

研究課題名

臭素系難燃剤 BDE-209 がラットの超音波コミュニケーションに及ぼす影響と中枢作用機序の解明

共同研究者名

代表者 和田博美 北海道大学大学院文学研究院
分担者 綦 苡茗 北海道大学大学院文学研究科
拠点構成員 野見山 桂 愛媛大学理学部

研究目的

臭素系難燃剤 BDE-209 が、どのような作用機序によって社会的場面の超音波コミュニケーションに変異を引き起こすのかを解明する。

研究内容

- 行動実験 妊娠 15 日～出産後 21 日目まで、母ラットに BDE-209 を摂取させた。投与量は 0 (統制群)、500mg/kg/day (低投与群)、1000mg/kg/day (高投与群) とした。生後 4、7、10、13、16、19、22 日目に乳仔ラットを母子分離し、超音波発声を 5 分間測定した。生後 22 日目に離乳させて個別飼育した。生後 43～45 日目の 3 日間、高投与群と統制群それぞれの群内で同性・同腹の 3 匹を 1 つのケージに入れて 15 分間の仲間遊びを行い、動画を録画した。
- 検体採取 生後 32～34 日目に採血を行い、脳と肝臓も採取した。

研究成果

■乳仔期ラット

1. 超音波発声(図 1) 発声の長さ(図 1)と 3kHz 以上の周波数変調型発声頻度に BDE-209 の影響があり [$F(2,24)=4.457, p<0.05$, $F(2,24)=4.006, p<0.01$]、高投与群は統制群より発声が短く、周波数変調型発声の頻度も減少した。

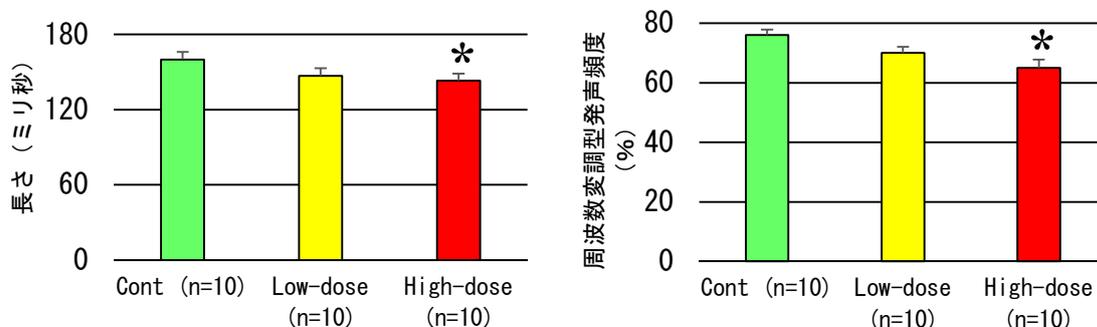


図 1 BDE-209 が超音波発声の長さ(図 1)と周波数変調型発声に及ぼす影響 (* $p<0.05$ vs Control)

■思春期ラット

1. 体重 (図 2) 生後 32~34 日目の体重に BDE-209 の影響が認められ [オス : $F(2,25)=7.546, p<0.005$, メス : $F(2,24)=15.624, p<0.001$]、高投与群、低投与群の体重は統制群より増大した。

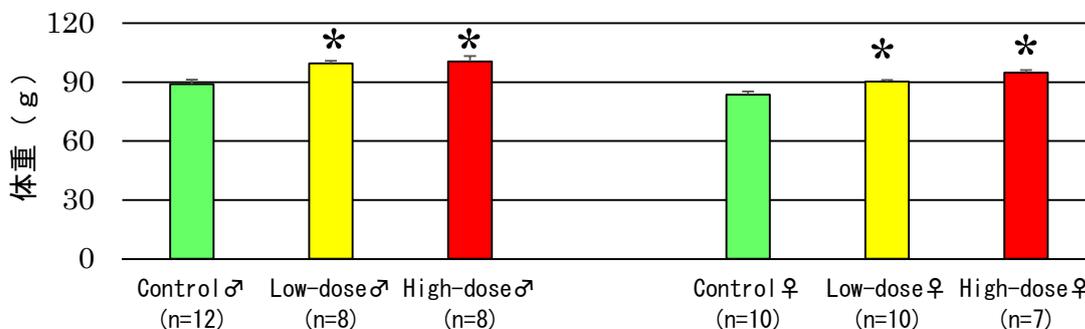


図 2 BDE-209 が生後 32~34 日目の体重に及ぼす影響 (* $p<0.05$ vs Control)

2. 仲間遊び行動 (図 3~4) nape attack (首筋への噛みつき) に BDE-209 の影響があり [$F(1,16)=12.625, p<0.005$]、高投与群で増加した。交互作用があり [$F(2,32)=3.687, p<0.05$]、3 日目の高投与群オスで nape attack が増加した。boxing と wrestling (向き合ってボクシングをする、取っ組み合う) と pinning (相手を腹這いにしてのしかかる) に BDE-209 の影響があり、高投与群はこれらが減少した [$F(1,16)=8.671, p<0.01, F(1,16)=10.992, p<0.005$]。

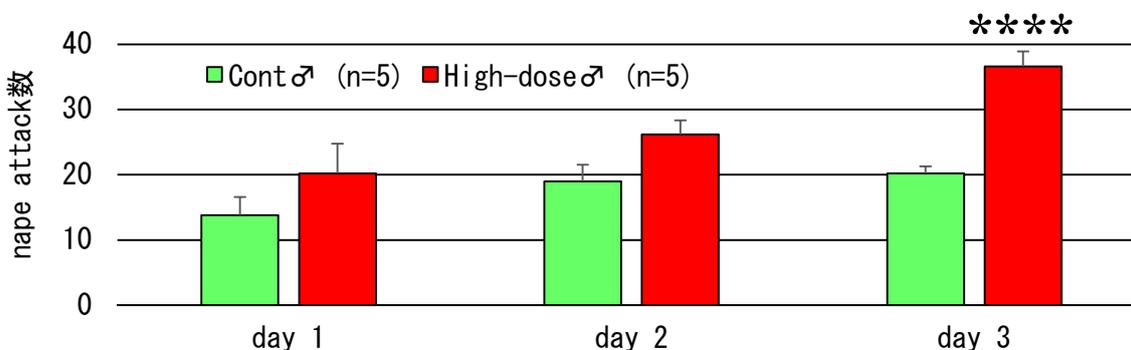


図 3 BDE-209 が nape attack に及ぼす影響 (**** $p<0.001$ vs Control)

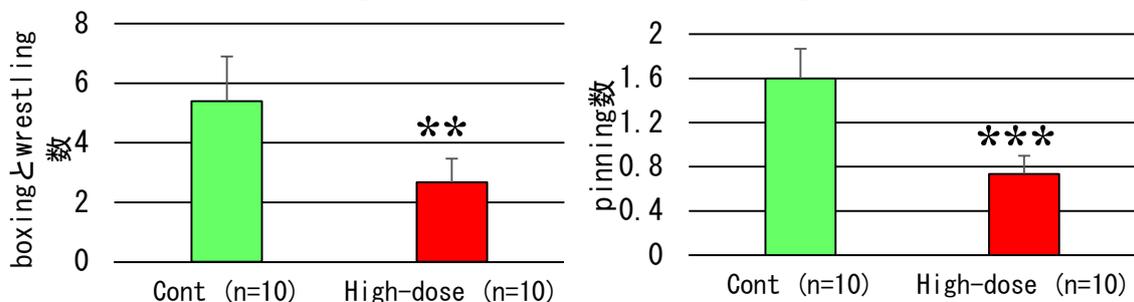


図 4 BDE-209 が boxing と wrestling、pinning に及ぼす影響 (** $p<0.01$, *** $p<0.005$ vs Control)

3. 甲状腺ホルモン (図 5~6) FT3 に BDE-209 の影響があり [オス : $F(2,25)=4.367, p<0.05$, メス : $F(2,24)=7.946, p<0.005$]、オス高投与群は低投与群より、メス高・低投与群は統制群より増加した。FT4 に BDE-209 の影響があり [$F(2,24)=5.894, p<0.01$]、メス高・低投与群が統制群より増加した。

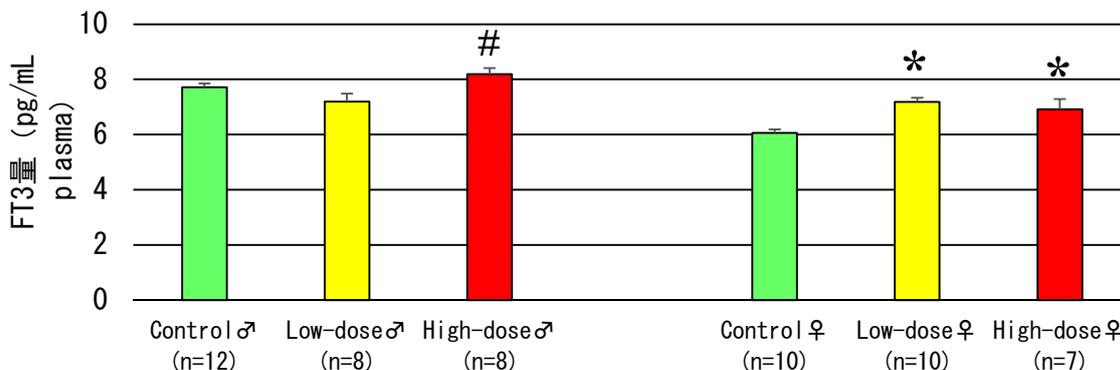


図 5 遊離型 T3 に及ぼす影響 (# $p<0.05$ vs Low-dose, * $p<0.05$ vs Control)

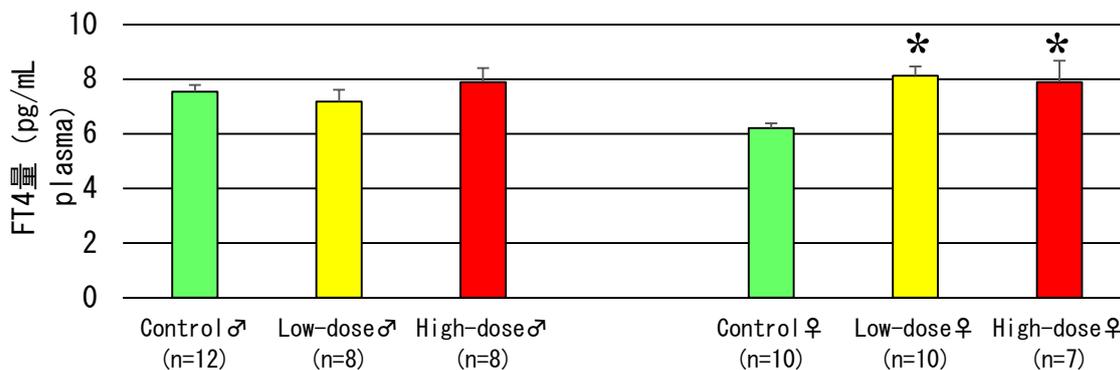


図 6 遊離型 T4 に及ぼす影響 (* $p<0.05$ vs Control)

4. 脳内神経伝達物質および代謝物 (図 7) オスのセロトニンに BDE-209 の影響があり [$F(2,20)=27.645, p<0.001$]、高投与群>低投与群>統制群であった。その代謝物 5-MT に BDE-209 の影響があり [$F(2,20)=90.026, p<0.001$]、高投与群と低投与群は統制群より減少した。チラミンにも BDE-209 の影響があり [$F(2,20)=4.584, p<0.05$]、高投与群は統制群より増加した。

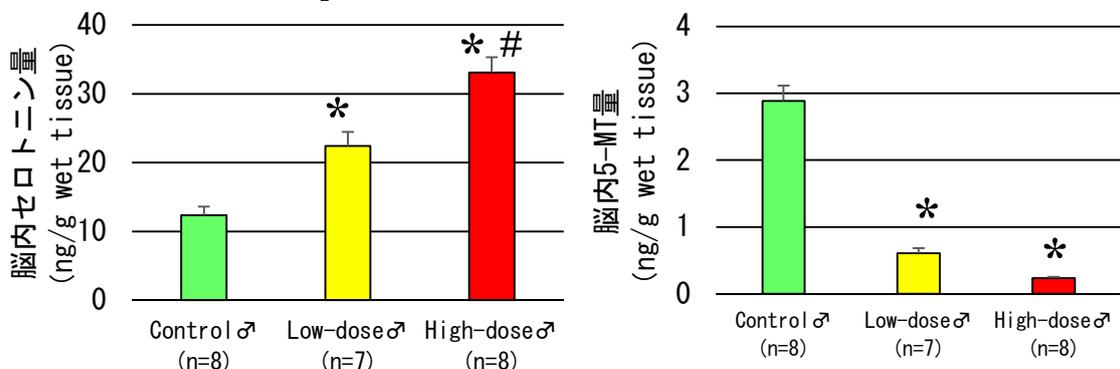


図 7 セロトニンと 5-MT に及ぼす影響(* $p<0.05$ vs Control, # vs Low-dose)

■結果のまとめと考察

母体経由で BDE-209 に曝露された乳仔ラットは、母親の注意を引く周波数変調型の超音波発声を減少させた。BDE-209 は超音波を介した意思伝達機能を低下させ、乳仔ラットの生存を脅かす可能性のあることが示された。さらに思春期ラットの超音波コミュニケーションでは不安や恐怖など不快な情動状態を示す発声が増加し、より激しい攻撃性を示す **boxing**、**wrestling**、**pinning** などの仲間遊び行動が減少した。これらの結果から一貫して、BDE-209 が超音波コミュニケーションを介した社会的相互行動を阻害することが明らかになった。

体重と甲状腺ホルモンは高投与群と低投与群で増加した。甲状腺ホルモン分泌が過剰になると基礎代謝が亢進し、体重は減少する（バセドウ氏病）。しかし高投与群・低投与群とも体重が増加しており、バセドウ氏病の症状と一致しない。BDE-209 は異なる作用機序によって体重増加と甲状腺ホルモン増加を引き起こしているのかもしれない。

脳内神経伝達物質では高投与群のセロトニン量が増加した。セロトニンは情動や攻撃性の調整に関わっており、ラットではセロトニンが増加すると仲間遊び行動が抑制されることが示されている。BDE-209 はセロトニン系に作用して仲間遊びを阻害し、不快な情動状態を引き起こして超音波コミュニケーションに影響すると考えられる。セロトニンの代謝物である 5-MT は高投与群で減少した。5-MT はメラトニンとも関わっていることから、睡眠・覚醒リズムへの影響も考えられる。

成果発表

発表を予定していた “Dioxin 2020 (Nantes, France)” および “International Congress of Psychology (Prague, Czech Republic)” が新型コロナ・ウイルスの感染拡大により中止になったため、成果発表はなかった。

今後の問題点

BDE-209 の脳内作用機序については不明な点が多い。BDE-209 は仔ラットに移行・吸収され直接影響を及ぼしたのか、あるいは母体の甲状腺ホルモンや脳内伝達物質に作用し、二次的に仔ラットに影響したのか明確ではない。思春期の仲間遊びでは、BDE-209 がセロトニンを増加させ、それによって二次的に仲間遊びが阻害された可能性が考えられる。

母親の甲状腺ホルモンに BDE-209 の影響はなかったが、思春期ラットでは増加した。このことは BDE-209 が仔ラットに吸収されて作用した可能性を示唆している。甲状腺ホルモンは神経細胞の増殖、分化、移動やシナプス形成など、中枢神経系の機能発達にも重要な役割を果たしている。中枢神経系の発

生・発達期では過剰にシナプスが形成されるが、発達のある段階になるとシナプスの刈り込みが始まり、不要な神経回路は除去されてゆく。今回の思春期ラットは、甲状腺ホルモンが過剰に分泌されたことで神経細胞の増殖やシナプス形成が必要以上に長く続き、刈り込みが効果的に行われなかった可能性がある。その結果、不要な神経回路が除去されず機能的な神経回路が発達しなかったために、超音波コミュニケーションによる意思伝達機能や社会的相互行動に影響があったのかもしれない。BDE-209、甲状腺ホルモン、脳内神経伝達物質について分析が進めば、不明な点も明らかになると期待している。

今回の成果では、昨年の報告書と異なる点も見つかった。今回の検体は思春期に採取したもので、母子分離や仲間遊びなど一切経験していなかった。

BDE-209の影響をよりの確に反映していると言える。昨年の検体は成獣期に採取したもので、直前に交尾行動や闘争行動を経験したラットのものであった。交尾や闘争によって神経伝達物質量が変化することは十分考えられる。甲状腺ホルモンも脳内の総ホルモン量を測定したもので、今回の血漿遊離型甲状腺ホルモンとは異なる。現在分析中の検体は一切の行動実験を経験していないラットのものであり、BDE-209の影響が明確に示されると期待している。

表1に2年間の進捗状況を示した。今年度は新型コロナ・ウイルスの感染が拡大し予定通り研究を進めることが困難であったが、遅延を最小限にとどめることができた。来年度も研究課題を達成できるよう努める所存である。

表1 共同研究の進捗状況

ラット	母ラット	仔ラット		
		乳仔期	思春期	成獣期
発達期				
体重	◎	◎	◎	◎
超音波 コミュニケーション	—	母子分離(◎)	仲間遊び(◎)	交尾行動(○) 闘争行動(◎)
社会的相互行動	—	—	仲間遊び(◎)	交尾行動(○) 闘争行動(○)
不安様行動	—	—	高架式十字迷路 試験(△)	—
他個体認知	—	—	3連箱試験(△)	—
BDE-209	○	—	○	○
脳内神経伝達物質 関連代謝物	○	—	○	○
甲状腺ホルモン	○	—	◎	○

(◎完了、○進行中、△2021年度実施、—実施せず)