

氏 名	いまにしさとし 今西 哲
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1611 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	農 学 研 究 科 応 用 生 物 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Effects of Exposure to Bisphenol A on Signal Regulation through Mouse Placenta (マウスの胎盤を介したシグナル調節に及ぼすビスフェノール A の影響)
論文調査委員	(主 査) 教 授 久 米 新 一 教 授 今 井 裕 教 授 廣 岡 博 之

論 文 内 容 の 要 旨

外因性内分泌攪乱物質はプラスチックの可塑化剤や安定剤、食品の包装材の原料などとして広く用いられているが、哺乳類の生殖や発生への悪影響が懸念されている。そのため、外因性内分泌攪乱物質による生体への影響とその作用機序の解明に関する研究が進展し、これまでに哺乳類の成体や胎仔などに及ぼす内分泌攪乱作用については多くの知見が得られている。一方、哺乳動物の胎盤および卵黄嚢は母胎間の物質交換や血管血球系細胞の分化などに重要な役割を果たしているが、外因性内分泌攪乱物質が胎盤あるいは卵黄嚢に及ぼす影響についてはほとんど明らかにされていない。

そこで本研究では、外因性内分泌攪乱物質の一つと考えられているビスフェノール A (BPA) の胎盤を介した作用機序を明らかにするために、妊娠マウスに環境レベルとされる $2\mu\text{g}/\text{kg}$ の BPA を基準にして妊娠日齢6.5日から約10日間経口投与し、胎盤あるいは卵黄嚢を介した母胎間のシグナル伝達に及ぼす BPA の影響を調べた。

第1章では、妊娠マウスの胎盤の重量、直径および組織像に及ぼす BPA 投与の影響を検討した。 $200\mu\text{g}/\text{kg}$ の BPA 投与は胎盤の重量と直径を減少させ、また $20\text{mg}/\text{kg}$ の BPA 投与は直径を減少させたが、 $2\mu\text{g}/\text{kg}$ の BPA 投与は胎盤の重量と直径に影響しなかったことから、 $200\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の BPA 投与は胎盤の大きさに影響することを明らかにした。しかし、 $2\mu\text{g}/\text{kg}$ および $200\mu\text{g}/\text{kg}$ の BPA 投与は胎盤の組織像には影響しなかった。

第2章では、妊娠マウスに $2\mu\text{g}/\text{kg}$ の BPA を投与し、胎盤の mRNA 発現に及ぼす BPA の影響を DNA マイクロアレイで解析した。その結果、雄胎仔の胎盤では発現量の減少する遺伝子が多いのに対して、雌胎仔の胎盤では発現量の増加する遺伝子が多く、BPA による mRNA 発現量への影響が胎仔の性によって異なることが示された。また、機能による分類の結果、転写因子遺伝子の発現が雄胎仔の胎盤ではほとんど影響されないのに対して、雌胎仔の胎盤では多くの遺伝子の発現が亢進されたため、胎仔の性による mRNA 発現量の相違は転写因子遺伝子への影響に起因することが示唆された。エストロゲンの標的遺伝子の発現量には雄胎仔の胎盤と雌胎仔の胎盤で変化はなかったが、雌胎仔の胎盤では $\text{PPAR}\gamma$ mRNA と $\text{PPAR}\gamma$ の標的遺伝子の発現に顕著な増加がみられたことから、BPA は雌胎仔の胎盤で $\text{PPAR}\gamma$ を介したエネルギー代謝に影響を及ぼしていることを明らかにした。

第3章では、妊娠マウスの卵黄嚢におけるレチノイン酸シグナルに焦点をおいて、 $2\mu\text{g}/\text{kg}$ の BPA 投与がレチノイン酸受容体 (retinoic acid receptor α : $\text{RAR}\alpha$, retinoid X receptor α : $\text{RXR}\alpha$) とレチノイン酸応答性遺伝子 (GPRC5B) の mRNA 発現に及ぼす影響を調べた。 $\text{RAR}\alpha$ と $\text{RXR}\alpha$ の mRNA 発現量は雄胎仔の卵黄嚢で減少し、GPRC5B の mRNA 発現量は雄胎仔と雌胎仔の卵黄嚢で減少したことから、BPA による卵黄嚢のレチノイン酸シグナルへの影響は雌雄で異なり、また GPRC5B が重要な役割を果たしていることが示唆された。

第4章では、GPRC5B 遺伝子の機能を明らかにするために、胎盤と卵黄嚢における $\text{RAR}\alpha$ タンパク質と GPRC5B タンパク質の局在並びに $2\mu\text{g}/\text{kg}$ の BPA 投与による影響を調べた。その結果、 $\text{RAR}\alpha$ タンパク質と GPRC5B タンパク質は血管内皮細胞に局在し、 $\text{RAR}\alpha$ と GPRC5B が血管新生による血管網の構築に関与していることを明らかにした。また、卵黄

囊における血管の発達の様子をホールマウント免疫染色法で調べた結果、 $2\mu\text{g/kg}$ の BPA 投与が血管網の発達を抑制した。

論文審査の結果の要旨

外因性内分泌攪乱物質は、哺乳類の生殖や発生への影響や食の安全性への影響が懸念されている。胎盤や卵黄囊は哺乳類の発生に必須の器官であるが、外因性内分泌攪乱物質が哺乳類の胎盤あるいは卵黄囊に及ぼす影響についてはほとんど明らかにされていない。本論文は、妊娠マウスに外因性内分泌攪乱物質の一つであるビスフェノール A (BPA) を経口投与し、マウスの胎盤を介したシグナル調節に及ぼす BPA の影響を解明することを目的としたものである。評価すべき点は以下のとおりである。

1. 妊娠マウスに対する $200\mu\text{g/kg}$ の BPA 投与は胎盤の重量と直径を減少させ、また $20\mu\text{g/kg}$ の BPA 投与は直径を減少させたことから、 $200\mu\text{g/kg}$ 以上の BPA 投与は胎盤を縮小させることを明らかにした。

2. 妊娠マウスの胎盤における遺伝子発現に及ぼす BPA 投与の影響は、胎仔の性によって異なっていることを明らかにした。特に、雌胎仔の胎盤では $\text{PPAR}\gamma$ mRNA と $\text{PPAR}\gamma$ の標的遺伝子の発現に顕著な増加がみられたことから、BPA が雌胎仔の胎盤における $\text{PPAR}\gamma$ を介してエネルギー代謝を攪乱していることを推察した。

3. レチノイン酸受容体の mRNA 発現量は雄胎仔の卵黄囊で減少し、レチノイン酸応答性遺伝子 (GPRC5B) の mRNA 発現量は雄胎仔と雌胎仔の卵黄囊で減少したことから、BPA による卵黄囊のレチノイン酸シグナルへの影響は雌雄で異なり、また GPRC5B が重要な役割を果たしていることを示した。

4. 妊娠マウスの胎盤と卵黄囊では GPRC5B がレチノイン酸による血管新生に関与し、また BPA 投与によりレチノイン酸シグナルが攪乱され、卵黄囊における血管の発達を抑制していることを明らかにした。

以上のように、本論文はマウスの胎盤を介したシグナル調節に及ぼすビスフェノール A の影響を解明し、外因性内分泌攪乱物質の毒性発現機序に関する多くの新知見を見いだしたものであり、動物生体機構学、動物生理学、薬理学の分野に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成19年2月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。