

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】

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し、妊婦（胎児）や小児を神経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。

H30 年度の研究として、(1-1) 発生発達期にかけてのペルメトリン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と(1-2) 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、(1-3) 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を行った。(1-1) 雌雄マウスを交配させるとともに 0.3ppm ペルメトリンを含んだ飲水投与を開始し、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 10 週齢時に行動解析を行った結果、投与群マウスにオープンフィールド試験における総移動距離の減少と条件付け学習記憶試験における音連想記憶度と対応するすくみ率の低下が有意に認められた。さらに行動解析後のマウス脳切片を用いた各種神経分化マーカーによる免疫組織化学解析の結果、成熟ニューロン数には影響が認められないものの未分化ニューロン数の増加が認められた。またグリア細胞であるアストロサイト数の減少と未発達な突起を持つアストロサイトの増加が確認できた。(1-2) 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。その結果、いずれも空間連想記憶異常が疑われた。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。幼若期と成熟期におけるマウス海馬神経回路への塩化トリブチルスズ添加による直接影響の差違について、膜電位感受性色素を用いたイメージング解析を行った結果、40pM の低濃度にて、急性影響を受ける部位に違いがあることが示唆された。(1-3) 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を行った。その際、従来のプロトコルでは不十分であった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

に関する記載も補強した。

H31/R2 年度の研究として、(2-1) 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。(2-2) 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。(2-3) 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。(2-4) 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。(2-5) 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。(2-6) 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。(2-7) 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。

R2 年度の研究として (3-1) 発生-発達期にかけてのアセフェートの低用量長期飲水投与による成熟後の行動影響の性差と (3-2) 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、及び機能ノンコーディング RNA 候補の探索、(3-3) 膜電位感受性色素を用いてのビスフェノール類の脳回路機能の網羅的影響解析、(3-4) 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、(3-5) 血液や唾液中の液性因子への影響評価、(3-6) DNA メチル化に影響を与えるかを判定するレポーター細胞システムの構、そして (3-7) 発生-発達期暴露による遅発性（成熟後）の行動様式の影響と海馬における遺伝子発現様式についてのデータベース化を行った。その結果、(3-1) 発生-発達期にかけてのアセフェートの低用量長期飲水投与による成熟後の行動影響の性差検討から、オープンフィールド試験では、雄における中央滞在率がコントロール群に対して高用量群で有意に減少したが、雌では有意差はみられなかった。また、明暗往來試験では、雌雄ともにすべての項目で有意差はみられなかった。一方、条件付け学習記憶試験では、雄における条件付け試験の際、コントロール群に対する低用量群のフリージング率が有意に減少していた。(3-2) 発生-発達期にかけての塩化トリブチルスズ低用量長期飲水投与による成熟後の神経幹細胞動態影響解析からは、新生ニュー

ロンマーカーDcx 陽性細胞数の減少傾向が明らかとなり、機能ノンコーディング RNA 候補として pancRNA トランスクリプトームからはカリウムチャネル関連の G0 タームが挙げられた。(3-3) 膜電位感受性色素を用いてのビスフェノール類の脳回路機能の網羅的影響解析からは、ビスフェノール類として、ビスフェノール A (BPA) とゴム老化防止剤である MBMTBP および BBMTBP を、いずれも 5ppm に調整し、海馬スライス標本に灌流し回路機能の変調を定量的に検出した結果、BPA よりも MBMTBP, BBMTBP の方が有意に回路動作の変調が検出された。(3-4) 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として、経済開発協力機構 (OECD) の Developmental Neurotoxicity (DNT) との調整にくわえて、JaCVAM (日本動物実験代替法評価センター) の発達神経毒性試験資料編纂委員会からの推奨の結果を踏まえ、「神経行動毒性試験バッテリー」について、その汎用性・網羅性・迅速性といった実用性の高さをもって、標準プロジェクト化のための調整を行った。(3-5) 血液や唾液中の液性因子への影響評価としては、引き続き検討例を増やしている。(3-6) DNA メチル化に影響を与えるかを判定するレポーター細胞システムの構築は、マウス神経芽細胞腫由来細胞株 Neuro-2a に PiggyBac システムによってゲノムに組み込む形で導入し、本レポーター細胞の妥当性について評価を開始した。また、(3-7) 発生-発達期暴露による遅発性 (成熟後) の行動様式の影響と海馬における遺伝子発現様式についてのデータベース化については、先行研究 (H20-化学一般-009、H23-化学一般-004、H27-化学一般-007) による成果を併せて、20 種 (化学物質・用量・投与様式) についてデータベース化を進めた。

以上の結果から、規制値レベルの低用量であっても発生-発達期 (周産期を含む) の長期に及ぶ化学物質暴露は成熟後の中枢神経系に行動様式異常という形で機能的な影響を及ぼす恐れがあることが明らかとなった。また、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ことが重要と考えられた。そのため、引き続き発生-発達期に対する化学物質暴露影響についてのデータを収集するとともに、データベース化の強化を目指して、機能変調に対応する神経科学的物証を捉えてデータベースに追加す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

(H30. 4. 1-R2. 3. 31)

国立医薬品食品衛生研究所

客員研究員 (安全性予測評価部)、名誉所員

(R2. 4. 1-R3. 3. 31)

分担：五十風 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

(H30. 4. 1-R2. 3. 31)

広島大学大学院統合生命科学研究科・教授

(R2. 4. 1-R3. 3. 31)

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、従来の毒性試験によって比較的安全であると評価された成分からなるものから、特定の効能と毒性が明らかでない成分を含むものまで、その毒性の程度と内容はさまざまである。前者の安全な範疇にあっても、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、後者の範疇にあっては農薬と同等の物質など、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明らかな物質が含まれている。このような特性を有する物質は、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強く示唆されるものである。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していたが有機リン殺虫剤のアセフェートに変更した）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、明暗往來試験、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、北嶋、菅野）。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為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、家庭用品化学物質として新たに規制すべきかを検討する。

(※) 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

H30年度の研究として、(1-1)発生発達期にかけてのペルメトリン(当初計画では研究開始1年目に検討予定であった)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と(1-2)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。また(1-3)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を行った。その結果、(1-1)発生発達期にかけてのペルメトリン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：雌雄マウスを交配させるとともに0.3ppmペルメトリンを含んだ飲水投与を開始した。尚、用量設定はペルメトリンの一日摂取許容量(ADI)から算出した。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た。解析には産仔雄マウスについてのみ施行することとし、生後4週齢時に離乳し、以後は通常飲水に切り替え、生後10週齢時に行動解析(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)を行った。その結果、投与群マウスにオープンフィールド試験における総移動距離の減少と条件付け学習記憶試験における音連想記憶度と対応するすくみ率の低下が有意に認められた。また明暗往来試験における暗所潜在時間の増加傾向が認められた(種村、北嶋)。さらに行動解析後のマウス脳切片を用いた各種神経分化マーカーによる免疫組織化学解析から、投与群マウスの海馬における神経幹細胞分化動態に影響が認められた。すなわち、成熟ニューロン数には影響が認められないものの未分化ニューロン数の増加が認められた。またグリア細胞であるアストロサイト数の減少と未発達な突起を持つアストロサイトの増加が確認できた(種村、中島)。また、(1-2)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

成熟後の中枢神経系への影響解析：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（TDI 値を元に、安全係数として 10、100、1000 を用いて算出した）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た。解析には産仔雄マウスについてのみ施行することとし、生後 4 週齢時に離乳し、以後は通常飲水に切り替えた。平成 30 年 1 月 7 日よりバッテリー式の行動解析（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、いずれも高架式十字迷路試験における総移動量、解放部滞在時間、総アーム選択数の増加傾向を示すとともに、空間連想記憶異常が疑われた。また、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（種村）。また、脳内分子の定量解析から行動解析後の脳に興奮性神経伝達情報のかく乱が疑われた（掛山）。一方で、成体への投与においては、神経幹細胞への影響は認められなかった（中島）、今後、組織・細胞レベルでの影響解析（種村、富永、中島、掛山、平舘）を重ねるとともに、お分子レベルでの影響解析（北嶋、五十嵐、今村）を深める目的で、エピゲノム様式解析の高精度化を進める（五十嵐）とともに、マウス胎仔脳および脳オルガノイドをシングルセル RNA-seq に供与し、シングルセルレベルでの RNA 発現変動検出パイプライン固め（今村）を行った。また、幼若期と成熟期におけるマウス海馬神経回路への塩化トリブチルスズ添加による直接影響の差違について、膜電位感受性色素を用いたイメージング解析を開始した。その結果、40pM の低濃度にて、急性影響を受ける部位に違いがあることが示唆された（富永）。さらに(1-3) 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：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（Standard Project Submission Form を OECD Advisory Group on Endocrine Disrupters Testing and Assessment に提出）を行った。その際、従来のプロトコールでは不十分であった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に関する記載も補強した。その結果、良好な反響が得られるとともに、他の学習記憶行動解析試験と比較した優位性についての説明と、提出データの補強を行

っている（菅野、種村）。

H31/R2 年度の研究として、(2-1) 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）

(2-2) 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）、(2-3) 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）、(2-4) 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）、(2-5) 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）、(2-6) 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）、(2-7) 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。

(2-1) 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。

(2-2) 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。

(2-3) 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（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 Delopmental Neurotoxicity (DNT) との調整を進めている。

(2-4) 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。

(2-5) 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。

(2-6) 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。

(2-7) 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。

R2 年度の研究として (3-1) 発生-発達期にかけてのアセフェートの低用量長期飲水投与による成熟後の行動影響の性差（種村、平館）と (3-2) 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（中島）、及び機能ノンコーディング RNA 候補の探索（今村）、(3-3) 膜電位感受性色素を用いてのビスフェノール類の脳回路機能の網羅的影響解析（富永）、(3-4) 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）、(3-5) 血液や唾液中の液性因子への影響評価（掛山）、(3-6) DNA メチル化に影響を与えるかを判定するレポーター細胞システムの構築（五十嵐）、そして (3-7) 発生-発達期暴露による遅発性（成熟後）の行動様式の影響と海馬における遺伝子発現様式について R2 年度の研究として得られた成果は以下の通りである

(3-1) 発生-発達期にかけてのアセフェート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：アセフェート（Toronto Research Chemicals Inc.,

Toronto, ON, Canada）は、1000mL のメディアウム瓶中で水道水に溶かし、マウス飼育用の給水ビンに分注した。マウスは、胎生 11.5 日（E11.5）の C57BL/6N 妊娠雌マウスを日本 SLC（Shizuoka, Japan）から購入し、コントロール群と、3 つのアセフェート暴露群（用量：0.3ppm、10ppm、300ppm）の合計 4 つに分けた。アセフェートの用量については、FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（JMPR）におけるアセフェートの ADI である 0.03mg/kg/day に基づき、これに相当する 0.3ppm を低用量群、10ppm を中用量群、300ppm を高用量群と設定した。暴露期間は E11.5 から産仔が 2 週齢となるまでを対象とし、母マウスに飲水投与を行った。産仔は 4 週齢で離乳した際に雌雄を分け、11 週齢までは異なる母由来の産仔で構成された 4 匹/1 ケージで飼育した。その後、個飼いケージに移し、行動解析室で 1 週間のハビチュエーション（馴化）を設けた。行動試験は生後 12 週～13 週齢時に実施したが、使用するマウスは雌雄それぞれ、同腹仔が 2～3 匹となるように選択し、行動解析（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）を行った。オープンフィールド試験では、雄における中央滞在率がコントロール群に対して高用量群で有意に減少したが、雌では有意差はみられなかった。明暗往来試験では、雌雄ともにすべての項目で有意差はみられなかった。一方で、条件付け学習記憶試験では、雄における条件付け試験の際、コントロール群に対する低用量群のフリージング率が有意に減少していた。これは、学習の成立が困難であることを示唆していると考えられ、雌では確認されなかった。また、空間-連想記憶試験時のフリージング率は、雌雄ともに有意な差はみられなかったが、音-連想記憶試験時のフリージング率は雌雄ともに異常がみられ、雄の低用量群および雌の高用量群におけるフリージング率が、それぞれのコントロール群に対して有意に減少していた。（種村、平館）。

(3-2) 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：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（TDI 値を元に、安全係数として 10、100、1000 を用いて算出した）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た。解析には産仔雄マウスについてのみ施行することとし、生後 4 週齢時に離乳し、以後は通常飲水に切り替えた。バッテリー式の行動解析後の神経幹細胞動態への影響として 13 週齢で海馬神経幹/前駆細胞の増殖を調べたところ、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がわかった。特に本年度は新生ニューロンマーカーDcx 陽性細胞数も調べ、やはり減少傾向にあることが判明した。以上より、周産期の塩化トリブチルスズへの暴露は、成長後の成体期海馬におけるニューロン新生を低下させることがわかった(中島)。また、機能ノンコーディング RNA 候補として pancRNA トランスクリプトームからはカリウムチャネル関連の GO タームが挙げられた(今村)。

(3-3) 膜電位感受性色素を用いてのビスフェノール類の脳回路機能の網羅的影響解析：膜電位感受性色素による脳回路機能の網羅的毒性検出系の実証のためビスフェノール類として、ビスフェノール A (BPA) とゴム老化防止剤である MBMTBP および BBMTBP を、いずれも 5ppm に調整し、海馬スライス標本に灌流し回路機能の変調を定量的に検出する実験系と解析系の確立を行った。実験動物の週齢を 2 週、8 週の 2 点において計測を行い、さらに刺激強度を 2-3 点とすることでより鋭敏な検出を可能とした。その結果、BPA よりも MBMTBP, BBMTBP の方が有意に回路動作の変調が検出された。また、海馬以外の検出回路として前帯状皮質 (ACC) の回路応答の規格化を行った(富永)。

(3-4) 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：経済開発協力機構 (OECD) の Developmental Neurotoxicity (DNT) との調整にくわえて、JaCVAM (日本動物実験代替法評価センター) の発達神経毒性試験資料編纂委員会からの推奨の結果を踏まえ、「神経行動毒性試験バッテリー」について、その汎用性・網羅性・迅速性といった実用性の高さをもって、標準プロジェクト化のための調整を行った(菅野、種村)。

(3-5) 血液や唾液中の液性因子への影響評価：引き続き検討例を増やすとともに、異常行動を示す病態モデルマウスを用いた検討を予定している(掛山)。

(3-6) DNA メチル化に影響を与えるかを判定するレポーター細胞システムの構築：DNA メチル化に影響を与えるかを判定するレポーター細胞システムの構築は、Agouti-IAP, Dazl promoter を標的プロモーターとし、レポーターとして NanoLuc ルシフェラーゼを用いたベクターを設計・作製し、マウス神経芽細胞腫由来細胞株 Neuro-2a に PiggyBac システムによってゲノムに組み込む形で導入し、本レポーター細胞の妥当性について評価を開始した(五十嵐)。

(3-7) 発生-発達期暴露による遅発性(成熟後)の行動様式の影響と海馬における遺伝子発現様式についてのデータベース化：先行研究(H20-化学一般-009, H23-化学一般-004, H27-化学一般-007)による成果を併せ

て、20 種(化学物質・用量・投与様式)についてデータベース化を進めた(菅野、北嶋、種村)。

## D. 考察

H30 年度の研究成果から導かれた考察は以下の通りである。

(1-1) 発生発達期にかけてのペルメトリン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：行動解析結果から、新規場面での適応不全と記憶想起に異常が疑われた。しかしながら、それらは先行研究で得られたネオニコチノイド系農薬成分の投与に比較し、軽度と言えるものであった。また海馬における神経幹細胞分化動態への影響は上述の行動影響と対応する神経科学的物証と考えられた。

(1-2) 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：前述のペルメトリンを用いた解析における交配時からの投与は、雌雄の配偶子形成への影響の有無を排除できないため、妊娠マウスへの投与を投与開始点とした。すでに規制対象である塩化トリブチルスズを使用した本研究よって、発生-発達期における他の化学物質の中枢影響との毒性強度の比較が可能となると考えている。

(1-3) 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性があると考えられた。

H31/R1 年度の研究成果から導かれた考察は以下の通りである

(2-1) 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。

(2-2) 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。

(2-3) 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性があると考えられた。

(2-4) 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組みを開始した。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。

(2-5) 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。

(2-6) 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。

(2-7) 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。

R2 年度の研究成果から導かれた考察は以下の通りである

(3-1) 発生-発達期にかけてのアセフェートの低用量長期飲水投与による成熟後の行動影響の性差：発生-発達期にかけてのアセフェートの低用量長期飲水投与による成熟後の行動影響の性差を、定量性を持って検討することに成功した。今後、行動様式に対応する神経科学的物証の収集が必要と考えられた（種村、平館）。

(3-2) 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及び機能ノンコーディング RNA 候補の探索：神経幹細胞動態影響解析から新生ニューロンマーカーが有力なマーカーになることが期待され（中島）、機能ノンコーディング RNA 候補として pancRNA トランスクリプトームからはカリウムチャネル関連の GO タームが挙げられた（今村）。

(3-3) 膜電位感受性色素を用いてのビスフェノール類の脳回路機能の網羅的影響解析：膜電位感受性色素による脳回路機能の網羅的毒性検出によってビスフェノール類の影響について、具体的な数字を以て、強度や範囲を示すことに成功した（富永）。

(3-4) 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：「神経行動毒性試験バッテリー」について、その汎用性・網羅性・迅速性といった実用性の高さをもって、さらに解析を重ねる必要があると考えられた（菅野、種村）。

(3-5) 血液や唾液中の液性因子への影響評価: 基準値の設定を考慮し、さらに、異常行動を示す病態モデルマウスの利用が必要と考えられた (掛山)。

(3-6) DNA メチル化に影響を与えるかを判定するレポーター細胞システムの構築: DNA メチル化に影響を与えるかを判定するレポーター細胞システムの構築に成功した (五十嵐)。

(3-7) 発生-発達期暴露による遅発性 (成熟後) の行動様式の影響と海馬における遺伝子発現様式についてのデータベース化: 先行研究による成果を併せて、20種 (化学物質・用量・投与様式) についてデータベース化を進めた (菅野、北嶋、種村)。

## E. 結論

規制値レベルの低用量であっても発生-発達期(周産期を含む)の長期に及ぶ化学物質暴露は成熟後の中枢神経系に行動様式異常という形で機能的な影響を及ぼすことが明らかとなった。また、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べく、引き続きデータを収集することで、行動影響や脳機能変調に対応する神経科学的物証を捉え、データベースに追加す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

Epigenetic Regulation of Human Neural Stem Cell Differentiation. Honda M, Nakashima K, Katada S. In: Buzanska L. (eds) Human Neural Stem Cells. Results and Problems in Cell Differentiation, 2018;66:125-136. Springer, Cham.

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

Hiradate Y, Sasaki E, Momose H, Asanuma H, Furuhashi K, Takai M, Aoshi T, Yamada H, Ishii KJ, Tanemura K, Mizukami T, Hamaguchi I. Development of screening method for intranasal influenza vaccine and adjuvant safety in preclinical study.

Biologicals. 55: 43-52., 2018.

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. 498(3): 674-679., 2018.

Yamada K, Hiradate Y, Goto M, Nishiyama C, Hara K, Yoshida H, Tanemura K. Potassium bromate disrupts mitochondrial distribution within murine oocytes during in vitro maturation. Reprod Med Biol. 17(2):143-148., 2018.

Kurita-Suzuki A, Kamo Y, Uchida C, Tanemura K, Hara K, Uchida T. Prolyl isomerase Pin1 is required sperm production by promoting mitosis progression of spermatogonial stem cells. Biochem Biophys Res Commun. 497(1):388-393., 2018.

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. 30;80(3):536-543., 2018.

ioneer factor NeuroD1 rearranges transcriptional and epigenetic profiles to execute microglia-neuron conversion. Matsuda T, Irie T, Katsurabayashi S, Hayashi T, Nagai T, Hamazaki N, Adefuin AM, Miura F, Ito T, Kimura H, Shirahige K, Takeda T, Iwasaki K, Imamura T and Nakashima K. Neuron (in press).

Nox4 Promotes Neural Stem/Precursor Cell Proliferation and Neurogenesis in the Hippocampus and Restores Memory Function Following Trimethyltin-Induced Injury. Yoshikawa Y, Ago T, Kuroda J, Wakisaka Y, Tachibana M, Komori M, Shibahara T, Nakashima H, Nakashima K, Kitazono T. Neuroscience. 2018 Dec 5;398:193-205.

New aspects of glioblastoma multiforme revealed by similarities between neural and glioblastoma stem cells. Kawamura Y, Takouda J, Yoshimoto K, Nakashima K. Cell Biol Toxicol. 2018 Dec;34(6): 425-440.

- Np95/Uhrf1 regulates tumor suppressor gene expression of neural stem/precursor cells, contributing to neurogenesis in the adult mouse brain. Murao N, Matsubara S, Matsuda T, Noguchi H, Mutoh T, Mutoh M, Koseki H, Namihira M, Nakashima K. *Neurosci Res.* 2018 May 31. pii: S0168-0102 (18) 30276-1.
- Canonical TGF- $\beta$  Signaling Negatively Regulates Neuronal Morphogenesis through TGIF/Smad Complex-Mediated CRMP2 Suppression. Nakashima H, Tsujimura K, Irie K, Ishizu M, Pan M, Kameda T, Nakashima K. *J Neurosci.* 2018 May 16; 38(20): 4791-4810.
- Ectopic neurogenesis induced by prenatal antiepileptic drug exposure augments seizure susceptibility in adult mice. Sakai A, Matsuda T, Doi H, Nagaishi Y, Kato K, Nakashima K. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018 Apr 17;115(16):4270-4275.
- Prior Treatment with Anti-High Mobility Group Box-1 Antibody Boosts Human Neural Stem Cell Transplantation-Mediated Functional Recovery After Spinal Cord Injury. Uezono N, Zhu Y, Fujimoto Y, Yasui T, Matsuda T, Nakajo M, Abematsu M, Setoguchi T, Mori S, Takahashi HK, Komiya S, Nishibori M, Nakashima K. *Stem Cells.* 2018 May; 36(5): 737-750.
- 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-primer 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 ISCP 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).
- Kajiwara 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・毒理学-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
- Saito H, Hara K, Kitajima S, Tanemura K. Effect of Vitamin E deficiency on spermatogenesis in mice and its similarity to aging. *Reprod Toxicol*. 2020 Oct 9:S0890-6238(20)30225-2. doi: 10.1016/j.reprotox.2020.10.003. Epub ahead of print. PMID: 33045311..
- Umezu K, Kurata S, Takamori H, Numabe T, Hiradate Y, Hara K, Tanemura K. Characteristics and Possible Role of Bovine Sperm Head-to-Head Agglutination. *Cells*. 2020 Aug 9;9(8):1865. doi: 10.3390/cells9081865. PMID: 32784858; PMCID: PMC7463926.
- Hiradate Y, Hara K, Tanemura K. Effect of neurotensin on cultured mouse preimplantation embryos. *J Reprod Dev*. 2020 Oct 13;66(5):421-425. doi: 10.1262/jrd.2020-002. Epub 2020 Jun 2. PMID: 32493860; PMCID: PMC7593629.
- Umezu K, Hara K, Hiradate Y, Numabe T, Tanemura K. Stromal cell-derived factor 1 regulates in vitro sperm migration towards the cumulus-oocyte complex in cattle. *PLoS One*. 2020 Apr 30;15(4):e0232536. doi: 10.1371/journal.pone.0232536. PMID: 32353075; PMCID: PMC7192438.
- Hayase, Y., Amano, S., Hashizume, K., Tominaga, T., Miyamoto, H., Kanno, Y., et al. (2020). Down syndrome cell adhesion molecule like-1 (DSCAML1) links the GABA system and seizure susceptibility. *Acta Neuropathologica Commun* 8, 206. doi:10.1186/s40478-020-01082-6.
- Kajiwara, R., Tominaga, T. (2020). Perirhinal cortex area 35 controls the functional link between the perirhinal and entorhinal-hippocampal circuitry *BioEssays* <https://dx.doi.org/10.1002/bies.202000084> > <https://onlinelibrary.wiley.com/share/author/8G78XR9H52HVXRGXMEF?target=10.1002/bies.202000084>
- Kawano, M., Tominaga, T., Ishida, M., Hori, M\*.

- (2020). Roles of Adenylate Cyclases in Ciliary Responses of Paramecium to Mechanical Stimulation Journal of Eukaryotic Microbiology 67(5), 532-540. <https://dx.doi.org/10.1111/jeu.12800>
- Luyben, T., Rai, J., Li, H., Georgiou, J., Avila, A., Zhen, M., Collingridge, G., Tominaga, T., Okamoto, K. (2020). Optogenetic Manipulation of Postsynaptic cAMP Using a Novel Transgenic Mouse Line Enables Synaptic Plasticity and Enhances Depolarization Following Tetanic Stimulation in the Hippocampal Dentate Gyrus Frontiers in Neural Circuits 14(24). <https://dx.doi.org/10.3389/fncir.2020.00024>
- Koike-Tani, M., Tominaga, T., Oldenbourg, R., Tani, T. (2020). Birefringence changes of dendrites in mouse hippocampal slices revealed with polarizing microscopy. Biophysical Journal 118, 2366-2384, May 19, 2020 DOI:<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.03.016>
- 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 12(2), 261-262. <https://dx.doi.org/10.1007/s12551-020-00637-0>
- Nakayama K, Onishi H, Fujimura A, Imaizumi A, Kawamoto M, Oyama Y, Ichimiya S, Koga S, Fujimoto Y, Nakashima K, Nakamura M. NF $\kappa$ B and TGF $\beta$  contribute to the expression of PTPN3 in activated human lymphocytes. Cell Immunol (印刷中).
- Takeuchi ., Takahashi Y, Iida K, Hosokawa M, Irie K, Ito M, Brown JB, Ohno K, Nakashima K, Hagiwara M. Identification of Qk as a Glial Precursor Cell Marker that Governs the Fate Specification of Neural Stem Cells to a Glial Cell Lineage. Stem Cell Rep 2020, 15:883-897. PMID: 32976762
- Nock R, Polouliakh N, Nielsen F, Oka K, Connell CR, Heimhofer C, Shibanaï K, Ghosh S, Aisaki KI, Kitajima S, Kanno J, Akama T, Kitano H. A Geometric Clustering Tool (AGCT) to robustly unravel the inner cluster structures of time-series gene expressions. PLoS One. 2020 Jul 6;15(7):e0233755. doi: 10.1371/journal.pone.0233755.
- Saleh DM, Alexander WT, Numano T, Ahmed OHM, Gunasekaran S, Alexander DB, Abdelgied M, El-Gazzar AM, Takase H, Xu J, Naiki-Ito A, Takahashi S, Hirose A, Ohnishi M, Kanno J, Tsuda H. Comparative carcinogenicity study of a thick, straight-type and a thin, tangled-type multi-walled carbon nanotube administered by intra-tracheal instillation in the rat. Part Fibre Toxicol. 2020 Oct 15;17(1):48. doi: 10.1186/s12989-020-00382-y.
- Ideta-Otsuka M, Miyai M, Yamamoto N, Tsuchimoto A, Tamura H, Tanemura K, Shibutani M, Igarashi K. Development of a new *in vitro* assay system for evaluating the effects of chemicals on DNA methylation. J Toxicol Sci. (印刷中)
- Ikegami K, Goto T, Nakamura S, Watanabe Y, Sugimoto A, Majarune S, Horihata K, Nagae M, Tomikawa J, Imamura T, Sanbo M, Hirabayashi M, Inoue N, Maeda KI, Tsukamura H, Uenoyama Y. J Reprod Dev. 2020 Aug 20;66(4):359-367. doi: 10.1262/jrd.2020-026. Epub 2020 Apr 20. PMID: 32307336

## 2. 学会発表

酒井和哉、大塚(出田)まき、斉藤洋克、平舘裕希、原健士朗、五十嵐勝秀、種村健太郎、「精子エピゲノム影響評価による非侵襲的な早期精巣毒性バイオマーカーの探索」第12回日本エピジェネティクス研究会年会(2018.5.24-25)、札幌

種村健太郎、「周産期における低用量化学物質暴露が引き起こす情動認知行動毒性評価系開発に関する最近の知見」第45回日本毒性学会学術年会(2018.7.18-20)、大阪府

Hirokatsu Saito, Takashi Tominaga, Kenshiro Hara, Kentaro Tanemura、「Early life exposure to low levels of permethrin exerts slight impairment of central nervous system in male mice」新学術領域「個性」創発脳・第1回国際シンポジウム(2018.7.24-25)、京都市

Kazuya Sakai, Masafumi Sekine, Jin Hiura, Hiroaki Okae, Takashi Tominaga, Takahiro Arima, Kenshiro Hara, Kentaro Tanemura、「Chemical-Induced epigenetic effects on mouse sperm using valproic acid」新学術領域「個性」創発脳・第1回国際シンポジウム(2018.7.24-25)、京都市

Kohei Umezu, Yuuki Hiradate, Kenshiro Hara, Kentaro Tanemura、「Sperm migration is regulated by stromal cell-derived factor 1 in Japanese Black cattle」第11回日本繁殖生物学会大会(日中韓国際シンポジウム)(2018.9.12-16)、上田市

梅津康平、平舘裕希、原健士朗、種村健太郎、「ウシ精子走化性因子の特定と制御機構の解明」第2回日本胚移植技術研究会大会、(2018. 9. 20-21)、津市

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」次世代脳プロジェクト-冬のシンポジウム、(2018. 12. 12-14)、東京都

Kazuya Sakai, Masafumi Sekine, Jin Hiura, Hiroaki Okae, Takashi Tominaga, Takahiro Arima, Kenshiro Hara, Kentaro Tanemura、「Paternal VPA-exposure affects the offspring's behavior through sperm DNA methylation」次世代脳プロジェクト-冬のシンポジウム、(2018. 12. 12-14)、東京都

後藤萌、斉藤洋克、原唯花、富永貴志、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～」次世代脳プロジェクト-冬のシンポジウム、(2018. 12. 12-14)、東京都

斉藤洋克、原健士朗、富永貴志、中島欽一、種村健太郎、「低用量ペルメトリン早期慢性暴露によるマウス次世代雄個体行動影響」第21回環境ホルモン学会研究発表会、(2018. 12. 15-16)、東京都

中島欽一<sup>○</sup>: 転写因子 NeuroD1によるミクログリアからニューロンへの分化転換とそのメカニズム、第41回日本分子生物学会年会、横浜市、パシフィコ横浜、2018年11月28日- 30日 (28日) (シンポジウム)

中島欽一<sup>○</sup>: 転写因子ND1によるミクログリアからニューロンへの直接分化転換メカニズムの解明、神経発達・再生研究会、名古屋市、名古屋市立大学病院、2018年10月17-18日 (17日)

中島欽一<sup>○</sup>: 損傷部保全と神経幹細胞移植の併用による脊髄損傷治療法の開発、Walk Again2018、東京都、秋葉原コンベンションホール、2018年10月13日(講演)

中島欽一<sup>○</sup>: Preservation of the injured site boosts up neural stem cell transplantation-mediated functional recovery after spinal cord

injury、第61回日本神経化学会大会、神戸市、神戸国際会議場、2018年9月6日- 8日 (7日) (シンポジウム)

山下りえ<sup>○</sup>、堅田明子、中島欽一: Analysis of the impact of choroid plexus on adult neurogenesis focusing on a key chronic inflammatory regulator, Angiopoietin-like protein 2、第41回日本神経科学大会、神戸市、神戸コンベンションセンター、2018年7月26日- 29日 (27日) (ポスター)

松原周蔵<sup>○</sup>、村尾直哉、松田泰斗、中島欽一: Hemi-methylated DNA recognition factor, Np95/UHRF1, regulates the behavior of adult neural stem/progenitor cells、第41回日本神経科学大会、神戸市、神戸コンベンションセンター、2018年7月26日- 29日 (26日) (ポスター)

中島欽一<sup>○</sup>: Interplay between cell extrinsic cues and intrinsic epigenetic programs in the regulation of developmental stage-dependent fate specification of neural stem cells、第41回日本神経科学大会、神戸市、神戸コンベンションセンター、2018年7月26日- 29日 (28日) (シンポジウム)

中島欽一<sup>○</sup>: Ectopic neurogenesis induced by prenatal antiepileptic drug exposure increases seizure susceptibility in adult mice、国際シンポジウム、京都市、京都大学、2018年7月24日- 25日 (25日)

山下りえ<sup>○</sup>、堅田明子、中島欽一: Analysis of the effects of choroid plexus on adult neurogenesis by focusing on a chronic inflammatory regulator, Angiopoietin-like protein 2、第16回幹細胞シンポジウム、福岡市、九州大学医学部百年講堂、2018年6月1日- 2日 (2日) (ポスター)

松原周蔵<sup>○</sup>、村尾直哉、松田泰斗、中島欽一: The hemi-methylated DNA recognition factor, Np95 maintains adult hippocampal neurogenesis、第16回幹細胞シンポジウム、福岡市、九州大学医学部百年講堂、2018年6月1日- 2日 (2日) (ポスター)

堅田明子<sup>○</sup>、本田瑞季、中島欽一: Decoding mouse embryonic neural stem cell fate by BMP2 responsiveness、第16回幹細胞シンポジウム、福岡

市、九州大学医学部百年講堂、2018年6月1日- 2日 (2日)

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：転写因子を基盤としたマウス神経幹細胞のDNAメチローム変換、第12回日本エピジェネティクス研究会、札幌市、かでの2・7、2018年5月24日- 25日 (24日) (ポスター)

堅田明子<sup>○</sup>、本田瑞季、中島欽一：骨形成因子の応答性から読み解く、発生期神経幹細胞の分化運命決定機構、第12回日本エピジェネティクス研究会、札幌市、かでの2・7、2018年5月24日- 25日 (24日) (ポスター)

土井浩義<sup>○</sup>、外須美夫、中島欽一：幼少期、*ガゾラム*暴露によるマウス海馬神経幹細胞の挙動解析とニューロン新生に与える影響、第65回日本麻酔科学会学術集会、横浜市、パシフィコ横浜、2018年5月17日- 19日 (ポスター)

Doi, H., Matsuda, T., Shirozu, K., Hoka, S., Nakashima, K.: Effects of Neonatal Exposure to Midazolam on Neural Stem/Progenitor Cell Behavior in the Adult Mouse Hippocampus, *Anesthesiology*, San Francisco, October 13-17, 2018

Nakashima, K.: Prior inhibition of HMGB1 boots up human neural stem cell transplantation-mediated functional recovery after spinal cord injury, The 21st Annual Meeting of the Korean Society for Brain and Neural Sciences, Grand Hilton, Seoul, August 30-31, 2018

Nakashima, K.: Preservation of damaged tissue by prior inhibition of HMGB1 boosts human neural stem cell transplantation-mediated functional recovery after spinal cord injury, *STEM CELL CROSSROADS*, Shanghai, China, May 7-10, 2018

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「 $\gamma$ -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、齊藤貴志、西道隆臣、掛山正心「Appログ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. 6<sup>th</sup> 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. 6<sup>th</sup> 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 McCormic 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 Saito<sup>1</sup>, Kenshiro Haral, Takashi Tominaga<sup>2</sup>, Kinichi Nakashima<sup>3</sup>, Kentaro Tanemura<sup>1</sup>. IUTOX 15th International Congress of Toxicology July 15-18, 2019 | Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA

Machida Y, Yamada Y, Mizunuma S, Tominaga T, Kajiwar 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<sup>1</sup>、後藤 萌<sup>1</sup>、原 唯香<sup>1</sup>、富永 貴志<sup>2</sup>、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 Kajiwar: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枢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 4 2 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 HMGB1enhances 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 9 1 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 it's 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 3 5 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 PPARα, 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樞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

種村健太郎、佐々木貴熙、齊藤洋克、高橋祐次、北嶋聡、菅野純「発生期マウスへのドーモイ酸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2～」第47回日本毒性学会学術年会(2020.6.29-7.1)、オンライン

種村健太郎、齊藤洋克、古川佑介、相崎健一、北嶋聡、菅野純「低用量/低濃度化学物質の発生—発達期ばく露による情動認知行動毒性～情動認知行動毒性評価系の国際標準化に向けた対応～」第47回日本毒性学会学術年会(2020.6.29-7.1)、オンライン

齊藤洋克、原健士朗、富永貴志、中島欽一、北嶋聡、菅野純、種村健太郎、「低用量ペルメトリンの早期慢性ばく露による成熟後の雄マウス行動影響」第47回日本毒性学会学術年会(2020.6.29-7.1)、オンライン

梅津康平、倉田笙平、平館裕希、原健士朗、種村健太郎「ウシにおける凝集精子の特性と役割」第113回日本繁殖生物学会大会(2020.9.23-25)、オンライン

原唯香、平館裕希、原健士朗、北嶋聡、菅野純、種村健太郎「エストロゲン受容体 $\alpha$ 非翻訳領域遺伝子改変マウスの学習記憶不全と遺伝子発現プロファイル解析」第113回日本繁殖生物学会大会(2020.9.23-25)、オンライン

張磨琉亜、平館裕希、松山誠、藤井渉、原健士朗、種村健太郎「Axdnd1 遺伝子欠損マウスに精子形成不全」第113回日本繁殖生物学会大会(2020.9.23-25)、オンライン

山下司朗、小賀坂祐平、平館裕希、種村健太郎、千代豊「ブタ受精卵へのCRISPR/Cas9導入による遺伝子組換え胚作出とTrex2共導入によるモザイク胚低減」第113回日本繁殖生物学会大会(2020.9.23-25)、オンライン

富永洋子、竹歳麻紀子、富永貴志「Imaging analysis of the long-term potentiation of the mouse hippocampal activity マウス海馬の長期増強を膜電位感受色素によるイメージングで観察する」第58回日本生物物理学会20200916-18(群馬、オンライン)

待田 耀子, 山田 悠太, 富永 貴志, 梶原 利一「発達期および成体期におけるマウス嗅皮質神経回路の膜電位イメージング解析」第43回日本神経科学大会(神戸、オンライン)2020年7月29日-8月1日

富永 貴志, 梶原 利一, 富永 洋子「単回頻回の膜電位感受性色素(VSD)による広視野可視化法は神経回路の特異な活動や振動現象の発見に役立つ」第43回日本神経科学大会(神戸、オンライン)2020年7月29日-8月1日 口頭発表

富永 貴志, 富永 洋子「VSDイメージングによる神経回路毒性の網羅的評価」シンポジウム17 低用量低濃度暴露による発達神経毒性評価型の国際標準化に伴う課題と対応 菅野純、種村健太郎 第47回日本毒性学会学術年会(仙台、オンライン)2020年6月30日 招待公演

入江剛史、松田泰斗、林良憲、吉良潤一、中島欽一: In vivo conversion from microglia to neurons reinstates neurological function after ischemic injury, 第61回日本神経学会学術大会、岡山県、岡山コンベンションセンター、2020年8月31日-9月2日(ポスター)

中嶋秀行、中島欽一: レット症候群原因因子 MeCP2 の miR-199a を介した神経幹細胞分化制御、NPBPPP2020 合同年会、Web 開催(シンポジウム)、2020年8月21日-23日

今村拓也、藤本雄一、亀田朋典、吉良潤一、中島欽一: 母体由来炎症シグナルを胎仔脳由来ノンコーディング RNA 制御により緩和する、第43回日本神経科学大会、Web 開催(シンポジウム)、2020年7月29日-8月1日

松田泰斗、入江剛史、中島欽一: 成体マウス脳ミクログリアから機能的なニューロンへのダイレクトリプログラミング、第43回日本神経科学大会、Web 開催(シンポジウム)、2020年7月29日-8月1日

中島欽一: 脊椎動物の初期発生とエピジェネティックス、第47回日本毒性学会学術年会、Web 開催(シンポジウム)、2020年6月29日-7月1日

北嶋聡、種村健太郎、菅野純、室内揮発性有機化学物質の極低濃度下における吸入暴露の際のマウス中枢神経系への影響。第47回日本毒性学会学術年会、(2020.6.30)、Web 開催、シンポジウム、口演

菅野純、発生発達期暴露による情動認知行動毒性の背景とその評価系に関する国際的動向。第47回日本毒性学会学術年会、(2020.6.30)、Web 開催、シンポジウム、口演

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)、Web 開催、シンポジウム、口演

菅野純、北嶋聡、相崎健一、小野竜一、Percellome Project における精度管理とその解析への影響。第 47 回日本毒性学会学術年会、(2020. 6. 30)、Web 開催、シンポジウム、口演

相崎健一、長谷武志、北嶋聡、小野竜一、北野宏明、菅野純、米国毒性学会合同シンポジウム: Current and future application of PERCELLOME database as a part of big data to toxicological research. 第 47 回日本毒性学会学術年会、(2020. 7. 1)、Web 開催、シンポジウム、口演

菅野純、シグナル毒性の概念とその拡張。第 47 回日本毒性学会学術年会、(2020. 7. 1)、Web 開催、ワークショップ、口演

菅野純、職場環境における化学物質の毒性発現機構の多様性と評価・管理の連関性に関する一考察、第 289 回 日本産業衛生学会 関東地方会例会 (2020. 8. 29)、口演

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Ryuichi Ono and Satoshi Kitajima、Application of PERCELLOME database as a part of big data to toxicological research: The 36th Annual Meeting of KSOT/KEMS, Special lecture, Web, Oral presentation.

Yuhji Taquahashi, Satoshi Yokota, Koich Morita, Masaki Tsuji, Kousuke Suga, Makiko Kuwagata, Motoki Hojyo, Akihiko Hirose, and Jun Kanno. Interim report of four-week interval intermittent inhalation study on multi-walled carbon nanotube in mice. 9th NANO Conference (2020. 11. 12-13) e-poster.

齊藤洋克、原健士朗、北嶋聡、種村健太郎、「ビタミン E 欠乏給餌によるマウス雄性生殖器および精子への影響と加齢による退行変化との類似性」日本食品衛生学会創立 60 周年記念第 116 回学術講演会 (2020. 11. 24-12. 8)、オンライン

種村健太郎、菅野純、低用量化学物質の周産期暴露による情動認知行動影響解と評価系の国際標準化に向けた展開、日本学術会議公開シンポジウム「食の安全と

環境ホルモン」(2020. 12. 5) Web 口演

#### 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 |