

③ 研究報告書

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

去勢ラットの前立腺腹葉における細胞動態を指標とした (抗)アンドロジェン活性評価系の検討

分担研究者 永井賢司 (株)三菱化学安全科学研究所

研究要旨

(抗)アンドロジェン活性の評価法として、前立腺腹葉重量の変化を指標とした方法が知られているが、この方法では細胞動態への影響を知ることはできない。前立腺腹葉の細胞動態は組織切片上で評価することが可能であるが多大な時間と労力を要するため、より迅速かつ簡便な系が望まれる。本研究では、去勢ラットの前立腺腹葉における細胞動態をフローサイトメーターで解析することにより、迅速かつ簡便な (抗) アンドロジェン活性の評価系を確立する。

A. 研究目的

去勢ラットの前立腺腹葉における細胞動態をフローサイトメーターで解析することにより、迅速かつ簡便な (抗) アンドロジェン活性の評価系を確立する。

B. 研究方法

被験物質を投与したラットの前立腺腹葉から細胞を単離し（ほとんどが腺上皮細胞）、アポトーシス（DNA 断片化）および細胞周期の変化をフローサイトメーターで解析した。

C. 研究結果

ラットへの投与条件を検討するため、去勢後 24, 48, 72 時間のアポトーシスの経時的変化を確認した後、アポトーシスおよび細胞周期に対する testosterone propionate (TP: AR agonist) と flutamide (FLU: AR antagonist) の影響を検討した。

D. 考察

フローサイトメーターで解析したアポトーシス細胞の割合は去勢後 24 時間から増加し、去勢後 72 時間には正常ラットの約 47 倍となった。去勢直後から TP を 3 日間反復皮下投与（1 回/日）した結果、TP 0.3mg/kg 以上の群でアポトーシスおよび G0/G1 期細胞の減少がみられ、S 期細胞の増加が認められた。この結果をもとに、抗アンドロジェン活性の評価に用いる TP 用量を 0.3mg/kg に設定し、FLU 投与の影響を評価した。その結果、FLU 1mg/kg 以上の群で S 期細胞の減少および G2/M 期細胞の増加がみられ、FLU 3mg/kg 群でアポトーシスおよび G0/G1 期細胞の増加が認められた。これらの結果から、本実験系はアンドロジェン依存性細胞の細胞動態を指標とした *in vivo* (抗) アンドロジェン活性評価

系として有用であることが示唆された。

E. 結論

AR agonist および antagonist を用いた本年度の検討から、ラットへの投与条件および細胞の単離・回収条件を確立することができた。来年度は陽性対照物質を用いたバリデーションを行う。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

(1) 去勢成熟ラットを用いたアンドロジェン活性の評価（第 26 回日本トキシコロジー学会）

(2) 去勢成熟ラットを用いた抗アンドロジェン活性の評価（第 26 回日本トキシコロジー学会）

(3) エストロジェンおよびアンドロジェン受容体結合試験・種差および特異性の検討（第 2 回日本内分泌攪乱化学物質学会）

(4) 幼若雌ラットを用いた子宮肥大法の検討（第 2 回日本内分泌攪乱化学物質学会）

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

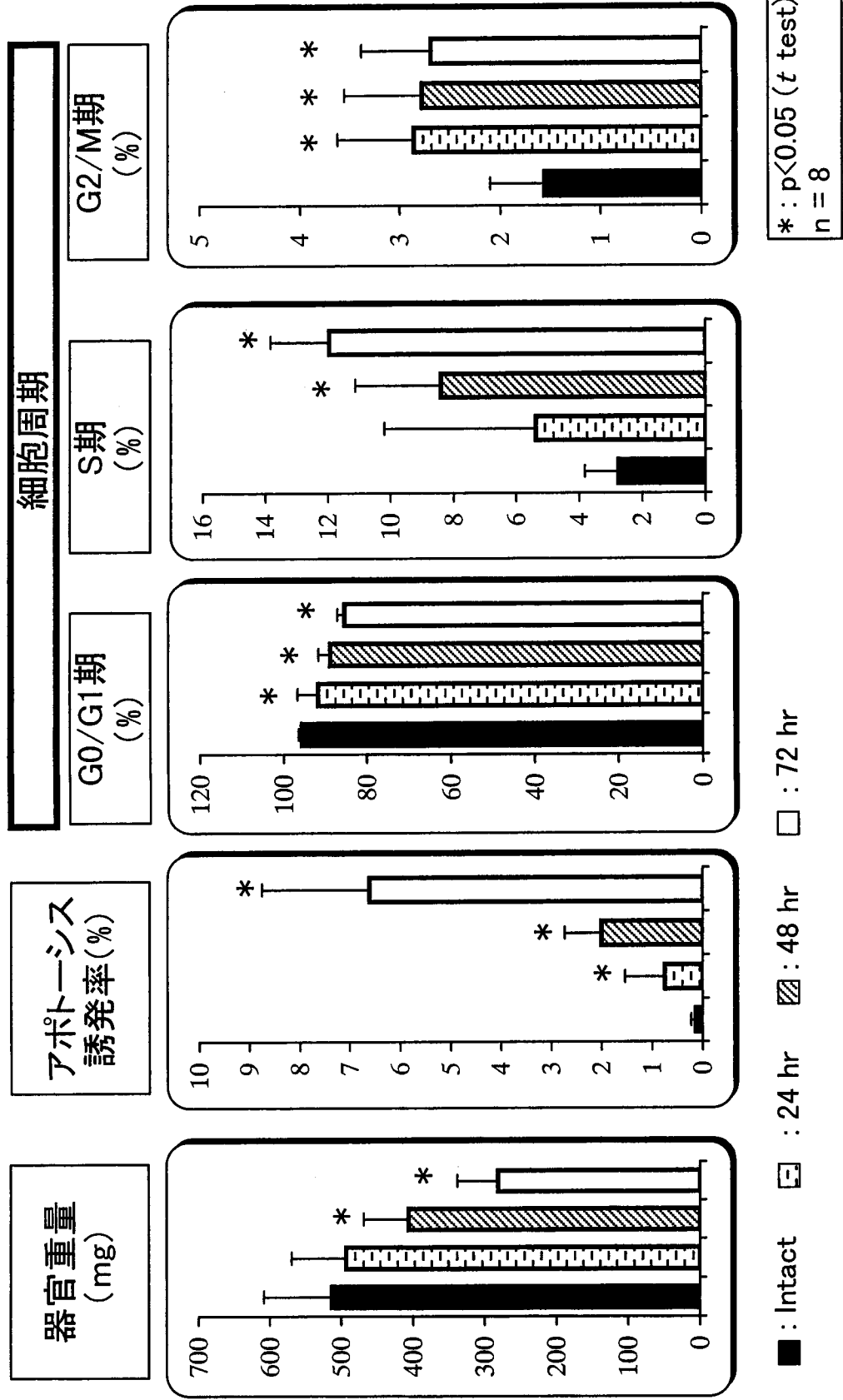
2. 実用新案登録

なし

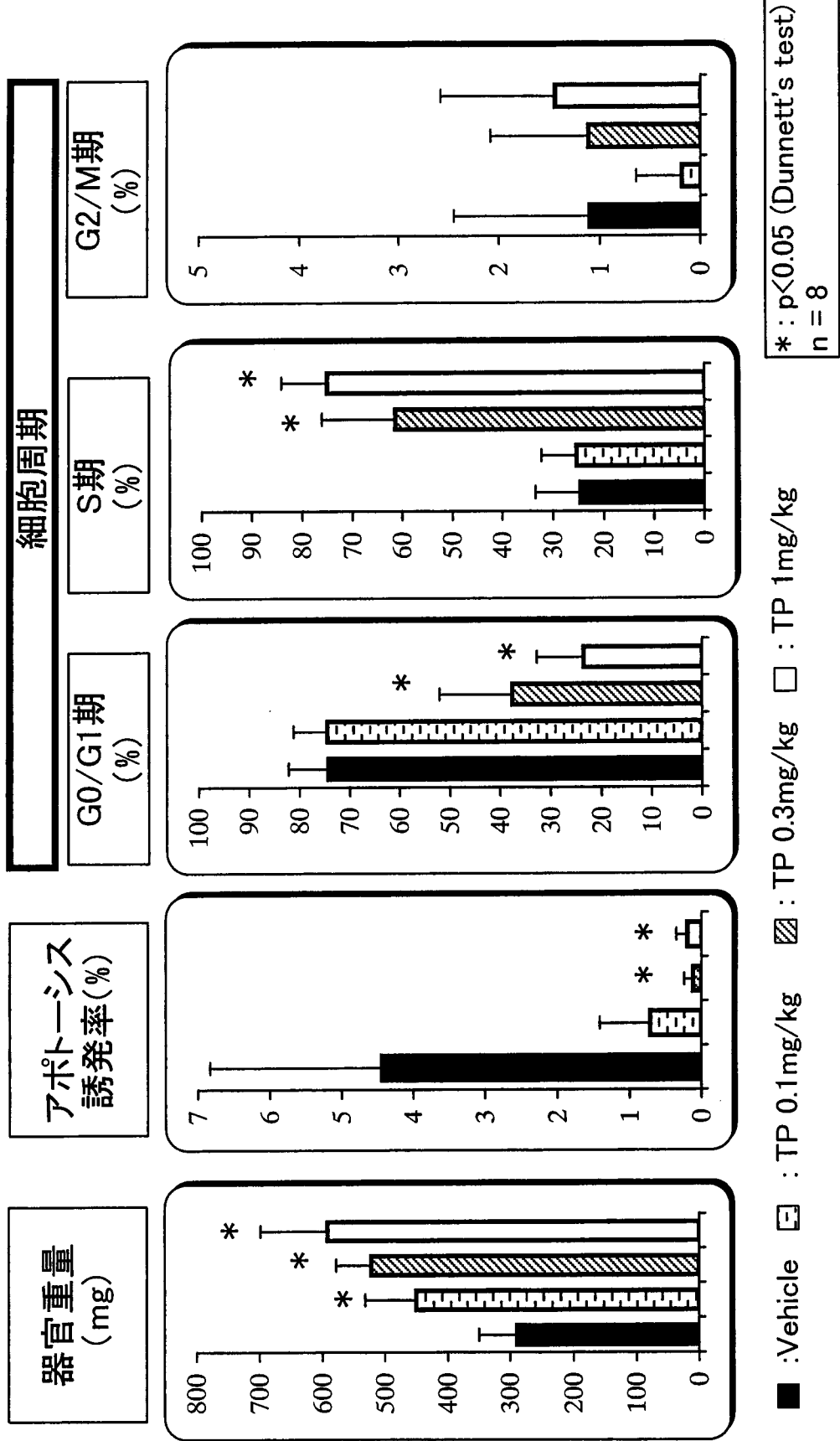
3. 実用新案登録

なし

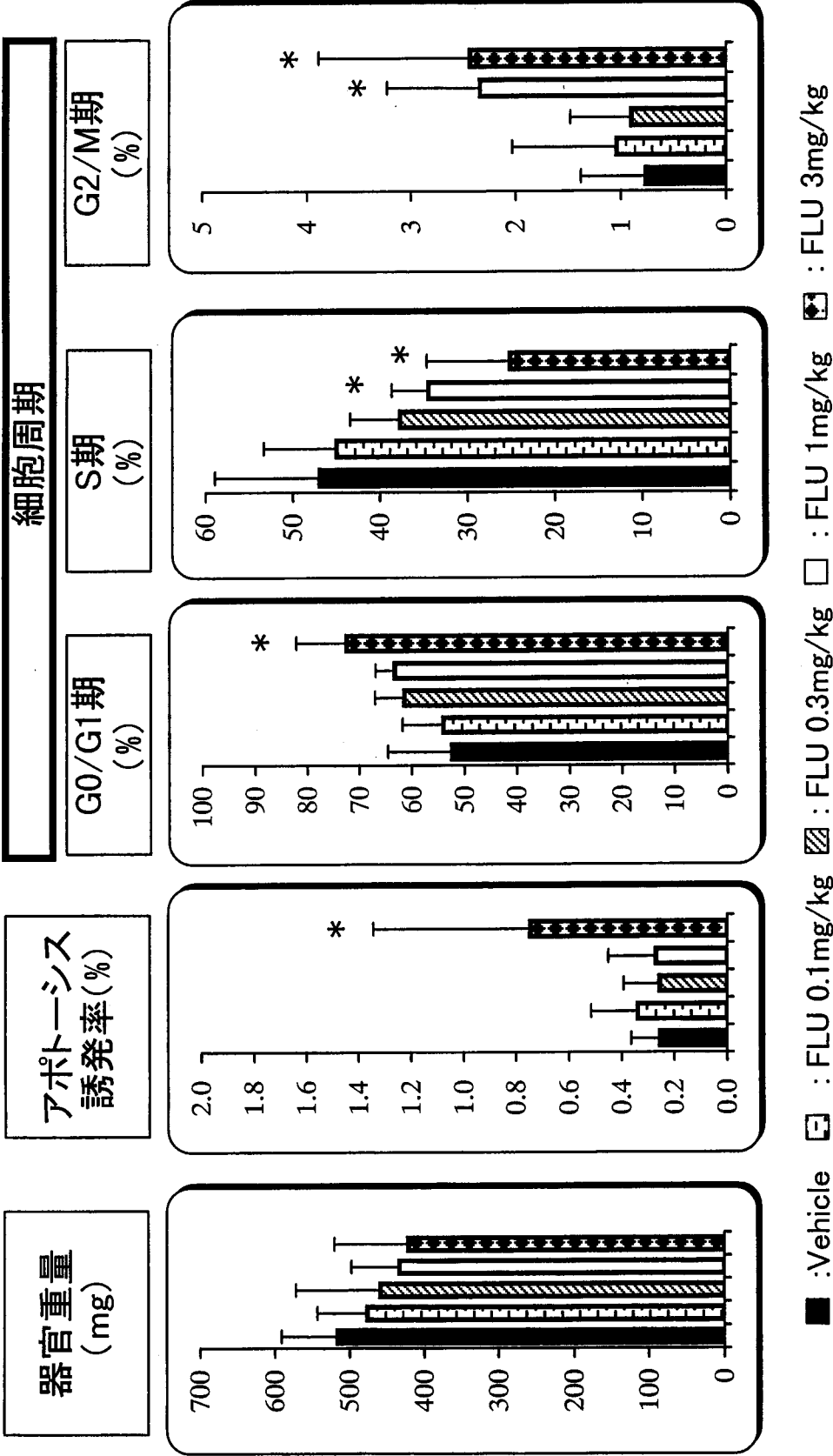
【去勢後の前立腺腹葉における細胞動態の経時的変化(24, 48, 72hr)】



【Testosterone propionate投与後の前立腺腹葉における細胞動態の変化】



【Flutamide投与後の前立腺腹葉における細胞動態の変化(TP 0.3mg/kg)】



■ :Vehicle □ : FLU 0.1mg/kg ▨ : FLU 0.3mg/kg □ : FLU 1mg/kg ▩ : FLU 3mg/kg

* : p<0.05 (Dunnett's test), n = 8