

Di(2-ethylhexyl)phthalate のラット精巣に対する影響

○木島和恭^{1,2}, 豊沢かおる¹, 足達哲也², 小宮山政敏², 森千里²

¹大日本製薬・安全性研究所, ²千葉大院・医・環境生命医学

【目的】

Di(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP)はプラスチック可塑剤として広く使用されている。DEHP は抗アンドロゲン作用を介した雄性生殖器に対する内分泌攪乱作用や PPAR α を介した肝臓に対する増殖性作用などさまざまな有害作用を有する。しかしながら、その毒性作用機序に関する詳細な検討は少ない。今回、DEHP の若齢ラット精巣に対する影響を検討する目的で、病理組織学的解析および DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行ったので報告する。

【方法】

6週齢のCrj:CD(SD)IGS系雄ラットにDEHPの2000mg/kg-b.w.を単回投与した。投与後3, 6, 24および72時間に精巣を摘出した。左右精巣について重量の測定を行った。右精巣は4%パラホルムアルデヒド固定を行い、病理組織切片を作製し、HE染色およびTUNEL染色により病理組織学的な検討を行った。また、左精巣は摘出後直ちに液体窒素により凍結し、mRNAの抽出、蛍光ラベルを行いDNAマイクロアレイ(ED array ver 2)を用いて遺伝子発現の解析を行った。

【結果】

精巣重量については、いずれの暴露時間においても有意な変化は認められなかった。また、病理組織学的検査では、HE染色では変化は見られなかった。一方、遺伝子発現解析においては、アポトーシス関連遺伝子や糖代謝関連遺伝子などの変動が観察された。

【結論】

DEHP投与では精巣での組織学的な変化がおこらないにもかかわらず、遺伝子発現解析では変化が認められた。

Effects of Di(2-ethylhexyl) phthalate on rat testis

Kazuyasu Kijima^{1,2}, Kaoru Toyozawa¹, Tetsuya Adachi², Masatoshi Komiyama², Chisato Mori²

¹Safety Research Laboratories, Daiinippon Pharmaceutical Co., Ltd.,

²Department of Bioenvironmental Medicine, Graduate School of Medicine, Chiba University

Di(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP is a widely used as plasticizer. DEHP has various adverse effects, such as an endocrine disruptive effect on male reproductive system caused by anti-androgenic action and a liver cell proliferating action caused by stimulation with PPAR alpha. However, there are almost no detailed studies about the mechanisms of those toxicities. To investigate the effects of DEHP on young rat testis, we performed histopathological analysis and gene expression analysis using DNA microarray. A single oral dose of 2000 mg/kg of DEHP was given to 6-week-old male Crj:CD(SD)IGS rats. 3, 6, 24 and 72 hours after dosing, testes were removed surgically and weighed out. The right testis used for histopathological investigations was fixed in 4% paraformamide fixative and embedded in paraffin. The cross sections were stained with HE or by TUNEL-method. The left testis used for gene expression analysis was immediately frozen in liquid nitrogen. The mRNA was prepared and labeled by fluorescent probe. The gene expression analysis was carried out using DNA microarray, ED array ver 2. Weight of testis was not changed. In addition, histopathological examination of HE stained testis found no abnormalities. On the other hand, the expressions of apoptosis related genes, glucose metabolite related genes and others were altered. Without any histopathological abnormalities, dosing of DEHP caused alternation of gene expressions.