

課題名：【5RF-1951】化学物質の内分泌かく乱作用を予測・検出する新たなスクリーニング法の開発

実施期間：2019～2021 年度

研究代表者：堀江好文

所属：神戸大学

重点課題 主：【重点課題⑭】化学物質等の包括的なリスク評価・管理の推進に係る研究

副：【重点課題⑭】化学物質等の包括的なリスク評価・管理の推進に係る研究

本研究のキーワード：メダカ、内分泌攪乱物質、遺伝子マーカー、Cyp19a1a、EDCs、Gsd

■研究の背景と目的

我が国の化学物質のリスク管理は、経済協力開発機構で国際的に同意された試験法（OECD TG）などに基づいて行われている。しかし、新規化学物質の届出件数は年々増加しており、従来の方法だけでは管理しきれない。そのため、今後の多種多様な化学物質を管理するためには、化学物質の特性や生態影響を短期間で評価できる新たな手法を開発する必要があります。そこで、本研究計画では、バイオマーカー遺伝子を指標とすることで、化学物質が魚類の性分化に与える内分泌かく乱作用を検出できる新たな生態毒性試験法を開発することを目的としました。

■研究の内容

始めに、精巣分化を誘導する *Gsd* 遺伝子や卵巣分化を誘導する *Cyp19a1a* 遺伝子が、魚類の性分化に影響を与える内分泌かく乱作用を示す化学物質の検出に有用なバイオマーカーであるかを検討した結果、*Gsd* 遺伝子と *Cyp19a1a* 遺伝子は魚類の性分化に影響を与える内分泌かく乱作用を示す化学物質の検出に有用なバイオマーカー遺伝子であることが示唆されました。次に、遺伝的性判別を目的の RFP 蛍光（目が赤く光ると XY、光らないと XX）の有無で判別できる遺伝子組換えメダカ（Y^{RFP} 系統）と *Cyp19a1a* 遺伝子の発現の有無は GFP 蛍光（生殖腺が緑色に光る）の有無で判別できる遺伝子組換えメダカ（*Cyp19a1a*-GFP 系統）を作出しました。最後に、作出した 2 系統の遺伝子組換えメダカを用いて、魚類の性分化に影響を与える内分泌かく乱作用を示す物質のスクリーニングに使えるか確認した結果、2 系統とも内分泌かく乱作用を示す物質を含んだ環境水をばく露した場合、反応を検出できました。

■研究成果及び環境政策等への貢献

本研究によって、「化学物質のスクリーニングに用いるメダカ」を作出し、その有用性を実証することで、より短期間で化学物質の特性（内分泌かく乱作用の有無）を明らかにすることができる新たなスクリーニング法を開発しました。これにより、今後の化学物質の生態リスクの初期評価などに活用できることが期待されます。また、Y^{RFP} 系統は「化学物質のスクリーニング」だけでなく、現行の OECD 試験法にも適応することで大幅な供試生物数の削減が可能となります。メダカ拡張 1 世代繁殖試験（MEOGRT）（OECD TG 240）や OECD TG 234、現在、OECD の国際標準試験法として改訂作業中である「抗男性ホルモン作用スクリーニング試験（JMASA）」では、生存した全個体についてメダカの性決定遺伝子である *DMY* の保有有無を解析する事で、各個体の遺伝的な性別を判別する必要があります（DNA 抽出・PCR 法を用いた遺伝的性判別）。Y^{RFP} 系統を用いた場合、受精卵の段階で遺伝的な性別を判別できるため、必要以上の個体数をばく露試験に使用する必要がなくなり、DNA 抽出や PCR をする必要もなくなり、分析の大幅な簡略化が期待されます。