

## Flutamide により誘発された停留精巣の精巣挙筋における筋蛋白質の免疫組織学的変化について

豊田直二<sup>1</sup>、戸邊豊総<sup>2</sup>、松野義晴<sup>1</sup>、高 圭範<sup>1</sup>、高野海哉<sup>1</sup>、小宮山政敏<sup>1</sup>、森 千里<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>千葉大学医学研究院環境生命医学、<sup>2</sup>遺伝子機能病態学、<sup>3</sup>科学技術振興事業団 CREST

【目的】 環境中に存在する多くの化学物質の中には内分泌攪乱作用を持ち、生殖器の発生発達異常(停留精巣等)を誘発することがわかっている。当研究では昨年に続き、androgen antagonist (flutamide)処理の停留精巣ラットをモデル動物として、筋蛋白質の発現を新しい抗体を用いて、免疫組織学的に調べた。本研究は内分泌攪乱と停留精巣の発生、および精巣下降のメカニズムを筋蛋白質のレベルで解明することを目的としている。

【方法】 妊娠 14 日のラットに flutamide (90mg/kg/day)を 6 日間投与し、生後 4-6 週の雄ラットで停留精巣のラットをモデル動物とした。精巣挙筋の凍結切片を作製し、蛍光抗体法により筋蛋白質の isoform を調べた。抗体は速筋 myosin 抗体(SC-71)、胚型 myosin 特異的抗体(BF-45)、全ての筋と反応する troponin 抗体(G5G4)および心筋と胚型 troponin に特異的な抗体(RV-C2)を使用した。正常ラットの精巣挙筋についても同様に調べ、停留精巣筋と比較した。

【結果と考察】 正常の精巣挙筋では 4、6 週とも SC-71 と G5G4 で染色された。しかし BF-45 では 4、6 週も染色されなかった。RV-C2 では 4 週の精巣挙筋を染色したが、6 週では染色されるものと、されないものがあった。すなわち 4 週では myosin はすでに親型であったが、troponin はまだ胚型が残っていた。停留精巣の精巣挙筋は 4、6 週とも SC-71、BF-45、G5G4、RV-C2 の全ての抗体で染色された。停留精巣の精巣挙筋は胚型であることが明らかとなった。また flutamide を投与して停留精巣にならなかった精巣挙筋も BF-45 と RV-C2 で弱く染色され、胚型の蛋白質も弱く発現していた。しかし精巣挙筋以外の咬筋、胸筋、腹斜筋では SC-71 と G5G4 のみで染色され親型の筋であった。停留精巣の精巣挙筋は胚型で他の筋は親型である傾向を示した。以上の結果より筋蛋白質の発現が精巣の下降と停留精巣の発生の機構に関係していることが示唆された。

### Immunohistochemical study on isoforms of cremaster muscle of cryptorchid rats induced by flutamide treatment

Naoji Toyota<sup>1</sup>, Toyofusa Tobe<sup>2</sup>, Yoshiharu Mtsuno<sup>1</sup>, Kyu-Bom Koh<sup>1</sup>, Kaiya Takano<sup>1</sup>, Masatoshi Komiyama<sup>1</sup>, Chisato Mori<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Bioenvironmental Medicine, <sup>2</sup>Department of Urology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan; <sup>3</sup>CREST, JST, Japan

We examined protein expression of myosin and troponin isoforms in cremaster muscles (CM) of cryptorchid rats by immunofluorescence microscopy. In normal rats aged 4 and 6 weeks, CM was stained with anti-fast skeletal muscle myosin heavy chain (SC-71), and anti-troponin T (G5G4) reactive with all striated muscles. In anti-cardiac/embryonic troponin T (RC-C2), normal CM was labeled with the antibody in rats aged 4 weeks, but in rats at 6 weeks, some CM were reactive, and some CM were not. Normal CM was unreactive with antibody specific for embryonic myosin (BF-45). In cryptorchid CM in rats aged 4 and 6 weeks, CM was stained with all antibodies examined. However, stainability of masseter, pectoral and abdominal muscles with these antibodies in cryptorchid rats was the same as that of normal rats. These results suggest that immunoexpression of cryptorchid CM was embryonic, but that of the other muscles in cryptorchid rats was normal. It indicates that testicular descent is related to the expression of muscle protein isoforms in cremaster muscle.