

農薬の食品健康影響評価における肝肥大の取扱いについて
(平成 28 年 10 月 31 日 農薬専門調査会決定)

本資料は、食品安全委員会農薬専門調査会において、毒性試験で認められた肝肥大が生体の適応性変化であるか、毒性影響（有害作用）であるかについて、各部会で一貫性をもった判断を行うため、現時点での考え方を整理したものである。

なお、この資料は、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、必要に応じて見直すこととする。

1. 背景

肝重量の増加や肝細胞肥大は、化学物質の投与による影響として毒性試験で最も一般的に認められる変化であるが、これらの変化が肝障害や肝腫瘍形成へと続く変化であるのか否かについては、長年にわたり議論されてきた。一方で肝臓はその機能として化学物質の代謝を行う器官であり、その代謝過程において、各種の薬物代謝酵素が誘導され、それらの酵素が存在する細胞内小器官が増生した結果として、肝重量の変化や肝細胞肥大が起きることも知られている。

このため、これらの変化が生体にとって有害影響なのか、適応であるかについては世界的にもこれまで数多くの議論が重ねられている。近年、国際的には、生体の恒常性が維持されている限りにおいて、化学物質投与による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ける肝細胞傷害や血液生化学的検査における肝毒性関連項目の異常等、肝障害性が認められた場合には、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するのが一般的となりつつある。

食品安全委員会農薬専門調査会においては、数多くの農薬について、一貫性をもった判断を行うため、これまで肝重量の絶対重量及び比重量¹の双方が有意差をもって増加した場合、並びに肝細胞肥大が認められた場合には毒性所見と判断するという一定のルールを適用して判断してきたところである。しかしながら、最新の科学的知見に照らし合わせると、このような考え方は生物の生理的な反応をも毒性と判断している可能性もあることから、リスク評価のためのエンドポイントとして妥当であるかどうかを検討する必要性が生じてきた。

2. 肝肥大とは

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、肝細胞の細胞質が形態学的に肥大（肝細胞肥大：hepatocellular hypertrophy）し、結果として肝重量が増加することをいう。

（1）形態学的変化

肝細胞肥大とは、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

¹ 体重比重量を比重量という（以下同じ。）。

指す。容積を増した肝細胞の細胞質は、正常と比較し、すり硝子状又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) 又はマイクロボディ (microbody) の増加として認められる。

薬物代謝関連タンパク質の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漫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漫性の肝細胞肥大として認められることが多い。

肝細胞肥大は、水腫性変性、肝細胞内の脂肪やグリコーゲン蓄積又はミトコンドリア増生による肝細胞の大型化とは区別される。

(2) 機能的変化

機能的には、肝肥大は、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、肝細胞の薬物代謝関連タンパク質 (薬物代謝酵素及びトランスポーター) を誘導し、生体外異物に対する代謝排泄能を上げ、それに適応するため生じたものであると考えられる。この反応の詳細については、参考に記載した。

3. 食品健康影響評価における肝肥大の取扱いの基本的考え方

1) 原則

外的因子への応答として、生体の恒常性を維持するために肝細胞の機能が亢進すること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、肝肥大は適応性変化であり、毒性影響とはしない。

一方、生体の恒常性維持機能には限界があることから、この限界を越え生体の恒常性が破たんした肝肥大はもはや適応ではなく、生体にとって悪影響が生じていると考える。

肝肥大が毒性影響であるか適応性変化であるかは、それぞれの剤において認められた所見等を総合的に判断する。

2) 各論

(1) 毒性影響ととらえるべき変化

① 肝細胞肥大のタイプ

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、光学顕微鏡ですり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、又は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、これらの肝細胞肥大が毒性影響である可能性を考慮すべきである。

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、肝肥大の判断に当たっては、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重要な情報となりうる。

ただし、部位が記載されていない場合であっても変化の程度等を総合的に判断し、毒性影響であるかどうかを検討する必要がある。

② 肝細胞の変性及び壊死（単細胞壊死を含む）並びにそれらに対する炎症性反応指標に変化が認められる場合

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。破たんの結果は、形態学的には肝細胞の変性及び壊死（単細胞壊死を含む）並びにそれらに対する炎症性反応として認められる。また、炎症の慢性化により線維化、肉芽腫の形成等が認められることもある。

血液生化学的には、肝細胞機能の破たんにより細胞外へ逸脱する酵素であるアラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase : ALT）の増加が最も鋭敏な指標である。また、ALT 同様に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）の増加及び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の指標となりうる。ただし、ALP は肝障害のみならず、肝臓以外のアイソ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一般的には成長期（試験開始時に4～6か月齢）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については慎重に見極める必要がある。

③ 胆道系の変化を伴う場合

肝肥大とともに、胆道系の変化を示す病理組織学的所見が認められることがある。この変化は、病理組織学的には胆管若しくは胆道系組織の変性/壊死、炎症反応、胆管過形成等として、血液生化学的にはビリルビン、 γ -グルタミルトランスペプチターゼ（ γ -glutamyltranspeptidase : 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通常毒性試験検査で明らかにすることは難しいが、これらの変化が肝肥大とともに認められた場合には、肝肥大が毒性影響である可能性を考慮すべきである。

④ 脂質代謝系の変化を伴う場合

肝肥大とともに、肝細胞内の脂肪蓄積を示す病理組織学所見が認められることがある。この変化は、血液生化学的検査項目では中性脂肪又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として認められる。また、肝細胞の脂肪蓄積は肝細胞の変性/壊死、炎症反応とともに観察されることもある。

多くの場合、肝細胞肥大と脂質代謝異常の直接的な関連性を通常毒性試験で明らかにすることは困難であるが、これらの検査項目の変化は肝臓の脂質代謝系の変化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変動や病理組織学的変化が観察された場合には、肝肥大が毒性影響である可能性を考慮する必要がある。

⑤ 肝肥大が色素沈着等を伴う場合

肝細胞、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変化が肝肥大とともに認められる場合がある。色素の種類によって沈着する成因は様々であり、ポルフィリンの沈着は肝細胞内でのヘム代謝の変化、リポフスチン沈着は加齢又は肝細胞の脂質過酸化の亢進、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を示唆することが多い。

多くの場合、通常の毒性試験検査で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であるが、生体内又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、肝肥大が毒性影響である可能性を考える必要がある。

(2) 適応性変化と判断すべき肝肥大

(1) に示すような肝障害に関連する指標の変化が認められない場合には、生体の恒常性は維持されていると考えられることから、認められた肝肥大は毒性影響ではなく、適応性変化と判断する。

なお、核内受容体及び核内転写因子の関与が示唆され、活性化が認められる場合には、適応性反応であることを示唆する根拠の1つとなりうることから、毒性評価において、複数の酵素（分子種）を経時的に検索することは、それぞれの化学物質のタンパク質誘導の特徴を把握するために有用である。ただし、あくまでもメカニズム解明の目的で用いられるものであり、評価に当たっての必須要件ではなく、この変化のみを用いて判断を行うことはできない点に留意が必要である。

3) 留意すべき点

(1) 高用量投与群で肝障害が認められた試験における低用量投与群における変化

高用量投与群では肝障害が認められた場合であっても、同試験における低用量投与群において肝細胞の変性/壊死や炎症性変化等の病理組織学的変化及び肝毒性を示す血液生化学的指標の変化を伴わない場合には、低用量投与群で生じた肝肥大は生体の恒常性維持機能の範囲内にあり、適応性変化であると判断する。

このような判断のためには、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。

(2) 一過性の肝肥大

肝肥大が、短期間投与の試験で観察されるが、長期間投与の試験では同じ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性変化である証拠の一つである。

(3) 肝重量との関連

肝臓に何らかの変化が生じていることを把握する一手段として、肝重量の増加

が生じているかどうかには注意することが重要である。

げっ歯類においては、比重量が統計学的に有意差をもって増加した場合に、肝重量が増加していると判断する。臓器重量の個体差が大きい非げっ歯類においては、比重量のみでは肝重量の変化を判断できない場合もあることから、原則として絶対重量及び比重量の両者が有意に増加した場合に、肝重量が増加したと判断する。

なお、肝重量の増加を毒性影響とすべきかどうかについては、2) - (1) に示した判断基準を踏まえて検討すべきであり、原則として2) - (1) に示す変化が認められない用量で認められる肝重量の増加及び/又は肝細胞肥大は適応性変化と考えられることから、それらのみでは毒性所見としない。また、病理形態学的な肝細胞肥大を伴わない肝比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、体重増加抑制に対する二次的な影響である可能性も考えられるため、毒性影響とする場合はその根拠を明確にする必要がある。

(4) 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、肝肥大に伴って生じる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、原則として統計学的有意差が認められた場合に毒性影響と判断する。

ただし、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上で、エキスパートジャッジにより判断することもある。

(5) 甲状腺の変化を伴う場合

甲状腺の変化が、肝臓における第二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の増加及び甲状腺ろ胞上皮肥大/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のみならず全身の恒常性を変調させ、下垂体及び甲状腺機能の異常として全身に及んだものと考えられる。

したがって、甲状腺機能への影響が観察された場合は、その試験において認められた肝肥大が毒性影響であるか慎重に判断する必要がある。

参考 異物応答性の核内受容体及び核内転写因子の変化

肝臓における主な適応性変化として、異物応答性の核内受容体や核内転写因子の活性化を介した代謝関連タンパク質の合成亢進が報告されている。

異物応答性の核内受容体としては、constitutive androstane/active receptor (CAR)、pregnane X receptor (PXR)、peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) 等、核内転写因子としては、aryl hydrocarbon receptor (AhR)、NF-E2-related factor 2 (Nrf2) 等が知られている。

異物の代謝に関連するタンパク質の誘導そのものは、外界の変化に対する生体

の恒常性維持のための可逆的な適応性変化であり、肝細胞肥大に先駆けて細胞内小器官の変化としてしばしば認められる。

また、特に、CAR、PXR、PPAR α 等の核内受容体は、脂質代謝に深く関連しており、しばしば血中の脂質関連のパラメータの変動に関与する。

参考文献

- 1) 吉田緑、梅村隆志、小島弘幸、井上薫、高橋美和、浦丸直人他 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 食衛誌, 56, 42-47 (2015)
- 2) Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Guidance on the Interpretation of Hepatocellular Hypertrophy. In Pesticide Residues in Food 2006, FAO Plant Production and Protection Paper, 187, 13-17 (2006), Available at http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/JM PRrepor2006.pdf
- 3) WHO (2015) Guidance document for WHO monographers and reviewers. Prepared by WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues, Available at http://www.who.int/entity/foodsafety/publications/jmpr_guidance_document_1.pdf?ua=1
- 4) USEPA (2002) Hepatocellular Hypertrophy - HED Guidance Document #G0201. Prepared by the HED Toxicity Science Advisory Council, Health Effects Division, Office of Pesticide Programs
- 5) Hall, A.P., Elcombe, C. R., Foster, J. R., Harada, T., Kaufmann, W., Knippel, A. et al. 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)
- 6) Cave, M.C., Clair, H.B., Hardesty, J.E., Falkner, K.C., Feng, W., Clark, B.J. et al. Nuclear receptors and nonalcoholic fatty liver disease. Biochim Biophys Acta 1859, 1083-1099 (2016)
- 7) Changjiang X., Christina Y. L. and Ah-Ng T. K. Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics Arch Pharm Res 28, 249-268 (2005)