

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：31602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23651054

研究課題名(和文) X染色体を中心とした新たな化学物質毒性メカニズムの体系化と影響評価システムの構築

研究課題名(英文) Effect of environmental chemicals to the next generation mediated by X-chromosome in activation factor

研究代表者

熊本 隆之 (Kumamoto, Takayuki)

奥羽大学・薬学部・助教

研究者番号：00433558

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：X染色体の遺伝子は1000種類以上あり、特に脳や精巣の発達に重要なものが多いが、XistとTsixというわずかに二つの遺伝子によって多くが制御され、母胎内の化学物質に脆弱性が高いと推察される。そこで脳や精巣毒性が知られるビスフェノールA、ベンゾaピレン、DEHPを妊娠マウスに投与、その出生仔を解析したところ、XistやTsixの変化とともに多くの脳や精巣の発達に重要なX染色体の遺伝子に変化しており、毒性学上の全く新しい作用の可能性を提起した。さらに、これらの遺伝子の変化に一定の法則性を見出し、XistとTsixをバイオマーカーとして化学物質の次世代健康影響の予測システムへの応用可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：The X-chromosome codes many neuro and testicular development-related genes most of expressions of X-linked genes are regulated by Xist and its antisense, Tsix. To clarify the possibility of X-mediated effect as a mechanism of neurodevelopmental and testicular disorders by Bisphenol A, Benzo [a] pyrene, and Bis(2-ethylhexyl)phthalate, pregnant mice were administered these substances and analyzed mRNA expressions in pups, and found changes expression of Xist, Tsix, and many X-linked neuro and testicular development-related genes. This X-mediated effect is considered one of the mechanisms of various chemical induced neurodevelopmental and testicular disorders. Changes expression of Xist and Tsix may provide an important biomarker for fetal chemical substances exposure.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学 放射線・化学物質影響科学

キーワード：トキシコロジー X染色体不活性化 DOHaD 化学物質影響

## 1. 研究開始当初の背景

X染色体不活性化は女性の二つあるX染色体の片方を胎生期に不活性化し、X連鎖遺伝子の発現を制御する機構(いわゆるライオニゼーション、X染色体の遺伝子量補償)であるが、その特徴として以下の3点、X染色体不活性化因子と呼ばれるわずか二つのXist・Tsix遺伝子が1,000種類以上のX連鎖遺伝子の発現に影響を及ぼすこと、X連鎖遺伝子は脳神経発達と男性生殖発達、免疫系発達との関連が強く、神経発達障害や精子形成異常、免疫疾患の重要な原因遺伝子が集中的に存在していること、X連鎖遺伝子の制御方法はDNAメチル化などのエピジェネティクスによるであり、成長後もメチル化が継続することで遺伝子発現制御が維持されること、などが挙げられる。中でも、Xistの作用は強力であり、最近ではダウン症の21番トリソミーの是正による治療の可能性(Jiang et al., Nature 2013)や、マウス体細胞クローンの作出効率が約10倍増加すること(Inoue et al., Science 2010)などが報告され、これらに大きな関心が集まっている。X染色体不活性化因子は男性にも存在、男性はX染色体が一つであり影響はより顕著に表れる可能性が高いと考えられる。例として、自閉症や脆弱X症候群、X連鎖性精神遅滞は男性に多いこと、レット症候群は男性では致死となり女性にしか見られないことが挙げられる。さらに、X連鎖遺伝子には精原細胞特異的に発現し、精巣の発達や精子形成など正常な男性生殖機能の発達に不可欠な遺伝子が多種類存在するので、X染色体不活性化因子の変動は男性生殖系発達にも影響を及ぼすことが考えられる。

代表者はこれまでにディーゼル排ガス(DE)の脳神経系に対する影響を検討し、胎生期曝露が脳内分泌系やストレス応答を中心とした遺伝子発現に及ぼすことを明らかにし(Tsukue et al., Arch Toxicol 2009)、次いで、マイクロアレイとその後の詳細な定量評価により、XistとそのアンチセンスであるTsixが次世代の雌雄の脳でDE曝露濃度依存的に増加することを明らかにしていた(Kumamoto et al., J Tox Sci 2013)。

ポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂の原料として汎用されるビスフェノールA(Bisphenol A:BPA)はエストロゲン類似作用を持つ代表的な内分泌かく乱物質であり、また、妊婦の臍帯血中から高頻度に検出されることから胎児への影響が懸念されている。また、胎児期投与により、脳形成異常や学習障害、攻撃性の増加など神経行動発達へ影響を及ぼすことや、生殖発生毒性へ影響を及ぼす可能性が報告されていた。多環芳香族炭化水素類の一つであるベンゾ[a]ピレンやDEHP(フタル酸ビス(2-エチルヘキシル))もまた、周産期投与による中枢神経毒性や学習・認知発達影響、男性生殖機能への影響が報告されていた。

## 2. 研究の目的

胎児期や乳幼児期などいわゆる発達期は化学物質に対する感受性が高く、脳神経系において神経発達やシナプス(神経回路)形成、高次脳機能形成などが活発に行われる時期であるが、血液脳関門が未発達であることから化学物質が移行しやすく、化学物質に対する感受性が高い時期であると考えられる。また、男性生殖機能の発達に対しては、血液精巣関門が未発達であることや、始原生殖細胞の発達期であることから感受性が高いと考えられる。実際、学習障害や自閉症スペクトラム障害など発達障害児の増加、男性の精子数の減少や男性不妊の増加は著しく、その原因として遺伝要因と共に化学物質曝露など環境要因が指摘されている。

X連鎖遺伝子には脳や男性生殖機能の発達に極めて重要な遺伝子が多く存在しているが、これらの発現を制御する女性でのX染色体不活性化機構や男性でのX染色体の活性は十分に安定したものではないと考えられることから、胎生期化学物質曝露に対する脆弱性が高いのではないかと着想し、新たな毒性メカニズムとして提示できるのではないかと、なぜ一つの化学物質が脳や生殖、免疫にわたって複合的に影響を及ぼすのか統合的に説明できるのではないかと考えた。

そこで本研究では、胎児期曝露により脳発達や雄性生殖発達への影響が報告されているビスフェノールAおよびベンゾ[a]ピレンを胎児期マウスに曝露、その脳および精巣について、X染色体不活性化因子およびX連鎖遺伝子群の発現変動を中心に検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) ビスフェノールA胎児期曝露

#### 1.1 ビスフェノールA胎児期曝露・試料採取

妊娠1日目のICR系妊娠マウスを購入、0.02、50 mg/kgおよびControl群に振り分け飼育した。飼育は奥羽大学動物実験委員会の承認を得て奥羽大学動物舎の管理下で行った。水はポリカーボネート容器では常温において給水中に微量ながらBPAが溶出すると報告されていることから(Howdeshell et al., Environmental Health Perspectives 2003)、配管から直接カートリッジフィルターを通した純水を自由摂水させることとした。飼料は固形試料を自由摂食とした。

妊娠6および15日目にそれぞれ経口ゾンデを用いて胃内強制経口投与した。BPA標準品をコーンオイルに溶解し、Control群はコーンオイルのみを投与した。雄性出生仔は7週齢時に、雌性出生仔は2日齢、4日齢、3週齢、7週齢時に解剖に供し試料採取を行った。Litter effectを避けるため採取はできるだけ同腹仔を避け、また成長に伴うばらつきを避けるため各ケージの匹数ができるだけ揃うようにした。雌については大脳部、雄については精巣、精巣上体を摘出し実験に供した。また、成長に伴う体重およびAGD(肛

門生殖器官距離)も測定した。

## 1.2 遺伝子解析

大脳および精巣は Total RNA を抽出し、逆転写酵素により cDNA を合成、リアルタイム PCR システムにより mRNA 発現量を定量解析した。プライマーは GenBank のシーケンス情報に基づき設計及び合成した。内部標準遺伝子は Gapdh とし補正に用いた。

検討遺伝子は主に以下とした。

X 染色体不活性化因子 : Xist (inactive X specific transcripts)、Tsix (Xist antisense RNA)

脳神経発達に重要な X 連鎖遺伝子 : Fmr1 (Fragile X mental retardation 1)、Nlgn3 (Neuroligins 3)、Pak3 (p21-activated kinase 3)、Ohpn1 (Oligophrenin 1)、Gdi1 (Guanosine diphosphate dissociation inhibitor 1)

雄性生殖発達に重要な X 連鎖遺伝子 : Tex11 (Testis expressed 11)、Tex13 (Testis expressed 13)、Usp26 (Ubiquitin specific protease 26)、Taf2q (TATA box binding protein-associated factor RNA polymerase II, subunit Q)、Taf7L (TAF7-like RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor)、Nxf2 (Nuclear RNA export factor 2)、Fthl17 (Ferritin heavy polypeptide-like 17)

## 1.3 DNA メチル化解析

大脳より抽出した DNA 溶液をバイサルファイト試薬(亜硫酸水素ナトリウム)で処理し、メチル化特異的プライマーとともに PCR 増幅、電気泳動を行いバンドの有無を確認した。メチル化特異的プライマーは ABI Methyl Primer Express を使用してバイサルファイト処理後のメチル化配列をあらかじめ予測、それに対応したものを複数パターン作成し、予備実験により明瞭な発現の得られた 3 プライマーについて測定を進めた。検討遺伝子は Xist、Tsix、Gapdh、Nlgn3 および Gdi1 とした。

## 1.4 血清中ホルモン濃度解析

雌性出生子については血清中エストロゲン濃度を、雄性出生子については血清中テストステロン濃度をそれぞれ ELISA 法により測定した。

## 1.5 精子性状解析

精巣上体より当日中に尾部を摘出、培養液中で細切し精子懸濁液を作成し、位相差顕微鏡下で運動能および直進率、奇形率等を計測した。

## 1.6 統計処理

結果は全て平均値 ± 標準偏差 (S.D.) で示した。有意差検定について、DNA メチル化解析はフィッシャー直接確率検定、他はすべ

て Dunnett's 検定による多重検定を行った。

## (2) ベンゾ[a]ピレン胎仔期曝露

ICR 系妊娠マウスに、20 および 80、320 mg/kg のベンゾ[a]ピレンを妊娠 7 から 15 日目まで 1 日おきに胃内強制経口投与した。溶媒はコーンオイルとした。雄性出生子は 7 および 12 週齢、雌性出生子は 4 および 11、46 日齢に解剖に供し試料採取を行った。

雌については大脳部における X 染色体不活性化因子および脳神経発達に重要な X 連鎖遺伝子の発現変動を中心にした解析、雄については精巣における X 染色体不活性化因子および雄性生殖発達に重要な X 連鎖遺伝子の発現変動、精子性状を中心にした解析を行った。

雄の精子性状解析については、一日精子産生率の測定および蛍光染色による精子膜性状および細胞死解析を追加した。

一日精子産生量は精巣をエオジン Y 染色下でミンスし、位相差顕微鏡下で計測した。蛍光染色は精巣上体尾部より作成した精子懸濁液を蛍光色素 AN (Annexin V)・PI (Propidium iodide)、JC-1 でそれぞれ染色し、蛍光顕微鏡観察を行った後にフローサイトメトリーで解析した。

## (3) その他化学物質胎仔期曝露

ICR 系妊娠マウスに、2 および 20mg/kg の DEHP を妊娠 8 および 15 日目にそれぞれ皮下注射で投与した。溶媒はコーンオイルを用いた。その雌性出生子を 4 日齢で解剖に供し大脳部を摘出、リアルタイム PCR 法により X 染色体不活性化関連遺伝子として Xist および Tsix、脳発達に重要な X 連鎖遺伝子として Fmr1、Gdi1、Nlgn3、Ohpn1、Pak3、エピジェネティクス関連遺伝子として Dnmt1 (DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1)、Hdac1 (Histone deacetylase 1) とした。統計学的処理は Dunnett's 検定による多重検定を行った。

## 4. 研究成果

### (1) ビスフェノール A 胎仔期曝露

#### 1-1 雌における影響

3、7 週齢で曝露濃度依存的な Xist の発現減少と Tsix の発現上昇が認められ、さらに X 連鎖性遺伝子発現として Fmr1、Nlgn3、Pak3、Gdi1 がほぼ同時期に総じて発現減少が認められた。これらの遺伝子群はより脳発達との結びつきの強いものを選択しており、Fmr1 は神経細胞での mRNA 輸送に関する脆弱 X 症候群の原因遺伝子、Nlgn3 はシナプス同士の連結に関与する遺伝性自閉症の原因遺伝子、Pak3 はニューロン突起の伸長、Gdi1 は神経伝達物質の正常な放出の維持に関与する X 連鎖性精神遅滞の原因遺伝子である。これらの発現変動は離乳～幼児期に相当する 3 週齢時、思春期以降に相当する 7 週齢時においても見られ、むしろ成長するほど顕著な差が得られた。なお、これらの変化と同時に性ホルモン

関連遺伝子 (AR、ER、ER) の mRNA 発現変動、肛門生殖器間距離の短縮、血清中エストロジオールの減少が認められ、性差への影響も示唆されている。以上の変化は高濃度曝露群 (50mg/kg; 米国環境保護庁の示す最小毒性量 (LOAEL) に相当) で顕著に認められたが、0.02mg/kg という極微小濃度においても作用は弱いながらも同様の傾向が示された。(Kumamoto et al., J Tox Sci 2013)。一方、X 染色体不活性化の本体はエピジェネティクス、すなわち X 染色体の中心付近に存在する Xist RNA の LINE 配列に沿った伝播に引き続いて起こる DNA メチル化と H3・H4 のアセチル化・メチル化などヒストン修飾により X 連鎖性遺伝子は不活性化状態となり、次世代に引き継がれ再活性化されるまで Xist の集積とともに維持されることが知られている。そこで DNA メチル化レベルに着目、Xist および Tsix、mRNA 発現量の明確な変化が認められた

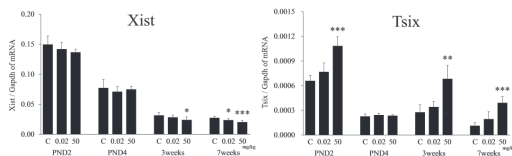


Fig. 1. mRNA expression of X-linked inactivation-related factors: Xist and Tsix. Means  $\pm$  S.D. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ . Each group contained five to seven mice.

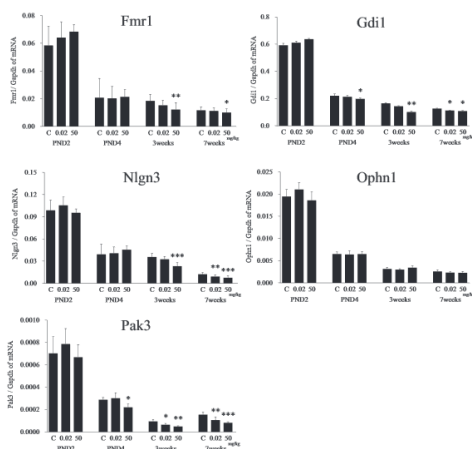


Fig. 2. mRNA expression of X-linked neurodevelopment-related genes: Fmr1, Gdi1, Nlgn3, Ophn1 and Pak3. Means  $\pm$  S.D. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ . Each group contained five to seven mice.

		PND2			PND4			3weeks			7weeks		
		Cont	0.02	50	Cont	0.02	50	Cont	0.02	50	Cont	0.02	50
Gapdh	replicate	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
	MSP1	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	MSP2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	MSP3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	Methy/Unmethy	2/4	2/4	2/4	3/3	1/5	1/5	3/3	4/2	2/4	3/3	3/3	3/3
% Methy	33	33	33	50	17	17	50	67	33	50	50	50	
% Control	100	100	100	100	34	34	100	133	67	100	100	100	
p-value	-	0.455	0.455	-	0.242	0.242	-	0.379	0.379	-	0.433	0.433	
Xist	MSP1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	MSP2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	MSP3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	Methy/Unmethy	3/3	5/1	2/4	4/2	2/4	4/2	2/4	4/2	3/3	5/1	4/2	4/2
	% Methy	50	83	33	67	33	67	33	67	50	83	67	67
% Control	100	167	66	100	50	100	100	200	150	100	125	80	
p-value	-	0.242	0.379	-	0.244	0.455	-	0.114	0.242	-	0.409	0.409	
Tsix	MSP1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	MSP2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	MSP3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	Methy/Unmethy	1/5	2/4	1/5	2/4	1/5	3/3	1/5	4/2	3/3	2/4	2/4	2/4
	% Methy	17	33	17	33	17	33	17	67	50	33	33	33
% Control	100	200	50	100	50	100	100	400	300	100	100	100	
p-value	-	0.409	0.345	-	0.409	0.379	-	0.114	0.242	-	0.455	0.455	
Nlgn3	MSP1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	MSP2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	MSP3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	Methy/Unmethy	1/5	1/5	2/4	1/5	1/5	2/4	0/6	2/4	2/4	4/2	3/3	0/6
	% Methy	17	17	33	17	17	33	0	33	33	50	50	0
p-value	-	0.545	0.409	-	0.545	0.409	-	0.227	0.227	-	0.379	0.030	
Gdi1	MSP1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	MSP2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	MSP3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
	Methy/Unmethy	1/5	0/6	1/5	0/6	2/4	1/5	0/6	0/6	0/6	1/5	0/6	0/6
	% Methy	17	0	17	0	33	17	0	0	0	17	0	0
p-value	-	0.300	0.345	-	0.227	0.500	-	1.000	1.000	-	0.500	0.500	

● Methylated, ○ Unmethylated. Statistics: Fisher's exact test.

Nlgn3、Gdi1 を検討したところ、Nlgn3 の脱メチル化が認められ Xist の変動と一致していたが、他の遺伝子に変化はなく、影響は Xist および Tsix RNA (どちらもタンパク質に翻訳されず機能するノンコーディング RNA) を介したものが中心であることが示唆された。以上より、BPA 胎仔期曝露は X 染色体不活性化の不安定化と X 連鎖性遺伝子への広範な影響を介して脳の発達に影響を及ぼし、すでに報告されている学習障害や行動異常等に関連している可能性が考えられた。

### 1-2 雄における影響

体重および精巣、精巣上体、生殖腺、大脳重量の変動、AGD の短縮、一日精子産生量の減少が認められた。遺伝子発現については、Xist と Tsix が共に有意な減少を認めたが、X 連鎖性遺伝子については全体に減少傾向にあったが、有意な差はなかった。

### (2) ベンゾ[a]ピレン胎仔期曝露

#### 2-1 雌における影響

4 日齢では Xist の減少に加えて Nlgn3 の減少、11 日齢では Xist の減少に加えて AR の減少、7 週齢では Xist に変化が認められなかったが、Tsix の減少とともに Fmr1、Pak3、Gdi1 の上昇が認められた。7 週齢では大脳重量の曝露濃度依存的な低下が認められたが、体重補正では変化がなかった。AGD および体重、小脳重量はほとんど変化がなかった。

なお、免疫機能の発達に重要な X 連鎖性遺伝子である Il2rg (Interleukin 2 receptor, gamma)、Btk1 (Bruton's tyrosine kinase)、CD40L (CD40 ligand) も部分的ではあるが変動したことから、胸腺など免疫組織での解析が必要であると考えられる。

#### 2-2 雄における影響

7、12 週齢とも曝露濃度依存的な体重および精巣、精巣上体重量の低下が認められた。精巣、精巣上体重量は体重補正を行っても有意に低下していた。なお、大脳重量の低下および AGD の短縮も認められたが、体重補正を行うと差は消失していた。テストステロン値は 7 週齢では差はなかったが 12 週齢では曝露濃度依存的に低下していた。さらに、一日精子産生量および正常形態率、運動率、直進率など精子性状に関しても曝露濃度依存的に顕著に減少しており、ベンゾ[a]ピレン胎仔期曝露による精巣毒性・精子形成異常が明確に認められた。蛍光染色およびフローサイトメトリーを用いた解析においては 7w 週齢では AN+/PI-減少と AN-/PI+上昇、12 週齢では AN+/PI+および AN-/PI+上昇、AN+/PI-減少していたことから、全体として生細胞が減り死細胞が増加、早期アポトーシスではなく後期アポトーシスやネクローシスを引き起こし、精子の質が悪化されたと解析された。

そこで精巣における X 染色体関連の遺伝子発現変動を検討したところ、7、12 週齢とも

Xist の曝露濃度依存的な発現減少が認められ、X 連鎖遺伝子については Taf2q、Taf7L、Tex11、Tex13、Nxf2、Fthl17、Usp26 の曝露濃度依存的に顕著な発現減少が認められた。Tsix については有意な差は認められなかった。これらはいずれも精原細胞特異的に発現し、精子形成やライディヒ細胞形成に不可欠な遺伝子であることから、先述した精巣毒性に対するメカニズムの一つとなりうると考えられた。なお、同時に測定したテストステロン合成遺伝子である StAR (steroidogenic acute regulatory protein)、3 $\beta$ -Hsd (3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase)、17 $\beta$ -Hsd (17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase)、P450c17 (cytochrome P450, family 17)、P450scc (cytochrome P450, side-chain cleavage enzyme)はいずれも曝露濃度依存的に上昇しており、精巣毒性に対するフィードバック作用が働いているものと考えられた。Xist および X 連鎖遺伝子に顕著な変動が認められたことから、現在、これらの間に作用する DNA メチル化解析を進めている。

#### (3) その他化学物質胎仔期曝露

DEHP の 20mg/kg 曝露において Xist の有意な発現減少と Tsix の有意な発現上昇が認められ、さらに、Fmr1、Nlgn3、Pak3、Hdac1 の有意な発現減少が認められた。0.02 mg/kg 曝露においては Xist および Tsix に有意な差はなかったもののそれぞれ同様の傾向が得られ、Nlgn3 の有意な発現減少が認められた。

DEHP 胎仔期曝露に関しても Xist と Tsix の発現変動より何らかの形で X 染色体不活性化の不安定化を生じさせ、X 連鎖性遺伝子発現に影響を及ぼしているものと推察される。DEHP の神経系への影響として成人期においては疫学・動物実験とも目立った報告はないが、妊娠中の母親や子どもへの曝露と子どもの神経行動発達との関連は横断研究だけでなくいくつかの前向きコホート研究からも示唆されており、本研究で認められた遺伝子発現変動との関連性が考えられた。

#### (4) まとめ

研究結果の蓄積から、X 連鎖遺伝子の発現は Xist により制御を受けるが、Xist に加え、Xist のアンチセンスである Tsix の発現が重要であることが示された。すなわち、Xist の減少または Tsix の上昇は X 連鎖遺伝子を減少方向に、Xist の上昇または Tsix の減少は X 連鎖遺伝子を上昇方向に変動させ、X 染色体不活性化因子の変動の方向性が X 連鎖遺伝子の変動を決定づける可能性が示唆された。Xist・Tsix ともに上昇または減少は相殺的に X 連鎖遺伝子を変動させていなかった。以前に代表者らが実施したディーゼル排ガスの胎仔期曝露の結果もこれを支持している。

X 染色体不活性化機構の本体であるエピジェネティクスに関しては、解析した DNA メチル化レベルの変化は部分的であり、影響は

Xist および Tsix RNA (どちらもタンパク質に翻訳されず機能するノンコーディング RNA) を介したものが中心であることが示唆された。

以上より、Xist と Tsix の変化の方向性が脳と雄性生殖発達を含む多くの X 連鎖遺伝子群の発現調節に重要であるという知見が得られ、生体影響評価システムへの応用可能性が示された。さらに、X 染色体を介した影響は化学物質の新たな毒性機構を提示することに加え、胎生期に確立されることから胎生期化学物質曝露の成長後影響の一因となりうることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

(1)Takayuki Kumamoto and Shigeru Oshio Effect of fetal exposure to bisphenol A on brain mediated by X-chromosome inactivation.

J Toxicol Sci. (査読あり)

38(3): 485-494. 2013

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jts/38/3/38\\_485/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jts/38/3/38_485/_pdf)

(2)Takayuki Kumamoto, Naomi Tsukue, Hirohisa Takano, Ken Takeda, Shigeru Oshio Fetal exposure to diesel exhaust affects X-chromosome inactivation factor expression in mice.

J Toxicol Sci. (査読あり)

38(2): 245-254. 2013

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jts/38/3/38\\_485/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jts/38/3/38_485/_pdf)

[学会発表](計6件)

(1)熊本隆之、小峯康孝、高柳直紀、押尾茂 ベンゾ[a]ピレン胎仔期曝露は雄性生殖機能を障害する

フォーラム 2014 環境薬学・衛生トキシコロジー

2014/9/19-20

筑波・つくば国際会議場

(2)熊本隆之、高柳直紀、小峯康孝、押尾茂 X 染色体不活性化機構を指標とした脳神経系へ及ぼすベンゾ[a]ピレン胎仔期曝露の影響解析

第3回日本 DOHaD 研究会

2014/7/25-26

東京・国立成育医療研究センター

(3)Takayuki Kumamoto, Shigeru Oshio Effect of fetal exposure to bisphenol A on brain mediated by X-chromosome inactivation

第8回国際 DOHaD 研究会 (8th world

congress on Developmental Origins of Health and Disease)  
2013/11/17-20  
シンガポール・Suntec Singapore (サンテック・シンガポール国際会議場)

(4)熊本隆之、押尾茂  
X 染色体不活性化を中心とした化学物質胎仔期曝露の脳神経系への影響  
第 2 回日本 DOHaD 研究会年会  
2013/6/7-8  
東京・厚生労働省戸山庁舎

(5)熊本隆之、押尾茂  
ビスフェノール A 胎仔期曝露が脳神経系に及ぼす影響の X 染色体不活性化を指標とした解析  
第 83 回日本衛生学会学術総会  
2013/03/25-27  
金沢・金沢大学

(6)熊本隆之、押尾茂  
ビスフェノール A 胎仔期曝露が脳神経系に及ぼす影響～X 染色体不活性化機構を中心とした解析～  
フォーラム 2012 衛生薬学環境トキシコロジー  
2012/10/25-26  
名古屋・名古屋観光ホテル

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
熊本 隆之 (TAKAYUKI, Kumamoto)  
奥羽大学・薬学部・助教

研究者番号：00433558

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：