

## 甲状腺ホルモンが脳皮質機能発達に与える影響 : *in vitro* スクリーニング系の開発

細田律子<sup>1,3</sup>、中山憲司<sup>2</sup>、川原正博<sup>1,3</sup>、黒田洋一郎<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>東京都神経科学総合研究所 分子神経生物学研究部門 <sup>2</sup>北海道立衛生研究所 臨床病理 <sup>3</sup>CREST 科学技術振興事業団

脳の機能発達に甲状腺ホルモン (TH) が関与することは重度の TH 欠乏がクレチン症のような精神遅滞や知能低下を引き起こすことから明らかである。発達中の脳内では数多くの TH 応答遺伝子が発現している。このため TH 欠乏は遺伝子の株序だった発現パターンを攪乱し、その結果脳の構造的機能的異常をもたらす可能性がある。近年多くの化学物質が動物やヒトの内分泌系に影響を与えることが報告されている。これらのいわゆる内分泌攪乱物質の作用経路の一つとして、TH 受容体に結合することでその機能を攪乱する可能性が考えられる。従って内分泌攪乱物質の抗 TH 作用あるいは TH 様作用を検討するスクリーニング法の開発は有用であると思われる。

我々はラット脳皮質神経細胞を用いて内分泌攪乱物質が脳神経系の発達に及ぼす影響を検討した。初代培養神経細胞は突起を伸展し、互いの中に多数のシナプスを形成する結果細胞間には同期したバースト発火が起こり、それに伴い細胞内 calcium level の振動、即ち calcium oscillation が観察される。calcium oscillation の頻度と形成されたシナプス数は相関するので、calcium imaging system を用いて calcium oscillation を観察することにより簡便にシナプス形成が推定できる。無血清状態で、培養神経細胞に 1 ~ 10<sup>3</sup> pM の TH (3,3',5-triiodothyronine: T3、thyroxine: T4) を添加すると、培養後 8 日目における calcium oscillation 頻度が濃度依存的に増加した。更にシナプス局在蛋白質シナプシン I の発現量が増加していることが免疫生化学的手法により確認された。また抗 TH 作用をもつ amiodarone は T3 や T4 の oscillation 頻度増加作用を抑制した。以上の結果より TH がシナプス形成を促進することが示された。我々は更にこの系にいくつかの代表的な内分泌攪乱物質を添加し、TH によるシナプス形成作用に及ぼす影響を検討している。

### Effects of Thyroid Hormones on the Formation of Functional Neural Networks Between Cerebral Cortical Neurons: the Establishment of a Novel *in vitro* Assay System

Ritsuko Hosoda<sup>1,3</sup>, Masahiro Kawahara<sup>1,3</sup>, Kenji Nakayama<sup>2</sup>, Yoichiro Kuroda<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular and Cellular Neurobiology, Tokyo Metropolitan Institute for Neuroscience <sup>2</sup>Department of Clinical Pathology, Hokkaido Institute of Public Health <sup>3</sup>CREST, Japan Science and Technology Corporation, Japan

It is well known that thyroid hormones (THs) affect the development of CNS and deprivation of them leads to the severe mental retardation such as cretinism. Recently numerous environmental chemicals, termed endocrine disruptors, have been reported to influence endocrine systems including THs. To study the effect of endocrine disruptors on development of brain function, we established a culture system using rat cerebral cortical neurons by which synapse formation can be estimated easily. THs enhanced synapse formation dose-dependently in this system. We further added some environmental chemicals to this system with THs and investigated their effect on TH-induced functional synapse formation. Our novel *in vitro* assay system will be useful for convenient screening of miscellaneous environmental chemicals which could affect the functions of THs and the development of brain.