

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	ミナミメダカの孵化稚魚を用いた甲状腺ホルモン作用化学物質の高感度な新規検出法の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部 生態発生遺伝学研究室・助教	氏名	明正 大純
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部 生態発生遺伝学研究室・助教	氏名	明正 大純

講演題目	ミナミメダカの孵化稚魚を用いた甲状腺ホルモン作用化学物質の高感度な新規検出法の開発
------	---

研究の目的、成果及び今後の展望

甲状腺ホルモン（Thyroid hormone : TH）はヒトを含む動物において、発生と代謝に関わる重要な役割を担う。ヒトでは、先天性のTH合成障害が成長遅延や精神発達遅滞をもたらすことから、胎児発生期への影響が重要であると考えられている。近年、ポリ塩化ビフェニルなどの人工的な化学物質がTH作用を持つことが示され、環境中から検出される化学物質のヒトや生態系に対するTH作用の懸念が高まってきている。TH作用の検出には、THが変態に関わることからアフリカツメガエルが用いられてきたが、試験期間が長いため、より簡便な試験法の開発が求められている。

最近申請者は、ミナミメダカの孵化稚魚に女性ホルモンであるエチニルエストラジール（EE2）の曝露によって、エストロゲンのバイオマーカーであるコリオジェニン遺伝子の発現量が上昇するというエストロゲン応答反応の検出に、Real-time PCR法を適用し、短期間で高感度な方法を開発した。さらに、同じくエストロゲンのバイオマーカーであるビテログニン（Vtg）遺伝子のEE2に対する反応性が孵化直後に急激に上昇する現象にTHが関わることを明らかにし、その機構を利用してTH作用とその阻害作用を迅速に検出する方法を開発した。しかし、このTH検出法は短期間という利点はあるが、特に阻害作用の検出感度を改善する必要がある。

本研究では、TH阻害作用の検出感度の改善と、その検証のために既知のTH阻害作用を持つ化学物質の検出の有無を検証した。本試験法では、EE2 100 ng/L + TH作用 or TH阻害物質を共曝露した時のVtg遺伝子の発現量の変化を用いる。TH作用検出では、EE2単独曝露に比べてほぼ全ての個体でVtg遺伝子の発現量が100-1000倍に増加する検出感度が高い方法である。その一方で、TH阻害作用の検出では、EE2曝露でVtg遺伝子の発現量が上昇する個体の割合が低く、TH阻害物質との共曝露によって、上昇したVtg遺伝子発現の抑制を検出能力が低かった。そこで、EE2の様々な曝露時期と曝露濃度を試行することで、TH阻害作用の検出感度の高い条件を探索した。その結果、曝露時期は変更せずEE2の濃度を1000 ng/LにすることでVtg遺伝子の発現量が上昇する個体の割合が高く、TH阻害作用物質によって発現量が感度良く減少することが明らかになった。さらに、既知のTH阻害物質であるペルフルオロオクタン酸、テトラプロモビスフェノールAでもTH阻害作用を検出できたことから、TH作用とTH阻害物質を高感度に検出する試験法の開発に成功した。