

正常色素形成がドーパミン合成および自発運動に及ぼす影響：発達中ゼブラフィッシュを用いた検討

酪農学園大学・獣医学群 寺岡 宏樹

愛媛大学沿岸環境科学研究センター化学汚染・毒性解析部門 野見山 桂

1. 研究目的：難燃剤として知られるポリ塩化ビフェニル (PCB) とポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDE) はその安定性、生物蓄積性、毒性のため多くの国で使用が禁止ないしは制限されている。最近、我々は、PCB (Arochlor1245) に加えて PBDE (PBDE-47) もゼブラフィッシュ胚の運動活性を増強し、この作用にはドーパミン代謝が関与することを報告した (Tanaka et al., 2018)。昨年度に引き続き、本研究ではこの作用機序検討の過程で示唆を得た、中枢ドーパミンと基質を共有するチロシナーゼ活性との関係を検討した。また、PCB や PBDE (ハロゲン化難燃剤) の作用点についてもさらに調べた。
2. 研究内容：1) ドーパミン (DA) 産生の律速酵素 (チロシンヒドロキシラーゼ: th1) のノックダウンはゼブラフィッシュ胚 (受精後 26 時間前後) の運動活性を増強した。2) 小胞モノアミントランスポータータイプ 2 (VMAT2) は、カテコールアミン作動性神経終末の細胞質で合成された DA を分泌顆粒へ取り込む。VMAT2 のノックダウンは、ゼブラフィッシュ胚の運動活性を増強した。3) th1、VMAT2 のノックダウンによる運動増強効果は DA 合成の基質である L-ドーパや L-チロシン処置で抑制された。4) 両ハロゲン化難燃剤処置は受精後 60 時間ゼブラフィッシュ稚魚の DA 含量を低下させる一方、DA のモノアミンオキシダーゼ (MAO) 代謝産物である 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸 (DOPAC) の DA に対する比率 (DOPAC/DA 比) を増加させた。5)メラニン合成における律速酵素であるチロシナーゼ遺伝子のノックダウンは、ハロゲン化難燃剤処置や前述の DA 合成経路阻害による運動活性増強を抑制した。5) チロシナーゼの阻害薬や遺伝子ノックダウンは受精後 60 時間ゼブラフィッシュ稚魚の DA 含有量を増加させた。6) 両ハロゲン化難燃剤は th1 や VMAT2 発現量に有意な影響を与えなかった。
3. 研究成果：これらの結果は、メラニン合成経路はドーパミン合成経路と基質を競合することにより、中枢神経を含めた発生期の DA 代謝を調節している可能性を示すものである。発生初期は血液脳関門が未成熟であることから、メラニン代謝の変化がカテコールアミン代謝を介して発達後の行動に影響を与える可能性も考えられる。また、PCB がげっ歯類由来の VMAT2 を *in vitro* で抑制することが報告されていること、MAO は細胞質内の DA を DOPAC へ分解することを考え合わせると、ハロゲン化難燃剤は VMAT2 活性を阻害することで DA

合成を抑制する可能性が示唆される。

4. 成果発表：

1) 田中泰彰、藤原真理、北澤多喜雄、寺岡宏樹

発達初期ゼブラフィッシュにおける自発運動はメラニン代謝に影響される

第5回ゼブラフィッシュ・メダカ創薬研究会 2019年11月2日

2) Hiroki Teraoka

Neurobehavioral toxicity of halogenated flame retardants in development

International Symposium on Chemical Hazard in Wildlife Feb 5, 2020

5. 今後の問題点：運動活性を測定している受精後26時間付近のカテコールアミンの測定を、抽出法の変更などで再度試みたができなかった。引き続き濃縮法の探索を続けるとともに、受精後60時間付近における行動変化を検討する。