

## アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)の発生及び変態過程に影響を及ぼす 化学物質の検索

滝上英孝<sup>1</sup>、井上純子<sup>1</sup>、原田 新<sup>2</sup>、森田昌敏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立環境研究所 <sup>2</sup>(株)環境調査技術研究所

【目的】両生類の標準実験動物であるアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)を取り上げ、初期胚催奇形性試験である FETAX(Frog Embryo Teratogenesis Assay-*Xenopus*)に加え、甲状腺機能等のかく乱作用を検出するために変態時の肢発育異常や尾部縮退遅延をエンドポイントとする *in vivo* 試験を組み合わせ、標準(陽性)物質についての試験を開始し、試験としての感度確認や有効性の検討に入った。

【方法】FETAX 以外に追加したアッセイの概要は以下であり、試験物質としては、甲状腺ホルモン合成阻害剤である methimazole と thiourea 等を用いて溶液曝露を行った。①幼生初期～中期曝露試験: FETAX 試験後の生存個体について後肢原基が発達する stage54 まで連続曝露を行い、発生段階、体長、死亡率、奇形の有無を記録、曝露終了後も飼育観察を行い、前後肢発育異常や尾部縮退(stage58-66)を観察した。

②尾部縮退試験: 変態時の前肢 2 本が前肢腔から突出する段階(stage58)から曝露を開始し、尾部縮退が完了し、尾部が消失した時点(stage66)をもって試験終了とした。発生段階、尾長を計測した。

【結果・考察】Methimazole と thiourea を対象として得た知見をまとめると、FETAX (stage11-46)では、両物質とも最高 100mg/L においても奇形、致死等の異常は観察されず、FETAX は甲状腺機能阻害スクリーンとは別に位置づけるべきことが示唆された。Stage11-54 にかけての曝露では、methimazole に関して 10mg/L 以上の濃度では後肢の発育が著しく遅延した。曝露を止めると変態は進行し、正常な四肢形成、尾部縮退を示した。尾部縮退試験において遅延が認められたのは、methimazole では 10mg/L、thiourea では 100mg/L からであったが、個体差が大きく、control との統計的有意差が認められたのは更に 1 桁高い濃度段階であった。以上のことから、変態を表現するマクロバイオマーカーの抗甲状腺薬に対する応答感度は *Xenopus* ではさほど鋭敏ではないが、これには幾つかの理由が考えられる。甲状腺かく乱影響には様々な作用点が考えられるため、影響メカニズムに応じ、適当な陽性対照を用いることでアッセイデータを網羅的に獲得する必要がある。

### Development of Bioassays Using *Xenopus laevis* for the Detection of Causative Substances on Its Development and Metamorphosis

Hidetaka Takigami<sup>1</sup>, Junko Inoue<sup>1</sup>, Arata Harada<sup>2</sup> and Masatoshi Morita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Institute for Environmental Studies, <sup>2</sup>Environmental Investigation and Technology Institute Co., Ltd The effects of two anti-thyroid drugs (*i.e.*, methimazole and thiourea) on survival, growth and metamorphosis (*i.e.*, limb development and tail length resorption) of South African clawed frog (*Xenopus laevis*) were investigated in static-renewal tests. In the frog embryo teratogenesis assay-*Xenopus* (FETAX), the mortality and malformation were not observed for the two drugs at the highest concentration exposed (100 mg/L), which suggests that FETAX is not an appropriate screen for thyroid action. Two bioassays for evaluating limb development and tail regression, respectively have a possibility to become a simple and specific assay for thyroid hormone activity. Hind-limb development assay was conducted from stage 11 to 54. Two drugs did not induce maldevelopment of the limbs. However, 10 mg/L of methimazole exhibited remarkably delayed maturation of hind-limb buds with reduced thyroid function. The rate of tail resorption was monitored and quantified from stage 58 through 66. Methimazole at concentrations > 10 mg/L and thiourea at concentrations >100 mg/L resulted in decreased rate of tail resorption.