

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 野村 充 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 : 800 千円	
研究代表者 : 平野哲史	所属 : 学術研究部薬学・和漢系	職位 : 助教
研究題目 : 化学物質による神経炎症の惹起を指標とした新たな神経毒性バイオマーカーの解明		

研究概要

我々が日々曝露される化学物質の一部は種々の神経疾患の発症要因となり、グリアの活性化により生じる神経炎症は多くの疾患発症に共通する上流メカニズムとして注目を集めている。一方で、げっ歯類の病理的解剖や肉眼行動観察を指標とする従来の神経毒性試験では、化学物質の神経毒性を細胞死の前段階で捉えることができず、グリアに対する作用を評価可能な項目が存在しない点が未解決課題となっている。申請者らはこれまでに、フェニルピラゾール系農薬のフィプロニル (Fip) の代謝物であるフィプロニルスルホン (FipS) がミクログリアの活性化を引き起こすことを明らかにしてきた。そこで本研究では、化学物質曝露による新たな神経毒性の上流イベントとしてミクログリア-ニューロン間クロストークの攪乱に関する影響メカニズムの解析を行い、神経炎症の惹起を検出するための新規バイオマーカーを探索することを目的とした。

成果要約

ヒト不死化ミクログリアである HMC-3 に 1-100 μM の Fip および FipS を曝露すると、濃度依存的な細胞生存性の低下、ミトコンドリア膜電位の低下、炎症性サイトカインである IL-6 や IL-1 β の mRNA 発現量の増加がみられ、体内主要代謝物である FipS ではそれらの作用がより大きくなることを明らかにした。また、FipS 曝露がミクログリアのミトコンドリアの代謝状態に及ぼす影響を細胞外フラックスアナライザーにより評価した結果、FipS は曝露直後において、プロトンリーク量の増加、ATP 産生量、最大呼吸商および予備呼吸商の低下を引き起こした。次に、FipS によるミクログリアの活性化がニューロンに及ぼす細胞間相互作用を検証するため、ヒトドーパミン作動性神経モデルである LUHMES の単独および共培養モデルにおける神経突起の評価を行った結果、ニューロン単独培養における FipS 曝露は 10 μM 以上の濃度において神経突起面積を低下させた一方、ニューロン-ミクログリア共培養においては神経突起への作用が軽減したことから、FipS により活性化したミクログリアはニューロンへの神経毒性に対して保護的に働くことが示唆された。超遠心法を用いて回収したミクログリア由来エクソソームについて、各エクソソームマーカーの発現を確認した後、分化誘導中の LUHMES 細胞にエクソソームを曝露すると、細胞数に変化は見られない一方、神経突起面積の増加が再現された。small RNA-seq 解析によりエクソソーム中に含まれる microRNA の網羅的発現解析を行い、FipS 10 μM の曝露により 2 倍以上発現上昇した microRNA 29 種を同定した。これらの microRNA の標的として予測される mRNA のうち、「Axonal Guidance Signaling」のパスウェイに関するものに着目した統合的ネットワークを作製し制御的役割を果たす microRNA を同定した。定量的 RT-PCR によるバリデーションの結果から、新規バイオマーカーの候補となる microRNA として mir-106a-5p および mir-665 を見出した。

研究成果発表状況	雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況		
	<p>【雑誌論文】</p> <p>1) Yoshimoto A, Nunobiki S, Ito M, Yonoichi S, Hara Y, Ishida Y, Mantani Y, Yokoyama T, <u>Hirano T</u>, Ikenaka Y, Hoshi N. Effects of low-dose subchronic exposure to the phenylpyrazole insecticide fipronil in juvenile mice. J Vet Med Sci. 2025 Feb 13. doi: 10.1292/jvms.24-0531.</p> <p>2) Nunobiki S, Yoshimoto A, Ito M, Yonoichi S, Hara Y, Ishida Y, Morishita R, Mantani Y, Yokoyama T, <u>Hirano T</u>, Ikenaka Y, Hoshi N. Effect of the neonicotinoid pesticide clothianidin at a no-observed-adverse-effect-level (NOAEL) dose on maternal behavior in pregnant mice and their female offspring. J Vet Med Sci. 2025 Feb 24. doi: 10.1292/jvms.24-0372.</p> <p>【学会発表】</p> <p>1) <u>Hirano T</u>, Ikenaka Y, Hoshi N, Tabuchi Y. Mechanisms of disturbance of microglia-neuron interactions induced by environmental chemical-induced neuroinflammation. 8th International Chemical Hazard Symposium; 2024 Oct 24-25 ; Sapporo.</p> <p>2) <u>平野哲史</u>, 池中良徳, 星 信彦, 田渕圭章. フィプロニル代謝物が引き起こすミクログリアーニューロン間相互作用の攪乱メカニズムの解明. 第 51 回日本毒性学会学術年会 ; 2024 Jul 3-5 ; 福岡.</p> <p>3) <u>平野哲史</u>. 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. 日本内分泌攪乱物質学会第 26 回研究発表会 2024 Dec 6-7 ; 東京.</p> <p>4) <u>平野哲史</u>, 池中良徳, 星 信彦, 田渕圭章. フィプロニル代謝物が誘導するミクログリアの活性化とニューロンとの相互作用の攪乱機序の解析. 日本内分泌攪乱物質学会第 26 回研究発表会 2024 Dec 6-7 ; 東京.</p> <p>5) <u>平野哲史</u>. 農薬類が哺乳類の中樞神経系に及ぼす未知の神経毒性メカニズムの探索. 日本衛生学会若手研究者夏の集い 2024 ; 2024 Aug 19 ; 東京.</p>		
経費の執行状況	区分	執行額(円)	備考
	<p>【物品費】</p> <p>蛍光プレートリーダー (Cytation1)</p> <p>【旅費】</p> <p>なし</p> <p>【謝金】</p> <p>なし</p> <p>【その他】</p> <p>なし</p>	800,000 円	他研究費(環境研究総合推進費、学長裁量経費)との合算
	合計	800,000 円	