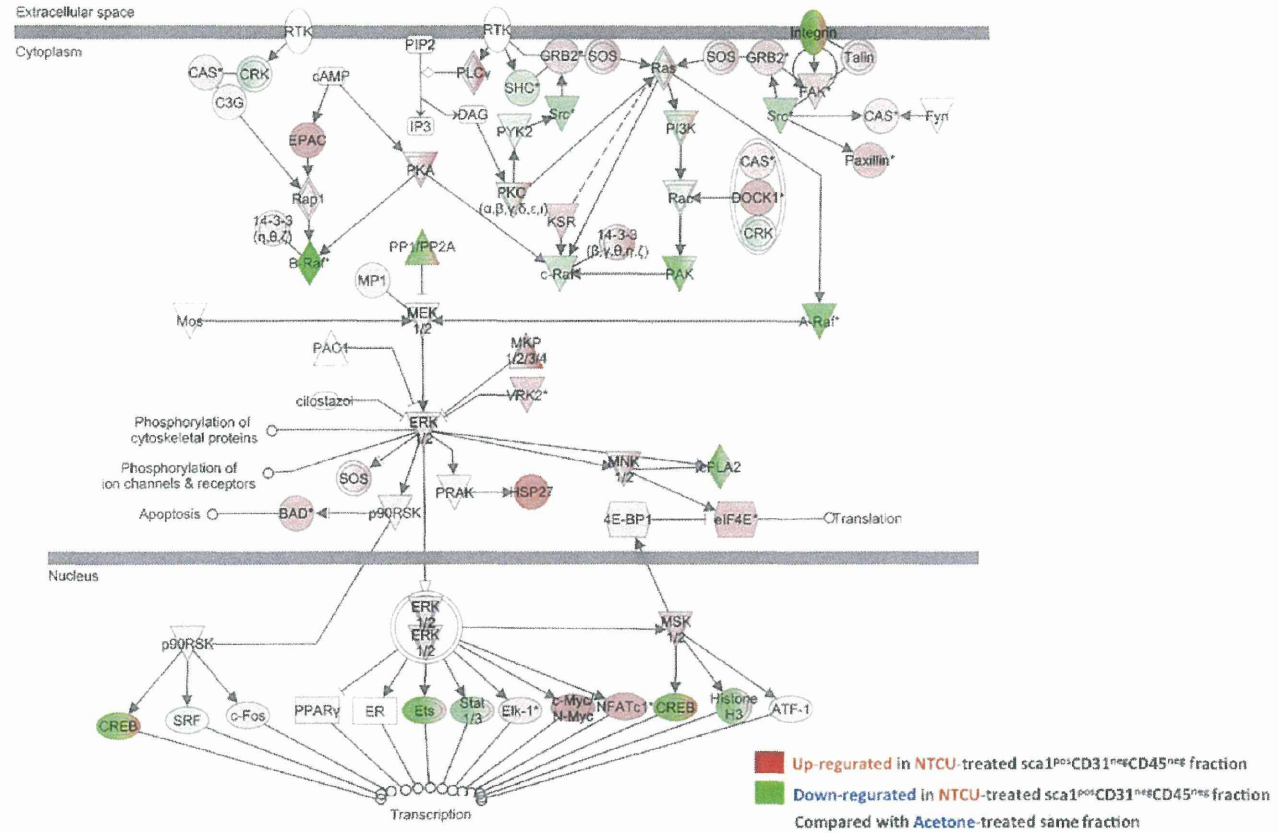


# ERK MAPK Signaling



59

図2A. 気管支肺胞幹細胞(BASC)における遺伝子発現

# P38 MAPK Signaling

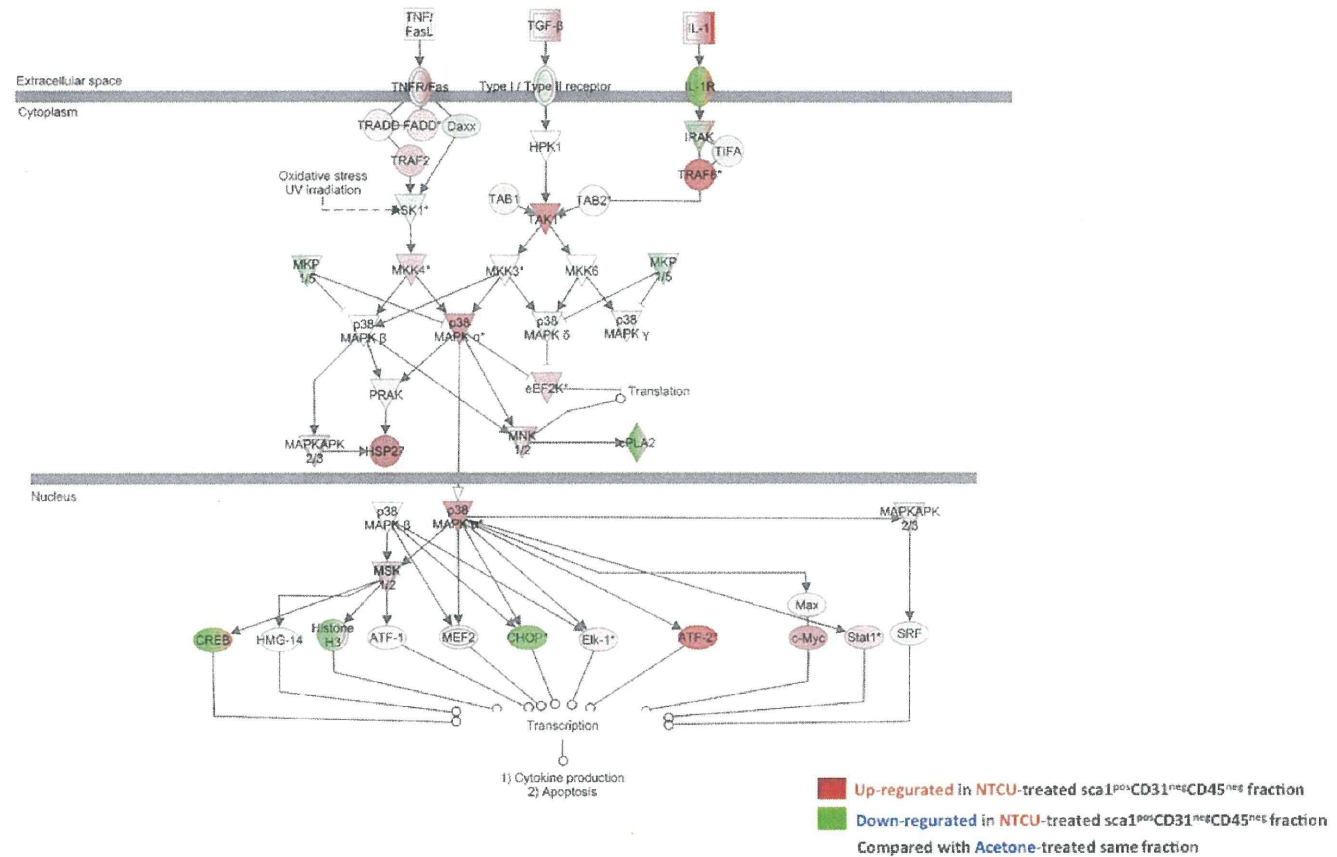


図2B. 気管支肺胞幹細胞(BASC)における遺伝子発現

# PI3K Akt Signaling

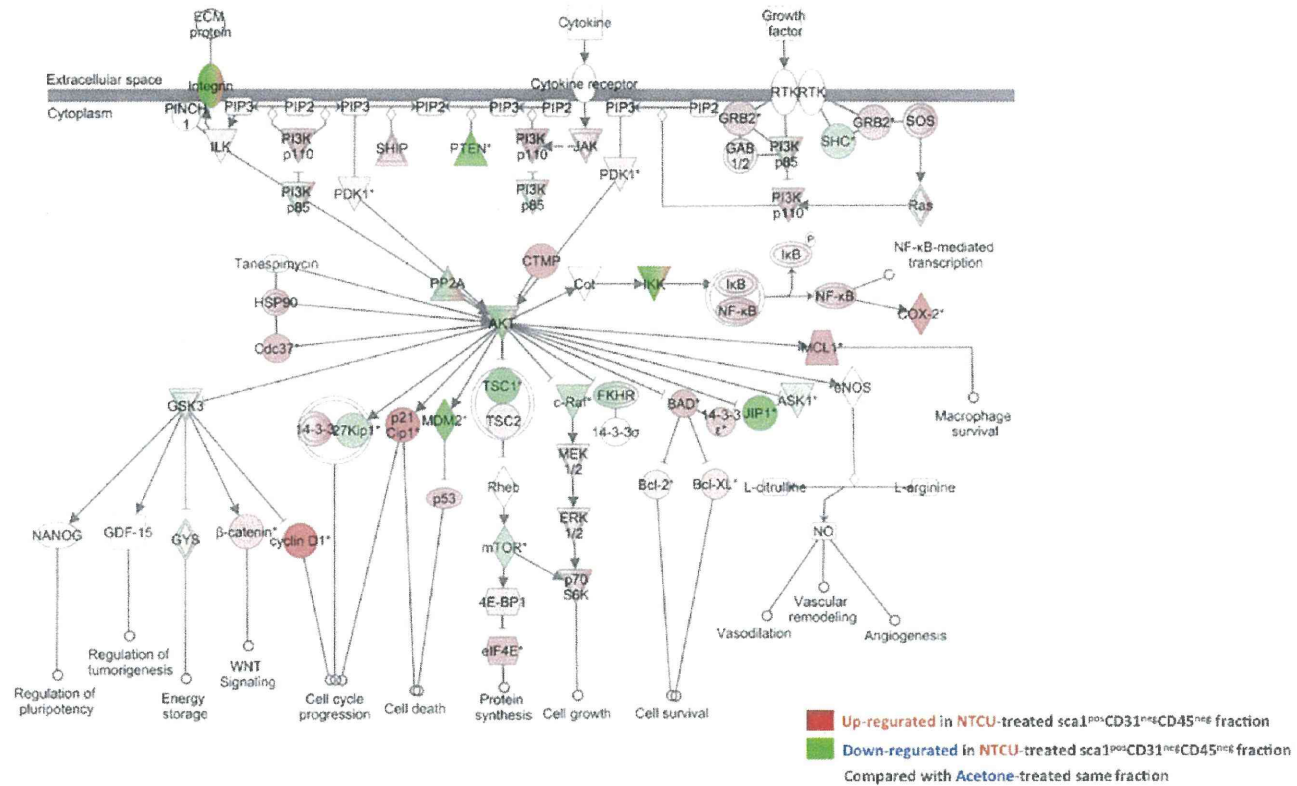
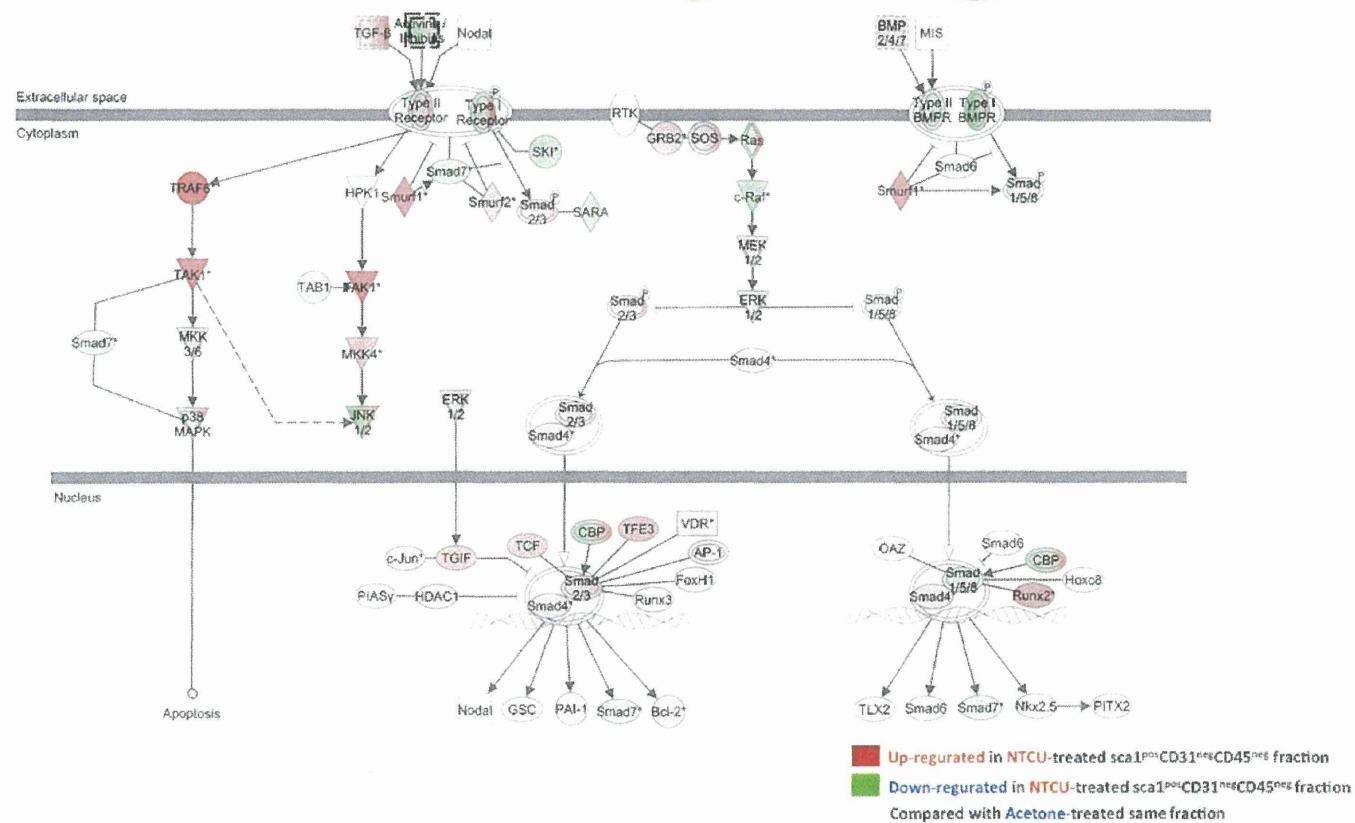


図2C. 気管支肺胞幹細胞(BASC)における遺伝子発現

# TGFb Signaling



62

図2D. 気管支肺胞幹細胞(BASC)における遺伝子発現

# ラット膀胱がんにおける遺伝子発現解析

## BBN誘発ラット膀胱がん

0 動物: 6週齢、雄性F344ラット 48週

無処置

0.05% BBN 飲水投与

雄性ラット膀胱がん: 12例

無処置雄性ラット膀胱粘膜: 4例

## DMA誘発ラット膀胱がん

0 動物: 10週齢、雄性および雌性F344ラット 104週

無処置

0.02% DMA 飲水投与

ラット膀胱がん: 11例 (雄: 5例、雌: 6例)

無処置ラット膀胱粘膜: 9例 (雄: 5例、雌: 4例)

GeneChip Rat Genome 230 2.0 Array (アフィメトリクス社)

図3 ラット膀胱がんにおける遺伝子発現解析

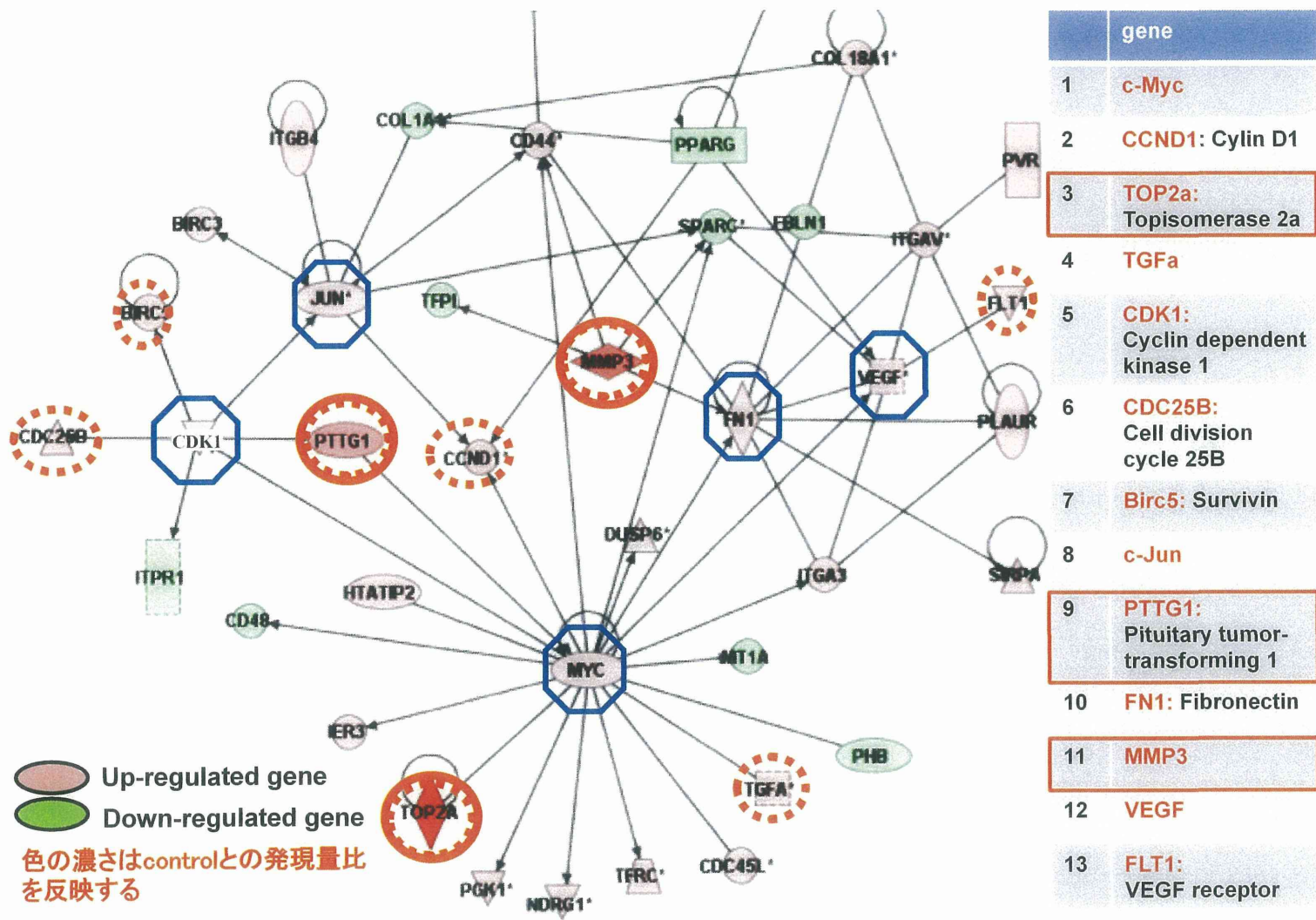



図4 がん関連遺伝子の相互作用ネットワーク

Gene	W2	W4	W8	Cancer	Gene	W2	W4	W8	Cancer
No.	6	6	6	12	No.	6	6	6	12
FGFBP1	13.4	17.5	35.6	383.7	Kcen3	0.7	0.5	2.2	14.3
CD133	13.2	15.7	14	34.2	c-Jun	1.4	1.6	2.4	2.7
Aldh1a3	8.2	12.0	15.5	23.0	Fibronectin1	1.5	1.3	0.9	5.5
Oncomodulin	4.8	9.7	29.1	18.8	VEGF	1.1	1.3	1.4	2.9
Gpx2	3.7	5.0	10.3	29.4	c-Myc	0.8	0.8	1.1	2.2
Gro1	2.3	3.5	6.0	23.3	Cdc25b	1.5	1.2	1.3	2
MMP3	7.2	6.2	5.4	23.2	FLT1	0.5	0.3	0.3	0.9
Top2a	5.7	4.8	2.9	27.8	TGFa	1	1.1	1.2	1.7
Pttg1	3.9	3.2	2.7	16					
Survivin	4.4	4.3	3.5	17.4					
Cyclin D1	2.1	2.1	2.0	4.6					
CDK1	2.1	2	2.0	5					

 p<0.05, v.s. control

→ 早期検出マーカーの候補

図5 BBNで誘発した早期増殖性病変およびがんにおけるマーカー遺伝子候補のmRNA発現量

	DMA	2-AAF	PEITC	BITC	OPP-Na	Uracil	BBN	Sensitivity
No. of rats	7	7	7	7	7	7	7	
Oncomodulin	2.0	3.8	4.2	6.5	7.4	3.8	5.7	7/7
MMP3	2.9	5.4	4.3	5.5	5.4	8.7	7.9	7/7
Gpx2	2.5	1.3	10.5	9.5	2.5	3.0	4.9	6/7
CD133	2.7	3.3	1.3	2.4	7.7	15.1	15.7	6/7
Top2a	6.4	9.0	2.0	2.8	8.6	5.7	5.1	6/7
Pttg1	5.7	4.4	1.7	2.0	3.9	4.6	3.3	6/7
Aldh1a3	1.3	2.2	2.0	2.8	2.6	11.6	9.3	6/7
Survivin	4.8	3.6	1.5	2.0	3.6	6.4	4.7	5/7
Gro1	1.0	2.0	2.2	3.5	1.0	38	5.1	5/7
Cdc2a	2.9	1.6	0.8	0.9	1.7	3.1	2.1	3/7
FGFBP1	2.7	0.1	0.7	0.6	0.2	77	11.2	3/7
Cyclin D1	1.1	1.1	1.3	1.4	1.7	2.7	2.0	2/7
No. of differentially changed genes	9/12	8/12	5/12	8/12	9/12	12/12	12/12	

 v.s. control, p<0.05

図6 膀胱粘膜におけるマーカー候補遺伝子のmRNA発現量(4週)



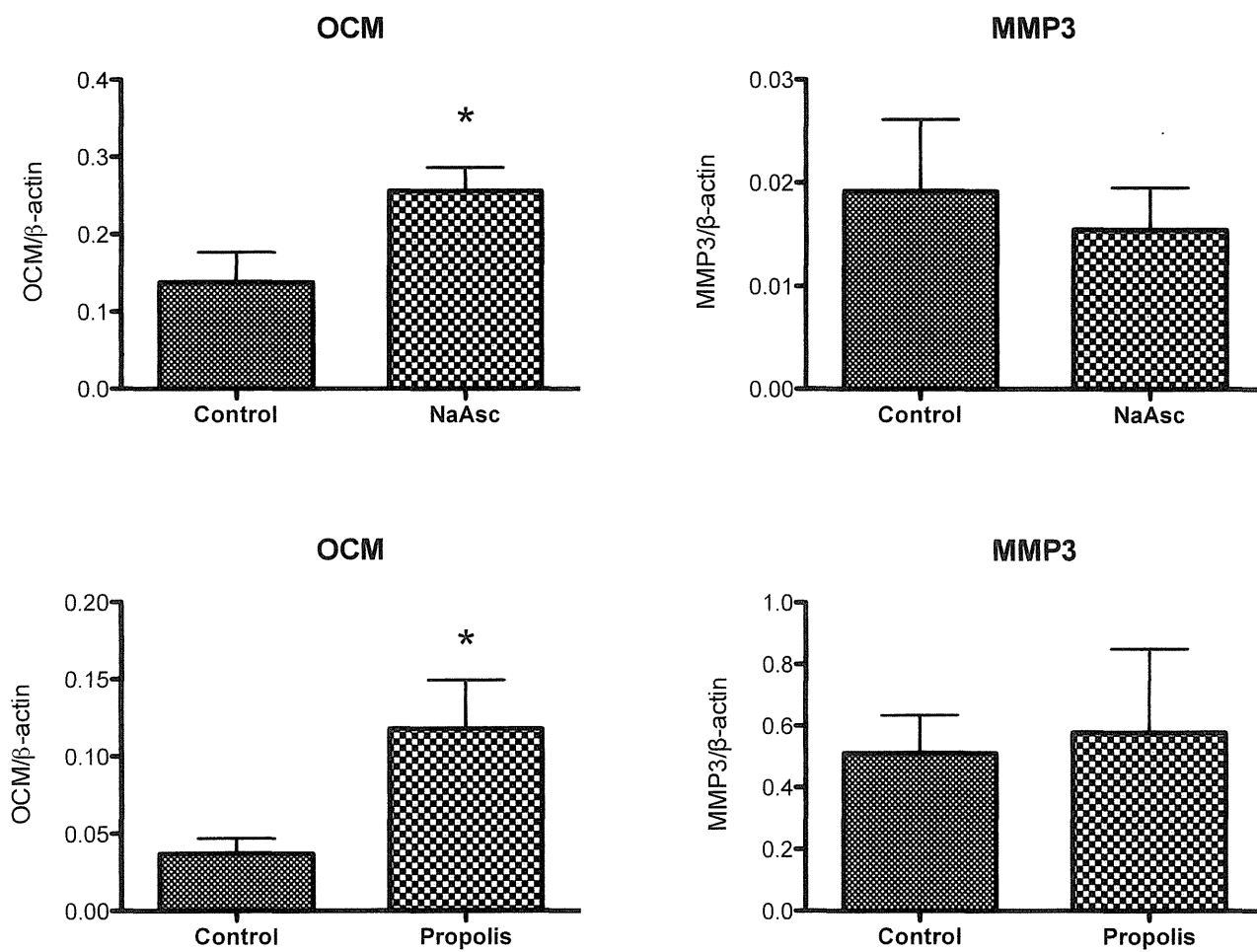


図7 膀胱発がん促進物質を投与したラット膀胱粘膜における OCM 及び MMP3 の mRNA 発現量

0 4 weeks

**Test chemicals**

Animals: 6-week-old, male F344 rats

Diethylnitrosamine (DEN): 100 ppm in drinking water

N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine (ENEN): 500 ppm in drinking water

1.2-dimethylhydrazine (DMH): 40 mg/kg b.w. once/week

発癌物質 (標的臓器)	DEN (肝)	EHEN (腎)	DMH (大腸)
遺伝子	Folds (v.s. Con.)		
Oncomodulin	0.9	1.1	1.0
MMP3	1.3*	1.4*	1.4*
Gpx2	1.1	1.0	1.0
CD133	0.7	0.8	0.9
Top2a	1.0	1.4	1.3
Pttg1	1.0	1.3	1.2
Aldh1a3	0.9	0.9	1.0
Survivin	1.0	1.2	1.4
Gro1	0.9	0.7	0.9
Cdc2a	1.2	1.1	1.0
FGFBP1	1.8	0.7	0.5
Cyclin D1	1.1	0.9	1.0

\*: significantly different from Control

図 8 膀胱を標的にしない発がん物質を投与したラット膀胱粘膜におけるマーカー候補遺伝子の mRNA 発現量

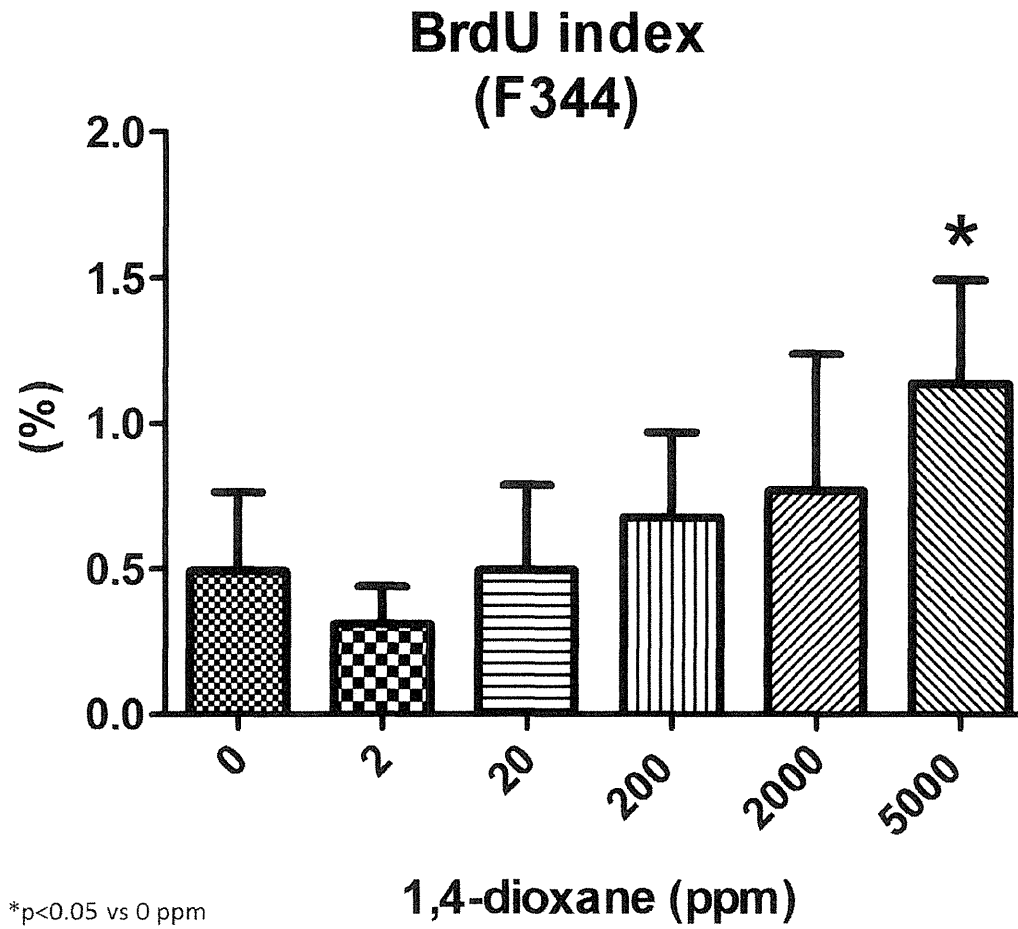


図9 1,4-dioxane 投与ラット肝臓における BrdU 標識率

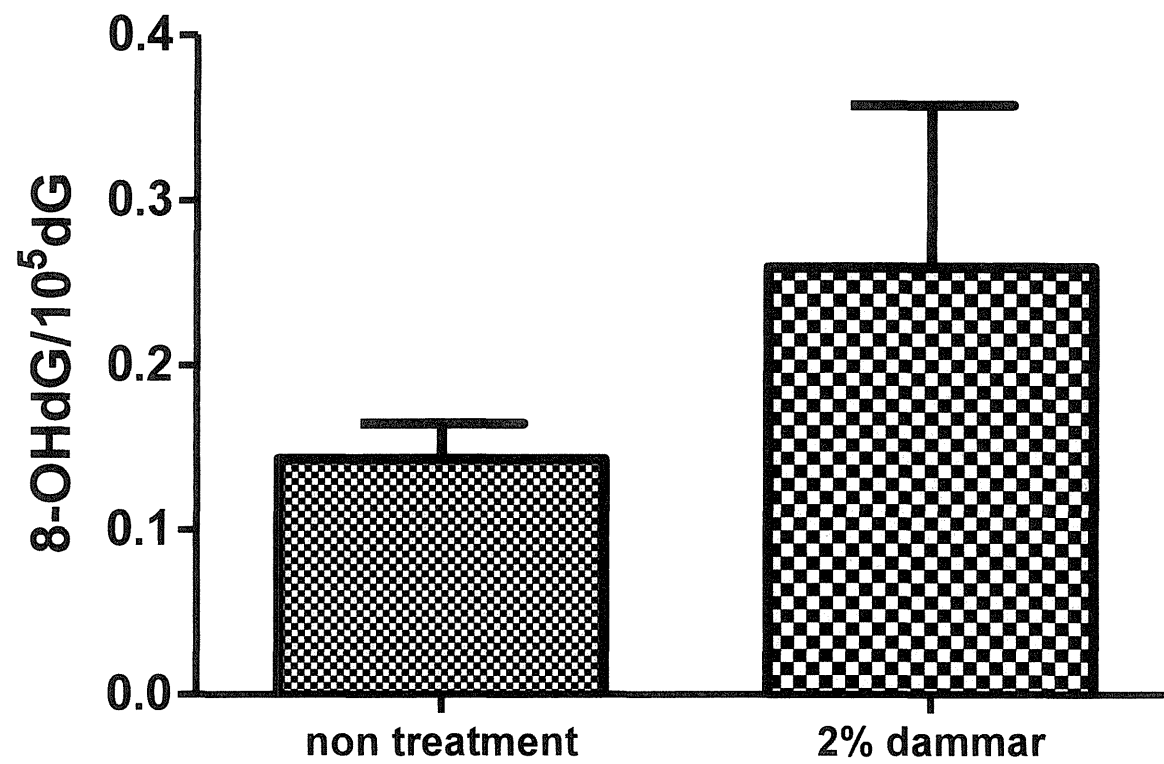


図 10 ダンマル樹脂投与ラット肝臓における 8OHdG 形成レベル

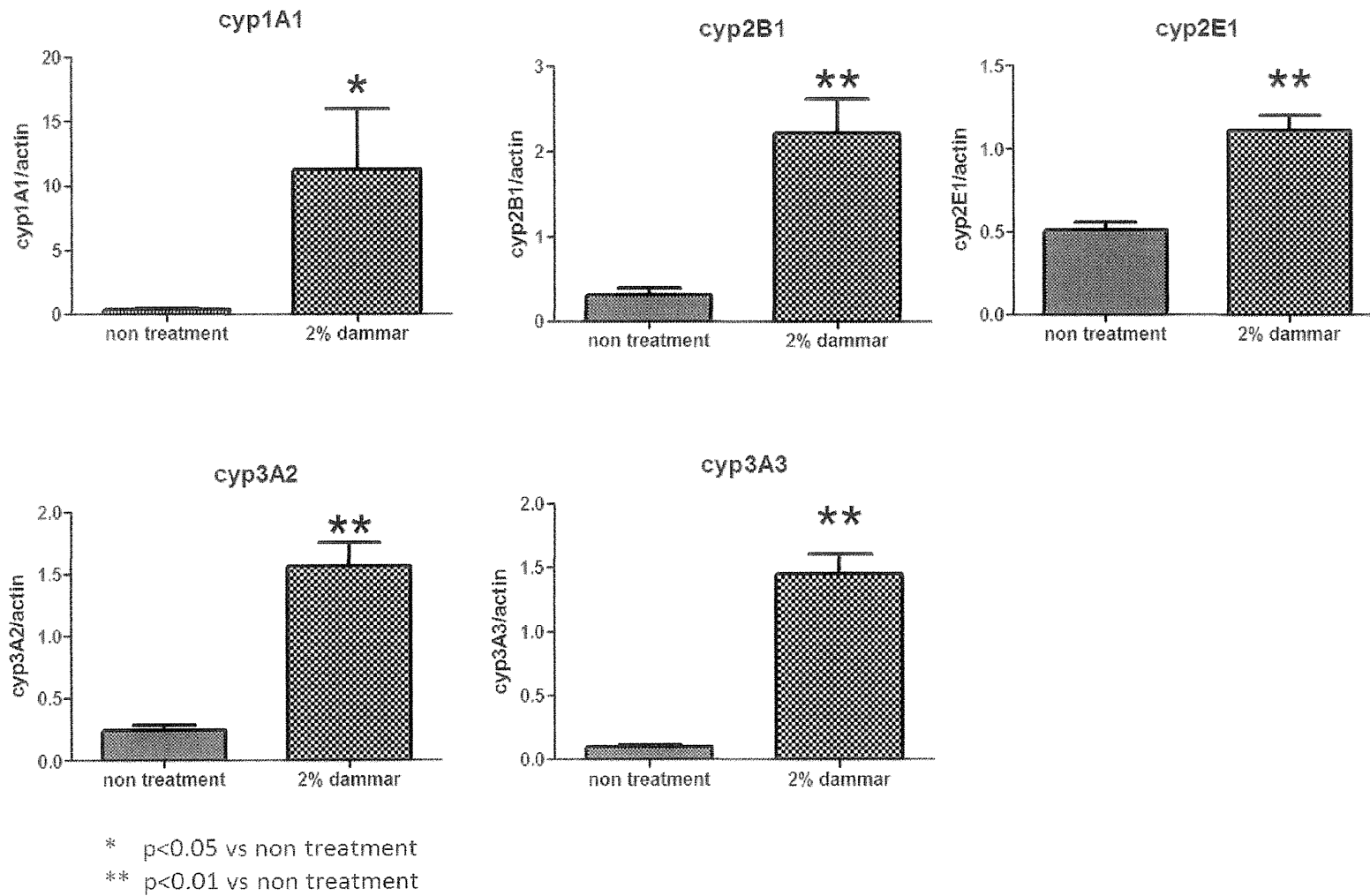


図 11 ダンマル樹脂投与ラット肝臓における CYP mRNA の発現

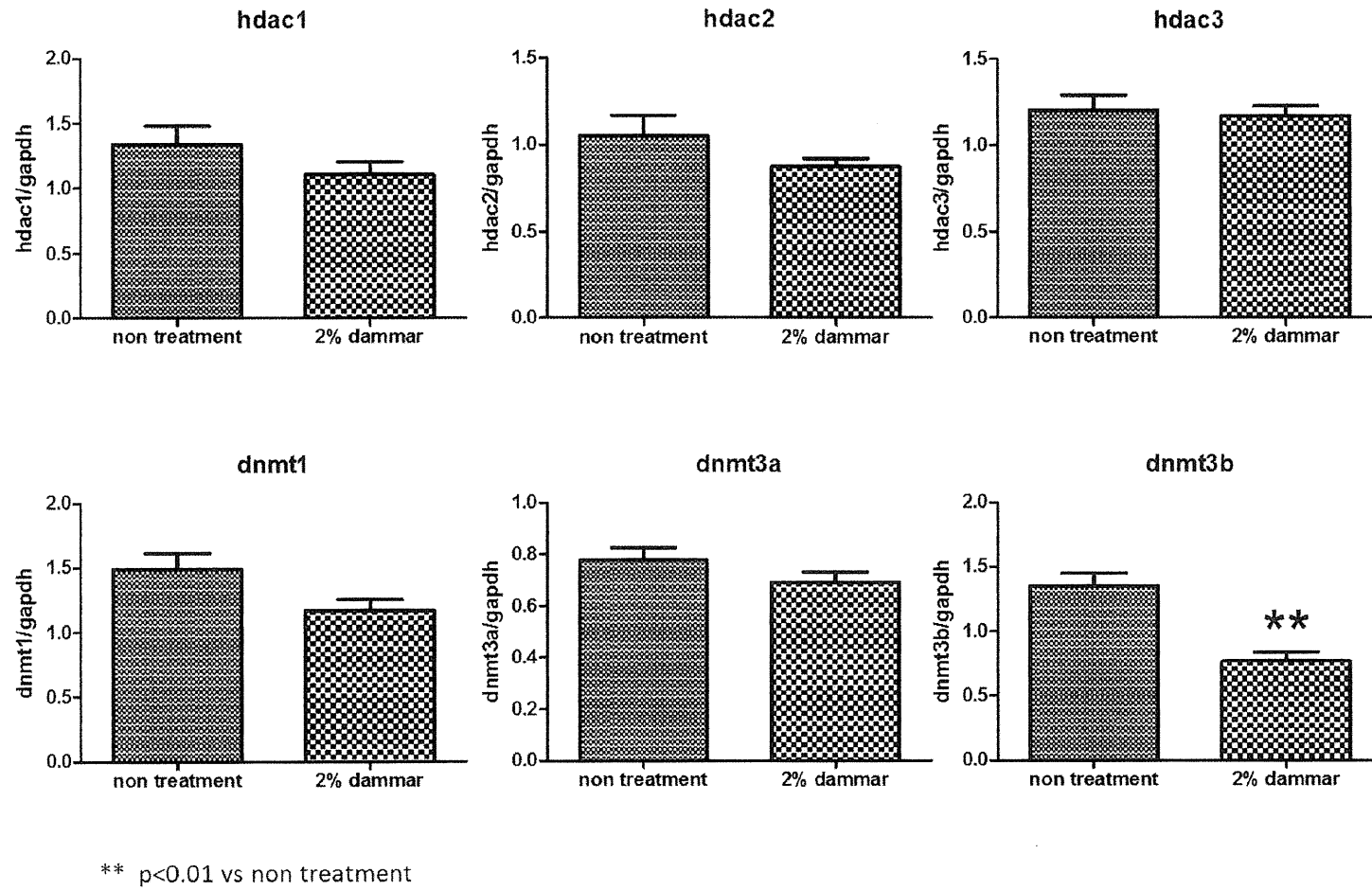


図 12 ダンマル樹脂投与ラット肝臓におけるメチル化関連酵素の発現

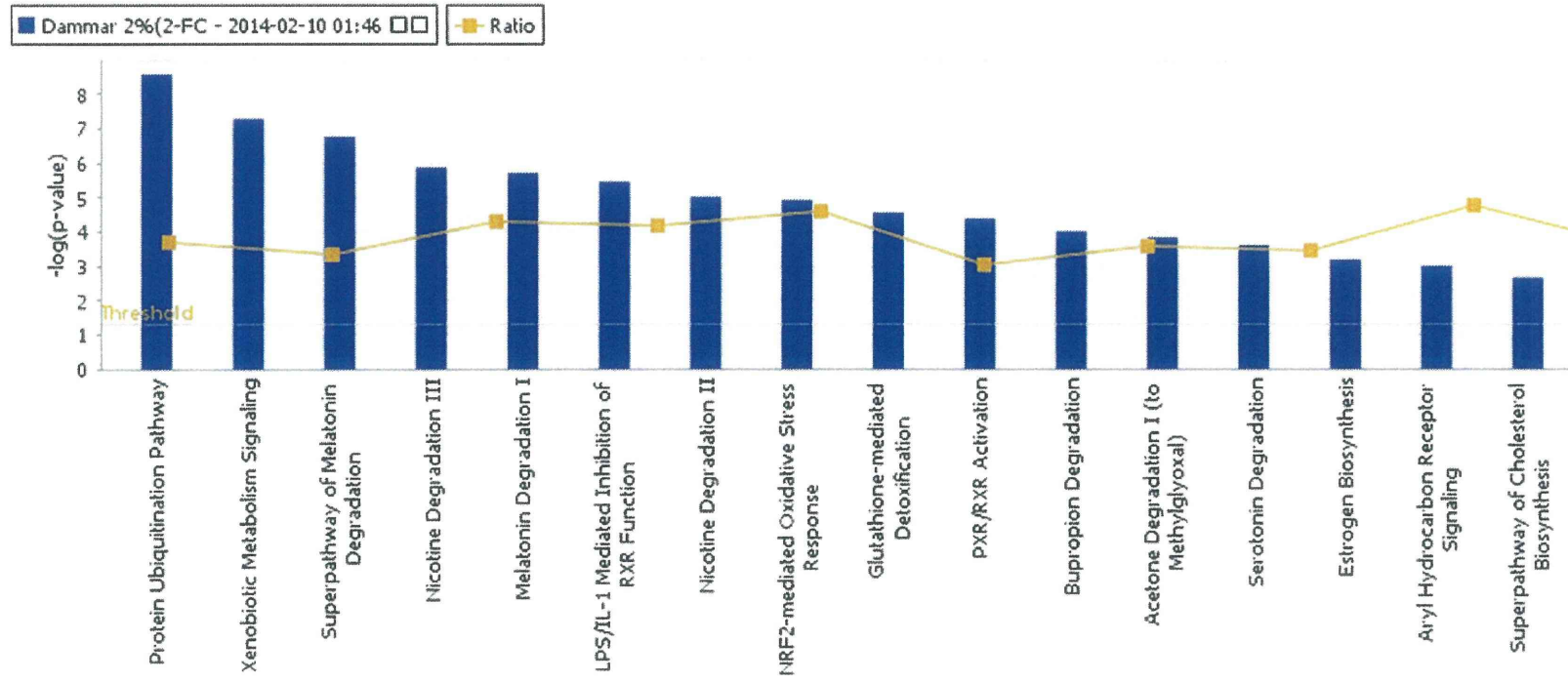


図 13 IPA パスウェイ解析

Table.1  
Packaging efficiency from liver and bladder mucosa

Organ	Exam number	Total population
Liver(10mg)	1	240,000
	2	230,000
	3	262,000
Bladder mucosa (Pool samples from two )	1	210,000
	2	225,000
	3	250,000



Table 2 最終体重、肝臓重量、1,4-ジオキサン摂取量、GST-P 陽性細胞巢の発生

1,4-dioxane (ppm)	No. of rats	Final body weights (g)	liver		Average 1,4-dioxane intake		GST-P positive foci (2 cell <) (number/area)
			Absolute weight (g)	Relative weight (%)	Daily intake (mg/kg b.w.)	Total (mg/kg b.w.)	
F344 rats							
0	30	324 ± 10	11.1 ± 1.0	3.4 ± 0.2	0	0	0.20 ± 0.30
2	30	323 ± 27	11.1 ± 1.2	3.4 ± 0.2	0.2	24.4	0.38 ± 0.48
20	30	334 ± 14	10.9 ± 0.9	3.3 ± 0.2	2.2	245.0	0.49 ± 0.69
200	30	327 ± 14	11.1 ± 0.8	3.4 ± 0.2	21.9	2448.6	4.48 ± 3.78*
2000	30	323 ± 14	11.4 ± 1.8	3.5 ± 0.5	222.2	24881.8	7.36 ± 3.65**
5000	30	310 ± 13*	10.9 ± 0.8	3.5 ± 0.2	562.4	62988.5	17.89 ± 5.85**

Table 3 最終体重および臓器重量

	最終体重 (g)	絶対重量(g)			相対重量(%)		
		肝臓	腎臓	脾臓	肝臓	腎臓	脾臓
0ppm 1,4-dioxane	340.88	8.682	2.069	0.704	2.546%	0.607%	0.207%
0.2ppm 1,4-dioxane	338.04	8.471	2.039	0.706	2.507%	0.605%	0.209%
2.0ppm 1,4-dioxane	341.66	8.847	2.126	0.715	2.583%	0.623%	0.210%
20ppm 1,4-dioxane	351.58	9.086	2.114	0.725	2.579%	0.602%	0.206%

Table 4 肝臓における GST-P 陽性細胞巢の数

Group	2 cell $\leq$ Mean $\pm$ SD
0 ppm 1,4-dioxane	0.69 $\pm$ 0.51
0.2 ppm 1,4-dioxane	0.48 $\pm$ 0.33
2.0 ppm 1,4-dioxane	0.22 $\pm$ 0.35
20 ppm 1,4-dioxane	0.51 $\pm$ 0.21

Table 5 点突然変異体頻度の解析 (*gpt* assay)

Groups	Animal No.	Cm <sup>R</sup> colonies	6-TG <sup>R</sup> and Cm <sup>R</sup> colonies	Mutant frequency ( $\times 10^{-6}$ )	Mean $\pm$ SD
0 ppm 1,4-dioxane	111	1208000	9	7.5	8.0 $\pm$ 3.2
	112	457000	3	6.6	
	113	622000	4	6.4	
	121	730000	10	13.7	
	122	991000	6	6.1	
0.2 ppm 1,4-dioxane	211	269000	6	22.3	11.4 $\pm$ 8.1
	212	461000	8	17.4	
	213	767000	4	5.2	
	221	891000	3	3.4	
	222	566000	5	8.8	
2.0 ppm 1,4-dioxane	311	412000	3	7.3	7.5 $\pm$ 3.2
	312	683000	8	11.7	
	313	882000	4	4.5	
	321	473000	2	4.2	
	322	830000	8	9.6	
20 ppm 1,4-dioxane	411	443000	5	11.3	9.8 $\pm$ 7.5
	412	876000	9	10.3	
	413	189000	4	21.2	
	421	955000	4	4.2	
	422	1056000	2	1.9	

Table 6 *gpt* 遺伝子の変異スペクトラム解析

Type of mutation		0 ppm dioxane	0.2 ppm dioxane	2.0 ppm dioxane	20 ppm dioxane
Transition	G:C to A:T	7 (33.3%) <sup>a</sup> 1.7 ± 1.2 <sup>b</sup>	6 (37.5%) 2.2 ± 2.5	9 (45.0%) 3.0 ± 1.4	8 (44.4%) 3.3 ± 2.7
	A:T to G:C	1 (4.8%) 0.2 ± 0.5	3 (18.8%) 1.7 ± 2.2	3 (15.0%) 1.0 ± 0.9	0 (0%) 0 ± 0
Transversion	G:C to T:A	2 (9.5%) 0.5 ± 0.7	2 (12.5%) 0.6 ± 0.9	2 (10.0%) 0.5 ± 0.7	4 (22.2%) 1.2 ± 1.1
	G:C to C:G	1 (4.8%) 0.3 ± 0.7	1 (6.3%) 0.2 ± 0.5	3 (15.0%) 0.8 ± 0.7	2 (11.1%) 0.4 ± 0.6
	A:T to T:A	1 (4.8%) 0.2 ± 0.7	0 (0%) 0 ± 0	1 (5.0%) 0.3 ± 0.7	0 (0%) 0 ± 0
	A:T to C:G	4 (19.0%) 1.1 ± 1.0	1 (6.3%) 0.2 ± 0.5	1 (5.0%) 0.2 ± 0.5	1 (5.6%) 0.2 ± 0.4
Deletion	single bp	4 (19.0%) 0.9 ± 0.9	3 (18.8%) 1.0 ± 1.3	1 (5.0%) 0.2 ± 0.5	2 (11.1%) 0.4 ± 0.6
	Over 2bp	0 (0%) 0 ± 0	0 (0%) 0 ± 0	0 (0%) 0 ± 0	0 (0%) 0 ± 0
Insertion		1 (4.8%) 0.3 ± 0.7	0 (0%) 0 ± 0	0 (0%) 0 ± 0	1 (5.6%) 0.2 ± 0.4
	Total	21 (100%) 5.2 ± 1.1	16 (100%) 5.2 ± 2.1	20 (100%) 5.8 ± 1.1	18 (100%) 5.4 ± 0.8

<sup>a</sup> Number of mutations (%)<sup>b</sup> Mutation frequency ( $\times 10^{-6}$ )