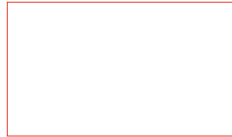


Diethylstilbestrol投与による成熟雄ラット下垂体中プロラクチンの増加

奥村 佳奈子¹, 前田 尚之^{1,2}, 松浦 正男¹, 横田 博²

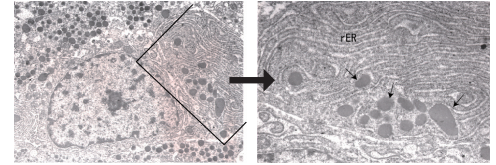
1: 株式会社化合物安全性研究所

2: 酪農学園大学獣医生化学教室



Oral administration
0.1mg/adult male rat

DES投与による内分泌攪乱と生殖毒性の発生が知られている (右図) .



DESのラット精巣への影響は良く知られている.

DES 0.1mg の9日間投与により, 下垂体における小胞体の過形成が見られた.

DES投与による下垂体の過形成およびプロラクチン (PRL) 増加 (Walker and Kurth 1993), 齧歯類のPRL産生細胞数の増加 (Cauwenberge et al 2001, Matsubara et al 2001) が知られている. また成熟雄ラットへの20日間のDES投与により, PRL細胞の増殖分化とFSH/LH細胞の分化転換が誘導された (Shukuwa 2006 Histochem Cell Biol). しかしながら, DESの下垂体への影響の詳細なメカニズムは不明のままである. 本研究では, 成熟雄ラット (8週齢) の下垂体における早期の影響について調べた.

2-Dimensional Electrophoresis

A Pituitary proteins (Control)

B (DES, 1 week)

Fig.1 二次元電気泳動した雄ラット下垂体の蛋白をCBB染色した. 1週間のDES投与 (0.1 mg x 4 doses) により増加したスポット1は, MULDI-TOF-MS によりPRLと同定された. 変化のないスポット2は, アミノ酸配列がPRLと類似した成長ホルモンと同定された.

Immuno blotting

Fig.2 DES投与後1週間でPRL産生が誘導されていることが, 抗原抗体反応により確認された.

mRNA

Fig.3 1週間のDES投与 (0.1 mg x 4 doses) により, 精巣のステロイド産生と精子形成を促すLHとFSHをコードするmRNAsはいずれも増加しなかったが, PRL産生をコードするmRNAsは増加した.

Single Dose

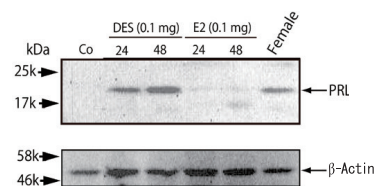
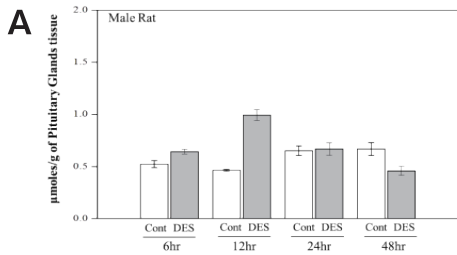


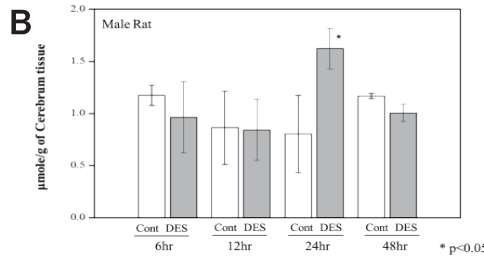
Fig.4 DES投与後24時間で急速にPRL産生が誘導されていることが判明した. DES投与後48時間では, コントロール (オリーブオイルのみ投与) と比較して約9倍, また雌に投与した場合と比較して2~3倍に増加した. なお, 同様にE2 (エストラジオール) を投与した雄では変化が見られなかった.

Dopamine



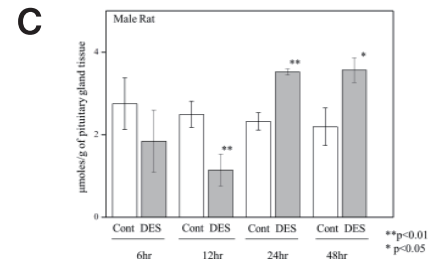
DES投与による下垂体のドーパミン量に変化は見られなかった。同様に調査したエピネフリンやノルエプネフリン、アミノ酸(20種類、GABAなど)に変化は見られなかった。

Serotonin



大脳のセロトニン量はDES投与後24時間で有意に増加した。 *p<0.05

VIP



下垂体のVIP量はDES投与後12時間で減少した後、24時間で有意に増加していた。 **p<0.01 *p<0.05

Fig.5 下垂体のプロラクチン産生はドーパミンにより抑制され、神経系由来のセロトニンにより誘導される。LC-MS/MSによりこの2つの神経伝達物質を測定した (Maeda et al 2016)。その結果、DES連続投与後1週間とDES単回投与後12時間および24時間で、下垂体中および脳中のドーパミン量は変化しなかった (Fig. 6 A)。

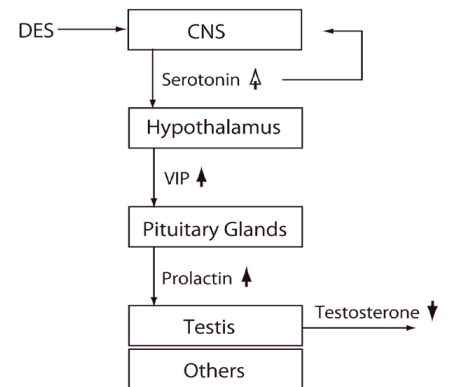
一方で、セロトニンについてはDES単回投与後24時間で増加した(Fig. 6 B)。さらに、セロトニンの制御化で下垂体からの急速なPRL放出を促すVIP (Vasoactive intestinal peptide, 血管作動性腸ペプチド) は、DES単回投与後24時間で明らかに増加した(Fig. 6 C)。

考 察

- DES経口投与による下垂体内PRL濃度の増加は雄のみで起こり、E2投与においても変化は見られなかったことから、DESによるPRL増加はエストロゲン作用ではなく、別の機序による毒性と考えられた。
- PRLのmRNA増加が見られ、ドーパミンの増加が見られないことから、PRLの増加はドーパミンの分泌抑制ではなく合成亢進によるものであることがわかった。
- さらに、セロトニンが増加することによりVIPが増加して、PRLの分泌が促進されていることが考えられた。



今回、DES経口投与による成熟雄ラットの下垂体中PRL濃度の増加は【視床下部-下垂体-副腎】(HPA軸)で発現することが示唆された。



視床下部・下垂体・副腎皮質を通した内分泌攪乱

～各試験の詳細・お見積り・ご相談はお気軽にお問い合わせください～

株式会社 化合物安全性研究所 <http://www.ka-anken.co.jp/>

お見積り承ります。
お気軽にご相談ください!

医薬品をはじめとする化学物質の安全性研究と医薬品開発の臨床研究支援を通して社会に貢献する化合物安全性研究所です

【札幌本社】 〒004-0839 札幌市清田区真栄363番24

TEL:011-885-5031 FAX:011-885-5313

【東京事務所】 〒110-0015 東京都台東区東上野3-34-6ヒューリック東上野ビル3階

TEL:03-3831-5810 FAX:03-3831-5818

【関西事務所】 〒560-0082 大阪府豊中市新千里東町2丁目7番 C1-205

TEL/FAX:06-6170-7046