

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：82101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19860

研究課題名（和文）受精時の初期化を乗り越えて次世代胚に伝わる精子の環境因子由来DNAメチル化変化

研究課題名（英文）Inheritance of environmental impacts on DNA methylation through sperm to the next generation embryos

研究代表者

野原 恵子（NOHARA, Keiko）

国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・フェロー

研究者番号：50160271

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：私たちは、妊娠中に無機ヒ素を含む水を飲んだ母マウス(F0世代)から生まれた雄(F1)の子(孫世代、F2)で肝腫瘍が増加することを発見した。このような現象の機序として、環境因子が精子ゲノムのDNAメチル化等のエピジェネティック修飾を変化させ次世代に影響を伝えることが示唆されている。しかし精子のエピジェネティック変化が受精後の再構成を経て胚に継承されるかは、これまで不明であった。本研究では、妊娠期ヒ素曝露を受けたF1雄と他系統の雌マウスを交配し、初期胚のDNAメチル化をゲノムワイドに解析した。その結果、ヒ素曝露による精子のメチル化変化が次世代胚の雌雄のアレルに受け継がれることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠期の環境因子の曝露が孫世代やその後の世代の健康に影響を及ぼすことが明らかにされつつあり、生殖細胞のエピジェネティック修飾の変化が影響を伝える原因になることが示唆されている。一方、生殖細胞のエピジェネティック修飾は受精時に初期化を受けることから、環境因子の影響もリセットされるのではという考え方があり、世代を超える影響の機序の考え方は確立されていない。本研究では、大きな脱メチル化・再メチル化を経て再構成される初期胚のDNAメチル化修飾をゲノムワイドに定量的に解析し、環境因子による精子のDNAメチル化変化が胚に受け継がれることを明らかにし、生殖細胞を介した世代を超えた影響の機序の理解を推進した。

研究成果の概要（英文）：We investigate the mechanism of hepatic tumor increase in the F2 generation born to F1 males gestationally exposed to arsenic in mice. DNA methylation changes in sperm are implicated in paternal inheritance of environmental impacts. On the other hand, it is not clarified whether DNA methylation changes caused by environmental impact remain in the embryos through epigenetic reprogramming and reconstitution of methylation after fertilization. We obtained embryos by crossing F1 males gestationally exposed to arsenic and control females of a different strain and analyzed DNA methylation changes using next-generation sequencing in a genome-wide manner. We have clarified that environmentally induced DNA methylation changes in the sperm, such as increase in hypomethylated DNA in retrotransposon LTRs and LINEs, are inherited to the embryos. These results indicate that DNA methylation changes originated from sperm can cause adverse effects in the embryos.

研究分野：衛生学

キーワード：次世代影響 DNAメチル化 精子 胚 無機ヒ素 妊娠曝露

1. 研究開始当初の背景

受精卵の発生プログラムや癌(悪性腫瘍)などの分化異常に、DNAのメチル化をはじめとしたエピジェネティック修飾が深く関与している。エピジェネティック修飾とは、突然変異のようなDNAの塩基置換を伴わずに、遺伝子機能を調節する仕組みである。妊娠期の化学物質曝露の影響がその子(F1)ばかりでなく、孫世代(F2)やその後の世代に伝わり成長後に各種疾患を増加させるという、従来は考えられなかった新たな生体影響に関する研究結果が次々と報告され、その影響を伝搬する主要なメカニズムはF1体内の生殖細胞の「エピジェネティック修飾」のかく乱であると考えられるようになってきている(Tillo et al. J Cell Physiol 2016, Guerrero-Bosagna & Skinner, Mol Cell Endocrinol 2012他)。しかし、精子や卵子のエピジェネティック修飾のかく乱から次の世代の疾患につながる道筋に関しては、これまでの世界の研究において具体的な手掛かりはほとんど得られていない。

申請者らはDNAメチル化変化を誘導することが報告されている無機ヒ素を妊娠中のC3Hマウス(F0)に投与すると、雄の子(F1)を親とする次の世代(F2)、すなわち孫世代の雄の成長後に肝腫瘍が増加するという新たな現象を発見した(Nohara et al. J Appl Toxicol 2016)。C3Hマウスは雄が悪性腫瘍を含む肝腫瘍を発症しやすい系統であることから、妊娠期ヒ素曝露が孫世代で腫瘍増加の形質を増強すると考えられた。さらにヒ素群F2を作るF1精子ゲノムにおいてDNAメチル化修飾のかく乱を検出し(H27-28挑戦的萌芽研究)、ヒ素群F1精子のDNAメチル化修飾のかく乱がF2の肝腫瘍増加につながる可能性を見いだした。

一方、精子や卵子のエピジェネティックな修飾は、受精後に大きな再構成を受ける。DNAメチル化は一旦ほぼ初期化(脱メチル化)され、受精卵から初期胚の分化において他のエピジェネティック修飾とともに再構成される。ここで受精前の生殖細胞のDNAメチル化かく乱が受精を経て次の世代に伝わるかという点はこれまで確認されておらず、生殖細胞を介して伝わる環境因子曝露の影響継承の基盤となる考え方に議論が残る一因となっている。

2. 研究の目的

本研究では、F1精子のDNAメチル化かく乱がメチル化の初期化・再構成を乗り越えてF2胚に伝わり、F2の健康影響に関与する可能性を検証することを目的とした。そのために、最新のゲノム解析手法を用いて、妊娠期にヒ素曝露を受けたF1精子からDNAメチル化再構成後のF2胚に伝わるDNAメチル化かく乱の検出を試みた。さらに雄由来アレルと雌由来アレルにいかにかDNAメチル化修飾が伝搬するかを明らかにするためにアレル別解析を行った。

3. 研究の方法

3 - 1) RRBS 法によるメチル化 DNA の次世代シーケンスデータ解析パイプラインの構築

ゲノムDNAからReduced representation bisulfite sequencing (RRBS)解析用に調製したライブラリーを次世代シーケンス解析し、得られたFastqファイルからDNAメチル化解析を以下の手順で行うパイプラインを構築した: trim galore software (http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim_galore/)(ver. 0.6.5) によるアダプタトリミング、Bismark program (ver. 0.22.3) (Krueger et al. Bioinformatics 27, 571, 2011) によるリファレンスゲノム (mm10) へのマッピングとメチル化検出、samtools program (<http://www.htslib.org/>) によるsamファイルへの変換、methylkit package (ver. 1.14.2) (Akalin et al. Genome Biol. 13 R87, 2012) によるメチル化率の算出と有意差検定、Integrative Genomics Viewer (igv) での閲覧用ファイルの作成、HOMER software (ver. 4.11) (<http://homer.ucsd.edu/homer/>) によるアノテーションの付与。ここで得られたデータファイルをもとに、F1精子とF2胚のDNAメチル化修飾の比較を行った。

3 - 2) 対照群および妊娠期ヒ素曝露群 F2 初期胚の採取と DNA および RNA 調製

対照群および妊娠期に無機ヒ素を含む水を投与した(ヒ素群)C3H/HeN 系統マウスの F1 雄を C57BL/6 系統の雌と交配し、妊娠 7.5 日目に F2 胚を採取した。なおヒ素曝露は、F2 で肝腫瘍が

増加した条件 (F0 の妊娠 8-18 日に 85 ppm の亜ヒ酸ナトリウムを含む水を自由摂取させる : Nohara et al. J Appl Toxicol 2016) で行った。各胚から AllPrep DNA/RNA/miRNA Universal kit (QIAGEN) で DNA および RNA を調製し、DNA は Qubit Fluorometer (Invitrogen) で、RNA は Bioanalyzer (Agilent) で定量した。DNA を用いて ZFY 遺伝子の有無を PCR で調べることで雌雄を判別した。本研究では、雄の胚 3-5 個の DNA をあわせて 1 サンプルとし、解析に用いた。

3 - 3) F1 精子および F2 胚のメチル化 DNA の RRBS 解析

前項のように調製した F2 胚 DNA、各群 5 サンプルについて RRBS ライブラリーを作製し、次世代シーケンスデータを得た。F2 胚の次世代シーケンスデータと先に得られた F1 精子の次世代シーケンスデータを 3 - 1) で述べたパイプラインを用いて同条件で解析した。methylkit 解析は default である `destrand=false` で行った。F1 精子、F2 胚それぞれについて、すべてのサンプルで共通して coverage 10 以上のメチル化サイト (CpG) を検出し、その中で対照群に対してヒ素群でメチル化が 10% 以上変化 ($q \text{ value} < 0.01$) したサイトを differentially methylated cytosine (DMC) として検出した。さらにヒ素群でメチル化が 10% 以上低下したサイトを `hypoDMC`、10% 以上上昇したサイトを `hyperDMC` とした。

3 - 4) F2 胚の DNA メチル化のアレル別解析

雌雄のアレル別解析のために、配列が公開されていない C3H/HeN マウスのゲノム配列を全ゲノムシーケンスで決定した。C57BL/6 マウスのゲノム配列を C3H/HeN マウスのゲノム配列と比較し、SNP を N マスクしたリファレンスゲノムデータ (GRCm38_C3HHeN_N-masked) を作製した。F2 胚の次世代シーケンスデータを `trim galore` でトリミングし、Bismark で GRCm38_C3HHeN_N-masked 配列にマッピングしたのち、SNPsplit (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/SNPsplit/>) を用いてリードの雌雄アレルへの振り分けを行った。得られたデータについて、3 - 1) のパイプラインを用いて methylkit 以降の解析を行った。methylkit は `destrand = false` で解析した場合、選ばれる DMC の数が少なかったため `destrand = true` とし、 $q \text{ value} < 0.05$ で 2% 以上変化があった CpG サイトを DMC として検出した。またヒ素群でメチル化が 2% 以上低下したサイトを `hypoDMC`、上昇したサイトを `hyperDMC` とした。

4 . 研究成果

4 - 1) RRBS 法によるメチル化 DNA の次世代シーケンスデータ解析パイプラインの構築

本研究において、各種の公開プログラムを用いてメチル化 DNA の次世代シーケンスデータを解析するためのパイプラインを構築した。このパイプラインでは、DNA メチル化の次世代シーケンス解析において比較的詳細な解析が遅れているリピート配列の解析を容易にすることを意図して、モチーフ解析ソフトである HOMER software を組み込んだ。このパイプラインを用いることによって、他の研究課題において妊娠期ヒ素曝露を受けた F1 (ヒ素群 F1) 精子の DNA では、対照群と比較して特にレトロトランスポゾンの LTR (Long terminal repeat) と LINE (Long interspersed element) というクラスで低メチル化するサイトが増加するという事実を明らかにし (Nohara et al. Epigenetics Chromatin 2020)、パイプラインの有用性が示された。

4 - 2) 対照群および妊娠期ヒ素曝露群 F2 初期胚の採取と DNA および RNA 調製

本研究では、上述の妊娠期ヒ素曝露による F1 精子の DNA メチル化変化が、受精後の初期化・再構成後の胚にも受け継がれるか否かを検討した。そのために、対照群および妊娠期にヒ素曝露を受けたヒ素群の子 (F1) マウス (C3H/HeN 系統) 雄と他系統 (C57BL/6) の雌を交配し、DNA メチル化の初期化・再構成後の胎生 7.5 日の胚を採取した (図)。各胚 1 個から DNA および RNA を調製し、DNA と RNA を定量し、DNA を用いて ZFY 遺伝子の有無から雌雄の判別を行うことができた。

本研究では雄の胚 3-5 個の DNA を合わせて 1 サンプルとし、対照群、ヒ素群各 5 サンプルについて DNA メチル化解析を行った。



図. 採取したマウス 7.5 日胚

4 - 3) ヒ素群 F1 精子から DNA メチル化再構成後の F2 胚に受け継がれる DNA メチル化変化

F1 精子および F2 胚について 3 - 3) に記した条件で解析を行った結果、それぞれ 200 万以上の CpG が検出された。ヒ素群 F1 精子ではすべての染色体で DNA メチル化がみとめられたが、F2 胚においても同様にメチル化低下がおこっていることが明らかとなった。

F1 精子では対照群とヒ素群を比較してメチル化に 10% 以上差がある differentially methylated cytosine (DMC) が約 3,700 か所検出されたのに対して、F2 胚では約 28,400 か所検出された。そのうち、精子では hypoDMC の占める割合が大きく、80% 近くが hypoDMC であった。胚では 65% が hypoDMC であり、hypoDMC の割合が高いという精子での変化が胚に受け継がれていることが明らかとなった。また、hypoDMC と hyperDMC の割合の偏りは、胚では精子ほど大きくないことが明らかになった。

また DMC がゲノムのどの領域に検出されるかを調べた結果、ヒ素群 F2 胚においても F1 精子と同様に、LTR と LINE で hypoDMC、hyperDMC とともに有意に高頻度に検出され、特に hypoDMC の出現頻度が顕著に高かった。

以上より、ヒ素群 F1 精子における DNA メチル化変化が、受精後に初期化・再構成を経て F2 胚に受け継がれること、hypoDMC と hyperDMC の偏りの程度は小さくなるが、hypoDMC、hyperDMC とともに数は多くなることが明らかとなった。

4 - 4) ヒ素群 F2 胚の雌雄各アレルにおける DNA メチル化変化

3 - 4) に記した条件で SNP をマスクしたゲノムにマッピングを行った結果、胚のアレル区別なしでは約 141 万、精子由来、すなわち雄由来アレル(C3H/HeN)で約 65,000、卵由来、すなわち雌由来アレル(C57BL/6)で約 94,000 の CpG を検出した。全 DMC 中の hypoDMC と hyperDMC の割合は、アレル区別なし、雄由来アレル、雌由来アレルいずれでも同程度に hypoDMC が多いという特徴が観察された。

ゲノム領域別の分布については、一部で hypoDMC または hyperDMC の出現頻度がアレル区別なしと同様に变化する領域があったが、有意差を検出できた変化はごく限られていた。その原因の一つとしてアレル別にマッピングできた配列が少なかったことによる可能性が考えられた。

以上より、ヒ素群 F1 精子における DNA メチル化変化は、受精後に精子由来アレルのみならず卵子由来アレルにも同様の变化を引き起こすことが示された。

4 - 5) まとめ

ここ 20 年ほどの間に、環境因子の曝露によって代謝疾患をはじめとする様々な健康影響が世代を超えて伝わるという報告が数多くなされるようになってきている。特に父親を介した影響については、精子のエピジェネティックな変化が原因となるという考え方が有力になっている (Barouki et al. Environ Int 2018)。DNA メチル化変化は、ヒストン修飾をはじめとする他のエピジェネティック修飾と密接に関係し、世代を超えた影響の原因となると考えられている。しかし世代を超えて影響が伝わる分子メカニズムはほとんど明らかにされておらず、生殖細胞の DNA メチル化をはじめとしたエピジェネティック修飾は、受精後初期化を受けることから、生殖細胞のエピジェネティック変化は受精後の胚に影響を及ぼさないのではないかという議論もあり、世代間影響の考え方が定まらない原因の一つとなっていた。特に DNA メチル化は受精後にいったん大部分が除かれ、その後再構成されることから、環境因子によって生殖細胞でおこった DNA メチル化変化が受精後の胚に持ち込まれるか否かは未解明であった。

本研究では、妊娠期ヒ素曝露による精子の DNA メチル化変化が受精後の胚での初期化・再構成を経て、次世代に受け継がれるかという課題を明らかにすることを目的とした。そこで妊娠期ヒ素曝露を受けた雄と曝露を受けていない他系統の雌を交配し、受精後の初期化・再構成後の胚の DNA メチル化のゲノムワイドな次世代シークエンス解析を行った。その結果、精子でのメチル化変化が受精後に受け継がれることを定量的に明らかにすることに成功した。このことから、精子で起こった DNA メチル化変化が直接胚に伝わり、次の世代に影響を及ぼすという経路が可能であることを示した。

本研究で明らかになったヒ素群 F2 胚での DNA メチル化変化の一つが、全染色体にわたる DNA メチル化の低下であった。DNA メチル化低下はゲノムの不安定化につながりうる変化である (Li and Zhang Cold Spring Harb Perspect Biol 2014; Smith and Meissner Nat Rev Genet 2013)。もう一つの大きな特徴がレトロトランスポゾンの LINE および LTR のメチル化低下であった。レト

ロトランスポゾンの転移は発がんをはじめ様々な疾患の原因となるが(Hancks, Kazazian Jr Mobile DNA 2016; Beck et al. Annu Rev Genom Hum Genet 2011)、DNA メチル化はこれらのレトロトランスポゾンの有害な転移を抑制する重要な役割を果たしている (Li and Zhang Cold Spring Harb Perspect Biol 2014; Smith and Meissner Nat Rev Genet 2013)。精子や胚におけるレトロトランスポゾンのメチル化の低下は、精子や胚において有害なレトロトランスポゾンの転移活性を高める可能性がある。

本研究の実験系では、孫世代で肝腫瘍が増加することが見ついているが (Nohara et al. J Appl Toxicol 2106)、上に述べたようにレトロトランスポゾンの活性化は発がんをはじめとした各種の疾患に関与することが報告されている。特に LINE の活性化が肝腫瘍の発生に関与することが報告されている (Schauer et al. Genome Res 2018; Shukla et al. Cell 2013)。また地質の無機ヒ素濃度が高い世界のヒ素汚染地域では、発癌や糖尿病等の代謝疾患、心疾患、神経疾患、免疫疾患などが増加している (Hughes et al. Toxicol Sci 2011; Mondal et al. Environ Int. 2020; Siddique et al. Chemosphere 2020)。環境因子の曝露による次世代への影響を防止するために、今回明らかにした妊娠期ヒ素曝露によって精子から F2 胚に伝わるレトロトランスポゾンの DNA メチル化変化が、F2 世代の成長後にいかなる影響をもたらすか、さらに検討が必要と考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okamura Kazuyuki, Nakabayashi Kazuhiko, Kawai Tomoko, Suzuki Takehiro, Sano Tomoharu, Hata Kenichiro, Nohara Keiko	4. 巻 110
2. 論文標題 DNA methylation changes involved in the tumor increase in F2 males born to gestationally arsenite exposed F1 male mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2629 ~ 2642
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14104	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 Nohara Keiko, Nakabayashi Kazuhiko, Okamura Kazuyuki, Suzuki Takehiro, Suzuki Shigekatsu, Hata Kenichiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Gestational arsenic exposure induces site-specific DNA hypomethylation in active retrotransposon subfamilies in offspring sperm in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Epigenetics & Chromatin	6. 最初と最後の頁 53 (1-14)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13072-020-00375-3	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 Nohara Keiko, Suzuki Takehiro, Okamura Kazuyuki	4. 巻 409
2. 論文標題 Gestational arsenic exposure and paternal intergenerational epigenetic inheritance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Toxicology and Applied Pharmacology	6. 最初と最後の頁 115319 ~ 115319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.taap.2020.115319	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12件（うち招待講演 4件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木武博, 岡村和幸, 野原恵子
2. 発表標題 妊娠期ヒ素曝露を受けたF1精子由来のF2初期胚における遺伝子発現変化の検討
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野原恵子, 中林一彦, 岡村和幸, 鈴木武博, 秦健一郎
2. 発表標題 マウス妊娠期無機ヒ素曝露による仔精子レトロトランスポソンのDNAメチル化低下
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野原恵子
2. 発表標題 無機ヒ素の妊娠期曝露が仔の精子エピゲノム変化を介して次世代に影響を伝えるメカニズムの探索
3. 学会等名 日本毒性学会生体金属部会主催メタルバイオサイエンス研究会2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野原恵子, 中林一彦, 岡村和幸, 鈴木武博, 秦健一郎
2. 発表標題 マウス妊娠期無機ヒ素曝露による仔の精子DNAメチル化変化の解析
3. 学会等名 第8回日本DOHaD学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野原恵子, 中林一彦, 岡村和幸, 鈴木武博, 秦健一郎
2. 発表標題 マウス妊娠期ヒ素曝露による仔精子レトロトランスポソン転写調節領域のメチル化低下
3. 学会等名 第90回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nohara K
2. 発表標題 Epigenetics and Environment.
3. 学会等名 47th Myanmar Health Research Congress (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野原恵子、岡村和幸、鈴木武博、中林一彦、秦健一郎
2. 発表標題 妊娠期無機ヒ素曝露による孫世代 (F2) の肝腫瘍増加に關与する仔世代 (F1) 精子のエピゲノム変化
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野原恵子
2. 発表標題 妊娠期無機ヒ素曝露の多世代影響とエピジェネティクス
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野原恵子
2. 発表標題 妊娠期化学物質曝露の多世代影響
3. 学会等名 第45回日本毒性学会学術年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野原恵子, 岡村和幸, 中林一彦, 松下隼也, 鈴木武博, 市原学, 秦健一郎
2. 発表標題 F0マウス妊娠期ヒ素曝露がF1雄を介してF2世代で肝腫瘍を増加させる機序の探索: F1精子のDNAメチル化解析
3. 学会等名 第12回日本エピジェネティクス研究会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野原恵子, 中林一彦, 岡村和幸, 鈴木武博, 秦健一郎
2. 発表標題 マウス妊娠期ヒ素曝露によって誘導される仔精子のLINEおよびLTRレトロトランスポソンのDNAメチル化変化
3. 学会等名 第14回日本エピジェネティクス研究会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野原恵子
2. 発表標題 環境因子の妊娠期曝露による子の精子エピゲノム変化と次世代影響
3. 学会等名 環境ホルモン学会第34回講演会(招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Udagawa O, Okamura bK, Siziki T, Nohara K.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 14
3. 書名 Chapter 3. Arsenic exposure and reproductive toxicity. In: Yamauchi H, Sun G editors. Arsenic contamination in Asia.	

〔産業財産権〕

〔その他〕

妊娠期の化学物質曝露が孫世代の健康に 影響を及ぼすメカニズム
<https://www.nies.go.jp/whatsnew/20210108/20210108.html>

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	中林 一彦 (NAKABAYASHI Kazuhiko) (10415557)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター研究所・周産期病態研究部・室長 (82612)	

	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
連携研究者	鈴木 武博 (SUZUKI Takehiro) (60425494)	国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・主任研究員 (82101)	
連携研究者	岡村 和幸 (OKAMURA Kazuyuki) (50736064)	国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・主任研究員 (82101)	
連携研究者	宇田川 理 (UDAGAWA Osamu) (50738466)	国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・主任研究員 (82101)	

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