

## Neuro2a 細胞における 2,3,7,8-TCDD の遺伝子発現に及ぼす影響(2)

○赤星英一、菅野美津子

(株)東芝研究開発センター 新機能材料・デバイスラボラトリー

ダイオキシンをはじめとする内分泌攪乱化学物質が脳神経系の発達・機能発現に影響を及ぼす可能性が指摘されている。脳神経系の正常な発達には内分泌ホルモン類が重要な役割を果たすが、なかでも甲状腺ホルモン(T3)は神経回路の形成とその活動の促進に関与することが報告されており、ダイオキシン類が甲状腺ホルモンを標的として脳神経系に影響を及ぼしている可能性が示唆されている。そこで我々は、ダイオキシンが甲状腺ホルモンの攪乱を介して脳神経系に与える影響を遺伝子発現レベルで検討するため、*in vitro* 培養系をもちいてダイオキシン応答遺伝子の探索をおこなったので報告する。

細胞には、マウス神経芽細胞種 Neuro2a をもちいた。Neuro2a は T3 に感受性があり、T3 により神経突起が伸長することが知られている。ダイオキシン応答遺伝子の探索には蛍光ディフュージョン・ディスプレイ(FDD)法をもちいた。30nM T3 の存在下、10nM 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)添加/非添加条件で Neuro2a を 24 時間培養後、抽出した total RNA をもちいて FDD をおこない 51 遺伝子を単離した。特異的なプライマーによる RT-PCR 解析をおこない、最終的にダイオキシン応答遺伝子 10 遺伝子を得た。発現量が増加した遺伝子、減少した遺伝子はともに 5 遺伝子であり、その中には新規性の高い遺伝子が 4 遺伝子含まれていた。

これらの単離したダイオキシン応答遺伝子には、従来 TCDD 応答性が確認された遺伝子がほとんど含まれていなかったことから、TCDD の作用濃度および作用時間に対する応答性について解析をおこなっている。

### Identification of 2,3,7,8-TCDD inducible / suppressive genes in Neuro2a (2)

○Eiichi Akahoshi, Mitsuko Ishihara-Sugano

Advanced Materials & Devices Laboratory, Corporate Research & Development Center, Toshiba Corporation.

They have reported that Endocrine disruptors (EDs) such as dioxins have various neurotoxic effects. EDs may also affect the development of brain through disturbances of thyroid hormone actions. To analyze the neurotoxicity of dioxins in the gene expression level, we have isolated dioxin-responsive genes.

Mouse neuroblastoma cell line Neuro2a can develop neurites in response to triiodothyronine (T3). We treated Neuro2a with or without 10 nM 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) for 24 hours in the presence of 30 nM T3 and we extracted total RNAs from Neuro2a to each other. Using fluorescent differential display (FDD) followed by RT-PCR analysis, we confirmed that ten genes were TCDD-responsive.

Because most of them were not known as dioxin-responsive genes, we are analyzing both dose- and time-dependency of their expression based on the TCDD treatment.