

周産期における異常免疫応答による神経精神毒性に関する研究

分担研究者：山田清文

研究協力者：衣斐大祐、北原裕子、Jinghua Yu、新田淳美、永井拓
（名古屋大学大学院医学系研究科・附属病院薬剤部）

[研究要旨]

生体との相互作用を介した化学物質による精神発達障害の機構解明を目的として、周産期における異常免疫応答が脳神経発達および成長後の脳機能に及ぼす影響について動物モデルを用いて検討した。昨年度は、周産期異常免疫応答の動物モデルとして合成 2 本鎖 RNA アナログである polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (polyI:C) を生後 2 日目から 6 日目まで 1 日 1 回 5 日間連続する方法を新しく開発した。PolyI:C を処置した ICR 系マウスは、成熟後に不安様行動の増加、学習記憶、感覚情報処理および社会性行動の異常を示し、海馬における脱分極性グルタミン酸遊離の障害が認められた。本年度は、polyI:C 処置マウスの行動異常に対する抗精神病薬（haloperidol, clozapine）、ニコチンおよび D-セリンの効果を調べた。さらに、polyI:C 処置による神経発達障害のメカニズムを解明するために、培養アストログリア細胞および神経細胞に対する polyI:C の効果を調べた。

定型抗精神病薬である haloperidol は polyI:C 処置マウスの異常行動のうち、感覚情報処理（プレパルス抑制）の障害のみを改善した。一方、非定型抗精神病薬である clozapine はプレパルス抑制の障害の他、不安様行動の増加、学習記憶・社会性行動の異常も改善した。ニコチンと D-セリンはプレパルス抑制の障害には無効であったが、その他の行動異常を改善した。ニコチンの効果はニコチン性アセチルコリン受容体アンタゴニストにより、D-セリンの効果は NMDA 受容体アンタゴニストにより拮抗された。

海馬由来初代培養神経細胞およびアストログリア細胞において polyI:C の標的分子である toll-like receptor 3 の発現が認められた。低濃度の polyI:C (3-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を直接神経細胞に添加しても細胞生存率およびその形態は変化しなかった。一方、培養アストログリア細胞に polyI:C を添加して 24 時間培養した培養上清 (polyI:C 処置アストログリア細胞培養上清: PolyI:C-ACM) を初代培養神経細胞に添加すると、Control-ACM 処置した神経細胞に比較して、神経突起の伸展が抑制された。PolyI:C 処置したアストログリア細胞では interferon-induced transmembrane protein 3 (ifitm3) およびサイトカイン類の mRNA の増加が認められた。

以上の結果より、polyI:C 処置マウスの行動異常にはドーパミン、アセチルコリンおよびグルタミン酸などの神経伝達物質の異常が関与していることが示唆された。培養実験の結果より、polyI:C 処置による脳神経発達障害には、アストログリア細胞の異常応答と神経細胞-アストログリア細胞間の相互作用の異常が関与していることが示唆された。

A. 研究目的

これまでに我々は化学物質による精神神経発達障害の機構解明を目的として、周産期における異常免疫応答誘発性の脳神経発達障害動物モデルマウスの作製を行ってきた²⁾。本年度は、上記モデルマウスの情動行動の異常や認知記憶障害が抗精神病薬やその他の薬物で改善されるかどうか調べた。さらに、異常免疫応答によって引き起こされる精神神経発達障害のメカニズムを明らかにするために、培養アストログリア細胞および神経細胞に対する polyI:C の効果を調べた。

B. 研究方法

1. 周産期擬似ウイルス感染動物モデルの作製

生後2日目から6日目までの5日間、ICR系マウス(日本エスエルシー、静岡)に合成2本鎖RNAアナログである polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (polyI:C) を 5 mg/kg の用量で1日1回皮下投与し、周産期異常免疫応答による脳神経発達障害モデルを作製した。コントロール群には溶媒として用いた生理食塩液を投与した。本実験計画は名古屋大学医学部動物実験委員会で承認され、名古屋大学医学部実験動物指針に準じて行った。

2. 薬物処置

抗精神病薬である clozapine (5 mg/kg) および haloperidol (0.3 mg/kg) は試験開始の60分前に経口投与した。ニコチン (0.15-0.5 mg/kg) は、試験開始の25分前に皮下投与した。 $\alpha 4\beta 2$ ニコチン性アセチルコリン受容体アンタゴニスト dihydro- β -erythroidine (DH β E, 2 mg/kg) および $\alpha 7$ ニコチン受容体アンタゴニスト methyllycaconitine (MLA, 5.0 mg/kg) はニコチン処置の10分前に皮下投与した。D-セリン (0.3-1 g/kg) および L-セリン (1 g/kg) は試験開始の30分前に腹腔内投与し、NMDA 受容体アンタゴニスト MK-801 (0.1 mg/kg) は D-セリン処置の15分前に腹腔内投与した。

3. 行動解析

PolyI:C 処置マウスが10週齢に達した後、学習記憶および情動行動の異常を以下の行動試験により調べた。

オープンフィールド試験

灰色の亚克力製円形オープンフィールド(直径 60 cm, 高さ 35 cm) の中央にマウスを置き、5分間の外円および内円(直径 40 cm) における歩行量および滞在時間を Ethovision 自動トラッキングプログラム (Brainscience Idea Co. Ltd., Osaka, Japan) を用いて解析した²⁾。

新奇物体探索試験

新奇物体探索試験は Nagai らの方法 (2007) に準じて行った³⁾。実験装置は亚克力製のオープンフィールドを用いた (30×30×35 cm)。マウスを実験装置に3日間(10分間/日)慣らした後、訓練試行を行った。訓練試行では装置内に異なる2つの物体を置き、装置内を10分間自由に探索させた。訓練試行の24時間後に保持試行を行った。保持試行では訓練試行時に用いた2つの物体の片方を新奇物体と置き換え、動物を装置内に入れ5分間自由に探索させた。訓練試行および保持試行における2つの物体に対するそれぞれの探索(接触, 臭い嗅ぎなど)時間を測定した。訓練試行においては、2つの物体のいずれかを探索した時間と総探索時間との比を、保持試行においては新奇物体を探索した時間と総探索時間との比を探索嗜好性 (exploratory preference; EP) として示した。

プレパルス抑制試験

プレパルス抑制試験は Takahashi らの方法 (2007) に準じて SR-LAB 驚愕反応測定システム (San Diego Instruments, San Diego, CA, U.S.A.) を用いて測定した⁴⁾。装置内には背景ノイズ (Back

ground; BG) として 65 dB の音を流した。65 dB の BG 下で 10 分間馴化させた後、次の 3 種類のトライアルをそれぞれ 10 回ずつ負荷した。①驚愕反応を引き起こす 120dB、40 msec の音刺激（パルス刺激）のみ、② パルス刺激の 100 msec 前に 69、73、77 または 81 dB、20 msec の音刺激（プレパルス刺激）を加えたトライアル、③BG のみ。テストでは最初にパルス刺激を 5 回、次に 3 種類のトライアルを 10 から 22 秒の間隔でランダムに 10 回ずつ、最後にパルス刺激を 5 回提示し、合計 70 回のトライアルを負荷した。この時、音刺激と同期させて 1 msec 間隔で 1 秒間驚愕強度を記録した。得られたデータから、以下の式に従い PPI を算出した。

$$\text{PPI (\%)} = [1 - (\text{pPx} / \text{P120})] \times 100$$

P120：パルス刺激の単独提示時の驚愕強度最大値の平均

pPx：プレパルス刺激（69-81dB）とパルス刺激の連続提示時の驚愕強度最大値の平均

社会性行動試験

社会性行動試験は Tremolizzo らの方法（2005）に準じて行った⁵⁾。生理食塩水または polyI:C 処置マウスをポリカーボネート製試験ケージ（透明：34×22×15 cm）に移して 2 日間馴らした。これらのマウスとは別に通常飼育を行ったマウス（新奇侵入マウス）を試験ケージに入れ、5 分間の行動を解析した。社会性行動試験はこの試行を 30 分間隔で 4 回繰り返した。能動的な接近行動、追尾行動、臭い嗅ぎ行動、毛繕い行動を社会性行動として、噛み付き行動、尾の戦振、襲いかかり行動を攻撃行動として、また新奇侵入マウスから離れる行動を逃避行動として、それぞれの行動の時間を測定した。

3. 初代培養細胞を用いての解析

初代培養神経細胞の採取

妊娠 16 日目の ICR マウス(日本エスエルシー)より胎児を摘出した。胎児の海馬を実体顕微鏡下で取り出し、trypsin および DNase を用いて酵素処理をした後、ポリリジンでコーティングをしたセルデスクに採取した初代培養神経細胞を播いた。PolyI:C (3-10 µg/mL) またはアストログリア細胞培養上清の処置は培養開始 2 日目に行い、培養 3 日目に解析を行なった。免疫細胞化学を用いての解析では 24 well プレートに 1×10^4 個/well、MTT アッセイでは 96 well プレートに 3×10^4 個/well で初代培養神経細胞を播いた。

アストログリア培養細胞の採取

生後 0~2 日の新生児 ICR マウス(日本エスエルシー)から海馬および大脳皮質を取り出した。髄膜を剥がし dispase および DNase を用いて酵素処理をした後、初代培養としてフラスコに播いた。90~95% コンフルエントになった時点で二次培養を行った。すべての実験には二次培養アストログリア細胞を用いた。

実験を開始する 5 日前に培地を血清入り DMEM 培地から B27 サプリメントおよびグルタミンを添加した Neurobasal 培地に換え、polyI:C (10 µg/mL) 処置後 24 時間後の培養上清を初代培養神経細胞に処置した。

免疫細胞化学

4% パラホルムアルデヒドで固定した後、抗 toll-like receptor3、MAP2 および tau 抗体を用いて免疫染色を行った。正立顕微鏡で観察し、神経突起の長さの測定には NeuroLucida ニューロントレーシングプログラム (BrainScience Idea Co. Ltd.) を用いた。

MTT アッセイ

培地の 10 分の 1 量の MTT 溶液を培地に添加した。37 度、3 時間のインキュベーション後、培地

を除去、DMSO を加えて MTT が反応してできたホルマザンを溶解した。その溶解液の吸光度(570 nm)から細胞生存率を評価した。

遺伝子発現解析

リアルタイム PCR 法による定量では、polyI:C 最終投与 24 時間後のアストログリア培養細胞から抽出した RNA を Superscript III (Invitrogen, Eugene, OR) を用いて cDNA に変換した後、7300 real-time PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA) を用いて ifitm3 およびサイトカインの mRNA 量を定量した。

5. 統計解析

データは平均±標準誤差で示した。独立多群間の比較には一元配置分散分析 (analysis of variance, ANOVA) または反復測定分散分析法 (repeated measures ANOVA) を用い、有意差が認められた場合には Bonnferroni/Dunn の検定を行った。いずれの検定においても、危険率 5% 以下の場合を有意差ありと判定した。2 群間の比較は Student t-test を用いて行った。

C. 研究結果

1. PolyI:C 処置マウスの学習記憶および情動変化に対する抗精神病薬の効果

PolyI:C 処置により誘発される認知記憶の障害が定型抗精神病薬 haloperidol (0.3 mg/kg)あるいは非定型抗精神病薬 clozapine (5 mg/kg) で改善されるかどうか調べた。新奇物体探索試験の保持試行において、polyI:C 処置マウスの探索嗜好性はコントロール群に比較して有意に低下していた (認知記憶障害)。この記憶障害は clozapine により改善したが、haloperidol では改善しなかった (Fig. 1)。

さらに、polyI:C 処置マウスが示すその他の行動異常に対する抗精神病薬の効果も調べた。Haloperidol は polyI:C 処置マウスの感覚情報処理

(プレパルス抑制) の障害を改善したが、社会性行動の減少とオープンフィールド試験における不安様行動の増加には無効であった。一方、clozapine は、認知記憶障害の他、プレパルス抑制の障害、不安様行動の増加および社会性行動の低下など、polyI:C 処置マウスで認められるすべての行動異常に対して改善効果を示した。

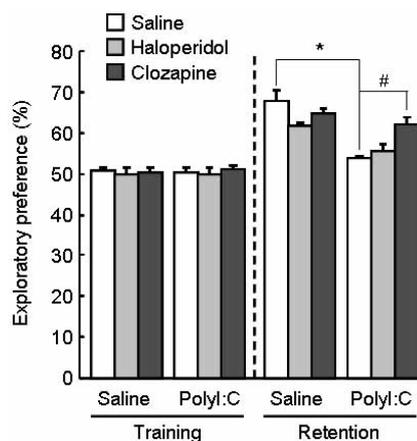


Fig. 1 Effect of antipsychotics on the impairment of recognition memory in polyI:C-treated mice. Values indicate the mean±SE (n=8). *p<0.05 vs. saline-injected control group. #p<0.05 vs. polyI:C-injected group.

2. PolyI:C 処置マウスの学習記憶および情動変化に対するニコチンの効果

新奇物体探索試験における polyI:C 処置マウスの認知記憶障害に対するニコチンの効果を調べた。新奇物体探索試験の保持試行における polyI:C 処置マウスの探索嗜好性の低下はニコチン (0.15-0.5 mg/kg) により用量依存的に改善した。このニコチン (0.5 mg/kg) の記憶改善作用は、 $\alpha 4\beta 2$ ニコチン性アセチルコリン受容体アンタゴニスト DH β E および $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体アンタゴニスト MLA により拮抗された (Fig. 2)。

PolyI:C 処置マウスが示すその他の行動異常がニコチンで改善されるかどうか調べた。

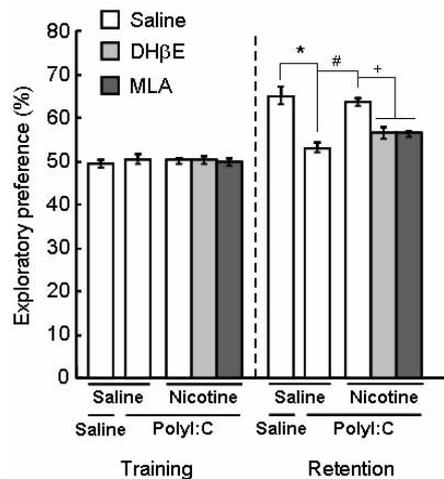


Fig. 2 Effect of nicotine on the impairment of recognition memory in polyI:C-treated mice. Values indicated the mean \pm SE (n=8). *p<0.05 vs. saline-injected control group. #p<0.05 vs. polyI:C-injected group. +P<0.05 vs. nicotine/polyI:C-injected group.

ニコチン (0.15-0.5 mg/kg) は感覚情報処理 (プレパルス抑制) の障害には無効であったが、社会性行動の減少と不安様行動の増加を有意に改善した。これらニコチンの改善効果も $\alpha 4\beta 2$ および $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体アンタゴニストの前処置により拮抗された。

3. PolyI:C 処置マウスの学習記憶および情動変化に対する D-セリンの効果

昨年度に実施した *in vivo* dialysis 実験により、polyI:C 処置マウスでは海馬におけるグルタミン酸遊離に異常があることが明らかになっている²⁾。そこで、polyI:C 処置マウスの記憶障害や情動行動の異常が NMDA 受容体複合体のグリシン結合部位のアゴニスト (NMDA 受容体コアゴニスト) である D-セリンで改善されるかどうか調べた。オープンフィールド試験における内円滞在時間はコントロール群と比較して polyI:C 処置マウスでは顕著に減少していた (不安様行動)。この polyI:C 処置マウスの不安様行動は D-セリン (0.3-1 g/kg) により用量依存的に改善した。一方、D-セリンの

光学異性体である L-セリン (1 g/kg) は D-セリンのような改善効果を示さなかった (Fig. 3A)。さらに、polyI:C 処置マウスの不安様行動に対する D-セリンの改善効果は NMDA 受容体アンタゴニストである MK-801 (0.1 mg/kg) の前処置によって消失した (Fig. 3B)。

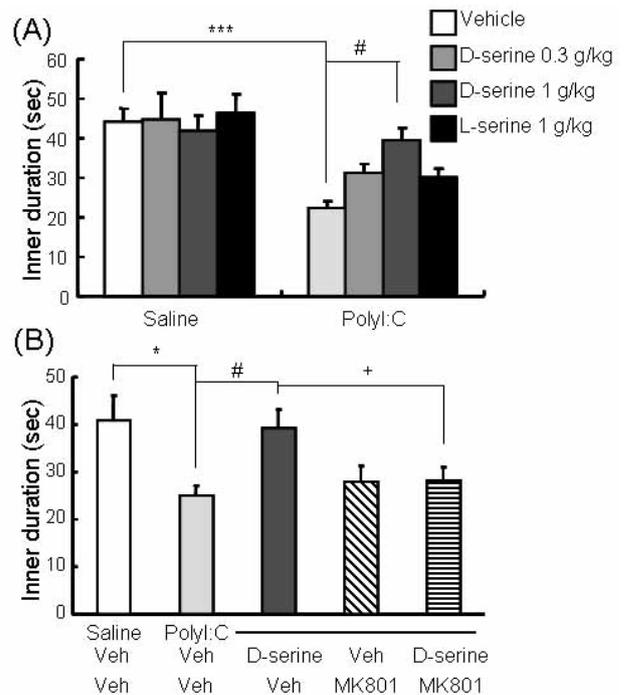


Fig. 3 Effects of D-serine and L-serine on the anxiety-related behavioral change in polyI:C-treated mice. Values indicated the mean \pm SE (n=8). *p<0.05 vs. saline-injected control group. #p<0.05 vs. polyI:C-injected group. +P<0.05 vs. nicotine/polyI:C-injected group.

PolyI:C 処置マウスが示すその他の行動異常および記憶障害に対する D-セリンの効果も調べた。D-セリン (0.3-1 g/kg) は感覚情報処理 (プレパルス抑制) の障害には無効であったが、社会性行動の減少と物体認知記憶障害を有意に改善した。また、D-セリンの改善効果は MK-801 の前処置によって拮抗された。すなわち、polyI:C 処置マウスの記憶障害および情動行動の異常に対する D-セリンの改善効果は NMDA 受容体を介してものであることが示唆された。

4. PolyI:C 処置アストログリア細胞由来の液性因子が神経細胞の突起伸展および細胞生存に及ぼす影響

PolyI:C 処置による神経発達障害のメカニズムを解明する為に、培養アストログリア細胞および神経細胞に対する polyI:C 処置の効果を調べた。低濃度(3 および 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)の polyI:C を培養 2 日目の神経細胞に直接添加しても神経突起の伸展および細胞生存率に影響を与えなかった。次に培養アストログリア細胞に polyI:C(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)を処置し、24 時間後の培地 (polyI:C 処置アストログリア細胞培養上清 : polyI:C-ACM) を培養 2 日目の神経細胞に処置すると、control-ACM を処置した神経細胞と比較して、神経突起の伸展が有意に抑制された(Fig. 4)。一方、MTT アッセイを用いた細胞生存率には両群間で変化は認められなかった。

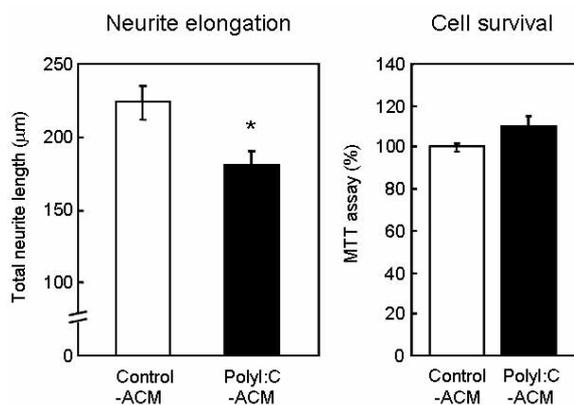


Fig. 4 Effect of polyI:C-ACM on the total neurite elongation and cell viability in primary cultured hippocampal neurons. Numbers of cells used for each calculation are 72-75 (Control-ACM: 75, PolyI:C-ACM: 72). Values are means \pm SE of three independent experiments. * $P < 0.05$ vs. control-ACM.

昨年度、新生仔マウスに polyI:C を処置すると、海馬のアストログリア細胞で ifitm3 タンパク質の発現が増加することを報告した。そこで、培養アストログリア細胞に polyI:C を添加して 24 時間後の ifitm3 およびサイトカインの mRNA レベルを解

析した。その結果、polyI:C を処置したアストログリア細胞において ifitm3 mRNA および TNF- α 、interferon- β 、interleukin-1 β などのサイトカインの mRNA の増加が認められた。

D. 考察

胎児期あるいは新生児期に化学物質へ暴露されると、胎児あるいは新生児の体内で異常な免疫応答が生じる^{1,6)}。本研究では、胎児期あるいは新生児期に化学物質に暴露されることによる異常免疫応答が神経発達に悪影響を及ぼし、脳内神経伝達機能の異常により学習記憶や情動行動に障害が生じるという仮説を立て、動物モデルを用いてこの仮説を検証するとともに、神経発達障害のメカニズムの解明を目指している。

昨年度は、周産期異常免疫応答の動物モデルとして合成 2 本鎖 RNA アナログである polyI:C を生後 2 日目から 6 日目まで 1 日 1 回 5 日間連続する方法を新しく開発した²⁾。PolyI:C を処置したマウスは、成熟後に不安様行動の増加、認知記憶障害、感覚情報処理および社会性行動の異常を示した。さらに、同モデルマウスの海馬では脱分極性グルタミン酸遊離の障害も確認された。

本年度は、polyI:C 処置マウスの行動障害に対する各種薬物の効果を検討することにより、記憶障害や情動行動異常のメカニズムを行動薬理的に検討した。その結果、polyI:C 処置マウスの行動異常にはドーパミン、アセチルコリンおよびグルタミン酸などの様々な神経伝達物質の異常が関与していることが示唆された。

初代培養神経細胞およびアストログリア細胞を用いて、polyI:C 処置による神経発達障害のメカニズムについても検討した。PolyI:C-ACM を初代培養神経細胞に添加すると神経突起の伸展が抑制されたことより、polyI:C 処置マウスにおける神経発達障害に神経細胞-アストログリア細胞間の相互作用の異常が関与していることが示唆さ

れた。さらに、この細胞間相互作用の異常には、アストログリア細胞で誘導される ifitm3 やサイトカインが関与していることも示唆された。

今後、polyI:C 処置による神経細胞-アストログリア細胞間の相互作用の異常やアストログリア細胞の異常応答における ifitm3 の役割を検討していく予定である。

E. 結論

PolyI:C 処置により免疫異常応答を惹起したマウスの記憶や情動行動の異常には、ドーパミン、アセチルコリンおよびグルタミン酸などの神経伝達物質の異常が関与していることが示唆された。さらに、polyI:C 処置による脳神経発達障害にはアストログリア細胞の異常応答と神経細胞-アストログリア細胞間の相互作用の異常が関与していることが示唆された。胎児期あるいは新生児期における化学物質への暴露は異常免疫応答を惹起することが報告されており、これが神経発達に悪影響を及ぼし、成熟後の脳内神経伝達に異常が生じる可能性が示唆された。

[参考文献]

- 1) Esser C, Rannug A, Stockinger B.: The aryl hydrocarbon receptor in immunity. *Trends Immunol.*, 30: 447-454, 2009.
- 2) Ibi D, Nagai T, Kitahara Y, et al.: Neonatal polyI:C treatment in mice results in schizophrenia-like behavioral and neurochemical abnormalities in adulthood. *Neurosci Res*, 64: 197-305, 2009.
- 3) Nagai T, Takuma K, Kamei H, et al.: Dopamine D1 receptors regulate protein synthesis-dependent long-term recognition memory via extracellular signal-regulated kinase 1/2 in the prefrontal cortex. *Learn. Mem.*, 14:117-125, 2007.
- 4) Takahashi K, Nagai T, Kamei H, et al.: Neural

circuits containing pallidotegmental GABAergic neurons are involved in the prepulse inhibition of the startle reflex in mice. *Biol. Psychiatry*, 62:148-157, 2007.

- 5) Tremolizzo L, Doueiri MS, Dong E, et al.: Valproate corrects the schizophrenia-like epigenetic behavioral modifications induced by methionine in mice. *Biol. Psychiatry*, 57:500-509, 2005.
- 6) Yusuf N, Timares L, Seibert MD, et al.: Acquired and innate immunity to polyaromatic hydrocarbons. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 224: 308-312, 2007.

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Arai, S., Takuma, K., Mizoguchi, H., Nagai, T., Kamei, H. and Yamada, K.: GABA_B receptor agonist baclofen improve methamphetamine-induced cognitive deficit in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 602: 101-104, 2009.
- 2) Koike H, Ibi D, Mizoguchi H, Nagai T, Nitta A, Takuma K, Nabeshima T, Yoneda Y and Yamada K: Behavioral abnormality and pharmacologic response in social isolation-reared mice. *Behav. Brain Res.*, 202: 114-121, 2009.
- 3) Ibi D, Nagai T, Kitahara Y, Mizoguchi H, Koike H, Shiraki A, Takuma K, Kamei H, Noda N, Nitta A, Nabeshima T, Yoneda Y and Yamada K: Neonatal polyI:C treatment in mice results in schizophrenia-like behavioral and neurochemical abnormalities in adulthood. *Neurosci. Res.*, 64: 297-305, 2009.
- 4) Mizoguchi H, Takuma K, Fukuzaki E, Ibi D, Someya E, Akazawa K, Alkam T, Tsunekawa H, Mouri A, Noda Y, Nabeshima T and Yamada K: Matrix metalloprotease-9 inhibition improves amyloid β -mediated cognitive impairment and neurotoxicity in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*,

331: 14-22, 2009.

- 5) Ibi D, Nagai T, Koike H, Kitahara Y, Mizoguchi H, Niwa M, Jaaro-Peled H, Nitta A, Yoneda Y, Nabeshima T, Sawa A, and Yamada K: Combined effect of neonatal immune activation and mutant DISC1 on phenotypic changes in adulthood. *Behav. Brain Res.*, 206: 32-37, 2010.
 - 6) Mizoguchi H, Arai S, Koike H, Ibi D, Kamei H, Nabeshima T, Kim HC, Takuma K and Yamada K: Therapeutic potential of nicotine for methamphetamine-induced impairment of sensorimotor gating: involvement of pallidotegmental neurons. *Psychopharmacology*, 207: 235-243, 2009.
 - 7) Nagai T, Kitahara Y, Shiraki A, Hikita T, Taya S, Kaibuchi K and Yamada K: Dysfunction of dopamine release in the prefrontal cortex of dysbindin deficient sandy mice: an in vivo microdialysis study. *Neurosci. Lett.*, in press.
- ## 2. 学会発表
- 1) Yamada K, Ibi D, Kitahara Y, Nabeshima T and Nagai T: Perinatal immune activation impairs emotional and cognitive functions with altered hippocampal glutamatergic neurotransmission in adult mice. The 9th World Congress of Biological Psychiatry (Paris, France, June 28-July 2, 2009)
 - 2) Nagai T, Ibi D, Koike H, Kitahara Y, Nabeshima T, Sawa A and Yamada K: Synergistic impacts of DISC1 mutation and neonatal polyI: C treatment on adult phenotypes in mice: A novel mouse model of schizophrenia with gene - environment interactions. The 9th World Congress of Biological Psychiatry (Paris, France, June 28-July 2, 2009)
 - 3) Ibi D, Nagai T, Nitta A, Nabeshima T, Sawa A, Yamada K. : The effect of polyI:C treatment on endophenotypes in dominant-negative DISC1 transgenic mice. The 32nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. (Nagoya, Japan, September,16-18,2009)
 - 4) Nagai T, Ibi D, Mizoguchi H, Nabeshima T, Yamada K. : Neonatal poly:C treatment in mice induces schizophrenia-like behavioral and neurochemical abnormalities in adulthood. Society for Neuroscience2009 (Chicago, U.S.A., October,17-21,2009)
 - 5) Ibi D, Nagai T, Mizoguchi H, Nitta A, Nabeshima T, Sawa A, Yamada K : Synergistic influence of neonatal immune activation and mutant DISC1 on phenotypic changes in adulthood. Society for Neuroscience2009 (Chicago,U.S.A.,October,17-21,2009)
 - 6) 山田清文：遺伝-環境相互作用に基づく統合失調症モデル. 第82回日本薬理学会年会（横浜, 2009. 3. 16-18)
 - 7) 衣斐大祐, 永井拓, 溝口博之, 北原裕子, 小池宏幸, 新田淳美, 米田幸雄, 澤明, 鍋島俊隆, 山田清文: 新生児期polyI:C投与がドミナントネガティブ型DISC1トランスジェニックマウスの情動・認知機能に及ぼす影響. 第82回日本薬理学会年会（横浜, 2009. 3. 16-18)
 - 8) 北原裕子, 衣斐大祐, 永井拓, 溝口博之, 小池宏幸, YU Jinghua, 新田淳美, 米田幸雄, 鍋島俊隆, 山田清文: 周産期ウイルス感染により誘発される統合失調症の神経発達モデルにおける行動およびグルタミン酸神経伝達異常. 第82回日本薬理学会年会（横浜, 2009. 3-16-18)
 - 9) 北原裕子, 永井拓, 衣斐大祐, 新田淳美, 澤明, 鍋島俊隆, 山田清文: 新生児期polyI:C投与ドミナントネガティブ型DISC1トランスジェニックマウスにおけるグルタミン酸作動性神経系の機能解析. ・第19回日本臨床精神神経薬理学会・第39回日本神経精神薬理学会合同年会(京都, 2009. 11. 13-15)
 - 10) 山田清文: Poly:C誘発神経発達障害動物モデルの行動異常とその発現機構. 愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所 公開シンポジウム2009 (春日井, 2009. 12. 18)

H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし