

評価部会から幹事会に検討を依頼された案件について

平成 24 年 9 月 27 日

1. 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験における毒性所見の表の作成方法について

(1) 部会から依頼された事項

2 年間慢性毒性/発がん性併合試験においては、これまで、発がん群（104 週投与）と衛星群としての慢性毒性群（52 週投与）で見られた非腫瘍性病変にかかる所見は区別せず、1 つの表にまとめてきたところである。

今般、評価第三部会で審議した剤において、52 週で見られた所見と 104 週で見られた所見が異なっていたことから、どの時期に見られた所見かを表中でわかるようにすべきとの意見が出された。

本件については、幹事会において検討のうえ各部会での統一を図るべきとされ、評価第三部会からの意見として幹事会において検討を依頼する内容とされた。

(2) 幹事会における検討結果（平成 23 年 9 月 13 日 第 76 回幹事会）

どのような表とすればわかりやすいか、各部会の毒性関係の専門委員の意見を募り、とりまとめた後に幹事会に報告することとされた。

(3) 各部会の毒性の専門委員の意見

【1 つの表にまとめるべき（現行どおり）】

- ・ これまでも、用量相関性や期間依存性、毒性発現の程度や機序などを総合的に判断して最終的に毒性と評価されたものを表に記載しており、内容の異なる 2 つの表をそのまま載せることは読者に誤解や疑念を与えかねない。
- ・ 併合試験における衛星群は動物数が少ない（一般的に $n=10\sim20$ ）ため、1 年間の慢性毒性試験として分離すべきではない（ただし、長期影響を見ることは可能であり、試験自体を否定するものではない）。途中死亡動物をどのように整理するかなど、2 つの表に分けることは技術的にも困難ではないか。
- ・ どちらか一方の時期で認められる所見は表中でその時期を明記すればよい。途中で消失した所見で重要な意味を有する場合には本文中等に記載する。
- ・ 慢性毒性試験と発がん性試験は主たる目的が異なることから、併合試験においてもその目的を達するように試験成績を用いる（衛星群は非腫瘍性病変を含む毒性所見の表の作表に利用、発がん性群は有意な腫瘍の増加が認められた場合にのみ当該腫瘍及び関連する増殖生病変について作表）べき。

【2 つの表に分割すべき】

- ・ 投与量が異なること、調べている所見が異なること、52 週で認められた所見が 104 週で認められなくなることなどの問題を回避する必要がある。

- ・ 52 週までに認められた所見と、それ以後に新たに発現した所見を比較しやすい。
- ・ 慢性毒性所見が 52 週までに検出できるのか、それとも 104 週まで確認しないと不十分なのかといった背景データの集積のためにも表を分割した方がよい。
- ・ 104 週投与群は加齢性病変や腫瘍を含む個体を含む母集団から得られたデータであることを念頭に置いて毒性所見を評価すべき。
- ・ 毒性発現には急性期に発現する病変、慢性期に発現する病変など時期がある。例えば、腫瘍性病変は多くの場合加齢動物に多く出現する。従って、1 年で中間と殺した動物と生涯時期に相当する 2 年間投与した動物の所見は混在させずに記載すべき。

【その他のコメント】

- ・ 専門家が必要と認めた場合には分割してもよいのではないか。
- ・ 52 週と 104 週で著しく所見が異なる場合には分割する。
- ・ 古い試験において 26 週及び 78 週等でも経時的に剖検している場合には、経時の変化を推測するデータとして作表する意義はある。
- ・ 表を分割する場合でも、病理用語の統一等を含めきちんと整合性を取った表とすることが重要。

2. 催奇形性の有無の記載方法について

発生毒性試験において、母体に影響のある用量でのみ奇形が認められた場合には、これまで評価書本文中では「母体に〇〇（影響）の認められる用量で△△（奇形の内容）が認められた。」旨記載し、この場合の食品健康影響評価においては、「催奇形性は認められない」旨の記載を行ってきたが、例えば母体毒性の認められる用量であっても、胎児死亡等が認められる場合には、生存胎児に奇形が認められなくても催奇形性があったと考えなければならないのではないかという観点から、「催奇形性の有無」について評価書にどのように記載すべきかについて、幹事会に検討を依頼することとされた。

3. 評価の考え方について

農薬専門調査会においては、所見ごとに毒性とするかどうかを判断しているが、今般、剤の評価に当たり、JMPR・EPA 等海外の評価機関の考え方と農薬専門調査会の無毒性量の判断を比較したところ、農薬専門調査会における判断がかなり厳しいものもあることが判明した。

我が国の評価は我が国の考え方に基づいて行われるべきであるが、一方で国際的

な整合性をとりうる点については整合性をもった評価を行うべきとの意見が出されたことから、海外の評価機関との考え方の整合性について、幹事会に検討を依頼することとされた。

4. 肝臓に対する毒性所見の判断について

農薬専門調査会では、これまで肝臓の変化については、絶対重量と比重量の双方が有意に変化（主に増加）している場合は一律に毒性所見としてきたところであるが、部会による議論において、本件について改めて幹事会に検討を依頼したいとの提案があった。

専門委員から提起された理由は以下のとおり。

理由 1 肝肥大を毒性影響と判断する科学的妥当性

近年、肝肥大の評価に対して多くの解説がある。学術団体である米国および欧州毒性病理学会においても肝肥大に関する考え方が提示された（Hail et al. (2012). *Toxicol Pathol* online 00, 1-24）。また、Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR)においても 2006 年に肝肥大に関する評価の考え方がまとめられている。

これらの学会および JMPR から提示された科学的根拠に基づいた肝肥大の評価はおおよそ共通している。すなわち、血液生化学的検査において肝障害性を示す項目（ALT、AST、GGT、ビリルビン等）の増加がなく、病理組織学的検査において肝細胞壊死や炎症細胞の浸潤等の肝傷害を示唆する組織学的変化が認められない肝重量の変化や軽度の小葉中心性肝細胞肥大は、生体の恒常性を維持している範囲内の反応であり、肝障害を示す毒性影響ではないと整理されつつある。

また近年の農薬の評価においては、メカニズム試験として薬物代謝酵素に関する資料が提出される場合も多く、投与により薬物代謝酵素の上昇が認められる場合は、これらの肝肥大に肝薬物代謝酵素誘導が関連していると考えられている。

理由 2 絶対重量変化の意義

これまでの「絶対及び比重量増加を毒性所見とした」判断には、体重増加抑制の有無は考慮されてこなかった。

一般的に体重増加抑制が顕著なほど、全身に対する毒性影響が強いと解釈される。また肝臓重量は体重に比例して増減する臓器の一つである。したがって、投与による体重増加抑制が著しい場合、必ずしも肝絶対及び比重量双方の有意な増加が、肝比重量のみの増加に比べ、肝臓への強い影響を反映しているとは限らないことが考えられる。

一例として、肝肥大を起こす化合物 A と B を反復投与した場合の肝絶対及び相対重量の実測値の結果を紹介する（下表参照）。体重増加抑制が顕著な化合物 A は、絶対重量の有意な増加はないが、肝比重量増加の程度は、体重増加抑制が

軽度な化合物 B よりも大きい。また肝細胞肥大の程度も化合物 A のほうが B より顕著であったことを考え合わせると、この例では、肝絶対及び比重量の有意な増加が肝臓への影響を感度よく検出しうるとは言い難いと考えられる。

Group		Control	Compound A	Compound B
No. of animals		5	5	5
Male	Body weight(g)	214	169**	201*
	Liver (g)	6.67	7.43	8.40*
	Liver (g/100g BW)	3.12	4.40**	4.18**

*, ** : 対照群と比較し、有意差それぞれ 5%、1%

5. 統計検定手法について

(1) 用いるべき統計手法について

本来、統計検定は試験設計の際に予め決定しておくべき性質のものであり、後から統計検定を実施することは適切ではないとされている。

しかしながら、適切な評価の実施のために、腫瘍の発生頻度について、統計検定が実施されていない場合、又は統計検定が実施されているがその手法が適切でない場合に、追加資料要求事項として統計検定の実施を求める場合があった。

今般、マウス発がん性試験における肝腫瘍の発生頻度について、Fisher 検定が実施されているが、死亡率が高いことから、生存率を勘案した Peto 検定を実施すべきではないかとの意見が出されたが、Fisher 検定の結果から本剤の肝発がん性に対する評価は可能とされ、追加検定は要求しないこととされたケースがあった。

どのような場合にどのような統計検定結果が必要と考えるか、専門委員間でも意見が異なっていることが想定されることから、統一的な考え方について、幹事会に検討を依頼することとされた。

(2) 発生毒性試験における統計検定の方法について

発生毒性試験においては、全観察児中の異常児の発生割合について有意差検定が行われる場合が多いがこの検定手法では、腹の偏りについては評価されていない。

この点については、最近評価が行われた多くの剤において腹の偏りの有無を考慮すべきとの指摘が出されているところである。

このため、幹事会において、農薬専門調査会としての考え方を明確にし、統一的な評価を行うことが必要となっていることから、幹事会に検討を依頼することとされた。

(参考) 腹単位での処理の考え方

各腹での当該所見を示す胎児の発生頻度 (litter unit ; 腹単位) を求めて統計解析を行い、litter effect の有無を考慮して評価を行う。

6. 評価に用いる試験成績について

最近、テストガイドラインの導入前に実施された試験成績に基づき評価を行う剤が生じている。

今般審議された剤において、同時期に実施された 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の 2 試験において、同系統のラットを使っているにもかかわらず認められた所見に再現性がなかったこと等から、試験の信頼性に疑義が呈され、その取扱いについて評価部会で議論が行われた。

農薬専門調査会においては、「農薬専門調査会幹事会及び評価部会の運営等について（平成 24 年 7 月 24 日農薬専門調査会幹事会決定）」の 3. に基づき、基本的に提出された試験成績の範囲で専門委員が専門家として判断を行うこととされており、これまで、提出された試験成績が古いものであっても、各評価部会において成績の詳細を検討し、

- ① それぞれの試験結果について評価が可能かどうか
- ② ある試験の評価ができないと判断された場合、当該剤の試験成績全体から評価が可能かどうか（例えば、90 日間亜急性毒性試験の成績は評価不能とされたものの、慢性毒性試験の結果等から当該剤の毒性プロファイル及び ADI 設定に必要な NOAEL 等が判断できるかどうか、等）

等を総合的に考慮した上で、エキスパートジャッジにより評価を進めるもの、申請者に再試験の実施を含む再考察を求めるものなどに区分してきたところである。

今後、ポジティブリスト制度導入に伴う暫定基準見直しのための評価が増大することから、実施された年代が古い試験を基に評価を行う機会が増加すると推測されるため、どのような考え方で評価を行うか、認識の共通化を図るべきではないか、との提案がなされ、今後どのように対応すべきかについて、改めて幹事会に検討を依頼することとされた。

なお、部会では、このような場合、

- ・ 当該試験結果を ADI 設定に用いるかどうか。
- ・ 同様な試験が複数実施されている場合は、各試験で標的臓器、所見に一貫性が認められるかどうか。

という点を勘案してはどうか、との意見が出された。