

(様式 5)

2021 年 9 月 30 日
Year Month Day

学位（博士）論文要旨

(Doctoral thesis abstract)

論文提出者 (Ph.D. candidate)	工学府博士後期課程生命工学専攻 (major) 2018年度入学(Admission year) 学籍番号18831703 氏名 横山 央子 (student ID No.) (Name)
主指導教員氏名 (Name of supervisor)	斉藤 美佳子
論文題目 (Title)	イヌを用いた残留農薬の毒性試験におけるアルカリフォスファターゼ活性増加の評価 Assessment of increased alkaline phosphatase activity in dog toxicity studies for evaluation of pesticide residue in food.
論文要旨（2000 字程度） <p>残留農薬の毒性評価において、実験動物、特にイヌを用いた毒性試験における肝臓毒性の発現頻度の高さや毒性所見としての重要度を考慮すると、毒性影響を判断する根拠となるバイオマーカーの選択とその毒性学的意義の解釈は極めて重要である。現在、肝臓胆道系の機能異常を判断するための指標として用いられている血清中アルカリフォスファターゼ（alkaline phosphatase：ALP）活性増加の毒性学的意義を検討することは、農薬の肝臓への毒性影響をより適切に評価する上で有用であり、毒性評価手法に与える影響は大きい。</p> <p>本研究は、これまでに毒性評価が実施された 300 を超える農薬について、複数の動物種を用いた種々の毒性試験結果を解析し、血清中 ALP 活性増加と肝障害または肝臓に対するその他の影響との関係、血清中 ALP 活性増加の種差を明らかにし、評価における判断基準を確立することを目的として実施した。</p> <p>第一章「緒論」では、残留農薬の毒性評価に利用されてきた実験動物の種類、肝機能障害の指標としての ALP についての毒性学的意義、多数の実験研究結果を総括して合理的な残留農薬毒性評価のための指針策定が求められている背景等について解説した。本研究は、特にイヌを用いた毒性試験を中心に、その血清中 ALP 活性の増加が認められた場合、肝臓における毒性影響との関係を詳しく考察することの重要性について論述し、本研究の目的、方法論、期待される成果等についてまとめた。</p> <p>第二章「イヌを用いた毒性試験における血清中 ALP 活性増加の毒性学的意義」では、食品安全委員会において 2007 年から 2013 年に評価された 206 農薬について、イヌ及びラットを用いた短期（3 か月以内）及び長期（12 か月以上）の毒性試験を解析の対象とし、血清中 ALP 活性増加及び ALP 活性以外の肝臓への影響に関する情報を収集・解析した。</p> <p>血清中 ALP 活性増加はラットよりもイヌでより高頻度でみられた。血清中 ALP 活性が増</p>	

加した農薬はイヌ及びラットで同一ではなく、イヌにおける血清中 ALP 活性増加によりラットでの活性増加を予測できないことが示唆された。イヌでは、血清中 ALP 活性が増加しなかった農薬よりも、血清中 ALP 活性が増加した農薬において肝毒性が高頻度で認められ、血清中 ALP 活性増加がイヌの肝毒性のマーカーであることが確認された。しかし、肝毒性を4種類に細分類し、血清中 ALP 活性増加と肝毒性の増加がみられる用量を比較した詳細な解析の結果、血清中 ALP 活性増加と発現した肝毒性の種類との間に特定の関係はないことが判明した。また、肝毒性の重症度にも関連はなかった。これらのことから、血清中 ALP 活性増加が特定の種類の肝毒性のマーカーではないことが示唆された。肝毒性に対する血清中 ALP 活性増加の感度について解析した結果、血清中 ALP 活性増加は肝毒性のマーカーではあるが、70%以上の農薬で血清中 ALP 活性が増加した用量は肝毒性が検出された用量と同じかそれ以上であり、マーカーとして鋭敏ではなかった。以上のことから、血清中 ALP 活性の増加は必ずしも肝毒性の特異的または鋭敏なマーカーではないことが示唆された。

これらの結果を踏まえ、イヌにおける血清中 ALP 活性増加の毒性学的意義に関する決定樹を提案した。

第三章「イヌにおける血清中 ALP 増加を評価するための決定樹の改良及び検証」では、2014年以降に食品安全委員会で評価された農薬の追加解析を実施し、第二章で提案した決定樹の改良及び検証により、決定樹を確立した。

本章では、まず、決定樹において、投与期間の延長により肝毒性が増強する可能性についての考慮を追加した改良を施し、第二章と同様に追加解析を行った129農薬のうち血清中 ALP 活性が増加した58農薬を改良前と改良後の決定樹に適用して検証を行った。

決定樹に適用した結果、判定は改良前後で同じであった。2農薬の短期試験で、血清中 ALP 活性増加が「有害影響である可能性がある」と判定されたが、これらの農薬の長期試験では、「有害影響である」との判定となった。このことから、投与期間の増加に伴う肝毒性の増強の可能性を確認することが決定樹における重要な要素であることが示唆された。

第四章「結論」では、以上の成果を総括するとともに、その学術的及び社会的意義を論述した。

本研究の結論として、血清中 ALP 活性の増加はイヌを用いた農薬の毒性試験において、肝毒性を検出するための鋭敏なマーカーではないことが判明した。また、血清中 ALP 活性増加の評価に当たっては、その他の肝臓の変化等、各種試験成績から得られた情報を総合的に考慮する必要があることが判明した。これらを踏まえて、血清中 ALP 活性増加が有害影響かどうか判断するための手順を決定樹としてまとめた。本解析及び判断基準の提案は、農薬の毒性評価においては国際的にも初めて実施されたものであり、血清中 ALP 活性増加の毒性学的意義についての新たな解釈である。

本研究の成果として、食品を介した残留農薬摂取にかかる人への有害影響の適切な評価が可能となり、農薬の安全確保に資することが可能である。

(英訳) ※和文要旨の場合(400 words)

Hepatotoxicity is a frequent and important toxicity of pesticide in laboratory animals especially dogs. Using appropriate biomarkers and its interpretation is crucial for toxicological evaluations of pesticide residues.

Clarifying a toxicological significance of increased serum alkaline phosphatase (ALP), recognized as a hepatobiliary damage biomarkers, will give an impact for improvement of hepatotoxicity of pesticides. This study clarified the significance of serum ALP increase in dogs related with hepatotoxicity or other liver effects, and species difference of the increase, and to establish a criteria of the increase for toxicological evaluation based on analyses of more than 300 pesticides evaluated by Food Safety Commission of Japan (FSCJ).

Chapter 1 introduced laboratory animal species used to evaluate the toxicity of pesticide, the toxicological significance of ALP, and necessity of guidance for pragmatic assessment on toxicity of pesticide. This study mentioned the importance of considering the relationship with toxic effects on liver in detail when an increase in serum ALP activity was observed, especially in dogs. The purpose, methodology, expected results, etc. were summarized.

In chapter 2, "Toxicological significance of increased serum ALP activity in toxicology studies in dogs", data short- and long-term toxicity studies in dogs and rats in 206 pesticides evaluated by FSCJ were analyzed on the increase in serum ALP activity and the effects on liver. The results indicated a new interpretation that increased serum ALP activity was not a specific or sensitive marker of hepatotoxicity.

Based on these results, a decision tree to determine adversity of increased serum ALP activity in dogs was proposed.

In chapter 3, "Improvement and verification of decision tree for assessing increased serum ALP activity in dogs", analysis of 129 pesticides evaluated by the FSCJ was added, and the decision tree proposed in chapter 2 was established by improving and verifying.

The chapter 4 "Conclusion" was summarized the present research and the contribution to toxicology and regulation on pesticide was discussed.

Our research clarified necessity of comprehensive discussion on the information obtained from various results for judging toxicological significance of the serum ALP activity increase in dogs. Finally a decision tree to determine adversity of increased serum ALP activity was established. The interpretation on the increase and the decision tree were newly established.