

GFP 発現システムを用いた BPA、NP 誘導体のエストロゲン様活性の解析

久留戸 涼子¹⁾、寺尾 良保²⁾、野沢 龍嗣¹⁾

静岡県立大学 1)食品栄養科学部微生物学研究室、2)環境科学研究所動態化学研究室

昨年の本学会で、エストロゲン応答性のヒト乳癌細胞 MCF7 に Green fluorescent protein(GFP)レポーター遺伝子を導入して、エストロゲン様物質をより簡便に検出する GFP 発現システムを開発したことを報告した。

現在環境ホルモン物質は、様々な処理によりハロゲン置換体などの生成が危惧されている。Bisphenol A (BPA)は、代表的なエストロゲン様環境ホルモンとして知られているが、ポリカーボネート樹脂や感熱紙などに利用されている。既に次亜塩素酸処理を行う古紙再生工場の放流水から塩素化 BPA などの誘導体も検出されている。そこで、これらの塩素化 BPA、並びに 4-nonylphenol (NP)の各種誘導体について、開発した GFP 発現システムと細胞増殖アッセイにより、エストロゲン様活性、細胞毒性を調べた。

塩素化 BPA は、 10^{-5} ~ 10^{-6} M で細胞増殖並びに GFP の発現を誘導した。 10^{-5} M の一、二、三塩素置換 BPA において、同等でかつ最大のエストロゲン様活性を示した。そのレベルは BPA よりやや低かった。BPA や、一塩素置換 BPA は容易に生分解するが、三及び四塩素置換 BPA はほとんど生分解されないことが判明しているため、塩素化 BPA は環境ホルモンとして軽視できない存在と考えられる。また、NP の誘導体に関しては、一、二塩素置換 NP では、エストロゲン様活性が認められたが、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ などの側鎖がついたものでは活性が消失した。有機ハロゲン化合物は、それらの難分解性、蓄積性において憂慮すべきものであり、今後 *in vivo* 実験などさらに研究を続けていく必要がある。

Characterization of Estrogenic Activity of the Derivatives of Bisphenol A and Nonylphenol Using a GFP Expression System

Ryoko Kuruto-Niwa,¹ Yoshiyasu Terao,² Ryushi Nozawa¹

¹Laboratory of Microbiology and Host Defenses, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka, ²Institute for Environmental Sciences, University of Shizuoka

A green fluorescent protein (GFP) -reporter vector regulated by an estrogen response element (ERE) was constructed and transfected into human breast carcinoma MCF7 cells. 17β -estradiol (E_2) and bisphenol A (BPA) induced a dose-dependent increase in GFP intensity in the stable transfectants. Using this GFP expression system, we examined the estrogenicity of the derivatives of BPA and 4-nonylphenol (NP). At concentrations of 10^{-6} to 10^{-5} M, chlorinated BPAs, which were detected in waste water from waste-paper recycling plants using sodium hypochlorite as a bleaching agent, induced GFP fluorescence as well as cell growth. At 10^{-5} M, mono-, di-, and tri-chlorinated BPAs equally induced GFP fluorescence to the maximum level, a little less than that induced by BPA itself. Mono- and di-chlorinated NPs also exhibit estrogenic activity as well as NP. Since polychlorinated BPAs are not easily biodegraded, chlorinated BPAs might be more critical endocrine disruptors than BPA.