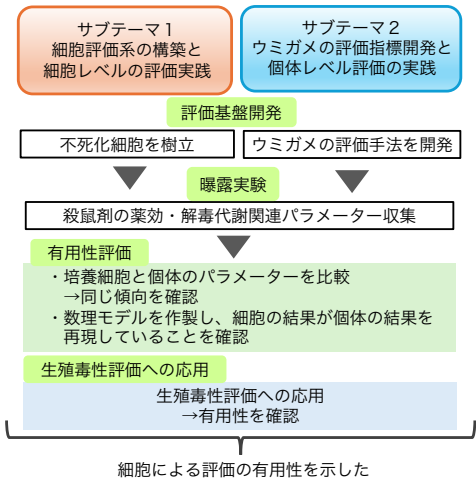


研究課題番号	【4RF-2102】
研究領域	自然共生領域
研究課題	「野生動物への環境汚染物質の影響評価を実現する培養細胞を用いた新規評価技術の構築」
研究代表者（所属）	片山 雅史（国立研究開発法人 国立環境研究所）
研究期間	2021年度～2023年度
研究キーワード	培養細胞、殺鼠剤、ウミガメ、毒性影響、非標的種

研究概要と達成状況

汚染物質の野生動物への影響を解明するため、野生動物に曝露実験ができれば、正確に評価可能であるが、野生動物の個体を用いた研究は非常に難しく、代替法の開発が必要である。本研究では、培養細胞を用いた野生動物への環境汚染物質の影響評価系を構築することとした。本研究では、汚染物質である殺鼠剤（小笠原諸島で使用されているダイファシノン）のウミガメへの影響をモデルとして、培養細胞による汚染物質評価系を構築し、有用性を検証することを目的とした。本研究のサブテーマ1では、培養細胞を用いた殺鼠剤の影響評価系構築と評価を進めることとし、サブテーマ2ではアオウミガメの殺鼠剤曝露のバイオマーカー測定法の開発とアオウミガメ、ラットとクマネズミへのダイファシノン投与試験およびその解析を実施した。

本研究では、アオウミガメと齧歯類の不活化細胞（安定して培養可能な細胞）の樹立に成功した。その後、樹立した不活化細胞を用いて殺鼠剤ダイファシノンの曝露実験を実施し、薬効等のパラメーターを取得した。他方、個体レベルにおけるアオウミガメ、ラット、クマネズミの薬効等のパラメータも取得した。この際に、アオウミガメの薬効評価指標（プロトロンビン時間）測定法が未開発であったため、本研究で開発した。細胞レベルと個体レベルの結果を比較すると、同じ傾向が認められた。さらに本研究では、数理モデルを用いて細胞レベルの応答が個体レベルの応答が再現できることを数学的に示した。これらの結果から、本研究で作製した細胞による評価系は殺鼠剤ダイファシノンの生体における応答予測において、一定の意義があることが示された。本研究では、生殖毒性に関する評価に関しても、評価系としての有用性に関して検証を進め、生殖毒性の主要なパラメーターの一つであるステロイドホルモンの合成・分泌に関して、細胞で生体を模倣する結果が得られた。このことから、生殖毒性の評価にも一定の有用性があることが示唆された。この解析においてアオウミガメの生殖毒性のバイオマーカーの開発にも成功した。その他、小笠原地域の外来ネズミの殺鼠剤耐性変異の有無の確認、数理モデルによる齧歯類間の生理学的応答性の種差の説明などにも取り組み、こちらも大きな成果が得られた。本研究は、目標を大きく上回る成果が得られたと考えている。本研究は環境省や保護団体の方々とも密に連携して進めたことが、良好な成果が得られた一つの要因と認識している。



左図に加えて

- ・殺鼠剤耐性変異の有無の確認（小笠原地域のネズミ類）
- ・アオウミガメの生殖毒性評価指標の開発
- ・小笠原地域のクマネズミの薬効評価
- ・薬効を評価を可能にする数理モデルの作成
- ・殺鼠剤による性腺刺激ホルモン放出ホルモンなどへの影響の可能性の示唆
- ・アオウミガメ細胞の培養条件の検討

などにも取り組み大きな成果が得られた。

本成果は環境省や保護団体の皆様と協働しえられたものである。

環境政策等への貢献

細胞による評価の有用性を示した

→細胞を使った実験による、汚染物質の影響を調査する際の高優先種選定への貢献が可能

小笠原地域における外来ネズミの殺鼠剤ダイファシノンの薬効を確認

→今後の政策としての殺鼠剤使用における有益な情報

アオウミガメの評価基盤の開発に成功

→絶滅危惧種アオウミガメの抗凝血性殺鼠剤の影響や、生殖毒性情報が取得可能になった