

ランドメチル化抑制を通じ、エピジェネティックな転写活性化を誘導することで、自然免疫系に何らかの影響を及ぼしている可能性が推察された。

感染感受性評価

MMP (最高 30 ppm) 及び CPF (最高 70 ppm) について、一般毒性が見られない最高限度まで用量を上げて周産期暴露を実施したが、児動物の RS ウイルス感染病態の明確な増悪化は見られなかった。しかし、この感染症の重症度に大きく関わる肺での初期感染免疫系に両化合物が作用することは炎症性サイトカインの産生変動を通して分かった。本研究では、病態評価のエンドポイントを感染後 5 日目と短期間に設定していたが、長期間で再燃を見るようなモデルでは影響が認められる可能性が考えられた。

CPF の周産期暴露により、児動物での RS ウイルス感染初期 (感染 1 日後) に proinflammatory cytokine (TNF- α) の産生を抑制することが認められた。これを基に肺組織での網羅的な遺伝子発現影響を確認したが、結果は全く一致しなかった。一方で、MMP については、IL-6 への影響が BALF 中のレベルと肺組織での遺伝子発現の面で確認され、マクロファージ/単球系がこの化合物の標的細胞であることが強く示唆されたため、*in vitro* での培養マクロファージ細胞による直接作用を検討した。Toll like receptor-4 を共通のレセプターとする RS ウイルスと LPS を用いて IL-6 を誘導したが、MMP はそれらの産生を抑制しなかった。この化合物がマウス体内で代謝を受けて初めて免疫系へ作用する、あるいは気道上皮など他の組織/細胞を介して作用することが強く示唆された。しかし、インフルエンザウイルスを感染させた P388D1 細胞では TNF- α の産生増強が見られることから、直接的な作用を完全には否定できない。マウス腹腔から調製したマクロファージなどで検討する必要があると考えられる。

MnCl₂ の周産期暴露による RS ウイルス感染免疫への影響は確認できなかった。インフルエンザウイルスのように、異なった感染病態を引き起こすウイルスでの影響については、実施の可否を検討する必要がある。

発がん感受性評価

ENU を経胎盤暴露した中枢神経発がんモデルにより、Mn、NIC 及びプロパンスルトンの発達期暴露による発がん修飾作用について検討を行った。

20 週目の前後より切迫屠殺解剖例及び死亡例が認められた。同程度の濃度の ENU を経胎盤暴露し、同時期に死亡例を認めた報告 (Perantoni et al., *Pro. Natl. Acad. Sci.*, 84, 6317-6321, 1987) と一致する結果となった。

Mn を用いた実験において、母動物と仔動物の体重、摂餌量及び仔動物の死亡率及び腫瘍性病変の発生率の Mn による明らかな影響は認めなかった。霊長類で認められる Mn 中毒のような症状が齧歯類で

は観察されにくいとの報告があり、脳内輸送に関わる transferrin レベル及び Mn との強い親和性を示す neuromelanin レベルの種差の関与が考えられる (Haschek et al., *Handbook of Toxicologic Pathology*, 2nd edition, volume 2, 518-520, ACADEMIC PRESS, 2002)。

NIC に関しては親仔動物に酒石酸ニコチン二水和物を 0.002、0.01 及び 0.05% 濃度で飲水投与する実験を実施したが、2% サッカリン水に混ぜて投与したにも関わらず飲水量が著しく減少したのは NIC の苦味等による忌避と考えられた。0.05% NIC 投与群では NIC に対する忌避に加えて神経症状によって育児放棄に至ったと考えられる。0.01% NIC 投与群 (18.5mg/kg/day) でも体重及び臓器重量の減少が認められた。NIC は経胎盤及び経乳汁移行することが知られている (Svensson CK, *Clin. Pharmacokin.*, 12, 30-40, 1987) ことから仔動物にも NIC は暴露されていると考えられる。また、妊娠中のラットに 0.008% 飲水投与によっても飲水量及び体重の減少及び 0.004% 以上の投与によって体重増加抑制を含む発達障害の増加が報告されている (Schneider et al., *Behavioural Pharmacology*, 21, 206-216, 2010) ことから幼若期に NIC に暴露されると発達に影響を受ける可能性が考えられる。

仔動物の死亡率及び腫瘍性病変の発生率について、NIC の投与による明らかな影響は認めなかった。体重増加抑制による影響は否定できないが、脳の相対重量は有意に増加し、体重変化の影響は少ないと推察される。プロパンスルトンによる体重相加抑制は同様に観察されるものの重量変化が殆どみられなかった肺において明らかな発癌促進作用が認められたことから体重増加抑制が必ずしも全ての臓器の発がん抑制に作用するとは考えにくい。

プロパンスルトンによる中枢神経発癌促進作用が認められなかったことについて、飲水中の安定性を調べたところ飲水中には室温 4 日間の保管後には、測定限界以下だったことから安定性の不良が原因であることが明らかとなった。週 2 回の飲水交換による僅かながら暴露濃度でも肺がん促進及び神経鞘腫の発生率増加傾向が認められた。投与方法を改め検討を行うことで中枢神経発がん修飾陽性対照として活用が期待できる。

Mn を投与した母動物の授乳中の仔動物の胃内容物から有意な Mn 濃度の上昇が認められたことから Mn が乳汁移行することを明らかにした。

E. 結論

In vivo 神経発達評価では、神経発達影響評価系の確立を分担課題として、Mn、CPF、NIC 及び ACR を発達期暴露する実験を行い、海馬歯状回に着目した検討を実施した。海馬歯状回顆粒細胞層下帯での細胞増殖、アポトーシス及び新生ニューロン分化指標の検索を行うことにより、type 3 前駆細胞～幼若顆粒細胞への影響が Mn 暴露ラット、CPF 暴露マウス及び NIC 暴露ラットに、幼若顆粒細胞への影響が

Mn 暴露マウスと ACR 暴露ラットに、増殖性 type 2 前駆細胞への影響が CPF 暴露ラットに認められ、各神経毒性物質の標的性が明らかとなった。また、同時に海馬歯状回門を検索することにより、Mn 暴露ラット及びマウス、CPF 暴露マウス、NIC 暴露ラット並びに ACR 暴露ラットにおいて GABA 性介在ニューロンの変動が検出され、顆粒細胞のニューロン新生・分化に関与することが知られる GABA 性介在ニューロンが顆粒細胞層下帯のニューロン新生及び分化と共に変動していることが明らかとなり、顆粒細胞層下帯のニューロン新生及び分化への影響の機序解明に寄与するものと考えられた。また、NIC 暴露ラットでは神経前駆細胞の持つ化学物質の標的となる受容体を検索することにより、顆粒細胞層下帯の神経前駆細胞の分化障害の機序をより詳細に検討することが可能となった。更に、Mn 暴露マウスの海馬のゲノムのメチレーション解析により、Pvalb、Mid1、Atpla3 及び Nr2f1 の過メチル化及び mRNA の発現レベルの減少、Parvalbumin 及び MID1 は免疫染色の変動を検出した。特に、MID1 は成熟後まで持続する変動を見せ、ニューロン新生に関連する遺伝子発現のエピジェネティックな発現制御による修飾が成熟後まで続く可能性が示唆され、更には、MID1 陽性顆粒細胞の左右非対称性の発現が Mn 暴露により消失していることを見出し、MID1 が発達神経毒性の評価において、重要な指標となる可能性が示唆された。一方、低蛋白質食を用いた発達期低栄養に起因する脳発達遅延では、GABA 性介在ニューロンのいずれの指標も発現変動を示さず、増殖下帯での細胞増殖とアポトーシスにも変動を認めなかったことから、投与した神経発達毒性物質に特異的なニューロン発達障害を検出する系として有用であると考えられた。以上のごとく、海馬歯状回顆粒細胞層下帯での細胞増殖、アポトーシス及び新生ニューロン分化指標の検索は発達神経毒性物質の標的性を明らかにすることができ、その機序解明に海馬歯状回門における GABA 性介在ニューロンの検索が有用であり、更に、海馬のゲノムのメチレーション解析により、ニューロン新生に関連する遺伝子発現のエピジェネティックな発現制御を明らかにすることができることが判明した。

In vitro 神経発達評価では、神経あるいはグリア細胞初代培養系ならびに、マウス ES 細胞を用いた神経発生段階に対する評価系は、化学物質の特性を検討するうえで、有用なツールであることが考えられる。更に、パラメーターをより詳細に検討することで、網羅的かつ多角的な解析を行うことが可能となると考えられる。

免疫機能評価では、本研究では、有機リン系農薬 CPF 及び MMP の周産期暴露が及ぼす免疫影響を、以下の項目に基づき解析した。①体重や臓器重量、②血球学的・血液生化学的解析、③フローサイトメトリーによる 4 種の CD4 陽性 T 細胞サブセットの解析、④ CpG アイランドメチル化の網羅的解析、⑤抗

KLH 抗体産生能。このうち、①～③からは、有機リン系農薬 (CPF) では、3 週齢児動物の血中コリンエステラーゼ活性が顕著に減少していたことから、CPF の経胎盤・経授乳暴露は成立していたことが示唆され、リンパ球サブセット解析の結果としては、CD4 陽性細胞及び Treg 細胞の相対的な増加等が観察された。暴露を停止して 8 週後の 11 週齢においては血中コリンエステラーゼ活性が復活しており、暴露の影響は消失したことが示唆されるが、上記 CD4 陽性 T 細胞や Treg 細胞の増加傾向は依然として認められた。一方、MMP の影響は、①～③からはないかごく軽微であると考えられた。④では、自然免疫系のパターン認識受容体遺伝子 (Pglyrp2 及び CD14) の CpG アイランドメチル化が減少するという結果が得られ、MMP の自然免疫系への影響についてのさらなる解析が期待された。しかし、⑤からは 25ppm MMP 暴露によりわずかな抗 KLH IgG 抗体産生の抑制が認められ、(適応)免疫系全体への影響としては MMP は抑制的に作用する可能性が示唆され、MMP のような有機リン系農薬の免疫影響を考える場合、CD4 陽性 T 細胞が関与する適応免疫系だけでなく、自然免疫系への影響も考慮することが望ましいと思われた。

感染感受性評価では、二種類の有機リン系農薬を対象とした発達期暴露による RS ウイルス感染感受性への影響評価では、児動物の感染病態の増悪化は認められなかったが、MMP 群ではウイルス感染免疫における単球/マクロファージを間接的な有害標的細胞として明らかにした。更に、インフルエンザウイルスの様に異なった感染病態を引き起こすウイルスを利用することで、新たな感染初期免疫へのアプローチが行える可能性を見出すことができた。

発がん感受性評価では、ENU を経胎盤暴露した中枢神経発がんモデルは 25 週間という短期間で 50-60%の動物に中枢神経腫瘍を発生させることから中枢神経発がん修飾物質の検索に有用であると考えられた。しかし 0.05%塩化マンガン 4 水和物の混餌投与及び 0.01%酒石酸ニコチン二水和物の飲水投与によって幼若期に暴露した場合の中枢神経発がん修飾作用は認めなかった。また、プロパンスルトンについて、水溶液での安定性が不良であることから明らかな中枢神経発がん修飾作用は示さなかったが、投与方法を改めた検討が必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Shibutani, M., Woo, G-H., Fujimoto, H., Saegusa, Y., Takahashi, M., Inoue, K., Hirose, M., Nishikawa, A.: Assessment of developmental effects of hypothyroidism in rats from in utero and lactation exposure to anti-thyroid agents. *Reprod. Toxicol.* 28(3): 297-307,

2009.

Saegusa, Y., Fujimoto, H., Woo, G-H., Inoue, K., Takahashi, M., Mitsumori, K., Hirose, M., Nishikawa, A., Shibutani, M.: Developmental toxicity of brominated flame retardants, tetrabromobisphenol A and 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane, in rat offspring after maternal exposure from mid-gestation through lactation. *Reprod. Toxicol.* 28(4): 456-467, 2009.

Saegusa, Y., Woo, G-H., Fujimoto, H., Inoue, K., Takahashi, M., Hirose, M., Igarashi, K., Kanno, J., Mitsumori, K., Nishikawa, A., Shibutani, M.: Gene expression profiling and cellular distribution of molecules with altered expression in the hippocampal CA1 region after developmental exposure to anti-thyroid agents in rats. *J. Vet. Med. Sci.* 72(2): 187-195, 2010.

Saegusa, Y., Woo, G-H., Fujimoto, H., Kemmochi, S., Shimamoto, K., Hirose, M., Mitsumori, K., Nishikawa, A., Shibutani, M.: Sustained production of Reelin-expressing interneurons in the hippocampal dentate hilus after developmental exposure to anti-thyroid agents in rats. *Reprod. Toxicol.* 29(4): 407-414, 2010.

Ohishi, T., Wang, L., Ogawa, B., Fujisawa, K., Taniai, E., Hayashi, H., Mitsumori, K., Shibutani, M.: No effect of sustained systemic growth retardation on the distribution of Reelin-expressing interneurons in the neuron-producing hippocampal dentate gyrus in rats. *Reprod. Toxicol.* 30(4): 591-599, 2010.

Hachisuka, A., Nakamura, R., Sato, Y., Nakamura, R., Shibutani, M., Teshima, R. [Effects of perinatal exposure to the brominated flame-retardant hexabromocyclododecane (HBCD) on the developing immune system in rats]. *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku.* 128:58-64, 2010, Japanese.

Watanabe, W., Shimizu, T., Sawamura, R., Hino, A., Konno, K., Hirose, A., Kurokawa, M.: Effects of tetrabromobisphenol A, a brominated flame retardant, on the immune response to respiratory syncytial virus infection in mice. *Int. Immunopharmacol.* 10: 393-397, 2010.

Watanabe, W., Shimizu, T., Sawamura, R., Hino, A., Konno, K., Kurokawa, M.: Functional disorder of primary immunity responding to respiratory syncytial virus infection in offspring mice exposed to a flame retardant, decabrominated diphenyl ether, perinatally. *J. Med. Virol.* 82: 1075-1082, 2010.

Fujimoto, H., Woo, G-H., Inoue, K., Takahashi, M., Hirose, M., Nishikawa, A., Shibutani, M.: Impaired oligodendroglial development by decabromodiphenyl ether in rat offspring after maternal exposure from mid-gestation through lactation. *Reprod. Toxicol.* 31(1):

86-94, 2011.

Ogawa, B., Ohishi, T., Wang, L., Takahashi, M., Taniai, E., Hayashi, H., Mitsumori, K., Shibutani, M.: Disruptive neuronal development by acrylamide in the hippocampal dentate hilus after developmental exposure in rats. *Arch. Toxicol.* 85(8):987-94, 2011.

Takahashi, M., Inoue, K., Koyama, N., Yoshida, M., Irie, K., Morikawa, T., Shibutani, M., Honma, M., Nishikawa, A.: Life stage-related differences in susceptibility to acrylamide-induced neural and testicular toxicity. *Arch. Toxicol.* 85(9):1109-20, 2011.

Shibutani, M., Fujimoto, H., Woo, G-H., Inoue, K., Takahashi, M., Nishikawa, A. Reply to Comment on "Impaired oligodendroglial development by decabromodiphenyl ether in rat offspring after maternal exposure from mid-gestation through lactation" [*Reprod. Toxicol.* 31(1) (2011) 86-94]. *Reprod. Toxicol.* 32(3):375-378, 2011.

Ohishi, T., Wang, L., Akane, H., Shiraki, A., Sato, A., Uematsu, M., Suzuki, K., Mitsumori, K., Shibutani, M.: Adolescent hyperactivity of offspring after maternal protein restriction during the second half of gestation and lactation periods in rats. *J. Toxicol. Sci.* (in press).

Ogawa, B., Wang, L., Ohishi, T., Taniai, E., Akane, H., Suzuki, K., Mitsumori, K., Shibutani, M.: Reversible aberration of neurogenesis targeting late-stage progenitor cells in the hippocampal dentate gyrus of rat offspring after maternal exposure to acrylamide. *Arch. Toxicol.* (in press).

Saegusa, Y., Fujimoto, H., Woo, G-H., Ohishi, T., Wang, L., Mitsumori, K., Nishikawa, A., Shibutani, M.: Transient aberration of neuronal development in the hippocampal dentate gyrus after developmental exposure to brominated flame retardants in rats. *Arch. Toxicol.* (in press).

Wang, L., Ohishi, T., Shiraki, A., Morita, R., Akane, H., Ikarashi, Y., Mitsumori, K., Shibutani, M.: Developmental exposure to manganese chloride induces sustained aberration of neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of mice. *Toxicol. Sci.* (in press).

Shiraki, A., Akane, H., Ohishi, T., Wang, L., Morita, R., Suzuki, K., Mitsumori, K., Shibutani, M.: Similar distribution changes of GABAergic interneuron subpopulations in contrast to the different impact on neurogenesis between developmental and adult-stage hypothyroidism in the hippocampal dentate gyrus in rats. *Arch. Toxicol.* (in press).

Fujimoto, H., Woo, G-H., Inoue, K., Igarashi, K., Kanno, J., Hirose, M., Nishikawa, A., Shibutani, M.: Increased cellular distribution of vimentin and Ret in the cingulum induced by developmental hypothyroidism in rat

offspring maternally exposed to anti-thyroid agents. *Reprod. Toxicol.* (in press).

Ohishi, T., Wang, L., Akane, H., Shiraki, A., Goto, K., Ikarashi, Y., Suzuki, K., Mitsumori, K., Shibutani, M.: Reversible aberration of neurogenesis affecting late-stage differentiation in the hippocampal dentate gyrus of rat offspring after maternal exposure to manganese chloride. *Reprod. Toxicol.* (in press).

Nakamura, R., Kimura, Y., Matsuoka, H., Hachisuka, A., Nakamura, R., Nakamura, A., Shibutani, M., Teshima, R.: Effects of transplacental and trans-breast milk exposure to the organophosphate compound chlorpyrifos on the developing immune system of mice. *Kokuritsu Iyakuin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku.* 129:105-110, 2011.

Konno, K., Sawamura, R., Sun, Y., Yasukawa, K., Shimizu, T., Watanabe, W., Kato, M., Yamamoto, R., Kurokawa, M. Antiviral activities of diarylheptanoids isolated from *Alpinia officinarum* against respiratory syncytial virus, poliovirus, measles virus and herpes simplex virus type 1 *in vitro*. *Nat. Prod. Commun.* 6: 1881-1884, 2011.

2. 学会発表

三枝由紀恵、富士本 仁、禹 桂炯、川合正臣、松本 明、西川秋佳、三森国敏、渋谷 淳: Reelinを指標とした不可逆的脳発達遅延評価法の確立、神経組織の成長・再生・移植研究会 第24回学術集会、伊香保 (2009.6.21) (p.19)

三枝由紀恵、富士本 仁、禹 桂炯、川合正臣、松本 明、金 美蘭、広瀬雅雄、西川秋佳、三森国敏、渋谷 淳: 発達期神経毒性暴露に起因するニューロン分布異常に対する影響評価系の確立 - Calbindin陽性小脳プルキンエ細胞の検討-(Aberrant neuronal cell distribution for detection of developmental neuronal toxicants: analysis of the distribution of calbindin-expressing cerebellar Purkinje cells) 第36回日本トキシコロジー学会学術年会、盛岡 (2009.7.6-8) (P-24)

小川文一朗、三枝由紀恵、大石 功、Wang Liyun、高橋美和、中東 淳、三森国敏、渋谷 淳: アクリルアミドの発達期暴露によるラット海馬歯状回でのGABA性介在ニューロンの反応. 第26回日本毒性病理学会学術集会、金沢、第26回日本毒性病理学会学術集会講演要旨集、p. 56 (O-15), 2月3,4日、2010

三枝由紀恵、禹 桂炯、富士本仁、剣持 明、嶋本敬介、広瀬雅雄、三森国敏、西川秋佳、渋谷 淳: ラットの発達期甲状腺機能低下に起因して海馬歯状回に増加するReelin陽性細胞の特性. . 第26回日本毒

性病理学会学術集会、金沢、第26回日本毒性病理学会学術集会講演要旨集、p. 102 (P-84), 2月3,4日、2010

渋谷 淳: 発達期と化学物質. 厚生労働省 化学物質リスク研究推進事業 シンポジウム「化学物質と環境・健康」2010年2月18日(於 仙台)、3月2日(於 東京)

Masamitsu Honma, Naoki Koyama, Manabu Yasui, Shigeaki Takami, Miwa Takahashi, Kaori Inoue, Midori Yoshida, Kenichi Masumura, Takehiko Nohmi, Shuichi Masuda, Naohide Kinae, Takuya Suzuki, Tomonari Matsuda, Makoto Shibutani, Toshio Imai: Difference of acrylamide inducing genotoxicity and adduct formation between child and adult rats. 49th Annual Meeting of Society of Toxicology (SOT) 2010, Salt Lake City, March 7-11, 2010.

三枝 由紀恵、禹 桂炯、富士本 仁、剣持 明、嶋本敬介、広瀬雅雄、三森国敏、西川秋佳、渋谷 淳: ラットの発達期甲状腺機能低下に起因して海馬歯状回に増加する Reelin 陽性細胞の特性、神経組織の成長・再生・移植研究会 第25回学術集会、平成22年5月22日、大阪

大石 巧、三枝由紀恵、小川文一朗、Wang Liyun、藤沢賢一、嶋本敬介、剣持 明、三森国敏、渋谷 淳: 低栄養に起因する脳発達遅延は海馬歯状回のニューロン発達に影響を及ぼさない、第37回日本トキシコロジー学会学術年会、沖縄、2010年6月16-18日、第37回日本トキシコロジー学会学術年会プログラム・要旨集、p. 212 (P-151)

三枝由紀恵、富士本仁、禹 桂炯、剣持 明、嶋本敬介、広瀬雅雄、西川秋佳、三森国敏、渋谷 淳: 発達期神経毒暴露に起因するニューロン分布異常に対する影響評価の確立- 小脳片葉小節葉の顆粒細胞層における Reelin 陽性細胞の検討- 第37回日本トキシコロジー学会学術年会、沖縄、2010年6月16-18日、第37回日本トキシコロジー学会学術年会プログラム・要旨集、p. 213 (P-154)

Wang Liyun、三枝由紀恵、小川文一朗、大石 巧、嶋本敬介、剣持 明、三森国敏、渋谷 淳: マウスの発達期マンガン暴露によりニューロン移動の異常とグリア増殖が誘発される、第37回日本トキシコロジー学会学術年会、沖縄、2010年6月16-18日、第37回日本トキシコロジー学会学術年会プログラム・要旨集、p. 215 (P-157)

Yukie Saegusa, Gye-Hyeong Woo, Hitoshi Fujimoto, Sayaka Kemmochi, Keisuke Shimamoto, Liyun Wang, Akiyoshi Nishikawa, Kunitoshi Mitsumori, Makoto Shibutani: Sustained production of Reelin-expressing interneurons in the hippocampal dentate hilus after developmental hypothyroidism in rats. AETOX (Spanish

Association of Toxicology) with the collaboration of EUROTOX (European Societies of Toxicology) in the name of IUTOX (the International Union of Toxicology), Barcelona-Spain 19-23 July 2010 Abstracts of the XII International Congress of Toxicology, S227 (P207-034).

小川文一朗、大石 巧、Wang Liyun、桑田和倫、盛田 怜子、三森国敏、渋谷 淳：アクリルアミド (ACR) の発達期暴露によるラット海馬歯状回でのニューロン発達障害の回復性とその標的細胞について、第150回日本獣医学術集会、帯広、日本獣医師病理学会抄録：p. 175 (B-42)、9月16-18日、2010

大石 巧、Wang Liyun、小川文一朗、井上彩子、佐藤 彬、五十嵐良明、三森国敏、渋谷 淳：マンガンの発達期暴露によるラット海馬歯状回におけるニューロン及びグリアへの影響、第27回日本毒性病理学会学術集会、大阪、第27回日本毒性病理学会学術集会講演要旨集：P-007、p.92、1月27-28日、2011

Wang Liyun、大石 巧、剣持 明、谷合枝里子、林仁美、嶋本敬介、鈴木和彦、三森国敏、渋谷 淳：マンガンの発達期暴露によるマウスの海馬歯状回におけるGABA性介在ニューロンの異常なエピジェネティック遺伝子制御、第38回日本トキシコロジー学会学術集会、横浜、第38回日本トキシコロジー学会学術集会講演要旨集：p.114 (O-19)、7月11-13日、2011

大石 巧、Wang Liyun、植松正伸、林 仁美、谷合枝里子、嶋本 敬介、剣持 明、鈴木和彦、三森国敏、渋谷 淳：クロルピリホスの発達期暴露によるラット海馬歯状回顆粒細胞層下帯におけるニューロン新生への影響、第38回日本トキシコロジー学会学術集会、横浜、第38回日本トキシコロジー学会学術集会講演要旨集：p.148 (P-52)、7月11-13日、2011

白木彩子、Wang Liyun、大石 巧、赤根弘敏、土屋卓磨、北条友理、鈴木和彦、三森国敏、渋谷 淳：発達期ないし成熟後での甲状腺機能低下によるラット海馬歯状回におけるニューロン新生への影響の比較、第152回日本獣医学会学術集会、大阪、第152回日本獣医学会学術集会講演要旨集：p.37 (B-5)、9月19-21日、2011

Liyun Wang, Takumi Oishi, Eriko Taniai, Hitomi Hayashi, Kazuhiko Suzuki, Yoshiaki Ikarashi, Kunitoshi Mitsumori, Makoto Shibutani: Development exposure to manganese induces sustained aberration of neurogenesis and glial proliferation in mice. 9th European Congress of Toxicologic Pathology of the European Society of Toxicologic Pathology, Uppsala, Sweden, p.228 (TP14), September 7-10, 2011

大石 巧、Wang Liyun、赤根弘敏、白木彩子、盛田 怜子、八舟宏典、鈴木和彦、三森国敏、渋谷 淳：

ニコチンの発達期暴露によるラット海馬歯状回におけるニューロン新生への影響。第28回日本毒性病理学会学術集会、東京、第28回日本毒性病理学会学術集会講演要旨集：P-059、p.97、2月2-3日、2012

Wang Liyun、大石 巧、赤根弘敏、林 仁美、剣持 明、谷合枝里子、鈴木和彦、三森国敏、渋谷 淳：クロルピリホス発達期暴露によるマウス海馬歯状回の神経発生に及ぼす影響。第28回日本毒性病理学会学術集会、東京、第28回日本毒性病理学会学術集会講演要旨集：P-060、p.97、2月2-3日、2012

手島 玲子、澤田純一：発達期暴露による臭素化難燃剤等の免疫影響について、第17回日本免疫毒性学会、筑波、第17回日本免疫毒性学会学術大会講演要旨集：S-5、p64、9月、2010

中村亮介、木村美恵、松岡英樹、蜂須賀暁子、中村里香、中村 厚、渋谷 淳、手島 玲子：T細胞サブポピュレーション変化を指標とした有機リン系農薬の発達期免疫影響解析、京都、第84回日本生化学会、9月、2011

渡辺 渡、清水寛美、澤村理英、黒川昌彦：環境化学物質テトラブロモビスフェノールAのRSウイルス感染初期免疫応答への作用、第57回日本ウイルス学会学術集会、東京、第57回日本ウイルス学会学術集会抄録集：2P161、p480、10月、2009

渡辺 渡、清水寛美、澤村理英、黒川昌彦：臭素化難燃物質テトラブロモビスフェノールAのRSウイルス感染免疫応答への作用、日本薬学会第130年会、岡山、3月、2010

Watanabe W., Shimizu T., Sawamura R., Hino A., Kurokawa M.: Effects of tetrabromobisphenol A (TBBPA) on the host immune response to respiratory syncytial virus (RSV) infection in mice., Society of Toxicology 49th Annual Meeting, Salt Lake City: #1542, March, 2010

渡辺 渡、吉田裕樹、紺野克彦、広瀬明彦、黒川昌彦：環境化学物質テトラブロモビスフェノールAの周産期暴露によるRSウイルス感染病態への影響、第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島、第58回日本ウイルス学会学術集会抄録集：P2-009、p371、11月、2010

Watanabe W., Shimizu T., Sawamura R., Hirose A., Kurokawa M.: Functional disorder of primary immunity responding to respiratory syncytial virus infection in offspring mice exposed perinatally to decabrominated diphenyl ether. XII International Congress of Toxicology, Barcelona: #205-039, July, 2010

渡辺 渡、吉田裕樹、紺野克彦、広瀬明彦、黒川昌

彦：難燃剤テトラブロモビスフェノール A の発達期暴露による RS ウイルス感染病態への影響，日本薬学会第 131 年会，静岡、3 月、2011

渡辺 渡：RS ウイルス感染マウスモデルを用いた臭素化難燃物質の発達期免疫毒性の評価、試験法ワークショップ「発達期免疫毒性 (developmental immunotoxicity) の評価方法」、第 18 回日本免疫毒性学会学術大会、千葉、9 月、2011

曹 永晩、高見成昭、豊田武士、小川久美子、西川秋佳：マンガンの幼若期暴露による中枢神経発がん修飾作用、第 69 回日本癌学会学術総会、大阪、第 69 回日本癌学会学術総会講演要旨集:P-0152、p.141、9 月、2010

曹 永晩、高見成昭、豊田武士、大波冴子、小川久美子、西川 秋佳：中枢神経発がんモデルにおけるマンガンの幼若期暴露による発がん修飾の検索、第 27 回日本毒性病理学会総会および学術集会、大阪、第 27 回日本毒性病理学会学術集会講演要旨集：P-097、p.137、1 月、2011

大波冴子、曹 永晩、豊田武士、小川久美子、西川秋佳：N-ethyl-N-nitrosourea (ENU)誘発ラット中枢神経腫瘍の免疫組織学的検討、第 27 回日本毒性病理学会総会および学術集会、大阪、第 27 回日本毒性病理学会学術集会講演要旨集：P-060、p.118、1 月、2011

Young-man Cho, Shigeaki Takami, Takeshi Toyoda, Saeko Onami, Kumiko Ogawa, Akiyoshi Nishikawa: Lack of modification of tumorigenesis in the central nervous system by early-life exposure to manganese(中枢神経発がんにおけるマンガンの幼若期暴露による発がん修飾の欠如)、第 47 回欧州毒性学会講演要旨集：P2256、p.193、8 月、2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許所得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

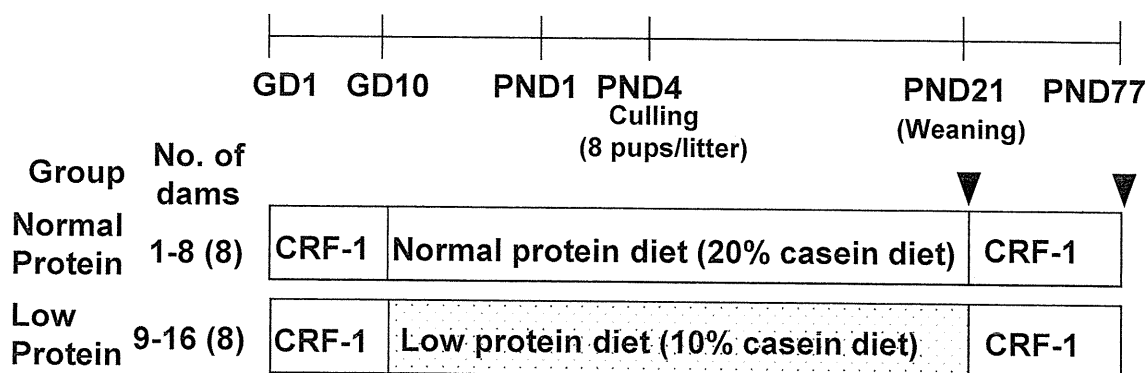


Fig. 1. Developmental undernutrition study of low protein diet using rats to confirm an effect on neuronal development.

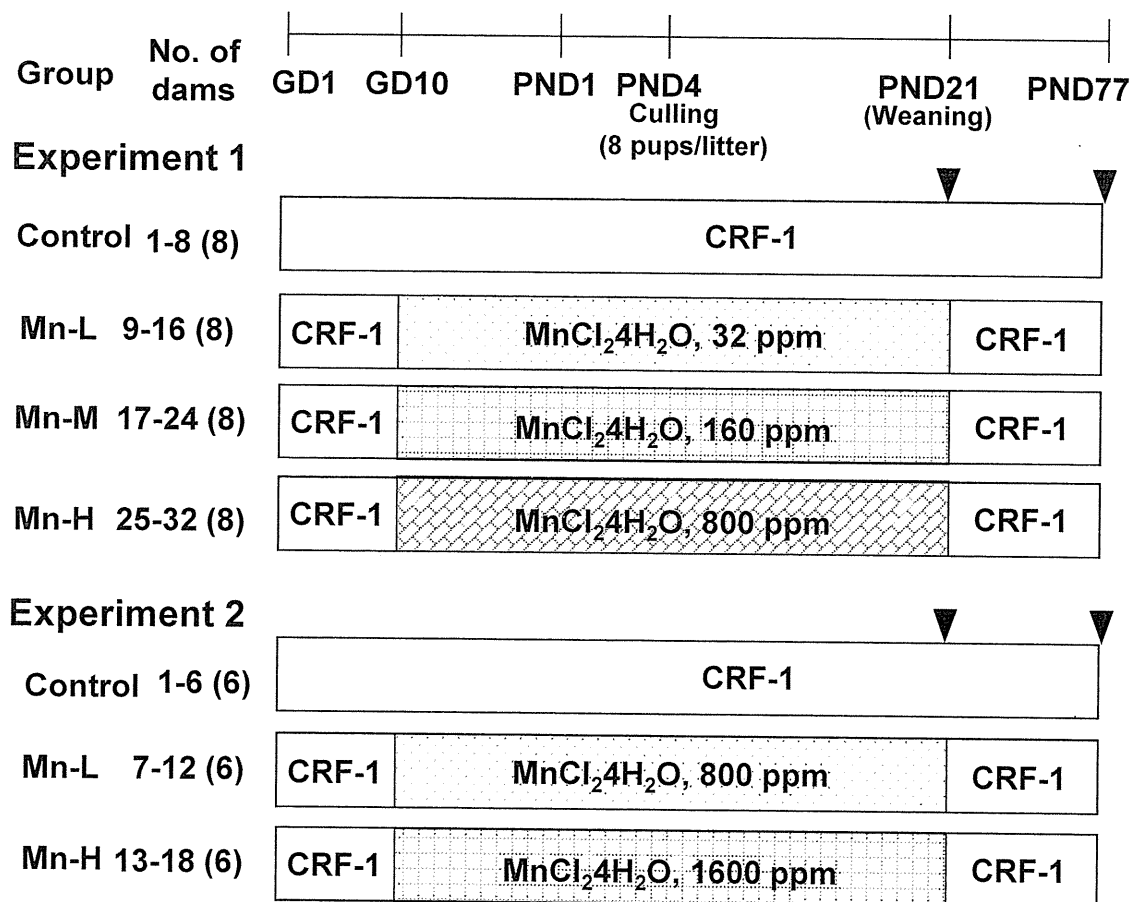


Fig. 2. Developmental exposure study of MnCl₂·4H₂O using rats to examine the effect on neuronal development.

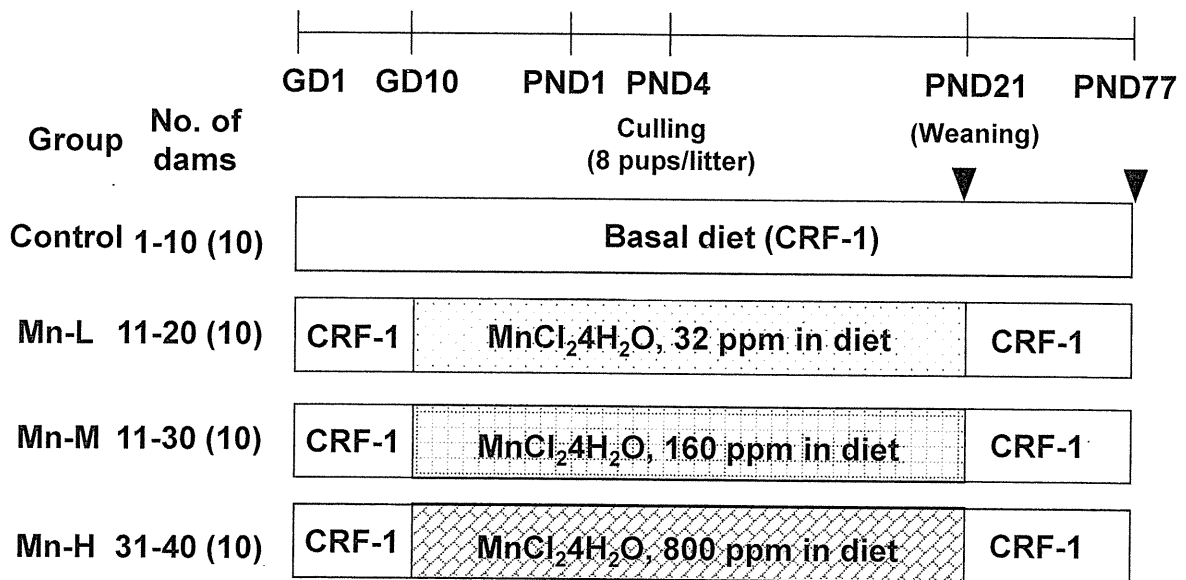


Fig. 3
 Developmental exposure study of MnCl₂·4H₂O in ICR mice to examine the effect on neuronal development.

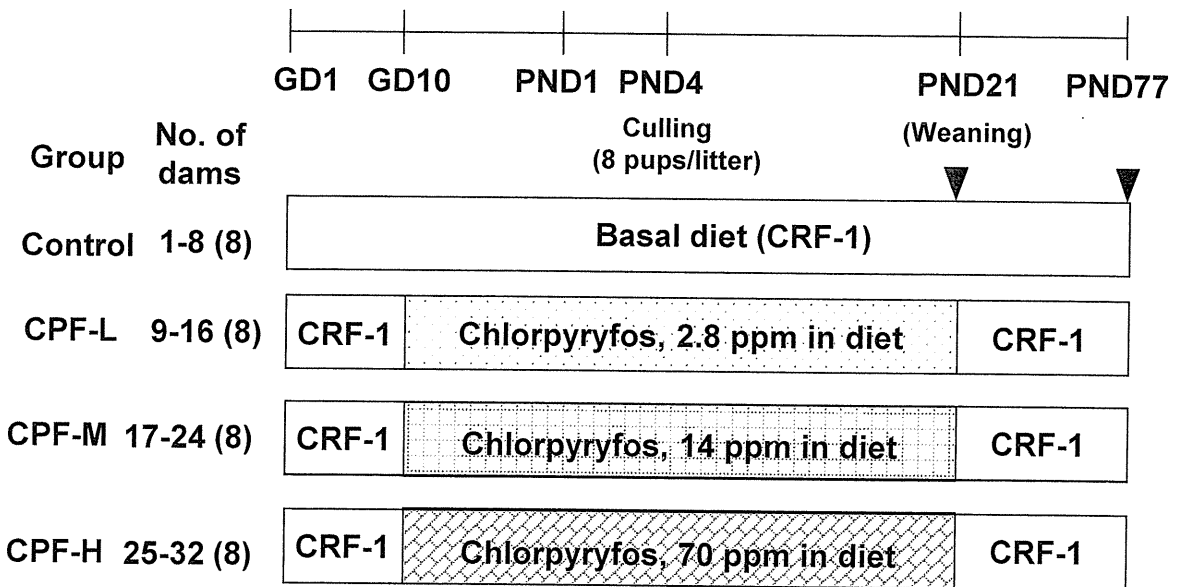


Fig. 4
 Developmental exposure study of chlorpyrifos in SD:IGS rats to examine the effect on neuronal development.

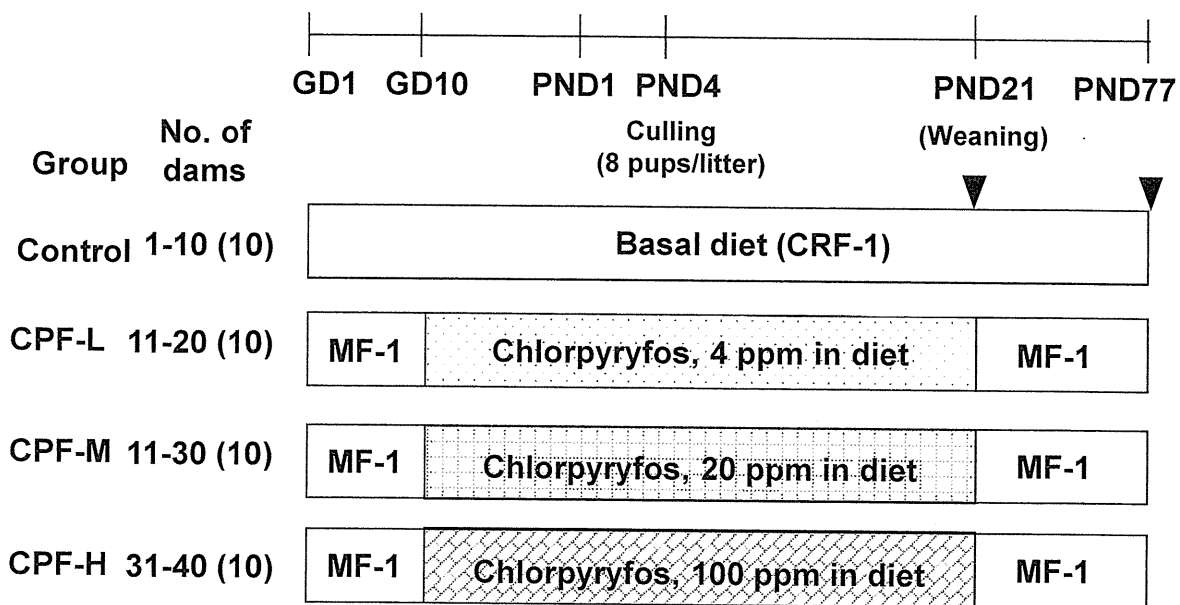


Fig.5 Developmental exposure study of chlorpyrifos in ICR mice to examine the effect on neuronal development.

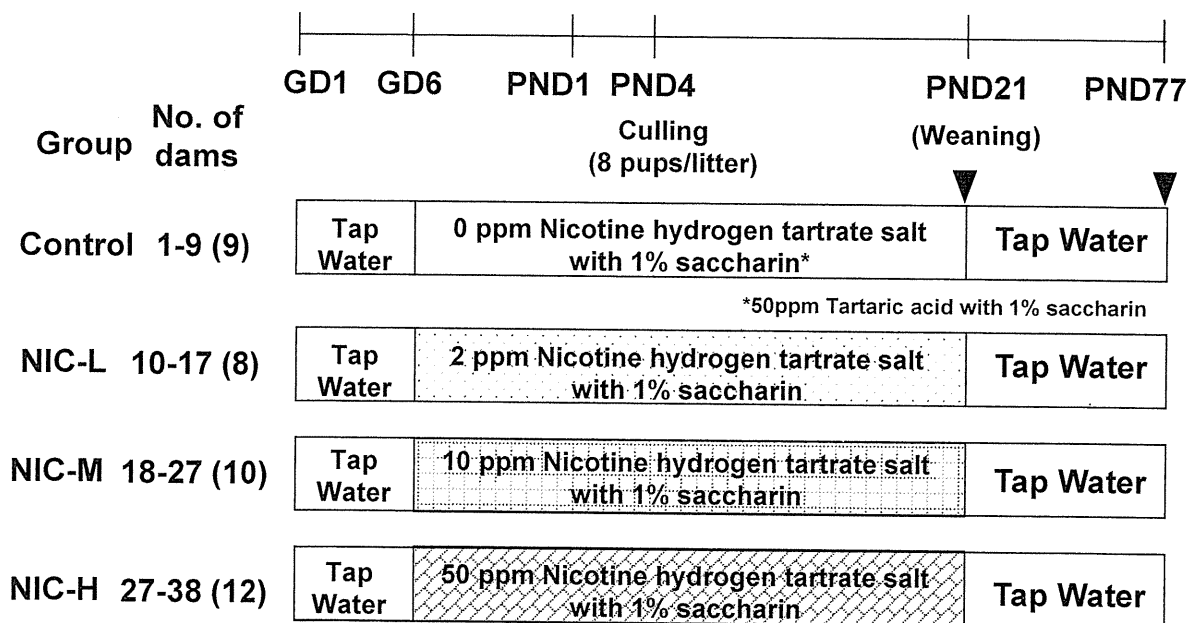


Fig. 6 Developmental exposure study of nicotine hydrogen tartrate salt in Slc:SD rats to examine the effect on neuronal development.

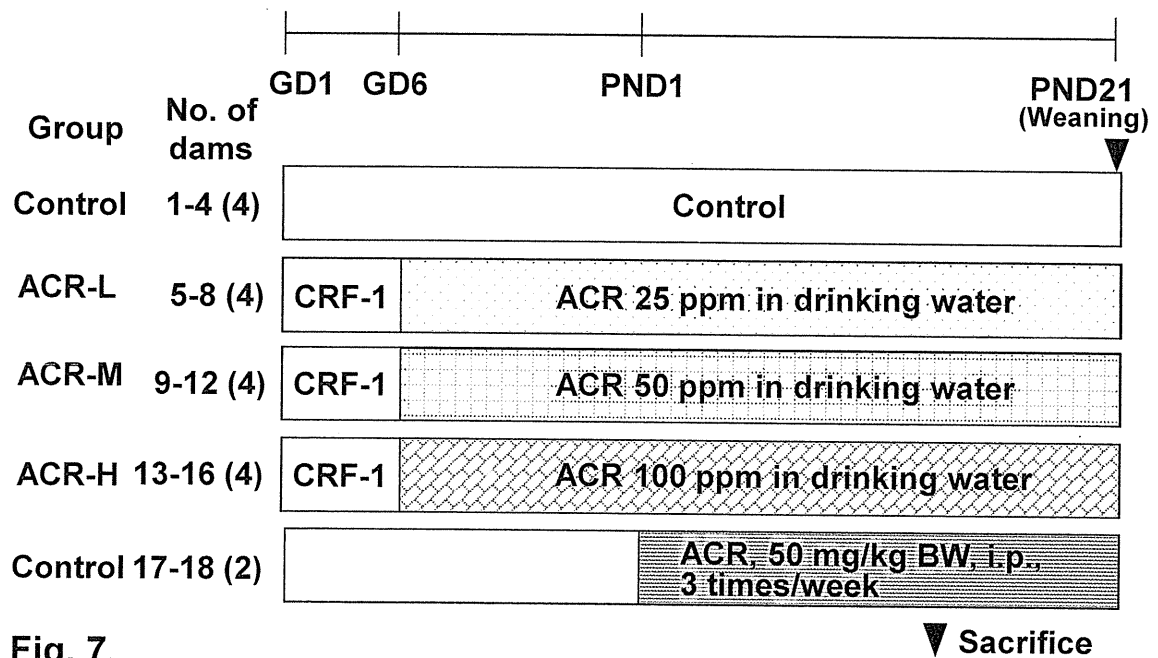


Fig. 7. Preliminary study of developmental exposure to acrylamide in SD:IGS rats to examine the effect on neuronal development.

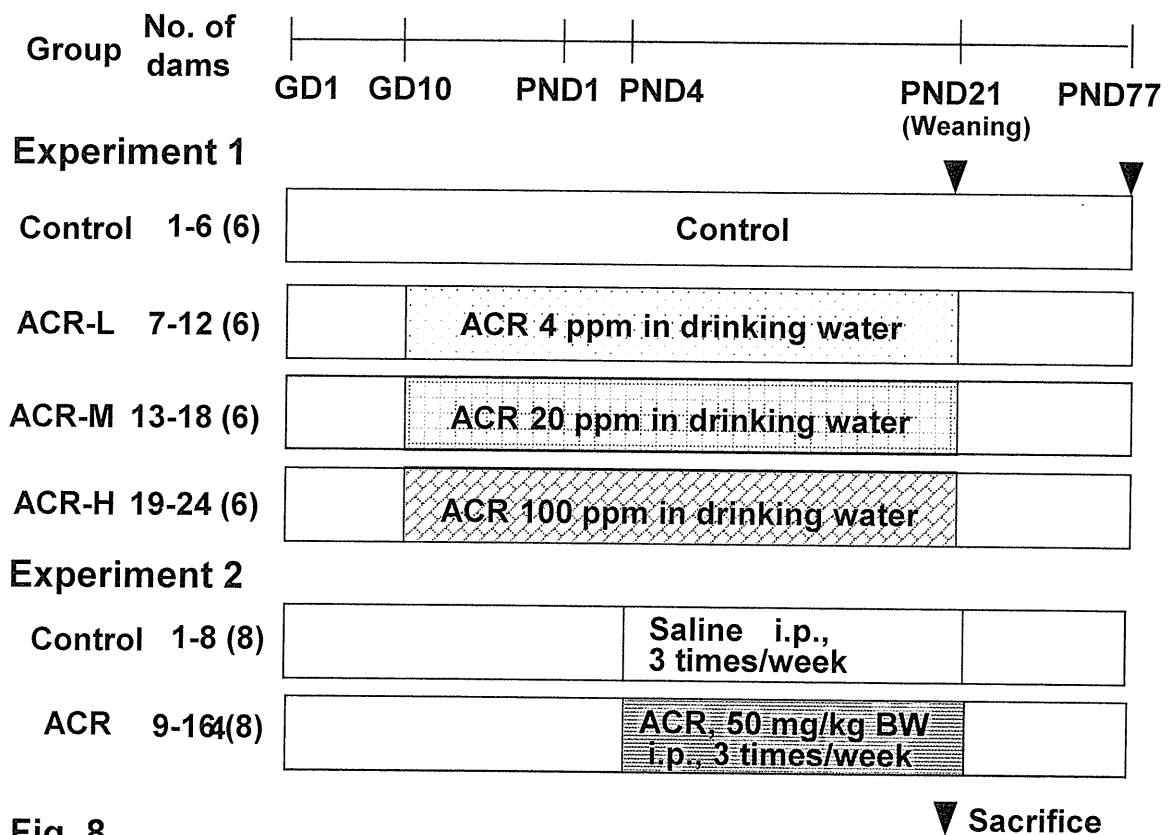


Fig. 8 Developmental exposure study of acrylamide in Slc:SD rats to examine the effect on neuronal development.

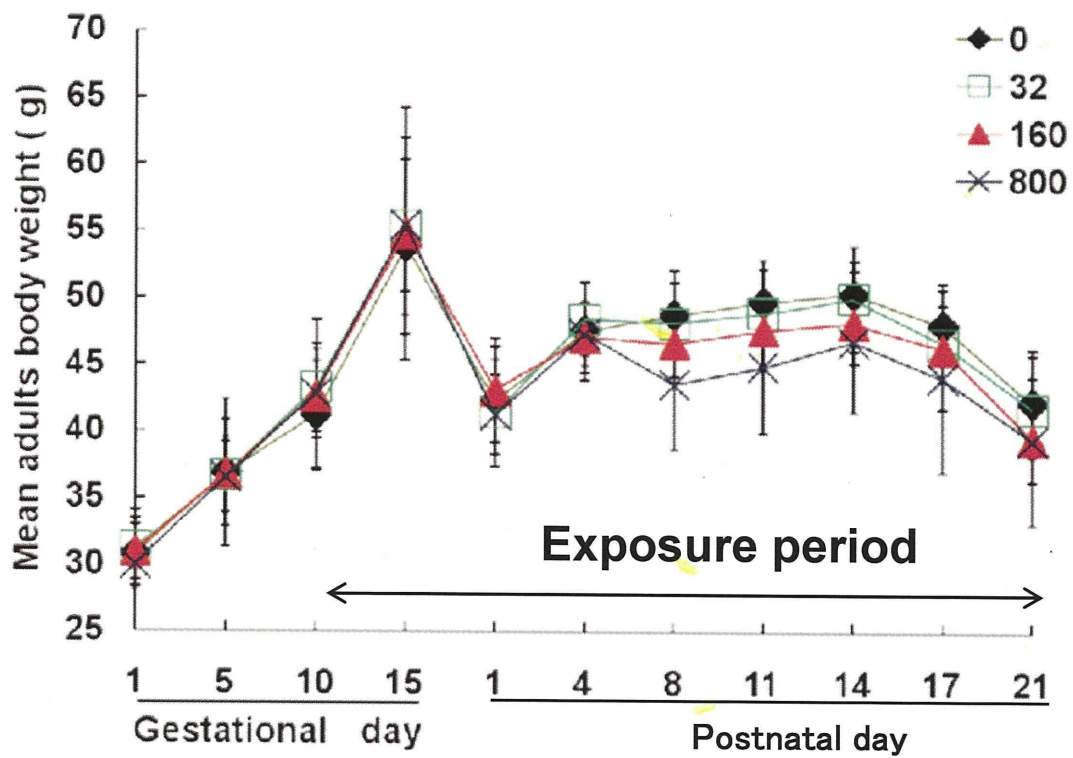


Fig. 9. Body weight of dams exposed to $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ from GD 10 to PND 21 in ICR mice.

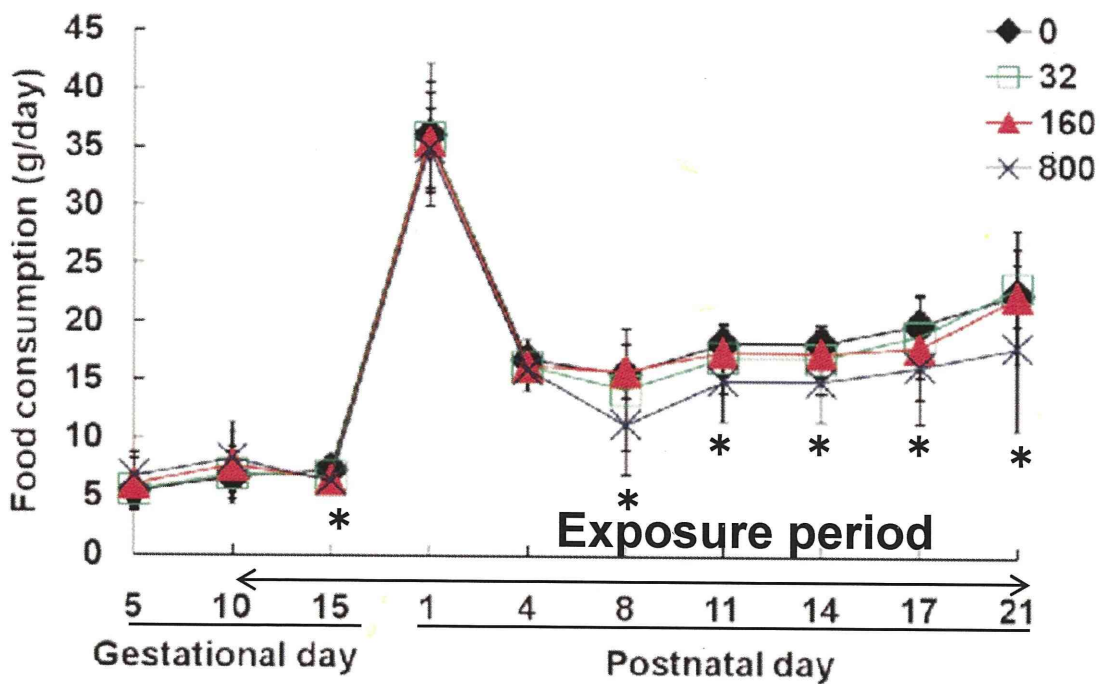


Fig. 10. Food consumption of dams exposed to $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ from GD 10 to PND 21 in ICR mice.

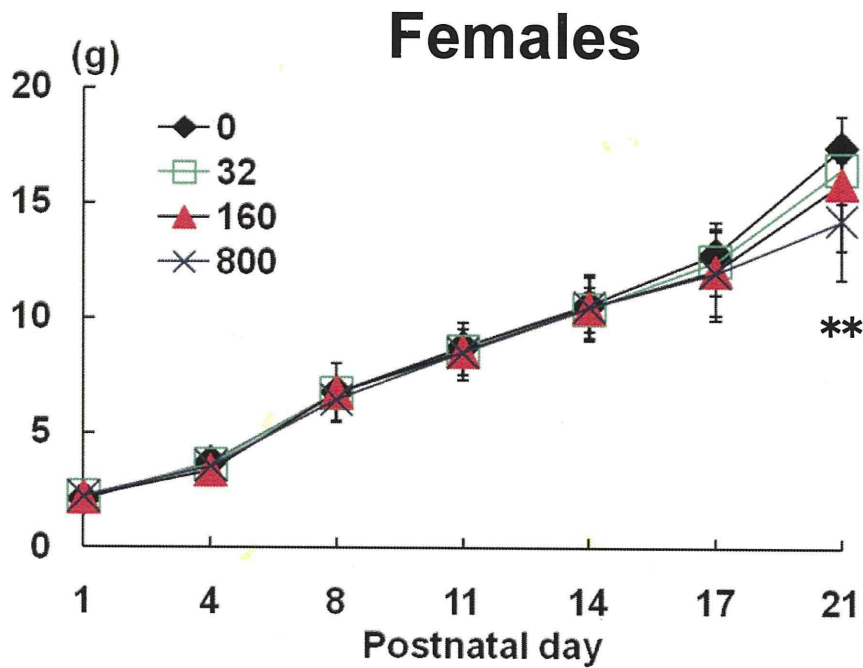
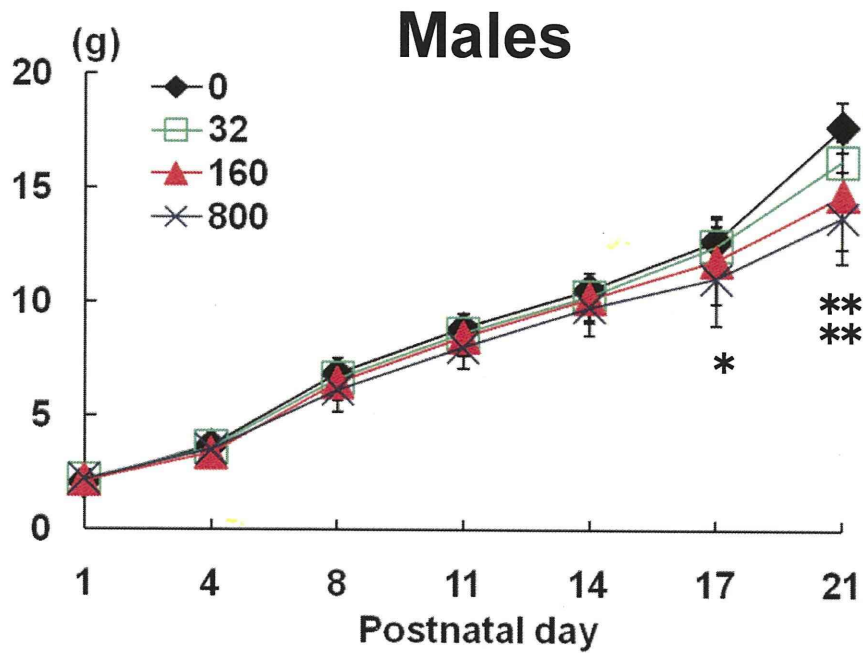


Fig. 11. Body weight of offspring exposed to $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ from GD 10 to PND 21 in ICR mice. Observation during the lactation period.

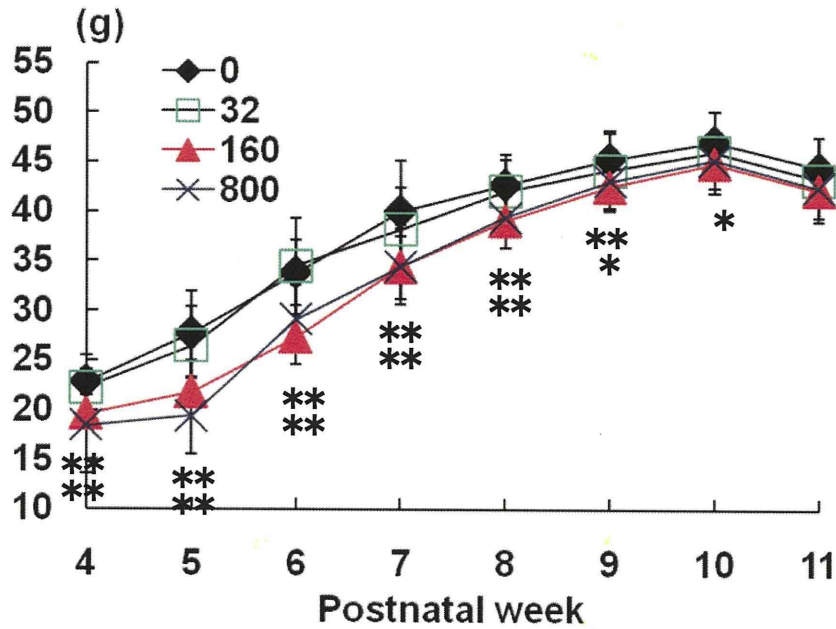


Fig. 12. Body weight of male offspring exposed to $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ from GD 10 to PND 21 in ICR mice. Observation after the lactation period.

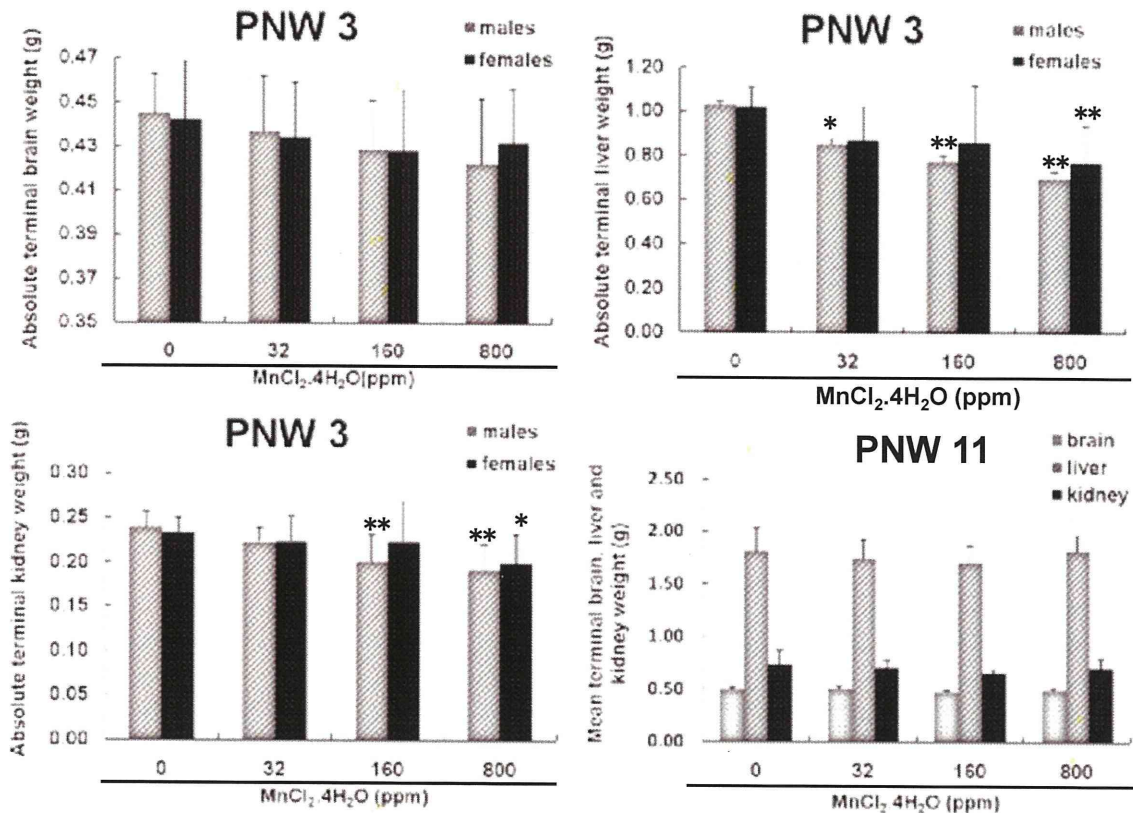


Fig. 13. Organ weights of male offspring exposed to $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ from GD 10 to PND 21 in ICR mice. Observation at PND 21 and PNW 11.

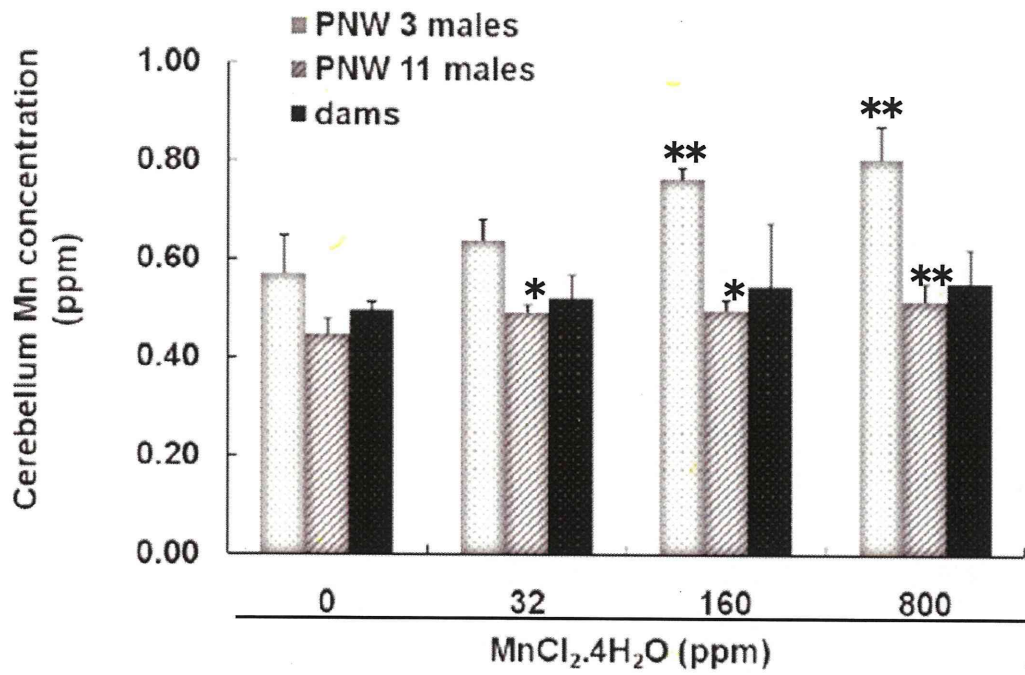
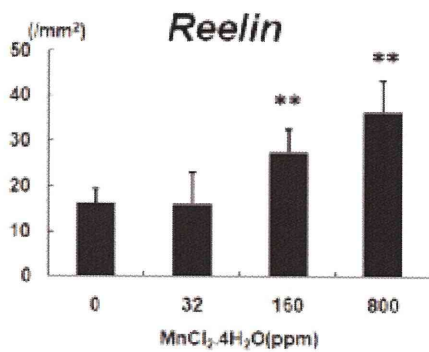
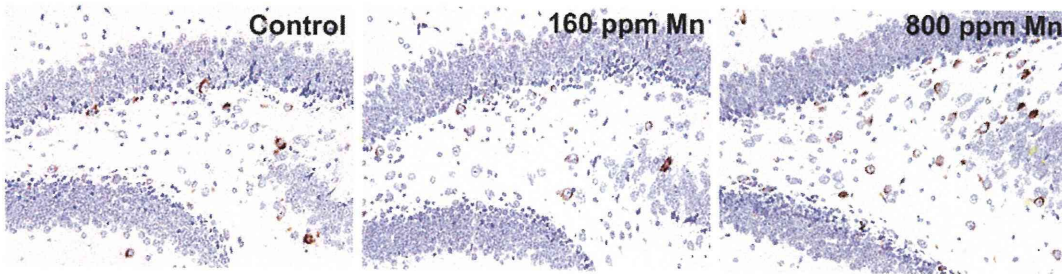


Fig. 14. Manganese concentrations in the cerebellum of male offspring and dams exposed to MnCl₂·4H₂O from GD 10 to PND 21 in mice.

PND 21



PND 77

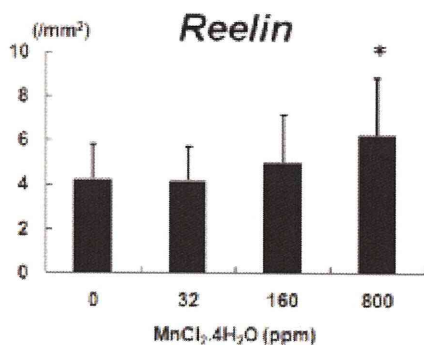
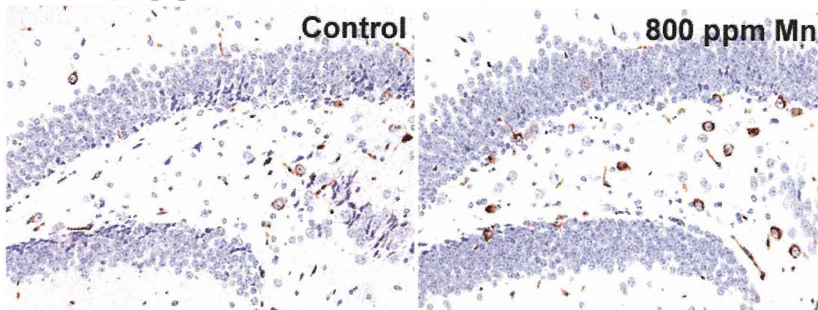


Fig. 15. Distribution of Reelin-immunoreactive cells in the hilus of the hippocampal dentate gyrus in male offspring at PND 21 and PND 77 after maternal exposure to MnCl₂·4H₂O from GD 10 to PND 21 in mice.

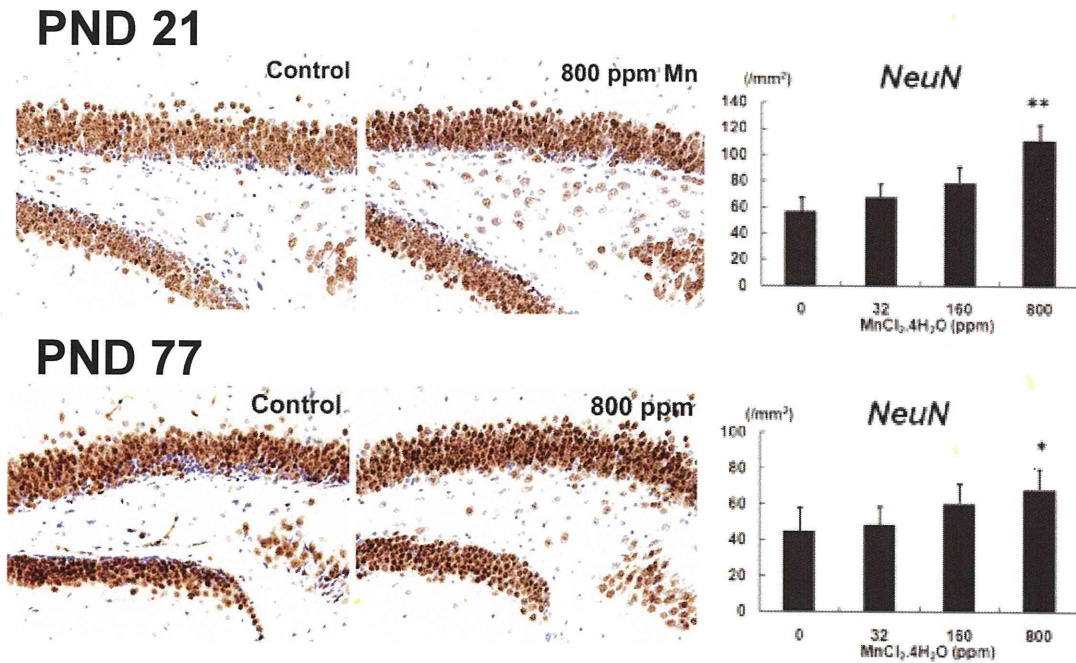


Fig. 16. Distribution of NeuN-immunoreactive cells in the hilus of the hippocampal dentate gyrus in male offspring at PND 21 and PNW 11 after maternal exposure to MnCl₂·4H₂O from GD 10 to PND 21 in mice.

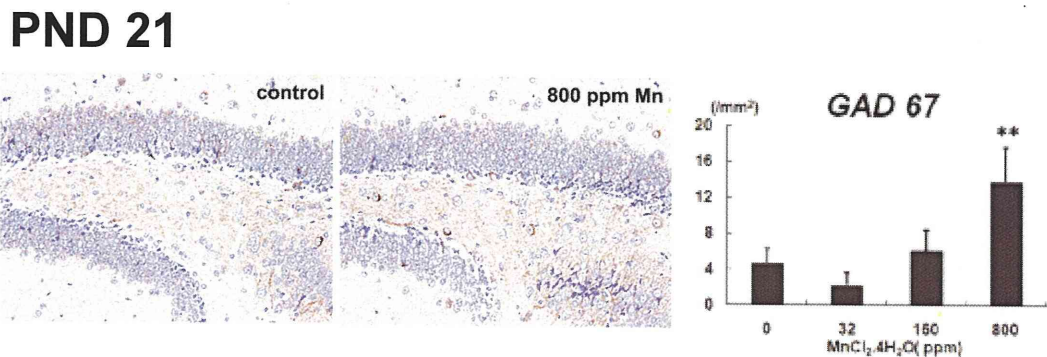
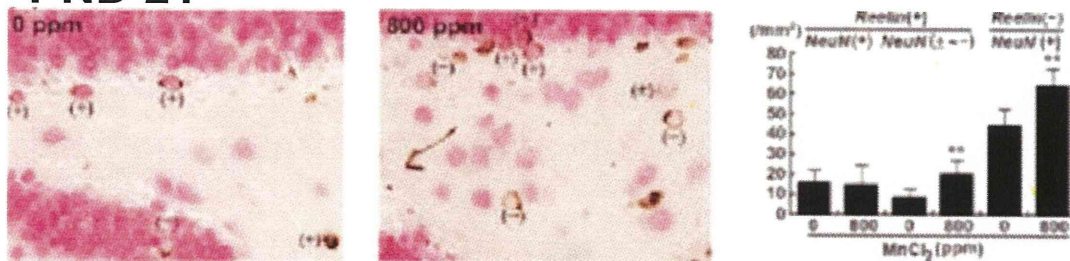


Fig. 17. Distribution of GAD67-immunoreactive cells in the hilus of the hippocampal dentate gyrus in male offspring at PND 21 after maternal exposure to MnCl₂·4H₂O from GD 10 to PND 21 in mice.

PND 21

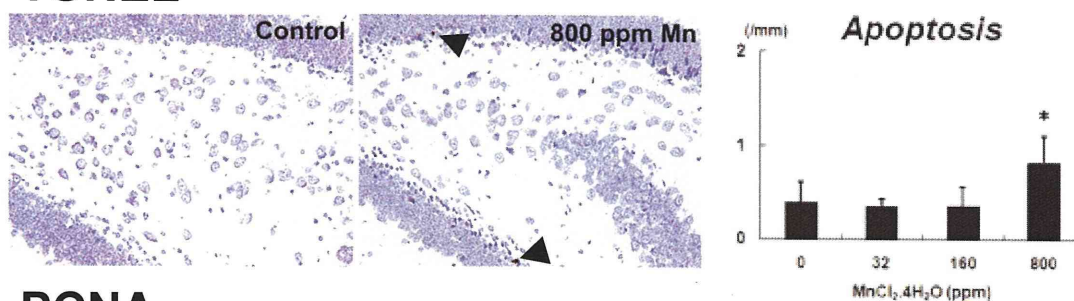


PND 77



Fig. 18. Distribution of double staining cells of Reelin and NeuN in the hilus of the hippocampal dentate gyrus in male offspring at PND 21 and PND 77 after maternal exposure to MnCl₂·4H₂O from GD 10 to PND 21 in mice.

TUNEL



PCNA

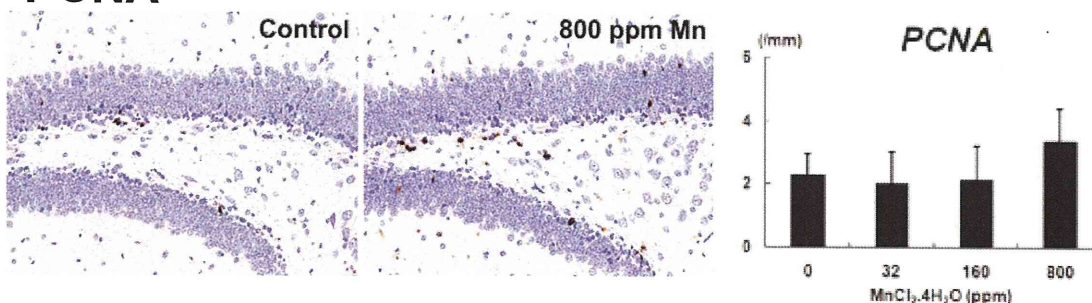


Fig. 19. Distribution of apoptotic cells and proliferating cells in the dentate subgranular zone of male offspring at PND 21 after maternal exposure to MnCl₂·4H₂O from GD 10 to PND 21 in mice.

PND 21

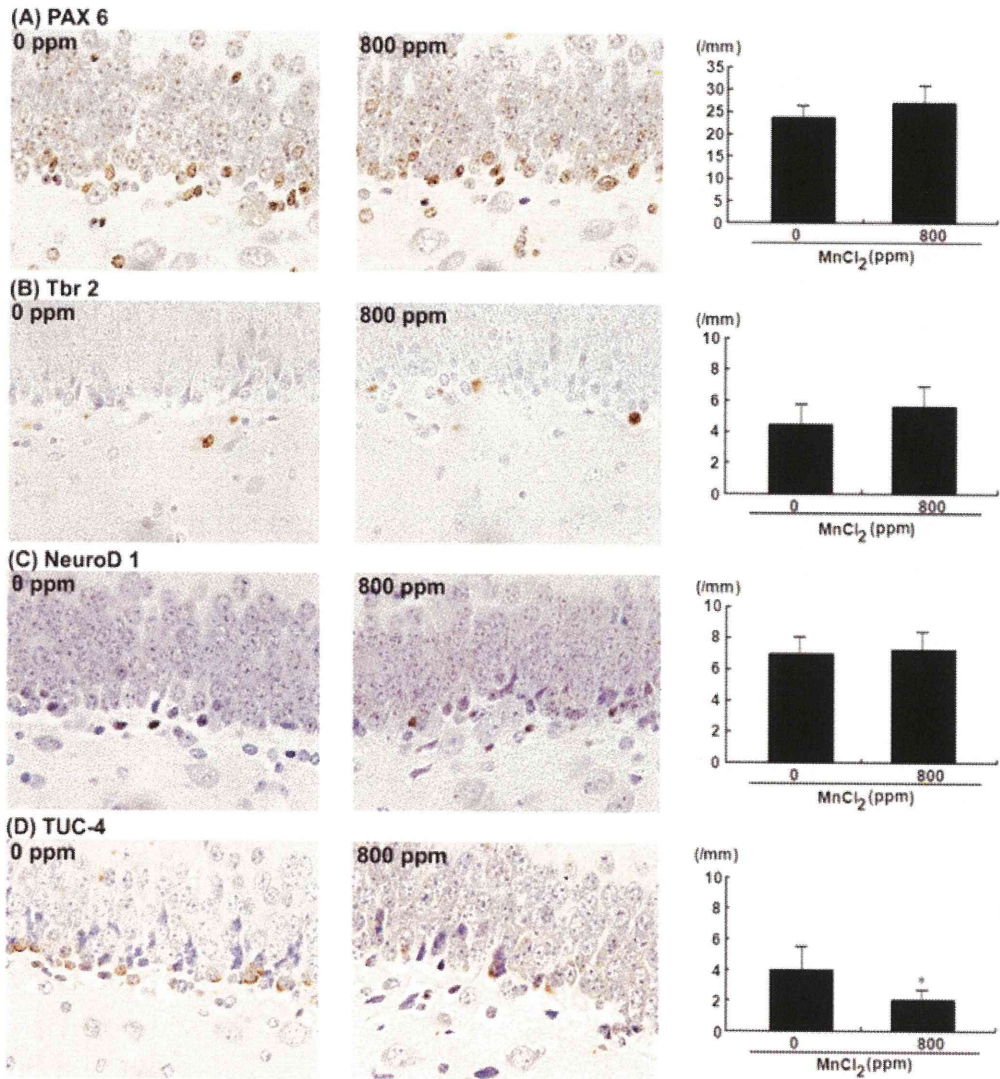


Fig. 20. Distribution of PAX6, Tbr2, NeuroD1 and TUC4-immunoreactive cells in the dentate subgranular zone of male offspring at PND 21 after maternal exposure to MnCl₂·4H₂O from GD 10 to PND 21 in mice.

PND 77

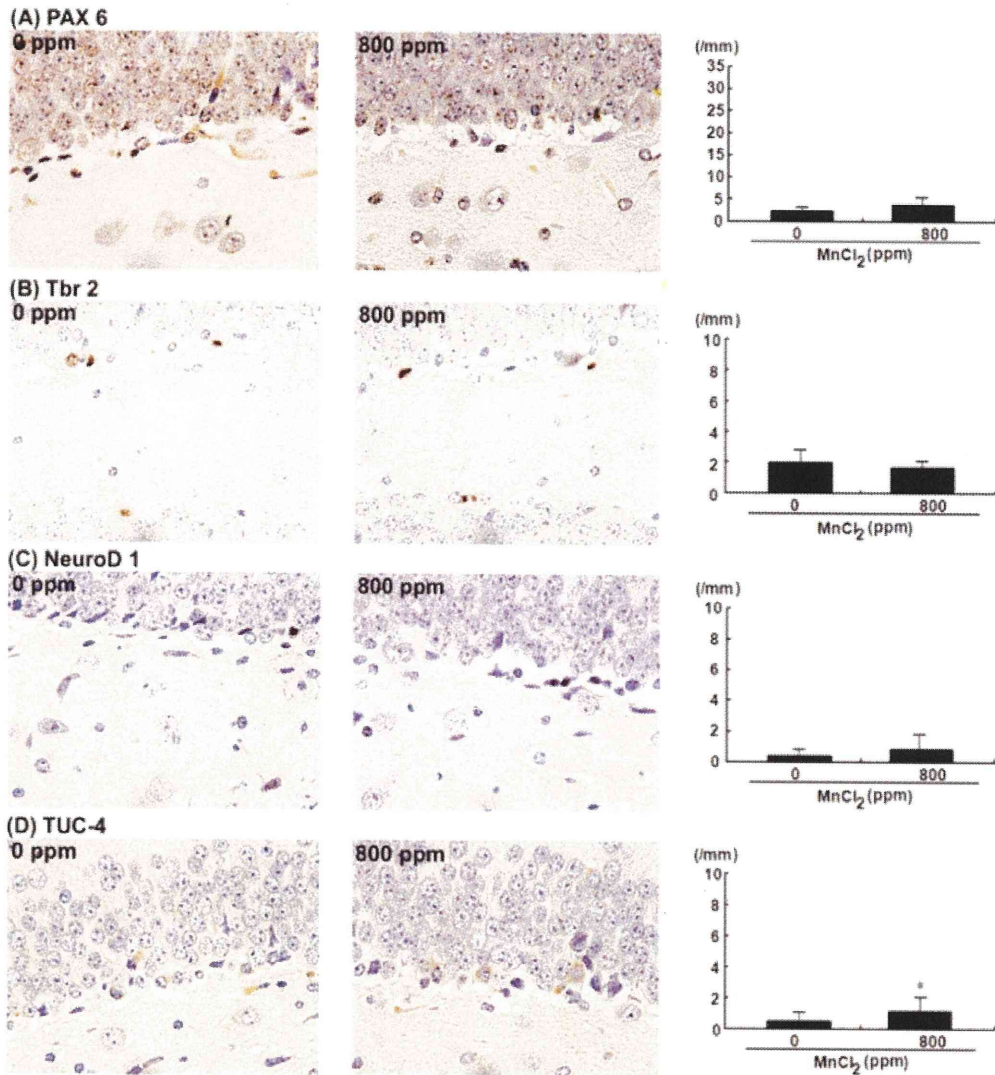


Fig. 21. Distribution of PAX6, Tbr2, NeuroD1 and TUC4-immunoreactive cells in the dentate subgranular zone of male offspring at PND 77 after maternal exposure to $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ from GD 10 to PND 21 in mice.

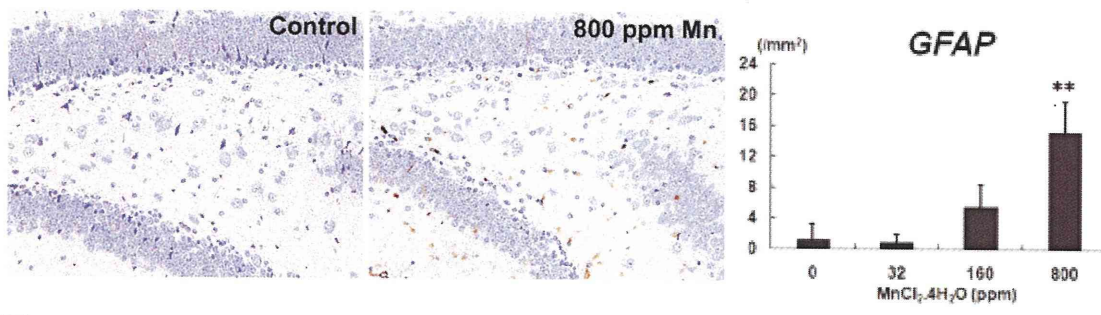


Fig. 22. Distribution of GFAP-positive cells in the hippocampal dentate hilus of male offspring at PND 21 after maternal exposure to MnCl₂·4H₂O from GD 10 to PND 21 in mice.