



International Symposium on Environmental Endocrine Disruptors 2001

Saturday, December 15 - Monday, December 17, 2001

セッション 1
2001年12月16日(日)

Session 1
Sunday, December 16, 2001

脳神経系機能発達への影響と作用メカニズム

Effects on the Brain and Behavioral Development

ダイオキシンおよび他の環境由来の化学物質の毒性の標的としての脳の発達と行動

バーナード ワイス

ロチェスター大学

行動奇形学とは、成長途中の神経系と毒性曝露に対する神経系の感受性を対象とする研究分野である。日本では行動奇形学に関してよく知られている。なぜなら、行動奇形学の多くが水俣の悲劇をそのルーツとしており、行動奇形学がメチル水銀を白日のもとにさらしたからである。以後、多種多様な化学物質は、環境中で普通に見られる低濃度の曝露であっても脳の正常機能を脅かすことが発見されたため、我々は成長途中の脳の易損性についての意識を高めることとなった。アルコール、鉛、PCB類などの汚染物質が成人に及ぼすリスクからは、胎児、乳幼児、および小児に対するリスクについてはほとんど何も分からないという教訓を得ている。したがって、我々は内分泌攪乱化学物質と呼ばれる化学物質からも新しい教訓を学ぼうとしている。内分泌攪乱化学物質は作用機序が従来の毒物学の法則と常に一致するわけではないからである。ダイオキシンは、我々のこれまでの考え方をどのように修正する必要があるのかを示す顕著な例である。ダイオキシンおよびダイオキシン様化学物質が特に生殖系の発達を阻害するという証拠が出始めるまでは、ダイオキシンによる健康への危険性についての見方はほとんどが癌に対するものであった。

ごく最近になって、脳の発達異常とその異常の影響が行動に現れることが、ダイオキシンの有害作用影響を最も敏感に示すものの一つであることが発見された。私の研究室や他の研究室から得られた証拠は、特定の行動が妊娠中のダイオキシン曝露によって鋭敏に変化し、感受性を示す指標の一つが雌雄の出生仔に見られる様々な反応の差、すなわち性的二型性と呼ばれる現象に反映される可能性があることを伝えている。このことや関連する証拠を適切なツールを用いて慎重に分析すれば、女性の体内における現在のダイオキシンの組織内蓄積が小児の脳の正常な発達と個人としての小児の可能性に重大な危険を及ぼす可能性があることが分かる。このように理解するならば、環境由来の化学物質への曝露については健康上の意味だけでなく、その倫理上の意味をも考察する必要がある。

安全な曝露量を決定する際に従来から用いている方法について、予防原則を越えた再考を行い、健康へのリスクと並行して倫理上のリスクについても問い始める必要がある。（本研究は環境保健科学センター助成金ES01247および国立環境保健科学研究所からロチェスター大学医歯学部へ支給された助成金ES08958による支援を一部受けている。）

甲状腺ホルモン、脳の発達、および環境

R. トーマス ゴラー

マサチューセッツ大学

甲状腺ホルモン (TH) は正常な脳の発達に必須である。クレチン病として知られる症候群は、前述の内容が正しいことを顕著に示している。クレチン病は、ヨードの摂取不良に起因した出生前および出生後の甲状腺機能低下により誘発される。クレチン病の最も一般的で持続的な特徴は、重度の精神遅滞である。出生後の甲状腺機能低下は、頻度は低いが先天性甲状腺機能低下 (CH) として知られる症候群によって発現する場合もある。CHは、甲状腺発育不全、甲状腺無発育、またはTH合成経路の異常により発現することがある。また、非常に短期間 (生後14日) のうちに同定して治療を行わない場合、CHが重度の精神遅滞を誘発させることもある。このため、多くの国では新生児全員のTHについてスクリーニングを行っている。

新生児スクリーニングプログラムが成功を収めているためであろうが、臨床や実験的な研究の大部分が、出生後の甲状腺ホルモンによる発達上の影響に焦点を置いている。しかし、最近の臨床研究は、甲状腺ホルモンが胎児にとっても重要であることが示している。ある研究では、 T_4 の血中濃度が正常範囲の10%台を切る女性から出生した児童には、低IQと注意欠陥障害の発現率の顕著な増大が見られることが報告されている。

最近、我々の研究室では、胎児の脳の発達に対する甲状腺ホルモンの分子レベル、細胞レベル、および発達上の影響について研究を開始し、胎児に甲状腺機能が発現する前に、胎児の大脳皮質に多くの甲状腺ホルモン反応性の遺伝子発現が見られることを同定した。従って、この種の遺伝子は母親の甲状腺ホルモンによって制御されているといえる。そこで、発達のもととなる初期の皮質細胞群、すなわち大脳皮質のすべての細胞の先駆細胞の研究を行った。こうした研究では、初期の大脳皮質の特定領域のニューロンとグリア細胞の生産のバランスを保つことに、母親からの甲状腺ホルモンが関与していることを示唆している。

母親の甲状腺ホルモンが胎児の脳の発達に影響を及ぼすという観察結果は、母親の甲状腺機能、つまり甲状腺ホルモン作用に影響を及ぼす因子が非常に特殊な方法で胎児の脳の発達を阻害する可能性があることを示すものでもある。最近、我々の研究室では、ポリ塩化ビフェニル (PCB) 類を被験物質としてこの問題についての研究を開始した。PCB類は対になったフェニル環を有する工業用化合物の1つであり、付加された塩素の数によりさまざまな種類がある。米国で1970年代に生産が禁止されるまでに、10億キログラム以上のPCB類が生産され、現在では至るところで見られる持続性の環境汚染物質であり、ヒトや動物の組織サンプル中に常に見出される。母乳中のPCB類は、3~40 μ Mの範囲であると報告されている。

PCB類は甲状腺ホルモンの血中濃度を低下させることが実験動物で確認されているため、我々は、特異的な甲状腺ホルモン反応性遺伝子の発現をPCB作用のマーカーとして用いて、PCB曝露が甲状腺機能低下に伴う脳の発達に対する影響を誘発させるか否かを調べた。その結果、ラットの新生仔および胎仔の双方に、PCB曝露が遺伝子発現して甲状腺ホルモン様作用をもつことを確認した。これには、ラジアル・グ

リア細胞形成を司ると考えられているNotch情報伝達系 (Notch Signaling pathway) における遺伝子発現も含まれる。

こうした研究は、いくつかの重要な問題を提示している。第一に、母親からの甲状腺ホルモンは胎児に、甲状腺機能が現れる前の胎児の脳における遺伝子発現に特異的な影響を及ぼすことである。我々が同定した遺伝子の他にも多くの遺伝子が影響を受けている可能性が高い。さらに、甲状腺ホルモンに影響を受けた細胞内の遺伝子発現は、その細胞の分化が進むにしたがって変化する可能性がある。第二に、発達途中の脳に対する甲状腺ホルモン作用の複雑さは、現在分かっているよりも複雑である可能性が高いことである。しかし、脳の発達に甲状腺ホルモンが重要な役割を果たしているのにもかかわらず、まだごくわずかなことしか分かっていないのは驚くべきことである。第三に、PCB類などの環境由来因子は遺伝子発現とおそらくは発達上のイベントにも影響を及ぼすことがあり、現在知られている遺伝子発現に対する環境由来因子の影響だけを基にしては予測できないことである。この点を考慮すれば、甲状腺機能の測定を中心に行っている現行の研究を補うため、脳への影響のリスクアセスメントに利用できる甲状腺ホルモン作用の新しい測定法を開発することが不可避である。

培養下での神経細胞ネットワークの機能発達 ～内分泌攪乱化学物質の脳発達への影響を調べるイン・ビトロでのアッセイ系～

黒田洋一郎

東京都神経科学総合研究所

ヒトの脳は、数多くの化学伝達物質や甲状腺ホルモンなどのホルモンがそれらの受容体を介して働いている、多様な化学物質群からなる一種の機械といえる。そして脳の発達は受容体を介して数多くの遺伝子が次々に発現し、一連の分子カスケードが働き、神経細胞ができ、それらがシナプスで結合しあって神経ネットワークをつくり、複雑な脳の構造が出来上がっていく。従って、胎児や新生児の脳のような発達中の脳の受容体系に影響を与える、内分泌攪乱化学物質のような化学物質が脳の機能発達を攪乱する可能性は容易に考えられる。不運なことに、成熟した脳を毒性化学物質の侵入から守っている血液脳関門は2～3才頃までは十分に発達していないといわれている。そこで胎児や新生児の脳にそれぞれ母体や食品から毒性化学物質が侵入し脳の発達、ことに周産期に主として起こる大脳皮質のシナプス形成に影響を与える可能性がある。脳の発達に関与している受容体群があまりに多様なため外界からの化学物質群によって脳神経系が攪乱されるリスクは全体としては生殖系や免疫系に比して高いのではないかと推察できる。しかしながら「どのような化学物質が発達中の脳にどのような異常を起こすか」という肝心の問題に答える毒性学実験や疫学調査によるデータは現在のところ著しく限られている。実験動物を使った次世代の行動異常を調べる研究が多大な労力と年単位の期間を必要とすること、調べなければならない化学物質が数百種以上にのぼることから考え、実際的なスクリーニングのためのアッセイ系が必要である。

我々はラットの大脳皮質細胞を培養し、神経細胞が多数のシナプスを形成する系を開発した。“シャーレの中で”出来上がった神経細胞ネットワークは自発的にバースト発火を始め、それは神経細胞同士で同期し、繰り返された。この同期した神経細胞の興奮の繰り返しは細胞内のカルシウム濃度の変化として簡単にモニターできる。この神経細胞ネットワークでみられる機能発達は神経伝達物質とその受容体、及びそれらの下流にある分子カスケードなど非常に多くの機能分子の関与が必要なので、このカルシウム濃度の繰り返しを変化させる広範囲な化学物質がこの系で検出できる。さらに、この繰り返し変化の頻度は培養下でできたシナプスの数に比例していることもわかっている。この培養系に甲状腺ホルモンを投与したところ、このカルシウム濃度の繰り返し変化の頻度は、対照に比べ上昇した。甲状腺ホルモンにより大脳皮質細胞のシナプス形成過程が促進されたことが示唆される。この甲状腺ホルモンによる頻度上昇を指標に、甲状腺ホルモン系に影響を与え神経細胞ネットワークの機能発達を攪乱するような化学物質をスクリーニングすることが可能になった。また小脳の主要な神経細胞であるプルキンエ細胞を培養し、甲状腺ホルモンを添加したところその樹状突起の伸展は促進された。

このようなデータは、培養した神経細胞系が脳の機能発達に影響を与える内分泌攪乱化学物質の一次スクリーニングに役立つだけでなく、それらの物質の分子・細胞レベルの毒性メカニズムの研究に役立つであろうことを示している。

この研究は科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業「内分泌かく乱物質」の援助で行われた。

内分泌攪乱化学物質の高等動物における影響評価

吉川 泰弘

東京大学 大学院

軟体動物、魚類、爬虫類、両性類や鳥類において内分泌攪乱化学物質がエストロゲン作用を攪乱することについてはすでに研究されており、これらの化学物質の暴露により生殖器形成等に異常が生じることが報告されている。しかし高等哺乳動物に関しては同様の作用があるか否か議論の多いところである。

一方、ダイオキシンやPCBといった内分泌攪乱化学物質の胎生期暴露がエストロゲンよりも、立体構造の類似した甲状腺ホルモン作用を攪乱し、その結果中枢神経系の発達に異常を引き起こし行動異常、記憶学習能力の低下が生じる危険性が報告されつつある。

本研究では環境化学物質の神経系発達への影響を解析しようとするものである。ヒトで経口的に摂取される化学物質の影響評価は、基本的に妊娠ラットに経口投与することからはじまる。しかし、ヒトにより近縁なサル類での評価が必須である。妊娠カニクイザルに連日、経口的に化学物質を投与し続けることは技術的に困難であり、また生理学的ストレスが強すぎるので、浸透圧ポンプを用いて長期皮下投与することになる。さらにヒトへの外挿を行うにはチンパンジーを用いた化学物質の代謝過程を明らかにし、ラット、サル類と比較しなければならない。すなわちラット長期経口投与実験→サル長期皮下投与実験→チンパンジー経口一過性投与実験の結果の外挿が必要である。

同様に、化学物質の神経系への影響評価にも神経行動学的解析が必要であり、ラットからサル、ヒトへの外挿のための分析手段の開発が必須である。サル類神経系発達に対する内分泌攪乱化学物質の影響評価は世界的にもまだ確立されていない。妊娠母胎に長期皮下投与した個体から生まれた新生児に対して1) 外形異常の検査、2) 生後の成長といった基本的項目の他に、3) 母子行動の解析（生後～6ヶ月齢まで）、4) 離乳後（6ヶ月齢～1歳）の新規出会わせ実験、5) 1歳齢以上での指迷路試験による学習、認知機能検査、6) 2歳齢での薬物負荷試験（モノアミン系、アンフェタミン）による行動解析、神経病理学的検索等がシステム化される必要がある。

内分泌攪乱化学物質の神経発達に対する危険性に関する研究は比較的新しく、遺伝子レベルや個体レベルでの影響がランダムに報告されているものの、齧歯類から霊長類にわたる統括的研究はほとんど行われていないのが現状である。本研究班は高等動物の比較生物学を基礎として総合的に研究を展開し、その成果を帰納的に統合し、ヒトへの外挿を行おうというものである。

学習障害および行動障害における環境由来の神経毒物質の役割を示す証拠

デボラ C. ライス

環境汚染物質が神経系機能の発達に影響を及ぼし、その結果、認知障害や注意力、衝動の抑制、社会生活に適応する技能の欠陥をもたらす可能性があることを示す証拠が増えている。こうした影響の一部には、学習障害、注意欠陥多動性障害（ADHD）、および様々な行動障害を含む認知や行動上の明らかな障害と重なっている面がある。米国の小児の15～20%が影響を受けている可能性がある学習障害は、聞く、話す、読む、書く、計算する能力、または社会生活に適応する技能が、知能レベルによって予測される能力よりも低い状態にあることと定義される。ADHDは小児の3～7%に見られる障害で、かなりの数の人々が障害を抱えたまま思春期や成人期に達する。ADHDには、複雑な順序の行動を整理することができない、気を散らせる刺激に直面したときにじっとしていられない、過去の行動の結果に適切に対応できないという特徴が見られる。行動障害は、攻撃性、破壊的な行動、やる気のなさ、他人の権利を尊重できないという特徴が見られる。

ADHDに見られるような行動および認知の発達に対する影響が、従来から注目されている環境由来の神経毒性物質である鉛やPCB類に発達期に曝露された結果の障害と一致するという報告がなされている。発達期に鉛に曝露された小児は、曝露されていない小児と比較し、注意散漫、衝動的、活動過多、無秩序である傾向が強い。鉛曝露は著しい学業成績の低下をもたらす、学校教育上の支援を必要とし、高校を卒業できない状態に至ることが多い。ADHDの小児および鉛に曝露した小児は、ウィスコンシン式カード分類テストの成績が劣っている。このテストでは、被験者は明確に命じられることなく、既に確立している応答の順序を逆に行う必要がある。鉛は注意の継続を要する単純または複雑な行動テストを行うときの応答時間を延長させ、注意力を要するプロセスに障害をもたらすことを示している。鉛曝露は、攻撃性の増大、非行、および社会的な行動における他の欠陥も引き起こす。発達期におけるポリ塩化ビフェニル（PCB類）への曝露の影響は、多くの点で鉛への曝露と類似している。PCB類への子宮内曝露は、IQのわずかな低下、読む能力の障害、攻撃性の増大、内向的行動を生じさせる。胎児期や出生後の曝露は、注意の継続を要する作業における障害、多動、注意力散漫、遊び行動の低下をもたらす。

ADHD、その他の行動障害と鉛またはPCB類に曝露したサルの子世代の行動の特徴には、我々の研究室で行った実験で確認された通り、いくつかの類似点がある。鉛とPCBの曝露では、識別すべきものが反対になったり空間的に入れ替わってしまうテストを行う能力に欠損を引き起こす。すなわち、鉛やPCBを投与したサルは、既に確立している応答の順序をうまく変更して不適当な応答を行わないようにする能力が欠損していることを示す。また、これらのサルは、適応していない行動パターンに異常に固執する。さらに、発達期に鉛やPCB類に曝露したサルは、内因的な合図だけを用いて行動の時間的な順序をまとめることが必要とされる一定間隔の刺激強化を行った際に、対照群のサルとは異なった行動をとる。PCB曝露は、不適切な応答をしないようにすることが求められる試験であるDRLの成績にも悪影響を及ぼす。

ADHDなどの病因は確かに1つの因子だけによるものではなく多因子性であるが、環境中の神経毒性物質が認知および行動上の障害の発現に関与している可能性があるため、今後もさらに注意することが必要である。