

## 病理学的手法を用いた安全性評価と安全性研究

国立医薬品食品衛生研究所・病理部・室長  
松下 幸平

### 【はじめに】

「病理学」とは病（やまい）の理（ことわり）を読み解く学問ですので、本来その研究方法としては何でもアリな幅広い学問です。一方、これまで病理の診断あるいは研究の手法として、主に顕微鏡による生体組織の観察が用いられてきたため、現実的には「病理＝顕微鏡を見る」という意味合いで用語が使われることも多いかと思えます。

病理学の中でも、化学物質によって引き起こされる病を扱う分野が毒性病理学です。毒性病理学には 2 つの側面があります。ひとつは毒性試験における病理組織検査などの検査的な側面、もうひとつは病理組織学的なアプローチによる病態メカニズム研究などの実験病理的な側面であり、それぞれ安全性評価と安全性研究を担っています。

今回の発表では、私がこれまで携わった試験や研究を事例として交えつつ、病理学的手法を用いた安全性評価と安全性研究についてご紹介したいと思います。

### 【病理による安全性評価：毒性試験における病理検査】

一般毒性試験における病理検査では、被験物質を投与したラットなどの全身臓器の標本を作製し、一つ一つの細胞の形や色を目で見るという（とても地味な）作業を行います。そして何かおかしいものを見つけた場合は病理所見（細胞が壊死している、小さくなっているなど）として挙げていきます。

ここで重要なポイントの一つは、見られた所見が毒性影響かどうかを判断することです。例えば見られた所見が生体の恒常性を保つための変化、つまり適応性の反応であった場合は毒性影響ではないと判断します。この事例として 2 つの食品添加物の毒性試験をご紹介します。

香料であるバニリンプロピレングリコールアセタール（バニリン PGA）と 2-エチルブタナール（2-EB）のラットを用いた 90 日間毒性試験において、ともに肝臓の肝細胞が大きくなる「肝細胞肥大」が認められました（図 1）。

この「肝細胞肥大」は多くの場合、被験物質を代謝・排泄するための反応、いわゆる酵素誘導です。その場合は適応反応と考えられ、毒性所見とは判断されません。バニリン PGA でみられた「肝細胞肥大」は毒性所見ではないと判断されました (Matsushita K. et al., Food Chem. Toxicol., 2019)。

一方、2-EB の「肝細胞肥大」は様子が少し異なっており、肝細胞が赤くなっていました。電顕で調べたところ、この赤みの原因はミトコンドリアの増加であることが分かりました。これは酵素誘導とは異なる反応であり、最終的に血液検査の結果も併せて、この「肝細胞肥大」は毒性所見であると判断されました (Matsushita K. et al., Regul. Toxicol. Pharmacol., 2018)。

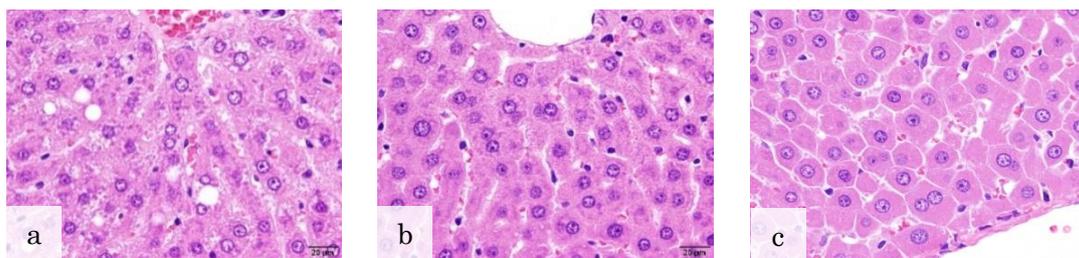


図 1. a: 対照群のラット肝臓、b: バニリン PGA 投与ラット肝臓、c: 2-EB 投与ラット肝臓

このように、毒性試験における病理検査は結果を出すのみでなく、得られた結果の考察においても重要な情報を提供することができます。

#### 【病理による安全性研究：腎毒性の可逆性に関する研究】

毒性試験で得られた所見を考察する際には他にもいくつか重要なポイントがあり、生じた毒性が治るかどうか、つまり可逆性を見極めることもそのひとつです。

腎臓は化学物質による毒性の影響を受けやすい臓器であり、中でも尿細管上皮細胞はよく毒性標的になります。近年、尿細管障害による急性腎障害 (AKI) から慢性腎臓病 (CKD) へ移行する AKI to CKD という現象が疫学的に明らかとなり、臨床現場では尿細管障害は必ずしも治る病態ではないと認識が改められるようになりました。

一方、毒性病理学分野では未だに尿細管障害による腎毒性は多くのケースで可逆性であると判断されます。その根拠として、尿細管には障害後に再生する能力があるということが挙げられます。しかしながら、近年の研究により尿細管の再生に異常が生じた場合、不可逆的な線維化が生じて CKD に移行することが分かりました (図 2)。

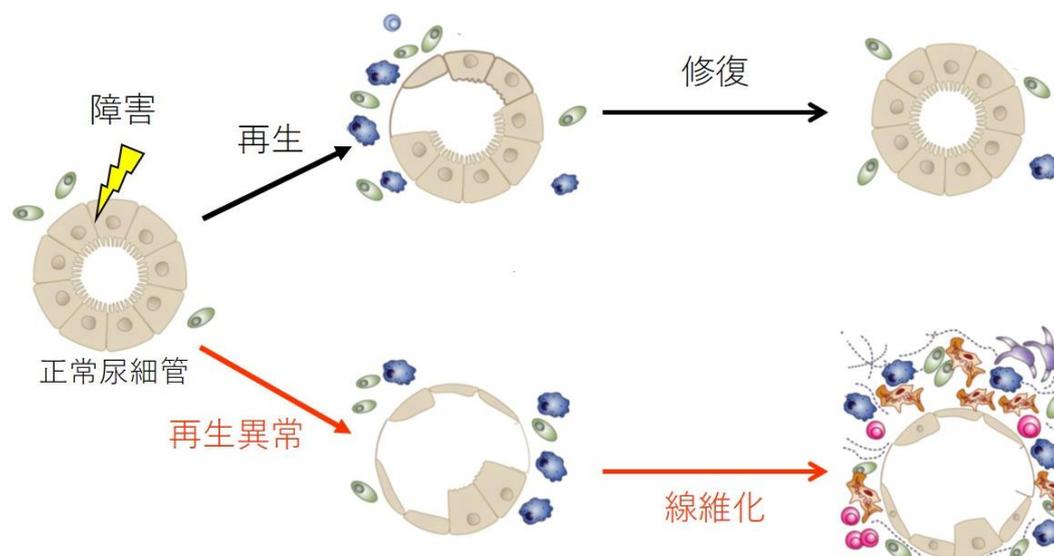


図 2. 尿細管の障害後の転帰 (Kidney Int., 2018; 93: 27-40. 一部改変)

私たちはこの尿細管の再生異常は AKI to CKD の早期のイベントであることに着目し、再生異常の生じた尿細管に発現する因子は腎毒性の可逆性マーカーになるのではないかと仮説を立て、腎毒性の可逆性評価手法の開発に着手しました。

研究を進めるにあたり、まずは病理学的なアプローチとして再生異常の生じた尿細管は形態的に判別できるかどうかを確認したいと思いました。そこでラット CKD モデルを作製し、線維化病変を顕微鏡で観察したところ、再生異常の生じた尿細管は形態的に拡張あるいは萎縮していることが分かりました。

レーザーマイクロダイセクション (LMD) とは組織標本から特定の細胞をレーザーで切り取って採取する装置です。この LMD を使って拡張/萎縮尿細管を採取してマイクロアレイを行い、高発現している遺伝子のうち CD44 という因子に着目しました (図 3)。

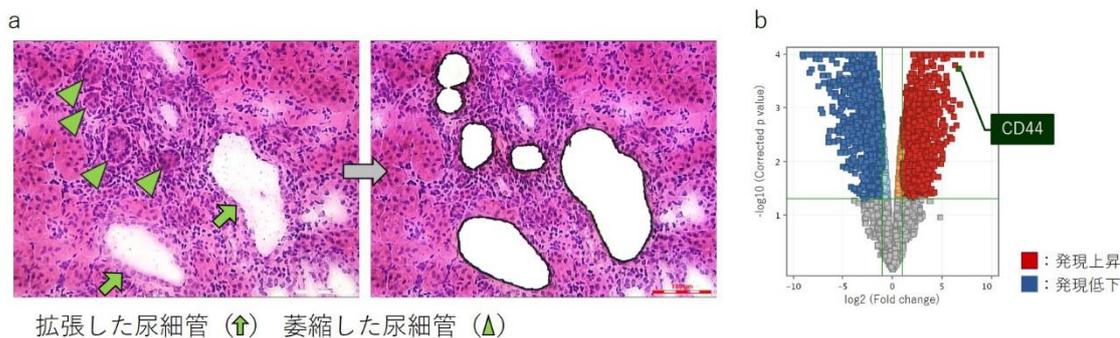


図 3. a: LMD による拡張/萎縮尿細管の採取。b: Volcano plot (マイクロアレイ)。

次に免疫染色にてラット AKI to CKD モデルにおける CD44 の発現動態を調べたところ、CD44 は拡張あるいは萎縮尿細管において AKI の直後から CKD へ至るまで持続的に発現していることが分かりました (図 4)。また血清中 CD44 値も尿細管での発現を反映して上昇していました。

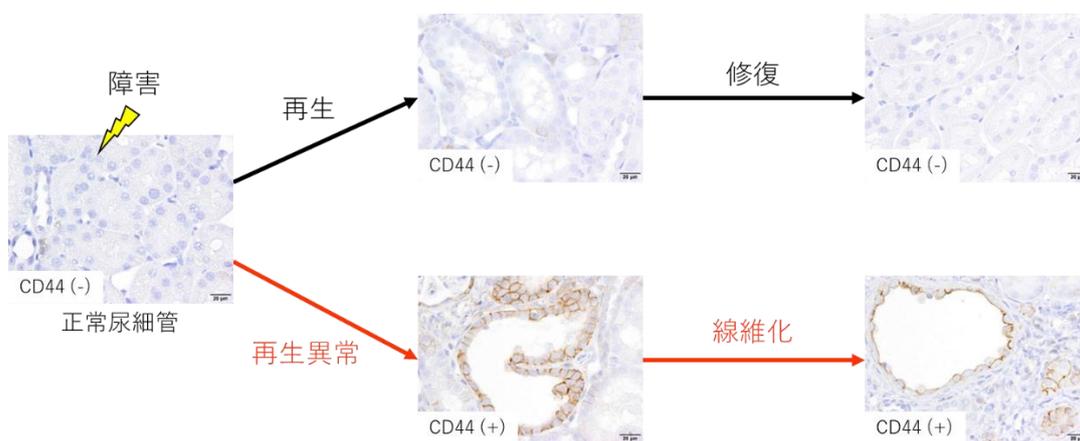


図 4. 再生異常の生じた尿細管における CD44 発現 (Matsushita K. et al., J. Appl. Toxicol., 2024; Matsushita K. et al., J. Toxicol. Pathol., 2024; Matsushita K. et al., J. Appl. Toxicol., 2021)。

現在、引き続き CD44 の腎毒性の可逆性マーカーとしての有用性を検証しており、さらにマーカーとしての妥当性を支持するためのデータを得る目的で、AKI to CKD における CD44 の病態生理学的な機能についても検討を進めています。これらの研究成果を腎毒性の可逆性評価法の開発に繋げ、化学物質の安全性評価の高度化に貢献したいと考えています。

#### 【終わりに】

病理の検査と研究をバランスよく行い、安全性評価と安全性研究に貢献することが国立衛研の病理研究者の使命と考えています。また病理の研究手法は生体組織のみでなく培養細胞にも応用できるため、汎用性が高く様々な分野と共同研究ができる可能性があります。顕微鏡を黙々と見ているイメージの病理の人は外部からは近寄りがたい印象を持たれてしまう事も重々承知してはおりますが、もし病理にご興味のある方は気軽にご連絡をいただければと思います。







