

[課程-2]

審査の結果の要旨

凌文婷

本研究は低用量曝露に伴い発達神経毒性が生じることが報告されていたビスフェノール A (BPA) とダイオキシン (TCDD) をモデル化学物質とし、胎仔期環境化学物質曝露による大脳皮質発生に及ぼす影響の解析を目的として、下記の結果を得た。

1. 神経前駆細胞に子宮内胎仔電気穿孔法 (*in utero electroporation*, IUE 法)により蛍光遺伝子を導入して神経細胞移動の可視化する実験方法を毒性学へ応用した。妊娠 14.5 日目の母マウスに BPA を毎日曝露し(0, 40, 400 μ g/kg b.w./ day)、IUE 法により mCherry を E14.5 に導入して妊娠 18.5 日目の胎仔の大脳皮質発生への影響の解析を行い、BPA40 群が対照群や BPA400 群よりも大脳皮質における神経細胞の移動が遅延していたことを見いだした。その結果、BPA 曝露は胎仔期の大脳形成に低用量特異的な影響が示唆された。
2. 脳内モノアミン量を HPLC-EC 法により解析し、BPA400 群の前脳の Dopamine と代謝物 DOPAC, HVA の含有量が BPA40 群より有意に高くなること、また、BPA400 群の中脳と後脳の 5-HT 代謝回転が対照群より有意に低いことを見いだした。その結果から、胎児期の BPA 曝露により、脳のモノアミン代謝が影響を受けることが示された。
3. 胎児期 BPA 曝露影響の毒性メカニズムの検討として、定量的 PCR 法により mRNA 発現量を解析し TrkB と Robo1 の発現変化を見いだした。
4. 妊娠 12.5 日目の母マウスに TCDD を曝露し(0, 0.6, 3.0 μ g/kg b.w.)、IUE 法により RFP を E14.5 に導入して出産日に胎児の大脳皮質の神経細胞移動の解析を行い、大脳皮質における神経細胞の移動が TCDD 曝露群で遅延していたことを示した。
5. 胎仔期 TCDD 曝露影響の毒性メカニズムの検討として、定量的 PCR 法により mRNA 発現量を解析し、Cyp1a1, Cyp1b1, AhRR, Cxcl4, Pitx3, and Pisd-ps3 mRNA の発現変化を見いだした。
6. 胎仔期 TCDD 曝露に伴う毒性発現における AhR の役割を検討するため、感受性が高い B6 マウスと感受性が低い B6D2 マウスを用いて、大脳皮質の厚さをエンドポイントとして解析を行った。TCDD 曝露により Cyp1a1 と Cyp1b1 の発現量は B6 マウスが B6D2

マウスより高く、B6 マウスの大脳皮質の厚さが減少していた。高用量 TCDD 曝露群では対照群に比べて、B6D2 マウスの神経細胞移動が遅延していた。以上の結果から、TCDD 曝露による発達神経毒性に AhR が関係することが示唆された。

7. AhR が大脳皮質の神経細胞移動にとって必須の役割を有するという仮説を検証するために、conditional AhR ノックアウト (AhR-KO) マウスを Cre-loxP システムによって作出した。IUE 法により GFP を E14.5 に導入して E18.5 に神経細胞移動の解析を行ったところ、AhR-KO 群が対照群と比較して神経細胞移動が遅延していることを見いだした。すなわち、AhR が神経細胞移動で重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

以上、本論文は、胎仔期 BPA、TCDD 曝露が胎仔の大脳皮質の発達に及ぼす影響を明らかにし、発達神経毒性のメカニズムの一端を明らかにした。学位の授与に値すると判断する。