

シナプス形成関連遺伝子発現に対する甲状腺ホルモンの影響

○松野朋哉^{1,2}, 今村理佐^{1,2}, 又井宏和¹, 表野充暁^{1,2}, 田淵明子^{1,2}, 津田正明^{1,2}

¹富山医科薬科大薬学部分子神経生物学研究室 ²CREST 科学技術振興事業団

【目的】甲状腺ホルモンは、胎生末期から新生児にかけて、脳・神経系の発達に極めて重要な役割を果たすことが知られている。これが発育期以前に欠乏するとクレチン症を発症し、知能発達遅延を引き起こすことが知られている。また、PCBs(ポリ塩化ビフェニル)やダイオキシンといった環境化学物質が胎児や乳児に移行し、甲状腺機能を低下させることにより、脳・神経系の発達に悪影響を及ぼすものと危惧されている。そこで、今回、環境化学物質の脳機能発達に対する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、蛋白質を調製した。遺伝子発現、蛋白質合成をそれぞれノザン法、RT-PCR 法ウェスタンブロット法を用いて解析した。細胞の生存は MTT assay で測定した。

【結果と考察】5 μ M トリヨードチロニン(T₃)あるいはチロキシシン(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。シナプス小胞膜に存在し、シナプス形成のマーカー蛋白質として知られているシナプトフィジン、エキソサイト-シスサイトでの Ca²⁺センサー蛋白質であるシナプトタグミン共に、T₃ あるいは T₄ 処置群において、遺伝子発現および蛋白質合成の増加が認められた。また、シナプス後膜に存在する NMDA 受容体のサブユニットであり、シナプス形成に関与しているとされている、NR2C の遺伝子発現も、T₃、T₄ 両処置群で増加が認められた。これらのことから、初代神経細胞培養系において、甲状腺ホルモンが、シナプス形成に関わっていることが考えられた。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 gene expression relating the synaptogenesis in cultured cortical neurons

Tomoya Matsuno^{1,2}, Lisa Imamura^{1,2}, Hirotaka Matai¹, Mitsuaki Omoteno^{1,2}, Akiko Tabuchi^{1,2}, *Masaaki Tsuda^{1,2}

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

Thyroid hormones play crucial roles in brain development. Deficiency of thyroid hormones during the perinatal period results in severe mental and physical retardation, known as cretinism in humans. In hypothyroid rat, dendrite of Purkinje cell arborization and synaptogenesis between Purkinje and granule cells are suppressed, indicating that thyroid hormones plays an essential role in the brain development of rodent cerebellum. Therefore, environmental contaminants may 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 effect of thyroid hormone on gene expression which is involved in the synaptogenesis in cultured cortical neurons. As a result, both T₃ and T₄ increased the expression of synaptophysin, synaptotagmin and NR2C mRNA and protein. T₃ and T₄ had effects on cell survival and dendritic outgrowth.