

## 論文審査の結果の要旨

氏名：小 林 慶 一

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ビスフェノール A が発達期ラットの脳内カテコールアミン代謝酵素遺伝子発現に及ぼす影響

審査委員：（主査） 教授 岩 田 幸 一 ㊞

（副査） 教授 白 川 哲 夫 ㊞ 教授 今 村 佳 樹 ㊞

教授 越 川 憲 明 ㊞

ビスフェノール A (BPA) はエストロゲン様ホルモン作用を示す内分泌攪乱物質の一つとして知られている。コンポジットレジンやレジン系シーラント等の歯科材料にも BPA が含まれており、微量ながら口腔内への BPA の溶出の可能性が示唆されている。これまでの研究で、胎生期あるいは新生仔ラットに BPA を投与した場合、性周期、黄体形成ホルモンレベル、行動パターン等に影響が現れることが報告されており、BPA が末梢組織のみならず、中枢神経系にも影響を及ぼすことが明らかにされている。

現在のところ、出生直後の哺乳動物の脳における BPA のエストロゲン様作用について、遺伝子発現への影響を包括的に調べた報告はない。そこで本論文の著者は新生ラットに BPA を投与し、それによって引き起こされる mRNA 発現の変化を視床下部と脳幹について GeneChip Probe Array を用いて解析した。また、成熟ラットについて 2 種のエストロゲン受容体 (ER $\alpha$ ならびに ER $\beta$ ) が多く発現していることが明らかになっている視索前野を対象に、新生雄ラットについて、これらの受容体の局在を調べるとともに、BPA 投与により mRNA の明瞭な変動が認められたカテコールアミン代謝酵素とエストロゲン受容体との共存の有無を検討した。

実験には、生後 1 日齢の Sprague-Dawley 系雄性ラットを用い、BPA 100  $\mu$ g 皮下投与の 2 時間あるいは 6 時間後に脳を摘出した。全 RNA を抽出したのち GeneChip<sup>®</sup>のプロトコールに従って処理を行い、Rat Neurobiology U34 Array を用いて発現解析を行った。さらに ER $\alpha$ および ER $\beta$ に対する抗体を用い、それぞれが発現している細胞の視床下部での局在を免疫染色法により調べるとともに、免疫蛍光二重染色法により catechol-O-methyltransferase (COMT) との共存の有無を検討し以下の結論を得ている。

1. 生後 1 日齢の雄ラットへの BPA 投与によって、視床下部において mRNA 発現量が 1/5 以下に減少した遺伝子は COMT のみであった。
2. 生後 1 日齢の雄ラットの視索前野において ER $\alpha$ および ER $\beta$ 陽性細胞が認められたが、ER $\alpha$ 陽性細胞が明らかに多かった。また第 3 脳室を囲む上衣細胞に強い COMT 陽性反応がみられた。
3. エストロゲン受容体の拮抗薬の投与で BPA による COMT 発現の抑制作用が減弱したことから、BPA が主として ER $\alpha$ と結合することで COMT mRNA 発現を抑制していることが考えられた。

以上のように、新生仔ラットへの BPA 投与が脳内の COMT mRNA 発現を著明に抑制することが明らかになった。このことは、BPA が脳内カテコールアミン代謝に影響を与える可能性、ならびにそれによる行動への影響を示唆している。

以上のように、本研究は発達期の哺乳類の脳に対する内分泌攪乱物質の作用、とくに歯科材料から溶出する可能性のある BPA が脳内カテコールアミン代謝酵素遺伝子の発現に及ぼす影響の一端を解明したもので、小児歯科学ならびに関連臨床医学分野に寄与するところ大であると考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 26 年 1 月 23 日