

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		製紙工場廃水中に含まれる化学物質の内分泌攪乱作用の基礎的研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Study on endocrine disrupting chemicals containing in wastewater from paper manufacturing plants			
研究氏 代 表 名 者	カナ文字 CC	姓) ヤマウチ	名) キヨシ	研究期間 B	2003 ~ 2004 年
	漢字 CB	山内	清志	報告年度 YR	2005 年
	ローマ字 CZ	Yamauchi	Kiyoshi	研究機関名	静岡大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		静岡大学・教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>内分泌攪乱化学物質は、内在性ホルモンの合成から受容体に至るステップのいずれかに影響を与え、本来行われるべきホルモン作用を攪乱するものと考えられる。いままで、甲状腺ホルモン輸送に関わる血漿タンパク質(トランスサイレチン, TTR)および核内受容体を標的として甲状腺ホルモン結合を競合阻害する化学物質を同定した。しかし、これらの実験は精製蛋白質を用いて in vitro でおこなわれたため、実際の細胞でこれらの甲状腺系攪乱作用が再現できるかという疑問があった。また、甲状腺系の攪乱は、ステロイドホルモン系の攪乱におけるほど、受容体を標的とした化学物質が見つからないのが現状である。そこで、レンチウイルスを用いてアフリカツメガエル培養細胞へ、甲状腺ホルモン応答配列とその下流にルシフェラーゼ遺伝子を導入し、安定したホルモン応答を示す培養細胞株の樹立を試みた。本細胞にはマーカーとして EGFP 遺伝子を導入したが、EGFP の発現とホルモン依存性のルシフェラーゼの発現は必ずしも対応しなかった。また、哺乳類の細胞に比べて、長い期間の細胞培養で安定した発現は得られなかった。そこで、高発現する細胞株のクローニングを行った。得られたクローン細胞は 10^{-11} M の甲状腺ホルモンに応答した。また、数ヶ月の継代培養においてもホルモン応答を維持した。本細胞を用いて、製紙工場廃水中の甲状腺系攪乱作用を調べたところ、アンタゴニストの存在が示唆された。今回樹立した細胞は、環境水中の内分泌攪乱活性を有する化学物質の検出・同定に有効であると思われる。</p>					
キーワード FA	環境ホルモン	内分泌攪乱	甲状腺ホルモン	塩素系有機化合物	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Characteristics of a thyroid hormone responsive reporter gene transduced into a <i>Xenopus laevis</i> cell line using Lentivirus vector							
	著者名 ^{GA}	S. Sugiyama 他	雑誌名 ^{GC}	General and Comparative Endocrinology					
	ページ ^{GF}	in press	発行年 ^{GE}	2	0	0	5	巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

We introduced a self-inactivation (SIN) lentivirus vector (LV) into *Xenopus laevis* cell lines and established a permanent cell line expressing a reporter gene in a 3,5,3' -L-triiodothyronine (T₃) dependent manner. The SIN LV contained the luciferase gene downstream from the *X. laevis* T₃-response elements (TREs), and the SV40 promoter and the enhanced green fluorescent protein (EGFP) gene downstream from the cytomegalovirus (CMV) promoter. It was integrated into the genome of *X. laevis* cells. The SIN LV transduced the *X. laevis* cells as efficiently as mammalian cells; however, the expression of EGFP in the transgene decreased with increasing culture time. A cell clone exhibiting the highest TH-dependent luciferase gene expression (XL58-TRE-Luc clone) was isolated from the EGFP-positive XL58 cell pool and characterized. The minimum effective concentration of T₃ that significantly induced the luciferase gene expression was 10⁻¹¹ M in the XL58-TRE-Luc clone. The application of the luciferase gene assay using the permanent XL58-TRE-Luc clone for the screening of thyroid-disrupting chemicals revealed that a wastewater sample eluted from paper recycling plants contained a chemical (or chemicals) with thyroid antagonist activity. Our results indicated that the permanent *X. laevis* cell line containing a T₃-response transgene could be used as a bioassay, with small intra-assay variation, for the rapid screening, identification and characterization of the thyroid-disrupting chemicals in environmental water samples.