

ネオニコチノイド系農薬 最新研究&農薬再評価の問題点

去る7月9日、連合会館(オンライン併用のハイブリッド開催)にて、有害化学物質から子どもを守るネットワーク(子どもケミネット)・JEPA共催による学習会が開催されましたので、その概要を報告します。

講演1 星信彦氏(神戸大学大学院教授)

ネオニコチノイド系農薬最新研究

[報告者] 理事 水野玲子

目下、わが国で最も精力的にネオニコチノイド(以下ネオニコ)系農薬の研究を進められている星先生に、今回はネオニコの最新研究のお話を伺いました。内容が非常に多岐にわたり、この誌面ですべてを紹介できません。誌面の都合上、農薬の再評価や毒性試験に関する内容は最小限にし、マウスによる動物実験で明らかになったことを中心に簡略にご報告します。詳細はHP 講演資料とYoutube 動画をご覧ください。



星信彦氏
神戸大学大学院農学研究科(資源生命科学専攻・応用動物学講座・動物分子形態学教育研究分野)教授。専門は、動物分子形態学、分子細胞遺伝学、分子毒理学。主な研究テーマは、性分化の破綻機構の解明、環境化学物質による中枢神経系および生殖障害機序の分子機構の解明など。

はじめに ——農薬は安全か？

◎誰の尿を調べてもネオニコが……

大変ショッキングな報告ですが、3歳児(223名)の尿を調べた結果、三大殺虫剤(有機リン系・ピレスロイド系:100%、ネオニコ系:約80%)が検出されることから、ばく露源は共通で、日本の子どもは環境的に農薬にばく露されていることがわかりました[Osaka et al., 2016]。また最近では、日本人の赤ちゃん約1000人のオムツから高率にネオニコが検出されました[Oya et al., 2021]。これらの報告からも、日本の子どもは複数の農薬に日常的にばく露されており、健康への影響が懸念されます。

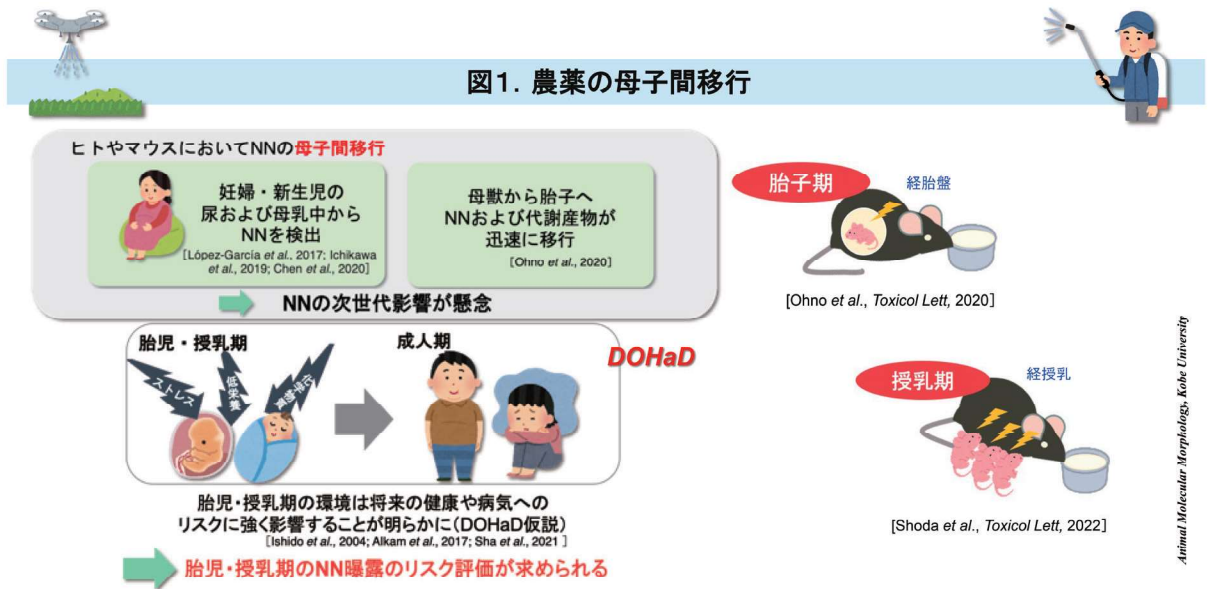
その農薬はどこから来るのかといえばお母さんから来るのです。母子間移行ですね。ネオニコの一種であるクロロアニジン(以下CLO)の胎盤移行については、私たちが初めて高感度・定量的に解析し、CLOが胎盤の関門を極めて迅速に通過することを明らかにしました[Ohno et al., 2020]。お母さんが日常摂取している化学物質のほぼすべてが、あっという間に胎盤を通過してしまうのです。また、母体の血中濃度よりも遙かに高い濃度でCLOが母体から母乳へ代謝・濃縮されて入り込みます。つまり、化学物質に対して極めて感受性が高い胎児・新生児へネオニコをはじめとした毒性物質の母子間移行があるのです(図1)。

◎農薬とは

そもそも農薬とは、農作物を保護するものですが、人体や環境にとっては有害物質でしかありません。農耕地は人工的な空間であり自然生態系のバランスは存在しない上、作物の方も、品種改良によって天然防御物質が除去されているので、農薬が必要となる訳です。すなわち、農薬は、作物にとっては「薬」でも、消費者(農業従事者)や環境にとっては「毒」でしかない!のです。

◎医薬品と農薬の違い

「医薬品」も「農薬」もヒトが摂取することを前提で作られています。しかし、医薬品には長期にわたる臨床試験があります。しかし、農薬には臨床試験がなく(「毒」なのでヒトでの毒性試験ができない)、ヒトへの安全性は一度も確認されずに市販されているのです。「農薬」とは、市販されて初めてヒトへの安全性が試されている(私は人体実験



と言っていますが……) 化学物質なのです。そこが両者の決定的な違いといえます。

そして、さらに怖いのは、その医薬品だって100%安全ではないことは皆さんご存知の通りです。その理由は、人間一人ひとりの「感受性」は同じではないからです。一卵性双生児でさえ感受性を含めたさまざまな表現型が異なっており、その背景には遺伝子発現の個体差があります。遺伝子の発現(ON/OFF)は、生後の環境要因によっても変化することがわかってきました。それをエピゲノム変化といいます。

●農薬の毒性試験

農薬の健康影響に関する毒性試験ガイドラインが、世界保健機構(WHO)ではなく、経済成長、開発、貿易拡大をミッションとするOECD(経済協力開発機構)ガイドラインにそって作成されていることに、皆さんは違和感を持たれないでしょうか。農薬の安全基準の決め方にはいろいろ問題があります。

「無毒性量(NOEL)」とは、マウスなど動物での試験で有害な影響が認められない最大投与量であり、その値を安全係数100で割ることにより、ヒトのADI(一日摂取許容量)が算出されています。しかし、例えば、ダイオキシン的一种であるTCDDでは、ハムスターとモルモットで感受性が1万倍も違います。そもそもこのADIは、「ヒトが生涯にわたり(>80年)食べても安全な一日あたりの量」という設定です。最近市販された農薬にもこのADIが設定されていることも理解に苦しいですが、この100という数字に科学的根拠は何も無いことにも驚きます。

マウスでの実験結果からわかったこと ——オスは影響を受けやすい!

私たちの研究室では、実験動物にNOEL量のネオニコ

チンを摂取させ、行動試験をはじめとした生理的变化やゲノム、タンパク質の変化を含めたトランスオミクス解析によってさまざまな検証を行っています。その実験結果から以下のことがわかりました。

- ◆ OECDガイドライン試験では“見落とされる”毒性(国が設定したNOELが「無毒性量」でなかった!)
- ◆ 毒性が低いはずのネオニコによる神経細胞のかく乱
- ◆ 母子間移行、性差、免疫系、加齢、次世代への影響

近年、農薬と発達障害の因果関係を示唆する報告が集積されつつあります。発達障害の発生には性差があり(男女比 3:1~5:1)、化学物質の感受性にも性差があります。オスよりメスで代謝酵素(CYP3A4)の発現量が多く[Waxman & Holloway, 2009]、ニコチン依存症が重症化しやすいこと[Carpenter et al., 2006]が先行研究で指摘されています。

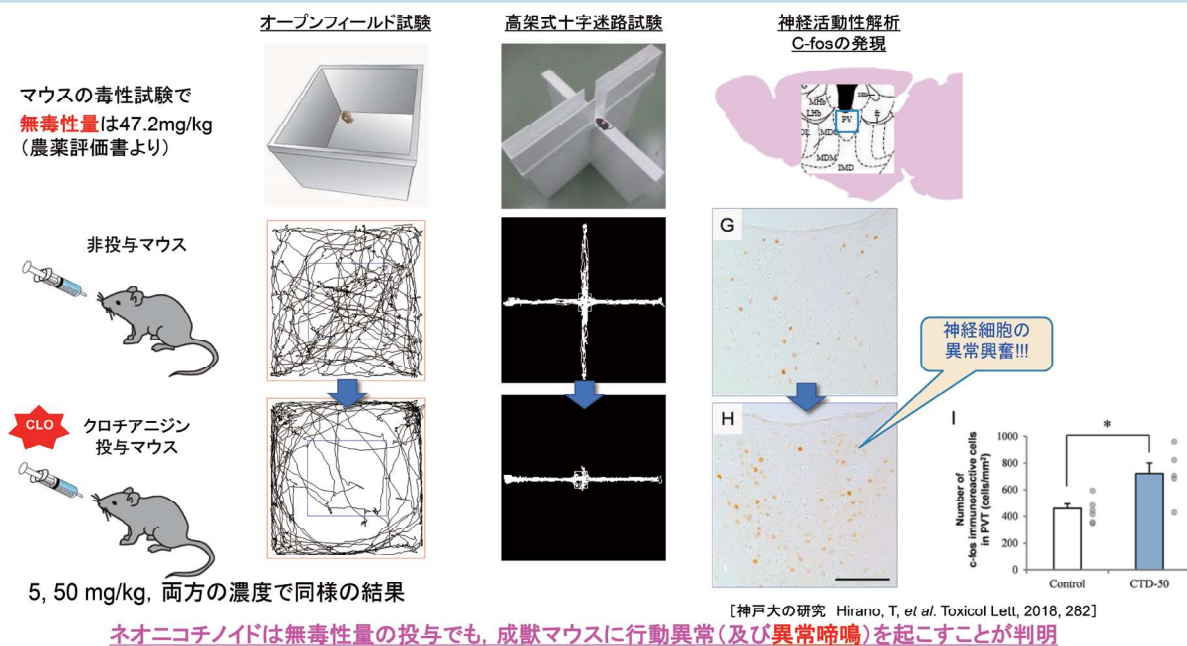
さらに、CLOの単回投与によって生じる影響の性差を検証しました。その結果、不安様行動、物体認識記憶に大きな性差がみられました[Kubo & Hirano et al., 2022]。

●無毒性量のネオニコによる行動・学習・記憶の性差

無毒性量のCLO投与でも、成獣マウスに認知情動行動の異常(および異常蹄鳴=異常に鳴き叫ぶ)を起こすことが判明しました[神戸大の研究 Hirano et al., Toxicol Lett 2018]。マウスはそもそも拘束されるなどの強いストレス下を除き、ヒト可聴域の蹄鳴を示すことはほとんどありません。それが本研究の結果、オスのCLO投与群において、異常蹄鳴(4~16KHzの倍音で構成)が観察されました(図2)。メスは同じ条件でもほぼ鳴かず、鳴いた個体はすべて発情期でした。

性ホルモン量がニコチン性アセチルコリン受容体(以下nAChR)を介するシグナル伝達に関与し、CLOの感受

図2. 無毒性量のクロチアニジンを単回投与した成獣マウスは不安行動を示し、脳の一部が過活動化していた



Animal Molecular Morphology, Kobe University

図3. 行動および神経回路に及ぼす影響に性差 その一端に性ホルモンや代謝が関与



性を変化させる可能性が推定されます。それは、性ホルモン量によって、ニコチンの感受性、nAChRの発現量が変化したことによるものと考えられます。メスでは性周期によってCLOの感受性が変化した可能性があります。

また、オスではCLOが、不安や学習、ストレス反応に関与する脳領域(視床室傍核、海馬歯状回、手綱核)のnAChRに作用し、行動異常を引き起こした可能性があります。CLOの代謝速度はオスよりもメスが速く、オスで異常啼鳴個体は血中のCLO残留が多く、尿への排出が少ないことがわかりました [Kubo & Hirano et al., 2022]。

●ネオニコが発達期の脳に及ぼす影響

生後3~8週齢のマウス(ヒトの学童期から思春期を想定)に無毒性量のネオニコ(ジノテフラン)を摂取させ、オープンフィールド試験をしたところ、自発運動量が増え、うつ様行動が減少しました。ネオニコの種類によっては、発達期のばく露が多動様症状を引き起こす可能性を示

しています [Yoneda et al., 2018]。セロトニンが過剰に分泌されると興奮や混乱など精神的に不安定な状態になり、ドーパミン合成が促進されると多動や精神疾患を発症することから、ジノテフランのばく露によって神経伝達物質のバランスが変化する可能性も想定されます。

●空間学習記憶に対する影響はオスに顕著

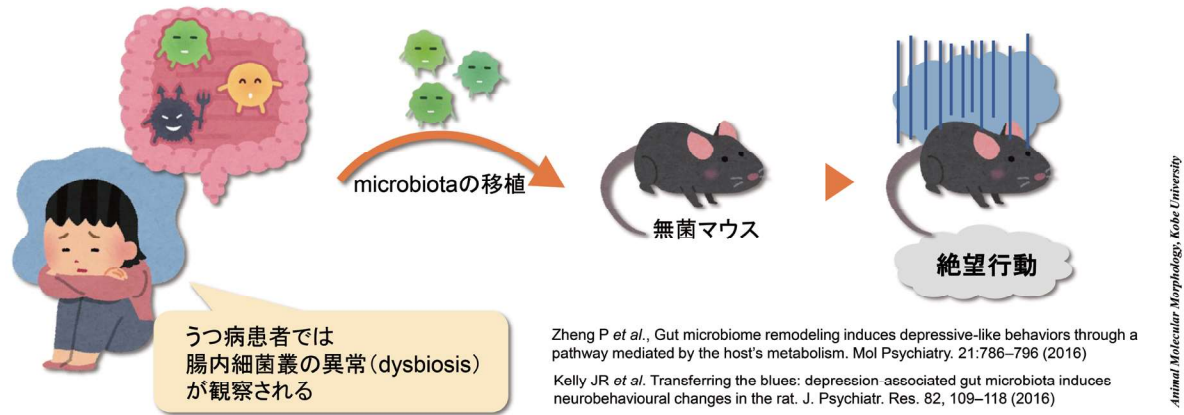
先行研究では、オスラットに90日間イミダクロプリドおよびCLOを投与して空間学習記憶の低下が報告されました [Kara et al., 2015; Ozdemir et al., 2014]。しかし、この実験はオスのみで行われ、メスへの影響は報告されていませんでした。そこで、本研究室ではオス、メスで比較し、CLOの影響について性差の有無を検証しました。

バーンズ迷路試験とは、訓練によって逃避箱の位置を記憶し、最短距離でたどりつくようにする実験です。空間学習記憶は、逃避箱に入るまでの移動距離および時間を評価しました。この試験の結果、CLO投与群のオスでは、前日の学習を覚えておらず成績不良でした。一方、対照群でもオスとメスには違いがありました。オスの神経細胞だけが異常興奮するということが明らかになり、CLOによる空間学習記憶には大きな性差が認められました [Kubo & Hirano et al., 2022] (図3)。

哺乳類の腸内細菌叢 (microbiota) に CLO が与える影響

腸は全身の免疫本部です。全身に約2兆個いる免疫細胞の7割が腸に配備されています。腸の異常が免疫の暴走を引き起こし、それがアレルギーや自己免疫疾患の発症につ

図4. 腸内細菌叢の変化はストレスによる絶望行動の発症と関連する



なおります。また、免疫の暴走にブレーキをかける制御性T細胞が減少すると、ヘルパーT細胞を制御できず、アレルギー反応を引き起こす免疫グロブリン (Ig) Eが過剰に放出されます。この制御性T細胞を増やすには短鎖脂肪酸 (酪酸、酢酸など) を作る腸内細菌、たとえば、善玉菌の代表格であるビフィズス菌あるいはクロストリジウム菌などが必要です。さらに、制御性T細胞は腸内細菌の種類を区別して有害な菌が増えると、アレルギー物質の侵入を防ぐIgAの産生を増やすこともわかってきました (IgAが多いとアレルギーになりにくいと考えられます)。

うつ病患者の腸内内容物を無菌マウスに移植すると、マウスはうつになり絶望状態を呈します (図4)。腸内細菌がいかにストレス反応やうつに関わっているかがわかります。

また、ヒトにおいてもうつに関与する脳領域 (外側手網核) では、セロトニン分泌調節やレム睡眠をコントロールしています。うつ病発症率はヒトでは女性が男性の2倍ですが、うつ病による自殺率は男性が女性の5.6倍です。うつ病患者では腸内細菌叢の多様性の低下 (dysbiosis) が観察されています。腸内細菌叢の変化はストレスによる絶望行動の発症と関連します。また、母乳に含まれる成分が新生児の腸内環境を健康に保っています。

CLOを投与したラットの腸内細菌叢を解析した結果、細菌種の多様性が低下し、細菌叢構成が単純化し、酪酸産生菌 (属) が減少しました [Onaru *et al.*, 2020]。

酪酸産生菌が減少するのは炎症性腸疾患の患者の特徴であり、免疫系の恒常性がCLOによってかく乱されたことを意味します。また、乳酸菌の減少はうつを引き起こします。これらの実験によって、農薬が腸内環境に少なからず影響を与えていること、また、日常的なCLOばく露は、免疫機能をかく乱することが明らかになりました。

ネオニコによる子どもの発達への影響と継世代影響

胎児、乳幼児期には、とくに有害物質などの影響を受けやすい時期 (critical point) が存在します。子どもの脳の発達、胎児期もちろん重要ですが、出生後においても、脳の高次機能を担う神経回路網ができる重要な時期です。先行研究で、ネオニコが哺乳類ではnAChRを介して神経興奮を引き起こすこと [kimura-kuroda *et al.*, 2012]、行動や恒常性の維持に影響を及ぼすこと [Hirano *et al.*, 2015, 2018; Hirano & Miyata *et al.*, 2021] が明らかになっています。また、腸内細菌叢や胸腺の異常も引き起こし、農薬原体や代謝物の胎仔移行も報告されています [Hoshi, 2021; Murata *et al.*, 2023; Ohno *et al.*, 2018; Onaru *et al.*, 2020]。哺乳類への詳細なリスク評価が急務です。

●神経回路形成期のネオニコ影響

脳の神経回路形成期は、神経新生、神経細胞移動、神経突起・軸索の伸長、シナプスの形成・刈込などの脳機能形成において最も重要な時期です。ちなみに自閉症はシナプス刈込不良、認知症は刈込過多によって起こります。各発達段階のCLOばく露による神経行動学的な影響は明らかではありませんが、神経発達の障害は幼年期 (不安様行動)、青年期 (多動) で異なる行動異常が現れることが報告されています [Maeda *et al.*, 2021]。

そこで、ネオニコの次世代影響を考察するにあたり、それを踏まえ脳の神経回路形成期を4つの時期に分けて調べました。

【実験1】

目的: 神経回路形成期 (胎子・新生子期) を4つの期間に分け、CLO摂取が脳の発達へ最も影響する発達段階を検証

結論: 生後1~4日のCLOばく露の脳発達への影響が最も大きかった。 [Shoda *et al.*, 2023b]

【実験2】

目的：妊娠・授乳期の母（F0）世代に無毒性量のCLOをばく露し、子（F1）、孫（F2）、ひ孫（F3）世代の神経行動学的な継世代影響を検証

結論：無毒性量のCLOによる影響はF1、F2、F3へ世代を経ると減弱する。

2つの実験から、F1世代では脳神経回路形成の発達段階別の影響があること、F2、F3世代にも影響は波及するが世代を経ると減弱していくことが明らかになりました [Shoda et al., 2023c]。

●腸内細菌叢への継世代影響

【実験3】

目的：妊娠・授乳期のF0世代に無毒性量のCLOを摂取させ、F1、F2、F3世代の胸腺・腸管免疫系への継世代影響を検証

結論：無毒性量のCLOが腸内細菌叢に及ぼす影響は甚大ではないものの、細菌叢組成を継代的に変動させる。 [Murata et al., 2023]

無毒性量のCLOが腸内細菌叢をかく乱することが明らかになり、複数の単鎖脂肪酸酸性菌の相対存在量が変動しましたが、その影響はF1、F2、F3世代のなかでF3世代が最も影響を受けていることがわかりました。F3世代は、直接的にCLOのばく露を受けていない世代です。

●発達神経毒性の継世代影響

近年、世代を超えて継承される、DNAの塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現の制御について研究する新たなパラダイムとしてエピゲノム研究の領域が提唱され、環境中の微量化学物質が生物に及ぼす環境エピゲノム毒性研究の展開が期待されています。環境因子により、細胞エピゲノムが変化し、複数の世代に有害な表現型が伝達される可能性があります [Xin et al., 2018]。

無毒性量のCLOは、F1、F2、F3世代の雌産子の雌性生殖器に影響を及ぼす [Kitauchi et al., 2021]。また、妊娠中のマウスにニコチンを摂取させると、F1、F2世代の行動異常やDNAの低メチル化異常 [Buck et al., 2019] が報告されています。

●CLOの母性行動への影響——子・孫世代でも食殺や育子放棄

胎児期の環境が成長後の健康や疾病リスクに影響を及ぼすというDOHaD（ドーナド）説があります。母マウスへのCLO投与は子マウスの母性行動にどのような影響を与えるのでしょうか。

正常な母性行動には、オキシトシンとプロラクチンの十分な分泌が必要です。それらが神経回路を活性化することで養育行動を生み出します [Sairenji et al., 2017]。既報で

は、タバコの喫煙によってもオキシトシンの減少が報告されています [Nepierala et al., 2017]。

本研究の「巣作り行動」試験では、CLO投与群ではそれがうまくできなくなることが示されました。また、「産子のリトリーピング（赤ちゃんを連れ戻す行動）」試験では、母マウスと子マウスを引き離すと、対照群では、6匹中全親が子を6分以内に巣に連れ戻しましたが、CLO投与群では、母マウス全例（N=6）が6分以内に子マウスを自分の元に連れ戻すことができませんでした。CLOが母性行動に大きな影響を与えることが示唆されました。

また、母親が妊娠中に化学物質のばく露を受けると、胎子も速やかに胎盤経由で、また、出生後は母乳経由でばく露を受けます（次世代影響）。胎子の体内の生殖細胞、すなわち孫世代をつくる生殖細胞にも到達し、その孫世代に何らかの影響があらわれる可能性があります（多世代影響）。実際、我々の実験では、妊娠中のメス（母マウス）へのネオニコ投与がその子どもや孫世代で育子放棄が増加することを報告しています [Kitauchi et al., 2021; Shoda et al., 2023c]。

おわりに

化学合成農薬が一般に使用されるようになってから70年経ちました。「農薬は少量なら大丈夫」「農薬を使わないと農家が困る」「農薬を使わないと食料の生産ができなくなる」といわれてきましたが、それらは本当でしょうか。農薬は人や環境にとっては「毒」でしかないので。できる限り摂取しない方がよいのです。農薬に依存した現在の農業を変えていくためにも、皆さん、無農薬、オーガニックな農作物を買って食べていただき、市場を拡大していただければ、農薬依存農業を変えていけると思います。

最後に「環境汚染と健康」の問題は未来（次世代）に先送りしてはならないし、「疑わしきは罰せず」ではすまされません。農薬との付き合い方を真剣に考える時が来たと思っています。

本日のまとめ

- 「脳に作用する農薬」
- 「感受性は同じではない！」
- 「現行毒性試験の不備」
- 「農薬の安全性とリスク評価の問題点」

- ① 杜撰なGLP準拠OECDガイドライン毒性試験の問題性
- ② 最新の科学的知見の取り込みの不十分性
- ③ 情報開示（透明性確保）の不十分性



について、再認識を！

