

－ 化学物質規制における新たな課題と背景 －

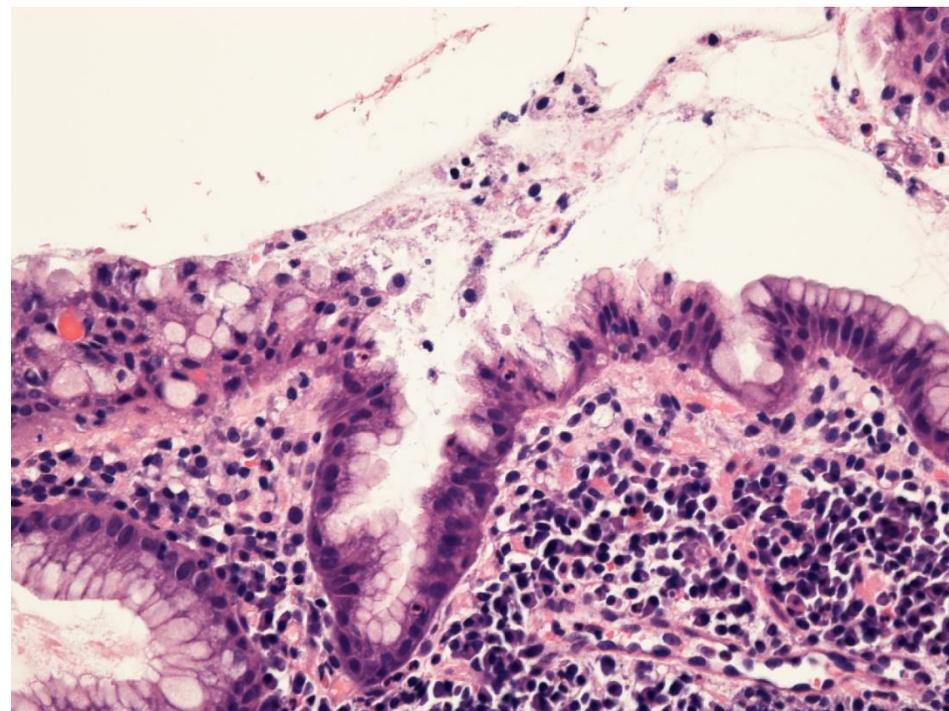
化学物質リスクを評価するための 病理学の重要性



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・病理部

小川 久美子

病理学とは、 毒性病理学とはなにをしているのか？



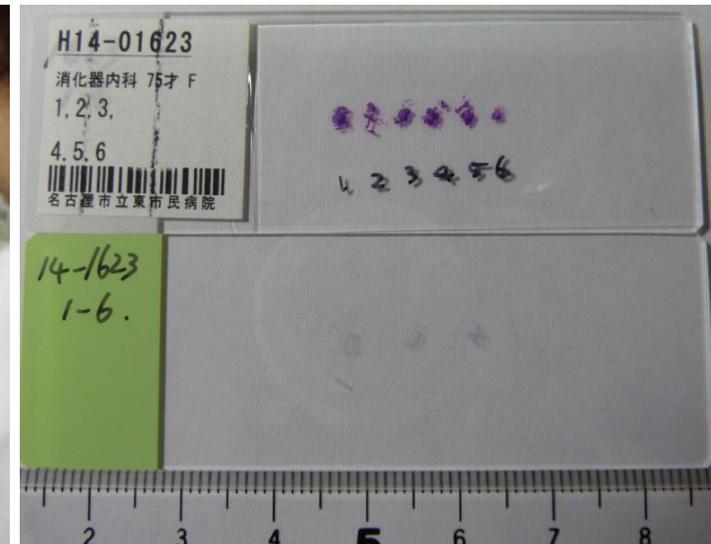
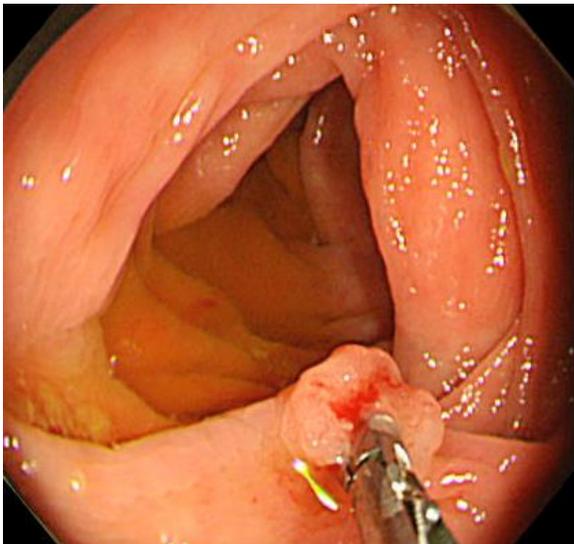
医療現場での病理の役割

- 組織診断**
(生検および手術材料)
- 肉眼あるいは内視鏡などによる観察で、臨床医がみつけた病変部から採取(生検)した組織片や、手術で切除された検体の形態学的変化を、顕微鏡を用いた観察によって診断したり、どの程度病気が進展しているか、あるいは治療方針の決定に必要な情報などを検討すること。
手術中に病理診断を下して、手術方針を決める「術中迅速診断」も増加している。
- 細胞診断**
- 婦人科医が子宮粘膜表面から細胞を採取したり、外科医が乳腺など体表に近い病変部から注射器で針を刺して細胞を採取した検体を診断すること。
細胞診断は細胞検査士という日本臨床細胞学会が認定した資格をもつ専門技師と共同で実施する。
- 病理解剖(剖検)**
- 病院で不幸にして亡くなられた患者さんの死因、病態解析、治療効果などを検証し、今後の医療に生かすこと。

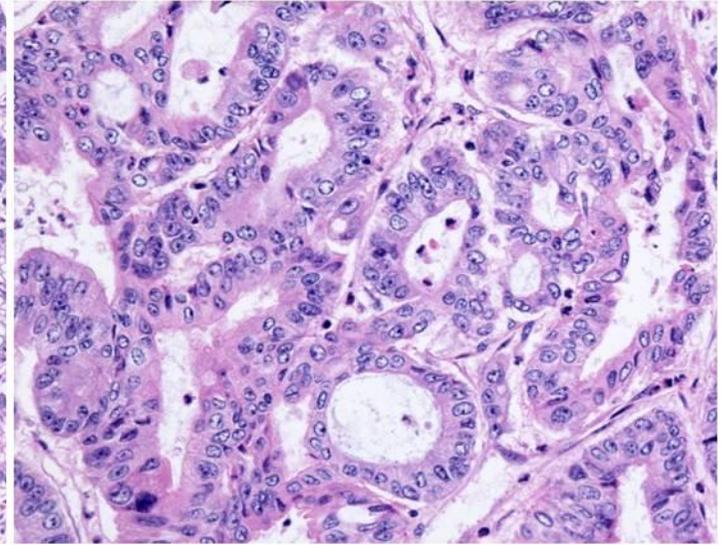
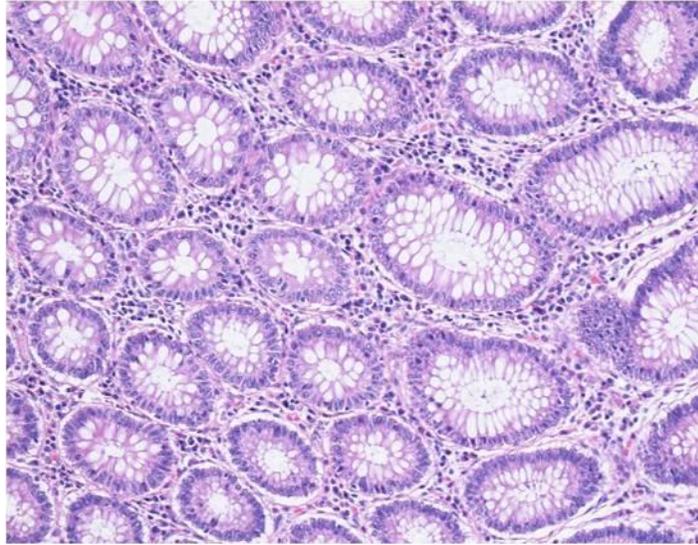
医療現場での病理の役割

組織診断 (生検および手術材料)

肉眼あるいは内視鏡などによる観察で、臨床医がみつけた病変部から採取(生検)した組織片や、手術で切除された検体の形態学的変化を、顕微鏡を用いた観察によって診断したり、どの程度病気が進展しているか、あるいは治療方針の決定に必要な情報などを検討すること。
手術中に病理診断を下して、手術方針を決める「術中迅速診断」も増加している。



大腸生検

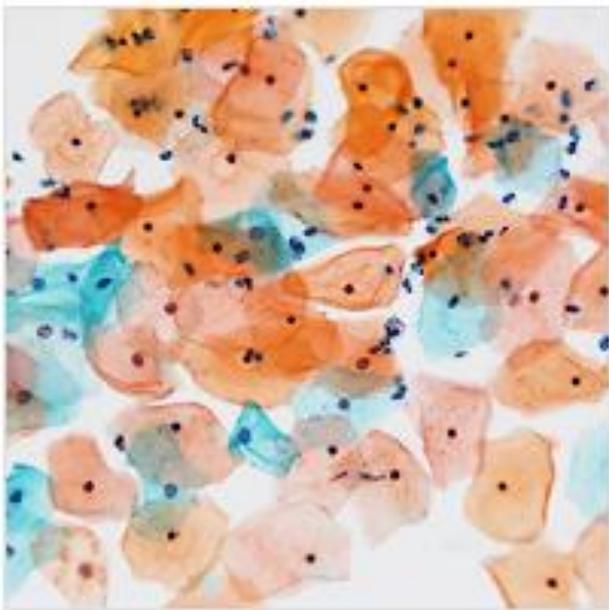


部位	着眼点	所見	所見
上皮	構造異型 細胞異型	<p>整った円～楕円 サイズも均等</p> <p>細胞のサイズはほぼ均一 細胞質内粘液貯留正常 核のサイズもほぼ均一で 基底膜に対して垂直に配列</p>	<p>不整形、腺腔の癒合 腺腔サイズが不揃い 細胞の大小不同 細胞質粘液貯留ない 核の大小不同、間隔不同で、重積が見られる 基底膜に対して軸が不同 核小体が腫大 核内染色体分布が不均一</p>
間質	基底膜 浸潤細胞	<p>上皮と間質の境界明瞭 炎症細胞浸潤 (形質細胞主体、中等度)</p>	<p>上皮と間質の境界不明瞭 炎症細胞浸潤 (間質～腺腔、わずか)</p>

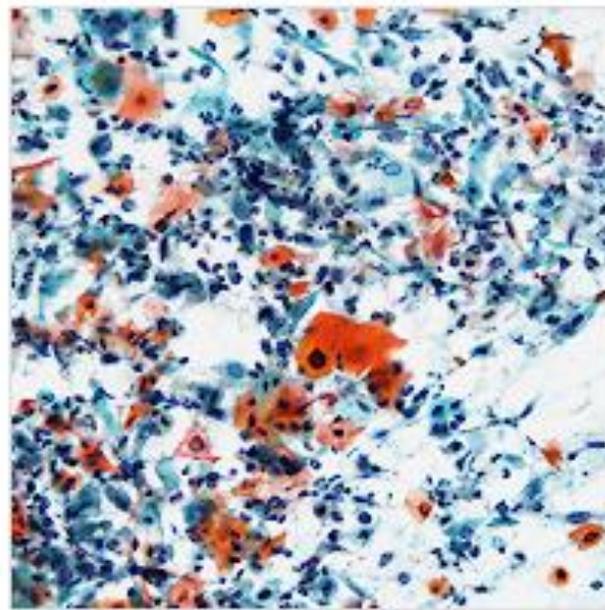
医療現場での病理の役割

細胞診断

婦人科医が子宮粘膜表面から細胞を採取したり、外科医が乳腺など体表に近い病変部から注射器で針を刺して細胞を採取した検体を診断すること。
細胞診断は細胞検査士という日本臨床細胞学会が認定した資格をもつ専門技師と共同で実施する。



正常子宮頸部細胞



子宮頸部癌(扁平上皮癌)

検体	対象疾患
子宮頸部スメア	子宮頸癌
喀痰	肺癌
尿	膀胱癌など
乳腺吸引	乳癌
甲状腺吸引	甲状腺癌
胸水	肺癌・中皮腫など
腹水	胃癌など

コンパニオン診断を介しての治療方針の決定

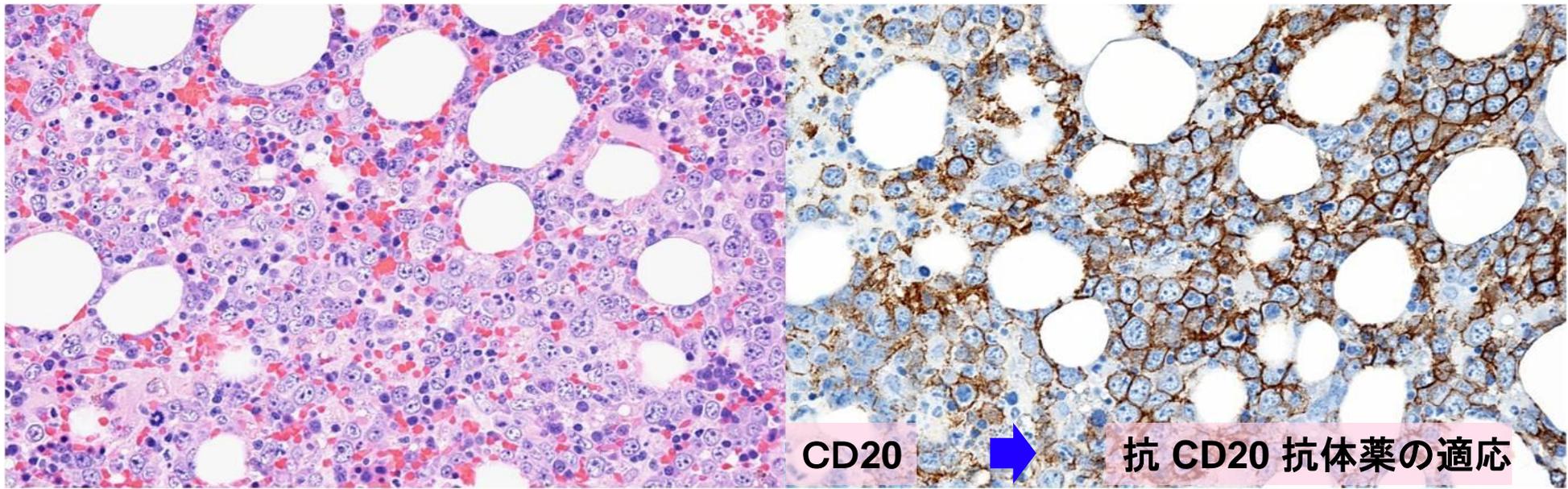
- 特定の医薬品の有効性又は安全性の向上等の目的
- 医薬品の使用に不可欠な体外診断用医薬品又は医療機器
- 単に疾病の診断等を目的とするものを除く
- 具体的には、以下の目的で使用されるもの
 1. 効果がより期待される患者を特定するため
 2. 特定の副作用が発現するおそれの高い患者を特定するため
 3. 用法・用量の最適化又は投与中止の判断を適切に実施するため

悪性リンパ腫

Diffuse large B-cell lymphoma

平成25年7月1日付薬食審査発0701第10号

「コンパニオン診断薬等及び関連する医薬品の承認申請に係る留意事項について」



乳がんの病理診断と治療方針

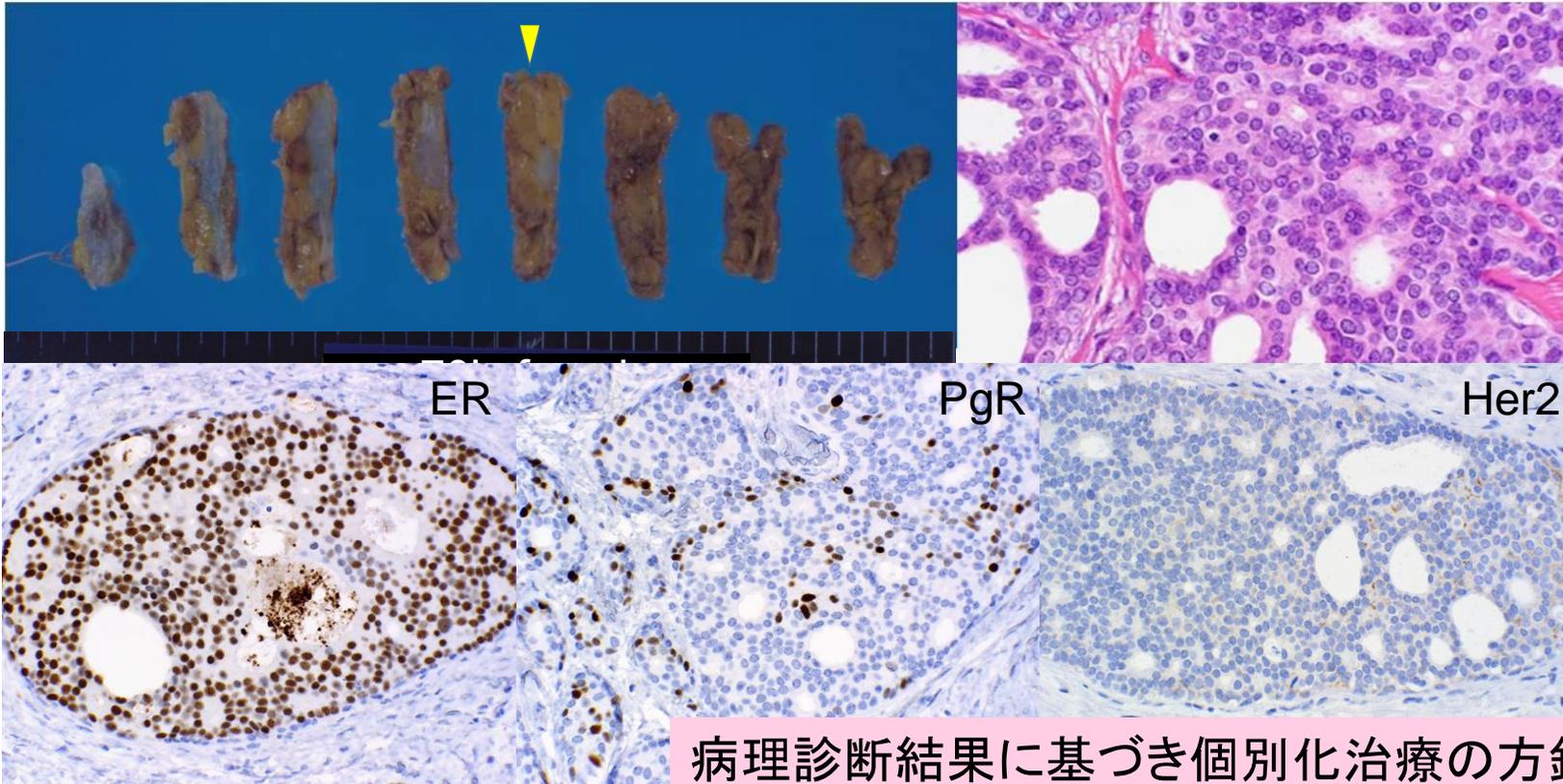
組織型：乳管癌、小葉癌

浸潤性：浸潤癌、非浸潤癌

バイオマーカー：ER (Estrogen receptor)

PgR (Progesterone receptor)

Her2 (Human epidermal growth factor receptor 2)



乳頭腺管癌
papillotubular
carcinoma

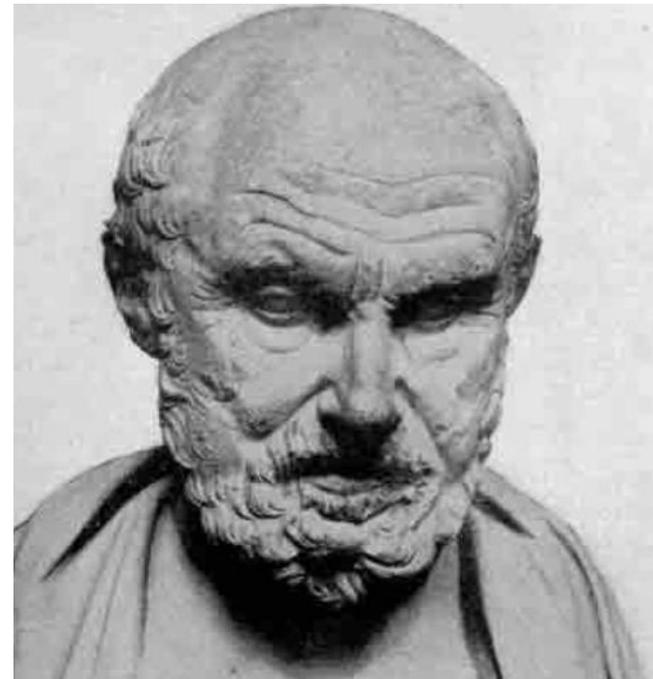
病理診断結果に基づき個別化治療の方針が決められる。
ex. ホルモン療法の適応
抗 Her2 抗体薬の適応



学問・研究としての病理学とは

「pathology」という言葉は古代ギリシャ語の「*pathos* (πάθος) (経験、痛み、苦しみ)」と「*-logia* (-λογία) (説明)」という言葉に由来し、**病気の原因を明らかにする学問**とされる

紀元前 400 年頃 ヒポクラテスは医学を宗教から切り離し、**病気は神々の与えた罰**などではなく、**環境、食事や生活習慣に寄るものである**と考え、**観察と記録を重視した経験科学**として発展させた。(四体液説)



毒性病理学とは

主に形態学的観察という病理学的手法を用いて、毒性作用をもつ物質が引き起こす細胞、組織および器官の傷害の原因や意義を明らかにする医科学分野。

実験動物を用いる場合、被験物質によって、どの臓器のどの細胞に、どのような変化がどの程度起こっているのか？可能な限り客観的に評価し、対照群との比較・用量相関性を検討し、因果関係を明らかにする。

機序を考慮し、ヒトへの外挿性を検討する。

化学物質の規制について

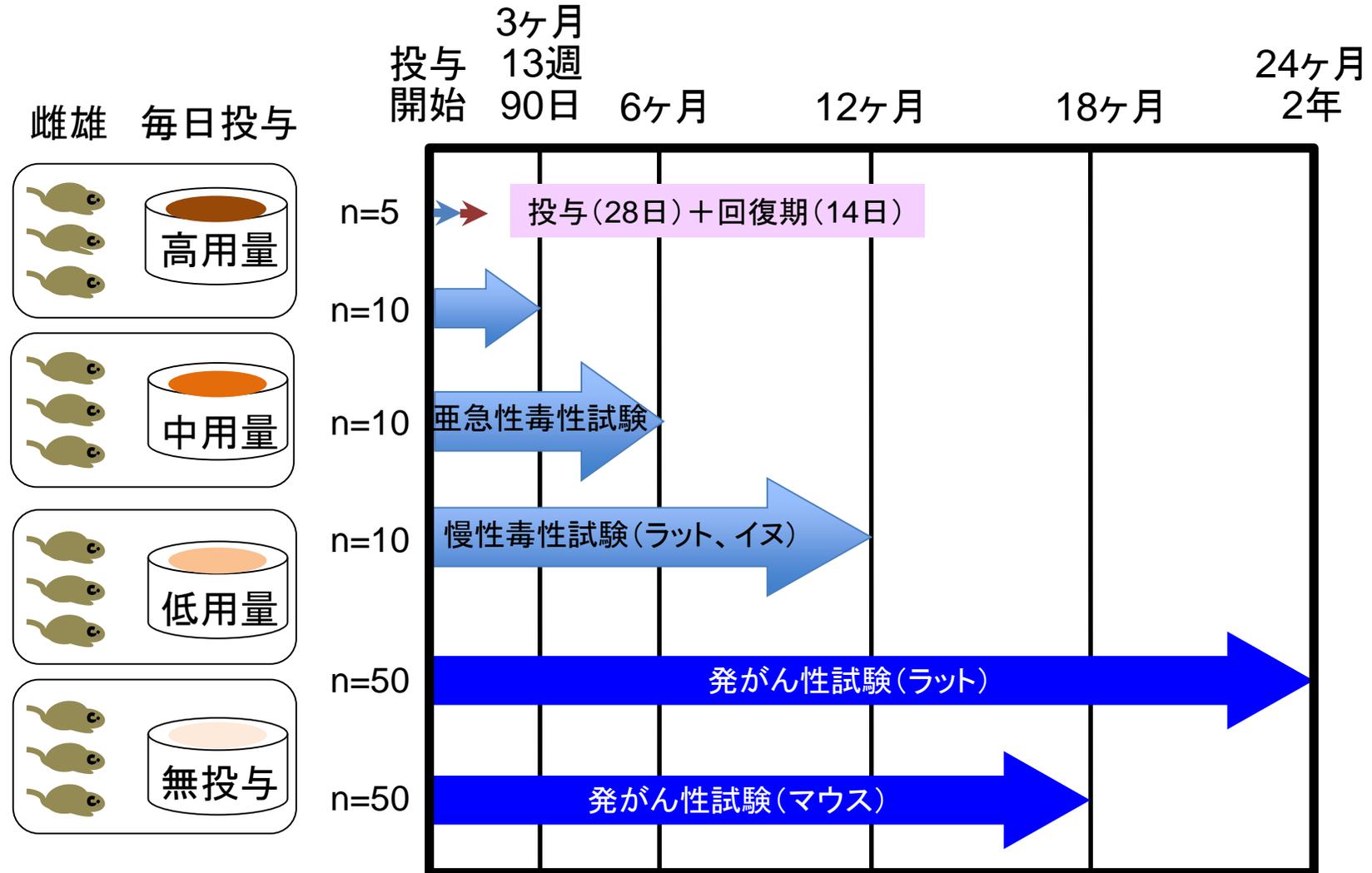
対象	主な日本の法律	関連する国際的ガイドライン等
一般工業化学品	化学物質審査規制法(化審法)	OECD (経済協力開発機構) テストガイドライン
医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療機器	医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律(薬事法)	ICH (日米EU医薬品規制調和国際会議)ガイドライン等
食品添加物等	食品衛生法	JECFA (FAO/WHO合同食品添加物専門家会議)
農薬	農薬取締法(農取法)	OECD (経済協力開発機構) テストガイドライン JMRP (FAO/WHO合同残留農薬専門会議)

許認可、安全な投与・暴露量の設定を目的として、様々な試験のデータが必要とされる。

リスク評価に必要とされる主な試験について

対象	遺伝毒性試験	反復投与毒性試験	がん原性試験	生殖発生毒性試験	分解性・蓄積性または動態試験	生態毒性試験
一般工業化学品	<i>in vitro</i> (Ames, 染色体異常)	28日間反復投与+14日回復期 (哺乳類)	△	△	微生物による分解や魚類への蓄積等	藻類、甲殻類、魚類への影響
医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療機器	<i>in vitro</i> (Ames, 染色体異常) <i>in vivo</i>	亜急性慢性 (げっ歯類、非げっ歯類)	げっ歯類 ～	げっ歯類 他	げっ歯類、非げっ歯類、ヒトの薬物動態	-
食品添加物等	<i>in vitro</i> (Ames, 染色体異常) <i>in vivo</i>	亜急性慢性 (げっ歯類、非げっ歯類)	げっ歯類	げっ歯類 他	げっ歯類、非げっ歯類、ヒトの薬物動態	-
農薬	<i>in vitro</i> (Ames, 染色体異常) <i>in vivo</i>	亜急性慢性 (げっ歯類、非げっ歯類)	げっ歯類	げっ歯類 他	土壌、植物、動物体内運命試験	藻類、甲殻類、魚類、昆虫、鳥類への影響

反復投与毒性・発がん性試験の群構成・投与期間



考慮点

用量
投与経路
(混餌・飲水・強制経口)

用量依存性
統計学的有意差
背景値との比較

投与との関連性
ヒトへの外挿

反復投与毒性試験の主な検査項目

一般状態観察		眼科学的検査	尿検査		
死亡動物の有無 毒性徴候の発現時期や程度 体重 摂餌量 被験物質摂取量		前眼房 中間透光体 眼底	尿量 pH 蛋白 糖 ケトン体	ビリルビン ウロビリノーゲン 潜血 沈渣 比重 等	
血液検査		病理学的検査			
血液学的検査	血液生化学的検査	臓器重量	病理組織学的検査		
赤血球数 白血球数 血液像 血小板数 血色素量 ヘマトクリット 網状赤血球数 凝固能	総蛋白 アルブミン A/G比 ブドウ糖 コレステロール トリグリセリド ビリルビン BUN・クレアチニン AST・ALT γ-GTP ALP 電解質	肝臓 腎臓 心臓 脾臓 胸腺 脳 副腎 精巣 卵巣 他	(左に加えて) 肺・気管支 食道 胃 小腸 大腸 膵臓 唾液腺 膀胱 皮膚・乳腺 リンパ節 大動脈		精囊 前立腺 精巣上体 子宮 甲状腺 上皮小体 下垂体 座骨神経 骨格筋 脊髄 骨・骨髄 眼球

病変の種類

	ヒトの疾患(例)	毒性試験(例)
変性・代謝性変化	アルツハイマー病 心筋梗塞 アミロイドーシス 糖尿病性腎症 脂肪肝、薬剤性肝障害	空胞変性 脂肪変性 アミロイド沈着 単細胞壊死
炎症性変化	急性胃炎 慢性胃炎 副鼻腔炎(アレルギー性等)	角膜炎 異物反応(誤嚥等)
増殖性病変 腫瘍性変化	過形成性ポリープ 腺腫 腺癌、肉腫	変異増殖巣 過形成 腺腫 腺癌、肉腫

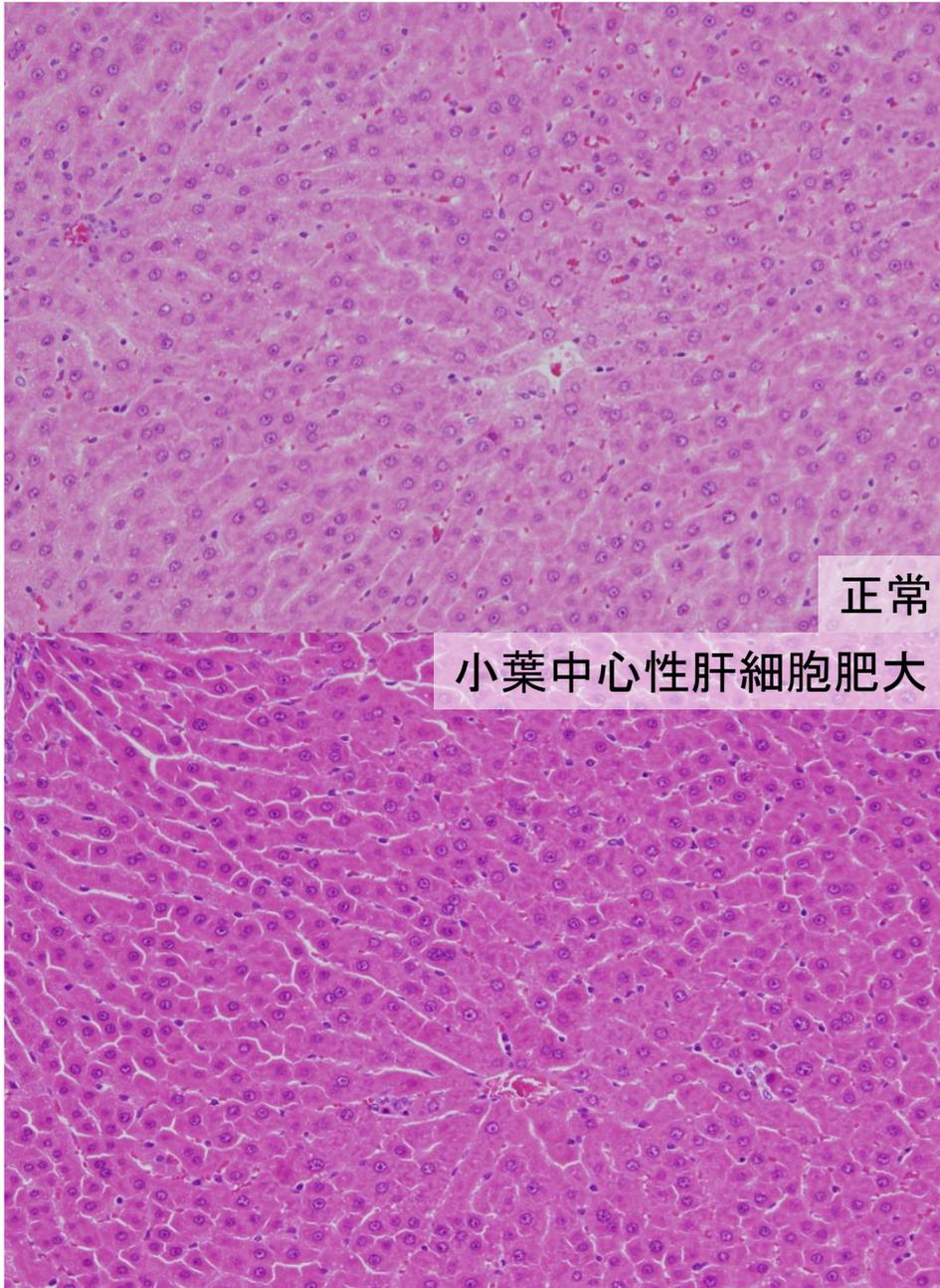
ラット肝臓組織像

化学物質の同化、異化、排泄など代謝の中枢として機能しており、蛋白合成、糖質、脂質の調整に関わる

毒性作用

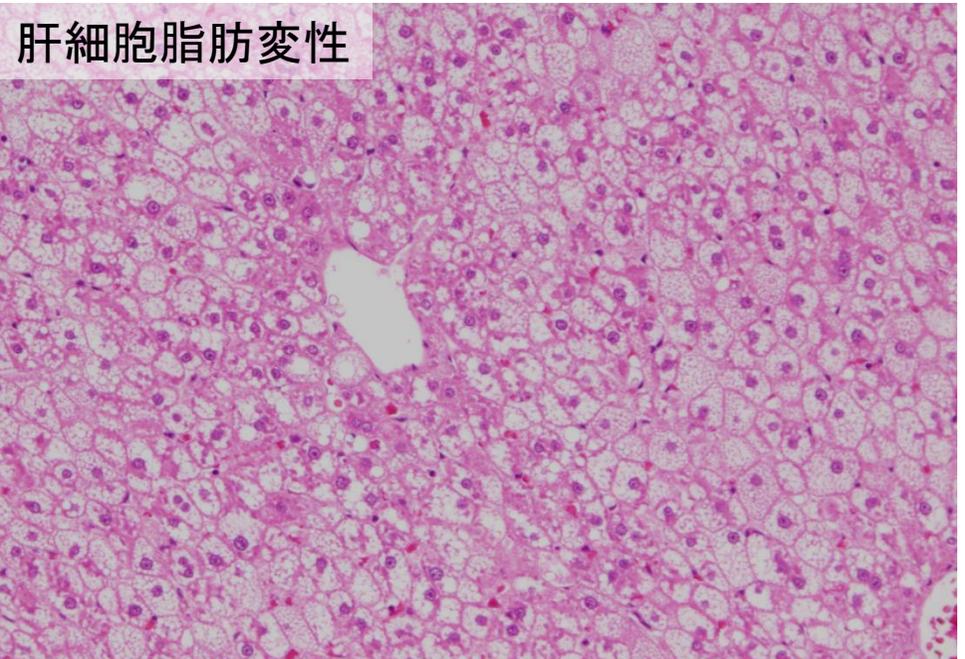


多くの場合は、肝重量(絶対・相対)の増加、肝傷害関連酵素(ALT, ASTなど)増加を伴う



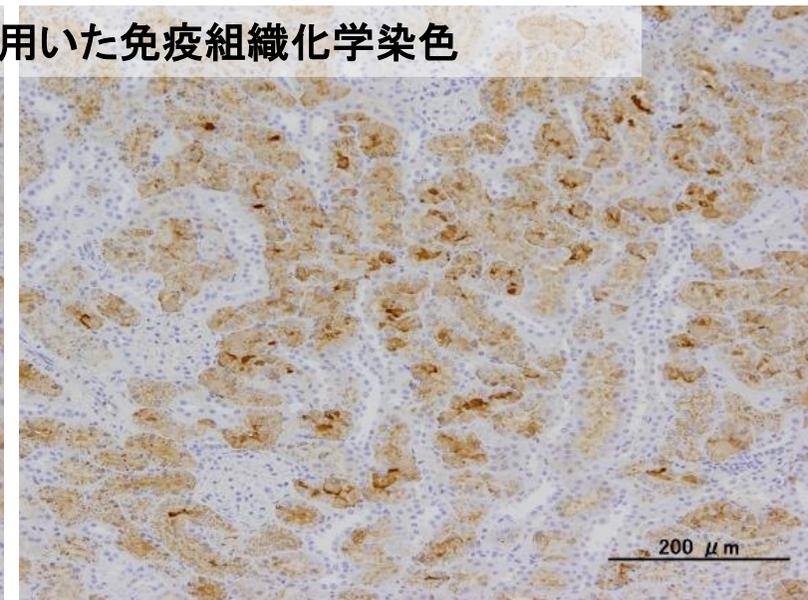
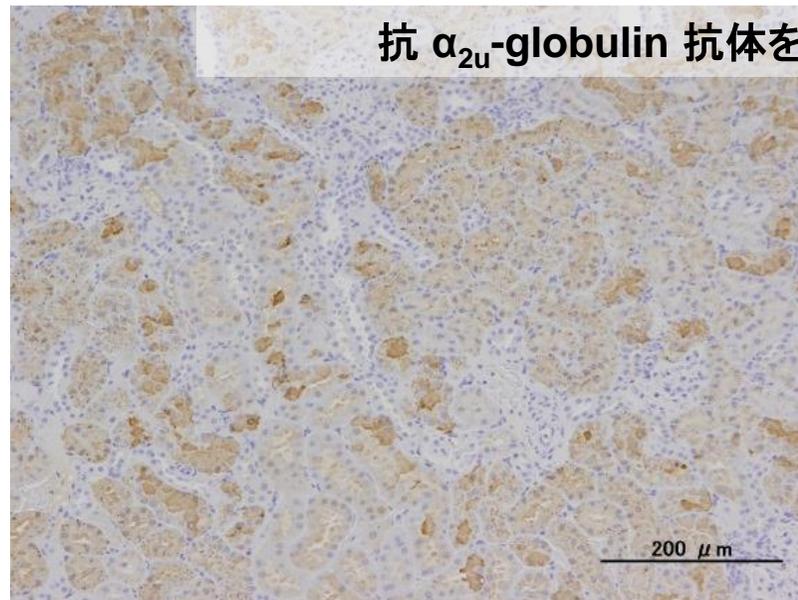
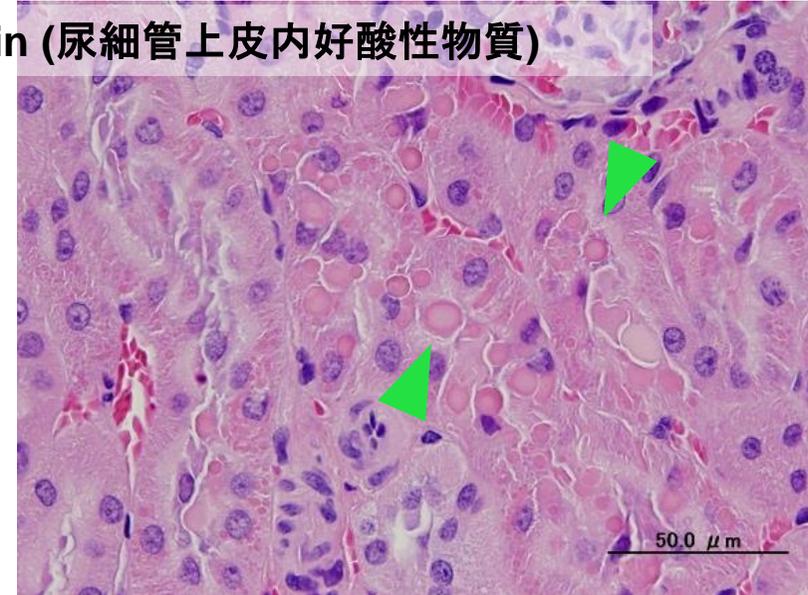
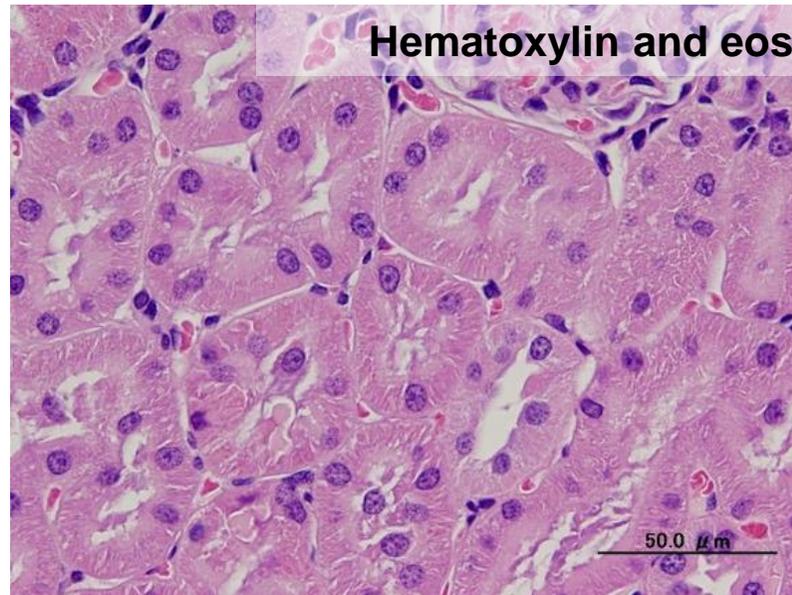
正常

小葉中心性肝細胞肥大



肝細胞脂肪変性

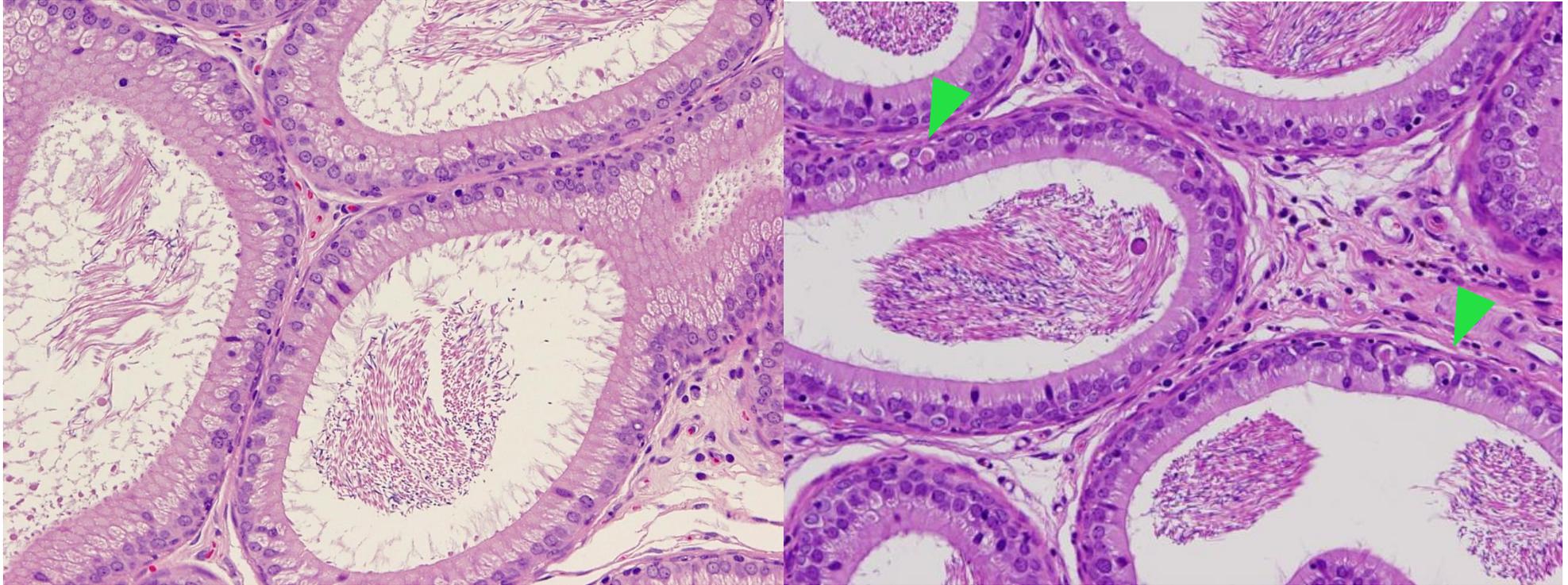
ニトロフラントイン (NFT) 誘発ラット腎症



F344 male ラット Control 13 weeks

NFT(フラン系合成抗菌剤) 13 weeks

3-MCPD パルミチン酸ジエステル誘発 ラット精巣上体アポトーシス



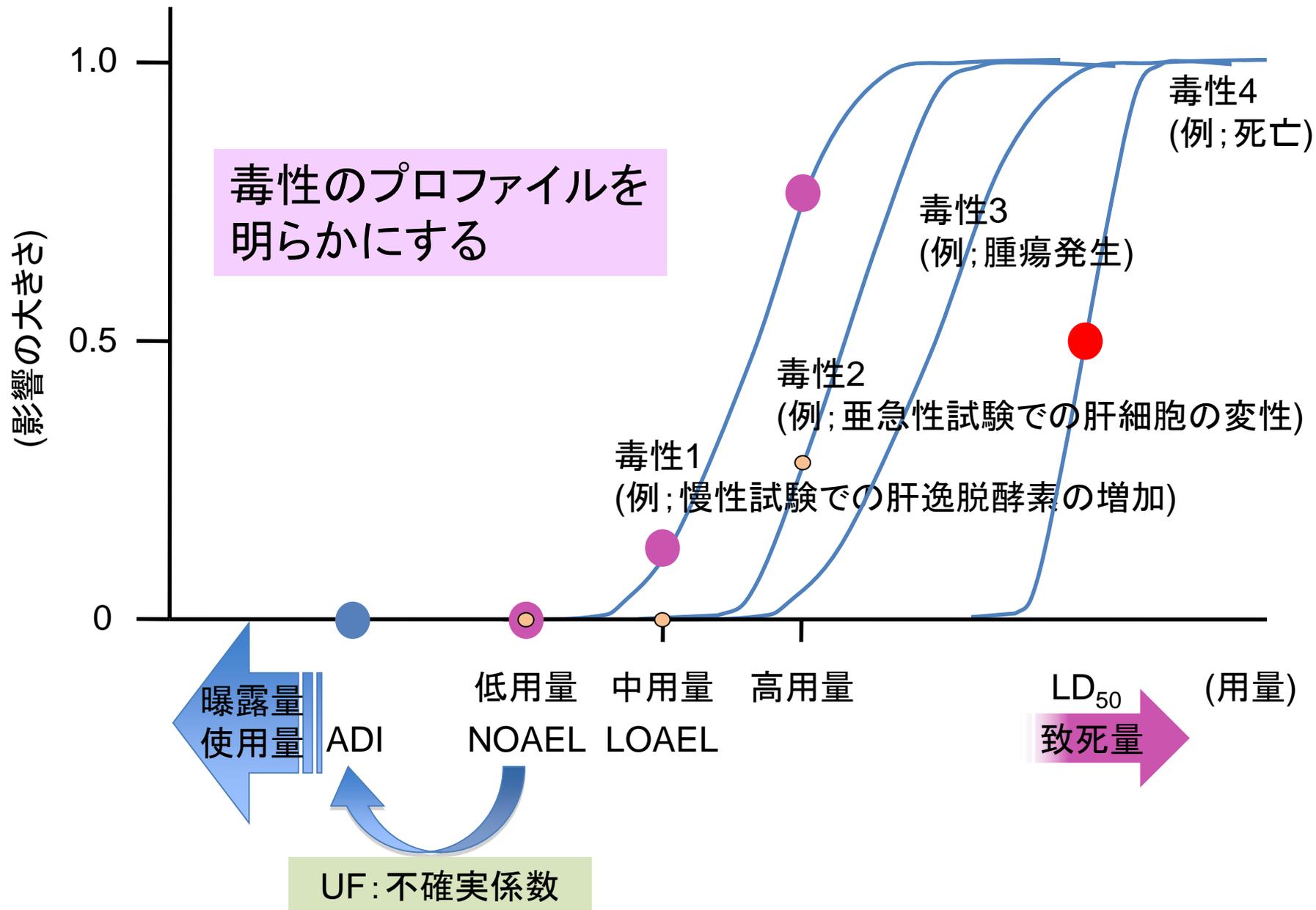
Control 13 weeks

3-MCPD Palmitate diester 220 mg/kg 13 weeks

毒性試験において見られる主な変化

標的臓器	病理所見	血液学的検査・生化学的検査
肝臓	肝重量の増加 肝細胞肥大 脂肪変性 単細胞壊死、炎症細胞浸潤 胆汁鬱滞	脂質代謝異常 蛋白合成の低下 造血能の低下 逸脱酵素 (ALT,AST) の増加
腎臓	腎重量の変化 糸球体の変化 尿細管の変化 (変性、壊死、沈着物、拡張)	BUN、Cre の増加 電解質の変化 血尿、蛋白尿
消化管	びらん・潰瘍 増殖性病変	好中球増加
造血器	骨髓造血細胞減少 脾臓・肝臓髓外造血	赤血球減少 ヘモグロビン減少 網状赤血球増加
脳・神経	神経細胞変性 軸索変性	(自発運動量の増加・減少) (驚愕反応の異常)

化学物質の毒性影響の用量依存性- 閾値がある場合²⁰



不確実係数について

優先評価化学物質の指定後に新たに得られた情報がキースタディとなった場合、以下のように不確実係数積を設定し、NOAEL等を不確実係数積で除して有害性評価値を導出する。

種間差：10

個体差：10

試験期間

90日未満：6

90日以上12ヶ月未満：2

12ヶ月以上の試験期間：1

LO(A)EL採用：10

影響の重大性：1～10

重大な影響については、

NOAEL等の推定根拠またはその他発現した毒性において、神経行動毒性や重篤な病理組織学的な変化等、毒性学的に重要な変化が発現したものの

回復期の影響については、神経行動毒性や重篤な病理組織学的な変化等、毒性学的に重要な変化であって、以下のいずれかの場合

- ア. 回復試験期間内に回復しない病理組織学的な変化を生じさせるもの
- イ. 遅発毒性を生じさせるもの
- ウ. 回復試験期間内に回復しない生化学的な変化を生じさせるもの

毒性試験の課題について

対象の数・時間・経費

暴露量、有害性、リスクの優先度を評価し、必要な試験を実施する

QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) 定量的構造活性相関の活用

動物試験の可否

有効な代替法の検討

JaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods)

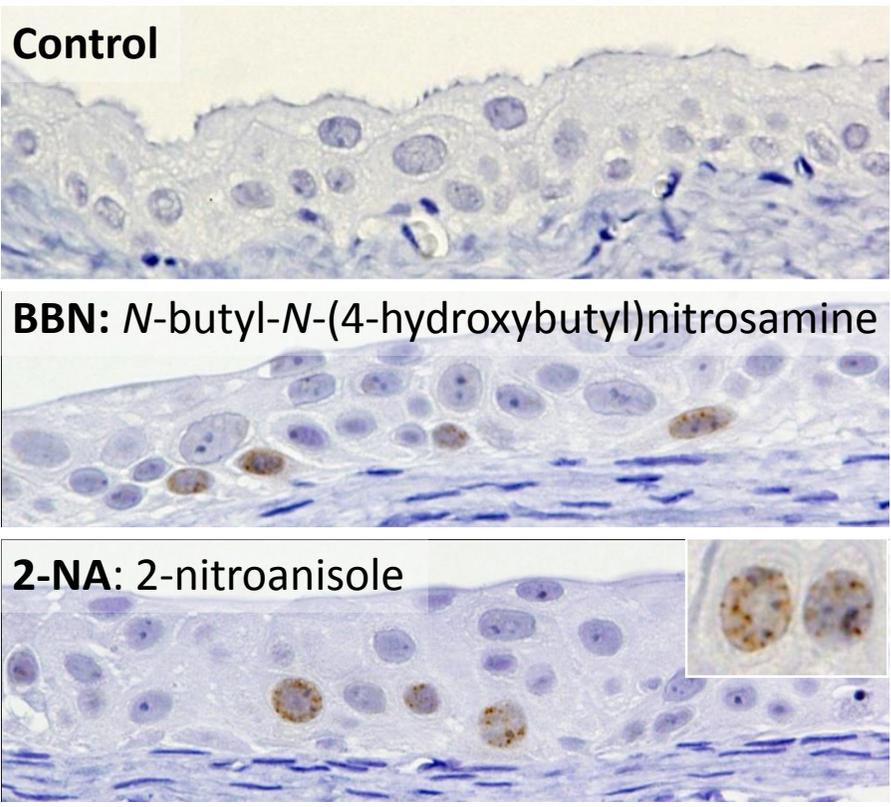
3Rs (OECD GD34)

Reduction ・ Refinement ・ Replacement

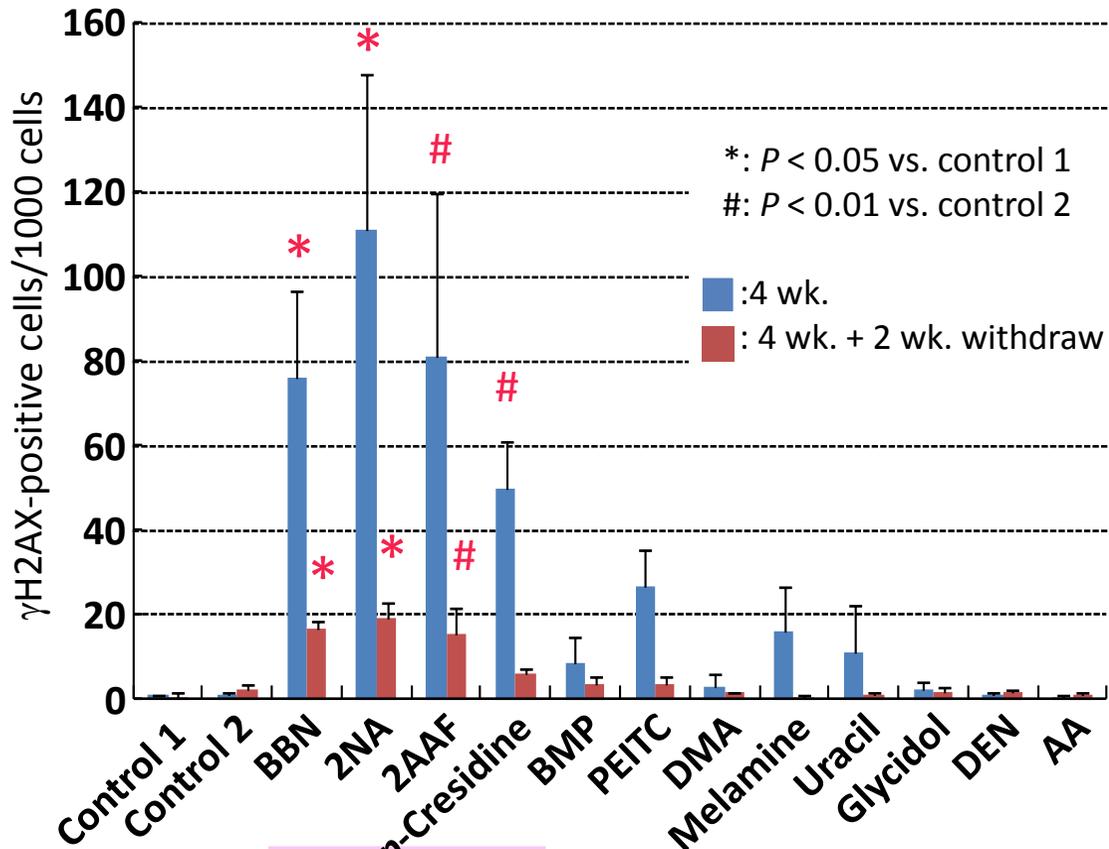
ヒトへの外挿性

代謝や感受性のちがい (CYP、解剖学的)
ヒトでのデータは優先される

膀胱粘膜上皮における γ H2AX 陽性細胞の定量解析



4週間投与後膀胱粘膜の γ H2AX 免疫染色像



膀胱発がん性	-	-	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+	+	-	-	-
遺伝毒性	-	-	+	+	+	+	+/-	+/-	-	-	-	+	+	+

病理標本上でDNA二重鎖切断を評価できる可能性

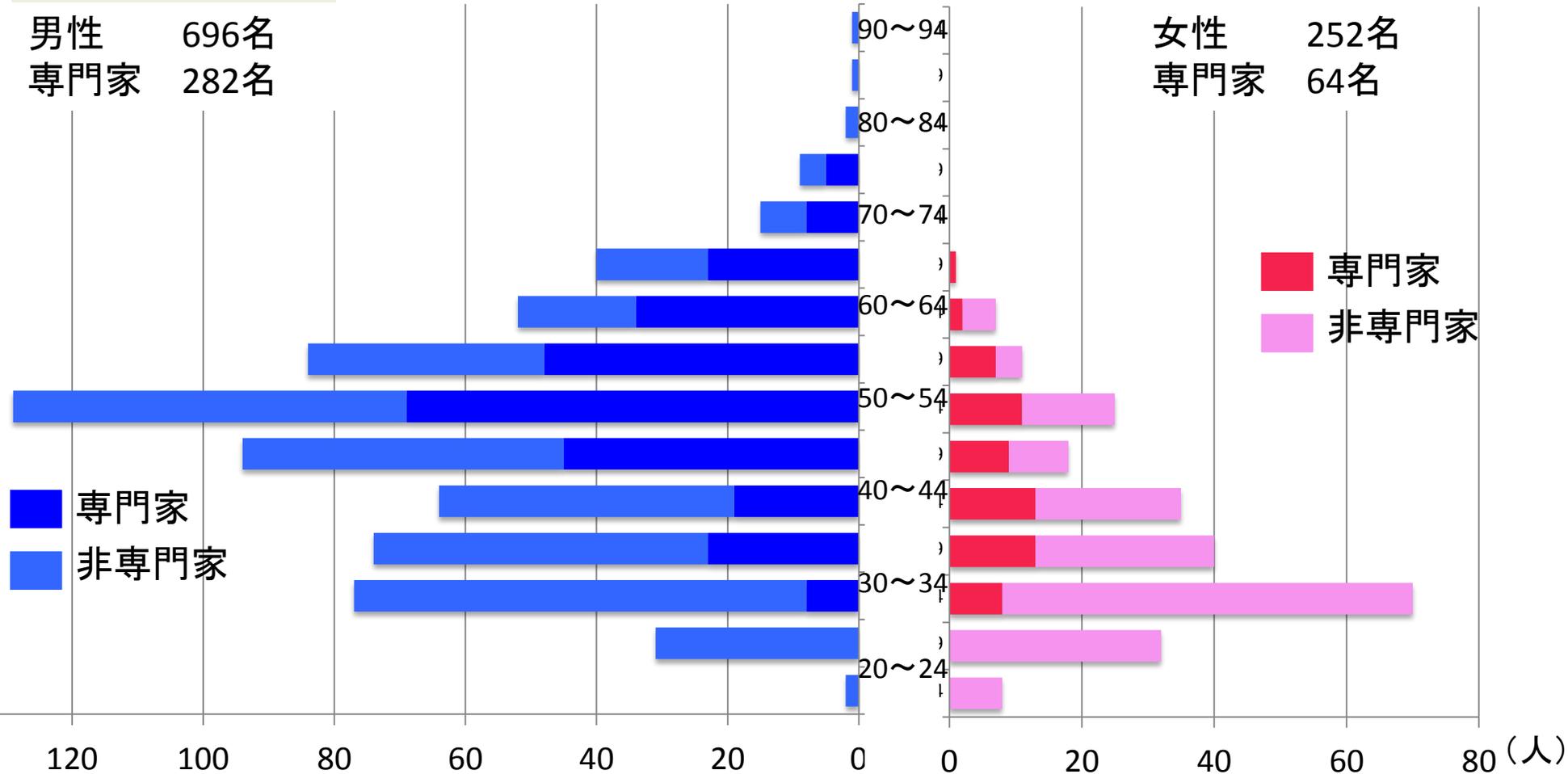
日本毒性病理学会会員の年齢構成と専門家の割合

会員全体 948名
 専門家 346名

男性 696名
 専門家 282名

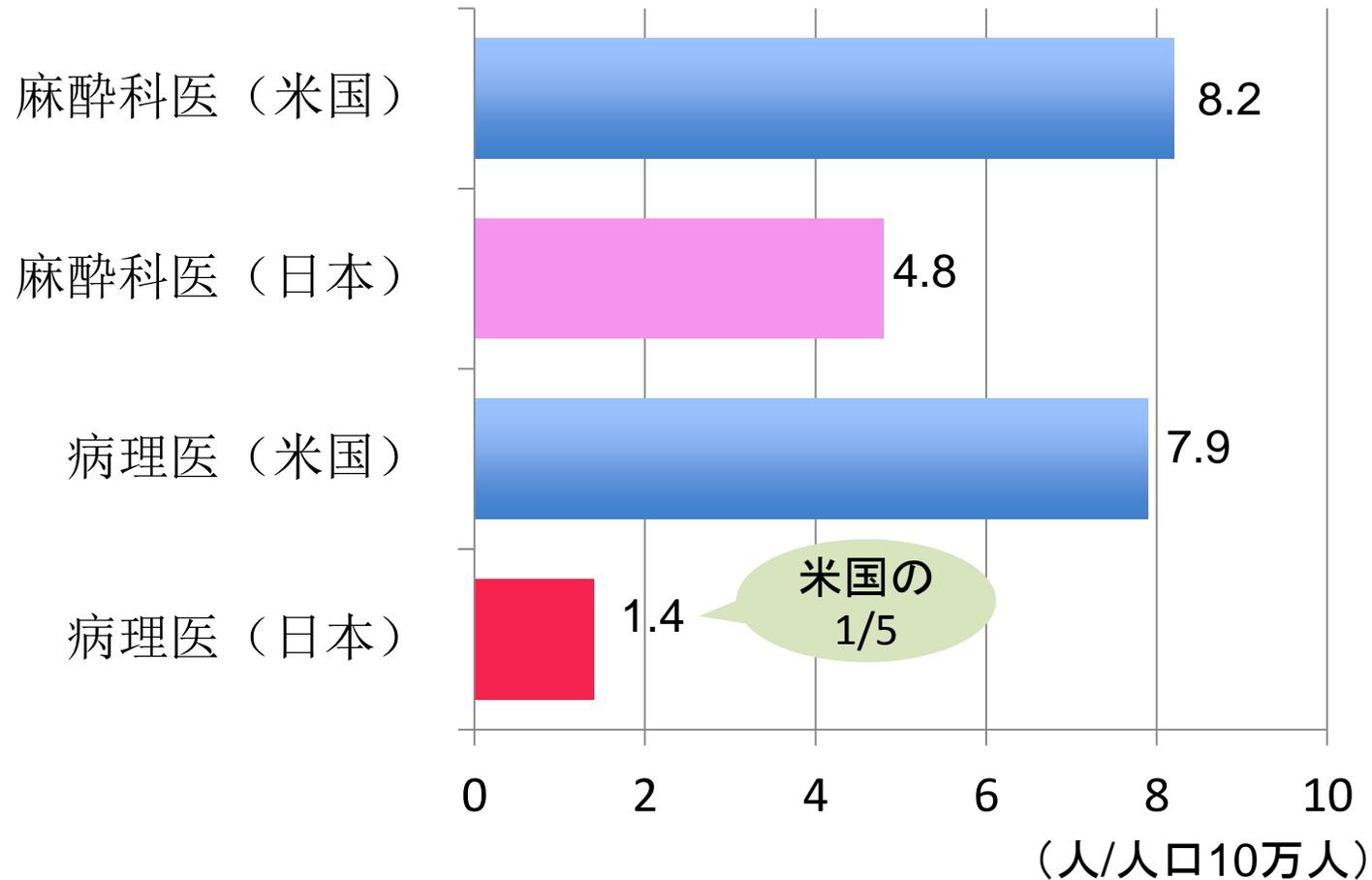
女性 252名
 専門家 64名

年齢



(2014年8月調べ)

人口10万人当たりの日米病理医数の比較



病理専門医は2,120名(2012年4月)

濃沼ら, 病理と臨床. 23:1025, 2005

結語

化学物質のリスクを評価するため、優先度に応じ、動物を用いた毒性試験が実施されている。

毒性試験は万能ではないが、化学物質の代謝を考慮した生体影響を検討できる。また、病理組織学的検討では全身諸臓器が詳細に検討され、変化の機序に関連した因子の局在と、その量的・質的变化を可視化して解析することも可能である。

今後も、病理学的検討は必要であり、専門家確保に対する理解が望まれる。