

「内分泌かく乱物質」

平成11年度採択研究代表者

井口 泰泉

(大学共同利用機関法人 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)

## 「内分泌かく乱物質の動物への発生内分泌学的影響」

### 1. 研究実施の概要

「化学物質が人間を含め、動物に対して悪影響を及ぼす場合、影響のある発生時期や、量、またその作用メカニズムを分子レベルで明らかにする」ことを目的としている。特に、哺乳動物だけではなく、魚類・両生類・爬虫類、さらに無脊椎動物までを含め、正常発生とともに、化学物質の影響をも理解し、動物の個体群への影響、さらには、個体群が構成するエコシステム全体への影響を研究する方法論の基礎を構築することが最終目標である。分子レベルで化学物質の作用メカニズムを解明するためには、化学物質の標的器官や細胞における、エストロゲン類似作用、アンドロゲン拮抗作用あるいは甲状腺ホルモン阻害作用を引き起こす際のターゲット受容体や、それらを介してどのような遺伝子が発現調節されるのかを明らかにしなくてはならない。また、これら化学物質は、多種の動物への影響が懸念されていることから、各種動物のホルモン受容体遺伝子の塩基配列を明らかにすることも必要である。また、哺乳類等とは異なる内分泌系を持つ無脊椎動物の場合、作用機序を理解する上で内分泌系の理解も必要である。

同一の化学物質が、動物種によって作用が異なる可能性もある。環境省の行ったメダカのエストロゲン受容体(ER)とヒトのERへのノニルフェノール(NP)の結合試験から、NPはヒトよりもメダカのERに対して約100倍も高い結合を示した。従って、ヒトあるいは哺乳動物を中心にした研究結果は、野生動物に当てはまらない場合が考えられる。最近の報告では、除草剤のアトラジン、ヒトの健康に安全とされる水道基準の1/30でもカエルに雌雄同体を引き起こしている。さらに、スチレンダイマー・トリマーに関しては、ヒトへの影響はないであろうとされたが、ミジンコに対してごく微量で生殖抑制を示すことを明らかにした。この作用メカニズムに関しても分子生物学的に明らかにすべく取り組んでいる。

哺乳動物においては、母体から取り込まれた化学物質が、胎盤を通過し、胎児に届くことが考えられる。これまでにビスフェノールA(BPA)は短時間に胎盤を通過し胎仔移行することが見出されている。また、ラットではBPAの解毒酵素は胎仔期には働いていないことが明らかである。このように、化学物質によっては胎盤がバリアーとはならず、化学物質が速やかに胎仔に移行することが事実である。胎児が曝露されている濃度の研究とともに、化学物質の体内移行の研究も重要である。成体では肝臓の解毒酵素により、大半の化学物

質は速やかに対外に排出される。しかし、ダイオキシン類やPCB類を含む残留性有機塩素系物質などは肝臓で解毒できず、脂肪に蓄積して悪影響を及ぼすことが問題となっている。

化学物質を投与した動物の組織と対照群の組織からmRNAを取り出し、一度に数万の遺伝子の発現変化を網羅的に解析することが可能なマイクロアレイ法を用いて、遺伝子発現の情報を元に、化学物質の悪影響のメカニズムを明らかにする研究を、センチュウ (*C. elegans*)、アフリカツメガエル、マウスで行い、ヒトのアレイに関する有効性の検討を行っている。

さらに、野生動物における内分泌かく乱研究の報告がある、アメリカフロリダ州アポプカ湖のアメリカワニ、およびイギリスの河川に棲息するコイ科の魚のローチについて、これらの動物でみられた様々な形態学的異常に対する内分泌かく乱物質の作用機構の分子メカニズムを解明するために、ステロイドホルモン受容体遺伝子、ステロイドホルモン産生に関与する酵素の遺伝子、性分化に関与する遺伝子のクローニング等を行った。また、アメリカで家畜の肥育ホルモンとして用いられ、その後農地等から河川に流入することにより、水棲動物への影響が問題となりつつあるトレンボロンについて、カダヤシへの影響を形態学及び組織学的に解析するとともに、分子学的解析を行うため、ステロイドホルモン受容体のクローニングを行った。日本の内分泌かく乱の代表である海産巻貝のイボニシでは、有機スズの新たな作用機構の一端が明らかとなり、これば、ヒトやアフリカツメガエルでも同一の受容体を介した遺伝子の活性化作用が起こることも明らかとなった。

## 2. 研究実施内容

### 2-1. 周生期のげっ歯類に対するエストロゲンの影響

エストロゲンの標的器官の腫瘍化には、細胞増殖因子やその受容体、エストロゲン受容体(ER)が関与している。マウス新生児に合成エストロゲン(DES)を投与するとエストロゲン非依存的な膺上皮細胞の増殖が誘導される。この系において、DES投与により、EGFファミリーの増殖因子の恒久的発現がおこり、これらは、erbB受容体を介して細胞内にシグナルをおくり、これによってERのリン酸化および活性化がおこる、オートループが形成されていることを明らかにした。この系では機能的なERの存在が不可欠であることも明らかにした。出生直後のエストロゲン投与により、エストロゲン非依存的に細胞増殖する膺では、レクチンをはじめとして、いくつかの遺伝子が、エストロゲン非依存的に発現していることを見出した。

DESによる組織不可逆化には臨界期があり、膺の恒久的上皮細胞の増殖および多卵性卵胞は生後3日、脳性の性は生後10日、骨盤の性的二型は生後30日であることを明らかにした。

ラット胎児の輸卵管では、エストロゲン受容体 $ER\alpha$  ( $ER\alpha$ )、プロゲステロン受容体(PR)とアンドロゲン受容体(AR)は発現していたが、エストロゲン受容体 $ER\beta$  ( $ER\beta$ )の発現はきわめて弱かった。輸卵管の $ER\alpha$ は胎生期から生後3日にかけて増加した。PRの発現は生後10日で最大となった。ARは生後10日にかけて弱いながら発現が増加した。出生直後

のラットに対するBPAの影響を解析し、高用量では視床下部下垂体系の無排卵を誘導することを明らかにした。

ラット胎児の輸卵管では胎生15日から、ステロイドホルモン受容体の発現が確認された。胎児期のDES投与により、輸卵管の形態異常が起こることも報告されており、ER $\alpha$ を介した反応と思われる。また、出生直後のエストロゲン処理により不可逆的に細胞増殖を継続する膣では、いくつかの遺伝子がエストロゲン非依存的に発現しており、その中には、多層化上皮の形成に必要な遺伝子に加えて、細胞増殖を継続的に引き起こす細胞増殖因子のポジティブフィードバックループの可能性が示唆された。今後、この点に関して探究する予定である。

周生期にT系ラットへ投与した高用量BPAは、delayed anovulatory syndromeを引き起こし、視床下部-脳下垂体-卵巣系に恒久的変化を及ぼすことを見出した。BPAの視床下部への影響に加えて、春期発動期後に卵巣から周期的に分泌される性ホルモン、特にエストロゲンの影響が遅延性無排卵に関連している可能性がある。また、脱落膜形成能は、60日齢ではBPA投与量依存的に低下するが、形成能は維持されている。120日齢の連続発情ラットは脱落膜形成能の著しい低下を示した。60日齢で正常雄と交配したBPA処理雌ラットは、1mg投与群で全て交尾後妊娠したが、胎仔の減少、妊娠の中断が認められた。BPA処理ラット卵管中における卵数低下によると考えられる。BPA処理ラットの妊娠10日齢の血中プロゲステロン量は妊娠個体より有意に低く、プロラクチン量は逆に高値を示した。周生期に投与したBPAは、雌性ラットの生殖機能に投与量依存的な障害を引き起こすことが明らかとなった。

## 2-2. マイクロアレイを用いたエストロゲン応答遺伝子の探索

卵巣摘出マウスへ5mg/kg E2投与後、子宮で1, 2, 6, 12, 24, 48時間後の発現変動する遺伝子を調べ、最も変化の多い6時間後を選択し、解析を行った。エストロゲン投与後6時間で発現変動する遺伝子のパターンは6タイプに分けられた。初期に発現が増加する遺伝子としては、RNA合成やタンパク合成に関わる遺伝子があり、発現低下する遺伝子には転写因子群、プロテアーゼ、アポトーシスあるいは細胞周期に関連した遺伝子群であった。これら、エストロゲンにより発現変動する遺伝子は、ER $\alpha$ ノックアウトマウスでは発現変動が認められなかった。マウス子宮で低用量と高用量のE2、ノニルフェノール(NP)、BPA投与7日後に起こる子宮肥大を、投与6時間後に発現変動する遺伝子群で予想ができること、およびそれらの遺伝子群を明らかにした。マイクロアレイ法を用いたマウス子宮での網羅的な遺伝子解析と、エンドポイントとした子宮肥大を重ねると、子宮肥大を引き起こすエストロゲンの用量依存的に、発現変動遺伝子数も増加することが明らかとなった。合成エストロゲン(DES)とE2で発現変動が起こる遺伝子群の相違、エストロゲン類似作用を化学物質で変動する遺伝子のプロファイル等が今後の課題である。予備的な結果として、DESとE2で発現変動する遺伝子群は必ずしも同じではないこと、化学物質に特異的な遺伝子発現の変動もありそうなことを見出しており、詳細を詰める予定である。またNPにより発現が変動する遺伝子について解析したところ、高用量(50 mg/kg)では、エストロゲンと

非常に類似した遺伝子群の発現を誘導したのに対し、それ以下の用量では必ずしもエストロゲン投与後の発現変動とは一致しなかった。

ヒト胎児への内分泌かく乱物質曝露の移行調査および影響を検討するために、胎児環境の指標となる臍帯を用いて、臍帯中の化学物質含量と臍帯の網羅的な遺伝子発現との関連性について検討を行った。その結果、化学物質含量の高いグループと低いグループで遺伝子発現プロファイルが異なることが示唆された。

### 2-3. 雄性生殖器官への影響

植物エストロゲンの雄性生殖系への影響について検討を行った。in vitro系で、精巣セルトリ細胞由来TM4細胞への、ゲニステイン(G)、ダイゼイン、E2、DES、スタウロsporin(S)の影響をcDNAマイクロアレイを用いて検討した。GはE2およびDESと同様に、チロシンキナーゼ阻害作用の中間的作用を持つことが示された。in vivo系では、妊娠前からの経胎盤・経母乳曝露を含む慢性的な植物エストロゲンとして知られるイソフラボン曝露によるマウス新生仔の性発達の影響について検討した。イソフラボンフリー飼料摂取に比較して、0.05%イソフラボン添加飼料において精巣精子形成のステージが乱れる可能性が示唆された。

内分泌かく乱物質は変異原性を持たないものも多く、胎児（仔）期あるいは新生児（仔）期に曝露された影響が思春期になってから顕れるなど、晩発効果を有することから、内分泌かく乱物質の影響を遺伝子配列には影響しないが細胞分裂を経ても維持される変化としてエピジェネティック変異の視点から検討を行った。RLGS法を用いた結果、DESの新生仔期投与によって、精巣上体のDNAのメチル化に変化を起こすことが示され、精巣上体のDNAメチル化状態が子宮様に変化させる場合があり、精巣上体の発生・分化に影響を与えること可能性が考えられた。

BPAは脂肪細胞の糖の取り込み能に影響を与えることが明らかとなった。

### 2-4. 中枢神経系への影響

妊娠17日齢マウスにBPA (1mg/ml sesame oil、0.01mg/ml sesame oil) を投与後、生後10日目、50日目で脳組織切片を作製して神経細胞・グリア細胞の発生・分化・成熟に及ぼす影響を、グリア細胞の特異的なマーカータンパク（ミエリン関連糖タンパク：MAG、ミエリン塩基性タンパク：MBP）に対する抗体を用いた免疫組織化学的な染色法および神経細胞を染色するニッスル染色法によって解析した。

高濃度のBPA投与群の10日目でオリゴデンドロサイト活性およびミエリン形成能が著しく低下した。また、大脳皮質の菲薄化が認められたが神経細胞には異常が認められなかった。大脳皮質は生後50日目で対照群と同レベルまで回復した。一方、BPA低濃度投与群では脳実質の大きさに変化が認められず、MAG陽性の未分化オリゴデンドロサイトの蓄積が認められ、ミエリン形成が活発化していた。これらの結果から、BPAは中枢神経系では神経細胞よりむしろグリア細胞、とりわけ中枢神経系のミエリン形成担当細胞であるオリゴデンドロサイト(OPC)の発生・分化に大きな影響を与えていることが示唆された。

ミエリンを形成する細胞は神経幹細胞から派生したオリゴデンドロサイト前駆細胞が分

化・成熟してその形質膜を軸索に巻きつけることから、BPAの作用機序を解明するためにはOPCの分化機構を解き明かすことが最も重要であると考え、胎児脳 (E17) よりOPCを採取する方法を考案しその方法を確立した。最初にIn vitroの系でOPCが分化に伴ってBPAのターゲット分子と考えられるエストロゲン受容体 (ER) や甲状腺ホルモン受容体 (TR) の発現があるか否かをイムノブロット法で検討した結果、TRは発現が認められたが、ERは分化したミエリン形成担当細胞でその発現が顕著であった。

BPAがOPCの分化メカニズムにどのようなメカニズムで作用しているかを明らかにするために、OPCにBPAと甲状腺ホルモン(T3)の組み合わせを添加してターゲット受容体の発現と分化マーカーとしてのオリゴデンドロサイトの転写因子 (Id2、Id4) の発現を調べた。BPAはTRに対し弱いリガンドであるといわれているが、BPAの分化誘導についてBPAは甲状腺ホルモン受容体 (TR $\beta$ 1) の発現を阻害し、OPCからミエリン形成担当細胞への分化を抑制していることが明らかになった。

BPAがOPCの分化を阻害してその後のミエリン形成を抑制する分子カスケードとしてT3-TR-MBPの系が考案されたが、TRは転写共役活性因子 (コアクチベーター) であることが明らかになっている。さらにOPC/オリゴデンドロサイトでリガンド (T3/BPA) 未結合時に発現しているコリプレッサーを同定した。このリプレッサーはT3添加時に発現が低下し、BPA添加時ではその発現が維持しており、その時にエクソン2を含んだMBPの発現の増加が認められた。エクソン2を含んだMBPはミエリン形成に必須のタンパクであり、今後は標的遺伝子MBPの発現・調節に影響を与える新たなコリプレッサーの機能解析を進めてゆく予定である。

## 2-5. 魚類の発生、性分化および成長に対するホルモン類似物質の影響

カダヤシの孵化直後の稚魚へのトレンボロン(アメリカでは牛の肥育ホルモンとして用いられているアンドロゲン類似物質)の影響を調べ、0.3 mg/L以上のトレンボロンは交接器鱗の雄化を促進すること、1.0 mg/L以上では、卵巣の精巢化を引き起こすことを明らかにするとともに、アンドロゲン受容体をクローニングした。海産メダカのマミチョグのER $\alpha$ をクローニングし、受容体結合試験系を作成した。NPはヒトのERに比べてマミチョグのERに対して強い親和性があることを見出した。コイ科のローチから、ER、AR、ステロイド合成酵素関連遺伝子および性分化関連遺伝子を20種類程度クローニングして研究のツールを作成した。

## 2-6. 両生類および爬虫類の発生に対するホルモン類似物質の影響

アフリカツメガエルの発生に対するエストロゲン、BPA、NPの影響を、形態学およびマイクロレイ法を用いて解析した。高濃度のこれらの化学物質は胚の奇形を誘導した。特に頭部の成長不全が顕著であった。また、エストロゲン応答遺伝子を明らかにするとともに、BPAの誘導遺伝子は、E2およびNPが誘導する遺伝子とは異なっているものが多いことを明らかにした。さらに、感受性の高い発生ステージを明らかにした。

アメリカワニからエストロゲンER $\alpha$ 、 $\beta$ をクローニングするとともに、E2曝露に対するERの発現変動を解析した。

## 2-7. 無脊椎動物を用いた研究

2-7-1. オオミジンコに雄を産ませる化学物質を見出すとともに、オオミジンコの遺伝子を整理し、マイクロアレイ化の基礎を築いた。

2-7-2. 昨年度までに確立した*C. elegans*の生体影響評価試験（致死影響試験、成長・成熟影響試験、繁殖影響試験）を用いて、金属類の影響について検討し、環境化学物質の生体影響評価に特化したカスタムチップを作製し、DNAマイクロアレイ法を用いて各種化学物質により発現変動を受ける遺伝子群を網羅的に検索した。

環境中に残留し、ヒトや野生生物への影響が懸念される化学物質として挙げられる塩化アルミニウム、塩化ニッケル、塩化銅、酸化クロム（VI）、酢酸鉛の5種類の金属類の生体影響評価試験を行った結果、すべての金属について、致死、成長・成熟あるいは繁殖への影響が確認された。特に、塩化銅は高い致死毒性を有し、低濃度で成長・成熟の遅延、産仔数の減少を示した。一方、塩化アルミニウムや塩化ニッケルは他の金属に比べて致死毒性が低いにもかかわらず、きわめて低濃度で成長・成熟の遅延を示した。

CYP遺伝子群は、生物種を超えて広く分布し、ステロイドホルモンの生合成や薬物・異物の代謝などに関わるヘムタンパク質である。センチュウには、約80種のCYP遺伝子群が存在していることが知られているが、その生理的機能は不明なものが多い。DNAマイクロアレイを用いて、哺乳類におけるCYPの誘導剤曝露により発現変動を受ける遺伝子群の解析を試み、センチュウCYP遺伝子群の生理的機能を解析した結果、哺乳類においてCYP 1Aの誘導剤とされている3-メチルコラントレン曝露によりCYP 35A、CYP 35B、CYP 35Cの発現誘導が認められた。これらの遺伝子群は、 $\beta'$ -ナフトフラボンやPCB 52などのCYP 1A誘導剤により発現誘導するという報告もある。このことから、センチュウのCYP 35遺伝子群は哺乳類におけるCYP 1Aの生理的機能を有する可能性が高いことが示唆された。

環境化学物質の遺伝子レベルでのより厳密な生体影響評価試験法の確立を目的として、薬物の代謝およびトランスポーターに関わる遺伝子群をスポットしたカスタムチップを作製し、これを用いて、E2およびNP、ベンゾフェノン、アルジカーブ、BPA、BPAの代謝物であるMBPの影響をDNAマイクロアレイで解析した。その結果、アルジカーブ以外の5種の化学物質においては、発現変動が認められた。CYP 35Cの発現誘導は5種の化学物質に共通して認められた。一方、CYP 14AおよびCYP 34Aの発現誘導は、NPやベンゾフェノンに特異的であった。また、MBP曝露によりCYP13Bの発現誘導およびCYP29Aの発現抑制が認められ、MBPに対し特異的であることが明らかになった。発現変動する遺伝子群の種類および数は、化学物質に特異的であり、カスタムチップを用いたDNAマイクロアレイ法は化学物質の影響を評価する有用な手法となり得ることが示唆された。

## 3. 研究実施体制

### ホルモン応答遺伝子解析グループ I

- ① 研究分担グループ長：井口泰泉（自然科学研究機構、教授）
- ② 研究項目：総括およびホルモン応答遺伝子の解析 I を担当

#### ホルモン応答遺伝子解析グループⅡ

- ① 研究分担グループ長：森千里（千葉大学、教授）
- ② 研究項目：ホルモン応答遺伝子の解析Ⅱを担当

#### 神経系解析グループ

- ① 研究分担グループ長：阿相皓晃（東京都老人総合研究所、研究室長）
- ② 研究項目：神経系への作用解析を担当

#### 両生類発生・生殖解析グループ

- ① 研究分担グループ長：井口泰泉（自然科学研究機構、教授）
- ② 研究項目：両生類発生・生殖への作用解析を担当

#### 水棲動物生殖グループ

- ① 研究分担グループ長：鑓迫典久（国立環境研究所、主任研究員）
- ② 研究項目：水棲動物の生殖への作用メカニズムの解析を担当

#### 4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

##### （1）論文（原著論文）発表

- Iguchi, T. and H. Watanabe: Developmental effects of hormonally active agents on animals: from daphnia to humans. Environ. Sci., 10 Suppl.: 43-60, 2003.
- Watanabe, H. and T. Iguchi: Evaluation of endocrine disruptors based on gene expression using a micorarray. Environ. Sci., 10 Suppl.: 61-67, 2003.
- Tominaga, N., K. Ura, M. Kawakami, T. Kawaguchi, S. Kohra, Y. Mitui, T. Iguchi and K. Arizono: *Caenorhabditis elegans* responses to specific steroid hormones. J. Health Sci. 49: 28-33, 2003.
- Adachi, T., Y. Matsuno, A. Sugimura, K. Takano, K.-B. Koh, K. Sakurai, T. Shibayama, T. Iguchi, C. Mori and M. Komiyama: ADAM7 (a disintegrin and metalloprotease 7) mRNA is suppressed in mouse epididymis by neonatal exposure to diethylstilbestrol. Mol. Reprod. Devel., 64: 414-421, 2003.
- Kato, H., T. Ota, T. Furuhashi, Y. Ohta and T. Iguchi: Changes in reproductive organs of female rats treated with bisphenol A during the neonatal period. Reprod. Toxicol., 17: 283-288, 2003.
- Sato, T., Y. Fukazawa, Y. Ohta and T. Iguchi: Multiple mechanisms are involved in apoptotic cell death in the mouse uterus and vagina induced by ovariectomy. Reprod. Toxicol., 17: 289-297, 2003.
- Katsu, Y., D. Lubahn and T. Iguchi: Expression of novel C-type lectin in the mouse vagina. Endocrinology, 144: 2597-2605, 2003.
- Urushitani, H., M. Nakai, H. Inanaga, Y. Shimohigashi, A. Shimizu, Y. Katsu and T. Iguchi: Cloning and characterization of estrogen receptor  $\alpha$  in mummichog, *Fundulus heteroclitus*. Mol. Cell. Endocr., 203: 41-50, 2003.

- Okada, A., Y. Ohta, S. Inoue, H. Hiroi, M. Muramatsu and T. Iguchi: Expression of estrogen, progesterone and androgen receptors in the oviduct of developing, cycling and pre-implantation rats. *J. Mol. Endocr.*, 30: 301-315, 2003.
- Watanabe, H., A. Suzuki, M. Kobayashi, D. Lubahn, H. Handa and T. Iguchi: Analysis of temporal changes in the expression of estrogen regulated genes in the uterus. *J. Mol. Endocr.*, 30: 347-358, 2003.
- Kohno, S., Y. Kamishima and T. Iguchi: Molecular cloning of an anuran V<sub>2</sub> type [Arg<sup>8</sup>] vasotocin receptor and mesotocin receptor: functional characterization and tissue expression in the Japanese tree frog (*Hyla japonica*). *Gen. Comp. Endocr.*, 132: 485-498, 2003.
- Guillette, L.J.Jr. and T. Iguchi: Interspecies variation in the estrogenicity of *p, p'*-DDE. *Organohalogen Compounds*, 65: 71-73, 2003.
- Tatarazako, N., S. Oda, H. Watanabe, M. Morita and T. Iguchi: Juvenile hormone agonists affect the occurrence of male *Daphnia*. *Chemosphere*, 53: 827-833, 2003.
- Guillette, L.J.Jr. and T. Iguchi: Contaminant-induced endocrine and reproductive alterations in reptiles. *Pure Appl. Chem.*, 75: 2275-2286, 2003.
- Inui, M., T. Adachi, S. Takenaka, H. Inui, M. Nakazawa, M. Ueda, H. Watanabe, C. Mori, T. Iguchi and K. Miyatake: Effect of UV screens and preservatives on vitellogenin and choriogenin production in male medaka (*Oryzias latipes*). *Toxicology*, 194: 43-50, 2003.
- Watanabe, H., A. Suzuki, M. Kobayashi, D.B. Lubahn, H. Handa and T. Iguchi: Similarities and differences in uterine gene expression patterns caused by treatment with physiological and non-physiological estrogen. *J. Mol. Endocr.*, 31: 487-497, 2003.
- Miyahara, M., H. Ishibashi, M. Inudo, H. Nishijima, T. Iguchi, L.J.Jr. Guillette and K. Arizono: Estrogenic activity of a diet to estrogen receptors- $\alpha$  and - $\beta$  in an experimental animal. *J. Health Sci.*, 49: 481-491, 2003.
- Tominaga, N., S. Kohra, T. Iguchi and K. Arizono: A multi-generation sublethal assay of phenols using the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J. Health Sci.*, 49: 459-463, 2003.
- Adachi, T., K.-B. Koh, H. Tainaka, Y. Matsuno, Y. Ono, K. Sakurai, H. Fukata, T. Iguchi, M. Komiyama and C. Mori: Toxicogenomic difference between diethylstilbestrol and 17 $\beta$ -estradiol in mouse testicular gene expression by neonatal exposure. *Mol. Reprod. Devel.*, 67: 19-25, 2004.



- Miyagawa, S., Y. Katsu, H. Watanabe and T. Iguchi: Estrogen-independent activation of ErbBs signaling and estrogen receptor  $\alpha$  in the mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol. *Oncogene*, 23: 340-349, 2004.
- Uchida, D., M. Yamashita, T. Kitano and T. Iguchi: An aromatase inhibitor or high water temperature induce oocyte apoptosis and depletion of P450 aromatase activity in the gonads of genetic female zebrafish during sex-reversal. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*: 137: 11-20, 2004.
- Katsu, Y., D.S. Bermudez, E.L. Braun, C. Helbing, S. Miyagawa, M.P. Gunderson, S. Kohno, T.A. Bryan, L.J. Guillette, Jr. and T. Iguchi: Molecular cloning of the estrogen and progesterone receptors of the American alligator. *Gen. Comp. Endocr.*, 136: 122-133, 2004.
- Matsuno, Y., T. Adachi, K.B. Koh, H. Fukata, A. Sugimura, K. Sakurai, T. Shibayama, T. Iguchi, M. Komiyama and C. Mori: Effect of neonatal exposure to diethylstilbestrol on testicular gene expression in adult mouse: comprehensive analysis with cDNA subtraction method. *Internat. J. Androl.*, 27: 115-122, 2004.
- Adachi, T., Y. Ono, K.B. Koh, K. Takashima, H. Tainaka, Y. Matsuno, S. Nakagawa, E. Todaka, K. Sakurai, H. Fukata, T. Iguchi, M. Komiyama and C. Mori: Long-term alteration of gene expression without morphological change in testis after neonatal exposure to genistein in mice: Toxicogenomic analysis using cDNA microarray. *Food Chem. Toxicol.*, 42: 445-452, 2004.
- Kato, H., T. Iwata, Y. Katsu, H. Watanabe, Y. Ohta and T. Iguchi: Evaluation of estrogenic activity in diets for experimental animals using *in vitro* assay. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 1410-1414, 2004.
- Watanabe, .H., A. Suzuki, M. Goto, D.B. Lubahn, H. Handa and T. Iguchi: Tissue-specific estrogenic and non-estrogenic effects of a xenoestrogen, nonylphenol. *J. Mol. Endocr.* (in press).
- Kohno, S., M. Fujime, Y. Kamishima and T. Iguchi: Sexually dimorphic basal water absorption at the pelvic patch of Japanese tree frog *Hyla japonica*. *J. Exp. Zool.*, 301A: 428-438, 2004.
- Tatarazako, N., M. Koshio, H. Hori, M. Morita and T. Iguchi: Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay method for vitellogenin in the medaka. *J. Health Sci.*, (in press).
- Miyagawa, S., A. Suzuki, Y. Katsu, M. Kobayashi, M. Goto, H. Handa, H. Watanabe and T. Iguchi: Persistent gene expression in mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol. *J. Mol. Endocr.*, 32: 663-677, 2004.
- Okada, A., Y. Ohta, S.L. Brody, A. Krust, P. Chambon and T. Iguchi: Essential

- role of foxj1, but not of estrogen receptor alpha in ciliated epithelial cell differentiation of the neonatal oviduct. *J. Mol. Endocr.*, 32: 615-625, 2004.
- Hirano, M, H. Ishibashi, N. Matsumura, Y. Nagao, N. Watanabe, A. Watanabe, N. Onikura, K. Kishi, and K. Arizono: Acute toxicity responses of two crustaceans, *Americamysis bahia* and *Daphnia magna*, to endocrine disrupters. *J. Health Sci.*, 50, 97-100, 2004.
  - Seiwa, C., K. Tanaka, J. Nakahara, T. Komiyama, Y. Katsu, T. Iguchi and H. Asou: Bisphenol A exerts thyroid-hormone-like effects on mouse oligodendrocyte precursor cell. *Neuroendocrinology*, (in press).
  - Nakahara, J., C. Seiwa, A. Shibuya, S. Aiso and H. Asou: Expression of Fc receptor for IgM in oligodendrocytes and myelin of mouse CNS. *Neurosci.Lett.*, 337: 73-76, 2003.
  - Nakahara, J., K. Tan-Takeuchi, C. Seiwa, T. Kaifu, A. Ujike, M. Inui, T. Yagi, M. Ogawa, T. Aiso, T. Takai and H. Asou: Signaling via immunoglobulin Fc receptors induce oligodendrocyte precursor cell differentiation. *Dev.Cell*, 4:841-852, 2003.
  - Sakurai K, M. Kawazuma, T. Adachi, T. Harigaya, Y. Saito, H. Hashimoto and C.Mori: Bisphenol A affects to glucose transport in mouse 3T3-F442A adipocytes. *Brit J Pharmacol* 141: 209-214, 2004.
  - Mori C.: High risk group and high risk life stage: Key issues in adverse effects of environmental agents on human health. *Reprod Mol Biol*. (in press).
  - Fukata H, C. Mori: Epigenetic alteration by chemical exposure and environmental factors. *Reprod. Mol. Biol*. (in press).
  - Koh K-B, M. Komiyama, Y. Toyama, T. Adachi, C. Mori: Percoll fractionation of adult mouse spermatogonia improves germ cell transplantation. *Asian J Androl*. (in press).

#### 邦文

- 井口泰泉（監修）環境ホルモンの最新動向と測定・試験・機器開発，CMC出版，pp. 334, 2003.
- 井口泰泉、鷺見 学、川嶋之雄：ノニルフェノール．環境ホルモンの最新動向と測定・試験・機器開発，CMC出版，pp. 120-133, 2003.
- 井口泰泉、宮川信一：サンスクリーン．環境ホルモンの最新動向と測定・試験・機器開発，CMC出版，pp. 321-328, 2003.
- 鈴木敦子、井口泰泉：野生動物への影響．環境ホルモンの最新動向と測定・試験・機器開発，CMC出版，pp.79-112, 2003.
- 井口泰泉：最近3年間の研究の動向と評価．環境ホルモン，3: 137-154, 2003.

- 井口泰泉：鍵と鍵穴の謎. 中日新聞, 7月5日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：白い粉DDT. 中日新聞, 7月12日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：カエル. 中日新聞, 7月19日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：薬と環境. 中日新聞, 7月26日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：カエルが危ない. 中日新聞, 8月2日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：ワニの調査. 中日新聞, 8月9日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：日ごろの注意. 中日新聞, 8月16日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：ダイオキシンの内分泌攪乱作用に新たな知見. 現代化学, No. 390: 8-9, 2003.
- 井口泰泉：課題は山積. 中日新聞, 8月23日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：アルママータ. 中日新聞, 8月30日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：母乳の味と匂い. 中日新聞, 9月6日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：環境保護と法律. 中日新聞, 9月13日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：キスの研究. 中日新聞, 9月20日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：恩師のノート. 中日新聞, 9月27日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：論文の別刷. 中日新聞, 10月4日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：サケPCB. 中日新聞, 10月11日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：動物のストレス. 中日新聞, 10月18日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：薬害の予防. 中日新聞, 10月25日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：容器の劣化. 中日新聞, 11月1日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：ミジンコ. 中日新聞, 11月8日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：偶然と必然. 中日新聞, 11月15日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：弱る森林. 中日新聞, 11月22日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：DESと女性性器悪性腫瘍. 産婦人科の実際. 52: 2353-2362, 2003.
- 井口泰泉：睡眠のリズム. 中日新聞, 11月29日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：文化の情報交換. 中日新聞, 12月6日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：複合影響. 中日新聞, 12月13日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：より安全な環境. 中日新聞, 12月20日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：新たな成果. 中日新聞, 12月27日 夕刊, 2003.
- 井口泰泉：DESと女性性器悪性腫瘍. 産婦人科の実際. 52: 2353-2362, 2003.
- 井口泰泉：環境ホルモン研究と野生動物・生態系. 科学74: 53-58, 2004.
- 井口泰泉：野生動物の内分泌攪乱のメカニズムを探る. 現代化学 No. 397: 34-39, 2004.
- 鑓迫典久, 小田重人, 阿部良子, 森田昌敏, 井口泰泉: ミジンコを用いた甲殻類に対する内分泌攪乱化学物質のスクリーニング法開発. 環境科学会誌 (印刷中).
- 中原仁, 阿相皓晃: 中枢神経系におけるミエリン形成機構. 生化学, 75: 395-399, 2003.

- 深田秀樹，森 千里：胎児を基準とした化学物質のリスク評価と対策の開発の試み.  
ファルマシア 40: 328-332, 2004.
  - 森 千里，戸高恵美子. 化学物質による胎児の複合汚染 ハイリスクグループの存在  
と、「次世代環境健康学」創生の必要性. 科学 74: 38-42, 2004.
- (2) 特許出願  
なし