

平成 22 年 4 月 29 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19370027
 研究課題名（和文） 周生期ホルモン曝露による標的器官への不可逆的影響の分子メカニズム
 研究課題名（英文） Molecular mechanism of irreversible changes in target organs induced by perinatal hormone exposure
 研究代表者
 井口 泰泉（IGUCHI TAISEN）
 大学共同利用機関法人自然科学研究機構（岡崎共通研究施設）・岡崎統合バイオサイエンスセンター・教授
 研究者番号：90128588

研究成果の概要（和文）：周生期のマウスへのエストロゲン投与に、生殖器官に不可逆的な影響が現れる。この誘導には主としてエストロゲン受容体 α が関与していることが明らかとなった。さらに、卵巣非依存の細胞増殖を示す腫瘍で不可逆的に高発現している遺伝子を同定した。これらの遺伝子のメチル化状態を調べたところ、細胞増殖に関連する遺伝子のメチル化状態には差が認められなかったが、エストロゲン受容体 α の活性を制御すると思われる遺伝子のメチル化状態が高く、この遺伝子の発現は低下していたことから、卵巣非依存の細胞増殖を示す腫瘍ではエストロゲン受容体の働きを抑制する遺伝子にメチル化が入り、この遺伝子の発現が低下することにより、恒久的なエストロゲン受容体 α の活性化、リン酸化が起こり、細胞増殖関連の遺伝子が恒久的に発現し、卵巣非依存の細胞増殖が起こっていると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Perinatal exposure of estrogens to mice during a critical period induces irreversible changes in various reproductive organs. Estrogen receptor α (ER α) has been demonstrated to be essential in induction of persistent changes in the mouse vagina. Microarray analyses demonstrate various up-regulated genes in the vagina of mice exposed perinatally to estrogens. Methylation status of growth factor related genes is not altered, however, one gene which suppress function of ER α is methylated and showing low expression. Methylation of this gene results in its low expression, thus, ER α is free from suppression, which may result in persistent activation of ER α . The persistently activated ER α induces expression of growth factor related genes which stimulate persistent cell proliferation in the mouse vagina.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2008年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2009年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・形態・構造

キーワード：組織形態

1. 研究開始当初の背景

(1) 女性ホルモンであるエストロゲンは、生涯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が、ひとたび成体のコントロールシステムが破綻をきたした場合、乳がんや子宮内膜症、不妊、骨粗しょう症などを引

を果たしているが、ひとたび成体のコントロールシステムが破綻をきたした場合、乳がんや子宮内膜症、不妊、骨粗しょう症などを引

き起こすことが知られ、こうしたホルモン関連の疾患の増加は社会問題化している。これらの疾患については、胎児期や幼若期におけるエストロゲン曝露による影響が成熟時に顕在化する可能性も考えられているが、その関連性については明らかになっていない。こうした胎児期の起源が懸念される疾患はホルモン影響のみにとどまらず、生活習慣病をはじめ様々な疾患との関連も考えられており (Physiol. Rev. 85: 571, 2005)、人の健康、胎児や子どもの保護といった観点から非常に普遍的な問題を提起している。

ホルモンによるコントロールシステムの破綻のモデルとして、我々は不適切な時期 (周生期) におけるエストロゲ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ている。通常マウスの膈上皮はエストロゲン依存的な増殖を示すが、周生期 (生後5日まで) にジエチルスチルベストロールを投与することにより、成熟後膈上皮はエストロゲン非依存的な増殖を示す。我々のこれまでの一連の解析から以下の点が明らかになってきている。

- ①胎児期から生後5日までにホルモンを投与された時のみ影響がある。
- ②正常なマウスに移植後にも増殖が続くことから、膈組織が自律的に増殖能を獲得している。
- ③エストロゲン非依存的な増殖を示すもののエストロゲン受容体が必要である。
- ④周生期のエストロゲン応答性遺伝子群は、成熟時の応答性遺伝子とは異なる。

2. 研究の目的

(1) 細胞が増殖し続けても長期的に曝露の影響が残ることから、曝露の「記憶」はゲノム上に何らかの形で残されていると考えるべきであろう。そこで本研究では、周生期のエストロゲン曝露がどのような形で「記憶」されているのかを明らかにし、最終的なエンドポイントであるシステムの破綻に至るメカニズムを明らかにすることを目的とした。

(2) ①周生期のエストロゲン曝露を「記憶」するメカニズムの解明のためのゲノムレベルからの解析と、②エンドポイントである増殖のキーとなるエストロゲン受容体活性化機構の解析を進めることにより、メカニズムの解明を目指す。

①周生期エストロゲン応答性遺伝子群は、その後の遺伝子発現の変化を誘導していることが考えられる。遺伝子の発現状態を変化させる要因として、直接DNAに作用する転写因子群、これらに作用するコファクター群、クロマチン構造変換に関与する因子群とヒス

トンの修飾状態、DNAのメチル化状態など様々な階層がある。そこで、遺伝子発現プロファイル解析から周生期曝露により発現状態が変化した遺伝子を選択し、これらの遺伝子の発現状態をコントロールしている各階層の変化について解析する。さらにこの変化を周生期にまでさかのぼり解析することにより、曝露と遺伝子発現状態の変化の関連を明らかにする。また、この解析において、発現変化が確認されているHOX遺伝子群を1つのモデルとする。

②エストロゲン受容体においても、一般にリガンド依存的な転写活性化からその分解に至るまで様々な因子が関与している。エストロゲン受容体リガンド非依存的な活性化能を獲得する制御系の変化を明らかにする。この変化とゲノムレベルで変化した遺伝子の関連を明らかにすることにより、エストロゲン曝露が記憶され組織がエストロゲン非依存的な増殖能を獲得するまでのメカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) HOX 遺伝子群の解析 (ゲノムからの解析—1)

形態形成において重要な働きを担っているHOXA遺伝子群はゲノム上に遺伝子が並んだクラスター構造をとっているが、雌性生殖器官では、HOXA9, 10, 11, 13が発現している。これは他のHOX遺伝子群にみられるように、通常体軸に沿った発現を示しており、HOXA9が卵巣側、HOXA13は膈側での発現が強くみられる。胎児期 (妊娠9日から16日) にジエチルスチルベストロールを曝露した場合には、この発現が子宮では全体に尾部側にシフトすることが知られている。さらにHOXA10の転写制御領域には、エストロゲン応答配列が存在することが報告されており、その後、エストロゲン曝露により発現が変調をきたすことから、胎児期のエストロゲン影響を解析するために適したモデル遺伝子となる。

そこで、HOXA9, 10, 11, 13を中心としてゲノムDNAについて抗メチル化ヒストン抗体により、ヒストンの修飾状態を解析する。一般にHOX遺伝子群では、tritholaxとpolycomb遺伝子群がクロマチン構造変換を伴う発現制御に関与している。tritholaxやpolycomb遺伝子群の結合状態、およびクロマチン構造変換に関連するヒストン脱アセチル化酵素の結合などをクロマチン免疫沈降により解析し、エストロゲン曝露の影響を明らかにする。個体レベルでのクロマチン免疫沈降法はすでにプロトコールを確立している (Kobayashi et al., Genes to Cells) が、

必要に応じて微小スケール用の手法を導入する(Nature Genet., 38: 835-841, 2006)。これらの解析法は、後述の恒久的な影響を受けた遺伝子の解析にも用いる。

(2) 恒久的な影響を受けた遺伝子のスクリーニング(ゲノムからの解析-2)

新生仔期(生後5日)にエストロゲン曝露した群と成熟期(生後10週)にエストロゲン投与した群を作成し、それぞれから遺伝子発現プロファイルを取得する。遺伝子発現プロファイル取得する時期は、新生仔期(生後6日)と成熟期(生後10週)を基準とする。成熟期において、曝露群に特異的に発現が変化している遺伝子を選択する。これらの遺伝子については、新生仔期からの発現変化を定量PCR法などを用いて解析することにより、恒久的に発現が変化した遺伝子を選択する。遺伝子発現プロファイル取得にあたっては、研究室が所有しているアフィメトリクス社のGeneChipやアジレント社のマイクロアレイを利用し、約12,000遺伝子の発現比較解析を行う。

(3) 恒久的な影響を受けた遺伝子領域のゲノム状態の解析(ゲノムからの解析-3)

エストロゲン曝露により恒久的な発現変化を確認できた遺伝子については、そのゲノムについてエストロゲン受容体などの転写因子の結合、コアクチベーター、コレプレッサーの結合状況をクロマチン免疫沈降法により確認する。また、ゲノムの状態を解析するために、ゲノムDNAのメチル化状況をbisulphite法(Nucleic Acids Res. 22: 2990, 1994)で確認し、並行してHOX遺伝子群の解析と同様にtritholaxやpolycomb遺伝子群の結合状態、およびクロマチン構造変換に関連するヒストン脱アセチル化酵素の結合などをクロマチン免疫沈降による解析、抗メチル化ヒストン抗体(抗ジメチル化Lys9ヒストンH3抗体など)によるヒストンの修飾状態を解析する。これにより新生仔期のエストロゲン処理によりクロマチン構造に変化が生じた遺伝子を探索する。

(4) エストロゲン受容体の解析(エンドポイントからの解析-1)

周生期にエストロゲン曝露したマウスの膺は、エストロゲン非依存的な増殖を示すが、エストロゲン受容体には依存していることを見出している(Miyagawa et al., Oncogene, 2003)。エストロゲンアンタゴニストをマウスに投与するとエストロゲン非依存的な増殖が抑えられることから、エストロゲン受容体は細胞の増殖にポジティブに関与している。すなわち、本来ならリガンド非存在下で制御されるはずのエストロゲン受容体の活

性が維持されたままであり、これが増殖に関与している可能性が強い。そこでエストロゲン受容体の活性化や分解に関連する遺伝子の働きをタンパク質レベルで解析を行うことにより、このエストロゲン受容体がリガンド非依存的な活性を有するメカニズムについて明らかにする。解析するポイントとしては、エストロゲン受容体の量、リン酸化やSUMO化などの修飾状態、活性化に関与するMAPキナーゼをはじめとするシグナル伝達物質の状態、抑制に関与するホスファターゼ活性、分解に関与するプロテオソームや関連因子について、ウエスタンブロット法を中心として曝露群と対照群においてその状態を比較解析する。

(5) 恒久的な影響を受けた遺伝子領域の変化の解析(ゲノムとエンドポイントの関連付け-1)

クロマチン構造の変化が確認された遺伝子について、遺伝子を含むクロマチン構造の経時的な変化を解析する。曝露時から成熟期までのクロマチンの構造状態を解析し、①新生仔期のエストロゲン処理の時点で構造変換が生じたのか、または②二次的に思春期や成熟期に変化したのかについて明らかにする。これによりエストロゲン曝露との関連を明らかにする。

①周生期からゲノム状態が変化した場合には、エストロゲンによる転写の活性化との関連を明らかにする。転写活性化時に当該遺伝子のゲノム領域に結合するクロマチン変換因子を免疫沈降法により明らかにする。

②二次的に変化した場合には、それ以前に発現が変化した遺伝子との関連性を調べることにより、エストロゲン曝露とゲノム構造の変化との関連を明らかにする。例えば曝露直後に誘導される特定のシグナル伝達関連遺伝子や転写因子を明らかにし、関連を明らかにする。

(6) エストロゲン曝露と受容体安定化の関連の解析(ゲノムとエンドポイントの関連付け-2)

上記の結果から、エストロゲン曝露の初期のイベントである遺伝子発現変化と最終的な変化の一つであるエストロゲン受容体安定化との関連を明らかにする。発現変化した遺伝子の機能からエストロゲン受容体按手化機構を推定し、培養細胞系などを用いて再構成することにより確認する。

(7) 新生仔期の遺伝子発現誘導とゲノム状態の変化の関連の解明(ゲノムに変化が見られなかった場合の対応)

エピジェネティックな解析を行う際に、一般的に解析されるのはまずDNAメチル化であ

り、これはゲノム DNA を化学処理することにより比較的容易に解析できる。しかし、ゲノムのメチル化で説明できる事象はかならずしも多くはなく、遺伝子発現の差をメチル化で説明できない報告も多い。本研究では単にメチル化のみに着目するのではなく、ヒストンコードをはじめとするクロマチン構造の解析、転写因子を含めた解析を行うことにより、実質的な差を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 周生期合成エストロゲン曝露により発現変動する遺伝子の探索

周生直後のマウスに5日間、合成エストロゲンのジエチルstilbestrol (DES) を投与すると、子宮、膣、乳腺などに不可逆的な影響が現れることを既に報告している。これには臨界期があり生後3日以内の投与では不可逆的な影響が、それ以後では可逆的な影響が現れる。この臨界期の前後でのDESの投与(生後0、5、20、70日)により、マウスの膣で発現変動する遺伝子を、マイクロアレイ法を用いて解析した結果、生後0日からの投与では54遺伝子の発現増加、9遺伝子の発現低下が認められた。これに対して、生後5、20日からの投与では、約200遺伝子、生後70日では350以上の遺伝子の発現が変化することから、生後5日目の膣のDESへの応答は成熟マウスの膣に近いことが示唆され、5日目は臨界期を超えていることに対応していることが明らかとなった。不可逆的にDESに反応する生後0日目では、*Gadd45α*, *p21*, *14-3-3 sigma*, *small proline-rich protein 2f (Sprr2f)*, *Kruppel-like factor 4 (Klf4)* などのように発現変動する遺伝子は少ないもののその後のエストロゲン非依存的な細胞増殖に関連する遺伝子群が選択できたものと考えられる。さらに、マウスの子宮、膣および乳腺は性周期の体内ステロイドホルモンの変動により、細胞増殖や退縮を繰り返す。すなわちエストロゲンやプロゲステロンの標的器官であるので、卵巣摘出した成体マウスにエストロゲンを投与し、子宮、膣および乳腺の上皮細胞および間質細胞の細胞増殖および発現変動遺伝子をマイクロアレイ法を用いて比較した。エストロゲン曝露により、子宮では上皮と間質の細胞分裂が有意に増加し、膣では上皮細胞のみの細胞分裂が有意に増加したが、乳腺では上皮、間質ともに細胞分裂の有意な増加は認められなかった。エストロゲン曝露6時間目では、子宮と膣で発現変動する遺伝子の半分は共通であり、*insulin-like growth factor 1 (Igf-1)* などが代表例である。膣では *Igfbp2*, *Igfbp5*,

Kallikrein の発現増加も認められた。乳腺では、子宮や膣と異なり、エストロゲン曝露6時間では発現変動する遺伝子はほとんど認められなかった。これらの結果から、エストロゲンに反応する遺伝子は組織特異的であることが明らかとなった (Suzuki et al., 2007)。

(2) エストロゲン受容体特異的リガンド曝露によるマウス膣の不可逆的变化

哺乳動物には2種類のエストロゲン受容体 (ER α , ER β) が存在しているが、どちらのERを介してエストロゲンの作用が仲介されているかは不明な点が多く残されている。この疑問に答えるために、それぞれのERに特異的に結合すると考えられている合成物質、ER α : propyl pyrazole triol (PPT)、ER β : diarylpropionitrile (DPN) を生後5日間投与し、膣スメア、排卵、多卵性卵胞、子宮筋、不可逆的な膣上皮細胞の増殖などに関して解析した。まず、2種類のマウスERを用いたレポーターアッセイにより、それぞれのリガンドの特異性を確認し、DESとの比活性より10倍量を投与した。PPTの投与では、DESと同様に、膣スメアの連続的な角質化、視床下部下垂体系の無排卵、多卵性卵胞の誘導、子宮筋の乱れ、膣上皮の卵巣非依存の不可逆的増殖を誘導した。これに対してDPNは多卵性卵胞の誘導は引き起こしたが、他のパラメーターには異常が認められなかった。これらの結果から、DESなどのエストロゲンの作用は主としてER α を介して作用していることが明らかとなった。さらに、出生直後のDESおよびPPT投与により不可逆的な細胞増殖を示す膣では、*amphregulin (Areg)*, *epiregulin (Ereg)*, *interleukin-1 receptor type 2 (Il1r2)*, *IF-family, member 5 (Il1f5)*, *ER α* , *ER β* , *heparin-binding epidermal growth factor (Hbegf)* が特異的に発現増加していることを見出した。これらの結果から、出生直後のエストロゲンによる不可逆化の誘導は主としてER α を介して作用しているが、卵巣の多卵性卵胞の誘導にはER α , ER β の両方が関与していることが明らかとなった (Nakamura et al., 2008)。

(3) 出生直後のアンドロゲンの影響とエストロゲン受容体の関連

出生直後のマウスのアンドロゲンを投与しても、卵巣非依存の不可逆的な膣上皮細胞の増殖が起こることを見出している。アンドロゲン投与による膣の不可逆化にはアンドロゲン受容体が関与しているのか、あるいは2種類のエストロゲン受容体のうちの1種類が介在しているのかは不明であった。これに答えるために、ER α ノックアウトマウスにア

ンドロゲン(DHT)を投与し、膣の不可逆的細胞増殖および外部生殖器の発達について解析した。DHTを出生直後の野生型のマウスに投与すると、膣上皮の卵巣非依存の不可逆的増殖、尿道下裂およびクリトリスの肥大が認められた。さらに、ER α の恒久的なリン酸化も認められた。これに対して、ER α ノックアウトマウスにDHTを投与しても膣上皮細胞の不可逆的な細胞増殖は起こらなかった。しかし、クリトリスは巨大化し、骨形成も誘起された。これらの結果から、膣上皮細胞の不可逆的増殖にはER α が重要な働きをしており、外部生殖器に対してはER α が存在しないことでアンドロゲン作用が増強されたと思われる(Miyagawa et al., 2010)。さらに、外部生殖器の発生には、アンドロゲン作用と局所的なWnt/ β -cateninの作用が不可欠であること(Miyagawa et al., 2009b)、Wnt/ β -cateninを介したFgf8の発現、Fgf4/8の関与、Erk1/2のリン酸化が不可欠であることも示した(Miyagawa et al., 2009a)。

(4) 多卵性卵胞の誘起のメカニズム

出生直後のDES投与により、卵巣に多卵性卵胞が誘起されるが、そのメカニズムは明らかではない。これに答えるために、ER β ノックアウトマウスを用いてDESの作用を検討した。原始卵胞から一次卵胞への発達は5日、二次卵胞への発達は10日に起こるが、野生型の出生直後のマウスにDESを投与すると、これらの発達が遅延したことから、DESは卵胞の発達を遅らせることが明らかである。また、DESは5日齢で野生型マウスおよびER β ノックアウトマウスで卵胞数を減少させたことから、出生直後のマウスはER α を介して卵胞の発達に関与していることが明らかとなった(Kim et al., 2009)。さらに、多卵性卵胞の誘導にはER β が関与していることを明らかにした(Kirigaya et al., 2009)。また、多卵性卵胞の誘導にはInhibin- α の発現増加と卵の細胞死の抑制が関与していることも明らかにした(Kim et al., 2009)。

(5) 不可逆化膣で発現変動する遺伝子のメチル化状態の解析

本研究費の主要なテーマである、不可逆化関連遺伝子のメチル化状態を解析した。まず、Hox遺伝子群に関しては、膣ではHox13のみが発現しており、出生直後のDES投与での発現変動は認められず、不可逆化との関連も認められなかった。さらに、出生直後のDES投与により不可逆化した膣で特異的に発現増加する遺伝子群、Areg, Ereg, Il1r2, Il1f5, ER α , ER β , Hbegfを含む多くの遺伝子のメチル化状態を解析したが、細胞増殖に関連する遺伝子群に関してはメチル化の変動は認

められなかった。しかし、不可逆化した膣ではER α の恒久的なリン酸化が起こっており、この現象に着目して解析した。不可逆的な反応を示す膣でメチル化レベルの高い遺伝子としてGrg1が見出された。マイクロアレイの解析からは、この遺伝子の発現は低下していた。Grg1を発現させるとエストロゲンで刺激した時のER α の活性が抑制されることが明らかとなった。この結果から、Grg1のメチル化レベルが高くなり、Grg1の発現が低下することにより、恒久的にER α の活性が高い状態で保たれていることも考えられる(Miyagawa et al., 未発表)。今後、さらに多くの遺伝子のメチル化状態と発現を比較するとともに、機能解析を行うことにより、遺伝子のメチル化と出生直後のエストロゲンによる組織不可逆化の関連を明らかにすることができることを期待している。

(6) エストロゲン受容体に関するその他の研究

エストロゲン受容体に結合する物質が多く見出されており、エストロゲンのリガンドに対する特異性に問題があることが明らかになりつつある。このため、ガー、チョウザメ、ハイギョなどの古代魚、爬虫類のアカハラガメ、メキシコサンショウウオ、ヒキガエル、イモリなどの両生類、サメ、ナメクジウオなど各種の動物からER遺伝子をクローニングし、レポーターアッセイ系を利用して、化学物質のエストロゲン活性を各種動物のERを用いて比較し、種差があることを明らかにした(Katsu et al., in press)。さらに、脊椎動物の祖先とされているナメクジウオのERにはリガンド結合が認められないが、祖先型の受容体であるステロイド受容体にはエストロゲンが結合してシグナルを出していることを明らかにした(Katsu et al., 2010)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計56件中の12件) (すべて査読あり)

① Miyagawa, S., Katsu, Y., Ohta, Y., Sudo, T., Lubahn, D.B. and Iguchi, T. (2010). Estrogen receptor α is indispensable for the induction of persistent vaginal change by neonatal 5 α -dihydrotestosterone exposure. Biol. Reprod., 82, 497-503

② Katsu, Y., Kubokawa, K., Urushitani, H. and Iguchi, T. (2010). Estrogen-dependent transactivation of amphioxus steroid hormone receptor via both estrogen- and androgen-response elements. Endocrinology, 151, 639-648.

- ③ Miyagawa, S. 他 Iguchi, T. (15 名中 3 番 目) (2009). Dosage dependent hedgehog signals integrated with Wnt/ β -catenin signaling regulate external genitalia formation as an appendicular program. *Development*, 136, 3969-3978
- ④ Kim, H., Nakajima, T., Hayashi, S., Chambon, P., Watanabe, H., Iguchi, T. and Sato, T. (2009). Effects of diethylstilbestrol on programmed oocyte death and induction of polyovular follicles in neonatal mouse ovaries. *Biol. Reprod.*, 81, 1002-1009.
- ⑤ Hikake, T., Hayashi, S., Iguchi, T. and Sato, T. (2009). The role of IGF1 on the differentiation of prolactin secreting cells in the mouse anterior pituitary. *J. Endocrinol.*, 203, 231-240.
- ⑥ Miyagawa, S. 他 Iguchi, T. (11 名中 5 番 目) (2009). Genetic integrations of the androgen and Wnt/ β -catenin pathways for the masculinization of external genitalia. *Mol. Endocrinol.*, 23, 871-880.
- ⑦ Kim, H., Hayashi, S., Chambon, P., Watanabe, H., Iguchi, T. and Sato, T. (2009). Effects of diethylstilbestrol on ovarian follicle development in neonatal mice. *Reprod. Toxicol.*, 27, 55-62.
- ⑧ Kim, H., Hayashi, S., Chambon, P., Watanabe, H., Iguchi, T. and Sato, T. (2009). Effects of diethylstilbestrol on ovarian follicle development in neonatal mice. *Reprod. Toxicol.*, 27, 55-62.
- ⑨ Nakamura, T., Katsu, Y., Watanabe, H. and Iguchi, T. (2008). Estrogen receptor subtypes selectively mediate female mouse reproductive abnormalities induced by neonatal exposure to estrogenic chemicals. *Toxicology*, 253, 117-124.
- ⑩ Milnes, M.R., Garcia, A., Grossman, E., Grün, F., Shiotsugu, J., Tabb, M.M., Kawashima, Y., Katsu, Y., Watanabe, H., Iguchi, T. and Blumberg, B. (2008). Activation of steroid and xenobiotic receptor (SXR, NR112) and its orthologs in laboratory, toxicological, and genome model species. *Environ. Health Perspect.*, 116, 880-885.
- ⑪ Suzuki, A., Urushitani, H., Watanabe, H., Sato, T., Iguchi, T., Kobayashi, T. and Ohta, Y. (2007). Comparison of estrogen responsive genes in the mouse uterus, vagina and mammary gland. *J. Vet. Med. Sci.* 69, 725-731.
- ⑫ Suzuki, A., Urushitani, H., Sato, T., Watanabe, H., Ohta, Y. and Iguchi, T. (2007). Gene expression change in the Müllerian duct

of the mouse fetus exposed to diethylstilbestrol *in utero*. *Exp. Biol. Med.*, 232, 503-514.

[学会発表] (計 30 件中 1 件)

- ① Iguchi, T., Koide-Yoshida, S., Watanabe, H., Igarashi, K. Kanno, J. and Miyagawa, S. (2009). Genomic and epigenetic approaches for analysis of developmental effect of neonatal estrogen on mouse vagina. Horiba Symposium, University of Tokyo, October 26-27, Tokyo.

[図書] (計 5 件) (すべて査読あり)

- ① Iguchi, T., Miyagawa, S. and Sudo, T. (2010). Modern genetics of reproductive biology. In: *Environmental Impacts on Reproductive Health and Fertility*, Cambridge University Press, Woodruff, T., Janssen, S.J., Guillette, L.J.Jr., and Giudice, L.C. (Eds.), 60-71.
- ② Iguchi, T., Watanabe, H. and Katsu, Y. (2008). Toxicogenomics and ecotoxicogenomics: Studying chemical effects and basic biology in vertebrates and invertebrates. In: *Toxicogenomics: A Powerful Tool for Toxicology Assessment*. John Wiley & Sons, 143-158.
- ③ Tyler, C.R., Filby, A.L., Iguchi, T., Kramer, V., Larsson, J., van Aggelen, G., van Leeuwen, K., Viant, M. and Tillet, D. (2007). Chapter 3 - Application of genomics to tiered testing. In: Ankle, G.T., Miracle, A.L., Perkins, E.J. and G. P. Daston (Eds.): *Genomics in Regulatory Ecotoxicology: Applications and Challenges*. SETAC Press. pp.33-62.
- ④ Iguchi, T. (2007). What are the data on environmental contaminants disrupting reproductive function? Examples of mosquitofish, roach and medaka. In: Kruger, T.F., van der Spuy, Z. and Kempers, R.D. eds. *Advances in Fertility Studies and Reproductive Medicine*, pp.361-373.
- ⑤ Cook, J., Iguchi, T., Linney, E., Miracle, A., Shaw, J., Viant, M. and Zacharewski, T. (2007). "Omic" Approaches in the context of environmental toxicology. In Benson, W.H. and Di Giulio, R.T. (eds.) *Genomic Approaches for Cross-Species Extrapolation in Toxicology*. Taylor and Francis, CRC Press, pp. 1-31.

[その他]

ホームページ等

<http://www.nibb.ac.jp/bioenv1/index-j.h>

tml

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井口 泰泉 (IGUCHI TAISEN)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構

(岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイ
エンスセンター・教授

研究者番号：90128588