

Study on the assessment for the adverse effects of the bisphenol A analogs in the human body

袈裟丸, 仁志

<https://hdl.handle.net/2324/2236029>

出版情報 : 九州大学, 2018, 博士 (理学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名	袈裟丸 仁志			
論 文 名	Study on the assessment for the adverse effects of the bisphenol A analogs in the human body (ビスフェノール A アナログが人体に与える有害作用の評価に関する研究)			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	野瀬 健
	副 査	九州大学	教授	久下 理
	副 査	九州大学	准教授	荻島 正
	副 査	九州大学	准教授	松島 綾美

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

化学物質が大量に開発・使用されている現在、様々な形で環境中に放出される、所謂環境化学物質が生体に与える影響、リスクを評価することは緊要の課題である。そのような、化学物質のリスク評価に従来用いられてきた、動物を使用した *in vivo* の手法は、動物愛護などの倫理上の問題や、評価に時間と費用を要するといった欠点から、大量の化学物質に対する適用が難しいという現状がある。そのため、大量の化学物質のリスクを迅速に、かつ、比較的安価に実施することが可能な *in vitro* や *in silico* の手法によるリスク評価法の確立が求められている。中でも、化学物質が最初に生体にアクセスする標的の一つ、受容体タンパク質に対する化学物質の影響評価法の確立が求められている。本研究では、環境化学物質の一つであり、代表的な内分泌かく乱物質であるビスフェノール A (BPA)、および、そのハロゲン化誘導体に関わる生体へのリスクの評価法に焦点を当て、複数の影響評価法について検討を行った。本博士論文は、以下のような章立てに従って、上記の研究の経緯およびその結果を記述したものであり、その内訳及び審査結果を以下に示す。

第 1 章では、環境化学物質の影響評価法の確立を目指し、*in silico* の研究手法であるドッキング計算における影響評価を実施し、特に、鋳型受容体の立体構造の重要性を評価した。これまでに 83 の X 線結晶構造が報告されているエストロゲン受容体 α 型 (ER α) について、立体構造の相互比較を行うことにより活性化型構造であるアゴニスト結合型構造、及び、不活性化型構造である非アゴニスト結合型構造への分類を行い、それら全てに対して、代表的なアゴニスト、アンタゴニスト合わせて 8 種類のリガンドを用いたドッキング計算を行った。その結果、アゴニストとアンタゴニストの受容体構造選択性には明確な差があることを見いだした。また、この選択性には受容体のヘリックス 12 の空間的配向の差が大きく寄与すること、さらに、アンタゴニストの受容体構造選択性には、ヘリックス 11 の影響が少ないことを明らかとした。これらのことから、化学物質と受容体のドッキング計算による影響評価を行う際には、複数の受容体構造、特に、アゴニストやアンタゴニストなど活性の異なるリガンドが結合した状態で解析された複数の複合体構造を鋳型に用いることの重要性が示された。また、活性未知のリガンドについても選択的に結合する受容体構造を明らかとすることで、結合性のみならず生理活性が *in silico* 手法で予測できることを示した。

第 2 章では、ハロゲン化 BPA について、核内受容体・エストロゲン受容体を介した内分泌かく乱作用を評価した。ビスフェノール A の芳香環にハロゲン原子を導入した BPA-mono/di/tri/tetraX

(X = F, Cl, Br, I)を合成、または、購入し、それらハロゲン化 BPA アナログについて、エストロゲン受容体 α 型、及び、 β 型 (ER α , ER β) との結合性、及び、転写活性をそれぞれ競合結合試験、および、レポーター遺伝子試験によって評価を行い、ビスフェノールのハロゲン化が核内受容体との結合性や転写活性に及ぼす影響を解析した。その結果、ER α に対しては、ハロゲン化 BPA は、BPA よりもわずかに結合性が強いものの、大きな結合性の変化は生じなかった。一方、BPA-triF, BPA-tetraF が、BPA よりも ER β に対して強い結合性を示すことを見出した。また、転写活性においては、ER α 、ER β に共通してフッ素置換 BPA アナログを除くハロゲン化 BPA アナログは、BPA よりもアゴニスト活性が低下し、一方で、フッ素置換 BPA アナログは BPA よりも高いアゴニスト活性を示すことを明らかとした。これらのことから、ハロゲン化のような新しい化学物質の開発に広範に用いられる化学修飾によって、既知の化合物に予期しない生体への悪影響を惹起する危険性があることが示され、化学修飾により生じる化学物質に対する広範かつ詳細なリスク評価が必要であることを示した。

第 3 章では、第 2 章で核内受容体を介した内分泌かく乱作用を評価したハロゲン化 BPA アナログについて、HeLa 細胞に対する細胞毒性を評価した。MTT 試験による細胞生存率測定の結果、ハロゲン化 BPA アナログは BPA よりも強い細胞毒性を示した。その毒性は、ハロゲン二置換 BPA アナログで最も強く、それらの中でも臭素、ヨウ素置換 BPA アナログが最も強い細胞毒性を示した。さらに、強い細胞毒性を示したハロゲン二置換 BPA アナログについて、蛍光染色によって細胞死の形態判別を行ったところ、BPA-diI のみアポトーシスではなくネクロトーシス経路による細胞死を誘導していることが判明した。この結果は、フッ素多置換 BPA アナログが最も強い活性を示した内分泌かく乱作用と比べて対照的であった。

このように本研究において、ドッキング計算の手法で化学物質の核内受容体に対する結合および核内受容体を介した転写活性が予測できること、さらに、ハロゲン化 BPA 誘導体には、複数の生体への悪影響を及ぼすリスクがあることを発見した。このようなハロゲン化 BPA 誘導体が異なる悪影響を示す報告例はこれまでになく、本研究により環境化学物質のリスク評価、特に、BPA 関連化合物のリスクに関する重要な知見が示された。

以上の結果は、環境化学物質のリスク評価において、特にハロゲン化ビスフェノール類の内分泌攪乱リスクおよび毒性の解明に重要な知見を与えるものであり、さらに、ハロゲン二置換ビスフェノールの細胞毒性を見いだした卓越した研究業績と認められる。

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。