

201035009A

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 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北嶋 聡

平成 23(2011)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 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北嶋 聡

平成 23(2011)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 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北嶋 聡

平成 23(2011)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

..... 39

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 健太郎

..... 53

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

..... 69

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

..... 81

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

..... 129

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

..... 139

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

..... 153

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 169

IV. 研究成果の刊行物・別刷

..... 173

I . 総括研究報告書

平成 22 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、これを脳の発生、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・発達期を設定し、方法にマウス *in vivo*、*in vitro* 或いは *ex vivo* 系を用いて、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、同時に遅発性の情動・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・認知行動に対する毒性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。

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（山田）」として、生後2週齢の幼若期マウスへのセロトニン受容体作動薬投与による、成熟後の行動影響評価を行った。その結果、単一受容体レベルの一時的なかく乱では成長後の情動・認知機能に及ぼす影響は限定的であり、遅発性影響の発現時期も他の経路のかく乱による影響の発現時期と異なる可能性があることが示唆された。また研究課題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（種村）」として、成熟期、幼若期、胎生期のマウスに対してグルホシネート（50mg/kg）を単回強制経口投与し、生後12～13週齢時に行動解析を行った。その結果、幼若期、胎生期投与マウスに重篤な記憶異常が認められるとともに、海馬における神経細胞突起異常が認められた。また、平成20年度に施行したトリアゾラムとの対比に資すべくゾルピデム（50mg/kg）、及びエチゾラム（6mg/kg）をそれぞれ単回強制経口投与し、生後12～13週齢時に行動解析を行った。その結果、幼若期エチゾラム投与群に記憶行動異常が認められた。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（中島）」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日マウスへの経口投与）による、成熟後の記憶異常が、成長過程でのランニングホイール設置による自発的運動増加によって改善された。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（北嶋）」として、生後2週齢の幼若期マウスへのトリアゾラム投与後、2、4、8、24時間後の海馬について、Percellome法による網羅的遺伝子発現変動解析を行い、発現が減少した遺伝子リストの中に、シナプスの興奮と抑制の恒常的バランス維持を司るNpas4遺伝子とその関連遺伝子を見出すとともに、昨年度の本分担研究にて遂行したイボテン酸を幼若期に投与した際の解析結果との比較検討から、共通してNpas4並びにその関連遺伝子Bdnf、Egr4及びスパイン形成に関係するArc遺伝子を含む13遺伝子が見いだされた。このことは、少なくともこの13遺伝子は、遅発性の情動認知行動影響の誘発に関与する候補遺伝子である可能性を示しており、また従来、この関

連は知る限り報告されていないため新規性の高い発見と考えられた。In silicoでのプロモーター解析により、この13遺伝子のうち12遺伝子の転写開始点上流に、8種類の共通した結合配列が見いだされた。今後、特にこのNpas4分子が関係するシグナルネットワークに着目した検討により、遅発性神経毒性の誘発分子機序に迫れるものとする。これまでにマイクロアレイ特有のクロスハイブリダイゼーションに起因する誤差を補正する技術(MLANGおよび特願2010-294175「競合的ハイブリダイゼーションにおける遺伝子データの補正方法及び補正装置」)の開発に成功し、網羅的遺伝子発現解析の一層の高精度化の目処が立っていた。しかしMLANGの初期開発は、肝のトランスクリプトームを対象として進められたため、肝で発現していない遺伝子についての補正性能が不十分であり、本研究班で対象とする脳神経系等、肝以外の臓器における解析に適用するには一層の補正係数最適化が必要と予見されていた。そこでMLANG技術の共同開発に携わったIT企業(株)NTTデータに、肝以外の臓器のトランスクリプトームデータやコントロール用RNAのみを用いた標準データを提供し、これらを用いた補正係数の最適化研究業務を委託した。その結果、多くのプローブに於いて計測精度が向上した事に加え、従来、推測の域を出なかったマイクロアレイにおけるハイブリダイゼーション関連の諸問題の同定に成功した。これにより、本研究班の主要標的である脳神経系の網羅的遺伝子発現解析の精度向上が格段に進み、より微弱だが重要な遺伝子発現変動の検出・解析が進むものと期待される。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(熊ノ郷)」では、Sema4A欠損下の網膜脱落を見出し、発達期におけるクラス4型セマフォリンの重要性を明らかにした。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(富永)」では、ex vivo脳標本でシナプス長期増強の異常を解析するとともに、新規顕微鏡によるランダムアクセス型の光刺激・計測による解析と改良、さらに新規共焦点顕微鏡を完成させることで、性能評価を行った。また、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(高森)」では、神経初代培養細胞について、バルプロ酸暴露のシナプス形成に対する影響を検討した結果、抑制性シナプスの形成が選択的に抑制されることが判明した。

本研究の成果は、化学物質の中樞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、遅発性影響誘発に關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必要があると考えられる。

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

熊ノ郷淳

大阪大学微生物病研究所・感染症態分野・
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

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

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

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

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

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

A. 研究目的

本研究は、化学物質の中樞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・認知行動解析と中樞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（冨永）、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

モノアミン系神経シグナル伝達はヒト及び動物の高次脳機能に重要な役割を果たしており、このシステムの障害は情動性や認知機能に重大な影響を及ぼし、精神疾患の一因とも考えられている。そこで、本研究では、セロトニン 1A 受容体作動薬をモデル化学物質として用い、発達期におけるセロトニン系神経伝達の受容体レベルにおける一時的なかく乱が、成長後に及ぼす情動的・認知的影響についてマウスを用いて検討した。その結果、単一受容体レベルの一時的なかく乱では成長後の情動・認知機能に及ぼす影響は限られていること、そして遅発性影響の

発現時期も他の経路のかく乱による影響の発現時期と異なる可能性があることが示唆された。

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

① 成熟期、幼若期、胎生期のマウスに対して、グルホシネート (50mg/kg) を単回強制経口投与し、生後 12~13 週齢時に行動解析を行った。その結果、幼若期、胎生期のマウスに重篤な記憶異常が認められるとともに、海馬における神経細胞突起異常が認められた。

② 平成 20 年度に施行したトリアゾラムに加えて、成熟期、幼若期、胎生期のマウスに対してその結果、ゾルピデム (50mg/kg)、エチゾラム (6mg/kg) を単回強制経口投与し、生後 12~13 週齢時に行動解析を行った。その結果、ゾルピデムを投与した 3 群には行動逸脱は認められなかったが、幼若期エチゾラム投与群に、記憶行動異常が認められた。

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) した結果に生じる、生後 12~13 週齢時の記憶学習障害が、成長過程でのランニングホイール設置による自発的運動増加によって改善された。

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、今年度はモデル中枢作動性物質としてベンゾジアゼピン系睡眠薬のトリアゾラム (商品名: ハルシオン等) を選択し、「幼若期」暴露時のマウスでの情動・認知行動解析ならびに網羅的遺伝子発現変動解析を検討した。その結果、1) トリアゾラム (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、遅発性の学習記憶障害が生じる事が明らかとなった。2) この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 及び 24 時間後) に採取した幼若期 (生後 2 週齢) の海馬サンプルを用いて、Percellome 法による網羅的遺伝子発現変動解析を検討した。その結果、発現が減少した遺伝子リストの中に、シナプスの興奮と抑制の恒常的バランス維持を司る遺伝子である Npas4 分子とその関連遺伝子を見出す事が出来た。この Npas4 遺伝子の発現減少は、昨年度の本分担研究にて、遅発性の学習記憶障害を誘発することを見いだしたイボテン酸を幼若期に投与した際の海馬においても認められた。そこで、3) トリアゾラムとイボテン酸それぞれを、幼若期に投与した際の海馬における遺伝子発現プロファイルを比較・

検討したところ、発現が共通して減少した遺伝子リストに、Npas4 とその関連遺伝子 Bdnf、Egr4 及びスパイン形成に関係する Arc 遺伝子を含む 13 遺伝子が見いだされた。このことは、少なくともこの 13 遺伝子は、遅発性の情動認知行動影響の誘発に関与する候補遺伝子である可能性を示唆しており、また従来、遅発性の情動認知行動影響との関連は示唆されていないため新規性の高い発見と考えられる。*In silico* でのプロモーター解析により、この 13 遺伝子のうち 12 遺伝子の転写開始点上流に、8 種類の共通した結合配列が見いだされた。今後、特にこの Npas4 分子が関係するシグナルネットワークに着目した検討により、遅発性神経毒性の誘発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、Sema4A 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、Sema4A 欠損下の網膜脱落を見出し、発達期におけるクラス 4 型セマフォリンの重要性も明らかにしている。

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

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) を用いて網羅的な評価を可能にする手法を開発する。本年は、引き続き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、*ex vivo* 標本でシナプス長期増強の異常を解析した。併せて新規顕微鏡によるランダムアクセス型の光刺激・計測による解析と改良、さらに新規共焦点顕微鏡を完成させ性能評価を行った。これでカルシウム信号の導出についても解析に加える準備ができた。

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暴露のシナプス形成に対する影響を検討した結果、神経初代培養細胞において抑制性シナプスの形成が選択的に抑制されることが判明した。

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、化学物質の中樞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

1) 書籍

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.) 315-328 (Elsevier, 2010).

高森茂雄. 第4章 トランスポートソーム、グルタミン酸性シナプス小胞のトランスポートソーム. 「トランスポートソームの世界-膜輸送研究の源流から未来へ向けて-」, 335-343. 2011.

2) 雑誌

K. Yamada; 2010 Strain differences of selective attention in mice: Effect of Kamin blocking on classical fear conditioning. Behav Brain Res, 213, 126-129.

S. Watanabe, S. Endo, E. Oshima, H. Higashi, K. Yamada, K. Tohyama, T. Yamashita, Y. Hirabayashi: 2010

Glycosphingolipid synthesis in cerebellar purkinje neurons: roles in myelin formation and axonal homeostasis. *Glia*, 58, 1197-1207.

Y. Matsumoto, K. Katayama, T. Okamoto, K. Yamada, N. Takashima, S. Nagao, J. Aruga: 2010 Impaired Auditory-Vestibular Functions and Behavioral Abnormalities of Slitrk6-Deficient Mice. *PLoS ONE*, in press

Muotri A.R., Marchetto M.C., Coufal N.G., Oefner R., Yeo G., Nakashima K. & Gage F.H. L1 retrotransposition in neurons is modulated by MeCP2. *Nature* 468, 443-446 (2010).

Abematsu M., Tsujimura K., Yamano M., Saito M., Kohno K., Kohyama J., Namihiro M., Komiya S. & Nakashima K. Neurons derived from transplanted neural stem cells restore disrupted neuronal circuitry in a mouse model of spinal cord injury. *J Clin Invest* 120, 3255-3266 (2010).

Kohyama J., Sanosaka T., Tokunaga A., Takatsuka E., Tsujimura K., Okano H. & Nakashima K. BMP-induced REST regulates the establishment and maintenance of astrocytic identity. *J Cell Biol* 189, 159-170 (2010).

Mira H., Andreu Z., Suh H., Lie D.C., Jessberger S., Consiglio A., San Emeterio J., Hortiguera R., Marques-Torrejon M.A., Nakashima K., Colak D., Gotz M., Farinas I. & Gage F.H. Signaling through BMP-IA regulates quiescence and long-term activity of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 7, 78-89 (2010).

Juliandi B., Abematsu M. & Nakashima K. Chromatin remodeling in neural stem cell differentiation. *Curr Opin Neurobiol* 20, 408-415 (2010).

Juliandi B., Abematsu M. & Nakashima K. Epigenetic regulation in neural stem cell differentiation. *Dev Growth Differ* 52, 493-504 (2010).

Oginuma M, Takahashi Y, Kitajima S, Kiso M, Kanno J, Kimura A, Saga Y. The oscillation of Notch activation, but not its boundary, is required for somite border formation and rostral-caudal patterning within a somite. *Development*. 137(9): 1515-1522 (2010).

Nogi T, Yasui N, Mihara E, Matsunaga Y, Noda M, Yamashita N, Toyofuku T,

Uchiyama S, Goshima Y, Kumanogoh A, Takagi J. Structural basis for semaphorin signalling through the plexin receptor. *Nature*. 467:1123-7. 2010.

Viola Maier, Christine Jolicoeur, Helen Rayburn, Noriko Takegahara, Atsushi Kumanogoh, Hitoshi Kikutani, Marc Tessier-Lavigne, Wolfgang Wurst, and Roland H. Friedel. Semaphorin 4C and 4G are ligands of Plexin-B2 required in cerebellar development. *Molecular and Cellular Neuroscience*. (in press).

Ishii H, Kubo T, Kumanogoh A, Yamashita T. Th1 cells promote neurite outgrowth from cortical neurons via a mechanism dependent on semaphorins. *Biochem Biophys Res Commun*. 402:168-72. 2010.

Takegahara N, Kang S, Nojima S, Takamatsu H, Okuno T, Kikutani H, Toyofuku T, Kumanogoh A. Integral roles of a guanine nucleotide exchange factor, FARP2, in osteoclast podosome rearrangements. *FASEB J*. 24:4782-4792. 2010.

Kumanogoh A, Kikutani H. Semaphorins and their receptors: novel features

of neural guidance molecules. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 86:611-20. 2010.

Takamatsu H, Takegahara N, Nakagawa Y, Tomura M, Taniguchi M, Friedel RH, Rayburn H, Tessier-Lavigne M, Yoshida Y, Okuno T, Mizui M, Kang S, Nojima S, Tsujimura T, Nakatsuji Y, Katayama I, Toyofuku T, Kikutani H, Kumanogoh A. Semaphorins guide the entry of dendritic cells into the lymphatics by activating myosin II. *Nat Immunol*. 11: 594-600, 2010.

Yukawa K, Tanaka T, Kishino M, Yoshida K, Takeuchi N, Ito T, Takamatsu H, Kikutani H, Kumanogoh A. Deletion of Sema4D gene reduces intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Int J Mol Med*. 26:39-44. 2010.

Tominaga T, and Tominaga Y. GABA(A) receptor-mediated modulation of neuronal activity propagation upon tetanic stimulation in rat hippocampal slices. *Pflugers Arch* 460: 875-889. 2010.

Tominaga T and Tominaga Y. Practice for the optical recording method of neuronal circuit analysis. Seibutsu

Butsuri *生物物理* 51(2), 092-095.
2011.

高森茂雄. 塩化物イオンによる小胞型
グルタミン酸輸送の制御, *医学のあゆ
み*, in press.

Saito K, Kakizaki T, Hayashi R,
Nishimaru H, Furukawa T, Nakazato Y,
Takamori S, Ebihara S, Uematsu M,
Mishina M, Miyazaki J, Yokoyama M,
Konishi S, Inoue K, Fukuda A, Fukumoto
M, Nakamura K, Obata K, Yanagawa Y.
The physiological roles of vesicular
GABA transporter during embryonic
development: a study using knockout
mice. *Mol Brain*, 3:40, 2010.

2. 学会発表

K. Yamada, C. Homma, T. Ikeda, K.
Tanemura, S. Itohara, Y. Nagaoka:
2010 Impaired long-term but intact
short-term contextual fear memory in
Arc/Arg3.1-deficient mice. The 15th
Binnial Scientific Meeting of The
International Society for
Comparative Psychology, (Awaji,
Hyogo, May 19-21, 2010)

J. Aruga, M. Hatayama, N. Takashima, K.
Sakoori, Y. Nozaki, Y.S. Odaka, K.
Yamada, A. Ishiguro: 2010 *Zic2*
hypomorphic mutant mice exhibit

cognitive impairment and social
behavior abnormalities with an
altered distribution of basal
forebrain cholinergic neurons.
Neuroscience 2010, the Society for
Neuroscience 40th Annual Meeting, (San
Diego, CA, November 13-17, 2010)

Y. Matsumoto, K.-I. Katayama, A. Zine,
M. Ota, T. Inoue, B. Fritzsche, K.
Yamada, J. Aruga: 2010 Disorganized
innervation and neuronal loss in the
inner ear of *Slitrk6*-deficient mice.
Neuroscience 2010, the Society for
Neuroscience 40th Annual Meeting, (San
Diego, CA, November 13-17, 2010)

M. Kabayama, K. Yamada, V.
Ornthanalai, N.P. Murphy, K.-I.
Katayama, J. Aruga: 2010 A role of
Rines, a neuronal membrane-bounded
ubiquitin ligase in higher brain
function. Neuroscience 2010, the
Society for Neuroscience 40th Annual
Meeting, (San Diego, CA, November
13-17, 2010)

D.C. Corbett, K.-I. Katayama, Y.
Matsumoto, N. Morimura, K. Yamada, M.
Ota, V.G. Ornthanalai, C. Homma, N.P.
Murphy, J. Aruga: 2010
Characterisation of *Slitrk2*-
deficient mice. Neuroscience 2010,

the Society for Neuroscience 40th Annual Meeting, (San Diego, CA, November 13-17, 2010)

山田一之、本間千尋：2010 胎児期のパロキセチン暴露がマウスの成長後の認知・情動機能に及ぼす影響
第70回日本動物心理学会大会（8月27-29日 帝京大学）

山田一之：2010 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
(2) 日本心理学会第74回大会（9月20-22日 大阪大学）

M. Ogawa, K. Yamada, V. G. Ornthanalai, N. P. Murphy, K. -I. Katayama, J. Aruga: 2010 A role of Rines, a neuronal membrane-bound ubiquitin ligase in higher brain function. 第33回日本神経科学大会、第53回日本神経化学会大会、第20回日本神経回路学会大会 合同大会（9月2-4日 神戸コンベンションセンター）

I. Ogiwara, S. Ito, K. Yamada, K. Yamakawa.: 2010 Scn1a mice exhibit hyperactivity, autism-like behavioral deficits and learning impairments. 第33回日本神経科学大会、第53回日本神経化学会大会、第20回日本神経回路学会大会 合同大会

(9月2-4日 神戸コンベンションセンター)

S. Fuke, M. Kametani, M. Kubota, T. Kasahara, K. Yamada, Y. Shigeyoshi, T. Kato: 2010 Enhanced accumulation of mitochondrial DNA deletions in the brain and altered behavioral rhythm in heterozygous mitochondrial PlogA knock-in mice. 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会合同大会 一般口頭発表採択課題（12月7-1日 神戸ポートアイランド）

前川利男、中井大助、金昇準、吉田圭介、小倉博雄、山田一之、石井俊輔：2010 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33回日本神経科学大会、第53回日本神経化学会大会、第20回日本神経回路学会大会合同大会 一般口頭発表採択課題（9月2-4日 神戸コンベンションセンター）

前川利男、中井大助、金昇準、吉田圭介、小倉博雄、山田一之、石井俊輔：2010 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33回日本神経科学大会、第53回日本神経化学会大会、第20回日本神経回路学会大会合同大会 ポスター発表（9月2-4日 神戸コンベンションセンター）

S. Fuke, M. Kametani, M. Kubota, T.

Kasahara, K. Yamada, Y. Shigeyoshi, T. Kato: 2010 Enhanced accumulation of mitochondrial DNA deletions in the brain and altered behavioral rhythm in heterozygous mitochondrial PlogA knock-in mice. 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会合同大会 ポスター発表 (12月7-1日 神戸ポートアイランド)

種村健太郎、菅野 純: 発達期における化学物質暴露による中枢影響とメカニズム解明
第151回日本獣医学会シンポジウム
(2011年3月・東京)

裏山悟司、滝沢琢己、神山淳、中島欽一: Analysis of DNA methylation-independent regulatory mechanisms of astrocyte specific gene expression in embryonic stem cells (ESCs). BMB2010、神戸ポートアイランド、2010年12月7-10日

鈴木暁也、辻村啓太、中島欽一: Rett症候群原因遺伝子産物 MeCP2 の新規機能解析. BMB2010、神戸ポートアイランド、2010年12月7-10日

武藤哲司、中島欽一: Hypoxic condition facilitates Notch-induced DNA demethylation of astrocytic genes, resulting in the enhanced astrocyte

differentiation of neural precursor cells. BMB2010、神戸ポートアイランド、2010年12月7-10日

中島欽一: 抗てんかん薬バルプロ酸のエピジェネティックな作用とその応用. 第3回 Stroke Science Academy、ホテル日航福岡、2010年12月3日 (口頭)

中島欽一: 神経幹細胞制御におけるヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の影響とその影響. 大阪大学蛋白質研究所セミナー、大阪大学吹田キャンパス、2010年11月25-26日 (口頭)

中島欽一、Berry, J.: 抗てんかん薬バルプロ酸の神経系における良い作用と悪い作用、日本遺伝学会第82回大会. 北海道大学高等教育機能開発総合センター、2010年9月20-23日 (口頭)

Berry, J., Tanemura, K., Abematsu, M., Igarashi, K., Kanno, J., Nakashima, K.: Prenatal HDAC inhibition affects adult hippocampal neurogenesis. Neuro2010、神戸コンベンションセンター、2010年9月2-4日

辻村啓太、鈴木暁也、深尾陽一郎、藤原正幸、中島欽一: メチル化 DNA 結合タンパク質 MeCP2 の相互作用因子解析. Neuro2010、神戸コンベンションセンター、2010年9月2-4日

佐野坂司、波平昌一、滝沢琢己、中島欽一：アストロサイト分化誘導性サイトカイン発現細胞の同定。Neuro2010、神戸コンベンションセンター、2010年9月2-4日

齋藤敦、落合希実子、村上智彦、佐野坂司、中島欽一、和中明生、今泉和則：アストロサイト分化における小胞体ストレス応答の役割。Neuro2010、神戸コンベンションセンター、2010年9月2-4日（口頭）

滝沢琢己、高木美智、笹岡寛敏、伊藤謙治、中島欽一：神経活動依存性遺伝子発現の時空間制御。Neuro 2010、神戸コンベンションセンター、2010年9月2-4日（口頭）

中島欽一：発生期脳における神経幹細胞のアストロサイトへの分化能獲得および分化誘導機構。第50回日本先天異常学会学術集会、淡路夢舞台国際会議場、2010年7月8-10日（口頭）

裏山悟司、滝沢琢己、堀由貴奈、神山淳、中島欽一：胚性幹細胞におけるGFAP遺伝子の発現制御機構の解析。日本分子生物学会 第10回春季シンポジウム、ホテル松島大観荘、2010年6月8-9日

滝沢琢己、高木美智、伊藤謙治、中島欽

一：神経活動依存性転写の時空間的制御。第9回核ダイナミクス研究会、ラフォーレ修善寺、2010年5月27-29日（口頭）

辻村啓太、鈴木暁也、藤原正幸、深尾洋一朗、中島欽一：メチル化DNA結合タンパク質MeCP2の新規相互作用因子の探索。日本エピジェネティクス研究会第4回年会、米子市文化ホール、2010年5月28-29日

武藤哲司、武藤正弘、古関庸子、古関明彦、中島欽一：成体海馬ニューロン新生におけるNP95の役割。日本エピジェネティクス研究会第4回年会、米子市文化ホール、2010年5月28-29日

中島欽一：HDAC阻害剤を用いた神経幹細胞制御による損傷脊髄新規治療法。日本エピジェネティクス研究会第4回年会、米子市文化ホール、2010年5月28-29日（口頭）

中島欽一：移植神経幹細胞由来ニューロンによる脊髄損傷治療。神経組織の成長・再生・移植研究会 第25回学術集会、大阪市立大学、平成22年5月22日（口頭）

Berry, J.、辻村啓太、精松昌彦、神山淳、中島欽一：The role of histone acetylation on cortical development. 第8回幹細胞シンポジウム、淡路夢舞台