

平成 21 年 5 月 7 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590619
 研究課題名（和文） 母体の甲状腺ホルモン阻害と次世代脳神経発達障害—fMRI による脳機能診断への展開
 研究課題名（英文） Neurotoxicity of perinatal hypothyroidism in rats: Developments of brain function diagnosis by fMRI
 研究代表者
 和田 博美 (WADA HIROMI)
 北海道大学・大学院文学研究科・教授
 研究者番号：90191832

研究成果の概要：甲状腺ホルモンを阻害されたラットは、行動を抑制できず、衝動的な傾向が観察された。新たなターゲットに、すばやく注意を切り替えることもできない。音刺激に対する閾値が上昇している可能性がある一方で、音に対する驚愕反射が増大しパニック傾向が見られた。空間的な位置関係に関する作業記憶の形成に、障害が見られた。海馬、脳の体積が縮小したが、海馬／脳の体積比には影響がなかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：発達神経行動毒性学

科研費の分科・細目：社会医学 ・ 公衆衛生学・健康科学

キーワード：甲状腺ホルモン、メチルゾール、ラット、プレパルス・インヒビション、MRI、水迷路、DRL

1. 研究開始当初の背景

キレやすい子供、じっとしてられない子供が増加し、殺人事件にまで発展するケースが増えている。原因解明のため政府主導の研究プロジェクトが組まれるほど、ことは深刻である。これらの子供には脳の発達障害が原因と考えられる多動性、衝動性、注意障害、コミュニケーション能力の障害、共感性の欠如などが見られる。原因として注目されている

のが、ダイオキシン、PCB、メチル水銀などの内分泌攪乱化学物質である。内分泌攪乱化学物質は、脳の発達・文化に必須の甲状腺ホルモンを阻害する。妊婦が汚染された魚介類を摂食することで胎児の脳神経系の発達・分化が阻害され、行動障害となって現れると考えられている。これから社会を担う子供達を守るため、行動障害の原因を一刻も早く特定し、治療法や予防対策を確立することが求められている。

2. 研究の目的

(1) プレパルス・インヒビション (PPI) 法による、注意障害の検証を行う。ターゲット検出課題を用いて、注意障害の検証を行った。甲状腺ホルモン阻害ラットは、ターゲットが提示されても制限時間内に反応せず、注意障害が示された。しかしこの課題は、食欲低下や運動障害によっても、反応が減少する。そこで、強烈な音刺激に対する驚愕反射を利用して、注意障害を検証する。驚愕反射は食欲の影響を受けず、加速度センサーがわずかな動きにも反応するため、運動障害があっても驚愕反応を検出できる。

(2) 水迷路による、記憶障害の検証を行う。内分泌攪乱化学物質が、記憶障害を引き起こすという報告がある。しかし因果関係が特定されていない。そこで水迷路を用いて空間に記憶を解析する。逃避台が同一の位置に置かれている場合 (参照記憶) と逃避台の位置が試行ごとに変化する場合 (作業記憶) に分けて検証する。

(3) MRI を用いて、海馬の体積を測定する。海馬は記憶形成にとって重要な部位であり、しかも甲状腺ホルモン阻害に対して脆弱である。そこで MRI を用いて、海馬を撮像し、体積を求める。

3. 研究の方法

甲状腺ホルモン阻害剤メチマゾール (MMI) を飲料水に混入し、妊娠ラットに投与した。濃度は、0 (Cont), 0.002 (Low), 0.01 (Middle), 0.02 (High) %, 投与期間は、GD15~PD21 であった。PD21 に仔ラットを離乳させ、PD8 週目から行動実験を行った。

(1) 20 秒間レバー押し反応を抑制するとエサが与えられる、DRL20 秒訓練を行った。

(2) ターゲット (光刺激) が提示された後、制限時間内にレバー押し反応するとエサが与えられる、ターゲット検出課題を行った。

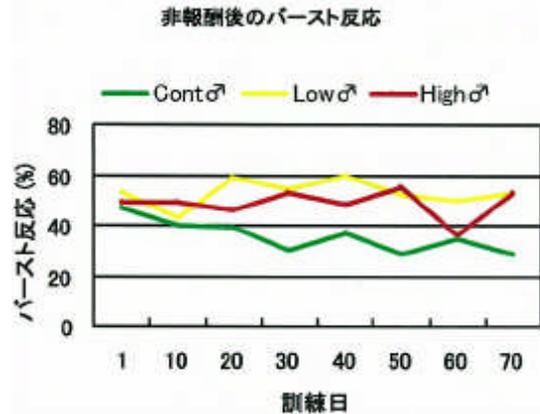
(3) 聴性驚愕刺激 (P) の直前に小さな音 (PP) を提示すると、驚愕反射が抑制されるプレパルス・インヒビション (PPI) を行った。

(4) 水迷路による、空間記憶の習得訓練を行った。

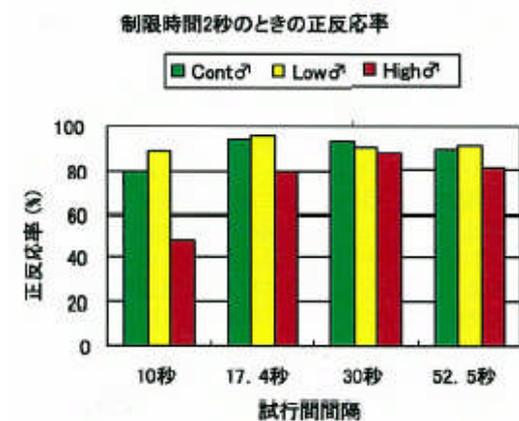
(5) 海馬と脳全体の体積を、MRI で測定した。

4. 研究成果

(1) DRL20 : 甲状腺ホルモン阻害群は、20 秒間反応を抑制できた。しかしエサを獲得できなかった後にバースト反応 (短時間に反応を連発) が増加した。バースト反応はオスに顕著で、衝動性が示唆された。ADHD の症状と類似しており、甲状腺ホルモン阻害が原因の 1 つであることを示唆している。

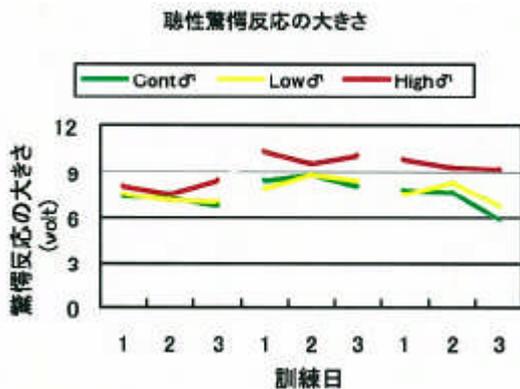


(2) ターゲット検出課題 : 制限時間が短く、すぐに反応しなければならない場合や、次の試行までの時間感覚が短く、新しい試行がすぐに始まる場合に、H 群の正反応率が低下した。新しいターゲットに、すばやく注意を切り替えることが困難になったと考えられる。H 群は固執反応 (反応連発) が多く、行動抑制に障害が見られた。注意や行動抑制の障害は ADHD の症状と類似しており、甲状腺ホルモン阻害が原因の 1 つであることを示唆している。



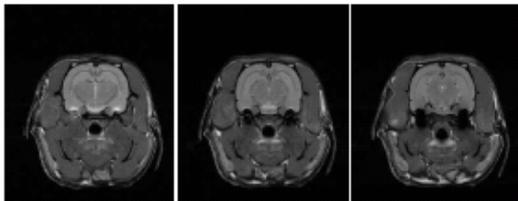
(3) PPI : P による驚愕反射の大きさは、MMI 量に依存して増大した。驚愕刺激に対して、パニック傾向が見られた。この過剰反応は、PD 1 年目でも消失しなかった。PP が 75dB のとき、H 群は PPI が低下した。しかし PP が

85 と 95dB では、PPI に影響はなかった。聴覚障害の可能性が考えられる。この結果は、国内外の多くの論文と一致している。



(4) 水迷路： 参照記憶のテストでは、H群も空間記憶を形成できた。しかし逃避台にたどり着くまでの反応時間が長く、多動性のため、不必要に泳ぎまわった可能性が考えられる。作業記憶のテストでは、H群の正答率が低下した。作業記憶の障害が示唆された。この結果は、国内外の論文と一致している。

(5) H群は、海馬、脳の体積がC群より縮小したが、海馬／脳の体積比には差がなかった。今後は脳活動の画像化を行い、機能解析が必要であると思われる。



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6件)

- ① Wada H, Yumoto S, and Iso H, Hypothyroidism gives rise to panic tendencies in response to auditory startle stimuli in the rat: neurotoxicological potential of persistent organic pollutants. *Organohalogen Compounds*, 70: 1016-1019, 2008 (査読有)
- ② Hasegawa M and Wada H. The deficit of behavioural inhibition is not improved

by methylphenidate in hypothyroid rats. *Organohalogen Compounds*, 70:1363-1366, 2008 (査読有)

- ③ Yonezaki K and Wada H. Impulsiveness of hypothyroid rats shown in non-rewarded trials. *Organohalogen Compounds*, 70:2439-2442, 2008 (査読有)
- ④ Wada H. and Iso H. Hypothyroidism disrupts prepulse inhibition of auditory startle response in rats. *Organohalogen Compounds*, 69:2976-2979, 2007 (査読有)
- ⑤ Hasegawa M and Wada H. Inability of hypothyroid rats to shift attention quickly in a target detection task. *Organohalogen Compounds*, 69:2972-2975, 2007 (査読有)
- ⑥ Yonezaki K and Wada H. Deficiency of behavioral inhibition in hypothyroid rats: A pilot study. *Organohalogen Compounds*, 69:2980-2983, 2007 (査読有)

[学会発表] (計9件)

- ① Wada H. Hypothyroidism gives rise to panic tendencies in response to auditory startle stimuli in the rat: Neurotoxicological potential of persistent organic pollutants. *DIOXIN 2008*. August 19, 2008, Birmingham International Convention Center, Birmingham, UK.
- ② Hasegawa M. The deficit of behavioural inhibition is not improved by methylphenidate in hypothyroid rats. *DIOXIN 2008*. August 19, 2008, Birmingham International Convention Center, Birmingham, UK.
- ③ Yonezaki K. Impulsiveness of hypothyroid rats shown in non-rewarded trials. *DIOXIN 2008*. August 19, 2008, Birmingham International Convention Center, Birmingham, UK.
- ④ Hasegawa M. The effects of perinatal hypothyroidism on the attention ability in rats. *International Congress of Psychology*. July 23, 2008. International Congress Center Berlin,

Berlin, Germany.

- ⑤ Wada H. Developmental effects of hypothyroidism on prepulse inhibition in the rat. 10th International Symposium of Neurobehavioral Methods and Effects in Occupational and Environmental Health. June 11, 2008. Hotel Ramada Herradura, San Jose, Costa Rica.
- ⑥ Wada H. Hypothyroidism disrupts prepulse inhibition of auditory startle response in rats. DIOXIN 2007. September 3, 2007. Hotel Okura, Tokyo, Japan.
- ⑦ Hasegawa M. Inability of hypothyroid rats to shift attention quickly in a target detection task. DIOXIN 2007. September 3, 2007. Hotel Okura, Tokyo, Japan.
- ⑧ Yonezaki K. Deficiency of behavioral inhibition in hypothyroid rats: A pilot study. DIOXIN 2007. September 3, 2007, Hotel Okura, Tokyo, Japan.
- ⑨ Wada H. Hypothyroid rats showed greater startle response to auditory stimulus. 11th International Neurotoxicology Association. June 14, 2007, Asilomar Conference Center, Pacific Grove, CA, USA.

[図書] (計5件)

- ① 和田博美、ミネルヴァ書房、認知心理学—心のメカニズムを解き明かす、2009、印刷中
- ② 和田博美、北大路書房、子どものこころを育む発達科学、2008、123-140.
- ③ Wada H., Yumoto S., and Iso H. ISEBU, Persistent organic pollutants (POPS) research in Asia, 2008, 314-321.
- ④ Hasegawa M, Kida I., and Wada H. ISEBU, Persistent organic pollutants (POPS) research in Asia, 2008, 246-250.
- ⑤ Yonezaki K and Wada H. ISEBU, Persistent organic pollutants (POPS) research in Asia, 2008, 338-342.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 博美 (WADA HIROMI)
北海道大学・大学院文学研究科・教授
研究者番号：90191832

(2) 研究分担者

黄田 育宏 (KIDA IKUHIRO)
北海道大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：60374716

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

米崎 久美子 (YONEZAKI KUMIKO)
北海道大学・大学院文学研究科・博士後期課程院生

長谷川 征史 (HASEGAWA MASASHI)
北海道大学・大学院文学研究科・修士課程院生

湯本 祥子 (YUMOTO SHOKO)
北海道大学・大学院文学研究科・修士課程院生