

The Study on Physiological Effects of Endocrine Disruptor Bisphenol A on Circadian Locomotor Activity Rhythm in the Fruit Fly *Drosophila melanogaster*

松尾, 文香

<https://hdl.handle.net/2324/1654657>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（理学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名	松尾 文香			
論 文 名	The Study on Physiological Effects of Endocrine Disruptor Bisphenol A on Circadian Locomotor Activity Rhythm in the Fruit Fly <i>Drosophila melanogaster</i> (ショウジョウバエ歩行活動の概日リズムにおける内分泌攪乱物質・ビスフェノールAの生理学的影響に関する研究)			
論文調査委員	主 査	九州大学	教 授	下東 康幸
	副 査	九州大学	教 授	久下 理
	副 査	九州大学	教 授	川畑俊一郎
	副 査	九州大学	准教授	松島 綾美
	副 査	九州大学	教 授	野瀬 健

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

現代社会は、その日常生活において多種多様なプラスチック製品の恩恵に浴している。これら化学製品の原材料・ポリカーボネート樹脂はビスフェノールA（BPA）を原料として製造される。しかしながら一方で、実はこうした化学製品から漏出した BPA が胎児や乳幼児の脳神経系や生殖腺系に悪影響を及ぼしていると強く懸念されている。このような BPA の悪影響は新奇なシグナル毒性と呼ばれ、その分子メカニズム未解明であり、現代の大きな研究課題になっている。現在、特に脳内の生物時計機構に BPA が作用し、概日リズムを乱す可能性から、BPA 暴露の分子時計機構への影響解析が強く求められている。そこで、本研究者はヒトのモデル生物・ショウジョウバエを用いて、歩行活動・概日リズムへの BPA 暴露の影響を詳細に解析した。

本研究ではまず、ショウジョウバエを BPA 食餌して継代する実験系を確立した。次いで、BPA 食餌ハエの歩行活動を記録・解析し、活動量が増加し、概日リズム異常なハエを同定した。そして、高活動量のハエ同士を交配させる「選択的交配継代法」を確立した。これにより、活動量が約3倍にも増加した“多動性症状ハエ”の作出に成功した。さらに、「二峰性活動リズムを保持した多動性症状ハエ」、「明期多動性症状ハエ」「明期暗期多動性症状ハエ」「暗期多動性症状ハエ」に分別することに成功した。一方で、BPA 食餌により活動量が低下した“低活動性症状ハエ”の抽出・作出にも成就した。そして、一連の時計遺伝子・タンパク質を調べ、PERIOD について分子中 Thr-Gly リpeat数が 20 回と 23 回の2種類のアイソフォームが存在し、多動性症状ハエには 20 回リpeatのみが、低活動性症状ハエには 23 回リpeatのみが存在することを明らかとした。その生理学的な活性・機能上の差異は未解明であるが、このように時計タンパク質について構造機能相関が究明されたのは初めてのことである。

時計遺伝子への BPA 食餌の影響をさらに、塩基配列と遺伝子発現量に着目して解析した。その結果、概日リズムを伝達する神経ペプチド pigment-dispersing factor (PDF) の mRNA において、3' UTR が異なる 2 種のアイソフォームを同定した。さらに免疫組織学的解析から、PDF ペプチドが特定の脳神経系において発現が大きく変動することを明らかにした。これは多動性症状への時計遺伝子の直接的関与を実証するものであり、BPA の低用量効果の分子機構の一端が初めて解明された。さらに、pdf mRNA には 9 カ所もの一塩基多型 (SNP) が存在し、各 SNP での塩基変異率が

野生型ハエと多動性症状ハエ、低活動性ハエで異なることが判明した。これにより、microRNA による転写後発現調節機構の存在が考えられた。また、ショウジョウバエ培養細胞を用いた解析から、BPA は DNA メチル化機構を介して遺伝子発現を攪乱している可能性が判明した。

以上の結果、内分泌攪乱物質・ビスフェノールA食餌により多動性症状ショウジョウバエの選択的交配継代に初めて成就し、これにより歩行活動異常の原因となる遺伝子の同定にも世界で初めて成功した。これは、ビスフェノールAの低用量効果の分子メカニズム解明の端緒を切開く重要な発見、成果であり、その学術的な意義、社会的な意義はきわめて大きい。よって、本研究者は博士（理学）の学位を受ける資格があるものと認める。