

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24710068

研究課題名(和文) 難燃剤化学物質の周産期曝露による発達神経毒性の解析

研究課題名(英文) Developmental neurotoxic effects of perinatal exposure to flame retardants on the behavior of adult male mouse offspring

研究代表者

はい島 旭(HAIJIMA, ASAHI)

群馬大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70555672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、パーフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)やデカブロモジフェニルエーテル(DBDE)などの難燃剤化学物質の周産期曝露による仔の脳機能発達へ及ぼす影響をマウスを用いて明らかにすることを目的とした。本研究から、PFOSの曝露により、学習・記憶試験や協調運動機能試験の成績が低下することが明らかとなった。また、神経化学的・組織学的解析により小脳や海馬発達がPFOS曝露の影響を受けることにより上記機能の低下を引き起こす可能性が示唆された。DBDE曝露による影響は、本研究で用いた用量や曝露時期では、顕著な影響は観察されなかった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the developmental neurotoxic effects of perinatal exposure to flame retardants, perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) and decabromodiphenyl ether (DBDE) on the behavior of adult male mouse offspring. PFOS-exposed animals showed poor performance in learning and memory tasks and Rotarod test. Because a series of neurochemical/histological studies have revealed the disrupted cerebellar and hippocampal development by PFOS exposure, these behavioral abnormalities may have induced through of functional disruption of these brain regions. Concerning DBDE exposure, no obvious abnormal behavior was observed in the present study.

研究分野：行動毒性学

キーワード：発達神経毒性 PFOS 行動試験

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究から、重金属やダイオキシンなど多くの環境残留性や生物蓄積性が高い環境化学物質において、母体にはなんら影響が顕われない低用量の曝露であっても、胎盤・母乳経由で移行した化学物質が子どもの認知機能・精神機能などの脳発達に影響を及ぼすことが疫学調査・動物実験により示されてきた。

本研究で対象とするパーフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)やポリ臭素化ジフェニルエーテル(PBDE)は、難燃剤として自動車、家電製品などに幅広く用いられてきた。近年、これらの化学物質曝露によりPPARなどの核内受容体が活性化されたり、血中甲状腺ホルモン濃度が影響を受けるなど内分泌かく乱作用が明らかとなり、健康影響への懸念から規制が強化されてきている。これらの化学物質は環境残留性や生物蓄積性が高く、現在でもヒトへの曝露量が激減しているわけではない。しかし、PFOSやPBDEの周産期低用量曝露による毒性影響は、他の環境化学物質と比べよく分かっていない。特に発達期中枢神経系への影響は解析が進んでいない。

2. 研究の目的

本研究では、マウスを用いてPFOSやPBDEの周産期曝露による発達神経毒性を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、C57BL/6Jマウスを用いた。授乳期の母獣にPFOSまたはDBDEを経口投与し、これらの母獣に育てられた仔が成熟後に、下記の解析を行なった。

(1)行動試験:オープンフィールドテスト、自発的物体再認テスト、視覚的弁別学習課題、ロータロッドテストを行なった。

(2)*in vivo* マイクロダイアリシス:baseline時とグリア型グルタミン酸トランスポーター選択的阻害剤PMB-TBOA投与時の背側海馬内のアミノ酸量を測定した。

(3)小脳初代培養系:PFOS曝露による小脳プルキンエ細胞への毒性影響を検討した。

4. 研究成果

(1)行動試験

生後1-14日目にPFOSを曝露された被験体は、自発的物体再認テスト、視覚的弁別学習課題、ロータロッドテストの成績が、対照群と比べて有意に低下した。オープンフィールドでの活動性に顕著な違いはなかった。また、PFOSの曝露時期を生後1-7日目と生後8-14日目の2条件に分けて影響の違いを観察した。その結果、生後1-7日目PFOS曝露群では、生後1-14日PFOS曝露動物と同様に、いずれの行動試験においても対照群と比べて有意に成績が低下した。生後8-14日目PFOS曝露群は、協調運動機能試験において対照群と比べて成績が有意に低下した。DBDE授乳期曝露による協調運動機能試験遂行への影響についても検証した。その結果、DBDE曝露群は対照群と同程度の成績であっ

た。

(2)*in vivo* マイクロダイアリシス

PFOSの周産期曝露による海馬への影響を検討するため、*in vivo* マイクロダイアリシスにより、baseline時とグリア型グルタミン酸トランスポーター選択的阻害剤PMB-TBOA投与時の背側海馬内のアミノ酸量を測定した。その結果、baseline時のアミノ酸量には群間で有意な差はなかったが、PMB-TBOA投与時ではPFOS曝露群においてグルタミン酸量が有意に多かった。

(3)小脳初代培養系

小脳初代培養系を用いて、PFOS曝露による小脳プルキンエ細胞への毒性影響を検討した。その結果、PFOS曝露によりプルキンエ細胞の伸張が抑制された。また脱ヨード酵素のmRNA発現が有意に抑制していることが明らかとなった。

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4件)

1. Haijima A. and Ichitani Y. 2012 Dissociable Anterograde Amnesic Effects of Retrosplenial Cortex and Hippocampal Lesions on Spontaneous Object Recognition Memory in Rats. *Hippocampus* **22**: 1868-1875. (査読あり)
2. Yoshioka W., Endo N., Kurashige A., Haijima A., Endo T., Shibata T., Nishiyama R., Kakayama M. and Tohyama C. 2012 Fluorescence laser microdissection reveals a distinct pattern of gene activation in mouse hippocampal regions. *Scientific Reports*, **2**: 783. (査読あり)
3. Endo T., Kakeyama M., Uemura Y., Haijima A., Okuno H., Bito H. and Tohyama C. 2012 Executive function deficits and social-behavioral abnormality in mice exposed to a low dose of dioxin *in utero* and via lactation. *PlosOne*, **7**: e50741. (査読あり)
4. Shimokawa N., Yousefi B., Morioka S., Yamaguchi S., Ohsawa A., Hayashi H., Azuma A., Mizuno H., Kasagi M., Masuda H., Jingu H., Furudate SI., Haijima A., Takatsuru Y., Iwasaki T., Umezu M.,

Koibuchi N. 2014 Altered cerebellum development and dopamine distribution in a rat genetic model with congenital hypothyroidism. *J Neuroendocrinology*, **26**: 164-75. (査読あり)

〔学会発表〕(計 19 件)

1. 齧島旭, 下川哲昭, 高鶴裕介, 天野出月, レスマナロニー, 鯉淵典之 周産期の水酸化 PCB 曝露が成熟後仔マウスの運動協調機能へ及ぼす影響 環境ホルモン学会第 15 回研究発表会 東京 2012 年 12 月
2. ベナー聖子, 齧島旭, 小早川令子, 小早川高, 掛山正心, 遠山千春 周産期低用量 TCDD 曝露マウスにおける恐怖情動性の行動学的評価 環境ホルモン学会第 15 回研究発表会 東京 2012 年 12 月
3. 岩崎俊晴, 宮坂勇平, 原口瑞樹, Ronny Lezmana, 齧島旭, 下川哲昭, 鯉淵典之 Perfluorooctane sulfonate (PFOS) と Perfluorooctanoic acid (PFOA) による脳発達に与える影響 環境ホルモン学会第 15 回研究発表会 東京 2012 年 12 月
4. 齧島旭, 一谷幸男 ラットの自発的物体再認テスト遂行に及ぼす後部帯状皮質および海馬損傷の効果 第 90 回日本生理学会大会 東京 2013 年 3 月
5. 天野出月, 高鶴祐介, 齧島旭, 鯉淵典之 Dual oxidase maturation factors (DUOXA) ノックアウトマウスにおける小脳発達異常 第 90 回日本生理学会大会 東京 2013 年 3 月
6. 林秀華, 東杏莉, 水野貴之, 増田真之佑, 于露, レスマナロニー, 齧島旭, 高鶴祐介, 岩崎俊晴, 下川哲昭, 梅津元昭, 鯉淵典之 先天性甲状腺機能低下症 (rdw) ラットの脳機能に対するチロキシン経口投与の効果 第 90 回日本生理学会大会 東京 2013 年 3 月
7. 齧島旭, 下川哲昭, 高鶴裕介, 天野出月, レスマナロニー, 鯉淵典之 胎仔期・授乳期の低用量水酸化 PCB 曝露が成熟後仔マウスへ及ぼす影響 第 40 回日本毒性学会大会 千葉 2013 年 6 月
8. 齧島旭, 岸美紀子, 坂本浩之助, 鯉淵典之, 村上正巳, 和泉孝志 基礎学力の向上を目指す教養教育科目「学びのリテラシー」の実践 第 45 回日本医学教育学会大会 千葉 2013 年 7 月
9. 齧島旭, 一谷幸男 ラットの物体再認記憶における後部帯状皮質および海馬損傷による前行性および逆行性健忘の検討 第 73 回日本動物心理学会大会 茨城 2013 年 9 月
10. 齧島旭, 下川哲昭, 高鶴裕介, 天野出月, レスマナロニー, 鯉淵典之 周産期の水酸化 PCB 曝露が成熟後仔マウスの自発運動量へ及ぼす影響 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会 東京 2013 年 12 月
11. 岩崎俊晴, 齧島旭, 宮坂勇平, Yu Lu, 高鶴裕介, 下川哲昭, 鯉淵典之 新たな機序による Perfluorooctane sulfonate (PFOS) の脳発達への影響 環境ホルモン学会第 16 回研究発表会 東京 2013 年 12 月
12. 齧島旭, 下川哲昭, 高鶴裕介, 天野出月, レスマナロニー, 鯉淵典之 胎仔期・授乳期の水酸化 PCB 曝露が成熟後仔マウスの自発運動量へ及ぼす影響 第 91 回日本生理学会大会 鹿児島 2014 年 3 月
13. 天野出月, 高鶴祐介, 戸谷秀太郎, 齧島旭, 鯉淵典之 先天性甲状腺機能低下症マウスにおいて, parallel fiber-Purkinje シナプスの短期可塑性に異常がみられた 第 91 回日本生理学会大会 鹿児島 2014 年 3 月
14. 齧島旭, 鯉淵典之 「生理学実習」レポートにおける“コピペ率”に関する調査 第 46 回日本医学教育学会大会 和歌山 2014 年 7 月
15. 齧島旭, 高鶴裕介, 天野出月, 鯉淵典之 授乳期のパーフルオロオクタンルホン酸曝露が自発的物体再認記憶へ及ぼす影響 環境ホルモン学会第 17 回研究発表会 東京 2014 年 12 月
16. 齧島旭, 高鶴裕介, 天野出月, 鯉淵典之

パーフルオロオクタンスルホン酸の授乳
期曝露が成熟後仔マウスの視覚弁別課
題遂行に及ぼす影響 第 92 回日本生理
学会大会 神戸 2015 年 3 月

17. 天野出月, 高鶴裕介, Misuki Aghnia
Khairinisa, 小久保倫文, 齧島旭, 鯉淵典
之 周産期の軽度甲状腺機能低下により
成体マウスで観察された学習障害 第 92
回日本生理学会大会 神戸 2015 年 3 月
18. Amano I., Taktatsuru Y., Haijima A.,
Koibuchi N. Aberrant cerebellar
development in dual oxidase maturation
factor (DuoxA) knockout mice. 10th Asia
and Oceania Thyroid Association
Congress, Bali, October, 2012.
19. Amano I., Takatsuru Y., Toya S., Haijima
A., Koibuchi N. Cerebellar ataxia in dual
oxidase maturation factor (DUOXA)
mutant mice. The 3rd Bandung
International Biomolecular Medicine
Conference, Bandung, Indonesia, 18-19 Sep,
2014.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

齧島 旭 (HAIJIMA ASAHI)

群馬大学・医学系研究科・助教

研究者番号: 70555672