

第14回日本毒性病理学会

講演要旨集



1998年2月3～4日

東京

？病理学のデパート？

(1) 病理組織学的検査

毒性病理, 人体病理, ペット病理,
薬理試験病理, 共同研究, その他
チェックシステム: 有資格者による確認
研修制度: 標本検討会 (週1回)

(2) 組織標本作製

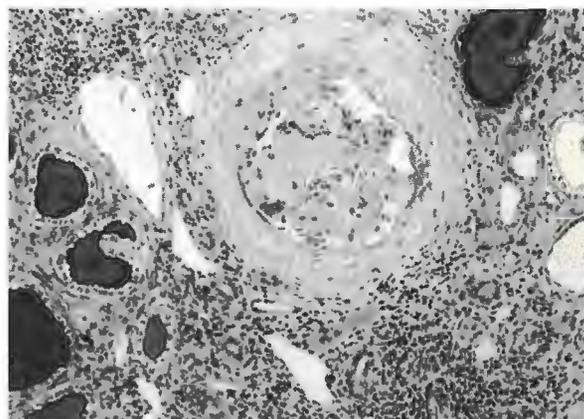
染色項目: 各種

(3) 酵素抗体法

<保有一次抗体>

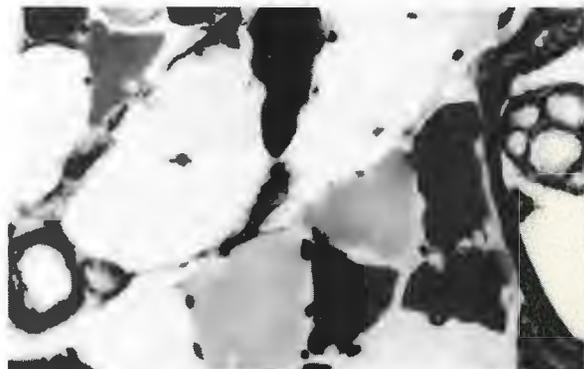
Albumin, AFP, α_1 -AT,
 α -Smooth muscle actin,
 β_2 -microglobulin, BM-1,
Chromogranin A, C3c, CEA, CD44,
Ceruloplasmin, Cytokeratin 7,
Cytokeratin high-MW34BE12,
Desmin, Factor VIII, Fibrinogen,
GFAP, Glucagon,
Heat shock protein,
IgA, IgG, IgM, Isozyme, Insulin,
Keratin, Ki-67, Ki-1(CD30), L-26,
Myoglobin, NSE, PAP, PCNA, PSA,
S-100蛋白, UCHL-1, Vimentin

(4) 画像解析



ウシ腎臓,

H.E. $\times 100$



ラット筋肉, ATPase (pH4.2) $\times 400$



ラット筋肉, ATPase (pH10.6) $\times 400$

(株)札幌総合病理研究所

〒064 札幌市中央区南12条西18丁目3-17

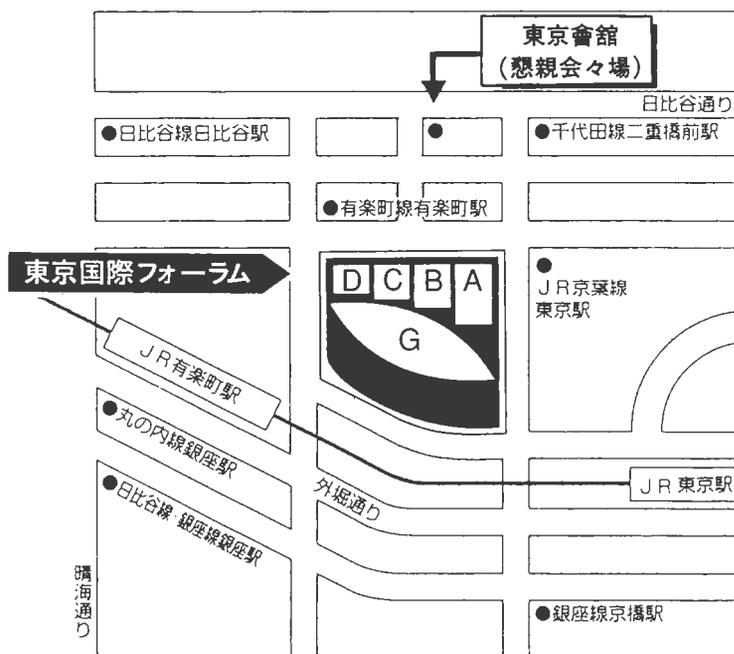
TEL:011-563-6215 FAX:011-563-6299

所長 杉村 誠 研究部長 竹内雅也

会場案内図

東京国際フォーラム (CブロックおよびGブロック)

〒100 東京都千代田区丸の内3-5-1



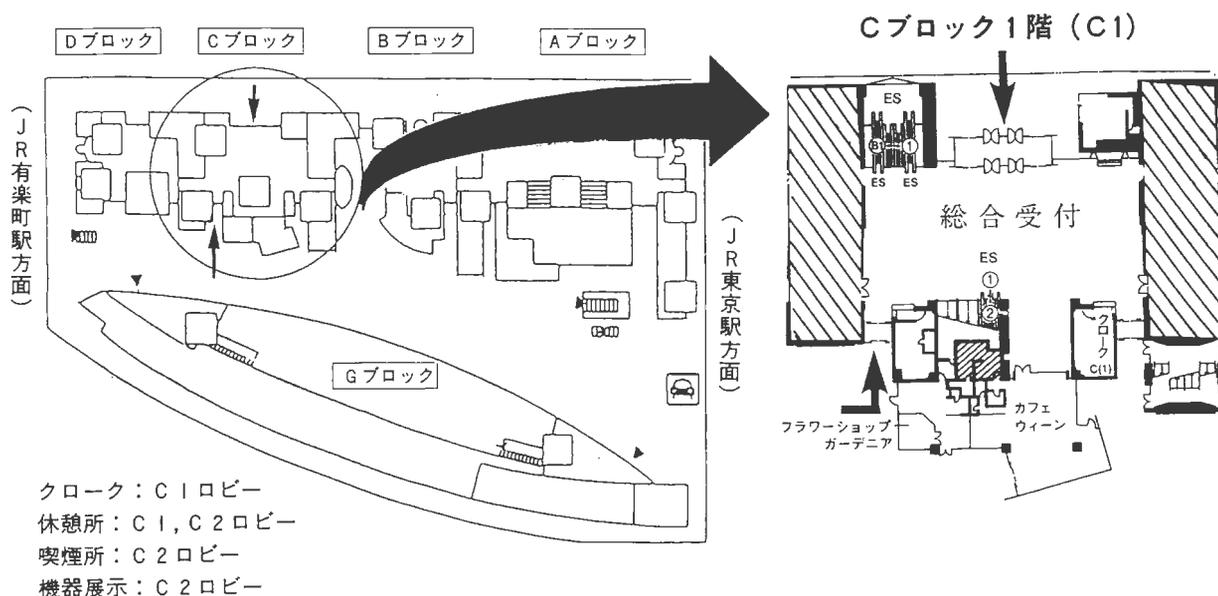
- JR線：有楽町駅（東京駅寄り）・国際フォーラム口）徒歩1分
東京駅 徒歩10分（京葉線東京駅からは地下1階コンコースにて連絡）
- 地下鉄：有楽町線有楽町駅（地下1階コンコースにて連絡）

総合受付

JR線でお越しの方：Cブロック1階フラワーショップ横入口よりお入り下さい。

地下鉄あるいは地下1階コンコースよりお越しの方：

Cブロック1階正面入口よりお入りになるか、地下1階コンコースよりエスカレータ(ES)で1階へお上り下さい。



口演および示説会場案内（4階）

口演，特別講演，ワークショップ，総会，シンポジウム：ホールC
学会本部：G406室（Tel/Fax 03-5221-9156）

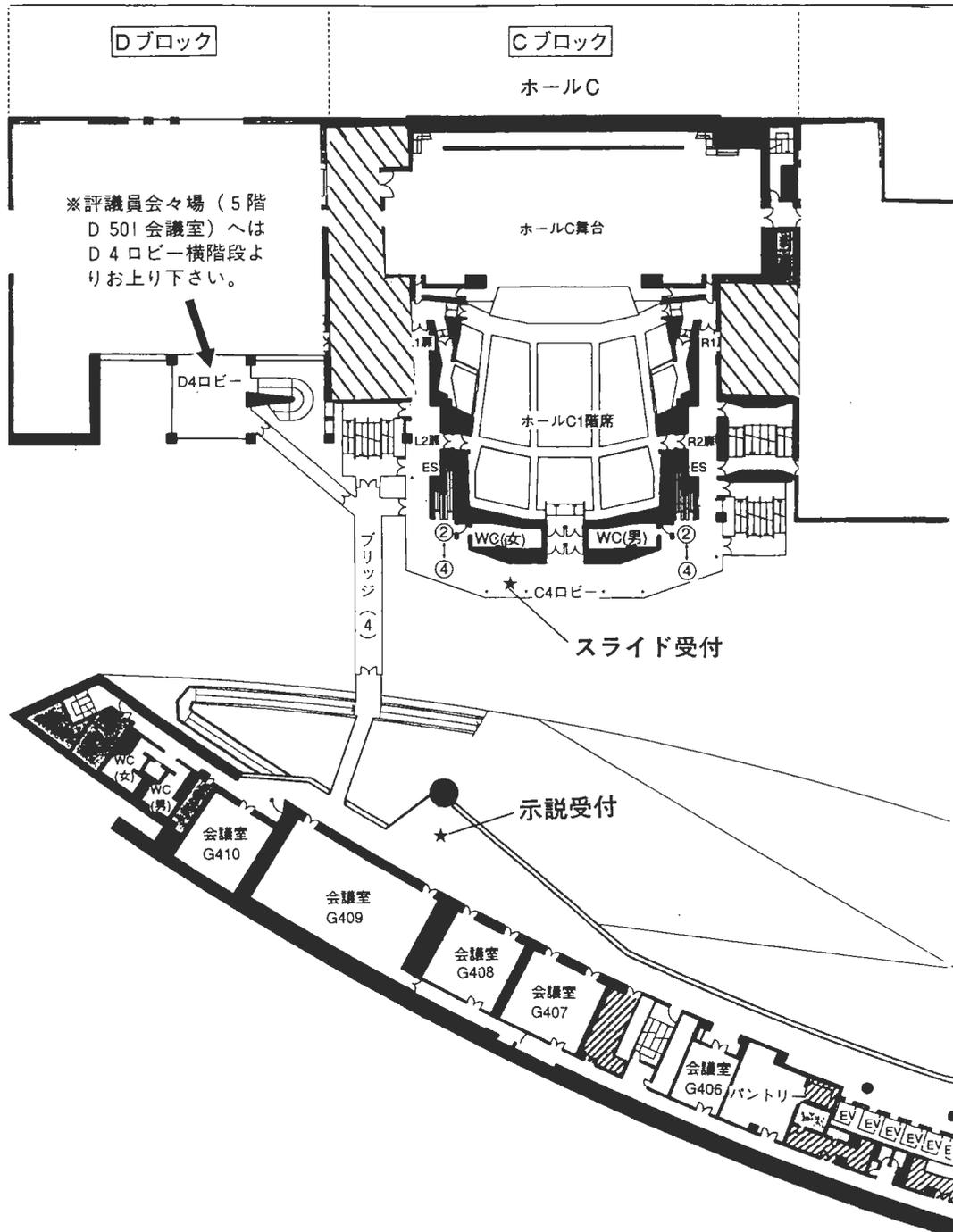
示説会場：G407～409室

スライド受付：ホールC 4階ロビー

示説受付：Gブロック 4階示説会場前

※ホールC～示説会場間の移動はブリッジ(4)をご利用下さい。

※ホールCの2階席および3階席は閉鎖します。



第14回日本毒性病理学会

1. 期 日 1998年2月3日(火)、4日(水)

2. 会 場 東京国際フォーラム

3. 会 長 前川昭彦 (佐々木研・病理)

4. プログラム委員会

委 員 長 高橋道人 (国立衛研・病理)

委 員 今井 清 (食薬セ・病理)

土井邦雄 (東大・農・獣医病理)

花田貴宣 (山之内製薬・創薬安全研)

真板敬三 (残農研・毒性)

三森国敏 (国立衛研・病理)

(50音順)

5. 日 程

第1日 2月3日 (火)

口演会場 (Cブロック ホールC)		示説会場 (Gブロック 4階 G407~409室)	
8:30	総合受付開始		
8:55~9:00	開会挨拶		
9:00~10:48	口演 (1~9)	9:00~9:30	示説受付・展示
10:55~11:50	特別講演		
12:00~13:00	評議員会 (Dブロック 5階 D501会議室)		
		13:00~14:00	示説質疑 (P-1~56)
14:20~16:20	口演 (10~19)		
16:30~18:30	ワークショップ	16:00~16:30	示説撤去
懇親会 (東京會館・12階「ロイヤルルーム」) 19:00~21:00			

第2日 2月4日 (水)

口演会場 (Cブロック ホールC)		示説会場 (Gブロック 4階 G407~409室)	
8:30	総合受付開始		
9:00~11:48	口演 (20~33)	9:00~9:30	示説受付・展示
11:55~12:20	総会		
		13:00~14:00	示説質疑 (P-57~110)
14:30~16:30	シンポジウム	14:40~15:00	示説撤去
16:30~17:00	表彰式および閉会式		

6. 事務局

(会期前)

〒101 東京都千代田区神田駿河台2-2
 (財) 佐々木研究所・病理部
 TEL 03-3294-3286 (内線222)
 TEL・FAX 03-5259-9301

(会期中)

〒100 東京都千代田区丸の内3-5-1
 東京国際フォーラム・
 Gブロック4階 G406室
 TEL・FAX 03-5221-9156

参加者へのお願い

参加者の方へ

◎原則として事前登録をお願いします。

登録・送金方法：参加費 8,000円

学会誌Vol.10 (No. 2) 折り込みの郵便振替用紙をご使用下さい
(郵便局備え付けの振替用紙でも結構です)。

口座番号：00160-3-355619

加入者名：第14回日本毒性病理学会事務局

振込締切：平成9年12月19日(金)

1. 総合受付は学会両日午前8時30分から、東京国際フォーラム・Cブロック1階ロビーにて行います。
2. 事前登録者：総合受付で「郵便払込票兼受領証」を提示し、参加章を受け取り、氏名・所属を記入の上、会期中は必ず左胸につけて下さい。
3. 当日参加者：総合受付で参加費(10,000円)を納入して参加章を受け取り、氏名・所属を記入の上、会期中は必ず左胸につけて下さい。
4. 質問・討論される方は、座長の指示に従って所属と氏名を述べた上で発言して下さい。

演者の方へ

1. 口演時間は8分(7分に予告)、討論時間は4分です。
2. プロジェクターは35mm版用を1台用意します。
3. スライドは口演開始30分前までに会場入口のスライド受付に提出して下さい。
なお、スライドは20枚以内をお願いします。
4. 次演者の方は次演者席にお着き下さい。
5. 口演時間は厳守して下さい。

座長の方へ

1. 口演担当の座長の方は、ご担当30分前までにスライド受付にお越し下さい。
2. 次座長の方は次座長席にお着き下さい。
3. 示説担当の座長の方は質疑応答開始前までに示説受付へお越し下さい。

総会及び評議員会のご案内

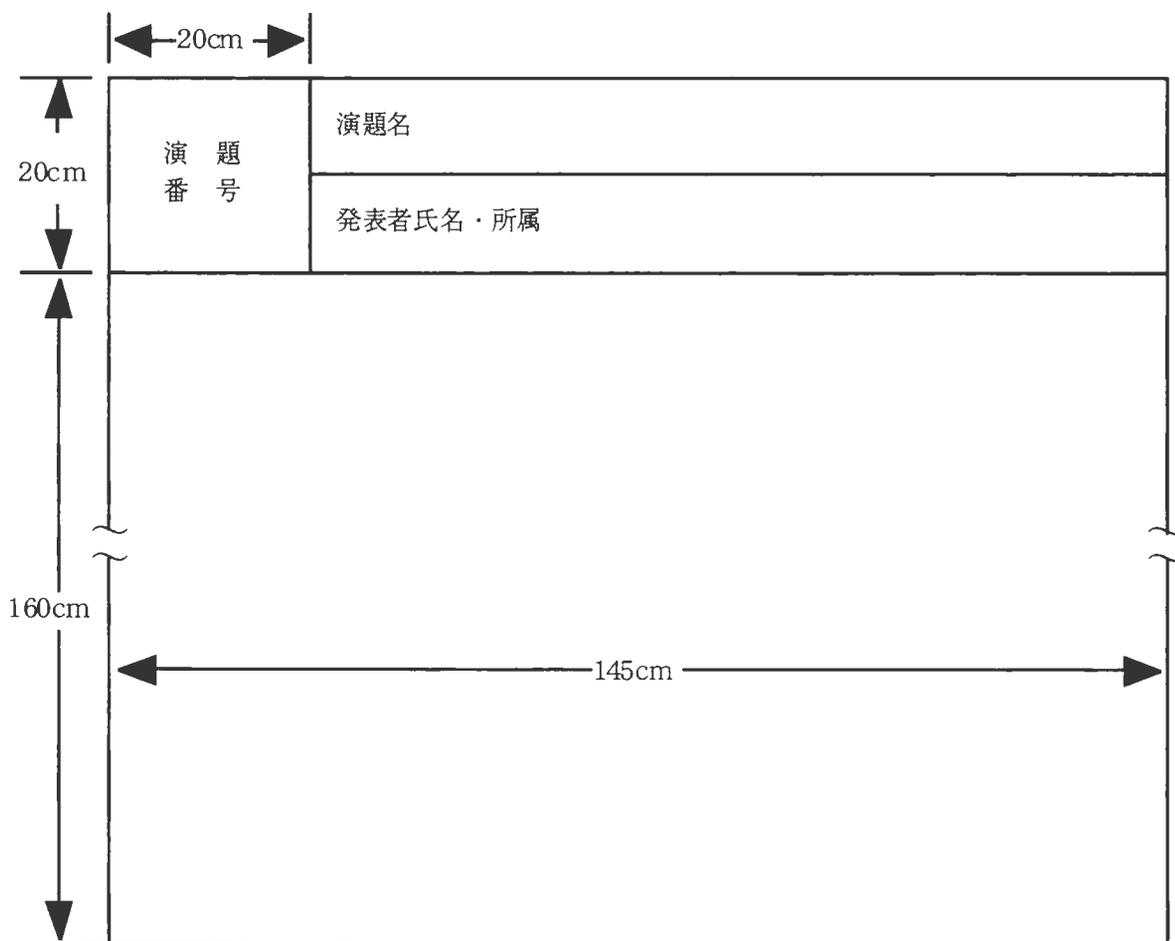
1. 評議員会は学会第1日目の12時00分よりDブロック5階 D501会議室にて行います(要：昼食代1,000円)。D501会議室へはCブロック4階からDブロック連絡通路を渡り、Dブロック内階段で5階へお上り下さい。
2. 総会は学会第2日目の11時55分よりホールCにて行います。

懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第1日目の19時00分から21時00分まで東京會館・12階「ロイヤルルーム」にて開催します。
2. 懇親会費 7,000円：学会参加費と同様、事前登録をお願いします(学会参加費とともにご送金下さい)。
3. 事前登録者は、総合受付で学会・懇親会参加章をお受け取り下さい。

示説をされる方へ

1. 学会両日とも9時30分までに受付（Gブロック4階）と展示を済ませて下さい。
2. 展示時間は9時30分より16時00分（第1日目）または9時30分より14時40分（第2日目）です。
両日とも13時00分から14時00分の間、発表者は必ず会場に居て参加者からの質疑に応じて下さい。
尚、本年度は演者による簡単な発表は行いません。
3. パネルの大きさは縦180cm、横145cmです（下図参照）。
4. 展示には学会で用意した画鋏を使用して下さい。
5. 演題名、発表者氏名・所属の表題を下図の要領に従って作成し、展示して下さい（演題番号は主催者側で用意します）。



司会・座長一覧

特別講演	2月3日 (10:55~11:50)	小西陽一	(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
ワークショップ	2月3日 (16:30~18:30)	土井邦雄	(東大・農・獣医病理)
		立松正衛	(愛知がんセ・1病理)
シンポジウム	2月4日 (14:30~16:30)	前川昭彦	(佐々木研・病理)
		真板敬三	(残農研・毒性)
<hr/>			
口演	2月3日 (9:00~10:48)		
		1~3 西川秋佳	(国立衛研・病理)
		4~6 梅村孝司	(北大・獣医・比較病理)
		7~9 渡辺敦光	(広大・原医研・環境変異)
	2月3日 (14:20~16:20)		
		10~13 広瀬雅雄	(名市大・医・1病理)
		14~16 真鍋 淳	(三共・安全研)
		17~19 堤 雅弘	(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
	2月4日 (9:00~11:48)		
		20~22 土谷 稔	(三菱化学安科研)
		23~26 渡辺満利	(持田製薬・安全研)
		27~30 今井田克己	(名市大・医・1病理)
		31~33 三森国敏	(国立衛研・病理)
<hr/>			
示説	2月3日 (13:00~14:00)		
		P- 1~16 奈良間功	(摂南大・薬・薬安研)
		北村 均	(横浜市大・医・1病理)
		P-17~36 原田孝則	(残農研・毒性)
		森 秀樹	(岐大・医・1病理)
		P-37~56 川合是彰	(田辺製薬・医薬育成研)
		白井智之	(名市大・医・1病理)
	2月4日 (13:00~14:00)		
		P-57~76 今井 清	(食薬セ・病理)
		福島昭治	(大阪市大・医・1病理)
		P-77~93 高橋道人	(国立衛研・病理)
		花田貴宣	(山之内製薬・創薬安全研)
		P-94~110 津田洋幸	(国立がんセ・化療)
		中山裕之	(東大・農・獣医病理)

日本毒性病理学会のあゆみ

回	開催地	会 長 (所 属)	会 期	特 別 講 演	シンポジウム・ワー クショップ・その他	一 般 演 題
1	東 京	西 山 保 一 (北里学園)	1985.3.25	2	0	0
2	東 京	藤 原 公 策 (東大)	1986.2.7～8	1	5	29
3	名古屋	伊 東 信 行 (名市大)	1987.2.6～7	1	8	47
4	浜 松	榎 本 眞 (安評セ)	1988.2.5～6	1	7	55
5	横 浜	蟹 澤 成 好 (横市大)	1989.1.27～28	1	6	53
6	札 幌	板 倉 智 敏 (北大)	1990.2.13～14	1	6	80
7	東 京	林 裕 造 (国立衛試)	1991.1.17～18	1	20	53
8	奈 良	小 西 陽 一 (奈良医大)	1992.1.23～24	1	19	71
9	東 京	土 井 邦 雄 (東大)	1993.1.21～22	2	4	126
10	広 島	伊 藤 明 弘 (広大)	1994.1.27～29	1	18	136
11	大 阪	佐久間 貞 重 (大阪府大)	1995.1.26～27	2	10	151
12	東 京	高 橋 道 人 (国立衛試)	1996.1.24～25	0	16	147
13	鳥 取	梅 村 孝 司 (鳥取大)	1997.1.23～24	1	11	151
14	東 京	前 川 昭 彦 (佐々木研)	1998.2.3～4	1	9	143

特別講演

- 第1日 (2月3日) 10:55~11:50 司会 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
Mechanistic data and risk assessment of selected toxic end-points of the endocrine system2
Charles C. Capen (オハイオ州立大)

ワークショップ：新技術の毒性病理学への応用

- 第1日 (2月3日) 16:30~18:30 司会 土井邦雄 (東大・農・獣医病理)
立松正衛 (愛知がんセ・1病理)
- W-1. *In situ* hybridization法を用いた肝細胞増殖動態解析への応用4
○武田真記夫, 吉田敏則, 榎本秋子, 渡辺茂美子, 山口 悟, 春田純子,
藤澤秀樹, 原田孝則, 真板敬三 (残農研・毒性)
- W-2. *In situ* RT (reverse transcriptase) - PCR法の皮膚発癌実験への応用4
○浅野 哲¹, R.W. Tennant² (1帝人・医薬開発研, 2NIEHS)
- W-3. Differential display法の毒性病理学への応用5
降旗千恵 (東大・医科研・癌生物)
- W-4. マーカー遺伝子導入による転移機構と抑制の解析5
中西速夫 (愛知がんセ・1病理)
- W-5. Representational difference analysis (RDA) 法の病因解析への応用6
牛島俊和 (国立がんセ・発がん)

シンポジウム：雌性生殖器毒性

- 第2日 (2月4日) 14:30~16:30 司会 前川昭彦 (佐々木研・病理)
真板敬三 (残農研・毒性)
- S-1. 雌性生殖器の内分泌8
若林克己 (群馬大・生体調節研)
- S-2. 卵巣機能と生殖毒性8
○代田真理子¹, 今井 清² (食薬セ・1生殖生物, 2病理)
- S-3. 雌性生殖器発癌9
永岡隆晴 (吉富製薬・安全研)
- S-4. 内分泌障害性化学物質 (endocrine disruptors) の検出の為の新しい試み9
○井上 達, 菅野 純 (国立衛研・毒性)

口演プログラム

○：発表者

第1日（2月3日）午前

座長 西川秋佳（国立衛研・病理）

9：00～9：36

1. 新発想の安全性試験支援コンピュータシステム12
○田中 光¹, 濱田孝治², 後藤和則³, 佐野真士¹, 萩原昭裕¹, 玉野静光¹
(¹大雄会医科研, ²日本テレマティーク・大阪開発セ, ³日本曹達・小田原研)
2. ヒト正常型c-Ha-ras遺伝子導入ラットの作成12
○鳥山一馬場弘靖¹, 朝元誠人¹, 太田智則¹, 落谷孝広², 津田洋幸¹
(国立がんセ・1化療, ²分子腫瘍)
3. Eker rat腎癌原因遺伝子(Tsc2)蛋白の正常ラットにおける分布13
○福田智一^{1,2}, 小林敏之¹, 小西陽一², 樋野興夫¹
(¹癌研・実験病理, ²奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

座長 梅村孝司（北大・獣医・比較病理）

9：36～10：12

4. 再投与によるチオフェン誘発性痙攣発症率の上昇13
○森 文秋, 高屋豪瑩（弘前大・脳研・神経病理）
5. 5-Azacytidineにより誘発されるラットの発生期神経細胞アポトーシス14
○呂 東平^{1,2}, 中山裕之¹, 篠塚淳子¹, 上塚浩司¹, 瀧 隆一², 土井邦雄¹
(¹東大・農・獣医病理, ²三菱化学ビーシーエル)
6. Thiramの長期反復投与ラットに発現した神経毒性変化の超微形態学的解析14
○今沢孝喜¹, 三森国敏¹, 小野寺博志¹, 竹川 潔¹, 西川秋佳¹, 池田尚子^{1,2}, 高橋道人¹
(¹国立衛研・病理, ²昭和女子大)

座長 渡辺敦光（広大・原医研・環境変異）

10：12～10：48

7. リファンピシン投与によるイヌ消化管P450 (CYP3A) の誘導15
○丸山敏之, 渡辺 弘, 松井信志, 星元満里子, 三好貴子, 西部泰弘, 大野浩司
(塩野義製薬・新薬研)
8. 5-Fluorouracilの腸管上皮細胞に対する作用の経時的变化15
○猪又 晃¹, 堀井郁夫¹, 鈴木勝士² (¹日本ロシユ, ²日獣大・獣医生理)
9. PhIPとカフェインの同時投与によるラット肝CYP1A2酵素の変動と大腸発がんの促進16
○関根一則¹, 上原宣昭¹, 金 大中¹, 朴 哲範¹, 出川雅邦², 津田洋幸¹
(¹国立がんセ・化療, ²東北大・薬・衛生化学)

第1日（2月3日）午後

座長 広瀬雅雄（名市大・医・1病理）

14：20～15：08

10. N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG) 誘発胃癌に認められた生物学的不稔化16
○渡辺敦光, 黒住正雄, 正岡良之, 城戸聡一郎, 荘司俊益, 加藤 修（広大・原医研・環境変異）

11. スナネズミにおけるMNUならびにMNNGによる腺胃発癌17
 ○山本昌美¹, 塚本徹哉¹, 清水伸幸¹, 深見博子¹, 今井俊夫¹, 湯浅啓史¹, 中西速夫¹,
 杉山 敦², 立松正衛¹ (1愛知がんセ・1病理, 2信大・医・1外)
12. MNNGと高濃度食塩水によるラット胃発がんのdiethyl maleate (DEM) による増強作用17
 ○朴 哲範¹, 金 大中¹, 李 俊燮², 関根一則¹, マルカム・ムーア¹, 津田洋幸¹
 (1国立がんセ・化療, 2ソウル大・獣医)
13. ラット二段階胃発癌モデルにおける水道水中の変異原性物質MXの影響18
 ○西川秋佳¹, 古川文夫¹, 笠原健一郎¹, 田中丸善洋², 池崎信一郎², 今沢孝喜¹, 李 仁善³,
 谷所達幸⁴, 木苗直秀⁴, 高橋道人¹
 (1国立衛研・病理, 2岐大・医・病理, 3韓国啓明大・食品加工, 4静岡県大・食品栄養)

座長 真鍋 淳 (三共・安全研)

15:08~15:44

14. アドリアマイシン誘導体による肝毒性の検討 (第5報)
 -長期間歇投与による肝臓に及ぼす影響-18
 ○川畑好之康, 安藤信明, 柏原純一, 園田崇倫, 野原正志, 田中英樹, 成田祐士, 大町勝美,
 阿部俊一 (ミドリ十字・安全研)
15. クロフィプレート投与ラットにおけるコネクシンの抑制とCYPの誘導との関連性19
 ○正田俊之, 三森国敏, 小野寺博志, 今沢孝喜, 豊田和弘, 畝山智香子, 池田尚子, 田村 啓,
 高田幸一, 高橋道人 (国立衛研・病理)
16. マウス二段階発癌試験法を用いたフルメキンの肝腫瘍発生機序の検討19
 ○吉田 緑¹, 美谷島克宏^{1,2}, 工藤佳代子^{1,3}, 安藤 進¹, 高橋正一¹, 前川昭彦¹
 (1佐々木研・病理, 2日本たばこ, 3ポゾリサーチ)

座長 堤 雅弘 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

15:44~16:20

17. ハムスターにおけるヘテロサイクリックアミンの腫瘍促進作用20
 ○吉本雅俊, 堤 雅弘, 真嶋敏光, 赤井弘幸, 笛木 修, 高島吉治, 吉田順一, 辻内俊文,
 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
18. ハムスター腫瘍モデルを用いたaurapteneと4-HPRの抑制効果20
 ○崎谷博征¹, 堤 雅弘¹, 辻内俊文¹, 吉本雅俊¹, 伊木勝道¹, 村上 明², 小清水弘一²,
 大東 肇³, 高橋保男⁴, 小西陽一¹
 (1奈良医大・がんセ・腫瘍病理, 2近大・生物理工, 3京大・農, 4和歌山県農産物加工研)
19. 麩酸のラットにおける甲状腺腫瘍プロモーション作用の閾値の検討21
 ○小野寺博志¹, 三森国敏¹, 藤本成明², 安原加壽雄¹, 竹川 潔¹, 高橋道人¹
 (1国立衛研・病理, 2広大・原医研・予防腫瘍)

第2日 (2月4日) 午前

座長 土谷 稔 (三菱化学安科研)

9:00~9:36

20. 蛋白漏出と糸球体係蹄壁微細構造の変化についての電顕組織化学的研究21
 ○下井昭仁, 原田 剛, 桑山知登世, 富田和夫, 渡辺満利 (持田製薬・安全研)

21. Ultrastructure of phagolysosomal nephropathy in rats treated with water-soluble polyalkylsulfonated C6022
 ○Hans Chen¹, Sandou Chen², Yeh C Ling², Kuen J Huang¹
 (1Natl. Lab. Anim. Breeding & Res. Ctr., Natl. Sci. Council, Taipei, ²Sch. Vet. Med., Natl. Chungshin Univ., Taichung)
22. Dimethylnitrosamine (DMN) 腎発癌に対する2-amino-4,5-diphenylthiazole (DPT) 誘発ラット嚢胞腎の影響22
 ○池田佳久, 高橋 智, 織田信一郎, 加藤俊男, 小川久美子, 白井智之 (名市大・医・1病理)
- 座長 渡辺満利 (持田製薬・安全研) 9:36~10:24
23. Phenethyl- およびbenzylisothiocyanateの強力なラット膀胱発癌促進作用23
 ○木本直哉¹, 広瀬雅雄¹, 山口 剛¹, 佐野真士^{1,2}, 二口 充¹, 白井智之¹
 (1名市大・医・1病理, 2大雄会医科研)
24. 血管新生阻害剤TNP-470の膀胱内注入によるラット膀胱発癌修飾作用23
 ○市原敏夫, 鰐淵英機, 梶田周佳, 永田 智, 福島昭治 (大阪市大・医・1病理)
25. N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) によるラット膀胱癌の発生に対するトマトジュースの抑制効果24
 ○北山若紫¹, 岡島英二郎¹, 赤井弘幸¹, 佐々木康孝¹, 堤 雅弘¹, 傳田阿由美¹, 西野輔翼², 大島俊二³, 坂本秀樹³, 小西陽一¹
 (1奈良医大・がんセ・腫瘍病理, 2京都府医大・生化, 3カゴメ総研)
26. BBN膀胱発癌実験系におけるpyrimidine nucleoside phosphorylaseの検討24
 ○谷 善啓, 大園誠一郎, 山口尚子, 北川恒代, 熊本廣実, 細川幸成, 藤本清秀, 植村天受, 平尾佳彦 (奈良医大・泌)
- 座長 今井田克己 (名市大・医・1病理) 10:24~11:12
27. マウス多臓器発がんモデルにおける共役リノール酸 (conjugated linoleic acids, CLA) の発がん修飾作用の検討25
 ○金 大中^{1,2}, 朴 哲範¹, 李 俊燮³, 高須賀信夫¹, 馬場-鳥山弘靖¹, 朝元誠人¹, 津田洋幸¹
 (1国立がんセ・化療, 2韓国食品医薬品安全本部・研・病理, 3ソウル大・獣医・病理)
28. 気管内注入法による超微粒酸化チタン粒子のハムスター肺に対する短期的影響について25
 ○橋 徹¹, 佐藤文明¹, 君塚五郎² (1昭和電工, 2千葉大)
29. Brown Norway系およびFischer系ラットにおけるタバコ煙吸入に対する呼吸器系の感受性について26
 ○大塚亮一¹, 首藤康文², 藤江秀彰², 山口 悟², 春田純子², 武田真記夫², 原田孝則², 板垣慎一¹, 吉川泰弘¹ (1東大・農・実験動物, 2残農研・毒性)
30. 抗生物質, 非ステロイド系抗炎症薬および生薬による実験的ラット肺発癌の抑制26
 ○白岩和己^{1,2}, 堤 雅弘¹, 崎谷博征¹, 辻内俊文¹, 佐藤則博², 甲斐清徳², 渡邊 厚², 小林洋四郎², 小西陽一¹ (1奈良医大・がんセ・腫瘍病理, 2旭化成・ライフ総研・安全研)
- 座長 三森国敏 (国立衛研・病理) 11:12~11:48
31. チアンフェニコール投与ラットにおける精巣毒性の評価27
 ○桑原真紀¹, 乾 公正¹, 杉本加代子¹, 竹内幸子¹, 畠中規行¹, 原田孝則¹, 小坂忠司¹, 真板敬三¹, 安原加壽雄², 三森国敏² (1残農研・毒性, 2国立衛研・病理)

32. 卵巣摘出ラットを用いた実験的慢性カドミウム中毒症におけるカルシトリオール,
1,25(OH)₂D₃の治療効果27
○勝田 修¹, 倉田祥正¹, 平塚秀明¹, 土谷 稔¹, 梅村孝司²
(¹三菱化学安科研, ²北大・獣医・比較病理)
33. ヘアレス犬の皮膚を用いた染毛剤および脱色剤の皮膚毒性試験28
○木村 透¹, 土井邦雄² (¹農産工・中研, ²東大・農・獣医病理)

示説プログラム

○：発表者

*：発表者が40歳未満

第1日 (2月3日)

示説/P-1~16

座長 奈良間功 (摂南大・薬・薬安研)

北村 均 (横浜市大・医・1病理)

- *P-1. T-2 toxin投与妊娠マウスの胎仔にみられたアポトーシス病変30
○石上紀明, 篠塚淳子, 上塚浩司, 中山裕之, 土井邦雄 (東大・農・獣医病理)
- *P-2. 塞栓性脳梗塞モデルイヌの組織病理学的検討30
○穴山久志¹, 橋本忠俊², 今西三明¹, 永井博文¹, 青木正美¹, 佐々木啓¹
(武田薬品・1薬安研, ²創薬研)
- *P-3. L-システインによるラットの脳病変に関する検討31
○萩原里香, 澤本 修, 森 峰雄, 林 正信, 栗栖和信, 久保秀治 (大塚製薬工場・鳴門研)
- *P-4. F344ラットに自然発生したDandy-Walker症候群様小脳奇形の1例31
○桑村 充, 森川武司, 安井久恵, 山手丈至, 小谷猛夫, 佐久間貞重
(大阪府大・農・獣医病理)
- *P-5. ラットの悪性神経鞘腫由来可移植性腫瘍から樹立した培養細胞株 (GT-SP)の性状32
○渋谷一元, 木崎秀行, 渋谷延子, 布谷鉄夫, 田島正典 (日生研)
- *P-6. 無処置ラットの各種臓器における8-hydroxydeoxyguanine (8-OHG)の経年齢的変動32
○小林洋三, 中江 大, 赤井弘幸, 岸田秀樹, 堀口浩資, 佐藤 洋, 田村一利, 小西陽一
(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
- *P-7. ラットとハムスターの実験腫瘍におけるテロメラーゼ活性の検索33
○佐々木康孝, 辻内俊文, 城戸 顕, 高濱 誠, 崎谷博征, 伊木勝道, 天沼利宏, 白岩和己,
三井雅之, 長谷川清彦, 堤 雅弘, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
- P-8. みその生物効果 -特にがんの化学予防をめざして-33
○伊藤明弘 (広大・原医研・予防腫瘍)
- *P-9. ラットとマウスの加齢による鼻粘膜腺の呼吸上皮化生
-発生率, 好発部位および病理組織学的所見-34
○竹内哲也¹, 野田圭介¹, 櫻 ゆみ¹, 妹尾英樹¹, 相磯成敏¹, 片桐 卓¹,
長野嘉介¹, 松本道男², 奥平雅彦¹ (1日本バイオアッセイ, ²順大・伊豆長岡病院)
- P-10. ラットの鼻腔嗅上皮の組織学的基礎データ:とくに嗅上皮, 支持細胞層および,
嗅細胞層の高さ, ならびに嗅細胞数についての部位別計測値について34
○相磯成敏¹, 竹内哲也¹, 野田啓介¹, 妹尾英樹¹, 櫻 ゆみ¹, 片桐 卓¹,
長野嘉介¹, 松本道男², 奥平雅彦¹ (1日本バイオアッセイ, ²順大・伊豆長岡病院)

P-11.	2,6-Dimethylaniline誘発ラット鼻腔腫瘍における初期病変の病理組織学的解析 ○安原加壽雄, 三森国敏, 小野寺博志, 高木久宜, 高橋道人 (国立衛研・病理)	35
*P-12.	ラットのブレオマイシン経気管投与肺傷害モデルに対するrhG-CSFの影響-I -ブレオマイシン投与直後からのrhG-CSF28日間連続投与- ○鈴木雅実 ¹ , 足立健児 ¹ , 伊藤恒夫 ¹ , 三好昌夫 ¹ , 三沢保幸 ¹ , 加藤淳彦 ¹ , 坂牧義之 ¹ , 杉本哲朗 ¹ , 二木力夫 ² (1中外製薬・安全研, 2SLA研)	35
*P-13.	ラットのブレオマイシン経気管投与肺傷害モデルに対するrhG-CSFの影響-II -ブレオマイシン投与3ならびに14日後からのrhG-CSF 7日間連続投与- ○足立健児 ¹ , 鈴木雅実 ¹ , 伊藤恒夫 ¹ , 三好昌夫 ¹ , 三沢保幸 ¹ , 加藤淳彦 ¹ , 坂牧義之 ¹ , 杉本哲朗 ¹ , 二木力夫 ² (1中外製薬・安全研, 2SLA研)	36
*P-14.	吸入型薬剤の探索的毒性評価法の検討 ○川口雅子, 香川雅孝, 葛西靖広, 船生志乃, 和知正幸 (日研化学・大宮研)	36
*P-15.	ラット肺発癌モデルを用いたlycopeneの抑制効果 ○加藤浩司, 今井田克己, 山口 剛, 二口 充, 広瀬雅雄, 白井智之 (名市大・医・1病理)	37
P-16.	MIB-5免疫染色法による4NQO誘発マウス肺腺癌における増殖期細胞の同定 ○伊藤隆明, 三井秀昭, 蟹沢成好, 北村 均 (横浜市大・医・1病理)	37

示説/P-17~36

座長 原田孝則 (残農研・毒性)

森 秀樹 (岐大・医・1病理)

*P-17.	<i>Helicobacter pylori</i> 感染スナネズミ胃酢酸潰瘍モデルの病理組織学的検討 ○佐藤元信 ¹ , 宮田裕人 ¹ , 八木健一 ¹ , 木島春子 ² , 磯部好彦 ² , 木村正明 ¹ , 樽本保男 ¹ (大正製薬・1安全研, 2薬理研)	38
*P-18.	ウロトロピンの2週間及び13週間経口投与によるラット及びマウスの腺胃の変化 ○野田圭介 ¹ , 竹内哲也 ¹ , 櫻 ゆみ ¹ , 妹尾英樹 ¹ , 片桐 卓 ¹ , 相磯成敏 ¹ , 長野嘉介 ¹ , 松本道男 ² , 奥平雅彦 ¹ (1日本バイオアッセイ, 2順大・伊豆長岡病院)	38
*P-19.	CatecholのMNU誘発マウス腺胃発癌に対する促進作用と増殖性病変のクロナリテイ ○小林 潔 ^{1,2} , 後藤和広 ² , 務台 衛 ² , 塚本徹哉 ¹ , 山本昌美 ¹ , 立松正衛 ¹ (1愛知がんセ・1病理, 2三菱化学・横浜総研・安全研)	39
P-20.	X線照射によるラット胃の腸上皮化生の細胞分化 ○湯浅啓史 ^{1,2} , 稲田健一 ¹ , 塚本徹哉 ¹ , 山本昌美 ¹ , 渡辺敦光 ³ , 立松正衛 ¹ (1愛知がんセ・1病理, 2田辺製薬・安全研, 3広大・原医研・環境変異)	39
*P-21.	p53ノックアウトマウスのMNNG投与による発がん性の検討 ○笠原健一郎 ¹ , 古川文夫 ¹ , 西川秋佳 ¹ , 李 仁善 ² , 高橋道人 ¹ (1国立衛研・病理, 2韓国啓明大・食品加工)	40
*P-22.	乳酸鉄の混餌経口投与によるラットの消化管病変 ○尾崎清和 ¹ , 松浦哲郎 ¹ , 松嶋周一 ² , 丸山博司 ³ , 奈良間功 ¹ (1摂南大・薬・安全研, 2塩野義製薬・新薬研, 3星ヶ丘厚生年金病院)	40
*P-23.	Methotrexate経口反復投与によるイヌの小腸5-hydroxytryptamine (5-HT) 陽性細胞に 対する影響 ○三沢保幸 ¹ , 山本美佐江 ¹ , 岩井 毅 ¹ , 三好昌夫 ¹ , 伊藤恒夫 ¹ , 杉本哲朗 ¹ , 二木力夫 ² , 遠藤 泰 ³ , 平藤雅彦 ³ , 南 勝 ³ (1中外製薬・安全研, 2SLA研, 3北海道医療大・薬・薬理)	41

- *P-24. PhIPによる大腸発癌に対する新規合成抗酸化剤HTHQによる抑制効果41
 ○二口 充¹, 広瀬雅雄¹, 今井田克己¹, 高橋 智¹, 三木徳太郎², 白井智之¹
 (1名市大・医・1病理, 2日本ハイボックス)
- P-25. Con Aパラドックス染色によるラット大腸ACFの粘性性状に関する検討42
 ○内田和美, 角 将一, 尾上正治 (ヤクルト・中研)
- *P-26. Azaserineとトリプシン阻害剤により誘発したラット膵臓増殖性病変の可逆性について42
 ○土屋毅幸, 杉本次郎, 小林 潔, 後藤和広, 佐野文子, 務台 衛
 (三菱化学・横浜総研・安全研)
- *P-27. 各種ヨウ素化合物の毒性標的部位としてのラット唾液腺の変化43
 ○竹川 潔, 三森国敏, 小野寺博志, 高木久宜, 安原加壽雄, 高橋道人 (国立衛研・病理)
- *P-28. 1,4-Dioxane のがん原性試験でみられた spongiosis hepatitis 様変化の超微形態的検討43
 ○妹尾英樹¹, 竹内哲也¹, 野田圭介¹, 櫻 ゆみ¹, 片桐 卓¹, 相磯成敏¹, 長野嘉介¹,
 松本道男², 奥平雅彦¹ (1日本バイオアッセイ, 2順大・伊豆長岡病院)
- *P-29. フェノバルビタール投与により認められたラット肝臓被膜下の肝細胞壊死巣について44
 ○市村英資, 原 和久, 富田典之, 吉兼崇彦, 内田則子, 後藤絵梨, 江原敬子, 林 幹人
 (日本化薬)
- P-30. ブタ血清誘発肝線維症モデルに対する小柴胡湯の影響44
 ○平川公昭¹, 仲辻俊二¹, 井戸側博一¹, 中村正典¹, 畠山真理子¹, 滝岡恵里子¹,
 松田宗人², 森元康夫² (鐘紡・1薬品開発1研, 2漢方研)
- *P-31. DDT投与ラット肝に関する免疫組織学的検索45
 ○高木鉄也¹, 上塚浩司¹, 篠塚淳子¹, 鈴木道雄¹, 武田真記夫², 原田孝則²,
 中山裕之¹, 土井邦雄¹ (1東大・農・獣医病理, 2残農研・毒性)
- *P-32. A study on gap junctional intercellular communication of rat liver epithelial cells
 exposed with airborne complex mixture45
 ○JH Park¹, JM Yang², BC Kang², YS Lee²
 (1Dept. Lab. Anim. Sci., 2Dept. Public Health, Seoul Natl. Univ., Col. Vet.)
- *P-33. 四塩化炭素によるラット急性肝傷害系における8-OHG生成の免疫組織化学的検出46
 ○赤井弘幸, 中江 大, 岸田秀樹, 小林洋三, 堀口浩資, 安藤信明, 白岩和己,
 丸山博司, 斉藤直敏, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
- *P-34. ラット肝小増殖巣におけるGST-P mRNAおよびTGF- α の発現と細胞動態との対比46
 ○今井俊夫^{1,2}, 田代俊文¹, 佐藤国夫¹, 木村正美¹, 福田種男¹, 細川 暁¹,
 山本昌美², 塚本徹哉², 立松正衛² (1エーザイ・安全研, 2愛知がんセ・1病理)
- *P-35. Fischer 344ラットの化学肝発癌protocolによる肝前癌病変及びLECラットの自然発生
 肝前癌病変におけるメタロチオネインの発現47
 ○佐脇正邦^{1,2}, 榎本克彦³, 服部淳夫⁴, 澤田典均¹, 都築直人¹, 森 道夫¹
 (1札幌医大・2病理, 2化検協, 3秋田大・医・病理, 4札幌社保総合病院)
- *P-36. ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食を用いた肝発がんリスク物質の短期検索法
 確立の試み47
 ○岸田秀樹, 中江 大, 小林洋三, 赤井弘幸, 安藤信明, 佐藤 洋, 丸山博司,
 小笠原裕之, 榎並倫宣, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

- *P-37. Diethylnitrosamine (DEN) 誘発キメラマウス肝腫瘍の系統差と性差48
 ○塚本徹哉¹, 深見博子¹, 稲田健一¹, 山本昌美¹, 日下部守昭², 小林 潔¹,
 中西速夫¹, 立松正衛¹ (1愛知がんセ・1病理, 2理研・筑波セ・実験動物)
- *P-38. マウス肝腫瘍における性ホルモンの作用48
 ○中谷玉樹^{1,2}, Roy Goutam¹, 後藤孝彦^{1,2}, 丸山 聡¹, 藤本成明¹, 伊藤明弘¹,
 土肥雪彦² (広大・1原医研・予防腫瘍, 2医・2外)
- P-39. マウス肝2段階発がんモデルを用いたペンタクロロフェノール (PCP) のプロモーション
 作用の検討49
 ○梅村隆志¹, 甲斐幸恵¹, 佐井君江¹, 長谷川隆一¹, 黒川雄二², 井上 達¹
 (国立衛研・1毒性, 2安全セ)
- *P-40. ラット肝中期発癌性試験法を用いた携帯電話用の電磁波の発癌プロモーション作用の検討
49
 ○山口 剛¹, 今井田克己^{1,6}, 伊藤隆康¹, 多氣昌生², 渡辺聡一³, 上村桂嗣⁴, 相本篤子⁵,
 白井智之¹ (1名市大・医・1病理, 2都立大院・電気工, 3通信総研・電磁波技,
 4宇都宮大・情報工, 5東海大・医・医用工, 6名古屋東市民病院)
- *P-41. ラット肝二段階発癌モデルを用いての, 肝腫瘍発生におよぼすフルメキンの影響50
 ○白木克尚^{1,2}, 安藤 進¹, 吉田 緑¹, 高橋正一¹, 前川昭彦¹
 (1佐々木研・病理, 2山之内製薬・創薬安全研)
- *P-42. MeIQx誘発突然変異原性およびラット肝発癌に対する合成抗酸化剤の抑制効果の比較と
 その抑制機構について50
 ○伊藤隆康¹, 広瀬雅雄¹, 高橋 智¹, 新納靖規², 三木徳太郎², 岩田 宏³, 横山博之³,
 白井智之¹ (1名市大・医・1病理, 2日本ハイボックス, 3三菱化学安科研)
- *P-43. 植物由来3化合物によるラット肝発癌抑制作用の検討51
 ○北野光昭^{1,3}, 菊崎泰枝², 堀 高明¹, 日高隆義³, 中谷延二², 福島昭治¹
 (大阪市大・1医・1病理, 2生活科学・食品化学, 3鐘淵化学・高砂研)
- P-44. WKAH. C-Wndラットの肝発がん感受性51
 ○南 孝則¹, 矯 忠先¹, 松本耕三², 泉 啓介¹ (徳島大・医・12病理, 2動実)
- *P-45. 2次性赤血球増多症B6C3F₁マウスの肝細胞癌及び腎臓におけるエリスロポエチンmRNAの検出
52
 ○堀之内彰¹, 宮本 索¹, 関口正博¹, 土井久子¹, 岡崎修三², 安藤孝夫¹
 (1武田薬品・薬安研, 2ボゾリサーチ)
- *P-46. ビーグル犬にみられた硝子滴沈着を伴う腎糸球体脂質症の一例52
 ○日下部愛泉, 杉本次郎, 佐野文子, 務台 衛 (三菱化学・横浜総研・安全研)
- *P-47. SD系ラットの骨髄性白血病発症例に認められた腎尿細管上皮内の好酸性滴状物に関する検討
53
 ○山岸保彦, 土居卓也, 岡崎欣正, 勝田 修, 土谷 稔 (三菱化学安科研)
- *P-48. イヌ腎臓におけるmixed mesenchymal tumorの一例について53
 ○朝比奈政利¹, 大町 康¹, 八十島昭², 岩崎 仁¹, 川合是彰¹
 (1田辺製薬・医薬育成研, 2田辺R&Dサービス)

- *P-49. 老齡F344ラットにみられた自然発生性胃カルチノイド54
 ○福田 良¹, 神鳥仁志², 田中丸善洋², 渡辺武志¹, 関口正博¹, 山崎秀樹¹, 佐々木啓¹
 (武田薬品・1薬安研, 2薬安研光支所)
- *P-50. SD系ラットにおいて精細管内に卵胞様組織を認めた1例54
 ○甲斐清徳, 小川慎一, 白岩和己, 山本康裕, 渡邊 厚, 佐藤則博, 梅田明広, 小林洋四郎
 (旭化成・ライフ総研・安全研)
- *P-51. B6C3F₁マウスの多数部位に観察された軟骨性腫瘍の2例55
 ○細井理代, 宮島留美子, 山本慎二, 三上真一, 山川誠己, 岩田 聖, 廣内康彦,
 榎本 眞 (安評セ)
- *P-52. F344ラットにみられた細胞質内好酸性顆粒を特徴とする腫瘍の1例55
 ○土居卓也, 岡崎欣正, 山岸保彦, 勝田 修, 土谷 稔 (三菱化学安科研)
- *P-53. SD系ラットに認められた肺高血圧症類似病変の1例56
 ○木川英美, 沖本一夫, 梶谷高敏, 豊沢かおる, 入江眞美, 田中浩二 (大日本製薬・開発研)
- P-54. ラットの大脳にみられた横紋筋線維から成る異所性増殖性病変の1例56
 ○高橋政壽¹, 角 将一¹, 内田和美¹, 尾上正治¹, 前川昭彦²
 (1ヤクルト・中研, 2佐々木研・病理)
- *P-55. 若齡SDラットで観察された髄膜腫の1例57
 ○笛木 修, 小林裕幸, 小笠原裕之, 藤井久子, 村田晃子, 高木英利
 (日本レダリー・医薬研)
- *P-56. F344ラットに発生したtwo cell patternを示さない松果体腫瘍の3例57
 ○山本慎二, 細井理代, 宮島留美子, 三上真一, 山川誠己, 岩田 聖, 廣内康彦,
 榎本 眞 (安評セ)

第2日 (2月4日)

示説/P-57~76

座長 今井 清 (食薬セ・病理)

福島昭治 (大阪市大・医・1病理)

- *P-57. 巨核球emperipolesisの発現機構に関する検討 -接着分子の関与について-58
 ○田中雅治, 阿瀬善也, 下内孝司, 西山 寛, 織田信一郎, 清水 聖, 西端恵子,
 東山真澄, 遊津朱里, 藤田常夫 (小野薬品・福井安全研)
- *P-58. イヌ大動脈起始部 (Ostium Aortae) にみられる石灰沈着に関する病理学的検討58
 ○加藤淳彦¹, 三沢保幸¹, 伊藤恒夫¹, 三好昌夫¹, 足立健児¹, 唐澤弥生¹,
 杉本哲朗¹, 二木力夫² (1中外製薬・安全研, 2SLA研)
- P-59. Inhibitory effect of HTHQ(1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone) on cardiac toxicity
 induced by doxorubicin59
 ○Jong-Koo Kang¹, Hye-Yeong Lee¹, Joon-Sup Lee²
 (1Col. Vet. Med., Chungbuk Natl. Univ., 2Seoul Natl. Univ.)
- *P-60. F344系ラットにおける自然発生性悪性下垂体腫瘍の局所浸潤の特徴59
 ○佐藤 洋, 梶村哲世, 野村 護 (第一製薬・安全研)
- *P-61. コウジ酸のラット甲状腺腫瘍誘発メカニズム60
 ○藤本成明, 丸山 聡, 中谷玉樹, 伊藤明弘 (広大・原医研・予防腫瘍)

- P-62. Phosphodiesterase阻害活性を有するTZC-5665によるラット副腎髄質における増殖性病変の発生, および細胞増殖性の検討60
 ○久田 茂¹, 飯塚和弘¹, 吉田信也¹, 増田修治¹, 永嶋雅子¹, 飯田祝子¹, 谷藤久人¹, 田川正志¹, 村越正典¹, 森 正雄¹, 堀内 敏¹, 中山隆治¹, 山本正敏²
 (1帝国臓器・安全研, 2イナリサーチ)
- P-63. ラットにおける血中カルシウム濃度増加による副腎髄質細胞増殖活性の検討61
 ○伊藤恒夫¹, 加藤淳彦¹, 三沢保幸¹, 三好昌夫¹, 足立健児¹, 唐澤弥生¹, 杉本哲朗¹, 二木力夫² (1中外製薬・安全研, 2SLA研)
- *P-64. Manebの連続および単回塗布に対するWBN/kob-Ht ratの皮膚反応61
 ○黒木宏二¹, 上塚浩司¹, 木村 透², 中山裕之¹, 土井邦雄¹
 (1東大・農・獣医病理, 2農産工・中研)
- *P-65. Monosodium glutamateによるラット骨変化の病理学的検討62
 ○寺西宗広¹, 渡辺真弓¹, 牧野俊彦¹, 瀬畑信哉¹, 田中宏治¹, 矢本 敬¹, 高岡雅哉¹, 真鍋 淳¹, 土井邦雄² (1三共・安全研, 2東大・農・獣医病理)
- *P-66. 6-Sulfanilamidoindazole誘発ラット関節炎に対する各種薬剤の効果62
 ○大町 康¹, 北村和之¹, 川合是彰¹, 土井邦雄²
 (1田辺製薬・医薬育成研, 2東大・農・獣医病理)
- P-67. Wistarラットにおける自然発生性滑膜炎63
 ○佐々木啓, 神鳥仁志, 永井博文, 森 郁生 (武田薬品・薬安研)
- *P-68. 電顕による糸球体糸膜陰性荷電検出法の比較検討63
 ○桑山知登世, 下井昭仁, 冨田和夫, 渡辺満利 (持田製薬・安全研)
- P-69. ラット腎部分切除による糸球体硬化性病変発生における α -smooth muscle actinの役割64
 ○下 武男, 大下政文, 片山淳一, 齊藤明美, 青木康治, 桶崎英一, 永田 治
 (北陸製薬・研究開発)
- *P-70. 膀胱, 腎, 肝発癌におけるヒ素化合物 (MMA, DMA, TMAO, AsBe, AsIII) の修飾作用の検討64
 ○鰐淵英機, 市原敏夫, サリム エリサイド, 李 威, 山本晋史, 福島昭治
 (大阪市大・医・1病理)
- *P-71. 有機ヒ素化合物, ジメチルアルシン酸により誘発したラット膀胱癌における遺伝子変異の検索65
 ○山本晋史, 片山博文, 立石善隆, 魏 民, 李 祺家, 陳 天新, 鰐淵英機, 福島昭治
 (大阪市大・医・1病理)
- *P-72. ラット膀胱粘膜上皮細胞における*N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) ないしsodium L-ascorbate (Na-AsA) 投与による細胞動態解析65
 ○高場克己^{1,2}, 佐伯幸司¹, 鈴木一生¹, 竹田 剛¹, 加国雅和¹, 鰐淵英機², 山本晋史², 福島昭治² (1協和発酵・安全研, 2大阪市大・医・1病理)
- P-73. NCI-Black-Reiter (NBR) ラットにおけるアスコルビン酸ソーダの膀胱発癌プロモーション作用66
 ○宇和川賢¹, 須方督夫¹, 尾崎圭介¹, 高場克己², 鰐淵英機², 福島昭治²
 (1住友化学・生科研, 2大阪市大・医・1病理)
- *P-74. 膀胱発癌プロモーターであるアスコルビン酸ナトリウムに対するスナネズミ雄の感受性66
 ○村井 隆^{1,2}, 森 聖¹, 細野素子², 高嶋 彰², 福島昭治¹
 (1大阪市大・医・1病理, 2塩野義製薬・油日ラボ)

- *P-75. BBN誘発マウス膀胱癌におけるp53変異と細胞周期関連因子p21, p27, cyclin D1の検索……67
 ○陳 天新, 山本晋史, 村井 隆, 森 聖, 鰐淵英機, 福島昭治 (大阪市大・医・1病理)
- *P-76. ビフェニルの長期混餌投与によるラットの膀胱腫瘍について ……………67
 ○櫻 ゆみ¹, 竹内哲也¹, 野田圭介¹, 妹尾英樹¹, 片桐 卓¹, 相磯成敏¹,
 長野嘉介¹, 松本道男², 奥平雅彦¹ (1日本バイオアッセイ, 2順大・伊豆長岡病院)

示説/P-77~93

座長 高橋道人 (国立衛研・病理)

花田貴宣 (山之内製薬・創薬安全研)

- *P-77. 2,5-Hexanedione投与によるラットの精巣障害 第2報 Tubulin蛋白の局在性の変化 ……………68
 ○斉藤義明, 白見憲司, 永田伴子, 今井 清 (食薬セ・病理)
- P-78. 2-プロモプロパンのラットにおける精巣毒性の病理組織学的検討 ……………68
 ○田川義章¹, 朝枝伸幸^{1,2}, 市原 学², 市川一仁¹, 熊澤俊彦¹, 岩井久和¹,
 望月健光¹, 竹内康浩² (1三和化学・安全研, 2名大・医・衛生)
- *P-79. カニクイザルの未成熟精細管の形態学的特徴 ……………69
 ○町田一彦, 山口達也, 志賀敦史, 伊藤聖一, 相内聖峰 (実医研・病理)
- *P-80. L-システインによるラットの精子肉芽腫に関する検討
 一週齢による精子肉芽腫発現率の比較 ……………69
 ○澤本 修, 萩原里香, 篠原誠治, 美好雅文, 栗栖和信, 久保秀治 (大塚製薬工場・鳴門研)
- *P-81. 雄ビーグル犬の性成熟およびこれに伴う生殖器に関する調査 ……………70
 ○若林佐知子, 長島吉和, 星谷 達, 溝口靖基, 永谷真理子, 堀口浩資, 佐藤順子,
 田村一利, 岡庭 梓 (ボゾリサーチ)
- *P-82. ラット前立腺に自然発生する限局性増殖病変に関する研究 ……………70
 ○工藤佳代子, 中村 厚, 山口裕子, 池崎信一郎, 楠岡 修, 玉井幸子, 枝元 洋,
 田村一利 (ボゾリサーチ)
- *P-83. Testosterone及びestrogenの投与期間の変化によるDMABラット前立腺癌発生に対する影響
 ……………71
 ○崔 林, 今井田克己, 伊藤隆康, 小川久美子, 杉浦 諭, 白井智之 (名市大・医・1病理)
- *P-84. ラット前立腺癌に対するカロテン類の抑制作用 ……………71
 ○佐野真士^{1,2}, 小久保百合子^{1,2}, 玉野静光¹, 今井田克己², 広瀬雅雄², 白井智之²
 (1大雄会医科研, 2名市大・医・1病理)
- *P-85. ラット乳腺二段階発癌モデルにおける食物繊維成分のプタンタゴオバタ種皮末の発癌修飾作用
 ……………72
 ○高木久宜, 三森国敏, 小野寺博志, 竹川 潔, 安原加壽雄, 高橋道人 (国立衛研・病理)
- P-86. 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) 誘発ラット乳腺発癌に対する
 scordininの修飾効果 ……………72
 ○杉江茂幸¹, 酒々井夏子², 大西将美², K.M. Wahidur Rahman², 田中卓二³, 若林敬二⁴,
 森 秀樹² (岐大・医・1動物実験, 21病理, 3金沢医大・病理, 4国立がんセ・生化)
- *P-87. グルカル酸水素カリウムのラット乳癌発癌への検討 ……………73
 ○松永研吾, 吉見直己, 川端邦裕, 山田泰広, 森 秀樹 (岐大・医・1病理)
- *P-88. CD-1マウスにおけるENNG及び17β-estradiol併用投与による子宮内膜腺癌の高率
 かつ選択的誘発 ……………73
 ○飯塚生一^{1,2}, 高橋正一¹, 安藤 進¹, 吉田 緑¹, 工藤佳代子¹, 白木克尚¹, 前川昭彦¹
 (1佐々木研・病理, 2ツムラ・中研)

- P-89. 子宮原発yolk sac tumorの移植系樹立と腫瘍増殖に及ぼす諸要因の検討74
 ○安藤 進¹, 木谷敏之^{1,2}, 白木克尚^{1,3}, 黒田博之¹, 吉田 緑¹, 高橋正一¹, 前川昭彦¹
 (1佐々木研・病理, 2ツムラ・中研, 3山之内製薬・創薬安全研)
- P-90. カニクイザルを用いた骨粗鬆症モデル-卵巣摘出後の乳腺, 子宮および骨変化-74
 ○川口博明^{1,2}, 二反田隆夫¹, 小玉拓郎¹, 里 健一^{1,2}, 岡崎啓幸^{1,2}, 前田 博²,
 宮寛宏彰², 永田良一², 吉田浩己¹ (1鹿大・医・1病理, 2新日本科学)
- *P-91. ラット膀胱粘膜上皮細胞のフローサイトメトリー測定のための調製方法の検討75
 ○佐伯幸司¹, 高場克己^{1,2}, 竹田 剛¹, 加国雅和¹, 鈴木一生¹, 福島昭治²
 (1協和発酵・安全研, 2大阪市大・医・1病理)
- *P-92. 画像解析装置を用いた脳障害の定量的評価の検討75
 ○竹田 剛, 佐伯幸司, 高場克己, 木本直哉, 加国雅和, 鈴木一生 (協和発酵・安全研)
- P-93. 中期発癌性試験法(伊東テストおよび多臓器試験法)を用いたがん原性の評価76
 ○玉野静光¹, 萩原昭裕¹, 佐野真士^{1,2}, 二口 充², 広瀬雅雄², 白井智之²
 (1大雄会医科研, 2名市大・医・1病理)

示説/P-94~110

座長 津田洋幸 (国立がんセ・化療)

中山裕之 (東大・農・獣医病理)

- *P-94. Diethylstilbestrolの4週間混餌投与毒性試験: ICRマウスとCB6F1マウスによる検討
 -CB6F1-TgHRas2マウス短期がん原性試験の予備試験-76
 ○後藤和広, 小林 潔, 望月 淳, 土屋毅幸, 杉本次郎, 佐野文子, 務台 衛
 (三菱化学・横浜総研・安全研)
- *P-95. ヒト正常型c-Ha-ras 遺伝子導入ラットにおける発がん感受性77
 ○朝元誠人, 鳥山-馬場弘靖, 太田智則, 安東 輝, 鈴木寛規, 竹下文隆, 津田洋幸
 (国立がんセ・化療)
- P-96. *p*-Cresidineとその類似物質のヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子導入トランスジェニックマウス
 における発がん標的性の検討: 1. *p*-cresidineの投与実験77
 ○一鬼 勉¹, 三森国敏¹, 児玉幸夫², 高木久直¹, 安原加壽雄¹, 小野寺博志¹, 高橋道人¹,
 野村達次³, R. R. Maronpot⁴ (国立衛研・1病理, 2毒性, 3実中研, 4NIEHS)
- *P-97. *p*-Cresidineとその類似物質のヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子導入トランスジェニックマウス
 における発がん標的性の検討: 2. *p*-anisidineの投与実験78
 ○梶谷高敏¹, 三森国敏¹, 児玉幸夫², 高木久直¹, 安原加壽雄¹, 小野寺博志¹, 高橋道人¹,
 野村達次³, R. R. Maronpot⁴ (国立衛研・1病理, 2毒性, 3実中研, 4NIEHS)
- *P-98. ヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子導入トランスジェニックマウスにおけるmonocrotalineの影響
78
 ○田村 啓¹, 三森国敏¹, 安原加壽雄¹, 小野寺博志¹, 高橋道人¹, 野村達次², 林 裕造³
 (1国立衛研・病理, 2実中研, 3北里大・薬)
- P-99. 遺伝子改変マウスのurethaneに対する発癌感受性に関する検討79
 ○渡辺知幸¹, 尾崎正和¹, 川崎 一¹, 伊藤聖一² (1住友化学・生科研, 2実医研)
- *P-100. 抗PhIP-DNA adduct抗体を用いたラット主要臓器における標的細胞の免疫組織学的検討.....79
 ○榊原充久¹, 高橋 智¹, 織田信一郎¹, 小川久美子¹, 玉野静光², 多田万里子³, 白井智之¹
 (1名市大・医・1病理, 2大雄会医科研, 3愛知淑徳大)

- P-101. 老齡LECおよびF344ラットの脂質過酸化生成物の免疫組織化学的検討80
 ○古川文夫¹, 西川秋佳¹, 笠原健一郎¹, 北浦敬介², 内田浩二³, 泉啓介², 高橋道人¹
 (1国立衛研・病理, 2徳島大・2病理, 3名大・応用生物)
- *P-102. 塩化カドミウム8カ月間投与ラットにおける体内蓄積と肝・腎毒性発現との関連性について80
 ○渋谷 淳¹, 三森国敏¹, 佐藤伸一², 小野寺博志¹, 高橋道人¹, 林 裕造³, 安藤正典⁴
 (1国立衛研・病理, 2イナリサーチ, 3北里大・薬, 4国立衛研・環境衛生化学)
- *P-103. シリコン樹脂 (KS66) のF344ラットを用いた13週間反復投与毒性試験81
 ○五島英雄^{1,2}, 田中 光¹, 佐野真士^{1,2}, 三浦友子^{1,2}, 萩原昭裕¹, 白井智之²
 (1大雄会医科研, 2名市大・医・1病理)
- *P-104. L-イソロイシンのF344ラットにおける発癌性試験81
 ○三浦友子^{1,2}, 河部真弓¹, 田中 光¹, 萩原昭裕¹, 五島英雄^{1,2}, 白井智之²
 (1大雄会医科研, 2名市大・医・1病理)
- P-105. F344ラットを用いたメタリン酸ナトリウムの癌原性試験82
 ○北堀吉映, 小西 登, 趙 順規, 山本漢九, 乾多久夫, 松井恵美, 日浅義雄
 (奈良医大・2病理)
- *P-106. ラットを用いたモナスカス色素 (紅麴) の癌原性試験82
 ○趙 順規, 小西 登, 北堀吉映, 山本漢九, 乾多久夫, 松井恵美, 日浅義雄
 (奈良医大・2病理)
- *P-107. 去勢ラットを長期飼育した際に見られた非腫瘍性・腫瘍性病変について83
 ○能登貴久, 大石裕司, 義澤克彦, 松本正博, 坪田健次郎, 藤平司郎, 岩波黄葵,
 藤井登志之 (藤沢薬品・安全研)
- *P-108. ラット諸臓器における細胞増殖とアポトーシスに及ぼす加齢の影響83
 ○市川一仁^{1,2}, 田川義章¹, 奥山 学¹, 早坂郁夫¹, 白井智之²
 (1三和化学・安全研, 2名市大・医・1病理)
- *P-109. ピバリン酸飲水投与ラットにおける心臓及び骨格筋の病理形態学的変化84
 ○小笠原裕之, 大丸 香, 村田晃子, 笛木 修, 武田和典, 藤井久子, 小林裕幸,
 高木英利 (日本レダリー・医薬研)
- P-110. WF/Ospラット胃大腸癌誘発ウイルスについて84
 ○赤井啓二¹, 今木正文¹, 宮本 誠¹, 上田重晴²
 (阪大・1医・病院病理, 2微研・神経ウイルス)

特別講演要旨

MECHANISTIC DATA AND RISK ASSESSMENT OF SELECTED
TOXIC END-POINTS OF THE ENDOCRINE SYSTEM

Charles C. Capen, DVM, PhD

The Ohio State University, Columbus, Ohio

MECHANISTIC DATA AND RISK ASSESSMENT OF SELECTED TOXIC END-POINTS OF THE ENDOCRINE SYSTEM

Charles C. Capen, DVM, PhD
The Ohio State University, Columbus, Ohio

Selected examples of commonly encountered toxic end-points involving endocrine organs (e.g. thyroid follicular cells, Leydig cells of testes) in laboratory animals will be discussed in this presentation. Mechanistic data should be included whenever possible to aid in the interpretation of findings in animal toxicology studies and to determine their significance in risk assessment. Endocrine organs of rodents frequently undergo proliferative changes with advancing age and following chronic exposure to large doses of xenobiotic chemicals. In addition, the "sensitivity" of rodent endocrine tissues appears to be increasing over time, particularly if one compares data generated in the 1970's to that gathered in the 1990's.

Understanding the mechanism of action of xenobiotics on an endocrine organ provides a rational basis for extrapolation of findings from long-term rodent studies to the assessment of a particular compound's safety for humans. Numerous studies have reported that xenobiotic chemicals either can directly interfere with thyroid hormone synthesis or secretion by the gland, increase thyroid hormone catabolism and subsequent excretion into the bile, or disrupt the peripheral conversion of thyroxine (T_4) to triiodothyronine (T_3). The ensuing decrease in circulating thyroid hormone levels results in a compensatory increased secretion of thyroid-stimulating hormone (TSH) by the pituitary gland. The receptor-mediated TSH stimulation of the thyroid gland leads to proliferative changes of follicular cells that include hypertrophy, hyperplasia, and ultimately neoplasia in rodents. Thresholds for "no effect" on the thyroid gland can be established by determining the dose of xenobiotic that fails to elicit an elevation in the circulating level of TSH.

Leydig (interstitial) cell tumors are one of the more frequently-occurring endocrine tumors in rodents and chronic toxicity/carcinogenicity studies and a great deal of research has been done investigating their pathogenesis and implications for risk assessment. Although a number of xenobiotic chemicals have been reported to increase the incidence of Leydig cell adenomas in chronic studies of rats, similar compounds such as cimetidine, ketoconazole, and certain calcium channel blocking agents have not resulted in an increased incidence of Leydig cell neoplasia in man. Leydig cell tumors, often associated mechanistically with hormone imbalances in the rat and are not an appropriate model for assessing the potential risk to human males of developing this rare testicular tumor.

REFERENCES

- Capen, CC: Mechanistic Data and Risk Assessment of Selected Toxic End Points of the Thyroid Gland. *Toxicologic Pathology* 25, (1997): 39-48.
- Capen, CC: Toxic Responses of the Endocrine System. In: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 5th Edition (C.D. Klaassen, ed.). McGraw Hill, New York, 1995, pp. 617-640.

ワークショップ要旨

新技術の毒性病理学への応用
(W- 1 ~ 5)

○武田真記夫、吉田敏則、榎本秋子、渡辺茂美子、山口悟、春田純子、藤澤秀樹、
原田孝則、真板敬三（残農研）

非変異原性肝発癌物質の発癌メカニズムを解析するために、ラットを用いた Phenobarbital (PB) および DDT の 4 週間反復投与試験および中期発癌性試験（伊東モデル）を実施し、従来の免疫染色に加え、*in situ hybridization* 法を用いて細胞増殖関連因子の動態について検索した。

4 週間反復投与試験では、投与 3 日後において、肝細胞は増殖傾向を示しており、connexin 32 (Cx32) は post-translational に小葉中心部で減少していた。投与 28 日後では、Cx32 蛋白および mRNA が小葉中心性に減少しているものの、顕著な細胞増殖は認められなかった。また、小葉中心部では Cx32 のみならず albumin mRNA および 18S rRNA も減少しており、小葉周辺部では TGF- β mRNA、蛋白およびそのリセプター蛋白が認められた。一方、中期発癌性試験で認められた肝細胞小増殖巣内では、Cx32 は post-translational に減少しており、小葉周辺性に TGF- β mRNA が認められたが、小増殖巣内では認められなかった。

以上のことから、PB や DDT の連続投与により、小葉中心性に RNA の転写阻害が誘発され、かつ、小葉周辺性には TGF- β が autocrine により発現され、それらにより肝細胞の増殖が抑制される可能性が示唆された。一方、肝細胞増殖巣内では、前述の増殖抑制系が解除されており、Cx32 は post-translational に減少していた。尚、反復投与試験で認められた RNA の転写阻害については未だに不明であるが、TGF- β を含めたこれらの抑制系の解除が発癌メカニズムの一つであると考えられることから、今後さらに詳細な検討が望まれる。

浅野 哲（帝人・医薬開発研）， R. W. Tennant (NIEHS)

In situ PCR 法は、PCR による高感度な特定の遺伝子の検出を組織切片上で行うことにより、細胞あたりのコピー数の少ない標的遺伝子を組織内で同定する方法である。また、*In situ* RT (Reverse Transcriptase)-PCR 法は、組織内での微量の mRNA の発現を同定するために組織切片上で RNA を逆転写酵素により cDNA とし、引き続き PCR 反応で増幅する手法である。本手法により、従来まで *In situ hybridization*(ISH) 法では同定が困難であった細胞内に 1 個あるいはコピー数のきわめて少ない特定の遺伝子配列の検出が可能となり、細胞内に存在する微量ウイルスや遺伝子の発現を細胞レベルで知ることができる。*In situ* RT-PCR 法では、目的とする mRNA や検出組織・細胞ごとに至適条件を設定し、実験行程中における組織損傷と mRNA の保護を両立させる必要があるため、まだ一般的な手法として充分普及していない難しい方法である。ヒトや疾患モデルの病態をより深く理解し、毒性発現のメカニズムを遺伝子レベルで深く研究するための有力な手段として、毒性病理学の分野においても非常に有用であると考えられる。

本学会では、発癌性物質塗布により v-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニック・マウス (Tg.AC) の皮膚に誘発される過形成および腫瘍における transgene の mRNA の発現状況を *in situ* RT-PCR 法を用いて検出した結果を示す。Tg.AC マウスでの皮膚腫瘍発生は、transgene の発現が引き金になると考えられている。ISH を用いた検索では、腫瘍組織の PCNA 陽性細胞に一致して transgene の発現が認められる。この腫瘍組織を用いて *in situ* RT-PCR の条件設定を行った後、発癌物質を同マウス皮膚に塗布して間もない時期で、ISH では transgene の発現が検出不可能な皮膚組織について、*in situ* RT-PCR 法での検索結果を報告する。

降旗 千恵 (東大 医科研 癌生物)

Differential display法の原法は、Liang & Pardeeが1992年にScienceに発表した。彼らの方法は3'-anchored oligo-dT primerと逆転写酵素を用いて、mRNAから片側のcDNA鎖を合成する。このcDNAを鋳型にして、任意の10merを5'-primerに、3'-anchored oligo-dT primerを3'-primerにPCRを行い、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行って増幅した遺伝子を調べるというものであった。しかしながら、原法の追試によれば、偽陽性が多かった。そこで、伊藤隆司(東大医科研)らは改良法を報告した(Fluorescent differential display, FDD, FEBS Lett., 351, 231-236, 1994)。彼らの主な改良点は1)放射性物質を用いずに蛍光プライマーまたは蛍光試薬を用い、2)GT15A, GT15C, GT15Gなどの3'-anchored primerを工夫した。この改良によって、再現性の良い結果が得られている。本学会では、FDDを、MNNGラット胃発癌初期段階の遺伝子発現変化の検索に適用した結果を紹介したい。[実験法] 1)標的臓器からtotal RNAを抽出する。2)2.5 µgのtotal RNAとGT15A, GT15C, GT15Gの3種類の3'-anchored primerとSuper Script II (reverse transcriptase)を用いて、3種類のcDNAを合成する。これで各々50回分のcDNA poolが調製される。この時FITC-labeled primerを用いれば、後で電気泳動を染色無しで観察できる。3)このcDNAを鋳型にして、同じ3'-anchored primerと任意の10mer (Operon Technologies)を5'-primerとしてPCRを行う。1番目に94℃3分、40℃5分、72℃5分で1回、2番目に95℃15秒、40℃2分、72℃1分で25回、3番目に72℃5分で1回、PCRを行う。4)ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、FluorImagerで観察する。FITC-labeled primerを用いていない時はSYBR Green Iで染色する。各試料50-100 bands出現するのが適当である。5)対照群に比べて顕著に増減のあるbandをゲルから切り出し、100 µlの溶液を加えてPCRで増幅する。6)増幅した遺伝子をT-vectorに入れる。Colony PCRで挿入を確認する。7)Colonyを増やし、plasmidを抽出して、DNAのsequenceを分析する。8)Homology searchを行う。9)Sequence結果からspecific primerを合成し、cDNAを増幅し、FDDの結果との一致を確認する。10)Northern法でmRNAの増減を確認する。11)抗体で免疫組織染色を行う。[実験結果] MNNG(100 mg/l)飲料投与(14日)により、標的臓器の胃幽门腺部粘膜間質にMHC class II系で染色される細胞の出現が明らかになった。

W-4

マーカー遺伝子導入による転移機構と抑制の解析

中西速夫 (愛知がんセ・研・1病理)

癌の転移再発は手術時に既に撒布されている遊離癌細胞あるいはすでに成立している微小転移によるものと考えられ、近年これら微小残存病変(Minimal residual disease)に対する診断・治療法の開発が臨床的に大きな課題となっている。個々の転移関連遺伝子に関する分子生物学的な解析は近年急速に進みつつあるが、in vivoにおける微小転移形成過程の実態は依然として不明の点も多く、微小転移の診断・治療法の開発という側面からもこの点の解明は重要である。本ワークショップでは酵素遺伝子や発光遺伝子などのマーカー遺伝子導入細胞を用いた微小転移形成過程の解析と抗癌剤・転移抑制剤等の転移抑制機序に関するin vivo解析の結果について述べる。

1. 大腸菌由来のβ-ガラクトシダーゼ(LacZ)遺伝子を転移性細胞に導入することによりX-gal染色により微小転移を組織学的に単一細胞レベルで識別することが可能となる。LacZ遺伝子を導入したマウスLewis肺癌細胞・ラット舌癌細胞などを用いた血行性転移、リンパ行性転移の微小転移形成過程の解析の結果を示し、両者が異なる増殖動態をとることを示す。

2. Green Fluorescence Protein (GFP)などの発光遺伝子を導入した転移性細胞と蛍光ビデオカメラあるいは共焦点レーザー顕微鏡を組み合わせることにより、転移性細胞の転移先における接着、血管外脱出などの初期過程を生体内で観察できる方法を確認した。本法を用いて接着抑制剤等の転移抑制物質の作用機序について解析した結果についても報告する。

3. ネオマイシンあるいはヒグロマイシンなど薬剤耐性遺伝子を転移性細胞に導入することにより転移の前段階である血流中癌細胞の動態を高感度に解析することが可能となる。高転移性、低転移性細胞の血液中の動態ならびに癌細胞の原発巣からの血液中への移行に及ぼす抗癌剤などの影響についてもあわせて報告する。

牛島俊和 (国立がんセ・研・発がん)

Representational difference analysis (RDA)法は、1993年、Lisitsynらにより開発されたゲノムのサブトラクション法で、従来のサブトラクション法と比べ、再現性・効率よく2つのゲノムの違いを同定することができる。RDA法は、腫瘍での遺伝子変化の同定に応用され、遺伝子のホモ及びヘテロ欠失、遺伝子増幅、外来性ウイルス、遺伝子再構成など、発がん重要な遺伝子変化が同定されてきた。

ゲノムのCpG部位のメチル化の状態は、DNA methyltransferaseによりDNA複製後も保持され、本酵素のホモ欠失は胎生期致死である。また、遺伝子発現調節領域のメチル化は、転写因子のDNAへの結合を阻害することで、その遺伝子の発現を抑制する。これらのことから、ゲノムのメチル化は、組織の分化やその維持に深く関与していると考えられている。しかし、従来、組織分化や病的変化に伴うメチル化の状態の変化を、ゲノム全体について検索する方法がなかった。そこで、我々は、メチル化感受性の制限酵素を用いてゲノムのrepresentationを作成しRDA法を行うことで、2つのゲノム間のメチル化の状態の違いを検出できるmethylation-sensitive-representational difference analysis (MS-RDA)法を開発した。MS-RDA法を、CDF₁マウスに2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ)の経口投与により誘発したマウスの肝臓癌に応用し、肝臓癌に伴いメチル化が低下するDNA断片を9個と、メチル化が上昇するDNA断片を4個を同定した。メチル化が低下するDNA断片には、LINE1繰り返し配列が含まれ、100%の肝臓癌でメチル化の低下が認められた。一方、メチル化が上昇するゲノム領域には、肝細胞の分化状態の維持に必要な遺伝子が存在する可能性を考え、現在、その領域の遺伝子のクローニングを進めている。

RDA法、MS-RDA法により、ゲノム全体について変化を検索することで、様々な病態に関して、その原因遺伝子や病像に関与する遺伝子を同定することが可能と考えられる。

シンポジウム要旨

雌性生殖器毒性

(S-1～4)

若林克己 (群馬大学・生体調節研究所)

生体における生殖機能は、いわゆる視床下部—下垂体—性腺系によって制御されており、視床下部におけるペプチドホルモン、下垂体のゴナドトロピン、プロラクチン、性腺のステロイドホルモン、インヒビン等数多くのホルモンが関与している。雄性においては、かなりの恒常性が維持されているが、雌性では周期的排卵に伴う性周期があり、比較的短期間に制御系にかかわる様々なホルモンの放出は一定の周期的変動を示す。この意味において雌性における制御系は雄性の場合よりもはるかに複雑な様相を示し、更に制御系には妊娠に伴って胎盤系のホルモン、それに続く出産、哺乳に関連したホルモンも参入してくるため、多数のホルモンの相互作用、フィードバック系を考慮しなければならない。このシンポジウムでは、時間的制約もありこれらの制御系を概観し、以後の演題の理解に資することが出来れば幸と考えている。

代田 真理子 (食薬センター秦野研 生殖生物学研究室)

今井 清 (同 病理部)

卵巣は、配偶子となる卵母細胞を受精の場へと放出する外分泌器官であると同時に、性ステロイドホルモンなどを分泌して、受精から泌乳までの生殖活動における形態学および生化学的变化を、子宮、膣、乳腺などの標的組織にもたらす内分泌器官でもある。卵巣の外および内分泌機能は、下垂体前葉の分泌する性腺刺激ホルモン (GTH) により維持されている。GTH 分泌は、視床下部から下垂体門脈に分泌される GTH 放出ホルモンによって調節されているが、卵巣も卵巣ホルモンによって GTH 分泌を調節している。従来、フィードバックといわれたこの機構は、インヒビンなどペプチド性卵巣ホルモンに関する研究の結果、卵巣が卵巣ホルモンを媒体として自らの機能変化を視床下部—下垂体系へと伝達して GTH 分泌量を調節し、これにより自身の外・内分泌活動を調節しようとする機構であると理解されるようになった。GTH や各種卵巣ホルモンの血中濃度の変化は、卵巣を構成する卵胞および黄体の消長あるいは分化の程度をよく反映するものであるが、ラットなどでは 4～5 日の周期で大型卵胞の発育・排卵および黄体形成が繰り返されているので、卵巣の形態および卵巣ホルモン分泌量は、生理的条件下でも著しく変動している。従って、卵巣毒性を評価するためには、健常卵胞および退行卵胞の口径と数の計測、ホルモンレベルの経時的測定、排卵数の計測や発情周期の観察といった動的な解析が必要とされる。本シンポジウムでは、ラットにおける卵巣の形態と機能の生理的変動とともに、発現機序の異なることが知られているいくつかの卵巣毒性物質について、その生殖毒性を紹介する。

永岡 隆晴（吉富製薬株式会社・安全性研究所）

生殖器は種々の内分泌の影響下にある臓器であり、発生する腫瘍は各個体のホルモン環境や年齢などの影響をうけることが知られている。また、その腫瘍の組織型や発生頻度、その好発部位は動物種、系統により異なる。一般的に、生殖器腫瘍の発生頻度は乳腺腫瘍や内分泌腫瘍に比べて低く、動物モデル確立のために、種々の試みがなされてきた。

- 1) 卵巣腫瘍：卵巣腫瘍は大きく、胚上皮、生殖索-間葉および胚細胞由来に区別される。一般にラット、マウスの卵巣腫瘍では生殖索-間葉系の腫瘍が多いが、ヒトのそれは大部分が胚上皮由来である。ラット、マウスでは卵巣の脾臓被膜下への移植で、マウスでは放射線照射により顆粒膜細胞腫が発生し、その発生には下垂体からの持続的な FSH 分泌が関与している。ラットでは DMBA や MNU の卵巣への直接投与により、腺腫/腺癌が誘発される。近年、ENU, PNU の腹腔内または経口投与でセルトリ細胞腫が、BOP の経胎盤投与で間質混合腫瘍や顆粒膜細胞腫/黄体腫がラットで高率に誘発されている。また、ラットでは β -stimulant により卵巣間膜に平滑筋腫が誘発される。
- 2) 子宮腫瘍：子宮腫瘍は上皮性と非上皮性に分類される。特に系統間で腫瘍の発生率が異なるのが特徴である。芳香族炭化水素、芳香族アミン、N-ニトロソ化合物を子宮腔内に投与し、子宮内膜癌の誘発が試みられてきたが、その発生率は必ずしも高くない。近年、ENNG の経腔的子宮腔内の投与により、Donryu ラットに内膜癌が高率に誘発され、内分泌異常(相対的エストロゲンの高値)がその発生を促進している。ホルモン剤も子宮腫瘍の誘発に使用され、エストロゲン投与により、マウスでは内膜癌が誘発される。最近、ニトロソ化合物とエストロゲンの投与でマウスにおいて内膜癌が高率に誘発されている。その他、DMH の皮下投与で子宮肉腫が、ウレタンの経胎盤投与により血管腫が、アザチオプリンの経口投与により血管内皮腫がそれぞれマウスで誘発される。

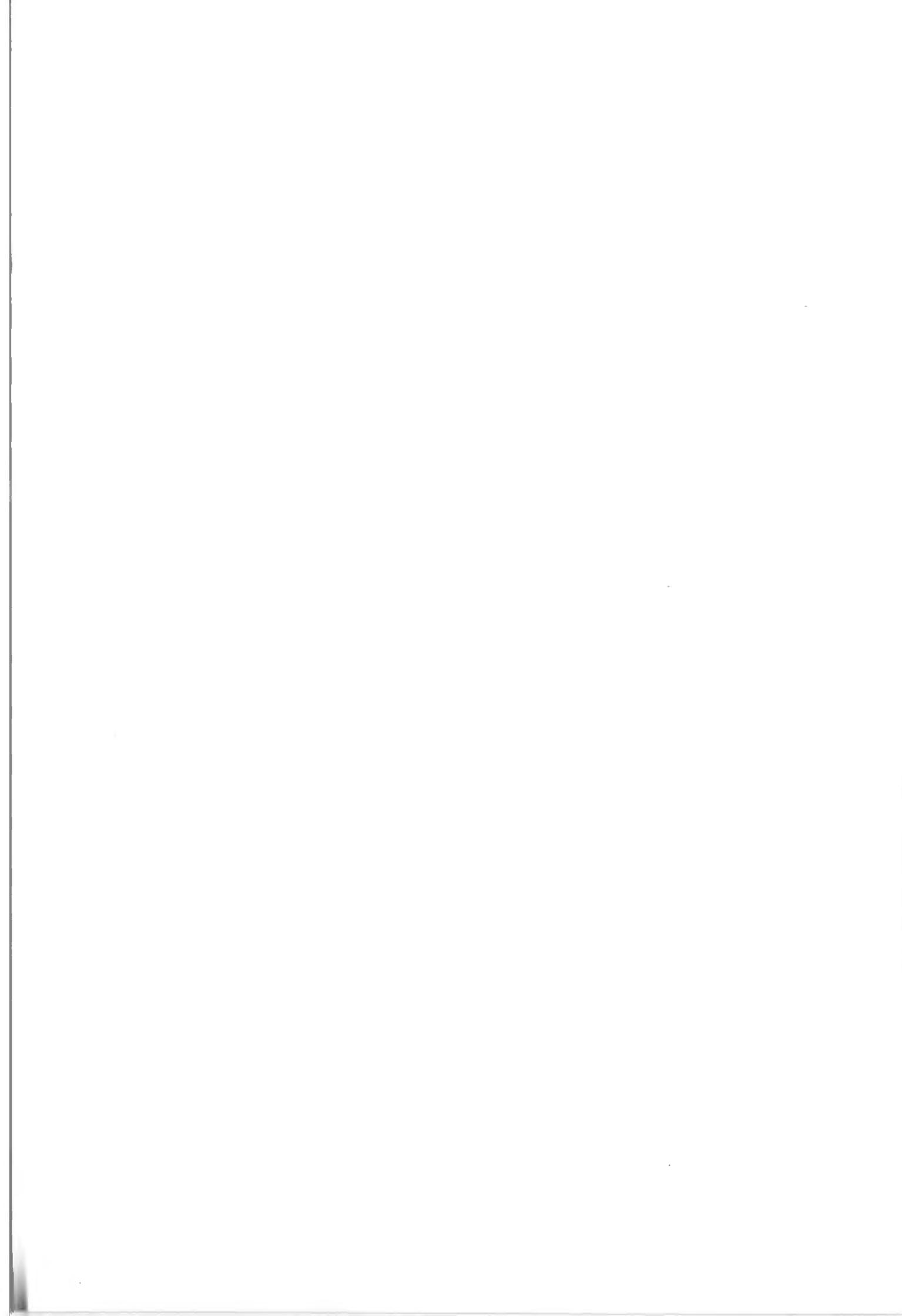
S-4 内分泌障害性化学物質(endocrine disruptors)の検出の為の新しい試み

井上 達、菅野 純（国立衛生研・毒性部）

内分泌障害性化学物質(いわゆる endocrine disrupting chemical、以下 EDCs と略称)と呼ばれる、生体内の内分泌機能に影響を及ぼすような環境化学物質が、野生生物をはじめヒトや家畜に至るまで様々な生物に、障害性の影響を与えているとの指摘がある。これはエンドクリン問題と呼ばれ、その実態、背景、そして起こりうる得るその障害発生機構の研究など、必要な対応施策を求めて、いまや社会問題にもなろうとしている。

定義は“生体の恒常性、生殖、発生、あるいは行動に関与する種々の生体内ホルモンの、合成、貯蔵、分泌、体内輸送、受容体結合、そしてそのホルモン作用そのもの、あるいはそのクリアランス”などの諸過程を阻害する性質を持つ外来性の物質、としている。EDCs の作用機構は、異常なホルモン様物質の異常なホルモン制御が、①ホルモンの合成異常、②その貯蔵もしくは放出の異常、③その輸送あるいはクリアランスの異常、④受容体の識別あるいは結合の異常、⑤受容体結合後のシグナル伝達過程の異常などさまざまな形をとって障害を起こしてくるということであり、OECD にはこれら各々の作用点に注目した様々の試験系の提案が寄せられている。

内分泌系は種々の中枢神経系-下垂体-標的臓器を相互にフィードバックする経路をもっており、これによって生体の恒常性を維持している。従って、その障害の結果としては同一の EDCs が同時に幾つかの標的臓器を傷害するという事も想起しなければならない。従って in vivo 試験を無視できないが、にもかかわらず同時に試験管内試験系が求められるのはそれらの簡便さと鋭敏さにある。問題点としては、化学物質の代謝産物の EDCs 様の作用の検出の困難などとともに、① 閾値の存否、② 用量反応曲線の直線性の如何、および、③ 相加性・相乗性の如何などである。以上のような現状を概説する。



口 演 要 旨

(1~33)

○田中 光¹、濱田孝治²、後藤和則³、佐野真士¹、萩原昭裕¹、玉野静光¹

(¹大雄会医科学研究所、²日本テレマティーク・大阪開発センター、³日本曹達・小田原研究所)

安全性試験は、各種 GLP により厳しく管理されており、多くの施設ではコンピュータシステムを導入して実施されている。現在、市場に出回っているシステムの多くはパッケージ化されているため、使い勝手が非常に悪い。しかし、システム開発者のいない施設では GLP を保証するため、やむなく導入している場合もある。そこで我々は、システム開発者がいなくても GLP を保証し、かつヒトの運用にシステムの仕様を合わせるハーフメイド型のシステムを開発した。以下に本システムの特徴を示す。

- 1) 各施設毎にワークフロー分析をしてコンサルティングを行い、ヒトの運用を補う形でシステム化できる。そのため、不要な入力項目や過剰なデータロックを削減してフレキシビリティを高めることにより、作業効率が良くなり、様々なタイプの非 GLP 試験にも対応することができ、試験工数の削減も可能となる。
- 2) SOP と実際の運用を一体化して、しかも GLP に適合したシステムを設計するため、例えば運用上の理由（動物入荷が遅れた・入力ミス等）によるデータ修正の手順が大幅に簡素化できる。
- 3) パソコン・ワープロ・表計算・統計処理など、汎用の機器やソフトの組入れを前提としているため、既存の資産が無駄にならない。そのため、操作方法等、追加で覚える内容が少ない。
- 4) クライアント・サーバーモデルでかつ、全てのデータを一元管理するよう設計されているため、得られたデータは全てデータベース化が可能。そのため、他の試験の横断的検索が可能。
- 5) 査察に必要なドキュメント提供をするため、生データが電子媒体と定義されても対応可能。

我々の開発コンセプトは『試験従事者の作業を少しでも手助けするシステム』である。従って、手作業の方が効率良い作業はシステム化するべきではない。今回はこのような発想に基づいて開発した「病理検査サブシステム」を主体に発表する。

鳥山一馬場弘靖¹、朝元誠人¹、太田智則¹、落谷孝広²、
津田洋幸¹（国立がんセ・研・¹化療、²分子腫瘍）

【目的】 c-Ha-ras はヒトの乳がん、子宮がん、膀胱がん等多くのがん組織において頻繁に活性型が検出されるがん遺伝子の一つである。正常型のヒト c-Ha-ras 遺伝子導入マウスは既に勝木らによって作成され、発がんと導入遺伝子の活性化との関係が検索され、さらに発がん物質のスクリーニング動物として中期発がん試験への応用が検討されている。しかし、このマウスが高発がん性を示す臓器は、肺、皮膚、前胃などに限られていることが報告されている。一方ラットにおいては、多くの臓器で発がんモデルが確立されており、前がん病変ならびに腫瘍性病変の特性や発がん修飾要因等マウスより多くの情報が得られている。これらのラットにおいて蓄積されている発がんに関する多くの情報を利用したラット中期発がん試験に利用可能なモデル動物を作ることを目的として、ヒト正常型 c-Ha-ras 遺伝子導入ラットの作成を行った。

【方法】 プロモーター・/エンハンサー領域を含むヒト正常型 c-Ha-ras 遺伝子を、強制排卵によって得られた SD ラット前核期受精卵にインジェクションシトランスジェニックラットの作成を行った。

【結果】 2 細胞に分化した受精卵を移植された仮親から得られた 260 匹の中から 2 系統の遺伝子導入ラットを確立した。第一の系統は導入した c-Ha-ras 遺伝子が 1 コピー発現しているのが確認され、JCL/SD-TgN(HrasGen)102Ncc と命名した。第二の系統は導入した c-Ha-ras 遺伝子が 3 コピー発現しており、このラットは JCL/SD-TgN(HrasGen)128Ncc と命名した。Northern blot analysis によって両系統のラットで導入遺伝子はほぼ全臓器で発現していること、さらにこの 2 系統のトランスジェニックラットにおいて、導入された遺伝子は安定して次世代に受け継がれていることを確認した。これらのラットは MNU による乳腺発がん高感受性であることが判明したが肝においては感受性は亢進されなかった。現在、他の臓器についても検索を進めており、膀胱、食道における結果をまとめる。

○福田 智一^{1, 2}、小林 敏之¹、小西 陽一²、樋野 興夫¹

(¹ 癌研・実験病理、² 奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

〔目的〕 Eker ratは遺伝性腎癌のモデル動物である。本ラットは生後約1年をへて自然発生に腎癌を発症する。我々は本腎癌の原因遺伝子がヒト結節性硬化症原因遺伝子 (TSC2) のラット相同遺伝子であることを証明した。またEker ratでは遺伝性に片側アリルがレトロトランスポゾンの挿入により不活化されており (germline mutation)、変異尿管より2 hit (somatic mutation) が生じていることを明らかにした。我々は本遺伝子がラットにおいて腫瘍抑制遺伝子でありanti-proliferativeな効果を持つことを明らかにしてきたがこの蛋白自体の機能については未だ不明な点が多い。そこで今回我々はTsc2蛋白の機能解析の一環として免疫組織学的手法により正常ラットの全身にわたる分布について検索したので報告する。

〔方法〕 動物にはF344ラット雌雄5および12週齢を用いた。組織の固定法は10%中性緩衝ホルマリンを用い、抗体には独自に作成したTsc2蛋白のexon 26に対応するペプチド抗体(rat Tsc2 pep1)およびC末を認識するサンタクルズ社の市販抗体を用いた。なお染色の特異性を確認するために免疫に用いたペプチドの添加により吸収実験を同時に行った。

〔結果〕 検出されたシグナルはすべて免疫ペプチドの添加により吸収された。最も強いTsc2蛋白の発現を認めた臓器は乳腺であった。また顎下腺では腺管上皮が強染された。過去のNorthern blottingに比例して心臓および精巣、脳、腎臓での発現が確認された。脳では大脳皮質においては錐体神経細胞に小脳ではプルキンエ細胞および顆粒細胞に発現が認められた。また肺の血管壁および膵臓のランゲルハンス島に陽性であり現在陽性細胞のcell typeについて同定中である。

○ 森 文秋、高屋豪瑩 (弘前大・脳研・神経病理)

〔はじめに〕水俣病(有機水銀中毒症)の発生初期に、多数のヒト並びにネコに”痙攣”がみられたとの報告がなされている。しかし、その病理発生については明らかにされていない。小脳虫部変性からみた場合、有機水銀とチオフェンによる傷害部位が近似する。チオフェン中毒モデルラットでも痙攣はみられるが、その発生頻度はあまり高くなかった(約50%)。今回は、チオフェンの1回目の投与終了30日後に再度チオフェンを投与することにより、痙攣の発生出現が高率になる(約70%)ことを指摘し、その痙攣と関わりのある大脳を中心に病理像を報告する。

〔材料と方法〕当施設で継代維持してきた5世代14腹のWKYラット雄28頭(100日齢、体重;247.9-348.3g)、雌51頭(150日齢、体重;180.2-257.5g)を用いた。1回目投与:雄にはチオフェン0.3mlを、雌にはチオフェン0.2mlを、1日1回3~6回投与した。2回目投与:1回目投与の終了30日後(これまでの成績から石灰化病変を組織レベルで確認できる)から、1回目投与で間代ないし強直性痙攣を示さなかったラットに対して、再度、雄にはチオフェン0.3mlを、雌にはチオフェン0.2mlを、1日1回3~6回投与した。痙攣の発症確認から、経時的に4%PFAで灌流固定後、病理学的検索を行った。同世代のWKYラット雄9頭(体重;244.8-327.6g)、雌9頭(体重;195.6-258.8g)を非投与対照例として用いた。

〔結果〕1回目投与において、雄では28頭中9頭(32.1%)、雌では51頭中27頭(52.9%)が痙攣を起こした。2回目投与においては、雄では18頭中14頭(77.8%)、雌では13頭中8頭(61.5%)が痙攣を起こした。1回投与並びに2回投与いずれでも、これらの痙攣を起こしたラットでは、小脳変性(吻側小葉で優位な顆粒細胞変性並びに石灰化)、大脳皮質(側頭皮質でより優位)、線条体、下丘、下オリーブ核の神経細胞壊死、Fos蛋白発現、これらに対するグリア反応などがみられた。2回投与の方が1回投与よりも重度になる傾向があった。これらの病変は、痙攣などの症状の継続時間に応じてより重度になっていた。

〔結語〕今回の結果は、チオフェン中毒ラットが小脳病変を随伴する痙攣モデルとして有用である可能性を示した。

5-azacytidineにより誘発されるラットの発生期 神経細胞アポトーシス

○呂東平^{1,2}、中山裕之¹、篠塚淳子¹、上塚浩司¹、瀧隆一²、土井邦雄¹
(¹東大獣医病理、²三菱化学ビーシーエル)

5-azacytidine (5AzC) はマウスの発生中期の胎仔神経組織、初代培養神経細胞およびラット株化神経様細胞 (PC12細胞) など発生増殖期の神経系細胞にアポトーシスを誘発する。今回はラットの胎仔神経組織における5AzC誘発アポトーシスについて検索した。

【材料と方法】妊娠11日目のWistar系ラットに生理食塩水に溶解した5AzC(10mg/kg)または対照として生理食塩水を単回腹腔内投与した。投与後1、3、6、12、24時間、2日、3日、4日、7日に胎仔を採取、ホルマリン固定し、常法に従いパラフィン包埋、HE染色して病理組織学的に観察した。アポトーシスの検出にはTUNEL法(ApopTag、Oncor社)を用いた。また電顕観察も行った。

【結果】神経組織アポトーシスは5AzC投与後3時間で5%、6時間では32%、12時間および24時間では100%の胎仔に認められ、12時間以降では広範な病変部が形成された。投与後12時間までは胎仔はすべて生存していたが、投与後24時間には8%が、2日には68%が、3日、4日、7日には全部が死亡した。アポトーシス病変はおもに脳と脊髄に認められ、細胞核の濃縮と断片化、さらにアポトーシス小体様変化、近接細胞による死細胞の貪食像が観察された。濃縮または断片化細胞核はTUNEL法で陽性を示した。電顕観察では特徴的なクロマチンの濃縮と核辺縁への凝集および核の断片化が認められた。

【考察】以上の結果より、ラットでもマウスと同様に5AzC投与によって発生増殖期神経細胞にアポトーシスが誘発されることが示され、発生期神経細胞が5AzCの標的細胞であることが確認された。今後はアポトーシス病変形成の経時変化をラットとマウスで比較検討する予定である。

Thiram の長期反復投与ラットに発現した神経毒性変化の超微形態学的解析

○今沢孝喜¹、三森国敏¹、小野寺博志¹、竹川 潔¹、西川秋佳¹、池田尚子^{1,2}、
高橋道人¹ (¹国立衛研・病理、²昭和女子大)

【目的】tetramethylthiuram disulfide (thiram) は古くからゴムの加硫促進剤として使われているが、殺菌作用があることから、我国では、農薬の殺菌剤として種子の塗抹消毒等に用いられている。thiramを長期間ラットに投与すると後肢マヒや坐骨神経の神経線維変性が誘発されることが報告されていることから、その発現メカニズムを明らかにするため、ラットを用いて以下の実験を行った。【方法】動物は6週齢のSD系雌ラットを用い、thiramを0.1%の割合で餌に混じて実験開始から12週間、その後0.15%のThiramを8週間、さらに実験終了時まで0.2%のthiramを投与した。対照群には基礎食のみを与えた。実験開始から41週および67週後に、投与群は各3匹、対照群は各2匹につき全身灌流固定し、虫様筋、坐骨神経および脊髄を摘出後、常法に従い超薄切片を作製し、電顕的に観察した。

【結果】thiram投与ラットは、投与65週目頃から歩行異常が認められた。超微形態学的変化の経時的観察では、投与後41週目の坐骨神経に障害を示唆する所見が認められたが、運動終板には明らかな変化はみられなかった。投与後67週のラットでは、運動終板の減少や虫様筋の萎縮が認められた。坐骨神経では念珠状の配列を示す神経線維の崩壊やBüngner bandの形成などが認められた。脊髄背側および腹索に神経線維の変性が散在性にみられたが、腹角には変化は認められなかった。【まとめ】67週間の投与では坐骨神経より遠位部の末梢神経で障害が明らかであり、虫様筋の萎縮もみられたことから、本障害はdistal axonopathyに包括されるものと推察された。さらに、脊髄の白質にも病変がみられたことから、thiramは末梢神経のみならず中枢神経線維路も障害することが明らかとなった。

○丸山敏之, 渡辺 弘, 松井信志, 星元満里子, 三好貴子, 西部泰弘, 大野浩司
(塩野義製薬 新薬研)

[緒言] 薬物経口投与時の消化管初回通過代謝が注目され, 消化管における薬物代謝酵素の誘導や阻害を介した薬物相互作用が検討されている。ヒトにリファンピシン (Rif) を経口投与すると小腸上皮に P450 酵素 (CYP3A サブファミリー) が誘導されることは既に報告されているが, イヌを用いた検討の報告はない。今回, ビーグル犬に Rif を投与し, 肝及び消化管を顕微鏡及び電顕的に観察した。さらにイヌの CYP3A に特異的なウサギ抗血清を用いた免疫組織学的及び免疫電顕的検討を行った。[方法] 無処置および Rif (10 mg/kg) を 7 日間連続経口投与したビーグル犬について肝臓及び消化管 (十二指腸, 空腸, 回腸及び結腸) を中性緩衝ホルマリンで固定, 顕微鏡標本を作製し観察を行った。一部は, 抗イヌ CYP3A ウサギ抗血清 (7500 倍希釈) を 1 次抗体とした ABC 法 (ペクタステイン ABC キット®; Vector Lab) による免疫組織化学, また一部は電顕用標本を作製し電顕観察及び上記の一次抗体とコロイド金標識した二次抗体 (抗ウサギ Ig) による免疫電顕を行った。[結果] 顕微鏡的に Rif 投与例の肝細胞に好酸性変化及び肥大が認められた。消化管には著変は認められなかったが, 免疫組織化学の結果 Rif 投与例では肝細胞のみならず小腸粘膜上皮細胞に明らかな CYP3A 陽性所見の増強が認められた。消化管での染色性の程度は空腸 > 十二指腸 > 回腸であり結腸には陽性所見はほとんど認められなかった。電顕観察により肝臓では肝細胞の小胞体 (ER) の明らかな増生が認められたが, 消化管上皮細胞にも僅かながら ER 増生が観察された。免疫電顕の結果, 陽性所見は粘膜上皮細胞の apical 側の細胞質に局在していた。小腸ミクロソーム分画の総 P450 量は無処置例 Rif 投与例共に空腸が最も多く Rif 投与により約 2 倍の増加を示したが, 絶対量は肝臓の 1/10 であった。肝臓及び小腸での CYP3A の増加はウエスタンブロッティング及び ELISA 法によっても確認された。以上の結果よりイヌではヒトと同様, Rif 投与により肝臓のみならず小腸粘膜上皮細胞にも CYP3A が誘導される事が明らかとなった。

○猪又 晃¹, 堀井 郁夫¹, 鈴木 勝士²

(¹ 日本ロシユ研究所, ² 日獣大・獣医生理)

[目的] マウスの腸管上皮細胞において, 多くの化学物質や放射線照射により, Apoptotic Index (AI) の増加および Mitotic Index (MI) の減少が引き起こされ, また, それらの経時的変化が, 腸管の部位により異なることが報告されてきた。今回我々は 5-fluorouracil (5FU) および 2 種類の 5FU derivative を用い, 腸管を 5 つのコンパートメントに分け, 上記 2 つのパラメータについて検索したので報告する。

[材料および方法] 実験には 9 週令の BDF1 雄マウスを用いた。実験群は, 5FU, 5FU derivatives (Ro 21-9738, Ro 09-1978) および Vehicle 群の 4 群とした。投与は単回経口投与により行い, 用量は等モル (2 mmol/kg) にて実施した。投与 30 分, 1, 3, 6, 12, 24, 36 および 48 時間後に各群 3 例ずつ屠殺し, 各腸管をサンプリングし, ホルマリン固定後, 常法に従い HE 染色標本を作製した。各腸管上皮について 100 クリプト中の apoptotic cell および mitotic cell をカウントし, 1 クリプト当たりの apoptotic cell 数および mitotic cell 数を各々 AI, MI とした。

[結果および考察] AI は, 5FU 投与群の小腸において投与 3-6 時間後より上昇し始め, 24 時間後まで高値を示したのに対し, 大腸では投与 12 時間後まで大きな変化は認められず, 24 時間後に明瞭なピークが認められた。一方, MI は小腸, 大腸共に投与 3-6 時間後に急速に減少し, 48 時間後まで低値を示した。また, Ro 21-9738 および Ro 09-1978 投与群における AI, MI の経時的変化は, 5FU 投与群に比べて極めて少なく, 正常値への回復も早かった。今回の結果より, 経口投与による 5FU の腸管上皮細胞に対する作用は, 主に血液を介して出現すること, その出現には細胞周期およびサーカディアンリズムが関与していること, 5FU は作用出現まで上皮細胞内に retention する可能性があることが示唆された。また, 2 種類の 5FU derivative 投与群で腸管上皮細胞への影響が軽減していたのは, 5FU に変換されるまでの代謝が必要であるためであると考えられた。

○関根一則¹、上原宣昭¹、金 大中¹、朴 哲範¹、出川雅邦²、津田洋幸¹
 (¹国立がんセ・研・化療、²東北大・薬・衛生化学)

【目的】カフェインは日常的に摂取される食品成分であり、肝のCYP1A2誘導活性を有することが知られてきた。PhIPは食品の加熱により蛋白中に生成され、CYP1A2酵素によって代謝される大腸発がん物質であり環境発がん物質として重要視されている。本研究では、両者を同時に短期間摂取した場合のCYP1A2の変動を検討し、大腸発がんへの影響を考察した。

【方法】6週齢雄F344ラットを使用した。実験1では第1群はPhIP+カフェイン、第2群はPhIPのみ、第3群はカフェインのみ、第4群は無処置とし2週間投与し屠殺した。肝のCYP1A2酵素の蛋白量と活性をウエスタン法およびGlu-P-1とTrp-P-2を基質としたエイムスアッセイで測定した。実験2では同じ投与群を構成し、各々10週間自由摂取させ大腸のDNA付加体量と前がん病変(ACF)をポストラベル法およびメチレンブルー染色後顕鏡下で測定した。

【結果】実験1で、カフェイン投与群は無処置群に比べCYP1A2を蛋白量で4.4倍、活性で7.8倍にも誘導した。PhIPもCYP1A2を誘導するがカフェインと同時に与えても、カフェインによる誘導以上にはならなかった。実験2で、カフェインとPhIPの同時投与によりPhIP単独群に比べて大腸のDNA付加体の量は2.0倍に増加し、ACF数が1.5倍となり有意($P < 0.01$)に増加した。PhIP非投与群(第3 & 4群)ではDNA付加体およびACFは検出されなかった。

【結論】カフェインなどの食品に含まれるCYP誘導物質がヘテロサイクリックアミンの発がん性をどのように修飾するかは環境発がんリスク評価の上で重要な問題である。カフェインとPhIPの同時摂取によりCYP1A2活性が上昇しPhIPの活性化を促進し、大腸癌リスクが増大する可能性が示唆された。(科学技術省特別研究助成金、厚生省がん研究助成金による)

10

N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)誘発胃癌に
 認められた生物学的不稔化

○渡辺敦光、黒住正雄、正岡良之、城戸聡一郎、荘司俊益、加藤 修 (広大原医研 環境変異)

ある発癌物質を与える事により、ある量までは癌の発生率は増加するが、それ以上の量では逆に癌の発生率が低下する現象を生物学的不稔化(biological sterilization)と言い、特に放射線生物学の領域でよく知られている現象である。今回は MNNG 投与でこの生物学的不稔化が認められたのでその結果を報告する。

【材料と方法】動物は6週齢雄のCD(SD):Crjラットを用い、発癌物質は100ppmのMNNGを16週間投与した。その投与期間にMFに乾燥赤味噌を20%、10%並びに5%添加した味噌飼群、味噌と同じ塩分量となる様に純食塩を夫々4.4%、2.2%並びに1.1%に添加し食塩飼群、並びにMF飼を与えた対照群とした。MNNG終了後はすべての実験群でMF飼に替えて飼育した。MNNG投与開始後1年後に屠殺し、病理学的検索を行った。

【結果】MNNG摂水量は味噌並びに食塩飼が高濃度になるにつれて濃度依存性に増加した。20%、10%並びに5%の味噌飼群で全腫瘍発生率は夫々74、85、53%で、そのうち胃腫瘍の発生率は夫々47%、45%、37%であった。4.4%、2.2%並びに1.1%の食塩飼群で全腫瘍の発生は夫々65、90、75%であり、胃腫瘍の発生は夫々40、68、60%であった。MF飼群では全腫瘍の発生は53%で、胃腫瘍発生は32%であった。高濃度を除くと味噌飼群での胃腫瘍の発生は $y=0.9x^2+2.9x+31$ ($r^2=1$)で、食塩飼群では $y=17.4\ln(x)+5.2$ ($r^2=0.99$)であった。

【結論】本実験では味噌飼群が胃腫瘍の発生を食塩飼群に比べて減少させた。又、高濃度の味噌並びに食塩飼投与ではMNNGの腫瘍発生において生物学的不稔化が認められた。

○山本昌美¹、塚本徹哉¹、清水伸幸¹、深見博子¹、今井俊夫¹、湯浅啓史¹、中西速夫¹、
杉山 敦²、立松正衛¹ (¹愛知がんセ・研・1病理, ²信州大・医・一外)

スナネズミはヒトの*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)の小動物感染モデルとして注目されている実験動物である。*H. pylori*の経口投与で持続感染が成立し、胃炎を発症することが報告されている。そこで、我々は*H. pylori*と胃癌の因果関係を検討する上で必要であるスナネズミにおける実験腺胃発癌モデルの確立のためにニトロソ化合物であるN-methyl-N-nitrosourea (MNU) およびN-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine (MNNG)を用いてスナネズミ腺胃癌の誘発を試みた。

【材料と方法】7週令雄スナネズミ(MGS/Sea)160匹をMNU 30, 10, 3, 0ppmまたはMNNG 400, 200, 0ppm投与群に分け、経時的に屠殺し、胃の病理学的検索を行った。

【結果と考察】MNU 30ppm間歇20週投与群で、実験開始後20週において2/12 (16.7%) 腺癌の発生が認められた。しかし、生存率は20週88.9%、25週26.9%と低く、30週で観察を中止した。他群においては20週では腺癌は認められず、50週まで観察後、屠殺した。MNU投与群50週において10ppm投与群で2/21 (9.5%)、3ppm投与群で1/23 (4.3%)腺癌が認められた。MNNG投与群では、400ppm 20週投与群で実験開始後40週で腺胃に腺癌の発生を認め、50週までに400ppm投与群で7/11 (63.6%)、200ppm投与群で1/10 (10.0%)腺癌が発生した。認められた腺癌の組織型は高分化型が主体であったが、低分化型、印環細胞癌も認められた。以上のようにスナネズミはニトロソ化合物により、胃癌の誘発が可能であることが示され、発生した腺癌は高分化型、低分化型、印環細胞癌といったヒト胃癌の組織型に類似した多彩な組織型を示した。これらの結果より本スナネズミ発癌実験系は*H. pylori*と胃癌の関係を検索するうえで非常に有効なモデルとなると考えられる。

朴 哲範¹、金 大中¹、李 俊燮²、関根一則¹、マルカム・ムーア¹、
津田洋幸¹ (¹国立がんセ・研・化療, ²ソウル大・獣医)

The enhancing effect of diethyl maleate (DEM), a quinone reductase (QR) inducer, on gastric tumor development was studied in rats given N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) and hypertonic sodium chloride (H-NaCl 10%, 5%). Male Wistar rats were treated with MNNG by intragastric injection, twice, along with H-NaCl, or basal diet during the initiation stage. Subsequently the animals were maintained with or without a 0.2% DEM dietary supplement. Groups of animals were sacrificed after 20 weeks, and their stomachs were histopathologically investigated. The forestomachs and livers were also analyzed for levels of cytosolic QR activity. The final body weights in the H-NaCl→DEM groups were significantly decreased as compared with the corresponding control values ($P < 0.001$ or 0.01 respectively for 10% and 5% concentrations). The incidences of forestomach preneoplastic and neoplastic lesions in the H-NaCl→DEM groups were also significantly higher than in the H-NaCl cases ($P < 0.05$ or 0.01 respectively for 10% and 5% concentrations). In the glandular stomach, the numbers of preneoplastic pepsinogen 1 altered pyloric glands (PAPGs) in the H-NaCl→DEM treated animals were similarly significantly increased ($P < 0.01$ for both concentrations). The QR activities in the groups treated with DEM were increased to twice or three times the control level. The results indicate that 0.2% DEM after MNNG+H-NaCl initiation exerts enhancing effects on both forestomach and glandular stomach carcinogenesis. Increased QR activity is associated with enhancing rather than inhibitory effects on rat stomach carcinogenesis.

○西川秋佳¹、古川文夫¹、笠原健一郎¹、田中丸善洋²、池崎信一郎²、今沢孝喜¹、李仁善³、谷所達幸⁴、木苗直秀⁴、高橋道人¹（¹国立衛研・病理、²岐阜大・病理、³韓国啓明大・食品加工、⁴静岡県大・食品栄養）

【はじめに】 塩素処理の過程で水道水中に生成する有機塩素系化合物 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-2(5H)-furanone (MX)は、変異原性を有することからヒトがん発症の危険因子である可能性がある。最近、フィンランドのグループにより MX のラットにおけるがん原性が報告された。我々も、MX がラット胃粘膜の細胞増殖と脂質過酸化を亢進させることを明らかにしてきた。今回、ラット二段階胃発癌モデルを用いて、MX の修飾影響について検討した。【方法】 6週齢のWistar系雄ラット120匹を6群に分け、第1~3群(各30匹)には100 ppmの*N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG)を飲水投与すると同時に5%の食塩を混餌投与した。8週間後から基本食に切り替え、57週間にわたってそれぞれ30(1群)、10(2群)および0(3群) ppmのMXを飲水投与した。第4~6群(各10匹)にはMNNGと食塩の処置をせずにそれぞれ第1~3群と同様にMXを同期間投与した。試験終了時に剖検し、消化管内にホルマリン液を注入後速やかに胃を摘出した。肉眼的に胃粘膜を注意深く観察後、ホルマリン液中に伸展固定した。全ての胃組織を3 mm幅に切り出し、腫瘍性変化の有無について病理組織学的に検索した。【結果】 病理組織学的に、腺胃の腫瘍性病変を腺癌および異型的過形成と分類した。腺癌は第1~3群のみに発生し、発生頻度はそれぞれ29.6%、25.9%および3.8%であり、第3群に比し第1群で有意に上昇した。動物当たりの腺癌の平均個数も、第1群で有意に増加した。異型的過形成は第1~3群の他に、第4群にも低頻度であるが発生した。異型的過形成の発生頻度および発生個数は30または10 ppmのMXの投与により有意に増加した。【まとめ】 ラット二段階胃発癌モデルのポストイニシエーション期にMXを長期飲水投与すると腺胃における腫瘍性病変の発生を有意に促進することが判明した。

○川畑好之康、安藤信明、柏原純一、園田崇倫、野原正志、田中英樹
成田祐士、大町勝美、阿部俊一（ミドリ十字・安全研）

【はじめに】 アドリアマイシン (ADM) と酸化デキストラン (ODX) との複合体 ADM-ODX は、ADM の有する種々の器官に対する毒性を軽減する反面、新たに肝毒性を誘発する。この肝細胞障害の発現には脂質過酸化の他、クッパー細胞や類洞内皮細胞の障害による類洞壁構造の消失等の形態的因子及びエンドトキシン血症、補体活性化等の生化学的因子が深く関与していることを単回大量投与の系で明らかにしている。今回、ADM-ODX の反復投与による肝臓への影響を検討する目的で、長期間に渡り間歇投与し、肝機能検査及び病理学的検索を行ったので報告する。

【試験方法】 6週齢のF344雄性ラットにADM-ODXをADM換算量として、0.4、0.5、0.6及び0.8 mg/kgの用量で週2回19週間、尾静脈内に投与した。陰性対照として生理食塩液投与群を設けた。動物数は高用量2群では1群24匹、他群では12匹とした。最終投与2週間後に解剖し、肝機能検査及び肝臓の病理形態検索を中心に諸検査を実施した。

【結果】 ADM-ODX各群において、投与期間中体重増加抑制が用量相関的に認められ、特に高用量2群では、期間途中より体重が減少し、消瘦・貧血等全身状態の悪化を呈し、死亡例も多く認められた。各種検査の結果、単回大量投与時にみられたような顕著な肝機能障害は死亡例も含めて認められず、血清トランスアミナーゼ活性が軽度の上昇したに過ぎなかった。一方、肝臓の肉眼的変化としては、大小様々な赤色斑が低用量群も含めて多数例に認められた。この変化は形態的に類洞拡張像として観察され、赤血球を豊富に含んだ blood cyst を形成し、肝細胞索と類洞拡張部位は時に類洞内皮に境された peliosis hepatis 様の組織形態像を呈していた。また、肝細胞には小葉中心性に脂肪変性が認められ、グリソン氏鞘域には oval cell が多数出現していた。大会では肝臓の特殊染色像・電顕像や直接の死因と思われる腎臓の病理変化等についても紹介する。

○ 正田俊之, 三森国敏, 小野寺博志, 今沢孝喜, 豊田和弘, 畝山智香子,
池田尚子, 田村啓, 高田幸一, 高橋道人 (国立衛研 病理部)

【はじめに】クロフィブレート(CF)の発癌メカニズムは、ペルオキシゾーム増殖作用によって脂質の酸化が亢進し、発生した過剰な過酸化水素が、DNA に酸化的修飾をすることによってイニシエーションが成立し、他のプロモーション作用の併合により肝腫瘍が誘発されると考えられている。肝腫瘍プロモーターは肝臓においてギャップ結合細胞間連絡タンパクであるコネクシン(Cx)を抑制する事が報告されており、また phenobarbital のように肝チトクローム P450(CYP)のアイソザイムである CYP2B1/2 を誘導する物質は CYP の誘導部位に一致して Cx を抑制し、CYP2B1/2 の誘導と Cx の抑制には相関性があることが示唆されている。しかし、他のアイソザイムの誘導と Cx の抑制との関連性については、未だ十分な知見は得られていない。今回我々は CF 投与における肝薬物代謝酵素の誘導と Cx の動態をみるために、ラット肝二段階発癌モデルを用いて以下の実験を行った。

【材料および方法】各群 5 匹の 7 週齢 F344 雄ラットに DEN 150mg/kg を単回腹腔内投与後、2 週目から CF を 1 群には 0.18% 2 群には 0.09% 含有する粉末飼料を 6 週間与えた。3 週目に 2/3 部分肝切除(PH)を行い、8 週目に動物を屠殺した。対照群として 3 群: DEN+PH, 4 群: PH を設けた。肝について P450 アイソザイムの免疫プロットングを行うと共に、各種 CYP、GST-P およびコネクシン 32 (Cx32)の免疫組織化学を実施した。

【結果】CF 投与群では、DEN 単独群に比べ、肝重量は絶対・相対とも有意に増加し、肝細胞はびまん性に肥大した。免疫プロットングでは、CYP2B1/2 および CYP4A1 の誘導がみられ、CYP4A1 免疫染色では、陽性細胞がびまん性にみとめられた。GST-P 陽性肝細胞小増殖巣数は 0.18%CF 群で有意に減少した。単位面積当たりの Cx32 陽性スポット数/面積は小葉中心性に CF 群で有意に減少した。

【結論】CF 投与により CYP4A1 はびまん性に誘導されたが、Cx の抑制は小葉中心性にのみ認められたことから、CYP4A1 の誘導と Cx の抑制は各々独立した事象である可能性が示唆された。

○吉田 緑¹、美谷島 克宏^{1,2}、工藤 佳代子^{1,3}、安藤 進¹、高橋 正一¹、前川 昭彦¹
(¹佐々木研・病理、²日本たばこ、³ボゾリサーチセンター)

キノロン系の抗菌剤であるフルメキン(FLU)はマウスの癌原性試験で肝腫瘍の発生が報告されているが、ラットでは発癌性は認められていない。フルメキンによる肝腫瘍発生機序解明の一環としてマウス二段階発癌試験法による検討を行った。

【材料と方法】5 週齢の雄 ICR マウス 60 匹にジエチルニトロサミン(DEN)100mg/kg を腹腔内に単回投与し、残りの 60 匹には生理食塩水(Saline)を同様に投与した。これらの処理を行った各 60 匹を 20 匹ずつ 3 群に分け、1 週後より各々 FLU4000ppm 混餌投与、フェバピタル(PB)500ppm 飲水投与および基礎飼料を投与した。FLU 投与開始後、9、19、24 および 30 週に各群 5 匹ずつ解剖し検査した。

【結果および考察】組織学的に FLU 群では全ての投与時期において、小葉中心性の肝細胞淡明化・腫大、炎症性細胞の浸潤、瀰漫性の肝細胞核分裂像増加が観察されたが、これらの所見は投与 30 週にむしろ軽減した。これらの組織所見は、陽性対照として用いた PB に観察された肝病変、すなわち肝細胞好酸性腫大と類似していないことから、FLU の肝細胞障害は PB とは異なる機序により発現していることを示唆していた。肝臓の増殖性病変は、FLU 群の DEN 処置群では 9 週より、同群の Saline 処置群においても投与 19 週より認められ、24 週まで経時的に増加する傾向を示し、DEN 処置群では主に好塩基性の小増殖巣と腺腫が、投与後半では両染色性の小増殖巣も認められたが、Saline 処置群では好塩基性小増殖巣のみが観察された。これらの結果は、発癌性は強くないものの、フルメキンがマウス肝発癌物質であることを示していた。また、肝細胞障害が軽減した 30 週において、DEN 処置群では肝細胞腺腫が認められず、Saline 群においては小増殖巣も観察されなかったことから、フルメキンによるマウス肝腫瘍発生には薬物代謝酵素誘導よりも肝細胞の障害とそれに伴う細胞増殖の亢進が最も大きく関与している可能性が示唆された。

○吉本雅俊、堤雅弘、真嶋敏光、赤井弘幸、笛木修、高島吉治、吉田順一、辻内俊文、小西陽一（奈良医大、がんせ、腫瘍病理）

＜目的＞ヘテロサイクリックアミンはアミノ酸や蛋白質の加熱により生じ、マウスやラットに種々の癌を誘発することが報告され、環境中に存在する発癌物質として重要なものである。しかし膵に対する発癌性の報告はないことから、前回我々は、ハムスター短期膵発癌モデルにおいて、膵管上皮過形成の出現時期に6種類のヘテロサイクリックアミンを投与し、膵発癌促進作用の有無について検索した。その結果、Trp-P-1(2-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole)は膵発癌促進作用を有する可能性があることを見出した。

今回、Trp-P-1の作用を確認するために、Trp-P-1の投与期間を延長して実験を行った。

＜材料、方法＞前回と同様、6週齢雌シリアンゴールデンハムスターを用いた。全てのハムスターに対し、30mg/kgのN-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP) s.c.のイニシエーション処置を施し、一連の促進圧力操作を2回施行した。その後、ハムスターを2群に分け、Group 1はcontrol群として基礎食のみを、Group 2はTrp-P-1を粉末基礎食に混じて投与した。投与期間は前回の50日間から20日間延長し、70日間とした。実験開始127日目に全てのハムスターを屠殺し、病理組織学的に膵管病変を検索した。

＜結果及び考察＞Trp-P-1投与群における膵癌の発生頻度は67%と、対照群の33%に比し有意差はないものの増加傾向を示し、1匹あたりの膵癌発生個数は1.6個と対照群の0.5個に対し有意な増加が見られた。

以上の結果より、ハムスター短期膵発癌モデルにおいて、Trp-P-1は膵発癌促進作用を有することが明らかになった。

○崎谷博征¹、堤雅弘¹、辻内俊文¹、吉本雅俊¹、伊木勝道¹、村上明²、小清水弘一²、大東肇³、高橋保男⁴、小西陽一¹
（奈良医大・がんせ・腫瘍病理¹、近畿大・生物理工²、京大・農³、和歌山県農産物加工研⁴）

（目的）

夏みかんなどの精油中に含まれ、抗酸化作用を有する7-geranyloxy-cumarin (auraptene)と毒性や長期連用時における投与量増量の不要性などで注目されている比較的新しい合成レチノイドであるN-(4-hydroxyphenyl)-retinamide (4-HPR)について、ハムスター短期膵発癌モデルを用いて発癌抑制効果を検討した。

（方法）

6週齢雌シリアンゴールデンハムスターにN-Nitrosobis(2-oxopropyl) amine(BOP)を投与した後、短期膵発癌モデルに従い一連の促進圧力を施行した。被験物質として0.02%及び0.1%aurapteneと0.04%及び0.004%4-HPRを各々基礎食に混じ、実験開始50日目から50日間投与した。実験開始後100日後に全動物を屠殺し、病理組織学的に膵管病変を検索した。

（結果及び考察）

膵管病変については、0.02%及び0.1%auraptene投与群において総膵管病変数の有意な減少が見られた。一方、0.04%4-HPR投与群では膵管癌の病変数の有意な増加が見られた。膵管病変の発生頻度は、各投与群に有意差は認められなかった。以上の結果より、aurapteneはハムスター短期膵発癌モデルにおいて発癌抑制効果を有し、膵癌の化学予防物質である可能性が示唆された。

○小野寺博志、三森国敏、藤本成明¹、安原加壽雄、竹川 潔、高橋道人
(国立衛研・病理、¹廣大・原医研)

【目的】麩酸は天然にも含まれるが水産物、野菜、果物等の変色防止目的として用いられ、各種の毒性試験では、重篤な毒性発現は認められず、比較的安全な天然食品添加物とされている。しかし、昨年の本学会においてマウスの癌原性試験で甲状腺腫瘍が誘発されることが報告された。我々のラット甲状腺二段階発癌モデルを用いた実験では、高用量投与で甲状腺腫瘍が誘発され、麩酸は血中甲状腺ホルモンの低下によるTSHの上昇を介した甲状腺腫瘍プロモーション作用がある事が明らかになった。さらに4週間の麩酸混餌投与実験では、低用量群から甲状腺でのヨード取り込み阻害や濾胞上皮の肥大・コロイド減少が認められ、麩酸投与ラットでは甲状腺ヨード取り込み阻害により甲状腺ホルモンの合成が阻害されることが示唆された。しかし、この阻害により甲状腺腫瘍が低用量から発現するかどうかは明らかではない。今回、甲状腺二段階発癌モデルを用いて麩酸の腫瘍プロモーション作用の閾値を明確にするため以下の実験を行った。【方法】雄F344ラット皮下にDHPN(Diisopropanol-nitrosamine)を一回投与しイニシエーション処置とした。一週間後より、2、0.5、0.125、0.03、0.008、0.002%の麩酸を粉末基礎飼料に混じり20週間自由に与えた。また、2、0.5、0.125%群では12週目に途中屠殺する群を設けた。DHPN処置をしない2、0.5、0.125%麩酸投与群も設けた。各投与終了時に甲状腺重量、甲状腺関連ホルモンを測定すると共に病理組織学的検索を実施した。

【結果】甲状腺重量はいずれの処置においても0.125%群から有意に増加した。しかし、血中T4の減少とTSHの増加は2%投与群でのみ認められた。甲状腺増殖性病変の発生はDHPN+0.125%群以上で認められ、麩酸単独投与では認められなかった。濾胞上皮肥大・コロイド減少はDHPN+0.008%群以上で認められた。【まとめ】麩酸を20週間ラットに投与した結果、DHPNによるイニシエーション処置を施すことにより0.125%以上の投与群で甲状腺に腫瘍性病変が認められたが、0.03%以下の群では認められなかった。しかし0.008%以上の群で甲状腺ホルモン合成阻害を示唆する病理組織学的変化が見られた。

蛋白漏出と糸球体糸球壁微細構造の変化についての電顕組織化学的研究

○下井昭仁、原田剛、桑山知登世、富田和夫、渡辺満利（持田製薬・安全性研）

目的：糸球体腎炎における蛋白漏出の機序はいまだに明らかになっていない。基底膜陰性荷電の減少と蛋白漏出との関連が注目されたが、賛否両論あり結論はでていない。糸球体腎炎モデルとして知られている puromycin (PM) 投与動物の糸球体微細構造の初期変化は足突起の平坦化であり、蛋白濾過に上皮細胞が重要な役割を演じていると考えられる。そこで、PM 投与ラットにおける蛋白漏出時の上皮細胞と基底膜の荷電状態と、足突起の形態維持を担う細胞骨格構成成分の一つであるアクチンの変動を電顕組織化学、免疫組織化学的手法により調べた。

方法：動物：Wistar 6週齢雌ラット、10匹。薬物：puromycin 15mg/kg, 6日間腹腔内投与。検査項目：尿中蛋白定量、尿中蛋白分子量測定 (SDS)、血漿蛋白定量、BUN測定。電顕組織化学：cationic (poly-L-lysine) gold (PLG) による陰性荷電の検出、金コロイド免疫電顕法による上皮細胞のアクチンの検出。光顕、電顕による腎の形態学的検査。

結果と考察：PM 投与で尿蛋白、BUN が上昇し血漿蛋白量が減少した。尿中にはアルブミンの他に分子量 250,000 の蛋白が多く出現していた。このような例の糸球体糸球壁では足突起の平坦化、上皮細胞内大型ライソゾームの増加、足突起と上皮細胞との間が拡張した urinary pocket の形成が観察された。また、シアル酸と考えられる足突起細胞膜の陰性荷電を示す PLG 結合が減少した部位が散見された。シアル酸分解酵素で灌流した腎では蛋白漏出が生じるという報告を併せ考え、足突起細胞膜のシアル酸を主体とした陰性荷電の減少が PM による蛋白漏出につながる初期変化と考えられる。平坦化した足突起ではアクチンの分布が不規則であり、細胞骨格の変動が足突起の平坦化に到ることが窺われた。

Hans Chen 1, Sandou Chen 2, Yeh C. Ling 2, and Kuen J Huang 1

1. National Laboratory Animal Breeding & Research Center, National Science Council, Taipei
2. School of Veterinary Medicine, National Chungshin University, Taichung, TAIWAN

An ultrastructural (TEM) investigation of polyalkylsulfonated C60 (FC4S) induced phagolysosomal nephropathy was conducted in female SD rats. One study of rats (6/group) was treated with a single intravenous injection of FC4S at a dose of 0, 10, or 100 mg/kg of body weight; a second study of rats received 12 repeated (daily) intraperitoneal injection at dose levels of 0, 0.6, 6.0, or 60 mg/kg. Rats were sacrificed 14 days after the single dose or 1 day after the final doses.

The ultrastructural features of the FC4S-induced nephropathy correlated with the light-microscopic findings of numerous cytoplasmic inclusions, primarily within the proximal convoluted tubules. Ultrastructurally, the cytoplasmic inclusions were characterized by phagolysosomal complexes of varying size, each consisting of numerous smaller laminated or encircled electron-dense (E-D) band bodies. Many complexes also contained larger, fused membranous E-D bodies which formed large laminated whorl-like bodies.

The phagolysosomal complexes observed in the rats receiving a single dose were generally smaller than those present in rats receiving the repeated doses. These single-dose rats had many small solitary E-D bodies located primarily in the apical or subbrush region of the tubular epithelium, indicative of the earlier stages of phagolysosomal complex formation. A small number of complexes were also seen within the brush borders. Complexes were less frequently observed within the nonconvoluted tubular epithelium, and endothelial cells.

These FC4S-induced phagolysosomal complexes appeared to be morphologically unique, and may serve as a biological marker in toxicity screening tests within this class of compound.

○ 池田佳久、高橋 智、織田信一郎、加藤俊男、小川久美子、白井智之
(名市大・医・1病理)

【目的】長期透析治療を受けている腎不全患者では、30~40%の症例に後天性嚢胞腎 (ACDK) が発生し、ACDKではnon-ACDKに比較して腫瘍発生が高率であると報告されている。これはACDKではnon-ACDKより透析が長期間であることに起因していると考えられ、ACDKとは無関係であるとの報告もなされている。そこで今回我々は、ACDKが腎腫瘍発生の危険因子であるか否かについて、透析患者で血中濃度が高いことが報告されているDMNとDPT誘発ラット嚢胞腎を用いて検討した。

【方法】6週齢のWistar系雄ラットにDMNは飲料水で、DPTは混餌でそれぞれ30週間投与した。1群: DMN 25ppm、2群: DMN 10ppm、3群: DMN 25ppm+DPT 1%、4群: DMN 10ppm+DPT 1%、5群: DPT 1%および6群: 基礎食を設け、各群12匹用いた。実験開始から30週目に屠殺し、腎の腫瘍性病変を病理組織学的に検索し、24週以上生存した動物を有効匹数として解析した。

【結果】DMN投与群では肝の悪性血管内皮腫からの出血が原因と思われる死亡例が実験25週以降に多数認められ、実験30週目の屠殺時における生存率は1~6群において、それぞれ50.0%、33.3%、0%、66.7%、91.7%および91.7%であった。腎を病理組織学的に観察した結果、DPTを投与した3~5群の全例に多発性嚢胞が観察された。上皮性腫瘍の発生は1~4群においてそれぞれ7/9(77.8%)、0/11、4/4(100%)、2/11(18.2%)であった。ラット1匹当たりの発生個数は1群で 1.33 ± 1.00 、3群で 3.00 ± 1.83 、4群で 0.18 ± 0.40 と、1群と比較して3群で有意な増加が認められた。また、腎芽腫の発生は3および4群に観察され、それぞれ3/4(75.0%)、1/11(9.1%)と3群で有意な増加 (vs 1群) がみられた。5、6群では上皮性腫瘍および腎芽腫のいずれの発生も認めなかった。

【結論】本試験の結果から、DMN腎発癌に対してDPTにより誘発した嚢胞腎は促進的に作用することが明らかとなり、嚢胞腎が腎腫瘍発生の危険因子になりうる可能性が示唆された。

○木本直哉¹、広瀬雅雄¹、山口 剛¹、佐野真士^{1,2}、二口 充¹、白井智之¹
(¹名市大・医・1病理、²大雄会医科研)

【目的】 Phenethyl isothiocyanate (PEITC) および Benzyl isothiocyanate (BITC) は西洋わさびなど十字花科の植物に glucosinolate として含まれており、種々の発癌物質の発癌作用をイニシエーション段階で抑制することから、がん予防剤として注目されている。我々は以前、これらの物質をラット中期肝発癌試験法ならびに中期多臓器発癌試験法を用い、プロモーション期における修飾作用を検討したところ、肝と膀胱で発癌促進を示唆する結果が得られた。今回、これらの結果の確認を行う目的で、Diethylnitrosamine (DEN) と N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) の2種の発癌物質をイニシエーターとして用いた2段階発癌モデルで実験を行った。【方法】各群21匹の6週令F344系雄ラットにDEN 200mg/kg 体重を1回腹腔内投与後、0.05% BBN 飲料水の4週間投与でイニシエーションを行い、その後0.1% PEITC、0.1% BITC 混餌食、あるいは基礎食のみを32週間投与した。各群6匹のイニシエーションを行わない群も同様に設けた。36週で屠殺し、肝と膀胱を病理組織学的に検討した。【結果】PN過形成、膀胱癌の発生頻度は基礎食の対照で各々57%、24%に対し、PEITC、BITCではいずれも100%で、かつ多発性に認められた。PN過形成は下方に増殖し、異型的なものが多く、癌についても結節状ないし表面が平坦で下方へ増殖するものも多く認められた。また、イニシエーションを行わずにPEITC、BITCを与えた群でも全例に多発性の過形成が発生し、PEITCでは6例中2例に癌が認められた。一方、肝腫瘍(肝細胞癌・腺腫)の発生頻度は各群24-33%と差はなかったが、径が0.5mm以上の小増殖巣の平均発生個数がPEITC群で有意に増加した。【結論】PEITC および BITC は天然の強力な膀胱発癌促進物質であり、単独での発癌性も強く疑われる。一方、肝発癌に対する促進作用は弱いものと考えられる。

○市原敏夫、鰐淵英機、榊田周佳、永田智、福島昭治(大阪市大・医・1病理)

【背景】血管新生は腫瘍が発育・進展するためには必須であり、我々は血管新生阻害剤TNP-470をラットの皮下に持続投与することで膀胱発癌が抑制されることを報告してきた。今回、我々は膀胱癌治療の臨床応用を念頭に、TNP-470の膀胱内注入によるラット膀胱発癌修飾作用を検討した。また、抗TNP-470抗体を用いて、膀胱内におけるTNP-470の分布についても検討した。

【方法】6週齢の雌性F344ラットに0.05%BBNを8週間飲料水投与後、2群に分け、1週間後より、第1群にはTNP-470を1mg/kgで週1回ネンブータル麻酔下に11週間膀胱内注入した。第2群には溶媒のみを膀胱内注入した。動物はTNP-470投与開始11週後に屠殺し、膀胱粘膜病変を病理組織学的に検索した。TNP-470の細胞内分布は12週齢の雌性F344ラットにTNP-470、1mg/kgを1回膀胱内注入、1,3,6,12,24,48時間後に屠殺し、膀胱を摘出後、パラフィン切片を作製し、抗TNP-470モノクローナル抗体を用いて免疫組織染色を行い検討した。

【結果】体重、摂餌量、摂水量は2群間で明らかな差を認めなかった。膀胱癌の発生頻度はTNP-470投与群で有意に増加した。膀胱における乳頭腫、癌のラット1匹あたりの数もTNP-470投与群で有意に増加した。TNP-470の膀胱内における分布は、投与直後は膀胱粘膜上皮に強い陽性反応が観察され、時間が経過すると粘膜下層および筋層にも分布した。

【結論】ラットの膀胱内にTNP-470を注入することで膀胱癌発生の促進が認められた。TNP-470が膀胱粘膜上皮細胞に高濃度に分布したことから、今回用いた用量では膀胱粘膜傷害をおこし、その結果プロモーション的に作用したものと思われる。

○北山若紫, 岡島英二郎, 赤井弘幸, 佐々木康孝, 堤 雅弘, 傳田阿由美,
西野輔幸¹, 大島俊二², 坂本秀樹², 小西陽一

(奈良医大・がんせ・腫瘍病理, ¹京都府立医大・生化学, ²カゴメ総合研究所)

疫学研究にて, ヒト膀胱癌の発生リスクと血中リコピン濃度が逆相関する事が報告されている。トマトは最もリコピン含量の高い食品である。本研究ではBBNによるラット膀胱癌の発生に対するリコピンおよびトマトジュースの修飾効果について検索した。

(方法) 動物は, 6週齢のF344系雄ラットを用いた。実験1では, 0.05%BBN含有飲料水を8週間投与した後, 対照群に水道水, 実験群にトマトジュースを12週間投与した。トマトジュースは通常の濃度を4倍希釈したもの(25ppmのリコピンを含有)を用いた。実験2では, 実験1と同様に0.05%BBNを投与した後, 対照群に水道水, 実験群に25ppmリコピン含有飲料水を12週間投与した。動物は実験開始20週目に屠殺し, 膀胱粘膜上皮の腫瘍性病変について病理組織学的検索を行った。また肝のリコピン含量も測定した。

(結果) トマトジュースおよびリコピン投与群ではいずれも, 対照群に比し, 単純過形成, 乳頭状および結節性過形成, 移行上皮癌(TCC)の発生頻度に有意な差を示さなかった。一個体当りのTCCの発生個数は, リコピン投与群では対照群に比し有意な差を示さなかったが, トマトジュース投与群では有意に減少を示した。TCCの異型度および浸潤度には両群とも有意な影響を示さなかった。またトマトジュース投与群の肝のリコピン含量は, リコピン投与群の約2.4倍の高値を示した。

(考察) トマトジュースは, BBNによるラット膀胱癌の発生を抑制する事が判明した。トマトジュースには他にビタミンC, Eなどの抗酸化剤が含まれており, これらがリコピンの安定化やリコピンとの相乗的抑制作用に関与していることが示唆された。

○谷 善啓, 大園誠一郎, 山口尚子, 北川恒代, 熊本廣実, 細川幸成, 藤本清秀,
植村天受, 平尾佳彦(奈良医大・泌尿器科)

Pyrimidine Nucleoside Phosphorylase(PyNPase)は, Pyrimidine Nucleosideの生合成, 再利用に働く酵素で, Thymidine Phosphorylase(TdR Pase)と Uridine Phosphorylase(Urd Pase)の総称であり, ヒトではTdRPaseが, ラットやマウスなどの齧歯類ではUrd Paseが分布している。また, PyNPaseは癌組織中に多く存在するといわれている。われわれはヒト膀胱癌症例の腫瘍組織と正常組織におけるPyNPaseを検討した結果, 腫瘍組織内活性が有意に高いことを確認した。そこで, 今回は preliminary studyとして N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine(BBN)を投与するラットおよびマウスの膀胱発癌実験モデルを用いて, 膀胱のPyNPase値の測定を行った。動物は, F344 雄性ラット 134 匹と C3H/He 雌性マウス 155 匹を用いた。BBNは0.05%濃度に水道水に混じて, 自由摂取させた。実験群はラット, マウスともに第1群:0.05%BBN 8週投与群で実験開始後4,8,12,16,20週で屠殺, 第2群:0.05%BBN 12週投与群で実験開始後12,16,20週で屠殺, 第3群:BBN非投与の対照群で, 実験開始後4,8,12,16,20週で屠殺の3群に分けた。屠殺した際の動物の半数を病理組織検索用に, 半数をPyNPase測定用に供し, PyNPaseはHPLC法にて測定した。その結果, 病理組織学的には従来の実験結果と同様に経時的に simple hyperplasia, nodulopapillary hyperplasiaを経て, tumor(transitional cell carcinoma)の発生が観察された。PyNPase値は, ラット第1群で経時的に24.36, 28.14, 41.96, 28.88, 38.89, 第2群で55.35, 30.00, 33.40, 第3群で25.67, 30.60, 30.60, 19.47, 31.90(μ gFU/mg protein/hr)を呈した。一方, マウスでは第1群で9.38, 13.20, 8.66, 7.44, 7.01, 第2群で11.36, 13.12, 10.22, 第3群で5.03, 5.08, 2.90, 2.25, 4.40であった。ラット, マウスいずれの実験系においても腫瘍の発生がみられる12週以降において対照群に比較してPyNPase値は高値を示していた。これらの結果は, PyNPaseが血管新生因子の1つであるPD-ECGFと同一蛋白であることを考えると, 非常に興味ある基礎データと考えられた。

27 マウス多臓器発がんモデルにおける共役リノール酸(conjugated linoleic acids, CLA)の発がん修飾作用の検討

○金 大中^{1,2}、朴 哲範¹、李 俊燮³、高須賀信夫¹、馬場-鳥山弘靖¹、朝元誠人¹、津田洋幸¹(¹国立がんセ・研・化療；²韓国 食品医薬品安全本部(KFDA)・研・病理、ソウル；³ソウル大学・獣医・病理、水原、韓国)

Modification by conjugated linoleic acids (CLA) in a mouse multiorgan carcinogenesis model

【目的】共役リノール酸(CLA)はラット乳がんやマウス皮膚発がん抑制作用のあることが報告されている。本研究ではマウス多臓器発がんモデルにおいて cis/trans-CLA (c/t-CLA) 型および trans/trans-CLA (t/t-CLA)型 CLA およびリノール酸(LA)の発がん修飾作用を検討した。【実験方法】雌雄計150匹のB6C3F₁マウスを3群に分け第1群と第2群にはDEN(10mg/kg, i.p.)を生後11日および32日に、MNU(120 ppm 飲水中)とDMH(20mg/kg, s.c., 週2回)を生後4~9週まで投与した(DMD処置)。第1群はさらに a) c/t-CLA, b) t/t-CLA, c) LA(0.1 ml/mouse, i.g., 週2回)を11週から34週までの23週間投与した。第2群はDMD処置のみの対照群とした。第3群はCLAとLAのみを投与した。飼料は大豆油を菜種油に置換し、リノール酸含量を総脂肪の52%から20%に減らしたAIN93M改変飼料を用いた。34週で屠殺し主要臓器の腫瘍病変を組織学的に検討した。【結果】第1, 3群のCLA投与群では、雌雄ともDMD+LA投与群あるいはDMD単独群に比べて摂水量が2倍であり、肝重量の体重比と腎重量は有意に増加していた。また雄では体重の減少(15%)も見られた。雄では第1群のc/t-CLA投与群とリノール酸投与群で大腸ACFの数が有意に減少していましたが(P<0.05)、雌では有意差はなかった。第1群のc/t-CLA投与群の雌で肺腺腫の発生頻度は66.7%、肺胞上皮過形成+肺腺腫/個体は3.53±0.60であり、対照群の33.3%, 1.80±0.39に比べて有意の増加を示した(P<0.05, 0.01)。【結論】リノール酸およびc/t-CLA投与群は雄マウスの大腸ACFの数を減少させたが、c/t-CLA投与群の雌では肺の腫瘍発生を促進し、その発がん修飾作用には性差、臓器標的性のあることが明らかとなった。(新がん克服10か年戦略事業・厚生省がん研究助成金による)

28 気管内注入法による超微粒酸化チタン粒子のハムスター肺に対する短期的影響について

○橘 徹、佐藤 文明(昭和電工)、君塚 五郎(千葉大)

白色色素として広く使用されている酸化チタンは、近年、高い光触媒能を有することが明らかになり、抗菌、防汚などの機能が期待されている物質である。また、微粉化の技術の進歩により超微粉化が進んで来ている。しかし、超微粒子による肺への影響についての報告は少ない。そこで今回は、超微粒酸化チタン粒子(平均径22nm)を用いて単回気管内投与によるハムスター肺に対する影響を経時的に検討したので報告する。

《材料と方法》超微粒酸化チタン粒子1%懸濁液を7週齢のハムスターに0.1ml気管内注入法により投与した。投与30分、1, 2, 4, 8, 16時間、1, 2, 4日後、1, 2, 4週間後にエーテル麻酔下で放血屠殺後、肺を摘出した。摘出した肺にカルノフスキー変法固定液を気管より緩徐に注入し肺を吸気の状態で固定した。固定した肺は肺門を通る前額面を、気管リンパ節は気管より個々に分離し、常法に従って走査型電子顕微鏡および光学顕微鏡標本を作製し観察した。

《結果》酸化チタンは、投与30分後には気管支から細気管支および細気管支近くの肺胞道や肺胞内に集塊として壁に付着して認められた。投与4日後より、酸化チタンの集塊は小さくなり数も減少した。酸化チタンへの細胞反応は、投与16時間後まで多形核白血球が主であり、投与1日後より大食細胞が主となった。この細胞反応は、酸化チタン集塊を囲み肺胞道から肺胞内に存在した。投与4日後には、大食細胞数の減少が認められ、投与4週間後には酸化チタンを貪食した大食細胞が肺胞腔内に散見されるのみとなった。細気管支壁や肺胞壁の変化を見ると、酸化チタンの存在する部位の壁に限局して投与8時間後には軽い壁の肥厚が認められ、投与2日後まで進行した。投与1週間以後には肺胞壁の細胞浸潤や肥厚はほとんど認められなくなった。

気管リンパ節内に酸化チタンは投与1日後には認められ、投与4週間後にはより多く認められた。

○大塚亮一、首藤康文¹、藤江秀彰¹、山口悟¹、春田純子¹、武田真記夫¹、原田孝則¹、板垣慎一、吉川泰弘
(東大・農、¹残農研)

【目的】Brown Norway系(BN)ラットはIgE産生能が高く、気道反応性が強いいため気管支喘息などのアレルギー疾患モデルとして種々の研究に用いられている。我々は第13回本学会においてBNラットはアレルゲンに対する反応とは逆に直接的な傷害を示す化学物質であるホルムアルデヒド(HCHO)の吸入曝露に対してはFischer系(F344)ラットより感受性が低く、呼吸器系粘膜上皮は明らかにF344ラットに傷害がより強く発現し、広い範囲で扁平上皮化生が生じることを報告した。今回我々は前回と同じ2系統を用い、HCHOとは異なる作用機序によって毒性を発現するタバコ煙の吸入曝露実験を行い、両系統ラットの呼吸器系の反応を病理組織学的に比較検討し、系統差の有無を確認した。

【材料と方法】6週齢の雄BN/Crj および雄F344/DuCrj ラットをそれぞれ20匹ずつ用いた。各系統ともに10匹を喫煙群に供し、標準喫煙法により、市販の両切りピースのタバコ煙を1回30本分として1日2回、14日間にわたり動物の鼻部に曝露した。また、各系統の残りの10匹についてはsham群として喫煙群と同様な方法で新鮮な空気のみを曝露した。最終曝露の翌日に剖検を行い、呼吸器系組織(鼻腔、喉頭、気管および肺)を採材し、病理組織学的に検索した。なお、喉頭蓋は縦断し一方は顕微鏡観察をした。各群3例については他の一方を走査型電顕(SEM)観察にそれぞれ供した。

【結果と考察】鼻腔においては両系統の喫煙群の鼻腔前部に若干の上皮の変性が認められた。喉頭については、両系統ともに喫煙群において喉頭蓋粘膜の肥厚(上皮の多層化)が観察され、加えてF344ラットでは明瞭な角化層を持つ扁平上皮化生が認められたが、BNラットでは同所見は観察されなかった。また、喉頭蓋のSEM観察においても顕微鏡観察で認められた変化と同様な結果が得られた。肺においては、肺泡マクロファージの数が両系統の喫煙群で増加したが、増加の程度はBNラットに比べてF344ラットで明らかに高かった。以上の結果より、HCHO曝露と同様にタバコ煙曝露に対してもBNラットの呼吸器系組織の反応は弱く、F344ラットに比べ感受性が低いことが示唆された。この系統差の原因を明らかにする目的で、現在上記の動物の血清中のビタミンA含量を分析中である。

○白岩和己^{1,2}、堤雅弘¹、崎谷博征¹、辻内俊文¹、佐藤則博²、甲斐清徳²、渡邊厚²、小林洋四郎²、小西陽一¹
(¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理、²旭化成工業(株)・ライフ総研・安全研)

【はじめに】慢性に持続する炎症が、発癌を促進する事が指摘されている。我々は前年の本学会において、肺の非小細胞癌の発生に細菌感染に伴う慢性炎症が関与している可能性を報告した。今回、その知見を確認するとともに肺癌に対し有効な化学予防物質を検索する目的で、抗生物質、非ステロイド系抗炎症薬(NSAIDs)および生薬のラット肺発癌に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】動物は6週齢の雄Wistar系ラットを用いた。発癌物質としてN-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine(BHP)を2000ppmの濃度で12週間飲水投与し、被験物質として、0.04% Ampicillin(ABPC)、0.006% Piroxicam(PX)および0.75% Ougon(OG)を各々基礎食に加え、BHP投与後引き続き8週間混餌投与した。実験プロトコルを右図に示す。

実験開始後20週後に全ての動物を剖検し、病理組織学的に肺病変を検索した。肺病変は、肺胞上皮過形成、腺腫、腺癌、扁平上皮化生、扁平上皮癌、腺扁平上皮癌に分類し、発生頻度および発生個数を検索した。

【結果】BHP単独投与群における肺癌の発生頻度は62.5%であったが、ABPC+PXあるいはABPC+OGの複合投与群においては、12.5%あるいは14.3%といずれも有意な肺癌発生抑制がみられた。また、一匹当たりの総癌発生個数も、BHP単独投与群1.19個に比し、ABPC+PXあるいはABPC+OGの複合投与群で各々0.13個、0.14個といずれも有意な減少を示した。なお、病変部における炎症性細胞浸潤の程度は、複合投与群においてより軽度であった。

【まとめ】抗生物質とNSAIDsあるいは生薬の併用により、ラット肺癌の発生が抑制されることが示された。このことは、肺の非小細胞癌の発生に細菌感染による慢性炎症が関与すること、および慢性炎症を抑制することによる肺癌の化学予防の可能性が示唆される。

Experimental protocol

Experimental protocol	
A	BHP Test compound
B	Tap water Test compound
0 12W 20W	
Group	Test compound
A-1, B-1	(-)
A-2, B-2	0.04% ABPC
A-3, B-3	0.006% Piroxicam
A-4, B-4	0.04% ABPC+0.006% Piroxicam
A-5, B-5	0.04% ABPC+0.75% Ougon
BHP: 2000ppm in drinking water	
ABPC, Piroxicam and Ougon: in diet	

- 桑原真紀、乾公正、杉本加代子、竹内幸子、畠中規行、原田孝則、小坂忠司、真板敬三 (残農研)、安原加壽雄、三森国敏 (国立衛生研)

目的：チアンフェニコール (TAP) は繁殖毒性試験で不妊を起こし、長期投与した際に精細管萎縮を起こすことが報告されている。しかし、本剤の標的となる精巣中の細胞の特定や、雄性生殖器に対する本剤の影響の詳細な検索はなされていない。そこで、今回は TAP を 4 週間強制経口投与した際の精巣の詳細な組織学的検索をするとともに血中ホルモンの定量および繁殖項目への影響を検索した。材料と方法：9 週齢の SD 系雄ラット各 6 匹に TAP を 100、200、1000mg/kg/day で 4 週間連続経口投与した後、無処置の雌と交配を行った。交配の成立した雄動物を後大静脈より採血後剖検した。右側精巣上体は精子検査に用い、精巣、左側精巣上体、腹側前立腺、下垂体、副腎および脳について臓器重量を測定し、相対重量を算出した。精巣および精巣上体は通常組織学的観察をし、さらに精巣では PAS-HE 染色も実施した。血清中 LH、FSH、テストステロンを測定した。無処置雄動物は妊娠 13 日目に剖検し、黄体数および胚仔数を検索した。結果および考察：TAP1000mg/kg/day 群の生存動物は試験終了時に 1 例のみとなったため、評価より除外した。体重増加抑制が全投与群でみられた。200 mg/kg/day 群で精巣および副生殖器の絶対・相対重量が減少した。100mg/kg/day 群では臓器重量に異常はなかった。精子検査、交配率、胚仔数は 2 群とも対照群と同程度であった。血中 LH とテストステロンは 200mg/kg/day 群で有意に減少したが、100mg/kg/day 群に異常はなかった。精巣の組織学的検査では、200 mg/kg/day 群で多核巨細胞、精子停留、精細胞壊死を含む広範な精細管萎縮が観察された。100mg/kg/day 群では精細管萎縮は著明ではなくステージにより異なるものの、すべての段階の精細胞の減少がみられた。よって本剤の精巣毒性はセトリ細胞傷害により発現するものと推察される。セトリ細胞およびライディック細胞に光顕的な異常は見られていないが、さらに詳細に検討中である。

卵巣摘出ラットを用いた実験的慢性カドミウム中毒症におけるカルシトリオール, 1,25(OH)₂D₃ の治療効果

- 勝田 修¹・倉田祥正¹・平塚秀明¹・土谷 稔¹・梅村孝司² (¹三菱化学安科研, ²北大獣医)

私達は卵巣摘出 (OVX) ラットの静脈内に塩化カドミウム (CdCl₂) を反復投与することでタイタイ病の病態モデルを作成した。このモデルでは Cd 中毒による腎間質線維化 (Cd 腎症) と骨軟化症を伴った骨粗しょう症 (Cd 骨症) が投与 50 週頃から発現する。今回は、骨粗しょう症の治療薬として広く使用されているカルシトリオール (Cal) を用いて Cd 骨症に対する治療効果を検討した。【実験方法】6 週齢の SD 系雌ラット 24 例を OVX 動物と擬手術動物の各 12 例に分けた。それらを Saline 投与群と 0.5mg/kgCdCl₂ 投与群に分け、10 週齢時から週 5 回、70 週間静脈内投与して Cd 中毒ラットを作成した。その後 8 週間は Cd 投与を中止して 0.02ug/kg の Cal あるいは溶媒のみを週 3 回静脈内投与した。78 週後に動物をネブター麻酔下で採血、放血致死させ剖検に付した。定法による組織標本作製のほか、左側大腿骨からは 70%エタノール固定後非脱灰 Villanueva Goldner 染色およびペルリン青染色標本作製し、形態計測を行った。

【結果】血液生化学検査では、Saline 群に比べて Cd 群で、AST, ALT, ALP, UN, CRE, GLU 値等に著しい上昇がみられ、擬手術よりも OVX 動物のほうがより高値を示した。Cal 投与によって、卵巣の有無に関わらず、Saline 群では ALP 値が低下し、治療効果が認められた。しかし、Cd 群では ALP 値は変化せず、Cal の治療効果は現れなかった。病理組織検査の結果、Saline 群では Cal 投与によって、OVX 動物は大腿骨海綿骨梁の骨量 (TBV) が増加、擬手術動物は相対骨量 (OsV/TBV) が減少し、Cal の治療効果が認められた。しかし、Cd 群では擬手術、OVX 動物とも個体差が著しく、Cal の治療効果は明らかではなかった。また、Cd 群ではいずれも骨梁辺縁に鉄が沈着していたが、擬手術動物は Cal 投与によって、その鉄沈着量が減少した。検査した全例の肝臓、腎臓には Cal の影響は認められなかった。今後、尿および血中骨細胞マーカーの測定を予定している。

○木村 透、土井邦雄¹（農産工・中研、¹東大・農）

我々は、Mexican hairless dog (MHD)とビーグル犬との戻し交配を続け、実験用ヘアレス犬のコロニーを確立し、現在第7世代(N7)の作出に至っている。ヘアレス犬の無毛の皮膚は、刺激性を有する化学物質に鋭敏に反応することから、大気汚染物質や農薬などの皮膚毒性試験ならびに外用剤（レチノイン酸、ステロイド剤）の治療効果試験に用いられている。今回は、接触性皮膚炎の事例が報告され始めた毛髪の色染剤および脱色剤をヘアレス犬の皮膚に投与し、その皮膚刺激性を調べた。

【材料および方法】3頭のN4ヘアレス犬（雄2頭、雌1頭、5歳）を試験犬とした。染色剤および脱色剤としては、1)5% resorcinol, 2)5% pyrogallol, 3)5% tolylene-3, 4-diamine, 4)5% tolylene-2, 4-diamine, 5)10% ammonium persulfate, 6)5% potassium persulfate, 7)30% hydrogen peroxide および8)基剤(対照)を用いた。各試薬を背部皮膚に毎日1回4週間連続投与し、皮膚の性状を調べた。試験期間中、皮膚に変化が生じた時点で生検を行い、病理組織学的検査に供した。

【成績】4週間の試験期間を通して、対照部位および1),6)剤投与部位には変化は認められなかった。しかし、2)剤投与部位では、投与後4-5日目に水疱を伴う強い炎症性変化を示した。7)剤投与部位は3-7日目に紅斑、浮腫を主体とした激しい皮膚炎を見た。酸化染毛剤3), 4)を投与した部位では、投与後1週目に炎症反応を生じ、特に3)剤で著しい接触性皮膚炎を誘起し、その後軽度の色素沈着を来した。5)剤投与部位は、投与後3週目より遅延して炎症性変化が現れた。組織学的には、いずれの病変部位も、表皮は肥厚・変性および細胞内・細胞間浮腫を示した。真皮層では、充・出血、血管拡張および炎症性細胞浸潤が観察された。

【考察】ヘアレス犬を用いた皮膚毒性試験より、染毛剤および脱色剤は、脱色、酸化染毛およびブースターの各段階で接触性皮膚炎を引き起こすことがわかった。また、この皮膚への刺激性は、大気汚染物質や農薬などの環境化学物質と比べても強い反応をもたらすこともわかった。

示 說 要 旨

(P- 1 ~110)

P-1

T-2 toxin投与妊娠マウスの胎仔にみられた アポトーシス病変

○石上紀明、篠塚淳子、上塚浩司、中山裕之、土井邦雄
(東大・農・獣医病理)

Fusarium 属の真菌により産生されるT-2 toxinはリンパ系組織や造血組織に強い細胞毒性を示すことが知られている。我々は第12および13回本学会で、T-2 toxin投与マウスの胸腺、脾臓およびパイエル板の病変がリンパ球のアポトーシスに起因すること、さらに腸陰窩上皮細胞にもアポトーシスが惹起されることを明らかにした。今回は、T-2 toxin投与妊娠マウスの胎仔の病変について検索した。

(方法) 妊娠11日目のICRマウスに一晩絶食後、20%アルコール溶液で溶解した3mg/kgBWまたは5mg/kgBWのT-2 toxinを経口投与した。対照群には20%アルコール溶液のみを同様に投与した。投与24時間後にエーテル麻酔下でと殺して子宮を摘出し、死亡または吸収胎仔数を記録した後に胎仔を摘出し、病理組織学的検索および断片化DNAの検出(TUNEL法)を行った。

(結果) 5mg/kgBW投与群では一部の母体(3/8匹)および多くの胎仔(94/100匹)が死亡した。3mg/kgBW投与群では母体(2/10匹)および胎仔(60/160匹)の死亡数は5mg/kgBW投与群より少なかったが、胎仔死亡率には個体によって差がみられた。T-2 toxin投与群では対照群に比較して胎仔重量の減少が認められた(対照群: 0.108g, 3mg/kgBW投与群: 0.079g)。3mg/kgBW投与群の生残胎仔には終脳、間脳、中脳、後脳、髄脳、脊髄の神経芽細胞、椎骨の軟骨性原基および一部の間質細胞に核クロマチンの凝集、核濃縮、核崩壊などの変化が認められた。TUNEL法では上述した細胞の核および核崩壊物に一致して陽性反応が検出された。

(まとめ) T-2 toxin投与妊娠マウスの胎仔にみられた神経系、椎骨軟骨性原基および一部の間質細胞の変化はアポトーシスであることが確認された。現在、T-2 toxinによって誘導されるアポトーシスの発現様式をより詳細に検討するため、経時的観察を行っている。

P-2

塞栓性脳梗塞モデルイヌの組織病理学的検討

○穴山久志¹、橋本忠俊²、今西三明¹、永井博文¹、青木正美¹、佐々木啓¹
(¹武田薬品工業・薬安研、²武田薬品工業・創薬研V)

ヒトの出血性脳梗塞のモデルとして、イヌあるいはサルを用いての中大脳動脈結紮モデルが確立されているが、今回、よりヒトの病態に近いと考えられる自家血餅を用いた実験的塞栓性脳梗塞モデルイヌを作成し、脳の病理組織学的検討を行い、これまでに報告されているヒトの臨床像と比較した。

[方法] 実験的塞栓性脳梗塞モデルイヌの作成はDe Leyらの方法(J. Cereb. Blood Flow Metab., 8, 539-543, 1988)に準じた。あらかじめ麻酔下でカニューレを左側内頸動脈に留置しておいた8頭のイヌに、自家血餅(直径約1mm、長さ10cm)を無麻酔下でカニューレより注入し、さらに39℃に加温した生理食塩液10mlを注入することにより左側中大脳動脈を閉塞した。血餅注入24時間後にイヌを放血致死させ、脳を摘出した。

[結果及び考察] 中大脳動脈を閉塞した左脳の大脳皮質及び髄質、尾状核、レンズ核、扁桃核、中隔、脳梁、海馬、内包、梁下束並びに視床において、散在性に梗塞巣が認められた。これらの梗塞巣の多くでは、血管を中心とした炎症性細胞浸潤、浮腫、血管の壊死及び出血を伴っており、梗塞巣周囲の神経細胞は核が濃縮し細胞質は好酸性を増し、虚血性細胞死の像を呈していた。これらの組織像はこれまでに報告されているヒトの出血性脳梗塞に類似していた。また今回の実験では、血餅を注入した中大脳動脈起始部に血栓が認められた動物に比べ、起始部から離れた中大脳動脈枝で血栓が多数認められた動物で病変が顕著な傾向にあった。ヒトの出血性脳梗塞は、一度形成されていた血栓が融解し血流が再開した際に、すでに損傷されていた梗塞巣内の細血管からの漏出性出血が生じることによることが多いとされており、今回認められた病変は、発生機序の点からもヒトの出血性脳梗塞に類似していると考えられた。

○萩原里香, 澤本 修, 森 峰雄, 林 正信, 栗栖和信, 久保秀治
(大塚製薬工場・鳴門研)

生体内に存在する中性アミノ酸である L-システインは、酸性アミノ酸であるグルタミン酸、アスパラギン酸と同様に幼若動物において脳病変を起こすことが知られている。しかし、成熟動物を用いた検討の詳細は報告されていない。そこで今回、成熟ラットにおける L-システイン投与による脳病変を経時的に検討したので報告する。

【材料と方法】6週齢の SD 系雄ラットに L-システイン 1500mg/kg (5%水溶液) を腹腔内に単回投与した。また対照として同用量の生理食塩液を投与した。投与後 6, 24, 72, 168 時間 (各群 5 匹) にて屠殺剖検し、脳について病理組織学的に検索した。

【結果および考察】脳の組織学的変化は投与 24 時間以降の大脳皮質および小脳に局在して認められた。すなわち、大脳では皮質浅層部の神経細胞の空胞化、壊死、小脳では表層部に限局するものの、分子層、プルキンエ細胞層、顆粒層の全層にわたる広範な神経細胞の壊死、脱落が認められ、経時的なグリア細胞の反応に加えて、重度な例では脂肪顆粒細胞の出現から成る軟化巣を呈した。

グルタミン酸等では脳血液関門 (BBB) の未発達な幼若動物の脳室周囲領域に脳病変が見られるのに対し、システインでは幼若動物の BBB を容易に通過できるがそれ自体では毒性を示さず、脳内で生成されたシステインスルフィン酸等の代謝物により海馬、扁桃核、皮質、視床などの広範な病巣を形成するとされている。今回の成熟ラットの場合、脳脊髄液に近接した大脳皮質表層部および小脳の表層部が領域選択的に障害されることから、BBB や代謝機構の発達した成熟動物では脳脊髄液を介して脳病変が発現することが示唆された。さらにシステインで見られた神経細胞の形態的变化について電顕検索を行うとともに、アポトーシスとの関連についても現在検討中である。

○桑村 充、森川武司、安井久恵、山手丈至、小谷猛夫、佐久間貞重 (大阪府大獣医病理)

F344 ラットにおける中枢神経系の発達異常の自然発生は稀である。Dandy-Walker 症候群は小脳虫部欠損、第 4 脳室の嚢胞状拡張、後頭窩の拡大を特徴とする奇形である。今回、我々は F344 ラットにおいて、Dandy-Walker 症候群様の小脳奇形の 1 例に遭遇したので報告する。

【症例と方法】症例は当講座において繁殖維持されている F344 ラットのコロニーの 1 腹に見出された雄ラットである。同腹(雌 2 例、雄 7 例; 本例を含む)のうち、本例および雌の 1 例が出生後の発育が悪く、体格は同腹仔の約半分であった。本例は 3 週齢頃より前肢・後肢の運動失調を示し、起立不能状態であったため、4 週齢時に同腹仔とともに剖検を行った。剖検時、発育不良を示した雌の 1 例を含め、他の同腹ラットに肉眼的異常は見られなかった。剖検後、常法に従いパラフィン切片を作製し、HE 染色、免疫染色 (GFAP、ケラチン、ビメンチン) を施し、組織学的に検査した。

【結果】肉眼的に、小脳の虫部は完全に欠損し、正中部には第 4 脳室と連続する嚢胞が形成されていた。小脳半球は左右に分離され、特に左半球は低形成であった。大脳および全身諸臓器に肉眼的異常は認められなかった。組織学的に、中脳水道周囲から延髄の第 4 脳室周囲に炎症性病変が認められた。中脳後丘の中脳水道周囲にはグリオシス、出血、ヘモジデリンを貪食したマクロファージ・少数の好中球の浸潤、石灰沈着が見られた。また、延髄の第 4 脳室直下に上皮細胞の多層化巣、ヘモジデリン沈着が見られた。松果体の近くには、結合組織増生、ヘモジデリン貪食マクロファージ浸潤、石灰沈着からなる病変が認められた。中脳の連続切片を作製したが、中脳水道の閉塞・狭窄は確認できなかった。脳以外の諸臓器には、組織レベルにおいても特筆すべき変化は認められなかった。

【考察】今回の F344 ラットに見られた小脳奇形の肉眼所見はヒトの Dandy-Walker 症候群に類似していた。中脳水道の交通障害は認められなかったが、中脳～延髄の脳室周囲に陳旧性の炎症性病変が見られたことから、胎生期に生じた何らかの原因による炎症性変化が第 4 脳室の拡張を引き起こし、小脳奇形の原因となったことが示唆された。

P-5 ラットの悪性神経鞘腫由来可移植性腫瘍から樹立した培養細胞株(GT-SP)の性状

○渋谷一元, 木崎秀行, 渋谷延子, 布谷鉄夫, 田島正典(日生研)

演者らは第11回本学会において、F344ラットの前胃間質に発生した悪性神経鞘腫から確立した同系ラットで移植・継代が可能な腫瘍株(GT-S)の性状を報告した。今回は同腫瘍から樹立した培養細胞株(GT-SP)の性状を検索したのでその概要を報告する。

【材料と方法】GT-Sの同系ラット皮下移植腫瘍3代目(GT-S#3)を無菌的に摘出し、細切、メッシュろ過の後、5% CO₂培養条件下で培養したところ良好な増殖を示し、継代が可能な細胞株が得られたためGT-SPと命名した。この細胞株について細胞学的、形態学および免疫組織化学的に検索した。また、GT-SPの同系ラットにおける腫瘍原性についても検討した。

【成績】GT-SPは紡錘形から多形性を示し、1あるいは数個の核小体を容れるやや大型の卵円形核および中等量の細胞質を有していた。細胞密度が高くなると重層化しフォーカスを形成するとともに不規則な細長い細胞突起を出すようになった。電顕的に、GT-SPは非常に多くの不規則な細胞突起および細胞質内の豊富な中間径フィラメントが特徴的であった。GT-SPの倍加時間は26時間、軟寒天内においてコロニー形成が可能で、染色体数は50-77の範囲でありモードは66-68であった。免疫組織化学的に、GT-SPはGT-Sと同様にGFAP、ビメンチン、S-100蛋白およびNSE陽性を示すとともに、一部の細胞が α -SMA陽性を示した。GT-SPは同系ラットへの背部皮下接種において腫瘍原性を示し、形成された腫瘍は神経鞘腫のAntoni type AならびにBの両者に類似する組織像を示した。現在、GT-SPの中間径フィラメントの構成を検索中である。

P-6 無処置ラットの各種臓器における
8-hydroxydeoxyguanine (8-OHG) の経年齢的変動

○小林洋三、中江 大、赤井弘幸、岸田秀樹、堀口浩資、佐藤 洋、
田村一利、小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

(目的) 酸化性DNA傷害の1つである8-OHGは、がんを含む加齢性病変の発生に関与すると指摘され、また、発がんリスク評価の指標としての有用性も期待されている。本研究は、ラットを用いた酸化性ストレスに関する研究に対する基礎的情報を得ることを目的に、無処置ラットの種々の臓器における8-OHGのレベルの経年齢的变化について検索した。

(方法) 実験は、無処置のFischer 344系雄ラットを3, 6, 18, 26, 52, 104週齢にて各6匹ずつ屠殺し、脳、心臓、肺、脾臓、肝臓、胃、大腸、脾臓、副腎、腎臓、精巣を摘出し、8-OHGの発生について検索した。8-OHGは、高速液体クロマトグラフィーを用いて生化学的にそのレベルを測定すると共に、抗8-OHG抗体を用いて免疫組織化学的に検索した。

(結果および結語) 8-OHGレベルは、HPLC-ECD法による測定にて肺、副腎、脳および精巣においてラットの全年齢で高値を示した。また加齢により肺と脾臓において増加し、副腎と精巣において減少したが、その他の臓器において大きな変動を示さなかった。また免疫組織化学的検索では、肺にて気管支上皮細胞および血管内皮細胞、副腎にて皮質の特に球状帯および髄質の細胞、脳にてグリア細胞および神経細胞(とくに外顆粒層)と小脳の小顆粒細胞および小皮質細胞、精巣にて精祖および精母細胞、肝にて中心静脈付近の肝細胞と胆管上皮細胞、脾にて脾管上皮細胞、胃にて粘膜上皮細胞(特に基底部分)、腎にて近位および遠位尿細管上皮細胞に分布することが判明した。このうち副腎、小脳および精巣における8-OHG陽性所見は加齢により減少・消失した。

ラットとハムスターの実験腫瘍における テロメラーゼ活性の検索

○ 佐々木 康孝、辻内 俊文、城戸 顕、高濱 誠、崎谷 博征、伊木 勝道、天沼 利宏、白岩 和巳、三井 雅之、長谷川 清彦、堤 雅弘、小西 陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

テロメアは染色体末端に位置し、染色体の安定化や内部遺伝子の発現に関与していると考えられている。テロメラーゼは、テロメアの繰り返し構造を付加するリボ蛋白酵素であり、種々のヒト悪性腫瘍において活性上昇が報告されていることから、癌細胞の不死化にテロメラーゼの活性化が重要な役割を果たしていることが示唆されている。しかし動物実験による報告例は少なく、今回我々は実験動物を用いた発癌系におけるテロメラーゼ活性を検索したので報告する。【材料と方法】（1）コリン欠乏アミノ酸食によって誘発したラット肝過形成結節並びに肝細胞癌（2）N-ethyl-N-nitrosourea(ENU)によって誘発したラット神経膠腫（3）自然発生及び4-hydroxyamino quinoline 1-oxide(4-HAQO)によって誘発したラット骨肉腫皮下継代移植株（4）N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine(BOP)によって誘発したハムスター膵管癌及びその皮下継代移植株・細胞培養株を用い、Telomeric Repeat Amplification Protocol(TRAP)法によってテロメラーゼ活性を測定しイメージアナライザーを用いて正常組織と定量的に比較解析した。【結果】ラット肝発癌系においてテロメラーゼ活性は正常肝組織に比べて過形成結節で平均5.09倍、肝細胞癌で平均5.40倍といずれにおいても著明な上昇を認めた。その他についてもラット神経膠腫で正常脳組織の平均11.59倍、骨肉腫で正常筋組織の平均20.95倍、ハムスター膵管癌では正常膵組織の平均162.9倍と著明なテロメラーゼ活性上昇を認めた。【結語】以上の結果より、動物においてもヒトと同様にテロメラーゼの活性化が悪性腫瘍の発生において重要な役割を演じることが判明した。このことはテロメラーゼの生物学的意義を検索していくうえで、動物を用いた発癌実験系が有用な情報源となり得る可能性を示唆するものである。

みその生物効果 —特にがんの化学予防をめざして—

伊藤 明弘（広島大学・原医研・予防腫瘍）

本邦でみそが書物に登場したのは「徒然草」が最初と云われ、当時は宮廷の人々が賞味する高級食品であった。下って、戦国の武将、信長・秀吉・家康らも合戦で多用したと伝えられている。著者らは、約10年前チェルノブルの原発事故でみそが放射線障害に有効とのエピソード及び広島・長崎の医師や人々が原爆後遺症にみそを用いたことに科学的根拠を与えるため研究を始めた。

現在までに得られた主要な成果

1. 小腸粘膜の放射線障害回復への効果：放射線障害による小腸粘膜の幹細胞再性現象にみそは強い促進効果を示した。
2. マウスの自然発症及び放射線誘発肝腫瘍の発生を有意に抑制した。
3. MNU 誘発ラット乳癌に対し、フラボン体(biochanin A), 大豆と共にみそは有意にその発生率を抑制した。
4. みそとタモキシフェンの併用投与により MNU 誘発乳癌の発生率を高度に抑制し、更に同様の方法で誘発した顕性乳癌の増殖抑制効果を認めた。
5. MNNG 誘発ラット腫瘍及び DMH 誘発大腸腫瘍発生予防効果を確認した。
6. In vitro のヒト胃癌細胞を用いた研究で、イソフラボンに属する biochaninA, genistein, daizein, daizin などについて細胞増殖への効果を検索した結果、biochaninA と genistein の両物質で強い増殖抑制効果を示し、その機序はアポトーシスによることが判明した。

みその成分は多方面からの研究が成され、とりわけフラボン体が有力候補として研究対象になり、著者らもみそ投与ラット血中に genistein(G)の存在を確認した。G. は phytoestrogen の1つであり、欧米を中心にがんの化学予防の1つとして研究が進展している。そのメカニズムと共に報告する。

P-9

ラットとマウスの加齢による鼻粘膜腺の呼吸上皮化生
 - 発生率、好発部位および病理組織学的所見 -

○竹内哲也、野田圭介、桜ゆみ、妹尾英樹、相磯成敏、片桐卓、長野嘉介、松本道男*、奥平雅彦
 (日本バイオアッセイ研究センター、*順天堂大学伊豆長岡病院)

【はじめに】ラットやマウスを用いた長期毒性試験では、加齢による様々な鼻腔の変化が見られるが、それらの種類と発生頻度、および発現部位についての詳細な報告は少ない。今回、加齢ラットとマウスの鼻粘膜腺の呼吸上皮化生についてその発生率、好発部位および組織像を検討したので報告する。

【材料・方法】当センターで実施した F344/DuCrj ラットと Crj:BDF1 マウスを使用した癌原性試験 10 試験の無処置対照群(雌雄各 50 匹/試験)の鼻腔を病理組織学的に検索した。動物は日本チャールス・リバー(株)より 4 週齢で導入し、バリアシステム環境下で 2 週間の検疫・馴化後、金網ケージで個別飼育し、飼料(CRF1)および水を自由摂取させた。試験開始後 104 週(110 週齢)で計画屠殺または途中死亡・切迫屠殺した動物を剖検し、10%中性緩衝ホルマリン固定、脱灰後、鼻腔を切歯の後端(レベル I)、切歯乳頭(レベル II)および第一臼歯の前端(レベル III)の 3 ヶ所で横断し、常法によりパラフィン切片を作製、HE染色を施し、顕微鏡観察を行った。

【結果】鼻粘膜腺の呼吸上皮化生の平均発生率(最小-最大発生率)はラットで雄 93.4%(80-98%)、雌 96.0%(90-100%)、マウスで雄 69.1%(50-86%)、雌 47.8%(26-68%)であった。好発部位はラットではレベル II の鼻中隔背側部および鼻甲介の呼吸部に限られていたが、マウスではレベル I、II、III の背側壁、鼻中隔背側部、鼻甲介または篩骨甲介の呼吸部及び嗅部に広範囲に認められた。病理組織学的には、ラット、マウスともに鼻粘膜上皮の下方に存在する腺組織(主にラットでは鼻腺、マウスでは鼻腺または嗅腺)が線毛を有する呼吸上皮細胞に置換されており、さらに腺腔の拡張や化生上皮の細胞質内に好酸体の出現がみられるものもあった。マウスではラットと比較して程度が強く、化生した腺が粘膜表面と連続し、鼻腔表面の陥凹が著しい像が多くみられた。なおこの変化に細胞の重層化や細胞異型は見られなかった。

P-10

ラットの鼻腔嗅上皮の組織学的基礎データ：とくに嗅上皮、支持細胞層および、嗅細胞層の高さ、ならびに嗅細胞数についての部位別計測値について

○相磯成敏、竹内哲也、野田啓介、妹尾英樹、櫻ゆみ、片桐卓、長野嘉介、松本道男*、奥平雅彦
 (日本バイオアッセイ研究センター、*順天堂大学伊豆長岡病院)

【目的】ラットの鼻腔嗅上皮には化学物質の投与で萎縮などの変化を認めることが多い。今回、ラット鼻腔の病変評価での基礎資料を得るため、嗅部 9 ヶ所について(1)嗅上皮、(2)支持細胞層と(3)嗅細胞層の高さ、および(4)嗅細胞数を光顕的、定量的に調べた。

【方法】F344/DuCrj ラット, 19 週齢, 対照群, 雌雄各 5 匹、レベル II (切歯乳頭の位置で横断) とレベル III (第 1 臼歯の位置で横断) の部位でパラフィン切片を作成し、H&E 染色を施し、下図の 9 ポイントを計測箇所とした。

【結果】5 匹のラットの測定部位の平均値を次の表に示した。

雄	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
嗅上皮の高さ(μm)	56	34	57	35	33	32	68	56	59
支持細胞層の高さ(μm)	17	12	16	12	11	11	17	16	18
嗅細胞層の高さ(μm)	39	23	41	23	22	21	51	40	41
嗅細胞数	4.4	3.2	5.2	2.9	2.6	2.5	6.1	4.8	4.8
雌	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
嗅上皮の高さ(μm)	56	36	56	36	32	30	68	57	60
支持細胞層の高さ(μm)	17	13	16	12	12	11	17	16	19
嗅細胞層の高さ(μm)	39	23	40	25	20	20	50	40	42
嗅細胞数	4.5	3.0	5.0	3.0	2.6	2.3	6.2	5.1	5.0



レベル II レベル III
 — : 嗅上皮分布領域
 ①~⑨ : 計測ポイント

【考察】化学物質の嗅上皮に及ぼす毒性を評価する上で有用な規範になると考える。

○安原加壽雄, 三森国敏, 小野寺博志, 高木久宜, 高橋道人 (国立衛研・病理)

【目的】2,6-Dimethylaniline(DMA)はラット鼻粘膜に親和性を持ち、鼻腔腫瘍を誘発することが報告されている。一方、DMAは動物用医薬品で家畜の鎮静剤として用いられているXylazine(XZ)の代謝物でもあることから、畜産食品中に残留するDMAのヒトへの影響が懸念されている。しかし、DMA誘発鼻腔腫瘍の病理発生は明らかにされていない。今回、その初期病変を組織学的に解析するため以下の実験を行った。【方法】実験Ⅰ：6週齢の雄F344ラットにDMAを3000ppm含有する粉末飼料を自由に摂取させた。実験開始1および4週目に鼻腔を摘出、ホルマリン固定、5%ギ酸で脱灰後前額面で鼻腔を切り出し、切歯後端部、切歯乳頭部、臼歯前端部の横断面についてH-E染色およびPCNA免疫染色を施し観察を行った。実験Ⅱ：6週齢の雄F344ラットを4群に分け、1群にはdiisopropanol-nitrosamine (DHPN) 2400mg/kg単回投与後基礎飼料、2群にはDHPN投与後DMA 3000 ppm添加飼料、3群にはDMA 3000ppm添加飼料、4群には基礎飼料のみを与え4週目に実験Ⅰと同様に鼻腔を検索した。【結果】実験Ⅰ：組織学的に1週では明らかな変化は認められなかったが、4週では背鼻道嗅腺は萎縮すると共に、嗅上皮の丈は低くなった。支持細胞の中には不整形の大型核を有する細胞がみられ、支持細胞の配列も乱れていた。また、不整形の支持細胞においてはPCNA陽性細胞が有意に増加した。実験Ⅱ：3群の組織像は実験Ⅰと同様であった。2群では、3群の病変に加え、嗅細胞の配列の乱れ、嗅細胞層内に嗅細胞の崩壊像および再生細胞が散見された。【考察】鼻腔腫瘍誘発物質の4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone(NNK)やN-nitrosamineではラット嗅腺が発癌標的的部位であるとの報告がある。今回のDMA反復投与においても嗅腺の萎縮がみられ、さらに、支持細胞の大型化がみられた。また、DHPN処置後DMA反復投与により嗅細胞にも変性がみられ、DMA鼻腔腫瘍誘発と嗅腺の萎縮、支持細胞の細胞増殖活性の増加ないし嗅細胞の変性との間に何らかの関連性があるものと推察された。なお、現在52週までのDMAの二段階発癌実験を継続中である。

ラットのブレオマイシン経気管投与肺傷害モデルに対するrhG-CSFの影響 - I
—ブレオマイシン投与直後からのrhG-CSF28日間連続投与—

○鈴木雅実, 足立健児, 伊藤恒夫, 三好昌夫, 三沢保幸, 加藤淳彦,
坂牧義之, 杉本哲朗, 二木カ夫* (中外製薬・安全研, *SLA研)

Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF)は、癌化学療法による好中球減少症に臨床適用され、易感染性の減少や計画通りの化学療法の完遂等、治療効果の向上に寄与している。一方、ブレオマイシン (BLM) のような肺傷害性抗癌剤とrhG-CSFを併用した場合、ごくまれに間質性肺炎が発症するとの報告がなされ、rhG-CSFが肺傷害発症に関与する可能性が示唆されている。そこで今回、ラットのBLM経気管投与肺傷害モデルを用いて、rhG-CSFと肺傷害との関連性を検討した。

10週齢のSD系雄性ラットにBLMを2mg/200 μ l/rat単回経気管投与して肺傷害モデルを作出した。BLM投与日よりrhG-CSFの30ならびに100 μ g/kg (臨床用量の約20倍)を7、14および28日間反復皮下投与した。対照群として、無処置群およびBLM単独群を設けた (各群n=8)。rhG-CSF最終投与の翌日に剖検し、血液学的検査、肺重量測定を行い、摘出した肺については20%中性緩衝ホルマリン液を20cm水柱圧で気管より肺内に注入した後浸漬固定し、右肺前葉、中葉および後葉各1カ所、左肺前部、中部および後部各1カ所、計6カ所を切り出し、HE染色標本作製し、病理組織学的検査を行った。

その結果、BLM単独群では肺重量の増加が認められ、組織学的にはびまん性肺胞傷害、間質性肺炎、肺線維化といった一連の肺傷害像がみられた。rhG-CSF併用群においてもBLM単独群と同様の特徴を有する肺傷害像が認められた。病変の程度をrhG-CSF併用群とBLM単独群とで比較した結果、肺重量に差は認められなかったが、組織学的にはrhG-CSF併用群にBLM投与7日後における肺傷害領域、BLM投与14、28日後における肺線維化にそれぞれ用量依存的な増強傾向が認められた。また、rhG-CSF併用群では、いずれの投与期間においてもBLM単独群に比べて、顕著な末梢血好中球数の増加 (BLM投与7日後: 30 μ g/kg群364%、100 μ g/kg群893%、14日後: 588%、756%、27日後: 1250%、2075%)ならびに病変部への好中球浸潤が認められた。以上の結果より、rhG-CSF作用に伴い増加した好中球がBLM肺傷害に影響すると推察された。

○足立健児, 鈴木雅実, 伊藤恒夫, 三好昌夫, 三沢保幸, 加藤淳彦,
坂牧義之, 杉本哲朗, 二木カ夫* (中外製薬・安全研, *SLA研)

BLM肺傷害モデルへのrhG-CSF併用投与によりBLM肺傷害が増強される可能性が実験Iより推察された。本肺傷害モデルがびまん性肺胞傷害→間質性肺炎→肺線維化という経過をたどることから、併用投与時期の違いによるrhG-CSFの肺傷害への影響を検討した。

10週齢のSD系雄性ラットにBLMを2mg/200 μ l/rat単回経気管投与して肺傷害モデルを作出した。BLM投与3ならびに14日後よりrhG-CSFの100 μ g/kgを7日間反復皮下投与した。対照群として、無処置群、rhG-CSF単独群およびBLM単独群を設けた (BLM投与群n=16, 他の群n=8)。rhG-CSF投与期間中は経時的に血液学的検査を実施し、rhG-CSF最終投与の翌日に剖検し、肺重量測定を行い、摘出した肺については20%中性緩衝ホルマリン液を20cm水柱圧で気管より肺内に注入した後、浸漬固定し、右肺前葉、中葉および後葉各1カ所、左肺前部、中部および後部各1カ所、計6カ所を切り出し、常法に従いHE染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

その結果、BLM単独群では、投与10日後にびまん性肺胞傷害、間質性肺炎ならびに肺線維化がみられ、投与21日後には間質性肺炎像は消退し、線維化像が主となった。rhG-CSF併用群では、いずれの時期からの併用においてもBLM単独群と同様の特徴を有する肺傷害像が認められた。病変の程度のrhG-CSF併用群とBLM単独群との比較では、BLM投与3日後からの併用では、肺傷害領域および肺線維化に増強傾向が認められ、投与14日後からの併用では特に差を認めなかった。また、rhG-CSF併用群では病変部への好中球浸潤が顕著に認められた。なお、rhG-CSF単独群では、顕著な末梢血好中球数の増加がみられたが、肺に異常変化は認められなかった。これらの結果より、rhG-CSF併用はBLM肺傷害モデルの病変形成初期 (炎症初期) に影響し、その病変を増強するものと考えられた。好中球は生体防御機構において重要な役割を果たすが、一方で炎症反応の増強など組織傷害の要因ともなることより、肺傷害の増強には炎症局所への好中球浸潤が深く関与しているものと推察された。

吸入型薬剤の探索的毒性評価法の検討

○川口雅子, 香川雅孝, 葛西靖広, 船生志乃, 和知正幸 [日研化学(株)・安全性]

【目的】

吸入型薬剤の毒性試験では、吸入暴露装置を用いる方法が一般的である。しかし、本装置を用いた毒性試験法は、大量の薬物を要することから、薬物の開発初期における探索的毒性評価には適さない。この様な背景から、今回、吸入暴露装置に代り、少量の薬物で投与局所 (鼻、気管支、肺、口腔) 及び全身に対する毒性を評価する方法の確立を試みた。

【方法】

投与物質は粉末あるいは溶液とした。動物は、鼻腔内及び気管内投与法には雄ラット [Crj:CD (SD) IGS]、口腔内投与法には雄ウサギ (日本白色種) を用い、それぞれ投与最適齢を調べた。器具及び手技について、動物への負荷を極力軽減させ、薬物を確実に投与できる方法を検討した。また、単回投与した時の局所毒性の最適評価時期を検索するため、投与局所の経時的な病理組織学的検査を行った。

【結果】

鼻腔内投与は、麻酔下で7週齢ラットの左右鼻腔内に14~50 μ l/body、気管内投与は、麻酔下で15週齢ラットの気管内に100~2000 μ l/body、口腔内投与は、無麻酔下で4カ月齢ウサギの口腔内に500~4000 μ l/bodyの投与が適当であった。なお、本法により、2週間の反復投与が可能であった。

単回投与後の局所 (鼻腔、気管支、肺、口腔) 毒性を経時的に検索した結果、投与後6~24時間に最も重篤な障害像が認められ、48時間に再生が始まり、7~14日目にはほぼ修復した。

以上、今回検討した方法は、1) 少量の薬物で試験ができること、2) 投与量が明確なこと、3) 外科的処置を施さないことから反復投与が可能なこと、から吸入型薬剤の探索的毒性評価に有用な手法と判断された。また、単回投与後の局所毒性の最適評価時期は投与後6~24時間であった。

○加藤浩司、今井田克己、山口 剛、二口 充、広瀬雅雄、白井智之（名市大・医・1病理）

【目的】ヒトの肺癌は増加傾向にあり、肺腫瘍の抑制物質を見出すことは重要である。そこで今回、我々が開発したラット肺発癌モデルを用いて、完熟トマトやフルーツに含まれるカロテノイドの一種であるLycopeneによる肺発癌過程における抑制効果について検討した。【方法】イニシエーション処置として、ラットの肺組織に対して強い傷害作用を示し、その修復過程で肺胞上皮細胞の高いDNA合成を引き起こす4-methylthiobenzamide (MTB) を0.5mmol/kg b.w. で1回腹腔内投与し、その1日後から肺発癌物質であるdihydroxy-di-n-propylnitrosamine (DHPN)を0.1%濃度で13日間飲水投与した。Lycopeneは50ppm濃度で基礎飼料に混合し、イニシエーション期間中(1群)、期間後(2群)またはその両期間を通じて投与する群(3群)を設けた。さらに陽性対照群として γ -oryzanol群(4群)と基礎飼料対照群(5群)を設けた。16週目に全群屠殺剖検し、摘出した肺は重量測定後10%中性緩衝ホルマリン注入固定を行い、肉眼的に結節性病変を観察後、定法に従いHE染色標本を作製し病理組織学的検索を行った。また、画像解析装置を用いて肺切片の単位面積当たりの肺胞上皮過形成の数および面積を算出した。さらに発生した肺胞上皮過形成の由来の確認のため、「型肺胞上皮細胞を認識する抗ラットSurfactant apoprotein抗体およびクララ細胞を認識する抗クララ細胞抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。【結果】Lycopeneを投与した全群で肺胞上皮過形成の単位面積当たりの数が対照群より有意に減少し、面積においてはLycopeneをイニシエーション期間中に投与した1群で有意に減少した。 γ -oryzanol群では肺胞上皮過形成の単位面積当たりの数で有意な増加を示した。発生した肺胞上皮過形成のほとんどは抗ラットSurfactant apoprotein抗体陽性であり、「型肺胞上皮細胞由来であると考えられた。【考察】以上の結果より、Lycopeneは肺発癌に対して抑制作用を示し、また、イニシエーション時期に投与することで、より有効であることが明らかとなった。

伊藤隆明、三井秀昭、蟹沢成好、北村 均（横浜市大・医・病理）

細胞増殖マーカーを用いての免疫組織化学による細胞動態の解析は、簡便で、比較的再現性も良く、増殖サイクルにある細胞の同定、組織障害の存在の確認、腫瘍の生物学的特性の推定などに有用な方法である。モノクローナル抗体MIB-1による免疫染色は、加熱処理による抗原賦活化法を施すことにより、ホルマリン固定パラフィン切片上において、増殖サイクルにある全ての細胞核を描出しようと考えられているが、マウスやラットなどの小動物には用いることが出来なかった。一方、同様にKi-67を認識するモノクローナル抗体MIB-5は、ラット等の小動物とも反応することが報告されている(Schlüter et al. 1993)。我々は、マウス肺腺癌組織を用いて、MIB-5免疫染色法を確立するとともに、bromodeoxyuridine(BrdU)標識率と比較検討したので報告する。

A/J系雄マウス皮下に、4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO)を投与し、18ヶ月後に肺を採取した。なお、屠殺1時間前にBrdUを腹腔内に投与し、肺は、4% paraformaldehydeで固定後パラフィンに包埋した。パラフィン切片はHE染色を施すと同時に、microwaveによる抗原賦活化法を用い、BrdU抗体(BR3, Caltag)およびMIB-5抗体(Immunotech)による免疫染色を行った。BrdU標識率およびMIB-5陽性率は、腫瘍細胞核500個を観察し算出した。

4NQO誘発マウス肺腺癌におけるBrdU標識率とMIB-5陽性率は、それぞれ $2.7 \pm 1.5\%$ 、 $5.2 \pm 2.2\%$ であり、MIB-5陽性率はS期標識率であるBrdU標識率と非常に良く相関し、Ki-67抗体陽性率がBrdU標識率の約2倍であるという報告(Shibuya, et al., 1993)と一致した結果が得られた。このように、MIB-5免疫染色法は、マウスなどの実験動物の細胞増殖のマーカーとして優れていることがわかった。

○佐藤元信¹・宮田裕人¹・八木健一¹・木島春子²・磯部好彦²・木村正明¹・樽本保男¹ (大正製薬, ¹安全研, ²薬理研)

【目的】*Helicobacter pylori* (Hp) の感染と胃炎誘発や胃潰瘍再発との関連性が報告されており, 我々も潰瘍治癒における Hp 除菌の重要性を, Hp 感染スナネズミ胃酢酸潰瘍モデルを用いて報告した(1997年米国消化器病学会). 今回, 上記潰瘍モデルの病態像及び治癒過程における種々の薬物の修飾効果について病理組織学的検討を加え, 本実験モデルの有用性を検討した.

【材料及び方法】6週齢の雄スナネズミ (MGS/Sea) の胃漿膜下に10%酢酸(20 μ l)を注入, 4日後に Hp (ATCC43504, 10⁸CFU/head) を経口接種した. 感染1週後より, クラリスロマイシン (CAM) あるいは H₂-receptor antagonist (ピプチジン) を1日2回2週間経口投与する群及び2剤併用投与群も設けた. なお, 対照には非感染潰瘍動物を用いた. 感染1, 2, 3, 4週後に剖検し胃を摘出, 20%中性緩衝ホルマリン液あるいは冷カルノア液にて固定, 潰瘍中心部を通る3 μ mパラフィン切片を作製, HE及びマッソントリクローム染色を施して病理組織学的に検索した. 潰瘍治癒の組織評価は Umehara らの方法に従い, Healing index 及び Regenerated mucosa index を算出した. また, 冷カルノア固定標本を用いて免疫染色を施し, Hp の局在性を検討した.

【結果】

- ・Hp 感染により炎症細胞の高度な浸潤がみられた. 浸潤部位は潰瘍病変より遠位側(幽門側)の粘膜, 粘膜固有層, 粘膜下織に顕著に観察され, リンパ濾胞の形成も認められた. Hp は潰瘍部再生粘膜の表層粘液内にも局在していた.
- ・Hp 感染群と非感染群との比較により, Hp 感染による有意な潰瘍治癒(粘膜の再生, 潰瘍の縮小)遅延が認められた.
- ・CAM あるいはピプチジン投与により潰瘍治癒が促進し, 更に CAM 投与では炎症細胞の浸潤も軽減した.
- ・CAM とピプチジンの併用投与により更なる治癒の促進が認められた.

【まとめ】本実験において, Hp 感染によるスナネズミ胃酢酸潰瘍治癒の遅延と胃炎誘発及び薬物投与による修飾効果が組織学的に示され, Hp 感染スナネズミ胃酢酸潰瘍モデルの有用性が示唆された.

○野田圭介、竹内哲也、櫻ゆみ、妹尾英樹、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介、松本道男*、奥平雅彦 (日本バイオアッセイ研究センター、*順天堂大学伊豆長岡病院)

【はじめに】ウロトロピン(1,3,5,7-テトラザトリシコ [3.3.1.1^{3,7}] テカ)は、合成樹脂の硬化促進剤、発泡剤、ゴムの加硫促進剤などに用いられている。今回、ウロトロピンを飲水に混ぜ2週間及び13週間経口投与したところ、ラット及びマウスの腺胃に変化がみられたので報告する。

なお、この試験は労働省の委託により実施した。

【方法】6週齢のF344/DuCrjラット及びCrj:BDF1マウスにウロトロピンを溶解した飲水を自由摂取させた。投与濃度は、2週間試験はラット、マウスとも0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10%、13週間試験はラット0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4%、マウス0, 0.5, 1, 2, 4, 8%とし、各濃度とも1群雌雄各10匹を用いた。投与終了後全例について剖検し、2週間試験では各濃度2匹以上、13週間試験では全動物について病理組織学的検索を行った。また、13週間試験では腺胃の胃底腺領域の粘膜の厚さを表層(胃小窩)、中層(壁細胞が主体を占める部分)、深層(主細胞が主体を占める部分)に分けて、顕微鏡下でマイクロメーターにより測定した。更にPCNA染色を行い、腺胃の腺頸部細胞の増殖活性を評価した。

【結果・考察】<2週間試験>ラットでは雌雄とも5%及び10%群で腺胃の胃底腺壁細胞に空胞変性がみられた。マウスでは雌雄の10%群に壁細胞の空胞変性がみられた。<13週間試験>腺胃の胃底腺粘膜の厚さは、ラットの4%群で雄に表層の高値と中層の低値が、雌に中層の低値が認められた。マウスでは雄の8%群に表層の高値、中層と深層の低値、4%及び2%群に中層の低値が認められ、雌の8%群に表層の高値と中層の低値が認められた。また、PCNA染色により腺頸部における細胞増殖活性の上昇が高濃度の投与群に確認された。これらの結果から、高濃度のウロトロピンは腺胃の壁細胞を選択的に障害し、このため中層及び深層の厚さを減じ、その修復機転として腺頸部の細胞増殖活性が上昇したことにより、表層の粘膜が厚くなったものと推論した。

小林 潔^{1,2}, 後藤和広², 務台衛², 塚本徹哉¹, 山本昌美¹, 立松正衛¹
(¹愛知がんセ・研・1病, ²三菱化学・横浜総研・安全性研)

【目的】 食品中などに広く存在する環境化学物質であるCatechol(CC)は, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 誘発ラット腺胃発癌を促進することが知られている. 今回我々は, N-methyl-N-nitrosourea (MNU) 誘発マウス腺胃発癌に対するCCの促進効果とその性差, 系統差を検討し, マウス腺胃発癌の新たな実験モデルの作製を試みるとともに, MNU-CC処置により形成されたマウス腺胃癌のクロナリティを検索した.

【方法】 6週齢の, [実験1] BALB/c系雄マウス, [実験2] 雌雄のBALB/c系およびC3H系マウス, [実験3] C3H⇔BALB/c キメラマウスにMNU(120ppm)を隔週6週間, 計3週間飲水投与した. 実験開始6週目より, CCを0.8% (実験1では他に 0.05%および 0.2%)の用量で29週間混餌投与した(実験1では14週投与時に中間屠殺群を設けた). 対照としてMNUおよびCC単独投与群を設けた. 屠殺後, 腺胃の腫瘍性病変発生率と腺癌の深達度を検索し, 実験3では抗C3H抗体を用いた免疫染色により同病変のクロナリティを検討した.

【結果と考察】 実験1: 腺胃腫瘍の発生率および腺胃癌の深達度はCC用量依存的に促進され, CCのMNU誘発マウス腺胃発癌に対する促進作用が明らかとなった. 実験2: CCのマウス腺胃発癌促進作用には系統差(BALB/c > C3H)が存在し, C3H系では性差(雌 > 雄)も認められた. 実験3: 腺胃癌は単クローン性増殖であった. 反応性増殖病変は原則として poly clonal な増殖であったが, 同病変の粘膜下への進展部位では単クローン性増殖であったことから, 単クローン性増殖が必ずしも腫瘍性病変でない可能性が示唆された. 実験1~3を通して, 高分化型のみならず低分化型の腺癌が誘発されたことから, 高分化型腺癌のみが誘発されるラットモデルに比較し, より多岐にわたる検索の可能性が示唆された.

【結論】 CCのマウス腺胃発癌に対する促進作用を明らかにした. 本実験系は, 腺胃発癌過程とそれに対するCCの促進作用, ならびに腺胃癌の発生母地を解析する上で有用なモデルであると考えられる.

○湯浅啓史^{1,2}, 稲田健一¹, 塚本徹哉¹, 山本昌美¹, 渡辺敦光³, 立松正衛¹
(¹愛知がんセ・研・1病理, ²田辺製薬・安全研, ³広島大原医研・環境変異)

ヒト胃の腸上皮化生において, 胃と腸の両方の形質を持つ細胞から成る胃腸混合型(GI型)および腸の形質を持つ細胞のみからなる腸型(I型)が存在する事を報告してきた. 今回, ラット胃にX線を照射することによりヒトと同様な腸上皮化生が発生する事に着目し, GI型およびI型化生腺管の推移を検討し, 興味ある結果を得た. 【材料および方法】 5週齢のDonryu系ラット胃部に10GryのX線を2回照射し, 2, 4, 8, 24, 40および77週後に屠殺して胃のパラフィン包埋標本を作製し, 連続薄切を作製後アルシアン青(pH2.5)/PAS染色を施して観察した. 胃の形質を調べる目的でパラドキシカル・コンカナバリリンA染色を, 腸の形質を調べるために腸型アルカリホスファターゼ(I-ALP)免疫染色, 細胞動態をみるためにBrdU免疫染色を施した. 【結果】 ラット胃のGI型腸上皮化生では, 杯細胞に加えて幽門腺細胞やI-ALP陽性細胞が存在するなど様々な亜型がみられた. GI型で幽門腺が存在するものでは化生腺管と幽門腺の境界部に増殖帯があり, 幽門腺を消失したものでは腺底部に増殖帯があった. I型の化生腺管の数はX線照射後には時間経過とともに増加したが, GI型の化生腺管数は照射後8週間から一定の数を示した. また, 化生腺管をひとつの腺管巣として捉えた場合, ひとつの巣の中にGI型とI型化生腺管が存在する場合があった. 【考察】 GI型およびI型腺管数の推移と単一巣内での混合からGI型がI型に変化する事が示唆された.

○笠原健一郎¹、古川文夫¹、西川秋佳¹、李 仁善²、高橋道人¹(¹国立衛研・病理、²韓国啓明大・食品加工)

【はじめに】がん抑制遺伝子をノックアウトした動物では発がん感受性が高まることから、短期の発がん性検索モデルとしての有用性が示唆されている。今回、p53ノックアウトマウスに胃発がん物質である*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine(MNNG)を短期間飲水投与し、26週間後における増殖性変化の発生状況について検討した。【実験材料および方法】p53(+/-)CBA/OYCMマウス(オリエンタル酵母社製、8週齢、雄)を1~4群(投与群)各群5匹ずつ、および5群(対照群)10匹に分けた。1~3群には各々100、50、25ppmのMNNGを8週間、4群には100ppmのMNNGを4週間飲水投与し、その後対照群と同様に水道水を自由に摂取させた。実験終了後、全ての動物について剖検を行い、各臓器をホルマリン固定後、常法に従いHE染色標本を作製、病理組織学的検索を行った。【結果】いずれの群においても体重および一般状態に変化は見られなかった。組織学的にMNNG投与群の胃および副腎において腫瘍性ないし過形成性変化が認められた。即ち、腺胃では幽門部の腺癌が100ppm(8wks)群の1例に、また腺胃被覆上皮の過形成が100ppm群4例、50ppm群2例、25ppm群1例、100ppm(4wks)群3例に観察された。副腎では皮質の腺癌(A-cell type)が100ppm(4wks)群1例に、被膜下細胞の過形成が100ppm(8wks)群2例、100ppm(4wks)群1例に観察された。その他の臓器には増殖性病変は認められなかった。【考察】p53ノックアウトマウスにMNNGを短期間飲水投与した結果、26週間後において腺胃に腫瘍性および過形成性変化が観察された。一般にマウスではMNNGによる胃腺癌の発生は希であるとされることから、本実験における腫瘍発生は意味のある結果と考えられる。さらに本マウスを用いて早期に発がんリスク評価ができる可能性が示された。文献によれば、p53遺伝子がホモに欠損したマウスでは悪性リンパ腫が多発し、多くの動物が22~24週齢で死亡することが報告されているが、今回の実験に用いたヘテロのマウスでは、リンパ腫の発生は見られなかった。また本実験で観察された副腎の腫瘍性および過形成性変化とMNNG投与との関連は不明であるが、副腎が本マウスにおける発がんの標的となる可能性が示唆された。

○尾崎清和、松浦哲郎、松嶋周一¹、丸山博司²、奈良間功(摂南大・薬・安全研、¹塩野義製薬(株)新薬研、²星ヶ丘厚生年金病院)

食品添加物である乳酸鉄をラットに大量混餌投与した場合の全身の変化について第11、12および13回本学会で報告してきた。このうち食道を除く全長の消化管病変である好酸球性胃腸炎は他の鉄化合物では報告されていない。好酸球性胃腸炎はヒト、イヌ、ネコ、ウマ、ヒツジ等多くの動物種でその発生が知られているが、寄生虫感染によるものを除きその原因は不明である。しかし、食事性好酸球性胃腸炎の多くはその組織学的特徴からアレルギー性の機序が疑われている。そこで今回、乳酸鉄投与によって誘発した本病変の発生機序について検討した。

材料及び方法：乳酸鉄(乳酸第一鉄、武蔵野化学)を0.625、1.25、2.5および5%となるように混合した粉末飼料(CRF-1)を5週齢の雌雄のF344ラットに3ヶ月間摂取させた。通常の血液学的、血液生化学的検査に加えて、血清中のIgE濃度を計測した。組織標本にはHE、トルイジンブルー、ルナ、鉄染色に加えて抗ラット肥満細胞プロテアーゼII、ラットCD8抗体を用いた免疫染色を施した。また、盲腸に関しては電顕検査を行った。

結果：血液学的に好酸球が増加していたが、血清中のIgE濃度は変動しなかった。組織学的には食道を除く消化管全域に好酸球の浸潤が見られた。好酸球浸潤は粘膜固有層および粘膜下織に強く、一部は筋層・漿膜にも波及し、例によっては腸間膜や腸間質にも観察された。しかし、粘膜上皮細胞間への浸潤は極めて稀であり、粘膜上皮細胞の変性・壊死の像も乏しかった。好酸球の浸潤部には肥満細胞も浸潤し、粘膜固有層には鉄を食したマクロファージも観察されたが、浮腫やリンパ球浸潤は見られなかった。また、粘膜上皮間のglobule leukocyteは増数するとともに胃では顆粒が巨大化していた。Globule leukocyteは抗ラット肥満細胞プロテアーゼIIで陽性を示し、CD8で陰性であった。電顕観察では好酸球、肥満細胞およびglobule leukocyteの明瞭な脱顆粒は観察できず、粘膜上皮間に浸潤した好酸球に隣接している上皮細胞に軽度の変性・壊死が認められたが、その数は非常に少なかった。

考察：Globule leukocyteは結合組織中の肥満細胞と同様に抗ラット肥満細胞プロテアーゼII陽性、CD8陰性であることから粘膜型肥満細胞と考えられた。好酸球浸潤、肥満細胞の増数とglobule leukocyteの増加は、この病変の発生へのI型アレルギーの関与を示唆していた。しかしながら、血清中のIgE濃度は対照ラットと同レベルで、組織学的にも浮腫等の所見を欠いていた。また、超微視的にも好酸球、肥満細胞およびglobule leukocyteの脱顆粒やその周囲細胞の変性・壊死に乏しく典型的なI型アレルギーによる病変とも異なっていた。

P-23

Methotrexate経口反復投与によるイヌの小腸 5-hydroxytryptamine(5-HT)陽性細胞に対する影響

○三沢保幸¹, 山本美佐江¹, 岩井毅¹, 三好昌夫¹, 伊藤恒夫¹, 杉本哲朗¹, 二木力夫²
遠藤泰³, 平藤雅彦³, 南 勝³ (中外製薬・安全研,²S L A研,³北海道医療大・薬・薬理)

シスプラチンなど抗癌剤投与により発現する嘔吐は、消化管粘膜におけるセロトニン(5-HT)の増加と関連することが報告されている。先に我々は葉酸代謝拮抗阻害を示すMethotrexate(MTX)が、嘔吐モデル動物フェレットにおいて小腸における5-HT量ならびに5-HT陽性細胞を増加させることをはじめて報告した(第24回日本毒科学会)。これはdelayed emesisを特徴とするMTXにおいて興味ある知見として注目される。今回は、イヌの小腸に対する影響を検討した。

6~7カ月齢の雄ビーグル犬を用いた。MTXの0.02, 0.04および0.08mg/kgの3用量群と溶媒対照群(0.1Mリン酸緩衝液)を設け、各群に3匹を充当し、1カ月間連日経口投与した。投与終了翌日に、小腸の中間部(空腸)を採取し、粘膜の5-HT量をHPLC法にて測定した。また、隣接部位からパラフィン包埋標本を作製し、H-E染色および抗5-HT抗体(DAKO社)による免疫染色を施し、横断面の5-HT陽性細胞数を計測した。

0.04mg/kg群の2例で投与後2ないし17日以降に、また0.08mg/kg群の全例で投与後2~4日以降に嘔吐が発現した。小腸5-HT量($\mu\text{g/g tissue}$)は、溶媒対照群の 2.8 ± 0.9 (平均値 \pm SD)に対し、0.04mg/kg群では 9.0 ± 5.4 , 0.08mg/kg群では 23.5 ± 12.8 と増加した。病理組織学的には、0.04と0.08mg/kg群で粘膜の萎縮がみられ、萎縮粘膜には水腫、腺腔拡張、単細胞壊死が認められた。さらに0.08mg/kg群では、粘膜の線維化、上皮の細胞異型、空胞化に加え消化管内分泌細胞である基底顆粒細胞の増加、腫大も観察された。抗5-HT免疫染色標本による小腸横断面の5-HT陽性細胞数(cells/section)は、溶媒対照群の 1238 ± 31 (平均値 \pm SD)に対し、0.08mg/kg群では 3030 ± 412 と増加した。

以上、MTXはイヌにおいても小腸の5-HT陽性細胞すなわちEC細胞を増加させ、同細胞の増加により小腸5-HT量を増加させることが明らかとなった。また、EC細胞の腫大がみられることから5-HT合成能の亢進が示唆された。さらに今回の実験では嘔吐発現が投与後2日以降であり、急性嘔吐発現に関連するとされる5-HT放出作用は弱いことが推察された。

P-24

PhIPによる大腸発癌に対する新規合成抗酸化剤HTHQによる抑制効果

○二口 充¹, 広瀬雅雄¹, 今井田克己¹, 高橋 智¹, 三木徳太郎²,
白井智之¹ (¹名市大・医・1病理,²日本ハイボックス(株))

【目的】2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)は、加熱食品中に存在するヘテロサイクリックアミン(HCA)でラットでは大腸、乳腺、前立腺に発癌標的性があり、欧米型のがんを発生させる環境発癌物質として注目を集めている。今回、1,2-dimethylhydrazine (DMH)二段階発癌を応用し、PhIP誘発大腸および前立腺発癌に対するHTHQの抑制効果を検討した。【方法】動物は6週齢のF344雄ラットを用いた。イニシエーション処置としてDMHを40mg/kg体重を週1回計4回皮下投与する群、DMH投与後PhIP0.03%を混餌投与する群、PhIPと同時に0.5%あるいは0.125%HTHQを投与する群の計4群にわけ、36週で屠殺剖検し、大腸および前立腺を中心に組織学的検索を行い、HTHQの抑制作用を検討した。さらにPhIPと0.5%あるいは0.125%HTHQを同時に2週投与し、BrdUおよびPhIP-DNA adduct免疫組織染色を行い、大腸および前立腺上皮の標識率を算出した。【結果】DMH処置後PhIP投与群ではDMH単独投与群に比べ腺腫および癌の頻度、発生個数ともに有意に増加した。一方、0.125%あるいは0.5%HTHQを同時に投与した群では用量依存性に発生個数が減少した。また前立腺ではPhIPの投与で異型過形成の発生が観察され、これらは0.125%あるいは0.5%のHTHQ投与により、用量依存性に抑制された。さらにBrdUおよびDNA-adduct抗体染色による大腸および前立腺上皮における標識率はいずれもHTHQの同時投与で用量依存性に減少した。【考察】HTHQはPhIPの雌ラットにおける乳腺発癌のみならず、雄ラットでは大腸および前立腺発癌も強く抑制することが判明し、その機序としてPhIP-DNA adduct生成の阻害および細胞増殖の抑制の関与が示唆された。

○内田和美・角 将一・尾上正治（ヤクルト本社・中研）

【目的】 近年 Aberrant crypt foci (ACF) は、大腸癌の intermediate biomarker として広く利用されている。演者等はこれまで杯細胞型粘液の性状を観察し、ACF を構成するクリプト数と大腸癌との関連性を検討してきた。今回は Concanavalin A (Con A) パラドックス染色により ACF の特性を明らかにした。

【材料および方法】 5個以下のクリプトから成る ACF は6週齢の雄 F344/Du:Crj ラットに 1,2-dimethylhydrazine·2HCl (DMH) の 20mg/kg を1週間間隔で2回腹腔内投与したラットから、DMH の初回投与後8週目と35週目に採取した。6個以上のクリプトから成る ACF と腫瘍は5週齢の同系ラットに DMH の 50mg/kg を1週間間隔で10回皮下投与したラットから、初回投与後15週目に採取した。これらの検査材料はいずれも遠位部結腸由来のものを使用し、10%緩衝ホルマリン液で固定した。ACF を構成するクリプト数の確認は、湿標本を 0.2%メチレンブルーで染色して実体顕微鏡下で行った。検査材料をパラフィン包埋し、H-E 染色標本、高鉄ジアミン-アルシアンブルー pH2.5 染色標本及び Con A パラドックス染色標本を作製して観察した。

【結果】 腺癌の粘液細胞型粘液はⅡ型と不安定なⅢ型粘液が主体の反応性を示した。5個以下のクリプトから成る ACF のうちスルホムチン (SuM) 優位な 1-3クリプトから成る ACF では、不安定なⅢ型粘液の反応性を示すクリプトが多く、8週目に比べて35週目で有意な増加を示した。異形成を伴わない他の ACF では Con A パラドックス染色に反応性を示さないクリプトがほとんどであった。軽度異形成を伴う ACF ではⅡ型粘液主体の ACF の出現頻度が増加した。

【まとめ】 ACF では糖鎖構造の変化が確認され、3クリプト以下の SuM 優位な ACF では回復性が示唆された。また ACF の一部には腫瘍に移行するものがあると考えられた。

○土屋 毅幸, 杉本 次郎, 小林 潔, 後藤 和広, 佐野 文子, 務台 衛

(三菱化学・横浜総研・安全性研)

【緒言】 L-azaserine(AZ)は、ラット膵臓に腺房細胞の増殖性病変を誘発し、トリプシ阻害剤(TI)は、CCK を介してその増殖性病変の発育を促進させることが知られている。しかし、これらの化合物により誘発された増殖性病変の回復性についての研究はなされていない。今回、我々は AZ と TI により誘発したラット膵臓増殖性病変の形成過程および可逆性について病理組織学的に検討した。

【材料・方法】 3週齢の Crj:Wistar 系ラット 42匹 (AZ+TI 群) に、AZ を 30mg/kg 単回腹腔内投与後、TI として Camostat mesilate を 6000ppm の濃度で基礎食に混ぜ 33週間投与した。TI 投与開始後 8, 16, 24 および 33週に動物を屠殺し膵臓を採取した。対照として無処置群, AZ 単回投与群, TI 投与群を設けた。さらに無処置群と AZ+TI 投与群には9週間休薬群を設けた。膵臓は、常法により H.E.染色標本を作製し病理検査に供した。認められた腺房細胞過形成(過形成)および腺房細胞腺腫(腺腫)については径を測定し群平均を求めた。増殖性病変の鑑別は J.F.Hansen ら¹⁾の診断基準(径<5mm:過形成, 5mm≤:腺腫)に従った。

【結果とまとめ】 AZ+TI投与群では、8週~33週で腺房細胞肥大および多発性の結節性過形成が全例に認められた。過形成は経時的に大きさ(径:mm)を増した(8週:0.31±0.07, 16週:1.32±0.24, 24週:2.25±1.03, 33週:3.03±0.29)。16, 24および33週には腺腫が認められ、その発現頻度(16週:2/12, 24週:3/12, 33週:5/7)は、経時的に増加した。過形成と腺腫を構成する細胞および組織形態は類似しており、これまでの報告¹⁾と同様に、過形成から腺腫に至る組織学的な連続性が確認された。AZ群では8週から、TI群では24週から過形成が見られたが、いずれの群も33週まで腺腫は認められなかった。9週間休薬後、AZ+TI投与群(n=5)では腺房細胞肥大および腺腫は認められなかった。過形成の大きさ(径)は2.15±0.28であり、AZとTI処置で誘発された腺腫を含む腺房細胞の増殖性病変には縮小傾向が認められた。これらは、TIによる腺房細胞の肥大および増殖刺激が休薬により消失したことによると考えられ、大きさを指標として腺腫と診断されるAZ+TI処置による膵臓の腺房細胞腫瘍には、TIによる増殖刺激に可逆的に反応するものが含まれる事が示唆された。

1) Hansen JF, Ross PE, Makovec GT, Eustis SL, and Sinler RE. (1995) Proliferative and Other Selected Lesions of the Exocrine Pancreas in Rats, GI- 6 In: Guides for Toxicologic Pathology. STP/ARP/AFIP, Washington, DC.

○竹川潔、三森国敏、小野寺博志、高木久宜、安原加壽雄、高橋道人
(国立衛研・病理)

【緒言】ヨウ化カリウム (KI) のラット癌原性試験において、雌雄の 1000 ppm 飲水投与 (ヨウ素過多) 群の唾液腺に扁平上皮癌が誘発されることを演者らは既に報告した (第 56 回日本癌学会)。その発現メカニズムとしては、同群では顎下腺に扁平上皮化生を伴う小導管の増生が高頻度にみられたことから、KI の導管障害に基づく二次的な発癌の可能性が推察された。種々のヨウ素化合物がラットおよびヒトの唾液腺に毒性変化を引き起こすことが報告されていることから、今回、KI および他のヨウ素化合物がラットの唾液腺のいずれの部位を標的とするかを明らかにする目的で以下の実験を行った。

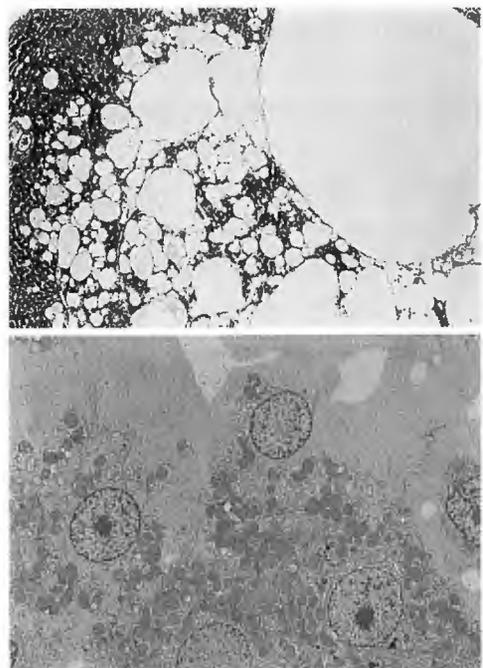
【方法】6 週齢の雄性 F344 ラットを 5 匹からなる 8 群に分け、KI、ヨウ化ナトリウム (NaI) およびヨウ化メチル (CH₃I) を 4 週間強制経口投与または飲水 (NaI は混餌) 投与した。対照群の強制投与群には水道水を投与した。体重増加が抑制されない投与量を用い、強制投与群と飲水・混餌群の一日当たりの摂取量が同等となるよう飲水・混餌投与量をその都度変更した。投与終了後唾液腺について組織学的検査を行い、BrdU 陽性率を検索した。【結果】KI の強制投与群および飲水群では、顆粒状膨大部の顆粒減少および小葉間導管の炎症性変化 (細胞浸潤および線維化) を伴う上皮の重層化 (一部は扁平上皮化を示す) が 5/5 例に、線維化を伴う腺房萎縮/小導管増生巣が一部の例に認められた。NaI の強制投与群および混餌群では、KI と同様の変化がほぼ全例にみられ、その程度は KI よりも強かった。CH₃I の強制投与群においては全例に上記と同様の小葉間導管の変化がみられた。BrdU 陽性率は、KI、NaI および CH₃I 群の小葉間導管および KI および NaI 群の小導管増生巣において上昇した。【考察】3 種の化合物に共通して小葉間導管の組織変化がみられたことから、3 化合物の唾液腺に対する影響は同様の性質であると考えられるとともに、導管系の障害が先に発現し、二次的に NaI にみられたような腺房萎縮/小導管増生に至る可能性が示唆された。

○妹尾英樹、竹内哲也、野田圭介、櫻ゆみ、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介、松本道男*、奥平雅彦
(日本バイオアッセイ研究センター、*順天堂大学伊豆長岡病院)

肝臓にみられる spongiosis hepatitis は 1981 年 Bannasch により *N*-nitrosomorpholine 投与のラットで記載された変化である。労働省の委託でおこなった 1,4-Dioxane のがん原性試験で著明な spongiosis hepatitis 様の変化を認め、この変化を透過型電顕で超微形態的に検討したので報告する。

【方法】F344/DuCrj ラット (雌雄各 50 匹/群) に 1,4-Dioxane を 0, 200, 1000 および 5000ppm の濃度で 6 週齢より 110 週齢まで自由飲水摂取させた。全例を剖検して光顕標本を作製し、さらに、解剖時にみられた肝臓の多嚢胞状結節の電顕標本を作製して検索した。

【結果・考察】投与群の肝臓には光顕的に spongiosis hepatitis 様の変化、すなわち、多数の大小異なる空胞状変化が巣状に存在する像 (写真上) がみられ、5000ppm 投与群では雄の 40/50 例と雌の 20/50 例にこの変化の発生をみた。また、肝細胞腺腫/癌の発生増加もあり、spongiosis hepatitis 様変化は腫瘍結節の内外に観察された。超微形態的には肝細胞の細胞質内に微細な顆粒の分散する空隙が生じ、この空隙が複数の肝細胞の細胞内小器官を押し分けて広がる像がみられた (写真下)。spongiosis hepatitis は類洞壁細胞の変化とされているが、1,4-Dioxane の投与により発現した spongiosis hepatitis 様変化は超微形態的には肝細胞の変化と考えた。



○市村英資、原和久、富田典之、吉兼崇彦、内田則子、後藤絵梨、江原敬子、
林幹人（日本化薬安全性グループ）

フェノバルビタール(PB)は代表的な薬物代謝酵素誘導剤であり、肝臓を対象とした実験に頻用されている。しかし、肝臓に対する毒性はイヌやヒト等で報告されているがラットについては報告が少ない。今回、我々はSD系雄ラットにPBを5日間腹腔内投与した際の肝臓への影響についてPBの用量及び絶食の及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】8週齢のSD系雄ラットにPB 0,20,40,60 mg/kg BWを自由摂食及び絶食下で5日間腹腔内に投与した。投与最終日の午後に全例を剖検し、肝臓重量を測定後、10%緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従って光顕標本を作製し検索に供した。また、剖検時に腹部大動脈より採血し、肝機能指標となるGOT,GPT,総ビリルビン、ALP,GLDHを測定した。

【結果】PBを投与された動物では肝臓の被膜下に限局性の肝細胞壊死が散見された。この変化は用量増加に伴い、強く認められた。また、絶食によって増強された。血液生化学的な変化ではGLDHの上昇とGOT,GPTの軽度な上昇が認められ、GLDH値がこの壊死巣の障害の程度を示す傾向があった。

【結論】PB投与により、ラットの肝臓被膜下に限局性の肝細胞壊死巣が生じ、この病変は絶食により増強された。この病変はPBの肝細胞に対する直接的な毒性というよりも肝臓末梢循環における障害の結果生じたと考えられる。

○平川公昭、仲辻俊二、井戸側博一、中村正典、畠山真理子、滝岡恵里子、松田宗人¹、森元康夫¹
(鐘紡・薬品開発第一研究所、¹同・漢方研究所)

【緒言】ブタ血清誘発肝線維症モデルは肝細胞壊死を伴わない肝線維化を特徴としており、その機序には非実質細胞の関与が示唆されている。近年、小柴胡湯は肝におけるコラーゲン産生を抑制することが示され、ヒト肝線維症の治療効果が期待されている。今回、我々はブタ血清誘発肝線維症モデルにおける小柴胡湯の影響を肝非実質細胞(マクロファージ、類洞壁細胞)の変化に着目して観察し、その作用機序についての解析を試みた。

【方法】8週齢Wistar系ラットにブタ血清を週2回8週間腹腔内投与し、同期間中小柴胡湯を1.5%及び4.5%の割合で毎日混餌投与した。また、ブタ血清のみを投与した対照群並びに無処置群を設定した。投与4および8週目にエーテル麻酔下、腹部大動脈より採血後、肝臓を摘出した。常法に従ってパラフィン切片を作製しHE、アザン染色に加え、 α -平滑筋アクチン(α -SMA)、ED1抗体を用いた免疫染色を行った。アザン染色標本を用いて画像解析により線維化領域を計測した。

【結果】4週間のブタ血清投与では、肝細胞の軽度の変性・壊死及び炎症反応が門脈域及び中心静脈域にみられ、 α -SMA及びED1陽性細胞がわずかに増加したが、明らかな線維化は観察されなかった。一方、8週間のブタ血清投与では、門脈域及び中心静脈域で明らかな線維化が認められた。 α -SMA及びED1陽性細胞はいずれも線維化領域で明らかに増加した。小柴胡湯投与の影響は、4.5%投与群で4週間投与では変性・壊死及び炎症反応を示す領域が減少し、8週間投与で線維化領域が明らかに減少した。また、 α -SMA及びED1陽性細胞は4及び8週間投与のいずれにおいても対照群に比べて減少した。画像解析により線維化領域を計測した結果、8週間投与の小柴胡湯4.5%投与群では対照群に対して線維化率が有意に低下したが、1.5%投与群では対照群と同様であった。

【まとめ】本モデルによる肝線維化に対する小柴胡湯の抑制作用が示された。この作用機序の一つには肝線維化に重要な役割を果たしていると考えられる肝非実質細胞に対する小柴胡湯の関与もあると考え、現在さらに検索中である。

P-31

DDT投与ラット肝に関する 免疫組織学的検索

○高木鉄也¹、上塚浩司¹、篠塚淳子¹、鈴木道雄¹、武田真記夫²、
原田孝則²、中山裕之¹、土井邦雄¹（¹東大・農・獣医病理、²残農研）

短～中期二段階発癌モデルを用いた研究により、多くの発癌プロモーターによって細胞の増殖やギャップ・ジャンクションなどに大きな変化が生じることが報告されている。今回、DDTをプロモーターとする8週の試験を行い、主に免疫組織学的手法によりその影響を検討した。

【材料および方法】

6週齢のF344雄ラットにdiethylnitrosamine (DEN, 200mg/kg b.w.)を腹腔内投与後、2週目よりDDT (0, 500ppm)を混餌投与した。3週経過時に半数のラットに2/3肝部分切除 (P.H.)を行い、全経過8週で剖検した。肝のパラフィン切片および凍結切片を用い、Connexin (Cx) 26, 32, CYP2B1、GST-P、PCNA (PC10)、TGF- β 1の各抗体を用いた免疫染色およびTUNEL染色を行った。

【結果】

DDT投与群では、P.H.実施の有無に関わらず、小葉中心性に腫大した好酸性細胞の増殖が認められた。P.H.実施群では肝細胞小増殖巣 (AHF)も散見された。両細胞増殖巣ではともに、PCNA陽性細胞数およびCYP2B1陽性細胞数が著しく増加し、また細胞膜上のCx32の発現が抑制されていた。GST-P陽性巣はP.H.実施群にのみ認められた。Cx26（小葉中心辺縁部のみに発現する蛋白）は、DDT投与群、非投与群で差は見られず、TGF- β 1およびTUNEL染色に関してはいずれも陰性であった。

【結論】

DDT投与ラットでは、P.H.実施の有無に関わらず好酸性細胞が増殖し、これらの細胞増殖活性の上昇と細胞膜上のCx32発現の抑制が確認された。現在、この免疫組織化学的検索の結果と比較すべく、*in situ* hybridization法による検索を実施中である。

P-32

A Study on Gap Junctional Intercellular Communication of Rat Liver Epithelial Cells Exposed with Airborne Complex Mixture

JH PARK, JM YANG, BC KANG, YS LEE(SNU, COLLEGE OF VET.)

We collected airborne complex mixtures in a industrial area of Yeochun, and examined whether these complex mixtures could affect gap junctional intercellular communication (GJIC) in a cultured WBF-344 rat liver epithelial cells(LEC). Since the reduction of GJIC plays an important role in chemical carcinogenesis, measurement of changes of GJIC is a meaningful method to screen carcinogenicity of these mixtures. High and low volume samples were dissolved in dimethyl sulfoxide(DMSO), and tested. Blank filter extractions were also examined for excluding possible toxicity of filter itself, and TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) and DMSO were used as positive and negative control, respectively. When the cells were exposed to samples at concentration below that required to maintain rather than 85% cell viability based on the result of neutral red uptake assay, maximal inhibition of GJIC was observed at 1hr after treatment with both high and low volume samples by scrape-loading dye transfer assay. In fluorescence recovery after photobleaching assay, recovery rates via gap junctions were 33%/min in high volume sample and 62%/min in low volume sample. In together, airborne samples collected in Yeochun inhibited GJIC in a cultured WBF-344 rat LEC. These results suggest airborne samples tested in this experiment may attribute to cause a certain type and degree of cancers in *in vivo* when exposed for some periods.

○赤井弘幸、中江 大、岸田秀樹、小林洋三、堀口浩資、安藤信明、白岩和巳、丸山博司、斉藤 直敏、小西陽一 (奈良医・がんセ・腫瘍病理)

8-OHGは、主要な酸化性DNA傷害であり、がんをはじめとする種々の加齢性病変の発生に関与すると指摘されている。しかしながら、その検出は主として生化学的手法により組織全体を用いて行われており、各組織内の個々の細胞における分布などを詳細に把握できない。そこで、本研究は、四塩化炭素によるラットにおける酸化性肝細胞傷害系を用い、8-OHG免疫組織化学的検出法を試みた。

動物は、6週齢のFischer 344系雄ラットを用い、四塩化炭素を体重kg当り1mgの用量で強制経口投与し、投与後0、4、12、24、48および72時間に各5匹ずつを屠殺し、肝を摘出後アセトンで固定し、パラフィン包埋した。8-OHGの免疫組織化学的染色は、オートクレーブによる抗原賦活後、RNaseと2N塩酸処理を経てABC法で行った。8-OHGレベルは陽性肝細胞率を算出した。

その結果、投与後0時間では、4.6%の肝細胞が散在性に陽性を示した。投与後4時間では、zone3において肝細胞壊死が軽度に見られるが、8-OHG陽性肝細胞率は全zoneにおいて増加した。その後、zone3を中心に壊死が広がり、投与後12-48時間では、8-OHG陽性肝細胞率は減少し、投与後24および48時間ではコントロールレベルに至った。投与後72時間では、壊死はほぼ消失しているが、8-OHG陽性肝細胞率はコントロールレベルより低値を示した。なお、クッパー細胞と類洞内皮細胞には8-OHG陽性所見を認めなかった。

以上の結果より、パラフィン包埋切片を用いた8-OHGの免疫組織化学的検出が可能であるとともに、ラット肝において、四塩化炭素投与により8-OHGは壊死の発生に先行して肝細胞に特異的に誘導され、壊死の消失と同時期に8-OHGも修復されることが判明した。

○今井俊夫^{1,2}、田代俊文¹、佐藤国夫¹、木村正美¹、福田種男¹、細川 暁¹、山本昌美²、塚本徹哉²、立松正衛²
(¹エーザイ・安全研、²愛知がんセ・研・1病理)

ラット肝発癌過程において、免疫組織化学による glutathione S-transferase-P (GST-P) 陽性小増殖巣の一部が、組織化学的 γ -glutamyltransferase 活性低下に続いて GST-P mRNA の低下を示すことを、昨年の本学会で報告した。また近年、transforming growth factor- α (TGF- α) の発現は、小増殖巣から腫瘍発生へのプログレッション過程に関与していることが指摘されている。今回、小増殖巣における GST-P mRNA および TGF- α の発現と PCNA を指標とした細胞動態とを対比し、各々の発現と小増殖巣の発育との関連性について考察した。 **材料および方法**：動物；7週齢 F344 雄ラット9匹を使用した。処置；DEN 200mg/kg b.w.腹腔内投与2週後より150ppm 2-AAF混餌投与を2あるいは6週間、DEN投与3週後にPHを行った。PH 0および5週後に各3匹を屠殺して肝試料を採取した。免疫組織化学；パラフィン切片を用いて、TGF- α 単独染色および GST-P と PCNA の二重染色を行った。In situ hybridization；ジゴキシゲニン標識RNAプローブを用いて GST-P mRNA の発現を検索した。各々 ϕ 0.2mm 以上の陽性細胞巣を検索対象とした。 **結果**：TGF- α 陽性小増殖巣の検索；PH 1 週後、TGF- α 陽性巣はほとんど認められなかった。PH 5 週後には、一部の GST-P 免疫染色陽性結節において TGF- α の発現がみられ、その一部において PCNA 陽性率が高い傾向がみられた。GST-P mRNA 陽性小増殖巣の検索；PH 1 週後に、GST-P 免疫染色による陽性巣と一致して GST-P mRNA が強陽性を示し、いずれの細胞巣においても PCNA 陽性率は高かった。PH 5 週後には、一部の GST-P 免疫染色陽性結節において GST-P mRNA の発現が著しく低下し、GST-P mRNA の持続的な発現がみられる細胞巣において PCNA 陽性率が高い傾向がみられた。 **まとめ**：ラット肝発癌過程の初期段階において、GST-P mRNA の持続的な発現が小増殖巣の発育の一つの指標になることが示唆された。また、小増殖巣の発育に関与する増殖因子の一つとして TGF- α が重要であることが示された。

P-35

Fischer 344 ラットの化学肝発癌 protocol による肝前癌病変及びLEC ラットの自然発生肝前癌病変におけるメタロチオネインの発現

佐藤正邦(札幌医大・病理、(財)化学品検査協会)、榎本克彦(秋田大医・病理)、服部淳夫(札幌社保総合病院)、澤田典均(札幌医大・病理)、都築直人(札幌医大・病理)、森道夫(札幌医大・病理)

メタロチオネイン(MT)は、重金属などによって誘導されるいわゆるストレス蛋白の一種で、ある種の腫瘍における発現の報告があるが、発癌過程におけるMTの役割に関する報告は少ない。今回我々は、Solt-Farber protocolを用いて作成したFischer 344ラット肝前癌病変及びLECラットの自然発生肝前癌病変におけるMTの発現を免疫組織化学的に検索した。LECラット肝については銅の検索を行うと共に、肝細胞癌についても検索した。

Fischer344ラットを用いた実験では、MTの染色性は92.8%のGST-P陽性肝前癌病変において周囲組織より増加していた。MTは、部分肝切除後など、肝細胞の増殖時にも発現することが知られている。そこで、前癌病変内の細胞のBrdU labeling indexを計測し、MT陽性細胞数と増殖活性との関連を検討したところ、これらの間には相関は認められなかった。

銅蓄積を伴う肝炎肝癌自然発症ラットであるLECラットの肝前癌病変及び肝癌におけるMT及び銅の局在を調べた。これらの病変部における銅含量は周囲組織と比較すると低かった。一方、MTの染色性は、肝癌では周囲組織と変わらないが、前癌病変ではFischer 344ラットを用いた実験の結果と同じく、増加していた。

以上から、MTは肝前癌病変のマーカーとして有用であることが示唆された。また、MT発現は増殖活性とは関連せず、肝細胞障害の起こる環境下に置かれた細胞の選択的増殖に関与している可能性が示唆された。

P-36

ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸(CDAA)食を用いた肝発がんリスク物質の短期検索法確立の試み

○岸田秀樹、中江 大、小林洋三、赤井弘幸、安藤信明、佐藤 洋、丸山博司、小笠原裕之、榎並倫宣、小西陽一(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

近年、環境化学物質の発癌リスク評価は、従来のラットを用いたバイオアッセイ系に替わる短期検索の可能な系の必要性が指摘されている。CDAA食は、ラットにおいて既知の発がん物質非存在下に内因性機序による肝発がんを惹起する。本研究は、このラットにおけるCDAA食による肝発がん系を利用した、鋭敏な発癌リスク検索系を開発することを目的に、ラット肝発がん物質であるdiethylnitrosamine (DEN)を用いて検索を行なった。

実験は、6週齢のFischer 344系雄ラット60匹を用い、第1群はDEN投与前1週より実験終了時まで基礎食にて飼育した群、第2群はDEN投与前1週を基礎食にて飼育した後に実験終了時までCDAA食を投与した群、第3群はDEN投与前1週より実験終了時までCDAA食を投与群とした。DENは体重kg当たり100mgの用量で1回腹腔内投与し、各群のラットはDEN投与後0、4、6、8週に経時的に屠殺し、胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST-P)陽性を指標に、肝における前がん病変の発生個数とその大きさを定量的に解析した。

その結果、DEN投与後4-8週において、第2群のGST-P陽性病変の発生個数は第1群のそれより有意に増加し、第3群のそれは第1-2群のそれより有意に増加した。一方、第2群に発生した病変の大きさは第8週にて第1群のそれより有意に増大し、第3群のそれは第4-8週にて第1-2群のそれらよりも有意に増大した。

以上の結果より、CDAA食によるラット肝発がん系は、被検物質投与1週前より投与すると9週間で被検物質の肝に対するリスクを検出し得る系であることが示唆された。

Diethylnitrosamine (DEN) 誘発キメラマウス肝腫瘍の系統差と性差

○塚本徹哉¹、深見博子¹、稲田健一¹、山本昌美¹、日下部守昭²、小林 潔¹、中西速夫¹、立松正衛¹
 (¹愛知がんセ・研・1病理、²理研・筑波セ・実験動物)

【目的】(XY)↔(XX)キメラマウスを用いた発癌研究は、同一個体において異なった性および系統の細胞の発癌感受性を検討するのに有用である。本研究では、キメラマウスを用いてDEN誘発肝腫瘍発生の系統差と性差を細胞レベルで検討した。【方法】C3H、BALB/c、BALB/c↔C3Hキメラマウス各雌雄に、DEN 10 mg/kg BWを生後7、14日目に腹腔内投与し、30週、45週で屠殺した。肝組織切片をHE染色およびC3H特異抗体により免疫染色し、C3H由来細胞の分布を検討した。またMicrosatellite多型に基づきDNAレベルで腫瘍細胞の系統(D3Mit21)と雌雄(Sry)を判定し、腫瘍の発生率を比較検討した。【結果と考察】雄キメラマウス肝にはC3H由来と判定される多数の過形成・腫瘍性病変が生じた(図1、表1)。C3H(表1a)、BALB/c(b)共に、雌の遺伝形質を有する細胞であっても雄の環境下では腫瘍の発生頻度が増加した。雌の遺伝形質を有する細胞であっても雄の環境下では男性ホルモンが腫瘍の進展に関与している可能性が示唆された。一方、C3HとBALB/cの系統差はコントロールの雄(c)雌(d)に比べて、キメラの環境下では(XY)↔(XY)キメラ(c')、(XX)↔(XX)キメラ(d')内で共にその差はかえって開き、系統差はキメラ個体の中でも維持されていた。

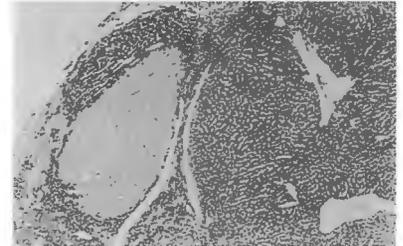


図1. 肝腫瘍のC3H特異抗体による系統の判定.

表 1. The Number of Foci and Adenomas in C3H, BALB/c and Chimeric mice (30 week)

Strain	sex	C3H	BALB/c	No.	incidence	
					C3H	BALB/c
C3H	M	XY		13	39.2	
C3H	F	XX		8	19.7	
BALB/c	M		XY	13		10.2
BALB/c	F		XX	10		3.9
Chimera	M	XY	XY	11	71.3±28.6	4.5±3.3
	M	XY	XX	5	69.5±9.0	6.2±4.9
	M	XX	XY	6	45.2±11.5	3.1±3.1
	F	XX	XX	4	25.7±7.2	2.0±0.7

マウス肝腫瘍における性ホルモンの作用

中谷玉樹¹⁾²⁾、Roy Goutam¹⁾、後藤孝彦¹⁾²⁾、丸山 聡¹⁾、藤本成明¹⁾
 伊藤明弘¹⁾、土肥雪彦²⁾ (広島大学原医研予防腫瘍¹⁾、医学部第二外科²⁾)

今回我々は、肝腫瘍に対する性ホルモンの作用について検討した。(対象と方法) 実験動物には雌雄B6C3F1マウスを用いた。方法は、まず生後12日目のマウスにDiethylnitrosamine (DEN) を体重当り2.5 μg/g腹腔内投与後、4週齢で去勢術を施行した。以上の前処置をしたマウスを、テストステロン投与群、プロゲステロン投与群、タモキシフェン投与群にグループ分けて7~9カ月観察後屠殺し、肝腫瘍の発現及び血清中の性ホルモンレベル、肝腫瘍内のBrdU染色等について検討した。尚、各性ホルモン及びタモキシフェンはコレステロールペレットとして4週間毎に皮下投与とした。(結果) 雄マウスでは、DEN単独投与による肝腫瘍発現率は100%でマウス当りの腫瘍数は22.6個であった。去勢術施行例では、発現率は78.6%、平均腫瘍数は6.2個といずれも有意に低下した(P<0.01)。しかし、去勢術施行例にテストステロンの投与により発現率は100%に回復し平均腫瘍数も40.9個と著しい増加を認めた。血中テストステロン濃度は、去勢術施行例で有意に低下しており、テストステロン投与によりコントロール群と同程度に回復した。BrdU染色陽性細胞は、去勢術施行例に比べてテストステロン投与群で有意に上昇した。一方、雌マウスにおいてはDEN単独投与群で肝腫瘍発現率8.6%に対し、卵巣摘出術施行例で79.4%まで増加し、テストステロン投与により更に93.8%まで増加を認めた。また、雌雄両性マウスにおいてテストステロン投与により増加した腫瘍発現はタモキシフェンの併用投与により抑制した。現在は、マウス肝におけるテストステロンの作用とTGF-αを中心とした増殖因子との関係を検討中である。(結語) 1. 生後12日目のB6C3F1マウスにDEN 2.5 μg/g B.W.投与し、雄マウス7カ月、雌マウス9カ月間の観察方法は、肝腫瘍発癌モデルとして有用であった。2. 去勢術施行後の雌雄両性マウスにテストステロンを投与することにより腫瘍の発現率及び平均腫瘍数は有意差に増加した。3. タモキシフェン併用によりテストステロンに拮抗して腫瘍発現の低下を認めた。

○梅村隆志、甲斐幸恵、佐井君江、長谷川隆一、*黒川雄二、井上 達 (国立衛研・安全セ・毒性、*安全セ) 木材の防腐剤、シロアリ駆除剤として使用されていたペンタクロフェノール (PCP) はマウスの肝臓に発がん性を有している。その発がん機構には代謝過程で生じる活性酸素の関与が予想され、この立場から、第11回本学会において、PCP短期投与による肝DNA中の8-ヒドロキシデヒドログアニジン (8-OHdG) レベルの上昇を報告した。同時に肝細胞増殖活性の上昇も観察されたことから今回、PCPのプロモーション効果の可能性を探る目的でマウス肝2段階発がんモデルを用いたPCPのプロモーション作用を検討した。

【方法】雄5週齢のB6C3F1マウス100匹を用いた。ジエチルニトロソミン (DEN) をインジェクターとして、20ppmの濃度で13週間飲水投与し、4週間の休薬後、PCPを300あるいは600ppmに混じた飼料を自由に摂取させ、実験期間42週間で実験を終了した。PCPの代わりに基礎飼料のみを投与した群、DEN投与を行わずPCP600ppmあるいは基礎飼料を投与した群の計5群を設定した。動物はエーテル麻酔後、放血致死させ、肝臓を摘出し、常法に従いパラフィン切片を作製し、病理組織学的に検索した。また、同様の動物15匹を3群に分け、基礎飼料、PCPを600ppmおよび1200ppmに混じた飼料を8週間にわたり自由に摂取させ、投与終了後、肝臓DNA中の8-OHdGレベルおよびBrdUによる肝細胞増殖活性を測定した。

【結果・考察】PCPの8週間の混餌投与により肝DNA中の8-OHdGレベルおよび肝細胞増殖活性は投与量依存的に対照群に比して有意に上昇した。肝2段階発がん試験の結果、DEN投与後基礎飼料で飼育した群に比べて、DEN投与後PCPを投与した群で肝変異巣および肝細胞腫瘍の発現率、それらの1個体当りの個数においてそれぞれ有意の高い値が認められた。また、DEN投与後PCPを投与した群にのみ腺癌が観察された。従って、本実験条件下でのPCPのマウス肝プロモーション効果が明らかとなった。同時に実施した8週間の試験結果を考慮に入れると、このプロモーション効果に対する酸化ストレスの関与の可能性が示唆される。

山口 剛¹、今井田 克己^{1, 6}、伊藤隆康¹、多氣昌生²、渡辺聡一³、上村桂嗣⁴、相本篤子⁵、白井 智之¹
(¹名市大・医・1病理, ²都立大院・電気工, ³通信総研・電磁波技, ⁴宇都大・情報工, ⁵東海大・医・医用工, ⁶名古屋東市病)

【目的】携帯電話で使用されているデジタル変調波の肝への局所曝露による発癌プロモーション作用についてラット肝中期発癌性試験法を用いて検討した。【材料及び方法】動物は6週齢のF344雄ラットを用い、肝発癌物質であるdiethylnitrosamine(DEN)を1回、腹腔内投与し、その2週間後より曝露群(48匹)には1時間30分/1日、週5日、6週間、曝露装置にて、実験Ⅰでは929MHzのまた実験Ⅱでは1.5GHzの電磁波をそれぞれ曝露した。曝露は肝に電場波が集中するように行った。曝露開始1週間に全動物に2/3肝部分切除を行った。対照として曝露装置にいれるのみで曝露を行わない拘束対照群(48匹)および曝露装置に入れず完全対照群(24匹)を設けた。実験期間8週間とし、ラットを屠殺後、血中ホルモン(ACTH, Corticosterone, Melatonin)を測定するとともに、肝は胎盤型glutathione S transferase(GST-P)の免疫染色を行い、肝の前癌病変であるGST-P陽性細胞巣を画像処理装置を用いて定量的に解析し、対照群と比較検討した。【結果】測定した血中ホルモン値は曝露群で実験Ⅰ、Ⅱとも拘束対照群より高値を示した。曝露群におけるGST-P陽性巣の個数および面積は拘束対照群もしくは完全対照群のいずれとも有意な差はみられなかった。【結論および考察】今回の曝露条件および実験条件下で929MHzおよび1.5GHzともにラット肝に対して発癌プロモーション作用を示さないことが明らかとなった。

P-41 ラット肝二段階発癌モデルを用いての、肝腫瘍発生におよぼすフルメキンの影響

○白木克尚^{1, 2}, 安藤進¹, 吉田緑¹, 高橋正一¹, 前川昭彦¹
(¹佐々木研・病理, ²山之内製薬・安全研)

【はじめに】フルメキン(FQ)は、畜産動物の細菌性疾患治療・予防に用いられるキノロン系抗菌剤であるが、マウス癌原性試験で肝腫瘍発生が報告されている。今回我々はフルメキンによる肝腫瘍発生機序解明の一環として、ラット二段階発癌モデルを用いてマウスとの比較検討を行った。

【材料および方法】90匹の雄F344ラットを各群15匹づつ6群に分け、6週齢時に4~6群に100mg/kgのdiethylnitrosamine(DEN)を、1~3群には生食水を腹腔内投与した。1週後より、1, 4群は基礎食を、2, 5群は0.05%phenobarbital(PB)食を、3, 4群は4000ppm FQ食を与え、8週齢時に全例に2/3部分肝切除術を施した。DEN投与8週および16週後に全例を屠殺、剖検し、肝について組織学的に検索すると共に、GST-PおよびP450の免疫組織化学を実施した。【結果】最終屠殺例においては、DEN処置、未処置にかかわらず、PB群では、基礎食群およびFQ群に比べ、肝重量は絶対・相対とも有意に増加した。PB投与群では小葉中心性の肝細胞腫大が見られたが、FQ群では明瞭な障害性変化は認められなかった。免疫組織学的には、GST-P陽性肝細胞小増殖巣は面積/数ともPB群で増加したがFQ群では対照群との差は認められなかった。CYP1A1, CYP2B1の誘導がPB群にみられたが、FQ群には認められなかった。【結論】F344ラットにおいては、FQは肝二段階発癌においてプロモーション作用を有さないことが示された。

P-42 MeIQx 誘発突然変異原性およびラット肝発癌に対する合成抗酸化剤の抑制効果の比較とその抑制機構について

○伊藤隆康¹, 広瀬雅雄¹, 高橋智¹, 新納靖規², 三木徳太郎², 岩田宏³, 横山博之³, 白井智之¹
(¹名市大・医・1病理, ²日本ハイボックス, ³三菱化学安科研)

【目的】ヘテロサイクリックアミンの一つである2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)の変異原性あるいは肝発癌性に対する各種フェノール系合成抗酸化剤の抑制効果を比較し、発癌修飾における活性酸素あるいは代謝活性化阻害の関与について検討した。

【方法】抗酸化剤としては1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone (HTHQ)、BHA、BHT、tert-butylhydroquinone およびpropyl gallateを用いた。変異原性に対する影響は、*Salmonella typhimurium* TA98株を用いた復帰変異試験により検討した。ラット肝発癌性に対する影響については、ラット肝中期発癌性試験法により検討した。すなわち、DENによるイニシエーション2週後よりMeIQx (0.03%)を単独で、あるいは各抗酸化剤(0.25%)と同時に混餌投与し、3週後に2/3部分肝切除を実施した。8週後に肝臓を採取し、GST-P陽性細胞巣の数ならびに面積を測定した。また部分肝切除で得られた肝組織について、8-OHdGおよび過酸化脂質量を測定した。さらにラットCYP1A1および1A2に対する各抗酸化剤の阻害作用の強さを、それぞれERODおよびMROD活性を指標に比較した。

【結果】1. 復帰変異コロニー数はMeIQx添加により顕著に増加したが、抗酸化剤の添加により用量依存性に抑制され、その効果はHTHQで最も高度であった。2. GST-P陽性細胞巣の数・面積ともにMeIQx投与により顕著に増加したが、抗酸化剤の併用投与により増加は抑制され、その効果はHTHQで最も高度であった。3. 肝臓中の8-OHdGおよび過酸化脂質量は、MeIQxおよび抗酸化剤の投与により変化しなかった。4. ERODおよびMRODともに抗酸化剤により阻害されたがその作用はHTHQで高く、特にMRODに対する阻害作用が顕著であった。

【結論】MeIQxの変異原性および肝発癌性に対する抑制効果は抗酸化剤のうちでHTHQが最も強く、その抑制効果には特にCYP1A2阻害作用が関与することが示唆された。

○北野光昭^{1,3}, 菊崎泰枝², 堀高明¹, 日高隆義³, 中谷延二², 福島昭治¹
 (¹大阪市大・医・1病理, ²大阪市大・生活科学・食品化学, ³鐘淵化学・高砂研)

【目的】植物由来の3化合物について、ラット肝発癌インシベーション期における発癌修飾作用を検討した。【方法】8週齢の雄性F344ラット70匹を使用した。ラットは5群に分け(第1-4群:15匹/群、第5群:10匹/群)、試験開始時にdiethylnitrosamine(DEN)を20mg/kg体重で腹腔内投与した。被験物質はDENの投与3日前より5日間連日投与した。被験物質はローズマリーのエキソ抽出画分(第1群)、コショウ由来のクマリン(第2群)およびハッカ由来のオーラフテン(第3群)であり、いずれも100mg/kg体重/dayで強制経口投与した。第4群には溶媒として用いたエタノールのみを投与し、第5群には生理食塩水を投与した。また第2週と第3週の2週間、2-acetylaminofluorene(2-AAF)を0.01%の濃度で基礎粉末飼料に混合して与えた。さらに第3週初めに2/3部分肝切除を施行した。第5週終了後にラットを屠殺、肝臓を摘出し、glutathione S-transferase胎盤型(GST-P)陽性細胞巢の検索を実施した。実験2ではクマリンを実験1と同様に投与し、DEN投与後8時間でラットを屠殺して肝臓の細胞増殖およびアポトーシスの検出を実施した。【結果】最終体重および相対肝重量においては各群で特に差は認められなかった。肝のGST-P陽性細胞巢の検索結果においては、3化合物いずれもエタノール対照群に対して抑制傾向が見られ、特にクマリン(第2群)については数において有意差が認められた($P < 0.05$, t-test)。またクマリンの抑制作用はアポトーシスの亢進によるものではなく、他のメカニズムにより細胞増殖が抑制されていることが示唆された。【結論】本研究に用いた3化合物、特にコショウを由来とするクマリンについてはラット肝発癌抑制作用を有することが強く示唆された。

○南 孝則¹, 矯 忠先¹, 松本耕三², 泉 啓介¹ (徳島大・医・¹二病理, ²動実)

【目的】肝細胞癌が自然発生するLECラットの肝発がん性が肝に蓄積した銅以外の因子によるものかどうかを検索するために、WKAHラットにLECラットのWnd遺伝子を導入したコンジェニックラット(WKAH.C-Wndラット)の肝発がん性をLECラットと比較する。

【方法】WKAH.C-Wndラットは血清セルロプラスミン活性を指標にWnd+/+ラットとWKAHラットの戻し交配を8回繰り返して作成した。6週齢の雄性WKAH.C-WndラットおよびLECラット(各21匹)に100mg/kgのDEN(in 0.9% NaCl)を2週おきに計3回皮下注射し、開始後50週で屠殺、剖検した。それぞれの系の対照群には0.9% NaClを皮下注射した。

【結果】DEN投与動物は、WKAH.C-Wndラットの場合は30週から、LECラットの場合は34週から肝腫瘍で死亡し始めた。30週以降の肝腫瘍($\geq 5\text{mm}$)発生率はWKAH.C-Wndラットが100%、LECラットが95%であった。実験終了時(50週)の肝/体重比はWKAH.C-Wndラットが $15.3 \pm 4.6\%$ ($P < 0.001$)、LECラットが $7.1 \pm 3.8\%$ であった。一方、対照群の肝腫瘍発生率はWKAH.C-Wndラットが0%、LECラットが45%であった。ただし、対照群のWKAH.C-Wndラットの多くは30週までに死亡した。

【考察】同じ条件でF344ラットとLECラットを比較した実験ではLECラットの方がDEN感受性が高かったが、今回の実験ではむしろWKAH.C-Wndラットの方がLECラットよりDEN感受性が高く、銅代謝異常(Wnd遺伝子)でLECラットの肝発がん高感受性を説明できる可能性が示唆された。WKAH.C-Wndラットの自然発生腫瘍、WKAHラットのDENによる肝発がん性も併せて報告する。

○堀之内 彰、宮本 索、関口正博、土井久子、岡崎修三*、安藤孝夫 (武田薬品・薬女研、ボリリナ子*)

【はじめに】がん原性試験に繁用される B6C3F₁ マウスの雄には、自然発生的に肝細胞癌が多発し、剖検時の血液並びに血液生化学的検査で血漿中エリスロポエチン(EPO)量の増加を伴った赤血球増多症がみられることを報告した(第9及び10回本学会)。今回、担肝細胞癌マウスの血漿中 EPO 量の増加の原因を明らかにするために、主要な EPO 産生器官である腎臓と腎外性 EPO 産生器官である肝臓における EPO mRNA 量を Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction(RT-PCR) 法を用いて検索した。

【材料と方法】SPF 環境下で個別飼育した溶媒 (5%アラビアゴム) 投与群の 25 ヶ月齢の Jcl: B6C3F₁ マウスの内、担肝腫瘍マウス 11 例及び同月齢の非担がんマウス 5 例を用いた。剖検時に肝臓 (正常あるいは腫瘍) 及び腎臓の一部を凍結し、RNA の抽出に供した。抽出した RNA は RT-PCR 法により、マウス EPO 遺伝子の Exon IV 領域の 170bp を増幅した。同領域増幅には、GTG GAA GAA CGA GCC ATA GA (sense)と AG TAC CCG AAG CAG TGA AGT(anti-sense)のプライマーを使用した。なお、PCR 産物の比較定量のために Competitor として Mimic DNA を合成し、検査試料に加えて同時に増幅した。

【成績】非担がんマウスの腎臓には EPO mRNA の発現が確認されたが、肝臓では EPO mRNA の発現が確認できなかった。一方、担肝細胞癌マウスの肝臓腫瘍部分では EPO mRNA の発現が確認され、腎臓での EPO mRNA は非担がんマウスに比べて、その発現量が減少していた。

【まとめ】以上の成績より、担肝細胞癌マウスの赤血球増多症の原因である血漿中 EPO 量の増加は、EPO の主要な産生器官の腎臓に由来するのではなく、腎外性 EPO 産生器官である肝臓の腫瘍肝細胞に由来する EPO による増加であることが明らかとなった。

○日下部 愛泉、杉本 次郎、佐野 文子、務台 衛 (三菱化学・横浜総研・安全性研)

ビーグル犬における腎糸球体病変の自然発生は稀である。毒性試験に供された対照群90匹のビーグル犬 (雄45, 雌45, 7~10ヶ月齢) の中で、自然発生と思われる硝子滴沈着を伴う糸球体脂質症を経験したので、その形態的特徴について報告する。

【症例】症例は2週間反復経口投与毒性試験に供した9ヶ月齢の雌ビーグル犬である。本例は血液生化学的検査では異常は認められず、剖検においても腎臓以外の全身諸臓器に異常は見られなかった。

病理組織学的検査では、腎臓の皮髄境界部の糸球体に病変が認められた。これらの糸球体は腫大し、分節状に脂肪滴の沈着が見られるものと糸球体全体を占めているものがあり、脂肪滴の沈着部位に一致して大小種々な硝子滴が見られた。腎糸球体約1000個のうち、1.4%の糸球体に脂肪滴の沈着があった。一症例あたりの糸球体病変の発生率は、これまでの報告による発生率 (0.24% [佐脇ら, 第114回日本獣医学会]) に比べて高率であった。一部の糸球体では軽度のメサンギウム細胞の増殖あるいは糸球体硬化がみられた。メサンギウム細胞のミオシンやアクチンといった細胞骨格を検出するデスミン等の免疫組織化学的検索では、脂肪滴の沈着部位に一部陽性反応が認められた。このことから、糸球体病変の場がメサンギウム領域であることを更に確認するために電子顕微鏡検査を実施中である。

腎臓ではその他に、皮質尿細管の脂肪変性、髄質および腎乳頭部におけるごく軽度のミネラル沈着や硝子円柱が見られた。組織学的に腎臓以外の全身諸臓器には異常は認められなかった。

【まとめ】血液生化学的に正常と思われたビーグル犬の腎臓に硝子滴沈着を伴った糸球体脂質症が認められた。ビーグル犬において、このような自然発生の腎糸球体病変は極めて少なく、今回の症例は自然発生病変を理解する上で貴重であると思われた。

○山岸 保彦, 土居 卓也, 岡崎 欣正, 勝田 修, 土谷 稔(三菱化学安科研)

【緒言】 骨髄性白血病は稀ながらSD系ラットに自然発生し, 組織学的には様々な分化段階の顆粒球系腫瘍細胞が認められる. 腫瘍細胞の浸潤巣が肉眼的に緑色を呈することから緑色白血病ともいわれている. このような特徴に加え, 腎臓の尿細管上皮では多数の好酸性滴状物の沈着がしばしば認められる. しかし, 滴状物に関する詳細な報告は見当たらない. 今回, 我々は骨髄性白血病が自然発生したSD系ラット3例の腎臓に認められた好酸性滴状物を病理組織学的に検討したので報告する.

【材料および方法】 症例は当研究所で長期試験に用いられたSD系ラット283例(雄168例, 雌115例)中の3例(雄2例, 55および47週齢; 雌1例, 69週齢)で, 発現状況から自然発生例と判断された. 3例の全身組織について常法に従い病理組織学的検索を実施した. また腎臓については各種の特殊染色および免疫組織化学染色, 蛍光顕微鏡を用いた観察, 戻し電顕による超微形態学的検索を行った.

【結果】 いずれの症例も腫瘍細胞の細胞質は好酸性で核は類円形, 腎形, 環状, 分葉状など様々な形態を呈しており, 骨髄やリンパ節でのび慢性増殖のほか, 肝臓, 脾臓, 肺, 腎臓など多くの臓器に浸潤していた. さらに腎臓の近位尿細管上皮内には好酸性を示す滴状物が充満していた. 滴状物はいずれも円形で, その大きさは微細顆粒状のものから1個の大型滴状物が尿細管上皮の細胞質全体を占めるものまで様々であった. 特殊染色の結果, 滴状物はPAS染色に陽性を示しアザン染色で鮮紅色に染色されたが, ヴェルソブルー染色, ショール反応およびシュタイン・ヨート法には陰性であった. また免疫組織化学染色では抗リゾチーム抗体にのみ陽性で, 抗 α_1 -アンチトリプシンおよび抗 α_2 -グロブリンの各抗体には陰性であった. さらに主波長495nmの紫外線照射下での観察では淡黄色の自家蛍光を発していた. 電顕検索では滴状物はいずれも中等度の電子密度を有する球状体として認められた.

【まとめ】 上記の結果から, SD系ラットの骨髄性白血病発症例に認められた腎尿細管上皮内の好酸性滴状物にはリゾチームが含まれているものと思われる. これらの滴状物は, ラットおよびマウスに組織球肉腫が発生した際に尿細管上皮内に認められる好酸性滴状物と同様に, 腫瘍細胞由来のリゾチームが尿細管上皮で再吸収され上皮内に蓄積されたために発現した可能性が考えられる.

○朝比奈政利, 大町 康, 八十島 昭¹⁾, 岩崎 仁, 川合是彰 (田辺製薬・医薬育成研, ¹田辺 R&D サービス)

ある化合物の単回投与毒性試験低用量群に用いた10カ月齢雄ビーグル犬の腎臓において認められた, 自然発生と考えられる腫瘍について光顕的および電顕的検索を行った.

症例は化合物を単回投与し, 6週後に剖検した一例で, 投与後一過性に GOT, GPT, ALP, CPK, LDH が軽度上昇したが, 体重・一般状態には変化は認められなかった.

腫瘍は剖検時に腎臓皮質に限界明瞭の白色巣として観察された. 光顕的に腫瘍細胞は, 卵円形から楕円形のやや暗調の核を有する胞体の乏しい紡錘形の細胞であった. 腫瘍中心部では腫瘍細胞が myxoma 様に増殖する領域が広範囲に観察されたが, 一部腫瘍周辺部では neurofibroma 様の増殖形態をとり, 周囲正常腎組織へ手指状に浸潤している像も観察された. アザン染色および鍍銀法により, 腫瘍細胞間質には膠原線維および好銀線維が豊富に存在していた. また, PAS 染色により腫瘍細胞は一部陽性を示し, アルシアン青染色により myxoma 様領域は陽性を示した. 電顕的には腫瘍細胞は細胞質内小器官が乏しく, ミトコンドリア, 粗面小胞体および細線維が観察されるのみであった. 細胞間接着装置は今回の検索では認められなかった. 本例は, 間葉系腫瘍細胞が myxoma 様領域と neurofibroma 様領域を有していることから, mixed mesenchymal tumor と診断された.

イヌにおける腎臓原発の間葉系腫瘍は, fibrosarcoma, leiomyosarcoma などが報告されている. 今回の症例のような腫瘍細胞の形態およびその増殖形態をとるものとして, ヒトの先天性間葉芽腎腫が知られているが, イヌにおいてはその報告は非常に少ない. 本例は, イヌ腎臓腫瘍を分類する上で興味深い症例と考えられる.

なお, 現在検討中の免疫組織化学的検索の結果も併せて報告する予定である.

○福田 良¹、神鳥仁志²、田中丸善洋²、渡辺武志¹、関口正博¹、山崎秀樹¹、佐々木啓¹
 (¹ 武田薬品工業・薬安所第一部、² 武田薬品工業・薬安研光支所)

ラットの自然発生性の胃カルチノイドは極めて稀とされ、これまでに Crl:CD ラットにおいて 3 例の報告 (Majka et al, [1989]、Fukuda et al, [1996]) があるのみで、他の系統での発生は知られていない。今回、我々は 112 週齢の F344 ラットの雌 1 例に自然発生性と考えられる胃カルチノイドを認めたので報告する。

【材料と方法】症例は S P F 環境下で長期飼育した F344/Jcl 雌ラットで、6 週齢時より 1% NaHCO₃ を含む 5% アラビアゴムを 106 週間強制経口投与し、112 週齢時に計画解剖された。剖検では、胃の腹側壁の腺胃部粘膜面に直径 2 mm の白色隆起病変を認めた。その他の全身諸器官とともに 10% 中性緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋、HE 染色標本を作製した。病変については、Sevier-Munger 法及び Fontana-Masson 法による鍍銀染色ならびに抗ヒト synaptophysin 及び抗ウシ chromogranin に対する免疫組織学的検査を行った。

【結果】腺胃隆起部は淡明な細胞質を有する小型細胞が結節性に増殖していた。増殖は粘膜内に限局し、粘膜下への浸潤あるいは他器官への転移は認められなかった。増殖細胞は Sevier-Munger 法による好銀性反応で陽性、Fontana-Masson 法による銀親和性反応で陰性を示し、抗 synaptophysin 及び chromogranin 免疫染色で陽性を示した。以上の結果から、本病変は腸クロム親和性様 (enterochromaffin-like cell; ECL) 細胞由来の胃カルチノイド腫瘍であると診断した。

○甲斐清徳、小川慎一、白岩和己、山本康裕、渡邊厚、佐藤則博、梅田明広
 小林洋四郎 (旭化成工業(株) ライフ総研 安全研)

【はじめに】7 週齢 Crl:CD (SD) 雄ラットの精巣において、精細管内に卵胞様構造を認める症例を経験したので報告する。

【材料と方法】動物は日本チャールス・リバー(株)より 4 週齢で購入した Crl:CD (SD) 雄ラットで、5 週齢より 2 週間の毒性試験の対照群に供し、7 週齢時に剖検した。全身臓器の肉眼的観察を行った後、主要臓器を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定し、常法により H.E. 染色標本を作製し組織学的検査を行った。

【結果】剖検では、右精巣は腹腔内に滞留しており全体的に小さく、そら豆状に変形していた。左精巣は陰嚢内に下降しており、右精巣よりもさらに小さく、ほぼ球状に変形していた。その他、精巣上体の軽微な変形、精嚢および前立腺の萎縮が認められた。外生殖器を含め、その他の臓器には肉眼的に異常は認められなかった。組織学的には、左右精巣実質内の白膜に隣接する部位に、雌の卵巣にみられるような卵細胞が認められ、それを取り囲む顆粒膜細胞は一部精細管内に連続していた (写真)。また、左精巣には成熟卵胞も認められたが、左右精巣ともに黄体および白体形成は認められなかった。精細管の瀰漫性萎縮、精嚢および前立腺の萎縮が認められたが、その他の臓器には異常は認められなかった。

【考察】雌の SD 系ラットにおいて、精巣を卵巣白膜に隣接して認める半陰陽の例が報告されている (Jpn. J. Vet. Sci., 1987)。他系統・他種の動物においても、半陰陽として報告される例は、異性の内生殖器を白膜に隣接して認めるものがほとんどである。今回報告する症例では精細管内に卵胞が認められ、半陰陽としてきわめて稀な例と考えられる。



○細井理代, 宮島留美子, 山本慎二, 三上真一, 山川誠己,
岩田 聖, 廣内康彦, 榎本 真 (安評センター)

【はじめに】マウスの骨組織における軟骨性腫瘍の発生は少なく, polyoma virus 感染により誘発されることが知られているほか, 自然発生の軟骨腫, 軟骨粘液腫および軟骨肉腫の報告はあるが僅かである. 今回 B6C3F₁ マウスの多数部位に自然発生したと考えられる軟骨性腫瘍の 2 症例を得たので報告する.

【症例と方法】症例は当センターの毒性試験で使用された B6C3F₁ マウスの雄である. 剖検所見一症例 1: 計画解剖時の週齢は 18 週で, 胸椎および肋骨に白色結節 (直径 2mm) が多数認められた. 症例 2: 計画解剖時の週齢は 109 週で, 腰椎に単一の白色結節 (直径 5mm) および腹腔に多数の白色塊 (直径 7mm) が認められた. 材料は常法に従い, 10 %中性緩衝ホルマリン液で固定, 脱灰後, パラフィン切片を作製し, HE 染色ならびに Alcian blue pH2.5-PAS 重染色を行った.

【結果とまとめ】組織所見一症例 1: 胸椎の結節は胸肋関節に接し, 周囲組織との境界は明瞭であり明確な浸潤像は認められなかった. 結節は成熟した軟骨組織に似るが全体的に細胞密度がやや高い組織であった. 肋骨の結節は各々孤立性で, 組織学的に胸椎に認められたものと同様軟骨腫であった. 症例 2: 腰椎の結節は椎骨に接しており, 周囲筋組織へ浸潤性に増殖し, 一部に骨化生および壊死も認められた. 結節は不規則な配列の軟骨細胞と軟骨基質で構成され, また軟骨基質が乏しく, 紡錘形細胞が密に増殖する部位も認められた. 腫瘍細胞は多形性に富み分裂像も散見された. 腹膜, 肝臓, 脾臓, 胃への転移像が観察され, 軟骨肉腫と考えられた.

以上の所見から症例 1 は症例 2 で示した軟骨肉腫とは異なり周囲組織に明確な浸潤性を示さず, また成熟した軟骨細胞から構成され細胞異型性も示さないことから, 良性の多発性軟骨腫と考えられた. さらにその発生が 13 週の若齢例に観察されたことから先天性の可能性も考えられる興味深い例であり, 他動物における軟骨性腫瘍例との比較検討を加え報告する.

○土居卓也, 岡崎欣正, 山岸保彦, 勝田 修, 土谷 稔 (三菱化学安科研)

細胞質に好酸性顆粒を有する細胞から構成されるラットの腫瘍として, 顆粒細胞腫, 基底細胞腫の顆粒細胞型あるいは肥満細胞腫などが知られている. 今回我々は, これらの腫瘍と同様な細胞質内好酸性顆粒を有するが, 病変分布および形態像を異にする腫瘍を検索する機会を得たので報告する.

動物は当研究所で癌原性試験に用いられた F344/DuCrj ラットの雌の 1 例で, 109 週齢時に計画殺された. 剖検時の所見として頭頂部皮膚に径 5mm 大の結節および皮下の水腫と軽度の出血, 鼻骨の変形および片側ハーダー腺の硬化が認められた. 組織学的に, 腫瘍細胞は頭頂部～顔面の皮膚および皮下組織, 脳の髄膜下およびウィルヒョウ-ロバン腔に認められ, 副鼻腔およびハーダー腺にも浸潤性に広がっていた. 腫瘍細胞は各々の部位で比較的密に増殖していたが, 皮膚の一部では水腫状の間質を背景に散在性に認められた. 腫瘍細胞の形態は明瞭な核小体を有する明るい核をもったやや大型の細胞で, その多くの細胞質内に好酸性の顆粒が認められた. ときに多核巨細胞を認めたがその細胞質にも好酸性顆粒が観察された. 個々の腫瘍細胞は好銀線維で囲まれていた. また, 免疫組織化学的にビメンチンに対し陽性を示したが, GFAP および S-100 に対しては陰性であった. 細胞質内の顆粒は PAS 反応陽性で, トルイジンブルー染色でメタクロマジーを示さなかった. 超微形態学的に顆粒は境界膜を有するライソゾーム様の構造を呈しており, その中に電子密度の高い物質を含んでいる像も認められた. 細胞間に細胞接着装置や基底膜は観察されなかった.

本腫瘍は, 従来報告されている顆粒細胞腫や第 11 回 (永谷ら), 第 13 回 (高木ら) 本学会において報告された細胞質内好酸性顆粒を特徴とする腫瘍とも相違点が多い. しかし, 特殊染色や超微形態学的検査の結果から顆粒の性質は顆粒細胞腫のそれに類似していると思われた. 発生部位および由来細胞については不明であるが, 本腫瘍は顆粒細胞腫に類似した腫瘍であると思われた.

○木川英美, 沖本一夫, 糺谷高敏, 豊沢かおる, 入江眞美, 田中浩二 (大日本製薬(株) 開発研)

ラットの肺高血圧症はモノクロタリンなどを投与することにより実験的に誘発されることが知られている。しかし、自然発生性に認められた報告はない。今回我々は、肺高血圧症にみられる病変と類似の所見を示すラットに遭遇したので報告する。

【材料および方法】 動物は、ある化合物の毒性試験の対照群に使用されていたSD系ラットの雄の1例で、0.5%のトラガント水溶液を投与されていた。投与開始時の週齢は約6週齢で、投与72日目に死亡して発見された。死亡前に一般状態、体重、摂餌量の異常は認められなかった。剖検後、全身の器官・組織を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法によりH.E.染色標本を作製し病理組織検査を行った。肺についてはH.E.染色に加え、マッソン・トリクローム、エラスチカ・ワンギーソンおよびベルリン青染色を行った。

【結果】 肉眼的に肺では全葉にわたり褐色あるいは黒色斑が認められ、心臓は肥大し、右心室壁および心室中隔の肥厚と右心室内腔の拡張が顕著であった。左心室壁に一ヶ所陥凹部が認められた。組織学的に肺では小動脈の中膜筋層および内膜の肥厚あるいは増殖が顕著で、内腔は高度に狭窄し、時に内皮細胞の増殖により閉塞していた。大型動脈の筋層も肥厚していた。また、病変部周囲の出血およびヘモジデリンを食食したマクロファージの集簇、小動脈あるいは気管支周囲の好酸球浸潤が認められた。これらの病変は肺全葉にわたり認められた。心臓では右心室壁および心室中隔の心筋肥大と、左心室壁の限局性の線維化が認められた。

【結論】 本症例では肺の小動脈壁の肥厚および内腔の狭窄、右心室壁および心室中隔の肥厚を特徴とする病変が観察されたが、これらの所見はラットに実験的にモノクロタリンを投与した場合におこる肺高血圧症の病変に類似していた。ラットにおいて自然発生性にこのような病変の発生報告は現在までなく、極めてまれな症例と考えられる。

○高橋政壽¹・角 将一¹・内田和美¹・尾上正治¹・前川昭彦²

(¹ヤクルト本社・中研、²佐々木研・病理)

【はじめに】 今回我々は、ラットの大脳に横紋筋線維から成る異所性の増殖性病変を経験したので報告する。

【材料と方法】 動物は雌のCrj:CD(SD)ラットで、当研究所の6か月反復投与試験に使用し、32週齢で計画屠殺した1例である。本例は、一般状態、尿、血液、血液化学および剖検時の肉眼的検査に異常は認められなかった。脳は常法に従い10%中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン切片を作製し、H-E染色ならびに特殊染色を行った。また、ホルマリン固定材料の一部を透過電子顕微鏡にて検索した。

【結果】 組織学的検査にて、病変は主に左の大脳縦裂側にみられ、脳梁膝より前方部の脳軟膜下と同左脳の内部に散在する横紋筋線維の存在を認めた。左脳では、血管周囲に近接して横紋筋線維束が散見され、あたかも同線維が脳軟膜下から血管に沿って内部に入り込んでいるごとき像を呈し、一部では筋芽細胞様細胞の増殖を認めたが、明らかな細胞分裂像はみられなかった。また筋線維の豊富な部位では、周辺の神経組織が圧迫性の軽い障害を受け、大食細胞の浸潤等も認められた。右脳における同病変は軽度であり、軟膜下では好酸性が強く横紋の不明瞭な線維がみられ、脳内ではごく一部の血管周囲にわずかな筋線維の存在を認めた。特殊染色では、筋線維はPTAH染色にて横紋が明瞭に染まり、抗 α -Sarcomeric actin抗体に陽性であった。電顕的に筋線維は核が偏在し、通常の横紋筋と同様のA帯とI帯から成る筋原線維束で構成されていた。

【まとめ】 本病変は、腫瘍細胞を疑う異形細胞および腫瘤が存在せず、横紋筋と同様の筋線維とわずかな筋芽細胞様細胞で構成されていたことから、横紋筋線維から成る異所性増殖性病変と診断した。

○ 笛木修、小林裕幸、小笠原裕之、藤井久子、村田晃子、高木英利（日本レダリー・医薬研）

【はじめに】ラットにおける髄膜由来の自然発生腫瘍は稀であり、若齢での報告は極めて少ない（Wistar 系ラット：1989 年本学会）。今回我々は若齢 SD ラットにおいて自然発生と考えられる髄膜腫を観察する機会を得たので、その病理学的特徴について報告する。

【材料および方法】動物は当研究所で実施した安全性試験に用いた Crj:CD(SD) IGS 雄ラットの 1 例であり、12 週齢から体重増加抑制、15 週齢から体重減少が認められ、17 週齢からは毛並みの粗悪、泌尿器・鼻周囲の汚れ、19 週齢時には自発運動の減少が観察され、この時点で安楽死後、剖検した。剖検では小脳虫部右側に径 6mm 程度の柔らかい淡赤色腫瘍が認められた。腫瘍は小脳から容易に剥離した。腫瘍組織は 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従って HE 染色標本を作製し、病理組織学的検索を行なった。腫瘍組織の一部はグルタルアルデヒド固定を行ない、電顕による検索を行なった。

【結果】光顕による観察では、腫瘍は髄様充実性であり、一部には結節状または渦巻状の細胞配列が観察された。腫瘍細胞は好酸性の比較的豊富な細胞質を持ち、核は淡明で類円形を呈し、1~2 個の明瞭な核小体を有していた。腫瘍の一部には小脳実質への浸潤が認められた。壊死巣も観察され、一部には鉍質沈着が認められた。大部分の細胞に微細な PAS 陽性顆粒が認められた。電顕による観察では、腫瘍細胞には指状突起がみられ、隣接細胞と相互に絡み合っており、接触面には desmosome や tight junction などの上皮様結合を示す部位が認められた。細胞質には小型の dense body が散在し、中間径フィラメントの存在も認められた。

【まとめ】光顕および電顕的特徴から本腫瘍は髄膜上皮型髄膜腫と診断する。

○ 山本慎二、細井理代、宮島留美子、三上真一、山川誠己、岩田 聖、廣内康彦、榎本 眞（安評センター）

ラットに発生する松果体腫瘍は極めてまれであり、その詳細な報告も少ない。多くの成書によると、齧歯類の松果体腫瘍の組織形態学的な特徴はいわゆる "Two cell pattern" を示すといわれている。今回、我々は "Two cell pattern" を示さない加齢 F344 ラットの松果体腫瘍 3 例を経験したので報告する。

『症例 1』 76 週齢、雌、削瘦、眼分泌物および自発運動低下のため切迫屠殺。剖検では大脳と小脳の背側境界部（松果体部）に 8×10mm 大の灰色結節がみられ、腫瘍は髄膜と癒着していた。

『症例 2』 108 週齢、雌、脱毛、削瘦、眼分泌物、流涙、自発運動低下のため切迫屠殺。剖検では脳松果体部に直径 8mm 大の白色結節が観察された。

『症例 3』 94 週齢、雄、削瘦、眼分泌物、立毛、流涙および自発運動低下のため切迫屠殺。剖検では脳松果体部に 27×20×30mm 大の赤色結節が観察された。

症例 1, 2 は頭蓋内にみられたが症例 3 は頭頂骨および頭頂間骨を巻き込み頭部皮下にまで発育していた。組織学的に、いずれの症例も卵円核、エオジン好性の細胞質を有する円形ないし多角形の細胞がびまん性かつ一様な増殖を示した。腫瘍は脳実質を強く圧迫したが境界は明瞭で、実質内への浸潤はない。しかし、細胞異型や多数の核分裂像が共通して観察された。また、腫瘍細胞はいずれもグリメリウス染色および NSE に陽性を示した。以上、解剖学的な発生部位や結節状に発育する発育形態ならびに組織学的な特徴から松果体実質細胞由来の腫瘍と考えられた。ヒトの松果体部に発生する腫瘍を Russell と Rubinstein ら (1977) は、胚細胞を由来とする "Two cell pattern pinealoma" と松果体実質細胞を由来とする松果体芽細胞腫 (pineoblastoma) および松果体細胞腫 (pineocytoma) に分類している。ラットやその他の動物では症例数が少ないためかそのような詳細な分類はされていない。

本報告例は後者の、松果体細胞腫 (pineocytoma) に分類される特徴を示すと考えられた。

○田中雅治・阿瀬善也・下内孝司・西山寛・織田信一郎・清水聖・
西端恵子・東山真澄・遊津朱里・藤田常夫（小野薬品・福井安全研）

【目的】 巨核球 emperipolesis (EP) の発現機構を解明する目的で、LPS 投与ラット骨髄の巨核球、好中球における接着分子の発現をフローサイトメトリー (FACS) 法、免疫組織化学的に検出し、さらに、抗接着分子抗体投与ラットにおける EP の発現について調べた。

【方法】 実験 1 EP を伴う巨核球、侵入好中球における接着分子の発現：SD 系雄ラット (7 週齢) に LPS (0.5mg/kg) を 3 日間投与 (i.v.) し、翌日骨髄を採取した。巨核球における接着分子の発現は FITC 標識抗ラット ICAM-1 抗体を用い、FACS にて測定した。また、EP を伴う巨核球の ICAM-1、侵入好中球の LFA-1 の発現について光顕、電顕組織化学的に検出した。

実験 2 抗接着分子抗体投与ラットにおける EP の発現：SD 系雄ラット (6 週齢) に抗 LFA-1 抗体 (3mg/kg) を単回投与 (i.v.) し、1 時間後に LPS (0.5mg/kg) を単回投与 (i.v.) した。翌日骨髄を採取し、H-E 染色標本にて EP の発生率を調べた。

【結果】 実験 1 EP を伴う巨核球、侵入好中球における接着分子の発現：FACS 法による解析では、LPS 投与ラット巨核球における ICAM-1 の陽性率は 27.4 % であり、対照群の 6.0 % と比較して明らかに増加した。免疫組織化学的には、成熟好中球を侵入細胞とした巨核球の辺縁部及び細胞質内に ICAM-1 が検出され、侵入好中球の細胞表面には LFA-1 の陽性反応が認められた。免疫電顕的には、好中球の侵入した巨核球の血小板分離膜に沿って ICAM-1 の陽性反応が検出された。

実験 2 抗接着分子抗体投与ラットにおける EP の発現：抗 LFA-1 抗体 + LPS 投与ラットの EP 発生率は 6.0 % であり、LPS 単独投与の発生率 18.0 % と比較して著しい低下を示した。

【結語】 以上の成績から、LPS 投与ラットにおける EP 発現の一要因として LFA-1 / ICAM-1 経路の接着分子が関与することが明らかとなった。

○加藤淳彦、三沢保幸、伊藤恒夫、三好昌夫、足立健児、唐澤弥生、杉本哲朗、
二木力夫* (中外製薬・安全研、* S L A 研)

イヌの自然発生性変化の一つとして、三尖弁直後の大動脈起始部 (Ostium Aortae) に石灰沈着がみられる。我々は本変化が Vitamin D 誘導体等による高 Ca 血症時に腎臓等の転移性石灰沈着に先立って増強されることを経験している。今回、本変化の病理学的特徴を明らかにする目的で、加齢による差異を含め検討した。

6 週齢 (A 群: ♂ ♀ 各 3 例)、8 月齢 (B 群: ♂ ♀ 各 6 例) および 7~8 歳齢 (C 群: ♀ 3 例) のビーグル犬を用い、血中 Ca、iP 濃度測定用に採血後、大動脈起始部の肉眼観察を実施した。次いで、左、右および中隔半月弁がそれぞれ含まれる断面についてパラフィン包埋標本を作製し、H-E および Kossa 染色を施した。

血中 Ca および iP 濃度については、異常値を示す個体はみられなかった。肉眼的には、B 群の 1/12 例において、左冠状動脈開口部直上の大動脈壁に血管腔内に隆起した白色部が認められた。H-E 染色では、剖検所見採取例を含め B 群の 3/12 例にマトリックス好性を示す塊状あるいは斑状の石灰沈着が認められ、その近隣にはオジン好性物質が認められた。同様のオジン好性物質は、H-E 染色上では石灰沈着が観察されない個体を含め、A 群では 5/6 例に、B 群では 11/12 例に、C 群では 3/3 例に認められた。この物質は大動脈の間質結合組織が膠原線維から豊富な弾力線維へ移行した部位から認められ、かつ弾力線維に一致して認められた。その性状は A 群では微細顆粒状、B 群では顆粒状から細線維状、C 群では細線維状から粗大顆粒状を呈し、中隔半月弁を含む標本および加齢個体で発現が増加する傾向が認められた。Kossa 染色では、B 群および C 群においてはオジン好性物質に一致して陽性反応が認められたのに対し、A 群では 1 例を除き認められず、組成の違いが示唆された。

以上、イヌの大動脈起始部には石灰沈着と判断される Kossa 染色陽性のオジン好性物質が高頻度に認められ、その発現は部位特異的な局在傾向を示し、加齢性に増加することが明らかになった。また、弾力線維に一致して石灰沈着が認められることは病理発生の観点から注目され、弾力線維の断裂・変性等の変化が先行しているのか今後さらに詳細に検討する必要がある。

P-59 **Inhibitory Effect of HTHQ(1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone)
on Cardiac Toxicity Induced by Doxorubicin**

○Jong-Koo Kang¹, Hye-Yeong Lee¹, Joon-Sup Lee²

College of Vet. Med., Chungbuk National University¹, Seoul National University², Korea

The purpose of this study was to investigate the effect of 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone (HTHQ) and recombinant human erythropoietin(rHu-EPO,EPO) on the doxorubicin(DOX)-induced cardiac toxicity. Eighty Sprague-Dawley female rats were divided into four groups : group 1; normal control group, group 2; DOX alone-treated group, group 3; DOX+HTHQ treated group, group 4; DOX+HTHQ+EPO treated group. The rats of group 2, 3 and 4 were given a single intravenous dose of DOX(13 mg/kg) at 0 day. The rats of group 3 and 4 were injected orally with HTHQ(50 mg/kg) every three day from day 3 to day 14. The rats of group 4 were injected intravenously with EPO(400 IU/kg) for 3 days after DOX treatment. The animals were sacrificed respectively at day 7 and 14 after DOX treatment. In the results, Red blood cell(RBC)($p<0.01$), hematocrit(Hct)($p<0.001$), hemoglobin(HGB)($p<0.05$) and platelet(PLT)($p<0.05$) values of group 4 at day 4 were significantly increased as compared with those of group 1. RBC($p<0.05$), Hct($p<0.01$) and HGB($p<0.01$) values of group 2 at day 14 were significantly decreased as compared with those of group 1. Creatine phosphokinase(CK)($p<0.05$) and alanine transaminase(ALT)($p<0.001$) values of group 2 at day 14 were significantly increased as compared with those of group 1. These values of group 4 at day 14 were significantly decreased as compared with those of group 2($p<0.05$). Myofibrillar disorganization and seperation, myofibrillar vacuolization, mitochondrial swelling and loss of intercalated disc were observed in group 2. However, these lesions in group 3 appeared less severe than group 2. And also these lesions in group 4 were more less than group 3. From these results, cardiac toxicity of doxorubicin(DOX) would be reduced effectively by HTHQ treatment alone or EPO treatment in combination with HTHQ.

P-60 **F344 系ラットにおける自然発生性悪性下垂体腫瘍の局所浸潤の特徴**

○佐藤 洋、梶村 哲世、野村 護(第一製薬 安全研)

【緒言】下垂体腫瘍は 2 年間のラット発癌性試験でたびたび観察される腫瘍で、そのほとんどがプロラクチンを分泌する良性腫瘍と考えられている。近年、下垂体腫瘍を蝶形骨と共に観察することで、周囲への浸潤が明らかとなり、悪性腫瘍の頻度が比較的高い事が明らかにされてきている。我々は最近行ったラット2年間癌原性試験において下垂体腫瘍を蝶形骨から分離せず周囲組織と共に観察し、周囲組織への浸潤形態、細胞増殖活性および分泌ホルモンについて検討を加えた結果、興味ある知見を得たので報告する。

【実験材料および方法】5 週齢の F344/Du:crj ラット(雌雄各 200 匹)を日本チャールズリバーより購入し、2年間の癌原性試験を実施した。剖検時に下垂体が腫大していた動物の下垂体を蝶形骨に付したまま採材し、脱灰の後、矢状断の組織標本を作製した。標本は HE 染色の他、PCNA、prolactin および α -MSH の免疫染色を実施し、細胞増殖活性および分泌ホルモンの検討を行った。

【結果およびまとめ】本発癌性試験では投薬に起因した変化は認められなかったため、観察された下垂体腫瘍は全て自然発生と判断した。下垂体腫瘍の発生率は雄で 35.9% (60/167 例)、雌で 46.2% (78/169 例)であった。悪性下垂体腫瘍は雄 93-110 週齢、雌 95-110 週齢に認められ、発生頻度は雄で 8.4%(14/167 例)、雌で 14.8%(25/169 例)であった。悪性下垂体腫瘍は被膜、蝶形骨、周囲血管、他の下垂体葉、頭蓋内末梢神経、くも膜および脳へ浸潤し、雄では下垂体後方の被膜外、蝶形骨へ多く浸潤する傾向を示した。PCNA 標識率は雄が雌より高い値を示した。発生したほとんどの悪性下垂体腫瘍 (97.3%) は抗プロラクチン免疫染色に陽性を示した。一方、蝶形骨浸潤を示した腫瘍の一部 (雄:1/8、雌:1/4) には浸潤部位において特徴的な中間葉細胞様の形態を示すものが認められた。これらの腫瘍細胞は蝶形骨浸潤部位で抗 α -MSH 免疫染色に陽性を示した。以上、自然発生性悪性下垂体腫瘍は下垂体後方の被膜と、蝶形骨への浸潤を特徴とし、雄は雌に比較し、高い細胞増殖活性を示す事が明らかとなった。また、蝶形骨浸潤を示す腫瘍では、中間葉への異分化が疑われる例も存在した。

○藤本成明、丸山聡、中谷玉樹、伊藤明弘(広島大学・原医研・予防腫瘍分野)

【目的】コウジ酸(Kojic acid, 5-hydroxy-2-hydroxymethyl- γ -pyrone)は、日本の発酵食品にも用いられてきたApergillusおよびPenicillium属のカビの種によって産生される抗菌性物質で、現在、食品添加物として甲殻類の黒変防止や化粧品の成分として使われている。コウジ酸の毒性は比較的弱く、従来あまり問題にされてこなかったが、マウスでの長期経口投与により甲状腺に高頻度で腫瘍性病変をつくることが示された。そのメカニズムを明らかにする目的で、ラットを材料にコウジ酸食投与による甲状腺の経時的検討を行った。【材料と方法】5週令雌雄両性のF344ラットを購入し、6週令より検体を投与した。コウジ酸はCRF-1粉末飼料に2%で混じて自由摂取として経口投与し、1, 2, 3, 4(雌は2, 4)週目で屠殺した。屠殺前にNa¹²⁵Iを投与して甲状腺へのヨード取り込みとヨード有機化率を測定した。血中ホルモン値は、RIAによった。【結果】甲状腺：重量は投与開始1週間で雄で有意に増加し、4週目で雄98±8mg、雌では40±9mgであった。組織学的には瀰漫性過形成であった。ヨード取り込みと有機化率：雄では、ヨード取り込みとヨードの有機化率が経時的に阻害されたが、雌では4週目でも顕著な阻害が観察されなかった。血清ホルモン値：雌雄ともT4値はコウジ酸群で低下、対応してTSHが増加した。【結論】コウジ酸は甲状腺でのT3/T4産生分泌を阻害し、その結果、下垂体フィードバックによるTSH亢進がおこることで、甲状腺腫大を引き起こすと考えられた。しかし、甲状腺の機能障害のメカニズムは明確でなく今後の検討が必要であろう。

○久田 茂、飯塚和弘、吉田信也、増田修治、永嶋雅子、飯田祝子、谷藤久人、田川正志、村越正典、森 正雄、堀内 敏、中山隆治(帝国臓器安全研)、山本正敏(イナリサーチ)

TZC-5665 は、phosphodiesterase 阻害作用を有する化合物である。同様の作用を有する isomazole や indolidan を長期間投与したラットに於いて褐色細胞腫の発生が報告されているが、本薬物でも副腎髄質に増殖性病変の発生が見られたので報告する。

[1年間反復投与毒性試験]雌雄の CR-CD (SD) ラットに、0、1.6、8、40 および 200mg/kg の用量で1年間強制経口投与した。その結果、雄 8mg/kg 以上で巣状過形成、40mg/kg 以上で褐色細胞腫の発生率が増加した。両者とも N/C 比が高く好塩基性細胞質を有する phenylethanolamine-N-methyltransferase (PNMT) 陰性細胞により構成されていた。

[がん原性試験]SD ラットを用い、雄は 0、0.5、2 および 8mg/kg/day、雌は 0、2、8 および 32mg/kg/day の用量で2年間強制経口投与した。その結果、褐色細胞腫の発生率が雄 2mg/kg 以上、雌 8mg/kg 以上で増加した。何れも PNMT 陰性細胞からなる腫瘍であった。

[副腎髄質細胞増殖性の検討]6週齢の雄 SD 系ラットに、TZC-5665 を 0、1、10 および 100mg/kg の用量で2週間強制経口投与した。屠殺72時間前に、BrdU 溶液を充填した Alzet ミニ浸透圧ポンプを腹腔内に移植し、投与3、7 および 14 日目に屠殺して副腎を摘出した。その結果、10 および 100mg/kg 群において、投与3日目に副腎髄質細胞の BrdU 標識率が一過性に上昇した。しかし、PNMT 陽性細胞の比率に変化はなく、PNMT 陽性細胞および陰性細胞の両者に BrdU の取込みが認められた。

Catecholamine 合成酵素 (TH、DBH、PNMT) 活性の変化は認められなかった。

[結論]TZC-5665 の長期投与により、ラットの副腎髄質に PNMT 陰性細胞からなる増殖性病変が発生した。TZC-5665 の投与開始直後に PNMT 陽性および陰性細胞が一過性に増殖するが、catecholamine 合成酵素抑制に起因する二次的な増殖ではなく、細胞増殖が直接刺激されている可能性が考えられた。

○伊藤恒夫、加藤淳彦、三沢保幸、三好昌夫、足立健児、唐澤弥生、
杉本哲朗、二木力夫* (中外製薬・安全研、*SLA研)

ラットでは高カルシウム(Ca)血症により自然発生性変化である副腎髄質細胞の過形成および褐色細胞腫の発現が増加することが知られている。しかし高Ca血症が副腎髄質細胞に対してどの程度の増殖刺激を与えているかは明らかではない。そこで、持続的な血清Ca濃度増加を起こす活性型ビタミンD₃(Calcitriol)および一過性に血清Ca濃度増加を起こす条件でCa剤(Calcicoll)を、それぞれラットに投与し、副腎髄質細胞の増殖活性を検討した。

10週齢のSD系雄ラットを用い、Calcitriol 1μg/kg/day群、Calcicoll 40 mg/kgを1日1回および2回投与群、ならびに溶媒対照群(0.4%Tween 20および1%エタノールを含む生理食塩液)を設け、いずれも尾静脈内に7日間反復投与した。Calcitriolは十分な高血清Ca濃度になるように1μg/kgとした。反復投与に先立って実施したCalcicoll 40 mg/kg単回静脈内投与による血清Ca濃度(mg/dl)は、投与前値10.81に対し、投与後30分に21.61、1時間後に16.95を示したが、6時間後には10.97となり投与前値にほぼ回復する推移を示した。そこで1日2回投与群は6時間後に2回目の投与を行った。投与前にBrdU(240 mg/ml)を充填した浸透圧ポンプを腹腔内へ埋め込み、7日間連続標識した。投与後8日に副腎を摘出し10%中性緩衝ホルマリン液に24時間固定後、パラフィン包埋薄切標本を作製し、抗BrdU染色を行い副腎髄質細胞500個中の陽性細胞数を算出した。さらにカテコラミン合成酵素であるTyrosine hydroxylase、Dopamine-β-hydroxylaseおよびPhenylethanolamine-N-methyltransferase(PNMT)(Incstar社)の免疫染色を施した。また投与後8日に血清Ca濃度を測定した。

副腎髄質陽性細胞数(%)は、溶媒対照群1.8に対しCalcitriol群9.4で有意に高かったが、Calcicoll群1回1.2、2回2.0で増加はみられなかった。投与後8日の血清Ca濃度は溶媒対照群10.37に対し、Calcitriol群12.86およびCalcicoll 2回投与群10.88で有意に高かった。Calcicoll 1回投与群は10.46で変化はみられなかった。副腎髄質細胞の過形成を起こすとPNMTが陰性となることが知られているが、カテコラミン合成酵素の反応性は群間に差異はみられなかった。以上、活性型ビタミンD₃であるCalcitriolで誘発した持続的かつ比較的高い血中Ca濃度増加の状態では副腎髄質細胞の増殖活性が亢進することが明らかとなった。一方、Ca剤投与の結果から、高度な血中Ca濃度増加が一過性に生じても副腎髄質細胞に対する増殖刺激は乏しいことが示唆された。

Manebの連続および単回塗布に対する WBN/kob-Ht ratの皮膚反応

○黒木宏二¹、上塚浩司¹、木村透²、中山裕之¹、土井邦雄¹
(¹東大獣医病理、²農産工中研)

Manebはジチオカルバミド酸系農薬の一種で、ヒトおよび実験動物に共通して、経口摂取により甲状腺過形成、胎児奇形等を引き起こすことが多数報告されている。しかし、暴露される機会が多い皮膚への作用に関する報告は極めて少ない。我々は最近、Maneb(0.5%溶液)の1週間連続塗布が実験用ヘアレス犬に遅延型皮膚炎(高度の表皮の退行性変化と炎症性細胞浸潤)を誘発することを報告した。今回は、同様の処置および単回塗布に対するヘアレスラットの皮膚反応を調べた。

7週齢、雄のWBN/kob-Ht ratの背部皮膚にManeb(0, 0.5, 30%溶液)を、1日1回、1週間連続および単回塗布した。連続塗布終了後1日目、1週目および2週目ならびに単回塗布終了後1日目および2日目の皮膚の病理組織学的変化を調べた。また、in situ DNA end labeling(TUNEL法)とPCNA抗体を用いて細胞増殖の動態を検索した。

連続塗布した皮膚では、Maneb塗布終了後1日目ではほとんど変化は認められなかったが、2週目には、真皮の中間層から深層にかけての毛包上皮に、核クロマチンの凝集、核濃縮、核崩壊などの変化が多数認められ、TUNEL法ではこのような核および核崩壊物が陽性を示した。単回塗布に対しては、高濃度(30%溶液)塗布した皮膚で軽度の毛包上皮の退行性変化と毛包周囲の炎症性細胞浸潤が認められた。一方、表皮にはいずれも特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から、Manebの単回塗布では、高濃度の場合においてもヘアレスラットの皮膚に明瞭な急性変化をもたらさず、連続塗布により、遅延性に毛包上皮の退行性変化が誘発されることが示唆された。ヘアレス犬と比較するとヘアレスラットのManebに対する皮膚反応は弱く、また、性状も異なり、両者間で毒性発現機序が異なることが示唆された。現在、より詳細な検索を進めている。

○寺西宗広, 渡辺真弓, 牧野俊彦, 瀬畑信哉, 田中宏治, 矢本 敬, 高岡雅哉,
真鍋 淳, 土井邦雄¹ (三共・安全研,¹東大農・獣医病理)

【目的】Monosodium glutamate (MSG)はゲッ歯類の新生児に投与されると成長ホルモン放出ホルモンを分泌する視床下部の弓状核ニューロンに恒久的障害を与え,下垂体からの成長ホルモン放出を抑制することが知られている。しかしながら,ラット新生児にMSGを投与した後の成長に伴う骨の変化に関する報告は少ない。そこで,ラット新生児にMSGを投与し12箇月後の大腿骨の変化について調べた。

【方法】F344/DuCrj ラット(日本チャールスリバー)の雌雄新生児に,生後0,2,4,6,8日目の計5回それぞれ4000 mg/kgのMSG(Sigma)を皮下投与した後,12箇月間飼育し,雌雄各3匹について大腿骨の検索を行った。対照群として,同月齢の無処置ラット雌雄各2匹について同様に検索した。
1)骨サイズ:ノギス(Mitutoyo)を用いて長軸方向の長さ,骨幹の最大径・最小径を測定した。
2)骨密度:小動物用骨密度解析装置(LUNAR®DPX-L X-Ray Bone Densitometer Ver.1.0c)を用いて,骨全体,骨幹端(骨端板より骨幹側へ走査長5

mm),骨幹中央部(走査長5mm)について測定した。

3)病理組織学的検査:10%中性緩衝ホルマリン液で固定し,10%蟻酸・10%ホルマリン等量混合液により脱灰した後,常法に従いパラフィン包埋し,大腿骨遠位端~骨幹中央部の縦断面のHE染色組織標本を作製し,光顕的に観察した。

【結果および考察】MSG投与群では雌雄ともに対照群に比べて,骨サイズ(長軸方向の長さ,骨幹の径)が小さく,骨密度も低下し,雌では特に骨幹端での低下が著しかった。病理組織学的には,雌雄ともに対照群では骨端板は閉鎖する傾向を示したのに対して,MSG投与群では骨端板に特徴的な各分化段階の軟骨細胞からなる柱状配列がみられ,軟骨内骨化が軽度認められたが,骨幹端,骨端における骨梁は明らかに減少していた。一方,骨幹中央部には明らかな病理組織学的差異は認められなかった。また,MSG投与群では骨髄で造血細胞が減少し脂肪組織に置換される傾向があった。

○大町 康¹, 北村和之¹, 川合是彰¹, 土井邦雄² (¹田辺製薬・医薬育成研,²東大・獣医病理)

【緒言】6-Sulfanilamidoindazole(以下6SAI)のラットにおける毒性変化として後肢の関節炎/関節周囲炎が知られているが,本変化の発現機序については不明な点が多い。今回我々は,ラットアジュバント関節炎モデルで抑制効果が報告されている各種薬剤の6SAI誘発ラット関節炎に対する影響について病理学的に検討をし,本病態の病変形成にどのような因子が関与しているかについて考察を加えたので報告する。

【材料と方法】病態は9週齢の雄性Crj:CDラットに6SAI 500mg/kgを2週間反復経口投与して作出した。Indomethacin(IND, 1mg/kg, p.o.), dexamethasone(DXA, 0.5mg/kg, p.o.), methotrexate(MTX, 0.5mg/kg, p.o.), L-NAME (30mg/kg, p.o.), cyclosporin A(CSA, 5mg/kg, p.o.)およびaminoguanidine(AMG, 20mg/kg, s.c.)をそれぞれ2週間併用投与した(各群n=6)。投与期間中,体重および足踵容積測定ならびに後肢関節炎スコア評価を行い,最終投与翌日に解剖し,採取した足根関節について病理組織学的検査を行った。

【結果】6SAI処置群では体重の増加抑制ないし減少が認められ,DXA群では顕著であった。また,CSAおよびL-NAME群では投与1週後頃より一般状態が悪化し,死亡例が出現したため,これらの群の動物は投与10日後に瀕死期殺処分した。

肉眼的な関節の変化は,病態対照群では投与4日後より認められ,7日後では全例で高度となった。IND群では投与5日以降で関節腫脹を示す例が少数認められたものの変化は軽く,またDXA群では関節の変化は見られなかった。組織学的に病態対照群では,関節/関節周囲の著明な炎症ならびに炎症性肉芽形成,動脈炎や骨周囲性骨形成が認められた。これに対してIND群では,6例中3例で滑膜に限局的な単核細胞浸潤や浮腫が,1例で関節/関節周囲における軽度の炎症が認められた。DXA群では組織学的な異常は認められなかった。MTX, AMG, CSA, L-NAME群は肉眼的にも組織学的にも病態対照群と明らかな差は認められなかった。

【考察】今回の結果,INDならびにDXAが,6SAI誘発ラット関節炎に対して顕著な抑制作用を示しことから,本モデルの病変形成にはプロスタグランジン系アラキドン酸代謝物が大きく関与していると考えられた。今後,病変の形成過程におけるこれらの生理活性物質の関与についてより詳細に調べて行きたい。

○佐々木 啓、神鳥仁志、永井博文、森 郁生 (武田薬品)

滑膜炎は老齢ラットでは稀な所見ではないことが一般的に経験されている。我々は、毒性試験で膝関節の病理組織検査を実施してきたが、若齢ラットにおいても自然発生性に滑膜炎がみられることを経験し、老齢ラットにおける滑膜炎と形態学的に比較したので報告する。

動物は SPF 環境下で飼育された Jcl:Wistar ラットで、4 週試験の対照群雄 40 匹と 2 年試験の対照群雄 50 匹雌 50 匹であり、試験開始時週齢はいずれも 6 週齢である。膝関節は 10% 中性ホルマリン液で固定後、5% 蟻酸ホルマリン液で脱灰し、正中矢状断のパラフィン包埋 HE 染色標本を作製した。4 週試験では滑膜炎が 27.5%、滑膜上皮細胞の過形成が 57.5%、大腿骨骨端関節軟骨の変性が 60%、膝十字靭帯及び/或いは靭帯付着部周囲結合組織の変性が 85% にみられた。周囲結合組織の血管内皮細胞は水腫状に肥大し、内腔の狭窄や血栓形成が認められた。滑膜炎は膝関節前面あるいは後面の半月の両側、前面では特に大腿骨側に好発していた。関節軟骨の変性部位と滑膜炎の発生部位とに直接的な因果関係は認めなかった。膝十字靭帯及び/或いは靭帯周囲結合組織の変性を示した例のうち 50% に軟骨化生がみられ、滑膜炎を示した全例で軟骨化生が認められた。2 年試験では滑膜炎が雄 40% 雌 16%、滑膜上皮細胞の過形成が雄 70% 雌 64%、大腿骨骨端関節軟骨の変性が雄 100% 雌 98%、膝十字靭帯及び/或いは靭帯周囲結合組織の変性が雄 92% 雌 76% にみられ、そのうち雄 91.3% 雌 94.7% で軟骨化生が認められた。4 週試験同様に靭帯周囲結合組織に血管の変化がみられた。関節軟骨の変性は 4 週試験に比べ強かった。滑膜における著しい繊維化が雄 70% 雌 28% にみられ、そのうち雄 57.1% 雌 64.3% では滑膜炎を伴っていた。滑膜炎は 4 週試験と同様の部位にみられ、病変の程度に差は認めなかった。以上の成績から、ラットでみられた滑膜炎は微小循環障害に基づく膝十字靭帯及び靭帯周囲結合組織の変性に起因する関節の柔軟性障害が原因であることが示唆された。

○桑山知登世、下井昭仁、富田和夫、渡辺満利 (持田製薬・安全性研)

目的：糸球体における濾過に係蹄壁の陰性荷電が重要な役割を担っていると考えられており、特に蛋白漏出と陰性荷電の変動について数多くの報告がある。しかし、両者の関連性についてはなお賛否両論がある。その一つの原因として、陰性荷電検出に用いられる電頭組織化学の方法の違いが挙げられる。そこで、正常ラットの糸球体陰性荷電を polyethylenimine-phosphotungstic acid 法 (PEI 法)、lectin-futuin-gold complex 法 (LFG 法) および cationic (poly-L-lysine)-gold 法 (PLG 法) の 3 種類の方法により検出し比較検討した。

方法：動物：6 週齢 Wistar 雌ラット。

- 1) PEI 法：分子量 1800 の polyethylenimine。静注法および浸漬法。Epon 包埋。
- 2) LFG 法：親水性樹脂 LR-White 包埋腎切片に Limax flavus lectin と futuin-gold complex を反応させた。
- 3) PLG 法：LR-White 包埋腎切片に分子量 350,000 の poly-L-lysine + コロイド金を pH2.5, 3.5 および 7.0 で反応させた。また、反応前に切片を neuraminidase (sialidase) あるいは heparitinase で処理し、シアル酸およびヘパラン硫酸の局在部位を検出した。

結果および考察：PLG 法では pH3.5 において陰性荷電の局在を示す金粒子は、糸球体の上皮細胞と足突起の細胞膜ならびに基底膜の緻密層および外層に規則的に密に結合していた。これに比べ LFG 法では、金粒子は PLG 法とほぼ同部位に分布していたが、分布密度は低かった。また、LFG 法では、反応液の濃度および反応時間を増すと非特異反応が増加した。PEI 法では、静注法、浸漬法いずれでも陰性荷電部位を現す反応物は基底膜の外層だけにしかみられなかった。このように、糸球体係蹄壁陰性荷電部位の検出には、検討した 3 つの方法では PLG 法が最も優れていた。また、PLG 金粒子の分布は neuraminidase 処理後には上皮および足突起細胞膜から消失し、heparitinase 処理後には基底膜から消失した。この結果は、それぞれの部位の陰性荷電物質がシアル酸およびヘパラン硫酸であることを示すものと思われる。

P-69

ラット腎部分切除による糸球体硬化性病変発生における
 α -smooth muscle actin の役割

○ 下 武男、大下政文、片山淳一、齊藤明美、青木康治、桶崎英一、永田治
(北陸製薬(株)、研究開発本部、研究部)

【目的】多くの腎疾患は、発症原因にかかわらず最終的に糸球体硬化症を伴った慢性病変に進展することが知られている。従来、糸球体硬化性病変は、種々の化学物質投与あるいは腎部分切除などにより作出されてきたが、その発症機序には複雑な要因が関与しており、十分に解明されていない。そこで今回、糸球体病変の発現機序を検索するためにラット腎部分切除モデルにおける糸球体硬化性病変について病理学的に検討した。

【材料および方法】実験には6週齢の雄SDラットを用いた。14匹のラットを2群に振り分け、第1群は腎の3/4(左腎は全摘し、右腎は1/2を切除)を切除し、第2群は被膜のみを除去した偽処置とした。処置後2、4、6週目に尿蛋白を測定し、8週目に血圧、尿蛋白、血漿BUN、クレアチニンクリアランスを測定すると共に右腎の病理組織学的検査を実施した。腎臓はメタカーン液で固定後、パラフィン切片を作製し、H-E、PASおよびAzan染色に加えて、抗 α -smooth muscle actin (α -SMA)、抗PCNAおよび抗ED-1抗体を用いた免疫組織染色を施し検索した。

【結果】尿蛋白は第1群で4週目より増加し、その後プラトーになり、投与期間依存性の上昇を示さなかった。8週目には第1群で血圧の上昇が認められ、組織学的にメサンギウム細胞の増殖と糸球体係蹄にコラーゲン線維の増加を伴う糸球体硬化症を呈し、これら病巣部にはメサンギウム細胞質に α -SMAの発現およびPCNA陽性細胞数の増加が認められ、一部にマクロファージの浸潤もみられた。

【考察】今回の実験結果より、腎部分切除群でメサンギウム細胞質に α -SMAの発現を伴いPCNA陽性細胞数の増加が認められたことから、メサンギウム細胞が形質転換し、続いて増殖し、コラーゲン線維が産生されたと推察された。メサンギウム細胞の増殖には、腎血圧上昇と糸球体血流量の増加による血管内皮細胞の障害およびその結果として活性化した血小板から放出された血小板由来増殖因子などの関与が示唆された。

P-70

膀胱、腎、肝発癌におけるヒ素化合物(MMA、DMA、TMAO、AsBe、AsIII)の修飾作用の検討

○ 鰐淵英機、市原敏夫、サリムエリサド、李威、山本晋史、福島昭治
大阪市大・医・1病理

【背景】ヒ素は環境中に広く存在し、疫学的にヒトに対する発癌性が明らかとなっている。有機ヒ素化合物のジメチルアルシン酸(DMA)は、無機ヒ素の主な尿中代謝物であり、我々は以前にDMAの膀胱、腎、肝および甲状腺に対する発癌促進作用を明らかにした。今回DMAの代謝に関与する様々なヒ素化合物について膀胱、腎、肝に対する発癌修飾作用およびその機序について検討した。

【方法】6週齢の雄性F344ラットを12群に分け、第1~6群に0.05%BBNを4週間、0.05%EHENを2週間飲水投与し、その1週後よりヒ素化合物をヒ素濃度が100ppmとなるようにモノメチルアルソン酸(MMA)、DMA、トリメチルアルシンオキサイド(TMAO)、アルセノベタイン(AsBe)を、無機ヒ素である亜ヒ酸ナトリウム(AsIII)はLD50値が低いためヒ素濃度として10ppmを38週間飲水投与した。また7~12群にはヒ素化合物のみを投与した。

【結果】膀胱のPN過形成、papillomaの1匹あたりの数はDMA投与群で有意に、carcinomaはMMA、DMA、TMAO投与群で有意に増加した。細胞増殖の指標であるBrdU labeling indexは、DMA投与群で有意な増加を、MMAおよびTMAO投与群で増加傾向を示した。またこれらのプロモーション作用の程度は、尿中ヒ素代謝産物のうち未同定の尿中ヒ素代謝産物の量に相関していた。肝、腎については明らかな促進作用はみられなかった。

【結論】DMA以外の有機ヒ素化合物であるMMA、TMAOも膀胱発癌プロモーション作用を示すことが明らかとなった。この膀胱発癌プロモーション作用は、未同定の尿中ヒ素代謝産物(ピーク2)の量に相関していた。

P-71 有機ヒ素化合物、ジメチルアルシン酸により誘発したラット膀胱癌における遺伝子変異の検索

山本晋史、片山博文、立石善隆、魏 民、李 祺家、陳 天新、鰐淵英機、福島昭治
(大阪市立大学医学部 第一病理)

【目的】ヒ素は自然界に広く分布しており、また疫学的にその発癌性が指摘されてきたが、そのメカニズムについては不明な点が多い。また、動物実験でヒ素の発癌性を証明した報告はなされていなかったが、我々はラットの多臓器中期発癌性試験法を用いて、ヒ素の生体内での代謝産物であるジメチルアルシン酸が膀胱、肝、腎、甲状腺の発癌を有意に促進することを明らかにした。一方、*in vitro*においてヒ素がDNA修復を阻害することが実験的に示唆されている。今回、BBNによるイニシエーション後にジメチルアルシン酸を投与して得られたラット膀胱癌の発癌メカニズムを解析する目的で、*p53*、*H-ras*および*K-ras*遺伝子変異、*cyclin D1*の異常発現、およびDNAミスマッチ修復異常のマーカーであるマイクロサテライト不安定性(MSI)について検索を行った。【結果】*p53*および*H-ras*遺伝子変異はいずれも1/10 (10%)の腫瘍において確認され、*K-ras*遺伝子変異は認められなかった。*cyclin D1*の異常発現は約30%の腫瘍において観察された。一方、MSI陽性であった腫瘍は5/14 (36%)であり、アスコルビン酸ナトリウムをプロモーターとして用いて誘発した膀胱癌の結果と比して、有意に上昇していた。【考察】*p53*および*ras*遺伝子の変異については、ヒ素以外のプロモーターを用いて得られた腫瘍における結果と同様の頻度であったが、MSIについては高率であり、ジメチルアルシン酸により誘発した膀胱発癌過程において、DNA複製時のミスマッチ修復異常が関与していることが強く示唆された。

P-72 ラット膀胱粘膜上皮細胞における *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) ないし sodium L-ascorbate (Na-AsA)投与による細胞動態解析

○高場 克己^{1,2}, 佐伯 幸司¹, 鈴木 一生¹, 竹田 剛¹, 加国雅和¹, 鰐淵 英機²,
山本 晋史², 福島 昭治² (1協和発酵・安全研, 2大阪市大・医・1 病理)

【目的】ラット膀胱粘膜上皮細胞における発癌物質投与による細胞増殖および休薬による退縮過程を病理組織学およびフローサイトメトリー (FCM) で解析した。また、これら細胞動態への影響に男性ホルモン (精巣切除) が関与するか否かについて併せて検討した。

【方法】8週齢のF344雄ラット310匹を用い、実験開始時に半数の動物に精巣切除術を施し、2週経過後より10週時まで発癌物質のBBNないしプロモーターのNa-AsAを各々、0.05%濃度で飲水投与または5%濃度で混餌投与し、その後18週時まで休薬した。膀胱は、実験開始後6、10、11、12、14および18週で採取し、病理組織学的検査およびFCMによるDNAヒストグラム解析を実施した。

【結果】組織学的に、BBNないしNa-AsA投与動物共に過形成とBrdU標識率の上昇 (各々対照群の40倍ないし10倍程度) が認められた。休薬期間において、BBN投与動物のBrdU標識率の回復は緩徐 (18週時点で対照群の2倍程度) であり、最終時点で腫瘍発生も観察されたが、Na-AsA投与動物のBrdU標識率は休薬1週後に正常に復した。アポトーシス (TUNEL標識率) は、BBNないしNa-AsA投与動物共に投与期間から高頻度 (各々対照群の60倍ないし10倍程度) に認められ、休薬初期 (11週と12週時) で最高値 (各々対照群の90倍ないし15倍程度) に達した。その後、BBN投与動物では徐々に低下したが回復には至らなかった。一方、Na-AsA投与動物の細胞死は休薬4週後に正常に復した。また、FCMデータの解析によるS期細胞%とSubG1細胞%の変動は、各々BrdU標識率とTUNEL標識率の変動パターンとほぼ一致していた。上記検査結果における去勢の影響は、BBNないしNa-AsA投与動物共に不明瞭であった。

【結論】発癌物質ないしプロモーター投与後の休薬による膀胱粘膜上皮過形成の退縮にアポトーシスの関与が示唆された。

P-73

NCI-Black-Reiter(NBR)ラットにおけるアスコルビン酸ソーダの膀胱発癌
プロモーション作用

○宇和川賢、須方督夫、尾崎圭介（住友化学・生科研）、

高場克己、鰐淵英機、福島昭治（大阪市大・医・1病理）

【目的】 アスコルビン酸ソーダ (Na-AsA) の膀胱発癌プロモーション作用には、尿中Naイオン濃度と尿pHの上昇が不可欠であり、さらに、雄ラットの尿中にのみ存在する α 2u-グロブリン (α 2u-G) の関与が注目されている。今回、 α 2u-Gを先天的に欠損したNBRラットに対するNa-AsAの膀胱発癌プロモーション作用を検討した。

【方法】 14週令の雄のNBRラット (31匹) とF344ラット (33匹) を各2群に分け、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (0.05%飲料水) を4週間投与した後、Na-AsA (5%混餌投与) あるいは基礎食を与えた、合計4群を設けた。全経過36週にてラットを屠殺し、膀胱を病理組織学的に検索した。また、投与期間中に尿検査 (尿量、浸透圧、電解質、pH) を行った。

【結果】 尿検査では、Na-AsAを投与したNBRラット、F344ラットともに、尿中Naイオン濃度と尿pHが上昇したが、両系統間に差異は認められなかった。膀胱の病理学的検査において、F344ラットのNa-AsA投与群では、PN過形成 (16/17例)、乳頭腫 (16/17例)、癌 (9/17例) の発生率は基礎食群 (各8/16例、6/16例、1/16例) に比較して有意に増加した。一方、NBRラットでは、Na-AsA投与群 (各8/16例、3/16例、1/16例) と基礎食群 (各6/15例、5/15例、1/15例) に差は認められず、Na-AsAはNBRラットに対して膀胱発癌プロモーション作用を示さなかった。

【考察】 Na-AsAの膀胱発癌プロモーション作用には、尿中Naイオン濃度と尿pHの上昇のみならず、 α 2u-Gの関与が示唆された。しかし、最近、 α 2u-Gが尿中に存在しない雌性F344ラットにおいてもNa-AsAのプロモーション作用が見出されており、NBRラットにおけるプロモーション作用欠如の理由については、今後さらに検討を要する。

P-74

膀胱発癌プロモーターであるアスコルビン酸ナトリウムに
対するスナネズミ雄の感受性

○村井 隆^{1,2}、森 聖¹、細野素子²、高嶋 彰²、福島昭治¹

(¹ 大阪市大・医・1病理、² 塩野義製薬・油日ラボ)

【はじめに】 スナネズミ雄は膀胱発癌物質であるN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) に対して、ラットやマウスと同様に感受性を示し、しかも誘発された癌の多くは浸潤性である (第82回日本病理学会)。しかし、ラットの膀胱発癌プロモーターである(2)-t-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) はスナネズミ膀胱に対して発癌プロモーション作用を示さなかった (第11回日本毒性病理学会)。今回はBHAと同様にラットで膀胱発癌プロモーション作用を発揮するがマウスでは示さないアスコルビン酸ナトリウム (Na-AsA) のスナネズミに対する感受性について検討を加えた。

【材料および方法】 6週令のMGS/Sea系スナネズミ (SPF、成和実験動物研究所) の雄47匹を3群に分けた。第1、2群に0.05%BBN水溶液を実験開始から20週目まで投与した。第1、3群は実験21週目から40週目まで5%Na-AsA混餌MF粉末飼料を投与した。実験開始40週目にスナネズミを屠殺し、膀胱腫瘍の発生を病理組織学的に検討した。

【結果】 膀胱癌、乳頭状あるいは結節状異形成および単純性異形成は第1および2群に発生し、乳頭腫はいずれの群にも発生しなかった。すなわち、第1、2群における膀胱癌の発生率は14/18 (78%) および10/19 (53%) であり、そのうち浸潤性癌は12/14 (86%) および7/10 (70%) に発生した。さらに一匹当りの平均癌個数は2.2および0.7個で、第1群では第2群に比較し有意に発生していた ($P < 0.02$)。また、浸潤癌の発生個数も第1群に多く認められた ($P < 0.02$)。乳頭状あるいは結節状異形成の発生個数は1.2および0.7個であった。

【結論】 Na-AsAはスナネズミ雄において、膀胱発癌プロモーション作用を発揮することが明らかとなった。

○陳 天新、山本 晋史、村井 隆、森 聖、鰐淵 英機、福島 昭治
(大阪市大・医・1病理)

「目的」我々はBBN誘発NON/Shiマウス浸潤性膀胱癌において癌抑制遺伝子p53の変異が高率にみられることを明らかにした。今回、同様のモデルを用いて得られたマウス膀胱癌において、細胞周期回転に抑制的に働くとされるp21及びp27と逆に促進的に働くcyclin D1の発現について検索するとともに、またそれらの因子とp53異常の関連について検討を加えた。「方法」BBNにより誘発したNON/Shiマウス膀胱癌を用いた。病理組織学的な検索を行い、その連続切片を用いて、p53、p21、p27とcyclin D1の免疫組織染色を行った(ABC法)。また、microdissectionによりDNAを抽出し、PCR-SSCP法にてp53mutationを検索した。「結果」53病変のdysplasia、162病変のTCCと13病変のSCCを選択し、明らかな染色性を示す核が5%以上である場合を陽性とした。p53、p21、p27、cyclin D1陽性例数はそれぞれdysplasiaでは42%、55%、38%、66%であった。TCCでは69%、72%、11%と65%であった。SCCでは77%、77%、0と54%であった。p53陽性病変についてp21とともに陽性のものはdysplasiaでは21%、TCCでは41%、SCCでは62%であった。したがって、p53に依存しないで、p21の過剰発現している症例も考えられた。p21陽性病変についてcyclin D1とともに陽性のものはDysplasiaでは39%、TCCでは56%、SCCでは54%であった。すなわち、p21とcyclin D1の染色性に強い関連を認めた。「結論」1) マウス膀胱癌において、p53は最も重要な因子である。2) p53に異常があるにもかかわらず、p21が過剰発現していることから、p53によらないp21発現機構があることが示唆された。3) cyclin D1については、p21と同一の発現パターンを示していることより、それぞれの発現について、何らかの関連のあることが強く示された。

○櫻ゆみ、竹内哲也、野田圭介、妹尾英樹、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介、松本道男*、奥平雅彦
(日本バイオアッセイ研究センター、*順天堂大学伊豆長岡病院)

【はじめに】 ビフェニルは主に熱媒体やその原料、染色助剤、合成繊維及び防かび剤として使用されている。この物質は膀胱結石誘発物質であり、結石による機械的刺激が膀胱腫瘍を誘発するのではないかと考えられている。しかし、ビフェニルの投与により膀胱癌の発生を見たという報告は現在までのところ見あたらない。我々は労働省の委託を受けて、ラットを使用してビフェニルの混餌投与による長期試験を行い、膀胱腫瘍の発生を認めたのでここに報告する。

【材料と方法】 6週齢のF344/DuCrjラット及びCrj:BDF1マウス〔日本チャールス・リバー(株)〕を用い、1群雌雄各50匹(計400匹)にビフェニルを0, 500, 1500及び4500ppmの濃度で粉末飼料に混入し105週間自由摂取させた。投与終了後全例を剖検し、臓器を10%緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従って光顕標本作製し、検索した。

【結果】 ビフェニルの投与による変化は4500ppm群の主として、膀胱を中心とした腎尿路系器官に認められた。膀胱の腫瘍及び腫瘍関連病変の種類と頻度は右表の如くである。

【考察】 ビフェニルの長期混餌試験により発生した膀胱腫瘍の実態を報告した。膀胱腫瘍発生メカニズムは未だ不明であるが、尿中のビフェニル代謝産物が、結石の形成と腫瘍の発生に関与しているものと考えた。

	膀胱	
	雄	雌
4500ppm群の膀胱に認められた腫瘍及び腫瘍関連病変		
検索動物数	50	50
移行上皮乳頭腫	10	0
移行上皮癌	24	0
扁平上皮乳頭腫	1	0
扁平上皮癌	1	0
移行上皮単純過形成	12	1
移行上皮結節状過形成	40	5
移行上皮乳頭状過形成	17	4
基底細胞過形成	27	4
扁平上皮化生	19	4
扁平上皮過形成	13	1
炎症性ポリープ	10	0
結石	43	8

○齊藤義明, 白見憲司, 永田伴子, 今井 清 (食薬センター・秦野研)

昨年度の本学会において、2,5-Hexanedione(HD) 投与によるラットの精巣障害の初期変化として、HD 500 mg/kg 7日間投与により、ステージ XIV 期に大型の減数分裂精母細胞、ステージ I には隣接する細胞間橋の不明瞭な円形精子細胞がみられ、14日間投与では円形精子細胞由来の巨細胞の他、伸長精子細胞の核の変形、Sertoli 細胞、精子細胞内の微小管の不規則な走行および短小化が観察されることから、これらは tubulin に関連した変化である可能性があることを報告した。今回、これらの変化を詳細に観察する目的で、主として免疫細胞化学的手法による α - tubulin の変化について検討したので報告する。

【材料および方法】12週齢のSD系ラットにHD 500 mg/kgを連続7および14日間強制経口投与した後、0.1 Mリン酸緩衝1%グルタルアルデヒド固定液で全身灌流固定を行った。精巣は通常の電顕用標本のほか、60 μ mのビプラトーム固定切片を作製し、Protein A-Gold(1 nm)法により α - tubulin (Monoclonal anti α - tubulin, Sigma)の染色を行なって銀増感処理後に電顕標本を作製して観察した。

【結果および考察】電顕所見として、ステージ IX ~ I 期のSertoli 細胞細胞質内微小管の短小化、伸長精子細胞核の変形、不規則な微小管走行、ステージXIV期に大型の減数分裂精母細胞がみられた。さらに、ステージ VII ~ VIII 期に相当する精細管に多核の円形精子細胞が観察されたほか、Sertoli 細胞内には変性した伸長精子細胞核および軸糸の断片が多数みられた。また伸長精子細胞の核の変形が著明となり、アクロソームには小胞状構造物も認められた。一方、 α - tubulin 染色では、多くは微小管基部の +end と考えられる小胞体様の vesicle に銀増感陽性部(銀粒子)がみられた。7日間投与ではSertoli 細胞の銀粒子は軽度に減少したが、精子細胞内では変化は認められなかった。14日間投与では、Sertoli 細胞の銀粒子が著明に減少した。一方、精子細胞では変性を示す細胞に銀粒子はみられなかったが、変化の軽い精子細胞および減数分裂精母細胞では微小管基部に銀粒子がみられた。

以上のことから、HD投与による初期変化はSertoli 細胞の微小管すなわち tubulin の合成あるいは重合に影響を及ぼすことが確認された。しかし、伸長精子細胞の変化、円形精子細胞の多核化がSertoli 細胞の tubulin の変化から波及することは考えにくく、他の要因である可能性が高い。

○田川義章¹, 朝枝伸幸^{1,2}, 市原 学², 市川一仁¹, 熊澤俊彦¹, 岩井久和¹, 望月健光¹, 竹内康浩² (¹三和化学研究所・安全研, ²名古屋大・医・衛生学)

【目的】1995年韓国で代替フロンとして使用された2-プロモプロパン(2-BP)により、工場労働者に精子減少症がみられた。我々は2-BPの精巣毒性について、雄ラットを用いて病理組織学的に検討した。

【方法】(実験1)雄性Slc:Wistarラット(13週齢、各9匹)に300, 1000, 3000ppmの2-BPまたは新鮮な空気(対照群)を1日8時間毎日吸入曝露した。対照群、300, 1000ppmでは9週間投与した。3000ppmでは投与9~11日目に全身状態が悪化したので11日曝露後投与を中止し、3匹については翌日に剖検し、他の6匹については試験終了まで新鮮な空気を吸入させた。試験期間終了後、動物を剖検し、重量測定後精巣・精巣上体をブアン固定、PAS染色し、病理組織学的に検索した。

(実験2)雄性Slc:Wistarラット(11週齢、各2匹)に3000ppmの2-BPまたは新鮮な空気を8時間、単回吸入曝露した。投与1週間後に動物を屠殺剖検し、精巣をブアン固定、PAS染色し、ステージII-III, V, VII, XIIについてセルトリ細胞に対する精上皮細胞の割合を計測した。

【結果】(実験1)2-BP投与9週後で精巣重量減少、精細管萎縮、精上皮細胞減少、ライディッヒ細胞の過形成がみられた。特に1000ppm以上ではいわゆるSertoli cell-only syndromeを呈していた。また、3000ppmで11日間曝露した動物では精祖細胞の消失と精母細胞数の減少がみられた。

(実験2)各ステージの精祖細胞およびステージVIIのプレプトテン期精母細胞が正常動物に比し、減少していた。

【考察および結論】2-BP投与によりラットに精巣毒性を誘発し、2-BPの精巣毒性を実験的に証明した。また、8時間単回投与後のステージ別の解析結果より、2-BPが精祖細胞に障害を与えている可能性が高いと推察される。

○町田一彦、山口達也、志賀敦史、伊藤聖一、相内聖峰（獣医医研・病理）

カニクイザルは4～5歳で性成熟に達するとされているが、当社において試験に使用した4～5歳の動物で、個体によって未成熟な精巣が認められた。この未成熟精細管の形態学的特徴についての研究報告は少なく、今回、基礎的な情報を得る目的で、得られた材料を用いて免疫組織化学的、電子顕微鏡学的観察を行い成熟精細管と比較検討した。

【材料と方法】カニクイザルの雄（4～5歳）を用いた。成熟精巣および未成熟精巣について、ブアン固定後パラフィン包埋し、常法によりH・E染色標本を作製した。また、同パラフィン切片について、免疫組織化学的手法によりビメンチン、チューブリンおよびPCNAを染色した。ほかに、グルタルアルデヒド・オスミウム固定後、常法により樹脂包埋し、超薄切片作製後ウラン・鉛染色を行い、電子顕微鏡により観察した。

【結果】①H・E染色：多くの未成熟精細管はセルトリ細胞とわずかな精祖細胞から成り、一部の精細管では早期の精母細胞も認められた。未成熟精細管のセルトリ細胞核は成熟精細管とほぼ同形状であったが、基底膜からやや離れて縦長に観察された。②ビメンチン免疫組織化学：未成熟精細管ではセルトリ細胞の核周囲に陽性反応が認められ、精細管の中心付近では反応は認められなかった。③チューブリン免疫組織化学：未成熟精細管ではセルトリ細胞の基底膜に接する部分から精細管の中心まで、核の両側を通過してフィラメント状の反応が認められた。④PCNA免疫組織化学：未成熟精細管では陽性細胞が散見され、精祖細胞および早期の精母細胞と判断された。⑤電子顕微鏡観察：未成熟精細管でもセルトリ細胞間に血液精巣関門と考えられる構造が確認されたが、成熟精細管に比較し入り組みの程度は弱く単純であった。ミトコンドリアは未成熟精細管のセルトリ細胞でも良く発達しているもののそのほとんどが核よりも管腔側に位置し、成熟精細管（一様に分布）とは異なる分布を示した。セルトリ細胞質中の脂肪滴および小胞体は、成熟精細管に比べ、やや少なく小さかった。

【考察】4～5歳のカニクイザルの未成熟精細管は精母～精子細胞が未発達で、多数の精母、精子細胞が発達している成熟精細管とは形態的に大きく異なる。これに伴いセルトリ細胞の形態も異なるが、細胞骨格を構成するビメンチンおよびチューブリンの分布、細胞内小器官であるミトコンドリアおよび小胞体、セルトリ細胞特有の血液精巣関門、カニクイザルのセルトリ細胞に特徴的である脂肪滴等、セルトリ細胞内の構造の特徴は基本的に成熟精細管と共通することが確認された。

○澤本 修、萩原里香、篠原誠治、美好雅文、栗栖和信、久保秀治
（大塚製薬工場・鳴門研）

L-システインは、生体内に存在するアミノ酸の一つであり、食品添加物や医薬品としても広く用いられている。我々は第13回本学会に於いて、L-システインの投与により精巣上体に精子肉芽腫を誘発すること、その要因としてL-システインの過剰投与による精巣上体管の限局性小型化の結果、精子の通過障害が示唆されることを報告した。今回、L-システインの投与開始週齢の違いによる精子肉芽腫発現への影響について比較検討したので報告する。

【材料および方法】6及び11週齢のSD系ラットにL-システイン 800mg/kg (5%水溶液)を腹腔内に投与した。投与期間はいずれの週齢も4週間とし、対照として11週齢のラットに同用量の生理食塩水を投与する群を、11週齢のSDラットでは1, 2および3週間投与群も設けた(各群10匹)。投与終了後、屠殺剖検し、精巣上体、精巣および前立腺について病理組織学的に検索した。

【結果および考察】精巣および前立腺では著変は認められなかった。精巣上体では、対照群の1例で単発性の精子肉芽腫が片側の精巣上体尾部に、11週齢4週間投与群で1例に数個の精子肉芽腫が両側性に、また、6週齢4週間投与群では6例に1～数個の精子肉芽腫が片側または両側の精巣上体尾部～体部に認められた。さらに、精子肉芽腫の見られた11週齢4週間投与群および6週齢4週間投与群では、限局性小型の精巣上体管がそれぞれ1/1例、5/6例に認められた。この限局性小型の精巣上体管は、6週齢の無処置ラットにおける未熟精巣上体管に類似していた。以上のようにL-システインによる精子肉芽腫は、11週齢から投与したラットに比し6週齢から投与したもので高率に発生したことから、L-システインの過剰投与により性成熟の過程にある精巣上体に限局性の発育遅延を引き起こすことが、精子肉芽腫形成の要因の一つと考えられた。

○若林佐知子、長島吉和、星谷達、溝口靖基、永谷真理子、
堀口浩資、佐藤順子、田村一利、岡庭梓(ボゾリサーチ)

ビーグル犬を用いた毒性試験で、特に生殖器の発達に個体差が大きく、しばしば生殖器の検索に際し、個体による成熟の差と、被験物質の影響の識別に困難を感じる。今回、雄ビーグル犬の精巣、精巣上体、前立腺の重量について検索を行ったので、その概要を報告する。

<材料および方法> 当研究所において毒性試験の対照動物として供せられた雄のビーグル犬のうち、毒性試験に使用され始める7ヶ月齢および、その後3ヶ月、6ヶ月および12ヶ月間の試験後の検索月齢に相当する10ヶ月、13ヶ月、および19ヶ月齢の個体を抽出し、それぞれの月齢別における精巣、精巣上体、前立腺の重量について調べた。

<結果> 絶対重量において、精巣上体は7-19ヶ月齢間で有意に増加した。精巣および前立腺は7-10および13-19ヶ月齢間では有意に増加したが、10-13ヶ月齢間での増加傾向ははっきりしなかった。比重量において、精巣、精巣上体および前立腺は7-10ヶ月齢間で有意に増加し、前立腺については13-19ヶ月齢間においても有意に増加したが、精巣および精巣上体は10ヶ月齢以後に有意な増加はみられなかった。検索動物における、精巣重量-体重、精巣上体-体重、精巣-精巣上体、精巣-前立腺、精巣上体-前立腺重量との間に比較的強い相関(相

関係数>0.5)がみられた。本学会ではさらに組織学的検索も含め、雄ビーグル犬の生殖器系の発育について述べる予定である。

月齢	頭数	精巣(左右合計)		精巣上体(左右合計)		前立腺	
		絶対重量(g)	比重量(g%)	絶対重量(g)	比重量(g%)	絶対重量(g)	比重量(g%)
7	46	8.91±3.39	0.10±0.04	1.60±0.48	0.018±0.005	2.08±1.47	0.023±0.017
10	68	14.24±3.11	0.15±0.03	2.72±0.58	0.029±0.010	4.79±2.36	0.049±0.024
13	28	14.15±3.25	0.14±0.03	3.02±0.56	0.030±0.005	5.37±2.44	0.053±0.022
19	37	16.23±3.25	0.14±0.03	3.67±0.63	0.032±0.005	8.41±2.91	0.073±0.026

○工藤佳代子、中村厚、山口裕子、池崎信一郎、楠岡修、
玉井幸子、枝元洋、田村一利(ボゾリサーチセンター)

[はじめに]

ラットの前立腺に自然発生する上皮性増殖病変は、過形成、腺腫および腺癌に分類される。しかし、過形成および腺腫との境界は必ずしも明確ではなく、その発現頻度に関しては報告者により様々である。過形成および腺腫ではそれぞれ数%とする報告が大勢をしめ、腺癌においては稀とされている。今回、我々は当施設にて2年間無処置で飼育したF344ラットの前立腺腹葉に高率に限局性増殖病変の発現をみたので、その形態学的特徴および細胞増殖活性などについて報告する。

[材料と方法]

動物は、2年間無処置にて飼育された187匹のF344ラットである。前立腺は全葉を含み尿道に対して垂直となる一断面標本とし、組織学的検索に供された。増殖性病変は大きさおよび構造的に次のように分類しそれぞれを比較した。1) A: 腺腔内への増殖が弱く cribriform pattern が明瞭でない病変、B: 腺腔内への増殖が強く cribriform pattern が明瞭な病変。2) さらに観察される病変の大きさを構成細胞数により1000個未満をS、1000~2000個をM、2000個以上をLに分類した。細胞増殖活性はPCNA陽性細胞数を計数することにより評価した。

[結果・考察]

増殖性病変を有する動物は56.7%、平均発現個数は動物あたり1.1個であり、最も多発した例では7個観察された。PCNA陽性細胞率は、A群(21.8±6.5%)に比べB群(34.2±10.8%)で高く、腺腔内への増殖が強く cribriform pattern が明瞭な病変の方が増殖活性が高かった。またB群内におけるSとLの陽性細胞率の比較では、それぞれ39.3±11.7%および28.3±5.4%であり、Lでの陽性率の方が低い結果であった。以上の結果よりラット前立腺の腹葉に自然発生する限局性の増殖病変は一定の大きさに達した後、その増殖活性が衰える可能性が示唆された。

○崔 林、今井田克己、伊藤隆康、小川久美子、杉浦 諭、白井智之（名市大・医・1病）

[はじめに]

我々は以前3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl(DMAB)の投与後にtestosterone propionate(TP)を持続投与すると、ラット前立腺背側葉や精囊の浸潤癌発生を促進し、ethinyl estradiol(EE)をTPと同時投与すると側葉、前葉の腫瘍発生が増強されることを報告してきた。今回は、TP単独投与のあとTPとEEを投与することとその組み合わせを逆にして両ホルモンの相互作用を検討した。

[方法] 6週齢のF344雄ラットを1群20匹として、第1-7群にはDMAB 50mg/kgを2週間毎に10回皮下投与した後、第1群にはTPを40週間、第2群にはTPを20週間投与後、さらにTPとEEを20週間、第3群にはTPとEEを40週間、第4群にはTPとEEを20週間後にTPだけさらに20週間、第5群にはTPを20週間、第6群には20週間TPとEEを充填したシリコンチューブにてラットの背部皮下に埋植し、第7群は無処置対照群とした。全経過60週で屠殺剖検した。

[結果] DMAB単独群では前立腺癌は腹葉にのみ認められたが(39%)、DMAB→TP或いはEE群では腹葉癌は認められず、背側葉に第2群で1例(7%)、第4群で2例(11%)の浸潤癌が観察された。また、腹葉の異型過形成もTP或いはEEを40週間投与した群で25~100%の発生を認めたと、20週間TPあるいはTP/EEを投与した群では7%程度しかなかった。一方、精囊癌はTP或いはEEを40週間投与した群で21~50%の発生があったのに対し、TP或いはEEを20週間投与した群では腫瘍性病変は観察されなかった。

[結論] DMAB前立腺癌の発生に対してTPとEEの投与は投与期間にかかわらず、腹葉癌の発生を抑制するものの背側葉の癌の発生を増加する傾向を示した。TPあるいはTP+EEいずれも癌の発生に対しては長期投与が必要であること、また両者の発癌プロモーションの標的部位が異なることが示唆され、しかも、相互に緩衝し合う傾向が見られた。

○佐野真士^{1,2}、小久保百合子^{1,2}、玉野静光¹、今井田克己²、広瀬雅雄²、白井智之²

(¹大雄会医科研、²名市大・医・1病理)

欧米諸国で高率に発生している前立腺癌は、本邦においても食習慣の欧米化と高齢化に伴い増加傾向にあり、癌の一次予防の観点から化学予防の必要性が高まっている。近年、カロテン類の癌に対する化学予防の可能性について多数の注目すべき報告がなされており、特に lycopene は発癌リスクの低下化合物として注目されている。我々はラットの前立腺癌実験モデルを用いてカロテン類の抑制効果を検討した。【方法】6週齢のF344雄ラットに起始物質として50mg/kg体重の3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl(DMAB)を2週間に1回合計10回皮下投与し、その同じ期間またはDMAB投与終了後から0.05%β-carotene, 0.05% palm fruit carotene, 0.0015% lycopene または0.05% curcuminをそれぞれ混餌投与し、実験開始後60週間観察した。また、DMAB投与終了後に基礎飼料およびカロテン類単独投与の対照群を設けた。実験終了後、前立腺および精囊を中心に病理組織学的に腫瘍性病変の発生を検索した。【結果】lycopeneはDMABとの同時投与および後投与のいずれにおいても前立腺腹葉の異型過形成および癌の発生を抑制し、さらに精囊の異型過形成における異形度を低下させた。palm fruits carotene群では同時投与で、curcumin群では後投与で腹葉前立腺癌の発生を抑制した。【結論】lycopene, curcuminおよびpalm fruits caroteneに前立腺癌発生を抑制する働きが示され、特に、lycopeneは極めて低い濃度で抑制作用を示したことから、化学予防剤として有望と考えられる。

○高木久宜, 三森国敏, 小野寺博志, 竹川潔, 安原加壽雄, 高橋道人
(国立衛研・病理部)

【はじめに】 プラタゴオオバタ種皮末(PO)はインド原産のオオバコ科に属する植物種子に由来する食物繊維であり、整腸剤として用いられている。ヒトにおいてはPO摂取により血清コレステロール値が低下することが知られていることから、POは高脂肪食によって増強される腫瘍発生を抑制する可能性が推察される。そこで今回、POの乳腺発癌に対する修飾作用を検討するためラット乳腺二段階発癌モデルを用いて以下の実験を行った。

【材料および方法】 8週齢のSD系ラットを4群に分け、いずれも7,12-dimethylbenz[a]anthracene(DMBA)200mg/kgを単回強制経口投与した。1週間の休薬後、1群にはPOと高コレステロール食(HC)、2群には基礎食(BD)とPO、3群にはHCのみ、4群にはBDのみを投与し、触知可能な乳腺腫瘍の発現を経時的に観察した。26週後に生存動物全例を屠殺した。発生した乳腺腫瘍は病理組織学的に検索し、PO添加群と非添加群でのそれぞれの腫瘍の発生を比較検討した。

【結果】 腫瘍は各群ともに11週目より発生し、その時点での発生個数は3群で多かった。発生した腫瘍の大きさは1群と3群、2群と4群の間でそれぞれ群間に有意差は認められなかった。一方、腫瘍の発生個数は2群では4群に比較してむしろ有意に増加していた。病理組織学的には1群では3群に比較して腺腫と腺癌の発生個数が減少する傾向を示したが、両群間に有意差は認められなかった。しかし、2群では4群に比較して、線維腺腫、腺腫、腺癌の発生個数がむしろ増加する傾向を示したが、その変動には有意差はなかった。

【まとめ】 今回の実験条件下では、POはラット乳腺腫瘍に対して明らかな修飾作用を示さなかった。

杉江茂幸¹、酒々井夏子²、大西将美²、K.M. Wahidur Rahman²、田中卓二³、若林敬二⁴、森秀樹² (岐阜大・医・1動物実験施設、2病理、3金沢医大、病理、4国立がんセ・研・生化)

【目的】 PhIPの短期複数回投与、高脂肪食ラット乳腺発癌モデルを用いてscordininを各々ニシエーション期に投与し、それらの修飾効果を比較検討した。

【方法】 6週齢の雌SDラットを4群に分け、第1、2群にPhIP 85mg/kg (corn oilに懸濁)を7~8週齢に亘り計8回の胃内強制投与を行った。第3、4群は対照群とした。全群全実験期間に亘り高脂肪食を与え、第2、3群は600 ppm scordininを混餌、実験開始からPhIP投与終了1週間後迄投与した。実験開始後25週で全動物を屠殺、剖検した。

【結果・考案】 実験終了時、体重はPhIPを投与した1、2群間、3、4群間で有意差は見られなかった。しかし、肝重量、%肝重量は、PhIP単独投与群、PhIP+scordinin投与群では対応するコントロール群に比べ、有意の増加を認めた(Table 1)。乳腺腫瘍の発生頻度はPhIP単独投与群では59.4% (19/32)であったのに対して、PhIP+scordinin投与群では65.8% (21/32)と有意差を認めなかった。乳腺腫瘍発生個数はPhIP投与群で 1.59 ± 2.04 であったのに対して、PhIP+scordinin投与群では 1.34 ± 1.55 で有意の減少を認めなかった。また、対照処置群(3、4群)では腫瘍の発生は見られなかった。

今回の結果から、scordininには抑制効果を認めなかった。抗酸化作用が期待されるscordininに抑制効果を認めなかったことからPhIP誘発乳腺発癌には抗酸化物質はあまり有効ではない可能性が考えられる。

○松永研吾、吉見直己、川端邦裕、山田泰広、森 秀樹 (岐阜大・医・1病理)

【目的】我々はb-グルコシダーゼ抑制剤であるグルカル酸水素カリウム(PHG)によるラット大腸発癌抑制を報告してきた。今回、乳癌顕在化抑制について検討した。

【方法】雌SDラット120匹を6群に分け、Group 1～3には生後49日にN-methyl-N-nitrosourea(MNU)を50mg/kgにて皮下注射した。うちGroup 2、3に投与後1週間後より、それぞれ4%PHG、2.6%PHCを混餌投与を行った。Group 4～6はそれぞれ4%PHG alone、2.6%PHC alone、non treatmentとした。

経時的に週に一度、乳腺腫瘍の発生を触知観察した。MNU投与後25週で全匹屠殺し、乳腺腫瘍等を観察した。尚、炭酸水素カリウム(PHC)はPHGの対照として用いた。

【結果】経時的には実験8週でGroup 1、3において乳腺腫瘍を触知し、Group 2では実験10週で乳腺腫瘍を触知した。実験21週ではGroup 2の発生率がGroup 1を上回った。全匹屠殺時にはGroup 1では27匹に乳腺腫瘍を認め、その率は84.4%(27/32)であり、腫瘍の多発性は 2.19 ± 2.17 であった。Group 2及び3はそれぞれ26、21匹認め、83.9%(26/31)、67.7%(21/31)かつ多発性は 2.35 ± 1.76 、 2.06 ± 1.95 であった。PHG及びPHCでは腫瘍頻度・多発性共に統計的に有意差は認められなかった。

【結語】PHGはβ-グルコシダーゼ抑制剤として、エストロゲン等のホルモンの代謝解毒に関与することが予想され、エストロゲンホルモンに関係する乳腺腫瘍への抑制が期待されたが、今回の結果はPHGのホルモンへの影響は少ないものと考えられた。

○飯塚生一^{1,2}、高橋正一¹、安藤進¹、吉田緑¹、工藤佳代子¹、白木克尚¹、前川昭彦¹
(¹佐々木研・病理, ²ツムラ・病理)

【はじめに】CD-1 マウスに *N-ethyl-N-nitrosourea* (ENU) の子宮腔内単回投与と 17β-estradiol (E2) の持続投与を併用することにより、高率に子宮内膜腺癌を誘発させることができるが、同時に肺にも増殖性病変を併発することを報告した¹⁾。今回我々は、肺の増殖性病変を伴わないマウス子宮内膜腺癌誘発法の確立を目的として、発癌剤として ENU の代わりに *N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (ENNG) を用いて同様な実験を行い、肺を含む他の臓器の増殖性病変を伴わず、高率に子宮内膜腺癌を誘発させることができたので報告する。

【方法】7週齢より室内照明を24時間照明にコントロールし、性周期を停止させた Crj:CD-1 雌マウス80匹を4群に分けた。9週齢時に1及び2群にはコレステロール含有ペレットを、3及び4群には0.5%E2含有ペレットを背部皮下に埋め込んだ。1週間後に1及び3群には polyethylene glycol(PEG)を、2及び4群には PEG に溶解した ENNG(12.5mg/kgBW) を子宮腔内に経腔的に単回投与した。動物は ENNG 投与後15週間観察・剖検後、子宮を含む主要臓器の増殖性病変を病理組織学的に検索すると共に、内分泌学的検索を行った。

【結果および考察】子宮内膜腺癌は1～4群でそれぞれ0、6、25、55%に認められた。また子宮以外の臓器では増殖性病変は見られなかった。以上の結果より、E2およびENNGを併用投与した場合、子宮内膜腺癌の発生はENUの場合と同様に半数以上の動物に認められたが、ENU投与で見られた肺の腺腫等、子宮以外の臓器の増殖性病変が全く見られないことが明らかとなった。これらのことから、発癌剤としてENUの代わりにENNGを用いることによって、効率良いマウス子宮内膜腺癌誘発の実験系が確立された。

【文献】1) Takahashi M et al.: Rapid and high yield induction of endometrial adenocarcinomas in CD-1 mice by a single intrauterine administration of *N-ethyl-N-nitrosourea* combined with chronic 17β-estradiol treatment. *Cancer Letters*. 1996, 104, 7-12.

子宮原発 yolk sac tumor の移植系樹立と腫瘍増殖に 及ぼす諸要因の検討

○安藤 進¹ 木谷敏之^{1,2}、白木克尚^{1,3}、黒田博之¹、吉田 緑¹、高橋正一¹、前川昭彦¹
(¹佐々木研・病理、²ツムラ・中央研、³山之内・安全研)

Yolk sac tumor あるいは卵黄嚢癌は内胚葉に由来する腫瘍である。ヒトでは卵巣及び精巣に原発する事が知られているが、子宮に原発することは非常に稀である。今回我々はラット子宮二段階発癌試験中に発生した子宮原発 yolk sac tumor について、その移植系を樹立し、更に yolk sac tumor の増殖に及ぼす諸要因について検討したので報告する。

動物は8週齢時に N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) 15mg/kg を経腔的に子宮腔内に単回投与し、15カ月齢時に屠殺解剖した Donryu ラットの1例である。肉眼的には右子宮角に7 x 7 x 6cm 大の腫瘤として認められ、表面は不整で被膜に囲まれ、断面では腫瘍組織は乳白色結節状で、中心には広範囲な出血及び壊死巣が見られた。組織学的には腫瘍細胞は索状、小腺房状或いはリボン状配列を示し、その周囲はエオジンに淡染し、PAS 染色陽性の豊富な基質に囲まれていた。腫瘍細胞の一部は alpha fetoprotein (AFP) 免疫染色で陽性を示したことより本症例を子宮原発の yolk sac tumor であると診断した。腫瘍組織の一部を同系ラット雌の皮下に移植し、移植系を樹立した(12代目)。Yolk sac tumor の増殖に及ぼす諸要因を検討する目的で、腫瘍を8及び26週齢雄雌各3匹の皮下に移植した結果、性別及び週齢による腫瘍増殖の違いは認められなかった。また8週齢時に去勢した雌雄各3匹に移植しても、腫瘍の増殖速度に変化は認められなかった。以上のことから、移植系 yolk sac tumor の増殖は年齢、性及び性ホルモンによる影響を受けないことが示された。

カニクイザルを用いた骨粗鬆症モデル — 卵巣摘出後の乳腺、子宮および骨変化 —

○川口博明^{1,2}、二反田隆夫¹、小玉拓郎¹、里 健一^{1,2}、岡崎啓幸^{1,2}、
前田 博²、宮島宏彰²、永田良一²、吉田浩己¹
1) 鹿児島大学医学部第一病理、2) 株式会社 新日本科学

はじめに) 骨粗鬆症薬の薬効評価にはモデリング動物としてげっ歯類を、リモデリング動物として霊長類などが用いられている。我々は、カニクイザルの卵巣を摘出(OVX)し、骨粗鬆症モデルを作出した(SOT, USA, 1997)。今回はエストロゲン標的臓器である乳腺および子宮について検討したので報告する。

材料と方法) 1群7匹のインドネシア産の雌カニクイザル(9~12歳)を用いた。

OVX後、経時的に第3~5腰椎の骨密度を測定し、血中エストラジオール、血清中酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ(TRAP)、骨型ALP、尿中デオキシピリジノリンおよびピリジノリンの測定を行い、78週目に剖検し、摘出した第3腰椎の骨密度および骨強度を測定し、主要臓器重量測定後、乳腺および子宮を病理組織学的に検査した。

結果および考察) OVX後、一般状態、摂餌量、体重推移にはOVX群とSham群との間に差はみられなかったが、OVX群では血中エストラジオール、骨密度および圧縮強度はいずれも低値を示した。一方、骨代謝マーカーはいずれも高値を示し、骨形成および骨吸収はいずれも亢進した。また、OVX群では、乳腺および子宮は萎縮性変化を示し、特に乳腺は上皮細胞の estrogen receptor および progesterone receptor が減少したが、アポクリン嚢胞が高頻度に観察された。これらの変化はヒトの閉経後にみられる変化に類似していた。

以上の結果より、OVX後にみられたカニクイザルの諸変化はヒトの骨粗鬆症に極めて類似していることが示唆された。

P-91

ラット膀胱粘膜上皮細胞のフローサイトメトリー測定のための調製方法の検討

○佐伯 幸司¹, 高場 克己^{1,2}, 竹田 剛¹, 加国 雅和¹, 鈴木 一生¹,
福島 昭治² (1 協和発酵・安全研, ²大阪市大・医・1 病理)

【目的】ラット膀胱粘膜上皮細胞のフローサイトメトリー (FCM) による DNA 測定のための簡便な調製方法について検討した。

【材料と方法】動物は、F344 系雄性ラット (8 週齢) を使用した。麻酔脱血殺後、膀胱を摘出・反転し、粘膜面を露出した。その後、直ちにコラゲナーゼ、ディスパーゼおよびトリプシンの 3 種類の蛋白分解酵素を混合した消化液で消化した。さらに、EDTA による処理を加えることにより、膀胱粘膜上皮の基底膜から上皮細胞を可能なかぎり剥離した。採取された膀胱粘膜上皮細胞は、70%エタノールで固定し、FCM 測定まで -20°C で保存した。DNA 染色には、propidium iodide (PI) を使用した。

【結果】トリプシン処理により単離された細胞浮遊液に混入する赤血球を除くことができた。この方法によって、1 匹のラット膀胱から少なくとも 5×10^5 個の上皮細胞が得られた。F344 系雄性ラットから得られた膀胱粘膜上皮細胞の PI 染色による DNA 分布 (平均 \pm 標準偏差, $n=6$) は、 G_0/G_1 、S および G_2/M でそれぞれ、 96.0 ± 1.3 (%), 0.5 ± 0.1 (%), 3.2 ± 1.1 (%) であった。なお、本方法における G_0/G_1 ピークの変動係数 (CV) は約 5% であり、良好な DNA ヒストグラムを示した。

【結論】コラゲナーゼ、ディスパーゼおよびトリプシンによる複合酵素処理を特徴とする本法によって、DNA 解析に必要な充分量のラット膀胱粘膜上皮の単離細胞を効率良く得ることができ、げっ歯類の膀胱発癌研究への FCM の応用が可能となった。

P-92

画像解析装置を用いた脳障害の定量的評価の検討

○竹田 剛, 佐伯 幸司, 高場 克己, 木本 直哉, 加国 雅和, 鈴木 一生
(協和発酵 安全研)

【目的】病理組織学的評価上、脳障害における神経細胞の変性及び壊死に伴うアストログリア細胞の数的増加と腫大はグリオーシスの診断に重要な所見である。またグリオーシスの程度は、標本視野中のアストログリア細胞の面積の変化を捉えることが主要な基準の一つとなっている。我々は画像解析装置により標本上に出現するアストログリア細胞の断面積を計測し、グリオーシスを定量的に評価する手法の検討を行った。

【材料と方法】測定材料として脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) の標本を用いた。測定に際しては予め脳の 8 断面について病理組織学的検査を実施して評価部位の検討を行った。測定は脳卒中の好発部位と判断した前頂より後頭側に 3~4 mm と 6~7 mm に相当する 2 ヶ所を対象とし、抗グリア細線維性酸性タンパク (GFAP) 抗体を用いた免疫組織化学染色を施した後、大脳皮質の左右各 5 ヶ所 (測定総面積 $7.910 \times 10^{-1} \text{ mm}^2$) について陽性部位の面積を画像解析装置 (LUZEX III, NIRECO 社製) にて計測し、アストログリア細胞の面積率を求めた。

【結果】GFAP 陽性部位の面積率と病理組織学的検査結果との間に相関が認められ、画像解析によりグリオーシスを定量的に評価することが可能であることを確認した。また、画像解析装置による評価が病理組織学的検査においてグリオーシスの判断を迷う、微妙なアストログリア細胞の増加を判定できる手法であることが推察された。しかし画像解析では面積率の低い限局性のアストログリア細胞集簇の評価は困難であった。

○玉野静光¹、萩原昭裕¹、佐野真士^{1、2}、二口 充²、広瀬雅雄²、白井智之²
 (¹大雄会医科研、²名市大・医・1 病理)

がん原性評価のための短期検索法として中期肝発癌性試験法(伊東テスト)を開発し、昨年の本学会で277化合物の結果をまとめ報告してきた。一方、臓器標的性が異なる物質の発癌性を一つの実験系で短期に検索できる多臓器中期発癌性試験の開発にも取り組んできた。今回、両試験法の蓄積結果からそれらの活用法について考察した。多臓器試験法は、全身の臓器に発癌の起始状態を形成することにより、突然変異性の有無にかかわらず、肝臓以外を標的臓器にもつ種々の検体についても発癌性と相応した陽性成績が得られ、きわめて有用であり、臓器毎に発癌修飾作用を一つの試験法で鋭敏かつ短期に検出することを可能にした。我々は、がん原性評価の手順として伊東テストによりスクリーニングし、その陰性物質について多臓器試験法を用いて詳しく検索することを推奨する。

Results for 291 Compounds in the Ito Test

Positive/Examined(%)

Carcinogenicity	Ames' test			Total
	+	-	Unknown	
Liver	30/31 (97)	27/32 (84)	1/1 (100)	58/64 (91)
Other than liver	7/25 (28)	2/15 (13)	0/1 (0)	9/41 (22)
Not carcinogenic	0/6 (0)	2/38 (5)	0/1 (0)	2/45 (4)
Unknown	4/14 (29)	29/83 (35)	14/44 (32)	47/141 (33)
Total	41/76 (54)	60/168 (36)	15/47 (32)	116/291 (40)

Results for 53 Compounds in the Multi-Organ Carcinogenesis Bioassay

Positive/Examined(%)

Carcinogenicity	Ames' test			Ito test			Total
	+	-	Unknown	+	-	Unknown	
Liver	8/8 (100)	4/4 (100)	0/0	10/10 (100)	2/2 (100)	0/0	12/12 (100)
Other than liver	7/8 (88)	5/6 (83)	0/0	2/3 (67)	10/11 (91)	0/0	12/14 (86)
Not carcinogenic	0/0	0/1 (0)	0/0	0/0	0/1 (0)	0/0	0/1 (0)
Unknown	0/0	4/7 (57)	6/19 (32)	2/2 (100)	2/5 (40)	6/19 (32)	0/26 (38)
Total	15/16 (94)	13/18 (72)	6/19 (32)	14/15 (93)	14/19 (74)	6/19 (32)	34/53 (64)

Diethylstilbestrolの4週間混餌投与毒性試験：ICRマウスとCB6F1マウスによる検討 — CB6F1-TgHRas2マウス短期がん原性試験の予備試験 —

○後藤 和広, 小林 潔, 望月 淳, 土屋 毅幸, 杉本 次郎, 佐野 文子, 務台 衛
 (三菱化学・横浜総研・安全性研)

医薬品のがん原性評価において、マウスがん原性試験の代替法の候補であるヒトプロト型c-Ha-Ras遺伝子を導入したCB6F1-TgHRas2マウスを用いた短期がん原性試験の有用性の検討が、ILSI-HESIの国際共同研究として行われている。本共同研究の一環として、我々は、Diethylstilbestrol(DES) 26週間混餌投与試験に先立ち、ICRマウスとWild typeのCB6F1マウスにおける反応性の検討と26週間混餌投与試験の用量設定を行った。

【材料および方法】6週齢ICR(Crj:CD-1)マウス雌雄各20匹、8週齢Wild type CB6F1(BALB/c×C57BL/6F1; 実中研)マウス雌雄各25匹を用いて、DESを混餌法により、0, 0.5, 1, 2, 4(CB6F1のみ)ppmの用量で4週間投与した。投与終了後、全動物を屠殺し、臓器重量、血液検査、病理検査を実施した。

【結果】投与期間中、ICRおよびCB6F1とも死亡例は見られず、一般状態の異常も認められなかった。ICRの雄2ppm、CB6F1の雌雄1ppm以上で体重増加抑制が認められたが、ICRの雌2ppmでは有意な増加を示した。血液学的には、ICRで血小板数の低値、CB6F1で白血球数および血小板数の低値が認められた。相対臓器重量では、ICRで胸腺[雌のみ]、卵巣および腎臓[雄のみ]の低値、副腎[雄のみ]および脾臓の高値、CB6F1で胸腺および腎臓の低値、副腎[雄のみ]の高値が認められた。肉眼的には、ICRの2ppmで精囊および胸腺小型[雌のみ]、CB6F1の1ppm以上で胸腺小型、2ppm以上で精囊小型が認められた。現在、ICRおよびCB6F1とも組織学的検査を実施中である。

【まとめ】ICRマウスとCB6F1マウスの4週間混餌投与毒性試験を行い、DESに対する反応性を検討したところ、CB6F1マウスで体重増加抑制が認められた2ppmにおいて、ICRマウスの雌は逆に体重増加を示したことや白血球数の低値がCB6F1のみに認められたことなど、系統間による反応性の違いが見られた。

本学会では、組織検査結果および26週間混餌投与試験の用量設定も含め、詳細に報告する。

○朝元誠人¹、鳥山-馬場弘靖¹、太田智則¹、安東輝¹、鈴木寛規¹、竹下文隆¹、落谷孝広²、津田洋幸¹ (国立がんセンター研・¹化学療法、²分子腫瘍)

c-Ha-rasはヒトのがん組織に種々の頻度で点突然変異が検出されている。正常型のヒトc-Ha-ras遺伝子導入マウスでは、発癌物質誘発の肺腺腫、前胃乳頭腫、脾血管腫、皮膚乳頭腫などにおいて感受性が高く、導入遺伝子のみならず点突然変異がみられ、内在性のマウスc-Ha-rasには変異がみられないという特異な現象が報告されている。そこで、われわれは、ラットにおいてc-Ha-rasの点突然変異が高頻度に検出される乳癌、頻度は高くないが変異のみられる膀胱癌、変異の報告のない肝発癌において発癌物質とc-Ha-rasの関連を検索するために、ヒト正常型c-Ha-ras遺伝子導入(Tg)ラットを作成し、それらの臓器発癌における感受性を検索し、導入および内在性のc-Ha-rasの変異の有無を調べた。TgラットはNMU, DMBAおよびPhIPの乳腺発癌に対して著しく高感受性を示した。BBN膀胱発癌に対しては一匹あたりの腫瘍の数はNon-Tgラットに比較して有意にTgラットに多くみられ、癌の発生頻度に差は認められなかった。肝発癌に対しては、TgラットとNon-Tgラットに感受性の差異は見いだされなかった。NMUにたいして著しく高感受性を示したTgラットの乳癌においては導入および内在性のc-Ha-rasの変異は全く認められなかったが、Non-Tgに誘発された乳癌には内在性のc-Ha-rasの変異を高率に認めた。BBN誘発膀胱癌ではごく低頻度に導入および内在性のc-Ha-rasの変異を検出した。導入遺伝子の発現は乳腺、膀胱、肝を含めた全臓器で認められた。以上より、NMUおよびBBNは導入c-Ha-rasを標的として点突然変異を誘発することはまれで、導入遺伝子の発現が発癌感受性に重要な役割を果たしていると考えられた。また、このTgラットの臓器特異的発癌感受性はそれぞれの臓器発癌または発癌物質におけるc-Ha-rasの関与度に相関することが示唆された。

○一鬼 勉, 三森国敏, 児玉幸夫¹, 高木久宜, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高橋道人, 野村達次², R.R. Maronpot³ (国立衛研・病理, ¹毒性, ²実中研, ³米国 NIEHS)

〔緒言〕長期がん原性試験の代替法として、ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入したトランスジェニック(Tg)マウス(rasH2 マウス)の有用性を確認する一環として本実験は実施された。*p*-cresidine は、変異原性発がん物質でラットおよびマウスに膀胱腫瘍を誘発する。今回、rasH2 マウスに対する感受性を検討する目的で以下の実験を行った。〔材料および方法〕6週齢の rasH2 マウスの雄 60 匹、雌 40 匹およびその同腹仔の野生型 CB6F1 マウス(non-Tg マウス)を用いて、雄では 1 群 25 匹の投与群(対照群は 10 匹)、雌では 1 群各 15 匹の投与群(対照群は 10 匹)に 26 週間にわたり *p*-cresidine 0.5 あるいは 0.25%含有粉末飼料を与えた。すべての動物について、外表観察、体重測定および摂餌量測定(摂餌量/日を算出)を毎週実施した。病理組織学的検査は、膀胱、肺および脾臓について実施した。〔結果〕rasH2 および non-Tg マウスともに、0.5%投与群の雌雄で明らかな体重増加抑制が認められ、non-Tg マウスの 0.25%投与群の雄においても増加抑制を示した。摂餌量は rasH2 および non-Tg マウスの 0.5%投与群の雌雄で減少した。膀胱の病理組織学的検査では、雌雄の rasH2 および non-Tg マウスの投与群で過形成が増加し、病変の程度は高用量群で強かった。乳頭腫および移行上皮癌の発生は rasH2 マウスの 0.5%投与群の雄で non-Tg マウスの 0.5%投与群に比較して有意に増加したが、雌では同様の傾向は認められなかった。その他、肺の腺腫および血管肉腫ならびに脾臓の血管肉腫が投与に関連なく散見された。〔考察〕rasH2 および non-Tg マウスのいずれにおいても、*p*-cresidine 投与により膀胱の過形成および腫瘍が誘発され、本物質に対して rasH2 マウスは non-Tg マウスと同等あるいはそれ以上の発がん感受性を有することが示された。

P-97

p-cresidine とその類似物質のヒトプロト型 *c*-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウスにおける発がん標的性の検討: 2. *p*-anisidine の投与実験

○糀谷高敏, 三森国敏, 児玉幸夫¹, 高木久宜, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高橋道人, 野村達次², R.R. Maronpot³ (国立衛研・病理,¹ 毒性,² 実中研,³ 米国 NIEHS)

〔緒言〕従来の長期がん原性試験の代替法として、ヒトプロト型 *c*-Ha-ras 遺伝子を導入したトランスジェニック (Tg) マウス (*rasH2* マウス) を用いた短期がん原性試験の有用性が示されているが、さらに多くの化学物質を用いた検証作業が必要である。*p*-cresidine は、ラットおよびマウスに膀胱腫瘍を誘発する変異原性発がん物質であるが、その類似物質の *p*-anisidine は、変異原性陽性にもかかわらず、今までのがん原性試験では陰性結果が得られている。今回、*rasH2* マウスの検証作業の一環として、*p*-anisidine を用いて以下の実験を行った。〔材料および方法〕6週齢の雌雄各40匹の *rasH2* マウスおよびその同腹仔の野生型 CB6F1 マウス (*non*-Tg マウス) を用いて、雌雄各15匹の投与群 (対照群は10匹) に26週間にわたり *p*-anisidine 0.450あるいは0.225%含有粉末飼料を与えた。すべての動物について、外表観察、体重測定および摂餌量測定 (摂餌量/日を算出) を毎週実施した。病理組織学的検査は、肺、肝臓、腎臓、脾臓、胃、膀胱について実施した。

〔結果〕実験期間を通じて、*p*-anisidine 投与による死亡動物はみられず、外表観察でも異常所見は認められなかった。体重、摂餌量にも影響はみられなかった。病理組織学的検査において、*rasH2* マウスでは、肺腺腫が雄の高用量群に1例、低用量群に1例みられたが、対照群にも2例認められた。また、対照群には肺癌が雄の1例、脾臓の血管肉腫が雌の1例に認められた。一方、*non*-Tg マウスの投与群および対照群に腫瘍の発生はなかった。〔考察〕*rasH2* マウスのいずれの投与群においても、*p*-anisidine 投与によると考えられる腫瘍の発生は認められず、既に報告されているがん原性試験の結果に一致するものであり、*p*-anisidine には発がん性がないことが示唆された。

P-98

ヒトプロト型 *c*-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウスにおける Monocrotaline の影響

○田村 啓¹、三森国敏¹、安原加壽雄¹、小野寺博志¹、高橋道人¹、野村達次²、林 裕造³
(国立衛研・病理部¹、実中研²、北里大・薬³)

〔緒言〕Pyrrolizine alkaloidであるMonocrotaline(MCT)はラット肝に発癌性が報告されている遺伝子障害性物質である。またMCT投与ラットにおける肺腫瘍発現の報告はほとんどないが、MCTはその肺胞上皮増殖抑制作用により、ラット肺胞上皮を減少させる一方、代償性の大型の異形Ⅱ型肺胞上皮が出現してくることが報告されており、この細胞を起源とする肺発癌性が疑われている。またマウスにおいては反復投与により慢性進行性の間質性肺炎及び肺線維症が誘発される。我々は、MCTをマウスに投与すると肺線維化は誘発されるが腫瘍は発現しないことを報告した。また、このマウスに肺発癌物質Urethaneを投与して修飾作用を検討したところ、むしろ腫瘍発現は抑制されることを報告した。今回は、肺発癌物質に感受性の高いヒトプロト型 *c*-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニック (*rasH2*) マウスを用いて、MCTの肺発癌性について検討した。

〔方法〕9週齢の雄 *rasH2* マウスを用いて、1群(25匹)にはMCT 150mg/kgを皮下に週1回の割合で4回、2群(20匹)には同用量を3回投与した。3群(7匹)は対照として生理食塩水を4回投与した。その後、無処置のまま52週間飼育し、動物を屠殺して病理組織学的検索を行った。

〔結果〕3群 (対照群) では肺腫瘍の発現が約70%の個体に認められた。また2群 (3回投与) では肺腫瘍の発現は約40%にとどまり、1群 (4回投与) では約10%の個体に肺腫瘍が認められ、その発現率は統計学的に有意に低下していた。一方、肺線維化は2群 (3回投与) から認められ、1群 (4回投与) ではより高度な肺線維化とともに肺胞上皮の明らかな減少と代償性の大型の異形Ⅱ型肺胞上皮の出現が観察された。

〔結論〕*rasH2* マウスにおいても、MCTの肺胞上皮増殖抑制に起因する肺胞上皮減少と大型の異形Ⅱ型肺胞上皮の出現が認められたが、肺腫瘍の有意な発現は認められなかったことから、異形Ⅱ型肺胞上皮の出現と肺増殖性病変との間に明らかな関連性はなく、MCTはマウスに対して肺発癌性を示さないことが示唆された。

○渡辺知幸、尾崎正和、川崎一(住友化学・生科研)、伊藤聖一(実医研)

【目的】現行の動物を用いた長期癌原性試験の代替試験法のひとつとして遺伝子改変マウスを用いた短期発癌性試験が提案されている。しかし、その有用性については十分な検討がなされているとは言えない。そこで、遺伝子障害性の発癌物質である urethane を p53 遺伝子欠損マウスおよびヒト c-Ha-ras 遺伝子導入マウスに投与し発癌感受性を検討した。【材料および方法】 p53 遺伝子欠損(p53+/-)およびその野生型(p53+/+)、c-Ha-ras 遺伝子導入(c-Ha-rasTG)およびその野生型(c-Ha-rasNTG)、C57BL/6、BALB/c ならびに B6C3F1 マウス(7週令、雄)の各 15 匹に urethane(500ppm)を飲水にて 3 週間投与し投与開始後 26 週目に諸臓器の病理組織学的検索を実施した。それぞれの対照として同系マウスの無処置群を設けた。【結果】urethane 投与により、p53+/-マウスの肝臓に血管腫瘍の発生を認めた。一方、c-Ha-rasTG マウスでは、肺腫瘍の誘発を認めた。p53+/-、p53+/+ならびに p53+/-の原系統である C57BL/6 マウスの urethane 投与群において、肝臓のペリオシスを散見した。肺腫瘍は c-Ha-rasNTG、c-Ha-rasTG の原系統である BALB/c ならびに B6C3F1 マウスの urethane 投与群においても観察された。脾臓の血管腫瘍は、c-Ha-rasTG マウスにのみ観察され urethane 投与によりその発生頻度が増加した。【考察および結論】p53 遺伝子欠損マウスおよび c-Ha-ras 遺伝子導入マウスともに urethane に対して発癌感受性を示したが、各系統に臓器特異性のあることが判明した。これらの臓器特異性のうち、肝臓における血管腫瘍および肺腫瘍の誘発特異性は各遺伝子改変マウスの原系統の形質を反映したものと考えられた。なお、c-Ha-rasTG マウスにおいてのみに脾臓における血管腫瘍の発生を見たことから、c-Ha-rasTG マウスは遺伝子改変により新たな形質を獲得したことが示唆された。

○榎原充久¹、高橋 智¹、織田信一郎¹、小川久美子¹、玉野静光²、多田万里子³、白井智之¹
(¹名市大・医・1 病理、²大雄会医科研、³愛知淑徳大)

【目的】ヘテロサイクリックアミンの1つである2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP)はマウスではリンパ装置、ラットでは乳腺、大腸および前立腺に発癌標的性があることが報告されており、標的臓器において多くのDNA adductを形成することが報告されている。しかしPhIP-DNA adductは発癌標的性が認められていない脾および心などでも多く形成され、発癌標的性との相関は見出されていない。今回我々は、PhIPによる細胞レベルでの標的性を検討する目的でPhIP-DNA adductに対する抗体を作製し、免疫組織学的に詳細な検討を行った。【方法】PhIP Modified DNAを免疫抗原とし、ウサギに免疫してポリクローナル抗体を作製した。6週齢の雌雄F344ラットに150および300mg/kgのPhIPを単回経口投与し、投与1, 2および7日後に各2匹ずつ屠殺した。さらに雄ラットは37.5および70mg/kg群を設け1日後に屠殺した。全身諸臓器はホルマリン、エタノールおよびアセトンで固定し、上記作製抗体を用いて免疫染色を行った。【結果】抗体の特異性はELISA法により確認し、Glu-P-1、Glu-P-2、AAF、4NQO-DNA adductに対する反応は認められなかった。免疫組織学的検討では組織の固定法はアセトンが最適であった。標的臓器である雄の大腸および前立腺、雌の乳腺では用量に相関した陽性率ならびに染色強度を示し、また経時的には大腸および前立腺で投与後7日後に陽性像は減衰したものの、乳腺においては乳管上皮および腺房細胞で60~70%の陽性率が存続された。他臓器では雌雄でAdduct形成の分布に顕著な差はなく、投与量に相関し、経時的に減衰する傾向が観察された。【結論】今回作製した抗PhIP-DNA adduct抗体はアセトン固定したパラフィン切片に染色可能であり、細胞レベルでのadduct分布および経時的变化を詳細に検討するのに有用であることが明らかとなった。

P-101 老齡 LEC および F344 ラットの脂質過酸化生成物の免疫組織化学的検討

○古川文夫¹、西川秋佳¹、笠原健一郎¹、北浦敬介²、内田浩二³、泉 啓介²、高橋道人¹
(¹国立衛研・病理、²徳島大・病理、³名大・応用生物)

【はじめに】 LEC ラットは銅の代謝異常を有し、肝炎後に肝細胞癌や腎細胞癌を自然発症することが知られており、その発癌機構として脂質過酸化の関与が示唆されている。我々は LEC ラットの肝臓および腎臓において、4-hydroxy-2-nonenal (HNE) が細胞質内に生成することを明らかにした。今回は老齡 LEC ラットを用いて、脂質過酸化反応の後期段階で発現するヒドロキシペルオキシド分解産物である低分子アルデヒド類の HNE、4-hydroxy-2-hexenal (HHE) および malondialdehyde (MDA) による修飾タンパクの発現について検討を行った。

【実験材料および方法】 97~109 週齢の無処置の雄 LEC ラットと 108 週齢の雄 F344 ラットを剖検し、速やかに肝臓および腎臓を摘出した。採取後、各臓器はメタノールカルノア液および冷アセトンに固定後、パラフィン包埋し、連続切片について H-E 染色により病理組織学的に検索するとともに、HNE、HHE および MDA による修飾蛋白の局在を免疫組織化学的に検討した。

【結果】 LEC ラットには高分化の肝細胞性腫瘍が発生したが、腎臓には腫瘍性病変は認められなかった。肝腫瘍の細胞質は HNE、MDA および HHE が陽性、その周囲肝細胞は強陽性を示した。HHE がもっとも広範囲で染色性が強く発現し、HNE と MDA は同様の染色性を示した。腎臓の近位尿細管上皮細胞の細胞質は HNE、MDA および HHE が陽性で、肝臓と同様に HHE の染色性が最も強く発現した。一方、F344 ラットの肝臓および腎臓には腫瘍性病変の発生はなく、肝臓は HNE、MDA および HHE が陰性、腎臓は HNE、MDA および HHE とも近位尿細管上皮細胞が陽性を示した。

【まとめ】 老齡 LEC ラットでは脂質過酸化生成物は肝細胞性腫瘍よりも周囲肝細胞に強く発現し、腫瘍発生のない LEC ラットおよび F344 ラットの腎臓で近位尿細管上皮細胞が陽性を示した。

P-102 塩化カドミウム 8 カ月間投与ラットにおける体内蓄積と肝・腎毒性発現との関連性について

○渋谷 淳¹、三森国敏¹、佐藤伸一²、小野寺博志¹、高橋道人¹、林 裕造³、安藤正典⁴
(国立衛研¹病理・⁴環境衛生化学、²イナリサーチ・第 2 研、³北里大・薬)

【はじめに】 カドミウム (Cd) は、短期間大量曝露された場合と長期間微量曝露された場合では、その体内蓄積パターンは異なることから、その毒性発現も異なることが推察される。しかし、この仮説を証明した実験データは報告されていない。そこで、両者の曝露の違いによる体内蓄積と毒性発現との関連性を明らかにするため以下の実験を行った。

【方法】 低濃度から高濃度の塩化 Cd を含有する飼料 (0, 8, 40, 200, 600 ppm) を 5 週齢の雌 SD ラットに 8 カ月間自由摂取させた。投与 2, 4, 8 カ月時に、各群 8 匹について血液学的ならびに血液生化学的検査を行った後、肝臓及び腎臓の重量を測定した。肝臓と腎臓について ICP 発光分光分析法により Cd 濃度測定を行った。病理組織学的検索は、肝臓、腎臓、骨 (大腿骨) について実施した。

【結果】 600 ppm 投与群では投与初期より著しい体重増加抑制が認められ、一般状態の悪化により 4 カ月で生存動物全例を殺処分した。同群では、造血低下を特徴とする血液毒性が顕著に認められ、大腿骨海綿状骨の減少も観察された。肝障害は、2 カ月の 200 ppm 群より血清 GOT と GPT の増加がみられ、4 カ月では 600 ppm 群において小葉周辺性肝細胞壊死、GOT, GPT, γ -GTP の増加が観察された。腎障害については、2 カ月より 200 ppm 以上の投与群において軽度の近位尿細管上皮の変性が認められ、4 カ月でその変化は、さらに顕著となった。Cd の蓄積は、肝臓・腎臓とも時間の経過とともに増加したが、肝臓においては、最高用量においてもプラトーに達せず、高い蓄積能を示した。一方、腎臓ではその蓄積能に限界があり 250 $\mu\text{g/g}$ 程度の最大蓄積量を示した。200 ppm 群では 2 カ月時で腎病変が発現し、その腎の Cd 量は 104-244 $\mu\text{g/g}$ であった。一方、40 ppm 群では 8 カ月で腎病変は認められなかったが、Cd 量は 91-183 $\mu\text{g/g}$ まで蓄積していた。

【まとめ】 今回の実験成績から、Cd の短期間大量投与では強い臓器病変を誘発するが、さらに長期間にわたる Cd の微量摂取では、Cd の蓄積は徐々に増加するにもかかわらず、腎病変は発現しないことが示された。現在、2 年間の長期微量投与実験を継続中である。

P-103 シリコーン樹脂 (KS66) の F344 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験

○五島英雄^{1, 2}、田中 光¹、佐野真士^{1, 2}、三浦友子^{1, 2}、萩原昭裕¹、白井智之²
(¹大雄会医科研、²名市大・医・1 病理)

【目的】シリコーン樹脂 (KS66) は食品添加物用消泡剤として広く用いられている。その毒性については、急性毒性、慢性毒性など各種安全性試験および一般生物学的試験によって、安全性が高いことが立証されているが、発癌性については明らかではない。今回、F344 ラットを用いた発がん性試験の予備試験の一環として、シリコーン樹脂の亜慢性毒性試験を実施した。

【方法】5 週齢 F344 ラットを雌雄各 10 匹よりなる 4 群に分け、それぞれシリコーン樹脂を 0、1.25、2.5 及び 5.0% の割合で飼料中に混合し、13 週間にわたって自由に摂食させた。実験期間中、毒性症状の有無を毎日観察し、体重及び摂餌量を週 1 回以上測定した。投与終了時に全生存動物を屠殺・剖検し、血液学のおよび血液生化学的検査、ならびに病理組織学的検査を実施した。

【結果及び考察】実験期間中、何れの群においても動物の死亡は見られなかったが、雌の各投与群で投与第 3 週より対照群と比較して散発的に有意な体重増加が観察され、投与終了の第 13 週までその傾向は継続した。しかしながら、剖検時の最終体重には有意差は認められなかった。また、5.0% 投与群で ALP の低値、 γ -GTP および総コレステロールの高値、腎臓重量の高値、脾臓重量体重比の低値が観察されたが、病理組織学的には異常を認めなかった。以上の結果を基に、現在雌雄とも 5.0% および 1.25% の投与濃度を用いて発がん性試験を実施中である。

P-104 L-イソロイシンの F344 ラットにおける発癌性試験

○三浦友子^{1, 2}、河部真弓¹、田中光¹、萩原昭裕¹、五島英雄^{1, 2}、白井智之² (¹大雄会医科研、²名市大・医・1 病理)

【目的】必須アミノ酸の 1 つである L-イソロイシンは、食品添加物や医療用輸液などに広く用いられている。今回 L-イソロイシンの F344 ラットに対する発癌性の有無について検討した。

【方法】5 週齢の F344 ラット雌雄各 150 匹の総計 300 匹を用いた。L-イソロイシンを先に実施した 13 週間の用量設定試験の結果を参考に、5.0、2.5 および 0% (対照群) の濃度で基礎飼料に混じり、雌雄各群 50 匹に 104 週間自由に摂取させた。投与期間中、経時的に尿検査を実施し、104 週間経過後に全動物を屠殺剖検し、血液学的、血液生化学的および病理組織学的検査を行なった。

【結果および結論】生存率、体重および飼料摂取量では、被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められず、尿検査、血液学のおよび血液生化学的検査においても特記すべき変化は認められなかった。臓器重量では精巣の絶対重量が用量に相関して有意に減少し、病理組織学的にも対照群と比較して 5.0% 群で精巣の萎縮の有意な増加を認めた。その他にも、種々の組織において様々な病変がみられたが、いずれも対照群と同程度であった。

以上の結果より、L-イソロイシンは、F344 ラットに対して発癌性を示さないことが明らかになった。

P-105

F344ラットを用いたメタリン酸ナトリウムの癌原性試験

北堀吉映, 小西 登, 趙 順規, 山本漢九, 乾 多久夫, 松井恵美, 日浅義雄
(奈良医大・2病理)

(はじめに)

メタリン酸ナトリウムは金属イオン封鎖作用, 分散作用, 洗浄作用および緩衝作用などにすぐれた性質を有することから, 昭和 32年食品添加物として指定された. 現在では, 畜肉加工品, 水産練り製品, 豆類加工品, チーズ類等などに幅広く用いられている. しかし, 本品の癌原性ならびに毒性の有無についての報告例は極めて少ない. 我々はラットに長期間投与を行いそれらを再評価したので報告する.

(方法)

F344ラット雌雄各々150匹 (日本チャールスリバー) を用い, 1群 50匹の各々 3群を設け予備飼育後実験に用いた. 検体の投与濃度は 12週間の亜急性毒性試験の結果から得られた 3%, 1.5% で試料中に混じり自由摂取とした. 尚, 投与期間は108週間とした.

(結果および結論)

全投与期間を通じ, 体重抑制および検体摂取量の変化には明らかな差はみられなかった. 病理組織学的有効週令は, 途中死亡例で中皮腫をみとめた 78週以降とした. 発生した腫瘍は通常よく観察される下垂体, 甲状腺, 副腎, 皮膚などで検体投与によると思われる腫瘍の発生は観察されなかった. また, 興味ある変化として雌の 3% 投与群にみられた腎の皮髄境界部の石灰様沈着が観察された.

P-106

ラットを用いたモナスカス色素 (紅麴) の癌原性試験

趙 順規, 小西 登, 北堀吉映, 山本漢九, 乾 多久夫, 松井恵美, 日浅義雄
(奈良医大・2病理)

(はじめに)

モナスカス色素 (紅麴色素) はペニコウジ菌の培養物から抽出された, 主成分をモナスコルブリン, アンカフラビン等から成る赤色を呈する色素である. 本品はタンパク質への染色性が極めて良好であるため幅広く食品に使用されている. 現在では, 水産練り製品, 畜産加工品, たれ, 味付けたこ等などに用いられている. しかし, 本品の癌原性ならびに毒性の有無についての報告例は極めて少ない. 我々はラットに長期間投与を行いそれらを再評価したので報告する.

(方法)

F344ラット雌雄各々150匹 (日本チャールスリバー) を用い, 1群 50匹の各々 3群を設け予備飼育後実験に用いた. 検体の投与濃度は 12週間の亜急性毒性試験の結果から得られた 2.5%, 1.25% で試料中に混じり自由摂取とした. 尚, 投与期間は108週間とした.

(結果および結論)

全投与期間を通じ, 体重は雌雄ともに検体投与濃度に依存した軽度の抑制がみられた. しかし, 検体摂取量における各群間の変化は明らかでなかった. また, 血液および生化学的検査においても検体投与によると思われる変化は認められなかった. 途中死亡例を含む腫瘍の発生は通常よく観察される精巣, 下垂体, 甲状腺, 副腎, 皮膚などで検体投与によると思われる腫瘍の発生は観察されなかった.

P-107

去勢ラットを長期飼育した際に見られた 非腫瘍性・腫瘍性病変について

○能登貴久, 大石裕司, 義澤克彦, 松本正博, 坪田健次郎,

藤平司郎, 岩波黄葵, 藤井登志之 (藤沢薬品工業・安全研・病理)

加齢性に見られる種々の自然発生病変に性ホルモンが関与していることは従来から盛んに論議されているところである。我々は卵巣を摘出したSDラットを104週間飼育した試験で、乳腺、下垂体腫瘍の発生率が減少したことを第12回本学会で報告した。今回、去勢ラットを104週間長期飼育した結果、いくつかの新しい知見が得られたので報告する。

【材料および方法】 4週齢時に50匹のSD(Crj:CD)系雄ラットの精巣を摘出して去勢群とし、これと同数の無処置対照群を設けた。SPF環境下にて粉末飼料CRF-1を自由摂取させ、飲水は濾過水道水を与えた。104週間飼育し、途中死亡例を含めて全例を剖検し、全身諸臓器の病理検索を行った。

【結果】 試験開始2週間後から去勢群と対照群の間に体重の増加量に差が見られ、90週令まで去勢群は有意な低値を示した。その後、対照群では加齢性変化および腫瘍発生の増加による体重減少を示したため去勢群との間に差は認められなくなった。104週齢時点での生存率は、対照群46%に対して去勢群では72%であり、去勢による明らかな延命効果が認められた。病理検索の結果、以下の自然発生病変について両群に発生率の差を認めた。すなわち去勢に伴い、非腫瘍性病変としては下垂体の空胞変性、副腎の血管拡張および骨髄低形成の増加ならびに慢性腎症、副腎皮質、髄質の過形成および心筋症の減少が認められた。腫瘍性病変ではいずれの器官、組織においても発生率は低く、特に膵臓ラ氏島の腺腫、副腎の褐色細胞腫および皮膚腫瘍の減少は顕著であった。

以上の結果より雄性ホルモンが内分泌器官を含め、多くの器官における自然発生病変に何らかの関与をもつことが示唆された。本会では先に実施した卵巣摘出ラットでの結果も交えて考察、報告する。

P-108

ラット諸臓器における細胞増殖とアポトーシスに及ぼす加齢の影響

○市川一仁^{1,2}, 田川義章¹, 奥山 学¹, 早坂郁夫¹, 白井智之²

(¹ 三和化学研究所・安全研、² 名市大・医・1 病理)

【目的】 ラットの主要諸臓器における生理状態下での細胞増殖とアポトーシスに及ぼす加齢の影響を検討した。

【方法】 固型飼料CRF-1を自由摂取させた10, 26, 100週齢の無処置のCrj:CD系雄ラット (各5匹) から主要臓器を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液にて24時間固定後、常法に従いパラフィン包埋切片を作製した。細胞増殖の検出にはproliferating cell nuclear antigen(PCNA)を指標とした免疫組織化学的手法、アポトーシスの検出にはDNAの断片化を指標としたTUNEL法を用い、各組織におけるPCNAおよびTUNEL陽性率の加齢に伴う変化を検索した。

【結果および考察】 1) 肝臓ではPCNA陽性細胞は主に小葉中間域に認められ、PCNA陽性率は10週齢に比較し26週齢以降で有意に減少した。TUNEL陽性率は各週齢とも低値を示し、加齢の影響は明らかでなかった。2) 消化管 (回腸) ではPCNA陽性細胞は陰窩上皮増殖帯に限局して認められ、PCNA陽性率は26週齢まで高値を示し、100週齢で有意に減少した。一方、TUNEL陽性細胞は主に絨毛部の吸収上皮に認められ、TUNEL陽性率は26週齢より減少傾向を示し、100週齢では有意に減少した。3) 皮膚の重層扁平上皮ではPCNA陽性率は100週齢で減少傾向がみられたが、TUNEL陽性率は加齢に伴う明らかな変化は認められなかった。4) 腎臓ではPCNA陽性細胞は髄質外帯部および皮質部の尿細管上皮に認められ、PCNA陽性率は10週齢に比較し26週齢以降で減少した。TUNEL陽性細胞はいずれの週齢においてもほとんど認められなかった。以上、細胞増殖、アポトーシスともに加齢に伴って減少する傾向がみられたが、減少し始める時期や減少の程度は組織によって異なっていた。現在他の臓器についても検索中である。

P-109 ピバリン酸飲水投与ラットにおける心臓及び骨格筋の病理形態学的変化

○小笠原裕之、大丸 香、村田晃子、笛木 修、武田和典、藤井久子、小林裕幸、高木英利
(日本レダリー・医薬研)

【はじめに】 ピバリン酸(Pivalic Acid 以下 PA)は、生体内に入るとカルニチンと抱合体を形成して尿中に排泄されるため、低カルニチン状態を引き起こし、脂肪酸の β 酸化を抑制する。PAを含有する医薬品を長期間服用した場合、ヒトでは骨格筋における電顕レベルの脂質滴増加が報告されている。一方、実験動物ではPAの静脈内反復投与によりラットやイヌで組織学的な骨格筋の変化が報告されているが、心臓での変化はみられていない。今回我々は、PAの長期継続暴露の影響を明らかにする目的で、母動物ラットに妊娠前からF1児の離乳時まで、さらにそのF1児について離乳時から生後10又は20週齢までPAを飲水経口投与し、F1児の心臓及び骨格筋等について病理形態学的検索を行った。

【実験材料および方法】 13週齢SD雌ラットに20mmol/Lの濃度でPAを1週間飲水経口投与した後、雄と交配させ、妊娠期間中及び出産後F1児の離乳時まで連日PAを飲水投与した。陰性対照群(以下対照群)の母動物には通常の水を飲ませた。PA投与群、又は対照群の離乳したF1児各々16例には、離乳時から母親と同濃度のPAを飲水投与、又は通常の水を飲水させ、生後10週齢(各10例)及び20週齢(各6例)で体重測定後に安楽死解剖し、血漿中カルニチン濃度を測定、さらに心臓、骨格筋(大腿筋)、肝臓、腎臓及び精巣上部についてHE組織標本を作製して光学顕微鏡で観察した。また、PA投与群及び対照群の雌各々3例について、心臓及び骨格筋の電子顕微鏡観察標本を作製して検索した。なお、別群で10週齢のF1児の心臓、肝臓、腎臓及び骨格筋の組織中カルニチン濃度を測定した。

【結果及びまとめ】 PA群の10及び20週齢では、対照群と比較して体重に変化はなかったが、血漿中カルニチン濃度の低下がみられ、10週齢において心臓、骨格筋等の組織中カルニチン濃度の低下も認められた。光顕観察では、10及び20週齢のいずれのPA群とも心臓及び精巣上部には変化はみられなかったが、骨格筋の筋衛星細胞の増加及び筋線維の不整、肝細胞及び腎臓尿細管上皮細胞の脂質滴沈着が観察され、その発生は20週齢でより高頻度であった。一方、電顕観察では心筋細胞の脂質滴及びミトコンドリアの増加がみられ、骨格筋では筋線維の脂質滴及びミトコンドリア増加に加え、筋原線維不整、Z帯消失又はstreamingが観察され、その程度は20週齢でより高度であった。以上の結果から、ラットにおけるPAの長期飲水投与により、心臓には低カルニチンによる脂肪酸 β 酸化抑制に起因すると考えられる脂質滴沈着やその適応現象と考えられるミトコンドリアの増加が起こり、肝臓や腎臓でも脂質滴沈着が出現することが明らかになった。また骨格筋においては、筋原線維の電顕レベルの変化が明らかになった。

P-110 WF/Ospラット胃大腸癌誘発ウイルスについて

赤井啓二、今木正文、宮本 誠(阪大病院病理部)、上田重晴(阪大微研神経ウイルス分野)

Wistar-Futh-Osaka(WF/Osp)に見られる自然発症胃大腸癌の発生原因はこの系に継代されているウイルスがその原因であることはすでに明らかにされている。そこで更にその発癌ウイルスの性状を明らかにすべく努力している。今回は可移植性胃癌を用いて移植12日後の宿主内ウイルスの臓器分布を脾、肺、肝、胃、大腸、腎、前立腺、精囊腺について抗胃大腸癌ウイルスモノクローナル抗体を用いて検索した。その結果、脾では散在性に個々の細胞に陽性所見が得られた。胃大腸では弱陽性であった。陽性所見は腎盂粘膜、精囊腺、前立腺で得られ、特に腎盂移行上皮に強陽性であった。この結果をふまえてラットNB T-II膀胱癌培養細胞(大日本製薬)を用いて、可移植性胃癌組織より無菌的に精製した上清を添加し感染の有無を検討した。培養14日後の培養細胞が抗胃大腸癌ウイルスモノクローナル抗体で強陽性に染まることを確認した。またこの培養上清中に可移植性胃癌培養上清中に認めたウイルス粒子と同じ粒子を認めた。またこの両上清をアフィニティ精製を行った結果、分子量約70,000の同一位置にバンドの形成を認めた。この現在のウイルスのアミノ酸分析を検討中である。

I

市原 学 P-78
 市原敏夫 24, P-70
 市川一仁 P-78
P-108

一鬼 勉 P-96
 市村英資 P-29
 井戸側博一 P-30
 飯田祝子 P-62
 飯塚和弘 P-62
 飯塚生一 P-88
 池田尚子 6,15
 池田佳久 22
 池崎信一郎 13, P-82
 伊木勝道 18, P-7
 今井 清 S-2, P-77
 今井俊夫 11
P-34

今井田克己 P-15, P-24
 P-40, P-83
 P-84

今木正文 P-110
 今西三明 P-2
 今沢孝喜 6, 13,15
 稲田健一 P-20, P-37
 猪又 晃 8
 井上 達 S-4, P-39
 乾 公正 31
 乾多久夫 P-105
 P-106

入江眞美 P-53
 石上紀明 P-1
 磯部好彦 P-17
 板垣慎一 29
 伊藤明弘 P-8, P-38
 P-61

伊藤聖一 P-79
 P-99

伊藤隆明 P-16
 伊藤隆康 P-40, P-42
 P-83

伊藤恒夫 P-12, P-13
 P-23, P-58
P-63

岩井久和 P-78
 岩井 毅 P-23
 岩波黄葵 P-107
 岩崎 仁 P-48
 岩田 聖 P-51, P-56
 岩田 宏 P-42
 泉 啓介 P-44, P-101

J

矯 忠先 P-44

K

角 将一 P-25, P-54
 香川雅孝 P-14
 甲斐清徳 30, P-50
 甲斐幸恵 P-39
 梶村哲世 P-60
 加国雅和 P-72, P-91
 P-92
 上村桂嗣 P-40
 神鳥仁志 P-49, P-67
 BC Kang P-32
 JK Kang P-59
 蟹沢成好 P-16
 菅野 純 S-4
 唐澤弥生 P-58, P-63
 笠原健一郎 13, P-21
 P-101

葛西靖広 P-14
 柏原純一 14
 片桐 卓 P-9, P-10
 P-18, P-28
 P-76

片山博文 P-71
 片山淳一 P-69
 加藤淳彦 P-12, P-13
P-58, P-63

加藤浩司 P-15
 加藤俊男 22
 加藤 修 10
 勝田 修 32, P-47
 P-52

川端邦裕 P-87
 川畑好之康 14
 河部真弓 P-104
 川口博明 P-90
 川口雅子 P-14
 川合是彰 P-48
 P-66

川崎 一 P-99
 城戸 顕 P-7
 城戸聡一郎 10
 木島春子 P-17
 木川英美 P-53
 菊崎泰枝 P-43
 金 大中 9, 12, 27

君塚五郎 28
 木本直哉 23, P-92
 木村正明 P-17
 木村正美 P-34
 木村 透 33, P-64
 木苗直秀 13
 岸田秀樹 P-6, P-33
P-36

北川恒代 26
 北堀吉映 P-105, P-106
 北村 均 P-16
 北村和之 P-66
 木谷敏之 P-89
 北野光昭 P-43
 北浦敬介 P-101
 北山若紫 25
 木崎秀行 P-5
 小林裕幸 P-55, P-109
 小林 潔 P-19, P-26
 P-37, P-94

小林敏之 3
 小林洋四郎 30, P-50
 小林洋三 P-6, P-33
 P-36

小玉拓郎 P-90
 児玉幸夫 P-96, P-97
 小久保百合子 P-84
 小西 登 P-105, P-106
 小西陽一 3,17, 18, 25
 30, P-6, P-7
 P-33, P-36

小坂忠司 31
 小清水弘一 18
 小谷猛夫 P-4
 糀谷高敏 P-53, P-97
 高屋豪登 4
 久保秀治 P-3, P-80
 工藤佳代子 16, P-82
 P-88

熊本廣実 26
 熊澤俊彦 P-78
 倉田祥正 32
 栗栖和信 P-3, P-80
 黒田博之 P-89
 黒川雄二 P-39
 黒木宏二 P-64
 黒住正雄 10
 日下部愛泉 P-46
 日下部守昭 P-37
 楠岡 修 P-82
 桑原真紀 31
 桑村 充 P-4
 桑山知登世 20, P-68

L

李 祺家 P-71
 HY Lee P-59
 李 仁善 13, P-21
 JS Lee 12, 27, P-59
 YS Lee P-32
 李 威 P-70
 Yeh C Ling 21
 呂 東平 5

M

町田一彦 P-79
 前田 博 P-90
 前川昭彦 16, P-41
 P-54, P-88
 P-89
 真板敬三 W-1, 31
 真嶋敏光 17
 牧野俊彦 P-65
 真鍋 淳 P-65
 RR Maronpot P-96, P-97
 丸山博司 P-22, P-33
 P-36
 丸山 聡 P-38
 P-61
 丸山敏之 7
 正岡良之 10
 榊田周佳 24
 増田修治 P-62
 松井恵美 P-105, P-106
 松井信志 7
 松本耕三 P-44
 松本正博 P-107
 松本道男 P-9, P-10
 P-18, P-28
 P-76
 松永研吾 P-87
 松嶋周一 P-22
 松浦哲郎 P-22
 松田宗人 P-30
 三上真一 P-51, P-56
 三木徳太郎 P-24, P-42
 南 勝 P-23
 南 孝則 P-44
 三沢保幸 P-12, P-13
 P-23, P-58
 P-63
 三井雅之 P-7

三森国敏 6,15,19,31
 P-11, P-27
 P-85, P-96
 P-97, P-98
 P-102
 三井秀昭 P-16
 三浦友子 P-103, P-104
 宮 嵩宏彰 P-90
 美谷島克宏 16
 宮島留美子 P-51, P-56
 宮本 誠 P-110
 宮本 索 P-45
 宮田裕人 P-17
 三好昌夫 P-12, P-13
 P-23, P-58
 P-63
 美好雅文 P-80
 三好貴子 7
 溝口靖基 P-81
 望月 淳 P-94
 望月健光 P-78
 マルカム・ム-7 12
 森 文秋 4
 森 秀樹 P-86, P-87
 森 郁生 P-67
 森 正雄 P-62
 森 道夫 P-35
 森 峰雄 P-3
 森 聖 P-74, P-75
 森川武司 P-4
 森元康夫 P-30
 村井 隆 P-74, P-75
 村上 明 18
 村越正典 P-62
 村田晃子 P-55, P-109
 務台 衛 P-19, P-26
 P-46, P-94

N

永井博文 P-2, P-67
 長野嘉介 P-9, P-10
 P-18, P-28
 P-76
 永岡隆晴 S-3
 永嶋雅子 P-62
 長島吉和 P-81
 永田 治 P-69
 永田良一 P-90
 永田 智 24
 永田伴子 P-77

永谷真理子 P-81
 中江 大 P-6, P-33
 P-36
 中村 厚 P-82
 中村正典 P-30
 中西速夫 W-4, 11, P-37
 中谷延二 P-43
 中谷玉樹 P-38, P-61
 仲辻俊二 P-30
 中山裕之 5, P-1
 P-31, P-64
 中山隆治 P-62
 奈良間功 P-22
 成田祐士 14
 新納靖規 P-42
 二木力夫 P-12, P-13
 P-23, P-58
 P-63
 西端恵子 P-57
 西部泰弘 7
 西川秋佳 6,13, P-21
 P-101
 西野輔翼 25
 西山 寛 P-57
 二反田隆夫 P-90
 野田圭介 P-9, P-10
 P-18, P-28
 P-76
 野原正志 14
 野村 護 P-60
 野村達次 P-96, P-97
 P-98
 能登貴久 P-107
 布谷鉄夫 P-5

O

落谷孝広 2
 小笠原裕之 P-36, P-55
 P-109
 小川久美子 22, P-83
 P-100
 小川慎一 P-50
 大東 肇 18
 大石裕司 P-107
 大町 康 P-48, P-66
 大町勝美 14
 大西将美 P-86
 大野浩司 7
 大塚亮一 29
 岡島英二郎 25

岡庭 梓 P-81
 岡崎啓幸 P-90
 岡崎修三 P-45
 岡崎欣正 P-47, P-52
 桶崎英一 P-69
 沖本一夫 P-53
 奥平雅彦 P-9, P-10
 P-18, P-28
 P-76
 奥山 学 P-108
 小野寺博志 6, 15, 19
 P-11, P-27
 P-85, P-96
 P-97, P-98
 P-102
 尾上正治 P-25, P-54
 織田信一郎 22, P-57
 P-100
 大島俊二 25
 大下政文 P-69
 太田智則 2, P-95
 尾崎圭介 P-73
 尾崎清和 P-22
 尾崎正和 P-99
 大園誠一郎 26

 P
 朴 哲範 9, 12, 27
 JH Park P-32

 R
 KM Wahidur Rahman P-86

 S
 佐伯幸司 P-72, P-91
 P-92
 佐井君江 P-39
 斎藤明美 P-69
 斉藤直敏 P-33
 斉藤義明 P-77
 榊原充久 P-100
 坂牧義之 P-12, P-13
 坂本秀樹 25

崎谷博征 18, 30
 P-7
 佐久間貞重 P-4
 櫻 ゆみ P-9, P-10
 P-18, P-28
P-76
 佐野文子 P-26, P-46
 P-94
 佐野真士 1, 23, P-84
 P-93, P-103
 佐々木啓 P-2, P-49
P-67
 佐々木康孝 25, P-7
 佐藤順子 P-81
 里 健一 P-90
 佐藤伸一 P-102
 佐藤文明 28
 佐藤 洋 P-6, P-36
P-60
 佐藤国夫 P-34
 佐藤元信 P-17
 佐藤則博 30, P-50
 澤田典均 P-35
 佐脇正邦 P-35
 澤本 修 P-3, P-80
 瀬畑信哉 P-65
 関口正博 P-45, P-49
 関根一則 9, 12
 妹尾英樹 P-9, P-10
 P-18, P-28
 P-76
P-102
 洪谷 淳 P-5
 洪谷一元 P-5
 洪谷延子 P-5
 志賀敦史 P-79
 清水伸幸 11
 清水 聖 P-57
P-69
 下 武男 20, P-68
 下井昭仁 P-57
 下内孝司 P-80
 篠原誠治 5, P-1, P-31
 篠塚淳子 22, 23, P-15
 白井智之 P-24, P-40
 P-42, P-83
 P-84, P-93
 P-100, P-103
 P-104, P-108
 白岩和己 30, P-7, P-33
 P-50
 白木克尚 P-41, P-88
 P-89
 代田真理子 S-2

正田俊之 15
 莊司俊益 10
 首藤康文 29
 園田崇倫 14
 杉江茂幸 P-86
 杉本次郎 P-26, P-46
 P-94
 杉本加代子 31
 杉本哲朗 P-12, P-13
 P-23, P-58
 P-63
 杉浦 諭 P-83
 杉山 敦 11
 須方督夫 P-73
 酒々井夏子 P-86
 鈴木寛規 P-95
 鈴木勝士 8
 鈴木一生 P-72, P-91
 P-92
 鈴木雅実 P-12, P-13
 鈴木道雄 P-31

T

橘 徹 28
 多田万里子 P-100
 田川正志 P-62
 田川義章 P-78
 P-108
 田島正典 P-5
 高場克己 P-72, P-73
 P-91, P-92
 高田幸一 15
 高木英利 P-55, P-109
 高木久宜 P-11, P-27
P-85, P-96
 P-97
 高木鉄也 P-31
 高濱 誠 P-7
 高橋正一 16, P-41, P-88
 P-89
 高橋政壽 P-54
 高橋道人 6, 13, 15, 19
 P-11, P-21
 P-27, P-85
 P-96, P-97
 P-98, P-101
 P-102
 高橋 智 22, P-24
 P-42, P-100
 高橋保男 18

第14回日本毒性病理学会 協賛（寄付・広告）法人・会社ご芳名

寄付金・賛助金関係

旭化成工業(株)	第一製薬(株)	日本ヘキスト・マリオン・セル(株)
アムジェン(株)	大正製薬(株)	日本レダリー(株)
上野製薬(株)	大日本製薬(株)	日本ロシユ(株)
エーザイ(株)	大鵬薬品工業(株)	ノバルティスファーマー(株)
大塚製薬(株)	(株)大雄会医科学研究所	久光製薬(株)
小野薬品工業(株)	武田薬品工業(株)	ファイザー製薬(株)
(財)化学品検査協会	田辺製薬(株)	ファルマシア・アップ・ジョン(株)
科研製薬(株)	東京田辺製薬(株)	萬有製薬(株)
鐘紡(株)	中外製薬(株)	藤沢薬品工業(株)
キッセイ薬品工業(株)	(株)ツムラ	アリストル・マイエス・スクイフ(株)
杏林製薬(株)	帝国臓器(株)	ペーリンガー・マンハイム(株)
協和発酵工業(株)	帝人(株)	北陸製薬(株)
キリンビール(株)	(株)帝人バイオ・ラボラトリーズ	(株)ボゾリサーチセンター
興和(株)	利根化学(株)	マルコ製薬(株)
埼玉第一製薬(株)	富山化学工業(株)	(株)三菱化学安全科学研究所
三栄源エフ・エフ・アイ(株)	日清製油(株)	(株)ミドリ十字
三共(株)	日本アルコン(株)	明治製菓(株)
(財)残留農薬研究所	日本グラクソ(株)	明治乳業(株)
塩野義製薬(株)	日本ケミファ(株)	持田製薬(株)
(株)資生堂	日本コカコーラ(株)	森永乳業(株)
(株)実医研	日本シェーリング(株)	(株)ヤクルト本社
昭和電工(株)	(財)日本食品分析センター	山之内製薬(株)
(財)食品農医薬品安全性評価センター	日本新薬(株)	ヤンセン協和(株)
(株)新日本科学	(株)日本生物化学センター	雪印乳業(株)
住友化学工業(株)	日本たばこ産業(株)	吉富製薬(株)
ゼネカ(株)	日本バイオエルク(株)	(株)リバーズ
ゼリア新薬工業(株)	日本ペーリンガー・インゲルハイム(株)	ロート製薬(株)

広告関係

加商(株)	生化学工業(株)	ハンテイントンライフサイエンス(株)
(株)札幌総合病理研究所	(株)大雄会医科学研究所	(株)文光堂
塩野義製薬(株)	(株)南江堂	(株)ボゾリサーチセンター
(株)実医研	日本エスエルシー(株)	三菱化学(株)
(株)新日本科学	(財)日本生物科学研究所	メテックインターナショナル(株)
住化テクノス(株)	(株)バイオ病理研究所	ロート製薬(株)

(50音順)

第14回日本毒性病理学会講演要旨集

平成9年11月25日 印刷

平成9年11月30日 発行

編集 東京都千代田区神田駿河台 2-2

(財) 佐々木研究所 病理部

第14回日本毒性病理学会

責任者 前川 昭彦

印刷 笹氣出版印刷株式会社
東京都港区芝浦 2-14-13

病理標本画像解析機能がさらに進化 新世代病理研究支援システムIPAP誕生

高精度の画像解析を簡単に

IPAPは病理標本における細胞核や病変部の自動抽出、解析、計測、統計処理を高速かつ手間をかけずに行うことにより腫瘍解析や毒性、薬効、治療効果などの定量評価研究を強力にサポートする新しいカラー画像解析システムです。

- IPAPを使えば、病理標本の解析に余分な手間をかける必要がありません。
- 病理標本の画像解析の進め方を徹底的に見直し、新しいアルゴリズムを創造しました。



特徴

1. 視野を変えても同条件の画像処理結果が得られ、総合的な解析も容易です。
2. 計測したい領域だけを簡単に抽出できます。
3. 腫瘍マーカー陽性率や病変部の占有率などのパラメータが簡単に計測できます。
4. 複数画像の一括処理、複数検査データの並行処理、保存もできます。

病理標本画像解析システム IPAP(アイパップ) Image Processor for Analytical Pathology

今すぐこのページを拡大コピーして、必要事項をご記入のうえ、FAXでお送りください。詳しい資料をお届けします。

貴社名

業種名

部署名

役職名

芳名

ご住所

TEL/

FAX/

住化テクノス株式会社

〒554 大阪市此花区春日出中3-1-98

TEL 06-466-5352 FAX 06-466-5353

医薬品トキシコロジー

●編集 佐藤哲男 前千葉大学薬学部教授
仮家公夫 神戸学院大学薬学部教授
北田光一 千葉大学医学部附属病院薬剤部長

■B5判/196頁 定価(本体3,800円+税)

- ◆薬効と有害作用は表裏一体であり、そのバランスにより薬の有用性は決定されるという現状認識の上で企画された。
- ◆医薬品の有害作用に関する問題を常に学際的な情報をもとにして解決するとともに、副作用・有害作用のメカニズムを最新の科学に照らして説明。
- ◆「医薬品の安全性」の章では、症状別と器官別に詳細に記述され、さらに免疫毒性、アレルギー性障害、生殖・発生毒性、発がん性、変異原性にもふれている。
- ◆最終章では、副作用の発現についてその予測と対応について述べている。

主な内容

医療と生命倫理/薬物の投与経路と体内動態/薬物の吸収、分布、代謝、排泄/薬物の作用点(薬物動力学)/副作用の変動要因/医薬品の安全性/副作用の種類/器管毒性/免疫毒性/アレルギー性障害/生殖・発生毒性/発がん性/変異原性/トキシコキネティクス/薬物有害性の動態学的解析法/ヒト薬物動態の*in vitro*系からの予測/副作用・有害作用発現の予測とその対応/添付文書の読み方/薬物相互作用



南江堂

〒113-8410 東京都文京区本郷三丁目42-6
(営業) TEL 03-3811-7239 FAX 03-3811-7230

★ホームページ★ <http://www.so-net.or.jp/medipro/nankodo/>

医薬品相互作用による薬害を予防するために！

一目でわかる 医薬品相互作用

薬害防止のためのハンドブック

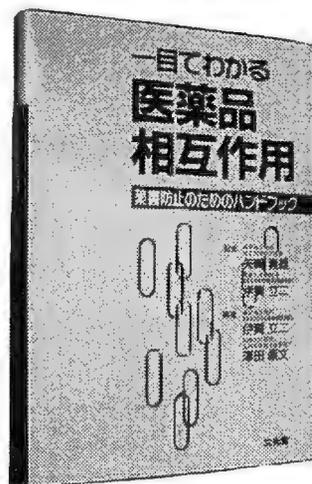
A5判・306頁・4色刷 定価(本体5,000円+税)

- 医師や薬剤師が知っておくべき薬物間相互作用の重要な実例を網羅。
- 事例に基づき相互作用機構、危険因子、回避法・代替法を詳しく解説。
- 実物大のカラー写真で、服用薬剤を一目でチェックできる(裸剤のみ)。
- 付録の対照表により、製剤の一般名、商品名、識別コードのどれからでも、相互作用医薬品を簡単に特定できる。

好評発売中

本文全頁
オールカラー

監修 東京大学医学部長
矢崎 義雄
東京大学医学部附属病院薬剤部長
伊賀 立二
編集 東京大学医学部附属病院薬剤部長
伊賀 立二
九州大学薬学部薬剤学
澤田 康文

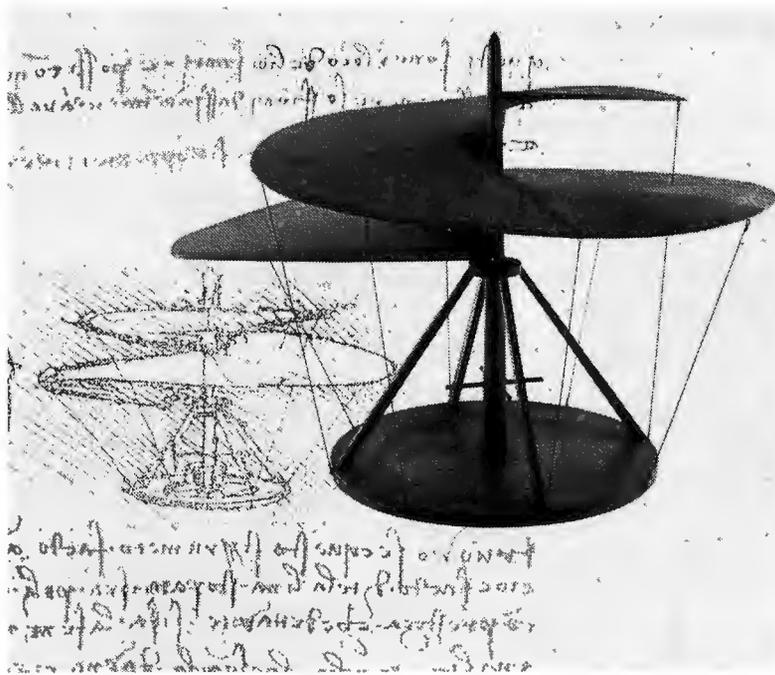


〒113 東京都文京区本郷7丁目2番7号 03(3813)5478(直)・FAX 03(3813)7241

文光堂

未来の芽、育てています。

三菱化学



中世ヨーロッパで、人間が空を飛ぶことを夢みた独創的なレオナルド・ダ・ビンチのヘリコプターのアイデア。動力飛行は1903年にライト兄弟の複葉機で実現し、その後100年足らずで人類は宇宙へと飛び立ちました。未来は過去の積み重ねではなく、全く新しい独創的な発想から生まれるものです。2000年を目前に、地球上では様々な分野でボーダーレスの世界への変化が加速し、人間と人間、人間と自然、人間と技術の調和が21世紀へのテーマとなっています。新素材、マイクロエレクトロニクス、ライフサイエンスと、化学は地球の未来を拓くキー・テクノロジーとして注目されています。化学は人の暮らしを豊かにする文化技術といえます。私たち三菱化学では、約2,800人の研究者が独創的な研究開発の視点から、未来の芽を育てています。三菱化学は、未来を拓く化学の夢に挑戦し、地球の未来に貢献する真の国際企業を目指します。

三菱化学株式会社

東京都千代田区丸の内2-5-2 〒100
(三菱ビルディング)

Telephone: 03 3283-6274 (ダイヤルイン)

コンタクトの(疲れ目に)

ロートCキューブ目薬

- コンタクトレンズ装着時の不快感をやわらげます。
- 目の乾きをおさえ、うるおいを与えます。
- 目の疲れ、かすれ(目ヤニの多い時)などに効果があります。



各種、ソフト・O₂・ハード、
使い捨てコンタクトレンズ装着時に
そのまま点眼できます。
[医薬品]

ロート製薬



内田有紀

超簡単レンズケア。

超快感

コンタクトケア剤 ロートCキューブ!



① 各種、ソフト・O₂・ハード
コンタクトに使えます。

② 洗浄・保存が「つけおき」
だけで済む簡単ケアです。

③ バイオの力で、汚れもタンパク
も同時にすっきり落とします。

レンズはいつも
ピッカピカ!!

ロートCキューブ

- ベース・ソリューション 120ml
- バイオドロップ 6ml

モリナガ 正常ヒト細胞培養キット シリーズ

…… 安定した品質と優れた再現性 ……

便利

凍結正常ヒト細胞と継代培養のために必要な試薬がすべてそろったキットです。
凍結細胞をフラスコにまくだけで、手軽に実験・研究に必要な細胞が得られます。

迅速

細胞は増殖状態にしたものを凍結ストックしているので即座に発送が可能。
一刻を争う実験・研究に余分なインターバルを取りません。

正確

製品によるバラツキがなく、同一組織源からの細胞を長期にわたって入手できるので、正確なデータが得られます。

- 細胞およびキット対応液体培地の単品販売もいたします。
- キット対応液体培地の一部は 日水製薬株式会社で製造を行っております。

販売元



生化学工業株式会社

〒103 東京都中央区日本橋本町二丁目1-5
Tel.03-3270-0536 Fax.03-3242-5335
Tel.03-3242-1901 (取扱い店：ご注文・在庫確認専用)

製造発売元



日水製薬株式会社

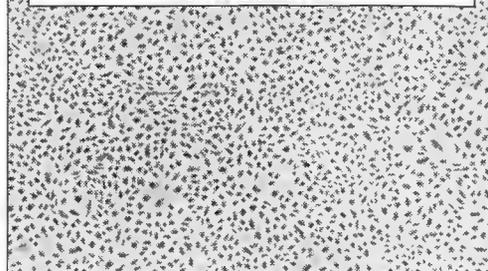
〒170 東京都豊島区巢鴨2-11-1

輸入製造元

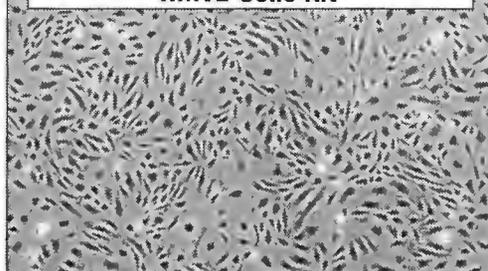
株式会社森永生科学研究所

〒230 横浜市鶴見区下末吉2-1-1

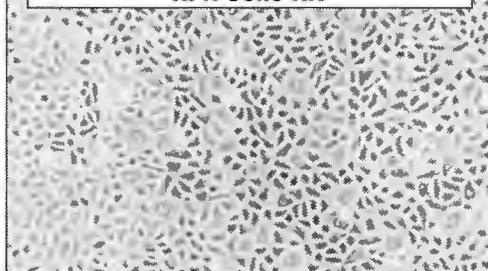
正常ヒト血管内皮細胞培養キット
HUVE Cells Kit



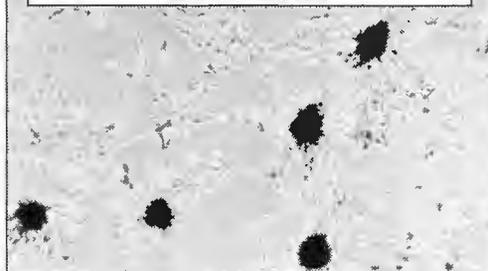
正常ヒト微小血管内皮細胞培養キット
HMVE Cells Kit



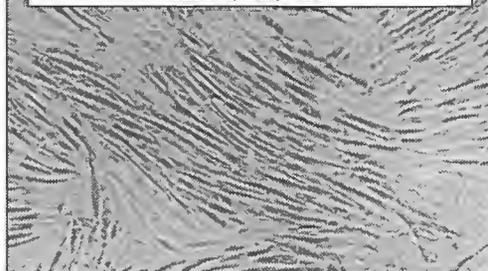
正常ヒト表皮角化細胞培養キット
HFK Cells Kit



正常ヒト・メラノサイト培養キット
HFM Cells Kit



正常ヒト線維芽細胞培養キット
HDF Cells Kit



シオノギは
益々よい薬をつくり
薬が益々正確に
使用されることをねがって
日々努力をしています



シオノギ製薬

大阪市中央区道修町3-1-8 〒541

MTI® is JAPAN'S PREMIER CRO

MTIは創業12年目を迎える、日本で最も伝統あるCROです。
MTIは海外および国内製薬企業と数多くの契約実績を有するCROです。
MTIはフルサービス/ノウハウ提供型のCROです。

I) 申請関連業務

- ・新医薬品等製造承認申請書作成
- ・添付資料, 参考資料の作成
- ・治験総括報告書, 投稿論文作成
- ・医薬品再審査および再評価申請資料の作成
- ・医薬品以外の上記対象関連分野の申請資料作成

II) 国内・国外申請コンサルタント業務

III) 臨床開発支援業務

IV) 治験国内管理人および国内管理人業務

V) 製品導入・導出のコーディネート



MediTech®
International
Co., Ltd.

大阪医薬品協会会員

メディテック インターナショナル株式会社

本社 〒541 大阪市中央区道修町2丁目4番7号 丸善道修町ビル
TEL 06(203)3330 FAX 06(203)0646

東京支店 〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目2番13号 アドバンテック日本橋ビル
TEL 03(3231)2160 FAX 03(3231)2164

■ 問い合わせ先: 副社長 工学博士 越智 俊則
事業企画部長 薬学博士 今井 成作

SNBL



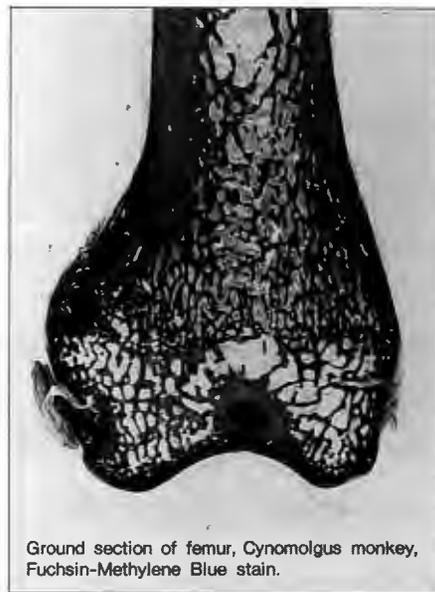
サルを用いた依存性試験

新日本科学では1989年からハーバード大学とサルを用いた薬物依存性研究に取り組み数多くの共同研究を重ねております。



カニクイザルの骨粗鬆症モデル

3000頭以上のサルを施設内に常時飼育しており、各年齢毎の骨発達に関連した背景値も豊富に取りそろえております。



Ground section of femur, Cynomolgus monkey, Fuchsin-Methylene Blue stain.

骨密度測定：

DPX- α 、DPX-SF、DCS-600

骨吸収・形成マーカー測定：

Bone - ALP, Osteocalcin, PTH, 1,25(OH)₂D₃,
Insulin like growth factor-1, TRAP, Cross Laps,
Deoxypyridinoline, Pyridinoline etc.

骨形態計測：

IPAP 01/20

骨強度試験：

TK-252C

株式会社 新日本科学

本社・研究所：鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦 2438 番地
〒891-13 Tel 099 - 294 - 2600 Fax 099 - 294 - 3619

東京支社：東京都港区虎ノ門 1-1-23 虎ノ門東宝ビル
〒105 Tel 03 - 3500 - 5045 Fax 03 - 3500 - 5046

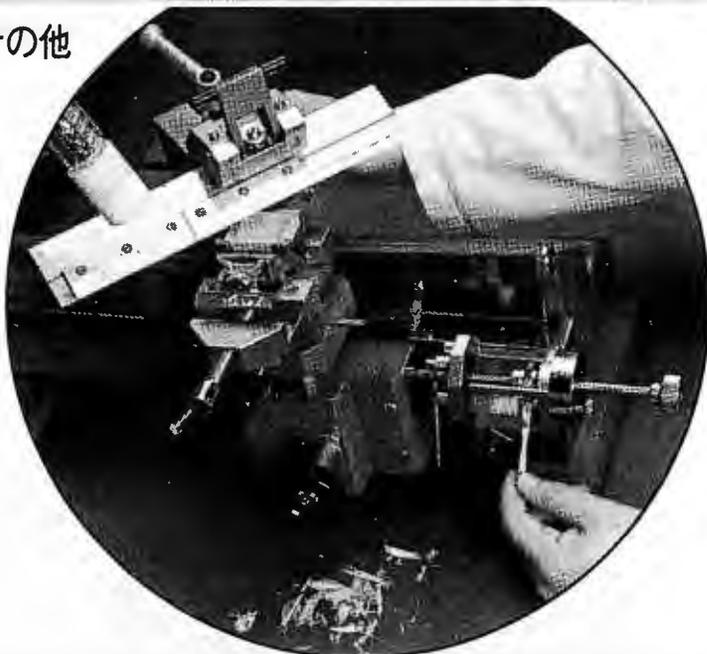
大阪支社：大阪市中央区伏見町 2-1-1 住友銀行高麗橋ビル
〒541 Tel 06 - 233 - 8411 Fax 06 - 233 - 8412

信頼できるパートナーとして安全性試験の受託

医薬・農薬・食品添加物・化粧品 その他

【受託試験項目】

- 一般毒性試験
(単回・反復投与)
- 特殊毒性試験
(生殖・発生、癌原性、局所刺激)
- 病理組織標本の作製・検査
- 血液学・血液生化学的検査
- 機器分析
- その他



日生研株式会社 〒198 東京都青梅市新町2221-1
TEL. 0428-33-1040 (直)

9203

SLCの 実験動物

SPF動物

●クローズドコロニー

マウス S/c: ddY

S/c: ICR

ラット

S/c: SD

S/c: Wistar

S/c: Wistar/ST

HOS®: Donryu

モルモット

S/c: Hartley

ウサギ

S/c: NZW

S/c: JW/CSK

ハムスター

S/c: Syrian

●近交系

マウス

BALB/c Cr S/c

C57BL/6 Cr S/c

* C57BL/6J

C3H/He S/c

DBA/2 Cr S/c

NZW/N S/c

* A/J

AKR/N S/c

B10

コンジュニック

B10.A/SgSn S/c

B10.BR/SgSn S/c

B10.D2/nSn S/c

B10.QBR/Sx S/c

B10.S/Sg S/c

F344/N S/c

WKAH/Hkm S/c

BN/SsN S/c

LEW/SsN S/c

ACI/N S/c

Strain 2/S/c

Strain 13/S/c

MON/Jms/Gbs S/c

スナネズミ

●交雑群

マウス

CBA/N S/c

C3H/He N S/c MTV-

* C3H/He J MTV-

C57BL/10 Sn S/c

B10.A/SgSn S/c

B10.BR/SgSn S/c

B10.D2/nSn S/c

B10.QBR/Sx S/c

B10.S/Sg S/c

F344/N S/c

WKAH/Hkm S/c

BN/SsN S/c

LEW/SsN S/c

ACI/N S/c

Strain 2/S/c

Strain 13/S/c

MON/Jms/Gbs S/c

●交雑群

マウス

S/c: BDF1

S/c: CDF1

S/c: B6C3F1

*印は受託生産動物、☆印は仕入販売動物です。



●ミュータント系

ヌードマウス BALB/c S/c-nu

KSN/S/c

Lasat/S/c

Clean動物

●クローズドコロニー

マウス Std: ddY

ラット Std: Wistar

Std: Wistar/ST

HOS®: Donryu

モルモット Std: Hartley

ウサギ Std: NZW

Std: JW/CSK

ハムスター Std: Syrian

Conventional動物

ビーグル犬 ノーサンビーグル

カニクイザル 繁殖生産ザル(奄美)

アカゲザル

疾患モデル動物

マウス

NZB/N S/c (自己免疫疾患)

* MRL/MpJ-lpr (自己免疫疾患)

* MRL/MpTn-gld (自己免疫疾患)

* C57BL/6J-lpr (自己免疫疾患)

* C3H/HeJ-lpr (自己免疫疾患)

* C3H/HeJ-gld (自己免疫疾患)

* BXSJ/MpJ-Yaa (自己免疫疾患)

CBA/N-PK-1SIC (自己免疫疾患)

(ビルビン酸キナーゼ

低活性・貧血

S/c: (NZW×B×SB)F1 (心筋梗塞)

S/c: NZBWF1 (自己免疫疾患)

S/c: WBB6F1-W/WY (肥満細胞欠損・貧血)

S/c: WBB6F1-SI/SI^h (肥満細胞欠損・貧血)

☆HR-1 (ヘアレスマウス)

ラット

WBN/Kob S/c (高血糖好発)

DA/S/c (コラーゲン誘導関節炎)

HWY/S/c (ヘアレスラット)

S/c: WsRc-Ws/Ws (貧血・肥満細胞欠損・c-Ha異常)

DA/S/c-bg/bg (NK細胞機能低下)

☆DIS/Eis·DIR/Eis (食塩感受性高血圧症)

☆EHBR/Eis (高ビリルビン尿症)

☆SHR·WKY (高血圧)

ハムスター

APA S/c (腎糸球体脂質沈着症)

マウス

W·Y·Z系 (胃癌・前立腺炎)

その他

実験動物用床敷・ソフトチップ(木)・ペーパークリーン(紙)

小動物識別染料クイックカラーペイント

実験動物診断EIA試薬(デンカ生研)

ラット静注用保定器



日本エス エル シー株式会社

〒431-11 静岡県浜松市湖東町3371番地の8

TEL (053)486-3178代

営業専用TEL/関東エリア(053)486-3155代・関西エリア(053)486-3157代

組織標本作製、組織検査から最終報告書まで



■よきパートナー・サイエンティフィックテクニシャンを目指して■

受託業務

組織標本作製

- ヘマトキシリン・エオジン重染色標本作製
- 特殊染色標本作製
- 免疫染色標本作製
- その他

組織学的検査

- GLPに則った病理組織学的検査
- 開発スクリーニングにおける病理組織学的検討
- 作用メカニズム、作用部位等の基礎検討における組織学的検討
- 病態動物における組織学的検討
- その他

安全性研究コンサルタント

- 研究企画から最終報告書まで

秘密は完全に守ります
迅速、廉価です

このような時に御用命下さい

- 標本作製、組織学的検査を一括委託したいとき
 - 実験が立て込んで期限に間に合わないとき
 - 病理要員が急に不足したとき
 - 安全性研究以外で病理設備・要員のいない研究室
- ※切り出し、包埋、薄切、染色、検査のどの段階からお引き受けいたします。

サンプル、標本、報告書の受発送は

航空便で当日着きます。
宅配便で九州・四国・関西・中部地区は翌日、関東以北は翌々日に着きます。
※輸送中に固定液の組織へのほど良い浸透が行えます。



株式会社

バイオ病理研究所

大分空港から車で10分
(打ち合わせに便利)

〒873-05
大分県東国東郡国東町小原1200-2
TEL (0978) 72-0454
FAX (0978) 72-2320

BOZO GROUP

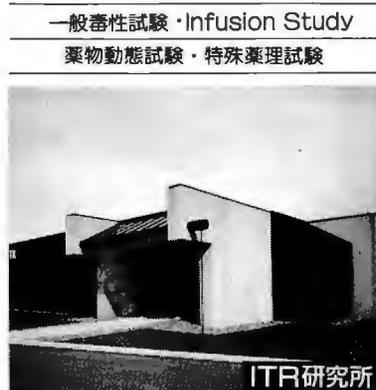
安全性試験
受託機関



御殿場研究所



函南研究所



ITR研究所

一般毒性試験・悪性試験・生殖試験・刺激性試験・感作性試験・抗原性試験
病理組織標本作成および検索・機器分析・トキシコキネティクス

東京本部、大阪支部営業部までお問い合わせ下さい。



株式会社 **ボゾリサーチセンター**



ITR Laboratories Canada Inc.

本社 東京都世田谷区羽根木1-3-11 ポリリサーチビル
〒156 TEL.03-3327-2111(代)/FAX.03-3327-2115
東京本部 東京都渋谷区大山町36-7
〒151 TEL.03-5453-8101(代)/FAX.03-5453-8109
大阪支部 大阪市淀川区宮原5-1-3 新大阪生島ビル
〒532 TEL. 06-397-2851(代)/FAX. 06-397-2852
研究所 御殿場研究所・函南研究所・東京研究所

19601 boul. Clark Graham, Baie d'Urfe (Montreal), Quebec, Canada H9X 3T1
Tel:(514)457-7400 Fax:(514)457-7303

株式会社 実医研

NIPPON EXPERIMENTAL MEDICAL RESEARCH INSTITUTE CO., LTD.

本社・榛名試験所：〒377-09 群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸 3303-58 TEL.0279-69-2216 FAX.0279-69-2851
東京営業所：〒103 東京都中央区日本橋本石町 3-3-8 TEL.03-3242-3981 FAX.03-3242-3980
高崎病理センター：〒370-33 群馬県群馬郡榛名町大字中里見 416 TEL.0273-74-4951 FAX.0273-74-4957
大阪営業所：〒531 大阪府大阪市北区中津 1-6-28 TEL.06- 375-7811 FAX.06- 375-7812

● 受託試験項目 ●

一般毒性試験、生殖・発生毒性試験、がん原性試験、抗原性試験、各種刺激性試験、皮膚感作性試験、光毒性試験、光感作性試験、変異原性試験、一般薬理試験、薬効薬理試験<その他>

精巢毒性試験、眼科毒性試験、神経毒性試験、血液・腹膜透析試験、持続注入試験、反復点滴投与試験、感染試験、脳室内投与試験、膝関節腔内投与試験、肝動脈内投与試験、直腸内投与試験、肝中期発癌性試験、毒性学的スクリーニング試験、育毛試験、神経解毒試験、各種病態モデル試験(トランスジェニック動物含む)、発がん性の発現機序試験、医用材料および医療用具に関する安全性試験全般

● 試験動物種 ●

ラット、マウス、イヌ、カンクイザル、アカゲザル、コモンマーモセット、ウサギ、モルモット、ハムスター、ミニブタ、ネコ、フェレット、ニワトリ、他



DIMS

株式会社大雄会医科学研究所

〒491-0119 愛知県一宮市浅井町西浅井二軒家25
PHONE 0586-51-1201(代) FAX 0586-51-5634

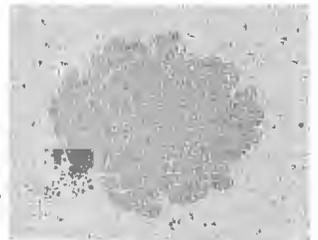
——— 受託試験の内容 ———

食品添加物、医薬品、農薬などの化学物質について、マウスまたはラットを用いて下記の試験をGLP対応により実施します。

- 中期肝発癌性試験
- 中期多臓器発癌性試験
- その他の中期発癌性試験
(膀胱、胃、腎臓、肺、甲状腺、鼻腔、皮膚等)
- 一般毒性試験 (急性、亜急性、慢性毒性試験)
- 発癌性試験
- 病理組織標本の作製および検査

中期発癌性試験

短期的に化学物質の発癌性の有無を推測することが可能で、特に中期肝発癌性試験は、ユニークな方法とデータの信頼



GST-P 陽性細胞集

性から、国際的に高い評価を得ており、新規化学物質の開発を推進する上で重要なデータを提供することができます。

加商は実験動物輸入のバイオニアとして20有余年にわたる豊富な経験と情報を駆使し、ユーザーのご希望に御応えしています。また、前臨床試験から臨床試験にいたるハイレベルの各種CRO (Contract Research Organization) のサービスを斡旋し、さらに日本で入手困難な実験用器具等、各種関連商品も取扱っております。

実験動物

■ イヌ

BEAGLE
輸入犬 LRE Strain (U.S.A.)
国産犬 薬研ファーム
HOUND (U.S.A.)
MONGREL (U.S.A.)

■ サル

繁殖カニクイザル
SICONBREC (フィリピン)
繁殖アカゲザル (中国)
マーモセット

■ ネコ

アメリカンショートヘア (U.S.A.)

■ トランスジェニック動物

Big Blue マウス (U.S.A.)
Big Blue ラット (U.S.A.)
p53/Big Blue マウス (U.S.A.)

■ フェレット TRIPLE F.FARMS (U.S.A.)

■ モルモット

■ ウサギ

■ その他各種特殊動物

受託試験

■ ClinTrials BioResearch社 (Canada)

一般毒性試験
特殊毒性試験
骨粗鬆症試験
その他前臨床試験

■ ClinTrials社 (U.S.A., UK., Belgium)

臨床試験、コンサルタント

■ MA BioServices社 (U.S.A.)

バイオテクノロジー関連試験
及びコンサルティング
プロセスバリデーション
In Vitro 毒性試験
変異原性試験

■ ABC社 (U.S.A.)

魚類毒性試験
フィールド試験
代謝試験等

実験動物関連商品

■ トランスジェニック動物委託生産 (U.S.A.)

■ 実験動物用飼料

■ 実験動物用カプセル (U.S.A.)

■ カプセル充填機 (U.S.A.)

■ 実験動物用床敷 (U.S.A.)

入れ墨器 (U.S.A.)
動物保定器 (U.S.A.)
その他各種器具



加商

加商株式会社

ライフサイエンスグループ
東京都中央区日本橋2-14-9
TEL (03)3276-7673・7676