

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		ヒトの発達神経毒性評価を念頭に置いた新規 in vitro 試験法開発			
研究テーマ (欧文) AZ		Development of in vitro toxicology method allowing for the evaluation of developmental neurotoxicity in human			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) ツカハラ	名) シンジ	研究期間 B	2012 ~ 2013 年
	漢字 CB	塚原	伸治	報告年度 YR	2014 年
	ローマ字 CZ	TSUKAHARA	SHINJI	研究機関名	埼玉大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		埼玉大学大学院理工学研究科・准教授			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>QOL 低下に繋がる神経発達障害については関心が高く、数種の化学物質と神経発達障害との関連性が指摘されている。しかし、膨大な数の化学物質を網羅的に評価することは困難である。化学物質曝露による神経発達障害の誘発を検証する際、実験動物の行動試験が用いられるが、動物実験の実施コストは高く、多くの物質を評価対象にすることは難しい。本助成課題では、毒性評価の作業効率が従来手法に比べて高く、ヒトの発達神経毒性を推定することが可能な試験法の開発を目指し、(1) 動物やヒトに由来する培養神経細胞のライブイメージング解析を実施するとともに(2) ライブイメージング解析の信頼性を提示するため、実験動物を用いた曝露実験を行い、動物個体の神経細胞に対する化学物質曝露の影響を検討した結果と培養神経細胞に対する結果を比較検証した。</p> <p>これまでの研究において、ライブイメージングによりマウス神経芽腫由来細胞株 Neuro2A の神経突起に対する毒性を定量数値化する手法を確立し、ヒ素が神経突起の伸長を用量依存的に抑制することを明らかにしている。そこで、ヒト神経芽腫由来細胞株 SH-SY5Y を用いて、神経突起形成に対するヒ素曝露の影響を検討した。亜ヒ酸ナトリウム(最終濃度: 0, 1, 3, 5 μM)を曝露した SH-SY5Y をライブイメージングした結果、対照群と 1μM の亜ヒ酸ナトリウムを曝露した SH-SY5Y の神経突起は多数観察された。一方、3μM および 5μM の亜ヒ酸ナトリウムを曝露した細胞の神経突起は曝露時間が経過するにつれて退縮し、特に 5μM を曝露した SH-SY5Y の神経突起は殆ど観察されなくなった。Neuro2A の神経突起伸長を抑制する亜ヒ酸ナトリウムの無毒性量と最小毒性量は、それぞれ 1μM と 5μM であった。本研究の結果は、神経突起に対する亜ヒ酸ナトリウムの毒性影響には明確な種差がないことを示唆するものである。次に、培養神経細胞に対するヒ素の毒性が、生体内の神経細胞に対しても同様に引き起こされるか否か検討するため、亜ヒ酸ナトリウムを溶解した飲料水を自由摂取させた妊娠マウスから産まれた仔マウスの脳を成熟期に採取し、認知機能に関わる前辺縁皮質の神経突起を解析した。その結果、亜ヒ酸ナトリウムを曝露した母マウスから産まれた仔マウスの前辺縁皮質における神経突起の長さは、対照群よりも短くなっていた。この結果は、培養神経細胞の結果と整合しており、ライブイメージングを活用した in vitro 試験法が発達神経毒性評価に有効であることを支持するものである。</p>					
キーワード FA	ライブイメージング	神経突起	ヒ素	発達神経毒性	

(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}	培養細胞を用いた発達神経毒性評価試験法の近年の動向							
	著者名 ^{GA}	前川文彦、他7名	雑誌名 ^{GC}	化学工業					
	ページ ^{GF}	538~547	発行年 ^{GE}	2	0	1	4	巻号 ^{GD}	65巻7号
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}					総頁 ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総頁 ^{HE}	

欧文概要 EZ

There are many concerns about the developmental neurotoxicity of environmental chemicals, which leads to a decrease in the quality of life. However, it is difficult to evaluate the developmental neurotoxicity of a huge number of substances comprehensively. In this study, we aimed to establish new methods for efficient evaluation of developmental neurotoxicity of environmental chemicals by using live imaging techniques. We also performed animal study to examine the effects of toxic chemicals on neurons in the brain and to compare the results of animal study and those of in vitro live imaging of neuronal cells.

We previously reported that exposure to sodium arsenite suppresses neuritogenesis of Neuro2A, a mouse neuroblastoma cell line. Here, we performed live imaging of SH-SY5Y, a human neuroblastoma cell line, to evaluate the effects of sodium arsenite on neuritogenesis of SH-SY5Y. As the results, we observed many and long neurite in SH-SY5Y exposed to 1 μ M of sodium arsenite, and there was no striking difference in the morphology of neurite between the control and 1- μ M sodium arsenite-exposed groups. However, neurite of SH-SY5Y exposed to 3 or 5 μ M of sodium arsenite was less and shorter than that of the control group, especially exposure to sodium arsenite at a dose of 5 μ M adversely affected neurite outgrowth. No-observed-adverse-effect level and lowest-observed-adverse-effect level, in which an adverse effect was defined as suppression of neurite outgrowth in Neuro2A, were 1 μ M and 5 μ M respectively. Taken together, there seems to be no species difference in the toxic effects of sodium arsenite on neuritogenesis between mouse and human at a cellular level. Next, we examined the effects of developmental exposure to sodium arsenite on neurite length in the prefrontal cortex of mice. We found that the neurite length of sodium arsenite-exposed mice was significantly shorter than that of the control mice. This result corresponded to the result of live imaging analysis of cultured neurons, supporting that in vitro live imaging analysis of cultured neurons is one of the useful method for evaluation of developmental neurotoxicity.