

## 内分泌かく乱物質のゲノム維持機構への影響

磯 貴子<sup>1,2</sup>、嶋本 顕<sup>1</sup>、渡辺 公英<sup>1</sup>、古市 泰宏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(株)ジーンケア研究所、<sup>2</sup>CREST、JST

本研究の目的は、内分泌かく乱物質がゲノムの安定化にどのような影響を与えるか調べることである。RecQ 型 DNA ヘリカーゼは、DNA の 2 本鎖を巻き戻し DNA の修復に関与し、ゲノムの安定化に寄与することが知られている。我々は、MCF7 細胞に 17 $\beta$ -エストラジオール(E2)1nM 添加し培養すると、RecQ 型 DNA ヘリカーゼファミリーに属するブルームヘリカーゼ遺伝子(BLM)、ウェルナーヘリカーゼ遺伝子(WRN)及びロスムンド・トムソンヘリカーゼ遺伝子(RTS)が誘導されることを見出した。この傾向は BLM で最も顕著にみられたため、BLM の発現に対する内分泌かく乱物質の影響を調べた。すなわち、ビスフェノール A、ジエチルスチルベステロール、ビンクロゾリン、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル及びベノミルを MCF7 細胞の培養液中に終濃度で 1nM 添加し 48 時間培養後、totalRNA を抽出し、定量 PCR を行った。その結果、ジエチルスチルベステロールでは BLM の発現は亢進したが、他の化合物では、抑制されることが示された。次に、ホタルルシフェラーゼを用いたレポーターシステムにより内分泌かく乱物質暴露による BLM のプロモーター領域への影響を調べた。上記化合物 0.001~10nM を MCF7 細胞に添加し、48 時間後の BLM のプロモーター活性を調べたところ、BLM のプロモーター活性は、化合物を添加していない対照に比較して抑制されることが判った。また、ジエチルスチルベステロールでは、pM においては抑制的、nM では亢進的に作用する傾向が示された。これらの結果から、内分泌かく乱物質は BLM の発現に影響を与えることが示され、さらにこの変化は、プロモーター活性への影響により生じていることが示唆される。BLM もまたゲノム安定化に機能していることが知られており、内分泌かく乱物質暴露によりゲノム維持機構が影響を受けていることが考えられる。これらの知見は内分泌かく乱物質の毒性面から興味深いと考える。

### Endocrine disrupting chemicals changed Bloom helicase expression

Takako Iso<sup>1,2</sup>, Akira Shimamoto<sup>1</sup>, Takahide Watanabe<sup>1</sup>, Yasuhiro Furuichi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>GeneCare Research Institute Co.,Ltd.

<sup>2</sup>CREST, JST, Japan

We examined the effect of endocrine disrupting chemicals on several protein expressions in MCF7 cells. The human RecQ helicase family play an important role in the stabilization of human genome. Using the real time PCR technique, we have examined the change in the amount of mRNA of Bloom helicase gene (BLM), Werner helicase gene (WRN) and Rothmund-Thomson helicase gene (RTS) expression induced by 17  $\beta$  -estradiol (E2). The mRNA level of these genes increased by E2 treatment, the biggest stimulation in BLM among three genes. Further examination of MCF7 cells treated with endocrine disrupting chemicals suggested that Diethylstilbestrol enhances BLM expression. Meanwhile, Bisphenol A, Nonylphenol, Dibutyl Phthalate, Vinclozolin and Benomyl suppressed BLM expression. Using the firefly luciferase reporter assay system with BLM promoter sequences, we found that these seven compounds suppressed the BLM promoter activity. In the case of Diethylstilbestrol, the suppression in the BLM promoter activity was observed at low doses, and weak enhancement at higher doses. This result was correlated with that obtained with RT-PCR. These results suggest that the endocrine disrupting chemicals have influence on BLM expression, suggesting further that this effect is produced by the alteration in BLM promoter activity. BLM plays an important role to maintain the human genomic stability, hence the change in BLM expression by the exposure to endocrine disrupting chemicals is meaningful from the aspect of its toxicological point.