

研究課題番号	【5RF-2303】
研究領域	安全確保領域
研究課題	「メダカを用いた甲状腺ホルモンかく乱物質の検出試験法の開発」
研究代表者（所属）	堀江 好文（神戸大学）
研究期間	2023年度～2025年度
研究キーワード	メダカ、甲状腺ホルモンかく乱物質、AOP、スクリーニング、動物福祉

研究概要と進捗状況（中間の2024年度時点）

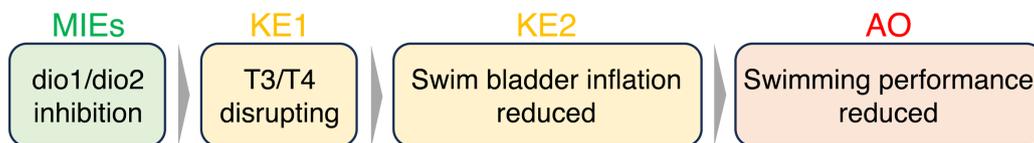
・研究概要

始めに、甲状腺ホルモンかく乱物質のAdverse Outcome Pathway (AOP ; メダカVer.) を作成する。次に、作成したAOPを基にメダカを用いた甲状腺ホルモンかく乱物質の検出試験法を開発する。また、慢性毒性データが非常に少ない非フタル酸系可塑剤の慢性毒性データを得る。

・進捗状況

脱ヨード化酵素阻害作用のあるイオパノ酸 (IOP) および非フタル酸系可塑剤であるアセチルクエン酸トリブチル (ATBC)、アジピン酸ジイソブチル (DIBA)、セバシン酸ビス(2-エチルヘキシル) (DEHS) を用いて甲状腺ホルモンかく乱に関するメダカAOPを作成した。

甲状腺ホルモンかく乱作用を有した化学物質を受精直後から孵化後1日（合計約10日間）までばく露した場合、molecular initiating events (MIEs) として *dio* 遺伝子の発現が変化する。次に、key events 1 (KE1) として T3 または T4 のレベルが変化する。次に、KE2 として浮袋の膨張が阻害される。浮袋の膨張が阻害された結果、adverse outcome (AO) として遊泳能力が低下する。以上の結果をまとめると、メダカAOPは *dio 1* または *dio 2* 発現の抑制 (MIEs) → T4 または T3 レベルのかく乱 (KE1) → 浮袋の膨張の抑制 (KE2) → 遊泳能力の低下 (AO) となった。



甲状腺ホルモンかく乱物質のAdverse Outcome Pathway (AOP ; メダカVer.)

ATBC、DIBA、DEHSの慢性毒性データを得るために、魚類の初期生活段階毒性試験 (OECD TG210) を行った。各化学物質の40日間の致死影響濃度を調べた結果、ATBCの最小影響濃度区 (LOEC) は1046.6 μg/L、無影響濃度区 (NOEC) は392.6 μg/L、DIBAのLOECは2584 μg/L、NOECは965 μg/L、DEHSのLOECは>89.4 μg/Lであった。次に、ATBCとDIBAがメダカの性分化に与える影響を調べた。その結果、ATBCおよびDIBAともにメダカの性分化には影響を与えなかった。このことから、ATBCとDIBAは甲状腺ホルモンかく乱作用を有している一方で、性ホルモン作用は有していないことが考えられた。

DIBAがメダカの性分化に与える影響

Age	Measured concentration μg/L	n	Genetic sex			Gonadal sex			Ratio of sex reversal (%)	Genetic sex			Gonadal sex			Ratio of sex reversal (%)
			XX	Ovary	Testis-ova	Testis	XY	Ovary		Testis-ova	Testis					
40 dph	Control	56	29	29	0	0	0	27	0	0	27	0				
	349	55	28	28	0	0	0	27	0	0	27	0				
	965	51	29	29	0	0	0	22	0	0	22	0				
	2584	9	3	3	0	0	0	6	0	0	6	0				
	6522	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				

dph: days after hatching. There are no data for the 6522 μg/L concentration group because all individuals had died by 11 dph.

環境政策等への貢献

- 甲状腺ホルモンかく乱物質のAOP (メダカVer.) を作成することは、今後の動物実験の代替試験法開発や評価データのない化学物質の毒性予測、バイオマーカーの発見に大きく貢献する可能性が高い。
- 非フタル酸系可塑剤の生態リスクを評価したことは、今後の非フタル酸系可塑剤の取り扱い方に関する環境政策に大きく貢献する可能性が高い。