

Ⅱ. 分担研究報告書

I. プロジェクト課題研究

核内受容体作動性化学物質の発がん・加齢などに及ぼす影響の
分子メカニズムに関する研究

研究分担者 国立環境研究所 曾根秀子

研究要旨

これまでに、正常ヒト乳腺上皮細胞（HMEC）において、bisphenol A（BPA）が1週間の初期曝露により細胞増殖作用を示し、その影響が細胞を継代した後も持続することを見出した。そこで、本年度は、BPAによる細胞増殖能がエストロゲン受容体 α （ESR1）、 β （ESR2）及びその関連受容体群ERRA, ERBB, ERRGの発現レベルと関連しているかどうかをそれらの受容体の発現が異なるヒト乳がん上皮細胞（MCF7及びMCF10A）及び正常ヒト乳腺上皮細胞（HMEC）を用いて初期の曝露で起こる細胞増殖シグナルイベントの作用機構を検討した。

A. 研究目的

エストロゲン様作用を有することが知られているビスフェノールA（BPA）は、マウス及びラットにおいて周産期曝露で乳腺の発達に影響を及ぼすことが示されてきた。さらに、ヒトの乳がん組織から得た乳腺細胞にBPAを曝露させると、BPAで発現誘導される遺伝子発現のプロファイルが悪性度の高い癌組織のそれと類似するとの報告もあり、乳がんの発症や進展に関与しているのではないかという懸念が高まっている。そこで、BPAがどのように乳がんの進展に関与しているかを細胞レベルで明らかにするために、ヒト乳腺上皮の正常細胞及び癌細胞を用いてBPAの細胞増殖・細胞老化への影響を調べた。

B. 研究方法

定法に従って、ヒト乳腺上皮の正常細胞（HMEC）及び（MCF7及びMCF10A）を培養し、

BPAの1-3日間曝露による影響を調べた。陽性対照には、 17β estradiol（E2）を用いた。癌細胞（及びMCF10A）の培養には、MEBM培地（Lonza社）を用い、MCF7の培養には、DMEM/F12（1:1）（GIBCO）で培養した。HMECは、8継代目の細胞に0.5%ジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した 10^{-9} 、 10^{-7} MのBPAと 10^{-9} MのE2を3日間曝露した。溶媒に用いた0.1% DMSOのみを曝露したものをコントロールとした。S期の細胞数測定は、BrdUの取り込みを指標とし、蛍光抗体法で検出した。全細胞数は、Hoechst 33258の核染色により測定した。さらに、ER α 特異的拮抗剤 1,3-bis(4-hydroxyphenyl)-4-methyl-5-[4-(2-piperidinyloxy)phenol]-1H-pyrazole dihydrochloride（MPP）、及びER β 特異的拮抗剤 4-[2-Phenyl-5,7-bis(trifluoromethyl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl]phenol（PHTPP）を使用した。DNA二本鎖切断の指標には、リン酸

化ヒストン H2AX (ガンマ-H2AX) を蛍光抗体で検出した。さらに ATM-p53 シグナル伝達への影響はそのパスウェイの関連遺伝子の発現を Taqman 法によるリアルタイム PCR 法で調べた。また、DNA メチル化状態を調べるには、CpG アイランドを配列特異的プライマーによる PCR 法 (Super Array) により測定した。

C. 研究結果

HMEC、MCF10A 及び MCF7 における 10^{-9} , 10^{-7} M の BPA の 3 日間の短期曝露では、ESR1 mRNA の発現レベルが低い HMEC 及び MCF10A では細胞増殖が認められず、MCF7 において増殖が認められた。BrdU の取り込みによる S 期の細胞数の増加も MCF7 において認められた。1 週間以上の長期曝露では、HMEC でも増殖が認められ、MPP 及び PHTPP の存在下で、その増殖が抑制された。DNA ダメージに対する影響をガンマ-H2AX 陽性細胞数及び DNA 分画内 8ohdG 量を指標に調べたところ、 10^{-6} M BPA の高濃度においてのみ、DNA 障害性が認められた。さらに外来からのストレスで応答する遺伝子発現と細胞回転の遺伝子群 (HDAC2, RB1, ATM, MDM2, CDC2, CDKN1A, TP53) の発現を Taqman によるリアルタイム PCR 法で調べた。HMEC 及び MCF7 において、BPA 曝露により、ATM、CDC2 と p53 の遺伝子発現上昇が認められた。ウェスタンブロッティングで p53 の蛋白発現レベルをさらに調べると、HMEC 及び MCF7 細胞での増加が認められた。同時に、ERS1, ERS2, ERRA, ERRB, ERRG の遺伝子発現影響を調べると、ERRG が ERS1 の発現レベルの低い HMEC 及び MCF10A で BPA 曝露により上昇し、E2 で減少した。さらに、ベンゾ

ピレン (Benzo[a]pyrene) に対する感受性を調べたところ、ベンゾピレンによる細胞増殖には影響を及ぼさなかったものの、ベンゾピレン単独に比べ、ベンゾピレン曝露の後に BPA を処理した群では、ATM-p53 のストレス応答系に対して CDC2 を除いてほとんどの遺伝子が活性化されていた。さらに、BPA を 3 日間曝露した群とベンゾピレンを 2 4 時間曝露を前処理した群では、ヒトの乳がんの進展にかかわることが知られている BRCA1, CCNA1 及び THBS1 の高メチル化や GSTP1 の中レベルメチル化が観察された。

D. 考察

これまでに、マウスやラットを用いた実験動物においては、BPA の周産期曝露によって乳腺管の肥厚、過形成や腫瘍の増加が認められていたが (Vandenberg ら 2008; Durando ら 2007; Murray TJ ら 2007)、さらに、遺伝子発現プロファイルやメチル化など BPA の曝露と乳がんの発症・進展を関与するデータが蓄積しつつある (Wu F ら、2008; Moral R ら、2008)。乳がんへの影響に関する BPA の分子メカニズムを明らかにし、ヒトへの影響予測を可能にするために、本研究では、HMEC を用いた実験システムで BPA の影響を評価した。一般に、DNA に損傷が起これば、p53 が誘導され、それが転写制御因子として働き、p21 の発現を介して細胞周期の停止とアポトーシスの誘発という二面的な役割を果たすことが知られているが、我々のこれまでの実験では、初期の BPA 一週間の曝露でその後 2 週間を経て培養した細胞から得られた RNA については、p53 は E2 では増加しているが BPA で

ほどの濃度でも抑制していた。p21、p16も同様な傾向となった。したがって、BPAは、細胞周期の停止やアポトーシスの誘発はごく弱いものであると考えられた。さらに、8継代目のHMECにおけるBPAの1週間曝露は、持続的な細胞の増殖を示し、S期の細胞及びHP1 γ 陽性細胞の増加が認められている。HP1 γ が存在しないとATMの二重鎖DNA結合修復のための活性化が起こらないとの報告があるため、BPAがDNAダメージを引き起こした二次的な要因で細胞増殖を引き起こされることが示唆された。そのため、今年度は、短期曝露での影響を調べた。HMEC、MCF10A及びMCF7における 10^{-9} 、 10^{-7} MのBPAの3日間の短期曝露では、ESR1mRNAの発現レベルが低いHMEC及びMCF10Aでは細胞増殖やS期細胞数の増加も認められず、MCF7においてのみ増殖が認められた。この結果は、1週間以上の長期曝露では、HMECでも増殖が認められ、MPP及びPHTPPの存在下で、その増殖が抑制された事と相反していた。BPAの細胞増殖は、EREの応答を媒介して起こることが、Wu Fら(2008)によって報告されているが、HMECでの一週間以上の曝露もESR1及びESR2を介しているものと推察できる。

最新の報告で、高濃度のBPAは、DNA付加体を形成し、DNAダメージを引き起こすとの報告がある(Izzotti A, 2009; Bennetts LE, 2008; Iso T, 2006)。我々の昨年度までの研究において、BPAの1週間曝露によってHP1 γ が活性化されたことが認められていたため、BPAの細胞増殖が、DNAダメージを起こしてストレス応答のATMを活性化することが考えられた。そこで、DNAダメージに対する影響をガンマ

-H2AX陽性細胞数及びDNA分画内8OHdG量を指標に調べた。濃度依存的に8OHdG量は増加し、 10^{-6} M BPAの高濃度においてDNA障害性が認められた。低濃度のBPAでは、HMEC及びMCF7において、BPA曝露により、ATM、CDC2とp53の遺伝子発現上昇が認められ、p53の蛋白発現レベルも、HMEC及びMCF7細胞で増加していた。このことは、BPAもUVや熱ショックで応答するATM/p53シグナル系を活性化することが示唆された。また、ERRGがERS1の発現レベルの低いHMEC及びMCF10AでBPA曝露で上昇し、E2で減少したことは、ESR1の低いHMECでは、ERRGがより鋭敏にBPAに応答することが示唆された。さらに、ベンゾピレンに対する感受性を調べたところ、ベンゾピレンによる細胞増殖には影響を及ぼさなかったものの、ベンゾピレン単独に比べ、ベンゾピレン曝露の後にBPAを処理した群では、ATM-p53のストレス応答系に対してCDC2を除いてほとんどの遺伝子がより活性化されていた。これらの結果は、BPAがベンゾピレンの発ガン感受性を上昇させる可能性があることが示唆された。Dairkee SH(2008)らによって、BPA曝露したヒト乳がん組織では、BPAに特徴ある遺伝子プロファイリングが示されている。ヒトの乳がんの進展にかかわることが知られているBRCA1、CCNA1及びTHBS1の高メチル化やGSTP1の中レベルメチル化が今回の実験で観察された事により、BPAはDNAのメチル化ステータスも変化させていることが示唆された。したがって、BPAの短期曝露と長期曝露での増殖能や遺伝子発現プロファイリングの違いは、曝露後の細胞回転やDNAの代謝回転の結果、エピジェネティックな変化が起こり、さまざま

まな細胞レベルでの影響を引き起こすものと考えられた。

E. 結論

BPA による細胞増殖能がエストロゲン受容体 α (ESR1)、 β (ESR2) 及びその関連受容体群 ERRA, ERRB, ERRG の発現レベルと関連しているかどうかをそれらの受容体の発現が異なるヒト乳がん上皮細胞 (MCF7 及び MCF10A) 及び正常ヒト乳腺上皮細胞 (HMEC) を用いて短期の曝露で起こる細胞増殖シグナルイベントの作用機構を検討した。BPA の短期曝露は、エストロゲン受容体 α 及び β を介しているものであることがわかった。また、エストロゲン受容体レベルの低い細胞では、ERRG がその応答性をあげていることが示唆された。さらに、低濃度の BPA は、DNA 損傷を起こさないが、ストレス応答遺伝子経路を活性化させて細胞増殖や細胞老化さらにはエピジェネティクスに影響を示すことが示唆された。

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

1. Alama MS, Ohsakob S, Matsuwaki T, Zhua XB, Tsunekawa N, Kanai Y, Sone H, Tohyama C and Kurohmaru M. Induction of spermatogenic cell apoptosis in

prepubertal rat testes irrespective of testicular steroidogenesis: A possible estrogenic effect of di(n-butyl) phthalate. *Reproduction*, in press, 2009.

2. Yang L, Fukuda T, Akanuma H, Zaha H, Imanishi S, and Sone H. Effects of low dose bisphenol A on the proliferation and sensitivity to benzo[a]pyrene of human mammary epithelial cells. (*submitted*).

3. Fukuda T, Zaha H, Matsumoto Y, Imanishi S, Yonemoto J and Sone H. A early exposure to bisphenol A cause a persistent increase of the proliferation rate in human mammary epithelial cells. (*submitted*).

2. 学会発表

1. 曾根秀子 楊淋清 福田智一 BPA は、P53 を介して発がん物質の感受性を上昇する. 日本癌学会 第 68 回学術総会 (2009)

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

Ⅱ. 分担研究報告書

Ⅱ. 基盤研究

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

核内受容体作動性化学物質の雌性生殖器官への作用メカニズムの解明

研究分担者 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教授

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、出生直後のマウスに合成エストロゲン(DES)を投与し、膣上皮細胞のエストロゲン非依存の増殖を誘導した。この現象は、曝露影響が不可逆的に持続することから、エピジェネティクスな観点から遺伝子発現制御機構について明らかにするのに適切な系である。DES 曝露群と対照群において遺伝子発現量と、DNA メチル化の相関について検討した。遺伝子発現と DNA のメチル化に相関が見られる遺伝子を見出した。一方で、DNA のメチル化に変化はないがヒストン修飾が変化している遺伝子も見られた。このように新生児期 DES 曝露マウスの膣においてクロマチン状態が変化していることが明らかになった。

A. 研究目的

臨界期での合成エストロゲン(DES)曝露により誘起されたマウス膣上皮細胞のエストロゲン非依存の細胞増殖に関与する遺伝子のクロマチン状態を明らかにする。

妊娠ラットへのビクロゾリン（防黴剤）およびメトキシクロル曝露により、生まれた雄の精子形成率が低下するとともにメチル化状態が変化した遺伝子が見いだされている。このように発生途上の未成熟な時期に対する女性ホルモン曝露は、エピジェネティクス作用による晩発性さらには世代をこえた効果が報告されており、化学物質による内分泌かく乱のメカニズムの有力な候補とも考えられている。すなわち、内分泌かく乱化学物質の新生児期曝露が生体に影響を及ぼすメカニズムの一端を明らかにするために、

DES を臨界期に曝露することにより標的器官の遺伝子のクロマチン状態と遺伝子発現との相関について解析を行った。

B. 研究方法

出生直後から 5 日間、C57/BL6 系雌マウスに DES 2.5 $\mu\text{g/g}$ bw を投与し、生後 56 日目に卵巣を摘出し、生後 70 日目に剖検し組織を採取した(NeoDES 群)。これに加えて、出生直後から 5 日間、溶媒のみを投与し、生後 56 日目に卵巣を摘出し(Oil 群)、屠殺前に DES を投与した群(AdultDES 群)を加えた。Affymetrix 社の GeneChip を利用して、摘出した膣の遺伝子発現の比較を行った。NeoDES 群と Oil 対照群および AdultDES 群において発現に差が見られた遺伝子については定量 PCR などにより、詳細に遺伝子発現量を解析した。さらに各群の膣組織からゲノ

ム DNA を抽出し、メチル化 DNA 特異的抗体による免疫沈降を行い、ChIP-on-chip 解析を行った。NeoDES 群と Oil 群、AdultDES 群において遺伝子発現量と、DNA メチル化の相関について検討した。

(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

臨界期である出生直後に DES を曝露した時のみ、エストロゲン非依存的に膈上皮細胞の増殖を示した。更に DES 未曝露と曝露マウスの膈において、遺伝子発現プロファイルを DNA マイクロアレイにより取得した。G protein-coupled receptor 87 (Gpr87) は RT-PCR 法によって、遺伝子発現が NeoDES マウスにおいて増加している。ChIP 法によりクロマチン構造を調べたところ、Gpr87 遺伝子は 9 番目のリジンがアセチル化、4 番目のリジンがトリメチル化されており、9 番目のリジンのトリメチル化はされていなかった。一方で同じ領域におけるメチル化は、各群で顕著な差異は認められなかった。

ChIP-on-chip 法により網羅的な DNA のメチル化状態を調べた。一般的に DNA のメチル化は遺伝子発現を負に制御する。DNA メチル化と遺伝子発現が正しく相関している遺伝子として、serine/arginine-rich protein specific kinase 1 (NM_016795)、muscleblind-like 1 (NM_020007)、plexin

domain containing 1 (NM_001163608)、TBC1 domain family, member 8 (NM_018775)などが得られた。その一方で、曝露群で遺伝子発現量の高い epidermal growth factor (EGF)様増殖因子のメチル化は対照群と比べて大差がなかった。一方、TLE(Grg1) (transduction-like enhancer of split 1)のメチル化は高く、遺伝子発現は低下していた。レポーター系を用いて Grg1 を発現させると ER α の活性が抑制されたことから、膈上皮の恒久的な増殖には、ER α の活性化を抑制する機構が低下していることが示唆された。

引き続き、バイサルフェイト法を用いて遺伝子のメチル化状態の解析を行っている。さらに各種ヒストン抗体を用いた ChIP 法を行い、クロマチン状態を併せて解析することが必要である。このようにエピジェネティクスの基盤はクロマチン構造に基づいた遺伝子発現制御であり、DNA メチル化やヒストン修飾の状態を解析することが重要である。

D. 考察

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、出生直後の新生児期マウスに DES を曝露した。発生の臨界期での DES 曝露により、マウスの膈上皮細胞がエストロゲン非依存的に増殖するという現象をモデルとして、遺伝子制御機構でのエピジェネティックな変化を探索するために、DES 未曝露・曝露マウスで DNA マイクロアレイを行い、遺伝子発現の変動を解析した。さらにメチル化 DNA 抗体を用いた ChIP-on-chip 解析により、DNA

のメチル化状態を網羅的に解析した。その結果、DNA のメチル化状態と遺伝子発現量が相関する遺伝子は少ないことが分かった。例えば、曝露群の膈上皮の細胞増殖に寄与する EGF 様増殖因子(曝露群で遺伝子発現が有意に高い)のメチル化は対照群とほぼ同じであった。一方で、Gpr87 遺伝子のように、DNA メチル化とまではいかないが、ヒストン修飾は明らかに影響を受けている遺伝子もある。したがって、ヒストン修飾と DNA メチル化の双方からクロマチン状態を明らかにする必要がある。

メチル化と遺伝子発現が相関する遺伝子として TLE(Grg1) (transduction-like enhancer of split 1)が見いだされた。レポーター系を用いて Grg1 を発現させると ER α の活性が抑制されたことから、膈上皮の恒久的な増殖には、ER α の活性化を抑制する機構が低下していることが示唆された。

今後は、DNA マイクロアレイにより得られた遺伝子発現プロファイルと ChIP-on-chip で得られたデータをもとに、曝露による影響と DNA メチル化状態との関連をより詳細に検討していくことで、不可逆的増殖するメカニズムに迫ることができると思われる。

E. 結論

エストロゲン作用物質である DES の臨界期のマウスへの影響を、未曝露マウスと比較し、発現が増加する遺伝子を DNA マイクロアレイにより探索した。さらにメチル化 DNA 抗体や各種ヒストン抗体を用いた ChIP 法により、クロマチン構造

を解析した。その結果 DES 曝露による影響がクロマチン構造を変化させ遺伝子発現の増加を引き起した可能性が高いことが明らかとなった。しかしクロマチン構造と発現量との相関は、それぞれ個別の遺伝子ごとに検討する必要がある。今後は実際にクロマチン構造の変化が起きた遺伝子について、組織不可逆化に寄与する遺伝子を同定することが重要である。

G. 研究発表

1.論文発表

- ◎1. Kim, H., Hayashi, S., Chambon, P., Watanabe, H., Iguchi, T. and Sato, T. (2009). Effects of diethylstilbestrol on ovarian follicle development in neonatal mice. *Reprod. Toxicol.*, 27, 55-62.
2. Lange, A., Paull, G.C., Coe, T.S., Katsu, Y., Urushitani, H., Iguchi, T. and Tyler, C.R. (2009). Sexual reprogramming and estrogenic sensitization in wild fish exposed to ethinylestradiol. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 1219-1225.
3. Tyler, C.R., Filby, A.L., Bickley, L.K., Cumming, R.I., Gibson, R., Labadie, P., Katsu, Y., Liney, K.E., Shears, J.A., Silva-Castros, V., Urushitani, H., Lange, A., Winter, M.J., Iguchi, T. and Hill, E.M. (2009). Environmental health impacts of equine estrogens derived from hormone replacement therapy. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 3897-3904.
4. Grim, K.C., Wolfe, M., Braunbeck, T., Iguchi, T., Ohta, Y., Tooi, O., Touart,

- L., Douglas, C., Wolf, D.C. and Tietge, J. (2009). Thyroid histopathology assessments for the amphibian metamorphosis assay to detect thyroid-active substances. *Tox. Pathol.*, 37, 415-424.
- ©5. Miyagawa, S., Satoh, Y., Haraguchi, R., Suzuki, K., Iguchi, T., Taketo, M.M., Nakagata, N., Matsumoto, T., Takeyama, K., Kato, S. and Yamada, G. (2009). Genetic integrations of the androgen and Wnt/ β -catenin pathways for the masculinization of external genitalia. *Mol. Endocrinol.*, 23, 871-880.
6. Oka, T., Miyahara, M., Yamamoto, J., Mitsui, N., Fujii, T., Tooi, O., Kashiwagi, K., Takase, M., Kashiwagi, A. and Iguchi, T. (2009). Application of metamorphosis assay to a native Japanese amphibian species, *Rana rugosa*, for assessing effects of thyroid system affecting chemicals. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 72, 1400-1405.
7. Hikake, T., Hayashi, S., Iguchi, T. and Sato, T. (2009). The role of IGF1 on the differentiation of prolactin secreting cells in the mouse anterior pituitary. *J. Endocrinol.*, 203, 231-240.
8. Miyagawa, S., Moon, A., Haraguchi, R., Inoue, C., Harada, M., Nakahara, C., Suzuki, K., Matsumaru, D., Kaneko, T., Matsuo, I., Yang, L., Taketo, M.M., Iguchi, T., Evans, S.M. and Yamada, G. (2009). Dosage-dependent hedgehog signals integrated with Wnt/ β -catenin signaling regulate external genitalia formation as an appendicular program. *Development*, 136, 3969-3978.
- ©9. Kim, H., Nakajima, T., Hayashi, S., Chambon, P., Watanabe, H., Iguchi, T. and Sato, T. (2009). Effects of diethylstilbestrol on programmed oocyte death and induction of polyovular follicles in neonatal mouse ovaries. *Biol. Reprod.*, 81, 1002-1009.
10. Kirigaya, A., Kim, H., Hayashi, S., Chambon, P., Watanabe, H., Iguchi, T. and Sato, T. (2009). Involvement of estrogen receptor β in the induction of polyovular follicles in mouse ovaries exposed neonatally to diethylstilbestrol. *Zool. Sci.*, 26, 704-712.
11. Kohno, S., Katsu, Y., Urushitani, H., Ohta, Y., Iguchi, T. and Guillette, L.J.Jr. (2009) Potential contributions of heat shock proteins to temperature-dependent sex determination in the American alligator. *Sex. Devel.*, (in press).
12. Moore, B.C., Milnes, M.R., Kohno, S., Katsu, Y., Iguchi, T. and Guillette, L.J. (2009). Influences of sex, incubation temperature, and environmental quality on gonadal estrogen and androgen receptor messenger RNA expression in juvenile American alligators (*Alligator mississippiensis*). *Biol. Reprod.*, (in press).
- ©13. Miyagawa, S., Katsu, Y., Ohta, Y,

- Sudo, T., Lubahn, D.B. and Iguchi, T. (2009). Estrogen receptor α is indispensable for the induction of persistent vaginal change by neonatal 5 α -dihydrotestosterone exposure. *Biol. Reprod.* (in press).
14. Myers, J.P., vom Saal, F.S., Akingbemi, B.T., Arizono, K., Belcher, S., Colborn, T., Chahoud, I., Crain, D.A., Farabollini, F., Guillette, L.J.Jr., Hassold, T., Ho, S.-M., Hunt, P.A., Iguchi, T., Jobling, S., Kanno, J., Laufer, H., Marcus, M., McLachlan, J.A., Nadal, A., Oehlmann, J., Olea, N., Palanza, P., Parmigiani, S., Rubin, B.S., Schoenfelder, G., Sonnenschein, C., Soto, A.M., Talsness, C.E., Taylor, J.A., Vandenberg, L.N., Vandenberg, J.G., Vogel, S., Watson, C.S., Welshons, W.V. and Zoeller, R.T. (2009). Why public health agencies cannot depend upon good laboratory practices as a criterion for selecting data: The case of bisphenol A. *Environ. Health Perspect.*, 117, 309–315.
15. Edwards, T.M., Iguchi, T. and Guillette, L.J.Jr. (2009). Genes to ecosystems: viviparous fishes and endocrine disruption. In: *Viviparous Fishes II*. Carmen, M. ed. (in press).
- ©16. Iguchi, T., Miyagawa, S. and Sudo, T. (2009). Modern genetics of reproductive biology. In: *Environmental Impacts on Reproductive Health and Fertility*, Cambridge University Press, Woodruff, T., Guillette, L.J.Jr. (Eds.), (in press).
17. Van Aggelen, G., Ankley, G.T., Baldwin, W.S., Bearden, D.W., Benson, W.H., Chipman, J. K., Collette, T.W., Craft, J.A., Denslow, N.D., Embry, M.R., Falciani, F., George, S.G., Helbing, C.C., Hoekstra, P.F., Iguchi, T., Kagami, Y., Katsiadaki, I., Kille, P., Liu, L., Lord, P.G., McIntyre, T., O'Neill, A., Osachoff, H., Perkins, E.J., Santos, E.M., Skirrow, R.C., Snape, J.R., Tyler, C.R., Versteeg, D., Viant, M.R., Volz, D.C., Williams, T.D. and Yu, L. (2009) Integrating omic technologies into aquatic ecological risk assessment and environmental monitoring: Hurdles, achievements and future outlook. *Environ. Health Perspect.* (in press).
18. Halder, M., Léonard, M.A., Iguchi, T., Oris, J.T., Ryder, K., Belanger, S.E., Braunbeck, T.A., Embry, M.R., Whale, G., Norberg-King, T. and Lillicrap, A. (2009). Regulatory aspects on the use of fish embryos in environmental toxicology. *Integ. Environ. Assess. Manage.* (in press).
19. Katsu, Y., Kubokawa, K., Urushitani, H. and Iguchi, T. (2010). Estrogen-dependent transactivation of amphioxus steroid hormone receptor via both estrogen and androgen response elements.

- Endocrinology, (in press).
20. Celander, M.C., Goldstone, J.V., Denslow, N.D., Iguchi, T., Kille, P., Meyerhoff, R.D., Smith, B.A., Hutchinson, T.H. and Wheeler, J.R. (2010). Species extrapolation for the 21st century. *Environ. Toxicol. Chem.*, (in press).
 21. 井口泰泉：ビスフェノール A のリスク評価と研究に関する最近の話題. *Endocrine Disrupter News Letter* (環境ホルモン学会ニュースレター) 12 (2): 3, 2009.
 22. 井口泰泉：水環境中の女性ホルモンによる生態影響. *水と水技術*, 76: 32-39, 2009.
- 2.学会発表
1. Guillette, L.J., Moore, B.C. Iguchi, T.: Endocrine disrupting contaminants and the developing ovary: altered activin/inhibin and steroid signaling leads to modified folliculogenesis. 5th Copenhagen Workshop on Endocrine Disrupters. Ubiquitous endocrine disrupters and possible human health effects, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark, May 20-22, 2009.
 2. Iguchi, T.: Current status of the endocrine disruptor research in Japan and OECD including my own laboratory. International Symposium of Environmental Emerging Compound Measurement Technology and Management, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan, May 26, 2009.
 3. Iguchi, T. and Tatarazako, N.: Current research progress in Japan. OECD Validation and Management Group Ecotoxicity, Invertebrate, OECD, Paris, France, June 8-9, 2009.
 4. Iguchi, T., Kato, Y., Watanabe, H., Oda, S. and Tatarazako, N.: Modulation of sex determination by juvenile hormones and their analogs in *Daphnia magna*. International Conference on Comparative Endocrinology, Symposium 4: Environmental Toxicology and Endocrine Disruption. Organized by Glen Van Der Kraak and Taisen Iguchi, Hong Kong, June 22-26, 2009.
 5. Iguchi, T.: Guidance on identifying endocrine disrupting effects. Organized by ECETOC, Barcelona, Spain, June 29-30, 2009.
 6. Iguchi, T. and Yamazaki, K.: Activities on testing and assessment of ED in Ministry of the Environment, Japan. OECD Workshop on Endocrine Disruption Testing and Assessment, Copenhagen, Sept. 22-24, 2009.
 7. Iguchi, T., Koide-Yoshida, S., Watanabe, H., Igarashi, K., Kanno, J. and Miyagawa, S.: Genomic and epigenetic approaches for analysis of developmental effect of neonatal estrogen on mouse vagina. Horiba Symposium, University of Tokyo, October 26-27, 2009.
 8. Miyagawa, S., Katsu, Y., Ohta, Y.,

- Sudo, T., Lubahn, D.B. and Iguchi, T.: Estrogen receptor α is indispensable for the induction of persistent vaginal change by neonatal 5α -dihydrotestosterone exposure. e. hormone, Tulane University, USA, October 20-24, 2009.
9. Iguchi, T.: Endocrine disruption across multiple animal species - common mechanisms? e. hormone, Tulane University, USA, October 20-24, 2009.
10. Ohta, Y., Urushitani, H., Takeuchi, T., Iguchi, T., Katsu, Y., Kohno, S., Botteri, N., Moore, B. and Guillette, L.J.: A preliminary study on immunohistochemical detection of estrogen receptor in American alligator oviducts - specificity of antibodies. e. hormone, Tulane University, USA, October 20-24, 2009.
11. Celander, M.C., Goldstone, J.V., Denslow, N.D., Iguchi, T., Kille, P., Meyerhoff, R.D., Smith, B.A., Hutchinson, T.H. and Wheeler, J.R.: Species extrapolation for the 21st century. 29th SETAC North America, Tampa, Florida, USA, Nov. 16-20, 2009.
12. 井口泰泉:「雌性ホルモン系における毒性発現の分子メカニズム」日本トキシコロジー学会生涯教育講習会, 岩手大学, 盛岡, 7月5日, 2009.
13. 井口泰泉:「環境中の医薬品や内分泌かく乱物質の最近の研究動向」河川環境管理財団講演会, 東京, 7月23日, 2009.
14. 井口泰泉: 愛知県立豊田西高等学校「生物—環境—化学物質」岡崎, 8月3日, 2009.
15. 井口泰泉: 横浜雙葉高等学校「特別授業: 環境ホルモン」横浜市, 横浜雙葉高等学校, 9月7日, 2009.
16. 加藤泰彦、小林かおる、渡邊肇、井口泰泉:「エレクトロポレーションを用いたオオミジンコへの遺伝子導入」. 第80回日本動物学会、静岡、9月17-19日, 2009.
17. 佐藤友美、中島忠章、井口泰泉:「新生仔期のマウス子宮、膈におけるBMPsの役割」. 第80回日本動物学会、静岡、9月17-19日, 2009.
18. 中島忠章、井口泰泉、佐藤友美:「新生仔期の膈上皮細胞におけるFGFとHHの役割」. 第80回日本動物学会、静岡、9月17-19日, 2009.
19. 高瀬稔、後藤康之、宮原真紀、三井直子、岡知宏、小林かおる、渡邊肇、井口泰泉:「EE2暴露のニシツメガエル幼生生殖腺を用いたマイクロアレイ解析」. 第80回日本動物学会、静岡、9月17-19日, 2009.
20. 勝義直、窪川かおる、漆谷博志、井口泰泉:「ナメクジウオの2種類のステロイドホルモン受容体遺伝子の単離と機能解析」. 第80回日本動物学会、静岡、9月17-19日, 2009.
21. 鑓迫典久、斎藤和代、中川理緒、江藤千純、井口泰泉:「プロクロラズのメダカを用いた短期繁殖試験

による検討」. 日本毒性学会、10月4日, 2009.

22. 渡邊肇、小出静代、五十嵐勝秀、菅野純、井口泰泉：「新生児期エストロゲン曝露によるエピジェネティックな影響」 Epigenetic effect of estrogen exposure on neonatal mouse. 4S14p 化学物質による遺伝子修飾と毒性発現 / Toxic effects of chemical substances and gene modification. 第82回日本生化学会大会、神戸、10月21-24日, 2009.
23. 加藤泰彦、小林かおる、小田重人、鑪迫典久、渡邊肇、井口泰泉：「エレクトロポレーションを用いたオオミジンコにおける GFP 遺伝子の異所的発現」. 第12回環境ホルモン学会研究発表会、東京、12月7-8日, 2009
24. 宮川信一、勝義直、井口泰泉：「 Estrogen receptor α is indispensable for the induction of persistent vaginal change by neonatal 5 α -dihydrotestosterone exposure」. 第32回日本分子生物学会、横浜、12月9-12日, 2009.

H. 知的所有権の取得状況
なし

H21 厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

核内性ステロイドホルモンレセプターによる転写制御への影響に関する研究

研究分担者 加藤 茂明 東京大学分子細胞生物学研究所教授

研究要旨

内分泌かく乱化学物質が性生殖へ影響を及ぼす作用点の一つには、性ステロイドホルモン作用のかく乱が考えられている。本研究では、核内レセプターの転写制御機能を分子レベルで解析することで、内分泌かく乱化学物質の作用点を明らかにする。ダイオキシンレセプターが形成する転写制御複合体の同定により、ユビキチン化・蛋白質分解系による女性ホルモン・男性ホルモン作用かく乱作用機構、および脂肪細胞分化のかく乱作用機構を解明した。また性ホルモン受容体の細胞周期における新規の転写制御機構を同定し、性ステロイドホルモン作用かく乱機構の一端解明への発展を目指している。

A. 研究目的

低容量内分泌かく乱化学物質の性生殖へ影響を及ぼす作用点を分子レベルで解明する。すなわち、性生殖作用を担う性ステロイドホルモン作用へのかく乱効果を、ホルモンレセプターの転写制御機能について調べる。これまで続けてきた性ホルモンレセプター共役因子群の同定に加え、ダイオキシンレセプターを介した女性ホルモン・男性ホルモンレセプターへの影響について検討した。

B. 研究方法

男性ホルモン、女性ホルモンレセプターおよびダイオキシンレセプターに結合する転写共役因子複合体の同定及びダイオキシンレセプターとのクロストークを検討した。すなわち、これらレセプター群に結合する転写共役因子複合体を、生化学的に精製及びその構成因子群を同定する。また、複合体としての機能を *in vitro* 系で評価する。また、ダイオキシンレセプターとの機能的相互作用を転写レベルで検討する。さらに新たな材料として脂肪細胞および細胞周期制御との関連を追及した。

C. 研究結果

性ホルモンレセプターに結合する新しい転写共役因子を同定した。また、ダイオキシンレセプターが女性ホルモンレセプターの蛋白分解を促進することを見出した。さらに脂肪細分化制御におけるダイオキシンレセプター複合体を同定した。すなわち、

1) ダイオキシンレセプターを介したエストロゲン作用かく乱の分子メカニズム

ダイオキシンレセプターとエストロゲンレセプターとの関連を検討した結果、活性化されたダイオキシンレセプターが女性ホルモンレセプターと会合することを見出した。エストロゲンが結合した状態では、ダイオキシンレセプターはその機能を抑制することが明らかとなった。また、ダイオキシンレセプターの分解に関する新規複合体の同定に成功した。この複合体はダイオキシンレセプターへのリガンド結合に依存的に、エストロゲンレセプターをユビキチン化することを見出した。ユビキチン化複合体の形成はリガンド依存的であった。従ってダイオキ

シンレセプターは、相互作用蛋白の分解促進という全く新規の分子機能を有することが示唆された。さらに、タンパク質分解促進を活性化するダイオキシシンレセプターリガンドを見出したことから、ダイオキシシン類の作用の一部が分解経路によって発揮される可能性が考えられる。

2) ダイオキシシンレセプターを介した脂肪細胞分化制御機構

ダイオキシシン類の脂肪細胞分化に対する阻害作用が知られている。一方脂肪細胞分化は核内レセプターの種類である PPAR γ によって誘導される。そこで、脂肪細胞分化制御におけるダイオキシシン類の毒性作用機構の解明を目指し、ST2 細胞核抽出液から複合体の精製を行なった。方法としては、再構築ダイオキシシン受容体蛋白質をプローブタンパクとして、いくつかの吸着カラムを用いて巨大複合体の単離を行なった。その結果、新規の転写共役抑制因子として SARA を同定した。SARA はダイオキシシンレセプターの機能を仲介する新規の共役因子であり、脂肪細胞分化の制御能を有する転写共役因子であった。

3) ショウジョウバエを用いた男性、および女性ホルモンレセプター転写共役因子の機能解析

性ホルモンレセプターと転写共役因子との相互作用を *in vitro* 細胞系で解析を行ってきたが、これらの結果は、必ずしも個体での現象を反映しない。そこで、ショウジョウバエにヒト AR, ER を組織特異的に発現する系の構築に成功した。下流のリポーター遺伝子は GFP を用いたので、AR/ER のリガンド依存的な転写機能は GFP の発現に振り替えられるため、結果として蛍光として観察できる。エサに性ホルモンを加えると、GFP による蛍光が観察された。また、このレセプターを介した転写促進能は、AR を強制発現させたいずれの組織においても観察されている。AR の転写活性を指標としたスクリー

ニングにより、ヒストン脱ユビキチン化酵素を同定した。これにより、AR を介した転写活性化機構の一端解明に成功した。

4) 性ホルモン活性を規定するレセプター転写共役因子の検索及び同定

女性ホルモンレセプターに結合する新しい転写共役因子複合体として、アセチル化ヒストン結合性タンパク質 BRD など同定した。

さらに本年度は、女性ホルモン受容体の転写活性化機構を詳細に解析した結果、女性ホルモン受容体の転写活性化能には細胞周期依存性があることを見出した。すなわち、女性ホルモン受容体の転写活性は DNA 複製期 (S 期) で強く、分裂期 (M 期) で抑制されることを見出した。さらにこの分子機構として転写共役因子複合体の細胞周期依存的な相互作用機構を解明した。細胞周期依存的な性ホルモン受容体相互作用因子同定に成功した。

D. 考察

性ホルモンレセプターには、数多くの転写共役因子及び複合体が結合することが分かった。また、ダイオキシシンレセプターと性ホルモンレセプターが会合することから、性ホルモンかく乱作用の一つは、この分子機構を介するものと考えられた。またダイオキシシンレセプターの脂肪細胞における転写制御機構の解析から、その作用には組織特異的転写制御の存在が示唆された。また性ホルモン受容体の転写共役因子の細胞周期依存性は、ホルモン依存性癌との関連を考慮すると興味深い。

E. 結論

性ホルモンレセプターの転写制御能をレセプター相互作用因子の観点から検討した。すなわち、男性及び女性ホルモンレセプターに結合する新たな転写共役因子を同定した。また、ダイオキシシンレセ

プターの会合と蛋白質分解による新たな性ホルモンかく乱作用の分子機構を明らかにした。これら機構は内分泌かく乱物質の標的分子候補である可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

国民の生命、健康に重大な影響を及ぼす情報は特に無い。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kim, M., Kondo, T., Takada, I., Youn, M., Yamamoto, Y., Takahashi, S., Matsumoto, T., Fujiyama, S., Shirode, Y., Yamaoka, I., Kitagawa H., Takeyama, K., Shibuya, H., Ohtake, F. and Kato, S. DNA demethylation in hormone-induced transcriptional derepression. **Nature** 461, 1007-1012, 2009.

Fujiki, R., Chikanishi, T., Hashiba, W., Ito, H., Takada, I., Roeder, R. G., Kitagawa, H. and Kato, S. GlcNAcylation of a histone methyltransferase in retinoic-acid-induced granulopoiesis. **Nature** 459, 455-459, 2009.

©Yamagata, K., Fujiyama, S., Ito, S., Ueda, T., Murata, T., Naitou, M., Takeyama, K., Minami, Y., O'Malley, B. W. and Kato, S. Maturation of microRNA is hormonally regulated by a nuclear receptor. **Mol. Cell** 36, 340-347, 2009.

Zhao, Y., Takeyama, K., Sawatsubashi, S., Ito, S., Suzuki, E., Yamagata, K., Tanabe, M., Kimura, S., Fujiyama, S., Ueda, T., Murata, T., Matsukawa, H., Shirode, Y., Kouzmenko, A. P., Li, F., Tabata, T. and Kato, S. Corepressive action of CBP on androgen receptor transactivation in pericentric heterochromatin in a Drosophila experimental model system. **Mol. Cell Biol.** 29, 1017-1034, 2009.

©Kouzu-Fujita, M., Mezaki, Y., Mtsumoto,

T., Yamaoka, I., Sawatsubashi, S., Yano, T., Taketani, Y., Kitagawa, H. and Kato, S. Co-activation of ER β by a gonadotropin-induced cofactor. **Mol. Cell Biol.** 29, 83-92, 2009.

©Imai, Y., Kondoh, S., Kouzmenko, A. and Kato, S. Regulation of bone metabolism by nuclear receptors. **Mol. Cell. Endocrinol.** 310, 3-10, 2009.

Yoshimura, K., Kitagawa, H., Fujiki, R., Tanabe, M., Takezawa, S., Takada, I., Yamaoka, I., Yonezawa, M., Kondo, T., Furutani, Y., Yagi, H., Yoshinaga, S., Masuda, T., Fukuda, T., Yamamoto, Y., Ebihara, K., Li, D. Y., Matsuoka, R., Takeuchi, J. K., Matsumoto, T. and Kato, S. Distinct function of 2 chromatin remodeling complexes that share a common subunit, Williams syndrome transcription factor (WSTF). **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 9280-9285, 2009.

Suzuki, E., Zhao, Y., Ito, S., Sawatsubashi, S., Murata, T., Furutani, T., Shirode, Y., Yamagata, K., Tanabe, M., Kimura, S., Ueda, T., Fujiyama, S., Lim, J., Matsukawa, H., Kouzmenko, A. P., Aigaki, T., Tabata, T., Takeyama, K. and Kato, S. Aberrant E2F activation by polyglutamine expansion of androgen receptor in SBMA neurotoxicity. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 3818-3822, 2009.

Imai, Y., Nakamura, T., Matsumoto, T., Takaoka, K. and Kato, S. Molecular mechanisms underlying the effects of sex steroids on bone and mineral metabolism. **J. Bone. Miner. Metab.** 27, 127-130, 2009.

Fujiyama-Nakamura, S., Ito, S., Sawatsubashi, S., Yamauchi, Y., Suzuki, E., Tanabe, M., Kimura, S., Murata, T., Isobe, T., Takeyama, K. and Kato, S. BTB protein, dKLHL18/CG3571, serves as an adaptor subunit for a dCul3 ubiquitin ligase complex. **Genes to Cells** 14, 965-973, 2009.

©Ohtake, F., Fujii-Kuriyama, Y. and Kato,

- S. AhR acts as an E3 ubiquitin ligase to modulate steroid receptor functions. **Biochem. Pharmacol.** 77, 474-484, 2009.
- Takada, I., Kouzmenko, A. P. and Kato, S. Wnt and PPARgamma signaling in osteoblastogenesis and adipogenesis. **Nat. Rev. Rheumatol.** 5, 442-447, 2009.
- Takada, I., Kouzmenko, A. P. and Kato, S. Molecular switching of osteoblastogenesis versus adipogenesis: implications for targeted therapies. **Expert Opin. Ther. Targets.** 13, 593-603, 2009.
- Oya, H., Yokoyama, A., Yamaoka, I., Fujiki, R., Yonezawa, M., Youn, M.-Y., Takada, I., Kato, S. and Kitagawa, H. Phosphorylation of WSTF by MAPK induces a switching between two distinct chromatin remodeling complexes. **J. Biol. Chem.** 2009, in press.
- Suzuki, H. I., Yamagata, K., Sugimoto, K., Iwamoto, T., Kato, S. and Miyazono, K. Modulation of microRNA processing by p53. **Nature** 460, 529-533, 2009.
- ©Kawajiri, K., Kobayashi, Y., Ohtake, F., Ikuta, T., Matsushima, Y., Mimura, J., Pettersson, S., Pollenz, R. S., Sakaki, T., Hirokawa, T., Akiyama, T., Kurosumi, M., Poellinger, L., Kato, S. and Fujii-Kuriyama, Y. Aryl hydrocarbon receptor suppresses intestinal carcinogenesis in ApcMin/+ mice with natural ligands. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 13481-13486, 2009.
- Zhang, Z., Hener, P., Frossard, N., Kato, S., Metzger, D., Li, M. and Chambon, P. Thymic stromal lymphopoietin overproduced by keratinocytes in mouse skin aggravates experimental asthma. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 1536-1541, 2009.
- Miyagawa, S., Satoh, Y., Haraguchi, R., Suzuki, K., Iguchi, T., Taketo, M. M., Nakagata, N., Matsumoto, T., Takeyama, K., Kato, S. and Yamada, G. Genetic interactions of the androgen and Wnt/{beta}-catenin pathways for the masculinization of external genitalia. **Mol. Endocrinol.** 23, 871-880, 2009.
- Ikeda, Y., Aihara, K., Yoshida, S., Sato, T., Yagi, S., Iwase, T., Sumitomo, Y., Ise, T., Ishikawa, K., Azuma, H., Akaike, M., Kato, S. and Matsumoto, T. Androgen-androgen receptor system protects against angiotensin II-induced vascular remodeling. **Endocrinology** 150, 2857-2864, 2009.
- Suzuki, K., Yamaguchi, Y., Villacorte, M., Mihara, K., Akiyama, M., Shimizu, H., Taketo, M. M., Nakagata, N., Tsukiyama, T., Yamaguchi, T. P., Birchmeier, W., Kato, S. and Yamada, G. Embryonic hair follicle fate change by augmented beta-catenin through Shh and Bmp signaling. **Development** 136, 367-372, 2009.
- Iwasawa, M., Miyazaki, T., Nagase, Y., Akiyama, T., Kadono, Y., Nakamura, M., Oshima, Y., Yasui, T., Matsumoto, T., Nakamura, T., Kato, S., Hennighausen, L., Nakamura, K. and Tanaka, S. The antiapoptotic protein Bcl-xL negatively regulates the bone-resorbing activity of osteoclasts in mice. **J. Clin. Invest.** 19, 3149-3159, 2009.
- Honzawa, S., Takahashi, N., Yamashita, A., Sugiura, T., Kurihara, M., Arai, M. A., Kato, S. and Kittaka, A. Synthesis of a 1alpha-C-methyl analogue of 25-hydroxyvitamin D3: interaction with a mutant vitamin D receptor Arg274Leu. **Tetrahedron** 65, 7135-7145, 2009.
- Ishizawa, M., Iwasaki, K. I., Kato, S. and Makishima, M. Hypergravity modulates vitamin D receptor target gene mRNA expression in mice. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** 297, E728-734, 2009.
- Shiizaki, K., Hatamura, I., Imazeki, I., Moriguchi, Y., Sakaguchi, T., Saji, F., Nakazawa, E., Kato, S., Akizawa, T. and Kusano, E. Improvement of impaired calcium and skeletal homeostasis in vitamin D receptor knockout mice by a high dose of

calcitriol and maxacalcitol. **Bone** 45, 964-971, 2009.

2. 学会発表

【国内】

2009 年度日本農芸化学会大会
(2009/3/27-29、福岡)

新規クロマチン構造調節因子 BAHD1 を介した転写抑制機構の解析

伊藤紗弥、沢津橋俊、山形 薫、鈴木絵里子、田辺真彦、木村周平、上田 崇、藤山沙理、村田拓哉、松川紘之、林 珍仙、武山健一、加藤茂明

Y染色体遺伝子 Dby の miRNA 産生制御における機能解析

井上和樹、松本高広、山形 薫、米沢正祥、加藤茂明

ビタミンDレセプターのユビキチンリガーゼ活性の生理機能解明

奥村知子、西川亜美、大竹史明、加藤茂明

ヒストン脱メチル化酵素 LSD1 による神経分化制御メカニズムの解析

横山 敦、藤山沙理、北川浩史、加藤茂明

骨芽細胞におけるエストロゲンの作用の解明

金藤紫乃、今井祐記、高田伊知郎、中村貴、松本高広、加藤茂明

BTB タンパク質 dKLHL18/CG3571 は E3 ユビキチンリガーゼ Cul-3 複合体のアダプターとして機能する

中村沙理、伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、田辺真彦、村田拓哉、武山健一、加藤茂明

新規クロマチンバウンダリー調節因子の探索とその解析

鈴木絵里子、沢津橋俊、伊藤紗弥、山形薫、田辺真彦、木村周平、藤山沙理、上

田 崇、村田拓哉、松川紘之、林 珍仙、武山健一、加藤茂明

新たな VDR 転写調節機構の解明

山本陽子、福田 亨、目々澤愛、新道真代、高木健一郎、加藤茂明

ユビキチンリガーゼ活性を有する核内受容体の機能解析

西川亜美、奥村知子、岡田麻衣子、大竹史明、加藤茂明

活性型クロマチン構造調節に関わる新規転写共役因子の探索の試み

林 珍仙、沢津橋俊、伊藤紗弥、山形薫、鈴木絵里子、田辺真彦、木村周平、上田 崇、藤山沙理、村田拓哉、松川紘之、武山健一、加藤茂明

第 82 回日本内分泌学会学術総会
(2009/4/23-25、前橋)

核内受容体転写修飾因子として機能するクロマチン構造変換複合体の新規細胞内シグナル依存性機能制御メカニズムの解明

北川浩史、大矢博之、山岡育子、藤木亮次、吉村公宏、横山 敦、神津 円、高田伊知郎、加藤茂明

ダイオキシン受容体はリガンド依存性ユビキチンリガーゼである

大竹史明、藤井義明、加藤茂明

アンドロゲン受容体新規転写共役抑制因子を介したアンドロゲン依存性癌の分子機構の解析

上田 崇、伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、山形 薫、藤山沙理、田辺真彦、木村周平、林 珍仙、村田拓哉、松川紘之、武山健一、加藤茂明

ビタミンD3 1 α 水酸化酵素遺伝子上で、活性型ビタミンD依存的な転写抑制解除に関与する脱メチル化酵素MBD4欠損マウ

スは、ビタミンD代謝機構の破綻を呈する
近藤剛史、金 美善、高田伊知郎、松本高広、武山健一、加藤茂明

細胞周期依存的な ERα 転写制御機構の解析
岡田麻衣子、竹澤慎一郎、目崎喜弘、高田伊知郎、北川浩史、加藤茂明

ミネラルコルチコイド受容体 (MR) による未知臓器傷害メカニズムの解析
横田健一、大竹史明、北川浩史、加藤茂明

第 27 回日本骨代謝学会学術集会
(2009/7/23-25、大阪)

MBD4 はビタミン D 生合成調節因子である
- DNA demethylation for hormone-induced transcriptional derepression -
近藤剛史、金 美善、高田伊知郎、松本高広、加藤茂明

ヒストンメチル化酵素、Jmjd5 は破骨細胞形成抑制因子である
- A histone demethylase, Jmjd5, is an osteoclastogenic regulator -
延 珉榮、高田伊知郎、今井祐記、加藤茂明

第 82 回日本生化学会大会 (2009/10/21-24、神戸)

炎症制御に関与するグルココルチコイドレセプター (GR) の分解制御メカニズムの解析
北川浩史、山岡育子、岡田麻衣子、藤山沙理、加藤茂明

Nuclear O-glycosylation of a histone methyltransferase facilitates retinoic-acid-induced differentiation
Ryoji Fujiki, Chikanishi Toshihiro, Waka Hashiba, Robert G Roeder, Hirochika Kitagawa, Shigeaki Kato

ダイオキシン受容体はリガンド依存性ユビキチンリガーゼである
大竹史明、藤井義明、加藤茂明

O-結合型 N-アセチルグルコサミン転移酵素 (OGT) の核内新規相互作用因子の探索
近西俊洋、藤木亮次、橋場和華、加藤茂明

AhR の LPS 刺激に対する抗炎症的作用機構の解明
関根弘樹、三村純正、大島基彦、渡辺要平、五十嵐勝秀、菅野 純、生田統悟、川尻 要、加藤茂明、藤井義明

ヒストン脱メチル化酵素 LSD1 による神経分化制御メカニズムの解析
横山 敦、藤山沙理、北川浩史、加藤茂明

第 17 回日本ステロイドホルモン学会学術集会 (2009/11/4、福岡)

グルココルチコイドレセプター (GR) による炎症制御メカニズムの解析
北川浩史、加藤茂明

核内糖修飾を介する血球分化促進機構
藤木亮次、北川浩史、加藤茂明

第 32 回日本分子生物学会年会
(2009/12/9-12、横浜)

核輸送制御とクロマチン構造調節の相互作用を担う新規因子の探索
村田拓哉、伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、田辺真彦、藤山沙理、木村周平、上田 崇、松川紘之、林 珍仙、武山健一、加藤茂明

MBD4 はビタミン D 生合成調節因子である
- DNA demethylation for hormone-induced transcriptional derepression -
近藤剛史、金 美善、高田伊知郎、松本高広、加藤茂明