

## アフリカツメガエル変態アッセイ(XEMA)を用いた Tetrachlorobisphenol A の甲状腺ホルモン活性試験

井上純子、滝上英孝、白石不二雄、深澤均\*、森田昌敏

独立行政法人 国立環境研究所 \*静岡県環境衛生科学研究所

【目的】 Tetrachlorobisphenol A (TCBPA)は、かつて塩素系難燃剤として知られた化学物質であるが、bisphenol A を使用した感熱紙、コピー紙の古紙再生の漂白過程で生成することが報告されている。この TCBPA は、酵母アッセイ(hTR $\alpha$ 発現遺伝子を導入した酵母 Two-hybrid アッセイ法)において甲状腺ホルモン(TH)様のアゴニスト作用が検出されている。TCBPA は酵母アッセイ法においては、thyroxine (T4)の1/28程度(重量ベース)のアゴニスト活性を示しており、ヒドロキシPCB等と並び活性の高い部類に属すると考えられ、このTCBPAについて、アフリカツメガエル変態アッセイ XEMA(*Xenopus*-Metamorphosis Assay)を用いて、TCBPA が変態過程に及ぼす影響について調べた。

【方法】 XEMA は、ドイツで提案されたプロトコールに簡便化のためのいくつかの変更点を加えて実施したが、試験は基本的に stage 50 の *Xenopus* 幼生をを曝露水槽(1曝露群：7個体×4水槽)に入れ、28日間の曝露を行い、観察項目としては①発生 stage、②体長(全長・頭長・尾長)についてそれぞれ曝露 0、14、28日目に計測を行った。TCBPA は、30、100、300  $\mu$ g/L を設定曝露濃度とし、T4(1  $\mu$ g/L)をポジティブコントロールとした。そして、発生 stage、体長測定の結果について 28日間の曝露による各試験群間の差を中心に解析・検討を行った。試験に際しては、試験物質の濃度減衰等を防ぐために滞留時間が7時間程度の半流水式の曝露装置を作成し、曝露時の濃度変化を観察した。

【結果・考察】 半流水式曝露装置を用いることで水槽中 TCBPA の減衰変動を抑制することが可能であり、止水式と比べて有効であることが検証された。酵母アッセイで測定する限り、TCBPA 曝露水は最高濃度段階(300  $\mu$ g/L)においては、T4 曝露水に比べ約 1桁高い TH 活性値を示していた。XEMA 結果では、0、14、28日目に測定した全長、尾長について、T4 群においては、28日目で変態に伴う体長縮退が観察され、TCBPA 群においては、28日目でコントロール群と比較すると全長・尾長が濃度依存的に大きいという傾向が見られた。発生 stage について、T4 群においては 14、28日目に発生 stage の促進が観察されたが、TCBPA 群では発生 stage の遅延、促進は観察されなかった。今回の TCBPA 試験に関して観察項目について見る限りでは、酵母で示された TH 活性と曝露群への影響との間には関連性は見出だされなかった。

本研究中、XEMA を実施するにあたり、試験情報、一部試薬入手に当たっては東和科学(株)のご協力を得たことを記して謝意を表する。

### Evaluation of thyroid hormone activity of tetrachlorobisphenol A using *Xenopus*-Metamorphosis Assay

Junko Inoue, Hidetaka Takigami, Fujio Shiraishi, Hitoshi Fukazawa\*, and Masatoshi Morita

National Institute for Environmental Studies, \*Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

Tetrachlorobisphenol A (TCBPA) possesses thyroid hormone (TH) agonist activity in the yeast two-hybrid assay expressing human TR $\alpha$ . We investigated the effects of TCBPA on metamorphosis of South African clawed frog (*Xenopus laevis*) using XEMA (*Xenopus*-Metamorphosis Assay). The Nieuwkoop-Faber (NF) stage-50 *Xenopus* tadpoles were exposed to 30, 100 and 300  $\mu$ g/L of TCBPA as a test substance and 1  $\mu$ g/L of thyroxine (T4) as a positive standard for a total of 28 days. TH agonist activity of TCBPA in the maximum tested concentration (300  $\mu$ g/L) was shown to be much higher than that of T4 using the yeast assay. However, the effects of TCBPA on tadpole metamorphosis were not significantly observed in terms of body/tail length changes and NF stage progress while T4-exposed tadpoles showed significantly faster development than those of the control. These results suggest TCBPA can be metabolized into an inactive form in *Xenopus* or TCBPA does not work as TH does *in vivo*.