

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510069

研究課題名(和文)ゼブラフィッシュにおける発達神経毒性を指標とした放射線影響評価

研究課題名(英文)Development of zebrafish-based assay to detect developmental neurotoxicity of irradiation and to identify protectants against the neurotoxicity

研究代表者

西村 有平(Nishimura, Yuhei)

三重大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30303720

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：発達期の脳は成人脳に比べて放射線に対する感受性が高く、この時期の放射線被曝は様々な発達神経障害を引き起こす。そのため、放射線による中枢神経障害を低減する治療法の開発は重要な課題となっている。本研究では、小型脊椎動物であるゼブラフィッシュをモデル動物として、放射線曝露による発達神経毒性を高感度に検出できるだけでなく、その毒性に対する治療薬もスクリーニングできる試験系の開発に成功した。

研究成果の概要(英文)：The developing brain is extremely sensitive to irradiation. Irradiation during development has been implicated in various neuropsychiatric and neurological disorders. In this study, we were able to develop zebrafish-based behavior assay to detect subtle but significant developmental neurotoxicity of irradiation and to identify chemicals protective to the developmental neurotoxicity of irradiation.

研究分野：システムズ薬理学・毒性学

キーワード：放射線 発達神経毒性 行動解析 治療薬 スクリーニング ゼブラフィッシュ

1. 研究開始当初の背景

発達期の脳は成人脳に比べて放射線に対する感受性が高く、この時期の放射線被曝が小頭症などの奇形や、精神発達遅延などと関連することが明らかにされている。また、小児の悪性腫瘍の約 60%を占める脳腫瘍に対して、頭部放射線療法は最も有効な治療法の一つであるが、放射線療法後に出現する認知機能の低下は深刻な問題となっている。放射線による中枢神経障害を低減する治療法を開発するためには、発達期の個体を放射線に曝露することが容易であり、放射線曝露による発達神経毒性を定量的に評価することが容易なモデル動物を用いることが重要である。

脊椎動物であるゼブラフィッシュは、小型で一度に多数の個体を放射線曝露することができる。また、中枢神経系の発生が速く、受精後 7 日目には様々な行動を定量的に解析することが可能である。さらに、水棲生物であるため、化合物の投与が容易であり、病態を改善する化合物のスクリーニングに適している。これらの背景から、ゼブラフィッシュにおける発達神経毒性を指標とした放射線影響評価法の開発研究を着想するに至った。

2. 研究の目的

放射線曝露による発達神経毒性を高感度に検出できるだけでなく、その毒性に対する治療薬もスクリーニングできる試験系を構築すること。

3. 研究の方法

受精後 5 日目のゼブラフィッシュに X 線を照射し、2 日後 (受精後 7 日目) のゼブラフィッシュの行動を 24 時間モニタリング (明期 14 時間、暗期 10 時間) し、X 線を照射していないゼブラフィッシュの行動とは有意に異なる行動を誘発する X 線照射量を決定した。次に、その線量で X 線を照射した受精後 5 日目のゼブラフィッシュの飼育水に化合物を添加し、2 日間飼育した後、受精後 7 日目のゼブラフィッシュの行動を 24 時間モニタリング (明期 14 時間、暗期 10 時間) し、X 線照射による行動障害を有意に改善する化合物を同定した。

4. 研究成果

受精後 5 日目に 100Gy の X 線を照射したゼブラフィッシュでは、受精後 7 日目において、外表の異常は認められなかったが、夜間の休息様行動が有意に減少していた。一方、X 線照射後に リポ酸を投与したゼブラフィッシュの行動は、X 線を照射していないゼブラフィッシュの行動と有意な差を認めず、リポ酸が放射線照射による発達神経毒性に対する治療薬となる可能性が示唆された。本研究により、放射線曝露による発達神経毒性を高感度に検出できるだけでなく、その毒性に

対する治療薬もスクリーニングできる試験系を構築することができた。本試験系は、放射線の発達神経毒性に対する新たな治療薬開発に有用なツールであると考えられる。

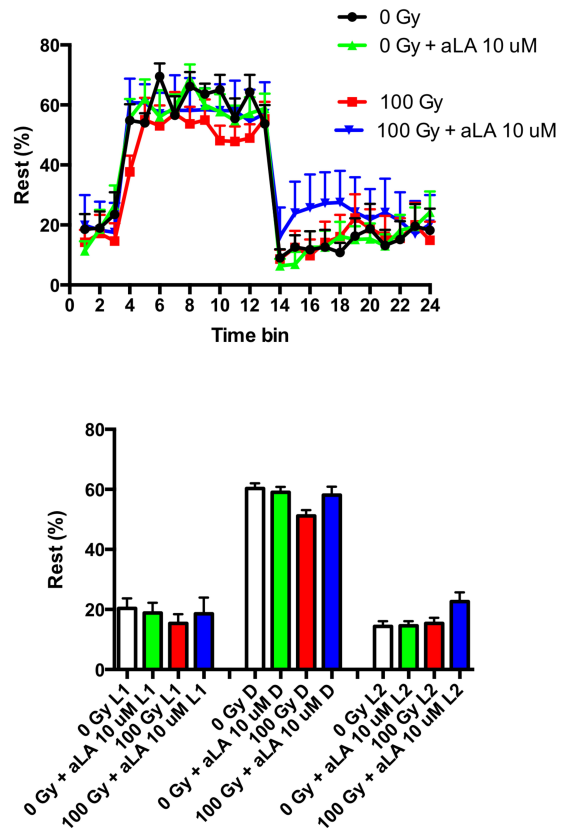


図 1 受精後 9 日目のゼブラフィッシュの行動解析

受精後 5 日目に 100Gy の X 線を照射したゼブラフィッシュは暗期 (time bin: 3-13, D) における休息様行動が、X 線を照射していないゼブラフィッシュに比べて有意に低下した。一方、X 線を照射後、リポ酸を飼育水に添加したゼブラフィッシュの暗期における休息様行動は X 線を照射していないゼブラフィッシュの行動と有意な変化を認めなかった。

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 3 件)

1 Nishimura Y et al., Zebrafish as a systems toxicology model for developmental neurotoxicity testing Congenital Anomalies (Kyoto), 査読有, 55(1):1-16, 2015

2 Nishimura Y et al., Identification of a novel indoline derivative for in vivo fluorescent imaging of blood-brain barrier disruption in animal models. ACS

Chemical Neuroscience, 査読有, 4(8):1183-93, 2013

3 Nishimura Y et al., In vivo assessment of the permeability of the blood-brain barrier and blood-retinal barrier to fluorescent indoline derivatives in zebrafish. BMC Neuroscience, 査読有, 13:101, 2012

〔学会発表〕(計 12 件)

1 西村 有平 他、ゼブラフィッシュを用いた創薬スクリーニング 日本薬学会 第 135 年会 2015 年 3 月 27 日 神戸学院大学(兵庫県神戸市)

2 西村 有平 他、システムズ薬理学を用いた網膜疾患の病態解析 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 20 日 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

3 西村 有平 他、ゼブラフィッシュによる新しい網膜保護機構解析 第 34 回日本眼薬理学会年会 2014 年 9 月 13 日 長良川国際会議場(岐阜県岐阜市)

4 西村 有平 他、ゼブラフィッシュによる医薬品の生殖発生毒性評価 第 41 回日本毒性学会学術年会 2014 年 7 月 3 日 神戸コンベンションセンター(兵庫県神戸市)

5 西村 有平 他、遺伝子改変ゼブラフィッシュを用いたニコチンの発達神経毒性評価 第 41 回日本毒性学会学術年会 2014 年 7 月 3 日 神戸コンベンションセンター(兵庫県神戸市)

6 西村 有平 他、ゼブラフィッシュを用いた BBB 機能イメージング 第 9 回トランスポーター研究会年会 2014 年 6 月 14 日 名古屋市立大学大学院薬学研究科(愛知県名古屋市)

7 Nishimura Y et al., In vivo fluorescent imaging of blood-brain barrier disruption in zebrafish using a novel dye. The Fourth International Conference on Alternatives for Developmental Neurotoxicity Testing (DNT4), May 12, 2014, Philadelphia, PA, USA

8 西村 有平 他、ゼブラフィッシュを用いた医薬品の発達神経毒性のシステムズ薬理学 第 87 回日本薬理学会年会 2014 年 3 月 21 日 仙台国際センター(宮城県仙台市)

9 西村 有平 他、ゼブラフィッシュを用いた網膜毒性評価 第 28 回比較眼科学会基礎部会研究会 2013 年 12 月 7 日 大日本住友製薬株式会社 大阪研究所(大阪府大阪市)

10 西村 有平 他、ゼブラフィッシュを用いた新しい発達神経毒性評価システム 第 53 回日本先天異常学会学術年会 2013 年 7 月 22 日 千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市)

11 Nishimura Y et al., A Novel System for Detecting DNT of Chemicals using Zebrafish. ICCA-LRI and UK HPA Workshop, June 12, 2012, Budapest, Hungary

12 西村 有平 他、血管イメージングに適した新規インドリン系色素の同定 日本ケミカルバイオロジー学会 第 7 回年会 2012 年 6 月 7 日 京都大学 百周年時計台記念館 百周年記念ホール(京都府京都市)

〔図書〕(計 3 件)

1 西村 有平 他、みみずく舎、図説 分子細胞生物学事典(シグナル伝達)、2012、19 ページ(178-196)

2 西村 有平 他、羊土社、システムズ薬理学を用いた次世代創薬 実験医学、2012、2 ページ(2952-2953)

3 西村 有平 他、羊土社、トランスクリプトーム解析を用いた精神疾患のトランスレショナルリサーチ 心と体のクロストークから解く精神・神経疾患 実験医学、2012、8 ページ(169-176)

〔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:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等  
<http://pgx.medic.mie-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

西村 有平 (Nishimura, Yuhei)  
三重大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号：30303720

(2)研究分担者

田中 利男 (Tanaka, Toshio)  
三重大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：00135443

島田 康人 (Shimada, Yasuhito)  
三重大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：40378427

梅本 紀子 (Umemoto, Noriko)  
三重大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：40649365

(3)連携研究者

( )

研究者番号：