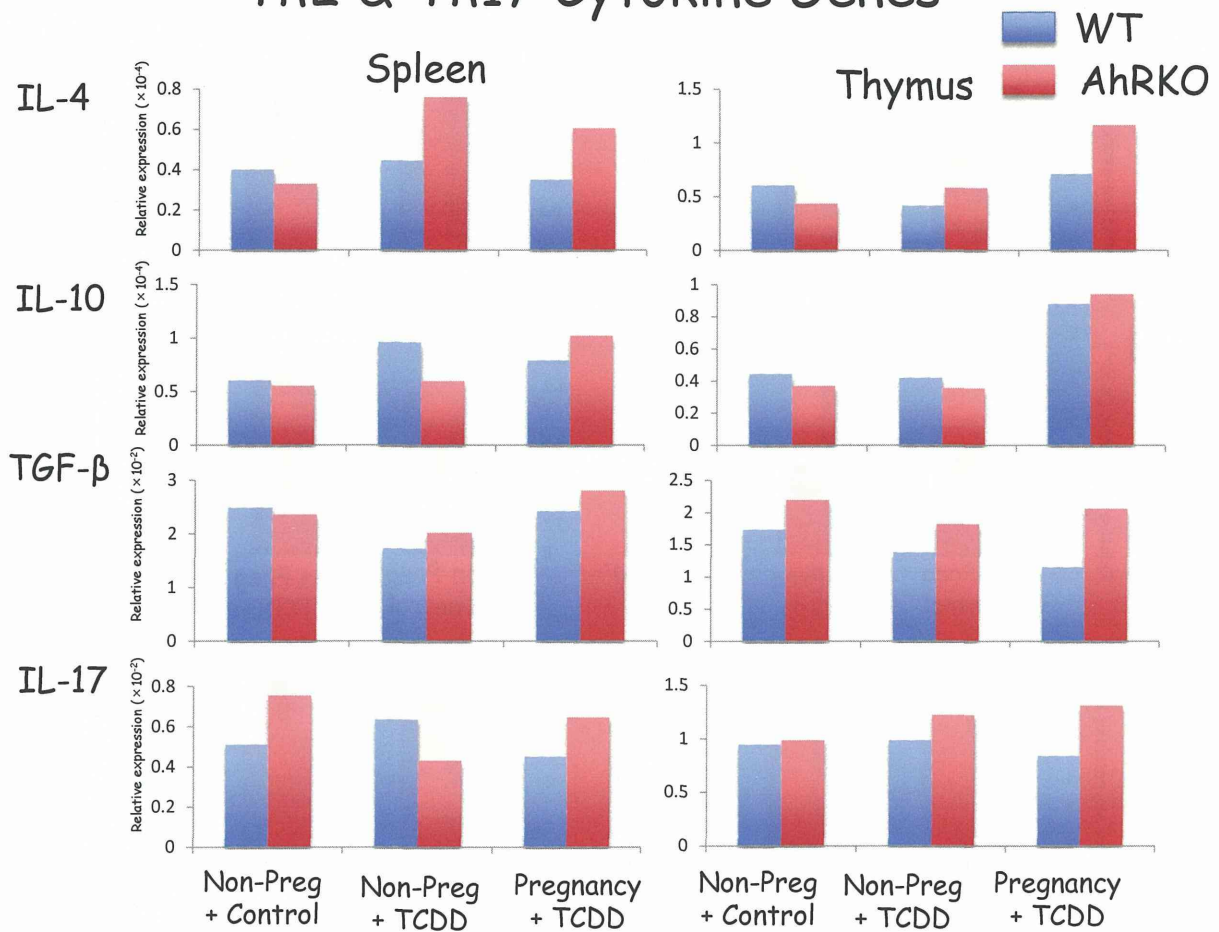
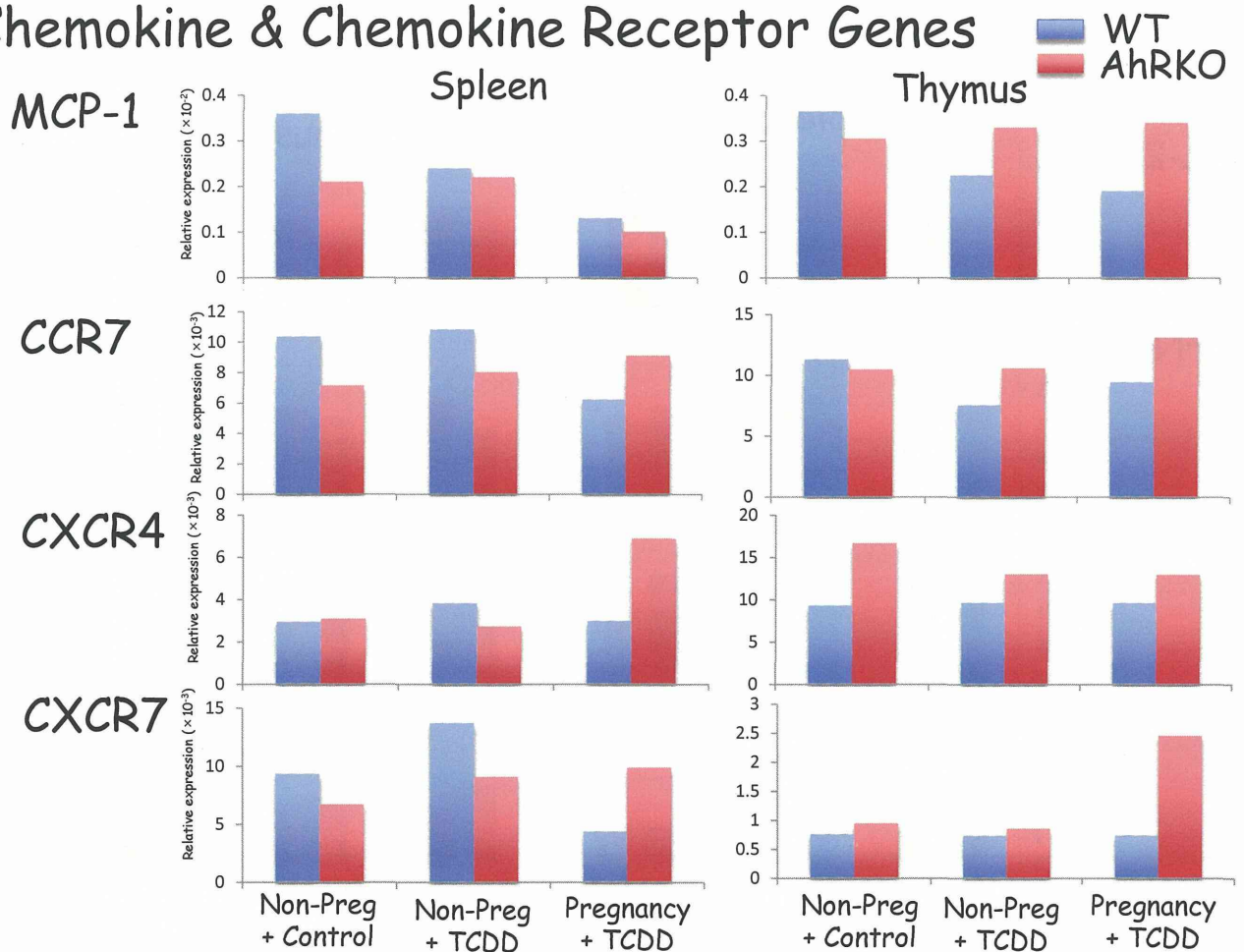


Th2 & Th17 Cytokine Genes



Chemokine & Chemokine Receptor Genes



まとめ

妊娠後期におけるTCDDの暴露は母体の免疫系に晩発的な影響を及ぼし、自己免疫疾患の発症の原因の一つになる可能性が示された。

妊娠期の胸腺組織ではAhRの発現に加え、免疫関連遺伝子の発現が大きく変動することが判明した。

In Vitroでの妊娠胸腺組織へのTCDD暴露実験では、ケモカイン（CCL5, CCL7）遺伝子、サイトカイン受容体（IL-18r1, IL-1r1）遺伝子の発現に変動が生じることが示され、エピジェネティクス変化を来す可能性がある。

In Vivoでの妊娠マウスへのTCDD投与実験では、AhRを介したTCDDの変化はGATA-3、IL-1 β 、ケモカイン受容体遺伝子などに現れる一方で、AhR非依存性のTCDDの影響もT細胞を起点とした免疫システム障害を来している可能性がある。

周産期（妊娠後期）における低用量のTCDDの暴露は母体側の胸腺組織を中心とした免疫制御システムに大きな変化を来す可能性が示され、晩発性の変化として自己免疫疾患発症の要因となることが判明した。

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

化学物質の子どもへの影響評価に関する研究

- 発生・発達期の脳や免疫系が示す高感受性の責任標的の同定と、

それに基づく試験スキームの最適化 -

(H23-化学-一般-002)

(平成 25 年度) 分担研究報告書

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

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

研究協力者:宮川信一

自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター・助教

研究要旨

内分泌かく乱物質の発生期における影響として、晩発性あるいは継世代性の影響が示唆されてきている。未成熟な発生途上の動物に対する長期的かつ不可逆的な応答について、女性生殖管をモデルとして、女性ホルモンと、その作用をメディエイトするシグナル因子の候補としての Pten/PI3K/Akt とのクロストークの解析を行った。新生児期 DES 投与した Pten CKO マウスの膺では、コントロールマウスのものよりも重篤な症状を示し、特に basal cell の過形成が顕著であった。したがって、新生児期 DES 投与されたマウスの膺上皮では、主に basal cell において、Pten が過剰な PI3K/Akt シグナルを抑え、過形成（腫瘍化）を抑えていることが明らかとなった。また、膺上皮細胞の ER は、その細胞増殖には影響はないが、角質化への分化に必須であることを明らかにした。これらは今後、遅発性影響における、組織レベルでの女性ホルモン受容体の寄与を解析する上で重要な知見である。

A. 研究目的

女性ホルモン（エストロゲン）は生体の恒常性維持、生殖、発生・分化をはじめとした様々な局面で重要な機能を果たしている。それゆえ女性ホルモンシステムの破綻は、乳がんや子宮癌、不妊、骨粗しょう症や肥満などを引き起こし、生物の様々な活動に影響を及ぼす。こうしたホルモン関連の疾患の増加は近年社会問題化しているが、その発症メカニズムは不明な点が多い。さらに近年では、内分泌かく乱物質の発生期における影響として、晩発性あるいは継世代性の影響が示唆されてきている。成熟した動物への影響はホメオスタシスに基づいた応答により長期的な影響を示さないが、未成熟な発生途上の動物に対する長期的かつ不可逆的な応答はほとんど理解が進んでいない。

輸卵管・子宮・膺からなる女性生殖管は、生殖の場として生物の根源に関わる役割を担っており、その細胞増殖・分化は、女性ホルモンによってダイナミックに制御されている。女性生

殖器官の細胞増殖は女性ホルモンによって一過性に、つまり女性ホルモン依存的に制御されているので、生殖器官の癌とは、いわば“女性ホルモン非依存の細胞増殖”といえる。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の増殖を示すようになり、加齢に伴い腫瘍化する。現在のところ、女性生殖器官において、正常時あるいは腫瘍形成時（あるいは“女性ホルモン非依存の細胞増殖”時）の女性ホルモンの細胞増殖や分化に対する作用をメディエイトする因子の実体やそのメカニズムは未だ明らかではない。我々はこの点において、遺伝子改変マウスを用いた解析からアプローチしている。

今年度は前年度に引き続き、女性生殖器官において女性ホルモンシグナルの下流とされるPI3K/Aktシグナルについて、Ptenを欠失した遺伝子改変マウスを解析した。さらに、新たに上皮特異的エストロゲン受容体 α (ER α)の解析も行い、膣上皮における女性ホルモンの寄与についての解析を行った。

B. 研究方法

膣上皮細胞特異的に Cre 組換え酵素を発現するマウス(K5-Cre)と、Pten^{fllox} または ER α ^{fllox} マウスを掛け合わせ、膣上皮細胞特異的PI3K/Aktシグナル活性化マウス (Pten コンディショナルノックアウト (CKO)マウス; K5Cre/+;Pten^{fllox/fllox})または膣上皮細胞特異的 ER α CKO マウス (K5Cre/+;ER α ^{fllox/+})を作成した。K5-Cre マウスは大阪大学竹田潤二教授、ER α ^{fllox} マウスは Institute for Genetics and Cellular and Molecular Biology (フランス) シャンボン教授との共同研究として供与されたものである。Pten^{fllox} マウスはジャクソン研究所より入手した。新生仔期 DES 投与は、出生直後から DES (3 μ g/ μ l)を5日間投与した。解析に用いたマウスは、基本的には卵巣を6週齢で除去し、視床下部-下垂体の影響をなくした状態で解析を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、自然科学研究機構動物実験委員会及び自然科学研究機構組換えDNA実験安全委員会の承認のもと、関連する法令に従い、動物愛護の精神をもって行った。

C. 研究結果

1) 膣上皮細胞特異的PI3K/Aktシグナル活性化マウスの解析

発生期化学物質曝露が誘導する組織不可逆化の発症メカニズムを、発生期化学物質曝露によって誘導される形質の原因遺伝子の同定およびその遺伝子の発現制御メカニズムの解析という観点から、多くの組織の発生・分化、細胞増殖、癌化に寄与している Pten/PI3K/Akt 経路に注目した。前年度に引き続き、膣上皮細胞特異的 Pten CKO マウスを用いて解析した。

今回我々はこの遺伝子改変マウスに新生仔期 DES 投与を行い、その成長後に組織学的な解析することで、ホメオスタシスを司る重要な因子である Pten を欠損した、発生途上の個体に対する遅発性影響を解析した。その結果、新生仔 DES 投与 Pten CKO マウス (卵巣を除去した成獣) において、1/9 匹が重層角質化上皮(図 1A;同様に新生仔期 DES 処理をしたコントロールマウスと同じ表現型)、3/9 匹が suprabasal cell の粘液化細胞

化とその過形成が主な表現型のもの (図 1B; 無処理の Pten CKO マウスと似た表現型)、3/9 が上皮細胞の過形成を伴う重層化が優位であり粘液化がわずかなもの(図 1C, C';通常一部角質化している部位もある。さまざまなタイプの上皮細胞がみられるが、多くは分化マーカーであるサイトケラチン 1 (CK1)が低発現であり (data not shown)、過形成を起こしているのは少なくとも未分化な状態の細胞群であるといえる)、残りの 2 匹は、basal 及び suprabasal cell の過形成が同等に混合している個体が見られた。なお、これら個体は、過剰な粘液分泌に伴う炎症が重層化上皮にも作用するためと推察されるが、より重篤な症状を示す部位がある(図 1D)。このように、図 B の状態のマウスを除いた少なくとも 9 匹中 6 匹のマウスは、DES の発生影響を受けているといえる。したがって、**Pten 欠損下において、化学物質の発生影響は、より重篤な症状を個体に誘起することが分かった。**

2) 膣上皮細胞特異的 ER α CKO マウスの解析
これまで、子宮、膣、乳腺などの女性生殖器官の女性ホルモン依存的な細胞増殖は、女性ホルモンがまず間質の ER α に作用し、それによって発現する分泌性増殖因子が上皮に作用して、その細胞増殖を誘導するというモデルが、Cunha らの上皮および間質組織の貼替え実験によって示されてきた。この実験は、生体の器官を摘出後にトリプシンなどで上皮と間質を分離し、さまざまな組み合わせで上皮と間質をくっつけ (例えばワイルドタイプマウス由来の上皮と ER α ノックアウトマウス由来の間質など)、これをヌードマウスの腎層皮膜下に移植して一定期間後に組織観察するという *ex vivo* の実験系である。しかしながら、この系は必ずしも生体で起こりうる反応、あるいは現象と一致するとは限らない。例えば、遺伝子改変技術を駆使して作製された子宮上皮細胞特異的 ER α CKO マウスを使った実験は組織貼替え *ex vivo* 実験の結果と概ね一致したが、一方で乳腺上皮細胞特異的 ER α CKO マウスでは、上皮細胞に発現する ER α が、上皮の細胞増殖に不可欠であり、これは組織貼替え実験とは矛盾する。膣ではこのような生体を使った、上皮特異的 ER α CKO マウスの報告はない。今後の化学物質の生殖器官に対する晩発性影響を調べて行くうえでも、その化学物質のターゲットになり得る女性ホルモン受容体の組織レベルでの役割を解析することは重要であることから、**膣上皮細胞特異的 ER α CKO マウスの解析**を行った。

まず始めに、膣上皮特異的 ER α CKO マウスにおける ER α の発現を確かめた。コントロールマ

ウスでは ER α は上皮、間質ともに発現していたが、膣上皮特異的 ER α CKO マウスでは、間質の ER α は発現しているものの、膣上皮での発現は消失していた(図 2)。

次に HE 染色による組織観察を行った。本実験でも、卵巣を 6 週齢で除去し (OVX)、視床下部下垂体の影響をなくした状態で解析を行っている。OVX した状態では、コントロールマウスと膣上皮特異的 ER α CKO マウスは同様に 2-3 層の退縮した組織像を示した。一方、OVX マウスに女性ホルモンを投与すると、コントロールでは重層化及び角質化が見られたのに対して、膣上皮特異的 ER α CKO マウスでは、細胞増殖及び重層化は誘導されるものの、角質化には至らなかった(図 3)。事実、分化マーカーであるサイトケラチン 1 (CK1)、最終分化マーカーであるフィラグリンは全く発現していなかった (図 4)。さらに細胞増殖を BrdU の取り込みを指標にして調べたところ、上皮細胞の BrdU 取り込み率 (すなわち細胞増殖率) は、コントロールマウスと膣上皮特異的 ER α CKO マウス間で差は見られなかった。しかしながら、通常膣上皮の細胞増殖は基底膜に接した細胞しかしなが、膣上皮特異的 ER α CKO マウスでは基底膜を離れた細胞も異所的に BrdU を取り込んでいた(図 5)。一方細胞死に関しては膣上皮特異的 ER α CKO マウスの間質で亢進していた (data not shown)。これらの結果から、膣組織において ER α は、細胞増殖には寄与しないが適切な分化 (角質化) に不可欠であり、さらにその欠損により異所的な細胞増殖が起きることから、能動的に膣組織のホメオスタシスに関与していることが明らかとなった。

D. 考察

1) 膣上皮細胞特異的 PI3K/Akt シグナル活性化マウスの解析

通常マウスの膣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、成熟後膣上皮はホルモン非依存的増殖及び角質化が誘導される (発生個体に対する DES による晩発性影響)。このようなマウスの膣では、PI3K/Akt 経路が活性化されていることを我々は報告している。そこで今回我々は、PI3K/Akt 経路が構成的に活性化されている Pten CKO マウスの新生仔に、DES を投与することにより、「発生途上の個体に対する遅発性影響」において「特定の遺伝子(すなわち Pten)の変異」に対する影響について解析を試みた。

前年度に我々は、卵巣除去した Pten CKO マウ

スの膣上皮は、特に suprabasal cell (基底細胞より上層の細胞)において過形成が起きること、さらにこの suprabasal cell は、粘液を過剰に分泌していることを明らかにした。一方で、卵巣除去した Pten CKO マウスに女性ホルモンを投与すると、膣上皮は正常に分化し、角質化するが、長期曝露によって基底細胞の過形成が見られる。このように、膣組織での Pten は女性ホルモン存在下・非存在下でその標的細胞が異なり、さまざまな角度から膣組織のホメオスタシスに関与している。そのようなホメオスタシスを司る因子が欠損した状態で、化学物質の晩発性影響はどのような効果をもたらすのであろうか? 例えば、新生児期 DES 投与マウスでは、成熟後に女性ホルモン非依存の細胞増殖と分化が見られるが、Pten が存在しない状態では、suprabasal cell と basal cell のどちらが影響を強く受けるのか、また、その表現型は、相加的に重篤になるのかどうか、あるいは、Pten CKO マウスの表現型はそもそも重篤であり、新生児期 DES 投与の影響を受けない可能性もある。

今回我々が示した結果は、新生児期 DES 投与した Pten CKO マウスの膣は、同様の投与を行ったワイルドタイプ(コントロール)マウスよりも広範囲において重篤な症状を示した。すなわち Pten の欠損と新生児期 DES 投与の作用は相加的というよりも相乗的に作用する。特に基底細胞あるいは重層扁平上皮細胞において広範囲に重篤な表現型がでていたことから、新生児期 DES 投与されたマウスの膣上皮では、主にこれらの細胞において、Pten が過剰な PI3K/Akt シグナルを抑え、過形成 (腫瘍化) を抑えていることがわかった。したがって、膣における DES の晩発性影響としての PI3K/Akt シグナル活性化の主な標的は、basal cell であることが示唆される。一方で suprabasal cell も過形成している個体もいた。

2) 膣上皮細胞特異的 ER α KO マウスの解析

女性生殖器官に対する化学物質の晩発性影響を理解するためには、内在的な女性ホルモンによる、細胞増殖及び分化に対する作用機序を明らかにすることが大切である。膣上皮特異的 ER α KO マウスの報告はまだないことから、今回我々はその解析を行った。

その結果、膣上皮特異的 ER α KO マウスは、女性ホルモンを投与しても、細胞増殖及び重層化は誘導されるものの、角質化には至らなかった。これは単に女性ホルモンに対する感受性が低下したためではない。なぜなら通常基底細胞よりも上層はすべて分化マーカーであるサイトケラチン 1 (CK1)を発現するが、それが全く発現

していなかったためである。また、女性ホルモンの2ヶ月にわたる長期曝露によっても角質化は起きなかった(data not shown;しかしながら、上皮組織が間質に侵入した像が得られ、現在解析を進めている)。さらに、通常膣上皮の細胞増殖は基底膜に接した細胞しかしなが、膣上皮特異的ER α KOマウスでは基底膜を離れた細胞もBrdUを取り込んでいた。したがって、膣上皮特異的ER α KOマウスの膣では基底細胞が分化できずに、蓄積していることが示唆される。すなわちsuprabasal cellは未分化性を保った状態であり、それゆえに異所的な細胞増殖が起きていることが考えられる。このように、**上皮細胞のERは、その細胞増殖には影響はないが、角質化への分化に必須であることが *in vivo* のレベルで証明することができた。**

我々は以前、新生児期DES投与したマウスの膣上皮では、卵巣を除去し体内から女性ホルモンを除いても、女性ホルモン受容体がMAPKやAktによりリン酸化されることにより、リガンド非依存的に活性化していることを報告している。すなわち、この膣組織では、女性ホルモン受容体が上皮組織自律的に細胞増殖している(通常のように間質を介さず)ことが考えられる。そこで今後、膣上皮特異的ER α KOマウスに新生児期DES投与をおこない、上皮組織の女性ホルモン受容体の寄与を解析する。これにより、**化学物質の生殖器官に対する晩発性影響を、そのターゲットになり得る女性ホルモン受容体の組織レベルでの役割という面から、明らかにすることができると期待される。**

E. 結論

1) 新生児期DES投与したPten CKOマウスの膣では、コントロールマウのものよりも重篤な症状を示した。したがって膣に対する化学物質の発生影響において、Ptenが過剰なPI3K/Aktシグナルを抑え、過形成(腫瘍化)を抑えていることが明らかとなった。

2) 膣上皮細胞の女性ホルモン受容体は、細胞増殖には不要だが、角質化への分化に必須である。今後、遅発性影響における、組織レベルでの女性ホルモン受容体の寄与を解析する上で重要な知見が得られた。

F. 研究発表

1. 論文発表

原著論文

Brockmeier, E.K., Ogino, Y., Iguchi, T., Barber, D.S. and Denslow, N.D. (2013). Effects of 17 β -trenbolone on Eastern and Western

mosquitofish (*Gambusia holbrooki* and *G. affinis*) and anal fin growth and gene expression patterns. *Aquat. Toxicol.*, 128-129C, 163-170.

Katsu, Y., Lange, A., Miyagawa, S., Urushitani, H., Tatarazako, N., Kawashima, Y., Tyler, C.R. and Iguchi, T. (2013). Cloning, expression and functional characterization of carp, *Cyprinus carpio* estrogen receptors and their differential activations by estrogens. *J. Appl. Toxicol.*, 33, 41-49.

Kakuta, H., Matsushita, A., Arikawa, K., Iguchi, T. and Sato, T. (2013). Cholesterol homeostasis in the ovaries of neonatally diethylstilbestrol-treated mice. *Exp. Clin. Endocr. Diabetes*, 121, 94-101.

Katoh, T., Hayashi, S., Iguchi, T. and Sato, T. (2013). Epithelial-stromal interactions in the mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol. *In Vivo*, 27, 333-337.

Toyota, K., Kato, Y., Sato, M., Sugiura, N., Miyagawa, S., Miyakawa, H., Watanabe, H., Oda, S., Ogino, Y., Hiruta, C., Mizutani, T., Tatarazako, N., Paland, S., Jackson, C., Colbourne, J.K. and Iguchi, T. (2013). Molecular cloning of doublesex genes of four cladocera (water flea) species. *BMC Genomics*, 14, 239.

Miyakawa, H., Toyota, K., Hirakawa, I., Ogino, Y., Miyagawa, S., Oda, S., Tatarazako, N., Miura, T., Colbourne, J.K. and Iguchi, T. (2013). A mutation in the Methoprene tolerant alters juvenile hormone response in insects and crustaceans. *Nature Commun.*, 4, 1856.

Jeong, S.W., Lee, S.M., Yum, S.S., Iguchi, T. and Seo, Y.R. (2013). Genomic expression responses toward bisphenol-A toxicity in *Daphnia magna* in terms of reproductive activity. *Mol. Cell. Toxicol.*, 9, 149-158.

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., Guillelte, L.J.Jr. and Iguchi, T. (2013). Establishment of transactivation assay systems using fish, amphibian, reptilian and human thyroid hormone receptors. *J. Appl. Toxicol.*, 33, 991-1000.

Hirakawa, I., Miyagawa, S., Mitsui, N., Miyahara, M., Onishi, Y., Kagami, Y., Kusano, T., Takeuchi, T., Ohta, Y. and Iguchi, T. (2013). Developmental disorders and altered gene expression in the tropical clawed frog (*Silurana tropicalis*) exposed to 17 β -ethinylestradiol. *J. Appl. Toxicol.*, 33, 1001-1010.

Urushitani, H., Katsu, Y., Ohta, Y., Shiraishi, H., Iguchi, T. and Horiguchi, T. (2013). Cloning

- and characterization of the retinoic acid receptor-like protein in the rock shell, *Thais clavigera*. *Aquat. Toxicol.*, 142-143C: 403-413.
- Hiruta, C., Toyota, K., Miyakawa, H., Ogino, Y., Miyagawa, S., Tatarazako, N., Shaw, J.R. and Iguchi, T. (2013). Development of a microinjection system for RNA interference in the water flea *Daphnia pulex*. *BMC Biotechnol.*, 13, 96.
- Toyota, K., Kato, Y., Miyakawa, H., Yatsu, R., Mizutani, T., Ogino, Y., Miyagawa, S., Watanabe, H., Nishide, H., Uchiyama, I., Tatarazako, N. and Iguchi, T. (2013). Molecular impact of juvenile hormone agonists on neonatal *Daphnia magna*. *J. Appl. Toxicol.*, (in press).
- Nakamura, A., Takanobu, H., Tamura, I., Yamamuro, M., Iguchi, T. and Tatarazako, N. (2013). Verification of responses of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) to antiandrogens, vinclozolin and flutamide, in short-term assays. *J. Appl. Toxicol.* (in press).
- Ogino, Y., Hirakawa, I., Inohaya, K., Sumiya, E., Miyagawa, S., Tatarazako, N., Denslow, N., Yamada, G. and Iguchi, T. (2013). Bmp7 and Lef1 are the downstream effectors of androgen signaling in androgen-induced sex characteristics development in medaka. *Endocrinology*, (in press).
- Ichikawa, M., Murai, E., Hashiguchi, Y., Iguchi, T. and Sato, T. (2013). Effects of diethylstilbestrol (DES) on luteinizing hormone-producing cells in the mouse anterior pituitary. *Exp. Biol. Med.*, (in press).
- Nakamura, A., Takanobu, H., Tamura, I., Yamamuro, M., Iguchi, T. and Tatarazako, N. (2013). Fish multi-generation test with preliminary short-term reproduction assay for estrone using Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *J. Appl. Toxicol.*, (in press).
- Abe, R., Watanabe, H., Yamamuro, M., Iguchi, T. and Tatarazako, N. (2013). Establishment of a short-term *in vivo* screening method for detecting chemicals having juvenile hormone activity using adult *Daphnia magna*. *J. Appl. Toxicol.*, (in press).
- Batia, H., Kumar, A., Ogino, Y., Du, J., Gregg, A., Chapman, J., McLaughlin, M., Iguchi, T. (2014). Adult male Murray rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*) as a test model to assess anti-androgenic effects of flutamide in the Australian rivering environment. *Environ. Toxicol. Chem.*, (in press).
- Miyagawa, S., Sato, M., Sudo, T., Yamada, G. and Iguchi, T. (2014). Unique roles of estrogen-dependent Pten control in epithelial cell homeostasis of mouse vagina. *Oncogene*, (in press).
- 総説
- Bergman, Å, Heindel, J.J., Kidd, K.A., Jobling, S., Zoeller, R.T., Becher, G., Bjerregaard, P., Bornman, R., Brandt, I., Brian, J.V., Kortenkamp, A., Muir, D., Ochieng, R., Skakkebaek, N.E., Iguchi, T., Toppari, J. and Woodruff, T.J. (2013). State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012. pp. 260, WHO and UNEP.
- Bergman, Å, Heindel, J.J., Kidd, K.A., Jobling, S., Zoeller, R.T., Becher, G., Bjerregaard, P., Bornman, R., Brandt, I., Brian, J.V., Kortenkamp, A., Muir, D., Ochieng, R., Skakkebaek, N.E., Iguchi, T., Toppari, J. and Woodruff, T.J. (2013). The impact of endocrine disruption: A consensus statement on the state of the science. *Environ. Health Perspect.*, 121, A104-106.
- Stolzenberg, H.-C., Frische, T., Dellarco, V.L., Timm, G., Gourmelon, A., Iguchi, T., Ingerslev, F. and Roberts, M. (2013). The regulatory need for tests to detect EDCs and assess their hazards to wildlife 59. In: *Endocrine Disruptors: Hazard Testing and Assessment Methods*, Matthiessen, P. (ed.) Wiley, pp. 59-99.
- Bergman, Å., Andersson, A.-M., Becher, G., van den Berg, M., Blumberg, B., Bjerregaard, P., Bornhag, C.-G., Bornman, R., Brandt, I., Brian, J.V., Casey, S.C., Fowler, P.A., Frouin, H., Giudice, L.C., Iguchi, T., Hass, U., Jobling, S., Juu, A., Kidd, K.A., Kortenkamp, A., Lind, M., Martin, O.V., Muir, D., Ochieng, R., Olea, N., Norrgren, L., Ropstad, E., Ross, P.S., Rudén, C., Scheringer, M., Skakkebaek, N.E., Söder, O., Sonnenschein, C., Soto, A., Swan, S., Toppari, J., Tyler, C.R., Vandenberg, L.N., Vinggaard, A.M., Wiberg, K., Zoeller, R.T. (2013). Science and policy on endocrine disruptors must not be mixed: a reply to a “common sense” intervention by toxicology journal editors. *Environ. Health*, 12, 69.
- Hiruta, C., Toyota, K., Miyakawa, H., Sumiya, E. and Iguchi, T. (2013). Sexual reproduction is a key element in the life history strategy of water fleas, *Daphnia magna* and *Daphnia pulex* - Casting a spotlight on male induction and its morphology -. In: El-Doma, M (ed.) *Daphnia: Biology and Mathematics Perspectives*, Nova Science Publishers, (in press).
- Miyakawa, H., Iguchi, T., Miura, T. (2013) Developmental process of defensive morph in *Daphnia pulex*. In: El-Doma, M (ed.) *Daphnia: Biology and Mathematics Perspectives*. Nova Science Publishers, (in press).
- Kohno, S., Parrott, B.B., Yatsu, R., Miyagawa, S.,

Moore, B.C., Iguchi, T. and Guillet, L.J. Jr. (2013). Gonadal differentiation in reptiles exhibiting environmental sex determination. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, (in press).

その他

井口泰泉：岩波 生物学辞典 第5版、巖佐 庸、倉谷 滋、斎藤成也、塚谷雄一（編），2013.

宮川一志、蛭田千鶴江、豊田賢治、角谷絵里、荻野由紀子、宮川信一、鑓迫典久、井口泰泉：ミジンコ類における環境依存型性決定を制御する分子機構. *比較内分泌学*, 39 (149), 106-111, 2013.

井口泰泉：巻頭言 内分泌かく乱物質問題の新たな動き. *環境ホルモン学会ニュースレター*, 15 (1), 1, 2013.

井口泰泉：研究最前線：内分泌かく乱物質問題に対するWHO・UNEPの報告書. *環境ホルモン学会ニュースレター*, 15 (1), 2, 2013.

宮川信一、井口泰泉：第4章 環境ホルモン. *排水・汚水処理技術集成 Vol. 2, エヌ・ティー・エス*, 49-57, 2013.

宮川一志、豊田賢治、宮川信一、鑓迫典久、井口泰泉：研究最前線：ミジンコの幼若ホルモン受容体遺伝子の解明. *環境ホルモン学会ニュースレター*, 16 (2), 2, 2013.

井口泰泉：共著 「環境年表平成25・26年」国立天文台編，丸善，pp. 454, 2013.

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

Iguchi, T. Miyagawa, S., Ogino, Y., Ohta, Y., Kohno, S. and Guillet, L.J.Jr.: Establishment of transactivation assay systems using thyroid hormone receptors from various animal species and identification of marker genes of testis-ova in *Oryzias latipes* and *Silurana tropicalis*. *International Symposium for Toxicity Assessment (IST16)*, Capetown, South Africa, February 22-25, 2013.

Hiruta, C., Toyota, K., Miyakawa, H. and Iguchi, T.: Development of an RNA interference method using microinjection in the water flea *Daphnia pulex*, *日本発生生物学会第46回大会*, くにびきメッセ, 2013年5月30日.

荻野由紀子、井口泰泉：アンドロゲン受容体遺伝子の進化と雄性形質発現の分子機構. *シンポジウム：性と生殖-魚類における性的二型の進化機構*, 第84回日本動物学会, 岡山大学, 9月26-29日, 2013.

勝義直、岡香織、杉本章、井口泰泉：古代魚のコルチコイド受容体の単離. 第84回日本動物学会, 岡山大学, 9月26-29日, 2013.

谷津遼平、宮川信一、勝義直、井口泰泉：有鱗

目におけるエストロゲン受容体の機能解析、および進化的傾向. 第84回日本動物学会, 岡山大学, 9月26-29日, 2013

岡香織、佐々木麻衣、大田泰彦、井口泰泉、勝義直：ワニの抗ミュー管ホルモン遺伝子の糖質コルチコイド受容体による発現制御. 第84回日本動物学会, 岡山大学, 9月26-29日, 2013.

遠山早紀、宮川信一、荻野由紀子、水谷健、勝義直、小林亨、井口泰泉：魚類エストロゲン受容体サブタイプの化学物質に対する応答性. 第84回日本動物学会, 岡山大学, 9月26-29日, 2013.

角谷絵里、宮川一志、荻野由紀子、蛭田千鶴江、豊田賢治、宮川信一、井口泰泉：オオミジンコ脱皮ホルモンによる脱皮と生殖周期の制御. 第84回日本動物学会, 岡山大学, 9月26-29日, 2013.

宮川信一、佐藤優、井口泰泉：マウス臍上皮におけるPtenの役割. 第84回日本動物学会, 岡山大学, 9月26-29日, 2013.

宮川信一、河野郷通、谷津遼平、勝義直、Louis Guillet Jr., 井口泰泉：ワニのアンドロゲン受容体の機能解析. 第38回日本比較内分泌学会第38回大会(宮崎)2013年10月.

豊田賢治、宮川一志、蛭田千鶴江、角谷絵里、荻野由紀子、宮川信一、井口泰泉：ミジンコの性決定ホルモンとしての幼若ホルモンの新規機能の解明, 第40回日本神経内分泌学会学術集会, 第38回日本比較内分泌学会大会合同大会, 宮崎, 2013年10月 [若手研究者最優秀発表賞 (Best presentation prize for under 40)].

Toyota, K. and Iguchi, T.: Towards understanding the molecular mechanism of environmental sex determination in *Daphnia pulex*, *The 10th SOKENDAI Student Seminar for Biological Science*, 静岡, 2013年10月.

豊田賢治、井口泰泉：ミジンコの環境依存型性決定の分子機構の解明に向けた取り組み, *山田研究会・統合バイオサイエンスシンポジウム*, 岡崎, 11月, 2013.

Tyler, C.R., Lange, A., Hamilton, P., Filby, A.L., Lee, O., Kudoh, T., Takesono, A., Moreman, J., Green, J., Paul, G.C., Miyagawa, S. and Iguchi, T.: Impacts of endocrine disrupting chemicals on fish and fish populations. *環境ホルモン学会第16回研究発表会*, 東京大学山上会館, 12月12-13日, 2013.

Kumar, A., Bain, P., Bhatia, H., Gregg, A., Ogino, Y. and Iguchi, T.: An Australian perspective on EDCs in the environment. *環境ホルモン学会*

- 第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 藤本成明、中村直樹、佐能正剛、太田茂、浦丸直人、北村繁幸、宮川信一、井口泰泉: 新生仔ラットの甲状腺ホルモン応答遺伝子発現への臭素化難燃剤の影響. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 中村中、田村生弥、高信ひとみ、山室真澄、井口泰泉、鏑迫典久: ニホンメダカ(*Oryzias latipes*)に対するエストロンの多世代影響. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 阿部良子、渡部春奈、山室真澄、井口泰泉、鏑迫典久: 植物精油の幼若ホルモン様作用について. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 鏑迫典久、阿部良子、渡部春奈、井口泰泉: 内分泌かく乱の視点から蜂群崩壊症候群 (CCD)問題を解く. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 遠山早紀、宮川信一、荻野由紀子、水谷健、勝義直、小林亨、井口泰泉: 化学物質に対する様々な魚類のエストロゲン受容体各サブタイプの反応性. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 田村生弥、中村中、高信ひとみ、井口泰泉、鏑迫典久: ニホンメダカ(*Oryzias latipes*)を用いた抗アンドロゲン様作用検出法の検証. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 渡部春奈、阿部良子、井口泰泉、鏑迫典久: オオミジンコを用いた多世代試験法の開発. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 櫻井真紀、渡邊直子、後藤康之、大西悠太、伊藤祐生、小野田優、山本潤、長坂洋光、井口泰泉: 両生類パーシャルライフサイクル試験 (Larval Amphibian Growth and Development Assay)の検証. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 荻野由紀子、角谷絵里、宮川信一、井口泰泉: メダカにおけるアンドロゲン下流応答遺伝子の探索. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- Miyagawa, S., Kohno, S., Yatsu, R., Ogino, Y., Ohta, Y., Guillet, L.J.Jr., and Iguchi, T.: Cloning of alligator androgen receptor and its response to hormones and chemicals. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 小林亨、高瀬稔、熊倉雅彦、山本潤、長坂洋光、大西悠太、井口泰泉: トノサマガエルの生殖腺分化におけるエチニルエストラジオールの影響. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 太田泰彦、村田清香、宮川信一、井口泰泉: 妊娠中に投与したフルタミドの雄ラット生殖輸管系への影響. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 漆谷博志、勝義直、太田康彦、白石寛明、井口泰泉、堀口敏宏: 軟体動物前鰓類 RXR の転写活性誘導における有機スズ化合物の影響. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 高瀬稔、田澤一朗、矢尾板芳郎、井口泰泉: 甲状腺ホルモンにより誘導されるネットアイツメガエル甲状腺ホルモン受容体遺伝子発現に対する化学物質抑制作用の肝臓と尾における違い. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 宮川一志、井口泰泉: ミジンコ *Daphnia pulex* における 6 種類の幼若ホルモン様物質の暴露による幼若ホルモン応答遺伝子の網羅的探索. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- Sumiya, E., Ogino, Y., Miyakawa, H., Hiruta, C., Toyota, K., Miyagawa, S. and Iguchi, T.: Ecdysteroid in higher titer inhibits molting and reproduction cycle in *Daphnia magna*. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 豊田賢治、阿部良子、渡部春奈、岡智宏、宮川一志、宮川信一、荻野由紀子、鏑迫典久、井口泰泉: オオミジンコ仔虫における幼若ホルモン応答遺伝子の網羅的解析. 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会, 東京大学山上会館, 12 月 12-13 日, 2013.
- 阿部良子、渡部春奈、岡知宏、山室真澄、井口泰泉、鏑迫典久: 節足動物の内分泌かく乱化学物質に対する短期検出法の開発とその有効性の検証. 第 47 回水環境学会, 大阪工業大学 大宮キャンパス, 3 月 11-13 日, 2013.

- Petersen, K., Cronin, M.T., Evensen, Ø., Falciani, F., Garcia-Reyero Vinas, N., Høgåsen, T., Iguchi, T., Langford, K., Lillicrap, A., Perkins, E.J., Salbu, B., Sylte, I. and Tollefsen, K.E.: Development of adverse outcome pathways for endocrine disruption in *Daphnia magna*. 17th Pollutant Responses in Marine Organisms (PRIMO) Congress, University of Algarve, Faro, Portugal, May 5 to 8, 2013.
- Lange, A., Miyagawa, S., Corcoran, J., Rostkowski, P., Horwood, J., Hill, E.M., Iguchi, T. and Tyler, C.R.: Transactivation nuclear receptor bioassays inform on relative chemical potencies and interspecies differences for endocrine disrupting chemicals in teleosts. 17th Pollutant Responses in Marine Organisms (PRIMO) Congress, University of Algarve, Faro, Portugal, May 5 to 8, 2013.
- Iguchi, T.: Aquatic environments and endocrine activity: The regulatory approach in Japan. SETAC Europe 23rd Ann. Meet. Glasgow, UK, May 12-16, 2013.
- Ohta, Y., Miyagawa, S. and Iguchi, T.: External genitalia development in male and female rats given flutamide *in utero*. SETAC Europe 23rd Ann. Meet. Glasgow, UK, May 12-16, 2013.
- Hiruta, C., Toyota, K., Miyakawa, H. and Iguchi, T.: Development of an RNA interference method using microinjection in the water flea *Daphnia pulex*. 46th Ann. Meet. Jap. Soc. Devel. Biol., Matsue, Shimane, May 28-31, 2013.
- Morita, S., Hiraga, C., Iguchi, T., Shiga, Y., Tokishita, S. and Ohta, T.: Single-minded regulates specification of ventral cell fates in *Daphnia magna*. 46th Ann. Meet. Jap. Soc. Devel. Biol., Matsue, Shimane, May 28-31, 2013.
- Iguchi, T., Toyota, K., Miyakawa, H., Hiruta, C., Ogino, Y., Miyagawa, S. and Tatarazako, N.: Environmental sex determination of water flea, *Daphnia magna*. 17th International Congress of Comparative Endocrinology (ICCE 2013), Facultat de Biologia at the Universitat de Barcelona, July 15-19, 2013.
- 井口泰泉: ミジンコにおける内分泌かく乱作用メカニズムの解析. 化学物質の内分泌かく乱作用に関する公開セミナー, 東京国際交流会館、12月13日, 2013.
- Sumiya, E., Ogino, Y., Miyakawa, H., Hiruta, C., Toyota, K., Miyagawa, S. and Iguchi, T.: Ecdysteroids are involved in regulatory mechanism of a reproductive cycle in *D. magna*. Daphnia Genome Consortium, Birmingham University, January 20-22, 2014.
- Hiruta, C., Tochinai, S. and Iguchi, T.: Abortive meiosis found in the oogenesis of parthenogenetic *Daphnia pulex*. Daphnia Genomics Consortium 2014 meeting, Bramall Music Building, University of Birmingham, UK, January 20-22, 2014.
- Hiruta, C.: Reproductive modes in the water flea *Daphnia pulex*. Seminar-'Daphnia and zebrafish as models for understanding development and endocrine disruption', University of Exeter, UK, January 23, 2014.
- Hiruta, C., Toyota, K., Miyakawa, H., Miyagawa, S., Ogino, Y., Tatarazako, N., Shaw, J.R., Tanaka, D., and Iguchi, T.: Approach to establishing tools for gene functional analysis and cryopreservation in *Daphnia pulex*. Daphnia Genomics Consortium 2014, Bramall Music Building, University of Birmingham, UK, January 20-22, 2014.
- Miyagawa, S., Toyota, K., Miyakawa, H., Hiruta, C., Kato, Y., Watanabe, H., Tatarazako, N., Paland, S., Jackson, C., Colbourne, J.K. and Iguchi, T.: Cloning and their expression pattern of doublesex genes of cladocera. EMBO Conference; Daphnia Genomics Consortium 2014, Bramall Music Building, University of Birmingham, UK, January 20-22, 2014.
- Toyota, K., Miyakawa, H., Hiruta, C., Sumiya, E., Ogino, Y., Miyagawa, S. and Iguchi, T.: Analysis of juvenile hormone as a sex-determining hormone in *Daphnia pulex*. EMBO Conference; Daphnia Genomics Consortium 2014, Bramall Music Building, University of Birmingham, UK, January 20-22, 2014.
- Morita, S., Hiraga, C., Shiga, Y., Tokishita, S., Iguchi, T. and Ohta, T.: Single-minded gene is required for specification of ventral cell by determining on ventral midline cell fate in *Daphnia magna*. EMBO Conference; Daphnia Genomics Consortium 2014, Bramall Music Building, University of Birmingham, UK, January 20-22, 2014.
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
なし

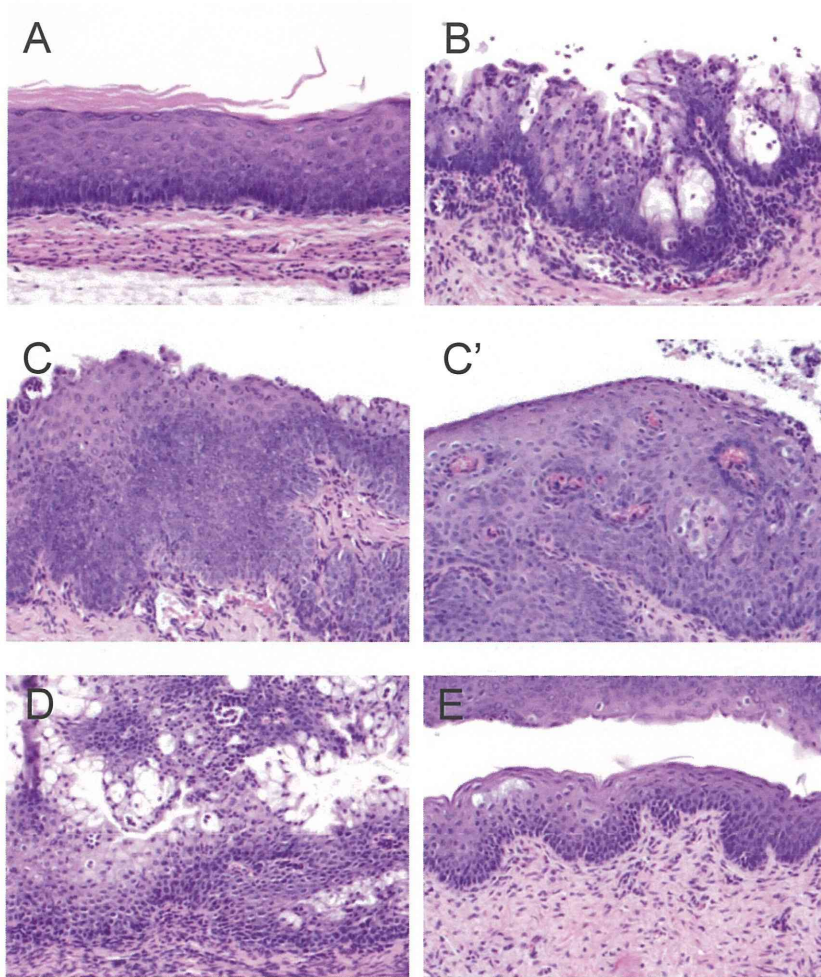


図1. 新生仔にDES投与マウスしたPten CKOマウス腔の組織図。重層角質化上皮(A)、環状名粘液分泌を伴うsuprabasal cellの過形成(B)、さまざまな細胞タイプが混在する上皮の過形成(C, C')、症状が重篤な組織像 (D)が見られる。Eは新生仔にDES投与マウスしたコントロールマウスの表現型。

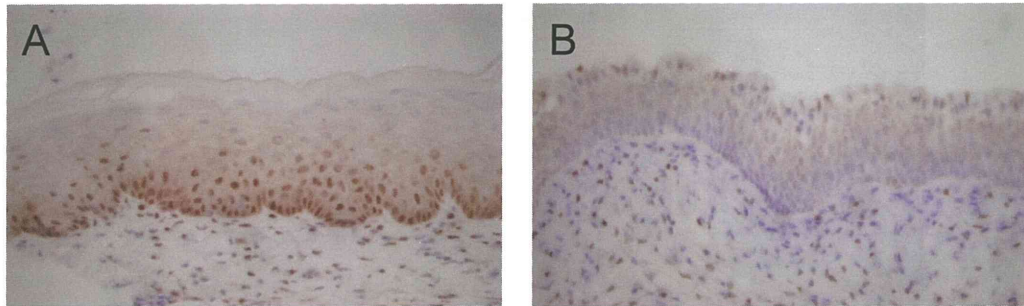


図2. 卵巣除去後に女性ホルモンを投与したコントロールマウス (A)及び、上皮特異的ER α CKOマウス(B)におけるER α の免疫組織化学染色。上皮特異的ER α CKOマウスでは、間質ではER α は発現しているが、上皮では発現していない。

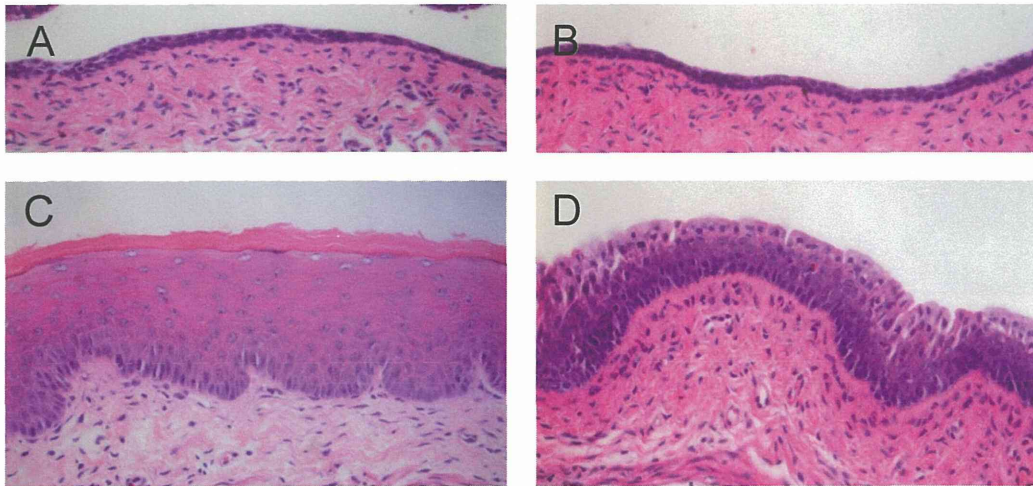


図3. 卵巣除去 (A, B)、または女性ホルモンを投与 (C, D)したコントロールマウス(A, C)及び、上皮特異的ER α CKOマウス(B, D)膣におけるHE染色。上皮特異的ER α CKOマウスでは、女性ホルモンを投与しても、上層が角質化していない。

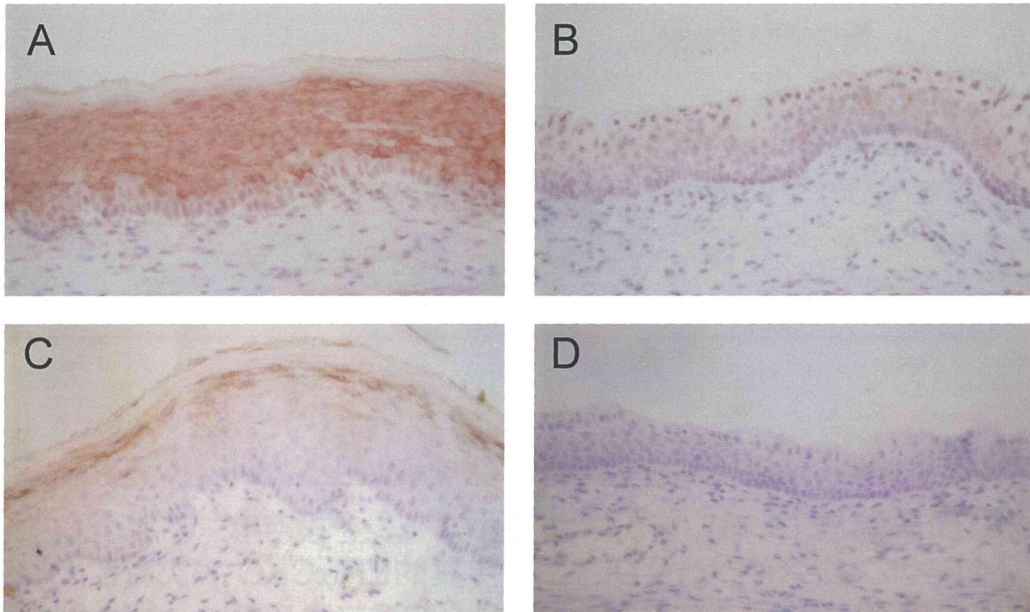


図4. 女性ホルモンを投与したコントロールマウス(A, C)及び、上皮特異的ER α CKOマウス(B, D)の膣におけるCK1 (A, B)、フィラグリンの免疫組織化学染色。上皮特異的ER α CKOマウスでは、何れの分化マーカーも発現していない。

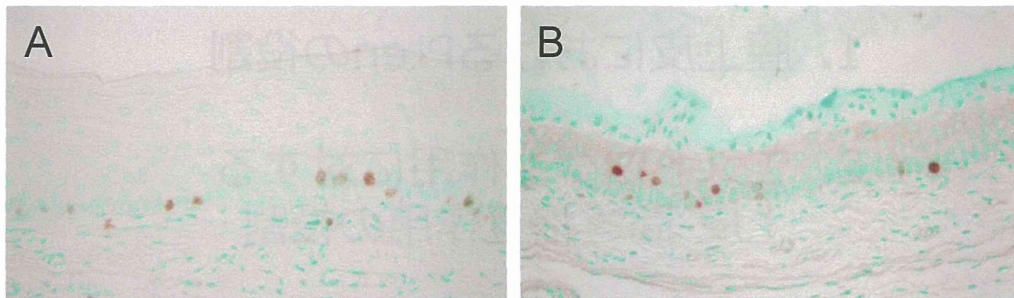


図5. 女性ホルモンを投与したコントロールマウス(A)及び、上皮特異的ER α CKOマウス(B)の膣におけるBrdUの免疫組織化学染色。上皮特異的ER α CKOマウスでは、基底細胞よりも上層の細胞で、BrdUの取り込み細胞がみられる。

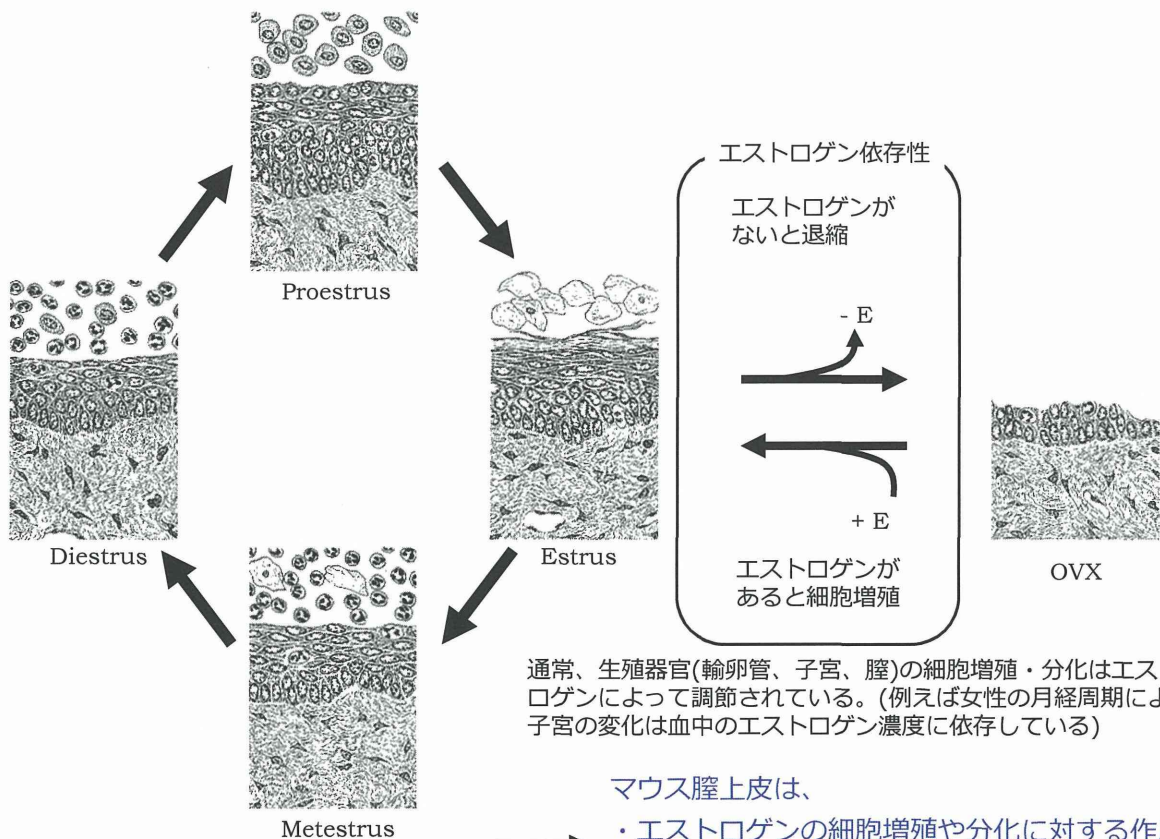
マウス雌性生殖器官の女性ホルモンシステム とその破綻の分子機構

1. 膣上皮におけるPtenの役割
2. エストロゲン作用に対する
上皮-間質相互作用の役割

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

女性生殖器官の細胞増殖・分化はエストロゲンに依存する

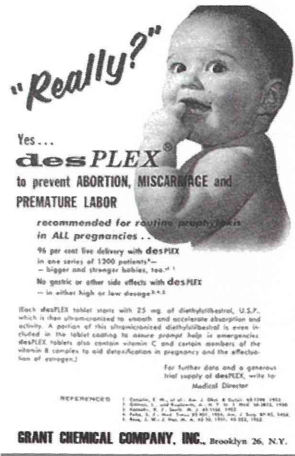


マウス性周期中の膣の組織像

マウス膣上皮は、

- ・エストロゲンの細胞増殖や分化に対する作用機構
- ・重層扁平上皮(皮膚など)のホメオスタシスを解析するうえで、有用なモデルである

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)



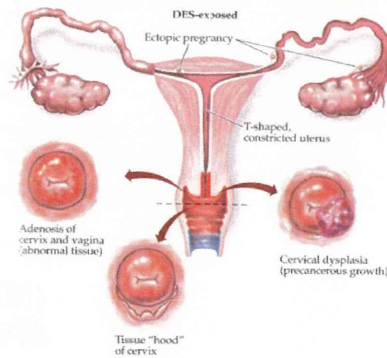
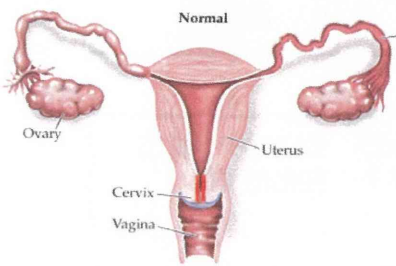
1930-1970年代まで、アメリカやヨーロッパでDES (人工的に作られた女性ホルモン)が、妊娠したお母さんに、妊娠維持のために処方された



お母さんがDESを摂取した子供で、子宮腺がんや、膣明細胞腺がんなどがみつかると。さらに、その後の調査でさまざまな影響が見つかり、使用禁止された

胎児/新生児へのホルモン作用

- 時間が経っても回復しない (不可逆的)
- 成長してから初めてその影響がでてくる (晩発性)



周産期女性ホルモン曝露による組織不可逆化 (マウスモデル)

新生児期DES 投与マウスモデル (生殖器官)

研究のポイント (マウスをモデルにして)

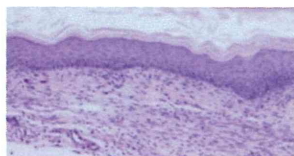
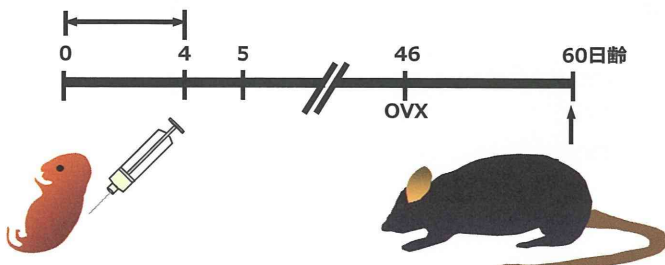
- 出生前後はなぜホルモンの影響を受けやすい? (子供と大人の違い)
- 原因となる遺伝子は?
- なぜ大人になってから影響が現れるのか?

- 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

出生直後からDES投与



マウスでもDESを出生前後にDESを投与すると、子宮や膣などの生殖器官に異常が生じ、加齢に伴い腫瘍化する

マウス周生期DES投与モデル...

環境要因の発生前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

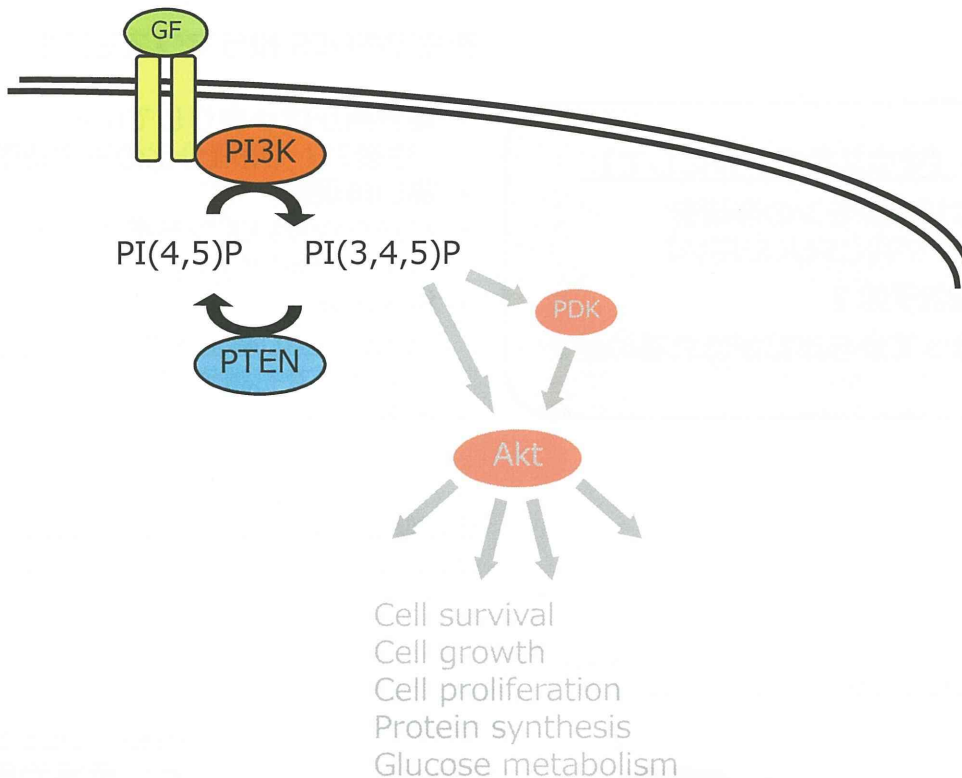
Miyagawa et al., Oncogene (2004), Journal of Molecular Endocrinology (2004)
Biology of Reproduction (2010), J Steroid Biochem Mol Biol (2011)

WntシグナルやPten/PI3k/Aktシグナル



(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

*Pten*はPI3K-Aktパスウェイを負に制御する癌抑制遺伝子である



Pten KOマウスは皮膚扁平上皮癌を呈する

Cancer Res 63; 674-681 (2003)

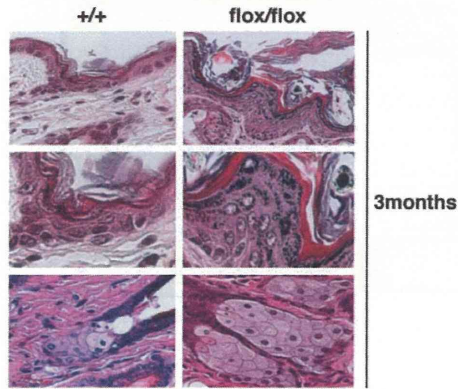
Cancer Res 68; 7066-7072 (2008)

[CANCER RESEARCH 63; 674-681, February 1, 2003]

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

Akira Suzuki, Satoshi Itami,² Minako Ohishi,² Koichi Hamada, Tae Inoue, Nobuyasu Komazawa, Haruki Senoo, Takehiko Sasaki, Junji Takeda, Motomu Manabe, Tak Wah Mak,^{3,4} and Toru Nakano^{3,5}

Departments of Biochemistry (A.S., S.I.), Dermatology (T.T., M.M.), and Anatomy (H.S.), Aizu University School of Medicine, Aizu 960-8543, Japan, Department of Molecular Cell Biology, Research Institute for Microbial Disease (H.O., T.S.), Department of Dermatology (S.I.), and Department of Social and Environmental Medicine (N.K., T.T.), Graduate School of Medicine, Osaka University, Osaka 565-0871, Japan, Department of Pharmacology, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Tokyo 113-8613, Japan (T.S.); and Advanced Medical Discovery Institute, University of Toronto, Toronto, Ontario, M5G 2C1 Canada (T.W.M.)



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

Cristiane H. Squarize, Rogerio M. Castilho, and J. Silvio Gutkind

Oral and Pharyngeal Cancer Branch, National Institute of Dental and Craniofacial Research, NIH, Bethesda, Maryland



Ptenは腫でも細胞増殖や分化を制御しているか？

マウス腫ではエストロゲン投与によってAktが活性化される

Journal of Molecular Endocrinology (2004) 32, 663-677

Persistent gene expression in mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol

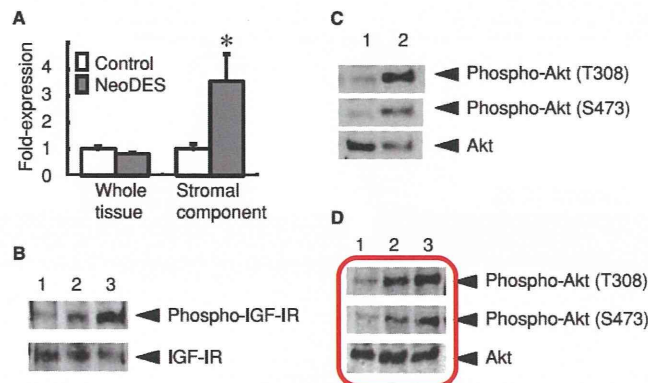
S Miyagawa^{1,2,3}, A Suzuki³, Y Katsu^{2,3}, M Kobayashi^{1,2,3}, M Goto³, H Handa⁴, H Watanabe^{2,3} and T Iguchi^{1,2,3}

¹School of Life Science, The Graduate University for Advanced Studies, 5-1 Higashi-yama, Myodaiji, Okazaki, 444-8585, Japan

²Center for Integrative Bioscience, Okazaki National Research Institutes, 5-1 Higashi-yama, Myodaiji, Okazaki, Aichi 444-8585, Japan

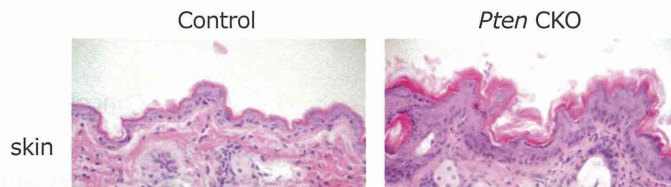
³Core Research for Evolutional Science and Technology (CREST), Japan Science and Technology Corporation, 4-1-8 Motomachi, Kawaguchi, 332-0012, Japan

⁴Frontier Collaborative Research Center, Tokyo Institute of Technology, 4259 Nagatsuta, Yokohama, 226-8503, Japan



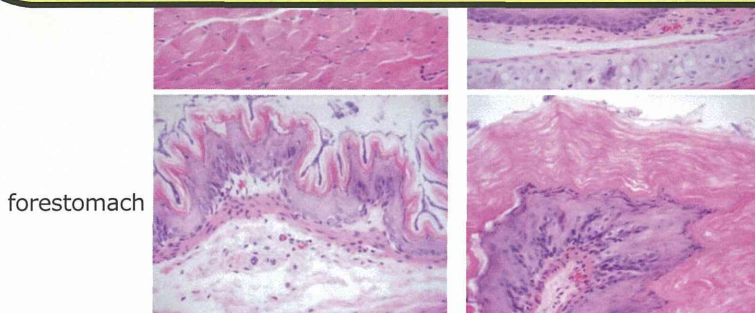
PI3K/Aktシグナルがエストロゲンの下流で細胞増殖や分化をコントロール

Pten CKOマウスの様々な角質化上皮における過形成と過角質化

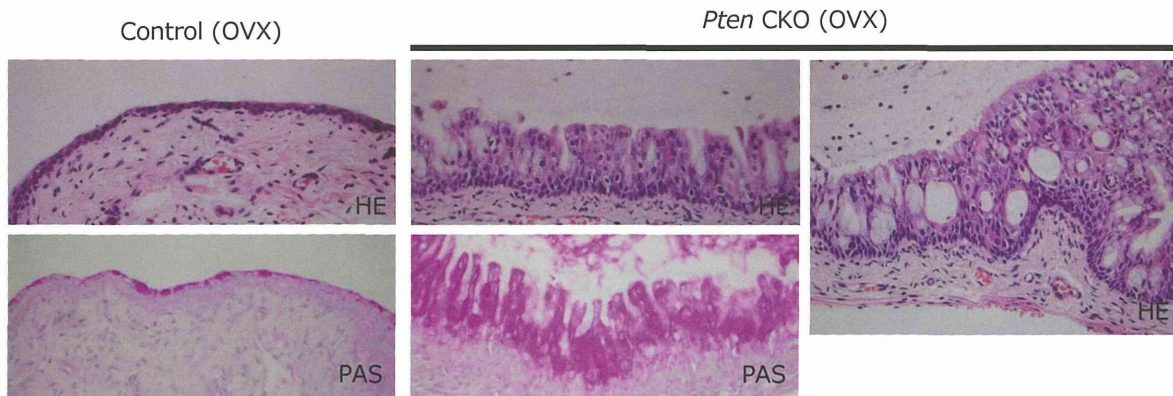


膾でも、エストロゲンがなくても増殖・分化が起きるのか？

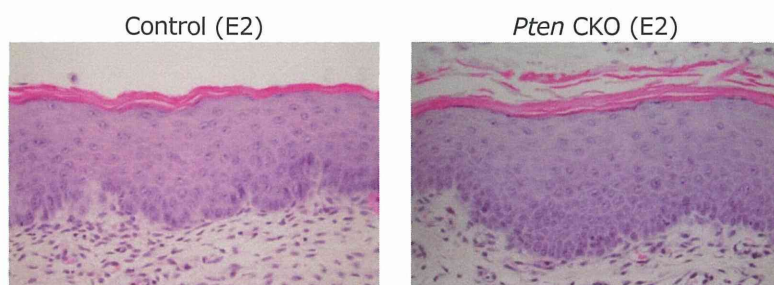
Control (OVX) → Control (E2)



膾組織における上皮特異的*Pten* CKOの表現型



エストロゲン非存在下では、膾上皮suprabasal cellにおいて、粘液細胞化を伴う過形成



エストロゲン存在下では、他の重層扁平上皮と同様に角質化上皮の過形成