

メダカ稚魚を用いた内分泌攪乱物質評価法の開発

○高嶋 良吉¹, 水谷 滋利¹, 蝶野 英人¹, 金森 章², 木下 政人³, 辻本 善政¹, 榎 由樹¹,
近藤 昭宏¹, 島田 敦子⁴, 嶋 昭紘⁴, 加藤 郁之進¹

¹宝酒造(株)バイオ研究所, ²名古屋大学大学院理学研究, ³京都大学大学院農学研究科,

⁴東京大学大学院新領域創成科学研究科

【目的】世界中で利用されている様々な化学物質の野生生物の内分泌系や生殖系に対する影響が懸念され、新しい環境汚染として重大な問題となってきた。この状況下において、内分泌攪乱作用を迅速に評価する方法の開発は不可欠である。我々は、初期胚発生段階で遺伝的雌雄を判別できる特殊な系統のメダカを用い、メス特異的遺伝子の発現を指標としたアッセイ系の開発を試みた。

【材料及び方法】実験魚として胚発生過程の初期段階で遺伝的性別が判別できる Qurt 系統のメダカを使用した。止水式で飼育されたペアのアダルトメダカより受精卵を採取し、96 穴プレートを用いて 17-β エストラジオール (E₂) (1ppb, 10ppb) とノニルフェノール (NP) (10ppb, 100ppb, 1,000ppb)、ビスフェノール A (BPA) (10ppb, 100ppb, 1,000ppb) に暴露した。また、Vehicle として 0.1%DMSO を使用した。受精後 3-5 日目に蛍光顕微鏡下で白色色素胞の有無を調べるにより稚魚の性別判定を行い、孵化後 5 日間暴露後に稚魚を採取した。得られた稚魚より RNA を抽出し RT-PCR により雌特異的に発現する遺伝子の一つである gene5 の発現への影響を解析した。

【結果と考察】 Vehicle (0.1% DMSO) で処理したグループにおいて gene 5 の発現パターンは遺伝的雌雄間で明確な違いが見られた。(オス : 4%、メス : 94%) これに対し E₂ と NP に暴露したグループのオス稚魚においては gene 5 を発現している個体が確認できた(30.0-48.4%)。また BPA に暴露したグループでは gene 5 を発現している雄稚魚の数は E₂ や NP に暴露したグループに比べ少なかった (9.1-13.6%)。各物質間で差はあるが、これらの物質が Qurt 系統メダカの遺伝的オスにおける gene 5 の発現に影響を与えたと考えられる。今回の研究で雌特異的に発現する遺伝子を指標とした内分泌攪乱化学物質評価法の可能性を示すことができた。

Development of a Method for Assessing Risk from Endocrine Disruptors by Using Medaka Fish Larvae

○Ryokichi Takashima¹, Shigetoshi Mizutani¹, Hideto Chono¹, Akira Kanamori², Masato Kinoshita³, Yoshimasa Tsujimoto¹, Yuki Enoki¹, Akihiro Kondo¹, Atsuko Shimada⁴, Akihiro Shima⁴, and Ikunoshin Kato¹

¹Biotechnology Research Laboratories, Takara Shuzo Co., Ltd. ²Graduate School of Science, Nagoya University

³Graduate School of Agriculture, Kyoto University ⁴Graduate School of Frontier Sciences, University of Tokyo

It has been postulated that some of chemicals used worldwide may affect endocrine and genital systems in wildlife. These chemicals, known as endocrine disrupting chemicals (EDCs), have become the focus of research on possible environmental pollutants. Recently, it also has been reported that NP affects the endocrine system in fish. It is very important to develop a convenient assay system for assessing the endocrine-disrupting abilities of such chemicals. In this study, we tried to develop a new EDCs-testing method by analyzing expression profiles of female-specific genes in the Qurt strain of medaka fish (*Oryzias latipes*) in which genotypic sex can be distinguished at the early embryonic stages. We found a remarkable difference in the expression of one of these genes (gene 5) detected by RT-PCR between genetic male and female larvae 5 days after hatching. In addition, we investigated whether E₂, NP and BPA affect the expression of gene 5 and detected the gene 5 expression in E₂, NP and BPA exposed male larvae.