

メダカビテロゲニン ELISA 法を用いた DEHP (フタル酸ジエチルヘキシル) によるメダカビテロゲニンへの影響評価について

○宮武 和孝 1)、竹野 隆太 1)、中澤 昌美 1)、切畑 光統 1)、小崎 俊司 1)、奥山 亮 2)、
西 和人 2)、羽田野 泰彦 2)、水上 春樹 2)、民谷 栄一 3)、榊原 隆三 4)

(1)大阪府立大学大学院、2) (株)エンバイオテックラボラトリーズ、3)北陸先端科学技術大学院大学、4)九州女子大学)

[目的]

内分泌攪乱物質 (環境ホルモン) と呼ばれる物質の生体への影響が問題視されるようになってきた。これまで多くの研究機関や企業がその作用と検出方法についての研究を行い、ノニルフェノールやビスフェノール A の雌化への影響が明らかになった。これらの化合物同様、プラスチックなどの可塑剤として使用されている DEHP (フタル酸ジエチルヘキシル) が環境中に溶け出していることが判明し、DEHP についてもその内分泌攪乱性が疑われている。そこで本研究では市販のメダカを使ったビテロゲニン ELISA キットを用いて、DEHP についてその内分泌攪乱性への影響評価について検討した。

[方法]

1ppb、10ppb、100ppb、1ppm、10ppm、100ppm の 6 段階の DEHP 濃度でメダカで 1 週間曝露を行い、その血中ビテロゲニン濃度を市販 (アマージャム社) ELISA のサンドイッチ法により測定した。また、ポジティブコントロールとして、エストラジオール (50ppt) とビスフェノール A (1ppm) に対しても曝露を行い、その結果とも比較した。

[結果]

今回の測定において、DEHP 曝露試験による、血中のビテロゲニンの増加は濃度依存性を示さなかった。また、残存率にも影響が見られなかった。エストロゲン作用を持ち、エストラジオールの千分の一程度の活性と言われるビスフェノール A と 1ppm で比べても DEHP の活性は認められなかった。以上の結果から、DEHP はメダカにおいてエストロゲン作用は起こさず、ビテロゲニンを指標とした測定キットでは DEHP の影響はないと結論した。

Evaluation of Effect of Diethylhexylphthalate on Medaka (*Oryzias latipes*) Vitellogenin by ELISA Method

○Kazutaka Miyatake 1), Ryota Takeno 1), Masami Nakazawa 1), Mitsunori Kirihata 1), Syunji Kozaki 1), Ryo Okuyama 2), Kazuto Nishi 2), Yasuhiko Hatano 2), Haruki Mizukami 2), Eiichi Tamiya 3), Ryuzo Sakakibara 4)

(1) Graduate School of Osaka Prefecture University, 2) EnBiotec Laboratories, CO., Ltd., 3) Japan Advanced Institutes of Science and Technology, 4) Kyushu Women's University

Effect of Diethylhexylphthalate (DEHP) on medaka serum vitellogenin (VTG), which has been proposed as an ideal biomarker for the detection of the estrogenic effect of endocrine disruptors, was evaluated by the ELISA method using a monoclonal antibody for medaka-VTG. Ten medakas in each group were exposed in some estrogenic chemicals including DEHP for one week. A commercial monoclonal VTG assay kit was purchased and sandwich ELISA was adapted for measurement of plasma VTG in medaka following exposure. DEHP did not show concentration dependency on the medaka survival rate. Increases of VTG production were observed in estradiol or bisphenol-A exposed medakas and the magnitude of the VTG production depended on the concentration of two positive control chemicals. However, plasma VTG concentrations did not exhibit a concentration-dependent response to DEHP. From the result, we concluded that DEHP has no estrogenic effect on medaka.