

哺乳動物細胞を用いた甲状腺ホルモン受容体応答性 レポータージーンアッセイ法の開発

加藤 輝久、小栗 英生、飯田 満

大塚製薬 (株) 大塚ライフサイエンス事業部 EDC 分析センター エコ・スクリーン開発室

現在、一般的に使用されている化学物質の中には、内分泌攪乱化学物質として働く可能性のある物質が存在している、ということに関心が高まってきている。そこで、現存する化学物質から新たに開発されるであろう化学物質まで、その物質の内分泌攪乱作用を迅速に試験する測定系の開発が必要とされている。当開発室では、これまでに性ホルモンであるエストロゲン、アンドロジェンの受容体に作用し、それらの機能に影響を与える物質を測定する目的で、これらのホルモンの受容体とルシフェラーゼ遺伝子を組み合わせたレポータージーンによるアッセイ法を開発してきた。

本研究では、ヒトの恒常性に重要な役割を果たしている甲状腺ホルモン受容体の機能に影響を与える物質を測定する目的で、この受容体に応答するレポータージーンアッセイ法を開発した。ヒト甲状腺ホルモン受容体を単離 (hTR α 1、hTR β) し、受容体発現ベクターを構築した。また、ルシフェラーゼ遺伝子と甲状腺ホルモン応答性エレメント (TRE) よりレポーターベクターを構築した。この両ベクターを哺乳動物細胞 (CHO) に導入し、モノヨードチロシン、ジヨードチロシン、3,3',5-トリヨードチロニン (T3)、チロキシシン (T4) や他のステロイドホルモンのアゴニスト活性を調べた。

その結果、hTR α 1、hTR β のどちらの系においても、甲状腺ホルモンである T3、T4 のみに特異的に応答した。このことより本測定系では、甲状腺ホルモン受容体の機能に影響を与える可能性のある物質を特異的にスクリーニングでき、その強度も観察できることが示唆された。現在、この測定系で hTR α 1 および hTR β に対する既存の化学物質のアゴニスト、アンタゴニスト活性を検討中である。

Development of the Method of Thyroid Hormone Receptor Responsible Reporter Gene Assay using the Mammalian Cell

Teruhisa Kato, Hideo Oguri, Mitsuru Iida

EcoScreen R&D section, EDC analysis Center, Otsuka Lifescience Initiative, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokushima, Japan

Recently, it has been of great concern that a number of chemicals in environment cause the disruption in endocrine system of human and wildlife. Then, it has been required for developing of the measurement system for screening endocrine disrupting chemicals. In our R&D section, we have been developed that rapid and sensitive reporter gene assay methods for detecting the transcriptional activities forward estrogen and androgen receptor using luciferase gene. In this study, in order to measure the transcriptional activity of thyroid hormone receptor, we developed the reporter gene assay using luciferase gene. The receptor expression (hTR α 1 and β) and reporter (TRE-Luc) vector were transfected in mammalian cell (CHO), and agonist activity detection assay was performed about several steroid hormones. As the result, it was responded only T3 and T4. It is suggested that this method is suitable for pre-screening for large number of environmental chemicals and may help to make a priority to the test compounds that need further testing.