

P6-45 生殖毒性誘発化合物がラット精巣における遺伝子発現に及ぼす影響の検討

○福島 民雄¹、山本 利憲¹、森 千里²、浜田 悦昌¹、堀井 郁夫¹

¹ファイザー（株）、²千葉大学大学院 環境生命医学研究室（A3）

Effect of reproductive toxicants on the gene expression in the rat testis

○Tamio FUKUSHIMA¹、Toshinori YAMAMOTO¹、Chisato MORI²、Yoshimasa HAMADA¹、Ikuo HORII¹

¹Pfizer Global Research & Development、²Chiba University, Department of bioenvironmental medicine（A3）

目的:雄性生殖試験においては薬物を数ヶ月間反復投与したのち生殖能評価を行うのが一般的で、結果を得るまでに長期間を要する。本研究では、短期間で雄性生殖機能を評価するためのバイオマーカーを選定することを目的として、雄性生殖毒性が知られている ethylene glycol monomethyl ether (EGME)、cyclophosphamide (CP) および sulfasalazine (SASP) を成熟雄ラットに単回投与し、精巣における遺伝子発現への影響について検討した。

方法:EGME、CPおよびSASP（各2000mg/kg）をラットに経口投与し、投与6時間後に精巣を摘出後、液体窒素で凍結した。凍結した精巣より抽出したmRNAを鋳型として、Cyanine-5を用いて逆転写反応により、蛍光標識cDNAを作製し、EDアレイ ver.2（旭テクノグラス）にハイブリダイズさせた。EDアレイにハイブリダイズした各遺伝子発現量を蛍光強度として、SilicoCyte（Discovery Biotechnologies）を用いて解析し、対照群と発現量の異なる遺伝子を検索した。

結果および考察:EGME、CP、SASP投与により、発現が増強した遺伝子のうち精子形成に重要と考えられるものは、各10、8および9遺伝子であり、減弱した遺伝子は、各5、8および3遺伝子であった。発現が変動した遺伝子のうちHeat Shock Protein 70と Glutathione S transferaseはEGMEとSASPに共通して、T-complex 1はCPとSASPに共通して変化がみられた。これらの精子形成関連遺伝子の変動について、反復投与による影響も検討する必要があるが、少なくとも短期投与による雄性生殖毒性評価のバイオマーカーとして利用できる可能性が示唆された。

🌀 P6-46 生殖毒性誘発化合物がラット精巣におけるタンパク質発現に及ぼす影響

○山本 利憲、福島 民雄、山田 弘、堀井 郁夫

ファイザー（株）中央研究所 安全性研究統括部

Effect of reproductive toxicants on the protein expression in the rat testis

○Toshinori YAMAMOTO、Tamio FUKUSHIMA、Hiroshi YAMADA、Ikuo HORII

Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research&Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Japan Inc.

【目的】近年、医薬品開発のスピードアップに伴って、安全性評価においてもハイスループット化が求められている。通常、雄性生殖毒性試験においては、化合物を数ヶ月間反復投与した後に生殖能評価を行っており、開発早期の化合物スクリーニングには用いることができない。そこで、短期間で雄性生殖機能を評価するための指標となるタンパク質の探索を目的として、成熟雄性ラットに、雄性生殖毒性を惹起することが知られている化合物を単回投与した時の、精巣におけるタンパク質発現へ及ぼす影響について検討した。**【方法】**雄性ラットに、エチレングリコールモノメチルエーテル（EGME）、シクロホスファミド（CP）およびスルファサラジン（SASP）を経口投与した後、24時間に精巣を摘出した。精巣をホモジナイズした後、2次元電気泳動により展開し、タンパク質を分離した。画像解析の結果より、発現量が2倍以上変化したスポットをゲルから切り出し、トリプシンによるゲル内消化後、質量分析計に導入しタンパク質を同定した。**【結果および考察】**EGME、CPおよびSASPの投与により、それぞれ21個、13個および9個のタンパク質の発現が増加し、それぞれ31個、4個および13個のタンパク質の発現が減少した。これらの発現変動タンパク質のうち、精子形成に関わるものとして、CPおよびSASPの投与により Glutathione S-transferase および Heat shock protein 70 の発現が変化し、すべての化合物の投与により Phosphatidylethanolamine-binding protein の発現が変化していた。今回の試験は単回投与による影響を検討したものであるため、反復投与時の発現変動についても検討する必要があるものの、これらのタンパク質が雄性生殖毒性評価の指標として用いることができる可能性が示された。