研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号: 21401 研究種目: 若手研究(B) 研究期間: 2017~2019

課題番号: 17K12828

研究課題名(和文)新たな生態毒性試験法の開発 ~ 生態毒性学と分子生物学の融合 ~

研究課題名(英文)Development of EDC activity detection assay in Japanese medaka

研究代表者

堀江 好文(Horie, Yoshifumi)

秋田県立大学・生物資源科学部・助教

研究者番号:60785137

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文):本研究では、男性ホルモン作用のある化学物質のばく露によって魚類の「胚期」にその発現が誘導され、かつ、性決定遺伝子カスケードである特定の遺伝子を指標とすることで、化学物質の「性別」への影響を予測する、高解像度かつ簡便な新たな生態毒性試験法の開発を目的とした。その結果、メチルテストステロンばく露によってGsdf遺伝子の発現が誘導されたXX個体は遺伝的メスから機能的オスへと性転換して いた。以上の結果から、Gsdf遺伝子は化学物質の内分泌かく乱作用を予測する 有効な遺伝子マーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義 我が国の化学物質のリスク管理は、OECD TGなどに基づいて行われているが、新規化学物質の届出件数は年々増加しており、従来の方法だけでは管理しきれないのが現状である。本研究で開発する新たな試験法は、Gsdf遺伝子を指標とすることで、化学物質の内分泌かく乱作用を予測することが可能である。これにより、試験期間が8日間(従来法では約70日間の試験期間が必要)という短期間で化学物質の生態リスクを評価できるため、今後の多種多様な新規化学物質のリスク管理に対応することが可能となる。

研究成果の概要(英文): In the present study, we examined whether gsdf expression at the embryo stage is useful for predicting EDC impact on gonadal sex differentiation. When fertilized medaka eggs were exposed to methyltestosterone (MT), sex reversal from genetic female to phenotypic male were observed. At hatching, MT exposure induced gsdf expression in XX embryos. The MT concentration at which gsdf expression was induced was equal to that at which sex reversal was induced. These results indicate that expression of the gsdf gene at the embryonic stage in medaka is a useful biomarker for predicting the impact of EDCs on sexual differentiation.

研究分野: 生態毒性学

キーワード: メダカ Gsdf バイオマーカー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様 式 C-19、F-19-1、Z-19(共通)

1.研究開始当初の背景

化学物質は、食品や農薬、医薬品、化粧品などあらゆる所で使用されており、人類の生活に必要不可欠である。しかし、その半面で化学物質の流出汚染による自然環境や生態系の破壊をもたらしてきたことも事実である。我が国において、化学物質やその混合物の生態毒性の評価を目的とした生態毒性試験では、化学物質の「致死影響」、「生殖影響」、「性への影響」など、種の保全に直接係る影響を明らかにすることを目的としており、経済協力開発機構(OECD)で国際的に同意された試験法(OECD)テストガイドライン)に基づいて行われている。

最近の OECD の国際会議では、魚類を用いた OECD テストガイドラインにおいて供試魚数の制限や実験動物の取り扱い方に関する議題など、動物愛護に関する議題が多く扱われている。また、ヨーロッパでは、魚類の「胚期」は生物ではなく、胚期を用いた試験は in vitro 試験として定義されていることから、OECD の国際会議においても動物愛護の観点から魚類の「胚期」のみを用いた試験が強く推奨され始めている(EU、2010)。しかし、現状の「胚期」のみを用いた試験法では化学物質の「致死影響」を評価する試験法しか確立されておらず、そのため、「生殖影響」や「性への影響」などを評価する新たな試験法の開発が強く望まれている(図1)。

近年、申請者は性ホルモンによる「性」への影響は、Gsdf という精巣分化決定遺伝子が鍵遺伝子であり、Gsdf は「胚期」からその発現が誘導されることを、世界で初めて見出した。Gsdf の発現が「性への影響」のための鍵遺伝子として働くという新たな発見は、生態毒性学と分子生物学を融合した21世紀の新たな生態毒性試験の開発に繋がることが期待される。

2.研究の目的

最近、生態毒性学分野では、動物愛護の観点から魚類を用いた生態影響試験を行う際、ふ化前の「胚期」のみを用いた試験を行うよう強く推奨されている。しかし、「胚期」のみを用いた試験法はほとんど確立されていないのが現状である。本研究では、化学物質ばく露によって「胚期」にその発現が誘導される Gsdf 遺伝子に着目することで、従来の生態毒性学に分子生物学的手法を融合した、より簡便かつ高精度となる 21 世紀の新たな生態毒性試験法の開発を目的とする。Gsdf 遺伝子の発現パターンに着目することで、化学物質の「性への影響」を予測することが可能となり、動物愛護に配慮した 21 世紀の新たな生態毒性試験として世界中で広く用いられる試験法となることが期待される。

3.研究の方法

(1) 従来の生態毒性試験(試験生物:メダカ)

既に、Gsdf遺伝子の発現が誘導されることが判明しているメチルテストステロン(男性ホルモン作用)を用いて、「生殖影響」、「性への影響」を明らかにする。

- ・「最高濃度の設定」 : 魚類の胚・仔魚期における短期毒性試験(OECD TG No.212、生物試験期間;14日)を行い、メチルテストステロンの半数致死濃度を明らかにすることで、生態毒性試験に用いる濃度設定を調査する。(OECD, 1998)。
- ・「性への影響」 : メダカを用いた魚類性発達試験 (OECD TG No.234、生物試験期間; 2ヶ月)を行うことで、メチルテストステロンの性への影響の最小影響濃度と無影響濃度を算出する (OECD, 2011)。

本試験では、メチルテストステロンばく露されたメダカの生殖腺の組織学的観察を行い、卵精巣や性転換の発生の有無を明らかにする。

(2) Gsdf 遺伝子の発現パターンの検討

- ・「遺伝的性判別」 :メチルテストステロンばく露したメダカ胚(stage. 38; ふ化直前)を、PCR 法を用いて遺伝的な性判別を行う。
- ・「Gsdf 遺伝子発現」 : Total RNA 抽出・cDNA 合成後、リアルタイム PCR 法を用いて Gsdf 遺伝子の発現誘導の最小影響濃度と無影響濃度を算出する。

(3) 新たな生態毒性試験法の開発検討

従来の生態毒性試験で得られた各観察項目の最小影響濃度・無影響濃度と Gsdf 遺伝子の発現 誘導の最小影響濃度・無影響濃度を関連解析することにより、Gsdf 遺伝子を指標とした生態影 響試験の開発を検討する。

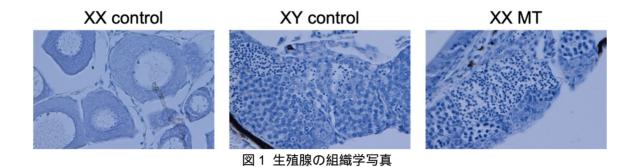
4. 研究成果

魚類の胚・仔魚期における短期毒性試験の結果から、メダカを用いた魚類性発達試験の試験濃度は、対照区、32、100、320、1000、3200 ng/L に設定した。生物試験に使用した試験水は、毎週、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて定量した。その結果、平均実測濃度は 26、63、200、736、2620 ng/L であった。対照区は検出下限以下であった(表1)。

表 1 試験液中の被験物質濃度

試験期間中の死亡率について検討した結果、全ての濃度区で対照区と比べて有意な死亡率の 増加は認められなかった。

次に、生殖腺の組織学的観察を行い、卵精巣や性転換(遺伝的メス 機能的オス)の発生の有無について検討した結果、26 ng/L 濃度区においても全ての個体が遺伝的メスから機能的オスへと性転換していた(図1)、対照区では、異常な生殖腺を有していた個体は認められなかった(図1)。



in situ ハイブリダイゼーション法を用いて gsdf 遺伝子の発現パターンを調べた結果を図 2 に示す。その結果、遺伝的メスから機能的オスへと性転換が誘導される際、精巣分化に重要な遺伝子である Gsdf 遺伝子の発現が誘導されることが明らかとなった(図 2)。

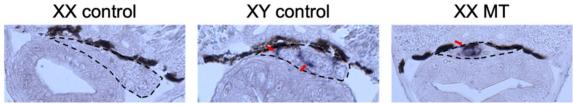


図 2 gsdf mRNA の in situ ハイブリダイゼーションの生殖腺の組織学写真

本研究によって、内分泌撹乱作用のある化学物質をメダカ胚にばく露した場合、Gsdf 遺伝子の発現パターンが動くことが確認されている。この驚異的なデータは、胚期の Gsdf 遺伝子を指標とすることで、化学物質の内分泌撹乱作用や最小影響濃度、無影響濃度を 正確に予測できる生態毒性試験法開発の初の成功例となることを示している。本研究で開発した新たな生態毒性試験法は、分子生物学的手法を利用したこれまでに成功例のない最先端の試験法となり、今後の多種多様な新規化学物質のリスク管理に対応できる新たな手法となる。さらに、内分泌撹乱物質を感度よく検出でき、かつ Gsdf 遺伝子の変動を簡便かつ安価に解析できるバイオモニタリングメダカを作出することで、環境水中に含まれる内分泌撹乱物質の有無を簡便に判定できるスクリーニング手法を構築することができる。その結果、生物の生息環境を多種多様な化学物質汚染などから守ることができ、将来の生物多様性 (種)の保全に役立つことができる。そのため本試験法は、次世代の新たなスクリーニング手法として世界的に広く用いられることが期待される。

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 3件/うちオープンアクセス 0件)

1 ・著名名 Mori hisa	〔雑誌論文〕 計3件(うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件)	
Horie Yoshifumi、Yanagishi Takahiro、Yagi Ayano、Shintaku Yoko、Iguchi Taisen、Tatarazako Norihisa 2 - 論文標題 5 - 発行年 The non steroidal anti inflamatory drug diclofenac sodium induces abnormal embryogenesis and delayed lethal effects in early life stage zebrafish (1.著者名	4 . 巻
Norihisa 2 - 論文權題 The non steroidal anti inflamatory drug diclofenac sodium induces abnormal embryogenesis and delayed lethal effects in early life stage zebrafish (39
2. 論文標題 The non steroidal anti inflamatory drug diclofenac sodium induces abnormal embryogenesis and delayed lethal effects in early life stage zebrafish (
The non steroidal anti inflammatory drug diclofenac sodium induces abnormal embryogenesis and delayed lethal effects in early life stage zebrafish () 2018年 2018年 2018年 2018年 3. 雑誌名 3. 雑誌名 3. 雑誌名 2018年		5
delayed lethal effects in early life stage zebrafish (Daniō rerio) 3 . 雑誌名		
3 . 雑誌名 Journal of Applied Toxicology	ine non steroidal anti inflammatory drug diclotenac sodium induces abnormal embryogenesis and	2018年
#報酬文のDDI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jat.3752	delayed lethal effects in early life stage zebrafish (Danio rerio	
#報酬文のDDI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jat.3752		
#報酬文のDDI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jat.3752		
#報酬文のDDI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jat.3752		
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1002/jat.3752 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 1. 著者名 Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 101 2. 論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3. 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 1. 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2. 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3. 雑誌名 Chemosphere 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere、2018.03.135. 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere、2018.03.135.	3.雑誌名	6.最初と最後の頁
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1002/jat.3752 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 1. 著者名 Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 101 2. 論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3. 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 1. 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2. 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3. 雑誌名 Chemosphere 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere、2018.03.135. 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere、2018.03.135.	Journal of Applied Toxicology	622 ~ 629
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 1. 著者名 Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 2. 論文標題 Eotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3. 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 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 1. 著者名 Horie Y、Yamagishi T、Shintaku Y、Iguchi T、Tatarazako N. 2. 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3. 雑誌名 Chemosphere 4. 巻 203 5. 発行年 2018年 20	11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11	
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 1. 著者名 Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 2. 論文標題 Eotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3. 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 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 1. 著者名 Horie Y、Yamagishi T、Shintaku Y、Iguchi T、Tatarazako N. 2. 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3. 雑誌名 Chemosphere 4. 巻 203 5. 発行年 2018年 20		
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 1. 著者名 Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 2. 論文標題 Eotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3. 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 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 1. 著者名 Horie Y、Yamagishi T、Shintaku Y、Iguchi T、Tatarazako N. 2. 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3. 雑誌名 Chemosphere 4. 巻 203 5. 発行年 2018年 20	担無給立のNOI / デジカルオブジェカト繰引スト	本性の方無
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 第当する 1 . 著者名 Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 101 2 . 論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3 . 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 344~348 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 面際共著 オープンアクセス 1 . 著者名 Horie Y、Yamagishi T、Shintaku Y、Iguchi T、Tatarazako N. 如果持有 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes).		
*** 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 *** 該当する** 1 . 著者名 Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa *** 101 2 . 論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) *** 5 . 発行年 2018年	10.1002/jat.3/52	月
*** 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 *** 該当する** 1 . 著者名 Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa *** 101 2 . 論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) *** 5 . 発行年 2018年		
1.著者名 Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 2.論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3.雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 4.過数の有無 1.著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2.論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3.雑誌名 Chemosphere 4.意 初した最後の頁 418-425 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 2 画際共著	オープンアクセス	国際共著
Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 101 2 . 論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 6 . 最初と最後の頁 344 - 348 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 有 有 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 該当する 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 203 2 . 論文標題 Effects of tributyItin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes) 6 . 最初と最後の頁 Chemosphere 6 . 最初と最後の頁 418-425 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 2 . 意読の有無 6 . 最初と最後の頁 418-425	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	該当する
Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 101 2 . 論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 6 . 最初と最後の頁 344 - 348 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 有 有 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 該当する 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 203 2 . 論文標題 Effects of tributyItin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes) 6 . 最初と最後の頁 Chemosphere 6 . 最初と最後の頁 418-425 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 2 . 意読の有無 6 . 最初と最後の頁 418-425		
Horie Yoshifumi、Kanazawa Nobuhiro、Yamagishi Takahiro、Yonekura Kei、Tatarazako Norihisa 101 2 . 論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 6 . 最初と最後の頁 344 - 348 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 有 有 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 該当する 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 203 2 . 論文標題 Effects of tributyItin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes) 6 . 最初と最後の頁 Chemosphere 6 . 最初と最後の頁 418-425 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 2 . 意読の有無 6 . 最初と最後の頁 418-425	1 著名名	4
2 . 論文標題 Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3 . 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 4 . 最初と最後の頁 344~348 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 4 . 意 3 . 雑誌名 Chemosphere		
Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3. 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 1. 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2. 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3. 雑誌名 Chemosphere	Horre Toshi Tulli, Kanazawa Nobuli To, Taliagishi Takali To, Tollekuta ket, Tatarazako Not ilisa	101
Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3. 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 1. 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2. 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3. 雑誌名 Chemosphere	o *^-	5 3V/= /T
Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes) 3. 雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 4. 最初と最後の頁 344~348 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子)		
3.雑誌名 Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 オープンアクセス 国際共著 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 1.著者名 Horie Y、Yamagishi T、Shintaku Y、Iguchi T、Tatarazako N. 2.論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage、reproduction、and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3.雑誌名 Chemosphere お・登 203 5.発行年 2018年 2018年 3.雑誌名 Chemosphere 「・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	Ecotoxicological Test Assay Using OECD TG 212 in Marine Java Medaka (Oryzias javanicus) and	2018年
Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 344~348 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 有 国際共著 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 該当する 1.著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2.論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3.雑誌名 Chemosphere 6.最初と最後の頁 418-425 母親論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 有 オープンアクセス 国際共著	Freshwater Japanese Medaka (Oryzias latipes)	
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 オープンアクセス 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. オープンアクセス 国際共著	3.雑誌名	6.最初と最後の頁
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00128-018-2398-1 オープンアクセス 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. オープンアクセス 国際共著	Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology	344 ~ 348
10.1007/s00128-018-2398-1 有 国際共著 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 該当する 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 203 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 5 . 発行年 2018年 6 . 最初と最後の頁 418-425 日歌論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 有 国際共著	Barrettii of Environmental contamination and loxicology	011 010
10.1007/s00128-018-2398-1 有 国際共著 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 該当する 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 203 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 5 . 発行年 2018年 6 . 最初と最後の頁 418-425 日歌論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 有 国際共著		
10.1007/s00128-018-2398-1 有 国際共著 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 該当する 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 203 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 5 . 発行年 2018年 6 . 最初と最後の頁 418-425 日歌論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 有 国際共著	掲載絵文のDOI (デジタルオブジェクト禁則マ)	本詰の右無
オープンアクセス 国際共著 該当する 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere 6 . 最初と最後の頁 418-425 掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
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 該当する 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere Chemosphere 掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著	10.1007/\$00128-018-2398-1	1月
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 該当する 1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere Chemosphere 掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著		
1 . 著者名 Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 基語の有無 オープンアクセス 国際共著		
Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyItin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere Chemosphere 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著	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	該当する
Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyItin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere Chemosphere 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著		
Horie Y, Yamagishi T, Shintaku Y, Iguchi T, Tatarazako N. 2 . 論文標題 Effects of tributyItin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere Chemosphere 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著	1.著者名	4 . 巻
2.論文標題 Effects of tributyItin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes).5.発行年 2018年3.雑誌名 Chemosphere6.最初と最後の頁 418-425掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135.査読の有無 有オープンアクセス国際共著		
Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 本ープンアクセス 国際共著	norre i, ramagioni i, orinitata i, rgaoni i, ratarazano iv.	
Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (Oryzias latipes). 3 . 雑誌名 Chemosphere 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 本ープンアクセス 国際共著	2 全个种面面	F 発信年
Japanese medaka (Óryzias latipés). 6.最初と最後の頁 3.雑誌名 6.最初と最後の頁 Chemosphere 418-425 掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 査読の有無 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著	- N	
3.雑誌名 Chemosphere 6.最初と最後の頁 418-425 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 査読の有無 有 オープンアクセス 国際共著		2018年
Chemosphere 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 査読の有無 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著		
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 査読の有無 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有	3.雑誌名	6 . 最初と最後の頁
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 査読の有無 10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有	Chemosphere	418-425
10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著	·	
10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著		
10.1016/j.chemosphere.2018.03.135. 有 オープンアクセス 国際共著	掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
オープンアクセス 国際共著	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
	10.1010/j.Gleiiusphere.2010.03.133.	Ħ
	+ 1,70+7	国際共 業
オーフンアクセスではない、又はオーフンアクセスが困難 該当する		
	オーノンアクセスではない、又はオーフンアクセスか困難	該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6.研究組織

0	. 饥九組織		
	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