

令和3年度京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書

	(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)
研究者 (研究代表者)	京都府立医科大学 分子病態病理学	大学院生・3年	ファルネ かおり
研究の名称	環境化学物質のヒト脳形成に及ぼす影響の分子メカニズム解明 -スクリーニング系確立を目指して		
研究の キーワード	環境化学物質、ヒト脳形成・発達障害、神経幹・前駆細胞、 神経細胞分化、 <i>in vitro</i> スクリーニング		
研究の概要	<p>胎児期・乳児期における神経系発達過程では、遺伝要因・環境要因が時空間的に作用し、単一細胞内エピゲノム・ゲノム・タンパク発現変動が神経系の形態・回路形成・機能獲得に影響を及ぼす。本研究は、ヒト胎児の大脳皮質から樹立した神経幹・前駆細胞（以後、NSPCs）を用い、2次元<i>in vitro</i>ヒト脳モデルとして、神経発生・発達期における環境化学物質が脳形成に及ぼす影響を単一細胞レベルでの分子変動に着目して解析した。</p>		
研究の背景	<p>ビスフェノールA(以後、BPA)はプラスチック製品をはじめ生活製品に利用されている内分泌攪乱物質である。現在国際的に使用規制がなされているにも関わらず、リアルワールドでは、ヒトの妊婦尿、血清、胎盤などから検出され、ヒト胎児がその曝露を受けていると推定される。これまでにもBPAの影響について世界中で研究がなされているが、齧歯類等を用いた曝露実験や、妊婦・子供を対象とした疫学調査が多かった。一方、脳形成障害の分子機序研究において、ヒト胎児脳を直接解析することは極めて困難であるため、ヒト人工多性能幹細胞(以後、iPS細胞)などを用いた手法が開発され、世界中で神経発達障害や脳形成障害についての研究が進められている。この手法を用いたBPAの細胞増殖や細胞死への影響や、比較的成熟した神経細胞の突起形態や神経栄養因子分泌への影響等についても報告がなされている。しかしながら、国際的にも懸念されている低用量BPAのヒト胎児脳発達への影響、特に神経幹・前駆細胞から未熟神経細胞分化への影響と分子機序は今のところ未解明である。さらに、BPAの影響は多岐に及ぶこと、BPAの代替物質にも同様の作用が懸念されることを踏まえ、各々の作用機序解明の他に、何か新規の解析方法が必要とされている。</p>		
研究手法	<p>NSPCsを用いた2次元 <i>in vitro</i>ヒト脳モデルとして、NSPCsに低用量BPA曝露し、用量依存的な神経細胞への影響を細胞免疫染色法によりタンパクレベルで評価した。低用量BPA曝露によって攪乱される遺伝子発現変動を見出すために、定量PCRにより発現遺伝子量を経時的に評価した。</p>		

<p>研究の成果</p>	<p>細胞免疫染色法により、用量依存的な神経系細胞分化への影響をタンパクレベルで解析した結果、vehicle群と比較し、神経幹細胞マーカー（Sox2）陽性細胞数、未熟神経細胞マーカー（DCX）陽性細胞数に変動がみられたBPA濃度は100nMであった。そこで、以降の実験は100nM BPAにおける分化動態に着目して検討したところ、BPA曝露群において曝露後7日で、vehicle群に比し、Sox2陽性細胞数（%：陽性細胞/核の総数）が有意に減少、DCX陽性細胞数（%：陽性細胞/核の総数）が有意に増加した。定量PCRによって、発現遺伝子量を経時的に解析した結果、BPA曝露群においてvehicle群と比較して、神経幹細胞マーカー（SOX2, VIM）の発現量がより早期に減少し、かつ、中間型前駆細胞マーカー（NHLH1）の発現量が早期に増加した。</p>
<p>今後の期待</p>	<p>ヒト神経発生過程において、環境要因、特に化学物質が脳形成・発達に及ぼす影響を解明し、治療戦略を立てるためには、ブレイクスルーとなるような新規のヒトモデル系を用いた解析が必要である。本研究で抽出された細胞系譜マーカー群の発現について、経時的に単一細胞のタンパクレベルで解析中であり、将来的に、ヒト神経系に特化した化学物質スクリーニング系の確立と予防・治療への還元を目指している。</p>
<p>研究発表</p>	<p>令和3年度内に該当なし</p>