

化学物質による子宮内曝露マウス胎仔の脳における遺伝子の変動 --DNA chip を用いた解析--

○水谷滋利¹、高嶋良吉¹、辻本善政¹、榎 由樹¹、近藤昭宏¹、武田 健²、加藤郁之進¹

¹宝酒造(株)バイオ研究所、²東京理科大学薬学部

【はじめに】内分泌攪乱化学物質の人の健康への影響を評価する方法としては、レセプター結合試験からげっ歯類を用いた試験まで種々の試験法が報告されているが、環境中の濃度における内分泌攪乱作用の危険性を評価できる試験法は、今だ確立されていない・我々はこれまでに DNA chip を用いて遺伝子の発現の亢進や抑制のパターンを解析することにより、化学物質の微量濃度におけるリスク評価の試験法を提案してきた。今回は化学物質を妊娠マウスに皮下投与し、雄の胎仔の脳で発現の変化する遺伝子について解析した。【方法】内分泌攪乱作用が疑われている物質のうち、環境省が定めた優先 8 物質 (Tributyltin (TBT), 4-Octylphenol (OP), 4-Nonylphenol (NP), Dibutyl phthalate (DBP), Octachlorostyrene (OCS), Dicyclohexyl phthalate (DCHP), Benzophenone (BP), Diethylhexyl phthalate (DEHP))および Diethylsilbestrol (DES)5 μ g/kg と 17 β -Estradiol (E₂)5 μ g/kg を妊娠 10 日目の BALB/c マウスに、その日から連日 7 日間投与し、妊娠 17 日目に胎仔を採取した。投与量は過去の文献の毒性試験の結果を参考にし、各化合物の経口投与による LD₅₀ の 1000 分の 1 量を用いた。胎仔は PCR 法により雌雄を判別し、各群 5 匹の雄の頭部を一緒にして均一化し、常法にしたがって mRNA を抽出した。DNA chip の解析には、IntelliGene Mouse CHIP Set1 Ver.1.0(宝酒造社製)を用いた。

【結果と考察】今回、設定した投与量において DES 以外では胎仔の死亡数に大きな差はなく、体重についても毒性でみられるような異常は認められなかった。DES については胎仔の体重減少や死亡数増加だけでなく、抽出された total RNA 量も少なく、毒性が出ていたと考えられる。DNA chip 解析の結果、発現が亢進されている遺伝子については、DBP、DCHP、OCS および BP を投与した場合で、DES と近い動きをしており、TBT、OP および NP は E₂ と近い動きをしていた。一方で、発現が抑制されている遺伝子については、DCHP は DES よりもむしろ E₂ に近いパターンで動いていた。これらのことより、8 物質はそれぞれ、器官の分化や発達の段階ごとに異なった作用をすると考えられた。

Regulation of gene expression in the murine fetal brain in utero exposed to EDCs

--- Analysis by DNA chip ---

○Shigetoshi Mizutani,¹⁾ Ryokichi Takashima,¹⁾ Yoshimasa Tsujimoto,¹⁾ Yuki Enoki,¹⁾ Akihiro Kondo,¹⁾ Ken Takeda²⁾ and Ikunoshin Kato¹⁾

¹⁾ Biotechnology Research Laboratories, Takara Shuzo Co., Ltd.

²⁾ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

We have proposed DNA chip analysis which can be available for testing endocrine disrupting chemicals (EDCs) by evaluating gene expression. In this study, we administered 8 chemicals subcutaneously into pregnant mice from gestation day (Gd) 10 through 16. On Gd 17, fetus were collected and determined their genetical sex by PCR method. Then, poly(A) RNA was extracted from the heads of five male fetus per each group and applied to DNA chip analysis. Consequently, on the enhanced gene expression, the pattern of DBP, DCHP, OCS or BP was similar to that of DES, and TBT, OP or NP was similar to E₂. On the other hand, on the suppressed gene expression, DCHP was similar to E₂ rather than DES.