

研究課題名

家庭用品化学物質が周産期の中枢神経系に及ぼす遅発性毒性の評価系作出に資する研究（H30-化学-一般-003）

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】

家庭用品は、それに求められる機能が多様であり、種々の化学物質が使われている。その中にはフタル酸や BPA といった低分子化学物質に代表される物質や、核内受容体や神経伝達物質受容体などに対して低濃度で作動性を発揮すると考えられる物質等が含まれている。この様な特性を有する物質には、申請者らの今までの研究から、周産期にある動物の中枢神経系にシグナル異常を引き起こし、成熟後に遅発性の有害影響を誘発することが示唆されるものもある。世代や性別を問わず、妊婦（胎児）や小児を含む国民が広く日常的に長期に渡って接する家庭用品に関しては、この観点からの有害性評価の確立をすることには大きな意義があると考えられる。本研究は、先行研究(H20-化学-一般-009、H23-化学-一般-004、H27-化学-一般-007)にて開発した評価系による独自の知見を応用することで、家庭用品に含まれる化学物質について、妊婦（胎児）や小児を上記の様なシグナル異常に脆弱な集団と位置づけ生活環境レベルでの低用量暴露による遅発性の中枢神経系への影響を検討する。

H31/R2 年度の研究として、(1) 発生発達期にかけてのビスフェノール類の低用量長期飲水投与による成熟後の中枢神経系への影響解析を行い、BPA とゴム老化防止剤である BBMTBP および MBMTBP を、いずれも 5ppm に調整し、妊娠 11.5 日齢の雌マウスに飲水投与を開始し、妊娠期および出産期、授乳期を通して雌マウスに飲水投与を継続し、得られた産仔雄マウスを用いて生後 12-13 週齢時に行動解析を行った結果、いずれの投与群においても不安関連行動異常が疑われた。また、海馬スライスを用いた神経回路機能解析からは、ビスフェノール類の急性影響としては BPA よりも BBPTBP および MBPTBP が GABAA 受容体阻害による影響が大きいと考えられた。さらに遺伝子発現解析からは、神経系の重篤な有害事象との関連を示唆するシグナルネットワークの検出には至らなかった。(2) 発生発達期にかけての塩化トリブチルスズの低用量長期飲水投与による成熟後の神経幹細胞動態解析を行い、海馬神経幹/前駆細胞の増殖能が低下傾向にあることを突き止めた。(3) OECD テストガイドラインの TG426 を補強するための、情動行動（不安関連行動）への影響、および学習記憶行動への影響を評価するバッテリー式のマウス行動評価系プロトコルの提案の一次審査の結果を受け、OECD Developmental Neurotoxicity (DNT)との調整を進めている。(4) 発達神経毒性情報のデータベース化計画として、行動様式影響と海馬遺伝子発現解析についての取りまとめを開始した。(5) 液性因子への影響解析として血液・唾液中の小分子 RNA の抽出解析技術の構築と適用を目的とし、候補となる小分子 RNA の絞り込みを行った。(6) 化学物質が DNA メチル化に影響を与えるかを判定する細胞評価系の開発を目的とし、TdTomato を NanoLuc 改変した結果、定量性の向上を確認できた。(7) 行動様式および神経幹細胞動態の定量情報と対応する、

あるいは予見しうる小分子 RNA マーカー探索として、胎生後期由来のニューロンを用いて神経機能影響と対応する小分子 RNA としての検証を進めた。

以上の結果から、家庭用品に使われる一部の化学物質について、マウスでの発生発達期（周産期を含む）におけるデータを収集することができた。また、新たな評価系の開発についても有力な候補が確認された。さらに、発生発達期（周産期を含む）を対象とした国際的ガイドラインへの提言のためにも、家庭環境レベル、生活環境レベルにおける化学物質暴露による神経行動毒性の強度を明らかにするために、引き続きデータを収集するとともに、脳機能変調に対応する神経科学的物証を捉える必要があると考えられる。

【研究組織】

代表：種村 健太郎

東北大学大学院 農学研究科・教授

分担：掛山 正心

早稲田大学 人間科学学術院・教授

分担：富永 貴志

徳島文理大学 神経科学研究所・教授

分担：中島 欽一

九州大学大学院 医学研究院・教授

分担：北嶋 聡

国立医薬品食品衛生研究所 毒性部・部長

分担：菅野 純

独立行政法人 労働者健康安全機構

日本バイオアッセイ研究センター・所長

分担：五十嵐 勝秀

星薬科大学 創薬科学学域・教授

分担：今村 拓也

九州大学大学院 医学研究院・准教授

協力：平舘 裕希

東北大学大学院 農学研究科・助教

A. 研究目的

家庭用品は、それに求められる機能が多様であり、種々の化学物質が使われている。その中にはフタル酸やビスフェノール A といった低分子化学物質に代表される物質や、核内受容体や神経伝達物質受容体などに対して低濃度で作動性を発揮することが考えられる物質等が含まれている。このような特性を有する物質には、申請者らの今までの研究から、周産期にある動物の中枢神経系にシグナル異常を引き起こし、成熟後に遅発性の有害影響を誘発することが示唆されるものもある。世代や性別を問わず、妊婦（胎児）や小児を含む国民が広く日常的に長期に渡って接する家庭用品に関しては、この観点からの有害性評価の確立をすることには大きな意義があると考えられる。

本研究は、先行研究(H20-化学一般-009、H23-化学一般-004、H27-化学一般-007)にて開発した評価系による独自の知見を応用することで、家庭用品に含まれる化学物質について、妊婦（胎児）や小児を上記のようなシグナル異常に脆弱な集団と位置づけ、生活環境レベルでの低用量暴露による遅発性の中枢神経系への影響を検討する。近年の使用量が増加傾向にある物質や中枢神経系の発生発達に関わる受容体に対して標的性があることが知

られている物質として塗料剤（研究1年目：トリブチルスズ化合物類として現在は規制対象である塩化トリブチルスズ）、ゴム製品老化防止剤（研究2年目ビスフェノール系化合物類を予定）、及び防虫加工剤（研究3年目：ピレスロイド系化合物類を予定）を用いて、周産期マウスへの経胎盤投与や経乳投与を行い、成熟後に、個体・器官（システム）レベル、組織・細胞レベル、分子レベルに生じた影響を実験的に捉えることによって生活環境レベルでの低用量暴露による遅発性の中枢神経系への影響に関するデータを収集する。具体的な毒性評価指標は、先行研究において遅発性毒性が明らかとなった既知化学物質の結果を基準として、定量的に評価する。

B. 研究方法

従来型の毒性試験法による毒性情報が利用可能で、周産期暴露による中枢神経毒性に関する情報がない、または中枢神経系に発現している各種受容体に対して親和性がある化学物質を選択し、実際の用途を想定した低用量にて長期飲水投与（発生発達期投与については妊娠マウスを介しての経胎盤投与および授乳マウスを介しての経乳投与）を行い（種村、平舘）、成熟期（生後12週～13週）のマウスについて以下の個体・器官（システム）レベル、組織・細胞レベル、分子レベルでの解析を行い、低用量暴露による遅発性の中枢神経系への影響に関するデータを収集する。

【個体・器官レベルでの影響解析と毒性評価】

周産期投与が12週齢時マウスの情動認知行動に及ぼす影響を、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）により定量的に評価する（種村）。この行動解析バッテリー試験は、測定機材及びプロトコルを先行研究において開発したもので、非常に高い再現性と精度を発揮する。行動解析バッテリー試験後のマウスについて、血液や唾液中の液性因子への影響を評価し、情動認知行動影響との関連性を検討する（掛山）。また、膜電位感受性色素を利用したマウス脳神経回路イメージング解析を同動物の海馬スライスを用いて実施し、影響を受けた脳神経回路の部位と程度を明らかにする（富永）。

【組織・細胞レベルでの影響解析と毒性評価】

行動解析バッテリー試験後のマウス脳について

病理組織学解析を行い、光学顕微鏡レベルでの脳組織構築への影響（種村）、組織化学レベル、およびタンパク発現レベルでの神経突起発達への影響を明らかにする（種村、平舘）。また、先行研究で中枢神経異常と高い相関性を示すことが明らかとなった神経幹細胞の動態の変化を、各種神経分化マーカーを用いて解析する（中島）。

【分子レベルでの影響解析と毒性評価】

行動解析バッテリー試験後のマウス脳より得られた海馬について、cDNA マイクロアレイを用いて網羅的遺伝子発現解析を実施し、その遺伝子発現プロファイルを明らかにする（北嶋）とともに、先行研究にて蓄積した知見に基づくカスケード解析による毒性発現メカニズムの in silico 推定を行う（菅野）。こうした分子メカニズム解明研究による裏付けによって、前述の個体・器官（システム）レベルおよび組織・細胞レベルでの解析結果の人への外挿を客観的に行うことが可能となる。また、全ゲノムレベルでの DNA メチル化様式への影響に関する情報を蓄積する（五十嵐）とともに、近年、生物学的意義が明らかになり、有望な毒性指標としての利用が期待されるノン・コーディング RNA への影響の有無と程度を検討する（今村）。

個体・器官（システム）レベル、組織・細胞レベル、分子レベルでの具体的な毒性評価指標は、すでに人で毒性が明らかとなっている既知化学物質や、先行研究において遅発性毒性が明らかとなった化学物質の結果を基準として参照することにより定量的に評価する。これによって、家庭用品に含まれる化学物質の周産期暴露による遅発性の中枢神経毒性の高精度な有害性評価が普遍性を持って実施可能となる。

【発生-発達期における化学物質暴露によって成熟後に顕在化する影響評価に関する国際的なガイドラインの作出に向けた取り組み】

前述の中枢神経系への遅発性の有害影響を高精度かつ定量的に把握する為に開発しその性能が本研究で確認された試験法を元とし、行政対応目的で使用するためのバリデーションに耐えるガイドラインへの適用を目指す。また、既に家庭用品規制法によって規制された化学物質を含め、対象とする化学物質について、遅発性の中枢影響が認められた場合、その誘発分子機序を明らかにすることにより、人への外挿性を検討しつつ、当該物質に

ついて規制のあり方の検討に資する情報を提供する。

（※）研究代表者を二重下線、研究分担者を下線、研究協力者を下点線で示した。

倫理面への配慮：動物実験については、その計画及び実施に際して、科学的及び動物愛護的配慮を十分行い、各研究者が所属の研究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

H31/R2 年度の研究として、(1) 発生発達期にかけてのビスフェノール類の低用量長期飲水投与による成熟後の中枢神経系への影響解析（行動解析：種村、平舘、神経回路機能解析：富永、遺伝子発現解析：北嶋）(2) 発生発達期にかけての塩化トリブチルスズの低用量長期飲水投与による成熟後の中枢神経系への影響解析（神経幹細胞動態解析：中島）、(3) 発生-発達期における化学物質暴露影響評価に関する国際的なガイドラインの作出に向けた取り組み（菅野・種村）、(4) 発達神経毒性関連情報のデータベース化の開始（菅野・種村）、(5) 液性因子への影響解析として血液・唾液中の小分子 RNA の抽出解析技術の構築と適用（掛山）、(6) 化学物質が DNA メチル化に影響を与えるかを判定する細胞評価系の開発（五十嵐）、(7) 行動様式および神経幹細胞動態の定量情報と対応する、あるいは予見しうる RNA マーカー探索（今村）を行った。

（※）研究代表者を二重下線、研究分担者を下線、研究協力者を下点線で示した。

(1) ビスフェノール類として、BPA(ビスフェノール A) とゴム老化防止剤である BBMTBP (4,4'-ブチリデンビス(6-tert-ブチル-m-クレゾール)) および MBMTBP (2,2'-メチレンビス(6-tert-ブチル-p-クレゾール)) を、いずれも 5ppm に調整し、妊娠 11.5 日齢の雌マウスに飲水投与を開始し、妊娠期および出産期、授乳期を通して雌マウスに飲水投与を継続し、得られた産仔雄マウスを用いて生後 12-13 週齢時に行動解析を行った結果、いずれの投与群においても不安関連行動異常が疑われた。また、海馬スライスを用いた神経回路機能解析からは、ビスフェノール類の急性影響としては BPA よりも BBPTBP および MBPTBP が GABAA 受容体阻害による影響が大きいと考えられた。さらに行動解

析後のマウス海馬についての遺伝子発現解析からは、神経系の重篤な有害事象との関連を示唆するシグナルネットワークの検出には至らなかった。

(2) 塩化トリブチルスズ (かつて塗料剤として使用されたが現在では特定化学物質として指定されている) を 0.025、0.25、2.5ppm に調整し、妊娠 11.5 日齢の雌マウスに飲水投与を開始し、妊娠期および出産期、授乳期を通して雌マウスに飲水投与を継続し、得られた産仔雄マウス (生後 4 週齢時に離乳し、以後は通常飲水に切り替えた) を用いて生後 12-13 週齢時に行動解析を行った結果、いずれも空間連想記憶異常が疑われ、特に高用量投与群においては音連想記憶異常を伴うものであったが (H30 年度)、行動影響と対応する海馬神経幹/前駆細胞の増殖能は、いずれの投与条件においてもコントロールと比べて低下傾向にあることを突き止めた。

(3) OECD テストガイドラインの TG426 を補強するための、情動行動 (不安関連行動) への影響、および学習記憶行動への影響を評価するバッテリー式のマウス行動評価系プロトコール (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、プレパルス驚愕反応抑制試験) の提案の一次審査の結果を受け、OECD Developmental Neurotoxicity (DNT) との調整を進めている。

(4) 発達神経毒性情報のデータベース化計画として、行動様式影響と海馬遺伝子発現解析についての取りまとめを開始した。

(5) 液性因子への影響解析として血液・唾液中の小分子 RNA の抽出解析技術の構築と適用を目的とし、候補となる小分子 RNA の絞り込みを行った。昨年度得られた知見をもとに関連遺伝子のイントロン上に存在するか、関連遺伝子と相互作用が報告されている遺伝子を約 100 個抽出し、家庭用品に含まれる化学物質の、想定される健康影響との関連についての文献調査を踏まえて、miR1184_2、miR1236_1、miR1280_1、miR196a_2、miR221_1、miR29c_1、miR320d_2、miR642a_1、miR652_3 遺伝子を対象とした。

(6) 化学物質が DNA メチル化に影響を与えるかを判定する細胞評価系の開発を目的とし、H30 にレポーターとして用いた TdTomato を NanoLuc 改変した結果、定量性の向上を確認できた。

(7) 行動様式および神経幹細胞動態の定量情報と対応する、あるいは予見しうる小分子 RNA マーカ

ー探索として、胎生後期由来のニューロンを用いて神経機能影響と対応する小分子 RNA としての検証を進めた。

D. 考察

(1) BPA、BBMTBP および MBMTBP 3 種のビスフェノール類の発生-発達期低用量長期飲水投与群の行動解析結果から、いずれの投与群においてもオープンフィールド試験あるいは明暗往来試験での、不安関連行動の指標となる項目に有意な減少が認められ、各投与群において、対照群と比較して不安の亢進が疑われた。その中でも、BPA 投与群が最も影響を受けていると考えられた。しかし、先行して解析した塩化トリブチルスズの発生-発達期低用量長期飲水投与による行動影響と比較して、いずれのビスフェノール類においても、多くの項目で対照群との間に顕著な差は認められず、その影響は軽微なものであることが推察された。また、共同で行った行動解析後のマウスについての percellome 法による網羅的遺伝子発現解析 (海馬) の結果およびそれに基づくパスウェイ解析の結果から、いずれの投与群においても、この投与用量、投与期間といった条件では、海馬における神経機能に顕著な影響はないものと考えられた。すなわち、今回の行動解析において顕著な情動認知行動影響、特に、海馬を主な責任部位とする学習記憶に関連する行動影響が認められなかった結果とも一致することが示された。一方で海馬スライスを用いた神経回路機能へのビスフェノール類の添加による急性影響解析からは、BPA よりも BBMTBP および MBMTBP の方が、影響が高く、急性影響と遅発的に顕在化する影響との違いが大きいと推察された。

(2) 発生発達期にかけての塩化トリブチルスズの低用量長期飲水投与による成熟後の中枢神経系 (神経幹細胞動態) への影響解析結果は記憶異常と高い相関性を示しており、行動異常に対応する有力な指標であると判断された。

(3) 発生-発達期における化学物質暴露影響評価に関する国際的なガイドラインの作出に向けた取り組み：行動解析試験施行前のマウスの馴化と行動解析試験中の実験環境制御を含めた我々のプロトコールは OECD における各国委員からの評価は

非常に高く、さらに関連するデータを収集し、より妥当性を高める必要があると考えられた。

(4) 発達神経毒性情報のデータベース化計画として、行動様式影響と海馬遺伝子発現解析についての取りまとめを開始した。その際、群内の分布様式への化学物質影響を同時に評価する必要があると考えられた。尚、研究班の研究計画、成果ともに毒性評価に携わる研究者には国際的にも評価を得たが、OECD 全体としての *in vitro* 指向との調整が難航した。今後、少なくとも現状及び近未来的には当該試験法バッテリーの標準化の重要性、及び、その今までの成果の発信を継続的に説明して行く必要があると考えられた。

(5) miR1184_2, miR1236_1, miR1280_1, miR196a_2, miR221_1, miR29c_1, miR320d_2, miR642a_1, miR652_3 の 7 遺伝子について、モデルマウスと野生型マウスで発現量が異なること、唾液と血液中発現量には大きな違いがないことが新たに明らかとなった。すなわち、これらの遺伝子群は新規バイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。

(6) 家庭用品化学物質の DNA メチル化影響の有無について、迅速にデータを得るための細胞システムを導入できた。今後、本システムを用い、本研究で検討する家庭用品化学物質について、DNA メチル化影響の有無に関するデータを得る。それにより、周産期ばく露を受けた個体の中枢神経系における DNA メチル化変化の有無を判断することが可能になると考えられた。

(7) 化学物質投与に端を発し、「DNA メチル化変化→機能 RNA 発現変化→表現型変化」と進んでしまう晩発影響の機能軸が存在することを明確に示すことができた。最終年度である次年度に向けて、*in vivo* 化学薬品投与モデル、および *in vitro* 脳オルガノイドモデルを活用することが可能となった。

E. 結論

家庭用品に使われる一部の化学物質について、マウスでの発生-発達期(周産期を含む)におけるデータが収集できた。発生-発達期(周産期を含む)を対象とした国際的ガイドラインへの提言のため

にも、家庭環境レベル、生活環境レベルにおける化学物質暴露による神経行動毒性の強度を明らかにするために引き続きデータを収集するとともに、機能変調に対応する神経科学的物証を捉える必要があると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 書籍

遺伝子近傍の DNA メチル化レベルを可視化する
佐野坂司・今村拓也(分担) 「次世代シーケンサー DRY 解析教本」清水厚志・坊農秀雅(編集)
ISBN978-4-7809-0983-8 pp.364-365, 秀潤社(2019)

2) 雑誌

Saito H, Hara K, Tominaga T, Nakashima K, Tanemura K. Early-life exposure to low levels of permethrin exerts impairments in learning and memory with the effects on neuronal and glial population in adult male mice. *J Appl Toxicol.* 2019 Dec;39(12):1651-1662. doi: 10.1002/jat.3882. Epub 2019 Aug 15. PubMed PMID: 31415104

Yamashita S, Kogasaka Y, Hiradate Y, Tanemura K, Sendai Y. Suppression of mosaic mutation by co-delivery of CRISPR associated protein 9 and three-prime repair exonuclease 2 into porcine zygotes via electroporation. *J Reprod Dev.* 2019 Nov 24. doi: 10.1262/jrd.2019-088. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31761839

Goto M, Saito H, Hiradate Y, Hara K, Tanemura K. Differences in resistance against osmotic challenge among C57BL/6, DBA/2 and their hybrid mice metaphase II (MII) stage oocytes. *Zygote.* 2019 Aug;27(4):250-254. doi: 10.1017/S0967199418000370. Epub 2019 Aug 9. PubMed PMID: 31397238.

Kanamori M, Oikawa K, Tanemura K, Hara K. Mammalian germ cell migration during development, growth, and homeostasis. *Reprod Med Biol.* 2019 Jun 9;18(3):247-255. doi: 10.1002/rmb2.12283. eCollection 2019 Jul. Review. PubMed PMID: 31312103; PubMed Central PMCID: PMC6613016.

- Kurata S, Hiradate Y, Umezu K, Hara K, Tanemura K. Capacitation of mouse sperm is modulated by gamma-aminobutyric acid (GABA) concentration. *J Reprod Dev.* 2019 Aug 9;65(4):327-334. doi: 10.1262/jrd.2019-008. Epub 2019 Jun 10. PubMed PMID: 31178551; PubMed Central PMCID: PMC6708848.
- Umezu K, Yajima R, Hiradate Y, Yanai R, Numabe T, Hara K, Oikawa T, Tanemura K. Improvement in blastocyst quality by neurotensin signaling via its receptors in bovine spermatozoa during in vitro fertilization. *J Reprod Dev.* 2019 Apr 12;65(2):147-153. doi: 10.1262/jrd.2018-147. Epub 2019 Jan 19. PubMed PMID: 30662011; PubMed Central PMCID: PMC6473113.
- 掛山正心・藤原昌也, マウスの集団内社会行動の客観定量分析, 日本生物学的精神医学会誌. 2019, 30:182-186. doi: 10.11249/jsbpjpp.30.4_182.
- Tominaga, T., *Kuhn, B. (2020). Cutting-edge brain research from a biophysical perspective: symposium synopsis of Session 1SCP at BSJ2019 in Miyazaki, Kyushu, Japan *Biophysical Reviews*
- Tominaga, Y., Taketoshi, M., Maeda, N., Tominaga, T. Wide-field Single-photon Optical Recording in Brain Slices Using Voltage-sensitive Dye. *J. Vis. Exp.* (148), e59692, doi:10.3791/59692 (2019).
- Kajiwarara R, Tominaga Y, Tominaga T (2019) Network plasticity involved in the spread of neural activity within the rhinal cortices as revealed by voltage-sensitive dye imaging in mouse brain slices *Front. Cell. Neurosci.* doi: 10.3389/fncel.2019.00020
- Mishima Y, Brueckner L, Takahashi S, Kawakami T, Otani J, Shinohara A, Takeshita K, Garvilles RG, Watanabe M, Sakai N, et al.: Enhanced processivity of Dnmt1 by monoubiquitinated histone H3. *Genes Cells* 2020, 25:22-32. PMID: 31680384 DOI: 10.1111/gtc.12732
- Yoshikawa Y, Ago T, Kuroda J, Wakisaka Y, Tachibana M, Komori M, Shibahara T, Nakashima H, Nakashima K, Kitazono T: Nox4 Promotes Neural Stem/Precursor Cell Proliferation and Neurogenesis in the Hippocampus and Restores Memory Function Following Trimethyltin-Induced Injury. *Neuroscience* 2019, 398:193-205. PMID: 30528855
- Noguchi H, Castillo JG, Nakashima K, Pleasure SJ: Suppressor of fused controls perinatal expansion and quiescence of future dentate adult neural stem cells. *Elife* 2019, 8. PMID: 30973324 PMCID: PMC6459675 DOI: 10.7554/eLife.42918
- Nakajo M, Uezono N, Nakashima H, Wake H, Komiya S, Nishibori M, Nakashima K: Therapeutic time window of anti-high mobility group box-1 antibody administration in mouse model of spinal cord injury. *Neurosci Res* 2019, 141:63-70. PMID: 29604317 DOI: 10.1016/j.neures.2018.03.004
- Kobayashi K, Kuze J, Abe S, Takehara S, Minegishi G, Igarashi K, Kitajima S, Kanno J, Yamamoto T, Oshimura M, Kazuki Y.: CYP3A4 Induction in the Liver and Intestine of Pregnane X Receptor/CYP3A-Humanized Mice: Approaches by Mass Spectrometry Imaging and Portal Blood Analysis. *Mol Pharmacol*, 96(5): 600-608, 2019.
- Ono R, Yasuhiko Y, Aisaki K, Kitajima S, Kanno J, Yoko H.: Exosome-mediated horizontal gene transfer occurs in double-strand break repair during genome editing. *Commun Biol* 2, Article number: 57, 2019.
- 北嶋 聡、エディトリアル：ドーピングの中毒学・毒性学-序文-、中毒研究(Jpn. J. Clin. Toxicol.) 32: 373-374. 2019.
- Ikarashi S, Tsuchiya A, Kawata Y, Kojima Y, Watanabe T, Takeuchi S, Igarashi K, Ideta-Otsuka M, Oki K, Takamura M, Terai S. Effects of Human Adipose Tissue-Derived and Umbilical Cord Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells in a Dextran Sulfate Sodium-Induced Mouse Model. *Biores Open Access.* 2019 Nov 11;8(1):185-199. doi: 10.1089/biores.2019.0022. eCollection 2019. PubMed PMID:31720090; PubMed Central PMCID: PMC6844129.
- Kuzumaki N, Suda Y, Iwasawa C, Narita M, Sone T, Watanabe M, Maekawa A, Matsumoto T, Akamatsu W, Igarashi K, Tamura H, Takeshima H, Tawfik VL, Ushijima T, Hattori N, Okano H, Narita M. Cell-specific overexpression of COMT in dopaminergic neurons of Parkinson's disease. *Brain.* 2019 Jun 1;142(6):1675-1689. doi: 10.1093/brain/awz084. PubMed PMID: 31135049.

Han C, Kawata M, Hamada Y, Kondo T, Wada J, Asano K, Makabe H, Igarashi K, Kuzumaki N, Narita M, Kobayashi H, Narita M. Analyses of the possible anti-tumor effect of yokukansan. *J Nat Med.* 2019 Jun;73(3):468-479. doi:10.1007/s11418-019-01283-x. Epub 2019 Feb 9. PubMed PMID: 30739283.

Kitajima R, Nakai R, Imamura T, Kameda T, Kozuka D, Hirai H, Ito H, Imai H, Imamura M. Modeling of early neural development in vitro by direct neurosphere formation culture of chimpanzee induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Res.* 2020 Feb 28;44:101749. doi:10.1016/j.scr.2020.101749. [Epub ahead of print] PMID: 32151953

2. 学会発表

倉田笙平、小塩健介、高森広典、梅津康平、平舘裕希、原健士朗、種村健太郎「ブタ精子機能に対するGABA 影響解析」日本畜産学会第 127 回大会 (2020. 3. 25-28) 、京都府

酒井和哉、原健士朗、種村健太郎「精巣毒性モデルマウスにおける精子エピゲノム影響評価」第 42 回日本分子生物学会年会 (2019. 12. 3-6) 、博多市

影山恵理、沼邊孝、種村健太郎、原健士朗「ウシ精巣の対外培養における PDMS 製カバーの有用性」第 126 回日本畜産学会大会 (2019. 9. 17-20) 、盛岡市

牧野優誠、平舘裕希、矢内凜、齊藤洋克、原健士朗、種村健太郎「ニコチン型アセチルコリン受容体シグナルを利用したマウス精子機能の調節」第 112 回日本繁殖生物学会大会 (2019. 9. 2-5) 札幌市

倉田笙平、平舘裕希、梅津康平、原健士朗、種村健太郎「γ-アミノ酪酸 (GABA) を利用した精子機能制御法の開発に資する研究」第 112 回日本繁殖生物学会大会 (2019. 9. 2-5) 札幌市

矢内凜、平舘裕希、原健士朗、藤井渉、佐原成彦、種村健太郎「タウ欠損マウスを用いた精子におけるタウ類似タンパクの発現様式」第 112 回日本繁殖生物学会大会 (2019. 9. 2-5) 札幌市

梅津康平、平舘裕希、原健士朗、種村健太郎「ウシ精子を卵母細胞に導く走化性因子の特定」第 112 回日本繁殖生物学会大会 (2019. 9. 2-5) 札幌市

Hirokatsu Saito, Kenshiro Hara, Takashi Tominaga, Kinichi Nakashima, Kentaro Tanemura 「Early-life exposure to low levels of permethrin exerts impairments in learning and memory associated with glial cell disturbance in adult male mice」 the 15th IUTOX

International Congress of Toxicology (ICTXV) (2019. 7. 15-18) ホノルル

種村健太郎「非侵襲的な早期精巣毒性バイオマーカーとしての精子エピゲノム影響評価」第 38 回日本アンドロロジー学会学術大会 (2019. 6. 21-22) 大阪府

種村健太郎、北嶋聡、菅野純「低用量科学物質の周産期ばく露による情動認知行動動毒性～子どもの毒性額にむけた評価系開発の現在～」第 46 回日本毒性学会学術年会 (2019. 6. 26-28) 徳島市

種村健太郎、北嶋聡、菅野純「発生期マウスへの神経シグナル異常による成熟後の神経行動毒性発現～海産毒による異常誘発モデルとしての検討～」第 46 回日本毒性学会学術年会 (2019. 6. 26-28) 徳島市

鈴木健、城宝大輔、掛山正心「マウスにおける意思決定の客観的及び定量的解析」第 49 回日本神経精神薬理学会 (2019. 10. 12-13) 福岡市。

城宝大輔、鈴木健、藤原昌也、斉藤貴志、西道隆臣、掛山 正心「App ノックインマウスにおける認知機能の時系列変化の評価」第 49 回日本神経精神薬理学会 (2019. 10. 12-13) 福岡市。

Suzuki T, Joho D, Kakeyama M. Establishment of a decision-making task in mice. 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (2019. 10. 11-13) 福岡市。

Joho D, Suzuki T, Fujiwara , Saito T, Saido D, Kakeyama M. The assessment of temporal changes in cognitive functions in App knock-in mouse models. 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (2019. 10. 11-13) 福岡市。

Yoko TOMINAGA, Maki KOIKE-TANI, Tomomi TANI, Takashi TOMINAGA A fast intrinsic optical signal (fios) from unstained hippocampal slice is a novel kind of optical signal: comparison with the voltage-sensitive dye signal Neuroscience Meeting Planner. Chicago, Society for Neuroscience 20191019 Chicago McCormick Place

Yoko Tominaga, Makiko Taketoshi, Kentaro Tanemura, Takashi Tominaga Optical Recording Methods with Voltage-Sensitive Dye (VSD) Is Useful to Evaluate the Impact of Chemicals on Brain Activities in Acute and Late Effects. IUTOX 15th International Congress of Toxicology July 15-18, 2019 | Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA

Hirokatsu Saito, Kenshiro Hara, Takashi Tominaga, Kinichi Nakashima, Kentaro Tanemura. Early-Life Exposure to Low Levels of Permethrin Exerts Impairments in Learning and Memory Associated with Glial Cell Disturbance in Adult Male Mice. Hirokatsu Saito¹, Kenshiro Hara¹, Takashi Tominaga², Kinichi Nakashima³, Kentaro Tanemura¹. IUTOX 15th International Congress of Toxicology July 15-18, 2019 | Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA

Machida Y, Yamada Y, Mizunuma S, Tominaga T, Kajiwara R: Time-lapse optical imaging system for monitoring the resting membrane potential change of neurons in a mouse brain slice. Proc of Life Eng Symp 2019, 139-142, 2019 / ISSN: 2187-9605

富永貴志「脳神経回路膜電位イメージングの技術支援」新学術領域「個性」創発脳 第4回若手の会・技術支援講習会 2019年11月14日~15日 会場:自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター 中会議室

富永貴志, 富永洋子 「光信号で「見る」神経回路のはたらき-膜電位感受性色素(VSD)を中心に」シンポジウム 1SCP 生物物理で見る脳神経回路 (オーガナイザー: 富永貴志, Bernd Kuhn) 第57回日本生物物理学会年会、宮崎県シーガイアコンベンションセンター 2019年9月24日-26日 9月24日 (招待公演)

富永貴志 「脳神経回路膜電位イメージングの技術支援」新学術領域「個性」創発脳 第4回若手の会・技術支援講習会 自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター 中会議室 2019年11月14日~15日

富永貴志・富永洋子・竹歳麻紀子 「脳の「個性」創発の神経機構を測る計測技術-膜電位感受性色素による回路動態計測 新学術領域研究「個性」創発脳 第4回領域会議 (香川県琴平町・琴参閣) 2019年8月2日招待講演

齊藤洋克¹、後藤萌¹、原唯香¹、富永貴志²、種村健太郎 「マウス行動様式と海馬神経回路機能~系統間差と交雑影響~」新学術領域研究「個性」創発脳 第4回領域会議 (香川県琴平町・琴参閣) 2019年8月1日

原唯香、齊藤洋克、富永貴志、種村健太郎 「成熟マウスにおける条件付け学習記憶の形成・維持・想起・消去の性差」新学術領域研究「個性」創発脳 第4回領域会議 (香川県琴平町・琴参閣) 2019年8月1日

富永貴志, 富永洋子「神経回路ダイナミクスのリア

ルタイム光学計測:膜電位感受性色素(VSD)と早い内因性信号(FIOS) Optical recording of the real-time in vitro neural circuit dynamics: the voltage-sensitive dye (VSD) imaging and the fast intrinsic optical signal (FIOS)」(シンポジウム 2S06 膜電位イメージング:新展開 Voltage Imaging: What's New?, Bernd Kuhn, 富永貴志オーガナイズ) 第42回日本神経科学大会 第62回日本神経化学大会 2019年7月26日(金) 朱鷺メッセ(新潟市)

富永洋子 / Yoko Tominaga:1 竹歳麻紀子 / Makiko Taketoshi:1 富永貴志 / Takashi Tominaga:1 マウス海馬長期増強(LTP)の光学測定 Optical evaluation of the long-term potentiation (LTP) of the mouse hippocampal slices 第42回日本神経科学大会 第62回日本神経化学大会 2019年7月26日(金) 朱鷺メッセ(新潟市)

山本融 / Tohru Yamamoto:1 尾嶋大喜 / Daiki Ojima:1 Hossain MD Razib / MD Razib Hossain:1 多田篤史 / Atsushi Tada:1,2 黒川直弘 / Naohiro Kurokawa:2 長澤研 / Ken Nagasawa:2 琢磨和晃 / Kazuaki Takuma:2 中井雄規 / Yuhki Nakai:3 高橋弘雄 / Hiroo Takahashi:1 富永貴志 / Takashi Tominaga:3 岸本泰司 / Yasushi Kishimoto:2 シナプス形成抑制因子MDGAファミリー分子群の欠失が引き起こすE/Iバランス偏移がもたらす認知・行動異常 Cognitive and behavioral impairments caused by E/I imbalance in MDGA1/2 synaptic suppressor deficient mice. 第42回日本神経科学大会 第62回日本神経化学大会 2019年7月26日(金) 朱鷺メッセ(新潟市)

梶原利一 / Riichi Kajiwara:1 富永洋子 / Yoko Tominaga:2 富永貴志 / Takashi Tominaga:2 嗅周囲皮質/嗅内皮質ネットワーク可塑性への遅延性不活性化カリウム電流の関与:マウス脳スライスの膜電位イメージング D-current related plasticity in the perirhinal-entorhinal network: a voltage-sensitive dye imaging in mouse brain slices 第42回日本神経科学大会 第62回日本神経化学大会 2019年7月26日(金) 朱鷺メッセ(新潟市)

富永貴志「低用量化学物質ばく露が誘発する脳回路機能変調を検出する膜電位イメージング解析」シンポジウム 26 第46回日本毒性学会学術年会 2019 2019年7月28日(金曜) アスティとくしま 「幹細胞分化から見る子どもの毒性学:シグナル毒性としての中樞神経影響の評価の現状」

石原康宏¹, 本田達也¹, 富永貴志², 伊藤康一³, 山崎岳 「胎児期バルプロ酸曝露のミクログリア活性と神経回路機能に及ぼす影響」第46回日本毒性学会学術年会 2019 2019年7月28日(金曜) アスティとくしま

高橋和可子, 竹歳麻紀子, 富永洋子, 石原康宏, 富永貴志「バルプロ酸とミノサイクリンの周産期投与による遅発性の海馬回路機能変化の膜電位感受性色素による可視化解析」11 回日本生物物理学会中国四国支部大会 (広島県民文化センター) 2019 年 5 月 11 日

中井雄規, 尾嶋大喜, 山本融, 富永貴志「海馬神経回路の興奮/抑制 (E/I) バランスを欠く MDGA1 欠損マウスにおける歯状回長期増強への影響」11 回日本生物物理学会 中国四国支部大会 (広島県民文化センター) 2019 年 5 月 11 日

中島欽一: Artificial generation of new neurons in adult central nervous systems, 第 42 回日本分子生物学会年会、福岡県、福岡国際会議場・マリンメッセ福岡、2019 年 12 月 3-12 月 6 日 (3 日) (シンポジウム)

中島欽一: Artificial Production of New Neurons in the Adult Central Nervous System, Cell&Gene Therapy Asia2019, 神戸市, Sheraton Kobe Bay Hotel & Towers, 2019 年 11 月 11 日- 12 日 (12 日)

中島欽一: Prior inhibition of HMGB1 enhances human neural stem cell transplantation-mediated functional recovery after spinal cord injury, 9th International DAMPs and Alarmins Symposium, 岡山県、岡山大学 Junko Fukutake Hall, 2019 年 11 月 6 日- 8 日 (6 日) (招待)

中島欽一: 転写因子 NeuroD1 によるミクログリアからニューロンへのダイレトリプログラミングのメカニズム, 第 91 回日本遺伝学会、福井県、福井大学文京キャンパス、2019 年 9 月 11 日- 14 日 (13 日) (ワークショップ)

中島欽一: 生体神経組織における人為的ニューロン新生とその作用, 第 43 回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム、福岡県、国民宿舎マリンテラスあしや、2019 年 9 月 5 日- 7 日 (5 日) (招待講演)

中島欽一: 胎生期バルプロ酸曝露によるけいれん感受性増大のメカニズムとその改善法, 第 46 回日本毒性学会学術年会、徳島県、アスティとくしま、2019 年 6 月 26 日- 28 日 (28 日) (シンポジウム)

中島欽一: 転写因子 ND1 によるミクログリアからニューロンへのダイレトリプログラミングの分子基盤, 第 46 回日本毒性学会学術年会、徳島県、アスティとくしま、2019 年 6 月 26 日- 28 日 (27 日) (シンポジウム)

Nakashima, K.: Artificial neurogenesis in the adult central nervous system and its effect

on functional recovery after injury, 2nd Neuroepigenetics & Neuroepitranscriptomics, Nassau, Bahamas, March 3-6, 202

Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Jun Kanno, Percellome Project on Sick-Building-Syndrome level inhalation for the prediction of neurobehavioral toxicity. OpenTox Asia Conference 2018 (2018.5.24.) Tokyo, Japan

北嶋 聡、シックハウス(室内空気汚染)対策に関する研究-シックハウス症候群レベルの室内揮発性有機化合物の吸入曝露の際の海馬 Percellome トキシコゲノミクスによる中枢影響予測-、環境科学会 2019 年会(2019.9.13.)名古屋

北嶋 聡、近藤一成、ゲノム編集技術応用食品の現状と課題、日本食品化学学会 第 35 回食品化学シンポジウム (2019.11.8.) 東京

登田 美桜、北嶋 聡、フグ毒として知られるテトロドトキシンのリスク評価に関する国際的動向-マウスユニットと急性参照用量-、第 46 回日本毒性学会学術年会 (2019.6.26.) 徳島

小野 竜一、相崎 健一、北嶋 聡、菅野 純、Percellome プロジェクトから見えてきたエピジェネティクス影響、第 46 回日本毒性学会学術年会 (2019.6.26.) 徳島

菅野 純、北嶋 聡、相崎 健一、小野 竜一、Percellome トキシコゲノミクスのエピジェネティクス基盤 -「新型」反復曝露試験の解析-、第 46 回日本毒性学会学術年会 (2019.6.28.) 徳島

夏目 やよい、相崎 健一、北嶋 聡、Samik GOSH, 北野 宏明、水口 賢司、菅野 純、Garuda プラットフォームによる多角的毒性予測、第 46 回日本毒性学会学術年会 (2019.6.28.) 徳島

Yayoi Natsume-Kitatani, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Samik Ghosh, Hiroaki Kitano, Kenji Mizuguchi, Jun Kanno, Cross Talks among PPARα, SREBP, and ER Signaling Pathways in the Side Effect of Valproic Acid, IUTOX 15th International Congress of Toxicology (ICT 2019) (2019.7.16.) ハワイ

Ryuichi Ono, Yusuke Yoshioka, Yusuke Furukawa, Takahiro Ochiya, Satoshi Kitajima, Yoko Hirabayashi, Evaluation of Exosomes as Toxic Biomarkers, IUTOX 15th International Congress of Toxicology (ICT 2019)] (2019.7.17.) ハワイ

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Kentaro Tanemura, The Concept of “Signal Toxicity” for the Mechanistic Analysis of So-Called Low Dose Effect and Delayed Effect after Perinatal Exposure. IUTOX 15th International Congress of Toxicology (ICT 2019)] (2019. 7. 17.) ハワイ

J. Kanno, K. Aisaki, R. Ono, S. Kitajima. Comprehensive Histone, DNA Methylation, and mRNA Expression Analysis of Murine Liver Repeated Exposure to Chemicals: Percellome Project Update. Society of Toxicology (SOT) 59th Annual Meeting (SOT2020), Anaheim, USA, ePoster.

R. Ono, Y. Yasuhiko, K. Aisaki, S. Kitajima, J. Kanno, Y. Hirabayashi., Exosome-mediated horizontal gene transfer: a possible new risk for genome editing. EUROTOX 2019 (55th Congress of the European Societies of Toxicology) (2019. 9. 9), Helsinki, Finland, Poster

Jun Kanno, Analysis of the effect of epigenetic modification on gene expression by the newly designed repeated dose study - progress report of the Percellome Project. Gordon Research Conference: Cellular and Molecular Mechanisms of Toxicity (2019. 8. 11-16), Proctor Academy, NH, USA, Poster

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Kentaro Tanemura., The Concept of “Signal Toxicity” for the Mechanistic Analysis of So-Called Low Dose Effect and Delayed Effect after Perinatal Exposure. 第15回国際毒性学会 (ICT XV) (2019. 7. 17), Hawaii, USA, Poster

Yayoi Natsume-Kitatani, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Samik Ghosh, Hiroaki Kitano, Kenji Mizuguchi, Jun Kanno., Cross Talks among PPAR α , SREBP, and ER Signaling Pathways in the Side Effect of Valproic Acid. 第15回国際毒性学会 (ICT XV) (2019. 7. 16), Hawaii, USA, Poster

菅野 純, 幹細胞分化から見る子どもの毒性学: シグナル毒性としての中枢神経影響の評価の現状 「シグナル毒性」の概念と子どもの毒性学. 第46回日本毒性学会学術年会, (2019. 6. 28), 徳島, シンポジウム, 口演

菅野 純, 北嶋聡, 相崎健一, 小野竜一, エピジェネティクス解析と人工知能による毒性オミクスの展開 Percellome トキシコゲノミクスのエピジェネティクス基盤 -「新型」反復曝露試験の解析-. 第46回日本毒性学会学術年会, (2019. 6. 28), 徳島, シンポジウム, 口演

大久保佑亮, 大竹史明, 五十嵐勝秀, 安彦行人, 平林容子, 相賀裕美子, 菅野純 「双方向性の Notch-Delta シグナルによる側方抑制を介した神経発生の調節」第42回日本分子生物学会年会 (2019. 12. 3-6), 福岡市

今村拓也: IL17Dによる病態発症制御, 第三回ストレスと幹細胞研究会, 長崎市, アイランドナガサキ, 2020年1月31日-2月1日 (口頭発表)

亀田朋典, 今村拓也, 滝沢琢己, 三浦史仁, 伊藤隆司, 中島欽一: ニューロンは神経活性化により新規DNAメチル化を介してエンハンサー活性を調節し, 興奮性シナプス形成に影響する, 第42回日本分子生物学会年会, 福岡市, 福岡国際会議場, 2019年12月3-6日 (ポスター発表)

藤本雄一, 亀田朋典, 吉良潤一, 中島欽一, 今村拓也: 母体由来の炎症シグナルは胎仔脳が発現するサイトカイン IL17Dにより緩和できる, 福岡市, 福岡国際会議場, 2019年12月3-6日 (ポスター発表)

藤本雄一, 亀田朋典, 吉良潤一, 中島欽一, 今村拓也: 母体由来の炎症シグナルは胎仔脳が発現するサイトカイン IL17Dにより緩和できる, 第162回日本獣医学会学術集会, 茨城県, つくば国際会議場, 2019年9月10日-12日 (口頭発表)

藤本雄一, 亀田朋典, 吉良潤一, 中島欽一, 今村拓也: 母体由来の炎症シグナルは胎仔脳が発現するサイトカイン IL17Dにより緩和できる, 第112回日本繁殖生物学会大会, 北海道, 北海道大学高等教育推進機構, 2019年9月2日-5日 (ポスター発表)

今村拓也, 中嶋秀行, 中島欽一: Mecp2ノックアウトマウス新生仔海馬のシングルセルRNA-seq解析, 第13回エピジェネティクス研究会年会, 神奈川県, 神奈川県民ホール, 2019年5月28-29日 (ポスター発表)

中嶋秀行, 入江浩一郎, 辻村啓太, 今村拓也, 石津正崇, 潘森, 中島欽一: unctional analysis of MeCP2, the Rett syndrome responsible factor, mediated by microRNA in neural stem cells fate specification, 第17回幹細胞シンポジウム, 兵庫県, 淡路夢舞台国際会議場, 2019年5月24-25日 (ポスター発表)

中川拓海, 今村拓也, 堅田明子, 中島欽一: Trim28 participates in neuro-gliogenic potential change of neural stem cells, 第17回幹細胞シンポジウム, 兵庫県, 淡路夢舞台国際会議場, 2019年5月24-25日 (ポスター発表)

Tomonori Kameda, Takuya Imamura, Takumi Takizawa, Fumihito Miura, Takashi Ito, Kinichi Nakashima. Neuronal activation can modulate enhancer activity through de novo DNA methylation ISSCR/KSSCR International Symposium, 韓国, ポスター発表 2019年9月26日

Tomonori Kameda, Takuya Imamura, Takumi Takizawa, Fumihito Miura, Takashi Ito, Kinichi Nakashima. Neuronal activation can modulate enhancer activity through de novo DNA methylation The 10th IBRO World Congress of Neuroscience, 韓国, ポスター発表 2019年9月22日

G. 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