

平成21年6月15日現在

研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2007年度～2008年度
課題番号：19591762
研究課題名（和文） 骨形成に及ぼす環境ホルモンの影響に関する研究
研究課題名（英文） Effect of environmental endocrine disrupting chemicals on bone formation
研究代表者 升野 博志 愛媛県立医療技術大学・保健科学部・准教授 研究者番号 20116974

研究成果の概要：マウス間葉系幹細胞である C3H10T1/2 細胞が骨芽細胞へ分化する条件の下、細胞を 4-*tert*-オクチルフェノール (OP)を含む培養液中で培養すると骨芽細胞への分化が阻害された。この OP によって骨芽細胞への分化が阻害された細胞の多くが脂肪細胞に分化した。このように OP は間葉系幹細胞の分化の方向性に影響を及ぼすということが明らかになった。妊娠期間から授乳期間にかけて母マウスに OP を含む水を自由摂取させると、生まれてきた雌性マウスの大腿骨骨幹部の横径成長が阻害されることが明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：4-*tert*-オクチルフェノール, C3H10T1/2 細胞, 骨芽細胞, 脂肪細胞, 妊娠マウス, 末梢型コンピュータ断層法, 大腿骨, 横径成長

1. 研究開始当初の背景

今後、ますます高齢化が進むと考えられており、高齢化社会の抱える問題の一つに“寝たきり”がある。この“寝たきり”の原因の一つが骨粗鬆症による骨折である。骨粗鬆症は長年の生活習慣により引き起こされる疾患である。骨粗鬆症は骨代謝（骨形成と骨吸収）のバランスが崩れることによって発症する。エストロゲンは骨吸収を抑える働きがあり、このホルモンの欠乏が閉経後骨粗鬆症の原因

とされている。また、骨吸収が正常であっても骨形成が阻害されれば骨粗鬆症は発症する。環境ホルモンはエストロゲン様作用を有していることはよく知られているが、骨粗鬆症など整形外科領域の疾患と環境ホルモンの関係についての報告は非常に少ない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、骨形成に及ぼす 4-*tert*-オクチルフェノール(OP)の影響について *in vitro*

及び *in vivo* で検討することである。

3. 研究の方法

(1) 骨形成に及ぼす環境ホルモンの *in vitro* での影響

① 骨芽細胞への分化に及ぼす OP の影響

C3H10T1/2 細胞を confluent になるまで培養した。Confluent になってから 1 日後に種々の濃度の OP を含む培養液 A [1 μ M all-*trans* レチノイン酸, 5 mM β -グリセロリン酸, 10% 牛胎児血清 (FBS), 100 U/ml ペニシリン, 100 μ g/ml ストレプトマイシンを含むダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM)] に交換した。培養液 A は 2 日毎に交換した。7 日後, 細胞を lysis buffer B (10 mM Tris, 0.1% Triton X-100, pH 7.5) 中に採取した後, 超音波処理して細胞を破碎し遠心分離した。上清中のアルカリホスファターゼ (ALP) 活性及び DNA 量を測定した。また, 10%ホルマリン固定した細胞の ALP 染色も行った。

② ウェスタンブロット法による peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) と transforming growth factor β 2 (TGF β 2) の検出

細胞抽出液 (5 μ g タンパク質/lane) を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離し, タンパク質を Hybond P メンブランに転写した後, 一次抗体及び horseradish peroxidase 結合二次抗体と反応させた。ECL Advance Western Blotting Detection キットを用いて PPAR γ 及び TGF β 2 を検出した。

③ 脂肪細胞への分化に及ぼす OP の影響

上記の方法で予め 15 μ g/ml OP 存在下あるいは非存在下で 7 日間培養した細胞を, 10 μ g/ml インスリン (INS), 1 μ M デキサメサゾン (DEX) 及び 0.5 mM 3-イソブチル-1-メチルキサンチン (MIX) を含む培養液 C [10% FBS, 100 U/ml ペニシリン, 100 μ g/ml ストレプトマイシンを含む DMEM] で 2 日間培養した。この細胞を 5 μ g/ml INS だけを含む培養液 C で更に 5 日間培養した。細胞を lysis buffer B 中に採取した後, 超音波処理して細胞を破碎し遠心分離した。上清中の TG 量及び DNA 量を測定した。また, 10%ホルマリン固定した細胞中の油滴を Oil Red O で染色した。

④ アディポネクチン量の測定

予め 15 μ g/ml OP 存在下あるいは非存在下で 7 日間培養した細胞を, 上述のようにホルモン混合物で 2 日間処理した後, 5 μ g/ml INS だけを含む培養液 C で 3 日間培養した。この細胞を 5 μ g/ml INS を含む FBS-free DMEM で 24 時間培養した。その後, 新鮮な FBS-free DMEM に交換し更に 24 時間培養した。細胞を lysis buffer D [15 mM Tris, 1% Nonidet

P-40, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, Protease Inhibitor Cocktail Set III (1:1000), pH 7.5] 中に採取した後, 超音波処理して細胞を破碎し遠心分離した。上清中のアディポネクチン量及び DNA 量を測定した。培養液は 0.2- μ m フィルターユニットを用いて濾過し, アディポネクチン量を測定した。

⑤ 統計学的検討

3 群以上の有意差検定は one-way ANOVA で統計学的に評価した後, Fisher's PLSD test で検定した。2 群間の有意差検定は, Student's *t*-test を用いて行った。結果は 4 プレートから得た値の平均値 \pm 標準誤差で表した。

(2) 骨形成に及ぼす環境ホルモンの *in vivo* での影響

① 動物の処置

妊娠 10 日目のマウスを 3 つのグループ (対象群, 低用量群, 高用量群) に分けた。1 グループ当たり 3 匹の妊娠マウスを使用し, 1 ケージに 1 匹づつ入れ飼育した。室内の照明は 7 時に点灯し, 19 時に消灯した。動物実験計画書を愛媛県立医療技術大学動物実験委員会に提出し, 審査を受け, 認可後に動物実験を行った。

OP は 100%エタノールに溶解し, 使用時にエタノールの終濃度が 0.2%になるように水で希釈した。低用量群は 1 μ g/ml OP を含む水, 高用量群は 10 μ g/ml OP を含む水を自由摂取させた。対象群には 0.2% エタノールだけを含む水を自由摂取させた。給水容器はガラス製のものをを用いた。OP の 1 日当たりの摂取量を算出するために, 妊娠 13 日目及び 16 日目の給水瓶の重量とそれぞれの翌日の給水瓶の重量を測定し, その差から 1 日当たりの摂水量を求めた。妊娠 13 日目及び 16 日目の低用量群の 1 日当たりの摂水量はそれぞれ 6.5 ± 1.2 ml 及び 12.0 ± 3.8 ml, 高用量群では 5.8 ± 0.6 ml 及び 13.6 ± 4.2 ml であった。妊娠 13 日目及び 16 日目の体重は, 低用量群は 39.4 ± 2.3 g 及び 48.4 ± 3.1 g, 高用量群は 43.4 ± 1.0 g 及び 53.6 ± 1.6 g であった。これらの値から 1 日当たりに摂取した OP 量を計算したところ, 低用量群は 0.16 ± 0.04 mg/kg 体重 (13 日目) 及び 0.24 ± 0.07 mg/kg 体重 (16 日目), 高用量群は 1.35 ± 0.16 mg/kg 体重 (13 日目) 及び 2.56 ± 0.79 mg/kg 体重 (16 日目) であった。授乳期間中も母親マウスに同用量の OP を含む水を自由摂取させた。生後 21 日目に仔マウスを母親から分離し, 同用量の OP を含む水を仔マウスに自由摂取させた。生後 31 日目にエーテル麻酔下で屠殺した。右大腿骨を 10%ホルマリンで固定し, 骨密度, 骨面積, 骨幅, 骨外膜周囲長, 骨内膜周囲長を末梢型コンピュータ断層法 (pQCT) (model XCT-Research

SA+; Stratec Medizintechnik GMBH, Germany) によって測定した。また, x 軸骨強度指数 (xSSI), y 軸骨強度指数 (ySSI), 極骨強度指数 (pSSI) も求めた。

② ALP の免疫組織染色

左大腿骨を 10%ホルマリン中で 20 時間固定した後, 10%EDTA 溶液中で 4°C下, 14 日間脱灰しパラフィン包埋した。成長板から 5.5 mm の部位の薄切切片 (4 μm) を脱パラフィン・親水化後, 3%過酸化水素水処理 (37°C, 15 分) によって内因性ペルオキシダーゼ活性をブロックし, 1%牛血清アルブミン溶液に 30 分間浸した。切片を抗 ALP 抗体と 4°C下, 一晚反応させた後, ENVISION+ポリマー試薬と 60 分間反応させた。その後, diaminobenzidine を切片上に加え ALP 陽性細胞を可視化した。核はヘマトキシリンで対比染色した。

③ 統計学的検討

3 群間の有意差検定は one-way ANOVA で統計学的に評価した後, Tukey-Kramer test で検定した。SSI と骨密度, 骨面積, 骨膜外周長, 骨膜内周長の間的相关は Pearson's r で検定した。得られた結果は平均値 ± 標準誤差で表した。

(3) 環境ホルモンによる骨代謝異常を防ぐことができる物質の検索

種々の炭素材料の内から環境ホルモンを効率よく吸着する物質を *in vitro* で検索する。

4. 研究成果

(1) 骨形成に及ぼす環境ホルモンの *in vitro* での影響

① OP は C3H10T1/2 細胞の骨芽細胞への分化に影響を及ぼすのか?

C3H10T1/2 細胞を種々の濃度の OP 存在下で 7 日間培養し, DNA 量 (図 1A) と ALP 活性 (図 1B) を測定した。OP 非存在下の場合 (未処理群), 一プレート当たりの DNA 量は 7.66 μg, ALP 活性は 2.74 nmol/min/μg DNA であった。10 μg/ml までの OP は DNA 量に影響を及ぼさなかったが, 15 μg/ml OP で処理すると, DNA 量は未処理群の 83% に低下した。

ALP 活性は OP の用量に依存して低下した。5 μg/ml OP 存在下ですでに ALP 活性の有意な低下が認められ, 10 及び 15 μg/ml OP 存在下では未処理群の活性の 62% 及び 19% に低下した。20 μg/ml 以上の OP 存在下で細胞を培養すると, 培養開始後 24 時間以内にすべての細胞がプレート表面から剥がれた。そこで, 以下の実験では 15 μg/ml OP で 7 日間処理した細胞を OP 処理群とした。

次に, ホルマリン固定した細胞の ALP 染

色を行い倒立顕微鏡下で観察した (図 1C)。

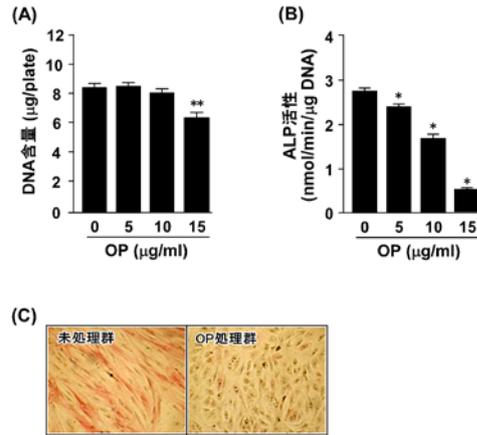


図 1. ALP 活性に及ぼす OP の影響—用量依存性 **P<0.05, *P<0.01 (vs 未処理群)

未処理群の細胞は長く伸びた線維芽細胞様/骨芽細胞様の外観をもつ細胞に変化し, 大部分の細胞が赤く強染され, ALP 活性が高いことを示した (左図)。一方, OP 処理群では多くの細胞が丸みを帯びた形をしていた。また, ALP 陽性細胞は未処理群に比べて著しく少なく, 染色の強度も弱かった (右図)。

図 2 は DNA 量, ALP 活性, TGFβ2 及び PPARγ の発現の経時的変化を示している。

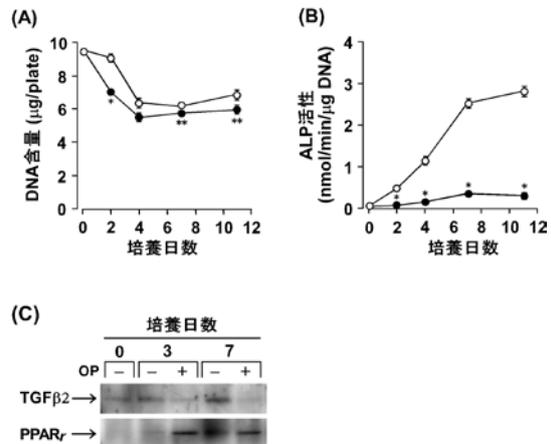


図 2. ALP 活性及び TGFβ2 と PPARγ の発現に及ぼす OP の影響—経時的変化— **P<0.05, *P<0.01 (vs 未処理群)

未処理群も OP 処理群も共に, 一プレート当たりの DNA 量は 4 日目まで低下し, それ以降は 11 日目まで変化しなかった (図 2A)。ただし, いずれの日にも OP 処理群の DNA 量は未処理群より低値を示した。

ALP 活性は未処理群も OP 処理群も共に 7 日目まで直線的に増加し, それ以降はほとんど変化しなかった (図 2B)。ただし, OP 処理群の ALP 活性は実験期間を通して非常に低かった。

Confluent の細胞は僅かに TGFβ2 を発現した。未処理群の TGFβ2 の発現は培養日数

の経過と共に増加した (図 2C)。一方、OP 処理群でも TGF β 2 を発現したが、3 日目の発現量は confluent の細胞の発現量と同程度であったが、7 日目の細胞は TGF β 2 をほとんど発現しなかった。

Confluent の細胞は PPAR γ を発現しなかった。未処理群では PPAR γ が培養日数の経過と共に発現したが、その発現量は非常に低かった (図 2C)。一方、OP 処理群では PPAR γ は 3 日目、7 日目共に強く発現した。

以上の結果は、OP は C3H10T1/2 細胞の骨芽細胞への分化誘導を阻害したということを示している。

② その他の環境ホルモンの ALP 活性に及ぼす影響

15 μ g/ml NP は 24 時間以内に細胞を死滅させた。一方、ジフェニルアルカンであるビスフェノール A グリシジルエーテル (BPA-DGE) は 50 μ M (17 μ g/ml) の濃度でも細胞を死滅させなかった。そこで、本実験では 10 μ g/ml アルキルフェノール及び 50 μ M BPA-DGE を用いた (表 1)。NP 存在下で 7 日間培養すると ALP 活性は有意に低下した。

表 1 ALP 活性に及ぼす NP 及び BPA-DGE の影響

	ALP 活性 (nmol/min/ μ g DNA)
実験 1	
未処理群	1.68 \pm 0.07
NP 処理群	1.01 \pm 0.06*
OP 処理群	0.78 \pm 0.01**
実験 2	
未処理群	1.48 \pm 0.03
BPA-DGE 処理群	1.47 \pm 0.05

10 μ g/ml NP, 10 μ g/ml OP 及び 50 μ M BPA-DGE 存在下で 7 日間培養した。*P<0.01 (vs 未処理群) **P<0.01 (vs NP 処理群)

その低下作用は NP より OP の方が強かった。しかし、BPA-DGE は ALP 活性には影響を及ぼさなかった。

③ OP の作用は PPAR γ を介しているのか？

BPA-DGE は PPAR γ アンタゴニストとして知られている。そこで、C3H10T1/2 細胞を 15 μ g/ml OP 単独あるいは 15 μ g/ml OP

表 2 OP が誘導した ALP 活性の低下に及ぼす BPA-DGE の影響

	ALP 活性 (nmol/min/ μ g DNA)
未処理群	1.48 \pm 0.02
OP 処理群	0.34 \pm 0.03*
OP + BPA-DGE 処理群	0.15 \pm 0.01**

50 μ M BPA-DGE 単独, 15 μ g/ml OP 単独, 15 μ g/ml OP + 50 μ M BPA-DGE 存在下で 7 日間培養した。*P<0.01 (vs 未処理群) **P<0.01 (vs

OP 単独処理群)

と 50 μ M BPA-DGE 共存下で 7 日間培養し、ALP 活性を測定した (表 2)。OP と BPA-DGE 共存下で培養すると、ALP 活性は OP 単独で培養したときよりも更に低値を示した。このように BPA-DGE は OP による ALP 活性の低下作用を回復させることはできなかった。この結果は、OP は PPAR γ を介して ALP 活性を低下させたのではないということを示している。

④ OP の作用はエストロゲン受容体 (ER) を介しているのか？

OP は女性ホルモン様作用を示すことが知られている。そこで、ER アンタゴニストであるタモキシフェンを用いて実験を行った。C3H10T1/2 細胞を OP 単独及び OP とタモキシフェン共存下で 7 日間培養し、ALP 活性を測定した (表 3)。OP とタモキシフェン共存下で培養したときの ALP 活性は、OP 単独で培養したときの活性と同じ値を示した。タモ

表 3 OP が誘導した ALP 活性の低下に及ぼすタモキシフェンの影響

	ALP 活性 (nmol/min/ μ g DNA)
未処理群	1.19 \pm 0.07
タモキシフェン処理群	1.30 \pm 0.42
OP 処理群	0.54 \pm 0.02*
OP + タモキシフェン処理群	0.55 \pm 0.01*

1 μ M タモキシフェン単独, 15 μ g/ml OP 単独, 15 μ g/ml OP + 1 μ M タモキシフェン存在下で 7 日間培養した。*P<0.01 (vs 未処理群)

キシフェン単独で細胞を処理しても ALP 活性の変化は認められなかった。これらの結果は、OP は ER を介して働いているのではないということを示している。

本研究では、OP が C3H10T1/2 細胞から骨芽細胞への分化誘導を阻害するメカニズムを明らかにすることはできなかった。

⑤ OP 処理群の細胞は脂肪細胞へ分化誘導されたのか？

本実験では、予め OP 存在下 (OP 処理群) あるいは非存在下 (未処理群) で 7 日間培養した C3H10T1/2 細胞を培養日数 0 日目の細胞とした。この細胞を、ホルモン混合物 (INS, DEX, MIX) で 2 日間処理し、INS 単独で更に 5 日間処理した。未処理群の一プレート当たりの DNA 量は 4 日目までは直線的に増加し、それ以降は緩やかに増加した (図 3A)。一方、OP 処理群の DNA 量は 2 日目までは増加したが、それ以降の増加は認められなかった。0 日目での DNA 量は未処理群より OP 処理群の方が高値を示したが、4 日目以降は未処理群の方が高値を示した。

0 日目の TG 量は両群ともに低値を示した。

未処理群では7日間の培養期間中にTG量は0.70 $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ DNA (0日目) から1.62 $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ DNAに増加した。一方、OP処理群では0.71 $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ DNA (0日目) から6.78 $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ DNAにまで増加した (図3B)。ホルマリン固定した

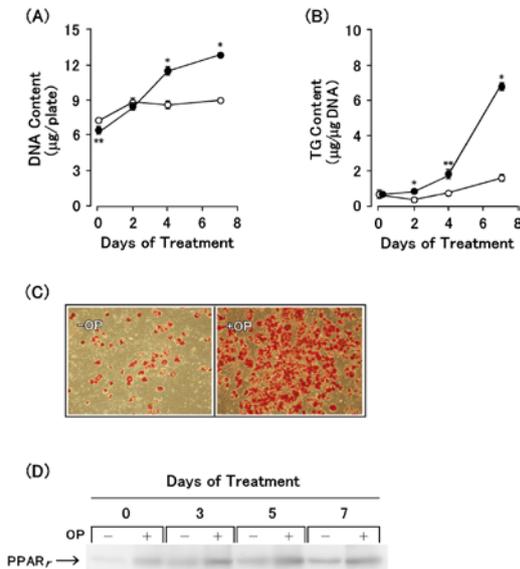


図3. 脂肪細胞への分化に及ぼすOPの影響
** $P < 0.05$, * $P < 0.01$ (vs 未処理群)

細胞(7日目)をオイルレッドO染色したところ、オイルレッドO陽性細胞数は未処理群に比べてOP処理群の方が著しく多かった (図3C)。

未処理群もOP処理群もPPAR γ の発現は培養日数と共に増加した。しかし、いずれの日もPPAR γ の発現量はOP処理群の方が未処理群より高かった (図3D)。

脂肪細胞に高発現するアディポネクチン量は、細胞内、培養液中共に未処理群に比べ、

表4 アディポネクチン量に及ぼすOPの影響
アディポネクチン量 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ DNA)

	細胞	培養液
未処理群	4.6 \pm 1.2	2.2 \pm 0.4
OP処理群	18.8 \pm 1.6*	10.4 \pm 0.5*

$P < 0.01$ (vs 未処理群)

OP処理群の方がそれぞれ4.1倍及び4.7倍高かった。

以上の結果は、OPで処理した細胞は脂肪細胞形成の方向へ向かっていることを示している。

(2) 骨形成に及ぼす環境ホルモンの *in vivo* での影響

① 体重及び血清オステオカルシン量に及ぼすOPの影響

生後31日目に体重及び血清オステオカルシン量を測定した (表5)。雌性マウスの体重

は、対象群に比べて、高用量群で9%の増加を認めたが、低用量群と対象群の間には違い

表5 体重及び血清オステオカルシン量

	雌性マウス	雄性マウス
体重 (g)		
対象群	19.2 \pm 0.4	21.1 \pm 0.7
低用量群	19.7 \pm 0.4	20.3 \pm 0.4
高用量群	20.9 \pm 0.4*	22.0 \pm 0.4
血清オステオカルシン量 (ng/ml)		
対象群	215 \pm 8	174 \pm 22
低用量群	152 \pm 11**	142 \pm 14
高用量群	151 \pm 8**	151 \pm 19

雌性マウス数は対象群が19匹、低用量群が12匹、高用量群が19匹である。雄性マウス数は対象群が15匹、低用量群が22匹、高用量群が16匹である。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (vs 対象群)

は認められなかった。雄性マウスでは3群間で体重の違いは認められなかった。

血清オステオカルシン量は、雌性マウスの低用量群、高用量群共に、対象群の量の71%及び70%に低下していた。一方、雄性マウスでは3群間で有意な差は認められなかった。この結果は、OPは雌性マウスの骨代謝に異常を引き起こしている可能性を示唆している。

③ 雌性マウスの大腿骨の骨幹部のpQCTによる分析

ホルマリン固定した右大腿骨の成長板から5.5 mm離れた部位 (骨幹部) をpQCTによって分析した (表6)。低用量群の骨幹部の皮

表6 骨幹部のpQCT分析

骨外膜周囲長 (mm)	
対象群	4.910 \pm 0.059
低用量群	4.701 \pm 0.028*
高用量群	4.880 \pm 0.039
骨内膜周囲長 (mm)	
対象群	4.113 \pm 0.055
低用量群	3.856 \pm 0.036**
高用量群	4.054 \pm 0.044
x軸骨強度指数	
対象群	0.164 \pm 0.009
低用量群	0.148 \pm 0.003
高用量群	0.168 \pm 0.005
y軸骨強度指数	
対象群	0.201 \pm 0.010
低用量群	0.189 \pm 0.004
高用量群	0.200 \pm 0.006
極骨強度指数	
対象群	0.317 \pm 0.016
低用量群	0.297 \pm 0.005
高用量群	0.321 \pm 0.009

ホルマリン固定した右大腿骨の成長板から5.5 mm離れた部位をpQCTで解析した。マウス数は対象群が19匹、低用量群が12匹、

高用量群が 19 匹である。*P<0.05, **P<0.01 (vs 対象群)

質骨の骨外膜周囲長及び骨内膜周囲長はそれぞれ対象群より 4.3%及び 6.2%短かったが、高用量群の周囲長と対象群の周囲長との間には違いが認められなかった。xSSI, ySSI 及び pSSI は有意差は認められないものの低用量群で低値を示した。骨外膜周囲長と xSSI (r=0.650, P<0.01), ySSI (r=0.796, P<0.01) 及び pSSI (r=0.765, P<0.01) は正の相関を示した。骨内膜周囲長は ySSI (r=0.325, P<0.01) のみと正の相関を示した。皮質骨骨密度、皮質骨骨面積及び皮質骨幅は 3 群間に違いは認められなかった (data not shown)。

④ 骨幹部における ALP の免疫組織染色

ホルマリン固定した左大腿骨を脱灰・パラフィン包埋し、成長板から 5.5 mm の部位の薄切切片を作成した。その切片を脱パラフィ

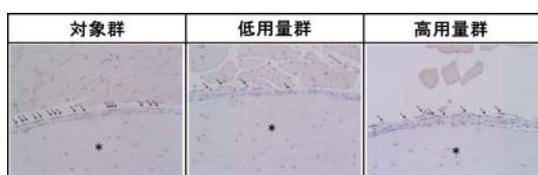


図 4. ALP の免疫組織染色
矢印：ALP 陽性細胞 *皮質骨

ン・親水化した後、ALP の免疫組織染色を行った (図 4)。低用量群の骨外膜表面の ALP 陽性細胞数は、対象群に比べて著しく減少していた。高用量群でも ALP 陽性細胞の減少が認められた。

⑤ 雌性マウス的大腿骨の骨幹部部の pQCT による分析

遠位成長板から 1.4 mm 離れた部位 (骨幹部部) を pQCT によって分析した (表 7)。高

表 7 骨幹部部の pQCT 分析

海綿骨骨密度 (mg/cm ³)	
対象群	384.8 ± 5.3
低用量群	403.8 ± 9.7
高用量群	411.2 ± 5.7*
海綿骨領域骨面積 (mm ²)	
対象群	2.30 ± 0.07
低用量群	1.99 ± 0.13
高用量群	1.96 ± 0.10*
x 軸骨強度指数	
対象群	0.261 ± 0.011
低用量群	0.268 ± 0.015
高用量群	0.308 ± 0.014*

ホルマリン固定した右大腿骨の成長板から 1.4 mm 離れた部位を pQCT で解析した。
*P<0.05 (vs 対象群)

用量群の総骨密度と xSS はの有意に増加していたが、海綿骨領域骨面積は有意に低下し

ていた。ySSI, pSSI, 海綿骨領域骨密度、皮質骨+皮質骨下領域骨密度、総骨面積、皮質骨+皮質骨下領域骨面積に 3 群間の違いは認められなかった (data not shown)。

(3) 環境ホルモンによる骨代謝異常を防ぐことができる物質の検索

何種類かの炭素材料を調べ、OP を効率よく吸着させるものを選び出そうと試みてはいるが、未だに結論に達していない。

(4) 研究の総括

In vitro の研究では、OP は間葉系幹細胞の分化の方向性に影響を及ぼし、骨芽細胞形成を阻害し、脂肪細胞形成を促進することが明らかになった。OP の骨芽細胞形成の阻害作用は、PPAR γ も ER も介していなかった。*In vivo* の研究では、胎生期及び授乳期に OP に曝露された雌性マウスでは、大腿骨骨幹部の皮質骨表面での骨芽細胞形成が阻害され、横径成長が抑制されることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Setsuya Kamei, Joji Miyawaki, Kenshi Sakayama, Haruyasu Yamamoto, Hiroshi Masuno: Perinatal and postnatal exposure to 4-*tert*-octylphenol inhibits cortical bone growth in width at the diaphysis in female mice. *Toxicology* 252, 99-104 (2008) 査読有り

2. Joji Miyawaki, Setsuya Kamei, Kenshi Sakayama, Haruyasu Yamamoto, Hiroshi Masuno: 4-*tert*-Octylphenol regulates the differentiation of C3H10T1/2 cells into osteoblast and adipocyte lineages. *Toxicol. Sci.* 102(1), 82-88 (2008) 査読有り

6. 研究組織

(1) 研究代表者

升野 博志

愛媛県立医療技術大学・保健科学部・准教授
研究者番号：20116974