

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H01152

研究課題名(和文) 発達期ダイオキシンと老年期の高次認知機能低下の関係性解明

研究課題名(英文) Relationships between age-related cognitive decline and developmental exposure to dioxins

研究代表者

掛山 正心 (KAKEYAMA, Masaki)

早稲田大学・人間科学学術院・教授

研究者番号：30353535

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々は動物実験により、ダイオキシン等の胎仔期曝露が認知機能を低下させることを認知課題成績と神経細胞の微細形態変化の双方で報告してきた。本研究では、ダイオキシン等の発達期曝露が認知症の発症・増悪に関与する科学的知見集積を進めた。ダイオキシン様毒性が懸念される難燃剤の中でも、2,3,7,8-四臭素化ジベンゾフランが認知行動を変化させること、超音波コミュニケーションを攪乱すること、肝遺伝子発現に特に異常が生じることなどを明らかにした。認知的柔軟性をヒト・コホート調査に適用するため、ヒト調査で用いる課題アプリを開発し、認知機能のリモート評価を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

発達期の環境中化学物質が将来の脳とこころの問題に影響を及ぼすのではないかと懸念は根深いものの、「化学物質の影響を取り除いた時に脳とこころは回復するのかどうか」を検証することは難しい。特に原因と結果の時間的隔たりが大きいケースではより困難となる。本研究は、発達期のダイオキシン類の中でも、ダイオキシン類として法的規制がなされていない臭素化フランの影響を動物実験で明らかにするとともに、ヒト認知機能を継続的かつ簡便に評価するための課題アプリの開発に成功した。引き続き本テーマの研究を継続するとともに、認知症の早期発見・早期介入治療に資する発展を期待している。

研究成果の概要(英文)：We have reported that maternal exposure to environmental chemicals such as dioxins impairs cognitive function both in terms of cognitive task performance and neuronal morphological levels. In this study, we have accumulated scientific findings that developmental exposure to dioxins and other substances might be involved in the age-related cognitive decline. Among flame retardants with a possible dioxin-like toxicity, 2,3,7,8-tetrabrominated dibenzofuran was found to alter cognitive behavior, disrupts ultrasonic communication, and causes abnormalities in hepatic gene expression clarified. To apply cognitive flexibility to human cohort studies, we developed a task app for human studies and conducted remote assessments of cognitive function.

研究分野：環境脳科学

キーワード：環境医科学 環境脳科学 トランスレーショナル・リサーチ

1. 研究開始当初の背景

成人では問題の生じない低用量曝露であっても、母体から移行するわずかな化学物質が児にダメージを与えるという次世代影響がクローズアップされてから約 30 年が経つ。ダイオキシンの「注目度」が低下したからか、WHO も米国 EPA も「ダイオキシンは脳の性分化に影響する」という記述からリスク評価情報のアップデートを行っていないが、我々は認知機能を含む高次脳機能が化学物質の影響を受けやすいことを示してきた。ダイオキシンやヒ素の発達期曝露により、ラット・マウスの両種において、餌の場所を覚えるといった単純な記憶機能には影響のない低用量の曝露であっても、認知的柔軟性が低下することを明らかにした。

一方、我が国は高齢「化」と超高齢「化」を既に通過し、世界で最初の「超高齢社会」となった。数年後には 17 人に 1 人が認知症となる（2015 年厚労省）。発達期の化学物質の曝露が時を経て認知症発症に関わる、あるいは増悪させる可能性はないのだろうか。ネミ油症患者の調査では認知症発症頻度が有意に高いことが報告されているが、曝露と影響の時間的隔たりが大きく、コホート調査で実証するのは難しい。動物実験では、分子レベルで関連を示唆する報告はあるものの、どの程度の曝露量でどのような症状（表現型）が顕れるのかは調べられていない。

我々は実は、胎仔期曝露マウスの神経細胞の微細構造を詳細に解析した結果、認知的柔軟性の低下が確認された曝露量において、ダイオキシンが海馬スパイン密度（興奮性神経ネットワークの接合部分の密度）を低下させること、ビスフェノール A の低用量曝露でも同じ影響があることを明らかにしてきた。認知症では、海馬スパイン密度が低下することが知られている。すなわち、発達期の化学物質が認知症発症に関わる可能性が、動物実験レベルで指摘されたことになる。

2. 研究の目的

上記の我々の動物実験結果は、ダイオキシン等が認知症に関与することを強く示唆するものである。しかし、認知機能成績の実験はヒトの壮年期に相当する 8 ヶ月齢のものであること、また脳活動や分子レベルでの証明が不十分であることなどから、莫大な予算と時間をかけてヒト調査を実施するようなことには至っていない。そこで本研究では、ダイオキシン類の発達期曝露が認知症の発症・増悪に関与する科学的知見を集積し、認知症の毒性エンドポイントとしての重要性を示すことを目的とした。その成果をもとに、ヒト調査ならびに動物毒性実験において、高次認知機能の表現型解析技術を確立することも目指した。

（本研究の当初計画では、ヒト・コホート調査によりヒト表現型解析技術の確立を実証的に行うプランがあった。しかし Covid-19 によりヒト対面調査や生体試料回収が極めて困難となったことから、本研究においてはコホート調査の化学物質測定を行わず、表現型解析技術をアプリ実装しリモート調査を実現する技術開発に注力することとした。下記に述べるように、計画内容の一部は変更を余儀なくされたが、当初目的は達成したと言える。コホート調査は本研究課題終了後も行い、研究を前進させる所存である。）

3. 研究の方法

毒性研究に限らず精神医学分野においても、ラット・マウスの実験では通常、餌の場所を記憶できるかといった単純な記憶機能しか調べられていない。しかし人間の認知症や加齢に伴う認知機能の低下においては、「自宅のダイニング室を覚えられない」状態とは大きく異なり、同僚のことは思い出せるが、新入社員のことを覚えられないといった症状を呈する。これは、知識をアップデートし利用する機能すなわち認知的柔軟性の問題であると我々は作業仮説を設定した（例：出会った人物の情報を脳の中の「人物リスト」に組み込む、あるいはそれを利用するプロセスに問題が生じる）。

このような症状を表現型として検出するため、本研究の動物実験プロジェクトにおいては、開

発済の IntelliCage 認知的柔軟性課題のブラッシュアップ、成績指標の見直し、タッチスクリーン型オペラント装置を用いた認知的柔軟性課題の開発を行い、ダイオキシン類をはじめとした化学物質の毒性試験への適用を行った。

ヒト調査においては、これら動物課題の考え方とノウハウを用いて、認知的柔軟性課題アプリの開発を行った。

4. 研究成果

(1) IntelliCage 認知的柔軟性課題のブラッシュアップ、成績指標の見直しを完了させた。これを用いてアルツハイマー病モデルマウス(AD マウス)の表現型解析と生化学解析を行い、AD マウスの表現型を明らかにした。すなわち 1 歳齢の AD マウスは空間記憶成績は若齢期と同等を維持していたが、認知的柔軟性が低下していることがわかった。この結果は、本研究の認知的柔軟性課題を用いることで認知症発症を検出できる可能性が高いことを示している。加えて同実験では、若齢期にこの認知課題を経験した AD マウスの認知的柔軟性成績は維持されていたことも明らかとなった。この結果は、発症後の新規記憶形成に困難を生じる認知症の特徴と合致する(論文再投稿準備中)。

(2) タッチスクリーン型オペラント装置を用いた認知的柔軟性課題の開発に成功した(論文再投稿準備中。ただし成果の一部は、Frontiers in Neuroscience(2022)および Frontiers in Nutrition (2023)にて発表)。

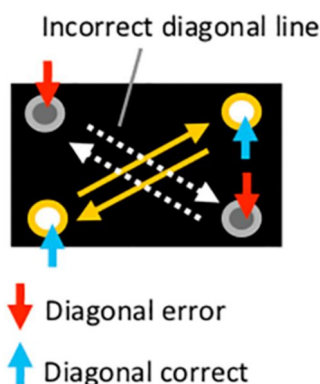


図1. タッチスクリーン型オペラント装置を用いた認知的柔軟性課題の模式図 (Frontiers in Nutrition 2023 より著者転載).

(3) 認知的柔軟性をヒト・コホート調査に適用するため、ヒト調査で用いる課題アプリを開発し、認知機能のリモート評価を行った(早稲田大学倫理審査委員会承認番号 2022-125)。



図2 早稲田大学「認知機能のリモート調査」アプリ画面(例)

(4) この認知的柔軟性課題を複数の化学物質を対象として毒性試験を行った結果、ダイオキシン様毒性が懸念される難燃剤の中でも、2,3,7,8-四臭素化ジベンゾフランが認知行動を変化させること、超音波コミュニケーションを攪乱すること、肝遺伝子発現に特に異常が生じることなどを明らかにした。

(5) 精神疾患の研究におけるエンドフェノタイプという概念は遺伝学とは少し異なり、疾患という表現型と原因(主としてリスク遺伝要因)の間にある定量可能な指標を指す。精神疾患の症状の種類や強さに個人差が大きいことなどから、診断の有無だけではなく脳神経画像や生化学的・生理学的指標との因果関係を調べることで因果関係をクリアにしようという考え方であり、さらには認知テストや遺伝子発現もエンドフェノタイプすなわち疾患の背景にある定量指標の一つとして扱うようになってきた。原因とエンドフェノタイプ定量指標との関係、エンドフェノタイプと疾患との関係のそれぞれをクリアにしようという考え方は、発達神経毒性評価においても極めて有効だと思われる。毒性研究の存在意義は影響を未然に防ぐことにあるので、ネズミの能力はヒトと一致しないからと評価から排除することも危険を伴い、ネズミの行動スコアを「学習能力低下」などのあやふやな結論と結びつけることにも危険が伴うだろう。再現性のある定量指標を毒性試験のエンドフェノタイプとして明確にすることが先決であり、次に複数のエンドフェノタイプによって生物学的妥当性とヒトへの外挿性を検討する必要があるだろう。脳は最後のフロンティアと言われるほど未解明なことが多いが、毒性評価は今行う必要がある。エンドフェノタイプとしての定量化とエンドフェノタイプ同士の整合性を確認していくことで、最先端のサイエンスと毒性評価が併存し相乗的發展が期待できると期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 ベナー聖子・掛山正心.	4. 巻 39
2. 論文標題 社会的隔離の動物モデル.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 精神科. 39:1-6, 2021.	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kimura E, Suzuki G, Uramaru N, Kakeyama M, Maekawa F.	4. 巻 42
2. 論文標題 Liver-specific decrease in Tff3 gene expression in infant mice perinatally exposed to 2,3,7,8-tetrabromodibenzofuran or 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Appl Toxicol .	6. 最初と最後の頁 305-317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jat.4220	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Horigane SI, Ozawa Y, Zhang J, Todoroki H, Miao P, Haijima A, Yanagawa Y, Ueda S, Nakamura S, Kakeyama M, Takemoto-Kimura S.	4. 巻 10
2. 論文標題 A mouse model of Timothy syndrome exhibits altered social competitive dominance and inhibitory neuron development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio.	6. 最初と最後の頁 1436-1446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.12924	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tamada H, Ikuta K, Makino Y, Joho D, Suzuki T, Kakeyama M, Matsumoto M.	4. 巻 16
2. 論文標題 Impact of Intestinal Microbiota on Cognitive Flexibility by a Novel Touch Screen Operant System Task in Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Neurosci .	6. 最初と最後の頁 882339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2022.882339	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ikuta K., Joho D, Kakeyama M, Matsumoto M.	4. 巻 06 June 2023
2. 論文標題 Bifidobacterium animalis subsp. lactis and arginine mixture intake improves cognitive flexibility in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Front Nutrition	6. 最初と最後の頁 1164809
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnut.2023.1164809	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計9件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 城宝大輔, 鈴木健, 藤原昌也, 皆川栄子, 斉藤貴志, 西道隆臣, 掛山正心
2. 発表標題 Age-related cognitive functions of App knock-in mice in IntelliCage system
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 城宝大輔, 鈴木健, 藤原昌也, 斉藤貴志, 西道隆臣, 掛山 正心
2. 発表標題 Appノックインマウスにおける認知機能の時系列変化の評価
3. 学会等名 第49回日本神経精神薬理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Joho D, Suzuki T, Fujiwara , Saito T, Saido D, Kakeyama M.
2. 発表標題 The assessment of temporal changes in cognitive functions in App knock-in mouse models.
3. 学会等名 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 市原華, 亀池彩乃, 齋藤直哉, 城宝大輔, 前川文彦, 掛山正心
2. 発表標題 他個体認知は新たなマウス行動指標となりうるか: 周産期ダイオキシン曝露マウスの影響解析
3. 学会等名 BPCNP/PPP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 市原華, 亀池彩乃, 齋藤直哉, 城宝大輔, 前川文彦, 掛山正心
2. 発表標題 新たな行動指標としてのマウスの個体識別・認知能力: 周産期ダイオキシン曝露の影響解析
3. 学会等名 第35回日本行動神経内分泌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 城宝大輔, 鈴木健, 皆川栄子, 斉藤貴志, 西道隆臣, 掛山正心,
2. 発表標題 Appノックインマウスにおける認知的柔軟性の新規評価指標
3. 学会等名 第35回日本行動神経内分泌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木健, 城宝大輔, 奥野浩行, 掛山正心
2. 発表標題 マウスの意思決定における神経活動解析
3. 学会等名 第35回日本行動神経内分泌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前川文彦, 木村 栄輝, 遠藤俊裕
2. 発表標題 動物モデルを用いた環境化学物質の発達神経毒性評価: 自動行動解析の毒性試験への適用
3. 学会等名 第49回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 掛山正心
2. 発表標題 動物モデルを用いた環境化学物質の発達神経毒性評価: 毒性エンドフェノタイプ
3. 学会等名 第49回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	浜田 道昭 (HAMADA Michiaki) (00596538)	早稲田大学・理工学術院・教授 (32689)	
研究分担者	久保 健一郎 (KUBO Ken-Ichiro) (20348791)	東京慈恵会医科大学・医学部・教授 (32651)	
研究分担者	皆川 栄子 (MINAKAWA Eiko) (20726252)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 モデル動物開発研究部・客員研究員 (82611)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	前川 文彦 (MAEKAWA Fumihiko) (40382866)	国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康領域・主幹研究員 (82101)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	奥野 浩行 (OKUNO Hiroyuki) (80272417)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関