

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K18201

研究課題名(和文) 鯨類由来誘導神経細胞を用いた環境汚染物質の神経毒性評価

研究課題名(英文) Neurotoxicity assessment of environmental pollutants using differentiated dolphin nerve cells

研究代表者

落合 真理(Ochiai, Mari)

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・特任助教

研究者番号：70612662

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、日本沿岸に分布する鯨類を対象に環境汚染物質の細胞毒性評価に関する研究を推進した。瀬戸内海のスナメリから培養した線維芽細胞を用いて、鯨類の体内に残留するポリ塩化ビフェニル(PCBs)等が細胞死を引き起こすことを明らかにした。また、茨城県銚田市に集団座礁したカズハゴンドウから体細胞を培養し、神経細胞へ直接分化誘導することに成功した。誘導神経細胞をPCBsの代謝物に24時間曝露したところ、80%の細胞で能動的な細胞死(アポトーシス)が観察され、神経変性疾患に関連する遺伝子の発現量が変動するという知見も得られた。本研究結果から、環境汚染物質への曝露による鯨類の健康影響を指摘した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鯨類における環境汚染物質の蓄積が問題視されているが、これまでその毒性影響の調査は倫理的および技術的な問題から困難であった。本研究ではこの点について打開し、死亡漂着した個体から体細胞を培養することで、化学物質への曝露による鯨類のリスク評価を可能とした。また、鯨類の体細胞から神経細胞へ分化誘導する技術も開発し、神経毒性についても評価可能となった。本研究の成果は多種多様な動物種に応用できることから、今後は希少種や絶滅危惧種の保全に関する研究にも役立てることが可能である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we promoted research on cytotoxicity evaluation of environmental pollutants in whales distributed along the coast of Japan. Using fibroblasts cultured from a finless porpoise in the Seto Inland Sea, it was clarified that polychlorinated biphenyls (PCBs) accumulated in the body of the porpoises cause cell death. In addition, we succeeded in direct reprogramming of fibroblasts into nerve cells by treating whale somatic cells with a cocktail of small compounds for several weeks. When induced neurons were exposed to a metabolite of PCBs for 24 hours, programmed cell death (apoptosis) was observed in 80% of the cells, and it was also found that the expression level of genes associated with neurodegenerative diseases altered. From the results of this research, we pointed out the deleterious effects of environmental pollutants on whale health.

研究分野：環境毒性学、環境化学

キーワード：鯨類 環境汚染物質 細胞毒性 神経毒性 細胞培養 リスク評価 ダイレクトリプログラミング iPS細胞

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

鯨類は海洋生態系の頂点に位置するため、食物連鎖を介して環境汚染物質を高濃度に濃縮している¹。これらの化合物は、生殖機能や免疫力に直接関わる内分泌系に影響を及ぼすことが知られている²。これまで、化学物質による汚染が進んでいる海域では、免疫力低下によるハンドウイルカなどの鯨類の大量死³や、ストランディングなどの行動異常が頻発しており⁴、環境汚染物質との関連性が疑われている。これら化合物は脂皮に残留するだけでなく、脳などの作用部位に達し悪影響を及ぼすことが示唆されている。実際に、マウス初代神経細胞の曝露試験では、極低濃度 (50 pM) の水酸化ポリ塩化ジフェニル (OH-PCBs) の曝露により樹状突起の形態変化が誘発⁵されることや、小脳由来細胞の遺伝子転写活性化能の抑制やアポトーシス⁶が報告されている。

これまでの研究により、複数種の鯨類の血液と脳から残留性有機汚染物質およびその代謝物を検出した⁷。鯨種の脳から検出された OH-PCBs 濃度は、マウス初代神経細胞における軸索伸長を阻害⁵した濃度を超過していたことから、鯨類の脳に及ぼす環境汚染物質のリスクが危惧された。このような理由から、鯨類の中枢神経に対する環境汚染物質のリスク評価が急務である。しかしながら、法的小および倫理的配慮により、野生の鯨類を対象とした毒性学的調査は困難であり、情報が不足している。特に神経毒性に関する報告例はこれまで皆無であった。このような状況から、これまでは動物実験で得られたデータから環境汚染物質への曝露による鯨類のリスクが推測されてきたが、齧歯類と鯨類では化学物質曝露に対する感受性の種差が大きいことが知られている。したがって、鯨類に対する環境汚染物質の毒性影響を解明するためには、鯨類由来の細胞を使用し、体内に残留する化合物濃度に基づいて解析することが求められる。

2. 研究の目的

本研究では、鯨類の細胞を用いて環境汚染物質の毒性影響を評価し、野生の鯨類における環境化学物質のリスク評価を目的とした (図1)。海岸に死亡漂着又は漁網に混獲された鯨類の組織から線維芽細胞を培養し、環境汚染物質への曝露による毒性影響を解析する。鯨類由来線維芽細胞を再生医療の先端技術を応用し iPS 細胞を作成する。これらの細胞をさらに神経細胞へ分化誘導し、誘導神経細胞を用いて環境汚染物質の神経毒性の解析を試みる。鯨類体内の汚染物質濃度から適切な曝露濃度を設定し、*in vitro*系で用量-応答関係を解析することで、環境汚染物質曝露による神経系への影響やその作用機序を解明し、さらにはリスクを評価することができる。本研究が成功すれば、これまで倫理的・技術的に困難と考えられていた鯨類を対象とする環境汚染物質の非侵襲的な神経毒性研究が可能となる。

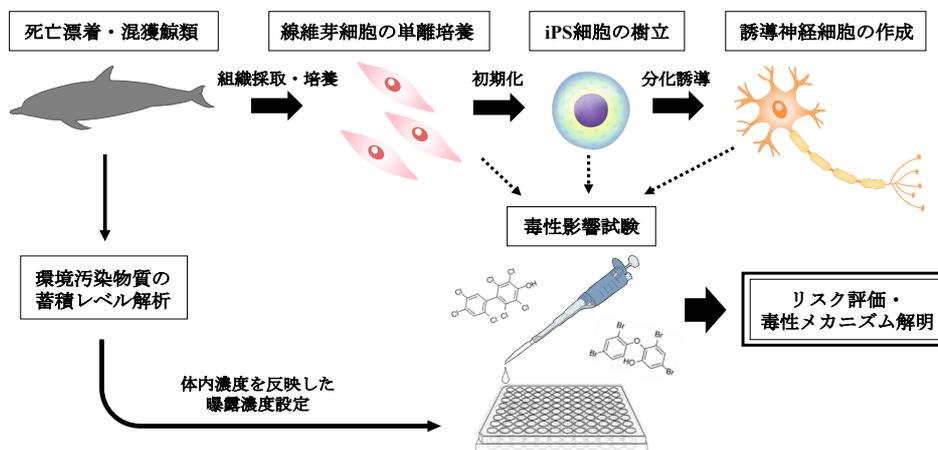


図1 本研究の構想

3. 研究の方法

(1) 鯨類の細胞ストックの作成

日本沿岸に死亡漂着又は混獲された鯨類個体から組織の一部を採取し、線維芽細胞を培養した。細胞の品質管理として微生物およびマイコプラズマ汚染のないことを確認した。細胞の増殖率および凍結融解の状態が良い細胞については継代し、細胞ストックを作成した。初代培養細胞ならびに低継代数の細胞 (2~5 継代目まで) を愛媛大学生物環境試料バンク (es-BANK) の大型液体窒素タンクにて凍結保存し、セルバンクでの保存体制を整備した。

(2) 鯨類線維芽細胞を用いた毒性影響評価

瀬戸内海に分布するスナメリ (*Neophocaena asiaorientalis*) の漂着個体から培養したの線

維芽細胞に17種類の化合物〔ポリ塩化ビフェニル (PCBs) およびその代謝物 (OH-PCBs)、農薬・殺虫剤 (DDTs)、ダイオキシン (2, 3, 7, 8-TCDD)、臭素化難燃剤 (PBDEs)、およびメチル水銀〕を曝露し、細胞毒性 (細胞死・アポトーシス・細胞生存率の低下) を評価した。

(3) 鯨類 iPS 細胞の樹立と神経細胞への分化誘導

セルバンクに保存した複数種の鯨類 (スナメリ、ネズミイルカ *Phocoena phocoena*、ハンドウイルカ *Tursiops truncatus*、ユメゴンドウ *Feresa attenuata*、シャチ *Orcinus orca*、マッコウクジラ *Physeter macrocephalus*) の線維芽細胞を用いて、鯨類 iPS 細胞の樹立を試みた。上記鯨類およびヒトの線維芽細胞について山中 4 因子を含む 6 種の初期化因子を導入し、エレクトロポレーションによるトランスフェクション効率を最適化した。得られたコロニーを顕微鏡下で単離し、フィーダー細胞上に重層した。3-4 週間後にコロニーの形成を確認した後、継代時に酵素によりシングルセルの状態に解離させ、フィーダーレス培養に切り替えた。これらの細胞についてアルカリフォスファターゼ、TRA-1-60、SSEA-3、SSEA-4 抗体を用いた免疫染色と NANOG、SOX2、OCT3/4 の遺伝子発現を解析した。

鯨類 iPS 様細胞を三胚葉へ分化し、3 種マーカー (外胚葉 : *Otx2*, 中胚葉 : *Brachyury*, 内胚葉 : *SOX17*) により染色した。さらに、胚様体および神経前駆細胞を作成し、神経前駆細胞マーカー (*Nestin*, *SOX2*, *OCT3/4*) により染色した。Gunhanlar et al. (2018)⁸ の手法を基に、鯨類 iPS 様細胞から成熟ニューロンへの分化を試み、得られた細胞について免疫染色および遺伝子発現を解析した。

(4) 鯨類線維芽細胞から神経細胞への直接分化誘導 (ダイレクトリプログラミング)

鯨類 iPS 細胞の樹立やそれらの細胞に由来する誘導神経細胞の作成は課題が多く見つかったため、体細胞から後天的な修飾を取り除き、神経細胞へ直接分化誘導するダイレクトリプログラミングの手法を検討した。

茨城県銚子市の海岸に集団座礁した 4 個体のカズハゴンドウ (*Peponocephala electra*) から組織を採取し、線維芽細胞を培養した。これらの細胞を低分子化合物 (7.5 μM forskolin, 5 μM pifithrin-α, 2 μM SB43154, 1 μM CHIR99021, 1 μM LDN193189, 1 μM PD0325901) の混合液で 3 週間処理することで神経細胞へ分化させた。免疫染色および次世代シーケンサーによる遺伝子発現量 (トランスクリプトーム) 解析により得られた細胞の特性を解析した。

(5) 誘導神経細胞を用いた毒性影響評価

誘導神経細胞に PCBs の代謝物である 4' OH-CB72 (20 μM) を 24 時間曝露し、TUNEL アッセイにより能動的な細胞死 (アポトーシス) を解析した。また、トランスクリプトーム解析により曝露前後の細胞で変動した遺伝子群を特定した。

4. 研究成果

(1) 鯨類培養細胞系の構築

本研究ではまず、日本沿岸に死亡漂着・混獲した鯨類の組織から線維芽細胞を培養し、細胞の凍結保存ストックを作成した。線維芽細胞は初代培養から 3 代目まで継代した細胞を凍結保存し、凍結細胞は融解後、再培養可能であることを確認した。培養に成功した細胞については、愛媛大学生物環境試料バンク (es-BANK) の大型液体窒素タンクにてストック細胞を保存した。助成期間中に、ハクジラ亜目、ヒゲクジラ亜目を含む 21 種 69 個体の鯨類について凍結細胞のストックを保存した (表 1)。

表 1 凍結保存した鯨類線維芽細胞のリスト

分類	鯨種	種名	個体数	備考	
ハクジラ 亜目	ネズミイルカ科	スナメリ	<i>Neophocaena asiaorientalis</i>	20	
		ネズミイルカ	<i>Phocoena phocoena</i>	5	
		イシイルカ	<i>Phocoena dalli</i>	1	
	マイルカ科	ハンドウイルカ	<i>Tursiops truncatus</i>	2	
		スジイルカ	<i>Stenella coeruleoalba</i>	2	
		カマイルカ	<i>Lagenorhynchus obliquidens</i>	2	
		ハセイルカ	<i>Delphinus capensis</i>	1	
		シロイルカ	<i>Steno bredanensis</i>	10	集団座礁
		サワラクイルカ	<i>Lagenodelphis hosei</i>	1	
		ハナゴンドウ	<i>Grampus griseus</i>	3	
		カズハゴンドウ	<i>Peponocephala electra</i>	5	集団座礁
		ユメゴンドウ	<i>Feresa attenuata</i>	4	集団座礁
		シャチ	<i>Orcinus orca</i>	1	
	コマッコウ科	オガワコマッコウ	<i>Kogia sima</i>	1	
	マッコウクジラ科	マッコウクジラ	<i>Physeter macrocephalus</i>	2	集団座礁
		アカボウクジラ	<i>Ziphius cavirostris</i>	1	
	アカボウクジラ科	ハップスオウギハクジラ	<i>Mesoplodon carlhubbsi</i>	4	
		イチョウハクジラ	<i>Mesoplodon ginkgodens</i>	1	
		オウギハクジラ	<i>Mesoplodon stejnegeri</i>	1	
ヒゲクジラ 亜目	ナガスクジラ科	ナガスクジラ	<i>Balaenoptera physalus</i>	1	
		ミンククジラ	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	1	

(2) スナメリの線維芽細胞を用いた環境汚染物質の毒性影響評価

スナメリの線維芽細胞を用いて、野生個体群に対する環境汚染物質のリスクを評価した⁹。曝露試験に用いた多くの化合物は高濃度で細胞死を引き起こし、中でもダイオキシン様化合物 (2, 3, 7, 8-TCDD およびダイオキシン様 PCBs) は他の化合物よりも強い細胞損傷を引き起こした (図 2)。PCBs とその代謝物 (OH-PCBs) の毒性には差があり、これらの化合物は異なるメカニ

ズムによって細胞毒性を引き起こしていることが予想された。多くの鯨種の体内に比較的高い濃度で蓄積している DDTs についても、用量依存的な細胞毒性が確認された。DDTs の中では、 p, p' -DDT は最も強い細胞毒性を示したが、 p, p' -DDE は特に細胞生存率に影響を与えることが明らかになった。メチル水銀については、最高濃度 (100 μ M) で細胞壊死を誘発した。

環境汚染物質への曝露が瀬戸内海のスナメリ個体群に及ぼす影響について調査するため、曝露一活性比 (EAR) を推定した。EAR は細胞毒性の半数影響濃度 (EC_{50}) と鯨類の体内に残留する化合物の濃度を比較することにより算出し、リスクの高い化合物を選定した。EAR 推定の結果、瀬戸内海のスナメリに対しては、PCBs および DDTs が細胞毒性の誘発に寄与するリスクが高い化合物であることが明らかになった。これらの化合物はスナメリの体内に残留する濃度でも細胞死等の影響が観察されたため、生体内でも細胞毒性が起こっていることが予想された。瀬戸内海に分布するスナメリは、特に PCBs の濃度が日本近海に分布する他の鯨類よりも相対的に高いため、その毒性影響が懸念される。今後は多種の鯨類についても環境汚染物質のリスクをより包括的に理解することが急務である。

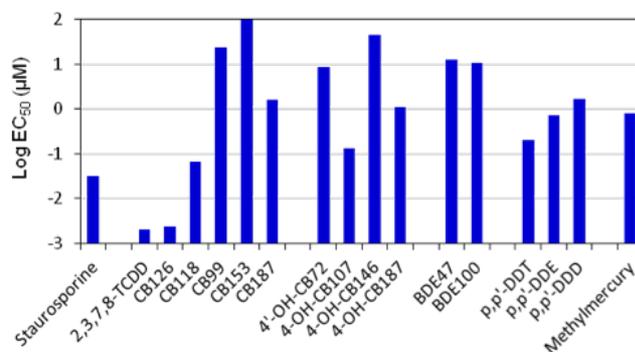


図 2 スナメリ線維芽細胞における細胞死の EC_{50} 値

(3) 鯨類およびヒト iPS 細胞の樹立

初期化因子を導入した 6 種鯨類の線維芽細胞をフィーダー細胞上に継代したところ、約 4 週間後には 1~2 mm のコロニーが複数形成された。アルカリフォスファターゼ、TRA-1-60、SSEA-3、SSEA-4 抗体による免疫染色で陽性反応が得られた。また、PCR 解析により NANOG、SOX2、OCT3/4 の発現が認められた。スナメリ iPS 様細胞について三胚葉へ分化した結果、3 種マーカー (外胚葉: *Otx2*, 中胚葉: *Brachyury*, 内胚葉: *SOX17*) による染色で陽性であった。これらの結果から、スナメリ iPS 様細胞の未分化状態が示唆された。

ヒトの線維芽細胞から作成した iPS 細胞では、コロニーの順調な増殖も認められ、細胞の凍結・融解も正常に行うことができた。しかしながら、鯨類細胞においてはいくつかの問題点が浮上した。初期化因子を導入し、電気的パラメーターを検討することでトランスフェクション効率の至適化を試みたが、鯨類細胞について導入後の細胞生存率を 20% 以上に上げる事はかなわなかった。また、鯨類由来 iPS 様コロニーは分散しても増殖が見られず、細胞が立体的に凝集する傾向が見られた。しかしながらこの点については、コロニーを酵素処理することで解決できた。

(4) 鯨類 iPS 細胞由来誘導神経細胞の作成

スナメリ iPS 様細胞を用いて胚様体を形成した後、神経前駆細胞を作成し、神経前駆細胞マーカー (*Nestin*, *SOX2*, *OCT3/4*) による染色で陽性が確認できた。しかしながら、スナメリ iPS 様細胞から成熟ニューロンへの分化を試みた結果、クラス III β チューブリン (*Tuj-1*) 抗体では陽性であるものの、神経特有の形態変化は観察されなかった。陽性対象として用いたヒト iPS 細胞では、同手法を用いて神経細胞への形状変化が確認されたため、今後は鯨類 iPS 細胞に適した神経細胞への分化誘導法の検討が課題である。

(5) ダイレクトリプログラミングによる鯨類の誘導神経細胞の樹立と環境汚染物質による神経毒性影響評価

本研究では、鯨類の線維芽細胞を用いて、iPS 細胞を介さず神経細胞へ直接分化誘導 (ダイレクトリプログラミング) することに始めて成功した (図 3)¹⁰。カズハゴンドウの線維芽細胞を低分子化合物の混合液で数週間処理したところ、神経様の形態を持つ細胞が得られた。この細胞について複数種の抗体を用いて免疫染色を行った結果、神経細胞マーカー (*Tuj-1*, *MAP2*) では陽性反応を示し、アストロサイトとオリゴデンドロサイトのマーカー (*GFAP*, *CNPase*) に対しては陰性反応を示した。加えて、遺伝子発現解析によっても、誘導神経細胞では神経関連遺伝子であるシナプトフィジン (*SYP*) やスタミン 3 (*STMN3*) の発現量が増加し、線維芽細胞関連遺伝子であるエラスチン (*ELN*) の発現量の低下が認められたことから、ダイレクトリプログラミングによって鯨類の誘導神経細胞が得られたことが裏付けられた。



図 3 カズハゴンドウの線維芽細胞 (A)、誘導神経細胞 (B)、免疫染色後の誘導神経細胞 (C) 緑: *Tuj-1*、赤: *MAP2*

カズハゴンドウの誘導神経細胞を用いて、PCBs の代謝物 (4'-OH-CB72, 20 μ M) による神経毒

性を評価した。結果として、細胞の80%以上でアポトーシス（能動的な細胞死）が観察され、アポトーシス陽性細胞は溶媒対照と比較して1.8～2.4倍増加した。4'-OH-CB72を曝露した鯨類誘導神経細胞の転写産物（トランスクリプトーム）を溶媒対照と比較した結果、アポトーシス誘導因子1

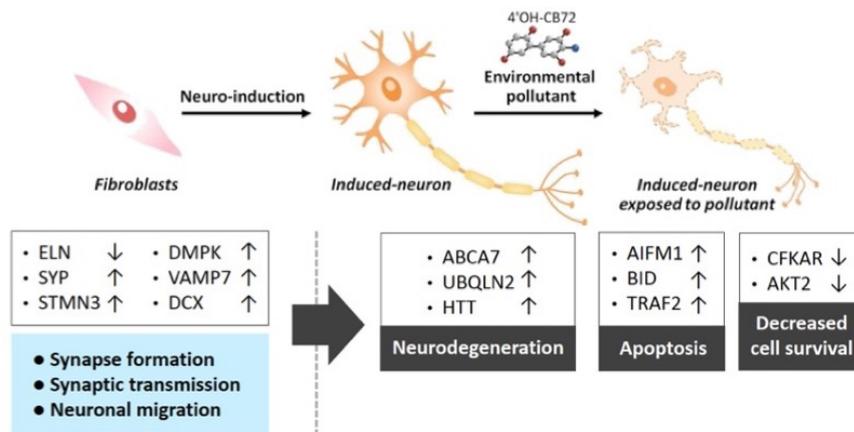


図4 実験の概念図および主要な変動遺伝子

(*AIFM1*)、BH3 共役ドメイン死アゴニスト (*BID*)、腫瘍壊死因子受容体関連因子2 (*TRAF2*) などの複数のアポトーシス関連遺伝子の変動量が増加していた (図4)。対照的に、細胞の生存に関連する *CFKAR* や *AKT2* 等の遺伝子群は発現量が減少していた。

さらに4'-OH-CB72に曝露したカズハゴンドウの誘導神経細胞で、アルツハイマー病・ハンチントン病・筋萎縮性側索硬化症など、神経変性疾患に関与する多数の遺伝子について発現量の変動が認められた。変動した遺伝子群の解析により、軸索輸送・ミトコンドリア機能障害・クロマチン分解、およびユビキチン-プロテアソームシステムの細胞シグナル伝達経路の攪乱が示唆された。これらシグナル伝達経路に対する影響がみられたことから、4'-OH-CB72の曝露は神経細胞のアポトーシスを介して神経変性疾患を誘発すると予想された。本研究で開発した手法は、神経毒性試験法が開発されていない動物種への応用が期待できると考えている。

引用文献

- 1) Tanabe, S. (1988) PCB problems in the future: Foresight from current knowledge. *Environ. Pollut.* 50, 5-28
- 2) Schwacke, L.H., Voit, E.O., Hansen, L.J., *et al.* (2002) Probabilistic risk assessment of reproductive effects of polychlorinated biphenyls on bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Southeast United States coast. *Environ. Toxicol. Chem.* 21(12) 2752-2764.
- 3) Lipscomb, T.P., Yvonne, S.F., Deborah, M. *et al.* (1994) Morbilliviral Disease in Atlantic Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*) from the 1987-1988 Epizootic. *J. Wildl. Dis.* 30(4) 567-571.
- 4) Aguilar, A. and Borrell, A. (1994) Abnormally high polychlorinated biphenyl levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) affected by the 1990-1992 Mediterranean epizootic. *Sci. Total Environ.* 154, 237-247.
- 5) Kimura-Kuroda, J., Nagata, I. and Kuroda, Y. (2007) Disrupting effects of hydroxyl-polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on neuronal development of cerebellar Purkinje cells: A possible causal factor for developmental brain disorders? *Chemosphere*, 67, S412-S420.
- 6) Iwasaki, T., Miyazaki, W., Takeshita, A., *et al.* (2002) Polychlorinated biphenyls suppress thyroid hormone-induced transactivation. *Biochemical and biophysical research communications* 299, 384-388.
- 7) Ochiai, M., Nomiyama, K., Isobe, T. *et al.* (2012) Transfer potency and accumulation features of halogenated phenolic compounds into the brain of finless porpoise (*Neophocaena phocaenoides*). *Organohalogen Compd.* 74, 935-938.
- 8) Gunhanlar, N., Shpak, G., van der Kroeg, M. *et al.* (2018) A simplified protocol for differentiation of electrophysiologically mature neuronal networks from human induced pluripotent stem cells. *Mol Psychiatry* 23, 1336-1344.
- 9) Ochiai, M., Kurihara, N., Hirano, M., *et al.* (2020) *In vitro* cytotoxicity and risk assessments of environmental pollutants using fibroblasts of a stranded finless porpoise (*Neophocaena asiaeorientalis*). *Environ. Sci. Technol.* 54(11) 6832-6841.
- 10) Ochiai, M., Nguyen, H.T., Kurihara, N., *et al.* (2021) Directly Reprogrammed Neurons as a Tool to Assess Neurotoxicity of the Contaminant 4-Hydroxy-2',3,5,5'-tetrachlorobiphenyl (4'-OH-CB72) in Melon-Headed Whales. *Environ. Sci. Technol.* 55(12) 8159-8168.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ochiai Mari, Nguyen Hoa Thanh, Kurihara Nozomi, Hirano Masashi, Tajima Yuko, Yamada Tadasu K., Iwata Hisato	4. 巻 55
2. 論文標題 Directly Reprogrammed Neurons as a Tool to Assess Neurotoxicity of the Contaminant 4-Hydroxy-2,3,5,5-tetrachlorobiphenyl (4-OH-CB72) in Melon-Headed Whales	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental Science & Technology	6. 最初と最後の頁 8159 ~ 8168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.est.1c01074	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 Ochiai Mari, Kurihara Nozomi, Hirano Masashi, Nakata Akifumi, Iwata Hisato	4. 巻 54
2. 論文標題 In Vitro Cytotoxicity and Risk Assessments of Environmental Pollutants Using Fibroblasts of a Stranded Finless Porpoise (<i>Neophocaena asiaeorientalis</i>)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Science & Technology	6. 最初と最後の頁 6832 ~ 6841
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.est.9b07471	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 Kunisue Tatsuya, Goto Akitoshi, Sunouchi Tomoya, Egashira Kana, Ochiai Mari, Isobe Tomohiko, Tajima Yuko, Yamada Tadasu K., Tanabe Shinsuke	4. 巻 269
2. 論文標題 Anthropogenic and natural organohalogen compounds in melon-headed whales (<i>Peponocephala electra</i>) stranded along the Japanese coastal waters: Temporal trend analysis using archived samples in the environmental specimen bank (es-BANK)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 129401 ~ 129401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2020.129401	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 Nguyen Hoa Thanh, Yamamoto Kimika, Iida Midori, Agusa Tetsuro, Ochiai Mari, Guo Jiahua, Karthikraj Rajendiran, Kannan Kurunthachalam, Kim Eun-Young, Iwata Hisato	4. 巻 720
2. 論文標題 Effects of prenatal bisphenol A exposure on the hepatic transcriptome and proteome in rat offspring	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science of The Total Environment	6. 最初と最後の頁 137568 ~ 137568
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2020.137568	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 該当する

1. 著者名 OHISHI Kazue, AMANO Masao, NAKAMATSU Ken, MIYAZAKI Nobuyuki, TAJIMA Yuko, YAMADA Tadasu K., MATSUDA Ayaka, OCHIAI Mari, MATSUIISHI Takashi F., TARU Hajime, IWAO Hajime, MARUYAMA Tadashi	4. 巻 82
2. 論文標題 Serologic survey of <i>Brucella</i> infection in cetaceans inhabiting along the coast of Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 43 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.19-0481	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 Ochiai M., Kurihara N., Matsuda A., Nakagun S., Shiozaki A., Nakata A., Matsuishi T., Kunisue T., Iwata H.	4. 巻 295
2. 論文標題 In vitro cytotoxicity assessments of persistent organic pollutants using cetacean fibroblasts	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Toxicology Letters	6. 最初と最後の頁 S116 ~ S116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxlet.2018.06.654	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 Nakagun S, Shiozaki A, Ochiai M, Matsuda A, Tajima Y, Matsuishi T, Watanabe K, Horiuchi N, Kobayashi Y	4. 巻 127
2. 論文標題 Prominent hepatic ductular reaction induced by <i>Oschmarinella macrorchis</i> in a Hubbs' beaked whale <i>Mesoplodon carlhubbsi</i> , with biological notes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diseases of Aquatic Organisms	6. 最初と最後の頁 177 ~ 192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3354/dao03201	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 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Kohei Morita, Mari Ochiai, Tomoya Sunouchi, Akira Shiozaki, Nozomi Kurihara, Masao Amano, Tatsuya Kunisue, Hisato Iwata
2. 発表標題 In vitro evaluation of cytochrome P450 1 inducibility by exposure to TCDD and FICZ in finless porpoise fibroblasts.
3. 学会等名 SETAC North America 42nd Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森田浩平, 落合真理, 須之内朋哉, 塩崎彬, 栗原望, 天野雅男, 国末達也
2. 発表標題 スナメリ線維芽細胞を用いたTCDD曝露によるシトクロムP450 1誘導能評価
3. 学会等名 第23回環境ホルモン学会研究発表会「One Healthと環境ホルモン研究」
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuko Tajima, Shotaro Nakagun, Mari Ochiai, Tadasu K Yamada
2. 発表標題 North Pacific perspective of brucellosis on cetaceans, mainly from Japan.
3. 学会等名 IWC Annual Scientific Committee Meeting, "Special session Brucella SC68C" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mari Ochiai, Nozomi Kurihara, Shusaku Sawa, Shuichi Iwata, Kunisue Tatsuya, Hisato Iwata
2. 発表標題 Cetacean cells as a tool for risk assessment of environmental pollutants
3. 学会等名 International Symposium-Workshop 2019 Scientific Studies of Marine Mammals in Asia. Tokyo, Japan. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mari Ochiai, Nozomi Kurihara, Ayaka Matsuda, Takashi Matsuishi, Shin Nishida, Kunisue Tatsuya, Hisato Iwata.
2. 発表標題 Cytotoxicity and proteomics analyses of POPs using cetacean fibroblasts
3. 学会等名 1st Korea-Japan Joint Symposium on Adverse Outcome Pathways (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kohei Morita, Mari Ochiai, Hisato Iwata
2. 発表標題 Evaluation of CYP1A1, 1A2 and 1B1 induction in TCDD-exposed finless porpoise fibroblasts.
3. 学会等名 1st Korea-Japan Joint Symposium on Adverse Outcome Pathways (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hoa Thanh Nguyen, Kimika Yamamoto, Midori Iida, Tetsuro Agusa, Mari Ochiai, Lingyun Li, Akifumi Eguchi, Kurunthachalam Kannan, Eun-Young Kim, Hisato Iwata
2. 発表標題 Effects of prenatal exposure to bisphenol A in rat offspring: assessment by multi-omics analyses
3. 学会等名 Dioxin 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Riku Kawabe, Akitoshi Goto, Mari Ochiai, Akira Shiozaki, Masao Amano, Yuko Tajima, Tadasu Yamada, Shinsuke Tanabe, Tatsuya Kunisue
2. 発表標題 Geographical distribution and temporal trends of organohalogen compounds in finless porpoises from Seto Inland Sea and Omura Bay, Japan
3. 学会等名 SETAC North America 40th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shin Nishida, Daiki Kurihara, Yuichi Miyashita, Mari Ochiai, Mitsuhiro Aizu-Hirano, Nobuyuki Kashiwagi, Toshiyuki Tatsukawa, Toshio Kurita, Tadasu K. Yamada, Yuko Tajima, Masao Amano
2. 発表標題 Kinship of mass-stranded populations for Steno and Feresa.
3. 学会等名 World Marine Mammal Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hoa Thanh Nguyen, Kimika Yamamoto, Midori Iida, Tetsuro Agusa, Mari Ochiai, Lingyun Li, Akifumi Eguchi, Kurunthachalam Kannan, Eun-Young Kim, Hisato Iwata
2. 発表標題 Sex-dependent disruption of lipid homeostasis in rat offspring by prenatal bisphenol A exposure
3. 学会等名 第22回環境ホルモン学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 須之内朋哉, 後藤哲智, 落合真理, 田島木綿子, 山田格, 田辺信介, 国末達也
2. 発表標題 鯨類に蓄積する有機ハロゲン化合物のプロファイル解析と種間比較
3. 学会等名 日本セトロロジー研究会東京大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川邊陸, 後藤哲智, 落合真理, 山田格, 田島木綿子, 田辺信介, 国末達也
2. 発表標題 瀬戸内海のスナメリにおける有機ハロゲン化合物の経年変化と地理的分布
3. 学会等名 日本セトロロジー研究会東京大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 須之内朋哉, 後藤哲智, 落合真理, 田島木綿子, 山田格, 田辺信介, 国末達也
2. 発表標題 鯨類の脂皮に蓄積する有機ハロゲン化合物のプロファイル解析と鯨種間比較
3. 学会等名 第28回環境化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗原望, 中田章史, 落合真理, 岩田久人
2. 発表標題 スナメリ (<i>Neophocaena asiaeorientalis sunameri</i>) における染色体の種内変異に関する予備的研究
3. 学会等名 日本セトロロジー研究会東京大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 落合真理, 川邊陸, 田島木綿子, 山田格, 栗原望, 国末達也, 岩田久人
2. 発表標題 残留性有機汚染物質による鯨類の汚染と培養細胞を用いた毒性影響評価
3. 学会等名 第25回日本野生動物医学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田島木綿子, 落合真理, 国末達也, 山田格
2. 発表標題 海の哺乳類のストランディング原因を考える時・・・
3. 学会等名 第25回日本野生動物医学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ochiai M., Kurihara N., Matsuda A., Nakagun S., Shiozaki A., Nakata A., Matsuishi T., Kunisue T., Iwata H.
2. 発表標題 In vitro cytotoxicity assessments of persistent organic pollutants using cetacean fibroblasts.
3. 学会等名 EUROTOX 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 落合真理, 西田 伸, 田島 木綿子, 山田 格, 柏木伸幸, 国末達也, 岩田久人
2. 発表標題 種子島に集団座礁したシワハイルカの汚染物質濃度とリスク評価
3. 学会等名 日本セトロロジー研究会 第29回(福岡)大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川邊陸, 後藤哲智, 落合真理, 山田格, 田島木綿子, 塩崎彬, 天野雅男, 田辺信介, 国末達也
2. 発表標題 瀬戸内海および大村湾のスナメリにおける有機ハロゲン化合物汚染と経年変化
3. 学会等名 日本セトロロジー研究会 第29回(福岡)大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 須之内朋哉, 後藤哲智, 落合真理, 田島木綿子, 山田格, 田辺信介, 国末達也
2. 発表標題 鯨類の脂皮に蓄積する有機ハロゲン化合物のプロファイル解
3. 学会等名 日本セトロロジー研究会 第29回(福岡)大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 栗原大樹, 田島木綿子, 落合真理, 會津光博, 柏木伸幸, 山田格, 西田伸
2. 発表標題 種子島に集団座礁したシワハイルカの遺伝的解析
3. 学会等名 日本セトロロジー研究会 第29回(福岡)大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 田島 木綿子、山田 格	4. 発行年 2021年
2. 出版社 緑書房	5. 総ページ数 352
3. 書名 海棲哺乳類大全	

1. 著者名 落合真理、岩田久人	4. 発行年 2019年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 103
3. 書名 生物の科学遺産 特集：死体に学ぶクジラ・イルカの秘密（担当p. 463-470「人工化学物質による鯨類の汚染と影響」）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

愛媛大学沿岸環境科学研究センター 化学汚染・毒性解析部門：環境毒性学（岩田）研究室 http://ecotoxiwata.jp/archive.html Researchmap https://researchmap.jp/mari.ochiai ResearchGate https://www.researchgate.net/profile/Mari_Ochiai

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
---------	---------