

企画名：ネオニコチノイド系農薬曝露で惹起される経世代影響と高次脳機能破綻メカニズムの検証

団体名：神戸大学大学院 農学研究科 動物分子形態学分野 星研究室

1. 報告要旨

ネオニコチノイド系農薬(NN)は、害虫のみならず哺乳動物やヒトに毒性を示すことが報告されている。近年、NN およびその代謝物の母子間移行が示され、化学物質に対し脆弱な胎子・授乳期における曝露影響が懸念される。本研究では、NN の 1 種クロチアニジン(CLO)の胎子・授乳期曝露を行い、次世代の幼年期、成年期それぞれにおける神経行動学的影響を評価した。また、環境因子の多くが生殖細胞を介し、疾患や表現型における継世代的エピジェネティック遺伝を促進する可能性が示唆されている。しかし、NN の継世代影響を調べた研究はない。本研究では、雌マウスに及ぼす継世代影響ならびに有害発現経路(AOP)を検証した。

農薬評価書における無毒性量(NOAE 雌 65.1 mg/kg/day)を参考に、CLO を 65 mg/kg/day の濃度で給水ゲルに溶解させ、母マウス(F0 世代)に妊娠 1 日目から離乳(3 週齢)まで自由摂取させた。実験①:雄産子に対し幼年期(3 週齢)および成年期(10 週齢)にオープンフィールド試験(OF)および高架式十字迷路試験(EPM)を行い、自発運動量および不安様行動を評価した。試験後に脳を採取し、海馬歯状回(DG)における c-fos, DCX, NeuN 陽性細胞を免疫組織化学的に検出した。また、DG を網羅的遺伝子発現解析に供した。実験②:対照群または投与群同士である F1 の雌雄を交配させて F2 を作製し、同様に F2 の雌雄を交配させて F3 を作製した。それぞれ生後 3 週齢および 10 週齢に卵巣および血液を採取した。卵巣を一般組織学的解析、抗酸化酵素マーカー(GPx4, MnSOD)による免疫組織化学および網羅的遺伝子発現解析に、血液をホルモン定量解析に供した。

①無毒性量の CLO の胎子・授乳期曝露は、神経回路形成期の DG における神経発達を阻害し、曝露直後の幼年期ではカルシウムシグナリングを低下させ、不安様行動を惹起し、その後曝露が無いにもかかわらず、成年期のオリゴデンドロサイトおよび BDNF 関連遺伝子発現を変化させ、自発運動量を増加させた。②継世代影響では、エストロゲン関連経路の活性化阻害が認められ、「食殺および育子放棄」の頻度が世代を経る毎に増加(F1: 3/9 例, F2: 3/6 例)した。以上より、CLO に対する反応性は 3 週齢と 10 週齢とで異なること、ならびに CLO の胎子・授乳期曝露が雌マウスにおいて継世代影響を及ぼすことが明らかになった。また、本研究の知見に基づき、分子、細胞、組織、臓器、個体レベルのそれぞれの階層における重要事象を抽出し、CLO の AOP を初めて明らかにした。

2. 成果物

1. 「[無毒性量の浸透性農薬のマウス胎子・授乳期曝露による神経行動学的影響](#)」『第 60 回日本先天異常学会』(2020.7.10~12)
2. 「[無毒性量ネオニコチノイド系農薬が次世代のマウス雌性生殖機能に及ぼす影響](#)」『第 60 回日本先天異常学会』(2020.7.10~12)
3. 「[極微量ネオニコチノイド系農薬がマウスの雌性生殖器に及ぼす継世代影響](#)」『第 163 回日本獣医学会』(2020.9.14~30)
4. 「[行動毒性試験および二光子イメージングによるアセタミプリドの神経毒性評価](#)」『第 163 回日本獣医学会』(2020.9.14~30)
5. 「[ニコチン性アセチルコリン受容体アゴニストによるシグナル毒性と2光子顕微鏡を用いた検出手法の開発](#)」『第 47 回日本毒性学会』(2020.6.29~7.1)

6.	「Fetal and lactational exposure to the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) dose of the neonicotinoid pesticide clothianidin inhibits neurogenesis and induces different behavioral abnormalities at the developmental stages in the next generation of male mice.」『4th International Chemical Hazard Symposium』 (2021.3.31)
7.	「Transgenerational inheritance effects and the adverse outcome pathway (AOP) of the exposure to the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) dose of the neonicotinoid clothianidin in the reproductive organs of female mice.」『4th International Chemical Hazard Symposium』 (2021.3.31)
8.	「Neurobehavioral and neurofunctional effects of a neonicotinoid pesticide clothianidin on mammalian nervous system.」『4th International Chemical Hazard Symposium』 (2021.3.31)
9.	「 行動毒性試験と二光子顕微鏡の併用によるアセタミプリドのシグナル毒性検出 」『環境化学オンライン研究発表会 2020』 (2020.9.3~4)
10.	招待講演「農薬と生き物の関係から未来を考える」『熊本県玉名市健康政策勉強会および市民講座』 (2020.7.16)
11.	招待講演「～脳と農について～ 農薬と生き物の関係から未来を考える」『熊本県玉名市農薬勉強会』 (2020.7.16)
12.	招待講演「農薬と生き物との関係から未来を考える～ネオニコチノイド系農薬による動物実験から～」『兵庫県農政部 2020 年度有機農業指導員研修会』 (2021.3.16)
13.	「 Adverse effects of pesticides on regional biodiversity and their mechanisms. 」『Risks and Regulation of New Technologies』 pp. 235-247. Springer (2021)
14.	「 Aging-related changes in the sensitivity of behavioral effects of the neonicotinoid pesticide clothianidin in male mice 」『Toxicology Letters』 vol.342, pp.95-103. (2021.5.15)
15.	「 Effects of in utero and lactational exposure to the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) dose of the neonicotinoid clothianidin on the reproductive organs of female mice 」『Journal of Veterinary Medical Science』 vol.83, no.4, pp.746-753. (2021.4.24)
16.	「 Fetal and lactational exposure of the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) dose of the neonicotinoid pesticide clothianidin inhibits neurogenesis and induces different behavioral abnormalities at the developmental stages in male mice 」『Journal of Veterinary Medical Science』 vol.83, no.3, pp.542-548. (2021.2.1)