

残留農薬の食品健康影響評価における
コリンエステラーゼ阻害作用を有する農薬の取扱いについて
(令和2年5月20日 農薬第一専門調査会決定)

1. 背景

神経伝達物質であるアセチルコリンは神経系機能において重要な役割を担っており、コリンエステラーゼ (ChE¹) 阻害作用を有する有機リン系、カーバメート系等の農薬の毒性評価において、ChE 活性阻害データは検体投与による影響の有無を示唆する重要な指標となる。

食品安全委員会農薬第一専門調査会は、ChE 阻害作用を有する当該農薬の毒性評価について一貫性をもって判断を行うため、食品安全委員会におけるこれまでの農薬に関する評価経験のほか、海外評価機関における評価基準等も考慮し、科学的な観点に基づいて、残留農薬の食品健康影響評価における ChE 活性阻害の取扱いについて整理した。

なお、本文書は、現時点における科学的知見に基づく基本的考え方を整理したものであり、国際的な評価基準の動向、国内外の科学的知見等を勘案して、必要に応じて見直すこととする。

2. ChE 活性阻害の主要評価項目について

ChE 阻害作用を有する農薬による影響の有無を判断する指標として、各試験で認められたコリン作動性²と考えられる生理的及び行動的・機能的影響のほか、以下に挙げる ChE 活性阻害データが毒性評価に利用されている。

(1) 神経組織 (中枢及び末梢神経系³) AChE 活性阻害データ

一般的に、有機リン系及びカーバメート系農薬のばく露に起因した、振戦等のコリン作動性影響を引き起こす主要な毒性機序は、神経系 (中枢及び末梢ともに) AChE 阻害であると考えられていることから、AChE 活性阻害は検体投与による影響の直接的証拠となる。

AChE と各農薬のトキシコキネティクス及びトキシコダイナミクスは、中枢神経系と末梢神経系とで異なる可能性がある⁴ことから、その影響を適切に評価するには各神経系における AChE 活性を測定する必要がある。中枢神経系

¹ コリンエステラーゼ (ChE) には、アセチルコリンを分解するアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 及びブチリルコリンを分解するブチリルコリンエステラーゼ (BuChE) がある。BuChE は肝臓で合成されることから、ばく露に伴い肝機能低下を起こしうる被験物質の場合、血中 ChE 活性低下が認められる場合がある。

² コリン作動性とは、アセチルコリンを伝達物質とする神経系を指す。

³ 中枢神経系とは脳及び脊髄、末梢神経系とは体性神経系及び自律神経系を指す。

⁴ 被験物質の特性やばく露された生体の特徴 (血液脳関門に対する通過性等) が関与すると考えられる。

については一般的に脳 AChE 活性が測定されている。一方、末梢神経系については、コリン作動性所見の多くは末梢神経系への影響により生じることから、その AChE 活性阻害データが重要であると考えられるものの、現時点においては、中枢神経系に比べて利用可能なデータは限られている。

なお、中枢及び末梢神経系ともに、耐性の発達により臨床症状を伴わない場合があることや、AChE 活性阻害の経時的変化データが少ないこと等の理由により、コリン作動性と考えられる行動的・機能的影響の発現と AChE 活性測定結果に明確な相関性が認められない場合がある。このことから、中枢及び末梢神経系における AChE 活性の低下の有無を確認することは、毒性学的に重要である。（参照 1、2、5）

（2）赤血球 AChE 活性阻害データ

赤血球 AChE 活性阻害は、それ自体が毒性影響ではないものの、ばく露の程度と相関が認められる場合が多く、トキシコキネティクス及びトキシコダイナミクスの証拠となり、赤血球 AChE 活性阻害が認められる場合には神経組織の AChE 活性も阻害されると推測されることから、神経系に対する毒性影響の有無を示唆する生物学的指標になりうると考えられる⁵。

被験物質は動物体内で吸収された後、血液を介して末梢神経系へ運搬されることから、赤血球 AChE 活性阻害データは末梢神経系 AChE 活性への影響を検討するための代用測定項目として適切である。また、特にヒトにおいては神経組織の AChE 活性阻害データの直接的な評価が困難であることから、中枢神経系の AChE 活性阻害データを欠いている場合においても、赤血球 AChE 活性阻害データを代用測定項目として用いることができる。（参照 1～5）

（3）血漿 ChE 活性阻害データ

赤血球が AChE のみを含有するのに対して、血漿は AChE 及び BuChE 両方を含有し、その比率は動物種（ヒト、ラット、イヌ等）により大きく異なる。また、AChE 及び BuChE に対する結合親和性は、被験物質により異なることが報告されている。

BuChE 活性阻害については、被験物質へのばく露を定量的に示す指標にはなりうるが、コリン作動性影響との関連は無いと考えられている。

以上のことから、血漿 ChE 活性阻害データよりも赤血球 AChE 活性阻害データが神経系に対する毒性影響の有無を正確に反映すると考えられ、一般的に、

⁵ 赤血球 AChE は細胞膜外面に存在する膜結合性酵素であることから、有機リン及びカーバメート剤以外の化学物質による酸化ストレスによっても間接的に活性が阻害される可能性がある。

赤血球 AChE 活性阻害データを参照することが望ましいとされる⁶。（参照 1～5）

3. 食品健康影響評価における ChE 活性阻害の取扱い

（1）基本的考え方

ChE 阻害作用を有する農薬の毒性評価においては、AChE 活性阻害の明確な指標となる脳（中枢神経系）及び赤血球（末梢神経系の代用測定項目）の試験結果を評価対象項目とし、血漿 ChE 活性阻害データについては毒性影響の指標として採用しない⁷。

また、原則として、統計学的有意差を伴いベースライン値（（2）④参照）に比べて 20%以上の AChE 活性阻害が認められる場合には、生物学的意義があると考えられることから、毒性影響とする⁸。

ただし、評価に当たっては、コリン作動性所見の有無、AChE 活性測定（試料採取）時期、データの用量相関性等についても留意することとし、統計学的有意差を伴う AChE 活性阻害（20%以上）が認められない場合であっても、上記の留意事項のほか、利用可能なすべての試験成績も考慮して、毒性影響か否かを総合的に判断する。（参照 1～6）

（2）留意すべき事項

① コリン作動性所見との関連

ChE 阻害作用を有する農薬は、コリン作動性と考えられる生理的又は行動的变化が生じるより低い用量で AChE 活性を阻害し⁹、特定の生理・薬理作用が発現する AChE 活性阻害の程度を定めることは困難である。なお、ヒトにおいては、赤血球 AChE 活性阻害率が 50%を超えた場合に顕著なコリン作動性所見が認められるとの報告がある。

このことから、被験物質の AChE 活性阻害に対する影響を検討するに当たっては、コリン作動性所見の有無のほか、同所見が認められる用量及び発現時間に留意する必要がある。（参照 1、2、7～11）

⁶ EPA は、赤血球のほか血漿 ChE 活性阻害データも評価対象としているが、赤血球 ChE 活性阻害データの信頼性が高い場合は、血漿に比べて赤血球のデータがより望ましいとしている。

⁷ 全血は血漿由来の ChE も含まれることから、AChE 活性阻害の程度を踏まえてケースバイケースで検討する。また、全血及び血漿とも、AChE 活性が特異的に測定されている等、評価対象項目とすることが可能と考えられる場合がある。なお、全血 ChE 活性に検体投与の影響が認められなかった場合は、AChE 活性も影響を受けていないと推定される。

⁸ EPA においては、連続データからなる他の評価項目（ホルモン濃度、酵素活性の変化等）と同様に、判断基準となる固定した阻害率は設定されていないが、過去の経験では、検体ばく露に伴う ChE 活性阻害の程度が 20%以上の場合には統計学的有意差が認められる場合が多く、生物学的意義があるとされている。

⁹ 実験動物を用いた試験では、通常、コリン作動性所見に比べて AChE 活性阻害（20%以上）が、また、脳 AChE 活性阻害に比べて赤血球 AChE 活性阻害が、より低用量投与群から認められる。

② AChE 活性阻害測定のための試料採取時間

AChE 阻害作用は被験物質の薬物動態に基づき経時的に変化することを踏まえ、各試験におけるコリン作動性所見の有無及びその発現時間等も考慮した上で、採取試料の取扱い（試料採取時期、投与後時間、試料管理、測定条件等）の妥当性について留意する必要がある。

特に、カーバメート系農薬は、一般的に AChE 阻害に対して可逆性を有し、比較的短時間での回復が認められる場合が多いことから、AChE 活性阻害データの信頼性に対して、採取試料の取扱いが重要な要素であると考えられる。試料採取時期が遅い場合には阻害作用が過小評価となる又は適切な評価を行うことが不可能となる。このため、阻害作用の経時的变化データは AChE 阻害の強度及び回復性を検討するにあたり有益である。（参照 1、2、4、9～11）

③ 赤血球 AChE 活性測定に係る技術的課題

一般的な ChE 活性測定方法として用いられる Ellman 法 (Ellman *et al.*, 1961) について、EPA は有機リン系農薬により生じる ChE 活性阻害の測定には適しているが、カーバメート系農薬においてはカーバメートエステルと AChE との結合が比較的不安定であることから過小評価となる可能性があり、Ellman 法に比べて放射能分析法 (Johnson and Russell, 1975、Wilson *et al.*, 1996) が適するとしている。（参照 1、9）

④ ベースライン値の取扱い

AChE 活性は、供試動物種や系統、性別又は組織に応じて、経時的に変化しうることから、AChE 活性阻害の程度を比較するためのベースライン値について、一般的には投与前値に比べて対照群値を用いることが望ましい。

しかしながら、特に供試動物数が少ない場合（例：イヌを用いた試験）においては、個体差又は各投与群における投与前値のばらつきが統計学的有意差の有無に影響する可能性があることから、状況に応じて投与前値との比較により AChE 活性阻害の有無を検討する必要がある。（参照 1、9～11）

⑤ 成熟動物と幼若動物に対する感受性

神経毒性試験においては若齢成熟動物が用いられることが一般的であるが、幼若動物を用いた試験が実施されている場合においては、AChE 活性阻害の程度のほか、コリン作動性所見の発現状況を踏まえて、AChE 活性阻害作用に対する成熟動物と幼若動物の感受性差の有無に留意する必要がある。（参照 1、9）

⑥ 脳試料の取扱い

中枢及び末梢神経系におけるコリン作動性受容体の分布は均一ではなく、

AChE 濃度や AChE 分子型は脳の領域ごとに異なっていることが報告されている。一般的に、脳 AChE 活性阻害は全脳を用いて測定される場合が多いことから、脳の個別領域（例：大脳新皮質、海馬、小脳等）のデータがない場合には、中枢神経系の評価が限定的となるおそれがあることに留意する必要がある。（参照 1）

（3）ADI 及び ARfD の設定に当たっての考え方

有機リン系、カーバメート系等の ChE 阻害作用を有する農薬の ADI¹⁰及び ARfD の設定に当たっては、AChE 活性阻害が最も感受性の高い毒性指標と考えられる場合には、AChE 活性測定結果について（2）の留意事項も踏まえて審議する。なお、審議の結果、十分な評価が困難と判断した場合には、リスク管理機関に対して追加の試験成績等の情報の提出を要求する又はデータの不確実性を考慮した追加の安全係数を用いる。（参照 1、2、9～12）

4. ヒトを用いた試験成績の取扱い

ヒトを用いた安全性に関する試験成績がある場合には、それを重要な情報として取り扱うが、その試験の信頼性等を総合的に判断する。

なお、ヒトの試験成績では、中枢及び末梢神経系組織とも AChE 活性阻害データを直接的に評価することができないことから、代用測定項目として血液（赤血球）AChE 活性阻害データを用いることとなる。（参照 1、12）

¹⁰ AChE 活性阻害作用の可逆性、対象農薬の動物体内における蓄積性等に鑑みて、食品を通じた長期間のばく露による食品健康影響に当たって、AChE 活性を一時的に阻害する単回ばく露の反復により評価することは可能であると考えられる場合においては、単回経口投与による試験結果を長期間のばく露による食品健康影響評価に用いることは妥当と考えられる。（参照 9、10）

<参照資料>

1. EPA : Office of Pesticide Programs Science Policy on The Use of Data on Cholinesterase Inhibition for Risk assessments of Organophosphorous and Carbamate Pesticides. Office of Pesticide Programs US Environmental Protection Agency, August 18 (2000)
2. JMPR① : Pesticide residues in food 1998 Report, Interpretation of Cholinesterase inhibition, p.17-19 (1998)
3. JMPR② : Pesticide residues in food, WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues, Guidance document for WHO monographers and reviewers. WHO (2015)
4. Principles for the Toxicological Assessment of Pesticide Residues in Food, Environmental Health Criteria 104 : WHO (1990)
5. Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food, Environmental Health Criteria 240 : Chapter 4, FAO/WHO (2009)
6. EFSA : Establishment of Cumulative Assessment Groups of Pesticides for their Effects on the Nervous System : EFSA Journal 2019; 17(9): 5800
7. Cholinesterase Monitoring for Agricultural Pesticide Handlers Guidelines for Health Care Providers in Washington State : Department of Labor & Industries Division of Occupational Safety & Health (DOSH), January (2010)
8. Laurence L. Brunton, Bjorn C. Knollmann and Randa Hilal-Dandan. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 13th Edition, Chapter10, Mc Graw Hill Education (2017)
9. 農薬評価書 カルボフラン : 食品安全委員会、2020年2月
10. 農薬評価書 カルボスルファン : 食品安全委員会、2020年2月
11. 農薬評価書 ベンフラカルブ : 食品安全委員会、2020年2月
12. 残留農薬に関する食品健康影響評価指針: 食品安全委員会、2019年10月(2020年4月改訂)