

特集 社会性にかかわる脳機能の異常と環境因子との関連

周産期甲状腺ホルモン阻害による認知発達への影響
——注意機能をめぐって——

和田 博美, 瀬戸 友紀奈

【目的】甲状腺ホルモンは脳神経系の発達に必須のホルモンである。環境汚染物質の作用で母体の甲状腺ホルモン量が低下すると、子どもに注意や記憶など認知機能の障害が起こる可能性がある。そこで妊娠ラットに甲状腺ホルモン阻害剤を投与し、仔ラットに移動的注意や配分的注意の障害が起こるか検討した。

【方法】妊娠ラットに甲状腺ホルモン阻害剤メチマゾールを投与した。投与期間は妊娠15日～出産後21日、投与濃度は0.02%であった。生まれた仔ラットに移動的注意と配分的注意の実験を行った。移動的注意課題では左右のターゲットの一方が点灯し、点灯側のレバーを挿入した(同側試行)。5回に1回の確率で、点灯ターゲットと反対側のレバーを挿入した(反対側試行)。配分的注意課題では左右のターゲットの一方が点灯し(片側試行)、点灯側のレバーを挿入した。5回に1回の確率で両方のターゲットが点灯し(両側試行)、どちらか一方のレバーを挿入した。

【結果と考察】レバー挿入から反応までの時間を反応時間とした。移動的注意課題の反対側試行では、無処置群は反応時間1.4～1.6秒で頻繁に反応した。投与群の反応時間は1.2～7.0秒に広がった。投与群は、反対側のターゲットに素早く注意を移動できないと考えられる。配分的注意課題の両側試行では、無処置群が0.6～0.8秒と1.4～1.6秒、投与群が0.8～1.0秒と1.0～6.0秒の反応時間で頻繁に反応した。両群とも一方のターゲットに注意を向け、注意を向けた側のレバーが挿入されたときは短い反応時間で、反対側のレバーが挿入されたときは注意を移動するために長い反応時間で反応していたと考えられる。

【結論】周産期に甲状腺ホルモンを阻害されると、移動的注意が困難になることがわかった。配分的注意に対する影響は明らかにできなかった。

<索引用語：移動的注意，配分的注意，甲状腺ホルモン，ラット>

はじめに

1983年アメリカで、ミシガン湖の魚を摂取した母親の母乳からポリ塩化ビフェニル (polychlorinated biphenyl, 以下PCBと略す) が検出された¹⁾。PCBはカネミ油症を引き起こした化学物質である。その後の調査では、PCB汚染魚を摂取した母親の子供に知能の低下、注意障害、記憶障害が見つかった^{4,5)}。

PCBやダイオキシンなどの有機塩素系化合物は、甲状腺ホルモン受容体や血中の甲状腺ホルモン結合タンパク質と結びつき、甲状腺ホルモンの

脳内への輸送を阻害する⁹⁾。甲状腺ホルモンはニューロンが成長、分化、移動するのに必須であるため¹⁰⁾、PCBによって引き起こされた甲状腺ホルモン低下はニューロン発達を阻害し、脳神経機能の発達障害を引き起こす。これが知能の低下や注意・記憶障害として顕在化したと考えられている。

中でも注目されているのが注意機能の障害である。注意機能は周囲の状況を把握したり、相手を理解したりする上で重要な働きをする。危険な状況を見逃すと生命の危機にさらされ、表情から相

手の気持ちを酌むことができなければ対人関係を築くことも困難になる。注意障害は認知機能の発達にとどまらず、社会性の発達にとっても深刻な結果をもたらす。

注意機能にはいくつかの下位機能があると考えられている¹⁾。特定の対象に注意を向ける選択的注意、注意を向け続ける持続的注意、対象 A から対象 B に注意を移動する移動的注意、同時に複数の対象に注意を向ける配分的注意である。我々は周産期の甲状腺ホルモン阻害が選択的注意や持続的注意に影響することを明らかにした¹⁵⁾。本研究では移動的注意と配分的注意を取り上げ、甲状腺ホルモン阻害がどのような影響を及ぼすのかを検討した。

I. 方 法

1. 被験体

甲状腺ホルモン阻害剤メチマゾール (2-mercapto-1-methylimidazole) を純水に溶かし、妊娠したウイスター系アルビノ・ラットに飲料水として投与した。投与濃度は 0.02 % (10 匹) で、純水のみ投与した群を無処置群 (10 匹) とした。投与期間は妊娠 15 日目から出産後 21 日目までであった。生後 21 日目に離乳させた (投与群の仔ラットには発育遅滞が見られたため、生後 28 日目に離乳)。

離乳後、1 腹から雄 1 匹を選び生後 8 週齢まで自由摂食条件で飼育した。自由摂食最終日の体重の 85 % になるよう給餌制限を加え、行動実験を行った。本研究は生後 28 週齢から開始したが、実験直前に投与群の 1 個体が死亡した。このため被験体数は投与群 9 匹、無処置群 10 匹であった。

2. 実験装置

挿入・格納可能なリトラクタブル式レバーを 2 台取り付けられたオペラント実験箱を使用した。それぞれのレバー上方には発光ダイオードがあり、これらをターゲットとした。

3. 手続き

1) 移動的注意課題

実験が始まると一方のターゲットが点灯し、5 秒後に、点灯ターゲットと同側のレバーが挿入された (同側試行)。ラットが 3 秒以内に反応すると 50 mg のエサが与えられた。しかし 20 % の確率で反対側のレバーが挿入された (反対側試行)。ラットが 10 秒以内に反応するとエサが与えられた。これを 1 日 50 試行 9 日間実施した。

2) 配分的注意課題

実験は片側試行から始まった。片側試行の手続きは上述の同側試行と同様であった。しかし 20 % の確率で両側のターゲットが同時に点灯し (両側試行)、5 秒後に一方のレバーが挿入された。ラットが 10 秒以内に反応するとエサが与えられた。これを 1 日 50 試行 14 日間実施した。

本研究は北海道大学動物実験委員会の審査を受け、承認を得て行われた。

II. 結 果

1. 移動的注意課題

1 日の訓練試行中、ラットが反応した試行数を正反応率とした。図 1 に反対側試行の正反応率を示した。分散分析を行ったところ、投与群の正反応率は無処置群より低下した [F (1,17)=8.57, $p<0.01$]。訓練日の効果も有意であった [F (8,136)=42.63, $p<0.01$]。交互作用が認められたため [F (8,136)=3.54, $p<0.01$] 多重比較を行ったところ、訓練 2~7 日目に有意差があった (2 日目と 7 日目が $p<0.05$, 他は $p<0.01$)。同側試行でも投与群の正反応率は無処置群より低下した [F (1,17)=9.013, $p<0.01$]。しかし正反応率は投与群が約 94 %, 無処置群が約 98 % で、訓練日の効果も交互作用も認められなかった。

レバーが挿入されてから反応するまでの時間を反応時間とした。反応時間を 0.2 秒間隔で区切り、それぞれの区間における反応頻度を集計して相対頻度分布を算出した。訓練最終日の同側試行では、無処置群が反応時間 0.4~0.6 秒に反応頻度のピ

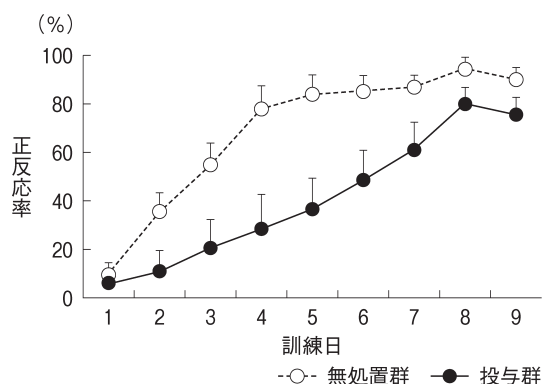


図1 移動的注意課題の反対側試行における正反応率 (平均と標準誤差)

投与群の正反応率は無処置群より有意に低下した (訓練2日目と7日目は $p < 0.05$, 訓練3~6日目は $p < 0.01$).

ークを形成した (図2上). 反対側試行でも1.4~1.6秒にピークを形成した. 正反応率は90%であった. 投与群は同側試行でこそ反応時間0.6~0.8秒にピークを形成したが (図2下), 反対側試行では1.2~7.0秒以上の広範囲にわたる平坦な反応頻度分布が出現した. 正反応率は76%であった.

2. 配分的注意課題

両側試行は, 投与群, 無処置群とも訓練を通して90%以上の正反応率を示した. 分散分析を行ったところ, 投与群の正反応率は無処置群より低下し [$F(1,17) = 10.76, p < 0.01$], 訓練日の効果も有意であった [$F(13,221) = 1.87, p < 0.05$]. 交互作用が認められたため [$F(13,221) = 2.21, p < 0.05$] 多重比較を行ったところ, 訓練2日目と9~12日目に有意差があった (9日目のみ $p < 0.05$, 他は $p < 0.01$). 片側試行でも, 両群の正反応率は訓練を通してほぼ90%を越えていた. 分散分析の結果, 投与群の正反応率は無処置群より低下した [$F(1,17) = 6.94, p < 0.05$]. 訓練日の効果も有意であったが [$F(13,221) = 2.65, p < 0.01$], 交互作用は認められなかった.

訓練最終日の片側試行では, 無処置群が反応時

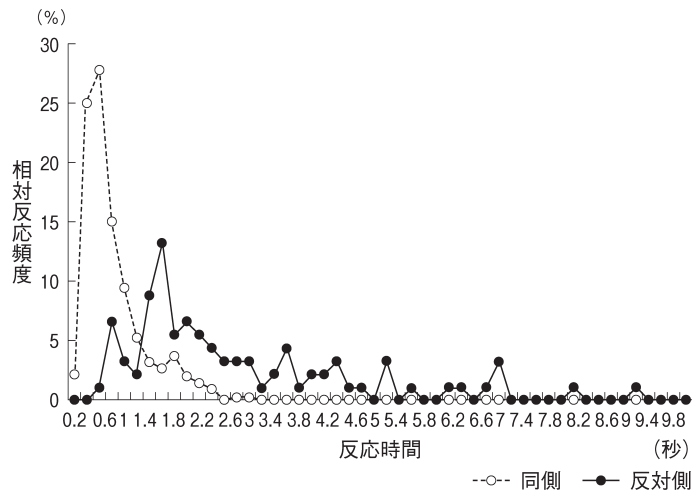
間0.4~0.6秒に反応頻度のピークを形成した (図3上). 両側試行では0.6~0.8秒と1.4~1.6秒の2箇所反応頻度のピークを形成した. 投与群は片側試行で反応時間0.8~1.0秒に反応頻度のピークを形成した (図3下). 両側課題でも同じ0.8~1.0秒にピークを形成したが, 反応時間1.0~6.0秒以上に広がる平坦な反応頻度分布も出現した.

III. 考 察

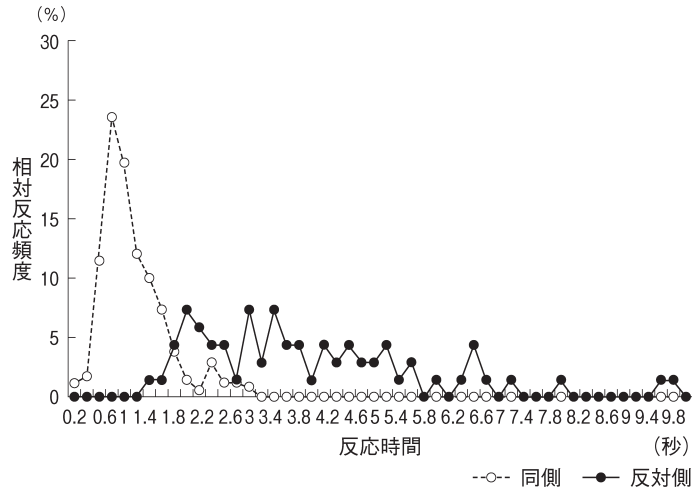
実験動物を用いた研究から, PCBを投与されたラットは不必要にエサ箱を訪れることが報告された³⁾. Negishiら⁸⁾も, 甲状腺ホルモン阻害ラットが異常なほど往復行動を増大させたと報告している. これらは不注意の兆候と考えられた. しかしこの2つの方法は注意機能それ自体を測定対象にしたわけではない.

注意機能それ自体を測定する課題の1つにターゲット検出法がある. これは特定のターゲットが呈示されたときに反応する課題で, ターゲットに注意を向ける必要がある. 甲状腺ホルモン阻害ラットにターゲット検出課題を行ったところ, 見逃し反応が生じ正反応率は低下した¹⁴⁾. 著者はリトラクタブル式レバーを導入してこの装置を改良し, ヒトを対象にしたPosnerら^{11,12)}の研究をもとに, 注意の4つの下位機能 (選択的注意, 持続的注意, 移動的注意, 配分的注意) を実験動物で測定できるようにした. その結果, 甲状腺ホルモン阻害が選択的注意や持続的注意に障害を引き起こすことが明らかになった¹⁵⁾.

移動的注意課題の同側試行では, ラットが点灯したターゲット側に張り付いて待ち続け, レバーに素早く反応する様子が観察された. ラットがターゲットの点灯を手掛かりに, 注意を向けていたことは明らかである. 一方, 反対側試行では点灯ターゲットと反対側のレバーが挿入される. ラットは点灯ターゲット側を離れ, 反対側のレバーに接近する必要があった. 反対側試行における無処置群の反応時間は, 1.4~1.6秒がもっとも高頻度であった. しかし投与群は1.2~7.0秒以上に



無処置群



投与群

図2 移動的注意課題訓練最終日における反応時間の
相対頻度分布 (平均)

横軸の反応時間を0.2秒間隔で区切り、各々の反応時間内に生じた反応数を相対頻度で示した。

広がる平坦な反応頻度であった。反対側課題では張り付いていた点灯ターゲット側から、レバーが挿入された反対側に移動する必要があった。このため反応時間は同側試行より長くなると予想された。実際、無処置群は同側試行で0.4~0.6秒、反対側試行で1.4~1.6秒の反応時間で高頻度に反応した。無処置群は点灯ターゲット側に注意を

向け、同側試行では素早く反応し、反対側試行ではいったん向けた注意をあるタイミングで放棄し、反対側のレバーに移動することが可能であったと考えられる。投与群も同側試行では特定の反応時間で高頻度に反応したことから、点灯ターゲット側に注意を向け、レバーに素早く反応していたといえる。しかし反対側にレバーが挿入されると、

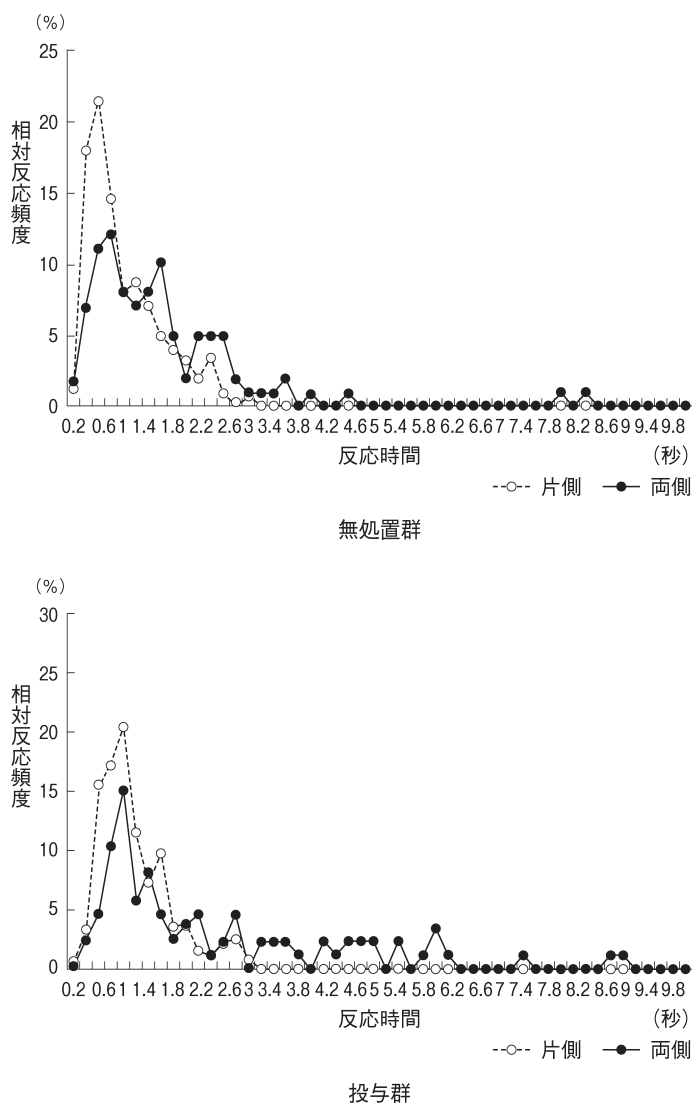


図3 配分的注意課題訓練最終日における反応時間の相対頻度分布（平均）
 横軸の反応時間を0.2秒間隔で区切り、各々の反応時間内に生じた反応数を相対頻度で示した。

反応は散発的で広い反応時間にわたる平坦な反応頻度分布となった。点灯ターゲット側に向けた注意をあるタイミングで放棄し、反対側に注意を移動していたとはいえない。

甲状腺ホルモンを阻害すると、同じ行動パターンに固執するようになる^{6,7)}。投与群は点灯ターゲット側に固執し、ずっと張り付いていた可能性

がある。一度注意をフィックスすると容易に放棄できず、反対側試行で正反応率が低下したり、反応が散発的になったりしたのかもしれない。しかし著者¹⁵⁾の研究では、甲状腺ホルモン阻害群は点灯ターゲット側に注意を持続できず、エサ皿や反対側のレバーに接近する様子が観察された。関係のない刺激に注意を向けてしまうため、反対側

のレバーに移動できなかった可能性もある。

配分的注意課題の両側試行では、2つのターゲットが同時に点灯した。ラットが一方のターゲットに注意を向け、しかも注意を向けた側のレバーが挿入されたなら、より短い反応時間で反応するはずである。しかし反対のレバーが挿入されたなら、その注意を放棄し反対側に移動してから反応するため、より長い反応時間になるはずである。すなわち、ラットがどちらか一方のターゲットに注意を向けたのなら、短長2つの反応時間で反応すると考えられる。しかしラットが両方のターゲットに注意を配分したのなら、どちらのレバーが挿入されても反応時間は同じになり、単一の反応時間で反応すると考えられる。

実験の結果、無処置群は反応時間0.6~0.8秒と1.4~1.6秒の2箇所を高頻度に反応した。投与群は0.8~1.0秒で高頻度に反応したが、それより長い1.0~6.0秒以上にわたる反応時間帯に平坦な反応頻度分布も出現した。これらの反応頻度分布は、移動的注意課題の同側試行と反対側試行の反応頻度分布を合わせたパターンと一致する。おそらく無処置群も投与群も2つのターゲットに注意を配分していたのではなく、どちらか一方のターゲットに注意を向けていたのではないかと考えられる。注意を向けた側のレバーが挿入されたときは同側試行と同様に短い反応時間で反応し、反対側のレバーが挿入されたときは反対側試行と同様に注意を移動してから反応するため長い反応時間になったのであろう。

周産期に甲状腺ホルモンを阻害すると発達遅滞が起こる^{2,17)}。確かに投与群には発達遅滞の兆候が認められたが、行動実験を開始した生後8週齢では体重は完全に回復していた。レバー押し反応^{6,7)}やモリス型水迷路課題の遊泳スピードにも影響がなく¹⁶⁾、運動機能が低下していた可能性も考えにくい。モチベーションにも影響は見られない^{6,7)}。本実験のラットもエサを食べ残すことはなかった。これらのことから、本実験の投与群に見られた正反応率の低下や反応時間の相対頻度分布の変化は、モチベーションの低下や運動機

能の障害によるものとは考えにくい。

おわりに

本実験では2つのターゲットが左右に14 cm 離れていたため、2つ同時に視野に入れることができなかった可能性もある。興味深いことに、数匹の無処置群のラットが両側試行中に、頭を左右に振る行動を形成した。この行動は2つのターゲットに注意を配分していた可能性を示すのかもしれない。ラットの注意機能についてはさらなる研究が必要であろう。

謝 辞

北海道大学文学部の重見早紀さん、下出真梨子さん、谷口奈々さんが長期にわたり実験を補助してくれた。心から謝意を表したい。

本研究は一般社団法人・日本化学工業協会の長期自主研究 (LRI) による支援を受けた。

文 献

- 1) 浜田博文：注意の評価。神経心理学評価ハンドブック (田川皓一編)。西村書店、東京、p. 99-110, 2007
- 2) Henck, J. W., Traxler Frahm, D., Anderson, J. A.: Validation of automated behavioral test system. *Neurotoxicol Teratol*, 18; 189-197, 1996
- 3) Holene, E., Nafstad, I., Skaare, J. U.: Behavioural hyperactivity in rats following postnatal exposure to subtoxic doses of polychlorinated biphenyl congeners 153 and 126. *Behav Brain Res*, 94; 213-224, 1998
- 4) Jacobson, J. L., Jacobson, S. W.: Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero. *New Engl J Med*, 335; 783-789, 1996
- 5) Jacobson, J. L., Jacobson, S. W.: Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and attention at school age. *J Pediatr*, 143; 780-788, 2003
- 6) MacNabb, C., O'Hare, U., Cleary, J., et al.: Congenital hypothyroidism impairs response alteration discrimination behavior. *Brain Res*, 847; 231-239, 1999
- 7) MacNabb, C., O'Hare, U., Cleary, J., et al.: Varied duration of congenital hypothyroidism potentiates perseveration in a response alteration discrimination task. *Neurosci Res*, 36; 121-127, 2000

- 8) Negishi, T., Kawasaki, K., Sekiguchi, S., et al.: Attention-deficit and hyperactive neurobehavioural characteristics induced by perinatal hypothyroidism in rats. *Behav Brain Res*, 159; 323-331, 2005
- 9) Porterfield, S. P.: Vulnerability of the developing brain to thyroid abnormalities: Environmental insults to the thyroid system. *Environ Health Perspect*, 102 (suppl. 2); 125-130, 1994
- 10) Porterfield, S. P.: Thyroidal dysfunction and environmental chemicals-Potential impact on brain development. *Environ Health Perspect*, 108 (suppl. 3); 433-438, 2000
- 11) Posner, M. I., Snyder, C. R. R., Davidson, J.: Attention and the detection of signals. *J Exp Psychol: Gen*, 109; 160-174, 1980
- 12) Posner, M. I., Walker, J. A., Friedrich, F. J., et al.: Effects of parietal injury on covert orienting of attention. *Neurosci*, 4; 1863-1874, 1984
- 13) Schwartz, P. M., Jacobson, S. W., Fein, G., et al.: Lake Michigan fish consumption as a source of polychlorinated biphenyls in human cord serum, maternal serum, and milk. *Am J Public Health*, 73; 293-296, 1983
- 14) Wada, H.: Hypothyroid rats exhibit attention deficits in a target detection task. *Organohalogen Compounds*, 68; 1454-1457, 2006 (<http://www.dioxin20xx.org/>)
- 15) Wada, H.: Effects of perinatal hypothyroidism on selective and sustained attention in rats. 30th International Congress of Psychology, 22-27 July 2012, Cape Town, South Africa
- 16) Wada, H., Satoh, T.: Perinatal hypothyroid rats exhibit long-lasting impairments in spatial learning in the Morris water maze. *Organohalogen Compounds*, 73; 1476-1479, 2011 (<http://www.dioxin20xx.org/>)
- 17) Weller, A., Rozin, A., Rigler, O.: Neurobehavioral development of neonatal rats after in-utero hypothyroxinemia: efficacy of prenatal thyroxine treatment. *Early Hum Dev*, 46; 63-76, 1996

Developmental Effects of Perinatal Hypothyroidism on Cognitive Functions: Focused on Attention

Hiromi WADA, Yukina SETO

Graduate School of Letters, Hokkaido University

【Purpose】 Thyroid hormones are essential for the development of brain. Perinatal hypothyroidism induced by environmental endocrine disrupters is reported to cause cognitive dysfunctions such as attention and memory deficits. The purpose of this study is whether perinatal hypothyroidism causes deficits of shift attention and divided attention in offspring using a target detection task.

【Methods】 Pregnant rats were treated with the anti-thyroid drug methimazole [0.02% (w/v)] from gestational day 15 to postnatal day 21. The offspring received behavioral testing using shift attention and divided attention tasks. The testing of shift attention started with the presentation of one of two targets. A lever was inserted to the same side as the presented

target (ipsilateral trial). However, a lever was inserted to the opposite side to the presented target with the probability of 20% (contralateral trial). Next, the testing of divided attention was introduced. The testing started with the presentation of one of the two targets (one-side trial). A lever was inserted to the same side as the presented target. However, both targets were presented (both-side trial) and one of the two levers was inserted with the probability of 20%.

【Results and Discussion】 On the contralateral trials in the shift attention task, the untreated rats responded frequently with reaction times of 1.4-1.6 s, whereas the treated rats responded sporadically with a wide range of reaction times of 1.2-7.2 s. This indicates that the treated rats were not able to shift their attention quickly toward the opposite side.

When the both-side targets were presented in the divided attention task, the untreated rats responded frequently with the reaction times of 0.6-0.8 s and 1.4-1.6 s. The treated rats responded frequently with reaction times of 0.8-1.0 s and 1.0-6.4 s. Both the untreated and treated rats did not divide their attention toward the both-side targets but probably paid attention to one of the two targets. They responded with the shorter reaction times when the lever was inserted in the same side that they paid attention and responded with longer reaction times when the lever was inserted in the opposite side. We conclude that perinatal hypothyroidism affects shift attention in rats but further researches are necessary to examine whether hypothyroidism affects divided attention.

【Conclusion】 Perinatal hypothyroidism causes the deficit of shift attention in rats but it was unclear whether hypothyroidism affects divided attention.

<Authors' abstract>

<**Key words**: shift attention, divided attention, thyroid hormone, rat>
