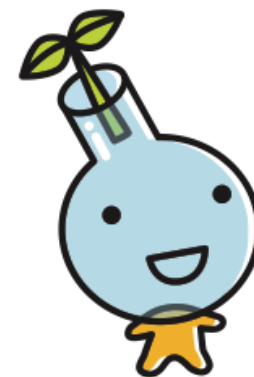




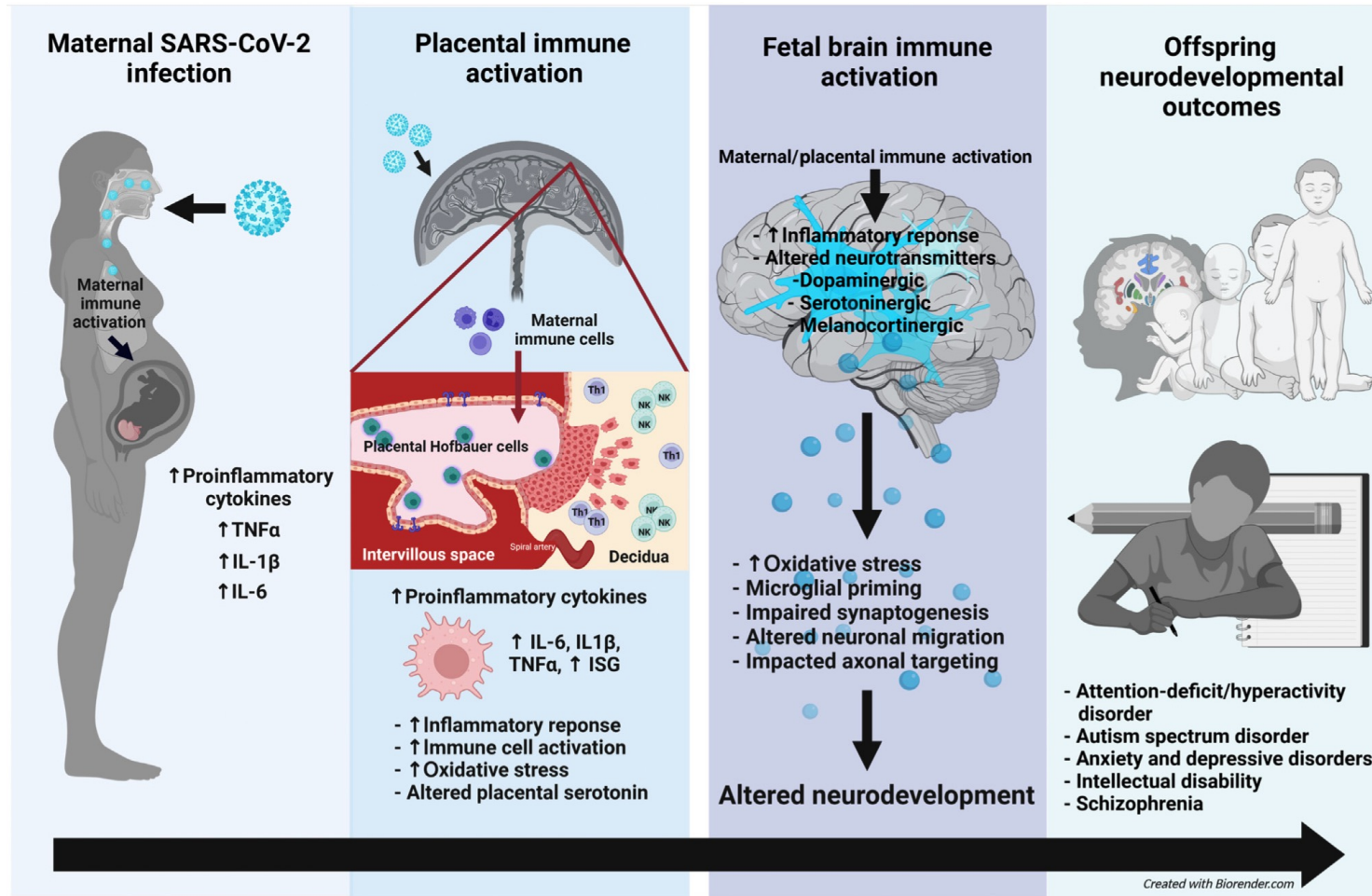
日化協LRI 研究報告会
2023年8月25日



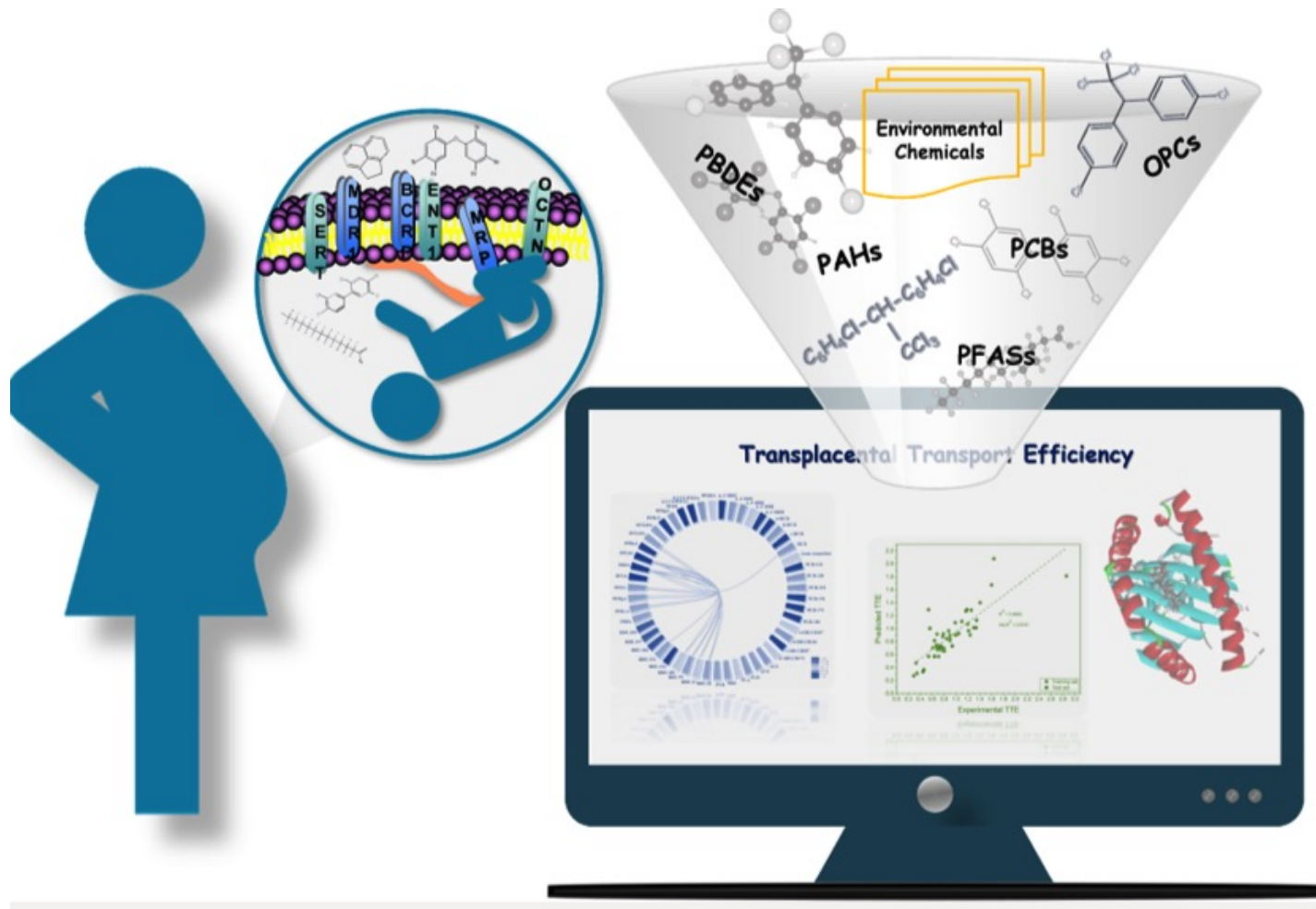
発達神経毒性のAOP解明に資する 神経炎症評価系の開発

三重大学 大学院医学系研究科 統合薬理学
西村 有平

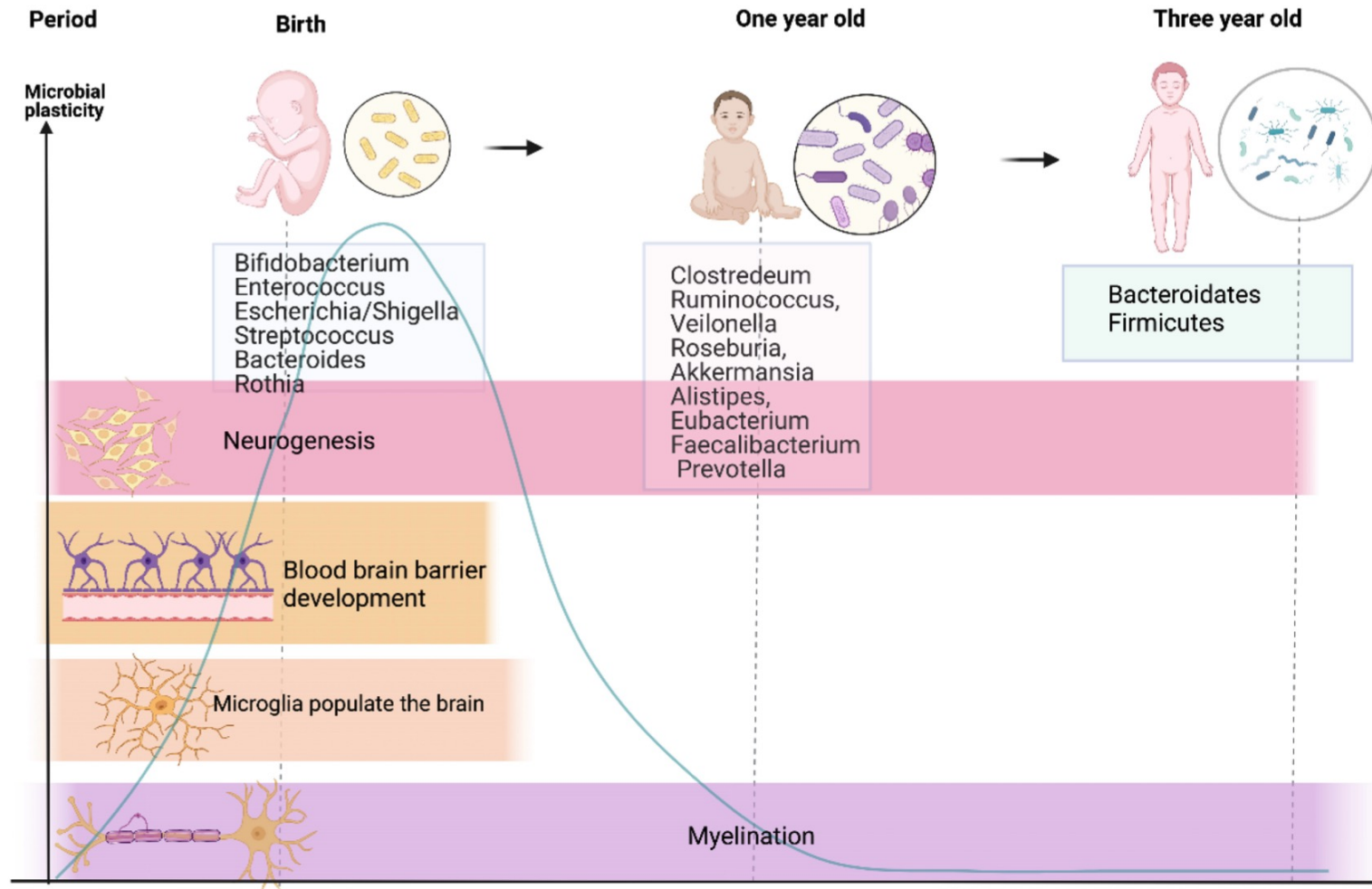
神経炎症は神経発達に影響する



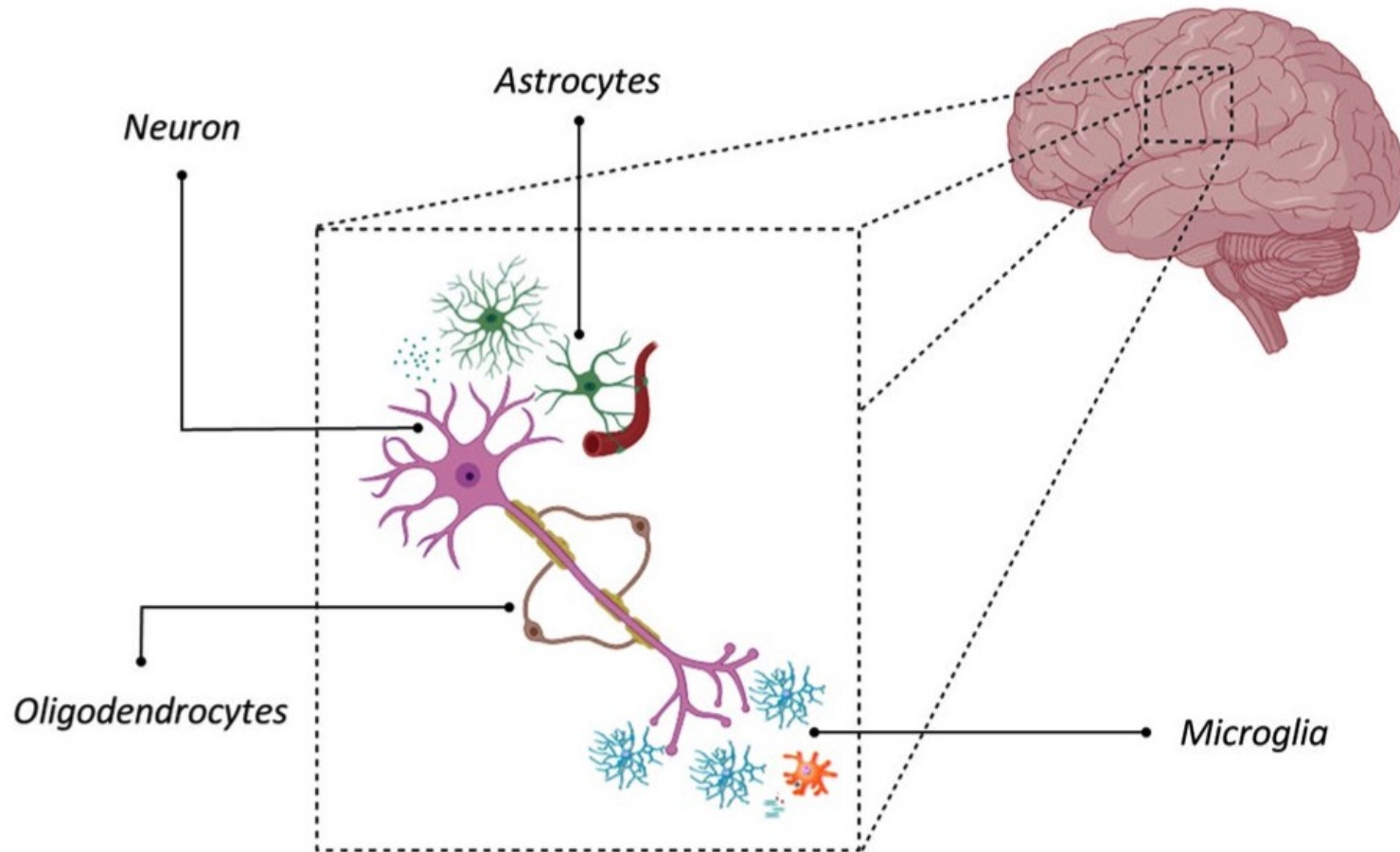
胎盤を通過する化学物質が存在する



出生時の血液脳関門は未熟である

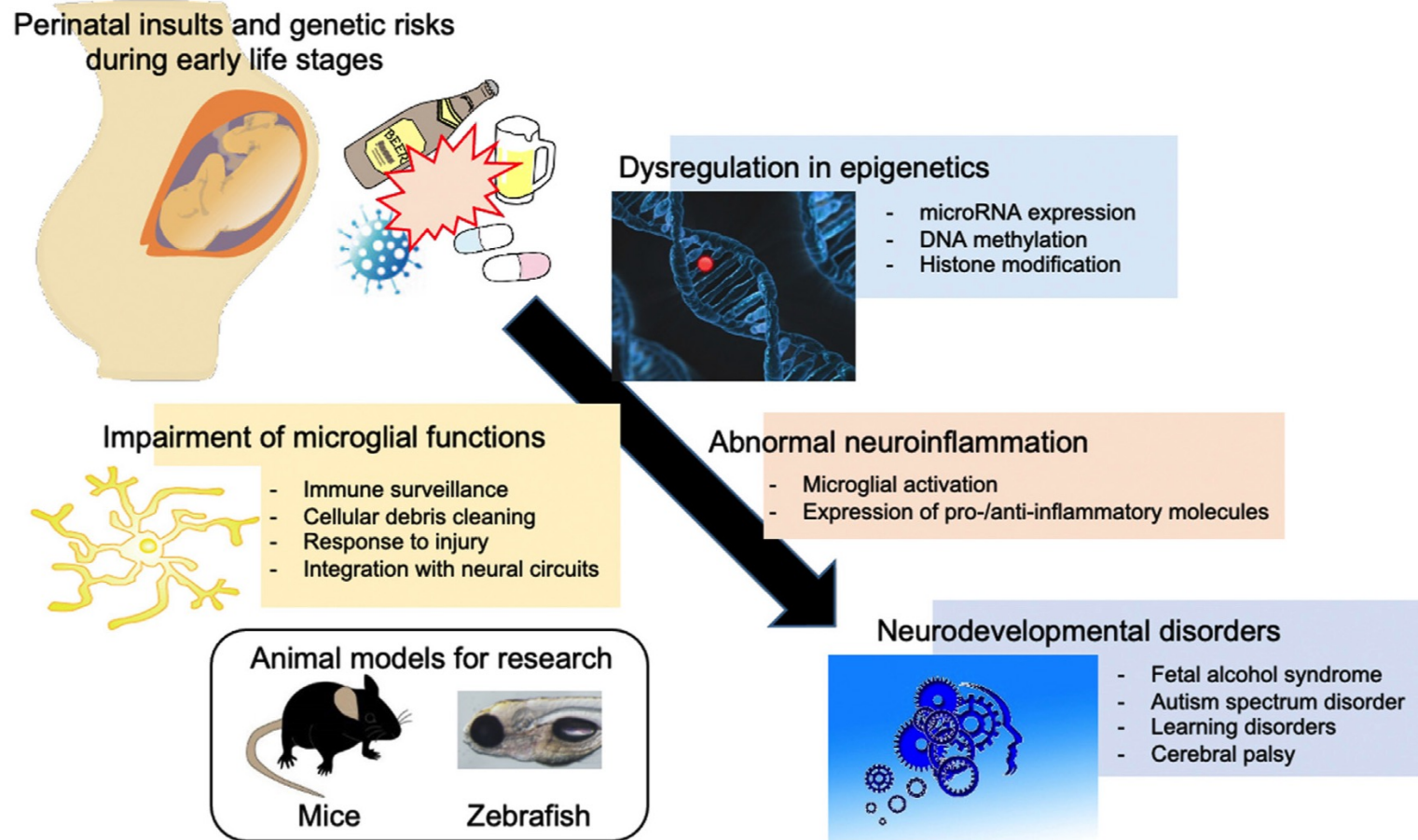


ニューロンとグリア細胞

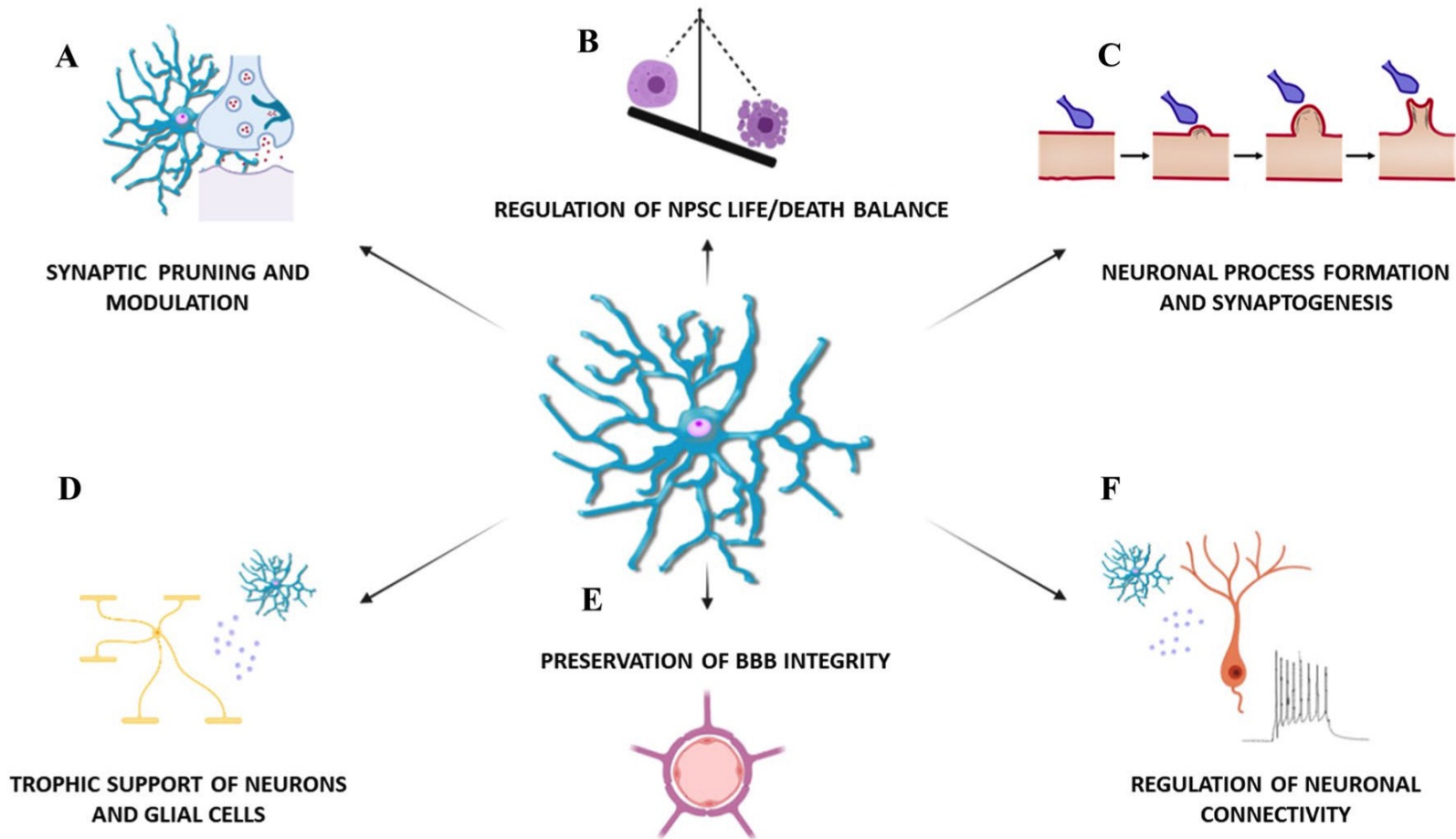


Soares et al Neurochem Res (2022)

発達期の化学物質曝露によるミクログリアの異常活性化

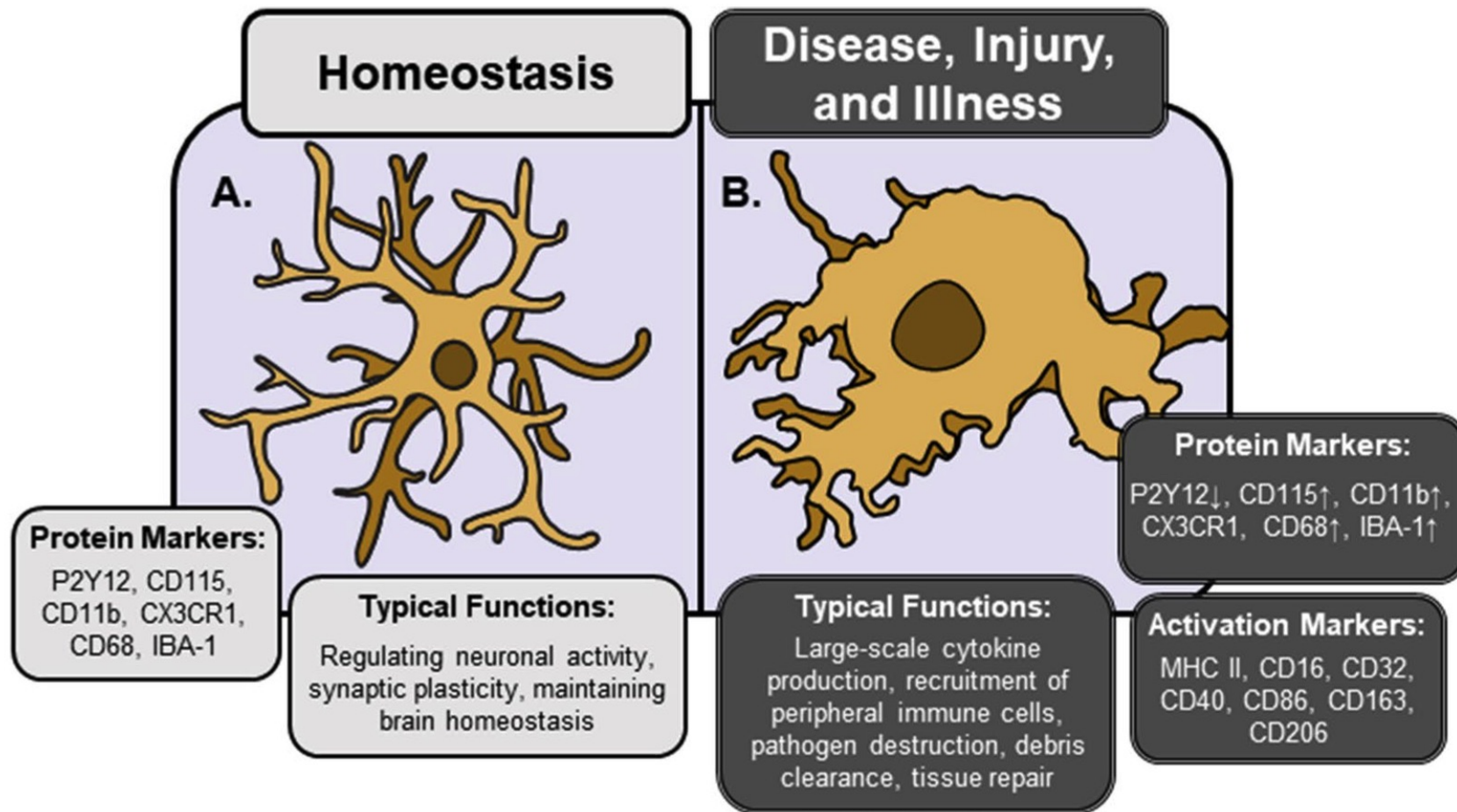


ミクログリアの機能

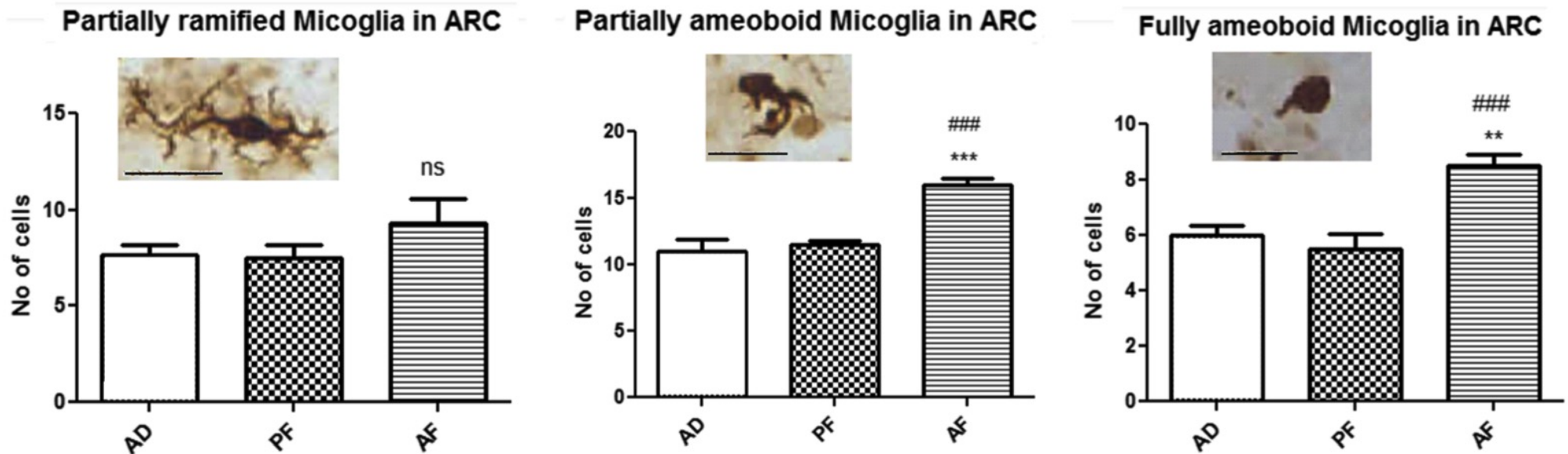


Soares et al Neurochem Res (2022)

ミクログリアの形態：ラミファイド型とアメボイド型



エタノール曝露による新生児ラットのミクログリア形態変化



AD: left in the litter with the mother

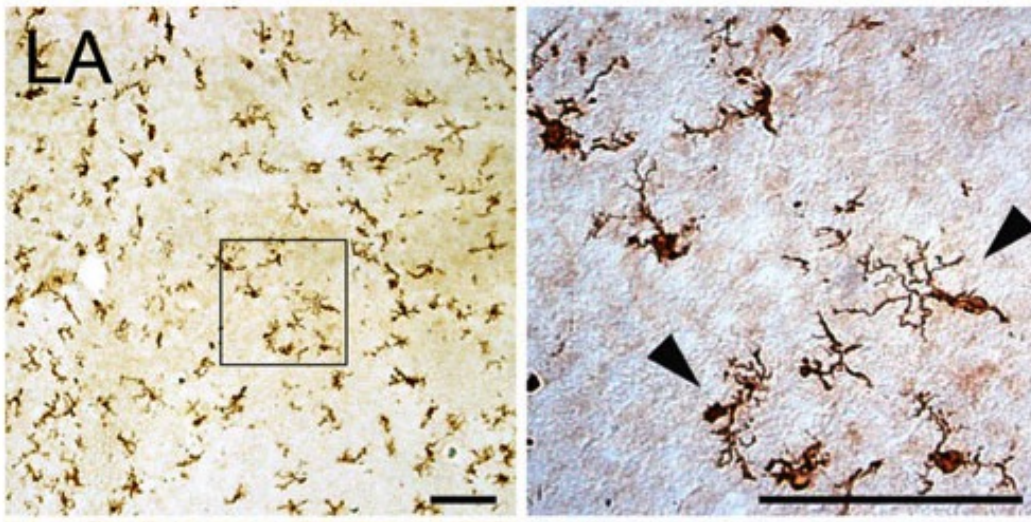
PF: fed with isocaloric control

AF: ethanol dose of 2.5 g/kg/day between postnatal days 2–6

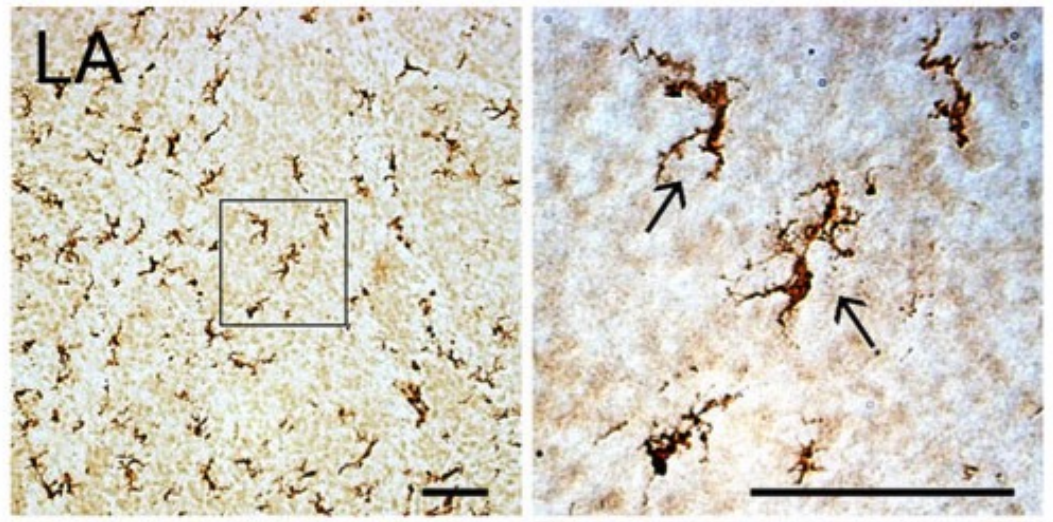
Immunohistochemical analysis at PND6

バルプロ酸曝露による新生児ラットのミクログリア形態変化

vehicle



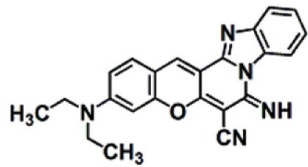
VPA



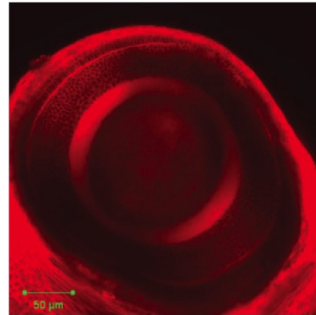
Intraperitoneal injection of VPA at PND7
Immunohistochemical analysis at PND8

Wang et al Mol Neurobiol (2016)

二光子励起顕微鏡を用いたゼブラフィッシュ脳のライブイメージング

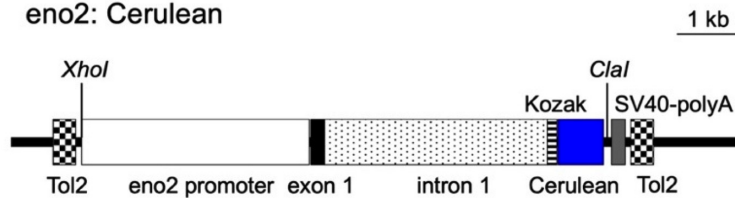


DIBPBC = Solvent Red 197



Watanabe, Nishimura et al BMC Neurosci (2010)

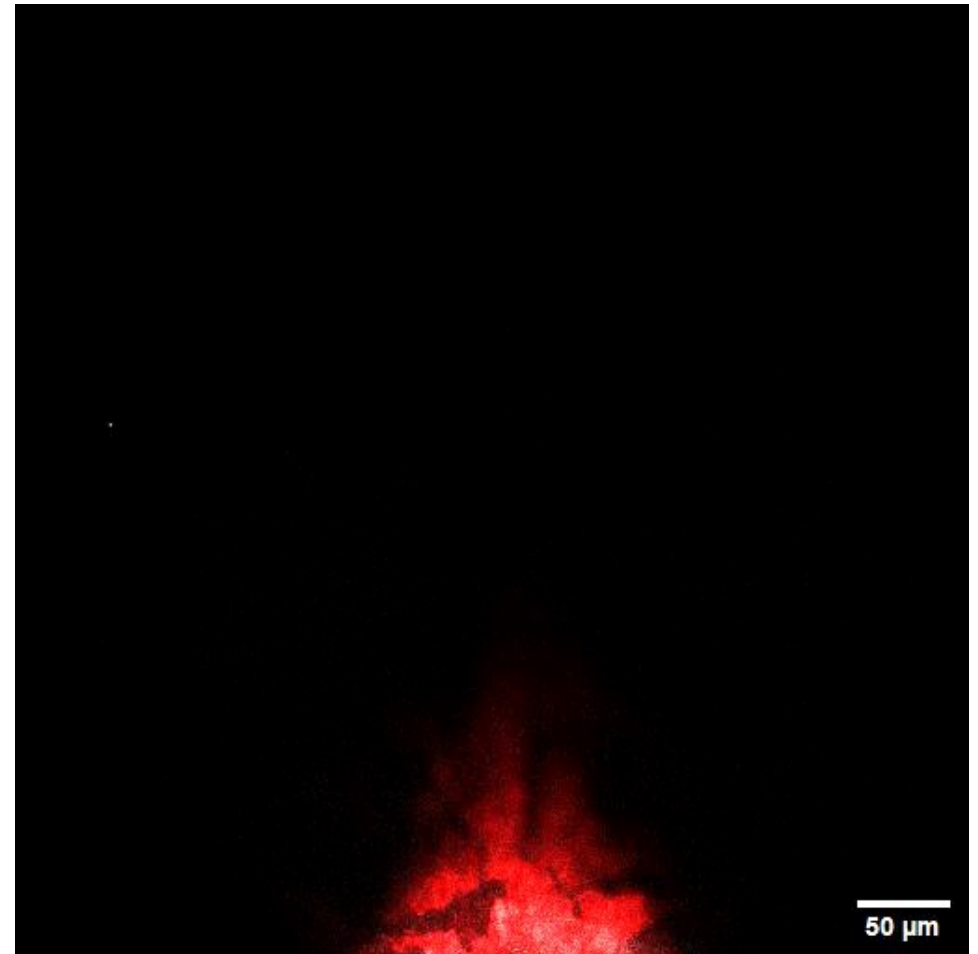
eno2: Cerulean



CFP filter



Koiwa,... Nishimura Pharmaceuticals (2019)

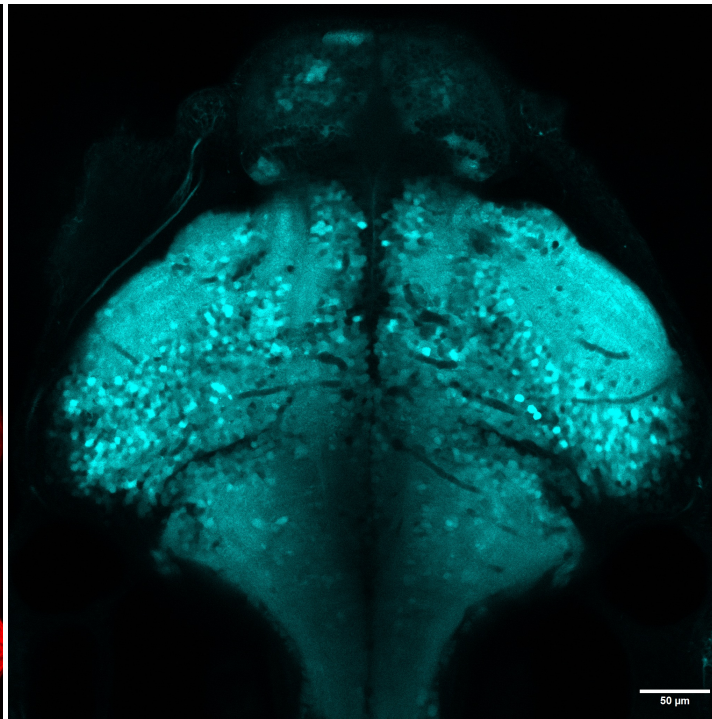


二光子励起顕微鏡を用いたゼブラフィッシュ脳のライブイメージング

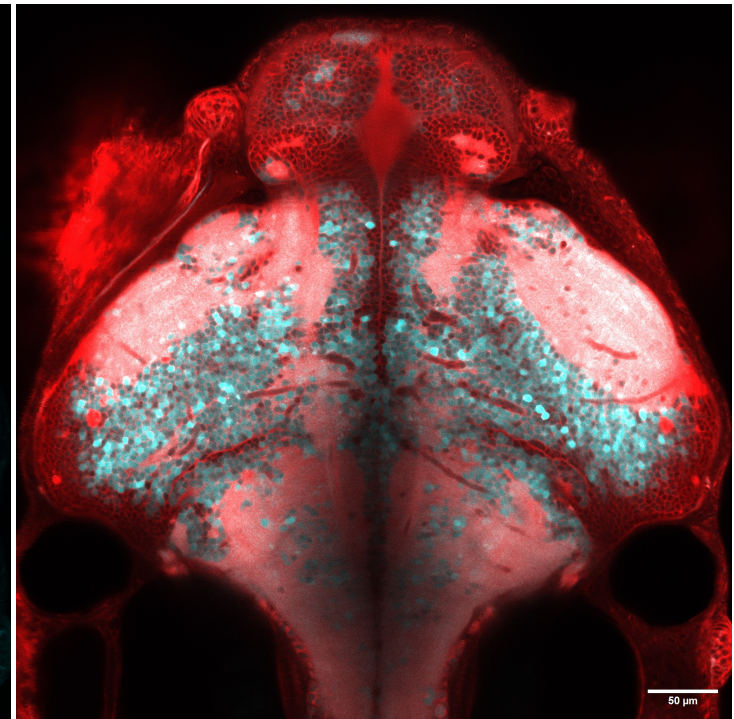
Solvent Red 197



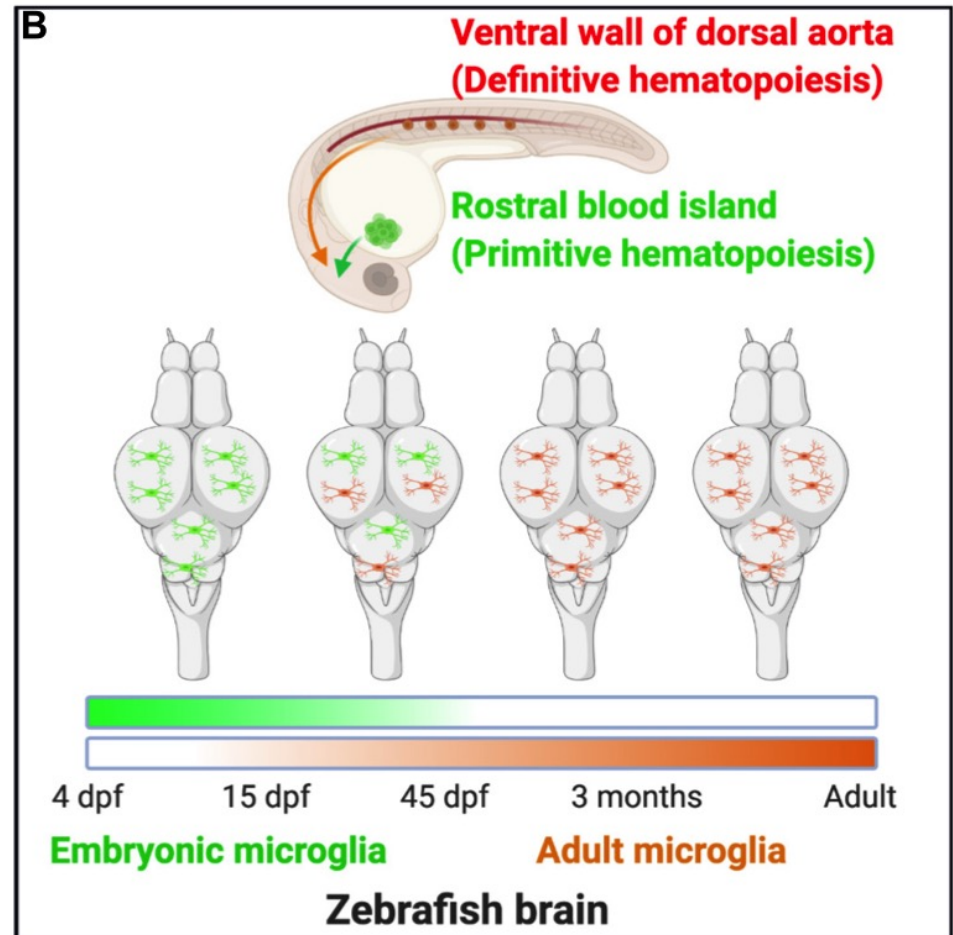
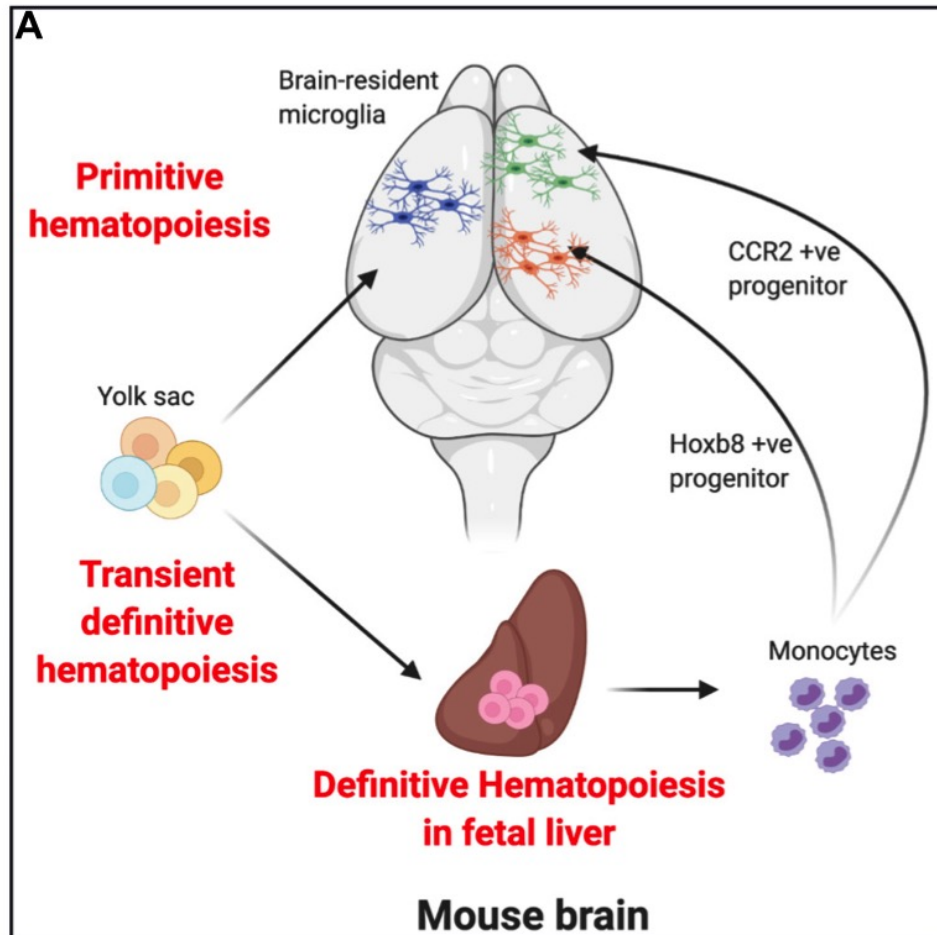
Tg(eno2: Cerulean)



Merge

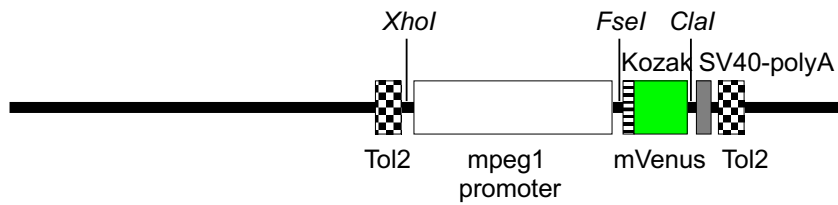


マウスとゼブラフィッシュのミクログリアの比較

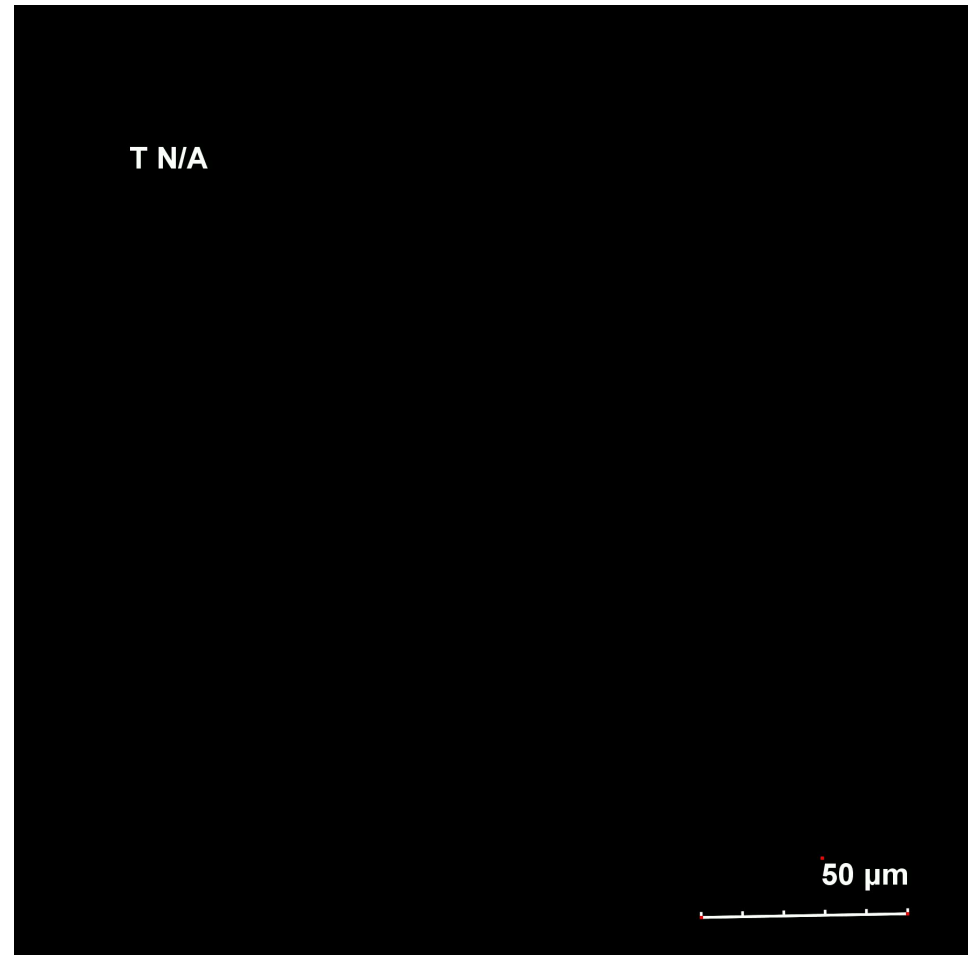
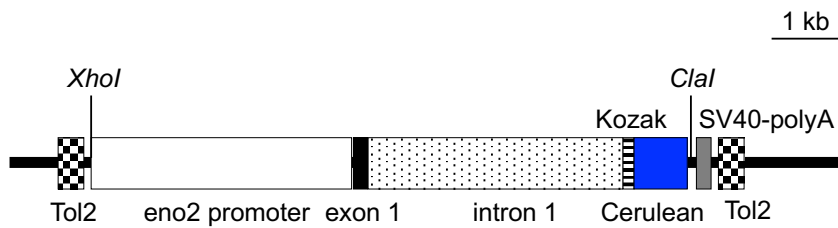


二光子励起顕微鏡を用いたミクログリアのライブイメージング

mpeg: mVenus

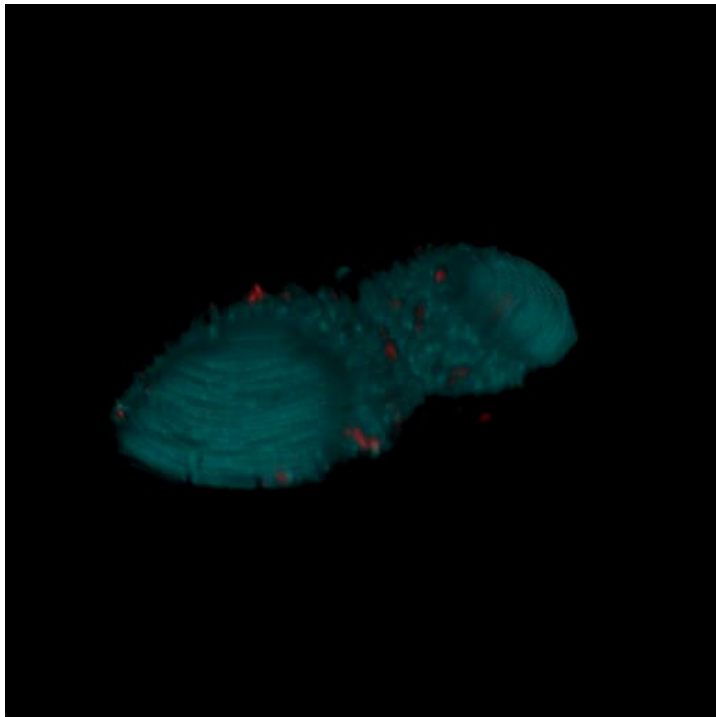


eno2: Cerulean

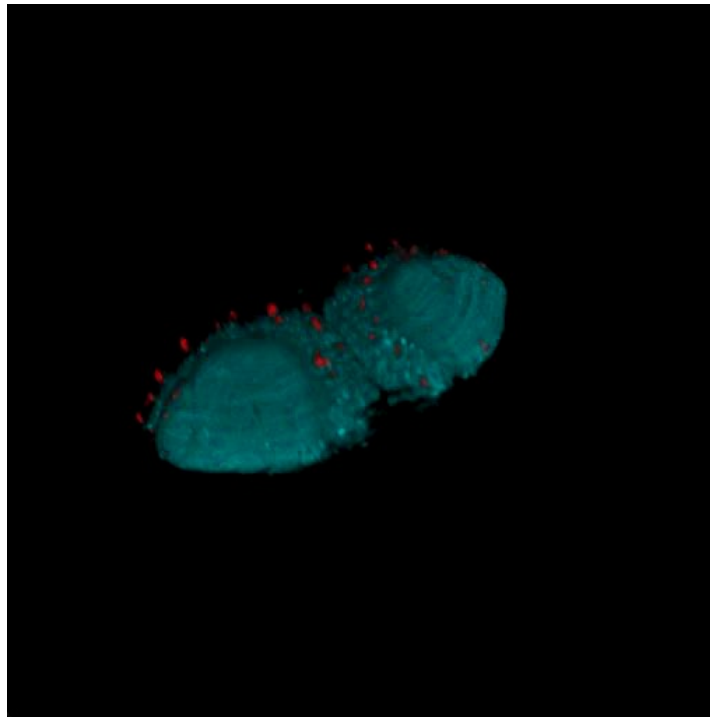


受精後6日目のゼブラフィッシュ中脳視蓋領域のライブイメージング
(化学物質曝露：受精後5日目から24時間)

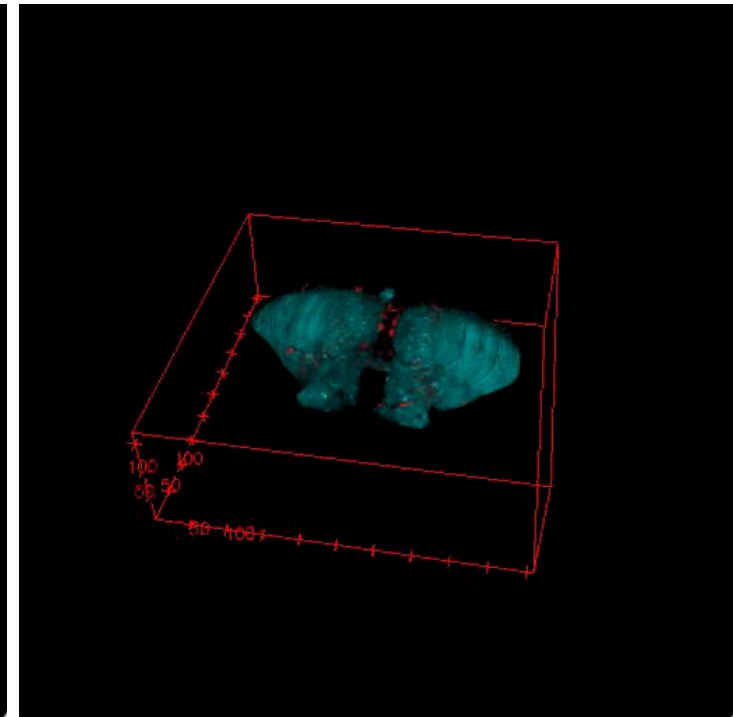
Control



EtOH 2.0%



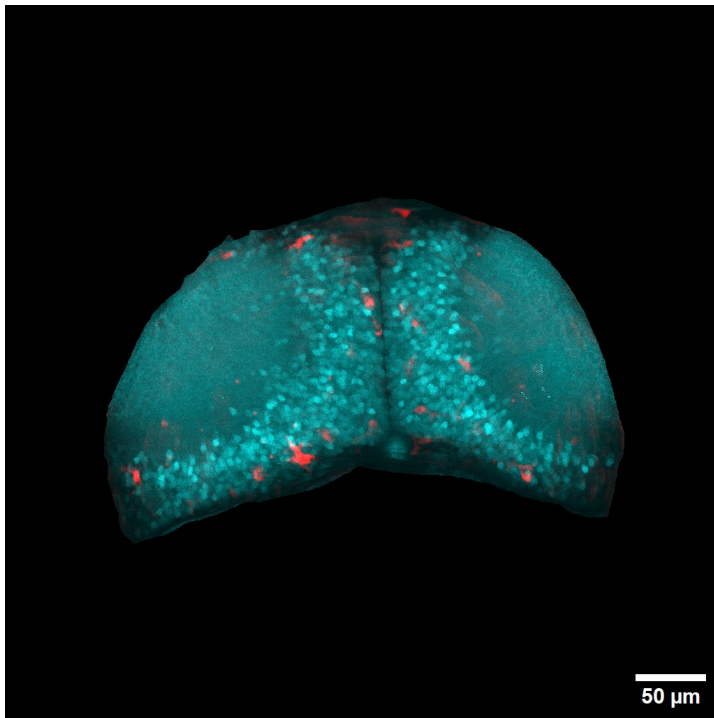
VPA 1.5mM



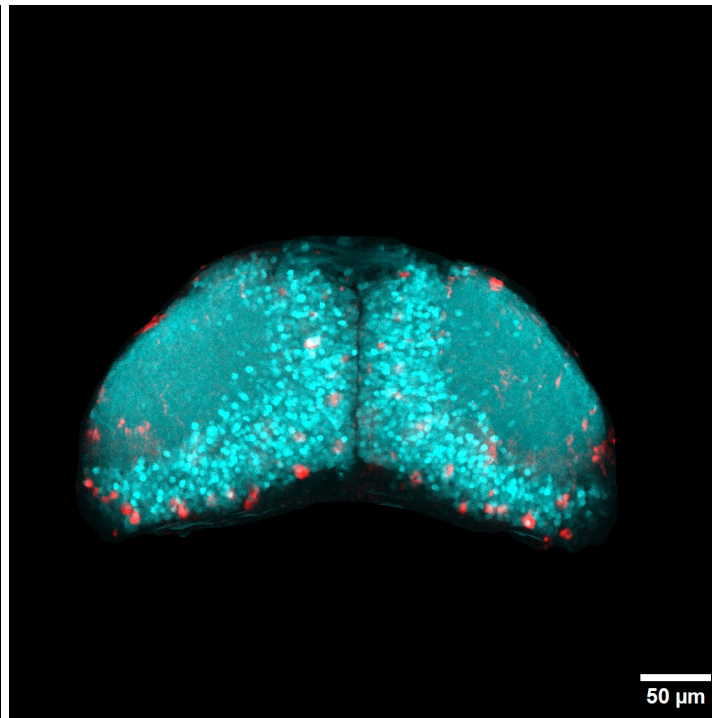
eno2: Cerulean mpeg: mVenus

受精後6日目のゼブラフィッシュ中脳視蓋領域のライブイメージング
(化学物質曝露：受精後5日目から24時間)

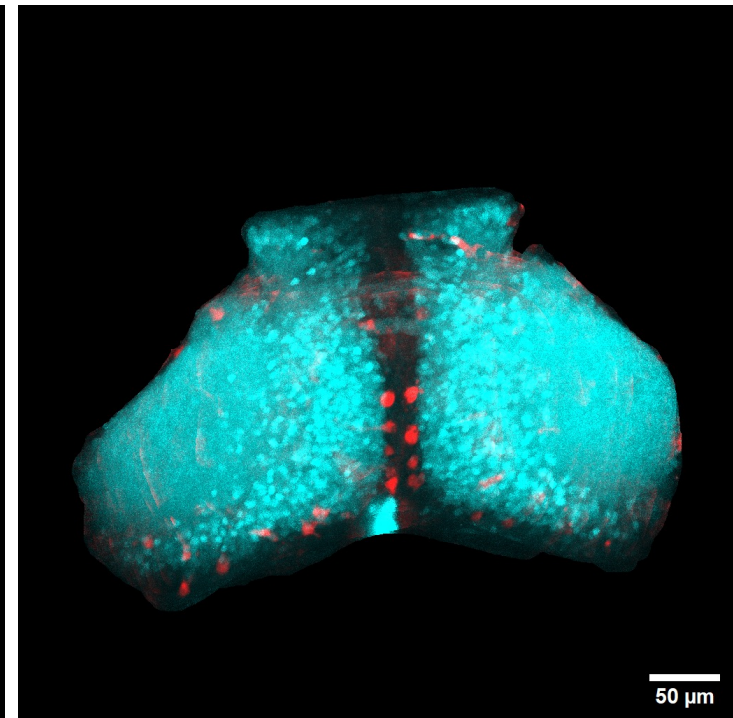
Control



EtOH 2.0%

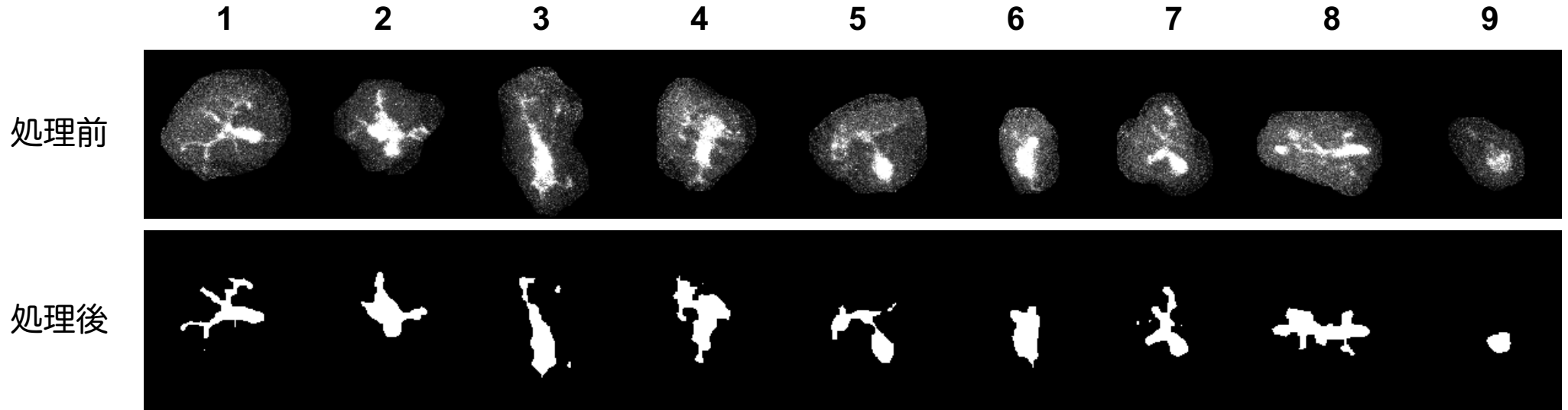


VPA 1.5mM



eno2: Cerulean mpeg: mVenus

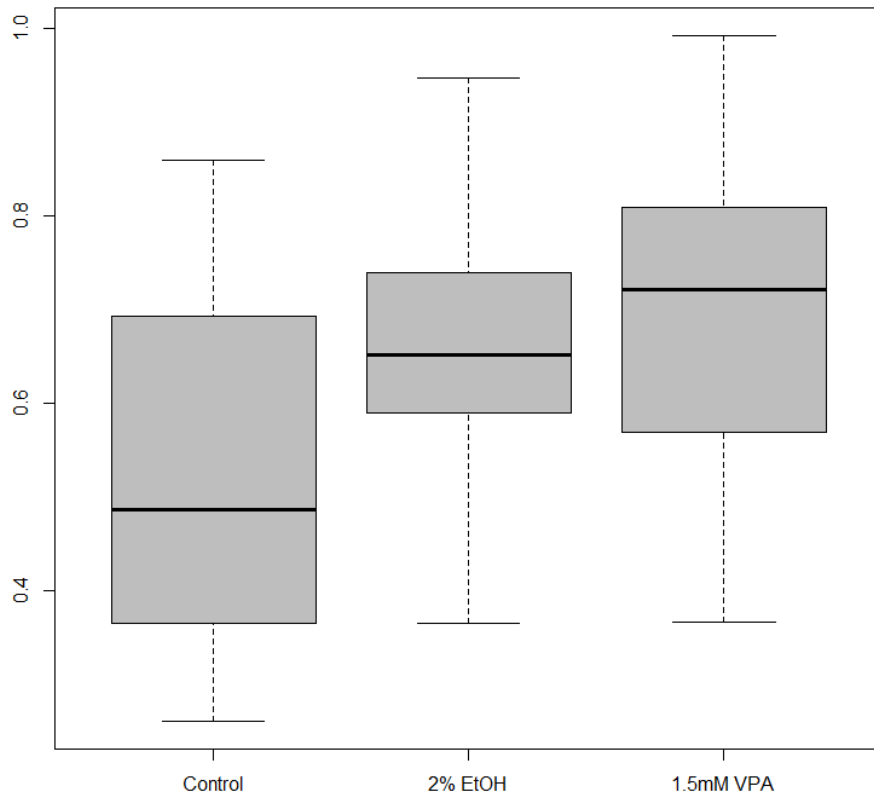
ミクログリア形態の定量的評価



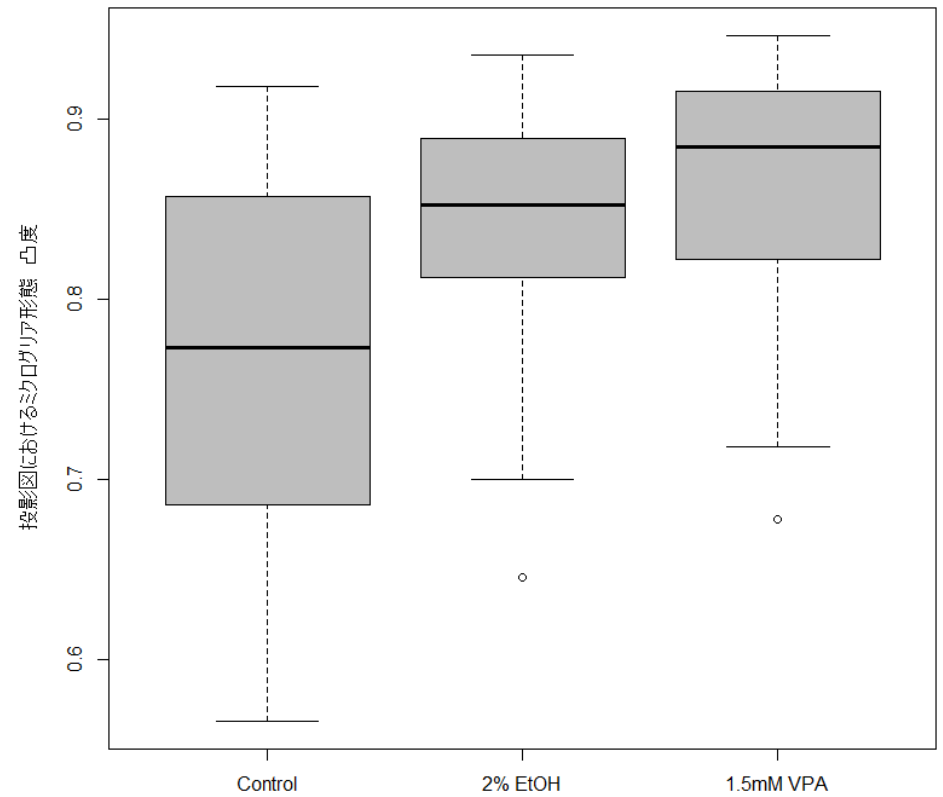
ミクログリア	1	2	3	4	5	6	7	8	9
真円度	0.11	0.326	0.268	0.226	0.209	0.52	0.23	0.192	0.848
アスペクト比	1.43	1.441	4.487	1.604	2.255	2.031	2.005	2.799	1.151
円形度	0.699	0.694	0.223	0.624	0.444	0.492	0.499	0.357	0.869
凸度	0.369	0.572	0.638	0.625	0.455	0.829	0.537	0.538	0.918

ゼブラフィッシュ中脳視蓋領域のミクログリアの形態評価 (化学物質曝露：受精後5日目から24時間)

真円度



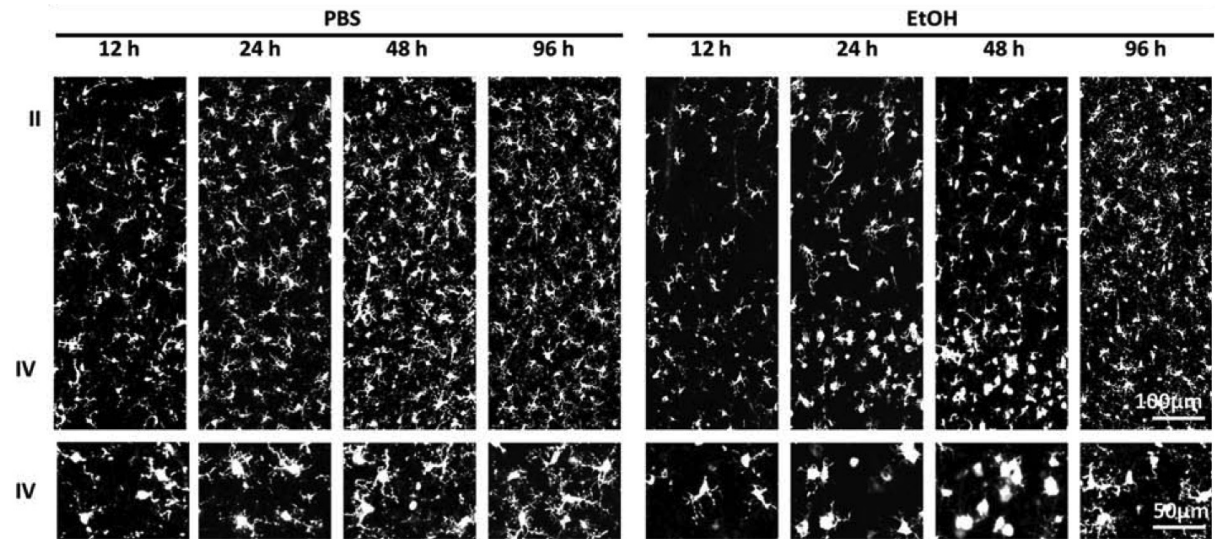
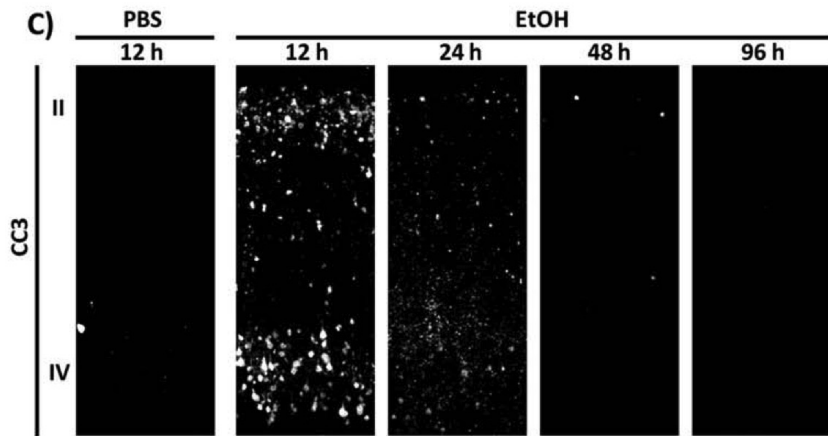
凸度



新生児マウスのエタノール曝露ではアポトーシスがミクログリアの形態変化に先行する

アポトーシス

ミクログリア



Intraperitoneal injection of ethanol at PND7

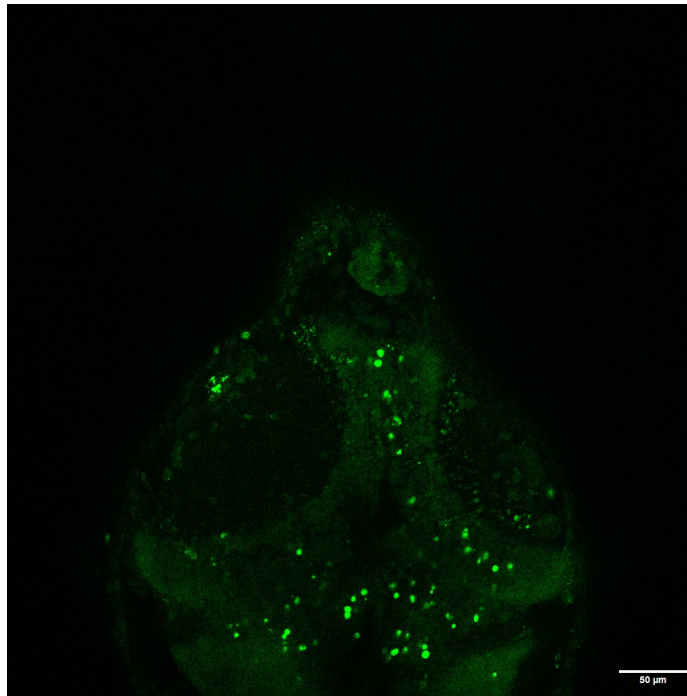
Ahlers et al Glia (2015)

アクリジンオレンジ染色したゼブラフィッシュのライブイメージングによるアポトーシス評価
(化学物質曝露：受精後5日目から24時間)

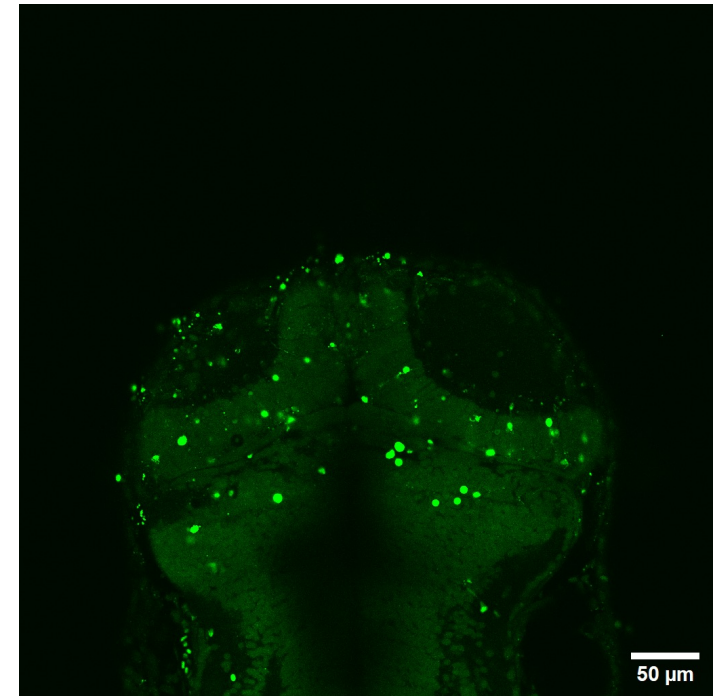
Control



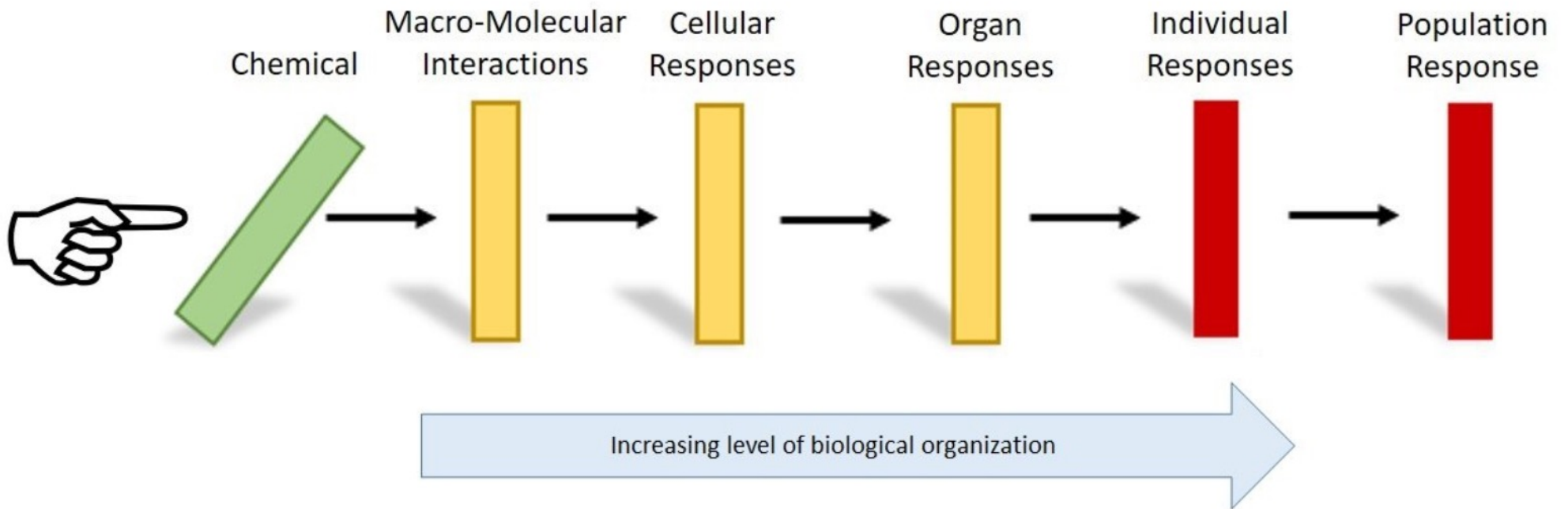
EtOH 2.0%



VPA 1.5mM



Adverse Outcome Pathways



まとめ

- 発達期の化学物質曝露によるミクログリアの形態変化をライブイメージングにより評価できるゼブラフィッシュ実験系を確立した。
- ミクログリア形態の時間的变化とアクリジンオレンジ染色によるアポトーシス変化の比較、ミクログリアの活性化を阻害する薬物によるアポトーシス変化やゼブラフィッシュ行動の変化、などの解析を行うことにより発達期の化学物質曝露による神経炎症のメカニズム解明につながる事が期待できる。

謝辞

三重大学 大学院医学系研究科 統合薬理学

弓削 瑞葵
白水 崇
小岩 純子

近畿大学 理工学部生命科学科 発生生物学研究室

駒田 致和

日本化学工業協会LRI関係者各位に
心より感謝申し上げます

