

博士論文(要約)

放射線によってメダカ精原細胞から誘導される  
精巢卵に関する研究

永田 健斗

放射線によってメダカ精原細胞から誘導される  
精巣卵に関する研究

平成 31 年 3 月申請 博士 (生命科学)

東京大学大学院 新領域創成科学研究科

47-167305 永田 健斗

## 目次

略語集	4
General Introduction	5
図	10
第 1 章 マイクロビーム限局照射を利用した p53 変異精巣における精巣卵誘導	
序論	11
方法	14
結果	21
考察	24
図表	27
第 2 章 高線量放射線による精巣卵誘導	
序論	36
方法	38
結果	47
考察	57
図表	62
第 3 章 低線量/低線量率放射線による精巣卵誘導	
序論	79

方法	81
結果	84
考察	93
図表	97

#### 第4章 p53変異精巣における次世代シーケンサーを用いた精巣卵誘導時の遺伝子発現

##### 機構の解析

序論	114
方法	115
結果	118
考察	122
図表	126

#### Appendix シングルセル RNA シーケンスによる精原細胞特異的な遺伝子群の特定

136

最終結論	155
------	-----

謝辞	159
----	-----

引用文献	161
------	-----

## 略語集

53BP1; Tumor suppressor p53-binding protein 1  
BCIP ; 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate)  
DAPI; 4',6-diamidino-2-phenylindole  
DIG; Digoxigenin  
EDTA; ethylenediaminetetraacetic acid  
FACS; fluorescence activated cell sorting  
GFP; green fluorescent protein  
GO; Gene Ontology  
GSG; Giant spermatogonia  
Ga; type A spermatogonia  
Gb; type B spermatogonia  
HE; Hematoxylin-Eosin  
ICRP; International Commission on Radiological Protection  
LNT; Linear Non-Threshold  
NBT; 4-Nitro blue tetrazolium chloride  
PBS; Phosphate buffered salts  
PBST; Phosphate buffered salts with Tween  
PCNA; Proliferating Cell Nuclear Antigen  
PFA; paraformaldehyde  
ROS; Reactive Oxygen Species  
Spaca6; Sperm Acrosome Associated 6  
TIARA; Takasaki Ion Accelerators for Advanced Research Application  
TILLING; Targeting Induced Local Lesions in Genomes  
ZP; zona pellucida  
ak1; Adenylate Kinase 1  
ccnd2b; cyclin D2, b  
cyp17; Cytochrome P450 17  
dazl; Deleted in azoospermia-like  
dmc; Meiotic recombination protein DMC1/LIM15 homolog  
fc; fold change  
gsdf; gsdf gonadal somatic cell derived factor  
plcz1; Phospholipase C Zeta 1  
psmc3ip; PSMC3 interacting protein  
rec8b; REC8 meiotic recombination protein  
sycp1; Synaptonemal Complex Protein 1,  
uchl1; Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1

## General Introduction

人体を対象として放射線照射の生物影響の実験生物学的研究・調査を実施することはできないことから、古くより小型のモデル魚類であるメダカ (*Oryzias latipes*) を用いた研究がなされてきた (Egami 1955a, b, c; Kuwahara *et al.*, 2002, 2003; Shima and Mitani 2004; Yasuda *et al.*, 2012; Murata *et al.*, 2015)。メダカは体長がおよそ 3 cm の小型の硬骨魚類であり、実験室でも容易に飼育が可能である。そのため、実験室レベルでの放射線照射が可能で、全身レベルの放射線影響を組織学的に解析することが可能である (Nagata *et al.*, 2016)。

ヒトをはじめとする脊椎動物において、放射線に高感受性の組織として腸・リンパ・骨髄・生殖腺などがあるが、とくに雄性生殖腺である精巣は放射線に対して最も高感受性である (Kuwahara *et al.*, 2002, 2003; Yasuda *et al.*, 2012, 2018)。ヒト精巣においては、0.15 Gy の低線量放射線の被ばくでも精子数が減少し、0.3 Gy の被ばくによって無精子症を引き起こすことが報告されている (Ogilvy-Stuart and Shalet 1993)。さらにマウスにおいては、オス精巣の放射線被ばくの結果、次世代へも影響が波及する (Barber *et al.*, 2002; Dubrova 2003)。メダカ精巣においては、放射線障害を受けるとダメージを受けた精子形成細胞を組織から排除するために、精子形成が促進されるほか、メダカ成魚においては精原細胞のみが放射線障害によって細胞死を引き起こす (Kuwahara *et al.*, 2002, Yasuda *et al.*, 2018)。

また、がん抑制遺伝子である p53 遺伝子を欠損する場合、高線量のガンマ線による急性照射 (合計線量 5 Gy, 線量率 7.3 Gy/min) によって卵様の細胞 (精巣卵,

testis-ova) がオス成魚の精巢に誘導されることが見出されており (Yasuda *et al.*, 2012)、誘導された精巢卵は p53 遺伝子非依存の排除機構によって組織から排除され、放射線被ばく 1 ヶ月後までに完全に組織が回復し、精子形成が正常に再開する。さらに飢餓状態、高温処理といった外的ストレスと放射線 (X 線) による複合作用によりオス精巢に精巢卵が誘導されることが古くから知られている (Egami 1955a, b, c) が、放射線による精巢卵誘導の機序の詳細な解明には至っていない。

また、河川における性分化異常魚の発見等、女性ホルモン (エストロゲン) や内分泌攪乱物質 (bisphenol A, 4-nonylphenol, 4-octylphenol など) によって、メダカだけでなく多くの魚種の雄精巢に同様な精巢卵が誘導されることが報告されており、その誘導のメカニズムが解明されつつある (Kosai *et al.*, 2011; Shibata and Hamaguchi 1988; Gray *et al.*, 1999; Kang *et al.*, 2002; Seki *et al.*, 2002; Urushitani *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2009; Hirakawa *et al.*, 2012; Nakamura *et al.*, 2015)。

メダカの雄性生殖腺である精巢においては、精子が形成される初期の段階である精原細胞は、セルトリ細胞によって包含されており、それらをシスト (cyst) と呼ぶ (Michibata 1975; Shibata and Hamaguchi 1988; Yasuda *et al.*, 2012)。メダカ精巢の横断面切片を作製し検鏡すると、A 型精原細胞 (type A spermatogonia, Ga) は精巢組織の最も辺縁部に配置され、シスト内にクローナルに維持されている。さらに、A 型精原細胞から分化した B 型精原細胞 (type B spermatogonia, Gb) は、A 型精原細胞シストよりも組織内側に配置される (Yasuda *et al.*, 2012; 図 1)。精原細胞から、減数分裂期の精母細胞を経て精細胞、精子と分化がシスト内で進行し、体外へと排精される (Grier *et al.*, 1980; Schulz *et al.*, 2010; Billard 1986)。このため、メダカ精巢の組織切

片を作製することで、シストを単位とした各精子形成細胞の分化段階を容易に観察が可能である。

一方、マウスやヒト等の哺乳類では、オス精巣の精細管の中に精子形成細胞が最辺縁部から配列されている。精細管の横断面切片を観察すると、精子形成を支持する体細胞が様々な分化段階の精子形成細胞を包含しており、メダカのようなシスト構造を作らない (Nakata 2018)。

広島および長崎における疫学的な調査により、放射線による影響は線量依存的に軽減するとされている。さらに、100 mGy 以下の低線量放射線被ばくでは発がんリスクの有意な上昇は認められないとされている (ICRP 1990)。しかし、2011 年の東日本大震災における東京電力福島第一原子力発電所における放射能漏れ事故を契機に、低線量・低線量率の慢性放射線被ばくによる生態系への影響を報告する例が増えている (Hiyama *et al.*, 2013; Iimoto *et al.*, 2012, 2015; Urushihara *et al.*, 2016, 2018)。モデル生物であるメダカに対する放射線影響の解明、特に精原細胞における放射線影響の詳細な検討は、放射線が生態系および次世代へ与える影響を解明することに寄与できると考えた。

そこで本研究においては、様々な放射線条件によって p53 変異精巣に誘導される精巣卵について、組織学的な解析や遺伝子レベルでの解析を行った。

第 1 章においては、全身性の放射線応答によって p53 変異精巣に精巣卵が誘導されること、つまり全身に被ばくした場合に脳-視床下部系が制御するホルモン等の全身性応答を否定し、精巣卵誘導が精原細胞の放射線被ばくによって引き起こされる可能性について検証した。本研究においては、国立研究開発法人・量子科学技術研究開発機構・

高崎量子応用研究所（量研機構・高崎研）のマイクロビーム照射装置を利用した限局照射を p53 変異精巣に対して行い、全身被ばく時と精巣限局被ばく時の精巣卵誘導の差異を組織学的に検証した。

さらに、第 2 章、第 3 章においては合計被ばく線量に応じた精巣卵誘導について、p53 変異精巣および野生型精巣を用いて検討を行った。原子放射線の影響に関する国連科学委員会（UNSCEAR : United Nations Scientific Committee on the Effect of Atomic Radiation）においては、200 mGy 以下を「低線量」と定義している。また、先行研究においては、高線量 5 Gy のガンマ線による急性照射が p53 変異メダカ精巣に精巣卵を誘導することを報告している（Yasuda *et al.*, 2012）他、5–15 Gy の範囲でのメダカの生殖腺、造血系組織、さらには初期胚等の報告例がある（Kuwahara *et al.*, 2002, 2003; Yasuda *et al.*, 2006, 2008, 2009, 2015, 2016, 2017, 2018; Nagata *et al.*, 2016）。

本研究においては、これまで検討されていない 500 mGy 以下の線量をメダカ成魚における「低線量」として定め、報告例のある 5 Gy を「高線量」として扱った。さらに、毎分あたりの線量（線量率）を低くし、長期間の連続照射（慢性照射）によっても p53 変異精巣において精巣卵が誘導される可能性が指摘されていた（西谷 修士論文 2015）ことから、高線量ガンマ線を急性照射または慢性照射した場合に生じる影響を第 2 章で述べる。第 3 章では 50–500 mGy の低線量ガンマ線による放射線影響を評価するため、A 型精原細胞と精巣卵の増減を指標とした組織学的な解析を行い、高線量ガンマ線による放射線被ばくとの差異を検討した。

第 4 章においては、第 3 章までに見出された精巣卵誘導の組織学的な結果を踏まえ、精巣卵誘導を分子レベルで解析した。高線量ガンマ線による急性照射、高線量ガンマ線

による分割照射、低線量ガンマ線による慢性照射を施した p53 変異精巣について、組織レベルでの RNA シーケンスによるトランスクリプトーム解析を行い、精巣卵誘導に必要な遺伝子群を検討した。

また、精原細胞は体細胞であるセルトリ細胞によって支持され、各種ホルモンによって精子形成を維持している (Miura *et al.*, 1991; Schulz *et al.*, 2010; De Gendt *et al.*, 2004)。放射線によって、精原細胞に引き起こされる遺伝子発現の変動を、体細胞による相互作用と切り離して解析を行うことを目的とし、**appendix** においてはシングルセル RNA シーケンスによる精原細胞の遺伝子発現パターンについて解析を行った。

## 第 1 章

### マイクロビーム限局照射を利用した p53 変異精巣における精巣卵誘導

\*やむを得ない事由（刊行・投稿予定）のため、インターネット公表ができません。

## 第 2 章

### 高線量放射線による精巣卵誘導

\*やむを得ない事由（刊行・投稿予定）のため、インターネット公表ができません。

### 第3章

#### 低線量/低線量率放射線による精巣卵誘導

\*やむを得ない事由（刊行・投稿予定）のため、インターネット公表ができません。

## 第 4 章

p53 変異精巣における次世代シーケンサーを用いた

精巣卵誘導時の遺伝子発現機構の解析

\*やむを得ない事由（刊行・投稿予定）のため、インターネット公表ができません。

## Appendix

### シングルセル RNA シーケンスによる精原細胞特異的な遺伝子群の特定

\*やむを得ない事由（刊行・投稿予定）のため、インターネット公表ができません。

## 最終結論

\*やむを得ない事由（刊行・投稿予定）のため、インターネット公表ができません。

## 謝辞

本論文は、東京大学大学院新領域創成科学研究科博士後期課程に在籍した3年間の成果をまとめ、さらに同研究科修士課程における2年間の成果が基礎となっています。東京大学大学院 三谷啓志教授には本研究に関するご指導・ご助言をいただきました。また、修士課程から引き続き本研究に携わること、共同研究機関における研究活動をお許しいただき、幅広く博士論文研究を行うことができました。尾田正二准教授には日々の議論において沢山のご助言をいただき、さらには日常生活においてもご指導頂きました。保田隆子博士には、組織学の実験技術のご指導を頂き、数多くの成果を生み出すことができました。浅香智美博士には、分子生物学の方法・技術についてご指導頂きました。量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所・プロジェクト「マイクロビーム生物研究」の舟山知夫博士、鈴木芳代博士にはメダカ成魚照射法の確立のためご助言を頂き、また実習生として快く受け入れを許可していただきました。大阪大学大学院 藤堂剛教授、藤原智子助教には、高線量慢性照射法に関してご指導頂きました。京都大学放射線生物研究センター 小林純也准教授には低線量慢性照射法の確立にご助言・ご指導を頂きました。北里大学医学部 太田博樹教授、勝村啓史博士、西槇俊之氏には、メダカ組織切片の作製、観察に関してご助言いただきました。鹿児島大学歯学部 五十嵐健人博士には学生時代から多くの助言をいただきました。

所属研究室である東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻動物生殖システム分野の皆様においては、計5年間の研究活動を厚くサポートしていただきました。特に、研究室秘書である八木洋子さんには、研究費管理、出張手続き等のサポートをしていただき、不自由なく研究に邁進できました。また、同研究室の修士課程の梶原堯之さんには組織学実験の補助をしていただきました。同修士課程の中澤拓哉さんには、低線量慢性照射方法の確立にご尽

力いただきました。

また、本研究は日本学術振興会特別研究員（DC2）奨励費（17J03688）、日本学術振興会科学研究費（18H04135）、原子力人材育成等推進事業（H28 年度、量子科学技術研究開発機構）、京都大学放射線生物研究センター共同利用研究課題（H29、30 年度）による研究費助成を受け遂行いたしました。

最後になりますが、修士課程、博士課程の研究活動支えていただき応援してくださった、家族、友人に厚く御礼申し上げます。

2019 年 2 月 15 日 永田健斗

## 引用文献

- Amundson SA, Lee RA, Koch-Paiz CA, Bittner ML, Meltzer P, Trent JM, Fornace AJ, Jr. 2003. Differential responses of stress genes to low dose-rate gamma irradiation. *Molecular cancer research* : MCR 1 (6):445-452.
- Aoki Y, Nakamura S, Ishikawa Y, Tanaka M. 2009. Expression and syntenic analyses of four nanos genes in medaka. *Zoolog Sci* 26 (2):112-118.
- Averbeck D, Salomaa S, Bouffler S, Ottolenghi A, Smyth V, Sabatier L. 2018. Progress in low dose health risk research: Novel effects and new concepts in low dose radiobiology. *Mutation research* 776:46-69.
- Azzam EI, Jay-Gerin JP, Pain D. 2012. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer letters* 327 (1-2):48-60.
- Bar I, Cummins S, Elizur A. 2016. Transcriptome analysis reveals differentially expressed genes associated with germ cell and gonad development in the Southern bluefin tuna (*Thunnus maccoyii*). *BMC genomics* 17:217.
- Barber R, Plumb MA, Boulton E, Roux I, Dubrova YE. 2002. Elevated mutation rates in the germ line of first- and second-generation offspring of irradiated male mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (10):6877-6882.
- Barendsen GW. 1982. Dose fractionation, dose rate and iso-effect relationships for normal tissue responses. *International journal of radiation oncology, biology, physics* 8 (11):1981-1997.
- Beer RL, Draper BW. 2013. nanos3 maintains germline stem cells and expression of the conserved

germline stem cell gene nanos2 in the zebrafish ovary. *Developmental biology* 374 (2):308-318.

Bellaiche J, Lareyre JJ, Cauty C, Yano A, Allemand I, Le Gac F. 2014. Spermatogonial stem cell quest: nanos2, marker of a subpopulation of undifferentiated A spermatogonia in trout testis. *Biology of reproduction* 90 (4):79.

Beumer TL, Roepers-Gajadien HL, Gademan IS, van Buul PP, Gil-Gomez G, Rutgers DH, de Rooij DG. 1998. The role of the tumor suppressor p53 in spermatogenesis. *Cell death and differentiation* 5 (8):669-677.

Billard R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Nutrition Développement* 26 (4):877-920.

Boice JD, Jr. 2017. The linear nonthreshold (LNT) model as used in radiation protection: an NCRP update. *Int J Radiat Biol* 93 (10):1079-1092.

Brenner DJ, Hahnfeldt P, Amundson SA, Sachs RK. 1996. Interpretation of inverse dose-rate effects for mutagenesis by sparsely ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 70 (4):447-458.

Chen Y, Zheng Y, Gao Y, Lin Z, Yang S, Wang T, Wang Q, Xie N, Hua R, Liu M, Sha J, Griswold MD, Li J, Tang F, Tong MH. 2018. Single-cell RNA-seq uncovers dynamic processes and critical regulators in mouse spermatogenesis. *Cell research* 28 (9):879-896.

Collis SJ, Schwaninger JM, Ntambi AJ, Keller TW, Nelson WG, Dillehay LE, Deweese TL. 2004. Evasion of early cellular response mechanisms following low level radiation-induced DNA damage. *The Journal of biological chemistry* 279 (48):49624-49632.

D'Amours O, Frenette G, Fortier M, Leclerc P, Sullivan R. 2010. Proteomic comparison of

detergent-extracted sperm proteins from bulls with different fertility indexes. *Reproduction*, 139 (3):545-556.

De Gendt K, Swinnen JV, Saunders PT, Schoonjans L, Dewerchin M, Devos A, Tan K, Atanassova N, Claessens F, Lecureuil C, Heyns W, Carmeliet P, Guillou F, Sharpe RM, Verhoeven G. 2004. A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (5):1327-1332.

Dubrova YE. 2003. Radiation-induced transgenerational instability. *Oncogene* 22 (45):7087-7093.

Dubrova YE, Plumb M, Brown J, Boulton E, Goodhead D, Jeffreys AJ. 2000. Induction of minisatellite mutations in the mouse germline by low-dose chronic exposure to gamma-radiation and fission neutrons. *Mutation research* 453 (1):17-24.

Egami, N. (1955a). Production of testis-ova in adult males of *Oryzias latipes* IV. Effect of X-ray irradiation on testis-ovum production. *J Fac Sci Tokyo Univ* 7, 429-441

Egami, N. (1955b). Production of testis-ova in adult males of *Oryzias latipes* III. Testis-ovum production in starved males. *J Fac Sci Tokyo Univ* 7, 421-428.

Egami, N. (1955c). Production of Testis-Ova in Adult Males of *Oryzias latipes* VI. Effect on Testis-Ovum Production of Exposure to High Temperature. *Annot Zool Jpn* 29, 11-18.

Elkind MM. 1976. Fractional dose radiotherapy and its relationship to survival curve shape. *Cancer treatment reviews* 3 (1):1-15.

Elkind MM. 1990. Repair processes in the treatment and induction of cancer with radiation. *Cancer* 65 (10):2165-2171.

Epifano O, Liang LF, Dean J. 1995. Mouse Zp1 encodes a zona pellucida protein homologous to egg envelope proteins in mammals and fish. *The Journal of biological chemistry* 270 (45):27254-27258.

Fang F, Gong PS, Zhao HG, Bi YJ, Zhao G, Gong SL, Wang ZC. 2013. Mitochondrial modulation of apoptosis induced by low-dose radiation in mouse testicular cells. *Biomedical and environmental sciences : BES* 26 (10):820-830.

Fatehi D, Mohammadi M, Shekarchi B, Shabani A, Seify M, Rostamzadeh A. 2018. Radioprotective effects of Silymarin on the sperm parameters of NMRI mice irradiated with gamma-rays. *Journal of photochemistry and photobiology B, Biology* 178:489-495.

Flockerzi E, Schanz S, Rube CE. 2014. Even low doses of radiation lead to DNA damage accumulation in lung tissue according to the genetically-defined DNA repair capacity. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology* 111 (2):212-218.

Funayama T, Wada S, Yokota Y, Fukamoto K, Sakashita T, Taguchi M, Kakizaki T, Hamada N, Suzuki M, Furusawa Y, Watanabe H, Kiguchi K, Kobayashi Y. 2008. Heavy-ion microbeam system at JAEA-Takasaki for microbeam biology. *Journal of radiation research* 49 (1):71-82.

Gautier A, Goupil AS, Le Gac F, Lareyre JJ. 2013. A promoter fragment of the *sycp1* gene is sufficient to drive transgene expression in male and female meiotic germ cells in zebrafish. *Biology of reproduction* 89 (4):89.

Graupner A, Eide DM, Instanes C, Andersen JM, Brede DA, Dertinger SD, Lind OC, Brandt-Kjelsen A, Bjerke H, Salbu B, Oughton D, Brunborg G, Olsen AK. 2016. Gamma radiation at a human relevant low dose rate is genotoxic in mice. *Scientific reports* 6:32977.

- Gray MA, Niimi AJ, Metcalfe CD. 1999. Factors affecting the development of testis-ova in medaka, *Oryzias latipes*, exposed to octylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18 (8):1835-1842.
- Green CD, Ma Q, Manske GL, Shami AN, Zheng X, Marini S, Moritz L, Sultan C, Gurczynski SJ, Moore BB, Tallquist MD, Li JZ, Hammoud SS. 2018. A Comprehensive Roadmap of Murine Spermatogenesis Defined by Single-Cell RNA-Seq. *Developmental cell* 46 (5):651-667.e610.
- Grewenig A, Schuler N, Rube CE. 2015. Persistent DNA Damage in Spermatogonial Stem Cells After Fractionated Low-Dose Irradiation of Testicular Tissue. *International journal of radiation oncology, biology, physics* 92 (5):1123-1131.
- Grier HJ, Linton JR, Leatherland JF, De Vlaming VL. 1980. Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. *The American journal of anatomy* 159 (3):331-345.
- Guo J, Grow EJ, Yi C, Mlcochova H, Maher GJ, Lindskog C, Murphy PJ, Wike CL, Carrell DT, Goriely A, Hotaling JM, Cairns BR. 2017. Chromatin and Single-Cell RNA-Seq Profiling Reveal Dynamic Signaling and Metabolic Transitions during Human Spermatogonial Stem Cell Development. *Cell Stem Cell* 21 (4):533-546.e536.
- Hartung O, Forbes MM, Marlow FL. 2014. Zebrafish vasa is required for germ-cell differentiation and maintenance. *Molecular reproduction and development* 81 (10):946-961.
- Hazawa M, Hosokawa Y, Monzen S, Yoshino H, Kashiwakura I. 2012. Regulation of DNA damage response and cell cycle in radiation-resistant HL60 myeloid leukemia cells. *Oncology reports* 28 (1):55-61.
- Hermann BP, Cheng K, Singh A, Roa-De La Cruz L, Mutoji KN, Chen IC, Gildersleeve H, Lehle JD, Mayo M, Westernstroer B, Law NC, Oatley MJ, Velte EK, Niedenberger BA, Fritze D, Silber S, Geyer

CB, Oatley JM, McCarrey JR. 2018. The Mammalian Spermatogenesis Single-Cell Transcriptome, from Spermatogonial Stem Cells to Spermatids. *Cell reports* 25 (6):1650-1667.e1658.

Hirai N, Nanba A, Koshio M, Kondo T, Morita M, Tatarazako N. 2006. Feminization of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17beta-estradiol: effect of exposure period on spawning performance in sex-transformed females. *Aquatic toxicology*, 79 (3):288-295.

Hirakawa I, Miyagawa S, Katsu Y, Kagami Y, Tatarazako N, Kobayashi T, Kusano T, Mizutani T, Ogino Y, Takeuchi T, Ohta Y, Iguchi T. 2012. Gene expression profiles in the testis associated with testis-ova in adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17alpha-ethinylestradiol. *Chemosphere* 87 (7):668-674.

Hiyama A, Nohara C, Taira W, Kinjo S, Iwata M, Otaki JM. 2013. The Fukushima nuclear accident and the pale grass blue butterfly: evaluating biological effects of long-term low-dose exposures. *BMC evolutionary biology* 13:168.

Hoeijmakers JH. 2001. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 411 (6835):366-374.

Hurem S, Gomes T, Brede DA, Mayer I, Lobert VH, Mutoloki S, Gutzkow KB, Teien HC, Oughton D, Alestrom P, Lyche JL. 2018. Gamma irradiation during gametogenesis in young adult zebrafish causes persistent genotoxicity and adverse reproductive effects. *Ecotoxicology and environmental safety* 154:19-26.

Hurem S, Martin LM, Lindeman L, Brede DA, Salbu B, Lyche JL, Alestrom P, Kamstra JH. 2018. Parental exposure to gamma radiation causes progressively altered transcriptomes linked to adverse effects in zebrafish offspring. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 234:855-863.

- Hwang B, Lee JH, Bang D. 2018. Single-cell RNA sequencing technologies and bioinformatics pipelines. *Experimental & molecular medicine* 50 (8):96.
- Igarashi K, Kobayashi J, Katsumura T, Urushihara Y, Hida K, Watanabe-Asaka T, Oota H, Oda S, Mitani H. 2017. An Approach to Elucidate NBS1 Function in DNA Repair Using Frequent Nonsynonymous Polymorphism in Wild Medaka (*Oryzias latipes*) Populations. *PloS one* 12 (1):e0170006.
- Iimoto T, Fujii H, Oda S, Nakamura T, Hayashi R, Kuroda R, Furusawa M, Umekage T, Ohkubo Y. 2012. Measures against increased environmental radiation dose by the TEPCO Fukushima Dai-ichi NPP accident in some local governments in the Tokyo metropolitan area: focusing on examples of both Kashiwa and Nagareyama cities in Chiba prefecture. *Radiation protection dosimetry* 152 (1-3):210-214.
- Iimoto T, Nunokawa J, Fujii H, Takashima R, Hashimoto M, Fukuhara T, Yajima T, Matsuzawa H, Kurosawa K, Yanagawa Y, Someya S. 2015. Collaboration of local government and experts responding to increase in environmental radiation level due to the nuclear disaster: focusing on their activities and latest radiological discussion. *Radiation protection dosimetry* 167 (1-3):358-364.
- International Commission on Radiological Protection (ICRP). 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. Pergamon Press, OxfordUnited Kingdom 1991, Publication no. 60
- Iwamatsu T. 2004. Stages of normal development in the medaka *Oryzias latipes*. *Mechanisms of development* 121 (7-8):605-618.
- Iwamatsu T, Ohta T, Oshima E, Sakai N. 1988. Oogenesis in the Medaka *Oryzias latipes*: Stages of Oocyte Development : *Developmental Biology. Zool Sci* 5 (2):353-373.

Jiang Z, Song J, Qi F, Xiao A, An X, Liu NA, Zhu Z, Zhang B, Lin S. 2008. Exdpf is a key regulator of exocrine pancreas development controlled by retinoic acid and ptf1a in zebrafish. PLoS biology 6 (11):e293.

Jobling S, Nolan M, Tyler CR, Brighty G, Sumpter JP. 1998. Widespread Sexual Disruption in Wild Fish. Environmental Science & Technology 32 (17):2498-2506.

Kamstra JH, Hurem S, Martin LM, Lindeman LC, Legler J, Oughton D, Salbu B, Brede DA, Lyche JL, Alestrom P. 2018. Ionizing radiation induces transgenerational effects of DNA methylation in zebrafish. Scientific reports 8 (1):15373.

Kanamori A. 2000. Systematic identification of genes expressed during early oogenesis in medaka. Molecular reproduction and development 55 (1):31-36.

Kanamori A, Naruse K, Mitani H, Shima A, Hori H. 2003. Genomic organization of ZP domain containing egg envelope genes in medaka (*Oryzias latipes*). Gene 305 (1):35-45.

Kang IJ, Yokota H, Oshima Y, Tsuruda Y, Yamaguchi T, Maeda M, Imada N, Tadokoro H, Honjo T. 2002. Effect of 17beta-estradiol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Chemosphere 47 (1):71-80.

Kinoshita M, Okamoto G, Hirata T, Shinomiya A, Kobayashi T, Kubo Y, Hori H, Kanamori A. 2009. Transgenic medaka enables easy oocytes detection in live fish. Molecular reproduction and development 76 (2):202-207.

Kobayashi T, Chiba A, Sato T, Myosho T, Yamamoto J, Okamura T, Onishi Y, Sakaizumi M, Hamaguchi S, Iguchi T, Horie Y. 2017. Estrogen alters gonadal soma-derived factor (Gsdh)/Foxl2

expression levels in the testes associated with testis-ova differentiation in adult medaka, *Oryzias latipes*. *Aquatic toxicology*, 191:209-218.

Kobayashi Y, Funayama T, Wada S, Furusawa Y, Aoki M, Shao C, Yokota Y, Sakashita T, Matsumoto Y, Kakizaki T, Hamada N. 2004. Microbeams of heavy charged particles. *Uchu Seibutsu Kagaku* 18 (4):235-240.

Kobayashi Y, Funayama T, Wada S, Sakashita T. 2004. System of cell irradiation with a defined number of heavy ions (III). *Uchu Seibutsu Kagaku* 18 (3):186-187.

Koh KB, Komiyama M, Toyama Y, Adachi T, Mori C. 2004. Percoll fractionation of adult mouse spermatogonia improves germ cell transplantation. *Asian journal of andrology* 6 (2):93-98.

Kosai P, Jiraungkoorskul W, Sachamahithinant C, Jiraungkoorskul K. 2011. Induction of testis-ova in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to 17 $\beta$ -estradiol. *Natural Science*, 3, 227-233.

Kuwahara Y, Shimada A, Mitani H, Shima A. 2002. A critical stage in spermatogenesis for radiation-induced cell death in the medaka fish, *Oryzias latipes*. *Radiation research* 157 (4):386-392.

Kuwahara Y, Shimada A, Mitani H, Shima A. 2003. Gamma-ray exposure accelerates spermatogenesis of medaka fish, *Oryzias latipes*. *Molecular reproduction and development* 65 (2):204-211.

Lemos J, Neuparth T, Trigo M, Costa P, Vieira D, Cunha L, Ponte F, Costa PS, Metello LF, Carvalho AP. 2017. Single Low-Dose Ionizing Radiation Induces Genotoxicity in Adult Zebrafish and its Non-Irradiated Progeny. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 98 (2):190-195.

Li L, Dong J, Yan L, Yong J, Liu X, Hu Y, Fan X, Wu X, Guo H, Wang X, Zhu X, Li R, Yan J, Wei Y, Zhao Y, Wang W, Ren Y, Yuan P, Yan Z, Hu B, Guo F, Wen L, Tang F, Qiao J. 2017. Single-Cell RNA-Seq

Analysis Maps Development of Human Germline Cells and Gonadal Niche Interactions. *Cell Stem Cell* 20 (6):858-873.e854.

Li M, Zhu F, Li Z, Hong N, Hong Y. 2016. Dazl is a critical player for primordial germ cell formation in medaka. *Scientific reports* 6:28317.

Lieber MR. 2010. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. *Annual review of biochemistry* 79:181-211.

Lin BL, Hagino S, Kagoshima M, Iwamatsu T. 2009. The fragmented testis method: development and its advantages of a new quantitative evaluation technique for detection of testis-ova in male fish. *Ecotoxicology and environmental safety* 72 (2):286-292.

Little JB. 2000. Radiation carcinogenesis. *Carcinogenesis* 21 (3):397-404.

Littley MD, Shalet SM, Beardwell CG. 1990. Radiation and hypothalamic-pituitary function. *Bailliere's clinical endocrinology and metabolism* 4 (1):147-175.

Liu B, Cheng Y, Zhang B, Bian HJ, Bao JK. 2009. Polygonatum cyrtoneura lectin induces apoptosis and autophagy in human melanoma A375 cells through a mitochondria-mediated ROS-p38-p53 pathway. *Cancer letters* 275 (1):54-60.

Lorenzetti D, Poirier C, Zhao M, Overbeek PA, Harrison W, Bishop CE. 2014. A transgenic insertion on mouse chromosome 17 inactivates a novel immunoglobulin superfamily gene potentially involved in sperm-egg fusion. *Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society* 25 (3-4):141-148.

Lukassen S, Bosch E, Ekici AB, Winterpacht A. 2018. Single-cell RNA sequencing of adult mouse

testes. Scientific data 5:180192.

Lukassen S, Bosch E, Ekici AB, Winterpacht A. 2018. Characterization of germ cell differentiation in the male mouse through single-cell RNA sequencing. Scientific reports 8 (1):6521.

Luo J, Megee S, Dobrinski I. 2009. Asymmetric distribution of UCH-L1 in spermatogonia is associated with maintenance and differentiation of spermatogonial stem cells. Journal of cellular physiology 220 (2):460-468.

Mandich A, Bottero S, Benfenati E, Cevasco A, Erratico C, Maggioni S, Massari A, Pedemonte F, Vigano L. 2007. In vivo exposure of carp to graded concentrations of bisphenol A. Gen Comp Endocrinol 153 (1-3):15-24.

Margolin G, Khil PP, Kim J, Bellani MA, Camerini-Otero RD. 2014. Integrated transcriptome analysis of mouse spermatogenesis. BMC genomics 15:39.

Michibata H. 1976. The role of spermatogonia in the recovery process from temporary sterility induced by gamma-ray irradiation in the teleost *Oryzias latipes*. Journal of radiation research 17(3):142-153.

Miura T, Yamauchi K, Takahashi H, Nagahama Y. 1991. Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in vitro in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 88 (13):5774-5778.

Murata Y, Yasuda T, Watanabe-Asaka T, Oda S, Mantoku A, Takeyama K, Chatani M, Kudo A, Uchida S, Suzuki H, Tanigaki F, Shirakawa M, Fujisawa K, Hamamoto Y, Terai S, Mitani H. 2015. Histological and Transcriptomic Analysis of Adult Japanese Medaka Sampled Onboard the International Space Station. PloS one 10 (10):e0138799.

Nagata K, Hashimoto C, Watanabe-Asaka T, Itoh K, Yasuda T, Ohta K, Oonishi H, Igarashi K, Suzuki M, Funayama T, Kobayashi Y, Nishimaki T, Katsumura T, Oota H, Ogawa M, Oga A, Ikemoto K, Itoh H, Kutsuna N, Oda S, Mitani H. 2016. *In vivo* 3D analysis of systemic effects after local heavy-ion beam irradiation in an animal model. Scientific reports 6:28691.

Nakamoto M, Shibata Y, Ohno K, Usami T, Kamei Y, Taniguchi Y, Todo T, Sakamoto T, Young G, Swanson P, Naruse K, Nagahama Y. 2018. Ovarian aromatase loss-of-function mutant medaka undergo ovary degeneration and partial female-to-male sex reversal after puberty. Molecular and cellular endocrinology 460:104-122.

Nakamura A, Tamura I, Takanobu H, Yamamuro M, Iguchi T, Tatarazako N. 2015. Fish multigeneration test with preliminary short-term reproduction assay for estrone using Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Journal of applied toxicology : JAT 35 (1):11-13.

Nakata H. 2019. Morphology of mouse seminiferous tubules. Anatomical science international 94(1):1-10.

Neuhaus N, Yoon J, Terwort N, Kliesch S, Seggewiss J, Hüge A, Voss R, Schlatt S, Grindberg RV, Scholer HR. 2017. Single-cell gene expression analysis reveals diversity among human spermatogonia. Molecular human reproduction 23 (2):79-90.

Nishimura T, Nakamura S, Tanaka M. 2016. A Structurally and Functionally Common Unit in Testes and Ovaries of Medaka (*Oryzias latipes*), a Teleost Fish. Sexual development : genetics, molecular biology, evolution, endocrinology, embryology, and pathology of sex determination and differentiation 10 (3):159-165.

Nobrega RH, Batlouni SR, Franca LR. 2009. An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. Fish physiology and biochemistry 35

(1) :197-206.

Nolan M, Jobling S, Brighty G, Sumpter JP, Tyler CR. 2001. A histological description of intersexuality in the roach. *Journal of Fish Biology* 58 (1):160-176.

Nomikos M. 2015. Novel signalling mechanism and clinical applications of sperm-specific PLC zeta. *Biochemical Society transactions* 43 (3):371-376.

Ochiai K, Hayama S-i, Nakiri S, Nakanishi S, Ishii N, Uno T, Kato T, Konno F, Kawamoto Y, Tsuchida S, Omi T. 2014. Low blood cell counts in wild Japanese monkeys after the Fukushima Daiichi nuclear disaster. *Scientific reports* 4:5793.

Ogilvy-Stuart AL, Shalet SM. 1993. Effect of radiation on the human reproductive system. *Environmental health perspectives* 101 Suppl 2:109-116.

Pfeiffer P, Goedecke W, Obe G. 2000. Mechanisms of DNA double-strand break repair and their potential to induce chromosomal aberrations. *Mutagenesis* 15 (4):289-302.

Pierce DA, Preston DL. 2000. Radiation-related cancer risks at low doses among atomic bomb survivors. *Radiation research* 154 (2):178-186.

Porseryd T, Reyhanian Caspillo N, Volkova K, Elabbas L, Kallman T, Dinnetz P, Olsson PE, Porsch-Hallstrom I. 2018. Testis transcriptome alterations in zebrafish (*Danio rerio*) with reduced fertility due to developmental exposure to 17 alpha-ethinyl estradiol. *Gen Comp Endocrinol* 262:44-58.

Robbins ME, Zhao W. 2004. Chronic oxidative stress and radiation-induced late normal tissue injury: a review. *Int J Radiat Biol* 80 (4):251-259.

Rodriguez-Mari A, Canestro C, Bremiller RA, Nguyen-Johnson A, Asakawa K, Kawakami K, Postlethwait JH. 2010. Sex reversal in zebrafish fancl mutants is caused by Tp53 -mediated germ cell apoptosis. PLoS genetics 6 (7):e1001034.

Rodriguez-Mari A, Postlethwait JH. 2011. The role of Fanconi anemia/BRCA genes in zebrafish sex determination. Methods in cell biology 105:461-490.

Rolland AD, Lareyre JJ, Goupil AS, Montfort J, Ricordel MJ, Esquerre D, Hugot K, Houlgatte R, Chalmel F, Le Gac F. 2009. Expression profiling of rainbow trout testis development identifies evolutionary conserved genes involved in spermatogenesis. BMC genomics 10:546.

Rothkamm K, Lobrich M. 2003. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 100 (9):5057-5062.

Russell WL, Kelly EM. 1982. Mutation frequencies in male mice and the estimation of genetic hazards of radiation in men. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 79 (2):542-544.

Russell WL, Russell LB, Kelly EM. 1958. Radiation dose rate and mutation frequency. Science 128 (3338):1546-1550.

Saga Y. 2010. Function of Nanos2 in the male germ cell lineage in mice. Cellular and molecular life sciences : CMLS 67 (22):3815-3822.

Santos Nassif Lacerda SM, Costa GM, da Silva Mde A, Campos-Junior PH, Segatelli TM, Peixoto MT, Resende RR, de Franca LR. 2013. Phenotypic characterization and in vitro propagation and transplantation of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) spermatogonial stem cells. Gen Comp

Endocrinol 192:95-106.

Sato M, Hayashi M, Yoshizaki G. 2017. Stem cell activity of type A spermatogonia is seasonally regulated in rainbow trout. *Biology of reproduction* 96 (6):1303-1316.

Schulz RW, de Franca LR, Lareyre JJ, Le Gac F, Chiarini-Garcia H, Nobrega RH, Miura T. 2010. Spermatogenesis in fish. *Gen Comp Endocrinol* 165 (3):390-411.

Seki M, Yokota H, Matsubara H, Tsuruda Y, Maeda M, Tadokoro H, Kobayashi K. 2002. Effect of ethinylestradiol on the reproduction and induction of vitellogenin and testis-ova in medaka (*Oryzias latipes*). *Environ Toxicol Chem* 21 (8):1692-1698.

Shah FJ, Tanaka M, Nielsen JE, Iwamoto T, Kobayashi S, Skakkebaek NE, Leffers H, Almstrup K. 2009. Gene expression profiles of mouse spermatogenesis during recovery from irradiation. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* 7:130.

Shibata N, Hamaguchi S. 1988. Evidence for the sexual bipotentiality of spermatogonia in the fish, *Oryzias latipes*. *The Journal of experimental zoology* 245 (1):71-77.

Shima A, Mitani H. 2004. Medaka as a research organism: past, present and future. *Mechanisms of development* 121 (7-8):599-604.

Spargo SC, Hope RM. 2003. Evolution and nomenclature of the zona pellucida gene family. *Biology of reproduction* 68 (2):358-362.

Sun C, Galicia C, Stenkamp DL. 2018. Transcripts within rod photoreceptors of the Zebrafish retina. *BMC genomics* 19 (1):127.

Suzuki M, Hattori Y, Sakashita T, Yokota Y, Kobayashi Y, Funayama T. 2017. Region-specific irradiation system with heavy-ion microbeam for active individuals of *Caenorhabditis elegans*. *Journal of radiation research* 58 (6):881-886.

Suzuki M, Sakashita T, Hattori Y, Yokota Y, Kobayashi Y, Funayama T. 2018. Development of ultra-thin chips for immobilization of *Caenorhabditis elegans* in microfluidic channels during irradiation and selection of buffer solution to prevent dehydration. *Journal of neuroscience methods* 306:32-37.

Takino S, Yamashiro H, Sugano Y, Fujishima Y, Nakata A, Kasai K, Hayashi G, Urushihara Y, Suzuki M, Shinoda H, Miura T, Fukumoto M. 2017. Analysis of the Effect of Chronic and Low-Dose Radiation Exposure on Spermatogenic Cells of Male Large Japanese Field Mice (*Apodemus speciosus*) after the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant Accident. *Radiation research* 187(2):161-168.

Taniguchi Y, Takeda S, Furutani-Seiki M, Kamei Y, Todo T, Sasado T, Deguchi T, Kondoh H, Mudde J, Yamazoe M, Hidaka M, Mitani H, Toyoda A, Sakaki Y, Plasterk RH, Cuppen E. 2006. Generation of medaka gene knockout models by target-selected mutagenesis. *Genome biology* 7 (12):R116.

Tomita M, Matsumoto H, Funayama T, Yokota Y, Otsuka K, Maeda M, Kobayashi Y. 2015. Nitric oxide-mediated bystander signal transduction induced by heavy-ion microbeam irradiation. *Life sciences in space research* 6:36-43.

Tsuda M, Sasaoka Y, Kiso M, Abe K, Haraguchi S, Kobayashi S, Saga Y. 2003. Conserved role of nanos proteins in germ cell development. *Science* 301 (5637):1239-1241.

Tu W, Dong C, Konishi T, Kobayashi A, Furusawa Y, Uchihori Y, Xie Y, Dang B, Li W, Shao C. 2016. G (2)-M phase-correlative bystander effects are co-mediated by DNA-PKcs and ATM after carbon ion irradiation. *Mutation research Genetic toxicology and environmental mutagenesis* 795:1-6.

Urushihara Y, Kawasumi K, Endo S, Tanaka K, Hirakawa Y, Hayashi G, Sekine T, Kino Y, Kuwahara Y, Suzuki M, Fukumoto M, Yamashiro H, Abe Y, Fukuda T, Shinoda H, Isogai E, Arai T, Fukumoto M. 2016. Analysis of Plasma Protein Concentrations and Enzyme Activities in Cattle within the Ex-Evacuation Zone of the Fukushima Daiichi Nuclear Plant Accident. PloS one 11 (5):e0155069.

Urushihara Y, Suzuki T, Shimizu Y, Ohtaki M, Kuwahara Y, Suzuki M, Uno T, Fujita S, Saito A, Yamashiro H, Kino Y, Sekine T, Shinoda H, Fukumoto M. 2018. Haematological analysis of Japanese macaques (*Macaca fuscata*) in the area affected by the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant accident. Scientific reports 8 (1):16748.

Urushitani H, Katsu Y, Kato Y, Tooi O, Santo N, Kawashima Y, Ohta Y, Kisaka Y, Lange A, Tyler CR, Johnson RD, Iguchi T. 2007. Medaka (*Oryzias latipes*) for use in evaluating developmental effects of endocrine active chemicals with special reference to gonadal intersex (testis-ova). Environmental sciences : an international journal of environmental physiology and toxicology 14 (5):211-233.

Vilenchik MM, Knudson AG, Jr. 2000. Inverse radiation dose-rate effects on somatic and germ-line mutations and DNA damage rates. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97 (10):5381-5386.

Vilenchik MM, Knudson AG. 2003. Endogenous DNA double-strand breaks: production, fidelity of repair, and induction of cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 100 (22):12871-12876.

Wang Y, Wang L, Gao H, Gao Y, Yang C, Ji H, Dong W. 2017. UCHL1 expression and localization on testicular development and spermatogenesis of Chinese giant salamanders. Oncotarget 8 (49):86043-86055.

Xu H, Gui J, Hong Y. 2005. Differential expression of vasa RNA and protein during spermatogenesis and oogenesis in the gibel carp (*Carassius auratus gibelio*), a bisexually and gynogenetically reproducing vertebrate. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists* 233 (3):872-882.

Xue Y, Raharja A, Sim W, Wong ES, Rahmat SA, Lane DP. 2017. The hot-spot p53 R172H mutant promotes formation of giant spermatogonia triggered by DNA damage. *Oncogene* 36 (14):2002-2013.

Yang T, Samin A, Cao L. 2013. A review of low-level ionizing radiation and risk models of leukemia. *Journal of Radiation Oncology* 2 (3):263-270.

Yasuda T, Aoki K, Matsumoto A, Maruyama K, Hyodo-Taguchi Y, Fushiki S, Ishikawa Y. 2006. Radiation-induced brain cell death can be observed in living medaka embryos. *Journal of radiation research* 47 (3-4):295-303.

Yasuda T, Ishikawa Y, Shioya N, Itoh K, Kamahori M, Nagata K, Takano Y, Mitani H, Oda S. 2018. Radical change of apoptotic strategy following irradiation during later period of embryogenesis in medaka (*Oryzias latipes*). *PloS one* 13(8):e0201790.

Yasuda T, Kamahori M, Nagata K, Watanabe-Asaka T, Suzuki M, Funayama T, Mitani H, Oda S. 2017. Abscopal Activation of Microglia in Embryonic Fish Brain Following Targeted Irradiation with Heavy-Ion Microbeam. *International journal of molecular sciences* 18 (7).

Yasuda T, Kimori Y, Nagata K, Igarashi K, Watanabe-Asaka T, Oda S, Mitani H. 2016. Irradiation-injured brain tissues can self-renew in the absence of the pivotal tumor suppressor p53 in the medaka (*Oryzias latipes*) embryo. *Journal of radiation research* 57 (1):9-15.

Yasuda T, Oda S, Hibi Y, Satoh S, Nagata K, Hirakawa K, Kutsuna N, Sagara H, Mitani H. 2015.

Embryonic Medaka Model of Microglia in the Developing CNS Allowing In Vivo Analysis of Their Spatiotemporal Recruitment in Response to Irradiation. PloS one 10 (6):e0127325.

Yasuda T, Oda S, Ishikawa Y, Watanabe-Asaka T, Hidaka M, Yasuda H, Anzai K, Mitani H. 2009. Live imaging of radiation-induced apoptosis by yolk injection of Acridine Orange in the developing optic tectum of medaka. Journal of radiation research 50 (6):487-494.

Yasuda T, Oda S, Li Z, Kimori Y, Kamei Y, Ishikawa T, Todo T, Mitani H. 2012. Gamma-ray irradiation promotes premature meiosis of spontaneously differentiating testis-ova in the testis of p53deficient medaka (*Oryzias latipes*). Cell death & disease 3:e395.

Yasuda T, Yoshimoto M, Maeda K, Matsumoto A, Maruyama K, Ishikawa Y. 2008. Rapid and simple method for quantitative evaluation of neurocytotoxic effects of radiation on developing medaka brain. Journal of radiation research 49 (5):533-540.

Yokota H, Morita H, Nakan N, Kang IJ, Tadokoro H, Oshima Y, Honjo T, Kobayashi K. 2001. Development of an ELISA for determination of the hepatic vitellogenin in Medaka (*Oryzias latipes*). Japanese journal of environmental toxicology, 4 (2):87-98.

Yokota Y, Funayama T, Mutou-Yoshihara Y, Ikeda H, Kobayashi Y. 2015. The bystander cell-killing effect mediated by nitric oxide in normal human fibroblasts varies with irradiation dose but not with radiation quality. Int J Radiat Biol 91 (5):383-388.

Yoshida T, Goto S, Kawakatsu M, Urata Y, Li TS. 2012. Mitochondrial dysfunction, a probable cause of persistent oxidative stress after exposure to ionizing radiation. Free radical research 46 (2):147-153.

Yuan Y, Li M, Hong Y. 2014. Light and electron microscopic analyses of Vasa expression in adult germ cells of the fish medaka. Gene 545 (1):15-22.

Zhao X, Ren X, Zhu R, Luo Z, Ren B. 2016. Zinc oxide nanoparticles induce oxidative DNA damage and ROS-triggered mitochondria-mediated apoptosis in zebrafish embryos. *Aquatic toxicology*,180:56-70.

Zhao Y, Hu J. 2012. Development of a molecular biomarker for detecting intersex after exposure of male medaka fish to synthetic estrogen. *Environ Toxicol Chem* 31 (8):1765-1773.

永田健斗. メダカ精巣における放射線誘発性精巣卵の形成メカニズムの解明. 東京大学大学院新領域創成科学研究科 修士論文 2016.

西谷彩香. p53 遺伝子欠損メダカ精巣において放射線照射により誘発される testis-ova の形成過程. 東京大学大学院新領域創成科学研究科 修士論文 2015.

