

酵母 Two-Hybrid 法を用いた化学物質のアンドロジェン様作用及び抗アンドロジェン作用の評価

高取 聡、北川陽子、小西良昌、織田 肇、西川淳一¹⁾、西原 力¹⁾、中澤裕之²⁾、堀伸二郎
大阪府立公衆衛生研究所、¹⁾大阪大学大学院薬学研究科、²⁾星薬科大学

【目的】酵母 Two-Hybrid 法を用いて化学物質のアンドロジェン様作用及び抗アンドロジェン作用を調べた。

【方法】アンドロジェン受容体の発現遺伝子、転写共役因子の発現遺伝子及びレポーター遺伝子として β -ガラクトシダーゼを組み込んだ酵母に化学物質を 30°C で 4 時間作用させた。このとき酵母内に産生された β -ガラクトシダーゼ活性を測定し、化学物質のアンドロジェン様作用の指標とした。また、アンドロジェン受容体のアゴニストである 5 α -ジヒドロテストステロン (DHT, 0.02 μ M) 存在下で同様に酵母に化学物質を作用させた。HT 単独作用時に酵母内に産生される β -ガラクトシダーゼ活性と比較し、化学物質の抗アンドロジェン作用を評価した。

【結果及び考察】約 100 種類の化学物質のアンドロジェン様作用を評価した結果、DHT にのみ作用が認められた。アンドロジェン受容体に対するアンタゴニストである p,p'-DDE 及びフェニトロチオンは、DHT の作用によって産生される β -ガラクトシダーゼ活性を低下させた。このとき、化学物質による酵母への毒性は、認められなかった。これらの結果より酵母 Two-Hybrid 法は、化学物質のアンドロジェン様作用及び抗アンドロジェン作用を評価するうえで有用があることが分かった。

Detection of Androgenic and Antiandrogenic Activities of Chemicals Using a Yeast Two-Hybrid Assay

Satoshi Takatori, Yoko Kitagawa, Yoshimasa Konishi, Hajime Oda, Jun-ichi Nishikawa¹⁾,

Tsutomu Nishihara¹⁾, Hiroyuki Nakazawa²⁾ and Shinjiro Hori

Osaka Prefectural Institute of Public Health,¹⁾ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, ²⁾ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hoshi University, Japan.

The androgenic and antiandrogenic activities of chemicals were examined with a yeast two-hybrid assay. In this study, we used the yeast two-hybrid assay with the androgen receptor and the coactivator, SRC1. For detecting androgenic activities of chemicals, the yeast transformants, expressing GAL4DBD-ARLBD and GAL4AD-SRC1, were incubated with chemicals at 30 °C for 4 h. Subsequently, the β -galactosidase (a reporter gene product of the assay system) activities in the yeast transformants were measured. Except 5 α -dihydrotestosterone (DHT), all chemicals examined in this assay system did not exhibit androgenic activities. For detecting antiandrogenic activities of chemicals, the yeast transformants were incubated with chemicals at 30 °C for 4 h in the presence of DHT (0.02 μ M). p,p'-DDE and fenitrothion reduced DHT-dependent androgen receptor activity. The assay system would be useful for detecting androgenic and antiandrogenic activities of chemicals. GAL4DBD, GAL4 DNA binding domain; GAL4AD, GAL4 activation domain; ARLBD, androgen receptor ligand binding domain.