

令和7年度 厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書発達神経毒性の迅速化・高精度・省動物に資する新規評価手法開発のための研究
研究分担者 桑形 麻樹子
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

研究要旨

発達神経毒性(DNT)は、発生期(胎生期)あるいは生後発達期の神経系に対する化学物質による有害作用と説明される。この評価に向けた、より迅速、低コストで省動物に資する新規評価手法の開発が急務となっている。しかしながら、神経系の発生・発達は極めて複雑な現象であり、ヒトの発達神経毒性の定義ですら専門家間で認識が異なるのが現状である。

本研究では新規評価手法の開発を目的として、発達期DNTの発現機序を明らかにし、将来的なin vitro試験法への適応拡大に必要なシグナルネットワークを同定することも加味した。

DNTに関しては、その複雑さ故に基礎的な背景データの不足が大きな問題であることから、分担研究として、DNT陽性/陰性対照物質の選定、および国際標準化に向けた情報収集を行った。

A. 研究目的

発達神経毒性(DNT)に関しては、その複雑さ故に基礎的な背景データの不足が大きな問題であることから、DNT陽性・陰性物質の選定、および国際標準化に向けた情報収集を行った。

B. 研究方法

R7年度は、2025年9月に公開されたワークショップ報告書を精査し国際動向を調査するとともに、R6年度までに選出したDNT陽性・陰性物質を整理した。

【情報収集に使用した資料】

(1) Initial Recommendations on Evaluation of Data from the Developmental Neurotoxicity (DNT) In Vitro Testing Battery. [ENV/CBC/MONO(2023)13].

(2) Workshop Proceedings on Critical Innovations in pesticides safety testing and chemical risk assessment for developmental neurotoxicity (DNT). Series on Testing and Assessment No 412.
[ENV/CBC/MONO(2025)10]

OECD DNT-IVB専門家会議は、EFSA、EPA、FDA、Health Canadaといった規制当局を始め、研究、産業界の専門家により構成されており、in vitro手法によるDNT評価方法の確立を目的としている。

DNT陽性対照および陰性対照物質の選定は、欧米リスク評価機関の報告書及び科学論文の調査を継続した。OECD in vitro DNT battery (DNT-IVB) 文書「Initial Recommendations on Evaluation of Data from the Developmental Neurotoxicity (DNT) In Vitro Testing Battery.」に掲載されている動物実験の結果に基づいたDNT有無のリスト(Appendix A)を、ワークショップの報告書に記載されているケーススタディの結果と合わせて精査した。

R7年度にOECD DNT-IVB専門会議が開催されなかったために、本国際会議出席のための予算を使用しなかった。近年、妊娠期の甲状腺機能障害が次世代の

脳発達に影響を及ぼすことが懸念されていることから、この予算を利用して、発達神経毒性評価のための化学物質リスト作成の一環として、妊娠期甲状腺機能障害に特化して既存試験情報を収集した。

OECDテストガイドライン改正時期を考慮し、2010年から2025年の間に報告された経口投与簡易生殖毒性試験(OECD TG421)および反復投与毒性・生殖毒性併合試験(OECD TG422)の試験結果を下記2種のデータベースを用いて精査した。

1) 化審法データベース

https://www.nite.go.jp/chem/jcheck/search.action?request_locale=ja

2) 既存化学物質データベース

https://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/SearchPage.jsp

(倫理面への配慮)

科学的及び動物愛護的配慮を十分行い、所属の研究機関が定める動物実験に関する規定、指針を遵守した。

C. 研究結果および考察

1. OECDの動向

R7年度にOECD in vitro DNT battery test (DNT-IVB) 専門家会議は開催されなかった。

2025年9月に、DNT-IVB専門家グループが主催した“The OECD Workshop on Critical Innovations in pesticides safety testing and chemical risk assessment for developmental neurotoxicity (DNT).”の報告書(workshop proceedings)が公開された。この報告書には、研究、産業界、規制当局の視点からDNTに関する課題がワークショップ発表者の論文として掲載されている。このワークショップ報告書およびOECD DNT-IVB専門家会議から得た情報から、DNTリスク評価におけるOECD DNT-IVBの位置づけ、および今後の方向性(課題)が明確になった。なお、このワークショップは2024年9月28～30日にドイツ、コンスタンツで開催され、OECD事務局7名に加え、発達神経毒性学、in vitro 毒性学、NAMs開発、PBKモデル、農薬・化学物質規制の専門家である79名の政府機関、国際機関、産業界、受

託研究機関、学术界、NGO関係者が出席していた。

OECDは DNT-IVB専門家会議を介して、DNT-IVBの化学物質リスク評価への導入を目指し、DNT-IVBデータを統合・解釈するためのIATA枠組みの開発、化学物質のDNT潜在性を評価するために必要な要素の抽出を試みてきた。

現在、OECD DNT-IVB専門家会議メンバーにより、神経発生各過程の変化を検出する17種類のin vitro試験法が開発されている。2023年には、DNT-IVBの1つ以上のアッセイで476化合物が試験され、81化合物が17すべてのアッセイで試験された。現在ではさらに化合物数は増えており、これらの結果は将来、US EPAのToxCastプログラムに公開される予定である。

これまでDNT-IVBの不確実性として、DNT-IVB内の試験間でのデータ不足、メカニズム情報の限定性、曝露データの不足、試験やデータ解析・解釈における信頼性のばらつきが挙げられていた。しかし、蓄積されてきたケーススタディから、OECD DNT-IVBと他のNAMs（PBPKモデル、ゼブラフィッシュ胚行動試験、オリゴデンドロサイト分化試験、脳オルガノイド、ニューロスフェア手法、脳スライスモデル、cell painting法など）を組み合わせ、AOP（Adverse Outcome Pathways）に基づき統合的試験・評価アプローチ（IATA）を実施することにより、DNT-IVBを用いたDNT評価の可能性を高めてきた。例えば、農薬におけるDNT-IVBの応用として、（1）従来のin vivoデータが欠如または不十分な場合に、データギャップを補う、（2）in vivo結果が不明確な場合に証拠の重みづけ評価（WoE）において有益、（3）毒性学的参照値の導出における不確実性係数の精緻化に利用、（4）相対的な発達神経毒性の検出への利用、が提案されている。これらの結果により、追加の動物実験（OECD TG426）要求の有無を判断するスキームである。

一方、（1）専門家判断に大きく依存すること、（2）AOPが公式に承認されていない場合や、標準化されたIATAの枠組みがない場合、体系的な方法でAOPに基づくIATAを作るには多くのリソースと専門知識が必要であり、新しい評価方法を作るの時間がかかり人材確保も必要なこと、（3）一部の試験法については、結果の解釈に追加のガイドラインが必要であること、（4）定量的な「in vitro」から「in vivo」への外挿を行うために、PBK（生理学的動態）モデルの導入・標準化や計算モデルが必要である、といった課題も明確になってきた。

また、US-EPA、EFSAともにDNT-IVBを含むNAMsデータを予備的にDNT評価に使用し始めたことも報告された。

さらに暫定的ではあるが、DNT評価方法におけるDNT IATAフレームワーク案も提案された（添付資料3）。

- Tier 0 - 計算モデル／ハイスループットバイオアクティビティ による評価対象化学物質の優先順位付け
- Tier 1 - DNT IVB (OECD, 2023) の実施
- Tier 2 - 確認試験／Orthogonal Assays : Tier 1のリプリケート数や試験濃度を増加させること、異なる方法で同じ生物学的プロセスを評価する試験の実施、複数種での試験を含む。
- Tier 3 - Complex models : 脳領域特異的な複雑な3Dモデル、ゼブラフィッシュ胚またはその他の代替種、特定のMIEまたはKEの測定、バリア動態モデル（血液脳関門、胎盤関門）、代謝能の導入を含む。ラットを用いた機序解明を目的とした動物試験も含む。

Tier 4 - 動物試験 : OECD/EPAガイドライン試験
また、ゼブラフィッシュを用いたDNT試験に関して、OECD DNT-IVBには含まれていないが、専門家チームにより検討は継続されている。
改良された統一プロトコール下で、4つのグループにより28化学物質（化学物質名不明）が検証されたが、微小な行動影響の検出には施設間に差異があり、信頼性および再現性に問題が残った。原因追究は継続予定である。ゼブラフィッシュ胚を用いた試験の有用性を高めるためには、ヒトとゼブラフィッシュの行動差異、ゼブラフィッシュ胚の化学物質動態（吸収、代謝、排泄）に関するデータの蓄積が必要と考えられた。

OECD DNT-IVB専門家グループとして、DNT-IVBのDNTリスク評価に導入するためには、
（1）ケーススタディの継続
（2）DNT IATAフレームワークの更新
（3）DNT-IVBのDefined Approachesの決定
（4）Tiered testing および Complex Modelsを用いた適用事例の継続
（5）DNT-IVBの技術移転および再現性の確認
について、検討を継続していくことが明らかになった。
また、技術移管および施設間の検証を進めるために、
（1）DNT-IVBの商業化、（2）OECDガイダンスへのアップデートに向けた議論、（3）規制当局での利用に関連する補完的な側面（例：規制担当者の研修）についても、検討を開始する予定である。

2. DNT陽性・陰性対照物質の選定
昨年度までに精査したOECD DNT-IVB文書に掲載されている動物実験の結果に基づき、170物質についてDNT陽性対照（添付資料1）および陰性対照（添付資料2）のリストを再確認した。
その内訳は下記の通り。

	陽性	陰性
農薬	19	5
化学物質	47	18
医薬品	37	44
合計	103	67

ワークショップ報告書内のケーススタディで記載されていた化学物質は以下の通りであるが、これ以外にも100化合物以上は検討されていた。US-EPAが所有するToxCastデータから公開可能な化学物質が選択されたと考えられる。

- 芳香族OPFR
（トリフェニルリン酸、イソプロピル化フェニルリン酸、2-エチルヘキシルジフェニルリン酸、トリクレシルリン酸、イソデシルジフェニルリン酸、tert-ブチルフェニルジフェニルリン酸）
- ハロゲン化OPFR
（トリス（1,3-ジクロロ-2-プロピル）リン酸、トリス（2-クロロエチル）リン酸）
- ストロビルリン系殺菌剤ピコキシストロビン
- ネオニコチノイド系殺虫剤のチアクロプリド
- ペルフルオロアルキル化合物（PFAS）160種
- L-グルホシネート異性体（DL-グルホシネートの異性体）
- ジクロラン（DCNA）
- デルタメトリン
- フルフェナセト
- アセタミプリド
- acibenzolar-s-methyl

メトホルミン
パラチオン

これらのうち、陽性対照物質リストに掲載されていた化学物質は、チアクロプリド、デルタメトリン、パラチオンの3物質、陰性対照物質リストに掲載されていた化学物質はメトホルミンのみであった。各ケーススタディでは、DNT-IVBに加え、各種NAMs手法（in silico、in vitro、ゼブラフィッシュなど）を導入し検討されたが、各化合物のDNTポテンシャルの有無までは結論付けられていないため、DNT化学物質リストには掲載しなかった。

2025年3月に開催された専門家会議（web会議）において、現行のin vivo 試験から収集された化学物質リストから、技術移転および再現性確認を明確にするためにin vitro試験実施用の被験物質リストを作成することになった。ワークショップではDNT陽性および陰性物質各10化合物（合計20化合物）が提案された。2025年4月にサブグループができ検討の場が作られたが、その後報告はなく、2026年3月にこのグループ解散したと報告を受けた。

3. OECD TG421およびTG422の調査結果

甲状腺ホルモン測定対象動物が成獣動物に加えて出生児についても追加要求されたOECDテストガイドライン改正時期(2018年)を考慮し、2010年から2025年を調査対象期間とした結果、39化合物が評価されていた。

内訳は下記の通り。

	TG422	TG421
TG改正前	26	2
TG改正後	13	0

化合物リストには試験実施時期、遵守したテストガイドライン、甲状腺ホルモン関連項目（T₃、T₄、TSH）、器官重量および病理組織学検査の結果を記した（添付資料4）。なお、T₄濃度は全試験について測定されていたが、他2項目については未測定試験もあった。

甲状腺機能低下によりDNT誘発の懸念が既に議論されている化合物（Perfluorohexadecanoic acid）および内分泌かく乱物質作用が懸念されている化合物（Benzyl salicylate）が各1化合物ずつ含まれていた。

なお、既に作成したDNT陽性・陰性化学物質リストとの重複はなかった。

甲状腺のホルモン濃度変動より病理組織学変化が最も鋭敏なランドマークであるとEFSAは報告したが（EFSA2025 annual report）、本調査結果では、甲状腺ホルモン濃度に変化がなく病理組織学検査において甲状腺濾胞細胞肥大が5化合物に認められた。このうち3剤は肝臓重量増加、肝細胞肥大が認められたことから、肝酵素が関与している可能性は考えられた。残り2剤は親動物の甲状腺ホルモン濃度低下、甲状腺および肝臓重量の増加が認められた（1, 3, 5-Trihydroxybenzene、2-Mercaptobenzimidazole）。

一方、親動物の甲状腺ホルモンが有意に低下した9化合物のうち病理組織学的検査が検出された化合物は先述した2化合物であった。

なお、児動物の甲状腺ホルモン濃度に変化をもたらした化合物は今回調査した39化合物にはなかった。

今後、他試験結果も加味して評価した際に次世代の甲状腺機能への影響が懸念された場合には、児の脳発達への影響を確認するために有用なリストとなった。

D. 結論

OECD DNT-IVB専門家会議およびOECD ワークショップ議事録から情報収集した結果、IATAにおける農薬のDNT証拠の重みづけ（WoE）評価に、17種のDNT-IVB試験データを統合し、階層型の評価過程によりDNTリスク評価を実施することを目標とすることが明らかになった。DNT-IVBのリスク評価への利用方法の方針が明確になったのは大きな成果であった。

DNT陽性対照・陰性対照リストについて、動物実験結果（研究論文も含む）および専門家による化学物質の選択により、陽性対照物質103化合物、陰性対照物質67化合物が選出された。この化学物質リストを用いて2023年の時点では、DNT-IVBの1つ以上のアッセイで476化合物が試験され、17のすべてのアッセイで81化合物が試験された。現在もケーススタディで検証が継続されている。検討化学物質数に加え、水に難溶性の化学物質、培養系に代謝因子を追加すべき化学物質など、留意して選択をしていく必要がある。

妊娠期甲状腺機能低下によるDNT発現に関しても化合物リスト作成が必要であるが、未だ評価法が曖昧であることから、既存試験データの精査も慎重に行うべきである。

本格的なDNT-IVBのリスク評価への導入に向けて、今後も、欧米動向の継続調査が必要であると考えられた。

E. 健康危険情報
なし

F. 研究発

1. 論文発表

1) Kenji Ohya, Shouhei Hirose, Kohei Nishikaku, Takahiro Ohnishi, Kenichi Lee, Sunao Iyoda, Akiko Kubomura, Yukihiro Akeda, Katsumi Mizukami, Tomikatsu Suzuki, Kenji Takinami, Yuhji Taquahashi, Makiko Kuwagata, Satoshi Kitajima, Takashi Inoue, Yukiko Hara-Kudo. Genomic features and pathogenicity of atypical diarrheagenic Escherichia coli from a large foodborne outbreak *International Journal of Food Microbiology* 434 (2025) 111134-

2) 久木友花, 関根秀一, 田村亜紀子, 中川翔太, 額田祐子, 齋藤和智, 小野 敦, 栗形麻樹子, 廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 高橋祐次, 足利太可雄, 山田隆志. 医薬部外品申請におけるNext Generation Risk Assessment (NGRA) の活用に向けた事例研究ーリードアクロスによる2-Isobutoxyethanolの発生毒性予測ー *日本香粧品学会誌* Vol. 49 (4), 264-274 (2025)

3) 西村拓也, 大久保佑亮, 直田みさき, 鈴木唯, 鈴木睦, 渡部一人, 中澤隆弘, 栗形麻樹子, 小野寺博志, 平林容子. バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性評価の課題と展望 ー本邦の承認事例に基づくICH S6ガイドライン改訂に向けた考察ー *Translational and Regulatory Sciences*. accepted (2026. 04. 03)

2. 学会発表

1) 栗形麻樹子：第 65 回日本先天異常学会学術集会 DNT 委員会企画シンポジウム：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「先天異常わが国における化学物質の甲状腺影響評価に関する調査報告」2025. 07. 25（伊勢市）

- 2) 諫田泰成、桑形麻樹子：日本動物実験代替法学会
第 38 回大会シンポジウム 4：甲状腺ホルモンに
関する新たな動物実験代替法の国際動向「甲状腺
ホルモンと発達神経毒性」2025. 11. 03（横浜）

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

添付資料 1 DNT陽性化学物質リスト

添付資料 2 DNT陰性化学物質リスト

添付資料 3 DNT評価におけるIATAフレームワーク案

添付資料 4 甲状腺評価に特化した既存化学物質一覧

添付資料 1
DNT陽性対照物質

添付資料 1

表1 DNT陽性対照物質による17試験種実施状況とその結果 (Appendix A.1Bを改変)

				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Compound	分類	Positive or Negative	Cortical Initiation	Cortical Maturation	Cortical MEA	Cortical Synapto	hN Initiation	hNP1 App	hNP1 Prolif	NPC1	NPC2a	NPC2b	NPC2c	NPC3	NPC4	NPC5	UKN2	UKN4	UKN5
1	Acrylamide	化	Positive	N	N	P	N	N	N	N						N			N	P
2	Allethrin	農	Positive			N														
3	Aluminum	化	Positive																	
4	6-aminonicotinamide	化	Positive	P	N	P	N	N	N	N										
5	Amphetamine	医	Positive	N	N		N	N	N	N										
6	Arsenic	化	Positive	N	N	P	N	N	P	N										
7	Aspartame	化	Positive																	
8	Azacytidine	医	Positive																	
9	Benomyl	農	Positive																	
10	Benzene	化	Positive																	
11	Bisphenol A	化	Positive	N	N	P	N	N	P	N										
12	Bis(tri-n-butyltin)oxide	化	Positive	N	N	P	N	N	P	N										
13	Bromodeoxyuridine	化	Positive																	
14	Butylated hydroxyanisole	化	Positive																	
15	Cadmium	化	Positive	N	N	P	N	N	N	N		P	P	P		P		P	P	P
16	Caffeine	化	Positive	N	N	N	N	N	N	N										
17	Carbamazepine	医	Positive	N	N	N	N	N	N	N										
18	Carbon monoxide	化	Positive																	
19	Chlordecone	農	Positive																	
20	Chlordiazepoxide	医	Positive	N	N	P	N	N	P	N										
21	Chlorinedioxide	化	Positive																	
22	Chlorpromazine	医	Positive	N	N	P	N	N	P	P		N	N	N		N	P	N	N	N
23	Chlorpyrifos	農	Positive	N	N	P	N	N	P	N		N	N	N		N		P	P	N

表1 DNT陽性対照物質による17試験種実施状況とその結果 (Appendix A.1Bを改変)

				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Compound	分類	Positive or Negative	Cortical Initiation	Cortical Maturation	Cortical MEA	Cortical Synapto	hN Initiation	hNP1 App	hNP1 Prolif	NPC1	NPC2a	NPC2b	NPC2c	NPC3	NPC4	NPC5	UKN2	UKN4	UKN5
24	Cocaine	医	Positive	P	N	N	N	N	N	N										
25	Colcemid	化	Positive																	
26	Colchicine	医	Positive	P	N	P	N	P	P	N										
27	Cyclophosphamide	医	Positive	N	N	P	N	N	N	N										
28	Cypermethrin	農	Positive			P														
29	Cytosine Arabinoside	医	Positive	N	N	P	N	N	P	P										
30	DDT, p,p'-	農	Positive																	
31	Deltamethrin	農	Positive	N	N	P	N	N	N	N		P	N	N		P		P	N	P
32	Dexamethasone	医	Positive	P	N	N	N	N	N	N							P			
33	Diazepam	医	Positive	P	P	P	N	N	P	P										
34	Diazinon	農	Positive																	
35	Dieldrin	農	Positive	N	N	P	N	N	P	N										
36	Di-(2-ethylhexyl) phthalate	化	Positive			N														
37	Diethylstilbestrol	医	Positive	N	N	P	N	N	P	N										
38	Dioxin	化	Positive																	
39	Diphenylhydantoin	医	Positive	N	N	P	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
40	Domoic acid	化	Positive			P						N	N	N		N	N	N	N	N
41	Epidermal Growth Factor	化	Positive																	
42	Ethanol	化	Positive																	
43	Ethylene thiourea	化	Positive																	
44	Fluoride	化	Positive	N	N		N	N	N	N										
45	5-Fluorouracil	医	Positive	N	N	P	N	N	P	N										
46	Fluoxetine	医	Positive	N	N	P	N	N	P	N										

表1 DNT陽性対照物質による17試験種実施状況とその結果 (Appendix A.1Bを改変)

	Compound	分類	Positive or Negative	1 Cortical Initiation	2 Cortical Maturation	3 Cortical MEA	4 Cortical Synapto	5 hN Initiation	6 hNP1 Apop	7 hNP1 Prolif	8 NPC1	9 NPC2a	10 NPC2b	11 NPC2c	12 NPC3	13 NPC4	14 NPC5	15 UKN2	16 UKN4	17 UKN5
47	Haloperidol	医	Positive	P	N	P	N	P	P	N		P	P	P		P		N	P	P
48	Halothane	医	Positive																	
49	Heptachlor	農	Positive	N	N	P	N	N	P	N										
50	Heroin	農	Positive																	
51	Hexachloro benzene	化	Positive																	
52	Hexachlorophene	医	Positive	P	N	P	N	N	P	P		P	P	P		P		P	P	P
53	Hydroxyurea	化	Positive	N	N	P F, S	N	N	P	N										
54	Iminodipropionitrile	医	Positive			N S														
55	Ketamine	化	Positive	N	N	P	N	P	N	N		N	N	N		N		N	N	N
56	Lead	化	Positive	N	N	P	N	N	N	N		N	N	N				P		
57	Lidocaine	医	Positive																	
58	Lindane	農	Positive			P														
59	Lysergic acid diethylamide	医	Positive																	
60	Maneb	農	Positive	N	N	P	N	N	N	N		N	N	N		N	P	P	P	P
61	Manganese	化	Positive	N	N	N F, S	N	N	N	N		N	N	N				P		P
62	MDMA	医	Positive																	
63	Methadone	医	Positive																	
64	Methanol	化	Positive																	
65	Methimazole	医	Positive			P F, S														
66	Methotrexate	医	Positive	N	P	P	P	N	N	N										
67	Methylazoxymethanol	化	Positive								P					N			P	P
68	Methylmercury	化	Positive	P	P	P	N	N	P	N	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P
69	Methyl parathion	農	Positive																	

表1 DNT陽性対照物質による17試験種実施状況とその結果 (Appendix A.1Bを改変)

	Compound	分類	Positive or Negative	1 Cortical Initiation	2 Cortical Maturation	3 Cortical MEA	4 Cortical Synapto	5 hN Initiation	6 hNP1 Apop	7 hNP1 Prolif	8 NPC1	9 NPC2a	10 NPC2b	11 NPC2c	12 NPC3	13 NPC4	14 NPC5	15 UKN2	16 UKN4	17 UKN5
70	Monosodium glutamate	化	Positive																	
71	MPTP	医	Positive																	
72	Naloxone	医	Positive	N	N	P	N	N	N	N										
73	Naltrexone	医	Positive																	
74	Nicotine	医	Positive	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
75	Ozone	化	Positive																	
76	Paraquat	農	Positive	P	N	P	N	N	N	P		P	N	N		P	P	P	P	P
77	Parathion	農	Positive			N S														
78	Penicillamine	医	Positive																	
79	Perchlorate	化	Positive								P					N			P	P
80	Perfluoroalkyls (PFOA, PFOS)	化	Positive																	
81	Permethrin	農	Positive	N	N	P F, S	N	N	N	N										
82	Phenobarbital	医	Positive	N	N	N F, S	N	N	N	N										
83	Phenylacetate	化	Positive																	
84	Polybrominated diphenyl ethers	化	Positive	N	N	P	N	N	N	N		N	N	N		N	P	P	P	P
85	Polychlorinated biphenyls	化	Positive																	
86	Propranolol	医	Positive																	
87	Propylthiouracil	医	Positive	N	N	P	N	N	N	N										
88	Retinoic acid	医	Positive	P	N	P	N	P	N	N		N	N	N		P		P	P	N
89	Tebuconazole	農	Positive	N	P	P	P	N	P	N							P			
90	Tellurium	化	Positive																	
91	Terbutaline	医	Positive	N	P	N	P	N		P										
92	Tetrachloroethylene	医	Positive																	

添付資料 2

D N T陰性対照物質

表2 DNT陰性対照物質による17試験種実施状況とその結果 (Appendix A.1Bを改変)

				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Compound	分類	Positive or Negative	Cortical Initiation	Cortical Maturation	Cortical MEA	Cortical Synapto	hN Initiation	hNP1 Apop	hNP1 Prolif	NPC1	NPC2a	NPC2b	NPC2c	NPC3	NPC4	NPC5	UKN2	UKN4	UKN5
1	Acetaminophen	医	Negative	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	Acetylsalicylic acid	医	Negative			N S					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	Amicillin	医	Negative																	
4	Amitriptyline	医	Negative																	
5	Amoxicillin	医	Negative	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
6	Anthracene	農	Negative																	
7	Ascorbic acid	化	Negative			N S														
8	Atropine	医	Negative																	
9	Bismuth	化	Negative																	
10	Buspirone	医	Negative								N	N	N	N	N	N	(N)	N	N	N
11	Captopril	医	Negative	N	N		N	N	N	N	P									
12	Chloramben	農	Negative	N	N		N	N	N	N										
13	Chlorpheniramine	医	Negative								N	N	N	N	N	N	P	N	N	N
14	Cotinine	化	Negative	N	N		N	N	N	N										
15	Dabigatran	医	Negative																	
16	Deferoxamine mesylate	医	Negative																	
17	Deprenyl	医	Negative																	
18	Diethylene glycol	化	Negative	N	N		N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
19	Dimethylformamide	化	Negative																	
20	Dimethyl sulfoxide (DMSO)	化	Negative																	

表2 DNT陰性対照物質による17試験種実施状況とその結果 (Appendix A.1Bを改変)

				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Compound	分類	Positive or Negative	Cortical Initiation	Cortical Maturation	Cortical MEA	Cortical Synapto	hN Initiation	hNP1 Apop	hNP1 Prolif	NPC1	NPC2a	NPC2b	NPC2c	NPC3	NPC4	NPC5	UKN2	UKN4	UKN5
21	Dinitrofur	農	Negative																	
22	Diphenhydramine	医	Negative																	
23	Doxylamine succinate	医	Negative									N	N	N	N	N	P	N	N	N
24	Erythromycin	医	Negative			N S														
25	Famotidine	医	Negative									N	N	N	N	N	N	N	N	N
26	Fipronil	農	Negative																	
27	Fluconazole	医	Negative	N	N		N	N	N	N										
28	Folic acid	医	Negative			P S														
29	Furosemide	医	Negative																	
30	Galactosamine hydrochloride	化	Negative																	
31	Glucosamine	化	Negative																	
32	Glycerol	化	Negative			N S										N			P	N
33	Glyphosate	農	Negative	N	N	N	N	N	N	N										
34	Ibuprofen	医	Negative								N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
35	Isoniazid	医	Negative	N	N		N	N	N	N										
36	Lactose	化	Negative																	
37	Levetiracetam	医	Negative																	
38	Loperamide	医	Negative	N	N		P	N	P	N										
39	Mannitol, D-	化	Negative			N S					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
40	Metformin	医	Negative								N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

表2 DNT陰性対照物質による17試験種実施状況とその結果 (Appendix A.1Bを改変)

				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Compound	分類	Positive or Negative	Cortical Initiation	Cortical Maturation	Cortical MEA	Cortical Synapto	hN Initiation	hNP1 Apop	hNP1 Prolif	NPC1	NPC2a	NPC2b	NPC2c	NPC3	NPC4	NPC5	UKN2	UKN4	UKN5
41	Metoclopramide	医	Negative																	
42	Metoprolol	医	Negative								N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
43	Mifepristone	医	Negative																	
44	Naloxone	医	Negative																	
45	Omaprazole	医	Negative																	
46	Penicillin VK	医	Negative								N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
47	Phenol	化	Negative	N	N		N	N	N	N										
48	Pomalidomide	医	Negative																	
49	Propylene glycol	化	Negative			N														
50	Propylthiouracil	医	Negative																	
51	RU38486	医	Negative																	
52	Saccharin	化	Negative	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
53	Selegiline hydrochloride	医	Negative																	
54	Seroquel	医	Negative																	
55	Sodium benzoate	化	Negative	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
56	Sorbitol, D (glucitol, D)	化	Negative	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
57	Statins	医	Negative																	
58	Sulfisoxazole	医	Negative																	
59	Sumatriptan	医	Negative																	
60	Testosterone	医	Negative																	

表2 DNT陰性対照物質による17試験種実施状況とその結果 (Appendix A.1Bを改変)

				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Compound	分類	Positive or Negative	Cortical Initiation	Cortical Maturation	Cortical MEA	Cortical Synapto	hN Initiation	hNP1 Apop	hNP1 Prolif	NPC1	NPC2a	NPC2b	NPC2c	NPC3	NPC4	NPC5	UKN2	UKN4	UKN5
61	Tetracycline	医	Negative			N														
62	Tiotropium	医	Negative																	
63	Trolox	化	Negative																	
64	Ursodeoxycholic acid	医	Negative																	
65	Verapamil	医	Negative																	
66	Warfarin	医	Negative									N	N	N		N	N	N	N	N
67	zVAD-fmk	化	Negative																	

・Based on animal (x) and/or human (h) data ・positive→「P」、negative→「N」、S; Shaferらの論文に記載、

添付資料 3

フレームワーク案

—DNT-IVB 評価を含めた階層型 DNT 評価案—

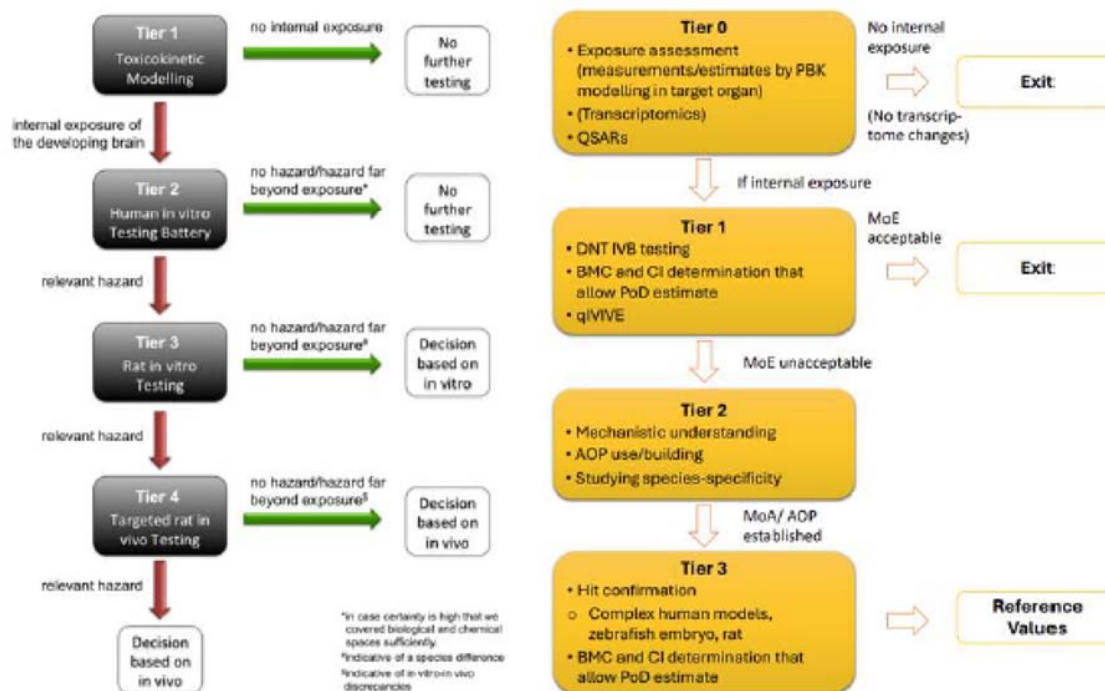


Fig. 1: Proposed Tiered Approaches for DNT containing DNT IVB evaluation. A. A tiered testing approach was suggested in Masjosthusmann et al. (2020). B. The current tiered approach explored at the October 2025 OECD workshop for the embedding of the DNT IVB into tiered approach. For explanation, please see text.

添付資料 4
甲状腺ホルモン測定結果

	化合物名	CAS No.	TG no.	報告年	甲状腺ホルモン変動		臓器重量 (視動物)		病理組織学検査	
					成獣	児動物	甲状腺	肝臓	甲状腺	肝臓
1	Diethyl maleate	141-05-9	TG421	2012	NS	NE	→	↑↑♂	ND	ND
2	Methyltriethoxysilane	2031-67-6	TG421	2012	↓	NE	↑↑♂♀	↑↑♂♀	ND	ND
3	2-[2-(Methoxymethylethoxy)methylethoxy]propanol	25498-49-1	TG422	2025	↓	NS	↑↑♀ (交配群) (用量依存性なし)	↑↑♂♀	ND	ND
4	1-Methoxy-3-(3-methoxypropoxy)propane	111109-77-4	TG422	2022	↓	NS	→	↑↑♂♀	ND	ND
5	1,4-Bis(isopropylamino)anthraquinone	14233-37-5	TG422	2012	NS	NE	→	↑↑♂♀	ND	肝細胞肥大
6	Poly(1,1-difluoroethylene)	24937-79-9	TG422	2012	NS	NE	→	→	ND	ND
7	2-{2-[(2-Ethylhexyl)oxy]ethoxy} ethanol	1559-36-0	TG422	2022	↓	NS	→	↑↑♂♀	ND	肝細胞肥大
8	2-tert-Butylcyclohexyl acetate	88-41-5	TG422	2013	NS	NE	→	↑↑♂♀	濾胞細胞の肥大	肝細胞肥大
9	2-Aminoethanesulfonic acid (Taurine)	107-35-7	TG422	2011	NE	→	→	→	ND	ND
10	2-Ethylhexyl palmitate	29806-73-3	TG422	2022	NS	NS	→	→	ND	ND
11	2,2'-[Ethane-1,2-diylbis(oxymethylene)]bis(oxirane)	2224-15-9	TG422	2013	NS	NE	↑↑♂ (用量依存性なし)	→	ND	ND
12	2,4-Dimethylbenzenesulfonic acid	88-61-9	TG422	不明	NS	NE	→	→	ND	肝細胞肥大
13	3-Methylpentane	96-14-0	TG422	2020	NS	NE	↓↓♀ (交配群) (用量依存性なし)	↑↑♂♀	ND	ND
14	4-Chlorobenzoyl chloride	122-01-0	TG422	2011	NS	NE	→	→	ND	ND
15	Bis(2-ethylhexyl) 4-cyclohexene-1,2-dicarboxylate	2915-49-3	TG422	2011	NS	NE	→	↑↑♂♀	ND	肝細胞肥大
16	4-Methylpyridine	108-89-4	TG422	2013	NS	NE	→	→	ND	肝細胞肥大
17	4-Methylbenzyl alcohol	589-18-4	TG422	2022	↓	NS	→	↑↑♂♀	ND	ND
18	4,4'-Bis(chloromethyl)-1,1'-biphenyl	1667-10-3	TG422	2011	NS	NE	→	↑↑♀	ND	ND
19	6H-Dibenzo[c,e][1,2]oxaphosphorin-6-oxide	35948-25-5	TG422	2011	NS	NE	→	→	ND	ND
20	N-[(2-Methylpropoxy)methyl]acrylamide	16669-59-3	TG422	2023	NS	NS	↑↑♀ (背景データの範囲内)	↑↑♂♀	ND	ND
21	Isooctane	26635-64-3	TG422	2020	NS	NS	→	↑↑♂♀	濾胞細胞の肥大	ND
22	Isotridecyl stearate	31565-37-4	TG422	2014	NS	NE	↑↑♂ (用量依存性なし)	↑↑♀	ND	ND
23	Isononane	34464-40-9	TG422	2020	NS	NS	↑↑♂ (用量依存性なし)	↑↑♂♀	ND	ND
24	Isohexane	73513-42-5	TG422	2021	NS	NS	→	→	ND	ND
25	Ethyl(dimethyl)(tetradecyl)ammonium ethyl sulfate	19309-23-0	TG422	2020	NS	NS	→	→	ND	ND
26	Octanoic acid	124-07-2	TG422	2013	NS	NE	→	→	ND	ND
27	Benzyl salicylate	118-58-1	TG422	2017	↓	NS	→	↑↑♂、↑↑♀ (交配群)	ND	ND
28	Thiophenol	108-98-5	TG422	2011	NS	NE	→	↑♂♀ (交配群)	ND	ND
29	Dodecylloxirane	3234-28-4	TG422	2021	NS	NS	→	↑↑♂♀	ND	ND
30	Sodium 2-hydroxypropanoate	312-85-6	TG422	2011	NS	NE	→	↑↑♀ (交配群)	ND	ND
31	Bis(3,5-dibromo-4-(dibromopropoxy)phenyl)sulfone	42757-55-1	TG422	2012	NS	NE	→	→	ND	ND
32	Propylene tetramer	6842-15-5	TG422	2013	NS	NE	↑↑♀	↑↑♂♀	濾胞細胞の肥大	肝細胞肥大
33	Perfluorohexadecanoic acid	67905-19-5	TG422	2012	↓	NS	↑↑♂	↑↑♂	ND	肝細胞肥大
34	Poly(oxymethylene)	30525-89-4	TG422	2021	NS	NS	→	→	ND	ND
35	Polyoxyethylene sorbitan trioleate	9005-70-3	TG422	不明	NS	NE	→	↑↑♀	ND	ND
36	Methyl hexadecanoate	112-39-0	TG422	2021	NS	NS	→	→	ND	ND
37	Methylcyclohexane	108-87-2	TG422	2013	NS	NE	→	↑↑♀	ND	ND
38	1,3,5-Trihydroxybenzene	108-73-6	TG422	2014	↓	NS	↑↑♂♀	→	濾胞細胞の肥大	ND
39	2-Mercaptobenzimidazole	583-39-1	TG422	2012	↓	NS	↑↑♂♀	→	濾胞細胞の肥大	ND

NE: Not examined, ND: Not detected, NS: Not significant