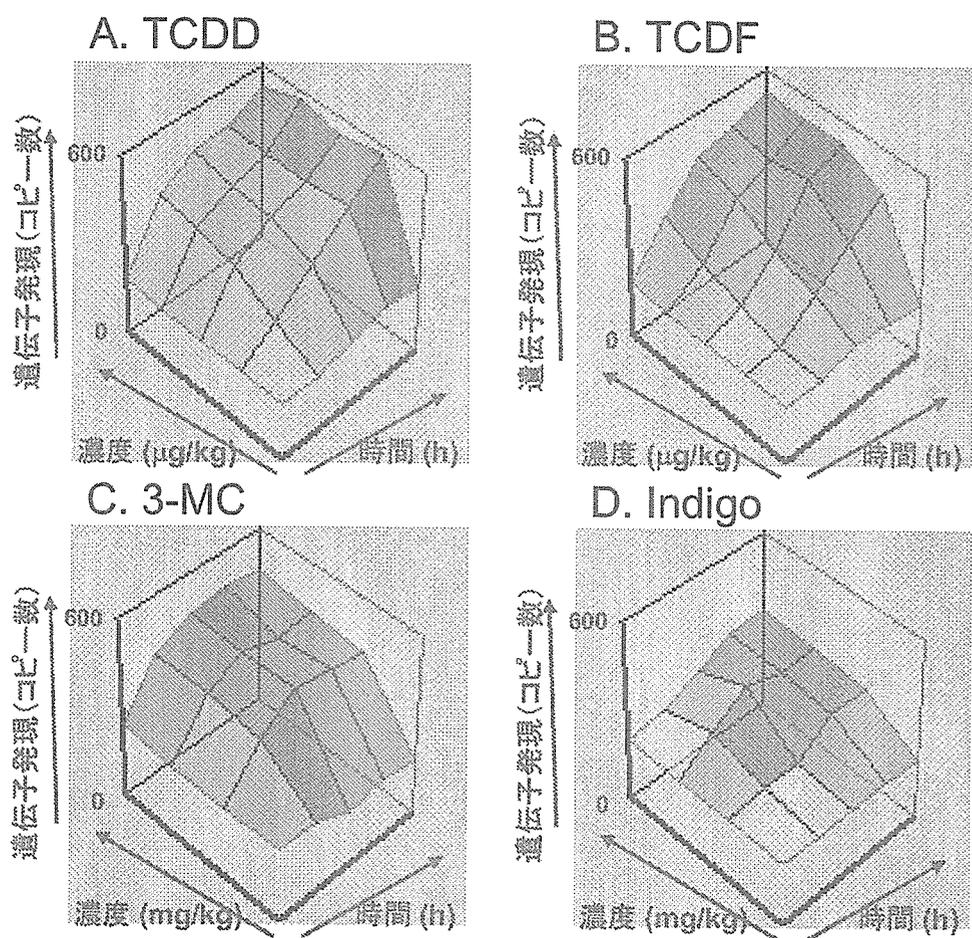


A図7. Cyp1a1遺伝子の発現パターン

TCDD (A), TCDF (B), 3-MC (C), Indigo (D)投与時のCyp1a1遺伝子の発現パターンを示す。

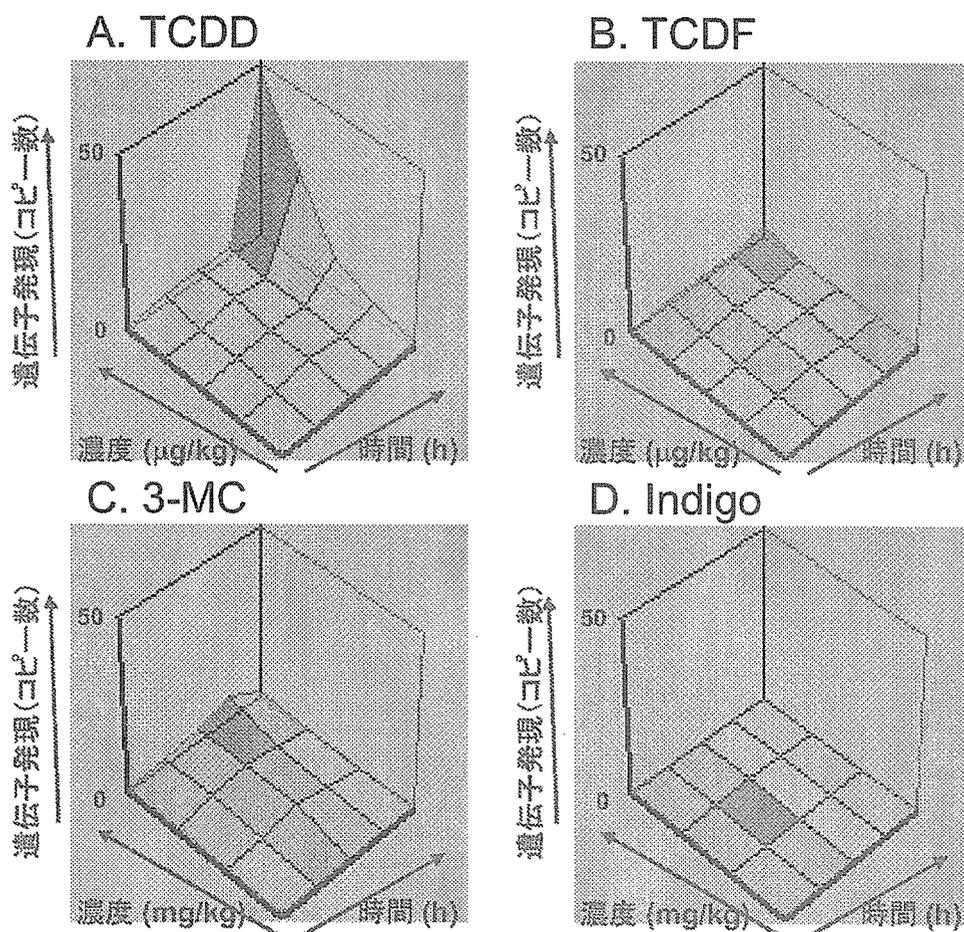
グラフの濃度軸と時間軸とは図1-3と同様である。遺伝子発現は、細胞1個あたりに発現しているコピー数で表しており、発現軸は4物質ともに0コピーから500コピーに固定している。



**A図8. Cyp1a2遺伝子の発現パターン**

TCDD (A), TCDF (B), 3-MC (C), Indigo (D)投与時のCyp1a2遺伝子の発現パターンを示す。

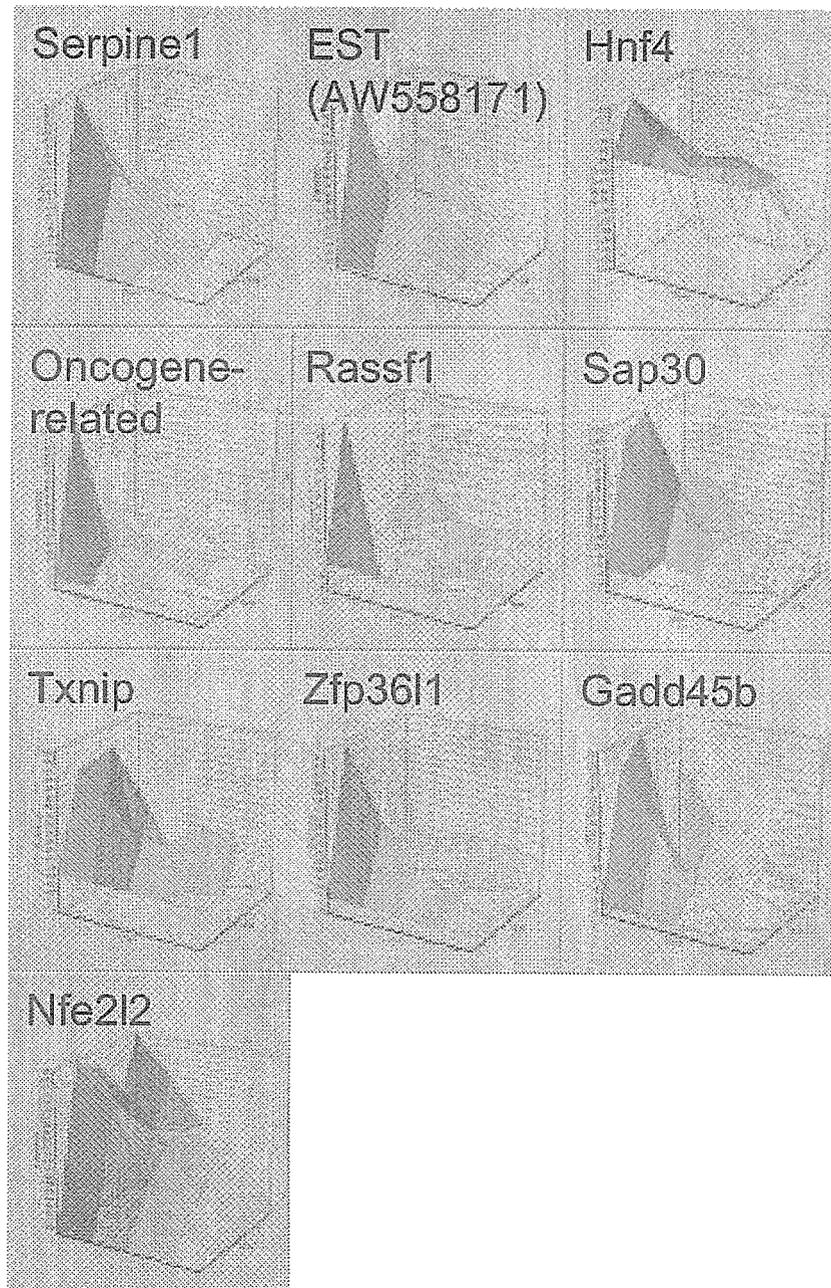
グラフの濃度軸と時間軸とは図1-3と同様である。遺伝子発現は、細胞1個あたりに発現しているコピー数で表しており、発現軸は4物質ともに0コピーから600コピーに固定している。



**A図9. Cyp1b1遺伝子の発現パターン**

TCDD (A), TCDF (B), 3-MC (C), Indigo (D)投与時のCyp1b1遺伝子の発現パターンを示す。

グラフの濃度軸と時間軸とは図1-3と同様である。遺伝子発現は、細胞1個あたりに発現しているコピー数で表しており、発現軸は4物質ともに0コピーから50コピーに固定している。



**A図10. TCDDにより早期に誘導される遺伝子群**  
 投与後2時間もしくは4時間時に発現のピークを迎える遺伝子群を抽出した。これらは他の3種類のAhR作動性化学物質に於いても同様に誘導された。

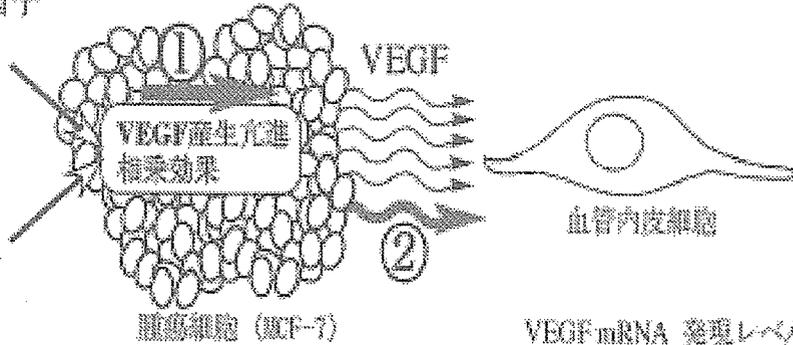
血管新生抑制物質のin vitro安全予測システムの構築に関する研究

～VEGF産生亢進時に、その発現が変化する遺伝子群の探索～

a) VEGF産生促進因子

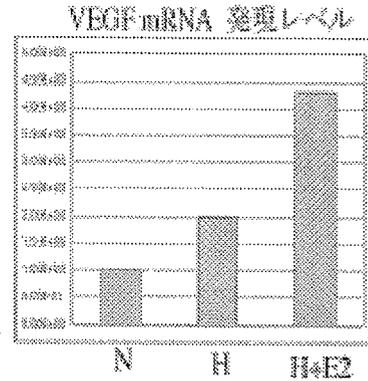
E2, TGF- $\beta$ 1,  
IGF-1, PDGF-BB,  
bFGF

b) 低酸素 (2%)



① VEGF産生を相乗的に増加させる機構

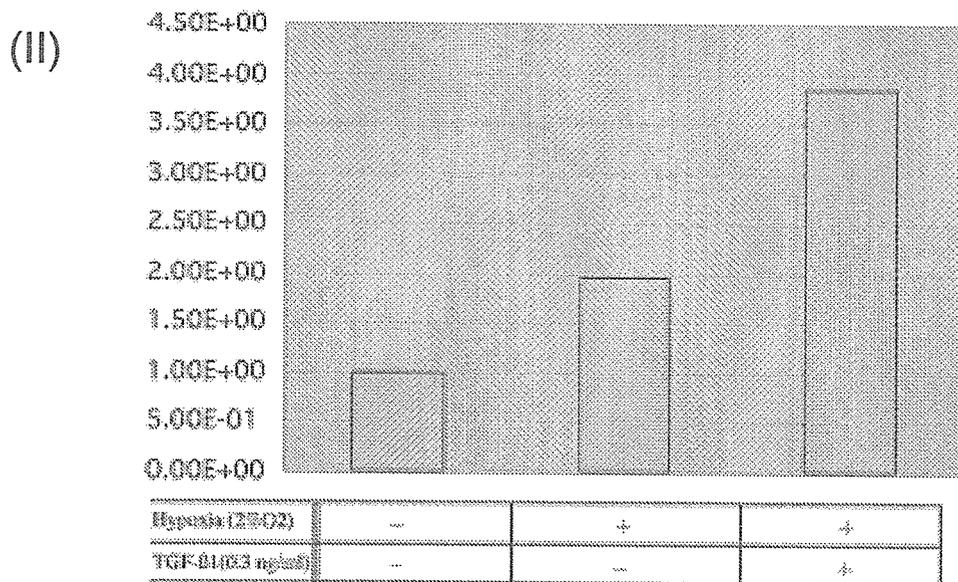
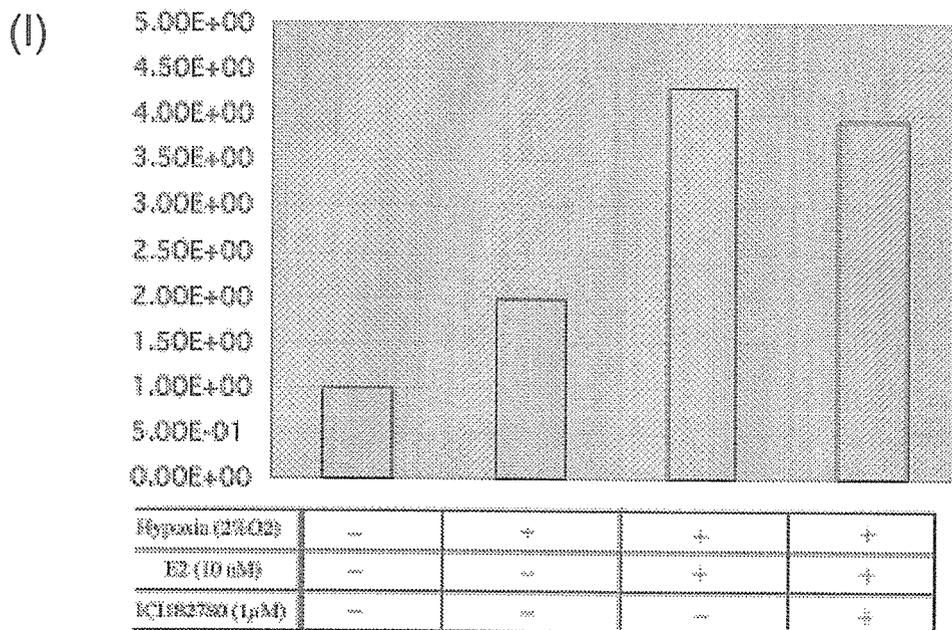
② VEGF産生亢進時に有効な他の血管新生経路



N: Normoxia (O2: 20%)  
H: Hypoxia (O2: 2%)

B図1 腫瘍血管新生に関する研究

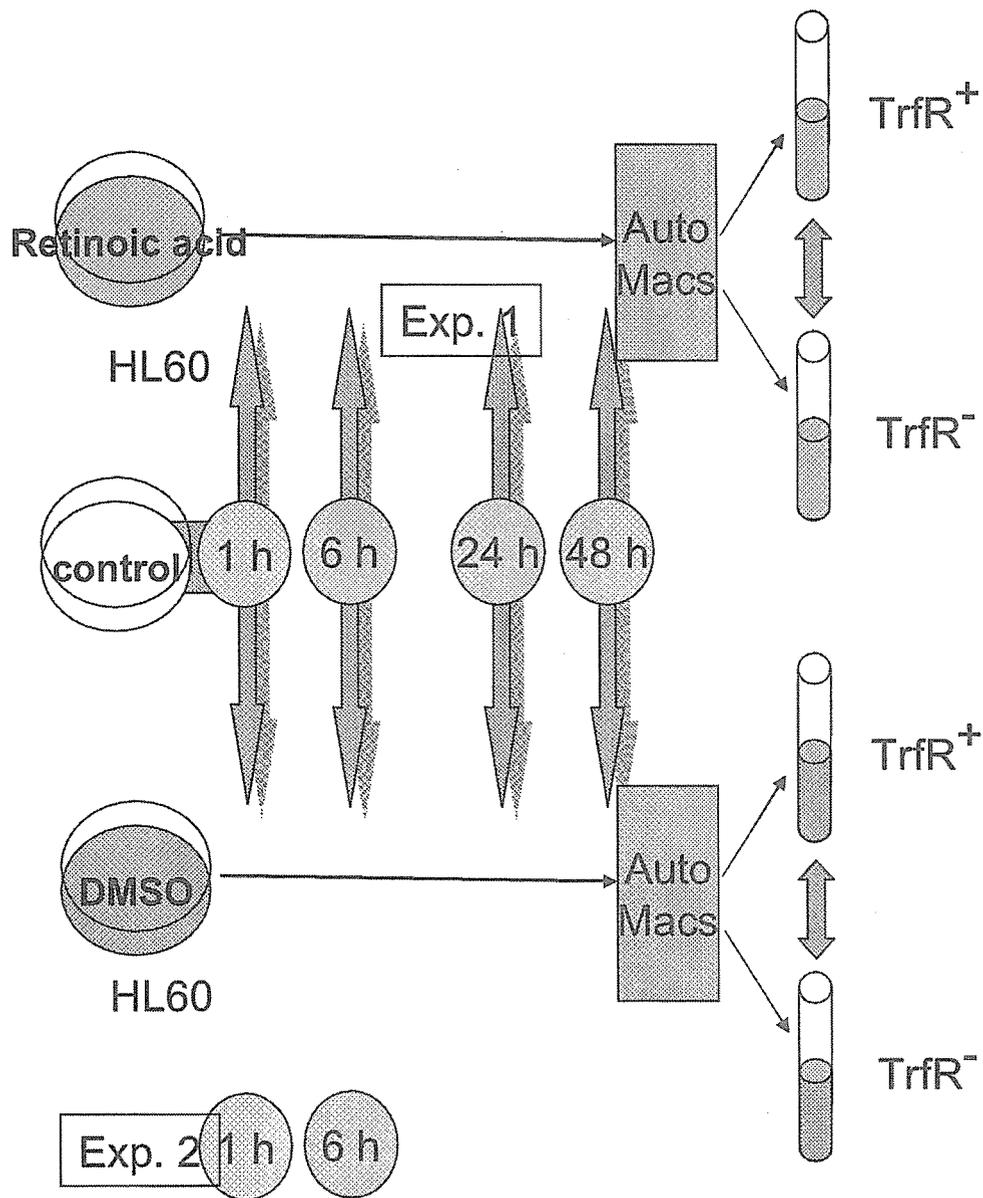
恒常性維持機構が腫瘍により破綻したために起こる血管新生に関する研究として、腫瘍細胞から血管新生因子VEGFの産生が亢進するメカニズムを網羅的遺伝子発現解析により検討した。



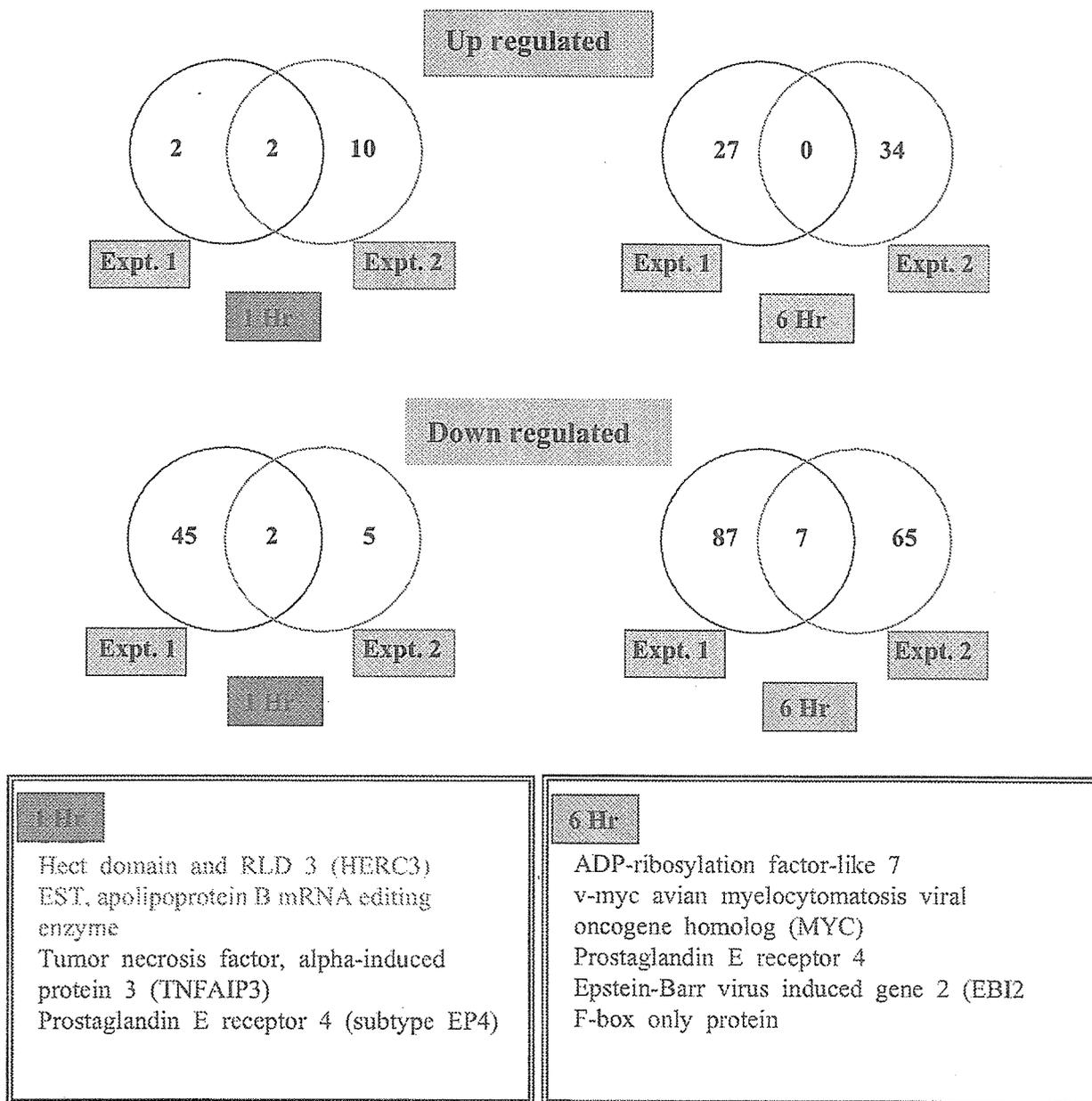
**B 図2**  
**低酸素条件とE2またはTGFによるVEGF発現変化**

MCF-7細胞に対し、低酸素(2%O<sub>2</sub>)もしくはE2(10nM)またはTGF-β(0.3ng/ml)を負荷し、VEGF mRNA量を定量的RT-PCR法により測定した。

- (I) E2による変化
- (II) TGF-βによる変化



C図1 レチノイン酸およびDMSOによるHL60細胞の分化誘導実験のスキーム



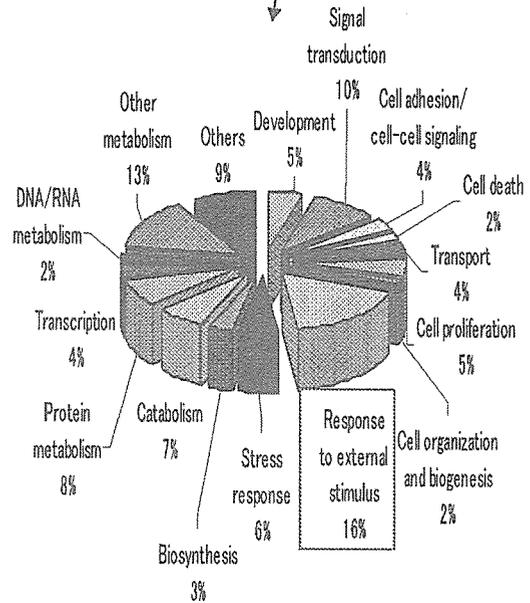
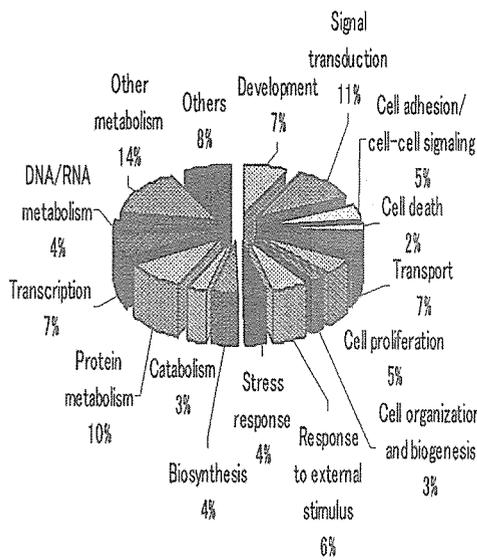
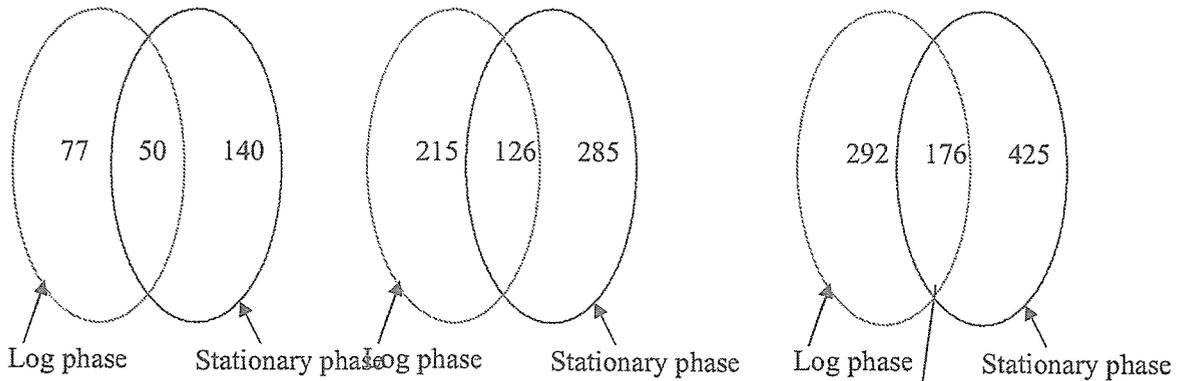
**C図2**

分化初期の変化としてDMSOとレチノイン酸で共通性を持って変化した遺伝子の実験間での比較と選択された遺伝子リスト

赤字は発現上昇、青字は発現低下した遺伝子を示す。

Up regulated probe sets Down regulated probe sets

Modulated probe sets

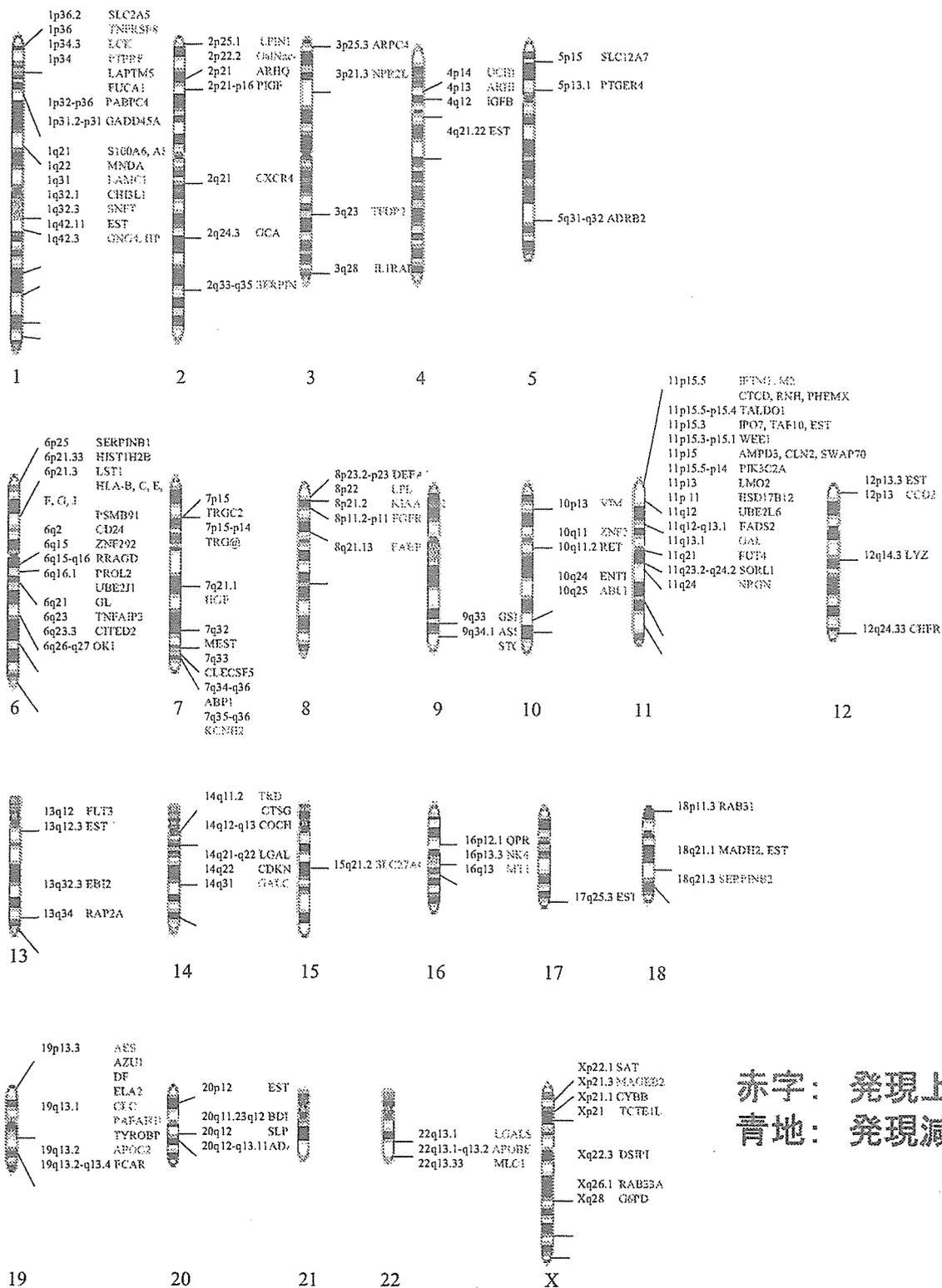


HG-U133A アレイ全体の機能別分類  
(12304/22283)

共通性を持って差のあった遺伝子  
(129/176)

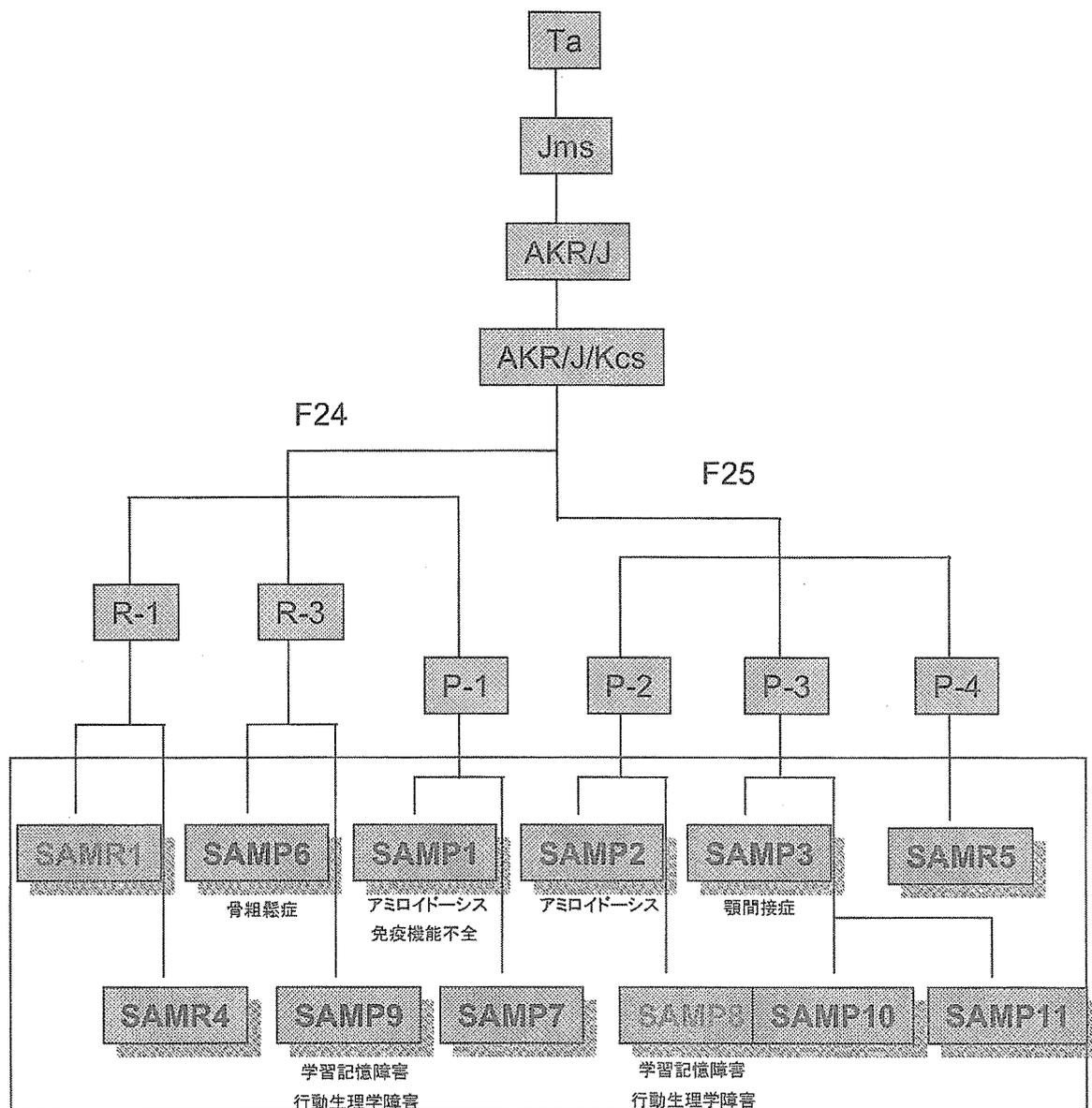
C図3

HL60とHL-60RG細胞間での比較により発現差のあった遺伝子と、対数増殖期と定常において共通性のあった遺伝子の機能による分類



赤字: 発現上昇  
青地: 発現減少

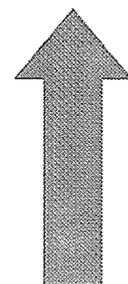
C图4 HL-60RG株にて発現変化の見られた遺伝子の染色体上の分布



D図1 老化促進マウスの系統樹

SAMマウス: Senescence Accelerated Mouse)は京都大学胸部疾患研究所の竹田教授らがAKR/Jと不明の系統との交雑から偶発的に発生した老化が加速的に進行する個体同士をかけあわせて確立した系統である。SAMP1-11などのsublineがあり、いずれも早期に老化兆候を示すが、その主な症状は、骨粗鬆症や、学習記憶障害などの差がある。

| Flags | SAMR1 | Ratio  | Flags | SAMP8 | Gene Name  |
|-------|-------|--------|-------|-------|--|
| A     | 2     | 202.73 | P     | 304   | melanoma antigen   |
| A     | 8     | 61.15  | P     | 495   | melanoma antigen, 80 kDa                                     |
| A     | 29    | 37.10  | P     | 1080  | chemokine (C-C motif) ligand 19                              |
| A     | 4     | 31.51  | P     | 117   | lysozyme   |
| A     | 7     | 15.51  | P     | 115   | histocompatibility 2, D region, locus 1                      |
| A     | 1     | 13.29  | P     | 9     | RIKEN cDNA 0610009D07 gene                                   |
| A     | 12    | 11.25  | P     | 137   | xanthine dehydrogenase                                       |
| P     | 116   | 8.15   | P     | 947   | unknown EST, full insert sequence.                           |
| A     | 18    | 7.09   | P     | 126   | Von Willebrand factor homolog                                |
| A     | 20    | 6.36   | P     | 128   | RIKEN cDNA 2310076O21 gene                                   |
| A     | 93    | 5.19   | P     | 484   | RIKEN cDNA 2810477H02 gene                                   |
| A     | 134   | 4.16   | P     | 556   | phosphatidylinositol glycan, class O                         |
| A     | 125   | 3.93   | P     | 489   | galactosylceramidase   |
| A     | 14    | 3.92   | P     | 53    | RIKEN cDNA 1110018N24 gene                                   |
| A     | 155   | 3.88   | P     | 603   | phosphatidylinositol glycan, class O                         |
| A     | 31    | 3.66   | P     | 112   | cadherin 11  |
| P     | 296   | 3.62   | P     | 1070  | RIKEN cDNA D130027G05 gene                                   |
| A     | 131   | 3.60   | P     | 471   | angiotensinogen  |
| P     | 29    | 3.47   | P     | 100   | ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1A      |
| P     | 19    | 3.36   | P     | 62    | L-3-hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase, short chain        |
| P     | 27    | 3.32   | P     | 91    | beclin 1 (coiled-coil, myosin-like BCL2-interacting protein) |
| A     | 18    | 3.11   | P     | 56    | fibromodulin   |
| A     | 28    | 3.05   | P     | 85    | RIKEN cDNA 2810431B21 gene                                   |
| A     | 20    | 3.00   | P     | 61    | X-linked lymphocyte-regulated 3a                             |
| A     | 11    | 2.99   | P     | 34    | similar to zinc finger protein 113                           |
| A     | 25    | 2.98   | P     | 74    | proline-serine-threonine phosphatase-interacting protein 2   |
| A     | 25    | 2.96   | P     | 74    | Mus musculus, clone IMAGE:5364905, mRNA, partial cds         |
| P     | 790   | 2.94   | P     | 2320  | cadherin 11  |
| P     | 79    | 2.93   | P     | 233   | transmembrane 7 superfamily member 1                         |
| A     | 31    | 2.92   | P     | 89    | mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase 5      |
| A     | 154   | 2.92   | P     | 448   | cadherin 11  |
| P     | 77    | 2.81   | P     | 215   | Mus musculus proteasome beta-subunit C5 (Psmb1)              |
| A     | 61    | 2.73   | P     | 166   | methyl-CpG binding domain protein 4                          |
| A     | 71    | 2.68   | P     | 191   | N-deacetylase/N-sulfotransferase (heparan glucosaminyl) 1    |
| P     | 114   | 2.62   | P     | 298   | microfibrillar-associated protein 1                          |
| A     | 15    | 2.61   | P     | 39    | RAD54 like (S. cerevisiae)                                   |
| A     | 77    | 2.58   | P     | 198   | Mus musculus, clone MGC:6827 IMAGE:2649084                   |
| A     | 49    | 2.57   | P     | 127   | adenylate cyclase 7  |
| P     | 44    | 2.53   | P     | 112   | myelin basic protein expression factor 2, repressor          |
| P     | 463   | 2.53   | P     | 1172  | RIKEN cDNA 2810477H02 gene                                   |
| P     | 381   | 2.51   | P     | 956   | HYPOTHETICAL 19.1 KDA PROTEIN (MAL2 PROTEOLIPID)             |

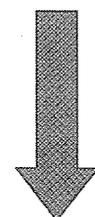


>2.5  
41 gene

D表1 老化促進マウスの海馬で発現の上昇した遺伝子

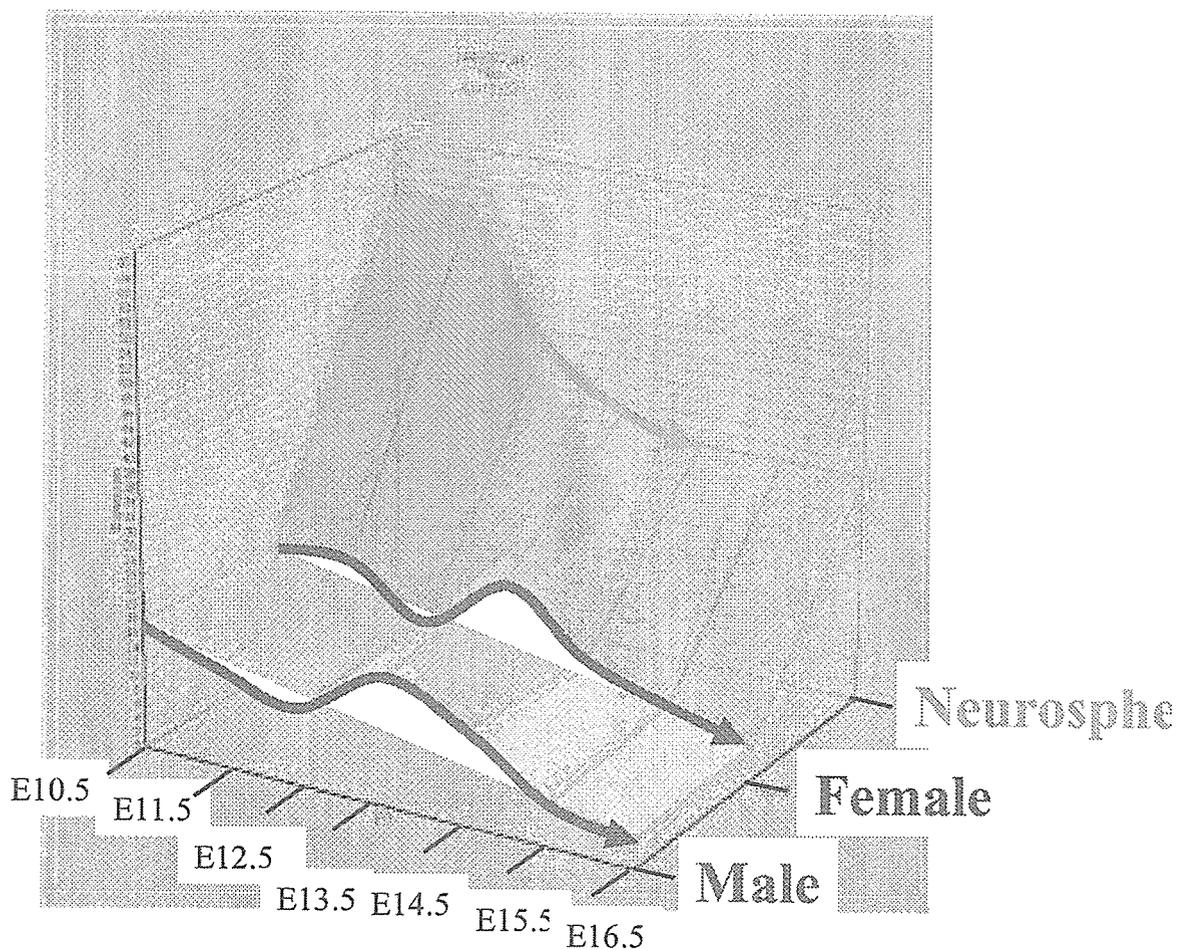
Flags SAMRIRatio FlagsSAMP8 Gene Name

| Flags   | SAMRIRatio | FlagsSAMP8 | Gene Name  |
|---------|------------|------------|--|
| P 153   | 0.02       | A 3        | ESTs, Moderately similar to S12207 hypothetical protein (B2 element)   |
| P 313   | 0.02       | A 7        | histocompatibility 2, L region   |
| P 686   | 0.05       | A 32       | histocompatibility 2, D region locus 1                                 |
| P 8679  | 0.07       | P 646      | transthyretin  |
| P 64    | 0.08       | A 5        | RB1-inducible coiled-coil 1  |
| P 12072 | 0.10       | P 1203     | transthyretin  |
| P 4829  | 0.12       | P 583      | transthyretin  |
| P 350   | 0.13       | P 44       | SRY-box containing gene 11, full insert sequence.                      |
| P 71    | 0.19       | A 13       | Zinc finger protein 68   |
| P 1427  | 0.21       | P 296      | RIKEN cDNA 2700089E24 gene   |
| P 87    | 0.23       | A 20       | ActA binding protein 3   |
| P 74    | 0.23       | A 17       | ribosomal protein S6   |
| P 219   | 0.24       | A 52       | mitogen activated protein kinase kinase 5                              |
| P 206   | 0.25       | P 51       | similar to chromosome 1 open reading frame 27                          |
| P 25    | 0.25       | A 6        | kinesin family member 10   |
| P 697   | 0.25       | P 176      | DNA segment, Chr 6, Wayne State University 157, expressed              |
| P 810   | 0.25       | A 206      | endometrial bleeding associated factor                                 |
| P 243   | 0.26       | A 63       | RIKEN cDNA 1500015O10 gene   |
| P 951   | 0.29       | P 278      | protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 1A               |
| P 1709  | 0.30       | P 511      | paternally expressed 3   |
| P 75    | 0.30       | A 23       | Fc receptor, IgG, low affinity IIb                                     |
| P 167   | 0.31       | A 52       | Mouse endogenous murine mink cell focus-forming (MCF) envelope protein |
| P 170   | 0.31       | P 54       | ESTs   |
| P 202   | 0.32       | A 65       | gamma-glutamyl carboxylase   |
| P 3364  | 0.34       | P 1144     | erythroid differentiation regulator                                    |
| P 1025  | 0.35       | P 358      | RIKEN cDNA 2810443J12 gene   |
| P 688   | 0.36       | P 250      | similar to chromosome 1 open reading frame 27                          |
| P 154   | 0.36       | A 56       | Mouse endogenous murine mink cell focus-forming (MCF) envelope protein |
| P 137   | 0.37       | P 51       | RIKEN cDNA 2810439M05 gene   |
| P 493   | 0.38       | A 186      | blocked early in transport 1 homolog (S. cerevisiae)-like              |
| P 45    | 0.38       | P 17       | filaggrin  |
| P 52    | 0.39       | A 20       | RIKEN cDNA 2900009I07 gene   |
| P 228   | 0.40       | P 90       | ribosomal protein S25  |
| P 189   | 0.40       | M 75       | Rab38, member of RAS oncogene family                                   |



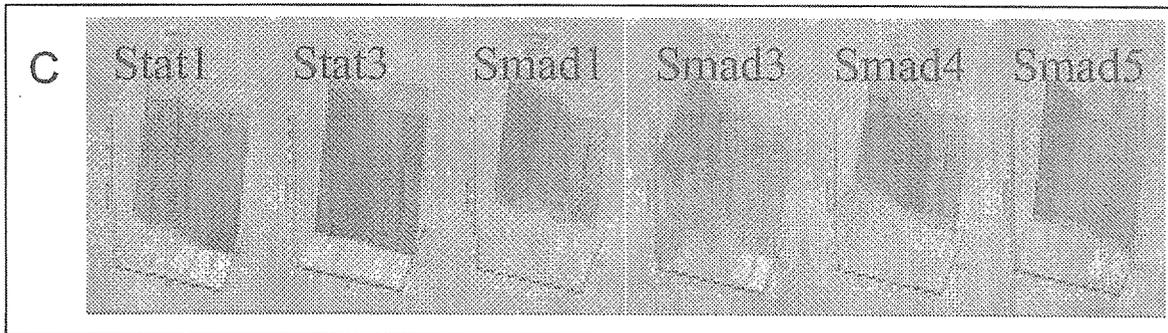
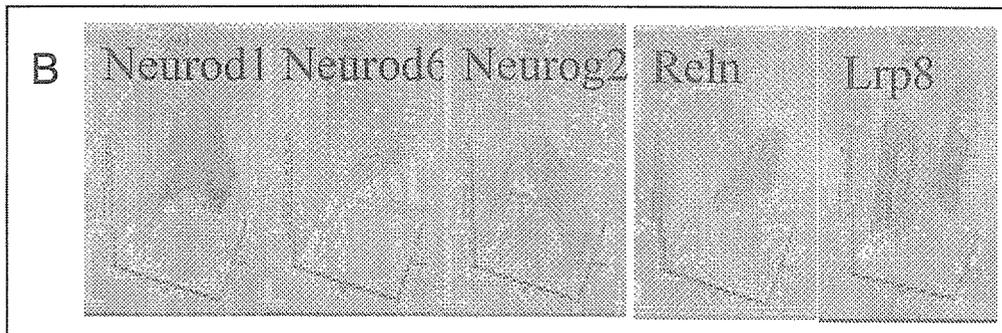
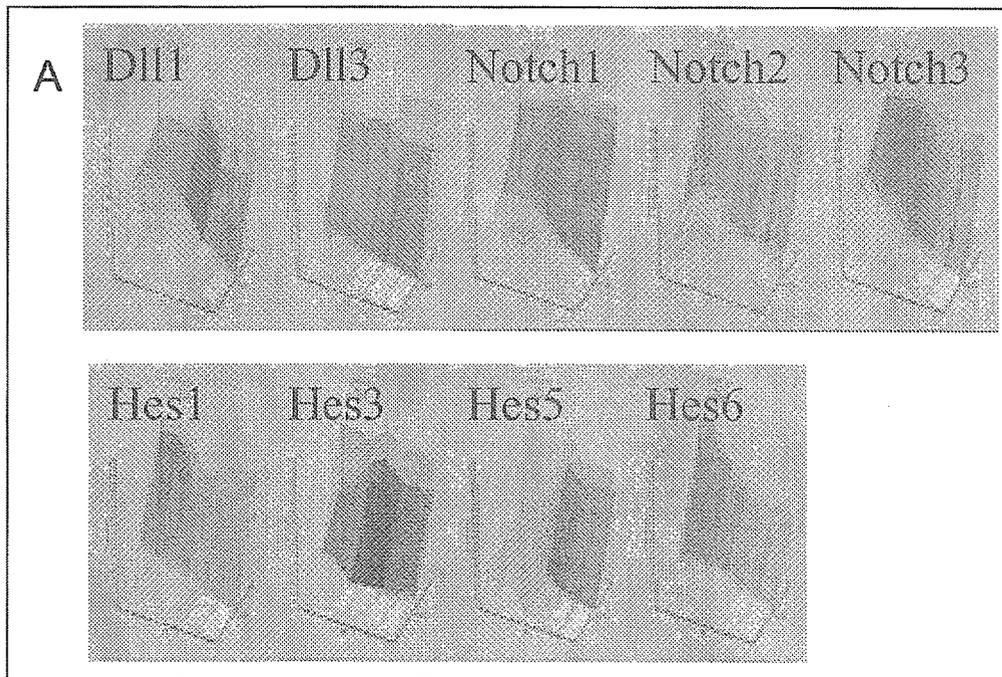
<2.5  
34 gene

D表2 老化促進マウスの海馬で発現の減少した遺伝子

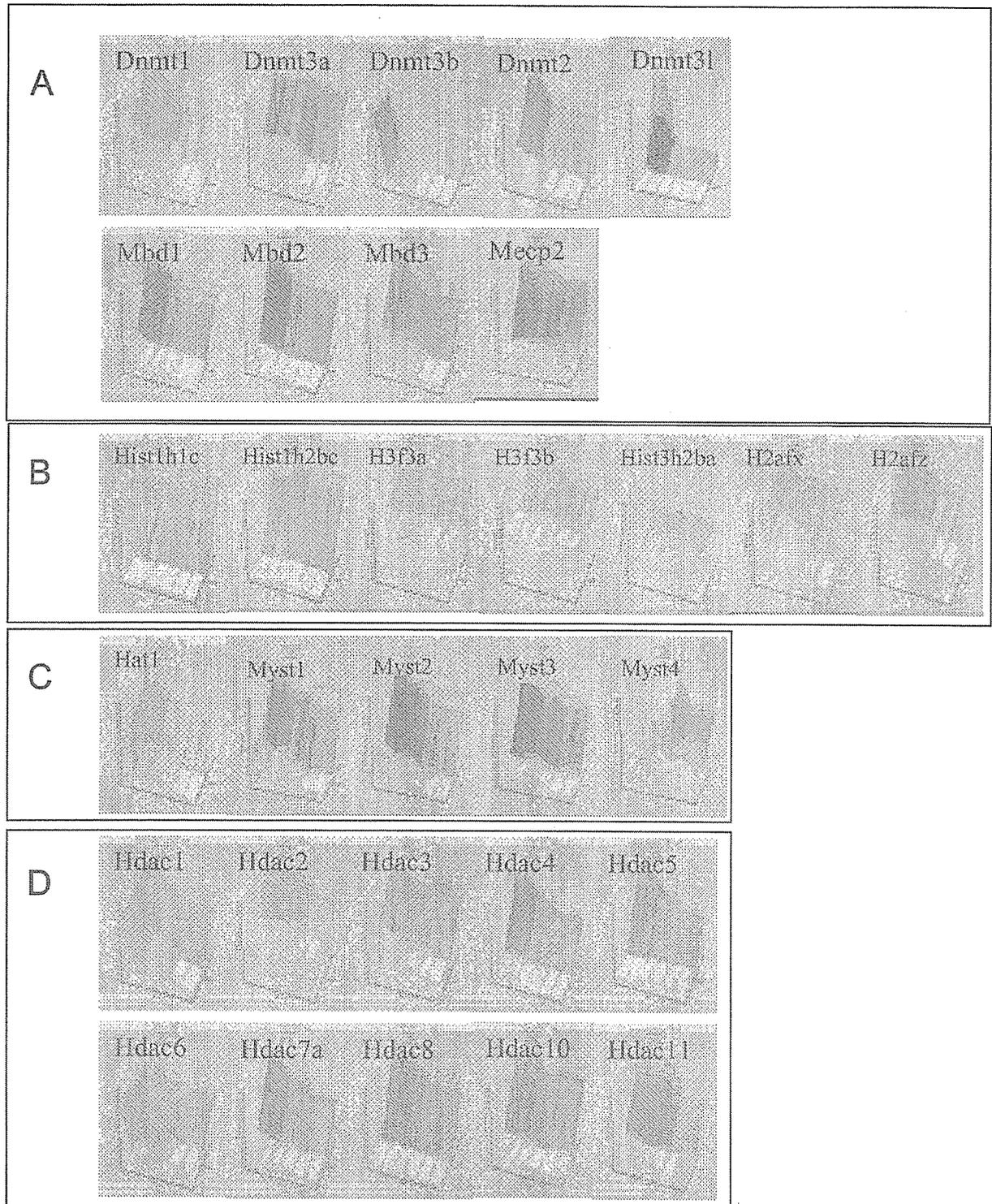


### E図1. MF Surfaceを用いた基盤データベース解析

本研究で構築した2種類の基盤データベース、胎児終脳発生に伴う遺伝子発現変化網羅的データベース、発生時期の異なる神経幹細胞遺伝子発現網羅的データベースのデータを、MF Surfaceソフトウェアにより連結し、各遺伝子の発現パターンを3次元グラフ化し解析に用いた。



**E図2. 神経発生と細胞移動カテゴリーの遺伝子発現パターン**  
 Notchシグナル系に属する遺伝子群 B. ニューロン分化、移動に関わる遺伝子群 C. アストロサイト分化に関わるStat, Smad遺伝子群



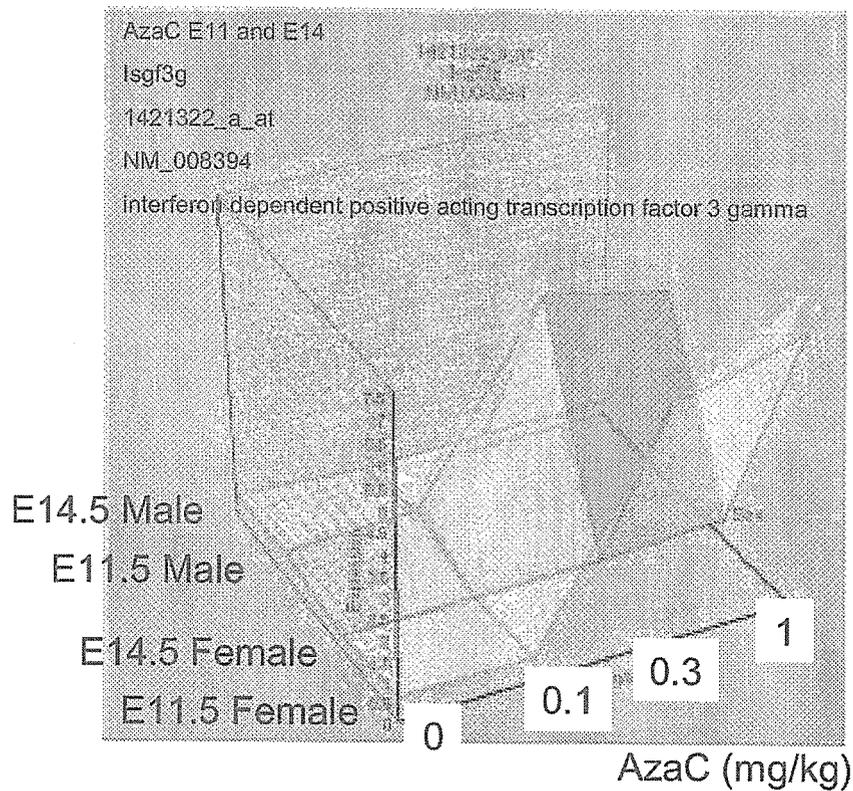
**E図3 エピジェネティック制御関連遺伝子の発現変化**

DNA methyltransferase family (Nnmt), Methyl DNA binding protein family (Mbd, Mecp)

Histone family

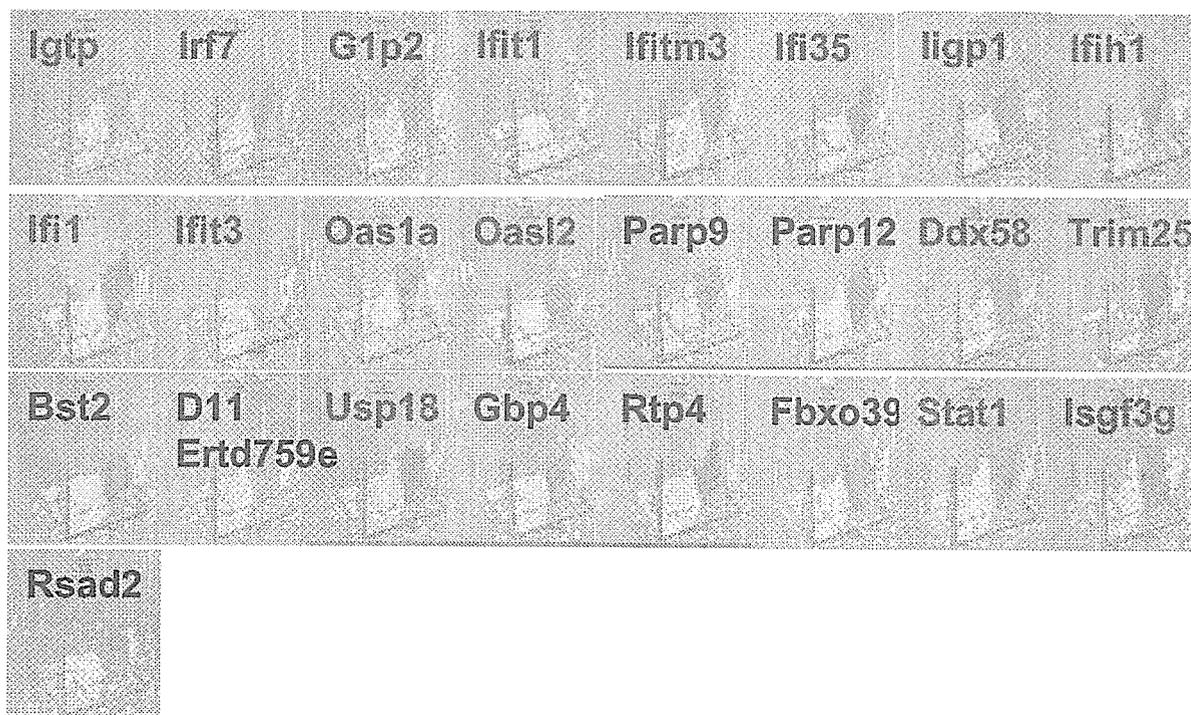
Histone acetyl-transferase (Hat, Myst)

Histone deacetylase (Hdac)



E図4-1 AzaC投与に伴う遺伝子発現変化

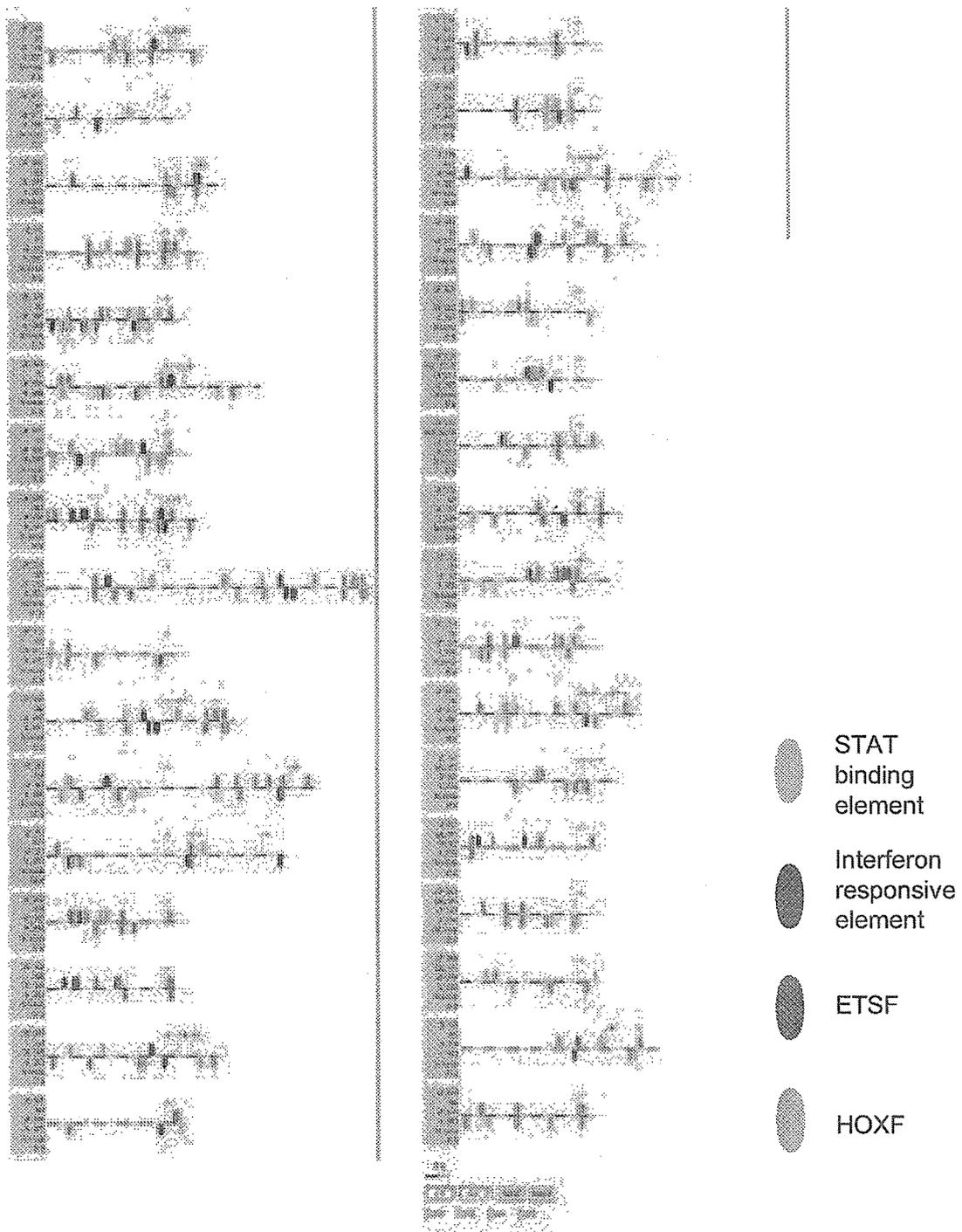
胎生10.5日にAzaCを0, 0.1, 0.3, 1mg/kg経胎盤投与し、胎生11.5日、14.5日に胎児終脳での遺伝子発現を網羅的に解析した。図は各々の遺伝子の発現変化をMF surfaceソフトウェアを用いて3次元グラフ化したものである。変化した遺伝子群の一覧を図4-2に示した。



**E図4-2 AzaC投与に伴う遺伝子発現変化**

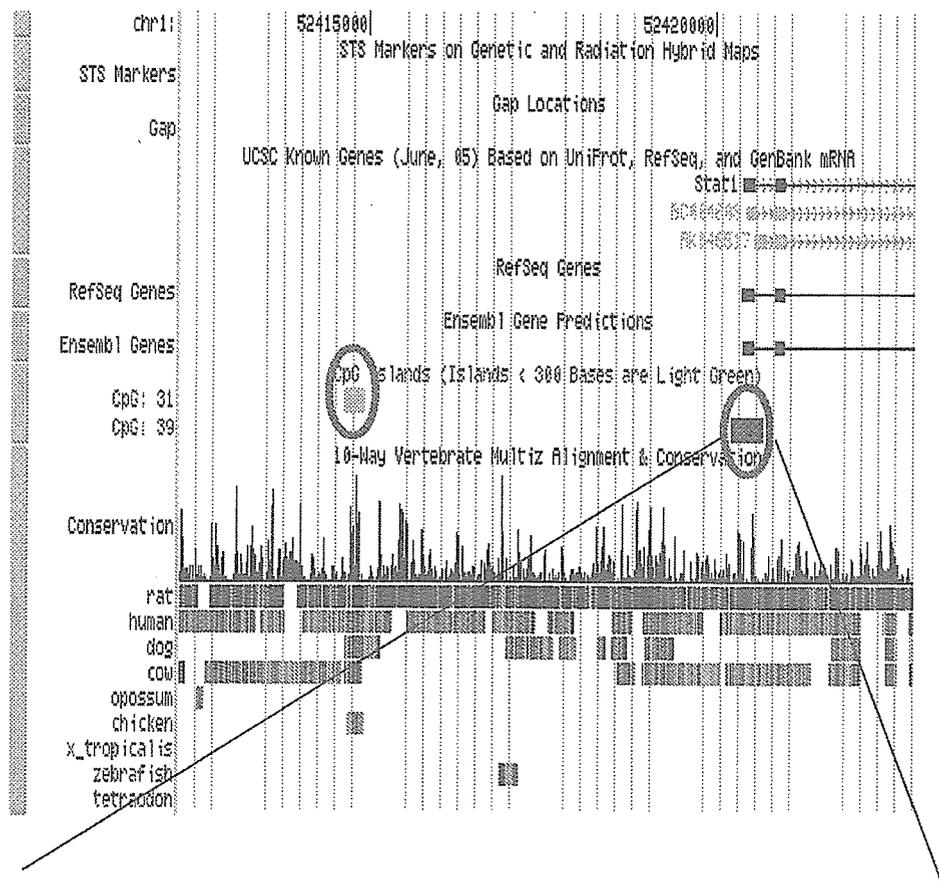
胎生10.5日にAzaCを0, 0.1, 0.3, 1mg/kg経胎盤投与し、胎生11.5日、14.5日に胎児終脳での遺伝子発現を網羅的に解析した。変化した遺伝子群を一覧に示した。その中で遺伝子名を赤字で示したものはインターフェロンに応答して発現が変化することが報告されている遺伝子であった。

Igtp: interferon gamma induced GTPase, Irf7: interferon regulatory factor 7, G1p2: INTERFERON-INDUCED PROTEIN IFI-15K, Ifit1: interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1, Ifitm3: interferon induced transmembrane protein 3, Ifi35: interferon-induced protein 35, Iigp1: interferon inducible GTPase 1, Ifih1: interferon induced with helicase C domain 1, Ifi1: INTERFERON-INDUCIBLE PROTEIN 1, Ifit3: interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3, Oas1a: 2'-5' oligoadenylate synthetase 1A, Oasl2: 2'-5' oligoadenylate synthetase-like 2, Parp9: poly (ADP-ribose) polymerase family, member 9, Parp12: poly (ADP-ribose) polymerase family, member 12, Ddx58: DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 58, Trim25: tripartite motif protein 25, Bst2: bone marrow stromal cell antigen 2, D11Ert759e: DNA segment, Chr 11, ERATO Doi 759, expressed, Usp18: ubiquitin specific peptidase 18, Gbp4: guanylate nucleotide binding protein 4, Rtp4: receptor transporter protein 4, Fbxo39: F-box protein 39, Stat1: signal transducer and activator of transcription 1, Isgf3g: interferon dependent positive acting transcription factor 3 gamma, Rsad2: radical S-adenosyl methionine domain containing 2



### E図5 プロモーター解析

図5で抽出された遺伝子群のプロモーターに共通して存在する転写因子結合モチーフを検索した。  
その結果、青で示されたインターフェロン応答部位に加え、紫色で示されたStat結合部位が存在することが明らかになった。



```

CGGTTTGCACCGCACAGCGGCGCCCCAAGTTTCCGACCGCCGGGTAGGGAG
CGCGCGGACCAGGAAGGCCAAGCAGCCGAGGGGGGGGGGACGGTGCGCTG
ATGGAACAGCCCGCCAATCTCTGCCCGCTGATTGGCTGAGGCGGAAGGAGG
CGGGACCGCCTCTAGCCTTTTTCTGCTGCCCGGTACTTTCGGTTTTCAGCG
CCGAGTCTGTCAAAGCTCCCTGGAGACCTCCGGGACCGCCGCCCTCAGAC
CCACTTGGGACACTGCTGAGCGGCCCAGAGATTTGCCAGACTCGAGC
TCCTGCGTGCAGTGAGTGAGTGAGAGCCAGGTGCGGATCCGGTGCGGGT
GCGGGTGGAAAGTGGGGCGCCCTCTCTCGGACCTGGGGTCTGCTGCCAC
AGGTGACCTGTCATCCCGCAGAGAGAACCAGGAGCCGGATCG

```

**E図6 STAT1 promoter内にCpG islandが存在する**  
 STAT1 promoterについて検討した結果を示す。メチル化されうるシトシンを含むCpG配列を多数有するCpG islandが存在することが明らかになった