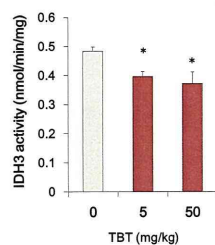
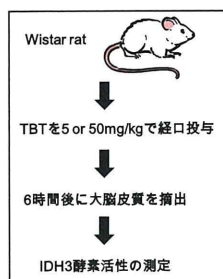
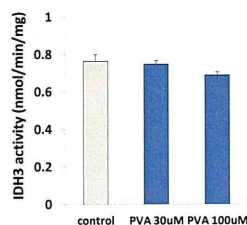


in vivoにおけるTBTの作用



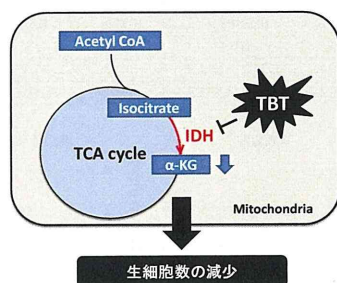
他の化学物質の影響は？



バルプロ酸処理によってもIDH3の活性が抑制される傾向であった。

IDH3を含めたエネルギー産生は高感度で毒性を検出できる可能性が考えられる。

結論



本研究において、メタボロームの手法を応用することにより、トリブチルスズの新たな毒性メカニズムを明らかにした。

今後の予定

メタボロームによるTBTの新たな毒性作用

1. 神経への分化過程に対する影響
2. より簡便なマーカーの探索
3. 有機スズ以外の化学物質の適用

発達神経毒性の新規評価法の構築

厚生労働科学研究費補助金
(化学物質リスク研究事業)

個体の成長期における毒性メカニズムに基づく
新規in vitro発達神経毒性評価法に関する研究
(H25-化学-一般-002)
第1回 班会議

神経堤細胞の機能解析による評価法の開発

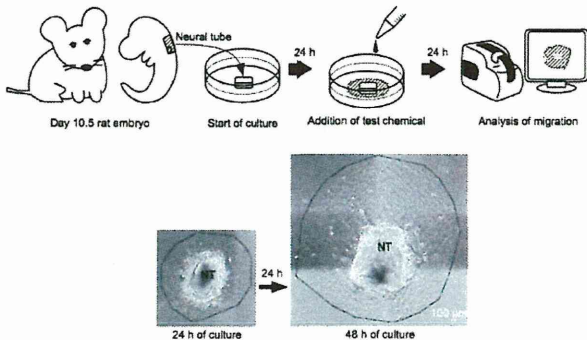
国立医薬品食品衛生研究所
薬理部 第四室
宇佐見 誠

神経堤細胞の機能解析による
評価法の開発

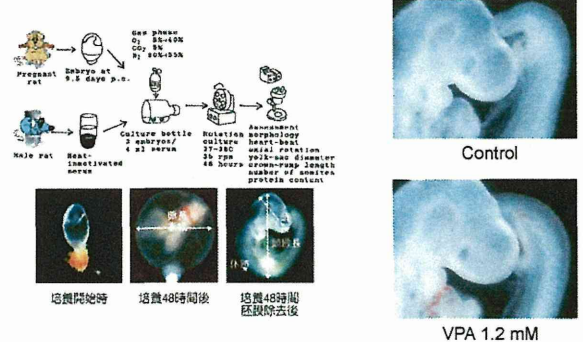
- 形態形成期に重要な役割を果たす神経堤細胞の機能に及ぼす化学物質の影響を調べる方法を確立し、個体の成長期における化学物質の健康影響評価法の一つとして用いる。



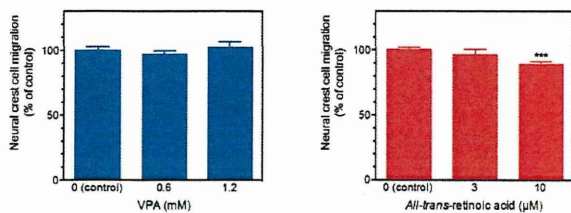
神経堤細胞遊走実験法



ラット培養胚に及ぼす
バルプロ酸(VPA)の影響



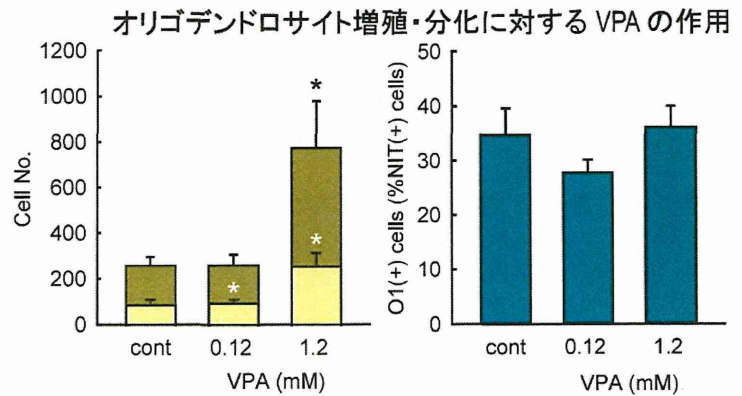
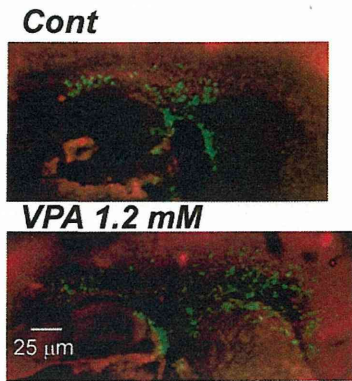
ラット神経堤細胞の遊走に及ぼす
バルプロ酸(VPA)の影響



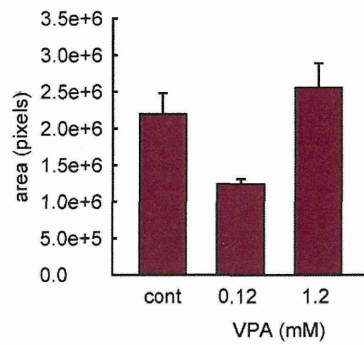
今後の計画

- 培養実験法の改良
 - 解析のための細胞収率の改善
- siRNAを用いた毒性発現メカニズム解析法の確立
 - オフターゲット効果の低減
- ハイコンテンツアナリシスの応用
 - マルチパラメータによる同時解析
 - 細胞形態・生存率など

オリゴデンドロサイト新生に対する VPA の作用



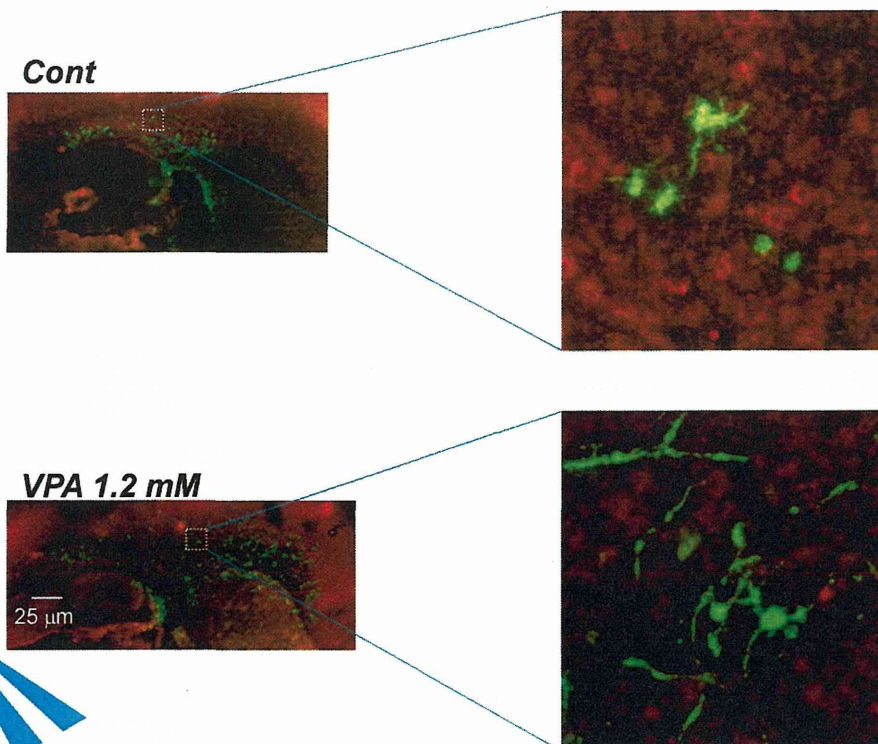
オリゴデンドロサイト前駆細胞 遊走に対する VPA の作用



*:p<0.05, **:p<0.01 vs. control, N=6, Tukey's test following ANOVA



オリゴデンドロサイト新生に対する VPA の作用



オリゴデンドロサイト新生—VPA

Neurodegener. Dis. 2013 Aug 16. [Epub ahead of print]

Valproic Acid Attenuates Disease Symptoms and Increases Endogenous Myelin Repair by Recruiting Neural Stem Cells and Oligodendrocyte Progenitors in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis.

Pazhoohan S, Satarian L, Asghari AA, Salimi M, Kiani S, Mari AR, Javan M.

Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Neuroscience 2012 Sep 18;220:313-21. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.06.012. Epub 2012 Jun 13.

Valproic acid increases white matter repair and neurogenesis after stroke.

Liu XS, Chopp M, Kassis H, Jia LF, Hozeska-Solgot A, Zhang RL, Chen C, Cui YS, Zhang ZG.

Department of Neurology, Henry Ford Health System, Detroit, MI 48202, USA. xsliu@neuro.hfh.edu

Nat Neurosci. 2008 Sep;11(9):1024-34. doi: 10.1038/nn.2172.

Age-dependent epigenetic control of differentiation inhibitors is critical for remyelination efficiency.

Shen S, Sandoval J, Swiss VA, Li J, Dupree J, Franklin RJ, Casaccia-Bonnel P.

Department of Neuroscience and Cell Biology, Robert Wood Johnson Medical School, 675 Hoes Lane, Piscataway, New Jersey 08854, USA.



EAE モデルで VPA によるオリゴデンドロサイト新生の促進が観察されていた

虚血 モデルでも VPA によりオリゴデンドロサイト新生(神経新生も)の促進が観察されていた

VPA によるオリゴデンドロサイト新生は年齢依存的—若い脳では epigenetic control がききやすいが成熟すると効果が弱くなる。

厚生労働科研費助成金 化学物質リスク研究事業

VPA胎生期単回投与ラットの授乳期における
海馬CA1領野の電気生理学的検討

— IN VIVO 評価系 —

笛田由紀子¹、上野 晋²

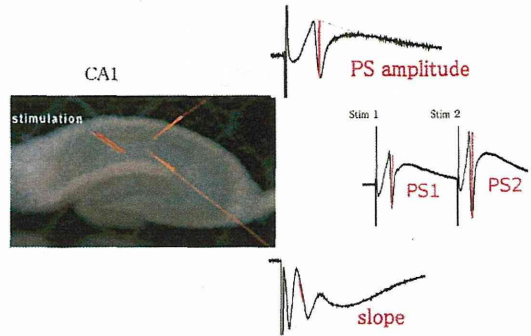
¹産業医科大学 産業保健学部

環境マネジメント学科 作業環境計測制御学講座

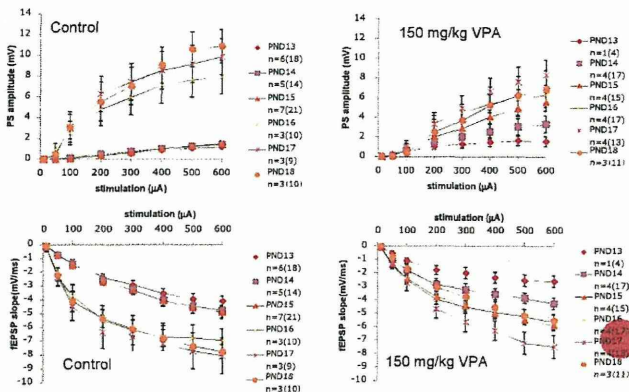
²産業医科大学 産業生態科学研究所 職業性中毒学研究室

電気生理学的手法

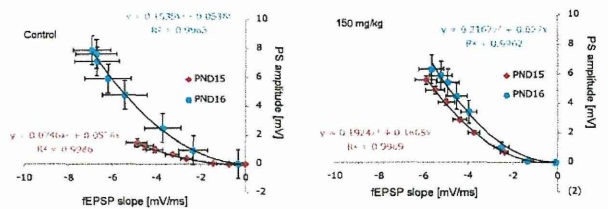
- PS amplitude: 活動電位を発生した細胞の数を反映
- Slope: 興奮性シナプスの活動
- ペアパルス比(PS2/PS1): 比が小さいほど抑制が強い



結果 PND13-18における
CONTROL群と150MG/KG群の刺激応答性の発達

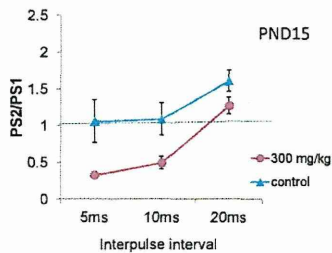


結果 PND15とPND16のPS/EPSP関係



- Control群のPND15と16では、PS/EPSP relationshipが異なる。
- 150 mg/kg群のPND15と16のPS/EPSP relationshipはほぼ同じ。

結果 VPA投与で抑制系の発達が亢進



対照群ではこの時期にはまだ抑制系の発達が見られない。しかし300mg/kg投与群では抑制系の発達が亢進していた。

平成25年度厚生労働科学研究費補助金
(化学物質リスク研究事業)

個体の成長期における毒性メカニズムに基づく新規
in vitro発達神経毒性評価法に関する研究
(H25-化学-一般-002)

研究分担者班会議～in vivo研究グループ

関野祐子(国衛研)、吉田祥子(豊橋技科大)
笛田由紀子(産業医大)、上野 晋(産業医大)

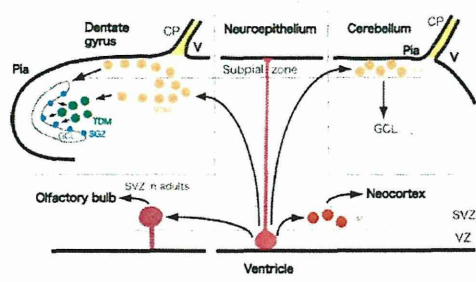
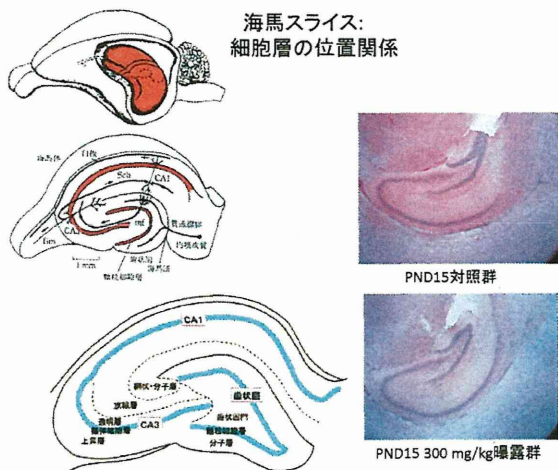
2014年2月6日～2月7日 於 産業医科大学

豊橋技科大・吉田研究室における
光学測定の実験結果報告

2014年1月31日-2月1日
報告者 笛田由紀子

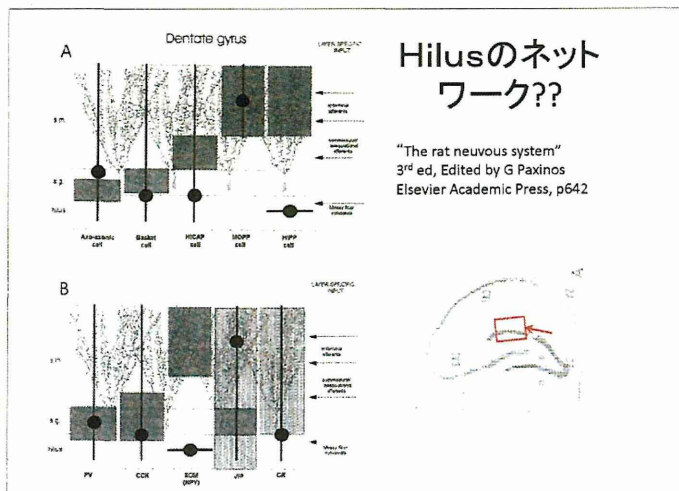
- 実験動物
 - VPA600 mg/kg 曝露群の仔ラット
 - 1月31日：1月15日生まれ 実験当日PND16
 - 2月1日：1月18日生まれ 実験当日PND14
- スライス等実験協力者
 - 吉田研究室 M2/村本氏

海馬スライス：
細胞層の位置関係



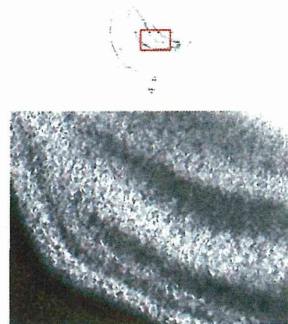
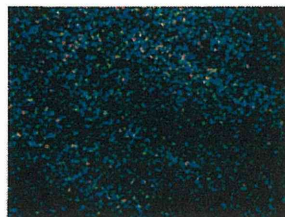
大脳新皮質、側脳室下帯(嗅球のニューロンを新生)、海馬歯状回、小脳のニューロン新生様式の比較
 CP, 脈絡叢 choroid plexus; EGL, 外果粒層 external granular layer; IP, 中間神経前駆細胞 intermediate progenitors; GCL, 顆粒細胞層 granule cell layer; SDM, 2次歯状回マトリックス secondary dentate matrix; SGZ, 顆粒細胞層下帯 subgranular zone; SVZ, 脳室下帯 subventricular zone; TDM, 3次歯状回マトリックス tertiary dentate matrix; VZ, 脳室層 ventricular zone

(石 龍徳 東医大誌 69: 433-49, 2011)



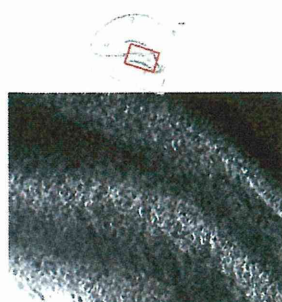
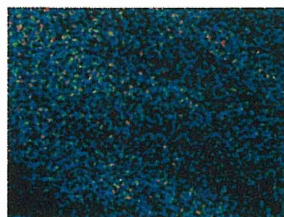
1月31日スライス1枚目 : PND

- Spon GABA(GABA1)



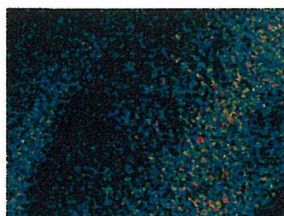
1月31日スライス2枚目

- Spon Glu(Glu1)



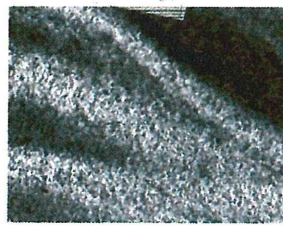
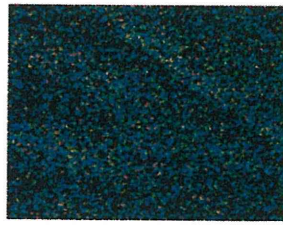
1月31日スライス3枚目

- Spon GABA(GABA2)

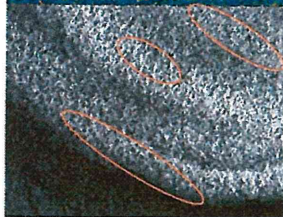
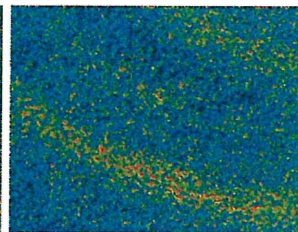
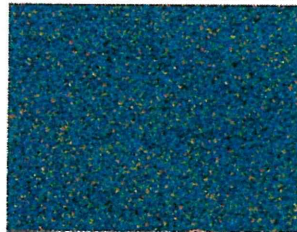


1月31日スライス4枚目

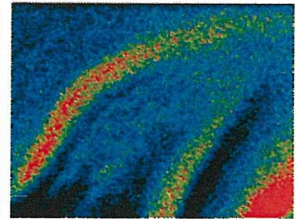
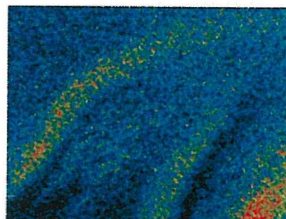
- Spon Glu(Glu2)



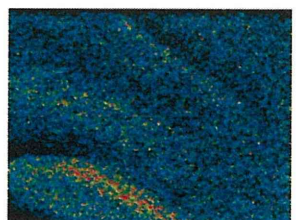
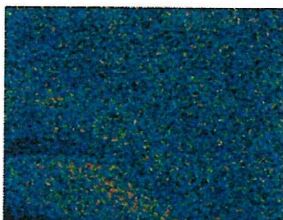
2月1日スライス1枚目:AMPA-induced Glu



2月1日スライス2枚目:AMPA-induced GABA



2月1日スライス3枚目:AMPA-induced Glu



化学物質リスク研究事業・班会議資料

H26 年度

平成26年度厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

「個体の成長期における毒性メカニズムに基づく新規in vitro発達神経毒性評価法に
関する研究」

班会議 議事録

日時:平成26年11月1日(土)11時00分～18時15分

場所:国立医薬品食品衛生研究所 4号館2階 薬理部部長室

(〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1)

出席者:上野 晋、笛田由紀子(産業医大)、吉田祥子(豊橋技術科学大)、
関野祐子、諫田泰成(国衛研) (以上、敬称略、順不同)

議事:

1. はじめに (11:00～11:15)

本年度の研究班の進め方について(諫田)

2. in vitro 評価系の進捗状況(11:15～12:30)

諫田「ヒト未分化細胞を用いた発達期毒性評価系の構築」

(ランチ・休憩)

3. 2年目の研究班共通の陽性対照物質の選定(13:15～15:30)

4. in vivo 評価系の進捗状況 (15:30～18:15)

① 関野・吉田

「生後神経回路の機能的影響評価指標に関する研究」

② 上野・笛田

「幼若期の神経回路機能に対する化学物質の影響評価－BMIへの感受性－」

以上

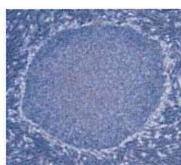
ヒト未分化細胞を用いた 発達期毒性評価系の構築

国立医薬品食品衛生研究所
薬理部第二室
諫田 泰成

1. ヒアリング資料の再確認
2. 有機スズのin vitro作用

ヒト未分化細胞のモデル

- ヒト胎児性癌細胞株NT2/D1
- ヒトiPS細胞



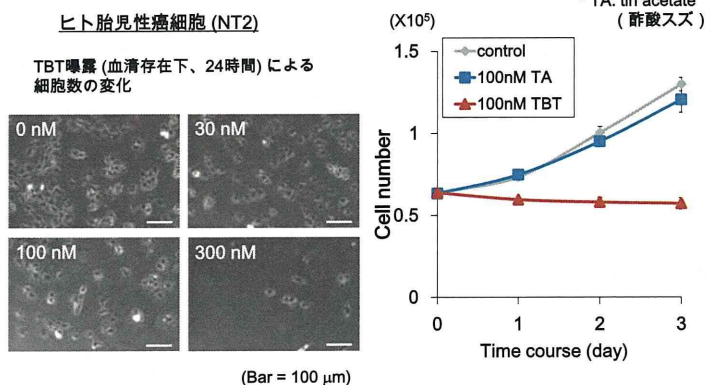
陽性対照物質:トリブチルスズ(TBT)

- ✓ 内分泌攪乱作用をもつ環境汚染物質。
- ✓ 低濃度の曝露により、神経系や免疫系など様々な細胞毒性を引き起こす。
- ✓ TBTを投与された妊娠ラットから生まれたF1は、行動異常を示す。
- ✓ ヒト発達期に対する影響はまだまだ明らかではない。



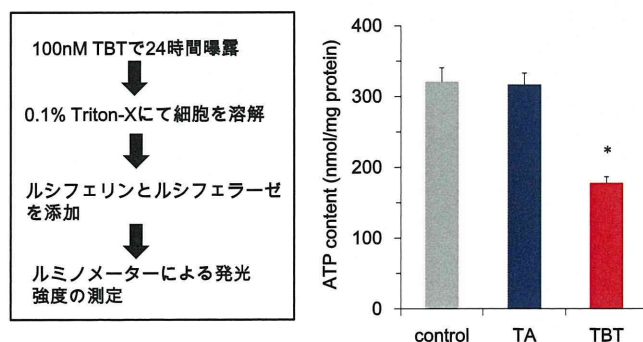
ヒト未分化細胞の「エネルギー代謝」に着目し、TBT曝露による毒性メカニズムを解析した。

低濃度TBT曝露による増殖抑制

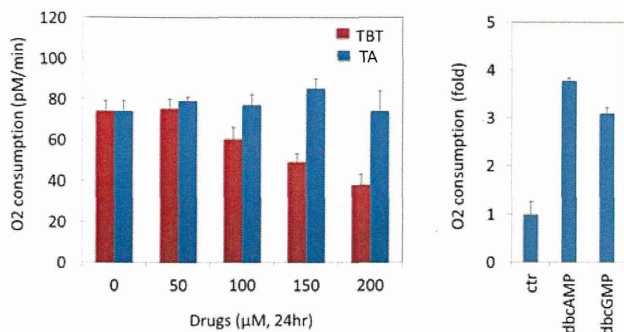


Yamada et al, Metallomics, 2013

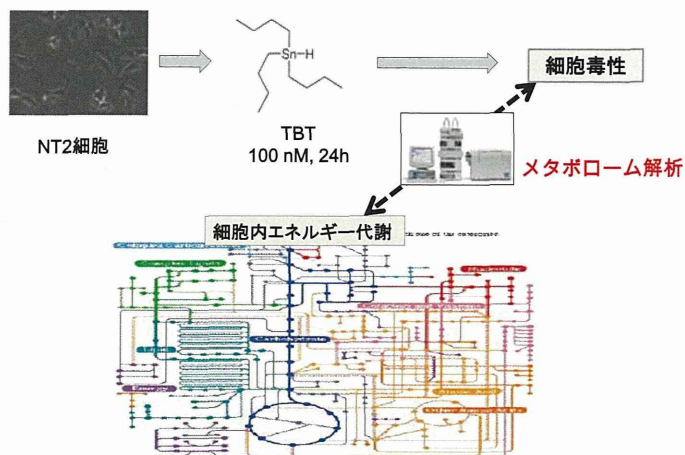
低濃度TBTによる細胞内ATP量の低下



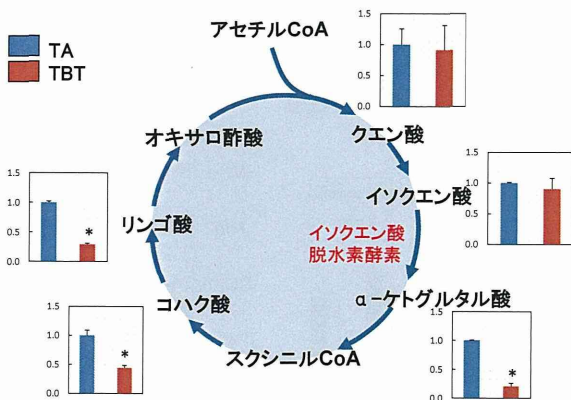
TBT曝露による酸素消費量の抑制



メタボローム法を利用したTBT毒性解析

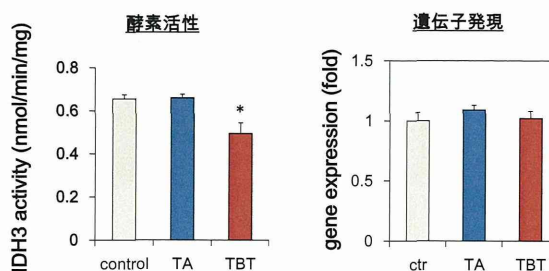


TBTの新規作用点IDH3

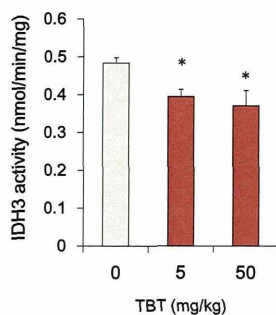
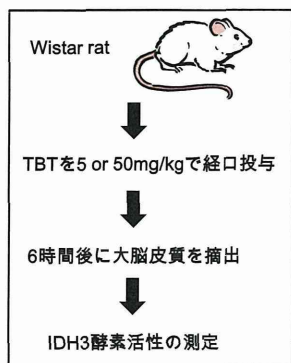


IDH3活性に対するTBT曝露の影響

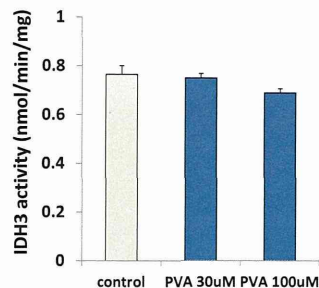
イソクエン酸脱水素酵素			
	細胞内局在	補酵素	反応
IDH1	細胞質	NADP ⁺	可逆
IDH2	ミトコンドリア	NADP ⁺	可逆
IDH3	ミトコンドリア	NAD ⁺	不可逆



in vivoにおけるTBTの作用



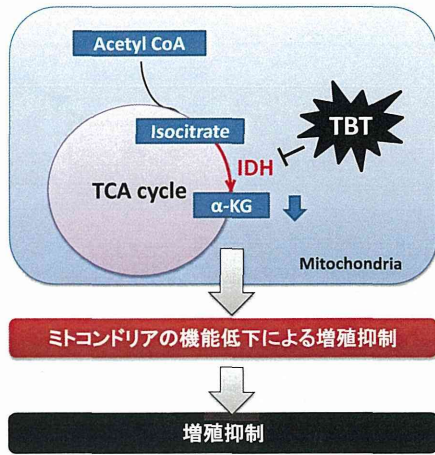
他の化学物質の影響は？



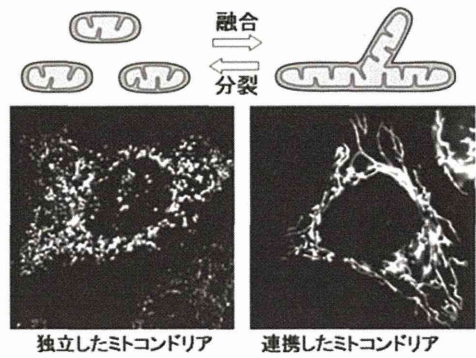
パルプロ酸処理によってもIDH3の活性が抑制される傾向であった。

IDH3を含めたエネルギー産生は高感度で毒性を検出できる可能性が考えられる。

小括

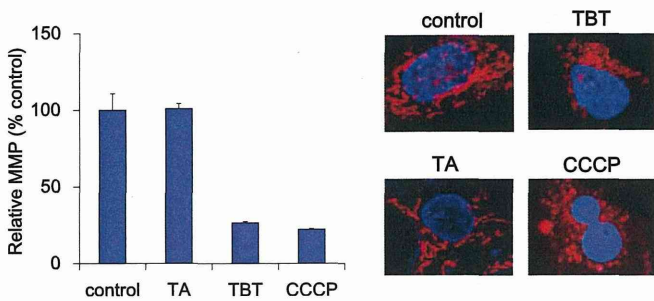


ミトコンドリアの動的制御



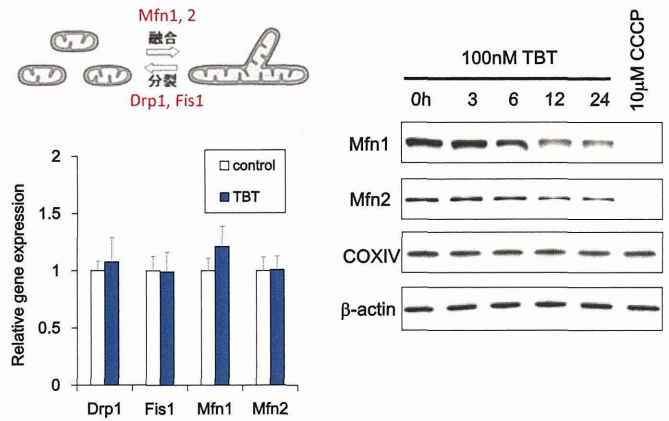
石原、生化学 83: 365-373 (2011)

低濃度TBTによるミトコンドリアの膜電位低下と形態変化

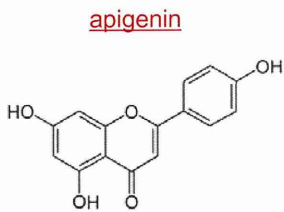


Yamada et al., in preparation

TBTによるミトコンドリア融合タンパク質の分解

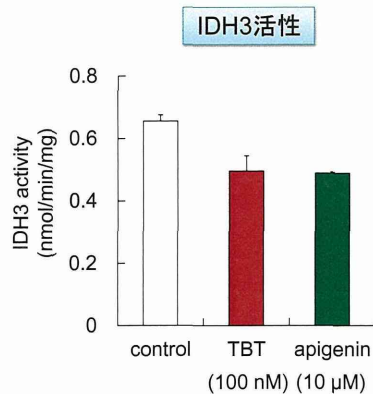


IDH3阻害剤 apigenin

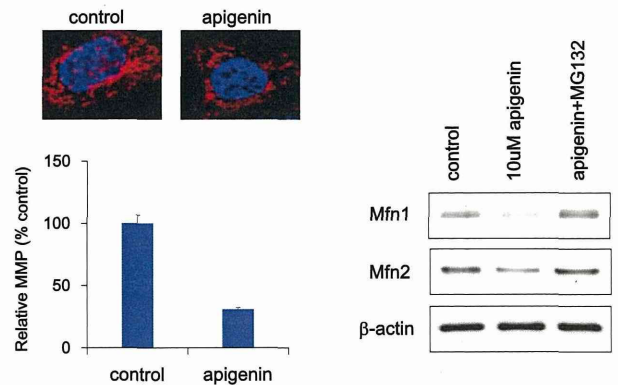


- 植物に含まれるフラボノイド
- IDH3活性を阻害することが報告されている

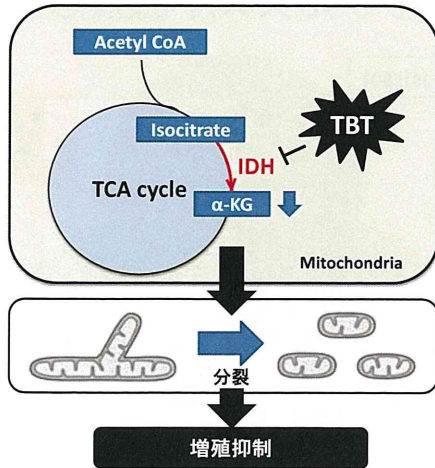
PNAS110: E2153-62 (2013)



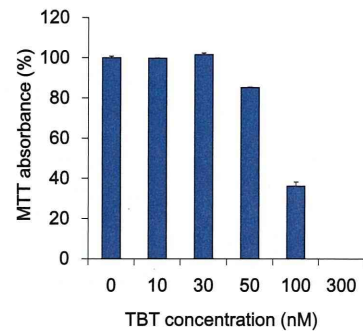
IDH3阻害剤によるミトコンドリアの膜電位低下と融合タンパク質の分解



結論



TBTによるiPS細胞の増殖抑制



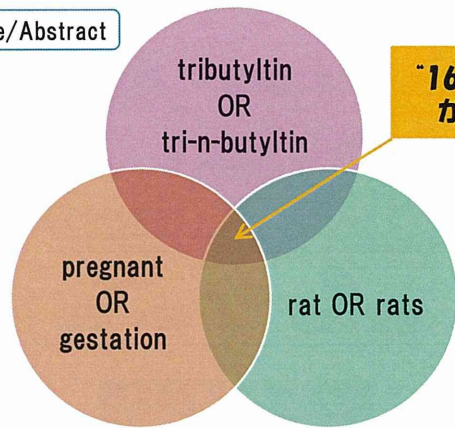
まとめ

低濃度TBTは、ミトコンドリアの融合タンパク質の分解を促進してミトコンドリアの機能低下を引き起こす新たな毒性発現メカニズムが示唆された。

幹細胞におけるMfn分解にともなうATP産生は、毒性評価の有用な指標になる可能性が考えられる。

トリブチルスズ/PubMed検索

Title/Abstract



2014.11.01 班会議資料

平成26年度厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

「個体の成長期における毒性メカニズムに基づく
新規in vitro発達神経毒性評価法に関する研究」

研究分担者 産業医大 上野

トリブチルスズの発達神経毒性

Crofton KM, et al. Prenatal or postnatal exposure to bis(tri-n-butyltin)oxide in the rat: postnatal evaluation of teratology and behavior. Toxicol Appl Pharmacol. 97(1):113-23, 1989.

- Long Evans ラット
- 胎生期曝露:TBTOを妊娠6日目から20日まで連続14日間。2.5, 5.0, 10, 12, 16 mg/kg 経口投与。

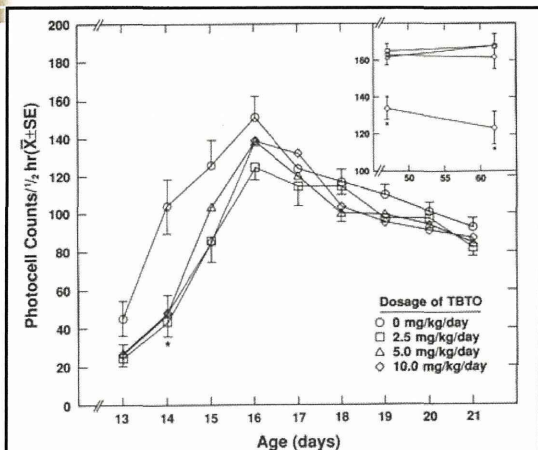
文献は送信済み

トリブチルスズの発達神経毒性

Crofton KM, et al. Prenatal or postnatal exposure to bis(tri-n-butyltin)oxide in the rat: postnatal evaluation of teratology and behavior. Toxicol Appl Pharmacol. 97(1):113-23, 1989.

- 10 mg/kgで母ラットの体重増加の抑制+PND1/PND3 pupsの体重の有意な減少。
- PND14で2.5~10 mg/kg群は活動量の減少。

Crofton KM, et al. のTBTO胎生期曝露
PND14で2.5~10 mg/kg群は活動量の減少



トリブチルスズの発達神経毒性

三宅久美子ら ラットの学習行動および発育に及ぼすbis(tri-n-butyltin) oxideの毒性 日衛誌 45(4):926-934, 1990

- THA(Tokai High Avoiders)ラット
- 成獣曝露:10週齢でTBTOを連続12日間。10, 15 mg/kg 経口投与。
- 胎生期曝露:TBTOを妊娠6日目から20日まで連続14日間。5.0, 10 mg/kg 経口投与。

トリブチルスズの発達神経毒性

三宅久美子ら ラットの学習行動および発育に及ぼすbis(tri-n-butyltin) oxideの毒性 日衛誌 45(4):926-934, 1990

- 成獣曝露: 15 mg/kg群で投与初期に軽度の体重・自発行動量の減少、回避学習試験成績低下。10 mg/kg群で学習試験成績のみわずかに低下傾向。
- 胎生期曝露: 5, 10 mg/kg群の母ラットに影響なし。10 mg/kg群の仔ラット、生後3日目までにすべて死亡。5 mg/kg群の仔ラットは生後5日目までに6匹死亡。5 mg/kg群の学習試験の成績低下。

トリブチルスズの発達神経毒性

Adeeko A, et al. Effects of in utero tributyltin chloride exposure in the rat on pregnancy outcome. Toxicological Sciences 74, 407-415, 2003

Tributyltin chloride (mg/kg)	Day 0-19				Day 8-19			
	0	0.25	2.5	10	20	0.25	2.5	10
Dams								
No. females mated	25	12	12	12	13	12	12	12
No. of dams pregnant	23	12	11	10	9	11	12	11
Dams' body weight gain (g)	116 ± 4.3	119.3 ± 3.7	115.6 ± 7.2	110.2 ± 5.4	86.5 ± 6.4**	122.4 ± 3.9	121.9 ± 3.9	95.0 ± 5.5*
No. implantation sites	14.8 ± 0.5	15.6 ± 0.3	14.3 ± 1.1	15.6 ± 0.5	14.0 ± 1.0	15.9 ± 0.6	16.3 ± 0.6	15.5 ± 0.6
Pre-implantation loss	1.1 ± 0.5	1.4 ± 0.5	1.4 ± 0.6	1.0 ± 0.5	1.8 ± 0.6	1.3 ± 0.3	2.4 ± 0.9	1.0 ± 0.3
Post-implantation loss	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.3	1.4 ± 0.6	0.7 ± 0.2	2.4 ± 1.3*	0.7 ± 0.4	0.4 ± 0.2	1.1 ± 0.3
Fetuses								
Litter size	14.2 ± 0.5	15.2 ± 0.3	14.2 ± 0.6	14.7 ± 0.5	11.5 ± 1.0*	15.0 ± 0.5	15.7 ± 0.6	14.5 ± 0.6
No. dead fetuses	0	0	0	1	3	0	0	2
Placental weight (g)	0.52 ± 0.02	0.51 ± 0.01	0.53 ± 0.01	0.68 ± 0.04*	0.77 ± 0.14**	0.54 ± 0.02	0.53 ± 0.01	0.61 ± 0.03*
Fetal weight (g)								
Male	3.3 ± 0.05	3.1 ± 0.06	3.3 ± 0.09	3.0 ± 0.08	2.2 ± 0.17**	3.6 ± 0.05	3.7 ± 0.09	3.3 ± 0.12
Female	3.1 ± 0.05	3.1 ± 0.06	3.2 ± 0.08	2.9 ± 0.08	2.1 ± 0.16**	3.3 ± 0.06	3.5 ± 0.08	3.1 ± 0.11
Ano-genital distance (mm)								
Male	2.69 ± 0.02	2.84 ± 0.04*	2.79 ± 0.03*	2.86 ± 0.04*	2.71 ± 0.09	2.72 ± 0.03	2.69 ± 0.03	2.75 ± 0.04
Female	1.41 ± 0.02	1.42 ± 0.03	1.39 ± 0.02	1.43 ± 0.03	1.52 ± 0.08	1.39 ± 0.03	1.33 ± 0.01	1.42 ± 0.03
Sex ratio	159/167	101/81	75/85	78/69	51/53	85/80	86/97	74/86

トリブチルスズの発達神経毒性

Ema M, et al. Comparative developmental toxicity of butyltin trichloride, dibutyltin dichloride and tributyltin chloride in rats. J Appl Toxicol. 15(4):297-302, 1995.

- 胎生期曝露: TBTを妊娠7日目と8日目。40, 80 mg/kg 経口投与。
- While treatment with TBT at 40 and 80 mg/kg caused a significantly decreased maternal weight gain and increased postimplantation embryoletality, no significantly increased incidence of malformed fetuses occurred.

トリブチルスズ胎生期曝露：条件設定における課題

- 先行研究は胎仔死亡率や奇形発生率に焦点を置いたものが多い。
- VPAのように胎生期曝露が妊娠中の1日one shotでおしまいというモデル作製例がほとんどない。
- 投与期間もcase by caseであり、中には胎生期～出生後授乳期にわたり曝露を続けている例もある。
- 母体に影響が出ないことを前提にするならmaxでも5.0 mg/kg以下か？(ただし連続12日間での場合)。
- 用量・投与期間を変えた場合、成長後の神経行動学的表現型についても自分らで検証することが必要では？

トリ[メチル]スズ

- 中枢神経毒性がすでに知られている。1985年のreviewがある。
 - McMillan&Wenger Neurobehavioral toxicology of trialkyltins. Pharmacol. Rev. 37(4):365-379, 1985.
- 急性毒性として『海馬』を特異的に傷害する模様(後述)。
- 小脳はターゲットではないらしい。
- 神経変性のモデルとしてその機序の解明や神経保護手段の開発に利用されている。
 - Corvino V, et al. Neuroprotective strategies in hippocampal neurodegeneration induced by the neurotoxicant trimethyltin. Neurochem Res. 38(2):240-53, 2013.

『トリ[メチル]スズ』について

トリメチルスズの神経毒性

新谷紀人ら. 中枢神経系におけるトリメチルスズの作用. 薬学誌127 (3):451-461, 2007

- 研究や産業機関での事故によって高濃度のTMTに曝露されたヒトの症例報告では、種々の内臓器官の強烈的な痛みに加え、集中力の消失などの中枢機能障害が認められ、脳でも神経変性が観察される。
- げっ歯類においても、高用量TMTの腹腔内投与は、副腎や腎臓、肝臓、免疫担当器官の傷害や、聴覚などの感覚器官の傷害に加え、特に大脳の辺縁領域(海馬、梨状皮質、嗅皮質、嗅結節、扁桃体など)に重篤な傷害を及ぼす。
- TMTを投与されたげっ歯類は、これらの神経傷害に関連するとされる、多動や痙攣、攻撃性の亢進などの行動異常や、食欲低下に伴う体重減少、そして記憶障害などの特異な表現型変化が観察され、その一部はヒトの症例報告と類似したものといえる。

トリメチルスズの神経毒性

新谷紀人ら. 中枢神経系におけるトリメチルスズの作用. 薬学誌127 (3):451-461, 2007

Parameter	Phenotypic changes	Period (days) ^{a)}
General behavior	Hyperactivity, convulsion and aggressiveness	1~3
Appetite	Decrease in food and water intakes	~2
Body weight	Decrease (recovered —7 days)	~2
Object memory	Decrease (recovered at 14 days)	4 ^{b)}
Histology in the CA1	No significant changes	~30
Histology in the DG	Severe neurodegeneration	~3 (~54)
	Decrease in molecular markers of neurons	~3 (~54)
	Increase in granule cells	4~7
Plasma corticosterone	Increase in genes related to neurogenesis	4~5
	Increase	1~3 ^{b)}

a) Period when phenotypic changes were observed. b) Time course analysis was not performed.

トリメチルスズの神経毒性

新谷紀人ら. 中枢神経系におけるトリメチルスズの作用. 薬学誌127 (3):451-461, 2007

- 高用量のTMT投与は、ラットではCAおよびDG領域(特にCA3領域)の神経細胞を傷害するのに対し、マウスではDG顆粒細胞を特異的に傷害する。
- TMT(2.8 mg/kg)を成体のマウスに腹腔内投与すると、DG領域において投与1日後から顆粒神経細胞の脱落、およびDNAの断片化(抗ssDNA抗体陽性細胞の増加)が観察され、神経細胞脱落は2-3日で最大となる。しかしこのようなアポトーシスを含む神経細胞死は、CA領域では少なくとも投与30日後まで全く認められない。

トリメチルスズの発達神経毒性

Paule MG, et al. Developmental toxicology of trimethyltin in the rat. Toxicol Appl Pharmacol. 30:84(2):412-7, 1986 .

- Pregnant rats were treated on either gestational day (GD) 7, 12, or 17 with single doses of trimethyltin chloride (TMT) ip at either 0, 5, 7, or 9 mg/kg.
- A significant effect of dose was manifest as decreased maternal weight at term, which persisted during lactation until postnatal day (PND) 15 in some groups.
- For all treatments combined, term weights of dams exposed on GDs 7 and 12 were greater than those treated on GD 17.
- Litter sizes were decreased for groups treated on GD 17 with 9 mg/kg TMT.
- Pups treated in utero and exhibiting treatment-induced decreases in weight at or near birth remained smaller than untreated animals into adulthood (PND 280).

トリメチルスズの発達神経毒性

Paule MG, et al. Developmental toxicology of trimethyltin in the rat. Toxicol Appl Pharmacol. 30:84(2):412-7, 1986 .

- By PND 20, weights of pups treated on GD 7 greater than GD 12 greater than GD 17.
- Neuropathology of pups sacrificed on PND 1 was minimal in all animals with lesions only identified in animals treated on GDs 12 or 17 which consisted of subtle degenerative changes in the CA3 and CA4 regions of Ammon's horn of the hippocampus.
- Muscarinic cholinergic receptor binding in whole brains from pups on PND 1 did not show any significant changes compared to controls for any dose or day of exposure.
- These data indicate that prenatal TMT exposure results in postnatal toxicity in treated pups but only in the presence of maternal toxicity.

トリメチルスズの発達神経毒性

三宅久美子ら. ラットの発育および学習行動に及ぼす出生前 trimethyltin 曝露の影響 産業医学 31:363-371, 1989.

- THA(Tokai High Avoiders)ラット
- 胎生期曝露: TMTを妊娠12日目に腹腔内投与。5.0, 7.0 mg/kg
- 母ラットの体重増加で7.0 mg/kg群に投与直後で一時的な減少あり。それ以外は有意差のない体重増加推移。出生率有意差なし。
- 仔ラット発育状態・行動発達検査においてもほとんど影響なし。ただし7.0 mg/kg群で離乳率が著しく低かった。
- シドマン回避学習試験による学習習得において5.0, 7.0 mg/kg両軍とも習得障害を生じていた。

トリメチルスズの発達神経毒性

Tamburella A, et al. The selective norepinephrine reuptake inhibitor atomoxetine counteracts behavioral impairments in trimethyltin-intoxicated rats. Eur J Pharmacol. 683(1-3):148-54, 2012.

- This study was carried out to assess the behavioral effects of the non-psycho stimulant drug atomoxetine, in rats prenatally-exposed to the organic compound trimethyltin chloride (TMT) and in spontaneously hypertensive rat (SHR), two rodent models of Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD).
- At birth, neonatal reflexes (righting, cliff aversion, forelimb placing, forelimb grasping, bar holding and startle) had an earlier onset (i.e. percent of appearance) and completion (maximum appearance, i.e. 100% of the brood exhibiting each reflex) in prenatally TMT-exposed and SHR pups as compared to control groups. Two months after birth, TMT-exposed and SHR rats showed impaired cognitive performances in both the step-through passive avoidance test and the shuttle box active avoidance test.

トリメチルスズの発達神経毒性

Tamburella A, et al. The selective norepinephrine reuptake inhibitor atomoxetine counteracts behavioral impairments in trimethyltin-intoxicated rats. Eur J Pharmacol. 683(1-3):148-54, 2012.

- Atomoxetine (1, 3 and 6 mg/kg, i.p.), already at the lowest dose tested, improved learning and memory capacity of prenatally TMT-exposed rats and SHR; while methylphenidate (1, 3 and 6 mg/kg, i.p.), used here as positive control, elicited a significant cognitive enhancing effect only at the higher doses. In the open field test, both TMT-exposed rats and SHR displayed enhanced locomotor activity. Methylphenidate further increased locomotor activity in all groups, whereas atomoxetine reduced the enhanced locomotor activity of TMT-exposed rats and SHR down to the level of controls.
- These results suggest that prenatal TMT-exposure could be considered as a putative experimental model of ADHD and further support the effectiveness of atomoxetine in the ADHD pharmacotherapy. Furthermore, despite the similar effect of the two drugs on cognitive tasks, they exhibit distinct profiles of activity on locomotion, in ADHD models.

トリメチルスズ胎生期曝露：条件設定における課題

- 先行研究はVPAのように妊娠期間中の1日one shotが多い。
- そもそも中枢神経の変性作用が強い。しかも海馬が標的だがCA1でなくCA3&DG(ラットの場合)。小脳は標的に非ず？
- 母ラットへの影響の二次的なものとして胎仔に影響が出る可能性は示唆されており、厳密に発達神経毒性物質といえるか？
- トリメチルスズ胎生期曝露がADHDのモデルとなる可能性を示唆している研究(2012)があるがそれ以降は見当たらず(ヒトの曝露事例報告で過活動(多動性)というのがあるらしい)。
- 用量・投与期間によってはやはり成長後の神経行動学的表現型を検証する必要がある？

有機スズとヒストンアセチル化

文献より

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

ELSEVIER

Toxicology Letters 155 (2005) 329–335

www.elsevier.com/locate/toxlet

Toxicology Letters

Some organotin compounds enhance histone acetyltransferase activity

Shigehiro Osada^{a,*}, Jun-ichi Nishikawa^a, Tsuyoshi Nakanishi^b, Keiichi Tanaka^b, Tsutomu Nishihara^a

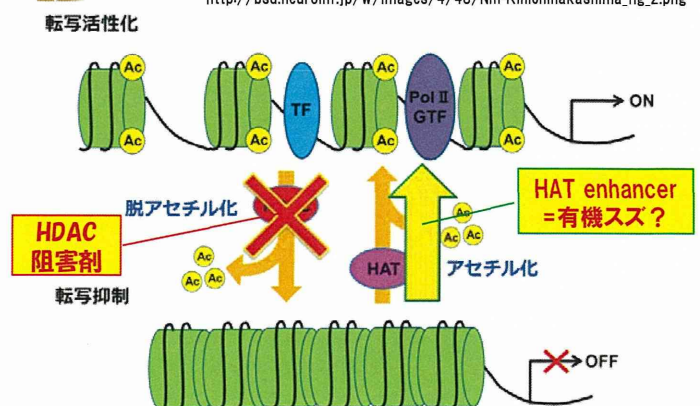
^a Laboratory of Environmental Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, 1-6 Yamada-Oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

^b Department of Toxicology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, 1-6 Yamada-Oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

Received 16 September 2004; received in revised form 24 October 2004; accepted 25 October 2004
Available online 28 November 2004

ヒストンアセチル化

http://bsd.neuroinf.jp/w/images/4/48/Nm-Kinichinakashima_fig_2.png



有機スズのヒストンアセチル基転移 酵素への影響

Table 1
Effect of organotin and related chemicals on HAT activity

Chemical	Abbreviation	Relative HAT activity ^a	CAS no.	Purity (%)	Source
Triphenyltin chloride	TPT	2.03 ± 0.13**	639-58-7	>95	Aldrich Chemicals
Diphenyltin dichloride	DPT	1.63 ± 0.061**	1135-99-5	>96	Aldrich Chemicals
Monophenyltin trichloride	MPT	0.97 ± 0.026	1124-19-2	>98	Aldrich Chemicals
Triphenyltin chloride	TPT	2.32 ± 0.13**	1461-22-9	>95	Tokyo Kasei Kogyo
Dibutyltin dichloride	DBT	1.81 ± 0.045**	693-18-1	>97	Tokyo Kasei Kogyo
Monobutyltin trichloride	MBT	1.01 ± 0.037	1118-46-3	>95	Aldrich Chemicals
Tin chloride	SnCl ₄	0.91 ± 0.025	10025-69-1	>97	Nacal Tesque
Tetrabutyltin	TtBT	1.05 ± 0.042	1461-25-2	>93	Aldrich Chemicals
Trimethyltin chloride	TMT	0.95 ± 0.011	1066-45-1	>98	Aldrich Chemicals
Triethyltin bromide	TET	1.27 ± 0.034*	2767-54-6	>97	Aldrich Chemicals
Tripropyltin chloride	TPPT	3.09 ± 0.080**	2279-76-7	>98	Merck Schuchardt
Triphenylsilanol	TPSiOH	1.14 ± 0.23	791-31-1	>95	Merck Schuchardt
Triphenylmethane	TPM	0.95 ± 0.12	519-73-3	>98	Kanto Chemical
Triphenylethylene	TPE	0.91 ± 0.12	58-72-0	>98	Kanto Chemical

^a Core histones and 10 μM of chemicals were used for the HAT assay. Relative HAT activity shows mean HAT activities (±S.D.) relative to a control treated without chemical (three independent experiments). *P < 0.05 and **P < 0.01 compared to control.

Relative
HAT
activity

1. トリプロピルスズ : 3.09倍
2. トリブチルスズ : 2.22倍
3. トリフェニルスズ : 2.03倍
4. ジブチルスズ : 1.81倍

• トリメチルスズ : 0.95倍

平成26年度厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

「個体の成長期における毒性メカニズムに基づく新規in vitro発達神経毒性評価法に
関する研究」

班会議 議事録

日時:平成26年12月3日(土)10時00分～12時00分

場所:国立医薬品食品衛生研究所 4号館2階 薬理部部長室

(〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1)

出席者:諫田泰成、佐藤薫、宇佐見誠、石田誠一、関野祐子(国衛研)

(以上、敬称略、順不同)

議事:

1. はじめに (10:00～10:15)

本年度の研究班の進め方について(諫田)

2. in vitro 評価系の進捗状況(10:15～12:00)

諫田 「ヒト未分化細胞を用いた発達期毒性評価系の構築」

佐藤 「発達成長期神経系細胞新生への化学物質の影響評価」

宇佐見 「神経堤細胞の機能解析による評価法の開発」

以上