

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：82601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K19424

研究課題名（和文）ナノ粒子曝露の継世代影響を予期する精子機能評価の構築と非侵襲的バイオマーカー探索

研究課題名（英文）Effects of prenatal exposure to nanoparticles on reproductive systems in male offspring

研究代表者

横田 理（Yokota, Satoshi）

国立医薬品食品衛生研究所・毒性部・主任研究官

研究者番号：70706605

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：妊娠マウスへの二酸化チタンナノ粒子の気管内投与は、F1雄マウスの精子濃度・形態・運動に影響を及ぼさなかった。しかし、高濃度曝露群で受精能獲得反応に寄与する精子超活性化の有意な低下が認められた。そこで精子バイオマーカーを探索したところ、一部tsRNAにおいて有意な発現変動が認められた。現在、その詳細について文献調査を進めている。

しかし、F1雄と野生型雌とを交配して作製したF2世代雄については、雄性生殖への影響がほとんど検出されなかった。本研究で認められた精子tsRNAの発現変化は継世代影響バイオマーカーとは断定できず、今後の検討課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナノ粒子胎児期曝露により生じるF1雄性生殖を介したF2世代に対する継世代影響に関する報告は限定的である。私たちは先行研究においてナノ銀の胎児期曝露による継世代毒性を明らかにしてきた。本研究における二酸化チタンナノ粒子胎児期曝露の実験においては、初めてF1精子の受精能獲得反応に及ぼす影響が明らかとなり、small RNAの中でもtsRNAの発現変動が認められた。当該RNAが次世代の雄性生殖系には影響を及ぼさなかったものの、他臓器の発生過程などに影響を及ぼしている可能性は否定できず、さらなる検証を行うことで、精子を介したエピゲノム毒性を明らかにすることが期待される。

研究成果の概要（英文）：We observed significantly reduction of exposed F1 sperm capacitation. To explore whether the effects of F1 male were transmitted to F2 generation, we investigated changes in the expressions of one of the small non-coding RNA in the sperm of F1 mice. We identified some tsRNA expression changes of exposed mice in a dose-dependent manner. These result suggest that F1 male mediated developmental toxicity may be occurred. However, the F2 offspring born to F1 sires which gestationally exposed to titanium dioxide nanoparticles showed no changes in male reproductive systems. These data enable us to further investigate tsRNA expression changes involved in the transgenerational effects of paternally acquired epigenetic effects.

研究分野：生殖発生毒性

キーワード：二酸化チタンナノ粒子 精子毒性 ハイパーアクチベーション tsRNA 継世代影響

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

私たちはこれまでに大気由来の粒子状物質やナノ銀の胎仔期 (F0) 曝露によって、F1 雄での行動異常や神経化学的な影響、それに基づくシナプス可塑性分子の発現変化について見出している (Takeda et al, 2009, Yokota et al, 2013, 2009)。一方で、F1 雄の精子性状にも悪影響が生じることを報告している (Yoshida et al, 2006, Ono et al, 2007, 2008)。さらに、先行研究で明らかにしたナノ銀による F2 世代への影響について、F1 世代精子を介した継世代影響が想定された。実際に、他のグループにおいてもプレリミナリーな結果として、妊娠中の母親へのカーボンブラックおよびナノ銀の胎児期曝露が F1 雄親を介して F2 世代の精子産生量に影響を及ぼすことが報告されている (Zdenka et al, 2013)。

私たちがこれまでに行ってきた先行の実験系において、F1 雄の精子性状が悪化していることから、F1 雄親から産まれる F2 世代への影響が生じるのではないかと作業仮説を立てた。しかしながら、F2 世代への影響を媒介する F1 雄の精子エピゲノムバイオマーカーを明らかにしようとする研究はこれまでになされておらず、本研究課題で明らかにする必要があると考えた。本研究では、生理条件下において粒子分散制御の難しい二酸化チタンナノ粒子に焦点を当て、新規に F1 雄の雄性生殖系への影響に関するデータを得ると同時に、F2 雄での影響も評価する。世代影響のポイントとなる F1 雄の精子エピゲノム解析を行い、継世代影響のメカニズムとなり得るバイオマーカーを探索することとした。

2. 研究の目的

本研究では、ICR 妊娠マウス (F0) に、生理条件下の分散制御を施した二酸化チタン粒子 (TiNP) を曝露させ、F1 雄の精子性状がこれまでの曝露と同様に悪化するの否かを検討すること、また、F1 雄親から産まれた F2 雄マウスでの影響を探索することを目的とした。さらに、F2 への世代影響の媒介として F1 雄の精子エピゲノム変化を仮定し、small RNA 発現の網羅的解析を実施し、世代影響の責任分子を探索する。

3. 研究の方法

1) 実験動物およびナノ粒子曝露

本研究では、TiNP として毒性実験に関する情報の多い P25 (純度 99.5% 以上、一次粒径~21nm、比表面積 50m²/g) を使用した。TiNP 25mg/mL (水) の濃度で調整し、Vortex と超音波破砕 (250W、温度 25°C に維持) を実施、遠心により凝集体と凝固体を除去した。次に、PVDF 0.45μm によりサブミクロンサイズの粒子を除去した TiNP/水 900μL に対して、PVDF 0.22μm フィルター処理した 1.2% ウシ血清アルブミン (BSA) 溶液 100μL と反応させた。最後に PBS (pH 7.2) で置換し高分散 TiNP (H-TiNP) 溶液を得た。

調整した投与溶液について、高濃度 (High) と低濃度 (Low) の 2 段階の濃度について、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) にて濃度を測定した。また、動的光散乱法 (Dynamic Light Scattering: DLS) や透過型電子顕微鏡 (Transmission Electron Microscopy: TEM) による粒子キャラクター化を実施した。

胎児期の 7, 10, 13 日目に低濃度と高濃度 TiNP 溶液を 0.1mL ずつ、気管内投与により経気道曝露させた。産児は下記に従い、解析した。

2) F1 世代雄性生殖の解析

15 週齢と 14 カ月齢時に、解剖にて採取した精巣上体尾部より精子培養液中で精子懸濁液を調整し、37°C 下で精子性状解析 (細胞死、運動率、形態) と精巣凍結サンプルから一日精子産生量を行った。また、精巣組織を固定した後、パラフィン包埋を行い、マイクロームにより超薄切片を作成し、PAS 染色により病理組織学解析を行った。さらに、精子サンプルは、リシス処理を行い体細胞のコンタミの除去を行い、それをアガロースゲル電気泳動にて確認した。その後、small RNA 画分を含んだ状態で核酸抽出を行い、ライブラリー調整後、Nextseq500 (シングルエンド 75bp) による QIAseq miRNA-seq を実施し、small RNA の網羅的発現解析を行った。

3) F2 世代雄性生殖の解析

15 週齢時の解剖にて採取した精巣上体尾部より精子培養液中で精子懸濁液を調整し、37°C 下で精子性状解析 (細胞死、運動率、形態) と精巣凍結サンプルから一日精子産生量を行った。また、精巣組織を固定した後、パラフィン包埋を行い、マイクロームにより超薄切片を作成し、PAS 染色により病理組織学解析を行った。

4. 研究成果

ナノ粒子曝露により生じる肺への健康影響については、吸入曝露やその代替法である気管内投与を用いた手法が多く報告されている。しかし、生理条件下でのナノ粒子の曝露実験では、凝

集体を形成した状態で曝露させている実験が多いことを追試験で確認している。すなわち、一次粒子径はナノサイズでも、投与時の二次粒子径は 1 時間以内にサブミクロンサイズへと凝集することが実験条件により認められる。特に、生理的 pH において凝集しやすい TiNP については、動物実験への投与の際に分散が維持できないことが懸念された。そこで本研究において、TiNP の分散制御から開始した。

実際に、P25 に関する多くの論文や報告書に記載の追試を行うと、二次粒子径が増加する前(溶液を調整直後)の分散データが公開されているものが多い。動物へ投与するナノ粒子は少なくとも調整後ある程度は時間経過しているため、いくらか凝集した状態で投与されていることが懸念される。実際に、P25 の物性として生理条件下の溶液(生理食塩水やリン酸緩衝溶液)中で調整すると必ず 10 数分以内に急速に凝集することを確認した。毒性試験の情報は多岐にわたるが、文献調査と本実験結果から、少なくとも TiNP に関しては分散技術に課題が残されたまま投与(曝露)されていることが多いこと本研究の遂行により明らかとなった。

私たちは、BSA を用い TiNP にバイオコロナを形成させることで、リン酸緩衝溶液中において、1 週間分散できる方法を開発した(Highly dispersed TiNP)。DLS 測定の結果、低濃度・高濃度の両方において個数分布は 90 nm となった。zeta 電位はともにおよそ -20mV となった。これらは、調整後 1 週間まで変化は認められなかった。このため、リン酸緩衝溶液中においても、長期安定な高分散 TiNP 溶液の調整に成功した。次に、ICP-MS により、濃度を測定したところ低濃度群は 0.5 mg/mL を高濃度群は 1.4 mg/mL であった。妊娠マウスへは、0.1mL 投与したので、50 μ g/個体 x 3 回=150 μ g/個体(低濃度)または 140 μ g/個体 x 3 回=420 μ g/個体(高濃度)の曝露量となった。母マウスを離乳後、肺への負荷量を測定したところ、0.3~0.7 μ g/mg tissue(低濃度)と 1.3~2.0 μ g/mg tissue(高濃度)を示した。Ti は生体内のバックグラウンドが高いため、対照群の肺においても測定した結果 0.004 μ g/mg tissue 以下を示した。しかし、F1 精巣においては、Ti はバックグラウンドレベルでの検出にとどまり、Ti の蓄積は認められなかった。

F1 マウスの精子性状解析の結果、精子濃度、運動率、形態ともに目立った変化は認められなかったが、高濃度曝露群のハイパーアクチベーション(精子の超活性化)については対照群と比較して有意に低値を示した。ハイパーアクチベーションは受精能獲得反応に必須の運動変化であり、継世代影響の可能性が想定された。そこで、F1 精子エピゲノムについて、small RNA に焦点を当て網羅的に発現変動解析を実施した結果、驚くべくことに、マイクロ RNA については有意な発現変動が検出されなかった。その他方で、未知ではあるものの、tRNA 由来 smallRNA (tsRNA) において、10 個ほど有意な発現変動を示したバイオマーカー候補が見出された。現在、その遺伝子の役割について調査している。

一方で、F2 世代に関しては、精子性状に対する影響は検出されず、多世代影響の可能性は否定された。

以上の結果は、先行研究において認められたナノ銀胎児期曝露の F1 雄親を介した F2 世代の影響と異なり、tiNP は F1 精子 tsRNA 発現に影響を及ぼすものの、F2 世代の精子性状などには影響が認められなかったため、多世代影響の可能性は低いと思われる。今後、様々なナノ粒子に対して、多世代影響の可能性を検証し、ナノ粒子の安全性に関するデータの集積に努めていきたい。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 16 件)

Saito H, Yokota S*, Kitajima S: Immunohistochemical analysis of the vimentin filaments in Sertoli cells is a powerful tool for the prediction of spermatogenic dysfunction. *Acta Histochemica*. 125(5): 152046. (2023)

Yoshioka H, Yokota S, Tominaga S, Tsukiboshi Y, Suzui M, Shinohara Y, Yoshikawa M, Sasaki H, Sasaki N, Maeda T, Miura N: Involvement of Bmal1 and Clock in bromobenzene metabolite-induced diurnal renal toxicity. *Biological Pharm Bull*. 46: 824–829. (2023)

Kaneko S, Okada Y, Yokota S, Takamatsu K: Reactive Blue Dye: Highlights of Vacuoles in Human Sperm. *J Med Diagn Meth*. 12(2): 400. (2023).

Tsukiboshi Y, Ogata A, Noguchi A, Mikami Y, Yokota S, Ogata K, Yoshioka H: Sasa veitchii extracts protect phenytoin-induced cell proliferation inhibition in human lip mesenchymal cells through modulation of miR-27b-5p. *Biomedical Research (Tokyo)*. 44 (2) 73–80. (2023).

Yokota S*, Miyaso H, Hirai T, Suga K, Wakayama T, Taquahashi Y, Kitajima S: Development of a non-invasive method to evaluate testicular toxicity using a novel compact magnetic resonance imaging system. *J Toxicol Sci*. 48(2): 57-64. (2023)

Miyaso H, Takano K, Nagahori K, Li Z, Kawata S, Kuramasu M, Ogawa Y, Yoshioka H, Matsuno Y, Yokota S, Itoh M: Neonatal corticosterone administration increases p27-positive Sertoli cell number and decreases Sertoli cell number in the testes of mice in prepuberty. *Sci Rep*. 12(1):19402. (2022)

Horibata K, Takasawa H, Hojo M, Taquahashi Y, Shigano M, Yokota S, Kobayashi N, Sugiyama K, Honma M, Hamada S: In vivo genotoxicity assessment of a multiwalled carbon nanotube in a mouse ex vivo culture. *Genes and Environment*. 44(1): 24. (2022)

Hojo M, Maeno A, Sakamoto Y, Ohnuki A, Tada Y, Yamamoto Y, Ikushima K, Inaba R, Suzuki J, Taquahashi Y, Yokota S, Kobayashi N, Ohnishi M, Goto Y, Numano T, Tsuda H, Alexander DB, Kanno J, Hirose A, Inomata A, Nakae D: Two-year intermittent exposure of a multiwalled carbon nanotube by intratracheal instillation induces lung tumors and pleural mesotheliomas in F344 rats. *Particle and Fibre Toxicology*. 19(1): 38. (2022)

Sekine N, Yokota S (Co-First), Oshio S: Sperm morphology is different in two common mouse strains. *BPB Reports*. 4: 162-165. (2021)

Yokota S*, Sekine N, Wakayama T, Oshio S: Impact of chronic vitamin A excess on sperm morphogenesis in mice. *Andrology*. 9(5): 1579-1592. (2021)

Nomura Y, Ikuta S, Yokota S, Mita J, Oikawa M, Matsushima H, Amano A, Shimonomura K, Seya Y, Koike C: Evaluation of critical flicker-fusion frequency measurement methods using a touchscreen-based visual temporal discrimination task in the behaving mouse. *Neurosci Res*. 148: 28-33. (2019)

Yokota S*, Shirahata T, Yusa J, Sakurai Y, Ito H, Oshio S: Long-term dietary intake of excessive vitamin A impairs spermatogenesis in mice. *J Toxicol Sci*. 44(4): 257-271. (2019)

横田理*, 押尾茂: 化学物質曝露により生じる雄性生殖機能障害と発生・発達毒性、DOHaD 研究、第 11 巻、第 2 号、p103-108. (2023)

Wakayama T, Yokota S, Noguchi K, Sugawara T, Sonoda K, Wanta A: Quantitative Evaluation of Spermatogenesis by Histochemistry. *Histochem Cell Biol*. 157(3):287-295. (2022)

Yokota S*: Evaluation of sperm epigenome as a molecular index of reproductive toxicity for elucidating the mechanisms of transgenerational inheritance. (生殖発生毒性の分子指標としての精子エピゲノム情報の活用) *BIO Clinica*. 37(1): 41-47. (2022) Invited

Yokota S*, Takeda K, Oshio S: Spatiotemporal small non-coding RNAs expressed in the germline as an early biomarker of testicular toxicity and transgenerational effects caused by prenatal exposure to nanosized particles. *Front. Toxicol*. 3: 32. (2021)

[学会発表] (計 45 件)

横田理、齊藤洋克、若山友彦、北嶋聡: ビタミン A 過剰マウス精上皮周期に着目した精巣毒性評価法の開発、第 62 回日本先天異常学会学術集会、金沢 (2022.7.30) 優秀演題講演 (招待)

横田理: 精子の品質からみた新たな DOHaD 研究の試み、第 35 回 DOHaD 学会寺子屋、東京 (2021.5.8) (招待)

横田理、押尾茂: 雄性生殖系列を介した高分散ナノマテリアル胎児期曝露の二世世代影響の可能性、第 29 回精子形成・精巣毒性研究会、東京 (2020.2.10) (招待)

横田理: 生殖発生毒性評価の予測性向上に資する精子染色診断技術の開発、第 49 回日本毒性学会学術年会、北海道 (2022.7.2) (シンポジウム)

高橋祐次、横田理、広瀬明彦、菅野純: ナノマテリアルの慢性吸入ばく露試験法の効率化、第 49 回日本毒性学会学術年会、北海道 (2022.6.30) (シンポジウム)

三浦伸彦、宮澤正幸、横田理、吉岡弘毅: 毒性発現強度の時刻差を利用した毒性発現機構解明、メタルバイオサイエンス研究会 2021、神奈川 (2021.10.27) (シンポジウム)

横田理: 男性不妊の原因究明に資する、新たな生殖毒性評価の試み、第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会/第 98 回日本生理学会大会、愛知 (2021.3.28) (シンポジウム)

Taquahashi Y, Yokota S, Tsuji M, Morita K, Suga K, Hojyo M, Hirose A, Kanno J: Preliminary report on a two-year, 4-week-interval intermittent whole body inhalation study of the multi-walled carbon nanotube (MWNT-7) in male mice, the 62st Annual Meeting of the Society of Toxicology, Nashville, Tennessee, USA (2023.3.22)

Taquahashi Y, Yokota S, Morita K, Tsuji M, Suga K, Kuwagata M, Hojyo M, Hirose A, Kanno J: Preliminary report of the two-year, every 4-week-interval intermittent whole body inhalation study of the multi-walled carbon nanotube in male mice, the 61st Annual Meeting of the Society of Toxicology, Virtual Meeting (2022.3.27-31)

Horibata K, Hojo M, Yokota S, Taquahashi Y, Kobayashi N, Takasawa H, Hamada S, Sugiyama K, Honma M: In vivo genotoxicity assessment of multi-walled carbon nanotubes using the optimized lung

micronucleus assay, The Environmental Mutagenesis and Genomics Society 2021 Annual meeting, Virtual Meeting (2021.9.22-25)

Taquahashi Y, Yokota S, Hojo M, Morita K, Tsuji M, Suga K, Kuwagata M, Hirose A, Kanno J: Interim report of the 4-week-interval intermittent whole body inhalation study on multi-walled carbon nanotube in mice, the 60th Annual Meeting of the Society of Toxicology, Virtual Meeting (2021.3.17)

Taquahashi Y, Yokota S, Morita K, Kuwagata M, Hojo M, Hirose A, Kanno J: Interim report of four-week interval intermittent inhalation study on multi-walled carbon nanotube in mice, 9th Nano Conference, Virtual Meeting (2020.11.12)

Horibata K, Takasawa H, Taquahashi Y, Yokota S, Hamada S, Honma M: In vivo genotoxicity assessment of multi-wall carbon nanotubes using lung micronucleus assay, The Environmental Mutagenesis and Genomics Society 2020 Annual meeting, Virtual Meeting (2020.9.12-16)

Taquahashi Y, Yokota S, Morita K, Tsuji M, Kuwagata M, Hirose A, Kanno J: A long-term whole-body inhalation study of multi-walled carbon nanotube in mice with an improved dispersion and inhalation system, the 59th Annual Meeting of the Society of Toxicology, Anaheim, California, USA (2020.3.17)

Horibata K, Takasawa H, Taquahashi Y, Yokota S, Hamada S, Honma M: In vivo genotoxicity assessment of multi-wall carbon nanotubes using lung micronucleus assay. The Joint Meeting of the 6th Asian Congress on Environmental Mutagens (ACEM) and the 48th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS), Tokyo, Japan (2019.11.18-20)

Taquahashi Y, Yokota S, Morita K, Tsuji M, Ohnishi M, Hirose A, Kanno J: Improved Aerosol Generation Method and Newly Designed Whole Body Rodent Inhalation Apparatus for the Testing of Nanomaterials in Human-Relevant Exposure Scenario. 15th IUTOX International Congress of Toxicology (ICTXV), Honolulu, Hawaii, USA (2019.7.15-18)

横田理、齊藤洋克、若山友彦、北嶋聡：精子形成サイクルに着目したビタミン A 過剰により生じる雄性生殖毒性の早期予測評価法の開発、日本薬学会第 143 年会、札幌 (2023.3.27)

横田理、関根尚、市瀬孝道、藤ノ木政勝、若山友彦、北嶋聡、押尾茂：ナノ銀の妊娠期曝露により生じる、雄性生殖系列を介した継世代・多世代影響、第 41 回アンドロロジー学会、福島 (2022.6.3) 学会賞候補演題 基礎部門

桂川真一、横田黎、宮澤正幸、香川 (田中) 聡子、河村伊久雄、横田理、吉岡弘毅、三浦伸彦：マウスの呼吸器系統における TRP チャネル発現の日内変動、日本薬学会第 142 年会、名古屋 (オンライン) (2022.3.26)

桂川真一、照井楓香、宮澤正幸、香川 (田中) 聡子、河村伊久雄、横田理、吉岡弘毅、三浦伸彦：肺気管支系における TRP チャネル発現の日内変動、第 65 回日本薬学会関東支部大会、千葉 (オンライン) (2021.9.11)

横田理、関根尚、北嶋聡、押尾茂：マウス精子形態形成へのビタミン A 過剰の関与、第 48 回日本毒性学会学術年会、兵庫 (2021.7.9)

宮澤正幸、照井楓香、桂川真一、香川 (田中) 聡子、河村伊久雄、横田理、吉岡弘毅、金子正裕、三浦伸彦：6-メルカプトプリンに対するマウスの感受性時刻差、第 48 回日本毒性学会学術年会、兵庫 (2021.7.9)

横田理、若山友彦、押尾茂：レチノイド過剰により生じるマウス精子形成のステージ出現頻度の変化、第 40 回アンドロロジー学会、大阪 (2021.6.12) 学会賞候補演題 基礎部門

横田理、関根尚、押尾茂：慢性的なビタミン A 過剰状態は、マウス精子形態異常の増悪化をひき起こす、第 39 回アンドロロジー学会、金沢 (2021.1.16) 学会賞候補演題 基礎部門

横田理、関根尚、北嶋聡、押尾茂：ビタミン A 過剰摂取はマウスの精子形成を障害する、日本食品衛生学会創立 60 周年記念第 116 回学術講演会、Web 開催、(2020.11.24-12.8)

横田理、白幡卓也、遊佐淳子、櫻井裕子、伊東博司、押尾茂：マウス造精機能低下を引き起こすビタミン A 過剰の反復摂取、フォーラム 2019 衛生薬学・環境トキシコロジー、京都 (2019.8.31)

横田理、白幡卓也、遊佐淳子、櫻井裕子、伊東博司、押尾茂：ビタミン A 過剰の反復摂取はマウスの精子形成を障害するの？、第 8 回 DOHaD 学会学術集会、東京 (2019.8.10)

横田理、白幡卓也、遊佐淳子、櫻井裕子、北嶋聡、伊東博司、押尾茂：ビタミン A 過剰モデルマウスを用いた精巢毒性・精子形成の影響評価、第 46 回日本毒性学会学術年会、徳島 (2019.6)

横田理、白幡卓也、遊佐淳子、櫻井裕子、北嶋聡、伊東博司、押尾茂：慢性的なビタミン A 過剰はマウスの精子形成を障害する、第 38 回アンドロロジー学会、大阪 (2019.6)

吉岡弘毅、富永サラ、酒々井眞澄、横田理、前田徹、三浦伸彦：シスプラチンによる急性腎毒性と時計遺伝子の関与、日本薬学会第 143 年会、札幌 (2023.3.26-28)

前野愛、北條幹、横田理、高橋祐次、中江大：多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の 2 年間間欠気管内投与によるラット肺腫瘍及び中皮腫の発生、第 39 回日本毒性病理学会、東京 (2023.1.25)

他 14 件

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Sekine N, Yokota S (Co-First), Oshio S	4. 巻 4
2. 論文標題 Sperm morphology is different in two common mouse strains	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BPB Reports	6. 最初と最後の頁 162-165
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpbreports.4.5_162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yokota S, Sekine N, Wakayama T, Oshio S	4. 巻 9(5)
2. 論文標題 Impact of chronic vitamin A excess on sperm morphogenesis in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Andrology	6. 最初と最後の頁 1579-1592
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/andr.13013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Wakayama T, Yokota S, Noguchi K, Sugawara T, Sonoda K, Wanta A	4. 巻 157(3)
2. 論文標題 Quantitative Evaluation of Spermatogenesis by Histochemistry	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Histochemistry and Cell Biology	6. 最初と最後の頁 287-295
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00418-022-02080-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yokota S	4. 巻 37(1)
2. 論文標題 Evaluation of sperm epigenome as a molecular index of reproductive toxicity for elucidating the mechanisms of transgenerational inheritance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 41-47
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yokota S, Takeda K, Oshio S	4. 巻 3
2. 論文標題 Spatiotemporal small non-coding RNAs expressed in the germline as an early biomarker of testicular toxicity and transgenerational effects caused by prenatal exposure to nanosized particles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front. Toxicol.	6. 最初と最後の頁 32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/ftox.2021.691070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yokota S, Sekine N, Wakayama T, Oshio S	4. 巻 in press
2. 論文標題 Impact of chronic vitamin A excess on sperm morphogenesis in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Andrology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nomura Y, Ikuta S, Yokota S, Mita J, Oikawa M, Matsushima H, Amano A, Shimonomura K, Seya Y, Koike C	4. 巻 148
2. 論文標題 Evaluation of critical flicker-fusion frequency measurement methods using a touchscreen-based visual temporal discrimination task in the behaving mouse	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurosci Res.	6. 最初と最後の頁 28-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2018.12.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yokota S, Shirahata T, Yusa J, Sakurai Y, Ito H, Oshio S	4. 巻 44(4)
2. 論文標題 Long-term dietary intake of excessive vitamin A impairs spermatogenesis in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Toxicol Sci.	6. 最初と最後の頁 257-71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.44.257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 横田理	4. 巻 19
2. 論文標題 胎生期環境が多世代・継世代に及ぼす健康影響 - 精子エピゲノムに着目して -	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本アンドロロジー学会ニュースレター	6. 最初と最後の頁 9, 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計29件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 三浦伸彦、宮澤正幸、横田理、吉岡弘毅
2. 発表標題 毒性発現強度の時刻差を利用した毒性発現機構解明
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田理
2. 発表標題 精子の品質からみた新たなDOHaD研究の試み
3. 学会等名 第35回 DOHaD学会寺子屋 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taquahashi Y, Yokota S, Morita K, Tsuji M, Suga K, Kuwagata M, Hojyo M, Hirose A, Kanno J
2. 発表標題 Preliminary report of the two-year, every 4-week-interval intermittent whole body inhalation study of the multi-walled carbon nanotube in male mice
3. 学会等名 the 61st Annual Meeting of the Society of Toxicology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Horibata K, Hojo M, Yokota S, Taquahashi Y, Kobayashi N, Takasawa H, Hamada S, Sugiyama K, Honma M
2. 発表標題 In Vivo Genotoxicity Assessment Of Multi-Walled Carbon Nanotubes Using The Optimized Lung Micronucleus Assay
3. 学会等名 The Environmental Mutagenesis and Genomics Society 2021 Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田理、関根尚、北嶋聡、押尾茂
2. 発表標題 マウス精子形態形成へのビタミンA過剰の関与
3. 学会等名 第48回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮澤正幸、照井楓香、桂川真一、香川(田中)聡子、河村伊久雄、横田理、吉岡弘毅、三浦伸彦
2. 発表標題 6-メルカプトプリンに対するマウスの感受性時刻差
3. 学会等名 第48回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田理、若山友彦、押尾茂
2. 発表標題 レチノイド過剰により生じるマウス精子形成のステージ出現頻度の変化
3. 学会等名 第40回アンドロロジー学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田理、河上強志、久保田領志、三浦伸彦、北嶋聡
2. 発表標題 In vivo毒性試験のための二酸化チタン分散方法の検討
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮澤正幸、横田理、吉岡弘毅、三浦伸彦
2. 発表標題 薬毒物の感受性時刻差
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田理、武田健
2. 発表標題 ディーゼル排気由来超微小粒子の胎児期曝露が児の海馬神経活動に影響を及ぼし、学習・記憶障害を引き起こす
3. 学会等名 第61回日本先天異常学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前野愛、北條幹、坂本義光、湯澤勝廣、長谷川悠子、長澤明道、生嶋清美、平松恭子、海鋒藤文、山本行男、安藤弘、田中和良、鈴木仁、猪又明子、守安貴子、高橋祐次、横田理、小林憲弘、広瀬明彦、中江大
2. 発表標題 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の2年間ラット気管内反復投与試験における投与器具の違いによる毒性の比較：1年経過時点での報告
3. 学会等名 第48回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 相磯成敏、大西誠、山野荘太郎、斎藤美佐江、近藤ひとみ、横田理、梅田ゆみ
2. 発表標題 ナノマテリアルを間歇ばく露したマウス肺病変成り立ちの病理形態学的検討
3. 学会等名 第94回日本産業衛生学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田理
2. 発表標題 男性不妊の原因究明に資する、新たな生殖毒性評価の試み
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会/第98回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taquahashi Y, Yokota S, Hojyo M, Morita K, Tsuji M, Suga K, Kuwagata M, Hirose A, Kanno J
2. 発表標題 Interim report of the 4-week-interval intermittent whole body inhalation study on multi-walled carbon nanotube in mice
3. 学会等名 the 60th Annual Meeting of the Society of Toxicology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taquahashi Y, Yokota S, Morita K, Kuwagata M, Hojyo M, Hirose A, Kanno J
2. 発表標題 Interim report of four-week interval intermittent inhalation study on multi-walled carbon nanotube in mice
3. 学会等名 9th Nano Conference
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Horibata K, Takasawa H, Taquahashi Y, Yokota S, Hamada S, Honma M
2. 発表標題 In vivo genotoxicity assessment of multi-wall carbon nanotubes using lung micronucleus assay
3. 学会等名 The Environmental Mutagenesis and Genomics Society 2020 Annual meeting
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横田理、白幡卓也、押尾茂
2. 発表標題 慢性的なビタミンA過剰状態は、マウス精子形態異常の増悪化をひきおこす
3. 学会等名 第39回アンドロロジー学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田理、関根尚、北嶋聡、押尾茂
2. 発表標題 ビタミンA過剰摂取はマウスの精子形成を障害する
3. 学会等名 日本食品衛生学会創立60周年記念第116回学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横田理、白幡卓也、関根尚、押尾茂
2. 発表標題 ビタミンA過剰による恒常性破綻に基づく肝毒性・精巣毒性
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三浦伸彦, 大谷勝己, 横田理, 吉岡弘毅
2. 発表標題 概日リズム攪乱による雄性生殖機能障害
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前野愛、北條幹、坂本義光、湯澤勝廣、長谷川悠子、久保喜一、長澤明道、安藤弘、田中和良、海鉾藤文、生嶋清美、山本行男、鈴木俊也、猪又明子、守安貴子、高橋祐次、横田理、小林憲弘、広瀬明彦、中江大
2. 発表標題 ラットによる多層カーボンナノチューブ(MMCNT)の長期気管内反復投与試験: 1年経過時点における報告
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横田理、押尾茂
2. 発表標題 雄性生殖系列を介した高分散ナノマテリアル胎児期曝露の二世代影響の可能性
3. 学会等名 第29回精子形成・精巣毒性研究会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横田理、白幡卓也、遊佐淳子、櫻井裕子、伊東博司、押尾茂
2. 発表標題 マウス造精機能低下を引き起こすビタミンA過剰の反復摂取
3. 学会等名 フォーラム2019 衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横田理、白幡卓也、遊佐淳子、櫻井裕子、伊東博司、押尾茂
2. 発表標題 ビタミンA過剰の反復摂取はマウスの精子形成を障害するのか？
3. 学会等名 第8回DOHaD学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横田理、白幡卓也、遊佐淳子、櫻井裕子、北嶋聡、伊東博司、押尾茂
2. 発表標題 ビタミンA過剰モデルマウスを用いた精巣毒性・精子形成の影響評価
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横田理、白幡卓也、遊佐淳子、櫻井裕子、北嶋聡、伊東博司、押尾茂
2. 発表標題 慢性的なビタミンA過剰はマウスの精子形成を障害する
3. 学会等名 第38回アンドロロジー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Horibata K, Takasawa H, Taquahashi Y, Yokota S, Hamada S, Honma M
2. 発表標題 In vivo genotoxicity assessment of multi-wall carbon nanotubes using lung micronucleus assay
3. 学会等名 The Joint Meeting of the 6th Asian Congress on Environmental Mutagens (ACEM) and the 48th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taquahashi Y, Yokota S, Morita K, Tsuji M, Ohnishi M, Hirose A, Kanno J
2. 発表標題 Improved Aerosol Generation Method and Newly Designed Whole Body Rodent Inhalation Apparatus for the Testing of Nanomaterials in Human-Relevant Exposure Scenario
3. 学会等名 15th IUTOX International Congress of Toxicology (ICTXV)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taquahashi Y, Yokota S, Morita K, Tsuji M, Kuwagata M, Hirose A, Kanno J
2. 発表標題 A long-term whole-body inhalation study of multi-walled carbon nanotube in mice with an improved dispersion and inhalation system
3. 学会等名 The 59th Annual Meeting of the Society of Toxicology
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 精子の検出方法	発明者 国立大学法人東京大 学	権利者 岡田 由紀、兼子 智、高松 潔、横 田 理
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-39134	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------