

(3) ビスフェノールA 投与による神経回路の急性応答  
ビスフェノールA に関して、海馬の神経回路応答では、LTP、LTD などの神経可塑性への影響は指摘されているものの、最も基本的な急性応答に関して不明であったので、まず、急性応答を試した。

バルプロ酸で、すでに試した3つの神経回路応答に対するビスフェノールAの効果を、10 $\mu$ M、100 $\mu$ M、1mMで濃度を変えて検定したところ、1mMでは神経応答がほぼ完全に消失する一方、100 $\mu$ Mでは僅かな減弱、10 $\mu$ Mではほぼ影響が見られなかった。CA1野ではペアドパルスでも調べたがシナプス伝達への影響は見られなかった。

このことから、ビスフェノールAへの急性応答はほぼないものと考えて良いと思われた。

バルプロ酸での事例から、ビスフェノールAに関しても行動異常を示す投与例を探索し、その個体での神経回路異常を探索する方法が有効と思われる。

#### (4) より鋭敏な光計測装置開発

##### (4)-1 新規共焦点顕微鏡の開発

ピンホール板を固定して、ノイズの少ない共焦点顕微鏡を開発するというアイデアで開発を行った。既存の正立落射蛍光顕微鏡(オリンパスBX-51WI)で20倍の対物レンズをつけた時の共焦点顕微鏡に関しては完成を見て、性能検定を詳細に行い、共焦点性を確認した。一方、この光学系をより低倍の光学系へ応用する顕微鏡の設計と試作を行い、性能検定を行う。

論文を投稿中である。

##### (4)-2 新規パターン刺激イメージング顕微鏡

落射蛍光顕微鏡の投光管の光学的共役面に微小なミラーを集積したデジタルミラーデバイスを設置し、観察面に好きなパターンで紫外光による光を照射し、LED化合物による刺激を行いつつ、その神経応答を光計測する顕微鏡を開発している。光学系の微調整を終え、GABA系の刺激への応用を考えている。

##### (4)-3 膜電位感受性蛍光タンパク質 (voltage sensitive fluorescent protein; VSFP) による神経回

#### 路解析 (理研トーマスクヌッフエルとの共同研究)

人工的な膜電位感受性分子の代わりに、細胞膜にもともと存在し得る膜電位感受性タンパク質(チャンネル部分が不活性な電位感受性チャンネル)に蛍光タンパク(YFP)をくっつけ神経回路の構成要素に特異的に膜電位感受性の蛍光リポーターを発現させる系を理研のトーマスクヌッフエルのグループが作成している。海馬の錐体細胞特異的に発現するVSFPについてその有効性をテストした。

子宮内エレクトロポレーションの手法で発現させたタンパクについて、発現量の多いスライスを選び、電気刺激に対する応答を調べたところ、最大0.5ミリ秒/frameの撮像速度で撮像できた。タンパクの作動速度からいって2ミリ秒/frameの撮像速度でのイメージングで最も有効な結果が得られることがわかった。今後、錐体細胞の電気活動だけを有効に計測する上で強力な武器になると考えられる。

現在、共同研究者のところで、この蛋白質を部位特異的に発現させられる遺伝子改変マウスを作成中であり、これが作成された際にはin vivoの標本での計測を進める。

##### (4)-4 単離脳標本での自然刺激神経応答の光計測(東北大学飯島研究室との共同研究)

スライス標本よりもっと自然な状態に近い自然刺激に対する応答を光計測によって計測する試みを開始した。標本として脳を単離して解析可能な単離脳を使用し、嗅球への匂い物質の投与による応答を記録した。自然刺激による神経応答はより鋭敏な神経回路改変の指標として期待できる。今回は実験条件の設定などを行い、基本的な匂い応答の検出に成功した。

#### D. 考察

光計測法による神経回路機構解析の有効性は(1)遺伝子改変マウスにおける解析によってエピソード記憶の神経回路機構の解明に用いられた点、(2)バルプロ酸の遅発毒性の解析において、抑制性神経回路の発達に影響があることを明瞭に示した点、から明らかである。一方、ビスフェノールAの急性効果については影響が

見られていないが、これはビスフェノール A の急性効果が通常の解析では見られない性質のものであることを示している。今後、バルプロ酸で行ったような解析を行うか、詳細に検討を要する。

新規の光計測の手法開発は急速に進んでおり、新規の共焦点光学系、パターン刺激の応用については既に実用をまっている段階である。一方、今後遺伝子導入による VSFP の応用を進めることは重要である。

#### E. 結論

今後とも光計測法を軸に、ビスフェノール A を始めとする神経回路の再編成を起こしうる化学物質の神経毒性解析を進めることは、重要である。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表 (本研究に関わる主なもの 3 編に◎を付けてください)

###### 1) 書籍

なし

###### 2) 雑誌

◎ Tominaga, T., Tominaga Y. A new non-scanning confocal microscopy module for functional voltage-sensitive dye and Ca<sup>2+</sup> imaging of neuronal circuit activity. *Journal of Neurophysiology*, (in press).

Kutomi, O., Hori, M., Ishida, M., Tominaga, T., Kamachi, H., Koll, F., Cohen, J., Yamada N and Noguchi M. (2012). Outer Dynein Arm Light Chain 1 Is Essential for Controlling the Ciliary Response to Cyclic AMP in *Paramecium tetraurelia*. *Eukaryotic cell*, 11(5), 645-653.

##### 2. 学会発表 (発表誌名、巻号、ページ、発行年も記入)

Tomianga T, Tominaga Y and Kajiwara R (2012) Transmission of neuronal activity between the perirhinal cortex and entorhinal-hippocampal cortex is controlled by slowly inactivating potassium conductance: A VSD imaging study. Program No. 148.02. 2012 Neuroscience Meeting Planner. New Orleans, LA: Society for Neuroscience, 2012. Online.

富永貴志、富永洋子 (2012) 膜電位感受性色素・カルシウムイメージングに使える新しい超高速共焦点顕微鏡の開発 (A new class of confocal microscope for a fast voltage-sensitive dye (VSD) and Ca<sup>2+</sup> imaging) 第 50 回日本生物物理学会年会 9 月 名古屋 (口頭発表)

富永貴志、富永洋子、梶原利一 (2012) Suppression of a slowly inactivating potassium current enhances the interaction between the perirhinal cortex and entorhinal-hippocampal neuronal activities. 嗅周囲皮質と嗅内野-海馬回路との間の興奮伝達ゲート機構には緩やかに不活性化するカリウム電流が関与する 第 35 回日本神経科学大会 (名古屋) 9 月 (口頭発表)

富永貴志 富永洋子 五十嵐勝秀 種村健太郎 菅野純 中島欽一 (2012) 妊娠期投与による胎生期バルプロ酸暴露マウスは学習記憶異常と海馬抑制系の減弱を示す 第 39 回日本毒性学会学術年会 (仙台) 7 月 (口頭発表)

#### 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

# 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

## 発生-発達期のビスフェノール A 等暴露による 神経回路応答改変の機能解析

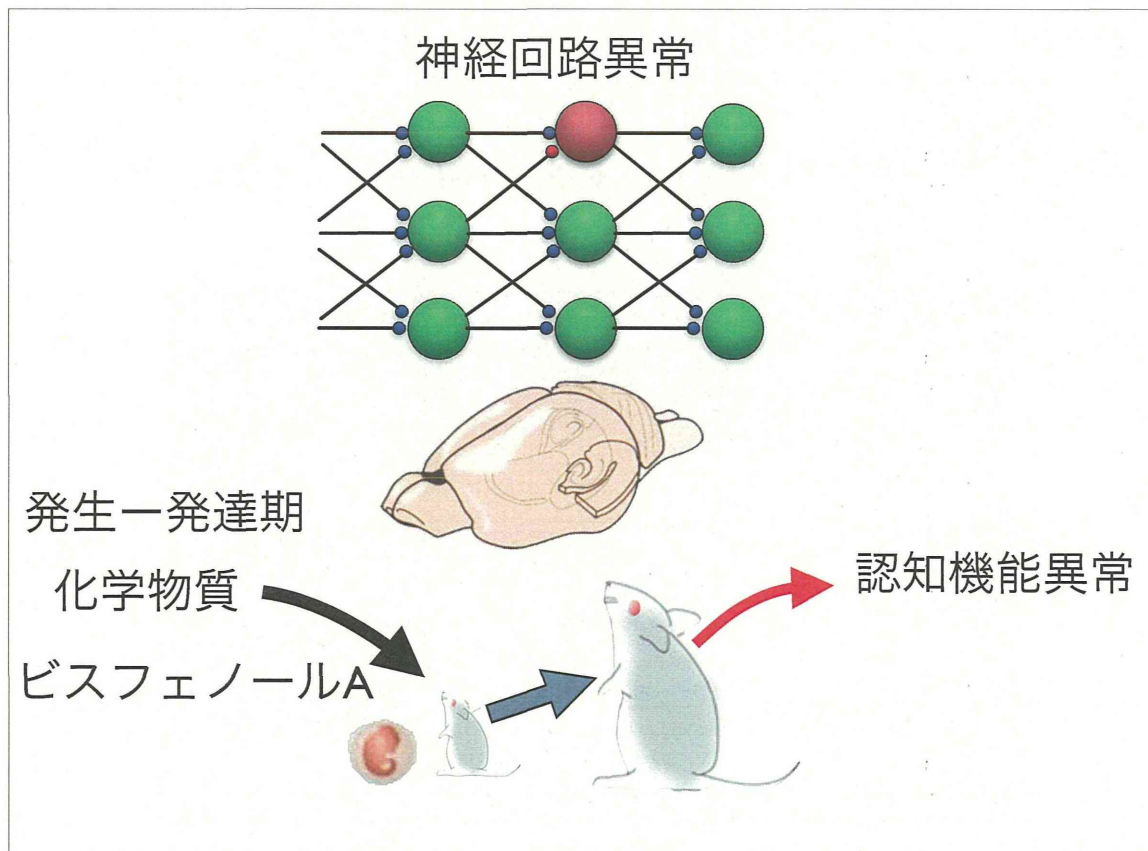
富永 貴志(徳島文理大学・香川薬学部)

平成 23 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)

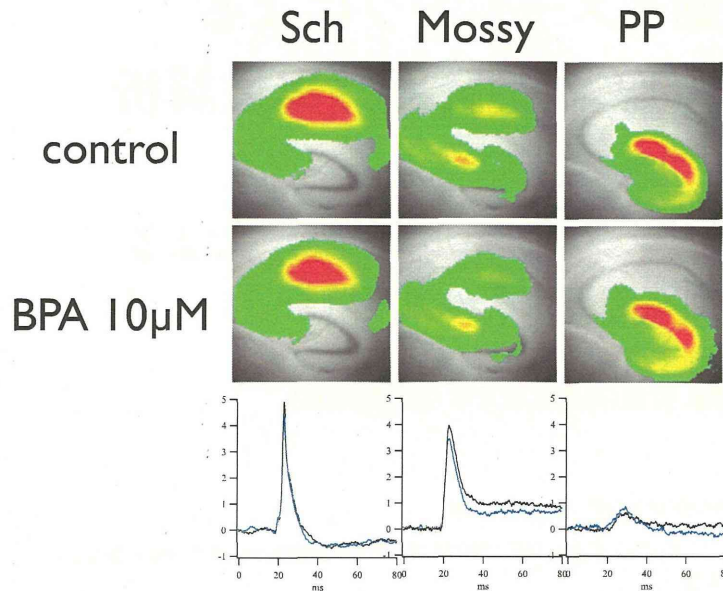
神経系発生-発達期の化学物質暴露による遅発中枢影響解析に基づく統合的な情動認知行動毒性評価系確立に資する研究(H23-化学-一般-004) -班会議

日時:平成 25 年 3 月 4 日(月)13:30-17:00

場所:東京国際フォーラムG508

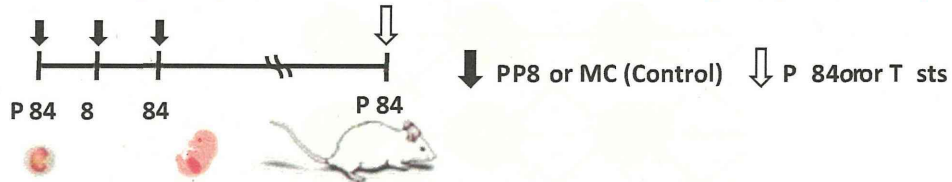


## 幼若動物(2週令)でのBPAの急性影響



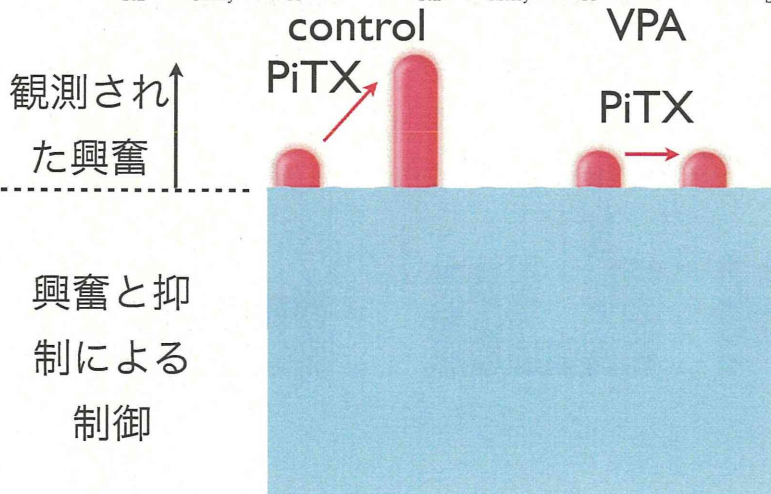
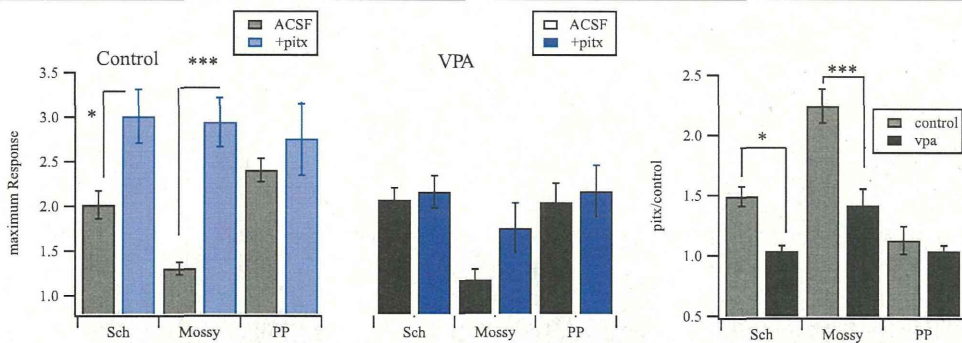
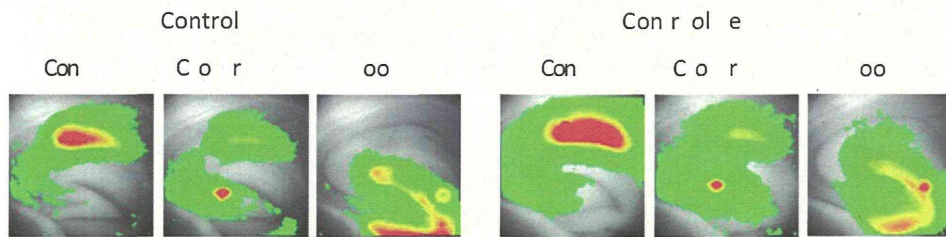
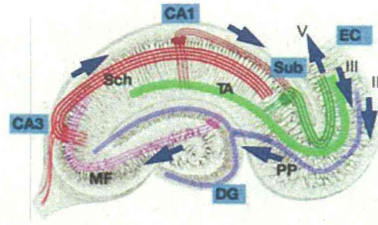
若干の減弱

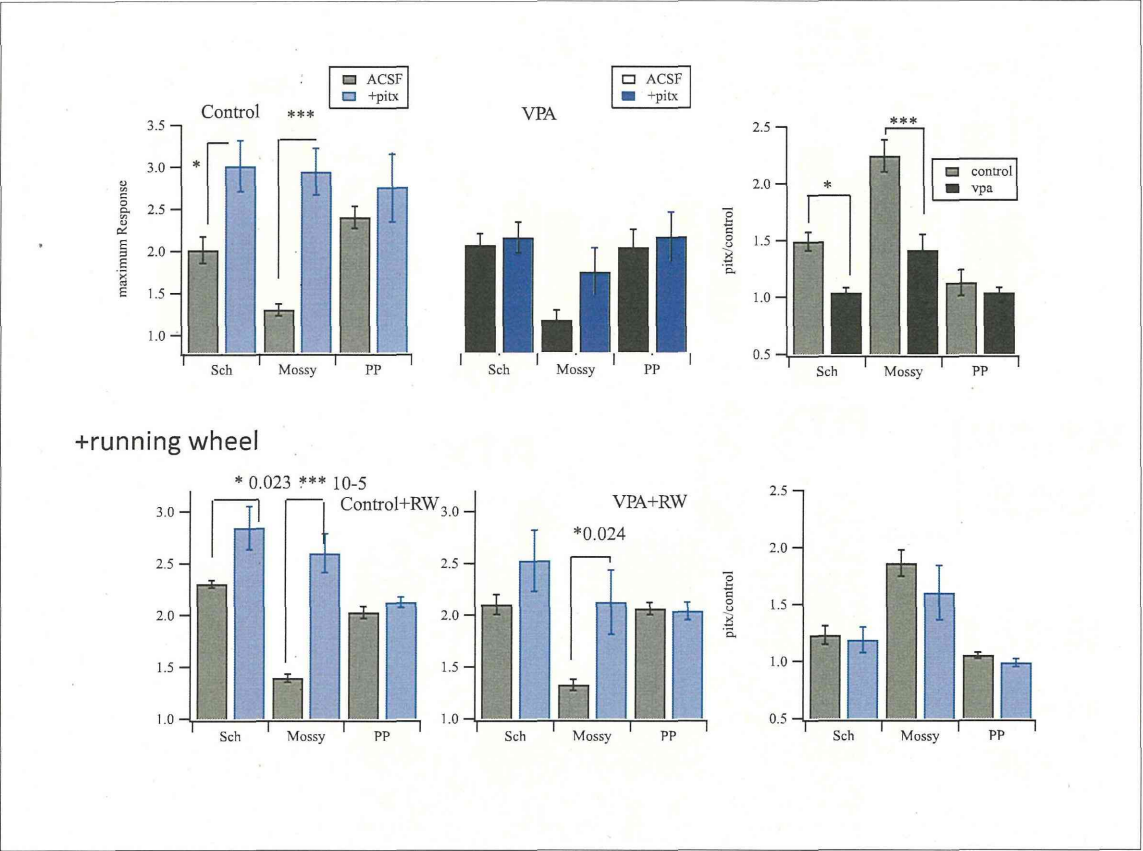
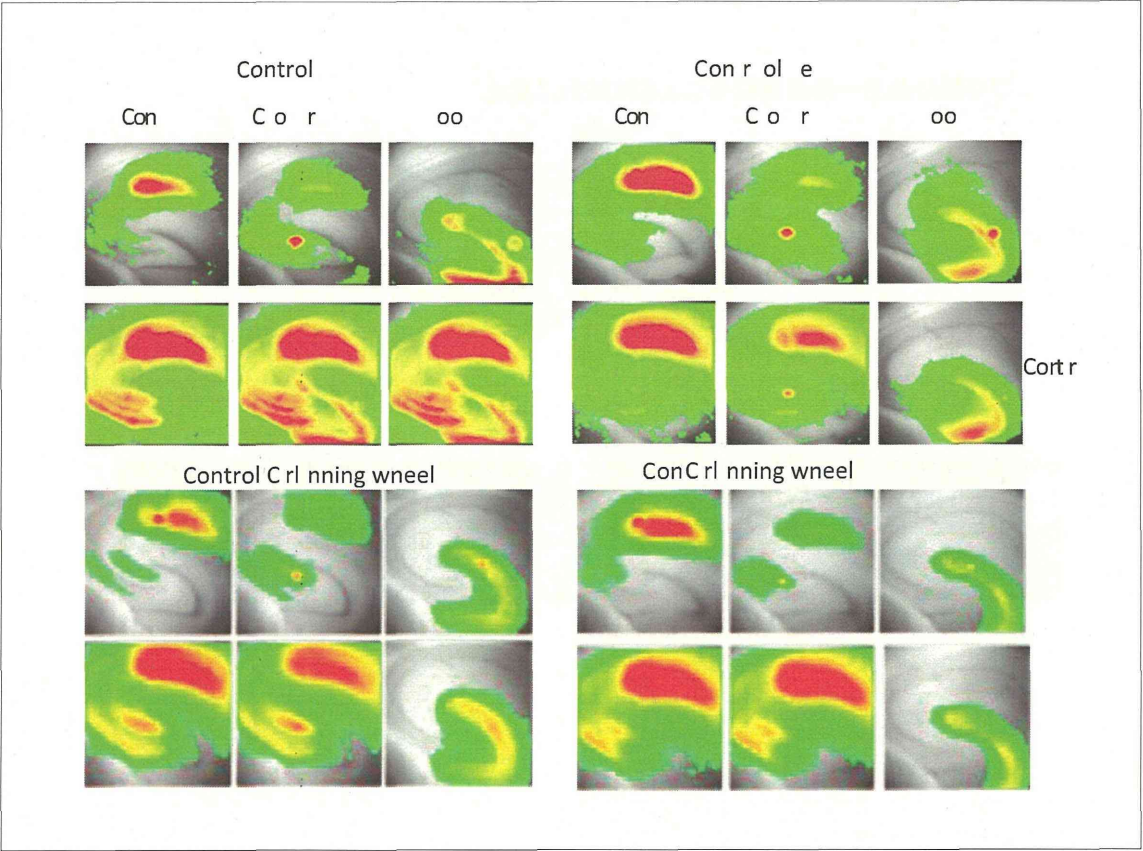
PP84 rpos ( mrt r8rbt ( fitrts m l 4rnmg 4n( m mory



Test Name	Behaviors Assessed	Results
Open Field	general activity level, gross locomotor activity, exploration habits	total distance, center time, move episode, distance per movement
Light/Dark Transition	anxiety-like	dark distance, dark time, transition, light distance, light time, latency to enter light
Elevated Plus Maze	anxiety-like	total distance, open time, close time, open entry, close entry, total entry
Pre-pulse Inhibition	sensorimotor gating	pre 90db/120db, pre 95db/120db, pre 100db/120db
Tail Suspension	depression	immobility time
Contextual/Cued Fear Conditioning	learning and memory	conditioning, contextual, cued
Y-Maze Alternation	learning and memory	correct alternation

バルプロ酸の発生-発達期投与による神経回路変化



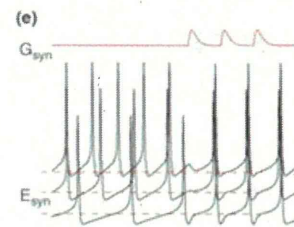
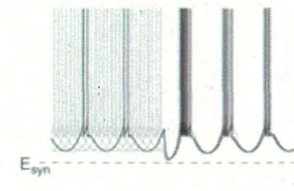
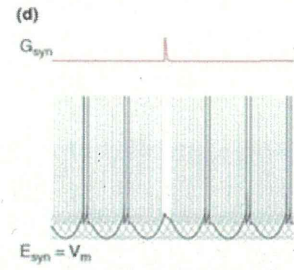
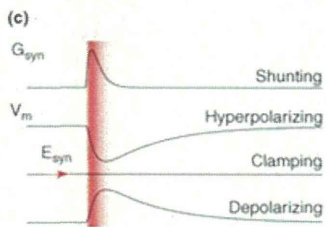
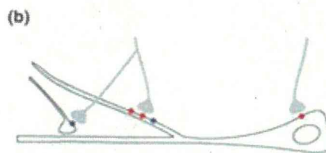
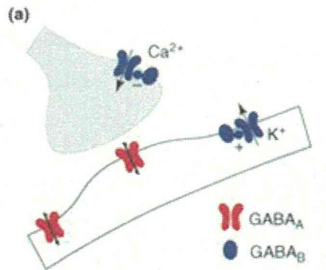
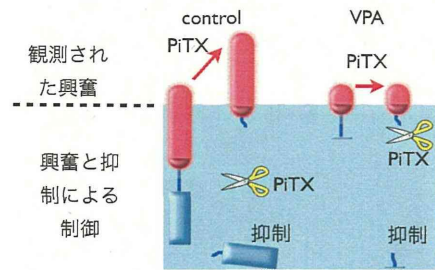


# 抑制の働き方と機能

INMED/TINS special issue  
**Role of GABAergic inhibition in hippocampal network oscillations**

Edward O. Mann and Ole Paulsen  
 Department of Physiology, Anatomy and Genetics, Parks Road, Oxford, OX1 3PT, UK

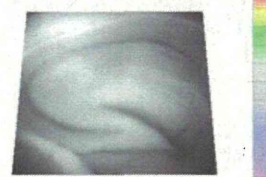
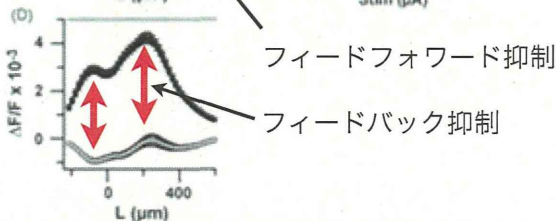
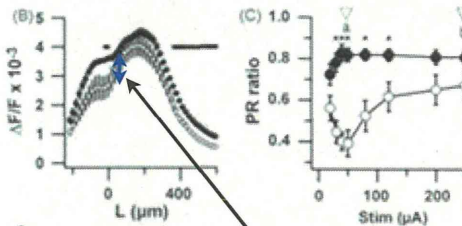
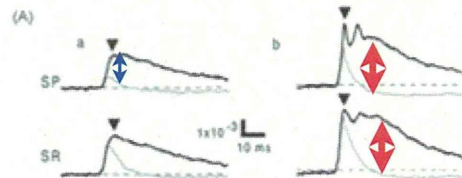
Kinetics of GABA<sub>A</sub> receptor-mediated events. The synaptic conductance change ( $G_{syn}$ ) responsible for shunting is short lasting, whereas the time course of the associated membrane potential effect is determined by the membrane time constant of the postsynaptic neuron. The effect on membrane potential can be depolarizing, hyperpolarizing or clamping, depending on the relation between the actual membrane potential ( $V_m$ ) and the reversal potential of the GABA<sub>A</sub> receptor-gated conductance ( $E_{syn}$ ).



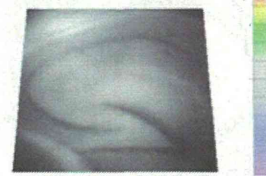
TRENDS in Neurosciences

# 抑制系の検出

normal solution



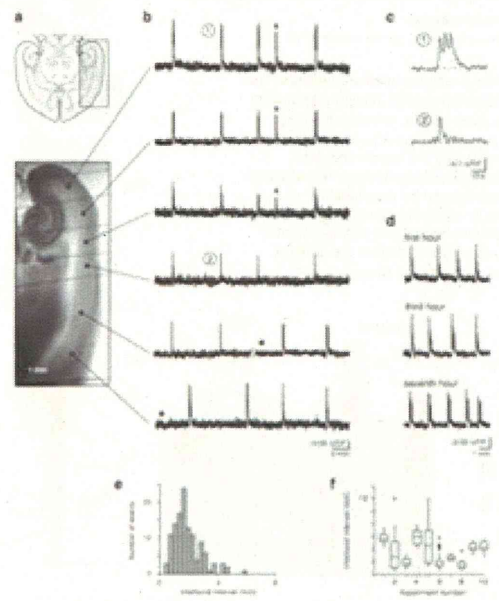
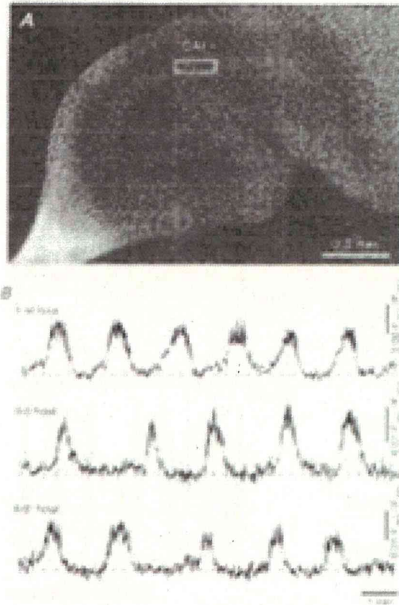
+ PITX



Membrane potential response profiles of CA1 pyramidal cells probed with voltage-sensitive dye optical imaging in rat hippocampal slices reveal the impact of GABA<sub>A</sub>-mediated feed-forward inhibition in signal propagation

Yoko Tominaga<sup>4,5</sup>, Michinori Ichikawa<sup>4,5</sup>, Takashi Tominaga<sup>4,5,6,\*</sup>

Neuroscience Research 64 (2009) 152–161



**Memory system**

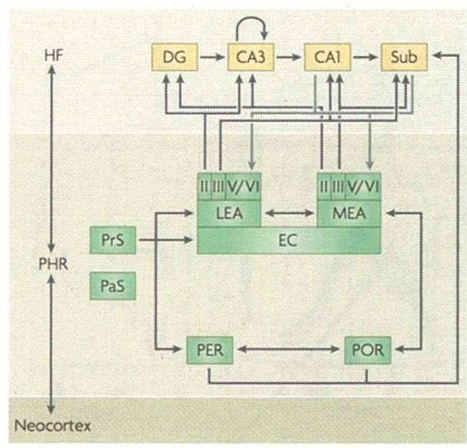
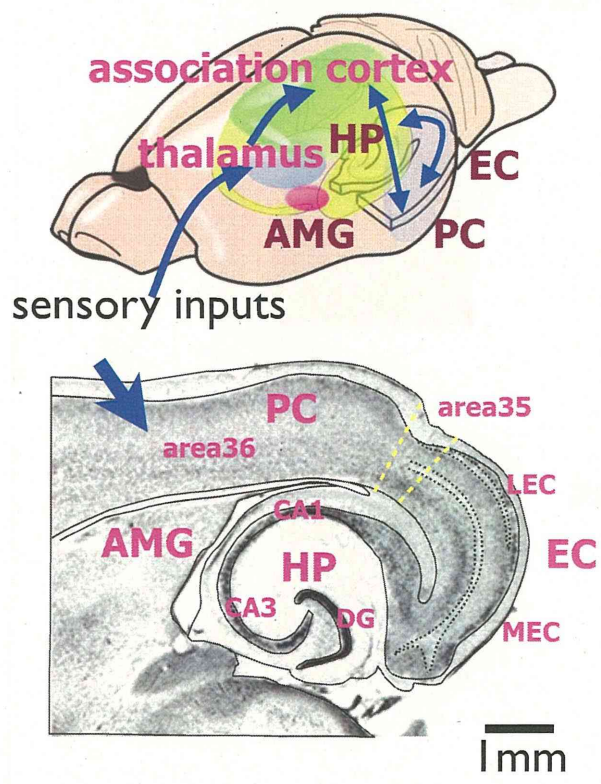
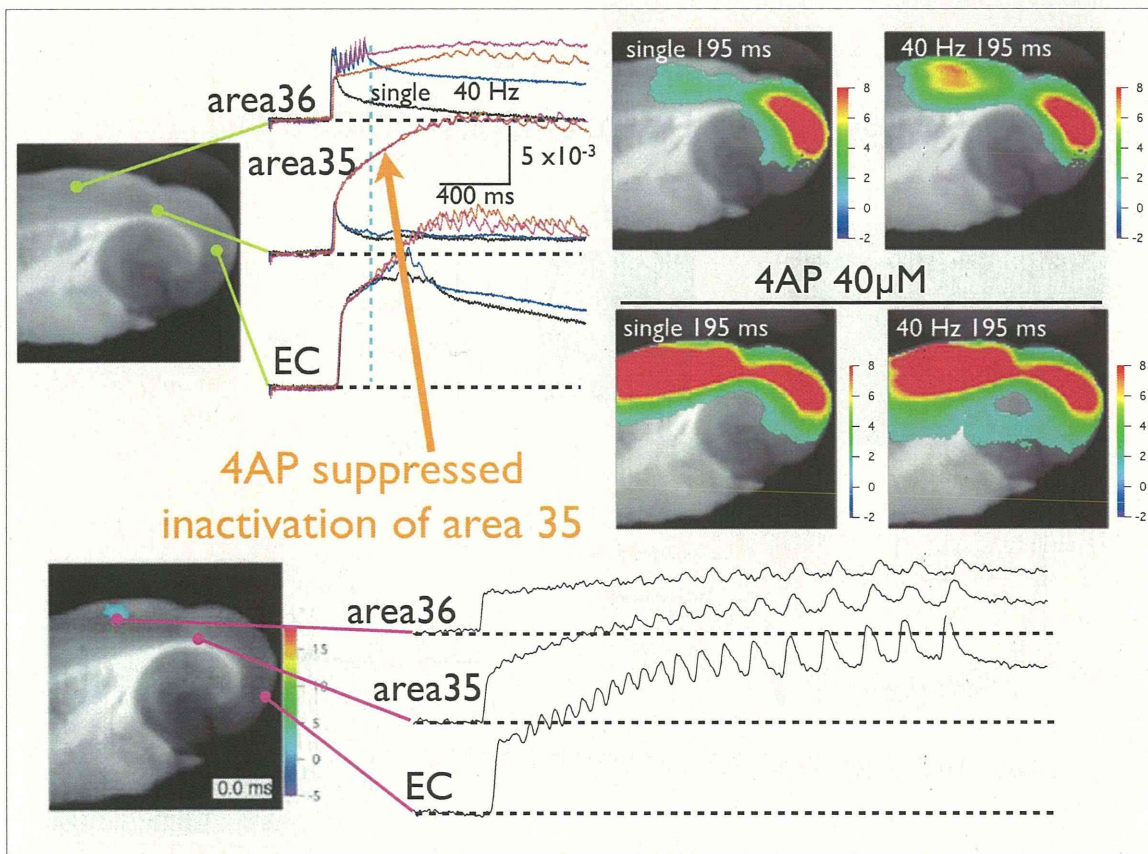
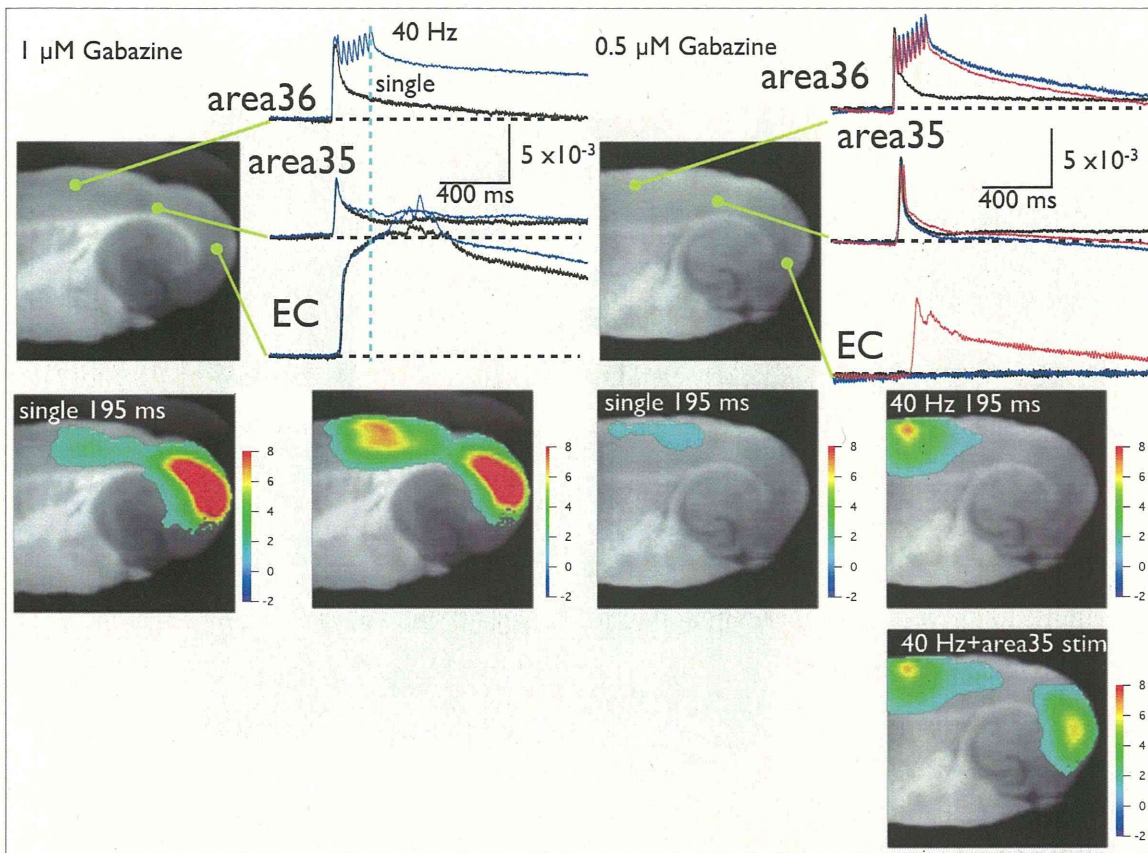
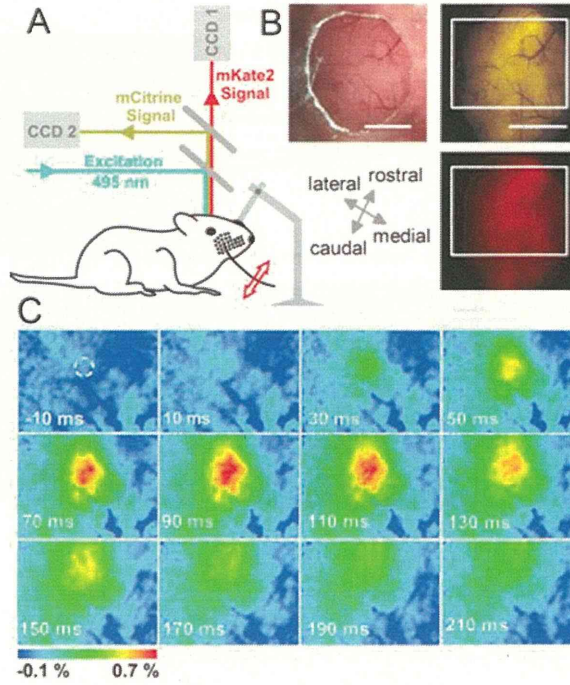
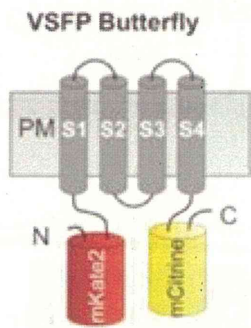


Figure 3 | The standard view of parahippocampal-hippocampal circuitry. The standard view that is van Strien, N. M., Cappaert, N. L. M., & Witter, M. P. (2009). *Nature reviews Neuroscience*

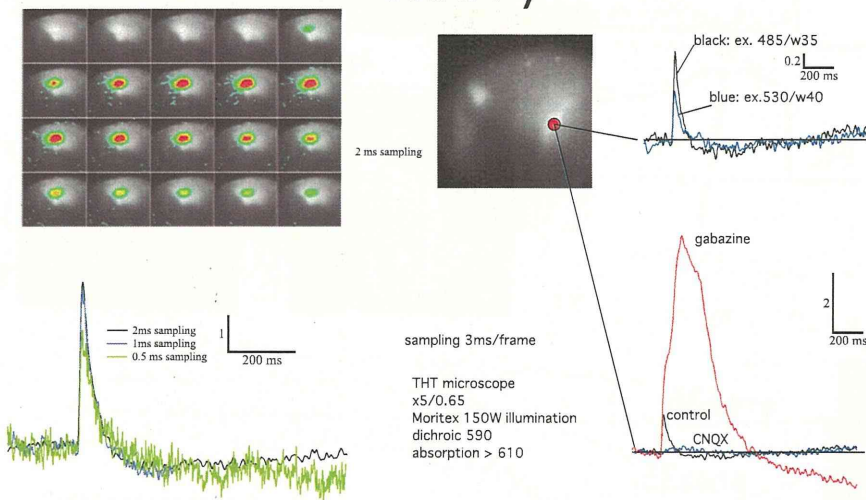




[1] W. Akemann, H. Mutoh, A. Perron, Y. Kyung Park, Y. Iwamoto, and T. Kröpfel, "Imaging Neural Circuit Dynamics with a Voltage-Sensitive Fluorescent Protein," *J Neurophysiol* (2012) [doi:10.1152/jn.00452.2012].



## New technology Noltt ge nensgyve Fluorescent Protegn NNnFP)



海馬錐体細胞の神経細胞特異的な膜電位応答の記録

## Entorhinal-Hippocampal Interactions Revealed by Real-Time Imaging

Toshio Iijima,\* Menno P. Witter, Michinori Ichikawa, Takashi Tominaga, Riichi Kajiwara, Gen Matsumoto

SCIENCE • VOL. 272 • 24 MAY 1996

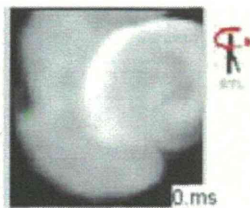
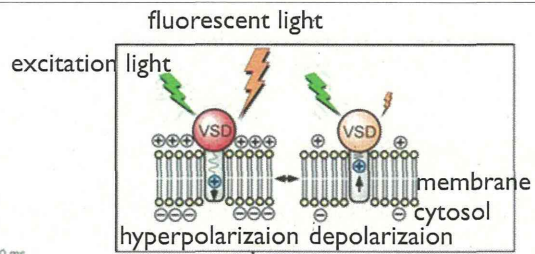
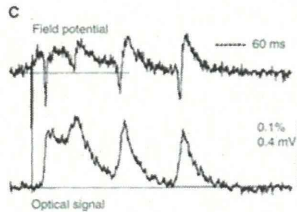
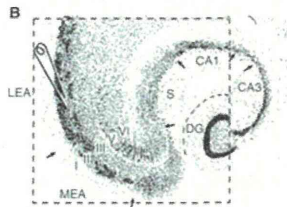
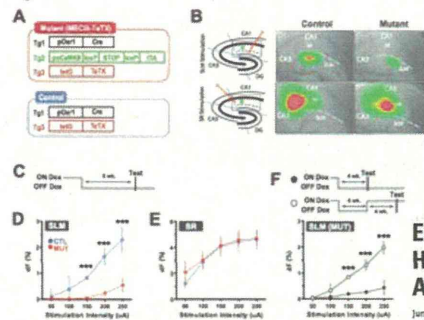


Fig. 2



## Entorhinal Cortex Layer III Input to the Hippocampus Is Crucial for Temporal Association Memory

Junghyup Suh,<sup>1</sup> Alexander J. Rhent,<sup>2</sup> Toshiaki Nakashiba,<sup>2</sup> Takashi Tominaga,<sup>2</sup> Susumu Tonegawa<sup>1\*</sup>

www.sciencemag.org SCIENCE VOL 334 9 DECEMBER 2011

1415

# 情動認知行動毒性評価系確立のための 神経回路異常の機能解析と光計測

1. 光計測法は抑制系の活動を調べるのに適している。
2. 抑制系は広い領野にわたる神経活動の同期などで働いている。
3. 広い領域にわたる神経活動同期にはイメージング法が適している。
4. 特に発生発達期にはGABAによる抑制系による同期的な活動がおこっている。
5. パルプロ酸のような発生発達期での神経回路形成に遅発性の影響を与えるものはこの幼若期特異的な神経活動に影響している可能性がある。
6. 光計測は広い範囲の同期的神経活動を定量的に調べることができる
7. 手法として、VSFPを導入することは重要である。

## 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

研究分担者 中島 欽一

奈良先端科学技術大学院大学 教授

研究要旨：本年度の研究では、膣栓確認直後から離乳時（生後 28 日）にかけて、マウスにビスフェノール A (BPA) を飲料水により投与し、28 日目の産仔マウス脳切片の免疫染色による解析を行った。その結果、妊娠 14 日目の増殖細胞から分化したニューロンの局在に異常がみられ、また、大脳皮質、特に脳梁におけるアストロサイト数の減少が観察された。

### A. 研究目的

脳・神経系は主要な 3 つの細胞種、ニューロン、アストロサイト及びオリゴデンドロサイトによって構成されるが、これらは共通の神経幹細胞から産生され、互いに密接に連携しながら高度な情報処理機能を発揮する。そのためには胎児期から成体における神経幹細胞から各種細胞への分化・成熟が時空間的に精妙に制御される必要がある。これが破綻した場合、これまでも重度な神経疾患や機能障害に至ることが数多く示されているがその原因の詳細については不明な点が多い。本分担者はこれまで、遺伝子配列変換を伴わずに遺伝子発現を制御する「エピジェネティクス」機構が、神経幹細胞の運命決定に重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。そこで本研究では、細胞に対し DNA メチル化変化などを誘導することが知られる環境化学物質ビスフェノール A (BPA) に着目し、発生-発達期ビスフェノール A 暴露による脳構築異常の解析とその原因を幹細胞制御の観点から明らかにする。

### B. 研究方法

本年度の研究では、膣栓確認直後から離乳時（生後 28 日）にかけて、飲料水（15 ppm）にて BPA をマウスへ与えた。また増殖性細胞をラベルするため、BrdU（100 mg/kg）を妊娠 14 日目マウスへ投与、生後 28 日目に脳を取り出し固定した。40 mm の切片を作成後、増殖細胞マーカー（BrdU）、ニューロンマーカー（NeuN）、アストロサイトマーカー（GFAP、S100b）、に対する抗体を用いて免疫組織染色を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は奈良先端科学技術大学院大学の動物倫理委員会の規定に基づき行うものである。

### C. 研究結果

昨年報告したように、妊娠 6 日目から 15 日目まで BPA に暴露されたマウス胎仔脳では、コントロールマウス脳には、明らかな差は認められなかったものの、膣栓確認直後から BPA を投与した場合、次のような異常がみられた。1) 胎生 14 日目に増殖しておりその後ニューロンへと分化した細胞は BPA 曝露により減少し、皮質内での局在はより分散していた。アストロサイトについては、特に脳梁において、その数の減少が見られた。

### D. 考察

受精後～胎性 3 日にかけて、ゲノム DNA 全体に渡り脱メチル化が生じる。その後体細胞においては、急激な再メチル化が誘導される。昨年度は胎性 6 日目からの投与を行ったが、この時期、体細胞ゲノムは既にメチル化パターンがほぼ確立されており、使用した 15 ppm という BPA 濃度ではメチル化変動を誘導するには不十分だったものと思われる。これを受け、本年度は膣栓確認直後から BPA 投与を行ったため、今回報告するような異常がみられたものと考えられる。さらに、胎生 14 日目終脳由来神経幹細胞を用いた *in vitro* の解析において、BPA 添加によってアストロサイトへの分化抑制

が見られたことから、生後28日目脳で見られたアストロサイト数の減少は、BPAによる神経幹細胞からアストロサイトへの分化が抑制されたためである可能性が示唆された。

#### E. 結論

以上のように、今回BPAは神経幹細胞の分化を攪乱することを示唆する結果が得られた。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

1. 論文発表(本研究に関わる主なもの3編に◎を付けてください)

##### 1) 書籍

該当なし。

##### 2) 雑誌

<原著論文>

1. Saito A., Kanemoto S., Kawasaki N., Asada R., Iwamoto H., Oki M., Miyagi H., Izumi S., Sanosaka T., Nakashima K. & Imaizumi K. Unfolded protein response, activated by OASIS family transcription factors, promotes astrocyte differentiation. **Nature communications** 3, 967 (2012).
2. 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 induced pluripotent stem cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells. **Stem Cells** 30, 1163-1173 (2012).

<総説>

1. 佐野坂司、中島欽一 (2012) 多能性幹細胞からの神経分化 脳神経科学イラストレイテッド (印刷中)

2. 藤元祐介、中島欽一 (2012) ヒトiPS細胞由来神経上皮様幹細胞移植による脊髄損傷治療. 実験医学. Vol. 30 No. 12, 1944-1947
3. 堅田明子、中島欽一 (2012) 幹細胞分化制御の鍵を握るエピジェネティクス. 細胞8, vol. 44, No. 9, 11-14
4. 上菌直弘、松田泰斗、中島欽一 (2012) エピジェネティックな神経幹細胞制御と脊髄損傷治療への応用. Vol. 30, No. 18, 2932-2938

#### 2. 学会発表

(国内学会)

1. 波平昌一<sup>○</sup>、野口浩史、田中友規、佐野坂司、辻村啓太、中島欽一: Role of the maintenance DNA methyltransferase in embryonic neural stem cells, 第85回日本生化学会大会、福岡国際会議場・マリンメッセ福岡、2012年12月14日-16日
2. 藤元祐介、精松昌彦、Anna Falk Austin Smith 小宮節郎、中島欽一: ヒトiPS細胞由来神経上皮様幹細胞移植による脊髄損傷治療、第27回日本整形外科学会基礎学術集会、名古屋国際会議場、2012年10月26-27日
3. 中島欽一: 神経幹細胞移植による損傷脊髄機能の修復、WalkAgain2012 再生医療と脳科学、東京国際交流館、2012年10月6日 (シンポジウム)
4. 中嶋秀行<sup>○</sup>、辻村啓太、入江浩一郎、中島欽一: 神経幹細胞におけるRett症候群原因遺伝子産物MeCP2の機能解析、第35回日本神経科学大会、名古屋国際会議場、2012年9月18-21日
5. 村尾直哉<sup>○</sup>、松田泰斗、古関明彦、波平昌一、中島欽一: マウス脳におけるNP95発現細胞の解析、第35回日本神経科学大会、名古屋国際会議場、2012年9月18-21日
6. 辻村啓太<sup>○</sup>、深尾陽一郎、江頭良明、藤原正幸、入江浩一郎、中嶋秀行、高森茂雄、中島欽一: 発達障害原因因子MeCP2によるmicroRNA生合成を介した神経機能制御、第35回日本神経科学大会、名古屋国際会議場、2012年9月18-21日

7. 石川寛<sup>○</sup>、波平昌一、竹林浩秀、中島欽一：グリア細胞の分化と発達における DNAメチル化の役割、包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ、仙台国際センター、2012年7月24-27日
8. 赤土正一<sup>○</sup>、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：ニューロンの発達及び興奮毒性神経細胞死制御におけるDNMT1の機能解析、包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ、仙台国際センター、2012年7月24-27日
9. 中島欽一<sup>○</sup>：神経系細胞におけるメチル化DNA結合タンパク質MeCP2の新規機能、包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ、仙台国際センター、2012年7月24-27日
10. 武藤哲司、佐野坂司、伊藤慧、中島欽一<sup>○</sup>：発生期神経幹細胞の分可能獲得における酸素濃度の影響、第39回日本毒性学会学術年会、仙台国際センター、2012年7月17日
11. Yuniarti N., Juliandi B., Sanosaka T., Nakashima K.：ANTENATAL EXPOSURE TO SUBEROYLANILIDE HYDROXAMIC ACID PROMOTES NEUROGENESIS AND ALTERS NEURAL PROGENITOR CELL FATE SPECIFICATION IN THE DEVELOPING BRAIN, ISSCR 2012、パシフィコ横浜、2012年6月13-15日
12. Sanosaka T., Namihira M., Nakashima K.：MENINGEAL CELLS INDUCE ASTROCYTE DIFFERENTIATION OF NEURAL STEM CELLS, ISSCR 2012、パシフィコ横浜、2012年6月13-15日
13. Chai M.C., Juliandi B., Sanosaka T., Nakashima K.：IDENTIFICATION OF HDAC-MEDIATED MECHANISMS FOR THE TEMPORAL SWITCHING OF CORTICAL NEURON SPECIFICATION, ISSCR 2012、パシフィコ横浜、2012年6月13-15日
14. Matsuda T., Juliandi B., Murao N., Namihira M., Kawai T., Akira S., Nakashima K.：REGULATION OF ADULT MOUSE NEURAL STEM CELLS BY TLR9 MEDIATED SIGNALING, ISSCR 2012、パシフィコ横浜、2012年6月13-15日 (ポスター)
15. 佐野坂司<sup>○</sup>、波平昌一、中島欽一：Meningeal cells regulate astrocytic differentiation in the embryonic mouse brain、第45回日本発生生物学会・第64回日本細胞生物学会合同大会、神戸国際会議場、2012年5月28-31日
16. 野口浩史<sup>○</sup>、波平昌一、田中友規、佐野坂司、中島欽一：DNA-methyltransferase 1 functions as a suppressor of neuronal differentiation in late-gestational neural stem cells、第45回日本発生生物学会・第64回日本細胞生物学会合同大会、神戸国際会議場、2012年5月28-31日
17. 堅田明子<sup>○</sup>、中島欽一、Paola Sassone-Corsi：ヒストンメチルトランスフェラーゼMLL1は概日リズムを司る時計遺伝子群の発現に必須な場を制御する、第6回日本エピジェネティクス研究会年会、学術総合センター、2012年5月14-15日
18. 村尾直哉<sup>○</sup>、松田泰斗、古関明彦、波平昌一、中島欽一：マウス脳におけるNP95発現細胞の解析、第6回日本エピジェネティクス研究会年会、学術総合センター、2012年5月14-15日
19. 中島欽一<sup>○</sup>：神経幹細胞におけるエピジェネティクス機構を介した遺伝子と取巻く環境の相互作用、第6回日本エピジェネティクス研究会年会、学術総合センター、2012年5月14-15日

<国際学会>

1. Matsuda, T., Murao, N., Juliandi, B., Namihira, M., Kawai, T., Akira, S., **Nakashima, K.**：TLR9-signaling regulates neurogenesis in the adult mouse hippocampus. NEUROSCIENCE 2012, New Orleans, October 13-17, 2012
2. 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. NEUROSCIENCE


- 2012, New Orleans, October 13, 2012
3. **Nakashima, K.:** Interplay between genes and the environment via epigenetic mechanisms in neural stem cells. The 3<sup>rd</sup> Shanghai International Conference of Epigenetics in Development and Diseases/The 7<sup>th</sup> Annual Conference of Asian Epigenome Alliance/Genome Medicine Workshop on Epigenetic(-omic)s in Diseases, Shanghai, China, April 19-22, 2012
- 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  
該当なし。
  2. 実用新案登録  
該当なし。
  3. その他  
特になし

平成23年3月4日  
H24年度種村班班会議  
東京国際フォーラム

## 発生-発達期におけるビスフェノールA 暴露による脳構築異常解析

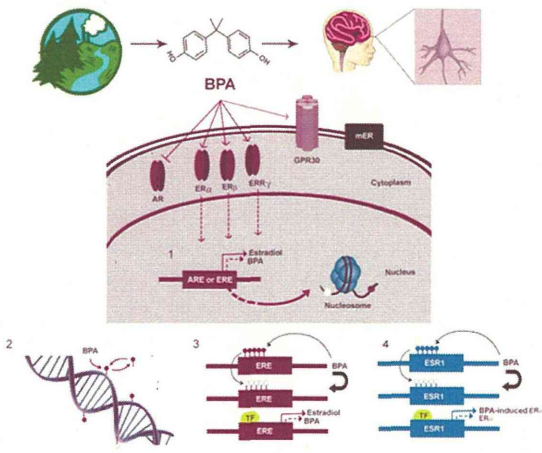
奈良先端科学技術大学院大学  
バイオサイエンス研究科  
分子神経分化制御研究室

中島 欽一



1

### ビスフェノールA (BPA)



- Endocrine disrupting chemicals
- Estrogen agonist, Androgen antagonist
- Wide ranging effects on brain (**neocortical development**), genome (**DNA methylation**) and behavior (**social behavior, learning and memory**)
- (i) weakly activate  $Er\alpha$ ,  $Er\beta$  and  $ERR-\gamma$
- (ii) DNA methylation agent

Wolstholme et al., *Horm Behav.* 2011



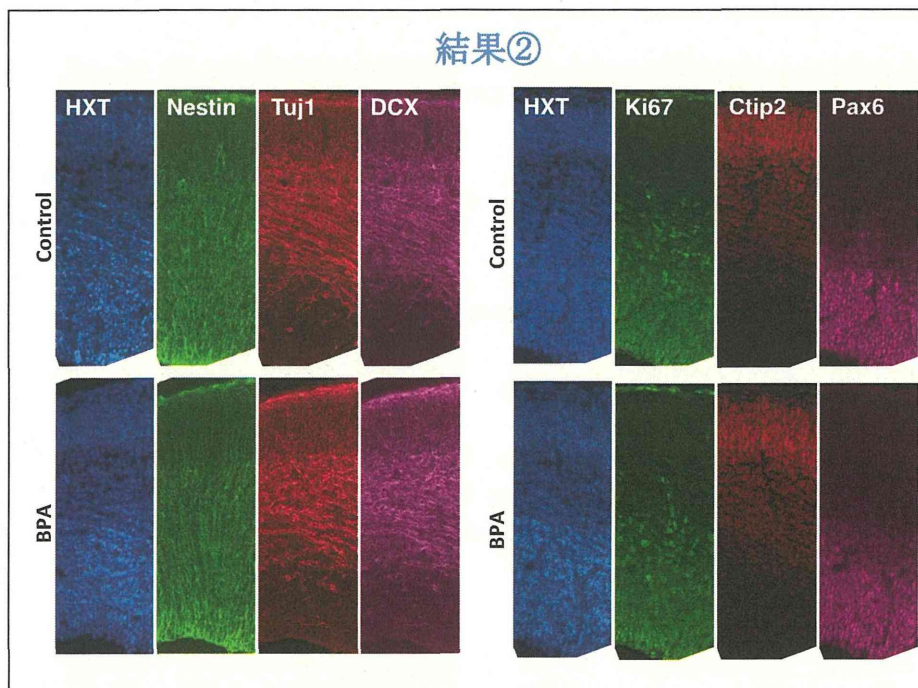
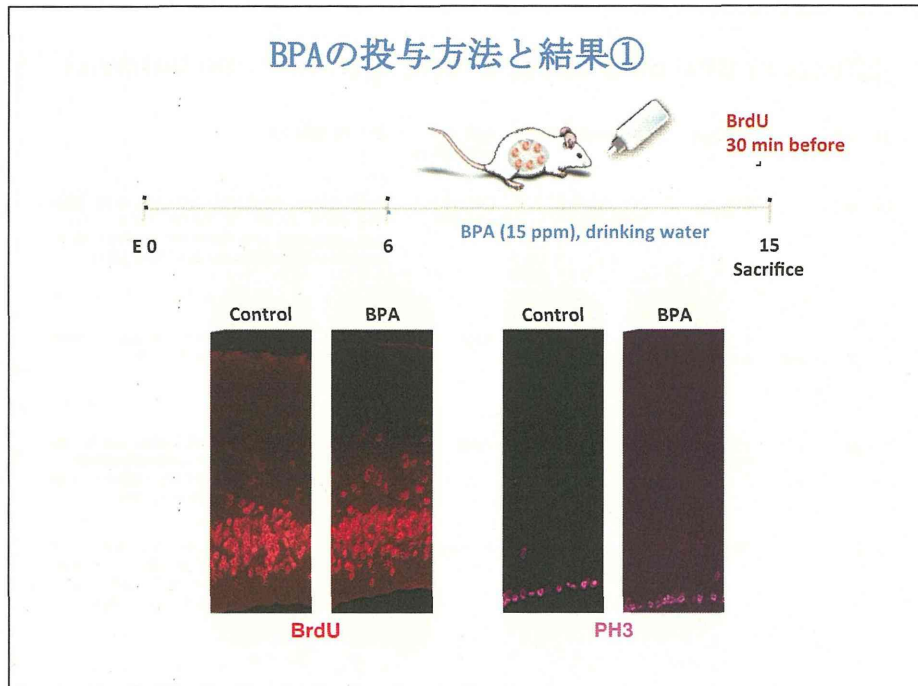
## Effects of BPA on brain structure, genome and behavior

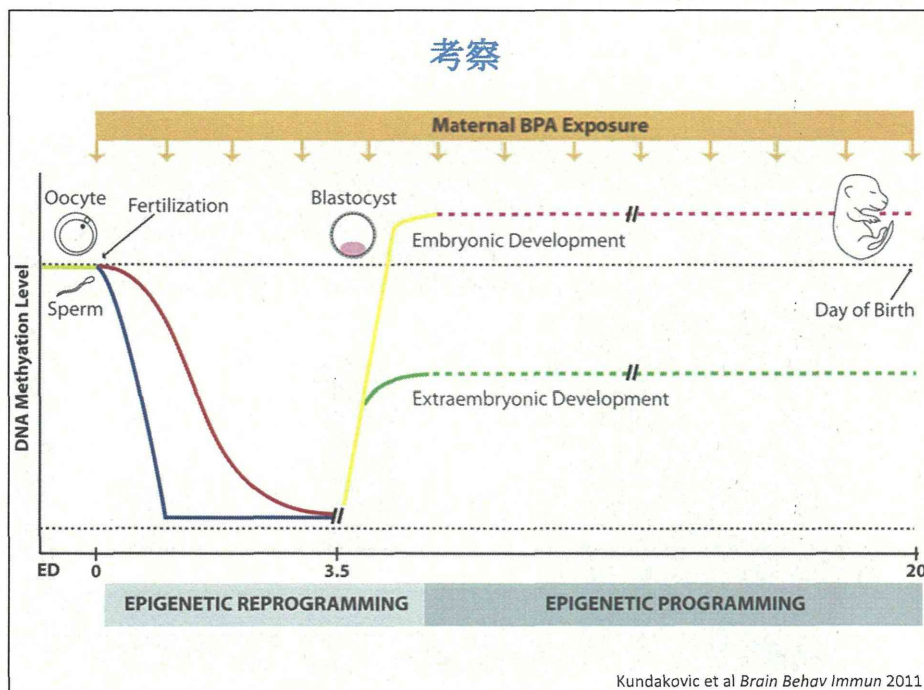
Animal	Dosage	Administration	Age of collection	<i>In vivo</i> effects
Mouse	20 µg/kg	S.c. Injection, E0.5, daily	Embryonic and adult	<b>Accelerated neuronal differentiation and migration</b> during neocortex development, <b>malpositioning and abnormal trajectories</b> of neurons in adult (Nakamura <i>et al.</i> , 2006, 2007).
Rat (ovariectomized)	40, 120, and 400 µg/kg	S.c. Injection, single dose (adult)	Adult	<b>Inhibits estradiol-induced hippocampal synaptogenesis</b> (MacLusky <i>et al.</i> , 2005)
Mouse	0.05, 0.5, 5, 50 mg/kg/d	Oral gavage (E7 – P21)	Adult	<b>Impaired learning-memory</b> , proposed to be related to the concomitant <b>down-regulation</b> of <b>N-methyl-D-aspartate receptor subunits</b> and <b>ERβ</b> in the hippocampus (Xu <i>et al.</i> , 2010).
Mouse	20 µg/kg	S.c. Injection, E0.5, daily	Embryonic	BPA can cause both <b>hyper-</b> and <b>hypomethylation</b> at the promoter-associated CGIs of multiple unique loci, resulting in <b>aberrant gene expression</b> (Yaoi <i>et al.</i> , 2008)

## The big test for BPA

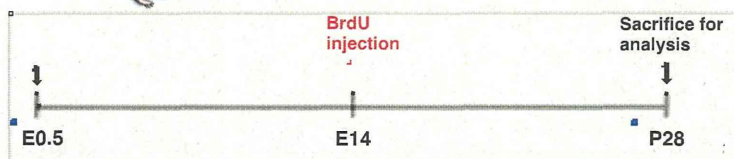
- High degree of variability in the dosing regimen in published reports
- Critical windows of vulnerability: timing of exposure.
- Tissue-specific responses
- **Most controversial issue:** injection of the chemical under the animals' skin, rather than giving it orally, as humans would generally be exposed

(Brendan Borrell, *Nature*, 2010)





### In vivo experimental scheme for BPA administration



E: Embryonic  
P: Postnatal

Route of administration	For BPA-exposed group, BPA stock solution was added into <b>drinking water</b> .
Dosage / Concentration	Final concentration in drinking water: <b>15 ppm</b> , concentration of BPA intake per day/mouse is estimated to be approximately <b>75 µg</b> .
Course of administration	<b>E0.5</b> until <b>P28</b>

