

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名

根岸 隆之

論文題目 Impact of endocrine disrupting chemicals on mammalian central nervous system development

(内分泌攪乱化学物質が哺乳類中枢神経系発達に与える影響の検索)

環境中の化学物質の中にはヒト生体内でホルモン様あるいは抗ホルモン様作用を発現するものがある(内分泌攪乱化学物質)。最近、正常な中枢神経系の発達が外因性の内分泌攪乱化学物質による干渉をうけることにより、最終的に精神活動ないし学習能力等に影響を与える可能性が指摘されている。本論文はサルとラットを用いて、被験物質の神経系発達に対する影響のエンドポイントとして行動発達を評価し、さらにそのメカニズムを推察するために培養細胞を用いた評価系を確立したものである。

第1章では内分泌攪乱化学物質の周産期暴露が行動発達に与える影響の検証をしている。

すなわち、アカゲザルにおいて周産期ダイオキシン暴露が次世代個体の行動発達に与える影響を評価した。ダイオキシン暴露個体は同世代個体との出会わせテストにおいて新奇場面における恐怖心が薄く、他個体に対してより多く接触を試みた。本実験によりダイオキシン暴露による社会的行動発達の異常が明らかとなった。

また、F344 ラットにおいて、ビスフェノール A (BPA) を 4、40、400 mg/kg/day の濃度で母ラットに経口投与を行い次世代の生後行動発達を評価した結果、BPA は電気刺激や新奇場面といった恐怖刺激に対する反応性を変化させることが明らかとなった。

F344 ラットにおいて BPA (0.1mg/kg/day)、および NP(0.1 および 10 mg/kg/day) を母ラットに経口投与し次世代オスの行動発達におよぼす影響を検討した。一連の行動学的試験の結果より、周産期低濃度 BPA および低濃度 NP 暴露により、電気刺激という痛みを伴う恐怖条件に対し過敏になること、さらにモノアミン系の発達異常が明らかとなった。

PCB を含む甲状腺ホルモン作用を攪乱する化学物質が注意欠陥多動性障害(ADHD)の危険因子の一つとして危惧されている。本実験では抗甲状腺剤プロピオチオウラシル(PTU)による実験的周産期甲状腺機能低下状態が ADHD 様の行動発達異常をもたらす可能性について検証した。一連の行動学的試験から、周産期甲状腺機能低下による学習障害、注意力低下および静止行動を嫌う多動性といった ADHD 様の行動学的特質が示された。

第2章では内分泌攪乱化学物質による中枢神経系発達障害メカニズムの推測を行っている

すなわち、内分泌攪乱化学物質のプログラム細胞死への影響を評価するため、BPA および NP の暴露が Staurosporine (ST) 誘発神経細胞死に与える影響を評価した。ラット由来海馬、大脳皮質神経細胞において、培養4日目に BPA、NP を 24 時間暴露したのち、ST により神経細胞死を誘発し 24 時間後の神経細胞死または 6 時間後の Caspase-3 の活性を定量化した。その結果、BPA および NP は細胞死および Caspase-3 活性化に対し抑制効果を示した。これらの結果より発達期の BPA および NP 暴露による行動発達異常の一因としてプログラム細胞死の阻害が考えられる。

第3章では、ヒト中枢神経系発達に対するリスク評価のためのサル由来神経系細胞初代培養系の確立について述べている。すなわちカニクイザル胎仔由来大脳神経細胞の初代培養系の確立を試みた。まずサル胎仔の大脳を凍結することにより長期保存を可能とし、その後の培養では多数の神経系細胞を得ることができた。さらに機能的シナプスを形成させ、神経活動を観察することに成功した。

また、カニクイザル胎仔由来神経細胞、アストログリアおよびミクログリアの無血清培養液中選択培養法を確立した。化学的に限定された無血清培養液中での神経系細胞の選択的培養は微量の化学物質の影響を神経系異種細胞間の相互作用を排して評価することが可能であり、内分泌攪乱化学物質の影響評価に非常に有用である。

以上の結果より本研究で用いた内分泌攪乱化学物質は一般毒性を示す濃度以下でも神経発達に影響を与えることが明らかとなった。また、本研究で得られた評価系は今後、新規の内分泌攪乱化学物質の中枢神経系発達への影響を評価する際に、種差の検討も含め非常に効果的な評価系であると考えられる。このように本論文は内分泌攪乱化学物質の神経発達に対する影響を総合的に評価した研究であり、ヒトへの影響の外挿を含め、獣医学領域での貢献が多岐である。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。