

研究成果報告書（研究要旨）

研究課題名	化学物質により誘発される肝肥大の毒性学的評価手法の確立と今後の問題点 (課題番号：1303) (研究期間：平成25年度～平成26年度)
主任研究者名	研究者名：吉田 緑 所属機関：国立医薬品食品衛生研究所

肝重量の増加および肝細胞肥大として定義される肝肥大は、げっ歯類およびイヌを用いた毒性試験において最も一般的な投与に起因した変化である。この化学物質で誘発される肝肥大は毒性評価において肝毒性あるいは肝発がん性の早期のキーイベントであるか否か議論されてきた。

一方、肝細胞は内部あるいは外部因子からのストレスに対して生体恒常性維持する機能を有していることがよく知られており、この状態は生体の望ましい適応反応であると考えられている。

本研究は、日本の毒性評価において化学物質で誘発された肝肥大が、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示すことを目的とし、食品安全委員会が公表している農薬評価書から肝肥大に関する項目の抽出や解析を中心としてまとめた。

検索した多くの農薬にとって肝肥大はげっ歯類およびイヌで最も一般的な投与起因性の変化であったが、毒性試験に用いた全ての動物種で肝肥大のみ誘発する化学物質は稀で、多くの農薬が肝肥大だけでなく、肝細胞の障害や肝脂肪化、胆道系の変化、色素沈着等を引き起こしていた。興味あることに、肝肥大発現用量はこれらの肝障害の誘発用量と同程度あるいは高い用量であったことから、肝肥大は肝障害に先立ち生ずる事象ではないと考えられた。肝肥大を示す40以上の農薬ではイヌにおいても甲状腺重量増加等の変化が認められ、肝肥大に伴う二次的影響としての甲状腺の変化はげっ歯類だけでなくイヌにおいても認められる変化であると考えられた。

また、Constitutive Androstane/Active Receptorノックアウトマウス(CARKO)を用いて肝腫瘍誘発量のトリアゾール系農薬3剤を投与する2段階発がん実験を行ったところ、肝肥大はCARを経由しないが、肝腫瘍形成にはいずれの剤もCARが重要な役割を果たしていたことから、肝腫瘍形成において肝肥大は早期キーイベントではないと考えられた。アソシエート因子とするのが適切かもしれない。また検索したトリアゾール系農薬の肝腫瘍形成はマウスCAR活性化によるものであり、ヒトには外挿されない変化である可能性が推察された。CARは現在その他の農薬を用いた同様の実験が進行中である。

肝肥大の考え方については静岡県立大学の吉成浩一教授のグループと共同でとりまとめを行った。要約すると、肝細胞が外的因子に対して生体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、破たん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を指す。

研究成果報告書（本体）

研究課題名	化学物質により誘発される肝肥大の毒性学的評価手法の確立と今後の問題点 (研究期間：平成 25 年度～平成 26 年度)
主任研究者名	所属：国立医薬品食品衛生研究所 氏名：吉田 緑（研究課題番号：1303）

I 研究の期間及び研究目標等

1 研究期間 平成 25 年度～平成 26 年度

2 研究目的

化学物質により誘発された肝肥大(肝重量増加、肝細胞肥大)が、生体の適応範囲内の反応なのか悪影響であるのかを科学的に評価する手法を開発する。さらに、肝肥大のヒトへ外挿性および評価上の問題点を提起する。

3 研究体制

研究項目名	個別課題名	研究担当者名（所属機関名）
化学物質により誘発される肝肥大の毒性学的評価手法の確立と今後の問題点	指定なし	吉田緑（国立医薬品食品衛生研究所） 梅村隆志（国立医薬品食品衛生研究所） 小澤正吾（岩手医科大学） 頭金正博（名古屋市立大学）
<i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> 実験に基づく化学物質により誘発される肝肥大と肝肥大の機序とヒトへの外挿性に関する研究	指定なし	吉田緑（国立医薬品食品衛生研究所） 梅村隆志（国立医薬品食品衛生研究所） 小澤正吾（岩手医科大学） 頭金正博（名古屋市立大学）

4 倫理面への配慮について

本研究における実験動物の使用は、「動物の愛護及び管理に関する法律」（昭和 48 年法律第 105 号、平成 17 年法律第 68 号一部改正）、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成 18 年環境省告示第 88 号）、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」（平成 18 年 6 月 1 日厚生労働省通知）、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（平成 19 年 6 月 1 日日本学術会議）、「遺伝子組換え生物等の使用等の規則による生物の多様性の確保に関する法律」（平成 15 年法律第 97 号）、「特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律」（平成 16 年法律第 78 号）及び「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（平成 10 年法律第 114 号）等の主旨に則り、関連法令などを遵守して実施した。

II 研究内容及び成果等

1 研究内容及び方法

(1) 研究項目名1：化学物質により誘発される肝肥大の毒性学的評価手法の確立と今後の問題点（研究者名：吉田緑、梅村隆志、小澤正吾、頭金正博）

内容（□は担当者）

① 食品安全委員会における肝肥大の現状の解析 [まとめ:吉田 解析:全員]

公表されている食安委の評価書（文献ベースでなく、実際にガイドラインに基づいた毒性試験が多く実施されているもの。農薬を中心として食品添加物の評価書を加える）を基礎データとして、その中で、肝肥大が認められた化学物質をピックアップする。[吉田]

肝肥大が認められた化学物質について毒性と考えられるか否かについて判断する。これらの肝肥大について、構造や作用機序別に特性の有無などを解析する。[全員]

② 毒性試験におけるパラメーターと肝肥大の関連性の解析 [全員]

①の結果をもとに、毒性試験で検査されるパラメーター（血液生化学的検査、臓器重量、病理組織学的検査等）別との組み合わせにより生体反応（適応）とすべき肝肥大と、毒性とすべきものを具体的なパラメーターごとにまとめ、評価手法の基礎とする。本研究では動物実験は実施しないが、評価手法の確立に必要と考えられる場合は、臓器あるいは細胞等入手可能なサンプルを用いた実験室レベルでの研究を実施する可能性がある。

③ 酵素誘導が認められた場合の肝肥大の考え方 [小澤・頭金]

肝肥大と同時に薬物代謝酵素誘導が認められた場合の基本的な考え方を作成する。

④ 評価手法の文章化とフローチャートの作成 [全員]

③の結果をもとに化学物質により誘発された肝肥大の評価手法を文章化する。文章化されたものは、食品安全委員会のリスク評価においてガイダンスとして使用できるものとする。また、肝肥大を毒性と毒性ではないことに振り分けるフローチャート作成する。

⑤ 肝肥大を評価する上での問題点の提起 [全員]

上記①から④の過程において肝肥大の評価上、問題となった点をまとめる。
とくに以下の点について留意をする。

- 肝肥大の評価上、追加することが推奨されるパラメーター
- ヒトへの外挿性する上で留意すべき点

(2) 研究項目名2：in vitroおよびin vivo実験に基づく化学物質により誘発される肝肥大と肝肥大の機序とヒトへの外挿性に関する研究（研究者名：吉田緑、梅村隆志、小澤正吾、頭金正博）

① in vivo 実験を中心とする肝肥大の機序と、毒性・発がん性への関連性に関する研究 [梅村・吉田・小澤]

動物実験を中心として、肝肥大の機序と、毒性・発がん性への関連性について研究を行う。とくに、CARを中心とした肝肥大と肝毒性・肝発癌との関連に関するin vivo研究と、分子生物学的手法を用いた肝肥大と肝毒性に関するin vivo解析を実施する。

② in vitro実験を中心とする酵素誘導が認められた場合の肝肥大の考え方 [小澤・頭金]

ヒトへの外挿性が肝肥大においても重要であることから、ヒト肝初代培養細胞等を用いて、

化学物質による薬物代謝酵素活性の変動および肝毒性関連遺伝子発現変動を調べる。毒性プロファイルを考慮に入れ、得られた遺伝子発現変動データが肝肥大または肝毒性のどちらに對する毒性学的な意義が大きいかの関連づけにも役立てる。

③ 肝肥大の機序を解明するための *in vivo* 実験および *in vitro* 実験を総合的に解析 [全員]

②の実験で得られた肝肥大の機序を解明するための *in vivo* 実験および *in vitro* 実験を総合的に解析し、リスク評価における肝肥大の指針に科学的根拠に基づいた堅牢性を付加する。

2 研究成果、考察、今後の課題

1. 研究項目 1：化学物質により誘発される肝肥大の毒性学的評価手法の確立と今後の問題点（研究者名：吉田緑、梅村隆志、小澤正吾、頭金正博）

内容（□ は担当者）

① 食品安全委員会における肝肥大の現状の解析(毒性試験におけるパラメーターの解析を含む) [全員]

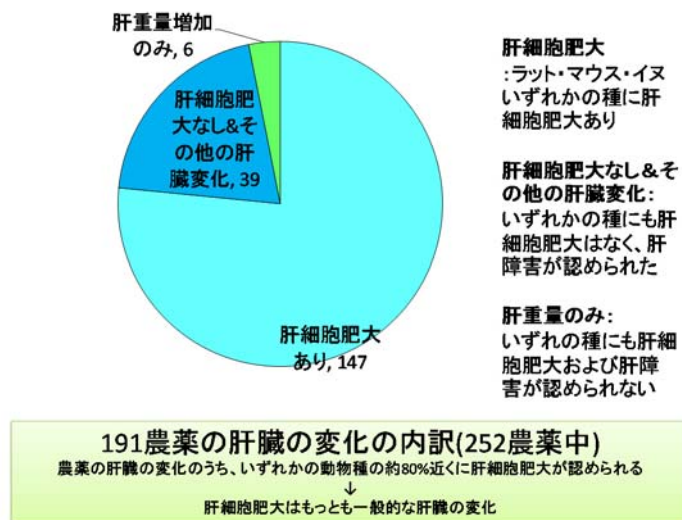
平成25年度に食品安全委員会のホームページに公表されている約300農薬の評価書(2005年から2013年3月まで)を用いて上記①と②の解析のための以下の作業を行った。

1. 肝肥大を含む肝臓への影響が認められた全ての農薬のピックアップと認められた毒性試験、動物種、用量、投与期間の一覧表を作成した。 [吉田]
2. 肝肥大のみが認められた農薬のピックアップと毒性試験、動物種、用量、投与期間の一覧表を作成した。 [吉田]
3. 複数の動物種で肝肥大が認められた農薬のピックアップと毒性試験、動物種、用量、投与期間の一覧表を作成した。 [吉田]
4. 肝肥大と、アルカリフォスファターゼ (ALP) あるいはコレステロール (CHO) の変動が認められた農薬のピックアップし、認められた毒性試験、動物種、用量、投与期間の一覧表を作成した。 [吉田]
5. 肝肥大が認められた農薬のうち、甲状腺への影響および肝臓腫瘍、子宮腫瘍が認められた農薬をピックアップし、動物種(ラットあるいはマウス)、用量に関する一覧表を作成した。 [吉田]

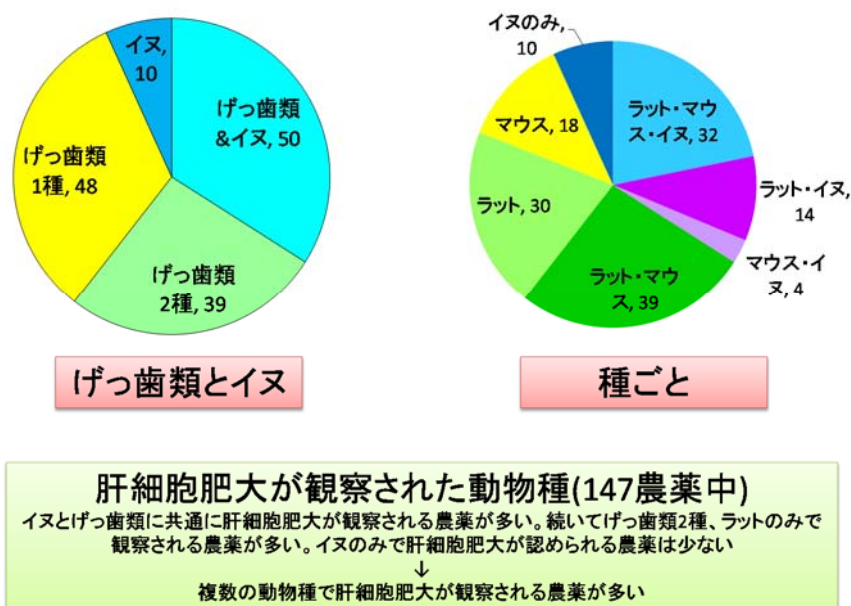
平成25年後半から実施した解析結果を以下に示す。

1. 肝肥大についての解析結果

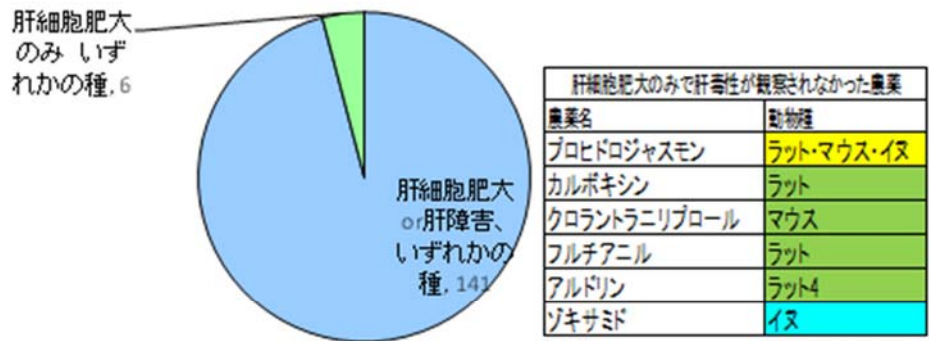
解析した 252 農薬中、191 の農薬で、肝細胞肥大を含む肝臓への影響が認められた。このうち約 80%において、ラット、マウス、イヌのいずれかの種に肝細胞肥大が認められたことから、肝細胞肥大は最も一般的な投与による肝臓への影響であることが確認された（下図参照）。



肝細胞肥大が認められた 147 農薬について動物種の内訳を下図に示す。イヌとげっ歯類に共通に肝細胞肥大が観察される農薬が多く観察され、続いてげっ歯類 2 種、ラットのみで観察される農薬が多かった。イヌのみで肝細胞肥大が認められる農薬は少なかった。これらの結果から、複数の動物種で肝細胞肥大が観察される農薬が多いことが確認された。

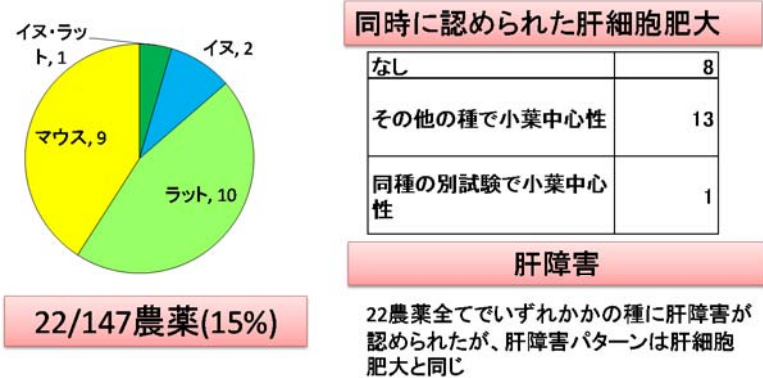


肝細胞肥大が認められた 147 農薬について、同時に認められる肝臓の変化の有無を示す。肝細胞肥大が観察される農薬の大半には、肝細胞肥大以外の変化がいずれかの種で肝臓に観察され、肝細胞肥大のみが観察される農薬は実際にはごくわずかであった（肝細胞肥大と肝障害については後述）。



肝細胞肥大が認められた農薬の内訳(147農薬)
 肝細胞肥大が観察される農薬の大半には、肝細胞肥大以外の変化がいずれかの種で肝臓に観察される
 ↓
 肝細胞肥大のみが観察される農薬は実際にはごくわずかである

肝細胞肥大では小葉中心性あるび慢性といった部位が記載されている試験もあったが、部位の記載がない試験も多かった。薬物代謝酵素分布の多い小葉中心性とは区別すべき小葉周辺性肝細胞肥大について検索したところ、147 農薬中 15%で認められたが、種特異性および特徴的な肝障害との関連は観察されなかった（下図参照）。



小葉周辺性肝細胞肥大が認められた農薬(147農薬中)
 15%で小葉周辺性肝細胞肥大あり
 種特異性および特徴的な肝障害との関連はなし

2. 肝細胞肥大と肝障害に関する解析結果

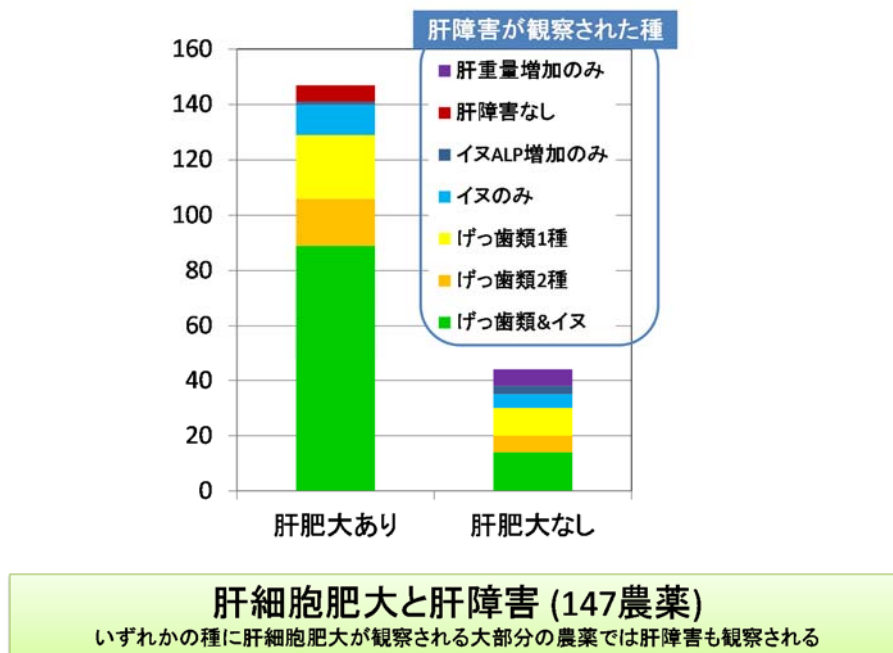
肝細胞肥大が肝障害の初期変化である可能性を検索する目的で、投与による肝臓への変化が認められた 191 農薬を用いて肝肥大と肝障害について解析を行った。

肝障害を病理組織学的所見および血液生化学的検査結果（一部尿検査を含む）から大きく以下の 6 つに分類した。

- 肝壊死・炎症・ALT/AST 増加
- 胆道系障害・GGT・BIL 増加
- 肝細胞脂肪化/空胞化・CHO 増加・TG 増加
- 色素沈着（胆汁栓は胆道系へ分類）
- ALP 増加（総合的に肝障害に統合すべきか検討するため別分類とした）
- その他（上記いずれにも分類が難しいもの）

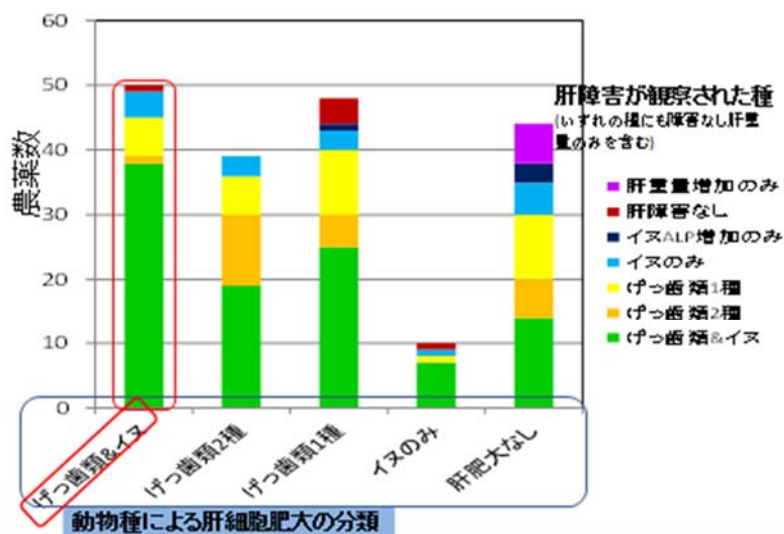
肝細胞肥大と肝障害（147 農薬）

いずれかの種に肝細胞肥大が観察された 147 農薬と肝肥大がみとめられなかった 41 農薬を左図に示す。肝細胞肥大が認められた大部分の農薬においても、検索動物種いずれかで、肝障害も観察されることが確認された。



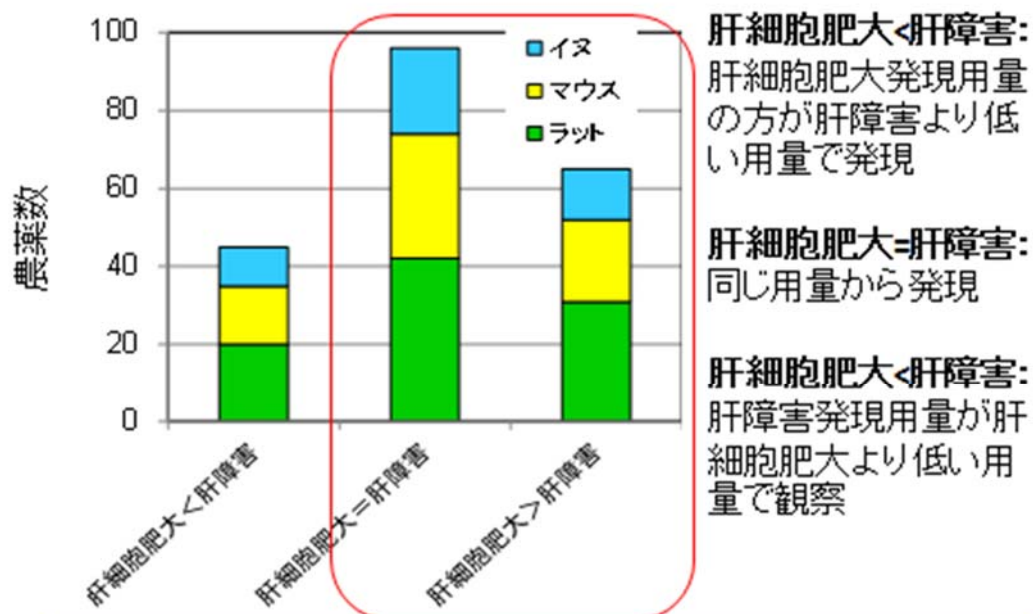
さらに詳細な分類を下図に示す。

肝細胞肥大が観察される農薬の大部分では肝障害も観察される。イヌとげっ歯類ともに肝障害が認められるものが多かったことから、げっ歯類で肝細胞肥大が観察された農薬では、種を超えて肝障害も観察されることが確認された。



肝細胞肥大と肝障害 - 種差 - (147農薬)
 肝細胞肥大が観察される農薬の大部分では肝障害も観察される。種差はなく、イヌおよびげっ歯類で肝細胞肥大が観察された農薬では、種を超えて肝障害も観察される

肝細胞肥大と肝障害の発現用量をいずれかの種で肝細胞肥大が観察された 147 農薬を用いて比較したところ、興味ある結果が得られた（下図参照）。すなわち、いずれの種においても、肝障害が肝細胞肥大と同用量/低い用量から観察される農薬が多く、肝細胞肥大が肝障害より低い用量で発現する農薬は両者より少なかった。



肝細胞肥大と肝障害の発現用量の比較(147農薬)
 いずれの種でも肝障害が肝細胞肥大と同用量/低い用量から観察される農薬が多い
 肝障害発現用量が肝細胞肥大より低い用量で観察される農薬では、肝細胞肥大が肝障害に関連している可能性は低いと考えられる

肝細胞肥大と肝障害はおなじ農薬に観察されることが多いが、用量との解析結果より、肝細胞肥大は肝障害とは関連していない可能性が示唆された。

1) 肝細胞肥大と甲状腺について

メタアルデヒド(ラットで肝細胞肥大) メントリオン(肝肥大なし)

直接影響 直接影響

全種, 1 ラット, 1 全種, 2うち1剤はイヌ重量増加のみ

マウス, 2 イヌ・ラット, うち1剤はイヌ重量増加のみ

1

イヌ, 5 イヌ・マウス, 1

ラット・マウス, 4 うち1剤はラット重量増加のみ

ラット, 25 うち2剤は重量増加のみ

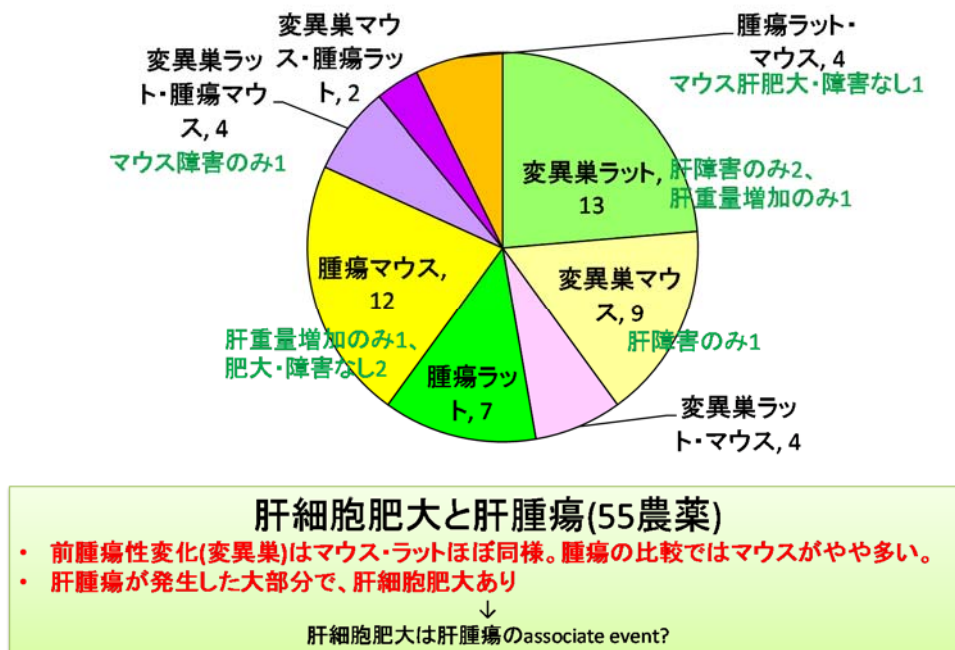
- ・ ラットが最も多い
- ・ 直接影響の2剤を除き、**甲状腺への影響は全て肝細胞肥大/肝重量増加と一致して観察**

↓

ラット・マウスだけでなくイヌでも肝肥大が甲状腺への影響に關与している可能性あり

動物種の内訳ではラットが最も多かったが、興味ある結果として、イヌでも甲状腺重量の増加等が認められた。非げっ歯類についてはさらに詳細な研究を俟たれるところであるが、この結果は、肝肥大を介した甲状腺の変化がげっ歯類だけではないことを示唆している。リスク評価においては、肝細胞肥大を介した甲状腺の変化はげっ歯類特異的と判断することは慎重にすべきことを示唆する結果とも考えられる。同時に肝臓における主要代謝経路についても考慮すべきと考える。

2) 肝細胞肥大と肝腫瘍・変異肝細胞巣



肝細胞肥大が認められた 147 農薬について、肝腫瘍との関連性を解析した。肝腫瘍はげっ歯類の多くの腫瘍と同様、前癌病変である変異肝細胞巣から腺腫、癌と多段階に進行することから、肝腫瘍(腺腫および癌)だけでなく、変異肝細胞巣の発現の有無についても検索した(上図参照)。55 農薬について、ラット・マウスいずれかに変異肝細胞巣あるいは肝腫瘍が認められた。

動物種の比較

変異肝細胞巣はマウス・ラットほぼ同様の発現であったが、腫瘍の比較ではマウスがやや多かった。約 4 分の 1 の剤で、ラットおよびマウスに変異肝細胞巣あるいは腫瘍が認められた。イヌではこれらの病変は認められなかった。

肝細胞肥大との関連性

肝腫瘍あるいは変異肝細胞巣が発生した大部分の剤で、肝細胞肥大が間さされた。しかし、後述するように constitutive androstane/active receptor (CAR)ノックアウトマウスを用いた実験結果で必ずしも CAR を介した肝肥大と肝腫瘍が相関しないこと、前述するように肝障害が肝細胞肥大より低い用量で発現している剤もあることから、肝肥大が肝腫瘍の key event であるとは考えにくい、近年報告されているような associate event である可能性が考えられた。剤ごとの特性を考慮した機序研究の積み重ねによる解明が待たれるところである。

③ 酵素誘導が認められた場合の肝肥大の考え方 [小澤・頭金]

食品安全委員会のホームページに公表されている農薬、動物用医薬品、食品添加物の評価書(388 剤)を対象にして、肝肥大と同時に薬物代謝酵素誘導が認められた剤と肝肥大が認められるものの薬物代謝酵素誘導は認められない剤の抽出作業を開始した。その結果、肝肥大が認められて同時に CYP の誘導がみられものが 57 剤、肝肥大が認められるが CYP 誘導

が認められないものが 99 剤、CYP 誘導が認められるものの肝肥大は生じないものは 3 剤であった。肝肥大も CYP 誘導もみられないものは 229 剤であった。また、これらの抽出された剤の毒性学的特徴を比較するため、誘導された CYP 分子種データや反復投与毒性試験データ等のデータベース作成に着手した。同データベースは上述の解析結果に有用であった。

今回の解析にあたりとりまとめた病理用語に関する論文を日本食品衛生学雑誌に投稿した。2015 年 3 月現在 revise 中である。

④ 評価手法の文章化とフローチャートの作成および肝肥大を評価する上での問題点の提起 [全員]

化学物質により誘発される肝肥大の毒性学的評価手法の確立と今後の問題点についての基本的な考え方と問題点について、本研究に関わる全員と「核内受容体作用と酵素誘導解析を基盤とした、化学物質による肝肥大の毒性学的評価に関する研究」（課題番号：1302 主任研究者：吉成 浩一静岡県立大学教授）の研究班の全員とともに、2013 年日本毒性学会学術年会シンポジウム 16「食品中の化学物質による肝肥大の発現機序と毒性学的意義・現状・課題・展望」で発表し、パネルディスカッションを行った。

これらの結果を踏まえて、本研究に関わる全員と「核内受容体作用と酵素誘導解析を基盤とした、化学物質による肝肥大の毒性学的評価に関する研究」（課題番号：1302 主任研究者：吉成 浩一静岡県立大学教授）の研究班の全員とともに、日本食品衛生学雑誌に資料として投稿した（タイトル：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）。この論文は平成 27 年度 4 月の日本食品衛生学雑誌に掲載予定である。掲載内容は基本的な考え方の中に、リスク評価に応用可能な科学的な肝肥大の考え方を盛り込んだことから、フローチャートについては作成せず、肝肥大の基本的な考え方の文章化をもって最終化することとした。

しかし以下 2 の研究項目の研究成果および成果から導き出した問題点（上記⑤の評価上の問題点）については現在まだ研究中である。今後の研究成果は、上述の「化学物質による肝肥大の毒性学的評価に関する研究」（課題番号：1302 主任研究者：吉成 浩一静岡県立大学教授）と連携し、積極的に公表するとともに、フローチャートを含めた総合的な形で文章する予定である。

上記シンポジウムにおける主な発表スライドを以下に添付した。

第41回日本毒性学会学術年会
シンポジウム16
食品中の化学物質による肝肥大の発現機序と毒性学的意義：
現状・課題・展望

神戸コンベンションセンター
2014年7月4日

今日のシンポジウムの発表内容は、平成25年度内閣府・食品・医薬品・安全衛生政策研究
・体内生体作用と健康影響評価基盤として、化学物質の肝臓への毒性評価に関する研究（総覧番号：1102）
・食品安全委員会化学物質により誘発される肝臓の毒性学的評価手法の確立と今後の展望（総覧番号：1103）
にて行われた研究内容が含まれています。

本シンポジウムの内容

- S16-1 はじめに 梅村隆志（国立医薬品食品衛生研究所）
- S16-2 化学物質誘発性肝肥大・肝肥大の特徴：毒性試験データからの考察
吉成浩一（静岡県立大学）、安部賢典（名古屋市立大学）
頭金正博（名古屋市立大学）
- S16-3 化学物質の細胞内受容体活性化作用と肝肥大作用：In vitro試験を用いた解析
小島弘幸（北海道衛生研究所）、北村繁幸（日本薬科大学）、吉成浩一
- S16-4 肝肥大の毒性学的意義CAR欠損マウスを用いた研究から考察する
井上薫（国立医薬品食品衛生研究所）
- S16-5 化学物質のHazard characterizationにおいて肝肥大を毒性ととるべきスタート地点
吉田 裕（国立医薬品食品衛生研究所）、梅村隆志、頭金正博、
小澤正吾（岩手薬科大学）

第41回日本毒性学会学術年会 シンポジウム16 食品中の化学物質による肝肥大の発現機序と毒性学的意義：現状・課題・展望

S16-1 はじめに [梅村隆志]

はじめに

国立医薬品食品衛生研究所 病理部
梅村隆志

第4回日本毒性学学会シンポジウム16

なぜ肝肥大が毒性評価において重要か

肝肥大 (Liver hypertrophy) の定義
形態学的には肝細胞の大きさが大きくなること
機能的には肝細胞の機能亢進の状態であること

第4回日本毒性学学会シンポジウム16 食品中の化学物質による肝肥大の発現とその毒性評価の現状・展望

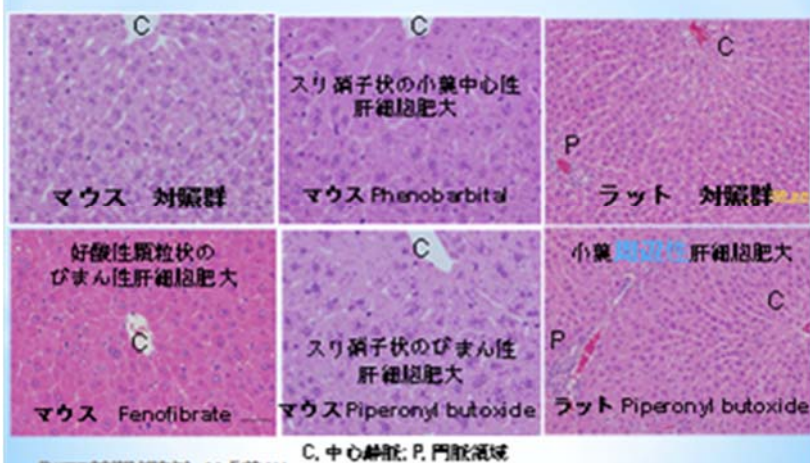
問題点1 化学物質によって誘発されるもっとも一般的な変化であるが、個々の化学物質で誘発される全ての肥大の機序が解明されているわけではない

第4回日本毒性学学会シンポジウム16

問題点2 肝肥大と肝障害、肝発がんとの関連性



問題点3 誘発される肝肥大部位や肝細胞の形態は多彩である



毒性評価上の肝肥大の問題点



S16-5 化学物質の Hazard characterization にて肝肥大を毒性ととるべきスタート地点[吉田緑]

本シンポジウムの内容

- S16-1 はじめに 梅村隆志 (国立医薬品食品衛生研究所)
- S16-2 化学物質誘発性肝肥大・肝肥大の特徴:毒性試験データからの考察
吉成浩一(静岡県立大学), 安部賢典(名古屋市立大学),
越金正博(名古屋市立大学)
- S16-3 化学物質の核内受容体活性化作用と肝肥大作用: in vitro 試験を用いた解析
小島弘幸(北海道衛生研究所), 北村 聖幸(日本医科大学), 吉成浩一
- S16-4 肝肥大の毒性学的意義: 欠損マウスを用いた研究から考察する
井上 麗 (国立医薬品食品衛生研究所)
- S16-5 化学物質の Hazard characterization において肝肥大を毒性ととるべきスタート地点
吉田緑 (国立医薬品食品衛生研究所), 梅村隆志, 越金正博,
小澤正吾(岩手医科大学)

資料: 日本食毒学会学術大会 シンポジウム③: 食品中の化学物質による肝肥大の発現機構と毒性学的意義 提供: 原 寛・提供

お断り

本シンポジウムの発表の一部は、平成25年度内閣府食品健康影響評価技術研究として行われたものが含まれていますが、今回班研究成果としてお示しする肝肥大に対する考え方は、同研究班がとりまとめたものであり、**食品安全委員会のガイダンスではありません。**

ご承知おき下さいますようお願い申し上げます。



内容

- ① 肝細胞肥大の毒性学的意義
- ② 毒性とすべき肝肥大について
- ③ 肝臓重量の考え方および肝肥大との関連性
- ④ 毒性評価上、考慮すべき点
- ⑤ 肝細胞肥大の機序を判定する上で有用なデータとは

肝細胞肥大の毒性学的意義

機能的な容量の増加である肝細胞肥大は、生体の恒常性が維持されている限りにおいて、適応性変化であり毒性ではない。

同時に生体の恒常性保持機能が限界を越した場合は、生体の恒常性が破たんを来したものと判断され、その場合の肝細胞肥大は毒性と判断すべきである。

以下と同様の考え方

The 3rd International ESTP Expert Workshop (Hall et al., 2012)
FAO WHO Joint Meeting of Pesticides and Residue (JMPR, 2006)

・ 毒性とすべき肝肥大について

肝肥大とともに以下の変化が肝臓に認められた場合は、肝臓への障害を示す可能性があることから、肝肥大を毒性影響とすべきか判断する必要がある。

- ④ タイプの異なる肝細胞肥大が誘発された場合
- ④ 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
- ④ 肝細胞肥大に胆道系の変化を伴う場合
- ④ 肝細胞肥大に脂質等代謝系の変化を伴う場合
- ④ 肝細胞肥大に色素沈着等を伴う場合

・ 肝臓重量の考え方および肝肥大との関連性

- ④ 体重による影響を考慮とした肝臓の相対重量(体重に対する)のほうが肝臓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での判定が基本である。
- ④ 肝重量増加は軽度な肝肥大を反映している場合が多い。肝障害指標が認められない肝重量増加は適応反応と考えることが妥当である。

しかし、高用量で重篤な肝障害が認められた場合等は慎重な判断が必要である。

・ 毒性評価上、考慮すべき点

- ④ 肝肥大が肝臓腫瘍の初期変化の可能性について
- ④ 化学物質による薬物代謝酵素誘導の考え方について
- ④ 高用量で肝障害が発生する場合、低用量の肝細胞肥大は肝障害の初期変化として毒性とすべきか?
- ④ 甲状腺の変化を伴う場合の肝肥大の考え方
- ④ 血液生化学的検査結果について

肝細胞肥大の機序を判定する上で有用なデータとは

- ④ 病理形態学的判定の重要性
 - 肝臓、肝細胞の特徴の記載
 - 電顕、免疫組織学的検査
- ④ Cytochrome P450の薬物代謝酵素の測定
- ④ 背景データの提示の有用性
- ④ 肝肥大機序に関するデータ(新しい毒性評価手法に向けた取り組み)
 - 遺伝子改変動物を用いた肝肥大に関するデータ
 - CAR, PXR, PPAR
 - In vitro評価系の確立

謝辞

今回のシンポジウムの発表内容には、
平成25年度内閣府 食品健康影響評価技術研究

- ② 核内受容体作用と酵素誘導解析を基盤とした、化学物質の肝肥大の毒性評価に関する研究(課題番号:1302)
- ② 食品安全委員会化学物質により誘発される肝肥大の毒性学的評価手法の確立と今後の問題点(課題番号:1303)

にて行われた研究内容が含まれています。

本シンポジウム開催にあたり、関係各位に深謝いたします。

2. 研究項目名2: *in vitro* および *in vivo* 実験に基づく化学物質により誘発される肝肥大と肝肥大の機序とヒトへの外挿性に関する研究(研究者名: 吉田緑、梅村隆志、小澤正吾、頭金正博)

① *in vivo* 実験を中心とする肝肥大の機序と、毒性・発がん性への関連性に関する研究 1) [梅村]

肝毒性物質への感受性が異なることが予想される C57BL/6 と B6C3F₁ を背景系統とする *gpt delta* マウスのそれぞれに種々の濃度の piperonyl butoxide (PBO) を投与し、肝肥大および肝毒性を系統間で比較検討した。9 週齢の雄性 C57BL/6 系および B6C3F₁ 系 *gpt delta* マウスのそれぞれに 0、60、600 および 6000 ppm の PBO を 4 週間混餌投与し、肝臓重量測定、肝臓の病理組織学的検査、血液生化学的検査、肝臓における CYP 発現解析を実施した。結果として、肝臓重量、病理組織学的な肝細胞肥大、*Cyp1a2* および *Cyp2b10* mRNA 発現レベルに明らかな系統間差は認められなかった。*Cyp3a11* および *Cyp4a10* mRNA 発現

レベルについて検討した結果、*Cyp3a11* mRNA 発現レベルは、いずれの系統においても 6000 ppm で明らかな上昇が認められた。一方、*Cyp4a10* mRNA 発現レベルは、B6C3F₁ 系の 6000 ppm 投与群で有意な上昇が認められたが、C57BL/6 系のマウスでは何れの投与量においても変化は認められなかった。これらの結果から、今回、*Cyp4a10* の mRNA 発現レベルに系統間差が認められたことから、今後、Western blotting 法および免疫組織化学的手法により、CYP4A の蛋白レベルについても確認し、*Cyp4a10* の発現誘導に係る関連因子の系統間差について明らかにする予定である。

本研究成果は、2015 年 1 月に開催された第 31 回日本毒性病理学会にて発表した。

2) トリアゾール系農薬を含むトリアゾール系抗真菌剤によるマウス肝肥大及び肝発がん過程への mouseCAR の関与に関する研究 [小澤・吉田、研究協力者:井上薫]

(1) 肝肥大と CAR の関与

まず肝肥大と CAR の関与を検討した。7 週齢の雄性 C3H (Wild) マウスおよび遺伝的に C3H マウスをバックグラウンドとした CAR 欠損 (KO) マウスに、農薬として使用されている Cyproconazole (Cyp), Tebconazole (Teb) または抗菌剤として使用されている Fluconazole (Flu) を 4 週間混餌投与し、肝重量、肝臓の病理組織学的検索および肝臓における CYP 発現 (2b10, 3a11 mRNA および CYP2B10 免疫染色) を検索した。その結果、Cyp 群: 肝重量は Wild で顕著に増加したが、KO では増加しなかった。病理組織学的に小葉中心性/び漫性の肝細胞肥大が Wild では顕著にみられたが、KO ではみられなかった。Real-time PCR の結果、Cyp2b10 発現は Wild で顕著に増加したが、KO では軽度増加した。Cyp3a11 発現は Wild 及び KO で顕著に増加した。CYP2B 免疫染色の結果、CYP2B 発現が Wild で小葉中心性/び漫性に強陽性であったが、KO では小葉中心部のみ軽度の陽性であった。Teb 群: 肝重量は Wild 及び KO で顕著に増加した。び漫性の肝細胞肥大が Wild 及び KO で顕著にみられた。Cyp2b10 及び Cyp3a11 発現は Wild 及び KO で顕著に増加した。CYP2B 発現が Wild 及び KO でび漫性に強陽性であった。Flu 群: 肝重量は Wild で中等度に、KO で軽度増加した。小葉中心性の肝細胞肥大が Wild で顕著に、KO で軽度みられた。Cyp2b10 発現は Wild で顕著に増加したが、KO では増加しなかった。Cyp3a11 発現は Wild 及び KO で顕著に増加した。CYP2B 発現が Wild で小葉中心性に強陽性であったが、KO では軽微の陽性であった。これらの結果から、Cyp による肝肥大には主として CAR が関与するが、Teb による肝肥大にはほとんど CAR は関与していないこと、Flu による肝肥大には CAR が関与するが、PXR 等の他のメカニズムの関与があることが示唆された。

(2) 肝発がん過程への CAR の関与

続いて CAR と肝腫瘍の関与について検討した。7 週齢の雄性 Wild マウスおよび CAR KO マウスに、90 mg/Kg BW ジエチルニトロサミン (DEN) を単回腹腔内投与した 1 週間後から、200 ppm Cyp, 1500 ppm Teb または 200 ppm Flu を 27 週間混餌投与した。肝臓を採取し、病理組織学的に好酸性または好塩基性の変異肝細胞巣あるいは肝細胞腺腫の発生頻度および発生個数を検索した。その結果、Cyp 投与により、wild マウスにおいて好酸性変異肝細胞巣および肝細胞腺腫が対照群に比し有意に増加した。CAR KO マウスでは、好酸性変異

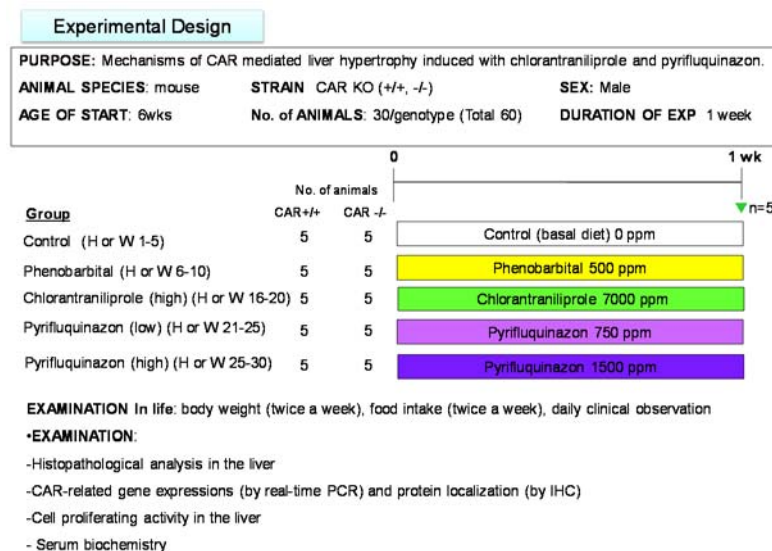
肝細胞巣および肝細胞腺腫が wild マウスの Cyp 群に比し減少したが、好酸性変異肝細胞巣の発生個数は CARKO マウスの対照群に比しわずかに多かった。Teb 投与により wild マウスにおいて好酸性変異肝細胞巣が増加したが、CARKO マウスでは同病変の発生が有意に減少していた。両遺伝子型マウスにおいて、Flu は Teb と同様の変化を示した。好塩基性変異肝細胞巣および肝細胞腺腫も各剤を投与した wild マウスで増加し、CARKO マウスでは wild に比し減少したが、変化の程度は好酸性変異肝細胞巣および肝細胞腺腫に比し弱かった。これらの結果から、CAR は Cyp, Teb, Flu により誘発された肝腫瘍の発生に重要な役割を有することが示唆された。また、肝肥大と肝発がんにおける CAR の関与パターンが異なることから、マウスにおいて、肝肥大は CAR 介在肝発がんの key event ではないことが示された。

これら 3 種のトリアゾール系真菌剤の結果から、Rodent liver tumor の MOA フレームワーク (Holosapple et al., 2006) で提唱されているように、肝肥大を肝発がんの key event とする考え方は妥当ではない可能性が示唆された。

この結果は、Food and Chemical Toxicology に掲載された。

3) 農薬 (クロラントラニプロル、ピリフルキナゾン) によるマウス肝肥大と CAR の関与について [吉田、研究協力者:井上薫]

クロラントラニプロルは食品安全委員会の農薬のヒト健康影響評価において、肝肥大 (肝臓重量の増加) をエンドポイントに ADI が設定された農薬であり、ピリフルキナゾンはマウスの慢性毒性試験において肝細胞肥大が認められた農薬である。これらと CAR の肝肥大について以下の検討を行った。実験計画を以下に示す。



6 週齢の雄性 C3H (Wild) マウスおよび遺伝的に C3H マウスをバックグラウンドとした CARKO マウスに、農薬として使用されているクロラントラニプロル(chlorantraniliprole, 7000 ppm)とピリフルキナゾン (pyrifluquinazon, 750 ppm 及び 1500ppm)を 1 週間混餌投与した。クロラントラニプロルの用量は、マウスの 18 か月間反復投与による発がん性試験において、肝重量 (絶対及び相対) の増加、小葉中心性肝細胞肥大、好酸性変異肝

細胞巢の増加が認められた用量である。また、ピリフルキナゾンの用量は、マウス 90 日試験において、肝重量（絶対及び相対）の増加および小葉中心性肝細胞肥大が認められた用量である。いずれの剤もマウスにおいて肝発がん性は認められていない。本研究では、各剤投与 1 週後の体重および肝重量、肝臓における病理組織学的検索と CYP 発現（Cyp2b10, 3a11, 4a10, 1a1 mRNA の定量解析および CYP2B, 1A, 4A 免疫染色）を検索した。

結果については、Table 1, Figures 1 and 2 を参照されたい。

（１）クロラントラニリプロール投与により、CARKO マウスの投与群のみに肝臓の絶対及び相対重量の増加が認められた。wild マウス投与群の最終体重と肝重量、および CARKO マウスの最終体重は、対照群との間に有意差は認められなかった。また、肝臓には投与による肝細胞肥大などの病理組織学的変化は、両遺伝子型マウスとも認められなかった。Cyp 遺伝子発現は、2b10 と 1a1 については Wild マウスの投与群で有意な発現増加が、CARKO マウスの投与群で wild マウス投与群より有意に低い発現が認められた。また、3a11 は、両遺伝子型マウスとも投与群で有意な発現増加がみられた。4a10 発現変動は、いずれの投与群にもみとめられなかった。CYP 蛋白は、2B 発現はいずれの投与群にも認めず、1A および 4A は小葉中心部の肝細胞に局在が認められたが、両遺伝子型マウスの投与群間に差はほとんどなかった。いずれの CYPs についても、遺伝子と蛋白の発現パターンに相関は無かった。

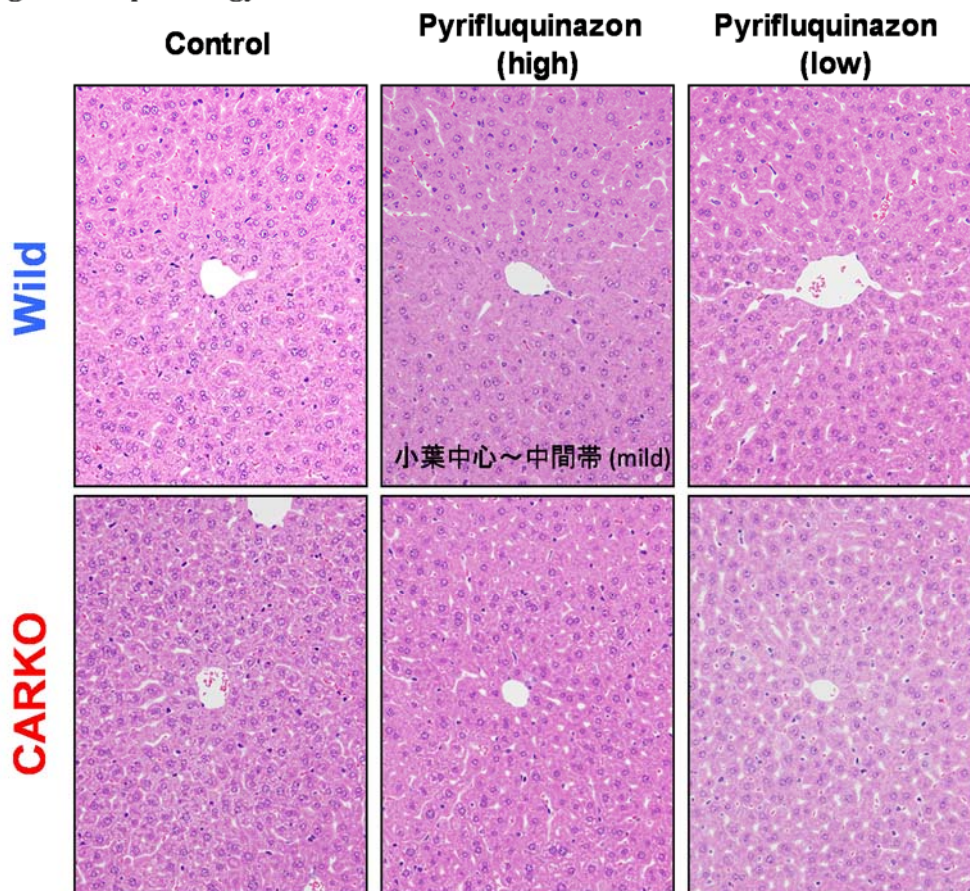
（２）ピリフルキナゾン投与により、両遺伝子型マウスの 1500 ppm 投与群の最終体重が対照群に比し有意に減少していた。肝重量は、Wild マウスの 1500 ppm 投与群では絶対・相対重量とも有意に増加していたが、CARKO マウスでは、両用量の投与群の絶対重量と 750 ppm 群の相対重量が対照群に比し有意に低かった。病理組織学的に、肝重量が増加していた Wild マウスの 1500 ppm 投与群のみで軽度の小葉中心性肝細胞肥大がみとめられた。投与群の遺伝子型間で Cyp 発現に有意差が認められたのは、2b10（両用量群）と 1A1, 4A10 (1500 ppm 群のみ)で、2b10 は wild マウス投与群において用量の増加に伴って有意に発現増加し、CARKO マウス投与群ではいずれも wild マウス投与群に比し有意に低かった。また、1500 ppm 群の 1A1, 4A10 発現は、Wild マウスより CARKO マウスの方が発現量は有意に高かった。Cyp3a11 発現は、用量、遺伝子型に関わらず、投与群において対照群に比し有意に高いレベルであった。CYP 蛋白発現は、2B および 1A はいずれの投与群においても発現を認めず、4A は両遺伝子型の投与群の小葉中心部肝細胞に弱陽性だったが、遺伝子型間に差はなかった。いずれの CYPs についても、遺伝子と蛋白の発現パターンに相関は無かった。

Table 1. Final body and liver weight of wild-type and CARKO mice treated with chlorantraniliprole and pyrifluquinazon

Genotype	Group		Body weight (g)	Absolute liver weight (g)	Relative liver weight (g/100 g BW)
Wild		(n=)			
	Control	5	25.3 ± 0.8	1.28 ± 0.07	5.07 ± 0.25
	PB	5	25.4 ± 0.8	1.51 ± 0.07**	5.93 ± 0.22**
	Chlorantraniliprole	5	25.4 ± 0.6	1.33 ± 0.05	5.24 ± 0.19
	Pyrifluquinazon (high)	5	23.3 ± 0.9**	1.43 ± 0.06**	6.16 ± 0.27**
	Pyrifluquinazon (low)	5	24.1 ± 0.9	1.22 ± 0.04	5.06 ± 0.07
CARKO		(n=)			
	Control	5	24.9 ± 0.9	1.21 ± 0.05	4.86 ± 0.08
	PB	5	25.5 ± 1.0	1.22 ± 0.10	4.79 ± 0.24
	Chlorantraniliprole	5	25.9 ± 1.0	1.34 ± 0.05**	5.16 ± 0.12**
	Pyrifluquinazon (high)	5	22.2 ± 0.9**	1.09 ± 0.05**	4.90 ± 0.21
	Pyrifluquinazon (low)	5	24.4 ± 0.7	1.12 ± 0.04*	4.59 ± 0.09**

**: Significantly different from controls at $p < 0.01$.

Fig. 1 Histopathology in the liver.



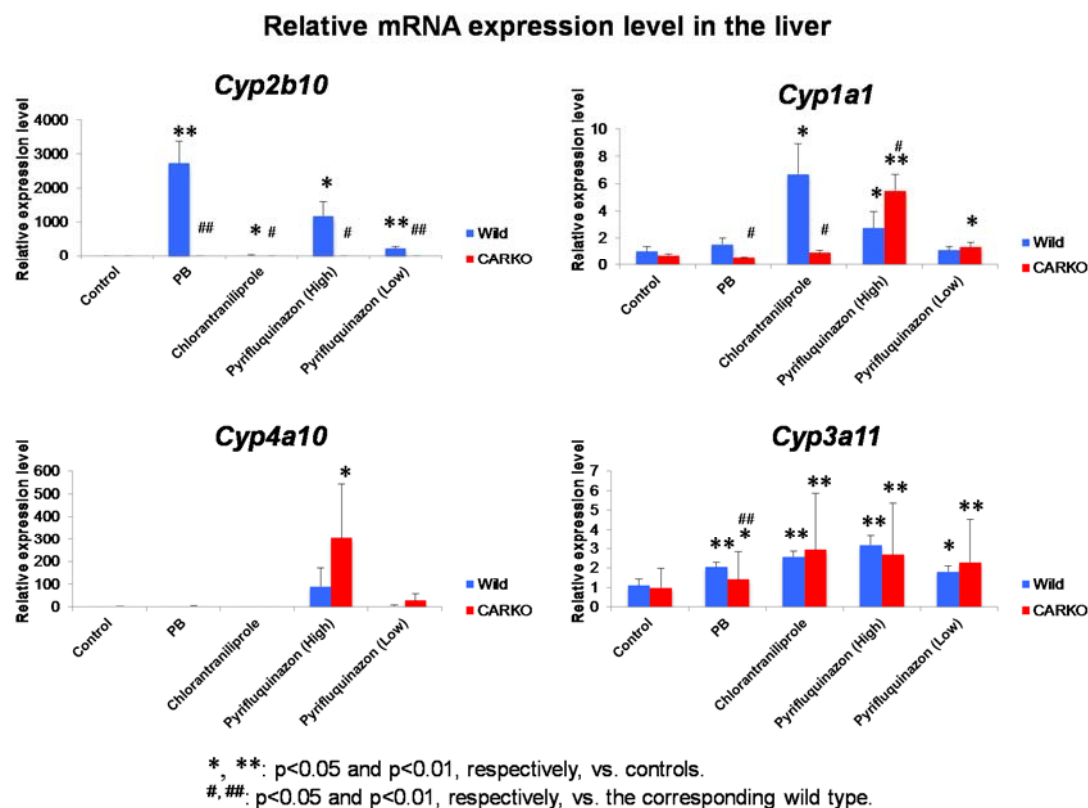


Figure 2

今回の検討において、クロラントラニリプロールは1週間の投与ではマウスに肝重量増加や肝細胞肥大を惹起せず、肝細胞肥大とCYPs発現との関連およびCYPsの遺伝子と蛋白の発現パターンの相関はなかったことから、本剤の長期間投与でみられた肝重量増加と小葉中心性肝細胞肥大にマウス型CARが関与しているかを明らかにすることはできなかった。また、ピリフルキナゾンは、高用量（1500 ppm）の1週間投与でWildマウスに肝重量増加と軽度の小葉中心性肝細胞肥大がみられ、同投与群のCARKOマウスではこれらの変化が認められなかったことから、本剤による肝細胞肥大にマウス型CARの関与があることが示唆された。しかし、今回の検索では、その肝細胞肥大の発生に関連するCYPsを捉えることができなかった。

4)プロトポルフィリン(Protox)阻害剤（オキサジアゾン、アシフルオルフェン）によるマウス肝肥大、肝発がん機序へのCARの関与について [吉田、研究協力者:井上薫]

植物の光合成系を阻害することにより除草効果を示すプロトポルフィリン(Protox)阻害剤は、哺乳類の体内でのヘム合成阻害に起因した全身へ色素沈着だけでなく、高率に肝細胞肥大および肝腫瘍を発生させることが知られている。Protox阻害剤は2006年にHolsappleらが発表したげっ歯類の肝腫瘍のヒトへの外挿性に関するmode of action (MOA)のうち、CYP2B誘導剤やPPARとは異なりporphyriaに分類され、その肝腫瘍機序はヒトへ外挿性ありと分類されている。しかし、近年、protox阻害剤についてもげっ歯類肝腫瘍機序

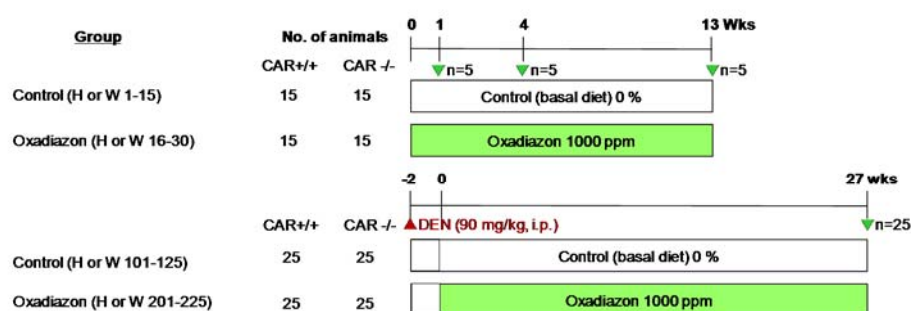
が関与している可能性を示す論文が報告 (Stagg et al., 2012) されていることから、CAR 欠損 (KO) マウスを用いて、protox 阻害剤の肝肥大と肝腫瘍と CAR の関与について検討することは本研究課題に意義あることと考え、実験を開始した。長期の In vivo 動物実験に使用できる大量の Protox 阻害剤は販売されていないため、本研究では和光純薬株式会社 (大阪) に protox 阻害剤を合成依頼して購入し、実験に用いた。合成に日数を要したため、動物実験は平成 26 年度開始となった。

本実験では農薬として使用されているオキサジアゾンおよびアシフルオルフェンによるマウス肝肥大への CAR の関与を検索するために 1, 4 および 13 週間反復投与実験を実施した。また、両剤のマウスにおける肝発がん機序への CAR の関与を検索するために、90 mg/Kg BW ジエチルニトロサミン (DEN) を単回腹腔内投与した 2 週間後から、発がん用量の両剤を各々 27 週間混餌投与した。動物は、6 週齢の雄性 C3H (Wild) マウスおよび遺伝的に C3H マウスをバックグラウンドとした CARKO マウスを使用した。動物実験は現在継続中であり、今後 13 週間までの投与実験では、肝重量、肝臓の病理組織学的検索および肝臓における CYP 発現等を検索する予定である。また、27 週間投与実験では、各剤により誘発される肝細胞の増殖性病変 (変異肝細胞巣および肝細胞腫瘍) の発生頻度と発生個数を検索し、遺伝子型による増殖性病変の発生の相違点の有無を検索し CAR の関与をする予定である。平成 26 年度末に 2 段階発がん実験を終了、27 年度中に解析を終了する予定である。実験計画を以下に示す。

Experimental design

CAR-involvement in the mechanism of liver hypertrophy and hepatocarcinogenesis induced by Oxadiazon in mice.

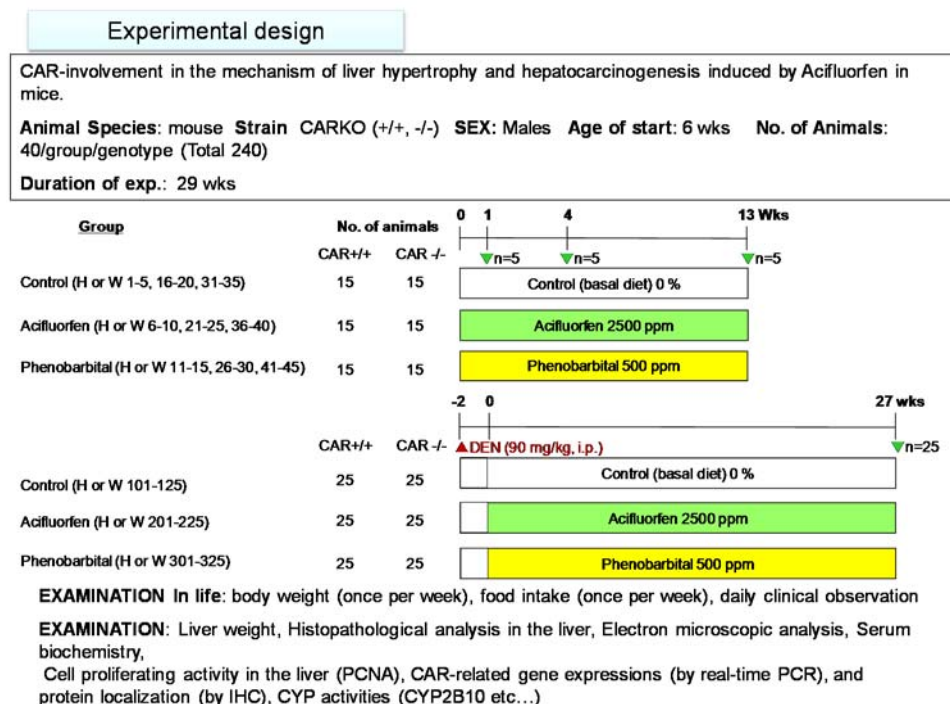
Animal Species: mouse **Strain** CARKO (+/+, -/-) **SEX:** Males **Age of start:** 6 wks **No. of Animals:** 40/group/genotype (Total 160) **Duration of exp.:** 29 wks



EXAMINATION In life: body weight (once per week), food intake (once per week), daily clinical observation

EXAMINATION: Liver weight, Histopathological analysis in the liver, Serum biochemistry, Cell proliferating activity in the liver (PCNA)

CAR-related gene expressions (by real-time PCR) and protein localization (by IHC), CYP activities (CYP2B10 etc...)



まだ解析途中であるが、得られた結果の一部を示す。オキサジアゾン（Oxadiazone）による肝肥大への CAR の関与を検索した結果、全ての投与期間で wild 及び CARKO とも肝重量は顕著に増加し、病理組織学的に小葉中心性／び慢性の肝細胞肥大が認められた。肥大の程度は 4 週間投与で最も著しかった。4、13 週間投与でポルフィリンを示唆するクッパー細胞褐色色素沈着が wild、CARKO とも認められた。免疫組織化学的に Cyp4A の発現が肝細胞肥大に一致して認められ Real-time PCR で wild 及び KO の Cyp4a10 が全ての投与期間で顕著に増加した。Cyp2b10 発現は wild で増加したが、KO では軽微であった。また、全ての投与期間で wild 及び KO とも肝細胞の単細胞壊死、あるいは炎症細胞浸潤が認められ、PCNA 陽性細胞数は増加していた。これらの結果から、Oxadiazon 誘発肝肥大に CAR の関与は乏しく、PPAR が主因と考えられた。本研究では陽性対照物質としてフェノバルビタール(PB)を用いた。この結果は、第 41 回日本毒性病理学会学術集会（2015 年 1 月）にて発表した。

② ヒト肝初代培養細胞等を用いた化学物質による薬物代謝酵素活性の変動および肝毒性関連遺伝子発現変動 [小澤・頭金]

薬物代謝酵素活性の変動および肝毒性関連遺伝子発現変動を測定するために必要な遺伝子発現プラスミド等の試験材料の収集を開始した。

本事業での調査研究により、肝肥大と肝薬物代謝酵素誘導の両方が認められるか否かにより各種剤毎に性質が大きく異なると思われた。この検証のためラット、イヌ、ヒト初代肝細胞の薬物代謝酵素の発現が既存の方法より長期にわたって維持できるスフェロイド培養システムが必要と思われた。そこで日立ハイテック社ナノピラーシステムに着目し同社との技術的な情報交換を行った結果、試作システムを含めた培養系の構築を開始した。ヒト肝癌細胞株 HuH-7 細胞 10,000-50,000 個を播種し、これら細胞が凝集してスフェロイド

形成する条件を探索した。形態が良好なスフェロイドを形成した集団と細胞塊が崩れやすい集団がみられた。良好な形態のスフェロイド形成がみられた集団を選んで薬物代謝酵素誘導を測定すればよいかもしれないが、今後検討を要する。

ラット CAR をラット肝癌由来細胞に一過的発現させておこる CYP3A1 の顕著な発現誘導には、上流約 32 kb 付近に存在する Direct repeat 4 (DR4) および DR2 と hepatocyte nuclear factor-1 binding motif (HNF1) が協調的に働くことが重要であることを示し、投稿した。本投稿原稿では CAR の標的遺伝子は CYP3A1 である。この知見を基に、肝肥大および／あるいは非遺伝毒性発がん過程において CAR の結合が重要な遺伝子プロモーター／エンハンサー配列に関する手がかりを模索している。

③ 肝肥大の機序を解明するための *in vivo* 実験および *in vitro* 実験を総合的に解析[全員]

本研究で実施した肝肥大の機序を解明するための *in vivo* 実験および *in vitro* 実験結果については、平成 26 年 7 月に開催された日本毒性学会学術年会のシンポジウム 16 「食品中の化学物質による肝肥大の発現機序と毒性学的意義・現状・課題・展望」で発表し、また日本食品衛生学雑誌への投稿「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」にも研究結果の一部を記載した。

しかし、未だ実験途中で含まれていない結果もあることから、最終的には本研究に関わる全員の *in vivo* 実験および *in vitro* 実験結果を盛り込んだ研究を成果と、「核内受容体作用と酵素誘導解析を基盤とした、化学物質による肝肥大の毒性学的評価に関する研究」(課題番号: 1302 主任研究者: 吉成 浩一静岡県立大学教授)の研究班の成果を併せて、査読システムを有する毒性学領域の専門誌に、総説として公表する予定である。公表は平成 28 年度末までに行う予定である。

Ⅲ 本研究を基に発表した論文等

1 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名のリスト

- 1) 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 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 日本食品衛生学雑誌 (2015 年 4 月)現在グラ修正中
- 2) Gamou T, Habano W, Terashima J, Ozawa S A CAR-responsive enhancer element locating approximately 31 kb upstream in the 5'-flanking region of rat cytochrome P450 (CYP) 3A1 gene. Drug Metabolism and Pharmacokinetics. 2014 In press.
- 3) Tamura K, Inoue K, Takahashi M, Matsuo S, Irie K, Kodama Y, Gamo T, Ozawa S, Yoshida M. Involvement of constitutive androstane receptor in liver hypertrophy and liver tumor development induced by triazole fungicides. Food and Chemical Toxicology. 78:86-95, 2015

2 本研究を基にした学会発表の実績

- 1) 井上薫、鈴木大節、小川祐布子、前田潤、市村亮平、高橋美和、児玉幸夫、吉田緑 PPAR α 作動薬によるマウス肝肥大及び肝発がん過程におけるConstitutive androstane receptor(CAR)の関与について。第30回日本毒性病理学会学術集会(2014年、徳島)

- 2) Kaoru Inoue, Daisetsu Suzuki, Yuko Ogawa, Jun Maeda, Tomomi Morikawa, Ryoh ei Ichimura, Miwa Takahashi, Yukio Kodama, Midori Yoshida. Involvement of constitutive androstane receptor (CAR) in the liver hypertrophy and hepatocarcinogenesis induced by three fibrates in mice. The 53rd Annual Meeting and ToxExpo (March 2014, Phoenix, USA).
- 3) 梅村隆志 S16-1 食品中の化学物質による肝肥大の発現機序と毒性学的意義：現状・課題・展望 はじめに 第41日本毒性学会（2014年7月神戸）
- 4) 井上薫 S16-1 食品中の化学物質による肝肥大の発現機序と毒性学的意義：現状・課題・展望 肝肥大の毒性学的意義：CAR 欠損マウスを用いた研究から考察する。第41日本毒性学会（2014年7月神戸）
- 5) 吉田緑 S16-1 食品中の化学物質による肝肥大の発現機序と毒性学的意義：現状・課題・展望 化学物質の Hazard characterization にいて肝肥大を毒性ととるべきスタート地点 第41日本毒性学会（2014年7月神戸）
- 6) 横尾諭、石井雄二、高須伸二、木島綾希、土屋卓磨、吉田緑、梅村隆志 ピフペロニルブトキシドによる肝薬物代謝酵素誘導のマウス系統間種差について 第31回日本毒性病理学会（2015年1月 東京）
- 7) 桑田和倫、井上薫、高橋美和、市村亮平、森川朋美、児玉幸夫、吉田緑 Protoc 阻害剤による肝肥大と CAR の関与 第31回日本毒性病理学会(2015年1月 東京)
- 8) 井上薫 げっ歯類の肝腫瘍のヒトへの外挿性-CARKO マウスを用いた実験結果からの考察- 第31回日本毒性病理学会シンポジウム（2015年1月 東京）

3 特許及び特許出願の数と概要

なし

4 その他（各種受賞、プレスリリース、開発ソフト・データベースの構築等）

なし

IV 主任研究者による研究全体の自己評価

項目	評価結果	評価コメント
1 研究の妥当性	5	2年間かをかけて公表データの解析と <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> 実験の成果を踏まえて化学物質による肝肥大の毒性学的評価手法を確立と問題点を提起することができたことから、妥当な研究内容であると考ええる。
2 研究目標の達成度	4	解析については終了したことから目的は達成できたが、実験については平成 26 年度末までに解析を終了することができなかった。また肝肥大の基本的な考え方については公表できたが、解析結果を全て公表するまでには至らなかった。
3 研究成果の有用性	4	ただちに日本の化学物質の評価で使用可能な化学物質による肝肥大の毒性学的評価手法を確立と問題点を提起することができた。
合 計	12	
総合コメント 本研究に関わる全員だけでなく、<u>「核内受容体作用と酵素誘導解析を基盤とした、化学物質による肝肥大の毒性学的評価に関する研究」(課題番号：1302 主任研究者：吉成浩一静岡県立大学教授)</u>の研究班の全員と密接に連携しながら、ただちに日本の化学物質の評価で使用可能な化学物質による肝肥大の毒性学的評価手法を確立と問題点を提起することができたことは大きな成果である。 今後さらに<u>連携を深めながら、成果の公表に一層努力</u>していく予定である。		

注) 評価結果欄は、「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で記述する。

この報告書は、食品安全委員会の委託研究事業の成果について取りまとめたものです。本報告書で述べられている見解及び結論は研究者個人のものであり、食品安全委員会としての見解を示すものではありません。