

# 脳の発達に影響を与える化学物質とは？ -脳高次機能に対する化学物質の周産期ばく露の影響-

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・客員研究員

菅野 純

本講演の内容は演者個人の見解に基づくものです。

# 子どもの毒性学

子供の高次脳機能への化学物質曝露影響の把握に関わる  
臨床、応用および基礎科学の現状と展望

主催：日本学術会議・毒性学分科会

(薬学委員会・食料科学委員会・基礎医学委員会合同)

共催：日本毒性学会

場所：オンライン

参加：無料

日時：令和4年2月19日(土)

13:00~17:20



QRをクリックすると  
登録サイトに飛びます。

13:00 開会挨拶

菅野 純 (日本学術会議連携会員・国立医薬品食品衛生研究所客員研究員・名誉職員)

講演 座長 姫野 誠一郎 (日本学術会議連携会員・昭和大学薬学部客員教授)

13:10 「出生体重と子どもの神経発達の関係」

市川 剛 (獨協医科大学・医学部 講師)

13:40 「自閉スペクトラム症の環境要因」

松崎 秀夫 (福井大学 子どものこころの発達研究センター 教授)

14:10 「自閉症と統合失調症の疫学」

土屋 賢治 (浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター 特任教授)

休憩 14:40~14:50

14:50 「ゲノム解析に基づいたASD/SCZの研究」

尾崎 紀夫 (日本学術会議会員・第二部幹事 名古屋大学大学院・医学系研究科 教授)

15:20 「アセフェート経口投与によるマウスの情動認知行動影響」

種村 健太郎 (東北大学大学院・農学研究科 教授)

15:50 「AUTS2遺伝子と脳神経発達、そして精神疾患」

星野 幹雄 (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 部長)

休憩 16:20~16:30

16:30~17:10

パネルディスカッション 座長：菅野 純

パネリスト：

各講演者

関野 祐子 (日本学術会議連携会員・東京大学大学院薬学系研究科ヒト細胞創薬学寄付講座特任教授)

姫野 誠一郎

17:10~17:20 閉会の辞

平井みどり (日本学術会議連携会員・神戸大学名誉教授)

13:00 開会挨拶

菅野 純 (日本学術会議連携会員・国立医薬品食品衛生研究所客員研究員・名誉職員)

講演 座長 姫野 誠一郎 (日本学術会議連携会員・昭和大学薬学部客員教授)

13:10 **「出生体重と子どもの神経発達の関係」**

市川 剛 (獨協医科大学・医学部 講師)

13:40 **「自閉スペクトラム症の環境要因」**

松崎 秀夫 (福井大学 子どものこころの発達研究センター 教授)

14:10 **「自閉症と統合失調症の疫学」**

土屋 賢治 (浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター 特任教授)

休憩 14:40~14:50

14:50 **「ゲノム解析に基づいたASD/SCZの研究」**

尾崎 紀夫 (日本学術会議会員・第二部幹事 名古屋大学大学院・医学系研究科 教授)

15:20 **「アセフェート経口投与によるマウスの情動認知行動影響」**

種村 健太郎 (東北大学大学院・農学研究科 教授)

15:50 **「AUTS2遺伝子と脳神経発達、そして精神疾患」**

星野 幹雄 (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 部長)

休憩 16:20~16:30

16:30~17:10

**パネルディスカッション** 座長：菅野 純

パネリスト：

各講演者

関野 祐子 (日本学術会議連携会員・東京大学大学院薬学系研究科ヒト細胞創薬学寄付講座特任教授)

姫野 誠一郎

17:10~17:20 閉会の辞

平井みどり (日本学術会議連携会員・神戸大学名誉教授)



<http://www.jsot.jp/>

過去のシンポジウムの記録

「子どもの毒性学：子供の高次脳機能への化学物質曝露影響の把握に関わる、臨床、応用および基礎科学の現状と展望」

会期	2022年2月19日(土) 13:00~17:20
会場	オンライン開催
URL	<a href="https://www.scj.go.jp/ja/event/2022/318-s-0219.html">https://www.scj.go.jp/ja/event/2022/318-s-0219.html</a> <a href="#">English version</a>
座長	姫野 誠一郎 (日本学術会議連携会員・昭和大学薬学部客員教授) 菅野 純 (日本学術会議連携会員・国立医薬品食品衛生研究所客員研究員・名誉職員)
ポスター	<a href="#">ポスター</a>
要旨集	<a href="#">要旨集</a>
シンポジウム資料	<a href="#">菅野純先生</a> 、 <a href="#">市川剛先生</a> 、 <a href="#">松崎秀夫先生</a> 、 <a href="#">土屋賢治先生</a> 、 <a href="#">尾崎紀夫先生</a> 、 <a href="#">榎村健太郎先生</a> 、 <a href="#">星野幹雄先生</a>
参加登録	<a href="https://hokudai.webex.com/hokudai/j_php?RGID=r29e403bbcaebd50dbb832400ab656766">https://hokudai.webex.com/hokudai/j_php?RGID=r29e403bbcaebd50dbb832400ab656766</a>
事務局	こどもの毒性学シンポジウム事務局 (北海道大学獣医学研究院内) <a href="mailto:scj-tox@vetmed.hokudai.ac.jp">scj-tox@vetmed.hokudai.ac.jp</a>

日本学術会議 毒性学分科会

日本学術会議とは

毒性学分科会の活動

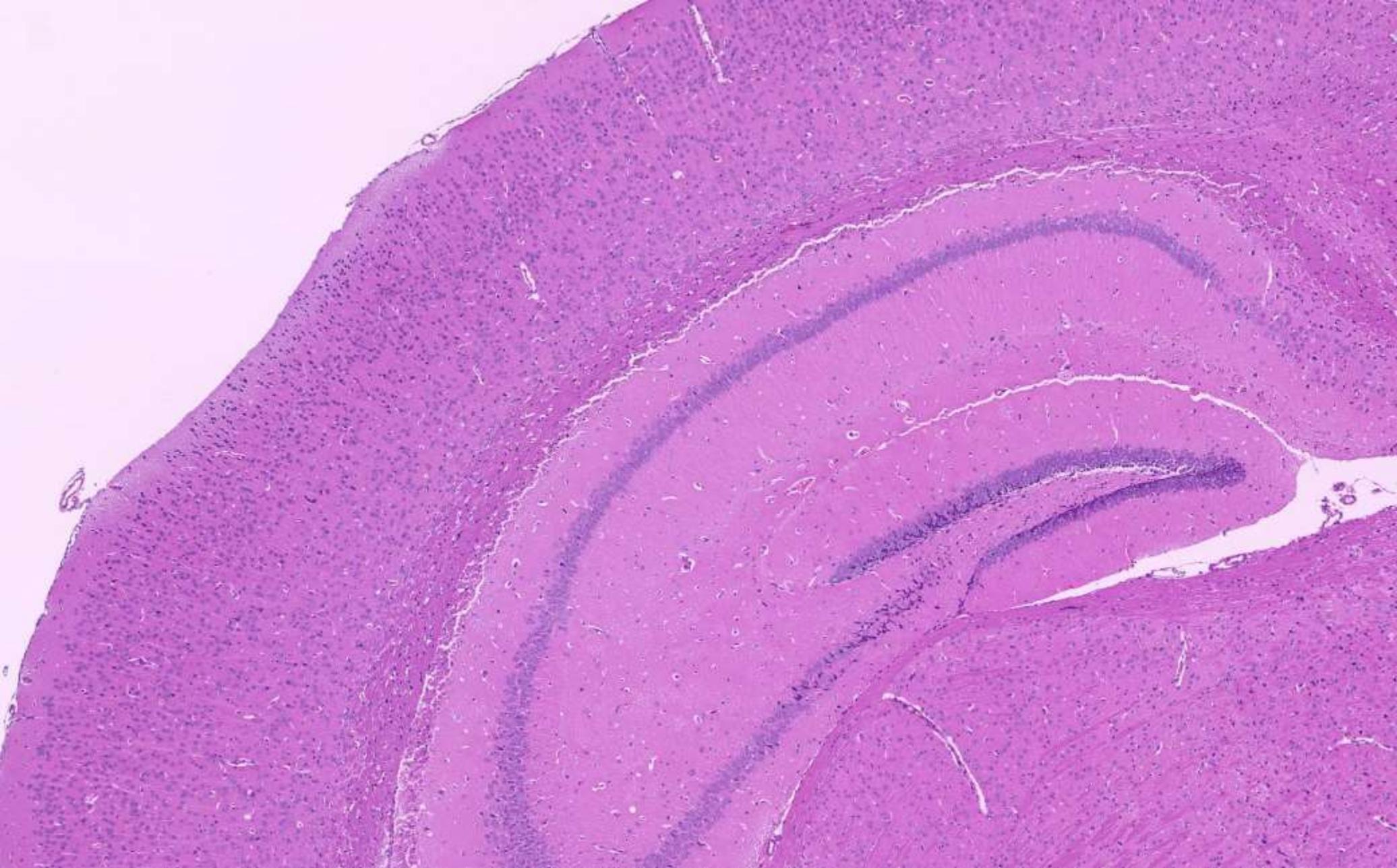
シンポジウムのお知らせと記録

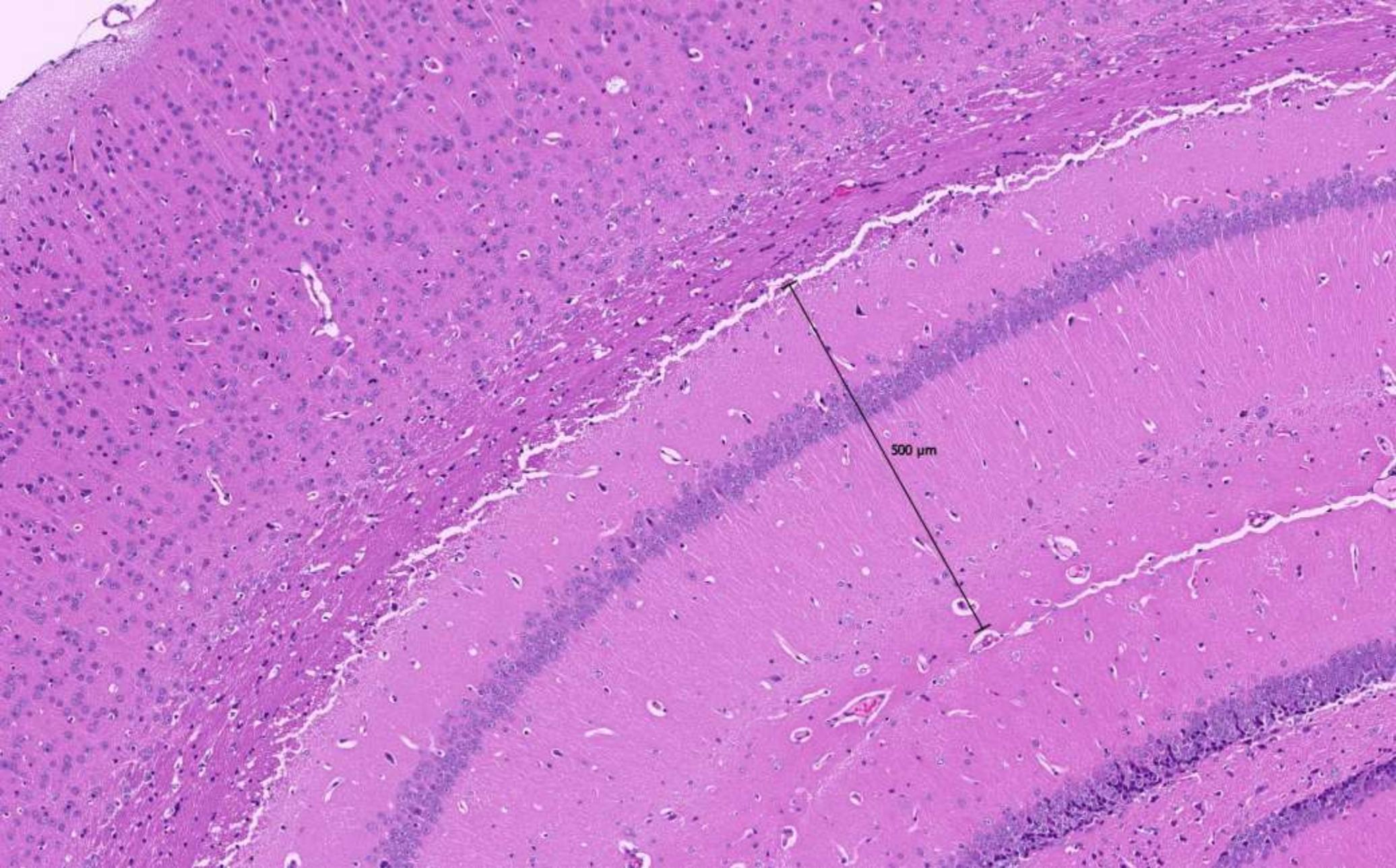
分科会委員

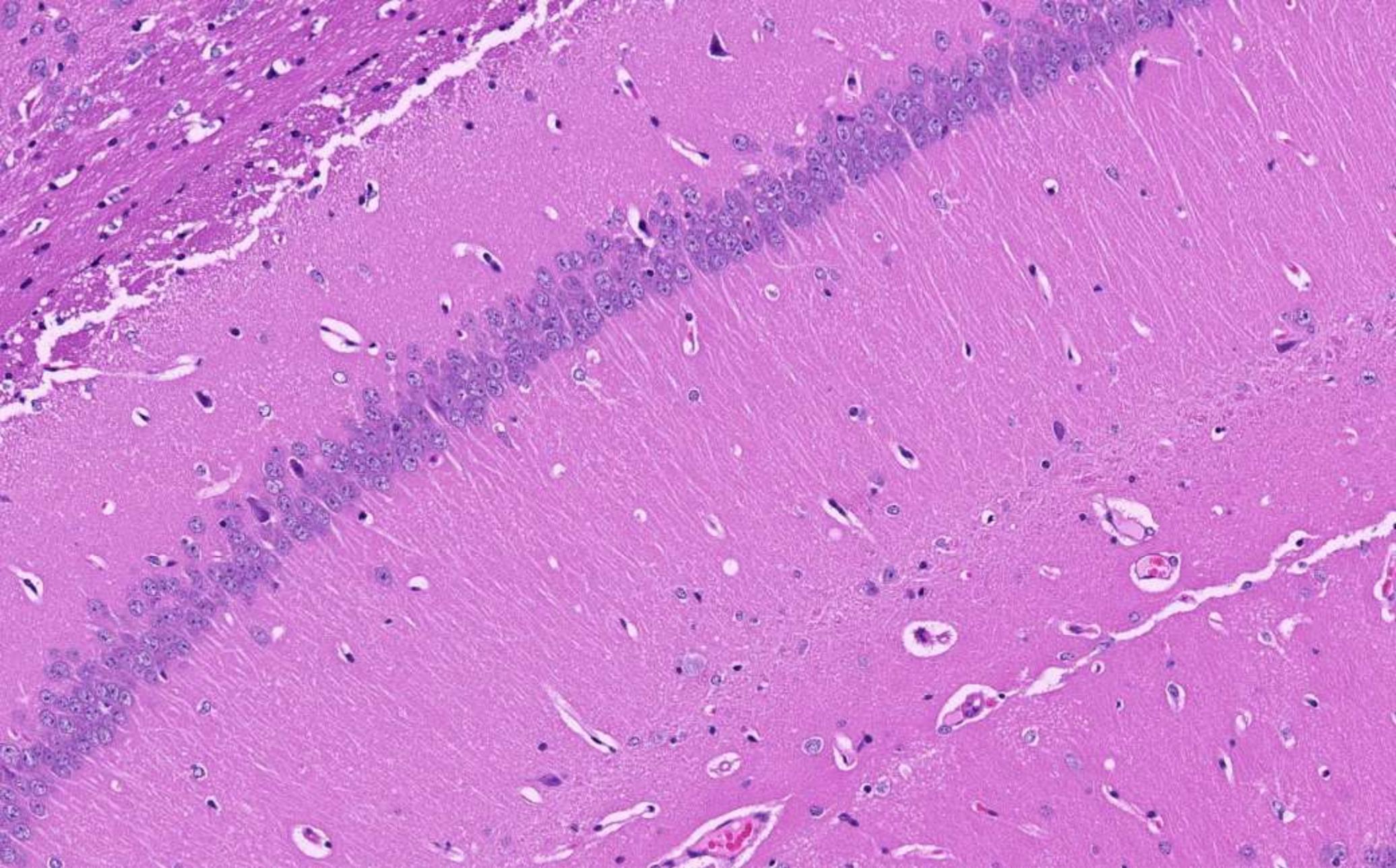
## マウス(成獣)の脳

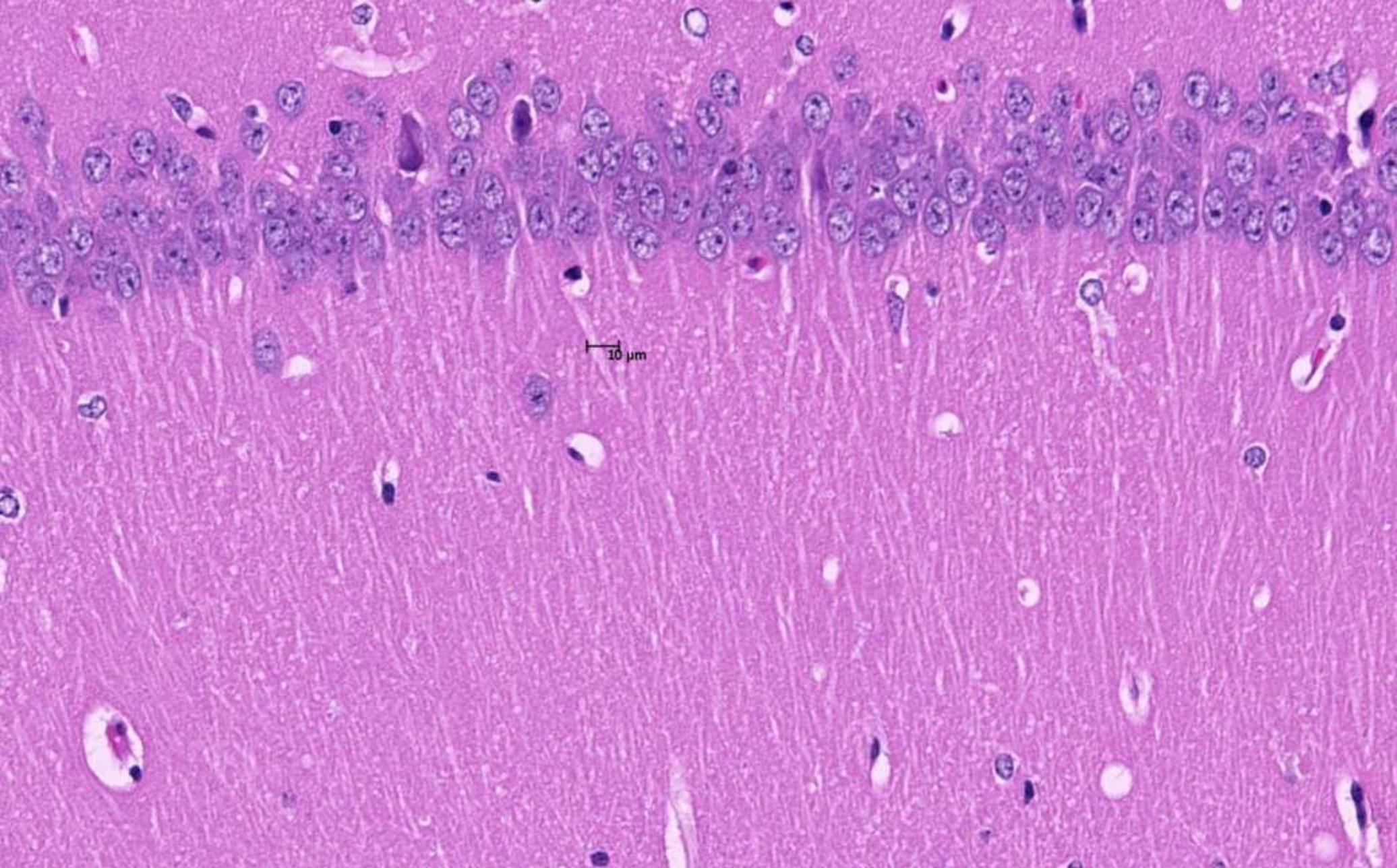




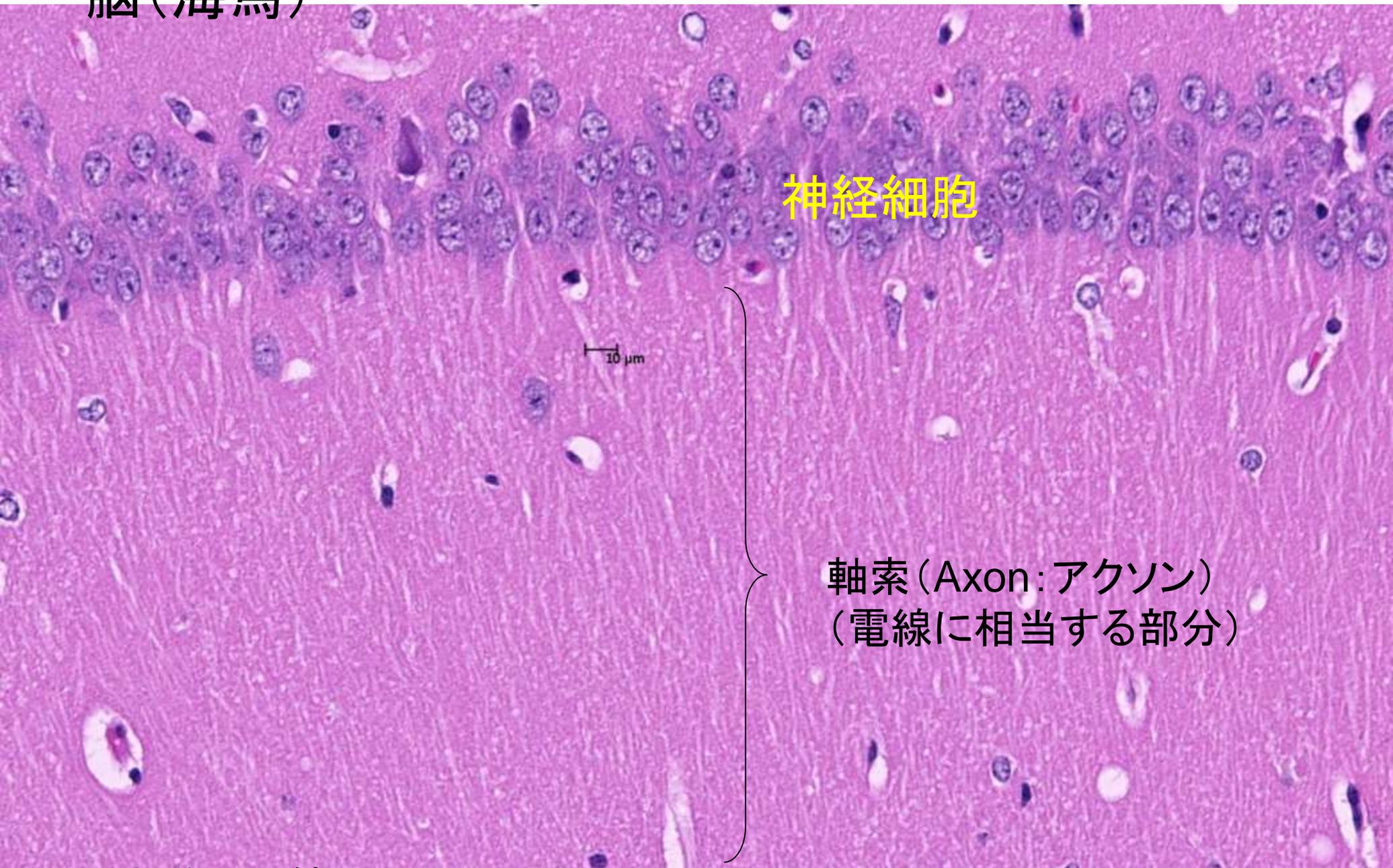








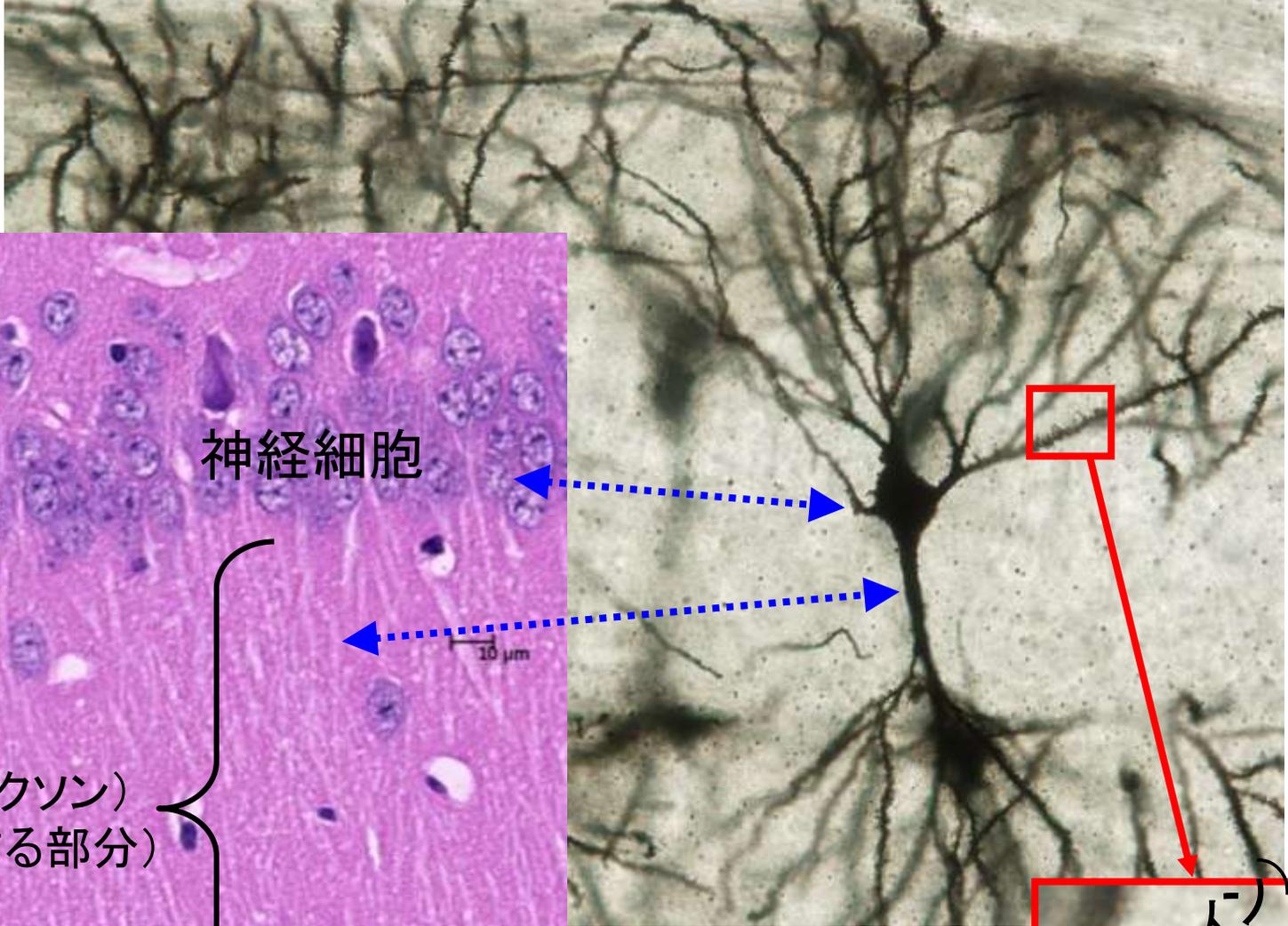
# 脳(海馬)



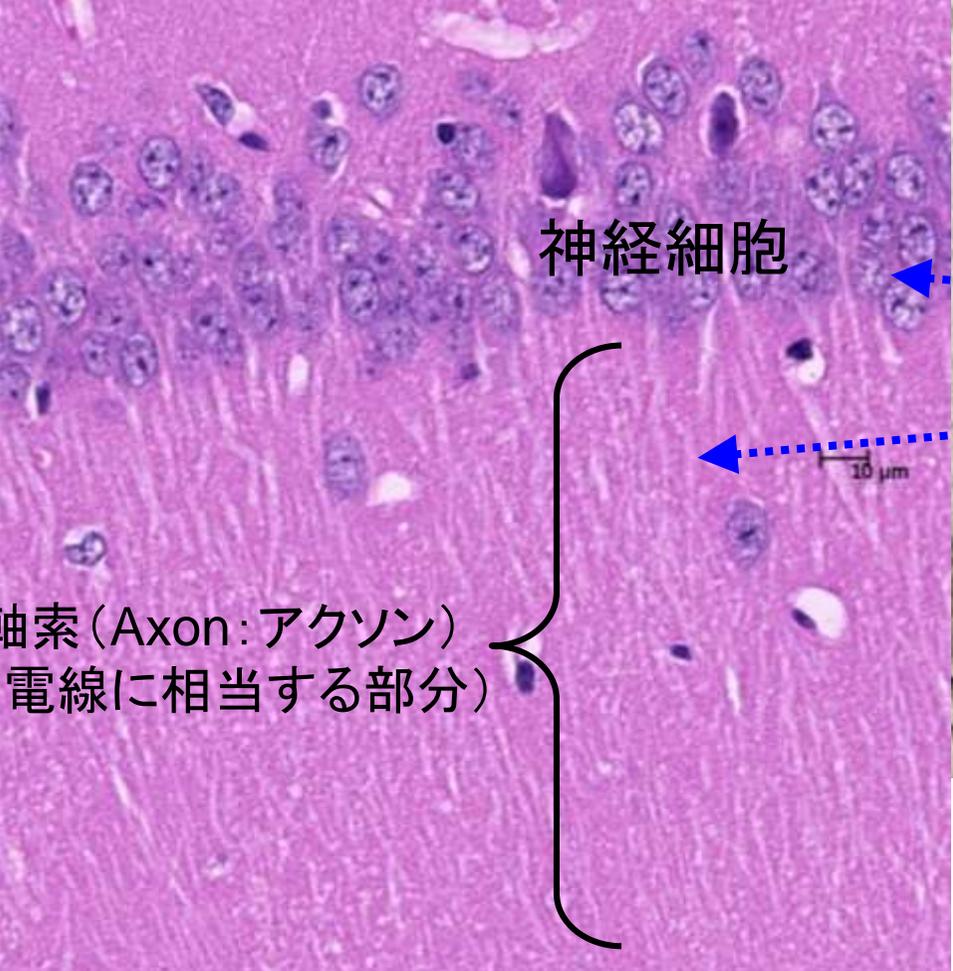
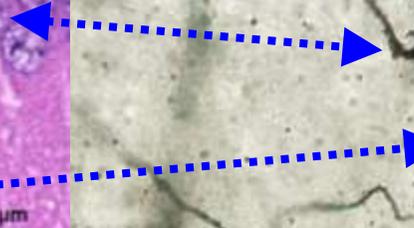
神経細胞

10  $\mu$ m

軸索 (Axon: アクソン)  
(電線に相当する部分)



神経細胞



軸索 (Axon: アクソン)  
(電線に相当する部分)

ゴルジ (Golgi) 染色

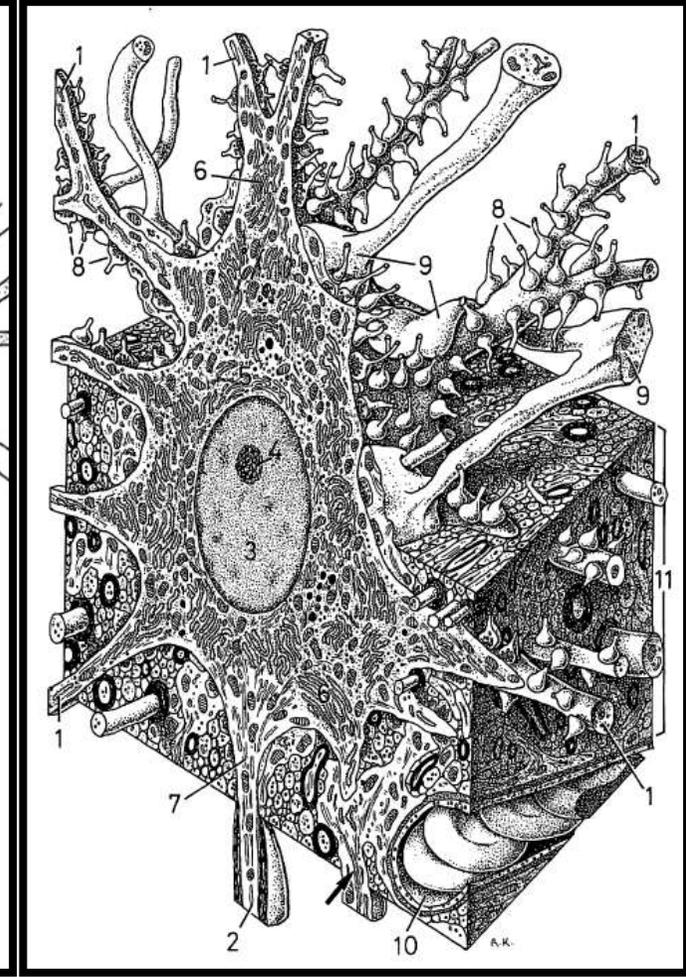
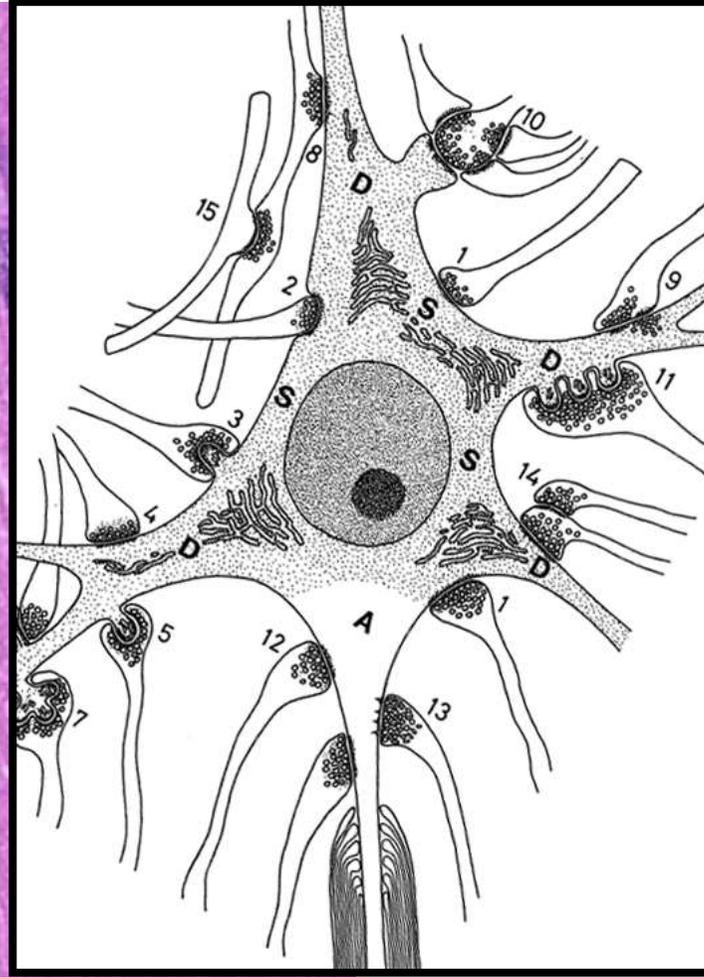
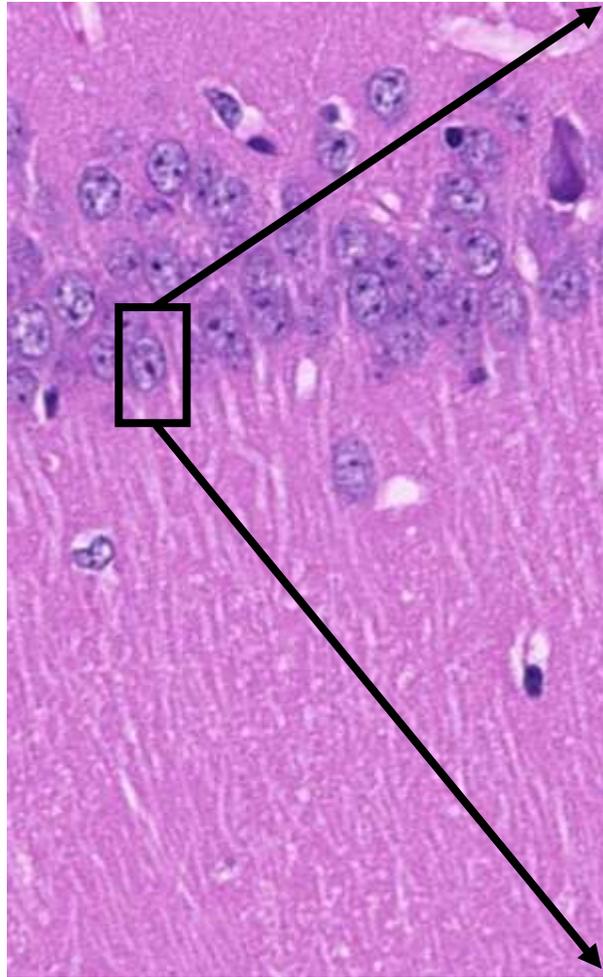


Spine (スパイン)

光学顕微鏡

# 脳(海馬)

# 神経細胞

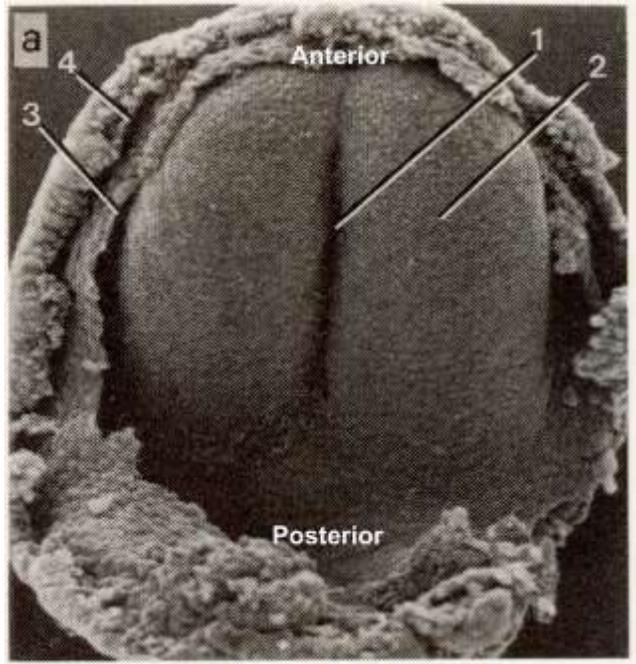


光学顕微鏡

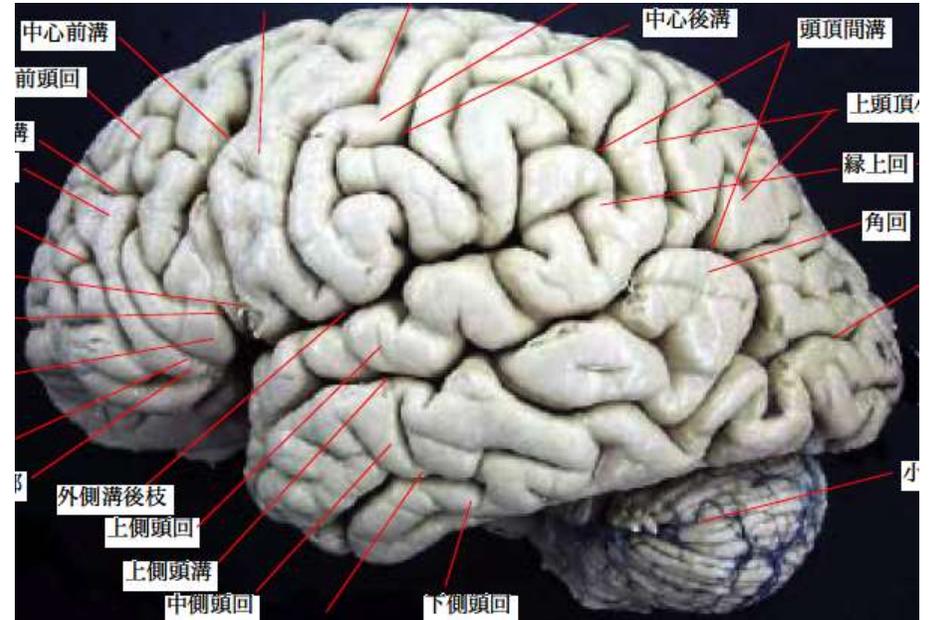
電子顕微鏡 略図・立体構築図

名著、R.クルスティッチ(Radivoj V. Krstić) 立体組織学図譜 細胞篇 より  
(西村書店から入手可)

お母さんのお腹の中  
のごく初期の胎児の  
脳(電子顕微鏡)



大人の脳



神経板

Neural plate

この過程では、**遺伝子プログラム**、が働いている  
ステップ・バイ・ステップに作られる

## 脳発達・脳形成は段階的におこる

神経細胞の産生



神経細胞の移動

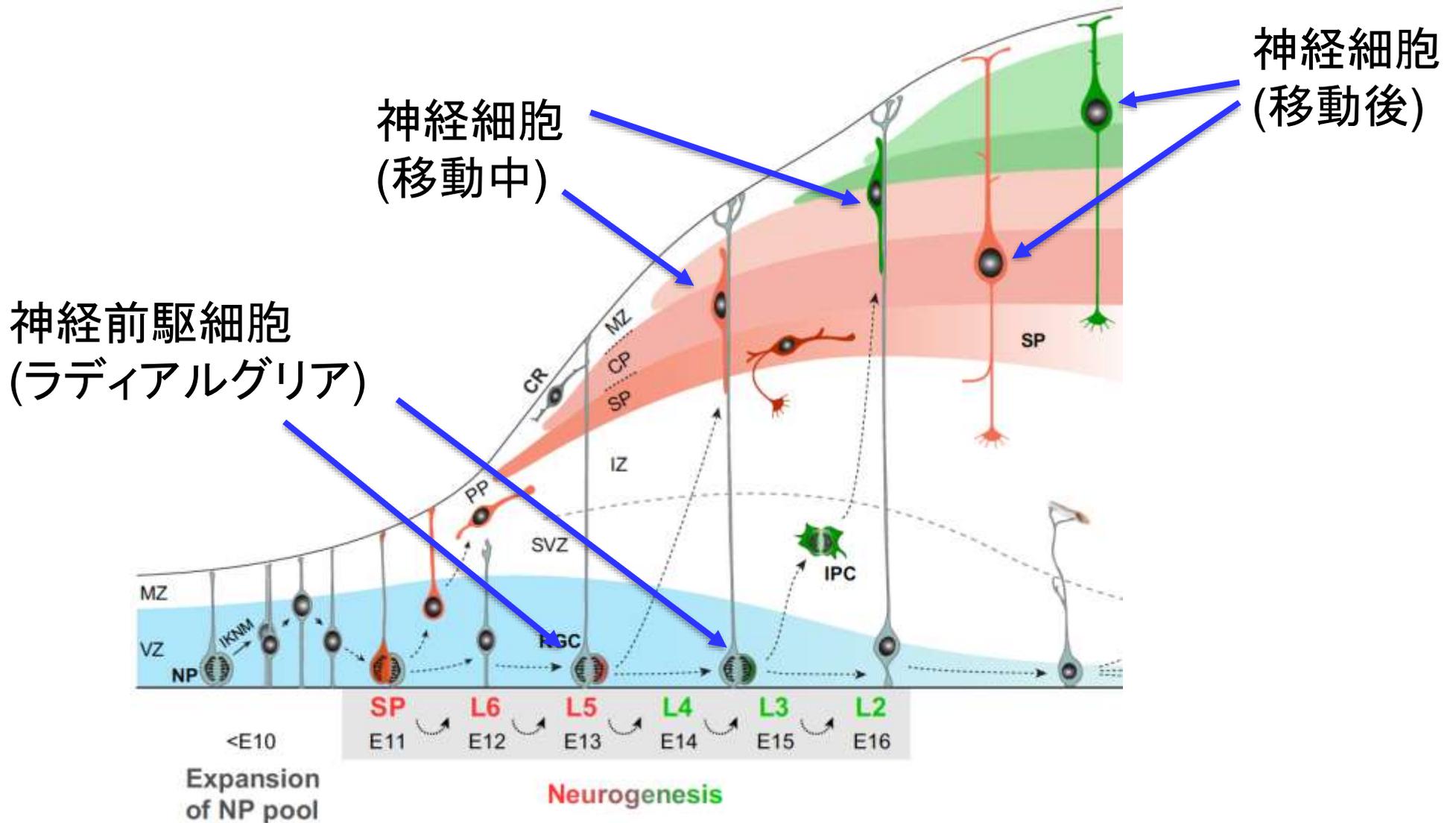


神経突起の伸長



シナプスの形成

# 神経細胞の誕生と移動



(Kwan et al., Development, 2012)

# 脳発達・脳形成は段階的におこる

神経細胞の誕生



神経細胞の移動



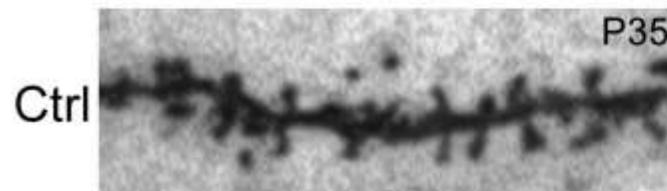
神経突起の伸長



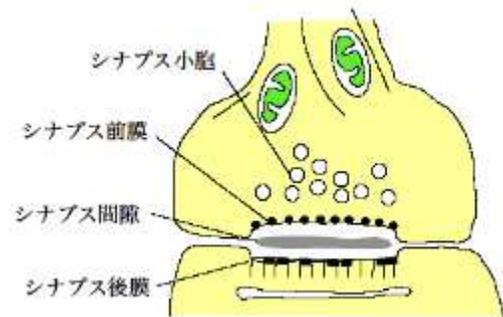
シナプスの形成



L2/3 pyramidal cells at mPFC



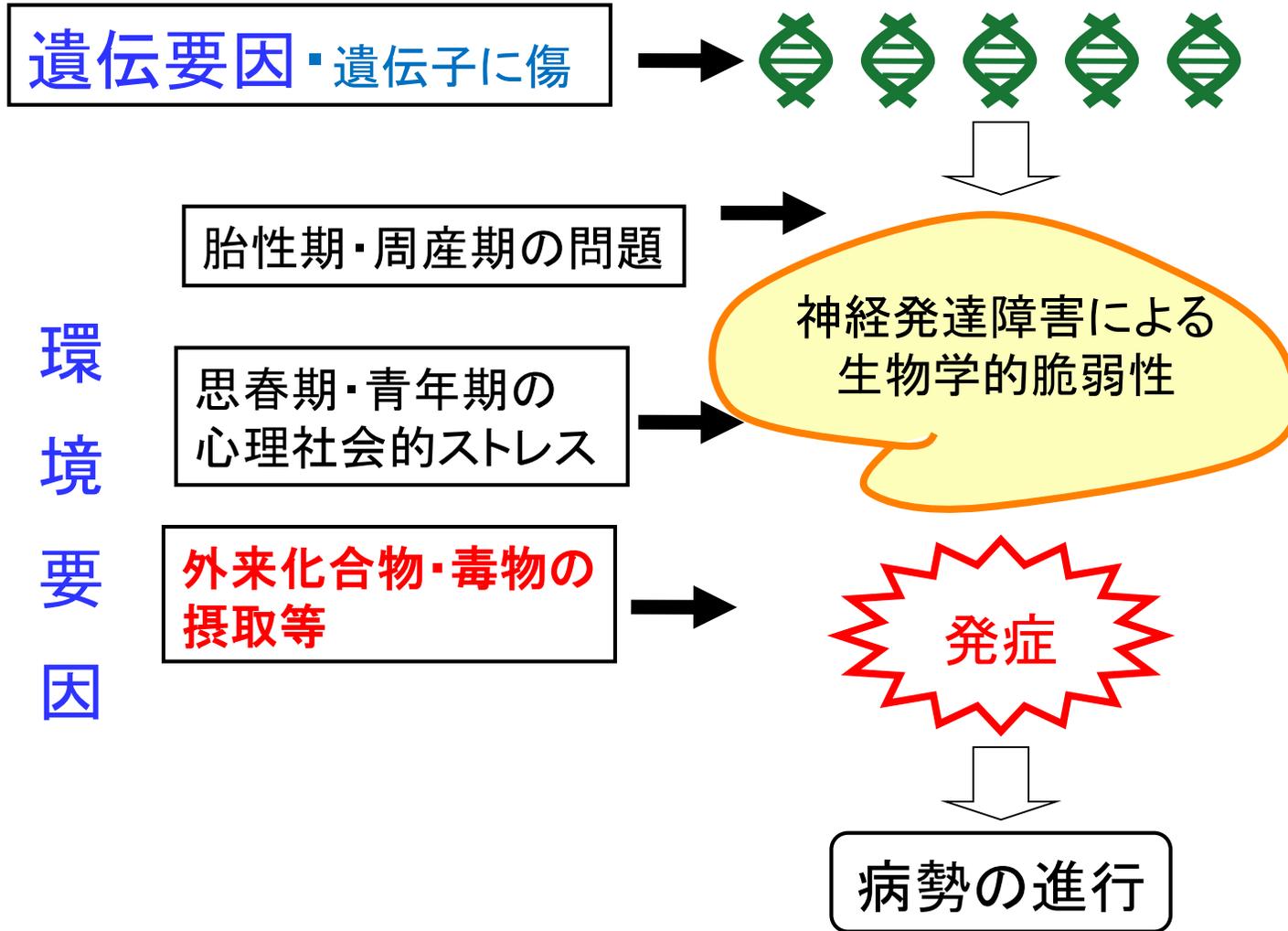
15  
10  
5  
trusions / 10  $\mu$ m  
17



# 遺伝要因と環境要因

# 精神疾患・てんかん等の病態モデル

## 神経発達障害仮説



環境要因

## 脳発達・脳形成は段階的におこる

厳密な遺伝子プログラム  
環境による攪乱

神経細胞の産生



神経細胞の移動



神経突起の伸長



シナプスの形成

小脳症 etc

滑脳症・てんかん etc

回路形成異常 etc

自閉スペクトラム症  
統合失調症 etc

# 脳発達・脳形成は段階的におこる

厳密な遺伝子プログラム  
環境による攪乱

神経細胞の産生

小脳症 etc



神経細胞の移動

滑脳症・てんかん etc



神経突起の伸長

回路形成異常 etc



シナプスの形成

自閉スペクトラム症  
統合失調症 etc

葉酸欠乏  
(二分脊椎症、等)  
ヨード欠乏  
(クレチン症、等)

# 脳発達・脳形成は段階的におこる

厳密な遺伝子プログラム  
環境による攪乱

神経細胞の産生

小脳症 etc



神経細胞の移動

滑脳症・てんかん etc



神経突起の伸長

回路形成異常 etc



シナプスの形成

自閉スペクトラム症  
統合失調症 etc

高濃度の  
メチル水銀など  
(水俣病)

# 脳発達・脳形成は段階的におこる

厳密な遺伝子プログラム  
環境による攪乱

神経細胞の産生

小脳症 etc



神経細胞の移動

滑脳症・てんかん etc



神経突起の伸長

回路形成異常 etc



シグナル毒性  
物質  
(向精神薬、  
農薬等)

シナプスの形成

自閉スペクトラム症  
統合失調症 etc

# シグナルかく乱(シグナル毒性)

- 胎児、新生児、小児の場合、
  - 大人では問題にならない攪乱でも、発生発達期の影響が残る場合がある

---

– 出来上がった大人の脳を破壊する神経毒もある。  
(サリン等の神経毒ガス、一酸化炭素、など)

# ハーバード大学のウィーゼル博士の 1981年のノーベル賞(ヒューベル& ウィーゼル)講演:

「大脳皮質視覚野の生後の発達に及ぼす環境の影響」より

……これらの実験を企画する際に先天性白内障の子どもが治療後も回復しないということに影響されことは言うまでも無い。。。

右図

A(上段)は正常の、B(下段)は生後2週から18ヶ月まで右眼を閉じられた猿の視覚野のラジオアイソトープ写真。白っぽい部分は左眼からの神経が支配する部分。見えている左眼が支配する領域の幅が拡大し、見えていない右眼が支配する領域の幅が狭くなっている。

THE POSTNATAL DEVELOPMENT OF  
THE VISUAL CORTEX AND  
THE INFLUENCE OF ENVIRONMENT

Nobel lecture, 8 December 1981

by  
TORSTEN N. WIESEL

Harvard Medical School, Department of Neurobiology,  
Boston, Massachusetts, U.S.A.

…… The design of these experiments was undoubtedly influenced by the observation that children with congenital cataract still have substantial .....

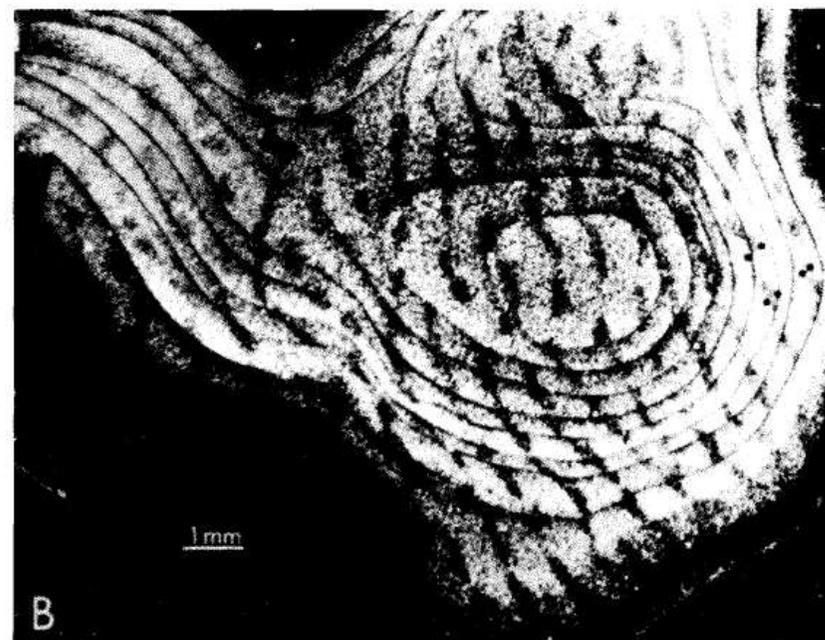


Fig. 3. Dark field autoradiographs of monkey striate cortex following injection of H-proline in the vitreous of one eye 2 weeks before.

A: Normal monkey, a montage of a series of tangential sections through layer IVC. The light stripes, representing the labelled eye columns, are separated by gaps of the same width representing the other eye. B: Monocularly deprived monkey, again a montage from a series of tangential sections through layer IVC. Same monkey as in Fig. 1, right, and Fig. 2, which had the right eye closed at 2 weeks for 18 months. The input from the normal eye is in form of expanded bands which in places coalesce, obliterating the narrow gaps which represent the columns connected to the closed eye.

ハーバード大学のウィーゼル博士の  
1981年のノーベル賞(ヒューベル &  
ウィーゼル)

「大脳皮質視  
境の影響」よ

……これらの  
の子ども視  
に影響されこ

右図  
A(上段)は正常の  
眼を閉じられた猿  
っぽい部分は左眼  
る左眼が支配する  
が支配する領域の

THE POSTNATAL DEVELOPMENT OF  
THE VISUAL CORTEX AND  
THE INFLUENCE OF ENVIRONMENT

Nobel lecture, 8 December 1981

by  
TORSTEN N. WIESEL

Harvard Medical School, Department of Neurobiology,  
Boston, Massachusetts, U.S.A.

……. The design of  
these experiments was  
undoubtedly influenced  
by the observation that  
children with congenital  
cataract still have  
substantial ………

人においては

## 形態覚遮断弱視

2歳以下の子供に2日以上的眼帯使用で弱視

シグナル毒性の極型

Critical Period 臨界期 が存在

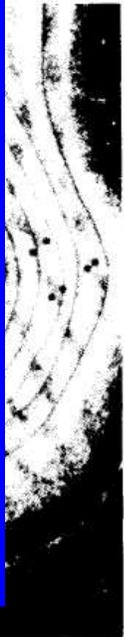
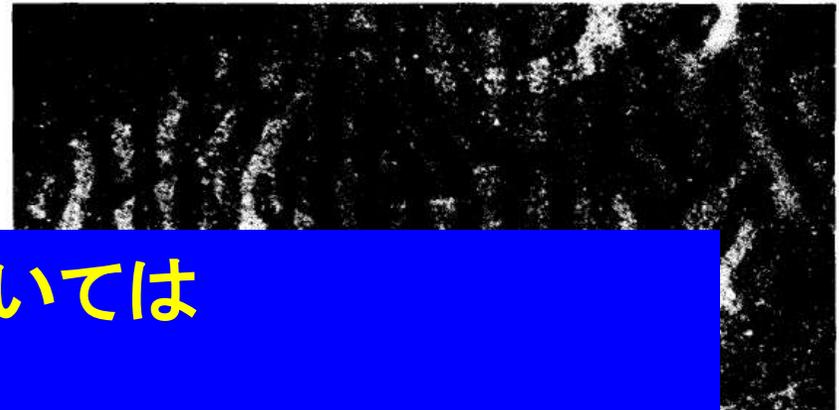


Fig. 3. Dark field autoradiographs of monkey striate cortex following injection of H-proline in the vitreous of one eye 2 weeks before.

A: Normal monkey, a montage of a series of tangential sections through layer IVC. The light stripes, representing the labelled eye columns, are separated by gaps of the same width representing the other eye. B: Monocularly deprived monkey, again a montage from a series of tangential sections through layer IVC. Same monkey as in Fig. 1, right, and Fig. 2, which had the right eye closed at 2 weeks for 18 months. The input from the normal eye is in form of expanded bands which in places coalesce, obliterating the narrow gaps which represent the columns connected to the closed eye.

ハーノ  
1981年  
ウィー

「大脳皮  
境の影

……これ  
の子ども  
に影響さ

右図  
A(上段)は  
眼を閉じた  
まぶたの  
下に見える  
左眼が  
支配す

THE POSTN  
THE VISUAL  
THE INFLU

Nobel lecture, 8 Dec

by  
TORSTEN N. WIL

Harvard Medical School, Department of Neurobiology,  
Boston, Massachusetts, U.S.A.

- 大脳の視覚野の構造が、目からのシグナルの異常だけで、大きく変わってしまう。
- 神経細胞を殺すような毒性物質を使ったわけではない。
- この様な現象は、脳が出来上がった大人では起こらない。老人が白内障の手術を受けると、視力が回復することからも分かる。  
【2歳以下の子どもの片方に眼帯を2日以上掛けてはいけない→形態覚遮断弱視】
- 胎児、新生児、小児の発達中の脳では、視覚野に限らず、ある特定の時期に、特定の場所で、この様なことが、シグナルの変調によって引き起こされる可能性が十分にあると考えられる。

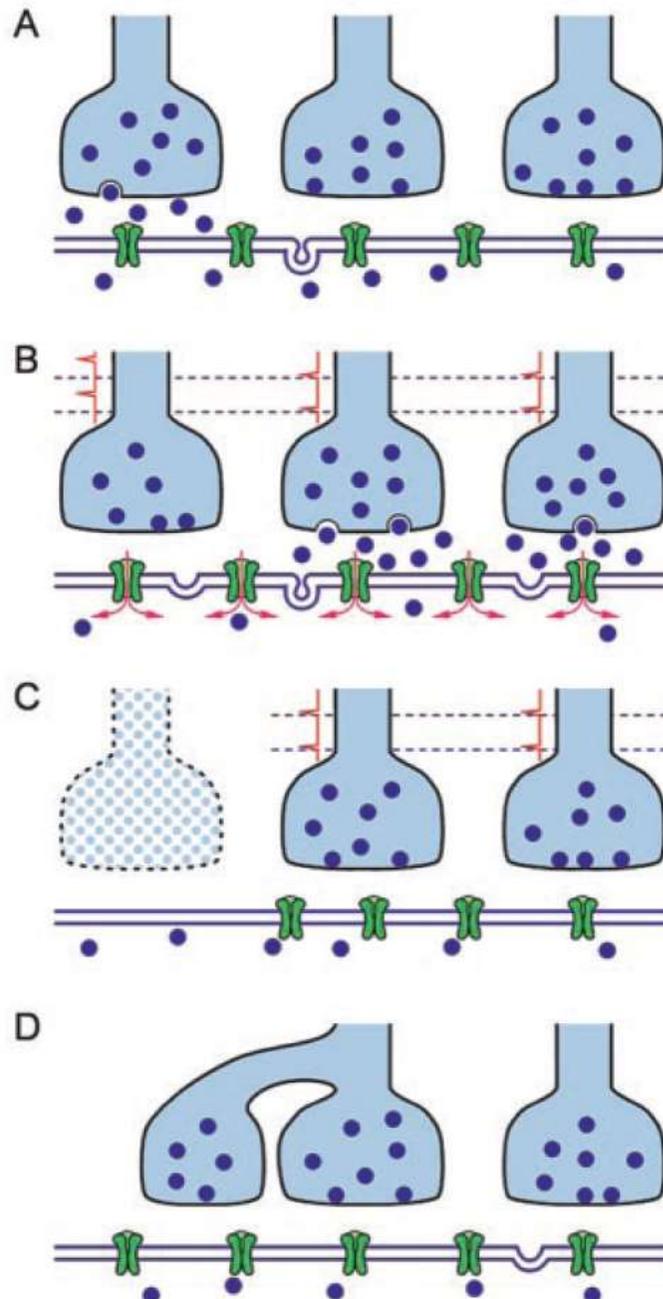
Cataract still have  
substantial .....

神経組織の発達のある特定の段階では、適切なシグナルがくるシナプス(回路)だけが残り、使われないものは消える。あるいは消えた後でも、必要に応じて新たに作られる場合もある(可塑性が残っている場合)。

## The Developing Synapse: Construction and Modulation of Synaptic Structures and Circuits

Susana Cohen-Cory, *et al.*  
*Science* **298**, 770 (2002);

Fig. 4. Activity-dependent refinement of synaptic connections. (A) Synapses made by terminals of different axons co-innervating the same postsynaptic dendrite are initially maintained by low-level constitutive secretion of neurotransmitters. (B) Synchronous firing of two axon terminals (middle and right) leads to increased postsynaptic depolarization and neurotransmitter receptor activation (red arrows). (C) The unsynchronized axon terminal (left) does not experience postsynaptic spiking at the time of synaptic activation, therefore potentially reducing its retrograde neurotrophic support and ultimately resulting in the weakening of the synapse and the eventual withdrawal of the synaptic terminal. (D) Terminals that are active receive neurotrophic support and sprout (left) to establish new synapses.



シナプス競合説:

ヘップの説:

Hebbian theory: Hebb, D.O. (1949), *The organization of behavior*, New York: Wiley

# 胎児・子どもの脳が出来上がる過程

- ① DNAの設計図どおりに部品（神経細胞など）が組みあがること

【コンピュータで言えば、部品と配線が設計図どおりに組みあがること: コンピュータでは電源をONにしたまま作業することは無い】

- ② 脳に信号を流しながら（脳を使いながら）神経回路を調整しつつ作り上げる。

胎児や赤ちゃん、子どもは、脳が出来の間、脳を使わずじっとしているわけではない。

【コンピュータで言えば、電源をONにし働かせつつ、ICを増やし、配線作業するような芸当をしている！！】

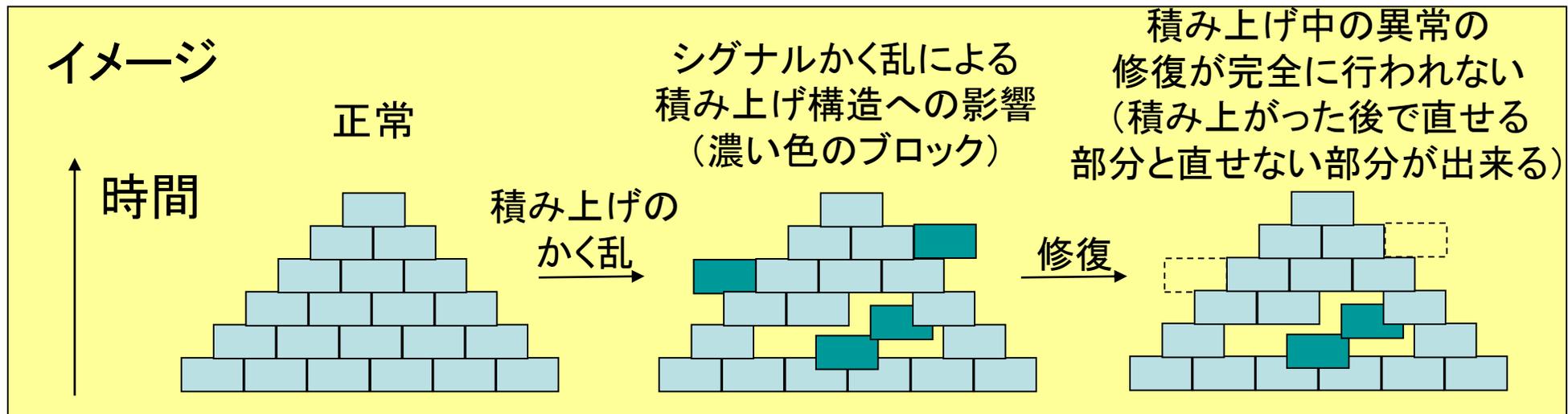
# どうやって調整しているのか？ 【シナプス競合説】

☆DNAの設計図には、必要以上に沢山の回路(シナプス)を作るように指示が書かれている。

☆余分な回路(シナプス)は、脳を使いながら消去してゆく  
＝使われないシナプスは消される。

# 子ども(胎児新生児を含む)の 受容体原性毒性(シグナル毒性)の特徴

- 標的(ここでは、神経について述べたが、免疫系も内分泌系も標的となりうる)
  - 神経系、免疫系、内分泌系(神経支配を受けている)
  - これらに共通の特徴＝“記憶”する系である
  - 系の構築が段階的(積み上げ型＝中枢神経の場合は配線)である
- 「積み上げ」途中でのかく乱の影響は完全には修復されない
  - かく乱のレベル:
    - 細胞を殺してしまう強いレベル＝明らかな障害が生まれた直後から見られる
    - 積み上げ(配線)がかく乱される弱いレベル＝一見正常であるが、高度な機能の異常が成長後に顕在化する場合がある



# まとめ(1)

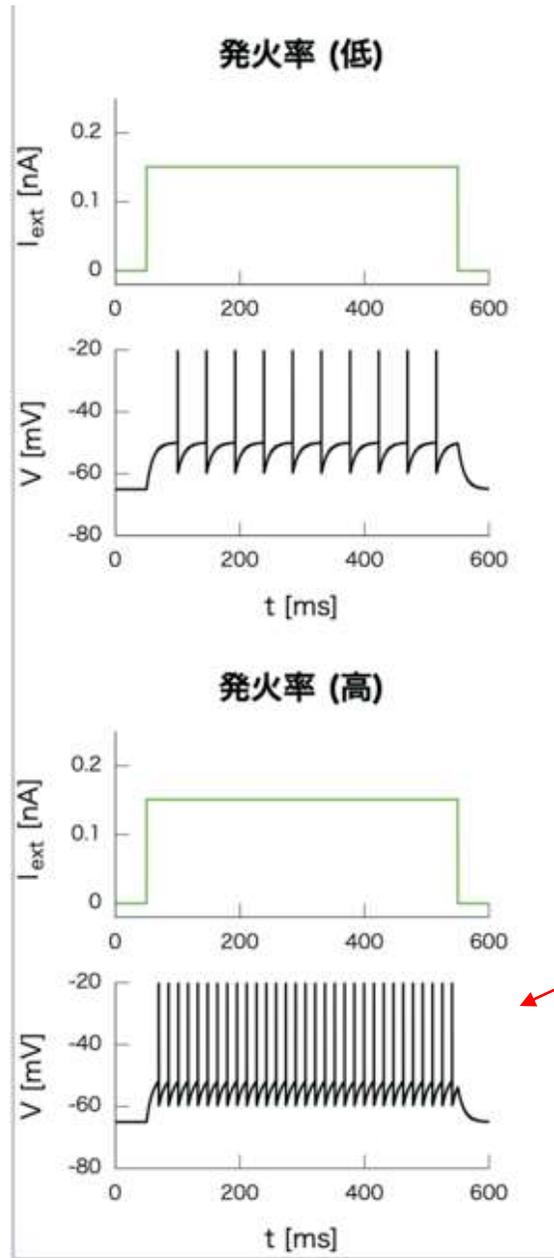
- ・ 外からの色々な影響に打ち勝って、からだの調子を一定に保つために、恒常性維持機構(ホメオスターシス)という機能が備わっている。
- ・ この機能は、神経系、内分泌(ホルモン)系、および免疫系の3つから出来ている。
- ・ この3つの系の細胞は、お互いにホルモンや神経伝達物質、等の「シグナル」物質で、常に連絡を取り合っている。  
○

## まとめ(2)

- ・ 大人は、この恒常性維持機構(ホメオスターシス)の働きにより、外からの色々な影響を打ち消すことができる。
- ・ 子ども(胎児を含む)でも、恒常性維持機構によって、外からの色々な影響を打ち消す力を持っている。

# まとめ(3)

- ・ しかし、子ども(胎児を含む)は、神経細胞同士がシグナルを交換しながら神経回路が作られている最中(≡シナプス形成期)であるため、シグナルが攪乱されると、異常な神経回路が出来上がってしまう。
  - 強い攪乱の結果は、生後、すぐに症状がはっきり現れることが多い。
  - 弱い攪乱の結果は、成長と共に、徐々に影響が明らかになる(遅発性毒性)ことが多い。



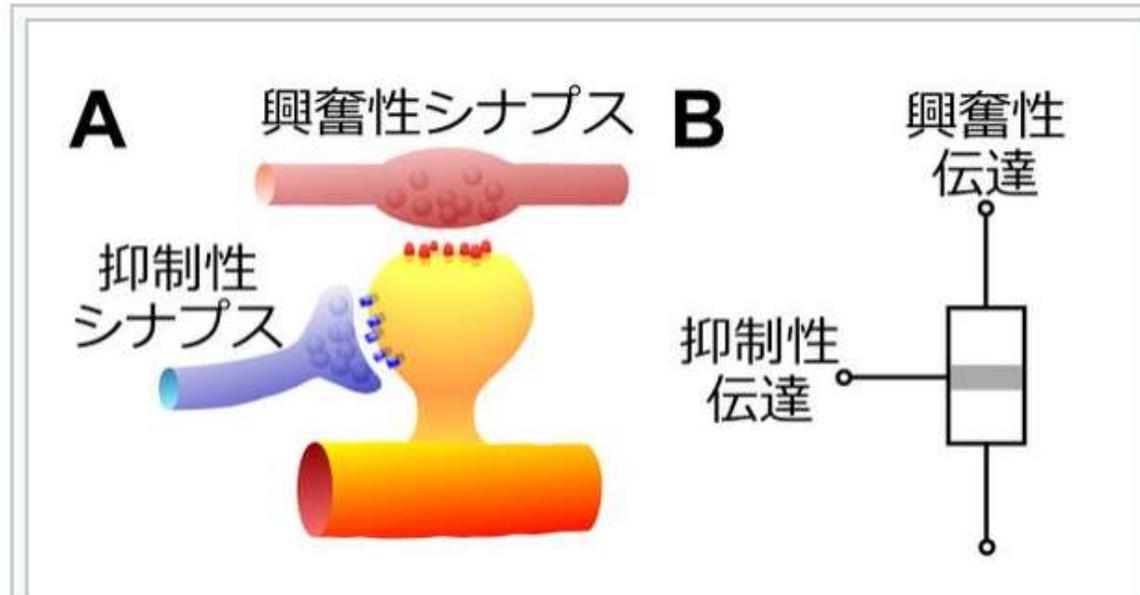


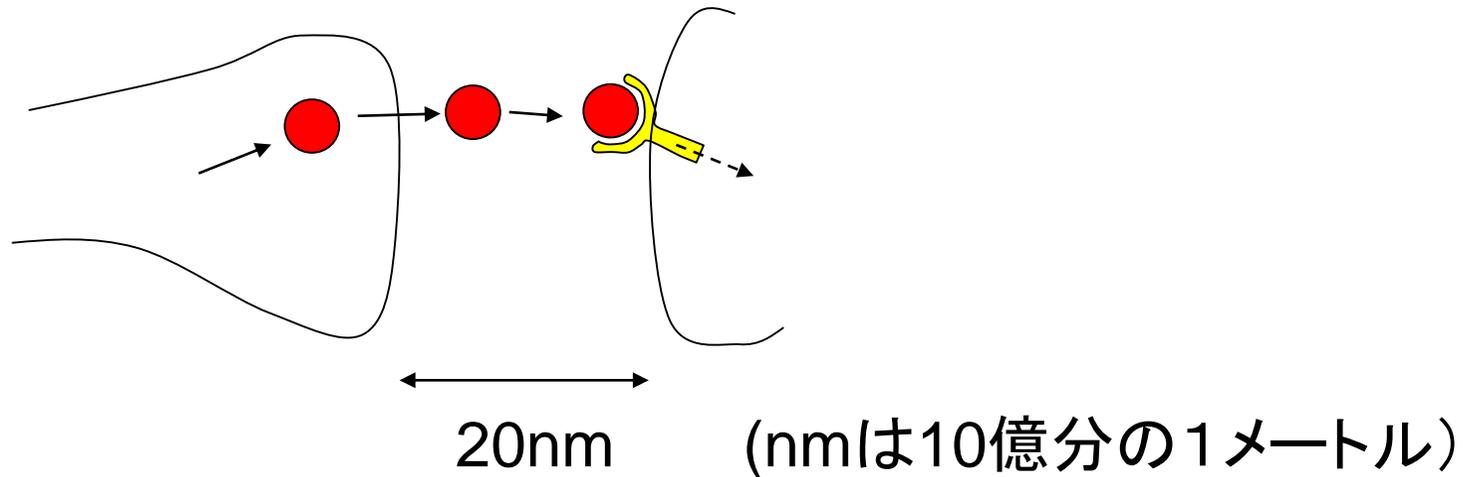
図4. 抑制性シナプスも有する樹状突起スパインのモデル

**A.** 大脳皮質や線条体などのスパインには、興奮性のグルタミン酸シナプスに加えて、抑制性のGABAシナプスも持つものが存在する。

**B.** 抑制性シナプス入力は、静止膜電位付近においては、シャンティング(shunting; 短絡)によって興奮性入力によるシナプス後電位の上昇を抑制する。すなわち、抑制性シナプスが興奮性シナプスの機能を制御(ゲーティング)することが考えられる。

# 神経回路： シナプス

伝令：シグナル分子＝神経伝達物質（100種類）  
受ける側には＝受容体（複数種類有り）

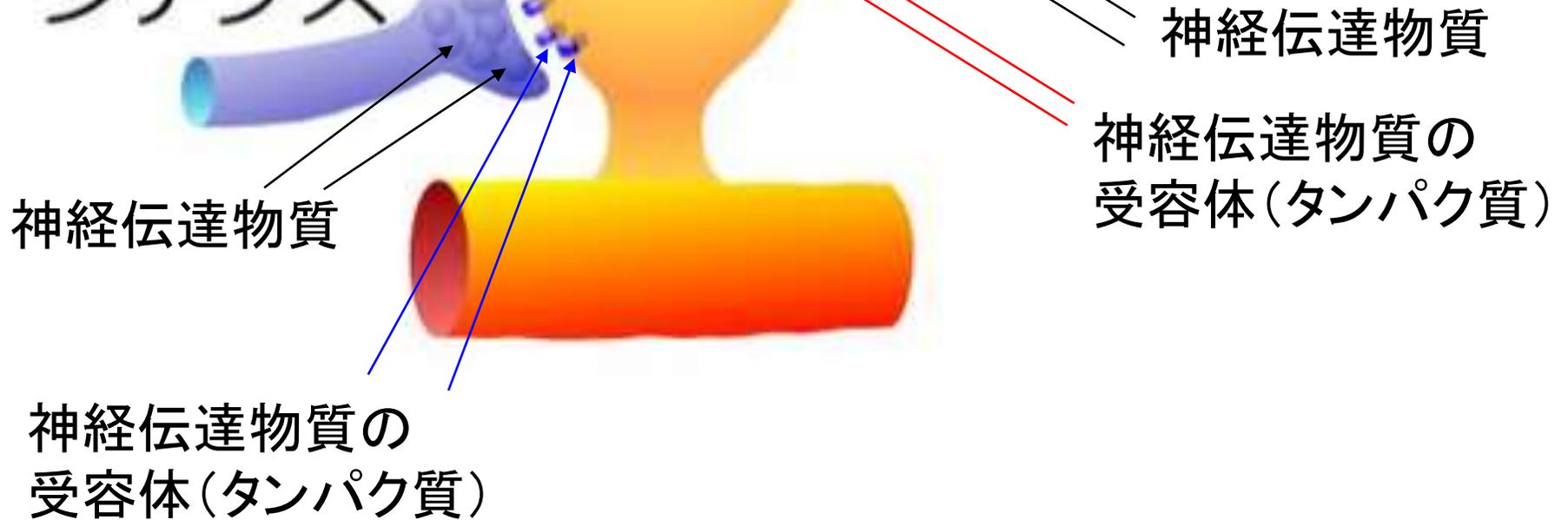
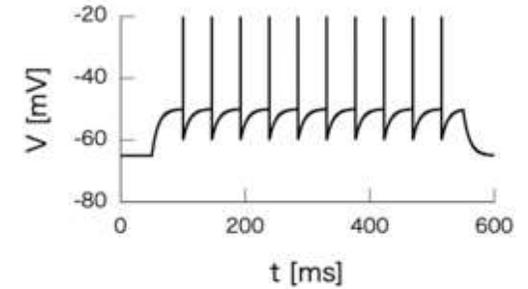


近距離・高速型の回路（1/1000秒単位）

**A**

# 興奮性シナプス

# 抑制性シナプス



脳発生-発達期の**アミノ酸系神経伝達物質**受容体  
シグナルかく乱によって引き起こされる  
遅発性の神経行動毒性の実体究明とメカニズム解明

**興奮性神経伝達物質:**

**グルタミン酸**

AMPA 受容体、NMDA 受容体、カイニン酸受容体

**アセチルコリン**

ニコチン性アセチルコリン受容体

**抑制性神経伝達物質:**

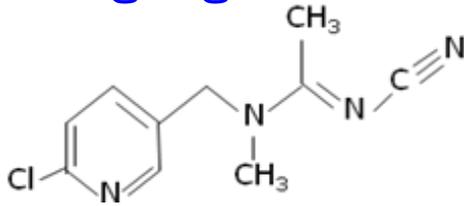
**GABA**

GABA受容体

# ネオニコチノイド系農薬による 中枢神経影響解析および生殖機能影響解析

	作用点	主な農薬
アセチルコリン	コリンエステラーゼ阻害	有機リン系・カーバメート系
	アセチルコリン受容体活性化	ネオニコチノイド系
	アセチルコリン受容体阻害	ネライストキシン系
GABA	GABA受容体拮抗	有機塩素系・フェニルピラゾール系
	GABA受容体作用	マクロライド系
セロトニン	セロトニン受容体作用	ピメトロジン
神経軸索シグナル伝達阻害	ナトリウムチャネル開口時間延長	ピレスロイド系

10 mg/kg



物質名: アセタミプリド 英名: Acetamiprid(ACT)

CAS No.: 135410-207 分子式・分子量:

$C_{10}H_{11}ClN_4=222.68$

純度: 98% メーカー: 和光純薬株式会社

カタログNo.: 099-03771

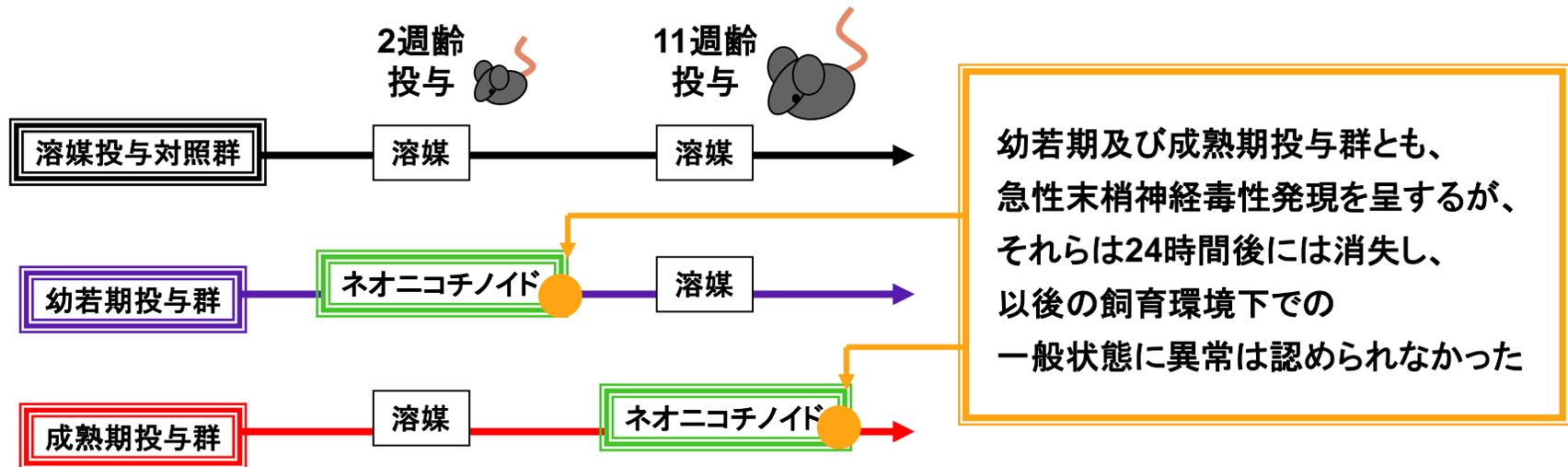
溶媒はコーンオイル、ゾンデを用いた単回強制経口投与、  
尚、急性参照用量(ARfD)も元に安全係数を100として用量設定を行った。

Hirokatsu Saito, Kentaro Tanemura, Yusuke Furukawa, Takahiro Sasaki, Jun Kanno, Satoshi Kitajima

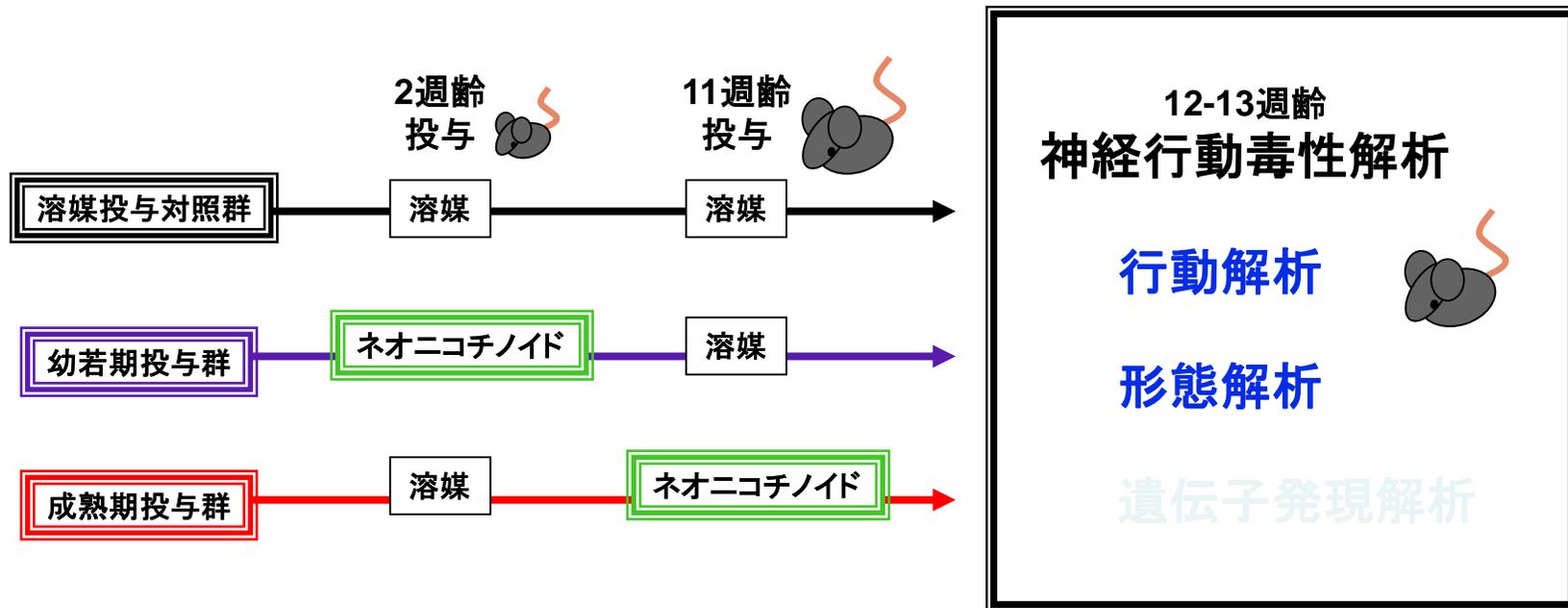
Behavioral effects induced by the oral administration of acetamiprid in male mice during the postnatal lactation period or adulthood

[J Toxicol Sci. 2023;48\(4\):203-210. doi: 10.2131/jts.48.203.](https://doi.org/10.2131/jts.48.203)

# 幼若期及び成熟期における ネオニコチノイド(ACT/IM)単回強制経口投与による 中枢影響解析



# 幼若期及び成熟期における ネオニコチノイド(ACT/IM)単回強制経口投与による 中枢影響解析



# 行動解析

J Toxicol Sci. 2023;48(4):203-210. doi: 10.2131/jts.48.203.

遺伝子改変マウスの行動解析で実績があり、  
比較的短時間で、判りやすい結果が得られる試験を選択した。

→化学物質による行動影響があるか？

→毒性発現と呼べる行動異常か？



オープンフィールド  
試験

第1週  
水曜日



明暗  
往来試験

第1週  
木曜日



高架式十字  
迷路試験

第1週  
金曜日



条件付け  
学習記憶試験

第2週  
月～水曜日



プレパルス驚愕反応  
抑制試験

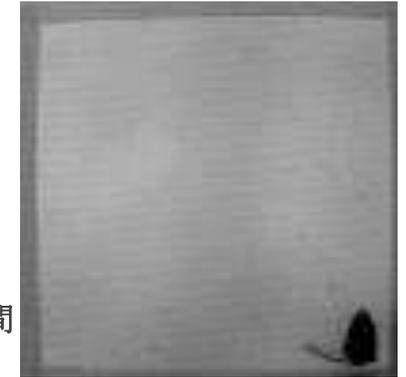
第2週  
木曜日

# オープンフィールド試験(OF)

J Toxicol Sci. 2023;48(4):203-210. doi: 10.2131/jts.48.203.



OF



測定時間: 10分

検定項目

- ・総移動量
- ・中央部-滞在時間
- ・移動回数

溶媒対照群(Vehicle)



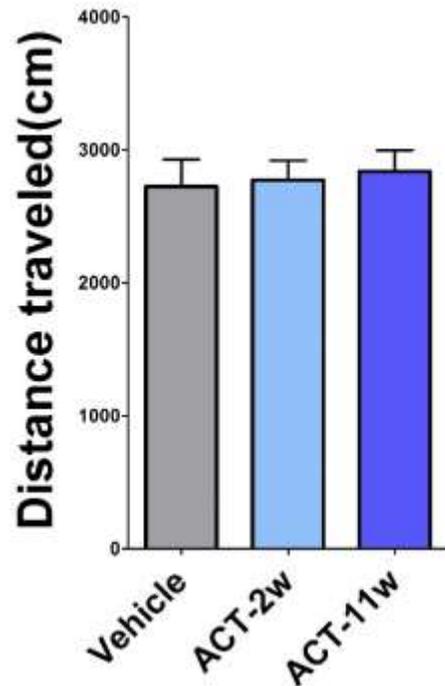
Acetamidrid 10mg/kg(IM) 2週齢投与群(ACT-2w)



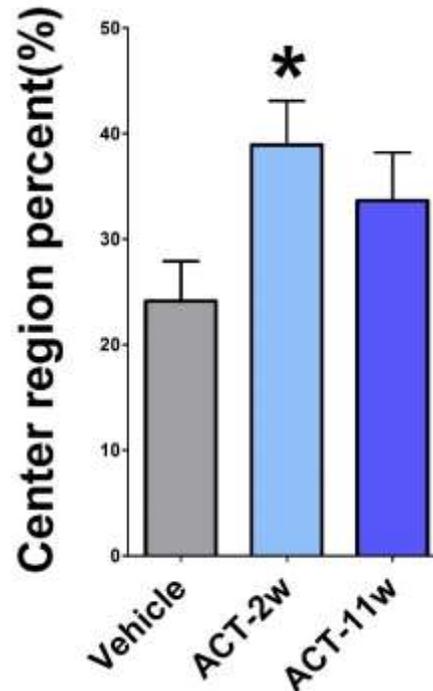
Acetamidrid 10mg/kg(IM) 11週齢投与群(ACT-11w)



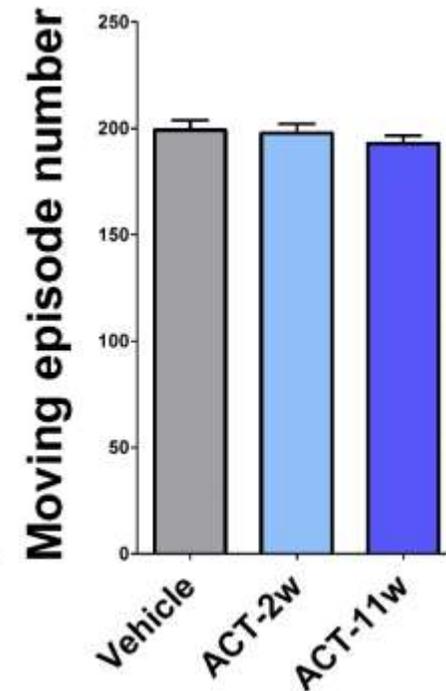
総移動量



中央滞在率



移動回数



N=8, Mean ± SEM,

\*:P<0.05(Student's t-test)

# 明暗往来試験(LD)

J Toxicol Sci. 2023;48(4):203-210. doi: 10.2131/jts.48.203.

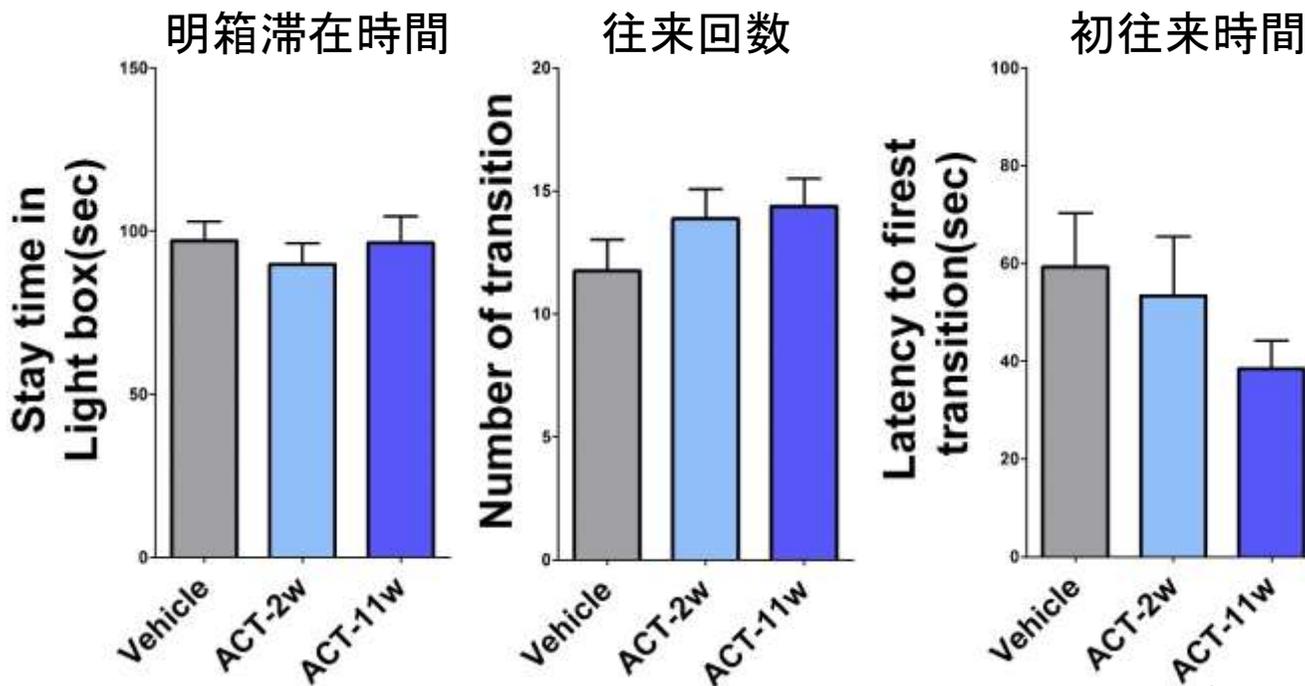
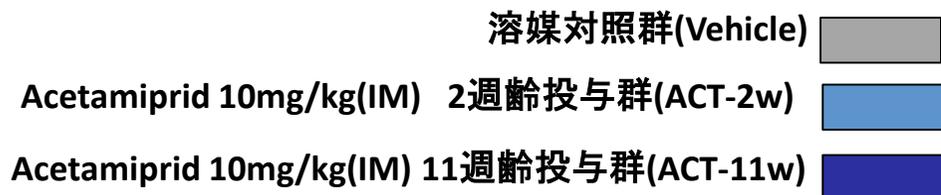
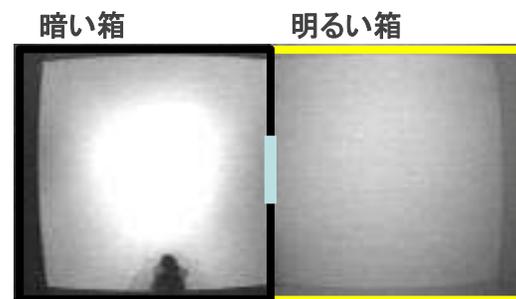


LD

測定時間: 5分

検定項目

- ・明箱滞在時間
- ・明暗往来回数
- ・初めて往来するまでの時間



N=8, Mean ± SEM,  
\*:P<0.05(Student's t-test)

# 高架式十字迷路試験(EP)

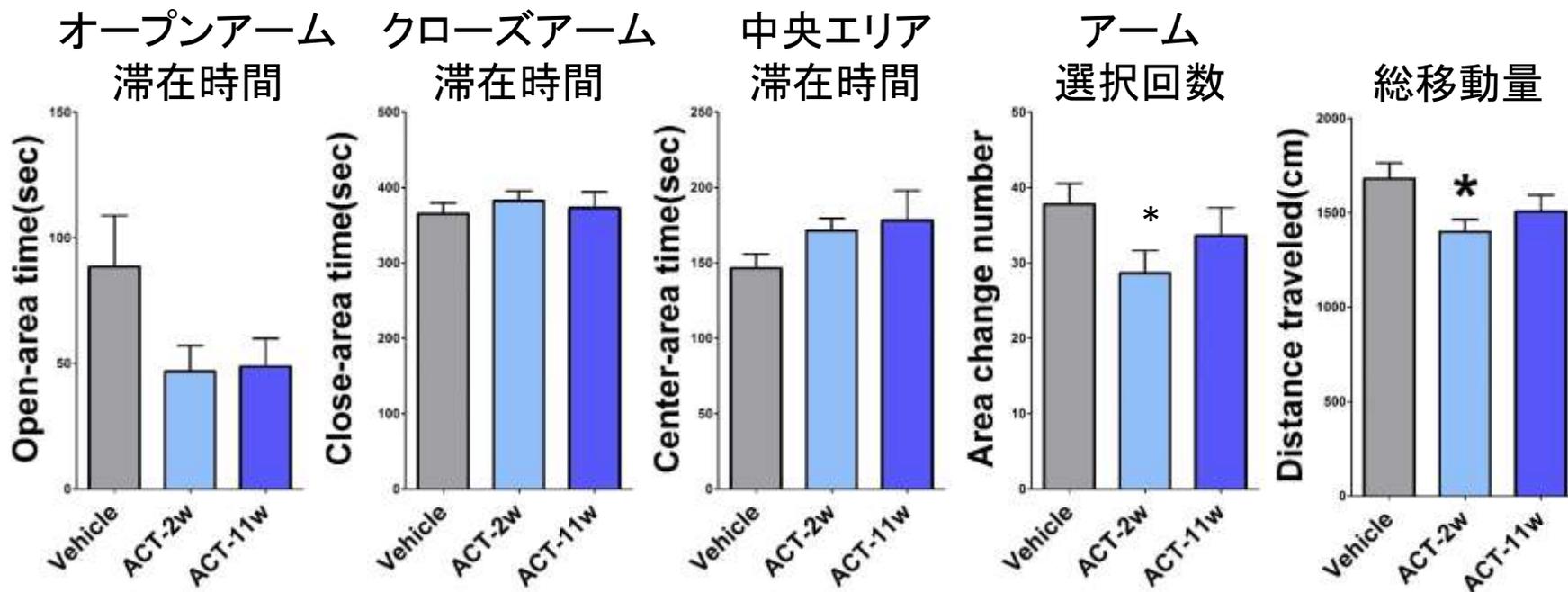
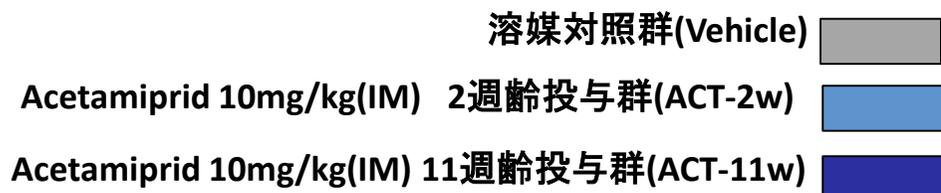
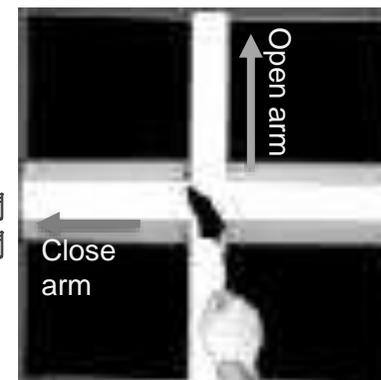
J Toxicol Sci. 2023;48(4):203-210. doi: 10.2131/jts.48.203.



測定時間: 10分

検定項目

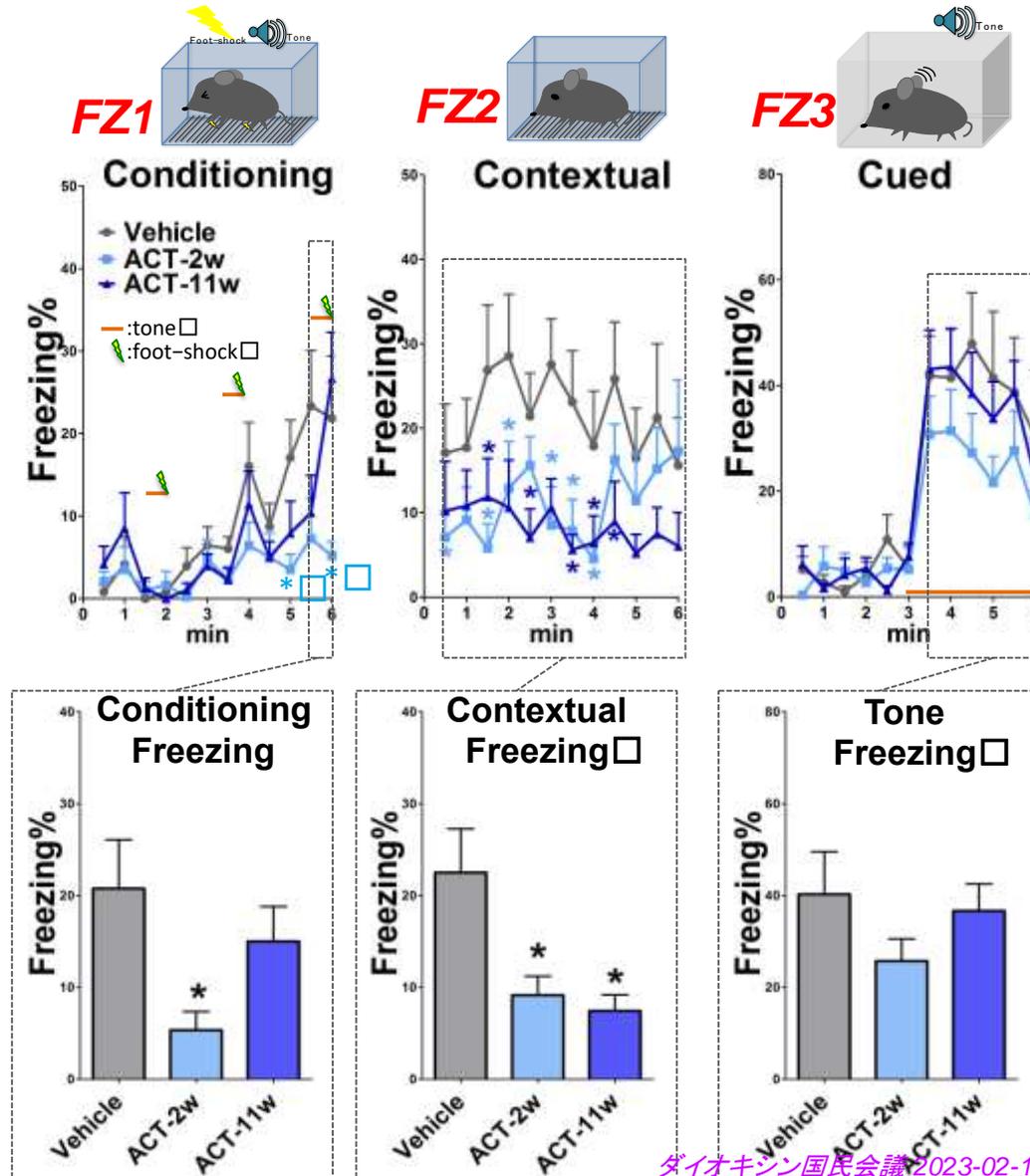
- ・オープンアーム滞在時間
- ・クローズアーム滞在時間
- ・中央エリア滞在時間
- ・アーム選択回数
- ・総移動量



N=8, Mean ± SEM,  
\*:P<0.05(Student's t-test)

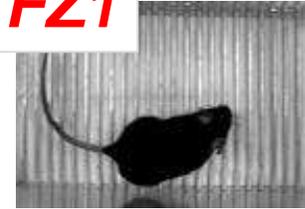
# 条件付け試験(FZ)

J Toxicol Sci. 2023;48(4):203-210. doi: 10.2131/jts.48.203.



ダイオキシン国民会議2023-02-18 JK

**FZ1**



Conditioning(1日目)  
測定時間: 6分

検定項目

- ・条件付け
- ・学習度

**FZ2**



Contextual(2日目)  
測定時間: 6分

検定項目

- ・空間-連想記憶

**FZ3**



Cued(3日目)  
測定時間: 6分

検定項目

- ・音-連想記憶

溶媒対照群(Vehicle)



2週齢投与群(ACT-2w)



11週齢投与群(ACT-11w)



N=8, Mean ± SEM,

\*:P<0.05(Student's t-test)

# プレパルス驚愕反応抑制試験 (PPI)

J Toxicol Sci. 2023;48(4):203-210. doi: 10.2131/jts.48.203.

溶媒対照群(Vehicle) 

Acetamidrid 10mg/kg(IM) 2週齢投与群(ACT-2w) 

Acetamidrid 10mg/kg(IM) 11週齢投与群(ACT-11w) 

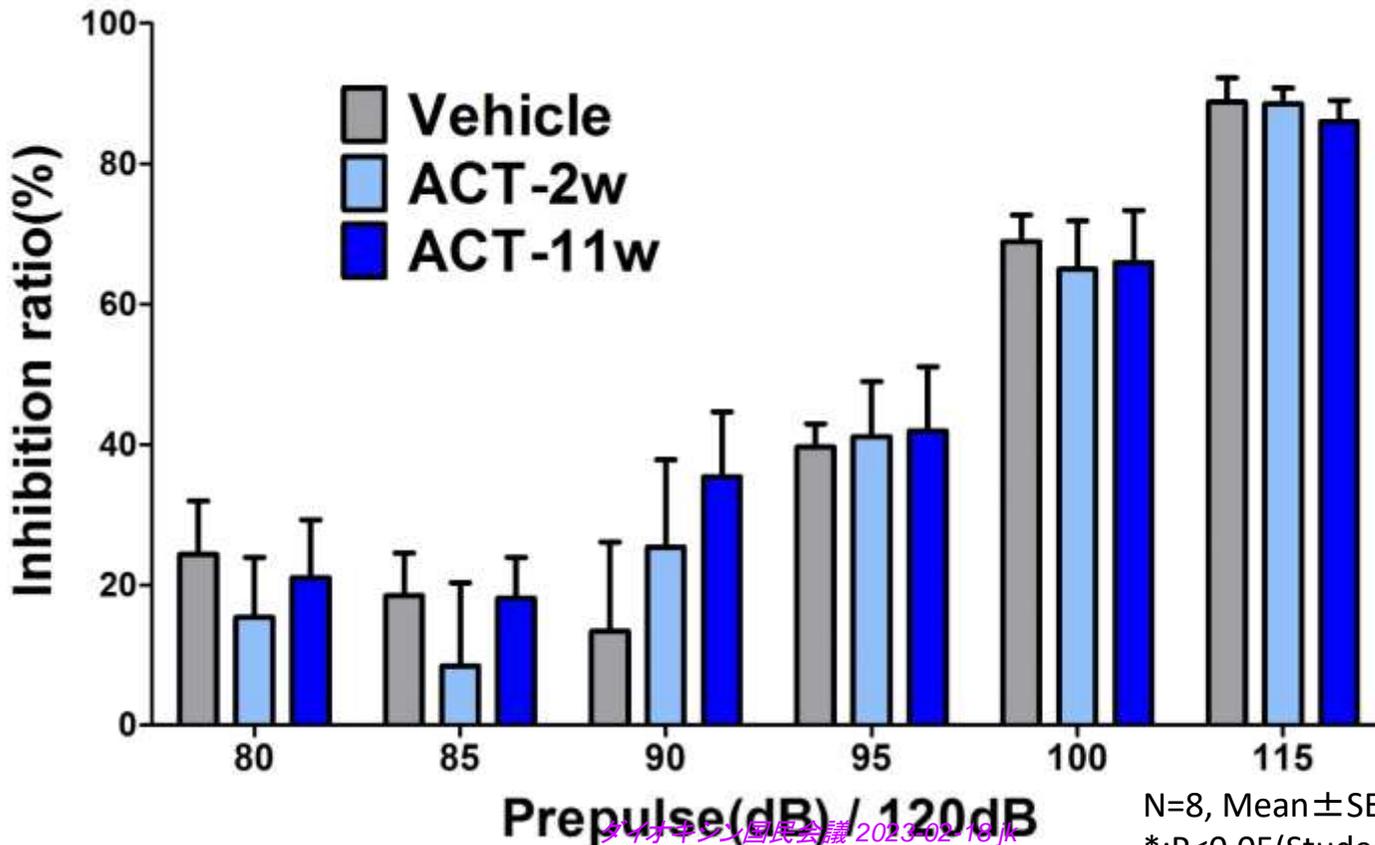
**PPI**



測定時間: 20分

検定項目

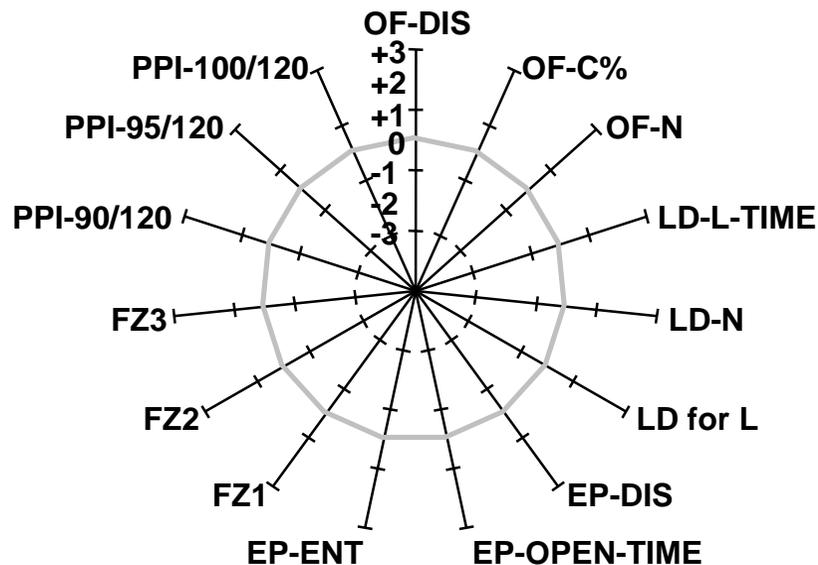
・プレパルス驚愕反応抑制



N=8, Mean ± SEM,

\*:P<0.05(Student's t-test)

# 単回強制経口投与による遅発性情動-認知行動解析を元に 行動様式の逸脱( $t$ -検定)レベルを示す為のレーダー図



+/-3:  $p < 0.01$   
 +/-2:  $p < 0.05$   
 +/-1:  $p < 0.1$   
 0:  $p > 0.1$

OF: オープンフィールド試験-10min

OF-DIS: 総移動量

OF-C%: 中央滞在率

OF-N: 移動回数

LD: 明暗往来試験-5min

LD-L-TIME: 明所滞在時間

LD-N: 明暗往来数

LD for L: 初移動までの時間

EP: 高架式十字迷路試験-10min

EP-DIS: 高所総移動量

EP-OPEN-TIME: 柵無しアーム部滞在時間

EP-ENT: number of entry in arms

FZ: 条件付け学習記憶試験-6min

FZ1: 学習度(短期記憶形成度)

FZ2: 空間-連想記憶

FZ3: 音-連想記憶

PPI: プレパルス驚愕反応抑制試験-30min

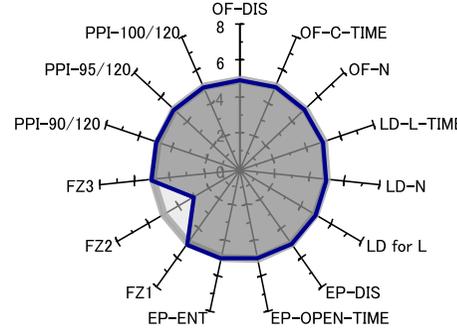
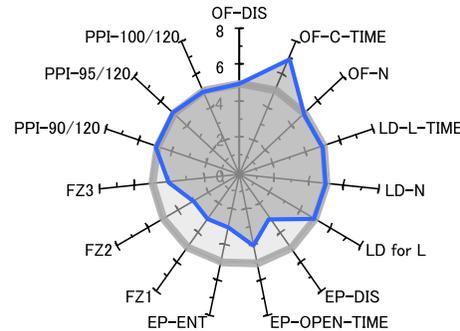
PPI-90/120: プレパルス 90db/120db

PPI-95/120: プレパルス 95db/120db

PPI-100/120: プレパルス 100db/120db

# ネオニコチノイド系農薬暴露による行動逸脱レベルの比較

ACT-2w  
(n=8)



ACT-11w  
(n=8)

OF-DIS : 総移動量

OF-C-TIME : 中央部滞在時間

OF-N : 総移動回数

FZ1 : 条件付け (短期記憶形成度)

FZ2 : 場所-連想記憶度

FZ3 : 音-連想記憶度

LD-L-TIME : 明所滞在時間

LD-N : 総移動数

LD for L : 初移動潜在時間

PPI-90/120: プレパルス90db/ 120db驚愕反応抑制

PPI-95/120 : プレパルス95db/ 120db驚愕反応抑制

PPI-100/120 : プレパルス100db/ 120db驚愕反応抑制

EP-DIS : 総移動量

EP-OPEN-TIME : 開放部滞在時間

EP-ENT : 総アーム選択数

+/-3:  $p < 0.01$

+/-2:  $p < 0.05$

+/-1:  $p < 0.1$

0:  $p > 0.1$

## 【結果】

ネオニコチノイド類の単回強制経口投与によって、末梢神経影響が消失した後に、行動異常が認められた。

主たる異常は、記憶異常であり、神経新生能低下と対応していると考えられた。

また幼若期投与群の行動異常は、「情動異常を伴う記憶異常」と考えられた。

## 【結論】

ネオニコチノイド農薬には従来の試験法からは想定することが難しい、  
行動異常(毒性)を引き起こす危険がある。

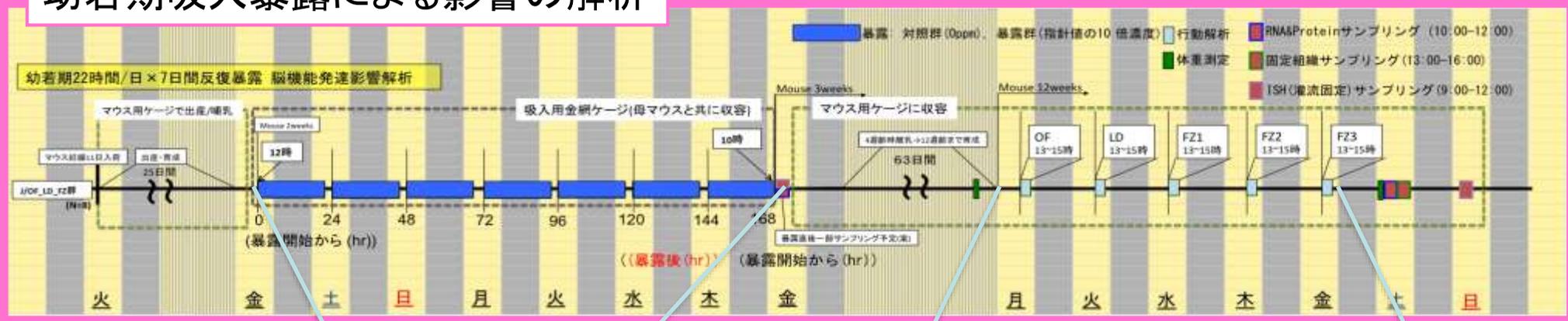
今後、分子レベル解析を含め、より詳細な神経科学的検証を加えるとともに、  
毒性発現に至るメカニズム解明が必要である。

# 幼若期キシレン吸入暴露による情動-認知行動影響の解析

<https://mhlw-grants.niph.go.jp/project/25704>

Manuscript in preparation

## 幼若期吸入暴露による影響の解析



### 照明周期

PM8:00 AM8:00  
(約50lux)

2-3weeks inhalation



哺乳期であるため  
幼若期マウス(児)と  
母マウスを吸入網ケージに収容

### 12週齢時に情動-認知行動バッテリー解析

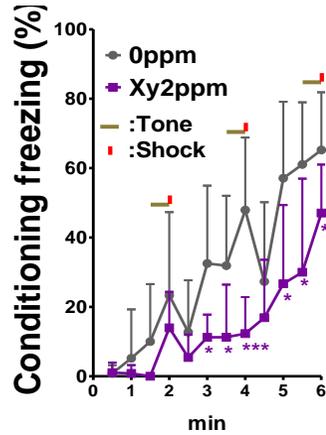
略号	試験名	測定項目	試験に要する時間
<u>OF</u>	Open field test	新奇環境-活動性	N=8, 2群(16匹)で120分
<u>LD</u>	Light / Dark transition test	不安関連行動	N=8, 2群(16匹)で60分
<u>FZ1</u>	Fear conditioning: Conditioning	トレーニング/短期学習	N=8, 2群(16匹)で70分
<u>FZ</u> <u>FZ2</u>	Fear conditioning: Contextual test	空間記憶	N=8, 2群(16匹)で70分
<u>FZ3</u>	Fear conditioning: Cued test	音-連想記憶	N=8, 2群(16匹)で70分

# 幼若期2 ppmキシレン 2 ppm22時間7日間吸入暴露し、12週齢時に条件付け学習試験を実施した結果

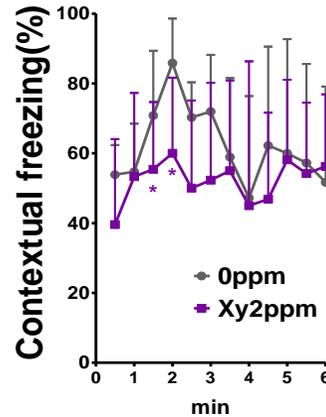
0ppm群

Xylene2ppm群

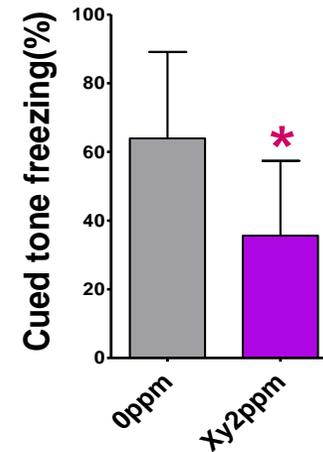
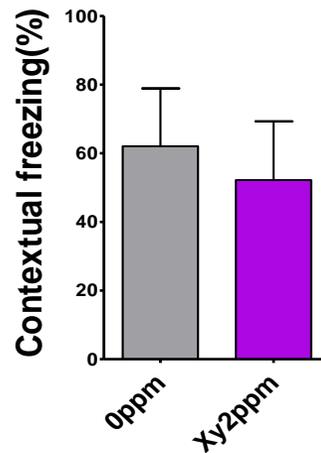
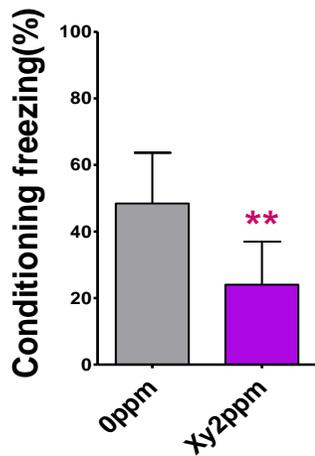
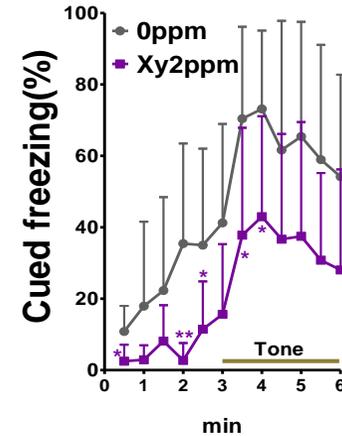
### 条件付け(FZ1)



### 場所-連想記憶(FZ2)



### 音-連想記憶(FZ3)

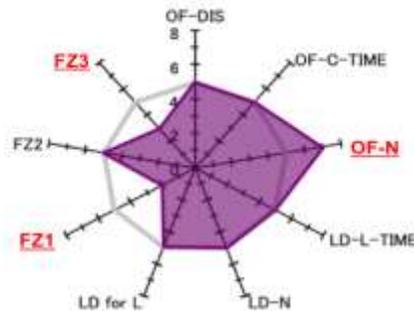


Mean  $\pm$  S.D.,  
Student's paired t-test

## 2ppm キシレン(指針値の10倍濃度) 22時間/日 × 7日間反復吸入暴露による成熟期(急性/遅発性)と幼若期暴露における情動認知行動影響のまとめ

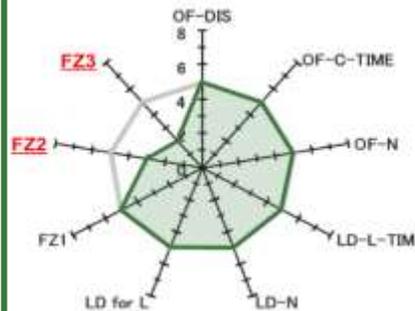
### 幼若期暴露影響

#### 遅発影響(暴露9週後~)

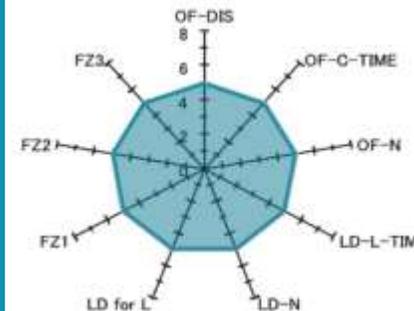


### 成熟期暴露影響

#### 急性影響(暴露当日)



#### 遅発影響(暴露3日後~)



+/-3:  $p < 0.01$   
+/-2:  $p < 0.05$   
+/-1:  $p < 0.1$   
0:  $p > 0.1$

*t*-testのP値により「行動逸脱レベル」比較図とした。

OF-DIS : 総移動量

OF-C-TIME : 中央部滞在時間

OF-N : 総移動回数

LD-L-TIME : 明所滞在時間

LD-N : 総移動数

LD for L : 初移動潜在時間

FZ1 : 条件付け (短期記憶形成度)

FZ2 : 場所-連想記憶度

FZ3 : 音-連想記憶度

# Intrauterine environment-genome interaction and Children's development (2): Brain structure impairment and behavioral disturbance induced in male mice offspring by a single intraperitoneal administration of domoic acid (DA) to their dams

Kentaro Tanemura, Katsuhide Igarashi, Toshiko-R Matsugami, Ken-ichi Aisaki,  
Satoshi Kitajima and Jun Kanno

*Division of Cellular & Molecular Toxicology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health  
Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan*

(Received February 17, 2009)

OF



オープンフィールド試験  
10分

検定項目  
総移動量  
中央部-滞在時間  
移動回数

LD



明暗往来試験  
5分

検定項目  
明所滞在時間  
明暗往来数  
初移動時

EP



高架式十字迷路試験  
10分

検定項目  
総移動量  
アーム選択数  
開放アーム-滞在時間

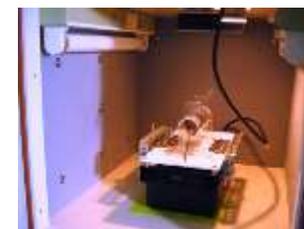
FZ



恐怖条件付け試験  
6分・3日間

検定項目  
学習度 (1日目)  
場所-連想記憶 (2日目)  
音-連想記憶 (3日目)

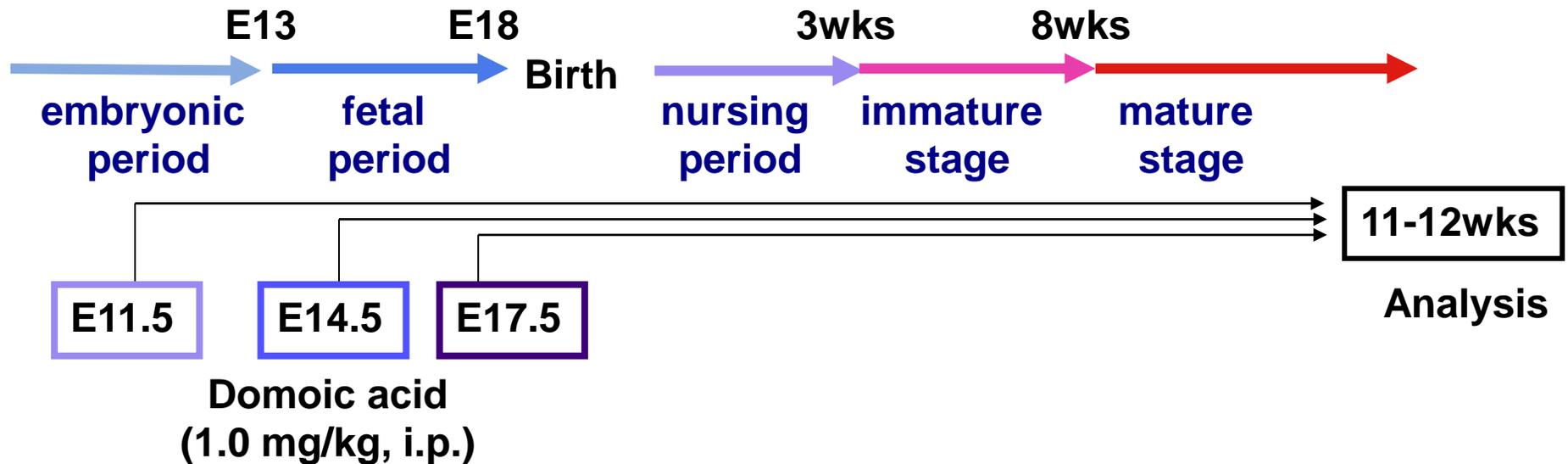
PPI



プレパルス驚愕抑制試験  
30分

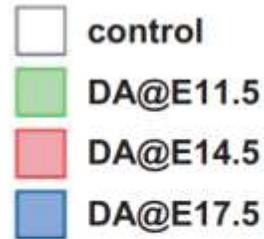
検定項目  
プレパルス驚愕抑制度  
(80-105db:120db)

# Delayed effects on brain function induced by prenatal exposure of domoic acid



J Toxicol Sci. 2009;34 Suppl 2:SP279-86. doi: 10.2131/jts.34.sp279.

# Summary of behavioral analysis



## Openfield test

- #1: Total distance traveled
- #2: Time spent at center area
- #3: Number of movement

## Light/dark transition test

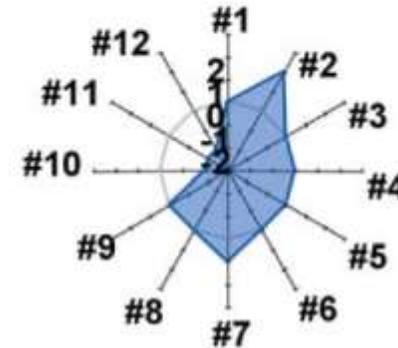
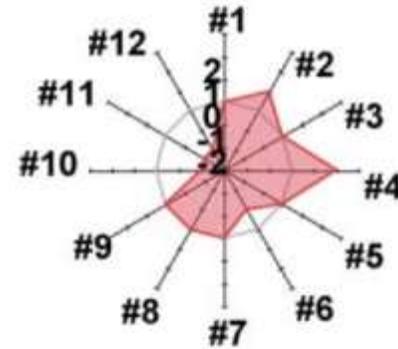
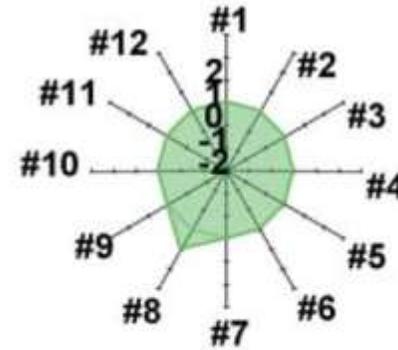
- #4: Time spent in light area
- #5: Number of transition
- #6: Latency to light area

## Elevated plus maze test

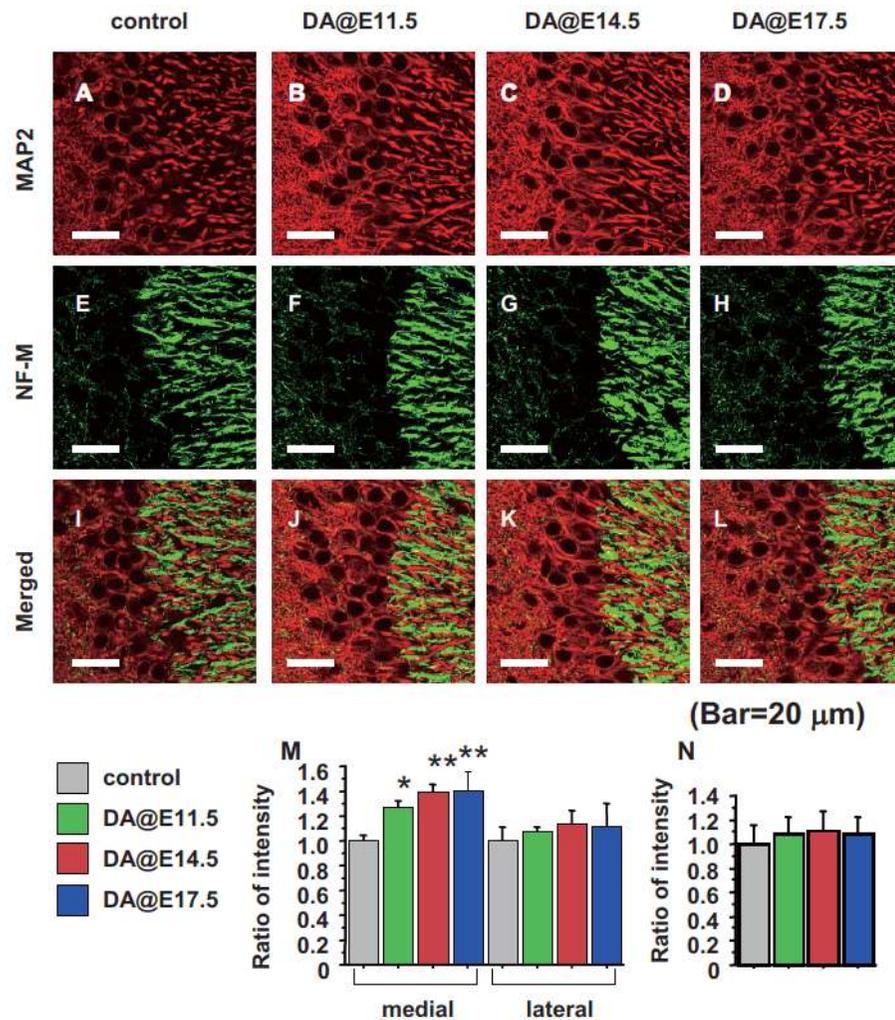
- #7: Total distance traveled
- #8: Time spent in open arm area
- #9: Number of entry in arms

## Fear conditioning test

- #10: Conditioning
- #11: Contextual freezing
- #12: Cued freezing



J Toxicol Sci. 2009;34 Suppl 2:SP279-86. doi: 10.2131/jts.34.sp279.



**Fig. 2.** Delayed effects on hippocampus induced by prenatal exposure of DA. A-D, Immunohistochemical staining against MAP2; E-H, immunohistochemical staining against NF-M; I-L, merged images, of CA3 hippocampus. A, E, I, group A (control), B, F, J, group B (DA@11.5), C, G, K, group C (DA@14.5) and D, H, L, group D (DA@17.5). Scale bar = 200  $\mu$ m. M, Quantitative analysis of MAP2 expression, and N, NF-M expression among the groups (mean  $\pm$  S.E.M.). Asterisk (\*\*) and (\*) indicated significant difference compared to control ( $P < 0.01$ ) and ( $P < 0.05$ ).

# 脳の発達に影響を与える化学物質とは？

## 周産期ばく露の影響の観点から——

脳の発達・成熟に関わっている神経伝達物質とその受容体の間に入って、シグナル伝達を攪乱する化学物質。

★攪乱の実態としては、

- ・シグナルを増強する化学物質
- ・シグナルを減弱させる化学物質

★攪乱の詳細としては、

- ・自前の伝達物質の代わりになる化学物質⇒**ネオニコチノイド**など
- ・自前の伝達物質の作用を増強する化学物質＝**コリンエステラーゼ阻害物質**  
⇒**アセフェート**など
- ・神経細胞に直接作用して興奮させ、隣の神経細胞に対するシグナルを増強する化学物質  
⇒**ペルメトリン**など

# 脳の発達に影響を与える化学物質とは？

## 周産期ばく露の影響の観点から——

沢山ある化学物質から、どの様に見つけ出すか？

★動物を用いた 情動認知行動試験

★細胞を用いた試験:いろいろな種類の神経細胞(受容体の種類)

★分子を用いた試験:いろいろな受容体分子

★農薬であれば、害虫への作用機序(標的分子)が解っているので、その標的分子と同じ、或いは似たヒトの標的分子に対する作用を測定する。

★一般の化学物資であれば、標的が分からない場合が多いので、網羅的に調べる事が望ましい。

★ただし！農薬も一般の化学物質も、標的となる分子は一つではない！

# 脳の発達に影響を与える化学物質とは？

## 周産期ばく露の影響の観点から——

沢山ある化学物質から、どの様に見つけ出すか？

★動物を用いた 情動認知行動試験

★細胞を用いた試験:いろいろな種類の神経細胞(受容体の種類)

★分子を用いた試験:いろいろな受容体分子

★農薬であれば、害虫への作用機序(標的分子)が解っているの

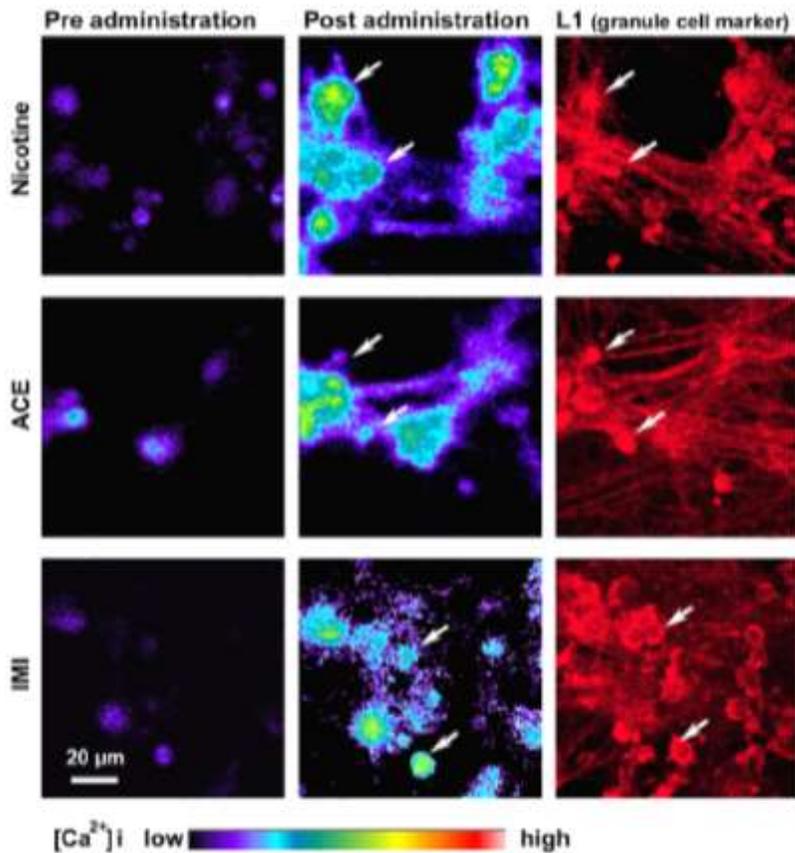
OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

## Nicotine-Like Effects of the Neonicotinoid Insecticides Acetamiprid and Imidacloprid on Cerebellar Neurons from Neonatal Rats

Junko Kimura-Kuroda\*, Yukari Komuta, Yoichiro Kuroda, Masaharu Hayashi, Hitoshi Kawano

Department of Brain Development and Neural Regeneration, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Setagaya-city, Tokyo, Japan



**Figure 3.  $\text{Ca}^{2+}$  influx in cerebellar small neurons.** Excitatory  $\text{Ca}^{2+}$  influxes in small round-shaped neurons (14 DIV) were observed just after the administration of nicotine, ACE, or IMI at  $10 \mu\text{M}$ . The left column shows the time period before application of the drug, and the middle column shows the time period immediately after application of the drug. The pseudo-color bar in the bottom indicates the Fluo-4 fluorescence intensity scale. The right column shows L1-immunoreactivity from the same field of the Fluo-4 experiment. The arrows indicate round small neurons that were immunoreactive for L1.  
doi:10.1371/journal.pone.0032432.g003

物質とは？

ら——

か？

細胞（受容体の種類）

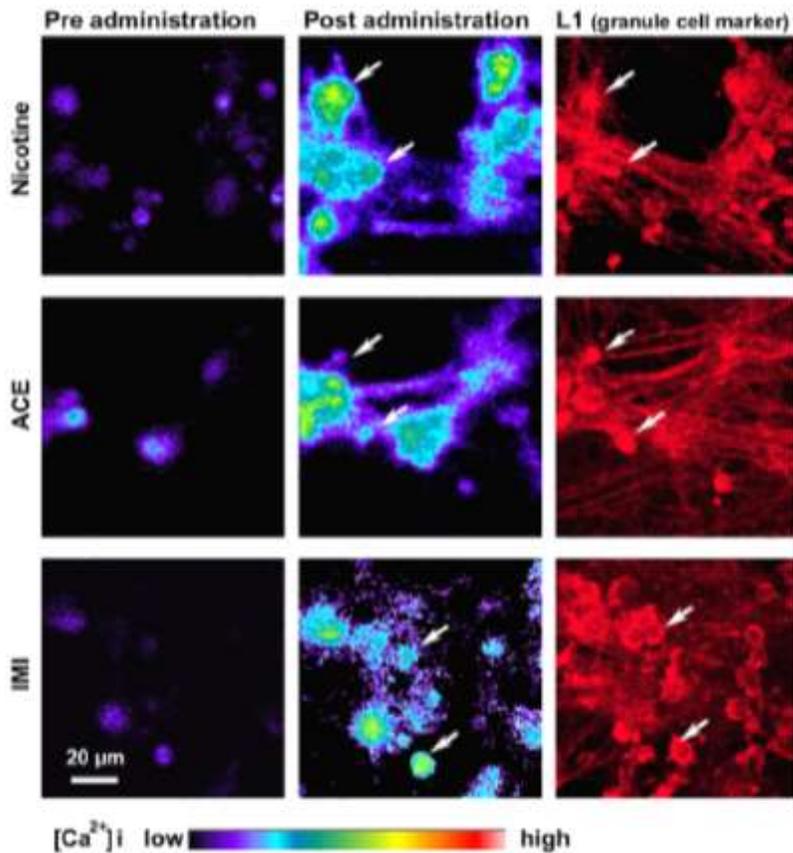
的分子)が解っているの



## inoid Insecticides erebellar Neurons

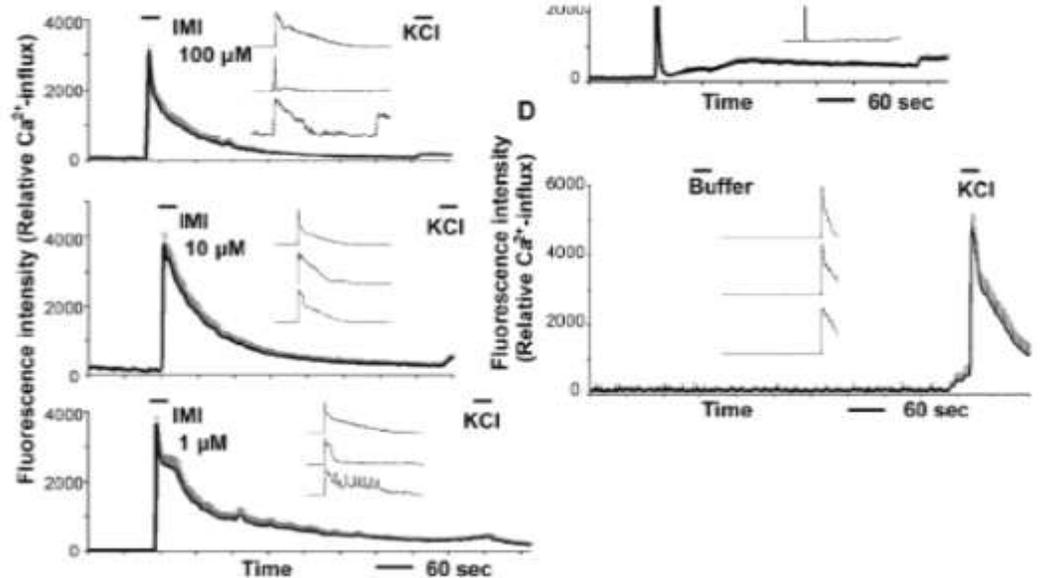
Junko Kimura-Kuroda\*, Yukari Komuta, Yoichiro Kuroda, Masaharu Hayashi, Hitoshi Kawano

Department of Brain Development and Neural Regeneration, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Setagaya-city, Tokyo, Japan



**Figure 3.  $\text{Ca}^{2+}$  influx in cerebellar small neurons.** Excitatory  $\text{Ca}^{2+}$  influxes in small round-shaped neurons (14 DIV) were observed just after the administration of nicotine, ACE, or IMI at  $10 \mu\text{M}$ . The left column shows the time period before application of the drug, and the middle column shows the time period immediately after application of the drug. The pseudo-color bar in the bottom indicates the Fluo-4 fluorescence intensity scale. The right column shows L1-immunoreactivity from the same field of the Fluo-4 experiment. The arrows indicate round small neurons that were immunoreactive for L1.

doi:10.1371/journal.pone.0032432.g003



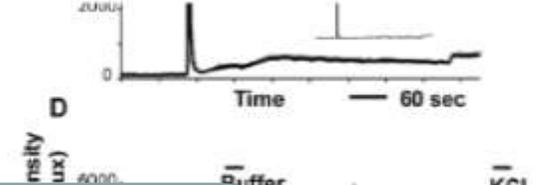
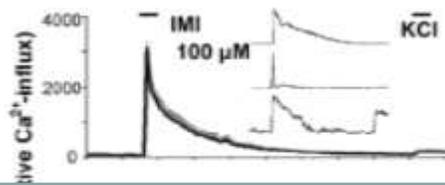
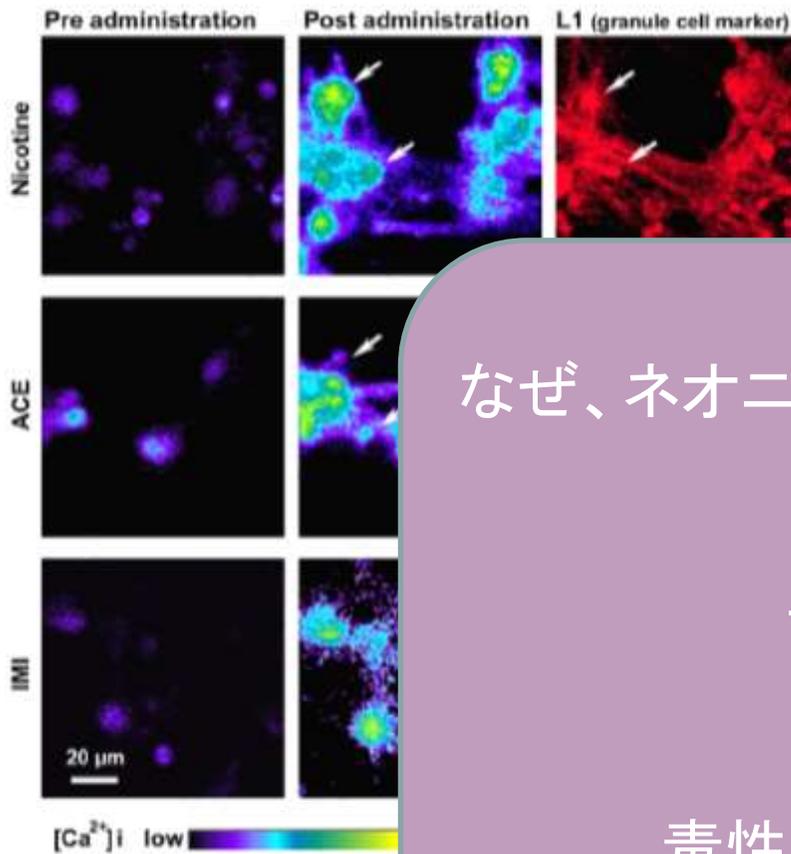
**Figure 4. Effects of nicotine, ACE, and IMI on  $\text{Ca}^{2+}$  influxes in Fluo-4-loaded cerebellar neurons.** Administration of 1, 10, or  $100 \mu\text{M}$  of ACE (A), IMI (B), or nicotine (C) evoked a significant  $\text{Ca}^{2+}$  influx in neurons. As a negative control (D), BSS containing DMSO (0.001%) was applied instead of the agonists. After washing with BSS, KCl (100 mM) was added to stimulate the neurons. The main, line graphs represent mean values  $\pm$  the S.E.M. of the  $\text{Ca}^{2+}$ -influx-fluorescence intensities in the small neurons ( $n=20-30$ ). All of the main graphs show data from a series of typical experiments in at least three independent culture assays, and the same patterns of  $\text{Ca}^{2+}$  firing were confirmed. The small, line graphs inset within each main graph show the firing pattern of a single representative cell.

doi:10.1371/journal.pone.0032432.g004

## inoid Insecticides erebellar Neurons

Junko Kimura-Kuroda\*, Yukari Komuta, Yoichiro Kuroda, Masaharu Hayashi, Hitoshi Kawano

Department of Brain Development and Neural Regeneration, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Setagaya-city, Tokyo, Japan



余談：  
 なぜ、ネオニコチノイドと名付けられたか？  
 ネオ=NEW  
 昔、OLDが有った  
 ニコチン系農薬  
 ↓  
 毒性強く、使われなくなった

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjrm1952/18/4/18\\_4\\_168/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjrm1952/18/4/18_4_168/_pdf)

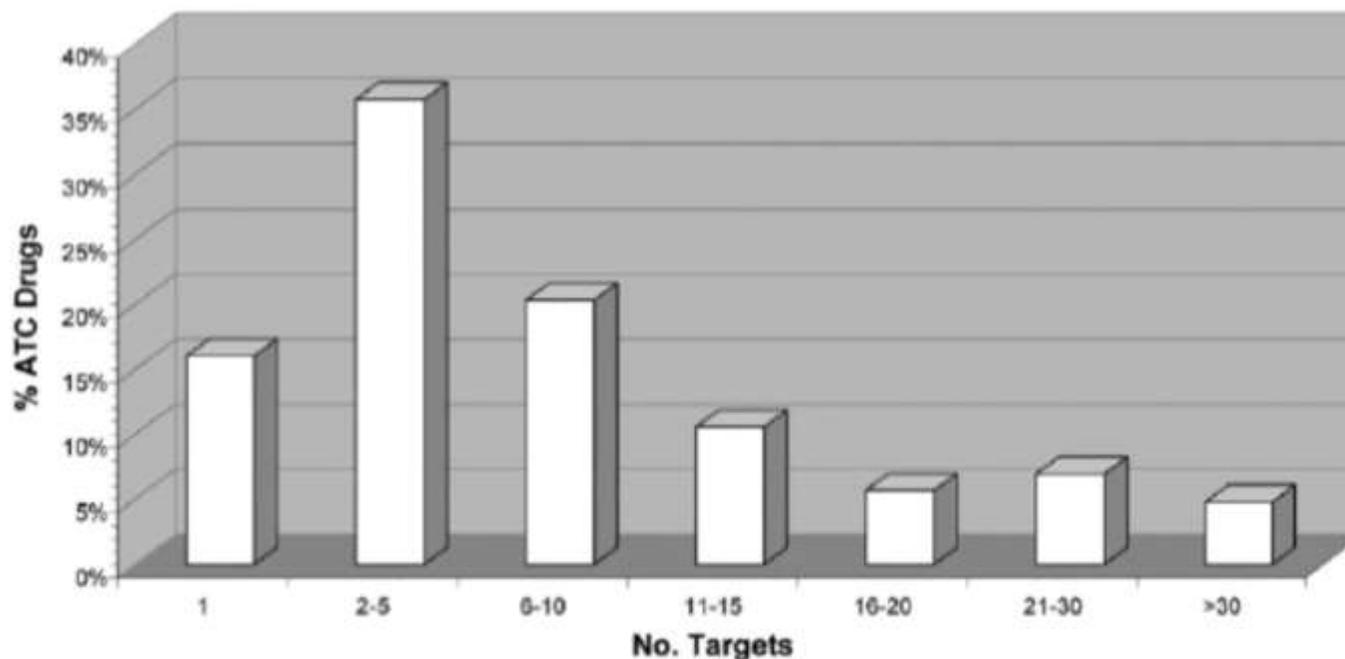
Junko Kimura-Kuroda\*, Yukari Komuta, Yoichiro Kuroda, Masaharu Hayashi, Hitoshi Kawano

Department of Brain Development and Neural Regeneration, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Setagaya-city, Tokyo, Japan

★ただし！農薬も一般の化学物質も、標的となる分子は一つではないかもしれない。

★クスリ(医薬品)であっても、作用する標的分子は、複数あるのが一般的である。

## On the origins of drug polypharmacology

On this Med Chem Commun., 2013, **4**, 1-11  
Xavier Jalencas and Jordi Mestres\*

**Fig. 1** Distribution of the percentage of drugs in the Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification<sup>10</sup> for which bioactivity on protein targets has currently been reported in public sources of pharmacological data.<sup>5</sup> A drug is considered bioactive to a protein if its activity (Act) is better than 10  $\mu\text{M}$ , that is, its  $\text{pAct} = -\log(\text{Act})$  is higher than 5, Act being any  $K_i$ ,  $K_d$ ,  $\text{IC}_{50}$  or  $\text{EC}_{50}$  data available.

# 脳の発達に影響を与える化学物質とは？ 周産期ばく露の影響の観点から——

沢山ある化学物質から、どの様に見つけ出すか？

★動物を用いた 情動認知行動試験

★細胞を用いた試験:いろいろな種類の神経細胞(受容体の種類)

★分子を用いた試験:いろいろな受容体分子

★ただし！農薬も一般の化学物質も、標的となる分子は一つではない！

どの様に規制決定に反映するか:ヒトへの外挿、環境生物・生態系影響

★動物を用いた 影響の内容、曝露経路・曝露量(用量相関)(既に認知された有害化学物質との力価の比較情報など)の提示

★細胞を用いた試験:作用する曝露濃度の提示:種差の程度の確認

★分子を用いた試験:作用する曝露濃度の提示:種差の程度の確認

★ただし！農薬も一般の化学物質も、標的となる分子は一つではない！

試験する標的の吟味、複合影響の分解作業？

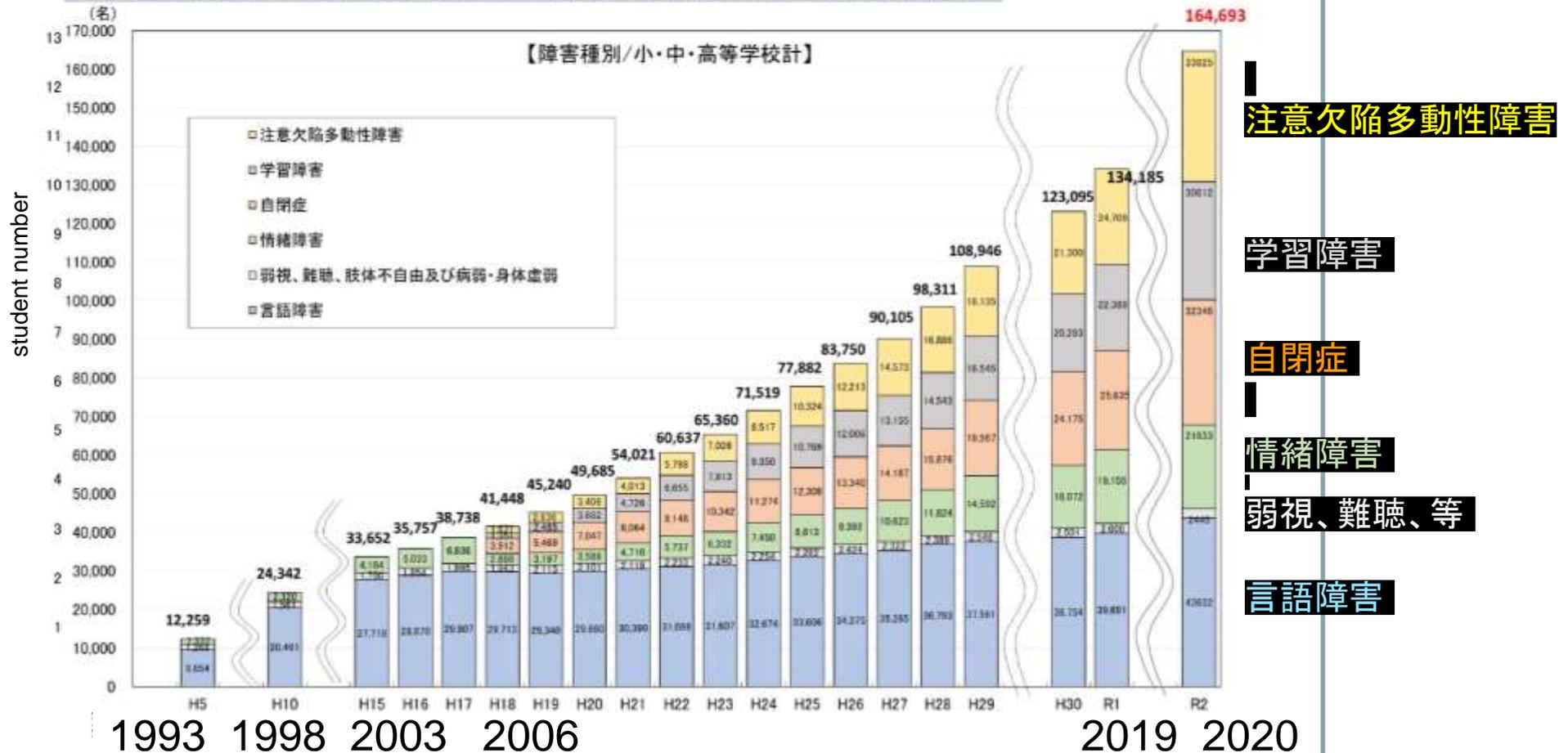
作用する曝露濃度の提示:種差の程度の確認

●注:細胞・分子を用いた試験は、陽性データのみ意味がある。

END

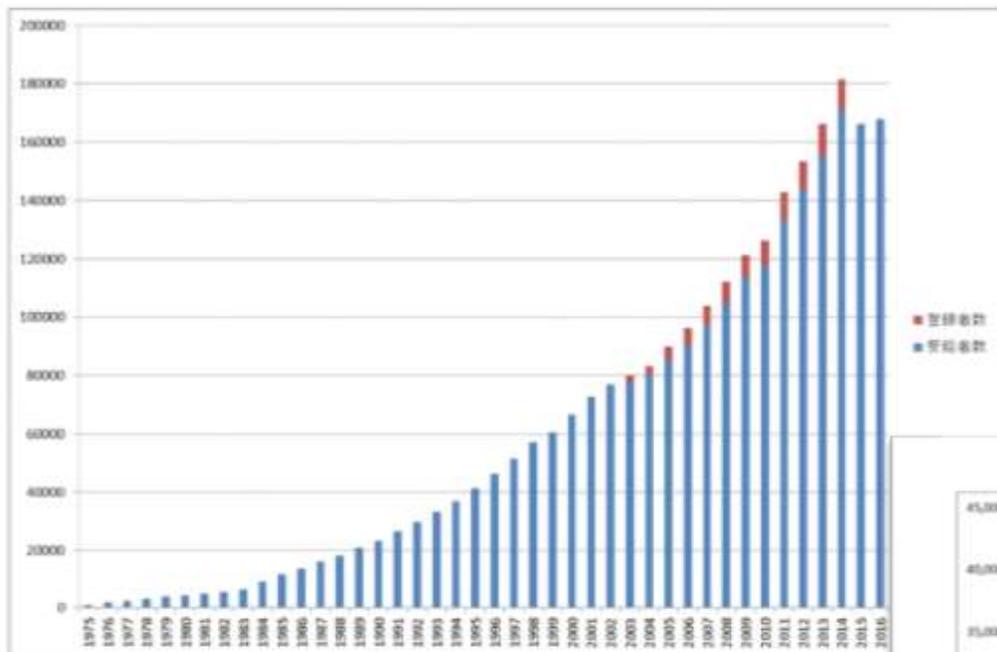
## 特別支援学校・特別支援学級・通級による指導の現状

### 通級による指導を受けている児童生徒数の推移(各年度5月1日現在)



※高等学校における通級による指導は平成30年度開始であることから、高等学校については平成30年度から計上。  
 ※小学校には義務教育学校前期課程、中学校には義務教育学校後期課程及び中等教育学校前期課程、高等学校には中等教育学校後期課程を含める。

潰瘍性大腸炎医療受給者証交付件数の推移



<https://www.nanbyou.or.jp/entry/81>

クローン病医療受給者証交付件数の推移

