

## 調査・資料

## 化学物質のリスク評価における肝肥大の取扱いの基本的考え方

(平成26年10月14日受理)

吉田 緑<sup>1,\*</sup> 梅村隆志<sup>1</sup> 小島弘幸<sup>2</sup> 井上 薫<sup>1</sup> 高橋美和<sup>1</sup> 浦丸直人<sup>3</sup>  
北村繁幸<sup>3</sup> 安部賀央里<sup>4</sup> 頭金正博<sup>4</sup> 小澤正吾<sup>5</sup> 吉成浩一<sup>6</sup>

## Basic Principles of Interpretation of Hepatocellular Hypertrophy in Risk Assessment in Japan

Midori YOSHIDA<sup>1,\*</sup>, Takashi UMEMURA<sup>1</sup>, Hiroyuki KOJIMA<sup>2</sup>, Kaoru INOUE<sup>1</sup>, Miwa TAKAHASHI<sup>1</sup>, Naoto URAMARU<sup>3</sup>,  
Shigeyuki KITAMURA<sup>3</sup>, Kaori ABE<sup>4</sup>, Masahiro TOHKIN<sup>4</sup>, Shogo OZAWA<sup>5</sup> and Koichi YOSHINARI<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences:  
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501 Japan;

<sup>2</sup>Food Safety Group, Hokkaido Institute of Public Health:  
N19, W12, Kita-ku, Sapporo 060-0819, Japan;

<sup>3</sup>Department of Environmental Science, Nihon Pharmaceutical University:  
10281 Komuro, Ina-machi, Kitaadachi-gun, Saitama 362-0806, Japan;

<sup>4</sup>Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University:  
3-1 Tanabedouri, Mizuho-ku, Nagoya 467-8603, Japan;

<sup>5</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Iwate Medical University:  
2-1-1 Nishitokuta, Shiwa-gun, Iwate 028-3694, Japan;

<sup>6</sup>School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka:  
52-1 Yada, Suruga-ku, Shizuoka 422-8526, Japan;

\* Corresponding author

This article provided a scientific basis for determining whether liver hypertrophy, a common change in the liver induced by xenobiotics in toxicological studies, is an adaptive or adverse event. To maintain homeostasis in the whole organism, the liver frequently responds to xenobiotic exposure by increasing metabolic capacity *via* nuclear receptor activation. The resulting hepatic adaptive responses (hepatocellular hypertrophy and increased relative liver weight) are potentially beneficial to the organism in providing increased capacity to respond to chemical-induced stress. However, excessive responses should be recognized as adverse. Practically, hepatocellular hypertrophy leading to the following alterations should be considered adverse: 1) hepatocellular degeneration/necrosis, whether or not accompanied with inflammatory reaction, 2) changes indicating damage to biliary tracts, 3) disruption of fat metabolism, 4) pigmentation, 5) deviation from typical localization or morphological features of hypertrophied hepatocytes.

(Received October 14, 2014)

**Key words:** 肝肥大 liver hypertrophy; 肝細胞肥大 hepatocellular hypertrophy; 薬物代謝酵素 drug metabolizing enzyme; 生体の恒常性 homeostasis in the whole organism; 一日許容摂取量 acceptable daily intake (ADI)

\* 連絡先 midoriy@nihs.go.jp

<sup>1</sup> 国立医薬品食品衛生研究所病理部: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

<sup>2</sup> 北海道立衛生研究所食品科学部: 〒060-0819 札幌市北区北19条西12丁目

<sup>3</sup> 日本薬科大学薬学部: 〒362-0806 埼玉県北足立郡伊奈町小室10281

<sup>4</sup> 名古屋市立大学大学院薬学研究科: 〒467-8603 名古屋市瑞穂区田辺通3-1

<sup>5</sup> 岩手医科大学薬学部: 〒028-3694 岩手県紫波郡矢巾町西徳田2-1-1

<sup>6</sup> 静岡県立大学薬学部: 〒422-8526 静岡市駿河区谷田52-1

## 1. 緒 言

## 1.1 目 的

食品を介して摂取する化学物質のリスク評価にあたり、動物を用いた毒性試験で最も一般的に観察される変化である肝肥大 liver hypertrophy について生体の適応反応であるのか、毒性影響 (有害作用) であるのかを判断するための科学的な考え方の基本を提示する。

## 1.2 背景

### (1) 国内外の評価機関および学術団体における肝肥大の考え方に関する動向

肝肥大（肝細胞肥大あるいは肝臓重量の増加）は実験動物を用いた毒性試験で、化学物質による影響として最も一般的に認められる変化である。また肝細胞が外的因子に対して生体の恒常性を維持するための機能亢進は、化学物質による影響ではあるが、生体にとって有害なのか否かという議論は、10年以上前から国内外の化学物質の毒性評価で問題となってきた。

国際的な農薬の評価機関である国際連合食糧農業機関/世界保健機構合同残留農薬専門家会議（Joint FAO/WHO Meeting on Pesticides and Residues; JMPR）は、2006年に肝肥大の毒性学的意義に関するガイダンスドキュメントを発表した<sup>1)</sup>。そのガイダンスでは、生体の恒常性が維持されている限りにおいて肝細胞肥大は適応性変化であり毒性影響ではないが、肝臓の病理組織学的検査において肝細胞傷害や血液生化学的検査で肝毒性関連項目の異常等、肝障害性が検出された場合は、生体の恒常性が破たんした状態であるとして、肝細胞肥大を毒性と判断すべきであると記載されている。化学物質や農薬のリスク評価を行っている米国環境保護庁も肝肥大に関するガイダンスを発表している。その内容は、肝障害性のない肝細胞肥大は適応と考え、毒性とはみなさない点でJMPR等とおおむね一致している<sup>2)</sup>。また、日米欧の肝臓を専門とする毒性病理学者によって開催された肝肥大に関するthe 3rd International ESTP Expert Workshopのまとめでは、より詳細に肝肥大に関連する個々の項目ごとに肝肥大との関連性が記載されており、結論としてはJMPRと同様、肝障害を伴わない肝細胞肥大は毒性影響でなく、適応性変化とすべきと述べられている<sup>3)</sup>。また、医薬品においては公表されているガイダンス文書はないが、医薬品の安全性評価を実施している独立行政法人医薬品医療機器総合機構のホームページから得られる医薬品等の毒性に関する資料（<http://www.info.pmda.go.jp/approvalSrch/ApprovalSrch>）では、毒性試験において観察された肝障害性のない肝細胞肥大は適応性変化として記載されていることから、肝障害のない肝細胞肥大を適応と考える点においては欧米および日本の医薬品評価機関でおおむね一致した見解が得られていると思われる。

### (2) 肝肥大の基本的な考え方の必要性

食品中の化学物質のリスク評価を行っている食品安全委員会からは肝肥大に関するガイダンスは現時点において示されていないが、肝肥大は食品を介してヒトが摂取する多くの化学物質で実験動物に誘発される変化であることから、肝肥大に関する一定の考え方の整理が必要と考える。そこで本稿は、同委員会によるガイダンス作成に資するよう、肝肥大の取扱いに関する基本的考え方を示すことを目的とする。肝肥大の毒性学的意義を科学的見地から明らかにすることは、化学物質の毒性の理解に役立つだけでな

く、ヒト健康影響評価時の根幹をなす一日許容摂取量等の決定に直接関連することから、リスク評価上必要である。

## 2. 化学物質のリスク評価における肝肥大の取扱いの基本的考え方

### 2.1 肝肥大の定義

肝肥大とは、外的因子に応答して肝細胞の機能が亢進した結果、肝細胞の細胞質が肥大（肝細胞肥大hepatocellular hypertrophy）し、その結果、肝臓の重量が増加することである。肝細胞肥大と肝重量の関連性については2.5節に後述するが、本稿では肝臓重量増加および肝細胞肥大の双方あるいはいずれかが認められた場合を肝肥大として記載し、肝細胞の形態学に関する箇所については肝細胞肥大として記載した。

#### (1) 形態学的な定義

光学顕微鏡レベルで個々の肝細胞の大きさが増大することを指す。容積を増した肝細胞の細胞質は、正常と比較しスリ硝子状あるいは微細顆粒状の好酸性細胞質として認められることが多い。電子顕微鏡学的には肝細胞の細胞質内の滑面小胞体smooth Endoplasmic Reticulum (sER)あるいはマイクロボディmicrobodyの増加として認められる。以下に記す薬物代謝酵素誘導を伴う肝細胞肥大では、小葉中心部から肝細胞肥大が観察され、その程度の増加とともに中間帯へと広がり、最終的には小葉全体にびまん性に認められることが多い。ペルオキシゾーム増殖による肝肥大では小葉全体にわたるびまん性の肝細胞肥大として認められることが多い。組織学的に肝細胞肥大は、水腫性変性、脂肪やグリコーゲン蓄積による肝細胞の大型化とは区別される。

#### (2) 機能的な定義

肝細胞肥大は、生体内に取り込まれた生体外異物に対して、生体はその機能の恒常性を保持するため、肝細胞の薬物代謝酵素を誘導し、生体外異物に対する代謝能を上げて対応した結果である。このような適応反応は、生体外異物応答性の核内受容体を介した経路を介することが多く、関連遺伝子の発現亢進を経て代謝酵素タンパク質の合成亢進へと進む。この適応反応は可逆性であり、生体にとって望ましい反応であると考えられる。

### 2.2 肝細胞肥大の意義に関する基本的考え方

生体外異物暴露に応答した、生体の恒常性を維持するための肝細胞の機能亢進が肝細胞肥大であることから、生体の恒常性が維持されている限りにおいて肝細胞肥大は適応性変化であり毒性影響ではないと考えられる。同時に生体の恒常性維持機能には限界があり、この限界を越えた場合には生体の恒常性が破たんしたものと考えられ、その場合の肝細胞肥大は肝障害を示す1つの変化と判断すべきである。

この肝肥大に対する考え方は、国内外のリスク評価機関、JMPR 2006<sup>1)</sup>およびUSEPA<sup>2)</sup>のガイダンスドキュメント、ならびに日米欧の肝臓の毒性病理学者による肝肥大

に関するワークショップの結論<sup>3)</sup>と同様である。

### 2.3 化学物質と薬物代謝酵素誘導

薬物代謝酵素誘導は、肝細胞肥大に先駆けてしばしば認められる細胞内小器官での変化であり、酵素誘導そのものは生体の恒常性維持のための適応反応であり、一般的に毒性反応とは考えられない。これらの反応はconstitutive androstane/active receptor (CAR), pregnane X receptor (PXR), peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR $\alpha$ )等の核内受容体の活性化を介した経路で起こることが多い。化学物質による薬物代謝酵素誘導における特徴の1つとして、ある特定の酵素(分子種)のみが誘導されることは稀で、数種類の酵素(分子種)が同時に誘導されることがある。主として誘導される薬物代謝酵素の種類(分子種)は、化学物質によって異なり、誘導される酵素(分子種)の種類および量は、投与量あるいは投与期間によっても異なる。また、薬物代謝酵素の誘導には種差が認められることが多い。したがって、毒性評価においては、1つの酵素(分子種)の誘導の検索ではなく、複数の酵素(分子種)を経時的に検索することにより誘導された酵素群のバランスを見極めること、すなわち化学物質ごとの酵素誘導の特徴を把握することが重要である。

### 2.4 毒性とすべき肝肥大について

上述のように、基本的に肝細胞肥大は肝細胞における生体の恒常性維持のための適応反応であると考えられるが、同時に生体の恒常性機能破たんを示す変化が観察された場合は肝臓に障害が生じていると判断すべきである。また化学物質は複数の経路を介して肝臓へ影響を及ぼすことも多いため、肝肥大と肝障害の関連が明らかでない場合もある。肝肥大とともに以下の変化が肝臓に認められた場合は、肝臓に障害が生じている可能性があることから、肝肥大が毒性影響に関連しているとみなすべきか判断する必要がある。

#### (1) 肝細胞の壊死(単細胞壊死を含む)とそれに関連した炎症性反応指標に変化があった場合

肝細胞肥大として現れる肝細胞内の恒常性維持機能が限界に達して破たんした場合、肝細胞は傷害され細胞死に陥る。これらの破たんの結果は、形態学的には肝細胞の変性や壊死(単細胞壊死を含む)およびそれらに対する炎症性反応として認められる。炎症の慢性化により線維化や肉芽腫形成等が加わることもある。

血液生化学的には肝細胞が破綻することにより細胞外へ逸脱する酵素アラニンアミノトランスフェラーゼalanine aminotransferase (ALT)の増加が最も鋭敏である。

ALTと同様の逸脱酵素であるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼaspartate aminotransferase (AST)の増加、あるいは肝細胞のミクロソーム酵素であるアルカリフォスファターゼalkaline phosphatase (ALP)の増加も肝細胞障害指標となりうる。ただし、ALPは肝障害だけでなく、肝臓以外のアインザイムによっても変動する。特に毒性試験で使用するイヌは成長期にあり、骨由来の

ALPが変動する時期と一致するため、イヌにおけるALPの変化が肝毒性を反映しているかどうかは慎重に見極める必要がある。

#### (2) 肝肥大に胆道系の変化を伴う場合

胆管系の変化を示す病理組織学的所見が肝肥大とともに認められる場合がある。それらの変化は、病理組織学的には胆管あるいは胆道系組織の変性/壊死、炎症反応あるいは胆管過形成等として、血液生化学的にはビリルビンbilirubin,  $\gamma$ グルタミルトランスペプチターゼ $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase (GGT)の増加等として認められる。これらの変化と肝細胞肥大との直接的な関連性を明らかにすることは難しいが、胆道系への毒性影響と肝肥大の発生機序が関連している可能性を否定できない場合は、胆道系の異常を示すこれらの変化に併発した肝肥大が毒性影響である可能性を考える必要がある。

#### (3) 肝肥大に脂質代謝系の変化を伴う場合

肝細胞内の脂肪蓄積を示す病理組織学所見が肝肥大とともに認められる場合がある。血液生化学項目では中性脂肪あるいはコレステロールの増加といった脂質代謝系の関連項目の変化が認められる。また、肝細胞の脂肪蓄積は上述の肝細胞の変性・壊死、炎症反応とともに観察されることもある。肝細胞肥大との直接的な関連性を通常の毒性試験検査で明らかにすることは困難な場合が多いが、これらの検査項目の変化は肝臓の脂質代謝系の異常に基づくことが多いと考えられることから、肝肥大と同時にこれらの検査値の増加や病理組織学的変化が観察された場合には、肝肥大が毒性影響に関連している可能性を考える必要がある。

#### (4) 肝肥大に色素沈着等を伴う場合

肝細胞あるいはクッパー細胞等単球食細胞系の細胞質内の褐色色素沈着等の病理組織学的所見が肝肥大とともに認められる場合がある。ヘモジデリン、ポルフィリン、リポフスチン、胆汁等、色素の種類によって沈着する成因はさまざまである。ポルフィリンの沈着は肝細胞内でのヘム代謝の変化を、リポフスチン沈着は肝細胞の脂質過酸化の亢進による消耗あるいは加齢を示唆するが、ヘモジデリン沈着増加は生体内で生じた溶血に対する反応であることが多い。通常の毒性試験検査でこれら色素沈着と肝細胞肥大との関連性を明らかにすることは困難な場合が多いが、生体内あるいは肝臓での毒性変化の結果として色素沈着が増加することが多いと考えられることから、肝肥大と同時にこれらの変化が認められた場合には、肝肥大が毒性影響に関連している可能性を考える必要がある。

#### (5) 形態学的にタイプの異なる肝細胞肥大が誘発された場合

肝薬物代謝酵素誘導またはPPAR活性化に伴って観察される肝細胞肥大と病理組織学的に異なるタイプの肝細胞肥大が誘発された場合には、機序試験等でその肝細胞肥大が肝障害性でないことを確認できる十分な確証がない限り、その肝細胞肥大は肝障害の可能性を考えるべきである。具体的には病理組織学的に門脈周囲性に肝細胞肥大が認めら

れた場合、あるいは光学顕微鏡でスリ硝子状や微細顆粒状の細胞質を伴う肝細胞肥大ではなく、風船様の大型肝細胞や水腫性変性が認められる場合、電子顕微鏡下においてsERやマイクロボディ増生以外の細胞内小器官の変化を主とする肝細胞肥大が観察された場合には、それらの肝細胞肥大を毒性影響として考慮する必要がある。

タイプの異なる肝細胞肥大の見極めは、多くの場合病理組織学的手法によることから、個々の毒性試験において肝細胞肥大が生じている部位や肝細胞の形態学的特徴が記載されていることが、肝肥大のリスク評価における判定に重要な情報となる。

### 2.5 肝臓重量との関連性

化学物質により誘導された肝細胞肥大の多くの例では、肝臓重量の増加を伴う場合が多い。肝肥大は個々の肝細胞肥大を発端として生ずるが、僅かな肝細胞肥大を病理形態学的に捉えることは、質的な解析手法、すなわち形態学的な差により周囲組織と判別を行う病理学的評価の性格上、毒性病理専門家であってもしばしば困難である。むしろ通常の毒性試験で測定される臓器重量の統計学的な有意差によって肝肥大が鋭敏に検出される場合もある。毒性試験では被験物質投与による体重変化がしばしば観察されることから、体重による影響を考慮した肝臓の重量（体重に対する相対肝重量）のほうが重量変化を鋭敏に反映している。したがって、投与による肝臓重量増加は、相対重量の変化で判定すべきである。しかし臓器重量の個体差が大きい非げっ歯類では、絶対重量の変化が肝臓重量の変化を反映する場合もあるので、注意すべきである。

病理形態学的な肝細胞肥大を伴わない肝臓重量の増加が高用量投与群のみにおいて認められた場合には、病理組織学的には確認できない肝細胞肥大の可能性もあるが、体重増加抑制を示す高用量群では体重増加抑制に対する二次的な影響である可能性もある。毒性影響とする場合はその根拠を示す必要がある。

## 3. 毒性評価上考慮すべき点

### 3.1 高用量で肝障害が認められた場合、低用量の肝肥大は肝障害の初期変化として毒性とすべきか？

毒性試験において、高用量で肝障害が生じたが、低用量においては肝細胞の変性／壊死や炎症性変化等の病理組織学的変化および肝毒性を示す血液生化学的指標を伴わない場合は、低用量で生じた肝肥大は生体の恒常性維持機能の範囲内にあると判断して、毒性影響ではない適応反応と考えることができる。このような判断を下すためには、病理形態学的所見の詳細や血液生化学的検査結果に対する総合的な解析が必要である。

### 3.2 肝臓重量増加を伴わない肝細胞肥大

毒性試験の評価において肝臓重量が増加しない用量で病理組織学的に認められる肝細胞肥大は軽微な変化であることが多い。肝障害を示す病理形態学的変化あるいは血液生化学的指標の変化がない場合には、そのような肝細胞肥大

は適応反応と考えられ、毒性影響とはしない。

### 3.3 非げっ歯類で観察される肝肥大

生体の恒常性維持に伴う肝細胞肥大は、げっ歯類のみに特徴的な反応ではなく、非げっ歯類でも生じうる変化である。したがって本稿における肝肥大の考え方は、一般的に毒性試験に用いられるすべての動物種に適用可能と考えられる。

### 3.4 一過性の肝肥大

肝肥大が、短期投与の毒性試験で観察されるが、長期投与では同用量であっても観察されないことがある。これは肝肥大が適応反応である証拠の1つである。ただし、長期投与で観察されない肝肥大であっても、短期試験で観察された肝肥大が上述に記載したような肝障害を示す変化を伴う場合には、そのような肝肥大を毒性影響とみなすことが妥当と考えられる。

### 3.5 甲状腺の変化を伴う場合の肝肥大

肝肥大を誘発する化学物質では、甲状腺重量増加あるいは胞上皮肥大・過形成を伴う場合がある。毒性評価に際しては、まず甲状腺の変化が、投与物質の甲状腺に対する直接的な作用の結果であるか、あるいは肝臓における第II相薬物代謝酵素誘導を介した二次的な変化であるかを見極める必要がある。

甲状腺の変化が、肝臓における第II相薬物代謝酵素誘導による甲状腺ホルモン代謝亢進に伴う、二次的な甲状腺刺激ホルモンthyroid stimulating hormone (TSH)の増加と甲状腺胞上皮肥大・過形成である場合は、肝臓の恒常性維持機能が正常範囲を超えて肝臓にとどまらず全身の恒常性維持機能を変調させ、下垂体・甲状腺機能の異常として全身にまで及んだと考えられることから、肝肥大および甲状腺の変化をととも毒性影響として取扱うべきである。

肝臓における薬物代謝酵素誘導による二次的な甲状腺への影響は、血中の結合タンパク質の種差と関係しており、げっ歯類では感受性が高いとされている。しかし、これまで公表されている農薬評価書の解析によると、肝肥大を伴う甲状腺の変化（胞上皮肥大／過形成または甲状腺重量増加）は、げっ歯類のみならずイヌでも認められている事例もある。種を超えて発現する肝肥大を介した甲状腺変化の機序については解明されていない点が残されている。したがって、甲状腺への影響を伴う肝肥大が種を超えて誘発された場合、これらの影響のヒトへの外挿については、げっ歯類のみで甲状腺への影響を伴う肝肥大が観察された場合とは区別して考えるべきである。

### 3.6 血液生化学的検査結果

毒性試験の血液生化学的検査では肝障害の指標を含め多くの項目が測定されている。各種検査項目の変化については、有意差のみを判断基準とはせず、いずれの項目もその週齢における正常範囲や、試験実施施設内での背景データを十分考慮したうえで、投与による影響の有無を評価することが望まれる。

### 3.7 肝肥大が肝臓腫瘍の初期変化である可能性

The International Programme on Chemical Safety (IPCS) および International Life Science Institute (ILSI) によるげっ歯類肝臓腫瘍のヒトへの外挿性に関する Mode of Action<sup>4)</sup> において、げっ歯類の非遺伝毒性学的機序による肝臓腫瘍発生の early key event の1つとして肝肥大が挙げられ<sup>6)~11)</sup>, the 3rd International ESTP Expert Workshop においても持続的な肝肥大が肝臓腫瘍に関連すると記載されている<sup>3)</sup>。しかし、一致しない報告<sup>12), 13)</sup> もあり、最近ではフェノバルビタール phenobarbital (PB) による薬物代謝酵素誘導や肝肥大は肝臓腫瘍の key event ではなく、associative event とする報告もある<sup>14)</sup>。今後の科学的知見の集積が待たれるところである。

### 4. Case by case の考え方

科学的なリスク評価は、科学的知見の集積により柔軟に変化すべきである。本稿では一般的な肝肥大に関する基本的考え方を示したが、肝肥大は極めて多くの化学物質により誘発され、すべての肝肥大の機序が明らかになっているわけではないことから、この基本的な考え方に沿わない場合も生ずる可能性がある。そのような場合は、被験物質の特性も含めて、評価者がその時点における科学的水準で、case by case で評価せざるをえないと考える。科学的知見の集積により新しい肝肥大の考え方が受け入れられた場合には、積極的に新しい知見を取り入れるべきと考える。

### 5. ヒトへの外挿性について

本稿は、毒性試験で多く遭遇する化学物質による肝肥大についての基本的考え方を示すことを目的としており、肝肥大のヒトへの外挿性についての考え方を示すことを目的とはしていない。しかし、毒性試験はヒトへの健康影響予測として実施されるものであることから、肝肥大についてもヒトへの外挿性に関する科学的知見が集積され、容認される状況となった場合は、積極的に新しい知見を取り入れるべきと考える。GLP施設で実施され、該当するテストガイドラインに準拠した試験を含め肝肥大の発生機序とさらにヒトへの外挿性に関連する項目を組み込んだ試験は、科学的なリスク評価のために有意義であると考えられる。

### 6. 肝細胞肥大の機序を判定するうえで有用なデータとは

#### 6.1 病理形態学的判定の重要性

肝細胞肥大の有無の判定は病理組織学的解析結果の評価が重要である。肝細胞肥大が観察される部位、肝細胞肥大の程度の記載は最低限必要な情報である。さらに肥大した肝細胞の形態に関する情報も望ましい。標本の鏡検者の質や診断基準の明確化も重要である。質の保証された毒性病理担当者（日本毒性病理学会毒性病理学専門家 Diplomat of Japanese Society of Toxicologic Pathology (DJSTP), American College of Veterinary Pathologists (ACVP),

日本獣医病理学専門家 Japanese College of Veterinary Pathologists (JCVP) あるいは各国毒性病理学会が認定した毒性病理学専門家が、国際的に汎用されている病理組織学的用語や診断基準（現在、日米欧の毒性病理学会共同による International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria, INHAND, <http://www.toxpath.org/inhand.asp> が公表中）を基に判定することが望ましい。しかし、化学物質投与により誘発される肝肥大はさまざまであり、既知の病理組織学的用語や診断基準では記載や説明がない例もあるので、質の保証された病理担当者が一定の基準をもって質の高い診断をすることが大切である。電子顕微鏡による検索は、細胞内小器官の変化を明らかにするうえで有用である。また薬物代謝酵素の抗体を用いた免疫組織化学的手法も肝細胞肥大の分布を知るうえで有用である。

タイプの異なる肝細胞肥大の発現の見極めは病理組織学的手法によることから、個々の毒性試験において肝細胞肥大が生じている部位および肝細胞の形態学的特徴が記載されていることが、肝肥大のリスク評価における判定に重要な情報となる。

#### 6.2 薬物代謝酵素（第I相、第II相）の測定および主要代謝物の同定

肝肥大が認められた場合に、重要と思われる肝臓中の第I相または第II相薬物代謝酵素について、分子種ごとに mRNA の発現、免疫組織化学的手法による関連タンパク質の肝臓内での発現部位の解析、あるいはシトクロム P450 (CYP) の活性の測定に関する情報は、肝細胞肥大の特性を明らかにするうえで非常に有用である。げっ歯類において肝肥大を誘導する PB は、CYP1A, CYP2B および CYP3A 分子種などの複数の酵素を誘導する。したがって1つの酵素（分子種）のみに注目した解析は、毒性評価上あまり有用ではなく、避けるべきである。また、薬物代謝酵素の誘導試験は毒性試験と同種の実験動物で行う必要がある。さらに、核内受容体を介した薬物代謝酵素の誘導では、投与用量によって発現する酵素分子種のパターンが異なるため<sup>15)</sup>、複数の用量での検索が望ましい。

肝肥大を起こす化学物質において甲状腺重量増加あるいは肝臓上皮肥大・過形成が誘発された場合には、甲状腺関連ホルモン (T3, T4, TSH) の測定だけではなく、肝臓中のグルクロン酸転移酵素 UDP-glucuronosyltransferase (UGT) や硫酸転移酵素 sulfotransferase (SULT) の測定は、肝臓を介した甲状腺の影響を判定するうえで極めて有用である。

上述したように、肝細胞肥大時における薬物代謝酵素誘導では複数の分子種が誘導されることから、複数の分子種を検索し、また既知の陽性対照物質と比較することで、その化学物質で誘導された肝肥大の特性を知ることが重要である。またその特性が実験動物特異的であるか見極めることも重要である。肝肥大に種差が認められた場合には、代謝経路や動物種における主要代謝物の検索、さらには核内

受容体に対する作用の評価も肝肥大の種差を知るうえで有用である。

### 6.3 肝肥大機序の積極的検索

新しい毒性評価手法に関する取り組みが数多く行われている中で<sup>14)</sup>、肝肥大の機序解明のために新しい手法を用いた積極的な検索が期待される。例えば、げっ歯類の肝肥大に深く関与するCARやPXR等の遺伝子改変動物を用いた肝肥大機序の検索、核内受容体の*in vitro*レポーターアッセイ、(定量的)構造活性相関解析等の*in silico*予測モデルならびに培養ヒト肝細胞における酵素誘導評価データの活用等が挙げられる。

### 6.4 背景データの提示の有用性

肝肥大に限ったことではないが、肝臓重量、血液生化学的データ等の背景データの提示は偶発的に対照群が低い(あるいは高い)値を示すことに対し有用である。試験実施機関において試験実施年±5年以内における同一動物種(できれば同一系統)、同週齢の背景値が最も有用で、背景値には範囲、平均、できれば標準偏差の提示が望ましい。背景データには、餌の種類、背景データの収集年、溶媒対照投与の有無等の情報が含まれていることが、背景データの質の高さを示すためには有用である。

## 7. おわりに

本稿で取り上げた肝肥大については、平成25年度より「食品健康影響評価技術研究」として内閣府食品安全委員会からの委託を受けて、平成26年度までの2年計画で研究を実施しているところである。今後肝肥大に関する基本的な考え方を発展させ、食品安全委員会におけるガイダンス等の策定に資する基盤情報を提供するため、本研究を通じて食品中の化学物質による肝肥大の毒性学的意義および肝肥大と核内受容体活性化作用等との関連性等を中心とした総説を作成する予定である。

## 謝 辞

本稿の一部は、内閣府食品安全委員会食品健康影響評価技術研究(課題番号1302および1303)の委託研究として行ったものである。

## 文 献

- 1) Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Guidance on the interpretation of hepatocellular hypertrophy. In Summary Report: Acceptable Daily Intakes, Acute Reference Doses, Short-term and Long-term Dietary Intakes, Recommended Maximum Residue Limits and Supervised Trials Median Residue Values Recorded by the 2006 Meeting. p. 21-24 (2006).
- 2) Hall, A. P., Elcombe, C. R., Foster, J. R., Harada, T., Kaufmann, W., Knipple, A., Kuttler, K., Malarkey, D. E., Maronpot, R. R., Nishikawa, A., Nolte, T., Schulte, A., Strauss, V., York, M. J. Liver hypertrophy: A review of adaptive (adverse and non-adverse) changes—Conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop. *Toxicologic Pathology*, **40**, 971-994 (2012).
- 3) US EPA. Hepatocellular Hypertrophy-Technical HED Guidance Document #G0201. Prepared by the HED Toxicology Science Advisory Council, Office of Pesticides Programs, US EPA. October 21 (2002).
- 4) Holsapple, M. P., Pitot, H. C., Cohen, S. H., Boobis, A. R., Klaunig, J. E., Pastoor, T., Dellarco, V. L., Pragan, Y. P. Mode of action in relevance of rodent liver tumors to human cancer risk. *Toxicological Sciences*, **89**, 51-56 (2006).
- 5) Yamamoto, Y., Moore, R., Goldsworthy, T. L., Negishi, M., Maronpot, R. R. The orphan nuclear receptor constitutive active/androstane receptor is essential for liver tumor promotion by phenobarbital in mice. *Cancer Research*, **64**, 7197-7200 (2004).
- 6) Peffer, R. C., Moggs, J. G., Pastoor, T., Currie, R. A., Wright, J., Milburn, G., Waechter, F., Rusyn, I. Mouse liver effects of cyproconazole, a triazole fungicide: Role of the constitutive androstane receptor. *Toxicological Sciences*, **99**, 315-325 (2007).
- 7) Osmitz, T. G., Lake, B. G. Mode-of-action analysis for induction of rat liver tumors by pyrethrins: relevance to human cancer risk. *Critical Reviews in Toxicology*, **39**, 501-511 (2009).
- 8) Yamada, T., Uwagawa, S., Okuno, Y., Cohen, S. M., Kaneko, H. Case study: An evaluation of the human relevance of the synthetic pyrethroid methofluthrin-induced liver tumors in rats based on mode of action. *Toxicological Sciences*, **108**, 59-68 (2009).
- 9) Misra, P., Viswakarma, N., Reddy, J. K. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  signaling in hepatocarcinogenesis. *Subcellular Biochemistry*, **69**, 77-99 (2013).
- 10) Stagg, N. J., LeBaron, M. J., Eisenbrandt, D. L., Gollapudi, B. B., Klaunig, J. E. Assessment of possible carcinogenicity of oxyfluorfen to humans using mode of action analysis of rodent liver effects. *Toxicological Sciences*, **128**, 334-345 (2012).
- 11) LeBaron, M. J., Bollapudi, B. B., Terry, C., Billington, R., Rasoulpour, R. J. Human relevance framework for rodent liver tumors induced by the insecticide sulfoxaflor. *Critical Reviews in Toxicology*, **Suppl. 2**, 15-24 (2014).
- 12) Sakamoto, Y., Inoue, K., Takahashi, M., Taketa, Y., Kodama, Y., Nemoto, K., Degawa, M., Gamou, T., Ozawa, S., Nishikawa, A., Yoshida, M. Different pathways of constitutive androstane receptor-mediated liver hypertrophy and hepatocarcinogenesis in mice treated with piperonyl butoxide or decabromodiphenyl ether. *Toxicologic Pathology*, **41**, 1078-1092 (2013).
- 13) Braeuning, A., Gavrillov, A., Brown, S., Wolf, C. R., Henderson, C. J., Schwarz, M. Phenobarbital-mediated tumor promotion in transgenic mice with humanized CAR and PXR. *Toxicological Sciences*, **140**, 259-270 (2014).
- 14) Elcombe, C. R., Peffer, R. C., Wolf, D. C., Bailey, J., Bars, R., Bell, D., Cattley, R. C., Ferguson, S. S., Geter, D., Goetz, A., Goodman, J. I., Hester, S., Jacobs, A., Omie-

cinski, C. J., Schoeny, R., Xie, W., Lake, B. G. Mode of action and human relevance analysis for nuclear receptor-mediated liver toxicity: A case study with phenobarbital as a model constitutive androstane receptor (CAR) activator. *Critical Reviews in Toxicology*, **44**, 64–83 (2014).

15) Tamura, K., Inoue, K., Takahashi, M., Matsuo, S., Irie, K., Kodama, Y., Ozawa, S., Nishikawa, A., Yoshida, M. Dose-response involvement of constitutive androstane receptor in mouse liver hypertrophy induced by triazole fungicides. *Toxicology Letters*, **221**, 47–56 (2013).

化学物質のリスク評価における肝肥大の取扱いの基本的考え方（調査・資料）

吉田 緑\* 梅村隆志 小島弘幸 井上 薫  
高橋美和 浦丸直人 北村繁幸 安部賀央里  
頭金正博 小澤正吾 吉成浩一  
食衛誌 56(2), 42~48 (2015)

化学物質で一般的に誘発される肝肥大が生体の適応反応か、毒性（悪影響）かを判断するための科学的な考え方を提示した。外的因子に対して肝細胞の恒常性が維持されている範囲内の肝肥大（肝細胞肥大および肝重量増加）は、適応性変化であり毒性影響ではない。同時に生体の恒常性保持機能の限界を越し、破綻を来した場合の肝細胞肥大は毒性と判断すべきである。具体的には以下の変化を伴う肝肥大は毒性影響の可能性を考える起点になる：(1) 肝細胞の壊死と関連する指標や炎症性変化、(2) 胆道系の変化、(3) 脂質代謝系の変化、(4) 色素沈着、(5) タイプや部位の異なる肝細胞肥大の誘発。

\* 国立医薬品食品衛生研究所 病理部