

令和 4 年 6 月 29 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H04275

研究課題名(和文) 小型魚類の定量的フェノーム解析を基盤とした化学物質の発生毒性評価と作用機序解明

研究課題名(英文) Assessment of developmental toxicities caused by chemical substances and elucidation of their mechanisms based on the quantitative phenotype screening using small fish

研究代表者

久保田 彰 (Kubota, Akira)

帯広畜産大学・畜産学部・准教授

研究者番号：60432811

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：ゼブラフィッシュ胚を用いて、多様な化学物質の発生毒性やその作用機序の一端を明らかにすることができた。さらに、稚魚の行動や神経マーカーを指標とした発達期神経毒性や、アンドロゲン受容体のマーカー遺伝子に着目した抗アンドロゲン様作用など、新たなin vivo評価系の開発に成功し、これらを用いてネオニコチノイド系農薬の発達期神経毒性や、農薬による抗アンドロゲン様作用の用量効果を明らかにした。また、化学物質とエストロゲン受容体のin silicoドッキングシミュレーションにより未試験化合物のin vivoエストロゲン様作用の用量効果を予測でき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

ゼブラフィッシュ胚を用いた化学物質の発生毒性の評価事例は多いものの、作用機序の解明に至っているケースは少なく、本研究で得られた成果は、AOPの基盤構築のための基礎的知見となり得る。また、本研究を通じて開発された発達期神経毒性や抗アンドロゲン様作用の評価系に加え、これまでに著者らが開発してきた循環障害やエストロゲン様作用の効率的な評価系を用いることで、動物倫理問題を回避でき、化学産業界で今後新たに開発される化学物質やすでに市場に流通している化学物質、さらには環境試料の毒性評価をハイスループットに実施するためのツールとして活用できることから、その学術的・社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：The present study clarified developmental toxicity caused by a variety of chemical substances and a part of its molecular mechanism using zebrafish embryos. This study also succeeded in establishment of novel in vivo assay systems to evaluate developmental neurotoxicity by a combination of behavioral and neural marker analyses and to assess antiandrogenic potentials by measurement of the androgen receptor responsive gene. Using these assay systems, the present study showed neurodevelopmental toxicity of neonicotinoid pesticides and dose-dependent antiandrogenic response by some pesticides. Additionally, we revealed that in silico docking simulations on ligand binding with zebrafish estrogen receptor subtypes can predict in vivo estrogenic potentials of untested chemicals.

研究分野：環境毒性学

キーワード：ゼブラフィッシュ 発生毒性 内分泌攪乱 毒性発現機構 化学物質 環境汚染物質

1. 研究開始当初の背景

現在、日常生活において使用される化学物質は世界で約 10 万種に達するとされているが、これらのうち有害性が評価されているものはごく少数に過ぎない。合成された化学物質は、使用・廃棄を通じて環境中へ放出されヒトや野生動物が曝露する懸念もあることから、その有害性やリスクを評価しなければならない。とりわけ、化学物質に対する感受性の高い胚発生期における曝露は次世代(胚・胎児)に対して奇形等の重大な影響を誘発することがあるため、発生毒性は化学物質安全性評価において重要視されている。一方、動物を用いた毒性試験に関する世界的な 3R(代替、削減、改善)の潮流や試験実施にかかる経費及び時間といった観点から、化学物質の有害性評価において動物実験代替法の利用を促進する活動が拡大している。

こうした課題に対応するモデル動物として、近年ゼブラフィッシュが注目されている。ゼブラフィッシュは、脊椎動物として魚類はもとよりヒトや哺乳類ともゲノム相同性が高く、周年多数の卵を産出し、胚発生がきわめて早く発生期間を通じて体が透明なため臓器形成過程を容易に観察できるなどの優越性をもつ。さらに、自立摂食のない受精後約 5 日目までの胚を用いた試験は、動物愛護の観点からは現時点では動物実験の範疇に含まれていない。従って、ゼブラフィッシュを用いれば、動物倫理と高い調和性を保ちながら化学物質の発生毒性を評価し、その有害性発現経路(Adverse Outcome Pathway; AOP)を検討することが可能である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ゼブラフィッシュ胚の定量的フェノーム解析、すなわち定量的ハイスループットフェノタイプスクリーニング(qHTPS)を基盤として、胚発生期の化学物質曝露が引き起こす発生毒性を網羅的に評価し、その作用機序を解明することである。さらに、その知見を基に、*in silico* 解析で関連化合物の毒性予測を行い、予測と *in vivo* qHTPS による実証を積み上げることで、*in silico* 解析による精度の高い *in vivo* 発生毒性予測モデルを構築することを目指す。

3. 研究の方法

野生型のゼブラフィッシュから得た受精卵に被験物質を曝露し、様々な発生ステージの曝露胚を顕微鏡下で観察することで、外部形態・器官形成・血循環等を定量化した。さらに、ビデオトラッキングシステムを用いてマルチウェルプレート内で曝露胚の運動量を定量化した。また、同様に化学物質曝露した胚について、総 RNA 抽出、cDNA 合成を行った後、リアルタイム PCR による各種遺伝子の発現量解析を実施した。得られた結果より、各種エンドポイントについて用量反応曲線から 50%影響濃度(EC₅₀・IC₅₀)や最小毒性濃度(LOAEC)などを算出した。一部の化学物質については、総 RNA 抽出後、次世代シーケンサーを用いた RNA-seq 解析を行い、発現変動遺伝子の網羅解析と、バイオインフォマティクスツールを用いたエンリッチメント解析を行った。また、分子シミュレーションソフト (Molecular Operating Environment) を用いてゼブラフィッシュ核内受容体の 3D ホモロジーモデルを構築し、*in silico* 解析による化学物質とのドッキングシミュレーションや相互作用エネルギーの算出を行った。

4. 研究成果

本研究では、とくに細胞内受容体のシグナル伝達攪乱を起点とした発生毒性や内分泌攪乱作用の評価と受容体下流の作用機序解明を試みるとともに、多様な化学物質についてその用量効果を検討した。以下、各種受容体または化学物質群ごとに結果を示す。

(1) 芳香族炭化水素受容体(AHR)を介したダイオキシン類の発生毒性と作用機序解明

ダイオキシン類の発生毒性の典型例として心血管毒性がよく知られている。ゼブラフィッシュ胚を用いたダイオキシン類(主に 2,3,7,8-四塩化ダイオキシン; TCDD)誘発性の心血管毒性の作用機序については研究例が多く、AHR2 やその下流のプロスタノイド経路(トロンボキサン A2 及びプロスタサイクリン)が関与するとの報告がある¹⁻³⁾。他方、近年、プロスタグランジン E2(PGE2)が循環器に対し保護的に作用するとの報告がなされている^{4,5)}。そこで我々は TCDD 誘発性循環障害に対する PGE2 の役割を検討した。受精後 24 時間(24 hpf)のゼブラフィッシュ胚に TCDD を曝露したところ、96 hpf において、PGE2 合成酵素群であるシクロオキシゲナーゼ-1/-2(*cox-1/cox-2*)ならびに microsomal prostaglandin E synthase (*mptges*)の発現量が濃度依存的に増加した(図 1A)。TCDD 誘発性の心臓周囲浮腫及び体幹血流の低下は、mPTGES 選択的阻害剤である MF63 の共処置により濃度依存的に悪化した(図 1B)。TCDD 曝露により *mptges* 発現量が増加したこと、ならびに TCDD 誘発性の循環障害が mPTGES 阻害剤で増悪したことから、PGE2 は TCDD 曝露胚において循環器保護的な役割を担うことが推察された。

次いで、自然毒としても知られる臭素化ダイオキシン類のうち、非 2,3,7,8 置換体(1,3,7-三臭素化ダイオキシン; 1,3,7-TrBDD、1,3,8-三臭素化ダイオキシン; 1,3,8-TrBDD、2,3,7-三臭素化ダイオキシン; 2,3,7-TrBDD)及び陽性対照として 2,3,7,8-四臭素化ダイオキシン(2,3,7,8-TeBDD)について発生毒性を評価した。曝露試験の結果、2,3,7,8-TeBDD 及び 2,3,7-TrBDD は濃度

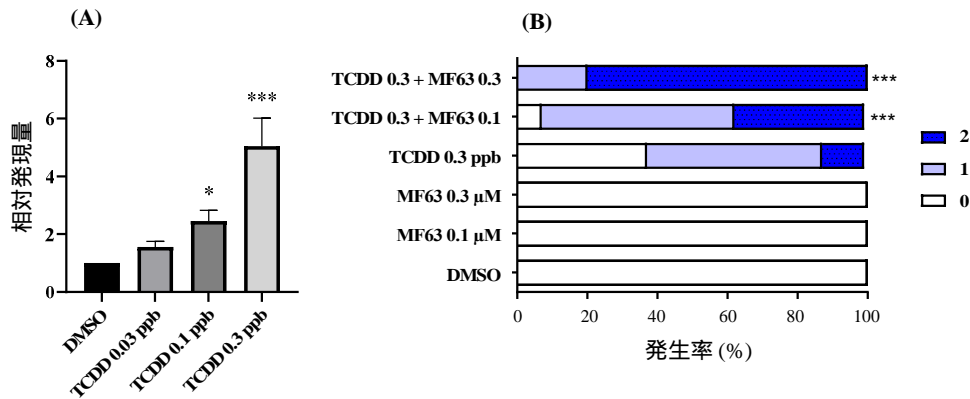


図 1. TCDD 曝露したゼブラフィッシュ胚における *mptges* 発現量への影響(A)と mPTGES 特異的阻害剤 MF63 による TCDD 誘発性心臓周囲浮腫への影響(B) (B)の心臓周囲浮腫は、重篤度に応じて、0; 正常、1; 軽度、2; 重度としてスコア化した。
* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ [(A)は DMSO との比較(Dunnett 検定)、(B)は TCDD 0.3 ppb との比較(Wilcoxon 順位和検定(Bonferroni 法により補正))]

依存的に循環障害の発生率を顕著に増加させ、LOAEC はそれぞれ 0.1 ppb、3 ppb であった。さらに、1,3,7-TrBDD 曝露胚においても、発生率は 20%と低いものの、30 ppb 以上の高濃度で有意に循環障害が認められた。また、2,3,7,8-TeBDD 及び 2,3,7-TrBDD による循環障害は、ともに AHR 拮抗薬である CH-223191 との共処置で顕著に改善した(図 2)。以上の結果より、2,3,7,8 位における臭素置換数が多いダイオキシン類ほど AHR 介在性の循環障害は強いと考えられた。2,3,7-TrBDD のような一部の非 2,3,7,8 置換体が相対的に強い循環障害を示すことを明らかにした成果は本研究が初めてである。

(2) エストロゲン受容体(ER)介在性の *CYP19A1b* 誘導 (*in vivo*)及び ER 結合 (*in silico*)を指標とした化学物質のエストロゲン様作用の評価

我々の先行研究により、新たな環境汚染物質として注目される新世代ビスフェノール類(BPs)は、ゼブラフィッシュ胚において ER の標的遺伝子である *CYP19A1b* の発現量を濃度依存的に増加させること、ならびに *CYP19A1b* 誘導に関する用量反応曲線から算出した各 BPs の EC_{50} と、*in silico* ドッキングシミュレーションにより算出した各 BPs とゼブラフィッシュ ER サブタイプ (ER /ER 1/ER 2)との結合に関する相互作用エネルギーは有意な正の相関関係を示し、エネルギー値が低い、すなわち ER とより安定的に結合する化合物ほど EC_{50} は低い値となる傾向が認められた(Kubota *et al.* 投稿準備中)。本研究では、より多くの環境エストロゲンを対象に、同様の評価を実施した。新たな水圏環境汚染物質として注目される妊馬由来のエクインエストロゲン類(EEs)6種と、家畜の繁殖障害を誘発するかび毒ゼアラレノンとその還元性代謝物6種(ZRCs)について試験したところ、すべての化合物が濃度依存的に *CYP19A1b* 発現量を誘導し、その用量効果と最大効力は化合物間で顕著に異なることが明らかとなった。さらに、EEs 及び ZRCs と ER サブタイプとの結合に関する相互作用エネルギーは、*CYP19A1b* 誘導能(EC_{50})と有意な正の相関関係を示した。以上の結果より、多様な環境エストロゲンについて、*in silico* 解析で算出した化学物質-ER 結合に関する相互作用エネルギーにより *in vivo* エストロゲン活性の用量効果を予測できると考えられた。

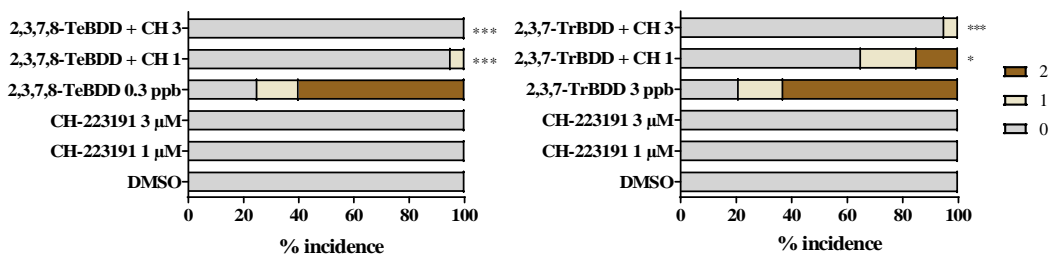


図 2. ゼブラフィッシュ胚における AHR 拮抗薬 CH-223191 による臭素化ダイオキシン類誘発性心臓周囲浮腫への影響
心臓周囲浮腫は、重篤度に応じて、0; 正常、1; 軽度、2; 重度としてスコア化した。
* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ [臭素化ダイオキシンの単独処置との比較(Wilcoxon 順位和検定(Bonferroni 法により補正))]

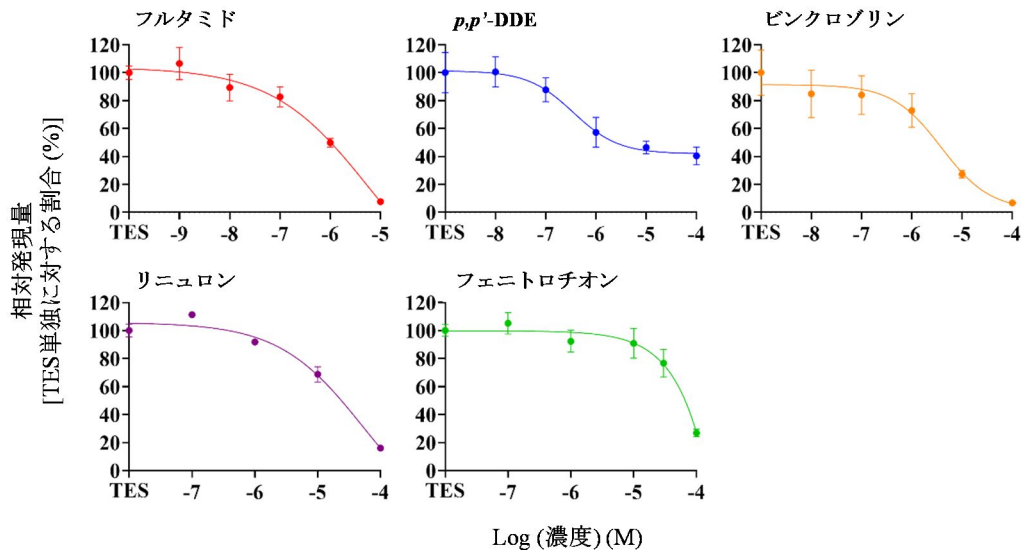


図 3. ゼブラフィッシュ胚における抗アンドロゲン様物質の TES 誘導性 *sult2st3* 発現への影響
 データは、1 nM TES 誘導性 *sult2st3* 発現量に対する各化合物における発現量の割合 (平均 ± 標準誤差) として示した ($n = 4$)。

(3) アンドロゲン受容体 (AR) 介在性の *sult2st3* 誘導 (*in vivo*) を指標とした化学物質の抗アンドロゲン様作用の評価

まず、ゼブラフィッシュ胚を用いて、化学物質の抗アンドロゲン様作用を効率的に検出する *in vivo* 評価系の開発を試みた。テストステロン (TES) は、96 hpf において *sult2st3* の発現量を濃度依存的に増加させた。TES 誘導性の *sult2st3* 発現は、AR 拮抗薬フルタミド (FLU) によって濃度依存的に抑制された。次いで、*sult2st3* を指標として、他アッセイ系で抗アンドロゲン様作用が報告されているビンクロゾリン (VIN)、*p,p'*-DDE (DDE)、リニュロン (LIN)、フェニトロチオン (FEN) の抗アンドロゲン様作用を評価した。その結果、TES による *sult2st3* 発現誘導はいずれの化合物によっても濃度依存的に抑制された。IC₅₀ より推定した抗アンドロゲン様作用の用量効果は、DDE (0.35 μ M) > VIN (3.9 μ M) > FLU (5.7 μ M) > LIN (52 μ M) > FEN (NA) であった (図 3)。これらの結果より、陽性対照である FLU より強い抗アンドロゲン様作用をゼブラフィッシュ胚に対して示す環境化学物質が存在することが示唆された。とくに DDE については、マラリア駆除目的で現在も DDT が使用されているアフリカ諸国の環境水中濃度⁶⁾と同等もしくはそれよりも低濃度で抗アンドロゲン様作用を示すことが明らかとなった。

(4) RNA-seq 解析によるリン酸エステル系難燃剤誘発性循環障害の作用機序の検討

臭素系難燃剤の代替品として生産・使用量が増加しているリン酸エステル系難燃剤 (OPFRs) と、ヒトのバイオモニタリング調査で検出される OPFR 代謝物について、我々の先行研究によりトリエステル構造を有する代謝物は循環障害を誘発し、親化合物と同等の用量効果を示すものもみられたことから⁷⁾、本研究ではそれらの作用機序について検討した。72 hpf のゼブラフィッシュ胚に、2-ethylhexyldiphenyl phosphate (EHDPHP) 及びその代謝物 (2-ethyl-5-hydroxyhexyl diphenyl phosphate; 5OH-EHDPHP、2-ethylhexyl phenyl phosphate; EHPHP) を曝露し、96 hpf で採材した。曝露胚由来の総 RNA を用いて RNA-seq 解析を行い、得られた発現変動遺伝子 (DEGs) でエンリッチメント解析を実施したところ、drug metabolic process や ABC-family proteins mediated transport など生体異物の代謝や膜輸送に関わる遺伝子群に加え、hexose metabolism (*fam3a*, *fbp1b*, *g6pd*, *gck*) や response to nutrient levels (*gabapapa*, *lepb*, *ucn3l*) などに関わる遺伝子群が DEGs に多く含まれることが明らかとなった (図 4)。Hexose は心筋の修復やネクローシスに関わることが知られている糖タンパク質の構成糖であり、その代謝系に関わる遺伝子発現の変動は心臓の構造・機能に影響を及ぼし、ひいては循環障害を引き起こした可能性が考えられた。今後、心筋細胞への影響などを詳細に解析する必要がある。

(5) ネオニコチノイド系農薬による発達期神経毒性の解明

ネオニコチノイド系農薬 (NNs) は、昆虫のニコチン性アセチルコリン受容体に選択的に作用し、脊椎動物に対して高い安全性をもつとして日本で使用量が増加している一方、亜致死量曝露が非標的生物の神経系に与える影響も懸念されている^{8,9)}。本研究では、代表的な NNs であるアセタミプリド (ACET) 及びイミダクロプリド (IMI) を対象に発達期神経毒性を評価した。120 hpf の

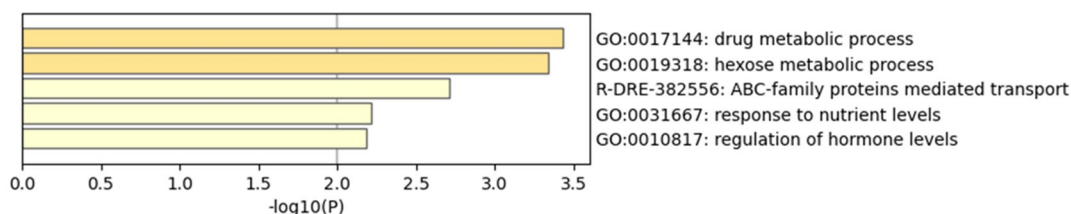


図 4. EHDPHP (3 μM) および 50H-EHDPHP (10 μM) 曝露胚で認められた共通 DEGs に関するエンリッチメント解析の結果
エンリッチメント解析は Metascape を用いて実施した。

ゼブラフィッシュ稚魚を用いて、試験 20 分前からの短期曝露ならびに 5 hpf からの継続曝露を行い、行動試験(Zantiks MWP を使用)を実施した。さらに、それぞれの曝露稚魚及び 120 hpf で 55 分間の短期曝露を行った稚魚を用いて、神経マーカー遺伝子(*c-fos*)の発現量を測定した。ACET 及び IMI をそれぞれ 10^{-4} M から 10^{-3} M (3段階)で短期曝露し行動試験を実施した結果(図 5)、稚魚の活動性を評価する連続明期試験(曝露後 20 分に開始)において、ACET は 10^{-3} M で 10 分間の総移動距離を有意に増加させた。また、ストレス環境での行動への影響を評価する明暗切り替え試験(曝露後 55 分に開始)において、IMI は試験したいずれの濃度でも暗期の 10 分間の総移動距離を有意に減少させた。さらに、ACET の短期曝露群では *c-fos* の発現量が 10^{-3} M で有意に増加した一方、IMI では明瞭な変化はみられなかった。次いで、ACET、IMI を 10^{-6} M から 10^{-4} M (3段階)で継続曝露したところ、ACET は 10^{-6} M 及び 10^{-5} M で、IMI は 10^{-6} M で明暗切り替え試験における暗期の 10 分間の総移動距離を有意に減少させた。また、ACET 及び IMI の継続曝露群において *c-fos* の発現量は濃度依存的に減少した。以上の結果より、短期曝露では、ACET は稚魚の一般的な活動性に、IMI はストレス環境での活動性に影響を及ぼし、神経細胞の過活動化による多動または不安様行動を引き起こすと考えられた。さらに、行動解析及び *c-fos* 発現量解析の結果から、同一の NNs に対しても短期曝露及び長期曝露で神経行動学的な応答性が異なること、ならびに短期曝露で ACET と IMI は異なる反応を示したことから、NNs の中でも化合物の種類により神経系への影響は異なると考えられた。

以上の成果は、化学物質による発生毒性に関する AOP の基盤構築のための基礎的知見となり得る。さらに、本研究を通じて開発された発達期神経毒性や抗アンドロゲン様作用の評価系に加え、これまでに著者らが開発してきた循環障害やエストロゲン様作用の効率的な評価系を用いることで、動物倫理問題を回避でき、化学産業界で今後新たに開発される化学物質やすでに市場に流通している化学物質、さらには環境試料の毒性評価をハイスループットに実施するためのツールとして活用できることから、その学術的・社会的意義は大きい。

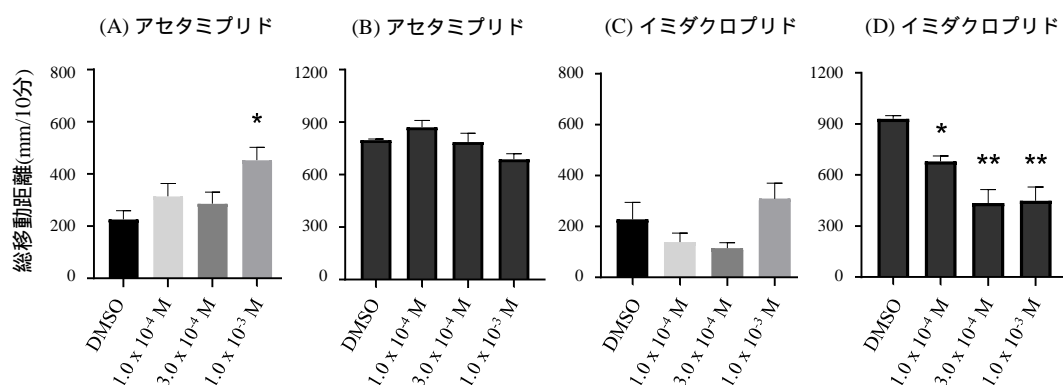


図 5. アセタミプリドおよびイミダクロプリドの短期曝露によるゼブラフィッシュ稚魚の連続明期時の行動量(A, C)と明暗切り替え時の暗期の行動量(B, D)
データは、各群 12 匹を 1 試行として、3 試行の平均 \pm 標準誤差として示した(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Dunnett 検定)

<引用文献>

- 1) Teraoka *et al.* *Toxicol Appl Pharmacol* 234: 33-40, 2009.
- 2) Teraoka *et al.* *Aquat Toxicol* 154: 19-26, 2014.
- 3) Nijoukubo *et al.* *Chemosphere* 156: 111-117, 2016.
- 4) FitzSimons *et al.* *Sci Rep* 10: 1-10, 2020.
- 5) Xu *et al.* *Anesthesiology* 114: 391-400.
- 6) Akan *et al.* *Am J Environ Prot* 3: 164-173, 2015.
- 7) Lee *et al.* *Chemosphere* 246: 125738, 2020.
- 8) Hirano *et al.* *Toxicol Lett*, 282: 57-63, 2018.
- 9) Kitauchi *et al.* *J Vet Med Sci* 83: 746-753, 2021.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Jae Seung Lee, Yusuke Kawai K, Yuri Morita, Adrian Covaci, Akira Kubota	4. 巻 256
2. 論文標題 Estrogenic and growth inhibitory responses to organophosphorus flame retardant metabolites in zebrafish embryos	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Comparative Biochemistry and Physiology, Part C	6. 最初と最後の頁 109321
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cbpc.2022.109321	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 該当する
1. 著者名 Hiroshi Ishibashi, Masaya Uchida, Masashi Hirano, Taka Hayashi, Ryoko Yamamoto, Akira Kubota, Nobuhiro Ichikawa, Yasuhiro Ishibashi, Nobuaki Tominaga, Koji Arizono	4. 巻 767
2. 論文標題 In vivo and in silico analyses of estrogenic potential of equine estrogens in medaka (<i>Oryzias latipes</i>)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science of the Total Environment	6. 最初と最後の頁 1443792
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.scitotenv.2020.144379	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 Jae Seung Lee, Yuri Morita, Yusuke K. Kawai, Adrian Covaci, Akira Kubota	4. 巻 246
2. 論文標題 Developmental circulatory failure caused by metabolites of organophosphorus flame retardants in zebrafish, <i>Danio rerio</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 125738
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.chemosphere.2019.125738	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 該当する
1. 著者名 Akira Kubota, Yusuke K. Kawai, Natsumi Yamashita, Jae Seung Lee, Daisuke Kondoh, Shuangyi Zhang, Yasunobu Nishi, Kazuyuki Suzuki, Takio Kitazawa, Hiroki Teraoka	4. 巻 44
2. 論文標題 Transcriptional profiling of cytochrome P450 genes in the liver of adult zebrafish, <i>Danio rerio</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 347 ~ 356
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2131/jts.44.347	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 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Xing Chen, Yusuke K. Kawai, Akira Kubota
2. 発表標題 Estrogenic potency and developmental toxicity of BPA and its alternatives in zebrafish embryos
3. 学会等名 5th Chemical Hazard Symposium in Online (Hokkaido University) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Akira Kubota, Jae Seung Lee, Yusuke K. Kawai, Adrian Covaci
2. 発表標題 Assessment of developmental toxicity caused by organophosphate triesters and their metabolites using zebrafish
3. 学会等名 The 9th International Congress of Asian Society of Toxicology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池本 秀樹, 沖澤 優花, 川合 佑典, 一瀬 貴大, 池中 良徳, 久保田 彰
2. 発表標題 ゼブラフィッシュを用いたネオニコチノイド系農薬の体内動態と発達神経毒性の解明
3. 学会等名 第23回環境ホルモン学会研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rehab Salama, Yusuke K. Kawai, Akira Kubota
2. 発表標題 Counteracting effect of zearalenone on diethylstilbestrol-induced developmental toxicity in zebrafish
3. 学会等名 第23回環境ホルモン学会研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Xing Chen, Yusuke K. Kawai, Masashi Hirano, Akira Kubota
2. 発表標題 Establishment of evaluation method for anti-androgenic potency of environmental chemicals using zebrafish
3. 学会等名 令和3年度 日本環境毒性学会オンライン研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久保田 彰, イ ゼスン, 森田友理, Adrian Covaci, 川合佑典
2. 発表標題 発達期ゼブラフィッシュにおけるリン酸エステル系難燃剤の代謝物の発生毒性
3. 学会等名 第22回環境ホルモン学会研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chika Motomura, Masashi Hirano, Hiroshi Ishibashi, Koji Arizono, Yumi Wakayama, Jae Seung Lee, Yusuke Kawai, Akira Kubota
2. 発表標題 In vivo and in silico analyses of estrogenic potential of equine estrogens in zebrafish (Danio rerio)
3. 学会等名 3rd International Chemical Hazard Symposium (Hokkaido University) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久保田 彰, 平野将司, イ ゼスン, 中村倫子, 芳之内結加, 岩田久人, 川合佑典
2. 発表標題 ゼブラフィッシュを用いたインピボおよびインシリコ解析によるビスフェノール類の内分泌攪乱作用の評価
3. 学会等名 第25回日本環境毒性学会研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久保田 彰, 川合佑典, 山下夏未, Lee Jae Seung, 近藤大輔, Zhang Shuangyi, 西 康暢, 鈴木一由, 北澤多喜雄, 寺岡宏樹
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ肝臓におけるシトクロムP450分子種のmRNA発現プロファイル
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 池本 秀樹, 沖澤 優花, 川合 佑典, 一瀬 貴大, 池中 良徳, 久保田 彰	4. 発行年 2022年
2. 出版社 環境ホルモン学会ニュースレター	5. 総ページ数 2
3. 書名 ゼブラフィッシュを用いたネオニコチノイド系農薬の体内動態と発達神経毒性の解明	

1. 著者名 Jae Seung Lee, Yusuke Kawai K, Yuri Morita, Adrian Covaci, Akira Kubota	4. 発行年 2022年
2. 出版社 環境ホルモン学会ニュースレター	5. 総ページ数 1
3. 書名 Mechanistic investigation of developmental cardiovascular toxicity caused by organophosphate triesters and their metabolites in zebrafish embryo	

1. 著者名 久保田 彰	4. 発行年 2022年
2. 出版社 環境ホルモン学会ニュースレター	5. 総ページ数 1
3. 書名 「北海道における毒性学研究」および「受容体原性毒性に関する研究の最前線」の趣旨および概要説明	

〔産業財産権〕

〔その他〕

帯広畜産大学獣医学研究部門基礎獣医学分野 毒性学研究室HP
<http://univ.obihiro.ac.jp/~toxicology/index.html>
 帯広畜産大学 教員紹介
<https://www.obihiro.ac.jp/faculty-r/akira-kubota>

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	川合 佑典 (Kawai Yusuke) (10709546)	帯広畜産大学・畜産学部・助教 (10105)	
研究分担者	江口 哲史 (Eguchi Akifumi) (70595826)	千葉大学・予防医学センター・助教 (12501)	
研究分担者	近藤 大輔 (Kondoh Daisuke) (90708364)	帯広畜産大学・畜産学部・助教 (10105)	

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		
ベルギー	University of Antwerp		