

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年1月20日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2008～2011

課題番号：20247004

研究課題名（和文）性ホルモンによる卵巣分化誘導の分子機構

研究課題名（英文）Molecular mechanisms of ovarian differentiation induced by sex hormones

研究代表者

長濱 嘉孝（NAGAHAMA YOSHITAKA）

愛媛大学・南予水産研究センター・教授

研究者番号：50113428

研究成果の概要（和文）：本研究では、魚類（メダカとティラピア）を用いて、性ホルモンによる卵巣形成の分子機構を明らかにすることを目的とした。エストロゲン（E2）は未分化生殖腺の卵巣への性分化に決定的な役割を果し、その作用にエストロゲン受容体 $\beta 2$ や $\beta 1$ 、及びR-spondin1が関わることを示された。また、P450c17-II（魚類の卵成熟誘起ホルモンDHPの合成に必要なステロイド代謝酵素）が雌雄生殖腺における減数分裂開始に関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Molecular mechanisms of sex hormone-induced ovarian differentiation were investigated in two fishes (medaka and tilapia). Our results show that estrogen (E2) induces ovarian differentiation by acting through estrogen receptors ($\beta 2$ and $\beta 1$) and R-spondin1. We also suggest that P450c17-II (a steroidogenic enzyme necessary for the production of DHP, maturation-inducing hormone of fish) is involved in the initiation of meiosis in both XX and XY fish.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	12,000,000	3,600,000	15,600,000
2009年度	14,600,000	4,380,000	18,980,000
2010年度	7,300,000	2,190,000	9,490,000
2011年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
総計	37,600,000	11,280,000	48,880,000

研究分野：生殖生物学

科研費の分科・細目：分科（基礎生物学）、細目（形態・構造）

キーワード：卵巣分化、エストロゲン/エストロゲン受容体、R-spondin1、減数分裂開始、魚類、遺伝子ノックダウン（RNAi）、C21 steroid、 $17\alpha,20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン（DHP）

1. 研究開始当初の背景

多くの脊椎動物の性は受精時における性染色体の組合せによって遺伝的に決定され、未分化生殖腺はその遺伝的性に従って精巣と卵巣に性分化を遂げる。1990年にはヒトの性決定遺伝子 *SRY* が発見され（Sinclair et al.,

1990）、また研究代表者の長濱らは2002年に脊椎動物で2番目となるメダカ（*Oryzias latipes*）の性決定遺伝子 *DMY* を同定した（Matsuda et al., 2002）。したがって、当時の脊椎動物の性決定/分化に関する研究は、主に哺乳類（マウス）を対象とした性決定遺伝子

の発現に始まる精巣分化カスケードについての解析が主流であった。その一方で、卵巣分化に関する研究は哺乳類ではきわめて少なく、その多くは哺乳類以外の脊椎動物、特にニワトリ、カエル、魚類等でなされていた。これらの動物では、卵巣分化にエストロゲン（エストラジオール-17 β 、E2）が不可欠であることが次第に明らかになりつつあった。また、研究代表者の長濱らは、エストロゲンに加えて、C21 ステロイドも卵巣分化（減数分裂の開始）に関わる可能性を示唆していた。したがって、卵巣分化が2種の性ステロイド（エストロゲンとプロゲステロン系ステロイド）により制御されていることが考えられたわけである。

2. 研究の目的

脊椎動物における卵巣分化の制御メカニズムに関する研究は、本研究が開始された当時は哺乳類ではまだ遅れており、魚類を対象とする研究が進んでいた。研究代表者の長濱らは、芳香化酵素（アンドロゲンをエストロゲンに転換させるステロイド代謝酵素）阻害剤を用いてエストロゲン合成を抑制させたティラピアの生殖腺形成を詳しく解析することにより、魚類の卵巣分化にエストロゲンが不可欠であることを示唆した。さらに、長濱らは、2007年に5種の魚類のゲノム上に新規のステロイド代謝酵素、チトクロームP450c17（P450c17-IIと命名）を発見するとともに、このP450c17-IIの働きで生成されるある種のC21ステロイドがティラピア（*Oreochromis niloticus*）とメダカの卵巣分化（減数分裂の開始）と深く関わっている可能性を示唆するに至った（Zhou et al. 2007, *Endocrinology*; BBRC）。そこで本研究では、これらの2つの研究成果を基盤として、魚類（メダカとティラピア）を実験材料に用いて性ホルモンによる卵巣分化の分子メカニズムを明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

本研究では、生殖腺の性分化、特に卵巣分化に関わる遺伝子のクローニング、および発現と機能の解析などが中心となる。多くは通常の手法を用いたが、遺伝子の機能解析については、機能獲得実験（gain-of-function）（Matsuda et al., 2002）と機能欠失実験（loss-of-function）を用いた。このうち機能欠失実験に関しては、Tilling法に加えて、本研究（および、長濱が研究代表者の戦略的創造研究推進事業SORSTプロジェクトと共同で開発）で新たにRNAiによるノックダウン法を開発した。この方法では、遺伝子機能欠失の影響が成体まで維持される。したがって、種々の遺伝子の機能欠失の影響を成体の表現型（生殖腺の構造や成魚の外部形態、第二性徴な

ど）で確かめることができるので性決定・分化の研究には強力な武器となる。また、卵巣分化に関わる新規遺伝子の単離については遺伝子サブトラクションやマイクロアレイを用いた。ティラピア卵巣の器官培養はSakaiらの方法（2008）にしたがって行った。細胞増殖は臭化デオキシウリジン（BrdU）を取り込ませることで追跡した。

4. 研究成果

（1）エストロゲンの作用機構

① エストロゲン処理による生殖細胞数の増加と減数分裂開始

メダカのXY胚を受精直後よりエストロゲン（diethylstilbestrol, DES）で8~13日間にわたって処理すると、生殖腺における生殖細胞数の増加と減数分裂への移行がみられた。一方、エストロゲン処理を行わない通常のXY個体のこの時期の生殖腺では生殖細胞の増加および減数分裂への移行はまったく観察されなかった。

② メダカのエストロゲン受容体（Estrogen receptor, ER）

性分化期のメダカXX生殖腺から3種のエストロゲン受容体（ER）遺伝子（*ER α* , *ER β 1*, *ER β 2*）をクローニングするとともに、それぞれの発現変動を性分化期のXXとXY個体の生殖腺を用いて解析した。XX個体では、3種のER遺伝子のうち、*ER β 2*のみが生殖腺の性分化期（受精後6-12日）に高い発現を示した。一方、この時期のXY生殖腺ではいずれのER遺伝子も発現量は低く、変動も示さなかった。しかし、XY個体をエストロゲン（E2）で処理すると*ER β 2*の発現が急上昇を示したが（発現時期はXX個体での*ER β 2*遺伝子と同じ）、*ER α* と*ER β 1*の発現には変動が認められず、エストロゲン処理の期間中を通して低値を維持した。これら3種のER遺伝子の発現変動の解析から、*ER β 2*がXX個体の卵巣分化に重要な役割を果たしていることが示唆された。

③ *ER β 2* 遺伝子のノックダウンによるXX魚の雄化

②の実験結果を受けて、*ER β 2*が卵巣分化に重要であることをより直接的に示すために、我々がメダカで新しく開発したRNAiによる遺伝子ノックダウン法を用いて3種のER遺伝子それぞれの機能を欠失させた時の影響（表現型など）を解析した。その結果、*ER β 2*をノックダウンしたXX成魚では性転換がみられ、生殖腺は完全に精巣であった。また、これらの性転換雄魚から得られた精子は妊性を備えていた。なお、*ER α* や*ER β 1*をノックダウンしたXX成魚ではこのような性転換は認められなかった。以上の結果から、メダ

カの XX 個体では卵巣の分化に E2/ERβ2 系が重要な役割を果たすことがはじめて示された。

④ ERβ2 遺伝子の機能欠失系統 (RNAi と Tilling) の解析

ERβ2 遺伝子の機能について、新たにメダカの機能欠失系統 (RNAi と Tilling による) を作製して、in situ hybridization などによりさらに詳しく解析した。その結果、ERβ2 の機能欠失系統では、始原生殖細胞 (PGC) の生殖腺への移動が異常となり、その結果として生殖腺中の生殖細胞の数が著しく減少することがはじめて明らかになった。このような系統に 2 種の遺伝子 (論文発表までは遺伝子名は伏せる) を過剰発現させると PGC の生殖腺への移動が正常に戻った。これらの結果から、ERβ2 は XX 魚における PGC の移動に関係することが示唆された。一方、発生が進んだ ERβ2 の機能欠失系統では、卵巣で発現する遺伝子群 (芳香化酵素、Foxl2 など) の発現が抑制された。また、R-spondin1 (後述) シグナリングの抑制、さらには生殖細胞を囲む体細胞での *gsdf* の発現の誘導がみられ、遺伝的 XX 個体でありながら精巣が形成され、雌から雄への性転換がみられた。

⑤ ERβ1 遺伝子のノックダウンによる XX 魚の卵巣異常化

一方、ERβ1 をノックダウンした XX メダカでは、雄への性転換はみられなかったが、卵巣腔の形成に異常が認められ、いくつかの個体では卵巣腔を欠く個体もみられた。したがって、これらの雌魚では正常な卵の放出が起こらないため、腹部に膨みを示す個体もみられた。そこで、改めて卵巣腔の形成過程を In situ hybridization で詳細に観察したところ、正常の雌 (XX) 魚では ERβ1 は卵巣腔を構成する細胞で発現することがわかった。また、ERβ1 の機能欠失系統では、BMP2b/4 の発現に異常が観察された。これらの結果により、E2/ERβ1 系は卵巣腔の形成に深く関わっている可能性が強く示唆された。

⑥ メダカの R-spondins

マウスなどでは卵巣分化に R-spondin1 が重要な役割を果たすと考えられていたが、魚類生殖腺の性分化時における機能は不明であった。そこで、本研究では、メダカ卵巣から 3 種の R-spondin1 遺伝子 (*Rspo1, 2, 3*) をクローニングした。Real-time PCR による解析から、これら 3 種の *Rspo* はいずれも性分化期 (孵化直前、ステージ 38 と 39) の XX 生殖腺で高い発現を示したが、発現量は *Rspo1* でもっとも高かった (図 1)。

In situ hybridization の解析で、*Rspo* は XX 生殖腺に特異的であり、それらの発現細胞は

孵化後 20 日の卵巣では生殖細胞と体細胞であり、また孵化後 30 日以降の卵巣では卵母細胞の細胞質に強い発現がみられた。XY 生殖腺では全ステージを通じて発現は認められなかった。しかし、XY 個体 (成魚と孵化直後の稚魚) をエストロゲン (ethinylestradiol) で 7 日間処理するといずれの個体の生殖腺 (精巣) で *Rspo* の急激な発現が誘導された。これらの結果から、*Rspo* はエストロゲンの下流で働いて卵巣分化に重要な役割を果たしていることが示唆された。

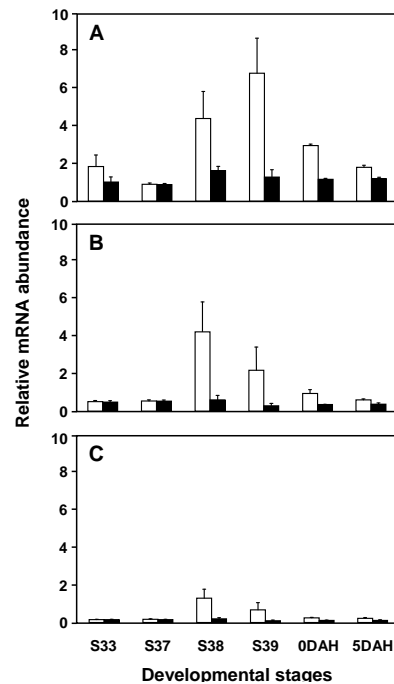


図 1. 性分化期のメダカ雌雄における 3 種の R-spondin 遺伝子の発現変動 (Real-time PCR). A (*Rspo1*), B (*Rspo2*), C (*Rspo3*). XX (白), XY (黒).

⑦ メダカ R-spondin1 遺伝子のノックダウン実験と過剰発現実験

⑥の 3 種の *Rspo* 遺伝子のうちで、*Rspo1* の発現量が全時期を通してもっとも高く、さらに卵巣分化期に著しい上昇を示したので (図 1)、ノックダウン実験は *Rspo1* に絞って行うことにした。*Rspo1* をノックダウンされた XX 個体では、孵化後 40 日には活発に精子形成を行っている精巣が観察された。この精巣では精巣体細胞 (セルトリ細胞) に特異的に発現する *gsdf* 遺伝子の強い発現が認められた。また、*Rspo1* 遺伝子をノックダウンされた個体に ERβ2 を過剰発現させると XX 生殖細胞で減数分裂が開始された。一方、*Rspo1* を過剰発現された XY 個体では孵化後 20 日には卵母細胞を有する卵巣が形成された。これらの結果より、メダカでは *Rspo1* が卵巣分化に不可欠であることが明らかになった。

⑧ 器官培養

ティラピアを用いた器官培養系（浮遊培養系、旋回培養系）では、1) エストロゲンの直接的影響で卵巣腔が形成されること、2) 生体外に取り出した卵巣片での卵巣型芳香化酵素遺伝子及びタンパク質の発現が培養中に E2 を添加することによって維持されること、さらに、3) 卵巣形成後にみられるステロイド産生細胞の卵巣周辺域への移動が E2 によって促進されること、を見出した。なお、卵巣腔形成に果すエストロゲンの役割は E2 の *in vivo* 処理によっても確認されたが、この場合には内因性の卵巣型芳香化酵素遺伝子及びタンパク質の発現が完全に抑制されたことから（したがって、内因性のエストロゲンの生成は無い）、投与された外因性の E2 が直接的に卵巣腔形成に作用していることが明らかになった。

(2) C21 ステロイドの作用機構

① *P450c17-I* と *P450c17-II* の発現解析

長濱らは先に、魚類の卵成熟誘起ホルモンである $17\alpha,20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン (DHP) を含む C21 ステロイドの生成に必要なステロイド代謝酵素である *P450c17* 遺伝子は魚類には 2 種 (*P450c17-I* と *P450c17-II*) 存在することを明らかにした。本研究では、この 2 種の *P450c17* のうち、特に *P450c17-II* の減数分裂開始に果たす役割について解析した。

まず、2 種の *P450c17* 遺伝子が性分化期の雌雄生殖腺でどのような発現パターンを示すのかをメダカを用いて *in situ hybridization* と *real time-PCR* 等により解析した。その結果、*P450c17-I* は雌雄生殖腺に関係なく孵化後 5 日以降に発現がみられた。これに対し、*P450c17-II* は雌雄生殖腺ともに最初の発現時期（卵巣での発現が精巣での発現より早い）が生殖細胞の減数分裂の開始時期とほぼ一致した。したがって、*P450c17-II* は DHP の生成を介して生殖細胞における減数分裂開始に重要な役割を果たしていることが示唆された。このことを確かめるために、XY メダカを受精直後から 20 日間にわたって種々濃度の DHP を含む飼育水で飼ったところ、多くが死亡したが、生き残った個体で減数分裂の開始時期が XX 魚のように早まった。

② *P450c17-II* の遺伝子のノックダウン実験

P450c17-II の減数分裂及びコーチゾル合成に果す役割を明らかにする目的で、この遺伝子の機能欠失実験 (RNAi による遺伝子ノックダウン法) を行った。*P450c17-II* をノックダウンした個体では孵化後に死亡する個体が増加したが、飼育水中にコーチゾルを添加すると生存率が高まった。また、ノックダウン個体の頭腎組織のステロイド産生細胞は

異常を示した。これらの結果から、*P450c17-II* は頭腎におけるコーチゾルの合成に重要な役割を果たすことが強く示唆された。

一方、*P450c17-II* 遺伝子をノックダウンした後でもひきつづき生存した XX 個体では、しばしば雄への性転換が認められ、鰭などの外部形態も典型的な雄型を示した。このような性転換雄魚は正常な XX 雌との交配により正常な雌稚魚が得られた。日本産ウナギでの Miura ら (2007) の先行実験の結果とあわせ、*P450c17-II* は DHP の合成促進と作用を介して、XX 個体の生殖腺における正常な発生と発達に何らかの役割 (例えば、雌の生殖細胞に特徴的な減数分裂の誘起) を果たしている可能性が示唆された。

③ エストロゲンと DHP の合成酵素遺伝子の単離

ステロイド代謝経路で *P450c17* の次のステップで働く 2 種のステロイド代謝酵素、即ちエストロゲンとアンドロゲンの合成に関わる 17β -HSD、さらには DHP の合成に関わる 20β -HSD、両酵素遺伝子のクローニングを行った。その結果、前者については 12 種の遺伝子が単離された。なお、 20β -HSD については、卵成熟期のメダカ卵巣に発現する遺伝子を搭載した高感度マイクロアレイ系を用いた解析により、卵成熟期に特異的に発現する新型の 20β -HSD を単離することに成功した。この遺伝子は以前に我々が単離していた 20β -HSD (強いカルボニルリダクターゼの活性を有する) 遺伝子とは異なるタイプであり強い 20β -HSD 活性を有することがわかった。したがって、この酵素は卵成熟期に特異的に発現する DHP の合成に関わる 20β -HSD である可能性が高い。

(3) まとめと今後の課題：

本研究では、魚類 (メダカとティラピア) を用いて、卵巣分化時における性ホルモンによる卵巣形成の分子メカニズムを明らかにすることを目的として、1) エストロゲンの作用機構、2) C21 ステロイドの作用機構、について解析を行った。その結果、1) の研究から、エストロゲンは未分化生殖腺の卵巣への性分化に重要な役割を果たし、その作用にエストロゲン受容体 (ER) $\beta 2$ や R-spondin1 が密接に関与することが示された。また、ER $\beta 1$ は卵巣腔の形成に関与することが示唆された。今後、エストロゲンと R-spondin1 との関連を明らかにする必要がある。2) の研究からは、DHP (魚類の卵成熟・減数分裂再開誘起ホルモン) の合成に関わるステロイド代謝酵素 *P450c17-II* (*P450c17* の新型) が雌雄生殖腺形成初期の減数分裂開始に重要な役割を果たすことが示唆された。さらに、DHP 合成の最終ステロイド代謝酵素である

20 β -HSD 遺伝子の最有力候補を卵成熟期のメダカ卵胞から単離することに成功した。今後、この遺伝子の雌雄生殖腺の性分化期と減数分裂開始期の発現を調べるとともに機能欠失・獲得実験により機能を明らかにする必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計13件)

- ① Zhu, L.Y., Wang, D.S., Charkraborty, T., Mohapatra, S. and Nagahama, Y. (2012). R-spondins are involved in the ovarian differentiation in a teleost, medaka (*Oryzias latipes*). BMC Dev. Biol. 2012, 12: 36. 査読有. doi: 10.1186/1471-213X-12-36.
- ② Shen, X., Cui, J. and Nagahama Y. (2012). The forkhead gene family in medaka: expression patterns and gene evolution. Cytogenet. Genome Res. 136: 123-130. 査読有. doi: 10.1159/000335898.
- ③ Yan, H., Ijiri, S., Wu, Q., Kobayashi, T., Li, S., Nakaseko, T., Adachi, S. and Nagahama, Y. (2012). Expression patterns of gonadotropin hormones and their receptors during early sexual differentiation in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Biol. Reprod. 87: 116-126. 査読有. doi: 10.1095/biolreprod.112.101220.
- ④ Nakamoto, M., Fukasawa, M., Tanaka, S., Shimamori, K., Suzuki, A., Matsuda, M., Kobayashi, T., Nagahama, Y. and Shibata N. (2012). Expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (hsd3 β), star and ad4bp/sf-1 during gonadal development in medaka (*Oryzias latipes*). Gen. Comp. Endocrinol. 176: 222-230. 査読有. doi: 10.1016/j.ygcen.2012.01.019.
- ⑤ Masuyama, H., Yamada, M., Kamei, Y., Ishikawa, T., Todo, T., Nagahama, Y. and Matsuda, M. (2012). Dmrt1 mutation causes a male-to-female sex reversal after the sex determination by Dmy in the medaka. Chromosome Res. 20: 163-76. 査読有. doi: 10.1007/s10577-011-9264-x.
- ⑥ Paul-Prasanth, B., Shibata, Y., Horiguchi, R. and Nagahama, Y. (2011). Exposure to diethylstilbesterol during embryonic and larval stages of medaka fish (*Oryzias latipes*) leads to sex reversal in genetic males and reduced gonad weight in genetic females. Endocrinology 115: 707-717. 査読有. doi: 10.1210/en.2010-0812.
- ⑦ Charkraborty, T., Shibata, Y., Zhou, L.Y., Katsu, Y., Iguchi, T. and Nagahama, Y. (2011). Differential expression of three estrogen receptor subtype mRNAs in gonads and liver from embryos to adults of the medaka, *Oryzias latipes*. Mol. Cell. Endocrinol. 333: 47-54. 査読有. doi: 10.1016/j.mce.2010.12.002.
- ⑧ Charkraborty, T., Katsu, Y., Zhou, L.Y., Miyagawa, S., Nagahama, Y. and Iguchi, T. (2011). Estrogen receptors in medaka (*Oryzias latipes*) and estrogenic environmental contaminants: An in vitro-in vivo correlation. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 123: 115-121. 査読有. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.11.015.
- ⑨ Nakamoto, M., Fukasawa, M., Oorii, S., Shimamori, K., Maeda, T., Suzuki, A., Matsuda, M., Kobayashi, T., Nagahama, Y. and Shibata, N. (2010). Cloning and expression of medaka cholesterol side chain cleavage cytochrome P450 during gonadal development. Develop. Growth Differ. 52: 385-395. 査読有. doi: 10.1111/j.1440-169X.2010.01178.x.
- ⑩ Wang, D.S., Zhou, L.Y., Kobayashi, T., Matsuda, M., Shibata, Y., Sakai, F. and Nagahama, Y. (2010). Doublesex- and mab-3-Related transcription factor-1 repression of aromatase transcription, a possible mechanism favoring the male pathway in tilapia. Endocrinology 151: 1331-1340. 査読有. doi: 10.1210/en.2009-0999.
- ⑪ Cui, J.Z., Shen, X.Y., Yan, Z.W., Zhao, H.B. and Nagahama, Y. (2009). Homology-modeled ligand-binding domains of medaka estrogen receptors and androgen receptors: a model system for the study of reproduction. Biochem. Biophys. Res. Comm. 380: 115-121. 査読有. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.01.047.
- ⑫ Nakamoto, M., Muramatsu, S., Yoshida, S., Matsuda, M., Nagahama, Y. and Shibata, N. (2009). Gonadal sex differentiation and expression of *Sox9a2*, *Dmrt1*, and *Foxl2* in *Oryzias luzonensis*. Genesis 47: 289-299, 査読有. doi: 10.1002/dvg.20498.
- ⑬ Kobayashi, T. and Nagahama, Y. (2009). Molecular aspects of gonadal differentiation in a teleost fish, the Nile tilapia. Sex. Dev. 3: 108-117. 査読有. doi: 10.1159/000223076.

〔学会発表〕(計17件)

- ① Nagahama, Y. Genetic and hormonal regulation of gonadal development and sexual plasticity in fish. (Invited lecture). 2013 Society for Integrative and Comparative Biology (SICB) Annual Meeting, January 3-7, 2013, San Francisco,

- CA, USA.
- ② Shibata, Y., Nagahama, Y., Young, G. and Naruse, K. (2011). Gene expression profiling of ovarian follicles in medaka, *Oryzias latipes*. Center for Reproductive Biology, 15th Annual Retreat. May 19, 2011, Washington State University, Pullman, WA, USA.
- ③ Nagahama, Y. Sex determination/differentiation and sexual plasticity in fish. (Invited lecture). The Inaugural Meeting of the North American Society for Comparative Endocrinology. June 13-16, 2011, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA.
- ④ Nagahama, Y. Sex determination/differentiation and sexual plasticity in fish. (Invited lecture) Cold Spring Harbor Asia Conference on Developmental Control of Sex, Growth and Cellular Fate. October 11-15, 2011, Suzhou, China.
- ⑤ Nagahama, Y. Sex determination and sexual plasticity in fish. (Invited lecture). Satellite International Symposium on Reproductive Biology of Aquatic Organisms. June 30, 2010. Motobu-cho, Okinawa, Japan.
- ⑥ Nagahama, Y. Sex determination in fish (Invited lecture). Howard Bern Symposium: Recent Advances in Comparative Endocrinology. March 2-3, 2010, Berkeley, CA, USA.
- ⑦ Nagahama, Y. Sexual plasticity in fish. (Opening lecture). Fifth International Symposium on the Biology of Vertebrate Sex Determination. April 20-24, 2009, Kona, Hawaii, USA.
- ⑧ Zhou, L.Y., T. Chakraborty, Wang, D.S. and Nagahama, Y. R-spondin1 is essential for ovarian differentiation in fish. 16th International Congress of Comparative Endocrinology. June 23, 2009, University of Hong Kong, Hong Kong.
- ⑨ Nagahama, Y. Mechanisms of sex determination/differentiation and sexual plasticity in fish (Special lecture). 2nd International SOX meeting. September 16-19, 2008, Awaji, Japan.
- ⑩ Nagahama, Y. Sex determination/differentiation and sexual plasticity in fish. (Invited lecture). International Symposium for Gonad and Brain Sex Differentiation September 14-16, 2008, Fukuoka, Japan.
- ⑪ Nagahama, Y. Sex determination/differentiation and sexual plasticity in fish (Invited lecture). XXth International Congress of Zoology. August 26-29, 2008, Paris, France.
- ⑫ Nagahama, Y. Expression of a lyase-deficient Cyp17 in the fish head kidney (Invited lecture). XIIIth International Conference on the Adrenal Cortex. June 11-14, 2008, San Francisco, CA, USA.
- ⑬ Nagahama, Y. Sex determination, differentiation and sexual plasticity in fish: Current status and future directions (Special lecture). International Symposium on Sex Determination and Gametogenesis in Fish: Current Status and Future Directions. May 30-June 1, 2008, University of Hawaii, Honolulu, Hawaii, USA.
- ⑭ Nagahama, Y. Sexual plasticity in fish (Invited lecture). The 54th NIBB Conference on New Frontiers for the Medaka Model Genome, Bioresources and Biology. February 28-29, 2008, Okazaki, Japan.
- ⑮ 長濱嘉孝. 魚類の性決定・分化と性的可塑性の分子メカニズム. 日本動物学会第83回大会シンポジウム, 2012年9月, 大阪大学, 大阪.
- ⑯ 柴田安司, 成瀬清, 長濱嘉孝. 魚類の卵成熟誘起機構. 日本動物学会中部支部大会, 2012年11月, 松本.
- ⑰ 長濱嘉孝. 魚類の性決定・性分化とステロイドホルモン. 日本動物学会第79回大会シンポジウム, 2008年9月, 福岡大学, 福岡.
- [図書] (計3件)
- ① Kobayashi, Y., Nagahama, Y. and Nakamura, M. (2012). Diversity and plasticity of sex determination and differentiation in fishes. In "Control of Gonadal Development" (Jimenez, R. Ed.). Karger (In press).
- ② Shibata, N., Nakamoto, M., Shibata, Y. and Nagahama, Y. (2011). Endocrine regulation of oogenesis in the medaka, *Oryzias latipes*. In "Medaka: A Model for Organogenesis, Human Disease and Evolution" (H. Takeda et al. eds.), pp. 267-283. Springer.
- ③ Paul-Prasanth, B., Nakamura, M. and Nagahama, Y. (2010). Sex determination in fishes. In "Hormones and Reproduction of Vertebrates" Vol. 1 (D.O. Norris, and K.H. Lopez eds.), pp. 1-14. Academic Press.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長濱 嘉孝 (NAGAHAMA YOSHITAKA)

愛媛大学・南予水産研究センター・教授

研究者番号：50113428