

ビスフェノールAの脳皮質形成への影響

京都府立医科大学・大学院医学研究科・分子病態病理学教授 伏木信次氏



内分泌攪乱作用が懸念されながらも一旦は安全と評価されたビスフェノールA（BPA）は、2008年に国内外で再度胎児への影響について危険性が指摘され話題となっている。12月6日国民会議総会記念フォーラムで、このBPAが脳発達へ及ぼす影響について最先端のご研究をなさっている伏木信次先生にご講演頂いた内容の概要をご報告する。

1. 脳の形成・発達に重要な現象

本題に入る前に、正常な脳が形作られるには、以下の4つの現象が過不足なく、しかも秩序正しく機能することが必須であることを念頭に入れておきたい。

- 1) 細胞増殖：神経細胞とグリア細胞の母である神経幹細胞が適正な数に増殖することは脳形成の最も基盤をなす。
- 2) 細胞死：神経幹細胞の増殖や神経細胞の産生が過剰になるとそれら細胞が死ぬことによって調節を受ける。これは正常な脳形成に重要である。
- 3) 細胞分化：神経幹細胞から神経細胞、グリア細胞が生み出される。神経細胞では突起が伸長しシナプスを形成するなど特有の分化が起こる。
- 4) 細胞移動：分化に伴い神経細胞は脳内の本来占めるべき位置に移動し、一定の配列をとり、そのうえで細胞相互の間で神経回路を形成する。

これらの現象には、遺伝要因と環境要因の両方が関与する。ヒト脳の特徴である高次機能を担う大脳皮質の発生過程に着目すると、妊娠7-15週で、大脳皮質の神経細胞は1分間に平均25000個産生される時期があり、この段階で作用する環境要因は特に重要である。これらの神経細胞は大脳皮質内で移動し、層構造を構築するが、そのメカニズムは複雑で、多くの分子、遺伝子が関与している。妊娠中には、たとえば大脳皮質と脊髄を繋ぐ重要な神経回路も形成され、左右の大脳

皮質神経細胞に発した神経突起は延髄で交叉し（錐体交叉と呼ばれる）、このため右半身は左脳の、左半身は右脳の支配を受ける。これらの神経回路形成も、遺伝要因と環境要因の影響を受ける。環境要因が脳形成に重要であることは、胎生期放射線被曝により、大脳皮質神経細胞の正常な移動が遅延し、その結果、ヘテロトピー（異所性灰白質：神経細胞の配置異常）や小頭症が発症することを研究してきた経緯からも注目してきた。

2. BPAについて

BPAは、1936年に女性ホルモンであるエストロゲン類似物質開発のために合成された化学物質で、後にプラスチック原料として多くの用途に使用されてきた。BPAについては、近年内分泌系や生殖器系だけでなく、神経系への影響（行動を含む）に関するデータも蓄積され、さらにヒトの尿、血清、羊水、胎盤、母乳などで検出され、胎齢15-18週では羊水中濃度が母体血清より高いという報告もあることから、胎児期曝露による脳形成・発達への影響を懸念して研究を開始した。

3. BPAの発達期脳への影響

BPAを、妊娠マウスに妊娠直後から連日、体重1kg当たり20 μ gと低用量皮下投与し、妊娠経過を追って、胎仔脳の発生過程を組織学的ならびに遺伝子発現の面から解析した。その結果、大脳皮質の形成過程である妊娠12.5日~16.5日の間で、BPA投与群では神経細胞の分化や細胞移動が、非投与群に比べ促進していた。この時期の大脳皮質における遺伝子の転写活性（遺伝子発現）を調べると、神経細胞分化に関わる転写因子（遺伝子発現を調節する因子）の遺伝子や甲状腺ホルモンの影響を受ける遺伝子の転写活性が大きく

変化しており、組織学的変化同様に、発生をより促進する方向に働いていることがわかった。BPAは、神経細胞分化に関わる活性型転写因子の作用を高める一方、抑制型転写因子を抑え、さらに脳の発達に重要な甲状腺ホルモンの作用を攪乱して、妊娠中の脳形成過程に影響を及ぼしていた。

4. BPAの脳形成期への影響は成熟してからも持続するか？

胎生期にBPA曝露したマウスの成長後の影響を知るため、生後3週の大脳皮質を調べると、正常では神経細胞が6層の秩序ある配列をとるが、BPA曝露群では、IV層にあるべき神経細胞が上下の層に広がって分布し、神経細胞の配置に明らかな異常が観察された。さらに大脳皮質と脊髄を結ぶ重要な経路となる、大脳皮質と視床を連絡する視床皮質路を調べたところ、正常では神経回路の線維が収束しているのに対し、BPA投与群では神経線維が広く分散していた。これらの結果から、BPAは胎児期の脳形成段階で影響を及ぼすだけでなく、成長後の大脳皮質神経細胞の配置異常や、視床皮質路における神経回路形成異常など、持続的な影響をもたらすことが明らかとなった。

5. BPAによるエピジェネティクス(注)への影響

次にBPAの作用メカニズムを調べるために、遺伝子を働かせるオン・オフのスイッチを入れる仕組みであるエピジェネティクスに対する影響を解析した。個体発生、細胞分化の過程で、どの遺伝子のスイッチがオン・オフになるかは大変重要である。妊娠初期からBPAを低用量投与された、妊娠12.5-14.5日の仔マウス大脳皮質を含む終脳領域のDNAを特定の酵素で切断して得たDNA断片を2次元上のスポットとして描出した(RLGS法)。BPA投与群とBPA非投与群の間でスポットを比較したところ、スポット全体の1.9%に相当する48個が変動を示した。それら変動したスポットから決定した2種類の遺伝子について、その遺伝子発現(mRNAの産生)を調べたところ、BPA曝露群で遺伝子発現が亢進していた。これらの結果から、BPAを胎生期に曝露すると遺伝子本体であるDNA上のオン・オフのスイッチに変化が起り、脳形成・発達に影響を及ぼす可能性が示唆された。

環境化学物質のエピジェネティクスへの影響に関しては、農薬ビンクロゾリンでも報告があり、この例では妊娠中に曝露すると仔ラットに影響が出るだけでなく、4代後までの仔ラットに、不妊などのリスクが高くなるという。

6. 結論

以上の結果より、BPAは胎児期曝露により、脳の形成過程に影響を及ぼすこと、さらにその影響は成熟してからも、神経回路形成異常など持続的な変化をもたらすことが判明した。これらのメカニズムは甲状腺ホルモンの攪乱、遺伝子の転写因子の攪乱、エピジェネティクスへの影響など、複数の経路を介していることが明らかとなったが、その作用メカニズムに関しては今後さらなる研究が必要である。

(注) エピジェネティクスとは、最近注目されている分野で、遺伝子の本体であるDNAがメチル化(DNAへのメチル基の結合)などの修飾により、遺伝子の転写(遺伝子発現)がオンからオフになるというメカニズムで、細胞が特定の蛋白質を作りその機能を発揮するために不可欠な遺伝子調節機構である。転写因子やホルモンなどと違い、一旦DNAメチル化が起こると、細胞分裂後も引き継がれ、その影響は場合によっては生涯持続し、さらにメチル化の場所によって、子孫に引き継がれることがある。環境化学物質だけでなく、栄養状態やストレスなどの環境要因の影響を受けることがわかっており、疾患との関連が注目されている。(報告：黒田純子)

出典

- 1) Nakamura K, Itoh K, Yaoi T, Fujiwara Y, Sugimoto T, Fushiki S. Murine neocortical histogenesis is perturbed by prenatal exposure to low doses of bisphenol A. *J Neurosci Res* 2006;84:1197-205.
- 2) Nakamura K, Itoh K, Sugimoto T, Fushiki S. Prenatal exposure to bisphenol A affects adult murine neocortical structure. *Neurosci Lett* 2007;420:100-5.
- 3) Watanabe S, Kawai J, Hirotsune S, Suzuki H, Hirose K, Taga C, Ozawa N, Fushiki S, Hayashizaki Y. Accessibility to tissue-specific genes from methylation profiles of mouse brain genomic DNA. *Electrophoresis* 1995;16:218-26.
- 4) Yaoi T, Itoh K, Nakamura Y, Ogi H, Fujiwara Y, Fushiki S. Genome-wide analysis of epigenomic alterations in fetal mouse forebrain after exposure to low doses of bisphenol A. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;376:563-7.