

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H05714

研究課題名(和文)メチル水銀毒性発現の分子機構

研究課題名(英文)Molecular mechanism for toxic effect of methylmercury

研究代表者

永沼 章(NAGANUMA, AKIRA)

東北大学・薬学研究科・名誉教授

研究者番号：80155952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 151,400,000円

研究成果の概要(和文)：メチル水銀が細胞障害性因子TNF α の発現を脳組織特異的に誘導することを見出し、この誘導に必須の役割を果たす蛋白質としてtmRT1およびRelBを同定した。メチル水銀がtmRT1およびRelBの結合を顕著に促進させ、さらに両者が共に大脳および小脳に特異的に発現していることから、メチル水銀が示す脳組織選択的な障害の機構がRelBとtmRT1を介したTNF α の脳組織特異的な発現誘導によることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メチル水銀が脳特異的にTNF α の発現を誘導することは我々が初めて見出したものである。また、TNF α に関する研究は世界的に盛んに行われているが、tmRT1を介したTNF α の発現誘導は全く知られていない。本研究によって得られた成果は、約半世紀の長期にわたって未解明であったメチル水銀の毒性発現機構を分子レベルで明確に説明することになるだけでなく、“tmRT1を介したTNF α 発現誘導”という新しい研究分野の創生にも繋がる。

研究成果の概要(英文)：We have found for the first time that methylmercury induces brain-specific expression of TNF α . Further, although research on TNF α has been actively carried out worldwide, induction of TNF α expression via tmRT1 is not known. The results obtained by this study not only clearly explain the mechanism of methylmercury toxicity, but also lead to the creation of a new research field called: induction of TNF α expression via tmRT1.

研究分野：化学物質影響関連

キーワード：メチル水銀 毒性 転写調節 シグナル伝達 オートクライン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

水俣病の原因物質として知られるメチル水銀は重篤な中枢神経障害を引き起こす。近年、このメチル水銀の妊娠中における魚介類を介した過剰摂取が胎児の脳の発達に障害を与えるとの疫学研究結果が公表され世界的な社会問題となっている。そのため 2013 年 10 月に国連環境計画会議において「水銀に関する水俣条約」が採択され、年間 2,000 トンにもものぼる水銀の環境中排出を抑制するための世界的な取り組みが開始されている。

しかし、水俣病の発症から半世紀以上が経過した現在もメチル水銀が引き起こす中枢神経選択的な障害の発症機構はほとんど解明されていない。このメチル水銀毒性発現機構の解明は、水俣病を経験した国である日本の義務とも言える最重要課題である。

我々はメチル水銀毒性発現機構の解明を目指し、独自に開発した網羅的遺伝子スクリーニング法を駆使してメチル水銀毒性の発現に影響を与える蛋白質を同定してきた。そしてごく最近、メチル水銀毒性増強作用を有する細胞内因子として転写因子様蛋白質 tmRT1 (機能未知) を同定し、メチル水銀によって tmRT1 を介して合成誘導され細胞外に放出される TNF などの細胞障害性因子が細胞死を引き起こしていることを見出した。マウスへのメチル水銀投与が脳組織特異的に TNF の発現を誘導することも確認されていることから、本知見はメチル水銀が示す脳選択的毒性の発現機構解明のための突破口ともなり得ると考えられる。そこで本研究では、この現象の総合的な分子機構解明を目指す。

2. 研究の目的

- (1) メチル水銀による tmRT1 を介した TNF 発現誘導機構を明らかにする。
- (2) メチル水銀による tmRT1 の活性化機構を明らかにする。
- (3) TNF によるメチル水銀毒性増強機構を明らかにする。
- (4) メチル水銀が示す脳選択的毒性の発現における TNF および tmRT1 の個体レベルでの役割をそれぞれの欠損マウスを用いて明らかにする。
- (5) tmRT1 を介した TNF 発現誘導とメチル水銀以外の環境汚染物質の細胞毒性との関係を明らかにする。

以上の研究により、tmRT1 を介した TNF 発現誘導によるメチル水銀毒性発現機構の徹底解明を目指す。

3. 研究の方法

ヒトまたはマウスの脳由来培養細胞を用いて、メチル水銀による tmRT1 の活性化、および、TNF の tmRT1 を介した合成誘導の機構を解析し、さらに、TNF による細胞死誘導機構またはメチル水銀毒性増強機構についても詳細に検討する。

4. 研究成果

(1) メチル水銀による tmRT1 を介した TNF 発現誘導機構

HEK293 細胞をメチル水銀で処理することによって tmRT1 蛋白質量が増加し、tmRT1 の高発現によって TNF 発現量が顕著に増加することを明らかにしている。定常時においても tmRT1 は大部分が核内に存在しているが、本研究によって、TNF プロモーター領域に tmRT1 は僅かしか結合していないことが判明した。しかし、メチル水銀処理がその結合レベルを著しく増加させたことから、メチル水銀による TNF の発現誘導には TNF プロモーター領域への tmRT1 の結合量の増加が関与していると考えられる。また、tmRT1 高発現による TNF 発現誘導に必要なプロモーター領域を調べたところ、tmRT1 は TNF 遺伝子の転写開始点上流-1146 から-1140 の領域に結合してその発現を誘導していることが明らかになった。さらに、RelB を構成因子とする転写因子 NF- κ B も tmRT1 と同様にメチル水銀による TNF の発現誘導に関与することが判明した。メチル水銀処理によって RelB の核内レベルが上昇し、この RelB は TNF 遺伝子の転写開始点上流-1158 から-1148 の領域に結合することが示唆された。RelB は p100 と二量体を形成して非古典的 NF- κ B として機能する。RelB と p100 をそれぞれ発現抑制するとメチル水銀による TNF 発現誘導能が低下した。また、p100 の発現抑制によって核内 RelB レベルの増加がほとんど認められなくなった。さらに、p100 を p52 に限定分解し RelB/p52 の核移行を促進させるキナーゼである NIK もメチル水銀によって活性化され、また、その発現抑制によってメチル水銀による TNF 発現誘導能が低下した。これらのことから、メチル水銀は NIK 依存的に RelB/p52 を活性化させることで TNF 発現誘導に関与していると考えられる。RelB と tmRT1 の両者の発現を同時に抑制したところ、それぞれ単独発現抑制時に認められたメチル水銀による TNF 発現誘導能の低減の更なる低下(相加作用)は認められなかった。また、メチル水銀によって RelB と tmRT1 の結合が著しく促進されることが明らかになった (RelB と tmRT1 との結合はメチル水銀非存在下ではほとんど認められない)。さらに、メチル水銀による核内 RelB レベルの増加も、tmRT1 発現抑制によってほとんど認められなくなった。tmRT1 は核内に常在することから、メチル水銀によって核内へ移行した RelB が tmRT1 との結合を介して核内に留まることで TNF 発現誘導に関与している可能性が考えられる。tmRT1 と RelB は共に大脳および小脳に特異的に発現しており肝臓や腎臓にはほとんど発現していないことも判明したことから、これがメチル水銀による脳選択的な TNF 発現誘導の主要な機構であると考えられる。

免疫沈降法を用いてメチル水銀によって核内で tmRT1 との結合レベルが増加する RelB 以外の

蛋白質を検索したところ、FACT complex subunit SSRP1 (SSRP1)、ribonucleic acid export1 (RAE1)、proliferating cellular nuclear antigen 1 (PCNA1)、acidic nuclear phosphoprotein 32 family member E (ANP32E) および exosome complex component RRP4 (EXOSC2) が同定された。これら蛋白質の発現抑制がメチル水銀による TNF- α 発現誘導に与える影響を検討したところ、EXOSC2 に対する siRNA を導入した細胞でのみメチル水銀による TNF 発現誘導率の低下が認められた。EXOSC2 は通常時には tmRT1 と僅かしか結合していないが、この結合レベルはメチル水銀処理によって増加した。EXOSC2 と tmRT1 の両者の発現を同時に抑制しても TNF 発現誘導率の更なる低下が認められなかったことから、tmRT1 は RelB のみならず EXOSC2 とも複合体を形成してメチル水銀による TNF 発現誘導に関与していると考えられる。

(2) メチル水銀による tmRT1 の活性化機構

メチル水銀が tmRT1 の細胞内分布に与える影響

GFP を融合させた tmRT1 を HEK293 細胞に導入して細胞内分布を調べたところ、そのほとんどが核内に存在していた。また、内因性の tmRT1 も核内に存在し、細胞をメチル水銀で処理してもその分布はほとんど変動しなかった。このことから、メチル水銀は tmRT1 の細胞内分布に影響を与えず、TNF の発現誘導に関与していると考えられる。

tmRT1 へのメチル水銀の直接的な結合とその結合が tmRT1 活性に与える影響

メチル水銀は蛋白質中のシステイン残基に結合する性質を有しており、tmRT1 中には 6 個のシステイン残基が存在する。そこで、ピオチンマレイミド法を用いて tmRT1 へのメチル水銀の結合を調べたところ、tmRT1 はその構造中の 100 番システイン残基にメチル水銀が結合することによって活性化され、TNF の発現誘導に関与している可能性が示唆された。

TNF 発現誘導に関わる tmRT1 中のドメイン解析

TNF の発現誘導に関わる tmRT1 のドメインを解析した結果、意外なことに、転写因子として機能する際に必要なホモボックスドメインは必須ではなく、TRAF6 結合ドメインが必須であることが明らかとなった。TRAF6 は炎症応答などによって活性化され、RelA を構成因子とする NF- κ B の転写活性化に関わるユビキチンリガーゼである。しかし、TRAF6 下流で NF- κ B の転写活性化に関与する TAK1 の活性を阻害してもメチル水銀による TNF の発現誘導にほとんど影響しなかった。TRAF6 の一部は核内にも存在し、核内蛋白質のユビキチン化を介した転写因子の活性化に関与することが知られている。TRAF6 の発現抑制によって tmRT1 高発現による TNF の発現誘導能が低下したことから、tmRT1 は転写因子として TNF の発現誘導に関与するのではなく、TRAF6 と共同して何らかの機構を介して TNF を発現誘導する可能性も否定できない。また、TRAF6 を高発現させることによって SDS-PAGE 上で分子量が増加した tmRT1 が新たに認められた。この高分子量化した tmRT1 はユビキチンリガーゼ活性を持たない変異 TRAF6 の高発現では認められなかった。しかし、tmRT1 のユビキチン化は検出されておらず、TRAF6 は他の因子のユビキチン化を介して間接的に tmRT1 の翻訳後修飾を促進する可能性が考えられる。

(3) TNF によるメチル水銀毒性増強機構

TNF によるメチル水銀毒性増強に関与するシグナル伝達系の同定

生体に近いメチル水銀毒性評価系としてマウス大脳皮質のスライス培養系を構築することに成功した。この大脳皮質のスライスをメチル水銀で処理することによって TNF の発現誘導が認められ、また、TNF とその受容体との結合を阻害する WPQ9Y の前処理によってメチル水銀が引き起こす神経細胞の脱落が抑制された。これらのことから、マウス大脳皮質のスライス培養系においてメチル水銀によって発現誘導された TNF が細胞外に放出された後に TNF 受容体と結合することによって神経細胞死を引き起こしている可能性が考えられる。

TNF が TNF 受容体と結合するとその細胞内ドメインに RIP1 がリクルートされ、細胞死に関わるシグナルが細胞内に伝達される。そこで、RIP1 をノックアウトした神経幹細胞を樹立したところ、対照細胞に比べてメチル水銀耐性を示し、tmRT1 発現抑制細胞では RIP ノックアウトによるメチル水銀耐性獲得はほとんど認められなかった。このことから、RIP1 は tmRT1 と同一経路でメチル水銀毒性増強に関与すると考えられる。RIP1 は caspase-8 の活性化を介したアポトーシスや、JNK のリン酸化を介したミトコンドリア傷害によるネクロトーシスを誘導することが知られている。RIP1 ノックアウト細胞ではメチル水銀によるアポトーシスが対照細胞と同様に誘導された。一方、メチル水銀による JNK の活性化およびミトコンドリアからの活性酸素種の産生は RIP1 ノックアウトによって抑制された。これらのことから、メチル水銀によって活性化された tmRT1 を介して発現誘導された TNF が TNF 受容体に結合すると、その下流で RIP1/JNK を介したネクロトーシスが誘導される可能性が考えられる。

ミクログリアの役割

メチル水銀による TNF 発現誘導にミクログリア(特に細胞傷害性ミクログリア; M1 ミクログリア)が関与していることを明らかにしている。そこで、ミクログリア阻害剤であるミノサイクリンでマウス大脳皮質スライスを前処理したところ、メチル水銀による TNF 発現誘導率が減弱し、さらにメチル水銀による神経細胞死も抑制された。また、リボソームに封入したクロドロン酸を用いて大脳皮質スライス中のミクログリアを選択的に除去した際にも、メチル水銀による神経細胞死が抑制された。これらのことから、メチル水銀によるミクログリアでの TNF 発現誘導が神経細胞死を惹起している可能性が示唆された。

TNF がそれ以外の細胞外放出性因子と協同して細胞増殖抑制に関与している可能性の検討
メチル水銀によって tmRT1 を介して発現誘導される遺伝子をマイクロアレイにより検索し、それらの中でメチル水銀毒性増強に関わる因子を検索した結果、オンコスタチン M (OSM) が同定された。OSM は IL-6 ファミリーの一つであり、細胞外に放出されるメッセンジャー蛋白質である。OSM の発現抑制はメチル水銀毒性を抑制することから、tmRT1 を介した OSM の発現誘導は TNF と同様に、メチル水銀の毒性発現に関与すると考えられる。(現在、OSM に関する研究は他の研究費を得て継続している)

(4) メチル水銀が示す脳選択的毒性の発現における TNF および tmRT1 の個体レベルでの役割
tmRT1 欠損マウスを作製することに成功し、TNF 欠損マウスも共同研究先より導入した。しかし、繁殖率の低さなどからホモ欠損マウスの作製と安定的な必要数確保システムの構築に時間がかかり、現在やっと実験が開始できる状況に至った。そのため、マウスでのメチル水銀による中枢神経障害発症における tmRT1 と TNF の関わりについては、研究期間内にデータを出すことができなかった。

(5) メチル水銀による脳組織特異的な TNF 発現誘導機構
上述のように、メチル水銀による TNF 発現誘導に関わることが判明した tmRT1 と RelB は共に大脳および小脳に特異的に発現しており肝臓や腎臓にはほとんど発現していないことが明らかとなった。したがって、これがメチル水銀による脳選択的な TNF 発現誘導の主要な機構であると考えられる。

(6) tmRT1 を介した TNF 発現誘導とメチル水銀以外の環境汚染物質の細胞毒性との関係
環境汚染金属

大脳皮質スライス培養系を用いた検討により、メチル水銀がミクログリアでの TNF 発現を誘導することによって神経細胞死を惹起している可能性が示されている。そこで、脳神経傷害を引き起こすことが知られているヒ素(亜ヒ酸)、有機スズ(TBT)および鉛(塩化鉛)についても同様の検討を行った。大脳皮質スライスを僅かに細胞毒性を示す濃度の各金属化合物で処理したところ、ヒ素でのみ TNF の発現誘導が認められた。しかし、本条件下ではミクログリアの活性化を示す形態的变化と細胞表面因子の発現上昇がほとんど認められなかった。このことは、ヒ素による TNF の発現誘導にミクログリアは関与しないことを示唆している。また、ミクログリア活性化を介した TNF の発現誘導は、ある程度メチル水銀による特異的な作用であり、本作用に tmRT1 が関与している可能性が考えられる。

酸化ストレス誘導物質
酸化ストレス誘導物質である過酸化水素、4-ニトロキノリン 1-オキシド(4-NQO)および tert-ブチルベンゾキノリン(TBQ)で A549 細胞(ヒト肺胞基底上皮腺癌細胞)を処理したところ、これら 3 種全ての物質によって tmRT1 の mRNA および蛋白質レベルが著しく増加した。これらの増加は転写阻害剤の前処理によってほとんど認められなくなったことから、酸化ストレス誘導物質による tmRT1 レベルの増加には tmRT1 遺伝子の転写促進が関与していると考えられる。また、tmRT1 を高発現させることによって 3 種の物質の細胞毒性がそれぞれ増強されたことから、酸化ストレスによって発現誘導された tmRT1 が細胞毒性を増強していることが示唆された。また、TNF 発現抑制は、tmRT1 発現抑制と同様に、3 種の物質に対する耐性を A549 細胞に与えたが、tmRT1 と TNF の発現を同時抑制させてもさらなる耐性獲得は認められなかった。これらのことから、メチル水銀の場合と同様に、TNF は tmRT1 と同一経路を介して酸化ストレスによる細胞毒性を増強している可能性が考えられる。過酸化水素に反応して活性化する tmRT1 プロモーター領域を検討したところ、tmRT1 遺伝子プロモーター上流の -250 から -500 の領域が重要であることが判明し、本領域に結合して tmRT1 の発現誘導に関わる転写因子として Sp1 が同定された。Sp1 の発現を抑制することによって過酸化水素による細胞毒性は減弱し、tmRT1 の発現抑制による過酸化水素誘導細胞死の更なる抑制は認められなくなった。これらのことから、Sp1 を介して発現誘導された tmRT1 が酸化ストレスによる細胞傷害に関与すると考えられる。

(7) tmRT1 活性を阻害する化合物の検索
様々なスクリーニング系を用いて検索を行ったが、tmRT1 の活性を効率良く阻害する化合物を見つかることはできなかった。

(8) LPS による tmRT1 を介した TNF- 発現誘導
マウス初代培養ミクログリアにおいて、LPS による炎症性サイトカインの発現誘導が認められ、この発現誘導は tmRT1 欠損によって顕著に低下した。一方、マウス骨髄由来のマクロファージにおいては、tmRT1 を欠損させても LPS による炎症性サイトカインの発現誘導が依然として認められた。マウス胎児由来繊維芽細胞(MEF)を LPS で処理することによって細胞質に存在する RelA を構成因子とする NF- κ B のリン酸化および核移行が認められるとともに、炎症性サイトカインの発現が顕著に誘導された。一方、tmRT1 を欠損させた MEF においては、依然として LPS による RelA のリン酸化および核移行が観察されたにも関わらず、炎症性サイトカインの発現誘導がほとんど認められなかった。tmRT1 はそのほとんどが核内に存在していることから、核内へ移動し

てきた RelA と tmRT1 が協調して LPS による炎症性サイトカインの発現誘導に関与していると考えられる。

(9) アミロイド 投与マウスの記憶障害における tmRT1 の関与

ミクログリアを介した炎症応答が様々な脳神経変性疾患に関与することが示唆されている。そこで、マウス脳室にアミロイド を直接投与することによってアルツハイマー病モデルを複製して行動試験を実施した。Y 迷路試験は短期記憶（海馬）の指標として、受動回避試験は長期記憶（大脳皮質）の指標として一般的に用いられている。その結果、アミロイド を投与したコントロールでは自発的交替行動率の低下および反応潜時の短縮が認められ、短期記憶および長期記憶がともに障害されていた。一方、tmRT1 欠損マウスにおいては、コントロールに比べてアミロイド 投与による受動回避の反応潜時の遅延が認められた。このことから、tmRT1 がアミロイド の脳内蓄積による長期記憶障害に関与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21件（うち査読付論文 21件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 21件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Toyama T., Xu S., Nakano R., Hasegawa T., Endo N., Takahashi T., Lee J.Y., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 The Nuclear Protein HOXB13 Enhances Methylmercury Toxicity by Inducing Oncostatin M and Promoting Its Binding to TNFR3 in Cultured Cells | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Cells | 6. 最初と最後の頁 45 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells9010045 | 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 Takahashi T., Kim M.S., Iwai-Shimada M., Hoshi T., Fujimura M., Toyama T., Fujiwara Y., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 71 |
| 2. 論文標題 Induction of chemokine CCL3 by NF- B reduces methylmercury toxicity in C17.2 mouse neural stem cells | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Environmental Toxicology and Pharmacology | 6. 最初と最後の頁 103216 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.etap.2019.103216 | 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 Kim M.S., Takahashi T., Lee J.Y., Toyama T., Hoshi T., Kuge S., Fujiwara Y., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Methylmercury induces the expression of chemokine CCL4 via SRF activation in C17.2 mouse neural stem cells | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 4631 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-41127-y | 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 Hoshi T., Toyama T., Shinozaki Y., Koizumi S., Lee J.Y., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 44 |
| 2. 論文標題 Evaluation of M1-microglial activation by neurotoxic metals using optimized organotypic cerebral slice cultures | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences | 6. 最初と最後の頁 471-479 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2131/jts.44.471 | 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 Hoshi T., Toyama T., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Methylmercury causes neuronal cell death via M1-microglial activation in organotypic slices prepared from mouse cerebral cortex | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Fundamental Toxicological Sciences | 6. 最初と最後の頁 167-170 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.2131/fts.6.167 | 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 Takahashi T., Kim M.S., Iwai-Shimada M., Fujimura M., Toyama T., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 Chemokine CCL4 induced in mouse brain has a protective role against methylmercury toxicity | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Toxics | 6. 最初と最後の頁 6 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxics6030036 | 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 Sato M., Toyama T., Lee J.Y., Miura N., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 356 |
| 2. 論文標題 Activation of ornithine decarboxylase protects against methylmercury toxicity by increasing putrescine | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Toxicology and Applied Pharmacology | 6. 最初と最後の頁 120-126 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.taap.2018.08.002 | 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 Kobayashi T., Toyama T., Lee J.Y., Miura N., Kuge S., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 1 |
| 2. 論文標題 Methylmercury induces cytotoxicity through inhibition of PTEN activity by a decrease in its solubility | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 BPB Reports | 6. 最初と最後の頁 1-15 |
| 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 - |

| | |
|---|------------------|
| 1. 著者名 Lee J.Y., Tokumoto M., Hwang G.W., Kim M.S., Takahashi T., Naganuma A., Yoshida M. and Satoh M. | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Effect of metallothionein-III on mercury-induced chemokine gene expression | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Toxics | 6. 最初と最後の頁 48 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxics6030048 | 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 Sato M., Lee J.Y., Kim M.S., Takahashi T., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 Putrescine selectively alleviates methylmercury toxicity in C17.2 mouse neural stem cells | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Fundamental Toxicological Sciences | 6. 最初と最後の頁 71-73 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/fts.5.71 | 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 Zhang Z.T., Ogiwara Y., Ito Y., Hikida A., Miura N., Kuge S., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 1861 |
| 2. 論文標題 Akr1 attenuates methylmercury toxicity through the palmitoylation of Meh1 as a subunit of the yeast EGO complex | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Biochim. Biophys. Acta. | 6. 最初と最後の頁 1729-1736 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2017.03.009 | 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 Takahashi T., Wang Y., Toyama T., Kim M.S., Kuge S., Hwang G.W. and Naganuma A. | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 Small interfering RNA-mediated knockdown of the transcription factor TCF3 enhances sensitivity to methylmercury in mouse neural stem cells | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Fundam. Toxicol. Sci. | 6. 最初と最後の頁 41-43 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.2131/fts.4.41 | 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 Kim M.S., Takahashi T., Lee J.Y., Miura N., Asanuma M., Hwang G.W. and Naganuma A. | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 Identification of transcription factors activated by methylmercury in mouse brain | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Fundam. Toxicol. Sci. | 6. 最初と最後の頁 37-39 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/fts.4.37 | 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 Hwang G.W., Fukumitsu T., Ogiwara Y., Takahashi T., Miura, N., Kuge S. and Naganuma A. | 4. 巻 1860 |
| 2. 論文標題 Whi2 enhances methylmercury toxicity in yeast via inhibition of Akr1 palmitoyltransferase activity | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Biochim. Biophys. Acta. | 6. 最初と最後の頁 1326-1333 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2016.03.026 | 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 Iwai-Shimada M., Takahashi T., Kim M.S., Fujimura M. Ito H., Toyama T., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Methylmercury induces the expression of TNF- selectively in the brain of mice | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Sci. Rep. | 6. 最初と最後の頁 38249 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep38294 | 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 Ogiwara Y., Miura N., Kuge S., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 3 |
| 2. 論文標題 Overexpression of palmitoyl transferase HIP14 confers resistance to methylmercury in SH-SY5Y human neuroblastoma cells | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Fundam. Toxicol. Sci. | 6. 最初と最後の頁 75 - 77 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://doi.org/10.2131/fts.3.75 | 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 Lee J.Y., Ishida Y., Takahashia T., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Transport of pyruvate into mitochondria is involved in methylmercury toxicity | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Sci. Rep. | 6. 最初と最後の頁 21518 - 21528 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep21518 | 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 Lee J.Y., Ishida Y., Kuge S., Naganuma A. and Hwang G.W. | 4. 巻 589 |
| 2. 論文標題 Identification of substrates of F-box protein involved in methylmercury toxicity in yeast cells | 5. 発行年 2015年 |
| 3. 雑誌名 FEBS Letters | 6. 最初と最後の頁 2720-2725 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.febslet.2015.08.016 | 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 Toyama T., Murakami S., Kuge S., Hwang G.W. and Naganuma A. | 4. 巻 2 |
| 2. 論文標題 Methylmercury induces release of a cytotoxic factor from HEK293 cells into medium | 5. 発行年 2015年 |
| 3. 雑誌名 Fundam. Toxicol. Sci. | 6. 最初と最後の頁 223-226 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://doi.org/10.2131/fts.2.223 | 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 Toyama T., Hwang G.W. and Naganuma A. | 4. 巻 2 |
| 2. 論文標題 Metabolomic analysis of low molecular weight substances released into medium from HEK293 cells treated with methylmercury | 5. 発行年 2015年 |
| 3. 雑誌名 Fundam. Toxicol. Sci. | 6. 最初と最後の頁 227-228 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://doi.org/10.2131/fts.2.227 | 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 Toyama T., Hwang G.W. and Naganuma A. | 4. 巻 2 |
| 2. 論文標題 Citrulline enhances methylmercury toxicity in HEK293 and C17.2 cells | 5. 発行年 2015年 |
| 3. 雑誌名 Fundam. Toxicol. Sci. | 6. 最初と最後の頁 229-231 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://doi.org/10.2131/fts.2.229 Letter | 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113件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 37件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 星 尚志、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 メチル水銀によるASK1/p38経路を介したTNF- 発現誘導機構 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第140年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 角田 洋平、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 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 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第140年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hoshi T., Toyama T., Naganuma A. and Hwang G.W. |
| 2. 発表標題 A mechanism underlying methylmercury-induced TNF- expression in mouse brain |
| 3. 学会等名 59th Annual Meeting of the Society of Toxicology (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Toyama T., Xu S., Nakano R., Hasegawa T., Naganuma A. and Hwang G.W. |
| 2. 発表標題 A mechanism underlying the enhancement of methylmercury toxicity through activation of transcription factor HOXB13 |
| 3. 学会等名 59th Annual Meeting of the Society of Toxicology (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Toyama T. |
| 2. 発表標題 Redox regulation of microglial activation by methylmercury |
| 3. 学会等名 Gordon Research Conference Oxygen Radicals (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Toyama T., Tsunoda Y., Hoshi T., Naganuma A. and Hwang G.W. |
| 2. 発表標題 Methylmercury causes neuronal cell death by impairing mitochondrial function via TNF receptor X |
| 3. 学会等名 SfRBM 26th Annual Conference (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Hwang G.W. |
| 2. 発表標題 Health risks associated with methylmercury exposure and molecular toxicological approaches for its study |
| 3. 学会等名 Annual Meeting 2019 of the Korean Environmental Sciences Society (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 角田 洋平、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 メチル水銀によるTNF受容体3を介した細胞死に関わる下流シグナル |
| 3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2019 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 外山 喬士、黄 唯迄、許 思迪、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 メチル水銀毒性増強因子tmRT1を介したオンコスタチンMの発現誘導 |
| 3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2019 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 金子 千華、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 メチル水銀によるtmRT1/RelB経路を介したTNF- α の発現誘導 |
| 3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2019 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 角田 洋平、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 マウス神経幹細胞におけるメチル水銀によるTNF受容体3を介した細胞死誘導機構 |
| 3. 学会等名 第58回日本薬学会東北支部大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hoshi T., Toyama T., Naganuma A. and Hwang G.W. |
| 2. 発表標題 Establishment of organotypic brain slice culture that can evaluate M1-microglial activation |
| 3. 学会等名 2019 Japan/Korea Joint Symposium on Pharmaceutical Health Science and Environmental Toxicology (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tsunoda Y., Toyama T., Naganuma A. and Hwang G.W. |
| 2. 発表標題 Involvement of TNF receptor 3 in the neuronal damage caused by methylmercury in mouse brain and its expected mechanisms |
| 3. 学会等名 2019 Japan/Korea Joint Symposium on Pharmaceutical Health Science and Environmental Toxicology (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 角田 洋平、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 メチル水銀によるTNF受容体3を介したミトコンドリア機能障害 |
| 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 Hoshi T., Toyama T., Naganuma A. and Hwang G.W. |
| 2. 発表標題 Induction mechanism of TNF- expression by methylmercury in microglial BV-2 cells |
| 3. 学会等名 The 39th Annual International Conference of Toxicology (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Toyama T., Osaki K., Hwang G.W. and Naganuma A. |
| 2. 発表標題 Elucidation of the mechanisms involved in methylmercury toxicity enhancement showed by the novel transcription factor tmRT1 |
| 3. 学会等名 The 39th Annual International Conference of Toxicology (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 角田 洋平、外山 喬士、星 尚志、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 メチル水銀によるTNF受容体3を介した細胞死誘導機構の解明 |
| 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 星 尚志、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 メチル水銀投与とマウス脳内でのTNF- 発現誘導に関わる細胞種の特定とその機構 |
| 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 金子 千華、外山 喬士、永沼 章、黄 基旭 |
| 2. 発表標題 RelB介したメチル水銀によるTNF- 発現誘導におけるtmRT1の役割 |
| 3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Hwang G.W. | 4. 発行年 2017年 |
| 2. 出版社 CRC press | 5. 総ページ数 24 |
| 3. 書名 Toxicity of metals. Lu's basic toxicology: fundamentals, target organs, and risk assessment | |

〔産業財産権〕

〔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 |
|-----------|---|---------------------------------------|----|
| 研究 分担者 | 黄 基旭 (Hwang Gi-Wook) (00344680) | 東北大学・薬学研究科・准教授 (11301) | |
| 研究 分担者 | 外山 喬士 (Toyama Takashi) (50720918) | 東北大学・薬学研究科・助教 (11301) | |