

領域略称名：性スペクトラム  
領域番号：3905

令和元年度科学研究費助成事業  
「新学術領域研究（研究領域提案型）」  
に係る中間評価報告書

「性スペクトラム - 連続する表現型としての雌雄  
(性スペクトラム)」

(領域設定期間)

平成29年度～令和3年度

令和元年6月

領域代表者 (大阪大学・生命機能研究科・教授・立花 誠)

## 目 次

### 研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	5
2. 研究の進展状況	7
3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況	10
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	11
5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開發表等）	14
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	19
7. 若手研究者の育成に関する取組状況	21
8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	22
9. 総括班評価者による評価	23
10. 今後の研究領域の推進方策	25

**研究組織** (総：総括班, 計：総括班以外の計画研究, 公：公募研究)

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00 総	17H06423 性スペクトラム研究の運営	平成 29 年度～ 平成 33 年度	立花 誠	大阪大学・生命機能研究科・教授	9
A01 計	17H06424 胎仔期生殖腺の性スペクトラム	平成 29 年度～ 平成 33 年度	立花 誠	大阪大学・生命機能研究科・教授	4
A01 計	17H06425 性染色体の起源と性スペクトラム関連遺伝子	平成 29 年度～ 平成 33 年度	菊池 潔	東京大学・農学生命科学研究科・教授	2
A01 計	17H06426 性染色体ヘテロクロマチンが規定する性スペクトラム	平成 29 年度～ 平成 33 年度	長尾 恒治	大阪大学・理学研究科・准教授	1
A02 計	17H06427 性ステロイドが規定する性スペクトラム	平成 29 年度～ 平成 33 年度	諸橋 憲一郎	九州大学・医学研究院・主幹教授	3
A02 計	17H06428 ヒト性スペクトラムの分子基盤	平成 29 年度～ 平成 33 年度	深見 真紀	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・分子内分泌研究部・部長	2
A02 計	17H06429 魚類の脳における性スペクトラム	平成 29 年度～ 平成 33 年度	大久保 範聡	東京大学・農学生命科学研究科・准教授	1
A03 計	17H06430 性転換をもたらす生殖腺の性スペクトラム	平成 29 年度～ 平成 33 年度	田中 実	名古屋大学・理学研究科・教授	3
A03 計	17H06431 共生細菌による宿主性スペクトラムの攪乱	平成 29 年度～ 平成 33 年度	勝間 進	東京大学・農学生命科学研究科・准教授	2
A03 計	17H06432 温度環境に依存する性スペクトラム	平成 29 年度～ 平成 33 年度	宮川 信一	東京理科大学・基礎工学部生物工学科・准教授	2
総括・計画研究 計 10 件					
A01 公	18H04875 代謝特性の違いを基盤とする雌雄生殖細胞の性スペクトラム制御機構の解明	平成 30～平成 31 年度	林 陽平	東北大学・加齢医学研究所・助教	1

A01 公	18H04877 リン脂質代謝が規定する 性スペクトラム	平成 30～平成 31 年度	佐々木 純子	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・ 准教授	1
A01 公	18H04880 雌だけに限定されるバイ ツ型擬態の分子機構の解 明	平成 30～平成 31 年度	藤原 晴彦	東京大学・新領域創成科学研究科・教 授	1
A01 公	18H04882 性決定に関わる抑制性ヒ ストン修飾の役割	平成 30～平成 31 年度	篠原 隆司	京都大学・医学研究科・教授	1
A01 公	18H04883 性染色体 XO 型の絶滅危 惧種アマミトゲネズミ生 殖細胞の性スペクトラム	平成 30～平成 31 年度	本田 新	京都大学・医学研究科・准準教授	1
A01 公	18H04886 性スペクトラムにおける 生理活性脂質プロスタグ ランジンの役割	平成 30～平成 31 年度	土屋 創健	熊本大学・生命科学研究部・講師	1
A01 公	18H04891 Y 染色体上遺伝子と性ス ペクトラム	平成 30～平成 31 年度	的場 省吾	国立研究開発法人理化学研究所・バイ オリソース研究センター・専任研究員	4
A01 公	18H04892 性ホルモン依存しない性 差を示す疾患モデルマウ スの解析	平成 30～平成 31 年度	小林 慎	国立研究開発法人産業技術総合研究 所・生命工学領域・主任研究員	3
A01 公	18H04893 トンボで幅広く見られる 性スペクトラムの分子基 盤	平成 30～平成 31 年度	二橋 亮	産業技術総合研究所・生物プロセス研 究部門・主任研究員	1
A01 公	18H04887 オス特有のトラウマ記憶 の性スペクトラム	平成 30～平成 31 年度	坂井 貴臣	首都大学東京・理学研究科・准教授	1
A02 公	18H04881 性差を導くステロイドホ ルモン作用のスペクトラ ム	平成 30～平成 31 年度	神田 真司	東京大学・理学系研究科・准教授	2
A02 公	18H04890 オスマウス超音波発声ス ペクトラムを制御する内 分泌・神経回路の同定	平成 30～平成 31 年度	菊水 健史	麻布大学・獣医学部・教授	1

A02 公	18H04885 雌雄キメラ・ラットモデルで見る「性分化の優位性」	平成 30～平成 31 年度	磯谷 綾子	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・准教授	3
A03 公	18H04884 環境応答により雌雄を産み分けるミジンコの性スペクトラム	平成 30～平成 31 年度	加藤 泰彦	大阪大学・工学研究科・助教	1
A03 公	18H04894 繁殖機会の乏しい深海で進化した矮雄化を伴う環境性決定機構の解明	平成 30～平成 31 年度	宮本 教生	国立研究開発法人海洋研究開発機構・海洋生命理工学研究開発センター・研究員	1
公募研究 計 15 件					

# 研究領域全体に係る事項

## 1. 研究領域の目的及び概要（2ページ以内）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募研究領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

### 研究目的

哺乳類の性決定遺伝子 *SRY* の同定 (Lovell-Badge ら Nature 1990) は、「遺伝子が性を決定する(遺伝子が未分化生殖腺(性腺)を精巣に分化させるか卵巣に分化させるかを決定する)」ことを実証することで、**遺伝的制御のもとに雌雄が二項対立的な表現型として成立することを強く印象付けた**。以降、我が国の研究者たちは、メダカ(長濱ら Nature 2002、竹花ら Nat Commun 2014)、ツメガエル(伊藤ら PNAS 2008)、トラフグ(菊池ら PLoS Genet 2012)において、多様な性決定遺伝子を同定し、さらにチョウ目昆虫(勝間ら Nature 2014)と柿(田尾ら Science 2014)では小分子 RNA が性決定遺伝子として機能することを示した。驚くべきことに、この一連の成果は有性生殖をおこなう生物にとって極めて根源的な生命現象である性の決定機構に多様性が存在することを示した。性決定に続く性分化・性差構築の過程では、性ステロイドによる内分泌制御が極めて重要な役割を担う。我が国の研究者はこの分野でも大きく貢献した。内分泌制御に関わる新たな遺伝子を次々に同定し、その機能を明らかにするとともに、それらの変異がヒト性分化疾患の原因となることを示した(諸橋ら Nat Genet 2002、藤枝ら Nat Genet 2003、深見ら Nat Genet 2006)。また、このような性決定・性差構築に関わる遺伝子の同定に加え、エピジェネティック制御の重要性も明らかになった。立花(本領域代表者)らは、転写の抑制的なエピジェネティック修飾を外すことが、*Sry* 遺伝子の活性化と、引き続くオス化カスケードの進行に必須であることを示した(立花ら Science 2013)。この成果は世界に先駆けて性決定遺伝子のエピジェネティック制御を明らかにした点で高い評価を受けた。上記の成果の多くは、2004 年度発足の特定領域研究「性分化機構の解明」と、2010 年度発足の新学術領域研究「性差構築の分子基盤」によって得られたものであり、この二つの領域研究によって、我が国の性研究は北米地区、欧州地区と並ぶ拠点を形成したと言っても過言ではない。

この一連の研究過程において、我々は雌雄を二項対立的な表現型として捉えてきた。つまり、性決定遺伝子が精巣または卵巣への分化を決め、その後精巣と卵巣で産生される性ステロイドが個体の性分化・性差を誘導すると理解してきた。しかし、そのような観点からは、ヒトの性同一性障害で認められるような個体を構成する器官(細胞)の間での性の乖離、あるいは一部の動物種で観察される温度依存的性決定や性転換などの現象に明快な説明を与えることが困難であった。そこで本領域の主要な研究者が慎重に議論を重ねた結果、「性スペクトラム」の概念を想起するに至った。つまり、**雌雄を二項対的に分類するのではなく、連続する表現型(性スペクトラム)として捉えろとの考え方**である(図1)。その特徴は以下のようなものである。

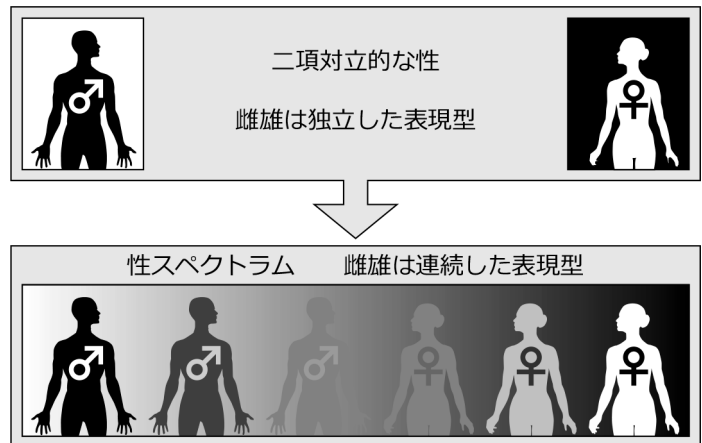


図1 性スペクトラム

- ① 性は、スペクトラム上の位置として決まり(定位し)、かつ移動が可能である。
- ② 性スペクトラム上の位置は、オス化のレベル(強弱)やメス化のレベル(強弱)を示し、種々の指標によって定量的に議論することが可能である。
- ③ 性スペクトラムは、細胞・器官・個体の各階層で成立し、器官の性スペクトラムは細胞の性スペクトラム

の総和として、個体の性スペクトラムは器官の性スペクトラムの総和として捉えられる。

- ④ 細胞は、それぞれ独自に性スペクトラム上に定位する能力を有する。そして細胞・器官の性スペクトラムは通常同調するが、乖離することもある。

このような特徴を有する性スペクトラムを理解するためには、**性スペクトラムの遺伝的基盤の成立機構、内分泌要因による細胞・器官の間の性スペクトラムの同調の機構、さらに環境要因による性スペクトラムの修飾・攪乱の機構を解明する**ことが重要であるとの観点から、本領域では、遺伝要因、内分泌要因、ならびに環境要因に焦点をあてた研究項目、「研究項目 A01」、「研究項目 A02」、「研究項目 A03」を設定した。これらの要因がどのようにして細胞、器官、個体における性スペクトラム上の位置の定位と移動を制御するかを明らかにすることで、性スペクトラムの制御機構の理解を目指す。

### 研究構想

遺伝要因(研究項目A01)を担当するメンバーのうち、立花ら(計画研究1)は性決定遺伝子のエピジェネティック制御メカニズムの解明(Science 2013)を、菊池ら(計画研究2)は様々な近縁魚種における性決定遺伝子および性スペクトラム関連遺伝子の同定(PLoS Genet 2013)を、長尾ら(計画研究3)は性決定機構と同時に進化してきたX染色体の不活性化因子の解析(Nat Struct Mol Biol 2013)をおこなってきた。これらの研究は、性スペクトラムの基盤を形成する遺伝要因の解明に結実すると考えられる。また、内分泌要因(研究項目A02)を担当するメンバーのうち、諸橋ら(計画研究4)は性ステロイド産生細胞の分化と遺伝子発現の研究(Nat Commun 2014)を、深見ら(計画研究5)は性ステロイド産生に異常をきたすヒト性分化疾患発症機序の研究(Nat Genet 2016)を、大久保ら(計画研究6)は性ステロイドによるメダカ脳の性転換に関する研究(Proc Biol Sci 2012、Endocrinology 2014)を、長年にわたり展開してきた。これらの研究は、性ステロイドが細胞・器官の間で性スペクトラムを同調させるメカニズムの解明へと発展することが期待される。同様に、環境要因(研究項目A03)を担当するメンバーのうち、田中ら(計画研究7)はメダカ生殖腺の性転換機構(PNAS 2007、Science 2010、Science 2015)を、勝間ら(計画研究8)は共生細菌が宿主の性を制御する機構(Nature 2014、PLoS Pathog 2015)を、宮川ら(計画研究9)は温度環境が性を決定する動物における温度感知の機構(Sci Rep 2015)を明らかにしている。これらの研究は、多様な環境要因が性スペクトラム上の位置を移動させる(攪乱する)メカニズムの解明に直結すると推測される。以上の3研究項目の成果を統合することで、細胞、器官、個体の各階層において、性スペクトラム上での定位と移動の制御メカニズムを明らかにすることができる。

### わが国の学術水準の向上・強化につながる新たな研究領域の創成

我が国における性研究は、過去2回の領域研究により、その成果の質と量の両面において北米地区、欧州地区と並ぶ発展を遂げてきた。「雌雄が連続する表現型のもとに成立する」との性の捉え方は、まだ世界的に共有されるには至っておらず、ヒトを含む多様な生物を対象に、性スペクトラムの分子基盤にアプローチした研究はなされていない。本領域研究は、このような視点をもとに、遺伝、内分泌、環境の3要因に焦点を当てながら、定量的な解析によって、性スペクトラム制御の分子基盤を明らかにすることを目指す。**この新しい「性スペクトラム」の概念にもとづく領域研究を進展させることが、性研究の分野で築き上げてきた我が国のイニシアティブの維持と更なる発展のために必要不可欠である。**

### どのような取り組みを通じて当該領域をどのように発展させるか

領域の活性化のため、研究者間の交流と連携を促進するとともに、後継研究者の育成を図る。具体的な構想は以下のようなものである。

- ① **研究交流の活発化:** 情報交換や研究討論の場を設け、各個人研究に新たな視点を提供する。また日本が築いてきた性の学術研究の世界におけるプレゼンスを維持するためにも、海外との研究交流を活発化させる。
- ② **技術連携の活発化:** 一部の研究者ではルーティン化している解析技術(次世代シーケンシング、メタボローム解析、エピゲノム解析など)を領域全体で共有化し、研究の効率化と加速を促す。
- ③ **若手研究者の育成:** 若手による研究集会の開催や国際活動支援班による海外派遣によって若手研究者の育成を図る。

## 2. 研究の進展状況【設定目的に照らし、研究項目又は計画研究ごとに整理する】（3ページ以内）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在までにどこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究ごとに記述してください。

本申請は、応募時の研究領域として「当該領域の格段の発展・飛躍的な展開を目指すもの」を設定した。我が国の性研究が2004年度発足の特定領域研究「性分化機構の解明」と2010年度発足の新学術領域研究「性差構築の分子基盤」によって支えられてきた。この間多くの成果を発信してきたが、最も大きな成果は、従来の「二項対立的な雌雄」から「連続する表現型としての雌雄(スペクトラム)」へと性の捉え方にパラダイムシフトを引き起こしたことである。議論を重ねた結果、**遺伝、内分泌、環境の三つの要因による性スペクトラム上の定位と移動の分子機構を明らかにすることが**、「連続する表現型としての性」との考え方を仮説から定説へと導くために重要であると結論した。よってA01「遺伝要因と性スペクトラム」、A02「内分泌要因と性スペクトラム」、A03「環境要因と性スペクトラム」の三つの研究項目を設定した。

領域研究が始めてからの研究成果では、**性スペクトラムの成立における性染色体の役割**について、大きな進展が見られた。すなわち細胞レベルでのオス化、メス化の度合い規定する因子として、A01の**立花(計画)**と**長尾(計画)**は性染色体上の特定領域の転写抑制的なヒストン修飾の量、そしてA01**菊池(計画)**はステロイド代謝酵素の活性の強さが重要であることを明らかにした。加えてA02**深見(計画)**は、Y染色体喪失によるモザイシズムがヒトの個体レベルの性スペクトラムを形成させることを見いだした。

さらに特筆すべきは、**性スペクトラム上の定位と移動をもたらす分子機構の根幹として“代謝”というキーワードの重要性が浮かび上がってきたこと**である。すなわち、A01では**立花(計画)**が、マウスを使った実験で胎仔の代謝がその性分化に影響を与えることを見だし、A02では**諸橋(計画)**が、転写因子Ad4BPが糖・脂質の代謝関連遺伝子の発現の亢進させることで内分泌系の制御に関わることを見いだした。そしてA03では**田中(計画)**と**宮川(計画)**が、全くの独立した研究から、発生期の脂質代謝産物がそれぞれ魚類の性転換とは虫類の温度依存的性決定の鍵分子であることを明らかにしつつある。このように、独立した研究が一つの方向性に収斂していったことは領域を組んだ大きな成果である。世間一般に性スペクトラムの概念が浸透するように、残りの期間で論文にまとめたいたいと考えている。

既に発表された領域内の共同研究による論文は3報であるが、現在進行中の領域内の共同研究は22件、将来的に共同研究に発展する可能性がある領域内の技術的連携は24件にのぼっている。

### 研究項目A01「遺伝要因と性スペクトラム」

本研究項目では、性染色体上の性決定遺伝子と性染色体構造の観点から、性スペクトラム上の定位と移動における遺伝的要因の意義を明らかにする。立花は、独自に見出した性決定遺伝子のエピゲノムに焦点を当て、その制御に関わる分子を明らかにする。菊池は、先行研究で発見した性染色体獲得直後の魚類に着目し、性スペクトラム関連遺伝子が性染色体の異型化を招くことを実証する。長尾は、性染色体不活化が常染色体の遺伝子発現に影響を与えるとの自身の発見に基づき、その分子機構の解明を目指す。これらの研究の成果を統合し、細胞自律的な性スペクトラムの遺伝的基盤を明らかにする。以下に示すように、各計画班の研究は順調に進捗し、当初の目的に照らして十分な成果を上げている。

**立花(計画)**は、H3K9メチル化酵素GLP/G9a複合体がJmjd1aに拮抗してSryの発現制御に関わっていることを見いだした。この結果は、Sry遺伝子座のH3K9me2の量が、マウスの胎仔期生殖腺の性スペクトラム上の位置を規定するパラメーターであることを示した(PLoS Genet 2017)。さらに、メチル化と脱メチル化によるH3K9me2のチューニングのメカニズムは、胎仔期生殖腺におけるSry遺伝子座のみならず、初期胚の機能に必須な遺伝子の発現制御にも働いていることを見いだした(Stem Cell Reports 2018)。Sryの発現にはDNAの能動的脱メチル化に関わっていることを明らかにした(論文投稿中)。Jmjd1a欠損マウスを妊娠した母マウスがどのような餌料を摂取したのかによって、産仔の性転換の効率が大きく変わることを偶然見いだした。この事実は、**哺乳類の胎仔期生殖腺の性スペクトラム上の定位に栄養・代謝が深く関わっていることを示すものであった**。現在は、妊娠母体の代謝状態が胎仔のエピゲノム変動を介して性スペクトラムを攪乱するとの仮説をたて、それを遺伝学的に検証する実験を進めている。

**菊池(計画)**は、ブリ類を材料として新規性決定遺伝子を発見し、その実体がステロイド代謝酵素であること



を発見した。性決定遺伝子の分子実体に関しては、それがステロイド代謝酵素をコードしていること、エクソン上の一塩基多型によるアミノ酸置換が酵素活性の変化につながること、活性変化によるステロイド産生量の差が性を決めていること、を明らかにすることができた (Curr Biol, in press)。これは、20世紀前半より提唱されていながら決定的な証拠が得られていなかった「性のステロイド誘導説」を強く支持する成果であった。さらに、この性決定遺伝子を起点として、種間で組換え抑制が徐々に拡大する様子を示すことができた (論文投稿準備中)。これらの成果によって、本領域が新たに提唱するコンセプトである性差の確立・拡大の連続性を示すことができたと考えている。

**長尾(計画)**は、自身で見いだしたX染色体の凝集に関わる分子であるSMCHD1-HBiX1 がどのような特徴を持つ遺伝子を標的とするのかを、X染色体不活性化を受ける遺伝子をモデルとして解析した。その結果、Smchd1は発生・分化の過程で遺伝子発現抑制のシグナルが入っても不活性化されにくい遺伝子を標的としており、そのような遺伝子に対して抑制型のヒストン修飾の導入を促進することで、将来にわたってその発現抑制を維持していることが明らかになった (Development 2018)。この研究は次世代シーケンサーを使ったアリル特異的な情報処理法を新たに構築することで可能となっており、この基盤技術は単一細胞ごとの不活性化X染色体のDNA複製様式の解明などにも応用できた (Nat Genet 2019; Development 2017)。

このように、抑制的なヒストン修飾の量(立花)、ステロイド代謝酵素の活性の強さ(菊池)、X染色体上の遺伝子の発現量(長尾)が、細胞自律的な性スペクトラム上の定位の遺伝的な基盤であることを明らかにした意義は大きい。

## 研究項目A02 「内分泌要因と性スペクトラム」

本研究項目では、性ステロイドの産生と標的の観点から、内分泌による性スペクトラムの定位と移動のメカニズムを解明する。諸橋は生殖腺と骨格筋における性ステロイド依存的な性スペクトラムの成立と同調の機構、深見は脳を含む各種ヒト器官の性スペクトラムの成立と同調の機構、大久保はメダカ脳における性スペクトラムの成立と同調の機構を明らかにする。以下に示すように、各計画班の研究は順調に進捗し、当初の目的に照らして十分な成果を上げている。

**諸橋(計画)**は、生殖腺体細胞と骨格筋細胞をモデルとし、細胞の性スペクトラム上の位置の移動が、性ホルモンと性染色体上の遺伝子の二つの要因によってどのように制御されるか明らかにする。その一環として、XYセルトリ細胞とXXセルトリ細胞、ならびにXYライディッチ細胞とXXライディッチ細胞の解析をおこなった。その結果、XYとXX細胞ではコレステロール代謝に関与する遺伝子発現が異なっており、その遺伝子発現がH3K4me3の分布と相関することを示した。核内受容体型転写因子Ad4BPはステロイドホルモン産生に必要な遺伝子の制御因子として同定された。この遺伝子のノックアウトマウスからは精巣、卵巣が消失し、ヒト疾患では性腺機能不全や性転換などをきたすことが報告されている。Ad4BPがステロイド代謝に加え、解糖系を制御することは既に報告してきたが、今回コレステロール代謝、NADPH産生系を制御することを明らかにした (Commun Biol 2019)。解糖系、コレステロール合成系、ステロイド合成系は連続する代謝系であることから、Ad4BPはこれらの連続する代謝系を統括することで性ステロイド産生能を制御すると理解することができる。このようにAd4BPは代謝の制御を通じ、性ステロイド産生細胞の性スペクトラム上の位置の決定に寄与することが明らかになった。

**深見(計画)**は、体細胞におけるモザイクY染色体喪失が、高齢男性のみならず胎児や若年男性において発生し、各年代における性スペクトラムの移動に寄与することを示した (FASEB BioAdvance 2019)。また、STX2機能喪失が精子形成障害の原因となることを発見し、sulfoglycolipid代謝異常が多核細胞形成を伴う精子成熟停止という特異な表現型を招くことを示した (Hum Mutat 2018)。性ステロイドの役割の解明では、近年ヒトで発見された新たな男性ホルモン11-oxygenated C19 steroidsの生理的および病的意義を示した (Endocr J 2018)。さらに、哺乳類の性決定に重要な転写因子であるCbx2の骨細胞と脂肪細胞の分化における役割を明らかにした (Bone 2019、諸橋(計画)との領域内共同研究)。

**大久保(計画)**は、自身が発見した性ステロイド依存性ニューロン (FeSPニューロン) に着目し、魚類の脳の性転換の分子機構の解明を目指す。FeSPニューロンは、性行動パターンだけでなく、性指向の性スペクトラム上の位置を規定する役割も担っていること、オスの脳内にもFeSPニューロンに相当するニューロンが不活性化状態で存在し、エストロゲンに応じてFeSPニューロンになり得ること、FeSPニューロン特有の細胞形態、高い転写活性、電気生理学的な特徴のいずれもが、卵巣由来のエストロゲンによってもたらされていることが明らかと

なった (Endocrinology 2019、神田(公募)との領域内共同研究)。このようなメカニズムが、性ステロイドに依存した魚類の性行動パターン上の性スペクトラム上のダイナミックかつ迅速な移動を可能としていると考えられた。また、FeSPニューロンで発現し、性行動パターン上の性スペクトラム上の移動に関わる遺伝子として、*ptger4b*を同定した。

このように、性ステロイド産生機構(諸橋)、ヒト疾患における性ステロイドの新たな役割(深見)、脳の性転換における性ステロイドの役割(大久保)が明らかになったことにより、内分泌要因による性スペクトラムの同調機構を包括的に理解することが可能になりつつある。

### 研究項目A03「環境要因と性スペクトラム」

本研究項目では、栄養、共生、温度の観点から、環境要因による性スペクトラム上の定位と移動のメカニズムを明らかにする。田中は栄養が魚類生殖腺の性転換をもたらすメカニズム、勝間は共生細菌(ボルバキア)感染による宿主の性操作メカニズム、宮川は爬虫類の温度依存型性決定の分子基盤を明らかにする。以下に示すように、各計画班の研究は当初の研究計画通りに進んでいると判断できる。

田中(計画)は、先行研究で発見した栄養制限メダカの性転換に着目し、主としてエピゲノムと代謝の観点からこの現象の分子機構の解明を目指す。飢餓による孵化後のメダカ幼魚の性スペクトラムのオス側への移動を明らかにする研究では、飢餓条件で変化する一群の代謝物を絞り込みに成功し、パントテン酸から脂肪酸由来の代謝物への経路が性分化に重要な遺伝子発現を変化させることでスペクトラム上の性の位置を変動させることを明らかにしつつある。これまで田中らは、メダカでは生殖細胞数自体が性決定遺伝子の指示に反して性スペクトラムの位置をオスへと変えてしまう内環境要因であることを示してきた。生殖細胞の発生段階特異的な変異体を作製して解析した結果、生殖細胞は自らの性(卵に分化するか、精子に分化するか)とは無関係に、身体の全体の性をメス側に持っていく能力をもつという、驚くべき事実を明らかにした(PLoS Genet 2018)。一方で生殖細胞の性決定遺伝子の下流の2つの制御因子の同定に成功した(Dev Biol 2019)。現在はこの因子の機能解析に着手しており、生殖細胞の性が確定するのが減数分裂初期であること、またクロマチン構造変化を介して生殖細胞の性はスペクトラム上に固定されるとの知見を得ている。

勝間(計画)は、独自に見出したボルバキアによる宿主性操作現象を対象として、共生による「オス殺し」のメカニズムを明らかにする。アワノメイガ個体、およびアワノメイガ培養細胞を用いた研究から、当初予想していたボルバキアの「オス殺し」因子が、実際は「オス化抑制」因子であり、*Masc*遺伝子の発現低下による遺伝子量補償の破綻は二次的な表現型である可能性が示された(BBRC 2018)。現時点では、ボルバキア「オス殺し」因子の同定には至っていないが、オス型*doublesex (dsxM)*のスプライシング量を定量することで、ボルバキア因子が規定する宿主性スペクトラム上の位置をアッセイできるスクリーニング系はすでに確立しており、今後当該因子を同定できる可能性は十分にあると考えている。一方、チョウ目昆虫で初めて*Masc*以外の性決定因子を同定したが、その研究からpiRNA経路以外のオス化抑制経路があることが示された点は、昆虫における性スペクトラム制御を理解する上で大きな進展であると言える。

宮川(計画)は、自身が同定した温度センサー分子に着目し、温度情報が性分化に必要なシグナルに変換される仕組みを明らかにする。これまでの研究で、TRPチャンネルが温度依存的性決定において普遍的な環境受容因子であることを示すと同時に、感受温度の異なる複数のTRPが関与する複雑な温度感受機構の存在が示唆されている。また、TRPの一種、TRPV4がワニのオスの性分化時の温度センサーとして作用することを示した。トランスクリプトーム解析及びメタボローム解析から、温度依存的性決定の鍵因子の候補として、パントテン酸及びその代謝経路を同定した。これは、動物に共通して性スペクトラムの基盤を形成する因子であることを強く示唆するものである。

前述したように、研究項目A03では栄養、共生、温度の観点から環境要因による性スペクトラム上の定位と移動のメカニズムを明らかにする。栄養の観点では、飢餓条件で変化する一群の代謝物の絞り込みに成功したこと(田中)の意義は大きい。共生の観点からは、ボルバキア「オス殺し」因子の同定のための大規模なスクリーニング系を再構築できた(勝間)ため、残りの期間で大きく進展することが期待できる。温度の観点からは、パントテン酸及びその代謝経路が温度依存性の性決定に重要であるという発見(宮川)は、この分野におけるブレークスルーとなる可能性がある。代謝と性のリンクを見いだしている他の班員(立花、諸橋、田中)との密接な連携を維持しつつ研究を発展させていきたい。

### 3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況（2ページ以内）

審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

#### 本領域の審査結果の所見

本研究領域は、性を二項対立的に分類するのではなく、メカニズム・フェノタイプにおいて連続するスペクトラムとして捉え、実績を有するメンバーが様々な動物実験系でその現象を細胞学および遺伝子レベルで検証し、新概念を確立しようとする意欲的なものであり、新学術領域研究として相応しいと評価される。本研究領域が推進されることにより従来の「性分化」に関する研究分野の蓄積の上にさらに学術的に大きな進展をもたらすと共に、社会の「性」に対する意識を変える科学的根拠を与える可能性を有する。

研究組織については、総括班、国際活動支援班、各研究組織の役割および活動内容が明確になっており、有機的連携が保たれ、領域マネジメントが効率的かつ効果的におこない得る体制となっている。

性スペクトラムを3つの異なる観点（環境・内分泌・遺伝）を切り口として計画を推進する提案となっており、各項目には適任の計画研究代表者が配置され、強い研究計画案となっている。一方で、3つの異なる研究項目に対して公募研究の採択目安件数が十分ではなく、**本研究領域の目的を達成するためには、できるだけ多くの関連する研究者に、本研究領域へ参加する機会を与えることが望まれる。**

#### 研究実施に当たっての留意事項

領域の発展性・多様性を考慮する上では、3つの研究項目に対して公募研究の採択目安件数が10件というは十分でなく、少なくとも12件は公募研究を採択することが必要である。その際、1件あたりの公募研究の研究費を減額することは避け、計画研究の研究費を見直すことにより、公募研究に充てる研究費の増が必要である。

#### 研究実施に当たっての参考意見

特になし。

#### 審査結果の所見と留意事項への対応

上記のように、公募研究の採択予定数が十分でないため件数を増やすべきであること、さらに公募研究の件数を増やすにあたって研究費の減額は避けるべきであるとのコメントを審査委員から頂いた。このコメントに従って、当初10件であった公募研究の採択件数を12件に増加させた。その際、公募研究にかかる年間500万円の研究費は据え置いたため、年間計1,000万円の研究費が不足した。この不足分は、それぞれの計画研究班員が研究費の見直をおこない、当初配分予算額に応じた額を拠出することによって充填した。

平成30年4月に15件の公募研究を採択した。うち2件が同年度の途中で辞退したため、新たに2件を追加した。

#### 4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

（3 ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

##### 研究項目A01「遺伝要因と性スペクトラム」

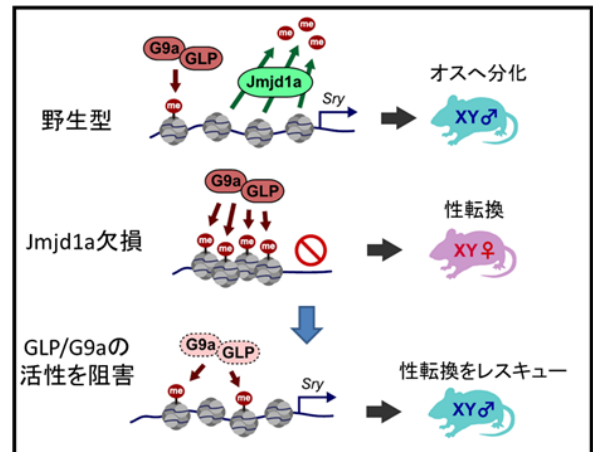
###### 計画研究班

立花（計画）は、XYマウスの生殖腺体細胞において、*Sry*の発現と逆相関してDNAのメチル化が低下することに着目し、その分子機構について解析した。その結果、DNAのヒドロキシメチル化酵素であるTetが*Sry*遺伝子座の能動的脱メチル化を触媒していることを明らかにした（論文投稿中）。また、マウス初期胚では、転写抑制に働くヒストン修飾のエピジェネティックマークであるH3K9me2のレベルが、GLP/G9a複合体によるメチル化とJmjd1による脱メチル化によってチューニングされていることを明らかにした（Stem Cell Rep 2018）。またこれらの酵素によるチューニングは、胎仔期生殖腺の*Sry*遺伝子座にも働いており、*Sry*の発現量の担保に寄与していることを明らかにした（PLoS Genet 2017）。

菊池（計画）は、アジ類のカンパチの性染色体の参照ゲノム配列を作製し、関連解析をおこなった結果、カンパチの性はステロイド代謝酵素Hsd17b1をコードする遺伝子上一塩基多型座により決定されているという、極めて興味深い事実を発見した（Curr Biol, in press）。この成果は、胎盤を持たない生物ではステロイドが性決定の実行因子であるという説に関して、初めての決定的証拠となった。さらに、アジ類近縁の3魚種の性染色体の解析により、性染色体の組換え抑制がどのようにしてうまれるかについても極めて興味深いデータが出始めている。すなわち、性決定遺伝子の近傍に性特異的選択を受ける遺伝子があれば、組換え抑制がうまれ得ることがという理論上の説について、世界で初めて実験的に実証できる段階にある。長尾（計画）は、メス特異的に見られるX染色体の不活性化に関わる因子であるSMCHD1-HBiX1複合体の機能を明らかにした。Smchd1がどのような遺伝子に対して機能しているかを調べた結果、不活性化過程で不活性化されにくい遺伝子が標的となっており、Smchd1はそれらの遺伝子に抑制型のヒストン修飾を導入する働きがあることを明らかにした（Development 2018）。

###### 公募研究班

林（公募）は、メタボローム・プロテオーム統合比較解析をもとに、雌雄それぞれの生殖細胞に特徴的な代謝経路を抽出した結果、それらの一部がオス胎仔生殖細胞の精原細胞への分化、あるいはメス胎仔生殖細胞の卵胞形成の制御に寄与することを明らかにしつつある。また、生殖細胞特異的な遺伝子の発現抑制にはDNAメチル化酵素とH3K9メチル化酵素の双方が働いていることを明らかにした（PLoS One 2018, 立花（計画）との領域内共同研究）。佐々木（公募）は、これまで生物学的意義が不明であった、第一波の卵胞形成の役割を明らかにする研究を進めた。その結果、顆粒膜細胞におけるホスファチジルイノシトール3,4,5-三リン酸代謝の異常が卵巣をオス化するという興味深い現象を明らかにしている。藤原（公募）は、雌の一部のみが毒蝶にバイツ型擬態をする蝶をモデルとして、2種類（擬態型と非擬態型）のdoublesex(*dsx*)による遺伝子ネットワークの一部を明らかにした（Sci Adv 2019（日本経済新聞で紹介）、Sci Adv 2018（日本経済新聞電子版、事実通信、神戸新聞、埼玉新聞、四国新聞、中国新聞、熊本日新聞、北海道新聞、山形新聞で紹介））。公募（篠原）は、H3K27メチル化酵素Ezh2の生殖腺体細胞特異的なKOマウスを作製したが、このマウスにおいては精子形成が正常に起こっており、Ezh2の欠損のみでは性転換が起こらないことを明らかにした。本多（公募）は、性染色体XO型の絶滅危惧種アマミトゲネズミのオスからiPS細胞を樹立した。これまでに樹立したアマミトゲネズミのメスからのiPS細胞と合わせ、性染色体に依存せずに雌雄を決定するメカニズムの明らかにする材料が揃った。土屋（公募）は、性ステロイドホルモン以外の生理活性物質による性分化機構に着目し、プロスタグランジンと

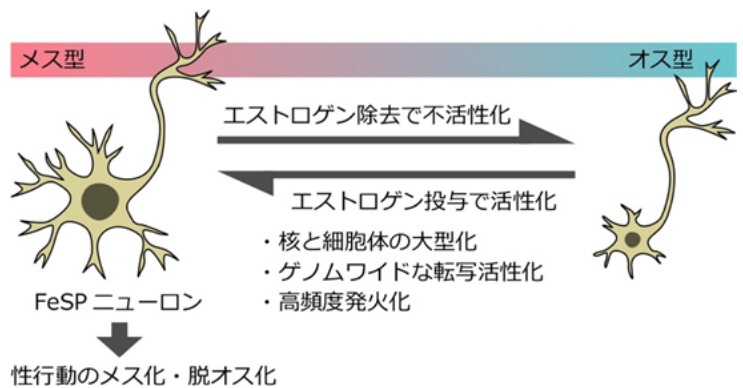


ゼブラフィッシュの精巣形成との関わりについての研究を進めている。**的場(公募)**は、Triple CRISPR法を用いてY染色体上の遺伝子のノックアウトマウスを作製し、それらの性スペクトラム表現型をパイプラインによって網羅的に解析している。これにより性スペクトラムを示す表現型を網羅的に記載するとともに、その表現型に関連する遺伝子を同定する予定である。既に、一部のマウスで性転換・精子発生異常等を確認している。**小林(公募)**は、発生初期に雌でのみ発現する*Fat60lncRNA*のノックアウトマウスを作製したところヒト小眼球症に酷似した表現型が、メスのみに現れることを見いだした。この性差を生み出す原因に、X染色体の不活性化の異常が関与することを明らかにした(Nat commun 2018 (日経バイオテクONLINE、つくばサイエンスニュース、MONOistで紹介))。**二橋(公募)**は、トンボの雌雄擬態に着目し、非モデル昆虫の性分化機構についての研究を進めている。2019年には、シオカラトンボを中心としたワックスによる性特異的な体色変化と性分化に関する論文を発表した(eLife 2019, (化学工業日報、静岡新聞、科学新聞、読売新聞、日本経済新聞、朝日新聞、産経新聞、東京新聞、毎日新聞などで紹介))。**坂井(公募)**は、脳神経細胞に性差がみられるショウジョウバエを利用し、オス特有の高次脳機能(トラウマ記憶)分子機構の解明を目指している。これまでにハエのトラウマ記憶に必要な5つの脳領域においてオス化ニューロンが存在することを明らかにし、それらをメス化するための系統を作製している。

## 研究項目A02 「内分泌要因と性スペクトラム」

### 計画研究

**諸橋(計画)**は、性染色体上の遺伝子および性ステロイドが、細胞の性スペクトラム上の位置を規定するメカニズムについて調べている。XYとXXセルトリ細胞、XYとXXライディッチ細胞の遺伝子発現解析から、XYとXX細胞ではコレステロール代謝に関与する遺伝子発現が異なっており、それがH3K4me3の分布と相関することを明らかにした。核内受容体型転写因子Ad4BPが、ステロイド合成系と解糖系に加え、新たにコレステロール代謝、NADPH産生系を制御することを明らかにした(Commun Biol 2019)。解糖系、コレステロール合成系、ステロイド合成系は連続する代謝系であることから、Ad4BPはこれらの連続する代謝系を統括することで性ステロイド産生能を制御すると理解できる。**深見(計画)**は、ヒトにおいて非典型的な性を招く新規ゲノム・エピゲノム因子の同定、および、個体内性の攪乱を招く性ステロイド代謝障害の解明をおこない、責任著者論文15報を含む数多くの研究成果を報告した(J Am Soc Nephrol 2019, Endocr J 2019, FASEB BioAdvances 2019, Hum Genome Var 2019, J Clin Endocrinol Metab 2018 (selected for F1000prime), Hum Mutat 2018, Cytogenet Genome Res 2018等)。さらに、哺乳類の性決定に重要な転写因子であるCbx2の骨細胞と脂肪細胞の分化における役割を明らかにした(Bone 2019、諸橋(計画)との領域内共同研究)。**大久保(計画)**は、自身が見つけたFeSPニューロンに着目し、それが性行動パターンだけでなく、性指向の性スペクトラム上の位置を規定する役割も担っていることを示したとともに、オスの脳内にもFeSPニューロンに相当するニューロンが不活性化状態で存在すること、そしてそのニューロンがエストロゲンに応じて活性化し、FeSPニューロンとなること、FeSPニューロン特有の細胞形態、高い転写活性、電気生理学的な特徴のいずれもが、卵巣由来のエストロゲンによってもたらされていることを明らかにした(Endocrinology 2019, Gen Comp Endocrinol in press)。



### 公募研究班

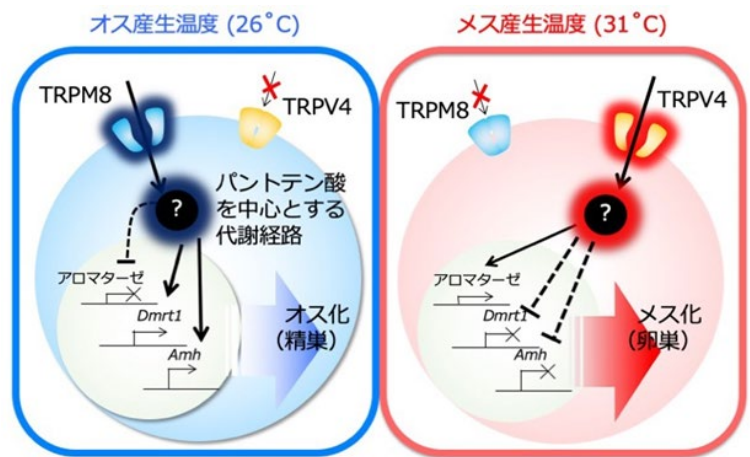
**神田(公募)**は、メダカのストレス応答性に関わる脳下垂体ホルモンの雌雄差の原因が、生殖腺の性ホルモンによるものであることを明らかにした。また、その挙動を脳下垂体レベルで計測するためのトランスジェニックメダカおよびCa<sup>2+</sup>イメージング実験系をセットアップし、今後の解析に繋げている(Gen Comp Endocrinol 2019, Endocrinology 2019 大久保(計画)との領域内共同研究)。**菊水(公募)**は、マウスの性スペクトラム表現型として、オスマウスの呈する超音波音声に着目した。超音波音声の内分泌制御様式を同定し、またその制御が扁桃体内側核によるものである可能性を見いだしてきた。またオスマウス超音波音声は、オス間の性アピールの機能をもつ可能性を見出した。**磯谷(公募)**は、雌雄キメラ・ラットは、XY型ES細胞を用いた時、メスの表現型を

もって誕生する個体が多く、8細胞期胚を用いた集合法で作製すると、オスとして誕生する個体が多いことを明らかにした。すなわち、雌雄キメラ・ラットの性比は、作製方法によって異なり、ラットES細胞の性質や状態が性分化に影響する可能性が示唆された。

### 研究項目A03「環境要因と性スペクトラム」

#### 計画研究

田中(計画)は、遺伝的に性が決まるメダカにおいて、飢餓状態という環境要因で代謝変化を介して遺伝子発現が変化し、その結果スペクトラム上の性の位置が極端に移動することを明らかにしつつある。このとき飢餓条件で変化する一群の代謝物を絞り込みに成功し、パントテン酸から脂肪酸由来の代謝物への経路が重要であることを見いだしている。パントテン酸からCoA産生に重要な酵素 PANKの阻害剤で孵化後のメダカ幼魚を処理すると、遺伝的メスの個体のオス化が顕著に増加することも見いだしている。分化段階得的に生殖細胞を欠損するようなメダカ変異体の解析により、生殖細胞は自らの性とは無関係に、身体の全体の性をメス側に持っていき能力をもつことを明らかにした(PLoS Genet 2018)。田中らが自ら同定した生殖細胞の性決定遺伝子について、その下流の2つの制御因子の同定に成功した(Dev Biol 2019)。現在はこの因子の機能解析実験を進めている。勝間(計画)は、細胞自律的に性が決まる昆虫とそのオス化レベルを変動させるボルバキアを用いた研究をおこない、ボルバキアが宿主オス化カスケードを抑制することで細胞のオス化レベルを低下させ、その結果として遺伝子量補償機構が破綻し「オス殺し」が引き起こされることを明らかにした(BBRC 2018)。一方、同じチョウ目昆虫であるがZO型の性染色体構成を持つエリサンを用いた研究から、*Masc*とは異なる新規性決定遺伝子として*Masc*パラログである*MascII*を同定した。チョウ目昆虫において、*Masc*以外の性決定遺伝子が発見されたのは初めてであり、昆虫における性決定機構の進化を考察するうえで大きな発見である。宮川(計画)は、温度センサータンパク質であるTRPに着目し、温度環境と性分化を結ぶ細胞内シグナル分子(鍵因子)を同定・定量化する研究を進めている。TRPチャンネルが温度依存的性決定研究において普遍的な環境受容因子であると同時に、感受温度の異なる複数のTRPが関与する複雑な温度感受機構の存在が浮かび上がってきた。アカミガメ卵をオス産生温度で孵卵した際の個体の生殖腺では、パンテテイナーゼ(パントテン酸合成酵素)が、性分化時期特異的に有意に発現上昇していた。田中(計画)の研究結果と合わせ、パントテン酸及びその代謝経路は、温度依存的性決定の鍵因子のみでなく、動物に共通して性スペクトラムの基盤を形成する因子であることが示唆される。



#### 公募研究班

加藤(公募)は、環境ストレスによりオス化するミジンコで、オス化のマスター遺伝子であるダブルセックス1(*dsx1*)の上流から転写される長鎖ノンコーディングRNA、ダパールを発見した。ダパールは*dsx1*を活性化する機能があることから、長鎖ノンコーディングRNAが環境要因による性スペクトラムの修飾を制御する因子であることが判明した(Current Biology 2018、日経電子版、ScienceDaily等で紹介された)。また、オスで高発現するクロマチン修飾因子を複数見出し、ダパールがこれらの因子と協調し*dsx1* 遺伝子座のクロマチン状態を調節している可能性も見いだした。宮本(公募)は、形態的に性の区別がつかない発生初期の幼生から顕著な性的二型を示す成体へと発生する変態期において、個体の形態形成が性スペクトラム上の位置が変化するかを明らかにするために、幼生・変態初期の雌雄について計24サンプルのトランスクリプトーム解析をおこなった。その結果、変態可能なステージの幼生は3つのグループに分けられ、そのうち1つは変態初期のオスと類似した発現パターンを示すことが明らかとなった。

## 5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限定とします。

- 論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に\*印を付してください。
- 別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。
- 補助条件に定められたとおり、本研究課題に係り交付を受けて行った研究の成果であることを表示したもの（論文等の場合は謝辞に課題番号を含め記載したもの）について記載したもののについては、冒頭に▲を付してください（前項と重複する場合は、「◎▲・・・」と記載してください）。
- 一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

【論文】全て査読あり。合計 149 報から抜粋した。

### ・2019 年

#### A01 遺伝要因 計画班

▲Koyama T, Nakamoto M, Morishima K, Yamashita R, Yamashita T, Sasaki K, Kuruma Y, Mizuno N, Suzuki M, Okada K, Ieda R, Uchino T, Tasumi S, Hosoya S, Uno S, Koyama J, Toyoda A, \*Kikuchi K, \*Sakamoto T (2019) A single nucleotide polymorphism in a steroidogenic enzyme is associated with phenotypic sex in *Seriola* fishes. *Current Biol* (in press)

Sato M, \*Hosoya S, Yoshikawa S, Ohki S, Kobayashi Y, Ito T, Kikuchi K (2019) A highly flexible and repeatable genotyping method for aquaculture studies based on target amplicon sequencing using next-generation sequencing technology. *Sci Rep* (in press)

▲Asakawa H, Yang H, Kojidani T, Ohtsuki C, Osakada H, Matsuda A, Iwamoto M, Chikashige Y, Nagao K, Obuse C, Hiraoka Y, \*Haraguchi T (2019) Asymmetrical localization of Nup107-160 subcomplex components within the nuclear pore complex in fission yeast. *PLoS Genet* (doi:10.4161/nucl.28487)

▲Takahashi S, Miura H, Shibata T, Nagao K, Okumura K, Ogata M, Obuse C, \*Takebayashi SI, \*Hiratani I (2019) Genome-wide stability of the DNA replication program in single mammalian cells. *Nat Genet* 51:529–540

#### A02 内分泌要因 計画班

▲\*Yokoyama C, Chigi Y, Baba T, Ohshitanai A, Harada Y, Takahashi F, Morohashi K (2019) Three population of adult Leydig cells in mouse testes revealed by a novel mouse HSD3B1-specific rat monoclonal antibody. *Biochem Biophys Res Commun* 511:916–920

Katoh-Fukui Y, Baba T, Sato T, Otake H, Nagakui-Noguchi Y, Shindo M, Suyama M, Ohkawa Y, Tsumura H, Morohashi K, \*Fukami M (2019) Mouse polycomb group gene *Cbx2* promotes osteoblastic but suppresses adipogenic differentiation in postnatal long bones. *Bone* 120:219–231

▲Miyado M, \*Fukami M, Takada S, Terao M, Nakabayashi K, Hata K, Matsubara Y, Tanaka Y, Sasaki G, Nagasaki K, Shiina M, Ogata K, Masunaga Y, Saitsu H, \*Ogata T (2019) Germline-derived gain-of-function variants of *gsα*-coding *GNAS* gene identified in nephrogenic syndrome of inappropriate antidiuresis. *J Am Soc Nephrol* doi:10.1681/ASN.2018121268 (#equal contribution)

▲Miyado M, \*Fukami M. (2019) Losing maleness: Somatic Y chromosome loss at every stage of a man's life. *FASEB BioAdvances* in press

▲\*Okubo K, Miyazoe D, Nishiike Y (2019) A conceptual framework for understanding sexual differentiation of the teleost brain. *Gen Comp Endocrinol* doi:10.1016/j.ygcen.2019.02.020

▲Kikuchi Y, Hiraki-Kajiyama T, Nakajo M, Umatani C, Kanda S, Oka Y, Matsumoto K, Ozawa H, \*Okubo K (2019) Sexually dimorphic neuropeptide B neurons in medaka exhibit activated cellular phenotypes dependent on estrogen. *Endocrinology* 160:827–839

### A03 環境要因 計画班

◎▲Kikuchi M, Nishimura T, Saito D, Shigenobu S, Takada R, Gutierrez-Triana JA, Cerdán JLM, Takada S, Wittbrodt J, Suyama M, \*Tanaka M (2019) Novel components of germline sex determination acting downstream of *foxl3* in medaka. *Dev Biol* 445:80–89

▲\*Kiuchi T, Sugano Y, Shimada T, \*Katsuma S (2019) Two CCCH-type zinc finger domains in the Masc protein are dispensable for masculinization and dosage compensation in *Bombyx mori*. *Insect Biochem Mol Biol* 104:30–38

▲Acebedo AR, \*Suzuki K, Hino S, Alcántara MC, Haga H, Matsumoto KI, Nakao M, Shimamura K, Takeo T, Nakagata N, Miyagawa S, Nishinakamura R, Adelstein, RS, \*Yamada G (2019) Mesenchymal actomyosin contractility is required for androgen-driven urethral masculinization in mice. *Commun Biol* 2:95

▲Kajioka D, Suzuki K, Nakada S, Matsushita S, Miyagawa S, Takeo T, Nakagata N, \*Yamada G (2019) Bmp4 is an essential growth factor for the initiation of genital tubercle (GT) outgrowth. *Congenit Anom* doi:10.1111/cga.12326

### A01 遺伝要因 公募班

▲\*Futahashi R, Yamahama Y, Kawaguchi M, Mori N, Ishii D, Okude G, Hirai Y, Kawahara-Miki R, Yoshitake K, Yajima S, Hariyama T, Fukatsu T (2019) Molecular basis of wax-based color change and UV reflection in dragonflies. *Elife* 8:e43045

### A02 内分泌要因 公募班

▲ \*Kanda S (2019) Evolution of the regulatory mechanism for hypothalamic-pituitary-gonadal axis in vertebrates: hypothesis from a comparative view. *Gen Comp Endocrinol* doi:10.1016/j.ygcen.2018.11.014

## ・2018年

### A01 遺伝要因 計画班

▲Kuroki S, Nakai Y, Maeda R, Okashita N, Akiyoshi M, Yamaguchi Y, Kitano S, Miyachi S, Nakato R, Ichyanagi K, Shirahige K, Kimura H, Shinkai Y, \*Tachibana M (2018) Combined loss of *Jmjd1a* and *Jmjd1b* reveals critical roles for H3K9 demethylation in the maintenance of embryonic stem cells and early embryogenesis. *Stem Cell Rep* 10:1340–1354

▲Ieda R, Hosoya S, Tajima S, Atsumi K, Kamiya T, Nozawa A, Aoki Y, Tasumi S, Koyama T, Nakamura O, Suzuki Y, \*Kikuchi K (2018) Identification of the sex-determining locus in grass puffer (*Takifugu niphobles*) provides evidence for sex-chromosome turnover in a subset of Takifugu species. *PLoS One* 13:e0190635

▲Sakakibara Y, \*Nagao K, Blewitt M, Sasaki H, Obuse C, \*Sado T (2018) Role of SmcHD1 in establishment of epigenetic states required for the maintenance of the X-inactivated state in mice. *Development* 145:dev166462

▲Terui R, Nagao K, Kawasoe Y, Taki K, Higashi TL, Tanaka S, Nakagawa T, Obuse C, Masukata H, \*Takahashi TS (2018) Nucleosomes around a mismatched base pair are excluded via an Msh2-dependent reaction with the aid of SNF2 family ATPase Smarcd1. *Genes Dev* 32:806–821

### A02 内分泌要因 計画班

▲Baba T, Otake H, Inoue M, Sato T, Ishihara Y, Moon JY, Tsuchiya M, Miyabayashi K, Ogawa H, Shima Y, Wang L, Sato R, Yamazaki T, Suyama M, Nomura M, Choi MH, Ohkawa Y, \*Morohashi K (2018) Ad4BP/SF-1 regulates cholesterol synthesis to boost the production of steroids. *Commun Biol* 1:18

▲\*Fukami M. (2018) Long-term healthcare of people with disorders of sex development: Predictors of pubertal outcomes of partial androgen insensitivity syndrome. *EbioMedicine* 37:29–30

▲Nakamura S, Kobori Y, Ueda Y, Tanaka Y, Ishikawa H, Yoshida A, Katsumi M, Saito K, Nakamura A, Ogata T, Okada H, Nakai H, \*Miyado M, \*Fukami M (2018) STX2 is a causative gene for nonobstructive azoospermia. *Hum Mutat* 39:830–833

▲Kawashima S, Nakamura A, Inoue T, Matsubara K, Horikawa R, Wakui K, Takano K, Fukushima Y, Tatematsu T, Mizuno S, Tsubaki J, Kure S, Matsubara Y, Ogata T, \*Fukami M, \*Kagami M (2018) Maternal uniparental disomy for chromosome 20: physical and endocrinological characteristics of five patients. *J Clin Endocrinol Metab* 103:2083–2088

▲Miyado M, Muroya K, Katsumi M, Saito K, Kon M, \*Fukami M. (2018) Somatic acquired isodicentric Y and mosaic loss of chromosome Y in a boy with hypospadias. *Cytogenet Genome Res* 154:122–125



▲\*Fukami M, Suzuki E, Igarashi M, Miyado M, Ogata T (2018) Gain-of-function mutations in G-protein coupled receptor genes associated with human endocrine disorders. *Clin Endocrinol* 88:351–359

#### A03 環境要因 計画班

◎▲Nishimura T, Yamada K, Fujimori C, Kikuchi M, Kawasaki T, Siegfried KR, Sakai N, \*Tanaka M (2018) Germ cells in the teleost fish medaka have an inherent feminizing effect. *PLoS Genet* 14:e1007259

▲Lee J, \*Kiuchi T, Kawamoto M, Shimada T, \*Katsuma S (2018) Accumulation of uric acid in the epidermis forms the white integument of *Samia ricini* larvae. *PLoS One* 13:e0205758

▲Fukui T, Kiuchi T, Shoji K, Kawamoto M, Shimada T, \*Katsuma S (2018) *In vivo* masculinizing function of the *Ostrinia furnacalis* *Masculinizer* gene. *Biochem Biophys Res Commun* 503:1768–1772

▲\*Katsuma S, Kawamoto M, Shoji K, Aizawa T, Kiuchi T, Izumi N, Ogawa M, Mashiko T, Kawasaki H, Sugano S, Tomari Y, Suzuki Y, \*Iwanaga M (2018) Transcriptome profiling reveals infection strategy of an insect maculavirus. *DNA Res* doi:10.1093/dnares/dsx056

▲\*Katsuma S, Kiuchi T, Kawamoto M, Fujimoto T, Sahara K (2018) Unique sex determination system in the silkworm, *Bombyx mori*: current status and beyond. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 94:205-216

▲Ogino Y, Tohyama S, Kohno S, Toyota K, Yamada G, Yatsu R, Kobayashi T, Tatarazako N, Sato T, Matsubara H, Lange A, Tyler CR, Katsu Y, Iguchi T, \*Miyagawa S (2018) Functional distinctions associated with the diversity of sex steroid hormone receptors ESR and AR. *J Steroid Biochem Mol Biol* 184:38–46

#### A01 遺伝要因 公募班

▲ #Mochizuki K, #Hayashi Y, #Sekinaka T, Otsuka K, Ito-Matsuoka Y, Kobayashi H, Oki S, Takehara A, Kono T, Osumi N, \*Matsui Y (2018) Repression of somatic genes by selective recruitment of HDAC3 by BLIMP1 is essential for mouse primordial germ cell fate determination. *Cell Rep* 24:2682–2693 (#equal contribution)

▲ Hosoi Y, Soma M, Shiura H, Sado T, Hasuwa H, Abe K, Kohda T, Ishino F, \*Kobayashi S (2018) Female mice lacking Ftx lncRNA exhibit impaired X-chromosome inactivation and a microphthalmia-like phenotype. *Nat Commun* 9:3829 (査読有)

#### ・2017年

#### A01 遺伝要因 計画班

▲Kuroki S, Okashita N, Baba S, Maeda R, Miyawaki S, Yano M, Yamaguchi M, Kitano S, Miyachi H, Itoh A, Yoshida M, \*Tachibana M (2017) Rescuing the aberrant sex development of H3K9 demethylase *Jmjd1a*-deficient mice by modulating H3K9 methylation balance. *PLoS Genet* 13:e1007034

#Sakata Y, #Nagao K, Hoki Y, Sasaki H, Obuse C, \*Sado T (2017) Defects in dosage compensation impact global gene regulation in the mouse trophoblast. *Development* 144:2784–2797 (#equal contribution)

#### A02 内分泌要因 計画班

Nakamura S, Miyado M, Saito K, Katsumi M, Nakamura A, Kobori Y, Tanaka Y, Ishikawa H, Yoshida A, Okada H, Hata K, Nakabayashi K, Okamura K, Ogata H, Matsubara Y, Ogata T, Nakai H, \*Fukami M (2017) Next-generation sequencing for patients with non-obstructive azoospermia: implications for significant roles of monogenic/oligogenic mutations. *Andrology* 5:824–831

Hattori A, Katoh-Fukui Y, Nakamura A, Matsubara K, Kamimaki T, Tanaka H, Dateki S, Adachi M, Muroya K, Yoshida S, Ida S, Mitani M, Nagasaki K, Ogata T, Suzuki E, Hata K, Nakabayashi K, Matsubara Y, Narumi S, Tanaka T, \*Fukami M (2017) Next generation sequencing-based mutation screening of 86 patients with idiopathic short stature. *Endocr J* 64:947–954

Yamashita J, Kawabata Y, \*Okubo K (2017) Expression of isotocin is male-specifically up-regulated by gonadal androgen in the medaka brain. *J Neuroendocrinol* 29:e12545

#### A03 環境要因 計画班

Tohyama S, Ogino Y, Lange A, Myosho T, Kobayashi T, Hirano Y, Yamada G, Sato T, Tatarazako N, Tyler CR, Iguchi T, \*Miyagawa S (2017) Establishment of estrogen receptor 1 (ESR1)-knockout medaka: ESR1 is dispensable for sexual development and reproduction in medaka, *Oryzias latipes*. *Dev Growth Differ* 59:552–561

## 【図書・総説】

### ・2019年

#### A01 遺伝要因 計画

Miyawaki S, \*Tachibana M (2019) Role of epigenetic regulation in mammalian sex determination. *Curr Top Dev Biol* 134, pp195–221

菊池潔, 田中実 (2019) 多様な性決定システムにみられる共通性. "遺伝子から解き明かす性の不思議な世界", 一色出版

#### A02 内分泌要因 計画

深見真紀 (2019) ヒトの性. "遺伝子から解き明かす性の不思議な世界", 一色出版

大久保範聡, 田中実, 宮副大地 (2019) 魚の性. "遺伝子から解き明かす性の不思議な世界", pp.65-11, 一色出版

#### A03 環境要因 計画

▲\*Tanaka M (2019) Regulation of germline cell sex identity in medaka. *Curr Top Dev Biol* 134:151–165

田中実 (2019) "遺伝子から解き明かす性の不思議な世界", 一色出版, 542 pp, ISBN:978-4-909383-06-8

木内隆史, 勝間進 (2019) コラム：性決定のしくみ. "生物の科学 遺伝別冊 No.23 カイコの実験単～カイコで生命科学をまるごと理解～", pp.182–183, NTS

### ・2018年

#### A01 遺伝要因 計画

Kuroki S, \*Tachibana M. (2018) Epigenetic regulation of mammalian sex determination (invited review). *Mol Cell Endocrinol* 468:31–38

菊池潔, 井尻成保, 北野健 (2018) 魚類の性決定・性分化・性転換-これまでとこれから-. 日本水産学会誌 85:185

菊池潔, 家田梨櫻, 藤川大学, Kabir Ahammad, 小山喬, 細谷将 (2018) フグ類の性決定遺伝子たち. 日本水産学会誌 85:187

#### A02 内分泌要因 計画

緒方勤, 神崎晋, 深見真紀 (2018) "SHOX 異常症-基礎から最新知見まで-", 診断と治療社, 52 pp, ISBN:978-4787823175

#### A03 環境要因 計画

Tanaka M (2018) Regulation of germline stem cells in the Teleost: gametogenesis, sex, and fecundity. "Reproductive and Developmental Strategies – The Continuity of Life", pp.37–46, Springer

田中実, 大久保範聡 (2018) 生殖腺の発生. "魚類発生学の基礎", pp.102–116, 恒星社厚生閣

Miyagawa S, Yatsu R, Iguchi T (2018) Environmental control on sex differentiation in reptiles. "Reproductive and Developmental Strategies", pp.367–390, Springer

### ・2017年

#### A01 遺伝要因 計画

菊池潔 (2017) ゲノムワイド解析によるフグ性決定遺伝子の同定. 日本水産学会誌 83:325–332

#### A02 内分泌要因 計画

Fukami M, Kurahashi H (2017) Clinical consequences of chromothripsis and other catastrophic cellular events. In "Chromothripsis", Springer

深見真紀 (2017) 性決定にかかわる遺伝子. "ヒトゲノム事典", 一色出版, 悠書館出版

## 【ホームページ】

領域ホームページ URL <http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/sexspectrum/>

## 【主催シンポジウム等】

### A01 遺伝要因 計画

立花誠、菊池潔、諸橋憲一郎、田中実（2017年12月12日～13日）性と生殖の懇談会，愛知

菊池潔（2018年9月18日）平成30年度日本水産学会秋季大会シンポジウム「魚類の性決定・性分化・性転換：これまでとこれから」

### A02 内分泌要因 計画

深見真紀（2019年4月16日）International Mini-Workshop on Steroidogenesis and Endocrine Disorders, 東京

深見真紀（2018年11月7日）Disorders of Sex Development (DSD) symposium, Thailand（本領域と Asian Pacific Paediatric Endocrinology Society との共催）

### A03 環境要因 計画

田中実（2018年12月8～9日）日本動物学会中部支部大会および菅島臨海実験所シンポジウム，愛知

田中実（2018年8月25～26日）The 24th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting, Aichi

田中実、諸橋憲一郎、立花誠（2017年10月16～18日）Asian Sex Differentiation Network (7th Gonad Biology Joint Meeting, 2017), Aichi

勝間進（2018年9月20～22日）第13回昆虫病理研究会シンポジウム（シンポジウムIV～病原体による昆虫の性・生殖操作の最前線），山梨

【アウトリーチ活動等】合計49件から抜粋した(内訳:広報誌8件、一般向け講演会13件、小中高向け授業13件、サイエンスカフェ3件、イベント参加1件、プレスリリース11件)。

立花誠 (A01 計画) (2018年7月20日)性を分かち決め手は何かー見えてきた、オスとメスの間の多様な「性」 News & Events 国立大学附置研究所・センター会議「未知の領域に挑む、知の開拓者たち」インタビュー vol. 51

菊池潔 (A01 計画) (2018年9月13日)静岡県立磐田南高校にて出張講義。

長尾恒治 (A01 計画) (2018年度)兵庫県立宝塚北高等学校の生徒のために研究室見学を実施。

藤原晴彦 (A01 公募) (2018年11月22日)千葉県立中央博物館にて開催された平成30年度千葉シニア自然大学において「遺伝子から探る昆虫の擬態の不思議」と題して講演。

篠原隆司 (A01 公募) (2018年9月22日)京都大学アカデミックデイにて精子幹細胞研究の最前線を紹介。

二橋亮 (A01 公募) (2019年2月8日)高校生のための埼玉版リベラルアーツ事業で高校生向けに講演。

諸橋憲一郎 (A02 計画) (2018年10月20日)宮崎公立大学ホールで開催された日伊市民フォーラムにて「性の不思議」と題した市民公開シンポジウムを開催。

深見真紀 (A02 計画) (2018年10月5日)日本小児内分泌学会学術集会での若手研究支援セミナーを開催。

宮川信一 (A03 計画) (2018年6月29日)葛飾区立高砂中学校にて出張講義「高砂ハローワーク」。

宮川信一 (A03 計画) (2018年8月10日)東京理科大学オープンキャンパスにて、一般来場者対象の模擬講義「環境で決まる動物の性」。

## 6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2ページ以内）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

研究項目 A01 では、性決定遺伝子のエピゲノム修飾および性決定システムとともに進化する性染色体構造の観点から、性スペクトラムの遺伝的基盤を解明する。研究項目 A02 では、性ステロイドを産生する生殖腺とその標的器官としての骨格筋、脳の解析をおこない、内分泌要因による性スペクトラムの同調機構を解明する。研究項目 A03 では、計画研究代表者が独自に見出した性関連環境要因として栄養、共生、温度に焦点を当て、環境要因による性スペクトラムへの影響を明らかにする。さらに、研究項目 A01 と A02 の連携によって、性スペクトラム成立の機構を明らかにする。ついで、この連携に研究項目 A03 が加わり、環境要因による性スペクトラムの修飾と攪乱のメカニズムを解明する。

### 研究項目A01「遺伝的要因と性スペクトラム」

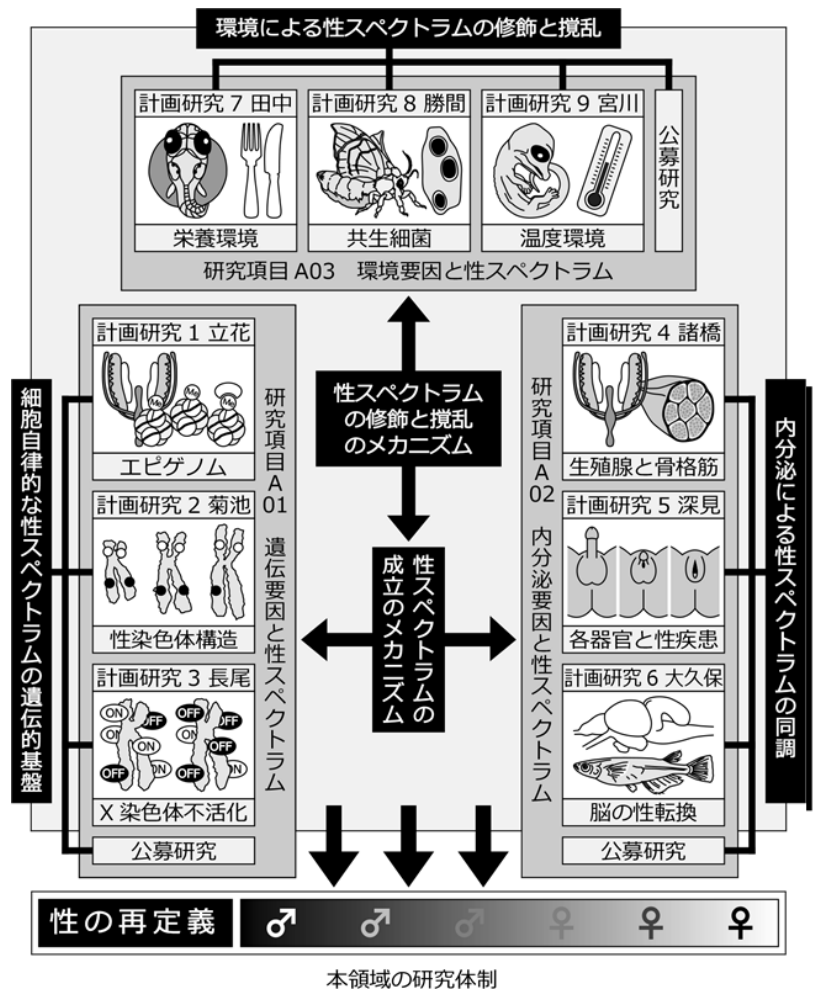
計画研究 1(立花)では性決定遺伝子のエピゲノム修飾を介した生殖腺の性決定メカニズム、計画研究 2(菊池)では性染色体上の遺伝子による性スペクトラムの基盤形成、計画研究 3(長尾)は性染色体のヘテロクロマチン構成因子による性特異的遺伝子発現制御機構を明らかにする。さらに、代謝産物による性分化機構を解析する林・佐々木・土屋、遺伝子発現ネットワークによる性分化機構を解析する藤原・篠原・二橋・坂井、性染色体の機能解明を試みる本多・的場・小林ら、計 10 名の公募班員が加わり、細胞自律的な性スペクトラムの遺伝的基盤を明らかにしていく。

### 研究項目A02「内分泌的要因と性スペクトラム」

計画研究 4(諸橋)では生殖腺と骨格筋における性ステロイド依存的な性スペクトラムの成立と同調の機構、計画研究 5(深見)では脳を含む各種ヒト器官の性スペクトラムの成立と同調の機構、計画研究 6(大久保)ではメダカ脳における性スペクトラムの成立と同調の機構を明らかにする。さらに公募班の神田と菊水は、それぞれ魚類とほ乳類の脳の性差構築における内分泌系の役割を明らかにする。磯谷(公募)は、雌雄キメラ・ラットを用いて個体レベルでの性スペクトラムの成立機構を明らかにしようとする。以上のように、異なる器官ならびに異なる種を扱いつつ、内分泌要因による性スペクトラムの同調メカニズムと、その普遍性を解明する。

### 研究項目A03「環境要因と性スペクトラム」

計画研究 7(田中)では栄養が魚類生殖腺の性転換をもたらすメカニズム、計画研究 8(勝間)では共生細菌(ボルバキア)感染による宿主の性操作メカニズム、計画研究 9(宮川)では爬虫類の温度依存型性決定の分子基盤を明らかにする。さらに公募班員の加藤は、環境ストレスによってミジンコがオス化する分子機構を、公募班員の宮本は、繁殖機会の乏しい深海における無脊椎動物の環境依存性の性決定機構を解明する。これらの研究成果を互いに補完し合うことで、様々な環境刺激が性スペクトラムに及ぼす修飾と攪乱のメカニズムを比較・解明する。



## 研究項目内連携の状況

A01 遺伝要因と性スペクトラム: **立花(計画)**は、**長尾(計画)**の協力のもと、次世代シーケンスによるエピゲノムの情報処理解析技術について定期的にディスカッションをおこなっている。なかでも、長尾が独自に開発した染色体レベルでのヒストン修飾の分布の解析法(ブロードドメイン解析)を用い、生殖腺体細胞における H3K27me3、H3K4me3、H3K9me3 の分布について議論した。さらに、立花は長尾にヒストン修飾酵素を欠損させた ES 細胞を提供するとともに、ゲノム編集による遺伝子改変方法の技術提供をおこなった。**林(公募)**は、**立花(計画)**が樹立した G9a-KO ES 細胞のマイクロアレイデータを用いて生殖細胞関連遺伝子の発現抑制メカニズムを解析し、共著論文にまとめた(PLoS One 2018)。**篠原(公募)**は、**立花(計画)**が樹立した Cre 発現マウスを使い、生殖腺体細胞特異的なエピゲノム修飾酵素の欠損マウスの解析を進めている。

A02 内分泌要因と性スペクトラム: **諸橋(計画)**は、**大久保(計画)**の RNA-seq の解析支援をおこなった。**深見(計画)**は、**諸橋(計画)**が樹立した性分化疾患のモデルマウスを使い、組織レベル機能解析を進め、成果を共著論文(Bone 2019)にまとめた。さらに**深見(計画)**は、**菊水(公募)**との共同研究で、性に関する行動評価法および性行動に関与する遺伝子多型についての検討を開始している。**大久保(計画)**は、**神田(公募)**と共同で研究成果報告会をおこなった。また、両者は協力してメダカの脳の電気生理学的な解析をおこない、共著論文(Endocrinology 2019)を出版した。

A03 環境要因と性スペクトラム: **宮川(計画)**は、メタボローム解析の一環で、**田中(計画)**から脂質定量解析について技術的な支援を受けている。その結果、温度依存的性決定の鍵因子の候補として、パントテン酸を同定した。**田中(計画)**は飢餓による魚類の性転換には、パントテン酸から脂肪酸由来の代謝物への経路が重要であることを見いだしており、性分化研究のブレイクスルーとなる研究成果に発展する可能性を秘めている。

## 研究項目間連携の状況

**立花(A01 計画)**は雌雄の中間的な表現型を示す Jmjd1a-KO マウスを**諸橋(A02 計画)**、**緒方(A02 計画分担)**と共有し、様々な組織における性の表現型と代謝との関わりについての共同研究を進めている。

**諸橋(A02 計画)**は、イノシトールリン脂質が Ad4BP のリガンドとして機能している可能性を示した**佐々木(A01 公募)**の研究成果に着目し、遺伝子改変マウス、抗体、プラスミドなどの提供にとどまらず、ChIP-seq などの共同研究を緊密に進めている。

**林(A01 公募)**は、**菊水(A02 公募)**との技術的な連携により、胎仔期の生殖腺および生体マウスの性精巣から生殖細胞を単離・精製する実験系の開発を進めている。

**菊水(A02 公募)**は**立花(A01 計画)**とともに、XY-female マウスの超音波音声がスペクトラムを呈するかどうか、さらにその場合の制御神経核である扁桃体内側核の機能を調べる共同研究を進めている。

**宮川(A03 計画)**は、**神田(A02 公募)**の指導のもと、TRP チャンネルの電気生理学解析を進めている。さらに**宮川(A03 計画)**は、**神田(A02 公募)**グループに在籍していた研究員を博士研究員として新規に採用し、両研究室の連携を強化している。

これらの連携をふくめ、共同研究あるいは将来的に共同研究に発展する可能性を秘めた連携は 23 件であった。さらに、実験手法のノウハウの提供や、各種解析の援助などの技術的な連携は 24 件であった。

## 総括班研究支援担当による連携の状況

領域共通のデータ解析用サーバーについて:2017 年 11 月に大阪大学理学研究科に設置した。従来のサーバーに比較し、約 8 倍の計算速度と 3 倍の記憶領域(100TB)を有する計算資源が利用可能となった。2019 年 3 月の若手研究会でテクニカルセミナーを開催し、班員への支援方法を周知した。長尾(計画)がこれまでに確立してきた抑制的なヒストン修飾の染色体レベルでの偏在(ブロードドメイン)を視覚化する処理により、立花班(計画)の解析を支援した。

細胞外フラックスアナライザーについて:2017 年 9 月に九州大学に設置した。第一回領域会議にて、領域メンバーに具体的な使用方法を伝えた。現在領域内の 4 研究室が本機種による代謝測定を計画しており、将来的には共同研究への発展が見込まれる。

## 7. 若手研究者の育成に係る取組状況（1 ページ以内）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

本領域の班員の平均年齢は、計画研究班が 49.1 才(男性 8 名、女性 1 名)であり、公募研究班員が 44.2 才(男性 15 名、女性 2 名)である(共に平成 30 年 4 月 1 日時点)。うち 40 才以下の研究代表者は 7 名であり、全体の 26.9%を占めている。領域運営に対する領域代表者のビジョンの一つが、将来的にわが国のサイエンスをリードしていくような若手研究者を育成することである。若手研究者育成のためにこれまでに起こった活動の内容は以下である。

1. 公募研究班に若手研究者を積極的に採用した(公募班員の 35.3%が 40 才以下である)。
2. 若手の領域メンバーが主催する合宿形式の研究集会を 2 年に一度開催している。大学院生にも積極的に口頭発表をしてもらい、若手の発表のスキル向上のための場も兼ねている。また、特定の解析技術に長けた班員らによるテクニカルセミナー、「Single cell RNA-seq」、「DamID-seq」、「ChIP-seq のコツ」、「皆さんの研究に『ラット』という選択肢を」、「マウスのゲノム編集」をおこなった(2019 年 3 月 4-5 日、於御殿場高原ホテル時の栖、65 名参加)。
3. 昇進について:宮川(計画)が独立ポジションへと異動した(和歌山県立医科大学・講師から東京理科大学・准教授)。菊池(計画)が、東京大学・准教授から同・教授へと昇進した。また、諸橋班(計画)の馬場が、九州大学・助教から同・准教授へと昇進した。立花班(計画)の黒木が、徳島大学・助教から大阪大学・准教授へと昇進した。田中班(計画)の菊池が、名古屋大学の大学院生から同大学・助教に昇進した。これらに加え、領域メンバーの昇進が 4 件あった。
4. 受賞について(計 17 件からの抜粋):林(公募)が、匂坂記念賞、的場(公募)が、平成 31 年度文部科学大臣表彰若手科学者賞、大久保(計画)が、平成 29 年度年度日本比較内分泌学会奨励賞、勝間(計画)が平成 30 年度日本蚕糸学会賞、勝間班(計画)の木内が、平成 30 年度日本農学進歩賞を受賞した。大学院生では、深見班(計画)の島が、平成 30 年度東北大学総長賞、おなじく深見班(計画)の井上が、平成 30 年度東京大学小児科同窓会賞、勝間班(計画)の李が平成 31 年度東京大学大学院農学生命科学研究科・研究科長賞を受賞した。
5. 特別研究員採択について:領域研究が発足してから、日本学術振興会特別研究員 DC1 に 2 名、DC2 に 2 名、PD に 3 名が採択された。
6. 若手の海外派遣について(計 11 件からの抜粋):菊池班(計画)の小山、諸橋班(計画)の井上が、2018 年 4 月開催の 8th International Symposium on Vertebrate Sex determination(米国ハワイ)で口頭発表をおこなった。田中班(計画)の西村が、性分化因子を可視化するため、フランス College de France にて共同研究をおこなった。田中班(計画)の菊池が、フランス College de France にて口頭セミナー「Analysis of foxl2-downstream genes」をおこなった。宮川班(計画)の赤司が、2019 年 5 月に米国チューレン大学でカメの温度依存型性決定の実験技術の習得をおこなった(旅費は国際支援活動支援班でサポートした)。

## 8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ以内）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

### 総括班構成メンバー

代表:	立花 誠(大阪大学・研究代表者)
庶務担当:	田中 実(名古屋大学・研究分担者)、大久保 範聡(東京大学・連携研究者)、 深見 真紀(国立成育医療研究センター・連携研究者)
研究集会担当:	田中 実(名古屋大学・研究分担者)、勝間 進(東京大学・研究分担者)、 宮川 信一(東京理科大学・研究分担者)
広報担当:	大久保 範聡(東京大学・研究分担者)、長尾 恒治(大阪大学・連携研究者)
若手支援担当:	諸橋 憲一郎(九州大学・連携研究者)、菊池 潔(東京大学・連携研究者)
研究支援担当:	長尾 恒治(大阪大学・連携研究者)、諸橋 憲一郎(九州大学・連携研究者)
評価担当:	深水 昭吉(筑波大学)、長濱 嘉孝(愛媛大学)、近藤寿人(京都産業大学)

### 総括班研究支援担当による機器・設備の有効活用

領域共通のデータ解析用サーバーを、長尾(計画)が所属する大阪大学理学研究科に 2017 年 11 月に設置した(4,971 千円)。従来のサーバーに比較し、約 8 倍の計算速度と 3 倍の記憶領域 (100TB) を有する計算資源が利用可能となった。これまでに、長尾が開発したブロードメインを視覚化する処理により、立花班(計画)の解析を支援している。細胞外フラックスアナライザーは、諸橋(計画)が所属する九州大学医学研究院に 2017 年 9 月に設置した。第 1 回領域会議にて、領域メンバーに具体的な使用方法を伝えた。現在、領域内の 4 研究室が本機種による代謝測定を計画しており、将来的には共同研究への発展が見込まれる。

### その他の活動

1. 領域会議(班会議)の開催: 毎年開催し、研究の方向付けの確認、情報交換、リソースの共有、技術連携・共同研究の促進をおこなっている。
2. 若手研究者集会の開催: 平成 30 年度に第 1 回目の集会を開催し、以降隔年で開催する。大学院生などの領域内の若手研究者が自主的に集い、研究成果の報告と討論をおこなう会。大学院生の口頭発表のスキルの向上の目的も兼ねている。共同研究をさらに活性化するため、特定の技術に特化した領域内のエキスパートによる最新の研究手法の紹介をおこなっている。
3. 性と生殖の懇談会の開催: 本領域の支援のもと領域外の研究者を招聘し、最新の性と生殖に関する研究の紹介と討論をおこなった(平成 29 年 12 月開催)。隔年で開催する予定である。
4. アジア性分化研究ネットワークの国際集会の開催: 本領域のサポートによる性に関する基礎研究の国際集会である、The 7th Asian Sex Differentiation Network を平成 29 年 10 月に名古屋大学で開催した。台湾、韓国、ノルウェーなどから研究者が参加し、最新の研究成果を発表した。隔年で開催し、The 8th Asian Sex Differentiation Network は平成 31 年 5 月に韓国に開催した。
5. アジア性分化疾患ネットワークの国際集会の開催: 本領域のサポートによる性に関する臨床研究の国際集会である、Disorders of Sex Development (DSD) Symposium を平成 30 年 11 月にタイで開催した。
6. 広報・アウトリーチ活動: 領域 HP を開設し、随時更新している。顕著な業績、受賞、昇進、などの報告をいち早く社会に発信している。また、2 年間で 49 件のアウトリーチ活動をおこない、性研究の重要性についての社会発信に努めてきた。

## 9. 総括班評価者による評価（2ページ以内）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

### 長濱 嘉孝(自然科学研究機構基礎生物学研究所・名誉教授)

本研究領域は、生物の性(雌雄)を従来の二項対立的に分類するのではなく、連続する表現型(性スペクトラム)として捉えることを提唱し、その概念を確立するための科学的根拠を得ることを目的としている。この課題について、「遺伝」、「内分泌」、「環境」の3つの研究項目を設定し、9つの計画研究班と19の公募研究班が連携して領域研究を推進している。計画・公募研究班は、ヒトから共生細菌までいろいろな生物種の多様な性現象について優れた研究業績を有するメンバーから構成されており、この挑戦的研究課題を遂行するのにふさわしい陣容を揃えている。領域代表者のリーダーシップの下、それぞれの得意分野で性スペクトラム概念の確立に向けた研究が順調に進行している。性スペクトラムの遺伝的基盤として、抑制的ヒストン修飾、ステロイド代謝酵素の活性の強さ、及びX染色体上の遺伝子発現量などが特定された。特に領域代表者によって性決定遺伝子 *Sry* の発現制御について本研究の中核となる研究成果が上げられている。内分泌による性スペクトラムの同調機構や環境による性スペクトラムの修飾・攪乱機構の研究についても、それぞれの解析系の準備がほぼ完了し、鍵因子の同定や役割に関する研究も進展しつつある。また、今後に向けた成果として、性スペクトラムの成立機構に「栄養・代謝」が根幹的に関わることがいくつかの実験系で明らかにされつつあることが特筆される。例えば、メダカとカメで独立して進めてきた性研究から、発生期の脂質代謝産物が両生物種の性スペクトラムの成立機構に共通に関わる因子として同定されたことは注目に値する。今後、領域代表者のリーダーシップの下、「栄養・代謝」が性スペクトラムの定位や移動、および修飾や攪乱にどのようにかわるのかを明らかにするため、計画・公募班が連携して統合的研究に取り組むことで、性スペクトラム概念の確立へと繋げていただきたい。共通大型機器として購入した細胞外フラックスアナライザーの有効的活用が代謝産物や代謝経路の解析を加速させることが期待される。これまでに22件の国際共同研究が実施されている。生物系のアジア性分化ネットワークや医学系のアジア性分化疾患ネットワークを通して国際的な性研究コミュニティづくりも積極的に行われている。若手研究者育成・アウトリーチ活動も活発に行われていることも評価できる。本領域研究の成果は、ヒトを含む生物の性の再定義にもつながり、学術的興味のみならず、社会的にも大きなインパクトを与えると考えられるので一般市民への情報発信に引き続き積極的に努めてほしい。

### 近藤 寿人(京都産業大学 総合生命科学部 生命システム学科・教授)

「性スペクトラム:連続する表現型としての雌雄」というタイトルは、日本独自の、性の可塑性に関する多面的な研究の実績をもとにして、現代的な諸課題に対する研究の深化、将来へ向けてのより高次な問題提起という発展性を表現している。研究領域の課題として時機を得ているだけでなく、日本の研究が国際的な指導権を握る好機をでもある。「連続する表現型」には、『雌雄』という両極端の間の存在を正しく理解するという姿勢が込められている。しかし、一步その問題の分析を進めれば、研究項目の設定にもある程度表現されているとおり、「生殖腺の性、内分泌が関与する個体の現象、脳の性など、さまざまなレベル(階層)での性とそれらの整合性の問題がその中核にある。そのことが研究目的に明示されれば、この学術領域の意義をより積極的にアピールできるであろう。「審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応」として公募研究を15件まで増やしたことの効果は大きく、その一つとして、さまざまなレベルでの性とその整合性の問題が、本学術領域全体でより強調されることになった。

研究成果は十分に充実している。多くの緻密でレベルの高い研究が、それに相応したレベルの学術誌に相次いで発表されており、この学術領域の研究の勢いと国際評価を表している。多彩な研究の成果をもとにして、新しい原理を確立するという、学術領域全体の意識が感じられ、領域代表者を中心とした中核メンバーのリーダーシップがあらわれている。それに関して特筆すべきは、糖・脂質の代謝調節が、個体の性の成立に直接的



に関わるという新しい機構が、多様な研究の中から抽出されてきたことであり、高く評価される。そのほか、班員間の連携(情報・研究リソース・研究ツールの共有、共同研究)や、国際連携も活発である。次世代の中核研究者候補としての若手の育成も手厚い。

「性」は、多くの人にとって身近で重要なテーマであり、大きな関心を集める。この学術領域のアウトリーチ活動は、生命科学分野の基礎研究の意義を、一般の人々に実感を持って伝える絶好の機会である。すでに活発なアウトリーチ活動が行われているが、その一層の充実を期待したい。

学術的な深化と国際的な研究の主導を期待する立場からは、学術領域全体の研究について、次の方向での強化を求めたい。『雌雄』という両極端の間の存在を研究する以上、「雌雄という両極端を成立させる、具体的で統一的な機構の解明」がまずあるべきであろう。その方向性を持った研究の強化を期待したい。

### 深水 昭吉(筑波大学 生命領域学際研究センター・教授)

本領域は、有性生殖をおこなう生物にとって根源的な生命現象である性(雌雄)の決定機構に多様性が存在することの重要性に立脚し、雌雄を二項対立的に分類することではない、連続性を伴う「性スペクトラム」という概念のもと、各班が班会議や国際会議などを通して活発に情報交換し、協力して研究を進めている。生物の「性スペクトラム」という概念の中で、スペクトラム上の定位(オス化あるいはメス化の強弱)について、種々のパラメーターを活用して定量的に議論しようと試みている。特に3つの素因(遺伝、内分泌、環境)に着目して領域を項目立てしているが、それら素因は相互に作用し合って影響を及ぼしているため、総括班がリーダーシップをもって全体を統合する研究体制になっている。

申請件数などに左右される要因は大きいですが、採択公募班の35%以上が40歳以下であることから、この領域の研究内容が広い世代に支持されていることが伺える。若手研究者の育成では、領域のその目的に直結する計画班と公募班の各班長やメンバーについて成果が上がっている。その中でも、昇進や独立ポジションへの異動が顕在化してきている。従って、受賞についても、班長、班員、所属大学院生などが文部科学大臣表彰若手科学賞をはじめ、学会賞、学会奨励賞や、各大学での学長賞や研究科長賞などが授与されており、研究成果が人材育成に反映しつつあることが読み取れ、高く評価できる。

研究の進展について、論文が着実に発表されはじめており評価できる。領域代表の立花らは、H3K9メチル化酵素GLP/G9a複合体がJmjd1aに拮抗してSryの発現を制御することを見出したこと、諸橋らはAd4BPが解糖系だけでなく脂質代謝系の構成遺伝子も制御することや、田中らはメダカの生殖細胞の発生段階特異的な変異体を作製することで個体の性とは無関係に身体全体の性をメス化させる能力を有することを明らかにするなど、少しずつ研究が進展している。今後、性スペクトラム上の定位と移動を誘導する仕組みの根幹を理解するにあたり、「性と代謝」の関わりを明らかにできることは、本研究領域に新しい視点を加えることになることと期待される。本邦で築き上げてきた性研究の分野で、世界のイニシアティブをとり、本研究領域の国際的な発展に貢献できると考えられる。

## 10. 今後の研究領域の推進方策（2 ページ以内）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募研究での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

### 研究領域の推進方策

本領域の目標は、A01 遺伝要因による細胞自律的な性スペクトラムの成立機構、A02 内分泌要因による細胞・器官の間の性スペクトラムの同調の機構、さらに A03 環境要因による性スペクトラムの修飾・攪乱の機構について、それぞれ分子レベルで明らかにすることである。

これまでに、「遺伝」、「内分泌」、「環境」の各研究項目について、それぞれ独自の生物種を用い、かつ独自の解析方法で研究を進めてきた結果、性スペクトラム上の位置の規定と移動をもたらす共通の基盤として代謝が重要であることが明らかになりつつある。「A01 遺伝要因」では、**立花(計画)**が性決定期のマウス胎仔生殖腺体細胞では糖・脂質・アミノ酸代謝の律速酵素が高発現していることを見いだした。加えて、生殖腺体細胞で脂質代謝酵素である *Cpt1a* を欠損させると、*Jmjd1a* 欠損マウスにおけるオスからメスへの性転換の表現型が亢進することを見いだしている(未発表データ)。「A02 内分泌要因」では、**諸橋(計画)**が、性ステロイド産生に必須な核内受容体型転写因子 *Ad4BP* は、ステロイド合成系と解糖系に加え、新たにコレステロール代謝、*NADPH* 産生系を制御することを明らかにしている(*Commun Biol* 2019)。解糖系、コレステロール合成系、ステロイド合成系は連続する代謝系であることから、*Ad4BP* はこれらの連続する代謝系を統括することで性ステロイド産生に関わっていると考えられる。「A03 環境要因」では、**田中(計画)**が、孵化後のメダカ幼魚を飢餓状態にすることでメスからオスの性転換が誘導される事実に着目し、独自の研究を進めている。これまでに、飢餓条件で変化する代謝物の絞り込みに成功し、パントテン酸から脂肪酸由来の代謝物への経路が性分化に重要であることを明らかにしている。さらに阻害剤の添加や、遺伝子破壊メダカを作製・解析した実験により、パントテン酸→*CoA* 産生→脂肪酸の生合成がメダカのメス化に必須の代謝経路であることを示しつつある(未発表データ)。メダカの実験とは全く別に、**宮川(計画)**もパントテン酸の代謝の重要性を見いだしている。すなわち、オス産生温度で孵卵したアカミガメ個体の生殖腺では、パンテチナーゼ(パントテン酸合成酵素)が、性分化時期特異的に有意に発現上昇し、かつパントテン酸はオス産生温度の生殖腺で有意に増加していることがメタボローム解析からも明らかとなった(未発表データ)。性分化において代謝産物が重要であるという知見はこれまでに提唱されておらず、大きなブレイクスルーとなる可能性を秘めている。このように、独立した複数の研究が一つの方向に収斂していったことは、領域を組んで初めて為し得たことである。今後は、性決定・性分化過程における代謝の作用点と作用機序を、分子レベルで明らかにしたい。具体的には、転写因子 *Ad4BP* がステロイド産生酵素の遺伝子発現をどのように制御するのか？パントテン酸およびその関連産物の代謝がどのように性決定・性分化関連遺伝子の発現を変えるのか？*Acetyl-CoA* や *SAM* などの代謝産物がエピゲノム変動を介して性決定・性分化関連遺伝子の発現を変えるのか？これらの問いに答えることで、連続した表現型が生み出される仕組みの理解が大きく深まると考えている。得られた成果を残りの期間で質の高い論文に報告し、世間一般に性スペクトラムの概念を浸透させることが領域の使命である。領域内連携をさらに強化しながらこれらの研究を進めるとともに、第 2 期の公募班員についても、これらの研究の推進に資するようなアプローチのものを積極的に取り入れたい。この他に今後の領域活動で力を入れていきたい点は以下の通りである。

#### 1. 領域内の連携強化

立花(計画)・菊池(計画)らの次世代シーケンシング、田中(計画)・宮川(計画)らのメタボローム解析、立花(計画)・長尾(計画)らのエピゲノム解析など、一部の研究者でルーティン化している解析技術やプロトコルを領域全体で共有化し、研究の効率化と加速を促す。長尾(計画)の支援のもと、大阪大学に設置した 100TB のデータ解析サーバーを積極的に活用し、班員のトランスクリプトームやエピゲノムの *in silico* 解析を促進する。このためのデータの取得と解析の講習会を随時実施する。2019 年 3 月におこなった若手研究集会でのテクニカルセミナー「Single cell RNA-seq」、「DamID-seq」、「ChIP-seq のこつ」等は好評であった。引き続き、一部の班員に特化した技術を領域内で共有するイベントを開催したい。

#### 2. リソースの開発と共有の促進

各班員が作製した遺伝子改変マウスなどのリソースについては、積極的に領域内で共有化することで共同研究の促進につなげていきたい(現時点でのリソース共有化による共同研究は 7 件)。各種モデル生物の変異体のリソース作製を積極的に支援する。メダカ変異体の作製は田中(計画)と大久保(計画)、マウス変異体の作製は立花(計画)がおこなう。

### 3. 若手研究者の育成

領域内の若手研究者については、昇進 7 件、受賞 13 件、就職 9 件との報告があり、性研究に携わる若手が順調に育ってきていると感じている。残りの期間で若手研究者の育成にさらに注力していきたい。平成 30 年度からは総括班経費で若手の海外派遣の支援を実施しているが、この事業についてもさらに強化していきたい。平成 32 年度には第 2 回目となる若手研究者集会を開催し、大学院生へ研究成果発表とディスカッションの場を提供する。

### 4. 国際連携の強化

中間報告の段階で延べ 22 件の国際共同研究(相手は海外の大学・研究所)がおこなわれており、すでに論文として成果を発表しているものもある。本領域では、国際支援担当班によるアジア性分化研究ネットワークとアジア性分化疾患ネットワークによる連携にも大きな力を注いでおり、既にネットワーク内での共同研究の成果を論文として公表もしている。引き続き総括班活動と連携し、海外の研究者との人的な交流を促進したい。

### 5. 一般市民への情報発信

メディア報道はこの 2 年間で 62 件(うち新聞報道 17 件、雑誌 2 件、テレビ 6 件)であった。性の研究に対する社会的な関心は非常に高く、研究成果発信を積極的に奨励したい。アウトリーチ活動はこの 2 年で計 49 件であった。なかでも一般向け講演会・セミナーが 13 件、小中高向け授業・実験・実習が 13 件で大きな割合を占めている。引き続き、性研究の面白さと重要性について、社会発信に努めていきたい。

## 問題点と今後の対応策

### 1. 新規技術の特許化

特許の申請件数はこれまで 5 件である。ユニークな研究内容が多いのが本領域の特徴であり、特許申請を増やすよう奨励していきたい。

### 2. 技術支援の強化

細胞レベルでの代謝解析のための細胞外フラックスアナライザー(九州大学に設置)は、中間報告の段階で 4 つの研究室が利用を計画している。性スペクトラムが成立する分子機構には、代謝産物及び代謝経路が重要であるという知見が集積しつつあるため、本機器をさらに有効に活用していきたい。

### 3. 領域内共同研究の推進

中間評価の時点での領域内の共著論文は 3 報であった。本領域は、性に関して独自の方法で成果をあげている研究者を集めて作り上げた。このために領域の申請段階では共同研究がまだ始まっていなかったため、共著論文が少ないと考えている。班員間の連携を強化し、残りの 3 年間で共著論文を増やしていきたい。幸いなことに、共同研究あるいは将来的に共同研究に発展する可能性を秘めた班員間の連携が 23 件に上っており、共著論文の増加が見込まれる。