

2010/12/15

**「平成22年度化学物質の内分泌かく乱作用に
関する公開セミナー**

—ExTEND2005からEXTEND2010へ—

(於: 東京大学山上会館)

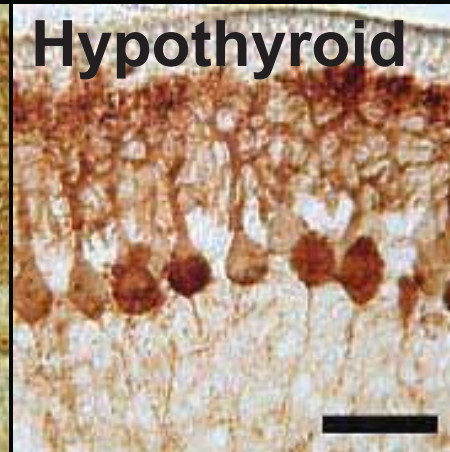
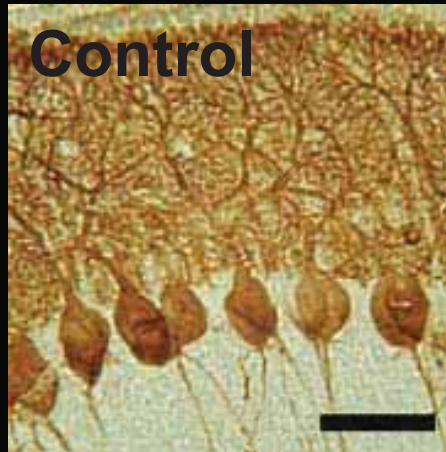
**「核内ホルモン受容体による転写調節に
おける環境化学物質の作用機構
～正常脳発達への影響」**

**群馬大学大学院医学系研究科 応用生理学分野
岩崎俊晴, 下川哲昭, 鯉淵典之**

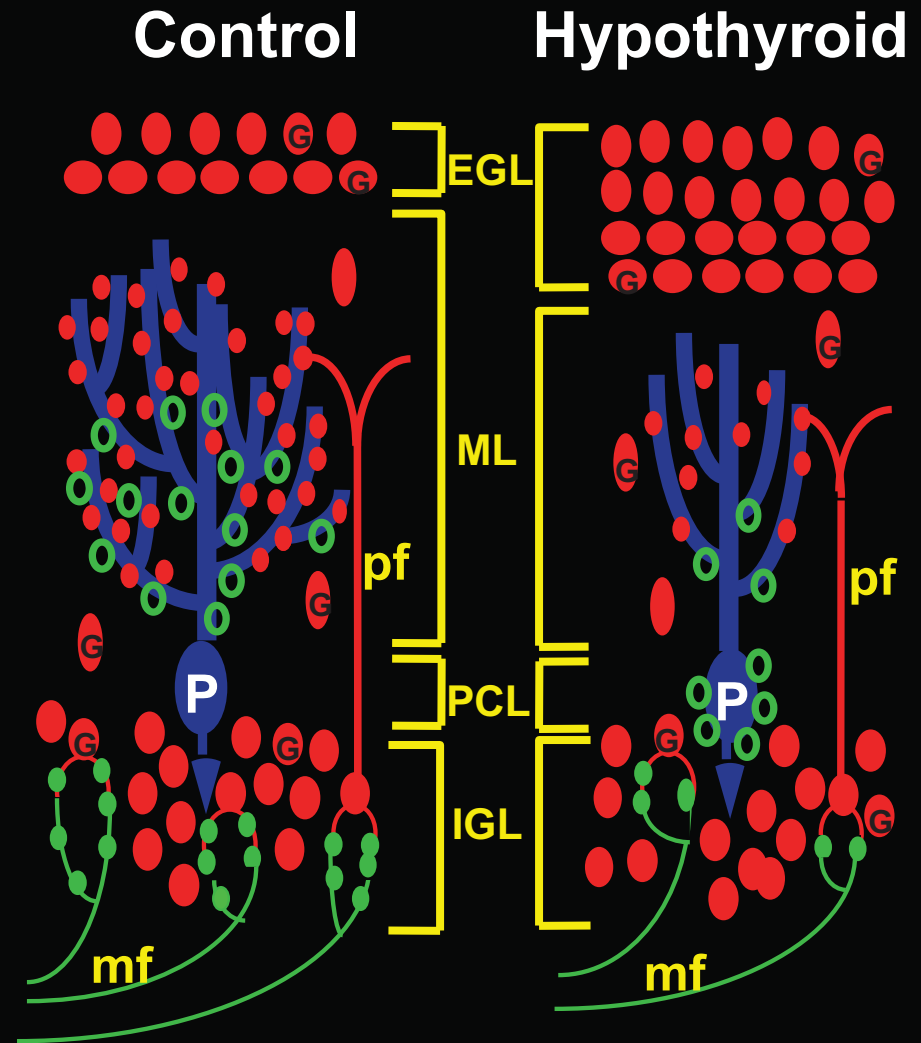
本日のトピックス

1. 環境化学物質による甲状腺ホルモン受容体(TR)を介する転写への作用
2. 転写に対する影響の作用機序
3. 小脳初代培養細胞を用いた環境化学物質によるPurkinje細胞の樹状突起の形態変化
4. 小脳初代培養細胞を用いた環境化学物質による顆粒細胞の形態変化
5. 小脳初代培養細胞を用いた環境化学物質による Ca^{2+} 動態変化
6. 今後の展開

甲状腺ホルモンは脳発達に不可欠である



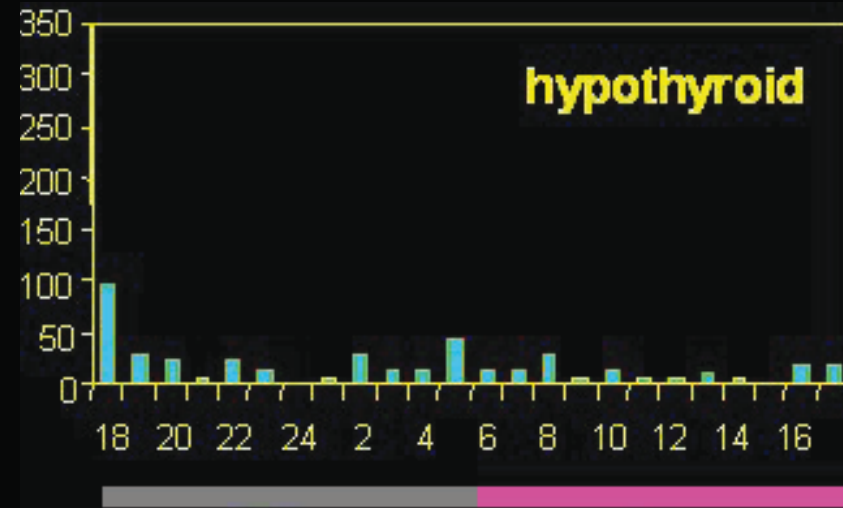
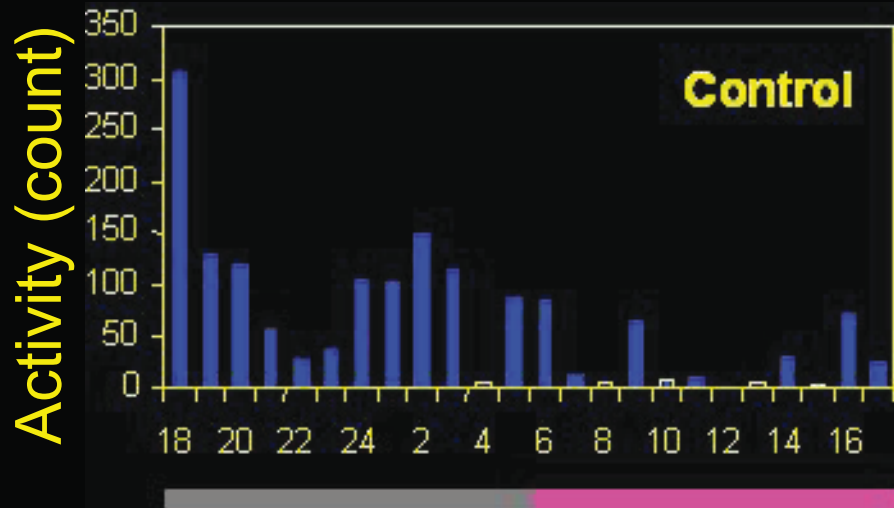
Koibuchi et al. Brain Medical 16: 69, 2004



Koibuchi et al. Trends Endocrinol Metab 11: 123, 2000

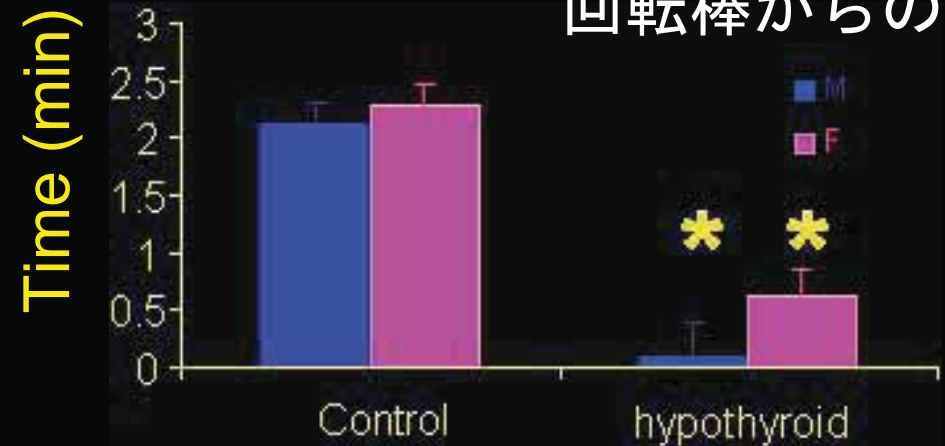
周産期甲状腺機能低下による行動異常

24 hrの行動量変化



Dark Light Dark Light

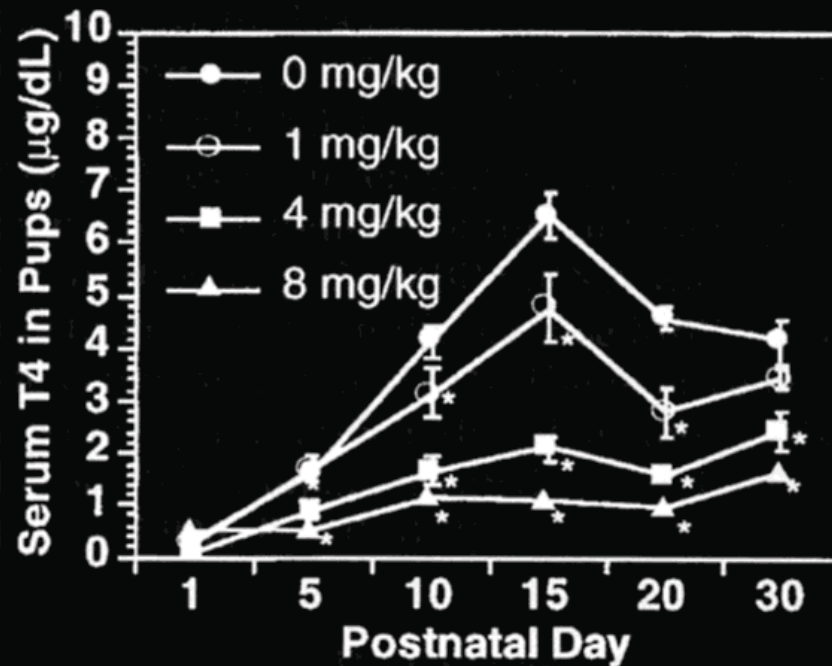
回転棒からの落下時間



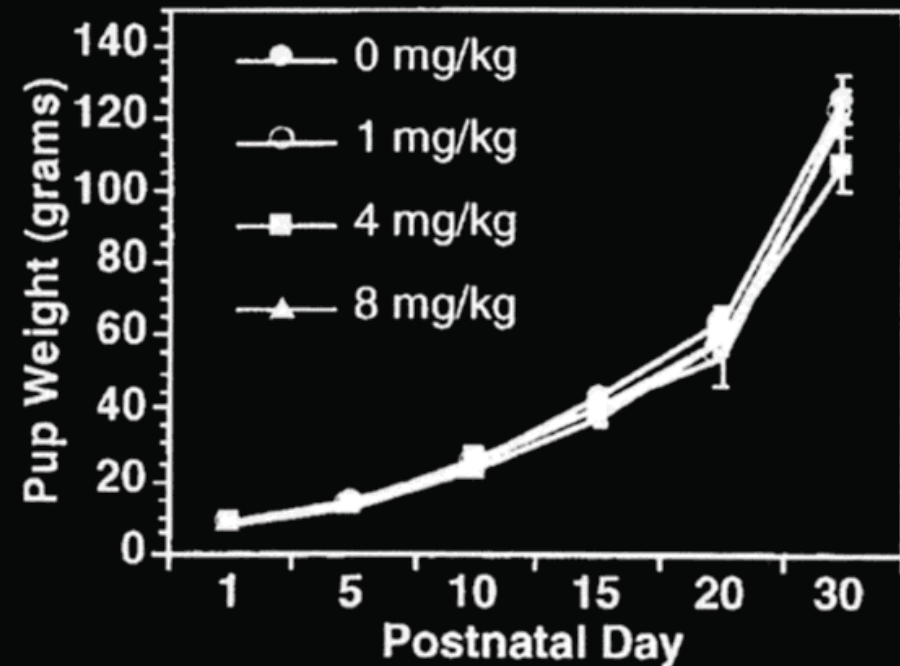
manuscript in preparation

A1254周産期投与は体重を変化 させずに甲状腺ホルモン濃度を落とす

Plasma TH



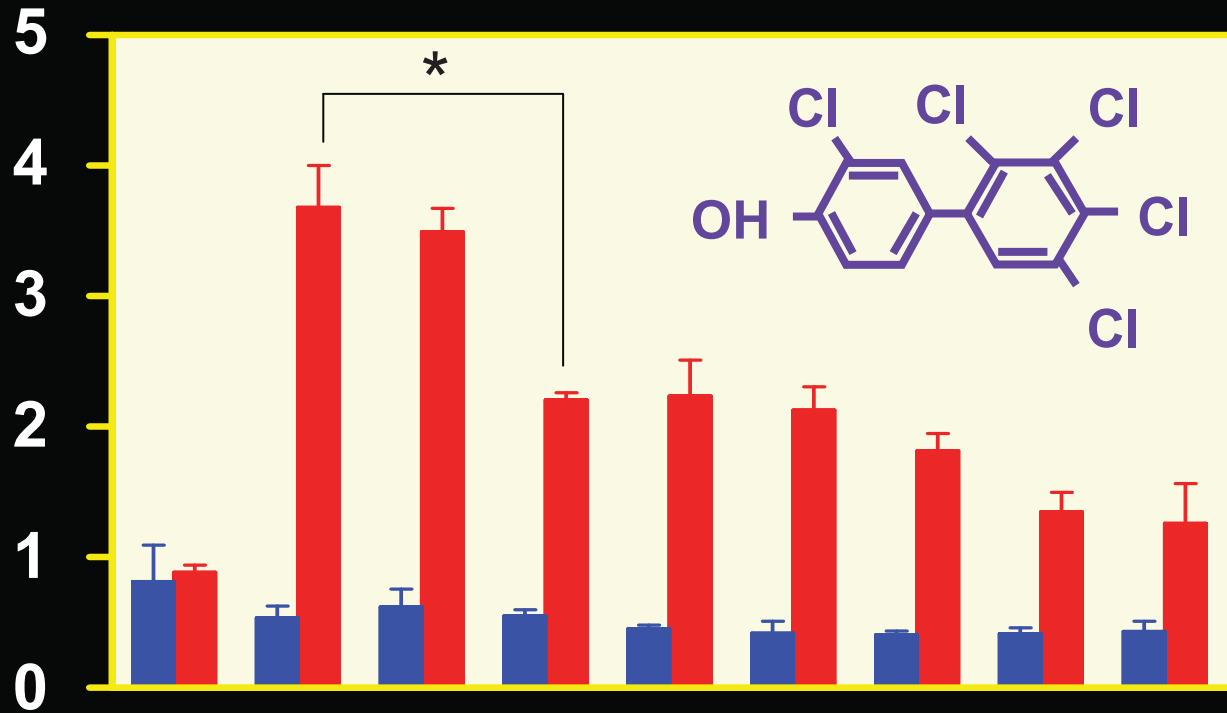
Body weight



1.環境化学物質による TRを介する転写への作用:

(1) OH-PCB 106

Relative Luciferase Activity



- T3
+ T3

TRE-LUC
CV-1

hTR β 1

- + + + + + + + +

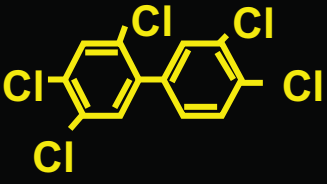


PCB

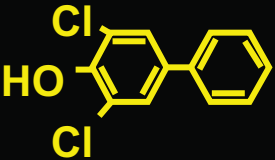



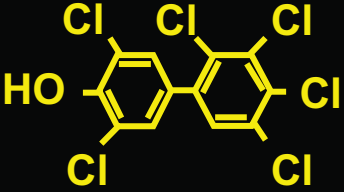

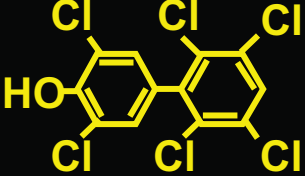

- - 10^{-11} 10^{-10} 10^{-9} 10^{-8} 10^{-7} 10^{-6} 10^{-5} (M)

4-OH-2',3,3',4',5'-penta CB

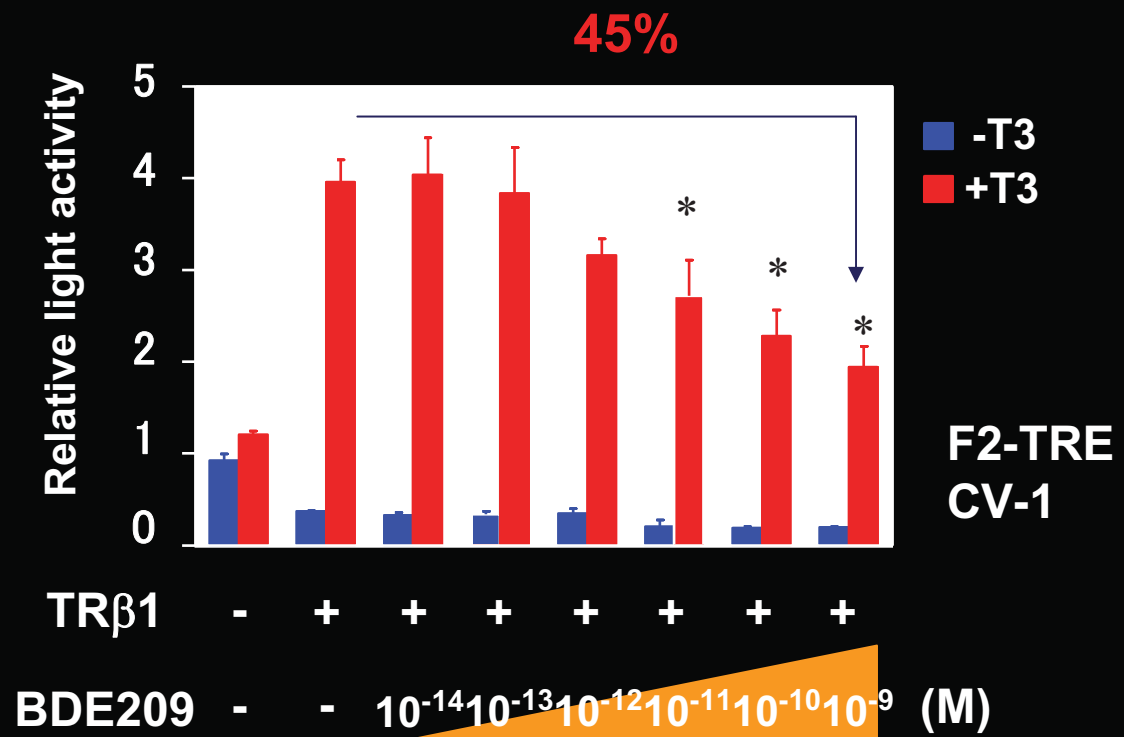
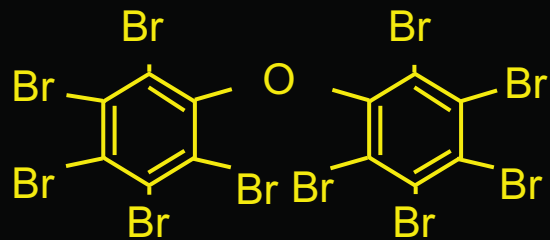
Iwasaki et al. Biochem Biophys Res Commun, 2002

Compounds	Structure	TEF	transcription
TCDD 2,3,7,8-tetrachloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin		1	 TE671
PCDF 2,3,4,7,8-pentachloro dibenzo fran		0.5	 TE671
DCDF 2,8-dichlorodibenzo fran			
MCDF 2-monochloro dibenzofran			
PCB77 3,3',4,4'-tetra CB		0.0001	
PCB126 3,3',4,4',5-Penta CB		0.1	

<p>PCB114 2,3,4,4',5-penta CB</p>		<p>0.0005</p>	
<p>2,3',4,4',5-penta CB PCB118</p>		<p>0.0001</p>	
<p>PCB153 2,2',4,4',5,5'-Hexa CB</p>			
<p>PCB up 2,2',3,4',5,5',6- Heptachloro biphenyl</p>			

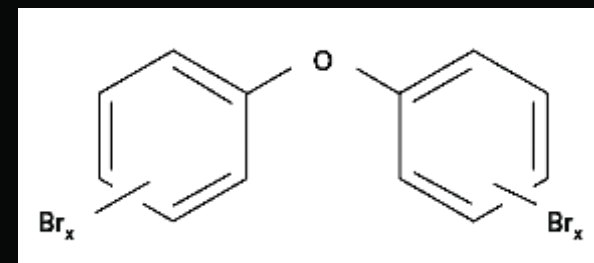
<p>PCB 2004 4-OH-3,5-di CB</p>			
<p>PCB 5005 4-OH-2',3,3',4',5'-penta CB</p>			
<p>PCB 6001 4-OH-2',3,3',4',5,5'-hexa CB</p>			
<p>PCB 6002 4-OH-2',3,3',5,5',6-hexa CB</p>			

1.環境化学物質による TRを介する転写への作用: (2) DBDE (BDE209)



Ibhazehiebo et al. Environ Health Perspect, 2010

臭素化ジフェニルエーテル のTRへの作用の解析結果



略称	名称	有効濃度	転写抑制 (10 ⁻⁸ M)	TR-TRE結合抑制
BDE28	2,4,4'-BDE	n.s.	n.s.	n.s.
BDE47	2,2',4,4'-BDE	n.s.	n.s.	n.s.
BDE66	2,3',4,4'-BDE	n.s.	n.s.	n.s.
BDE85	2,2',3,4,4'-BDE	n.s.	n.s.	n.s.
BDE99	2,2',4,4',5-BDE	n.s.	n.s.	n.s.
BDE100	2,2',4,4',6-BDE	10 ⁻¹⁰	45%	30%
BDE153	2,2',4,4',5,5'-BDE	10 ⁻⁸	40%	n.s.
BDE154	2,2',4,4',5,6'-BDE	10 ⁻¹⁰	40%	45%
BDE209	Deca-BDE	10 ⁻¹¹	45% (10 ⁻⁹ M)	40% (10 ⁻⁹ M)
DE71	Penta-BDE mix	10 ⁻⁶	n.s.	n.s.

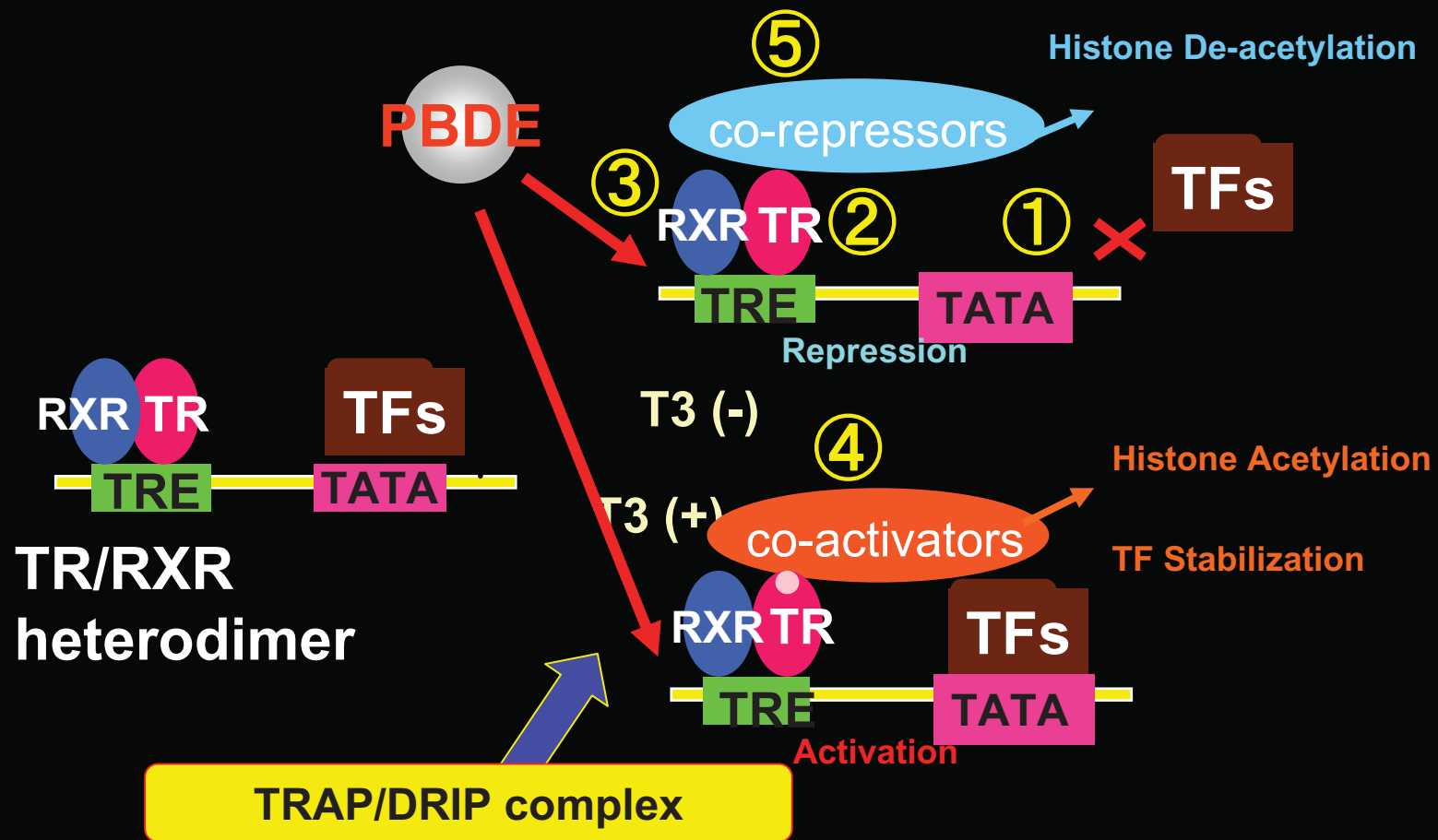
臭素化ジフェニルエーテル水酸化体のTRへの作用

略称	名称	有効濃度	転写抑制 (10^{-8} M)	TR-TRE 結合抑制
6-OH BDE 47	6-OH-2,2',4,4'-BDE	n.s.	n.s.	n.s.
4'-OH BDE 49	4'-OH-2,2',4,5'-BDE	n.s.	n.s.	n.s.
2'-OH BDE 68	2'-OH-2,3',4,5'-BDE	n.s.	n.s.	n.s.

その他の化学物質のTRへの作用

略称	名称	有効濃度	転写抑制 (10^{-8} M)	TR-TRE 結合抑制
HBCD	Hexabromo-cyclododecane	10^{-10}	55%	40%
TBBPA	Tetrabromo-bisphenol A	10^{-10}	30%	60%
BP6	Polybrominated biphenyl-mix	10^{-10}	45%	45%
DEHP	Di-2-Ethylhexyl Phthalate	10^{-8}	25%	n.s.
4-NP	4-nonylphenol	10^{-10} (促進)	促進	n.s.

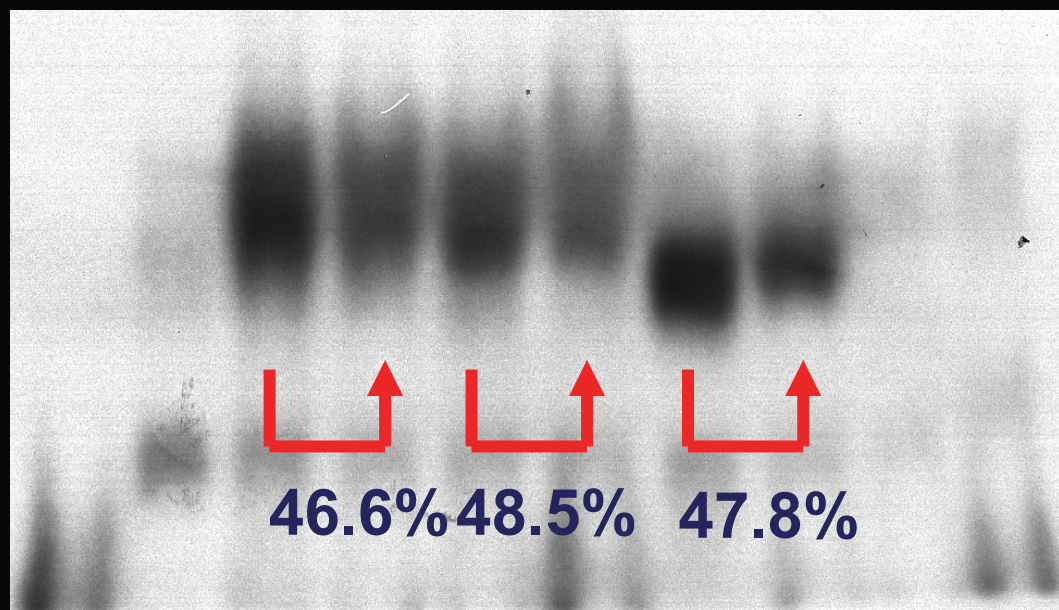
2. 転写に対する影響の作用機序



2. 転写に対する影響の作用機序

OH-PCB 106による転写抑制

lane	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
hTR β 1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
RXR	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
T3 (10^{-6} M)	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
PCB (10^{-8} M)	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-



← TR / RXR

← TR / TR

← nonspecific

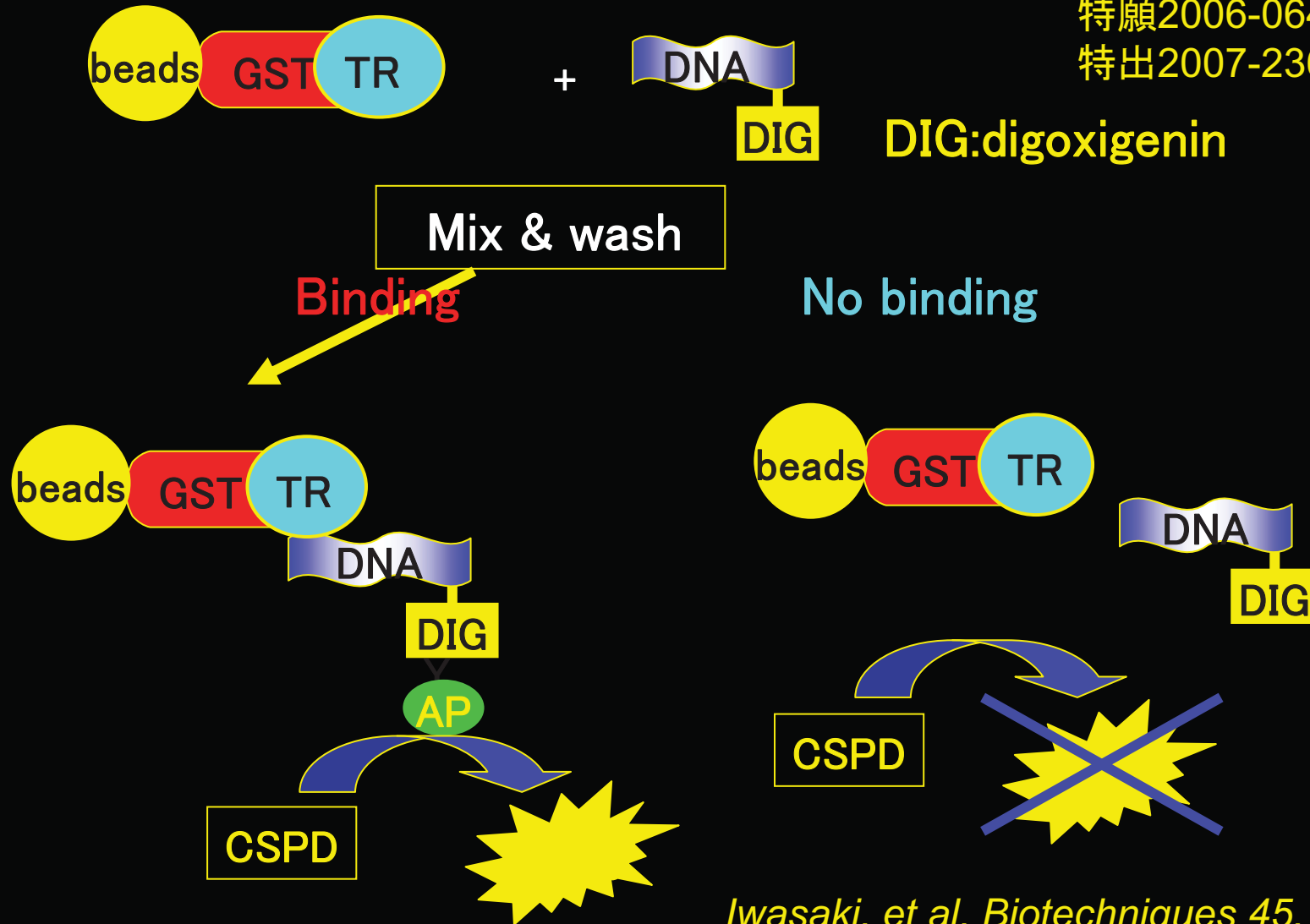
Probe : F2-TRE

2. 転写に対する影響の作用機序

Liquid Chemiluminescent DNA-Pull Down Assay法

特願2006-064876

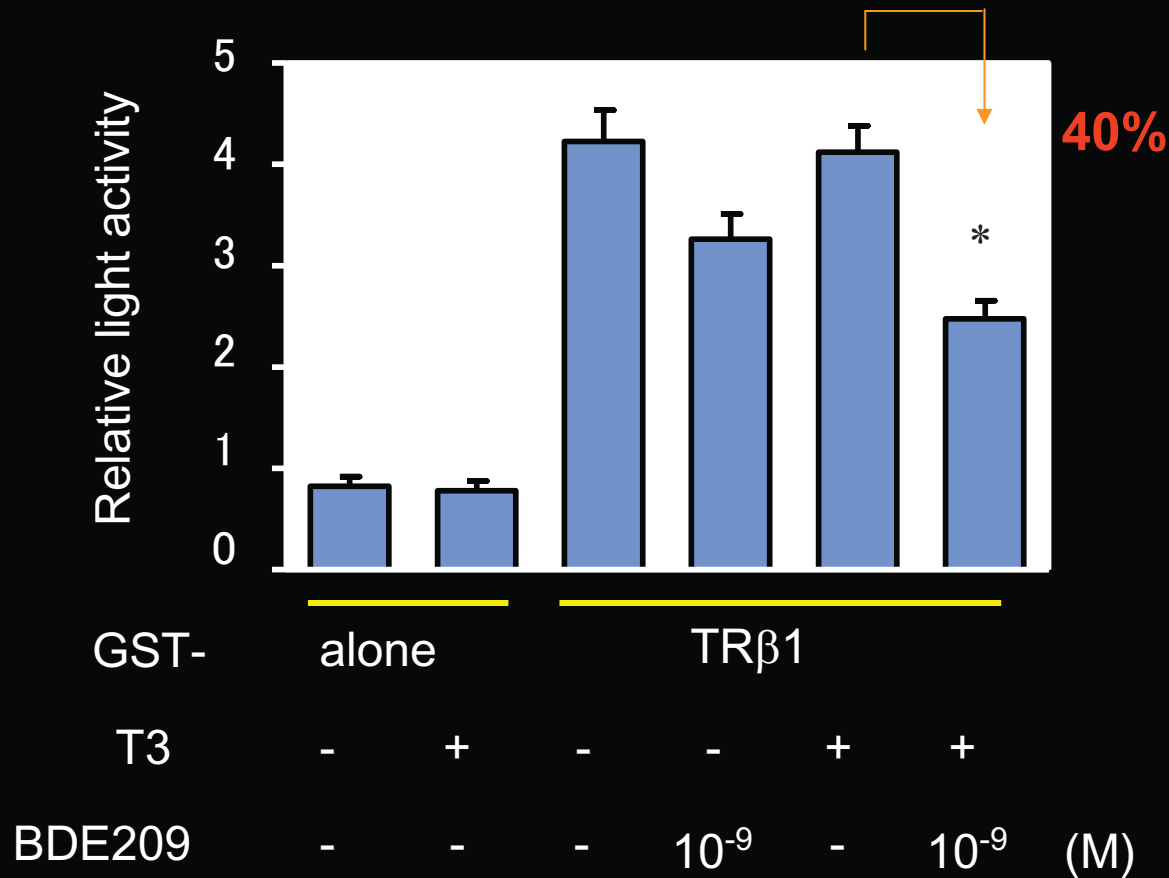
特出2007-236312



Iwasaki, et al. Biotechniques 45, 2008

2. 転写に対する影響の作用機序:

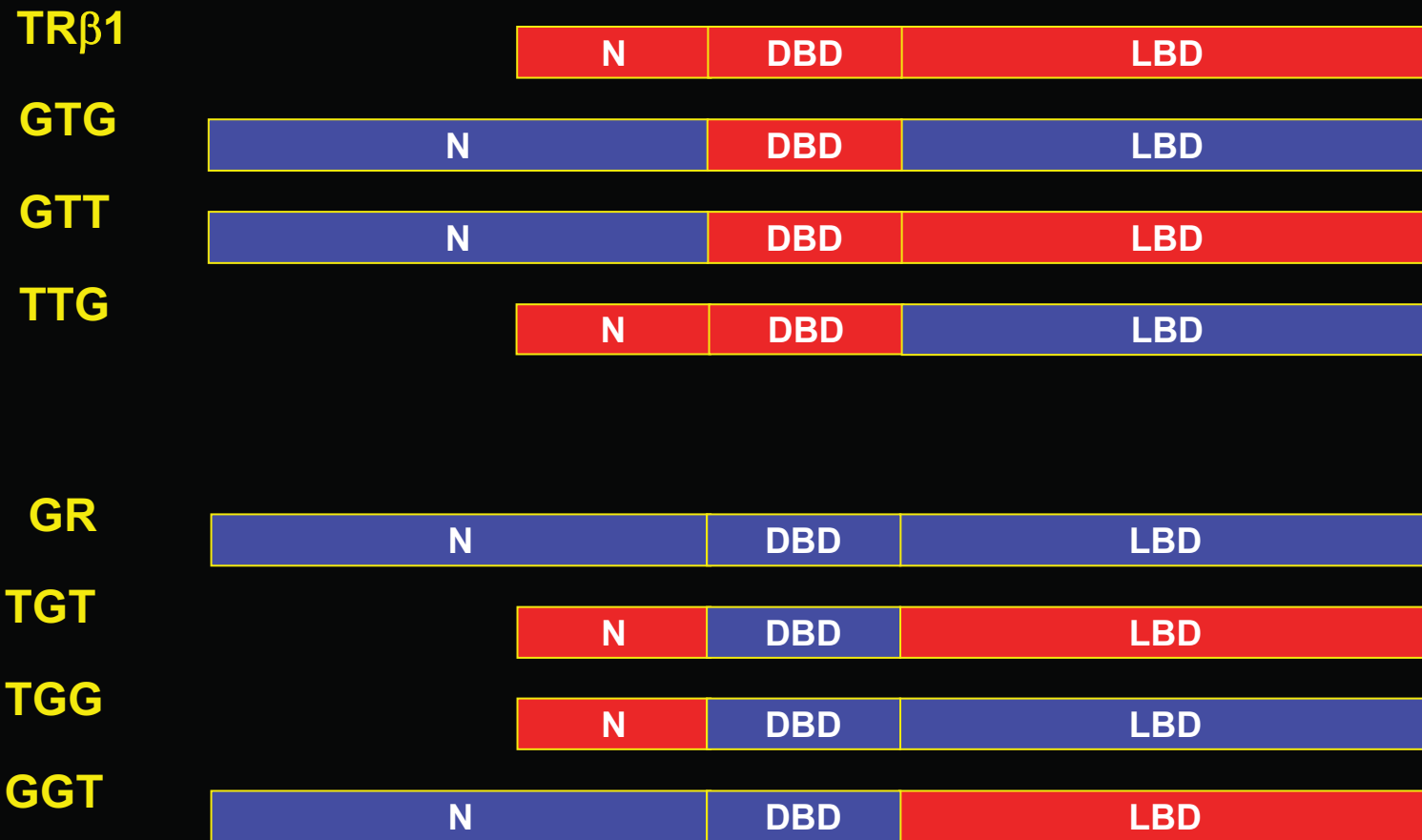
BDE 209 による転写抑制の作用機序



Ibhazehiebo et al. Environ Health Perspect, 2010

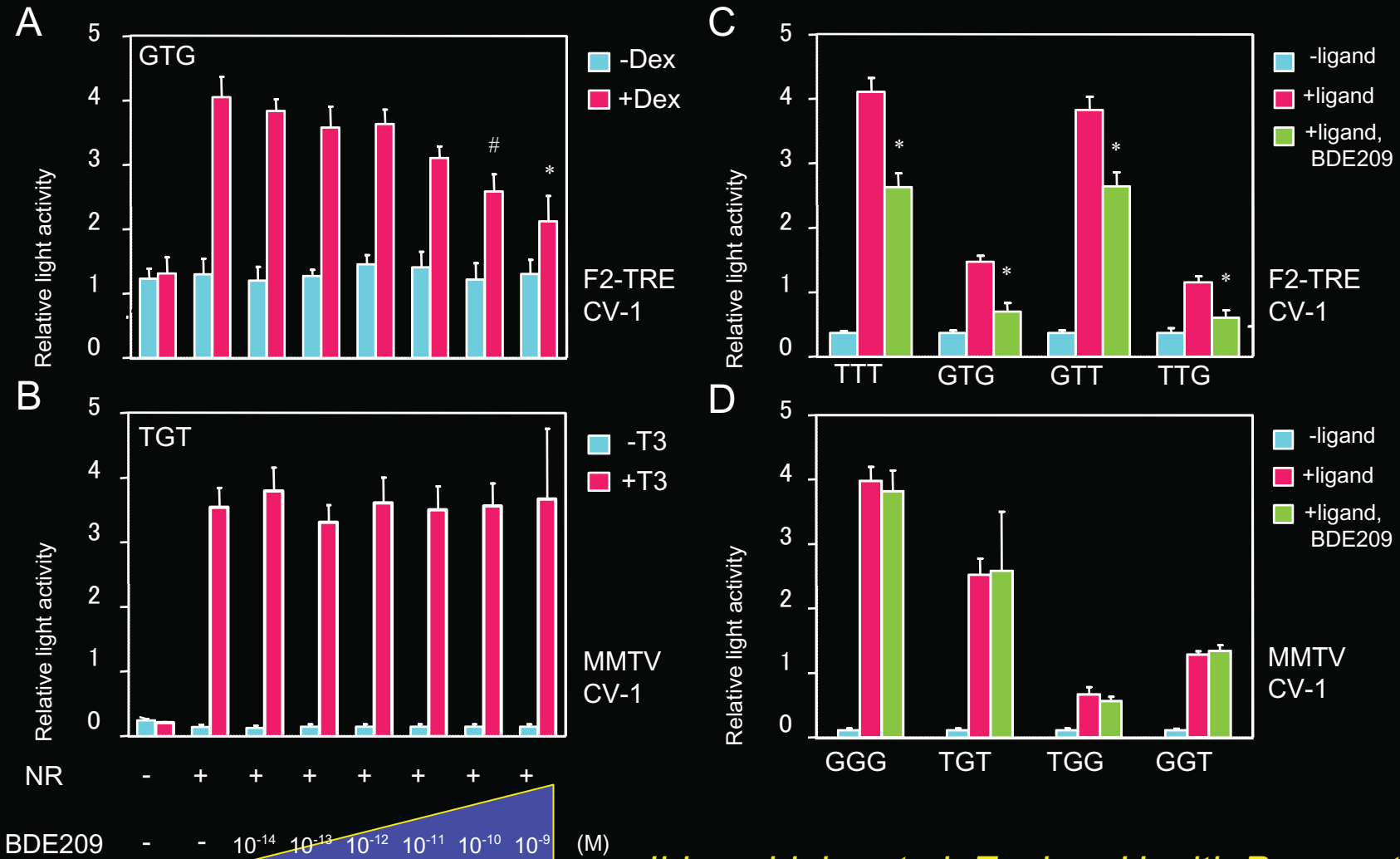
2. 転写に対する影響の作用機序

キメラ受容体を用いた作用部位の同定



G; Glucocorticoid receptor, T; Thyroid hormone receptor.

2: BDE209: DNA結合領域がTR由来の場合, 臭素化ジフェニルエーテルによる抑制が生ずる



Ibhazehiebo et al. Environ Health Perspect, 2010