

ExTEND2005 に基づく平成 20 年度フィージビリティースタディーについて

1. フィージビリティースタディーの公募について

化学物質の内分泌かく乱作用に関し、「環境省の今後の対応方針-ExTEND2005-」に基づき、今後の実施につながる研究課題候補として平成 20 年度フィージビリティースタディーを公募した。その結果 7 件の応募があった。

2. 平成 20 年度フィージビリティースタディー採択課題及び研究計画

平成 20 年度については、下記 5 課題を採択し、調査・研究を実施している。調査・研究内容については、ExTEND2005 基盤的研究企画評価検討会及び ExTEND2005 野生生物の生物学的知見研究検討会による合同検討会で協議の上、決定した。

課題 1 . (FS 1) 魚食性猛禽類「ミサゴ」の生態とその食物連鎖に関する基礎的研究

課題 2 . (FS 2) 化学物質誘発性のエピジェネティック修飾による DOHaD
(Developmental Origins of Health and Disease)モデルの検証

課題 3 . (FS 3) メダカの再生産に及ぼす化学物質およびその代謝物の影響とトキシコ
ゲノミクスによる作用機序の解明

課題 4 . (FS 4) 海産無脊椎動物ホヤのトキシコジェノミクス基盤研究と生態調査

課題 5 . (FS 5) 多環芳香族炭化水素類の内分泌かく乱作用の構造活性相関に基づく魚
鱗の化学物質スクリーニング法に関する研究

(1) フィージビリティースタディー研究課題(F S 1): 魚食性猛禽類「ミサゴ」の生態とその食物連鎖に関する基礎的研究

研究者: 岩手県立大学 総合政策学部: 由井正敏(代表研究者)、平塚明、千葉啓子、岩手大学 工学部: 海田輝之、岩手医科大学 医学部: 世良耕一郎

研究概要: 本研究は準絶滅危惧種の魚食性猛禽類「ミサゴ」を対象とした生態調査である。北上川上流域にあるダム湖周辺を生息地とする「ミサゴ」の生息・繁殖状況及び採餌行動を明らかにするとともに、この地域の生態系における高次捕食者としての「ミサゴ」とその捕食対象である魚類の食物連鎖を介した内分泌かく乱作用を有する化学物質等の授受、生物濃縮の有無を検討し、「ミサゴ」の生態と環境汚染化学物質との関連を明らかにする。

平成20年度研究計画:

* 魚食性猛禽類「ミサゴ」の生態とその食物連鎖に関わる生態系調査および調査地の環境調査

調査概要: 気象条件なども考慮し、採水・採泥が可能な初冬まで主として四十四田ダム湖付近で、

- ・ ミサゴの生息状況(生息量、営巣、採食域など)の確認と羽毛等の試料採取
- ・ ミサゴを頂点とする食物連鎖に関連する水生生物・底生生物・水辺植物を中心に、各地点における代表生物の生態調査を実施し、試料採取

などの基礎調査を実施する。また、県内の「ミサゴ」の生息地から対照地区を比較検討等のために選定する。

* 試料中化学物質分析の検討

- ・ 内分泌かく乱作用を有する化学物質等の分析

魚類に濃縮が懸念される難分解性、高蓄積性を有する化学物質、ならびにメダカに対する内分泌かく乱作用を有することが確認された化学物質のうち、フェノール類(ノニルフェノール、オクチルフェノール、ビスフェノール A)、DDT 及びその代謝物について、血液を中心に分析を実施する。さらに魚本体についても検討する。

- ・ 「ミサゴ」については羽根を用いた分析が可能か否かについて検討する。さらに、猛禽類の予備的比較として、入手したフクロウ(食性: 動物食)の弊死体を用いて分析し、検討する。

- ・ 元素分析

ヒ素及びヒ素以外で底質土壌に堆積していることが想定される元素について、分析する。

(2) フィージビリティースタディー研究課題(FS2): 化学物質誘発性のエピジェネティック修飾による DOHaD(Developmental Origins of Health and Disease)モデルの検証

研究者: 東京大学 医学系研究科: 大迫誠一郎(代表研究者)

研究概要: 近年、内分泌かく乱作用を有するといわれる化学物質が、動物実験において胎児期曝露により生後個体の形質に不可逆的变化を誘起することが示された。中でも胎児期影響の更なる詳細な検討が求められているビスフェノールA(BPA)はその作用が強いことが示されつつある。本研究では、内分泌かく乱作用を有するといわれる化学物質が未知の受容体に結合した後、発生途上の各臓器内でゲノムのエピジェネティックな異常を引き起こすという仮説を立証するため、ChIP解析を中心とした網羅的解析でその標的遺伝子を割り出し、さらにこの実験系をDOHaDモデルとして個体の感受性変化の発生的機構を明らかにすることを目的とする。

平成20年度研究計画: マウス胎生期にビスフェノールA(BPA)またはフタル酸ジ-*n*-ブチル(DBP)に曝露された個体の臓器(肝臓、脳および前立腺)のDNAメチル化、ヒストン修飾、遺伝子発現量変化の網羅的解析結果を総合的に評価し、どのような環境要因に対して高感受性になっているかを予測するためのプロファイリングデータを得ることを目標とする。

* 胎生期化学物質曝露によりエピジェネティクス修飾を受けるゲノム群の網羅的解析

BPA または DBP を各 3 用量 (BPA (20 µg/kg、200 µg/kg、2 mg/kg)、DBP (2 mg/kg、20mg/kg、200 mg/kg)) で、妊娠マウスに 12 日間連続経口投与する。生まれた成熟個体の臓器 (大脳海馬、前立腺、肝臓) より、RNA を採取して mRNA の発現プロファイルと比較検討すると同時に、同じ組織からホルムアルデヒドでタンパク-DNA 複合体 (クロマチン) を採取する。ユークロマチン化の指標となる抗アセチルヒストン H4 抗体を用いて免疫沈降を行う。

ChIP-DNA を回収し ChIP-Seq 法により全ゲノムレベルでの比較を行う。胎生期化学物質曝露による変動の網羅的データを得る。同時に同臓器において発現アレイ解析も行い、ChIP-Seq 法で得られたヒストン修飾データと比較し共通して変動している候補遺伝子をピックアップする。さらにリアルタイム RT-PCR 法により候補遺伝子の発現量を確認する。これらの総合的な解析により、化学物質曝露の胎生期プログラミング異常によるゲノムのプロファイリングデータを取得し、そのような個体の生理的变化を予測して、如何なる化学物質に対して感受性を示すか、すなわち胎児期に決定された病態を予測する。

(3) フィージビリティースタディ－研究課題(F S 3): メダカの再生産に及ぼす化学物質およびその代謝物の影響とトキシコゲノミクスによる作用機序の解明

研究者: 熊本県立大学 環境共生学部: 有菌幸司(代表研究者)、愛媛大学 沿岸環境科学研究センター: 石橋弘志

研究概要: ペルフルオクタンスルホン酸(PFOS)やペルフルオクタン酸(PFOA)などの有機フッ素化合物は、環境中で難分解性、生物に対して高蓄積性を示すことから、化審法により第二種監視化学物質に指定され、残留性有機汚染物質(POPs)の新規候補物質に挙げられている。一方、フッ素テロマーアルコール類(FTOHs)は有機フッ素化合物の製造過程の原料として使用され、8:2 FTOHはマウス肝臓中でPFOAに代謝され、環境中では微生物によりPFOAに分解・代謝され、野生生物などの蓄積に関与すると考えられている。しかしながら、水生生物を対象に、親化合物8:2 FTOHおよびその代謝物PFOAによる生物影響を詳細に調査した例はない。そこで本研究では、メダカの再生産に及ぼすFTOHsおよびその代謝物PFOAの影響を評価し、一方でノニルフェノール(NP)等内分泌かく乱作用が指摘されている化学物質をモデルにマイクロアレイを中心にトキシコゲノミクス手法と生態毒性評価を共用した解析手法を活用して基礎(標準)データを蓄積し、その内分泌かく乱作用機序の評価手法開発を試みる。

平成20年度研究計画:

* 胚、孵化仔魚および成魚に対する 8:2 FTOH の急性毒性試験

各成長段階(胚、孵化仔魚および成魚)のメダカに対する急性毒性試験を行う。OECD テストガイドラインに準拠し、各濃度に調製した 8:2 FTOH を用いて 96 時間曝露を行い、半数致死濃度を明らかにする。

* 8:2 FTOH 等を曝露した雌雄メダカの肝臓における DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析

メダカの再生産に影響を与える遺伝子を探索・同定するため、UniGene database に登録されているメダカの転写産物を網羅し、約 15,000 種類のオリゴ DNA プローブが搭載された市販のマイクロアレイを用いて、エストロゲン作用が明らかになっている化学物質(NP、オクチルフェノール、ビスフェノールA、*o,p'*-DDT)を曝露した雌雄メダカの肝臓における遺伝子発現プロファイルを明らかにし、階層的クラスタリング解析からエストロゲン応答遺伝子を探索・同定する。卵、胚から成魚までの Life Stage 別マイクロアレイ解析も行う。さらに遺伝子ネットワーク間のパスウェイ解析を行い、次年度の 8:2 FTOH による再生産への影響にどのようなカスケードで遺伝子発現の変化が関与するか予測の基礎データとする。マイクロアレイ解析により発現変化がみられた遺伝子については、定量的リアルタイム PCR 法により発現量の測定を行う。

(4) フィージビリティースタディー研究課題(F S 4): 海産無脊椎動物ホヤのトキシコジェノミクス基盤研究と生態調査

研究者: 北海道大学大学院 薬学研究院: 安住薫(代表研究者)

研究概要: 海産実験動物として用いられているホヤは幼生期に脊索を有し、無脊椎動物から脊椎動物への移行期の動物であることがゲノム解読の結果からも明らかになっている。現在、化学物質の影響評価の対象生物としてメダカ(脊椎動物)とミジンコ(無脊椎動物)が用いられているが、ミジンコだけで無脊椎動物全般への化学物質の影響を評価するのは無理がある。無脊椎動物は前口動物と後口動物に分かれて進化してきたが、前口動物のミジンコに加えて、後口動物のホヤを試験生物として用いることにより、無脊椎動物全般に対する化学物質の影響をより確実に検出することができる。また、無脊椎動物はステロイドホルモン受容体(SR)をゲノム中に持たないが、生物種ごとに独自の内分泌システムを有していると予想される。したがって、SRを介して内分泌攪乱作用を示す化学物質だけを「内分泌攪乱物質」として規制するのは片手落ちである。無脊椎動物においても、内分泌を攪乱する作用を有する化学物質をスクリーニングできる試験系の開発は必須である。ホヤ全ゲノムの7割を検出できる大規模 DNA マイクロアレイを用いてホヤのトキシコジェノミクス解析基盤を確立することをめざす。すでに、ホヤの生体機能に基づく遺伝子の分類法の開発や、ホヤの受精卵およびおたまじゃくし幼生を用いた化学物質の影響試験系の開発も行っており、ホヤを用いた化学物質の影響評価系(スクリーニング系)の確立が可能である。本研究の遂行により、ホヤを用いた試験系が確立できれば、化学物質の無脊椎動物に対する影響や作用メカニズムをより広く理解することができる。ホヤは海産動物なので、化学物質の河川への排出規制の基準値の設定にホヤの試験法は有益である。また、日本沿岸に生息するホヤの生態調査およびホヤに蓄積している化学物質の定量分析を実施し、ホヤの生息状況およびホヤにおける化学物質汚染の実態を把握する。

平成20年度研究計画:

* トキシコジェノミクス解析

メダカに対し内分泌かく乱作用を有することが報告されている4-ノニルフェノール、4-t-オクチルフェノール、ビスフェノールAおよび、低濃度でホヤの胚発生と変態を阻害する結果が得られているトリブチルスズとトリフェニルスズをカタウユレイボヤに暴露させ、DNAマイクロアレイとバイオアッセイを用いて、ホヤに対する影響評価と作用機構の推定を行なう。

* 生態調査および化学分析

WEBアンケートを作成し、動物学会会員に配布して調査を行なう。得られた情報を整理して日本沿岸のホヤ生息マップを作成する。日本沿岸数カ所の野生カタウユレイボヤおよび宮城沖養殖マボヤにおける有機スズ化合物、重金属、有機塩素系化合物の定量分析を実施する。

(5) フィージビリティースタディー研究課題(FS5): 多環芳香族炭化水素類の内
分泌かく乱作用の構造活性相関に基づく魚鱗の化学物質スクリーニング法に関する研
究

研究者: 金沢大学 医薬保健研究域薬学系: 早川和一(代表研究者)、鈴木信雄、九
州保健福祉大学: 細井信造

研究概要: 多環芳香族炭化水素(PAH)は有機物の燃焼に伴って大気や室内空気を汚染
し、ヒトの呼吸器系・循環器系疾患を誘発するだけでなく、油タンカーや油輸送パイ
プラインの事故に伴って海洋や河川を汚染し、海洋生態系に悪影響を及ぼす危険が増
加している。PAH 及び環境・生体中で PAH から生成される化合物(以下、併せて PAH
類)が大気反応並びに生体(代謝)反応を受け上述の化合物を生成することを踏まえ、
これら反応による生成化合物の毒性評価は重要である。また、ヒトや動物が環境中の
種々の PAH 類に同時曝露されることを踏まえ、一連の化合物の複合影響の解析も重要
である。PAH 類について酵母 two-hybrid 法を用いて、エストロゲン様/抗エストロゲン
作用、抗アンドロゲン作用の強さを測定し、その結果から相対活性強度を求め、構造
活性相関を解析する。また、対照化合物との比較を行う。魚(キンギョ)鱗培養シス
テム(*in vitro*)に適用して、その骨芽細胞及び破骨細胞に対する影響を測定し、*in vitro*
で効果があった PAH 類及び対照化合物を *in vivo* でも確認する。魚鱗培養システム実
験と酵母 two-hybrid 法実験から得られた両結果の関連性を明確にして、内分泌かく乱
性スクリーニング法としての魚鱗培養システム系の評価を行い、PAH 類のリスクを考
察する。

平成20年度研究計画:

* PAH 類のエストロゲン様/抗エストロゲン作用と構造活性相関

PAH 誘導体(水酸化体、ケトン体、キノン体)及び対照化合物(ノニルフェノー
ル、オクチルフェノール、ビスフェノール A、DDT 類(*p,p'*、*o,p'*、*p,p'*))について、
エストロゲン受容体競合試験を実施し、相対値(相対結合強度)を求める。酵母
two-hybrid 法によるエストロゲン様作用/抗エストロゲン作用の強さとの相関を求め、
エストロゲン受容体競合試験の結果と併せて、構造と結合作用の強さとの関係につ
いて、コンピュータソフトを用いてより詳細に解析する。

* PAH 誘導体の魚鱗に対する影響評価

PAH は動物体内で P450 により代謝されると水酸化体になる。そこで、PAH 類を
溶解した水槽中で飼育した魚類(キンギョ)の胆汁を採取し、HPLC-蛍光検出法を
用いて、活性型 PAH 水酸化体が魚類体内で生成していることを確認する。水槽水に
活性型 PAH 水酸化体の親 PAH を添加した場合も、その PAH 水酸化体を用いた *in
vitro* 試験と同様にかく乱作用があるかを、キンギョをもちいた *in vivo* 試験で確認、
解析する。また対照化合物についても同様に実験を行う。魚鱗の *in vitro* 試験により、
PAH 誘導体(ケトン体、キノン体)の骨代謝に対する影響を解析し、酵母 two-hybrid
系における活性との関連を追及する。

平成 20 年度 ExtEND2005 フィージビリティースタディー公募

(1) ExtEND2005 基盤的研究フィージビリティースタディーの実施

環境省では、平成 17 年 3 月に公表した「化学物質の内分泌かく乱作用に関する環境省の今後の対応方針について ExtEND2005」に基づき、基盤的研究及び野生生物の生物学的知見研究を推進している。

今年度以降の新規研究課題候補として、フィージビリティースタディーを公募する。フィージビリティースタディーでは、平成 20 年度研究計画承認後から平成 20 年度末までの約半年で、平成 21 年度以降の研究の実行可能性を検証することとする。

研究内容

原則として、ExtEND2005 に即した研究であること。

野生生物の生物学的知見研究 (5 課題程度)

野生生物において認められた個体(群)の変化やその前兆が異常か否かを評価し、その変化の原因及びメカニズムを把握するための考察研究を行うこととする。

今回公募を行う研究課題を以下に示す。

- 1) 両生類における変化を対象とした研究(例えば、カエル類の生殖・発生異常など)
- 2) は虫類における変化を対象とした研究(例えば、カメ類の生殖・発生異常など)
- 3) 鳥類における変化を対象とした研究(例えば、水鳥類の生殖・発生異常など)
- 4) ほ乳類における変化を対象とした研究(例えば、ほ乳類の生殖・発生異常など)

化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究 (3 課題程度)

今回公募を行う研究課題を以下に示す。

- 1) 遺伝子修飾(エピジェネティック)などの新たな内分泌かく乱作用メカニズム解明に関する研究
- 2) メダカにおける変化を対象としたトキシコゲノミクスを応用した化学物質のスクリーニング体系の開発に関する研究
- 3) 試験生物(ミジンコ又はメダカ等)における変化を対象とした構造活性相関(QSAR)を応用した化学物質のスクリーニング体系の開発に関する研究

研究費の規模

1 課題当たり 300 万円程度(平成 20 年度)

採択予定課題数

8 課題程度。

研究期間

基盤的研究企画評価検討部会及び野生生物の生物学的知見検討部会による研究計

画書承認後～平成21年3月31日。

研究成果

今年度の研究進捗状況及び来年度の計画については基盤的研究企画評価検討部会及び野生生物の生物学的知見検討部会合同成果発表会（平成21年3月開催予定）にて発表することとする。発表の内容について、基盤的研究企画評価検討部会及び野生生物の生物学的知見検討部会で審査を行い、実行可能性が高いと判断された研究については、基盤的研究又は野生生物の生物学的知見研究として平成21年度以降も研究を継続することが可能である。

(2) 応募要件

提出物

- 1) 平成20年度 EXTEND2005 フィージビリティースタディー研究応募票（参考：記載例）
- 2) 研究概要を説明するパワーポイント資料（スライド6～8枚程度、発表時間として5分程度）

応募受付期間

平成20年8月5日(火)～9月24日(水)

提出先

ehs@env.go.jp

(3) 研究課題の採択

応募要件を満たした研究課題について、基盤的研究企画評価検討部会及び野生生物の生物学的知見検討部会の合同検討部会（平成20年10月東京にて開催予定。非公開）において審査を行う。その際、応募者には、合同検討部会委員のヒアリングを受けていただく場合がある。ヒアリングの詳細については、別途メールにて連絡する。なお、応募者が参加出来ない場合には、代理人の参加も可とする。さらに、応募者多数の場合は、応募提出物をもとに一次選考する。

(4) 研究課題採択後の流れ

検討委員による審査の後、採択された研究課題については、改めて、合同検討部会からの意見を踏まえた詳細な研究計画書及び詳細な見積書を提出し、基盤的研究企画評価検討部会及び野生生物の生物学的知見検討部会での承認の後、研究を開始することとする。

(5) 公募研究課題ごとの応募研究課題

1) 野生生物の生物学的知見研究課題及び応募研究課題名(計2課題)

両生類における変化を対象とした研究(例えば、カエル類の生殖・発生異常など)

* 応募研究課題なし

は虫類における変化を対象とした研究(例えば、カメ類の生殖・発生異常など)

* 応募研究課題なし

鳥類における変化を対象とした研究(例えば、水鳥類の生殖・発生異常など)

* 応募研究課題名

- ・ 汚染化学物質による野鳥の繁殖・発育障害の実験的検証と個体数減少の推計モデル構築
- ・ 魚食性猛禽類「ミサゴ」の生態とその食物連鎖に関する基礎的研究

ほ乳類における変化を対象とした研究(例えば、ほ乳類の生殖・発生異常など)

* 応募研究課題なし

2) 化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究課題及び応募研究課題名(計5課題)

遺伝子修飾(エピジェネティック)などの新たな内分泌かく乱作用メカニズム解明に関する研究

* 応募研究課題名

- ・ ビスフェノール A 誘発性のエピジェネティック修飾による DOHaD(Developmental Origins of Health and Disease)モデルの検証

メダカにおける変化を対象としたトキシコゲノミクスを応用した化学物質のスクリーニング体系の開発に関する研究

* 応募研究課題名

- ・ メダカの再生産に及ぼす化学物質およびその代謝物の影響とトキシコゲノミクスによる作用機序の解明
- ・ 海産無脊椎動物ホヤを用いたトキシコジェノミクスの基盤研究
- ・ 甲状腺ホルモン攪乱化学物質の *in vitro* 試験と *in vivo* 試験の関連性の検討

試験生物(ミジンコ又はメダカ等)における変化を対象とした構造活性相関(QSAR)を応用した化学物質のスクリーニング体系の開発に関する研究

* 応募研究課題名

- ・ 多環芳香族炭化水素類の内分泌かく乱作用の構造活性相関に基づく魚鱗の化学物質スクリーニング法に関する研究

(参考)

ExTEND2005 における研究の枠組みと今後の研究課題について

【1】ExTEND2005 における研究の枠組みと研究課題

・野生生物の生物学的知見研究

(1) 無脊椎動物類における変化を対象とした研究

- ・アカトンボ減少傾向の把握とその原因究明(実施中)
- ・沿岸域を中心とした湖沼生態系かく乱の実態とそのメカニズムの解明(終了)

(2) 魚類における変化を対象とした研究

- ・野生メダカの性分化異常に関わる基礎的情報の収集と解析(実施中)
- ・東京湾における生態系かく乱の実態解明とその要因解析(実施中)
- ・雌雄同体性魚類の性の可塑性と社会構造に関する研究(終了)

(3) 両生類における変化を対象とした研究

(4) は虫類における変化を対象とした研究

(5) 鳥類における変化を対象とした研究

(6) ほ乳類における変化を対象とした研究

(7) ミクロ生態系における変化を対象とした研究

- ・シャジクモ類の衰退要因解明に向けた環境負荷化学物質の影響に関する生理・生態学的研究(実施中)
- ・農薬がシャジクモ類減少の一因である可能性に関するフィージビリティースタディー(終了)
- ・内分泌かく乱物質の生態影響試験法の開発(終了)

・基盤的研究

1. 個体レベルのアプローチ研究及び細胞・分子レベルのアプローチ研究

(1) 化学物質の生体内における挙動に関する研究

- ・胎仔期、新生仔期の代謝機能と内分泌かく乱作用発現(実施中)

(2) 生殖系以外の標的臓器・機能への作用及び総体としての内分泌系機能への作用に関する研究

- ・核内ホルモン受容体による転写調節における環境化学物質の作用機構(実施中)

(3) DNAマイクロアレイの開発・利用に関する研究

- ・メダカの生殖内分泌系に及ぼす化学物質の内分泌かく乱作用の作用メカニズムに関する研究(実施中)

(4) 受容体及びシグナル伝達系の同定に関する研究、受容体・転写因子等の動態に関する研究及び受容体を介さない生体制御メカニズムに関する研究

- ・胎児期におけるエストロゲンシグナルの gain of function とその性分化の可塑性(実施中)
- ・ステロイド膜受容体を標的とした化学物質の内分泌かく乱作用に関する研究(実施中)
- ・無脊椎動物幼若ホルモン受容体の探索と作用機構の解明(終了)

(5) 細胞・分子レベルでの影響評価に関する研究

- ・ 野生生物のリスク評価を目指した核内受容体リガンドの網羅的解析法の開発（実施中）
- ・ 精子に存在するホスホリパーゼA2活性の阻害を介した環境化学物質の新たな内分泌かく乱作用機構に関する研究（実施中）

(6) 新たな内分泌かく乱作用メカニズムに関する研究

2. 試験法開発に資する基盤的研究

(1) 試験動物の基礎的データの整備及びインビトロ試験結果とインビボ試験結果との関連性に関する研究

- ・ 哺乳類を用いた毒性実験の結果に影響を及ぼす実験動物の遺伝的要因解析（実施中）
- ・ 燃焼排ガスに含まれる多環芳香族炭化水素類の内分泌かく乱作用の評価（終了）
- ・ ツメガエル類の遺伝子に関するデータベース構築に関する研究（試験法開発事業で実施中）
- ・ 両生類の野外及び室内飼育における精巣卵の消長（実施中）
- ・ ミジンコ類の遺伝子に関するデータベース構築に関する研究（作用・影響事業で実施中）
- ・ メダカの遺伝子に関するデータベース構築に関する研究（作用・影響事業で実施中）

(2) バイオマーカーの探索に関する研究

- ・ ビテロジェニンアッセイの標準化に関する研究（試験法開発事業で実施中）

(3) 試験法の開発・検証に関する研究

- ・ 魚類、両生類、無脊椎動物類における内分泌かく乱作用を評価するための手法開発に関する研究（各試験法開発事業及び国際協力事業で実施中）
- ・ 遺伝子導入メダカを用いた内分泌かく乱物質による生殖巣初期変化の把握と回復能力の検討（終了）
- ・ メダカアンドロジェン受容体結合性試験の確立（終了）

(4) 試験対象物質の選定手法に関する研究

【 2 】 EXTEND2005 において今後実施すべき研究課題

・野生生物の生物学的知見研究

野生生物において認められた個体（群）の変化やその前兆が異常か否かを評価し、その変化のメカニズムを把握するための考察研究を行う。その際、実験室内における化学物質の内分泌かく乱作用に関する研究とリンクする野外調査を含むこと。

- (1) 両生類における変化を対象とした研究
- (2) は虫類における変化を対象とした研究
- (3) 鳥類における変化を対象とした研究
- (4) ほ乳類における変化を対象とした研究

・基盤的研究

- (1) 新たな内分泌かく乱作用メカニズムに関する研究
 - 1) 遺伝子修飾（エピジェネティック）などの新たな内分泌かく乱作用メカニズム解明に関する研究
- (2) 試験対象物質の選定手法に関する研究
 - 1) メダカにおける変化を対象としたトキシコゲノミクスを応用した化学物質のスクリーニング体系の開発に関する研究
 - 2) 試験生物（ミジンコ又はメダカ等）における変化を対象とした構造活性相関（QSAR）を応用した化学物質のスクリーニング体系の開発に関する研究