

カエルビテロジェニン ELISA 検出系による定量的エストロジェン活性測定法の開発

三井直子¹、戸笈修¹、河原明²

¹東和科学㈱、²広島大学総合科学部

環境のエストロジェン様作用物質の両生類に対する影響評価のため、アフリカツメガエル卵黄蛋白質前駆体ビテロジェニン (VTG) のエストロジェン依存的合成誘導検出系を開発した。VTG の検出にはサンドイッチ ELISA (定量範囲: 2-1000 ng/ml) を採用し、エストロジェン作用の生物検定系として成熟雄個体とその初代培養肝細胞の 2 通りを用いた。

その結果、成熟成体雄を用いた場合には 1 nM 以上の estradiol-17 β (E2)により、また培養肝細胞の場合には 0.6 nME2 以上で用量依存的な VTG 合成誘導が認められた。さらに、ethynylestradiol、diethylstilbestrol、estradiol-17 α 、estriol、estrone 等の既知エストロジェン活性を有する化学物質に対する肝細胞の応答を測定した結果、多くのものはそれぞれの哺乳類エストロジェン受容体への親和性と一致する VTG 合成誘導活性を示したが、一致しないものもあった。なお、ビスフェノール A、ノニルフェノール、オクチルフェノールについても、1 μ M 以上で VTG 合成誘導が認められた。

このように、初代培養成体雄肝細胞と本 ELISA 検出系を用いることにより、エストロジェン活性を持つ化学物質を幅広くスクリーニングし、その影響を評価できることが示唆された。さらに、他の数種のカエル VTG の検出にも本 ELISA が適用可能であることが判明したので報告する。

Development of anuran (*Xenopus*) system for quantitative estimation of estrogen activity of chemical substances using vitellogenin-detecting ELISA

Naoko Mitsui¹, Osamu Tooi¹, Akira Kawahara²

¹Towa Kagaku Co., Ltd., ²Faculty of Integrated Arts and Science, Hiroshima University, Japan

To evaluate estrogenic effect of environmental chemical substances on anurans, we developed a system that quantitates estrogen-dependent vitellogenin synthesis in *Xenopus laevis*. The system consists of VTG-sandwich ELISA (assay range: 2-1000 ng/ml) and two different bioassays. The bioassays were performed by exposure to estrogens of the mature male animals or of their primary-cultured hepatocytes.

It was found that the animals synthesized a detectable amount of plasma VTG in response to at least 1 nM of estradiol-17 β (E2), whereas the hepatocytes secreted VTG into the culture medium in response to more than 0.6 nM E2. Using the primary culture, we measured VTG-inducing activity of authentic estrogenic substances and found that most of chemicals had activities consistent with their binding affinity to mammalian E2 receptor, although some chemicals' activities were weaker than those expected from their affinities. In addition, treatments with bisphenol A, octylphenol and nonylphenol at concentrations of more than 1 μ M were found to induce VTG synthesis in primary-cultured hepatocytes. Furthermore, the present ELISA appeared to detect VTGs of other several anuran species. These results suggest that the present assay system could evaluate estrogenic activity of various environmental substances.