

内分泌攪乱化学物質ノニルフェノールの学習記憶を主としたラット中枢神経機能に及ぼす影響についての研究

長崎大学大学院生産科学研究科
川口 進一郎

【目的】

非イオン界面活性剤である nonylphenol ethoxylate の原料および分解産物である nonylphenol (NP)は内分泌攪乱化学物質の1つであり、弱いエストロゲン活性を有している。NP 曝露による生殖系、免疫系への影響は多数報告されているものの、中枢神経系への影響を報告した例はまだ少ない。そこで、本研究では、NP 周産期曝露、および NP 成獣期曝露が学習記憶を主とした中枢神経機能に及ぼす影響について検討した。

【第1章】低用量 NP 周産期曝露が雄性ラットの学習記憶を主とした中枢神経機能に及ぼす影響

＜方法＞本研究では、Sprague-Dawley (SD)系妊娠ラットとその雄性仔ラットを用いた。NP は corn oil に溶解し、NP (1 mg/kg, 10mg/kg) もしくは溶媒を 1 mg/kg の割合で妊娠 10 日目から出産後 14 日目まで母ラットに投与した。出生した雄性仔ラットは、6 週齢時に投与群ごとに群分けされ、7~12 週齢時に、MAZE test を用いて空間学習記憶能を、Step-through passive avoidance test を用いて体験型学習記憶能を、Open-field test を用いて一般活動性および情動性を、Elevated plus-maze test を用いて不安様行動を評価した。

＜結果および考察＞低用量 NP 周産期曝露は、雄性仔ラットの体験型学習記憶能、一般活動性および情動性には影響を及ぼさず、特異的に空間学習記憶能を向上させた。この影響は 10 mg/kg NP 群よりも 1 mg/kg NP 群の方が顕著であり、NP 周産期曝露と空間学習記憶能向上の非単調用量反応関係が示唆された。

【第2章】成獣期ラットへの低用量 NP 経口投与が学習記憶を主とした中枢神経機能に及ぼす影響

＜方法＞本研究では、SD 系雌雄ラットを用いた。NP は corn oil に溶解し、NP (0.5 mg/kg, 5 mg/kg) もしくは溶媒を 1 mg/kg の割合で MAZE test 終了後もしくは、Step-through passive avoidance test のトレーニング終了後 30 分以内、Open-field test、Elevated plus maze test の前日に投与された。7~13 週齢時に各種行動実験を用いて、空間学習記憶能、体験型学習記憶能、一般活動性および情動性、不安様行動への NP 経口投与の影響を評価した。

＜結果および考察＞低用量 NP 経口投与は、成獣期雌雄ラットの空間学習記憶能を若干低下させ、雌性ラットの体験型学習記憶能、情動性を低下させた。一方で、低用量 NP 経口投与は雄性ラットの体験型学習記憶能、情動性に影響を及ぼさなかった。このため、低用量 NP 経口投与が中枢神経機能に及ぼす影響は、雄性ラットよりも雌性ラットの方が顕著に表れると推察された。

【第3章】NP 海馬内微量注入が雄性ラットの学習記憶を主とした中枢神経機能に及ぼす影響

＜方法＞8 週齢時に SD 系雄性ラットの背側海馬 1 mm 上方にガイドカニューレを両側に植え込んだ。MAZE test 終了後もしくは、Step-through passive avoidance test のトレーニング終了後 30 分以内、Open-field test、Elevated plus maze test の前日に NP (10 µg/2 µl/side)、溶媒または生理食塩水の両側海馬内微量注入を行った。10~13 週齢時に各種行動実験を用いて、空間学習記憶能、体験型学習記憶能、一般活動性および情動性、不安様行動への NP 経口投与の影響を評価した。

＜結果および考察＞NP 海馬内微量注入は雄性ラットの空間学習記憶能を低下させ、さらに雄性ラットの活動性を若干上昇する可能性が示唆されたものの、体験型学習記憶能および情動性には影響を及ぼさなかった。海馬は学習記憶において重要な役割を担っている脳領域であり、本実験結果から、NP が空間学習記憶能に影響を及ぼす際の主要な作用部位は海馬であると推察された。

【結論】

脳の発達に重要な時期である胎児期から新生児期の低用量 NP 周産期曝露は成長後の雄性ラットの空間学習記憶能を向上させたが、成獣期雌雄ラットへの低用量 NP 経口投与は空間学習記憶能を若干低下させ、雌性ラットの体験型学習記憶能、情動性を低下させた。この結果は、脳形成期である胎児期から新生児期と脳形成後である成獣期では NP 曝露による影響が異なること、および周産期曝露は成獣期曝露よりも NP の中枢神経機能に及ぼす影響に対して感受性が高いことが示唆された。成獣期において、雄性ラットよりも雌性ラットの方が NP 経口投与の影響が顕著であった。これは NP が引き起こす中枢神経機能に及ぼす影響に、内在性エストロゲン濃度が関連していることが推察される。また、NP 海馬内微量注入が雄性ラットの空間学習記憶能を低下させたことより、学習記憶において重要な役割を担っている脳部位である海馬は、NP が空間学習記憶能に影響を及ぼす際の主な作用部位であると考えられた。

NP の無毒性量 (NOAEL) は 10 mg/kg と報告されているが、本研究では NOAEL と同等もしくはそれ以下の用量で、NP が中枢神経機能に影響を及ぼすことが認められた。このため、我々は低用量 NP 曝露に注意を払うべきである。