

23R-am03S

エストロゲン応答性レポーターマウスを用いたエストロゲン作動性化学物質の非線形応答反応の検出

○國谷 昌毅¹, 古川 誠之¹, 永瀬 久光^{1,2}, 中西 剛¹ (¹岐阜薬大, ²岐阜医療科学大)

【目的】エストロゲン作動性化学物質には、無毒性量以下の低用量で特異的な影響を示す非線形応答反応の問題があるが、テストガイドライン収載の *in vivo* 試験法である子宮肥大試験ではこれを検出できない。またこの非線形応答反応自体の真偽も定かではない。そこで本研究では独自に作製したエストロゲン応答性ルシフェラーゼ (Luc) 発現レポーターマウス (E-Rep マウス) を用い、全身での *in vivo* イメージング、及び各臓器での Luc 活性を指標に非線形応答反応の検出を試みた。また各臓器の Luc 活性とエストロゲン受容体 (ER) 発現量の相関を検討することで、本試験系にて検出された非線形応答反応の作用機序の解明を試みた。

【方法】7週齢雌性 E-Rep マウスの卵巣を摘出し、完全調整飼料 AIN-93M を与え1週間馴化させた後、エチニルエストラジオール (EE: 0.3~10 µg/kg/day) を1週間連日強制経口投与した。投与 0, 1, 2, 4, 7 日目に経時的に *in vivo* イメージングを行った。また経日的に各臓器を摘出して子宮重量及び各臓器の Luc 活性を測定した。また各臓器の ER 発現量をウエスタンブロット解析により評価した。

【結果】経時変化を加味した *in vivo* イメージングにより、子宮肥大試験では検出できなかった EE0.3 µg/kg/day 以上で有意なエストロゲン作動性を検出できたが、非線形応答反応は検出できなかった。一方で各臓器の Luc 活性の検討では、検出する臓器やタイミングによっては EE でも非線形応答反応を検出することができた。また各臓器の ER 発現量と Luc 活性との明確な相関は確認されなかった。

【考察】E-Rep マウスを用いることで参照エストロゲンである EE においても非線形応答反応を検出することができた。またこの非線形応答反応には受容体の発現変化が関与しておらず、それ以外の要因が関与している可能性が示唆された。