



環境化学物質の水生動物に対する 作用メカニズム解明に向けたアプローチ



2025年11月26日

東京理科大学

先進工学部・生命システム工学科

宮川信一

私は、主にメダカを使った研究の話をします。主にエストロゲン関係の内分泌かく乱の話をして、最後に井原先生の話でも出てきた医薬品関係の話にも少し触れたいと思います。

基礎生物学の話ですので、化学物質が生体に作用するときに体の中でどういうふうに作用するのかという、ちょっとメカニズムが入った細かい話になってしまいますが、お付き合いいただければと思います。



化学物質の内分泌かく乱作用 に関する日英共同研究

EDCs, Pharmaceuticals and CECs 内分泌かく乱物質、医薬品、新規懸念化学物質
Exposures to Adverse Outcomes 曝露から有害影響まで
Protecting Wildlife and Human Health 野生生物と人の健康を守る

曝露と影響解析

化学物質管理の推進

- 野生生物個体群(両生類・魚類・無脊椎動物)に関する野外調査と分析
- 河川や下水処理場における新規汚染物質 (PPCPs, QACs, MPs)の動態とモニタリング

OECDテストガイドライン

OECD TG開発とサポート

- 海洋生物
- メダカ (*Oryzias latipes*) vs キタノメダカ (*O. sakaizumii*)
- 魚類行動試験 (標準化)
- CECsのための魚類試験 (例: 医薬品、甲状腺アッセイ…)

メカニズム解析

分子・イメージングツールおよび
バイオアッセイの開発と応用

- 性判別マーカー、有害影響マーカー遺伝子
- 遺伝子改変動物(ノックアウト、バイオモニターフィッシュ)
- レポーターアッセイ
- GPCRs/トランスポーターの機能アッセイ

3つの重点分野



早期キャリア研究者 (学部・修士・博士・ポスドク) のトレーニングとエンゲージメント



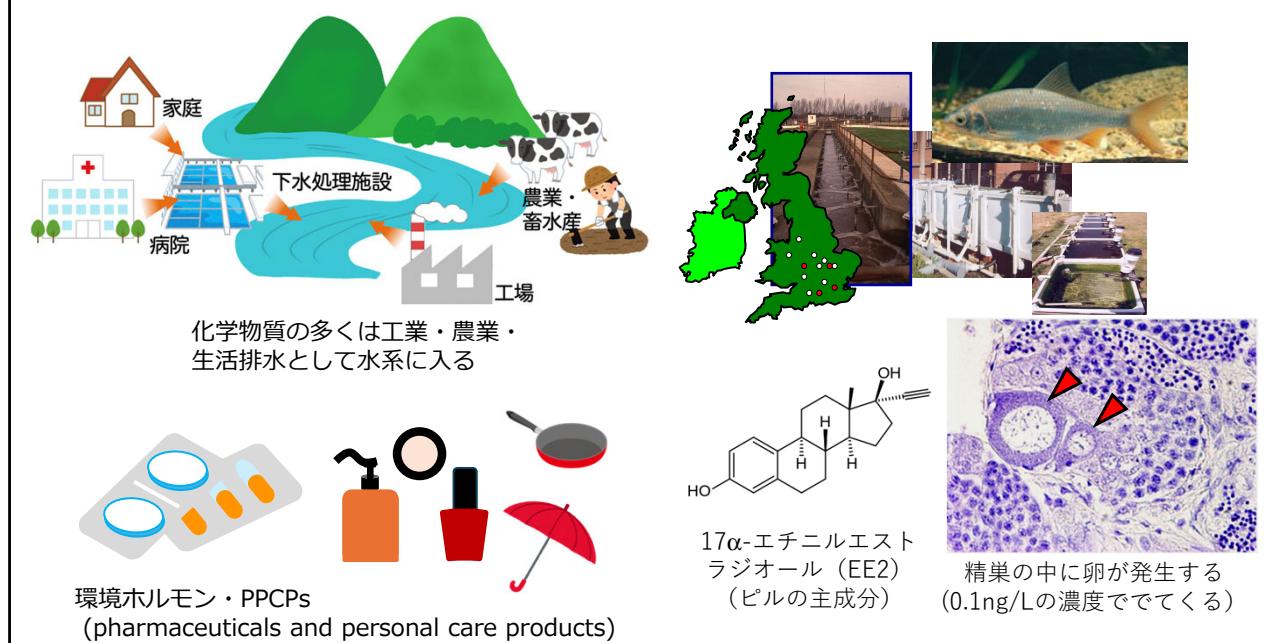
環境研究に携わる若手研究者の育成と支援)



日英二国間共同研究に基づく研究推進

環境省さんのつながりでいうと、先ほどから出てきていますように「化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同研究」というプロジェクトに関わっていて、井原先生ももちろん参加されていて、私は特にこの3つの重点分野のうち「メカニズム解析」を研究フィールドにしておりまして、この中で今日は遺伝子改変メダカを使って行ってきた実験を御紹介したいと思います。

内分泌かく乱化学物質・環境医薬品の生物へ影響



この図のように、私たちの身近にあるものに由来する化学物質は特に水の中に入ることが多く、そうすると水の中に生きている動物はそういった化学物質に曝露され放しになります。そういった意味で水生動物というのは野生生物の化学物質の影響を調べるためには一番適しているモデルになります。

内分泌かく乱物質が問題化されたのはもう20年以上前です。その契機の一つとなっているのが、イギリスで有名な例ですけれども、魚類で発見された精巣卵という現象があります。ピルの中でも強力なエストロゲン成分の17 α -エチニルエストラジオールが下水処理場で完全に除去されずに河川に出ていってしまっていました。

その下水処理場近くにすんでいる「ローチ」という魚、日本でいうコイのようなイメージでいいと思いますが、その精巣の中に卵ができる精巣卵という現象が見られました。これは精巣の組織切片です。この小さい粒々は精子あるいは精子の基となる細胞です。その中にこういう大きい細胞があり、これが卵です。本来精巣には卵はないはずですけども、こういった卵ができてしまうという現象が見つかってきました。

これは実験的には0.1ng/Lという非常に低濃度のエチニルエストラジオールで出てきます。これはどれくらいの濃度かというと、東京ドームいっぱいの水の中に砂粒1個か2個程度の濃度です。

現在はもちろん、こういった強力なエストロゲン作用を持つ化学物質というのは多分そんなに出ていないと思います。ちなみに昨日行われた日英の共同研究のイギリス側の研究者の発表によると、部分的にはまだ精巣卵を持つローチがいるそうです。

私は、このようにエストロゲン作用を持つ内分泌かく乱物質の魚類への影響について、どのようにしてエストロゲンあるいはエストロゲン作用を持つ化学物質が魚の精巣の中で卵をつくるのか、そのメカニズムを知りたいと思って研究をしています。

エストロゲンあるいはエストロゲン作用を持つ化学物質というのは、エストロゲン受容体というたんぱく質に結合して初めて作用するのですが、そもそも私たちヒトあるいは魚にはエストロゲン受容体というのは何種類ぐらいあるのか、複数あったら、そのうちどの受容体が精巣卵をつくるのか、といった話からしたいと思います。

本日のトピック

➤ エストロゲン受容体 (Estrogen receptor; ESR) の機能を明らかにするためのノックアウトメダカを用いた解析

- ・多くの化学物質が女性ホルモンであるエストロゲン受容体に結合して作用する
 - … そもそもエストロゲン受容体は何種類あるのか？その違いは？
 - … 化学物質のエストロゲン作用をメディエイトするのはどの受容体？

➤ 内分泌かく乱/新規汚染物質/医薬品の作用を検出する生体モデル実験系の開発

- ・生体に作用する化学物質を検出するトランスジェニック（ノックイン）メダカの開発
 - … 医薬品成分の作用を検出するメダカ

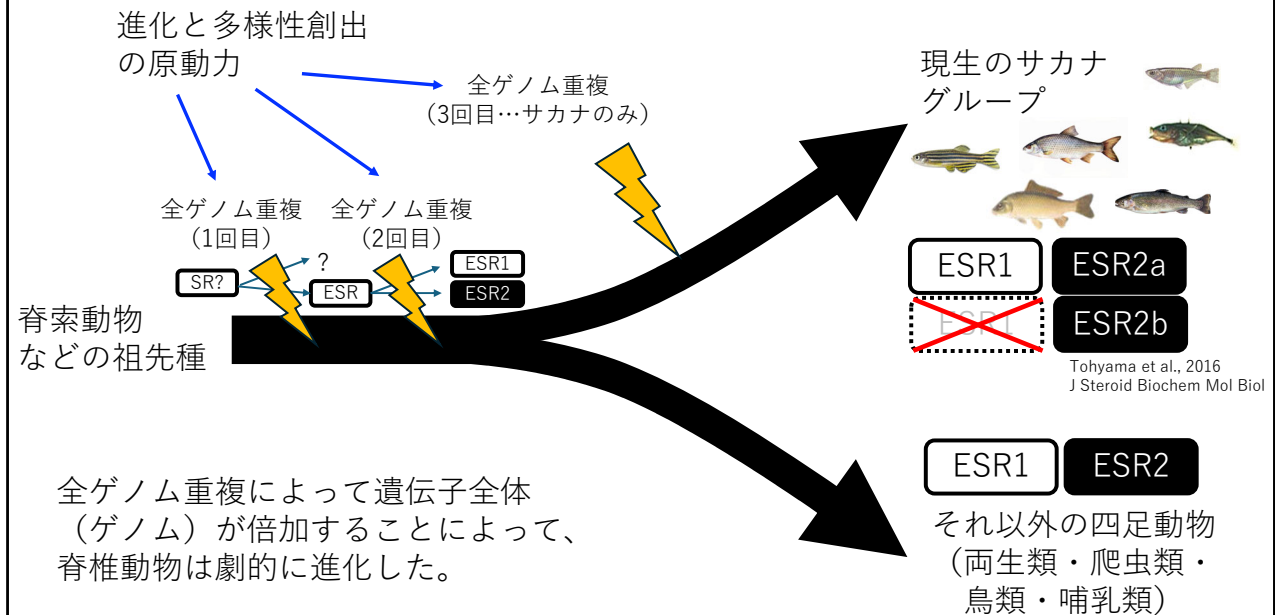
「本日のトピック」です。

エストロゲン受容体、スライド中の表記では「Estrogen receptor, ESR」と書いてありますが、このESRの機能を調べるために、エストロゲン受容体をノックアウトしたメダカ、遺伝子を働かなくしたり、たんぱく質を働かなくした遺伝子改変メダカをツールとした実験の話をしたいと思います。

2番目に、医薬品の問題に関連しても遺伝子改変メダカを使った実験をしておりますので、そのモデルケースとして脳神経系に作用する医薬品を検出するような、そういったメダカの話 最後に紹介したいと思います。

それでは最初に、そもそもエストロゲン受容体は何種類あるのかというところから始めたいと思います。

現生魚類は遺伝子の重複によって遺伝子（ゲノム）が倍加している



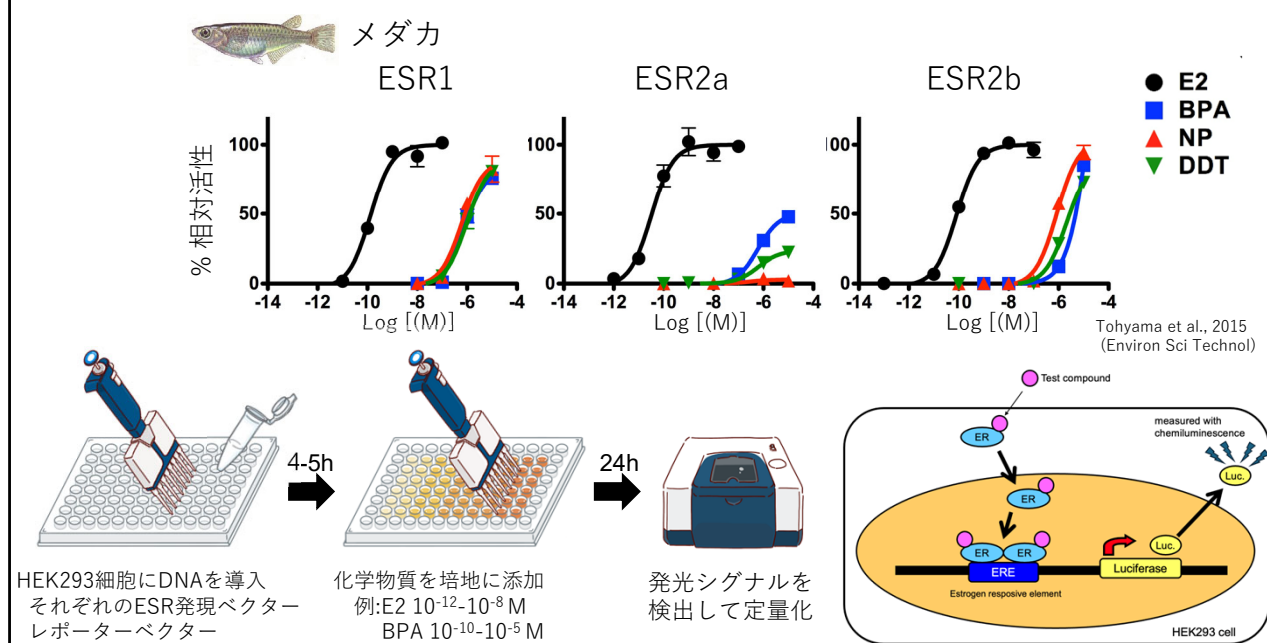
これは内分泌かく乱の話ではなく、ちょっと横道にそって進化学の話になってしましますが、脊椎動物、我々を含めて魚類、両生類、爬虫類、哺乳類と魚のグループは大きく分かります。その共通の祖先が脊索動物、ホヤとかナメクジウオというのですが、ここで全ゲノム重複というのが起き、それによって脊椎動物というのが進化してきました。いろいろな脊椎動物が出てきて、あるいは種の多様性が見られるようになりました。

この全ゲノム重複というのはその名のとおり、全ての遺伝子が染色体ごと単純に倍化する現象です。例えばヒトでそういうのが起こったとすると、ヒトは46本の染色体を持っていますので、それが全ゲノム重複が起きると92本になって、さらにもう一回起きると184本になる。遺伝子が単純に4倍になってしまう。これが脊椎動物の進化と多様性の創出の原動力になったと考えられます。

エストロゲン受容体はこの過程を経て2つになりました。ですから、我々ヒトは2つエストロゲン受容体を持っており、ESR1とESR2と言います。これはもしかしたら「ER α 」と「ER β 」と言ったほうがなじみ深いかもしれませんが、ここでは「ESR1」と「ESR2」という表記にしています。ですので、ほとんど全ての動物はエストロゲン受容体を2つ持っているのです。

ただ魚では、実は進化で分岐した後にもう一回ゲノム重複が起きています。これは両生類、爬虫類、鳥類、哺乳類では経験していません。ですから、理論上魚というのはここでもう一回倍化していますので、我々よりも2倍多くの遺伝子を持っていることになります。単純には必要ない遺伝子は消えたりすることが起きるので、実際ESR1は1つ消えてしまっているんで、多くの魚は3つエストロゲン受容体、つまりヒトよりも複雑なエストロゲン受容体の遺伝子構成を持っているということになります。

サブタイプによって化学物質に対する応答性が異なる



では、その3つのエストロゲン受容体はどう違うのかという話です。右下はエストロゲン受容体はどう作用するのかという図です。ピンクで示しているようなリガンドであるエストロゲンあるいはエストロゲン様の化学物質が、エストロゲン受容体 (ER) に結合すると転写因子として作用します。つまり、リガンドが結合するとそれによってDNAに結合してほかの遺伝子の発現を誘導する機能を持っています。

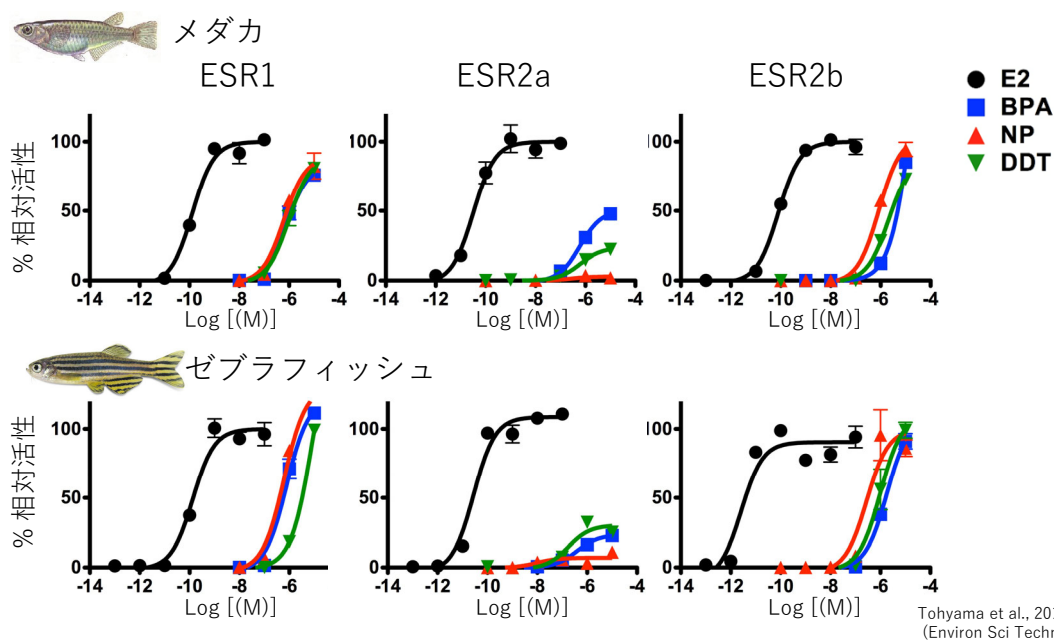
ここで人工的にどれくらい発現するのかが分かるようなものを使いまして、このリガンドがエストロゲン受容体にどれくらい強く結合するのか、その結果どれくらい多くの遺伝子の発現を誘導するのかを調べる実験系があります。これはレポータージェンアッセイといい、培養細胞を使ってできます。

メダカのエストロゲン受容体は3つありますが、それをそれぞれクローニングして培養細胞で別々に発現させます。上の図は横軸が培地に入れる化学物質の濃度です。ここでは内在性のエストロゲンである17 β -エストラジオール (E2) と代表的なエストロゲン作用を持つ化学物質であるビスフェノールA、ノニルフェノール、DDTを使っています。内在性のエストラジオールは強力ですので、非常に低濃度、 10^{-10} や 10^{-11} からエストロゲン受容体を活性化することが分かります。

エストラジオールは全ての受容体を活性化するのですが、細かく見ると、例えばESR2aに対しては 10^{-11} から上がってきているのが分かります。ほかの受容体は 10^{-11} ではまだ上がってきていません。ですから、そういった意味ではESR2aが一番エストラジオールに対して反応性が高いと言えます。

一方、化学物質を見てみると、これはエストラジオールに比べて弱く、エストロゲン受容体を活性化するには高濃度が必要なのです。確かにESR1と2bはエストロゲン活性を持つのですが、ESR2aは非常に反応させづらいのが分かります。ノニルフェノールに至っては、ESR2aは全く反応していません。つまり、これらのビスフェノールA、ノニルフェノール、DDTのエストロゲン活性は、恐らくESR1あるいはESR2bを介して起こっていることが予想できます。

サブタイプによって化学物質に対する応答性が異なる



Tohyama et al., 2015
(Environ Sci Technol)

これはゼブラフィッシュのESRでも同様に、メダカと同じようにESR2aというのは化学物質に対して反応性が弱いことが見てとれます。

この他にも我々は10種類弱の魚でも同じようにテストしていますが、やはり同じようにESR2aは化学物質に対して反応性が弱いので、これはメダカ、ゼブラフィッシュといったような特定の魚ではなくて全ての魚に当てはまることではないかと予想しています。

ゲノム編集によるESR1ノックアウトメダカの作製



フレームがズレて正常なタンパク質が作られなくなる→遺伝子の機能破壊

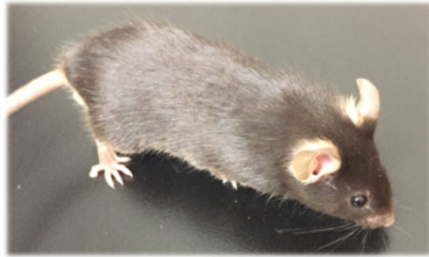
Tohyama et al., 2017
(Dev Growth Differ)

こうしてみると、3種類のエストロゲン受容体は全てのエストロゲンに対して応答することは共通していますが、全く同じではないということが分かってきました。

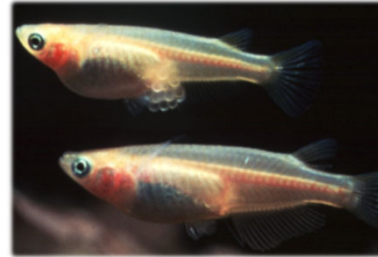
先ほどのデータは培養細胞レベルのデータでしたので、それではメダカの体の中ではどうかということを次に調べたいと思いました。

ある遺伝子の機能を調べるときには、その遺伝子を壊してしまい、それによって生体で何が起きるのかを調べるという手法が非常に有効です。マウスではこういった手法、いわゆるノックアウトマウスを使った実験が1990年代から盛んに行われるようになって、非常に多くの遺伝子の機能が明らかになってきました。当然、メダカをはじめとするほかの動物でもそういうアプローチがもちろん有用なのは分かっていたのですが、こういった遺伝子改変がほかの動物でできるようになったのは最近になってからです。特にゲノム編集技術というものが容易にできるようになって、そういった遺伝子操作が非常に簡単になってきた背景があり、我々は早速エストロゲン受容体、まずはESR1をノックアウトしてみました。

マウスではESR1はオスでもメスでも生殖に必須…メダカでは？



Esr1KOマウスは生殖器官が
エストロゲンに反応せず、メ
スもオスも不妊

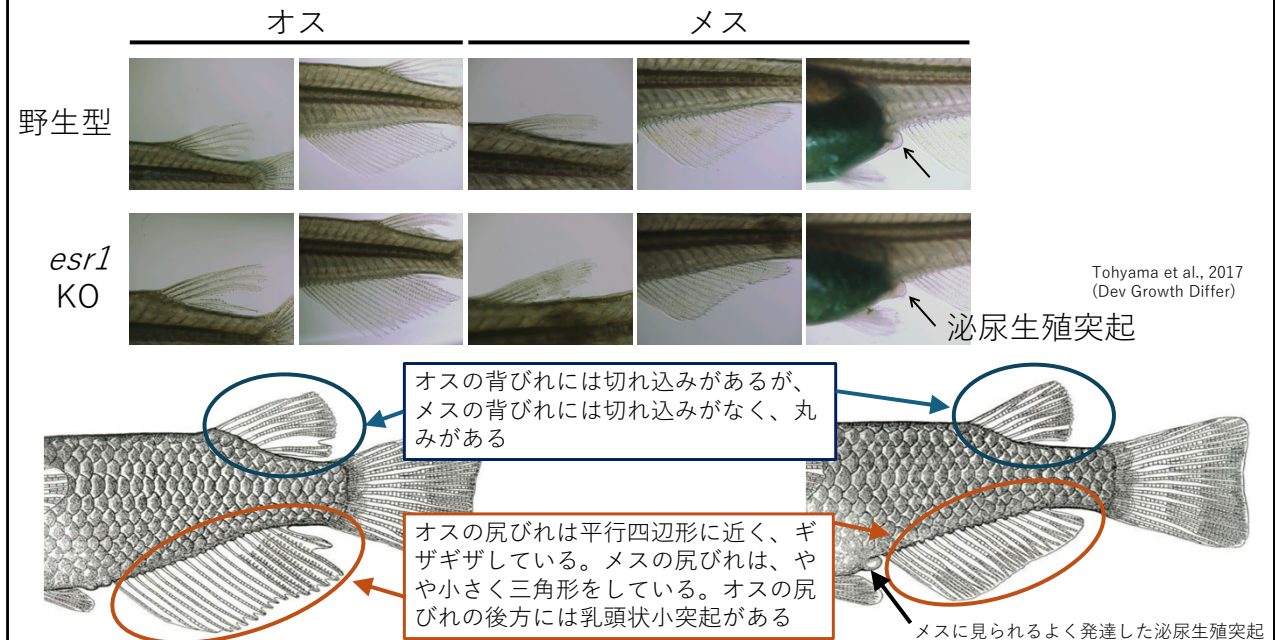


メダカでは？

なぜESR1から始めたのかというと、マウスをはじめとする哺乳類ではESR2よりもESR1のほうがメジャーなESRとして作用することが分かっていました。例えばエストロゲンESR1ノックアウトマウスは生殖器官が、正常であれば子宮とか月経周期に応じて細胞増殖が誘導されるといったことが起きますが、そういった反応が全くなく、雌も雄も不妊になっていますので、当然メダカでも何かそういった影響が出るだろうと予想したからです。

それから、さらにメダカでは、ヒトと違って雌になるためにはエストロゲンが必要ですので、メダカは遺伝的に性が決定していますけれども、遺伝的な雌でも、雌になれずに雄のような表現型を見せるかもしれないということも考えました。

ESR1ノックアウトメダカの鰭の表現型



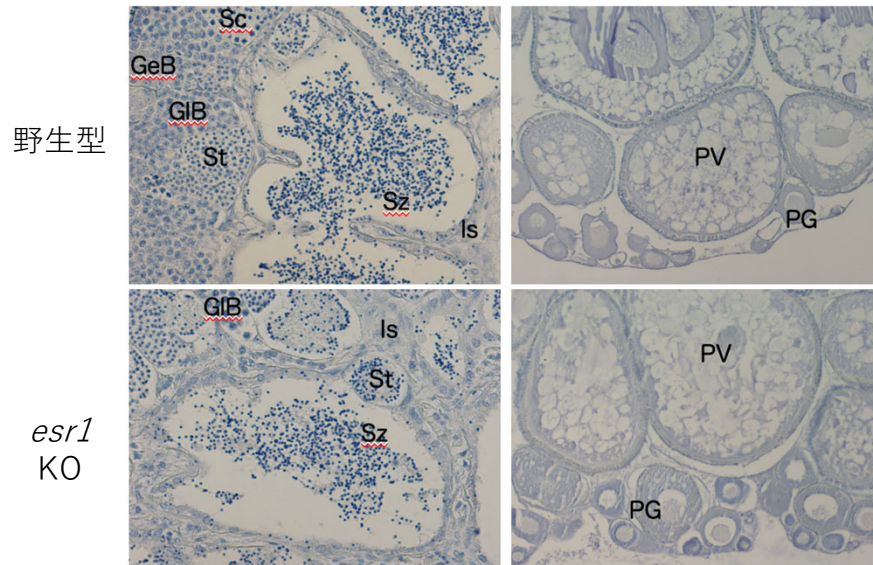
メダカは外からひれの形状を見ると雄と雌が分かります。雄のほうがひれが大きかったり、背びれに切れ込みがあったり、乳頭状小突起があるといったいろいろな特徴があるので、こういったことで雄か雌かというのを判断します。

ここにあるように結果だけ言いますと、ESR1ノックアウトメダカの雄も雌も野生型と変わりませんでした。雄は雄のひれの形をしていますし、雌は雌のひれの形をしているということでした。

ESR1ノックアウトメダカの生殖腺の表現型

精巣

卵巣



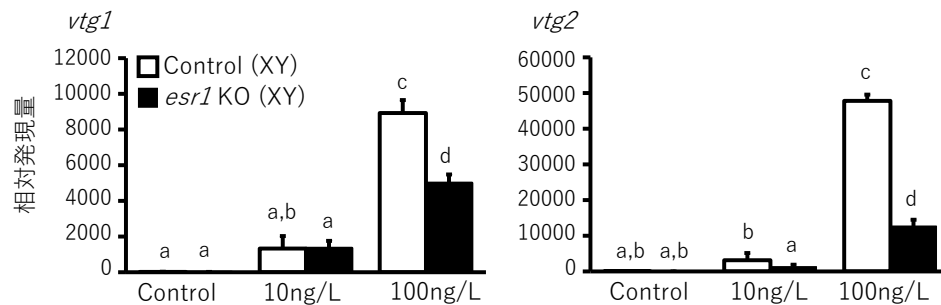
Tohyama et al., 2017
(Dev Growth Differ)

これはESR1ノックアウトメダカの生殖腺の切片画像です。

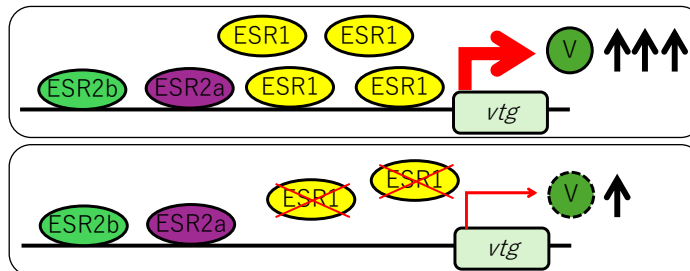
左が精巣、右が卵巣で、上段が野生型、下段がESR1ノックアウトの生殖腺ですが、精巣も卵巣も全く野生型と変わりませんでした。

それから、スライドではお見せしていませんが、ESR1ノックアウトメダカの雄雌同士の交配でもちゃんと子孫を残せますし、産卵数とか受精率、ふ化率も全く野生型と一緒にでした。

ESR1KOメダカのオスにおいてエストロゲン曝露によって誘導されるビテロジェニン遺伝子の発現が抑制される



Tohyama et al., 2017
(Dev Growth Differ)



野生型のオス
+ estrogen

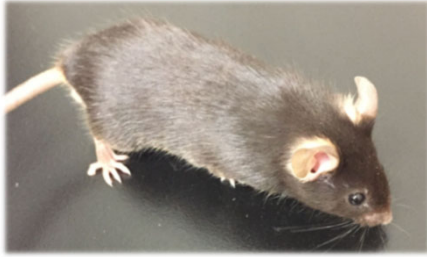
esr1 KO オス
+ estrogen

唯一影響を受けていた点はビテロジェニン遺伝子の発現量でした。ビテロジェニンは肝臓でつくられ、それが卵巣に運ばれて卵黄に蓄積されるたんぱく質であり、本来雌でしか発現しない遺伝子ですので、雄では全く発現していません。しかし、雄のメダカの水中にエストロゲンを入れてやると雄の肝臓でもビテロジェニン遺伝子が発現するようになります。

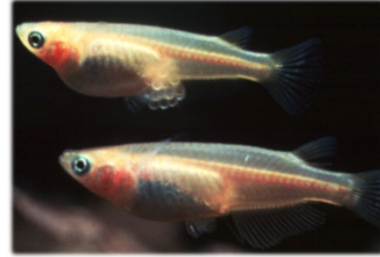
ですので、このビテロジェニンというのは化学物質のエストロゲン作用を検出するバイオマーカーとして使われます。ここではビテロジェニン1と2の遺伝子発現を調べていて、白いバーで示した野生型はこのようにエチニルエストラジオールを水の中に入れるとビテロジェニンの発現量が上がってきます。

一方、黒いバーで示したESR1ノックアウトメダカでは、発現量は上がるものの野生型のレベルに至っていないということが分かりました。ですから、ESR1はビテロジェニンの発現そのものには必要ないのだけれども、その発現を増大させるのに関わっているということが言えます。

マウスとメダカではESR1の機能が異なる



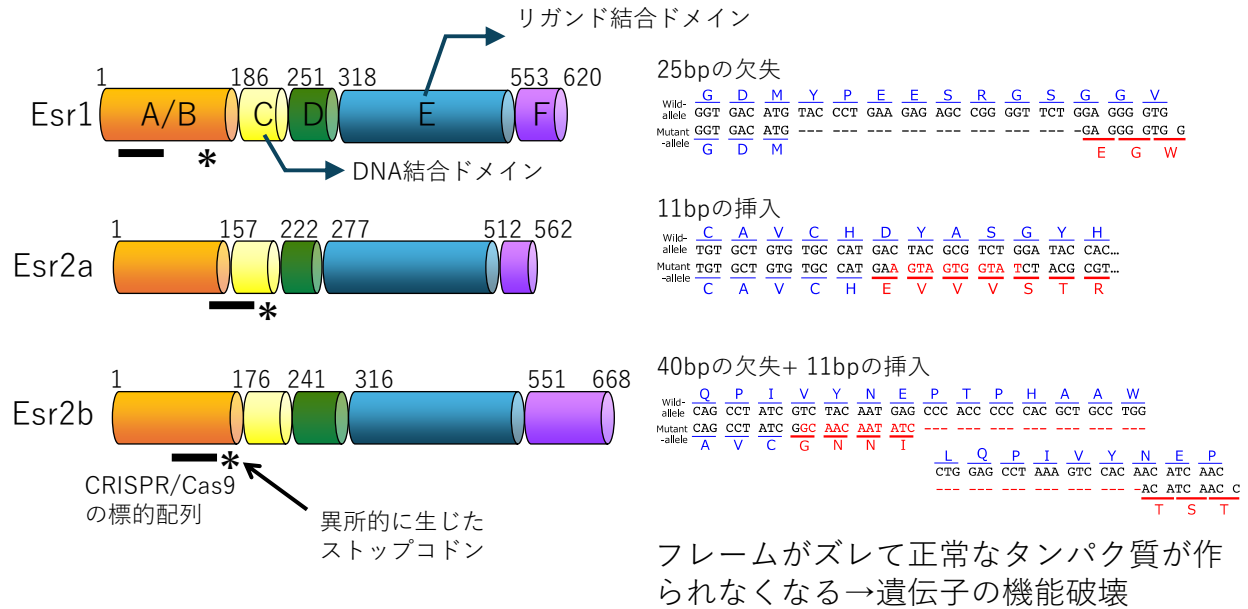
Esr1 KOマウスは生殖器官がエストロゲンに反応せず、オスも不妊)



ESR1 KOメダカは妊性がある
(機能が違うか、ESR2aや
ESR2bによる機能補償?)

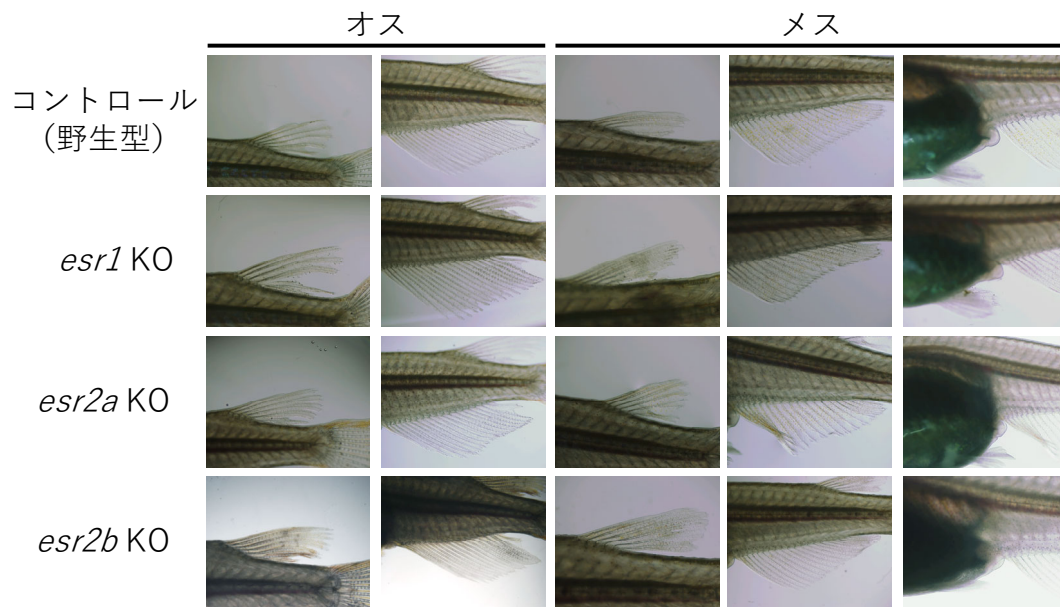
したがって、このESR1の重要性といった意味では、マウスと実に違うことが分かります。少なくともマウスとは異なった機能や役割を担っていると考えられるのですが、もちろんESR1がメダカで何もしていないというわけではありません。なぜならESR1がなくなったことでほかに残ったESR2aや2bがまだありますから、そちらが頑張ってESR1の機能を補ってしまっているという可能性もあります。

Esr2a、Esr2bノックアウトメダカ



次に、CRISP-Cas9という技術でESR2aと2bもノックアウトしました。

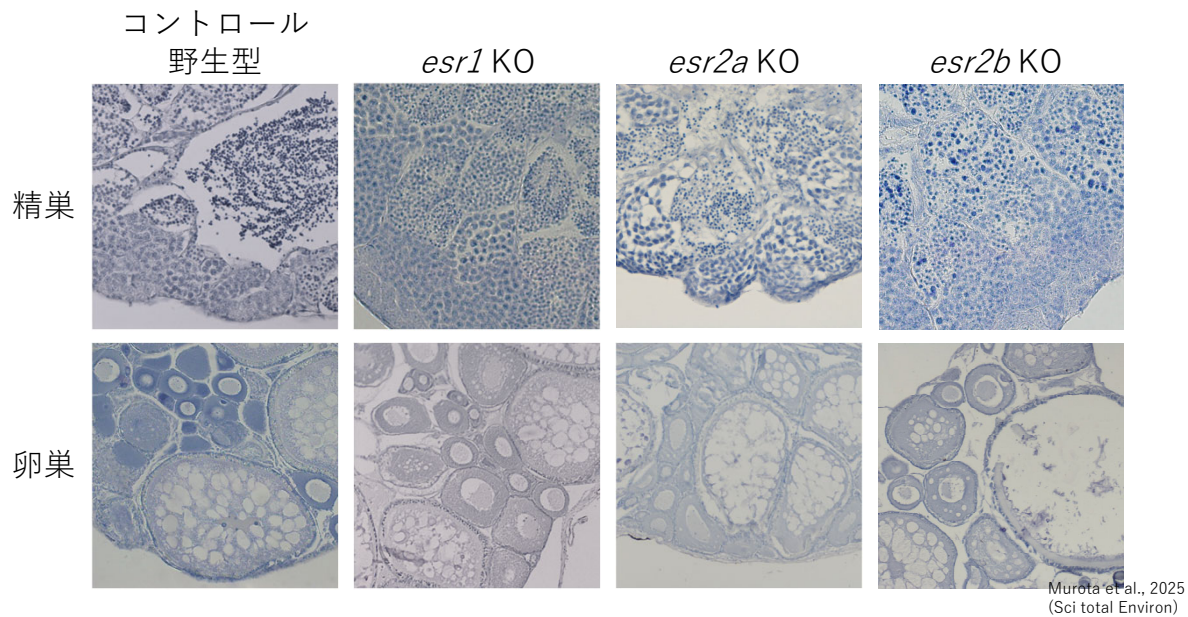
ESR2a KO, ESR2b KOメダカは正常な性的二型を示す



Murota et al., 2025
(Sci total Environ)

これはひれの形です。結果だけ見ると、それぞれ単独のESRノックアウトメダカはほぼ、野生型と同じひれの形をしていました。つまり、1種類のエストロゲン受容体をなくしても全く性分化には影響しませんでした。遺伝的な雄と雌に従ってちゃんと分化します。

ESR2a KO, ESR2b KOメダカは正常な生殖腺に発達を示す



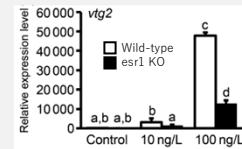
生殖腺の切片、組織もほとんど影響が見られませんでした。

ESR KOメダカの表現型のまとめ

esr1 KO

- ・オスもメスも顕著な表現型はない
- ・エストロゲンによってオスメダカで誘導されるビテロジェニン遺伝子の発現レベルが低下

(*Tohyama *et al.*, 2017)



esr2a KO

- ・卵管の閉塞によってメスメダカの腹部が膨大して不妊
- ・オスメダカは顕著な表現型はない

(*Ogino *et al.*, 2018, Kayo *et al.*, 2019)



esr2b KO

- ・メスのメダカがオスの性行動を示して不妊
- ・卵巣の生殖細胞の維持に関与

(Chakraborty *et al.*, 2019, Nishiike *et al.*, 2021)

*は私たちのグループの報告

ただ細かく見てみると、ESR2aの雌ではおなかが膨れた不妊になりました。調べてみると、卵巣は正常に卵をつくっているが、それを体外に排出する卵管が詰まったことでおなかが膨れてしまうという現象が見られました。

ESR2bに関しては、生殖腺は正常ですが、脳の雌化ESR2bというのが必要で、雌が雄の性行動をとるため不妊になっています。ですので、ESR2aと2bの雌は不妊です。しかし、雄はいずれも正常、子孫を残せます。

メダカとゼブラフィッシュの表現型比較

メダカ (*Oryzias latipes*)



性決定遺伝子 (Dmy) が同定されている = 遺伝的な性が簡単に同定できる

顕著な表現型はない

メスにおいて卵管閉塞 (不妊)

メスがオスの性行動 (不妊)

VS

ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)



性決定様式

多因子による性決定
雌性先熟 (仔魚は全て卵巢をもつが、成長に伴って半数個体では卵巢から精巢に変化する)

Esr1 KO

顕著な表現型はない
(Premature ovarian failure in female?)

Esr2a KO

顕著な表現型はない

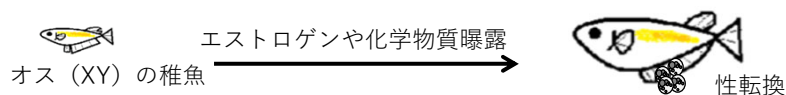
Esr2b KO

顕著な表現型はない

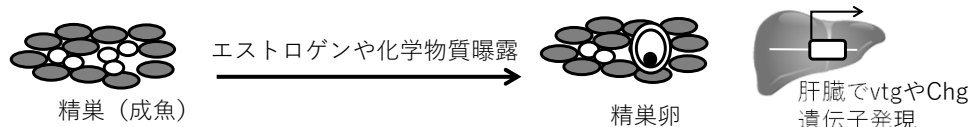
ゼブラフィッシュでもエストロゲン受容体のノックアウトが報告されていますが、基本的には単独のノックアウトでも特に際立った異常は報告されていません。

それから、**ESR2a**と**2b**の雌、メダカでは不妊と言いましたが、ゼブラフィッシュの場合は表現型は出ていません。

これらの内分泌かく乱作用をメディエイトするのは、 どのESRサブタイプか？



発生期のオスにエストロゲンが作用すると、メスに性転換する

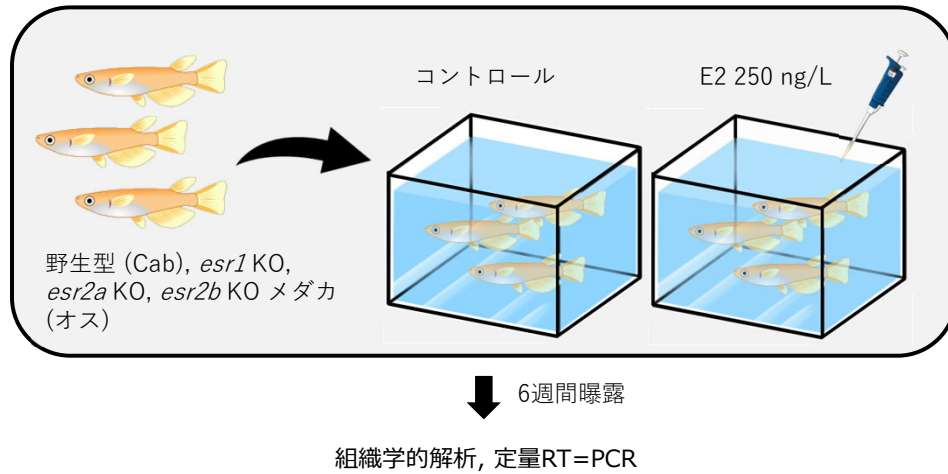


成魚にエストロゲンが作用すると、精巣卵ができたり、肝臓で本来オスで作られないはずの卵黄・卵膜タンパク質（ビテロジェニンやコリオジェニン）が発現するようになる

以上がESRノックアウトメダカの表現型なのですが、ここから内分泌かく乱に絡んだ話として、先ほどから申し上げてきたとおり、エストロゲンあるいはエストロゲン作用を持つ化学物質が作用すると、例えば稚魚に作用すると性転換が起きますし、成魚に作用すると雄の中で精巣卵ができたり、ビテロジェニン、コリオジェニンの発現が誘導されます。それでは、これらの現象に関わっているESRは何かということ調べてみたいと思いました。

この中で、特に今日は精巣卵に注目します。

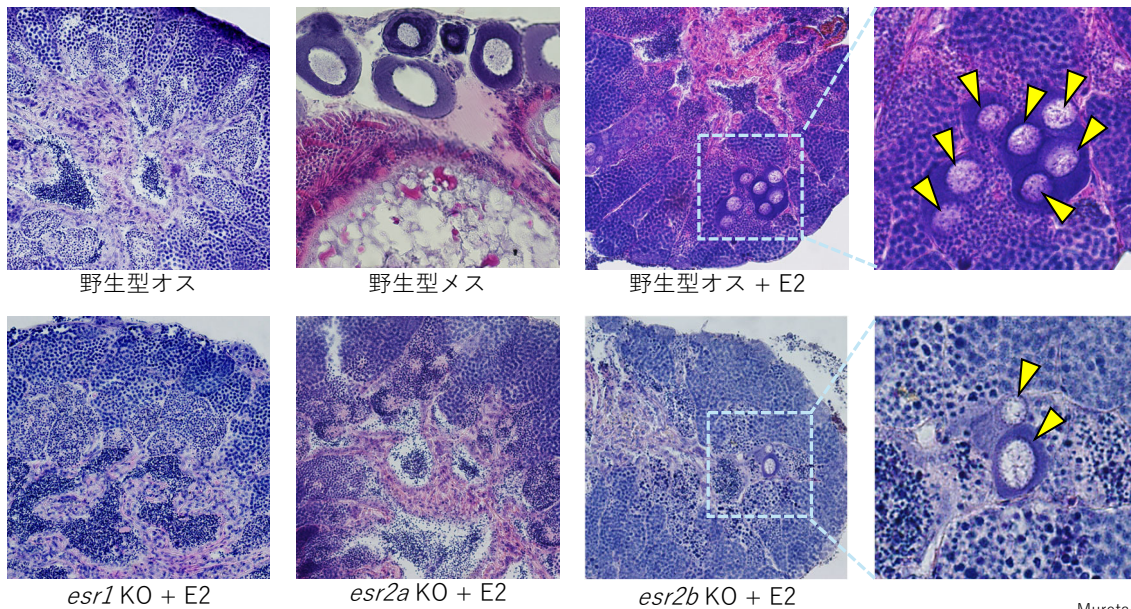
ESR KOメダカにおける精巣卵誘導実験



Murota et al., 2025
(Sci total Environ)

そこでまず、エストラジオールを、精巣卵をしっかりつくりたいのでちょっと高めの濃度で、野生型ESR1、2a、2bそれぞれのノックアウトメダカに6週間曝露して精巣卵がどういうふうに見えるかを調べました。

ESR1およびESR2aKOメダカでは精巣卵が形成されない

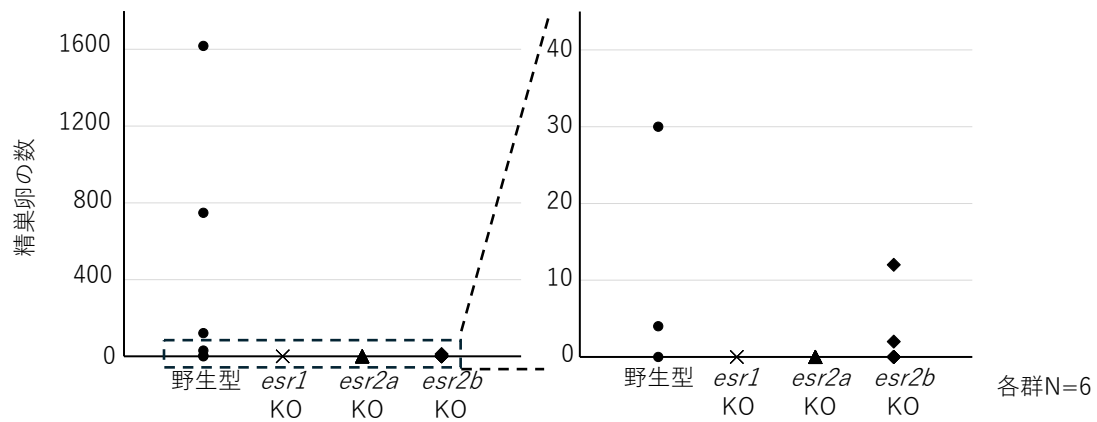


図は左から野生型の雄、野生型の雌で、エストロゲンを曝露しませんので普通に精子形成が行われていますし、雌では卵が見えます。右上が野生型雄にエストラジオールを曝露したもので、精巣卵が見てとれます。

ESRノックアウトではどうかというと、ESR1ノックアウトと2aのノックアウトにE2を曝露しても、精巣卵は全く検出されませんでした。

一方、ESR2bノックアウトメダカでは6個体中2個体だけこのように精巣卵ができました。

ESR KOメダカで誘導された精巣卵の数

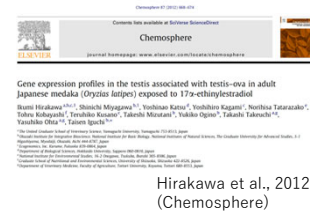
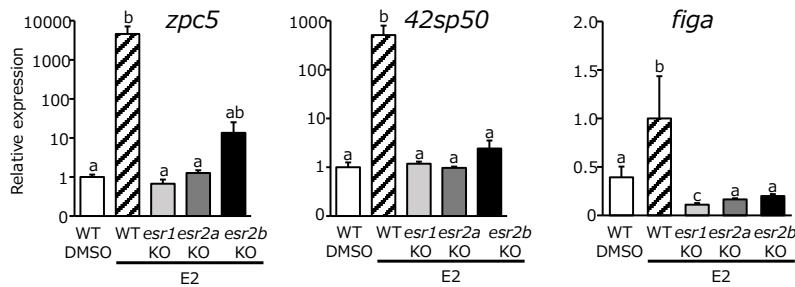


Murota et al., 2025
(Sci total Environ)

これは精巣卵の数を数えて定量化したものです。野生型では多いものでは1,600個の精巣卵ができたものもありましたが、ESR1、2aは0です。

右図は左の下のところを拡大したもので、ESR2bでは少数の精巣卵が見つかりました。

生殖腺における精巣卵巣連遺伝子の発現パターン



Murota et al., 2025
(Sci total Environ)

ESR KOメダカの表現型と精巣卵形成

- ・単一のESR KOメダカは遺伝的な性に従って正常に発生し、性分化する (ただし性転換個体の出現頻度は野生型よりも高い)
- ・ESR1とESR2aは、精巣卵形成に必要 (野生型メスでは、卵形成にESR1とESR2aは不要にも関わらず)

➤ エストロゲンによって誘導される精巣卵形成をメディエイトするエストロゲン受容体はESR1とESR2aである

これは精巣卵に関連する遺伝子の発現を調べた結果です。

我々は以前、精巣卵を遺伝子発現で検出できないかということを論文で報告しています。というのも精巣卵の数を数えるというのは全ての生殖腺を連続切片で切って数を数えないといけないので、遺伝子で見た方が早いといったロジックで、遺伝子発現で精巣卵が検出できるマーカーを報告しています。Zpc5、42sp50、figaという遺伝子です。

その遺伝子の発現は、E2を曝露すると全て上がってきますが、ノックアウトメダカにE2を曝露してもワイルドタイプのDMSOとほとんど変わらないレベルです。ESR2bは少数の精巣卵が見つかりますので、ちょっと上がるのが見てとれます。

以上をまとめますと、精巣卵に関しては、エストロゲンあるいはエストロゲン様化学物質で誘導される精巣卵形成をメディエイトするエストロゲン受容体はESR1そしてESR2aであるということが言えます。こういったものは、化学物質がエストロゲン作用を持つときに、どのエストロゲン受容体を調べるべきかということを考えるときに非常に有用なデータとすることができます。

本日のトピック

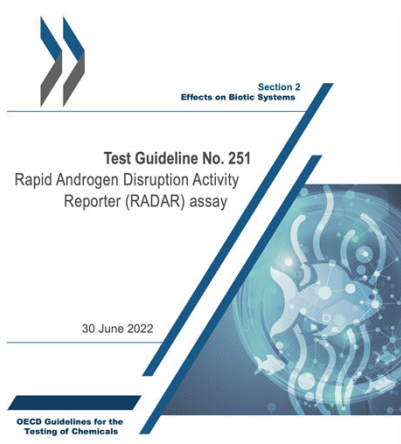
▶ エストロゲン受容体 (Estrogen receptor; ESR) の機能を明らかにするためのノックアウト/ノックインメダカを用いた解析

- ・多くの化学物質が女性ホルモンであるエストロゲン受容体に結合して作用する
 - …そもそもエストロゲン受容体は何種類あるのか？その違いは？
 - 化学物質のエストロゲン作用をメディエイトするのはどの受容体？
- ・内在的なエストロゲン(17 β -エストラジオール)の作用と、化学物質のエストロゲン作用は何が違うのか？
- ・エストロゲン受容体はクロマチンにいつ、どこで、どのように、誰と相互作用して結合するのか？
 - …ESR結合配列の同定と結合様式の解明

▶ 内分泌かく乱/新規汚染物質/医薬品の作用を検出する生体モデル実験系の開発

- ・生体に作用する化学物質を検出するトランスジェニック (ノックイン) メダカの開発
 - …医薬品成分の作用を検出するGap43-jGCaMP7sメダカ

以上がエストロゲン受容体に関するノックアウトメダカの話になります。



Section 2
Effects on Biotic Systems

Test Guideline No. 251
Rapid Androgen Disruption Activity
Reporter (RADAR) assay

30 June 2022

OECD Guidelines for the
Testing of Chemicals

LABORATOIRE
WATCHFROG

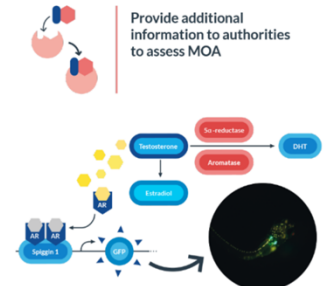
Key event



OECD physiological
criterion: Spiggin production
in the Three Spined
Stickleback



Modes of actions



Provide additional
information to authorities
to assess MOA

Watchfrog社 webページより



Rapid Fluorescent Detection of (Anti)androgens with *spiggin-gfp* Medaka

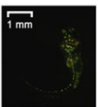
Anthony Sébillot,¹ Pasmina Dandimopoulou,^{1,2} Yukiko Ogino,² Petra Spitzanzlova,^{1,2} Shunichi Miyagawa,² David Du Pasquier,² Nora Moutassim,² Taisen Iguchi,² Gregory F. Lemkin,^{3,4} Barbara A. Demeneix,¹ and Andrew J. Tindall¹

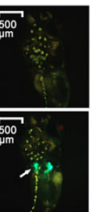
¹Watchfrog S.A., 1 rue Pierre Fontaine, 91000 Evry, France
²Okazaki Institute for Integrative Bioscience, National Institute for Basic Biology, 5-1 Higashiyma, Myodaiji, Okazaki, Aichi, 444-8787, Japan
³CNRS UMR 7221, Evolution des Régulations Endocriniennes, Département Régulations, Développement et Diversité Moléculaires, Muséum National d'Histoire Naturelle, 75005 Paris, France

untreated



17MT



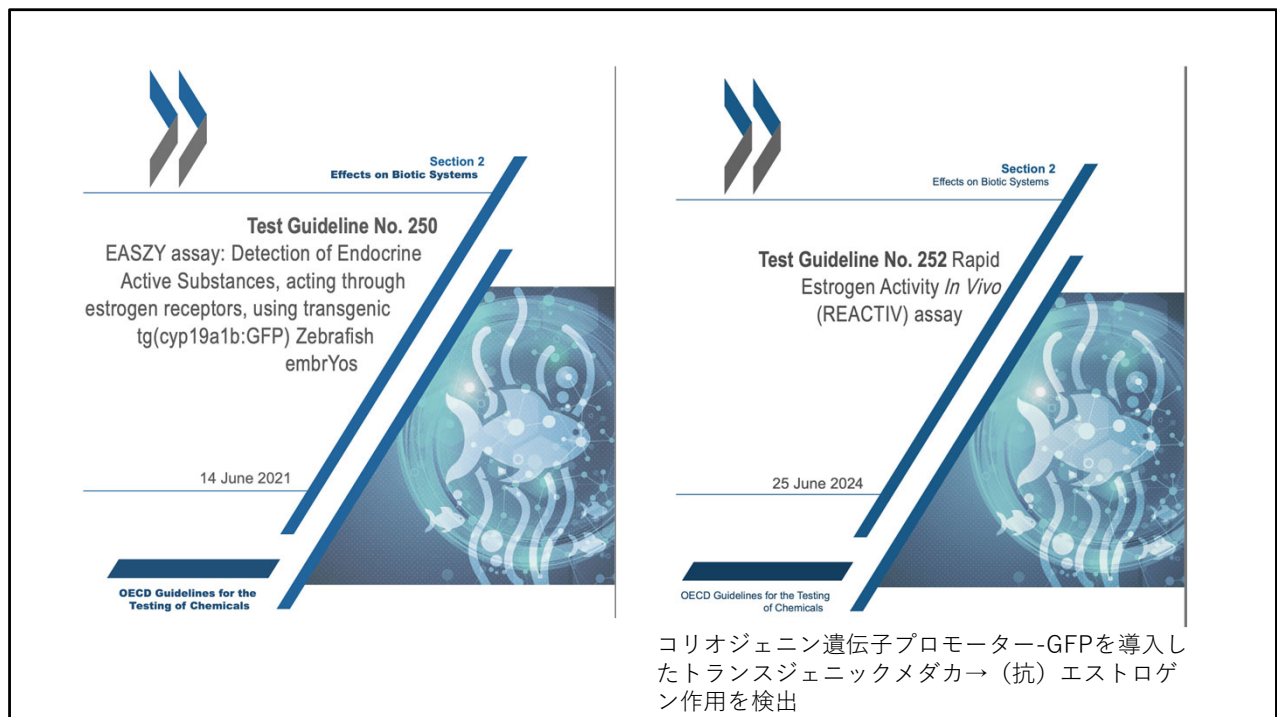


イトヨのスピギン遺伝子のプロモーターの下流でGFPを発現するトランスジェニックメダカ → (抗)アンドロゲン作用を検出する

もう一つのトピックは医薬品の話になります。

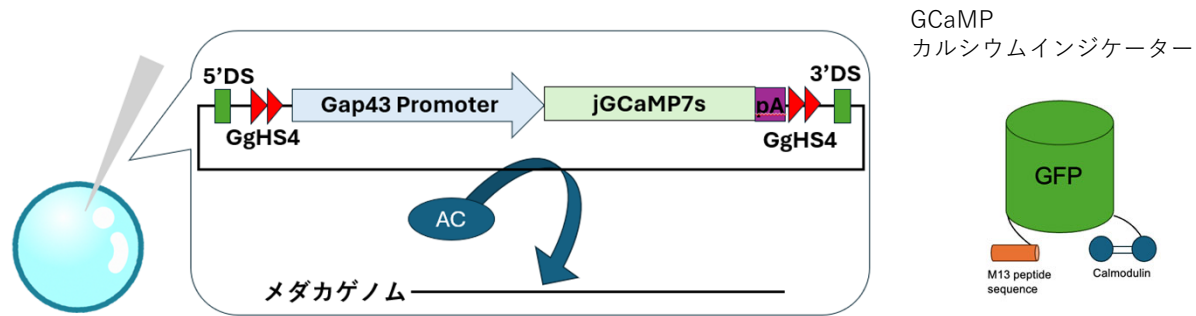
化学物質の安全性を担保するためのリスク評価などをするとき、国際的な試験法というのが幾つか開発されていて、小型魚類を使った試験法としては、OECDでは遺伝子改変メダカを使ったものも幾つか採択されています。

例えばメダカのアンドロゲン作用やエストロゲン作用を持つ化学物質をスクリーニングするためのプロトコルがここにあるようなものです。例えばRADARは、GFPの蛍光を見ることでその化学物質のアンドロゲン作用あるいは抗アンドロゲン作用というものが検出できる実験系です。それから、現在では甲状腺ホルモンに関連する遺伝子改変メダカを使った試験法も、まだ採択されていませんけれども開発中であると思います。



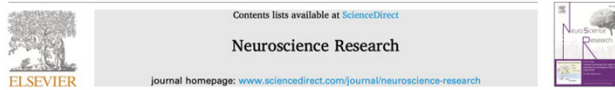
こういったものです。

Gap43-jGCaMP7s トランスジェニックメダカ



Gap43遺伝子のプロモーター制御下でjGCaMP7sを発現するように設計されたDNAを、メダカの受精卵に注入して、トランスジェニックメダカを利用

Neuroscience Research 219 (2025) 104944



Technical Notes

Establishment of a transgenic strain for the whole brain calcium imaging in larval medaka fish (*Oryzias latipes*)

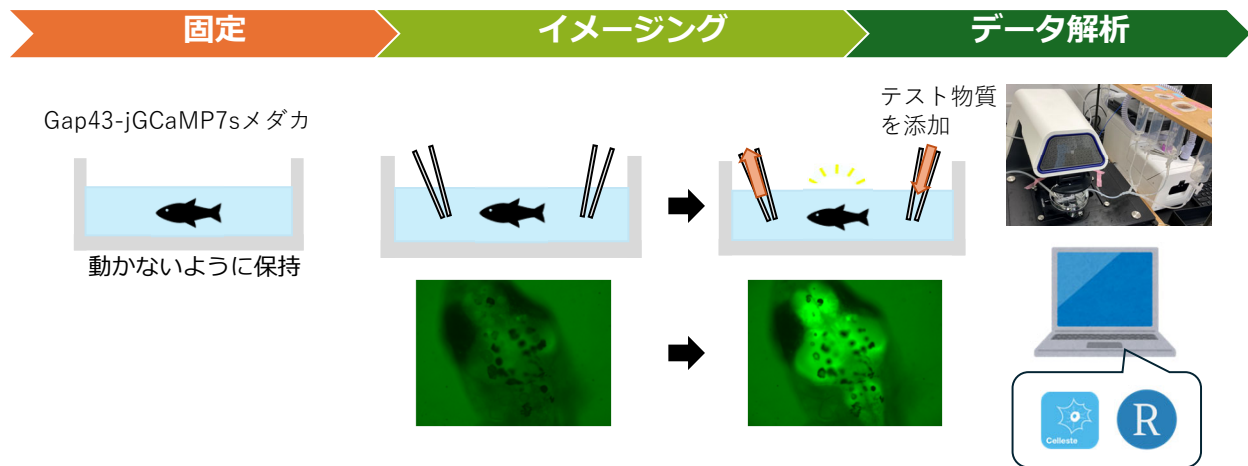
Takahide Seki^a, Kazuhiro Miyazaki^b, Asuka Shiraishi^b, Sachiko Tsuda^b, Satoshi Ansai^c, Hideaki Takeuchi^a

東北大学竹内先生との共同研究

同様のロジックで、先ほどの井原先生の御発表でも医薬品の環境への流出が問題となってきましたので、医薬品のメダカへの生態影響をモニターできるようなメダカ実験系ができないかということ相談して、今研究を進めています。

今回対象としているのは抗うつ薬とか精神病薬で、要は神経活動の状態を可視化できるメダカがいたら、そこに医薬品を入れてモニターできないかということ考えました。

メダカの神経活動を細胞内カルシウム濃度野変動で可視化する



詳細な原理は省きますが、生まれて間もない稚魚を動かないように保持して、ここにテストしたい化学物質、医薬品を流し、神経活動が活発になると蛍光が見られるので検出できます。

動画がありまして、こういうふうにならずと緑になっているわけではなくて、神経活動のスパイクに応じて一瞬だけ緑色が上がってきます。

今後、こういったメダカを使うことによって環境中の医薬品というものを検出できないかということを現在考えています。

Acknowledgements



荻野由紀子（九州大学）
豊田賢治（金沢大学）
安齋賢（岡山大学）
竹内秀明（東北大学）
野見山圭（愛媛大学）
小林徹（静岡県立大学）
征矢野清（長崎大学）
長江真樹（長崎大学）
井原賢（高知大学）
工藤哲大（Univ. of Exeter）
Anke Lange（Univ. of Exeter）
Charles Tyler（Univ. of Exeter）
井口泰泉（横浜市立大学）

敬称略

以上で私の発表を終わりたいと思います。

これは研究室のメンバーで、それ以外にも様々な先生方の協力を得て実験を実施しております。どうもありがとうございました。