

令和元年6月10日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02965

研究課題名(和文) 環境中親電子性物質による認知機能障害におけるオートファジー不全の役割

研究課題名(英文) Role of autophagy dysfunction in environmental electrophile-induced cognitive disorder

研究代表者

市原 学 (Ichihara, Gaku)

東京理科大学・薬学部薬学科・教授

研究者番号：90252238

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)：本研究により親電子性物質アクリルアミドは一過性にオートファジー関連分子の発現を誘導するとともに、神経炎症、ミクログリア活性化を誘導していることが明らかとなった。今回観察されたオートファジー関連タンパクの発現は一過性であることから、そのバイオマーカーとしての活用は困難であると考えられた。一方、研究の進展の中で明らかとなった炎症関連タンパク、ミクログリア特異タンパクは持続的な発現が観察されており、中枢神経毒性の可視化に有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

フロン代替物質、食品中にも含まれるアクリルアミドなどの環境化学物質が引き起こす中枢神経障害、認知機能障害において炎症が果たす役割を明らかにするとともに、炎症を制御するオートファジー関連分子の動態を明らかにした。本研究は炎症関連タンパクが中枢神経毒性を予測するバイオマーカーとして見込みのあるタンパクであることを示した。本研究成果は、環境化学物質だけでなく医薬品の副作用の予測、環境要因による認知機能障害を予防するために有用である。

研究成果の概要(英文)：The present study demonstrated that exposure to acrylamide, an electrophile, induced neuroinflammation and microglial activation as well as inducing expression of autophagy-related protein. The expression of autophagy-related protein was temporary, suggesting the difficulty in use of this protein as a biomarker to visualize the toxicity of acrylamide to the central nervous system. On the other hand, the study showed that the inflammation-related or microglia-specific proteins are promising for visualization of the toxicity to the central nervous system as they are expressed persistently.

研究分野：環境労働衛生学

キーワード：神経毒性 オートファジー 炎症

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

### 1. 研究開始当初の背景

オゾン層破壊・地球温暖化作用を有する特定フロン類および代替フロン (HCFC 等) の先進国における生産禁止のための国際合意が実行された。1-プロモプロパン (1BP) が新しいフロン代替物質として産業現場に導入され、電子部品の洗浄剤、ドライクリーニングの溶剤として用いられている。一方、市原らは、親電子性物質 1BP に曝露された労働者の認知機能障害、振動覚障害を明らかにした (Samukawa, Ichihara 2012)。疫学研究では 1BP への低濃度長期曝露によっても同様の変化が見られることを明らかにしている (Li, Ichihara 2010) が、そのメカニズムは十分に明らかにされていない。市原らは動物実験で 1BP 曝露が前頭皮質のノルアドレナリン神経線維数 (Mohideen, Ichihara 2011)、ノルアドレナリンレベルを減少させる一方、ドーパミンレベルを上昇させ、ニューロン新生を抑制すること (Zhang, Ichihara 2013)、さらにミクログリアの活性化を引き起こすことを明らかにしている (Subramanian, Ichihara 2012)。1BP 開発過程の動物実験で、その神経毒性が見逃され、実用化後、米国、日本、台湾で多くの神経中毒の犠牲者が生み出された。これは動物実験における神経毒性検出が他臓器毒性の検出に比べて困難であることを示している。その原因としては、二足歩行のヒトと四足歩行のげっ歯類における神経障害の表現型の違い、主観症状として記述される感覚神経の障害の検出がげっ歯類では困難であること以外に、病理組織学的検査における中枢神経組織の形態学的頑健性が挙げられる。すなわち、肝臓などに代表される多くの臓器においては化学物質曝露による影響は細胞の壊死、アポトーシスなどの可視的な影響としてとらえられるが、中枢神経系においては、機能的障害が生じるレベルの化学物質の曝露によっても同様の変化が観察されることはまれである。この形態学的頑健性の本態は未解明であるが、それを説明する一つの可能性として、我々はオートファジー現象および神経炎症に着目した。近年、細胞の保護メカニズムとしてのオートファジーの意義が解明されつつある (Mizushima 2010)。損傷し、活性酸素を発生するミトコンドリア等を二重膜で隔離、処理することによって細胞を保護するというものである。オートファジーは炎症の制御において重要な役割を果たし、その制御不全が炎症促進、細胞障害につながるということが指摘されている。また、神経炎症は成獣ニューロン新生に対して悪影響を及ぼすことも指摘されている。

### 2. 研究の目的

本研究では環境中親電子性物質による中枢神経障害におけるオートファジーと神経炎症関連分子の発現、挙動を調べ、それらの中枢神経毒性を可視化するバイオマーカーとしての有効性を検討する。

### 3. 研究の方法

(親電子性物質が誘導するオートファジー関連分子発現に関する研究) C57BL/6J マウスにアクリルアミド 20 mg/kg を腹腔投与し、1 時間後、3 時間後、6 時間後に左心室から 4% パラフォルムアルデヒド緩衝液を用いて灌流固定を行った。灌流終了 1 時間経過後、脳を剖出し、24 時間、4% パラフォルムアルデヒド緩衝液にて後固定を行った後、10、20、30 パーセントスクロースに順次置換し、凍結ブロックを作成した。凍結標本を用いて LC3B 抗体で免疫染色を行った。

(親電子性物質曝露による中枢神経系ノルアドレナリン濃度、ノルアドレナリン神経軸索密度に対する影響) Wistar ラットに 20 mg/kg のアクリルアミドを 1 日 1 回、週 7 日、5 週間連日投与した。脳各部位のホモジェネートから酸による除タンパクを行い、モノアミンレベルを高速液体クロマトグラフィーによって定量した。さらにドーパミンベータヒドロキシラーゼおよびセロトニントランスポーターに対する抗体を用いた免疫組織化学を行い、ドーパミンベータヒドロキシラーゼ陽性の神経軸索密度を計測した。

(親電子性物質による脳海馬歯状回ニューロン新生に対する影響) アクリルアミドが成獣のニューロン新生に与える影響を明らかにした。ラットにアクリルアミドを 1 日 1 回、週 7 日、5 週間強制経口投与したラットを麻酔下で左心室より灌流固定を行った。脳を剖出後、一晚 4% パラフォルムアルデヒド緩衝液に入れて後固定を行った後、30% スクロースによって置換し、凍結ブロックを作成した。ブロックからクライオスタットを用いて凍結切片を作成し、抗 BrdU 抗体を用いた免疫組織化学により、海馬歯状回における BrdU 陽性細胞を同定した。

(親電子性物質が引き起こす神経炎症に関する In Vivo 研究) アクリルアミド 0.2、2、2.0 mg/kg 体重を 1 日 1 回、週 7 日、5 週間、Wistar ラットに強制経口投与した。ラットを断頭し、剖出した脳をすみやかに凍結保存した。脳を冷却しながら粉碎し、カラム法を用いて RNA を抽出した。定量リアルタイム PCR 法で炎症促進性サイトカインの発現を調べた。

(親電子性物質が引き起こす神経炎症に関する In Vitro 研究) ミクログリア BV2 を用いた実験では、MTS アッセイ、定量リアルタイム PCR 法による IL-1、IL-18、iNOS の mRNA 定量を行った。

(ミクログリア共培養によるアクリルアミド神経毒性の変化についての研究) マウスノルアドレナリン神経由来 CATH.a 細胞およびマウスミクログリア由来 BV2 細胞を用いて、アクリルアミド曝露により、ミクログリアがノルアドレナリン神経変性に果たす役割を検討した。単培養ニューロン CATH.a 細胞およびミクログリア BV2 細胞に 0、0.1、0.5、1、2 mM のアクリルアミドを 24 時間曝露した。MTS assay (細胞生存率)、LDH assay (乳酸脱水素酵素 (LDH) の漏出量)、カスパーゼ 3 および 7 (3/7) assay、TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) 法で細

胞への影響を調べた。加えて二種細胞の共培養での影響も観察した。

#### 4. 研究成果

(親電子性物質が誘導するオートファジー関連分子発現に関する研究) 小脳プルキンエ細胞における LC3B タンパクの発現はアクリルアミド投与後 1 時間が最も高く、次いで 3 時間後に見られ、6 時間後には消失していた。本研究は、ソフトな親電子性物質アクリルアミドが小脳プルキンエ細胞においてオートファゴソームを一過性に形成することが明らかとなった。

(親電子性物質曝露による中枢神経系ノルアドレナリン濃度、ノルアドレナリン神経軸索密度に対する影響) ノルアドレナリンレベルが減少しているものの、セロトニンレベルには変化がないことが明らかとなった。さらにドーパミンベータヒドロキシラーゼおよびセロトニントランスポーターに対する抗体を用いた免疫組織化学では、ドーパミンベータヒドロキシラーゼ陽性の神経軸索密度のみが減少し、アクリルアミド曝露によるノルアドレナリン神経特異的な影響が観察された。

(親電子性物質による脳海馬歯状回ニューロン新生に対する影響) アクリルアミド曝露によって BrdU 陽性細胞は有意に減少することが明らかとなった。

(親電子性物質が引き起こす神経炎症に関する In Vivo 研究) 定量リアルタイム PCR 法で炎症促進性サイトカインの発現を調べたところ、IL-1、IL-6、IL-18 の発現上昇が確認された。ミクログリアに特異的に発現する CD11b、CD40 の発現も上昇していた。また、NLRP3、ASC、Caspase1 の発現が増加していた。

(親電子性物質が引き起こす神経炎症に関する In Vitro 研究) ミクログリア BV2 を用いた実験では、MTS アッセイで 1mM 以下では細胞活性の低下は見られなかった。アクリルアミド曝露はミクログリア BV2 における IL-1、IL-18、iNOS の発現を増加させた。上記より、アクリルアミド曝露が炎症促進性サイトカインを上昇させることがわかった。

(ミクログリア共培養によるアクリルアミド神経毒性の変化についての研究) ニューロン CATH.a 細胞は、アクリルアミド 2 mM 曝露により、コントロール群と比べて細胞生存率が有意に低下したが、LDH の漏出量、CASP3/7 量に有意な上昇は見られなかった。一方、ミクログリア BV2 細胞では、アクリルアミド 2 mM 曝露により、コントロール群と比べて細胞生存率が顕著に低下し、LDH の漏出量、カスパーゼ 3/7 量は共に顕著に上昇した。TUNEL 法は陽性だった。続いて、ニューロン CATH.a 細胞とミクログリア BV2 細胞に共培養下でアクリルアミドを曝露すると、アクリルアミド 1 mM 曝露群は、コントロール群と比べて細胞生存率が有意に低下、LDH の漏出量が有意に増加した。2 mM 以下のアクリルアミド曝露により、ニューロン CATH.a 細胞では細胞死が起こらなかったが、ミクログリア BV2 細胞ではアポトーシスが起こることを示した。ニューロン CATH.a 細胞とミクログリア由来 BV2 細胞とが相互作用することで、より低い濃度のアクリルアミド曝露により、ニューロン CATH.a 細胞またはミクログリア BV2 細胞の細胞死を引き起こすことを示した。

(研究成果のまとめ) 本研究により親電子性物質アクリルアミドは一過性にオートファジー関連分子を誘導するとともに、神経炎症を引き起こすことが明らかとなった。観察された神経炎症にはミクログリア活性化が関与していることも明らかとなった。In vivo、In vitro 研究を通じて、現実的な濃度でのアポトーシスは観察されておらず、これが中枢神経の形態学的頑健性と関連している可能性も示唆した。今回観察されたオートファジー関連タンパクの発現は一過性であることから、そのバイオマーカーとしての活用は困難であると考えられた。一方、研究の進展の中で明らかとなった炎症関連タンパク、ミクログリア特異タンパクは持続的な発現が観察されており、中枢神経毒性の可視化に有用であることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 23 件)

1. Nagashima D, Zhang L, Kitamura Y, Ichihara S, Watanabe E, Zong C, Yamano Y, Sakurai T, Oikawa S, Ichihara G. Proteomic analysis of hippocampal proteins in acrylamide-exposed Wistar rats. Arch Toxicol. 2019 May 23. doi: 10.1007/s00204-019-02484-9. (査読有)
2. Zong C, Hasegawa R, Urushitani M, Zhang L, Nagashima D, Sakurai T, Ichihara S, Ohsako S, Ichihara G. Role of microglial activation and neuroinflammation in neurotoxicity of acrylamide in vivo and in vitro. Arch Toxicol 2019 May 9. doi: 10.1007/s00204-019-02471-0. (査読有)
3. Ichihara S, Li P, Mise N, Suzuki Y, Izuoka K, Nakajima T, Gonzalez F, Ichihara G. Ablation of aryl hydrocarbon receptor promotes angiotensin II-induced cardiac fibrosis through enhanced c-Jun/HIF-1 $\alpha$  signaling. Arch Toxicol. 2019 Apr 23. doi: 10.1007/s00204-019-02446-1. (査読有)
4. Riediker M, Zink D, Kreyling W, Oberdörster G, Elder A, Graham U, Lynch I, Duschl A, Ichihara G, Ichihara S, Kobayashi T, Hisanaga N, Umezawa M, Cheng TJ, Handy R, Gulumian M, Tinkle S, Cassee F. Particle toxicology and health - where are we? Part Fibre Toxicol. 2019 Apr 23;16(1):19. doi: 10.1186/s12989-019-0302-8. (査読有)

5. Ichihara G, (以降 7 名省略) Pyrrole adducts in globin and plasma of workers exposed to hexane. *Int Arch Occup Environ Health*. in press. doi: 10.1007/s00420-019-01430-7. (査読有)
6. Ichihara G, (以降 6 名省略) Urinary trimethyl tin reflects blood trimethyl tin in workers recycling organotins. *J Occup Health*. in press. doi: 10.1002/1348-9585.12052. (査読有)
7. Vranic S, Shimada Y, Ichihara S, Kimata M, Wu W, Tanaka T, Boland S, Tran L, Ichihara G. Toxicological Evaluation of SiO<sub>2</sub> Nanoparticles by Zebrafish Embryo Toxicity Test. *Int J Mol Sci*. 2019;20. pii: E882. doi: 10.3390/ijms20040882. (査読有)
8. Kromhout H, Friesen M, Marques MM, Sergi CM, Abdallah M, Benke G, Cesta M, Germolec D, Houck K, Ichihara G, (以降 13 名省略) International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. Carcinogenicity of isobutyl nitrite, β-picoline, and some acrylates. *Lancet Oncol*. 2018 Aug;19(8):1020-1022. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30491-1. (査読有)
9. Zong C, Kimura Y, Kinoshita K, Takasu S, Zhang X, Sakurai T, Sekido Y, Ichihara S, Endo G, Ichihara G. Exposure to 1,2-Dichloropropane Upregulates the Expression of Activation-Induced Cytidine Deaminase (AID) in Human Cholangiocytes Co-Cultured With Macrophages. *Toxicol Sci*. 2019;168:137-148. doi: 10.1093/toxsci/kfy280. (査読有)
10. Araki A, Azuma K, Endo G, Endo Y, Fukushima T, Hara K, Hori H, Horie S, Horiguchi H, Ichiba M, Ichihara G, (以降 44 名省略) Occupational Exposure Limits for ethylidene norbornene, ethyleneimine, benomyl, and 2,3-epoxypropyl methacrylate, and classifications on carcinogenicity. *J Occup Health*. 2018 Jul 25;60(4):333-335. doi: 10.1539/joh.2018-0137-OP. (査読有)
11. Li G, Liang L, Yang J, Zeng L, Xie Z, Zhong Y, Ruan X, Dong M, Yang Z, Lai G, Huang W, Yang A, Chen J, Wu B, Xu H, Meng D, Hu S, Xia L, Yang X, Li L, Ichihara S, Ichihara G, Huang H, Huang Z. Pulmonary hypofunction due to calcium carbonate nanomaterial exposure in occupational workers: a cross-sectional study. *Nanotoxicology*. 2018 Aug;12(6):571-585. doi: 10.1080/17435390.2018.1465606. (査読有)
12. Matsushita J, Okamura K, Nakabayashi K, Suzuki T, Horibe Y, Kawai T, Sakurai T, Yamashita S, Higami Y, Ichihara G, Hata K, Nohara K. The DNA methylation profile of liver tumors in C3H mice and identification of differentially methylated regions involved in the regulation of tumorigenic genes. *BMC Cancer*. 2018 Mar 22;18(1):317. doi: 10.1186/s12885-018-4221-0. (査読有)
13. Kuzuya K, Ichihara S, Suzuki Y, Inoue C, Ichihara G, Kurimoto S, Oikawa S. Proteomics analysis identified peroxiredoxin 2 involved in early-phase left ventricular impairment in hamsters with cardiomyopathy. *PLoS One*. 2018 Feb 13;13(2):e0192624. doi: 10.1371/journal.pone.0192624. (査読有)
14. Zhang X, Zong C, Zhang L, Garner E, Sugie S, Huang C, Wu W, Chang J, Sakurai T, Kato M, Ichihara S, Kumagai S, Ichihara G. Exposure of Mice to 1,2-Dichloropropane Induces CYP450-Dependent Proliferation and Apoptosis of Cholangiocytes. *Toxicol Sci*. 2018 Apr 1;162(2):559-569. doi: 10.1093/toxsci/kfx272. (査読有)
15. Azuma K, Endo G, Endo Y, Fukushima T, Hara K, Hori H, Horie S, Horiguchi H, Ichiba M, Ichihara G, (以降 41 名省略) Occupational exposure limits for ethylene glycol monobutyl ether, isoprene, isopropyl acetate and propyleneimine, and classifications on carcinogenicity, occupational sensitizer and reproductive toxicant. *J Occup Health*. 2017 Jul 27;59(4):364-366. doi: 10.1539/joh.17-0148-OP. (査読有)
16. Lee E, Park JE, Iida M, Fujie T, Kaji T, Ichihara G, Weon YC, Kim Y. Magnetic resonance imaging of leukoencephalopathy in amnesic workers exposed to organotin. *Neurotoxicology*. 2016 Dec;57:128-135. doi: 10.1016/j.neuro.2016.09.004. (査読有)
17. Suzuki Y, Tada-Oikawa S, Hayashi Y, Izuoka K, Kataoka M, Ichikawa S, Wu W, Zong C, Ichihara G, Ichihara S. Single- and double-walled carbon nanotubes enhance atherosclerogenesis by promoting monocyte adhesion to endothelial cells and endothelial progenitor cell dysfunction. *Part Fibre Toxicol*. 2016 Oct 13;13(1):54. doi: 10.1186/s12989-016-0166-0. (査読有)
18. Zong C, Zhang X, Huang C, Chang J, Garner CE, Sakurai T, Kato M, Ichihara S, Ichihara G. Role of cytochrome P450s in the male reproductive toxicity of 1-bromopropane. *Toxicol Res (Camb)*. 2016 Aug 4;5(6):1522-1529. doi: 10.1039/c6tx00164e. (査読有)
19. Azuma K, Endo G, Endo Y, Hara K, Harada K, Hori H, Horie S, Horiguchi H, Ichiba M, Ichihara G, (以降 33 名省略) Occupational Exposure Limits of lead, dimethylamine, n-butyl-2,3-epoxypropyl ether, and 2-ethyl-1-hexanol and carcinogenicity and occupational sensitizer classification. *J Occup Health*. 2016 Sep 13;58(4 Spec No):385-7. doi: 10.1539/joh.16-0155-OP. (査読有)
20. Huang F, Ichihara S, Yamada Y, Banu S, Ichihara G. Effect of 4-week inhalation

- exposure to 1-bromopropane on blood pressure in rats. *J Appl Toxicol.* 2017 Mar;37(3):331-338. doi: 10.1002/jat.3364. (査読有)
21. Zong C, Garner CE, Huang C, Zhang X, Zhang L, Chang J, Toyokuni S, Ito H, Kato M, Sakurai T, Ichihara S, Ichihara G. Preliminary characterization of a murine model for 1-bromopropane neurotoxicity: Role of cytochrome P450. *Toxicol Lett.* 2016 Sep 6;258:249-258. doi: 10.1016/j.toxlet.2016.07.006. (査読有)
  22. Tada-Oikawa S, Ichihara G, (以降 11 名省略) Titanium Dioxide Particle Type and Concentration Influence the Inflammatory Response in Caco-2 Cells. *Int J Mol Sci.* 2016 Apr 16;17(4):576. doi: 10.3390/ijms17040576. (査読有)
  23. 市原学, 小林隆弘, 市原佐保子 ナノトキシコロジーと労働環境衛生学 医学のあゆみ 2016; 259 (3): 247-253.

[学会発表](計 107 件)

1. X. Zhang et al. Proteomic analysis of liver proteins of mice exposed to 1,2-dichloropropane. Society of Toxicology 58th Annual Meeting (2019.3.10-14, Baltimore Convention Center, Baltimore, USA)
2. S. Iwama et al. Cytotoxicity of acrylamide in neuron and microglia and involvement of autophagy. Society of Toxicology 58th Annual Meeting (2019.3.10-14, Baltimore Convention Center, Baltimore, USA)
3. C. Zong et al. Role of Microglial activation and neuroinflammation in neurotoxicity of acrylamide, an environmental soft electrophile. Society of Toxicology 58th Annual Meeting (2019.3.10-14, Baltimore Convention Center, Baltimore, USA)
4. S. Vranic et al. Surface modification alters cytotoxicity of silica nanoparticles. Nano Tox 2018 - 9th International Conference on Nanotoxicology (2018.9.18-21, ドリント コンgressホテル、デュッセルドルフ、ドイツ)
5. R. Sehsah et al. Role of Nrf2 in inflammatory response of mice to zinc oxide nanoparticle. Nano Tox 2018 - 9th International Conference on Nanotoxicology (2018.9.18-21, ドリント コンgressホテル、デュッセルドルフ、ドイツ)
6. G. Ichihara et al. Exposure assessment of barium sulfate particles in a factory. Nano Tox 2018 - 9th International Conference on Nanotoxicology (2018.9.18-21, ドリント コンgressホテル、デュッセルドルフ、ドイツ)
7. S. Ichihara et al. Effect of physicochemical characteristics of nano-sized TiO<sub>2</sub> on enhancement of atherosclerogenesis. 9th International Conference on Nanotoxicology (2018.9.18-21, ドリント コンgressホテル、デュッセルドルフ、ドイツ)
8. Gaku Ichihara et al. Urinary trimethyltin reflects blood trimethyltin in scrap recycling workers. ICOH International Congress 2018 (2018.4.29-5.4, ダブリン、アイルランド)
9. Y. Kimura et al. Exposure to 1,2-dichloropropane increases expression of activation-induced cytidine deaminase (AID) in human cholangiocytes co-cultured with macrophages. Society of Toxicology 57th Annual Meeting (2018.3.11-15, San Antonio, Texas, 米国)
10. R. Hasegawa et al. Role of microglia activation and neuroinflammation in neurotoxicity of acrylamide, an environmental soft electrophile. Society of Toxicology 57th Annual Meeting (2018.3.11-15, San Antonio, Texas, 米国)
11. M. Yamamura et al. Autophagy in the cerebellar Purkinje cell induced by exposure to acrylamide. 10th International Symposium on Biological Monitoring in Occupational and Environmental Health(2017.10.1-4, ナポリ、イタリア)
12. Gaku Ichihara et al. Urinary trimethyltin reflects blood trimethyltin in workers. 10th International Symposium on Biological Monitoring in Occupational and Environmental Health(2017.10.1-4, ナポリ、イタリア)
13. Gaku Ichihara. Exposure assessment in a factory of barium sulfate particles. Inhaled Particles XII (2017.9.25-27, グラスゴー、イギリス)
14. Gaku Ichihara. Occupational and Environmental Health for Nanotechnology. 2017 Asia Nano Forum Summit (2017.8.20-23, Johor Bahru, Malaysia)
15. Sandra Vranic et al. Surface modifications of silica nanoparticles affect their uptake by the cells and subsequent pulmonary toxicity. 8th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health (2017.5.29-6.1, Konventum Congress Center, Elsinore, Denmark)
16. Gaku Ichihara. Occupational toxicology for understanding environment-induced disorders in humans. 5th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2017(2017.5.15-18, Universiti Teknologi Mara, Selangor, MALAYSIA)
17. Morita, L et al. Exposure to acrylamide reduces noradrenaline level, noradrenergic axons and adult neurogenesis in brain of rats similarly to exposure to 1-Bromopropane. Society of Toxicology 56th Annual Meeting (2017.3.12-3.16, ボルチモア、米国)

18. S. Takasu et al. Exposure to 1,2-dichloropropane enhances mRNA expression of activation-induced cytidine deaminase in human cholangiocytes. Society of Toxicology 56th Annual Meeting (2017.3.12-3.16, ボルチモア、米国)
19. D. Nagashima et al. Proteomic analysis of hippocampal proteins of rats exposed to acrylamide. Society of Toxicology 56th Annual Meeting (2017.3.12-3.16, ボルチモア、米国)
20. Gaku Ichihara. Human studies and experimental studies for nanosafety. 5th Thailand International Nanotechnology Conference (NanoThailand2016). (2016.11.27-29, Nakhon Ratchasima, Thailand)
21. Gaku Ichihara. Non-specific effects of particles. 11th International Particle Toxicology Conference(2016.9.26-30, Biopolis Matrix, Singapore)
22. Sahoko Ichihara et al. Effect of physicochemical characteristics of nano-sized TiO<sub>2</sub> on adhesion of monocytes to endothelial cells. 11th International Particle Toxicology Conference(2016.9.26-30, Biopolis Matrix, Singapore)
23. Eri Watanabe et al. Surface modifications of silica nanoparticles affect their uptake by the cells and subsequent pulmonary toxicity. 11th International Particle Toxicology Conference(2016.9.26-30, Biopolis Matrix, Singapore)
24. Sahoko Ichihara et al. Ablation of aryl hydrocarbon receptor promotes angiotensin II-induced cardiac fibrosis by enhancing c-Jun transcriptional activity. 52nd European Congress of the European Societies of Toxicology (2016.9.4-7, FIBES, Seville, Spain)
25. Gaku Ichihara. Epidemiological and Toxicological studies on the carcinogenicity of 1,2-dichloropropane. ICCA-LRI and NIHS Workshop 2016(2016.6.15-16, 淡路夢舞台国際会議場、兵庫県)
26. Ichihara G et al. Biomarkers of neurotoxicity. 2016 Spring International Convention of The Pharmaceutical Society of Korea (2016.4.18-19, Gwangju, Korea)

〔図書〕(計3件)

1. 市原 学 理工系の基礎 薬学 (編集:薬学編集委員会) 丸善出版、2018年、108-124頁
2. 市原 学 産業保健マニュアル 改訂7版 (編集:森 晃爾) 南山堂、2017年、431頁
3. 市原 学 8章 労働衛生 コンパス 衛生薬学 健康と環境 改訂第2版 編集:鍛冶利幸、佐藤雅彦 南江堂、2016年、610頁

〔その他〕

ホームページ等

東京理科大学薬学部 環境労働衛生学(衛生化学) 市原研究室

環境中親電子性物質の神経毒性

<http://www.rs.tus.ac.jp/oeh/theme/index.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 梅澤雅和

ローマ字氏名: Umezawa Masakazu

所属研究機関名: 東京理科大学

部局名: 研究推進機構総合研究院

職名: 研究員

研究者番号(8桁): 60615277

研究分担者氏名: 櫻井敏博

ローマ字氏名: Sakurai Toshihiro

所属研究機関名: 東京理科大学

部局名: 薬学部

職名: 助教

研究者番号(8桁): 70568253