

論文の内容の要旨

1 申請者

防衛医科大学校 坂元 崇洋

2 論文題目

胎仔期・授乳期・発達期におけるフッ素曝露によるラットの成長に関する影響及び発達神経毒性

3 論文の内容の要旨 (博士：2,000 字程度)

【背景】

フッ素 (F) は非金属元素で最も反応性が高く、水溶液中では F イオンとして存在する。F はう蝕予防として米国等で水道水に添加され、また歯磨き粉などに添加されている一方で、健康への影響が懸念されている。F の摂取量には適切な範囲があり、WHO は飲み水中の F 濃度の上限を 1.5ppm と定めている。従来知られている F の健康影響として 1.5ppm 以上の F 濃度で歯のフッ素症が起こり、更に高濃度曝露が慢性的に続くと骨のフッ素症が起こる。近年、疫学的研究で妊娠中の F 摂取と次世代の認知機能等との関連性が示唆され、神経系への影響が懸念されているが、論争が続いている。胎仔期・授乳期・発達期の曝露は一般に化学物質への感受性が高く、この時期に特に影響が懸念される。動物実験において 2 世代の曝露実験を行った報告では曝露濃度が 20ppm では神経学的影響は否定的との報告もあるが、調整因子を考慮すると設定濃度が低く、F 曝露が神経学的影響を及ぼさないとは言えない。そこで調整因子を考慮した 150ppm の飲み水を介した F 曝露による胎仔期の影響、発達過程の影響、神経学的影響を明らかにするために 2 世代曝露の動物実験を実施した。

【方法】

妊娠ラット 8 頭用意し、飲み水を介した胎仔期の F 曝露として 3 頭を 0ppm 曝露、5 頭を 150ppm 曝露させた。妊娠ラットから生まれた F1 ラットが離乳するまで母乳を介しての F 曝露させた後、同様に飼育を続け、離乳後 (3 週齢時) に胎仔期に 150ppm に曝露させた F1 ラットをそれぞれオスとメスが均等になるようにした上で 0 ppm、150ppm に分けて飲み水による曝露を 12 週齢まで実施した。つまり、対照群 (CC 群：オス=17、メス=16)、周産期曝露群 (胎仔期から 3 週齢まで曝露、FC 群：オス=11、メス=11)、継続曝露群 (胎仔期から 12 週齢まで曝露、FF 群：オス=11、メス=11) となった。胎仔期の影響として、出産後の母親ラットの子宮を展開して、着床数をカウントして出生数と併せて流産数を算出し、流産率を計算し比較した。発達過程の影響として、離乳後から週に 2 回、餌の摂取量、水の摂取量と体重を測定した。測定した数値から各群の平均値を比較した。神経学的影響の評価として 12 週齢にオープンフィールド試験、PPI (Prepulse inhibition) 試験を行った。オープンフィールド試験は活動・適応・情動に関する神経毒性の一般的なスクリーニングとして知られている。PPI 試験は、突然の強い刺激に

対する原始的保護的な身体反応として備わっている驚愕反射を引き起こす刺激（パルス）よりも先行し、より弱いプレパルス（PP70、PP75、PP80）を与えると、プレパルスがない時よりもある時の方が驚愕反射が小さくなる性質を利用した試験であり、認知機能を評価するとされている。各試験実施後に、ラットの脳を、分割した後に部位毎に高速液体クロマトグラフィーでドーパミン（Dopamine ; DA）を含む神経伝達物質とその代謝産物を定量した。3群間で行動試験の結果及び神経伝達物質の定量結果を比較した。

【結果】

F1 ラットの出生数の平均は、対照群で 11.0 ± 1.5 、F 曝露群で 8.8 ± 1.7 であった。流産率の平均は、対照群で 0.0%、F 曝露群で $15.6 \pm 8.1\%$ であった。両群の間で着床数、出生数、流産率に有意差はなかった。オスで FF 群の平均体重は、離乳後 28 日目および 33 日目から 63 日目まで、CC 群の平均体重よりも有意に低かった。メスでも体重について有意差があるが、オスほど継続的ではなかった。オープンフィールド試験の行動に関する項目は3群間でオス、メス共に有意な差はなかった。オスの F1 ラットの PPI 試験では、FC 群及び FF 群の PP70 における %PPI の平均値は、CC 群よりも有意に低かった。メスの F1 ラットでは有意な差はなかった。オスの F1 ラットにおいて DA は FC 群および FF 群の中脳 DA は、CC 群よりも有意に低かった。

【考察】

流産率について統計学的有意差には至らなかったが、F 曝露群でのみ流産が起こったので、F と流産の関連性について今後も検討する余地があると考ええる。F 曝露によって F1 ラットの体重増加が減少したが、FF 群でのみ有意であり、FC 群では有意でなかったことから体重増加については胎仔期から離乳までの時期よりも離乳後の曝露の影響が強いと考える。また、メスの F1 ラットではオスほど有意差はなかったので、F による体重増加の影響に対する感受性には性差があると考ええる。神経学的影響として、オスの F1 ラットで %PPI の低下が観察されたので、F 曝露は認知機能低下と関連することが示唆され、中脳の DA 減少が観察されたことから、そのメカニズムに DA が関与している可能性がある。しかし、メスの F1 ラットではこれらの所見は認められず、F 曝露の神経学的影響が性によって異なる可能性が示唆された。

【結論】

本研究で設定した 150ppm の飲み水の曝露濃度は、WHO が推奨する飲み水中の F 濃度上限 1.5ppm に対して、安全域を考慮して調整因子として種差 10 倍と個体差 10 倍を考慮した設定濃度である。本研究で特にオスの発達期での F 曝露で体重増加の抑制が見られ、また胎仔期から発育期の曝露で認知機能への影響が示された。この結果は飲み水へのフッ素添加について注意を喚起するものである。更に、統計的に有意ではなかったが、F 曝露群で流産が発生しており、F と流産の関係を評価する更なる研究が必要である。（2106/2000）

4 キーワード（5 個程度）

「フッ素」、「飲み水」、「妊娠」、「F1 ラット」、「体重増加」、「発達神経毒性」