

200941014A

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

化学物質の情動・認知行動に対する影響の毒性学的
評価法に関する研究
—特に遅発性影響の評価系のメカニズム解明による確立—
(H20-化学-一般-009)

平成 21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北嶋 聡

平成 22(2010)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

化学物質の情動・認知行動に対する影響の毒性学的
評価法に関する研究
—特に遅発性影響の評価系のメカニズム解明による確立—
(H20-化学-一般-009)

平成 21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北嶋 聡

平成 22(2010)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

化学物質の情動・認知行動に対する影響の毒性学的
評価法に関する研究
—特に遅発性影響の評価系のメカニズム解明による確立—
(H20-化学-一般-009)

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北嶋 聡

平成 22(2010)年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書	
研究の総括	
北嶋 聡 1
II. 分担研究報告書	
1. 発生・発達期のモノアミン系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明	
山田 一之 59
2. 発生・発達期のアミン系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明	
種村 健太郎 81
3. 神経幹細胞分化様式かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明に関する研究	
中島 欽一 99
4. 中枢作動性物質による遅発性の情動・認知毒性発現の分子メカニズムの解明	
北嶋 聡 111
5. 神経ガイダンス及び神経保護作用かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明に関する研究	
熊ノ郷 淳 153
6. 神経活動イメージングによる中枢作動性物質の神経回路毒性解析	
富永 貴志 161
7. 神経伝達物質輸送活性計測による中枢作動性物質のシナプス伝達機能毒性解析に関する研究	
高森 茂雄 175
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 189
IV. 研究成果の刊行物・別刷 193

I . 総括研究報告書

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

総括研究報告書

化学物質の情動・認知行動に対する影響の毒性学的評価法に関する研究

－特に遅発性影響の評価系のメカニズム解明による確立－

研究代表者

北嶋 聡

国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・毒性部・室長

研究要旨

本研究では、従来の急性・末梢性神経毒性試験法を補うものとして、情動・認知行動の症候学に脳神経科学の最先端解析手法及びトキシコゲノミクス手法を組み合わせたメカニズム解明により、客観的な毒性評価手法として「遅発性影響としての情動・認知行動毒性」の評価体系を確立することを目的とし、また、脳の発生、発達との関係から、子どもの特性に配慮したものとする為に、暴露時期に成熟期と発生・発達期を、方法に *in vivo*、*in vitro* 或いは *ex vivo* 系を設定し、マウスを用いて、1. 発生・発達期のモノアミン系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明（山田）、2. 発生・発達期のアミノ酸系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明（種村）、3. 神経幹細胞分化様式かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明（中島）、4. 中枢作動性物質による遅発性の情動・認知毒性発現の分子メカニズムの解明（北嶋）、5. 神経ガイダンス及び神経保護作用かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明（熊ノ郷）、6. 神経活動イメージングによる中枢作動性物質の神経回路毒性解析（富永）、7. 神経伝達物質輸送活性計測による中枢作動性物質のシナプス伝達機能毒性解析（高森）の研究を進め、遅発性の情動・認知毒性発現の本質究明を目指すものである。本研究により従来の毒性評価では検出困難であった遅発性の情動・認知行動毒性の評価系を確立すること、及び分子メカニズム解明により、ヒトへの外挿を含む高精度のリスク評価が可能となることが期待される。特に子どもに対する化学物質暴露による遅発性の情動・認知行動毒性の予測が可能となることで、現在注目される注意欠陥多動障害、学習障害等への具体的対応策提示が期待される。

平成 21 年度（3 年計画の 2 年目）に、研究課題 1. 「発生・発達期のモノアミン系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明」として、生後 2 週齢の幼若期マウスに、モノアミン酸化酵素阻害剤・トラニルシプロミンを投与し、成熟後の生後 11 週齢時にホールボードテストによって、認知行動に影響が生じることを明らかにした。研究課題 2. 「発生・発達期のアミノ酸系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明」として、生後 2 週齢の幼若期マウスへのイボテン酸投与により、成熟後の生後 11 週齢時に明暗往來試験による不安関連行動の逸脱、条件付け学習記憶試験による記憶能の低下、プレパルス驚愕反応抑制試験による脳内情報処理異常が生じることを明らかにした。研究課題 4. 「中枢作動性物質による遅発性の情動・認知毒性発現の分子メカニズムの解明」として、生後 2 週齢の幼若期及び生後 11 週齢のマウスへのイボテン酸投与後、2、4、8、24 時間後の海馬を用いて、Percellome 法による網羅的遺伝子発現変動

解析を行い、両者の間で発現変動を示す遺伝子プロファイルがかなり異なることを明らかとした。加えて、遅発行動異常を示した動物のみに変動が認められた遺伝子の中で細胞障害に関連するシグナルとして、アポトーシス、膜の過分極、糖質コルチコイド、GABA-A 受容体を介したシグナル、neuropilin・semaphorin 分子を介する神経ガイダンスならびに、Npas4 分子を介するシナプスの興奮と抑制の恒常的バランス維持、等を見いだした。研究課題 3. 「神経幹細胞分化様式かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明」では、胎生期マウスへ抗てんかん剤（バルプロ酸ナトリウム）を経胎盤投与（妊娠 12.5、13.5、14.5 日雌マウスへの経口投与）した結果、成熟後のマウス海馬にて、神経幹細胞数の減少を見いだすとともに、条件付け学習記憶試験から、記憶異常が生じていることを明らかにした。研究課題 7. 「神経伝達物質輸送活性計測による中枢作動性物質のシナプス伝達機能毒性解析に関する研究」では、バルプロ酸暴露により大脳皮質神経培養細胞において抑制性神経伝達の低下を示唆する知見を得た。研究課題 6. 「神経活動イメージングによる中枢作動性物質の神経回路毒性解析」では、膜電位感受性色素（VSD）を用い、ドーモイ酸投与による成熟期マウスの海馬機能への影響を検討した結果、ex vivo 標本でシナプス長期増強異常を明らかにした。研究課題 5. 「神経ガイダンス及び神経保護作用かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明に関する研究」では、セマフォリン分子群に属する Sema4D タンパク添加がドーパミンニューロンに対する保護作用を有することを見出すとともに、Sema4D 欠損マウスにおける行動量増加（多動）を明らかにした。

加えて、解析の精度と再現性の向上のために、マイクロアレイデータ解析技術開発研究（化学物質曝露による遺伝子発現反応を元に、化学物質を分類する技術開発）を委託し、遺伝子発現レベルにしか現れない微細な生体反応についても、in silico にて自動的に検出する諸技術の開発・改良を実施した。

本研究の成果は、化学物質の中枢神経系に対する影響を科学的に明らかにするものである。特に、発生期～発達期の脳に対する化学物質曝露が誘発する遅発影響の解析は、従来の毒性評価では検出が困難であった遅発性の情動・認知行動毒性を主な対象にしており、それを科学的物証とともに解明する糸口となると考えられた。特に、遅発性影響誘発に関与する候補遺伝子を見いだしたことは新規性の高い発見と考えられ、今後、この分子に着目した検討により、遅発性神経毒性誘発の分子機序に迫れるものとする。更に基礎研究を重ね、毒性発現の分子メカニズムを基礎とした、化学物質曝露による遅発性の情動・認知行動毒性の評価系の確立を目指す。

研究代表者

北嶋 聡

国立医薬品食品衛生研究所・
安全性生物試験研究センター・毒性部・
室長

研究分担者

山田一之

理化学研究所・脳科学総合研究センター・
リサーチリソースセンター・専門職研究員

種村健太郎

国立医薬品食品衛生研究所・
安全性生物試験研究センター・毒性部・
主任研究官

中島欽一

奈良先端科学技術大学院大学・
バイオサイエンス研究科・
動物代謝調節学講座・
分子神経分化制御学分野・教授

熊ノ郷淳

大阪大学微生物病研究所・感染病態分野・
国際研究拠点大阪大学免疫学
フロンティア研究センター・教授

富永貴志

徳島文理大学香川薬学部・
病態生理学講座・准教授

高森茂雄

同志社大学・生命医科学部・
医生命システム学科・教授

A. 研究目的

本研究は、化学物質の中枢神経系に対する遅発性の影響を科学的に明らかにし、特に子どもの特性に配慮した毒性評価法を確立することを目的とする。その為に、マウスを用いて、情動・認知行動解析と中枢神経系の先端的な形態機能解析、神経幹細胞分化能解析、神経回路機能解析、シナプス伝達活性解析、網羅的遺伝子発現解析等を組み合わせ、毒性メカニズム解明研究を行う。その際、胎児期～小児期暴露と成熟期暴露との毒性の差異について、脳の発生、発達、及び成熟との関係をも明らかにする。これにより、遅発性の情動・認知行動毒性の評価法を確立し、今までに評価法が定まらず看過されてきた既知の神経毒性物質のみならず、一般的な化学物質が誘発し得る「遅発性」・「中枢性」神経毒性の同定と、高感受性集団としての子どもの反応特性の解明を進める。

B. 研究方法

中枢作動性物質の暴露を、発生・発達期（胎児～小児期）及び成熟期に設定し、その後の遅発影響を情動・認知行動毒性として、症候学的に正確に捉えると共に、経時的脳トキシコゲノミクス解析、遅延性毒性発現時の形態機能解析、神経回路機能解析、シナプス伝達機能解析、神経幹細胞分化能解析等の脳神経科学先端研究手法によって、1. 発生・発達期のモノアミン系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明（山田）、2. 発生・発達期のアミノ酸系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明（種村）、3. 神経幹細胞分化様式かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明（中島）、4. 中枢作動性物質による遅発性の情動・認知毒性発現の分子メカニズムの解明（北嶋）、5. 神経ガイダンス及び神経保護作用かく

乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明(熊ノ郷)、6. 神経活動イメージングによる中枢作動性物質の神経回路毒性解析(富永)、7. 神経伝達物質輸送活性計測による中枢作動性物質のシナプス伝達機能毒性解析(高森)、の7研究課題を推し進め、メカニズム解明を以って、その本質を究明する。尚、動物実験は、科学的及び動物愛護的配慮を十分行い、所属研究機関が定める規定、指針を遵守する。情動・認知行動解析は高度に管理された条件下、不必要な苦痛を与えずに実施する。

1. 発生・発達期のモノアミン系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明

セロトニン再取り込み阻害剤、モノアミン酸化酵素阻害剤等を使用し、マウス胎児期～小児期におけるモノアミン系神経シグナルかく乱による成熟期マウスの神経細胞機能障害、特にストレス応答性不全に着目し、成熟期の情動・認知行動毒性を解析する。

2. 発生・発達期のアミノ酸系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明

GABA 類似中枢作動性物質、グルタミン類似中枢作動性物質等を使用し、マウス胎児期～小児期におけるアミノ酸系神経シグナルかく乱による成熟期マウスの脳構造形成不全及び神経細胞機能障害の解析と、成熟期の情動・認知行動毒性を解析する。

3. 神経幹細胞分化様式かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明

バルプロ酸ナトリウムを使用し、胎児期～小児期に相当するマウス由来の神経幹細胞分化様式に対する中枢作動性物質の影響を検討する。また神経幹細胞分化様式かく乱モデル化合物を用いての胎児期～小児期暴露マウスの成熟期毒性発現解析を行う。

4. 中枢作動性物質による遅発性の情動・認知

毒性発現の分子メカニズムの解明

神経伝達物質類似構造を持つ中枢作動性物質による遅発性の情動・認知行動解析とともに、暴露後の脳トキシコゲノミクス(Percellome法)による網羅的遺伝子発現解析から、遅発性の情動・認知行動毒性の分子基盤解明を行う。

5. 神経ガイダンス及び神経保護作用かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明

中枢作動性物質によるセマフォリン分子群の神経ガイダンス及び神経保護作用への影響と、遅発性中枢毒性発現についてセマフォリン遺伝子改変マウスを用いて解析する。

6. 神経活動イメージングによる中枢作動性物質の神経回路毒性解析

脳スライス標本での膜電位感受性色素による可視化により、情動・認知行動毒性発生時の海馬-嗅内野-扁桃核を中心とする記憶情動回路の神経活動を解析し、特有の神経回路異常を明らかにする。

7. 神経伝達物質輸送活性計測による中枢作動性物質のシナプス伝達機能毒性解析

中枢作動性物質暴露後に生じるシナプス伝達機能変化を、神経細胞神経伝達物質計測から解析し、情動・認知行動毒性発生時のシナプス伝達機能異常を明らかにする。

C. 結果

1. 発生・発達期のモノアミン系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明

生後2週齢マウスへのモノアミン酸化酵素阻害剤(クロルジリン及びトラニルシプロミン)を用いて検討した。その結果、発達期のモノアミン代謝の一時的なかく乱によって、成熟後マウス(生後12-13週齢)の情動反応性および認知機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

2. 発生・発達期のアミノ酸系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明

成熟期、幼若期、胎生期のマウスに対して、イボテン酸 (1mg/kg) を単回強制経口投与し、生後 12~13 週齢時の行動解析において、幼若期投与群に、不安関連行動の逸脱、記憶能の低下、脳内情報処理異常が認められた。Percellome 法による海馬の網羅的初期遺伝子発現変動解析の結果、幼若期投与群では、神経系発達に關与するシグナルカスケード群への影響が抽出された。本結果は幼若期の海馬の感受性がイボテン酸に対して高いことを示し、また、その遺伝子発現変動プロファイルは成熟後の中枢神経行動毒性の分子メカニズム解明の端緒となると考えられた。

3. 神経幹細胞分化様式かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明

胎生期マウスへ抗てんかん剤 (バルプロ酸ナトリウム) を経胎盤投与 (妊娠 12.5、13.5、14.5 日雌マウスへの経口投与) した。その結果、成長した成体脳海馬においても神経幹細胞の増殖が減少していることが分かった。また生後 12~13 週齢時の行動解析において記憶学習障害も観察された。

4. 中枢作動性物質による遅発性の情動・認知毒性発現の分子メカニズムの解明

化学物質による遅発性の情動・認知行動毒性の分子基盤を明らかにすることを目的として、モデル中枢作動性物質としてキノコ毒のイボテン酸を選択し、「成熟期」・「幼若期」・「胎生期」各暴露時の情動・認知行動解析ならびに「成熟期」・「幼若期」各暴露時の網羅的遺伝子発現変動解析を比較検討した結果、1) イボテン酸 (1 mg/kg) 経口投与により、幼若期投与群では、成熟期ならびに胎生期投与群と異なり、情動認知行動異常が誘発されることが明らかとなった。2) このイボテン酸による遅発性の情動認

知行動影響の分子メカニズムを探索するために、投与後経時的 (2、4、8 および 24 時間後) に採取した、成熟期ならびに幼若期の海馬サンプルを用いて網羅的遺伝子発現変動解析を検討し、変動した遺伝子プロファイルを、成熟期 および 幼若期 投与群の間で比較検討したところ、両者の間で発現変動を示す遺伝子プロファイルがかなり異なることが明らかとなった。加えて、遅発行動異常を示した幼若期投与群のみに変動が認められた遺伝子の中で細胞障害に關連するシグナルとして、アポトーシス、膜の過分極、糖質コルチコイド、GABA-A 受容体を介したシグナル、neuropilin・semaphorin 分子を介する神経ガイダンスならびに、Npas4 分子を介するシナプスの興奮と抑制の恒常的バランス維持、等を見いだした。特に Npas4 分子は、シナプスの興奮と抑制の恒常的バランス維持を司るマスター遺伝子であると近年報告され、これまで、化学物質による遅発性神経毒性との関連は示唆されていないため、本実験によりこの分子を遅発性影響誘発に關与する候補遺伝子として見いだしたことは、新規性の高い発見と考えられる。今後、特にこの Npas4 分子に着目した検討により、遅発性神経毒性誘発の分子機序に迫れるものとする。

5. 神経ガイダンス及び神経保護作用かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明

ドーパミンニューロンの障害は情動、認知行動も含めた重大な発達障害をもたらすことが知られているが、免疫・神経クロストークを担うセマフォリン分子群に属する Sema4D タンパク添加がドーパミンニューロンに対する神経保護作用を有することを見出した。また Sema4D 欠損マウスの神経学的行動解析から、Sema4D 欠損下の motor behavior の亢進異常を見出し、発達期における Sema4D の重要性が示唆された。

6. 神経活動イメージングによる中枢作動性物質の神経回路毒性解析

神経回路機能に対する化学物質の影響—特に認知機能への影響を計測する手段として膜電位感受性色素（VSD）を用いて簡便かつ網羅的な評価を可能にする手法を開発する。本年は、記憶機能に障害を起し得る記憶喪失性貝毒の原因物質であるドーモイ酸の海馬機能への影響の解析を主題とした。その結果、ex vivo 標本でシナプス長期増強の異常が確認できた。併せて新規顕微鏡によるランダムアクセス型の光刺激・計測による解析を始めた。

7. 神経伝達物質輸送活性計測による中枢作動性物質のシナプス伝達機能毒性解析

バルプロ酸ナトリウムの暴露によるシナプス形成に対する影響—特に、興奮性-抑制性バランスに与える効果を検討した結果、大脳皮質神経培養細胞において抑制性神経伝達の低下を示唆する知見を得た。

D. 考察

本研究の成果は、化学物質の中枢神経系に対する影響を科学的に明らかにするものである。特に、発生期～発達期の脳に対する化学物質暴露が誘発する遅発影響の解析は、従来の毒性評価手法では検出が困難であった遅発性の情動・認知行動毒性を主な対象にしており、それを科学的物証とともに解明する糸口となるものと考えられた。更に研究を進め、毒性発現の分子メカニズムを基盤とした、化学物質暴露による遅発性の情動・認知行動毒性の評価系の確立を目指す。この成果を足がかりとして、妊婦や子どもに対する化学物質暴露による遅発性の情動・認知行動毒性の予測を可能とすることが期待できるとともに、現在注目される注意欠陥多動障害、学習障害等への具体的対応策の提示にも貢献する可能性を有している。

E. 結論

本研究の目標は、化学物質の中枢神経系に対する遅発性の影響を科学的に明らかにし、特に子どもの特性に配慮した毒性評価法を確立することである。本研究から、複数の行動試験を組み合わせたバッテリー解析によって、従来の毒性試験法では検出が困難であった情動-認知行動異常の解析が可能であることが示された。さらに、動物への被検物質の投与時期を変えることによって、妊婦や子どもに対する化学物質暴露による遅発性の中枢神経影響の評価に資する研究成果を得た。また、Percellome 法による網羅的初期遺伝子発現変動解析によって、化学物質による遅発性の情動-認知行動毒性の分子基盤解明が期待され、更に研究を続けることによって、さらに知見を集積する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

書籍

1. 北嶋 聡

「情動・認知に係る化学物質」

平成 20 年度 化学物質リスク研究シンポジウム
「健康と化学物質-化学物質と幼児行動-」講演集
CD」社団法人 日本食品衛生協会、東京、2009
年 10 月

2. 北嶋 聡

5.3 食品、食品添加物、食品汚染物質、飼料添加物「新版トキシコロジー」編集委員：上野光一ら、朝倉書店、東京、2009 年 7 月

3. Juliandi B., Abematsu M., Nakashima K. Epigenetics, Stem cells and Cellular differentiation. in Handbook of epigenetics: The new molecular and medical genetics (ed. Tollefsbol T.O.) (Elsevier) in press.

4. Suzuki A., Raya A., Kawakami Y., Morita M., Matsui T., Nakashima K., Gage F.H., Rodriguez-Esteban C., Izpisua Belmonte J.C. Maintenance of embryonic stem cell pluripotency by Nanog-mediated dedifferentiation of committed mesoderm progenitors. in Regulatory networks in stem cells (eds. Rajasekhar, V.K. & Vemuri, M.C.) 37-53 (Humana Press, New York, 2009).

原著論文

1. Y. Sano, V. G. Ornathanalai, K. Yamada, C. Homma, H. Suzuki, T. Suzuki, N. P. Murphy, S. Itohara: 2009 X11-Like Protein Deficiency Is Associated with Impaired Conflict Resolution in Mice. *The Journal of Neuroscience*, 29(18), pp. 5884-5896.

2. C. Homma, K. Yamada*: 2009 Physical properties of bedding materials determine the marble burying behavior of mice (C57BL/6J). *TOBSJ*, 3, 34-39. (*: corresponding author)

3. T. Maekawa, S. Kim, D. Nakai¹, C. Makino, T. Takagi, H. Ogura, K. Yamada, B. Chatton, S. Ishii: 2009 Social isolation stress induces ATF-7 phosphorylation and impairs silencing of the 5-HT 5B receptor gene. *EMBO J*, 2009 Nov 5 (E-pub)

4. S. Sakatani, K. Yamada*, C. Homma, S. Munesue, Y. Yamamoto, H. Yamamoto, H. Hirase: 2009 Deletion of RAGE causes hyperactivity and increased sensitivity to auditory stimuli in mice.

PLoS One, 4(12): e8309. (*:joint first author)

5. Tanemura K, Igarashi K, Matsugami TR, Aisaki K, Kitajima S, Kanno J., Brain structure impairment and Behavioral disturbance induced in male mice offspring by a single intraperitoneal administration of domoic acid (DA) to their dams., *J Toxicol Sci*. 2009; 34 Suppl 2:SP279-286.

6. Sekiyama K, Hashimoto O, Ushiro Y, Adachi C, Kikusui T, Tanemura K, Hasegawa Y., Abnormalities in aggression and anxiety in Tg mice overexpressing activin E., *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 385(3):319-323.

7. Asano H., Aonuma M., Sanosaka T., Kohyama J., Namihira M., Nakashima K. Astrocyte Differentiation of Neural Precursor Cells is Enhanced by Retinoic Acid Through a Change in Epigenetic Modification. *Stem Cells* 27, 2744-2752 (2009).

8. Kuwabara T., Hsieh J., Muotri A., Yeo G., Warashina M., Lie D.C., Moore L., Nakashima K., Asashima M., Gage F.H. Wnt-mediated activation of NeuroD1 and retro-elements during adult neurogenesis. *Nat Neurosci* 12, 1097-1105 (2009).

9. Tsujimura K., Abematsu M., Kohyama J., Namihira M., Nakashima K. Neuronal differentiation of neural precursor cells is promoted by the methyl-CpG-binding protein MeCP2. *Exp Neurol* 219, 104-111 (2009).

10. Kataoka T, Kumanogoh A, Bandara G, Metcalfe D, and Gilfillan A. CD72 negatively regulates KIT-mediated responses in human mast cells. *J. Immunol*. 184: 2468-2465, 2010.

11. Okuno T, Nakatsuji Y, Moriya M, Takamatsu H,

- Nojima S, Takegahara N, Toyofuku T, Nakagawa Y, Sujin Kang, Friedel RH, Sakoda S, Kikutani K and Kumanogoh A. Involvement of Sema4D-Plexin-B1 interactions in the CNS for pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 184: 1499-1506, 2010. .
12. Nawabi H, Briancon-Marjollet1 A, Clark C, Sanyas I, Takamatsu H, Okuno T, Kumanogoh A, Bozon1 M, Takeshima K, Yoshida Y, Moret F, Abouzid1 K, and Castellani V. A midline switch of receptor processing regulates commissural axon guidance in vertebrates. *Gen Dev.* 24:396-410, 2010.
13. Takamatsu H, Okuno T, and Kumanogoh A. Regulation of immune cell responses by semaphorins and their receptors. *Cell Mol Immunol.* 7:83-8. 2010.
14. Takegahara N and Kumanogoh A. Involvement of semaphorins in neurological diseases. *Clinical Exp. Neuroimmunol.* 1:33-45, 2010.
15. Yukawa K, Tanaka T, Yoshida K, Takeuchi N, Ito T, Takamatsu H, Kikutani H, Kumanogoh A. Sema4A induces cell morphological changes through B-type plexin-mediated signaling. *Int J Mol Med.* 25:225-30. 2010.
16. Yukawa K, Tanaka T, Takeuchi N, Iso H, Li L, Kohsaka A, Waki H, Miyajima M, Maeda M, Kikutani H, Kumanogoh A. Sema4D/CD100 deficiency leads to superior performance in mouse motor behavior. *Can J Neurol Sci.* 36:349-55. 2009.
17. Inui M, Kikuchi Y, Aoki N, Endo S, Maeda T, Sugahara-Tobinai A, Fujimura S, Nakamura A, Kumanogoh A, Colonna M, Takai T. Signal adaptor DAP10 associates with MDL-1 and triggers osteoclastogenesis in cooperation with DAP12. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106:4816-21. 2009.
18. Mizui M, Kumanogoh A, Kikutani H. Immune semaphorins: novel features of neural guidance molecules. *J Clin Immunol.* 29:1-11. 2009.
19. Tominaga, Y., Ichikawa, M., Tominaga, T. (2009) Membrane potential response profiles of CA1 pyramidal cells probed with voltage-sensitive dye optical imaging in rat hippocampal slices reveal the impact of GABAA-mediated feed-forward inhibition in signal propagation *Neurosci Res* 64: 152-161.
2. 学会発表
1. 山田一之、本間千尋：2009 マウスを用いた発生・発達期のモノアミン系神経シグナルかく乱による遅発性中枢毒性発現の解明（1）日本心理学会第73回大会（8月26日-28日 立命館大学）
2. 佐野良威、V.G. Ornthanalai、山田一之、本間千尋、鈴木瞳、鈴木利治、N.P. Murphy、糸原重美：2009 X11L protein deficiency is associated with the selective impairment of motivational approach behavior and the withdrawn response to social conflict. 第32回日本神経科学会（9月16-18日 名古屋国際会議場）
3. 守村直子、太田真耶、安田浩樹、片山圭一、原直子、山田一之、山口和彦、有賀純：2009 Lrfrn2/SALM1 a synaptic leucine-rich repeat transmembrane molecule is required for proper synapse maturation and brain function. 第32回日本神経科学会（9月16-18日 名古屋国際会議場）
4. 松本圭史、片山圭一、守村直子、山田一之、VG

- Ornthalai, 太田真耶, NP Murphy, 有賀純 : 2009 Slitrk5-deficient mice display elevated anxiety-like behavior and serotonergic abnormalities. 第 32 回日本神経科学会 (9 月 16-18 日 名古屋国際会議場)
5. 山田一之 : 2009 マウスにおける選択的注意の系統間比較 日本動物心理学会第 69 回大会 (9 月 25-27 日 岐阜大学)
6. 前川利男、金昇準、小倉博雄、山田一之、中井大助、石井俊輔 ATF-7 依存的なヒストン H3 メチル化を介したストレスによる転写制御 第 32 回日本神経科学会 (9 月 16-18 日 名古屋国際会議場)
7. 小川実幸、山田一之、VG Ornthalai, NP Murphy, 片山圭一、有賀純 : 2009 膜結合型ユビキチン Rines ノックアウトマウスの行動解析および神経化学的解析 第 32 回日本分子生物学会年會 (12 月 9-12 日 パシフィコ横浜)
8. 種村 健太郎、松上 稔子、五十嵐 勝秀、相崎 健一、北嶋 聡、菅野 純
脳発生-発達の神経シグナルかく乱による選発性中枢影響解析-幼若期雄マウスへのトリアゾラム投与による学習記憶障害について-
2009 年 7 月 : 第 36 回日本トキシコロジー学会・岩手
9. 種村 健太郎、五十嵐 勝秀、菅野 純
社会共生系形成過程における個の適応と連鎖に関する研究
2010 年 3 月 : 第 149 回日本獣医学会・東京
10. 辻村啓太、鈴木暁也、中島欽一 : Rett 症候群原因遺伝子産物 MeCP2 の機能解析、第 4 回神経発生討論会、岡崎コンファレンスセンター、2010 年 3 月 19-20 日
11. 高木美智、滝沢琢己、笹岡寛敏、中島欽一 : ニューロン活動依存的に発現する遺伝子の核内空間配置解析、第 32 回日本分子生物学会年會、パシフィコ横浜、2009 年 12 月 9-12 日
12. Sasaoka, H., Takizawa, T., Kimura, H., Nakashima, K. : Analysis of chromatin modifications and transcriptional regulations of activity-dependent genes in post-mitotic neurons、第 32 回日本分子生物学会年會、パシフィコ横浜、2009 年 12 月 9-12 日
13. Urayama, S., Takizawa, T., Hori, Y., Kohyama, J., Nakashima, K. : Analysis of DNA methylation-independent regulatory mechanisms of astrocyte specific gene expression、第 32 回日本分子生物学会年會、パシフィコ横浜、2009 年 12 月 9-12 日
14. Sanosaka, T., Inubushi, H., Kohyama, J., Takizawa, T., Nakashima, K. : A source of astrocyte-inducing cytokines in the developing mouse brain、第 32 回日本分子生物学会年會、パシフィコ横浜、2009 年 12 月 9-12 日
15. Berry, J., Tsujimura, K., Abematsu, M., Kohyama, J., Nakashima, K. : The Role of Histone Acetylation on Cortical Development、第 32 回日本分子生物学会年會、パシフィコ横浜、2009 年 12 月 9-12 日
16. 浅野弘嗣、青沼真、佐野坂司、神山淳、波平昌一、中島欽一 : レチノイン酸誘導性ヒストンアセチル化による神経幹細胞のアストロサイト分化促進機構、第 32 回日本分子生物学会年會、パシフィコ横浜、2009 年 12 月 9-12 日
17. 畑田出穂、波平昌一、森田純代、堀居拓郎、木村美香、中島欽一 : Astrocyte-specific genes are generally demethylated in neural precursor cells prior to astrocytic differentiation.、第 32 回日本分子

生物学会年会、パシフィコ横浜、2009年12月9-12日

18. 中島欽一：脊髄損傷に対するエピジェネティック治療、第32回日本神経科学大会、名古屋国際会議場、2009年9月16-18日（シンポジウム、口頭）

19. 精松昌彦、辻村啓太、山野真利子、斉藤美知子、河野憲二、神山淳、波平昌一、小宮節郎、中島欽一：移植神経幹細胞のエピジェネティック制御による損傷脊髄再生治療、第32回日本神経科学大会、名古屋国際会議場、2009年9月16-18日

20. 佐野坂司、波平昌一、神山淳、蟬克憲、田賀哲也、中島欽一：神経幹細胞のアストロサイト分化能獲得を制御するエピジェネティクス機構、第32回日本神経科学大会、名古屋国際会議場、2009年9月16-18日（シンポジウム、口頭）

21. 中島欽一：メチル化DNA結合タンパク質による神経系細胞の分化・可塑性制御、神経化学会-GRT研究会連携オープンシンポジウム、伊香保温泉 ホテル天坊、2009年6月21日（シンポジウム、口頭）

22. 滝沢琢己、中島欽一：アストロサイト特異的遺伝子GFAP発現制御に関するDNAメチル化と遺伝子座核内配置、第52回日本神経化学会大会、伊香保温泉 ホテル天坊、2009年6月21-24日（シンポジウム、口頭）

23. 中島欽一：神経幹細胞が生み出す細胞の順番付けの仕組み、第52回日本神経化学会大会、伊香保温泉 ホテル天坊、2009年6月21-24日（シンポジウム、口頭）

24. 滝沢琢己、Tom Misteli、中島欽一：アストロサイト特異的遺伝子GFAPの核内配置と転写活性、第3回日本エピジェネティクス研究会年会、東京

学術総合センター、2009年5月22-23日

25. 辻村啓太、精松昌彦、神山淳、波平昌一、中島欽一：メチル化DNA結合タンパク質MeCP2によるニューロン分化誘導機構と中枢神経系再生医療への応用、第3回日本エピジェネティクス研究会年会、東京学術総合センター、2009年5月22-23日

26. 笹岡寛敏、滝沢琢己、中島欽一：ニューロンでの遺伝子発現におけるエピジェネティック修飾の解析、第3回日本エピジェネティクス研究会年会、東京学術総合センター、2009年5月22-23日

27. 蟬克憲、波平昌一、神山淳、佐野坂司、中島欽一：第7回幹細胞シンポジウム、Committed neuronal precursors confer astrocyte-differentiation potential on neural stem cells through Notch-signal mediated DNA demethylation during mouse brain development、泉ガーデンギャラリー、2009年5月15-16日（シンポジウム、口頭）

28. Nakashima, K. Mechanism in sequential differentiation of neural stem cells mediated by neuron-stem cell interaction. The 1st International Global COE Symposium. Gonryo Hall, Sendai, Japan. December7-8, 2009 (oral)

29. Takizawa, T., Sasaoka, H., Takagi, M., Kimura, H., Nakashima, K. The spatio-temporal regulation of activity-dependent genes in post-mitotic neurons. The 4th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest. OIST Seaside House. Okinawa, Japan. November29-December 3, 2009

30. Nakashima, K. Mechanism for sequential acquisition of differentiation potential of neural stem cells. The 22nd Biennial Meeting of the

ISN/APS N 2009. Busan, Korea. August 23-25, 2009 (Symposium oral)

31. Nakashima, K. Epigenetic Regulations for Neural Cell Differentiation and Plasticity. Lasker/IRRF Initiative for Innovation in Vision Research, J. Erik Jonsson Center, Woods Hole, Massachusetts. July 13-15, 2009 (oral)

32. Sanosaka, T., Namihira, M., Kohyama, J., Semi, K., Benjamin, D., Taga, T., Nakashima, K. COMMITTED NEURONAL PRECURSORS CONFER ASTROCYTE-DIFFERENTIATION POTENTIAL ON NEURAL STEM CELLS THROUGH NOTCH SIGNAL MEDIATED DNA DEMETHYLATION DURING MOUSE BRAIN DEVELOPMENT. ISSCR 7th Annual Meeting. Barcelona, Spain. July 8-11, 2009

33. Asano, H., Namihira, M., Kohyama, J., Aonuma, M., Sanosaka, T., Nakashima, K. RETINOIC ACID-INDUCED CHROMATIN REMODELING PROMOTES ASTROCYTE DIFFERENTIATION OF NEURAL STEM CELLS. ISSCR 7th Annual Meeting. Barcelona, Spain. July 8-11, 2009

34. Kohyama, J., Tsujimura, K., Kirikae, I., Abematsu, M., Takebayashi, H., Nakashima, K. REGULATION OF NEURAL CELL DIFFERENTIATION PLASTICITY IN ADULT CENTRAL NERVOUS SYSTEM. ISSCR 7th Annual Meeting, Barcelona. Spain. July 8-11, 2009

35. Takizawa, T., Taga, T., Misteli, T., Nakashima, K. DYNAMIC CHANGES IN DNA METHYLATION AND SPATIAL POSITIONING OF AN ASTROCYTE SPECIFIC GENE, GFAP DURING ASTROCYTE DIFFERENTIATION. ISSCR 7th Annual Meeting. Barcelona, Spain. July 8-11, 2009

36. Nakashima, K. Neuro-to-gliogenic switch triggered by Notch-induced demethylation in neural stem cells. CREST Neuroscience International Symposium. Awaji Yumebutai International Conference Center. June 2-3, 2009 (oral)

37. 北嶋 聡、菅野 純
Percellome 手法を用いた発生毒性に関わる遺伝子発現変動解析 [第49回日本先天異常学会学術集会] 2009年6月

38. 北嶋 聡、菅野 純
Percellome Toxicogenomics Project toward Informatics Stage for Predictive Toxicology [the symposium of ICT-TIES 2009, the Joint Symposium of 5th International Conference on Toxicogenomics (ICT) and 2nd Toxicogenomics Integrated Environmental Science (TIES2009)] Plenary and Keynote Speaker (PLENARY LECTURE III) 2009年9月

39. 菅野 純、相崎健一、北嶋 聡、五十嵐勝秀、種村健太郎、小川幸男、関田清司
肝障害性薬剤による初期遺伝子発現応答の Percellome 解析 [薬学会第129年会] 2009年3月

40. 菅野 純、高木篤也、広瀬明彦、小縣昭夫、北嶋 聡
多層カーボンナノチューブの p53 ヘテロ欠失マウス腹腔内投与による中皮腫の誘発 [第98回日本病理学会総会] 2009年5月

41. Jun Kanno, Atsuya Takagi, Akihiko Hirose, Tetsuji Nishimura, Nobutaka Fukumori, Akio Ogata, Norio Ohashi, and Satoshi Kitajima
Induction of mesothelioma in p53^{+/-} mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. [The 5th International Congress of

Asian Society of Toxicology (ASIATOX V)]2009年
9月

42. 高木篤也、北嶋 聡、五十嵐勝秀、相崎健一、
菅野純

Percellome 手法によるマウス ES 細胞分化過程に
おける遺伝子発現の経時データベースの構築と活
用 [第32回日本分子生物学会年会]2009年12月

43. Tominaga, T. and Tominaga, Y. (2009)
Simultaneous optical VSD-imaging of un-caging
stimulation induced neuronal activity with a newly
developed patterned stimulation microscope 2009
Neuroscience Meeting Planner. Chicago: Society
for Neuroscience, 2009. Online.

44. Tominaga, T. and Tominaga, Y. (2009) Specific
mode of inhibitory activity enables preferential
transmission of theta oscillatory activity in area
CA1 of rat hippocampal slices, 36th International
Congress of Physiological Sciences (IUPS2009),
July 27-August 1, Kyoto, Japan

45. Tominaga, T. and Tominaga, Y. (2009)
Modulation of feed-forward inhibition on CA1
pyramidal cells by patterned synaptic input probed
with voltage-sensitive dye imaging in rat
hippocampal slices. 32nd Annual Meeting of Japan
Neuroscience Society, September 16-18, Nagoya,
Japan

46. Tominaga, T. and Tominaga, Y. (2009) Layer
dependent recruitment of feed-forward inhibition
revealed by fast VSD-imaging in area CA1 of rat
hippocampal slice preparation. Annual Meeting of
Biophysical Society of Japan, October
30-November 1, Tokushima, Japan

47 Takamori S. Mechanism of glutamate transport
into synaptic vesicles. (Keynote lecture) Kyushu

Brain Days 2009. 2009.11.9, Fukuoka.

H. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 御中



委託研究報告書 (STEP8)

反応分類インフォマティクス研究

1. 目的

平成18年度において、化合物間での遺伝子発現反応の差異を明らかにするための研究を行った。

平成20年度において、半特異的結合を考慮したマイクロアレイデータの補正方法

(MLANG)の基本部分を開発した。この手法を用いることにより、発現値の推定精度

が向上したと期待される。

これらの精度を向上させた推定発現値を用いて、化合物間の差異を明らかにするとともに、毒性評価方式の検討を行う。

2. 対象プロジェクト

次のプロジェクト（化合物）を化合物クラスタリングの対象とする

化合物	溶媒	餌種類	実験日	
TTG030-L	N-Methylaniline	MC	STD	2003/12/18
TTG040-L	cisplatin	corn oil + 10%DMSO	STD	2004/3/18
TTG044-L	Clofibrate	MC + 0.1%DMSO	STD	2004/5/13
TTG052-L	all trans retinoic acid	MC	STD	2004/9/9
TTG055-L	N-ethyl-N-nitrosourea	MC	STD	2004/7/15
TTG061-L	Paraquat 2nd	MC	STD	2005/2/2
TTG020-L	TCDD_TEST20040323	corn oil	STD	2003/10/16
TTG026-L	TCDF	corn oil	STD	2003/11/13
TTG042-L	Ethynyl Estradiol	MC + 0.1%DMSO	STD	2004/4/22
TTG047-L	Bisphenol A	MC + 0.1%DMSO	PLD	2004/6/17
TTG048-L	Genistein	MC + 0.1%DMSO	PLD	2004/7/1
TTG057-L	indigo	MC	STD	2004/9/30