

## 高等動物の神経発達に対する内分泌攪乱化学物質の影響に関する研究

Effect of the endocrine disrupting chemicals on the development of the brain of higher animals.



吉川 泰弘 (Yoshikawa Yasuhiro)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

### 研究の概要

内分泌攪乱化学物質の神経発達に対する影響の研究は比較的新しく、まだ遺伝子レベルや個体レベルの影響評価がランダムに報告されているに過ぎない。特にげっ歯類から霊長類にわたる一貫性のあるリスク評価研究はほとんど行われていない。本研究ではラット、サル類、チンパンジーの個体を用いて環境化学物質代謝のヒトへのリスクの外挿を行い、また母体暴露が次世代個体の神経行動発達に与える影響を評価した。さらにラット胎児、霊長類の神経培養細胞などを用いて、さまざまなレベルで環境化学物質の影響を解析した。

### 研究分野、科研費の分科、細目・キーワード

総合・新領域系、複合新領域、環境学、放射線・環境化学物質評価

キーワード：BPA, TCDD, PCB, カニクイザル、ラット、妊娠、神経発達、行動

### 1、研究開始当初の背景・動機

軟体動物から鳥類まで内分泌攪乱化学物質が生殖機能を攪乱することについては疫学調査や多くの研究がなされている。しかし、高等哺乳類に関してはその影響は不明確である。他方、ダイオキシンや PCB による神経系発達への悪影響は構造の類似する甲状腺ホルモンへの攪乱作用ではないかと推察されている。甲状腺ホルモンは胎児の神経系発達には必須のホルモンである。内分泌攪乱化学物質(EDC)の神経発達に対する影響の研究は比較的新しく、特にげっ歯類から霊長類にわたる一貫性のあるリスク評価研究はほとんど行われていない。

### 2、研究の目的

本研究ではラット、サル類、チンパンジー個体を用い EDC のヒトへの外挿を行う。またラット、霊長類胎児の神経培養、マウス・サル類の ES 細胞などを用いて、EDC の影響を解析する。研究成果を帰納的に統合しヒトへの外挿を行い、EDC の神経発達に対するリスク評価を目的とした。

### 3、主な研究方法

培養細胞系：マウス、ラット、サルの妊娠母体から帝王切開で胎児を取り出し、初代神経培養を行う。マウス、ラットは妊娠 18 日齢、サルは妊娠 80 日齢を用いた。

妊娠個体の経胎盤移行性：胎児および胎盤の発達を明らかにする目的で、妊娠日齢の異なるカニクイザルに放射性同位元素でラベルした BPA を用いて、各妊娠ステージの体内分布及び胎児への移行と分布、代謝を検索した。

BPA の代謝の種差に関する検討：ラット、サルおよびチンパンジーの間の薬物吸収代謝能力における種差を評価した。LC/MS で中間代謝物も合わせて解析をおこなった。いずれもチンパンジーはラットをサルの中間値を示した。

ラット、サル類の EDC s 暴露が次世代の個体の神経行動発達に与える影響：ラットでは PBA、NP のようなエストロゲン作用を示す物質及びアミオダロン、チアマゾール、PTU のような甲状腺ホルモン阻害物質の影響を評価した。サル類では TCDD, BPA, PCB 及びチアマゾール投与の影響を評価した。

行動評価のためのシステム開発：高次認知機能測定のための4段迷路試験、新規対象に対する対応を見るアイコンタクト試験、社会性と発達行動を比較するための出会い試験など、プロトコルを独自に開発した。

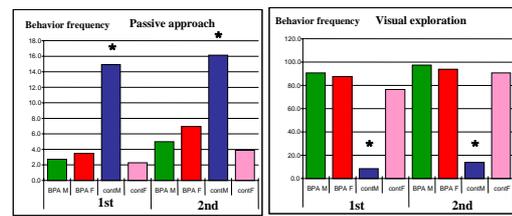
#### 4、研究の主な成果

ラットを用いたビスフェノールA(BPA)、ノニルフェノールなどのエストロゲン様作用物質、及び神経発達に必須の甲状腺ホルモンを阻害するポリ塩化ビフェニール(PCB)、チアマゾール、アミオダロンなどをもちいて神経発達への影響を評価した。主として神経行動学的評価を中心にリスク評価を行い、その結果を公表してきた(Negishi, T.et al., Behav Brain Res. 159: 323-31. 2005, Negishi T,et.al., Environ Health Perspect.112:1159-64 2004, Negishi T, et al.,Neurosci Lett, 353:99-102, 2003)。齧歯類を用いた評価を行うとともにヒトに近縁なサル類も対象に研究を進めた。その結果、

齧歯類は神経回路が極めて未熟な状態で生まれるのに対し、霊長類の神経系は胎児期に十分に発達すること、BPAや甲状腺ホルモンの代謝が齧歯類とサル類では著しく異なること、妊娠のステージにより、BPAの胎児移行・中枢神経への暴露量が異なることが明らかになり、齧歯類のデータを単純に、ヒトを含む霊長類に外挿することは危険であることが示唆された。

サル類を用いたリスク評価ではアカゲザルでダイオキシン投与により、新生児の社会行動に異常が見られること(Negishi et al., Toxicol Lett. 160; 233-44, 2005、根岸隆之、川崎勝義、小山高正、黒田洋一郎、吉川泰弘：Brain Medical：16.; 75-80、2004)、BPA投与では暴露された次世代オスのみがメスの行動を示す、いわゆる性同一性障害のような行動を示すこと(吉川泰弘：分子精神医学 6, 370-376, 2006)、甲状腺ホルモンの阻害作用を示すチアマゾールでは著しい神経細胞の減少と分化の遅延が起ること、PCBの高濃度暴露個体から生まれた次世代では高次認知機能に低下傾向が見られること(吉川泰弘：日本疾患モデル学会誌：22,54-63, 2006)などの、新しい研究結果を得た。

Social contact tests: 1st & 2nd times)



/ Sexual un-identity of BPA treated male offspring is not repaired with growing (1st : 1 year old, 2nd : 2 years old)

#### 5、得られた成果の世界・日本の位置づけとインパクト

我が国のサル類の繁殖方式は欧米と異なり、基本的には個別繁殖方式であるため交配時、妊娠ステージ、胎児発育いずれも調節できる。他方欧米は群飼育のため、妊娠ステージの明らかな胎児を使うことが出来ない。従って、サル類を用いた一貫性のある胎児のEDCsの神経発達に関する影響評価はほとんど行われておらず、本研究結果が最先端である。

妊娠80日齢のサル胎児が初代神経系細胞培養に最も適していること、神経回路形成により、自発性のカルシウム同期発射(PSD)が起ること、齧歯類の初代細胞系とグリア細胞の反応性が異なること、他方ラットの初代神経細胞が脳皮質由来か海馬由来かでEDCsに対する反応性が異なることなどを見出し、高等哺乳動物の初代培養神経系細胞を用いたリスク評価法への道を開いた。

サル類を用いたリスク評価ではアカゲザルでダイオキシン投与により、新生児の社会行動に異常が見られること、BPA投与では暴露された次世代オスのみがメスの行動を示す、いわゆる性同一性障害のような行動を示すこと、甲状腺ホルモンの阻害作用を示すチアマゾールでは著しい神経細胞の減少と分化の遅延が起ること、PCBの高濃度暴露個体から生まれた次世代では高次認知機能に低下傾向が見られることなどの、新しい研究結果を得た。

#### 6、主な発表論文 (本文参照：省略)