

200839015A

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

化学物質の経気道暴露による毒性評価の迅速化、
定量化、高精度化に関する研究

—シックハウス症候群レベル低濃度暴露を考慮した吸入トキシコゲノミクスを
核とする評価体系の開発—

(H20-化学-一般-001)

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小川 幸男

平成 21(2009)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

化学物質の経気道暴露による毒性評価の迅速化、
定量化、高精度化に関する研究

—シックハウス症候群レベル低濃度暴露を考慮した吸入トキシコゲノミクスを

核とする評価体系の開発—

(H20-化学-一般-001)

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小川 幸男

平成 21(2009)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

化学物質の経気道暴露による毒性評価の迅速化、
定量化、高精度化に関する研究
—シックハウス症候群レベル低濃度暴露を考慮した吸入トキシコゲノミクスを
核とする評価体系の開発—
(H20-化学-一般-001)

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小川 幸男

平成 21(2009)年 3 月

研究報告書目次

目 次

I. 総括研究報告書

化学物質の経気道暴露による毒性評価の迅速化、定量化、高精度化に関する研究
-シックハウス症候群レベル低濃度暴露を考慮した吸入トキシコゲノミクスを
核とする評価体系の開発-

小川 幸男 1

II. 分担研究報告書

1. トキシコゲノミクスに有用な吸入暴露システムの開発・改良と吸入暴露

小川 幸男 17

2. 経気道曝露モデルに対応した化学物質のヒト気道上皮細胞の遺伝子発現への影響

慶長 直人 137

3. 吸入暴露影響の網羅的遺伝子発現解析、経口暴露との対比による評価・優先順位
付けの網羅性の向上

菅野 純 141

4. 化学物質の極低濃度暴露の実現のための技術開発に関する研究

長野 嘉介 149

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 169

IV. 研究成果の刊行物・別刷 171

I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

総括研究報告書

化学物質の経気道暴露による毒性評価の迅速化、定量化、高精度化に関する研究
-シックハウス症候群レベル低濃度暴露を考慮した吸入トキシコゲノミクスを核とする
評価体系の開発-

研究代表者 小川 幸男

国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・毒性部・室長

研究要旨

本研究は、化学物質リスク評価法の基盤整備として、日常生活に於いて使用あるいは受動的に暴露される様々な化学物質の安全性確保の為の毒性発現メカニズムに基づいた、より迅速、定量的、且つ、高精度な吸入毒性評価システムを構築することを目的とする。特に、シックハウス症候群の様に、人に於ける被害報告濃度と実験動物の器質変化濃度の乖離が指摘されてきた極低濃度吸入毒性への理論的及び現実的な対応を包含することを目指すものである。

先行 3 年間の研究（厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）「化学物質の経気道暴露による毒性評価手法の開発、高度化に関する研究」（H17-化学一般-003））に於いて、「厚生労働省シックハウス問題に関する検討会」が掲げる 13 物質の内、ホルマリン、トルエンなど 6 種の気化性物質について同検討会・室内指針値付近の極低濃度に於ける暴露実験を実施し、肺及び肝の網羅的遺伝子発現変動解析によるデータの蓄積（一化合物につき、単回暴露、反復暴露など 3 プロトコール、各 48 匹、肺及び肝の 2 臓器、延べ 6,300 万遺伝子発現情報）及び、インフォマティクス解析により低濃度吸入毒性の特性を示唆する生物学的に興味深い所見が得られている。本研究では、先行研究の成果を踏まえ、上記 13 物質の内、暴露条件の設定が比較的難しい昇華性化学物質の極低濃度吸入暴露実験の実施と、肺を主体とした遺伝子発現変動解析、データベース構築を推進する。これに加えて新たに、ヒト気道上皮細胞を用いた *in vitro* 解析研究を実施し、人への外挿性の向上を計る。そこで研究班を次の 4 つの分担研究によって構成し研究を開始した。トキシコゲノミクスに有用な経気道暴露システムの開発・改良と吸入暴露（小川）、化学物質の極低濃度暴露の実現のための技術開発に関する研究（長野）、経気道暴露影響の網羅的遺伝子発現解析、経口暴露との対比による評価・優先順位付けの網羅性の向上（菅野）、人への外挿にかかわる基礎的及び臨床的解析、及びヒト気道上皮細胞系による毒性応答メカニズムの研究（慶長）。

今年度小川は、昇華性化学物質パラジクロロベンゼンの極低濃度暴露（指針値

0.04ppmを暴露目標値とした)に対応した、空気を吹き付け昇華させる直接昇華法による発生装置を用い、捕集管による実測により目的とする極低濃度の暴露濃度0.032ppmを得た。またパラジクロロベンゼンとテトラデカン吸入暴露実験を実施し、具体的には、パラジクロロベンゼン(指針値0.04ppm、暴露目標値0.04、0.12、0.40ppm)とテトラデカン(指針値0.04ppm、暴露目標値0.04、0.12、0.40ppm)の経気道暴露(4用量、16群構成、各群3匹)、両物質につき、2時間単回暴露(2、4、8、24時間後)、6時間/日×7日間暴露(6、22、70、166時間後)と22時間/日×7日間暴露(22、70、166、190時間後)を行い、マウス肺及び肝のmRNAサンプルを取得した。長野は、パラジクロロベンゼンとテトラデカンを対象として室内濃度指針値(両者とも0.04ppm)を考慮した極低濃度で動物に全身暴露する方法の開発を試みた。その結果、パラジクロロベンゼンは発生器を加熱し昇華させる方法、テトラデカンは加熱バブリング法により気化させる方法により0.04、0.12及び0.4ppmの目標暴露濃度で吸入暴露する方法を開発することが出来た。菅野は、国立医薬品食品衛生研究所毒性部に於いて開発された定量性に優れたトキシコゲノミクス手法(Percellome法)を適用し、パラジクロロベンゼンとテトラデカンの両物質につき経気道暴露したマウス肺、肝サンプルの網羅的遺伝子発現データを解析した。その結果、両物質共に極低濃度暴露によっても、肺及び肝、双方に於いてシグナル伝達に関わる比較的多数の遺伝子発現変動が認められ、また肺と肝では一部共通するものの遺伝子発現プロファイルが異なること、加えて、パラジクロロベンゼンでは、肺に於けるグルタチオンペルオキシダーゼをはじめとする酸化ストレス応答遺伝子の発現誘導が、6時間暴露よりも22時間暴露時の方が強いなど、同じ化学物質でも暴露時間が異なると遺伝子発現プロファイルが異なることが明らかとなった。慶長は、ヒト気道上皮細胞株を用いる*in vitro*の系により、細菌性リポ多糖(LPS)ないしpoly ICの低濃度刺激下の炎症応答に対する、ホルムアルデヒド添加の影響を検討した。その結果、ホルムアルデヒドによる炎症性サイトカインの遺伝子発現増強効果を明らかにした。

このように、シックハウスレベルの極低用量暴露に於いても、網羅的遺伝子発現解析手法により昇華性化学物質の低濃度経気道暴露によって生じる生体反応変化を予測することが可能であることが示唆された。すなわち、網羅的遺伝子発現解析手法は、ヒトに於ける症候発現濃度を動物に暴露した場合にも有効な生理反応検出手法として活用できることが示された。これにより、これまで指摘されてきた従来の動物試験での症候検出可能濃度とヒトに於いて報告される症候発現濃度に隔たりがあるという課題を、遺伝子発現解析手法が克服しうることを示された。加えて、ヒト気道上皮細胞株を用いる*in vitro*の実験系での解析が可能となったことから、より人への外挿性の向上を計ることが可能となった。今後も、昇華性物質につき極低用量経気道暴露による高精度な毒性評価手法の開発を推し進めていくことが重要であると考えられる。

研究分担者

慶長 直人 国立国際医療センター研究所
呼吸器疾患研究部 部長
菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所
毒性部 部長
長野 嘉介 中央労働災害防止協会 日本
バイオアッセイ研究センター 副
所長

A. 研究目的

本研究は、化学物質リスク評価法の基盤整備として、日常生活に於いて使用あるいは受動的に暴露される様々な化学物質の安全性確保の為の毒性発現メカニズムに基づいた、より迅速、定量的、且つ、高精度な吸入毒性評価システムを構築することを目的とする。特に、シックハウス症候群の様に、人に於ける被害報告濃度と実験動物の器質変化濃度の乖離が指摘されてきた極低濃度吸入毒性への理論的及び現実的な対応を包含することを旨とする。

先行3年間の研究（厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）「化学物質の経気道暴露による毒性評価手法の開発、高度化に関する研究」（H17-化学一般-003））に於いて、「厚生労働省シックハウス問題に関する検討会」が掲げる13物質の内、ホルマリン、トルエンなど6種の気化性物質について同検討会・室内指針値付近の極低濃度に於ける暴露実験を実施し、肺及び肝の網羅的遺伝子発現変動解析によるデータの蓄積（一化合物につき、単回暴露、反復暴露など3プロトコル、各48匹、肺及び肝の2臓器、延べ6,300万遺伝子発現情報）及び、インフォマティクス解析により低濃度吸入毒性の特性を示唆する生物学的に興味深い所見が得られている。

本研究では、先行研究の成果を踏まえ、

上記13物質の内、暴露条件の設定が比較的難しい昇華性化学物質の極低濃度吸入暴露実験の実施と肺を主体とした遺伝子発現変動解析、データベース構築を推進する。これに加えて新たに、ヒト気道上皮細胞を用いた *in vitro* 解析研究を実施し人への外挿性の向上を計る。本研究により得られた成果は、日常生活に於いて使用あるいは受動的に暴露される様々な化学物質の吸入毒性、特にシックハウス症候群の様に、人に於ける被害報告濃度と実験動物の器質変化濃度の乖離が指摘されてきた極低濃度吸入毒性への理論的及び現実的な対応について情報を提供でき、このことを通して保健衛生及び国民生活の質の向上に寄与することが期待される。

B. 研究方法

（1）トキシコゲノミクスに有用な吸入暴露システムの開発・改良と吸入暴露

今年度は、フタル酸ジエチルヘキシルとパラジクロロベンゼンの極低濃度暴露システムの改良と、テトラデカンとパラジクロロベンゼンのマウスへの経気道暴露及び網羅的遺伝子発現解析を行うための肺及び肝を採取した。

（1）-1. フタル酸ジエチルヘキシル（DEHP）の極低濃度暴露システムの改良

DEHPのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値が0.0076 ppmであることから、0.0076 ppmを目標値とした。詳細は実験結果部分に記載するが、DEHPの蒸気圧は、目標のガス濃度が得られるほど高くないため、気化法による実験を一旦中止することとした。

（1）-2. パラジクロロベンゼンの極低濃度暴露システムの改良

パラジクロロベンゼンの蒸気圧は170 Pa (20℃)である。マウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値が0.04 ppmであることから、これを低濃度とし、公比3で0.12、0.4ppmを中高用量の目標値とした。ガス発生方法は、本実験の目標濃度が極低濃度であるため、加熱溶融により高濃度のガスを発生させた場合、希釈倍率を高めなければならない、希釈空気の脈流だけで濃度が不安定となり、本実験には不向きと考えられた。そこで、濃度安定性が高い固体から昇華させる方法を採用した。濃度検知は、捕集管(活性炭カラム)を用いる方法で測定した。

(1)-3. テトラデカンとパラジクロロベンゼンの経気道暴露実験

昇華性化学物質パラジクロロベンゼン(指針値0.04 ppm、暴露目標値0.04、0.12、0.40 ppm)とテトラデカン(指針値0.04 ppm、暴露目標値0.04、0.12、0.40 ppm)の経気道暴露(4用量、16群構成、各群3匹)を行い、両物質につき、2時間単回暴露(2、4、8、24時間後)、6時間/日×7日間暴露(6、22、70、166時間後)と22時間/日×7日間暴露(22、70、166、190時間後)を実施し、マウス肺及び肝のmRNAサンプルを取得した。

(2) 化学物質の極低濃度暴露の実現のための技術開発に関する研究

今年度は、溶剤や洗浄剤として使用され、また灯油に含まれているテトラデカン、及び防虫剤や消臭剤として使用されているパラジクロロベンゼンを対象として、極低濃度で実験動物に経気道暴露するための技術開発を行った。

(2)-1. テトラデカンの極低濃度暴露のための技術開発

テトラデカンは融点が5.9℃、沸点が253.7℃であり、常温では液体である。蒸気圧は1.33hPa (76.4℃)であり、比較的蒸発しにくい、一般環境での暴露状態に合わせて加熱バブリング法により気化させ一定濃度のテトラデカン蒸気を得る方法を選択した。具体的には、被験物質供給装置の発生容器内のテトラデカンを循環式恒温槽で加熱(24℃)しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させ、これを循環式恒温槽で一定温度(18℃)に冷却後、循環式恒温槽で一定温度に再加熱(25℃)する方法により、所定のテトラデカン蒸気を得ることができた。濃度検知は、捕集管(活性炭カラム)を用いる方法で測定した。

(2)-2. パラジクロロベンゼンの極低濃度暴露のための技術開発

パラジクロロベンゼンは融点が53℃で、常温では固体であり、気体に昇華する性質がある。加熱によるパラジクロロベンゼンの変性の可能性を考慮し、また、家庭環境ではパラジクロロベンゼンが昇華により気中に拡散することから、固体から昇華する蒸気を利用する方法を選択し、発生装置を製作した。すなわち、恒温槽(27℃)に収納した発生容器内に固体のパラジクロロベンゼンを入れ、清浄空気を供給し気化させると共に、キャリアー空気を流す装置を製作した。その結果、所定の濃度のパラジクロロベンゼン蒸気を再結晶せずに発生させることが出来た。濃度検知は、捕集管(活性炭カラム)を用いる方法で測定した。

(3) 吸入暴露影響の網羅的遺伝子発現解析、経口暴露との対比による評価・優先順位付けの網羅性の向上

今年度は、昇華性化学物質パラジクロロベンゼンとテトラデカンにつきデータ解析を検討した。両物質を雄性 C57BL/6CrSlc マウスに経気道暴露 (4 用量、16 群構成、各群 3 匹) させ、両物質につき、2 時間単回暴露 (2、4、8、24 時間後)、6 時間/日×7 日間暴露 (6、22、70、166 時間後) と 22 時間/日×7 日間暴露 (22、70、166、190 時間後) を検討し、得られたマウス肺及び肝 mRNA サンプルにつき、当方が開発した Percellome 手法 (遺伝子発現値の絶対化手法) を適用した網羅的遺伝子発現解析を行った。両物質共に、指針値 0.04 ppm に対し、暴露目標値は 0.04、0.12、0.40 ppm である。DNA マイクロアレイは Affymetrix 社の GeneChip (Mouse Genome 430 2.0) を用いた。遺伝子発現変動を、我々が開発した「Rsort」を用いて、網羅的に解析した。このソフトは、各遺伝子 (probe set: ps) につき、用量、経時変化及び遺伝子の発現コピー数を各軸とした 3 次元グラフにおいて、発現を表す平面につき凹凸を評価し、全ての ps を生物学的に有意な順に並び替えるソフトである。また、シグナルパスウェイの探索は、Ingenuity Pathways Analysis (IPA) (Ingenuity Systems Inc.) を用いて検討した。

(4) 人への外挿にかかわる基礎的及び臨床的解析、及びヒト気道上皮細胞系による毒性応答メカニズムの研究

今年度は、ヒト気道上皮細胞株を用いて、細菌性リポ多糖 (lipopolysaccharide; LPS) ないし poly IC の低濃度刺激下での炎

症応答に対する、ホルムアルデヒド添加による *in vitro* での影響を検討した。

「刺激物質」は、外来性吸入粉塵や微生物を代表する物質として、作用機作がよく検討されており、構造の単純な、LPS 及び Poly I:C を選択した。「細胞」は、ヒト気道上皮細胞株 BEAS2B 及びヒト肺胞様癌化細胞株 A549 を用い、培養及び予備実験を行った。「培養及び刺激」は、細胞株を 25cm² フラスコで培養し (5×10⁵ cells/flask)、90% confluent で LPS (10 ng/ml, 100 ng/ml), Poly I:C (1 mg/ml, 10 mg/ml) の刺激を加え、24 時間後に formaldehyde (100 mM, 200 mM) を添加、さらに 3 時間後に細胞を回収、RNA を抽出し、定量的 RT/PCR を実施した。予備実験として、マーカーとなる発現遺伝子として、IL-8 を選択した。また適宜、CCL5, TNF, TLR4 遺伝子についても選択して、実験を行った。「タンパク発現」については、ELISA 系により (Multi-Analyte ELISArray Kit: SABiosciences)、培養上清中の 12 種類のサイトカイン (IL8, MCP-1, RANTES, MIP-1a, MIP-1b, IP-10, I-TAC, MIG, Eotaxin, TARK, MDC, GROa) を同時測定した。

C. 研究結果

(1) トキシコゲノミクスに有用な吸入暴露システムの開発・改良と吸入暴露

今年度は、フタル酸ジエチルヘキシルとパラジクロロベンゼンの極低濃度暴露システムの改良と、テトラデカンとパラジクロロベンゼンの経気道暴露実験を行った。

(1) -1. フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) の極低濃度暴露システムの改良

DEHP のマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値が 0.0076 ppm で

あることから、0.0076 ppmを目標値とした。当初、国際化学物質安全性カードあるいは化学物質等安全データシートに記載されている蒸気圧は0.001 kPa (20℃)であったため、このデータを基に、加熱バブリング法により気化させ一定濃度のDEHP蒸気を得ることが可能と判断した。しかし、発生器内で測定したDEHPの濃度は検出限界以下であった。そこで再度、文献の調査を行ったところ、環境保健クライテリア 131には、0.00086 Pa、化学物質の初期リスク評価書には 3.04×10^{-5} Pa (20℃)、JRC EUROPEAN COMMISSION のリスク評価書には0.000034 Pa (20℃) と記載され、蒸気圧は当初の計算に用いた値より千分の一以下と低いことが明らかとなり、DEHPの蒸気圧は、目標のガス濃度が得られるほど高くないため、気化法による実験を一旦中止することとした。

(1) -2. パラジクロロベンゼンの極低濃度暴露システムの改良

昇華性化学物質パラジクロロベンゼンについて、マウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値が0.04 ppmであることから、これを低濃度とし、公比3で0.12、0.4 ppmを中高用量の目標値とした。ガス発生方法は、本実験の目標濃度が極低濃度であるため、加熱溶融により高濃度のガスを発生させた場合、希釈倍率を高めなければならず、希釈空気の脈流だけで濃度が不安定となり、本実験には不向きと考えられた。そこで、濃度安定性が高い固体から昇華させる方法を採用した。発生装置を製作し、発生したガスを二段階希釈することで、目標に近い0.032、0.100、0.344 ppmという濃

度を得た。

(1) -3. テトラデカンとパラジクロロベンゼンの経気道暴露実験

昇華性化学物質パラジクロロベンゼン (指針値0.04 ppm、暴露目標値0.04、0.12、0.40 ppm) とテトラデカン (指針値0.04 ppm、暴露目標値0.04、0.12、0.40 ppm) の経気道暴露 (4用量、16群構成、各群3匹) を行い、両物質につき、2時間単回暴露 (2、4、8、24時間後)、6時間/日×7日間暴露 (6、22、70、166時間後) と22時間/日×7日間暴露 (22、70、166、190時間後) を実施し、マウス肺及び肝のmRNAサンプルを取得した。

(2) 化学物質の極低濃度暴露の実現のための技術開発に関する研究

今年度は、溶剤や洗浄剤として使用され、また灯油に含まれているテトラデカン、及び防虫剤や消臭剤として使用されているパラジクロロベンゼンを対象として、極低濃度で実験動物に経気道暴露するための技術開発を行った。

(2) -1. テトラデカンの極低濃度暴露のための技術開発

テトラデカンの蒸気圧は 1.33hPa (76.4℃) であり、比較的蒸発しにくい、一般環境での暴露状態に合わせて加熱バブリング法により気化させ一定濃度のテトラデカン蒸気を得る方法を選択した。具体的には、被験物質供給装置の発生容器内のテトラデカンを循環式恒温槽で加熱 (24℃) しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させ、これを循環式恒温槽で一定温度 (18℃) に冷却後、循環式恒温槽で一定温度に再加熱 (25℃) する方法により、所定のテトラデカン蒸気を得ることがで

きた。

指針値が 0.04 ppm であるため、目標吸入暴露濃度 0.04、0.12、0.40 ppm とし、6 時間/日、7 日間及び 22 時間/日、7 日間の吸入暴露試験を行った。その結果、6 時間/日、7 日間試験では、吸入チャンバー内の測定値の平均±標準偏差（最低～最高値）は、それぞれ 0.039 ± 0.003 ppm (0.036～0.044 ppm)、 0.123 ± 0.013 ppm (0.107～0.144 ppm) 及び 0.422 ± 0.046 ppm (0.386～0.497 ppm) であった。また、22 時間/日、7 日間試験では、それぞれ 0.046 ± 0.008 ppm (0.0035～0.0053 ppm)、 0.128 ± 0.015 ppm (0.107～0.152 ppm) 及び 0.383 ± 0.038 ppm (0.332～0.427 ppm) となった。従って、目標濃度との差は各濃度とも 10%以内となり、目標暴露濃度で吸入暴露する方法を開発することが出来た。

(2) -2. パラジクロロベンゼンの極低濃度暴露のための技術開発

パラジクロロベンゼンは気体に昇華する性質がある。加熱によるパラジクロロベンゼンの変性の可能性を考慮し、また、家庭環境ではパラジクロロベンゼンが昇華により気中に拡散することから、固体から昇華する蒸気を利用する方法を選択し、発生装置を製作した。すなわち、恒温槽 (27°C) に収納した発生容器内に固体のパラジクロロベンゼンを入れ、清浄空気を供給し気化させると共に、キャリアー空気を流す装置を製作した。その結果、所定の濃度のパラジクロロベンゼン蒸気を再結晶せずに発生させることが出来た。

指針値が 0.04 ppm であるため、目標吸入暴露濃度 0.04、0.12、0.40 ppm とし、6 時間/日、7 日間及び 22 時間/日、7 日間の

パラジクロロベンゼンの吸入暴露試験を行った。その結果、6 時間/日、7 日間試験では、吸入チャンバー内の測定値の平均±標準偏差(最低～最高値)は、それぞれ 0.039 ± 0.002 ppm (0.036～0.142 ppm)、 0.119 ± 0.010 ppm (0.108～0.137 ppm) 及び 0.387 ± 0.032 ppm (0.351～0.443 ppm) であった。また、22 時間/日、7 日間試験では、それぞれ 0.040 ± 0.005 ppm (0.034～0.047 ppm)、 0.120 ± 0.013 ppm (0.107～0.141 ppm) 及び 0.404 ± 0.050 ppm (0.342～0.465 ppm) となった。従って、目標濃度との差は各濃度とも 10%以内となり、目標暴露濃度で吸入暴露する方法を開発することが出来た。

(3) 吸入暴露影響の網羅的遺伝子発現解析、経口暴露との対比による評価・優先順位付けの網羅性の向上

今年度は、昇華性化学物質パラジクロロベンゼンとテトラデカンにつきデータ解析を検討した。両物質を雄性 C57BL/6CrSlc マウスに経気道暴露 (4 用量、16 群構成、各群 3 匹) させ、両物質につき、2 時間単回暴露 (2、4、8、24 時間後)、6 時間/日×7 日間暴露 (6、22、70、166 時間後) と 22 時間/日×7 日間暴露 (22、70、166、190 時間後) を検討し、得られたマウス肺及び肝 mRNA サンプルにつき、当方が開発した Percellome 手法 (遺伝子発現値の絶対化手法) を適用した網羅的遺伝子発現解析を行った。両物質共に、指針値 0.04 ppm に対し、暴露目標値は 0.04、0.12、0.40 ppm である。

解析の結果、両物質共に、肺及び肝、双方に於いてシグナル伝達に関わる比較的多数の遺伝子発現変動が認められ、また肺と肝では一部共通するものの遺伝子発現プロファイルが異なること、加えて、パラジク

ロロベンゼンでは、肺に於けるグルタチオンペルオキシダーゼをはじめとする酸化ストレス応答遺伝子の発現誘導が、6時間暴露よりも22時間暴露時の方が強いなど、同じ化学物質でも暴露時間が異なると遺伝子発現プロファイルが異なることが明らかとなった。この22時間暴露時の酸化ストレス応答は、パラジクロロベンゼン指針値レベルより用量依存的に増加していることが明らかとなった。

以下に具体的に各解析結果を示す。

(3)-1: パラジクロロベンゼン極低濃度経気道暴露時の遺伝子発現変動解析:

以下に、2時間単回暴露、6時間/日×7日間暴露と22時間/日×7日間暴露、それぞれについて、肺と肝に於ける解析結果を示す。

(3)-1-A: パラジクロロベンゼン[2時間単回暴露]の「肺」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

サンプリングは終了しており、今後、網羅的遺伝子発現変動解析を検討する予定である。

(3)-1-B: パラジクロロベンゼン[2時間単回暴露]の「肝」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

サンプリングは終了しており、今後、網羅的遺伝子発現変動解析を検討する予定である。

(3)-1-C: パラジクロロベンゼン[6時間/日×7日間暴露]の「肺」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

Ingenuity Pathways Analysis (IPA)を用いたシグナルパスウェイの探索の結果、生体機能のカテゴリーとして、Organismal injury and abnormalities 及び Respiratory disease 等が抽出されてきた

が、これに関与するシグナル分子を検討した結果、両者ともに炎症に関与し得る F13a1 (coagulation factor XIII, A1 subunit), (70h 後) Hmox1 (heme oxygenase (decycling)1) (6h 後), Ahr (Aryl hydrocarbon receptor) (166h 後) が見いだされた。またシグナルパスウェイとしては、Wnt/b-catenin signaling 及び NRF2-mediated oxidative stress response 等が抽出されてきたが、これに関与するシグナル分子を検討した結果、前者では Sox11 (166h 後) と Axin2 (166h 後) が、後者では Hmox1 (6h 後) が見いだされた。

(3)-1-D: パラジクロロベンゼン[6時間/日×7日間暴露]の「肝」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

Wnt シグナルに関与する Wnt7a (6h 後) 及び受容体と考えられる Fzd6 (22h 後)、Fzd5 (166h 後) の発現増加が認められた。「肺」での解析時と共通して変動した遺伝子は認められなかった。

(3)-1-E: パラジクロロベンゼン[22時間/日×7日間暴露]の「肺」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

IPA による検討の結果、生体機能のカテゴリーとして、Cancer 及び Immunological disease 等が抽出されてきたが、これに関与するシグナル分子を検討した結果、両者共に、Gpx2 (glutathione peroxidase 2) (22, 70, 166, 190h 後), C1qbp (complement component 1, q subcomponent binding protein) (166h 後), Apoe (166, 190h 後), Fus (fusion, derived from t(12;16) malignant liposarcoma) (22h 後) が見いだされた。またシグナルパスウェイとしては、Glutathione metabolism 及び NRF2-mediated oxidative stress response

等抽出されてきたが、これに関与するシグナル分子を検討した結果、Gpx2 (22, 70, 166, 190h 後), Gsta2 (glutathione S-transferase alpha 2) (22h 後), Gsta4 (166h 後), Gstml (166h 後)が、また後者ではこれに加えて Aox1 (aldehyde oxidase 1) (22, 70, 166h 後)が見いだされた。これらの遺伝子の発現増加は、用量依存的であった。

(3)-1-F: パラジクロロベンゼン[22時間/日×7日間暴露]の「肝」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

IPAによる検討の結果、シグナルパスウェイとして、Mitochondrial dysfunction、Oxidative phosphorylation 等抽出されてきたが、これに関与するシグナル分子を検討した結果、Cox8a (cytochrome c oxidase, subunit VIIIa) (70h 後)、Ndufa (NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subunit 4) (70h 後)、Sdhb (succinate dehydrogenase complex, subunit D, integral membrane protein) (70h 後)などであった。その他、発現誘導が顕著な遺伝子として、Sox4 (70, 166, 190h 後)、Sox18 (70, 166h 後)、Atf4 (190h 後)、Slc25a25 (190h 後)などの遺伝子が見いだされた。

(3)-2: テトラデカン極低濃度経気道暴露時の遺伝子発現変動解析:

以下に、2時間単回暴露、6時間/日×7日間暴露と22時間/日×7日間暴露、それぞれについて、肺と肝に於ける解析結果を示す。

(3)-2-A: テトラデカン [2時間単回暴露]の「肺」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

IPAによる検討ではシグナルパスウェイ

は見いだせなかった。また、肺の障害、病態に直接関与することが示唆される遺伝子は現時点で見いだされなかった。

(3)-2-B: テトラデカン [2時間単回暴露]の「肝」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

IPAによる検討ではシグナルパスウェイは見いだせなかった。また、肺の障害、病態に直接関与することが示唆される遺伝子は現時点で見いだされなかった。

(3)-2-C: テトラデカン [6時間/日×7日間暴露]の「肺」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

IPAによる検討の結果、生体機能のカテゴリーとして、Nervous system development and function 及び Cellular movement 等抽出されてきたが、これに関与するシグナル分子を検討した結果、両者共に、Bdnf (70, 166, 190h 後)、Hlx (190h 後)が見いだされた。しかし、肺組織に於けるこれらの分子の機能は現時点で不明である。またシグナルパスウェイとしては、Neutrophin/TRK signaling 等抽出されたが、関与するシグナル分子を検討した結果、Bdnf であった。この他、Sox11 の発現増加 (190h 後) が認められた。

(3)-2-D: テトラデカン [6時間/日×7日間暴露]の「肝」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

IPAによるシグナルパスウェイ解析の結果、IGF-1 signaling に関与する遺伝子が主として抽出されてきた。肺と肝で共通して変動する遺伝子は見いだせなかった。

(3)-2-E: テトラデカン [22時間/日×7日間暴露]の「肺」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

IPAによる検討ではシグナルパスウェイ

は見いだせなかった。特徴的な遺伝子として Aldh1a2(70h 後)の発現増加が認められた。

(3) -2-F: テトラデカン [22 時間/日×7 日間暴露]の「肝」に於ける網羅的遺伝子発現変動解析:

IPA による検討ではシグナルパスウェイは見いだせなかった。特徴的な遺伝子としてアポトーシスや p53 signaling に関与する Gadd45a (22h 後)が見いだされた。肺と肝で共通して変動する遺伝子は見いだせなかった。

(4) 人への外挿にかかわる基礎的及び臨床的解析、及びヒト気道上皮細胞系による毒性応答メカニズムの研究

今年度は、ヒト気道上皮細胞株を用いて、細菌性リポ多糖(lipopolysaccharide; LPS)ないし poly IC の低濃度刺激下での炎症応答に対する、ホルムアルデヒド添加による *in vitro* での影響を検討した。

細胞株の選択のために、ヒト気道上皮細胞株 BEAS2B 及びヒト肺胞様癌化細胞株 A549 について、LPS, Poly IC の刺激下で予備検討を行った。その結果、A549 に比べ BEAS2B 細胞では、著しい刺激応答性が観察され、シックハウス症候群の主要症状のひとつに喘息の誘発があることから、気道系の上皮細胞のモデルである BEAS2B 細胞を使用することとした。

LPS あるいは Poly IC 刺激 24 時間後にホルムアルデヒド(1 mM, 10 mM, 100 mM)を添加し、3 時間後に細胞を回収し、IL-8 の RT/PCR を実施したところ、Poly IC (10 mg/ml)存在下で、ホルムアルデヒド 10 mM 以上で、IL-8 mRNA の発現亢進が観察された。この培養細胞上清中のサイトカイン量を ELISA にて測定したとこ

ろ、Poly IC 刺激後 IL-8, RANTES, MIP-1a, IP-10, GROa の顕著な発現亢進が認められたが、ホルムアルデヒド短時間(3時間)刺激条件下では、さらなる顕著なサイトカインの濃度差は生じなかった。そこで、Poly IC 刺激 24 時間後に、ホルムアルデヒド(1 μ M, 10 μ M)を、より長期(8, 24 時間)に添加し細胞を回収、RT/PCR による検討を行ったが、この条件下では、IL-8, TLR-4 の二つの遺伝子とも、ホルムアルデヒド 10 mM 以下で、明らかな遺伝子発現の変化は認められなかった。

D. 結論

(1) トキシコゲノミクスに有用な吸入暴露システムの開発・改良と吸入暴露

昇華性化学物質パラジクロロベンゼンとテトラデカンにつき、前者は固体から昇華する蒸気を利用する方法、後者は加熱バブリング法により、設定濃度に近い値で一定濃度を安定的に保持でき、動物に暴露することが可能であった。

動物飼育室のパラジクロロベンゼンの濃度は 1.14 ± 0.24 ppb ($1.57 \pm 0.01 \mu\text{g}/\text{m}^3$) であり、設定した暴露低濃度とは 1 桁低い値であった。p-DCB の一般環境大気での最大濃度は $14.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (環境省、2003) であり、動物室内に於ける濃度はそれを下回り、一般家庭の室内空气中で検出される平均濃度 $120 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (国土交通省、2003) を大きく下回っていた。動物室あるいはチャンバー内へ大気中から導入する換気空気は、HEPA フィルターにより微細な粉塵や細菌を、活性炭フィルターにより多くの化学物質を除去するよう設計されている。従って、外気からの p-DCB ガスの混入は極めて少ないものと思われ、また動物室内では一般家庭のような室内設備からのガスの発生もなく、対

照群チャンパー及び動物室内の濃度は一般環境大気よりも低く保たれていた。

フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) の蒸気圧は、目標のガス濃度が得られるほど高くないため、気化法による実験を一旦中止することとした。DEHP の蒸気圧が非常に低く、容易にガス化しないというこの結果は、一般の家庭内空気においても DEHP ガス濃度は高くないことを示唆するものと考えられた。

環境省環境保健部環境安全課、「平成 14 年度地方公共団体等に於ける有害大気汚染物質のモニタリング調査結果 (表 7)」(2003)

http://www.env.go.jp/air/osen/monitoring/mon_h14/hyo_07.html

(国土交通省、2003)

国土交通省住宅局住宅生産課「平成 14 年度室内空気中の化学物質の実態調査の結果について」(2003)

http://www.mlit.go.jp/kisha/kisha03/07/071219_.html

(2) 化学物質の極低濃度暴露の実現のための技術開発に関する研究

パラジクロロベンゼンとテトラデカンを対象として室内濃度指針値 (両者とも 40 ppb) を考慮した濃度で動物に全身暴露する方法の開発を試みた。その結果、パラジクロロベンゼンは固体を加熱・昇華させる方法、テトラデカンは加熱バブリング法により気化させる方法により 40、120 及び 400 ppb の目標暴露濃度に対して各濃度とも 10% 以内の差で吸入暴露する方法を開発することが出来た。

パラジクロロベンゼンの発生に際しては、最初、発生容器内の固体のパラジクロロベ

ンゼンの表面に清浄空気 (発生空気) を流しパラジクロロベンゼンを気化させた。ところが、パラジクロロベンゼン蒸気が口金部で再結晶することがわかり、この再結晶化を防ぐために、口金内にキャリアー空気を流すタイプの改良機を製作し運転した結果、再結晶化が防止できることが分かった。また、パラジクロロベンゼンの昇華速度を安定させるため発生容器を恒温槽 (27°C) に収納し、発生機室の室温を 27°C とした。

テトラデカンの発生に際しては、循環式恒温槽で加熱 (24°C) しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させ、この蒸気を清浄空気 (キャリアー空気) と混合したが、テトラデカンは引火温度が 100°C であるため、加熱温度は室温に近い 24°C とした。

(3) 吸入暴露影響の網羅的遺伝子発現解析、経口暴露との対比による評価・優先順位付けの網羅性の向上

今年度、昇華性化学物質パラジクロロベンゼンとテトラデカンについて解析した結果、両物質共に極低濃度暴露によっても、肺及び肝、双方に於いてシグナル伝達に関わる比較的多数の遺伝子発現変動が認められ、また肺と肝では遺伝子発現プロファイルが異なること、加えて、パラジクロロベンゼンでは、肺ではグルタチオンペルオキシダーゼ等の酸化的ストレス応答遺伝子の発現誘導が、肝ではミトコンドリア電子伝達系の遺伝子の発現誘導が、6 時間暴露よりも 22 時間暴露時の方が強いなど、同じ化学物質でも暴露時間が異なると遺伝子発現プロファイルが異なることが明らかとなった。ミトコンドリア電子伝達系の遺伝子の発現誘導は、脱共役作用の結果、細胞内 ATP の減

少や酸化的ストレスが引き起される可能性が示唆された。一般的にフェノールのハロゲン化物にはミトコンドリアでの酸化的リン酸化の脱共役作用が認められるが、パラジクロロベンゼンの電子伝達系への影響に関する報告は見いだせず、毒性学的に興味深い。テトラデカンでは、反復暴露により発現が減弱する遺伝子が肝で認められた。

22 時間暴露時の肺での酸化的ストレス応答は、パラジクロロベンゼン指針値レベルより用量依存的に増加していることが明らかとなった。

このように、シックハウスレベルの極低用量暴露に於いても、網羅的遺伝子発現解析手法により昇華性化学物質の低濃度経気道暴露によって生じる生体反応変化を予測することが可能であることが示唆された。すなわち、網羅的遺伝子発現解析手法は、ヒトに於ける症候発現濃度を動物に暴露した場合にも有効な生理反応検出手法として活用できることが示された。これにより、これまで指摘されてきた、従来の動物試験での症候検出可能濃度とヒトに於いて報告される症候発現濃度に隔たりがあるという課題を遺伝子発現解析手法が克服しうることを示された。これを踏まえ、今後も、網羅的遺伝子発現解析手法を活用した経気道暴露による毒性評価手法の開発、高度化をさらに推し進めていくことが重要である。

(4) 人への外挿にかかわる基礎的及び臨床的解析、及びヒト気道上皮細胞系による毒性応答メカニズムの研究

細菌性リポ多糖(LPS)ないし poly IC の低濃度刺激下での炎症応答に対する、ホルム

アルデヒド添加による *in vitro* での影響を検討し、その結果、ホルムアルデヒドのヒト気道上皮細胞への影響を、はじめて、株化細胞である BEAS-2B 株により確認し、また poly IC の低濃度暴露で、ケモカイン、IL-8, GRO, IP-10 等が顕著に誘導されること、IL-8 mRNA 発現をホルマリリンが誘導することが明らかとなった。従って、人への外挿性向上のための、培養ヒト気道上皮細胞に対する毒性化学物質の暴露系の基本的な部分は確立されたものと考えられた。

しかしながら、使用したホルマリリンの濃度(10 μM)の濃度は、比較的高い濃度であるため、さらに低濃度長期暴露、ないし、ホルムアルデヒド低濃度刺激下での、poly I:C によるサイトカインの誘導を検出するなどの工夫が必要であると思われる。

国立国際医療センター研究所では、呼吸器外科との共同研究により、連結不可能匿名化された、ヒト初代継代気管支上皮細胞の凍結保存品を 200 サンプル以上保有しており、最適な系が確立したら、株化細胞のみならず、これらの正常細胞でも同様の現象が見られるか否かを検討する予定である。

E. 考察

本研究の遂行によって期待される成果は、人に於ける吸入毒性作用を、毒性発現のメカニズムに基づいて、より迅速、正確且つ詳細に予測可能となることにある。これにより、呼吸器、特に肺を第一の標的とした影響のみならず、血液を介した全身影響、あるいは嗅覚を介した神経影響等を包括的に評価することが可能となると期待される。特に、これまでに捕捉不能であった、器質的な変質を伴わない低濃度吸入暴露による毒性を、遺伝子発現解析を通じて検出

することが可能となれば、それによりシックハウス症候群などの対応にも格段の改善が予想される。

今年度、昇華性化学物質パラジクロロベンゼンとテトラデカンにつき、シックハウスレベルの極低用量暴露に於いても、その経気道暴露影響に関わる可能性のある遺伝子発現変化を捉えることが出来たことは、遺伝子発現解析法の検出感度が、低濃度吸入暴露影響を解析するために十分であることを実証するものであり、ヒトに於ける症候発現濃度を動物に暴露した場合にも有効な生理反応検出手法として活用できることが示された。加えて、ヒト気道上皮細胞株を用いる *in vitro* の実験系での解析が可能となったことから、より人への外挿性の向上を計ることが可能となった。今後も、昇華性物質を含め極低用量経気道暴露による高精度な毒性評価手法の開発を推し進めていくことが重要であると考え。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 書籍

菅野純、北嶋聡、相崎健一、五十嵐勝秀、中津則之、高木篤也、種村健太郎、小川幸男、児玉幸夫、関田清司、Percellome Project、遺伝子医学MOOK10、DNAチップ/マイクロアレイ臨床応用の実際、油谷浩幸編集、株式会社メディカルドウ、p363-371、2008年6月30日

菅野純、北嶋聡、相崎健一、五十嵐勝秀、小川幸男、関田清司、トキシコゲノミクスの大規模高精度データベースの構築と解析、非

臨床試験-ガイドラインへの対応と新しい試み- 野村護、堀井郁夫、吉田武美編集、株式会社エル・アイ・シー、p561-568、2008年9月30日

2) 雑誌

Kasai, T., Kano, H., Umeda, Y., Sasaki, T., Ikawa, N., Nishizawa, T., Nagano, K., Arito, H., Nagashima, H., Fukushima, S. Two-year inhalation study of carcinogenicity and chronic toxicity of 1,4-dioxane in male rats. *Inhalation Toxicology*. (in press).

Take, M., Ohnishi, M., Nagano, K., Yamamoto, S., Fukushima, S. Design and performance of a system for blood collection of rats under whole-body inhalation exposure. *The Journal of Toxicologic Sciences*. 34, 221-226, 2009

Ohbayashi, H., Umeda, Y., Senoh, H., Kasai, T., Kano, H., Nagano, K., Arito, H., Fukushima, S. Enhanced hepatocarcinogenicity by combined inhalation and oral exposures to *N,N*-dimethylformamide in male rats. *The Journal of Toxicologic Sciences*. 34, 53-63, 2009

Kasai, T., Saito, M., Senoh, H., Umeda, Y., Aiso, S., Ohbayashi, H., Nishizawa, T., Nagano, K., Fukushima, S. Thirteen-week inhalation toxicity of 1,4-dioxane in rats. *Inhalation Toxicology*. 20, 961-971, 2008

Ohbayashi, H., Yamazaki, K., Aiso, S., Nagano, K., Fukushima, S., Ohta, H. Enhanced proliferative response of hepatocytes to combined inhalation and oral exposures to *N,N*-dimethylformamide in male rats. *The Journal of Toxicologic Sciences*. 33, 327-338, 2008

Ohbayashi, H., Saito, Senoh, H., Umeda, Y., Aiso, S., M., Yamazaki, K., Nagano, K., Yamamoto, S., Fukushima, S. Occurrence of two different types of glutathion s-transferase placental form positive hepatocytes after a single administration of 2,3,7,8-tetrabromo dibenzo-p-dioxin in rats. *Industrial Health*. 46, 281-288, 2008

Kano, H., Umeda, Y., Saito, M., Senoh, H., Ohbayashi, H., Aiso, S., Yamazaki, K., Nagano, K., Fukushima, S. Thirteen-week oral toxicity of 1,4-dioxane in rats and mice. *The Journal of Toxicologic Sciences*. 33, 141-153, 2008

Uchida K, Nakata K, Suzuki T, Luisetti M, Watanabe M, Koch DE, Stevens CA, Beck DC, Denson LA, Carey BC, Keicho N, Krischer JP, Yamada Y, Trapnell BC. Granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor autoantibodies and myeloid cell immune functions in healthy subjects. *Blood*. 12;113(11):2547-56, 2009

Vollstedt S, Yuliwulandari R, Okamoto K, Lien LT, Keicho N, Rochani JT, Wikaningrum R, Tokunaga K. No evidence for association between the interferon regulatory factor 1 (IRF1) gene and clinical tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 89(1):71-6, 2009

Mahasirimongkol S, Yanai H, Nishida N, Ridruechai C, Matsushita I, Ohashi J, Summanapan S, Yamada N, Moolphate S, Chuchotaworn C, Chaiprasert A, Manosuthi W, Kantipong P, Kanitwittaya S, Sura T, Khusmith S, Tokunaga K, Sawanpanyalert P, Keicho N., Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais. *Genes Immun* 10(1):77-83, 2009

Nishiyama A, Wakasugi N, Kirikae T, Quy T, Ha le D, Ban VV, Long HT, Keicho N, Sasazuki T, Kuratsuji T., Risk factors for SARS infection within hospitals in Hanoi, Vietnam. *Jpn J Infect Dis*. 61(5):388-90, 2008

2. 学会発表

菅野 純、Percellome 遺伝子発現解析標準化及び解析手法、第 11 回癌治療増感研究シンポジウム、2009 年 2 月 14 日、奈良

五十嵐勝秀、小川幸男、笠井辰也、長野嘉介、北嶋 聡、相崎健一、菅野 純、シックハウス指針値レベルの経気道暴露による遺伝子発現変化の Percellome 解析、第 35 回日本トキシコロジー学会学術年会、2008

Ohbayashi, H., Yamazaki, K., Aiso, S., Nagano, K., Fukushima, S., Ohta, H. Enhanced proliferative response of hepatocytes to combined inhalation and oral exposures to *N,N*-dimethylformamide in male rats. *The Journal of Toxicologic Sciences*. 33, 327-338, 2008

Ohbayashi, H., Saito, Senoh, H., Umeda, Y., Aiso, S., M., Yamazaki, K., Nagano, K., Yamamoto, S., Fukushima, S. Occurrence of two different types of glutathion s-transferase placental form positive hepatocytes after a single administration of 2,3,7,8-tetrabromo dibenzo-p-dioxin in rats. *Industrial Health*. 46, 281-288, 2008

Kano, H., Umeda, Y., Saito, M., Senoh, H., Ohbayashi, H., Aiso, S., Yamazaki, K., Nagano, K., Fukushima, S. Thirteen-week oral toxicity of 1,4-dioxane in rats and mice. *The Journal of Toxicologic Sciences*. 33, 141-153, 2008

Uchida K, Nakata K, Suzuki T, Luisetti M, Watanabe M, Koch DE, Stevens CA, Beck DC, Denson LA, Carey BC, Keicho N, Krischer JP, Yamada Y, Trapnell BC. Granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor autoantibodies and myeloid cell immune functions in healthy subjects. *Blood*. 12;113(11):2547-56, 2009

Vollstedt S, Yuliwulandari R, Okamoto K, Lien LT, Keicho N, Rochani JT, Wikaningrum R, Tokunaga K. No evidence for association between the interferon regulatory factor 1 (IRF1) gene and clinical tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 89(1):71-6, 2009

Mahasirimongkol S, Yanai H, Nishida N, Ridruechai C, Matsushita I, Ohashi J, Summanapan S, Yamada N, Moolphate S, Chuchotaworn C, Chaiprasert A, Manosuthi W, Kantipong P, Kanitwittaya S, Sura T, Khusmith S, Tokunaga K, Sawanpanyalert P, Keicho N., Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais. *Genes Immun* 10(1):77-83, 2009

Nishiyama A, Wakasugi N, Kirikae T, Quy T, Ha le D, Ban VV, Long HT, Keicho N, Sasazuki T, Kuratsuji T., Risk factors for SARS infection within hospitals in Hanoi, Vietnam. *Jpn J Infect Dis*. 61(5):388-90, 2008

2. 学会発表

菅野 純、Percellome 遺伝子発現解析標準化及び解析手法、第11回癌治療増感研究シンポジウム、2009年2月14日、奈良

五十嵐勝秀、小川幸男、笠井辰也、長野嘉介、北嶋 聡、相崎健一、菅野 純、シックハウス指針値レベルの経気道暴露による遺伝子発現変化のPercellome解析、第35回日本トキシコロジー学会学術年会、2008年6月28日、東京、ポスター