

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 16 日現在

機関番号：82674

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21651025

研究課題名（和文）

ビスフェノール A の周産期曝露が老化ラットの運動機能におよぼす影響についての研究

研究課題名（英文）

Effects of perinatal exposure to bisphenol A on motor function and aging in rats

研究代表者

新海 正（SHINKAI TADASHI）

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）

・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：10154387

研究成果の概要（和文）：

ビスフェノールAは日用品の素材として使用されているが、内分泌かく乱作用が指摘されている。そこで、周産期でのビスフェノールA曝露が動物の機能にどのような影響を与えるのかについて老化を考慮に入れて実験動物で調べた。ビスフェノールAの周産期曝露により甲状腺ホルモン量と生殖腺ホルモン量に変化があらわれた。また、乳腺腫瘍の発生頻度も上昇し、免疫系との関連も示唆された。オープンフィールドテストの結果は曝露群と対照群との間には差は確認できず、また、小脳の形態学的解析でも両者間の違いは認められず、小脳を介した運動機能に影響を与えないことが示された。さらに、ビスフェノールA曝露による寿命への影響の実験は継続中であるが、雌雄ともに曝露群が若干短寿命の傾向を示している。

研究成果の概要（英文）：

The bisphenol A represents a family of ubiquitous environmental pollutants and are well known as environmental endocrine disruptors. It changes multiple endocrine systems in the living body. Moreover, there is a suggestive consideration that the bisphenol A may have influence on aging. In order to investigate the lifespan associated with the bisphenol A, we gave a single subcutaneous injection of bisphenol A to pregnant Wistar rats on gestational day 19 and studied the effects of a relatively low dose of bisphenol A on the offspring. The plasma concentration of thyroxin and gonadal hormone decreased in male and female by perinatal bisphenol A exposure, on the other hand the incidence of mammary tumors increased in female. The bisphenol A may play an important role in both hypogonadism and hypothyroidism. The experimental study of lifespan is still continuing, the result obtained shows tendency of a slight decrease in male and female. Our finding suggests that the bisphenol A may induce modulation of endocrinological function and promote aging.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	0	2,000,000
2010年度	600,000	0	600,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	150,000	3,250,000

研究分野：環境老化学

科研費の分科・細目：環境学，放射線・化学物質影響科学

キーワード：老化・ビスフェノールA・内分泌かく乱物質

1. 研究開始当初の背景

ビスフェノールAは19世紀末に初めて合成された化学物質であり内分泌攪乱作用を有する。樹脂原料として利用され、最近まで一部の食器や食品用の容器、あるいは歯科の治療材料など経口吸収が可能な器具にも使用されてきた。しかし、この化学物質には毒性が認められたため、日本を含む世界各国で毒性基準を設けて管理してきたが、近年、動物実験において、この基準量以下の極微量量のビスフェノールA曝露でも、胎児期や新生児期といった周産期動物の内分泌系ならびに神経系への影響が報告され (Kim C. S. et al., 2004)，わが国でも毒性基準の見直しが求められている。当初、ビスフェノールAは合成エストロゲンとして研究が進められてきたが、同時に甲状腺ホルモンの作用を攪乱し、小脳の神経細胞の発達・分化に影響をおよぼし、小脳の運動機能に異常を与える可能性が示唆されている (Kimura-Kuroda J. et al., 2007)。また、ビスフェノールA曝露により運動量が低下するという結果より、この物質の内分泌攪乱作用により脳に機能的な違いが生じる可能性も指摘されている (Koibuchi N. et al., 2001)。しかしながら、これらの研究はすべて対象動物が成長期に至るまでの研究であり、成熟期以降老齢期での内分泌かく乱作用と運動・行動との関係についての報告は皆無である。

ヒトは高齢者になると、老化現象の一つとして、運動機能が低下し歩行等に異常をきたすようになるが、この時期の小脳では加齢に伴う代謝活性の低下が認められ、これが高齢者の運動機能障害を引き起こしている可能性が示されている (Sakamoto S. et al., 2000, Ishii K., 2006)。ところで、脳は発達の初期段階、胎生期の終わり以降は神経細胞はほと

んど新生されず、細胞が減少しても補充されないことはよく知られている。したがって、胎児期や新生児期の小脳で受けたビスフェノールAの影響 (たとえば、神経細胞数の減少や神経細胞の発育・発達不全、あるいはそれに伴う小脳の構築異常) は、そのままの状態では修復されることなく集積し、成長・成熟期を経て、中齢、老齢期に至っても継続して残ることが考えられ、若齢期では表面化してこなかった異常が、加齢に伴う生理的機能の衰えにより、運動の統合や調節といった機能の低下が顕著となり、その結果、運動機能障害が実際の時期より早く起こってくる可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

ビスフェノールAはエストロゲン様作用を持つ化学物質であることが知られているが、同時に甲状腺ホルモン様作用を持つことも報告されている。この甲状腺ホルモンは形態形成を制御する重要なホルモンであり、動物の発生・成長には不可欠である。ところで、内分泌攪乱作用のあるビスフェノールAのヒトの胎児期や新生児期での曝露が、その後の中年齢者や高齢者へのどのような影響があるのかについては、いまだ不明である。そこで、実験動物としてラットを用い、周産期でのビスフェノールA曝露がラットの寿命にどのような影響を与えるのかについて検討する。またそれらの動物が中齢期、老齢期になった時、ラットの機能にどのように変化するかについて、形態学的ならびに生理学的に解析することを主目的とする。さらに、得られた結果をもとに、加齢に伴うヒトの機能障害とビスフェノールA曝露との関連

について考察する。

3. 研究の方法

実験には Wistar ラットを使用した。すべての実験動物は、東京都老人総合研究所実験動物施設の SPF 環境にて、厳密に管理された条件下で飼育し、外的要因の影響を極力排除するよう努めた。ビスフェノールAを曝露した仔ラットを作成するために、母ラットとして3ヶ月齢の雌ラットをもちい、ビスフェノールAを妊娠中期に1回投与した後、飼育を継続して出産させた。ビスフェノールAは0(対照)、10(低用量)、100(中用量)、1000(高用量) mg/kg/day の4段階に分けて投与した。これにより、小脳形成に最も重要な時期(胎児期-新生児期)にビスフェノールA曝露された仔ラットを得ることができた。離乳したこれらの仔ラットを雌雄に分け、通常条件下で中齢期(10-12ヶ月齢)および老齢期(20-24ヶ月齢)まで継続して飼育したのち、下記の実験にもちいた。なお、ビスフェノールA処理は厳密に管理された実験区域内にておこない、環境汚染をひきおこさないよう十分に配慮した。

実験Ⅰ) ビスフェノールA曝露による中齢ラットの運動機能への影響

(1) ビスフェノールA曝露ラットの体重を継続的に測定した。

(2) ビスフェノールA曝露ラットの血中ホルモン(甲状腺ホルモン、生殖腺ホルモン)濃度を測定した。

(3) ビスフェノールA曝露中齢ラットをもちいて行動学的解析をおこなった。

(4) 行動実験に用いたビスフェノールA曝露中齢ラットの小脳を摘出し、マイクロウェーブ法によりフォルマリン固定した後、運動に関与している小脳をビブラトームにより厚さ100 μ mの連続した矢状断面切片を作成した。それらの切片を用いて形態学的解析をおこなった。

さらに、(1)と(2)とを対比させ、中齢ラットの運動機能の変化と小脳の形態学的変化との関係について比較・検討した。

実験Ⅱ) ビスフェノールA曝露による老齢ラットの運動機能への影響

老齢ラットをもちいて**実験Ⅰ)**と同様の実験をおこなった。

得られた実験結果について両者を対比させながら、中齢と老齢ラットとの違いについて解析した。そして、これらラットでの実験結果を基盤とし、ヒトでの胎・乳児期のビス

フェノールA曝露が、成長期以降の小脳-運動系にどのような影響を与える可能性があるのか、さらには、それに起因する運動機能障害への関与の可能性について検討した。

4. 研究成果

ビスフェノールAを母ラットに投与し、その仔ラット(ビスフェノールA曝露ラット)の体重を測定した結果、雌雄ともに曝露群と無処理群との間では変化は認められなかった。しかし、曝露群では雌の乳腺腫瘍の発生増加が認められ、これが体重の測定結果に影響を与えている可能性も考えられた。そこで、この腫瘍重量を考慮して検討すると、加齢にともなう体重の増加は、対照群に比べ曝露群で低下傾向をしめした。この体重変化の違いはビスフェノールAによる生体内への内分泌かく乱作用の影響によることが示唆される。また、乳腺腫瘍頻度の増加は、この薬剤の内分泌かく乱作用の直接あるいは間接的影響により免疫機能が低下したものと考えられるが、その作用機序は不明であり、今後の検討課題である。

血中の甲状腺ホルモン量は、雄の場合、T4値は曝露群と対照群との間に変化は認められなかったが、T3値は曝露群で増加した。特にこの増加は低用量投与群で著しく、高用量投与群ではあまり顕著ではなかった。ホルモンには作用のための最適濃度が存在するが、ビスフェノールAにも内分泌かく乱作用をするための最適濃度が存在するのかもしれない。そのため高用量投与ではビスフェノールAの影響があらわれなかった可能性が示唆される。一方、雌の場合は雄とは逆にビスフェノールA曝露により血中甲状腺ホルモン(特にT3)が低下した。この雌雄間での違いについての機序は不明であり、さらなる研究が必要と考える。雌雄いずれの場合でも、周産期におけるビスフェノールA曝露の作用が成熟期以降のラットにも依然としてあらわれているという結果となり、ヒトでもラットと同様の影響をうける可能性も否定できないと思われる。

生殖腺ホルモン測定において、雄の血中テストステロンと雌のエストロゲン濃度はともに減少傾向がみられ、ビスフェノールAの周産期曝露による成熟期の生殖機能への影響が疑われた。今回の結果はヒトでのビスフェノールAの周産期曝露が、その後の成人の生殖機能低下を暗示してお

り、その影響が懸念される。

ビスフェノールA曝露ラットをもちいてオープンフィールドテストをおこなった結果、いずれの齢においても対照群と比べた場合、運動の量、種類、性質ともに顕著な違いは認められなかった。このことは周産期でのビスフェノールA曝露が、後年の動物の運動に影響を与えないことを示している。また、運動系として重要な働きをもつ小脳の形態学的解析でも、行動の結果と同様に曝露群と対照群との間には有意差が認められないという成績が得られた。このような結果はビスフェノールAの周産期曝露は、その後のラットの小脳の成長に対して無反応性を示しているものと思われ、ヒトにおいても加齢に伴う運動機能の低下との関連性はないのではないかと考えている。しかしながら、行動実験はオープンフィールドのみであり、また、小脳の形態学的解析も限定された領域で解析しただけであるため、加齢に伴うビスフェノールAと運動機能低下との関連性についての考察は、別の角度からのさらなる解析が必要であると思われる。

周産期ラットに対するビスフェノールA曝露による寿命への影響は、現在2年半が経過しているが、なお継続中である。雌雄ともに曝露群が若干寿命短縮の傾向を示しているが、実験が終了した時点で結論を導きたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

- ① Fujiwara Y., kashiwagi K., Nakagawa M., Shinkai T., Furuno N., Hanade H., Suzuki K., Katu K., Yamamoto T., Tanimoto Y. and Kashiwagi A., Effects of magnetically controlled microgravity and hypergravity environment on amphibian behavior, Space Utiliz. Res., 査読有, 28, 2012, in press
- ② Yanagisawa M., furuno M., Watanabe M., Kashiwagi K., Hanada H., Shinkai T., Yoshitome S., Kubo H., Sakai M., Fujii H., Suzuki K., Yamashita M. and Kashiwagi A., Hypergravity specifically effects head formation in the Xenopus embryos raised under hypergravity condition, Space Utiliz. Res., 査読有, 28, 2012, in press
- ③ 新海正, 自然発生矮小ラットの寿命延長と代謝との関わり, 消化と吸収, 査読有, 33, 2010, 281-285

- ④ Kumagai, T., Sato, T., Kobayashi, Y., Zhou, D., Shinkai, T., Hayakawa, S. and Furukawa, K., Involvement of murine B-1,4-galactosyltransferase V in lactosylceramide biosynthesis, Glycoconj. J., 査読有, 27, 2010, 685-695
- ⑤ 柏木昭彦, 柏木啓子, 坂尾智美, 古野伸明, 藤原好恒, 谷本能文, 山下雅道, 渡部稔, 新海正, 吉留賢, 久保英夫, 坂井雅夫, 藤井博匡, 柳澤誠, 花田秀樹, 内藤富夫, 両生類の生活環に対する強磁場の影響 - 初期発生の形態学および分子生物学的解析-, Space Utilization Res., 査読有, 26, 2010, 232-235
- ⑥ Kuramoto K., Tahara S., Sasaki T., Matsumoto S., Kaneko T., Kondo H., Yanabe M., Takagi S. and Shinkai T., A novel model for aging research, Geriatr. Gerontol. Int., 査読有, 10, 2010, 94-101
- ⑦ Kuramoto K., Tahara S., Sasaki T., Matsumoto S., Kaneko T., Kondo H., Yanabe M., Takagi S. and Shinkai T., The longevity of spontaneous dwarf rat (SDR) and a possibility of a new animal model for aging research. J. Nutrition Health Aging, 査読有, 13, 2009, S551

[学会発表] (計22件)

- ① 藤原好恒, 柏木啓子, 中川真依, 新海正, 柳澤誠, 花古野伸明, 田秀樹, 鈴木賢一, 勝賢二郎, 山下雅道, 山本卓, 谷本能文, 柏木昭彦, 両生類の行動に対する強磁場制御による微小および過重力環境の影響, 宇宙利用シンポジウム (第28回), 2012.1.23-24, 東京
- ② 柳澤誠, 古野伸明, 渡部稔, 柏木啓子, 花田秀樹, 新海正, 吉留賢, 久保英夫, 坂井雅夫, 藤井博匡, 鈴木賢一, 山下雅道, 柏木昭彦, 過重力はアフリカツメガエルの頭部形成 (特に眼と脳) に特異的に影響と与える, 宇宙利用シンポジウム (第28回), 2012.1.23-24, 東京
- ③ Shinkai, T., Relation Between Oxidative Stress Resistance And Kidney Diseases In Spontaneous Dwarf Rats, 64th Annual Science Meeting, GSA, 2011.11.18-22, Boston (U.S.A)
- ④ 柳澤誠, 古野伸明, 渡部稔, 柏木啓子, 花田秀樹, 新海正, 吉留賢, 久保英夫, 坂井雅夫, 藤井博匡, 鈴木賢一, 山下雅道, 柏木昭彦, 過重力はツメガエルの頭部形成に特異的に影響を与える, 日本動物学会第82回大会, 2011.9.21-23, 旭川 (北海

道)

⑤ 新海正, 佐々木徹, 田原正一, 倉本和直, 近藤昊, 金子孝夫, 自然発症矮小ラット (SDR) の酸化ストレス抵抗性と腎がんとの関係について, 日本動物学会第 82 回大会, 2011. 9. 21-23, 旭川 (北海道)

⑥ 佐々木徹, 中山正史, 茂木翔一, 新海正, 小島周二, 金子孝夫, 活動亢進による低酸素解除時における活性酸素の生成, 第 64 回酸化ストレス学会, 2011. 7. 2-3, 虻田 (北海道)

⑦ 佐々木徹, 中山正史, 加賀美伸幸, 茂木翔一, 新海正, 小島周二, 金子孝夫, 活性酸素の生成はエネルギー代謝と逆相関か?, 第 34 回基礎老化学会, 011. 6. 15-17, 東京

⑧ 新海正, 佐々木徹, 田原正一, 倉本和直, 近藤昊, 金子孝夫, 自然発症矮小ラット (SDR) の酸化ストレス抵抗性と腎疾患との関係について, 第 34 回基礎老化学会, 2011. 6. 15-17, 東京

⑨ 柳澤誠, 古野伸明, 渡部稔, 柏木啓子, 花田秀樹, 新海正, 吉留賢, 久保英夫, 坂井雅夫, 藤井博匡, 山下雅道, 柏木昭彦, 過重力によって生じたアフリカツメガエル初期胚の頭部形成異常の解析 II, 宇宙利用シンポジウム (第 27 回), 2011, 1, 24-25. JAXA (神奈川)

⑩ Shinkai, T., Longevity and metabolism of spontaneous dwarf rat (SDR), 63th Annual Science Meeting, GSA, 2010, 11, 19-23, New Orleans, LA, U. S. A.

⑪ Shinkai, T., Longevity and metabolism of spontaneous dwarf rat (SDR), The Science Meeting at Pennington Biomedical Research Center, 2010, 11, 17, LSU, LA, U. S. A.

⑫ 新海正, 野本茂樹, 神山佳子, 自然発症矮小ラットの寿命延長と代謝との関わり, 第 18 回日本消化器関連学会週間, 2010, 10, 13-16, 横浜

⑬ 新海正, 野本茂樹, 神山佳子, 佐々木徹, 金子孝夫, 倉本和直, 近藤昊, 異なった温度環境における自然派生矮小ラットの代謝の変化, 日本動物学会第 81 回大会, 2010, 9, 23-25, 東京

⑭ 新海正, 柏木啓子, 古野伸明, 久保英夫, 吉留賢, 渡部稔, 佐々木徹, 山下雅道, 柏木昭彦, 過重力環境下でのニシツメガエル脳下垂体—甲状腺系の機能低下に対する甲状腺ホルモンの投与効果, 日本下垂体研究会第 25 回学術集会, 2010, 8, 19-21, 伊良湖 (愛知)

⑮ 佐々木徹, 大林茂男, 茂木翔一, 小島周二, 青崎敏彦, 新海正, 金子孝夫, 活性酸素の生成とエネルギー代謝の関係, 日本基礎

老化学会第 33 回大会, 2010. 6. 17-18, 名古屋

⑯ 新海正, 野本茂樹, 野本恵美, 神山佳子, 金子孝夫, 佐々木徹, 倉本和直, 近藤昊, 自然発症矮小ラットの寿命延長と代謝との関係, 日本基礎老化学会第 33 回大会, 2010. 6. 17-18, 名古屋

⑰ 柏木昭彦, 柏木啓子, 坂尾智美, 古野伸明, 藤原好恒, 谷本能文, 山下雅道, 渡部稔, 新海正, 吉留賢, 久保英夫, 坂井雅夫, 藤井博匡, 柳澤誠, 花田秀樹, 内藤富夫, 両生類の生活環境に対する強磁場の影響 - 初期発生の形態学および分子生物学的解析-, 宇宙利用シンポジウム (第 26 回), 2010, 1. 25-26, 相模原市 (神奈川)

⑱ 新海正, 脂肪と寿命の絶妙な関係, 芝浦工業大学先端工学研究機構キックオフシンポジウム, 2009, 10. 14, さいたま市

⑲ 新海正, 金子孝夫, 佐々木徹, 田原正一, 野本茂樹, 野本恵美, 倉本和直, 近藤昊, 自然発症矮小ラットの長寿に対する皮下脂肪の効果, 第 34 回日本比較内分泌学会大会, 2009, 10. 22-24, 豊中市 (大阪)

⑳ 新海正, 金子孝夫, 佐々木徹, 田原正一, 野本茂樹, 野本恵美, 倉本和直, 近藤昊, 自然発症矮小ラットの寿命延長に対する皮下脂肪の影響, 第 32 回日本基礎老化学会大会, 2009, 6. 19-20, 横浜市

㉑ 新海正, 金子孝夫, 佐々木徹, 田原正一, 野本茂樹, 野本恵美, 倉本和直, 近藤昊, 自然発症矮小ラットの長寿と皮下脂肪の関係, 日本動物学会第 80 回大会, 2009, 9. 17-19, 静岡市

㉒ Shinkai, T., Longevity of Spontaneous Dwarf Rat (SDR) and a possibility of a new animal model for aging research, XIXth IAGG World Congress of GERONTOLOGY and GERITRICS, 2009, 7. 5-9, Paris, France

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新海 正 (SHINKAI TADASHI)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：10154387

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：