

ており部分的に上皮層内に内胞を形成した、異常な組織像を示していた。さらに *suprabasal cell* において細胞増殖が起きており、これらのことから *Pten* は、卵巣除去、すなわち女性ホルモン非存在下において *suprabasal cell* の細胞増殖を抑え、角質化への正常な分化を誘導しているものと考えられる。実際卵巣除去した野生型マウスで *Pten* は基底細胞ではなく、*suprabasal cell* に発現していた(図 7)。また、卵巣を除去したミュータントマウスで *Akt* が活性化しているのも基底細胞ではなく、*suprabasal cell* である(図 7)。興味深いことに、野生型マウスに女性ホルモンを投与すると *Pten* は、皮膚などの他の重層多層化上皮と同じように(data not shown)、基底細胞からその上層にかけて発現するようになった(図 7)。さらにミュータントのリン酸化 *Akt* も同様の発現パターンを示した(図 7)。したがって *Pten* は女性ホルモン非存在下と存在下では異なる発現動態を示し、女性ホルモン非存在下では *supra basalcell* の細胞増殖を抑え、角質化への正常な分化を誘導する一方、女性ホルモン存在下では他の重層多層化と同様に主に基底細胞で機能し、過剰な細胞増殖を抑えていることが示唆される(図 8)。また、組織不可逆化の観点から言えば、PI3K/*Akt* シグナルの活性化だけでは、膺上皮細胞の完全な分化には不十分あり、女性ホルモンによる様々な因子の協調的な制御が、女性生殖器官の適切な細胞増殖・分化制御に必要であることが明らかとなった。

E. 結論

我々は、女性生殖器官におけるホルモンシステムの破綻モデルとして、発生途上の未成熟な時期(臨界期)に対する女性ホルモン曝露と、そのホルモン

応答システムの破綻について解析を進めてきた。通常マウスの膺上皮は女性ホルモン依存的な細胞増殖を示すが、出生前後の周生期ないし生後5日目までに女性ホルモンを投与すると、成熟後膺上皮はホルモン非依存的な増殖を示すようになり、加齢に伴い腫瘍化する。昨年度我々はこのホルモン非依存的な細胞増殖において *Wnt/β-カテニン* 経路が活性化していることを明らかにした。本年度は、PI3K/*Akt* シグナルを含む因子などが女性ホルモンシグナルか下で協調的に関与することを明らかにした。

G. 研究発表

1. 論文発表

St John, J.A., Braun, E.L., Isberg, S.R., Miles, L.G., Chong, A.Y., Gongora, J., Dalzell, P., Moran, C., Bed'hom, B., Abzhanov, A., Burgess, S.C., Cooksey, A.M., Castoe, T.A., Crawford, N.G., Densmore, L.D., Drew, J.C., Edwards, S.V., Faircloth, B.C., Fujita, M.K., Greenwold, M.J., Hoffmann, F.G., Howard, J.M., Iguchi, T., Janes, D.E., Khan, S.Y., Kohno, S., de Koning, A.J., Lance, S.L., McCarthy, F.M., McCormack, J.E., Merchant, M.E., Peterson, D.G., Pollock, D.D., Pourmand, N., Raney, B.J., Roessler, K.A., Sanford, J.R., Sawyer, R.H., Schmidt, C.J., Triplett, E.W., Tuberville, T.D., Venegas-Anaya, M., Howard, J.T., Jarvis, E.D., Guillette, L.J.Jr., Glenn, T.C., Green, R.E. and Ray, D.A. (2012). Sequencing three crocodylian genomes to illuminate the evolution of archosaurs and amniotes. *Genome Biol.*, 13, 415.

Lange, A., Katsu, Y., Miyagawa, S., Ogino, Y., Urushitani, H., Kobayashi, T., Hirai, T., Shears, J.A., Nagae, M., Yamamoto, J., Ohnishi, Y., Oka, T., Tatarazako, N., Ohta, Y., Tyler, C.R. and

- Iguchi, T. (2012). Comparative responsiveness to natural and synthetic estrogens of fish species commonly used in the laboratory and field monitoring. *Aquat. Toxicol.*, 109, 250-258.
- Hirakawa, I., Miyagawa, S., Katsu, Y., Kagami, Y., Tatarazako, N., Kobayashi, T., Kusano, T., Mizutani, T., Ogino, Y., Takeuchi, T., Ohta, Y. and Iguchi, T. (2012). Gene expression profiles in the testis associated with testis-ova in adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 α -ethinylestradiol. *Chemosphere*, 87, 668-674.
- Nakamura, T., Miyagawa, S., Katsu, Y., Watanabe, H., Mizutani, T., Sato, T., Morohashi, K.-I., Takeuchi, T., Iguchi, T. and Ohta, Y. (2012). WNT family genes and their modulation in the ovary-independent and persistent vaginal epithelial cell proliferation and keratinization induced by neonatal diethylstilbestrol exposure in mice. *Toxicology*, 296, 13-19.
- Kakuta, H., Tanaka, M., Chambon, P., Watanabe, H., Iguchi, T. and Sato, T. (2012). Involvement of gonadotropins in the induction of hypertrophy-hyperplasia in the interstitial tissues of ovaries in neonatally diethylstilbestrol-treated mice. *Reprod. Toxicol.*, 33, 35-44.
- Nakajima, T., Iguchi, T. and Sato, T. (2012). Hedgehog signaling plays roles in epithelial cell proliferation in the neonatal mouse uterus and vagina. *Cell Tiss. Res.*, 348, 239-247.
- Maekawa, T., Sakuma, A., Taniuchi, S., Ogo, Y., Iguchi, T., Takeuchi, S. and Takahashi, S. (2012). Transforming growth factor- α mRNA expression and its possible roles in mouse endometrial stromal cells. *Zool. Sci.*, 29, 377-383.
- Taylor, J.A., Richter, C.A., Suzuki, A., Watanabe, H., Iguchi, T., Coser, K.R., Shioda, T. and vom Saal, F.S. (2012). Dose-related estrogen effects on gene expression in fetal mouse prostate mesenchymal cells. *PLoS One* 7(10): e48311.
- Nakamura, T., Miyagawa, S., Katsu, Y., Sato, T., Iguchi, T. and Ohta, Y. (2012). Sequential changes in expression of Wnt- and Notch-related genes in the vagina and uterus of ovariectomized mice after estrogen exposure. *In Vivo*, 26, 899-906.
- Takase, M., Shinto, H., Takao, Y. and Iguchi, T. (2012). Accumulation and pharmacokinetics of estrogenic chemicals in the pre- and post-hatch embryos of the frog *Rana rugosa*. *In Vivo*, 26, 913-920.
- Katsu, Y., Lange, A., Miyagawa, S., Urushitani, H., Tatarazako, N., Kawashima, Y., Tyler, C.R. and Iguchi, T. (2012). Cloning, expression and functional characterization of carp, *Cyprinus carpio* estrogen receptors and their differential activations by estrogens. *J. Appl. Toxicol.*, (in press).
- Goto, Y., Kajiwara, M., Yanagisawa, Y., Hirose, H., Yoshimi, T., Uemura, M., Nakano, H., Takahashi, S., Shida, Y., Iguchi, T., Takahashi, Y. and Miura, T. (2012). Detection of vertebrate-type steroid hormones and their converting activities in the neogastropod *Thais clavigera* (Kster, 1858). *J. Molluscan Studies*, (in press).
- Myburgh, J.G., Huchzermeyer, F.W., Soley, J.T., Booyse, D.G., Groenewald, H.B., Bekker, L.C., Iguchi, T. and Guillette, L.J.Jr. (2012). Technique for the collection of clean urine from the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). *J. South African Vet. Assoc.*, 83, (in press) <http://dx.doi.org/10.4102/jsava.v83i1.8>.
- Kakuta, H., Matsushita, A., Arikawa, K., Iguchi, T. and Sato, T. (2012).

Cholesterol homeostasis in the ovaries of neonatally diethylstilbestrol-treated mice. *Exp. Clin. Endocr. Diabetes*, (in press).

Nakamura, T., Miyagawa, S., Katsu, Y., Mizutani, T., Sato, T., Takeuchi, T., Iguchi, T. and Ohta, Y. (2012). P21 and Notch signalings in the persistently altered vagina induced by neonatal diethylstilbestrol exposure in mice. *J. Vet. Med. Sci.*, (in press).

Oka, T., Mitsui-Watanabe, N., Tatarazako, N., Onishi, Y., Katsu, Y., Miyagawa, S., Ogino, Y., Yatsu, R., Kohno, S., Takase, M., Kawashima, Y., Aoki, Y., Guillette, L.J.Jr. and Iguchi, T. (2012). Establishment of transactivation assay systems using fish, amphibian, reptilian and human thyroid hormone receptors. *J. Appl. Toxicol.*, (in press).

Hirakawa, I., Miyagawa, S., Mitsui, N., Miyahara, M., Onishi, Y., Kagami, Y., Kusano, T., Takeuchi, T., Ohta, Y. and Iguchi, T. (2012). Developmental disorders and altered gene expression in the tropical clawed frog (*Silurana tropicalis*) exposed to 17 α -ethynylestradiol. *J. Appl. Toxicol.*, (in press).

Oka, K., Kohno, S., Urushitani, H., Guillettee, L.J.Jr., Ohta, Y., Iguchi, T. and Katsu, Y. (2012). Molecular cloning and characterization of the corticoid receptors from the American alligator. *Mol. Cell. Endocrinol.*, (in press).

著書、総説

Tatarazako, N. and Iguchi, T. (2012). Evaluation of toxicities of herbicides using short-term chronic tests of alga, daphnid and fish. In: *Herbicides - Environmental Impact Studies and Management Approaches*, Alvarez-Fernandez, R. (ed.), ISBN: 978-953-307-892-2, InTech.

Grau, E.G., Nishioka, R.S., Bern, A., Hirano, T., Borski, R., Clarke, C., Foskett, K., Guillette, L.J., Iguchi, T., Jones, L.A., Loretz, C., McCormick, S., MacLachlan, A., Mason, C.A., Mills, K.T., Nagahama, Y., Nicoll, C.S., Richman, N.H., Sheridan, M., Specker, J.L., Sullivan, J.J. and Young, G. (2012). In memory of Professor Howard A. Bern. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 176, 121-123.

Miyagawa, S., Yatsu, R., Sudo, T., Igarashi, K., Kanno, J. and Iguchi, T. (2012). Irreversible effect of diethylstilbestrol on reproductive organs and current approach for epigenetic effects of endocrine disrupting chemicals. In: *Toxicology and Epigenetics*, Sahu, S.C. (ed.), John Wiley & Sons, Ltd., pp. 357-364.

Guillette, L.J.Jr. and Iguchi, T. (2012). Life in a contaminated world. *Science*, 337, 1614-1615.

2. 学会発表

Toyota, K., Miyakawa, H., Oda, S., Miyagawa, S., Ogino, Y., Tatarazako, N., Kato, Y., Iguchi, T.: Gene expression analysis of juvenile hormone-responsive genes during critical period for sex determination in *Daphnia magna*. Joint Meeting of The 59th Annual Meeting of ESJ and The 5th EAFES International Congress, Ryukoku University, Otsu, March 17-21, 2012.

Iguchi, T.: Environmental endocrine disruptor molecular screening and the use of in vitro assays and toxicogenomics in fish, amphibians and daphnia. Special Symposium on Environmental Genomics 2012, in Shanghai, Shanghai, China, March 26-28, 2012.

Lange, A., Sebire, M., Rostkowski, P., Miyagawa, S., Mizutani, T., Iguchi, T., Hill, E.M., Tyler, C.R.: Bioavailable environmental antiandrogens and their

effects on reproduction relevant endpoints in fish. ESCPB (European Society of Comparative Physiology and Biochemistry) meeting. Spain.

Anderson, E.K., Ogino, Y., Barber, D., Iguchi, T. and Denslow, N.D.: Non-aromatizable androgen exposure to mosquitofish (*Gambusia spp*): Links between molecular, physiological, and reproductive system changes. 6th World Congress and 22nd SETAC Europe, Berlin, Germany, May 20-24, 2012.

Watanabe, H., Abe, T., Oda, S., Iguchi, T. and Tatarazako, N.: Multi-generational effects of endocrine disrupting chemicals on *Ceriodaphnia dubia*. 6th World Congress and 22nd SETAC Europe, Berlin, Germany, May 20-24, 2012.

Tyler C.R., Hamilton, P., Lange, A., Filby, A., Soffka, M., Lee, O., Takesano, A., Kudoh, T., Paull, G. and Iguchi, T.: New systems (and adapting old ones) for understanding the wider health impacts of EEDs and their mixtures in fish. Gordon Research Conferences, Environmental Endocrine Disrupters, Mount Snow Resort, West Dover, VT, USA, June 3-8, 2012.

Hirakawa, I., Miyagawa, S., Mitsui, N., Miyahara, M., Onishi, Y., Kagami, Y., Kusano, T., Takeuchi, T., Ohta, Y. and Iguchi, T.: Histology and gene expression analysis in testis of medaka and frog exposed by ethinylestradiol (EE2). Gordon Research Conferences, Environmental Endocrine Disrupters, Mount Snow Resort, West Dover, VT, USA, June 3-8, 2012.

Ogino, Y., Yamada, G. and Iguchi, T.: Molecular analysis of androgen dependent sex characteristics development, western mosquitofish and medaka as model systems. The 2012 Edwin W. Pauley Summer Program in Marine Biology “Integrative,

Experimental and environmental physiology of marine organisms” University of Hawaii, USA, July 26-27, 2012.

Iguchi, T., Miyagawa, S. and Ogino, Y.: Comparative responsiveness to natural and synthetic estrogens of fish species used in the laboratory and field monitoring. The 2012 Edwin W. Pauley Summer Program in Marine Biology “Integrative, Experimental and environmental physiology of marine organisms” University of Hawaii, USA, July 26-27, 2012.

Iguchi, T.: Temperature-dependent sex determination and sex differentiation: alligators, fish and daphnids. Summer School 2012: “Thermal Biology: from Plants to Humans” in Okazaki Institute for Integrative Bioscience, August 8-9, 2012.

角谷絵里、荻野由紀子、宮川信一、宮川一志、豊田賢治、井口泰泉：オオミジンコ脱皮ホルモン合成経路遺伝子の発現変動. 第 83 回日本動物学会、大阪大学、9 月 13-15, 2012.

勝義直、井口泰泉：無顎類ヤツメウナギのエストロゲン受容体. 第 83 回日本動物学会、大阪大学、9 月 13-15 日, 2012.

遠山早紀、宮川信一、荻野由紀子、勝義直、小林亨、井口泰泉：メダカのエストロゲン受容体サブタイプの機能解析. 第 83 回日本動物学会、大阪大学、9 月 13-15 日, 2012.

岡香織、太田康彦、井口泰泉、勝義直：アメリカアリゲーターのアリル炭化水素受容体の単離と機能解析. 第 83 回日本動物学会、大阪大学、9 月 13-15 日, 2012.

中島忠章、井口泰泉、佐藤友美：胎仔期から成熟期にかけての子宮と膣の分化におけるレチノイン酸シグナルの役割. 第 83 回日本動物学会、大阪大学、9 月 13-15 日, 2012.

中村 武志、宮川 信一、平川 育美、井口 泰泉、太田 康彦：新生時期に DES 暴露を受けた成熟マウスの膣における p21、p53 及び Notch 関連遺伝子の発現. 日本獣医学会. 岩手大学、9 月 14-16 日, 2012.

Iguchi, T., Miyagawa S. and Ogino, Y.: Establishment of transactivation assays using hormone receptors from various animal species for screening of environmental chemicals. SETAC Asia Pacific, Special lecture, Kumamoto, Sept. 24-27, 2012.

Iguchi, T.: Environmental sex determination in the *Daphnia magna*. University of Birmingham, UK, Nov. 5, 2012.

Volz, D., Villeneuve, D., Aladjov, H., Ankley, G., Belanger, S., Crofton, K., Embry, M., Hinton, D., Hornung, M., Hutchinson, T., Iguchi, T., Johnson, R., Léonard, M., Mount, D., Norberg-King, T., Ortego, L., Padilla, S., Tanguay, R., Tietge, J., Truong, L., Veith, G., Wehmas, L. and Whale, G: Development of alternatives to the fish early life-stage test: a research strategy for discovering and annotating adverse outcome pathways during early fish development. 33rd SETAC North America, Long Beach, CA, November 11-15, 2012.

Villeneuve, D., Volz, D., Aladjov, H., Ankley, G., Belanger, S., Crofton, K., Embry, M., Hinton, D., Hornung, M., Hutchinson, T., Iguchi, T., Johnson, R., Léonard, M., Mount, D., Norberg-King, T., Ortego, L., Padilla, S., Tanguay, R., Tietge, J., Truong, L., Veith, G., Wehmas,

L. and Whale, G: Discovering and annotating fish early life-stage (FELS) adverse outcome pathways: Putting the research strategy into practice. 33rd SETAC North America, Long Beach, CA, November 11-15, 2012.

Tatarazako, N., Takanobu, H., Watanabe, H., Sawai, A., Ohnishi, Y. and Iguchi, T.: Efficacy of medaka TG229 in the screening of endocrine-disrupting chemicals. 33rd SETAC North America, Long Beach, CA, November 11-15, 2012.

Embry, M., Villeneuve, D., Volz, D., Aladjov, H., Ankley, G., Belanger, S., Crofton, K., Hinton, D., Hornung, M., Hutchinson, T., Iguchi, T., Johnson, R., Léonard, M., Mount, D., Norberg-King, T., Ortego, L., Padilla, S., Tanguay, R., Tietge, J., Truong, L., Veith, G., Wehmas, L. and Whale, G: Alternatives to the fish early life-stage test: developing a conceptual model for early fish development. 33rd SETAC North America, Long Beach, CA, November 11-15, 2012.

谷津遼平、宮川信一、荻野由紀子、井口泰泉：American alligator (ミシシッピーワニ)における温度依存型性決定機構の同定. 日本動物学会中部支部大会、松本、11 月 17-18 日, 2012.

豊田賢治、加藤泰彦、佐藤優、杉浦直美、宮川信一、宮川一志、渡邊肇、小田重人、荻野由紀子、蛭田千鶴江、水谷健、鑪迫典久、井口泰泉：ミジンコ類における *doublesex* 遺伝子の単離及び発現解析. 日本動物学会中部支部大会、松本、11 月 17-18 日, 2012. (最優秀ポスター賞)

角谷絵里、荻野由紀子、宮川一志、豊田賢治、宮川信一、井口泰泉：オオミ

ジンコ脱皮ホルモン合成経路遺伝子の分子系統解析と脱皮周期中の発現変動. 日本動物学会中部支部大会、松本、11月17-18日, 2012. (優秀ポスター賞)

平川育美、宮川信一、勝義直、鏡良弘、鑪迫典久、小林亨、草野輝彦、水谷健、荻野由紀子、渡邊直子、櫻井真紀、大西裕太、太田康彦、井口泰泉：エチニールエストラジオールがメダカおよびネツタイツメガエルの精巣へ与える影響. 日本動物学会中部支部大会、松本、11月17-18日, 2012. (最優秀ポスター賞)

蛭田千鶴江、豊田賢治、井口泰泉：ミジンコ(*Daphnia pulex*)初期胚へのマイクロインジェクション法の確立に向けて. 日本動物学会中部支部大会、松本、11月17-18日, 2012.

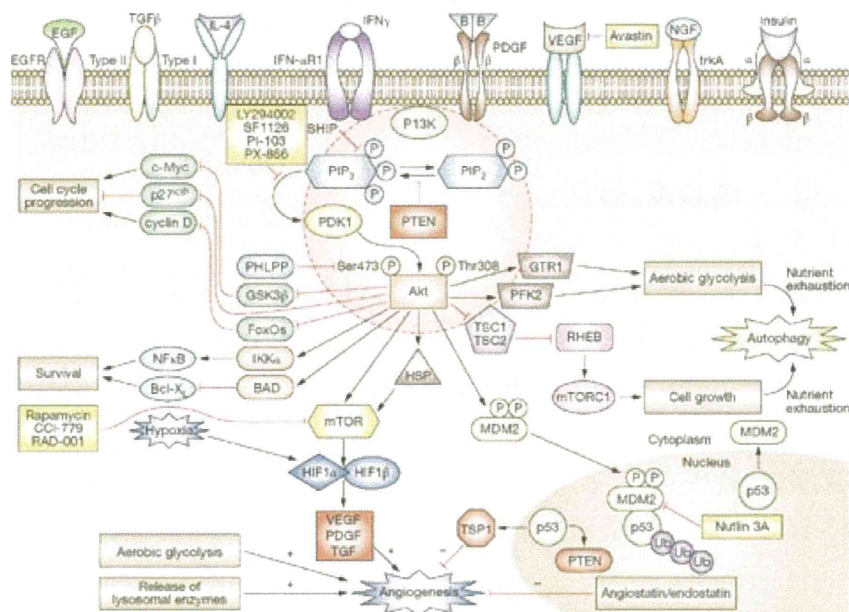
宮川一志、井口泰泉：節足動物類における幼若ホルモンの受容機構とその進化の解明. 日本動物学会中部支部大会、松本、11月17-18日, 2012.

荻野由紀子、山田源、井口泰泉：脊椎動物における Androgen receptor 遺伝子の進化と雄性形質発現の分子機構. 日本動物学会中部支部大会、松本、11月17-18日, 2012.

井口泰泉、豊田賢治、角谷絵里、宮川一志、蛭田千鶴江、宮川信一：脊椎動物から無脊椎動物の内分泌かく乱：オオミジンコの性分化遺伝子の解明. 日本比較内分泌学会シンポジウム、福井大学、11月29-12月1日, 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



Nature Clinical Practice Neurology (2007) 3:682-693より引用

図1. 種々の細胞成長因子、サイトカイン、インスリンなどの刺激によって、PI3K (phosphoinositide-3-kinase)が活性化される。活性化されたPI3KはPIP₂ (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate)の3位をリン酸化してPIP₃ (phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate)を産生する。PIP₃存在下においてAktは活性化し、その下流の様々な分子をリン酸化することにより、細胞の増殖(癌化)、成長、生存などに関与する。Pten (phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10)は数多くの悪性腫瘍においてDNA変異が認められるがん抑制遺伝子であり、PIP₃を主な基質として働くホスファターゼとして、PI3Kの働きを負に制御する。したがってPtenノックアウトマウスでは、PI3K及びAktが構成的に活性化されることになる。

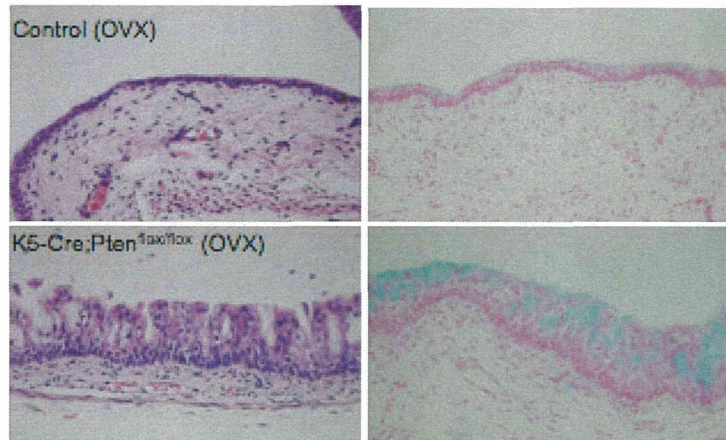


図2. 卵巣除去したPtenミュータントマウスの表現型。対照群に比べ(上)、Ptenミュータントマウスでは、Supra basal cellの過形成と粘液細胞分化が見られる(下)。右はAlcian blue染色。

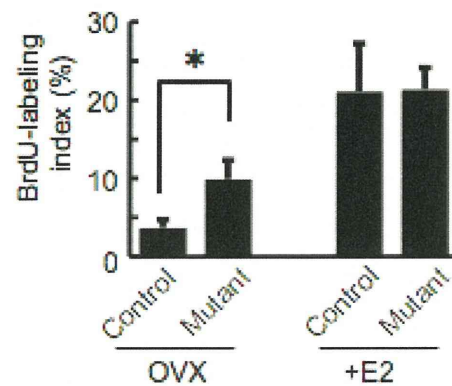
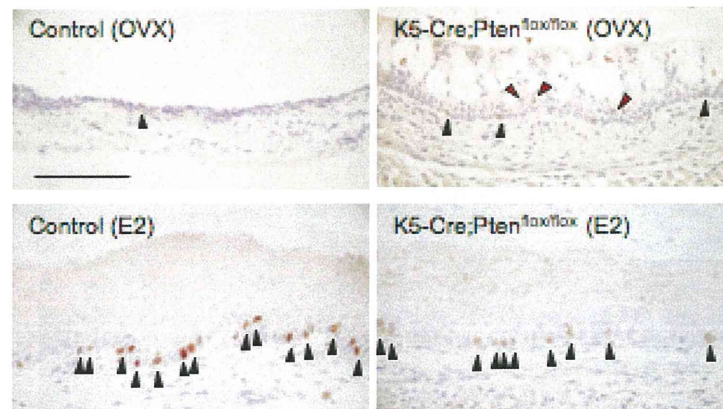


図3. 卵巣を除去したミュータントマウスでは、対照群に比べ、細胞増殖率(BrdUの取り込み=黒矢頭、を指標とした)が亢進していた。なお、通常腔上皮の細胞増殖は、基底膜に接した細胞しかしなが、ミュータントマウスでは基底膜を離れた細胞もBrdUを取り込んでいた(赤矢頭)。E2投与ではの増殖には有意差はない(E2投与後の表現型に関しては図3参照)。

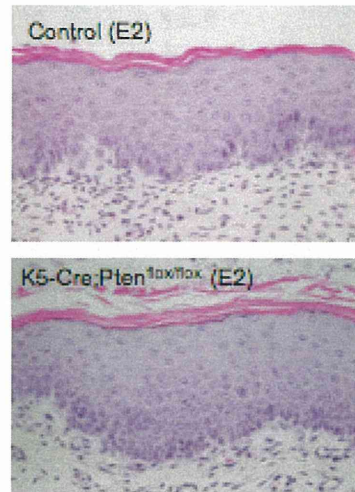


図4. 卵巣除去したPtenミュータントマウスにE2を投与した後の表現型。E2は0.1 μ gを3日間皮下投与し、24時間後に採材した。ミュータントマウスでも多層化及び角質化が誘導される。

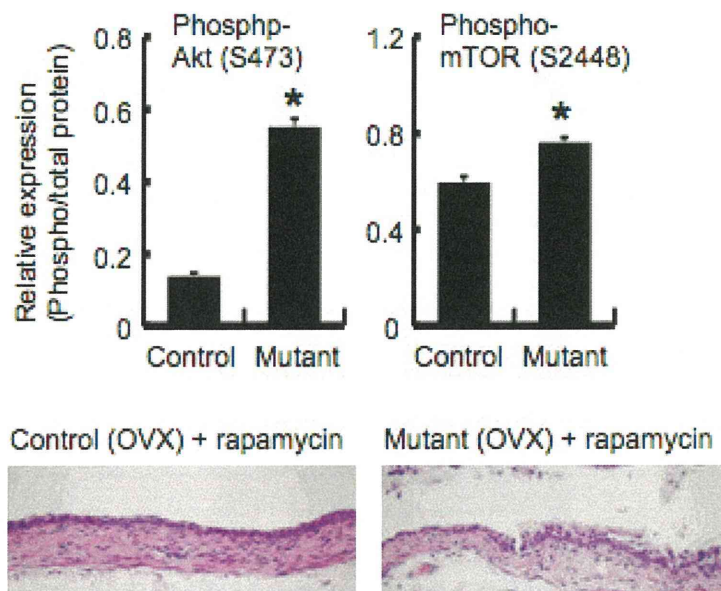


図5. Ptenミュータントマウスでは、Aktに加え、mTORのリン酸化も亢進していた。グラフはウェスタンブロットティングのバンドを定量化したものである。またmTORのインヒビターであるラパマイシンを卵巣を除去したミュータントマウスにとうよすると、形成を示す腺上皮細胞の一部が退縮した。

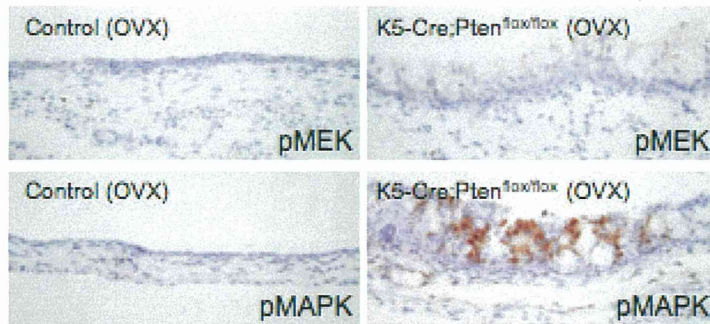


図6. Ptenミュータントマウス腫組織における phospho-MEKとphospho-ERK1/2の免疫組織染色。ミュータントマウスではMAPKカスケードが suprabasal cellにおいて亢進していることがわかる。

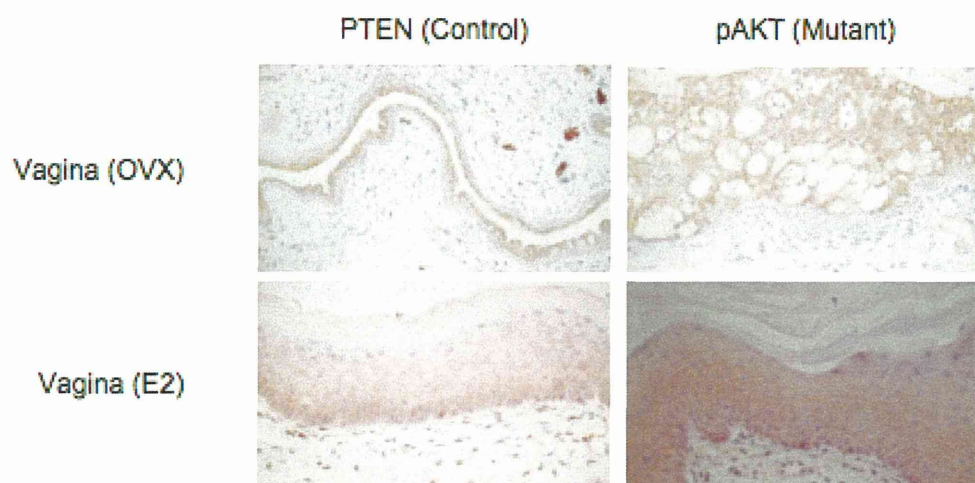
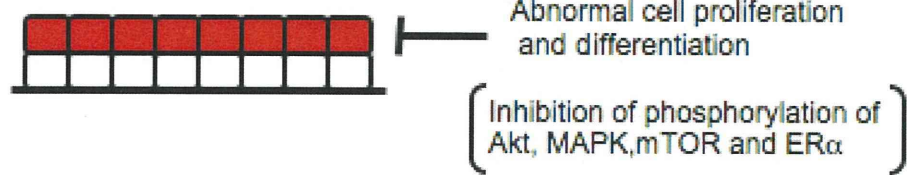


図7. 卵巣を除去した野生型マウスの膣では、Ptenは基底細胞ではなく、suprabasal cellに発現していた(左上)。一方で女性ホルモンを投与すると、基底細胞からその上層にかけて発現するようになる(左下)。ミュータントマウスのリン酸化Aktは、それぞれ、Pten発現部位で活性化するようになる(右上および右下)。

A. 女性ホルモン非存在下



B. 女性ホルモン存在下



 Pten expressing cell

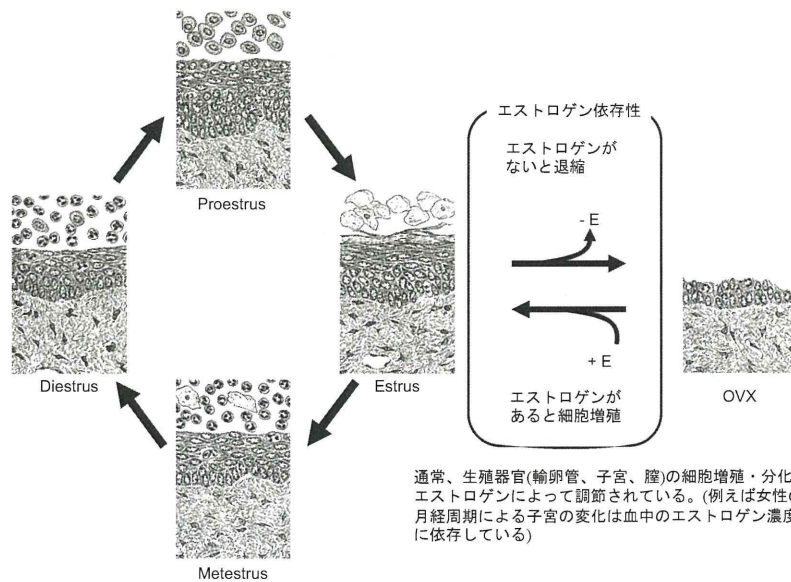
図8. マウス腔上皮細胞における女性ホルモン非存在化及び存在下におけるPtenの発現とその機能

マウス雌性生殖器官の女性ホルモンシステムと その破綻の分子機構

井口泰泉 宮川信一

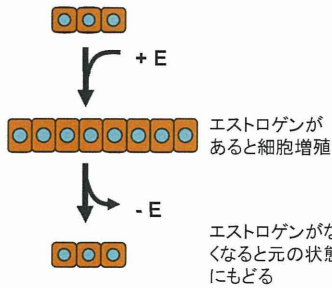
自然科学研究機構
基礎生物学研究所
岡崎統合バイオサイエンスセンター

エストロゲン依存性と非依存性 (例: 雌性生殖器官の細胞増殖)



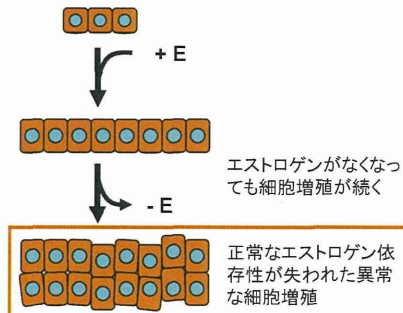
エストロゲン依存性と非依存性 (例: 雌性生殖器官の細胞増殖)

エストロゲン依存性



通常、生殖器官(輸卵管、子宮、膣)の細胞増殖・分化はエストロゲンによって調節されている。(例えば女性の月経周期による子宮の変化は血中のエストロゲン濃度に依存している)

エストロゲン非依存性



乳癌、子宮癌、膣癌など

マウス雌性生殖器官の細胞増殖(分化)をモデルとして
女性ホルモンシステムの破綻の分子機構
を明らかにする

周産期女性ホルモン曝露による組織不可逆化(DES シンドローム)



1938 DESの合成 (Dodds et al., *Nature*, 141: 247-248, 1938)

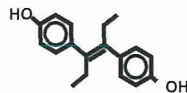
1945 - 1976 流産防止剤として妊婦に処方

- 安全で効果があるとして、正常な妊婦にも処方された
- 処方された妊婦の総数は不明であるが、世界中では2-8百万人と推定されている。

1962 出生直後の女性ホルモン投与によるマウス膣の前癌病変 (Takasugi, Bern and DeOme: *Science*, 138: 438-439, 1962)

1971 悪影響 (Herbst et al., *N. Engl. J. Med.*, 284: 878-881, 1971)

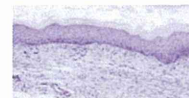
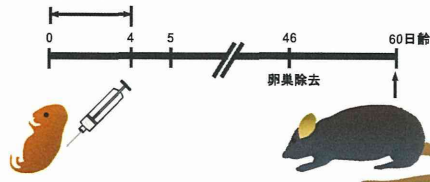
- 胎児期に曝露をうけた女性で低頻度ながら膣癌が発症
- 高頻度で、男性、女性ともに生殖器官の機能異常



ジェエチルスチルベストール
Diethylstilbestrol (DES)

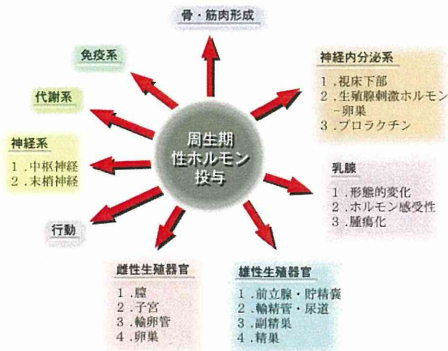
胎児期の影響が大人で現れる
(臨界期)

出生直後からDES投与



卵巣を除去して体内から女性ホルモンを除いても増殖が続き、加齢に伴い腫瘍化する

新生児期DES 投与マウスモデル

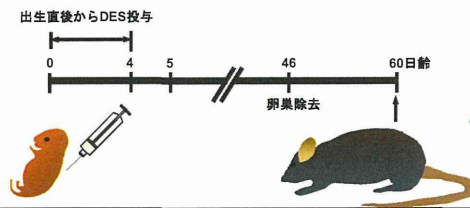


新生児期DES 投与マウスモデル(生殖器官)

- ・ 臨界期がはっきりしている
生後3日(組織分化の決定時期と同じ)
- ・ 高い再現性
- ・ わかりやすいエンドポイント
組織学的に明らか
- ・ 組織自律的
他の器官の影響を受けていない
- ・ BPAなどでも誘導できる
- ・ ヒトでの例



化学物質=環境要因の発生発達期個体への遅発性影響の普遍的なメカニズムを提案



何が起きているのか?

どのようにして起きるのか?

マウス周生期DES投与モデル...

環境要因の発生期個体への影響を解析

遺伝子改変マウスの表現型
解析からのアプローチ

何が起きているのか?

女性ホルモン受容体のリガンド非依存的な活性化
(リン酸化による転写活性化) など
Miyagawa et al., *Oncogene* (2004), *Journal of Molecular Endocrinology* (2004)
Biology of Reproduction (2010), *J Steroid Biochem Mol Biol* (2011)

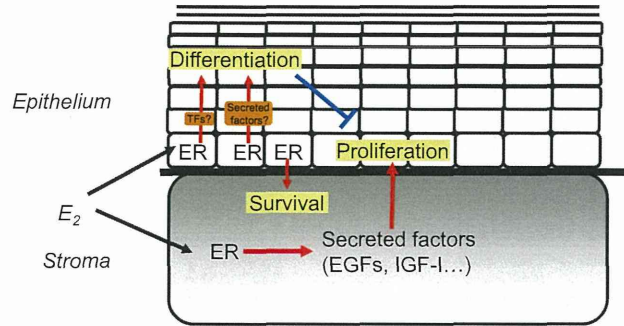
WntシグナルやPten/PI3k/Aktシグナル



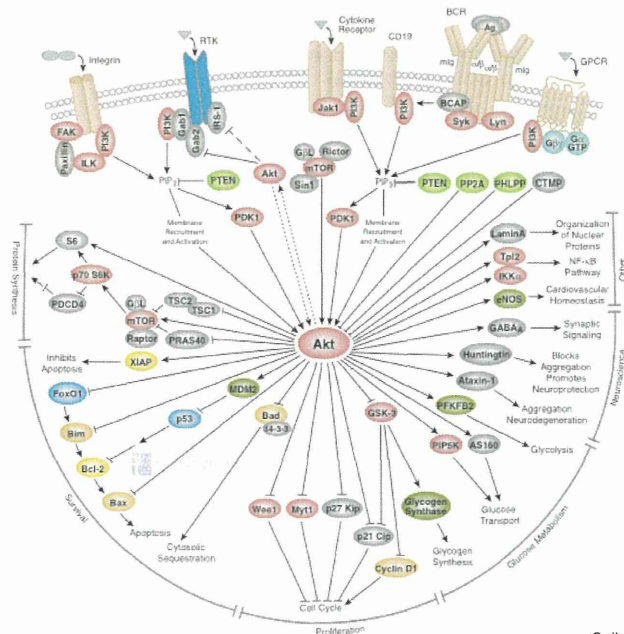
どのようにして起きるのか?

(原因遺伝子の)エピジェネティクス
解析からのアプローチ

Hypothetical model for estrogen-induced vaginal cell proliferation and differentiation



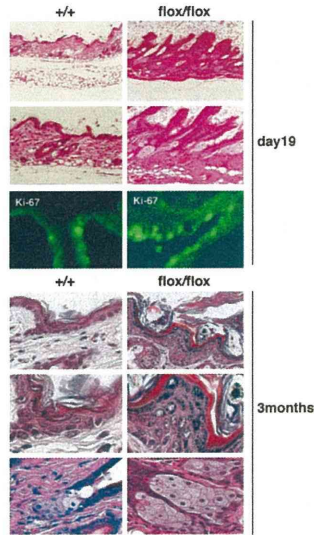
PI3K/Akt signaling pathway



Cell signaling technology

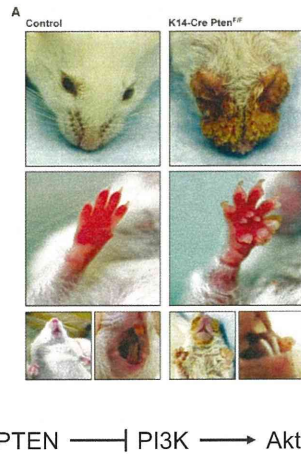
Keratinocyte-specific Pten Deficiency Results in Epidermal Hyperplasia, Accelerated Hair Follicle Morphogenesis and Tumor Formation¹

Akira Suzuki, Satoshi Hami,² Mitsuaki Okibiki,² Koichi Hamada, Tai Inoue, Nobuyasu Komazawa, Haruki Senoo, Takehiko Suzuki, Junji Takada, Motomasa Manabe, Takashi Waki,^{3,4} and Taro Nakase.^{1,4}
¹Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Tohoku University, Sendai 980-8575, Japan; ²Department of Dermatology, Faculty of Medicine, Tohoku University, Sendai 980-8575, Japan; ³Department of Dermatology, Faculty of Medicine, Tohoku University, Sendai 980-8575, Japan; ⁴Department of Dermatology, Faculty of Medicine, Tohoku University, Sendai 980-8575, Japan



Chemoprevention and Treatment of Experimental Cowden's Disease by mTOR Inhibition with Rapamycin

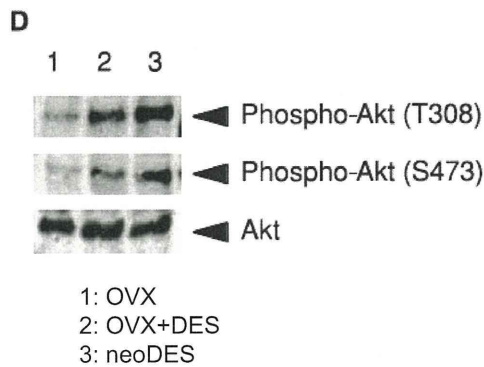
Cristiane H. Squarize, Rogerio M. Casilho, and J. Silvio Gutkind
Oral and Pharyngeal Cancer Branch, National Institute of Dental and Craniofacial Research, NIH, Bethesda, Maryland



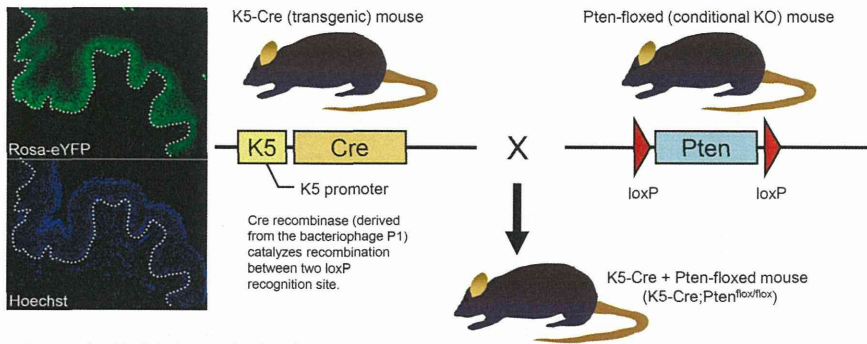
Persistent gene expression in mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol

S Miyagawa^{1,2,3}, A Suzuki³, Y Katsu^{2,3}, M Kobayashi^{1,2,3}, M Goto³, H Handa⁴, H Watanabe^{2,3} and T Iguchi^{1,2,3}

¹School of Life Science, The Graduate University for Advanced Studies, 5-1 Higashiya, Myodaiji, Okazaki, 444-8585, Japan
²Center for Integrative Bioscience, Okazaki National Research Institutes, 5-1 Higashiya, Myodaiji, Okazaki, Aichi 444-8585, Japan
³Core Research for Evolutional Science and Technology (CREST), Japan Science and Technology Corporation, 4-1-8 Motomachi, Kawaguchi, 332-0012, Japan
⁴Frontier Collaborative Research Center, Tokyo Institute of Technology, 4259 Nagatsuta, Yokohama, 226-8503, Japan



Strategy for vaginal epithelial cell-specific recombination of Pten allele



In vaginal epithelium (expressing keratin 5)

