

DNA Chip を用いた内分泌攪乱作用の解析—データ解析法の検討—

○辻本善政¹、榎 由樹¹、高嶋良吉¹、水谷滋利¹、近藤昭宏¹、武田 健²、加藤郁之進¹

(¹宝酒造(株)バイオ研究所、²東京理科大学薬学部)

【目的】我々はこれまでに、内分泌攪乱作用を解析する一つ的手段として遺伝子発現への影響に注目し DNA chip を用いて内分泌攪乱化学物質の MCF7 細胞に及ぼす作用を遺伝子レベルで解析してきた 1) 2)。この方法を用いれば、被験物質の添加によって発現が変動する多くの遺伝子のスクリーニングが一度に行われ、内分泌攪乱作用に関わる遺伝子群 (Key Genes) の特定に貢献できると考えられる。また、多くの遺伝子の発現プロファイルを包括的に解析すれば類似の発現を示す遺伝子をグループ化するクラスター解析が可能となる。そこで、我々は DNA chip で得られたデータを用いてクラスター解析を行った。

【方法】内分泌攪乱作用が疑われている物質のうち、環境省が定めた優先 8 物質 (Tributyltin (TBT), 4-Octylphenol (OP), 4-Nonylphenol (NP), Dibutyl phthalate (DBP), Octachlorostyrene (OCS), Dicyclohexyl phthalate (DCHP), Benzophenone (BP), Diethylhexyl phthalate (DEEP)) および E2, Diethylstilbestrol (DES) について MCF7 細胞を用いて細胞増殖試験 (E-screen assay) を行った。また、MCF7 細胞にこれらの物質を添加し 6 時間処理後、total RNA を回収し DNA chip の解析を行った。また、得られたデータのクラスター解析には GeneSight (BioDiscovery 社製) を用いた。

【結果および考察】まず、環境省が定めた優先 8 物質を MCF7 細胞に添加したときの解析結果で発現の変動が確認された遺伝子を用いて階層的クラスタリング (Hierarchical Clustering) を行った。その結果、E-screen assay においてアゴニスト活性を示した OP, NP, DBP, DCHP は、比較的類似のグループに分類された。また、MCF7 細胞に対して増殖を示さず高濃度でも細胞に増殖阻害を示さなかった OCS と BP は類似のグループに分類され、MCF7 細胞に対して増殖を阻害した TBT は別のグループに分類された。現在は、グループ化された遺伝子について検討を行っているところである。

【参考文献】 1) 辻本ら。第 2 回環境ホルモン学会要旨, 91, 1999, 2) 辻本ら。第 3 回環境ホルモン学会, 68, 2000

Analysis of Endocrine Disrupting Chemicals by Using a DNA Chip-study of Cluster Analysis-

Yoshimasa Tsujimoto¹, Yuki Enoki¹, Ryokichi Takashima¹, Shigetoshi Mizutani¹, Akihiro Kondo¹, Ken Takeda², Ikunoshin Kato¹

1) Biotechnology Research Laboratories, Takara Shuzo Co., Ltd. 2) Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

To study of the endocrine disruption, we observe the gene expression/suppression using the method of microarray technology (DNA chip). We examined the gene expression profile of the MCF7 upon treatment with suspected endocrine disrupting chemicals using DNA chip. From the results of DNA chip experiments, we classified the patterns of gene expression/suppression by using GeneSight software. Hierarchical clustering was performed using the expressed/suppressed genes by adding priority 8 substances that Ministry of the Environment defined into MCF7. Consequently, OP, NP, DBP and DCHP that showed agonist activity in E-screen assay were classified into comparatively similar groups. Moreover, OCS and BP that did not show proliferation to MCF7 were classified into similar groups and TBT that checked proliferation to MCF7 was classified into another group.