

Kato, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Hidaka, T., Hosoe, T. and Fukushima, S.: Possible tumor development from double positive foci for TGF- α and GST-P observed in early stages on rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Sci*, 97: 478-483, 2006.

14) Mori, S., Murai, T., Wanibuchi, H., Hagihara, A., Puatanachokchai, P. and Fukushima, S.: Susceptibility of four F₁ hybrids of male rats to the promoting effects of sodium L-ascorbate in two-stage urinary bladder carcinogenesis. *J Toxicol Pathol.* 19: 87-91, 2006.

15) ©Puatanachokchai, R., Morimura, K., Wanibuchi, H., Oka, M., Kinoshita, A., Fukui, M., Yamaguchi, S., Funae, Y. and Fukushima, S.: Alpha-benzene hexachloride exerts hormesis in preneoplastic lesion formation of rat hepatocarcinogenesis with the possible role for hepatic detoxifying enzymes. *Cancer Lett.*, 240: 102-113, 2006.

16) ©Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M. and Fukushima, S.: Hormesis in carcinogenicity of non-genotoxic carcinogens. *J. Toxicol. Pathol.*, 19: 111-122, 2006.

17) Romanenko, A. M., Morimura, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Takahashi, S., Zaparin, W. K., Vinnichenko, W. K., Vozianov, A. F. and Fukushima, S.: Upregulation of fibroblast growth factor receptor 3 and epidermal growth factor receptors, in

association with Raf-1, in urothelial dysplasia and carcinoma in situ after the Chernobyl accident. *Cancer Sci.* 97: 1168-1174, 2006.

2. 学会発表

<特別講演、シンポジウム、ワークショップ、国際会議>

1) Kang, J.S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kinoshita, A. and Fukushima, S.: Analysis of gene expression in MeIQx-induced rat hepatocarcinogenesis. The 4th Regional APOCP Conference, Jan. 20-21, Nagoya City University Hospital, Japan, 2006 (APOCP proceedingse, p. 27)

2) Chusiri, Y., Puatanachokchai Rawiwan, Kinoshita, A., Wei, M., Wanibuchi, H., Vinitketkumnuan, U. and Fukushima, S.: Combination effects of methyleugenol and Phenobarbital on diethylnitrosamine-induced rat hepatocarcinogenesis using a medium-term bioassay. The 4th Regional APOCP Conference, Jan. 20-21, Nagoya City University Hospital, Japan, 2006 (APOCP proceedingse, p. 28)

3) ©Puatanachokchai, R., Wanibuchi, H., Chusiri, Y., Kinoshita, A. and Fukushima, S.: Low-dose study of alpha-benzene hexachloride on rat hepatocarcinogenesis. The 4th Regional APOCP Conference, Jan. 20-21, Nagoya City University Hospital, Japan, 2006 (APOCP proceedingse, p. 29)

4) ©Fukushima, S.: Evidence for a Threshold in Carcinogenicity of Non-genotoxic Environmental Carcinogens. The 5th Annual International Conference on HORMASIS, June. 6-8, University of Massachusetts, Amherst, MA, 2006 (The Annual Meeting of the International Hormesis Society ABSTRACT BOOK, p6)

<一般演題>

1) 木下アンナ、鰐淵英機、魏 民、福島昭治: フェノバルビタール投与の肝発がんホルミシス現象における誘発したラット GST-P 陽性細胞巢のプロテオーム解析. 第 22 回日本毒性病理学会, 1 月 26-27 日, 鹿児島, 2006 (第 22 回日本毒性病理学会講演要旨集 0-10, p. 53)

2) 須方督夫、宇和川 賢、尾崎圭介、串田昌彦、森村圭一朗、鰐淵英機、福島昭治: グルタチオン S-トランスフェラーゼ胎盤型酵素陰性ラット肝癌病変に特異的な新規マーカーの検索. 第 22 回日本毒性病理学会, 1 月 26-27 日, 鹿児島, 2006 (第 22 回日本毒性病理学会講演要旨集 P-38, p. 73)

3) チュシリ ヤオワレス、プアタナチョックチャイ ラウイワン、木下アンナ、魏 民、鰐淵英機、福島昭治: Effect of kojic acid on diethylnitrosamine induced rat hepatocarcinogenesis using medium-term bioassay. 第 22 回日本毒性病理学会, 1 月 26-27 日, 鹿児島, 2006 (第 22 回日本毒性病理学会講演要旨集 P-43, p. 76)

4) ©プアタナチョックチャイ ラウイワン、鰐淵英機、魏 民、カンジンセオック、チュシリ ヤオワレス、木下アンナ、福島昭治: Effect of α -benzene hexachloride on diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in TGF- α -transgenic mice. 第 22 回日本毒性病理学会, 1 月 26-27 日, 鹿児島, 2006 (第 22 回日本毒性病理学会講演要旨集 P-44, p. 76)

5) 山口貴嗣、魏 民、大森雅子、鰐淵英機、福島昭治: 臭素酸カリウムの低用量域における腎発癌性- Big Blue ラットでの検討-. 第 22 回日本毒性病理学会, 1 月 26-27 日, 鹿児島, 2006 (第 22 回日本毒性病理学会講演要旨集 P-57, p. 83)

6) 大森雅子、山口貴嗣、魏 民、鰐淵英機、福島昭治: 臭素酸カリウムにおける低用量域での in vivo 変異原性と腎発がん性の検討. 第 95 回日本病理学会総会, 4 月 30 日-5 月 2 日, 東京, 2006 (日本病理学会誌第 95 巻第 1 号 P1-H-2, p. 247)

7) 土井賢一郎、魏 民、柚木孝之、萩原淳司、鰐淵英機、福島昭治: AOM-PhIP 誘発ラット大腸腺癌組織における、3 次元マイクロアレイ法を用いた遺伝子発現解析. 第 95 回日本病理学会総会, 4 月 30 日-5 月 2 日, 東京, 2006 (日本病理学会誌第 95 巻第 1 号 P2-I-135, p. 339)

8) 大森雅子、魏 民、木下アンナ、柚木孝之、土井賢一郎、加藤あゆみ、増村健一、能美健彦、福島昭治、鰐淵英機: gpt delta ラット肝における 1, 4-ジオキサン

の発がん性および変異原性. 第 65 回日本
癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006
(第 65 回日本癌学会学術総会プログラム
P-006, p. 66)

- H. 知的所有権の所得状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他 (データベース等)

内分泌かく乱物質の発がん・加齢などに及ぼす影響の分子メカニズムに関する研究

分担研究者 曾根秀子 国立環境研究所 環境リスク研究センター 主任研究員

研究要旨

がんの発生と進展には細胞周期の制御の逸脱が深く関わっている。内分泌かく乱化学物質の曝露による細胞周期やテロメラーゼ活性及びその制御分子 human telomerase reverse transcriptase (hTERT)の発現に及ぼす影響を解析した。その結果、E2 は各種の癌細胞において、ER の発現量に依存してテロメラーゼ活性及びその制御分子 hTERT の発現を増加させることがわかった。TCDD には、ER 依存性及び非依存性経路のあることが明らかとなった。ビスフェノール A においても hTERT 発現上昇が認められた。内分泌かく乱化学物質の癌化への関与のメカニズムを解明するうえで、hTERT の解析は重要であると考えられた。

A. 研究目的

内分泌かく乱化学物質の主作用は、アリールハイドロカーボン受容体(AhR)やエストロゲン受容体(ER)などの核内受容体に作用してそれら応答遺伝子の発現を変動させることにあるという理解が深まってきた。AhRやERなどの核内受容体は、細胞の分化と増殖に関与することがわかってきており、がんの発生と進展には細胞周期の制御の逸脱が深く関わっている。内分泌かく乱化学物質がヒトの癌の発生や進展に関与していると考えられるならば、細胞周期と癌化メカニズムの接点に何らかの役割をしているに違いない。

そこで、研究分担者は、細胞回転の制御の鍵分子のひとつであるテロメラーゼの発現応答に着目し、内分泌かく乱化学物質の曝露による細胞周期やテロメラーゼ活性及びその制御分子 human telomerase reverse transcriptase (hTERT)の発現に及ぼす影響を解析した。

B. 研究方法

ヒト胎盤絨毛がん細胞 BeWo、ヒト乳がん細胞 MCF-7 及びヒト子宮内膜癌細胞 RL95-2 を定法に従いフェノールレッドフリーの培地と活性炭処理した 10%牛胎仔血清(FBS)で培養した。溶媒 0.1%DMSO、内分泌かく乱化学物質(TCDD 及びビスフェノール A)もしくは 17 β -エストラジオール(E2)を培地に添加し、24時間後に細胞破濁液もしくは RNA を抽出してテロメラーゼ活性及び hTERT と ER の発現測定に用いた。テロメラーゼ活性は Telomeric Repeat Amplification Protocol (TRAP)法によって測定した。

C. 研究結果

ヒト乳がん細胞 MCF-7 とヒト子宮内膜癌細胞 RL95-2 のステロイドホルモン受容体の mRNA 発現レベルを RT-PCR で調べたところ、

MCF-7 を1とすると ER α および PR は、RL95-2 においてはそれぞれ 0.3 および 0.2 であった。ER β 及び AR は RL95-2 において検出できなかった。また、MCF-7 の倍加時間を1とすると BeWo 細胞は、1RL95-2 は、1.4 であった。テロメラーゼ活性は、E2 1nM で曝露したときの MCF-7 における活性を 100 とすると、BeWo 細胞は 100、RL95-2 は 23 であった。1nM TCDD での曝露では、BeWo 細胞は 120、RL95-2 は 2.0 であった。ビスフェノール A を用いて、MCF7 における hTERT 及びテロメラーゼ活性に対する影響を調べたところ、 10^{-6} ~ 10^{-8} M の範囲で有意な増加が認められた。また、細胞周期への影響を 1nM の E2 で調べたところ、BeWo 細胞では、G0/G1 期が 15%、S 期が 65%、G2/M 期が 20% であったが、RL95-2 は G0/G1 期が 55%、S 期が 29%、G2/M 期が 16% であった。1nM TCDD での曝露では、この細胞周期の存在比が変化し、BeWo 細胞では、G0/G1 期が 24%、S 期が 68%、G2/M 期が 8%、RL95-2 は G0/G1 期が 60%、S 期が 20%、G2/M 期が 17% であった。S 期のマーカー遺伝子の c-myc も同様に相対的に RL95-2 では E2 1nM 及び TCDD 1nM の曝露による発現誘導は、BeWo 細胞よりも低かった。

D. 考察

生殖細胞や初期胚では強いテロメラーゼ活性が認められるのに対して、成体の体細胞のように分化が終了した正常体細胞ではテロメラーゼ活性は検出できない。しかし、細胞が癌化するとテロメラーゼは再活性化する。テロメラーゼは無制限回に増殖し老化プログラムから逸脱している細胞にのみ特異的に活性があるものと考えられている。このことに着目して、内分泌かく乱化学物質の曝露による細胞周期やテロ

メラーゼ活性及びその制御分子 hTERT の発現に及ぼす影響を解析した。上記に示した結果から、E2 は、ER の発現量に依存してテロメラーゼ活性及びその制御分子 hTERT の発現を増加させることがわかった。この E2 のテロメラーゼに対する増強作用は、ER の発現量に依存し、ER のないラット線維芽細胞 TGR1 ではテロメラーゼ活性はみとめられなかった。TCDD も同様に ER の発現量に依存してテロメラーゼ活性及びその制御分子 hTERT の発現を増加させるが、ER の発現していない細胞でもテロメラーゼ活性を示し、ER 非依存性のメカニズムが存在することがわかった。また、E2 によるテロメラーゼ活性の増加した細胞では、hTERT や c-Myc の発現量や S 期の存在比も増加しており、E2 は、ER を介して hTERT の発現量が増加し、テロメラーゼを活性化させて細胞増殖へ導くものと推察された。ビスフェノール A も弱いながら hTERT の発現量を増加させ、テロメラーゼの活性化を導くものと推察された。しかしながら、今回の実験では細胞の倍加時間とテロメラーゼ活性の強さは関連しなかった。細胞回転の速度には、テロメラーゼの活性化以外の因子が強く関わっており、それらと ER シグナル伝達の間接的な関係を明らかにすることが、内分泌かく乱化学物質の癌化への関与のメカニズムを明らかにする一助になると考えられる。今後、ER はないがテロメラーゼ活性が高い細胞において、E2 やビスフェノール A が同様な作用を示すかどうか検討する必要がある。

E. 結論

各種生殖器系のヒト癌細胞を用いて、内分泌かく乱化学物質の曝露による細胞周期やテロメラーゼ活性及びその制御分子 hTERT の発現に及ぼす影響を解析した。E2 は癌細胞に

において、ER の発現量に依存してテロメラーゼ活性及びその制御分子 hTERT の発現を増加させることがわかった。TCDD のテロメラーゼに対する増強作用には、ER 依存及びER非依存経路のあることが明らかとなった。しかし、細胞の倍加時間とテロメラーゼ活性の強さは相関しなかったことから、細胞回転の速度には、テロメラーゼの活性化以外の因子が強く関わっており、それらと ER シグナル伝達の間関係を明らかにすることが、内分泌かく乱化学物質の癌化への関与のメカニズムを解明するうえで、重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書への記載は不要)

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Jia G, Takahashi R, Zhang Z, Tsuji Y, Sone H. Aldo-keto reductase 1 family B7 is the gene induced in response to oxidative stress in the livers of Long-Evans Cinnamon rats. *Int J Oncol.* 29:829-838, 2006.

Tanaka J, Yonemoto J, Zaha H, Kiyama R and Sone H. Estrogen-responsive genes newly found to be modified by TCDD exposure in human cell lines and mouse systems, in press.

2. 学会発表

遺伝子ネットワーク推定を利用した環境化学物質及び薬剤の類型化手法の開発に関する研究

曽根秀子 豊柴博義

第65回日本癌学会学術総会 横浜

2006. 9. 28-30

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅱ. 分担研究報告書

Ⅱ. 基盤研究

雌性生殖器官への作用メカニズムの解明

分担研究者 井口 泰泉 自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター

研究要旨

臨界期における内分泌かく乱化学物質曝露が生体に影響を及ぼすメカニズムを明らかにすることを目的として、妊娠中のマウスに合成エストロゲンを投与し、出産直前の雌胎児から、輸卵管、子宮および膣を摘出し、発現変動遺伝子をマイクロアレイ法を用いて解析した。その結果、器官特異的な遺伝子発現があること、エストロゲン非依存の細胞増殖を示す膣では、合成エストロゲンによるいくつかの遺伝子の発現変化が明らかとなった。これらの遺伝子は、エストロゲン曝露による不可逆的な影響の誘発に関与している可能性が高く、メチル化の変異を含め現在その解析を進めている。

A. 研究目的

内分泌かく乱化学物質の胎児曝露が生体に影響を及ぼすメカニズムを明らかにする。すなわち、合成エストロゲンの胎児曝露により誘起される輸卵管、子宮および膣の組織異常の根幹となる遺伝子を探索するために、ジエチルスチルベストロール(DES)を妊娠中期から連続的に投与し、妊娠末期の胎児の雌性生殖器官で発現変動する遺伝子をマイクロアレイ法を用いて探索するとともに、出生直後にDESを投与されたマウス雌性生殖器官の遺伝子のメチル化の変動を解析する。

B. 研究方法

妊娠マウスに合成エストロゲンを投与し、出産直前の胎児から組織を摘出し、発現変動した遺伝子を解析した。すなわち、ICR系マウスを用い、妊娠10-18日にDESを投与し、妊娠19日目に雌胎児からおよび膣を摘出し、DESに応答している遺伝子を解析した。DNA発現解析にはマイクロアレイ(Mouse U74Av2; Affymetrix社)を用い、約1万2千遺伝子

の発現について解析を行った。

また、エストロゲン受容体により直接遺伝子発現が制御される遺伝子を同定するために、クロマチン免疫沈降法を用いて候補遺伝子の転写制御領域の解析を行った。

さらに、DES曝露により、不可逆的細胞増殖を示している膣で発現している遺伝子のメチル化の変動について解析した。

一方で、周生期における他の核内受容体の影響を調べるために、トリブチルスズ(TBT)を妊娠マウスに投与し、仔に及ぼす影響を解析した。

(倫理面への配慮)

マウスを用いた実験においては、自然科学研究機構動物実験委員会の「自然科学研究機構における動物実験に関する指針」に準拠した。(使用する動物の屠殺にあたっては、頸椎脱臼法を用いた。)

C. 研究結果

胎児期のマウスにエストロゲンを投与し、雌性生殖器官における応答遺伝子について解析を行った。その結果、胎児期で応答する遺伝子は成体におけるエスト

ロゲン応答遺伝子と大きく異なることが明らかになった。

この傾向は、マウスの輸卵管、子宮、膣で同様に観察された。胎児期特有のエストロゲン応答性は急速に変化していくことから、これらの遺伝子が臨界期において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。これは、新生仔期のエストロゲン曝露による雌性生殖器官への不可逆的な影響を解明する上でも重要な知見である。

さらに、エストロゲン応答遺伝子について、クロマチン免疫沈降法により、エストロゲンが受容体が直接的に発現を制御している遺伝子を同定した。成体の子宮では、アクアポリン5 遺伝子、アドレノメジュリン遺伝子およびアドレノメジュリンの受容体の機能を変換する RAMP3 遺伝子などがエストロゲン受容体により直接発現を制御されていることが明らかになった。これらが強制的にマウス子宮の間質において重要な機能を果たしていることが示唆された。

また、胎児期の TBT 投与により、出生直後のマウスの肝臓で、脂肪合成が誘導されることが明らかになった。一連の解析から、TBT は RXR α および PPAR γ のリガンドとして機能することが明らかになった。さらに、遺伝子発現プロファイルの解析から、脂肪合成に関連した一連の遺伝子発現が上昇していることが明らかになった。

D. 考察

エストロゲン受容体は胎仔期から発現していることが知られているが、実際にエストロゲンを産生するのは思春期以降

である。思春期以前のエストロゲン受容体が機能しているのかについては、いまだ明確になっていない。しかし本研究の結果、胎児期のエストロゲン曝露により強制的にエストロゲン受容体を機能させた場合、雌性生殖器官における反応は成体とは異なっていることが示された。すなわち、胎児期の雌性生殖器官はエストロゲンに適切に応答する準備ができていなかったとも考えられる。胎児期、出生直後、臨界期が終了する生後 5 日では、エストロゲンにより誘導される遺伝子数が異なることから、出生 5 日までにエストロゲンに応答する遺伝子を明らかにすることは、臨界期について分子レベルで明らかにする上でも重要であると考えられ、これにより、最終的に引き起こされる不可逆的な影響の発現メカニズムを解明できると思われる。

一方で、クロマチン免疫沈降法をマウスの組織に適用することにより、子宮内でエストロゲン受容体の直接の標的となっている遺伝子を同定した。この解析系をさらに発展させ、新生仔のマウスにも適用することにより、臨界期におけるエストロゲンの直接のターゲット遺伝子を同定できる可能性がある。

また、妊娠時期の有機スズ(TBT)曝露により新生仔に誘導される脂肪合成は、RXR α および PPAR γ などの核内受容体を強制的に活性化させることにより、その下流にある脂肪合成経路を不適切な時期に活性化していると考えられる。不適切な時期における核内受容体の活性化による遺伝子発現のかく乱は、エストロゲン様化学物質にとどまらないことを示して

いる。こうした不適切な時期のアゴニスト曝露による恒久的な影響は共通のメカニズムで働いている可能性があり、今後、エストロゲンのみならず、TBTなどの影響も並行して解析をすすめることにより、臨界期における問題とその作用メカニズムについて明らかにできると思われる。

このような恒久的な変化においては、ゲノムがエピジェネティックな変化をしている場合もあり、引き続きエストロゲン曝露とゲノム状態の変化の解析を行う必要がある。

E. 結論

マウス雌性生殖器官のエストロゲン応答遺伝子は胎児期と成体で大きく異なる。すなわち、エストロゲンが不可逆的な影響を及ぼしうる臨界期では、成獣で応答する遺伝子群とは異なる遺伝子が変動しており、エストロゲンによる不可逆的な影響の誘発に関与している可能性が高い。

またTBTによる影響も、不可逆的な作用という点で、エストロゲンと類似のメカニズムが作用している可能性もあり今後の詳細な解析が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Watanabe H, E. Takahashi, Y. Nakamura, S. Oda, N. Tatarazako and T. Iguchi: Development of *Daphnia magna* DNA microarray for the evaluation of toxicity of environmental chemicals. Environ. Toxicol. Chem., (in press).
2. Hara A, K. Hirano, M. Shimizu, H. Fukada, T. Fujita, F. Itoh, H. Takada, M. Nakamura and T. Iguchi: Carp (*Cyprinus carpio*)

vitellogenin: characterization of yolk proteins, development of immunoassays and use as a biomarker of exposure to environmental estrogens. Environ. Sci., (in press).

3. Sumi M, Y. Kawashima, T. Fukumaki, H. Ishibashi, K. Arizono, T. Iguchi and M. Shimizu: Comparison of serum vitellogenin steroid hormone, gonad histology and bioaccumulation in common carp (*Cyprinus carpio*) of two rivers and a lake in Japan: Potential for endocrine disruption. Environ. Sci., (in press).
4. Takashima-Sasaki K, M. Komiyama, T. Adachi, K. Sakurai, H. Kato, T. Iguchi and C. Mori: Effect of exposure to high isoflavone containing diets on prenatal and postnatal offspring mice. Biosci. Biotech. Biochem., (in press).
5. Oda S, N. Tatarazako, M. Dorgerloh, R. Johnson, O. Kusk, D. Leverett, S. Marchini, T. Nakari, T. Williams, and T. Iguchi: Strain difference in sensitivity to 3,4-dichloroaniline and insect growth regulator, fenoxycarb, in *Daphnia magna*. Ecotoxicol. Environ. Safety, (in press).
6. Takashima-Sasaki K, M. Komiyama, T. Adachi, K. Sakurai, H. Kato, T. Iguchi and C. Mori: Effect of exposure to high isoflavone containing diets on prenatal and postnatal offspring mice. Biosci. Biotech. Biochem., (in press).
7. Kirigaya A, S. Hayashi, T. Iguchi and T. Sato: Developmental effects of Ethinylestradiol on reproductive organs of female mice. In Vivo, 21: (in press).
8. Suzuki A, H. Urushitani, T. Sato, H.

- Watanabe, Y. Ohta and T. Iguchi: Gene expression change in the Müllerian duct of the mouse fetus exposed to diethylstilbestrol *in utero*. *Exp. Biol. Med.*, (in press).
9. Oda S, N. Tatarazako, M. Dorgerloh, R. Johnson, O. Kusk, D. Leverett, S. Marchini, T. Nakari, T. Williams, and T. Iguchi: Strain difference in sensitivity to 3,4-dichloroaniline and insect growth regulator, fenoxycarb, in *Daphnia magna*. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, (in press).
10. 井口泰泉: 内分泌かく乱物質問題の解明のための Ecotoxicogenomics の重要性. *日本衛生学雑誌*, 61: 11-18, 2006
11. 井口泰泉: 環境ホルモン研究の新たな話題. *医学のあゆみ*, 216: 616-617, 2006.
12. 永田恵美子、井口泰泉: 内分泌攪乱物質への国際的取り組み. *ホルモンと臨床*, 54: 253-260, 2006.
- ©13. Watanabe H, E. Takahashi, M. Kobayashi, M. Goto, A. Krust, P. Chambon and T. Iguchi: The estrogen-responsive adrenomedullin and receptor-modifying protein 3 gene identified by DNA microarray analysis are directly regulated by estrogen receptor. *J. Mol. Endocr.*, 36: 81-89, 2006.
14. Katsu Y, J. Myburgh, S. Kohno, G.E. Swan, L.J. Guillette Jr. and T. Iguchi: Molecular cloning of estrogen receptor α of the Nile crocodile. *Comp. Biochem. Physiol., Part A*, 143: 340-346, 2006.
15. Katsu Y, Iguchi T: Tissue specific expression of Clec2g in mice. *Europ. J. Cell Biol.*, 85: 345-354, 2006.
16. Inada K, S. Hayashi, T. Iguchi and T. Sato: Establishment of a primary culture model of mouse uterine and vaginal stroma for studying *in vitro* estrogen effects. *Exp. Biol. Med.*, 231: 303-310, 2006.
17. Matsuno T, N. Tominaga, K. Arizono, T. Iguchi and Y. Kohara: Graphical Gaussian modeling for gene association structures based on expression deviation patterns induced by various chemical stimuli. *Jeice Trans. Inf. Syst.*, E89-D: 1563-1574, 2006.
18. Oka T, N. Mitui, M. Hinago, M. Miyahara, T. Fujii, O. Tooi, N. Santo, H. Urushitani, T. Iguchi, Y. Hanaoka and H. Mikami: All ZZ male *Xenopus laevis* provides a clear sex reversal test for feminizing endocrine disruptors. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 63: 236-243, 2006.
19. Watanabe H, Iguchi T: Using ecotoxicogenomics to evaluate the impact of chemicals on aquatic organisms. *Marine Biol.*, 149: 107-115, 2006.
- ©20. Suzuki A, H. Watanabe, T. Mizutani, T. Sato, Y. Ohta and T. Iguchi: Global gene expression in mouse vaginae exposed to diethylstilbestrol at different ages. *Exp. Biol. Med.*, 231: 632-640, 2006.
21. Oda S, N. Tatarazako, H. Watanabe, M. Morita and T. Iguchi: Genetic differences in the production of male neonates in *Daphnia magna* exposed to juvenile hormone analogs. *Chemosphere*, 63: 1477-1484, 2006.
22. Iguchi T, H. Watanabe and Y. Katsu: Application of ecotoxicogenomics for studying endocrine disruption in vertebrates and invertebrates. *Environ. Health Perspect.*, 114 Suppl.1: 101-105, 2006.

23. Gunderson MP, S. Kohno, B. Blumberg, T. Iguchi and L.J. Guillette, Jr.: Up-regulation of an alligator Cyp3A gene by toxaphene and dexamethasone and its effect on plasma testosterone concentrations. *Aquat. Toxicol.*, 78: 272-283, 2006.
24. Mitsui N, T. Fujii, M. Miyahara, T. Oka, A. Kashiwagi, K. Kashiwagi, H. Handa, H. Urushitani, N. Santo, O. Tooi and T. Iguchi: Development of metamorphosis assay using *Silurana tropicalis* for the detection of thyroid hormone disrupting chemicals. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 64: 281-287, 2006.
25. Kato H, T. Furuhashi, M. Tanaka, Y. Katsu, H. Watanabe, Y. Ohta and T. Iguchi: Effects of bisphenol A given neonatally on reproductive functions of male rats. *Reprod. Toxicol.*, 22: 20-29, 2006.
26. Iguchi T, F. Irie, H. Urushitani, O. Tooi, Y. Kawashima, M. Roberts, L. Norrgren and T.H. Hutchinson: Availability of *in vitro* vitellogenin assay for screening of estrogenic and anti-estrogenic activities of environmental chemicals. *Environ. Sci.*, 13: 161-183, 2006.
27. In Benson WH, Di Giulio, RT. (eds.) *Genomic Approaches for Cross-Species Extrapolation in Toxicology*. Taylor and Francis CRC Press, 2006.
- © 28. Grün F, H. Watanabe, Z. Zamanian, L. Maeda, K. Arima, R. Chubacha, D.M. Gardiner, J. Kanno, T. Iguchi and B. Blumberg: Endocrine disrupting organotin compounds are potent inducers of adipogenesis in vertebrates. *Mol. Endocrinol.*, 20: 2141-2155, 2006.
29. Katsu Y, S. Kohno, T. Oka, N. Mitsui, O. Tooi, N. Santo, H. Urushitani, Y. Fukumoto, K. Kuwabara, K. Ashikaga, S. Minami, S. Kato, Y. Ohta, L.J. Guillette, Jr., and T. Iguchi: Molecular cloning of estrogen receptor alpha (ER α ; ESR1) of the Japanese giant salamander, *Andrias japonicus*. *Mol. Cell. Endocr.*, 257-258: 84-94, 2006.
30. Kajiwara M, S. Kuraku, T. Kurokawa, K. Kato, S. Toda, H. Hirose, S. Takahashi, Y. Shibuya, T. Iguchi, T. Matsumoto, T. Miyata, T. Miura and Y. Takahashi: Tissue preferential expression of estrogen receptor gene in the marine snail, *Thais clavigera*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 148: 315-326, 2006.
- © 31. Kobayashi M, E. Takahashi, S. Miyagawa, H. Watanabe and T. Iguchi: Chromatin immunoprecipitation-mediated identification of aquaporin 5 as a regulatory target of estrogen in the uterus. *Genes Cells*, 11: 1133-1143, 2006.
32. Orlando EF, Y. Katsu, S. Miyagawa and T. Iguchi: Cloning and differential expression of estrogen receptor and aromatase genes in the self-fertilizing hermaphrodite and male mangrove Rivulus, *Kryptolebias marmoratus*. *J. Mol. Endocrinol.*, 37: 353-365, 2006.
33. Kato H, K. Naito, Y. Katsu, H. Watanabe, Y. Ohta and T. Iguchi: Ontogenic expression of estrogen receptor α in female rat corneas. *Ophthalmic Res.*, 38: 358-362, 2006.
- 2.学会発表

1. 加藤泰彦、小林かおる、勝義直、渡邊肇、井口泰泉：オオミジンコ DM ドメイン遺伝子ファミリーの解析. 環境ホルモン学会第 9 回研究発表会、東京 2006 年 11 月 11,12 日
2. Iguchi, T.: Application of microarray for identification of estrogen response element, estrogen responsive genes and unpredictable effects through nuclear receptors. Korean Society of Toxicogenomics & Toxicoproteomics, Inchon, Korea. 2006 年 11 月 6 日.
3. 井口泰泉：内分泌かく乱物質の生体影響に関する最近の知見と今後の課題. 第 50 回全国環境衛生大会、2006 年 11 月 1 日.
4. Iguchi, T.: Developmental Effects of Sex Hormones on Fish. Ecophysiology in Marine Organisms. Center for Marine Bioscience and Biotechnology, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan. 2006 年 10 月 3-4 日.
5. Iguchi, T.: Application of Toxicogenomics for Studying Endocrine Disruption and Basic Biology in Vertebrates and Invertebrates. Korea Genome Organization (KOGO), Annual Meeting, Seoul, Korea. 2006 年 9 月 22 日
6. Iguchi, T.: Recent Progress of Endocrine Disrupting Chemical Issues in Japan and Application of Ecotoxicogenomics for Studying Endocrine Disruption in Vertebrates and Invertebrates. Kyung Hee University, Korea. 2006 年 9 月 21 日
7. 加藤泰彦、小林かおる、勝義直、渡邊肇、井口泰泉：オオミジンコ DM ドメイン遺伝子の cDNA 単離と発現解析. 日本動物学会第 77 回大会 島根 2006 年 9 月 21-24 日
8. 谷口絵菜、勝義直、山藤憲明、戸笈修、井口泰泉、松野あきら：Raucous toad のエストロゲン受容体配列解析. 日本動物学会第 77 回大会、島根 2006 年 9 月 21-24 日
9. 中村武志、勝義直、渡邊肇、井口泰泉：新生仔期に DES を投与されたマウスの臍における Wnt ファミリー遺伝子の発現変化. 日本動物学会第 77 回大会、島根 2006 年 9 月 21-24 日
10. 勝義直、市川理恵、池内俊貴、ジレット ルイス、井口泰泉：爬虫類ステロイドホルモン受容体のクローニング. 日本動物学会第 77 回大会、島根 2006 年 9 月 21-24 日
11. Iguchi, T.: Application of Toxicogenomics for Studying Endocrine Disruption and Basic Biology in Vertebrates and Invertebrates. IGB, Leibniz-Institute, Inland Fisheries Research Institute, Berlin, Germany. 2006 年 9 月 4 日
12. Iguchi, T., H. Watanabe and Y. Katsu: Application of Toxicogenomics for Studying Endocrine Disruption and Basic Biology in Vertebrates and Invertebrates. 23rd Congress of European Comparative Endocrinologist, Manchester, UK. 2006 年 9 月 1 日
13. Iguchi, T.: Temperature-Dependent Sex Determination in Alligators. University of Florida, Gainesville, FL, USA. 2006 年 7 月 26 日
14. 井口泰泉：化学物質による内分泌かく乱の幾つかのメカニズムについて. 日本

リスク研究会第19回春期講演シンポジウム. 東京大学山上会館. 2006年6月16日.

15. Watanabe, H., Tatarazako, N., Oda, S. and Iguchi, T.: Toxicogenomic approach on *Daphnia magna*. Gordon Research Conference 2006: Environmental Endocrine Disruptors, Il Ciocco, Italy, June 4-9, 2006.

16. Iguchi, T.: Current progress of endocrine disruptor research in Japan. Gordon Research Conference 2006: Environmental Endocrine Disruptors, Il Ciocco, Italy, June 4-9, 2006.

H. 知的所有権の取得状況

なし

ヒト骨芽細胞に対する内分泌かく乱化学物質の影響に関する研究

分担研究者：笹野 公伸 東北大学大学院 医学系研究科 医科学専攻
病理病態学講座 病理診断学分野 教授

研究要旨

本研究では bisphenol A (BPA) のステロイド・生体異物受容体 (SXR) を介した骨芽細胞に対する影響を検討した。培養細胞は正常ヒト骨芽細胞 hFOB を対象とし、BPA の影響を細胞増殖及び細胞周期解析にて確認した。さらに本細胞での SXR を介した BPA の作用を確認した。SXR のヒト骨組織での発現については、免疫組織化学にて確認した。結果、BPA は hFOB の増殖を促した。また、hFOB において BPA は SXR を介し、CYP3A4 promoter の活性を促した。実施の骨組織においても SXR タンパクの発現を認めた。本研究で認められた BPA の骨芽細胞に対する増殖作用は、従来から考えられていたエストロゲン受容体ではなく、SXR を介した経路であることが示唆された。

A. 研究目的

本研究では bisphenol A (BPA) のステロイド・生体異物受容体を介した骨芽細胞に対する影響を検討した。

すなわち、ヒト骨組織は種々のステロイドホルモンの標的組織であり、内分泌かく乱化学物質の影響も強く受けると考えられる。我々はヒト骨芽細胞を用いて代表的なエストロゲン様作用を有するとされる BPA、genistein (GEN)、diethylstilbestrol (DES) の影響を本班会議にて報告してきた。本研究では BPA の骨芽細胞増殖作用に注目し、steroid and xenobiotic receptor (SXR) との関連について検討した。

B. 研究方法

ヒト骨芽細胞株 hFOB に対する BPA の影響を細胞増殖及び細胞周期解析にて確認した。さらに本細胞での SXR を介した BPA の作用を確認した。SXR のヒト骨組織での発現については、免疫組織化学にて確認した。

すなわち、以下の方法で実験を進めた。

化合物

Bisphenol A、rifampicin（以上、和光純薬工業株式会社）、estradiol (Sigma-Aldrich Co.)、ICI 182,780 (Tocris Cookson, Inc.)。溶媒は DMSO（和光純薬工業）を用いた。

ヒト正常骨芽細胞及び骨芽細胞様細胞

ヒト正常骨芽細胞として hFOB 1.19 [ATCC, CRL-11372, transfected with T large antigen; established by Harris SA *et al.* (1995, *J Bone*

Miner Res)] を使用した。ヒト骨芽細胞様細胞は MG-63 (osteosarcoma; 東北大学医用細胞資源センター) を用いた。

細胞増殖及び細胞周期解析

細胞増殖の判定には Cell Counting Kit-8 (株式会社同仁化学研究所) を使用した。細胞周期解析には FACS Calibur (Becton, Dickinson and Company) を使用した。

SXR reporter gene assays

pcDNA3.1(-)/SXR 及び pGL3/CYP3A4 promoter をトランスフェクションした。SXR agonist の rifampicin (RIF)、Estradiol (E2) 及び BPA をそれぞれ添加し、ルシフェラーゼの活性を測定した。

免疫組織化学

SXR (株式会社ペルテウスプロテオミクス)、alkaline phosphatase (骨芽細胞マーカー; Biogenesis Ltd.) 及び tartrate resistant acid phosphatase (破骨細胞マーカー; Lab Vision Corporation) の抗体をそれぞれ用い、ヒト骨組織 5 例での検討を行った。

(倫理面への配慮)

ヒト骨組織を用いた検討は、東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会の承認を得て、実施した。

C. 研究結果

BPA は hFOB の増殖を促した。また、hFOB において BPA は SXR を介し、CYP3A4 promoter の活性を促した。実施の骨組織においても SXR タンパクの発現を認めた。

すなわち、

1. 細胞増殖及び細胞周期に対する影響

BPA (10^{-7} ~ 10^{-5} M) の添加 (72 時間) にて、

有意な細胞数の増加を確認した。また、この増加はエストロゲン受容体阻害剤 ICI 182,780 で抑制されなかった。さらに細胞周期解析では、 10^{-7} M BPA の添加後 48 時間で S 期の細胞の増加 (15% → 20%) を確認した。

2. SXR reporter gene assay

hFOB での検討では、RIF (10^{-5} M) 添加によって有意な CYP3A4 promoter の活性 (溶媒対照と比して約 8 倍) が認められた。さらに BPA (10^{-6} 及び 10^{-5} M) 添加によっても有意な活性 (約 3~5 倍) が認められた。E2 添加では高濃度 (10^{-6} M) のみに有意な活性 (約 4 倍) を認めた。MG-63 においても、BPA による有意な活性 (約 3 倍) を認めた。

3. 骨組織における SXR の免疫組織化学

検討した全ての症例で、SXR の発現を認めた。その局在は骨芽細胞であると考えられた。この SXR 局在については alkaline phosphatase 陽性細胞だった。

D. 考察

近年、内分泌かく乱化学物質の骨組織への影響は魚類や爬虫類で注目されつつあり (Suzuki and Hattori, 2003, *Life Sci*; Lind et al., 2004, *Environ Health Perspect*)、さらに、Tsukamoto ら (2004, *Biochem Pharmacol*) はトリブチルスズ化合物の添加によってマウス胎児の骨形成が妨げられることを示した。このことはヒトを含めたほ乳類の骨組織に内分泌かく乱化学物質が影響を及ぼす可能性を示唆している。

我々は BPA が比較的低濃度 (10^{-7} M) から骨芽細胞の増殖を促すことを報告してきた (笹野、平成 16、17 年度井上班会議, 2005, 2006)。BPA のエストロゲン受容体に対する親和性は低く、

estrogenic な作用を引き起こすには高い濃度で (IC50: 約 10^{-5} - 10^{-6} M) の暴露が必要である (Nagel et al., 1997, *Environ Health Perspect*; Kuiper et al. 1997, *Endocrinology*; Blair et al., 2000, *Toxicol Sci*; Sheeler et al., 2000, *Environ Health Perspect*)。また、本研究での受容体阻害実験では、BPA の細胞増殖作用はエストロゲン受容体を介さないことが確認された。

そこで、本研究では BPA による骨芽細胞の増殖機序として、SXR に注目した。SXR は主に肝臓及び小腸に発現する他、我々は腎臓、肺及び大腸にも発現することを報告してきた (笹野, 平成 14 年度井上班会議, 2003; Miki et al., 2005, *Mol Cell Endocrinol*)。また、ヒト乳癌での検討では、SXR の発現が癌の増殖と進展に関与する可能性を示唆した (Miki et al., 2006, *Cancer Res*)。近年、Tabb ら (2003, *J Biol Chem*) は骨芽細胞様細胞 (MG-63) を用い、SXR を介したビタミン K₂ の作用を報告しており、さらに今年、Ichikawa ら (2006, *J Biol Chem*) はビタミン K₂ が SXR を介してコラーゲン蓄積に重要な遺伝子 (tukushi) を増加させることを報告した。以上のことから、骨芽細胞における SXR を介した細胞増殖経路が骨組織の維持に重要な働きを担っていると考えられる。BPA が SXR に結合し得ることは既に報告 (Takeshita et al., 2001, *Eur J Endocrinol*) されており、本研究で確認した BPA による細胞増殖刺激は、ビタミン K と同様に SXR を介するものと示唆される。

BPA を含めた内分泌かく乱化学物質のヒト骨組織での健康被害の報告例は無いが、血液透析に用いられるダイアライザーや血液回路などの医療器具にはポリ塩化ビニール樹脂やポリカーボネートを素材とするものも多く、そこから

溶出するビスフェノール A、フタル酸ジエステルなどの化学物質が体内に運び込まれている可能性を指摘されている。また、実際に血中の BPA は血液透析、腹膜透析の両者ともに健常人に比較して有意に高値であることが報告されている (菅野ら、2000 年、日本内分泌攪乱化学物質学会第 3 回研究会、横浜市)。近年、polymethylmethacrylate が椎骨圧迫骨折の治療に用いられており [商品名: Cranioplastic (Johnson & Johnson 社)、Simplex P (Striker 社)、Osteobond (Zimmer 社)]、骨組織に直接、化学物質が接触することが医療的に生じている。このことは今後、内分泌かく乱化学物質を含めた化学物質の骨組織への影響を検討し、明らかにすることが必要であると考えられる。

E. 結 論

本研究で認められた BPA の骨芽細胞に対する増殖作用は、エストロゲン受容体ではなく、SXR を介した経路であることが示唆された。

すなわち、近年、医療機器の開発を含めた医療の進歩により、様々な化学物質が医療の場に用いられるようになってきた。そのためそこに含まれる化学物質が医療行為によって体内を汚染することが懸念されている。また、本研究で注目した骨組織においても、治療上、これらの物質に直接接触する例が増えてきている。今回の研究では内分泌かく乱物質、特に BPA のヒト骨芽細胞に対しての影響の一部を明らかにすることができたが、今後、さらなるメカニズムについて詳細な検討が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Saito S, Ito K, Nagase S, Suzuki T, Akahira JI, Okamura K, Yaegashi N, **Sasano H**. Progesterone receptor isoforms as a prognostic marker in human endometrial carcinoma. *Cancer science*.2006; in press
2. Imai J, Katagiri H, Yamada T, Ishigaki Y, Ogihara T, Uno K, Hasegawa Y, Gao J, Ishihara H, **Sasano H**, Oka Y. Cold exposure suppresses serum adiponectin levels through sympathetic nerve activation in mice. *Obesity* 14:1132-1141. 2006
3. Nakamura Y, Suzuki S, Suzuki T, Ono K, Miura I, Satoh F, Moriya T, Saito H, Yamada S, Ito S, **Sasano H**. MDM2: A Novel Mineralocorticoid-Responsive Gene Involved in Aldosterone-Induced Human Vascular Structural Remodeling. *The American journal of Pathology*.169:362-371.2006
4. **Sasano H**, Suzuki T. Chemoprevention of breast cancer among Asian women-its perspective and problems. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 60:266-268.2006
5. Ota K, Ito K, Suzuki T, Saito S, Tamura M, Hayashi S, Okamura K, **Sasano H**, Yaegashi N. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and growth inhibition by its ligands in uterine endometrial carcinoma. *Clinical Cancer Research* ;12:4200-4208.2006
6. Nakamura Y, Shimada N, Suzuki T, Imatani A, Sekine H, Ohara S, Shimosegawa T, **Sasano H**. In situ androgen production in human gastric carcinoma--androgen synthesizing and metabolizing enzymes. *Anticancer Research* 26:1935-1939. 2006
7. Cheng YH, Imir A, Suzuki T, Fenkci V, Yilmaz B, **Sasano H**, Bulun SE. SP1 and SP3 Mediate Progesterone-Dependent Induction of the 17beta Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 Gene in Human Endometrium. *Biology of Reproduction*.75:605-614.2006
8. Okura T, Miyoshi K, Watanabe S, Kurata M, Irita J, Manabe S, Fukuoka T, Higaki J, **Sasano H**. Coexistence of three distinct adrenal tumors in the same adrenal gland in a patient with primary aldosteronism and preclinical Cushing's syndrome. *Clinical and Experimental Nephrology*.10:127-130.2006
9. Uno K, Katagiri H, Yamada T, Ishigaki Y, Ogihara T, Imai J, Hasegawa Y, Gao J, Kaneko K, Iwasaki H, Ishihara H, **Sasano H**, Inukai K, Mizuguchi H, Asano T, Shiota M, Nakazato M, Oka Y. Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity. *Science*.312:1656-1659.2006
10. **Sasano H**, Suzuki T, Nakata T, Moriya T. New development in intracrinology of breast carcinoma. *Breast Cancer*.13:129-136.2006
11. Nakamura Y, Suzuki T, Igarashi K, Kanno J, Furukawa T, Tazawa C, Fujishima F, Miura I, Ando T, Moriyama N, Moriya T, Saito H, Yamada S,

Sasano H.

PTOV1: a novel testosterone-induced atherogenic gene in human aorta.

Journal of Pathology.209:522-531.2006

12. Sakurai N, Miki Y, Suzuki T, Watanabe K, Narita T, Ando K, Yung TM, Aoki D, **Sasano H**, Handa H.

Systemic distribution and tissue localizations of human 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 12.

Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.99:174-181.2006

13. Fukai N, Hirono Y, Yoshimoto T, Doi M, Ohtsuka Y, Homma K, Shibata H, **Sasano H**, Hirata Y.

A Case of Estrogen-secreting Adrenocortical Carcinoma with Subclinical Cushing's Syndrome.

Endocrine Journal.53:237-245.2006

14. Suzuki T, Hayashi S, Miki Y, Nakamura Y, Moriya T, Sugawara A, Ishida T, Ohuchi N, **Sasano H**.

Peroxisome proliferator-activated receptor {gamma} in human breast carcinoma: a modulator of estrogenic actions.

Endocrine Related Cancer.13:233-250.2006

15 .Ito O, Nakamura Y, Tan L, Ishizuka T, Sasaki Y, Minami N, Kanazawa M, Ito S, **Sasano H**, Kohzuki M.

Expression of cytochrome P-450 4 enzymes in the kidney and liver: Regulation by PPAR and species-difference between rat and human.

Molecular and Cellular Biochemistry.284:141-148.2006

16. Nakamura Y, Suzuki T, Fukuda T, Ito A, Endo M, Moriya T, Arai Y, **Sasano H**.

Steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in human prostate cancer.

The Prostate.66:1005-1012.2006

2. 学会発表
(英文)

1. Aromatase Inhibitor and Bone

H.Sasano

3rd Annual OOTR Conference, Hong Kong

September22-23 2006

2. An Analysis of Surrogate Marker for Molecular Therapy in Breast Cancers

Using Surgical Pathology Materials

H.Sasano

3rd Annual OOTR Conference, Hong Kong

September22-23 2006

3. Aromatase Localization in Human Breast Cancer Tissues - Possible Interactions Between Intratumoral Stromal and Parenchymal Cells

H.Sasano

VIII International Aromatase Conference,Baltimore, USA

September18-20 2006

4. Intracrinology of Human Breast Cancer

H.Sasano

12th International Congress on Hormonal Steroids and Hormones & Cancer

Athens-Greece

September13-16 2006

5. Aromatase localization in human breast carcinoma:a possible interaction between

intaratumoral stromal and parenchymal cells

Y.Miki,T.Suzuki,

Y.Yamaguchi,S.Honma,T.Moriya,D.Evans,
S.Hayashi,N.Ohuchi,**H.Sasano**
12th International Congress on Hormonal Steroids
and Hormones & Cancer
Athens-Greece
September13-16 2006

6. Expression of estrogen related genes (EBAG9 and
efp)and its clinicopathological
significance in patients with epithelisal ovarian
cancer
J.Akahira,M.Sakuma,T.Suzuki,Y.Miki,T.Moriya,N.Y
aegashi,**H.Sasano**
12th International Congress on Hormonal Steroids
and Hormones & Cancer
Athens-Greece
September13-16 2006

7. A Novel Mineralocorticoid Reponsive Gene
Involved in Aldosterone-Induced
Human vascular Structural Remodeling
Y Nakamura,T Suzuki,**H Sasano**
INTERNATIONAL 32nd ALDOSTERONE
CONFERENCE2006 Boston
June22-23 2006

8. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ
(PPAR γ)in Human Breast Carcinoma:A
Modulator of Estrogenic Actions
T Suzuki,Y Miki,T Moriya,A Sugawara,
S Hayashi,**H Sasano**
ENDO2006 88th Annual Meeting BOSTON
June 24-27 2006

9. A Novel Mineralocorticoid Responxive Gene
Involved in Aldosterone-InducedHuman vascular
Structural Remodeling.
Y Nakamura,T Suzuki,F Satoh,**H Sasano**

ENDO2006 88th Annual Meeting BOSTON

June 24-27 2006

(邦文)

1. ヒト乳癌組織における性ステロイド合成
鈴木貴、森谷卓也、三木康宏、平川久、林慎一、
笹野公伸
第38回日本臨床分子形態学会総会ならびに学術
集会 山口 2006.9.29-30
 2. 微小環境に依存した子宮体癌のエストロゲン
受容体活性化の解析
松本光代、山口ゆり、鈴木貴、笹野公伸、伊藤
潔、八重樫伸生、林慎一
第 65 回日本癌学会学術総会 横浜
2006.9.28-30
 3. ヒト乳癌アロマターゼの腫瘍内局在と発現機
序の検討
三木康宏、鈴木貴、山口ゆり、森谷卓也、林慎
一、大内憲明、笹野公伸
第 65 回日本癌学会学術総会 横浜
2006.9.28-30
 4. 乳癌の Intracrinology
笹野公伸、三木康宏、鈴木貴
第 7 回ホルモンと癌研究会 群馬
2006.6.30-7.1
 5. 乳癌組織における核内受容体 LRH-1 の発現
意義
鈴木貴、三木康宏、渋谷里絵、中村保宏、森谷
卓也、笹野公伸
第 95 回日本病理学会総会 東京
2006.4.30-5.2
- H. 知的所有権の取得状況**
特になし