

ラットを用いた 10 日間投与による Hershberger assay における Flutamide の抗雄性ホルモン様作用の検出：ホルマリン固定後の副生殖器重量測定法の検証

角南 整、山田智也、国松武史、川村 聡、関 高樹、奥野泰由、中塚 巖、松尾昌季
住友化学工業株式会社 生物環境科学研究所

【目的】 Hershberger Assay は、(抗)雄性ホルモン様作用を持つ化学物質の *in vivo* スクリーニング法として提案されている。今回、経済協力開発機構(OECD)のプロジェクトの一環として、国際的に標準化された試験法を確立すべく、Hershberger Assay における Flutamide(抗雄性ホルモン様作用物質)の検出感度を検討した。さらに、副生殖器を固定後に分離・測定することによる検出感度への影響についても検討した。

【方法】 6 週齢の Crj:CD(SD)IGS 雄ラットを去勢し、術後 1 週間から、Flutamide (0、0.1、0.3、1.0、3.0 および 10.0 mgg/day、p.o.) および Testosterone Propionate(0.2 mg/kg/day、s.c.)を連続 10 日間、同時に投与した。最終投与の翌日、前立腺腹葉および背側葉、精囊(凝固腺含む)、肛門挙筋+球海綿体筋(筋肉)、尿道球腺、陰茎亀頭を摘出し、以下のように重量を測定した。《実験 I》いずれの器官についても、固定せずに重量を測定した。《実験 II》筋肉および陰茎亀頭は固定せずに重量を測定した。尿道球腺ならびに ASG unit [前立腺腹葉および背側葉、精囊(凝固腺含む)を一括して摘出]は一昼夜 10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した後、各器官を分離およびトリミングし、重量を測定した。

【結果および考察】《実験 I》Flutamide の投与により、0.3 mg/kg 以上の群で副生殖器重量の低値が認められた。《実験 II》実験 I より低用量(0.1 mg/kg)から Flutamide の影響が検出された。また、解剖は実験 I より短時間にて実施できた。以上の結果より、OECD の提案する試験法において、抗雄性ホルモン様作用物質を正確に検出できることが明らかとなった。また、副生殖器を固定後に分離・測定する系についても、スクリーニング系として十分な精度と実用性を有するものであることが明らかになった。

(本研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構の資金により実施した。)

Reliability of the Rat 10-Day Hershberger Assay for Detection of Antiandrogenic Activity of Flutamide: Evaluation for Method of Organ Gravimetry after Formalin Fixation

Osamu Sunami, Tomoya Yamada, Takeshi Kunimatsu, Satoshi Kawamura, Takaki Seki, Yasuyoshi Okuno, Iwao Nakatsuka, Masatoshi Matsuo.

Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chem. Co. Ltd., Japan

For Hershberger assay, reliability of protocol proposed by the OECD, and reliability and feasibility of dissection and weighing of accessory sex glands (ASGs) after formalin fixation were evaluated in this study. [Method] Castrated male Crj:CD(SD)IGS rats (7 week-old) were treated daily with flutamide (0, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 and 10.0 mg/kg/day, p.o.) and testosterone propionate (0.2 mg/kg/day, s.c.) for 10 days. One day after the final treatment, prostate, seminal vesicles, muscles (*levator ani plus bulbocavernosus* muscles), Cowper's glands and glans penis were removed and weighed as following methods: (Exp.1) all tissues were weighed without fixation, (Exp.2) muscles and glans penis were weighed without fixation, and prostate, seminal vesicles and Cowper's glands were dissected and weighed after 24-hour fixation. [Results and discussion] Antiandrogenic effect was detected at 0.3 mg/kg and higher in Exp.1, but at lower levels (0.1 mg/kg) in Exp.2, with shorter period of necropsy. These findings demonstrated that the protocol proposed by the OECD is reliable, and that dissection and weighting of ASGs after fixation are also reliable and feasible. (This study was conducted by the fund from NEDO.)