

201524002B

**厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業**

**個体の成長期における毒性メカニズム
に基づく新規 in vitro 発達神経毒性
評価法に関する研究
(H25-化学-一般-002)**

平成25-27年度総合研究報告書

研究代表者 諫田 泰成

平成 28 (2016) 年 3 月

目 次

I.	総括研究報告	
	個体の成長期における毒性メカニズムに基づく新規 in vitro 発達神経毒性評価法に関する研究-----	1
	諫田 泰成	
II.	分担研究報告	
	ヒト未分化細胞を用いた化学物質の影響-----	5
	諫田 泰成	
	神経堤細胞の機能解析による評価法の開発-----	30
	宇佐見 誠	
	発達成長期神経系細胞新生への化学物質の影響評価-----	43
	佐藤 薫	
	生後神経回路の機能的影響評価指標に関する研究-----	63
	関野 祐子	
	幼若期の神経回路機能に対する化学物質の影響評価-----	81
	上野 晋	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表-----	109
IV.	研究成果の刊行物・別刷 -----	115
V.	化学物質リスク研究事業・班会議内容資料 -----	493
	平成 25 年 8 月 23 日開催	
	平成 26 年 2 月 6~7 日開催 (in vivo 研究グループ)	
	平成 26 年 11 月 1 日開催	
	平成 26 年 12 月 3 日開催	
	平成 27 年 1 月 31 日開催	
	平成 27 年 9 月 12 日開催	

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金 化学物質リスク研究事業

課題番号：H25-化学-一般-002 研究成果概要

個体の成長期における毒性メカニズムに基づく 新規 in vitro 発達神経毒性評価法に関する研究

研究代表者 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部第二室 室長
諫田 泰成

全体要旨

近年、自閉症など発達障害が急速に増加し社会問題となっている。その原因の一つは発達期における化学物質の曝露とされる。発達期の神経系は成体より化学物質に対する感受性が高く、健康被害が長期間あるいは遅発性に生じることが考えられるため、子どもの影響評価法の確立が強く望まれる。

現在、OECDやEPAによって、妊娠ラットを用いる発達神経毒性試験ガイドラインが制定されているが、試験方法が複雑で、試験期間は1年以上、動物数は720にも及び経費も膨大である。さらに、日本ではこのようなガイドラインは未整備である。そこで我々は、現行ガイドラインの欠点を克服し、簡便かつ低コストのin vitro評価系として、各発達期における神経系の毒性評価法、遅発性の神経回路異常による毒性評価法の基盤を開発している。

本研究では、発生毒性が懸念される陽性対照化合物として、遅発性神経毒性が懸念されるバルプロ酸、内分泌かく乱物質トリブチルスズ、有機リン系農薬クロルピリホスの3種類の化合物を選択して、胎生・神経発達期および成熟期（神経回路形成期）において検証した。その結果、作用機序の異なる化学物質に関して、幹細胞から生後神経回路にいたるまでの発達神経毒性を評価できることを明らかにした。従って、上記の方法を毒性メカニズムに基づき、各発達時期に応じた試験法を組み合わせることにより統合的な評価法が有用であることが示された。

研究分担者一覧

諫田泰成（国立衛研・室長）
「ヒト未分化細胞を用いた化学物質の影響」
宇佐見誠（国立衛研・室長）
「神経堤細胞の機能解析による評価法の開発」
佐藤薫（国立衛研・室長）
「発達成長期神経系細胞新生への化学物質の影響評価」
関野祐子（国立衛研・部長）
「生後神経回路の機能的影響評価指標に関する研究」
上野晋（産業医大・教授）
「幼若期の神経回路機能に対する化学物質の影響評価」

研究体制

胎生期と成熟期に分けて in vitro 神経毒性を検証し、統合的に発達期の化学物質毒性評価ができる体制にした。

【胎生・神経発達期】

発生過程に対応した培養標本を用いる試験

幹細胞・神経堤細胞遊走・グリアと神経細胞新生への化合物の直接作用
国衛研(諫田・宇佐見・佐藤)

【成熟期】

神経系の情報処理機能への影響評価

新生期・成熟期の仔脳切片標本によるシナプス機能影響評価
産業医大(上野)・国衛研(関野)

A. 研究目的

発達期中枢神経系は成体組織より化学物質に対する感受性が高く、健康被害が長期間あるいは遅発性に生じることが懸念される。

すでに我々は平成 22～24 年度の化学物質リスク事業「個体の成長期における神経系および肝臓系細胞の機能解析による化学物質の健康影響評価法に関する研究」において、各発達段階における評価系を構築した。

そこで、本研究において、遅発性の神経毒性が懸念されるバルプロ酸、発生毒性が懸念される内分泌かく乱物質トリブチルスズ、有機リン系農薬で神経毒性作用を有するクロルピリホスを研究班共通の化学物質として使用し、当初の計画に従って、我々が独自に構築した「胎生・神経発達期」から「成熟期」までの各発達段階において、in vitro 神経毒性評価を行った。

B. 研究方法

詳細は各分担報告書を参照のこと。

C. 研究結果

以下に示すように、各発達ステージにおいて、作用機序の異なる 3 種類の陽性対照化合物を用いて、神経毒性作用を検出できることを明らかにした。

下記に試験法の一覧表を示す。

胎生・神経発達期の影響評価

【①ヒト未分化細胞の代謝】

バルプロ酸によりヒト iPS 細胞の神経系への分化が亢進した。一方、トリブチルスズやクロルピリホスにより分化が抑制された。ま

た、化学物質の暴露によりヒト iPS 細胞や NT2/D1 細胞のミトコンドリア形態制御機構が破たんし融合因子 mfn1 の分解を伴う ATP 産生が抑制される新規の毒性発現機構を明らかにした。

【②神経堤細胞の遊走】

ラット神経堤細胞遊走実験法により、バルプロ酸は神経堤細胞の遊走を促進すること、トリブチルスズは細胞遊走に影響しない濃度において増殖を抑制することを明らかにした。さらに、クロルピリホスは神経管がある状態で神経堤細胞の遊走を抑制することを見出した。本実験法は、化学物質の神経堤細胞機能阻害が関与する発達神経毒性評価法として有用であると考えられた。

【③発達成長期神経系細胞新生】

前脳矢状切片の脳室下帯に存在する神経幹細胞および前駆細胞を蛍光標識し切片培養を行い、評価化合物を定量的に評価した。バルプロ酸およびヒストン脱アセチル化酵素阻害が新生神経系細胞数増加、新生細胞の突起発達を引き起こすこと、トリブチルスズやクロルピリホスは神経系細胞新生を抑制する可能性が示された。

成熟期の影響評価

【④小脳の突起伸展】

バルプロ酸は伝達物質の放出異常と異常な突起進展を示した。一方、トリブチルスズの伝達物質放出の異常は軽微だったが、行動に大きな変化が観察された。したがって、発達期神経毒性には、行動に加えて伝達物質放出の異常が有用であることが示唆された。現在、クロルピリホスの作用を検討中である。

確立した試験法の一覧

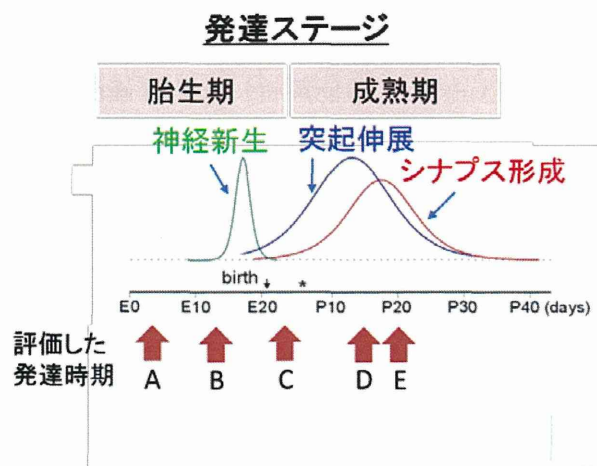
胎生・神経発達期の評価系

- A: ヒト iPS 細胞の神経系分化評価法 (諫田)
- B: ラット神経堤細胞の遊送評価法 (宇佐見)
- C: ラット生後初期の神経新生評価法 (佐藤)

成熟期のシナプス機能評価系

- D: ラット海馬の刺激応答評価法 (上野)
- E: ラット小脳の突起伸展評価法 (関野)

※評価した発達時期は右図の A～E である



【⑤海馬の刺激応答】

バルプロ酸胎生期曝露ラットならびに反回抑制の亢進時期を検討した結果、バルプロ酸の胎生期曝露ラットでは興奮系・抑制系機能の早熟化を、トリブチルスズの胎生期曝露ラットでは興奮系・抑制系機能の発達遅延を見出した。現在、クロルピリホスの作用を検討中である。

得られた結果を以下、表にまとめた。

発達神経毒性の各試験法を組み合わせた統合的な評価結果

バルプロ酸

胎児期

- ・ヒト iPS 細胞の神経分化亢進
- ・ラット神経堤細胞の遊走亢進
- ・ラット生後初期の新生神経細胞の増加

成熟期

- ・ラット小脳の過剰な突起伸展
- ・ラット海馬神経回路の刺激応答性の亢進

トリブチルスズ

胎児期

- ・ヒト iPS 細胞の神経分化抑制
- ・ラット神経堤細胞の増殖抑制
- ・ラット生後初期の新生神経細胞の減少

成熟期

- ・ラット海馬神経回路の刺激応答性の抑制

クロルピリホス

胎児期

- ・ヒト iPS 細胞の神経分化抑制
- ・ラット神経堤細胞の遊走抑制
- ・ラット生後初期の新生神経細胞の減少

D. 考察

本研究において、発達毒性が懸念される陽性対照化合物としてバルプロ酸およびトリブチルスズ、クロルピリホスを用いて、幹細胞から生後・幼若期までの毒性を評価した。バルプロ酸、トリブチルスズ、クロルピリホスはいずれもヒト幹細胞において毒性が認められた。バルプロ酸、トリブチルスズについては妊娠動物の投与により生後早期の海

馬神経回路に異常をきたすことから、我々が開発した各発達期における毒性評価系の有用性を示すことができた。特に興味深いことに、ヒト多能性幹細胞、胎児期の神経堤細胞、生後初期の神経・グリア細胞を用いた神経新生を指標とする *in vitro* 評価系において、いずれの段階でも VPA による亢進、TBT による抑制がみられた点あげられる。*in vivo* と *in vitro* 評価系の結果と同じ方向性であることから、幹細胞の異常が早期の神経回路に影響を与える可能性が示唆される。この結果は、高次機能の予測に *in vitro* の系が有用であると考えられ、さらなるメカニズムの検討が必要である。クロルピリホスは *in vitro* 評価ではよくしえの方向に作用しているが、*in vivo* の作用は現在検討中であり、平行な挙動を示すのか興味深い。さらに、それぞれのエンドポイントにおいて個々の発達期に選択的な毒性発現メカニズムも明らかにすることができた。したがって、上記の方法を毒性メカニズムに基づき、各発達時期に応じた試験法を組み合わせることにより統合的な評価法が湯様であることが示された。

今後は、各発達期における毒性発現メカニズムをもとにして、本評価法の予測性などを検証し、包括的かつ体系化手法として国内および OECD の評価法、試験法として発展させる。

E. 結論

我々が構築した各発達期の神経毒性評価を用いて、発達毒性を有する代表的な化学物質バルプロ酸、トリブチルスズ、クロルピリホスの神経毒性を明らかにした。特に、胎生期として発達過程に対応した培養標本による評価法、成熟期として脳切片標本によるシナプス機能影響評価法の確立を確立した。

今後、既存毒性データとの比較などにより、評価系の有用性・予測性を検証することにより、国内外の評価法/試験法として発展させることを目指す。

F. 研究発表

3年間による成果発表の件数は、論文48件、学会発表156件である。

(詳細は各分担研究者の項目を参照のこと)

II. 分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

ヒト未分化細胞を用いた化学物質の影響

研究代表者 国立医薬品食品衛生研究所薬理部第二室長
諫田 泰成

要旨

発達神経が懸念されており作用が異なる3種類の化学物質を用いてヒト未分化細胞およびヒトiPS細胞に対する作用を検討した。その結果、遅発性神経毒性が懸念されるバルプロ酸の曝露により増殖抑制およびATP産生低下が認められた。この毒性メカニズムとしてミトコンドリアの形態異常によるATP産生の低下を見いだした。さらに、トリブチルスズおよび有機リン系農薬クロスピリホスの曝露によっても同様の結果が得られた。以上の結果から、ヒト未分化細胞・ヒトiPS細胞におけるミトコンドリア機能を指標にして、成長期における化学物質の発達神経毒性を評価できる可能性が示唆された

A. 研究目的

近年、子供の学習障害や自閉症などの発達障害が増加しているが、その原因の一つとして環境中の化学物質の関与が指摘されている。ヒトiPS細胞などの未分化細胞はヒト発生過程を*in vitro*で模倣できることから、化学物質の神経毒性を検出できる可能性があり、ヒト試験系として期待は大きい。しかしながら、評価系としての手法はいまだ確立されていない。

そこで本研究では、化学物質の発達期における毒性を評価するために、複数のヒト未分化細胞を用いて発達神経毒性を評価できるのか検討を行った。評価系の構築には発達毒性が懸念される陽性対照物質および陰性対照物質が必要となる。研究班で共通の陽性対照物質として、催奇形性を有するバルプロ酸VPA、内分泌攪乱作用を有し発達神経毒性が懸念される環境汚染物質トリブチルスズTBT、発達神経毒性を有する有機リン系農薬クロスピリホス（CPF）を使用した。また、陰性対照物質として、無機スズ（TA）を用いた。その結果、ヒト未分化細胞の増殖や分化、エネルギー代謝により評価できることを見出した。今後、さらに化学物質を増やすことにより、有用性、予測性などが明らかにできると考えられる。

2015年よりHESI Neurotoxにより、発達

神経毒性の国際的な検証が開始されている。我々もHESIと共通の化学物質を評価しており、データなどを共有することにより新規試験法としての発展できると期待される。将来的には、OECDのAODや新規試験法として提案することにより、国内外の化学物質の管理など行政に活用できるようにしたい。

B. 研究方法

1. 細胞培養

ヒト未分化細胞株NT2/D1は10%FBSを含むDMEM培地を用いた。また、ヒトiPS細胞株253G1は、TeSR1培地（Stem Cell Technologies）にてフィーダーフリーの条件で培養した。

2. ミトコンドリアの形態

細胞を4%FFAで固定後、ミトコンドリアを50 nMのMitoTracker Red CMXRos（Cell Signaling Technology）およびDAPIにより染色し、confocal顕微鏡（Nikon A1）で観察した。Dot状のミトコンドリアが10%未満の細胞数を数えた。

3. qPCR

TRIzol試薬（Life Technologies）を用いてRNAを単離した。QuantiTect SYBR Green RT-PCR Kit（QIAGEN）、ABI PRISM 7900HTを用いてqPCRを行った。

4. ATP量

ATP量は、ルシフェラーゼ法により計測した。

5. MTT アッセイ

MTT アッセイは CellTiter 96 AQueous One Solution Cell Proliferation Assay (Promega)を用いて行った。

6. ミトコンドリア膜電位

ミトコンドリア膜電位の測定は細胞を JC10 (Life technologies)で染色したのち FACS ARIAI (BD Biosciences)を用いて行った。

7. shRNA を用いたノックダウン

shRNA 導入はレンチウイルス(SIGMA)を用いた。ヒト iPS 細胞にウイルスを moi 1 で感染させた。さらに 24 時間後にピューロマイシンを添加して感染細胞のセレクションを行った。

8. ヒト iPS 細胞の未分化マーカーの発現

未分化マーカーとして、Oct4, Nanog を選択し、BD Pluripotent Stem Cell Transcription Factor Analysis Kitにより染色し、陽性細胞数の割合を FACS で解析した。

9. ヒト iPS 細胞の多分化能の評価

胚様体 (EB) は低接着 96well plate (コーニング)を用いて形成し、bFGF 除去により分化誘導を行った。

10. ヒト iPS 細胞の神経系分化

ヒト iPS 細胞は、Noggin と SB431542 により神経前駆細胞に分化誘導した。外胚葉への誘導効率は Pax6 により評価した。

C. 研究結果

1. バルプロ酸による細胞増殖と ATP 産生の抑制作用

ヒト未分化細胞 NT2/D1 を用いて、バルプロ酸により細胞増殖とエネルギー代謝異常が誘導されることを見出した (図 1)。

2. 細胞内代謝物質に対するトリブチルスズの影響

ヒト NT2/D1 細胞を用いて、細胞内代謝物質の網羅的な解析を行い、トリブチルスズ (TBT) の影響を検討した。その結果、TCA 回路における代謝産物や ATP 産生を抑制することを見出した (図 2)。従って、TBT によりエネルギー代謝異常が誘導されることが示唆された。

3. ミトコンドリア機能に対するトリブチルスズの影響

NT2/D1 細胞における ATP 産生抑制の毒性メカニズムを検討した。図 3 に示すように、100nM の TBT の曝露によりミトコンドリアの形態異常が引き起こされることを見いだした。一方、毒性の低い酢酸スズではそのような形態異常は観察されなかった。また、既存の TBT の標的分子である PPAR γ のアゴニストでもミトコンドリアの形態には異常が認められなかった。TBT の作用はタンパク質合成阻害剤 CHX によって影響を受けなかったことから、ゲノム作用には関係ないことが示唆された。従って、nM オーダーの TBT の曝露により、非ゲノム作用を介するミトコンドリアの形態異常が示唆された。

次に、ミトコンドリアの携帯制御因子の発現について検討した。qPCR により、分裂因子 (Drp1, Fis1) および融合因子 (Mfn1, Mfn2, Opa1) の遺伝子発現には影響が認められなかった (図 4)。非常に興味深いことに、TBT の曝露によって Mfn1/2 のタンパク質分解が誘導されることが示唆された。ポジコンとして、脱共役剤である CCCP を用いたところ、既報と同様に Mfn 分解が認められた。他の分子に関しては、RNA にもタンパク質にもとくに影響を認めなかった。Mfn1, Mfn2 の分解はプロテアソーム阻害剤の MG132 によって抑制された。したがって、TBT による ATP 産生の低下はミトコンドリア分裂タンパク質のコピキチンプロテアソーム系による分解によって誘導されることが示唆された。

以上の NT2/D1 細胞の結果から、トリブチルスズの曝露によりミトコンドリアの形態異常が起きて ATP 産生が低下し、その結果、細胞増殖が抑制されることが示唆された。

4. ヒト iPS 細胞に対する TBT の作用

NT2/D1 細胞で観察された現象が他の未分化細胞においても同様であるのか明らかにするために、ヒト iPS 細胞を用いて検討を行った。まず、ヒト iPS 細胞のフィーダーレス培養を行い、未分化維持を評価した。その結果、iPS 細胞は Oct4 および Nanog を発現していることを確認した (図 5)。また、多分化能を評価するため EB による分化誘導を行ったところ、分化誘導に伴い、Nanog の発現が低下し、外胚葉マーカー Pax6、中

胚葉マーカーBachyury、内胚葉マーカーSox17の発現が亢進した。したがって、ヒトiPS細胞は問題なく培養できていることを確認した。そこで、ヒトiPS細胞に対するTBTの影響を調べたところ、図6に示すように増殖抑制、ATP産生低下がおきていることを見いだした。さらに、神経細胞への分化誘導を行って、TBTの影響を調べた。予備的な結果であるが、100nMのTBTは神経系への分化をほぼ完全に抑制することが示唆された。一方、バルプロ酸によっては分化の亢進が認められた。従って、ヒトiPS細胞によりTBTの毒性作用が検出できる可能性が示唆された。

5. ヒトiPS細胞のミトコンドリア機能に対するTBTの作用

ヒトNT2/D1細胞と同様に、ヒトiPS細胞に対してもミトコンドリア機能に着目した。まず主要な機能であるミトコンドリア膜電位について調べた結果、TBT曝露により膜電位の低下が認められた(図7A)。さらにミトコンドリアの形態異常が引き起こされることも見出した(図7B, C)。一方、TAではこうした影響は認められなかった。したがってTBTによりヒトiPS細胞のミトコンドリア機能低下が引き起こされることが示唆された。

次に、ミトコンドリアの形態制御因子の発現について検討した。qPCRにより、分裂因子(Drp1, Fis1)および融合因子(Mfn1, Mfn2, Opa1)の遺伝子発現には影響が認められなかった(図8A)。非常に興味深いことに、TBTの暴露によってMfn1のタンパク分解が誘導されることが示唆された(図8B, C)。さらにMfn1の関与を調べるためshRNAを用いてノックダウンを行った結果、ミトコンドリア形態異常が観察された(図8D, E, F)。したがって、TBTによるミトコンドリア機能の低下はミトコンドリア融合タンパク質の分解によって誘導されることが示唆された。

Mfn1を特異的に分解するユビキチンリガーゼとしてMARCH5が報告されている(Park et al., Cell Death Dis., 2014)。そこで、TBTのミトコンドリアに対する作用がMARCH5を介しているのか検討するためにノックダウンを行った(図9A)。その結果、TBTのMfn1分解は阻害された(図9B, C)。

したがって、TBTのミトコンドリアに対する作用はMARCH5を介することが示唆された。

以上のiPS細胞の結果から、TBTの曝露によりヒトiPS細胞のミトコンドリアの形態異常が起きてATP産生が低下し、その結果、細胞増殖が抑制されることが示唆された。

2. ヒトNT2/D1細胞に対するCPFの作用

VPA、TBT曝露により観察された現象が他の化学物質でも引き起こされるのか明らかにするために、発達神経毒性が懸念されるクロルピリホス(CPF)を用いてNT2/D1細胞で検討を行った。図10に示すように、CPF曝露により濃度依存的に増殖の低下が認められた。またATP量についても濃度依存的な低下が認められた(図11)。さらにミトコンドリアを観察した結果、30MCPF曝露によりミトコンドリアの形態異常が引き起こされることも見出した(図12)。既報では、CPF曝露したラット皮質ニューロンにおいて、ミトコンドリア軸索輸送の阻害や膜電位の低下が引き起こされる一方で、ATP産生量へは影響しないという報告がある(Middlemore-Risher et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 2011)。本研究では既報と同程度の濃度で、ミトコンドリアの分裂促進に伴いATP量の低下が認められたため、新たな作用と考えられる。この違いは、未分化細胞の方が成熟神経細胞よりも化学物質に対する感受性が高いことが要因にあると考えられる。

以上の結果から、NT2/D1細胞においてTBTと同様に、CPFはミトコンドリア機能異常を介した細胞毒性を引き起こすことが明らかになった。また、未分化株細胞でATP量やミトコンドリア形態といった指標を用いることにより、発達神経毒性を評価できる可能性が示唆された。以上の結果から、NT2/D1細胞においてTBTやバルプロ酸はミトコンドリア毒性をもたらすことが明らかになった(図8)。また、ヒト未分化iPS細胞の利用により増殖や分化などを指標にすることにより、発達神経毒性を評価できる可能性が示唆された。

D. 考察

本研究において、ヒト未分化細胞およびヒ

ト iPS 細胞を用いて、発達神経が懸念される化学物質の影響を評価できることを明らかにした。特に、使用した TBT は 100nM で血中に存在する濃度であり、本アッセイ系は非常に好感度であると考えられた。

今回、NT2/D1 細胞を用いて TBT の毒性作用点として、ミトコンドリアの分裂による ATP 産生の低下を見出した。現在、ATP は Tox21 でも肝臓細胞を用いてミトコンドリア毒性の大規模なバリデーション試験が進行中である。今後、未分化あるいは神経前駆細胞などを持ちいて、他の化学物質の曝露によってミトコンドリアの機能異常が認められるのか検討を加えることにより、化学物質の毒性評価に幅広く応用できるのか明らかになると期待される。

今回、ヒト iPS 細胞を用いて TBT の毒性作用点として、MARCH5-Mfn1 分解を介したミトコンドリアの分裂による ATP 産生の低下を見出した。現在、ATP は Tox21 でも肝臓細胞を用いてミトコンドリア毒性の大規模なバリデーション試験が進行中である。今後、神経などの前駆細胞を持ちいて、他の化学物質の曝露によってミトコンドリアの機能異常が認められるのか検討を加えることにより、化学物質の毒性評価に幅広く応用できるのか明らかになると期待される。

また、本研究では、ヒト NT2/D1 細胞を用いて発達神経毒性が懸念される化学物質である CPF の毒性発現機構についても調べた。その結果、TBT と同様にミトコンドリア毒性を示すことが明らかとなった。したがって、発達神経毒性を示す化学物質の毒性評価においてミトコンドリアの機能異常は有効であり幅広く応用できる可能性が期待される。また、ヒト iPS 細胞の増殖や神経分化が TBT により抑制され、逆に VPA では亢進することを新たに見出した。今後、増殖分化のメカニズムを明らかにすることは他の化学物質への応用を進める上でも非常に重要である。

最近、メチル水銀の毒性をヒト iPS/ES 細胞で評価できる試みが報告されているが (He et al., Toxicol Lett, 2012)、どこまで動物実験の代替できるのか、ヒトにおける毒性を予測できるのかはほとんど明らかになっていない。今後も被験物質を増やしヒト iPS 細胞をはじめとした未分化細胞を用い

ることで、ミトコンドリアを指標とした毒性マーカーの探索や評価法の検討を行う。特にスループット性の高い手法を開発し、簡便で再現性のある評価法の確立を目指す。

2015 年より HESI Neurotox により、発達神経毒性の国際的な検証が開始されている。我々も HESI と共通の化学物質を評価しており、データなどを共有することにより新規試験法としての発展できると期待される。将来的には、OECD の AOD や新規試験法として提案することにより「究極のヒト代替法試験」への道を開き、国内外の化学物質の管理など行政に活用できるようにしたい。

E. 結論

ヒト未分化細胞およびヒト iPS 細胞の増殖や分化、ミトコンドリア機能を指標とすることにより、成長期における化学物質の発達神経毒性を評価できる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

英文

- [1] Ishida K., Kotake Y., Miyara M., Aoki K., Sanoh S., Kanda Y., Ohta S. "Involvement of GluR2 decrease in lead-induced neuronal cell death." J. Toxicol. Sci. (2013) 38:513-21 (日本毒性学会田邊賞受賞論文)
- [2] Yamada S., Kotake Y., Sekino Y., Kanda Y. "AMP-activated protein kinase-mediated glucose transport as a novel target of tributyltin in human embryonic carcinoma cells" Metallomics (2013) 5:484-91 (第 3 回メタロミクス研究フォーラム若手奨励賞受賞論文)
- [3] Kanda Y. Cancer Stem Cells - Fact or Fiction? (Chapter1). Role of Cancer Stem Cells in Cancer Biology and Therapy. CRC Press (2013).
- [4] Nakamura Y., Matsuo J., Miyamoto N., Ojima A., Ando K., Kanda Y., Sawada K., Sugiyama A., Sekino Y. Standardization of testing methods with iPS derived cardiomyocytes for evaluating drug-induced repolarization delay. *Journal of*

- Pharmaceutical Sciences* 124:494-501 (2014).
- [5] Yamada S., Kotake Y., Demizu Y., Kurihara M., Sekino Y. and Kanda Y. "Isocitrate dehydrogenase 3 as a novel target of tributyltin in human embryonic carcinoma cells." *Sci. Rep.* (2014) 4: 5952
- [6] Nagakubo T., Demizu Y., Kanda Y., Misawa T., Shoda T., Okuhira K., Sekino Y., Naito M., Kurihara M. Development of cell-penetrating R7 fragment-conjugated helical peptides as inhibitors of estrogen receptor-mediated transcription. *Bioconjugate Chemistry* 25, 1921–1924 (2014).
- [7] Hirata N., Yamada S., Shoda T., Kurihara M., Sekino Y., Kanda Y. "Sphingosine-1-phosphate promotes expansion of cancer stem cells via S1PR3 by a ligand-independent Notch activation" *Nature Commun.* (2014) 5:4806
- [8] Hayakawa T., Kunihiro T., Ando T., Kobayashi S., Matsui E., Yada H., Kanda Y., Kurokawa J., Furukawa T. "Image-based evaluation of contraction-relaxation kinetics of human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: correlation and complementarity with extracellular electrophysiology." *J. Mol. Cell. Cardiol.* (2014) 77:178-91
- [9] Hiyoshi H., Goto N., Tsuchiya M., Iida K., Nakajima Y., Hirata N., Kanda Y., Nagasawa K., Yanagisawa J. "YL-109 is a novel antitumor agent suppressing triple-negative breast cancer progression by inducing ubiquitin ligase CHIP." *Sci. Rep.* (2014) 4:7095.
- [10] Tsuchiya M., Nakajima Y., Hirata N., Morishita T., Kishimoto H., Kanda Y., Kimura K. Ubiquitin ligase CHIP suppresses cancer stem cell properties in a population of breast cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 452:928-32 (2014).
- [11] Kanda Y. Assessment of cigarette smoking toxicity using cancer stem cells. Nova Science Publishers (2014).
- [12] Yosuke Demizu, Takashi Misawa, Takaya Nagakubo, Yasunari Kanda, Keiichiro Okuhira, Yuko Sekino, Mikihiro Naito, Masaaki Kurihara. Structural development of stabilized helical peptides as inhibitors of estrogen receptor (ER)-mediated transcription. *Bioorg.Med.Chem.* 23:4132-8 (2015).
- [13] Asakura K, Hayashi S, Ojima A, Taniguchi T, Miyamoto N, Nakamori C, Nagasawa C, Kitamura T, Osada T, Honnda Y, Kasai C, Ando H, Kanda Y, Sekino Y, Sawada K. Improvement of acquisition and analysis methods in multi-electrode array experiments with iPS cell-derived cardiomyocyte. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* (2015)
- [14] Yamada S., Kotake Y., Nakano M., Sekino Y. and Kanda Y.* Tributyltin induces mitochondrial fission through NAD-IDH dependent mitofusin degradation in human embryonic carcinoma cells. *Metallomics* 7:1240-6 (2015). *C.A.
- [15] Hirata N., Yamada S., Asanagi M., Sekino Y. and Kanda Y.* Nicotine induces mitochondrial fission through mitofusin degradation in human multipotent embryonic carcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 470:300-5 (2016).
- [16] Asanagi M., Yamada S., Hirata N, Itagaki H., Kotake Y., Sekino Y. Kanda Y.* Tributyltin induces G2/M cell cycle arrest via NAD⁺-dependent isocitrate dehydrogenase in human embryonic carcinoma cells. *J. Toxicol. Sci.* (in press). *C.A.

和文

- [1] 関野祐子、佐藤薫、諫田泰成、石田誠一：ヒト iPS 分化細胞を利用した医薬品のヒト特異的有害反応評価系の開発・標準化、国立医薬品食品衛生研究所報告、131: 25-34. (2013)
- [2] 諫田泰成、再生心筋細胞を用いた安全性薬理評価系の開発、再生医療における臨床研究と製品開発、p572-576、技術情報協会 (2013).
- [3] 諫田泰成、ヒト iPS 細胞から心筋細胞への分化誘導法、日本薬理学雑誌、141: 32-36 (2013).
- [4] 諫田泰成、ヒト iPS 細胞を用いた心毒性試験の現状と課題、谷本学校毒性質問箱 16: p91-94 (2014).
- [5] 諫田泰成、ヒト iPS 細胞を用いた成熟心筋細胞の開発、心電図、34, 306-309 (2014)
- [6] 澤田光平、松尾純子、長田智治、吉田善紀、白尾智明、佐藤薫、諫田泰成、関野祐子：霧島会議 Stem Cell Safety Pharmacology Working Group まとめ—ヒト ES/iPS 細胞由来心筋細胞を用いた不整脈作用検出とその課題—、心電図 34:306-9 (2014).
- [7] 諫田泰成、癌幹細胞の受容体を標的とした創薬の可能性、日本薬理学雑誌 144:17-21 (2014).
- [8] 平田尚也、諫田泰成：癌幹細胞の解析モデルと創薬への応用、CBI 学会誌 (2015).
- [9] 芦原貴司、黒川洵子、諫田泰成、原口亮、稲田慎、中沢一雄、堀江稔. ヒト iPS 細胞由来心筋細胞シートの不整脈研究への応用可能性：in silico 不整脈学の観点から. 生体医工学, 53(3), 100-105. 2015.
- [10] 山田茂、諫田泰成、幹細胞と発達神経毒性、日本薬理学雑誌 146:171-3 (2015).
- [11] 諫田泰成：癌幹細胞の創薬応用、技術情報協会 (in press).
- [12] 諫田泰成、芦原貴司、黒川洵子：ヒト iPS 細胞から成熟した心筋細胞の開発と安全性評価への応用、日本薬理学雑誌 (in press)

2. 学会発表

国内学会

1. 平田尚也、山田茂、関野祐子、諫田泰成：ADAM17 mediates cancer stem cell phenotype in MCF-7 cells、第 11 回幹細胞シンポジウム、東京 (2013)
2. 諫田泰成：第 40 回日本毒性学会シンポジウム「ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた安全性薬理試験の開発」(2013)
3. 山田茂、古武弥一郎、関野祐子、諫田泰成：ヒト胎児性癌細胞のエネルギー産生に対する有機スズ化合物の影響、第 128 回日本薬理学会関東部会、東京、2013.07.14.
4. 平田尚也、山田茂、関野祐子、諫田泰成：NO/sGC/cGMP 経路を介した乳癌幹細胞の増殖、第 86 回日本生化学会、横浜 (2013)
5. 石田慶士、古武弥一郎、宮良政嗣、青木香織、佐能正剛、諫田泰成、太田茂：グルタミン酸受容体が関与する鉛の神経毒性メカニズムの解明、フォーラム 2013：衛生薬学・環境トキシコロジー、名古屋 (2013)
6. 諫田泰成：癌幹細胞を標的とした創薬の可能性、第 36 回生物工学会、広島 (2013)
7. 諫田泰成：メタロバイオサイエンス研究会 2013、メタボロミクスによる有機スズの新たな毒性メカニズム、静岡 (2013)
8. 平田尚也、諫田泰成：In vitro および in vivo における mammosphere の増殖に対するニコチンの影響、第 72 回日本癌学会学術総会、横浜 (2013)
9. 黒川洵子、李敏、諫田泰成、関野祐子、古川哲史：ヒト iPS 由来心筋細胞を用いた心臓毒性評価系の構築、第 30 回心電学会、青森 (2013)
10. 平田尚也、山田茂、関野祐子、諫田泰成：スフィンゴシン 1 リン酸受容体 S1PR3 を介した乳癌幹細胞の増殖機構、第 129 回日本薬理学会関東部会、東京 (2013)
11. 諫田泰成：細胞アッセイ研究会、「ヒト iPS 細胞由来分化細胞の標準化と創薬への応用」東京 (2013)
12. 黒川洵子、李敏、諫田泰成、芦原貴司、関野祐子、古川哲史：ヒト iPS 由来心筋細胞を用いた薬剤誘発性不整脈の研究、生

- 理研研究会、岡崎 (2013)
13. 山田茂、古武弥一郎、関野祐子、諫田泰成：トリブチルスズの新規標的分子 IDH3 の同定、第 36 回分子生物学会、神戸 (2013)
 14. 黒川洵子、諫田泰成、古川哲史：iPS 心筋を用いた心機能評価、第 23 回日本循環薬理学会、福岡 (2013)
 15. 諫田泰成：Development of an in vitro cardiac safety testing using human iPS-cell derived mature cardiomyocytes、第 1 回心臓安全性に関するシンクタンクミーティング 2014 in 霧島 (2014)
 16. 諫田泰成：ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた安全性評価法の現状と今後の展望、厚生労働省公開シンポジウム、東京 (2014)
 17. 高橋和也、早川智広、國弘威、辰田寛和、松居恵理子、矢田博昭、諫田泰成、黒川洵子、古川哲史：イメージングによる培養心筋細胞の拍動伝播評価、第 5 回日本安全性薬理研究会、東京 (2014)
 18. 中村裕二、松尾純子、宮本憲優、小島敦子、安東賢太郎、諫田泰成、澤田光平、杉山篤、関野祐子：Assessment of testing methods of the drug-induced repolarization delay and arrhythmias in an iPS-derived cardiomyocytes sheet: Multi-site validation study、第 5 回日本安全性薬理研究会、東京 (2014)
 19. 諫田泰成：ヒューマンサイエンス振興財団—開発振興/規制基準合同委員会、ヒト iPS 細胞を用いた心毒性評価の現状と課題 (2014)
 20. 平田尚也、山田茂、関野祐子、諫田泰成：乳癌幹細胞の増殖に対するスフィンゴシン 1 リン酸受容体 S1PR3 の影響、第 13 回日本再生医療学会、京都 (2014)
 21. 平田尚也、山田茂、正田卓司、栗原正明、関野祐子、諫田泰成：S1PR3 は乳癌幹細胞に対する新規標的分子である、第 87 回日本薬理学会、仙台 (2014)
 22. 山田茂、古武弥一郎、関野祐子、諫田泰成：メタボロミクスによる有機スズの新規標的分子 IDH3 の同定、第 87 回日本薬理学会、仙台 (2014)
 23. 麻薙美紀、山田茂、平田尚也、板垣宏、関野祐子、諫田泰成：有機スズ化合物のミトコンドリア機能に対する影響、第 87 回日本薬理学会、仙台 (2014)
 24. 李敏、諫田泰成、芦原貴司、笹野哲郎、関野祐子、古川哲史、黒川洵子：ヒト iPS 由来心筋を用いた薬物誘発性 QT 延長に対する新規 in vitro 評価系、第 87 回日本薬理学会、仙台 (2014)
 25. 藤塚美紀、黒川洵子、鳥野初萌、中井雄二、永森収志、金井好克、諫田泰成、松居恵理子、古川哲史：ヒト iPS 由来心筋細胞の収縮に対する基質硬度の影響、第 87 回日本薬理学会、仙台 (2014)
 26. 中村裕二、松尾純子、宮本憲優、小島敦子、安東賢太郎、諫田泰成、澤田光平、杉山篤、関野祐子：iPS 細胞由来心筋細胞シートを用いた薬物性再分極遅延評価法の分析：多施設間バリデーション、第 87 回日本薬理学会、仙台 (2014)
 27. 諫田泰成：第 87 回日本薬理学会、ヒト iPS 細胞由来の成熟心筋細胞の開発—実用化に向けて、仙台 (2014)
 28. 長久保貴哉、出水庸介、佐藤由紀子、諫田泰成、奥平桂一郎、関野祐子、内藤幹彦、栗原正明：エストロゲン受容体転写阻害ペプチドの創製、日本薬学会、熊本 (2014)
 29. 諫田泰成：ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた安全性薬理試験の現状と課題、PMDA 研修 (2014.04)
 30. 平田尚也、山田茂、関野祐子、諫田泰成：Sphingosine-1-phosphate induced cancer stem cell proliferation via a ligand-independent Notch activation. 第 12 回幹細胞シンポジウム、九州 (2014.05)
 31. 山田茂、麻薙美紀、古武 弥一郎、関野祐子、諫田泰成：ヒト胎児性癌細胞の細胞周期に対するトリブチルスズの影響、第 41 回日本毒性学会、神戸 (2014.07)
 32. 黒川洵子、古川哲史、関野祐子、諫田泰成：ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた新規心毒性評価系、第 41 回日本毒性学会、神戸 (2014.07)
 33. 麻薙美紀、山田茂、板垣宏、関野祐子、諫田泰成：有機スズ化合物による NT2/D1 細胞の G2/M 期停止メカニズムの解析、第 130 回日本薬理学会関東部会、東京 (2014.07)

34. 李敏、林英里奈、諫田泰成、関野祐子、古川哲史、黒川洵子：ペーシング可能なヒト iPS 細胞由来心筋標本の開発、第 130 回日本薬理学会関東部会、東京 (2014.07)
35. 黒川洵子、古川哲史、関野祐子、諫田泰成：ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた新規心毒性評価系、第 41 回日本毒性学会シンポジウム、神戸 (2014.07)
36. 諫田泰成：ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた安全性評価法の現状と将来の展望、第 41 回日本毒性学会シンポジウム、神戸 (2014.07)
37. 黒川洵子、李敏、諫田泰成、芦原貴司、関野祐子、古川哲史：ヒト iPS 由来心筋細胞を用いた新規心毒性評価法の開発、生理研研究会、岡崎 (2014.09)
38. 麻薙美紀、山田茂、古武弥一郎、板垣宏、関野祐子、諫田泰成：有機スズ化合物による IDH3 を介した G2/M 期停止のメカニズム、筑波、フォーラム 2014：衛生薬学・環境トキシコロジー (2014.09)
39. 石田慶士、古武弥一郎、青木香織、瀧下智子、諫田泰成、太田茂：トリブチルスズによる核呼吸因子-1 (NRF-1) 阻害を介した GluR2 発現減少、第 36 回日本生物学的精神医学会第 57 回日本神経化学会大会、奈良 (2014.09)
40. 平田尚也、諫田泰成：グリオーマ幹細胞の増殖に対するスフィンゴシン 1 リン酸の影響癌学会、横浜 (2014.09)
41. 長久保貴哉、出水庸介、三澤隆史、佐藤由紀子、諫田泰成、奥平桂一郎、関野祐子、内藤幹彦、栗原正明：エストロゲン受容体転写阻害能を有するペプチドの創製、日本薬学会関東支部 (2014.10)
42. 平田尚也、山田茂、正田卓司、栗原正明、関野裕子、諫田泰成：スフィンゴシン 1 リン酸と Notch のクロストークによる乳癌幹細胞の増殖機構、第 131 回日本薬理学会関東部会 (2014.10) (若手優秀発表賞受賞)
43. 黒川洵子、芦原貴司、諫田泰成：Evaluation of drug-induced QT-prolongation in human iPS-derived cardiomyocytes、第 87 回日本生化学会シンポジウム、京都 (2014.10)
44. 諫田泰成、関野祐子、古川哲史、黒川洵子：Role of substrate rigidity on function in human iPS cell-derived cardiomyocytes. 第 87 回日本生化学会シンポジウム、京都 (2014.10)
45. 諫田泰成、関野祐子：in vitro cardiac safety testing using iPS cells、第 5 回 DIA cardiac safety workshop (2014.10)
46. 平田尚也、山田茂、正田卓司、栗原正明、関野祐子、諫田泰成：A novel role of sphingosine-1-phosphate receptor in proliferation of breast cancer stem cells. CBI 学会 2014 年大会、東京 (2014.10) (最優秀ポスター賞受賞！)
47. 藤塚美紀、中井雄治、諫田泰成、永森收志、金井好克、古川哲史、黒川洵子：Effects of substrate elasticity on gene expression profiles of human iPS-derived cardiomyocytes、CBI 学会 2014 年大会、東京 (2014.10)
48. 山田茂、古武弥一郎、関野祐子、諫田泰成：細胞内代謝を介したトリブチルスズの新規毒性メカニズム、第 4 回メタロミクス研究フォーラム、東京 (2014.11)
49. 石田慶士、古武弥一郎、青木香織、瀧下智子、木村朋紀、諫田泰成、太田茂：トリブチルスズによる NRF-1 転写活性低下を介した神経細胞脆弱化、第 4 回メタロミクス研究フォーラム、東京 (2014.11)
50. 出水庸介、長久保貴哉、三澤隆史、佐藤由紀子、諫田泰成、奥平桂一郎、関野裕子、内藤幹彦、栗原正明：第 40 回反応と合成の進歩シンポジウム、仙台 (2014.11)
51. 平田尚也、関野祐子、諫田泰成：前立腺癌幹細胞の増殖に対するスフィンゴシン 1 リン酸の影響、第 37 回日本分子生物学会、横浜 (2014.11)
52. 山田茂、麻薙美紀、関野祐子、諫田泰成：トリブチルスズによる非ゲノム作用を介した増殖抑制メカニズム分子生物学会、横浜 (2014.11)
53. 三澤隆史、長久保貴哉、出水庸介、佐藤由紀子、諫田泰成、奥平桂一郎、関野祐子、内藤幹彦、栗原正明：ヘリカルペプチドを用いたエストロゲン受容体転写

- 阻害剤の創製、第 32 回メディシナルケミストリーシンポジウム、神戸 (2014.11)
54. 諫田泰成: ヒト iPS 細胞を用いた新たな安全性薬理試験の開発、日本実験動物代替法学会 第 27 回大会シンポジウム、横浜 (2014.12)
 55. 麻薙美紀、山田茂、板垣宏、関野祐子、諫田泰成: ヒト細胞のエネルギー代謝機能に基づく *in vitro* 発達神経毒性評価法の試み、日本動物実験代替法学会第 27 回大会 (2014.12) (優秀ポスター受賞)
 56. 諫田泰成: 安全性薬理試験へのヒト iPS 細胞由来神経細胞の応用—催不正 γ 膜評価は可能か? 第 11 回医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラムヒト iPS 細胞を利用した安全性薬理試験法の実現にむけて (2014, 12, 東京)
 57. 諫田泰成: ヒト iPS 細胞を用いた安全性薬理試験の開発、東京理科大学トランスレーショナルリサーチセンター第 1 回公開セミナー、東京 (2015.01)
 58. 平田尚也、関野祐子、諫田泰成: スフィンゴシン 1 リン酸受容体 S1PR3 を介したグリオーマ幹細胞の増殖、第 14 回日本再生医療学会、横浜 (2015.03)
 59. Yaxiaer Yalikun、諫田泰成、森島圭祐: 微小旋回水流を用いた細胞の 3 次元回転操作方法に関する研究、第 14 回日本再生医療学会、横浜 (2015.03)
 60. 諫田泰成: スフィンゴシン 1 リン酸による癌幹細胞の新たな増殖制御機構、第 88 回日本薬理学会シンポジウム、名古屋 (2015.03)
 61. 平田尚也、関野祐子、諫田泰成: S1P 刺激によって前立腺癌幹細胞の増殖が誘導される、第 88 回日本薬理学会、名古屋 (2015.03)
 62. 山田茂、古武弥一郎、中野瑞穂、関野祐子、諫田泰成: ヒト未分化細胞において有機スズは IDH3 を介してミトコンドリアの機能異常を引き起こす、第 88 回日本薬理学会、名古屋 (2015.03)
 63. 麻薙美紀、山田茂、板垣宏、関野祐子、諫田泰成: 有機スズ化合物による IDH3 を介した G2/M 期停止、第 88 回日本薬理学会、名古屋 (2015.03)
 64. 松尾純子、宮本 憲優、小島敦子、諫田泰成、澤田光平、有村由貴子、鈴木晶子、吉福智子、関野祐子: 薬物の心筋再分極過程に対する作用: ヒト iPS 細胞由来心筋細胞シートでの評価、第 88 回日本薬理学会、名古屋 (2015.03)
 65. 黒川洵子、林英里奈、芦原貴司、諫田泰成、関野祐子、古川哲史: ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた QT 延長薬剤の頻度依存性の解析、第 92 回日本生理学会大会、神戸 (2015.03)
 66. 諫田泰成: ヒト未分化細胞の代謝における有機スズの新たな毒性メカニズム、日本薬学会第 135 年会、神戸 (2015.03)
 67. 出水庸介、長久保貴哉、三澤隆史、諫田泰成、奥平桂一郎、関野祐子、内藤幹彦、栗原正明: エストロゲン受容体転写活性化阻害ペプチドの創製、日本薬学会第 135 年会、神戸 (2015.03)
 68. 田中克哉、依岡桃子、三澤隆史、諫田泰成、関野祐子、出水庸介、栗原正明: 非対称ジフェニルメタンを基本骨格とするエストロゲン受容体アンタゴニストの設計と合成、日本薬学会第 135 年会、神戸 (2015.03)
 69. 田中早紀、古武弥一郎、佐能正剛、奥田勝博、諫田泰成、太田茂: 環境汚染化学物質トリブチルスズによるゲノムワイドな低メチル化、日本薬学会第 135 年会、神戸 (2015.03)
 70. Kurokawa J, Fujizuka M, Hayashi E, Ashihara T, Kanda Y, Sekino Y, Furukawa T. Effects of hydrogel culture substrate on contractile properties and gene expression profiles of human iPS cell-derived cardiomyocytes. 日本薬学会第 135 年会、神戸 (2015.03)
 71. 諫田泰成: リゾリン脂質による乳癌幹細胞の増殖制御と創薬応用、第 136 回日本薬学会シンポジウム、20160328
 72. 諫田泰成: ヒト iPS 細胞技術を用いた次世代心臓安全性評価: JiCSA の取り組み、第 89 回日本薬理学会年会、バシフィコ横浜、東京、20160310
 73. 諫田泰成: ヒト iPS 細胞由来の成熟心筋細胞の作製と標準化に向けた次世代評価法の開発、第 3 回霧島会議、東京、

- 20160218
74. 諫田泰成: ヒト iPS 細胞由来心筋細胞による新しい安全性評価法の大規模検証実験: JiCSA の取り組み. 第 1 回 AMED RS シンポジウム, 読売大手町ホール, 東京, 20150201
 75. 諫田泰成: GPCR によるリガンド非依存的な Notch シグナルの活性化機構, BMB2015 ワークショップ, 横浜, 20151202
 76. 諫田泰成: ヒト未分化細胞のエネルギー代謝に基づく環境ホルモンの毒性評価, 第 18 回環境ホルモン学会シンポジウム, 栃木, 20151210
 77. 諫田泰成: ヒト iPS 細胞を利用した医薬品の心臓安全性評価系の開発と国際標準化, 安全性評価研究会・夏のフォーラム 2015, 八ヶ岳, 20150911
 78. 関野祐子, 諫田泰成: ヒト iPS 心筋細胞を利用した催不整脈性リスク評価と ICHS7B 改訂に関する国際動向について, 第 42 回 日本毒性学会学術年会, 金沢, 201507
 79. Naoya Hirata, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Yuko Sekino, Yasunari Kanda. Estrogen induces proliferation of breast cancer stem cells via NO/sGC/cGMP signaling pathway. 第 13 回幹細胞シンポジウム, 東京, 201505
 80. 出水庸介, 三澤隆史, 長久保貴哉, 諫田泰成, 奥平桂一郎, 関野祐子, 内藤幹彦, 栗原正明: エストロゲン受容体転写活性化阻害能を有するヘリカルペプチドの開発, 第 10 回ケミカルバイオロジー学会, 仙台, 201506
 81. 諫田泰成: エストロゲンによる NO シグナルを介した乳癌幹細胞の増殖機構, 第 14 回生命科学研究会, 三浦市, 201506
 82. 山田茂, 古武 弥一郎, 中野瑞穂, 関野祐子, 諫田泰成: ミトコンドリア品質管理に対するトリブチルスズの影響, 第 42 回 日本毒性学会学術年会, 金沢, 201507
 83. 石田慶士, 古武弥一郎, 青木香織, 瀧下智子, 木村朋紀, 諫田泰成, 太田茂: 有機スズ神経毒性に関与する核呼吸因子-1(NRF-1)阻害機構の解明, 第 42 回 日本毒性学会学術年会, 金沢, 201507
 84. 平田尚也, 山田茂, 出水庸介, 栗原正明, 関野祐子, 諫田泰成: エストロゲンによる NO を介した乳癌幹細胞の増殖機構, 第 132 回日本薬理学会関東部会, 20150704
 85. 諫田泰成: 化学物質の in vitro 発達神経毒性評価に向けた取り組み, 第 34 回生体と金属・化学物質に関する研究会 (チョコレートトーク 2015), 滋賀, 20150821
 86. 黒川洵子, 諫田泰成, 古川哲史: ヒトが創った心臓: iPS 細胞から大人の心筋細胞を創る秘蔵のレシピ公開, 生体機能と創薬シンポジウム 201508
 87. 児玉昌美, 李敏, 芦原貴司, 諫田泰成, 関野祐子, 古川哲史, 黒川洵子: ヒトカリウムチャンネル遺伝子導入によるヒト iPS 細胞由来心筋細胞の成熟化のメカニズム-発現レベルからの考察-, 生体機能と創薬シンポジウム 2015, 20150827
 88. 石田慶士, 古武弥一郎, 青木香織, 瀧下智子, 木村朋紀, 諫田泰成, 太田茂: 低濃度トリブチルスズによるニューロン脆弱化機構の解明, 第 10 回メタルバイオサイエンス研究会, 名古屋, 20150828
 89. 山田茂, 古武弥一郎, 関野祐子, 諫田泰成: ミトコンドリア品質管理に対するトリブチルスズの新たな毒性作用, 日本神経化学会, 2015 年 9 月, 大宮
 90. 平田, 諫田: 前立腺癌幹細胞に対するスフィンゴシン 1 リン酸の機能, 日本癌学会
 91. 麻薙美紀, 山田茂, 古武弥一郎, 板垣宏, 関野祐子, 諫田泰成「ヒト未分化細胞を用いた化学物質の毒性評価」, フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー, 神戸, 2015 年 9 月 17-18 日
 92. 田中克哉, 三澤隆史, 出水庸介, 諫田泰成, 榎島誠, 関野祐子, 内藤幹彦, 栗原正明: ジフェニルメタンを基本骨格とするエストロゲン受容体アンタゴニストの創製, 第 59 回日本薬学会関東支部大会, 201509
 93. 平田尚也, 関野祐子, 諫田泰成: スフィンゴシン 1 リン酸による Notch3 を介し

- たグリオーマ幹細胞の増殖、第 133 回日本薬理学会関東部会、201510
94. DEVELOPMENT OF HELICAL PEPTIDES AS INHIBITORS OF ESTROGEN RECEPTOR-MEDIATED TRANSCRIPTION. Yosuke Demizu, Takashi Misawa, Yasunari Kanda, Nobumichi Ohoka, Yuko Sekino, Mikihiro Naito, and Masaaki Kurihara 第 52 回ペプチド討論会、201511
 95. 出水庸介, 三澤隆史, 諫田泰成, 大岡伸道, 関野祐子, 内藤幹彦, 栗原正明: エストロゲン受容体を標的とした転写活性化阻害および分解誘導ペプチドの創製、第 33 回メディスナルケミストリーシンポジウム、201511
 96. 山田茂、関野祐子、諫田泰成: ミトコンドリア品質低下を介した有機スズの新規毒性メカニズム BMB2015、神戸、2015 年 12 月
 97. 山崎大樹, 安藤博之, 吉永貴史, 山本渉, 朝倉圭一, 谷口智彦, 宇田宗晃, 諫田泰成, 長田智治, 林誠治, 宮本憲優, 葛西智恵子, 田渋弘行, 犬塚隆志, 杉山篤, 澤田光平, 関野祐子. ヒト iPS 細胞由来分化心筋細胞を用いた TdP リスク評価 - JiCSA60 化合物を用いて -. 第 89 回日本薬理学会年会, バシフィコ横浜, 神奈川, 20160309-11
 98. 山田茂, 麻薙美紀, 山崎大樹, 諫田泰成, 関野祐子. ヒト iPS 細胞のミトコンドリアダイナミクスを用いた細胞毒性評価. 第 89 回日本薬理学会年会, バシフィコ横浜, 神奈川, 20160309-11
 99. 麻薙美紀、山田茂、平田尚也、板垣宏、関野祐子、諫田泰成: ヒト未分化細胞を用いた発達神経毒性評価の試み、第 89 回日本薬理学会年会, バシフィコ横浜, 神奈川, 20160309-11
 100. 平田尚也、関野祐子、諫田泰成: リゾフォスファチジン酸はトリプルネガティブ乳癌幹細胞の増殖を誘導する、第 89 回日本薬理学会年会, バシフィコ横浜, 神奈川, 20160309-11
 101. Reiko Kimura, Masami Kodama, Kazuharu Furutani, Yasunari Kanda, Yoshihisa Kurachi, Yuko Sekino, Tetsushi Furukawa, Junko Kurokawa ヒト iPS 細胞由来心筋の活動電位形成に関連する遺伝子の定量的発現解析におけるリファレンス遺伝子の選定、第 89 回日本薬理学会年会, バシフィコ横浜, 神奈川, 20160309-11
 102. Erina Hayashi, Reiko Kimura, Min Li, Tomoko Ando, Takashi Ashihara, Yuko Sekino, Tetsushi Furukawa, Yasunari Kanda, Junko Kurokawa. 内向き整流性カリウムチャンネルを過剰発現させたヒト iPS 由来心筋細胞を用いた薬理作用解析、第 89 回日本薬理学会年会, バシフィコ横浜, 神奈川, 20160309-11
 103. 井出吉紀, 小林真里子, 平田尚也, 板垣宏, 関野祐子, 諫田泰成. ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた新しい安全性薬理試験法: 膜電位感受性色素イメージング (VSO) と多点電極 (MEA) の同時計測による検証実験. 第 89 回日本薬理学会年会, バシフィコ横浜, 東京, 20160309-11
 104. 久保祐亮, 山田茂, 犬塚隆志, 諫田泰成, 関野祐子. 創薬応用を目指したヒト iPS 細胞から GABA 作動性神経細胞への効率的な分化誘導法の確立. 第 15 回日本再生医療学会総会, 大阪国際会議場, 大阪, 2015 年 3 月 17~19 日
 105. Yoshinori Ide, Michinori Ichikawa, Mariko Kobayashi, Kenji Tsubokura, Daiju Yamazaki, Yasunari Kanda, Yuko Sekino. Development of non-staining imaging technique for evaluating safety using human iPSC-derived cardiomyocytes. 第 93 回日本生理学会大会, 札幌コンベンションセンター, 北海道, 2015 年 3 月 22~24 日
- 国際学会
1. Li Min, Yasunari Kanda, Yuko Sekino, Tetsushi Furukawa, Junko Kurokawa. Functional optimization of commercially available human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (iCell-CMs) for

- evaluation of drug-induced QT prolongation. The 2nd HD physiology international symposium on multi-level systems biology. Tokyo, Japan (2013).
2. Yasunari Kanda, Naoya Hirata, Shigeru Yamada, Yuko Sekino. Role of sphingosine kinase in cancer stem cells. FASEB Summer Research Conference, Niseko, Japan (2013).
 3. Shigeru Yamada, Yaichiro Kotake, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Yuko Sekino, Yasunari Kanda. Mitochondrial isocitrate dehydrogenase is the target of tributyltin, 4th DynaMito2013, Okinawa (2013).
 4. Yasunari Kanda, Shigeru Yamada, Yaichiro Kotake and Yuko Sekino. Metabolomic approach for tributyltin-induced toxicity. International Society for Trace Element Research in Humans, Tokyo (2013).
 5. Yasunari Kanda, Li Min, Yuko Sekino, Tetsushi Furukawa, Junko Kurokawa. Development of human iPS cell-derived mature cardiomyocytes for assessment of drug-induced QT prolongation. The 7th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences. Osaka (2014).
 6. Yasunari Kanda, Naoya Hirata, Shigeru Yamada, and Yuko Sekino. A novel role of sphingosine-1-phosphate receptor S1PR3 in cancer stem cell expansion via a Notch-dependent pathway. Keystone symposium, Canada (2014).
 7. Li Min, Yasunari Kanda, Yuko Sekino, Tetsushi Furukawa, Junko Kurokawa. A novel approach for evaluation of drug-induced QT prolongation using human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Biophysical Society 58th Annual Meeting, San Francisco, USA (2014). Shigeru Yamada, Yaichiro Kotake, Yuko Sekino, Yasunari Kanda. Identification of IDH3 as a novel target of tributyltin cytotoxicity by a metabolomic approach. 10th International conference of the Metabolomics Society. Tsuruoka, Yamagata (2014.06).
 8. Junko Kurokawa, Jun-ichi Okada, Erina Hayashi, Takashi Ashihara, Takashi Yoshinaga, Seiryu Sugiura, Li Min, Yasunari Kanda, Yuko Sekino, Kohei Sawada, Toshiaki Hisada, Tetsushi Furukawa.: A novel approach for evaluation of drug-induced QT prolongation using human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. 59th Biophysics meeting, Baltimore, USA (2015.02)
 9. Ashihara T, Kurokawa J, Kanda Y, Haraguchi R, Nakazawa K, Horie M: Spiral wave behaviors and antiarrhythmic drug efficacy in human induced pluripotent stem cell-derived myocardial sheet are different from those in original heart: A simulation study. Heart Rhythm 2015 Scientific Sessions, 2015.05.14, Poster, Boston.
 10. Yasunari Kanda: S1P induces proliferation of cancer stem cells via a ligand-independent Notch activation. FASEB, Banff 2015.08.25
 11. Yosuke Demizu, Takashi Misawa, Yasunari Kanda, Yuko Sekino, Masaaki Kurihara. Development of Cell-penetrating Fragment Conjugated Helical Peptides as Inhibitors of Estrogen Receptor-Mediated Transcription. 11th Australian Peptide Conference 2015, 25th October 2015
 12. Kanda Y, Li M, Ashihara T, Yuko S, Furukawa T, Kurokawa J. Assessment of drug-induced QT prolongation using human iPS cell-derived mature cardiomyocytes, Prague, Czech Republic, Sep 30, 2015.

13. Yasunari Kanda, Shigeru Yamada, Yuko Sekino. Toxicity Assessment by Mitochondrial Dynamics in Human iPS Cells. 55th Annual Meeting of the Society of Toxicology, New Orleans, 2016.03G.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願番号 : 2013-116243
(PCT/JP2014/002888)

「正常な内向きのカリウム電流特性を有する iPS 細胞由来心筋モデル細胞」