

小脳プルキンエ細胞の発達分化に及ぼす甲状腺ホルモン、 ビスフェノール A の影響

木村-黒田純子^{1,4}、永田功^{1,4}、根岸-加藤みどり^{2,4}、黒田洋一郎^{3,4}

1 都神経研・脳構造、2.都神経研・発生形態、3.都神経研・分子神経生物、4.CREST 科学技術振興事業団

脳・神経系の発達分化に・甲状腺ホルモンやステロイドホルモンが重要な役割をしていることは以前より知られている。一方、多様な内分泌かく乱物質が、甲状腺ホルモン低下やステロイドホルモンのかく乱を起こす可能性から、脳・神経系への影響について懸念されているが、詳しいことはまだわかっていない。我々は、脳・神経系への内分泌かく乱物質の影響を、簡便かつ高い感度でスクリーニングし、さらにその作用機序を細胞・分子レベルで調べるために、無血清培地を用いたマウス小脳プルキンエ細胞培養系を確立した。プルキンエ細胞は小脳の主要な神経細胞で、甲状腺ホルモン低下により発達異常が起こり、さらに最近では発達分化の過程でステロイドホルモンの関与が指摘されている。生後 1 日のマウス小脳をパパインで解離した後、甲状腺ホルモンとして T4 または T3 を 5pM-500nM 添加した無血清培地で培養した。3 週間後、固定した小脳細胞を特異抗体で染色し、プルキンエ細胞の樹状突起の伸展を定量的に解析した。その結果、甲状腺ホルモン添加群では、無添加群に比べ、樹状突起の伸展が著しく発達し、50pM 以上を添加した群で有意な効果がみられた。この効果は濃度依存を示し、amiodarone により阻害された。またシナプス形成においても甲状腺ホルモンは促進効果を示した。以上の結果から、プルキンエ細胞樹状突起の発達分化には甲状腺ホルモンが必須であることが確認された。さらに、T4(5-50nM)を加えた系に、エストロゲン作用があると考えられているビスフェノール A を 5pM-500nM 添加すると、50pM 以上の濃度でプルキンエ細胞樹状突起の伸展が有意に抑制され、ビスフェノール A が発達分化に影響を及ぼす可能性が示唆された。

Effects of Thyroid Hormones and Bisphenol A on Development of Cerebellar Purkinje Cells

Junko Kimura-Kurooda^{*1,4}, Isao Nagata^{1,4}, Midori Negishi-Kato^{2,4}, Yoichiro Kuroda^{3,4}

1. Dept. Brain Structure, Tokyo Metro. Inst. for Neurosci. 2. Dept. Developmental Morphology, Tokyo Metro. Inst. for Neurosci., 3. Dept. Molecular and Cellular Neurobiology, Tokyo Metro. Inst. for Neurosci., 4. CREST, Japan Science and Technology Cooperation, JAPAN

It is well known that thyroid and steroid hormones are essential for development of the central nervous system (CNS). It has been reported that several endocrine disrupters decreased the level of thyroid hormone, and some of others including bisphenol A affected the function of steroid hormones. To determine their effects on development of CNS, we established a culture system of mouse cerebellar Purkinje cells using a serum-free medium. Addition of a thyroid hormone to the culture resulted in a highly elaborate dendritic development of Purkinje cells. Such effects of a thyroid hormone on the dendritic arborization were dose dependent and significantly sensitive to a low dose ($\geq 50\text{pM}$). Their effects were confirmed by an inhibitory experiment using amiodarone. These results indicate that thyroid hormones play a pivotal role in the development of Purkinje cell dendrites. Furthermore, addition of bisphenol A ($\geq 50\text{pM}$) to the culture in the presence of T4 (5- 50nM) resulted in a significant decrease of dendritic arborization of Purkinje cells. This suggests that bisphenol A, which has been reported to be estrogenic, affects dendritic development of Purkinje cells.