

1. 報告要旨

ネオニコチノイド系農薬(NN)の哺乳類への神経毒性についてこれまで我々は多くの事例で報告してきた。また、NNの日常的な母子間移行が明らかとなり、次世代以降へのNNの影響が懸念される。胎子・新生子期は、脳の神経回路が形成される重要な時期である。また、農薬などの環境化学物質は、細胞エピゲノムを変化させて複数の世代に有害な表現型を伝達する可能性がある。本研究では、[実験 1]として、脳の神経回路形成期である胎子・新生子期を4つの発達段階に分け、NNの一種、クロチアニジン(CLO)の無毒性量(現行の農薬毒性試験によって、この値以下であれば影響がみられない、という量)を曝露させ評価した。さらに、[実験 2]として、無毒性量のCLO曝露による神経行動学的な継世代影響を検証した。また、[実験 3]として、CLOが免疫系に及ぼす継世代影響について検証した。

[実験 1]行動解析の結果、神経細胞増殖・分化期(胎齢 9-12 日)と神経突起伸長期(胎齢 15-18 日)でのCLO曝露では、成年期(生後 10 週齢)の不安様行動へ影響が認められた。シナプス形成・アストロサイト分化期(生後 1-4 日)では、成年期において自発運動量が増加したほか、海馬歯状回における新生ニューロンマーカーであるDCX陽性細胞数が減少し、幼若神経細胞の減少ならびに海馬の神経突起や軸索の伸長・分岐に関連する遺伝子が幼年(生後 3 週齢)および成年期で高発現した。一方、シナプスリモデリング期(生後 11-14 日)での曝露では大きな生後影響がみられなかった。これらの結果から、無毒性量の曝露でも胎子・新生子のCLOに対する感受性が発達段階によって異なることを初めて明らかにした([doi: 10.1292/jvms.22-0570](https://doi.org/10.1292/jvms.22-0570))。

[実験 2]F0世代の母獣マウスに対して、CLOを65 mg/kg/dayの濃度で妊娠1日目から離乳(3週齢)まで曝露した。子(F1)、孫(F2)、ひ孫(F3)世代の成年期(10週齢)にOFおよびEPMを実施し、自発運動量および不安様行動を評価したところ、F0、F1では出生体重が低く、運動量が減少し、不安様行動が増加した。F2では、体重に影響があり、運動活性の減少傾向、不安様行動の増加傾向がみられた。F3では、運動量が増加する傾向にあった。このように、母親のみが曝露されたにもかかわらず、CLOの影響はF1、F2、F3において、減少しながらも持続していました。本研究により、これまで不明であった時期特異的なCLOの曝露影響と、CLOによる発達神経毒性の継世代影響が初めて明らかとなった(under review)。

[実験 3]胸腺細胞の分化・成熟に寄与するとされるハッサル小体数が世代を経る毎に増加した。また、胸腺内マクロファージがF1の10週齢時に髄質で、F3では皮質で減少傾向を示し、CLOが胸腺の細胞構成や免疫系に継世代影響を及ぼす可能性が示唆された。フローサイトメトリー解析の結果、胸腺細胞においてF1の3週齢時にCD4+(SP)細胞の割合が有意に減少し、CD4+CD8+(DP)細胞の割合が有意に増加した。血球細胞では、F1の10週齢時にTreg細胞が減少傾向を示した。CLOが胸腺細胞のDP細胞からCD4SP細胞への移行を阻害したと考えられ、胸腺細胞の分化・成熟に影響を及ぼす可能性が示唆された。腸内細菌叢には門レベルでの変動は認められず、属レベルでは細菌組成の上位30属のうち、F1では2属、F2では1属、F3では4属が変動した。疾患やTreg細胞・マクロファージなどの誘導に関与する短鎖脂肪酸(SCFA)産生菌の変動はとくにF3で顕著であった。無毒性量CLOの腸内細菌叢への影響は甚大ではないものの、細菌叢組成を継代的に変動させることが明らかとなった。本研究により、無毒性量CLOの胎子・授乳期曝露が、直接CLO曝露を受けていないF3世代にまでも現われることが明らかとなり、免疫系に対する継世代影響を考慮する重要性を示唆する知見が得られた([doi: 10.1292/jvms.23-0038](https://doi.org/10.1292/jvms.23-0038))。

以上の成果は、近年、環境毒性として注目されているネオニコチノイド系農薬の脳神経系への作用時期ならびにその継世代影響を明らかにした初めての報告であり、ヒトを含めた哺乳類の環境毒性について新たな基礎的知見を加えるものである。

2. 成果物

1. Kubo S, Hirano T, Miyata Y, Ohno S, Onaru K, Ikenaka Y, Nakayama SMM, Ishizuka M, Mantani Y, Yokoyama T, Hoshi N. 「[Sex-specific behavioral effects of acute exposure to 1 the neonicotinoid clothianidin in mice](#)」『Toxicol Appl Pharmacol』 Vol.456 (2022.12.1)
2. Shoda A, Nishi M, Murata M, Mantani Y, Yokoyama T, Hirano T, Ikenaka Y, Hoshi N. 「[Quantitative elucidation of the transfer of the neonicotinoid pesticide clothianidin to the breast milk in mice](#)」『Toxicol Lett』 373: 33-40 (2023.1)
3. Murata M, Shoda A, Kimura M, Hara Y, Yonoichi S, Ishida Y, Mantani Y, Yokoyama T, Matsuo E, Hirano T, Hoshi N. 「[Next-generation effects of fetal and lactational exposure to the neonicotinoid pesticide clothianidin on the immune system and gut microbiota](#)」『J Vet Med Sci.』 Vol.85 No.4 (2023.3.30)
4. Kimura M, Shoda A, Murata M, Hara Y, Yonoichi S, Ishida Y, Mantani Y, Yokoyama T, Hirano T, Ikenaka Y, Hoshi N. 「[Neurotoxicity and behavioral disorders induced in mice by acute exposure to the diamide insecticide chlorantranilprole](#)」『Vet Med Sci.』 Vol.85 No.4 (2023.4.22)
5. Shoda A, Murata M, Kimura M, Hara Y, Yonoichi S, Ishida Y, Mantani Y, Yokoyama T, Hirano T, Ikenaka Y, Tabuchi Y, Hoshi N. 「[Developmental stage-specific exposure and neurotoxicity evaluation of low-dose clothianidin during neuronal circuit formation](#)」『J Vet Med Sci.』 Vol.85 No.4 (2023.4.22)
6. 遠山千春, 木村-黒田純子, 星信彦「[農薬製剤に含まれる補助剤の毒性 — 『農薬の安全性とリスク評価』補遺](#)」『科学』 92: 689-691 (2022.8)
7. 講演「[元気な心と体のために知っておきたい 「食」の真実 ネオニコ研究最前線](#)」さんだ未来の食と一く (2022.5.9)
8. 講演「何が安全?子どもたちを守るために私たちができる事~農薬の身体への影響について~」ハッピー子育てセミナー (2022.5.18)
9. 講演「[農薬は微量なら安全って本当?-農薬毒性試験の中身](#)」神戸学生青年センター食料環境セミナー (2022.5.21)
10. 講演「[~ネオニコチノイド系農薬による動物実験から~農薬は『微量なら安全』は本当なの?](#)」じっくり知りたい、ネオニコ系農薬問題の重要論点と日本の農薬規制のあり方(2022.7.3)
11. 講演「次世代を担う子どもたちの心身の健康を守る ~農薬の影響について」新時代の日本を考える山陰フォーラム (2022.7.16)
12. 講演「農薬と生き物との関係から子どもたちの未来を考える——農薬の安全性とリスク評価とは?」大川瀬地域保全隊講演会 (2022.8.28)
13. 講演「[農薬再評価とみどりの食料システム戦略の問題](#)」神戸学生青年センター食料環境セミナー (2022.9.17)
14. 講演「農薬の安全性とリスク評価—わが国の食料・農林水産業が直面する持続可能性の課題」内閣部門会議 (消費者問題) (2022.10.11)
15. 講演「環境と生命」ハッピー子育てセミナー (2022.11.16)
16. 講演「食品に潜む農薬の安全性とリスク評価—農薬は少量なら安全って本当? 洗えば落ちるの?」明石消費者セミナー(2022.12.6)
17. 講演「Signal Toxicity of Neonicotinoid Pesticides and Child Development」6th International Chemical Hazard Symposium. (2023.1.12)