

セッション 『ヒト影響』

12月7日(土) 9:30-12:00

ネオニコチノイド-ヒトへの影響の現状と今後

○平 久美子¹

¹東京女子医科大学附属足立医療センター 麻酔科

ネオニコチノイド系殺虫剤（ネオニコチノイド）は、農林業や公衆衛生分野の害虫駆除に世界的に用いられてきた。アセチルコリン受容体に対しアゴニスト/アンタゴニスト/受容体変調作用を有し、標的外の無脊椎動物、両生類、爬虫類、鳥類、微生物、哺乳類に負の影響をおよぼす。イミダクロプリド、アセタミプリド、チアクロプリド、ニテンピラム、チアメトキサム、ジノテフランに加え、2016年以降に農薬登録された同様の作用機序と毒性をもつフルピラジフロン、スルホキサフロル、トリフルメゾピリム、フルピリミンが日本では農薬登録されている。

最近の研究によれば、イミダクロプリド、アセタミプリド、チアクロプリド、クロチアニジン（チアメトキサムの活性一次代謝物）は、ヒト細胞の $\alpha 7$ および非 $\alpha 7$ -ニコチン受容体にアゴニスト作用を有し、中枢神経、自律神経節、副腎髄質、神経筋接合部、皮膚立毛筋、汗腺、免疫細胞、表皮角質細胞、気管支上皮、血管内皮細胞、心房心内膜、膀胱、肝細胞、膵島 β 細胞、腎尿細管、精巣、精子、卵胞、羊膜、胎盤に負の影響を与えうる。この5種の国内使用は年間230トン以上、人体からの排泄は遅い。原体と代謝物の脂溶性は低いものの、タンパク質と結合し長期間体内に保持される。長年の使用により生態系だけでなくヒトにも蓄積と同じ状態が生じていて、生態系と公衆衛生および次世代への影響への懸念は年々増大する一方である。

ヒトに対するネオニコチノイドの負の影響について今後も情報発信を続けていく必要がある。本シンポジウムがそのきっかけとなることを期待している。

Neonicotinoids-The Impact on Human Health and Our Future

Kumiko Taira¹

¹*Department of Anesthesiology, Adachi Medical Center, Tokyo Women's Medical University*

Neonicotinoid insecticides (neonicotinoids) are widely used in agriculture, forestry and public health in the world. Neonicotinoids (imidacloprid, acetamiprid, thiacloprid, nitenpyram, thiamethoxam, and dinotefuran) and other insecticides categorized into IARC Category 4 (flupyradifurone, sulfoxaflor, triflumezopyrim, and flupyrimin) are agonists/antagonists/modulators of acetylcholine receptors and have adverse effects on non-target species, such as invertebrates, amphibians, reptiles, birds, microbes and mammals.

Recent evidence suggested some neonicotinoids i.e. imidacloprid, acetamiprid, thiacloprid, clothianidin (an active metabolite of thiamethoxam) were true agonists for human $\alpha 7$ and non- $\alpha 7$ nicotinic receptors, and might have negative effects on CNS as well as autonomic ganglion, adrenal medulla, neuromuscular junctions, skin arrector pili muscles, sweat glands, immune cells, epidermal keratinocytes, atrial endocardium, bladder, hepatocytes, pancreatic β cells, renal tubules, testis, sperms, follicles, amnion, and placenta. Use of the five toxic neonicotinoids is still continuing in Japan, 230 tons or more every year. The elimination from human body is not always rapid. Neonicotinoids and metabolites with modest lipophilicity could accumulate not only in hair but also in nervous systems by their protein binding ability. Population level accumulation seems to have occurred already. We should continue every action to protect next generation from the negative effect of neonicotinoids.

自閉スペクトラム症関連遺伝子 **AUTS2** による クロマチン修飾、遺伝子発現、および神経細胞発達の制御

○星野 幹雄¹、嶋岡 可純¹、

¹国立精神神経医療研究センター 神経研究所 病態生化学研究部

脳の発達は段階的なプロセスで起こる。まず、神経細胞が前駆細胞から生成され、最終目的地へと移動する。その後、これらのニューロンは軸索と樹状突起を伸ばして標的を探し、シナプスを形成し、適切に刈り込まれるこの過程がうまくいかないと、さまざまな脳神経疾患の原因となりうる。AUTS2 遺伝子の機能障害によってもたらされる AUTS2 症候群では、多くの場合小頭症を呈し、さらに自閉症スペクトラム障害 (ASD)、統合失調症、てんかんなどが認められる。本シンポジウムでは、AUTS2 が神経細胞の段階的発達（神経細胞の産生、神経細胞の移動、軸索と樹状突起の成長、シナプスの形成と刈り込み）に関わること、その機能異常によって様々な疾患病態が引き起こされることを示す。特に、AUTS2 が細胞核内で PRC2 複合体と共にクロマチン修飾を介して遺伝子発現を制御し、大脳皮質浅層神経細胞の産生に関わること、その機能異常によって小頭症が引き起こされることについて、詳述する。さらに、外因性化学物質による AUTS2 の発現への影響についても考察する。

Regulation of chromatin modification, gene expression, and neuronal development by the autism spectrum disorder-related gene AUTS2

Mikio Hoshino¹, Kazumi Shimaoka²

¹*Department of Biochemistry and Cellular Biology, National Institute of Neuroscience, NCNP*

Brain development occurs in a step-by-step process. First, neurons are generated from progenitor cells and migrate to their final destination. If this process goes wrong, it can lead to a variety of psychiatric disorders, epilepsy, etc. AUTS2 syndrome, caused by dysfunction of the AUTS2 gene, often results in microcephaly. In addition, autism spectrum disorders (ASD), schizophrenia, and epilepsy are also observed. In this symposium, I will assess the mechanisms by which AUTS2 is involved in the step-by-step development of neurons and that various disease pathologies are caused by functional abnormalities of AUTS2. In particular, we will discuss in detail how AUTS2, together with the PRC2 complex, regulates gene expression via chromatin modification in the cell nucleus, and how it is involved in the production of neurons in the shallow layers of the cerebral cortex, and how a functional abnormality in this process can cause microcephaly. We will also consider the effects of exogenous chemical substances on the expression of AUTS2.

無毒性量（NOAEL）に潜む農薬類による高次脳機能攪乱と発達神経毒性

○平野 哲史^{1,2}

¹富山大学 研究推進機構 生命科学先端研究支援ユニット

²富山大学 学術研究部 薬学・和漢系

現行の化学物質のリスク評価において、動物を用いた複数の毒性試験から決定される「無毒性量（No Observed Adverse Effect Level: NOAEL）」はヒトにおける一日摂取許容量や残留基準値の算出に最も重要な役割を果たしている。しかしながら、とくに中枢神経系に対する神経毒性試験は、げっ歯類の肉眼行動観察や脳の病理組織学的変性を指標としているためスループットや検出感度が低いという問題点が指摘されている。さらに発達神経毒性はリスク評価の必須とされていないことから、現状の無毒性量が次世代の高次脳機能を守るために十分かについて懸念は拭いきれない。

我々はこれまでにネオニコチノイド系農薬が哺乳類の高次脳機能に及ぼす影響評価に取り組み、従来の毒性試験で決定された無毒性量レベルでの曝露が引き起こす神経行動学的影響を明らかにしてきた。ネオニコチノイド系農薬の1種であるクロチアニジン（CLO）を単回曝露したマウスにおいては、新規環境における不安様行動やストレス応答の活性化がみられた。さらに、CLOの急性曝露が及ぼす行動影響においては、加齢（高齢>成獣）や雌雄（雄>雌）によって感受性差が存在することを初めて明らかにした。発達神経毒性を検証する上で重要な母体-産子間への移行レベルを検討した結果、妊娠期において母体に投与された CLO およびその代謝物の血中濃度は母体および胎子でほぼ同等であること、授乳期においては母体血中濃度より乳汁中濃度の方が高い、すなわち乳汁への濃縮が起きた上で産子への曝露が起きることが明らかになった。実際に、胎子期・授乳期にかけて CLO を曝露した産子は成獣期においては、単回曝露とは異なる行動影響がみられることを見出した。

以上を踏まえると、化学物質による脳機能攪乱を検出・評価するにあたっては、化学物質の受容体への作用を起点としたシグナル毒性の概念に加え、Adverse Outcome Pathway (AOP)のフレームワークに基づいてメカニズムを理解した上で、新たなエンドポイントや試験法の整備が重要となると考えられる。

Disturbance of brain function and developmental neurotoxicity caused by pesticide exposure at NOAEL level

Tetsushi Hirano^{1,2}

¹*Life Science Research Center, University of Toyama,*

²*Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama*

In the current risk assessment of chemicals, the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL), which is determined from multiple toxicity tests using animals, plays the most important role in the calculation of the daily intake tolerance and residue limits for humans. However, neurotoxicity testing has long been problematic due to low throughput and detection sensitivity, which raises concerns about whether current NOAEL doses could be efficient to protect the higher brain functions of future generations. Our data showed that acute exposure of mice to clothianidin (CLO), a neonicotinoid pesticide, resulted in anxiety-like behavior and activation of stress responses in a novel environment. Furthermore, we found that susceptibility differences exist between ageing (older > adult animals) and sex (male > female) in the behavioral effects of acute exposure to CLO. The blood concentrations of CLO and its metabolites administered to the mother during gestation were similar in the mother and fetus, while during lactation, the concentrations in milk were higher than those in maternal blood. The littermates exposed to CLO during the fetal and lactation periods showed behavioral effects in adulthood that were different from those of acute exposures. Taken together, it is important to develop new endpoints and testing methods based on an understanding of mechanisms based on the Adverse Outcome Pathway (AOP) framework, in addition to the concept of signal toxicity.

周産期の甲状腺ホルモン系の攪乱による発達神経毒性

天野 出月

群馬大学大学院医学系研究科 応用生理学分野

先天性甲状腺機能低下症で知られるように、甲状腺ホルモンは中枢神経系の発達に必須のホルモンの一つである。甲状腺ホルモンは神経細胞の新生・成長、神経回路の構築に必要な遺伝子発現調節の一端を担い、不足により不可逆的な神経発達障害を引き起こす。それ故、周産期における環境化学物質による甲状腺ホルモン系の攪乱は児の正常な発育・発達への懸念となる。しかし、視床下部－下垂体－甲状腺系により制御されている甲状腺機能を、日常生活で曝露される濃度の環境化学物質が攪乱するとは考えにくい。懸念すべきは、甲状腺ホルモンの標的臓器における、脱ヨウ素酵素を介した甲状腺ホルモンの代謝や、細胞内に取り込む際に必要となる輸送体や、受容体レベルでの阻害である。実際にこれらの遺伝子異常は、以前より知られていた甲状腺ホルモン受容体異常（不応症（RTH β ））だけでなく、RTH α やトランスポーター異常症といった疾患を引き起こし、神経発達異常をはじめとした様々な異常に繋がることが注目されている。我々のグループは、近年社会的に問題となっている有機フッ素化合物（PFAS）の一つであるペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）が脱ヨウ素酵素の活性を阻害することにより、非活性型甲状腺ホルモン（T₄）から活性型甲状腺ホルモン（T₃）への変換を妨げ、神経細胞における甲状腺ホルモン作用を減弱することを報告した。本発表では中枢神経系における甲状腺ホルモンの役割から、環境化学物質による攪乱の影響まで我々の知見を踏まえつつ概説したい。

Developmental neurotoxicity caused by perinatal disruption of thyroid hormone function

Izuki Amano

Department of Integrative Physiology, Gunma University Graduate School of Medicine

As evidenced by congenital hypothyroidism, thyroid hormones (TH) are essential for the development of the central nervous system (CNS). TH plays a crucial role in neurogenesis, neuronal growth, and the formation of neural circuits through the regulation of gene expression. TH deficiency led to irreversible neurodevelopmental disorders. Therefore, disruption of the TH system by environmental chemicals during the perinatal period raises concerns regarding the normal growth and development of children.

However, it is unlikely that exposure to environmental chemicals at concentrations encountered in daily life would significantly disrupt thyroid function, which is regulated by the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. Of greater concern is the inhibition of TH metabolism, transport, or receptor binding at target organs, where TH functions are regulated by enzymes such as deiodinases and transporters necessary for intracellular uptake. In fact, abnormalities in these pathways have been linked not only to previously recognized TH resistance syndromes, such as resistance to thyroid hormone beta (RTH β), but also to newer conditions like RTH α and transporter defects. These abnormalities can result in various disorders, including neurodevelopmental impairments.

Our research group recently reported that perfluorooctane sulfonate (PFOS), a type of perfluoroalkyl substance (PFAS) that has become a societal concern, inhibits the activity of deiodinase enzymes. This inhibition impairs the conversion of the inactive TH (T₄) into its active form (T₃), thereby weakening the effects of TH on neuronal cells. In this presentation, we aim to provide an overview of the role of TH in the CNS and discuss the potential impacts of environmental chemical disruptions on TH functions.

周産期マウスへの化学物質曝露による遅発性情動・認知行動毒性の検出

○齊藤 洋克

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部

発生-発達期は化学物質の曝露に対して最も感受性の高い時期である。近年、急性毒性を引き起こさないレベルの曝露量であっても、化学物質が胎児や小児の中枢神経系に及ぼす影響が注目されている。この時期の脳は外的環境要因の影響を受けやすく、特に外因性の神経作動性化学物質によって正常な神経回路網の形成が妨げられることで、結果として成熟後の脳高次機能に遅発的かつ長期的な影響を及ぼすおそれがある。そのため、化学物質に対して高感受性を持つ発生-発達期の脳の特性を考慮し、従来の神経毒性試験では検出し難い遅発性の脳高次機能への影響について慎重に検討する必要がある。

我々は、実験動物としてマウスを用い、化学物質曝露が脳高次機能に与える影響を客観的かつ定量的に検出するため、自発運動量、情動行動、学習記憶能などに着目したバッテリー式の行動試験評価系を構築し、行動影響の検出と、その発現メカニズムの解明に向けた神経科学的物証の収集を進めている。今回は、ネオニコチノイド系農薬をモデル化学物質として用いた解析結果を中心に報告する。妊娠期から授乳期の雌マウスにネオニコチノイド系農薬を飲水投与し、得られた雄産仔において成熟後に行動試験を行った結果、学習記憶異常を主とする行動影響が認められた。また、組織学的解析により、神経幹細胞の分化様式のかく乱が観察された。

上記結果を一例として、本シンポジウムでは、現在までに取り組んでいる遅発性の神経行動毒性、特に情動・認知といった脳高次機能への影響を検出するための実験的取り組みについて紹介し、その意義や課題についても議論したい。

Detection of delayed emotional and cognitive behavioral toxicity due to chemical exposure in perinatal mice

Hirokatsu Saito

Division of Cellular and Molecular Toxicology, Center for Biological Safety and Research, National Institute of Health Sciences

The developing brain is susceptible to the effect of environmental factors, including exogenous neuroactive chemicals, which can hinder the formation of the normal neural circuit and potentially have adverse effects on higher brain functions in adulthood. Therefore, it is important to consider the characteristics of the developing brain, which is highly sensitive to neuroactive chemicals, and carefully examine late effects on higher brain functions that are difficult to detect by conventional neurotoxicity tests. To analyze the effects of neuroactive chemicals on higher brain functions objectively and quantitatively using mice, we develop a behavioral test battery and collect neuroscientific evidence.

In this symposium, we mainly report the results using neonicotinoid pesticides as a model chemical substance. Neonicotinoid pesticides were administered to female mice during the gestation and lactation periods. Male pups were conducted behavioral tests after maturation and mainly observed learning and memory abnormalities. In addition, histological analysis showed that the differentiation pattern of neural stem cells was disturbed. Based on the above results, we would like to provide our current experimental efforts to detect delayed neurobehavioral toxicity, especially effects on higher brain functions such as emotion and cognition, and discuss the significance and challenges of these efforts.