

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		ダイレクトリプログラミングによる鯨類の神経分化誘導と環境汚染物質のリスク評価			
研究テーマ (欧文) AZ		Direct reprogramming of cetacean fibroblasts to neurons and <i>in vitro</i> risk assessment of environmental pollutants			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)オチアイ	名)マリ	研究期間 B	2016 ~ 2018 年
	漢字 CB	落合	真理	報告年度 YR	2018 年
	ローマ字 CZ	Ochiai	Mari	研究機関名	愛媛大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		愛媛大学沿岸環境科学研究センター・特定研究員			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>海洋生態系の頂点に位置する鯨類は、食物連鎖を介して環境汚染物質を高濃度に蓄積している。これら化合物は脳などの作用部位で悪影響を及ぼすことが示唆されており、集団座礁などの行動異常についても汚染物質との関連性が疑われている。本研究では、鯨類由来細胞をダイレクトリプログラミングの手法を用いて神経へ分化誘導することにより、これまで不可能と考えられていた希少生物に対する有害化合物の神経毒性影響評価を目的とした。茨城県沿岸に集団座礁したカズハゴンドウ (<i>Peponocephala electra</i>) 5 個体より線維芽細胞を培養し、ダイレクトリプログラミングにより誘導神経細胞 (PE-iNC) を樹立した。誘導開始から 3 日目には形態変化が見られ始め、3 週間後には 90%以上の細胞で神経突起の伸長が認められ、神経細胞マーカー Tubulin <math>\beta</math>-III (Tuj-1) 及び MAP2 に対して陽性シグナルが得られた。TUNEL アッセイにより、シスプラチン (抗ガン剤) 及び 4'OH-CB72 (カズハゴンドウの脳から検出された主要 OH-PCB 異性体) の曝露による PE-iNC のアポトーシスを評価した。両化合物においてアポトーシスが検出され、陽性対象として用いたヒト線維芽細胞由来の iNCs よりも PE-iNCs の方が両化合物に対する感受性が高いことが明らかになった。次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析では、1000 を超える発現変動遺伝子 (DEG) が PE-iNC と線維芽細胞との間に同定され、神経形成に重要である細胞外マトリクスや焦点接着関連の遺伝子が発動したことが示された。4'OH-CB72 処理・未処理群の DEGs を比較した結果、NPTX1、SCGII 及び TRHR 等の神経関連遺伝子の発現量低下が認められた。これらの結果は、4'OH-CB72 曝露によりシナプス形成、神経内分泌及びホルモン受容体シグナル伝達経路の変化を引き起こしたことを示している。本申請の成果により、環境汚染物質が鯨類に及ぼす影響を非侵襲的かつ直接的に評価する新しい評価手法の開発が実現した。</p>					
キーワード FA	ダイレクトリプロ グラミング	鯨類	神経	環境汚染物質	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

Cetaceans are vulnerable to the bioaccumulation of environmental contaminants through the food web. Exposure to high levels of pollutants could be linked to abnormal behavior, which may lead to mass stranding. This study attempted to establish chemically-induced neuronal cells (iNC) from the fibroblasts of mass stranded melon-headed whales (*Peponocephala electra*) and to apply them to *in vitro* neurotoxicity assays. Fibroblasts were cultured from the tissues of five melon-headed whales, and the cells were directly reprogrammed into iNCs (PE-iNC). Cells were positive for neuronal markers Tuj-1 and MAP-2 by immunofluorescence staining. Apoptosis assays with an anti-cancer agent, cisplatin, and an OH-PCB congener, 4'OH-CB72, revealed that iNCs of melon-headed whales were more sensitive to these compounds than those of humans. Transcriptome analyses by next-generation sequencing indicated that over one thousand of differentially expressed genes (DEGs) were identified between iNC and fibroblasts. Pathway analyses showed enrichment of extracellular matrix and focal adhesion that are critical for neurogenesis. Comparisons of DEGs between non- and 4'OH-CB72-treated iNC revealed down-regulations of neuron-related genes such as neuronal pentraxin-1 (NPTX1), secretogranin II (SCGII) and thyrotropin-releasing hormone receptor (TRHR). These results suggest that 4'OH-CB72 is a potent neurotoxicant leading to alteration in synapse formation, neuroendocrine and hormone receptor signaling pathways.