

厚生労働化学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
血液中の核酸をバイオマーカーに用いた化学物質の高感度な有害性評価に資する研究
（H30-化学-一般-002）

平成 30 年度 分担研究報告書

分担研究課題：化学物質ばく露影響の病理学的解析

研究分担者：平林 容子

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・センター長

研究協力者：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・部長

相崎健一 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・第一室・室長

高橋裕次 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・第三室・室長

古川佑介 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

研究要旨

日常生活に欠かすことのできない様々な物質がヒトの健康や環境に害を及ぼす危険性があり、それを把握することは、健康危機を適切に管理・回避し、安全な生活を維持するために必須である。

トキシコゲノミクス技術を用いた化学物質の単回暴露の際のデータの蓄積によって、分子メカニズムに基づく化学物質の高精度な影響評価が、実用化段階に到達しつつある。ただし、データは特定の臓器（主に肝臓）に由来し、毒性評価に求められる個体レベルでの網羅性については、多くの労力とコストが必要となる。

本研究では、ヒトに対する予測性の向上を目指した全身を網羅した次世代型安全性評価法の確立および毒性データの集積を目的としている。

最近の知見により、血液中には、細胞より分泌された小胞として知られるエクソソームが循環していることが明らかとなり、特にヒトにおいて腫瘍細胞種特異的なエクソソームをバイオマーカーとした診断精度は 90% を超えるとの報告がある。また、炎症や化学物質誘発性の臓器障害に対する特異的な血液中のバイオマーカーとして、エクソソームの内部に含まれるマイクロ RNA (miRNA) やメッセンジャー RNA (mRNA) が同定されつつある。

そこで、化学物質等による有害事象に応答して、組織・臓器から血液中に放出されるエクソソームに含まれる RNA は、毒性評価の為の新規バイオマーカーとしての有用性が期待されることから、本研究では、化学物質ばく露後のマウスの血液中のエクソソーム RNA の網羅的解析により、標的臓器を特定し、更に毒性発現機序の解明を目指す事で、化学物質の「次世代型」有害性評価による迅速化、高度化および標準化を行うことを目的とした。

本分担研究においては、毒性評価を行うベンゾトリアゾール類 5 種類および肝臓障害のコントロールとしての四塩化炭素をばく露したマウスの病理学的解析を行い、ベンゾトリアゾール類 5 種類のうち 2 種類、および四塩化炭素をばく露したマウスの肝臓において、肝臓障害が検出されることを明らかにした。

本分担研究の病理学的解析結果と、血液中のそれぞれの化学物質に特異的なバイオマーカー候補となるエクソソーム RNA のクラスタリングによる層別化の結果より、エクソソーム

RNA の解析により、病理解析結果を予測することに成功したと考えられる。

このことから、今回、四塩化炭素およびベンゾトリアゾールばく露により生じた肝臓障害をエクソソーム RNA を指標とした次世代型安全性評価法により、迅速かつ高感度に毒性を見出すことに成功した。

各種化学物質の毒性データが集積されることに伴い、これらを利用したカテゴリーアプローチを行うことで、血液 1 滴からの高感度かつ迅速な毒性予測が実現できる。また、長期反復毒性試験の大幅な短期化にも貢献することが期待される。

A. 研究目的

(背景)

血液中には、血球細胞の他に血流中を循環する cell free DNA (cfDNA) や分泌顆粒として知られるエクソソーム内に含まれる RNA が存在する。cfDNA は、生体内で障害を受けた細胞から放出され、cfDNA の DNA メチル化状態は、放出元臓器の DNA メチル化状態を反映することから、障害を受けた組織が同定され得る。エクソソームは、数十～百ナノメートル程度の脂質二重膜の小胞であり、細胞より体液中に分泌される。この中に含まれる RNA には、細胞特異的なものが存在し、腫瘍細胞特異的なエクソソームをバイオマーカーとして 90 % を超える早期がんの診断精度が謳われている。また、ヒト肺微小血管内皮培養細胞は、タバコの煙の刺激で特異的なエクソソーム RNA を放出する報告もあり、これらの指標は毒性評価の為の新規バイオマーカーとしての有用性が期待される。

(目的)

本研究では、化学物質ばく露後のマウスの血液中の核酸のうち、エクソソーム RNA の網羅的解析により、標的臓器を特定し、更に毒性発現機序の解明を目指す事で、化学物質の「次世代型」有害性評価による迅速化、高度化および標準化を行うことを目的とする。ここでは、国立医薬品食品衛生研究所において毒性試験および各種臓器での網羅的遺伝子発現解析を行ったベンゾトリアゾール類を対象とする予定である。これらは化学構造の側鎖の違いで毒性の強さや発現する臓器に違いがあり、エクソソーム RNA をバイオマーカーとした有害性評価の有用性を検証する上で効果的である。また、ベンゾトリアゾール構造からのカテゴリーアプローチによる毒性の予測評価に対しても有用な情報を提供しうるかの如何が検討可能となる。

(期待される効果)

本研究は、少量の血液より、エクソソーム RNA を網羅的に解析し、全身を網羅した毒性バイオマーカーデータベースを構築することで化学物質の高感度な有害性評価を可能とする次世代型の有害性評価法である。さらに、この次世代型有害性評価法は、少量の採血のみで高感度に有害性評価を可能となることから、将来的には化学物質を同一個体に反復ばく露を行ない、継時的に採血を行うことで、従来法に比較し短期間に少数の動物使用で有害性評価が可能となり、動物愛護の 3R に資する評価系となることが期待される。

B. 研究方法

本研究においては、化審法における優先評価化学物質を迅速に安全性評価するために、血液中の核酸をバイオマーカーに用いた化学物質の高感度な有害性評価系の開発を行う。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・毒性部においては、化学物質のマウスへの投与実験および採血、エクソソーム RNA の次世代シーケンサーによる網羅的解析を行い、東京医科大学・医学総合研究所・分子細胞治療研究部門においては、マウス血液からのエクソソーム RNA 採取の標準化プロトコールの作成を行い、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・安全性予測評価部においては、本研究において得られるベンゾトリアゾール構造を持つ 5 物質のばく露に特異的なエクソソーム RNA の結果と、化学構造の基本構造は同じであるが、側鎖の違いなどによりその毒性の強さや発現する臓器に違いがあるベンゾトリアゾール類の毒性情報を利用することで、カテゴリーアプローチ手法を用いた毒性予測評価の精度を飛躍的に向上させ、化審法における優先評価化学物質の毒性評価の迅速な毒性評価および毒性予測評価に貢献する。

・化学物質の投与実験と採血方法の検証：

国立医薬品食品衛生研究所・動物室において C57BL6J マウス (♂、12 週齢) に対して肝臓障害の陽性コントロール物質として四塩化炭素を高用量 (70mg/kg) および低容量 (7mg/kg)、ベンゾトリアゾール構造を持つ化学物質 (10 種類) のうち 5 種類：
・(2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-methylbutan-2-yl)phenol (CAS#3846-71-7)、
・2,4-di-tert-butyl-6-(5-chloro-2H-benzotriazol-2-yl)phenol (CAS#3864-99-1)、
・2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-phenylpropan-2-yl)phenol (CAS#70321-86-7)、
・2-(benzotriazol-2-yl)-4-methylphenol (CAS#2440-22-4)、
・2-(benzotriazol-2-yl)-4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenol (CAS#3147-75-9)
を高用量 (1000mg/kg)、中用量 (300mg/kg)、低容量 (100mg/kg) の 3 用量 (2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-methylbutan-2-yl)phenol (CAS:3846-71-7) に関しては高用量のみ)、およびその溶媒コントロールとしてコーンオイルを 10:00 AM に単回投与し、2 時間、4 時間、8 時間、2 4 時間後にイソフルラン麻酔下において左心房より血液を採取する。肉眼所見で臓器に障害の起さない用量を設定し、その後の解析を行なう。

これらのベンゾトリアゾール類 5 種類の化学物質を CAS 番号、もしくは Benzo0000 (0000 は、各ベンゾトリアゾールの CAS 番号の最初の 4 桁) と省略する場合

がある。

マウス血液を採取後、室温で30分間静置し、氷上に移す。全てのサンプルの準備が整い次第、2000 x G、10分遠心分離を行う。遠心分離後は、上層の血清成分を新しいチューブに移し、総容量を測定後に-80度で保存を行う。

(動物実験を行う際の研究協力者として北嶋聡(毒性部・部長/研究協力者)・古川祐介(若手研究協力者)を加えた。)

・病理組織学的検査：

エクソソーム RNA の解析のために採血を行ったマウス個体より、肝臓および腎臓の採取を行い、10% neutral buffered formalin で組織の固定を行う。その後、パラフィンブロックを作成し、薄切を行い、hematoxylin and eosin (H&E) 染色を行い、病理組織学的検査結果とエクソソーム RNA の解析の結果の比較を行い、エクソソーム RNA をバイオマーカーとした次世代有害性評価法の有効性を検証する。

・生化学検査：

エクソソーム RNA を毒性指標としたバイオマーカーのバリデーションの一つとして、病理組織学検査に加えて、血清生化学検査を行う。

aspartate aminotransferase (AST) および alanine aminotransferase (ALT) の項目について、automatic blood chemistry analyzer Dry-Chem NX 500V (Fuji Film Co. Ltd, Tokyo, Japan)を利用して測定する。

(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、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

C-1：病理組織学検査と生化学検査 (平林)：

平成30年度、令和元年度、令和2年度研究において、各種化学物質および溶媒のマウスへの投与、採血実験を行った個体の一部において、肝臓、腎臓のホルマリン固定を行ない、hematoxylin and eosin (H&E) 染色を行い、病理組織学検査を行った。また、一部

においては、血液生化学検査も行った。

C-1-1：四塩化炭素投与

溶媒投与群 (図 1a) および四塩化炭素投与群 (7mg/kg) (図 1b) の H&E 染色像においては、正常な組織形態を示した (図 1a、b)。

a) corn oil

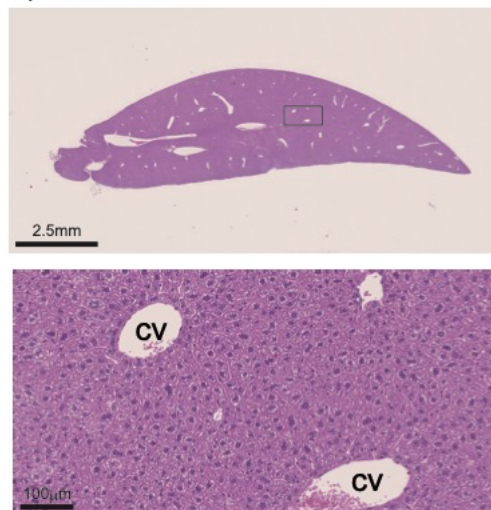


図 1 a) 四塩化炭素の溶媒コントロールとして、コーンオイルを投与し、24時間後のマウスの肝臓における H&E 染色像。上の写真の四角部分を下の写真で拡大している。中心静脈(cv)と周囲の肝細胞は正常な組織構造を示している。CV: 中央静脈

b) CCl4 (7mg/kg)

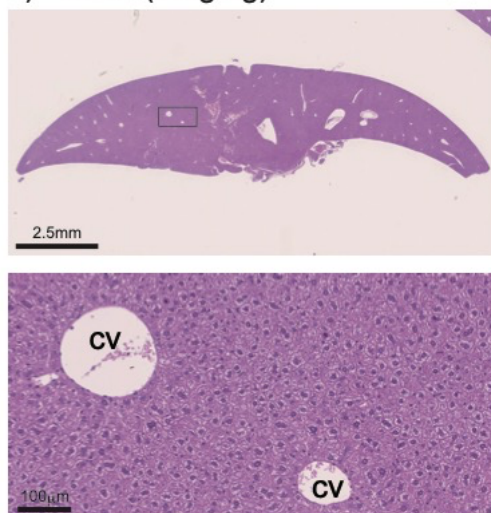


図 1 b) 四塩化炭素(7mg/kg)を投与し、24時間後のマウスの肝臓における H&E 染色像。上の写真の四角部分を下の写真で拡大している。中心静脈(cv)と周囲の肝細胞は正常な組織構造を示している。CV: 中央静脈

一方、四塩化炭素投与群 (70 mg/kg) の H&E 染色像では、四塩化炭素によって誘発された肝臓の組織病

理学的変化が見られた (図 1c)。中心静脈周囲の肝細胞が空胞化し、ネクローシスを起こしている。

c) CCl₄ (70mg/kg)

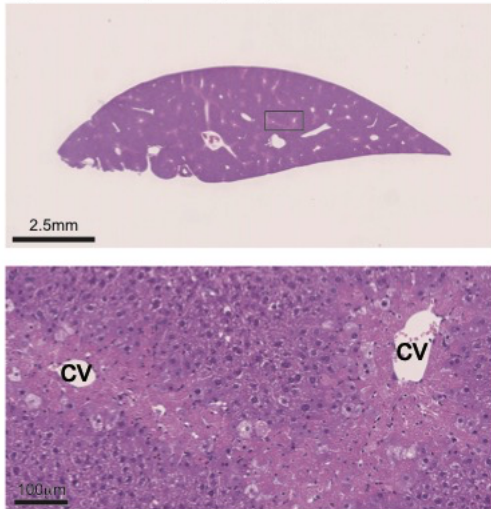


図 1 c) 四塩化炭素(70mg/kg)を投与し、24時間後のマウスの肝臓におけるH&E染色像。上の写真の四角部分を下の写真で拡大している。中心静脈(cv)周囲の肝細胞が空胞化し、ネクローシスを起こしている。CV: 中央静脈

また、エクソソーム RNA を毒性指標としたバイオマーカーのバリデーションの一つとして、病理組織学検査に加えて、血清生化学検査を行った。

肝毒性の最も一般的に使用される診断テストでは、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASTまたはSGOT)やアラニンアミノトランスフェラーゼ(ALTまたはSGPT)など、特定の肝細胞酵素の血中活性を測定する。ASTは細胞の損傷に比例して血清に放出され、細胞壊死の急性期に最も上昇するが、ALTの放出は肝臓の損傷の初期に発生し、比較的長期間上昇したままになる。

ALT (図 1d) と AST (図 1e) の血中活性レベルは溶媒投与群と比較して四塩化炭素投与群 (7 mg / kg) では増加しなかったが、溶媒投与群のそれらと比較して 70 mg / kg CCl₄ 増加した。

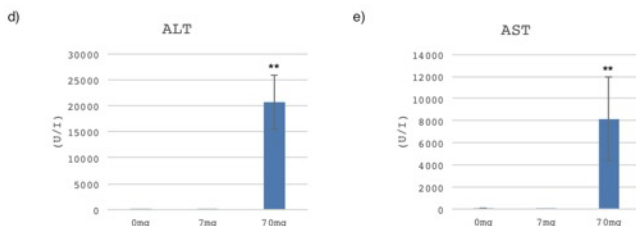


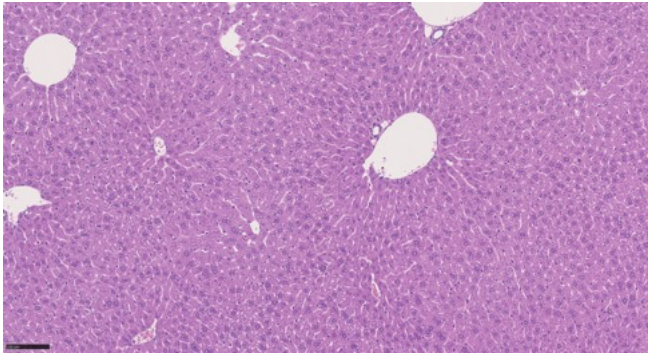
図 1d, e) 0 mg/kg、7 mg / kg、70 mg / kg の四塩化炭素を経口投与したマウスの血清中の ALT(d)および AST (e)を表している。

結果として、CCl₄ 投与の結果の血清生化学分析および組織学は、70 mg / kg の CCl₄ 投与のみが明らかな肝毒性を持つ。

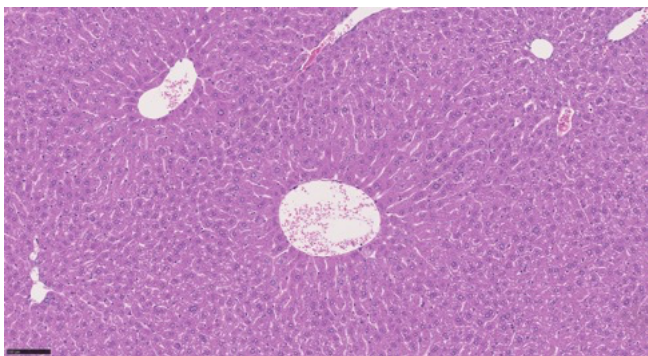
C-1-2 : ベンゾトリアゾール (CAS#3846-71-7) 投与

ベンゾトリアゾール (CAS#3846-71-7) 投与群 (1000 mg / kg) の H&E 染色像では、ベンゾトリアゾール (CAS#3846-71-7) によって誘発された肝臓の組織病理学的変化が見られた (図 2a, b, c, d)。投与後 8 時間後においては、明確な変化はないが、投与後 2 4 時間では、中心静脈周囲の肝細胞の細胞質が膨大化し、hypertrophy を起こしている (図 2a, b)。投与後 9 6 時間後には、中心静脈周囲の肝細胞の細胞質が膨大化している細胞がさらに増えており、hypertrophy の領域が広がっている (図 2c)。また、Mitosis 細胞の増加が見られた (図 2c)。投与後 1 6 8 時間後には、ほぼ全ての肝細胞の細胞質が膨大化している hypertrophy となっている。また、Mitosis 細胞の増加がさらに見られた (図 2d)。

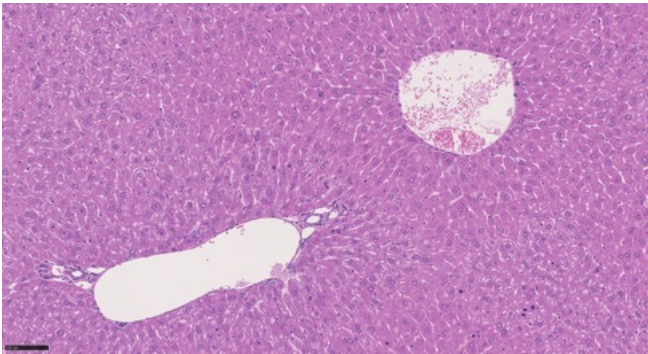
a) ベンゾトリアゾール (CAS#3846-71-7) 投与後 8時間後の肝臓の H & E 染色像



b) ベンゾトリアゾール (CAS#3846-71-7) 投与後 24 時間後の肝臓の H & E 染色像



c) ベンゾトリアゾール (CAS#3846-71-7) 投与後 96 時間後の肝臓の H & E 染色像



d) ベンゾトリアゾール (CAS#3846-71-7) 投与後 168 時間後の肝臓の H & E 染色像



ここで確認された hypertrophy は、肝臓重量の増加という表現型と一致している (図 3, 4)。一方、四塩化炭素 (70mg/kg) を投与後 24 時間のマウスの肝臓で見られた肝細胞のネクロシス像は全く見られなかった。このことから、ベンゾトリアゾール (CAS#3846-71-7) の投与で見られた肝臓重量の増加は、肝細胞の hypertrophy により生じていると結論できる。

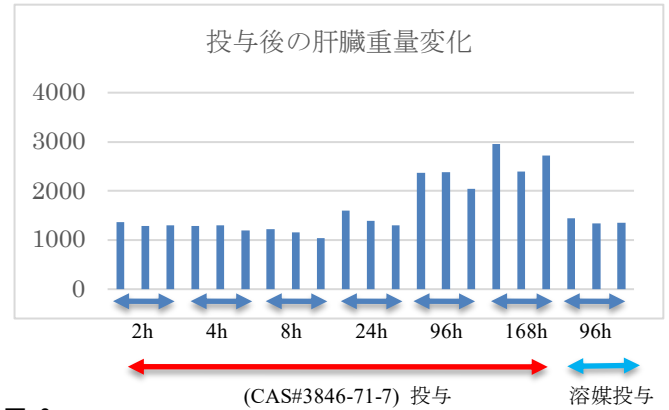


図 3

2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-methylbutan-2-yl)phenol (CAS:3846-71-7) を 1000g/Kg で経口投与を行い、2、4、8、24、96、168 時間後における肝臓重量 (mg) をグラフ化

	2時間後	4時間後	8時間後	24時間後	96時間後	168時間後
肝臓重量	変化なし	変化なし	変化なし	+	++	+++
hypertrophy	変化なし	変化なし	変化なし	+	++	+++
Mitosis 細胞	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	+	++

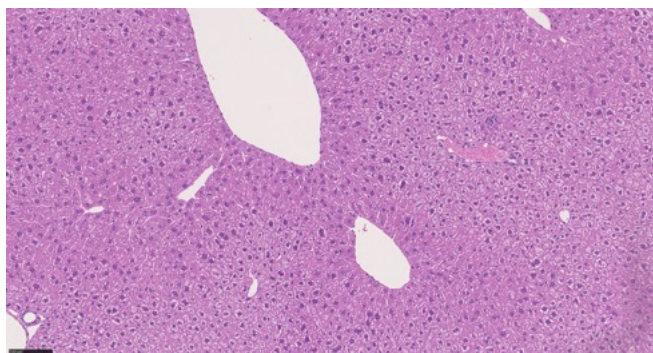
図 4

2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-methylbutan-2-yl)phenol (CAS:3846-71-7) を 1000g/Kg で経口投与を行い、2、4、8、24、96、168 時間後における肝臓重量 (mg) および肝臓の H & E 染色像をまとめた表

C-1-3 : ベンゾトリアゾール (CAS#2440-22-4) 投与

ベンゾトリアゾール (CAS#2440-22-4) 投与群 (1000 mg / kg) の H&E 染色像では、ベンゾトリアゾール (CAS#2440-22-4) によって誘発された肝臓の組織病理学的変化が見られた (図 5)。門脈周囲の肝細胞が空胞化を起している。

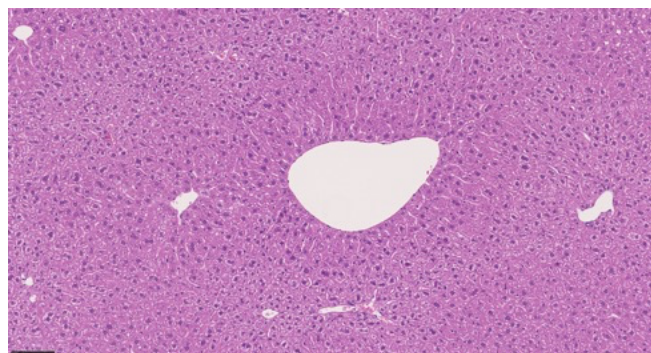
図 5 ベンゾトリアゾール (CAS#2440-22-4) 投与後 24 時間後の肝臓の H & E 染色像



C-1-5 : ベンゾトリアゾール (CAS#70321-86-7) 投与

ベンゾトリアゾール (CAS#70321-86-7) 投与群 (1000 mg / kg) の H&E 染色像では、ベンゾトリアゾール (CAS#70321-86-7) によって誘発された肝臓の組織病理学的変化が見られなかった (図 7)。

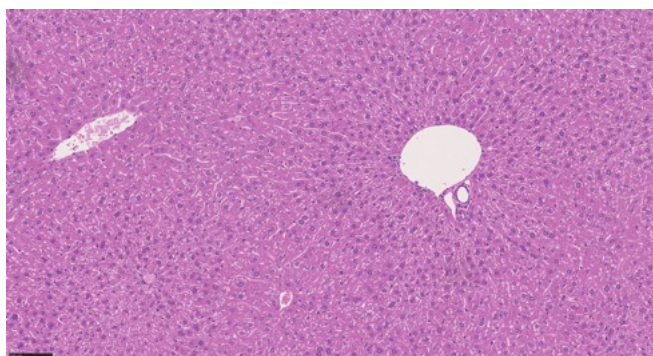
図 7 ベンゾトリアゾール (CAS#70321-86-7)投与後 24 時間後の肝臓の H & E 染色像



C-1-4 : ベンゾトリアゾール (CAS#3864-99-1) 投与

ベンゾトリアゾール (CAS#3864-99-1) 投与群 (1000 mg / kg) の H&E 染色像では、ベンゾトリアゾール (CAS#3864-99-1) によって誘発された肝臓の組織病理学的変化が見られなかった (図 6)。

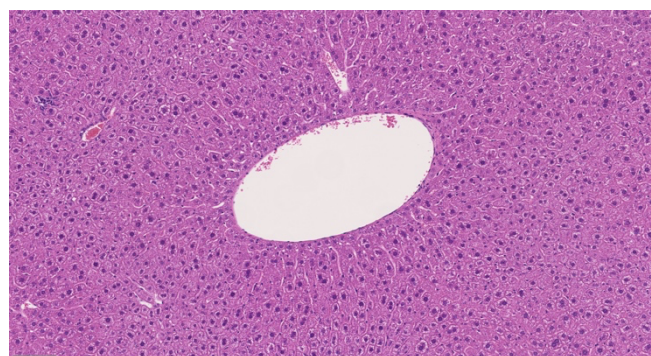
図 6 ベンゾトリアゾール (CAS#3864-99-1)投与後 24 時間後の肝臓の H & E 染色像



C-1-6 : ベンゾトリアゾール (CAS#3147-75-9) 投与

ベンゾトリアゾール (CAS#3147-75-9) 投与群 (1000 mg / kg) の H&E 染色像では、ベンゾトリアゾール (CAS#3147-75-9) によって誘発された肝臓の組織病理学的変化が見られなかった (図 8)。

図 8 ベンゾトリアゾール (CAS#3147-75-9)投与後 24 時間後の肝臓の H & E 染色像



C-1-6 : ベンゾトリアゾール 類5種類の投与後24時間後の肝臓の病理所見のまとめ

ベンゾトリアゾール類4種類 (1000 mg / kg) の投与後24時間後の肝臓における H&E 染色像では、(2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-methylbutan-2-yl)phenol) (CAS#3846-71-7)において、肝臓の hypertrophy および Mitosis 細胞の増加が見られたが、他の4種類においては同様の病理所見は見られなかった。ベンゾトリアゾール (CAS#2440-22-4) においては、肝細胞の空胞化が見られる一方、残り3種類に関してはベンゾトリアゾール類によって誘発された肝臓の病理組織学的変化が見られなかった (図 9)。

図 9 ベンゾトリアゾール投与による肝臓における病理組織所見のまとめ

CAS	3846-71-7	2440-22-4	3864-99-1	70321-86-7	3147-75-9
Name	2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-methylbutan-2-yl)phenol	2-(benzotriazol-2-yl)-4-methylphenol	2,4-di-tert-butyl-6-(5-chloro-2H-benzotriazol-2-yl)phenol	2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-phenylpropan-2-yl)phenol	2-(benzotriazol-2-yl)-4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenol
肝臓重量	+	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
hypertrophy	+	-	-	-	-
Mitosis 細胞	+	-	-	-	-
細胞の空胞化	-	+	-	-	-

D. 考察

最終年度である令和2年度研究では、四塩化炭素投与マウスを肝臓障害のモデルとして利用し、エクソソーム RNA をバイオマーカーとした次世代型毒性評価法の標準化プロトコールの作成に成功し、論文として報告するに至った (**Ono R.** et al., *Toxicology Reports* 2020)。

新たに開発した標準化プロトコールを利用することで、四塩化炭素による肝臓障害のバイオマーカーとして42個の新規 miRNA を報告した。このことから、本研究課題で作成した標準化プロトコールは非常に感度の高い系になっているといえる。

さらに、四塩化炭素による肝臓障害のバイオマーカーとして1318個の新規 エクソソーム small RNA を報告した。これらの small RNA は、バイオマーカーとして非常に感度が高く、現在までに用いられてきた miRNA よりも数が多く、より良いバイオマーカーであると言える。

本分担研究において、毒性評価を行うベンゾトリアゾール類5種類および肝臓障害のコントロールとしての四塩化炭素をばく露したマウスの病理学的解析を行い、ベンゾトリアゾール類5種類のうち2種類、および四塩化炭素をばく露したマウスの肝臓において、肝臓障害が検出されることを明らかにした。

本分担研究の病理学的解析結果と、血液中のそれぞれの化学物質に特異的なバイオマーカー候補となるエクソソーム RNA のクラスタリングによる層別化の結果より、エクソソーム RNA の解析により、病理解析結果を予測することに成功したと考えられる。

今後は、既知の毒性の知られた化学物質のばく露実験のデータなどの集積を行うことで、毒性を予測評価の精度が大幅に向上することが想定される。

E. 結論

本研究は、計画通りに進捗した。

令和2年度研究では、エクソソーム RNA を毒性バイオマーカーとして利用した次世代型毒性評価法の標準化プロトコールの作成に関する論文として報告するに至った (**Ono R.** et al., *Toxicology Reports* 2020)。

また、令和2年度研究においては、平成30年度および令和元年度研究で得られた化学物質投与実験を行ったマウス肝臓（コーンオイル、四塩化炭素、ベンゾ

トリアゾール類5種類）における病理組織解析を行った。

また、コーンオイルおよび四塩化炭素投与を行ったマウスに関しては、血液生化学検査も行った。

その結果、四塩化炭素投与実験においては、病理組織学検査および血液生化学検査で肝臓障害が見られる濃度 (70mg/kg) では、新たに単離に成功した毒性バイオマーカーとなるエクソソーム RNA の発現が誘導されるが、病理組織学検査および血液生化学検査で肝臓障害が見られない濃度 (7mg/kg) では、毒性バイオマーカーとなるエクソソーム RNA が誘導されない結果を得た。このことから、新たに開発した次世代型毒性評価法は、正しく機能していることが証明できた。

また、ベンゾトリアゾール類5種類を投与したマウス肝臓における病理組織解析を行ない、病理所見のないもの (3種類)、病理所見のあるもの (2種類) に分類できることを明らかにした。肝臓障害の病理所見については、hypertrophy および mitosis 細胞の増加 (1種類)、肝細胞の空胞化 (1種類) という結果を得ている。

これらの病理学的解析結果と、ベンゾトリアゾール5種類の投与実験におけるエクソソーム RNA の網羅的遺伝子発現解析を利用したベンゾトリアゾール類5種類の層別化の結果が一致したことから、本分担研究で見られた病理所見の層別化は、エクソソーム RNA をバイオマーカーとした遺伝子発現解析により、その毒性を予測評価可能であると結論できる。

エクソソーム RNA をバイオマーカーに用いた次世代型の安全性評価法は、微量血液で高感度かつ迅速な安全性評価を可能とすることから、動物愛護の3Rに資する評価系となることが期待される。

また、既存の安全性評価法と比較しても、短期、小規模動物試験で可能であり、高いスループット性を発揮するものであり、今後の化学物質の毒性データの集積に大きく貢献すると考えられる。

F. 研究発表

※本研究費補助金によって主に行われた論文、著書、学会発表には○印を付けている。

1. 論文発表 (抜粋)

(令和2年度)

○***Ono R**, Yoshioka Y, Furukawa Y, Naruse M, Kuwagata M, Ochiya T, Kitajima S, Hirabayashi Y. Novel hepatotoxicity biomarkers of extracellular vesicle (EV)-associated miRNAs induced by CCl₄.

Toxicology Reports 2020 May 29;7:685-692.

* corresponding author

Tanabe S, Quader S, **Ono R**, Cabral H, Aoyagi K, Hirose A, Yokozaki H, Sasaki H.

Molecular Network Profiling in Intestinal- and Diffuse-Type Gastric Cancer
Cancers (Basel). 2020 Dec 18;12(12):3833.

Tanabe S, Quader S, Cabral H, **Ono R**.

Interplay of EMT and CSC in Cancer and the Potential Therapeutic Strategies.

Frontiers in Pharmacology 2020 Jun 17;11:904. doi: 10.3389/fphar.2020.00904. eCollection 2020.

(令和元年度、平成31年度)

○* **Ono R**, Yasuhiko Y., Aisaki K., Kitajima S., Kanno J. and **Hirabayashi Y**.

Exosome-mediated horizontal gene transfer occurs in double-strand break repair during genome editing

Communications Biology 2019, Feb 8;2:57. doi: 10.1038/s42003-019-0300-2. * corresponding author

Ryuichi Ono & Shihori Tanabe

The gene and microRNA networks of stem cells and reprogramming

AIMS Cell and Tissue Engineering, 2(4):238-245, 2018

Oka SI, Chin A, Park JY, Ikeda S, Mizushima W, Ralda G, Zhai P, Tong M, Byun J, Tang F, Einaga Y, Huang CY, Kashihara T, Zhao M, Nah J, Tian B, **Hirabayashi Y**, Yodoi J, Sadoshima J.

Thioredoxin-1 maintains mitochondrial function via mTOR signaling in the heart.

Cardiovasc Res., 2019, doi: 10.1093/cvr/cvz251. Online ahead of print.

Matsumoto M, Iso T, Igarashi T, Tanabe S, Inoue K, **Hirose A**.

Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances(V).

Bull. Natl Inst. Health Sci., 2019, 137, 66-72.

Igarashi, T., Takashima, H., Takabe, M., Suzuki, H., Ushida, K., Kawamura, T., Matsumoto, M. Iso T, Tanabe S,

Inoue K, Ono A, Yamada T, **Hirose A**. Initial hazard assessment of benzyl salicylate: In vitro genotoxicity test and combined repeated-dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats.
Regul. Toxicol. Pharmacol., 100, 105-117, 2018.

Igarashi T, Serizawa H, Kobayashi K, Suzuki H, Matsumoto M, Iso T, Kawamura T, Inoue K, Ono A, Yamada T, **Hirose A**. Initial hazard assessment of 4-benzylphenol, a structural analog of bisphenol F: Genotoxicity tests in vitro and a 28-day repeated-dose toxicity study in rats.

Regul. Toxicol. Pharmacol., 96, 64-75, 2018.

Yamada, T., Tanaka, Y., Hasegawa, R., Igarashi, T., **Hirose, A**.

Male-specific prolongation of prothombin time by industrial chemicals,

Fundam. Toxicol. Sci., 5, 75-82, 2018.

Matsumoto, M., Furukawa, M., Kobayashi, K, Iso, T., Igarashi, T., Yamada, T., **Hirose, A**.

A 28-day repeated oral-dose toxicity study of insecticide synergist

N-(2-ethyl-hexyl)-1-isopropyl-4-methylbicyclo[2.2.2]oct-5-ene-2,3-dicarboximide in rats,

Fundam. Toxicol. Sci., 5, 1-11, 2018.

Akazawa Y, Mizuno S, Fujinami N, Suzuki T, Yoshioka Y, **Ochiya T**, Nakamoto Y, Nakatsura T.

Usefulness of serum microRNA as a predictive marker of recurrence and prognosis in biliary tract cancer after radical surgery

Scientific Reports, 2019 Apr 11;9(1):5925. doi: 10.1038/s41598-019-42392-7.

Kikuchi S, Yoshioka Y, Prieto-Vila M, **Ochiya T**.

Involvement of Extracellular Vesicles in Vascular-Related Functions in Cancer Progression and Metastasis

Int J Mol Sci. 2019 May 26;20(10):2584. doi: 10.3390/ijms20102584.

Yoshioka Y, Katsuda T, **Ochiya T**.

Extracellular vesicles and encapsulated miRNAs as emerging cancer biomarkers for novel liquid biopsy.

Jpn J Clin Oncol. 48(10):869-876. 2018. Review.

Matsuzaki J, **Ochiya T**.

Extracellular microRNAs and oxidative stress in liver injury: a systematic mini review.

J Clin Biochem Nutr. Jul;63(1):6-11.

doi: 10.3164/jcbn.17-123. 2018 Review.

Otsuka K, Yamamoto Y, **Ochiya T**.

Regulatory role of resveratrol, a microRNA-controlling compound, in HNRNPA1 expression, which is associated with poor prognosis in breast cancer.

Oncotarget. 15;9(37):24718-24730. 2018

Sanchez Calle A, Kawamura Y, Yamamoto Y, Takeshita F,

Ochiya T.

Emerging roles of long non-coding RNA in cancer.

Cancer Sci. Jul;109(7):2093-2100.

doi: 10.1111/cas.13642. Epub 2018 Review.

Miyazaki H, Takahashi RU, Prieto-Vila M, Kawamura Y, Kondo S, Shirota T, Ochiya T.

CD44 exerts a functional role during EMT induction in cisplatin-resistant head and neck cancer cells.

Oncotarget. 2018

2. 学会発表 (抜粋)

(令和2年度)

○小野竜一

EV-mediated horizontal gene transfer

第43回日本分子生物学会学術年会 (2020.12.2.)

(招待講演)

小野竜一

A novel risk for genome editing

南米毒性学会学術年会 2020 (2020.11.19.)

(招待講演)

○小野竜一

エクソソーム中の miRNA をバイオマーカーとした毒性評価法の開発

第7回日本細胞外小胞学会学術年会 (2020.10.26.)

小野竜一

哺乳類のレトロトランスポゾン研究から解き明かす多様な生命機能

第92回日本遺伝学会学術年会 (2020.9.17.)

(招待講演)

○Ryuichi Ono

Identification of novel EV-associated miRNAs as toxic biomarkers in mouse

International Society for Extracellular Vesicles annual meeting 2020 (2020.7.22.)

○小野竜一

エクソソーム中の miRNA をバイオマーカーとしたリキッドバイオプシー

第47回日本毒性学会学術年会 (2020.7.1.)

(招待講演)

小野竜一、相崎健一、北嶋 聡、菅野 純

化学物質の反復投与によるゲノムワイドなヒストン修飾の変化

第47回日本毒性学会学術年会 (2020.6.30.)

(招待講演)

小野竜一

ゲノム編集におけるオンターゲットリスクと遺伝子水平伝搬

第47回日本毒性学会学術年会 (2020.6.29.)

(シンポジウムオーガナイザー)

(令和元年度、平成31年度)

小野竜一、相崎健一、北嶋 聡、菅野 純

Pericellome 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 (2019.7.19.)

○ Ryuichi Ono, Yusuke Yoshioka, Yusuke Furukawa, Takahiro Ochiya, Satoshi Kitajima, Yoko Hirabayashi

Evaluation of exosomes as toxic biomarkers in mouse
15th International Congress of Toxicology (ICTXV)
(2019.7.16-18.), Hawaii, USA

Ryuichi Ono, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, and Jun Kanno

Molecular Basis of the 'Baseline Response' and 'Transient Response' Observed in the Newly Designed Repeated Dose Study: Epigenetic Modifications
Gordon Research Conference (2019.8.11-16.), MA, USA

○ Ryuichi Ono, Yukuto Yasuhiko, Kenichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Jun Kanno, and Yoko Hirabayashi

Exosome-mediated horizontal gene transfer: a possible new risk for genome editing
55th Congress of the European Societies of Toxicology
(2019.9.8-11.) Helsinki, Finland

○小野竜一

Exosome-mediated horizontal gene transfer: a possible new risk for genome editing

第78回 日本癌学会学術総会

(2019.9.26-28.) 京都国際会館 (招待講演)

○小野竜一

EV を介した遺伝子水平伝搬によるゲノム進化の可能性

第6回日本細胞外小胞学会学術集会

(2019.10.24-25.) 国立がん研究センター研究所

(招待講演)

○ Ryuichi Ono

Extracellular vesicles-mediated horizontal gene transfer: a possible new risk for genome editing

第1回アジア環太平洋細胞外小胞学会学術集会

(2019.11.24-25.) 国立がん研究センター研究所

(招待講演)

○ Ryuichi Ono, Yukuto Yasuhiko, Kenichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Jun Kanno, and Yoko Hirabayashi

Horizontal gene transfer mediated by exosomes: a possible new risk for genome editing

Keystone Symposia Conference: Engineering the Genome
(February 2020, Banff, Canada)

○ Ryuichi Ono, Yusuke Yoshioka, Yusuke Furukawa, Takahiro Ochiya, Satoshi Kitajima, Yoko Hirabayashi

Evaluation of extracellular vesicles (EVs) as toxic

biomarkers in mouse
59th Annual Meeting of Society of Toxicology (March 2020, Anahaim, USA)

大野 彰子, 山田 隆志, 広瀬 明彦
データベースを活用した神経毒性の in silico 予測手法の開発
第 46 回日本毒性学会学術年会 (2019 年 6 月徳島)

磯 貴子, 松本 真理子, 鈴木 洋, 川村 智子, 山田 隆志, 井上 薫, 杉山 圭一, 森田 健, 本間 正充, 広瀬 明彦
食品用器具・容器包装材料のポジティブリスト化に向けた安全性評価: 脂肪酸類のグループ評価.
第 46 回日本毒性学会学術年会 (2019 年 6 月徳島)

五十嵐 智女, 鈴木 洋, 牛田 和夫, 松本 真理子, 井上 薫, 広瀬 明彦
化審法既存化学物質のスクリーニング評価における 1,4-ジクロロブタンの有害性評価.
第 46 回日本毒性学会学術大会 (2019 年 6 月徳島)

田邊思帆里, 青柳一彦, Sabina Quader, Horacio Cabral, 小野竜一, 広瀬明彦, 横崎 宏, 佐々木博己
がん及び幹細胞における Wnt/beta-catenin シグナルパスウェイ
日本薬学会第 140 年会 2020.3.28

田邊思帆里, 青柳一彦, Sabina Quader, Horacio Cabral, 小野竜一, 広瀬明彦, 横崎 宏, 佐々木博己
がん関連 Wnt/beta-catenin シグナルパスウェイに関する有害性発現経路 (Adverse Outcome Pathway; AOP) の開発
第 93 回日本薬理学会年会 (2020.3.16-18)

田邊思帆里, 青柳一彦, Sabina Quader, Horacio Cabral, 小野竜一, 広瀬明彦, 横崎 宏, 佐々木博己
骨髄由来間葉系幹細胞及び胃がんにおける上皮間葉転換関連分子パスウェイ及びがん幹細胞ネットワーク
第 19 回日本再生医療学会総会 (2020.3.12-14)

田邊思帆里, 青柳一彦, Sabina Quader, 小野竜一, 広瀬明彦, 横崎 宏, 佐々木博己
The Wnt/beta-catenin signaling pathway and its relation to cancer and stem cells
第 2 回医薬品毒性機序研究会 2020.1.23&24

田邊思帆里, Sabina Quader, 小野竜一, 青柳一彦, 広瀬明彦, 横崎 宏, 佐々木博己
胃がん及び幹細胞における上皮間葉転換関連ネットワークパスウェイ
第 78 回日本癌学会学術総会 2019.9.27

Shihori Tanabe, Sabina Quader, Ryuichi Ono, Kazuhiko Aoyagi, Akihiko Hirose, Hiroshi Yokozaki, Hiroki Sasaki

MOLECULAR NETWORK PATHWAY MECHANISM IN DRUG RESISTANCE, CANCER AND STEM CELLS
ISSCR (International Society for Stem Cell Research)
2019 Annual Meeting 2019.6.28

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