

令和5～6年度 食品健康影響評価技術研究 研究成果報告書（終了時）

| | |
|------------------|---|
| 研究課題名 (研究項目名) | 国際動向に鑑みた食品中の残留農薬に係る発達神経毒性学分野のリスク評価手法に関する研究（課題番号：JPCAFSC20232302） （4. その他 研究者からの提案に基づく研究） |
| 主任研究者 | 研究者名：栞形 麻樹子 所属機関：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 室長（令和5年度）、客員研究員（令和6年度） |

I 研究期間及び研究目的等

1 研究期間

令和5年度～令和6年度（2年間）

2 研究目的

臨床報告や科学論文において、発達期の農薬を含む食品中に存在する多用途の化学物質曝露による次世代脳神経系発達への影響の懸念が指摘されている。実験動物を用いた発達神経毒性(Developmental neurotoxicity; DNT)の評価はOECD426テストガイドラインに準じて実施されているが、大規模な試験であり労力・費用が多大であることに加え、二世世代繁殖試験で得られた結果以上の新知見はあまり得られておらず、再現性も低いといった課題もある（S.Makris et al., 2009; Bal-Price et al., 2018）。近年では動物を用いないin vitro手法、また、テストガイドラインに準じていない機序解明のためのin vivo手法といったDNT評価にあたり新しいアプローチ方法論（New Approach Methodologies; NAMs）が開発され、OECDではリスク評価に用いるin vitro DNT試験バッテリーに関するガイダンスドキュメントを作成中である。さらに、血中の甲状腺ホルモン濃度を低下させる農薬を含む化学物質にはDNTを有する懸念があることから、標的臓器を甲状腺に限定して発達期の化学物質曝露によるDNTを検出する新たなin vivo DNTスクリーニング試験（Comparative Thyroid Assay; CTA, USEPA,2005）も実施されている。OECDではin vitro 手法を用いた甲状腺評価に関する専門家会議も立ち上がった。

このような背景から、DNTの評価にあたり、OECD426に準拠した動物試験データがない場合においても、複数の代替法試験やコホート研究の結果を含めて総合的にリスク評価を行うことが求められる。多くの情報が得られる中で公正かつ効率的なリスク評価を遂行していくためには、得られた情報を整理し、どのようにDNTを評価していくべきかなどの評価指針の作成が必須である。

このように多種の実験手法からDNTの検出の試みが行われている背景を踏まえ、本研究ではin vitro試験を含めたDNT評価方法を調査した。得られた結果に基づいて、最新の知見に基づいた、国際動向に立脚した食品中の残留農薬に係るDNT評価法指針の原案を内閣府食品安全委員会に提案することを本研究の目的とした。

3 研究体制

| 研究項目名 | 個別課題名 | 研究担当者（所属機関） |
|--|--|------------------------------------|
| 本邦における in vivo および in vitro のハイブリッド型DNT評価方法の確立 | (1) 発達神経毒性（DNT）研究に関する最新知見の情報収集：In vivo DNT評価および in vivo DNT試験の必要性の可否 | 堀本政夫（元・千葉科学大学）、桑形麻樹子（国立医薬品食品衛生研究所） |
| | (2) In vitro DNT試験の国際動向 | 桑形麻樹子（国立医薬品食品衛生研究所） |
| | (3) 我が国における妊娠期の甲状腺機能低下による次世代へのDNT評価の現状 | 桑形麻樹子（国立医薬品食品衛生研究所） |
| | (4) 比較甲状腺試験（妊娠コホート）：妊娠期の甲状腺機能低下によるホルモン変動 | 桑形麻樹子（国立医薬品食品衛生研究所） |
| | (5) 農薬の再評価を始めとする食品中の残留農薬の食品健康影響評価へ活用できるDNT評価法指針原案の提案 | 堀本政夫（元・千葉科学大学）、桑形麻樹子（国立医薬品食品衛生研究所） |

4 倫理面への配慮について

本研究遂行にあたり「動物の愛護及び管理に関する法律」（令和元年6月 法律第39号）、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成25年9月 環境省告示第84号）、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（平成18年6月 日本学術会議）並びに厚生労働省及び農林水産省の定める動物実験等の実施に関する基本指針に基づいた国立医薬品食品衛生研究所動物実験等の適正な実施に関する規定（平成元年4月）、および動物試験委託先の動物実験に関する指針に従って計画をたてた。動物実験実施前には両施設における動物実験委員会および機関の長の承認を受けてから動物試験を実施した。

II 研究内容及び成果等

1 研究項目：本邦における in vivo および in vitro のハイブリッド型 DNT 評価方法の確立

(1) 個別課題：発達神経毒性 (DNT) 研究に関する最新知見の情報収集：In vivo DNT 評価および in vivo DNT 試験の必要性の可否 (堀本政夫 元・千葉科学大学、桑形麻樹子 (国立医薬品食品衛生研究所))

【研究内容・方法】

DNT評価の要否に関わる毒性所見を検討するため、神経作用を有する農薬28剤を選択した。すなわち、In vivo IRAC international作用機構作業部会 (2020年) が発行したIRAC作用機序分類体系第9.4版に掲載されている分類表において一次作用部位が神経作用あるいは神経および筋肉作用に分類されていた化合物から、複数の作用機序 (ネオニコチノイド系、有機リン系、カーバメート系、ピレスロイド系等) を考慮し、欧米、および日本 (食品安全委員会) にて評価済みである28化合物を選択した。内訳は、ネオニコチノイド系6化合物、スルホキシイミン系1化合物、有機リン系7化合物、カーバメート系3化合物、ピレスロイド系7化合物、フェニルピラゾール系1化合物、ピリジンアゾメチン誘導体1化合物、アベルメクチン系1化合物、ジアミド系1化合物の合計28化合物である (表1)。このうちDNT試験が実施されていない5剤を除き23化合物について精査した。

除外した5剤：

クロロエトキシホス、ジクロトホス、エトプロホス、アルファシペルメトリン、ベータシペルメトリン

情報収集方法として、1つの化合物につき、公表されている EFSA 農薬評価書、EPA 農薬評価書および食品安全委員会 農薬評価書を対象とした。各種毒性試験 (急性神経毒性試験、発達神経毒性試験、発生毒性試験、二世代繁殖試験、反復投与毒性試験) における毒性所見を整理し、成熟動物または児動物に対する神経学的影響を示す所見 (臨床神経毒性症状、機能/行動影響、脳重量変化、神経系の奇形、神経病理組織学的所見等) に着目して、発達神経毒性試験とその他の毒性試験で認められた毒性所見との関連性について精査した。

以下に、EFSA、EPA および日本の農薬評価書の収集方法を記載する。なお、EFSA および EPA の情報収集は CERI (化学物質評価研究機構) に外部委託した。

1. EFSA 農薬評価書

以下、①~④のサイトにアクセスし評価書など情報を入手した。

① EFSA OPEN

<https://open.efsa.europa.eu/questions>

| 検索方法 | 農薬名称 |
|--------|--|
| 得られる情報 | Maximum Residue Level (MRL)、Pesticides Peer Review、Rapporteur レポート等 |
| 入手対象 | <ul style="list-style-type: none">• Peer review of the pesticide risk assessment• Reference Assessment Report• Draft Assessment Report• Renewal Assessment Report• Revised Renewal Assessment Report |

② EFSA Public consultations

<https://www.efsa.europa.eu/en/calls/consultations>

| | |
|--------|--|
| 検索方法 | 農薬名称 |
| 得られる情報 | Rapporteur レポート等 |
| 入手対象 | <ul style="list-style-type: none"> • Reference Assessment Report • Draft Assessment Report • Renewal Assessment Report • Revised Renewal Assessment Report |

③ EFSA publications

<https://www.efsa.europa.eu/en/publications>

| | |
|--------|--|
| 検索方法 | 農薬名称 |
| 得られる情報 | Conclusion on Pesticides、Reasoned Opinion、Scientific Report、Technical Report、Statement 等 |
| 入手対象 | Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment |

④ European Commission > Food Safety > Plants > Pesticides > EU Pesticides database > Active substances

<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances>

| | |
|--------|---|
| 検索方法 | 農薬名称 |
| 得られる情報 | Review Report (レビュー結果の詳しい情報ではなく、レビューの方法や設定された許容値の概要のみ記載されている) Maximum Residue Level 等 |

2. EPA 農薬評価書

下記、⑤～⑧のサイトにアクセスし評価書など情報を入手した。

⑤登録審査 (Registration Review)

• Draft Risk Assessment (DRA)

農薬の登録された用途について、リスクとそれらのリスクを軽減できる措置を特定し、登録審査を支援する目的で EPA が作成

• Proposed Interim Decision (PID) or Proposed Decision

(PD) DRA に対するコメントを受けて作成

- 新たなリスク軽減措置が必要であることの決定
- 暫定的なリスク軽減措置の提示
- 審査を完了するために必要なデータや情報の特定
- 必要なデータの提出、新たなリスク評価の実施、登録審査の完了スケジュール

- Interim Decision (ID)

PID に関するコメントの検討後、EPA は PID に対する変更の説明と重要なコメントへの対応を含む ID を発行する場合がある。新たなリスク軽減策が必要であると判断するか、暫定的なリスク軽減策を課す。

- レビューを完了するために必要なデータまたは情報を特定する (DCI が発行される場合あり)。
- 更新されたラベルの提出を要求する

- Final Decision (FD)

EPA は、リストされた種の評価及び関連当局との協議を含む、評価の全ての部分が完了した時点で FD を発行し、登録審査を終了する。

⑥再登録 (Pesticide Reregistration)

- 再登録適格性決定 (Reregistration Eligibility Decision: RED)

1984 年 11 月 1 日以前に登録された農薬の審査結果。

2008 年に審査が完了 (613 件中 384 件が完了、229 件がキャンセル)

- ファクトシート (Fact Sheet) RED 文書の情報を要約したもの。

⑦残留農薬の許容値設定/除外 (tolerances or exemptions for pesticide residues)

- 40 CFR Part 180 (<https://www.ecfr.gov/current/title-40/chapter-I/subchapter-E/part-180>)

連邦規則集 (CFR) に収載された連邦官報 (FR) に、各農薬の許容値及び許容値設定に使用された根拠情報 (毒性データ、データに基づく評価結果等) が掲載されている。

- 農薬ごとにセクション (§ 180.XXX) が設けられている。
- 許容値は農作物の種類やカテゴリー毎に設定され、新たな許容値設定のタイミング毎に改訂の FR が発行される。
- 既存の許容値の変更が無い限り、改訂 FR には許容値としては新たに追加された農作物の情報のみが掲載される。
- 最近の FR には根拠データの引用元 (Fact Sheet, Human Health Assessment Scoping Document, Human Health Risk Assessment Report 等) の記載があるが、URL のリンク等はないため、docket のドキュメント一覧から探す必要がある。

⑧ヒト健康リスク評価 (Human Health Risk Assessment)

- Human Health Risk Assessment

EPA のリスク評価の一環として行われている、環境媒体中の汚染化学物質へのばく露によるヒト健康への悪影響 (性質、確率) の評価。評価結果が報告書として公表されている。

- ハザードの特定、用量反応評価、ばく露評価、リスクキャラクターゼーションの 4 ステップからなる。
- 発達毒性の観点から、胎児や小児についてはより化学物質へのばく露に対して脆弱であるとの認識に基づき評価されている (Risk Assessment & Children の項)。
- 評価結果は農薬の許容値設定にも用いられている
- 農薬では、特定の農作物について評価されているケースもある

3. 日本の評価

食品安全委員会ホームページ (<https://www.fsc.go.jp/>) から、公開されている各農薬評価書を手にした。

【研究成果】

本研究課題において、精査した 23 剤の内訳は以下の通りである。

- ◆ ネオニコチノイド系農薬 6 剤
アセタプリミド、クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロプリド、チアクロプリド、チアメトキサム
- ◆ スルホキシイミン系農薬 1 剤
スルホキサフロル
- ◆ 有機リン系農薬 4 剤
アセフェート、クロルピリホス、ダイアジノン、ジクロトホス
- ◆ カーバメート系農薬 3 剤
アルジカルブ、カルボフラン、カルバリル
- ◆ ピレスロイド系農薬 5 剤
ビフェントリン、シフルトリン、シペルメトリン、エトフェンプロックス、フェンプロパトリン
- ◆ フェニルピラゾール系農薬 1 剤
フィプロニル
- ◆ ピリジンアゾメチン誘導体 1 剤
ピメトロジン
- ◆ アベルメクチン系農薬 1 剤
アバメクチン
- ◆ ジアミド系農薬 1 剤
フルベンジアミド

入手した情報から、急性神経毒性試験、発達神経毒性試験、世代繁殖毒性試験、ラットおよびウサギを用いた発生毒性試験、90 日間反復毒性試験について、毒性影響がみられた観察項目を抽出した。各農薬の DNT 試験の結果と上記毒性試験の毒性所見との関連性について精査し、in vivo DNT 試験の可否を探った。その際、甲状腺について重量、病理組織についても調査した。

各試験概要を以下に示す（各試験の詳細は添付資料 1 を参照）。

1. 急性神経毒性試験（ラット 表 2）

- ◆ 試験が実施された 22 剤のうち（カルボフランは未実施）、急性神経毒性所見が観察されなかった 3 剤（ジノテフラン、エトフェンプロックス、フルベンジアミド）を除く 19 剤（86%）で急性神経毒性所見が認められた。
- ◆ 最小毒性量における毒性所見として、自発運動量の低下または運動能の低下が 19 剤中 13 剤（68%）で認められた。その他に振戦、体温低下、歩行失調などの所見も認められた。

2. 発達神経毒性試験（ラット 表 3）

- ◆ 児動物に低体重または体重増加抑制が認められたのは 23 剤中 15 剤（65%）あった。15 剤のうち母動物に体重増加抑制がみられない用量でも児動物に体重増加抑制が認められたのは 5 剤（33%）であった。
クロチアニジン、ダイアジノン、アルジカルブ、フィプロニル、フルベンジアミド

- ◆ 児動物の生存率の低下または死亡率の増加が認められたのは4剤（17%）であった。
アセタプリミド、スルホキサフロル、カルボフラン、ピメトロジン
- ◆ 児動物に神経行動学的所見がみられたのは14剤（61%）であった。
ネオニコチノイド系農薬3剤（アセタプリミド、クロチアニジン、イミダクロプリド）
スルホキシイミン系1剤（スルホキサフロル）
有機リン系農薬2剤（クロルピリホス、ダイアジノン）
カーバメート系農薬2剤（アルジカルブ、カルボフラン）
ピレスロイド系農薬5剤（ビフェントリン、シフルトリン、シペルメトリン、エトフェンプロックス、フェンプロパトリン）
フェニルピラゾール系農薬1剤（フィプロニル）
- ◆ 児動物に神経行動学的所見がみられた14剤のうち、聴覚性驚愕反応に対する影響（低下、潜時延長、ピーク反応減弱、振幅増加など）が8剤（57%）で最も多かった。
ネオニコチノイド系農薬2剤（アセタプリミド、クロチアニジン）
有機リン系農薬1剤（クロルピリホス）
ピレスロイド系農薬4剤（ビフェントリン、シフルトリン、エトフェンプロックス、フェンプロパトリン）
フェニルピラゾール系農薬1剤（フィプロニル）
- ◆ 自発運動量の低下または運動能の低下が5剤（36%）でみられ、その内訳は下記の通り
ネオニコチノイド系農薬2剤（クロチアニジン、イミダクロプリド）
カーバメート系農薬1剤（アルジカルブ）
ピレスロイド系農薬2剤（エトフェンプロックス、フェンプロパトリン）
- ◆ その他に下記の所見が認められた。
遊泳能力の発達遅延が2剤（カルボフラン、フィプロニル）
遊泳時間延長、エラー数の増加が1剤（ダイアジノン）
握力低下が2剤（アルジカルブ、フェンプロパトリン）
平面立ち直り反応の出現遅延が1剤（スルホキサフロル）
FOB（機能観察総合評価法、Functional observational battery; FOB）の変化が1剤（シフルトリン）
熱刺激回避時間延長が1剤（アルジカルブ）
- ◆ 児動物の脳については、重量（絶対または比重量）変化が4剤（17%）で認められた。
チアメトキサム、クロルピリホス、シフルトリン、フェンプロパトリン
- ◆ 脳の形態計測での所見は6剤（26%）で認められたが、発現部位や発現時期などに一定の傾向はみられなかった。病理組織学的所見はいずれの農薬においても観察されなかった。
クロチアニジン、チアメトキサム、クロルピリホス、ジクロトホス、フェンプロパトリン、ピ

メトロジン

- ◆ 上記の児動物における神経行動学的所見、脳重量変化及び形態計測での所見がみられた 17 剤中 13 剤 (76%) では、同用量において児動物の低体重または体重増加抑制も認められた。なお、上記の所見がみられたにもかかわらず、児動物の体重に影響がみられなかったのは 4 剤で詳細は以下の通りであった。

ジクロトホス：脳の状態計測の所見

ビフェントリン：聴覚性驚愕反応の変化、毛づくろい回数増加

シペルメトリン：FOB の変化

エトフェンプロックス：自発運動量の低下、聴覚性驚愕反応の変化

3. 世代繁殖試験 (ラット 表4)

- ◆ 親動物では、甲状腺の重量増加が 4 剤 (17%) で認められた。
チアクロプリド、エトフェンプロックス、フィプロニル、フルベンジアミド

これらの 4 剤のうち、チアクロプリドおよびフルベンジアミドで甲状腺ろ胞上皮細胞肥大がみられ、エトフェンプロックスでは甲状腺ろ胞上皮細胞の丈の増加が認められた。

- ◆ 児動物では、生存率の低下または死亡児数の増加が 23 剤中 15 剤 (65%) で認められた。
ネオニコチノイド系農薬 2 剤 (アセタプリミド、チアクロプリド)
スルホキシイミン系農薬 1 剤 (スルホキサフロル)
有機リン系農薬 4 剤 (アセフェート、クロルピリホス、ダイアジノン、ジクロトホス)
カーバメート系農薬 3 剤 (アルジカルブ、カルボフラン、カルバリル)
ピレスロイド系農薬 3 剤 (シフルトリン、シペルメトリン、フェンプロパトリン)
フェニルピラゾール系農薬 1 剤 (フィプロニル)
アベルメクチン系農薬 1 剤 (アバメクチン)

4. 発生毒性試験 (ラット、ウサギ 表5)

- ◆ ラットまたはウサギを用いた試験で催奇形作用が認められたのは 23 剤中 4 剤 (17%) であった。
ラット胎児：チアクロプリド、スルホキサフロル
ウサギ胎児：ピメトロジン、アバメクチン
- ◆ 4 剤でみられた胎児異常は下記の通りで、いずれも神経系の異常ではなかった。
チアクロプリド：骨格異常 (上腕骨、橈骨、肩甲骨)
スルホキサフロル：外表異常 (前肢屈曲、後肢回旋)、内臓異常 (尿管蛇行)、骨格異常 (屈曲鎖骨、胸骨分節癒合)
ピメトロジン：外表異常 (前肢位置異常)、骨格異常 (胸骨分節癒合)
アバメクチン：外表異常 (口蓋裂、臍帯ヘルニア、前肢内反足)、骨格異常 (胸骨分節異常、腰椎異常)

5. 90日間反復経口投与毒性試験（ラット 表6）

- ◆ 甲状腺における重量増加が4剤（17％）で認められた。
チアクロプリド、カルバリル、エトフェンプロックス、フィプロニル
- ◆ 甲状腺の病理組織学的所見としては、甲状腺ろ胞上皮細胞肥大が3剤（13％）に認められた。
カルバリル、フィプロニル、フルベンジアミド
- ◆ 甲状腺微小ろ胞の増加が1剤（4.3％）に観察された。
エトフェンプロックス
- ◆ 脳重量の変化及び脳の病理組織学的所見は、いずれの農薬においても認められなかった。
- ◆ 神経系の病理組織学的所見としては、坐骨神経単一線維の軸索変性が1剤でみられたが、その他の剤では認められなかった。
シフルトリン

【考察および今後の課題】

今回精査した23化合物の毒性所見の変動を表7に示す。

- ◆ 今回調査した一次作用部位で神経作用を有する農薬のうち、ほとんどの農薬（86％）で急性神経毒性がみられ、最小毒性量での所見としては自発運動量の低下または運動能の低下であった。その他に振戦、体温低下、歩行失調なども認められた。
- ◆ 発達神経毒性試験においては児動物に神経行動学的所見が観察された農薬は14剤（61％）で、今回調査したピレスロイド系農薬5剤全てで何らかの所見が認められた。
 - 観察された神経行動学的所見では、聴覚性驚愕反応に対する影響が8剤（57％）で最も多く、次いで自発運動量の低下または運動能の低下が5剤（36％）で認められた。その他には、遊泳能力の発達遅延、遊泳時間延長、エラー数増加、握力低下、FOBの変化など1～2剤で認められた。
 - 上記の所見の中には離乳前後にのみ認められたものもあり、急性神経毒性と関連する可能性も考えられた。
- ◆ 発達神経毒性試験における脳重量及び脳の形態計測では、それぞれ4剤（17％）、6剤（26％）に所見が認められたが、形態計測での所見の発現部位や時期に一定の傾向はみられず、病理組織学的所見も認められなかった。
- ◆ 上記の児動物における神経行動学的所見、脳重量変化及び形態計測での所見がみられた用量では17剤中13剤（76％）で低体重または体重増加抑制も認められており、発育遅延との関連の可能性も考えられている。しかし、上記の所見がみられたにもかかわらず、児動物の体重に影響がみられなかった4剤については慎重に検討する必要があると考える。
- ◆ 世代繁殖試験では、親動物の甲状腺に重量増加がみられたのは4剤（17％）で、このうち3剤では甲状腺濾胞細胞の肥大や丈の増加が認められた。
- ◆ 世代繁殖試験での児動物の生存率の低下または死亡数の増加は15剤（65％）にみられ、調査した有機リン系農薬4剤及びカーバメート系農薬3剤全てに認められた。
- ◆ 発生毒性試験で催奇形作用がみられたのは4剤（17％）あったが、いずれも神経系の異常は認められなかった。
- ◆ 反復投与毒性試験では、甲状腺の重量増加が4剤（17％）でみられたが、そのうち2剤は世代繁殖試験でも認められた。甲状腺ろ胞上皮細胞肥大は3剤、微小濾胞の増加が1剤に認められたが、農薬の系統などに一定の傾向は認められなかった。

- ◆ 以上の結果より、発達神経毒性試験でみられた所見と他の毒性試験での所見との間に明確な関連性を示すものは認められなかった。しかし、有機リン系及びカーバメート系農薬では調査した全ての剤で出生児の生存率低下や死亡数増加が認められており、またピレスロイド系農薬では調査した全ての農薬で発達神経毒性試験での児動物に神経行動学的所見がみられたことは注目する必要があるかもしれない。しかし、発達神経毒性試験でみられた所見についても児動物の発育遅延や急性症状と関連している可能性も考えられるので、発達神経毒性に関わる所見であるか否かの検討も併せて進めていく必要があると考える。

(2) 個別課題：In vitro DNT 試験の国際動向（桑形麻樹子 国立医薬品食品衛生研究所）

【研究内容・方法】

欧米の in vitro DNT 試験評価について現状を理解し、各種 in vitro DNT 試験が in vivo DNT 試験のどの項目を検出し得るかを明らかにするために、EFSA および EPA が主体となって OECD が発表した in vitro DNT battery に関する公文書を精査した。調査した公文書は、研究開始当初(2023年4月)ではガイダンス(指針)草案(Guidance on evaluation of data from the developmental neurotoxicity (DNT) in-vitro testing battery; original draft. 2021年7月)であったが、2023年5月に開催された OECD in vitro DNT battery 専門家会議(OECD IBV-DNT EG)を経て、2023年7月に「Initial Recommendations on Evaluation of Data from the Developmental Neurotoxicity (DNT) In-vitro Battery」([https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO\(2023\)13/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2023)13/en/pdf))とガイダンスではなくなった。即ち、Guidance document の位置付けで議論が進められていたが、現時点では Initial Recommendation となっている。また、ゼブラフィッシュを用いた試験はこの公文書には含まれていないが、別グループとして活動は継続しており、OECD-IVB EG 会議にも参加し議論に加わっている。なお、OECD-IBV EG 会議は2023年4月、2024年4月、および2025年3月に開催された。

また、欧米における評価状況を把握することを目的として、過去10年間(2014~2024年)を範囲とし、Pubmed を用いて17種の in vitro DNT 試験名をキーワードとして公表論文を調査した。

【研究成果】

この公文書では、in vivo における神経発生の各過程を評価ポイントとした17種の in vitro DNT 試験法が掲載されている。また、動物実験に基づいた DNT 陽性・陰性対照物質も掲載されている。DNT に関する AOP (Adverse Outcome Pathway) 案(添付資料2)では、in vitro DNT 試験や QSAR を導入して構築されていた。17種類の in vitro DNT 試験が標的としている in vivo における神経発生各過程との対応を添付資料3に示した。公文書に記載されている17種の in vitro DNT 試験種の詳細は添付資料4に、in vivo DNT 陽性・陰性対照物質リストは添付資料5に示した。このリストは動物実験(in vivo)を基にした既報論文、試験報告、専門家の意見から作成されている。また、ヒトやラットの神経前駆細胞、ヒト iPS 由来の神経細胞や神経節細胞が17種の in vitro DNT 試験に用いられているが、将来的にはヒト iPS 細胞由来の試験系に統一することを目標としていると専門家会議では発表されている。

2023年5月に開催された OECD in vitro DNT battery 専門家会議(OECD IVB-DNT EG)では、17種の試験から適切な試験を複数選択してバッテリー評価を行う方針であったが、2024年4月の専門家会議では、17種全ての in vitro DNT 試験を実施して評価する方針に変更された。欧米にて、DNT 陽性・陰性対照物質を用いて各種試験の検出力を確認するとともに(ケーススタディの実施)、技術

移管のためのバリデーション試験を実施することになった。なお、バリデーション試験に用いる被験物質は、添付資料5に掲載されたリスト以外に、実験動物を用いた公表論文（テストガイドラインに準じていない試験を含む）からも選択する方針であることが専門家会議で報告された。添付資料5は公文書オリジナルのAppendix A(1B)を基に使用目的と分類を追記している。2025年3月の専門家会議では、バリデーション試験の経過が報告された。また、in vitro DNT試験用に、新たに陽性および陰性対照物質リストを作成することが報告され、2025年4月に被験物質選択サブグループが発足した。In vivo データが豊富に存在する化合物を優先し、バリデーションに用いる化合物数を決めていくことになっている。

過去10年間（2014～2024年）を範囲とし、Pubmedを用いて17種のin vitro DNT試験名をキーワードとして公表論文を調査した結果、50報がヒットした（添付資料6）。ヒット数が多い順にNeural progenitor cell proliferation assay (NPC1)の27報、Neurite outgrowth assay in human iPSC derived neurons (Cortical Maturation and Cortical Synapto)の各10報、Rat Cortical Network Formation Assay(hNP1 Prolif)の7報であった。専門家会議のバリデーション試験の進行状況との関係は明らかにならなかった。

【考察・今後の課題】

OECD IVB-DNT EGの進行は膨大な化学物質の整理とバリデーション試験の実地検証に基づくことから、比較的進捗速度は遅いが、確実に成果は得ている。積極的にNAMsを導入し、多くの化学物質のDNT評価を試みようとしていることは確実である。本会議は三極の産官学の専門家が参加している。日本から国立医薬品衛生研究所の3名が登録されている（うち1名が桑形）。引き続き、動向は確認していく必要はある。

（3）個別課題：我が国における妊娠期の甲状腺機能低下による次世代へのDNT評価の現状（桑形麻樹子 国立医薬品食品衛生研究所）

【研究内容・方法】

我が国における妊娠期の甲状腺機能低下による次世代へのDNT評価の現状を把握するために、国内試験研究機関へ甲状腺関連ホルモン（T3、T4、TSH）評価に関するアンケート調査を実施した。農薬工業会、日本化学工業協会、日本安全性試験受託研究機関協議会、および2016年に実施したラット発生毒性試験における胎児所見の背景データ収集に参画した試験施設に研究目的及び内容を説明し、協力を依頼した。その結果、24施設から協力承諾を得た。

【研究成果】

アンケート内容及びその結果を添付資料7に示す。

参加施設内訳は化学会社・農薬メーカーが9社、製薬会社5社、試験受託機関が10社の合計24施設であった。その他、アンケート回答不可の施設が1施設であった。

アンケート結果を集計した結果、各試験施設において、本課題に関心がないわけではないが、積極的に取り組んでいる研究施設は限られていることがわかった。その理由として判定基準が不明瞭であること、行政の評価方針が不明であることから優先的な取り組み事項ではないということが考えられた。

判定方法にて議論したいこと（アンケート調査：質問15）、および要望、質問（アンケート調査：質問18）に多くのコメントが寄せられた。そのほとんどが生体の表現型（DNTの懸念）とホルモン濃度変動との関連についてであった。測定方法の違いによる判定への影響を懸念するコメントや行政の方針を問う質問もあった。

以下、添付資料から一部抜粋した。

質問15 判定方法にて議論したいことがあれば自由に記載してください

(性差、追加の項目（脑中甲状腺ホルモン濃度、脑中遺伝子発現量、脳病理など）の有用性生物学的有意と考える変化量（対対照群）など）

- ・ 血中ホルモン濃度の変動と遺伝子発現量の変動や視床下部-下垂体-甲状腺軸の病理組織学的変化との関連性について
- ・ 生物学的有意性の変化量
- ・ 実際にDNTが懸念されるような甲状腺ホルモンレベルについて
- ・ 測定方法の違いが判定に影響するかどうか
- ・ 内分泌かく乱作用ありと判断される閾値が設定できうるか
- ・ 生物学的有意と考える変化量（対対照群）について（特に、単独のホルモンの変化の場合）
- ・ 脑中甲状腺ホルモンが低下したラットの海馬上部領域には、異所性神経細胞巣（heterotopia）が生じること知られており、脳病理検査においてheterotopiaを一指標として評価することは脑中甲状腺ホルモン低下を把握する上で有用と考えられる。DNTを判断する上でのheterotopiaの有用性については欧米でも議論されているところではあるものの、Heterotopiaを含めた脳病理評価や、脑中甲状腺ホルモン濃度の実測値など各種検査結果を踏まえてweight of evidenceにて血中甲状腺ホルモン変動の生物学的意義を考察することが重要と考えられる。さらに、個体レベルでの最終的な表現型として適切な行動評価手法の特定、構築も必要であると考えている。
- ・ 欧州同様の厳格な基準の適用（背景値等）は現実的ではないため、避けてほしい
- ・ 日本当局は何を指標にして評価するのか知りたい。明確な指標・方針を示してほしい。
- ・ 甲状腺ホルモンの変動のみで、病理組織学的変化、行動学的変化がない場合は有害影響とは考えないでほしい
- ・ ラット特異的な機序による甲状腺ホルモンの変化、組織及び行動の変化はヒトへの外挿性はないとしてほしい(UDPGT経由の甲状腺毒性)
- ・ 脑中遺伝子発現量はサテライト群の設定が必要になること、技術・機器導入が必要になるため、追加要求項目には入れないでほしい
- ・ 病理組織学的変化を伴わずにホルモン濃度が変化した場合の評価について
- ・ T3、T4、TSHの変動について

質問18 その他（要望、質問など）

- ・ OECDガイドラインでは、「変動係数についてT3およびT4は25未満、TSHは35未満に維持されるよう努める。」とあるが、可能な測定方法を提示して欲しい。
- ・ DNTを国内でも評価できるようにするためには、拡張一代生殖毒性試験を国内の試験機関でも実施できるようにする必要があり、そのためには国内の試験機関を集めてその標準化を行うことが必要である。この問題に国として取り組もうとされているのかどうかを伺いたい。
- ・ 本アンケートの調査結果についてフィードバックを学会あるいは論文等で報告してほしい。
- ・ 各施設のComparative Thyroid Assayの実施経験が知りたい。
- ・ 米国環境保護庁（EPA）は、成獣と児動物の血中甲状腺ホルモン濃度への影響を調べるComparative Thyroid Assay（CTA）のガイダンスを制定している。質問15にも記載の通り他の評価項目の有用性については議論中の部分もあるものの、本ガイダンスに基づき実施されたCTAの結果から成獣と児

動物の感受性差の有無や、成獣のデータを元に設定された参照用量が胎児や新生児に対して保護的か否かなど、総合的に評価してリスクベースの評価を行っている。仮に今後本邦の規制評価に甲状腺影響評価が導入されるのであれば、欧州当局のようなハザードベースの評価ではなく、EPAのようなリスクベースの評価が望ましいと考える。

- T3、T4、TSH測定についての有効なELISAキットの情報が知りたい。
- 背景データ収集や公開可能な情報については、Web説明を聴講後、利用目的・公開の範囲などに応じて判断したい。

アンケート調査結果は参加施設に還元するとともに、2025年7月に開催される第65回日本先天異常学会学術集会のDNT委員会企画シンポジウムにて公開する予定である。

DNT委員会企画シンポジウム

テーマ：周産期甲状腺機能低下と次世代の神経発達：非臨床試験の役割

日時：2025年7月25日（金） 16時40分～18時00分

【考察・課題】

下記「（４）個別課題：比較甲状腺試験（妊娠コホート）：妊娠期の甲状腺機能低下によるホルモン変動」に記載。

（４）個別課題：比較甲状腺試験（妊娠コホート）：妊娠期の甲状腺機能低下によるホルモン変動（桑形麻樹子 国立医薬品食品衛生研究所）

【研究内容・方法】

アンケート調査結果および近年の学会発表等の状況から、妊娠期の甲状腺機能低下による次世代へのDNT発現のリスク評価に対する問題点や課題は明らかになってきていると考えられる。すなわち、リスク評価のための試験方法（*in vitro*試験や比較甲状腺試験を含む）の標準化および判断基準の明確化である。これらを解決していくには複数施設における実データの蓄積が必要と考えられる。成獣とは異なり、多産動物であるラット胎児や出生児を用いるため、一腹からの胎児あるいは出生児のホルモン測定のためのサンプリング方法、対象動物のサイズが小さいために微量なホルモン濃度分析方法といった手技の確認が重要である。性差の影響の有無の確認も必要である。また、血中および脳組織中のホルモン濃度背景データ、陽性対照群を設定する際の適切な陽性対照物質と投与量の情報収集も必要となってくる。さらに胎児血中と胎児脳中のホルモン変化の関連性が明らかになることにより、胎児脳測定の必要性の可否についても議論が進む。いずれもデータの蓄積が必要である。

本研究では第一歩として、化合物の標的を甲状腺ホルモンに限定したスクリーニング試験である比較甲状腺試験（Comparative Thyroid Assay: CTA試験）を実施した。上記課題のために補完すべきデータ収集として、先行研究（1、2）を参考に妊娠期コホート試験計画をたてた。陽性対照物質として甲状腺ホルモン合成阻害薬である6-Propyl-2-thiouracil（6-PTU）選択した。陽性対照物質として6-PTUを使用する時の推奨投与量の提案につなげるために、先行研究で使用された1, 3, 10 ppmの6-PTUばく露の結果をもとに5 ppmを投与量と設定した。すなわち、3 ppm投与群では胎児血中甲状腺ホルモンのわずかな減少傾向が（有意差なし）、10 ppm投与群では母動物の体重増加抑制を伴った顕著な胎児血中甲状腺ホルモン濃度の減少が認められたことから、母動物体重の影響がなく明確な胎児への影響が期待される5 ppmを設定した。

SD系ラット（Cr1:CD）の妊娠6日から妊娠20日（交尾確認日＝妊娠0日）に0（対照群、粉末飼料MF、オ

リエンタル酵母工業株式会社)、5 ppmの6-PTUを混餌投与し(両群各10匹)、妊娠20日に帝王切開した。投与期間中に母動物の体重および摂餌量を測定し、帝王切開は常法に基づき実施した。帝王切開時の母動物および胎児血中、および胎児脳中の甲状腺ホルモン(total T3, T4)はLC-MS/MS(液体クロマトグラフィ-タンデム質量分析法)を用いて、甲状腺刺激ホルモン(TSH)はRIA(放射免疫測定)にて測定した。なお、胎児血液および胎児脳中の測定対象として各腹から雌雄各2匹を性別ごとにプール(片性2匹/腹を1サンプル)して測定に用いた。動物実験および濃度分析は、ラット胎児および出生児血液および脳組織中の甲状腺ホルモン測定実施経験のある株式会社メディフォードに委託した。

先行研究

(1) K. Minami et al. Feasibility study for a downsized comparative thyroid assay with measurement of brain thyroid hormones and histopathology in rats: Case study with 6-propylthiouracil and sodium phenobarbital at high dose. Regul Toxicol Pharmacol 137, 1-16, 2024.

(2) H. Suto et al. Perinatal maternal exposure to high-dose sodium phenobarbital in the modified Comparative Thyroid Assay: no significant reduction in thyroid hormones in pups despite notable effects in dams. J Toxicol Sci 49 (11), 509-529, 2024.

【研究成果】

母動物の体重および摂餌量、帝王切開所見には6-PTU投与による影響はなかった。6-PTU投与により母動物血中TSH濃度の増加、T3およびT4濃度の有意な減少が認められた。胎児血中のTSH、T3、T4濃度においても母動物と同様の変化が認められた。さらに胎児脳中のこれらの変化も胎児血中の変化と同様であった。いずれも性差はなかった(添付資料8:試験結果)。母動物および胎児血中の対照群におけるT3およびT4濃度を比較するといずれも胎児血中濃度は母動物に比べて低く、T3は約23倍、T4は約5倍の差があった。TSHには母動物と胎児血中において差はなかった(添付資料8、Table 8)。

母動物の麻酔、採血に続き、帝王切開により胎児を摘出し、胎児体重測定および外表観察後に断頭により血液を採取した(解剖時間:午前9~12時の間に実施)。胎児血液が頸部に十分充満してからサンプリングチューブへ滴下することにより、サンプルチューブ底部の抗凝固剤(ヘパリン)と十分に混ざり、血液凝固を防いだ。

胎児血液のサンプリングまで胎児を麻酔下に維持することが必要となることから、一定の手技のもと、ここまで要する時間を各実験施設で確認し、CTA試験実施に要する解剖人数、1日に実施可能な帝王切開数および解剖従事者数を設定する必要がある。また、胎児血液の採取に十分は注意が必要であり、頸静脈の位置を確認して胎児保定し切開することが採血量に依存した。

今回の検討から、ラット妊娠期に5ppmの6-PTU混餌投与により、母動物血中甲状腺ホルモン濃度は減少しTSHは増加した。胎児血中も同様の変化であった。また、胎児血中と胎児脳のT3およびT4濃度およびTSHの変動は一致していた。胎児血中と胎児脳の変動の一致は先行研究(1)においても報告されていることから、別の試験施設においても再現性が確認された。妊娠期コホート実験において、陽性対照群に6-PTU用いる際には5ppmは至適濃度であると考えられた。

【考察・課題】

近年の毒性分野の学会、シンポジウム等において、本課題に関する研究発表や活発な議論が行われている。科学的に不明確な多い状況下にあるが、胎児や新生児といった小さいサンプルでの甲状腺ホルモン低濃度域のホルモン測定法の確立が必須と考えられる。また、通常の生殖発生毒性試験の煩雑さに加えて、ホルモン測定用に胎児あるいは新生児の正確なサンプリングが必要である。胎児あるい

は新生児の採血方法、麻酔から解剖までの時間の標準化も再現性のあるデータを得るためには重要である。さらに、効率がよく信頼性や再現性の高い試験結果を得て正しい評価をするために、サンプルの単位（個別あるいは一腹単位）、雌雄の識別、動物数、脳組織評価の必要性などの試験法の標準化が必要である。一方で、行政が評価方法の方針を示す必要もある。上記課題を解決するために、実務者（産業、大学）は基礎データの蓄積、行政は最新の国外の動向に留意し評価方針を検討するといった産官学が同じ目標をもって本課題に取り組むことが重要と考えられた。

個別課題(5)：農薬の再評価を始めとする食品中の残留農薬の食品健康影響評価へ活用できるDNT評価法指針原案の提案（堀本政夫 元・千葉科学大学、栗形麻樹子 国立医薬品食品衛生研究所）

【研究内容・方法】

個別課題（1）～（5）から得られた結果をもとに、DNT 評価法指針を考えた。

【研究成果】

2 段階で評価法指針を考えた。

第一段階：DNT の懸念の有無の判断

第二段階：第一段階で DNT 評価が必要と判断された場合の評価方法（添付資料 9）

第一段階

1. DNT の懸念の有無を判断

DNT 発現の懸念を（1）～（3）を主として総合的に判断する。

（1）既存データ（ドシエ中の各種試験データ）から判断

既存データ（ドシエ中の各種試験データに加え、剤の薬理作用、作用機序等も含む）を精査する。農薬の登録申請において提出すべき資料に準じて提出された試験結果から DNT 発現について判断する。

個別課題（1）から、DNT 試験でみられた所見と他の毒性試験での所見との間に明確な関連性を示すものは認められなかったが、有機リン系及びカーバメート系農薬では調査した全ての剤で出生児の生存率低下や死亡数増加がみられたことから、留意すべき観察項目かもしれない。急性神経毒性試験における自発運動の減少も有用な観察項目と考えられた。

（2）農林水産省による DNT 試験要求条件に記載された試験観察項目*から判断

農林水産省による DNT 試験要求条件に適合するか判断する。

個別課題（1）から、ほとんどの農薬(86%)で急性神経毒性が認められていた。急性神経毒性が観察されていなかった3剤（ジノテフラン、エトフェンブロックス、フルベンジアミド）および急性神経毒性試験が実施されていなかった1剤（カルボフラン）についても DNT 試験が実施されていた（表7）ことから、急性神経毒性の有無のみの判断ではなく慎重な判断が必要であると考えられる。

（3）その他

（1）および（2）に加え、in vitro 試験、in silico 試験、および公表文献**等を参考に DNT 評価の必要性を判断する。

以上の情報から、DNT 懸念の有無を判断し、DNT 懸念あり（DNT 評価が必要）と判断した場合には第

二段階に進む。

第二段階

1. DNT 評価戦略立案（添付資料9）

Step 1

第一段階において、DNT 評価が必要と判断された場合、AOP および IATA に立脚した DNT 評価法戦略を立てる。その際、下記、3項目を主とした情報を整理する。

- (1) 既存試験データ（ドシエ中の各種試験データ）の評価
- (2) 農林水産省による DNT 試験要求条件*との適合
- (3) 公表文献**の評価

得られた情報から、DNT 陰性と判断できず、DNT 懸念あり、あるいは不明と考えられた場合には次のステップ（in vivo 試験あるいは in vitro 試験による検討）に進む。

AOP: Adverse Outcome Pathway

IATA: Integrated Approach to Testing and Assessment

*【農薬の登録申請において提出すべき資料について（平成 31 年 3 月 29 日付け 30 消安第 6278 号農林水産省消費・安全局長通知）（最終改正：令和 3 年 8 月 17 日）】に記載されている「神経毒性や繁殖毒性等の他の毒性試験の結果から、成熟動物または発達段階の動物に投与に関連する神経学的影響（臨床神経毒性症状、機能/行動影響、脳重量変化、神経系の奇形、神経組織病理学的所見等）が認められ、発達期の神経毒性を確認する必要がある場合は、試験成績の提出を要する。」に準じて DNT 評価の必要性を判断する。

**【再評価における公表文献の提出について（令和 3 年 10 月 1 日付け 3 消安第 3460 号農林水産省消費・安全局長通知）、公表文献の収集、選択等のためのガイドライン（令和 3 年 9 月 22 日 農業資材審議会農薬分科会決定令和 5 年 7 月 27 日 一部改正）】

Step 2

2. In vivo 試験あるいは in vitro 試験による評価

Step 1 での懸念事項を解決するために in vivo あるいは in vitro 試験による評価法を選択する。

なお、Step 1 の懸念情報を解決するために必要であれば、in vivo および in vitro 試験の両方を実施する。

2-1. In vivo 試験 (OECD TG426 あるいは Modified TG426) による評価

- ・ OECD TG426: TG426 発達神経毒性試験を実施
- ・ Modified TG426: 懸念事項を解決するための動物試験（機序解明試験、含 CTA）を実施

Modified TG426 とは公表文献等の結果を補完するデータ（添付資料 9、注 3）や 17 種の in vitro 試験の結果を補完・確認する（添付資料 9、注 4）動物試験を指す。

In vivo 試験の結果から、DNT 懸念の有無を最終判断する。

2-2. In vitro 試験による評価

- ・ OECD IVB-DNT EG による Initial document（個別課題（2）参照）に記載されている 17 試験

を実施（現時点では 17 試験すべてを実施する。今後の OECD IVB-DNT EG の動向により方針は変わる）

- ・試験の妥当性があれば、上記以外の in vitro 試験の実施も許容する。

In vitro 試験の結果から、

- (1)陽性、あるいは不明
- (2)陰性

を判断し、Step 3 に進む。

Step 3

3-1. in vitro 試験結果から「陽性あるいは不明」と判断された場合

In vivo 試験（TG426 あるいは Modified TG426）を実施し、DNT 懸念の有無を判断する。

3-2. in vitro 試験結果から「陰性」と判断された場合

Step 1 における懸念事項について、in vitro 試験結果から説明（解決）できれば DNT 懸念なしと判断する。解決できない場合には Step 4 に進む。

Step 4

4-1. in vitro 試験結果は「陰性」であったが、Step 1 における懸念事項が解決できなかった場合

In vivo 試験（TG426 あるいは Modified TG426）を実施し、DNT 懸念の有無を判断する。

2 研究全体の成果、考察及び結論

本研究課題では、農薬の再評価を始めとする食品中の残留農薬の食品健康影響評価へ活用できる DNT 評価法指針原案を提案するために、既報の動物実験から DNT 評価の必要性の可否に関わる毒性所見の精査（個別課題 1）、OECD にて検討されている in vitro DNT battery 評価の動向調査（個別課題 2）、発達期の甲状腺機能低下による DNT 評価の現状（個別課題 3 および 4）の観点からアプローチした。欧米における DNT 評価は未確定な部分は否めないが、動物実験を含む New Approach Methods (NAMs) を用いた評価を導入することを視野にいれている。ここには機序解明を目的としてテストガイドライン以外の動物試験、in vitro 手法、構造滑性相関 (QSAR) などといった幅広い情報が含まれる。NAMs は未だ開発中で、リスク評価に用いるための標準化には時間が要すると考えられるが、欧米は積極的に取り入れて評価をしようとしていることから、欧米の動向は継続的に確認する必要があると考えられた。現在、DNT 評価において、既存の試験データ（ドシエ）、DNT 懸念を評価する in vivo および in vitro 試験、公表文献といった幅広い情報から評価をしていかなければならない。現時点の情報に基づき、DNT 評価法指針を作成したが、随時、新たな情報をもとに改良をしていく必要があると考えられる。

Ⅲ 本研究を基にした論文等

1 本研究を基にした論文と掲載された雑誌名のリスト

該当なし

2 本研究を基にした学会発表の実績

- (1) 桑形麻樹子, 堀本政夫: 農薬における発達神経毒性と関連のある毒性所見の検討 第51回日本毒性学会 学術年会、福岡、2024年7月5日
- (2) Kuwagata M and Horimoto M. Key toxicological findings related to developmental neurotoxicity caused by pesticides. The 64th Society of Toxicology (2025.3.16., Orlando, Florida, USA)

3 特許権等の出願・申請等の状況

該当なし

4 プログラムの著作物及びデータベースの著作物

該当なし

5 その他（各種受賞、プレスリリース等）

該当なし

別添資料

表1から表7

添付資料1から添付資料9

IV 研究開始時に申告した達成目標及び研究全体の自己評価

1 達成目標の自己評価

| 達成目標 | 評価結果 | 自己評価コメント |
|--|------|--|
| (1) 欧米における DNT 評価方法の把握 | 4 | OECD in vitro DNT-IVB に関する公文書内容および欧米の農薬評価書を精査することにより、現状の把握ができた。また、国際会議に出席し、理解を深めるとともに、海外の専門家とのパイプも築けた。 |
| (2) In vivo DNT 試験の必要性の可否 | 3 | 発達神経毒性評価の要否に関わる毒性所見を検討するため、欧米日の農薬評価書を精査し関連性を精査した。明確な関連性は明らかにはならなかったが、いくつか注目すべき観察項目は挙げられた。 |
| (3) In vitro DNT 試験から in vivo DNT 試験への外挿 | 4 | OECD IVB-DNT に関する公文書から、17 種の in vitro 試験が神経発生のどの過程の評価になるのか明らかにできた。 |
| (4) 我が国における妊娠期の甲状腺機能低下による次世代への DNT 評価の現状 | 4 | アンケート調査により国内の現状が明らかになった。課題解決のために必須であるデータ取得を試み、産官学が学会にてシンポジウム開催に繋げた。 |
| (5) 本邦における in vivo および in vitro のハイブリッド型 DNT 評価方法の確立 | 3 | (1)～(4)の結果に基づき、評価指針案のたたき台を提案できた。 |

注) 評価結果欄は「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で自己採点。

2 研究全体の自己評価

| 項目 | 評価結果 | 自己評価コメント |
|--|------|---|
| (1) 研究目標の達成度 | 3 | 情報入手に制限があり（試験生データは入手不可能）、多岐にわたる現在進行形の情報の精査は指針を決めるには難しい状況であった。 |
| (2) 研究成果の有用性 | 4 | 今回提案した DNT 評価指針は今後も改良が必要であるが、議論の資料となりうる骨子ができたことは有用である。 |
| <p>総合コメント</p> <p>予想はしていたが、4つの個別課題に関しては情報入手の制限があり、最終目標（評価指針の提案）を達成するには難易度が高かった。しかし、国際的にも関心が高い分野であり欧米も進行中であることがわかり、国際動向調査は有益であった。今回、提案した指針が最終版ではなく、海外の動向に基づき継続して改良は必要である。海外の動向には注目しつつ、目標を同じとする後進研究者とともに基礎データの蓄積を継続し、課題解決に貢献していきたいと考えている。</p> | | |

注) 評価結果欄は、「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で自己採点。

この報告書は、食品安全委員会の委託研究事業の成果について取りまとめたものです。
本報告書で述べられている見解及び結論は研究者個人のものであり、食品安全委員会としての見解を示すものではありません。全ての権利は、食品安全委員会に帰属します。

(別添1)

研究成果の概要 (和文)

発達神経毒性(DNT)評価にあたりテストガイドラインに準拠した動物試験データがない場合においても、代替法試験や公表論文を含めて総合的にリスク評価を行うことが求められる。公正かつ効率的なリスク評価を遂行していくために必要な評価指針の作成が必須である。本研究ではDNT評価指針作成を目的とし、まず、DNT評価の必要性の可否に関わる毒性所見を検討するため欧米のDNT評価法を調査した。その結果、DNT試験所見と他毒性試験所見との間に明確な関連性はなかった。しかし、一部の農薬で生存率低下や死亡数増加が共通してみられた。また、OECDが開発中である17種類のin vitro DNT battery tests の概要および動向を調べた。現在、バリデーション試験に向け被験物質の選定が実施されている。さらにDNT発現となりうる妊娠期甲状腺ホルモン低下による次世代脳発達への影響の評価法に関して国内研究試験施設にアンケート調査を行うと共に、妊娠期コホート比較甲状腺試験を実施し基礎データを得た。早急の課題である判定基準設定や低濃度域の測定法標準化には基礎データの蓄積が必要である。得られた結果に基づいて、既存試験データ(ドシエ記載内容)、in vitro試験も含めた機序解明試験、公表文献などからDNTを評価する指針案を立案した。この指針案は国際動向に鑑みながら改良していく必要性は残されている。

(別添2)

研究成果の概要 (英文)

| | |
|--|--|
| Title of research project | Study on Risk Assessment in Developmental Neurotoxicology of Residual Pesticides in Food Considering International Trends. |
| Research project number | JPCAFSC20232302 |
| Research period | FY 2023 – 2024 |
| Name of principal research investigator (PI) | Makiko Kuwagata |

Abstract/Summary

In the absence of animal test data conforming to test guidelines for developmental neurotoxicity (DNT) evaluation, it is required to conduct a comprehensive risk assessment, including alternative test methods and published literature. It is essential to create evaluation guidelines to carry out fair and efficient risk assessments. The aims of this study is to develop DNT evaluation guidelines. We investigated the DNT evaluation methods in Europe and the United States to examine the toxicological findings related to the necessity of DNT evaluation. As a result, no clear correlation was found between DNT test findings and other toxicity test findings. However, decreased survival rates and increased mortality in offspring were commonly observed in some pesticides. We also examined the overview and trends of the 17 types of in vitro DNT battery tests being developed by the OECD. Currently, the expert members are selecting test substances for validation tests. A questionnaire survey was conducted at domestic research test facilities regarding the evaluation method of the impact on the next generation's brain development due to decreased thyroid hormone levels during pregnancy, which could lead to DNT manifestation. The results of the questionnaire survey revealed the necessity of standardizing the criteria and analysis methods in the low concentration range. A comparative thyroid test of prenatal test cohorts was conducted to confirm the extent of the decrease in thyroid hormone levels. The accumulation of fundamental data is necessary for establishing evaluation criteria and standardizing measurement methods for low concentration ranges. Based on the obtained results, we developed a draft guideline for evaluating DNT based on existing test data (as described in the dossier), mechanistic studies including in vitro tests, and published literature. This draft guideline needs to be improved in light of international trends.

This report provides outcome of the captioned research programme funded by Food Safety Commission Japan (FSCJ). This is not a formal publication of FSCJ and is neither for sale nor for use in conjunction with commercial purpose. All rights are reserved by FSCJ. The view expressed in this report does not imply any opinion on the part of FSCJ.

1 . List of papers published on the basis of this research

Not applicable

2 . List of presentations based on this research

(1) Kuwagata M and Horimoto M : Retrospective survey of key toxicological findings related to developmental neurotoxicity caused by pesticides The 51th Japan Society of Toxicology (2024.07.05, Fukuoka, Japan)

(2) Kuwagata M and Horimoto M. Key toxicological findings related to developmental neurotoxicity caused by pesticides. The 64th Society of Toxicology (2025.3.16., Orlando, Florida, USA)

3 . The number and summary of patents and patent applications

Not applicable

4 . Others (awards, press releases, software and database construction)

Not applicable