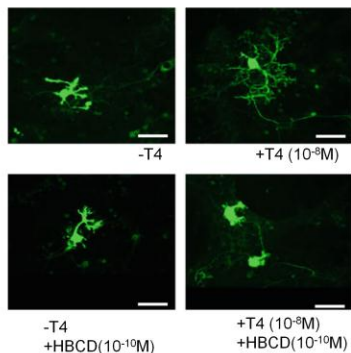


多動性に関わる内分泌系因子の同定と かく乱物質の影響に関する研究



Name	Structure	Effective dose	Suppression and dose	Dissociation and dose
2'-OH-BDE68 2'-OH 2,3,4,5'-TetraBDE		—	—	—
4'-OH-BDE49 4'-OH 2,2',4,5'-TetraBDE		—	—	—
6-OH-BDE47 6-OH 2,2',4,4'-TetraBDE		—	—	—
DE-71	PBDE Mixture	10 ⁻⁸ M	35% 10 ⁻⁸ M	—
T ₃				
T ₄				



鯉淵 典之 Nori Koibuchi

群馬大学
GUNMA UNIVERSITY

群馬大学 大学院医学系研究科 応用生理学分野

本日は、環境省のEXTEND2010の方でサポートしていただきました「多動性に関わる内分泌系因子の同定とかく乱物質の影響」ということで、2本の大きな柱があります。

1つは、何とか多動性——最終的な目標はADHDなのですが——に関与するような内分泌因子を同定したい。もう1つは、内分泌かく乱化学物質によっては、ばく露しますと、どうも行動に異常が出るやつがいるということで、この2つについて、どういうふうに関係しているのかということとずっと研究してきました、それについてお話をいたします。

私のことをご存じの方は何人かいらっしゃると思うのですが、今までどちらかといいますとin vitroで、例えばレポーターアッセイをやったりとか、蛋白質と蛋白質の結合をみたりとか、ずっとそういう研究をしまりました。

そこで、はたと最近気がついたのですが、モレキュラー・バイオロジーをやっていると、表現型までなかなかたどり着けないんですね。1個のモレキュールが転写を促進したり抑制したりして、では、それが結局なんで、どうやって行動異常にたどり着くか。結局、間がブラックボックスになってしまうんですね。発想の転換をしまして、では、行動の方からみてやろうとちょっと考え方を改めて最近の研究をするようになっております。

モレキュラー・バイオロジーのデータは今回持ってきませんで、はしょらせていただきます。ケース・バイ・ケースで説明をさせていただきますので、よろしくお願ひします。

ADHD: 注意欠陥多動性障害



米国精神医学会による精神障害の診断分類 DSM-IV

注意欠陥および破壊的行為障害 Attention-Deficit And Disruptive Behavior Disorders に分類される一病型

Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD)

- 314.00 主に不注意型行為障害 Predominantly Inattentive Type
- 314.01 主に機能亢進の衝動型行為障害 Predominantly Hyperactive-Impulsive Type
- 314.01 多動性行為障害 Combined Type
- 314.9 上記に分類されない注意欠如型多動性障害 ADHD not otherwise specified (NOS).
- 312.8 行為障害 Conduct Disorder
- 313.81 反抗挑戦性障害 Oppositional Defiant Disorder
- 312.9 他に分類されない破壊的行為障害 Disruptive Behavior Disorder NOS



ADHDは、小児期および青年期に通常発症する行動および情緒の障害のうち、「不注意」、「過活動」、「衝動性」を主要症状とし、発症が早期(7歳以前)で、症状が広汎に生じる(学校と家庭など複数の場面)ことを特徴とする障害である。中枢神経系に何らかの要因による機能不全があると推定される。

ADHD：注意欠陥多動性障害ということで、定義から言いますと、小児期および青年期に通常発症する行動および情緒の障害のうち、「不注意」、「過活動」、「衝動性」を主要症状とする。しかも早期に症状が生じて、しかも学校と家庭などの複数の場面で生ずる。何らかの要因による機能不全があると推定されております。

米国の精神医学会の診断分類でいいますと、注意欠陥および破壊的行為障害という中に分類されておまして、大きく分けて3つに分けられるのですが、不注意が中心の障害、衝動行為が中心の障害、日本語の訳が間違っておまして、これは不注意型行為障害と衝動型行為障害の混合型であります。

類似疾患として、これに分類されない、例えば7歳以降に起こってくるようなADHDのタイプであるとか、行為障害、人に危害を与えるようなことをやってしまうようなもの、それから人にもなんでもかんでも逆らうような行為障害、こういうのも一応類似の病型として分類されております。

ADHDの原因

遺伝子Genetic

ドーパミン、ドーパミン受容体、ドーパミン輸送体
ノルアドレナリン、ドーパミンとノルアドレナリンのアンバランス



“多遺伝子性疾患”の可能性

エピジェネティックEpigenetic

早産、母体の飲酒や喫煙、微細脳損傷、脳の縮小（右前頭前皮質、大脳基底核（尾状核と淡蒼球）、小脳（虫部）

環境化学物質（PCBなど）、農薬（ネオニコチノイドなど）

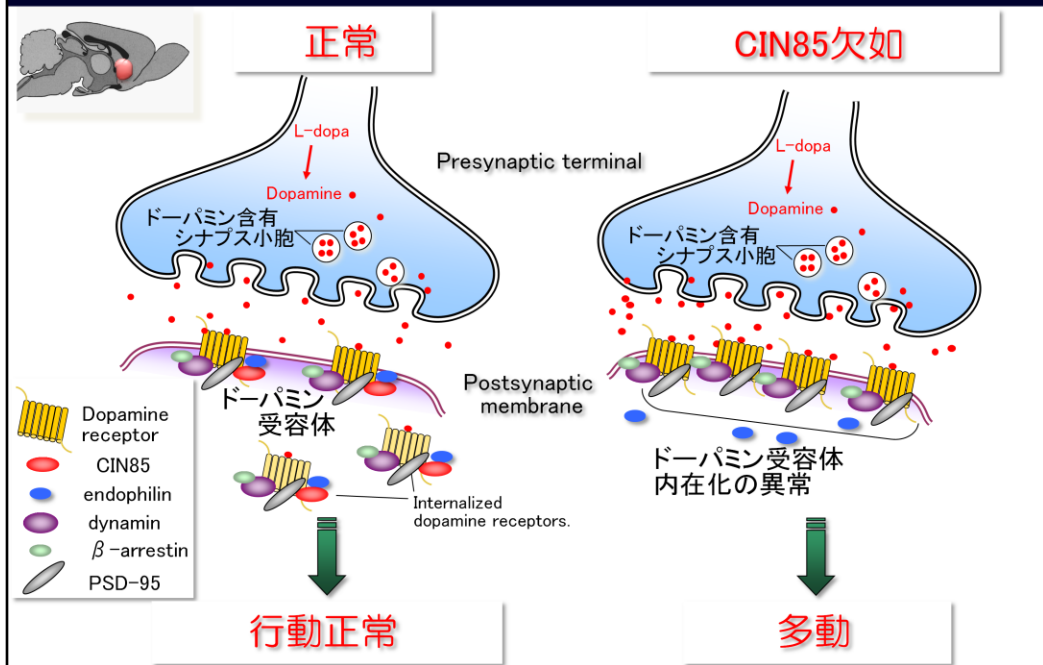
ADHDの原因ですが、まず遺伝子としては、ドーパミンやドーパミン受容体、ドーパミン輸送体などドーパミン系の異常が考えられております。それからノルアドレナリンとドーパミンなどのアンバランスということで、原因が1つではなくて、多遺伝子の疾患の可能性があるということです。

最近の研究によりましては、別に遺伝子に必ずしも異常がなくても、いろんなエピジェネティックな原因でも類似のことが起こるのではないかと。例えば母体の飲酒や喫煙、微細な脳損傷、脳の縮小、それは前頭前皮質というのが非常に有名なんですけど、基底核とか小脳とか。今日お話しするのは、基底核の話と小脳の話が中心です。

それ以外に環境化学物質とか農薬とか、こういうものも多動性の原因になるのではないかとされています。

いろんな議論はあるのですが、ADHDと称される子どもたちの数は世界で増えているという論文が最近多く見かけられます。ただし、確定しているわけではございません。

CIN85の欠失はドーパミン受容体の分解を抑制し多動症を引き起こす

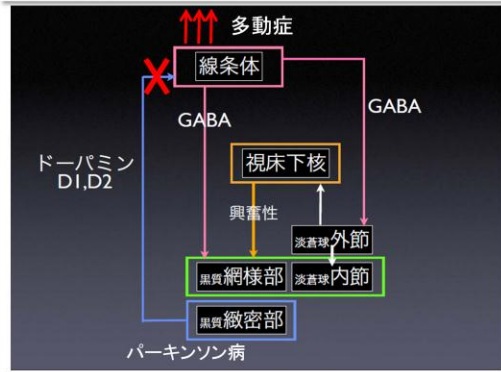


ADHDを研究する中で私たちが1つ見つけたモデルなんですが、CIN85という物質、これは実はいろんな受容体のユビキチン化に関与して、受容体が普通はホルモンとくっつくと膜受容体で内在化して壊されるんですね。ところが、CIN85が欠失すると、ドーパミン受容体がいままで表面にいる。ということはどういうことかということ、ドーパミンが来ると非常に過剰反応してしまうということがわかりました。この動物をみてみると、非常に多動になるということがわかりまして、CIN85の欠失によってドーパミン受容体の分解が抑制され多動症を引き起こすということがまず1つわかってまいりました。

CIN85 regulates dopamine receptor endocytosis and governs behaviour in mice

Noriaki Shimokawa^{1,2,17}, Kaisa Haglund^{1,3,4,17}, Sabine M Höller^{5,6}, Caroline Grabbe¹, Vladimir Kirkin¹, Noriyuki Koibuchi¹, Christian Schultz^{7,8}, Jan Rozman^{9,10,11}, Daniela Hoeller¹, Chun-Hong Qiu², Marina B Londono², Jun Ikezawa², Peter Jedlicka², Birgit Stein¹, Stephan W Schwarzscher⁷, David P Wolfer¹², Nicole Ehrhards^{3,10,11}, Rainer Heucher^{13,14}, Ioannis Nezis^{3,4}, Andreas Brech^{3,4}, Mirko HH Schmidt¹, Helmut Fuchs^{3,4}, Valerie Gallus-Durner^{10,11}, Martin Klingenspor², Oliver Bogler², Wolfgang Wurst^{5,6}, Thomas Deller², Martin Hrabě de Angelis^{10,11} and Ivan Dikic^{1,16,*}

¹Institute of Biochemistry II and Cluster of Excellence Macromolecular Complexes, Goethe University, Frankfurt (Main), Germany; ²Department of Integrative Physiology, Gunma University Graduate School of Medicine, Gunma, Japan; ³Department of Biochemistry, Institute for Cancer Research, The Norwegian Radium Hospital, Oslo University Hospital, Oslo, Norway; ⁴Centre for Cancer Biomedicine, Faculty of Medicine, University of Oslo, Oslo, Norway; ⁵Institute of Developmental Genetics, Helmholtz Zentrum München, German Research Centre for Environmental Health, Neuherberg, Germany; ⁶Technische Universität München, Germany; ⁷Institute of Clinical Neuroanatomy, Dr. Senckenberg Anatomy, Goethe University, Frankfurt (Main), Germany; ⁸Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg, Zentrum für Biomedizin und Medizinische, Mannheim, Germany; ⁹Molecular Nutritional Medicine, Ewe-Köcher-Fresenius Center, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, Germany; ¹⁰Institute of Experimental Genetics and German Mouse Clinic, Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Neuherberg, Germany; ¹¹Technische Universität München, Germany; ¹²Institute of Anatomy, University of Zurich, and Institute of Human Movement Sciences and Sport, ETH Zurich, Zurich, Switzerland; ¹³Swedish Institute for Cancer Research, Uppsala University, Uppsala, Sweden; ¹⁴Karolinska Hospital, KFC, Clinical Research Center, Huddinge, Sweden; ¹⁵Department of Neurosurgery, Neuro-Oncology and Brain Tumor Center, University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA and ¹⁶Tumor Biology Program, Mediterranean Institute for Life Sciences, Metrovicovac Seclane, Split, Croatia



22. 6. 19 読売30

「ADDH」新原因メカニズム発見

落ち着きがなく、教室を走り回るなどの行動をとる子供にみられる「注意欠陥・多動性障害（ADDH）」の原因について、群馬大の下川准教授らの研究チームが新たなメカニズムを発見した。15日、生命科学分野で権威のある「欧州分子生物学機構学術誌」の電子版に掲載された。

群馬大・下川准教授ら

「下川准教授は、ドイツのチームと共同で2000年から研究を開始。細胞膜の表面で情報を伝達するたんぱく質受容体の作用が過剰になり、多動性障害の原因となることを解明した。動物が行動を止めるには、細胞内の「CIN85」というたんぱく質が受容体を取り込んで壊すという過程を経る。下川准教授らは「CIN85」を持たないマウスを作製したところ、正常なマウスより総移動量や平均速度などが上がっていることが分かった。

さらに、行動量などを調節する神経伝達物質「ドーパミン」の分泌量と受容体との結合量を測定。正常なマウスより分泌量が多く、受容体が壊れずに残り、行動を促す情報を細胞に与え続けていることを発見した。

下川准教授は「将来的には人にも応用し、ADDHの診断基準として「CIN85」を調べたマウスを作製したところ、正常なマウスより総移動量や平均速度などが上がっていることが分かった」と話している。

これはつい最近論文にしたのですが、本教室の下川准教授を中心としたグループによって、最近報告をさせていただきました。

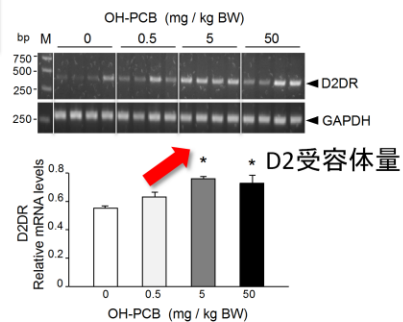
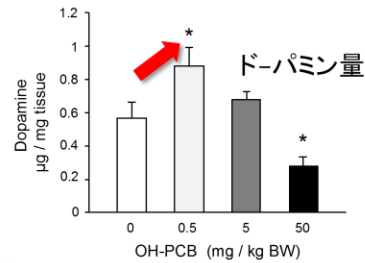
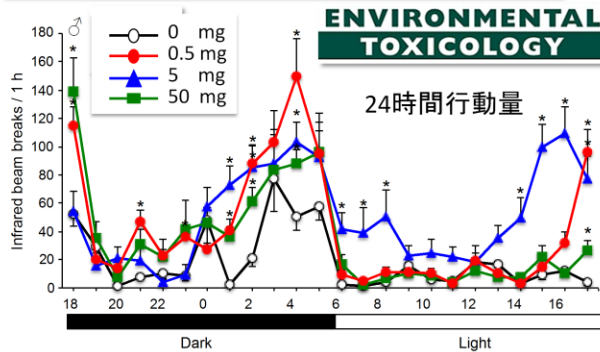
授乳期水酸化PCB曝露により多動が生じ、線条体のドーパミンおよびD2受容体量が増加する

Lactational Exposure to Hydroxylated Polychlorinated Biphenyl (OH-PCB 106) Causes Hyperactivity in Male Rat Pups by Aberrant Increase in Dopamine and its Receptor

Ronny Lesmana,^{1,2} Noriaki Shimokawa,¹ Yusuke Takatsuru,¹ Toshiharu Iwasaki,¹ Noriyuki Koibuchi¹

¹Department of Integrative Physiology, Gunma University Graduate School of Medicine, Gunma, Japan

²Department of Physiology, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia



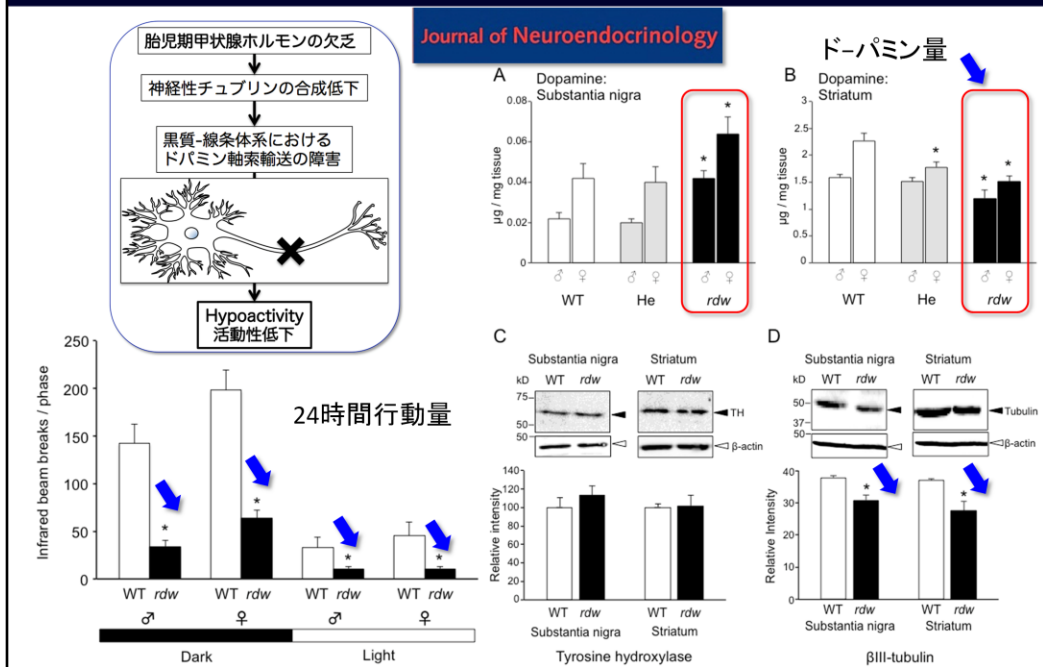
一方、環境化学物質はどうかといいますと、授乳期に水酸化PCBにばく露しますと、多動が生じる。それで今度はドーパミン及びドーパミン受容体の量が増加する。同じようなメカニズムによってどうも多動が生ずるということがわかりました。

なぜかわからないのですが、よく環境化学物質をやっていますと、こういう現象がみられるのですが、PCBを1 kg当たりこれぐらいの量で授乳期に母親に経口投与します。そうしますと、これは24時間の行動量をグラフにしたもので、黒いのが対照ですが、どの量においても行動量が増えているということがおわかりいただけると思います。50になると、行動量が逆にちょっと下がってしまう。

このときに何が起きているかといいますと、線条体のところのドーパミン受容体が増えているということで、先ほどCIN85の方でドーパミン受容体の中に入らなくなって感受性が上がると、そういう状態と非常に似た状態が生ずるということがわかりました。

では、この2つの間に、PCBによって起こる多動にCIN85が関係しているのではないかとということで、更に実験を続けました。

周産期甲状腺機能低下で寡動が生じ、線条体ドーパミン量が低下する



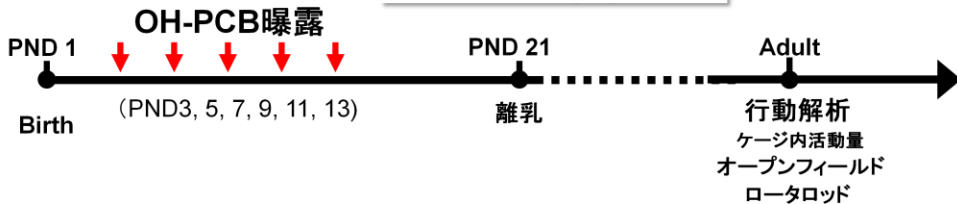
もう1つ、甲状腺の話をするのを忘れました。周産期に甲状腺機能を低下させます。そうすると、今度は線条体のドーパミン量が減少する。全く同じですね。動きが遅くなるのですが、それはなぜかという、線条体ドーパミン量が減少するという事です。

ちょっと面白いことがわかったのですが、黒質、ここでドーパミンが作られて線条体に持っていかれるのですが、甲状腺機能低下の動物、これはラットですが、これをみてみますと、実は黒質ではドーパミンの量は増えているのです。線条体では減っているということがわかりました。これはなぜかとみてみましたら、神経性のチユプリンというのが実は軸索輸送に関わる蛋白質なんです、ここで作られたドーパミンが線条体までずっと行ってくれないんですね。甲状腺ホルモンがないということでチユプリンの合成が低下しているということがわかりまして、これでドーパミンが少ない。そうすると、その結果として、24時間の行動量が減ってしまうということがわかりまして、甲状腺系、ドーパミン系、内分泌かく乱化学物質、CIN85といくつかの役者がそろってきたわけです。

水酸化PCBの作用機序-CIN85との関係

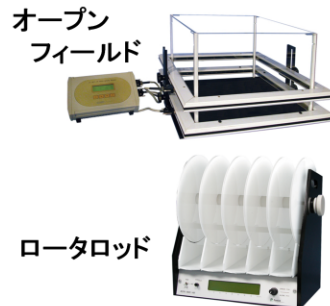
授乳期曝露実験プロトコール

- ・溶媒のみ(Control)
- ・OH-PCB 0.05 mg/kg(L0.05)
- ・OH-PCB 0.5 mg/kg(L0.5)



行動解析実験

- ケージ内活動量 (3 days; P40-50)
- オープンフィールド(30min; P50-55)
- ロータロッドテスト(4-40 rpm, 3 min; P56-60)



では、水酸化PCBをばく露して、CIN85とどういうふうに関係しているのかということ、水酸化PCBを授乳期にばく露して離乳させて、大人になって行動がどういふふうに変わるのかということ、オープンフィールド、ロータロッドとか、後でまた説明しますが、こういうことで調べてきました。

ケージ内の活動量というのは、普段生活しているケージの中での活動量。

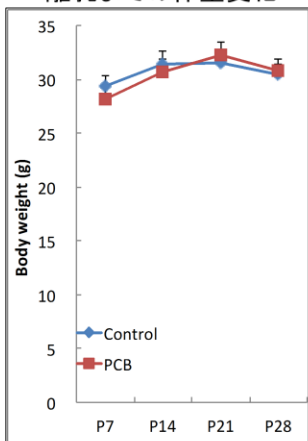
オープンフィールドというのは、こういうものでありまして、マウスにとっては新奇性の刺激になりますから、オープンな場所なので、普通マウスは暗いところとか狭いところが好きなので、こういうことになると非常に不安になるのです。それを調べる。

ロータロッドというのは、真ん中に棒がついておりまして、ぐるぐる回って、小脳機能とか、例えば皆さん自転車に乗るときのことを思い出していただくといいと思うのですが、それと同じで、運動の調節が上手にできなくなると、これから落ちてしまう。そういうことが起こります。

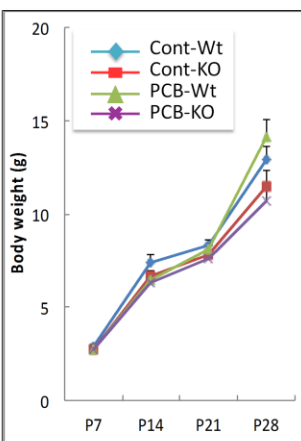
そのようなことをやってみました。

OH-PCB曝露における身体発達(体重)への影響

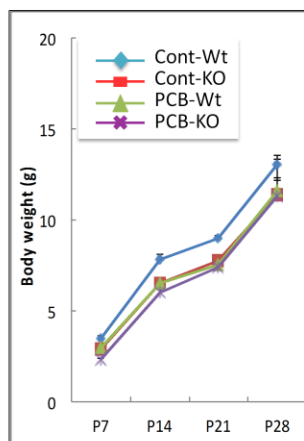
母マウスの出産後から
離乳までの体重変化



♂仔の体重変化

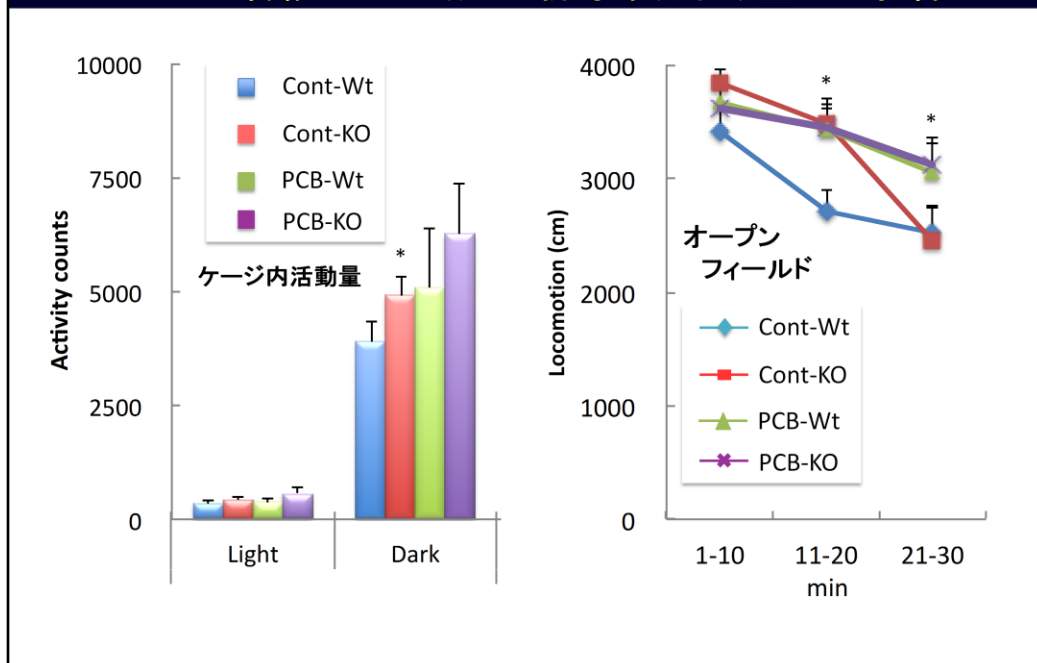


♀仔の体重変化



まず、これはPCBばく露における母親と子どもの体重変化ですが、私たちが投与したぐらいのPCBでは体重は全然変わりません。

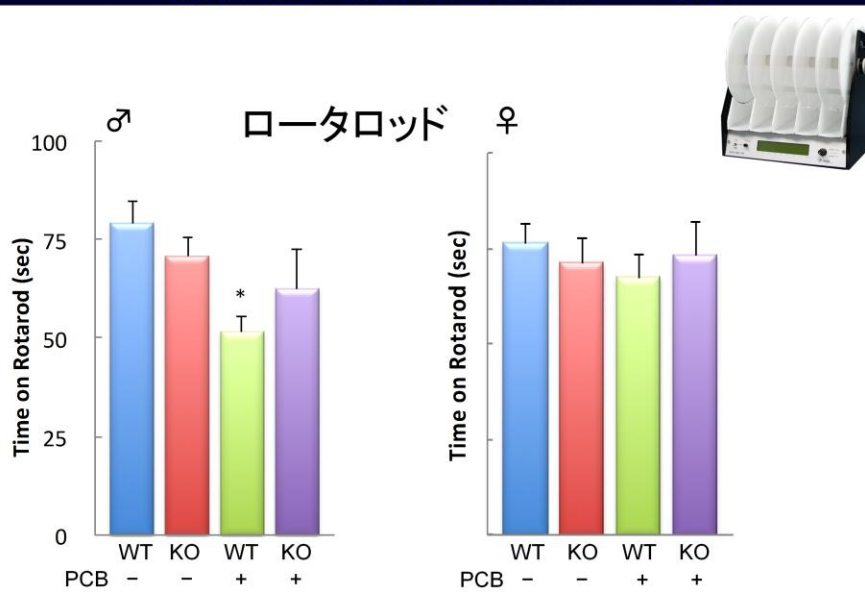
OH-PCB曝露における概日/新奇環境活動量への影響



これがケージ内の活動量ですが、これが野生型、CIN85ノックアウトマウスではないもの。これにPCBを与えますと、先ほどのラットのデータと同じで活動量が増える。ノックアウトマウスはどうかというと、ノックアウトマウスは活動量が多いのですが、それにPCB を与えると活動量が増えるのですが、別にCIN85をノックアウトしたからといって、相加的であったり相乗的であったりしないものですから、これは一見同じようなメカニズムで起こっているのですが、CIN85はPCBによる活動性の上昇にはあまり関係ないだろうと、ちょっとネガティブな結果になってしまって残念なんです、そういうことになりました。

これはオープンフィールドで、新奇性の環境下における活動量をみているのですが、これもPCBをやりますと、緑ですが、ずっと高いまま。ノックアウトマウスに関しては、一回上がって下がる。PCBをやりますと、ずっと高いままということで、これと大体同じような結果が出ております。

OH-PCB曝露における協調運動機能への影響

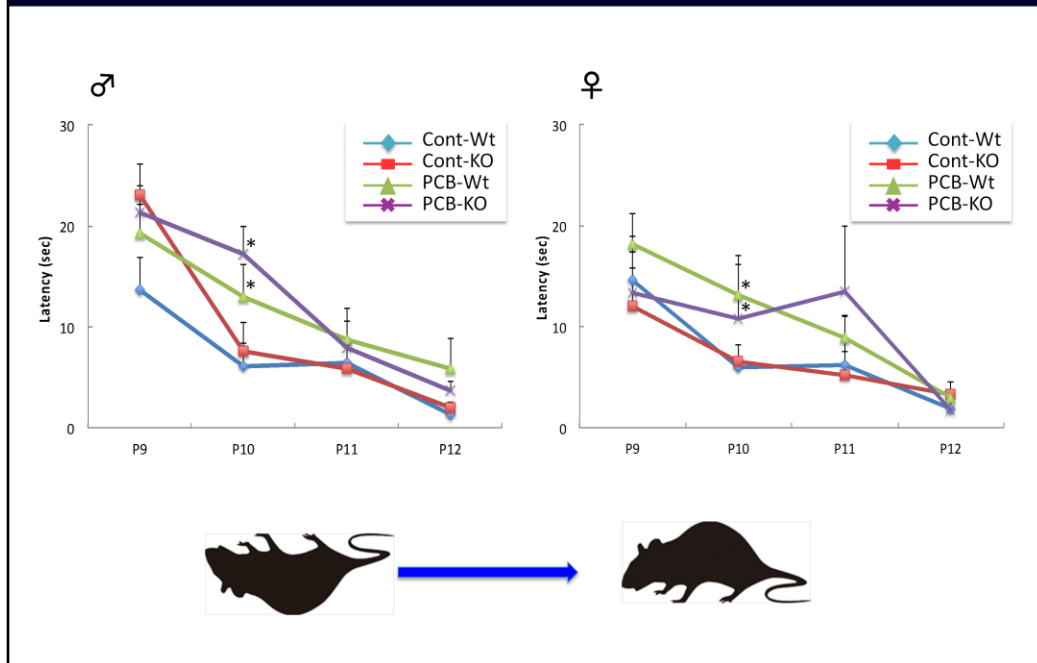


大脳皮質の機能以外に、小脳の方はどうだろうかということで、協調運動、これも高次機能なんです。活動量とはちょっと違うのですが、協調運動について調べてみますと、野生型に関しては、PCBをばく露しますと協調運動ができなくなります。それに対してCIN85の方は変わらないということで、これもまたまたCIN85で起こっている行動異常と、水酸化PCBによって起こっている行動異常というのは、違うメカニズムによって起こっているらしい。なぜかということはいわかりませんが、そのようなことがわかってきました。

ちなみに甲状腺機能低下にしますと、PCBのばく露と同じように協調運動機能が落ちてまいります。

それから、先ほど申し上げるのを忘れたのですが、ホームケージの中では甲状腺機能低下の動物はほとんど動かないのですが、オープンフィールド、ちょっと新奇性の環境下に入れますと、タカタカタカタカと動きだします。それなので、過動といいますが、非常に神経質じゃないかという、そういうわけではなくて、甲状腺機能低下動物は新奇性の環境下では非常によく動くという特徴がありまして、実は人間でもそういうところがあります。甲状腺受容体に変異のある子どもたちというのは、実は多動の例が多いということで、ここもちょっと共通点があるということはお話ししておきます。

OH-PCB曝露における立ち直り反射への影響



それ以外の運動機能、これは立ち直り反射、別の協調運動機能の影響なんですけど、これをみましても、野生型にPCBをやると運動機能が落ちる。ノックアウトマウスは、最初ちょっと悪いのですが、その後大体正常になるのですが、PCBをやるとやはり悪くなるということで、他の大脳皮質の結果と大体同じような結果になっております。これは雄と雌でちょっと傾向が違います。

培養細胞を用いた解析: 化学物質は脳へ直接作用する 甲状腺ホルモンによる樹状突起伸展へのPBDEの作用

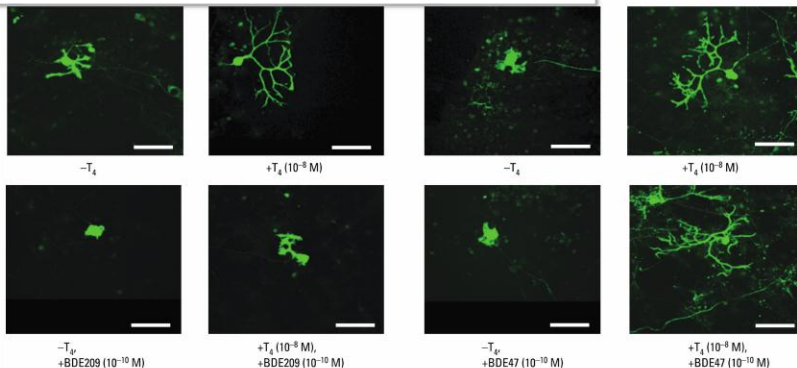
Research

Disruption of Thyroid Hormone Receptor–Mediated Transcription and Thyroid Hormone–Induced Purkinje Cell Dendrite Arborization by Polybrominated Diphenyl Ethers

Kingsley Ibhazehiebo,¹ Toshiharu Iwasaki,¹ Junko Kimura-Kuroda,² Wataru Miyazaki,^{1,3} Noriaki Shimokawa,¹
and Noriyuki Koibuchi¹

¹Department of Integrative Physiology, Gunma University Graduate School of Medicine, Maebashi, Japan; ²Department of Developmental Morphology, Tokyo Metropolitan Institute for Neuroscience, Tokyo, Japan; ³Laboratory of Environmental Health Sciences, Center for Disease Biology and Integrative Medicine, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan

ehp ENVIRONMENTAL
HEALTH
PERSPECTIVES



個体レベルでこういうことがわかりまして、では、メカニズムはどうかということ、それを細胞レベルに落としてやろうと。これ以外に電気生理の結果もあるのでありますが、電気生理の結果は今日は持ってまいりませんでした。

これはPCBではなくてPBDE（ポリ臭素化ジフェニルエーテル）なんです、分子生物学的な実験で転写のアッセイなんかをしますと、水酸化PCBと全く同じようなメカニズムで甲状腺ホルモン受容体による転写を抑制する物質ですが、甲状腺ホルモンを小脳のプルキンエ細胞に培養しておいてかけますと、こういうふうに樹状突起が伸びてきますけれども、10⁻¹⁰MのデカのBDE、臭素が10個ついたものですが、これをかけますと、大体10⁻¹⁰ぐらいで樹状突起の伸びが悪くなる。

それに対してBDEの47、これはもっと臭素の少ないものですが、これに関しては影響がない。こういうことがわかりまして、異性体によって影響があるのとないのがあるのですが、こうやって影響があるものがある。

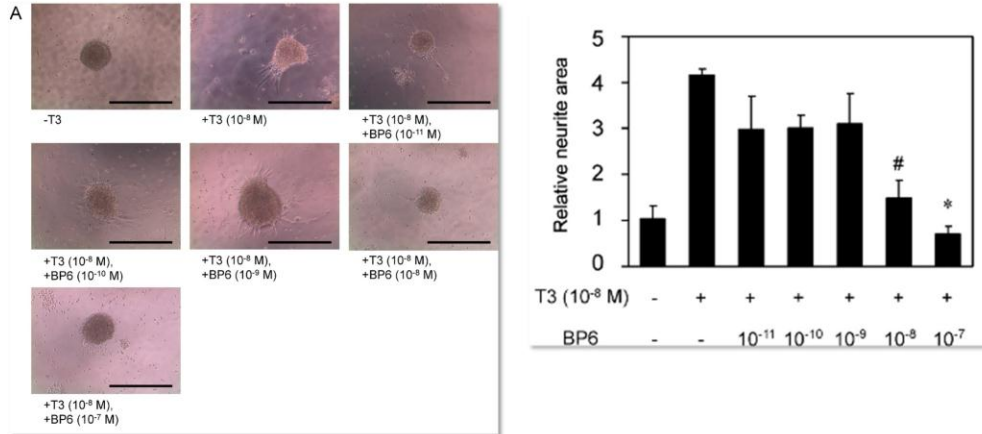
PBDEについては、マウスに経口投与して行動異常が出るかどうかということは今解析中であります。どうも出そうな感じです。

培養細胞を用いた解析: 化学物質は脳へ直接作用する 顆粒細胞における甲状腺ホルモンによる神経突起伸展へのBP6の作用

Suppression of thyroid hormone receptor-mediated transcription and disruption of thyroid hormone-induced cerebellar morphogenesis by the polybrominated biphenyl mixture, BP-6

Kingsley Ibhazehiebo^a, Toshiharu Iwasaki^{a,*}, Takayuki Okano-Uchida^b, Noriaki Shimokawa^a, Yasuki Ishizaki^b, Noriyuki Koibuchi^a

NeuroToxicology



それから、プルキンエ細胞だけではなくて、これは小脳の顆粒細胞を使ってやったのですが、これは見づらいのでこちらで説明します。これはポリ臭素化ビフェニルのミックスチャーでやったのですが、これはちょっと濃度が高いのですが、やはり10-8、10-7ぐらいで甲状腺ホルモンによる神経突起の伸展を阻害することがわかりました。

このようにしてin vitroレベル、培養細胞レベルでもいんなかく乱物質がどういふふうに効くのかということを解析しまして、何とかin vivoの現象をモレキュラーまで落としてやりたいと今考えているわけです。

研究結果のまとめ

I. 多動性に関わる内分泌系因子の同定とかく乱物質の影響

1. 多動症モデル動物(CIN85 欠損マウス)を用いた解析により、行動量の増加は黒質-線条体系におけるドーパミンシグナルの過剰が原因であることを明らかにした。
2. ラットを用いた実験から、低用量の水酸化PCB曝露はこの黒質-線条体系におけるドーパミンシグナルの増強を介して多動性をもたらすことがわかった。
3. 多動症モデル動物の多動性は、水酸化PCB曝露によって上昇する。しかしこの上昇では遺伝子欠損とPCB曝露との相乗性は認められない。
4. 多動症モデル動物の協調運動機能は、水酸化PCB曝露によって影響を受けない。
5. 水酸化PCB曝露単独による運動機能や反射に対する影響が示唆された。
6. 以上の結果は、**環境化学物質(水酸化PCB)の曝露が多動症の発症原因の可能性の一つ**であることを強く示唆している。

II. 環境化学物質の神経突起伸展に対する影響

1. 臭素系難燃剤であるポリ臭素化ジフェニルエーテル(PBDE)やヘキサブromシクロデカン(HBCD)は、甲状腺ホルモン(T4)による小脳プルキンエ細胞樹状突起の伸展を阻害することを明らかにした。
2. HBCDやポリ臭化ビフェニル(PBB)は、甲状腺ホルモン(T3)による小脳顆粒細胞神経突起の伸展を阻害することを明らかにした。
3. 以上の結果は、**環境化学物質(臭素系難燃剤)の曝露は甲状腺ホルモンによる小脳神経細胞の正常な発達を阻害**することを示している。

ここまでの研究ですが、とりあえず多動性に関わる内分泌系因子の同定とかく乱の影響としては、CIN85欠損マウスでは、黒質-線条体系におけるドーパミンシグナルの過剰であることとか、水酸化PCBもドーパミンシグナルの増強である。しかし相乗性は認められないということでした。

それから、水酸化PCB単独ばく露によって運動機能や反射に対する影響がみられました。

これらのことから、水酸化PCBのばく露が多動症の発症原因の可能性の一つであることが考えられました。また、神経突起伸展ですが、これはPBDEや、HBCDもやったのですが、今日持ってこなかったのですが、小脳プルキンエ細胞樹状突起の伸展を阻害することを明らかにしました。

また、PBBも同じように甲状腺ホルモンによる小脳顆粒細胞神経突起の伸展を阻害することを明らかにしました。

こういうふうにして難燃剤の中に甲状腺ホルモンによる小脳神経細胞の正常な発達を阻害するものがあるということが明らかになりました。

今後の研究展開—高次脳機能と環境化学物質

高次脳機能における環境化学物質のかく乱作用に関する研究: 臭素系及びフッ素系難燃剤による高次機能への影響と毒性発現機序の解析

研究の概要

本研究の目的は、認知・記憶・学習といった**脳の高次機能**に対する**臭素系及びフッ素系難燃剤**の影響を明らかにすることである。

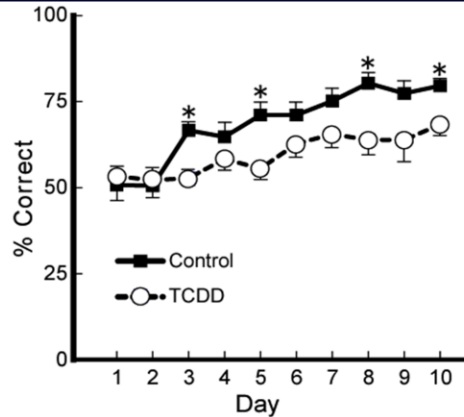
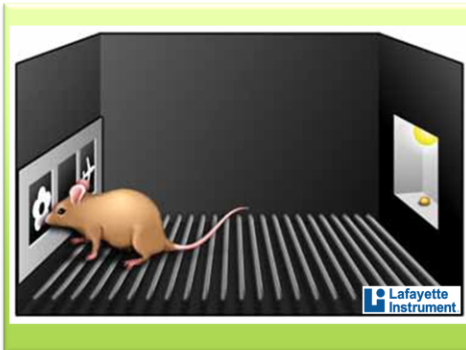
この目的のために内分泌かく乱作用の研究領域にとって新しい解析手法である**タッチパネル式オペラント装置**や**2光子励起レーザー顕微鏡**を用いる。さらに、初代培養細胞や神経/内分泌脆弱モデル動物を用いて難燃剤の影響を解析する。

本研究の成果は脳の高次機能に対する難燃剤の影響を遺伝子から個体レベルまで明らかにできると共に、**ヒトへのリスク評価**につながることを期待できる。

今後やっていきたいことなんですが、多動性というふうに規定してしまいますと、なかなか解析が難しい。多動性は確かにいろんな動物でみえたのですが、これが本当にADHDにつながるのかというのは、実のところわかりません。それでもうちょっと高次機能、例えば記憶であるとか、そういうものを対象にして、環境化学物質に特化して研究していきたいと考えております。今考えているのは、臭素系とかフッ素系の難燃剤の影響を調べていきたいと思っております。

先ほど言いましたように、行動とか、モレキュラーまでのギャップを埋めるためにどんなストラテジーを使いたい。1つは、タッチパネル式オペラント装置、2光子励起レーザー顕微鏡などを使いたい。それに培養を組み合わせてやっていきたいと考えております。

タッチパネル式オペラント装置による弁別学習評価とダイオキシン(TCDD)の周産期曝露による影響

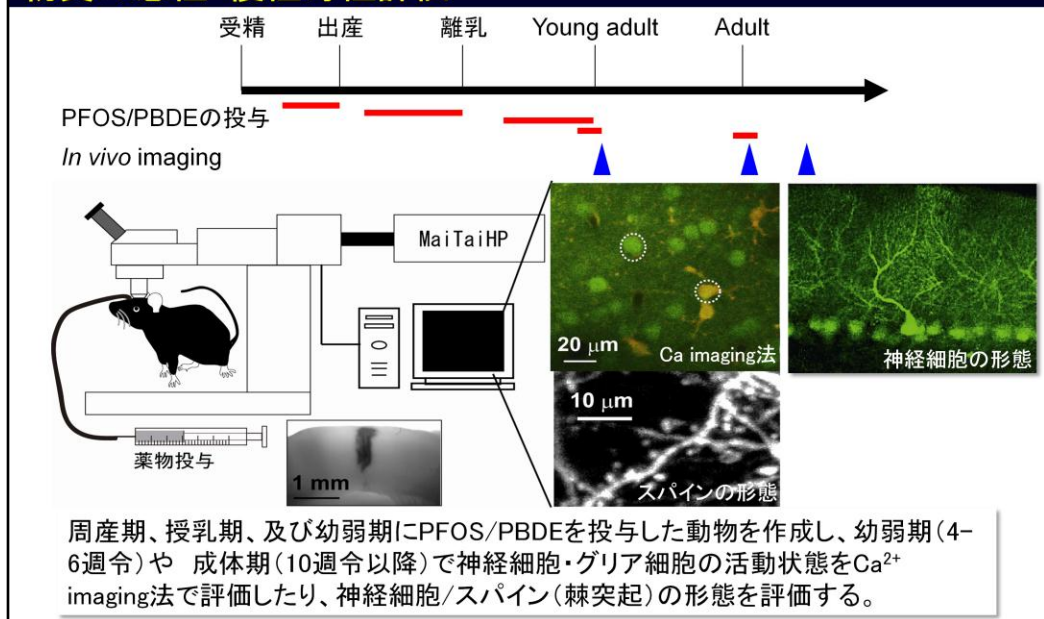


本研究室スタッフの他施設での先行研究
タッチパネル式オペラント装置(左図)により、ダイオキシンの周産期曝露(=○)が
マウスの弁別学習を阻害する(右グラフ)ことを見出した(投稿準備中)。

これはタッチパネル式オペラント装置です。ここにタッチパネルがあって、ここにディスプレイがあります。ここに正しい絵が出たときだけ、それを鼻でさわりますと、ここから餌から出るというシステムです。これは何がいいかというと、ホルモン機能が低下しますと筋力も落ちてしまうことがあるのですが、筋力が落ちて、鼻でさわらただけなので、筋力低下の影響を受けなくて、ちゃんと弁別できるかどうかということを見ることが出来ます。

これは先行研究なんですけど、タッチパネル式の、ダイオキシンの周産期ばく露によってこういうふうに弁別学習が阻害されることがわかっております。

2光子励起レーザー顕微鏡を用いた *in vivo* imaging によるかく乱物質の急性・慢性毒性評価

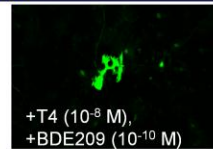
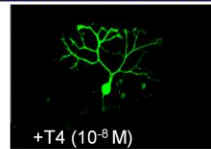
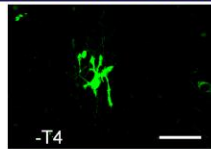


もう1つ今これからやろうとしているのは、2光子励起のレーザー顕微鏡なんですけど、どういうふうにするかといいますと、GFPを脳の中に発現している動物を使います。それで一番いいのは、我々が使っているのはシンスカルというのですが、脳の骨を全部削るのではなくて非常に薄く削りますと、細かい話はしませんが、2光子レーザー、大体深度1mmぐらいまでは脳の中が見えます。だから、生きた状態で、これが実際の絵なんですけど、神経細胞のシナプスの形態がわかります。これを、例えば毎日調べることがわかるわけですね。そうすると、シナプスができたり消えたりというのを経時的に調べることができる。ということで、それをやっていきたい。

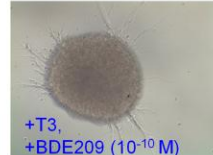
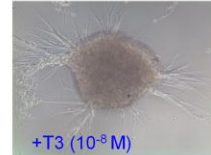
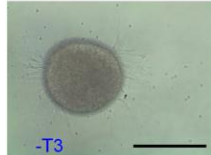
それから、横の方からちょっと薬物を投与してやって、神経細胞の活性を、例えばカルシウムのイメージング法でみることもできる。これも全部*in vivo*で、こういう形であるとか、スパインの形態であるとか、神経の活動性をみることができるといことで、これが別に試験法になるとは思っていないのですが、メカニズムを解析するという点では非常にいいのではないかと考えております。これと培養細胞の結果を組み合わせたい。

初代培養細胞を用いた解析

1. 小脳Purkinje 細胞
樹状突起伸展への
BDE209の影響

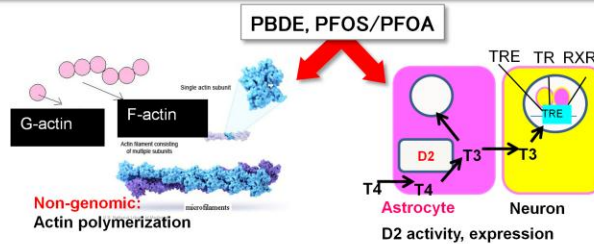


2. 凝集顆粒細胞神経
突起伸展に対する
BDE209の影響



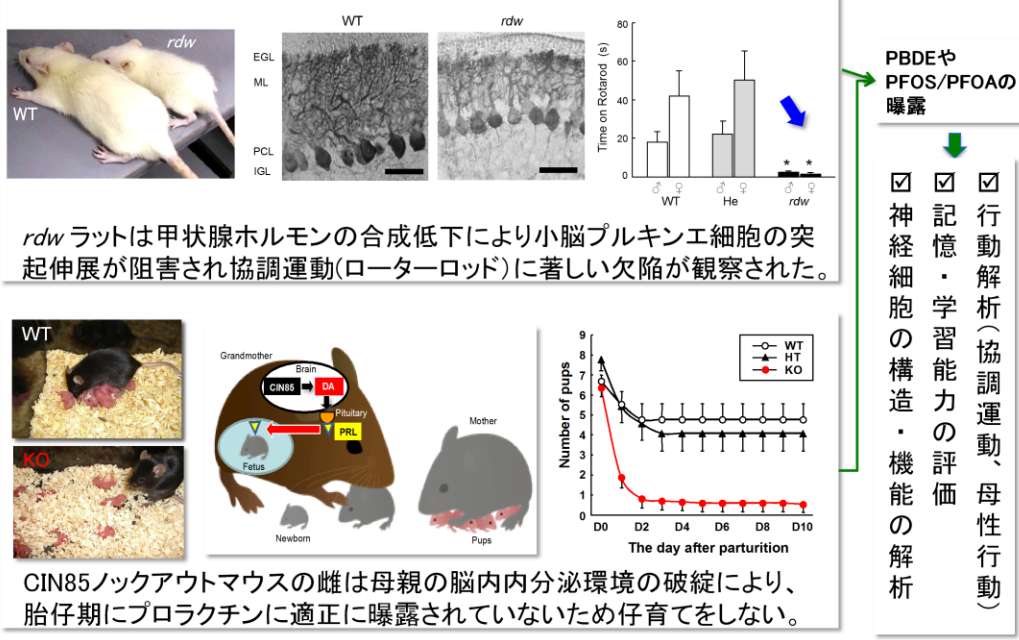
臭素化ジフェニルエーテル(BDE209)は甲状腺ホルモンの神経突起
伸展作用を 10^{-10} Mで完全に抑制する。

3. アストロサイトのアク
チン重合化とD2活性
に対するPFOS/PBDE
の影響解析



もう1つ考えているのは、これは今回、環境ホルモン学会で発表させていただいたのですが、神経細胞だけでなく、アストロサイトに効くような、アストロサイトというのは、ニューロンの支持細胞で、こちらの方に効く化学物質もありそうだということで、こちらの影響もこれから解析していきたいと考えております。

神経/内分泌脆弱モデル動物に対する難燃剤曝露の影響解析



あと、in vivoで言いますと、正常な動物よりも少し内分泌的に脆弱なモデルに対するばく露の影響を調べていきたいと思っております。ツーヒットセオリーというのがありますが、何かワンヒットがあって、その後もう1つ何か刺激がきたときに異常が出る。実は結構、甲状腺機能低下のお母さんが日本人は多いんですね。これはなぜかということ、橋本病という甲状腺機能低下の病気がありまして、妊娠可能な女性の大体20人に1人ぐらい抗体を持っております。ですから、非常に弱い甲状腺機能低下のお母さんが子どもを妊娠するという事は、実は私もそういう患者さんがおりますが、結構ある。そういう子たちがもう少し化学物質にばく露したときにどうなるのだろうかということ、これをこういう甲状腺機能低下のラットとかマウスを使ってやっていきたい。これは非常にドラスティックな例ですが、強い甲状腺機能低下ではなくて、すごい弱い甲状腺機能低下にしたときにどうなるかみていきたい。

もう1つは、仔育て行動をしないマウスがいるのですが、これもさっきのノックアウトマウスなんです、脳内の内分泌系、プロラクチンの破綻によって仔育て行動をしないということがあります。では、仔育て行動に関して化学物質ばく露がどういうふうに影響するのかということ、調べていきたいと考えております。

本研究に関連した主要な原著論文と成果(2010年～)

英文原著論文:31報

国外学会発表:16報

和文原著論文: 3報

国内学会発表:44報

学術賞受賞 : 6件

新聞報道 : 2件

特許の取得 : 1件

名称と登録番号:「タンパク質一標的物質の結合検出方法」特許第4631058号

登録年月日:2010年11月26日、権利者名:国立大学法人 群馬大学

発明者等の氏名:岩崎 俊晴、鯉淵 典之

Acknowledgements



This work was supported by a grant from Ministry of the Environment of Japan (EXTEND 2005, 2010).



とりあえずこれで、私もEXTEND2010をずっとサポートしていただきまして、環境省には非常に感謝をしております。

かく乱化学物質の影響をみるためには基盤研究は欠かせません。かく乱物質の研究ではなくて、これは基盤研究だからサポートする必要はないのではないか、そういうことはおっしゃらずに、ぜひ基盤研究の方も含めてこれからもサポートしていただければと思っております。

御清聴ありがとうございました。