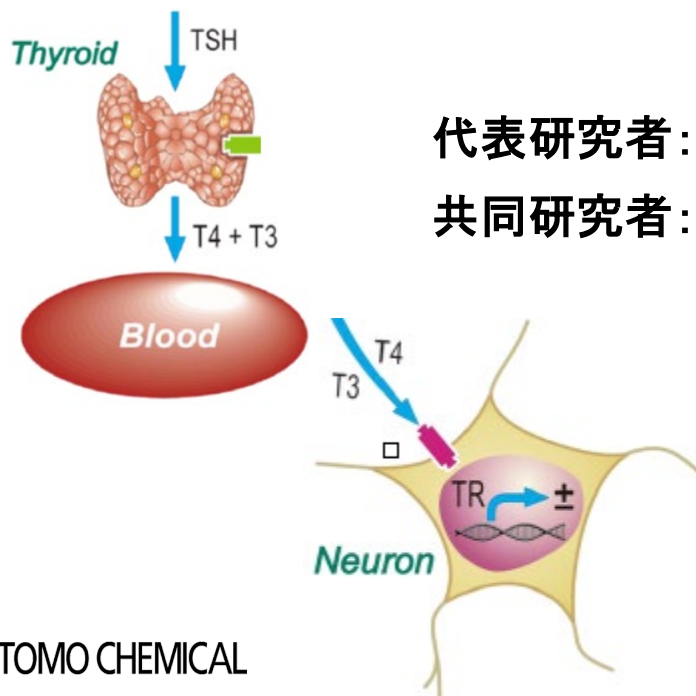


# 発達神経毒性ポテンシャルの スクリーニングとしての短期 *in vivo* 甲状腺ホルモン影響評価法の開発



代表研究者: 山田 智也 (住友化学(株)生物環境科学研究所)

共同研究者: 岩下 勝将 (住友化学(株)生物環境科学研究所)

青山 博昭 (一般財団法人・残留農薬研究所)

# 研究目的

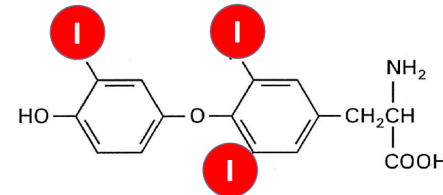
本研究は、下記を目的に実施する：

1. 母ラットにおいて**甲状腺ホルモン**(Thyroid Hormone: TH) の血中濃度の低下作用が示唆される化学物質に関して**発達神経毒性**(Developmental Neurotoxicity: DNT) **試験の実施の必要性を判断**する情報を提供すること。
2. 当該情報を**比較的簡便**に取得できる哺乳動物の試験法を提案すること。
3. 病理変化や遺伝子変化を調べることで、**有害性発現経路**(Adverse Outcome Pathway)を把握すべく情報を取得し、より簡便な**in vitro 試験の構築**に向けて情報を提供すること。

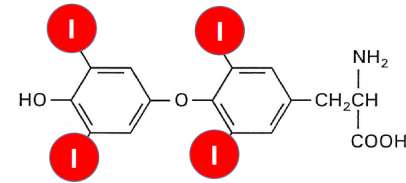
# 甲状腺ホルモン(T3・T4)の役割

## 脊椎動物の甲状腺ホルモン

- 脊椎動物では構造に種差なし
- 分泌腺の形状、分泌様式がよく保存されている
- 標的器官はほぼ全身の細胞
- 生理活性はT3>T4、血中はほとんどT4



Tri-iodothyronine  
T3



Tetra-iodothyronine or Thyroxine  
T4

## 甲状腺ホルモンの作用

- 物質代謝の亢進
- 成長促進・骨格筋の発達促進
- 交感神経系の活動促進
- 知能の発達促進
- 鳥: 季節毎の換羽
- サケ科魚類: 海への降下時
- ヒラメ・カレイ: 変態促進
- 両生類: 幼生→成体の変態促進

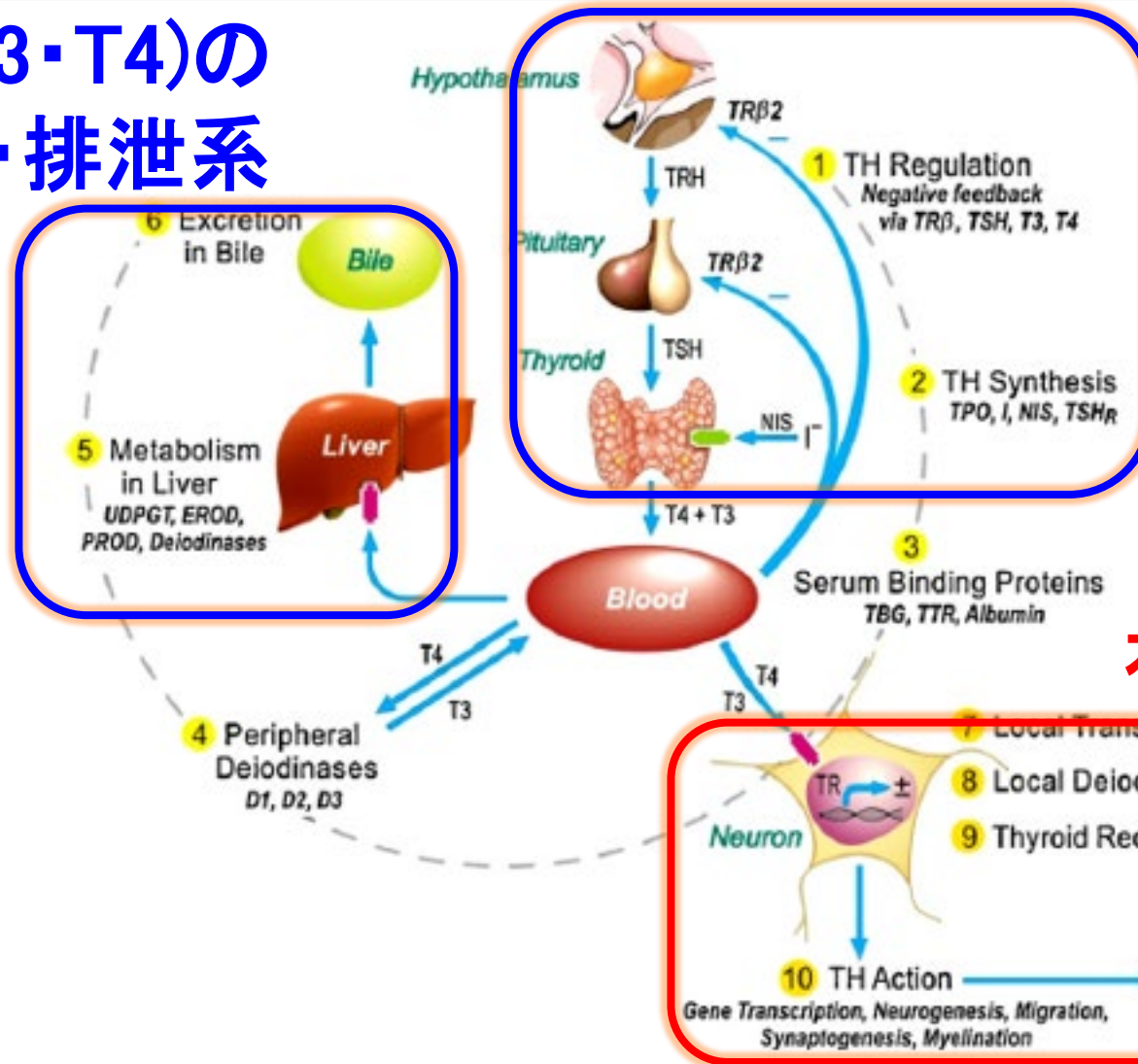
**生命・成長維持、記憶学習、次世代維持に重要**



児の脳の発生・発達期において母親の血中TH濃度の低下により  
児の脳の発達障害がヒトや実験動物で報告あり

# 甲状腺ホルモン(TH)の血中濃度の制御系

## TH(T3・T4)の分解・排泄系



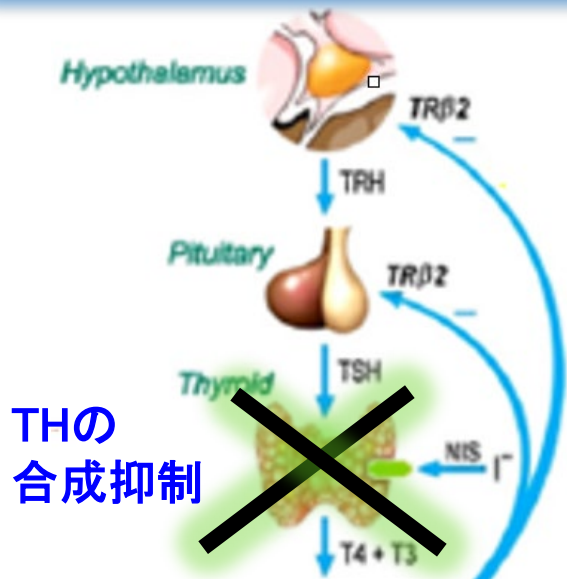
(Gilbert *et al.*, 2012)

## TH(T3・T4)の供給系 (恒常性維持機構)

## 神経系に必須

# 化学物質による主な作用点

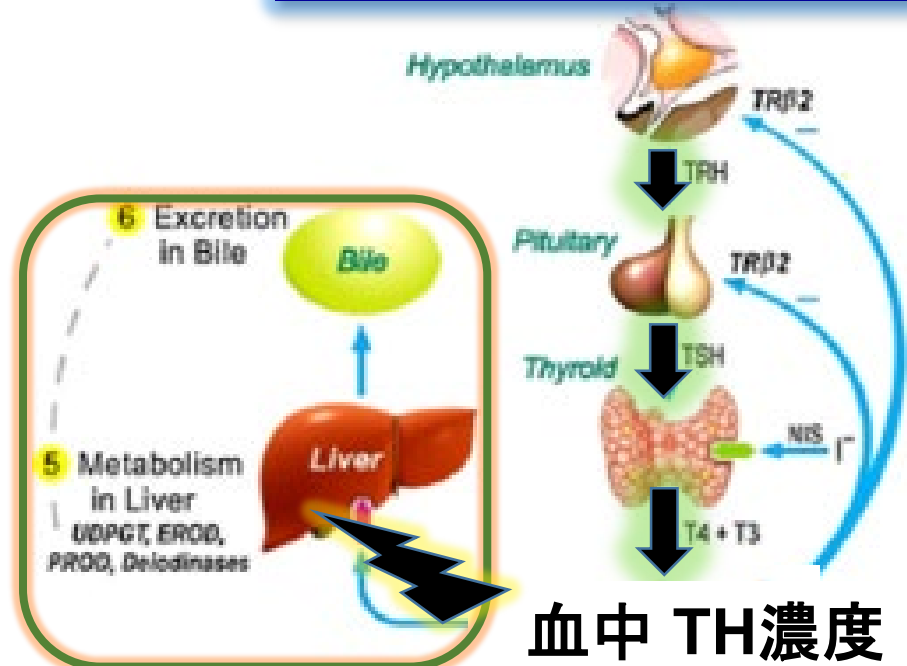
## 甲状腺への直接作用



血中 TH濃度

**顕著な低下!**

## 肝臓への間接作用



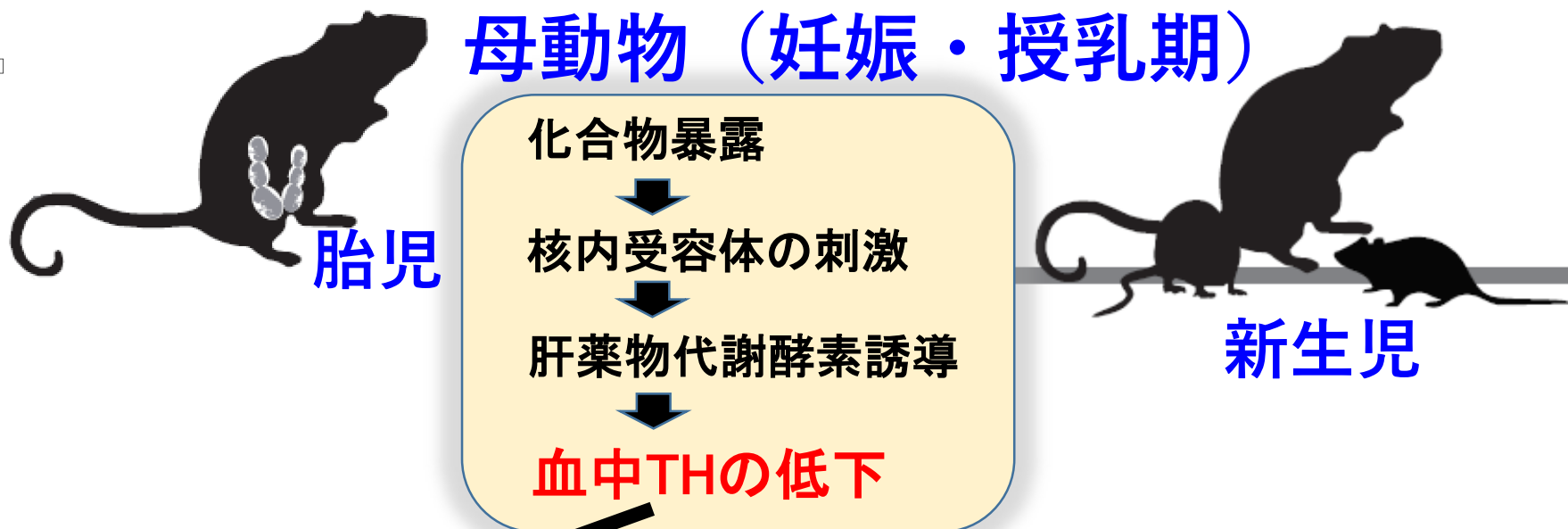
血中 TH濃度

**軽微な低下?**

THの分解・  
排泄系 増加

しかし、欧州当局は両者に発達神経毒性試験を要求!

# 研究によって取得すべき科学知見



児動物の



児の血中・脳中TH濃度がどの程度変動するか？

# 研究背景(必要性)

- 児の脳の発生・発達期において母親の血中TH濃度の低下により児の脳の発達障害がヒトや実験動物で報告
- 血中TH濃度を低下させる化学物質は発達神経毒性が懸念
- 実際、肝薬物代謝酵素誘導(間接作用)剤が比較的多い
- 規制当局は当該化学物質に対して発達神経毒性の有無を評価するガイドライン試験の実施を要求

多大な資源(時間・動物・費用)が必要：  
産業界の負担大

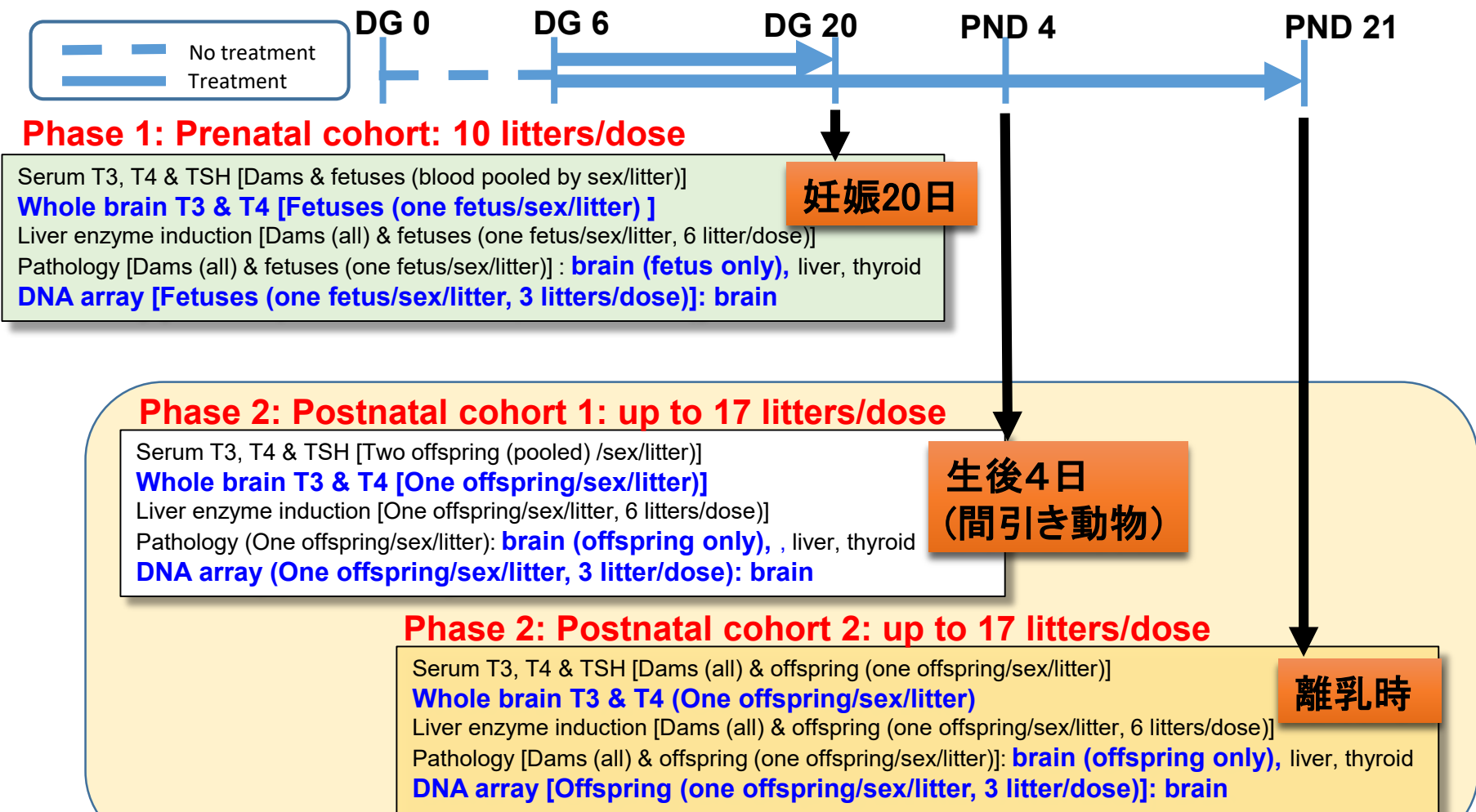


発達神経毒性評価の要否の正確かつ簡便な評価法が必須！  
具体的には、Key eventである児の血中・脳中TH変動を  
簡便に評価する試験系の構築を目指す！



# 胎仔・新生仔における甲状腺ホルモン攪乱作用の検査方法

## CTA: Comparative Thyroid hormone Assay (US.EPA, 2005)





# Modified CTA: Study Plan

動物試験実施機関： 残留農薬研究所

動物： Crl:CD(SD)ラット (SPF)

被検物質： PB (Phenobarbital sodium salt、酵素誘導剤)  
PTU (Propylthiouracil、抗甲状腺薬・陽性対照)

Phase	Group	Treatment period	Number of animals
1	Control	GD 6 - 20	10
	PB 1000 ppm	GD 6 - 20	10
	PTU 10 ppm	GD 6 - 20	10
2	Control	GD 6 - LD 21	Up to 17
	PB 1000/500 ppm	GD 6 - LD 21	Up to 17
	PTU 10/5 ppm	GD 6 - LD 21	Up to 17

GD: Gestation Day、LD: Lactation Day

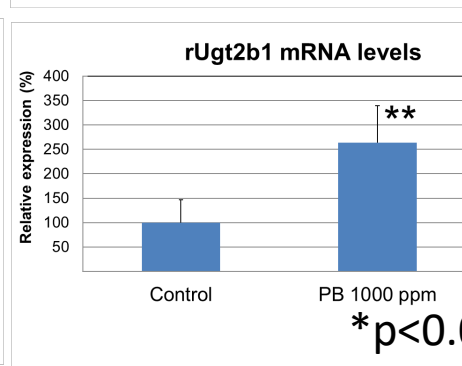
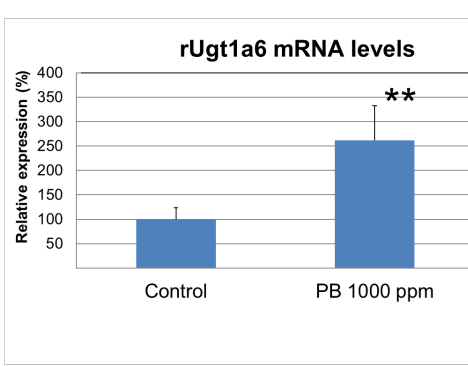
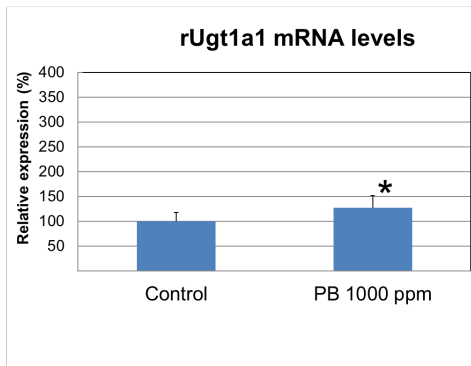
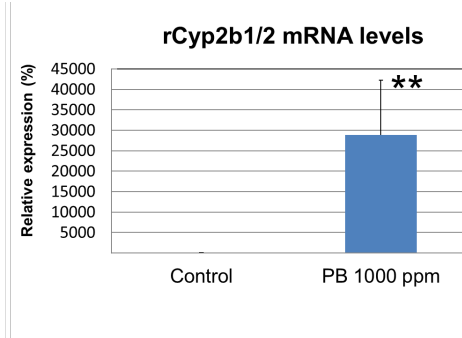
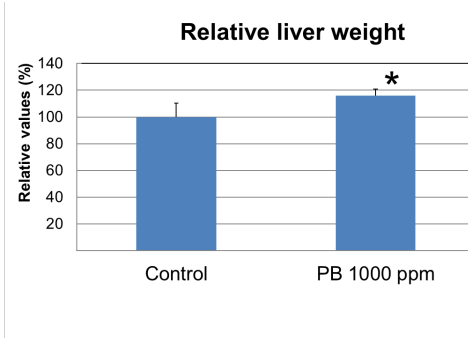
6月初旬から7月中旬にかけて動物実験を実施し、その後、各種測定実施中

# Modified CTA: 今回の工夫点

- **投与方法**：PBの乳汁移行性があることを示唆する文献 (Moriyama et al., 1999) に基き、投与期間を通して**母動物への混餌投与**を選択した（乳汁移行性が無い場合、新生児への直接投与が必要）。
- **投与量**：
  - ◆ 親動物に**明確な肝酵素誘導の惹起**を期待し、成獣での充分影響量であるPB 1000 ppm (Yamada et al., 2014) を設定した。
  - ◆ PB 1000 ppmを投与した他試験で認められた出生直後の児死亡多発を考慮し、**出生前後の3日間を休薬**とした。その結果、死亡回避。
  - ◆ 哺育中期以降に母動物の摂餌量が増加することを考慮し、被験物質の過剰摂取回避のため、**哺育13-21日においてはPB・PTUともに給餌濃度を半量**にした。
- **標本（血液、脳）の採材方法（特に胎児・新生児）**：予備検討した上で、現実的に実施可能な**採材手順・採材数・保管状態**を選定した。

# 母動物における肝臓影響の確認

肝重量・核内受容体CAR依存性の遺伝子発現 (妊娠20日の母動物)



\*p<0.05, \*\*p<0.01

母動物の肝臓：TH抱合酵素の誘導が確認された

今後、予定通り測定・観察を継続する

# 謝 辞

日本化学工業協会が推進するLRIにより本研究の一部を支援いただいたことに関し、深く感謝申し上げます。

また、研究推進にあたり多大なご協力をいただいている残留農薬研究所のスタッフの皆様に厚くお礼申し上げます。

ご清聴ありがとうございました。

