

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 ファルネ か お り

主論文 1編

Low doses of Bisphenol A disrupt neuronal differentiation of human neuronal stem/progenitor cells.

Acta Histochemica et Cytochemica (掲載予定)

審査結果の要旨

環境化学物質であるビスフェノール A (以後、BPA) は、国際的規制下においてもヒト組織から微量が検出されており、母体を介した胎生期の BPA 曝露と神経行動学的異常の関連性が示唆されている。一方、胎生期における大脳皮質発生において、中間型神経前駆細胞の数・種類の増加に基づく皮質神経細胞数及び多様性の増大は、ヒト特異的な現象である。BPA の齧歯類脳に対する影響はこれまでに多くの知見が集積されているが、低用量 BPA がヒト大脳皮質発生中期において中間型神経前駆細胞の分化に与える影響は不明であった。

申請者は、低用量 BPA がヒト神経幹・前駆細胞 (Neuronal stem/progenitor cells: NSPCs) の神経細胞分化に与える影響を明らかにするため、*in vitro* の系で、神経幹・前駆細胞 (NSPCs)、中間型前駆細胞、及び未熟神経細胞の分化を時系列的に解析した。

胎生期 9-10 週のヒト胎児前脳から樹立された NSPCs を用い、2次元 *in vitro* 曝露モデルとして、低用量 BPA あるいは Vehicle を添加して分化培養した。培養後 (day *in vitro*: DIV) 2, 4, 7, 12 に免疫細胞化学染色を用い、NSPCs マーカーとして SOX2 (SRY-box 2)、中間型前駆細胞マーカーとして NHLH1、未熟神経細胞マーカーとして doublecortin (DCX) を発現する細胞数を定量した。画像取得及び定量には IN Cell Analyzer2200 を用いた。さらに、DCX 陽性細胞の神経突起数、神経突起長の総和、最長の神経突起長を計測した。

BPA 用量としては、NSPCs の増殖に影響を与えず、SOX2 陽性細胞数に有意差を示す最低用量である 100 nM を用いた。SOX2 陽性細胞数は、BPA 曝露群で対照群に比し、DIV 4 ($P < 0.005$) 及び DIV 7 ($P < 0.05$) で有意に減少した。NHLH1 陽性細胞数は、DIV 2, 4, 7 において、BPA 曝露群で増加傾向を示した。DCX 陽性細胞数は、BPA 曝露群で DIV 2 及び DIV 7 で有意に増加した ($P < 0.05$)。DIV 12 で、TH (tyrosine hydroxylase) の発現は、対照群で平均 13.03 %、BPA 群で平均 69.68 %であった ($P = 0.0889$)。形態学的解析では、BPA 曝露群では多極性細胞数が有意に増加し、単極性細胞が減少した ($P = 0.0045$)。神経突起長に関しては、BPA 曝露による変化はみられなかった。

以上の結果から、100 nM BPA 曝露により、NSPCs の中間型神経前駆細胞、神経細胞への分化過程がかく乱される可能性が推察された。自閉症を有する小児では、健常児と比較して、前頭野皮質における神経細胞数の増加、神経細胞の形態学的変化が報告されており、BPA 曝露による発生早期の神経細胞分化の異常がその背景にある可能性が示唆され、今後の分子メカニズム解明がまたれる。

以上が本論文の内容であるが、ヒト胎児脳の大脳皮質神経細胞分化に及ぼす低用量 BPA の *in vivo* での影響について、重要な手がかりを与え得る *in vitro* 曝露モデルでのデータを明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

令和 5 年 1 月 19 日

審査委員 教授 八木田 和弘 ㊞

審査委員 教授 田中 雅樹 ㊞

審査委員 教授 小野 勝彦 ㊞