

論文要旨

環境化学物質のマウス胎仔期低用量曝露に関する基礎研究 — 高次脳機能の障害と修復

副田 二三夫

最近子どもたちの間で、精神発達障害などの心身の異常が年々増加しており、その原因の一つとして環境中の化学物質の影響が懸念されている。環境中に存在する化学物質の数は、今世紀に入ってもなお、増加の一途を辿っており、環境省は 2010 年より ‘エコチル調査’ と呼ばれる大規模疫学調査（子どもの健康と環境に関する全国調査）を開始した。いわゆる環境ホルモンをはじめとした環境化学物質は、低用量・慢性曝露により潜行拡大的に高次脳機能を障害することが懸念されており、環境化学物質の低用量・慢性曝露の脳機能に及ぼす影響について基礎知見を積み重ねておくことは重要である。ところで、環境ホルモンを含む環境化学物質の生体影響に関する研究において、これまで論争されてきたことは、第一に、環境中に存在するような低用量で効果が発現するののかということと、第二に、その効果の再現性の問題である。そこで、本研究においては、これらの課題を念頭におき、ヒトにおいて有害作用を示す環境化学物質である diethylstilbestrol (DES) および水酸化体の poly chlorinated biphenyl (PCB) を用いて、以下の四つの項目、1) 低用量水酸化体 PCB の胎仔期後期曝露の脳機能に対する影響、2) DES 胎仔期曝露マウスにおける脳内リン酸化型 Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II (p-CaMKII) の発現レベルの変動要因、3) 脳内 p-CaMKII 発現増加のメカニズム、4) 環境化学物質による脳かく乱作用の enriched 環境飼育および非麻薬性中枢性鎮咳薬クロペラスチンによる修復とそのメカニズムの解析、について基礎研究を行った。以下に得られた知見を要約する。

1. 水酸化体 PCB 胎仔期曝露マウスの神経科学的解析

(1) 水酸化体 PCB (4-OH-pentaCB) の低用量 (0.1 $\mu\text{g}/\text{animal}/\text{day}$)、胎仔期後期 (胎齢 11 から 17 日目) 曝露は生後 4 から 5 週齢において、歩行量および立ち上がり行動を増加させた。さらにそのデータは、対照群に比べて曝露群においてバラツキがみられた。(2) 4-OH-pentaCB 曝露による行動学的異常の発現に、脳内の核内受容体、p-CaMKII およびチロシンヒドロキシラーゼの発現変動が何らかの形で関与する可能性が考えられた。

2. DES 胎仔期曝露マウスにおける脳内 p-CaMKII レベルの変動要因の解析

(1) 胎仔期後期 DES 曝露による脳の p-CaMKII レベルは、発達に伴い変動し、その変動パターンは雌雄で大きく異なっていた。(2) DES 曝露オスマウスにおける脳の p-CaMKII レベル増加の変動要因のひとつに、胎仔の子宮内における位置関係が関与することが示唆された。(3) DES 曝露メスマウスにおける海馬 p-CaMKII レベルの変動要因のひとつに、卵巣内のエストロゲンなどの内在性ホルモンレベルが関与する可能性が示唆された。(4) DES 曝露マウスの海馬 p-CaMKII レベルは海馬の部位により異なった。

3. DES 胎仔期曝露による脳内 p-CaMKII レベルの発現増加メカニズムの解析

(1) プロテオーム解析の結果、mitochondrial heat shock protein 70 (mtHSP70) は DES 曝露により増加する新たな分子マーカーになり得る可能性が示唆された。(2) DES 曝露による mtHSP70 の増加は、少なくとも DES 曝露による p-CaMKII 増加というシグナルの下流には存在しないこと、さらに正常および DES 曝露マウスの海馬において p-CaMKII と mtHSP70 は共局在していたことから、まず mtHSP70 が増加し、その後 p-CaMKII が増加している可能性が考えられた。

4. 環境化学物質のマウス胎仔期曝露による脳かく乱作用の発現に対する修復作用とその作用メカニズムの解析

(1) Enriched 環境飼育およびクロペラスチンはともに、環境化学物質による脳かく乱作用を修復した。このことから、環境化学物質による脳かく乱作用は不可逆的ではないことが示唆された。さらに、(2) 環境化学物質による脳かく乱作用の発現は、飼育環境の違いにより悪化または改善すること、(3) DES 曝露による脳かく乱作用の発現に対する enriched 環境飼育の修復効果には、海馬歯状回の細胞増殖能の増大、海馬の p-CaMKII および mtHSP70 の減少、プロテオーム解析で変動した脳内分子が関与すること、(4) DES 曝露マウスの受動的回避反応の阻害に対する enriched 環境飼育とクロペラスチンの改善作用に BDNF などの神経活動を調節する脳内分子が共通して関与することが示唆された。しかし、DES 曝露マウスの海馬における p-CaMKII の増加と海馬歯状回における細胞の増殖能に対する enriched 環境飼育とクロペラスチンの作用はともに異なっていたことから、この 2 つの脳機能改善因子の作用メカニズムの一部は独立した機序である可能性が考えられた。

以上、本研究で得られた知見から、第一に、DES のように主にエストロゲン受容体を介して脳かく乱作用を示すとされる物質以外でも、その低用量の胎仔期後期曝露は脳かく乱作用を示すことが示唆された。また、その脳かく乱作用の行動学的、神経化学的発現型は DES とは異なっていることがわかった。第二に、DES の脳かく乱作用のマーカーとみなせる海馬・大脳皮質の p-CaMKII レベルの増加は、エストロゲンレベルをはじめとする様々な要因によって変動することが示唆された。第三に、プロテオーム解析の結果から、DES による海馬 p-CaMKII レベルの増加は、mtHSP70 の増加に続いて起こっている可能性が示唆された。最後に、不可逆的と考えられていた DES などの環境化学物質による脳かく乱作用は、enriched 環境飼育やクロペラスチン処置により発現しなくなったことから、作用は可逆的であり、治療し得る可能性が示唆された。これらの知見は、低用量環境化学物質の胎仔期曝露による生体影響、特に、高次脳機能に対する影響を考察し、さらに研究するに当たっての貴重な基礎知見となり得る。