

201329004B

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 23-25 年度 総合研究報告書

研究代表者 種村 健太郎

平成 26(2014)年 5 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 23-25 年度 総合研究報告書

研究代表者 種村 健太郎

平成 26(2014)年 5 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 23-25 年度 総合研究報告書

研究代表者 種村 健太郎

平成 26 (2014) 年 5 月

目 次

I.	総括研究報告書	
	研究の総括	
	種村 健太郎 6
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 41
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 73
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 79
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 122
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 142
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 157
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 162
III.	研究成果の刊行に関する一覧表 179
IV.	研究成果の刊行物・別刷 189

I. 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（H23-化学一般-004）

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、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。

平成 24 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 および BPAF 暴露による遅発中枢影響解析を行った。ER β KO マウスの行動解析から、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が確認された。「物証スコア」のための検討として、網羅的遺伝子発現解析を行った結果、ER α KO マウスの大脳皮質において RAR シグナル伝達が低下し記憶障害が誘発する可能性、また神経活動の活性化及び概日リズムが乱れる可能

性が示唆された。周産期BPA暴露マウスの生後発達過程における解析から、衝動性と考えられる行動量の低下、環境刺激に対する反応性の鈍化経過が認められた。また発達過程における大脳皮質、特に脳梁におけるアストロサイト数の減少が認められた。成熟後には不安関連行動の逸脱と記憶異常が認められ、BPA暴露による行動異常（不安関連行動の逸脱）は、妊娠後期の母動物への低葉酸給餌によって異常度が増すことが示唆された。次世代シーケンサーを用いたエピジェネティック影響解析から、Neuropathic Pain Signaling in Dorsal Horn Neurons, Axonal Guidance Signaling, CREB Signaling in Neurons など神経機能に関連する pathway への影響が示唆された。また、周産期ビスフェノール AF 暴露マウスに、成熟後に行動解析、遺伝子発現解析を行った。その結果、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。また網羅的遺伝子発現解析から、GABA 受容体シグナル影響が推測された。さらに網羅的機能探索のための新規共焦点顕微鏡の開発、新規パターン刺激イメージング顕微鏡の開発、膜電位感受性蛍光タンパクを用いた解析、単離脳での匂い自然刺激解析など新規のより網羅的で非侵襲的な解析手法の開発を開始した。

平成 25 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 および BPAF 暴露による遅発中枢影響解析を行った。ER β KO マウスの行動解析から、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が確認された。「物証スコア」のための検討として、網羅的遺伝子発現解析を行った結果、ER α KO マウス同様に、概日リズムが乱れる可能性が示唆された。周産期 BPAF 暴露マウスの生後発達過程における解析から、その結果、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。また網羅的遺伝子発現解析から、GABA 受容体シグナル影響が推測された。

より測定精度が高い次世代シーケンサーを用いた検討により、結果が再現されると共に、タイリングアレイでは検出出来なかった変化も捉えられた。変化が認められたゲノム領域近傍に存在する遺伝子リストを IPA (Ingenuity Pathway Analysis) 解析した結果、Neuropathic Pain Signaling in Dorsal Horn Neurons, Axonal Guidance Signaling, CREB Signaling in Neurons など神経機能に関連する pathway が抽出された。これらの結果は BPA による DNA メチル化変化が成長後の行動変化に関与する可能性が高まった。さらに網羅的機能探索のための新規共焦点顕微鏡の開発、新規パターン刺激イメージング顕微鏡の開発、膜電位感受性蛍光タンパクを用いた解析、単離脳での匂い自然刺激解析など新規のより網羅的で非侵襲的な解析手法の開発を開始した。

研究代表者および研究分担者（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、標準プロトコールの確立、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、複数のエストロジェン受容体 (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stilbestrol (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 25 年度は、主に 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」の作成、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、異常メカニズム解明) 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的配慮を十分行い、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、明暗往來試験、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（ホールボート試験、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。

平成 24 年度（研究開始2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 および BPAF 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) エストロジェン受容体 (ER) 関連遺伝子
改変マウスとして、雄 ER α 改変マウス、及び
雄 ER β 改変マウスを用いた。いずれも国立医
薬品食品衛生研究所にて独自に作出された
マウスであり、受容体シグナル異常が想定さ
れる。エストロジェン受容体 (ER) 関連遺伝
子改変マウスの行動解析の結果、雄 ER α 改変
マウスに条件付け学習記憶試験における学
習記憶異常が認められた。また、雄 ER β 改変
マウスに明暗往来試験における明所滞在時
間及び明暗往来数の減少と暗所潜在時間の
増加、高架式十字迷路試験における開放部滞
在時間の減少とともに、条件付け学習記憶試
験における学習記憶異常、プレパルス驚愕反
応抑制試験における抑制率の低下が認めら
れた。

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、衝動性と考えら
れる行動量の低下、環境刺激に対する反応性
の鈍化経過が認められた。また発達過程にお
ける大脳皮質、特に脳梁におけるアストロサ
イト数の減少が認められた。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。また、BPA 暴露による行動異常 (不安
関連行動の逸脱) は、妊娠後期の母動物への
低葉酸給餌によって、さらに異常度が増すこ
とが示唆された。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から、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、次世代シーケンサ
ーを用いたエピジェネティック影響解析か
ら、Neuropathic Pain Signaling in Dorsal
Horn Neurons, Axonal Guidance Signaling,

CREB Signaling in Neurons など神経機能に
関連する pathway への影響が示唆された。

3) 発生 - 発達期におけるビスフェノール AF
暴露による遅発中枢影響を明らかにする目
的で、マウスに交配から離乳期まで飲水投与
(妊娠期は経胎盤暴露、授乳期は経母乳暴
露) し、成熟後に行動解析、遺伝子発現解析
を行った。その結果、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。また網羅的遺伝子発現解析から、
GABA 受容体シグナル影響が推測された。

4) 「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による検討を行っ
た結果、ビスフェノール A は急性効果が見ら
れないことからバルブプロ酸の場合と同様に
発達後の行動異常を手がかりに機構解析を
する必要が考えられた。また、網羅的機能探
索のための新規共焦点顕微鏡の開発、新規パ
ターン刺激イメージング顕微鏡の開発、膜電
位感受性蛍光タンパクを用いた解析、単離脳
での匂い自然刺激解析など新規のより網羅
的で非侵襲的な解析手法の開発を開始した。

平成 25 年度 (研究開始 3 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
遺伝子改変マウスマウスを用いた解析、
周産期 BPA および BPAF 暴露による遅発中
枢影響解析を行った。具体的な進捗状況
は以下の通りである。

1) エストロジェン受容体 (ER) 関連遺伝子
改変マウスとして、雄 ER α 改変マウス、及び
雄 ER β 改変マウスを用いた。いずれも国立医

薬品食品衛生研究所にて独自に作出されたマウスであり、受容体シグナル異常が想定される。エストロゲン受容体 (ER) 関連遺伝子改変マウスの行動解析の結果、雄 ER α 改変マウスに条件付け学習記憶試験における学習記憶異常が認められた。また、雄 ER β 改変マウスに明暗往来試験における明所滞在時間及び明暗往来数の減少と暗所潜在時間の増加、高架式十字迷路試験における開放部滞在時間の減少とともに、条件付け学習記憶試験における学習記憶異常、プレパルス驚愕反応抑制試験における抑制率の低下が認められた。

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、衝動性と考えられる行動量の低下、環境刺激に対する反応性の鈍化経過が認められた。また発達過程における大脳皮質、特に脳梁におけるアストロサイト数の減少が認められた。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。また、BPA 暴露による行動異常 (不安関連行動の逸脱) は、妊娠後期の母動物への低葉酸給餌によって、さらに異常度が増すことが示唆された。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から、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、次世代シーケンサーを用いたエピジェネティック影響解析から、Neuropathic Pain Signaling in Dorsal Horn Neurons, Axonal Guidance Signaling, CREB Signaling in Neurons など神経機能に関連する pathway への影響が示唆された。

3) 発生 - 発達期におけるビスフェノール AF 暴露による遅発中枢影響を明らかにする目的で、マウスに交配から離乳期まで飲水投与 (妊娠期は経胎盤暴露、授乳期は経母乳暴露) し、成熟後に行動解析、遺伝子発現解析を行った。その結果、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。また網羅的遺伝子発現解析から、GABA 受容体シグナル影響が推測された。

4) 「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による検討を行った結果、ビスフェノール A は急性効果が見られないことからバルプロ酸の場合と同様に発達後の行動異常を手がかりに機構解析をする必要が考えられた。また、網羅的機能探索のための新規共焦点顕微鏡の開発、新規パターン刺激イメージング顕微鏡の開発、膜電位感受性蛍光タンパクを用いた解析、単離脳での匂い自然刺激解析など新規のより網羅的で非侵襲的な解析手法の開発を開始した。

D. 考察

本研究の結果から、周産期 BPA 類暴露による遅発神経影響として、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。エストロゲン受容体 (ER) 関連遺伝子改変マウスとして用いた雄 ER α 改変マウス、及び雄 ER β 改変マウスの行動様式は、それぞれ「記憶異常モデル」、「統合失調症モデル」マウスの行動様式を包括するものと考えられ、神経作動性化学物質による遅発性の行動異常を基準点との「スコア差」として客観的に記述し評価する方法として、遺伝子改変マウスの利用が有効であることが示された。今後、遺伝子改変マウスのみならず、行動異常誘発化学物質の利用によって、基準点を増やすことによって、「スコア」としての頑強性の向上が望まれる。

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 類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

菅野純 (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

- Kondoh S, Inoue K, Igarashi K, Sugizaki H, Shirode-Fukuda Y, Inoue E, Yu T, Takeuchi JK, Kanno J, Bonewald LF, Imai Y. Estrogen receptor α in osteocytes regulates trabecular bone formation in female mice. *Bone*. 2013 Dec 10;60C:68-77.
- Kanno J, Aisaki K, Igarashi K, Kitajima S, Matsuda N, Morita K, Tsuji M, Moriyama N, Furukawa Y, Otsuka M, Tachihara E, Nakatsu N, Kodama Y. Oral administration of pentachlorophenol induces interferon signaling mRNAs in C57BL/6 male mouse liver. *J Toxicol Sci*. 2013;38(4):643-54.
- Si Y, Inoue K, Igarashi K, Kanno J, Imai Y. Autoimmune regulator, Aire, is a novel regulator of chondrocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 9;437(4):579-584.
- Okuno Y, Ohtake F, Igarashi K, Kanno J, Matsumoto T, Takada I, Kato S, Imai Y. Epigenetic Regulation of Adipogenesis by PHF2 Histone Demethylase. *Diabetes*. 2012 Dec 28. [Epub ahead of print]
- Fujimoto H, Woo GH, 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*. 2012 Aug;34(1):93-100.
- Igarashi K, Kitajima S, Aisaki K, Tanemura K, Taquahashi Y, Moriyama N, Ikeno E, Matsuda N, Saga Y, Blumberg B, Kanno J. 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*. 2012; 37(2): 373-380.
- 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)
- Iwano H, Ujita W, Nishikawa M, Ishii S, Inoue H, Yokota H. Effect of dietary eugenol on xenobiotic metabolism and mediation of UDP-glucuronosyltransferase and cytochrome P450 1A1 expression in rat liver. *Int J Food Sci Nutr*. (2013) in press
- L-type amino acid transporter 1 (LAT1) expression in canine mammary gland tumors. Fukumoto, S., Hanazono, K., Komatsu, T., Iwano, H., Kadosawa, T. and Uchide, T. *J. Vet. Med. Sci*. 75:431-437. (2013.)
- L-type amino acid transporter 1 (LAT1): a new therapeutic target for canine mammary gland tumour. Fukumoto, S., Hanazono, K., Komatsu, T., Ueno, H., Kadosawa, T. Iwano, H. and Uchide, T. *Vet. J*. 198: 164-169. 2013
- A new treatment for human malignant melanoma targeting L-type amino acid transporter 1 (LAT1): a pilot study in a canine model. Fukumoto, S., Hanazono, K., Dah-Renn, FU., Endo, Y., Kadosawa, T., Iwano, H. and Uchide, T. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 439: 103-108. (2013)
- Mycoplasma species isolated from intramammary infection of Japanese dairy cows. Higuchi, H.,

Gondaira, S., Iwano, H., Hirose, K., Nakajima, K., Kawai, K., Hagiwara, K., Tamura, Y., Nagahata, H. *Vet. Rec.* 172:557. (2013)

Effects of vitamin E supplementation on cellular α -tocopherol concentrations of neutrophils in Holstein calves. Higuchi H, Ito E, Iwano H, Oikawa S, Nagahata H. *Can J Vet Res.* 77:120-125. (2013)

Relationship between concentration of lingual antimicrobial peptide and somatic cell count in milk of dairy cows. Kawai, K., Akamatsu, H., Obayashi, T., Nagahata, H., Higuchi, H., Iwano, H., Oshida, T., Yoshimura, Y., Isobe, N. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 15:298-301. (2013)

Terashita Y, Yamagata K, Tokoro M, Itoi F, Wakayama S, Li C, Sato E, Tanemura K, Wakayama T. Latrunculin a treatment prevents abnormal chromosome segregation for successful development of cloned embryos. *PLoS One.* 2013 Oct 24;8(10):e78380.

Lee S, Hiradate Y, Hoshino Y, Tanemura K, Sato E. Quantitative analysis in LC3-II protein in vitro maturation of porcine oocyte. *Zygote.* 2013 Jun 12:1-7.

Yazaki T, Hiradate Y, Hoshino Y, Tanemura K, Sato E. L-carnitine improves hydrogen peroxide-induced impairment of nuclear maturation in porcine oocytes. *Anim Sci J.* 2013 May;84(5):395-402.

Hiraga K, Hoshino Y, Tanemura K, Sato E. Selection of in vitro-matured porcine oocytes based on localization patterns of lipid droplets to evaluate developmental competence. *J Reprod Dev.* 2013;59(4):405-408. (表紙掲載)

Kogasaka Y, Hoshino Y, Hiradate Y, Tanemura K, Sato E. Distribution and association of mTOR with its cofactors, raptor and rictor, in cumulus cells and oocytes during meiotic maturation in mice. *Mol Reprod Dev.* 2013

Apr;80(4):334-348.

Tominaga T., Kajiwara R., and Tominaga Y. VSD imaging method of ex vivo brain preparation *Journal of Neuroscience and Neuroengineering,* 2013, 2, 211-219 [Selected as a Featured Article]

Tominaga T & Tominaga Y. A new non-scanning confocal microscopy module for functional voltage-sensitive dye and Ca²⁺ imaging of neuronal circuit activity *Journal of Neurophysiology,* 2013, 110, 553-561 [Also featured as a Key Scientific Articles on Global Medical Discovery(GMD)]

Yi S.H., He X.B., Rhee Y.H., Park C.H., Takizawa T., Nakashima K. & Lee S.H. Foxa2 acts as a co-activator potentiating expression of the Nurrl-induced DA phenotype via epigenetic regulation. *Development* 141, 761-772 (2014).

Uesaka M., Nishimura O., Go Y., Nakashima K., Agata K. & Imamura T. Bidirectional promoters are the major source of gene activation-associated non-coding RNAs in mammals. *BMC Genomics* 15, 35 (2014).

Yuniarti N., Juliandi B., Muhchy C., Noguchi H., Sanosaka T. & Nakashima K. Prenatal exposure to suberoylanilide hydroxamic acid perturbs corticogenesis. *Neurosci Res* 77, 42-49 (2013).

Urayama S., Semi K., Sanosaka T., Hori Y., Namihira M., Kohyama J., Takizawa T. & Nakashima K. Chromatin accessibility at a STAT3 target site is altered prior to astrocyte differentiation. *Cell Struct Funct* 38, 55-66 (2013).

K. Nose-Ishibashi, J. Watahiki, K. Yamada, M. Maekawa, A. Watanabe, G. Yamamoto, A. Enomoto, Y. Matsuba, T. Nampo, T. Taguchi, Y. Ichikawa,

T. C. Saido, K. Mishima, Y. Yamaguchi, T. Yoshikawa, K. Maki. Soft-diet feeding after weaning affects behavior in mice: potential increase in vulnerability to mental disorders. *Neuroscience*, 263: 2014: 257-268.

S. Ito, I. Ogiwara, K. Yamada, H. Miyamoto, T. K. Hensch, M. Osawa, K. Yamakawa. Mouse with *Nal.1* haploinsufficiency, a model for Dravet syndrome, exhibits lowered sociability and learning impairment. *Neurobiol. Disease*, 49: 2013: 29-40.

M. Kabayama, K. Sakoori, K. Yamada, V. G. Ornthanalai, M. Ota, N. Norimura, K. Katayama, N. P. Murphy, J. Aruga. Rines E3 ubiquitin ligase regulates MAO-A levels and emotional responses. *J. Neurosci.* 33: 2013: 12940-12953

Namhira M. & Nakashima K. Mechanisms of astrocytogenesis in the mammalian brain. *Curr Opin Neurobiol* 23, 921-927 (2013)

MuhChyi C., Juliandi B., Matsuda T. & Nakashima K. Epigenetic regulation of neural stem cell fate during corticogenesis. *Int J Dev Neurosci* 31, 424-433 (2013)

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*, in press

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).

Okuno Y, Ohtake F, Igarashi K, Kanno J, Matsumoto T, Takada I, Kato S, Imai Y. Epigenetic Regulation of Adipogenesis by PHF2 Histone Demethylase. *Diabetes*. 2012 Dec 28. [Epub ahead of print]

Fujimoto H, Woo GH, 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.* 2012 Aug;34(1):93-100.

Igarashi K, Kitajima S, Aisaki K, Tanemura K, Taquahashi Y, Moriyama N, Ikeno E, Matsuda N, Saga Y, Blumberg B, Kanno J. 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.* 2012; 37(2): 373-380.

Komatsu T, Iwano H, Ebisawa M, Watabe A, Endo Y, Hirayama K, Taniyama H, Kadosawa T. Pathological classification of canine mammary tumor based on quantifying mRNA levels of hormonal receptors, SATB1, and snail in tissue and fine needle biopsy samples. *J Vet Med Sci*

(2012), 74(6):719-26

Higuchi, H., Ito, E., Iwano, H., Oikawa, S. and Nagahata, H. Effects of vitamin E supplementation on cellular α -tocopherol concentrations of neutrophils in Holstein calves 2012. *Can J. Vet Res.* (2012),

Fukumoto S, Hanazono K, Komatsu T, Iwano H, Kadosawa T, Uchide T. L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT1) Expression in Canine Mammary Gland Tumors. *J Vet Med Sci.* (2012), Nov 22.

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.* (2012), Feb;145(2):166-71.

Hiradate Y, Hoshino Y, Tanemura K, Sato E. C-type natriuretic peptide inhibits porcine oocyte meiotic resumption. *Zygote.* 2013 Jan 18:1-6.

Ohashi Y, Hoshino Y, Tanemura K, Sato E. Distribution of protein disulfide isomerase during maturation of pig oocytes. *Anim Sci J.* 2013 Jan;84(1):15-22.

Macchiarelli G, Palmerini MG, Nottola SA, Ceconi S, Tanemura K, Sato E. Restoration of corpus luteum angiogenesis in immature hypothyroid rdw rats after thyroxine treatment: morphologic and molecular evidence. *Theriogenology.* 2013 Jan 1;79(1):116-126.

Okuno Y, Ohtake F, Igarashi K, Kanno J, Matsumoto T, Takada I, Kato S, Imai Y. Epigenetic Regulation of Adipogenesis by

PHF2 Histone Demethylase. *Diabetes.* 2012 Dec 28. [Epub ahead of print]

Fujimoto H, Woo GH, 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.* 2012 Aug;34(1):93-100.

Igarashi K, Kitajima S, Aisaki K, Tanemura K, Taquahashi Y, Moriyama N, Ikeno E, Matsuda N, Saga Y, Blumberg B, Kanno J. 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.* 2012; 37(2): 373-380.

Komatsu T, Iwano H, Ebisawa M, Watabe A, Endo Y, Hirayama K, Taniyama H, Kadosawa T. Pathological classification of canine mammary tumor based on quantifying mRNA levels of hormonal receptors, SATB1, and snail in tissue and fine needle biopsy samples. *J Vet Med Sci* (2012), 74(6):719-26

Higuchi, H., Ito, E., Iwano, H., Oikawa, S. and Nagahata, H. Effects of vitamin E supplementation on cellular α -tocopherol concentrations of neutrophils in Holstein calves 2012. *Can J. Vet Res.* (2012),

Fukumoto S, Hanazono K, Komatsu T, Iwano H, Kadosawa T, Uchide T. L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT1) Expression in Canine Mammary Gland Tumors. *J Vet Med Sci.* (2012), Nov 22.

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.* (2012), Feb;145(2):166-71.

Hiradate Y, Hoshino Y, Tanemura K, Sato E. C-type natriuretic peptide inhibits porcine oocyte meiotic resumption. *Zygote.* 2013 Jan 18:1-6.

Ohashi Y, Hoshino Y, Tanemura K, Sato E. Distribution of protein disulfide isomerase during maturation of pig oocytes. *Anim Sci J.* 2013 Jan;84(1):15-22.

Macchiarelli G, Palmerini MG, Nottola SA, Cecconi S, Tanemura K, Sato E. Restoration of corpus luteum angiogenesis in immature hypothyroid rdw rats after thyroxine treatment: morphologic and molecular evidence. *Theriogenology.* 2013 Jan 1;79(1):116-126.

Sakurai M, Sato Y, Mukai K, Suematsu M, Fukui E, Yoshizawa M, Tanemura K, Hoshino Y, Matsumoto H, Sato E. Distribution of tubulointerstitial nephritis antigen-like 1 and structural matrix proteins in mouse embryos during preimplantation development in vivo and in vitro. *Zygote.* 2012 Oct 1:1-7.

Tominaga, T., Tominaga Y. A new non-scanning confocal microscopy module for functional voltage-sensitive dye and Ca²⁺ 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.

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).

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).

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)

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

壺田明子、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

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

本間千尋、鴨志田敦史、山田一之、茂泉俊次郎、鮫島正大、織田充、山川宏、村山正則：2012 現実およびバーチャルリアリティ空間におけるマウ

スの肢刺激を手掛かりとした弁別課題の確立.

日本計測自動制御学会 システム・情報部門学術講演会講演論文集 114-115 頁

Sakurai M, Sato Y, Mukai K, Suematsu M, Fukui E, Yoshizawa M, Tanemura K, Hoshino Y, Matsumoto H, Sato E. Distribution of tubulointerstitial nephritis antigen-like 1 and structural matrix proteins in mouse embryos during preimplantation development in vivo and in vitro. *Zygote*. 2012 Oct 1:1-7.

Tominaga, T., Tominaga Y. A new non-scanning confocal microscopy module for functional voltage-sensitive dye and Ca²⁺ 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.

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).

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).

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*