

## 内分泌攪乱物質の毒性メカニズムを解析するためのモデル :両生類性転換メカニズムの分子生物学的解析

高瀬 稔<sup>1</sup>、井口泰泉<sup>2</sup>、ジョン・ニールセン<sup>3</sup>、ニールス・イー・スカケベック<sup>3</sup>、ヘンリック・レファーズ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>広島大学大学院理学研究科附属両生類研究施設、<sup>2</sup>岡崎国立共同研究機構統合バイオサイエンスセンター、CREST、JST、  
<sup>3</sup>デンマーク国立病院発達生殖研究部門

内分泌攪乱物質の毒性メカニズムの解明のために、両生類の性転換現象に着目した。性ホルモンはその特異的受容体に結合した後、遺伝子の転写活性を変化させることが知られている。そして、内分泌攪乱物質はその性ホルモン作用に干渉すると考えられている。しかし、その詳しい分子メカニズムに関しては明らかにされていない。そこで、本研究では性ホルモン処理により雄および雌へ性転換するツチガエルを用いて、そのアンドロゲンおよびエストロゲンの受容体 cDNA を単離し、性転換過程における遺伝子発現量の変化を調べた。その結果、両方の遺伝子発現量に変化は見られなかった。次に、ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いて、性転換関連遺伝子を網羅的に解析した。そして、アンドロゲンおよびエストロゲンの処理により発現変化を示す 221 および 15 遺伝子をそれぞれ同定した。今後、この性転換モデルを用いて、内分泌攪乱物質の毒性メカニズムをマイクロアレー技術により解析することを計画している。

### A model for analyzing toxic action mechanism of endocrine disruptors : analyses of molecular mechanism of sex hormone-induced sex-reversal in tadpoles

Minoru Takase<sup>1</sup>, Taisen Iguchi<sup>2</sup>, John Nielsen<sup>3</sup>, Niels E. Skakkebaek<sup>3</sup>, and Henrik Leffers<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Amphibian Biology, Graduate School of Science, Hiroshima University, Japan,

<sup>2</sup>Center for Integrative Bioscience, Okazaki National Research Institutes, and CREST, JST, Japan,

<sup>3</sup>Department of Growth and Reproduction, Rigshospitalet, Denmark.

To know molecular mechanism of endocrine disruptor actions on gonadal differentiation, we investigated sex hormone-induced sex-reversal from the male into the female, and *vice versa*, in the frog *Rana rugosa*. It is well established that sex hormones modulate transcriptional activities of target genes after binding to their own specific receptors. Endocrine disruptors are considered to interfere with the binding and action of sex hormones. Thus, in the present study, we examined levels of androgen and estrogen receptor mRNAs in tadpoles exposed to sex hormones using RT-PCR technique. Both receptor genes were expressed constantly during sex-reversal in the tadpoles. In addition, we comprehensively analyzed genes expressed differentially during sex reversal. We identified 221 and 15 cDNAs in androgen- and estrogen-exposure experiments, respectively, by direct sequencing. We expect that the present sex-reversal system supplies in future a good tool for analyzing toxic actions of endocrine disruptors on gonadal differentiation in the frog by using microarray technology.