

アフリカツメガエル初代培養肝細胞を用いた複数種ホルモン作用の一括検索法の開発

三井直子¹、戸笈修¹、河原明²

¹東和科学(株)、²広島大学総合科学部行動科学講座

産卵性脊椎動物の初代培養肝細胞はそのビテロジェニン合成を指標として、エストロゲン様作用化学物質の検索に用いられている。この検索系は他の様々なホルモン作用の検索にも使用できると考えられる。このような複数種ホルモン作用の一括検索法開発のための第一歩として、本研究ではエストロゲン作用に加えグルココルチコイドホルモン作用について解析した。指標タンパク質としてビテロジェニン、血清アルブミン、トランスフェリンを測定するために、アフリカツメガエルから精製した各タンパク質に対する HRP 標識抗体を作成した。

肝細胞培養上清の ELISA 法による解析の結果、 17β -エストラジオールによるビテロジェニン合成誘導は 0.1nM 以上で認められ、 100nM で最大となった。デキサメタゾンによるトランスフェリンの合成誘導は少なくとも 0.1nM 以上で検出され、 100nM で最大となった。なお、このことはウェスタン解析でも確認された。さらに、既知の幾つかの内分泌攪乱物質についてもその肝細胞に対する作用を本研究で解析したので、その結果も報告する。

A screening system capable of detecting multiple hormonal activities in the primary culture of *Xenopus* hepatocytes

Naoko Mitsui¹, Osamu Tooi¹, and Akira Kawahara²

¹ Towa Kagaku Corporation. Ltd., ² Faculty of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University

Vitellogenin synthesis in primary-cultured hepatocytes of oviparous vertebrates is used as an indicator to detect estrogenic activity of environmental chemical substances. This culture system is thought to be also useful for detecting other hormonal activities. We are developing such an assay system to evaluate multiple hormonal actions using the primary culture of *Xenopus* hepatocytes. As a preliminary step, we examined two different actions of estrogen and glucocorticoid hormones. By ELISA of the conditioned culture media, it was found that the cells treated with 0.1 nM estradiol- 17β produced a detectable amount of vitellogenin. The amount reached the maximum by treatment with around 100 nM . Dexamethasone (synthetic glucocorticoid hormone) induced transferrin synthesis at a concentration of more than 0.1 nM and the maximum induction was observed at approx. 100 nM . These induced proteins were also detected by Western blot analysis. Furthermore, using these two proteins as indicator, we tested several chemicals suspected of endocrine disrupting action.