



Molecular morphological study of the combined effects of environmental factors on the reproductive function and stress reactivity

Hirano, Tetsushi

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2017-03-25

(Date of Publication)

2018-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6941号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006941>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博士論文内容の要旨

氏 名 _____ 平野 哲史 _____

専攻・講座 _____ 資源生命科学専攻・応用動物学講座 _____

論文題目 (外国語の場合は、その和訳を併記すること。)

Molecular morphological study of the combined effects of environmental factors on the reproductive function and stress reactivity

(環境要因が生殖機能およびストレス反応系に与える複合影響に関する分子形態学的研究)

指導教員 _____ 梶 信彦 _____

ヒトを含む生物は様々な環境要因に複合的に曝露され続け、無自覚に多大な影響を受けている。現在、社会問題となっている不妊および精神疾患増加の背景には、生来の遺伝要因に加えて、環境化学物質および社会生活に起因する心理的ストレス曝露が主要なリスク要因として指摘されている。しかしながら、一卵性双生児が同じ疾患を発症しない例や、特定の高感受性集団においてのみ影響が顕在化する化学物質過敏症等の例が示すように、発症メカニズムとしては、個々の持つ素因に様々なストレスが複合し、閾値を越えた際に症状が顕在化する「ストレス脆弱性仮説」が支持されている。また、これらの環境要因は組合せにより互いの影響を相加相乗的に強め合う例が存在するため、2011年にはWHOが複合曝露評価に対するFrameworkを公表する等、複合的な曝露現状を反映した影響評価の必要性が指摘されている。

1990年代に開発されたネオニコチノイドは、昆虫のニコチン性アセチルコリン受容体(nAChRs)を標的としたアゴニスト作用を示す新規農薬である。しかし近年、ネオニコチノイドは哺乳類神経細胞に対してもnAChRsを介した異常興奮反応を引き起こすことが示された。さらにnAChRsはコリン作動性シグナルを伝達するのみならず、他の伝達物質(ドーパミンやセロトニン等)による神経伝達の修飾やシナプス形成に関与するため、ネオニコチノイドが脊椎動物の脳神経系に対して不測の影響を及ぼし、精神疾患や発達障害の一因となる可能性が懸念されている。しかし、哺乳類への影響に関する知見は非常に少なく、依然として安全性は十分に証明されていない。このような状況の中で、EUは2013年に予防原則に基づきネオニコチノイド3種を暫定使用禁止とした一方で、我が国においては農作物中の残留基準値をより緩和しようとする相反した対応がみられ、ネオニコチノイドに対する影響評価は国際レベルで急務となっている。そこで本論文では、我々が日常的に曝露されている環境ストレスおよび環境化学物質等の環境要因が生体の生殖および行動機能に与える影響を多角的に解析し、そのメカニズムを考察している。

第I章では、環境ストレスが生殖機能を抑制するメカニズムの一端を明らかにすることを目的とし、新規生殖制御ペプチドであるキスペプチンの発現変化に着目した解析を行った。環境ストレス曝露群のマウスの視床下部弓状核においてはキスペプチンの発現が減少し、精巣においては生殖細胞数の減少に伴う組織異常、死細胞数の増加等の所見を得た。これらの結果から、環境ストレスはキスペプチン発現を標的とし、視床下部一下垂体-生殖腺系フィードバックに作用することで生殖機能の低下を引き起こす可能性が示唆された。これらの研究成果は、The Journal of Veterinary Medical Science誌において既に公表している。

第II章では、新規環境化学物質として、哺乳類の脳神経系に対する影響評価が国際的に

(氏名： 平野 哲史 NO.2)

急務とされているネオニコチノイド系農薬に着目し、上述の環境ストレス下において生殖および行動機能に及ぼす複合影響を評価した。その結果、ネオニコチノイドは生殖細胞を第一標的とし、抗酸化酵素減少による酸化ストレスを引き起こすこと、ならびに新規環境における不安様行動を惹起することが明らかとなった。加えて、環境ストレス下においては、ネオニコチノイド単独曝露時に比べ生殖および脳機能に与える影響が顕在化しやすいことが示された。本研究から、環境ストレスおよび環境化学物質が哺乳類の生殖および行動機能に対して相加相乗的な影響を及ぼす可能性が初めて示された。これらの研究成果は、The Journal of Veterinary Medical Science 誌において既に公表している。

第三章では、ネオニコチノイド系農薬が及ぼす神経行動学的影響を、新規環境における不安様行動に着目してより詳細に解析し、影響発現に関与する責任脳領域の同定を目的とした神経活動性解析を行った。その結果、ネオニコチノイドを曝露したマウスにおいては、高架式十字迷路試験の際に「負」の情動応答であるとされる異常啼鳴(4-16 kHz)や Freezing 行動が観察される等、著しい不安様行動を誘発することが明らかとなった。加えて、「負」の情動入力を受ける視床室傍核や海馬歯状回の過剰な活性化がみられ、ネオニコチノイドにより新規環境に対するストレス応答性が向上している可能性が示唆された。ネオニコチノイドは無毒性量以下の濃度であっても曝露時期や期間によりさまざまな行動学的影響を及ぼすことを示した。また、ネオニコチノイドの標的となる nAChRs は脳全域に分布するが、本研究からも海馬、視床、中脳等の広範な脳領域が標的となっている可能性が明らかとなった。現在、これらの研究成果をまとめている。

以上のように本論文においては、従来認識されていなかった複数の環境要因間に存在する複合影響を初めて提起し、環境化学物質により生体のストレス反応性が上昇するという観点から複合影響メカニズムの一端を解明した。さらに将来的には「ストレス応答系の攪乱」は重要な新規エンドポイントとなる可能性を示し、今後も生み出され続ける新規環境化学物質に対する新規リスク評価システムおよびバイオマーカーの開発も期待でき、環境医科学、薬学および獣医学を通じてヒトを含む哺乳動物の保全に大きく貢献できる点でその波及効果は多大であると思われる。

氏名	平野 哲史		
論文 題目	Molecular morphological study of the combined effects of environmental factors on the reproductive function and stress reactivity (環境要因が生殖機能およびストレス反応系に与える複合影響に関する分子形態学的研究)		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	教授	星 信彦
	副査	教授	北川 浩
	副査	教授	河野 潤一
	副査		
印			
要 旨			
<p>概要</p> <p>ヒトを含む生物は様々な環境要因に複合的に曝露され続け、無自覚に多大な影響を受けている。現在、社会問題となっている不妊および精神疾患増加の背景には、生来の遺伝的要因に加えて、環境化学物質および社会生活に起因する心理的ストレス曝露が主要なリスク要因として指摘されている。しかしながら、一卵性双生児が同じ疾患を発症しない例や、特定の高感受性集団においてのみ影響が顕在化する化学物質過敏症等の例が示すように、発症メカニズムとしては、個々の持つ素因に様々なストレスが複合し、閾値を越えた際に症状が顕在化する「ストレス脆弱性仮説」が支持されている。また、これらの環境要因は組合せにより互いの影響を相乗的に強め合う例が存在するため、2011年にはWHOが複合曝露評価に対する Framework を公表する等、複合的な曝露現状を反映した影響評価の必要性が指摘されている。</p> <p>1990年代に開発されたネオニコチノイドは昆虫のニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChRs) を標的としたアゴニスト作用を示す新規農薬である。しかしながら、近年、ネオニコチノイドは哺乳類神経細胞に対しても nAChRs を介した異常興奮反応を引き起こすことが示された。さらに nAChRs はコリン作動性シグナルを伝達するのみならず、他の伝達物質 (ドーパミンやセロトニン等) による神経伝達の修飾やシナプス形成に関与するため、ネオニコチノイドが脊椎動物の脳神経系に対して不測の影響を及ぼし、精神疾患や発達障害の一因となる可能性が懸念されている。しかしながら、哺乳類への影響に関する知見は非常に少なく、依然として安全性は十分に証明されていない。このような状況の中で、EUは2013年に予防原則に基づきネオニコチノイド3種を暫定使用禁止とした一方で、我が国においては農作物中の残留基準値をより緩和する相反した対応がみられ、ネオニコチノイドに対する影響評価は国際レベルで急務となっている。そこで本論文では、我々が日常的に曝露されている環境ストレスおよび環境化学物質等の環境要因が生体の生殖および行動機能に与える影響を多角的に解析し、そのメカニズムを考察している。</p> <p>第I章では、環境ストレスが生殖機能を抑制するメカニズムの一端を明らかにすることを目的とし、新規生殖制御ペプチドであるキスペプチンの発現変化に着目した解析を行っている。環境ストレス曝露群のマウスの視床下部弓状核においてはキスペプチンの発現が減少し、精巣においては生殖細胞数の減少に伴う組織異常、死細胞数の増加等の所見を得ている。これらの結果から、環境ストレスはキスペプチン発現を標的とし、視床下部-下垂体-生殖腺系フィードバックに作用することで生殖機能の低下を引き起こす可能性を示唆している。これらの研究成果は、The Journal of Veterinary Medical Science 誌において既に公表している。</p>			

氏名	平野 哲史
<p>第II章では、新規環境化学物質として、哺乳類の脳神経系に対する影響評価が国際的に急務とされているネオニコチノイド系農薬に着目し、従来の毒性学における無毒性量をマウスに投与し、上述の環境ストレス下において生殖および行動機能に及ぼす複合影響を評価している。その結果、ネオニコチノイドは生殖細胞を第一標的とし、抗酸化酵素減少による酸化ストレスを引き起こすこと、ならびに新規環境における不安様行動が惹起されることを明らかにしている。加えて、環境ストレス下においては、ネオニコチノイド単独曝露時に比べ生殖および脳機能に与える影響が顕在化しやすいことを示している。本研究から、環境ストレスおよび環境化学物質が哺乳類の生殖および行動機能に対して相乗的な影響が及ぶ可能性を初めて示している。これらの研究成果は、The Journal of Veterinary Medical Science 誌において既に公表している。</p> <p>第III章では、ネオニコチノイド系農薬が及ぼす神経行動学的影響を、新規環境における不安様行動に着目してより詳細に解析し、影響発現に関する責任脳領域の同定を目的とした神経活動性解析を行っている。その結果、無毒性量レベルのネオニコチノイドを曝露したマウスにおいては、高架式十字迷路試験の際に「負」の情動応答であるとされる異常啼鳴 (4-16 kHz) や Freezing 行動が観察される等、著しい不安様行動が誘発されることを明らかにしている。加えて、「負」の情動入力を受ける視床室傍核や海馬歯状回の過剰な活性化がみられ、ネオニコチノイドにより新規環境に対するストレス応答性が向上する可能性を示唆している。ネオニコチノイドは無毒性量以下の濃度であっても曝露時期や期間によりさまざまな行動学的影響が及ぼされることを示している。また、ネオニコチノイドの標的となる nAChRs は脳全域に分布するが、本研究からも海馬、視床、中脳等の広範な脳領域が標的となっている可能性を明らかにしている。</p> <p>以上のように本研究は、従来認識されていなかった複数の環境要因間に存在する複合影響を研究したものであり、初めて環境化学物質により生体のストレス反応性が上昇するという観点から複合影響メカニズムの一端を解明したものである。将来的には「ストレス応答系の攪乱」は重要な新規エンドポイントとなる可能性を示し、今後も生み出され続ける環境化学物質に対する新規リスク評価システムおよびバイオマーカーの開発ならびにヒトを含む動物の保全について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、学位申請者の平野 哲史氏は、博士 (農学) の学位を得る資格があると認める。</p>	