

両生類試験法開発

OECD両生類生態毒性試験法の開発(標準化)状況

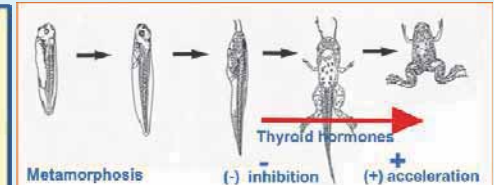
OECDにおいて、両生類については、甲状腺ホルモンによって制御されているカエルの変態に着目した「変態アッセイ」の開発が優先的に進められた。現在、甲状腺及び生殖影響を評価する試験法(ライフサイクル試験)の検討が日米共同で進められている。

開発済みの試験(EXTEND 2005)

(1)両生類変態アッセイ(TG231)

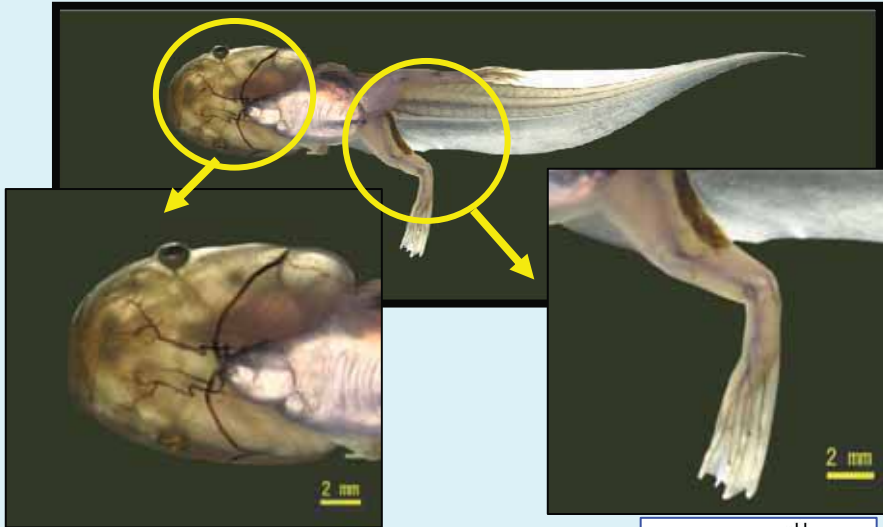
- ★甲状腺ホルモン作用のかく乱化学物質を検出するための21日間のスクリーニング試験
- ★甲状腺ホルモンによって制御されているカエルの“変態”に着目し、オタマジャクシの尾の退縮や肢の形成等に代表される形態変化の異常をエンドポイントとする。
- ★ドイツ、日本及び米国の試験機関において、アフリカツメガエルを試験魚動物としたプロトコルの検証試験が数回実施され、2009年にOECDのTG231として採択された。

- ・エンドポイント: 形態変化(発生段階・後肢長、全長)、甲状腺組織
- ・検出可能な作用: (抗)エストロゲン作用、(抗)アンドロゲン作用、(抗)甲状腺ホルモン作用、アロマトラーゼ阻害作用、視床下部/下垂体/生殖腺、視床下部/下垂体/甲状腺

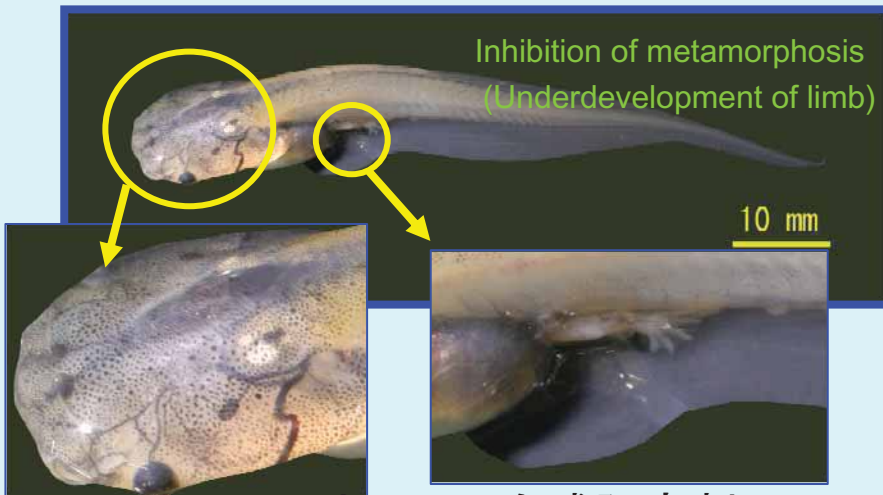
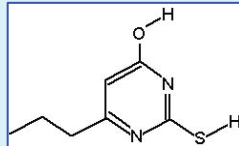


両生類変態アッセイ

Control

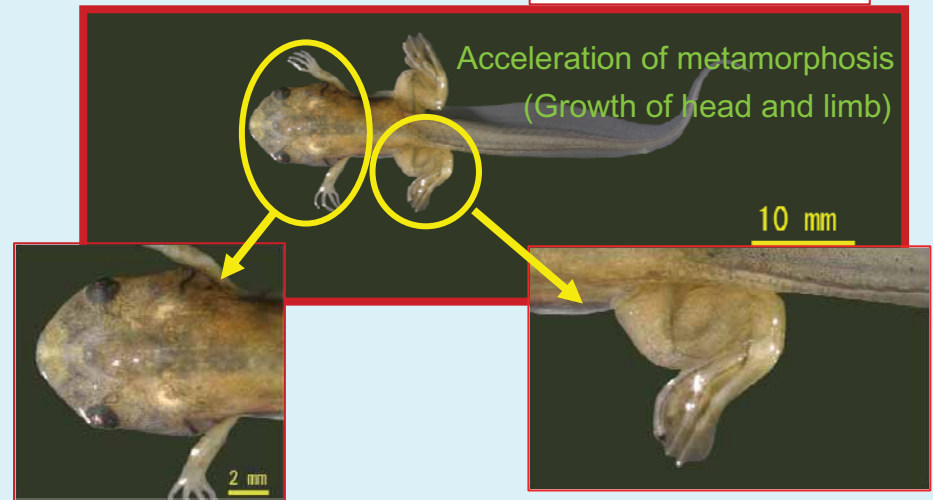
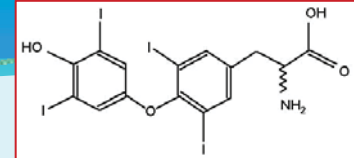


PTU $C_7H_{10}N_2OS$

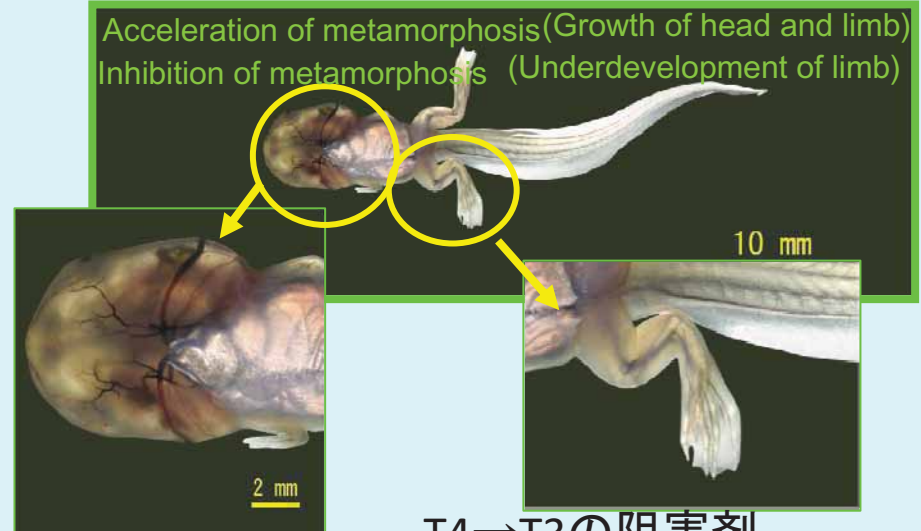
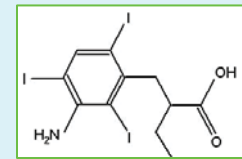


ホルモン合成阻害剤

T4 $C_{15}H_{11}I_4NO_4$



IOP $C_{11}H_{12}I_3NO_2$



T4→T3の阻害剤

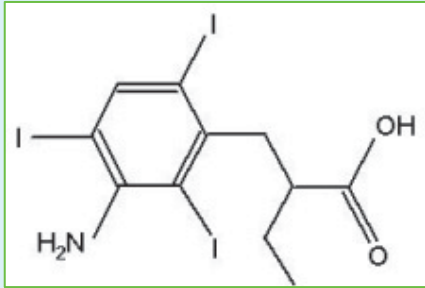
両生類変態アッセイ

物質

主な用途

作用機序/予見される結果

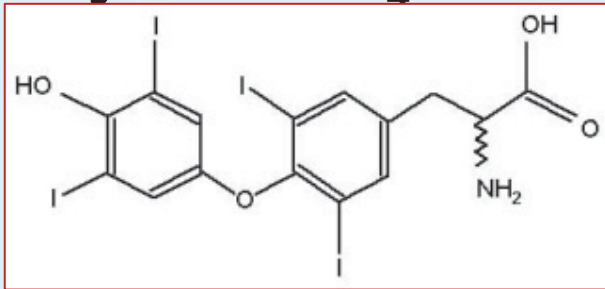
Iopanoic acid (IOP)



造影剤
(胆嚢、胆管)

Monodeiodinaseの阻害
/発生異常・甲状腺障害

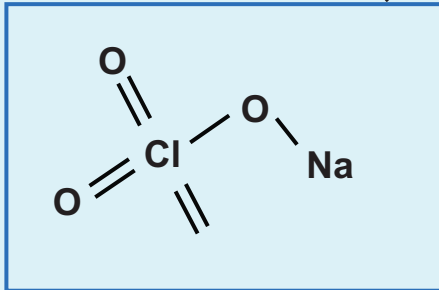
Thyroxine (T₄)



薬剤
(甲状腺機能
低下症)

甲状腺ホルモン
/変態の促進

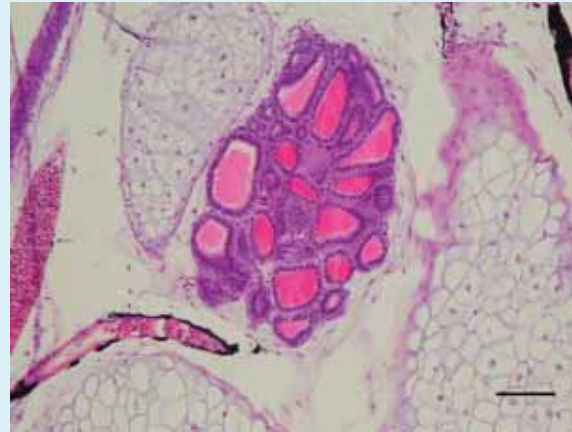
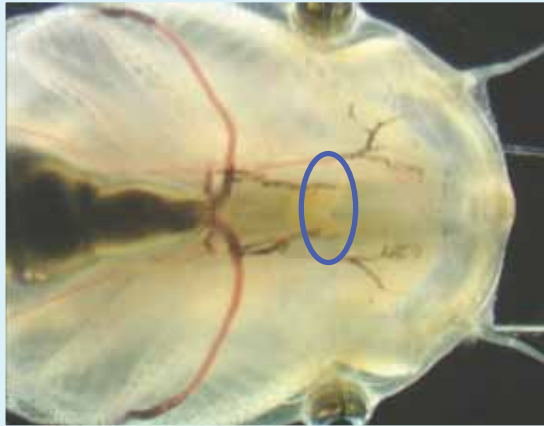
Perchlorate (PER)



ロケット推進剤
(酸化剤)

Sodium/iodine symporter
の阻害/甲状腺障害

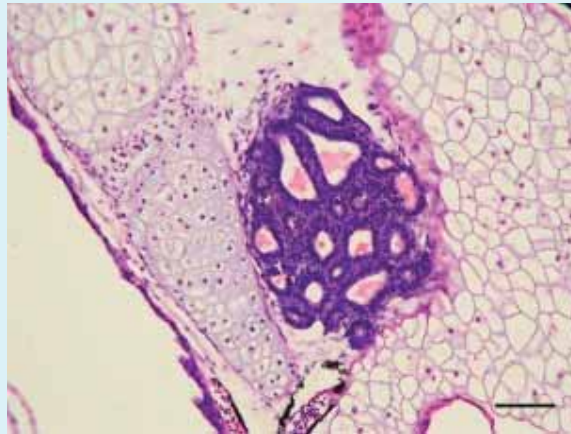
両生類変態アッセイ



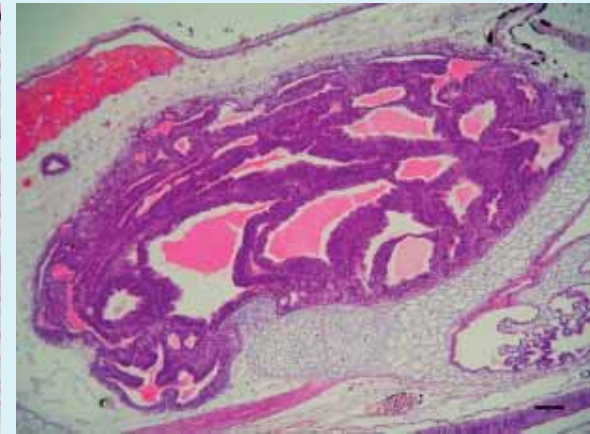
Control



IOP (6.0 mg/L)



T₄ (2.0 μg/L)



PER (500 μg/L)

スケール: 100 μm

開発中の試験 (EXTEND 2010)

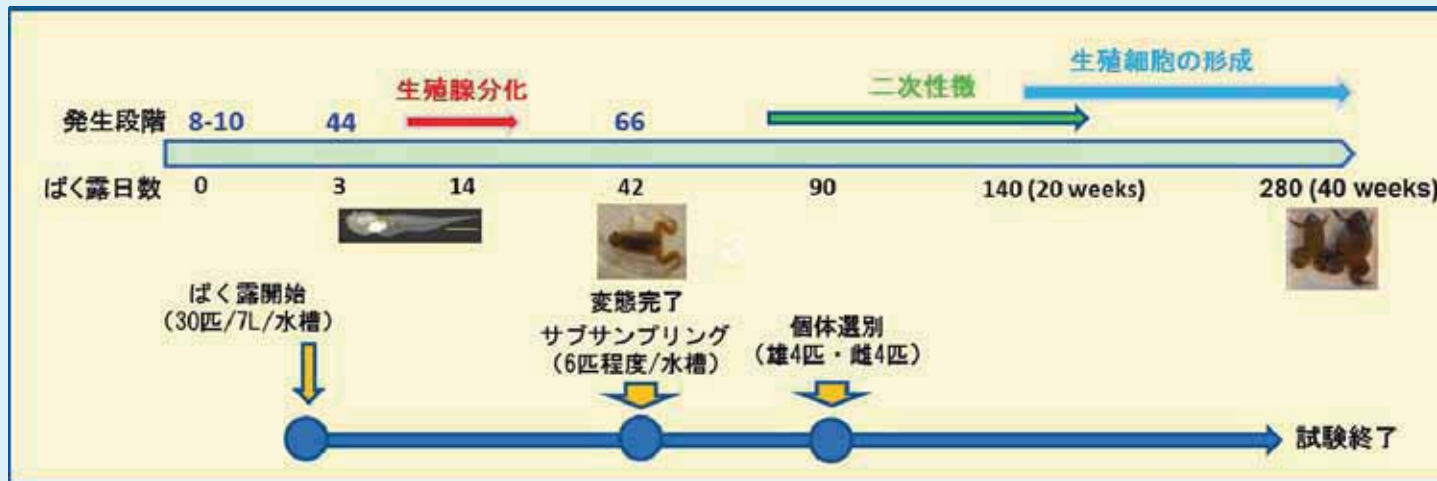
(2) 両生類ライフサイクル試験

★トロピカリスを主な試験動物とし、孵化後48時間の幼生を性成熟までの長期間(40週間)化学物質にばく露し、発生、変態、成長、生殖への影響を指標とする試験法である。

★2008年に日米間で両生類ライフサイクル試験の開発に共同で取り組むことが合意され、2009年にOECDに提案し承認された。

★米国からドラフトガイドラインが示され、日米英の専門家により検討された。

★今年度、米国から試験期間の短縮等を含むガイドラインの変更案が提案されたため、日米両国の試験データ等を比較・検証し、変更案の妥当性について検討を行う。

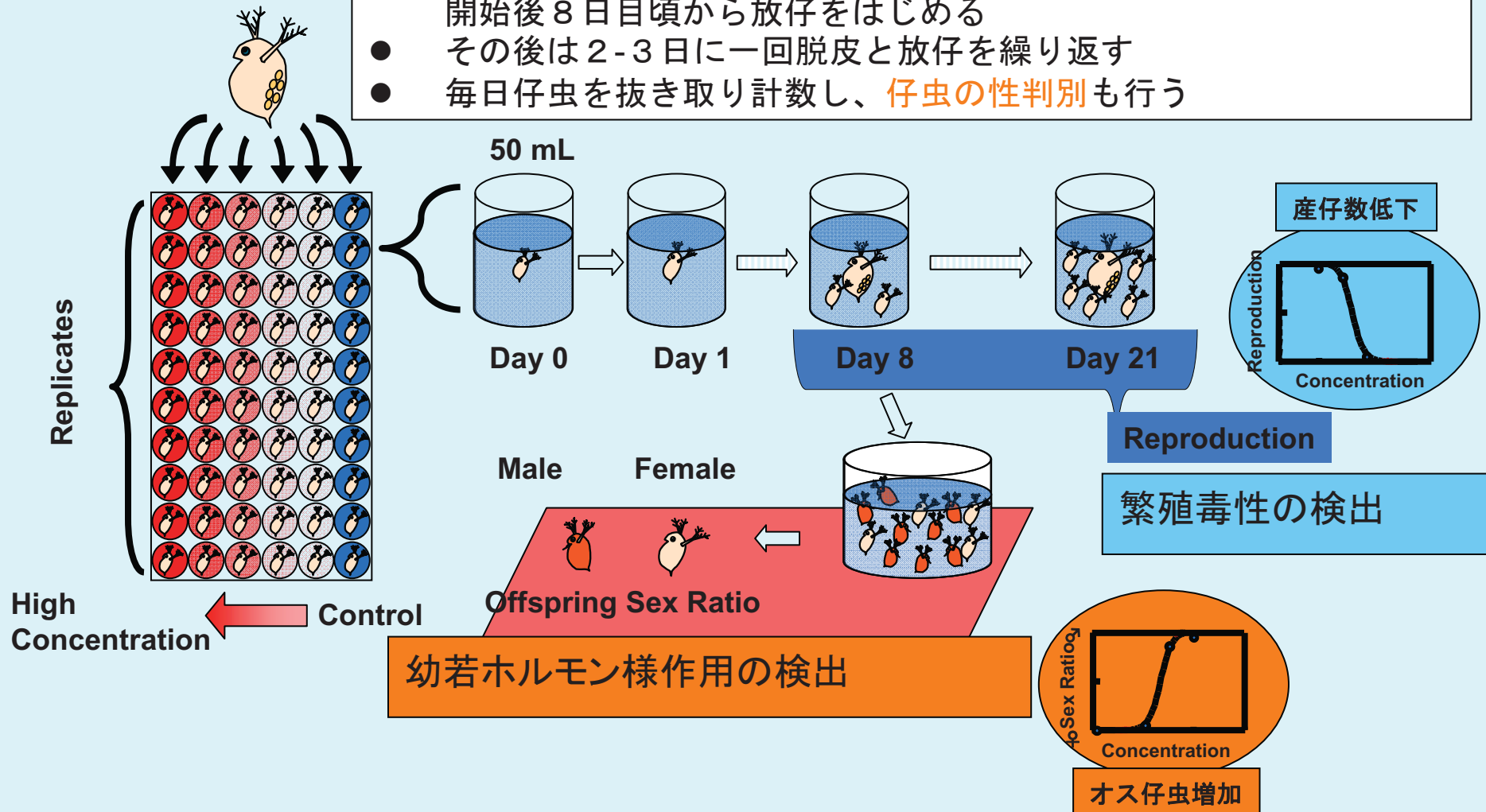


変態完了後	個体選別	試験終了
・変態完了までの日数	・形態観察	・成長(体重、頭胴長)
・成長(体重、頭胴長)	・遺伝的性の解析	・二次性徴
・二次性徴		・血中ビテロジェニン濃度
・血中ビテロジェニン濃度		・血中ホルモン濃度
・血中ホルモン濃度		・性比
・性比		・組織検査

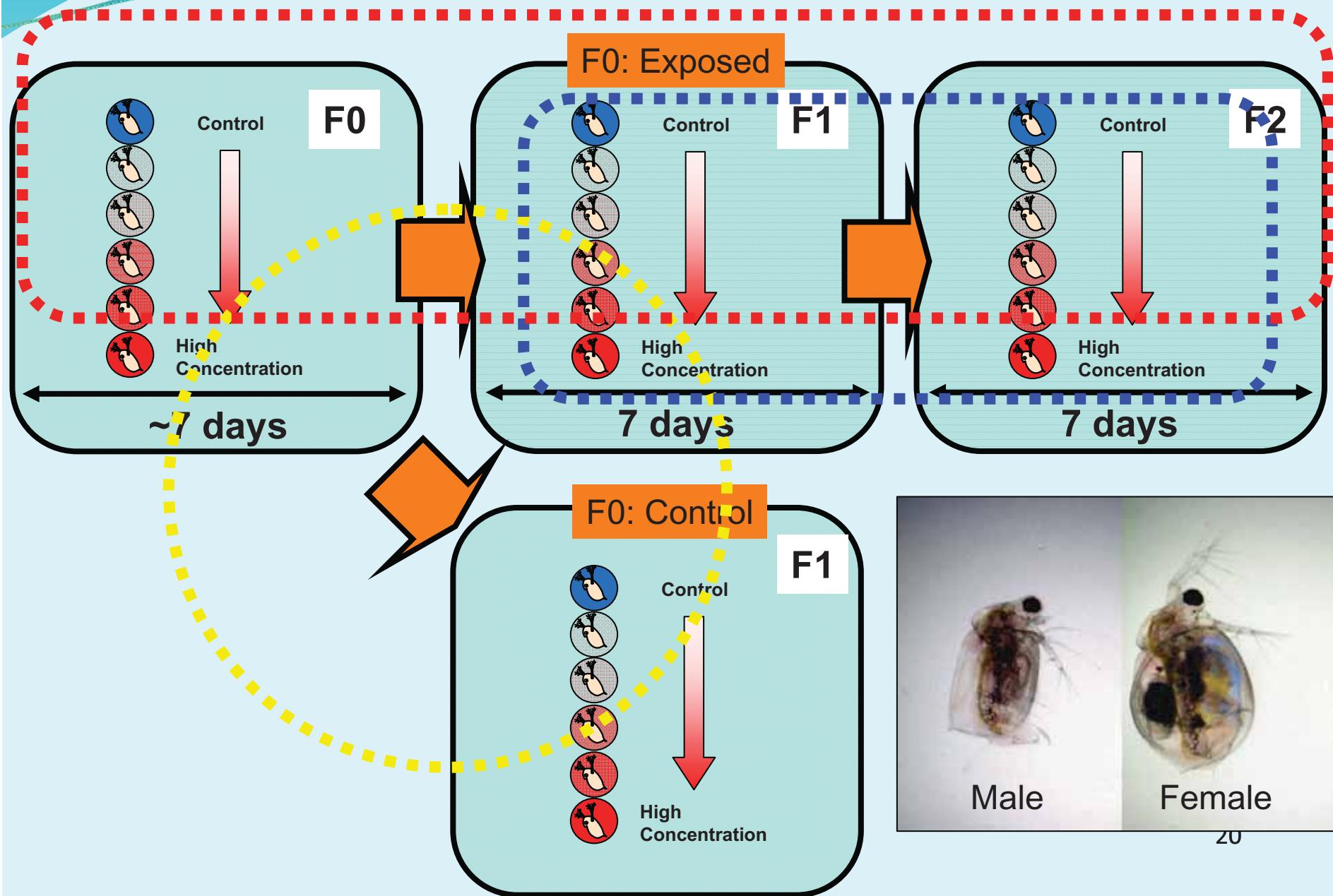
甲殻類試験法開発

OECD TG 211 Annex 7

- 生後24時間以内の仔虫を個別に曝露
- $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 、16 L: 8 D
- 緑藻クロレラをエサとして毎日与え、隔日換水
- およそ一日に一回脱皮をくり返しながら試験個体は成長し、試験開始後8日目頃から放仔をはじめ
- その後は2-3日に一回脱皮と放仔を繰り返す
- 毎日仔虫を抜き取り計数し、**仔虫の性判別**も行う

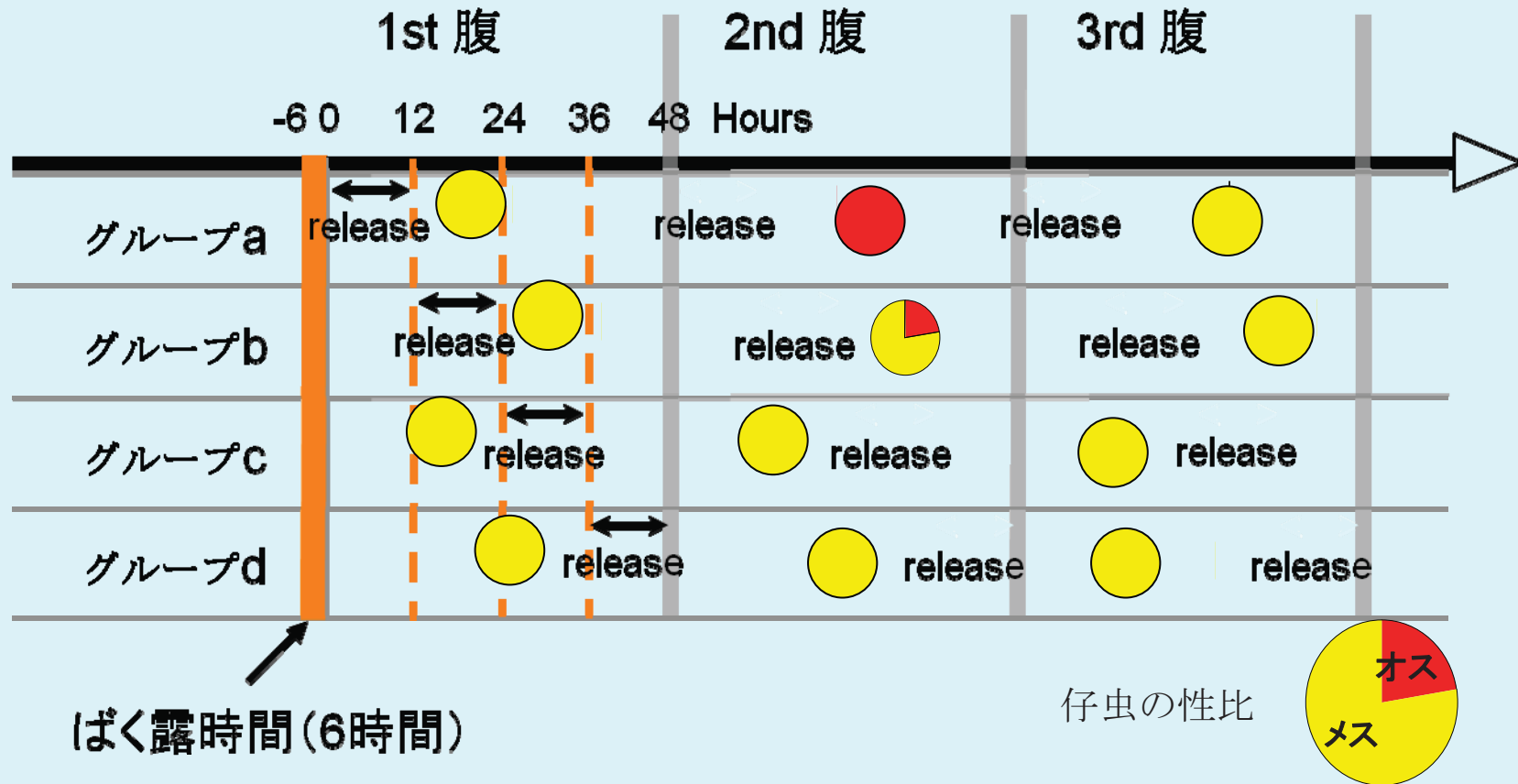
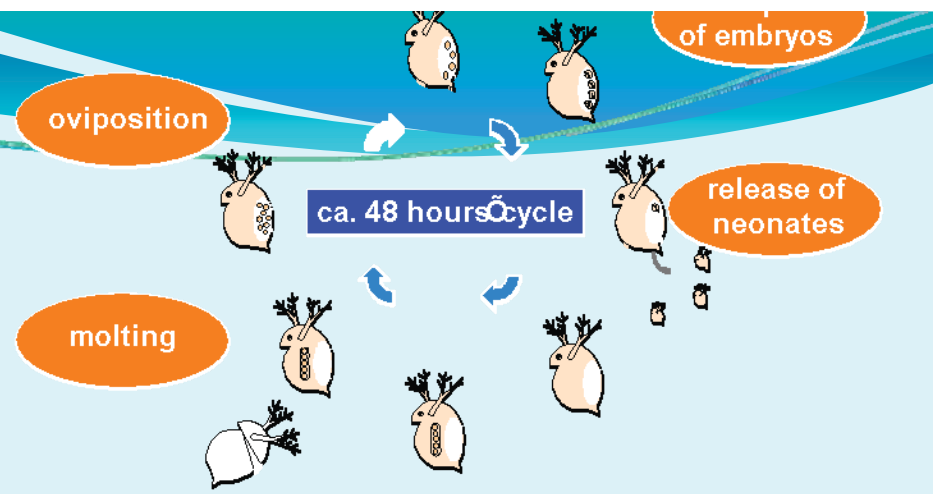


Ceriodaphnia dubia Multi-Generation Reproduction Test F0-F1-F2



Daphnia magna 短期ばく露試験

- 親ミジンコを幼若ホルモン（例えばフェノキシカルブ2μg/L）に曝露する.
- その後の仔虫性比への影響を観察する





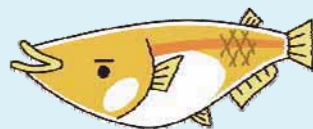
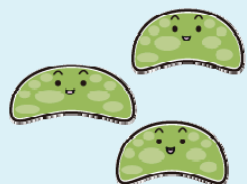
判らないことを生き物に尋ねてみる。
生き物に正しく質問する。
生き物はうそをつかない。

動物愛護管理法 3Rの原則

動物の苦痛の軽減 (Refinement)
使用数の削減 (Reduction)
代替法の活用 (Replacement)



ご清聴ありがとうございました



未来に翔く子供たちの世界に向けて・・・

