

参考資料 1

H21 第 1 回化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会
09.11.09

資料 1-2

ExTEND2005 に基づく平成 21 年度基盤的研究課題、野生生物の生物学的
知見研究課題及びフィージビリティースタディー研究課題

平成 20 年度に採択された基盤的研究 6 課題、野生生物の生物学的知見研究 3 課題及びフィージビリティースタディー 9 課題の合計 18 課題の平成 20 年度研究成果について ExTEND2005 基盤的研究企画評価検討部会及び ExTEND2005 野生生物の生物学的知見研究検討部会による合同検討部会に設置した評価会議（平成 21 年 3 月 17 日開催、非公開）において評価を行い、研究の継続または終了、予算規模、ExTEND2005 において実施している他の枠組みへの移動等についての検討を行った。その結果、18 課題のうち、平成 21 年度の基盤的研究として 6 課題、野生生物の生物学的知見研究として 3 課題及びフィージビリティースタディーとして 5 課題を採択した。

また、平成 21 年度も来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こととした。

平成 21 年度フィージビリティースタディーの公募を行い、その結果 6 件の応募があった。応募された 6 件の研究課題候補について ExTEND2005 基盤的研究企画評価検討部会及び ExTEND2005 野生生物の生物学的知見研究検討部会によるヒアリング及び評価会議（平成 21 年 8 月 17 日及び 19 日に検討部会ごとに開催、非公開）において評価を行い、その結果として 4 課題を採択した。

なお、採択課題の平成 21 年度成果については、「合同成果発表会」を平成 21 年度末に公開で開催し、評価を行うこととした。

1. 平成 21 年度基盤的研究採択課題

平成 21 年度については下記 6 課題について採択した。研究内容については、ExTEND2005 基盤的研究企画評価検討部会及び ExTEND2005 野生生物の生物学的知見研究検討部会による合同検討部会での協議の上、決定した。

基盤 1：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

基盤 2：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

基盤 3：胎仔期、新生仔期の代謝機能と内分泌かく乱作用発現

基盤 4：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

基盤 5：野生生物のリスク評価を目指核内受容体リガンドの網羅的解析法の開発

基盤 6：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

2. 平成 21 年度野生生物の生物学的知見研究採択課題

平成 21 年度については下記 3 課題について採択した。研究内容については、ExTEND2005 基盤的研究企画評価検討部会及び ExTEND2005 野生生物の生物学的知見研究検討部会による合同検討部会での協議の上、決定した。

野生 1：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

野生 2：アカトンボ減少傾向の把握とその原因究明

野生 3：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

3. 平成 21 年度フィージビリティースタディー採択課題

3. 1. 継続課題

平成 20 年度にフィージビリティースタディー研究課題として実施した以下の 5 課題については、本年度もフィージビリティースタディー研究課題として採択した。研究内容については、ExTEND2005 基盤的研究企画評価検討部会及び ExTEND2005 野生生物の生物学的知見研究検討部会での協議の上、決定した。

20FS 1（野生）：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

20FS 2（基盤）：化学物質誘発性のエピジェネティック修飾による DOHaD モデルの検証

20FS 3（基盤）：メダカの再生産に及ぼす化学物質及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

20FS 4（基盤）：海産無脊椎動物ホヤのトキシコゲノミクス基盤研究と生態調査

20FS 5（基盤）：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

3. 2. 平成 21 年度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 21 年度フィージビリ

ティースタディーを公募した（公募要綱については別紙参照）。

その結果として、全6件の応募があった。公募を行った研究課題ごとの応募研究課題を以下に示す。

（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3課題）

- 1) 無脊椎動物類における変化（例えば、生殖・発生異常など）を対象とした研究（なお、対象生物としては、OECDにおいて検討されている化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験対象種（ミジンコ類、コペポダ類、アミ類、ユスリカ類）を優先します。）

*応募研究課題名

- ・ 底生甲殻類の成長や成熟に見られる異常のスクリーニングと環境の影響評価に関する研究
- ・ 改良型ミジンコ繁殖毒性試験を用いた新たな数理生態学的解析手法の検討

- 2) 魚類における変化（例えば、生殖・発生異常など）を対象とした研究（なお、対象生物としては、OECDにおいて検討されている化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験対象種（トゲウオ類）を優先します。）

*応募研究課題名

- ・ 硬骨魚イトヨのスピギン（環境アンドロゲンバイオマーカー）の合成に関する研究

（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3課題）

- 1) 化学物質の内分泌かく乱作用が免疫系に及ぼす影響に関する研究

*応募研究課題名

- ・ 糖質コルチコイド受容体（GR）を介した内分泌かく乱作用の生体影響評価

- 2) OECDにおいて検討されている化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験対象種（ミジンコ類、コペポダ類、ユスリカ類、アミ類、メダカ類、トゲウオ類）における内分泌かく乱影響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

- ・ 構造活性相関に基づくステロイド膜受容体作用物質群の同定
- ・ 無脊椎動物における生殖・発生異常とその発生メカニズム

3. 3. 新規採択課題

応募された6件の研究課題候補について ExTEND2005 基盤的研究企画評価検討

部会及び ExTEND2005 野生生物の生物学的知見研究検討部会によるヒアリング及び評価会議（平成 21 年 8 月 17 日及び 19 日に検討部会ごとに開催、非公開）において評価を行い、その結果として下記の 4 課題を採択した。

研究内容については、ExTEND2005 基盤的研究企画評価検討部会及び ExTEND2005 野生生物の生物学的知見研究検討部会での協議の上、決定した。

- 21FS 1 (野生) : 底生甲殻類の成長や成熟に見られる異常のスクリーニングと環境の影響評価に関する研究
- 21FS 2 (野生) : 改良型ミジンコ繁殖毒性試験を用いた新たな数理生態学的解析手法の検討
- 21FS 3 (基盤) : 構造活性相関に基づくステロイド膜受容体作用物質群の同定
- 21FS 4 (基盤) : 無脊椎動物(アミ類)における生殖・発生異常とその発生メカニズム

平成 21 年度 ExTEND2005 フィージビリティースタディー公募要綱

1. ExTEND2005 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ます。

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します。フィージビリティースタディーでは、平成 21 年度研究計画承認後から平成 21 年度末までに、平成 22 年度以降の研究の実行可能性を検証することとなっております。

① 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（2 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します。

今回公募を行う研究課題を以下に示します。

1) 無脊椎動物類における変化（例えば、生殖・発生異常など）を対象とした研究（なお、対象生物としては、OECD において検討されている化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験対象種（ミジンコ類、コペポダ類、アミ類、ユスリカ類）を優先します。）

2) 魚類における変化（例えば、生殖・発生異常など）を対象とした研究（なお、対象生物としては、OECD において検討されている化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験対象種（トゲウオ類）を優先します。）

○ 化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究（2 課題程度）

今回公募を行う研究課題を以下に示します。

1) 化学物質の内分泌かく乱作用が免疫系に及ぼす影響に関する研究

2) OECD において検討されている化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験対象種（ミジンコ類、コペポダ類、ユスリカ類、アミ類、メダカ類、トゲウオ類）における内分泌かく乱影響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

② 研究費の規模

1 課題当たり 300 万円程度（平成 21 年度）。

③ 採択予定課題数
4 課題程度。

④ 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研究検討部会による研究計画書承認後～平成 22 年 3 月 31 日。

⑤ 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研究検討部会合同成果発表会(平成 22 年 3 月開催予定)にて発表することとします。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研究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 22 年度以降も研究を継続することが可能です。

2. 応募要件

1) 提出物

1) 平成 21 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)

② 応募受付期間

平成 21 年 5 月 28 日(木)～6 月 30 日(火)

③ 提出先

ehs@env. go. jp

※ メールタイトルは「フィージビリティースタディー応募(所属・氏名)」としてください。また、メールの容量が **2MB** を超える場合は、パワーポイント資料を **CD-R** に記録し郵送してください(6 月 30 日(火)消印有効)。

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研究検討部会の合同検討部会(平成 21 年 7 月東京にて開催予定。非公開)において審査を行います。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ります。ヒアリングの詳細については、

別途メールにて連絡します。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なります。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を行います。

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研究検討部会での承認の後、研究を開始することとなっています。

5. その他

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—」に基づいて取組を進めており、その柱の一つとして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ます。

平成 21 年度は、基盤的研究、野生生物の生物学的知見研究及び平成 20 年度採択フーズビリティースタディーとして別添の研究課題が採択されています。

「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—」に関するより詳しい情報については、環境省ホームページを御参照ください。

<http://www.env.go.jp/chemi/end/extend2005/index.html>

採択した課題の研究概要と平成 21 年度の実施内容

○基盤 1：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

①研究者：(財)残留農薬研究所：青山博昭(代表研究者)、佐藤旭、理化学研究所バイオリソースセンター：吉木淳、目加田和之、農業生物資源研究所：後藤英夫、須藤淳一

②研究概要：前年度までの研究で、(1) 近交系マウスであるC3H/HeN、C57BL/6J及び129S2/SvPasの3系統間にはエストロゲン及びアンドロゲンに対する反応性に明らかな差があること、及び(2) エストロゲンに対する感受性を修飾する有意なQTL遺伝子座が少なくとも2つ存在すること、を確認した。本年度は、子宮内膜上皮及び間質細胞の増殖活性や雄の生殖器官重量についてさらにQTL解析を進めると共に、標的器官より採取したmRNAを用いた遺伝子発現解析を実施して、感受性を修飾する原因遺伝子(群)の同定に努める。また、原因遺伝子(または連鎖マーカー遺伝子)について、生体(耳介または尾の一部)から採取した微量のゲノムDNAサンプルを用いて個体の遺伝子型を判定する技術を確立して、毒性試験の結果を正確に評価する基盤を整備する。

③平成21年度実施内容：

- (1) エストロゲンに対する感受性を修飾する遺伝的要因の解析
- (2) 雄の生殖器官重量を修飾する遺伝的要因の解析

○基盤2：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

①研究者：岐阜薬科大学：中西剛(代表研究者)、吉田一郎

②研究概要：これまでに齧歯類胎盤のgiant cell特異的に発現するPL2のプロモーターを用い、このプロモーター制御下にAromEGFPを発現するAromEGFP-TGマウスを作成している。また昨年度までの研究により、AromEGFP-TGマウスは胎児において高濃度のE2が曝露することができる、優れたモデルマウスになることを確認している。さらに、エストロゲン様化学物質の低用量効果や、内因性エストロゲン曝露におけるAFPの問題を解決するためにERE-MycLUC-TGマウスを作成した。今年度はERE-MycLUC-TGマウスのラインのcharacterizationを行い、胎児期のERの作用部位や作用時期を同定し、胎児期におけるエストロゲンシグナルの影響やエストロゲン様化学物質に対する影響について詳細に検討を行う。

③平成21年度実施内容：

- (1) ERE-MycLUC-TGマウスを用いた胎児期におけるERの標的部位の同定
- (2) 胎児期におけるエストロゲン様化学物質の低用量効果の真偽

○基盤3：胎仔期、新生仔期の代謝機能と内分泌かく乱作用発現

①研究者：広島大学大学院 医歯薬学総合研究科：太田茂(代表研究者)、古武弥一郎、杉原数美、日本薬科大学 健康薬学科：北村繁幸

②研究概要：化学物質による内分泌かく乱作用でもっとも懸念されているのが胎児期、新生児期における影響である。昨年度までの研究により、胎仔期、新生仔期におけるラット肝薬物代謝酵素(cytochrome P450：CYP)活性は極めて低く、成長に伴い上昇すること、また精製飼料で飼育したラットでは、CYP分子種により活性上昇があまり認められず、食餌成分により誘導される分子種が存在することを明らかにした。

本年度は、胎仔期、新生仔期における食餌成分や環境化学物質曝露による影響をDNAアレイや尿や血清のメタボロミクス解析を行い、網羅的に調べることにより影響を受ける変動因子を検索する。また、胎仔期、新生仔期における食餌・環境化学物質影響の成長後の不可逆性についても調査する。

③平成21年度実施内容：

- (1) 胎仔期、新生仔の食餌成分と化学物質曝露による生体影響調査
- (2) 化学物質の代謝による内分泌かく乱作用の(不)活性化

○基盤4：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

①研究者：群馬大学大学院 医学系研究科：鯉淵典之(代表研究者)、岩崎俊晴、下川哲昭

②研究概要：甲状腺ホルモン(TH)受容体(TR)を中心とした核内受容体への低用量の環境化学物質による作用を、臭素化化合物を中心に、レポーターアッセイ等のインビトロ実験系を用いて解析してきた。昨年度までで、インビトロでの転写調節への作用に関する解析は、ほぼ一段落したため、インビトロ実験は論文投稿に向けての補助的な実験にとどめ、本年度は細胞レベルでの実験を中心に、インビトロ実験で確認した現象により細胞内の情報伝達系の変化や細胞形態形成の変化が実際に生じているのか、更には個体レベルでの変化はないかを解析する。

③平成21年度実施内容：

- (1) 小脳初代培養細胞におけるTHを介する神経細胞発達への環境化学物質の影響の解析
- (2) rdwラットを用いた甲状腺機能を様々に変化させた際の環境化学物質の影響の解析

○基盤5：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

①研究者：愛媛大学 沿岸環境科学研究センター：岩田久人(代表研究者)、金恩英

②研究概要：鳥類に関しては、カワウ・アホウドリのAHR1及びAHR2 全長cDNAクローンをCOS-7細胞に導入した*in vitro* AHRレポーター遺伝子アッセイ系を用い、AHRアイソフォーム毎にダイオキシン類各同族・異性体の用量 - 応答反応を測定する。得られた用量 - 応答曲線より各同族・異性体の最小影響濃度 (LOEL) や半影響濃度 (EC_{50}) を求める。さらに各同族・異性体の EC_{50} 値からAHRアイソフォーム毎に標的遺伝子転写誘導能等価係数 (IEF) を導く。また、魚類・爬虫類などの各AHRアイソフォームや、ニワトリで新たに同定した新規AHRアイソフォーム (2nd AHR1) に関する研究にも着手する。加えて、ダイオキシン類に対するAHRシグナル伝達反応を種間で比較し、種差を規定する分子メカニズムについても解析する。

平成 21 年度は 20 年度に構築した化学物質と核内レセプター (AHR・CAR・PXR・PPAR) の直接的な相互作用を検出する系を利用して、多様な環境汚染物質のスクリーニングを行う。環境汚染物質として、PCB・DDT などの POPs、ダイオキシン類、ポリ臭素化ジフェニールエーテル・ヘキサブROMシクロドデカンなどの有機臭素系難燃剤、パーフルオロオクタンスルホン酸及びテロマーアルコール類などの有機フッ素化合物を対象とする。また、内因性のリガンド候補物質 (エイコサノイド・ステロイド・コレステロール・胆汁酸・レチノイドなど) についても試験対象とする。

③平成21年度実施内容：

- (1) ダイオキシン類による AHR アイソフォーム特異的シグナル伝達系かく乱能の解析
- (2) 表面プラズモン共鳴センサーグラムを用いたハイスループットスクリーニングアッセイ法による核内レセプターリガンド候補化学物質の探索

○基盤6：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

①研究者：自然科学研究機構 基礎生物学研究所：長濱嘉孝(代表研究者)、Bindhu Paul-Prasanth

②研究概要：本研究では、20年度までに稚魚期の雌雄メダカを性ホルモン（エストラジオール-17βとメチルテストステロン）や魚類に対し内分泌かく乱作用を有すると推察された物質（DES、4-nonylphenol）で処理した後の生殖腺における遺伝子発現パターンをマイクロアレイで解析した。その結果、特に遺伝的雌（XX）の生殖腺に対するDESの比較的長期間の影響について興味ある結果が得られた。平成21年度は、昨年度と同様に主としてDESについて解析を進める。1）受精直後から孵化後1～2ヶ月にわたって0.1 ng/mlのDESで処理するグループ、及び2）DES（1 ng/ml）処理とエストラジオール-17β（1 ng/ml）処理を受精後のいろいろな期間にわたり行う。これらの全てのDES処理群、エストラジオール-17β処理群、及び対照群について、GSI、生殖細胞数、減数分裂に移行した生殖細胞数、卵巣腔の形成の有無等を判定するとともに、マイクロアレイ解析（このマイクロアレイには成魚の脳、卵巣、精巣、初期生殖腺、初期発生過程の組織からのESTでトータル30万に及ぶシークエンスが搭載されており、これによってcDNA分子種の網羅度を格段に高めることができる）、real time PCRやin situ hybridization等を行い、DES処理とエストラジオール-17βにより発現を変動する遺伝子を網羅的に、さらに詳細に解析することにより、DES処理とエストラジオール-17β処理の影響の違いを明らかにする。

③平成21年度実施内容：

（1）DES処理とエストラジオール-17βにより発現を変動する遺伝子の網羅的詳細解析

○野生1：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

①研究者：新潟大学大学院 自然科学系：濱口哲(代表研究者)、酒泉満

②研究概要：メダカ野生集団中のXY雌、XX雄個体の出現原因を遺伝学、発生生物学的見地から検討した。これまでに、XY雌の原因は主として*DMY*遺伝子の突然変異、XX雄は常染色体上の遺伝子の多型性による、また、胚の高温処理やエストロゲン処理による性転換に関しても種内に遺伝的多型性が存在することが明らかになっている。今年度も、野生メダカを1,200匹以上採集して、XX雄、XY雌を検出、遺伝学的検討を行う。また、今年度は、野生集団探索に加え、化学物質感受性に関する遺伝的多型性を検討する目的で、アンドロゲンによるXX個体の雄化性転換率の近交系間の差の検討を行うと共に、野生集団から複数の雌雄ペアを作り、そのF1集団間での性転換率を検討することにより、野生メダカ集団中に、感受性が異なる個体（感受性に関わる遺伝子の多型）が存在している可能性を実験的に明らかにする。さらに、これまでの研究結果を踏まえ、野生メダカの性的可塑性について総括する。

③平成21年度実施内容：

- (1) 野生メダカの性転換個体の探索とその原因の解析
- (2) ステロイドによる性転換に関する遺伝的多型性の検討

○野生2：アカトンボ減少傾向の把握とその原因究明

①研究者：石川県立大学 生物資源環境学部：上田哲行(代表研究者)、宮城大学 食産業学部：神宮字寛、愛媛大学 農学部：日鷹一雅、国立環境研究所：五箇公一、東京農工大学：渡邊裕純

②研究概要：これまでの研究により、水田依存性のアカトンボ類の最近の急激な減少は、育苗箱に使用される浸透性殺虫剤によって引き起こされている可能性の高いことが明らかになってきた。また、圃場整備による乾田化が、中干しが行われる地域では、羽化直前の幼虫生存率を大きく低下させていることも明らかになった。地球温暖化に伴う競合種（捕食者であり競争種でもある熱帯性のウスバキトンボ）の増加やアキアカネにおける越冬場所の縮小も可能性のある要因として浮かび上がってきた。この研究では、これらの要因群を広く視野に入れながら、緊急の課題として育苗箱施用浸透性殺虫剤の影響に焦点を当て、1つには実験的手法でリスク評価を行う。また一方で、実験室での結果が必ずしもそのまま実際の圃場において反映されないこともあるため、生態学的、疫学的観点から野外での調査も実施する。その際、殺虫剤の影響ばかりでなくほかの要因による影響についても定量的に検討し、アカトンボの生活史を通して、個体数減少に対するそれぞれの要因の相対的な寄与率を把握するよう努める。本年度は北信越地方で生じている著しいアキアカネ個体数の地域差の生成プロセスを把握することも重要な目標とする。

③平成21年度実施内容：

(1) アキアカネ個体数の地域差の把握とその生成プロセスの解明

○野生3：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

①研究者：筑波大学大学院：白岩善博(代表研究者)、神戸大学大学院：坂山英俊

②研究概要：野生絶滅種・絶滅危惧種シャジクモ類に対する環境負荷化学物質（農薬、富栄養化をもたらす栄養塩、魚類に対し内分泌かく乱作用を有すると推察された物質等）の影響について、光合成活性を指標としてその短期的影響について解析する。現存するシャジクモ類の生態観察及び生育状況の調査を行い、自然界における生殖器官形成について観察する。それらのデータを参考に、実験室内における培養を行い、シャジクモの生殖器官形成の制御要因を明らかにする。それに基づき、シャジクモの生育と生殖器官形成に及ぼす環境負荷化学物質（農薬、富栄養化をもたらす栄養塩、魚類に対し内分泌かく乱作用を有すると推察された物質等）の長期的影響について解析する。光合成に対する短期的影響並びに培養実験による長期的影響に関する研究成果を総合して、シャジクモ類衰退の原因及び現在におけるシャジクモ繁殖を阻害している原因物質を特定する。

③平成21年度実施内容：

- (1) 光化学系II活性～光合成CO₂固定活性を包含する光合成活性の評価
- (2) 長期的影響（成長や精子・卵胞子形成への影響等）の評価

○20FS 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

①研究者:岩手県立大学 盛岡短期大学部:千葉啓子(代表研究者)、岩手県立大学 総合政策学部:由井正敏、平塚明、岩手大学 工学部:海田輝之、岩手医科大学サイクロトロンセンター:世良耕一郎、いであ(株) 環境創造研究所:荳木洋一

②研究概要:岩手県内陸部のダム湖近傍を生息地とするミサゴを対象に、その生息状況、繁殖状況及び採餌行動等の情報の収集を実施するとともに、ミサゴの生息環境中に存在する魚類に対し内分泌かく乱作用を有すると推察された化学物質が捕食対象魚類から食物連鎖を介し、高次捕食者であるミサゴに生物濃縮するか否かを観察することにより、ミサゴの生息状況や繁殖行動に及ぼす環境中の有害化学物質による影響を検討する。本年度の研究は主としてミサゴの幼鳥からの血液及び羽毛等の試料採取と試料中の魚類に対し内分泌かく乱作用を有すると推察された化学物質を分析し、前年度の魚類中の値との関連を検討する。

③平成21年度実施内容:

- (1) ミサゴ試料中の内分泌かく乱作用を有する化学物質等の検討
- (2) ミサゴ-捕食魚類間での内分泌かく乱作用を有する化学物質等の影響の検討

○20FS 2 : 化学物質誘発性のエピジェネティック修飾による DOHaD モデルの検証

①研究者：東京大学大学院 医学系研究科：大迫誠一郎(代表研究者)

②研究概要：これまでに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（C57BL/6J）に12日間連続経口投与し、生まれた成熟個体の臓器（大脑海馬、前立腺、肝臓）を採取した。本年度はRNAを採取してmRNAの発現プロファイルを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。プロモーターアレイを用いた全ゲノムレベルの網羅的解析を行う。このデータを、対照群と化学物質曝露群とで比較することにより、胎生期化学物質曝露による変動の網羅的データを得る。同時に同じ臓器においても発現アレイ解析も行い、ChIP on Chip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。

③平成21年度実施内容：

（1）胎生期化学物質曝露により変動する遺伝子の網羅的解析

○20FS 3 : メダカの再生産に及ぼす化学物質及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

①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

②研究概要：本研究課題では、有機フッ素化合物の潜在的汚染源であるフッ素テロマーアルコール (FTOHs) 及びその代謝物ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) を対象として、メダカ (*Oryzias latipes*) の再生産に及ぼす影響を評価し、トキシコゲノミクスによる作用機序の解明を目指すことを目的としている。平成20年度には8:2 FTOH及びその代謝物PFOAは生殖・生理やステロイドホルモン代謝に関与する遺伝子群の発現に影響することが明らかとなり、それら潜在的な作用機序に関する知見を集積することができた。平成21年度は、8:2 FTOHの長期曝露試験により繁殖及び次世代影響を明らかにする。併せてメダカの再生産に及ぼす環境化学物質及びその代謝物の影響を8:2 FTOH及びその代謝物PFOAで得られた知見との比較から行う。具体的にはノニルフェノール (NP) やビスフェノールA (BPA) 等の代謝物などの作用を明確化し、再生産及び次世代影響における作用濃度を明らかにする。

③平成21年度実施内容：

(1) 8:2 FTOHの長期曝露試験による繁殖および次世代影響の解明

○20FS 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

①研究者：北海道大学大学院 薬学研究院：安住薫(代表研究者)

②研究概要：ホヤを対象動物として、海洋汚染化学物質が海産動物に与える影響を把握するための総合的な解析基盤の確立を目指す。具体的には以下の課題に取り組む。1) 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し、化学物質に暴露したホヤ体内で生じる遺伝子発現プロファイルから、種々の化学物質がホヤに与える生物学的影響を予測する。2) ホヤの受精卵とおたまじゃくし幼生を用いて、海産動物の胚発生や変態に対する化学物質の影響を一度に多数スクリーニングできるハイスループットバイオアッセイ系を開発する。さらに、日本沿岸に生息しているホヤの生息数、病気や奇形の有無に関するWebアンケート調査の実施、及びいくつかの化合物種について野生ホヤ体内の蓄積量の化学分析を実施することによって、日本沿岸域におけるホヤの生態と化学物質汚染状況の実態を把握する。

③平成21年度実施内容：

- (1) 胚発生と変態のハイスループットなアッセイ系の開発
- (2) 日本沿岸のホヤの生態調査及び化学分析

○20FS 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、京都薬科大学：細井信造

②研究概要：本研究では、独自に開発した魚(キングョ)鱗培養システムを用いてPAH類の骨に対する影響を評価し、酵母two-hybrid法と鱗の培養システムとを比較して、両者の関連性を解析する。本年度は、アッセイ系の感度を向上させ、さらに*in vivo*での試験も実施する。

③平成21年度実施内容：

- (1) 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
- (2) PAH誘導体の魚鱗に対する影響評価

○21FS 1：底生甲殻類の成長や成熟に見られる異常のスクリーニングと環境の影響評価に関する研究

①研究者：岡山大学 理学部：三枝誠行(代表研究者)、岡山県水産試験場 栽培漁業センター：増成伸文、水産総合研究センター 日本海区水産研究所：高田宜武

②研究概要：海洋の富栄養化が進むと、干潟への軟泥層（ヘドロ）の蓄積が起こる。軟泥層の原因となる海中を漂う微粒子には、生物の成長や生殖に影響を及ぼす化学物質が多く含まれ、浚渫等による海底攪乱は生物の生存に深刻な影響を与えるだろう。本研究は、底生甲殻類のアナジャコ類を対象に、地域個体群の正常な成長過程の解析を行う一方、形態・成熟・発生の異常に関わる環境因子の特定と、内分泌機構の解明をめざす。

③平成21年度実施内容：

- (1) アナジャコ類の正常な成長過程の追跡と、成長や成熟に影響する環境因子の特定。
- (2) 奇形発現のスクリーニングによる疑わしい誘発因子の探索。

○21FS 2 : 改良型ミジンコ繁殖毒性試験を用いた新たな数理生態学的解析手法の検討

①研究者：国立環境研究所 環境リスク研究センター：田中嘉成(代表研究者)、鑑迫典久

②研究概要：ミジンコの繁殖阻害試験（OECD TG211）のデータを基にして生態系におけるポピュレーションダイナミクスを解析した例は多数あるが、母系からの影響、産仔仔虫性比の影響、スパイク曝露と連続曝露の違い、回復性試験などの結果について数理的考察を加えて生態リスクを解析した例はほとんどない。試験法の条件設定の妥当性およびその解析法を融合させた、環境リスク評価に有効な新規手法を検討する。

③平成21年度実施内容：

（1）数理モデルによるシミュレーションに必要となる繁殖毒性試験データの収集

○21FS 3 : 構造活性相関に基づくステロイド膜受容体作用物質群の同定

①研究者：静岡大学 理学部：徳元俊伸(代表研究者)

②研究概要：新たに見つかったステロイド膜受容体を介したステロイドのノンゲノミック反応を標的とした内分泌かく乱作用について、作用物質群の構造活性相関解析から作用に必要な化学構造を決定し、化学物質の安全性評価の指標を確立する。そのためのアッセイ系として既に確立した培養細胞系をベースに用いるが、ハイスループットなアッセイ系として活性を有するリコンビナト膜受容体を用いたリアルタイム相互作用解析系の確立を進める。

③平成21年度実施内容：

- (1) ステロイド膜受容体への結合性を示す3種類の構造をもつ類似体の構造活性相関解析
- (2) 酵母株 (Pichia) を用いたステロイド結合能を有するリコンビナトタンパク質の大量合成

○21FS 4：無脊椎動物(アミ類)における生殖・発生異常とその発生メカニズム

①研究者：熊本県立大学 環境共生学部：古賀実(代表研究者)、有菌幸司、内田雅也

②研究概要：実環境中において、化学物質が生物に与える影響を検討するために、化学物質曝露の寄与が高いと想定される海域（汽水域～沿岸海域）での天然のアミ類の外観異常調査および水中の化学物質濃度を調べる。また、OECD試験法に検討されている水生無脊椎動物の甲殻類オオミジンコ *Daphnia magna* 及びアミ *Americamysis bahia* をモデル生物とし、昆虫成長制御として知られる脱皮ホルモン（エクジステロイド）様物質や幼若ホルモン様物質を陽性対照として物質特異的な作用を明らかにする。次に、工業用化学物質で内分泌かく乱作用が指摘されているノニルフェノール（NP）やビスフェノールAの関連化合物群（約20種）を用いて生殖や発育異常の原因解明を試みる。日本では主にオオミジンコ（*D. magna*）について内分泌かく乱に関する多くの試験法が開発されている。しかし、米国では主にアミ（*A. bahia*）が無脊椎動物の試験法として使用される場合が多い。そこでアミを中心にNPやビスフェノールAの関連化合物群（約20種）を用いて生殖や発育異常の原因解明に併せて、化学物質に対する生態影響を検討し、甲殻類の毒性試験法の標準化の一助とする。

③平成21年度実施内容：

- (1) NPおよびビスフェノールAの関連化合物群（約20種）のアミに対する急性毒性試験
- (2) アミの脱皮を指標とした成長・成熟試験法の確立及び内分泌かく乱化学物質への適用
- (3) 発生・脱皮・生殖に関与する生体分子の単離及び測定系の確立