

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		飲料水中のヒ素による胎児・乳幼児の脳神経発達への影響に関する基礎的研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Basic analysis of the arsenic effects in drinking water on fetus and infants brain development.			
研究氏 代表 者	カタカナ CC	姓)タカミヤ	名)コウゴ	研究期間 B	2011 ~ 2012 年
	漢字 CB	高宮	考悟	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	Takamiya	Kogo	研究機関名	宮崎大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		宮崎大学 医学部 ・ 教授			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>地下水に混入する高濃度のヒ素は、現在南アジアを中心として世界中で問題となっている。今回私達は、胎児や乳児期における脳機能の発達において、飲料水中のヒ素が影響するかを、中枢神経系で主な興奮性神経伝達物質の受容体である AMPA 型グルタミン酸受容体に対する影響を調べることで、ヒ素の神経への機能障害、発達障害に与える影響に関する基礎的研究を行った。今回の研究では、ラットの培養神経細胞において、以下の4つのヒ素化合物、As-V, As-III とその代謝産物である Di-methylarsonous acid (DMA), Mono-methylarsonous acid (MMA) を用いて検討を行った。AMPA 型グルタミン酸受容体のうち特に GluA1/A2 サブユニットに焦点を絞り、上記のヒ素添加による、これら受容体のシナプス局在への影響に関して検討した、GluA1 の全発現量には差がなかったが、細胞表面の GluA1/A2 の発現量は、As (III) と DMA において濃度依存的に継時的に減少した。これら GluA1/A2 の細胞表面への局在は、部分的に Ser-831 と Ser-845 のリン酸化に依存しているとの報告がある。そこでこれらを測定すると、Ser-845 のリン酸化がヒ素刺激後 60 分で減少した。GluA1 の培養 21 日の培養神経細胞を用いた免疫染色では、As (III) と DMA の刺激により GluA1 がシナプス部位で細胞内へ取り込まれていた。このことは、シナプスのマーカーである PSD-95 とシナプシンとの二重染色にて確認された。電気生理学的に微小興奮性シナプス後電位 (mEPSCs) を測定することでシナプスの AMPA 受容体活性を測定した。mEPSC は、AS (III) と DMA 刺激で抑制されていた。これらヒ素の影響は、ヒ素除去後 24 時間後には回復していた。以上の研究により、ヒ素により AMPA 受容体のシナプス内外の輸送を介して、神経機能が影響を受ける事が示された。</p>					
キーワード FA	ヒ素	シナプス可塑性	グルタミン酸受容体		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

High concentration of arsenic contamination in ground water causes serious concern in many areas in the world, especially South Asian region. In an effort to test if drinking of arsenic contaminated water may affect functions in developing fetus and infant brains, through AMPA type glutamate receptor functions: major excitatory neuronal transmitter receptor in central nervous system, we initiated study of arsenic toxicity in neuronal functions and development. The present study was aimed to evaluate the effects of 4 different types of arsenic, such as standard arsenic (As-V, As-III) and their metabolites Di-methylarsonous acid (DMA), Mono-methylarsonous acid (MMA) on synaptic localization of AMPA type glutamate receptor, particularly focusing on GluA1/A2 subunits using rat primary cultured neurons. Time and dose dependency of all four arsenic types did not show any significant changes in total GluA1, while cell surface GluA1/A2 expressions showed significant ($p < 0.1$) decreased in As (III) and DMA at 60 min period. It is reported that regulation of GluA1/A2 complex cell surface expression is partially governed by phosphorylation at Ser-831 and Ser-845 sites of GluA1 cytoplasmic domain. All of the As compounds decreased Phos-GluA1-845 at 60 min duration. Live staining of surface GluA1 of 21 DIV (date *in vitro*) exhibited decrease in individual synaptic GluA1 during As (III) and DMA treatment, showing GluA1 internalization at synaptic sites. This phenomenon was confirmed using double staining with post-synaptic and pre-synaptic markers: PSD-95 and Synapsin, respectively. Electrophysiological recording of miniature excitatory post synaptic currents (mEPSCs) was conducted in order to understand the changes in synaptic AMPARs. Cumulative distribution plot of mEPSC amplitude confirm that AS (III) and DMA disturbs synaptic GluA1 cell surface expression. Arsenic wash out studies showed that inhibited GluA1 expressions were recovered in 24 hours, indicating synaptic homeostasis. In summary our study suggests that arsenic toxicity is involved in AMPA receptor trafficking, resulting in neuronal functions.