

## 1. 報告要旨

ネオニコチノイド系農薬(NN)は昆虫のニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)に強いアゴニスト作用を示す選択毒性を特徴とする一方で、近年、哺乳類において NN が行動異常を引き起こすことが報告されており、神経系への影響が懸念されている。しかし、従来の手法では NN を曝露されたマウスの神経回路活動の動的変化を調べることは困難であり、情動変容を引き起こす作用機序には未だ不明な点が多い。

そこで本研究では、NN の一種であるクロチアニジン(CLO)をその無毒性量(雄 47.2 mg/kg/day)を参考に、50 mg/kg/day で 2 週間投与し、覚醒下マウスの脳内神経活動の動的変化について二光子顕微鏡を用いた生体蛍光イメージング観察を用いて検証した。

その結果、CLO 曝露により、第一体性感覚野(S1)の第 2/3 層の神経細胞において  $Ca^{2+}$  の持続的な流入が認められ、興奮性神経細胞の過活動化が明らかとなった。また、網羅的遺伝子解析を行った結果、S1 において「シナプス伝達」に関わる遺伝子が減少し、中でも S1 の第 2/3 層において抑制性神経細胞にのみ発現する  $\alpha 7$  nAChR や GABA 受容体サブユニットに関する遺伝子が減少したことから、CLO 曝露は抑制性神経細胞の活動を攪乱することで、興奮性神経細胞を活性化させることが示唆された。また、「中枢神経系の炎症」に関する遺伝子発現の上昇が認められたため、脳の免疫機能や「うつ」との関連の強いミクログリアの組織学的解析も行った。その結果、海馬歯状回において細胞数が有意に増加し、恒常性の攪乱が示唆された。

この研究は、マウスに対する無毒性量 CLO の反復投与が神経細胞に及ぼす影響について、二光子顕微鏡を用いて生体における脳の反応を経時的に追跡した初めての報告であり、農薬の精神疾患や発達障害との関連を明らかにする一助になると考えられる。(doi: 10.1292/jvms.22-0013.) (doi: 10.1038/s41598-022-09038-7)

さらに、

- 1) 神経回路形成期におけるステージ別ネオニコチノイド系農薬曝露と発達神経毒性評価
- 2) ネオニコチノイド系農薬の胎子・授乳期曝露が及ぼす免疫系への継世代影響
- 3) 胎子期授乳期ネオニコチノイド曝露の学習機能に及ぼす影響
- 4) 環境ストレス負荷下におけるネオニコチノイド系農薬曝露が免疫系に及ぼす影響
- 5) ネオニコチノイド系農薬を含む殺虫剤の低濃度複合曝露がもたらすアトピー性皮膚炎初期病変への作用

について検証したが、その内容については紙面の関係で割愛する(業績および成果物を参照)。

## 2. 成果物

1. 遠山千春, 木村-黒田純子, 星信彦「[農薬の安全性とリスク評価 - “見過ごさず, 見落とさず, 見誤らない” ために](#)」『科学』(岩波書店) 92: 256-273. B09S41DCCH (2022.3)
2. 星信彦「[環境化学物質と子供の発達 - 最新研究が示した農薬の影響](#)」『En-ichi Forum』No. 373 (2022.12)
3. Hoshi N. 「[Adverse effects of pesticides on regional biodiversity and their mechanisms](#)」『Risks and Regulation of New Technologies』(Springer, Singapore) . ISBN: 978-981-15-8689-7. DOI:10.1007/978-981-15-8689-7\_12 (2021.1)
4. Nishi M, Sugio S, Hirano T, Kato D, Wake H, Shoda A, Murata M, Ikenaka Y, Tabuchi Y, Mantani Y, Yokoyama T, Hoshi N. 「[Elucidation of the neurological effects of clothianidin exposure at the no-observed-adverse-effect level \(NOAEL\) using two-photon microscopy in vivo imaging](#)」『J Vet Med Sci』 84:585-592. doi: 10.1292/jvms.22-0013 (2022.4)

5.	Hirai A, Sugio S, Nimako C, Nakayama SMM, Kato K, Takahashi K, Arizono K, Hirano T, Hoshi N, Fujioka K, Taira K, Ishizuka M, Wake H, Ikenaka Y. 「 <a href="#">Ca2+ imaging with two-photon microscopy to detect the disruption of brain function in mice administered neonicotinoid insecticides</a> 」 『Sci Rep』 12: 5114. doi: 10.1038/s41598-022-09038-7 (2022.3)
6.	Hirano T, Miyata U, Kubo S, Ohno S, Onaru K, Maeda M, Kitauchi S, Nishi M, Tabuchi Y, Ikenaka Y, Ichise T, Nakayama SMM, Arizono K, Takahashi K, Kato K, Mantani Y, Yokoyama T, Hoshi N. 「 <a href="#">Aging-related changes in the sensitivity of behavioral effects of the neonicotinoid pesticide clothianidin in male mice</a> 」 『Toxicol Lett』 342: 95–103. doi: 10.1016/j.toxlet.2021.02.010 (2021.5)
7.	Kitauchi S, Maeda M, Hirano T, Ikenaka Y, Nishi M, Shoda A, Murata M, Mantani Y, Yokoyama T, Tabuchi Y, Hoshi N. 「 <a href="#">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</a> 」 『J Vet Med Sci』 83: 746–753. doi: 10.1292/jvms.21-0014 (2021.2)
8.	Maeda M, Kitauchi S, Hirano T, Ikenaka Y, Nishi M, Shoda A, Murata M, Mantani Y, Tabuchi Y, Yokoyama T, Hoshi N. 「 <a href="#">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</a> 」 『J Vet Med Sci, 83: 542–548. doi: 10.1292/jvms.20-0721 (2021.2)
9.	Nimako C, Ikenaka Y, Okamatsu-Ogura Y, Bariuan JV, Kobayashi A, Yamazaki R, Taira K, Hoshi N, Hirano T, Nakayama SMM, Ishizuka M. 「 <a href="#">Chronic low-dose exposure to imidacloprid potentiates high fat diet-mediated liver steatosis in C57BL/6J male mice</a> 」 J Vet Med Sci, 83: 487–500. doi: 10.1292/jvms.20-0479 (2021.1)
10.	講演「環境と生命-地球上の生物は滅亡する？ 子どもたちの未来は大丈夫？」Happy子育てセミナー (2021.7.21)
11.	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 ~ネオニコチノイド系農薬による動物実験から~」淡路有機農業講座「第1回オーガニック講座」(2021.7.29)
12.	講演「次世代を担う子ども達の健康を考える-農薬の影響について」神河有機農業教室夏季講座 (2021.7.31)
13.	講演「次世代を担う子供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兵庫フォーラム (2021.10.28)
14.	講演「 <a href="#">ネオニコチノイド系農薬ってなんだろう？</a> 」宍粟有機農業講座特別編 みんなの勉強会 (2021.10.29)
15.	講演「環境化学物質と子供の発達」IPP 政策研究会 (2021.11.2)
16.	講演「 <a href="#">ネオニコ系農薬 哺乳類の脳神経への影響と毒性評価</a> 」コープ自然派ネオニコフリーオンライン学習会 (2022.3.21)
17.	平井杏梨, 杉尾翔太, Collins NIMAKO, 中山翔太, 加藤恵介, 高橋圭介, 有菌幸司, 平野哲史, 星信彦, 石塚真由美, 和氣弘明, 池中良徳「 <a href="#">ニコチン性アセチルコリン受容体アゴニストによるマウスの脳機能攪乱~二光子顕微鏡を用いた検出法の開発~</a> 」第29回環境化学討論会 (2021.6.1~4)
18.	平野哲史, 鈴木二平, 池中良徳, 星 信彦, 田淵圭章「タンパク質分解系を指標としたピレスロイド系農薬デルタメトリンによる神経毒性メカニズムの解析」第48回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7~8)
19.	平井 杏梨, 杉尾 翔太, Collins NIMAKO, 中山翔太, 加藤恵介, 高橋圭介, 有菌幸司, 平野哲史, 星信彦, 藤岡一俊, 平 久美子, 石塚真由美, 和氣弘明, 池中良徳「二光子顕微鏡を用いた, ニコチン性アセチルコリン受容体アゴニストによる脳機能障害の検出」第48回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7~8)

20. 西美咲, 正田明日香, 村田碧, 杉尾翔太, 加藤大輔, 和氣弘明, 万谷洋平, 横山俊史, 星信彦「 <a href="#">光子顕微鏡を用いたクロチアニジン曝露による神経学的影響の解明</a> 」第 61 回日本先天異常学会学術集会 (2021.8.7~8)
21. 正田明日香, 村田碧, 西美咲, 平野哲史, 万谷洋平, 横山俊史, 池中良徳, 星信彦「 <a href="#">ネオニコチノイド系農薬クロチアニジンのマウス母乳中移行量に関する定量的評価</a> 」第 61 回日本先天異常学会学術集会 (2021.8.7~8)
22. 村田碧, 西美咲, 正田明日香, 池中良徳, 佐伯圭一, 松尾栄子, 平野哲史, 万谷洋平, 横山俊史, 星信彦「 <a href="#">ネオニコチノイド系農薬クロチアニジンが次世代マウスの免疫系および腸内細菌叢に及ぼす影響</a> 」第 61 回日本先天異常学会学術集会 (2021.8.7~8)
23. 西美咲, 正田明日香, 村田碧, 杉尾翔太, 加藤大輔, 和氣弘明, 万谷洋平, 横山俊史, 星信彦「クロチアニジン曝露による高次脳機能の維持破綻メカニズムの解明」第 164 回日本獣医学会学術集会 (2021.9.7~13)
24. 正田明日香, 村田碧, 西美咲, 平野哲史, 万谷洋平, 横山俊史, 池中良徳, 星信彦「神経回路形成期におけるステージ別ネオニコチノイド系農薬曝露と発達神経毒性評価」第 164 回日本獣医学会学術集会 (2021.9.7~13)
25. 村田碧, 西美咲, 正田明日香, 池中良徳, 佐伯圭一, 松尾栄子, 平野哲史, 万谷洋平, 横山俊史, 星信彦「ネオニコチノイド系農薬クロチアニジンの胎子・授乳期曝露が次世代マウスの免疫系および腸内細菌叢に及ぼす影響」第 164 回日本獣医学会学術集会 (2021.9.7~13)
26. 西美咲, 正田明日香, 村田碧, 杉尾翔太, 加藤大輔, 和氣弘明, 万谷洋平, 横山俊史, 星信彦「極微量クロチアニジン曝露による神経学的影響の解明」第 23 回環境ホルモン学会学術集会 (2021.9.12~13)
27. 正田明日香, 村田碧, 西美咲, 平野哲史, 万谷洋平, 横山俊史, 池中良徳, 星信彦「低用量クロチアニジンの神経回路形成期におけるステージ別曝露と発達神経毒性評価」第 23 回環境ホルモン学会学術集会 (2021.9.12~13)
28. 村田碧, 西美咲, 正田明日香, 池中良徳, 佐伯圭一, 松尾栄子, 平野哲史, 万谷洋平, 横山俊史, 星信彦「ネオニコチノイド系農薬クロチアニジンの胎子・授乳期曝露による次世代マウスの免疫系および腸内細菌叢の変化」第 23 回環境ホルモン学会学術集会 (2021.9.12~13)
29. 平野哲史, 池中良徳, 星信彦, 田淵圭章「タンパク質分解系の不均衡状態を介したピレスロイド系農薬による神経毒性の発現機序」第 23 回環境ホルモン学会学術集会 (2021.9.12~13)
30. 中西怜稀, 万谷洋平, 大野伸彦, 横山俊史, 星信彦「ラット大腸の粘膜内神経ネットワークに関する組織学的研究」第 127 回日本解剖学会学術集会 (2022.3.27~29)
31. 加藤菜, 横山俊史, 奥西宣祐, 成田大翔, 桐月優輔, 藤川大誠, 万谷洋平, 星信彦「マウス胎子における精巣から中腎内への AMH の移行経路の検討」第 147 回関西実験動物研究会研究発表会 (2021.12.10)