

生命環境研究領域

生命環境研究部門

井口泰泉(教授)

1) 専門領域:内分泌学, 分子生物学, 生殖生物学, 環境科学

2) 研究課題:

- a) 周生期のマウスに対する性ホルモンの組織不可逆化誘導機構に関する研究
- b) オオミジンコの性決定機構の解明
- c) ミジンコの生殖様式の解明
- d) 爬虫類の温度依存性性分化機構の解明
- e) エストロゲン応答に対する魚の種差の解析および精巣卵誘導機構の解明
- f) エストロゲン受容体の分子進化の解析
- g) アンドロゲン受容体遺伝子による雄性形質発現の分子機構の解明

3) 研究活動の概略と主な成果:

- a) 周生期のマウスに対する性ホルモンの組織不可逆化誘導機構に関する研究: マウスの子宮および膣はエストロゲン(女性ホルモン)の標的器官であり、エストロゲンに依存して細胞増殖および細胞分化を示す。しかし、生後 3 日以内(臨界期)にエストロゲンの投与を受けたマウスの膣は、エストロゲン非依存的に細胞増殖を続け、腫瘍化へと向かう。内分泌かく乱物質の周生期での影響を調べる良いモデル系となると考えられる。膣では臨界期のエストロゲン投与により、上皮成長因子(EGF)ファミリーの遺伝子発現が継続し、**erbB** および **EGF** 受容体がリン酸化し、エストロゲン受容体 α の **AF1** 領域もリン酸化しており、細胞増殖因子発現のオートループが形成されていることを明らかにしている。出生直後の非芳香化アンドロゲンの **5 α -ジヒドロテストステロン**投与によっても、マウス膣上皮のエストロゲン非依存の増殖が起こる。エストロゲン受容体 α ノックアウトマウスを用いた研究から、臨界期でのエストロゲンやアンドロゲン投与による膣上皮のエストロゲン非依存の不可逆的増殖にはエストロゲン受容体 α が不可欠であることも明らかにした。また、**Wnt** シグナルや、**Pten/PI3K/Akt** 経路の生殖器官での機能について、主に遺伝子改変マウスなどを使って解析している。さらに、不可逆的細胞増殖の分子的背景を明らかにするために、遺伝子のメチル化を標的に研究を進めている。
- b) オオミジンコの性決定機構の解明: 水質や環境化学物質の影響を調べるのに汎用されているオオミジンコは、単為生殖によりメスがメスを産んで増殖する。しかし、餌不足、混雑および短日などの環境の変化によりオスを産み、生まれたオスとメスが交尾して乾燥に耐えられる耐久卵を産む。耐久卵は新たに水が入るとメスに発生する。オオミジンコは 1 週間程度で成体になり3日毎に産仔する。また、体が透明であり、卵はシャーレの中でも発生する。また、我々が中心となってオオミジンコから多くの **ESTs** を得ている。オオミジンコのゲノムコンソーシアムにも協力しており、ゲノム解析の終了も

近い。農薬(昆虫成長制御剤、植物保護剤)として用いられる幼若ホルモン類似物質がオオミジンコの卵形成の特定の時期に特定の濃度で曝露すると 100%オスを産むことを見出している。オオミジンコのオスに関連した遺伝子を探索し、雌雄で発現の差がある遺伝子 **Dsx** 遺伝子を見出した。オオミジンコでは遺伝子導入手法も確立されていなかったために、オオミジンコの卵に遺伝子を導入する手法を確立し、幼若ホルモン曝露によりオスになる卵に **Dsx** 遺伝子のダブルストランドを用いて RNA 干渉法を行い、発現量を下げたところ、第一触角はメスタイプを示し、精巢の分化は起こらず卵巣が発達した。さらに、**Dsx** 遺伝子を雌に発生する卵にマイクロインジェクションしたところ、第一触角が伸長し、オスタイプの表現形が形成されたことから、オオミジンコの雄の分化には **Dsx** 遺伝子の発現が必須であることを証明した。また、オオミジンコおよびミジンコの幼若ホルモン受容体をクローニングし、**Met**と**SRC**のヘテロダイマーであることを見出した。さらにマイクロアレイを用いて幼若ホルモン応答遺伝子を探索している。また、ミジンコの脱皮ホルモン合成系・分解系および幼若ホルモン合成系に關与する酵素の遺伝子のクローニングを行っている。また、人工気象器を用いて、日長、温度、餌などの条件を変え、雄を産仔する環境条件を検討している。

- c) ミジンコの生殖様式の解明:ミジンコは環境の変化に応じて単為生殖と有性生殖を使い分けている。単為生殖では、第1減数分裂後期に分裂が停止した後スキップし、第2減数分裂に相当する分裂のみが起こることを明らかにした。この減数しない減数分裂の特徴を探るため、紡錘系を構成する α チューブリン、中心体を構成する γ チューブリンの免疫染色を行った。その結果、中心体のない樽型の紡錘体が観察された。さらに、 γ チューブリンは中心体があるはずの両極ではなく紡錘系上の両極側に寄って広く分布していた。単為発生卵では、卵割(体細胞分裂)が開始すると典型的な紡錘型の紡錘体が見られるようになるため、それまでの間に中心体が形成(再生)されることになる。一方、有性生殖では、第1減数分裂中期または後期で受精を待ち、受精後に第1分裂が完了し減数すると考えられているが、実際の受精のタイミングや減数分裂の詳細は明らかではない。組織形態学的解析から、第1減数分裂は卵巣卵で起こり、産卵後の卵において第2減数分裂が起こっていることがわかった。受精については、産卵直後の卵内にて侵入した精子が確認できたことから、第1減数分裂のいずれかの段階で起こることは確認された。
- d) 爬虫類の温度依存性性分化機構の解明:爬虫類の中には温度によって性が決定する種類(ワニ、大部分のカメ、一部のトカゲ)がいる。しかし、性染色体に依存しない温度依存性性決定機構の分子メカニズムは解明されていない。性決定には温度よりもエストロゲンの作用が強いことから、エストロゲンを含む性ホルモン受容体に着目して研究を進めている。アメリカワニは卵を30度で孵卵すると100%メスに、33度で孵卵すると100%オスになるという温度依存性性分化を示す。温度よりもエストロゲンの作用が強く、オスになる33.5度で孵卵してもエストロゲンやエストロゲン作用を持つ農薬などを塗付するとメスに発生する。この温度依存性性分化のメカニズムを解明するための一歩として、温度依存性性分化時期の胚を用いて性分化関連遺伝子の発現を調べ、発生ステージが進むにつれてオスでは **AMH**(抗ミュラー管ホルモン)遺伝子、メスではアロマターゼ遺伝子の発現が増加することを見出した。また、温度を感知と思われる複数の **TRP**の遺伝子をアメリカワニからクローニングし、アフリカツメガエル卵に導入し、パッチクランプ法により感受する温度を調べている。
- e) エストロゲン応答に対する魚の種差の解析および精巢卵誘導機構の解明:化学物質の内分

泌かく乱作用の研究を開始した時点では、化学物質のエストロゲン作用と水生生物への化学物質の影響に焦点が当てられていた。イギリスの河川では下水処理場からのエストロゲンおよびエストロゲン類似物質によるコイ科のローチの精巣卵が 1985 年頃から問題になっていた。化学物質のエストロゲン作用を簡便に、しかも正確に把握するために、魚類を含む水生生物からエストロゲン受容体遺伝子を単離して機能解析すること、さらにエストロゲンで誘起されるオスでの精巣卵誘導機構を解明することを目指している。エストロゲン類似活性を持つ化学物質の作用を調べるためにはどの魚種を試験魚とすれば良いかを明らかにするために、ニジマスの幼若個体、コイ、ローチ、トゲウオ、ゼブラフィッシュ、ファットヘッドミノーおよびメダカの雄の成魚を用いて、2 ng/L および 10 ng/L の合成エストロゲン（エチニルエストラジオール）に 1 週間曝露し、ビテロゲニン遺伝子の発現量を解析し、ニジマスが最も反応が良く、コイが最も反応が悪いことを明らかにした。さらに、これらの魚種からエストロゲン受容体遺伝子をクローニングし、簡便に化学物質のエストロゲン作用を検出できるレポーターアッセイ系を確立して、天然のエストロゲン、各種合成エストロゲンおよびエストロゲン作用を有する化学物質のエストロゲン作用の強さを比較している。また、メダカを用いて、3 種類あるエストロゲン受容体サブタイプのそれぞれの機能を解析する研究を開始している。メダカの雄の成魚を用いて、エストロゲンの影響で誘発される精巣卵のマーカー遺伝子として、卵膜タンパクをコードする Zp5 遺伝子が有用であることを明らかにした。さらに、ニシツメガエルでも、エストロゲン曝露により誘導される精巣卵のマーカー遺伝子を探索し、卵膜タンパクをコードする遺伝子が精巣卵のマーカー遺伝子となることを明らかにした。

- f) エストロゲン受容体の分子進化の解析：エストロゲンは、エストロゲン受容体を介して脊椎動物の生殖器官の発生・分化・維持機構に密接に関与している。しかし、この「エストロゲン—エストロゲン受容体」のシグナル伝達系が進化上どの段階から出来上がってきているのかは不明である。エストロゲン受容体遺伝子の分子進化を解明する目的で、進化上脊椎動物の祖先とされているナメクジウオのほか、軟骨魚のサメ類（トラザメ、ジンバイザメ、）各種の両生類（アカハライモリ、トウキョウサンショウウオ、アホロートル、アフリカ産のガマ）、爬虫類のヘビ（アオダイショウ、オキナワハブ）から、エストロゲン受容体 α と β の遺伝子を単離し、レポーターアッセイ系を確立している。ヤツメウナギには今まで、肝臓で知られていたエストロゲン受容体に加えて、卵巣にはさらにもう一種類のエストロゲン受容体が存在するが、この受容体遺伝子はリガンド非依存的に DNA に結合するが、エストロゲンは結合しないことを明らかにした。エストロゲンに応答する受容体はナメクジウオでは祖先型のステロイド受容体であり、ヤツメウナギではエストロゲンに依存して転写活性化が起こる真のエストロゲン受容体が進化してきたと考えられる。
- g) アンドロゲン受容体遺伝子による雄性形質発現の分子機構の解明：アンドロゲンは、内外生殖器、性淘汰に関わる多様な形質発現を誘導し、脊椎動物の雄としての形質を特徴付けている。しかし、アンドロゲン受容体による形質発現の分子機構の詳細は明らかではない。これまでに、軟骨魚類に

最も祖先型の機能的なアンドロゲン受容体遺伝子が存在し、真骨魚類の系統で特異的に起きたゲノム倍数化に伴い、真骨魚類では2分子種に重複したことが明らかとなった。これらの2分子種アンドロゲン受容体には転写活性化能、細胞内局在に相違が見られ、機能的に特化したアンドロゲン受容体が真骨魚類の系統で現れたと考えられた。アンドロゲン受容体遺伝子の重複と雄性形質多様化との関連性を進化学的に考察するために、真骨魚類アンドロゲン受容体の構造と機能の関係を解析するとともに、メダカアンドロゲン受容体遺伝子変異体をスクリーニングし、表現型解析を進めている。また性分化前のメダカ初期胚期におけるアンドロゲン受容体遺伝子の機能解析を行い、初期胚血球血管系の発生分化にアンドロゲンシグナリングが関わっていることを見出している。

4) 学術論文

- J.A. St John, E.L. Braun, S.R. Isberg, L.G. Miles, A.Y. Chong, J. Gongora, P. Dalzell, C. Moran, B. Bed'hom, A. Abzhanov, S.C. Burgess, A.M. Cooksey, T.A. Castoe, N.G. Crawford, L.D. Densmore, J.C. Drew, S.V. Edwards, B.C. Faircloth, M.K. Fujita, M.J. Greenwold, F.G. Hoffmann, J.M. Howard, T. Iguchi, D.E. Janes, S.Y. Khan, S. Kohno, A.J. de Koning, S.L. Lance, F.M. McCarthy, J.E. McCormack, M.E. Merchant, D.G. Peterson, D.D. Pollock, N. Pourmand, B.J. Raney, K.A. Roessler, J.R. Sanford, R.H. Sawyer, C.J. Schmidt, E.W. Triplett, T.D. Tuberville, M. Venegas-Anaya, J.T. Howard, E.D. Jarvis, L.J.Jr. Guillette, T.C. Glenn, R.E. Green and D.A. Ray**, “Sequencing three crocodylian genomes to illuminate the evolution of archosaurs and amniotes”. *Genome Biol.*, **13**, 415. 2012. doi: 10.1186/gb-2012-13-1-415.
- A. Lange, Y. Katsu, S. Miyagawa, Y. Ogino, H. Urushitani, T. Kobayashi, T. Hirai, J.A. Shears, M. Nagae, J. Yamamoto, Y. Ohnishi, T. Oka, N. Tatarazako, Y. Ohta, C.R. Tyler and T. Iguchi**, “Comparative responsiveness to natural and synthetic estrogens of fish species commonly used in the laboratory and field monitoring” *Aquat. Toxicol.*, **109**, 250-258, 2012.
- H. Kakuta, M. Tanaka, P. Chambon, H. Watanabe, T. Iguchi and T. Sato**, “Involvement of gonadotropins in the induction of hypertrophy-hyperplasia in the interstitial tissues of ovaries in neonatally diethylstilbestrol-treated mice” *Reprod. Toxicol.*, **33**, 35-44, 2012.
- I. Hirakawa, S. Miyagawa, Y. Katsu, Y. Kagami, N. Tatarazako, T. Kobayashi, T. Kusano, T. Mizutani, Y. Ogino, T. Takeuchi, Y. Ohta and T. Iguchi**, “Gene expression profiles in the testis associated with testis-ova in adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 α -ethinylestradiol” *Chemosphere*, **87**, 668-674, 2012.
- T. Nakamura, S. Miyagawa, Y. Katsu, H. Watanabe, T. Mizutani, T. Sato, K.-I. Morohashi, T. Takeuchi, T. Iguchi and Y. Ohta**, “WNT family genes and their modulation in the ovary-independent and persistent vaginal epithelial cell proliferation and keratinization induced by neonatal diethylstilbestrol exposure in mice” *Toxicology*, **296**, 13-19, 2012.
- T. Nakajima, T. Iguchi and T. Sato**, “Hedgehog signaling plays roles in epithelial cell

proliferation in the neonatal mouse uterus and vagina” *Cell Tiss. Res.*, **348**, 239-247, 2012.

T. Maekawa, A. Sakuma, S. Taniuchi, Y. Ogo, T. Iguchi, S. Takeuchi and S. Takahashi, “Transforming growth factor- α mRNA expression and its possible roles in mouse endometrial stromal cells” *Zool. Sci.*, **29**, 377-383, 2012.

J.A. Taylor, C.A. Richter, A. Suzuki, H. Watanabe, T. Iguchi, K.R. Coser, T. Shioda and F.S. vom Saal, “Dose-related estrogen effects on gene expression in fetal mouse prostate mesenchymal cells” *PLoS One*, **7**(10): e48311, 2012.

T. Nakamura, S. Miyagawa, Y. Katsu, T. Sato, T. Iguchi and Y. Ohta, “Sequential changes in expression of Wnt- and Notch-related genes in the vagina and uterus of ovariectomized mice after estrogen exposure” *In Vivo*, **26**, 899-906, 2012.

M. Takase, H. Shinto, Y. Takao and T. Iguchi, “Accumulation and pharmacokinetics of estrogenic chemicals in the pre- and post-hatch embryos of the frog *Rana rugosa*” *In Vivo*, **26**, 913-920, 2012.

K. Oka, S. Kohno, H. Uruchitani, L.J.Jr. Guillette, Y. Ohta, T. Iguchi and Y. Katsu, “Molecular cloning and characterization of the corticoid receptors from the American alligator” *Mol. Cell. Endocrinol.*, **365**, 153-161, 2012.

T. Nakamura, S. Miyagawa, Y. Katsu, T. Mizutani, T. Sato, T. Takeuchi, T. Iguchi and Y. Ohta, “P21 and Notch signalings in the persistently altered vagina induced by neonatal diethylstilbestrol exposure in mice” *J. Vet. Med. Sci.*, **74**, 1589–1595, 2012.

E.K. Brockmeier, Y. Ogino, T. Iguchi, D.S. Barber and N.D. Denslow, “Effects of 17 β -trenbolone on Eastern and Western mosquitofish (*Gambusia holbrooki* and *G. affinis*) and anal fin growth and gene expression patterns” *Aquat. Toxicol.*, **128-129C**, 163-170, 2012.

J.G. Myburgh, F.W. Huchzermeyer, H.B. Groenewald, J.T. Soley, L.C. Bekker, D.G. Booyse, T. Iguchi and L.J.Jr. Guillette, “Technique for the collection of clean urine from the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*)” *J. South African Vet. Assoc.*, **83**, E1-6, 2012. doi: 10.4102/jsava.v83i1.8.

C. Hiruta and S. Tochinnai, “Spindle assembly and spatial distribution of γ -tubulin during abortive meiosis and cleavage division in the parthenogenetic water flea *Daphnia pulex*” *Zool. Sci.*, **29**, 733-737, 2012.

R. Haraguchi, D. Matsumaru, N. Nakagata, S. Miyagawa, K. Suzuki, S. Kitazawa and G. Yamada, “The hedgehog signal induced modulation of bone morphogenetic protein signaling: an essential signaling relay for urinary tract morphogenesis” *PLoS One*, **7**(7), e42245, 2012.

Y. Katsu, A. Lange, S. Miyagawa, H. Urushitani, N. Tatarazako, Y. Kawashima, C.R. Tyler and T. Iguchi, “Cloning, expression and functional characterization of carp, *Cyprinus carpio* estrogen receptors and their differential activations by estrogens” *J. Appl. Toxicol.*, **33**, 41-49, 2013.

M. Villacorte, K. Suzuki, A. Hirasawa, Y. Ohkawa, M. Suyama, T. Maruyama, D. Aoki, Y. Ogino, S. Miyagawa, T. Terabayashi, Y. Tomooka, N. Nakagata and G. Yamada, “ β -Catenin signaling regulates Foxa2 expression during endometrial hyperplasia formation” *Oncogene*, (in press) 2012 Sep 3. doi: 10.1038/onc.2012.376.

H. Kakuta, A. Matsushita, K. Arikawa, T. Iguchi and T. Sato, “Cholesterol homeostasis in the ovaries of neonatally diethylstilbestrol-treated mice” *Exp. Clin. Endocr. Diabetes*, (in press).

T. Oka, N. Mitsui-Watanabe, N. Tatarazako, Y. Onishi, Y. Katsu, S. Miyagawa, Y. Ogino, R. Yatsu, S. Kohno, M. Takase, Y. Kawashima, Y. Aoki, L.J.Jr. Guillette and T. Iguchi, “Establishment of transactivation assay systems using fish, amphibian, reptilian and human thyroid hormone receptors” *J. Appl. Toxicol.*, (in press). doi: 10.1002/jat.2825.

I. Hirakawa, S. Miyagawa, N. Mitsui, M. Miyahara, Y. Onishi, Y. Kagami, T. Kusano, T. Takeuchi, Y. Ohta and T. Iguchi, “Developmental disorders and altered gene expression in the tropical clawed frog (*Silurana tropicalis*) exposed to 17α -ethinylestradiol” *J. Appl. Toxicol.*, (in press). doi: 10.1002/jat.2836.

Y. Goto, M. Kajiwara, Y. Yanagisawa, H. Hirose, T. Yoshimi, M. Uemura, H. Nakano, S. Takahashi, Y. Shida, T. Iguchi, Y. Takahashi and T. Miura, “Detection of vertebrate-type steroid hormones and their converting activities in the neogastropod *Thais clavigera* (Kster, 1858)” *J. Molluscan Studies*, (in press).

5) 著書、総説

S. Miyagawa, R. Yatsu, T. Sudo, K. Igarashi, J. Kanno and T. Iguchi, “Irreversible effect of diethylstilbestrol on reproductive organs and current approach for epigenetic effects of endocrine disrupting chemicals” In: Toxicology and Epigenetics. Ed. Sahu, S.C., John Wiley & Sons, Ltd., pp. 357-364, 2012.

N. Tatarazako and T. Iguchi, “Evaluation of toxicities of herbicides using short-term chronic tests of alga, daphnid and fish” In: Herbicides, Herbicides - Environmental Impact Studies and Management Approaches, Alvarez-Fernandez, R. (ed.), ISBN: 978-953-307-892-2, InTech, 2012.

E.G. Grau, R.S. Nishioka, A. Bern, T. Hirano, R. Borski, C. Clarke, K. Foskett, L.J. Guillette, T. Iguchi, L.A. Jones, C. Loretz, S. McCormick, J.A. McLachlan, C.A. Mason, K.T. Mills, Y. Nagahama, C.S. Nicoll, N.H. Richman, M. Sheridan, J.L. Specker, J.J. Sullivan and G. Young, “In memory of Professor Howard A. Bern” *Gen. Comp. Endocrinol.*, **176**, 121-123, 2012.

L.J.Jr. Guillette and T. Iguchi, “Life in a contaminated world” *Science*, **337**, 1614-1615, 2012.

C. Hiruta and S. Tochinai, “How does the alteration of meiosis evolve to parthenogenesis? -

Case study in a water flea, *Daphnia pulex* -” In: Meiosis –Molecular mechanisms and cytogenetic diversity, A. Swan (ed.), ISBN: 978-953-51-0118-5, InTech, 2012.

C. Hiruta, K. Toyota, H. Miyakawa, E. Sumiya and T. Iguchi, “Sexual reproduction is a key element in the life history strategy of water fleas, *Daphnia magna* and *Daphnia pulex* – Casting a spotlight on male induction and its morphology -” In: *Daphnia: Biology and Mathematics Perspectives*, Nova, (in press).

6) 国際会議発表リスト

T. Iguchi, “Environmental endocrine disruptor molecular screening and the use of *in vitro* assays and toxicogenomics in fish, amphibians and daphnia” Special Symposium on Environmental Genomics 2012, in Shanghai, Shanghai, China, March 26-28, 2012.

A. Lange, M. Sebire, P. Rostkowski, S. Miyagawa, T. Mizutani, T. Iguchi, E.M. Hill and C.R. Tyler, “Bioavailable environmental antiandrogens and their effects on reproduction relevant endpoints in fish” ESCPB (European Society of Comparative Physiology and Biochemistry) meeting. Bilbao, Spain, September 2-5, 2012.

E.K. Anderson, Y. Ogino, D. Barber, T. Iguchi and N.D. Denslow, “Non-aromatizable androgen exposure to mosquitofish (*Gambusia spp*): Links between molecular, physiological, and reproductive system changes” 6th World Congress and 22nd SETAC Europe, Berlin, Germany, May 20-24, 2012.

H. Watanabe, T. Abe, S. Oda, T. Iguchi and N. Tatarazako, “Multi-generational effects of endocrine disrupting chemicals on *Ceriodaphnia dubia*” 6th World Congress and 22nd SETAC Europe, Berlin, Germany, May 20-24, 2012.

C.R. Tyler, P. Hamilton, A. Lange, A. Filby, M. Soffka, O. Lee, A. Takesano, T. Kudoh, G. Paull and T. Iguchi, “New systems (and adapting old ones) for understanding the wider health impacts of EEDs and their mixtures in fish” Gordon Research Conferences, Environmental Endocrine Disrupters, Mount Snow Resort, West Dover, VT, USA, June 3-8, 2012.

I. Hirakawa, S. Miyagawa, N. Mitsui, M. Miyahara, Y. Onishi, Y. Kagami, T. Kusano, T. Takeuchi, Y. Ohta and T. Iguchi, “Histology and gene expression analysis in testis of medaka and frog exposed by ethinylestradiol (EE2)” Gordon Research Conferences, Environmental Endocrine Disrupters, Mount Snow Resort, West Dover, VT, USA, June 3-8, 2012.

D. Volz, D. Villeneuve, H. Aladjov, G. Ankley, S. Belanger, K. Crofton, M. Embry, D. Hinton, M. Hornung, T. Hutchinson, T. Iguchi, R. Johnson, M. Léonard, D. Mount, T. Norberg-King, L. Ortego, S. Padilla, R. Tanguay, J. Tietge, L. Truong, G. Veith, L. Wehmas and G. Whale, “Development of alternatives to the fish early life-stage test: a research strategy for discovering and annotating adverse outcome pathways during early fish development” 33rd SETAC North America, Long Beach, CA, November 11-15, 2012.

D. Villeneuve, D. Volz, H. Aladjov, G. Ankley, S. Belanger, K. Crofton, M. Embry, D.

Hinton, M. Hornung, T. Hutchinson, T. Iguchi, R. Johnson, M. Léonard, D. Mount, T. Norberg-King, L. Ortego, S. Padilla, R. Tanguay, J. Tietge, L. Truong, G. Veith, L. Wehmas and G. Whale, “Discovering and annotating fish early life-stage (FELS) adverse outcome pathways: Putting the research strategy into practice” 33rd SETAC North America, Long Beach, CA, November 11-15, 2012.

N. Tatarazako, H. Takanobu, H. Watanabe, A. Sawai, Y. Ohnishi and T. Iguchi, “Efficacy of medaka TG229 in the screening of endocrine-disrupting chemicals” 33rd SETAC North America, Long Beach, CA, November 11-15, 2012.

M. Embry, D. Villeneuve, D. Volz, H. Aladjov, G. Ankley, S. Belanger, K. Crofton, D. Hinton, M. Hornung, T. Hutchinson, T. Iguchi, R. Johnson, M. Léonard, D. Mount, T. Norberg-King, L. Ortego, S. Padilla, R. Tanguay, J. Tietge, L. Truong, G. Veith, L. Wehmas and G. Whale, “Alternatives to the fish early life-stage test: developing a conceptual model for early fish development” 33rd SETAC North America, Long Beach, CA, November 11-15, 2012.

7) 招待講演

井口泰泉:「内分泌かく乱化学物質問題の世界の動向と最近の研究」平成23年度 富山大学長裁量経費戦略的研究プロジェクト採択課題「環境先進県とやまにおける産業由来重金属の生物毒性研究の国際的新拠点の形成」公開シンポジウム—生物毒性研究の最前線—, 富山大学理学部多目的ホール, 2012年3月13日.

Y. Ogino, G. Yamada and T. Iguchi, “Molecular analysis of androgen dependent sex characteristics development, western mosquitofish and medaka as model systems. The 2012 Edwin W. Pauley Summer Program in Marine Biology “Integrative, Experimental and environmental physiology of marine organisms” University of Hawaii, USA, July 26-27, 2012.

T. Iguchi, S. Miyagawa and Y. Ogino, “Comparative responsiveness to natural and synthetic estrogens of fish species used in the laboratory and field monitoring. The 2012 Edwin W. Pauley Summer Program in Marine Biology “Integrative, Experimental and environmental physiology of marine organisms” University of Hawaii, USA, July 26-27, 2012.

T. Iguchi, “Temperature-dependent sex determination and sex differentiation: alligators, fish and daphnids” Summer School 2012: “Thermal Biology: from Plants to Humans” in Okazaki Institute for Integrative Bioscience, August 8-9, 2012.

T. Iguchi, S. Miyagawa and Y. Ogino, “Establishment of transactivation assays using hormone receptors from various animal species for screening of environmental chemicals” SETAC Asia Pacific, Special lecture, Kumamoto, September 24-27, 2012.

T. Iguchi, “Environmental sex determination in the *Daphnia magna*” University of Birmingham, UK, November 5, 2012.

井口泰泉, 豊田賢治, 角谷絵里, 宮川一志, 蛭田千鶴江, 宮川信一, 「脊椎動物から無脊

椎動物の内分泌かく乱：オオミジンコの性分化遺伝子の解明」．日本比較内分泌学会シンポジウム，福井大学，11月29－12月1日，2012.

8) 学会および社会的活動

宮川一志，「ミジンコ類における捕食者に誘導される表現型多型とその制御機構」．ワークショップ：個体間コミュニケーションが導く表現型可塑性 -その多様性と共通原理．渡邊大、宮川一志(企画)．Joint meeting of The 59th Annual Meeting of ESJ & The 5th EAFES International Congress. 龍谷大（瀬田），3月17日，2012.

K. Toyota, H. Miyakawa, S. Oda, S. Miyagawa, Y. Ogino, N. Tatarazako, Y. Kato, T. Iguchi, “Gene expression analysis of juvenile hormone-responsive genes during critical period for sex determination in *Daphnia magna*. Joint Meeting of The 59th Annual Meeting of ESJ and The 5th EAFES International Congress, Ryukoku University, Otsu, March 17-21, 2012.

角谷絵里，荻野由紀子，宮川信一，宮川一志，豊田賢治，井口泰泉，「オオミジンコ脱皮ホルモン合成経路遺伝子の発現変動」．第83回日本動物学会，大阪大学，9月13－15日，2012.

勝義直，井口泰泉，「無顎類ヤツメウナギのエストロゲン受容体」．第83回日本動物学会、大阪大学、9月13－15日，2012.

遠山早紀，宮川信一，荻野由紀子，勝義直，小林亨，井口泰泉，「メダカのエストロゲン受容体サブタイプの機能解析」．第83回日本動物学会，大阪大学，9月13－15日，2012.

岡香織，太田康彦，井口泰泉，勝義直，「アメリカアリゲーターのアリル炭化水素受容体の単離と機能解析」．第83回日本動物学会，大阪大学，9月13－15日，2012.

中島忠章，井口泰泉，佐藤友美，「胎仔期から成熟期にかけての子宮と膈の分化におけるレチノイン酸シグナルの役割」．第83回日本動物学会，大阪大学，9月13－15日，2012.

中村 武志，宮川 信一，平川 育美，井口 泰泉，太田 康彦，「新生時期にDES暴露をうけた成熟マウスの膈におけるp21, p53及びNotch関連遺伝子の発現」．日本獣医学会．岩手大学，9月14－16日，2012.

谷津遼平，宮川信一，荻野由紀子，井口泰泉，「American alligator (ミシシッピーワニ)における温度依存型性決定機構の同定」．日本動物学会中部支部大会，松本，11月17-18日，2012.

豊田賢治，加藤泰彦，佐藤優，杉浦直美，宮川信一，宮川一志，渡邊肇，小田重人，荻野由紀子，蛭田千鶴江，水谷健，鑓迫典久，井口泰泉，「ミジンコ類における *doublesex* 遺伝子の単離及び発現解析」．日本動物学会中部支部大会，松本，11月17-18日，2012. (最優秀ポスター賞).

角谷絵里，荻野由紀子，宮川一志，豊田賢治，宮川信一，井口泰泉，「オオミジンコ脱皮ホルモン合成経路遺伝子の分子系統解析と脱皮周期中の発現変動」．日本動物学会中部支部大会，松本，11月17-18日，2012. (優秀ポスター賞).

平川育美，宮川信一，勝義直，鏡良弘，鑓迫典久，小林亨，草野輝彦，水谷健，荻野由紀子，渡邊直子，櫻井真紀，大西裕太，太田康彦，井口泰泉，「エチニールエストラジオー

ルがメダカおよびネツタイツメガエルの精巢へ与える影響」。日本動物学会中部支部大会, 松本, 11月17-18日, 2012. (最優秀ポスター賞).

蛭田千鶴江, 豊田賢治, 井口泰泉, 「ミジンコ(*Daphnia pulex*)初期胚へのマイクロインジェクション法の確立に向けて」。日本動物学会中部支部大会, 松本, 11月17-18日, 2012.

宮川一志, 井口泰泉, 「節足動物類における幼若ホルモンの受容機構とその進化の解明」。日本動物学会中部支部大会, 松本, 11月17-18日, 2012.

荻野由紀子, 山田源, 井口泰泉, 「脊動物における Androgen receptor 遺伝子の進化と雄性形質発現の分子機構」。日本動物学会中部支部大会, 松本, 11月17-18日, 2012.

森田慎一, 時下進一, 井口泰泉, 志賀靖弘, 太田敏博, 「オオミジンコの正中線における DmagSIM発現細胞の神経細胞タイプの同定」。第35回日本分子生物学会年会, 福岡国際会議場, 12月11-14日, 2012.

上原政樹, 井口泰泉, 志賀靖弘, 「オオミジンコ付属肢形成におけるNotch Signaling Pathway遺伝子群の機能解析」。第35回日本分子生物学会年会, 福岡国際会議場, 12月11-14日, 2012.

大見川沙織, 森田慎一, 上原政樹, 時下進一, 井口泰泉, 志賀靖弘, 「オオミジンコ *Daphnia magna*におけるHox遺伝子Sex Combs ReducedのRNAi法による機能解析」。第35回日本分子生物学会年会, 福岡国際会議場, 12月11-14日, 2012.

S. Miyagawa, I. Hirakawa, T. Mizutani, S. Tohyama, R. Yatsu and T. Iguchi, “Variation in response sensitivity of fish estrogen receptors to estrogenic environmental contaminants” 環境ホルモン学会第15回研究発表会, 東京大学山上会館, 12月18-19日, 2012.

宮川一志, 井口泰泉, 「ミジンコ類のMetおよびSRCを用いた*in vitro*における幼若ホルモン作用評価系の開発」。環境ホルモン学会第15回研究発表会, 東京大学山上会館, 12月18-19日, 2012.

遠山早紀, 宮川信一, 荻野由紀子, 勝義直, 小林亨, 井口泰泉, 「化学物質に対するメダカエストロゲン受容体の応答性」。環境ホルモン学会第15回研究発表会, 東京大学山上会館, 12月18-19日, 2012.

K. Toyota, Y. Kato, M. Sato, N. Sugiura, S. Miyagawa, H. Miyakawa, H. Watanabe, S. Oda, Y. Ogino, C. Hiruta, T. Mizutani, N. Tatarazako and T. Iguchi, “Analysis of sex determining genes involved in male induction in Cladocerans treated by juvenile hormone agonist” 環境ホルモン学会第15回研究発表会, 東京大学山上会館, 12月18-19日, 2012.

T. Nakamura, S. Miyagawa, T. Iguchi and Y. Ohta, “Sequential changes in the expression of Wnt- and Notch-related genes in the vagina and uterus of ovariectomized mice after estrogen exposure” 環境ホルモン学会第15回研究発表会, 東京大学山上会館, 12月18-19日, 2012.

漆谷博志, 勝義直, 太田康彦, 白石寛明, 井口泰泉, 堀口敏宏, 「軟体動物前鰓類RXRを用いた有機スズ化合物による転写活性誘導差異」。環境ホルモン学会第15回研究発表会, 東京大学山上会館, 12月18-19日, 2012.

角谷絵里, 荻野由紀子, 宮川一志, 蛭田千鶴江, 豊田賢治, 宮川信一, 井口泰泉, 「オオミ

ジンコ脱皮ホルモン合成経路遺伝子の脱皮周期における時空間的発現解析」。環境ホルモン学会第15回研究発表会，東京大学山上会館，12月18-19日，2012.

高瀬稔，井口泰泉，「性分化後のツチガエルおよびトノサマガエルの生殖腺に対するノニルフェノールおよびビスフェノールAの影響」。環境ホルモン学会第15回研究発表会，東京大学山上会館，12月18-19日，2012.

Y. Ogino and T. Iguchi，“Functional characterization of medaka AR genes and molecular mechanism of androgen dependent sex characteristics development” 環境ホルモン学会第15回研究発表会，東京大学山上会館，12月18-19日，2012.

I. Hirakawa, S. Miyagawa, Y. Katsu, Y. Kagami, N. Tatarazako, T. Kobayashi, T. Kusano, T. Mizutani, Y. Ogino, T. Iguchi and Y. Ohta，“Gene expression analysis of testis-ova formation in medaka and tropical clawed frog exposed to 17 α -ethinylestradiol” 環境ホルモン学会第15回研究発表会，東京大学山上会館，12月18-19日，2012.

S. Miyagawa, I. Hirakawa, T. Mizutani, S. Tohyama, R. Yatsu, T. Iguchi，“Variation in response sensitivity of fish estrogen receptors to estrogenic environmental contaminants” 環境ホルモン学会第15回研究発表会，東京大学山上会館，12月18-19日，2012.

村田清香，竹内崇師，太田康彦，平川育美，保永洋平，宮川信一，井口泰泉，「妊娠中にフルタミドを投与した雄ラットの生殖器異常について」。環境ホルモン学会第15回研究発表会，東京大学山上会館，12月18-19日，2012.

大野満里子，井原賢，**V. Kumar**，成宮正倫，花本征也，中田典秀，山下尚之，宮川信一，井口泰泉，田中宏明，「下水処理中の抗エストロゲン物質同定のための基礎検討」。環境ホルモン学会第15回研究発表会，東京大学山上会館，12月18-19日，2012.

阿部良子，渡部春奈，岡知宏，山室真澄，井口泰泉，鑓迫典久，「節足動物の内分泌かく乱物質に対する短期検出法の開発」。環境ホルモン学会第15回研究発表会，東京大学山上会館，12月18-19日，2012.

井原賢，大野満里子，**V. Kumar**，成宮正倫，花本政也，中田典秀，山下尚之，高畠寛生，小林健太郎，田中裕之，宮川信一，井口泰泉，田中宏明，「下水試料および下水高度処理水のエストロゲン様作用・抗エストロゲン作用の評価」。環境ホルモン学会第15回研究発表会，東京大学山上会館，12月18-19日，2012.

環境省 中央環境審議会臨時委員

厚生労働省 薬事・食品衛生審議会臨時委員

内閣府 食品安全委員会容器包装部会委員

OECD Validation Management Group 委員

OECD Endocrine Disruptor Testing and Assessment 委員

日本内分泌かく乱化学物質学会 会長

日本動物学会 理事 中部支部支部長

日本比較内分泌学会 理事

Journal of Applied Toxicology 編集長 (アジア地区)

Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 編集委員

Biology of Reproduction 編集委員

Journal of Biomedical Research 編集委員

Ecotoxicology and Environmental Safety 編集委員

9)他大学での非常勤講師、客員研究員、客員教授

Medical University of South Carolina and Hollings Marine Laboratory (USA) 客員教授

東京工業大学非常勤講師

東京薬科大学非常勤講師

北海道大学非常勤講師

広島大学両生類研究所 客員研究員

国立環境研究所 客員研究員

11) 外部獲得資金

環境省 日英共同研究「魚類精巣卵の発症機構」宮川信一、井口泰泉(代表)

環境省 基盤研究「ミジンコにおける内分泌かく乱作用メカニズムの解析」井口泰泉(代表)

科学研究費 挑戦的萌芽研究「環境指標生物であるミジンコの逆遺伝学的手法の開発:エコゲノミクスの新規アプローチ」(2010年-2011年)井口泰泉(代表)

科学研究費 基盤研究(C)「卵巣癌において異常活性化したリン酸化酵素の同定とその特異的阻害剤の開発」(2011-13)井口泰泉(分担)

科学研究費 基盤研究(A)「生物多様性を考慮したレポータージーンアッセイでの都市下水の内分泌攪乱性の国際比較」(2011-13)井口泰泉、宮川信一(分担)

科学研究費 若手研究(B)「女性ホルモンシステムの破綻と Wnt シグナルについての解析」(2011-12)宮川信一(代表)

科学研究費 基盤研究(C)「アンドロゲンによる造血・血管発生機構の解明」(2011-13)荻野由紀子(代表)

熊本大学発生医学研究所共同研究「アンドロゲンによる初期胚造血・血管発生機構の解明」(2011年)荻野由紀子(代表)

日本化学工業協会長期自主的研究「ミジンコ(*Daphnia magna*)の性決定機構の解明」井口泰泉(代表)

科学研究費 特別研究員奨励費 「ミジンコの生殖機構からみた有性生殖と単為生殖の進化」(2012-14)蛭田千鶴江