

(別紙) 研究内容

研究課題名

環境医薬品の生物影響解明に向けた分子的基盤の確立

研究組織

研究代表者 宮川信一 (東京理科大学先進工学部)

拠点構成員 野見山桂 (愛媛大学沿岸環境科学研究センター)

研究目的

ヒトが服用した医薬品由来の化学物質が、使用後に下水道等を経て河川に流入していることが世界各地で明らかとなっている。これらの医薬品類が環境に放出されたのち、水生生物にどのように作用するか十分に研究されておらず、自然環境および生態系への負荷が懸念されている。本研究は、魚類をはじめとする水生動物の医薬品に対する影響を、分子・細胞・個体レベルで明らかにすることを目的としている。

今年度は、抗うつ薬や抗精神薬等の医薬品曝露によるメダカ等魚類の行動異常を誘導する実験系において、脳内の神経伝達物質(モノアミン系物質)の変動を、高感度 LC-MS によるターゲット分析によって解析した。

研究方法

メダカ (*Oryzias latipes*) の成魚に Mirtazapine 1mg/L、Amitriptyline 0.1mg/L、Chlorpromazine 0.1mg/L を 96 時間曝露した。溶媒として用いた DMSO の飼育水中の終濃度は 0.01% とし、コントロール群には DMSO を 0.01% になるよう飼育水に添加した。採取した全脳は質量を測定後、1 サンプルごとにチューブに移し、液体窒素で直ちに凍結した。曝露期間中は無給餌とした。採取した脳は、愛媛大学沿岸環境科学研究センターに送付し、質量分析法によって、メダカの脳内のモノアミン(ドーパミン、セロトニン、ノルエピネフリン、オクトパミン、チラミン、トリプタミン、3-メトキシチラミン (3-MT)、5-メトキシトリプタミン (5-MT)) の濃度を測定した。統計解析では Dunnett 検定をおこない、 $P < 0.05$ を有意であるとみなした。

研究成果

我々は、医薬品の曝露によって生じるメダカ脳内代謝物の変動を、網羅的なメタボローム解析と、それに続くスパースモデリング部分的最小二乗判別分析（Sparse partial least squares discriminant analysis ; sPLS-DA）によって調べ、ノルアドレナリンや L-DOPA のメチル化によって生成される 3-O-メチルドーパなどを、医薬品曝露と関連する代謝物として得た。そこで本研究では、モノアミン類にターゲットを絞り、Mirtazapine、Amitriptyline、Chlorpromazine を 96 時間曝露したメダカの全脳におけるモノアミン類を LC-MS によって定量し、コントロール群と比較することにした。調べた代謝物は、ドーパミン、セロトニン、ノルエピネフリン、オクトパミン、チラミン、トリプタミン、3-メトキシチラミン (3-MT)、5-メトキシトリプタミン (5-MT) である。

メスでは、セロトニン、ドーパミン、オクトパミンの濃度が Chlorpromazine 曝露によって有意に増加した (Fig. 1)。また、8 種類のモノアミン全てが Amitriptyline 曝露によって増加傾向、Mirtazapine 曝露によって減少傾向を示した。一方でオスは、コントロールと医薬品曝露群との間に有意差はなかった (Fig. 2)。しかし、ノルエピネフリン、セロトニン、ドーパミン、オクトパミン、3-MT はメスと同様に、Amitriptyline、Chlorpromazine 曝露によって増加傾向、Mirtazapine 曝露によって減少傾向を示した。

今後の課題

- ・1回目と2回目に実施した際のばらつきが大きかったため、来年度に再現性を評価する。
- ・サンプルによって雌雄の数が異なっていたため、代謝物の雌雄差を評価できなかった。雌雄の数をそろえることにより、医薬品類に対する反応の雌雄差を評価する。
- ・モノアミン類だけでなく、他の代謝物やホルモンの変動も考慮する必要がある。来年度は、甲状腺ホルモン等の測定を目指す。

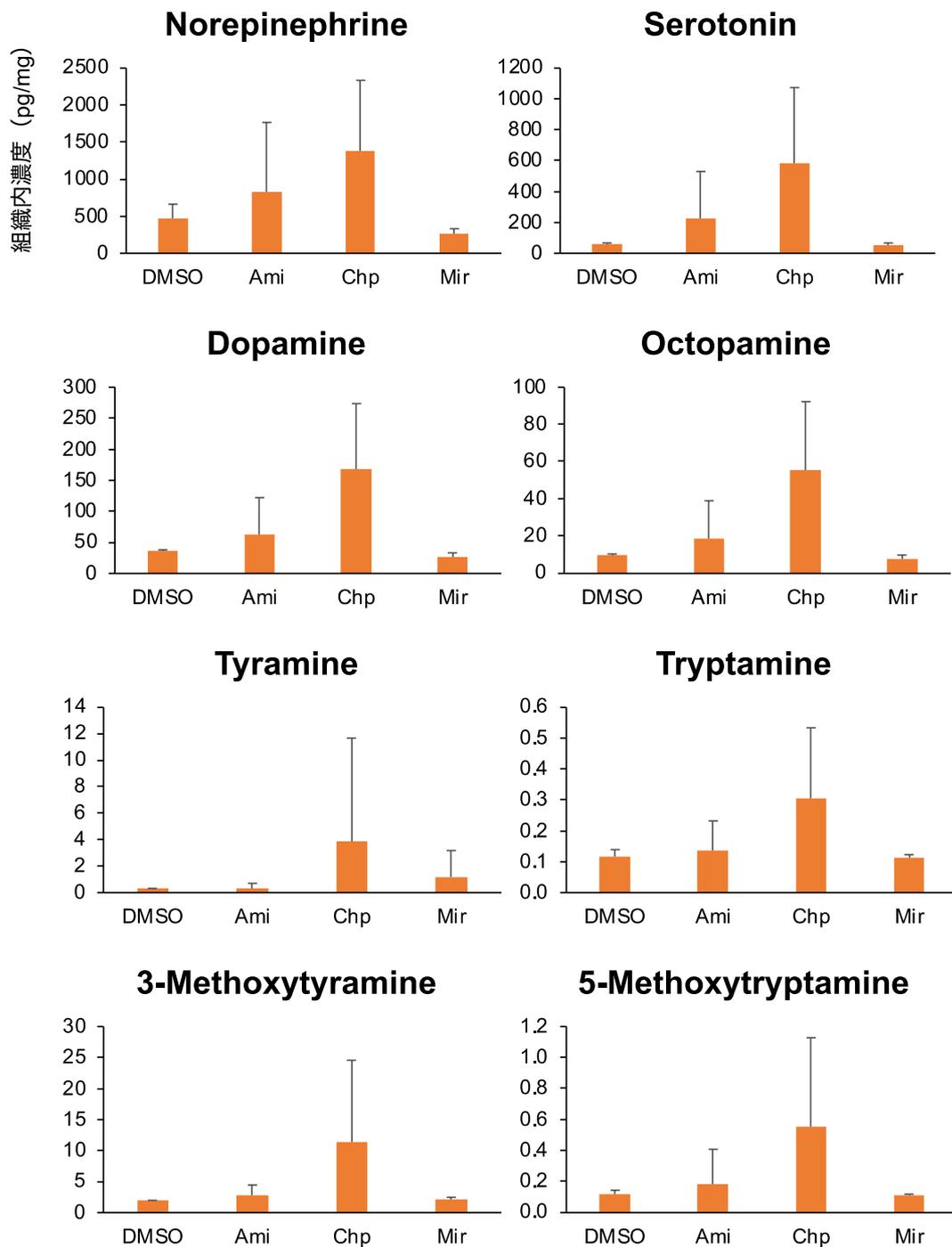


Fig. 1 メダカメス全脳におけるモノアミン濃度

縦軸は組織内濃度 (pg/mg) を示している。横軸は曝露した医薬品を示し、左からDMSO、Amitriptyline、Chlorpromazine、Mirtazapineである。エラーバーは標準偏差を示す。

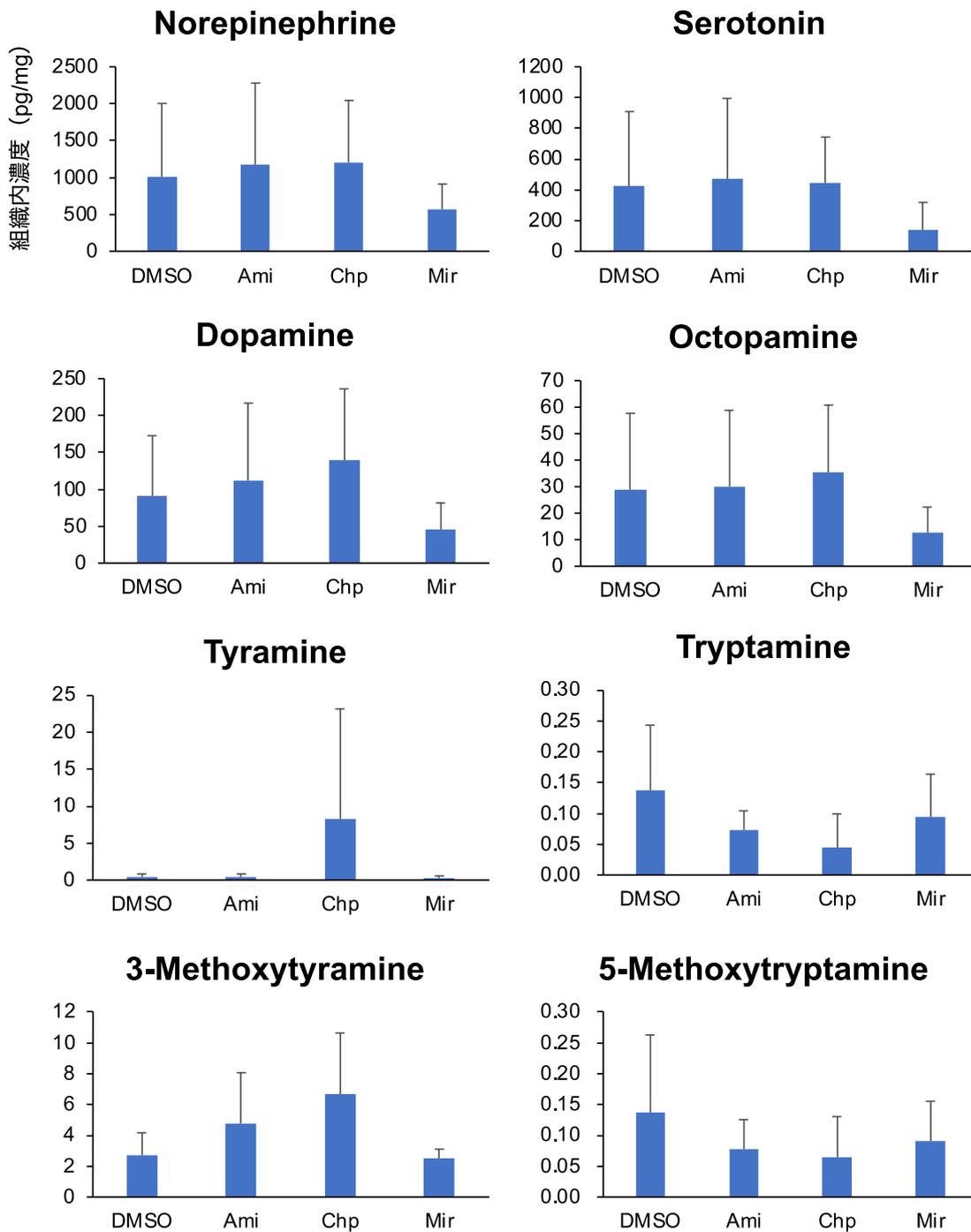


Fig. 2 メダカオス全脳におけるモノアミン濃度

縦軸は組織内濃度 (pg/mg) を示している。横軸は曝露した医薬品を示し、左からDMSO、Amitriptyline、Chlorpromazine、Mirtazapineである。エラーバーは標準偏差を示す。