

201236012A

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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 種村 健太郎

平成 25(2013)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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 種村 健太郎

平成 25(2013)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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 種村 健太郎

平成 25 (2013) 年 5 月

目 次

I. 総括研究報告書

研究の総括

種村 健太郎

..... 1

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

..... 16

2. 妊娠後期のビスフェノール A 暴露による遅発性行動影響に関する研究

岩野 英知

..... 34

3. 情動認知行動異常発現メカニズムの解明

北嶋 聡

..... 46

4. 発生-発達期ビスフェノール類暴露による遅発行動影響と中枢解析

種村 健太郎

..... 93

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

..... 110

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

..... 123

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

..... 136

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 147

IV. 研究成果の刊行物・別刷

..... 150

別添 3

I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

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、標準プロトコールの確立、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 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 マウス的大脑皮質において 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。

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、複数のエストロゲン受容体(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スチルベストロール(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、明暗往来試験、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 24 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」の作出、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 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) 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、明暗往来試験、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た。また、ER β KO マウスの行動解析を行った結果、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。

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 暴露による遅発神経影響として、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、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。また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 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

2) 雑誌

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, Uchida 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):1522.
- 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;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 171
- Tominaga, T., Tominaga Y. A new non-scanning confocal microscopy module for functional voltage-sensitive dye and Ca^{2+} 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

堅田明子、中島欽一 (2012) 幹細胞分化制御の鍵を握るエピジェネティクス 細胞 8, vol. 44, No. 9, 11-14

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

学会発表

五十嵐勝秀「エピジェネティック毒性」第13回日本毒性学会生涯教育 講習会における招待講演 2012年7月, 仙台

五十嵐勝秀「エピゲノム変化か関与する毒作用発現」環境エヒケノミクス研究会 第7回定例会における招待講演 2012年5月, 東京

岩野英知、柳沢梨沙、對馬澄人、井上博紀、横田博: ビスフェノールA暴露による次世代影響機序について、第154回日本獣医学会学術集会 (2012年9月14-15日)

岩野英知、大谷尚子、須田光紫、柳沢梨沙、種村健太郎、井上博紀、横田博: 妊娠後期におけるビスフェノールA暴露による次世代影響機序、環境ホルモン学会第15回研究発表会 (2012年12月18-19日)

奥山大輔、加藤美保、光石和馬、鈴木千鶴、細川佳純、岩野英知、井上博紀: ラット肝灌流モデルを用いた、ビスフェノールF代謝・動態の雌雄差、環境ホルモン学会第15回研究発表会 (2012年12月18-19日)

村上由里子、細川佳純、奥山大輔、鈴木千鶴、光石和馬、岩野英知、井上博紀: Multidrug Resistance Associated Protein 2 を介したビスフェノールF抱合体の輸送、環境ホルモン学会第15回研究発表会 (2012年12月18-19日)

光石和馬、村上由里子、奥山大輔、細川佳純、鈴木千鶴、岩野英知、井上博紀: 妊娠ラット肝臓における、ビスフェノールF代謝動態の解明、環境ホルモン学会第15回研究発表会 (2012年12月18-19日)

米田倫子、加藤由季、細川佳純、佐々木千尋、樺沢阿子、岩野英知、井上博紀: ラット反転腸管を用いたビスフェノールA関連物質の吸収と動態、環境ホルモン学会第15回研究発表会 (2012年12月18-19日)

佐々木千尋、塚原千恵、奥山大輔、細川佳純、加藤美保、岩野英知、井上博紀: ラット肝灌流モデルを用いたビスフェノールA関連物質の抱合活性比較、環境ホルモン学会第15回研究発表会 (2012年12月18-19日)

鈴木千鶴、岩野英知、大谷尚子、柳沢梨沙、西川美宇、井上博紀： 妊娠後期のビスフェノールA曝露による胎仔脳核酸合成系中間代謝物の変化、環境ホルモン学会第15回研究発表会（2012年12月18-19日）

大谷尚子、岩野英知、須田光紫、柳沢梨沙、種村健太郎、井上博紀、横田博： 妊娠後期ビスフェノールA曝露による次世代個体の行動への影響、環境ホルモン学会第15回研究発表会（2012年12月18-19日）

柳沢梨沙、岩野英知、大谷尚子、須田光紫、井上博紀、横田博： 胎仔腸におけるビスフェノールAグルクロン酸抱合体の動態、環境ホルモン学会第15回研究発表会（2012年12月18 - 19日）

井上博紀、奥山大輔、光石和馬、村上由里子、細川佳純、鈴木千鶴、佐々木千尋、岩野英知： 臓器灌流モデルを用いた、ラット体内におけるビスフェノールAおよびビスフェノールF代謝動態の比較、環境ホルモン学会第15回研究発表会（2012年12月18 - 19日）

北嶋 聡、相崎健一、五十嵐勝秀、菅野 純、食品の安全性確認に向けた Percellome トキシコゲノミクスの適用-香料エストラゴールの場合-、第39回日本毒性学会学術年会（2012. 7. 17）

Satoshi KITAJIMA, Ken-ichi AISAKI, Katsuhide IGARASHI and Jun KANNO, Application of Percellome Toxicogenomics approach to food safety in case of a flavor, estragole, The 6th International Congress of Asian Society of Toxicology (2012. 7. 20) Sendai, Symposium

種村健太郎、古川佑介、大塚まき、五十嵐勝秀、相崎健一、北嶋 聡、佐藤英明、菅野 純、発生-発達期の神経シグナルかく乱による遅発中枢影響解析-幼弱期マウスへのイボテン酸投与による成熟期の脳高次機能障害について-、第39回日本毒性学会学術年会（2012. 7. 17）

北嶋 聡、高橋 祐次、五十嵐 勝秀、相崎 健一、菅野 純、Percellome 網羅的定量的トキシコゲノミクス、平成24年度公益社団法人日本実験動物学会 維持会員懇談会（2012. 11. 16）

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

富永貴志、富永洋子（2012）膜電位感受性色素・カルシウムイメージングに使える新しい超高速共焦点顕微鏡の開発（A new class of confocal microscope for a fast voltage-sensitive dye (VSD) and Ca²⁺ imaging）第50回日本生物物理学会年会 9月 名古屋（口頭発表）

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

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

波平昌一、野口浩史、田中友規、佐野坂司、辻村啓太、中島欽一: Role of the maintenance DNA methyltransferase in embryonic neural stem cells、第85回日本生化学会大会、福岡国際会議場・マリンメッセ福岡、2012年12月14日-16日

藤元祐介、精松昌彦、Anna Falk Austin Smith 小宮節郎、中島欽一: ヒトiPS細胞由来神経上皮様幹細胞移植による脊髄損傷治療、第27回日本整形外科学会基礎学術集会、名古屋国際会議場、2012年10月26-27日

中島欽一: 神経幹細胞移植による損傷脊髄機能の修復、WalkAgain2012 再生医療と脳科学、東京国際交流館、2012年10月6日 (シンポジウム)

中嶋秀行、辻村啓太、入江浩一郎、中島欽一: 神経幹細胞におけるRett症候群原因遺伝子産物MeCP2の機能解析、第35回日本神経科学大会、名古屋国際会議場、2012年9月18-21日

村尾直哉、松田泰斗、古関明彦、波平昌一、中島欽一: マウス脳におけるNP95発現細胞の解析、第35回日本神経科学大会、名古屋国際会議場、2012年9月18-21日

辻村啓太、深尾陽一郎、江頭良明、藤原正幸、入江浩一郎、中嶋秀行、高森茂雄、中島欽一: 発達障害原因因子MeCP2によるmicroRNA生合成を介した神経機能制御、第35回日本神経科学大会、名古屋国際会議場、2012年9月18-21日

石川寛、波平昌一、竹林浩秀、中島欽一: グリア細胞の分化と発達における DNAメチル化の役割、包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ、仙台国際センター、2012年7月24-27日

赤土正一、田中友規、波平昌一、野口浩史、五十嵐勝秀、辻村啓太、中島欽一: ニューロンの発達及び興奮毒性神経細胞死制御におけるDNMT1の機能解析、包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ、仙台国際センター、2012年7月24-27日

中島欽一: 神経系細胞におけるメチル化DNA結合タンパク質MeCP2の新規機能、包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ、仙台国際センター、2012年7月24-27日

武藤哲司、佐野坂司、伊藤慧、中島欽一: 発生期神経幹細胞の分可能獲得における酸素濃度の影響、第39回日本毒性学会学術年会、仙台国際センター、2012年7月17日

Yuniarti N., Juliandi B., Sanosaka T., Nakashima K.: ANTENATAL EXPOSURE TO SUBEROYLANILIDE HYDROXAMIC ACID PROMOTES NEUROGENESIS AND ALTERS NEURAL PROGENITOR CELL FATE SPECIFICATION IN THE DEVELOPING BRAIN、ISSCR 2012、パシフィコ横浜、2012年6月13-15日

Sanosaka T., Namihira M., Nakashima K.: MENINGEAL CELLS INDUCE ASTROCYTE DIFFERENTIATION OF NEURAL STEM CELLS、ISSCR 2012、パシフィコ横浜、2012年6月13-15日

Chai M. C., Juliandi B., Sanosaka T., Nakashima K.: IDENTIFICATION OF HDAC-MEDIATED MECHANISMS FOR THE TEMPORAL SWITCHING OF CORTICAL NEURON SPECIFICATION、ISSCR 2012、パシフィコ横浜、2012年6月13-15日

Matsuda T., Juliandi B., Murao N., Namihiro M., Kawai T., Akira S., Nakashima K.: REGULATION OF ADULT MOUSE NEURAL STEM CELLS BY TLR9 MEDIATED SIGNALING、ISSCR 2012、パシフィコ横浜、2012年6月13-15日 (ポスター)

佐野坂司、波平昌一、中島欽一: Meningeal cells regulate astrocytic differentiation in the embryonic mouse brain、第45回日本発生生物学会・第64回日本細胞生物学会合同大会、神戸国際会議場、2012年5月28-31日

野口浩史、波平昌一、田中友規、佐野坂司、中島欽一: DNA-methyltransferase 1 functions as a suppressor of neuronal differentiation in late-gestational neural stem cells、第45回日本発生生物学会・第64回日本細胞生物学会合同大会、神戸国際会議場、2012年5月28-31日

堅田明子、中島欽一、Paola SassoneCorsi: ヒストンメチルトランスフェラーゼMLL1は概日リズムを司る時計遺伝子群の発現に必須な場を制御する、第6回日本エピジェネティクス研究会年会、学術総合センター、2012年5月14-15日

村尾直哉、松田泰斗、古関明彦、波平昌一、中島欽一: マウス脳におけるNP95発現細胞の解析、第6回日本エピジェネティクス研究会年会、学術総合センター、2012年5月14-15日

中島欽一: 神経幹細胞におけるエピジェネティクス機構を介した遺伝子と取巻く環境の相互作用、第6回日本エピジェネティクス研究会年会、学術総合センター、2012年5月14-15日

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

Fujimoto, Y., Abematsu, M., Falk, A., Tsujimura, K., Sanosaka, T., Juliandi, B., Semi, K., Namihiro, M., Komiya, S., Smith, A., Nakashima, K.: Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human iPS cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells. NEUROSCIENCE 2012, New Orleans, October 13-17, 2012

Nakashima, K.: Interplay between genes and the environment via epigenetic mechanisms in neural stem cells. The 3rd Shanghai International Conference of Epigenetics in Development and Diseases/The 7th Annual Conference of Asian Epigenome Alliance/Genome Medicine Workshop on Epigenetic(-omic)s in Diseases, Shanghai, China, April 19-22, 2012

N. MORIMURA H. YASUDA, K. YAMAGUCHI, H. KATAYAMA, K. YAMADA, N. TOMIOKA, M. OTA, J. ARUGA Lrfr2/SALM1-deficient mice show neuropsychiatric disorderlike behavior phenotypes and synaptic changes of hippocampus. Society for Neuroscience, Neuroscience 2012 (October 13-17, New Orleans)

T. SUZUKI, A. KAMOSHIDA, C. HOMMA, K. YAMADA, M. MIZUNAKA, K. ARAI, M. E. LARKUM, A. MIYAWAKI, M. MURAYAMA

Miniaturized wireless optical recording system for freely moving mice. Society for Neuroscience, Neuroscience 2012 (October 13-17, New Orleans)

本間千尋、山田一之、鴨志田敦史、村山正宜
マウスの体性感覚情報を手がかりとした新規弁別学習課題の確立. 日本動物心理学会第72回大会(5月12-13日 関西学院大学)

Homma Chihiro, Kamoshida Atsushi, Yamada Kazuyuki, Moizumi Shunjiro, Samejima Masahiro, Oda Mitsuru, Yamakawa Hiroshi, Murayama Masanori

New experimental systems for a tactile discrimination task in real and virtual world. 第35回日本神経科学大会(9月18-21日 名古屋国際会議場)

Suzuki Takayuki, Kamoshida Atsushi, Homma Chihiro, Yamada Kazuyuki, Mizunaka Masaru, Arai Kenichi, Larkum Matthew, Miyawaki Atsushi, Murayama Masanori. Wireless calcium recording system for freely moving mice. 第35回日本神経科学大会(9月18-21日 名古屋国際会議場)

Kamoshida Atsushi, Suzuki Takayuki, Homma Chihiro, Yamada Kazuyuki, Murayama Masanori. Developing LabVIEW? based experiment tool for neuroscience. 第35回日本神経科学大会(9月18-21日 名古屋国際会議場)

Yamada Kazuyuki, Murayama Masanori

Strain difference in the response to floor texture among three inbred mice strain ?C57BL/6, C3H/He, BALB/c. 第35回日本神経科学大会(9月18-21日 名古屋国際会議場)

Watahiki Junichi, Nose Kana, Taguchi Tomohiro, Yamamoto Gou, Enomoto Akiko, Yamada Kazuyuki, Maekawa Motoko, Nampo Tomoki, Ichikawa Yuta, Ono Miki, Mishima Kenji, Yoshikawa Takeo, Maki Koutaro

Soft-diet feeding immediately after weaning results in a deficit of prepulse inhibition and causes changes in the gene expression profile in the brain of mice. 第35回日本神経科学大会(9月18-21日 名古屋国際会議場)

野瀬佳奈、綿引淳一、山本剛、市川雄大、山田一之、前川素子、榎本明子、南保友樹、田口智博、小野美樹、美島健二、吉川武男、槇宏太郎
成長発育期の軟食と精神疾患発症との関連性について(第二報) 第71回日本矯正歯科学会大会(9月26-28日 岩手市民文化ホール)

富岡直子、宮本浩行、小田川摩耶、小高由梨、畑山実、守村直子、松本圭史、山田一之、有賀純
Increased seizure susceptibility is caused by loss of Elfn1, an interneuron-specific LRR transmembrane protein. 第35回日本分子生物学会年会(12月11-14日 福岡国際会議場、マリンメッセ福岡)

H. 知的財産所有権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

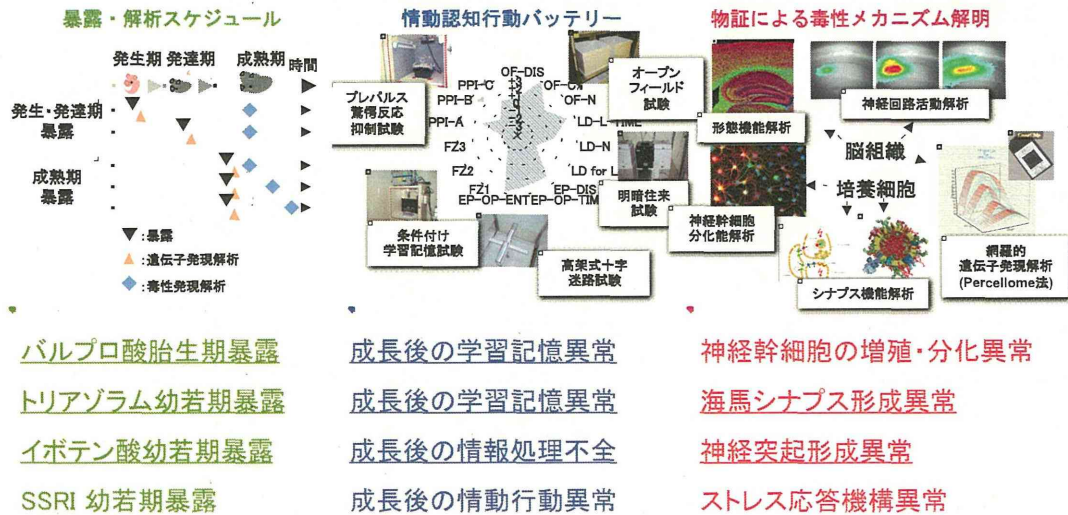
なし

先行研究班による成果

H20-化学-一般-009

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-

研究代表者: 北嶋 聡



先行研究班による成果と課題

情動-認知行動異常、および、その原因たる脳の形態、機能、そして分子毒性学的異常の定量的な評価が可能となった。

胎生期-幼若期(神経系発生-発達期)の神経作動性化学物質暴露は、

1. 脳の形成不全を伴う遅発性の情動-認知行動異常を引き起こす。
2. その行動異常は、成熟期暴露後による行動異常とは原則的に異なり、重篤なことが多い。
3. 細胞死や細胞変性を惹起しないレベルの暴露で遅発性異常が誘発される。

受容体を介した神経シグナルのかく乱による脳の微細構造の形成不全や神経回路の構築異常が不可逆的に固定されたまま成長することで、脳高次機能不全としての情動認知行動異常が遅発性に顕在化すると考えられる。

→今後、行政施策へ反映させる必要がある。

本研究班の目的

先行研究による成果を踏まえ、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た、

「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。

具体的には、神経系発生-発達期において

重要な役割を演じている受容体である、エストロゲン受容体(ER)に

焦点を合わせて、その遺伝子改変マウスから評価指標を設定し、

ER結合性の被験物質(DES、BPA、BPAF等)を用い、

①.情動認知行動解析、

②.神経科学的物証の収集を元に

③.「情動認知行動スコア」と「神経科学物証スコア」の作成するとともに

④.情動認知行動異常発現メカニズム解明を行い、

標準プロトコルの確立を目指す。

本研究遂行における指針

ER遺伝子改変マウス
野生型マウス

ER結合性被験物質
(DES、BPA等)の
胎生期-幼若期暴露

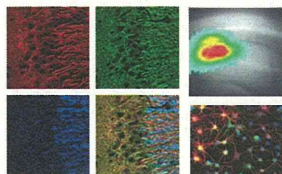
神経系発生-発達期における化学物質投与によるエストロゲン受容体(ER)シグナルかく乱を起点とした、遅発中枢影響の実態を究明し、その性質と強度を毒性学的に客観的に判断する。

①.情動認知行動解析



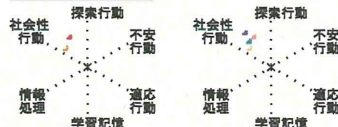
相互検証による対応付け

②.神経科学的物証の収集



③.「情動認知行動スコア」と「神経科学物証スコア」の作成

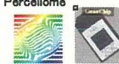
情動認知行動スコア



神経科学物証スコア



④.情動認知行動異常発現メカニズム解明



ヒトへの外挿



高い安全性の確保へ...