

課題5．両生類における変態のメカニズムに関する研究

代表研究者：柏木昭彦

(広島大学 大学院 理学研究科附属両生類研究施設)

【ExTEND2005 との対応】

これまでの SPEED'98 に基づく取組においては、内分泌かく乱作用の中でも、女性ホルモン様作用が特に注目されてきたが、生殖器官への影響だけでなく、その他の内分泌器官への影響も考慮した調査研究の必要性が指摘されている。両生類のカエルに特有の“変態”は、甲状腺ホルモンによって制御されているため、変態という個体レベルでの変化を評価することで、甲状腺ホルモン軸に対する内分泌かく乱作用を検出することが可能であり、これを利用した変態アッセイの開発が OECD で進められている。変態アッセイの基礎的知見として、変態のメカニズムを、細胞・分子レベルで解明する必要がある。

【具体的研究計画】

1) 研究の背景と目的

変態アッセイの開発過程において、暴露した化学物質種や濃度により、個体レベルの変化が認められている。その変化と細胞・分子レベルでの変化とを比較評価することは、化学物質の甲状腺軸への作用メカニズムを理解し、また試験法の妥当性を保証する上で必要不可欠な情報となる。本研究では、甲状腺ホルモン軸に対する内分泌かく乱作用により個体レベルで生じる変化について、変態アッセイの過程で組織をサンプルリングし、遺伝子発現プロファイリングより、細胞・分子レベルで遺伝子カスケードを整理するとともに、甲状腺ホルモン軸応答モデル両生類を用いて遺伝子発現と個体レベルで生じる変化とをリアルタイムで調べることにより、両生類の甲状腺軸に対する内分泌かく乱作用発現のメカニズムの解明を目指す。

2) 研究概要

異なる作用メカニズムにより甲状腺ホルモン軸に対し、かく乱作用を惹起する化学物質(甲状腺ホルモン; T4、プロピルチオウラシル; PTU、イオパノ酸; IOP)を、変態アッセイに準じてニシツメガエル幼生に暴露し、継時的に、これらの幼生から後肢、尾、甲状腺、肝臓等の組織を採取する。各組織から遺伝子を取得し、ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いた遺伝子発現解析により、遺伝子発現変化をプロファイリングし、個体レベルで生じた変化と対応させて遺伝子カスケードを整理する。

両生類の甲状腺軸に対する内分泌かく乱作用 発現のメカニズムに関する研究

柏木昭彦

広島大学大学院理学研究科附属両生類研究施設

SCOPE OF THE OECD WORK ON EDs

OECD Test
Guideline
Programme

Special Activity

EDTA Task Force

- Oversees VMGs
- Defines the needs in terms of test methods

Country driven activity

- Manage validation work

VMG-mammalian

VMG-eco

VMG-non animal

fish

amphibian

birds

invertebrates

Technical Expert Groups:
discuss and agree on
protocol/ parameters before
validation

Phase II: 変態アッセイバリデーション試験条件

試験動物	アフリカツメガエル		
暴露期間	発生ステージ51から21日間*		
試験物質濃度	T4	0.25, 0.5, 1.0, 2.0 µg/L	
	パークロレート (PER)	65, 125, 250, 500 µg/L	
	イオパノ酸 (IOP)	0.75, 1.5, 3.0, 6.0 mg/L	
実験方式	流水式 (流速 25mL/min)		
エンドポイント計測日	発生ステージ	0日目、7日目*、21日目	
	体長	頭胴長	7日目*、21日目
		完全長	7日目*、21日目
	後肢長	7日目*、21日目	
	湿重量	7日目*、21日目	
	死亡率	毎日	
	甲状腺組織切片	7日目*、21日目	

* (7日目に各水槽から5匹ずつサンプリング)

甲状腺軸かく乱作用による個体レベルの変化

Control

T4 $C_{15}H_{11}I_4NO_4$

変態促進 (頭部・前後肢発達)

PTU $C_7H_{10}N_2OS$

変態抑制 (前後肢未発達)

IOP $C_{11}H_{12}I_3NO_2$

変態促進 (頭部発達)
変態抑制 (前後肢未発達)