

### 3-3 生命環境

**井口 泰泉（教授）**

**渡邊 肇（助教授）**

1) 専門領域：内分泌学、分子生物学、環境科学

2) 研究課題：

- a) 周生期のマウスに対するエストロゲンの組織不可逆化誘導機構に関する研究
- b) エストロゲン応答遺伝子に関する研究
- c) オオミジンコのマイクロアレイの作成およびオオミジンコ性決定機構の解明
- d) アメリカワニの温度依存性性分化機構の解明
- e) ローチの性ホルモン受容体遺伝子の単離および精巣卵誘導機構の解明
- f) オオサンショウウオを含む両生類のホルモン受容体遺伝子の単離
- g) 各種動物のホルモンおよびホルモン類似物質に対する臨界期に関する研究

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 周生期のマウスに対するエストロゲンの組織不可逆化誘導機構に関する研究  
マウスの子宮および膣はエストロゲンの標的器官であり、エストロゲンに依存して、細胞増殖および分化を示す。しかし、生後3日以内にエストロゲンの投与を受けたマウスの膣は、エストロゲンがなくとも細胞増殖を続け、癌化へと向かう。出生直後にエストロゲン投与を受けたマウスの膣上皮は、エストロゲンがなくとも、上皮成長因子(EGF)ファミリーの遺伝子発現が継続し、erbB および EGF 受容体がリン酸化し、エストロゲン受容体アルファの AF1 領域もリン酸化しており、細胞増殖因子発現のオートループが形成されていることを明らかにした。

b) エストロゲン応答遺伝子に関する研究

マイクロアレイ手法を用いて、マウス子宮および膣のエストロゲン応答遺伝子の整理を行うとともに、カスタムアレイを作成している。合成エストロゲンのジエチルstilbestrol、エストロゲン類似作用をもつニルフェノール、さらにはダイオキシンによる遺伝子発現等を明らかにした。さらに、遺伝子上のエストロゲン応答エレメントに関する解析を行っている。

c) オオミジンコのマイクロアレイの作成およびオオミジンコ性決定機構の解明

環境化学物質の影響を調べるのに用いられるオオミジンコは、単為生殖により、雌が雌を産んで増殖する。幼若ホルモン類似物質が卵形成の特定の時期に作用すると雄を産む

ようになることを見出した。オオミジンコの遺伝子の ESTs を整理し、マイクロアレイを作成している。さらに、オオミジンコの性を決める機構を調べている。

d) アメリカワニの温度依存性性分化機構の解明

ワニは孵卵の温度を 33 度にすれば雄に、30 度では雌に分化する、温度依存性の性分化機構を持っている。アメリカワニの遺伝子を整理するとともに、雄および雌に分化する温度で孵卵した、性分化時期の胚からの cDNA ライブラリーを作成した。フロリダ大学のジレット教授との共同研究で、性ホルモン受容体のクローニングを行うと共に、温度依存性の性分化機構の解明を目指している。

e) ローチの性ホルモン受容体遺伝子の単離および精巣卵誘導機構の解明

イギリスの河川では、下水処理場からのエストロゲンおよびエストロゲン類似物質によるコイ科の魚のローチの精巣卵が問題となっている。精巣卵の発症機構を解明するために、ローチのステロイドホルモン産生に参与する酵素の遺伝子群、性分化関連遺伝子およびホルモン受容体遺伝子のクローニングを行った。イギリス、エクセター大学のタイラー教授との共同研究により、これらの遺伝子を用いたマイクロアレイを作成している

f) オオサンショウウオを含む両生類のホルモン受容体遺伝子の単離

アフリカツメガエルのエストロゲン応答遺伝子を、マイクロアレイ法により解析した。さらに、より世代交代の短いニシツメガエルの遺伝子を整理している。広島のア佐動物園との共同研究により、特別天然記念物のオオサンショウウオの cDNA ライブラリーを作成し、性ホルモン受容体遺伝子のクローニングを行っている。

g) 各種動物のホルモンおよびホルモン類似物質に対する臨界期に関する研究

動物には、エストロゲンやエストロゲン類似物質の影響を受けやすい、発生の特定の時期、すなわち臨界期がある。メダカ、カダヤシ、アフリカツメガエルなどの発生の臨界期を特定するための研究を行っている

4) 学術論文

**T. Adachi, 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).

**S. Miyagawa, Y. Katsu, H. Watanabe and T. Iguchi**, “Estrogen-independent activation of ErbBs signaling and estrogen receptor in the mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol” *Oncogene*, **23**, 340–349 (2004).

- D. Uchida, 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).
- Y. Katsu, 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).
- Y. Matsuno, 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).
- T. Adachi, 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).
- H. Kato, 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).
- T. Adachi, K.B. Koh, H. Tanikawa, 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).
- N. Tatarazako, 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.*, **50**, 301–308 (2004).
- S. Miyagawa, 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).
- A. Okada, 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).
- H. Watanabe, 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.*, **33**, 243–252 (2004).

- A. Okada, Y. Ohta, S.L. Brody and T. Iguchi, "Epithelial c-jun and c-fos are temporally and spatially regulated by estradiol during neonatal rat oviduct differentiation" *J. Endocrinol.*, **182**, 219–227 (2004).
- T. Sato, Y. Fukazawa, Y. Ohta and T. Iguchi, "Sustained mRNA expressions of growth factors participate in inducing estrogen-independent persistent proliferation of vaginal epithelium of mice exposed neonatally to diethylstilbestrol" *Reprod. Toxicol.*, **19**, 43–51 (2004).
- S. Kohno, M. Fujime, Y. Kamishima and T. Iguchi, "Sexually dimorphic basal water absorption at the isolated pelvic patch of Japanese tree frog, *Hyla japonica*" *J. Exp. Zool.*, **301A**, 428–438 (2004).
- G. Seiwa, 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*, **80**, 21–30 (2004).
- K. Sone, M. Hinago, A. Kitayama, J. Morokuma, N. Ueno, H. Watanabe and T. Iguchi, "Effect of 17 $\beta$ -estradiol, nonylphenol and bisphenol-A on developing *Xenopus laevis* embryos" *Gen. Comp. Endocr.*, **138**, 228–236, (2004).
- N. Yoshinaga, E. Shiraishi, T. Yamamoto, T. Iguchi, S.-I. Abe and T. Kitano, "Sexually dimorphic expression of a teleost homologue of Mullerian inhibitory substance (MIS) during sex differentiation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*" *BBRC*, **322**, 508–513 (2004).
- N. Tominaga, S. Kohra, T. Iguchi and K. Arizono, "Effects of perfluoro organic compound toxicity on nematode *Caenorhabditis elegans* fecundity" *J. Health Sci.*, **50**, 545–550 (2004).
- H. Watanabe, A. Suzuki, M. Goto, S. Ohsako, C. Tohyama, H. Handa and T. Iguchi, "Comparative uterine gene expression analysis after dioxin and estradiol administration" *J. Mol. Endocr.*, **33**, 763–771 (2004).
- N. Nakada, H. Nyunoy, M. Nakamura, A. Hara, T. Iguchi and H. Takada, "Identification of estrogenic compounds in wastewater effluent" *Environ. Toxicol. Chem.*, **23**, 2807–2815 (2004).
- M. Inudo, H. Ishibashi, N. Matsumura, M. Matsuoka, T. Mori, S. Taniyama, K. Kadokami, M. Koga, R. Shinohara, T. Hutchinson, T. Iguchi and K. Arizono, "Levels of estrogenicity, dietary phytoestrogen and organochlorine pesticide in an experimental fish diet and reproduction and hepatic vitellogenin expression in medaka (*Oryzias latipes*)" *Comp. Med.*, **54**, 673–680 (2004).
- Y. Ohtsu, R. Ohba, Y. Imamura, M. Kobayashi, H. Hatori, T. Zenkoh, M. Hatakeyama, T. Manabe, M. Hino, Y. Yamaguchi, K. Kataoka, H. Kawaguchi, H. Watanabe and H.

**Handa**, “Selective ligand purification using high-performance affinity beads”  
*Analytical Biochemistry* (in press)

**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).

**井口泰泉**, 環境ホルモンによる生態系の攪乱. 環境研究, No. 132, 60-68 (2004).

**井口泰泉**, 日本がリードする環境ホルモン問題. 時報, 37 (10), 32-33, (2004).

**鎌迫典久**, **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, 17(6), 439-449 (2004).

**井口泰泉**, ゴードン会議に参加して. 環境ホルモン学会ニュースレター. 7 (2), 4 (2004).

**井口泰泉**, 環境ホルモンの最新動向. 生活と環境, 49 (9), 9-13 (2004).

#### 5) 著書、総説

**H. Watanabe and T. Iguchi**, “Using ecotoxicogenomics to evaluate the impact of chemicals on aquatic organisms.” *Marine Biology* (in press)

**井口泰泉**, **森田昌敏**編、考えよう地球環境7 化学物質と健康の本. ポプラ社. (2004).

**井口泰泉**, 化学物質管理の必要性. 「化審法改正のポイント」. 中園繁克、塚島順一編. 化学工業日報社. pp. 458 (2004).

#### 6) 国際会議発表リスト

**Hajime Watanabe**, “Evaluation of estrogenic activities of chemicals by DNA microarray. “ Gordon Research Conference, New Hampshire (U.S.A.) June 2004.

**David J. Moore**, **Fei Ling Lim**, **Richard Connon**, **Helen L. Hooper**, **Steve Maund**, **Tom Hutchinson**, **Hajime Watanabe**, **Wim De Coen**, **Amanda Callaghan**, **George Orphanides**, **Richard M. Sibly**, “A cDNA Microarray For Measuring Global Gene Expression Profiles In *Daphnia magna*: Giving Biomarkers Ecological Relevance” British Toxicology Society Meeting, Edinburgh (U.K.), April 2004.

**T. Horiguchi**, **H. Shiraishi**, **H. S. Cho**, **Y. Katsu**, **Y. Ohta**, **T. Iguchi**, **F. Morishita**, **O. Matsushima**, **T. Nishikawa**, **F. Shiraishi**, **M. Morita** and **J. Nishikawa**, “Endocrine disruption caused by organotin compounds in Japanese gastropods: Current status and the mode of action of organotin compounds” Proceedings of International Symposium on Antifouling Paint and Marine Environment (InSAfE), pp.111-115, 2004.

**K. Arizono**, **Y. Koga**, **K. Ura**, **H. Kimura**, **N. Tominaga**, **H. Uesugi**, **Y. Kohara** and **T. Iguchi**, “Effects of endocrine disruptors on *Caenorhabditis elegans* and

cytochrome P450 gene expressions using DNA microarray analysis” SETAC Europe 14th Annual Meeting, (Prague), April 18–22, 2004.

**Y. Koga, K. Ura, H. Kimura, N. Tominaga, H. Uesugi, Y. Kohara, T. Iguchi and K. Arizono**, “Effects of endocrine disruptors on *Caenorhabditis elegans* and cytochrome P450 gene expressions using DNA microarray analysis” CREDO Ecological Relevance of Chemically-Induced Endocrine Disruption in Wildlife, (University of Exeter, U.K.), July 5–7, 2004.

**Y. Katsu, A. Lange, R. Ichikawa, S. Jobling, C.R. Tyler and T. Iguchi**, “Molecular cloning of aromatases and oestrogen receptors and their expression in the gonad and brain during early development of roach (*Rutilus rutilus*)” CREDO Ecological Relevance of Chemically-Induced Endocrine Disruption in Wildlife, (University of Exeter, U.K.), July 5–7, 2004.

**K. Takashima, H. Fukata, H. Kato, T. Iguchi, M. Komiyama and C. Mori**, “Effect of chronic exposure to isoflavone on postnatal development of mice” The Society of Toxicology (SOT) Annual Meeting 2004, (Baltimore, Maryland, USA), March 21–25, 2004.

**S. Miyagawa, Y. Katsu, H. Watanabe and T. Iguchi**, “Estrogen-independent activation of ErbB signaling and estrogen receptor alpha in the mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol” Environmental Gordon research conference: Environmental Endocrine Disruptors, (New London, New Hampshire, USA), June 6–11, 2004.

**A. Suzuki, H. Watanabe and T. Iguchi**, “Comparison of estrogen responsive genes in mouse uterus, vagina and mammary gland. Gordon research conference” Environmental Endocrine Disruptors, (New London, New Hampshire, USA), June 6–11, 2004.

**M. Kobayashi, H. Watanabe and T. Iguchi**, “Exploration of estrogen receptor regulated genes in mouse uterus” Gordon research conference: Environmental Endocrine Disruptors, (New London, New Hampshire, USA), 6–11 June, 2004.

**T. Iguchi**, “Commonalities and differences between ecotoxicogenomics and mammalian toxicogenomics” OECD Toxicogenomics, Kyoto, Oct. 13–15, 2004.

**H. Watanabe**, “Toxicogenomic study with mouse, Medaka and *Daphnia*” OECD Toxicogenomics, Kyoto, Oct. 13–15, 2004.

**H. Watanabe and T. Iguchi**, “Application of ecotoxicogenomics for studying endocrine disruption in vertebrates and invertebrates” Toxicogenomics International Forum 2004, (Kyoto), Oct. 12–13, 2004.

7) 招待講演

**T. Iguchi**, “Endocrine disruptor issues in Japan and OECD: current strategies and our own research from Daphnia to mouse” Endocrine Disrupting Chemicals (EDC) Symposium in conjunction with the 19th Scientific Meeting Malaysian Society of Pharmacology and Physiology. University of Malaya, Kuala Lumpur, (Malaysia), May 17-18, 2004.

**T. Iguchi**, “Evaluation of endocrine disruptors based on gene expression using a DNA microarray” Gordon Research Conference: Environmental Endocrine Disruptors, Colby-Sawyer College, New London, (U.S.A.), June 6-11, 2004.

**T. Iguchi**, “Endocrine disruption studies in Japan ? a focus on molecular advances” Wildlife CREDO Ecological Relevance of Chemically-Induced Endocrine Disruption in. University of Exeter, (U.K.), July 5-7, 2004.

**T. Iguchi**, SETAC Pellston Workshop: Emerging Molecular and Computational Approaches for Cross-Species Extrapolations, Portland, Oregon, (U.S.A.), July 18-22, 2004.

**T. Iguchi**, “Commonalities and Differences between Ecotoxicogenomics and Mammalian Toxicogenomics” OECD/IPCS Workshop on Toxicogenomics, Kyoto (Japan), October 13-15, 2004.

**T. Iguchi**, “Estrogens and Development in Laboratory Animals” e. hormone, Tulane University, New Orleans, (U.S.A.), October 27-30, 2004.

**T. Iguchi, H. Watanabe and Y. Katsu**, “Application of Ecotoxicogenomics for Studying Endocrine Disruption in Vertebrates and Invertebrates” Taiwan National University (Taiwan), November 12, 2004.

**H. Watanabe**, “Evaluation of chemical contaminants by gene expression profiling of animal planktons”, Physical and Chemical Impacts of Marine Organisms-Bilateral Seminar Italy and Japan, Ise (Japan), November 2004.

**H. Watanabe**, “Application of Ecotoxicogenomics for Studying Endocrine Disruption in Vertebrates and Invertebrates”, Toxicogenomics International Forum, Kyoto(Japan), October 2004.

**井口泰泉**, 内分泌攪乱物質問題から Ecotoxicogenomics へ. 日本学術会議環境保健学研連主催公開シンポジウム 「内分泌攪乱物質問題と健康リスク—研究の最前線と到達点—」, 東京、2004年9月17日.

**井口泰泉**, 遺伝子発現を用いた環境影響評価—Ecotoxicogenomics—、環境科学会、シンポジウム、関西学院大学、2004年10月1日.

**井口泰泉**, 内分泌かく乱物質の水棲動物への影響, 熊本大学、2004年11月22日.

**井口泰泉**, ホルモン作用をもつ物質の発生影響 ミジンコからマウスまで. 有明工業専

門学校（大牟田）、2004年11月26日。

井口泰泉、環境ホルモン最前線、ダイオキシン・環境ホルモン対策国民会議、東京、2004年11月29日。

井口泰泉、日本の取り組み、第7回内分泌かく乱化学物質に関する国際シンポジウム、名古屋、2004年12月15-17日。

井口泰泉、内分泌かく乱物質の動物への発生内分泌学的影響、厚生科学研究井上班、特別講演、東京、2005年1月21日。

井口泰泉、環境ホルモン研究最前線、静岡、2005年1月31日。

井口泰泉、内分泌かく乱物質研究の作用メカニズム—環境ホルモン問題の動向—、西日本環境ホルモン研究会、那覇、2005年2月11日。

井口泰泉、環境ホルモンについて?医療に及ぼす影響を主に?、第14回横浜泌尿器科フォーラム、横浜、2005年3月17日

#### 8) 学会および社会的活動

環境省 中央環境審議会臨時委員（井口教授）

環境省 内分泌攪乱化学物質問題検討会委員（井口教授）

環境省 「環境ホルモン戦略計画 SPEED'98」改訂ワーキンググループ（井口教授）

環境省 「内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム」プログラム検討会（井口教授）

環境省 「内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム」プログラム検討ワーキンググループ（井口教授）

環境省 ダイオキシン類簡易測定法技術評価検討会委員（渡邊助教授）

厚生労働省 薬事・食品衛生審議会臨時委員（井口教授）

厚生労働省 内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会委員（井口教授）

経済産業省 化学物質審議会委員（井口教授）

内閣府 食品安全委員会容器包装部会委員（井口教授）

文部科学省 科学技術専門家ネットワーク専門調査員（井口教授）

神奈川県 化学物質等環境保全対策委員会委員（井口教授）

（独）国立環境研究所 内分泌攪乱作用に関する無脊椎動物のスクリーニング・試験法開発評価検討会検討委員（井口教授）

（独）日本学術振興会 科学研究費委員会専門委員（井口教授）

（財）化学物質評価研究機構 内分泌攪乱化学物質の生態影響に関する「試験法開発」に関わる生態影響評価手法検討会委員（井口教授）

（財）科学技術交流財団 遺伝子技術を用いた環境影響評価研究会委員（井口教授）

日本内分泌かく乱化学物質学会副会長（井口教授）

日本動物学会評議員（井口教授）



西日本環境ホルモン研究会委員（井口教授）

日本エヌ・ユー・エス（株） 内分泌攪乱が疑われる物質の環境リスク評価検討会検討員（井口教授）

東和科学（株） 内分泌攪乱作用に関する両生類のスクリーニング・試験法開発評価検討会委員（井口教授）

OECD Validation and Management Group 委員（井口教授）

OECD Endocrine Disruptor Testing and Assessment 委員（井口教授）

Ecotoxicology and Environmental Safety 編集委員（井口教授）

Environmental Sciences 編集委員（井口教授）

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

東京工業大学 非常勤講師（井口教授）

神戸大学 非常勤講師（井口教授）

島根大学 嘱託講師（井口教授）

愛媛大学 客員研究員（井口教授）

国立環境研究所 客員研究員（渡邊助教授）