

平成25年度野生生物の生物学的知見研究及び 化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究について

1. 昨年度の実施状況（詳細は資料1-2参照）

EXTEND2010では、これまでExTEND2005のもとで実施してきた、公募により研究課題を募集し、有識者により構成される野生生物の生物学的知見研究検討部会及び基盤的研究企画評価検討部会により課題の採択及び研究成果の評価を行うという枠組みについては、基本的に踏襲することとしている。但し、研究課題の設定や採択にあたっては、行政としての目標やニーズを明確に反映させた課題を設定し、行政施策の検討に活用することを念頭に置いて、環境リスク評価の進展に寄与し得る研究課題を優先的に選定することとし、必要に応じて「指定研究」の形で課題を設定する等の見直しを行うこととしている。

平成24年度には野生生物の生物学的知見研究2課題、化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究8課題及びその他の関連研究2課題の合計12課題を実施した。その研究成果について、EXTEND2010野生生物の生物学的知見研究検討部会及びEXTEND2010基盤的研究企画評価検討部会により合同で開催した評価会（平成25年3月19日開催、非公開）において評価を行った。

その結果を受け、平成25年度に実施する研究課題として、野生生物の生物学的知見研究2課題、化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究3課題及びその他の関連研究課題2課題を選定した。

2. 今年度の取組

今年度、実施する研究課題について、以下に示す。

（1）野生生物の生物学的知見研究及び化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究

平成24年度に実施された研究成果の評価を行った上で選定された以下の5課題について、研究を実施する（別紙1参照）。

野生1：ボラ・マハゼ・二枚貝を用いた日本沿岸域における底質蓄積性化学物質の生物影響の解明

野生2：野生の歩哨動物 *Rattus* sp.を用いた環境化学物質による野生動物のゲノム・ストレスと適応の検証

基盤1：易代謝性化学物質の体内動態と次世代への影響に関する研究

基盤2：ツメガエル変態アッセイを用いた甲状腺ホルモンかく乱化学物質のスクリーニ

ングシステム開発

基盤3：医薬品等糖質コルチコイド様物質による環境汚染レベルの把握と生態影響評価

(2) フィージビリティースタディー研究

EXTEND2010 に基づく野生生物の生物学的知見研究及び化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究の実施につながる研究課題候補として、平成25年度化学物質の内分泌かく乱作用に関するフィージビリティースタディーを公募した（別紙2参照）。

応募のあった13件の研究課題候補（別紙3参照）について、EXTEND2010 野生生物の生物学的知見研究検討部会及びEXTEND2010 基盤的研究企画評価検討部会による合同ヒアリング及び合同評価会（平成25年7月25日開催、非公開）において評価を行い、2課題程度を採択する予定である。

(3) その他の関連研究課題

野生生物の生物学的知見研究及び化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究の他に、EXTEND2010 を進めるに当たり必要と考えられる2課題について、研究を実施する（別紙1参照）。

課題1：生物蓄積性内分泌かく乱候補物質によるわが国の野生生物汚染の実態解明

課題2：ミジンコにおける内分泌かく乱作用メカニズムの解析

3. 今後の進め方（案）

- ・今年度実施する研究課題については、今年度末にEXTEND2010 野生生物の生物学的知見研究検討部会及びEXTEND2010 基盤的研究企画評価検討部会による研究成果合同ヒアリング（非公開）を開催して成果についての評価を行い、来年度の研究の継続の可否を判断する。
- ・来年度以降に募集する研究課題については、両部会において検討する。

野生生物の生物学的知見研究検討部会
委員名簿

(敬称略)

氏名	所属・役職
門上希和夫	北九州市立大学 国際環境工学部 教授
川合眞一郎	甲子園大学 栄養学部 フードデザイン学科 特認教授
五箇公一	国立環境研究所 生物・生態系環境研究センター 主席研究員
田辺信介	愛媛大学 沿岸環境科学研究センター 化学汚染・毒性解析部門 特別名誉教授
椿 宜高	京都大学 名誉教授

基盤的研究企画評価検討部会
委員名簿

(敬称略)

氏名	所属・役職
井口泰泉	自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター 生命環境研究領域 教授
小山次朗	鹿児島大学 水産学部 海洋資源環境教育研究センター長 教授
遠山千春	東京大学大学院 医学系研究科 附属疾患生命工学センター 健康・環境医工学部門 教授
永沼 章	東北大学大学院 薬学研究科 教授
山田智也*	住友化学株式会社 生物環境科学研究所 研究グループ 上席研究員
渡辺知保	東京大学大学院 医学系研究科 国際保健学専攻 人類生態学分野 教授

*新任

平成 25 年度に採択した課題の研究概要と実施内容

野生 1 : ボラ・マハゼ・二枚貝を用いた日本沿岸域における底質蓄積性化学物質の生物影響の解明 (H23~)

- (1) 研究者：長崎大学大学院：征矢野清(代表研究者)、長江真樹、高尾雄二
- (2) 研究概要：人間活動の影響を受けやすい河口域や内湾沿岸域において、底質蓄積性化学物質が海洋生物の生理現象に及ぼす影響を、環境中の化学物質分析と分子生物学的手法を含む繁殖生理学的アプローチにより把握することを目的とする。また、過去に実施されたフィールド調査の結果と比較検討し、化学物質汚染の変遷と現状の評価を行う。
- (3) 平成25年度実施内容：
- ①フィールド調査
 - ②長崎港をモデルとした局所汚染の実態調査並びに化学物質影響の季節変化解明
 - ③環境中の存在するエストロゲン様物質の再検討
 - ④ムラサキガイを用いた環境影響評価法の確立

野生 2 : 野生の歩哨動物 *Rattus sp.*を用いた環境化学物質による野生動物のゲノム・ストレスと適応の検証 (H23~)

- (1) 研究者：北海道大学大学院：石塚真由美(代表研究者)、池中良徳、中山翔太
- (2) 研究概要：野生動物が内分泌かく乱化学物質によって受ける様々なゲノム・ストレスについて、歩哨動物となる野生のラット属を用いて明らかにする。ゲノムのメチル化やDNA付加体、トランスクリプトーム解析を行い、ばく露化学物質やそのレベルとの関連性を解析する。また、汚染下に起こり得るゲノム変異についても解析する。本研究で高次の陸棲哺乳類に対する内分泌かく乱化学物質のゲノムへの影響及びゲノムの修飾により起こり得る内分泌かく乱に関する分子疫学的データが明らかとなる。
- (3) 平成25年度実施内容：
- ①国内の野生ラットの採集
 - ②汚染物質の解析
 - ③野生ラットの解析にあたりベースとなる必要データの解析
 - ④野生ラットにおける分子疫学的解析
 - ⑤フィールドスタディーの基盤形成と検証のための室内実験

基盤1：易代謝性化学物質の体内動態と次世代への影響に関する研究（H22～）

- (1) 研究者：酪農学園大学：岩野英知(代表研究者)、横田博、井上博紀
- (2) 研究概要：母体が化学物質にばく露を受けた後、これらの化学物質が胎児に到達するまでの体内動態の解明、化学物質ばく露が引き起こす代謝変化の解析及びそれによって生ずる健康影響の予測を本研究の焦点に定める。計画の最終年度に当たる平成25年度は、複合的に易代謝性化学物質の健康影響メカニズムを解明すると同時に、これらの研究手技を応用した化学物質のリスク評価系を確立する。併せて、得られた知見を取りまとめ、国際誌に投稿する
- (3) 平成25年度実施内容：
 - ①母体が化学物質にばく露を受けた後、これらの化学物質が胎児に到達するまでの体内動態の解明
 - ②化学物質ばく露が引き起こす代謝変化の解析及びそれによって生ずる健康影響の予測

基盤2：ツメガエル変態アッセイを用いた甲状腺ホルモンかく乱化学物質のスクリーニングシステム開発（H23～）

- (1) 研究者：広島大学大学院：柏木昭彦(代表研究者)、太田茂、山本卓、柏木啓子、花田秀樹、鈴木賢一
- (2) 研究概要：甲状腺ホルモン(TH)応答性レポータートランスジェニックツメガエルを用いて、THかく乱作用が疑われる化学物質の個体レベルでの生体影響をスクリーニングする方法を開発する。
- (3) 平成24年度実施内容：
 - ①レポータートランスジェニックツメガエルを用いた変態アッセイ
 - ②これまで得られた成果のとりまとめ

基盤3：医薬品等糖質コルチコイド様物質による環境汚染レベルの把握と生態影響評価（H23～）

- (1) 研究者：愛媛大学 沿岸環境科学研究センター：仲山慶(代表研究者)、磯部友彦、国立環境研究所：鈴木剛
- (2) 研究概要：天然及び合成糖質コルチコイド（Glucocorticoids: GCs）の環境モニタリング及び生態影響評価を行う。下水処理場放流水に含まれるGCs及びプロゲステロン等の潜在的GRアゴニストを機器分析及び*in vitro*バイオアッセイの併用でモニタリングし、個

々のGCs及びプロゲステロンの濃度に加え、GC及びプロゲステロン受容体アゴニストの包括的活性値を把握する。包括活性値については、バイオアッセイ/HPLC分画による総合影響評価を行い、機器分析対象物質以外の未同定のGC様物質の存在を明らかにする。これらのデータと各医薬品の使用実績から、アゴニスト活性値に対する医薬品の寄与を解明する。さらに、環境調査で得られたGCs濃度や包括的活性値をもとに設定するばく露レベルで、魚類へのGCsの濃縮性や免疫系への影響を調査し、現在検出される濃度レベルでのGCsの生態系に与える影響及びそのリスクを評価する。

(3) 平成 25 年度実施内容：

- ①環境中 GCs 等のモニタリング
- ②環境中 GR 及び PR アゴニスト活性の測定
- ③魚類を対象にした GCs の生物影響の評価

その他の関連研究課題 1：生物蓄積性内分泌かく乱候補物質によるわが国の野生生物汚染の実態解明 (H17～)

(1) 研究者：愛媛大学 沿岸環境科学研究センター：田辺信介(代表研究者)、磯部友彦、野見山 桂

(2) 研究概要：生物蓄積性のBFRsとして知られるポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDEs) 及びヘキサブプロモシクロドデカン (HBCDs) に注目し、海洋及び陸域生態系の高次動物をモデル生物として、汚染実態・ばく露量調査・蓄積特性等の解明とリスク評価の課題に取り組んでいる。平成25年度は沿岸域の海棲哺乳動物スナメリに注目し、陸棲及び外洋性高等動物の知見を参照して比較生物学的な解析を深め、野生生物全体の包括的な整理を試みる。

(3) 平成 25 年度実施内容：

- ①汚染の実態解明
- ②蓄積特性の解明
- ③リスク評価

その他の関連研究課題 2：ミジンコにおける内分泌かく乱作用メカニズムの解析 (H17～)

(1) 研究者：自然科学研究機構 基礎生物学研究所：井口泰泉(代表研究者)、宮川信一、荻野由紀子、宮川一志、平川育美

(2) 研究概要：幼若ホルモン類似物質ばく露によるオオミジンコのオス産生の誘導をモデルとして、無脊椎動物における内分泌かく乱作用の分子レベルでのメカニズムの解明を目指す。これにより、拡張版 TG211 生殖試験を分子レベルからサポートすると同時に、

無脊椎動物におけるホルモンと性についての基礎的な知見を得ることを目的とする。

(3) 平成 25 年度実施内容：

- ① 幼若ホルモン受容体と相互作用する下流の因子の探索
- ② ミジンコ類の幼若ホルモン経路を制御する上流因子の探索
- ③ 幼若ホルモン類似物質を選別する簡便化なスクリーニング系の開発とともに、ミジンコの性決定・性分化を制御する内分泌メカニズムと、それをかく乱する化学物質の作用機序の双方に関して統合的な知見を得る。

平成25年度化学物質の内分泌かく乱作用に関するフィージビリティースタディー 公募要綱

I. 化学物質の内分泌かく乱作用に関するフィージビリティースタディーの実施

環境省では、平成22年7月に、化学物質の内分泌かく乱作用に関するこれまでの取組及び諸外国の動向等を踏まえ、環境省の今後5年間の対応の方向性として「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応—EXTEND2010—」*を取りまとめ、これに基づき、野生生物の生物学的知見研究及び化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究を推進してきました。

今般、今後の新規研究課題の候補として、平成25年度に実施する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については、平成25年度研究計画承認後から平成25年度末までの成果を踏まえ、平成26年度以降の研究の実行可能性を検証することとしております。

* http://www.env.go.jp/chemi/end/extend2010/extend2010_full.pdf

1. 研究内容

EXTEND2010 に即した研究であること。

(1) 野生生物の生物学的知見研究

1) 野生生物において認められた個体(群)の変化やその前兆(行動の変化を含む)について化学物質ばく露の関連性を把握する研究

2) 化学物質ばく露がその原因として疑われる野生生物における異変のメカニズムを実験的に検討・検証する研究

※ 対象生物としては、生態毒性試験の対象生物種やその近縁種など、生態系に対するリスクの評価において要となる生物のほか、食物連鎖を通じて化学物質の蓄積が進みやすいほ乳類・鳥類などの高次捕食動物等を優先します。

(2) 基盤的研究

1) 個体(群)レベルのアプローチによる化学物質の内分泌かく乱作用のメカニズムに関する研究

化学物質が有する内分泌かく乱作用による個体(群)レベルでの行動の変化を含む影響について、検出・同定するための技術開発に関する研究。試験動物種ごとに内分泌系が関与している生体調節機能(恒常性)、試験条件や個体差によるそれ

らの変動範囲等の基礎的知見を把握する研究、化学物質の内分泌かく乱作用の検出に活用できるバイオマーカーやエンドポイントの探索等。(脳神経系や免疫系への影響に係る研究も含む)

2)細胞・分子レベルのアプローチによる化学物質の内分泌かく乱作用のメカニズムに関する研究

化学物質が有する内分泌かく乱作用による毒性発現メカニズムの解明に関する実験的研究。遺伝子発現解析技術、タンパク質解析技術(プロテオミクス)、代謝物解析技術(メタボロミクス)などの有用技術を取り入れつつ、エピジェネティクスなども含めた化学物質の内分泌かく乱作用のメカニズムの解明に関する研究等。

3)個体レベルでの有意な変化と細胞・分子レベルでの変化との関連性を把握する研究

4)化学物質による内分泌かく乱作用を(既存の、または新たな)リスク評価及びリスク管理手法に組み込むことを目的とした研究

5)発達段階や感受性の高い個体に対する影響や化学物質の複合ばく露による影響の把握に関する研究

2. 研究費の規模

1 課題当たり 250 万円程度(平成 25 年度)。

3. 採択予定課題数

野生生物の生物学的知見研究及び化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究を合わせて、2 課題程度。

4. 研究期間

野生生物の生物学的知見研究検討部会及び基盤的研究企画評価検討部会による研究計画承認後～平成 26 年 3 月 24 日(月)。

5. 研究成果

今年度の研究成果及び来年度以降の計画案については野生生物の生物学的知見研究検討部会及び基盤的研究企画評価検討部会の研究成果合同ヒアリング(平成 26 年 3 月、東京にて開催予定。非公開。発表者 1 名分の旅費を支給いたします)にて発表することとします。発表の内容について、野生生物の生物学的知見研究検討部会及び基盤的研究企画評価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、

野生生物の生物学的知見研究または化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究として平成26年度以降も研究を継続することが可能です。

II. 応募要件

1. 提出物

(1)平成25年度 化学物質の内分泌かく乱作用に関するフィージビリティースタディー研究応募票(別紙1)

(参考:別紙2記載例)

なお、研究応募票には、応募した課題が「野生生物の生物学的知見研究」または「化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究」のどちらの研究内容に対応するものかを記載してください(応募票に記載する欄があります)。

(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10分程度)

2. 応募受付期間

平成25年5月13日(月)～6月12日(水)

3. 提出先

(事務局)

日本エヌ・ユー・エス株式会社

今関 悠子 / 大泉 葉子 宛

E-mail : EXTEND.01@janus.co.jp

〒160-0023 東京都新宿区西新宿 7-5-25 西新宿木村屋ビル5階

TEL : 03-5925-6740(代表)、FAX : 03-5925-6745

※ 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12日(水)消印有効)。

III. 研究課題の採択

応募要件を満たした研究課題について、野生生物の生物学的知見研究検討部会及び基盤的研究企画評価検討部会の研究計画合同ヒアリング(平成25年6月下旬から7月初頭の時期に東京にて開催予定。非公開。発表者1名分の旅費を支給いたします)において審査を行いますので、応募者には、この場でヒアリングを受けていただきます。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、応募者が参加でき

ない場合には、代理人の参加も可能です。さらに、応募者多数の場合は、応募提出物を基に一次選考を行います。

検討委員による審査の後、採択する研究課題を決定し、結果に応募者に通知します。

IV. 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、野生生物の生物学的知見研究検討部会及び基盤的研究企画評価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。

V. その他

平成24年度には、EXTEND2010に基づき、野生生物の生物学的知見研究、基盤的研究、及びその他の関連研究として別添(別紙3)の研究課題を実施しました。

応募された研究課題

応募された研究課題について、研究区分及び研究内容（テーマ）に従って分類し、以下に示した。

(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）

1) 野生生物において認められた個体(群)の変化やその前兆(行動の変化を含む)について化学物質ばく露の関連性を把握する研究

* 応募研究課題名

- ・ 震災被災地の重油流出による多環芳香族炭化水素類の汚染が野生底生魚類に及ぼす影響評価

2) 化学物質ばく露がその原因として疑われる野生生物における異変のメカニズムを実験的に検討・検証する研究

* 応募研究課題名

- ・ 内分泌攪乱の見地によるタガメの保全に向けた基礎的研究

(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 11 課題）

1) 個体(群)レベルのアプローチによる化学物質の内分泌かく乱作用のメカニズムに関する研究

化学物質が有する内分泌かく乱作用による個体(群)レベルでの個体の行動の変化を含む影響について、検出・同定するための技術開発に関する研究。試験動物種ごとに内分泌系が関与している生体調節機能(恒常性)、試験条件や個体差によるそれらの変動範囲等の基礎的知見を把握する研究、化学物質の内分泌かく乱作用の検出に活用できるバイオマーカーやエンドポイントの探索等。(脳神経系や免疫系への影響に係る研究も含む)

* 応募研究課題名

- ・ 高次脳機能における環境化学物質のかく乱作用に関する研究：臭素系及びフッ素系難燃剤による高次機能への影響と毒性発現機序の解析
- ・ 化学物質によるニューロステロイド合成かく乱が引き起こす脳機能障害と行動異常
- ・ 低用量環境化学物質の生殖—発生—発達期慢性暴露による遅発中枢影響評価系の

作出に資する研究

2)細胞・分子レベルのアプローチによる化学物質の内分泌かく乱作用のメカニズムに関する研究

化学物質が有する内分泌かく乱作用による毒性発現メカニズムの解明に関する実験的研究。遺伝子発現解析技術、タンパク質解析技術(プロテオミクス)、代謝物解析技術(メタボロミクス)などの有用技術を取り入れつつ、エピジェネティクスなども含めた化学物質の内分泌かく乱作用のメカニズムの解明に関する研究等。

*応募研究課題名

- ・化学物質誘発性のエピゲノム刻印の分子機構解明
- ・マウス視床下部—脳下垂体—生殖腺軸に対する環境化学物質の影響と作用機構に関する研究
- ・第2のエストロゲン受容体ER β を標的とした内分泌かく乱メカニズムの解明
- ・環境化学物質が脂肪組織の内分泌機能に及ぼす影響に関する研究
- ・ゲノムワイド DNA メチル化解析を用いた農薬アトラジンが関与する子宮内膜症発症機構の解明

3)個体レベルでの有意な変化と細胞・分子レベルでの変化との関連性を把握する研究

*応募研究課題名

- ・魚類生殖巣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

4)化学物質による内分泌かく乱作用を(既存の、または新たな)リスク評価及びリスク管理手法に組み込むことを目的とした研究

*応募研究課題名

- ・妊馬由来エクイン類の汚染実態解明と生態影響評価
- ・バイオモニタリング手法を用いたネオニコチノイド系殺虫剤曝露評価法に関する研究

5)発達段階や感受性の高い個体に対する影響や化学物質の複合ばく露による影響の把握に関する研究

*応募研究課題名

なし