

博士論文審査の結果の要旨

氏名	石母田 誠
学位名	博士（理学）
学位番号	乙 第 18 号
論文題目	アセチルコリンエステラーゼ阻害剤の一時的な曝露が水生生物に及ぼす多世代影響と薬剤耐性獲得のメカニズム
論文審査委員	主査 宮原 裕一 國頭 恭 朴 虎東 坂本 正樹（公立大学法人富山県立大学）

(博士論文審査の結果の要旨)

本学位論文は、農薬の水生生物に対する影響を多世代にわたり観察した得られた知見（3報の学術論文（英文，掲載済み））をまとめたものである。環境水中での農薬濃度は、その使用時に一時的に高濃度になり、数時間から数日で低濃度になる。本論文では、このような一時的な農薬曝露を再現し、より現実的な農薬のリスク評価を試みたところに本論文の独創性がある。また、すべての実験において、世界で多用されているアセチルコリンエステラーゼ（AChE）阻害剤（カーバメート系および有機リン系農薬）を用い、その標的酵素である AChE 活性を測定し、多世代での感受性変化のプロセスの解明を試みている。

第 1 章では、ミジンコ類の種間差に着目し、3 種類のミジンコの 1 世代目のみに AChE 阻害剤を 48 時間曝露し、その感受性の変化を 4 世代（F0-F3）にわたり調査した。オオミジンコ、霞ヶ浦から採取したタイリクアオムキミジンコおよびトガリネコゼミジンコの 3 種を試験生物とし、カーバメート系農薬のピリミカーブを曝露した。その結果、ピリミカーブに対する感受性はトガリネコゼミジンコでのみ有意に低下し、カーバメート系農薬の標的酵素である AChE 生産量の増加が感受性低下の一因と考えられた。

第 2 章では、種内差に着目し、感受性および生息地の異なるタイリクアオムキミジンコ（*S. kingi*）への農薬の一時的な曝露影響を 2 世代にわたり（F0- F1 世代）観察した。*S. kingi* ほどのクローンも野外の化学物質汚染環境下で採取したものである。2 種類の AChE 阻害剤について、48 時間曝露後、清浄な環境で飼育して、次世代（F1 世代）における幼体の感受性の変化を観察した。AChE 阻害剤に短期曝露したクローンの一部は、感受性の高い幼体を産んだため、親世代よりも子世代の方が高いリスクを持つことが示唆された。また、*S. kingi* 体内の AChE 活性を測定したところ、どちらの薬剤についても F0 世代において、48 h-EC₅₀ 値と AChE 活性との間に正の相関が確認され、AChE 活性を測定すれば、AChE 阻害剤への感受性をある程度予測できることが示された。

第 3 章では、第 1 章や第 2 章で扱ったミジンコ類とは異なり有性生殖をするセスジユスリカを対象とし、一時的に AChE 阻害剤に曝露し、その影響を 4 世代にわたり観察した。2 種類の AChE 阻害剤（ピラクロホスとピリミカーブ）を、各世代において 48 時間曝露したのち清浄な環境に移すといった飼育を 3 世代目まで繰り返し（F0-F2）、この薬剤曝露からの回復性を評価するため、4 世代目（F3）には薬剤の曝露は行わなかった。ピリミカーブ処理区の各世代の幼虫（<24 時間齢）の感受性を 48h-EC₅₀ 値から評価したところ、3 世代目（F2）における感受性は、対照区よりも有意に低かった。この感受性の低下には AChE 活性の増加が関与していた可能性が高いことが示された。一方、ピラクロホス処理区の感受性（F0-F3 世代）は、対照区と同程度であった。

本研究により、上記のような様々な水生生物に対する一時的な農薬曝露の多世代影響の一端が解明された。なかでも一部のミジンコ種やユスリカで AChE 阻害剤に対する薬剤耐性が獲得されたのは初の知見である。また、農薬に短期曝露されたアオムキミジンコのクローンの一部から、高感受性の幼体が産出されたことから、急性毒性値からは把握できない潜在的なリスクが存在することも示唆された。従来の 1 世代の急性毒性試験のみでは、化学物質の水生生物に及ぼすリスクは過大または過少評価されている可能性が高く、本研究で提案された多世代影響を観察する有

用性が示された。

このように、本学位申請論文は、従来の急性毒性試験や慢性毒性試験では評価できない実際の水環境で生じる農薬の生物影響を、長期かつ緻密な実験から解明し、いくつもの新たな知見を得ており、学位論文として十分価値あるものと判断した。また、博士論文審査にあたり、審査要件を満たしていることはもちろん、大学院修了者と同等の学力、英語力を有していることも確認された。

(公表主要論文名)

Makoto Ishimota, Naruto Tomiyama

Increased acetylcholinesterase inhibitor sensitivity as an intergenerational response to short-term acetylcholinesterase inhibitor exposure in *Scapholeberis kingi*.

Limnology, 21, 187-196 (2019)

Makoto Ishimota, Risako Tajiki-Nishino, Tomoki Fukuyama, Naruto Tomiyama

Rapid adaptation of *Chironomus yoshimatsui* to acetylcholinesterase inhibitors (pyraclofos and pirimicarb) in a multi-generation study.

Journal of Environmental Science and Health, Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, 55, 429-437 (2020)

Makoto Ishimota, Risako Tajiki-Nishino, Tomoki Fukuyama, Naruto Tomiyama, Masaki Sakamoto, Kazutoshi Ohyama

Long-term tolerance acquisition and changes in acetylcholinesterase activity in three cladoceran species after a 48-H pulsed exposure to pirimicarb.

Water, Air & Soil Pollution, 231, 287, 1-17 (2020)