

201133022A

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

神経系発生-発達期の化学物質暴露による
遅発中枢影響解析に基づく
統合的な情動認知行動毒性評価系確立に資する研究
(H23-化学-一般-004)

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 種村 健太郎

平成 24(2012)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

神経系発生-発達期の化学物質暴露による
遅発中枢影響解析に基づく
統合的な情動認知行動毒性評価系確立に資する研究
(H23-化学-一般-004)

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 種村 健太郎

平成 24(2012)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

神経系発生-発達期の化学物質暴露による遅発中枢影響解析
に基づく統合的な情動認知行動毒性評価系確立に資する研究
(H23-化学-一般-004)

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 種村 健太郎

平成 24 (2012) 年 3 月

目 次

I.	総括研究報告書	
	研究の総括	
	種村 健太郎 1
II.	分担研究報告書	
1.	発生-発達期ビスフェノール A 暴露によるエピジェネティック影響解析	
	五十嵐 勝秀 17
2.	発生-発達期におけるビスフェノール A の代謝動態と代謝能力に関する研究	
	岩野 英知 31
3.	発生-発達期ビスフェノール A 暴露による遅発影響としての遺伝子発現プロファイル	
	北嶋 聡 47
4.	発生-発達期ビスフェノール A 暴露による遅発行動影響と中枢解析	
	種村 健太郎 103
5.	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 113
6.	発生-発達期ビスフェノール A 暴露による脳構築異常解析	
	中島 欽一 127
7.	発生-発達期ビスフェノール A 暴露の行動発達に対する影響解析	
	山田 一之 137
III.	研究成果の刊行に関する一覧表 149
IV.	研究成果の刊行物・別刷 153

別添 3

I . 総括研究報告書

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

神経系発生-発達期の化学物質暴露による遅発中枢影響解析に基づく
統合的な情動認知行動毒性評価系確立に資する研究

研究代表者 種村健太郎

東北大学大学院農学研究科 准教授

【研究要旨】 先行研究「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)」において、胎生期及び幼若期マウスへの神経作動性化学物質の投与が、従来の神経毒性試験法（所謂、FOB:機能観察総合評価）からは想定困難な遅発性の情動認知行動異常を誘発することを明らかにし、加えて対応する神経科学的物証、及びその分子メカニズムの一端を捉えた。この神経系の発生-発達期における神経伝達物質受容体を介した神経シグナルかく乱について特筆されるのは、直接的な細胞障害を惹起しないレベルの暴露が、微細な脳構造形成不全や神経回路構築異常を誘発し、成長後に情動認知行動異常として顕在化する事である。そこで、本研究では、上記の遅発性の情動認知行動異常を今後の行政施策へ反映させる必要性を考慮し、標準プロトコールの確立、及び客観的評価指標の提案を目指し、特徴的な異常行動を示す遺伝子改変マウス等を普遍的な基準点と位置付け、情動認知行動及び対応する神経科学的物証項目（微細形態、タンパク・遺伝子発現、神経回路機能等）の異常所見をスコア化することにより、被験物質による異常を上記基準点との「スコア差」として客観的に記述し評価する。平成23年度は、「情動認知行動スコア」及び「神経科学的物証スコア」作出のために、主として、ER ノックアウトマウスを用いた解析、周産期 BPA 暴露による遅発中枢影響解析を開始した。その結果、ER 遺伝子改変マウスとして ER α KO マウスに不安関連行動の逸脱と記憶異常が認められた。また、周産期 BPA 暴露による成熟後マウスの遅発中枢影響解析結果からも、不安関連行動の逸脱と記憶異常が認められた。また、周産期 BPA 暴露による生後発達過程における行動影響を検討した結果、一部のストレス反応性の変化が示唆された。しかしながら胎生 6 日齢から 15 日齢までの BPA 暴露からは、神経幹細胞マーカー Nestin、ニューロンマーカー Tuj1 及び DCX、深層ニューロンマーカー Ctip2 の発現パターンに影響は認められなかった。なお、生後発生過程における肝臓の BPA 代謝活性解析から生後 7 日くらいまでリスクが高いと推察された。一方、遅発行動毒性誘発モデル化学物質としてバルプロ酸を用いて胎生期暴露による成熟後の海馬における神経応答を膜電位感受性色素で検定した結果、GABA シグナル系への影響が認められた。

研究分担者（五十音順）

五十嵐 勝秀

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

岩野 英知

酪農学園大学・獣医学部獣医生化学ユニット・
准教授

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

種村 健太郎

東北大学・大学院農学研究科・動物生殖科学分野・
准教授

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

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・
分子神経分化制御学講座・教授

山田 一之

理化学研究所・脳科学総合研究センター・
行動神経生理学研究チーム・研究員

A. 研究目的

先行研究「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)」において、胎生期及び幼若期マウスへの神経作動性化学物質の投与が、従来の成熟マウスへの投与による神経毒性試験法（所謂、FOB:機能観察総合評価）からは想定困難な遅発性の情動認知行動異常を誘発することを明らかにし、加えて対応する神経科学的物証、及びその分子メカニズムの一端を捉えた。

この神経系の発生-発達期における神経伝達物質受容体を介した神経シグナルかく乱について特筆されるのは、直接的な細胞障害を惹起しないレベルの神経作動性化学物質暴露が、微細な脳構造形成不全や神経回路構築異常を誘発し、成長後に情動認知行動異常として顕在化する事である。

そこで本研究では、上記の遅発性の情動認知行動異常を今後の行政施策へ反映させる必要性を考慮し、標準プロトコルの確立、及び客観的評価指標の提案を目指す。そのため、特徴的な異常を示す遺伝子改変マウス等を普遍的な基準点と位置付け、情動認知行動及びこれに対応する神経科学的物証項目（微細形態、タンパク発現・遺伝子発現、神経回路機能等）の異常所見をスコア化し、神経作動性化学物質による異常を基準点との「スコア差」として客観的に記述し評価する方法の提案を目的とする。

具体的には、複数のエストロゲン受容体（ER）関連遺伝子改変マウスを基準点とし、NACsとしては、ER結合性化学物

質として理解されているジエチルスチルベストロール (DES)、ビスフェノール A (BPA)、及びビスフェノール AF (BPAF) を取り上げる。

B. 研究方法

本研究では、特に胎児や子どもへの化学物質暴露による遅発性の情動認知行動異常を今後の行政施策へ反映させる必要性を考慮し、標準プロトコルの確立、及び客観的評価指標の提案を目指す。その為に、後述の遺伝子改変マウス、及び被験物質を用い、①情動認知行動解析、②神経科学的物証の収集、③情動認知「行動スコア」と神経科学的「物証スコア」の作成、及び④情動認知行動異常発現メカニズム解明を行う。

①情動認知行動解析 (主担当者: 種村、山田)

エストロゲン受容体 (ER) ノックアウトマウス、及び被験物質として ER 結合化学物質と理解されているジエチルスチルベストロール (DES)、ビスフェノール A (BPA)、ビスフェノール AF (BPAF) を神経系の発生-発達期に投与した野生型マウスについて、成熟期 (生後 12-14 週齢) に、機能観察総合評価 (FOB) に加えて、情動認知行動試験バッテリー (オープンフィールド試験、明暗往來試験、Y字迷路試験、条件付け学習記憶試験、プレパルス驚愕反応抑制試験、他) を、標準化を念頭に置いた静寂・低照度環境下で高精度に実施し、遅発性の情動認知行動異常の内容と程度を明らかにする。尚、被験物質の投与は、すべて経口投与とし、その量の決定に際しては、直接的な細胞障害を惹起しないレベル、及び急性症状が顕著に表れない用量を基本に、ヒトの一日摂取許容量 (あるいは

それに相当する量) を十分に想定した用量設定を行う。

②神経科学的物証の収集 (主担当者: 種村、岩野、富永)

情動認知行動解析後のマウス脳について、病理形態解析に加え、神経細胞突起やシナプス動態の免疫染色法による解析、タンパク発現解析、網羅的遺伝子発現解析、膜電位感受性色素を用いた光計測系による神経回路機能解析を行い、情動認知行動解析結果に対応する神経科学的物証を収集する。

③情動認知「行動スコア」と神経科学的「物証スコア」の作成 (主担当者: 種村、五十嵐)

情動認知行動、及び対応する神経科学的物証についての複数の項目ごとに異常の程度をスコア化することで、「行動スコア」と「物証スコア」を作成し、異常度を多面的に評価する。これによって被験物質による異常を客観的に記述し評価する方法を考案する。

④情動認知行動異常発現メカニズム解明 (主担当者: 五十嵐、北嶋、中島)

網羅的遺伝子発現変動解析によって、情動認知行動異常に至る分子メカニズムを明らかにする。また、培養系を用いた神経細胞の増殖・分化や、神経突起伸長への影響解析による異常発現メカニズムの抽出を行う。これらのメカニズム解明研究は、ヒトへの外挿に向けた科学的根拠と位置づけられる。

平成 23 年度は、ER 遺伝子改変マウスを用いた解析結果に基づく「行動スコア」及び「物証スコア」の作出、周産期 BPA 暴露による遅発中枢影響解析 (情動認知行動解析、神経科学的物証の収集、異常メカニ

ム解明)を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験の計画及び実施に際しては、科学的及び動物愛護の配慮を十分行い、それぞれの所属機関が定める動物実験に関する規定、指針を遵守した。

C. 研究結果

平成23年度(研究開始1年目)は、「情動認知行動スコア」及び「神経科学的物証スコア」作出のために、主として、ERノックアウトマウスを用いた解析、周産期BPA暴露による遅発中枢影響解析を開始した。具体的な進捗状況は以下の通りである。

1) ERノックアウトマウスとしてER α KOマウスの行動解析(オープンフィールド試験、明暗往来試験、高架式十字迷路試験、条件付け学習記憶試験、プレパルス驚愕反応抑制試験)を行った結果、不安関連行動の逸脱と記憶異常が認められ、「行動スコア」作出における基準値としての意義を確認した。また「物証スコア」のための検討として、網羅的遺伝子発現解析、病理形態解析を進めている。

2) 周産期BPA暴露マウスの生後発達過程及び成熟後における中枢影響解析を行い、生後発達過程における解析から、一部ストレス反応性の変化が示唆され、成熟後マウスには不安関連行動の逸脱と記憶異常が認められた(ホールボード試験、条件付け学習記憶試験による)。周産期BPA暴露マウスの成熟後の海馬の網羅的遺伝子発現解析を遂行中であり、神経細胞軸索機能影響が疑われる遺伝子カスケ

ードへの影響が見いだされている。さらに共焦点レーザー顕微鏡を用いた形態解析より、神経突起形成・剪定不全による神経回路影響が推測された。また周産期BPA暴露マウスの海馬領域のゲノムDNAを精製し、網羅的DNAメチル化解析を行った結果、DNAメチル化状況が顕著に変化している領域が認められ、それらは、すべてOlfactory receptor遺伝子がクラスターを形成している領域であった。

3) 「物証スコア」作出のために、胎生期化学物質暴露を受けたマウスの海馬神経応答解析のため、膜電位感受性色素を用いた光計測による海馬機能評価系作出の条件検討を行った。その結果、遅発行動毒性誘発モデル化学物質として用いたバルプロ酸が、胎生期暴露の結果、成熟後の海馬のGABAシグナル系へ影響を与えることを見出した。

4) 周産期BPA暴露による胎仔神経発達への影響を検討するため、胎生6日~15日までのBPA暴露について調べたが、神経幹細胞、ニューロン、深層ニューロンの各マーカー(Nestin, Tuj1及びDCX, Ctip2)の発現パターンに影響は認められなかった。

5) BPA暴露リスクの高い時期について情報を得るため、新生仔期の肝臓におけるBPA代謝酵素UGT2B1の発現ならびにBPA代謝活性を調べた結果、妊娠後期から生後7日くらいまでが高リスク時期であると推察された。成長後の海馬のDNAメチル化状況に変化が生じることが示唆された。

D. 考察

本研究の結果から、周産期 BPA 暴露による遅発神経影響として、不安関連行動の逸脱を伴う学習記憶異常が生じていることが示唆された。また、分子レベル解析結果を含めて、こうした行動異常に対応すると考えられる神経科学的物証が得られた。今後、毒性学的な位置づけを行うとともに、異常発現に至る経時的なメカニズムについて検討を行う必要があると考えられる。今後の本研究の遂行により従来法では検出が困難であった遅発性の情動認知行動異常の高精度のリスク評価が、普遍性を持って実施可能となり、行政対応に必須のバリデーションに耐えるガイドラインの作成が期待できる。また本研究が対象とする情動認知行動異常は、自閉症、統合失調症、大鬱症、認知症等の精神神経疾患の表現型モデルを包括する可能性が高い。ヒトにおいて、こうした精神神経疾患の一部に関して、その発症リスク上昇に化学物質暴露の関与が疑われていることから、本研究遂行の延長上には、分子メカニズム上の種差の解明、及び、普遍的基準点となるモデルマウスの組み合わせの充実（エストロゲン受容体以外のシグナル伝達系の網羅）が必然的に見込まれ、それらの結果の集積により、ヒトへの外挿精度の向上とともに、上記の精神神経疾患の発症リスク軽減による将来的な医療費削減への貢献についても期待できる。

E. 結論

周産期 BPA 暴露による遅発神経影響の実体として行動異常とそれに伴う神経科学的物証を捉えることに成功した。今後、その異常度を検討し、遺伝子改変マウスとの比較を行うことによって、毒性学的な位置づけを明瞭化するとともに、異常発現メカニズムの解明が必要であると考えられる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 書籍

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Katsuhide Igarashi, Noriyuki Nakatsu, Yukio Kodama, Kiyoshi Sekita, Atsuya Takagi and Satoshi Kitajima.

Chapter11 Application of Percellome Toxicogenomics to Food Safety Hormone-Disruptive Chemical Contaminants in Food, 2011, 184-198. Editor(s): Ingemar Pongratz, Linda Bergander, Royal Society of Chemistry. ISBN: 978-1-84973-297-0, DOI: 10.1039/9781849732970-00184

重野純（編・著）、安藤清志、高橋 晃、石口 彰、浜村良久、藤井輝男、八木保樹、山田一之、渡辺正孝（著）改訂版 キーワードコレクション心理学、新曜社、*in press*

Namihira M. & Nakashima K.

Fate specification of neural stem cells. in *Neurogenesis in the adult brain I* (eds. Seki, T., Sawamoto, K., Parent, J.M. & Alvarez-Buylla, A.) 87-107 (Springer, Tokyo, 2011).

2) 雑誌

Katsuhide Igarashi, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Kentaro Tanemura, Yuhji Taquahashi, Noriko Moriyama, Eriko Ikeno, Nae Matsuda, Yumiko Saga, Bruce Blumberg, and Jun Kanno

Development of Humanized Steroid and Xenobiotic Receptor Mouse by homologous knock-in of the human Steroid and Xenobiotic Receptor Ligand Binding Domain sequence. *J Toxicol Sci* (in press 2012)

Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, Yokoyama A, Chikanishi T, Ito S, Imai Y, Kim J, He HH, Igarashi K, Kanno J, Ohtake F, Kitagawa H, Roeder RG, Brown M, Kato S. GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination Nature. 2011 Nov 27. [Epub ahead of print]

Matsukura H, Aisaki K, Igarashi K, Matsushima Y, Kanno J, Muramatsu M, Sudo K, Sato N. Genistein promotes DNA demethylation of the steroidogenic factor 1 (SF-1) promoter in endometrial stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Aug 26;412(2):366-72. Epub

Baba A, Ohtake F, Okuno Y, Yokota K, Okada M, Imai Y, Ni M, Meyer CA, Igarashi K, Kanno J, Brown M, Kato S. PKA-dependent regulation of the histone lysine demethylase complex PHF2-ARID5B. *Nat Cell Biol.* 13, 669-676 (2011).

Arase S, Ishii K, Igarashi K, Aisaki K, Yoshio Y, Matsushima A, Shimohigashi Y, Arima K, Kanno J, Sugimura Y. Endocrine disrupter bisphenol A increases in situ estrogen production in the mouse urogenital sinus. *Biol Reprod.* 84, 734-742 (2011)

Higuchi, H., Iwano, H., Kawai, K., Ohta, T., Obayashi, T., Hirose, K., Itoh, N., Yokota, T., Tamura, Y. and Nagahata, H. A simplified PCR assay for fast and easy mycoplasma mastitis screening in dairy cattle. *J. Vet. Sci.*, (2011), 12: 191-193.

Higuchi, H., Iwano, H., Gondaira, S., Kawai, K., Nagahata, H. Prevalence of *Mycoplasma* species in bulk tank milk in Japan. *Vet. Rec.*, (2011), 169:442.

Suzuki, K., Higuchi, H., Iwano, H., Lakritz, J., Sera, K., Koiwa, M., Taguchi, K. Analysis of trace and major elements in bronchoalveolar lavage fluid of mycoplasma bronchopneumonia in calves. *Biol. Trace Elem. Res.* (2011), 145:166-171.

Sakurai M, Ohtake J, Ishikawa T, Tanemura K, Hoshino Y, Arima T, Sato E. Distribution and Y397 phosphorylation of focal adhesion kinase on follicular development in the mouse ovary. *Cell Tissue Res* 347(2):457-465, 2012.

Hiradate Y, Ohtake J, Hoshino Y, Tanemura K, Sato E. Adrenomedullin: a possible regulator of germinal vesicle breakdown. *Biochem Biophys Res Commun.* 415(4):691-695, 2011.

Distribution of protein disulfide isomerase during maturation of pig oocytes. Ohashi Y, Hoshino Y, Tanemura K, Sato E. *Animal Science Journal*, ipress

Suh, J., Rivest, A.J., Nakashiba, T., Tominaga, T., and Tonegawa, S. (2011). Entorhinal cortex layer III input to the hippocampus is crucial for temporal association memory. *Science* 334, 1415-1420.

Fujimoto Y., Abematsu M., Falk A., Tsujimura K., Sanosaka T., Juliandi B., Semi K., Namihira M., Komiya S., Smith A. & Nakashima K. Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human iPS cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells. *Stem Cells* in press.

Mutoh T., Sanosaka T., Ito K. & Nakashima K. Oxygen levels epigenetically regulate fate switching of neural precursor cells via HIF1 α -Notch signal interaction in the developing brain. *Stem Cells* 30, 561-569 (2012).

Juliandi B., Abematsu M., Sanosaka T., Tsujimura K., Smith A. & Nakashima K. Induction of superficial cortical layer neurons from mouse embryonic stem cells by valproic acid. *Neurosci Res* 72, 23-31 (2012).

Nagao H., Ijiri K., Hirotsu M., Ishidou Y., Yamamoto T., Nagano S., Takizawa T., Nakashima K., Komiya S. & Setoguchi T. Role of GLI2 in the growth of human osteosarcoma. *J Pathol* 224, 169-179 (2011).

Kuwabara T., Kagalwala M.N., Onuma Y., Ito Y., Warashina M., Terashima K., Sanosaka T., Nakashima K., Gage F.H. & Asashima M. Insulin biosynthesis in neuronal progenitors derived from adult hippocampus and the olfactory bulb. *EMBO Mol Med* 3, 742-754 (2011).

K. Yamada, C. Homma, K. Tanemura, T. Ikeda, S. Itohara, Y. Nagaoka: Analysis of fear memory in *Arc/Arg3.1*-deficient mice: intact short-term memory and impaired long-term and remote memory. *World Journal of Neuroscience*, 1, 1-8. :2011

M. Hatayama, A. Ishiguro, Y. Iwayama, T. Takashima, K. Sakoori, T. Toyota, Y. Nozaki, Y-S. Okada, K. Yamada, T. Yoshikawa, J. Aruga: Characterization of *Zic2* hypomorphic mutant mice as a schizophrenia model and *Zic2* mutation identified in schizophrenia patients. *Scientific Reports*, 1, 1-11. 2011

T. Saito, T. Suemoto, N. Mihira, Y. Matsuba, K. Yamada, P. Nilsson, J. Takano, M. Nishimura, N. Iwata, C. V. Broeckhoven, T. C. Saido: Potent in vivo amyloidogenicity of A β 43. *Nature Neuroscience*, 14, 1023-1032. 2011

Y. Satoh, S. Endo, T. Nakata, Y. Kobayashi, K. Yamada, T. Ikeda, A. Takeuchi, T. Hiramoto, Y. Watanabe, T. Kazama: ERK2 Contributes to the Control of Social Behaviors in Mice. *The Journal of Neuroscience*, 31, 11953-11967. 2011

N. Takashima, Y. S. Odaka, K. Sakoori, T. Akagi, T. Hashikawa, N. Morimura, K. Yamada, J. Aruga: Impaired cognitive function and altered hippocampal synapse morphology in mice lacking *Lrrtml*, a gene associated with schizophrenia. *PLoS ONE*, 6, e22716. 2011

T. Sano, Y-J. Kim, E. Oshima, C. Shimizu, Kiyonari. H, T. Abe, H. Higashi, K. Yamada, Y. Hirabayashi:
Comparative characterization of GPRC5B and GPRC5C LacZ knockin mice; Behavioral abnormalities in GPRC5B-deficient mice. *BBRC*, 412, 460465. 2011

2. 学会発表

五十嵐勝秀

Epigenetics と MicroRNA の相互制御

[第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会シンポジウム 毒作用発現における microRNA とエピジェネティクスの役割]

鈴木千鶴、細川佳純、岩野英知、井上博紀：
ラット肝臓におけるビスフェノール A、ビスフェノール F およびビスフェノール AF の抱合
環境ホルモン学会第 14 回研究発表会 (2011 年)

加藤美保、奥山大輔、細川佳純、鈴木千鶴、岩野英知、井上博紀：ラット肝灌流モデルを用いた、ビスフェノール F 動態の解明
環境ホルモン学会第 14 回研究発表会 (2011 年)

樺澤阿子、加藤由季、細川佳純、鈴木千鶴、岩野英知、井上博紀：ラット反転腸管を用いた、ビスフェノール F 動態の解明
環境ホルモン学会第 14 回研究発表会 (2011 年)

井上博紀、加藤美保、樺澤阿子、奥山大輔、加藤由季、細川佳純、鈴木千鶴、岩野英知：
臓器灌流モデルを用いた、ラット消化管におけるビスフェノール F 代謝動態の解明
環境ホルモン学会第 14 回研究発表会 (2011 年)

對馬澄人、岩野英知、柳沢梨沙、大谷尚子、光石和馬、塚原千恵、村上由里子、井上博紀、横田博：新生マウスの成長における肝臓の BPA 代謝と UGT 発現量の変動
環境ホルモン学会第 14 回研究発表会 (2011 年)

菊池資英、米田倫子、佐々木千尋、村上由里子、岩野英知、井上博紀：マウス胎仔各種臓器におけるビスフェノール A グルクロン酸合体の脱抱合活性
環境ホルモン学会第 14 回研究発表会 (2011 年)

年)

岩野英知 (招待講演) : 胎仔期の化学物質暴露により引き起こされる次世代影響機序解明に向けて、薬物作用談話会 (2011 年)

北嶋 聡, 小川幸男, 長野嘉介, 相崎健一, 五十嵐勝秀, 高橋祐次, 安彦行人, 山本雅也, 菅野 純

Percellome 法によるシックハウス症候群レベルの極低濃度暴露下での吸入トキシコゲノミクス [第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会]2011 年 7 月

種村健太郎, 五十嵐 勝秀, 松上稔子, 相崎 健一, 北嶋 聡, 菅野 純

ヒト型リガンド結合ドメインノックイン PXR マウスの遺伝子発現応答特性 [第 29 回内分泌代謝学サマーセミナー] 2011年 7 月

種村 健太郎, 五十嵐 勝秀, 相崎 健一, 北嶋 聡, 菅野 純

中枢神経系の発生-発達期における神経活動かく乱による遅発性中枢影響解析-幼若期雄マウスへのアセフェートによる成熟後の脳高次機能障害について- [第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会]2011 年 7 月

五十嵐 勝秀, 北嶋 聡, 相崎 健一, 菅野 純
ヒト型 PXR 生理的発現マウス系の全身臓器トランスクリプトーム解析 [第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会]2011 年 7 月

相崎 健一, 五十嵐 勝秀, 種村 健太郎, 安彦行人, 高橋祐次, 高木篤也, 北嶋 聡, 菅野 純
Percellome プロジェクト・オンライン解析システム [第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会]2011 年 7 月

菅野 純, 相崎 健一, 北嶋 聡

パーセローム (Percellome) 法を用いた定量的トランスクリプトミクスによる遺伝子発現ネットワーク描出による毒性解析の試み [第 34 回日本高血圧学会総会]2011 年 10 月

種村 健太郎, 五十嵐 勝秀, 佐藤 英明, 菅野 純

発生・発達期のビスフェノール A 暴露による遅発中枢影響解析 [第 29 回内分泌代謝学サマーセミナー] 2011 年 7 月

種村 健太郎, 五十嵐 勝秀, 相崎 健一, 北嶋 聡, 菅野 純

中枢神経系の発生-発達期における神経活動かく乱による遅発性中枢影響解析-幼若期雄マウスへのアセフェートによる成熟後の脳高次機能障害について- [第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会]2011 年 7 月

Tominaga T and Tominaga Y (2011) Non-scanning type of confocal microscope for a fast functional imaging of neuronal circuit, Neuroscience 2010, 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 17, Yokohama, Japan. (口頭発表, 座長)

Kajiwara R, Tominaga T and Takashima I (2011) Repetitive olfactory nerve stimulation induced enhancement of neural activities in the amygdaloid cortex of guinea pig isolated whole brain. Neuroscience 2010, 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 17, Yokohama, Japan.

Tominaga T and Tominaga Y (2011) GABA (A) receptor-mediated enhancement of action potential firing upon a theta burst stimulation in area CA1 of rat hippocampal slices. Program No. 766.01 2011 Neuroscience Meeting Planner. Washington, DC: Society for Neuroscience, 2011. Online.

武藤哲司、佐野坂司、伊藤慧、中島欽一[○]: Epigenetically regulated fate switching of neural stem cells by oxygen levels through HIF1 α -Notch signal interaction in the developing brain、第34回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2011年12月13-17日 (招待講演)

佐野坂司、武藤哲司、伊藤慧、中島欽一: Oxygen levels play a critical role in fate switching of neural stem cells during brain development、第34回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2011年12月13-17日

蟬克憲、佐野坂司、波平昌一、畑田出穂、中島欽一: NFIA-induced DNA demethylation in *Olig1* promoter regulates the expression of the gene in late-gestational neural precursor cells、第34回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2011年12月13-17日
野口浩史、波平昌一、田中友規、佐野坂司、中島欽一: DNMT1 inhibits the neuronal differentiation of late-gestational neural precursor cells、第34回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2011年12月13-17日

田中友規[○]、波平昌一、野口浩史、五十嵐勝秀、辻村啓太、中島欽一: Functional analysis of DNA-methyltransferase 1 in postmitotic neurons、第34回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2011年12月13-17日

中島欽一: エピジェネティック因子による神経幹細胞制御とその再生医療への応用、第37回日本重症心身障害学会学術集会、ホテルクレメント徳島、2011年9月29日 (招待講演)

波平昌一、中島欽一: 神経発生に置けるDNAメチル化とその酵素群の役割、第34回日本神経科学大会、パシフィコ横浜、2011年9月14-17日 (口頭)

蟬克憲、佐野坂司、波平昌一、畑田出穂、中島欽一: 転写因子が誘導する*Olig1*遺伝子プロモーターの脱メチル化、第34回日本神経科学大会、パシフィコ横浜、2011年9月14-17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作用による神経幹細胞制御とその影響、第38回日本トキシコロジー学会学術年会、パシフィコ横浜、2011年7月11日 (招待講演)

中島欽一: 抗てんかん薬と神経幹細胞移植による脊髄損傷治療の可能性、第10回京都鴨川脊椎手術研究会、京都リサーチパーク、2011年6月25日 (招待講演)

中島欽一: Epigenetic regulation of neural stem cells by surrounding environment、第576回生医研セミナー、九州大学生体防御医学研究所、2011年6月17日 (招待講演)

中島欽一: Intra-and extra-cellular factors regulating astrocyte differentiation of neural stem cells during development Neurogenesis 2011, 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター、2011年6月2-4日 (招待講演)

Juliandi Berry、種村健太郎、精松昌彦、五十嵐勝秀、菅野純、中島欽一: Adult hippocampal neurogenesis is impaired after prenatal histone deacetylase-inhibition, Neurogenesis 2011, 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター、2011年6月2-4日 (口頭)

波平昌一、Fan Guoping、中島欽一: DNAメチル化による神経発生制御機構、第5回日本エピジェネティクス研究会年会、KKRホテル熊本、2011年5月19-20日 (口頭)

蟬克憲、佐野坂司、波平昌一、畑田出穂、中島欽一: 転写因子NFIAによって誘導されるOlig1遺伝子プロモーターの脱メチル化、第5回日本エピジェネティクス研究会年会、KKRホテル熊本、2011年5月19-20日

本間千尋、山田一之: 2011 連続空間内でのマウス (*Mus musculus*) の行動と薬物作用評価の検討 Animal 2011 (第71回日本動物心理学会大会、第30回日本動物行動学会、2011年度応用動物行動学会/日本家畜学会 合同大会) ポスター発表 (9月8-11日 慶応大学)

N. Morimura, H. Yasuda, K. Yamada, N. H. Tomioka, K-I. Katayama, K. Yamaguchi, M. Ota¹, A. Kamiya, J. Aruga: 2011 Lrln2/SALM1 regulates excitatory synapse function in the hippocampus and its deficient mice display mental disorder-like behavioral abnormalities. 第34回日本神経科学大会 シンポジウム (9月14-17日パシフィコ横浜)

M. Hatayama, A. Ishiguro, Y. Iwayama, N. Takashima, K. Sakoori, T. Toyota, Y. Nozaki, Y. S. Odaka, K. Yamada, T. Yoshikawa, J. Aruga: 2011 Zic2 hypomorphic mutant mice as a schizophrenia model and ZIC2 mutations identified in schizophrenia patients. 第34回日本神経科学大会 口頭発表 (9月14-17日 パシフィコ横浜)

Y. Matsumoto, K-Ichi Katayama, T. Okamoto, K. Yamada, S. Nagao, M. Kudoh: 2011 Auditory and Vestibular Impairment of *Slitrk6*-Deficient Mice. 第34回日本神経科学大会 ポスター発表 (9月14-17日 パシフィコ横浜)

N. Takashima, Y. Odaka, K. Sakoori, T. Akagi, T. Hashikawa, N. Morimura, K. Yamada, J. Aruga: 2011 Executive dysfunction in novel environment and altered hippocampal synapse morphology in mice lacking Lrrrtnl. 第34回日本神経科学大会 ポスター発表 (9月14-17日 パシフィコ横浜)

N. H. Tomioka, K. Yamada, M. Ota, Y. S. Okada, J. Aruga: 2011 Characterization of Eln family in the central nervous system. 第34回日本分子生物学会年会 (12月13-16日 パシフィコ横浜)

畑山実、石黒亮、岩山佳美、高嶋紀子、佐郡和人、豊田倫子、野崎弥生、小高由梨、山田一之、吉川武男、有賀純 第34回日本分子生物学会年会 (12月13-16日 パシフィコ横浜)

〈国際学会〉

Noguchi, H., Namihira, M., Tanaka, T., Sanosaka, T., Nakashima, K.: DNMT1 regulates neuronal differentiation of neural precursor cell in late-gestational forebrain. 40th KEYSTONE SYMPOSIA, Keystone, Colorado, USA, January 1-22, 2012

Sanosaka, T., Mutoh, T., Ito, K., Nakashima, K.: Oxygen levels epigenetically regulate fate switching of neural precursor cells during brain development. 40th KEYSTONE SYMPOSIA, Keystone, Colorado, USA, January 17-22, 2012

Nakashima, K.: Neurons derived from transplanted neural stem cells reconstruct disrupted neuronal circuits in the injured mouse spinal cord. StepAhead Australia Ltd's 7th Annual Scientific Conference, Melbourne, November 29-December 4, 2011 (Invited),

Nakashima, K.: Effect of HDAC Inhibitor VPA on neural stem cell differentiation and its application to the treatment of spinal cord injury. Shanghai, October 22-23, 2011 (Invited)

Nakashima, K.: BMP-INDUCED REST/NRSF REGULATES THE ESTABLISHMENT AND MAINTENANCE OF ASTROCYTE IDENTITY. 10th European meeting on Glial Cells in Health and Disease, Prague, September 13-17, 2011 (Invited)

Nakashima, K.: Effect of Valproic Acid on Neural Stem Cell Differentiation and Its Therapeutic Application to Spinal Cord Injury. 2011 Seoul Symposium on Stem Cell Research, Seoul, August 31, 2011 (Invited)

Nakashima, K.: Intra- and extra-cellular factors regulating neural stem cell differentiation during brain development. 8th IBRO WORLD CONGRESS OF NEUROSCIENCE, Florence, July 14-18, 2011 (Invited)

Juliandi, B., Abematsu, M., Sanosaka, T., Nakashima, K.: Induction of neurons for superficial cortical layers from mouse embryonic stem cells by valproic acid. 8th IBRO WORLD CONGRESS OF NEUROSCIENCE, Florence, July 14-18, 2011

Tsujimura, K., Fukao, Y., Fujiwara, M. & Nakashima, K.: Proteomic identification of co-factors for the Rett syndrome responsible gene product, MeCP2. 8th IBRO WORLD CONGRESS OF NEUROSCIENCE, Florence, July 14-18, 2011

Nakashima, K. : Effect of a hdac inhibitor on neural stem cell regulation and its application to spinal cord injury. 11th INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEURAL TRANSPLANTATION AND REPAIR, Florida, May 4-8, 2011 (Invited)

Nakashima, K. : Hdac inhibitor and neural stem cell transplantation (HINT) method for the treatment of spinal cord injury. Symposium of the Bavarian Research Network for Adult Neural Stem Cells ForNeuroCell, Munchen, April 7-8, 2011 (Invited)

N. H. Tomioka, K. Yamada, M. Ota, Y. S. Odaka, J. Aruga: 2011 Characterization of Elfn family in the central nervous system. Neuroscience 2011, the Society for Neuroscience 41th Annual Meeting, (Washington, DC, November 12-16, 2011)

I. Ogiwara, S. Tto, K. Yamada, K. Yamakawa: 2011 Nav1.1-haploinsufficient mice, a model for Dravet syndrome, exhibit learning impairment and autistic-like behaviors. Neuroscience 2011, the Society for Neuroscience 41th Annual Meeting, (Washington, DC, November 12-16, 2011)

J. Aruga, N. Takashima, Y. S. Odaka, K. Sakoori, T. Akagi, T. hashikawa, N. Morimura, K. Yamada: 2011 Neuroscience 2011, the Society for Neuroscience 41th Annual Meeting, (Washington, DC, November 12-16, 2011)

H. 知的財産所有権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得
なし。

2. 実用新案登録
なし。

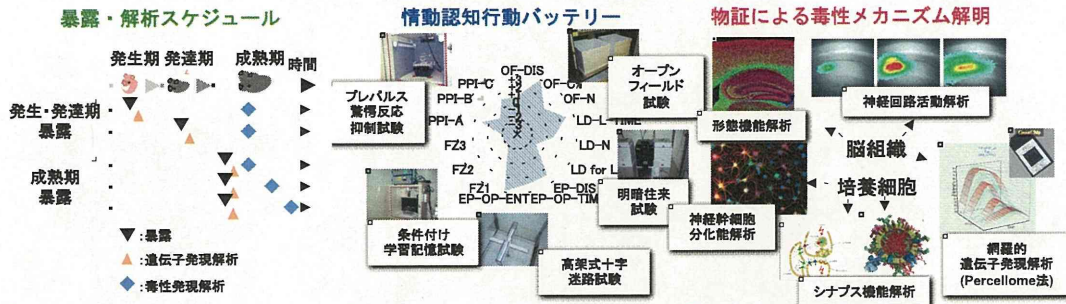
3. その他
なし

先行研究班による成果

H20-化学-一般-009

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



バルプロ酸胎生期暴露

トリアゾラム幼若期暴露

イボテン酸幼若期暴露

SSRI 幼若期暴露

成長後の学習記憶異常

成長後の学習記憶異常

成長後の情報処理不全

成長後の情動行動異常

神経幹細胞の増殖・分化異常

海馬シナプス形成異常

神経突起形成異常

ストレス応答機構異常

先行研究班による成果と課題

情動-認知行動異常、および、その原因たる脳の形態、機能、
そして分子毒性学的異常の定量的な評価が可能となった。

胎生期-幼若期(神経系発生-発達期)の神経作動性化学物質暴露は、

1. 脳の形成不全を伴う遅発性の情動-認知行動異常を引き起こす。
2. その行動異常は、成熟期暴露後による行動異常とは原則的に異なり、重篤なことが多い。
3. 細胞死や細胞変性を惹起しないレベルの暴露で遅発性異常が誘発される。

受容体を介した神経シグナルのかく乱による脳の微細構造の形成不全や
神経回路の構築異常が不可逆的に固定されたまま成長することで、
脳高次機能不全としての情動認知行動異常が遅発性に顕在化すると考えられる。

→今後、行政施策へ反映させる必要がある。

本研究班の目的

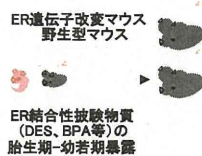
先行研究による成果を踏まえ、特に胎児や子どもへの化学物質暴露による遅発性の情動認知行動異常を今後の行政施策へ反映させる必要性を考慮した、

「標準プロトコルの確立」及び「客観的評価指標の提案」を目指す。

具体的には、神経系発生-発達期において重要な役割を演じている受容体である、エストロゲン受容体(ER)に焦点を合わせて、その遺伝子改変マウスから評価指標を設定し、ER結合性の被験物質(DES、BPA、BPAF等)を用い、

- ①.情動認知行動解析、
- ②.神経科学的物証の収集を元に
- ③.「情動認知行動スコア」と「神経科学物証スコア」の作成するとともに
- ④.情動認知行動異常発現メカニズム解明を行い、
標準プロトコルの確立を目指す。

本研究遂行における指針



神経系発生-発達期における化学物質投与によるエストロゲン受容体(ER)シグナルかく乱を起点とした、遅発中枢影響の実態を究明し、その性質と強度を毒性的に客観的に判断する。

