

課題7．哺乳類試験において観察される変化についての研究

代表研究者：鈴木勝士（日本獣医畜産大学）

青山博昭（財団法人 残留農薬研究所）

【ExTEND2005 との対応】

環境省は、ヒト健康への内分泌かく乱作用による影響の評価手法として、哺乳類（ラット）を用いた改良一世代試験を実施してきた。この試験は、メスのラットに妊娠及び哺育期間に化学物質暴露を行い、親動物及び仔動物への影響を把握するものであるが、各エンドポイントで認められた変化が有害影響であるか否かを判断するにあたっては、試験動物として使用しているラットにおいて観察される組織・臓器レベル及び個体レベルでの自然発生性の変化についての知見が不可欠である。自然発生性の変化としては、Wistar Hannover 系ラットにおける甲状腺の肥大等が挙げられる。このような自然発生性の変化と化学物質暴露に起因した変化とを区別して評価するためには、内分泌系だけでなく神経系・免疫系も含めた個体レベルでのエンドポイント設定が必要であり、また、設定されたエンドポイントにおける変化についての生物学的意義付けを明確にしておく必要がある。

【具体的研究計画】

1) 研究の背景と目的

これまでの内分泌かく乱化学物質の改良型世代試験において、業者から購入した動物のなかに自然発生的な遺伝性の突然変異とおぼしき変化を示す事例が紛れ込んでおり、投与群で低頻度にそのような変化が出現した場合、誘発性の変化なのか自然発生性の変化なのか判断が難しい局面に多々遭遇した。背景的な出現頻度や異常の種類を把握しているだけでは、この問題は基本的には解決せず、遺伝性あるいはエピジェネティックな変化であることを証明することが最も簡明であると考えられた。そのためには、そのような自然発生性の異常の発見、遺伝的固定、様々な遺伝実験や病態の解明と共に、原因遺伝子を探査確立し、診断用プローブを作成することが必要である。

2) 研究概要

11 種類の異常系統について常時合計 1,500 頭規模で動物を維持し、年産で合計 15,000 頭以上を目指す。動物の維持、交配、家系の記録、動物の個体識別、異常の特定、ゲノムサンプルの採取と保存、マイクロサテライトリンケージ試験、遺伝子配列分析、その他の実験を行う。反応性に関わる遺伝子(mdr1 など) のについて市販の動物における多型解析など、新規の関連遺伝子に関する探査を実施する。

哺乳類試験において観察される 変化についての研究

日本獣医畜産大学獣医学部

教授 鈴木勝士

(財)残留農薬研究所 毒性部

副部長 青山博昭

oed/+ の顔貌

哺乳類試験における変化？

誘発性と自然発生性変化の区別

クローズドコロニー由来のミュータント
系の確立維持

原因遺伝子の特定

診断用プローブの開発

反応性に関する遺伝子多型の調査

T1573
(+/?)

T1576
(hgn/hgn)

【ExTEND2005との対応】

哺乳類（ラット）を用いた改良一世代試験（環境省）
ヒト健康への内分泌かく乱作用による影響の評価手法
メスラット妊娠哺育期間に化学物質暴露 親と仔動物への影響
エンドポイントの変化が有害影響であるか否かを判断する

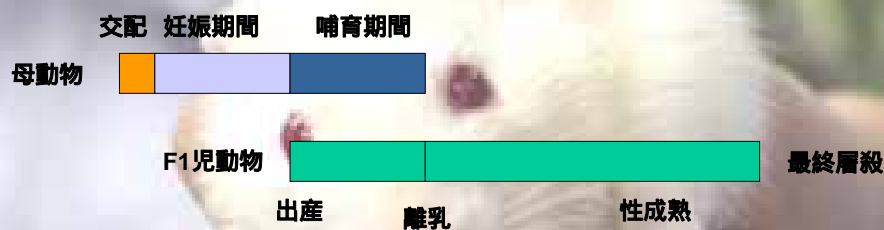
その判断には、試験動物（ラット）の臓器・組織レベル及び個体レベルでの自然発生性の変化についての知見が不可欠

自然発生性の変化で判断が難しかった実例

Wistar Hannover系ラットにおける甲状腺の肥大
/ 成長不良 / 均衡型矮小症

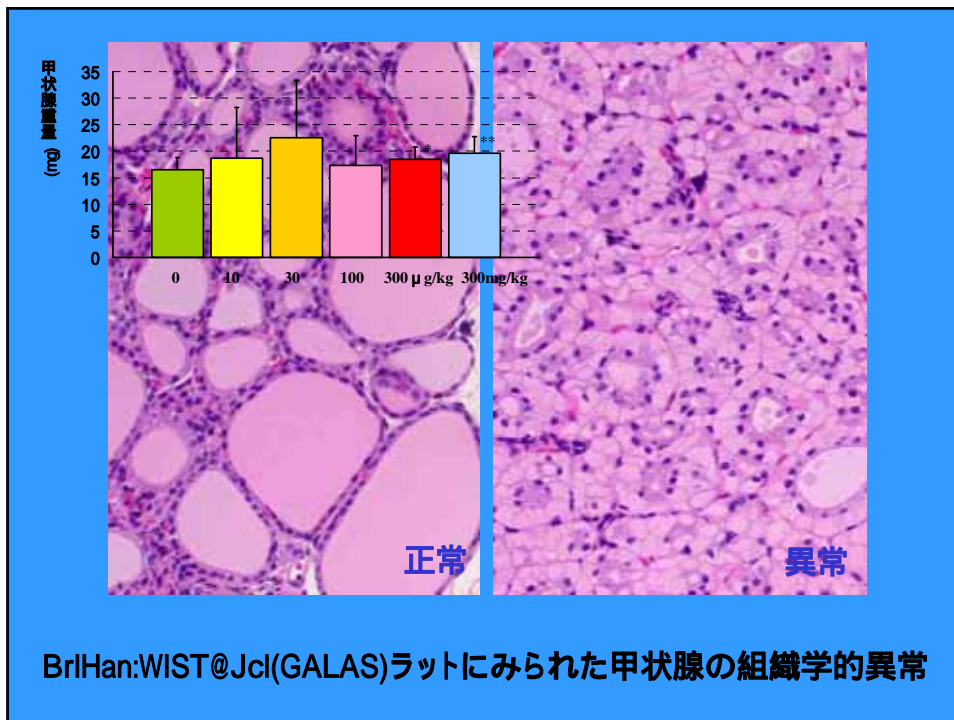
自然発生性の変化vs化学物質暴露に起因した変化との区別
個体レベルのエンドポイント：内分泌系 + 神経系・免疫系等
エンドポイントの変化の生物学的 + 毒性学的意義の明確化

改良型1世代生殖試験(Trans-generation assay)



試験の特徴:

- 必要に応じて、遺伝的背景が均一と考えられる近交系ラットを用いる。
- 必要に応じて、植物エストロゲンを含まない飼料を基礎飼料として与える。
- 被検物質の暴露を、少なくとも妊娠0日から哺育20日まで継続する。
- すべてのF1子動物を離乳まで哺育させる(間引きを行わない)。
- 各群の約半数の腹(6腹)について、すべての哺育児を離乳日に検査する。
- 残りの腹(6腹)から得られた離乳児は、すべて性成熟後の同一時期に検査する。



1) 研究の背景と目的

これまでの内分泌かく乱化学物質の改良型世代試験において、業者から購入した動物のなかに自然発生的な遺伝性の突然変異とおぼしき変化を示す事例が紛れ込んでおり、投与群で低頻度にそのような変化が出現した場合、誘発性の変化なのか自然発生性の変化なのか判断が難しい局面に多々遭遇した。

背景的な出現頻度や異常の種類を把握しているだけでは、この問題は基本的には解決せず、遺伝性あるいはエピジェネティックな変化であることを証明することが最も簡明であると考えられた。

そのためには、そのような自然発生性の異常の発見、遺伝的固定、様々な遺伝実験や病態の解明と共に、原因遺伝子を探査確定し、診断用プローブを作成することが必要であるとの結論に至った。

ood/+ の顔貌