伝子は存在しなかった。しかし、遺伝子傷害性物質のみに比較的共通性を持って変化する遺伝子群を指標遺伝子として選択できた。本年度は、これら遺伝子の有用性を検討するため、まず RT-PCR 法によりチップデータの再現性を確認したところ、良い相関が得られ、GeneChip データの信頼性が確認できた。一方で、発現変化の見

られなかった化合物に関してはやはり変化がないことが確認された。この理由として、解析に単一の用量とサンプリングタイムのみしか用いていない点が考えられたため、RT-PCR 法を用いてより広い濃度範囲およびサンプリングタイムに関して検討を行ったところ、高用量および遅いサンプリングタイムにて陽性を示す例が観察できた。この結果より、遺伝子発現解析においては、より広い用量およびサンプリングタイムに関して検討を行う重要性が示唆された。しかし、一般にチップが高価であるため、詳細な検討を行うことが難しいため、今回のように、ある程度の解析から対象とある遺伝子を絞り込み、RT-PCR の手法を使ってより広範な解析を加えていくことが有用であると考えられる。

3. グリタゾン系糖尿病治療薬による遺伝子発現解析による肝毒性の検討

PPAR γ レセプター作用薬であるグリタゾン系化合物は、その作用を介してインシュリン低感受性の II 型糖尿病の治療薬となる。3 種の構造の類似した化合物のうち、トログリタゾンは市販後重篤な肝毒性のため使用が中止された。本研究ではこの毒性発現のメカニズムを、遺伝子発現解析を用いて検討する事を目的とした。トログリタゾンは従来の動物実験では肝毒性が十分予見できなかったわけであるが、フェノタイプとしての毒性は見られなくても、遺伝子発現レベルでは何らかの変化が起きている可能性があり、発現解析により毒性のメカニズム解析に迫れる可能性があると考えられる。一方、トログリタゾン以外のグリタゾン系化合物についても、ヒトでの肝毒性

を持つ可能性も示唆されており、共通のメカニズムおよびトログリタゾン特異的なメカニズムでの肝毒性の解析を行った。すなわち、発現解析から共通性を持って変化した遺伝子から共通したメカニズムを、トログリタゾンに特異的な変化から、トログリタゾン特異的な毒性のメカニズムを探るというアプローチを取った。

その結果、共通した変化として脂肪酸合成に関わる遺伝子の変化がクローズアップされた。もともと PPAR γ 作用薬は脂肪細胞での脂肪合成を活性化するが、肝臓においても脂肪酸の合成を促進すると考えられる。一般に糖尿病患者では、脂肪肝を伴う場合が多く、さらに脂肪酸合成が促進される事により、脂肪肝の症状が悪化すると考えられる。事実、ピオグリタゾンは肥満モデルマウスを使った検討で肝毒性を示すことが報告されており、グリタゾン系薬剤共通のメカニズムとして、脂肪肝の悪化による毒性発現のメカニズムが考えられる。正常のマウスおよび健常人では、肝臓における脂肪の蓄積が少ないため、これら薬剤による脂肪合成の亢進が重篤な毒性としては現れず、調節可能であるためフェノタイプとしての毒性が予測できなかったとも考えられる。

一方、トログリタゾンに特異的に変化する遺伝子を解析した結果、ミトコンドリアの機能関連遺伝子、アポトーシス関連遺伝子、酸化的傷害応答遺伝子、炎症関連遺伝子などが特徴として見つかった。これらから類推されるメカニズムとして、活性酸素を介したミトコンドリアの酸化的傷害によりアポトーシスが引き起こされ、肝細胞の傷害が起きるとともに、局所での炎症反応

が引き起こされることが考えられる。事実、トログリタゾンだけが、他の薬物と異なりキノンタイプの活性代謝物が生成するため、そこから活性酸素が発生して肝細胞に傷害を与えたと説明することができる。生体側の防御機構によりこの作用単独ではそれほど重篤な肝毒性は起こらないにしても、脂肪肝の悪化との相乗作用により、若しくは関連した防御機構に障害のある個人において重篤な肝毒性へと結びつくというシナリオが考えられる。今後、この仮説を元にヒトにおける重篤な肝毒性メカニズムの解明にアプローチできることが期待される。

以上の結果より、正常な個体ではフェノタイプとしては現れない毒性も、遺伝子発現レベルでは何らかの変化が起きており、発現解析から従来は困難であった毒性の予測が可能になることが示唆され、遺伝子発現解析を用いたトキシコゲノミクス研究の有用性が示された。

4. 乳癌治療薬タモキシフェン誘導体による遺伝子発現解析

タモキシフェンはエストロジェンリセプター (ER) に対するアンタゴニストとして作用することによりホルモン依存的な乳癌細胞の増殖を抑える。しかし、子宮においては逆にアゴニストとして作用し副作用を引き起こす事が知られており、同じ薬物でも作用する組織により効果が異なる。これは、化合物自身の構造による ER との相互作用、主に働く ER のサブタイプおよびコアクチベーター、コリプレッサーなどとの相互作用によりもたらされ、薬物の微妙な構造変化により各種組織に対する作用が異なることが予測される。一方、タモキシフ

エンはラットに対して肝発現性を示すという事実から DNA との反応性も調べられており、 α 位の水酸化が代謝活性化のメカニズムと考えられている。そこで、この水酸化が起こりにくい構造修飾を行った化合物を用いて、遺伝子傷害性の変化を遺伝子発現の変化から検討したが、肝臓においては明確な差異は認められなかった。マウスでは肝癌ができず、遺伝子傷害性も弱いという事実もあり、今回の処理条件ではそれを検出できるだけの変化が見られなかった可能性もある。

一方、合成化合物である ΔC_2H_5 体のみ特徴的な変化として、代謝酵素である CYP2b 類の誘導が見られた。一般に、タモキシフェン誘導体はヒトでは CYP3A4 で代謝されるが、そのマウスホモログは発現に変化が見られなかった。これは、おそらくこれらの代謝酵素の定常レベルでの発現量が多いためであると考えられる。これに対しマウスで誘導がかかった CYP2b10, 20 のヒトホモログは CYP2b6 であり、フェノバルビタールで誘導がかかる事が知られているが、定常レベルでの発現が低いため誘導がかかりやすいと考えられる。一般に酵素誘導がかかる場合には、他の薬物の代謝が影響を受けるため望ましくない作用と考えられるが、酵素誘導に関する構造活性相関にも興味を持たれる。

子宮においては、Tam, 4OH に関して顕著な子宮肥大作用がみられ、アゴニストとして働いてエストロゲン様作用を示したと考えられる。事実、ER 関連遺伝子に関しても動きが見られていたが、作用の弱かった Tre, ΔC_2H_5 との間に明確な区別はみられなかった。Tre, ΔC_2H_5 に関しては子宮に対

する副作用が低いことが期待されるが、ER を介した作用調節のメカニズムは複雑であるため、フェノタイプを遺伝子発現から予測するため有効なマーカーの選択には、さらに検討が必要である。現時点においては、子宮肥大という肉眼的所見の方が、遺伝子発現よりも明確な解答を与えている。

5. ヒトとマウスの遺伝子発現情報の直接比較

マウスとヒト遺伝子のホモログの情報から、両者のデータを結びつけ、一つの表にて比較することが可能となった。今回は、グリタゾン系薬物とタモキシフェン誘導体に関して、マウスを用いた *in vivo* での検討とヒト初代培養肝細胞を用いた *in vitro* での検討を平行して行い、得られたデータから両者の直接比較を行った。その結果、両者の相関性は非常に低いことがわかった。種の違いおよび *vivo* と *vitro* の違いという二つのファクターがあるため一概には言えないが、両者を結びつけることの難しさが浮き彫りとなった。トキシコゲノミクス研究では、遺伝子発現を手がかりに最終的にヒトの *vivo* での毒性を予測することを目的としているが、そのためにはまだ今後乗り越えなければならない課題も多いという印象である。ヒトでの予測を行うためには、可能であれば直接ヒトでの試料を使った解析が有効であると考えられ、そのためには今後非侵襲的な試料を使った解析の重要性が高まったと言える。肝臓での毒性を予測するために肝臓組織を採取することは難しいため、血液や尿中にて有効となる変化を追う必要がある。その意味では、遺伝子発現という指標ではなく、タンパク、代謝

産物を対象としなければならず、プロテオミクス、メタボノミクス解析という方向性が重要であると考えられる。

E. 結論

GeneChip を用いた解析により、各種薬剤処理により変動する遺伝子群を、遺伝子発現強度に応じた有意水準にて選択することにより、ある程度信頼性をもった解析手法を確立することができた。1万を超える遺伝子群から、有意な変化を示す遺伝子を網羅的に検出できる手法は非常に有益であり、直接メカニズムの解明にはつながらないにしても、データベースとして蓄積された各種薬剤による発現変化の情報は、トキシコゲノミクスプロジェクト等で構築される大規模な外部データベースとともに、今後の毒性研究にとって有益な情報となることが期待される。

我々の検討においては、まず遺伝子傷害性物質については、*in vitro* のヒト培養細胞を用いた系においてスクリーニングを行う際に有効となる指標遺伝子を選ぶことができた。今後はさらに多くの薬剤についてその有効性を検討することで、マーカーとしての有効性が検証されることを期待する。なお、この際には網羅的なチップを使用する必要はなく、より簡便迅速で安価な定量的 RT-PCR を用いた方法が有効である。

次に、グリタゾン系化合物の肝毒性の解析に関しては、マウスにおいてはフェノタイプの変化としては現れないものの、遺伝子発現は変化していることがわかり、毒性予測における有効性が示された。グリタゾン系化合物共通にして、脂肪酸合成関連遺伝子の変化が認められ、糖尿病患者での脂

肪肝を悪化させることが共通した肝毒性のメカニズムとして考えられた。一方、トログリタゾン特異的な肝毒性に関しては、この薬物のみから生成するキノンタイプの代謝物の関与が考えられ、特徴的に変化した遺伝子の機能より、活性酸素を介したミトコンドリアの酸化的傷害により、アポトーシスを引き起こし、肝細胞の傷害が起きると予想した。脂肪肝との相乗作用によりトログリタゾンに特異的な重篤な肝障害へとつながったと考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamada K, Suzuki T, Kohara A, Hayashi M, Mizutani T, Saeki K, *In vivo* mutagenicity of benzo[f]quinoline, benzo[h]quinoline, and 1,7-phenanthroline using the lac Z transgenic mice. *Mut. Res.*, 559, 83-95, (2004)

Arlt VM, Zhan L, Schmeiser HH, Honma M, Hayashi M, Phillips DH, Suzuki T, DNA adducts and mutagenic specificity of the ubiquitous environmental pollutant 3-nitrobenzanthrone in Muta Mouse. *Environ. Mol. Mutagen.*, 43, 186-195, (2004)

2. 学会発表

鈴木孝昌, Palanisamy Rajaguru¹, 小原有弘, 本間正充, 林 真, 高木篤也, 菅野純, 山口照英

GeneChip による遺伝子発現解析を用いて
アリストロキア酸による遺伝子傷害の臓器
特異性を予測可能か
第63回日本癌学会総会 (2004.9.)

Y. Luan, R. Palanisamy, A. Kohara, D. Mulhern,
S. Ninomiya, N. Miyada, M. Honma, T.
Yamaguchi, T. Suzuki

Gene expression profiles in liver of
thaizolidinedione-treated mice and
consideration on mechanisms for troglitazone
hepatotoxicity

Toxicogenomics International Forum (2004.10)

鈴木孝昌, 欒 洋, Palanisamy
Rajaguru, 中嶋圓, 浜田修一, 兵庫
淳志, 降旗千恵

DNA マイクロアレイの変異原性試験
への応用に関する共同研究:
GeneChip による指標遺伝子の選択
日本環境変異原学会第 33 回大会(2004. 11)

鈴木孝昌

“-omics”解析がもたらす環境変異原研究の
新展開

日本環境変異原学会第 33 回大会 4 研究会
合同定例会(2004.11)

欒 洋、 ラジャグル パラニサミー、本
間正充、林 真、鈴木孝昌

ヒト細胞における遺伝毒性物質による遺伝
子発現変化の解析

日本環境変異原学会第 33 回大会
(2004. 11)

板倉宏治, 本橋理恵, 坂本健作, 押澤正, 鈴
木孝昌, 山口芳樹, 加藤晃一, 横山茂之

アンバー・サプレッション法によるタンパ
ク質の部位特異的標識

第 27 回日本分子生物学会年会 (2004.12)

戸部 香織、仲地 豊、近藤 恭光、中嶋
圓、浜田 修一、鈴木 孝昌、兵庫 淳志、
田代 英夫、榊 佳之、降旗 千恵

マウス肝発癌初期過程における遺伝子発現
解析に用いる Oligonucleotide Microarray
の開発

第 27 回日本分子生物学会年会 (2004.12)

鴻野貴司、欒洋, 鈴木孝昌、野村靖幸、
降旗千恵

学習記憶障害を示す老化促進モデルマウス
(Senescence-Accelerated Mouse : SAM)
SAMP8 の原因遺伝子に関する大集積 DNA
マイクロアレイを用いた解析

第 27 回日本分子生物学会年会 (2004.12)

宮島正樹、欒洋、 鈴木孝昌、野村靖幸、降
旗千恵

大脳萎縮を示す老化促進モデルマウス
(Senescence-Accelerated Mouse : SAM)
SAMP10 の原因遺伝子に関する大集積 DNA マ
イクロアレイを用いた解析

第 27 回日本分子生物学会年会 (2004.12)

Takayoshi Suzuki

Current status in in vitro diagnostics in
Japan

International Symposium on
International Harmonization on
Biopharmaceuticals-

KFDA, Seoul, Korea (2004.10)

Volker M Arlt, Takayoshi Suzuki, Li
Zhan, Heinz H Schmeiser, Masamitsu
Makoto Hayashi, David H Phillips
DNA adducts and mutagenic specificity
of the ubiquitous environmental
pollutant 3-nitrobenzanthrone in Muta
Mouse

THE UNITED KINGDOM
ENVIRONMENTAL MUTAGEN
SOCIETY (2004.7)

DNA Adducts and mutagenic specificity
of the ubiquitous environmental
pollutant 3-nitrobenzanthrone in
MutaMouse
34th Annual Meeting of the European
Environmental Mutagen Society (2004.9)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表1 遺伝子傷害性物質で特徴的に変化した遺伝子

	Name of gene (Abbreviation)	Function
U P	Activating transcription factor 3 (ATF3)	Transcription factor
	Growth arrest and DNA damage -inducible, alpha (GADD45a)	Apoptosis
	Cyclin -dependent kinase inhibitor 1A (p21)	Cell cycle regulator
	Prostate differentiation factor (PLAB)	Cell-cell signal
	Protein phosphatase 1D magnesium -dependent, delta isoform (PPM1D)	Apoptosis
	Eukaryotic translation initiation factor 5a	Cell proliferation
	Proteasome 26S subunit, (PSMD11)	Proteasome regulator
D O W N	Unknown (MGC450)	Unknown
	Capillary morphogenesis protein (CMP1)	Signal transduction
	Cell division cycle (CDC27)	Metaphase / Anaphase
	Lymphotoxin alpha (LTA)	Signal transduction
	Solute carrier family (SLC11A2)	Folate transport
	Testis zinc finger protein (TZFP)	Repress transcription
	G-protein coupled receptor protein signal pathway (GPR43)	Signal transduction
	Chemokine ligand 2	Chemokine activity

表2 定量的 RT-PCR データと GeneChip データの比較 (RT-PCR / GeneChip)

Sample	PLAB	P21	ATF3	GADD45	PPM1D	EIF5A	PSMD11	MGC450	CMP	LTA	CDC	SLC	GPR43	CCL2	TZFP
6-MP	12/10	16/10	14/12	10/11	11/12	11/27	12/10	11/12	11/10	08/18	09/13	09/13	12/10	11/07	11/09
5-FU	06/09	13/11	19/19	08/14	21/28	15/39	11/21	20/15	14/15	06/12	11/17	08/12	04/01	03/01	05/03
FZ	10/11	09/11	41/41	11/17	18/18	19/38	11/21	102/99	10/23	07/09	09/12	08/14	05/01	04/05	08/02
BLM	128/42	45/45	28/25	39/17	32/33	12/44	12/13	18/10	10/13	09/14	10/10	10/18	10/02	09/15	13/04
KBrO3	41/15	38/32	22/13	30/12	19/18	14/18	13/11	18/10	12/10	09/07	11/13	11/10	09/08	07/07	14/04
PQ	15/15	12/12	10/11	13/12	11/12	08/15	10/09	09/15	05/05	08/09	07/09	08/10	07/12	10/11	01/08
EMS	20/12	15/16	09/16	12/13	15/13	13/13	11/13	11/18	08/04	07/03	09/09	10/09	08/10	10/10	01/06
Arac	184/82	130/111	88/80	241/83	37/45	18/12	21/09	89/80	05/07	09/07	06/05	06/04	05/10	05/04	03/05
MG	13/12	21/30	42/32	24/24	22/24	17/12	24/28	48/51	04/07	04/02	05/10	03/09	01/03	02/03	08/02
AF2	122/74	25/54	41/81	73/40	46/25	29/08	43/27	81/60	04/08	03/01	05/05	07/10	02/03	02/01	02/03
MNNG	18/29	10/13	09/16	11/09	10/13	10/09	11/12	09/16	06/08	06/04	08/04	09/09	06/11	12/07	03/09
PA	05/07	09/10	32/14	02/03	15/14	13/32	13/17	38/29	13/12	11/15	12/20	14/12	18/02	09/14	08/07
NaCl	13/11	10/15	101/08	39/08	42/25	11/10	11/14	06/09	11/15	12/14	13/09	08/08	08/10	08/07	10/08
EtOH	05/10	11/12	10/79	03/19	26/16	13/17	14/07	48/07	13/10	11/12	12/15	11/12	11/09	09/08	28/08
dmz	10/07	11/07	71/40	105/18	35/13	14/09	16/10	11/26	19/07	18/14	17/15	15/10	12/11	05/04	08/12

up regulated in genechip up regulated in RT-PCR (sample/control>2)
 down regulated in genechip down regulated in RT-PCR (sample/control<0.5)

表3 RT-PCR 法を用いた用量、経時変化に関する詳細な検出

	dose (ug/ml)	time (hr)	PLAB	P21	ATF3	PPM1D	EIF5A	PSMD11	MGC450	CMP	LTA	CDC	SLC	GPR43	CCL2	TZFP
KBrO3	209	4	8.9	4.1	1.6	1.4	1.2	1.2	1.1	0.9	0.9	1.1	1.0	1.5	1.1	
		1	1.2	0.8	1.3	0.5	0.9	1.1	0.7	1.2	0.9	1.6	0.9	1.3	1.0	
	417.5	4	10.7	6.0	2.2	1.3	1.0	1.1	1.0	0.7	0.9	0.9	0.7	1.0	0.8	
		8	23.2	5.1	6.5	2.3	0.9	0.9	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.7	0.4	
	835	4	22.2	9.4	3.0	1.6	1.0	1.0	0.9	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.4	
		8	0.6	1.4	2.1	1.2	0.9	1.1	1.2	0.7	0.4	1.1	0.8	0.6	0.3	
EMS	25	4	0.6	0.8	2.3	0.5	1.0	1.2	0.9	1.0	1.0	1.5	0.9	1.0	0.6	
		1	0.6	0.8	2.3	0.5	1.0	1.2	0.9	1.0	1.0	1.5	0.9	1.0	0.6	
	50	4	1.1	1.5	2.0	1.3	1.3	1.1	1.1	0.9	0.8	1.4	1.2	1.1	0.7	
		8	1.0	1.7	1.4	1.2	0.7	0.8	1.1	0.5	0.8	0.9	0.4	0.1		
	100	4	0.7	1.7	2.7	1.2	0.8	0.9	1.2	1.2	0.5	1.3	0.8	0.5	0.3	
		1	0.7	0.9	1.3	0.6	0.9	0.9	1.1	0.7	0.6	1.2	1.3	0.8	0.8	
PQ	150	4	0.8	0.8	1.2	1.1	0.8	1.0	0.9	1.0	0.5	1.4	1.0	0.8	0.5	
		8	2.5	1.2	2.0	1.1	0.9	0.8	3.5	0.9	0.8	0.8	1.0	0.6	0.5	
	300	4	0.8	1.4	2.3	1.2	0.9	0.7	1.2	1.1	0.5	0.8	0.7	0.5	0.3	
		8	0.7	0.9	1.7	1.1	0.9	1.0	1.0	1.2	0.4	1.2	0.8	0.4	0.3	
	MNNG	0.0025	4	0.7	0.9	1.7	1.1	0.9	1.0	1.0	1.2	0.4	1.2	0.8	0.4	0.3
			1	0.5	1.0	1.4	0.8	0.7	0.9	1.5	0.7	0.7	0.9	0.8	0.7	0.4
0.005		4	0.9	1.7	3.3	1.5	1.2	1.2	1.1	1.5	0.5	1.3	0.9	0.8	0.3	
		8	0.5	0.9	1.1	1.2	0.9	0.9	0.7	1.1	0.7	1.4	0.9	0.5	0.2	
ENU	5	4	0.7	1.9	1.8	1.4	1.0	1.0	1.1	1.0	0.3	1.0	0.8	0.6	0.3	
		1	0.6	1.0	1.9	0.4	0.8	0.9	0.9	0.9	0.8	1.2	0.7	1.0	0.6	
	10	4	1.0	2.5	1.9	1.3	0.8	0.9	1.0	0.7	0.4	0.8	0.7	0.5	0.3	
		8	1.0	1.7	1.9	1.2	0.6	0.7	0.8	1.2	0.5	0.8	0.8	0.4	0.2	
	20	4	2.9	4.3	3.3	1.5	0.8	1.0	0.8	1.0	0.4	1.0	0.8	0.6	0.3	
		1	0.6	1.0	1.9	0.4	0.8	0.9	0.9	0.9	0.8	1.2	0.7	1.0	0.6	

up regulated in RT-PCR (sample/control>2)
 down regulated in RT-PCR (sample/control<0.5)

図1 発現強度のスカッタープロットと発現強度に応じた段階的遺伝子選択法

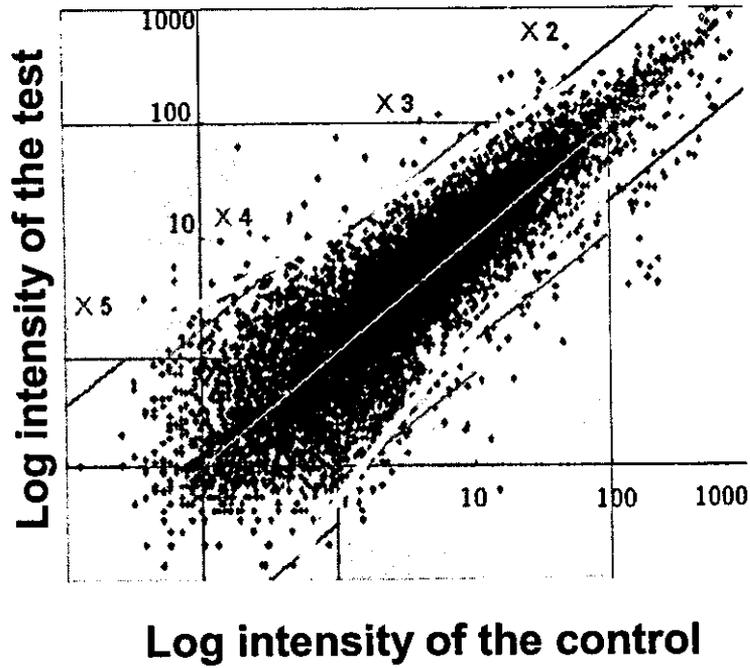


表4 Step-wise selection における遺伝子選択の有意水準

up-regulation		down-regulation	
Sample's intensity	Sample/control	Control's intensity	Sample/control
>1000	>1.75	>1000	<0.57
500-1000	>2.0	500-1000	<0.5
100-500	>2.25	100-500	<0.444
50-100	>2.5	50-100	<0.4
10-50	>3.5	10-50	<0.28

図2 グリタゾン化合物によりマウス肝臓にて発現の変化した遺伝子数

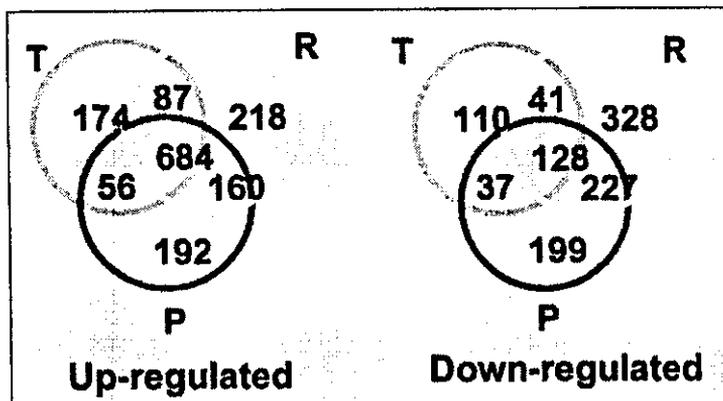


図3 グリタゾン化合物のチップデータの K-mean 法によるクラスタリング解析結果

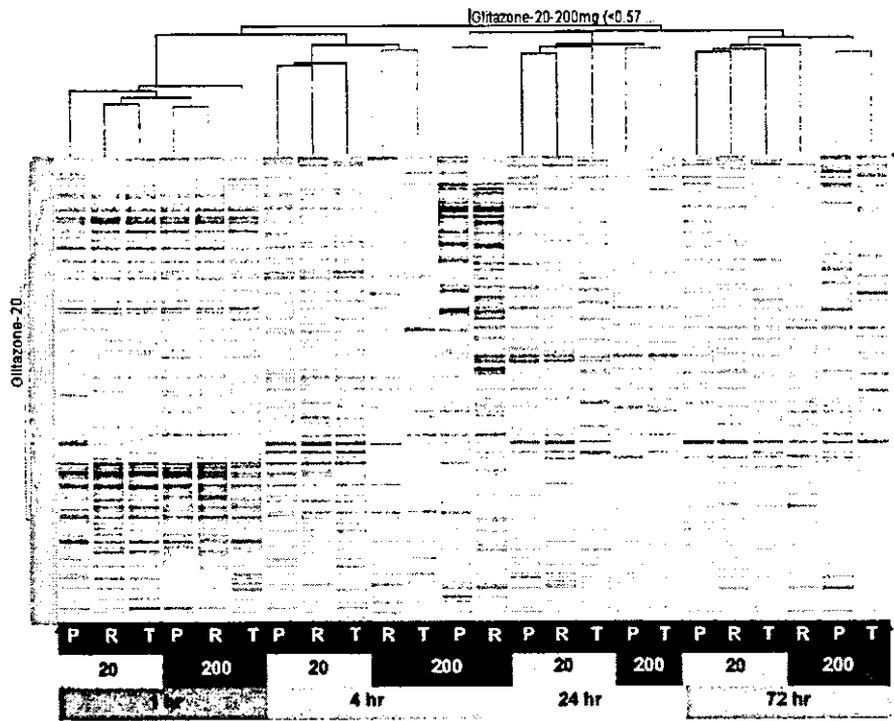


表5 グリタゾン化合物に共通に変化した遺伝子 (コントロールに対する発現比)

Pioglitazone												Rosiglitazone												Troglitazone												Gene Name
20 mg/kg				200 mg/kg				20 mg/kg				200 mg/kg				20 mg/kg				200 mg/kg																
1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h	score												
0.15	2.12	3.56	0.81	0.23	0.81	0.25	0.43	12.24	2.21	5.52	1.21	7.21	2.91	0.75	1.49	2.84	2.97	1.21	0.61	14.17	1.61	3.08	1.08	15	thyroid hormone responsive SPOT14 homolog											
3.42	2.41	2.83	1.58	4.53	1.31	2.91	1.20	2.81	2.11	1.53	1.25	4.59	1.86	2.08	2.88	2.11	2.39	1.00	1.38	4.24	4.42	2.12	1.68	14	RIKEN cDNA 1700124F02 gene											
5.06	1.73	3.39	0.78	4.86	1.59	3.81	0.53	7.91	2.25	2.88	1.40	4.12	1.85	3.87	1.80	6.06	2.33	1.22	0.87	6.43	1.38	3.11	1.08	14	thyroid hormone responsive SPOT14 homolog											
7.14	0.78	0.34	1.30	4.89	0.34	4.27	2.89	6.41	1.81	2.94	6.76	3.91	0.55	1.52	10.86	9.91	1.69	0.33	0.93	3.08	1.13	2.12	7.82	14	regulator of G-protein signaling 16											
4.42	3.87	3.30	3.41	2.67	0.43	2.25	1.71	3.26	2.31	1.31	2.18	3.86	0.40	1.00	2.30	1.42	3.80	1.50	1.70	4.38	0.82	4.04	1.67	13	RIKEN cDNA 1300007C21 gene											
8.62	3.89	2.85	1.29	6.91	0.61	1.19	0.42	7.08	4.92	2.79	1.60	4.80	1.48	0.74	1.06	4.48	2.57	0.61	0.72	6.38	1.96	1.93	0.75	13	stearyl-Coenzyme A desaturase 1											
4.78	3.28	4.84	5.78	0.99	0.18	0.79	1.09	4.62	3.21	4.84	5.54	1.47	0.49	0.47	0.76	4.27	2.17	2.21	3.53	0.85	0.87	0.79	1.49	12	pyruvate carboxylase											
6.98	1.56	4.34	2.16	6.03	0.44	2.27	2.59	5.78	1.64	1.81	2.74	5.18	1.34	1.06	2.54	5.28	2.43	1.04	1.79	4.66	1.13	1.74	0.94	12	acetyltransferase 9											
7.78	4.90	1.50	1.46	6.43	1.11	0.89	0.80	7.43	8.89	1.40	1.46	6.13	2.31	0.21	0.99	7.44	6.14	1.00	1.51	4.76	4.05	1.06	0.60	11	solute carrier family 21, member 10											
4.32	2.82	1.51	1.37	3.61	0.75	0.98	0.91	4.39	3.12	1.19	1.37	3.91	1.78	0.37	1.07	4.49	4.70	2.08	1.75	3.25	2.41	1.04	1.01	11	ceruloplasmin											
4.17	2.04	2.02	1.40	3.29	0.78	1.19	0.79	4.81	2.64	1.39	1.03	2.80	2.24	0.81	0.88	6.54	4.06	0.95	1.09	3.87	1.32	1.17	1.02	11	glutamate oxaloacetate transaminase 1, soluble											
6.78	9.83	10.21	11.98	0.95	0.26	0.27	0.52	9.80	8.68	3.42	3.68	2.65	0.15	0.63	0.96	6.54	4.60	8.05	5.18	0.62	0.18	1.30	0.94	11	N-acetylase/N-sulfotransferase 1											
43.35	1.46	1.76	1.27	10.44	0.42	1.65	0.85	85.24	2.77	1.42	0.93	82.18	2.54	0.30	1.69	78.36	3.33	0.81	1.40	46.47	1.46	1.20	0.74	11	farnesyl diphosphate synthase											
1.23	1.59	6.66	4.48	1.33	1.53	7.02	3.11	1.28	2.05	2.17	2.69	0.80	0.71	0.11	0.53	0.93	2.08	0.99	1.49	1.11	1.26	2.38	2.83	11	hsp1											
12.38	2.50	3.60	3.07	25.26	0.11	0.93	0.81	12.35	1.93	2.37	1.89	25.17	0.67	0.30	0.84	16.08	1.48	2.43	2.06	18.72	0.97	0.98	0.92	11	claudin 3											
1.74	2.31	1.08	1.39	1.81	1.96	0.97	1.13	1.87	2.32	0.87	1.16	1.85	0.04	0.84	1.27	1.58	2.00	1.00	1.24	1.46	1.32	1.04	1.03	10	expressed sequence A1315345											
6.35	3.13	1.17	1.89	4.62	0.96	0.92	0.88	6.06	2.64	1.18	1.29	5.10	2.29	0.55	1.32	5.34	3.01	0.98	1.27	3.66	2.11	0.93	1.06	10	t-complex-associated-testis-expressed 1-											
1.94	1.78	2.30	1.11	2.16	1.45	2.38	1.45	1.92	1.83	1.70	1.33	2.01	1.74	1.81	1.64	1.72	1.94	0.83	1.42	2.25	1.70	1.81	1.14	10	RIKEN cDNA 1700124F02 gene											
4.30	2.21	1.32	1.78	3.31	0.67	1.00	0.82	4.02	2.28	1.24	1.16	3.33	1.63	0.45	1.35	4.37	2.51	1.18	1.44	2.75	1.45	1.02	1.10	10	lectin, galactose binding, soluble 9											
7.34	2.17	1.43	2.09	6.09	0.32	0.90	0.76	7.88	2.00	1.16	1.60	8.10	0.84	0.14	1.08	8.14	2.06	1.31	1.59	4.27	1.03	0.91	0.79	10	heat shock protein 1, beta											
33.27	4.45	2.78	2.44	11.53	0.17	0.79	0.59	17.83	3.98	2.10	1.98	18.62	0.74	0.10	0.75	26.00	7.72	2.18	1.70	11.69	1.07	0.80	0.68	10	pyruvate carboxylase											
30.25	4.41	1.14	1.55	2.59	2.34	1.73	1.19	3.00	4.18	1.55	2.75	2.82	4.36	1.23	2.83	1.53	2.35	0.80	0.96	3.95	1.68	1.31	1.01	10	CD36 antigen											
1.79	1.21	6.48	2.87	1.78	0.85	1.72	1.73	1.75	1.88	1.58	1.66	1.12	0.79	1.14	2.88	1.52	3.69	0.74	1.01	1.49	1.14	1.87	1.50	10	hsp1											
11.64	9.56	8.55	2.72	3.24	0.19	0.44	0.61	30.80	8.74	2.06	2.67	2.82	0.71	0.31	0.82	3.26	2.23	1.22	1.39	3.18	1.08	0.82	0.90	10	expressed sequence AAB60365											
1.61	0.38	12.61	9.18	1.58	0.18	10.38	7.50	1.89	1.26	2.88	4.02	1.51	0.63	2.44	12.84	1.72	1.82	0.05	4.22	1.41	1.27	7.11	6.21	10	regulator of G-protein signaling 16											
1.00	0.40	4.44	2.28	1.21	0.45	4.49	3.48	1.06	0.66	2.88	2.38	0.91	0.66	3.58	3.18	1.03	1.11	0.10	2.96	0.85	0.86	2.74	1.69	10	regulator of G-protein signaling 16											
0.21	1.23	0.64	0.86	0.22	1.74	0.43	1.86	0.14	1.07	0.04	2.04	0.13	1.09	0.04	0.48	0.33	0.74	0.06	0.76	0.21	0.90	0.06	0.51	12	deleted in malignant brain tumors 1											
0.25	2.28	0.68	0.02	0.56	1.10	0.18	0.23	1.05	0.90	0.40	0.16	0.38	2.47	0.27	0.41	0.41	3.07	1.48	0.28	1.06	0.39	0.53	0.08	12	growth arrest and DNA-damage-inducible 4											
0.01	0.21	0.74	0.53	0.02	1.15	0.81	2.15	0.01	0.15	1.10	0.29	0.05	0.97	0.54	0.47	0.01	0.09	1.12	0.23	0.09	0.87	0.89	2.82	11	aldehyde dehydrogenase 2, mitochondrial											
0.31	0.44	0.26	0.23	1.71	0.88	1.11	0.60	0.66	0.41	0.37	0.32	1.41	0.90	0.70	0.60	0.70	0.40	0.21	0.42	1.07	0.81	0.69	0.38	11	Mus musculus, Similar to phosphatidyserine											
0.03	0.32	0.55	0.64	0.09	1.23	0.85	0.99	0.06	0.33	0.54	0.33	0.10	0.21	2.84	0.82	0.09	1.21	0.79	0.70	0.08	0.36	0.71	1.56	10	protein tyrosine phosphatase, non-receptor											
0.02	0.16	0.86	0.51	0.02	2.06	1.06	2.11	0.02	0.33	1.02	0.55	0.03	0.89	4.86	0.77	0.02	0.27	0.58	0.42	0.07	0.96	0.73	2.87	9	aldehyde dehydrogenase 2, mitochondrial											
0.98	0.33	3.83	0.21	0.49	0.52	2.53	0.82	0.95	0.27	0.78	0.32	1.14	0.33	4.78	0.43	0.71	0.17	0.72	0.38	1.06	0.67	2.19	0.23	9	B-cell leukemia/lymphoma 6											
0.12	0.20	0.15	0.42	0.05	2.02	1.63	0.43	0.11	0.24	1.07	0.56	0.07	1.44	5.48	0.51	0.09	0.19	1.91	0.64	0.36	0.95	1.40	1.20	8	calmodulin 3											
0.35	0.67	0.28	0.34	1.10	0.55	0.77	1.45	0.55	0.45	0.32	0.15	0.77	1.20	0.94	0.22	0.52	0.44	0.52	0.32	1.56	0.78	0.76	0.37	8	heat shock 70kD protein 8											
0.06	0.28	0.06	0.06	1.14	0.27	0.42	0.94	0.13	0.03	0.05	0.16	1.01	2.90	0.75	0.55	0.14	0.15	0.04	0.13	0.56	2.34	0.43	1.05	8	receptor (calcitriol) activity modifying prot-											
0.28	0.65	0.65	1.01	1.16	1.41	0.40	1.38	0.11	0.84	0.25	1.24	0.19	1.10	0.63	0.73	0.21	0.48	0.48	0.88	0.22	1.27	0.13	1.75	8	stathmin-like 3											
0.98	0.33	1.79	0.35	1.03	0.51	2.45	0.61	0.93	0.38	2.00	0.24	1.15	0.78	2.78	0.28	0.93	0.39	1.20	0.30	2.00	0.57	0.94	0.43	8	Mus musculus, clone IMAGE1067123, mRNA											
0.56	0.63	0.08	1.42	2.23	0.40	0.40	0.85	1.54	0.47	0.37	0.58	2.36	0.48	0.13	0.88	1.75	0.35	0.84	1.23	1.17	0.53	0.45	0.75	7	RIKEN cDNA 1700012818 gene											
0.10	0.23	0.22	0.13	0.23	1.21	0.91	0.41	0.20	0.32	0.39	0.49	0.26	1.35	0.78	0.97	0.08	0.35	0.38	0.53	0.39	0.69	1.17	1.21	7	ESTs, Moderately similar to S12207 hypoth-											
0.19	0.61	1.20	0.60	0.17	1.49	1.18	1.15	0.18	0.40	0.98	0.58	0.18	0.95	2.51	0.85	0.13	0.62	1.27	0.80	0.27	0.91	0.97	1.26	7	chaperonin subunit 4 (delta)											
0.26	0.50	0.37	0.39	0.88	1.03	0.98	0.79	0.49	0.40	0.59	0.27	0.79	0.80	1.20	1.18	0.65	0.35	0.54	0.17	0.88	1.06	1.30	0.52	7	RIKEN cDNA 2310032H20 gene											
0.11	0.42	0.40	0.28	0.18	0.92	0.95	1.84	0.18	0.23	1.18	0.59	0.11	0.79	4.22	0.72	0.13	0.69	1.19	0.53	0.19	0.92	1.61	2.06	7	Mus musculus adult male testis cDNA,											
1.46	1.11	0.48	0.20	1.99	0.44	0.75	0.48	1.56	0.63	0.53	0.23	1.53	0.64	0.56	0.35	1.24	1.19	0.91	0.36	3.47	0.48	0.51	0.19	7	dual specificity phosphatase 1											
0.30	0.78	1.28	1.61	0.21	1.69	1.31	1.82	0.25	1.00	1.04	1.36	0.24	1.30	1.53	1.33	0.19	0.28	0.81	1.02	0.38	1.08	0.68	2.14	7	hypothetical protein MGC37818											

発現上昇 発現低下

表6 グリタゾン化合物に共通して変化した遺伝子の機能分類

4hr	24hr	72hr
drug metabolism & excretion (6)	cell cycle (7)	lipid metabolism (5)
PPAR response transcription (5)	lipid metabolism (7)	cell cycle (4)
signal pathway (6)	signal pathway (7)	signal pathway (3)
lipid metabolism (5)	oxidoreductase (3)	oxidative stress (3)
oxidoreductase (4)	Inflammatory (2)	transcription (2)
stress response (2)	GST (2)
.....

表7 トログリタゾンに特異的に発現変化した遺伝子

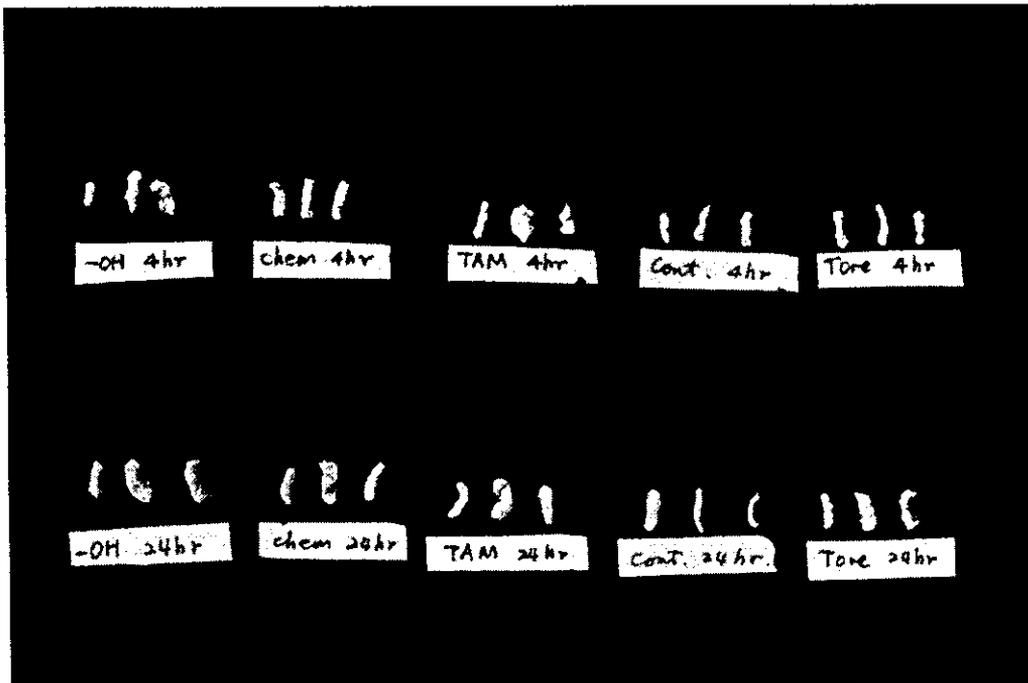
Pioglitazone								Rosiglitazone								Trogliatzone								Gene Name	icon	T score
20 mg/kg				200 mg/kg				20 mg/kg				200 mg/kg				20 mg/kg				200 mg/kg						
1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h	1h	4h	24h	72h			
0.39	1.47	0.51	0.80	1.12	0.70	1.15	1.49	0.36	0.84	0.59	0.79	0.39	0.83	0.47	0.88	0.29	0.76	0.78	1.23	0.55	1.11	0.85	0.23	2	2 chemokine (C-X-C motif) ligand 1	
1.43	2.49	0.38	0.50	1.17	1.57	0.84	0.70	0.73	1.96	0.85	0.51	1.70	1.75	0.49	0.51	0.88	2.88	16.07	0.53	1.75	2.76	0.44	0.56	3	3 oncosinucoid 2	
3.04	1.08	1.34	2.31	3.08	0.77	0.93	2.85	1.54	1.04	1.17	2.36	2.11	0.91	1.43	2.28	1.44	0.97	0.61	2.97	2.31	0.99	0.54	2.85	3	3 RKEN cDNA 2700043D08 gene	
1.26	1.25	0.57	1.84	1.47	0.96	0.52	1.21	1.39	1.78	0.82	1.41	1.31	0.59	0.51	1.45	0.89	5.04	2.75	1.29	1.04	1.09	0.59	1.74	2	2 Trfs-induced adipose-related protein	
0.83	0.96	0.81	1.84	1.42	0.64	1.13	1.28	1.96	1.02	0.78	1.38	1.24	0.93	0.83	1.78	2.21	2.27	1.49	2.72	0.84	0.96	1.00	1.21	2	2 Kruppel-like factor 9	
0.95	1.56	0.98	1.04	1.52	1.28	1.21	0.61	1.55	2.01	0.98	0.80	1.19	1.08	1.29	1.31	2.50	2.77	0.85	0.98	0.82	0.97	0.97	0.60	2	2 coactin	
1.11	0.77	0.48	0.63	1.15	0.38	0.78	0.29	1.53	0.67	0.64	0.82	1.78	0.70	0.35	0.56	1.32	2.34	2.29	0.67	1.10	0.73	0.63	0.49	2	2 aloc1a2	
9.59	0.32	1.12	0.60	0.85	0.82	0.41	0.38	3.18	0.93	0.33	0.38	3.68	0.96	1.47	0.45	0.00	0.71	1.02	0.24	0.78	1.29	0.63	1.67	2	2 Down syndrome critical region homolog 10	
2.03	0.76	0.85	1.32	2.48	0.54	1.11	0.68	2.04	0.55	0.87	0.90	2.19	0.65	0.74	1.06	2.67	0.82	0.86	0.95	2.57	0.52	0.74	0.54	2	2 ATP binding protein associated with cell di	
2.03	1.83	0.18	1.25	0.57	1.29	0.89	0.59	0.83	1.86	2.24	0.86	0.77	1.41	0.10	1.18	3.13	2.79	4.08	0.73	4.71	1.29	0.25	1.09	5	5 serum amyloid A 2	
1.68	2.49	0.25	1.00	0.56	2.03	0.74	0.74	0.42	1.81	1.24	1.02	0.71	1.49	0.13	1.49	1.93	14.05	3.73	0.85	3.76	1.46	0.26	0.76	4	4 serum amyloid A 2	
2.02	2.02	0.84	0.89	0.80	1.30	1.02	0.82	1.10	1.77	1.34	1.00	0.54	1.61	1.14	0.73	1.21	33.93	54.16	1.50	3.84	1.31	0.79	1.36	4	4 lipocalin 2	
9.92	1.47	1.00	1.80	0.39	0.27	0.73	1.25	0.92	1.35	0.95	0.65	0.17	0.71	0.73	1.10	11.02	0.93	0.17	0.87	7.16	1.17	0.75	0.28	2	2 RKEN cDNA 4933427L07 gene	
1.70	2.07	1.42	1.87	1.56	0.25	1.10	0.86	1.68	2.14	0.92	1.48	2.03	1.53	0.58	0.93	1.33	1.29	1.44	1.20	1.10	0.96	0.27	0.26	2	2 ATP synthase mitochondrial F1 complex as	
0.84	0.71	0.93	1.32	0.85	0.96	1.02	1.29	0.53	0.78	1.04	1.18	0.82	0.79	2.17	1.40	0.44	0.71	1.34	1.44	0.43	0.73	1.14	0.69	2	2 Down syndrome critical region homolog 5 U	
0.96	0.90	0.53	0.66	1.61	0.62	0.48	0.47	0.91	0.83	0.58	0.84	1.51	0.99	0.56	0.84	1.31	0.40	0.58	0.77	1.17	0.59	0.43	0.58	2	2 heat shock protein 1B	
0.41	0.47	0.62	0.52	0.56	0.81	1.11	0.89	0.51	0.41	0.67	0.94	0.33	1.12	1.56	0.48	0.35	0.52	1.28	0.43	0.38	0.69	0.65	0.93	3	3 solute carrier family 14 (urac transporter)	
1.21	1.14	1.39	0.25	1.00	1.27	1.73	0.54	1.05	1.63	1.67	1.12	1.02	1.01	1.41	0.73	1.16	5.08	3.19	0.41	1.23	0.98	1.54	0.39	3	3 Down syndrome critical region homolog 10	
0.70	0.81	0.65	0.51	0.29	1.54	0.69	0.41	0.34	0.48	0.12	0.34	0.45	1.03	1.35	0.65	0.27	1.05	1.46	0.44	0.07	0.56	1.23	1.14	3	3 lysosomal-associated protein transmembra	
0.64	0.75	0.71	0.58	1.83	0.82	1.15	0.71	1.90	0.45	0.51	0.54	3.10	0.23	1.14	0.86	1.73	0.19	0.54	0.97	2.83	0.91	0.82	0.31	3	3 multiple isoform polyphosphate histidine ph	
0.54	0.52	0.58	0.10	0.82	0.79	0.63	0.58	0.45	0.06	0.20	0.06	2.45	0.43	1.08	0.71	0.11	0.34	0.24	0.57	1.06	1.39	0.97	0.52	3	3 zinc finger protein 207	

↑↑↑↑↑ 発現上昇 ↓↓↓↓↓ 発現低下

表7 トログリタゾンに特徴的に変化した遺伝子の機能分類

4hr	24hr	72hr
cell growth (12)	mitochondrion function (7)	signal pathway (12)
immune and inflammatory (12)	transcription (7)	mitochondrion function (10)
transcription (12)	Inflammatory (5)	Inflammatory (7)
ion transporter (10)	signal pathway (5)	transcription (5)
stress response (6)	oxidoreductase (4)	acute phase protein (4)
signal pathway (6)	structural molecular (4)	cell growth and apoptosis (4)
lipid metabolism (5)	oxidative stress (3)	ion transporter (4)
oxidoreductase (5)	amyloid (3)	lipid metabolism (4)
protein translation (4)	cell growth (2)	ubiquitin (4)
apoptosis (3)	acute phase protein (2)	oxidoreductase (3)
structural molecular (3)	oxidative stress (2)
acute phase protein (2)		structural molecular (2)
...

図4 タモキシフェン誘導体投与によるマウス子宮の形態変化



-OH : 4-hydroxytamoxifen, chem.: desethyltamoxifen, TAM: tamoxifen, Tore: tremifen

表8 タモキシフェン誘導体処理により肝臓および子宮で発現変化した遺伝子数

	肝臓				子宮			
	up		down		up		down	
	24hr	4hr	24hr	4hr	24hr	4hr	24hr	4hr
4OH	185	74	233	84	439	269	618	246
Tam	139	69	155	55	348	276	346	471
Tre	173	78	153	95	405	24	805	12
ΔC2H5	67	92	132	82	112	196	122	275
	564	313	673	316	1304	765	1891	1004
sum	877		989		2069		2895	
identified genes	1158				2807			

表9 タモキシフェン誘導体処理により肝臓において共通して発現変化の見られた遺伝子

	control		Tre	Tam	4OH	ΔC2H5	Tre	Tam	4OH	ΔC2H5	Gene Name	score	Description																			
	4h	24h	4h				24h																									
	FRow	FRow	FRow	FRow	FRow	FRow	FRow	FRow	FRow	FRow				FRow	FRow	FRow	FRow															
A 65	86	218	207	240	168	303	200	475	321	637	336	445	279	888	414	1.01	A 64	7	growth differentiation factor 15													
P 44	P	20	194	P	36	886	P	139	275	P	53	234	P	46	1817	P	759	2103	P	880	950	P	399	1.34	P	57	6	monocyte to macrophage differentiation-1				
P 108	P	177	155	P	270	111	P	203	177	P	305	153	P	271	408	P	422	271	P	280	463	P	480	268	P	216	5	5	RIKEN cDNA 5730582L21 gene			
P 90	P	26	238	P	65	187	P	98	216	P	80	478	P	124	178	P	152	153	P	166	173	P	149	1.11	P	86	5	5	RIKEN cDNA 1700012B18 gene			
P 175	P	152	157	P	235	182	P	288	112	P	168	161	P	275	284	P	477	213	P	358	352	P	595	1.10	P	188	5	5	RIKEN cDNA A230075M04 gene			
A 31	A	8	742	M	61	1138	P	98	117	P	91	759	M	63	413	P	122	486	P	146	376	P	111	1.23	A	37	5	5	interleukin 17 receptor			
P 83	P	86	133	P	119	106	P	113	182	P	123	177	P	116	182	P	145	183	P	154	197	P	157	1.42	P	114	6	5	RIKEN cDNA 2010011I20 gene			
A 40	A	32	200	P	63	185	P	64	195	P	61	156	A	56	221	P	84	197	P	75	240	P	91	1.37	P	52	5	5	transcription factor 21			
P 48	P	99	102	P	100	078	P	80	078	P	74	063	P	65	268	P	124	206	P	95	349	P	182	3.92	P	182	4	4	tubulin, beta 2			
P 174	P	250	089	P	220	089	P	229	086	P	209	072	P	180	200	P	334	211	P	352	200	P	338	1.98	P	333	4	4	RIKEN cDNA 2310003F16 gene			
A 5	A	5	48	0.80	P	38	0.59	A	29	0.79	P	37	0.88	A	42	7.87	P	38	8.36	P	42	8.18	P	41	6.91	P	35	4	4	ubiquitin-conjugating enzyme E2G 2		
P 296	P	309	1.42	P	433	103	P	329	108	P	325	0.98	P	304	1.87	P	531	1.88	P	561	1.85	P	528	1.89	P	484	4	4	RIKEN cDNA 5730408115 gene			
P 88	P	149	0.97	P	143	103	P	159	107	P	155	0.89	P	132	4.68	P	376	3.82	P	322	5.07	P	429	2.21	P	188	4	4	stromal cell-derived factor 2-like 1			
P 355	P	754	1.11	P	829	1.13	P	884	1.16	P	857	0.96	P	728	1.88	P	643	1.85	P	629	2.01	P	688	2.32	P	798	4	4	B-cell receptor-associated protein 37			
P 363	P	490	1.35	P	655	0.80	P	403	1.37	P	654	1.10	P	537	8.82	P	910	3.32	P	809	3.26	P	1139	2.19	P	787	4	4	arginine-rich, mutated in early stage tumor			
P 80	P	88	1.18	P	101	1.02	P	93	1.26	P	109	1.11	P	98	2.28	P	131	1.93	P	111	2.61	P	150	2.44	P	142	4	4	RIKEN cDNA 120002G13 gene			
P 53	P	119	0.82	P	96	0.94	P	118	1.37	P	180	1.12	P	133	2.00	P	101	2.30	P	111	2.11	P	107	2.18	P	111	4	4	hemopoietic cell phosphatase			
P 707	P	595	1.81	P	1062	1.55	P	955	1.51	P	1076	1.33	P	987	1.26	P	851	1.81	P	1230	2.04	P	1392	1.72	P	1177	4	4	RIKEN cDNA 2310020H20 gene			
P 654	P	598	1.46	P	863	1.06	P	651	1.04	P	605	1.68	P	987	1.74	P	1716	2.94	P	1843	2.57	P	1618	1.65	P	1042	4	4	leukemia inhibitory factor receptor			
P 86	P	102	1.80	P	181	1.70	P	178	1.97	P	196	1.87	P	190	1.23	P	113	1.14	P	106	1.90	P	178	0.70	P	66	4	4	inhibin beta E			
P 804	P	530	1.83	P	988	1.80	P	1040	1.93	P	988	1.87	P	868	0.92	P	713	0.44	P	342	0.72	P	558	1.15	P	893	4	4	RIKEN cDNA 3300001H21 gene			
P 131	P	32	3.06	P	113	2.90	P	92	2.80	P	68	2.95	P	73	0.68	P	85	0.48	P	81	0.96	P	108	0.96	P	123	4	4	RIKEN cDNA 2310066P17 gene			
A 15	A	7	2.53	A	17	2.48	P	17	3.85	P	24	2.33	A	15	2.32	P	37	3.02	P	44	1.57	M	23	1.78	M	26	4	4	Mus musculus adult male hypothalamus cD			
P 183	P	246	1.89	P	410	1.38	P	345	1.38	P	1773	1.08	P	269	1.84	P	284	2.94	P	545	2.27	P	423	0.85	P	158	4	4	serum amyloid A 1			
A 98	A	13	4.20	A	53	15.08	P	188	7.99	A	99	7.17	A	91	7.77	P	897	12.87	P	1165	6.31	P	682	0.76	A	71	4	4	monocyte to macrophage differentiation-1			
P 97	P	264	0.51	P	132	0.69	P	188	0.49	P	126	0.38	P	101	0.43	P	40	0.88	P	63	0.38	P	34	1.05	P	99	5	5	RIKEN cDNA 5830413E08 gene			
P 121	P	146	0.49	P	71	0.79	P	120	0.32	P	46	0.67	P	127	0.86	P	100	0.51	P	68	0.40	P	47	0.46	P	54	5	5	inactive X specific transcript			
P 58	P	84	0.77	P	64	1.03	P	89	0.64	P	44	0.82	P	89	0.43	P	28	0.35	A	23	0.28	A	19	0.63	P	35	5	5	Mus musculus, clone IMAGE5088657			
P 731	P	1403	0.65	P	768	0.88	P	844	0.72	P	981	0.48	P	598	0.68	P	477	1.10	P	769	0.45	P	313	0.98	P	219	5	5	lipin 1			
P 605	P	240	1.89	P	401	0.71	P	178	1.24	P	291	1.91	P	457	0.40	P	232	0.30	P	174	0.63	P	364	0.50	P	498	4	4	non-POU-domain-containing, octamer bind			
P 638	P	210	0.98	P	199	1.73	P	374	1.02	P	210	1.19	P	250	0.48	P	295	0.56	P	344	0.60	P	302	0.38	P	219	4	4	cytochrome P450, 51			
P 278	P	110	1.35	P	148	0.87	P	100	1.14	P	123	1.13	P	191	0.48	P	146	0.48	P	128	0.35	P	92	0.51	P	134	0.56	P	150	4	4	retinol dehydrogenase 11
P 192	P	64	1.81	P	100	1.27	P	73	1.15	P	63	1.83	P	102	0.31	P	58	0.40	P	73	0.38	P	70	0.48	P	90	4	4	bile acid-Coenzyme A: amino acid N-acyl			
P 139	P	84	1.02	P	87	1.23	P	84	2.17	P	140	1.25	P	83	0.25	P	47	0.23	P	44	0.40	P	53	0.52	P	70	4	4	DNA segment, Chr 18, ERATO Doi 240, exc			
P 878	P	1738	0.51	P	888	0.44	P	791	0.57	P	974	0.51	P	890	1.12	P	949	0.90	P	757	1.18	P	971	1.11	P	940	4	4	glucocorticoid-induced leucine zipper			
P 237	P	609	0.83	P	317	0.66	P	345	0.53	P	284	0.45	P	229	0.82	P	141	0.71	P	162	0.48	P	109	1.38	P	316	4	4	dual specificity phosphatase 1			
P 170	P	340	0.35	P	119	0.53	P	187	0.54	P	181	0.29	P	100	0.67	P	110	0.68	P	111	0.70	P	114	0.94	P	154	4	4	hypothetical protein MGG7221			
P 283	P	275	0.47	P	128	0.96	P	272	0.51	P	137	0.55	P	151	0.73	P	199	0.80	P	218	0.39	P	106	0.75	P	205	4	4	potassium channel, subfamily K, member 5			
P 146	P	189	0.67	P	107	0.62	P	122	0.57	P	106	0.67	P	109	0.72	P	102	0.72	P	101	0.52	P	73	0.83	P	117	4	4	RIKEN cDNA 1110038H21 gene			
P 123	P	151	0.80	P	90	0.84	P	131	0.53	A	78	0.82	P	83	0.24	A	40	0.51	A	80	0.57	M	68	0.99	P	118	4	4	receptor (calcitonin) activity modifying prof			
P 52	P	41	0.90	P	24	1.62	P	69	0.59	M	24	0.99	P	40	0.50	P	25	0.51	P	25	0.28	P	14	0.43	P	21	4	4	RIKEN cDNA 1110030N17 gene			
P 632	P	876	0.98	P	371	0.87	P	606	0.77	P	508	0.42	P	285	1.08	P	847	0.58	P	350	0.53	P	360	0.79	P	498	4	4	zinc finger protein 36			
P 338	P	243	0.88	P	138	0.89	P	223	0.79	P	187	0.70	P	169	0.45	P	147	0.48	P	148	0.46	P	161	0.83	P	272	4	4	acetyl-Coenzyme A synthetase 2 (ADP for			
P 789	P	510	0.93	P	470	0.97	P	512	0.82	P	408	1.10																				

表 10 タモキシフェン誘導体処理した肝臓における遺伝子傷害関連遺伝子の発現変化

Gene Name	control		4OH		Tam		Tre		ΔC2H5		Common	Description						
	24h	4h	24h	4h	24h	4h	24h	4h	24h	4h								
	FI Raw	FI Raw	ratio F Raw															
GADD45g	119	2.27 P	140	0.56 P	66	0.87 P	53	0.87 P	83	1.46 P	90	0.23 A	27	1.82 P	119	0.06 A	7	Gadd45g
protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 3	243	4.02 P	246	0.93 P	366	1.13 P	264	0.53 P	221	1.34 P	313	0.75 P	300	0.86 P	204	0.21 A	83	Ppp1r3c
RBKEN cDNA 5830413E08 gene	264	0.38 P	34	0.48 P	126	0.88 P	63	0.89 P	188	0.43 P	40	0.51 P	132	1.05 P	99	0.38 P	101	5830413E08
glucocorticoid-induced leucine zipper	509	0.48 P	109	0.53 P	264	0.71 P	162	0.86 P	345	0.82 P	141	0.83 P	317	1.38 P	316	0.45 P	229	Guz
glucocorticoid-induced leucine zipper	661	0.56 P	179	0.55 P	355	0.85 P	276	0.73 P	496	0.91 P	296	0.77 P	505	1.00 P	330	0.49 P	321	Guz
protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 3	115	0.96 P	85	1.03 P	116	1.09 P	97	0.69 P	82	1.00 P	89	0.76 P	87	0.99 P	89	0.44 A	31	Ppp1r3c
RBKEN cDNA 1300007C21 gene	658	0.47 A	53	0.91 P	586	1.15 A	129	0.60 P	407	0.78 A	90	0.49 P	317	1.23 P	140	0.85 P	381	1300007C21
crystallin, alpha B	242	1.07 P	132	0.85 P	223	1.38 P	169	0.74 P	185	1.00 P	123	0.83 P	127	0.87 P	107	0.88 P	140	Cryab
activated leukocyte cell adhesion molecule	49	1.23 P	70	0.71 P	34	1.09 P	62	1.14 P	57	0.92 P	52	0.82 P	30	0.56 P	32	0.49 P	24	Alcam
neuroblastoma ras oncogene	62	0.61 P	29	0.57 P	35	1.09 P	52	0.89 P	44	0.61 P	29	0.50 A	31	0.48 P	23	0.54 A	34	Nras
COR4 carbon catabolite repression 4-like	287	0.36 P	65	0.82 P	229	1.02 P	192	0.89 P	282	0.84 P	159	0.80 P	225	0.88 P	129	0.66 P	190	Com4
tubulin, beta 2	99	2.06 P	95	0.76 P	74	2.88 P	124	0.78 P	80	3.48 P	162	1.02 P	100	3.82 P	182	0.63 P	63	Tubb2
insulin-like growth factor binding protein 1	693	1.45 P	386	0.84 P	431	2.09 P	555	1.84 P	1321	0.83 P	169	0.63 P	434	1.40 P	376	0.74 P	511	Igfbp1
apurinic/apyrimidinic endonuclease 1	535	0.67 P	351	0.99 P	518	1.07 P	559	0.48 P	268	1.22 P	640	1.11 P	586	1.22 P	647	0.78 P	406	Apex1
adenomatous polyposis coli	78	0.83 P	52	0.81 P	46	0.81 P	57	0.73 P	58	0.74 P	47	0.50 P	38	0.83 P	53	0.89 P	53	Apc
retinoblastoma protein 4	319	0.47 P	109	0.82 P	194	1.23 P	284	0.82 P	271	1.38 P	321	0.60 P	188	1.35 P	315	0.80 P	253	Rbbp4
regulator of G-protein signaling 16	149	0.76 P	197	0.36 P	55	0.71 P	185	1.11 P	172	0.21 P	54	0.99 P	146	0.99 P	259	0.77 P	115	Rgs18
stress induced protein	178	0.67 P	109	0.81 P	139	0.80 P	129	1.09 P	196	0.59 P	97	0.98 P	167	0.58 P	97	0.79 P	140	Stnp
apurinic/apyrimidinic endonuclease 1	158	1.21 P	99	0.81 P	123	1.58 P	129	0.79 P	127	1.87 P	154	0.87 P	134	1.89 P	153	0.79 P	124	Apex1
expressed sequence A127257	127	2.80 P	279	0.90 P	187	0.66 P	187	0.66 P	87	2.90 P	213	0.88 P	85	1.01 P	75	0.80 P	101	Ciah2
programmed cell death 8 interacting protein	128	0.65 P	97	0.53 P	65	0.79 P	118	1.00 P	130	1.02 P	153	0.87 P	84	0.73 P	110	0.84 P	105	Pdcd8ip
carbonic anhydrase 3	1917	0.36 P	996	0.66 P	1236	0.47 P	1277	1.03 P	2047	0.39 P	1078	0.77 P	1455	1.03 P	2859	0.89 P	1702	Ca3
fascin homolog 1, actin bundling protein	7	8.45 A	45	1.82 A	12	5.90 A	41	1.78 A	14	4.14 P	29	0.30 A	2	1.79 A	13	0.50 A	4	Fscn1
RBKEN cDNA B130055L10 gene	132	0.78 P	150	0.82 P	106	1.05 P	201	1.78 P	243	0.85 P	164	0.78 P	102	0.71 P	138	0.91 P	119	A1481106
cytochrome P450, 1a2, aromatic compound inducible	1867	0.53 P	940	0.99 P	1795	0.74 P	1311	0.95 P	1838	0.79 P	1407	0.87 P	1612	1.26 P	2451	0.97 P	1814	Cyp1a2
suppressor of cytokine signaling 2	131	2.71 P	300	0.88 P	88	1.72 P	190	0.86 P	89	2.08 P	229	0.85 P	110	0.78 P	87	0.87 P	127	Ciah2
cytochrome P450, 2a9	440	0.75 P	304	1.84 P	704	0.63 P	256	0.88 P	392	1.15 P	470	1.14 P	494	1.68 P	689	1.05 P	482	Cyp2a9
long chain fatty acyl elongase	162	0.51 P	82	0.77 P	122	0.76 P	93	0.75 P	125	0.79 P	97	0.87 P	139	1.31 P	162	1.00 P	163	Lox-pend1
REV3-like	86	0.98 P	47	0.49 P	32	0.93 P	76	0.89 P	60	0.98 P	81	1.06 P	69	0.93 P	76	0.91 P	80	Rev3l
trans-acting transcription factor 1	51	0.82 P	39	0.74 P	37	0.82 P	47	1.18 P	62	0.83 P	62	0.83 P	44	0.87 P	51	0.89 P	45	So1
phosphatase and tensin homolog	158	0.51 P	96	0.81 P	125	0.87 P	127	1.09 P	177	0.87 P	165	0.90 P	140	0.99 P	169	1.02 P	162	Pten
glutathione S-transferase, alpha 3	608	0.58 P	327	1.12 P	659	0.81 P	355	0.94 P	582	0.60 P	350	1.19 P	706	1.02 P	597	1.13 P	677	Gsta3
glutathione S-transferase, mu 3	153	0.50 P	97	1.28 P	186	0.81 P	155	1.28 P	202	0.58 P	108	1.14 P	172	1.44 P	279	1.07 P	163	Gstm3
breast cancer 2	47	0.84 P	32	0.49 P	23	0.84 P	46	1.08 P	53	0.86 P	43	0.71 P	33	0.88 P	34	0.92 P	44	Brcs2
sterol-C5-desaturase homolog (S. cerevisiae)	1143	0.89 P	1237	0.80 P	1001	0.54 P	973	0.90 P	1066	0.83 P	1138	0.99 P	1120	0.81 P	1469	1.17 P	1339	Sc5d
PRKC, apoptosis, WT1, regulator	45	1.53 P	25	0.78 A	33	1.42 P	23	0.83 P	36	0.91 P	43	0.88 P	39	2.69 P	42	0.97 P	43	Pawr
Tnf receptor associated factor 4	87	0.80 P	38	1.01 A	66	1.71 P	72	1.18 A	82	2.10 P	89	0.99 A	85	1.15 A	49	1.05 A	70	Traf4
tubulin, alpha 1	250	1.74 P	584	1.16 P	283	1.71 P	574	0.93 P	240	1.86 P	633	1.21 P	300	1.52 P	514	1.25 P	313	Tuba1
Down syndrome critical region homolog 1 (human)	124	0.84 P	53	1.86 P	260	0.83 P	68	1.00 P	138	1.81 P	133	1.26 P	168	1.14 P	94	1.20 P	161	Dscr1
CASP8 and FADD-like apoptosis regulator	84	0.46 P	40	1.06 P	87	0.84 P	83	1.10 P	96	1.16 P	103	1.24 P	103	1.02 P	91	1.17 P	96	Cflar
serum amyloid A 2	92	1.92 P	116	1.06 P	817	1.03 P	62	1.20 P	114	1.82 P	99	1.43 P	130	0.77 P	47	1.19 P	109	Saa2
cytosolic acyl-CoA thioesterase 1	366	3.63 P	298	0.94 P	398	1.70 P	140	0.94 P	354	1.34 P	111	1.88 P	609	0.89 P	74	1.33 P	486	Cta1
cyclin D1	361	1.91 P	410	1.13 P	397	1.54 P	330	0.85 P	317	1.44 P	309	0.79 P	281	1.22 P	265	1.40 P	504	Cond1
serum amyloid A 2	115	1.66 P	189	0.87 P	1118	1.27 P	152	1.87 P	196	1.33 P	160	1.87 P	189	0.65 P	79	1.33 P	153	Saa2
pleckstrin homology-like domain, family A, member 1	173	1.14 P	390	1.28 P	216	1.09 P	371	1.38 P	247	1.50 P	514	1.13 P	193	0.57 P	195	1.44 P	249	Phlda1
acetyl-Coenzyme A carboxylase beta	149	0.32 A	54	1.14 P	166	0.57 P	97	1.16 P	179	0.62 A	106	1.37 P	201	0.85 P	112	1.46 P	217	Acacb
RBKEN cDNA 9530051K01 gene	50	0.86 P	24	2.13 P	103	1.26 P	46	1.13 P	58	1.18 P	43	1.33 P	65	1.43 P	53	1.33 P	86	86
caspace 7	10	0.83 P	15	1.63 A	17	0.77 P	18	2.42 P	26	0.52 A	12	1.44 P	15	0.40 P	9	0.97 A	10	Casp7
fatty acid binding protein 5, epidermal	137	1.96 P	389	1.05 P	140	1.33 P	260	0.97 P	136	1.74 P	342	1.48 P	200	0.66 P	131	1.74 P	238	Fabp5
peroxiredoxin 4	45	0.98 P	59	1.29 P	57	0.91 P	63	1.17 P	54	1.74 P	121	2.08 P	93	1.13 P	79	1.59 P	72	Prdx4
cytochrome P450, 2b20	368	0.38 A	83	1.13 P	407	0.85 A	186	0.79 P	302	0.49 A	106	0.77 P	281	3.00 P	864	2.44 P	897	Cyp2b20
growth arrest and DNA-damage-inducible 45 beta	17	1.82 A	26	0.65 A	32	0.49 A	8	0.91 A	47	1.36 A	22	0.53 A	27	1.50 A	24	2.03 P	102	A123528
ring finger protein 7	46	1.00 P	59	1.72 P	77	0.98 P	57	1.10 P	52	1.18 P	70	1.94 P	87	1.43 P	85	2.02 P	92	Rnf7
cytochrome P450, 2b20	468	0.98 P	106	0.88 P	391	0.65 P	193	0.75 P	361	0.54 P	162	0.70 P	321	2.97 P	895	2.31 P	1176	Cyp2b20
cytochrome P450, 2b10, phenobarbital inducible, type	361	0.38 P	84	0.91 P	397	1.28 P	180	0.69 P	263	0.58 P	129	0.77 P	281	2.76 P	819	2.59 P	958	Cyp2b10
early growth response 1	37	1.15 P	59	1.17 P	43	1.06 P	54	1.71 P	66	0.93 P	48	1.28 P	46	0.37 P	19	3.72 P	139	Egr1
granzyme A	11	1.24 P	28	2.63 A	29	0.88 P	20	2.79 A	32	1.24 P	29	2.88 P	29	1.20 P	28	3.00 P	33	Gzma
myelocytomatous oncogene	12	0.64 P	42	2.30 A	28	0.48 A	32	3.91 P	39	0.49 A	32	1.49 A	18	0.90 P	59	3.37 A	42	Myc
growth differentiation factor 15	68	1.45 P	279	0.93 P	200	3.37 P	336	2.40 P	168	5.96 P	414	3.19 P	207	1.01 A	64	4.78 P	321	Gdf15
chemokine (C-X-C motif) ligand 1	4	1.17 A	25	7.88 P	33	0.99 A	21	4.59 A	20	1.22 A	26	4.17 A	17	0.36 A	8	2.90 A	12	Cxcl1

表 11 タモキシフェン誘導体処理による肝臓における CYP 関連遺伝子群の発現変化

CYP type	control		4OH		Tam	
----------	---------	--	-----	--	-----	--

図5 タモキシフェン誘導体処理した肝臓において選択した遺伝子の Ontology tree 解析

