

研究課題名

発生-発達期における低用量の化学物質暴露による成熟後の神経行動毒性の誘発メカニズム解明と、その毒性学的評価系構築に資する研究（H27-化学-一般-007）

研究代表者

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・教授）

【研究要旨】

胎生期から幼若期にかけての経母体暴露のモデルとして、妊娠/泌乳期雌マウスに、ADI（一日許容摂取量）を想定した低用量のアセタミプリドとイミダクロプリドを、また併行して類似構造化合物としてニコチンを飲水投与（0.01、0.1mg/kg/day）し、得られた雄産仔マウスについて成熟期の情動認知行動解析を進めた。その結果、0.1mg/kg/day アセタミプリド、イミダクロプリド投与群に不安関連行動異常を伴う学習記憶異常を検出した。併行して行ったニコチン投与群と比較すると、その程度がやや低いものと考えられた。一方、0.01mg/kg/day アセタミプリド、イミダクロプリド、ニコチン投与群においては行動様式の逸脱レベルは低いものであった。これまでに行ったドーモイ酸、イボテン酸、有機リン農薬であるアセフェート等の発生発達期暴露により成熟期に誘発される行動解析結果と併せて、オープンフィールド試験、明暗往来試験、条件付け学習記憶試験における各検定項目の「情動認知行動異常」の程度を検討した。

統合失調症や発達障害において問題とされている行動様式の柔軟性欠如に相当する行動異常検出への対応を目的として、行動柔軟性課題と行動抑制課題についてタッチスクリーン型オペラント実験装置の毒性評価への応用について検討を進めた結果、良好な結果が得られた。

化学物質投与により海馬神経新生が減少するケースと、形態異常な海馬神経新生が生じるケースを見いだしており、これらの所見が毒性指標となりうるか、他の暴露モデル（アセタミプリドおよびイミダクロプリド）を用いて検討を重ねた結果、海馬神経新生への影響が評価指標として有用である可能性が示された。また膜電位感受性色素を用いたイメージングで、バルプロ酸、ビスフェノール類の胎生期投与による成熟期の機能変調パターンについて、海馬・皮質神経回路で回路の機能変調を示す毒性値の設定を目的として、用量相関性について検討を進めるとともに、幼若期マウスへの化学物質投与直後の海馬における機能変調パターンの検出系の開発に着手しアセタミプリドおよびイミダクロプリドの海馬スライス培養への添加による影響を捉えることに成功している。

アセタミプリド 10 mg/kg とイミダクロプリドを 8 mg/kg、2 週齢或いは 11 週齢のマウスに単回経口投与後、13 週齢時の海馬について、網羅的遺伝子発現解析を行い、パスウェイ解析を進めるとともに、上記の低用量化学物質暴露による行動影響との比較に用いることを試みた。その結果、行動様式の異常基準値設定に有用であると考えられた。

また、第 5 回内分泌かく乱化学物質の試験及び評価に関するアドバイザーグループ会合（於 OECD）における内分泌かく乱化学物質の評価のための AOP（Adverse Outcome Pathway）に関しての討議に対応すべく国際的に通用しうる体系的・総合的な評価手法としての提案に向けた取り組みを進めている。

## 【研究組織】

代表：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・教授

研究総括、情動認知行動解析と毒性基準値の設定、  
神経突起解析、遺伝子発現パスイ解析を担当。

分担：掛山 正心

早稲田大学人間科学学術院

応用生理学研究室・教授

情動認知行動解析と毒性基準値の設定を担当。

分担：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  
エストロゲン受容体遺伝子改変マウスの解析、  
遺伝子発現解析と異常基準値の設定を担当。

分担：中島 欽一

九州大学大学院医学研究院・

基盤幹細胞学分野・教授

神経幹細胞動態解析および大脳層構造形態解析と  
異常基準値の設定、新規毒性マーカー探索を担当。

分担：富永 貴志

徳島文理大学・神経科学研究所・准教授

神経回路機能解析と異常基準値の設定を担当。

分担：菅野 純

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・

客員研究員

国内外情報収集、OECD 対応、新規毒性マーカー探  
索を担当。

## A. 研究目的

先行研究 (H20-化学一般-009)にて、周産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では同定困難な情動認知行動異常を誘発することを明らかにし、その異常に対応する神経科学的物証を捉えた。次の研究 (H23-化学一般-004)では、それらが毒性指標として定量評価できることを示した。本研究は、先行研究を踏まえて発生発達期における化学物質の低用量暴露が成熟後に誘発する情動認知行動異常について、定量的に捕捉し、毒性

学的な意味づけを明確にできる評価系を作出し、もって行政施策へ反映することを目的とする。これにより情動認知行動異常の高精度な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、国際的に通用しうる体系的・総合的な評価手法としてのガイドライン作成と、OECDへの提案を通じての国際貢献を目指す。

尚、中枢神経系の発生発達に重要な役割を果たす神経可塑性の分子背景が各種の脳内伝達物質の適切な機能に深く依存しているという知見と、その機能の外的なかく乱が人の集団の情動認知機能異常を引き起こすという疫学的調査報告が有り、低用量の化学物質が胎児や小児に及ぼす中枢影響の毒性学的評価が問題となっている。この様な、低用量暴露の結果として成熟後に情動認知行動異常が顕在化するという毒性を評価するための動物試験は、従来は主観的な心理学的記述に終始する事が多く、行政対応への適用が困難であった。この為、普遍的、客観的、定量的、かつ高精度な情動認知行動異常リスクの評価系の作成が必要である。

## B. 研究方法

本研究では、二つの先行研究 (H20-化学一般-009)および (H23-化学一般-004)の成果を踏まえて発生発達期における化学物質の低用量暴露が成熟後に誘発する情動認知行動異常について、客観性、定量性をもって捕捉し、毒性学的な意味づけを明確にできる評価系を3年計画で作出する。

### 【マウス情動認知行動異常の基準値設定】

発生発達期暴露により成熟期に情動認知行動異常を誘発することを確認済みのドーモイ酸、イボテン酸、有機リン農薬等を、野生型マウスに暴露し、オープンフィールド試験、明暗往来試験、及び、条件付け学習記憶試験(行動解析バッテリー試験)を実施する。その成績を定量的な値として項目ごとに記録し、異常であると認定される最小値を、その項目の基準値として「毒性基準値」と定義する。その際に、溶媒対照とは別に、情動認知行動異常を呈するエストロゲン受容体 $\alpha$ および $\beta$ 遺伝子欠損マウス、および精神神経疾患モデルマウスとして報告されているマウスの行動様式を包括した情動認知行動異常を呈するエストロゲン受容体遺伝子改変マウス2種(国立医薬品食品衛生研究所毒性部にて独自に

作出した)を、特有の異常を恒常的に示す「標準マウス」として用いることで、国際的なバリデーション展開時に利用できる異常値を複数点用意するとともに、国内3カ所所で同一規格の機器を用いた行動解析バッテリー試験を施行し、バリデーションを見据えた頑強性を確認しつつ最適化を図る(種村、掛山、北嶋)。

#### 【マウス情動認知行動異常誘発メカニズムの解明と神経科学的な異常の基準値設定】

これまでの研究に於いて、情動認知行動異常を呈するマウス脳から通常の光学顕微鏡的な病理所見は得られない場合が多いが、分子マーカーを用いての神経新生異常、大脳層構造異常、神経突起異常、および膜電位感受性色素を利用した光計測から神経回路機能異常を情動認知行動異常と対応した異常所見として検出してきた。さらに、それらは遺伝子発現プロファイリングによって裏付けられるものであった。そこで、野生型マウス(暴露)及び遺伝子改変マウス(非暴露)について神経幹細胞動態解析、大脳層構造形態解析(中嶋)、神経突起解析(種村)、神経回路機能解析(富永)、遺伝子発現プロファイリング(北嶋)を行い異常行動誘発メカニズムの解明を推し進めるとともに、それらの項目ごとに定量化手法を確定し、対応する神経科学的な異常の基準値として設定する。その際、遺伝子発現プロファイリングに関しては、機知のパスウェイへの関与を明らかにする(種村)。

#### 【発生-発達期における低用量化学物質暴露による成熟後の中枢行動毒性検定】

モデル化学物質としてビスフェノール類、農薬類、を選択し、胎生期ないし幼若期のマウスに低用量投与することによって成熟後に顕在化する中枢行動毒性を、上記の情動認知行動「毒性基準値」、および神経科学的「異常基準値」を以て検定する。用量は、一日摂取許容量、急性参照用量を元に設定する(全員)。これによって設定した情動認知行動「毒性基準値」および神経科学的な異常の基準値の頑強性や妥当性を検証し、体系的・総合的な評価系として完成させる。本研究成果については、国際的に通用しうる体系的・総合的な評価手法としてOECDへの提案を行う(菅野)。

#### 【新規毒性マーカーの探索】

これまでの成果の一部として、情動認知行動異常を示したマウスにエピゲノム変化が検出されていることから、それが分子レベルにおける基準値として設定できるかを検討する。近年、生物学的意義が明らかになりつつあるノン・コーディングRNAの変動についても、新規毒性判断指標としての妥当性を検討する(菅野、中嶋)。

#### C. 研究結果

平成29年度は、前年度にネオニコチノイド系農薬であるアセタミプリドとイミダクロプリドを妊娠11.5日齢の妊娠雌マウスに低用量(0.01mg/kg/day、0.1mg/kg/day)にて、また併行して類似構造化合物としてニコチンを用いて飲水投与を開始し、出産後の生後4週齢時の離乳時まで同投与を行い、生後12-13週齢に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から成るバッテリー式の情動認知行動解析を行った。その結果、アセタミプリド飲水投与による顕著な不安関連行動異常の誘発と、イミダクロプリド飲水投与による顕著な不安関連行動異常並びに学習記憶異常が認められた(0.1mg/kg/day投与群)。しかしながら併行して行ったニコチン投与群に比較すると、その程度がやや低いものと考えられた。一方、0.01mg/kg/dayアセタミプリド、イミダクロプリド、ニコチン投与群においては行動様式の逸脱レベルは低いものであった。

統合失調症や発達障害において問題とされている行動様式の柔軟性欠如に相当する行動異常検出への対応を目的として、行動柔軟性課題と行動抑制課題についてタッチスクリーン型オペラント実験装置の毒性評価への応用について検討を進めた。その結果、Go/NoGo課題については、基本プロトコールの設定が可能となり、さらに改良する必要があるものの、評価に要する期間の短縮に成功した。

生後単回投与群において、1週間後に発現上昇してくる遺伝子群には、細胞増殖関連のものと細胞移動関連のものが認められた。例えば、イミダクロプリド投与群の場合、ジーンオントロジー(GO)タームに属する遺伝子として、MITOTIC CYTOKINESISやMYOSHIN II COMPLEX関連の遺伝子が総じて発現上昇していた。したがって、神経幹細胞の増殖が異常に促進され、細胞移動を開始し、

ニューロンに早期分化してしまうと考えられた。一方で、成体期に発現減少する遺伝子のプロファイリングから、ニューロンの質の低下あるいは量の減少が晩発性の影響として起こってしまうことも分かってきた。例えば、イミダクロプロド及びアセタミプリドいずれの投与群においても、G0タームに属する遺伝子として、NEURON SPINE 関連の遺伝子が総じて発現減少していた。

ネオニコチノイド系農薬であるアセタミプリドとイミダクロプロドを、2週齢或いは11週齢のマウスに投与後、13週齢時の海馬における網羅的遺伝子発現変動解析を行った結果、投与群では、いずれも神経細胞あるいは樹状突起が増加し、軸索誘導あるいは神経伝達が活性化していることが示唆された。プロモーター解析(in silico)の結果から、この活性化に、PSEN1、APP や MAPT 分子が関与している事が示唆された。

神経回路解析の神経毒性評価への応用研究としては、まず、ネオニコチノイド系物質の幼若期投与(種村らとの共同研究)ネオニコチノイド系物質の強制投与後、2時間後には細胞体での興奮性が著しく亢進している様子が検出された。今後、この初期応答が遅発影響とどのような相関関係があるかをこの農薬で検証する予定である。また、海馬以外の神経回路で、化学物質による改変を示すことが容易な神経回路を選ぶために、探索的に他の神経回路の応答を検討した。今年度は、皮質系の回路として、視覚野、傍梨状核、嗅内野、嗅周囲皮質など様々な神経回路において、主に興奮抑制のバランスの変更が起こす現象を検討した。

海馬以外の神経回路で、化学物質による改変を示すことが容易な神経回路を選ぶために、探索的に他の神経回路の応答を検討している。今年度は、引き続き皮質系の回路として、傍梨状核 (EPN)、体性感覚野、前帯状皮質 (ACC) を1つのスライス標本に含む回路の発振現象が起こることを見出し、EPN、ACC が発振を起こす回路となっていることを明らかにした。

また、ACC に関しては海馬との信号伝達において重要な役割を果たしていること、脳両側の信号伝達で重要な役割を果たしていることからさらに解析を進め、その深層からの信号が両側の信号伝達に重要であることを明らかにした。

複数の国際的会合に出席し、本研究班の成果の一部を情報発信した。本研究班において得られた神経行動学的所見、神経科学的所見、分子生物学的所見、及び、その獲得と解析に用いた研究手法

は、いずれの会合においても、興味深く受け入れられ、高評価を得た。国際的に、これらの様な情報を基にしたリスク評価の必要性の高さは共通に認識されていることが確認されるとともに、その方法論の検討を積み重ねようとしていることが判明した。さらに、自らデータを作成しない方針の国や組織も、分子毒性学的情報の有用性を認識し、評価へ取り込む方法の開発と標準化に力を入れていることが明らかとなった。さらに、本研究班において得られた神経行動毒性所見、神経科学的所見ならびに分子生物学的な所見、及び、その獲得と解析に用いた研究手法について、国際的会合に出席し、情報発信した。その内容は、興味深く受け入れられた。国際的に、この様な情報の必要性の高さは共通に認識されていることが確認されるとともに、その活用方法の検討を積み重ねようとしていることが判明した。

#### D. 考察

ネオニコチノイド系農薬や、無機ヒ素、ビスフェノール類、バルプロ酸を用いた発生-発達期における低用量の化学物質暴露による成熟後の神経行動異常と、対応する神経科学的物証について、暴露による影響を効率良く、また高精度に、かつ定量的に捕捉することに成功していると考えられた。特に、ADI を想定した低用量の長期暴露による影響についても実験的に捉えることができたことから、本系の目的である評価系の作出に資することができると考えられる。情動認知行動異常の基準値設定や、神経新生能、神経回路機能、神経突起動態等の神経科学的な異常の基準値設定を進める上で、「指標」の検証が非常に重要であると考えられるとともに、その為に用いる特有の異常を恒常的に示す「標準マウス」として用いる2種のエストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子改変マウス (ER $\alpha$ KI および ER $\beta$ KI マウス) の導入は非常に有望であると考えられた。また、本研究課題の成果は、国際的に通用しうる体系的・総合的な評価手法として、OECD の AOP 開発プログラムへの提案に貢献するものであると考えられた。

## E. 結論

発生-発達期における低用量の化学物質暴露による成熟後の神経行動異常と、対応する神経科学的物証について、暴露による影響を効率良く、また高精度に、かつ定量的に捕捉することに成功している。今後、情動認知行動異常の基準値設定、神経科学的な異常の基準値設定によって毒性学的な意味づけを明確にできる評価系の作出に資することが期待できる。

## F. 健康危険情報

とくになし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 1) 書籍

なし

#### 2) 雑誌

Sakai K, Ideta-Otsuka M, Saito H, Hiradate Y, Hara K, Igarashi K, Tanemura K. Effects of doxorubicin on sperm DNA methylation in mouse models of testicular toxicity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Apr 6;498(3):674-679.

Ohtani N, Suda K, Tsuji E, Tanemura K, Yokota H, Inoue H, Iwano H. Late pregnancy is vulnerable period for exposure to BPA. *J Vet Med Sci.* 2018 Mar 30;80(3):536-543.

Saito H, Hara K, Tanemura K. Prenatal and postnatal exposure to low levels of permethrin exerts reproductive effects in male mice. *Reprod Toxicol.* 2017 Dec;74:108-115.

Sugimura S, Kobayashi N, Okae H, Yamanouchi T, Matsuda H, Kojima T, Yajima A, Hashiyada Y, Kaneda M, Sato K, Imai K, Tanemura K, Arima T, Gilchrist RB. Transcriptomic signature of the follicular somatic compartment surrounding an oocyte with high developmental competence. *Sci Rep.* 2017 Jul 28;7(1):6815.

Umezu K, Hiradate Y, Numabe T, Hara K, Tanemura K. Effects on glycoalkaloid structures of frozen-thawed bovine sperm induced by flow cytometry and artificial capacitation. *J Reprod Dev.* 2017 Oct 18;63(5):473-480.

K, Kakeyama M, Tohyama C. Impaired dendritic growth and positioning of cortical pyramidal neurons by activation of aryl hydrocarbon receptor signaling in the developing mouse. *PLoS One.* 2017 Aug 18;12(8):e0183497. doi: 10.1371/journal.pone.0183497. eCollection 2017.

Kubo KI, Deguchi K, Nagai T, Ito Y, Yoshida K, Endo T, Benner S, Shan W, Kitazawa A, Aramaki M, Ishii K, Shin M, Matsunaga Y, Hayashi K, Kakeyama M, Tohyama C, Tanaka KF, Tanaka K, Takashima S, Nakayama M, Itoh M, Hirata Y, Antalffy B, Armstrong DD, Yamada K, Inoue K, Nakajima K. Association of impaired neuronal migration with cognitive deficits in extremely preterm infants. *JCI Insight.* 2017 May 18;2(10). pii: 88609. doi: 10.1172/jci.insight.88609.

Kimura E, Kubo KI, Endo T, Nakajima K, Kakeyama M, Tohyama C. Excessive activation of AhR signaling disrupts neuronal migration in the hippocampal CA1 region in the developing mouse. *J Toxicol Sci.* 2017;42(1):25-30. doi: 10.2131/jts.42.25.

Kawamura Y, Takouda J, Yoshimoto K, Nakashima K. New aspects of glioblastoma multiforme revealed by similarities between neural and glioblastoma stem cells. *Cell Biol Toxicol.* 2018 Jan 31. doi: 10.1007/s10565-017-9420-y. [Epub ahead of print] Review. PMID:29383547.

Kawamura Y, Katada S, Noguchi H, Yamamoto H, Sanosaka T, Iihara K, Nakashima K. Synergistic induction of astrocytic differentiation by factors secreted from meninges in the mouse developing brain. *FEBS Lett.* 2017 Nov;591(22):3709-3720. doi: 10.1002/1873-3468.12881. PMID: 29029363.

Sanosaka T, Imamura T, Hamazaki N, Chai M,

Igarashi K, Ideta-Otsuka M, Miura F, Ito T, Fujii N, Ikeo K, Nakashima K. DNA Methylome Analysis Identifies Transcription Factor-Based Epigenomic Signatures of Multilineage Competence in Neural Stem/Progenitor Cells. *Cell Rep.* 2017 Sep 19;20(12):2992-3003. doi: 10.1016/j.celrep.2017.08.086. PMID: 28930691.

Kimura A, Matsuda T, Sakai A, Murao N, Nakashima K. HMGB2 expression is associated with transition from a quiescent to an activated state of adult neural stem cells. *Dev Dyn.* 2018 Jan;247(1):229-238. doi: 10.1002/dvdy.24559. PMID: 28771884.

Zhu Y, Uezono N, Yasui T, Nakashima K. Neural stem cell therapy aiming at better functional recovery after spinal cord injury. *Dev Dyn.* 2018 Jan;247(1):75-84. doi: 10.1002/dvdy.24558. Review. PMID: 28766845.

Honda M, Nakashima K, Katada S. PRMT1 regulates astrocytic differentiation of embryonic neural stem/precursor cells. *J Neurochem.* 2017 Jul;142:901-907. doi: 10.1111/jnc.14123. [Epub ahead of print] PMID: 28695568.

Kameda T, Imamura T, Nakashima K. Epigenetic regulation of neural stem cell differentiation towards spinal cord regeneration. *Cell Tissue Res.* 2018 Jan;371(1):189-199. doi: 10.1007/s00441-017-2656-2. Epub 2017 Jul 10. Review. PMID: 28695279.

Yasui T, Uezono N, Nakashima H, Noguchi H, Matsuda T, Noda-Andoh T, Okano H, Nakashima K. Hypoxia Epigenetically Confers Astrocytic Differentiation Potential on Human Pluripotent Cell-Derived Neural Precursor Cells. *Stem Cell Reports.* 2017 Jun 6;8(6):1743-1756. doi: 10.1016/j.stemcr.2017.05.001. PMID: 28591654.

Brulet R, Matsuda T, Zhang L, Miranda C, Giacca M, Kaspar BK, Nakashima K, Hsieh J. NEUROD1 Instructs Neuronal Conversion in Non-Reactive Astrocytes. *Stem Cell Reports.* 2017 Jun 6;8(6):1506-1515. doi: 10.1016/j.stemcr.2017.04.013. Epub 2017 May

11. PMID: 28506534.

Uesaka M, Agata K, Oishi T, Nakashima K, Imamura T. Evolutionary acquisition of promoter-associated non-coding RNA (pancRNA) repertoires diversifies species-dependent gene activation mechanisms in mammals. *BMC Genomics.* 2017 Apr 7;18(1):285. doi: 10.1186/s12864-017-3662-1. PMID: 28388877.

Buesen R, Chorley BN, da Silva Lima B, Daston G, Deferme L, Ebbels T, Gant TW, Goetz A, Greally J, Gribaldo L, Hackermüller J, Hubesch B, Jennen D, Johnson K, Kanno J, Kauffmann HM, Laffont M, McMullen P, Meehan R, Pemberton M, Perdichizzi S, Piersma AH, Sauer UG, Schmidt K, Seitz H, Sumida K, Tollefsen KE, Tong W, Tralau T, van Ravenzwaay B, Weber RJM, Worth A, Yauk C, Poole A., (2017) Applying 'omics technologies in chemicals risk assessment: Report of an ECETOC workshop. *Regul Toxicol Pharmacol.*

Take M, Takeuchi T, Hirai S, Takano K, Matsumoto M, Fukushima S, Kanno J., Distribution of 1,2-dichloropropane in blood and other tissues of rats after oral administration. *J Toxicol Sci.* 2017;42(2):121-128

## 2. 学会発表

掛山正心. 子どもへの低用量化学物質ばく露評価のための新たなマウス情動認知行動毒性試験装置の開発. 第44回日本毒性学会学術年会(シンポジウム子ども期への低用量化学物質ばく露が誘発する情動認知行動影響の定量的解析法の開発状況と評価法確立への未来)、2017年7月、横浜.

掛山正心、マウスにおける早期環境要因操作による自閉スペクトラム表現型発現の検討. 第39回日本生物学的精神医学会・第47回日本神経精神薬理学会合同年会シンポジウム 2017/09、札幌.

掛山正心、集団生活下のマウス個体識別と行動計測. 日本動物行動関連学会 2017 (Koudou2017) (5学会・研究会合同シンポジウム) 2017/09、東京.

Satoshi Kitajima, Kentaro Tanemura, Jun Kanno, Neurobehavioral toxicity at adult period induced by neonicotinoid pesticides

exposure at juvenile period of male mice. (2018.3.12) SOT 2018, San Antonio, USA

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki  
Interferon signaling chemical, pentachlorophenol, identified by Percellome Toxicogenomics Project. (2018.3.12) SOT 2018, San Antonio, USA

Ryuichi Ono, Yukuto Yasuhiko, Kenichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Jun Kanno, and Yoko Hirabayashi, Double Strand Break Repair by Capture of Unintentional Sequences, an Emerging New Possible Risk for the Leading-Edge Technology, (2018.3.12) SOT 2018, San Antonio, USA, poster

Ryuichi Ono, Keiko Tano, Satoshi Yasuda, Yukuto Yasuhiko, Kenichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Jun Kanno, Yoji Sato and Yoko Hirabayashi, An emerging new possible risk of genome editing for human gene therapy, (2018.1.31) Keystone Symposia Conference / Precision Genome Editing with Programmable Nuclease, Colorado, USA, poster

Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Jun Kanno, Progress of Percellome Toxicogenomics Project, and the use of Garuda Platform as a tool for Open Toxicology. OpenTox Asia Conference 2017 (2017.5.17.), Daejeon, Korea

北嶋 聡、シックハウス症候群レベルの極低濃度ばく露の際の海馬における Percellome 法による吸入トキシコゲノミクスと遅発性の情動認知行動影響解析、第44回日本毒性学会学術年会(2017.7.12.)

相崎 健一、小野 竜一、北嶋 聡、菅野 純、反復曝露試験における ncRNA 発現変動と DNA メチル化修飾の解析、第44回日本毒性学会学術年会(2017.7.11.)

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Percellome Toxicogenomics for the mechanistic prediction of chemical toxicity., the 8th National Congress of Toxicology (V-III CSOT), (2017.10.16) Jinan, China, keynote

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Interferon signaling chemicals identified by

Percellome Toxicogenomics Project., Eurotox 2017, Bratislava, Slovakia(2017.9.13) poster

中島 欽一<sup>○</sup>：胎生期エピジェネティック攪乱による遅発性学習記憶障害とてんかん感受性増加のメカニズム、第26回海馬と高次脳機能学会、愛知県、名古屋市立大学、2017年9月30-10月1日(30日)(特別講演)

今村拓也<sup>○</sup>、佐野坂司、浜崎伸彦、Chai Muh Chyi、五十嵐勝秀、大塚まき、三浦史仁、伊藤隆司、藤井信之、池尾一穂、中島 欽一：DNA methylomes identify transcription factor-based epigenomic signatures for timed acquisition of differentiation competence in neural stem/progenitor cells towards neuronal and glia lineages、4<sup>th</sup> World Congress of Reproductive Biology、沖縄県、沖縄コンベンションセンター、2017年9月27-29日(29日)(ポスター)

吉川容司<sup>○</sup>、吾郷哲郎、立花正輝、古森元浩、芝原友也、脇坂義信、黒田淳哉、中嶋秀行、中島 欽一、北園孝成：海馬歯状回における傷害反応性神経幹細胞増殖と神経新生における活性酸素種産生酵素Nox4の役割、第26回海馬と高次脳機能学会、愛知県、名古屋市立大学、2017年9月30-10月1日(30日)(一般口演)

中島 欽一<sup>○</sup>：Hypoxia epigenetically confers astrocytic differentiation potential on human pluripotent cell-derived neural precursor cells、The 72nd Fujihara Seminar Molecular Mechanism of Molding and Disruption of the Epigenomes Underlying Cellular Community、北海道、グランドホテルニュー王子、2017年9月13-15日(13日)(口頭)

今村拓也<sup>○</sup>、佐野坂司、浜崎伸彦、Chai Muh Chyi、五十嵐勝秀、大塚まき、三浦史仁、伊藤隆司、藤井信之、池尾一穂、中島 欽一：DNA methylome analysis identifies transcription factor-based epigenomic signatures of multi-lineage competence in neural stem/progenitor cells、The 72nd Fujihara Seminar Molecular Mechanism of Molding and Disruption of the Epigenomes Underlying Cellular Community、北海道、グランドホテルニュー王子、2017年9月13-15日(13-14日)(ポスター)

本田瑞季<sup>○</sup>、堅田明子、大塚まき、山本直樹、五十嵐勝秀、今村拓也、中島欽一：Mechanism underlying developmental stage dependent changes in neural stem cells responsiveness to Bone Morphogenetic Proteins、The 72nd Fujihara Seminar Molecular Mechanism of Molding and Disruption of the Epigenomes Underlying Cellular Community、北海道、グランドホテルニュー王子、2017年9月13-15日(13-14日) (ポスター)

亀田朋典<sup>○</sup>、今村拓也、滝沢琢己、三浦史仁、伊藤隆司、中島欽一：Neuronal activity-dependent DNA methylation changes in the naïve hippocampal neurons accelerate gene expression responses to the following stimuli、The 72nd Fujihara Seminar Molecular Mechanism of Molding and Disruption of the Epigenomes Underlying Cellular Community、北海道、グランドホテルニュー王子、2017年9月13-15日(13-14日) (ポスター)

今村拓也<sup>○</sup>、山本直樹、阿形清和、中島欽一：Regulation of non-coding RNA contributes to the complete cessation of cell proliferation of neuron-like cells、第43回内藤コンファレンス、北海道、シャトレゼガトキョウダムサポロ、2017年8月27日-30日(29日) (ポスター)

中嶋秀行<sup>○</sup>、辻村啓太、入江浩一郎、中島欽一：Functional analysis of MeCP2, the Rett syndrome responsible factor, mediated by microRNA in neural stem cells fate specification、第40回日本神経科学大会、千葉市、幕張メッセ、2017年7月20日-23日(22日) (口頭)

中島欽一<sup>○</sup>：DNA Methylation Resulting Neuron-Glia Fate Switching of Neural Stem Cells、第40回日本神経科学大会、千葉市、幕張メッセ、2017年7月20-23日(21日) (シンポジウム)

今村拓也<sup>○</sup>：長鎖ノンコーディングRNAによるほ乳類エピゲノム制御、第2回次世代生命科学の研究会、福岡県、九州大学コラボレーションI、2017年7月13-14日(14日) (口頭)

今村拓也<sup>○</sup>：ニューロンにおけるエピゲノム制御とその破綻、第44回日本毒性学会学術年会、神奈川県、パシフィコ横浜、2017年7月10-12日(12日) (シンポジウム)

亀田朋典<sup>○</sup>、今村拓也、滝沢琢己、三浦史仁、伊藤隆司、中島欽一：マウス海馬ニューロンは神経活動依存的にDNAメチロームを変動し、脱メチル化を介して遺伝子発現応答を高速化する、第11回日本エピジェネティクス研究会年会、東京都、学術総合センター一橋講堂、2017年5月22-23日(23日) (ポスター)

松田泰斗<sup>○</sup>、入江剛史、アデフィンアリア、中島欽一：エピゲノム変換を介したミクログリアからニューロンへの直接分化転換機構の解明、第11回日本エピジェネティクス研究会年会、東京都、学術総合センター一橋講堂、2017年5月22-23日(22日) (ポスター)

Imamura, T., Yamamoto, N., Agata, K., Nakashima, K.: Regulation of non-coding RNA contributes to the complete cessation of cell proliferation of neuron-like cells, France · Japan EPIGENETICS Workshop 2017, Paris-Diderot University, November 6-8, 2017

Katada, S., Honda, M., Takouda, J., Igarashi, K., and Nakashima, K.: Developmental stage-dependent change of SMAD target genes defines the direction of neural stem cell differentiation induced by bone morphogenetic proteins, EMBO Conference 'Gene regulatory mechanisms in neural fate decisions', San Juan de Alicante, Spain, September 7-10, 2017

Tominaga T and Tominaga Y. Voltage-sensitive dye imaging study of the input-dependent GABAergic control of the paired burst facilitation (PBF) in area CA1 of the hippocampus 471.13/G4 Neuroscience Meeting Planner. Washington DC, Society for Neuroscience, 2017

WAKAYAMA Y, KAMADA S, YAMADA Y, TOMINAGA T, KAJIWARA R Voltage-sensitive dye signal analysis of inhibitory components in mouse perirhinal-entorhinal cortical slices 378.05/H4 Neuroscience Meeting Planner. Washington DC, Society for Neuroscience, 2017

平島 寛司、富永 貴志、富永 洋子、岳 鳳鳴、滝澤 佐季子、横山 忠幸、松本 健、友常 大八郎、佐々木 克典 「膜電位感受性色素(VSD)を用



いた光計測技術によるリプログラミングがん細胞膜電位計測法」第17回日本再生医療学会総会 2018.3.21 口頭発表 パシフィコ横浜

富永貴志 「イントロダクション」ワークショップ「個性」創発神経基盤の統合的理解に向けた階層横断的解析(オーガナイザー富永貴志, 郷康広) 2017.12.06 生命科学系合同年次大会 ConBio2017 神戸ポートピアホテル, 神戸国際会議場

富永貴志 「膜電位イメージングの技術支援: 実例から」新学術領域「個性」創発脳の第2回若手の会・技術講習会 2017.11.21 京都大学 楽友会館 2F 会議・講演室 (招待講演)

河野 睦, 世戸 彩華, 石田 正樹, 富永 貴志, 堀学 ゾウリムシの逃走反応におけるストマチン様タンパク質の役割, 2017/11/18, 第50回日本原生動物学会大会と第1回日本共生生物学会大会 つくば

富永貴志 「ゾウリムシと電気生理学」シンポジウム「ゾウリムシ研究の新潮流」(オーガナイザー富永貴志, 堀学, 石田正樹) 日本動物学会 2017.09.21 (富山大学)

富永貴志, 富永洋子 「海馬 CA1 野のペアドバーストファシリテーション (PBF) の GABAergic なフィードフォワード, フィードバック調節: 膜電位感受性色素による研究」(Feedforward- and feedback-GABAergic control of the paired burst facilitation (PBF) in area CA1 of hippocampus: A voltage-sensitive dye study Takashi Tominaga, Yoko Tominaga) 第40回日本神経科学大会 2017.07.20-2017.07.23) 幕張メッセ, 2017.07.20 口頭発表

吉村 弘, 須貝 外喜夫, 加藤 伸郎, 富永 貴志, 富永洋子, 長谷川 敬展, 姚 陳娟, 赤松 徹也 カフェイン投与により誘発されるラット視覚野オシレーションにおける non-NMDA 受容体と NMDA 受容体の相互交錯的関与 (Interplay between non-NMDA and NMDA receptor activation during caffeine-induced oscillations in the visual cortex of rats) 第40回日本神経科学大会 2017.07.20-2017.07.23) 幕張メッセ, 2017.07.21

和歌山 ゆうか, 鎌田 翔仁, 山田 悠太, 富永 貴志, 梶原 利一 膜電位イメージングによる嗅周囲皮質の抑制性/興奮性神経活動の層分布解析 (Layer Distribution Analysis of Inhibitory

and Excitatory Activity Components in Perirhinal Cortex Using Voltage-Sensitive Dye Imaging) 第40回日本神経科学大会 2017.07.20-2017.07.23) 幕張メッセ, 2017.07.21

梶原 利一, 和歌山 ゆうか, 富永 洋子, 富永 貴志 神経興奮伝播の促進に關与するマウス嗅皮質神経回路可塑性の膜電位イメージング (Voltage-sensitive dye imaging of the network plasticity facilitating the neural excitation propagation in mouse rhinal cortices) 第40回日本神経科学大会 2017.07.20-2017.07.23) 幕張メッセ, 2017.07.21

富永貴志, 富永洋子 「情動認知行動影響の毒性評価における神経回路機能イメージング法を用いた神経基盤解析」第44回日本毒性学会学術年会 パシフィコ横浜 2017.07.12 シンポジウム招待講演

富永貴志 新学術領域「個性創発脳」第2回領域会議 「個性」創発の神経基盤解析のための神経回路イメージング法と行動様式プロファイリング 御殿場 2017.0708

富永貴志 「膜電位感受性色素を使った光計測法により神経回路機構を探る—海馬を中心として」第37回 Neuroscience Seminar Tokushima 徳島大学病院 2017.03.06 招待講演

Takashi Tominaga Cellular electrophysiology to VSD imaging, International Symposium on Future of Brain Science 2017.03.03 東北大学 招待講演

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Interferon signaling chemical, pentachlorophenol, identified by Percellome Toxicogenomics Project., SOT2018, San Antonio, USA

Jun Kanno, Nanomaterial respiratory toxicity monitored in rats after whole body inhalation. 第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会(2018.1.26) 沖縄、シンポジウム

菅野 純、「シグナルかく乱」による「シグナル毒性」としての内分泌かく乱化学物質問題、環境ホルモン学会第20回研究発表会、(2017.12.12) 神戸、特別講演

Jun Kanno, Broadening Perspective from Endocrine Signaling to Receptor-Mediated Signaling, Endocrine Disruption Strategies Workshop, (2017.12.4) NC USA, Plenary

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Percellome Toxicogenomics for the mechanistic prediction of chemical toxicity., the 8th National Congress of Toxicology (V-III CSOT), (2017.10.16) Jinan, China, keynote.

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Interferon signaling chemicals identified by Percellome Toxicogenomics Project., Eurotox 2017, Bratislava, Slovakia(2017.9.13) poster

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Kentaro Tanemura. Percellome Toxicogenomics Project for Mechanism-Based Toxicity Prediction. Gordon Research Conference (Cellular and Molecular Mechanisms of Toxicology, Procter Academy, New Hampshire, USA (2017.8.17)

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得                   なし
2. 実用新案登録   なし
3. その他                   なし