

3月26日(水) G会場 パシフィコ横浜会議センター 5F 502
一般シンポジウムS05 10:00~12:00

若手が切り開く Molecular Toxicology 3
~化学物質の脳神経毒性とそのメカニズム~
Molecular Toxicology Led by Young Scientists 3
~Neurotoxicity of Chemical Substances in the Brain~

古武 弥一郎¹, 中西 剛²(¹広島大学大学院医歯薬学総合研究科, ²大阪大学大学院薬学研究科)

環境中に存在する化学物質は一生涯を通じて様々な形で体内に取り込まれ、各器官、臓器に影響を与える。中でも脳神経系を構成する神経細胞は分裂終了細胞であり、再生が極めて困難であると考えられているため、神経系に対する作用は不可逆的である場合が多い。特に胎児期や新生児期は、化学物質の毒性に対する感受性が高く、また性行動や生理機能など本能的なものから、記憶や学習などの高次機能に至るまでのすべての脳機能の基盤を形成する重要な時期であるため、化学物質の与える影響のみならず、その作用機構の解明は極めて重要な命題である。本シンポジウムでは、脳における病態や、胎児期における脳の性分化、記憶などの高次機能に至るまで、脳の様々なイベントに対する化学物質影響を分子レベルで検討を試みている若手の先生方に講演頂き、脳神経毒性における Molecular Toxicology の方向性について議論を深めたい。

S05-1

環境化学物質のタンパク結合を介した作用とパーキンソン病

Actions of environmental chemicals via protein binding and Parkinson's disease

○古武 弥一郎¹, 幸田 龍紀¹, 太田 茂¹(¹広島大院医歯薬)

パーキンソン病 (PD) は黒質から線条体に投射するドパミン神経が選択的に脱落する神経変性疾患であり、遺伝的素因と環境因子の相互作用により発症するという説が有力である。近年、家族性 PD の原因遺伝子が特定され、コードするタンパク質の異常による病気の解明が精力的に進められている。ある種の家族性 PD の原因は、parkin という遺伝子がコードする Parkin タンパク質の機能不全であることが明らかとなっている。Parkin はユビキチン E3 リガーゼであり、家族性 PD では Parkin に変異があるため、Parkin の基質となるタンパク質が分解されずに細胞内に蓄積される。しかし、特定の遺伝子異常に起因すると考えられる家族性 PD は 1 割弱に過ぎず、残りの 9 割強は遺伝子異常との関係が認められない孤発性 PD であることが知られている。そのため、神経毒性物質に代表される環境因子が重要な役割を果たしていると考えられている。我々は環境中に存在し、孤発性 PD 患者脳脊髄液中で増加している 1BnTIQ という物質の結合タンパク質を調べたところ、チューブリン β に結合することが示唆された。孤発性 PD 患者脳脊髄液中に存在する濃度付近の 1BnTIQ を SH-SY5Y 細胞に 1ヶ月間添加しておく、チューブリン β のユビキチン化阻害が認められた。チューブリンは Parkin の基質となることが報告されているため、この結果は環境因子と家族性 PD のタンパク質異常が同一現象(チューブリンのユビキチン化阻害)を引き起こす可能性を示唆している。この現象について考察し、チューブリンのユビキチン化を阻害する化学物質と PD との関係について議論を深めたい。

S05-2

遺伝子発現異常による興奮性・抑制性不均衡化と脳・神経機能発達障害との関連

Imbalance of excitatory and inhibitory neurons caused by pyrethroids and valproic acid; Relationship between gene expression and neuronal diseases

○福地 守¹, 二井 卓哉¹, 南野 恵¹, 高崎 一朗², 田渕 明子¹, 津田 正明¹
(¹富山大院薬,²富山大生命科学先端研セ)

脳・神経系は、出生後、適切な入力を段階的に受けることにより、適切に神経ネットワークを形成することで発達する。そのため、未熟な発達段階において、環境化学物質や薬剤などの暴露により、神経ネットワーク形成に異常が起こると、その後の発達の異常や神経機能発達障害を引き起こすことが危惧される。我々は、ピレスロイド系殺虫剤デルタメトリン、および抗てんかん薬であるバルプロ酸が、脳由来神経栄養因子 BDNF 遺伝子発現を誘導することを明らかにした。BDNF は、脳・神経系の発達に根幹的な役割を担う因子であることから、未熟な発達段階におけるこれら薬物への暴露は、過剰に BDNF 発現を誘導し、異常な神経ネットワークを形成する危険性がある。実際に、発達段階の動物へのデルタメトリン投与により、その後の脳の発達に障害が認められること、バルプロ酸を服用した妊婦から生まれた子供に自閉症発症率が高いこと、などの報告がなされている。そこで、デルタメトリンやバルプロ酸が神経細胞に及ぼす影響を、遺伝子発現レベルで解析するため、Affymetrix 社の GeneChip を用いて網羅的に解析した。その結果、GABA A 受容体サブユニットや K⁺/Cl⁻のコトランスポーター KCC2 など、神経系の興奮・抑制性に関係する遺伝子発現に変化が認められた。したがって、これら薬剤は、神経系の興奮・抑制性のバランスの異常を引き起こす可能性のあることが示された。そこで本シンポジウムでは、デルタメトリンやバルプロ酸が神経系の遺伝子発現に及ぼす影響と神経機能発達障害との関連性について考察したい。

S05-3

発達期の脳の性分化機構におよぼす化学物質の影響

○塚原 伸治¹(¹国立環境研究所 環境リスク研究センター)

近年、胎児や小児に対する環境リスクの増大が懸念され、環境中の化学物質に対する子供の脆弱性や健康影響について関心が払われている。発達途上にある個体の構造と機能は未成熟であるため、化学物質の影響は成熟個体に対するそれと比べて性質や程度が異なる。多くの場合、幼若個体の化学物質に対する感受性は高く、その影響は成熟個体に比べて強いと考えられている。さらに、発達期の脳は性的に未分化であるので、脳の性分化に対する化学物質の影響が懸念される。そこで、我々は、化学物質の影響を左右する要因としてライフサイクルにおける発達期と性別に着眼して、揮発性有機化合物の脳発達に及ぼす影響について解析をすすめている。脳の性分化は性ステロイドホルモンの影響を受けている。ラットやマウスでは、精巣より分泌されたテストステロンが脳内でエストラジオールとして作用することで脳が雄化する。性分化の臨界期にあたる胎生後期のラットにトルエンを曝露した結果、脳内エストラジオール含量が雄胎仔において低下した。さらに、脳内アロマトラーゼの発現量がトルエン曝露によって減少した。このことは、エストラジオール含量低下がトルエンのアロマトラーゼに対する影響に起因することを示唆する。また、発達期のアポトーシス細胞死の性差が脳構造の性差形成に重要であるが、アポトーシス関連分子である Bcl-2 と Bax の発現に性差があり、エストラジオールがこれら分子の発現を調節することを最近明らかにした。これらの結果は、トルエン曝露が性ステロイドホルモンのレベルを変化させて、発達期の脳の性分化のプロセスに影響を及ぼす可能性があることを示している。

環境化学物質の発達期曝露によるラット脳高次機能への影響**Effects of maternal exposure to environmental chemicals on the higher-order brain function of rat offspring**○掛山 正心¹(¹東大院医)

我々は、英国エジンバラ大学リチャード・モリス教授研究室との共同研究により、ラットを被験体とした新たな対連合学習行動試験法を確立した(Tse et al. Science 316:76-82, 2007)。Flavor Map Testと名づけたこの試験法は、我々の知る限り、げっ歯類において世界で一番難解な学習試験である。これまでヒトやサルを用いなければ難しかった、脳高次機能の中でも極めて高次の学習機能を測定することができる。我々はこの試験法を用いて、ダイオキシンやメチル水銀など環境化学物質の発達期低用量曝露が脳高次機能に及ぼす影響について解析を進めている。今回のシンポジウムでは、学習行動試験で見られた曝露影響について概説するとともに、我々が開発中の Imuno-LMD 法について紹介する。Imuno-LMD 法は、免疫組織染色を行った組織切片より特定の細胞集団を回収し、遺伝子発現解析を行う方法である。Imuno-LMD 法を用いることで、我々は海馬を亜領域 (CA1, CA2, CA3, DG) に正確に分割し、それぞれの組織から再現性高く RNA を抽出することに成功した。リアルタイム RT-PCR 法により遺伝子発現量について検討したところ、メチル水銀の曝露動物では、グルタミン酸トランスporter 遺伝子の発現量に変化があらわれたので報告する。神経細胞は、その細胞が他の神経細胞とネットワークを構築し、特異的な機能を発現する。よって、限定された領域の細胞集団を特異的に回収し分子生物学的解析を行うことで、毒性影響をよりクリアに検出することが可能になると考えられる。