

化学物質の生態リスク評価における ゲノム・トランスクリプトーム解析の活用

Application of genome and transcriptome analyses to ecological chemical risk assessment

日置 恭史郎*
Kyoshiro HIKI*

国立研究開発法人 国立環境研究所 環境リスク・健康領域
Health and Environmental Risk Division, National Institute for Environmental Studies

摘 要

生態系への化学物質の有害性は、生物種を化学物質に曝露し、その生死や繁殖阻害などの影響を評価する生態影響試験に基づき評価するのが一般的である。しかし、多くの生物種について生態影響試験を実施するのはコストや時間を要するため、近年はゲノム解析やトランスクリプトーム解析を活用して化学物質の生態リスク評価を高効率化する試みがなされている。本稿では、従来の生態リスク評価の方法を概説した後、生態リスク評価へのゲノム解析及びトランスクリプトーム解析の活用事例として、化学物質に対する感受性の種間外挿、毒性作用機序の解明、そしてPOD (Point of Departure) の導出を紹介する。これらの活用によって、生態リスク評価が効率化されるだけでなく、毒性の作用機序などのメカニズムに基づく生態リスク評価が可能になると期待されている。

キーワード：化学物質管理、新規アプローチ法、生態系保全、生態リスク、
バイオアッセイ

Key words：chemical management, NAMs (New Approach Methods),
ecosystem conservation, ecological risk, bioassay

1. はじめに

世界の化学製品生産量は、2017年時点で23億トンに達し、現在も更に増加中であり(UNEP, 2019)、市場に流通している化学物質の数は混合物も含めて35万種類以上あると推定されている(Wang *et al.*, 2020)。化学製品の生産と環境への放出のスピードは、化学物質の安全性を評価、規制、監視する社会の能力を既に超えていると指摘されており(Persson *et al.*, 2021)、化学物質による悪影響はヒト健康だけでなく生態系にも及ぶと懸念されている。

化学物質が生態系に及ぼすリスク(以下「生態リスク」)は、一般に化学物質の環境中の濃度と生物に対する有害性の強さを比較することで評価される。有害性の強さは、単一の生物種を室内で化学物質に曝露し、その生死や繁殖阻害などの影響を評価する生態影響試験に基づき算出される。有害性の強さは対象となる試験生物種によって異なるため、生態系における生物種の多様性をリスク評価に反映させるには、十分な数の生物種について生態影響試験を実施することが望ましい。しかし、試験個体が安定的

に入手でき、簡易に試験を実施できる生物種は限られており、生態影響試験の生物種数を増やすのは容易ではない。実際に、例えば「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)」における初期リスク評価では、試験生物を藻類、甲殻類、魚類(とその他)のわずか3種の生物群に分類し、他には追加の生物種を特に求めていないなど、多くの化学物質について有害性情報の生物多様性は低いのが現状である。

同一の化学物質に対しても生物種によって感受性が異なる原因は、異物代謝や内分泌の機構の違い、さらには受容体のわずかな構造の違いなどである。そこで、近年はそのような生物種間の違いに基づき、未試験の生物種の感受性を既存データから外挿(extrapolation)する試みがなされている(van den Berg *et al.*, 2021)。そのような外挿を毒性の作用機序に基づいて可能にするために、生物種のゲノム情報が使用されることがある。ゲノム情報は、シーケンシング技術の進展により比較的安価かつ容易に取得できるようになり、さらに、飼育や試験が困難である生物種や絶滅が危惧される生物種でも解析でき

受付：2024年4月24日、受理：2024年7月25日

* 〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2, E-mail: hiki.kyoshiro@nies.go.jp

ることから、今後幅広い生物種のリスク評価を行う上での有益な基盤となることが期待されている。また、ゲノム解析だけでなく網羅的な遺伝子発現解析であるトランスクリプトーム解析も、生態リスク分野で広く利用されており、特に毒性の作用機序の解明や基準値の導出に活用できることが期待されている。

本稿は、生態リスク分野におけるゲノム解析及びトランスクリプトーム解析の活用について概説する。もっともゲノム・トランスクリプトーム解析は、化学物質管理という観点では未だ実用的な段階に至っていない。そこで、本稿では実用から離れた研究事例を多く紹介するよりも、まずはゲノム・トランスクリプトーム情報を用いない一般的な生態リスクの評価・管理について述べ、その後にゲノム・トランスクリプトーム解析によって従来の生態リスク評価を高度化・効率化できる可能性について整理する。なお本稿は、実務的な生態リスク評価及び管理の主な対象である水生生物を扱い、陸生生物や土壌生物は対象外とする。

2. 一般的な生態リスク評価

上述したように、生態リスク評価は一般に、環境中の濃度(曝露評価)と生物に対する有害性の強さ(有害性評価)を比較して行われる。有害性の強さは、生態影響試験の結果に基づき PNEC(Predicted No Effect Concentration; 予測無影響濃度)を指標として計算される。PNEC は、化審法などでは藻類、甲殻類、魚類の生死や繁殖阻害をエンドポイントにした毒性値のうち最も低い値(すなわち最も感受性の高い種の値)を、得られたデータの不確実性の程度に応じた安全係数(あるいはアセスメント係数)で除すことで求められる。例えば、藻類、甲殻類、魚類のいくつかの生物分類群で信頼できる毒性値があるのか、毒性値は慢性影響か急性影響かなどを考慮して、データの不確実性が高いほど大きい安全係数を採用し、PNEC 値は小さくなる。また、別の PNEC 導出法として、SSD(Species Sensitivity Distribution; 種の感受性分布)を用いた確率的な手法がある。SSD は、入手可能な毒性値を対数正規分布などの統計分布に当てはめる手法であり、5%の種が影響を受ける濃度 HC5(Hazardous concentrations for 5% of the species)などが統計的に計算でき PNEC 導出に用いることができる(図 1)。

化学物質の有害性は生物種あるいは生物分類群によって大きく異なる。例えば、殺虫剤の毒性値は水生昆虫や甲殻類では低い藻類では高く、一方で除草剤の毒性値はその逆である。このような生物分類群による感受性の差は、安全係数ベースであれ SSD ベースであれ、PNEC 導出において少なからず考慮されている。安全係数ベースの PNEC 導出における

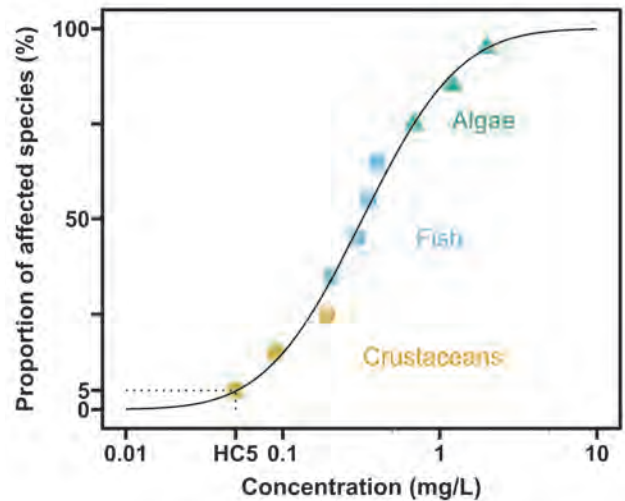


図 1 種の感受性分布の例。

各々の点は各生物種について得られた毒性値を示す。HC5 は 5% の生物種が甲殻類(Crustaceans)、魚類(Fish)、藻類(Algae)の影響を受ける濃度の推定値を表す。

感受性差の考慮については、「水域の生活環境動植物の被害防止に係る農薬登録基準」(ここでは農薬の PNEC と理解して構わない)に関して従来の藻類、ミジンコ、魚類に加えて、ユスリカを用いた生態影響試験が必須になった例がある。これは、ニコチン性アセチルコリン受容体又は GABA 受容体に作用する殺虫剤に対する感受性がミジンコとユスリカで 1,000 倍程度異なる場合があることを考慮し、感受性の高い種を保護する目的で制度が変更になったためである(Ogasahara, 2017)。SSD ベースの PNEC 導出においても、生物分類群によって感受性が異なる場合は、全ての分類群をまとめると特にリスク管理上重要な低濃度域における統計分布への当てはまりが悪くなり、保全上適切な PNEC が設定できない可能性があるため、高感受性の分類群のみで SSD を推定する試みもなされている(Oginah *et al.*, 2023)。

3. 生態リスク評価へのゲノム解析の活用

3.1 種の感受性の推定

感受性の情報を得られる生物種あるいは分類群が多いほど、生態リスク評価の不確実性を減らすことができるが、多くの種について生態影響試験を実施するのはコストや時間を要する。そこで、既存の生物情報を用いて、試験データがない生物種の感受性を予測・外挿する試みがなされている。van den Berg ら(2021)は、感受性の予測に使用できる記述子を次の 4 つに大別している。すなわち i) 相関関係、ii) 近縁度(relatedness)、iii) 形質(trait)、iv) 遺伝子配列である(図 2)。相関関係に基づく予測は、複数の化学物質に対する 2 種の感受性の関係について回帰式を求め、関心のある物質について感受性情報が得られている種からデータの無い種について推定

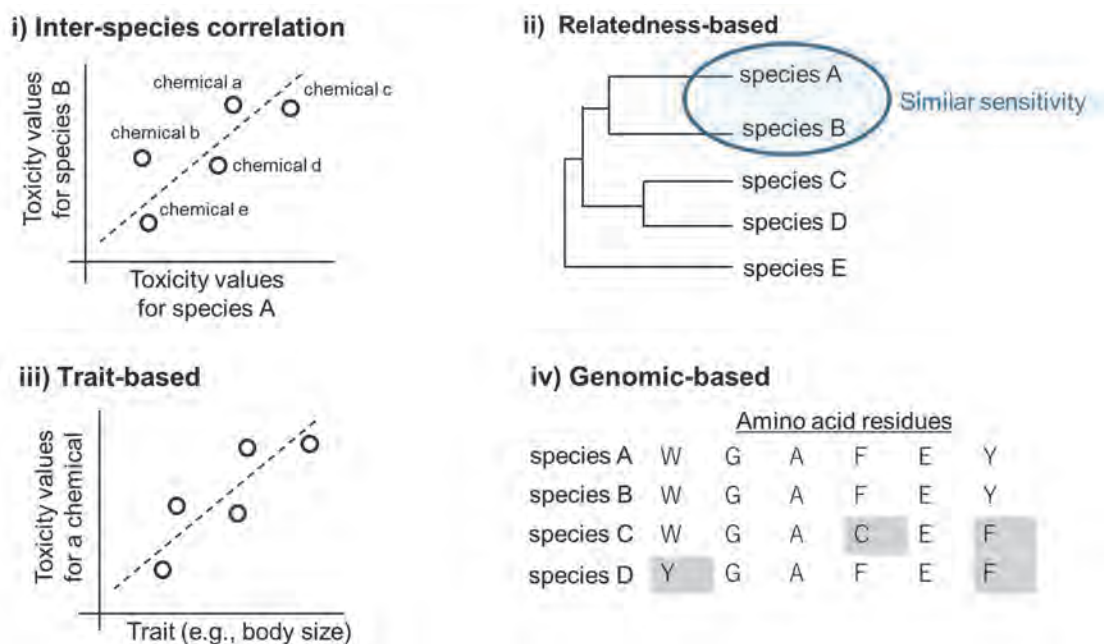


図2 化学物質に対する生物種の感受性を予測する4つのアプローチ (van den Berg *et al.*, 2021 を参考に作成).
それぞれ i) 相関関係, ii) 近縁度, iii) 形質, iv) 遺伝子配列に基づく予測.

するものである (Raimondo *et al.*, 2010)。この方法は非常に簡易である一方で、毒性の作用機序に基づく予測ではなく、さらに、感受性が全く未知の生物種については適用できない。近縁度に基づく予測では、近縁な種同士の感受性は類似しているという前提のもと、分類や系統関係を用いて感受性を推定する。形質に基づく予測は、例えば体サイズの大きい種ほど感受性が低いという傾向に基づき (Hayasaka *et al.*, 2012)、感受性と関連のある体サイズなどの形質を指標として推定する方法である。なお、感受性と関連のある形質は近縁な種の間では保存されることが多いため、近縁度に基づく手法と形質に基づく手法の区別は曖昧な場合がある (Buchwalter *et al.*, 2008)。最後に遺伝子配列に基づく手法では (van den Berg らは genomic-based model と表現している)、毒性の作用機序が明確に分かっている化学物質について、物質の標的となる生体分子 (例：受容体) の塩基配列の類似度などを指標として感受性を予測する。この手法は、特定の生体分子を標的とするように設計された農薬 (LaLone *et al.*, 2016) や医薬品 (Margiotta-Casaluci *et al.*, 2024) など特に有効であるが、ダイオキシン様物質についても有効性が確認されている (Doering *et al.*, 2018)。遺伝子配列に基づく感受性予測について、以下に詳述する。

遺伝子配列に基づく予測に利用できるツールとして、ECODrug (Verbruggen *et al.*, 2018) や SeqAPASS (Sequence Alignment to Predict Across Species Susceptibility) (LaLone *et al.*, 2016) が開発されている。ECODrug は、ヒトにおける医薬品の標的遺伝子と相同の遺伝子を、多様な分類群についてまとめたデータベースである。標的遺伝子が相同遺伝子を

有する割合は一般に、哺乳類や鳥類、魚類では 75% 以上と高く、無脊椎動物 (50%–65%) や菌類 (<25%)、藻類 (20%–25%) では低い傾向にある (Verbruggen *et al.*, 2018)。ECODrug を感受性の推定に利用する上で留意すべきは、相同遺伝子の有無や配列の類似度だけでは正確な推定ができない点である。例えば、グルココルチコイド受容体をコードする遺伝子 (*n3rc1*) の配列は、真骨魚類とヒトの間での類似度がわずかに約 48% であるが、グルココルチコイド受容体を標的とする医薬品は両種で同様の生体影響を及ぼし得る。これは、配列全体の類似度は高くない一方で、DNA 結合ドメインやリガンド結合ドメインに限定すれば類似度が 85% 以上にも達するためだと考えられる (Margiotta-Casaluci *et al.*, 2024)。したがって、タンパク質の配列全体ではなく、ドメインレベルでの配列比較が正確な感受性の推定には必要であるのだが、SeqAPASS はその点も考慮している感受性推定ツールである。SeqAPASS は、相同遺伝子全長のアミノ酸配列の生物種間の類似度だけでなく、生体分子と物質の結合部位などの機能ドメインにおける配列の類似度を求めて、感受性を推定する (LaLone *et al.*, 2016)。SeqAPASS の適用例として、アセチルコリンエステラーゼのアミノ酸配列の類似度がアセチルコリンエステラーゼ阻害剤である有機リン系殺虫剤の毒性値と相関していることなどが報告されている (Russom *et al.*, 2014)。SeqAPASS そのものはタンパク質の 1 次構造、すなわちアミノ酸配列データを解析するだけであるが、より正確な感受性推定に向けて、立体構造を推定する I-TASSER (Iterative Threading ASSEmbly Refinement) や AlphaFold による推定結果 (<https://alphafold.ebi>).

ac.uk/)を利用することが可能になっている (LaLone *et al.*, 2023)。

近年は動物愛護、動物福祉の観点から、生きた生物個体を用いる *in vivo* の動物実験を削減し、細胞試験やレポーター遺伝子アッセイなどの *in vitro* 試験に代替することが世界的に求められているが (Langan *et al.*, 2024), それら代替試験と従来試験をつなぐためにも上述のツールは有用である。ヒト健康に比べると生態リスク分野では *in vitro* 試験の活用は遅れており、国際的に標準化された試験法は魚類胚を用いた試験 (OECD, 2013) とニジマスの鰓細胞株を用いた試験 (OECD, 2021) 程度しかない。他の *in vitro* 試験は多くが哺乳類の細胞や遺伝子を元にしており、その結果を直接水生生物の生態リスク評価に用いることはできない。そこで、SeqAPASS を用いることにより ToxCast などの膨大な哺乳類ベースの *in vitro* 試験データがどの範囲の生物分類群まで適用できるかを推定する試みがなされている (Schaupp *et al.*, 2023)。もっともそのような補正を実施しても無脊椎動物や藻類などに特有のパスウェイは考慮できないため、生態リスク評価に十分に活用するためには従来の *in vivo* 試験や新しい代替試験と組み合わせる必要がある。

3.2 トランスクリプトーム解析の活用

ゲノム解析だけでなく、化学物質に曝露した生物や細胞の遺伝子発現を網羅的に調べるトランスクリプトーム解析も生態リスク分野で広く活用されている (Brockmeier *et al.*, 2017)。その用途は主に、i) 毒性の作用機序の解明と ii) POD (Point of Departure; 毒性の出発点) の導出に分けられる。

作用機序の解明は、トランスクリプトーム解析だけでなく、タンパク質や代謝物を対象にするプロテオーム解析やメタボローム解析などの生体分子を網羅的に調べる、いわゆるオミクス解析 (omics) の用途として最も期待されている (Brockmeier *et al.*, 2017; Leung 2018)。作用機序の情報は従来の生態リスク評価においては必ずしも不可欠ではないが、上述の *in vivo* 試験の活用や感受性の種間外挿の際の補足情報として利用できると考えられている (Moe *et al.*, 2020; van den Berg *et al.*, 2021)。生態リスク分野では、「化学物質などのストレスが生物体内のどの部位にどのように作用し、有害影響 (例：致死や繁殖阻害) を引き起こすか」について整理した枠組みを AOP (Adverse Outcome Pathways) と称し (Ankley *et al.*, 2010), 多様な生物種における毒性影響の理解や行政のリスク管理に活用されている (日置 *et al.*, 2020)。トランスクリプトーム解析を始めとするオミクス解析は、AOP の構築や検証に役立つ。例えば、芳香族炭化水素受容体 (Aryl hydrocarbon Receptor; AhR) へのアゴニスト作用による生活史初期での致死についての AOP の MIE (Molecular Initiating Event) 以降の生物応答をオミクス解析で調べた研究や

(Doering *et al.*, 2016), 知見の少ない影響についての AOP 構築のためにオミクス解析を活用した例 (Eliso *et al.*, 2023; Gu *et al.*, 2023) などがある。他にも、エストロゲン受容体の活性化から雄の雌化及び個体群の減少につながる AOP については (Ankley *et al.*, 2010), 多くのオミクス解析がなされ、エストロゲンに応答する遺伝子ネットワークの詳細が解明されつつある (Martyniuk *et al.*, 2020)。もっとも AOP は分子・細胞レベルから個体・個体群レベルまでの複数の生物学的階層をまたいで、毒性が発現する機構を整理する必要があるため、トランスクリプトーム解析だけではなく他のオミクス解析や生化学・組織学などの調査と組み合わせることで総合的に評価することが重要である。

作用機序の解明に次いで、生態リスク分野でのトランスクリプトーム解析の活用法として研究が盛んに行われているのは、POD の導出である。POD は、リスク評価における用量応答関係について許容できる曝露濃度あるいは投与量を示す点のことであり、通常は NOEC (No Observed Effect Concentration) や NOAEL (No Observed Adverse Effect Level), あるいは用量応答関係を数理モデルで解析した BMD (Benchmark Dose) を用いる。前述のとおり、従来の生態リスク評価では個体レベル以上の致死や繁殖阻害などの apical な応答が指標として使用されてきたが、動物実験を削減・代替する世界的な潮流や解析技術の進展のために、近年はオミクス解析 (特にトランスクリプトーム解析) の結果から POD を導出する試みがなされている。トランスクリプトーム解析による POD (tPOD) が従来の POD と関連していることは、既に多様な物質について知られている (Johnson *et al.*, 2022)。さらに、分子レベルの応答は致死や繁殖阻害などの従来の apical な応答に先んじて生じるはずであるという前提に基づき (Johnson *et al.*, 2022), 短期間の毒性試験における tPOD を慢性影響の POD として使用する試みもなされている。実際に、エストロゲン様物質や有機リン系殺虫剤について、短期間曝露で得られた tPOD が従来の慢性影響の POD と 10 倍以上異ならないことが報告されている (Pagé-Larivière *et al.*, 2019; Alcaraz *et al.*, 2021; Martin *et al.*, 2023; Villeneuve *et al.*, 2023)。

4. おわりに

本稿では生態リスク分野におけるゲノム解析及びトランスクリプトーム解析の活用について、事例を交えて紹介した。本稿で述べたいずれの活用法も、その基盤情報となるのは多様な生物種のゲノム情報である。比較的限られたモデル生物種を対象にするヒト健康の研究とは異なり、生態リスクでは多くの生物種のゲノムが求められるが、生態リスクに頻繁に使用されている種のうち、ゲノム情報が公開され

表1 生態リスク分野で使用される主な水生生物種のゲノム情報^a.

分類	生物種	ゲノム ^b	文献
藻類・植物	コウキクサ <i>Lemna minor</i>	ID 27408	Van Hoeck <i>et al.</i> 2015
	ムレミカツキモ <i>Raphidocelis subcapitata</i>	GCA_003203535	Suzuki <i>et al.</i> 2018
無脊椎動物	セスジユスリカ <i>Chironomus yoshimatsui</i>	なし ^c	なし
	オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	GCA_003990815	Lee <i>et al.</i> 2019
	タマミジンコ <i>Moina macrocopa</i>	なし	なし
	ニセネコゼミジンコ <i>Ceriodaphnia dubia</i>	GCA_022539655	なし
	ミジンコ <i>Daphnia pulex</i>	GCA_000187875	Colbourne <i>et al.</i> 2011
	ヨコエビ <i>Hyalella azteca</i>	GCA_000764305	Poynton <i>et al.</i> 2018
	ヌカエビ <i>Paratya compressa improvisa</i>	なし	なし
	アオモンイトトンボ <i>Ischnura senegalensis</i>	なし	なし
	イトミミズ <i>Tubifex tubifex</i>	なし	なし
	オヨギミミズ <i>Lumbriculus variegatus</i>	なし	なし
	シマミミズ <i>Eisenia fetida</i>	GCA_900000155	Zwarycz <i>et al.</i> 2016
	アミ <i>Americamysis bahia</i>	なし	なし
	カイアシ <i>Acartia sinjiensis</i>	なし ^d	なし
	シオダマリミジンコ <i>Tigriopus japonicus</i>	GCA_010645155	Jeong <i>et al.</i> 2020
魚類	ミナミメダカ <i>Oryzias latipes</i>	GCA_002234675	Kasahara <i>et al.</i> 2007
	ゼブラフィッシュ <i>Danio rerio</i>	GCA_000002035	Howe <i>et al.</i> 2013
	ファットヘッドミノー <i>Pimephales promelas</i>	GCA_016745375	Martinson <i>et al.</i> 2022
	ホトケドジョウ <i>Lefua echigonia</i>	なし	なし

a: 主に生態リスク評価のために国立環境研究所が試験機関、研究機関に分譲を行っている生物種のリスト (<https://www.nies.go.jp/kenkyu/yusyo/suisei/list.html>) を参考に作成した。

b: INSDIC(International Nucleotide Sequence Database Collaboration; DDBJ, GenBank, EMBL-Bank)のアクセッション番号を示す。複数のゲノムが登録されている種については、代表的なゲノム配列1種のみを示す。コウキクサのみ CoGe(Comparative Genomics; <https://genomevolution.org/coge/>)のIDを示す。

c: 同属の *Chironomus riparius* のゲノムは公開されている (Schmidt *et al.*, 2020)。

d: 同属の *Acartia tonsa* のゲノムは公開されている (Jørgensen *et al.*, 2019)。

ている種は多くないのが現状である(表1)。生態リスク分野では、野外で採取した個体群をそのまま生態影響試験に用いる場合のあることが関係してか、特に魚類や藻類以外では系統が厳密に管理されていない例は多い。しかし、同種であっても種内変異により化学物質に対する感受性は異なる可能性があり (Yamagishi *et al.*, 2020; Kato *et al.*, 2022), さらに、起源が同一であっても異なる環境での継代飼育によって異なる変異が蓄積し、感受性が変化し得る (Yamagishi *et al.*, 2020)。したがって、試験に用いる各系統についてゲノムを解読し、公開するのが理想である。理想と現実のギャップを少しでも埋めるべく、筆者らの研究グループでは、生態リスク分野で使用されるゲノム情報のない生物種あるいは系統について、わずかながらシーケンス配列やミトコンドリアゲノムの公開を行っている (Hiki *et al.*, 2021; Hiki *et al.*, 2023)。ただし、これらの情報は、特定の遺伝子配列や系統関係の把握には有用だが、全ゲノムの解読にはほど遠い状況である。今後、生態影響試験の試験生物種を含む多くの生物種についてゲノム情報が整備され、生態リスク評価へのゲノム解析及びトランスクリプトーム解析の活用がより進展す

ることを期待する。

引用文献

- Alcaraz, A. J. G., Mikulášek, K., Potěšil, D., Park, B., Shekh, K., Ewald, J., Burbridge, C., Zdráhal, Z., Schneider, D., Xia, J. *et al.* (2021) Assessing the toxicity of 17 α -ethinylestradiol in rainbow trout using a 4-day transcriptomics benchmark dose (BMD) embryo assay. *Environmental Science & Technology*, 55(15), 10608–10618.
- Ankley, G. T., Bennett, R. S., Erickson, R. J., Hoff, D. J., Hornung, M. W., Johnson, R. D., Mount, D. R., Nichols, J. W., Russom, C. L., Schmieder, P. K. *et al.* (2010) Adverse outcome pathways: A conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(3), 730–741.
- van den Berg, S. J. P., Maltby, L., Sinclair, T., Liang, R. and van den Brink, P. J. (2021) Cross-species extrapolation of chemical sensitivity. *Science of The Total Environment*, 753, 141800.

- Brockmeier, E. K., Hodges, G., Hutchinson, T. H., Butler, E., Hecker, M., Tollefsen, K. E., Garcia-Reyero, N., Kille, P., Becker, D., Chipman, K. *et al.* (2017) The role of omics in the application of adverse outcome pathways for chemical risk assessment. *Toxicological Sciences*, 158(2), 252–262.
- Buchwalter, D. B., Cain, D. J., Martin, C. A., Xie, L., Luoma, S. N. and Garland, T. (2008) Aquatic insect ecophysiological traits reveal phylogenetically based differences in dissolved cadmium susceptibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(24), 8321–8326.
- Colbourne, J. K., Gilbert, D., Choi, J.-H., Dong, Q., Eads, B. D., Lopez, J., Patwardhan, R. P., Rechtsteiner, A., Smith, Z., Tang, Z. *et al.* (2011) The ecoresponsive genome of *Daphnia pulex*. *Science*, 331(6017), 555–561.
- Doering, J. A., Tang, S., Peng, H., Eisner, B. K., Sun, J., Giesy, J. P., Wiseman, S. and Hecker, M. (2016) High conservation in transcriptomic and proteomic response of white sturgeon to equipotent concentrations of 2,3,7,8-TCDD, PCB 77, and Benzo[a]pyrene. *Environmental Science & Technology*, 50(9), 4826–4835.
- Doering, J. A., Wiseman, S., Giesy, J. P. and Hecker, M. (2018) A Cross-species quantitative adverse outcome pathway for activation of the aryl hydrocarbon receptor leading to early life stage mortality in birds and fishes. *Environmental Science & Technology*, 52(13), 7524–7533.
- Eliso, M. C., Bergami, E., Bonciani, L., Riccio, R., Belli, G., Belli, M., Corsi, I. and Spagnuolo, A. (2023) Application of transcriptome profiling to inquire into the mechanism of nanoplastics toxicity during *Ciona robusta* embryogenesis. *Environmental Pollution*, 318, 120892.
- Gu, J., Guo, L., Hu, J., Ji, G. and Yin, D. (2023) Potential adverse outcome pathway (AOP) of emamectin benzoate mediated cardiovascular toxicity in zebrafish larvae (*Danio rerio*). *Science of The Total Environment*, 900(July), 165787. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165787>.
- Hayasaka, D., Korenaga, T., Suzuki, K., Sánchez-Bayo, F. and Goka, K. (2012) Differences in susceptibility of five cladoceran species to two systemic insecticides, imidacloprid and fipronil. *Ecotoxicology*, 21(2), 421–427. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0802-2>.
- Hiki, K., Oka, K., Nakajima, N., Watanabe, H., Yamamoto, H. and Yamagishi, T. (2023) The complete mitochondrial genome of water flea *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea: Cladocera) NIES strain. *Mitochondrial DNA Part B*, 8(8), 831–835.
- Hiki, K., Oka, K., Nakajima, N., Yamamoto, H. and Sugaya, Y. (2021) The complete mitochondrial genome of the non-biting midge *Chironomus yoshimatsui* (Diptera: Chironomidae). *Mitochondrial DNA Part B*, 6(10), 2995–2996.
- Howe, K., Clark, M. D., Torroja, C. F., Torrance, J., Berthelot, C., Muffato, M., Collins, J. E., Humphray, S., McLaren, K., Matthews, L. *et al.* (2013) The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, 496(7446), 498–503.
- Jeong, C. B., Lee, B. Y., Choi, B. S., Kim, M. S., Park, J. C., Kim, D. H., Wang, M., Park, H. G. and Lee, J. S. (2020) The genome of the harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*: Potential for its use in marine molecular ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 222, 105462.
- Johnson, K. J., Auerbach, S. S., Stevens, T., Barton-Maclaren, T. S., Costa, E., Currie, R. A., Dalmas, Wilk, D., Haq, S., Rager, J. E., Reardon, A. J. F. *et al.* (2022) A transformative vision for an Omics-based regulatory chemical testing paradigm. *Toxicological Sciences*, 190(2), 127–132.
- Jørgensen, T. S., Petersen, B., Petersen, H. C. B., Browne, P. D., Prost, S., Stillman, J. H., Hansen, L. H. and Hansen, B. W. (2019) The genome and mRNA transcriptome of the cosmopolitan calanoid copepod *Acartia tonsa* dana improve the understanding of copepod genome size evolution. *Genome Biology and Evolution*, 11(5), 1440–1450.
- Kasahara, M., Naruse, K., Sasaki, S., Nakatani, Y., Qu, W., Ahsan, B., Yamada, T., Nagayasu, Y., Doi, K., Kasai, Y., *et al.* (2007) The medaka draft genome and insights into vertebrate genome evolution. *Nature*, 447(7145), 714–719.
- Kato, K., Okamura, K., Hiki, K., Kintsu, H., Nohara, K., Yamagishi, T., Nakajima, N., Watanabe, H. and Yamamoto, H. (2022) Potential differences in chitin synthesis ability cause different sensitivities to diflubenzuron among three strains of *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 243, 106071.
- LaLone, C. A., Blatz, D. J., Jensen, M. A., Vliet, S. M. F., Mayasich, S., Mattingly, K. Z., Transue, T. R., Melendez, W., Wilkinson, A., Simmons, C. W. *et al.* (2023) From protein sequence to structure: The next frontier in cross-species extrapolation for chemical safety evaluations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 42(2), 463–474.
- LaLone, C. A., Villeneuve, D. L., Lyons, D., Helgen, H. W., Robinson, S. L., Swintek, J. A., Saari, T. W. and Ankley, G. T. (2016) Editor's highlight:

- Sequence alignment to predict across species susceptibility (SeqAPASS): A web-based tool for addressing the challenges of cross-species extrapolation of chemical toxicity. *Toxicological Sciences*, 153(2), 228–245.
- Langan, L. M., Paparella, M., Burden, N., Constantine, L., Margiotta-Casaluci, L., Miller, T. H., Moe, S.J., Owen, S.F., Schaffert, A. and Sikanen, T. (2024) Big question to developing solutions: A decade of progress in the development of aquatic new approach methodologies from 2012 to 2022. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 43(3), 559–574.
- Lee, B.-Y., Choi, B.-S., Kim, M.-S., Park, J. C., Jeong, C.-B., Han, J. and Lee, J.-S. (2019) The genome of the freshwater water flea *Daphnia magna*: A potential use for freshwater molecular ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 210, 69–84.
- Leung, K. M. Y. (2018) Joining the dots between omics and environmental management. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 14(2), 169–173.
- Margiotta-Casaluci, L., Owen, S. F. and Winter, M. J. (2024) Cross-species extrapolation of biological data to guide the environmental safety assessment of pharmaceuticals : The state of the art and future priorities. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 43(3), 513–525.
- Martin, R., Hazemi, M., Flynn, K., Villeneuve, D. and Wehmas, L. (2023) Short-term transcriptomic points of departure are consistent with chronic points of departure for three organophosphate pesticides across mouse and fathead minnow. *Toxics*, 11(10), 820.
- Martinson, J. W., Bencic, D. C., Toth, G. P., Kostich, M. S., Flick, R. W., See, M. J., Lattier, D., Biales, A. D. and Huang, W. (2022) De novo assembly of the nearly complete fathead minnow reference genome reveals a repetitive but compact genome. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(2), 448–461.
- Martyniuk, C. J., Feswick, A., Munkittrick, K. R., Dreier, D. A. and Denslow, N. D. (2020) Twenty years of transcriptomics, 17 α -ethinylestradiol, and fish. *General and Comparative Endocrinology*, 286(3), 113325.
- Moe, S. J., Madsen, A. L., Connors, K. A., Rawlings, J. M., Belanger, S. E., Landis, W. G., Wolf, R. and Lillicrap, A. D. (2020) Development of a hybrid Bayesian network model for predicting acute fish toxicity using multiple lines of evidence. *Environmental Modelling & Software*, 126, 104655.
- Organisation for Economic Co-operation and Development(OECD) (2013) Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. <https://doi.org/10.1787/9789264203709-en>.
- Organisation for Economic Co-operation and Development(OECD) (2021) Test No. 249: Fish Cell Line Acute Toxicity: The RTgill-W1 cell line assay. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. <https://doi.org/10.1787/c66d5190-en>.
- Ogasahara, T. (2017) The current situations and issues of standards for the prevention of damage to aquatic animals and plants. *Japanese Journal of Pesticide Science*, 42(1), 105–111.
- Oginah, S. A., Posthuma, L., Hauschild, M., Slootweg, J., Kosnik, M. and Fantke, P. (2023) To split or not to split: Characterizing chemical pollution impacts in aquatic ecosystems with species sensitivity distributions for specific taxonomic groups. *Environmental Science & Technology*, 57(39), 14526–14538.
- Pagé-Larivière, F., Crump, D. and O'Brien, J. M. (2019) Transcriptomic points-of-departure from short-term exposure studies are protective of chronic effects for fish exposed to estrogenic chemicals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 378, 114634.
- Persson, L., Almroth, B. M. C., Collins, C. D., Cornell, S., Wit, C. A. De., Diamond, M. L., Fantke, P., Hassell, M., Macleod, M., Ryberg, M. W. *et al.* (2021) Outside the safe operating space of the planetary boundary for novel entities. *Environmental Science & Technology*, 56(3), 1510–1521.
- Poynton, H. C., Hasenbein, S., Benoit, J. B., Sepulveda, M. S., Poelchau, M. F., Hughes, D. S. T., Murali, S.C., Chen, S., Glastad, K. M., Goodisman, M. A. D. *et al.* (2018) The toxicogenome of *Hyalella azteca*: A model for sediment ecotoxicology and evolutionary toxicology. *Environmental Science & Technology*, 52(10), 6009–6022.
- Raimondo, S., Jackson, C. R. and Barron, M. G. (2010) Influence of taxonomic relatedness and chemical mode of action in acute interspecies estimation models for aquatic species. *Environmental Science & Technology*, 44(19), 7711–7716.
- Russom, C. L., Lalone, C. A., Villeneuve, D. L. and Ankley, G. T. (2014) Development of an adverse outcome pathway for acetylcholinesterase inhibition leading to acute mortality. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(10), 2157–2169.
- Schaupp, C. M., LaLone, C. A., Blackwell, B. R.,

- Ankley, G. T. and Villeneuve, D. L. (2023) Leveraging ToxCast data and protein sequence conservation to complement aquatic life criteria derivation. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 19(1), 224–238.
- Schmidt, H., Hellmann, S. L., Waldvogel, A-M., Feldmeyer, B., Hankeln, T. and Pfenninger, M. (2020) A high-quality genome assembly from short and long reads for the Non-biting midge *Chironomus riparius* (Diptera). *G3 Genes|Genomes|Genetics*, 10(4), 1151–1157.
- Suzuki, S., Yamaguchi, H., Nakajima, N., Kawachi, M. (2018) *Raphidocelis subcapitata* (*Pseudokirchneriella subcapitata*) provides an insight into genome evolution and environmental adaptations in the Sphaeropleales. *Scientific Reports*, 8(1), 1–13.
- United Nations Environment Programme (UNEP) (2019) Global chemicals outlook II: From legacies to innovative solution : Implementing the 2030 agenda for sustainable development. <https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/28113/GCOII.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. (2024 年 6 月 5 日確認)
- Verbruggen, B., Gunnarsson, L., Kristiansson, E., Österlund, T., Owen, S. F., Snape, J. R. and Tyler, C. R. (2018) ECOdrug: a database connecting drugs and conservation of their targets across species. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D930–D936.
- Villeneuve, D. L., Le, M., Hazemi, M., Biales, A., Bencic, D. C., Bush, K., Flick, R., Martinson, J., Morshead, M., Rodriguez, K. S. *et al.* (2023) Pilot testing and optimization of a larval fathead minnow high throughput transcriptomics assay. *Current Research in Toxicology*, 4, 100099.
- Wang, Z., Walker, G. W., Muir, D. C. G. and Nagatani-Yoshida, K. (2020) Toward a global understanding of chemical pollution: A first comprehensive analysis of national and regional chemical inventories. *Environmental Science & Technology*, 54(5), 2575–2584.
- Van, Hoeck, A., Horemans, N., Monsieurs, P., Cao, H. X., Vandenhove, H. and Blust, R. (2015) The first draft genome of the aquatic model plant *Lemna minor* opens the route for future stress physiology research and biotechnological applications. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1), 1–13.
- Yamagishi, T., Yamaguchi, H., Suzuki, S., Yoshikawa, M., Jameson, I., Lorenz, M., Nobles, D. R., Campbell, C., Seki, M., Kawachi, M. *et al.* (2020) Comparative genome analysis of test algal strain NIVA-CHL1 (*Raphidocelis subcapitata*) maintained in microalgal culture collections worldwide. *PLoS One*, 15(11), e0241889.
- Zwarycz, AS., Nossa, CW., Putnam, N. H. and Ryan, J. F. (2016) Timing and scope of genomic expansion within annelida: Evidence from homeoboxes in the genome of the earthworm *Eisenia fetida*. *Genome Biology and Evolution*, 8(1), 271–281.
- 日置恭史郎・渡部春奈・林 岳彦・岩崎雄一・山本裕史 (2020) A gentle introduction to adverse outcome pathway studies in environmental toxicology. 環境毒性学会誌, 23(1), 22–37.



日置 恭史郎／Kyoshiro HIKI

1988 年 12 月大阪生まれ。2016 年 9 月東京大学大学院都市工学専攻修了，博士（工学）。日本学術振興会特別研究員，国立環境研究所特別研究員及び研究員を経て，2022 年 8 月より現在は国立環境研究所主任研究員。専門は環境毒性学。底質毒性試験法の開発や新規環境汚染物質の有害性評価，遺伝子発現解析を用いた毒性作用機序の解明などの研究に従事。