

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590401

研究課題名(和文)生殖腺の性差構築とその破綻機構における細胞・組織特異的エピゲノム制御

研究課題名(英文) Tissue-dependent epigenetic regulation in the establishment of gonadal sex differences and its failure mechanisms

研究代表者

星 信彦 (HOSHI, NOBUHIKO)

神戸大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：10209223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：性差の確立は、SRYをマスター遺伝子とした「遺伝的制御」によって未分化性腺の雄(精巣)あるいは雌(卵巣)への運命が決まり、その雌雄表現型・機能を維持するために様々な性分化関連因子の時空間特異的な性的二型性発現が必要不可欠である。性逆転系統であるC57BL/6N-XYposマウスの性差構築と破綻機構を詳細に解析した結果、C57BL/6の遺伝的背景に性逆転の原因がある可能性、新たなエピジェネティック因子が関与する可能性、常染色体上のノンコーディング領域が関与する可能性が示唆された。

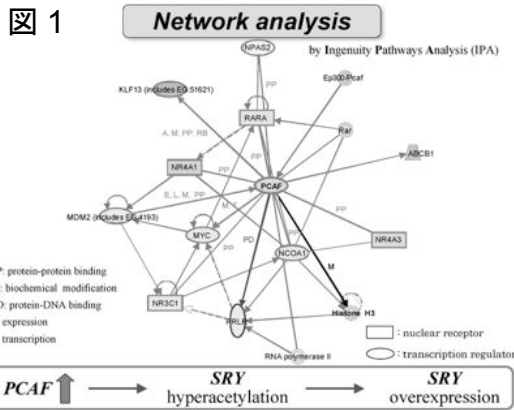
研究成果の概要(英文)：Mammalian sexual fate is determined by the presence or absence of Sry in the bipotential gonads. Breeding the Y chromosome from *Mus m. domesticus poschiavinus* (pos) strains into C57BL/6J (B6J) mice (B6J-XYpos) has been shown to induce sex reversal. However, our C57BL/6N (B6N)-XYpos mice develop as males as well as females and true hermaphrodites. The onsets of both Sry and Sox9 expressions as determined spatiotemporally by whole-mount immunohistochemistry in the B6N-XYpos gonads occurred 2-3 tail somites later than those in B6N-XYB6 gonads, but earlier than those in B6J-XYpos, respectively. Our study is the first to histologically show the expression and ectopic localization of a female-related gene in the XYpos testes, and a male-related gene in the XYpos ovaries. The results from these and previous experiments indicate that the interplay between genome variants, epigenetics, and developmental gene regulation is crucial for testis development.

研究分野：分子細胞遺伝学

キーワード：性分化 性差 性特異的遺伝子発現 SRY SOX9 エピジェネティック制御

1. 研究開始当初の背景

近年、哺乳類を含む脊椎動物では、ゲノム DNA のメチル化の程度は各体細胞により異なり、ゲノム転写調節領域のメチル化は染色体異常あるいは遺伝子のサイレンス機構と関連していることが明らかになってきた。一方、XY 女性(性逆転)患者では、精巣決定遺伝子 *SRY* の異常に起因するのは 10-15% にすぎず、多くは原因不明 [Hoshi *et al.*, 1998a-c] で、*SRY* 自身もその転写因子や下流遺伝子の発現制御が同定されておらず、性分化破綻機構には未だ不明な点が多い。最近、我々は XY 女性における *SRY* のヒストンアセチル化異常が原因で性逆転になった症例を報告した(図1, Mitsuhashi *et al.*, 2010a,b)。



また、遺伝子改変性転換マウス(Jackson Lab 系 C57BL/6J マウスと Y 染色体のみ *Mus domesticus poschiavinus* のものに置き換えた B6J-XY<sup>POS</sup> マウス)と精巣化の抑制で知られる M33 KO 系 B6N マウスの交配から右性腺が卵巣に、左性腺が精巣に分化する真性半陰陽マウスを作製することに成功した(B6N-XY<sup>POS</sup>) (図 2)。さらに、同一遺伝子型でありながら様々の半陰陽個体を作製しうることを示した[論文 1]。一方、哺乳類の性分化機構は、メス型が標準型で、*SRY* により雄化するとされてきたが、近年、成獣マウスにおいて *FOXL2* を除去すると *DMRT1* によって卵巣の雄性化が起こること [Uhlenhaut *et al.*, 2010]、逆に *DMRT1* が *FOXL2* による雌化を抑制していること [Matson *et al.*, 2011] など、哺乳類の性差構築には、雌化維持機構の積極的な関与が示唆されており、性分化機構はより複雑な機構を呈している。



図2 作出した真性半陰陽マウスの生殖器 (右-卵巣&左-精巣)

2. 研究の目的

これまで我々は、性分化機構の破綻には組織限定性の性染色体モザイクによる性染色体遺伝子量補償機構が関与していることを示し、ヒストンアセチル化を制御する *PCAF* 遺伝子の高発現が XY 性逆転症例に関与することを明らかにした。また、同一遺伝子型から真性半陰陽および様々の半陰陽表現型マウスの作出にも成功した。それらを元に、現在、マウス性腺の発生、とくに生殖腺における性特異的タンパク質の局在と性差ならびにエピゲノム調節機構について明らかにすることを企図した。

3. 研究の方法

本研究では、哺乳動物の性差構築を特別なものととらえ、その実態にはエピジェネティクスが大きく関与しているとの仮説から、真性半陰陽マウスを用いて生殖腺の発生・分化と細胞特異的エピジェネティック機構について時間・空間的に解析し、ゲノムの修飾・構造変換とその発生・分化の多様性に関わるエピゲノム機構の解明を試みた。

4. 研究成果

【研究の主な成果】

哺乳類の性は、Y 染色体上の遺伝子 *Sry* により決定される。すなわち、マウスの XY 個体では胎齢 11.0~11.25 日 (dpc) に未分化性腺内の支持前駆細胞に発現した *Sry* が、同じ HMG box 型転写因子である *Sox9* を活性化し、その発現が高く維持されることで精巣分化が誘導される。一方、XX 個体では *Sry* による *Sox9* の活性化は起こらず、雌化関連遺伝子 (*Wnt4* や *Rspo1* 等) により WNT/ $\beta$ カテニン経路が活性化して卵巣分化が誘導される。この様に、*Sry* は未分化性腺の分化の方向性を大きく決定づけるマスター遺伝子であるため、その発現様式および機能について多くの研究がなされてきた。マウスの未分化性腺において *Sry* は、ウェーブ状かつ一過性の極めて特徴的な発現様式を示す。すなわち、マウスでは 11.0 dpc (=12 尾体節数: 12 ts) に未分化性腺の中央部に限局して *Sry* が発現し、両端に向かって発現が広がっていく。11.5 dpc (17~18 ts) までに性腺の殆どの領域で発現し、その後、中央部・前部から急速に減少して 12.0 dpc (24 ts) までに消失する。すなわち、性腺の中央部と後端では、*Sry* 発現に 6 時間以上の時間差が生じることが明らかになっている (Harikae *et al.*, 2013)。 *Sry* 発現を上流で制御する因子としては、*SFI*, *WT1*, *CBX2*, *GATA4* 等の関与が明らかとなっているが、*Sry* 発現の特異的な時空間的発現の詳細な制御メカニズムについては未だ明らかでない (Larney *et al.*, 2014)。一方、卵精巣を示す XY 性分化異常マウスにおいて、卵巣化領域が後部に高頻度に見られる (Taketo *et al.*, 1991) ことから、雌化関連遺伝子の発現は性腺の後端部から始まる可能性も示唆されている。加えて、ライディッヒ細胞の分化は前端から後端に進むとされる (Hiramatsu *et al.*, 2003) ことから、未分化性腺は空間的に一様で無いことが想

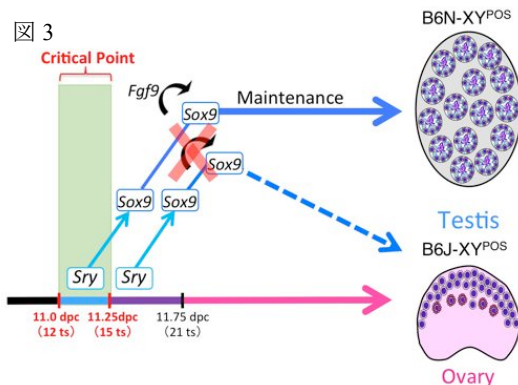
定される。

我々が作出した B6N-XY<sup>POS</sup> マウスは XY 型であるにもかかわらず、両側精巣(T/T)だけではなく両側卵巣(O/O)や卵精巣(O/TまたはOT/OT)を有する個体が一定の割合で生まれる。これら雌雄表現型の誘導・維持・調節機構に着目し、B6N-XY<sup>POS</sup> 新生子性腺の組織学的検索(SOX9, FoxL2 及び MVH の検出)並びに qRT-PCR による各種性分化関連遺伝子の mRNA 発現量の定量を行った。B6N-XY<sup>POS</sup> 精巣と B6N-XY<sup>POS</sup> 卵巣とでは、その肉眼的・組織学的な表現型だけでなく、遺伝子発現様式も明らかに異なっていた。B6N-XY<sup>POS</sup> 精巣では、精細管の減少、精細管管径の縮小及び間質の増大が観察され、それに伴うセルトリ細胞及び生殖細胞の減少が示唆された。これらの異常と一致して、B6N-XY<sup>POS</sup> 精巣における精巣化因子(Sox9, Sox8, Dhh, Dmrt1, Gata4 および Sfl)の発現量の低下が認められた。一方、卵巣化因子(Fst 及び Wnt4)の発現量は増加していたことから、卵巣化抑制機構の破綻が示唆された。B6N-XY<sup>POS</sup> 卵巣では皮質において生殖細胞がわずかに認められたが、対照卵巣よりも明らかにその数は少なく、MVH および FoxL2 は弱陽性であった。髄質では SOX9 陽性の精細管様構造が多数認められた。卵巣の近傍に精巣上体様組織が観察された個体も存在した。B6N-XY<sup>POS</sup> 卵巣の遺伝子発現様式は対照卵巣と類似していたことから、精巣化カスケードの破綻が示唆されたが、Wnt4, Foxl2, Fst および ERαは対照卵巣よりも高発現であったことより、卵巣化遺伝子の発現量調節機構の異常も示唆された。B6N-XY<sup>POS</sup> 性腺では新生子の時点で既に精細管の形態形成・機能不全あるいはその兆候がみられ、精巣化遺伝子と卵巣化遺伝子との拮抗作用の制御機構の攪乱によるものと示唆された。

次いで、B6N-XY<sup>POS</sup> 胎子性腺(17~21 ts)の組織学的検索並びに qRT-PCR による各種性分化関連遺伝子の mRNA 発現量の定量を行った。B6N-XY<sup>POS</sup> マウス胎子性腺では Sry 発現の時点で野生型 B6N-XY<sup>B6</sup> マウスとは異なる発現様式がみられたことから、B6N-XY<sup>POS</sup> マウスにおける性逆転の原因は Sry より上流にあると考えられた。Fgf9 の発現には左右差がみられ、野生型雄(20ts/21ts)では左性腺の発現が高く、B6N-XY<sup>POS</sup> 性腺では左で野生型雌より発現が高いものが、右では野生型雄より低い発現を示す個体も認められた。このことは B6N-XY<sup>POS</sup> で出現する多様な表現型を反映した結果と考えられた。また、Sry と Sox9 発現の遅れが、野生型雄の右性腺における Fgf9 発現の遅延、または低発現を引き起こしたとも考えられた。一方、Wnt4 では、野生型雌では発現が増加し、野生型雄で減少する傾向がみられた。また、B6N-XY<sup>POS</sup> では 20/21ts において雌より低い発現を示す個体があったことから、B6N-XY<sup>POS</sup> で出現する多様な表現型のゆらぎを生み出す原因と考えられた。

性分化時期の 11~30 ts における B6N-XY<sup>B6</sup> (野生型)および B6N-XY<sup>POS</sup> 未分化生殖腺を用いて、qRT-PCR とホールマウント免疫染色

(IHC-Wmt)により、Y 染色体上の性決定遺伝子 Sry/Sry とその直接下流の精巣化実行遺伝子 Sox9/Sox9 の時空間的な発現変化について検索した。また、Sry のコーディング領域における DNA シーケンス解析を行った。定量的遺伝子発現解析の結果、16~19 ts の B6N-XY<sup>POS</sup> における Sry・Sox9 の発現量は野生型よりも低値であった。IHC-Wmt の結果、B6N-XY<sup>POS</sup> の Sry/Sox9 は、野生型よりも 2~3 ts 遅延して精巣化のいわゆる臨界期付近で発現開始することが明らかとなった。30 ts の B6N-XY<sup>POS</sup> では、生殖腺の頭側・尾側末端部での Sox9 発現が野生型と比べて顕著に低下しており、Sry/Sox9 の発現開始時期の遅延・低下により、卵巣化関連遺伝子発現が活性化したと考えられた。また、生殖腺の屈曲も認められ、これは Sox9 発現の低下を原因とした細胞増殖能の低下によることが推測された(図 3)。DNA シーケンス解析の結果、B6N-XY<sup>POS</sup> の Sry<sup>POS</sup> 内には、既報にある B6J-XY<sup>POS</sup> のものと HMG ボックス内の 1 アミノ酸置換をはじめ短いポリ Q ドメイン(230 アミノ酸)を持っていることが明らかとなった。一方、Sry 構造には多様性があり、マウスの亜種間でも差がみられる。Mus m. domesticus (Dom)は Q-rich 領域内のナンセンス変異により長さが Mus m. musculus の半分であることが分かっている[Sekido, R. 2010]。



それ故、既報の B6J-XY<sup>POS</sup> と B6N-XY<sup>POS</sup> との表現型の差は、①C57BL/6 の遺伝的背景に性逆転の原因がある可能性：他の系統(DBA/2 および 129S1/SvImJ)に poschiavinus 由来の Y 染色体を入れても性逆転は起きない[Eicher et al., 1982; Munger et al., 2013]ことや、B6J と 129S1/SvImJ を比較すると B6J では胎子期における雌化関連遺伝子発現が全体的に高い[Munger et al., 2009]。すなわち、C57BL/6 ゲノムの約 1 割は日本産マウス亜種 Mus m. molossinus 由来であること[Takada et al., 2013]から、molossinus 由来の因子が B6 に性逆転への脆弱性を与えていることが考えられた。また、B6J と B6N は遺伝的にも表現型においても様々な違いがみられている[Mekada et al., 2009; Zurita et al., 2011](最新のデータでは 100 以上の SNPs の相違が見つかった)(図 4)。



②新たなエピジェネティック因子が関与する可能性: H3K9 脱メチル化酵素 *Jmjd1a* KO により B6N-XY<sup>POS</sup> マウスと同様, さまざまな表現型をもつ XY 性逆転が起きる [Kuroki *et al.*, 2013]. ③常染色体上のノンコーディング領域が関与する可能性: Sox9 プロモーター中のノンコーディング領域が量依存的に B6J-XY<sup>POS</sup> 性逆転を防ぐ [Arboleda *et al.*, 2014] の関与する可能性が示唆された.

【得られた成果の国内外における位置付けとインパクト】

哺乳類の *Sry* 構造は, 広く保存されている HMG box 部位を除くと種によって異なり, マウスでのみ C 末側に Q-rich 領域がみられる. しかしながら, この領域は変化に富み, *Mus m. domesticus* と *Mus m. musculus* とを比較すると前者では途中で終止コドンが入り, 長さが半分程短い. 現在, マウスの標準ゲノムとして, C57BL/6 系統が登録されているが, 1921 年, Abbie Lathrop が持っていたマウスを Littel が入手し, 雌 57 と雄 52 の交配に由来し毛色が Black に固定されたものを C57BL と命名, その 6 番目の垂系統 C57BL/6 が 1947 年にジャクソン研究所に導入され C57BL/6J となった. NIH はジャクソン研究所から C57BL/6J を導入し, C57BL/6N として維持してきた. C57BL/6N は, 1978 年に F121 で NIH から (財) 実験動物中央研究所に導入され, 1988 年に F121+25 で日本クレア (株) に導入. また, C57BL/6J は, 1989 年に F166 でジャクソン研究所から日本クレア (株) に導入して生産供給を開始している. しかしながら, ここ数年の研究から, この J と N とが遺伝子レベルでかなり異なること, また, 同じ, J, N でも供給会社によって SNPs が異なることなどが明らかになるなど, 問題が提議されている. 今回の我々の報告も, 性分化機構の解明のみならず, マウス系統についての再考に一助を投ずるものでもある.

*Mus m. domesticus poschiavinus* 由来の Y 染色体をもつ C57BL/6 マウスが性転換を起こすことが最初に報告 [Eicher *et al.*, 1982] された際, 両側卵巣 (O/O) 個体が 8 割で残りが両側卵精巢 (OT/OT) 個体で, 精巢を有する個体は生まれないとのものであった. その後, 多くの研究者がこの原因について解明を試みてきたが, 未だ, 開明されていないことから, 今回の研究成果は, 性分化基盤の分子機構を明らかにする上で一助となると期待される.

・系統差および垂系統差の存在が性分化と関連することを裏付ける貴重なデータである.

【今後の展望】

*Sry* 発現の開始前の段階である 10.5 dpc (8 ts 付近) の XY 未分化性腺では, 中央部, 前端部, 後端部で *Sry* 発現の調節に関与する遺伝子の発現様式が異なることが想定される. さらに, 未分化性腺は雌雄いずれにも分化する能力を有するとされるが, 遺伝子発現の雌雄差および部位差の存在も想定される. そこで, XY および XX の未分化性腺の 3 領域を比較することで,

遺伝子発現の差異および, 一方の性に特異的に発現して性決定に関わる新たな遺伝子の存在について探索したい. 具体的には, C57BL/6 の 10.5 dpc (8~12 ts 付近) 雄マウス胎子から性腺のみを取り出し (中腎は切除), ①前部②中央部③後部に 3 分割して RNA プールを作製する. この 3+1 (雌中央部: コントロール) 通りのサンプルについてマイクロアレイ解析を行い, 変動している遺伝子についてクラスター解析等を行う (現在進行中). こうして得られた候補遺伝子の発現量を qPCR で確認した後, RNAi により遺伝子をノックダウンし, 性腺培養後に *Sry* 等の遺伝子発現に変化がみられるかどうか追証を行いたい.

また, 哺乳類の精巢分化を誘導する *Sry* 遺伝子は発生段階に特異的な発現を DNA メチル化により制御されている. この *Sry* の上流には細胞・組織依存的に異なるメチル化状態になる領域 T-DMR (tissue-dependently and differentially methylated region) が存在しており, 発現時期である胎齢 11.5 dpc の雄生殖巣では T-DMR は低メチル化状態, 発現が無くなる 15.5 dpc では高メチル化状態であることが明らかになっている. しかし, 性分化異常を呈する例においてこの T-DMR のメチル化状態はどのようになっているかは明らかにされていない. とくに, 精巢化の破綻の程度とメチル化状態とは相関することが想定されるので, T-DMR および性分化関連遺伝子群についてメチル化状態並びにクロマチン構造の変換の有無を明らかにしたい.

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 14 件)

1. Umemura Y, Miyamoto R, Hashimoto R, Kinoshita K, Omotehara T, Nagahara D, Hirano T, Kubota N, Minami K, Yanai S, Msuda N, Yuasa H, Mantani Y, Matuo E, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. (2015): Ontogenic and morphological study of gonadal formation in genetically-modified sex reversal XY<sup>POS</sup> mice. *J Vet Med Sci*, in press. <査読有>
2. Hirano T, Yanai S, Omotehara T, Hashimoto R, Umemura Y, Kubota N, Minami K, Nagahara D, Matsuo E, Aihara Y, Shinohara R, Furuyashiki T, Mantani Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. (2015): The combined effect of clothianidin and environmental stress on the behavioral and reproductive function in male mice. *J Vet Med Sci*, 2015 May 10 [Epub ahead of print] <査読有>
3. Tabuchi Y, Yunoki T, Hoshi N, Suzuki N, Kondo T. (2014): Genes and gene networks involved in sodium fluoride-elicited apoptosis accompanying endoplasmic reticulum stress in oral epithelial cells. *Int J Mol Sci*, 15: 8959-8978; doi:10.3390/ijms15058959 <査読有>
4. Hoshi N, Hirano T, Omotehara T, Tokumoto J, Umemura Y, Mantani Y, Tanida T, Warita K, Tabuchi Y, Yokoyama T, Kitagawa H. (2014): Insight into the mechanism of reproductive dysfunction caused by neonicotinoid pesticides. *Biol Pharm Bull*, 37: 1439-1443. <査読有>
5. Hirano T, Kobayashi Y, Omotehara T, Tatsumi A, Hashimoto R, Umemura Y, Nagahara D,

- Mantani Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. (2014): Unpredictable chronic stress-induced reproductive suppression associated with the decrease of kisspeptin immunoreactivity in male mice. *J Vet Med Sci*. 76: 1201-1208. <査読有>
6. Omotehara T, Smith CA, Mantani Y, Kobayashi Y, Tatsumi A, Nagahara D, Hashimoto R, Hirano T, Umemura Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. (2014): Spatiotemporal expression patterns of doublesex and mab-3 related transcription factor 1 in the chicken developing gonads and Müllerian ducts. *Poult Sci*. 93: 953-958. <査読有>
  7. Maeda N, Okumura K, Tanaka E, Suzuki T, Miyasho T, Haeno S, Ueda H, Hoshi N, Yokota H. (2014): Downregulation of cytochrome P450scc as an initial adverse effect of adult exposure to diethylstilbestrol on testicular steroidogenesis. *Environ Toxicol*, 29: 1452-1459. <査読有>
  8. Warita K, Mitsuhashi T, Fukui S, Ohta K, Suzuki S, Miki T, Takeuchi Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Sugawara T, Hoshi N. (2013): Immunohistochemical analysis of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) and StAR-binding protein (SBP) expressions in the testes of mice during fetal development. *Reprod Biol*, 13: 92-95. <査読有>
  9. Tokumoto J, Danjo M, Kobayashi Y, Kinoshita K, Omotehara T, Tatsumi A, Hashiguchi M, Sekijima T, Kamisoyama H, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. (2013): Effects of exposure to clothianidin on the reproductive system of male quails. *J Vet Med Sci*, 75: 755-760. <査読有>
  10. Tanida T, Tasaka K, Akahoshi E, Ishihara-Sugano M, Saito M, Kawata S, Danjo M, Tokumoto J, Mantani Y, Nagahara D, Tabuchi Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Kawata M, Hoshi N. (2014): Fetal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin transactivates aryl hydrocarbon receptor-responsive element III in the tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons of the mouse midbrain. *J Appl Toxicol*, 34: 117-126. [2013 Jan 8, Epub ahead of print] <査読有>
  11. Warita K, Mitsuhashi T, Ohta K, Suzuki S, Hoshi N, Miki T, Takeuchi Y. (2013): *In vitro* evaluation of gene expression changes for gonadotropin-releasing hormone 1, brain-derived neurotrophic factor, and neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2, in response to bisphenol A treatment. *Congenit Anom*, 53: 42-45. <査読有>
  12. Takenaka A, Kashiwagi N, Maezono Y, Nakao T, Uwano Y, Kakizoe Y, Kinoshita K, Kusunoki H, Hoshi N. (2013) Study on the ejaculate characteristics and liquid storage of semen in the common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) *Jpn J Zoo Wildlife Med*, 18: 107-114. <査読有>
  13. Warita K, Mitsuhashi T, Tabuchi Y, Ohta K, Suzuki S, Hoshi N, Miki T, Takeuchi Y (2012): Microarray and gene ontology analyses reveal downregulation of DNA repair and apoptotic pathways in diethylstilbestrol-exposed testicular

Leydig cells. *J Toxicol Sci*, 37: 287-295. <査読有>

#### 総説：

1. Hoshi N, Handa Y, Nishi S, Yamada H, Kishida T, Sagawa T, Sakuragi N, Fujimoto S. (2014): Molecular cytogenetic aspects of sex differentiation anomalies in the field of obstetrics and gynecology. In: Singh JR. and Gandhi G. (Eds.). *Perspectives in Human Genetics*, India. (in press)

[学会発表] (計 35 件)

<特別講演等>

1. 星 信彦 (2015): 生殖腺における性差構築の分子基盤 – その普遍性と多様性, 第 22 回日本行動神経内分泌研究会[特別講演], 3 月 24 日(神戸大学統合拠点カンファレンスホール)
2. 星 信彦 (2015): 「性決定メカニズムの普遍性と多様性」. 第 60 回日本生殖医学会学術集会[教育講演]「性の決定・分化機構」, 4 月 26-29 日(パシフィコ横浜)
3. 星 信彦 (2013): 生物の雄・雌が決まる仕組みはどこまで解明されたか – 性差構築の分子基盤, 第 138 回日本生殖医学会関西支部集談会&第 45 回関西アンドロロジーカンファレンス[特別講演], 3 月 2 日(梅田ハービス PLAZA)
4. 星 信彦 (2013): 「環境ホルモンと生殖障害機序」第 58 回日本生殖医学会学術講演[教育講演], 11 月 15 日(神戸国際会議場)
5. 星 信彦 (2012): 「化学物質影響の最近の知見」: 第 15 回日本環境ホルモン学会シンポジウム. 環境化学物質による生体影響の分子基盤. 12 月 18 日(東京大学山上会館)

#### <国際学会>

1. Maeda N, Tanaka E, Masu K, Haeno S, Yasuda K, Ueda H, Hoshi N, Sakaki T, Yokota H. Down regulation of cytochrome p450scc as an initial adverse effect of adult exposure to diethylstilbestrol on testicular steroidogenesis. 7<sup>th</sup> Copenhagen Workshops on Endocrine Disrupters @ Copenhagen (Denmark), May 28-31, 2013.
2. Umemura Y, Hashimoto R, Omotehara T, Hirano T, Mantani Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. The asymmetric expression of sex-related genes in the early mouse gonads. 第 120 回日本解剖学会, 2015 年 3 月 21~23 日, 神戸国際会議場・展示場(神戸市)
3. Yokoyama T, Hashimoto R, Umemura Y, Omotehara T, Nagahara D, Hirano T, Mantani Y, Yanai S, Minami K, Kubota N, Mantani Y, Kitagawa H, Hoshi N. Selection of stable reference genes for quantitative RT-PCR analyses in developing mouse gonads. 第 120 回日本解剖学会, 2015 年 3 月 21~23 日, 神戸国際会議場・展示場(神戸市)
4. Omotehara T, Hashimoto R, Umemura Y, Hirano T, Mantani Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. Left-right asymmetry of testicular

formation in the chicken embryo. 第120回日本解剖学会, 2015年3月21~23日, 神戸国際会議場・展示場(神戸市)

5. Hirano T, Yanai S, Omotehara T, Hashimoto R, Umemura Y, Kubota N, Minami K, Mantani Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. Reproductive and behavioral effects of clothianidin in male mice in a chronically stressed condition. 第120回日本解剖学会, 2015年3月21~23日, 神戸国際会議場・展示場(神戸市)

<一般口演> (計25件)[詳細省略]

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

星 信彦(HOSHI, Nobuhiko)

神戸大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号:10209223

### (2)研究分担者

横山 俊史(YOKOYAMA, Toshifumi)

神戸大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号:10380156

### (3)連携研究者

田淵 圭章(TABUCHI, Yoshiaki)

富山大学生命科学先端研究センター

研究者番号:20322109