

養成技術者の研究・研修成果等

1. 養成技術者氏名：増尾好則

2. 養成カリキュラム名：高齢化に伴う脳障害の機序解明における遺伝子工学技術の応用

3. 養成カリキュラムの達成状況

脳障害の機序解明を目指し、遺伝子工学技術を応用した研究を行うというカリキュラムはほぼ達成したと考える。実施項目として掲げた、モデル動物の作製、DNA アレイ法による遺伝子発現変化の解析、real-time PCR 法による遺伝子発現変化の解析、蛋白質および受容体の脳内局在、細胞内シグナル伝達系の解析、および生理学的解析は全て行うことができた。

4. 成果（A 4版3枚程度）

NEDO 技術者養成事業フェローの申請時、研究対象は高齢化に伴う脳障害を考慮した。しかし、脳梗塞・心筋梗塞などによる血管性痴呆や神経変性疾患に関しては、近年、他グループの研究が非常に進んでいる。したがって、テーマの新規性および重要性を考慮した上で、対象疾患として脳の凍結障害や発達障害に若干軌道修正することとしたが、脳障害の機序解明における遺伝子工学技術の応用という点は全く変更していない。実際には、大脳皮質の凍結障害が脳に及ぼす影響や脳の発達障害の機序解明を目指し、研究を行った。発達障害としては多動性障害モデルラットを作製した。また、最近注目されつつある内分泌攪乱化学物質が脳の発達障害を引き起こす可能性の検討も含めて、多岐に渡る脳障害の機序に関する研究を行った。これら実験動物の行動科学的解析、解剖学的解析を行うとともに、脳内の遺伝子発現変化を調べた。内分泌攪乱化学物質は幼若期の脳に影響を及ぼし、発達障害を引き起こす可能性が示唆されたため、当初考慮していた高齢化に伴う脳障害の一つであるパーキンソン病モデル動物の解析も行った。成果は国内外の専門誌および学会で発表し、未だ遺伝子工学技術の応用が充分でない神経科学領域の研究者に評価して頂いている。

1) 凍結障害がマウス大脳皮質に及ぼす影響

近年、脳における神経細胞死がさまざまな神経変性疾患の原因として注目されている。一方、脳外科領域では脳部位の破壊、切除のために二酸化炭素または液体窒素による低温を局所的に使用する冷凍外科手術 cryosurgery が行われている。神経細胞の凍結障害は神経細胞死を引き起こすことが知られているが、神経が死に至るメカニズムの詳細は未だに不明である。したがって、大脳皮質の凍結障害が遺伝子発現変化に及ぼす影響を解析した。ICR 系成熟雄性マウスを麻酔し、頭皮を切開して頭骨を露出した。頭骨をキムワイプで充分拭き乾燥させた後、予めドライアイスで冷却したマイクロスパーテルを頭頂骨に5秒間接触させた。対照群には、室温のマイクロスパーテルを用いて同様の手術を施した。術後、6時間および1, 3, 5, 7日後に断頭し、直ちに氷上で大脳皮質を摘出し、液体窒素で凍結した。大脳皮質は解析まで-80℃にて保存した。組織試料から total RNA を抽出し、遺伝子発現解析を行った。また、組織学的解析を行うため、一部のラットについては全脳を摘出後4%パラホルムアルデヒド溶液にて固定した。脳はパラフィン包埋し、マイクロトームにて切片を作製した。まず、Nissl 染色によって神経細胞を可視化した結果、凍結障害後1日経過すると核萎縮を呈した萎縮細胞が大脳皮質表層部に多く認められたが、深部には認められなかった。術後3, 5, 7日と経過するごとに萎縮細胞は深部にまで認められるようになり、死細胞数は明らかに増加していた。

凍結障害時には組織内のエンドセリン (ET) 含量が増加し、細胞修復に関与している可能性が考えられるため、real-time PCR 法を用いて ET ファミリー遺伝子の発現変化を解析した。ET-1 mRNA は凍結障害後5および7日目に有意な増加を示した。本結果は、凍結障害後に ET-1 遺伝子の発現上昇が生じ、ET-1 ペプチドが増加することを示唆するものであり、ET-1 ペプチドが神経細胞死抑制的に働いている可能性を支持する。また、本結果は、ET-1 ペプチドが神経細胞死抑制的に働いているとする仮説を支持するものである。また、vasoactive intestinal contractor (VIC)/ET-2 遺伝子は3, 5日目に有意に低下したことから、VIC/ET-2 も神経細胞死に関与している可能性が考えられる。大脳皮質の遺伝子発現量変化を網羅的に検

索するため、上記動物の脳より RNA を抽出し、遺伝子 1,176 種を含有する DNA マクロアレイ (BD Bioscience Clontech 社) を用いて遺伝子プロファイリングを行ったところ、凍結障害との関連が未知であった遺伝子群の発現変化が見いだされた。これらの技術は脳障害の機序解明以外にも応用し得たため、共同研究として抹消臓器の解析も行った。マウス遺伝子 1,170 種を含有する DNA アレイ (BD Bioscience Clontech 社) を用いて遺伝子プロファイリングを行ったところ、凍結障害に起因して種々の遺伝子の発現変化が見いだされた。

2) 多動性障害モデルラットの解析

脳の発達障害において最近注目されている疾患に自閉症を含む広汎性発達障害および注意欠陥多動性障害 (ADHD) がある。これらの患者の特徴は児童～学童期に示す行動異常であり、相応しくない場での落ち着きの無さ、多動として現れる。また、言語の獲得が遅延し、成人してからも社会適応が困難な場合が多い。米国では 3～7% の児童が自閉症/ADHD であるといわれており、社会的に大きな問題になっているが、病因は未だ不明である。興味深いことに、患者が示す多動は中枢神経刺激剤 (ドーパミン神経賦活剤) により改善されるケースが少なくない。この場合の多動は、ドーパミン神経の発達障害によるものであると考えられる。我々は、多動障害の機序解明を目指し、ラット脳内のドーパミン神経の発達を阻害して多動障害モデルを作製し、行動科学的、解剖学的、および遺伝子解析を行った。

生後 5 日齢の Wistar 系雄性ラットに desipramin を腹腔内投与し、ノルアドレナリン取込み部位をブロックした。その 30 分後にカテコールアミンを枯渇させる神経毒である 6-hydroxydopamine を大槽内 (脳内) 投与した。4 週齢および 10 週齢で断頭し、速やかに前頭葉皮質、線条体、中脳を摘出して高速液体クロマトグラフィー-電気化学検出器にて内因性カテコールアミン含量を測定した。その結果、本処置によりドーパミン神経の発達は障害されたが、ノルアドレナリン作働性神経はほぼ正常に発達したことを示唆するデータが得られた。この結果は、カテコールアミン合成の律速酵素である tyrosine hydroxylase の免疫組織化学染色の結果によっても支持された。このようにドーパミン神経が特異的に障害されたラットにおいて、4 週齢時に Supermex (遠赤外線を利用した行動量測定装置) を用いて行動解析を行ったところ、自発運動量は対照群に比し有意に亢進していた。しかし、過活動である以外に特に行動異常は認められなかった。立ち上がり行動、探索行動や常同行動などの定量は今後の課題である。6-Hydroxydopamine によって惹起された多動は、中枢神経系刺激剤の一つであるメタンフェタミン投与によって抑制され、メタンフェタミン非投与対照群の行動量と同等のレベルまで低下した。したがって、本処置ラットは、行動科学的な見地から、中枢神経系刺激剤応答性の多動性障害モデル動物であることが示唆された。

遺伝子発現変化を網羅的に調べるため、4 および 8 週齢の線条体および中脳を摘出して RNA を抽出した。得られた RNA を用いて DNA アレイ解析を行った結果、4 週齢の線条体で NMDA 受容体 1 とタキキニン 1,2 の遺伝子発現が増加していることを見いだした。一方、 γ -アミノ酪酸 (GABA)・トランスポーター遺伝子の発現は低下していた。したがって、線条体のグルタミン酸神経伝達および GABA 作働性神経の機能が亢進していると考えられた。タキキニンは線条体-黒質および線条体-淡蒼球系 GABA 神経と共存していることが分かっているので、タキキニン遺伝子発現の増加も GABA 神経の機能亢進を支持するものである。これらの遺伝子発現変化は、多動が最も顕著な時期に認められる変化であり、多動障害の成因に関わっている可能性が高いと考えられる。8 週齢の線条体では、NMDA 受容体 1 遺伝子の発現は低下し、グルタミン酸/アスパラギン酸・トランスポーター遺伝子の発現が増加した。中脳では、4 週齢において特筆すべき遺伝子発現の亢進は認められなかったが、8 週齢でドーパミン・トランスポーター、D4 受容体およびタキキニン 2 を含む神経ペプチドやその受容体等の遺伝子発現が増加した。本結果は、線条体におけるグルタミン酸、GABA およびタキキニン神経が児童～学童期の多動発現に重要な役割を果たしていること、また、ドーパミンやペプチド性神経がその後の代償作用に関与している可能性を示唆するものである。本研究では線条体と中脳を調べたが、自発運動には中脳-辺縁系の諸部位が関与していることを考慮すると、今後、前頭葉皮質、側坐核も含めた幅広い解析を行う必要があると考える。

3) 内分泌攪乱化学物質による脳の発達障害

最近、内分泌攪乱化学物質 (内分泌攪乱化学物質) が生体におよぼす影響が注目されているが、研究のほとんどは生殖器を対象としたものであり、脳に及ぼす影響の詳細は不明といわざるを得ない。しかしながら、胎児期、授乳期は血液-脳関門が未熟な時期であり、内分泌攪乱化学物質が摂取される可能性は充分考えられるため、脳が影響を受けている可能性は高いと考える。また、内分泌攪乱化学物質はエス

トロジェン様作用を有することからも、中枢神経系、特にドーパミン系に影響を及ぼす可能性があると考えられる。我々は、内分泌攪乱化学物質を幼弱期の脳に直接投与した場合の影響を調べ、内分泌攪乱化学物質が多動障害の成因に関与している可能性を調べた。その結果、内分泌攪乱化学物質の中から、発達障害モデルと同様に自発運動量の増加をひき起こす化合物を数種見いだした。

内分泌攪乱化学物質を生後 5 日齢の Wistar 系雄性ラットに大槽内投与し、4 週齢における自発運動量を測定した。現在までに、内分泌攪乱化学物質候補化合物 20 種およびビスフェノールの類縁化合物 2 種について検索した。その結果、ビスフェノールをはじめとするフェノール類およびフタル酸エステル類を中心として、有意に多動を引き起こす化合物が見いだされた。内分泌攪乱化学物質によって引き起こされる多動は、上記ドーパミン神経の発達障害ラットが示す行動パターンと類似していた。しかしながら、ドーパミン神経の発達障害の場合には暗期でのみ多動が認められたのに対し、内分泌攪乱化学物質による多動は明期においても観察された。したがって、免疫組織化学的手法によりドーパミン神経系の発達を調べたところ、bisphenol A、nonylphenol、*p*-octylphenol は 6-hydroxydopamine と同様にドーパミン神経の発達を阻害したが、diethylhexylphthalate (DEHP) ではドーパミン神経は障害されていないことが判明した。この結果は、ドーパミン神経の発達が阻害されていない場合においても自発運動量の亢進が惹起され得ることを示すものである。線条体と中脳における遺伝子発現を DNA アレイ法により解析したところ、内分泌攪乱化学物質投与後の遺伝子発現変化パターンは 6-hydroxydopamine 投与後とは異なっており、しかも内分泌攪乱化学物質間でも変化にばらつきがあることが分かった。したがって、内分泌攪乱化学物質投与による多動は、ドーパミン神経が特異的に障害された場合とは異なる機序によるものであると考えられる。この機序の解明は今後の課題であるが、幼若期における内分泌攪乱化学物質投与ラットは、多動性障害のモデル動物になり得ると考えられる。実際、多動障害患者の臨床症状は一様でなく、多動障害を抑制する薬剤のスペクトルも極めて広汎であることから、多動障害の病因は一様でないことが充分考えられる。したがって、内分泌攪乱化学物質が脳の発達に及ぼす影響を解析することは、多動障害の多様な機序を解明していく上で重要であると考えられる。

4) パーキンソン病モデルラットの解析

我々は、上記研究において、内分泌攪乱化学物質が幼若期ラットの脳に移行した場合に神経発達を障害する可能性があることを示した。本研究では、内分泌攪乱化学物質が成熟した脳に及ぼす影響を調べた。ドーパミン神経関連の神経内科領域の疾患としてパーキンソン病が知られている。パーキンソン病は、通常壮年期以降に発症する神経変性疾患で、無動症、振戦および筋硬直を特徴とする。ドーパミン神経の変性脱落が顕著であることから、ドーパミンの前駆物質である L-ドーパ療法が効を奏するが、神経の退行性変性は阻止し得ないため、効果は一過性である。パーキンソン病の原因遺伝子が同定されて久しいが、病因の機序は未だ不明である。本研究では、成熟ラットにおいて、ドーパミン神経が密に存在する黒質に 6-ヒドロキシドーパミンや内分泌攪乱化学物質を投与し、ドーパミン神経の変性脱落および行動変化を観察した。一側黒質に 6-hydroxydopamine を注入した場合、黒質-線条体系ドーパミン神経路が一側性に退行性変性を生じるため、その破壊側に向かう回旋運動を示すことが知られている。同様に内分泌攪乱化学物質を投与した後、この回旋行動の観察および tyrosine hydroxylase 免疫組織化学染色を行った結果、内分泌攪乱化学物質のなかには、6-hydroxydopamine と同様にドーパミン神経を破壊するものがあることが分かった。本結果は、成熟した脳においても内分泌攪乱化学物質が神経毒性を示すことを示唆するものである。今後、遺伝子発現を網羅的に解析するとともに、環境中に存在する内分泌攪乱化学物質濃度および薬物動態などを調べる必要があると考える。

5. 成果の対外的発表等

(1) 論文発表 (論文掲載済、または査読済を対象。)

1. 斎田要, Zhao Hong, Sravan Kumar Goparaju, 牧山康志, 三井洋司, 岡修一, 小酒井貴晴, 坂手光恵, 石川陽子, 増尾好則, 馬替純二, 打出毅 血管作動性腸管収縮ペプチド(VIC)/エンドセリン-2 の前駆体遺伝子の子宮における発現変動と局在, 消化管ホルモン 19 (2001) 68-73.
2. Kozakai, T., Hong, Z., Sakate, M., Masuo, Y., Uchide, T. and Saida, K., Effects of aging and ethanol-induced gastric mucosal injury on gene expression rates of ET-1 and ET-2/VIC in the mouse stomach, *Clinical Sci.* 102 (2002) 11-14.

3. Uchide, T., Fujimori, Y., Sasaki, T., Temma, K., **Masuo, Y.**, Kozakai, T. and Saida, K., Expression of endothelin-1 and vasoactive intestinal contractor genes in mouse organs during the perinatal period, *Clinical Sci.* 102 (2002) 30-33.
4. Ishido, M., **Masuo, Y.**, Oka, S., Kunimoto, M. and Morita, M., Application of Supermex system to screen behavioral traits produced by tributyltin in the rat, *J. Health Sci.*, 48 (2002) 451-454.
5. Kozakai, T., Sakate, M., **Masuo, Y.**, Uchide, T. and Saida, K., Increased gene expression of endothelin-1 (ET-1) and vasoactive intestinal contractor/endothelin-2 (VIC/ET-2) in the mammary gland of lactating mice, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 297 (2002) 1339-1343.
6. **Masuo, Y.**, Ishido, M., Morita, M. and Oka, S., Effects of neonatal 6-hydroxydopamine lesion on the gene expression profile in young adult rats, *Neurosci. Lett.* 335 (2002) 124-128.
7. **Masuo, Y.**, Ishikawa, Y., Kozakai, T., Uchide, T., Komatsu, Y. and Saida, K., Vasoactive intestinal contractor/endothelin-2 gene expression in the murine central nervous system, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 300 (2003) 661-668.
8. Ishido, M., **Masuo, Y.**, Oka, S., Kunimoto, M. and Morita, M., Bisphenol A causes hyperactivity in the rat concomitantly with impairment of tyrosine hydroxylase immunoreactivity, *J. Neurosci. Res.* in press.
9. **Masuo, Y.**, Ishido, M., Morita, M. and Oka, S., Effects of neonatal treatment with 6-hydroxydopamine and endocrine disruptor on motor activity and gene expression in the rat, *Neural Plasticity* in press.
10. **Masuo, Y.**, Morita, M., Oka, S. and Ishido, M., Motor hyperactivity caused by the deficit in dopaminergic neurons and effects of endocrine disruptors. Study inspired by physiological roles of PACAP in the brain, *Regul. Peptides* in press.
11. Ishido, M., Morita, M., Oka, S. and **Masuo, Y.**, Alteration by endocrine disruptors of gene expression of G protein-coupled receptors in the rat, *Regul. Peptides* in press.
12. Ishido, M. and **Masuo, Y.**, Transcriptome of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)-differentiated PC12 cells, *Regul. Peptides* in press.

(2) 口頭発表 (発表済を対象。)

1. 斎田 要, 打出 毅, 小酒井貴晴, **増尾好則**, 血管作動性腸管収縮ペプチド VIC の前駆体遺伝子の迅速高感度な発現定量法, 第23回ガットホルモンカンファレンス, 静岡, 7月21日, 2001年.
2. 小酒井貴晴, 坂手光恵, Zhao Hong, **増尾好則**, 打出 毅, 斎田 要, 絶食マウスの消化管における endothelin-1 遺伝子発現調節, 第23回ガットホルモンカンファレンス, 静岡, 7月21日, 2001年.
3. Kozakai, T., Hong, Z., Sakate, M., **Masuo, Y.**, Uchide, T. and Saida, K., The effects of aging on gene expression rates of ET-1 and ET-2/VIC in ethanol-induced gastric mucosal injury of the mouse, *7th International Conference on Endothelin*, Edinburgh, UK, Sep. 16-19, 2001.
4. Uchide, T., Adur, J., Kozakai, T., **Masuo, Y.**, Sasaki, T., Temma, K. and Saida, K., Differential expression of endothelin-1 and vasoactive intestinal contractor genes in organs of developing mouse, *7th International Conference on Endothelin*, Edinburgh, UK, Sep. 16-19, 2001.
5. **増尾好則**, 石川陽子, 小酒井貴晴, 打出 毅, 斎田 要, 小松泰彦, 凍結障害がマウス大脳皮質の遺伝子発現に及ぼす影響, 第24回日本神経科学・第44回日本神経化学 合同大会 (Neuro2001), 京都, 9月26-28日, 2001年. *Neurosci. Res., Suppl.* 25 (2001) S56.
6. **Masuo, Y.**, Ishikawa, Y., Kozakai, T., Uchide, T., Saida, K. and Komatsu, Y., Vasoactive intestinal contractor (VIC)/endothelin-2 gene expression in the murine CNS and effects of cold injury, *31st Annual Meeting Society for Neuroscience*, San Diego, California, USA, Nov. 10-15, 2001.

7. 石堂正美, **増尾好則**, 小松泰彦, 森田昌敏, 内分泌攪乱化学物質の大槽内投与が幼弱ラットの自発運動量に及ぼす影響, 第4回内分泌攪乱化学物質学会研究発表会, つくば, 12月14-15日, 2001年.
8. **増尾好則**, 石堂正美, 森田昌敏, 小松泰彦, 内分泌攪乱化学物質がラット中枢神経系に及ぼす影響, ライフサイエンス分野融合会議・生命工学部会バイオテクノロジー研究会 合同研究発表会・講演会, 2月7-8日, 2002年.
9. **増尾好則**, 石堂正美, 森田昌敏, 小松泰彦, 内分泌かく乱化学物質の大槽内投与がラット中枢神経系に及ぼす影響, 第79回日本生理学会大会, 広島, 3月28-30日, 2002年. *Japan. J. of Physiol.* 52 Suppl. (2002) S217.
10. 石堂正美, **増尾好則**, 小松泰彦, 国本 学, 森田昌敏, ビスフェノールAによるラット脳の発達障害, 第25回日本神経科学大会, 東京, 7月7-9日, 2002年.
11. **増尾好則**, 石堂正美, 森田昌敏, 小松泰彦, 多動障害モデルラットにおける脳内遺伝子発現: DNA アレイ解析, 第25回日本神経科学大会, 東京, 7月7-9日, 2002年. *Neurosci. Res.*, Suppl. 26 (2002) S51.
12. 石堂正美, **増尾好則**, 岡 修一, 国本 学, 森田昌敏, 内分泌攪乱化学物質によるラット脳の発達障害, 第75回日本生化学会大会, 京都, 10月14-17日, 2002年.
13. **Masuo, Y.**, Ishido, M., Morita, M. and Oka, S., Gene expression profiling in the CNS of hyperkinetic child model rats, 32nd Annual Meeting Society for Neuroscience, Orlando, Florida, USA, Nov. 2-7, 2002.
14. Ishido, M., **Masuo, Y.**, Oka, S., Kunimoto, M. and Morita, M., A new screening system for behavioral traits produced by endocrine disruptors, 32nd Annual Meeting Society for Neuroscience, Orlando, Florida, USA, Nov. 2-7, 2002.
15. 石堂正美, **増尾好則**, 国本 学, 森田昌敏, 岡 修一, 内分泌攪乱化学物質の発達期ラット脳への投与による多動性障害, 第5回内分泌攪乱化学物質学会研究発表会, 広島, 11月25-26日, 2002年.
16. **増尾好則**, 石堂正美, 国本 学, 森田昌敏, 岡 修一, 内分泌攪乱化学物質によるラット多動障害, 第5回内分泌攪乱化学物質学会研究発表会, 広島, 11月25-26日, 2002年.
17. **増尾好則**, 石堂正美, 国本 学, 森田昌敏, 岡 修一, 6-ヒドロキシドーパミンおよび内分泌攪乱化学物質による多動性障害, 第80回日本生理学会大会・第76回日本薬理学会年会合同大会, 福岡, 3月24-26日, 2003年. *Japan. J. of Physiol.* 53 Suppl. (2003) S319.
18. 石川陽子 小酒井貴晴, 森田初恵, 齊田 要, 小松泰彦, 岡 修一, **増尾好則**, Real-time PCR を用いたマイクロプラズマ検出法の開発, 日本組織培養学会第76回大会, 東京, 5月22-23日, 2003年.
19. **増尾好則**, 石堂正美, 森田昌敏, 岡 修一, 内分泌攪乱化学物質によって惹起される多動の解析, 第26回日本神経科学大会, 名古屋, 7月23-25日 2003年. *Neurosci. Res.* 46 Suppl. 1 (2003) S57.
20. 石堂正美, **増尾好則**, 岡 修一, 国本 学, 森田昌敏, ビスフェノール A によるラット多動障害の分子機構, 第26回日本神経科学大会, 名古屋, 7月23-25日 2003年. *Neurosci. Res.* 46 Suppl. 1 (2003) S58.
21. **Masuo, Y.**, Oka, S., Morita, M. and Ishido M. Physiological roles of PACAP in the central nervous system and endocrine disruptors, 6th International symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, Hakone, Japan, Sep. 1-4, 2003. (口頭発表およびオーガナイザー: the Professor Noboru Yanaihar Memorial Session) *Regulatory peptides*, 115 (2003) 63.
22. Ishido, M., Morita, M., Oka, S. and **Masuo, Y.**, Alterations by endocrine disruptors of gene expression of G-protein-coupled receptors in the rat brain, *Symposium on GPCRs Satellite Symposium of the 6th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides*, Hakone, Japan, Sep. 4, 2003. *Regulatory peptides*, 115 (2003) 68.
23. 石堂正美, **増尾好則**, 国本 学, 岡 修一, 森田昌敏, ビスフェノール A によって惹起される過活動の分子メカニズム, 第76回日本生化学会大会, 横浜, 10月15-18日, 2003年. (招待)

24. **Masuo, Y.**, Ishido, M., Morita, M. and Oka, S., Motor hyperactivity and gene expression in rats with neonatal 6-hydroxydopamine lesions, *33rd Annual Meeting Society for Neuroscience*, New Orleans, USA, Nov. 8-12, 2003.
25. Ishido, M., **Masuo, Y.**, Kunimoto, M., Oka, S. and Morita, M., DNA array analyses of endocrine disruptor-caused behavioral hyperactive rats, *33rd Annual Meeting Society for Neuroscience*, New Orleans, USA, Nov. 8-12, 2003.
26. **増尾好則**, ドーパミン神経欠損による多動性障害と内分泌攪乱化学物質の影響, 第12回海馬と高次脳機能学会, 東京, 11月23-24日, 2003年. (招待)
27. **増尾好則**, 石堂 正美, 森田 昌敏, 岡 修一, 内分泌攪乱化学物質とドーパミン神経系疾患, 第6回内分泌攪乱化学物質学会研究発表会, 仙台, 12月2-3日, 2003年.
28. 石堂 正美, **増尾好則**, 岡 修一, 森田 昌敏, 内分泌攪乱化学物質と脳の発達障害, 第6回内分泌攪乱化学物質学会研究発表会, 仙台, 12月2-3日, 2003年.
29. 石堂 正美, **増尾好則**, 鈴木 純子, 国本 学, 岡 修一, 森田 昌敏, フタル酸ジシクロヘキシルによるラット多動性障害, 第6回内分泌攪乱化学物質学会研究発表会, 仙台, 12月2-3日, 2003年.
30. 石堂正美, **増尾好則**, 岡 修一, 森田昌敏, The molecular basis of bisphenol A-caused hyperactivity in the rat, 第26回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月10~13日, 2003年.
31. Kozakai, T., Sakate, M., **Masuo, Y.**, Uchide, T. and Saida, K., Increased gene expression of endothelin-1 and vasoactive intestinal contractor/endothelin-2 in the mammary gland of lactating mice, 第26回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月10~13日, 2003年.
32. 石川陽子, 小酒井貴晴, 森田初恵, 斉田 要, 小松泰彦, 岡 修一, **増尾好則**, リアルタイム PCR インターカレーター法によるマイコプラズマの検出, 第26回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月10~13日, 2003年.
33. 松本羊子, **増尾好則**, 岡 修一, DNA マクロアレイを用いた凍結ストレスに対するマウス皮膚組織の遺伝子発現解析, 第26回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月10~13日, 2003年.
34. 石川陽子, 小酒井貴晴, 森田初恵, 斉田 要, 小松泰彦, 岡 修一, **増尾好則**, 新規マイコプラズマ検出法の開発, ライフサイエンス分野融合会議・生命工学部会バイオテクノロジー研究会 合同研究発表会・講演会, 2月3-4日, 2004年.
35. 松本羊子, 岡 修一, **増尾好則**, 凍結ストレスを与えたマウス皮膚組織の遺伝子発現応答, ライフサイエンス分野融合会議・生命工学部会バイオテクノロジー研究会 合同研究発表会・講演会, 2月3-4日, 2004年.

(3) 特許等 (出願番号を記載)

なし。