

各研究機関の長 殿

化学物質の甲状腺影響評価に関する実態調査についてのご協力依頼

春暖の候、皆様におかれましては益々ご健勝のこととお慶び申し上げます。

いつも一方ならぬお力添えにあずかり、誠にありがとうございます。

現在、内閣府食品安全委員会主催による研究費「食品健康影響評価技術研究」にて、農薬の再評価を始めとする食品中の残留農薬に係る発達神経毒性(DNT)分野のリスク評価法指針原案を作成するための調査研究を実施しております。

その一環といたしまして、妊娠期の甲状腺機能低下による次世代への DNT 評価の我が国の現状を調査するため、アンケート調査を実施させていただきたく存じます。

- 甲状腺ホルモン濃度測定試験の実施経験
- 試験実施に必要な機器・設備、試薬やキット
- ホルモンデータの現行評価基準
- NAMs 導入への対応状況

今回のアンケート調査の結果、ご協力いただける施設が複数ございましたら、4 月以降に、各研究施設における背景データを収集し、今後の DNT 分野のリスク評価に活用できる資料にしたいと考えております。いただきましたデータは、ご協力施設にて共有させていただきます。また、必要に応じて、今回のアンケート調査結果ご報告とともに、背景データ収集事業に関しまして説明会を開催(web 開催)する予定です。

ご多忙な時期とは存じますが、ご協力の程、お願い申し上げます。

アンケート調査締め切りは 2024 年 4 月 19 日とさせていただきますが、難しい場合にはご一報いただければ調整いたします。ご不明な点等、ございましたら、桑形麻樹子(kuwagata.m@nihs.go.jp)まで、ご連絡いただきたくお願い申し上げます。

今後とも末永くお引き回しのほど心よりお願い申し上げます。

敬具

本課題研究代表者

国立医薬品食品衛生研究所 桑形 麻樹子

2024 年 3 月

【アンケート実施の背景】

昨今、化学物質による甲状腺影響（甲状腺ホルモンかく乱）を介した発達神経毒性（DNT）評価が規制の懸念対象のひとつとして注目されております。2019年にOECDが各種毒性試験において、末梢血中の甲状腺ホルモン濃度測定を必須条件となりましたことから、今後、化学物質の安全性評価において、甲状腺影響に関わる評価機会が増えることは必至です。

一方で、甲状腺ホルモンのかく乱を介したDNT発現に関して、そのAdverse outcome pathwayの前段のkey eventである胎児や新生児での甲状腺ホルモンへの影響はこれまで十分に評価されてきたとは言いがたい現状です。胎児や新生児での甲状腺影響を調べる場合、採材の時期や手法、ホルモン測定の手技など、成獣ラットでの手技がそのまま応用できない場合もあり、試験実施や結果解釈の際にご苦労をされているかと存じます。また、現状では、甲状腺ホルモン変動の程度とDNT発現の定量的な関係性に関して、分子機構を含め完全に解明されている状況には至っておりません。既に欧米では内分泌かく乱作用規制対応として、甲状腺影響を含めた評価機会が増加しつつありますが、データ評価基準に関して国際的な標準化が早急に望まれます。日本国内の規制評価におきましても、既存情報に基づいた現時点での最適の判断が必要と考えられます。

以上の様な背景から、甲状腺影響評価に関する各研究機関の評価現況を理解し、直近の化学物質の安全性評価の一助とするとともに、今後、国際標準策定に向け推進すべき研究領域の見極めを目指して、まずは国内研究機関を対象として実態調査をおこないたくご連絡をいたしました。

是非、ご協力を賜りたくお願いいたします。

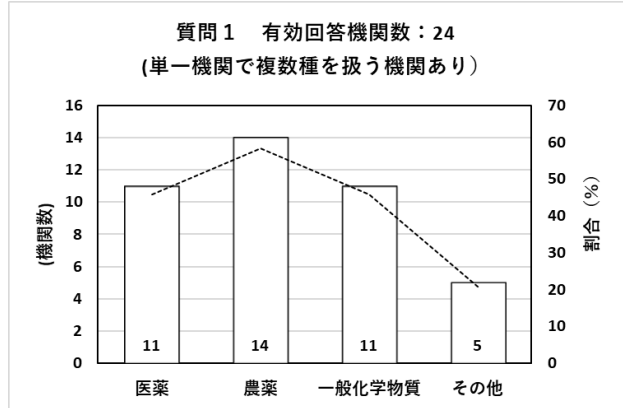
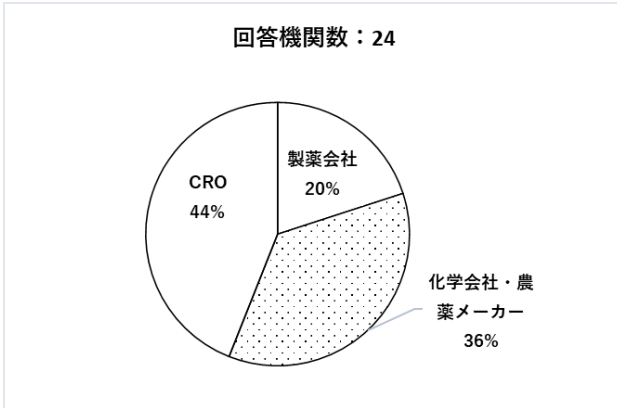
2024年3月吉日

国立医薬品食品衛生研究所 桑形 麻樹子

甲状腺評価に関するアンケート結果

質問1 お取り扱いの化学物質の種類

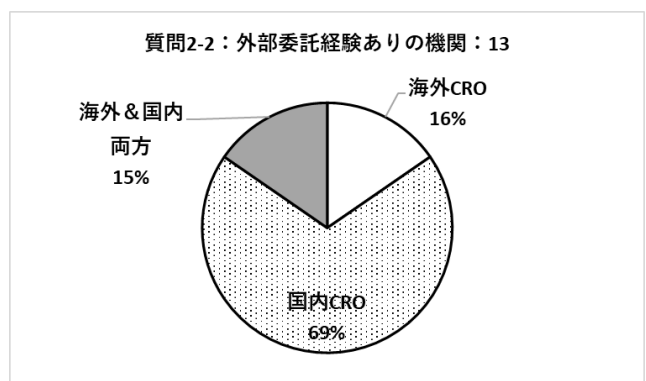
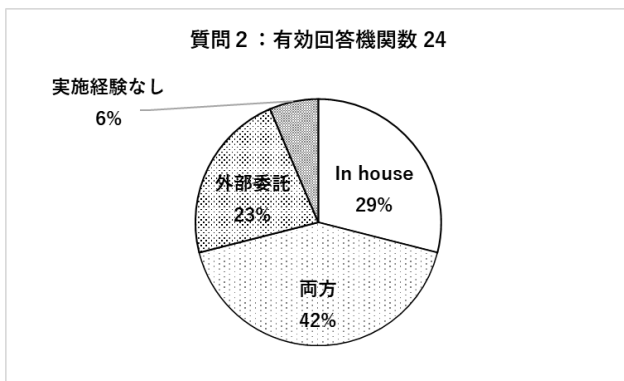
医薬 、農薬 、一般化学物質 、その他 ()



*その他：食品、健康食品、動物用医薬品、再生医療等製品、医療機器

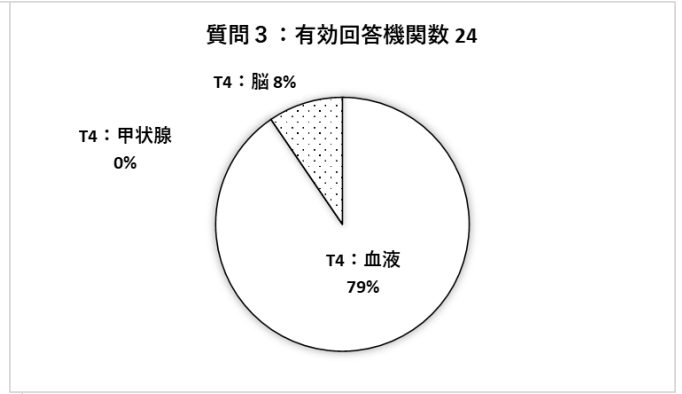
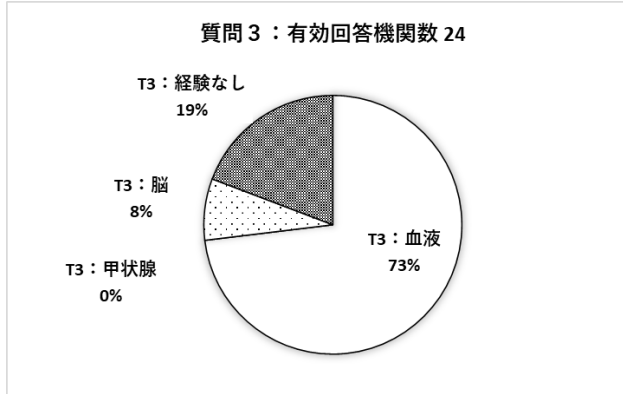
質問2 甲状腺ホルモン関連のデータの主たる取得場所

- In house
- 外部委託 (海外 CRO 、国内 CRO)
- 実施経験なし

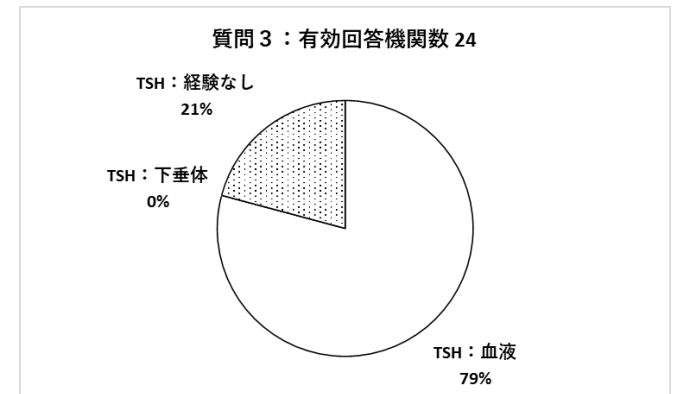


質問3 ラット甲状腺関連ホルモン測定 (T3, T4, TSH) の実施経験 (過去10年以内)

- T3: あり (血液 、甲状腺 、脳)、 なし
- T4: あり (血液 、甲状腺 、脳)、 なし
- TSH: あり (血液 、下垂体)、 なし
- 過去10年以前に経験あり (T3 、T4 、TSH)

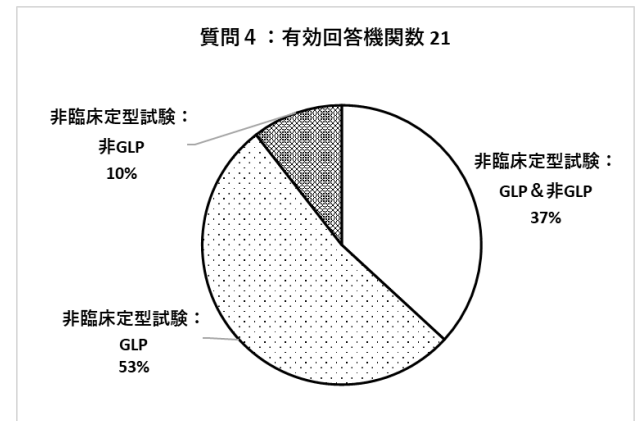
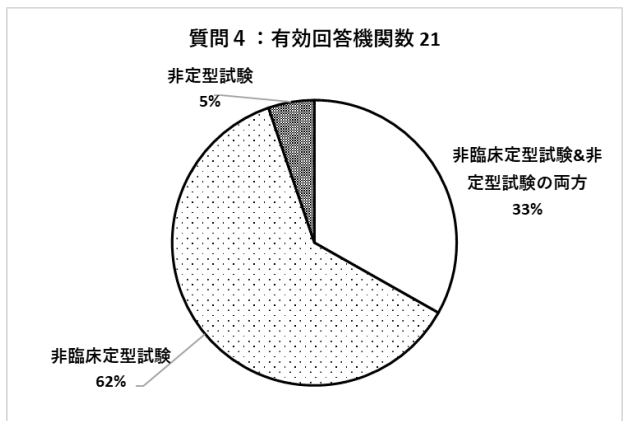


*過去10年以上前に経験あり：2施設
 *脳：胎児、生後4日児 (1施設)



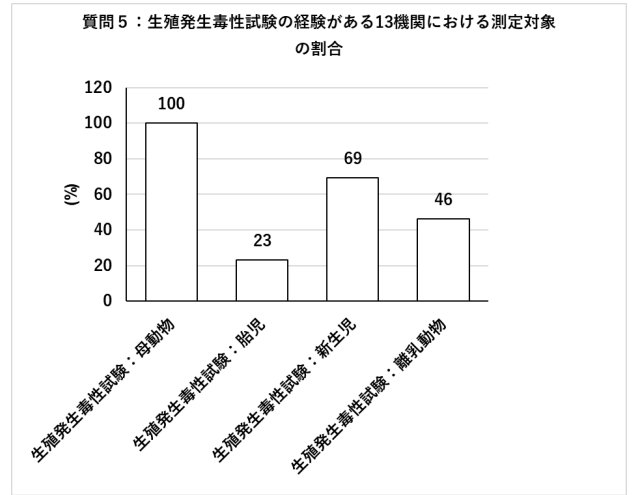
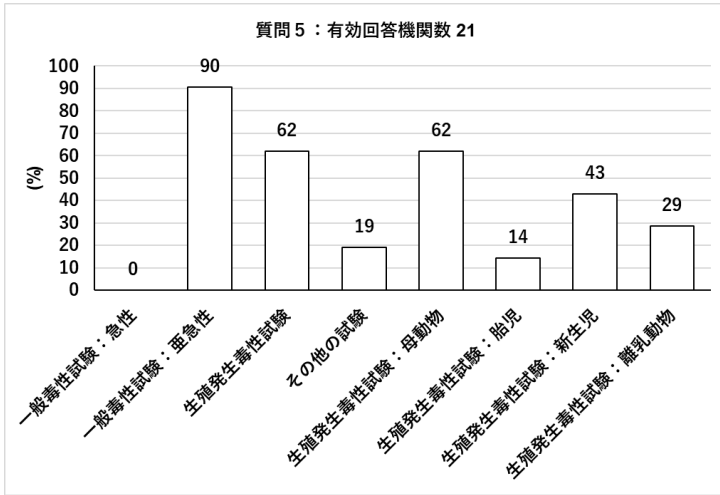
質問4 (質問3で「あり」と答えた方) 非臨床定型試験 (ガイドライン試験) か非定型試験か、およびGLP対応の有無

- 非臨床定型試験 (GLP 、非GLP)
- 非定型試験 (GLP 、非GLP)



質問5 ラット甲状腺関連ホルモン測定を実施した試験種

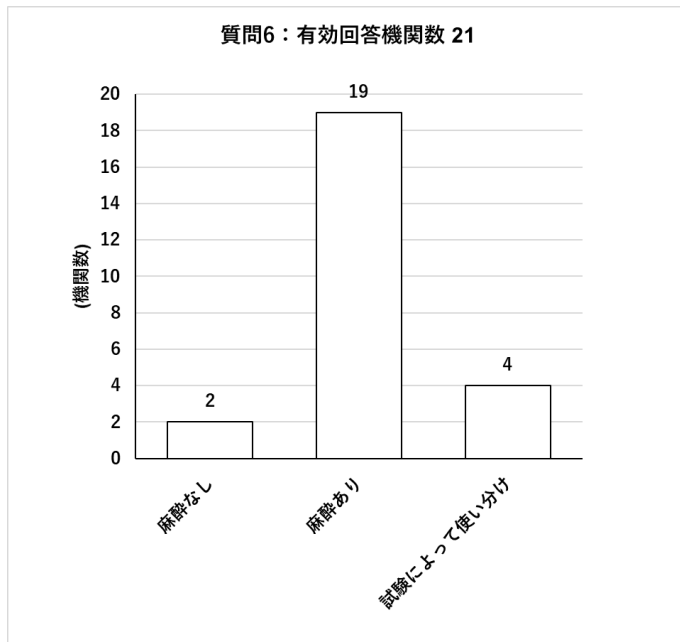
- 一般毒性試験（急性 、亜急性 ）
- 発がん性試験
- 生殖発生毒性試験
- 測定対象（母動物 、胎児 、新生児 、離乳動物 ）
- その他 （研究分野；)



*研究分野：基礎研究、検討試験、Mode of action 試験、Pubertal assay、CTA like の検討試験、毒性機序解析

質問6 麻酔の有無

- なし
- あり （種類；)



*麻酔の種類

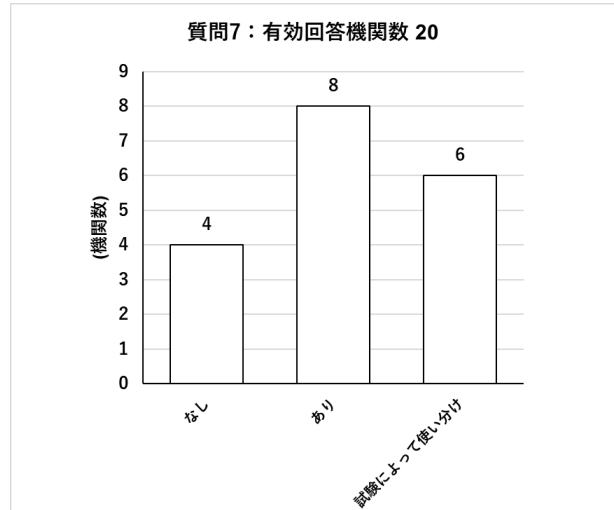
- バルビツール酸誘導体（腹腔）：5 施設
- イソフルラン（吸入）：14 施設
- チアミラール（腹腔）：2 施設（生後4日）
- 二酸化炭素：1 施設
- 無麻酔（胎児）：2 施設
- 無麻酔（新生児）：2 施設

質問7 絶食の有無

- なし
- あり

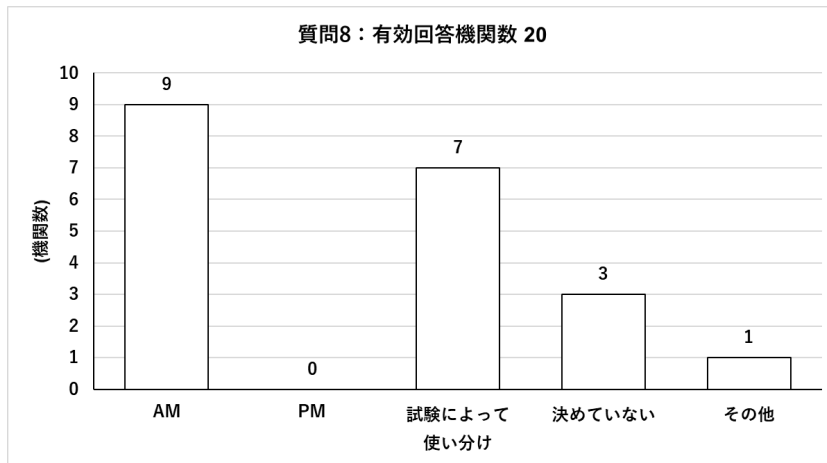
なし：生殖発生毒性試験、MOA 試験、Pubertal 試験、毒性機序解析

あり：亜急性試験、一般毒性試験



質問8 採血・解剖時間帯

AM 、PM 、決めていない 、その他 ()

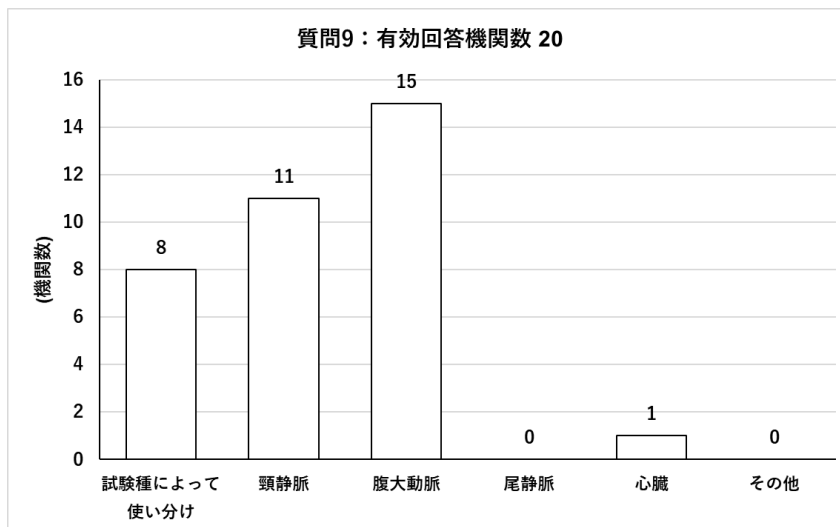


AM：繁殖試験（雌雄親）、発生毒性（母）、一般毒、併合試験（生後 14 日母、生後 13 日児）

*全て PM というものはなく試験によって使い分け（PM：繁殖試験雌親、離乳児、生後 4 日児、胎児）

質問9 採血部位

頸静脈 、腹大動脈 、尾静脈 、心臓 、その他 ()

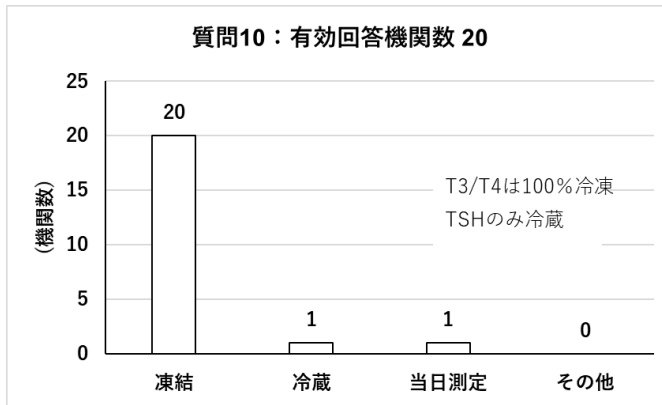


MOA 試験：断頭 or 頸静脈採血
胎児、生後 4 日児、幼若動物：断頭

胎児、新生児：頸静脈切断

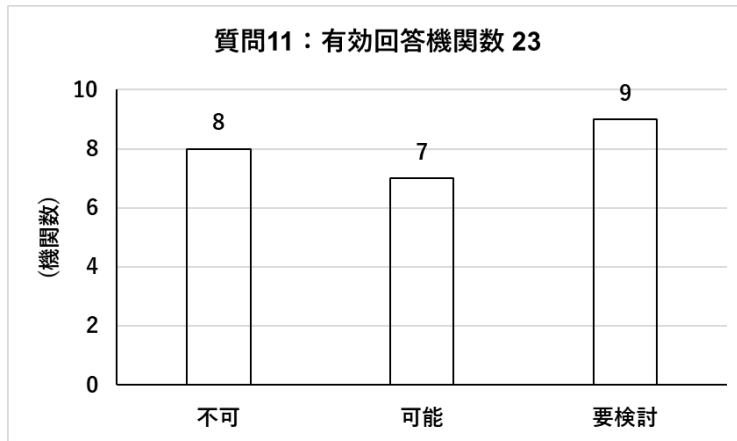
舌下静脈、下大静脈

質問 10 サンプル保存方法

凍結 、冷蔵 、当日測定 、その他 ()

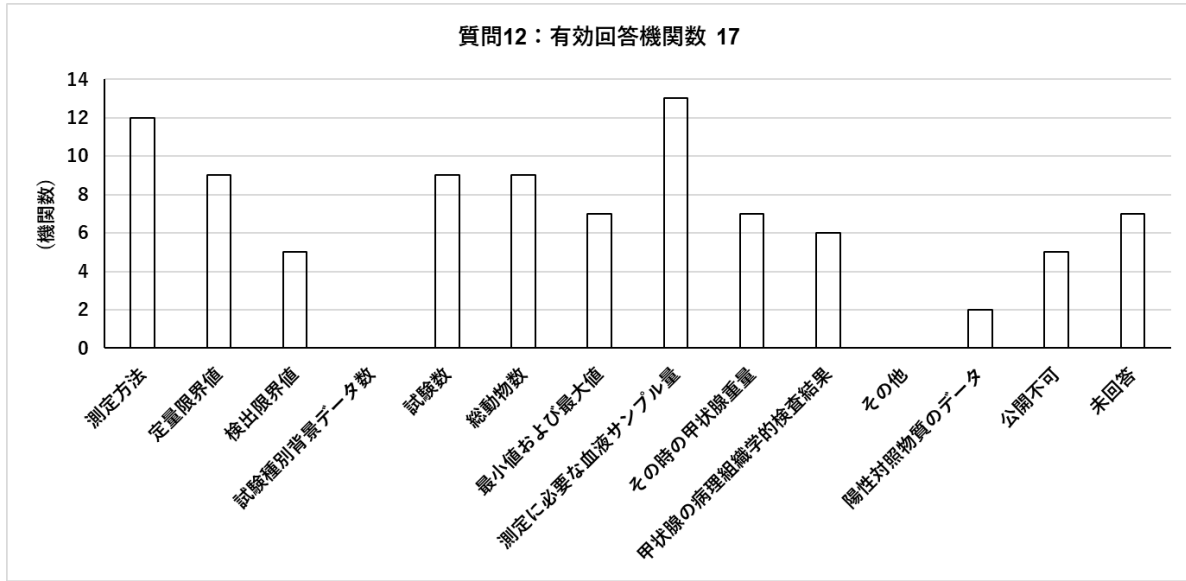
凍結：-80℃、当日測定できないサンプル

質問 11 背景データ収集に参加可能か(R6 年度実施)

可能 、不可 、要検討 、その他 ()

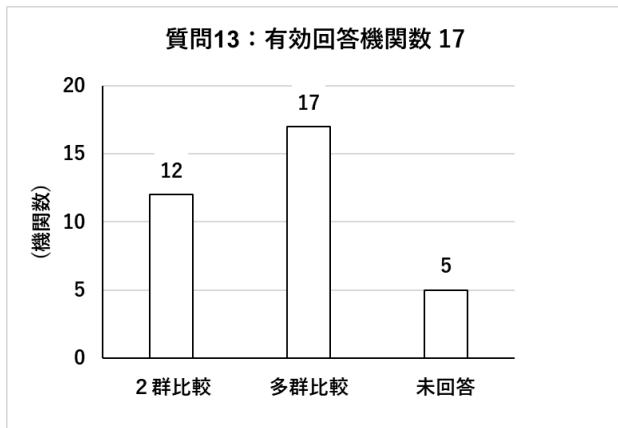
質問 12 公開可能な情報

- 測定方法
- 定量限界値 および検出限界値
- 試験種別 (age 別) の背景データ数 (試験数 、総動物数、最小値及び最大値)
- 測定に必要な血液サンプル量
- その時の甲状腺重量 、病理組織学結果 その他 ()
- 陽性対象物質のデータ
- 公開不可



質問 13 判定に用いる統計手法（2 群間およびそれ以上の場合）

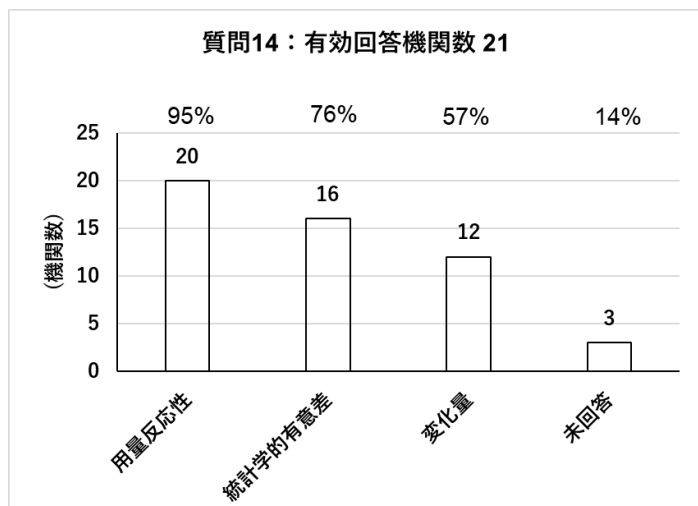
- 2 群比較：
- 多群比較：



経時変化：paired t-test

質問 14 評価において重要と考える要素

- 用量反応性
- 統計学的有意差
- 変化量



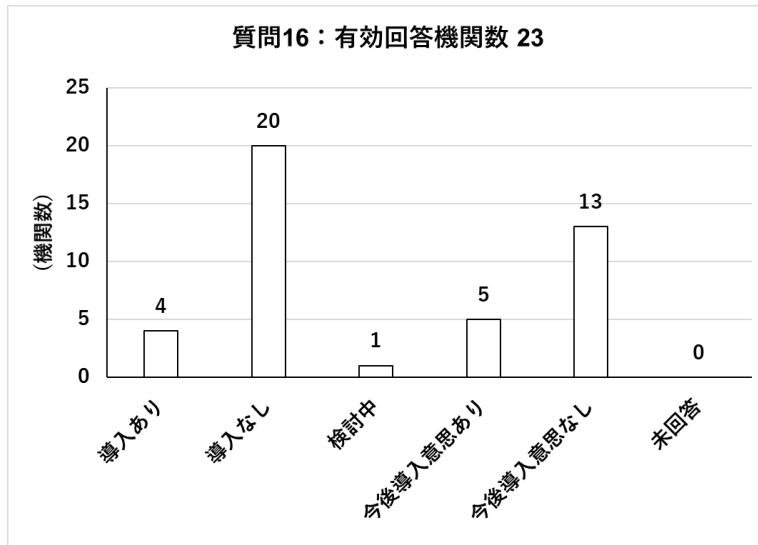
質問 15 判定方法にて議論したいことがあれば自由に記載してください

(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 経路の甲状腺毒性)
- ・ 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 16 甲状腺関連ホルモン評価の NAMs の導入の有無 (研究段階でも可能)

- あり
- なし (今後導入の意思 あり 、なし)



質問 17 上記の質問 16 で「あり」の場合、具体的な NAMs 手法

標的 (具体的試験法)

- TPO ()
- NIS ()
- DIO ()
- 肝 UDPGT 誘導比較試験 ()
- その他 ()

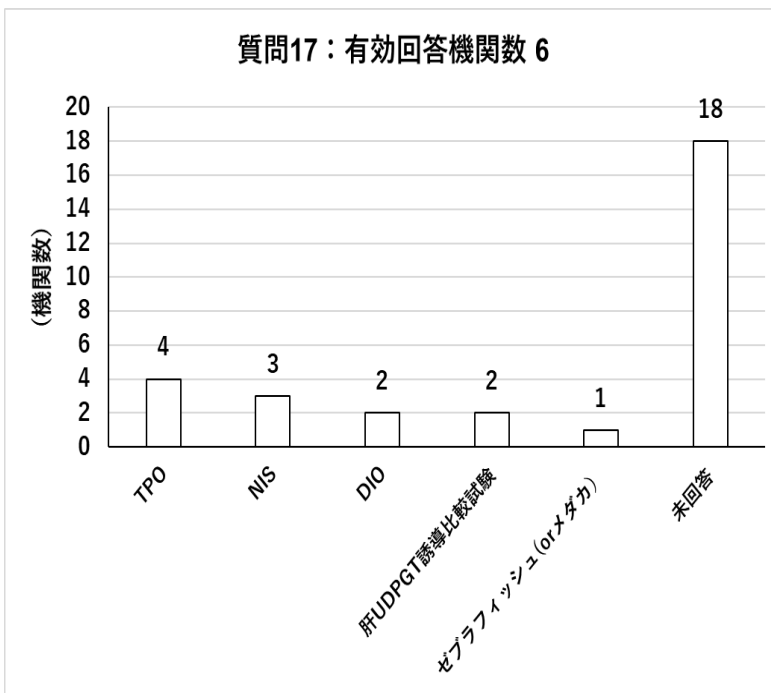
具体的試験法

TPO: ラット&ヒト、ラット甲状腺ミクロソームを用いた阻害アッセイ、Amplex UltraRed を用いる手法

NIS: ラット&ヒト、ヒト NIS 発現 HEK293T 細胞を用いた阻害アッセイ、

DIO: ラット&ヒト、ヒト肝ミクロソームを用いた阻害アッセイ

肝 UDPGT 誘導比較試験: ラット肝 9 と器質 4-methylubelliferone) を用いる活性測定、初代肝細胞を用いた mRNA 測定、酵素誘導測定



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、拡張一世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。

ご協力いただきありがとうございました。

この度は、アンケート調査にお時間を割いていただき、誠にありがとうございました。

本調査結果は、2025 年 5 月 30 日に研究成果報告書に含ませて食品安全委員会に報告いたしました。DNT 評価指針は、これから議論が開始される予定です。本研究は一旦、終了いたしますが、DNT 評価指針確立には産官学の協力は必須と考えます。今回、皆様からいただいた意見を真摯に受け止め、評価指針作成に取り組んでいきたい所存です。本件につきまして新たな情報が得られた場合には、皆様と情報を共有し議論できる場を作れるように行政側にも働きかけていきたいと考えております。改めまして、本アンケートご協力につきまして深く感謝申し上げますとともに、引き続きご指導ご鞭撻のほど、何卒よろしくお願い申し上げます。

2025 年 7 月吉日

国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 客員研究員 桑形 麻樹子