

## 甲状腺ホルモンによるシナプス形成関連遺伝子発現への影響

○今村理佐<sup>1,2</sup>, 松野朋哉<sup>1</sup>, 表野充暁<sup>1,2</sup>, 田淵明子<sup>1,2</sup>, 津田正明<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>富山医科薬科大学薬学部分子神経生物学研究室, <sup>2</sup>CREST 科学技術振興事業団

【目的】哺乳動物脳では、出生後に神経活動に依存して脳・神経回路網が形成される過程がある。このような過程においては、血液脳関門が未発達なため、種々の化学物質が脳へ到達し、脳・神経系発達に悪影響を及ぼす可能性が考えられる。マウス小脳顆粒細胞では、カルシウム流入を伴った神経活動依存的な *c-fos* および脳由来神経栄養因子 BDNF 遺伝子の発現が誘導される。我々は、この培養系において、これら遺伝子の発現が、DDT およびピレスロイド系殺虫剤さらには diethylstilbestrol や bisphenol A により抑制されることを明らかにし、これら環境化学物質が神経活動攪乱的作用をホすことを明らかにしてきた。一方、生後の脳・神経系の発達に甲状腺ホルモンが重要な役割を果たしていることが明らかになっている。また、ダイオキシンや PCB は、胎児や乳児に移行して甲状腺機能を低下させ脳・神経系の発達に悪影響をおよぼすものと危惧されている。これらのことから、環境化学物質は、神経活動攪乱作用や内分泌攪乱作用などの多面的な作用により、脳機能発達に影響を及ぼす可能性が考えられる。そこで、今回、内分泌攪乱作用を検討するために、ラット大脳皮質初代神経細胞を用いて、甲状腺ホルモンのシナプス形成に対する影響を検討した。

【方法】ラット胎児(胎齢 17 日)から大脳皮質細胞ニューロンを調製した。培養 1 日後から、甲状腺ホルモンを培地中に添加し、経日的に RNA を調製し、遺伝子の発現をノザン法を用いて解析した。また、蛋白質の合成はウエスタンブロット法で、細胞の生存は MTT assay で測定した。

【結果と考察】5 $\mu$ M トリヨードチロニン(T3)あるいはチロキシン(T4)で処理した細胞は、コントロール群に比べて、細胞の生存活性が有意に上昇していた。また、MAP2 抗体で免疫染色をおこなったところ、T3、T4 両処置群では、神経突起の伸張促進が認められた。シナプス形成のマーカー蛋白質であるシナプトフィジンの遺伝子発現レベルを測定したところ、培養日数によりシナプトフィジン遺伝子発現が上昇していた。さらに、T3 あるいは T4 処置群では、コントロール群に比べ、シナプトフィジン遺伝子発現および蛋白質生成が増加していた。今後、この解析系は、脳機能発達に影響を与える化学物質の検索および作用機構の解明に貢献するものと考えられる。

### Effects of thyroid hormone on the expression of synaptophysin gene in rat cortical cultured neuron

Lisa Imamura<sup>1,2</sup>, Tomoya Matsuno<sup>1</sup>, Mitsuaki Omoteno<sup>1,2</sup>, Akiko Tabuchi<sup>1,2</sup>, Masaaki Tsuda<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toyama Medical and Pharmaceutical University and <sup>2</sup>Core Research for Evolutional Science and Technology, Japan Science and Technology Corporation, Japan

Neuronal synaptogenesis in brain largely occurs after birth. Since the blood-brain barrier is not fully developed, the brains of babies can easily be exposed to environmental contaminants. We previously demonstrated that permethrin, DDT, diethylstilbestrol and bisphenol A repressed the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and *c-fos* genes that are controlled in an activity-dependent manner through a Ca<sup>2+</sup> influx into neurons. On the other hand, it has been suggested that thyroid hormone plays a crucial role in the neonatal development of brain. Therefore, environmental contaminants might affect both the synaptic activity and hormonal activity-dependent synaptogenesis in brain. To elucidate the mechanisms of thyroid hormone-dependent synaptogenesis, in this study, we investigated the effects of thyroid hormone on gene expression related to the synaptogenesis in cultured cortical neurons. As a result, both T3 and T4 increased cell survival, dendritic outgrowth and synaptophysin mRNA expression.