

1 残留農薬の食品健康影響評価における
2 毒性試験での有害影響の判断に関する考え方（案）
3 （令和3年〇月〇日 農薬第一専門調査会決定）
4

5 目 次

	頁
6	
7 1. はじめに	2
8 2. 有害影響の判断に至る基本的考え方と手法	2
9 2. 1 有害影響の判断に至る基本的な考え方	2
10 2. 2 統計学的解析	5
11 (1) 統計学的解析についての基本的な考え方	5
12 (2) 統計学的解析における留意点	5
13 2. 3 背景データの利用についての基本的な考え方	5
14 (1) 背景データとは	5
15 (2) 背景データの評価への利用に当たっての基本的考え方と留意点	6
16 2. 4 有害影響の判断に当たり留意が必要な例	7
17 (1) 適応性変化について	7
18 (2) 一過性の変化について	7
19 (3) 軽度な変化について	8
20 (4) 他の有害影響に伴う二次的な影響について	8
21 (5) 回復性のある変化について	8
22 ・参照	9
23 3. 各種検査項目の解釈について	11
24 3. 1 血液学的検査、血液生化学検査及び尿検査についての基本的な考え方 ..	11
25 (1) 共通する基本的な考え方	11
26 (2) 血液学的検査項目について	12
27 (3) 血液生化学検査項目について	13
28 (4) 尿検査項目について	15
29 3. 2 体重、摂餌量及び臓器重量についての基本的な考え方	15
30 (1) 体重について	15
31 (2) 摂餌量について	16
32 (3) 臓器重量について	17
33 ・参照	19
34	
35 ・別紙	21
36	

1. はじめに

本文書は、残留農薬に関する食品健康影響評価における毒性試験（遺伝毒性試験を除く）の解釈について一貫性をもった判断を行うため、これまでの残留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¹等も考慮して、有害影響(adverse effect)²の判断に関する基本的考え方を整理したものである。

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。

10

2. 有害影響の判断に至る基本的考え方と手法

2. 1 有害影響の判断に至る基本的な考え方

食品安全委員会では、「有害影響」をハザードにばく露されたときに生じる健康に好ましくない影響と定義付けており、無毒性量（NOAEL）、最小毒性量（LOAEL）等を判断するときの基準となるものとしている。

有害影響については、海外のリスク評価機関や学術団体等においても、生体に生じた望ましくない影響という点で同様の定義³がされている。

一方で、実際に農薬等の化学物質を投与する種々の毒性試験でみられた変化が、被験動物にとっての有害影響であるか否かの判断を行うことは容易ではない。

被験動物における有害影響の判断を行う場合に、それぞれの毒性試験結果を段階的に評価する手法の一つとして「毒性試験結果の判断に係る体系的アプローチ⁴（以下「体系的アプローチ」という。）」（図1）が挙げられる。

体系的アプローチは、まず、投与群で得られたデータを対照群データ⁵と比較して差があるか否かを判断し、差があると判断した場合、その差が評価

¹ 海外評価機関における評価基準の例

WHO (World Health Organization): Guidance document for WHO monographers and reviewers. 2015

https://www.who.int/foodsafety/publications/jmpr_guidance_document_1.pdf?ua=1

² 毒性影響又は毒性所見と表すこともある。

³ 有害影響（adverse effect）に関する海外のリスク評価機関等における定義の例

EFSA(European Food Safety Authority): A change in the health, growth, behavior or development of organism that impairs its ability to develop or survive（生物の発達能あるいは生存能を障害する健康、成長、行動又は発達の変化）

⁴ Lewisらが提唱（Lewis RW et al.: Recognition of Adverse and Nonadverse Effects in Toxicity Studies. Toxicol Pathol. 2002; 30(1): 66-74）。なお、本文書では図1を含め提唱内容を一部改変して掲載している。

⁵ 2. 1の項目内では、対照群のデータだけではなく、投与前値も含む。

1 対象物質の投与に関連する影響か否かの判断を行う。次に、投与に関連する
2 影響と判断した場合、その影響が評価対象物質の投与により生じた有害影
3 響とみなすことができるか否かを判断する。

4 試験結果によっては、異なる動物種や異なる試験から得られた様々なデ
5 ータと合わせて科学的根拠の重み付け（Weight of Evidence）等による専門
6 性に基づいた総合的な判断（エキスパートジャッジ）を行うことが必要な場
7 合がある。

8
9 体系的アプローチは、Ⅰ、Ⅱ及びⅢの3段階で判断するように構成され
10 ており、各段階において検討すべき主な判断要素を下記に示す。

11 Ⅰ 投与群で得られたデータを対照群データと比較して差があるか否かを
12 判断する。

13 次の場合には、通常、対照群と比較して差があると判断することが多い。

14 ① 適切な統計学的手法を用いて統計学的有意差（一般的に有意水準
15 5%以下）が認められる場合

16 ② 供試動物数が少ないイヌ等の試験において、同一個体の投与前の
17 データ等と比較してエキスパートジャッジにより差があると判断さ
18 れる場合

19 ③ その他、統計学的有意差はないが、エキスパートジャッジにより差
20 があると判断される場合

21 Ⅱ 対照群との差が投与に関連する影響か否かを判断する。

22 次の場合には、通常、投与に関連する影響ではないと判断することが多
23 い。

24 ① 明確な用量相関性がみられない場合

25 ② 外れ値と考えられる1匹以上の動物の所見が原因である場合

26 ③ エンドポイントの測定データに信頼性がない場合

27 ④ 正常な生物学的変動の範囲内の変化（以下「正常範囲」という。）

28 である場合（2.3に照らし、信頼できる背景データの範囲内の場合
29 （2.3参照））堀本専門参考人コメントを踏まえ事務局修文

【堀本専門参考人より】

（二重下線部）何を指しているのか明確にしたほうが良いように思います。

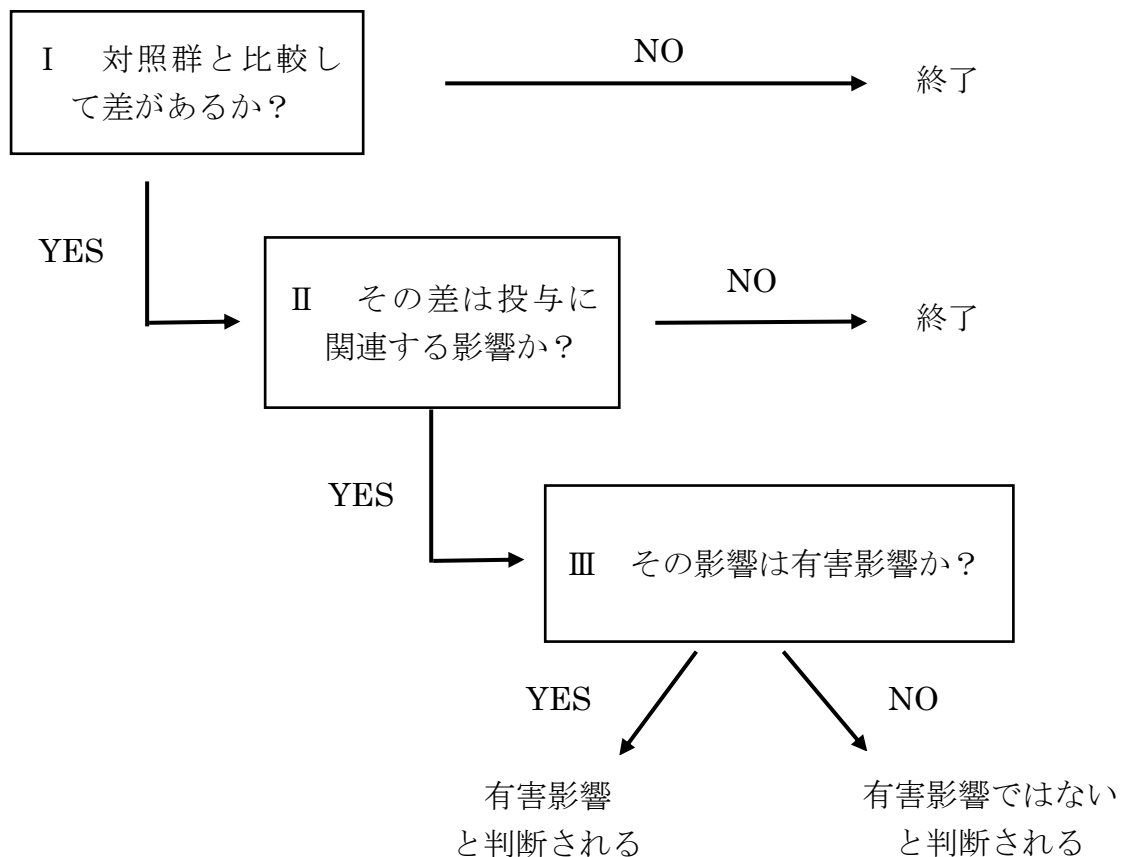
30
31 ⑤ 生物学的妥当性を欠く場合（評価対象物質の作用機序（Mode of
32 Action：MeAMOA）又は既知若しくは想定される所見と一致しない
33 場合）與語専門参考人修文

34 Ⅲ 投与に関連する影響が有害影響か否かを判断する。

1 次の場合は、通常、有害影響ではないと判断することが多い。一過性の
2 変化、他の有害影響に伴う二次的な影響又は有害影響の初期変化でない
3 ことが既知の影響の場合は、判断に当たり留意が必要である。

- 4 ① 被験動物（生物）又は影響のみられた、臓器若しくは組織に機能的
5 な変化がない場合
- 6 ② 適応性変化の場合
- 7 ③ 軽度な変化の場合
- 8 ④ 影響がみられた場合に通常伴うはずの他のパラメータに変化がみ
9 られない場合
- 10 ⑤ 実験方法等に起因して発現する影響の場合

11
12 図1 毒性試験結果の判断に係る体系的アプローチ



2. 2 統計学的解析

(1) 統計学的解析についての基本的な考え方

原則として、各種毒性試験において適切な統計学的手法を用いて対照群と投与群を比較した場合、統計学的有意差（一般的に有意水準 5% 以下）が用量相関性をもって認められ、かつ、評価対象物質を投与した動物にとって有害であると判断した変化を有害影響とする。

適切な統計学的手法は、データの種類によって異なる。それらは OECD のガイダンス等に記載されており、各種毒性試験で一般的に用いられている手法が使用されていることを確認する。（OECD, 2012）

(2) 統計学的解析における留意点

統計学的有意差の有無は有害影響の判断に重要である。しかし、全ての統計学的有意差が、有害影響を示すものではない。

統計学的有意差が認められても、その影響の程度が軽度で、かつ、関連する指標に投与による影響が認められない場合は、毒性学的プロファイル、用量相関性、他の試験における同様の毒性所見の有無、評価対象物質の MoAMOA 等にも留意してエキスパートジャッジにより判断する。対照群の値が正常範囲を逸脱している場合や、投与群の変化が正常範囲内の変動である場合も留意が必要である。【與語専門参考人修文】

供試動物数が少ないイヌ等の試験では、個体間のばらつきが大きいこともある。同一個体を用いて投与前の検査を実施している検査項目については、統計学的有意差の有無にかかわらず経時的な変動をもとに有害影響の判断を行うことがある。

病理組織学的所見で病変の程度による分類が行われている試験結果については、程度分類は半定量的なものであることから統計学的有意差のみによる判断には留意が必要である。（Mann et al., 2012）

【與語専門参考人より】

（二重下線部）P2 では有害影響と修文していますが、ここでは毒性所見でよいでしょうか。

2. 3 背景データの利用についての基本的な考え方

(1) 背景データとは

背景データは、比較対象となる毒性試験と同じ施設で実施された試験の対照群の値、ばらつき及び発生頻度が集計された背景データ（Historical control data）（以下「試験施設の背景データ」という。）と、公表された文献、学術雑誌又は成書に記載された背景データ（Published control data）（以下「公表文献等に基づく背景データ」

1 という。)に大別される。背景データのうち、信頼性が高いものは、試験
2 施設の背景データである。

3 試験施設の背景データとしての利用が好ましいのは、当該試験の実
4 施施設において当該試験の前後2年以内に行われた試験であり、同一
5 系統の動物種を用いて同じ投与経路で実施された試験における対照群
6 から得られた値、ばらつき及び発生頻度である。ただし、検査項目に
7 より試験施設の背景データの利用に適するデータは当該試験の前後2
8 年以内のものに限定されるものではなく、対象とするエンドポイント
9 やデータの特性（動物数等）を考慮して、それを利用するか否か判断
10 する。

11 公表文献等に基づく背景データの利用は原則的に許容されないが、
12 試験施設の背景データが得られないような発生が稀な変化等について
13 は、許容される場合もある。

14 (2) 背景データの評価への利用に当たっての基本的考え方と留意点

15 評価に当たっては、当該試験の対照群との比較を最も優先し、安易
16 な背景データの利用は避けることが望ましい。（Elmore and
17 Peddada, 2009）

18 一方、当該試験の対照群の値が試験施設の背景データの上限値を超
19 え、又は下限値未満であり、投与による影響の判断が難しく、対照群
20 の値に疑念が持たれる場合には、背景データの利用は有用である。

21 背景データの利用に当たっては、基本的に同じ条件（試験施設、年
22 代、動物の系統、投与経路等）で実施された試験の対照群の値を使用
23 することとし、さらに、投与溶媒や測定機器の違いにより影響を受け
24 ることを理解した上で次の点に留意する。

- 25 ・ 背景データとの比較を行った場合は、評価に用いた背景データの
26 上限値、下限値、平均値、そのばらつき（通常、標準偏差値）、検
27 査動物数等についても評価書に記載する。
- 28 ・ 試験施設の背景データを用いた場合は背景データのもとになっ
29 た試験が実施された期間や試験数を、公表文献等に基づく背景デ
30 ータを用いた場合はその出典を評価書に記載する。堀本専門参考
31 人コメントを踏まえ事務局修文
- 32 ・ 遺伝的な背景が異なることから、試験施設の背景データの値を対
33 照群の値に置き換えた統計学的解析の結果は評価に用いない。

34 【堀本専門参考人より】

（二重下線部）何に記載するのでしょうか。

1
2 2. 4 有害影響の判断に当たり留意が必要な例

3 (1) 適応性変化について

4 化学物質等による変化のうち、生体の恒常性が維持されている範囲
5 において起こる器官や組織の変化は適応性変化とみなし、有害影響と
6 はとらえない。しかし、恒常性の範囲を超え影響が認められる場合は適
7 応性変化には含まれず、有害影響とみなす。このことについては国際的
8 にもほぼ同様の定義がなされている。(Williams and Iatropoulos, 2002)

9 肝肥大は、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
10 とみなし、有害影響とはみなさない。一方、生体の恒常性維持機能には
11 限界があることから、この限界を超え生体の恒常性が破たんした肝肥
12 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。

13 (別紙参照)

14 肝肥大以外にも、機能的に有益な影響と判断される変化や、ストレス
15 による二次的な変化、薬理学的変動等についても有害影響との区別が
16 必要な場合がある。

17
18 (2) 一過性の変化について

19 投与期間中に短期間で消失するような影響については、一過性の変
20 化とみなし有害影響ととらえない場合がある。そのような一過性の変
21 化として次の例が挙げられる。

22 ・ 混餌投与開始直後の摂食忌避のような投与に対する非特異的な
23 反応

24 ・ 強制経口投与によるストレス(評価対象物質に特異的な毒性がなく
25 ても、体重や一般状態等に影響を及ぼすことがあり、このような
26 場合は、短期の馴化期間後にその影響は消失する)

27 投与期間中に消失する一過性の影響及び投与終了後に回復性がみら
28 れる影響については留意する必要がある。前者は、その影響が急性ばく
29 露による有害影響とみなされる場合があり、このような場合は急性参
30 照用量(ARfD)のエンドポイントとなり得る。後者は、投与期間を通し
31 た有害影響とみなすことができる。(回復性については2. 4 (5) 参
32 照)

33 体重の一過性の変化が摂餌量の変化と関連する場合は有害影響とは
34 みなさない場合もある。例えば、餌の味の変化等によって生ずる投与初
35 期の摂餌量減少(動物の適応に伴い消失する)に伴う体重増加抑制等が
36 ある。しかし、このような判断は、体重増加抑制の直接の原因が忌避行

1 動によるものと明確に断定できる場合にのみ可能である点に留意する
2 必要がある。(忌避による摂餌量減少については3. 2 (2) 参照)

3
4 (3) 軽度な変化について

5 軽度な変化については、統計学的有意差が認められていても毒性学
6 的意義が乏しいと判断される場合がある。例えば、関連する毒性指標の
7 変化を伴わない臓器重量のみの軽度な増減や、関連する毒性指標の変
8 化を伴わない軽微で、かつ、頻度の低い病理組織学的変化が挙げられる。
9 一方、統計学的有意差が認められない軽度な変化であっても毒性学的
10 に意義があると判断される場合があることに留意が必要である。

11 軽度な変化については、その毒性学的意義や毒性学的プロフィール
12 も十分考慮しながらエキスパートジャッジを行うことが必要な場合が
13 ある。この場合には最終判断に至った経緯を明確にする必要がある。

14
15 (4) 他の有害影響に伴う二次的な影響について

16 毒性試験で観察される有害影響には、評価対象物質による直接的な
17 影響と他の有害影響に伴う二次的な影響がある。このような二次的な
18 影響としては臓器重量のデータでみられる場合が多い。(臓器重量につ
19 いては3. 2 (3) 参照)

20 他の有害影響に伴う二次的な影響であるかを判断するためには、評
21 価対象物質の毒性学的プロフィールや、関連する他のパラメータの変
22 化が当該試験でのみ観察されるのか、その他の毒性試験でも同様の傾
23 向があるか、観察された用量等を考慮する必要があり、多くの場合、エ
24 キスパートジャッジを行うこととなる。また、二次的な影響の判断では
25 観察された用量についても留意する必要がある。

26
27 (5) 回復性のある変化について

28 回復期間が設けられている毒性試験の場合、反復投与によって認め
29 られた有害影響の回復性を確認することができる。投与群で観察され
30 た病変の程度又は発生発現頻度が回復群で減少した場合は回復性を示
31 したと評価される。回復性には、標的となる臓器が、機能的に、数值的
32 に若しくは組織学的に正常の状態に近づく又は完全に戻る場合と、再
33 生能力又は病変の重篤度により回復傾向を示す程度にとどまる場合が
34 ある。堀本専門参考人コメントを踏まえ事務局修文

35 細胞分裂能力の高い骨髄等又は細胞外基質若しくは基底膜が残存し
36 た場合の上皮細胞からなる臓器(肝臓、腎臓等)は、一般的に回復性が

1 高い。一方、細胞分裂能力の低い臓器（神経系、心臓等）では、傷害に
2 対する修復として支持細胞の増殖が主体を占めるため、毒性変化又は
3 機能変化の回復性が乏しいことがある。（Perry et al., 2013）

4 毒性学的プロファイルを考察する上で、短時間で回復性を示す有害
5 影響は、回復性が認められない有害影響より、重篤性が低いと判断でき
6 ることもある。ただし、線維化等の病理組織学的変化は病変の程度が軽
7 度であっても、機能的に回復に時間を要する場合や、完全に回復できな
8 い場合があることを念頭に置く必要がある。

【堀本専門参考人】

（二重下線部）背景データの項では「発生頻度」なので、統一しても良いのでは
ないでしょうか。

9
10 <参照>

- 11 1. EFSA(European Food Safety Authority): Adverse effect in Glossary.
12 <https://www.efsa.europa.eu/en/glossary-taxonomy-term>, (accessed
13 2021-02-03)
- 14 2. Elmore SA and Peddada SD: Points to consider on the statistical
15 analysis of rodent cancer bioassay data when incorporating
16 historical control data. Toxicol Pathol. 2009; 37(5): 672-676
- 17 3. Lewis RW, Billington R, Debryune E, Gamer A, Lang B, Carpanini
18 F: Recognition of Adverse and Nonadverse Effects in Toxicity
19 Studies. Toxicol Pathol. 2002; 30(1): 66-74
- 20 4. Mann PC, Vahle J, Keenan CM, Baker JF, Bradley AE, Goodman
21 DG, et al.: International Harmonization of Toxicologic Pathology
22 Nomenclature: An Overview and Review of Basic Principles. Toxicol
23 Pathol. 2012; 40(4 Suppl): 7S-13S
- 24 5. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development):
25 Guidance document 116 on the conduct and design of chronic
26 toxicity and carcinogenicity studies, supporting test guidelines
27 451,452 and 453 2nd Edition Series on Testing and Assessment No.
28 116. 2012 與語専門参考人修文
29 [https://www.oecd-ilibrary.org/guidance-document-116-on-the-
30 conduct-and-design-of-chronic-toxicity-and-carcinogenicity-studies-
31 supporting-test-guidelines-451-452-and-
32 453_5jxzn023krzx.pdf?itemId=%2Fcontent%2Fpublication%2F9789
33 264221475-en&mimeType=pdf](https://www.oecd-ilibrary.org/guidance-document-116-on-the-conduct-and-design-of-chronic-toxicity-and-carcinogenicity-studies-supporting-test-guidelines-451-452-and-453_5jxzn023krzx.pdf?itemId=%2Fcontent%2Fpublication%2F9789264221475-en&mimeType=pdf)

- 1 6. Perry R, Farris G, Bienvenu JG, Dean C Jr, Foley G, Mahrt C, et
2 al.: Society of Toxicologic Pathology position paper on best practices
3 on recovery studies: the role of the anatomic pathologist. Toxicol
4 Pathol. 2013; 41(8): 1159-1169
- 5 7. Williams GM and Iatropoulos MJ: Alteration of liver cell function
6 and proliferation: differentiation between adaptation and toxicity.
7 Toxicol Pathol. 2002; 30(1): 41-53
- 8

1 3. 各種検査項目の解釈について

2 各毒性試験における血液学的検査、血液生化学検査及び尿検査の項目並び
3 に体重、摂餌量及び臓器重量の解釈に関する基本的考え方を以下に示す。

4 上記以外の重要な検査項目として、例えば、コリンエステラーゼ（ChE）阻
5 害作用を有する農薬における ChE 活性阻害が挙げられ、当該検査項目は検体
6 投与による影響の有無を示唆する重要な指標となることから、評価に当たり
7 その取扱いに留意が必要である。ChE 活性阻害については、「残留農薬の食
8 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
9 について（令和2年5月20日農薬第一専門調査会決定）」を参照すること。

10

11 3. 1 血液学的検査、血液生化学検査及び尿検査についての基本的な考え
12 方

13 (1) 共通する基本的な考え方

14 血液学的検査、血液生化学検査及び尿検査（以下「血液学的検査等」
15 という。）は、血液に関するものでは採血部位（後大静脈、心臓採血、
16 外頸静脈、腹大動脈等）又は血液の種類（静脈血、動脈血等：静脈血は
17 動脈血より白血球数が多い）、共通するものとして週齢、測定手法等で
18 値が変動する。血液学的検査等の評価において重要な点は、1項目だけ
19 でなく関連する項目が同じ方向の変化を示しているか見極めることで
20 ある。類似する毒性学的機序を有する化学物質の情報が有用な場合も
21 ある。尿検査項目の変化は単独でなく、腎臓に関連する他の検査におけ
22 る変化の有無に留意して毒性学的意義を判断する。

23 血液学的検査及び血液生化学検査においては、検査結果が群平均値
24 と標準偏差値で表される。しかし、有害影響の強弱や他の所見との関連
25 性の判断では、個体ごとにデータを確認することが重要な場合がある。
26 この場合、基準範囲⁶（RI）の考え方が参考になる。

27

⁶ 基準範囲：現在ヒト臨床検査領域では、検査値を判読する基準として基準範囲（Reference Interval）が用いられている。基準範囲は、健常者のうち当該検査値に影響を及ぼす臨床要因等を持たない対象者の検査値分布の中央 95%の区間（平均値±2SD）を指している。この考え方は、獣医学領域にも応用されている。（Friedrichs et al., 2012）

1 血液検査結果の評価においては、試験の実施年度の確認が望ましい。
2 特に年代の古い試験成績は、評価上のさまざまな問題を含んでいる可
3 能性がある⁷。

4 血球に関する評価は基本的に、ヘモグロビン(Hb)、赤血球数(RBC)、
5 ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均血色素量(MCH)、
6 平均赤血球血色素濃度(MCHC)、網状赤血球数(Ret)、血小板数(PLT)、
7 白血球数(WBC)、好中球数(Neu)、リンパ球数(Lym)等の白血
8 球分画について行う⁸。

9 尿検査は、一般に定性的に検査が実施される。結果の評価においては、
10 特に高用量群で栄養状態が変化している可能性があることに留意する。

11 12 (2) 血液学的検査項目について

13 血液学的検査項目における次の変化については、毒性学的意義に乏
14 しいと考えられ、基本的に有害影響と判断しない。

- 15 ・ 5%未満の RBC、Ht 若しくは Hb の変化又は 20%未満の WBC
16 若しくは PLT (げっ歯類は 15%未満) の変化については毒性学
17 的意義に乏しいと考えられる。
- 18 ・ 高用量群における肝毒性の二次的影響によると考えられる軽度
19 の RBC 減少については、毒性学的意義に乏しいと考えられる。
- 20 ・ WBC の変化を伴わない Lym 又は Neu の変化は、毒性学的意
21 義に乏しいと考えられる。
- 22 ・ リンパ球や好中球に比べ出現率が低い好酸球数(Eos)又は単
23 球数(Mon)は、軽度な変動であっても統計学的有意差が認めら
24 れやすい。WBC の変化を伴わない 3 倍未満の変化であれば、そ
25 れらの毒性学的意義は乏しいと考えられる。

26
27 Eos が 5 倍以上増加した場合は、好酸球増多症の可能性を考慮し、
28 3 倍以上増加した場合は、その毒性学的意義について検討する。

7 毒性試験において信頼性あるデータを得るためには、清浄な環境下(バリアシステム等)で病気を持たないクリーンな動物を用いて行う必要がある。また、血液検査では、精度の高い検査機器の利用が求められる。我が国において、清浄な環境の動物実験施設において適切な血液検査機器が使われるようになったのは、概ね 1985 年から 1995 年頃である。MCV が測定され、Ht が MCV 及び RBC 等から算出されるようになったのは 1980 年頃である。

8 項目のうち、Hb、RBC、MCV、WBC、白血球分画、PLT は実測値、その他は加工値である。また、これら以外に RDW (赤血球分布幅)や未熟細胞数等の値が得られる。評価に当たっては血球数の変化を伴っていることの確認又は血球の形態学的な確認をする必要がある。

1 また、軽度であっても基本的に投与による有害影響である可能性を
2 考慮すべき目安は次のとおりである。

- 3 ・ MCV はばらつきが小さいため、5%以上増加した場合は、貧血
4 及び赤血球の形態異常の可能性を考慮する。
- 5 ・ 血液学的検査値は貧血の指標として有用である。Hb（RBC、
6 Ht を含む）が 10%以上減少した場合を毒性学的意義のある減少
7 とし、貧血の可能性を考慮する。5%以上の減少については、個体
8 ごとに検査値及び関連所見を確認し、有害影響か否かを判断す
9 る。

10 貧血を起こす要因は様々である。貧血の発生発現機序の考察
11 は、認められた貧血に関連した変化の毒性学的意義を判断する上
12 で有用である⁹。回復期間における貧血の回復像の確認は、評価対
13 象物質の毒性学的機序の考察に有用である¹⁰。[事務局修文]

- 14 ・ メトヘモグロビン（MetHb）は正常個体でも存在する。基本的
15 に投与群のイヌで 5%以上、ラットで 1.5%以上の増加が認められ
16 た場合は有害影響と考える¹¹。ハインツ小体は、ヘモグロビン変
17 性の指標であるため、MetHb と同様に重要な貧血の指標とな
18 る。ハインツ小体が検出された場合は、基本的に有害影響と考える。
19 スルフヘモグロビンについては、正常血液中にはほとんど認め
20 られないことから、検出された場合は基本的に有害影響とす
21 る。MetHb の評価については ARfD のエンドポイント設定にも
22 関係する。

23 (3) 血液生化学検査項目について

24 血液生化学検査項目における基本的に有害影響と判断しない項目及
25 び留意点は次のとおりである。
26

⁹ 貧血について、アニリン、Protox inhibitors、肝毒性の二次的影響など、その発現機序メカニズムを理解することは評価に役立つ。[事務局修文]

¹⁰ 赤血球が影響を受けると、Hb、RBC、Ht 等が減少する場合がある。Hb 等の減少が続くと、MCV は増加するが、これは Ret の増加によるものである。このような場合は、Ret の増加も含め、有害影響とする。また、貧血は、回復期に改善することがあり、これは骨髓（造血系）の血球増生によるもので、貧血に対する生体反応である。血球系パラメータ（MetHb、ハインツ小体等を含む）の評価においては、試験期間を通して変動パターンを考察することが重要である。

¹¹ MetHb は、赤血球内ヘモグロビン中の 2 価の鉄イオンが酸化されて 3 価になったもので、アニリン、硝酸塩、亜硝酸塩などのばく露により生じる。農薬では、アミド系・カーバメート系・尿素系除草剤、塩素酸塩剤などにおいて報告されている。

- 1 • アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 、アスパラギン酸
2 アミノトランスフェラーゼ (AST) 、 γ -グルタミルトランスフェ
3 ラーゼ (GGT) 、アルカリホスファターゼ (ALP) 、クレアチニ
4 ンキナーゼ (CK) 等の酵素活性値の軽度な増減は、前述のよう
5 に採血条件や週齢等での変動が大きいことから毒性学的意義に乏
6 しいことが多い。50%以上の変動が認められた場合を毒性学的意
7 義があると判断する。(Janssen, 2006)
- 8 • げっ歯類では肝酵素である GGT の活性値が低い。GGT につい
9 て%表示をすると判断を誤ることがあるので絶対値で比較する
10 ¹²。アルブミン/グロブリン (A/G) 比は、アルブミンの値に左右
11 されやすいため、A/G 比のみの変化はその取扱いに注意する。
- 12 • 総蛋白量¹³及び血糖値の減少が 5%未満の場合は毒性学的意義に
13 乏しい。この場合、肝・腎機能や摂餌量の変化を伴っているかど
14 うか確認する。
- 15 • ALP の増加は、イヌを用いた毒性試験で、ラットを用いた試験
16 に比べて頻繁に認められる変化である。また、関連する肝毒性指
17 標の変化が認められない単独での ALP 増加は、肝毒性を予測す
18 る感受性の高い指標ではないと考えられている。したがって肝障
19 害の認められない用量での ALP の増加は、毒性学的意義は乏し
20 いと考えられる。(Yokoyama et al., 2019)
- 21 • TG は値のばらつきが大きいため、評価に当たっては関連する
22 項目の変化を伴っているかどうかを確認する。ALT、AST につい
23 ても、関連項目で同方向の変化が認められるかどうかについて、
24 個体値を含めて確認する。一方、ナトリウム (Na) やクロール
25 (Cl) 等の電解質はばらつきが小さいため、僅かな差でも統計学
26 的有意差が認められる場合があることに留意する。

27
28 また、軽度であっても基本的に投与による有害影響の可能性がある
29 ものとして、免疫抑制の指標である免疫グロブリン G 値が減少した場
30 合は、免疫抑制の可能性を考慮する。
31

¹² ラット胆肝系の変化の指標として血清由来の GGT は感受性が低く、正常ラットの血清 GGT はヒト用の市販 GGT 検査キットの検出限界(約 3 U/L) 以下の場合が多い。(Hall et al., 2012)

¹³ 総蛋白量の減少が単独でみられる場合には毒性学的意義は乏しいと考えられる。しかし、血液凝固時間の延長やフィブリノーゲンの減少など肝臓におけるタンパク合成能の低下による変化を伴う場合には、その毒性学的意義について検討する。

1 (4) 尿検査項目について

2 尿検査項目における基本的に有害影響と判断しない項目及び留意点
3 は次のとおりである。

- 4 ・ 尿の pH は、被験物質の pH によって変化するため、その変化
5 を有害影響と判断しない。
- 6 ・ 尿の色調は、評価対象物質の色調によって変化する可能性があ
7 り、その変化のみの場合には有害影響と判断しない。
- 8 ・ 尿量及び尿比重は、飲水量によって変化するため、毒性学的意
9 義に乏しい。

10
11 また、軽度であっても基本的に投与による有害影響の可能性を考慮
12 すべき項目及び留意点は以下のとおりである。

- 13 ・ 尿沈渣において白血球、赤血球又は尿細管上皮細胞若しくは膀
14 胱上皮細胞等の尿路上皮系の細胞が観察され、かつ、増加した場
15 合には、腎尿路系の傷害を考慮する。
- 16 ・ 尿潜血がみられた場合は、全身性の出血又は腎臓、尿管、雄生
17 殖器等の局所傷害を考慮する。

18
19 **3. 2 体重、摂餌量及び臓器重量についての基本的な考え方**

20 (1) 体重について

21 体重の評価においては、体重実測値 (body weight) のみでなく、
22 前回の体重測定値と比較した増加量である体重増加量 (body weight
23 gain) の評価も重要である¹⁴。

24 体重は摂餌量と密接に関連しており、体重と摂餌量は合わせて評価
25 を行うことが重要である。投与開始直後に摂餌忌避による体重減少が
26 生じた後、体重抑制が持続して観察される場合があるが、そのような
27 場合でも体重増加量が対照群と同様な場合には、その点に留意して毒
28 性学的意義を判断する。

29 一般に 10%を超える体重又は体重増加量の抑制は、有害影響である
30 可能性が高い。10%を超える体重、体重増加量又は摂餌量の抑制が一
31 過性に認められ、その後回復する場合は、有害影響ではなく摂餌忌避
32 による影響である可能性を考慮する。一方、10%以内の変化であって
33 も試験期間中の体重推移や摂餌量の変化等も考慮して毒性学的意義に

¹⁴ 対照群と比較して投与群の体重が抑制されることを体重抑制、体重増加量が抑制されることを体重増加抑制という。また、体重そのものが投与開始時もしくは前回測定時より低値となることを体重減少（低下）という。

1 ついて判断する。

2
3 (2) 摂餌量について

4 摂餌量は動物の一般状態を示唆する一つの指標となる。反復投与試験では、統計学的有意差が散発的に認められることが多い。幼若期
5 兎、育成期、加齢期といった動物の成長段階や、非妊娠、妊娠、分娩
6 又は哺育の期間といった試験の時期によっても摂餌量は変化する。堀
7

8 本専門参考人コメントを踏まえ事務局修文

9 その変化が評価対象物質の摂取による変化か、偶発的な変化である
10 かは、前後の摂餌量や一般状態等の変化から判断する必要がある。

11 摂餌量の変化は次の点に留意して評価する。

12 **【堀本専門参考人】**

13 (二重下線部) 話の流れから、「幼若期」ではないでしょうか。

14 ①忌避による摂餌量減少

15 混餌投与の場合、試験に用いた評価対象物質の匂い等の性状によ
16 っては動物が忌避し摂食しないことがある。一般的に忌避は投与開
17 始後一過性に認められる。投与の継続とともに動物が評価対象物質
18 の匂い等に適応し、摂餌量や体重等への影響が消失することもある。

19 摂餌量の減少又は体重の減少が観察される場合には、忌避による
20 二次的な変化であるのか、評価対象物質による直接的な毒性であるの
21 か見極める必要がある。忌避による二次的な変化の場合は有害影響
22 と判断しない。

23
24 ②食べこぼしによる摂餌量増加

25 試験に用いた評価対象物質が刺激性の場合には、げっ歯類は食べ
26 こぼす習性がある。食べこぼしによる二次的な変化の場合は有害影
27 響と判断しない。

28
29 ③ストレスによる摂餌量への影響

30 ストレスは全身性の影響を及ぼし、摂餌量にも影響を及ぼす因子
31 である。(Everds et al., 2013)

32 動物の不適切な保定、ケージ交換、音等の飼育環境の変化によっ
33 て摂餌量は減少する場合がある。堀本専門参考人コメントを踏まえ

34 事務局修文

【堀本専門参考人】

（二重下線部）断定的な表現が気になります。「減少する場合があります。」でしょうか。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

④その他

一般的に、飲水量が減っている場合、摂餌量も減少することが多い。飲水量のデータがある場合は、摂餌量への影響を判断する助けとなり得る。

中枢性の摂食障害（過食あるいは拒食）による変化が起こっているかは、評価対象物質の薬理作用から判断する。

（3）臓器重量について

臓器重量の変動は、毒性試験で最もよく観察される変化の一つである。評価においては、絶対重量及び比重量の双方を考察して判断する。比重量は体重との比較が一般的だが、腹水の貯留等がある場合等、必要に応じて、脳比重量が適切な場合もある。

体重抑制の影響を受けやすい臓器と受けにくい臓器があることを念頭に置く必要がある。肝臓、胸腺、精巣等は影響を受けやすく、脳、心臓、肺等は一般的に影響を受けにくい。（Levin et al., 1993）

臓器重量は増加に毒性学的意義の高い臓器と、減少に毒性学的意義の高い臓器がある。臓器重量の増加については、比重量での比較により鋭敏に検出されることが多い。一方、胸腺、生殖器等、臓器重量の減少に毒性学的意義のある臓器では、絶対重量についても注意深く見た上で判断する必要がある。

臓器重量のデータ解釈において、病理肉眼的変化及び組織学的変化を考慮することは重要である。これらの変化が全く認められない臓器重量の変動については、用いた評価対象物質の毒性学的プロファイルや、その他の試験での毒性発現等を考慮して、重量変化と投与との関連性を見極める必要がある。さらに、用量相関性、統計学的有意差、性差、対照群の値が正常範囲内であるか、長期間投与で発現するか、体重変化を伴うか、血液学的検査等の値はどうか、病理組織学的変化を伴うか等についても考慮する必要がある。

なお、対照群と投与群との臓器重量の比較は群ごとの平均値を比較することも多いが、イヌを用いた毒性試験等、供試動物数が少ない場合等は、必要に応じて個別別の臓器重量について精査する必要がある。

臓器重量は次の点に留意して評価する。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36

①臓器重量変化の解釈について

- 脾臓と胸腺の重量変化は病理変化と必ずしも一致するとは限らず、病理組織学的検査が重量変化よりも感受性が高いことがある。（Michael et al., 2007）
- 毒性試験において、評価対象物質の投与に起因したストレス性変化が個体に観察されることがある。胸腺又は脾臓重量の減少や副腎重量の増加が観察されるが、必ずしもこれらの変化が全て共にみられるとは限らない。体重や摂餌量の変化、胸腺や脾臓の組織学的変化（リンパ球の消失）、WBCの変化（リンパ球減少を伴った好中球の増加）、生殖機能の変化等も考慮して、総合的に判断する必要がある。（Everds et al., 2013）
- 子宮重量は性周期に依存するため、性周期のステージ又は卵巢、子宮及び膣の病理組織学的検査結果がある場合には合わせて評価する。妊娠動物における受胎産物を含む子宮重量は胎児数に依存するため、帝王切開所見にも留意する。
- ラットでは、肝臓及び甲状腺については比重量が毒性変化を捉えやすく、卵巢及び副腎への影響については脳比重量が毒性変化を捉えやすいとの報告がある。（Bailey et al., 2004）
- イヌでは、麻酔の方法及び程度によって、脾臓の鬱血状態を引き起こし、その重量が増加することがあることに留意する。（Sellers et al., 2007）

②加齢に伴う臓器重量変化について

- マウスでは、臓器重量で加齢とともに増加するのは、肝臓、腎臓、肺及び心臓の絶対重量であり、脳及び精巣の重量は加齢の影響を受けにくいことが報告されている。また、一般的に個体間の絶対重量のばらつきは、少ない臓器から順に、脳、精巣、腎臓、心臓、肝臓、肺、脾臓及び胸腺であると報告されている。（Marino, 2012a）
- ラットでは、加齢とともに絶対重量が増加し、比重量が減少する臓器として、脳、肝臓、腎臓、肺、心臓、甲状腺、精巣が報告されている。また、一般的に個体間の絶対重量のばらつきは、少ない臓器から順に、脳、精巣、心臓、腎臓、肝臓、肺、胸腺、甲状腺であると報告されている。（Marino, 2012b）
- イヌでは、胸腺並びに精巣又は前立腺の臓器重量に関して個体

1 差がみられる場合があり、評価対象物質の投与による影響かどう
2 かの判断は慎重に行う必要がある。胸腺は個体の成長過程におい
3 て自然退縮する組織であり、この退縮程度に個体差がみられるこ
4 事により絶対重量が低値を示すことがある。評価対象物質が免疫
5 系に影響を及ぼす可能性があるかどうかの判断は、他の免疫系組
6 織（脾臓、リンパ節、組織固有リンパ装置、骨髄等）の変化の有
7 無、血液学的検査結果も考慮して判断する。また、若い動物の場
8 合は精巣の発達が未成熟の状態の個体があることから、精巣、前
9 立腺、精巣上体の絶対重量が低値を示すことがある。（Dorso et
10 al., 2008）

11
12 <参照>

- 13 1. Bailey SA, Zidell RH and Perry RW: Relationships Between Organ
14 Weight and Body/Brain Weight in the Rat: What Is the Best
15 Analytical Endpoint? Toxicol Pathol. 2004; 32: 448-466
- 16 2. Dorso L, Chanut F, Howroyd P and Burnett R: Variability in weight
17 and histological appearance of the prostate of beagle dogs used in
18 toxicology studies. Toxicol Pathol. 2008; 36: 917-925
- 19 3. Everds NE, Snyder PW, Bailey KL, Bolon B, Creasy DM, Foley GL,
20 et al.: Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a
21 review of the biology, impact, and assessment. Toxicol Pathol. 2013;
22 41(4): 560-614
- 23 4. Friedrichs KR, Harr KE, Freeman KP, Szladovits B, Walton RM,
24 Barnhart KF, et al.: ASVCP reference interval guidelines:
25 determination of de novo reference intervals in veterinary species and
26 other related topics. Vet Clin Pathol. 2012; 41(4): 441-453
- 27 5. Hall AP, Elcombe CR, Foster JR, Harada T, Kaufmann W, Knippel
28 A, et al.: Liver hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-
29 adverse) changes – conclusions from the 3rd International ESTP
30 Expert Workshop. Toxicol Pathol. 2012; 40(7): 971-994
- 31 6. Janssen PJCM, ter Burg W, Pelgrom SMGJ, Fleuren R: Factsheets
32 for the (eco)toxicological risk assessment strategy of the National
33 Institute for Public Health and the Environment Part IV. RIVM
34 report 601516014. 2006; p. 17-29
- 35 7. Levin S, Semler D and Ruben Z: Effects of Two Weeks of Feed
36 Restriction on Some Common Toxicologic Parameters in Sprague-

- 1 Dawley Rats. *Toxicol Pathol.* 1993; 21(1): 1-14
- 2 8. Marino DJ: Age-specific absolute and relative organ weight
- 3 distributions for B6C3F1 mice. *J Toxicol Environ Health A.* 2012a;
- 4 75(2): 76-99
- 5 9. Marino DJ: Age-specific absolute and relative organ weight
- 6 distributions for Fischer 344 rats. *J Toxicol Environ Health A.*
- 7 2012b; 75(24): 1484-1516
- 8 10. Michael B, Yano B, Sellers RS, Perry R, Morton D, Roome N, et al.:
- 9 Evaluation of organ weights for rodent and non-rodent toxicity
- 10 studies: a review of regulatory guidelines and a survey of current
- 11 practices. *Toxicol Pathol.* 2007; 35: 742-750
- 12 11. Sellers RS, Morton D, Michael B, Roome N, Johnson JK, Yano BL, et
- 13 al.: Society of Toxicologic Pathology position paper: organ weight
- 14 recommendations for toxicology studies. *Toxicol Pathol.* 2007; 35:
- 15 751-755
- 16 12. Yokoyama Y, Ono A, Yoshida M, Matsumoto K and Saito M:
- 17 Toxicological significance of increased serum alkaline phosphatase activity in
- 18 dog studies of pesticides: Analysis of toxicological data evaluated in Japan.
- 19 *Regul Toxicol Pharmacol.* 2019; 109: 104482
- 20

（別紙）

肝肥大の取扱いについて

1. はじめに

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きた。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有害影響ではないが、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、肝細胞肥大を有害影響と判断すべきであると考えてるのが一般的となっている。

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

1 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
3 **（２）機能的変化**

4 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
5 が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
6 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
7 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
8 詳細については、参考に記載した。

9
10 **3. 残留農薬の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**

11 **1) 原則**

12 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
13 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
14 限りにおいて、肝肥大は適応性変化であり、有害影響とはしない。

15 一方、生体の恒常性維持機能には限界があることから、この限界を超え生体
16 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
17 生じていると考える。

18 肝肥大が有害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
19 認められた所見等を総合的に判断する。

20
21 **2) 各論**

22 **（１）有害影響ととらえるべき変化**

23 **① 肝細胞肥大のタイプ**

24 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
25 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
26 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、
27 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
28 大が観察された場合には、これらの肝細胞肥大が有害影響である可能性を
29 考慮すべきである。

30 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
31 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
32 肝細胞の形態学的特徴が重要な情報となりうる。

33 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
34 に判断し、有害影響であるかどうかを検討する必要がある。

1 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
2 性反応指標に変化が認められる場合

3 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
4 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
5 (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。
6 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。

7 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
8 あるアラニンアミノトランスフェラーゼ(alanine aminotransferase:ALT)
9 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
10 ラギン酸アミノトランスフェラーゼ(aspartate aminotransferase:AST)
11 の増加及び肝細胞のミクロソーム酵素であるアルカリホスファターゼ
12 (alkaline phosphatase:ALP)の増加も肝細胞障害の指標となりうる。た
13 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
14 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~
15 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
16 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
17 める必要がある。

18 ③ 胆道系の変化を伴う場合

19 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
20 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/
21 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
22 ルタミルトランスペプチターゼ(γ -glutamyltranspeptidase:GGT)の増加
23 等として認められる。

24 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
25 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
26 た場合には、肝肥大が有害影響である可能性を考慮すべきである。

27 ④ 脂質代謝系の変化を伴う場合

28 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
29 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
30 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。
31 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
32 ることもある。

33 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
34 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
35 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
36 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、

1 肝肥大が有害影響である可能性を考慮する必要がある。

2 **⑤ 肝肥大が色素沈着等を伴う場合**

3 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
4 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
5 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
6 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
7 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
8 い。

9 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
10 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
11 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
12 にこれらの変化が認められた場合には、肝肥大が有害影響である可能性を
13 考える必要がある。

14
15 **(2) 適応性変化と判断すべき肝肥大**

16 (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
17 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
18 大は有害影響ではなく、適応性変化と判断する。

19 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
20 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
21 から、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
22 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。
23 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
24 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
25 きない点に留意が必要である。

26
27 **3) 留意すべき点**

28 **(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**
29 **変化**

30 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
31 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
32 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
33 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
34 化であると判断する。

35 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
36 査結果に対する総合的な解析が必要である。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

（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¹⁵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、肝重量の増加を有害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、有害影響とする場合はその根拠を明確にする必要がある。

【與語専門参考人より】 P2では有害影響と修正しています。

（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有害影響と判断する。

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

¹⁵ 体重比重量を比重量という（以下同じ。）。

1 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
2 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
3 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
4 して全身に及んだものと考えられる。

5 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
6 認められた肝肥大が有害影響であるか慎重に判断する必要がある。

7 8 **参考 異物応答性の核内受容体及び核内転写因子の変化**

9 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
10 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。

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

16 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
17 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
18 駆けて細胞内小器官の変化としてしばしば認められる。

19 また、特に、CAR、PXR、PPAR α 等の核内受容体は、脂質代謝に深く関
20 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。

21 22 **<参照>**

- 23 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
24 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 2015; 56: 42-
25 47
- 26 2. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues: Guidance on the
27 Interpretation of Hepatocellular Hypertrophy. In Pesticide Residues in
28 Food 2006, FAO Plant Production and Protection Paper 2006; 187: 13-17
29 [http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesti-](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/JMPRrepor2006.pdf)
30 [cides/JMPR/JMPRrepor2006.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/JMPRrepor2006.pdf)
- 31 3. WHO: Guidance document for WHO monographers and reviewers. 2015
32 [http://www.who.int/entity/foodsafety/publications/jmpr_guidance_docu-](http://www.who.int/entity/foodsafety/publications/jmpr_guidance_document_1.pdf?ua=1)
33 [ment_1.pdf?ua=1](http://www.who.int/entity/foodsafety/publications/jmpr_guidance_document_1.pdf?ua=1)
- 34 4. USEPA: Hepatocellular Hypertrophy - HED Guidance Document #G0201.
35 2002
- 36 5. Hall AP, Elcombe CR, Foster JR, Harada T, Kaufmann W, Knippel A et

- 1 al.: Liver Hypertrophy: A Review of Adaptive (Adverse and Non-adverse)
- 2 Changes – Conclusions from the 3rd International ESTP Expert
- 3 Workshop. Toxicol Pathol. 2012; 40(7): 971-994
- 4 6. Cave MC, Clair HB, Hardesty JE, Falkner KC, Feng W, Clark BJ, et al.:
- 5 Nuclear receptors and nonalcoholic fatty liver disease. Biochim Biophys
- 6 Acta. 2016;1859(9): 1083-1099
- 7 7. Changjiang X, Christina YL and Ah-Ng TK: Induction of phase I, II and
- 8 III drug metabolism/transport by xenobiotics. Arch Pharm Res. 2005;
- 9 28(3): 249-268
- 10 8. 吉成浩一：食品健康影響評価技術研究「核内受容体作用と酵素誘導解析を基
- 11 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（研究期間：
- 12 平成 25～26 年度）」。2014
- 13 9. 吉田緑：食品健康影響評価技術研究「化学物質により誘発される肝肥大の毒
- 14 性学的評価手法の確立と今後の問題点（研究期間：平成 25～26 年度）」。
- 15 2014
- 16
- 17