

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 27 日現在

機関番号：32425

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510085

研究課題名(和文)ディーゼル排ガスにより次世代の神経幹細胞に生じる機能障害とDNAメチル化異常

研究課題名(英文) Prenatal diesel exhaust exposure disrupt the DNA methylation profile and the function of neural stem cells in the brain of mouse

研究代表者

立花 研 (Tachibana, Ken)

日本薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：10400540

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、胎仔期のディーゼル排ガス(DE)曝露により神経幹細胞に生じるDNAメチル化状態の変化と遺伝的・機能的異常の検討を行った。

胎仔期にDEを曝露した新生仔マウスの神経幹細胞から得たゲノムDNAについてメチル化状態の解析を行った。その結果、ゲノム全体にわたるメチル化状態の変動が認められた。また、多くの遺伝子(mRNA)の発現変動が認められ、神経細胞への分化に対する影響が推測された。実際に神経細胞の分化マーカーの発現量に低下が認められた。以上より、胎仔期のDE曝露が神経幹細胞のDNAメチル化状態に影響を及ぼし、mRNA発現が変動することで神経細胞への分化に影響を及ぼすことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we analyzed the effect of prenatal diesel exhaust (DE) exposure on the DNA methylation of neural stem cells (NSCs). Furthermore, we also analyzed the relationship between altered DNA methylation profile and the function of NSCs.

Pregnant mice were exposed to DE and NSCs were obtained from brains which collected from 1-day-old offspring. Genome-wide DNA methylation profile of NSCs was disrupted by prenatal DE exposure. In addition, altered expression of mRNAs which are related to neural differentiation or maintenance of stem cell phenotype was detected. The mRNA expression levels of neural differentiation markers in the NSCs were decreased by prenatal DE exposure.

These results suggested that disrupted DNA methylation induced by prenatal DE exposure altered the expression level of mRNA which related to differentiation of neural cells. Furthermore, altered expression of mRNA was associated with deregulation of neural differentiation during development period.

研究分野：環境衛生薬学、分子細胞生物学

キーワード：トキシコロジー DNAメチル化 環境 衛生 エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

遺伝子のプロモーター領域に生じる DNA メチル化は遺伝子の発現を制御しており、ほ乳類の発生・分化に重要な役割を果たしている。最近注目を浴びている iPS 細胞の効率的な作製・特異的な臓器への分化の制御に、DNA メチル化などの (DNA の塩基配列には変化を生じない) エピジェネティックな遺伝子発現の制御が鍵を握ると考えられていることからその重要性がうかがえる。

細胞が持つ DNA メチル化パターンの情報は受精後に一度消去された後、発生の過程で再び構築される。したがって、この期間の様々な化学物質の曝露が DNA メチル化パターンの構築の異常を引き起こす可能性が高い。また、基本的に一度確立された DNA メチル化の情報は細胞分裂後も維持されるため、その異常は生体にとって極めて深刻な影響を及ぼす。実際、胎仔期に Vinclozoline (殺菌剤として使用される化学物質) に晒されたラットでは、産まれた仔の精巣において DNA メチル化に異常が生じ、生殖機能が傷害されることが報告されている。極めて重要な研究であるが検討された遺伝子は限られており、また、この報告以後の検討はほとんどなされていない。

我々はディーゼル排ガス (DE) の生体影響について、マウスを用いて胎仔期曝露の影響を検討した。その過程で、脳血管周囲細胞の変性、血管内皮やアストロサイトなどの細胞への影響などを世界に先駆けて明らかにした。加えて、脳内モノアミン濃度の変動、記憶学習能力の低下などの機能的変化が認められたことから、脳神経疾患との関連について注目した。これらの影響は DE 中の粒子状成分の除去によって軽減されることから、粒子状成分が重要であると考えられる。器官形成段階である胎児期に受けた影響が不可逆的な変化として表れる場合、一度受けた影響が出生後も残り、疾病の発症につながる恐れがある。脳神経系の発達に DNA メチル化が重要な役割を果たしていることが数多く報告され、その異常とアルツハイマー等の脳神経疾患との関連が示されている。

申請者は、胎仔期に DE の曝露を受けたマウスの DNA メチル化状態を網羅的に解析し、DE 胎仔機曝露によって DNA メチル化パターンの形成が大きく乱されることを明らかとした。胎仔期は個体の形成に向けて細胞の分化や淘汰、機能獲得といった発達が盛んに生じる期間であることから、脳神経系の正常な発達の要となる神経幹細胞の遺伝的・機能的変化に注目した。神経幹細胞に生じる DNA メチル化異常は各種神経細胞の正常な分化・機能獲得を攪乱し、脳神経系の組織やネットワークの形成に影響を及ぼす可能性が高いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、以下の点を明らかとすることを目的とし、研究を行った。

- (1) 妊娠マウスにディーゼル排ガス (DE) の曝露を行い、胎仔あるいは産まれた仔マウスから脳を摘出して、神経幹細胞を得る。得られた神経幹細胞の DNA メチル化状態を網羅的に解析するとともに、DE 胎仔期曝露により影響を受ける遺伝子 (mRNA) および microRNA を明らかにする。
- (2) (1) で得られた神経幹細胞に対し、人工的にニューロン、グリア細胞等の各種神経系細胞への分化を誘導し、分化のされやすさ (各種神経系細胞の存在比) に変化が生じているか検討する。また、分化した細胞について遺伝的・機能的解析を行い、その性状の変化を明らかにする。
- (3) (1)、(2) から、DNA メチル化に影響を受けやすい脳領域・遺伝子 (群)・DNA 領域・塩基配列を明らかにし、DE による脳機能障害メカニズムを検討する。特に、DE 曝露により脳組織に生じる病変部位と DNA メチル化・遺伝子発現異常の相関から脳機能障害への関与を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 実験動物及びディーゼル排ガス曝露

実験動物としてマウスを用いた。曝露時期は、妊娠期に実施し、新生仔 (0.5 日齢) から試料を採取した。曝露装置は東京理科大学、環境次世代健康科学研究センター内に設置された装置を用いて行った。

(2) 神経幹細胞の培養および各種神経系細胞への分化誘導

ディーゼル排ガスの曝露後、新生仔 (0.5 日齢) から脳を採取し、専用の培地を用いて神経幹細胞を特異的に培養し、神経幹細胞を得た。神経幹細胞は無血清の培地に EGF (20 ng/mL)、basic FGF (20 ng/mL) を添加して培養することで維持した。培地に 10% ウシ血清を添加することで種々の神経系細胞 (ニューロン、アストロサイト等) への分化誘導を行った。これらの神経幹細胞への分化を誘導した後、各種神経系細胞のマーカーに対する免疫染色を行い、分化後の各種神経系細胞の存在比 (各種神経系細胞への分化のされやすさ) を検討した。

(3) マイクロアレイを用いた DNA メチル化状態の解析

(2) で得られた神経幹細胞からゲノム DNA を抽出・精製し、メチル化 DNA 免疫沈降法 (Weber ら Nat. Genet., 37, 853-862, 2005) を用いて、ゲノム DNA から特異的にメチル化 DNA を回収した。得られたメチル化 DNA をアジレント社製、Mouse CpG Island Microarray, 2 × 10⁵ K

を用いて解析した。方法はアジレント社が推奨するプロトコールにしたがって行った。得られた結果から、メチル化状態に変動が認められた DNA 領域を抽出した。

(4) 神経幹細胞で発現変動する mRNA・microRNA と DNA メチル化の関与

神経幹細胞、各種神経系細胞から、mRNA および microRNA を抽出し、マイクロアレイ解析 (mRNA:アジレント社製、SurePrint G3 mouse gene expression 8×60 k array、microRNA: 東レ社製、3D-Gene mouse miRNA oligo chip) を行い、DE 曝露による発現パターンの変動を解析した。神経幹細胞と神経系細胞における mRNA、microRNA の発現プロファイルを比較することで、DE の曝露により生じる各種神経系細胞への分化に対する影響と、それに関与する microRNA、mRNA を検討した。

さらに、(3)で得られた DNA メチル化パターンとの相関を調べることで、上記の実験で変動が見出された mRNA・microRNA のうち、DNA メチル化により発現量が制御される RNA について検討を行った。

4. 研究成果

(1) 単離した神経幹細胞の純度の確認

胎仔期に DE の曝露を行ったマウス (新生仔) から神経幹細胞を単離した。単離した神経幹細胞に対して幹細胞マーカーである Sox2 を用いて免疫染色を行い、蛍光顕微鏡下にて Sox2 を発現している細胞の数をカウントした。その結果、96.3%の高い割合で神経幹細胞が得られていることが示された。

(2) CpG アイランドマイクロアレイを用いた DNA メチル化パターンの網羅的解析

Mouse CpG islands 2×105 K マイクロアレイ (12569 個の遺伝子についてのプローブが搭載されている) を用いて神経幹細胞の DNA メチル化パターンを網羅的に解析した。Control 群のみにメチル化が検出された遺伝子、DE 曝露群のみにメチル化が検出された遺伝子をそれぞれ DE 胎仔期曝露によって DNA メチル化が減少した遺伝子、増加した遺伝子とし、それぞれの遺伝子の数をグラフに示した (図 1)。解析の結果、全ての染色体においてメチル化されている DNA 領域が検出された (図 1)。また、雌雄共通して DNA メチル化パターンが変動した遺伝子のなかで、DE 胎仔期曝露によって DNA メチル化が減少した遺伝子は 282 個、増加した遺伝子は 562 個検出された (図 1)。以上の結果から、DE 胎仔期曝露による DNA メチル化パターンの変動は、神経幹細胞が神経系細胞へと分化する前の段階で既に引き起こされており、分化後の細胞の DNA メチル化にも影響を及

ぼしている可能性が示された。メチル化パターンが変動していた遺伝子の数では、DNA メチル化が増加した遺伝子が減少した遺伝子と比較して多かった。DNA メチル化は遺伝子の転写を抑制する役割を果たしていることから、神経幹細胞において多くの遺伝子の転写が抑制され、神経幹細胞の増殖や分化に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

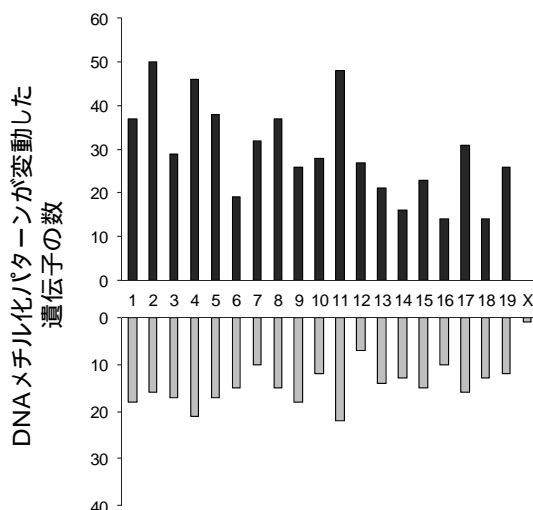


図 1 DE 胎仔期曝露により Control 群と比較して DNA メチル化が変動していた遺伝子の数

■ : メチル化が増加した遺伝子の数
 □ : メチル化が減少した遺伝子の数
 横軸 : 染色体番号

(3) マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析

SurePrint G3 Mouse Gene Expression 8×60 K array を用いて遺伝子の発現変動を網羅的に解析した。DE 曝露群の神経幹細胞において遺伝子の発現亢進が見られた遺伝子は、雄で 81 個、雌で 40 個検出され、発現低下が見られた遺伝子は雄で 279 個、雌で 216 個検出された。このうち、雌雄共通で発現亢進が見られた遺伝子は 25 個検出され、発現低下が見られた遺伝子は 140 個検出された。雌雄共通して発現変動が見られた遺伝子に関して GO term を用いた機能グループ解析を行った結果、発現変動遺伝子が細胞分化や神経系の発達といったカテゴリーに有意に濃縮されていることが示された (表 1)。雌雄に共通して発現変動が見られた 165 個の遺伝子の中でも、神経幹細胞の分化・増殖に関わる遺伝子に注目したところ、アストロサイトマーカーである *Gfap*、オリゴデンドロサイトマーカーである *Mbp*、神経栄養因子である *Cntf*、神経の発達に関する *Gadd45g* などの発現低下が認められた。

表1 発現変動した mRNA が有意に濃縮されていた GO term および濃縮率

GO	P value	Enrichment factor
extracellular region	<0.01	3.05
extracellular space	<0.01	3.43
catalytic activity	<0.01	2.79
signal transduction	0.02	2.01
multicellular organismal development	0.02	2.21
cell differentiation	<0.01	2.79
integral to plasma membrane	<0.01	4.09
cell adhesion	0.05	2.31
transcription factor binding	0.01	3.16
nervous system development	<0.01	3.39
positive regulation of apoptotic process	0.03	2.83
receptor activity	<0.01	5.41

Enrichment factor (濃縮係数) = $(nf/n)/(Nf/N)$ 、
 nf: GO の各カテゴリーの中で遺伝子発現が変動した遺伝子の数、Nf: GO の各カテゴリーに含まれる遺伝子の数、n: マイクロアレイ解析において遺伝子発現が変動した遺伝子の数、N: マイクロアレイで解析した遺伝子の総数

(4) 定量的 RT-PCR 法を用いた遺伝子発現解析

新生仔の神経幹細胞における *Gfap*、*Cntf*、*Gadd45g* の mRNA 発現量を定量的 RT-PCR 法で詳細に解析したところ、いずれも Control 群と比較して DE 曝露群において低下する傾向が見られた。

この結果から、新生仔の時点において、DE 胎仔期曝露によって、神経幹細胞の増殖能・分化能の低下が引き起こされ、神経系細胞への分化や神経幹細胞の自己増殖が抑制されている可能性が示された。CpG アイランドマイクロアレイ解析の結果を踏まえると、ゲノム全体の DNA メチル化の増加が mRNA 発現の低下に寄与している可能性が考えられた。実際に、*Gadd45g* の DNA メチル化パターンを解析した結果、雌雄いずれにおいても DE 曝露群においてのみ遺伝子内あるいはプロモーター領域の DNA メチル化が検出された。今回用いた CpG アイランドマイクロアレイ解析においては、使用したプローブに *Gfap* や *Cntf* のプロモーター領域は含まれていなかったため、これらの遺伝子の DNA メチル化と mRNA 発現との関連は示すことができなかった。

(5) 神経幹細胞における miRNA 発現変動の解析

マイクロアレイを用いて DE 胎仔期曝露による microRNA の発現変動を解析した。その結果、様々な microRNA に発現変動が認められたが、雌雄のマウスに共通して発現変動する microRNA が 1 個見いだされた。この microRNA について標的候補となる mRNA の解析を行ったところ、DNA メチル化を司る酵素が標的となる可能性が

示唆された。このことから、DE の胎仔期曝露により生じたこの microRNA の発現変動が DNA メチル化異常の原因の一部に関与している可能性が示唆された。

(6) 各種神経系細胞への分化

神経幹細胞に対してウシ血清を用いて分化を誘導し、DE 曝露の有無による分化能への影響について検討を行った。その結果、曝露の有無によって分化能に大きな変化は見いだされなかった。しかし、DE 非曝露群においても十分な分化が誘導できていないため、分化誘導の条件が不十分である可能性が否定できず、今後の更なる検討が必要である。

(7) 今後の展望

神経幹細胞は、ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトへの多分化能と自己複製能を有する細胞であり、中枢神経系の構築や機能維持に重要な役割を果たしている。発達過程の脳内では神経幹細胞が活発に分化・増殖を行うことで中枢神経系を構築している。そのため、神経幹細胞に生じる影響は胎児期における脳の正常な構築を妨げるとともに、出生後の産児の記憶学習能力の低下や神経変性疾患などにつながることで報告されている。神経幹細胞の分化は細胞内在性プログラムであるエピジェネティクスと細胞外因子の協調作用によって厳密に制御されることが知られている。特に、DNA メチル化は神経幹細胞の増殖能・分化能の制御に重要な役割を果たすことが多数報告されており、神経系の正常な発達に極めて重要であると考えられる。

先行研究において、化学物質の曝露が神経幹細胞の性質に影響を及ぼすことが報告されているが、DE 胎仔期曝露によって神経幹細胞の DNA メチル化パターンや mRNA 発現に及ぼす影響は国内外含め不明であった。近年、PM2.5 などの浮遊粒子状物質による健康影響が懸念されているが、次世代への健康影響に関する報告は多くはなく、未解明な部分が多く残されている。本研究で得られた成果は、大気中に存在する浮遊粒子状物質が発達段階の仔の神経幹細胞に影響を及ぼし、脳機能の正常な発達に影響を及ぼす可能性を示唆している。また、一度構築された DNA メチル化パターンは基本的に細胞分裂を経ても維持されるため、この段階で表現型として影響が表れない場合でも、異常が潜在的に残り、成長後の脳機能に影響を及ぼす可能性が否定できない。

今後は、神経幹細胞に生じたメチル化異常および mRNA、microRNA の発現異常が、成長後の脳機能にどのような影響を及ぼすか検討を行う必要があると考えられる。また、工業的に様々な粒子（特に 100

nm 以下のいわゆるナノ粒子)を用いた産業が急速に発展しており、この産業の健全な発達のために、様々な粒子について同様の検討を行い、健康影響が生じるメカニズムについて検討を進める必要があると考えられる。

5. 主な発表論文等
(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4件)

Ken Tachibana, Kohei Takayanagi, Ayame Akimoto, Kouji Ueda, Yusuke Shinkai, Masakazu Umezawa, Ken Takeda. Prenatal diesel exhaust exposure disrupts the DNA methylation profile in the brain of mouse offspring. *Journal of Toxicological Sciences* Vol. 40(1), 1-11 (2015)、査読有、DOI: 10.2131/jts.40.1

Ryuhei Shimizu, Masakazu Umezawa, Saki Okamoto, Atsuto Onoda, Mariko Uchiyama, Ken Tachibana, Shiho Watanabe, Shuhei Ogawa, Ryo Abe, Ken Takeda. Effect of maternal exposure to carbon black nanoparticle during early gestation on the splenic phenotype of neonatal mouse. *Journal of Toxicological Sciences* Vol. 39(4), 571-578 (2014)、査読有、DOI: 10.2131/jts.39.571

Yuka Okada, Ken Tachibana, Shinya Yanagita, Ken Takeda. Prenatal exposure to zinc oxide particles alters monoaminergic neurotransmitter levels in the brain of mouse offspring. *Journal of Toxicological Sciences* Vol. 38(3), 363-370 (2013)、査読有、DOI: 10.2131/jts.38.363

Toshiaki Tanaka, Masashi Okada, Yasukazu Hozumi, Ken Tachibana, Chifumi Kitanaka, Yoshioki Hamamoto, Alberto M. Martelli, Matthew K. Topham, Mitsuyoshi Iino, Kaoru Goto. Cytoplasmic localization of DGKzeta exerts a protective effect against p53-mediated cytotoxicity. *Journal of Cell Science* Vol. 126(pt13), 2785-2797 (2013)、査読有、DOI: 10.1242/jcs.118711

[学会発表](計20件)

立花研, 卯月諒, 小平伊織, 黒岩法子, 新海雄介, 武田健: ディーゼル排ガス曝露により肺で生じるマイクロRNA発現変動の解析、日本薬学会第135年会、2015年3月25日~28日、神戸学院大学 他(兵庫県神戸市)

Shotaro Kawazoe, Ken Tachibana, Ken Takeda, Masakazu Umezawa, Effects of prenatal exposure to titanium dioxide nanoparticle on DNA methylation and gene expression profile in the brain of mouse. PPTox IV Environmental Stressors in Disease and Implications for Human Health、2014年10月26~29日、ボストン(アメリカ)

梅澤雅和、立花研、岡本沙紀、武田健: 幼児期マウスの脾臓 mRNA ならびに miRNA 発現プロファイルに認められる性差の機能的特徴、第87回日本生化学会大会、2014年10月15~18日、国立京都国際会館(京都府京都市)

武田健、立花研、梅澤雅和: 妊娠期に曝露したナノマテリアルによる次世代への影響、フォーラム2014衛生薬学・環境トキシコロジー、2014年9月19~20日、つくば国際会議場(茨城県つくば市)

小番美鈴、立花研、川副翔太郎、上田剛司、新海雄介、梅澤雅和、武田健: 二酸化チタンナノ粒子の胎仔期曝露により神経幹細胞に生じる遺伝子発現変動、フォーラム2014衛生薬学・環境トキシコロジー、2014年9月19~20日、つくば国際会議場(茨城県つくば市)

立花研、武田健: ディーゼル排ガスおよびナノ粒子曝露の生体影響におけるマイクロRNAの関与、第41回日本毒性学会学術年会、2014年7月2日~4日、神戸国際会議場(兵庫県神戸市)(招待講演)

須山史也、谷口烈、吉川洋一郎、立花研、武田健、梅澤雅和: 高脂肪食を摂取したマウスの血清中ナノコロイドの解析、第41回日本毒性学会学術年会、2014年7月2日~4日、神戸国際会議場(兵庫県神戸市)

立花研、高柳皓平、秋本純芽、上田剛司、新海雄介、梅澤雅和、武田健: ディーゼル排ガス胎仔期曝露により脳に生じるDNAメチル化異常の解析、日本薬学会第134年会、2014年3月28日~30日、熊本大学黒髪キャンパス 他(熊本県熊本市)

Ken Tachibana, Toshifumi Kojima, Noriko Kuroiwa, Tamae Yuasa, Masakazu Umezawa, Ken Takeda. Effect of Prenatal Exposure to Titanium Dioxide Nanoparticle on microRNA Expression in Mouse Embryo. 6th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health (NanOEH6)、2013年10月28日~31日、名古屋国際会

議場（愛知県名古屋市）

上田剛司、立花研、高柳皓平、秋本純芽、新海雄介、武田健：ディーゼル排ガス胎仔期曝露による DNA メチル化状態の網羅的解析、フォーラム 2013 衛生薬学・環境トキシコロジー、2013 年 9 月 13～14 日、九州大学医学部 百年講堂（福岡県福岡市）

湯浅珠恵、立花研、小島稔郁、武田健：妊娠期の酸化チタンナノ粒子曝露による羊水中マイクロ RNA 発現変動の解析、第 5 回日本 RNAi 研究会、2013 年 8 月 29～31 日、グランドプリンスホテル広島（広島県広島市）

小島稔郁、立花研、黒岩法子、新海雄介、武田健：妊娠期の酸化チタンナノ粒子曝露による胎盤のマイクロ RNA 発現量の変動の解析、第 5 回日本 RNAi 研究会、2013 年 8 月 29～31 日、グランドプリンスホテル広島（広島県広島市）

Ken Tachibana, Shotaro Kawazoe, Masakazu Umezawa, Ken Takeda. Effect of prenatal exposure to titanium dioxide nanoparticle on the gene expression in the brain of mouse offspring. 10th International Particle Toxicology Conference (IPTC2013)、2013 年 6 月 4～7 日、デュッセルドルフ（ドイツ）

Ken Tachibana, Kohei Takayanagi, Ayame Akimoto, Koji Ueda, Yusuke Shinkai, Ken Takeda. Prenatal exposure to diesel exhaust affects central nervous system of offspring in mice. 1st International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2012、2012 年 6 月 29 日～6 月 30 日、クアラルンプール（マレーシア）（招待講演）

小平伊織、立花研、卯月諒、黒岩法子、新海雄介、武田健：血中マイクロ RNA をバイオマーカーとする粒子状物質の新規安全性評価手法開発の試み、第 4 回日本 RNAi 研究会、2012 年 8 月 30 日～9 月 1 日、グランドプリンスホテル広島（広島県広島市）

卯月諒、立花研、小平伊織、黒岩法子、新海雄介、武田健：ディーゼル排ガス成獣期曝露による肺、心臓、肝臓のマイクロ RNA 発現変動解析、第 4 回日本 RNAi 研究会、2012 年 8 月 30 日～9 月 1 日、グランドプリンスホテル広島（広島県広島市）

小島稔郁、立花研、黒岩法子、新海雄介、武田健：妊娠期の酸化チタンナノ粒子曝露

による胎仔、胎盤のマイクロ RNA 発現量の変動の解析、第 4 回日本 RNAi 研究会、2012 年 8 月 30 日～9 月 1 日、グランドプリンスホテル広島（広島県広島市）

Ken Tachibana, Yuta Takahashi, Noriko Kuroiwa, Taro Oba, Masakazu Umezawa, Ken Takeda. Effects of prenatal exposure to titanium dioxide nanoparticles on dopaminergic systems in mice. Nanotoxicology 2012、2012 年 9 月 4 日～9 月 7 日、北京（中国）

梅澤雅和、未成由美、柳田信也、立花研、武田健：マイクロアレイと遺伝子アノテーションを用いたレチノールおよびサリドマイドの発生毒性評価、フォーラム 2012 衛生薬学・環境トキシコロジー、2012 年 10 月 25 日～10 月 26 日、名古屋観光ホテル（愛知県名古屋市）

秋本純芽、立花研、高柳皓平、上田剛司、新海雄介、武田健：ディーゼル排ガス胎仔期曝露が DNA メチル化に与える影響の網羅的解析、フォーラム 2012 衛生薬学・環境トキシコロジー、2012 年 10 月 25 日～10 月 26 日、名古屋観光ホテル（愛知県名古屋市）

〔図書〕（計 2 件）

立花 研：東京理科大学、科学フォーラム 第 30 巻第 6 号、18-21、2013

武田 健、立花 研：東京化学同人、スタンダード薬学シリーズ 5 健康と環境（第 2 版）193-198、2012

6. 研究組織

(1) 研究代表者

立花 研 (TACHIBANA, Ken)
日本薬科大学・薬学部・講師
研究者番号：10400540

(2) 連携研究者

柳田 信也 (YANAGITA, Shinya)
東京理科大学・理工学部・講師
研究者番号：80471755