

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

エクソソーム RNA を毒性指標とした  
次世代型催奇形性評価法の開発に資する研究  
(21KD1001)

令和 3 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

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

立原 江利加 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

内山 美樹 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

科学技術の進展に伴い年々増加する新規化学物質の安全性確保は極めて重要な課題であり、それらの生体影響の評価には、毒性機序の解明が必須とされるが、特に、生殖発生毒性学の分野は他の毒性分野よりもメカニズム解析が遅れている。評価方法が経験値に依存する由縁でもある。

我々は、これまでに、細胞間情報伝達の 1 つとして細胞から分泌される小胞であるエクソソーム中に含まれる RNA を指標とした迅速かつ高感度な次世代型毒性試験法の開発を、厚労科研・化学物質リスク事業 (H30-R2 年度) において行い、成獣雄マウスに対して、血液 1 滴から全身の病理組織学的診断を検出しうる高感度な系の確立に成功している (**Ono R.** et al., *Toxicology Reports* 2020)。

本研究においては、エクソソーム RNA を腹単位の毒性指標とする次世代型催奇形性評価法の開発を行うことで、これまでの経験重視に依存していた催奇形性の評価をメカニズムに基づいた安全性評価にステップアップし、リスク評価時に常に一定の判断基準による評価が可能となることで、催奇形性作用を持つ化合物の迅速化、高感度化した評価が期待される。

特に、胎児の正常な発生に必須なマイクロ RNA の存在が明らかになり、さらに、マイクロ RNA が催奇形性に寄与している報告もされていることから、本研究により、催奇形性に寄与するエクソソーム中のマイクロ RNA を明らかにすることは、催奇形性のメカニズムの解明に大きく貢献する。

また、エクソソーム RNA を毒性指標とする評価法を催奇形性評価だけでなく、オルガノイド 3D 培養法を利用した代替法への応用も視野に入れた本研究は、生殖発生毒性評価、エクソソーム RNA といった新たなバイオマーカー評価およびオルガノイド 3D 培養による in vitro 評価を融合させた計画となっている。

3 年計画の初年度にあたる R3 年度の本分担研究においては、自然免疫として知られる I 型インターフェロンの負の制御転写因子である Irf2 の欠損マウスにおいて誘導される種々の炎症反応に特異的に誘導されるエクソソーム RNA の同定する計画において、どのような炎症反応が見られるのか、病理組織学的検査および生化学検査病理組織学的検査および生化学検査を行うことを目的とした。Irf2 欠損マウスが、肝臓および腎臓において野生型には見られない髄外造血および肝細胞壊死が確認され、腎臓においては毛細血管が拡張した異常な糸球体像検出に成功した。

令和3年度研究（3年計画の1年目）は、計画通りに進捗している。

## A. 研究目的

化学物質の有害性評価、特に化審法におけるヒト健康影響に関する有害性において、化学物質の生殖発生への影響を迅速かつ正確に評価することは最重要課題の一つである。現行の生殖発生毒性試験法は、莫大な費用、時間や労力以外に、観察者の経験に依存する部分や、得られる判定基準が必ずしも施設間で一定とは言えない部分がある。

その内の1つである胚・胎児発生に関する試験（発生毒性試験）では、母毒性評価とともに胎児形態観察（外表、内臓および骨格観察）から催奇形性を評価する。その際に、腹内・腹間の感受性に差がある中で、形態変化を異常か変異に分類し、その発現率から催奇形性を判断する事は困難な場合がある。

近年、細胞間情報伝達の1つとして、細胞から分泌される小胞であるエクソソームが注目されている。エクソソームは体液中（血液、髄液など）を循環し、細胞特異的なマイクロRNAを内包することから、研究分担者の東京医大・落谷らは、腫瘍細胞に特異的なマイクロRNAを指標にした、血液1滴による13種類の早期がん診断法（精度95%以上）を開発した経験を持つ。

我々は、エクソソームRNAを指標とした迅速かつ高感度な次世代型毒性試験法の開発を、厚労科研・化学物質リスク事業（H30-R2年度）において行い、成獣雄マウスに対して、血液1滴から全身の病理組織学的診断を検出しようとする高感度な系の確立に成功している（**Ono R.** et al., *Toxicology Reports* 2020）。

本研究は、これまでの実績、経験を活かし、エクソソームRNAを指標にした次世代型の催奇形性評価法の確立と催奇形性の発現メカニズムの解明を目的とする。

エクソソーム中に多く内包されることが知られるマイクロRNAが催奇形性に寄与している報告もあることから、本研究の特徴は、エクソソームRNAを指標することで、リスク評価時に常に一定の判断基準による評価が可能な次世代型催奇形性評価法を開発すると同時に、生殖発生毒性のメカニズムの解明にも繋がることである。

また、エクソソームRNAを毒性指標とした動物実験に依存しないオルガノイド3D培養法を利用した次世代型代替法の開発も視野に入れている。オルガノイドは、臓器を構成する能力を持った未分化な組織幹・前駆細胞が、3D培養環境の中で、形態形成過程

の特徴を模倣してミニ臓器が形成されるものであり、発生期の模倣モデルとして、化学物質や薬物による毒性影響の評価にも適用できると考えられる。本研究計画においては、まずは、オルガノイド由来のエクソソームにおいても毒性評価が可能かを明らかにすることを目的としている。動物福祉（3Rs）の観点による代替法への応用を考慮した取組の一環である。具体的には、オルガノイドの培養上清中のエクソソームが *in vivo* のエクソソームと同様に毒性バイオマーカーとなりうるのかの検証を行う。

## B. 研究方法

本分担研究においては、毒性発現メカニズムを考慮した次世代型の生殖発生毒性評価法を確立することを目的に、以下の概要を行う。

● 血液中のエクソソームRNAが化学物質や医薬品投与により生じる毒性のバイオマーカーとなることを示してきたが、骨格異常、発達障害、自己免疫疾患などの各種障害のバイオマーカーとしても利用可能と考えられる。

そこで、様々な表現型を持つ遺伝子変異を、発達障害などのモデルとして利用することを計画している。今年度は、自己免疫疾患マウスモデルとして知られる *Irf2* 欠損マウスに、実際に各種炎症反応が見られるのかを病理組織学的検査および生化学検査を行う。

### ・自己免疫疾患モデルマウスの導入

谷口維紹（東京大学名誉教授）より、*Irf2* ヘテロ欠損マウスを導入している。

Symbol: *Irf2*

Name: interferon regulatory factor 2

Synonyms: 9830146E22Rik, *Irf-2*

Feature Type: protein coding gene

MGI:96591

NCBI Gene: 16363

*Irf2* ヘテロ欠損マウス（♀）と *Irf2* ヘテロ欠損マウス（♂）を交配することで、野生型（*Irf2* +/+）、*Irf2* ヘテロ欠損（*Irf2* +/-）、*Irf2* 欠損マウス（*Irf2* KO マウス；*Irf2* -/-）を作成する。

### ・*Irf2* KO マウスのジェノタイプング

マウスの耳片より、DNeasy blood & tissue kit (Qiagen) を利用して、DNAを抽出。各個体より抽出したDNAを以下のPCRプライマーを使用してPCR増幅を行

い、電気泳動することでジェノタイプを決定している。

Irf2 F2A4: cgg tag act ctg aag gcg ttg tt  
Irf2 F2S3: ttc cag atc ccc tgg atg cat gc  
Irf2 F2N : aac gca cgg gtg ttg ggt cgt ttg

#### ・病理組織学検査

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 で臓器・器官の固定を行う。常法に従って、パラフィンブロック標本を作製し、薄切を行い、hematoxylin and eosin (H&E) 染色を行う。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

### ・炎症に特異的なエクソソーム RNA の同定 (小野、落谷、平林)

現在までに、エクソソーム RNA を発がんバイオマーカーの指標として利用した早期がん診断が行われ、さらに、我々は、化学物質投与による肝毒性評価の指標として、エクソソーム RNA を利用可能なことを証明してきた。本研究においては、催奇形性のバイオマーカーとなりうるエクソソーム RNA の同定を目的としているが、成体における骨格異常や、発達障害などの各種障害のバイオマーカーとしても利用可能と考えられる。

そこで、様々な表現型を持つ遺伝子変異を、発達障害などのモデルとして利用することとした。最初に、自己免疫疾患マウスモデルとして知られる *Irf2* 欠損マウスに特異的なエクソソーム RNA が存在するのかの解析を行った。

同腹由来の6匹の雌 (5ヶ月齢: 野生型4匹、*Irf2* hetero 1匹、*Irf2* KO 1匹) の解剖を行い、肝臓および腎臓の病理解析、採血を行い、血液生化学検査およびエクソソームRNAの網羅的解析を行った。

*Irf2* KO マウスにおいては、体重は野生型と変わらないが、肝臓が野生型の1.8倍、腎臓が1.5倍の重量があった。*Irf2* KO マウスの肝臓における H&E 像では、肝細胞の壊死、および、肥大が確認された。また、野生型では見られない髓外造血像も確認された。肝臓の重量増加は、これらが原因であると考えられる。一方、腎臓における H&E 像では、野生型では、糸球体にしっかりと内皮細胞が確認され、毛細血管も正常な形態を維持しているが、*Irf2* KO マウスの糸球体においては、正常な内皮細胞の欠落、および毛細血管の拡張が確認された。

このように、自己免疫疾患を起こすことにより、様々な病変を持つ *Irf2* KO マウスに特異的なエクソソーム RNA を同定し、その詳細を解析することで、様々な病変に対するバイオマーカーの同定につながる。

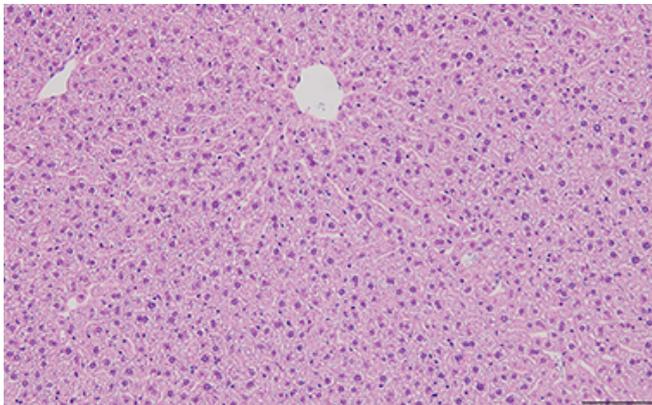


図: 野生型マウス (5ヶ月齢) の肝臓におけるH&E染色像。

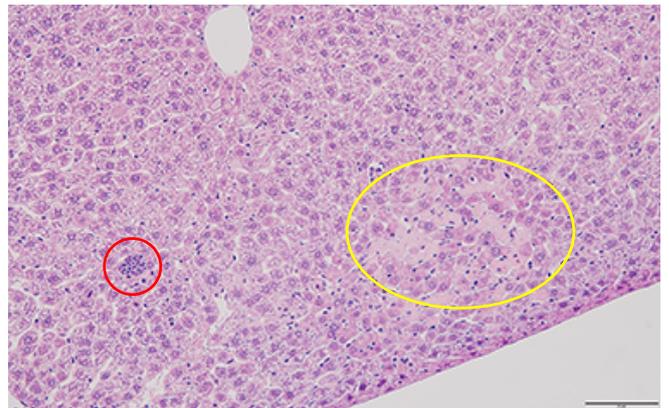


図: *Irf2* KO マウス (5ヶ月齢) の肝臓におけるH&E染色像。野生型には見られていない髓外造血像 (赤丸)、および肝細胞壊死 (黄色丸) が確認された。

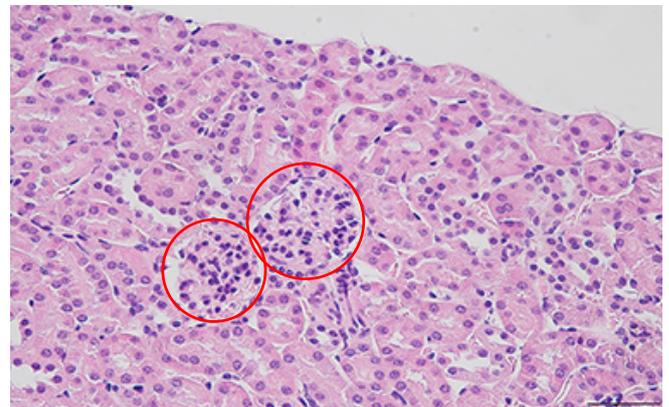


図: 野生型マウス (5ヶ月齢) の腎臓におけるH&E染色像。正常な糸球体像 (赤丸) が確認できる。

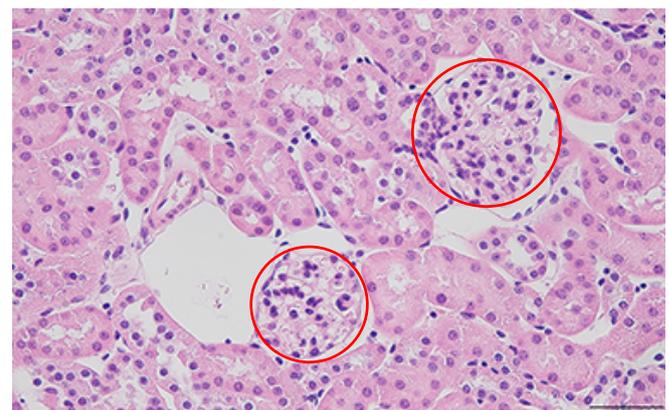


図: *Irf2* KO マウス (5ヶ月齢) の腎臓におけるH&E染色像。内皮細胞を欠き、毛細血管が拡張した異常な糸球体像 (赤丸) が確認できる。

・血液生化学 (平林)

H&E 染色像の解析を行った、野生型、Irf2 hetero マウス、Irf2 KO マウスの血液を採取し、血清成分の抽出を行い、血液生化学解析を行った。

その結果、肝臓障害のマーカーである AST および ALT については、野生型と比較して高い値を示した。また、腎臓障害のマーカーである BUN および CRE については、BUN では変化がないが、CRE が高い値になっており、肝臓、腎臓ともに、病理切片から予想された通りに、野生型と比較して機能低下が確認された。

	AST(U/l)	ALT(U/l)	BUN(mg/dl)	CRE(mg/dl)
WT1	75	18	20.9	0.23
WT2	87	23	26.2	0.17
WT3	78	25	32.8	0.27
WT4	83	19	27.2	0.17
KO	127	74	24.9	0.70
hetero	52	25	27.8	0.19

図: 野生型、Irf2 KO マウスにおける血液生化学解析の結果

## D. 考察

我々は、エクソソーム RNA を指標とした迅速かつ高感度な次世代型毒性試験法の開発を、厚労科研・化学物質リスク事業 (H30-R2 年度) において行い、成獣雄マウスに対して、血液 1 滴から全身の病理組織学的診断を検出する高感度な系の確立に成功している (Ono R. *et al.*, *Toxicology Reports* 2020)。

本分担研究の R3 年度においては、催奇形性のバイオマーカーの効率的な探索のために、遺伝子組み換えマウスをモデル動物として利用することに取り組んだ。

哺乳類の免疫には、感染した病原体を特異的に見分け、それを記憶することで、同じ病原体に出会った時に効果的に病原体を排除できる仕組みである獲得免疫の他に、受容体を介して、侵入してきた病原体や異常になった自己の細胞をいち早く感知し、それを排除する仕組みである自然免疫が存在する。自然免疫は、ウイルス RNA を模倣した核酸アナログである Poly I:C を投与することで、誘導できることが知られている。ここで、本来、自然免疫を抑制している *Irf2* 遺伝子の欠損マウスを利用することで、慢性的に自然免疫が活性化された状態を作り出すことができる。

R3 年度においては、5 ヶ月齢の野生型マウス、*Irf2* ヘテロ KO マウス、*Irf2* KO マウスからの採血、病理組織学的検査および生化学検査を行った。*Irf2* KO マウスにおいては、様々な自己免疫疾患による症状が見られた。

*Irf2* KO マウスにおいては、体重は野生型と変わらないが、肝臓が野生型の 1.8 倍、腎臓が 1.5 倍の重量があった。*Irf2* KO マウスの肝臓における H&E 像では、肝細胞の壊死、および、肥大が確認された。また、野生型では見られない髄外造血像も確認された。肝臓の重量増加は、これらが原因であると考えられる。一方、腎臓における H&E 像では、野生型では、糸球体にしっかりと内皮細胞が確認され、毛細血管も正常な形態を維持しているが、*Irf2* KO マウスの糸球体においては、正常な内皮細胞の欠落、および毛細血管の拡張が確認された。

さらに、小野、落谷らが単離した *Irf2* KO マウスに特異的なエクソソーム RNA が、慢性炎症のバイオマーカーとなる可能性がある。*Irf2* KO マウスの表現型の出現する前の若い個体を用いての同様の解析を行うことで、ここで単離した特異的なエクソソーム RNA が、自己免疫疾患の症状に特異的なのか、*Irf2* 遺伝子欠損によるインターフェロン応答遺伝子群 (ISGs) の活性化に特異的なのかを明らかにできると考えている。

## E. 結論

本研究は、R3 年度の分担研究計画通りに進捗した。

R3 年度研究 (3 年計画の 1 年目) 研究において、炎症反応のモデルとして、遺伝子改変動物である *Irf2* KO マウスを利用することにした。*Irf2* KO マウスにおいて、エクソソーム RNA の解析用に採血をするのと同時に、病理組織学的検査および生化学検査を行った。

その結果、*Irf2* KO マウスにおいては、体重は野生型と変わらないが、肝臓が野生型の 1.8 倍、腎臓が 1.5 倍の重量があった。*Irf2* KO マウスの肝臓における H&E 像では、肝細胞の壊死、および、肥大が確認された。また、野生型では見られない髄外造血像も確認された。

小野、落谷が、ここで採血した血液の解析を行い、*Irf2* KO マウスに特異的なエクソソーム RNA の同定に成功している。より、自己免疫疾患における炎症反応に特異的なエクソソーム RNA の同定に成功した。

我々は、エクソソーム RNA を指標として、癌細胞の存在や、化学物質による細胞障害の検出に成功してきたが、単一遺伝子欠損の影響による炎症反応のバイオマーカーとなりうるエクソソーム RNA の同定に成功した意義は大きい。様々な条件でバイオマーカーとなりうるエクソソーム RNA の単離に成功したとしても、それが本当に狙った細胞の障害に由来するものなのかを証明することは難しかった。そこで、同一の表現型を持つ、複数の遺伝子改変動物を利用して、特異的なエクソソーム RNA を同定し、比較することにより、バイオマーカーの機能をメカニズムベースで考えることができる。

本研究を推進することで、エクソソーム RNA を指標としたリスク評価により、常に一定の判断基準による評価が可能な次世代型催奇形性評価法を開発すると同時に、生殖発生毒性のメカニズムの解明にも繋げられると考えられ、厚生労働行政に貢献する研究開発となっている。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表 (令和 3 年度)

Nagaishi T, Watabe T, Kotake K, Kumazawa T, Aida T, Tanaka K, **Ono R**, Ishino F, Usami T, Miura T, Hirakata S, Kawasaki H, Tsugawa N, Yamada D, Hirayama K, Yoshikawa S, Karasuyama H, Okamoto R, Watanabe M,

- Blumberg RS, Adachi T.  
Immunoglobulin A-specific deficiency induces spontaneous inflammation specifically in the ileum.  
*Gut*. 2021 May 7;gutjnl-2020-322873.
- Shiura H, **Ono R**, Tachibana S, Kohda T, Kaneko-Ishino T, Ishino F.  
PEG10 viral aspartic protease domain is essential for the maintenance of fetal capillary structure in the mouse placenta.  
*Development*. 2021 Oct 1;148(19):dev199564.
- Tanabe S, Quader S, **Ono R**, Cabral H, Aoyagi K, Hirose A, Yokozaki H, Sasaki H.  
Cell Cycle Regulation and DNA Damage Response Networks in Diffuse- and Intestinal-Type Gastric Cancer.  
*Cancers* (Basel). 2021 Nov 18;13(22):5786.
- **Naruse M**, Ishigamori R, Imai T.  
The Unique Genetic and Histological Characteristics of DMBA-Induced Mammary Tumors in an Organoid-Based Carcinogenesis Model.  
*Front Genet*. 2021 Nov 29;12:765131.
- Komiya M, Ishigamori R, **Naruse M**, Ochiai M, Miyoshi N, Imai T, Totsuka Y.  
Establishment of novel genotoxicity assay system using murine normal epithelial tissue-derived organoids.  
*Front Genet* 2021 Nov 18;12: 768781.
- **Kuwagata M**, Hasegawa T., Takashima H., Shimizu M., Kitajima S., Yamazaki H.:  
Pharmacokinetics of primary metabolites 5-hydroxythalidomide and 5'-hydroxythalidomide formed after oral administration of thalidomide in the rabbit, a thalidomide-sensitive species. *J. Toxicol. Sci.*, 46, 553-560, 2021.
- Yamada T., Miura M., Kawamura T., Ushida K., Inoue K., **Kuwagata M**., Katsutani N., Hirose A.: Constructing a developmental and reproductive toxicity database of chemicals (DART NIHS DB) for integrated approaches to testing and assessment. *J Toxicol Sci*. 46, 531-538, 2021.
- Taquahashi Y., Saito H., **Kuwagata M**., Kitajima S.:  
Development of an inhalation exposure system of a pressurized metered-dose inhaler (pMDI) formulation for small experimental animals. *Fundam. Toxicol. Sci*. 8, 169-175, 2021.
- Yamamoto E., Taquahashi Y., **Kuwagata M**., Saito S., Matsushita K., Toyoda T., Sato F., Kitajima S., Ogawa K., Izutsu K., Saito Y., Hirabayashi Y., Iimura Y., Honma M., Okuda H., Goda Y.: Visualizing the spatial localization of ciclesonide and its metabolites in rat lungs after inhalation of 1- $\mu$ m aerosol of ciclesonide by desorption electrospray ionization-time of flight mass spectrometry imaging. *Int J Pharmaceutics* 595: 120241, 2021.
- Harada T, Tsuboi I, Hino H, Yuda M, **Hirabayashi Y**, Hirai S, Aizawa S.  
Age-related exacerbation of hematopoietic organ damage induced by systemic hyper-inflammation in senescence-accelerated mice.  
*Sci Rep*. 2021 Dec 1;11(1):23250.
- Okubo Y, Ohtake F, Igarashi K, Yasuhiko Y, **Hirabayashi Y**, Saga Y, Kanno J.  
Cleaved Delta like 1 intracellular domain regulates neural development via Notch signal-dependent and -independent pathways.  
*Development*. 2021 Oct 1;148(19):dev193664.
- Hirabayashi Y**, Maki K, Kinoshita K, Nakazawa T, Obika S, Naota M, Watanabe K, Suzuki M, Arato T, Fujisaka A, Fueki O, Ito K, Onodera H.  
Considerations of the Japanese Research Working Group for the ICH S6 & Related Issues Regarding Nonclinical Safety Assessments of Oligonucleotide Therapeutics: Comparison with Those of Biopharmaceuticals.  
*Nucleic Acid Ther*. 2021 Apr;31(2):114-125.
- Hwang JY, Wang H, Lu Y, **Ikawa M**, Chung JJ.  
C2cd6-encoded CatSpert targets sperm calcium channel to Ca<sup>2+</sup> signaling domains in the flagellar membrane.  
*Cell Rep*. 2022 Jan 5:110226.
- Morohoshi A, Miyata H, Oyama Y, Oura S, Noda T, **Ikawa M**.  
FAM71F1 binds to RAB2A and RAB2B and is essential for acrosome formation and male fertility in mice.  
*Development*. 2021 Nov 1;148(21):dev199644.
- Fujihara Y, Herberg S, Blaha A, Panser K, Kobayashi K, Larasati T, Novatchkova M, Theussl HC, Olszanska O, **Ikawa M**, Pauli A.  
The conserved fertility factor SPACA4/Bouncer has divergent modes of action in vertebrate fertilization.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Sep 28; 118(39): e2108777118.
- Miyata H, Oura S, Morohoshi A, Shimada K, Mashiko D, Oyama Y, Kaneda Y, Matsumura T, Abbasi F, **Ikawa M**.  
SPATA33 localizes calcineurin to the mitochondria and regulates sperm motility in mice.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Aug 31;118(35): e2106673118.
- Fujita Y, Hoshina T, Matsuzaki J, **Yoshioka Y**, Kadota T, Hosaka Y, Fujimoto S, Kawamoto H, Watanabe N, Sawaki K, Sakamoto Y, Miyajima M, Lee K, Nakaharai K, Horino T, Nakagawa R, Araya J, Miyato M, Yoshida M, Kuwano K, **Ochiva T**.  
Early prediction of COVID-19 severity using extracellular vesicle COPB2.  
*J Extracell Vesicles*. 2021 Jun;10(8):e12092.
- Ichinohe N, Ishii M, Tanimizu N, Mizuguchi T, Yoshioka

Y, **Ochiya T**, Suzuki H, Mitaka T.  
Extracellular vesicles containing miR-146a-5p secreted by bone marrow mesenchymal cells activate hepatocytic progenitors in regenerating rat livers.  
*Stem Cell Res Ther.* 2021 May 29;12(1):312.

Torii C, Maishi N, Kawamoto T, Morimoto M, Akiyama K, **Yoshioka Y**, Minami T, Tsumita T, Alam MT, **Ochiya T**, Hida Y, Hida K.  
miRNA-1246 in extracellular vesicles secreted from metastatic tumor induces drug resistance in tumor endothelial cells.  
*Sci Rep.* 2021 Jul 5;11(1):13502. doi: 10.1038/s41598-021-92879-5.

## 2. 学会発表 (令和3年度)

**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**  
リキッドバイオプシーによる毒性評価  
第48回日本毒性学会学術年会 (2021.7.1.)  
(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48回日本毒性学会学術年会 (2020.6.30.)  
(招待講演)

○**小野竜一**  
エクソソームが媒介したレトロトランスポゾンの水平遺伝による哺乳類の誕生  
第21回 AB Conference (2021.8.21.)  
(招待講演)

○**小野竜一**  
エクソソームが媒介したレトロトランスポゾンの遺伝子水平遺伝による哺乳類の誕生  
第93回日本遺伝学会学術年会 (2021.9.8.)  
(招待講演)

○**Ryuichi Ono**  
Novel hepatotoxicity biomarkers of exosomal miRNAs acutely induced by CCl4  
アジア毒性学会学術年会 (2021.11.2.)

(招待講演)

○**Ryuichi Ono**  
Liquid Biopsy for the Early Detection of Toxicity  
韓国毒性学会学術年会 (2021.11.2.)  
(招待講演)

**小野竜一**  
ゲノム編集技術の安全性評価  
第50回日本環境変異原ゲノム学会 (2021.11.1.)  
(招待講演)

○ Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, **Ryuichi Ono**, Satoshi Kitajima  
Comprehensive Histone, DNA methylation, and mRNA expression analysis of murine liver repeatedly exposure to Chemicals - Percellome Project 2022 update -  
米国毒性学会学術年会 (2022.3.27.)

○**成瀬美衣**  
Gene expression profiles in CAFs exhibited individual variations by the co-culture with CRC organoids  
第80回日本癌学会学術総会 (2021.9.30.)

○**桑形 麻樹子**、高島 宏昌、長谷川 拓郎、山崎 浩史、北嶋 聡: 雄ウサギを用いたサリドマイド経口投与による血漿から精漿中への移行評価  
第48回日本毒性学会学術年会(神戸(ハイブリット))2021年7月

○高島 宏昌、羽田 亮、田中 加奈子、関 美沙、長谷川 拓郎、山崎 浩史、北嶋 聡、**桑形 麻樹子**: ウサギを用いたサリドマイド経口投与による催奇形作用確認試験  
第61回日本先天異常学会学術集会(東京(オンライン)) 2021年8月

## 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。