

令和元年5月25日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02961

研究課題名(和文) プトレシンが示すメチル水銀毒性軽減作用に関わる分子機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism underlying the reduction of methylmercury toxicity by putrescine

研究代表者

黄基旭 (Hwang, Gi-Wook)

東北大学・薬学研究科・准教授

研究者番号：00344680

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：メチル水銀をマウスに投与するとプトレシン(ポリアミンの一種)のレベルが脳組織特異的に増加されることを見出し、この現象がメチル水銀による脳神経傷害に対する防御応答であることが明らかになった。また、メチル水銀によるプトレシンの増加にはその合成酵素であるオルニチンデカルボキシラーゼの活性上昇が関与しており、本酵素の安定性がメチル水銀によって増加されることも確認された。さらに、プトレシンはメチル水銀が引き起こすミトコンドリアの機能低下を介して誘導されるアポトーシスを抑制することでメチル水銀毒性軽減作用を示していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、生体が脳内に侵入したメチル水銀を感知し、それに応答してプトレシンレベルを増加させることによってその神経毒性から自身を防御している可能性を示した。これまで、プトレシンとメチル水銀毒性との関係について検討された例はなく、本研究結果のすべてが新事実となることは間違いない。本研究結果によって、未解明のままにされてきたメチル水銀毒性に対する生体防御機構を分子レベルで初めて説明することになり、遺伝的にメチル水銀に対して高感受性を示す人々の同定やそれらを考慮したメチル水銀毒性の正確な摂取基準の制定などに大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：We have previously found that the level of putrescine, a polyamine, was increased in the brains of mice administered methylmercury (MeHg), and addition of putrescine to culture medium reduced MeHg toxicity in C17.2 mouse neural stem cells. In this study, we investigated the role of ornithine decarboxylase (ODC), an enzyme involved in putrescine synthesis, in response to MeHg toxicity, and found that MeHg increased ODC activity in mouse cerebrum and cerebellum, but this increase was hardly observed in the kidney and liver, where MeHg accumulated at a high concentration. MeHg also increased the putrescine level and ODC enzyme activity in C17.2 cells, and these increases were due to the stabilization of the ODC enzyme by MeHg. We also found that putrescine suppressed apoptosis through mitochondrial dysfunction caused by MeHg. This is the first study to provide evidence that increased ODC activity may be a protective response against MeHg-induced neurotoxicity.

研究分野：分子毒性学

キーワード：メチル水銀 プトレシン 毒性軽減

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メチル水銀の過剰摂取による水俣病の発症から約 60 年が経過した現在でも、母親の魚食を介したメチル水銀摂取が発達中の胎児に与える影響は世界的に懸念されている。しかし、メチル水銀が示す中枢神経傷害に関わるメカニズムはほとんど不明である。本申請者らはメチル水銀を投与したマウスの脳中でプトレシン (ポリアミンの一種) のレベルが脳組織特異的に上昇すること、また、プトレシンの培地への添加がマウス神経幹細胞である C17.2 細胞のメチル水銀毒性を軽減することを見出したことから、脳内で増加したプトレシンがメチル水銀による神経傷害を抑制する可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

上記の知見は、生体がメチル水銀の脳内侵入を感知し、それに応答してプトレシンレベルを上昇させることによってその神経毒性から自身を防御している可能性が示唆されている。そこで本研究では、メチル水銀によるプトレシンレベルの増加に関わるメカニズムと、プトレシンが示すメチル水銀毒性軽減作用に関わるメカニズムを、生化学的および分子生物学的検討によって明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウスへのメチル水銀投与

8 週齢のマウス (C57BL/6) を購入し、一定条件 (23 ± 2 °C、日照時間 明期 : 12 時間、暗期 : 12 時間) で、水や餌は自由に与えて 1 週間飼育した。その後 20 mg/kg となるよう塩化メチル水銀を皮下投与し、投与から 1、3、5 および 7 日後にマウスをイソフルランの吸入によって深く麻酔し開腹後、1 × PBS で灌流し各臓器を摘出した。なお、本実験は東北大学における動物実験に関する指針に従って行った。

(2) ポリアミンレベルの測定

メチル水銀を投与後摘出した各組織を 30 mM KH₂PO₄ (pH 6.9) 300 μL 中で Polytron ホモジナイザーを用いてホモジナイズし、14,000 × g、4 °C で 25 分間遠心し上清を取って DC protein assay kit で蛋白量を測定した。一方、C17.2 細胞を 6-well plate に 5 × 10⁵/well になるように播種し、37 °C、5% CO₂ の条件下で 24 時間培養後に塩化メチル水銀を 5 μM になるように 6 時間処理し、1 × PBS で細胞を洗浄した後にスクレーパー等を用いて 30 mM KH₂PO₄ (pH 6.9) 400 μL で細胞を懸濁し、超音波処理 (10 sec, duty cycle 10%) をして 14,000 × g、4 °C で 25 分間遠心し上清を取って蛋白質量を測定した。蛋白質量が一定 (50 μg) になるよう 30 mM KH₂PO₄ (pH 6.9) を用いて希釈した上清 80 μL に 500 mM boric acid (pH 7.9) 100 μL、3 mM FMOC (in acetone) 200 μL を加えボルテックスし、20,000 × g で 15 分遠心した上清を取って HPLC のサンプルとした。また、30 mM KH₂PO₄ (pH 6.9) 中に一定の濃度でプトレシン、スペルミジン、スペルミンを溶解したものを同様の操作を行い検量線を作成することで各ポリアミンの濃度を定量した。HPLC の分離、蛍光検出器での検出条件は次に示した。Sample injection: 10 μL、Column oven: 40 °C、Flow rate: 1 mL/min、Fluorescence: excitation 265 nm、emission 320 nm、Buffer A: 0.2% acetic acid (in Milli-Q)、Buffer B: acetonitrile、0~20min buffer 35:65~2:98 gradient、20~25min buffer 2:98、25~40min buffer 2:98~50:50 gradient

(3) オルニチンデカルボキシラーゼ (ODC) 活性の測定

メチル水銀投与後に摘出した各組織を 30 mM KH₂PO₄ (pH 6.9) 300 μL 中で Polytron ホモジナイザーを用いてホモジナイズし、14,000 × g、4 °C で 25 分間遠心し上清を取って DC protein assay kit で蛋白質量を測定した。一方、C17.2 細胞を 6-well plate に 5 × 10⁵/well になるように播種し、37 °C、5% CO₂ の条件下で 24 時間培養後にメチル水銀を 5 μM になるように 6 時間処理し、1 × PBS で細胞を洗浄した後に 30 mM KH₂PO₄ (pH 6.9) 400 μL で細胞を懸濁し、超音波処理 (10 sec, duty cycle 10%) をして 14,000 × g、4 °C で 25 分間遠心し上清を取って蛋白質量を測定した。蛋白質量が一定 (300 μg) になるように 30 mM KH₂PO₄ (pH 6.9) (10 mM Tris-HCl、20 μM pyridoxal 5-phosphate (補酵素) を含む) で希釈して、基質として 2 mM オルニチンを 10 μL 添加し 37 °C で 3 時間酵素反応をさせた。反応終了後、上記の細胞内プトレシンレベル測定と同様に反応液 80 μL に 500 mM boric acid (pH 7.9) 100 μL、3 mM FMOC (in acetone) 200 μL を加えボルテックスし、HPLC のサンプルとした。なお、分離・測定条件は上記のプトレシンレベルの測定と同じ条件で行った。

(4) 水銀濃度測定

マウスから摘出した各組織を一定量 (1 ~ 5 mg) サンプルトレイに測りとり、RA-915⁺ Mercury Analyzer を用いて組織内の総水銀量を測定した。水銀標準液を同様に測定し検量線を作成し、総水銀量および測定した組織の質量から組織内の水銀濃度を計算・定量した。

(5) 細胞の分画

C17.2 細胞を 6-well plate に 5 × 10⁵/well になるように播種し、37 °C、5% CO₂ の条件下で 24 時間培養後に塩化メチル水銀を 5 μM になるように処理し、一度 1 × PBS で洗浄した後、スクレー

パーにより細胞を回収し、50 mL 遠沈管に細胞を移した。600 × g、5 分間遠心し沈殿物を回収し、氷冷した TD buffer (10 mM DTT, 100 mM Tris, HCl で pH9.4 に調製) 10 mL で洗浄し、600 × g、5 分間遠心し細胞を回収後、MIB buffer (0.38 g/L KCl, 0.1 g/L NaHPO₄, 8.0 g/L NaCl, 3.0 g/L Tris, HCl で pH7.4 に調製) 200 μL 中で懸濁し、氷上で 10 分間静置する。その後、懸濁液を 30 stroke ホモジナイズし、600 × g、10 分間遠心し、上清を回収した。上清を 6,000 × g で 10 分間遠心し、その上清を細胞質画分、沈殿を MIB で 3 回洗浄後 25 uL の 1 × RIPA buffer で溶かしたものをミトコンドリア画分とした。

(6) TUNEL 法

MEBSTAIN Apoptosis TUNEL Kit (MBL)の推奨プロトコル通りに染色を行った。C17.2 細胞を 6-well plate に 5×10^5 /well になるように播種し、37 °C、5% CO₂ の条件下で 24 時間培養後に 5 mM プトレシンで 1 時間処理した後、さらに 5 μM 塩化メチル水銀で 48 時間処理し、二度 1 × PBS で洗浄した後、4% PFA (in PBS) を 600 uL/well 添加し、4 °C で 30 分間反応し、細胞を固定した。400 uL の 1 × PBS で二度洗浄し、細胞をスクレーパーにより回収し 1.5 mL チューブへ移した。400 × g で 10 分間遠心し細胞を回収して、500 uL の 70% エタノールで懸濁し、-20 °C で 30 分以上静置した。二度 1 × PBS (0.2% BSA を含む) で洗浄し、TdT solution 30 uL で懸濁し、37 °C で 60 分間反応させた。その後二度 1 × PBS (0.2% BSA を含む) で洗浄し、blocking solution 10 uL で細胞を懸濁し、室温で 10 分間反応後 avidin-FITC solution を 30 uL 加え、室温・遮光下で 30 分間反応を行った。二度 1 × PBS (0.2% BSA を含む) で洗浄し、400 uL の PBS で懸濁したものを cell-strainer cap 付きのチューブに通過させた後に、フローサイトメトリーにより蛍光を検出した (測定条件: 励起光 488 nm、蛍光 530 nm、細胞数 1.5×10^4 以上)。データの解析は Flowjo を用いて行った。

(7) Rodamine123 による膜電位差測定

C17.2 細胞を 6-well plate に 5×10^5 /well になるように播種し、37 °C、5% CO₂ の条件下で 24 時間培養後にメチル水銀を 5 μM とするよう処理した。処理終了後、1 × HBSS で一度洗浄した後 5 μM とするよう HBSS で希釈した Rodamine123 を 1 mL 添加し 37 °C、5% CO₂ の条件下で 30 分間培養し、HBSS で 2 回洗浄し、600 uL の HBSS に細胞をスクレーパーを用いて回収、懸濁し cell-strainer cap 付きのチューブに通過させた後に、フローサイトメトリーにより蛍光を検出した (測定条件: 励起光 488 nm、蛍光 530 nm、細胞数 1.5×10^4 以上)。データの解析は Flowjo を用いて行った。

4. 研究成果

(1) メチル水銀がマウス組織中の ODC 酵素活性に与える影響

メチル水銀によるプトレシンレベルの増加にオルニチンからのプトレシン合成に関わる ODC が関与している可能性が考えられる。そこで、メチル水銀投与によるプトレシンレベルの増加が認められたマウスの各組織における ODC 酵素活性を測定したところ、大脳および小脳においてメチル水銀投与による ODC 酵素活性の上昇が認められた。しかし、肝臓中の ODC 酵素活性はメチル水銀の影響をほとんど受けず、腎臓においては ODC 酵素活性が検出限界以下であった。この結果から、少なくとも脳組織でのメチル水銀によるプトレシンレベルの増加には ODC 酵素活性の上昇が関与している可能性が示唆された。

(2) メチル水銀がマウス脳組織中のポリアミンレベルに与える影響

ポリアミン類はそれぞれよく似た構造を持ち、同様な作用を示すと予想されている。そこで、プトレシンから合成されるポリアミンであるスペルミジンおよびスペルミンのレベルに対するメチル水銀の影響を、メチル水銀投与による ODC 酵素活性の上昇が認められたマウスの脳組織について検討した。その結果、小脳においてはメチル水銀投与によるスペルミジンおよびスペルミンレベルの僅かな増加認められ、大脳ではメチル水銀投与 5 日後においてスペルミジンレベルのみが僅かに増加した。このことから、メチル水銀はプトレシンに加えてスペルミジンおよびスペルミンのレベルも増加させるがその程度は僅かであると思われる。

(3) メチル水銀が細胞中のポリアミンレベルおよび ODC 酵素活性に与える影響

上記 1 および 2 の検討により、メチル水銀は ODC 酵素活性の上昇を介してポリアミンのレベルを増加させている可能性が示唆された。そこで、マウス神経幹細胞である C17.2 細胞を用いてメチル水銀が細胞内のポリアミンレベルに与える影響を調べた。その結果、プトレシンレベルはメチル水銀処理によって有意に増加したが、スペルミジンおよびスペルミンのレベルはマウスでの結果とは異なりメチル水銀の影響をほとんど受けなかった。なお、C17.2 細胞の ODC 活性はメチル水銀処理によって経時的に増加した。これらの結果は、少なくとも C17.2 細胞ではメチル水銀が ODC 酵素活性の上昇を介してプトレシンレベルを増加させている可能性を示唆している。

(4) メチル水銀が ODC の mRNA および蛋白質レベルに与える影響

メチル水銀が ODC の mRNA および蛋白質レベルに与える影響を検討した結果、メチル水銀

で細胞を2時間または4時間処理した際に ODC の蛋白質レベルが増加した。一方、ODC mRNA レベルはメチル水銀処理による有意な影響をほとんど受けなかった。そこで次に、蛋白質合成阻害剤の存在下においてメチル水銀が ODC 蛋白質の安定性に与える影響を検討した。その結果、メチル水銀未処理時の ODC 蛋白質は時間の経過とともに減少し16時間後にはそのレベルがほとんど認められなくなった。一方、メチル水銀で処理することによって ODC 蛋白質レベルの低下が抑制され16時間後にも依然と認められた。これらのことは、メチル水銀が ODC 蛋白質の安定性を増加させることによって ODC 蛋白質レベルの増加に参与していることを示唆している。

(5) ODC 結合蛋白質がメチル水銀による ODC 蛋白質レベルの増加に与える影響

ODC との結合が示唆されている蛋白質とメチル水銀による ODC 蛋白質レベルの増加との関わりを網羅的に調べたところ、NAD(P)H デヒドロゲナーゼである NQO1 と OSM との結合レベルがメチル水銀処理によって有意に増加した。また、NQO1 阻害剤である dicoumarol で処理したところ、ODC の蛋白質レベルが著しく減少し、さらに、dicoumarol 存在下ではメチル水銀による ODC 蛋白質レベルの増加がほとんど認められなかった。これらのことは、メチル水銀による ODC 蛋白質レベルの増加に NQO1 が参与していることを示唆するものである。

(6) プトレシンの添加がメチル水銀によるアポトーシス誘導に与える影響

TUNEL 法および PI 染色法を用いてプトレシンの添加がメチル水銀の細胞毒性に与える影響を調べたところ、約35%の細胞に TUNEL 陽性(アポトーシス)が認められ、約15%の細胞で PI 染色陽性(ネクローシス)が認められた。一方、メチル水銀処理前にプトレシンを添加することによってメチル水銀によって生じた TUNEL 陽性細胞が15%程度にまで抑制された。また、アポトーシス誘導時に活性化される caspase-3 のレベルをウエスタンブロッティングにより検討したところ、プトレシンの添加はメチル水銀による caspase-3 の活性化も抑制した。一方、プトレシンの添加はメチル水銀による PI 染色陽性細胞のレベルにはほとんど影響を与えなかった。これらのことから、プトレシンはメチル水銀によるアポトーシスの誘導を特異的に抑制する因子である可能性が示唆された。

(7) ODC 高発現がメチル水銀によるアポトーシス誘導に与える影響

ODC 高発現によって細胞内のプトレシンレベルが顕著に増加することが確認されたことから、ODC 高発現がメチル水銀によるアポトーシスの誘導に与える影響を検討した。その結果、メチル水銀によって引き起こされる DNA の断片化(TUNEL 陽性)および caspase-3 の活性化が共に ODC 高発現によって顕著に抑制された。これらのことから、ODC を高発現させた際にも、プトレシン添加時と同様に、細胞内プトレシンレベルの上昇によってメチル水銀によるアポトーシス誘導が抑制されると考えられる。

(8) ODC 高発現がメチル水銀によるアポトーシス誘導経路に与える影響

ODC 高発現がアポトーシス経路に与える影響を、CHOP(小胞体ストレス経路)、caspase-8(デスリガンド経路)およびミトコンドリアからの cytochrome c の放出(ミトコンドリア経路)を指標として検討した。その結果、メチル水銀による caspase-3 の活性化が認められる条件下において、メチル水銀は CHOP および caspase-8 の活性化(procaspase-8 レベルの減少)を誘導したものの、ODC 高発現はメチル水銀による CHOP および caspase-8 の活性化にほとんど影響を与えなかった。一方、メチル水銀処理によってミトコンドリアからの cytochrome c の放出が認められたが、これは ODC 高発現によって著しく抑制された。これらのことから、ODC 高発現はメチル水銀によるミトコンドリア損傷を介したアポトーシス誘導を抑制していると考えられる。

(9) ODC 高発現がメチル水銀によるミトコンドリア膜電位差の消失に与える影響

ミトコンドリアからの cytochrome c の放出には、ミトコンドリア膜透過性の上昇によるミトコンドリアからサイトゾルへの陽イオンの放出を介したミトコンドリア膜電位差の消失が関与している。そこで、ミトコンドリア膜電位差を膜電位依存的にミトコンドリア中に取り込まれる蛍光物質であるローダミン 123 を用いて検討したところ、メチル水銀処理によって約50%の細胞で蛍光強度の減少が認められたが、ODC 高発現によってその割合は30%程度にまで抑制された。この結果は、メチル水銀による cytochrome c の放出が膜電位差の消失によって引き起こされており、ODC 高発現はメチル水銀によるミトコンドリア膜電位差の消失を抑制することによってミトコンドリアからの cytochrome c の放出を抑制するという可能性を示唆している。

(10) プトレシンの添加がメチル水銀による Bcl ファミリー蛋白質のミトコンドリアへのリクルートに与える影響

抗アポトーシス蛋白質である Bcl-2 および Bcl-xL はミトコンドリア外壁に存在し、cytochrome c の放出を抑制している。一方、プロアポトーシス蛋白質である Bad、Bid、Bax および Bim は細胞質に存在するが、death シグナルに従ってミトコンドリアへ移動し、cytochrome c の放出を促進する。そこで、プトレシンの添加がミトコンドリア画分中の Bcl ファミリー蛋白

質のレベルに与える影響を検討した。その結果、ミトコンドリア画分中の Bax および Bak のレベルがメチル水銀処理によって増加し、これらの増加はプロレスチンの添加によって抑制された。このことから、プロレスチンはプロアポトーシス蛋白質である Bax および Bak のミトコンドリアへのリクルートを阻害することによってメチル水銀によるアポトーシスの誘導を抑制している可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

Kim M.S., Takahashi T., Lee J.Y., Toyama T., Hoshi T., Kuge S., Fujiwara Y., Naganuma A. and Hwang G.W., Methylmercury induces the expression of chemokine CCL4 via SRF activation in C17.2 mouse neural stem cells. *Sci. Rep.*, 9: 4631 (2019). DOI:10.1038/s41598-019-41127-y 「査読有」

Sato M., Toyama T., Lee J.Y., Miura N., Naganuma A. and Hwang G.W., Activation of ornithine decarboxylase protects against methylmercury toxicity by increasing putrescine. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 356:120-126 (2018). DOI:10.1016/j.taap.2018.08.002 「査読有」

Kobayashi T., Toyama T., Lee J.Y., Miura N., Kuge S., Naganuma A. and Hwang G.W., Methylmercury induces cytotoxicity through inhibition of PTEN activity by a decrease in its solubility. *BPB Rep.*, 1:1-5 (2018). 「査読有」

https://www3.e-kenkyu.com/bpb-reports-online-journal/uploads/manuscript/file/15/1_1.pdf
Takahashi T., Kim M.S., Iwai-Shimada M., Fujimura M., Toyama T., Naganuma A. and Hwang G.W., Induced chemokine CCL4 has a protective role against methylmercury toxicity. *Toxics*, 6:36 (2018). DOI:10.3390/toxics6030036 「査読有」

Sato M., Lee J.Y., Kim M.S., Takahashi T., Naganuma A. and Hwang G.W., Putrescine selectively alleviates methylmercury toxicity in C17.2 mouse neural stem cells. *Fundam. Toxicol. Sci.*, 5:71-73 (2018). DOI:10.2131/fts.5.71 「査読有」

Takahashi T., Wang Y. Toyama T., Kim M.S., Kuge S., Hwang G.W. and Naganuma A., Small interfering RNA-mediated knockdown of the transcription factor TCF3 enhances sensitivity to methylmercury in mouse neural stem cells. *Fundam. Toxicol. Sci.*, 4:41-43 (2017). DOI: 10.2131/fts.4.41 「査読有」

Zhang Z.T., Ogiwara Y., Ito Y., Hikida A., Miura N., Kuge S., Naganuma A. and Hwang G.W., Akr1 attenuates methylmercury toxicity through the palmitoylation of Meh1 as a subunit of the yeast EGO complex. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1861:1729-1736 (2017). DOI:10.1016/j.bbagen.2017.03.009 「査読有」

〔学会発表〕(計21件)

招待講演

Hwang G.W. “Quantitative proteomic analysis reveals new insights into mouse brain toxicity exposed to methylmercury” Asia-Pacific Symposium on Biometals. (2017). Honolulu, USA. 国際会議.

黄 基旭「水俣病公式確認から60年：メチル水銀毒性発現機構の解明を目指して」衛生薬学・環境トキシコロジー若手研究者の会。(2017).

黄 基旭「新規転写因子 tmRT1 によるメチル水銀毒性増強におけるオンコスタチン M の役割」第44回日本毒性学会学術年会。(2017).

黄 基旭「メチル水銀毒性発現に関わる代謝物質の同定とその機能解析」第23回ヒ素シンポジウム。(2017).

黄 基旭「メチル水銀感受性決定因子の網羅的な同定とその機能解析」第43回日本毒性学会学術年会。(2016).

国際会議

Huang W.Y., Toyama T., Hoshi T., Naganuma A. and Hwang G.W., “A mechanism involved in the induction of oncostatin M expression by methylmercury” 2018 Japan/Korea Joint Symposium on Pharmaceutical Health Science and Environmental Toxicology. (2018). Nagasaki, Japan

Toyama T., Naganuma A. and Hwang G.W., “Identification of a cytotoxic factor released from cells treated with methylmercury” The 12th International Conference and 5th Asian Congress on Environmental Mutagens. (2017). Incheon, Korea.

Toda E., Xu S., Toyama T., Naganuma A., and Hwang G.W., “Role of oncostatin M in methylmercury toxicity” The 12th International Conference and 5th Asian Congress on Environmental Mutagens. (2017). Incheon, Korea.

Toyama T., Murakami S., Hwang G.W. and Naganuma A., “Identification of the cytotoxic factor which is released from HEK293 cells treated with methylmercury” Japan/Korea Joint Symposium on Pharmaceutical Health Sciences and Environmental Toxicology. (2016). Tokyo, Japan.

Sato M., Naganuma A. and Hwang G.W., “Identification of novel low metabolites involved in methylmercury toxicity using metabolomic analysis” The 32th Annual Meeting of the Korean

国内会議

外山 喬士、長谷川貴、永沼 章、黄 基旭「メチル水銀による OSM 蛋白質レベルの増加メカニズム」日本薬学会第 139 年会 (2019)
黄 唯屹、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭「メチル水銀投与マウス脳内でのオンコスタチン M 発現誘導機構の解明」メタルバイオサイエンス研究会 2018 (2018)
角田 洋平、外山 喬士、星 尚志、永沼 章、黄 基旭「TNF 受容体 3 を介したメチル水銀によるマウス脳神経傷害作用」フォーラム 2018 衛生薬学・環境トキシコロジー (2018)
外山 喬士、戸田英汰、永沼章、黄 基旭「メチル水銀によるマウス脳神経障害への TNF 受容体 3 の関与」第 45 回日本毒性学会学術年会 (2018)
長谷川 貴、許 思迪、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭「メチル水銀によるオンコスタチン M と TNF 受容体 3 との結合促進機構の解析」日本薬学会第 138 年会 (2018)
外山 喬士、王 妍姣、永沼 章、黄 基旭「メチル水銀によるアポトーシス誘導における転写因子 TCF3 の役割」第 56 回日本薬学会東北支部大会 (2017)
永沼 章、許 思迪、外山 喬士、黄 基旭「オンコスタチン M によるメチル水銀の細胞毒性増強に関わる分子機構」メタルバイオサイエンス研究会 2017 (2017)
外山 喬士、王 妍コウ、金 ミンソク、永沼 章、黄 基旭「メチル水銀投与マウス脳内で活性化される転写因子の同定とその活性化機構」第 44 回日本毒性学会学術年会 (2017)
許 思迪、長谷川 貴、永沼 章、黄 基旭「オンコスタチン M が示すメチル水銀毒性増強機構」日本薬学会第 137 年会 (2017)
外山 喬士、長谷川 貴、松田 健人、永沼 章、黄 基旭「オートファジー誘導へのメチル水銀の関与とその機構解析」メチル水銀研究ミーティング 2016 (2016)
長谷川 貴、松田 健人、永沼 章、黄 基旭「LAMTOR 複合体に関連したメチル水銀によるオートファジー誘導機構」第 55 回日本薬学会東北支部大会 (2016)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~seitai/seitai-index.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：外山 喬士

ローマ字氏名：TOYAMA, TAKASHI

所属研究機関名：東北大学

部局名：大学院薬学研究科

職名：助教

研究者番号 (8 桁)：50720918