

第15回日本毒性病理学会

講演要旨集



1999年1月28日～29日

水戸

**第5回日本毒性病理専門家認定試験における
「ミクロ試験問題の解説」開催案内
(日本毒性病理学会開催)**

去る平成10年9月5日(土)に実施された標記試験のうち、ミクロ試験として出題された問題について、カラスライドを用いてその病変についての解説を行います。

日時：平成11年1月27日(水) 午前10:30～11:50

会場：水戸市民会館ホール

水戸市中央1丁目4番1号

TEL 029-224-7521 / FAX 029-224-7523

(詳細は講演要旨集の会場案内図を参照)

解説：板倉智敏(試験委員長)

会費：無料(参加自由)。ホールの収容定員は1004名です。

- * 尚、同ホールでは午後1時～4時30分、前川昭彦先生(佐々木研究所病理部長)のお世話で第12回スライドコンファランスが開催されます。詳細については日本毒性病理学会誌 Vol.11 (No.2) 折り込みの第12回スライドコンファランス開催案内をご参照ください。

会場案内

JSTP 認定試験問題解説およびスライドコンファランス（学会前日）：ホール

総合受付およびスライド受付：ホール入口2階ロビー

口演、教育講演、シンポジウムおよび総会：ホール

示説受付：1階中会議室入口

示説：1階中会議室 101～103号室

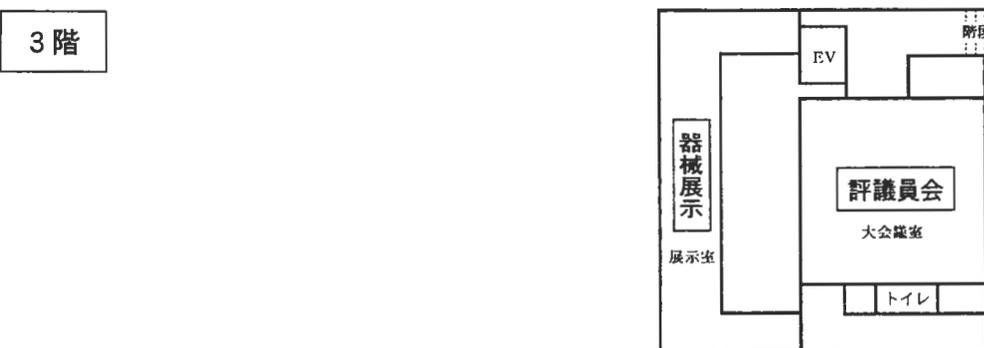
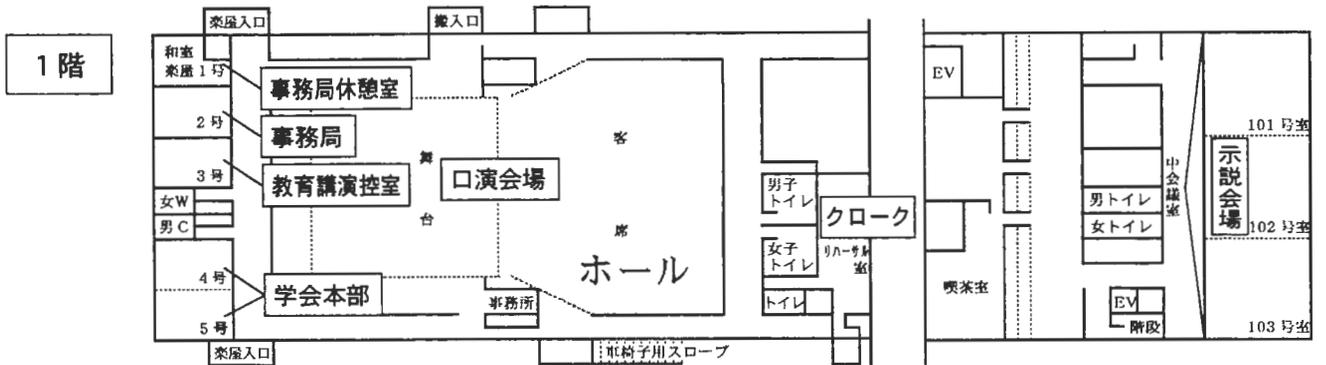
評議員会：3階大会議室

機器展示：3階展示室

一般休憩室（昼食含む）：2階小会議室 201～206号室

クローク：1階リハーサル室

学会本部：1階楽屋5号室



第 15 回日本毒性病理学会

1. 期 日 1999 年 1 月 28 日 (木)、29 日 (金)

2. 会 場 水戸市民会館

3. 会 長 真板敬三 (残農研・毒性)

組織委員長 原田孝則 (残農研・毒性)

4. プログラム委員会

委員長 前川昭彦 (佐々木研・病理)

委 員 梶村哲世 (第一製薬・安全研)

高橋道人 (昭和大・薬)

津田洋幸 (国立がんセ・化療)

土井邦雄 (東大・農・獣医病理)

三森国敏 (国立衛研・病理)

(50 音順)

5. 日 程

第 1 日 1 月 28 日 (木)

口演会場 (ホール)	示説会場 1 階中会議室 101~103 号室
8:30 総合受付開始	
8:55~9:00 開会挨拶	8:45~9:30 示説受付・展示 (全演題)
9:00~12:00 口演 (1~15)	
12:10~13:00 評議員会 (3 階大会議室)	
14:10~16:25 口演 (16~26)	13:00~14:00 示説質疑 (P-1~12, 25~36, 49~58, 69~80, 93~104)
16:30~18:00 教育講演	

懇親会 (水戸駅北口、三の丸ホテル 4 階オリーブの間) 19:00~21:00

第 2 日 1 月 29 日 (金)

口演会場 (ホール)	示説会場 1 階中会議室 101~103 号室
8:30 総合受付開始	9:00~10:00 示説質疑 (P-13~24, 37~48, 59~68, 81~92, 105~116)
10:20~12:00 シンポジウム (S-1~3)	
12:00~12:30 総会および表彰式	
13:30~15:10 シンポジウム (S-4~6)	12:30~13:00 示説撤去 (全演題)
15:15~15:30 閉会式	

6. 事 務 局

(会期前) 茨城県水海道市内守谷町 4321 番
(財) 残留農薬研究所 (〒303-0043)

TEL 0297-27-4520/4524

FAX 0297-27-4518/1225

E-mail zanken@iinet.or.jp

(会期中) 茨城県水戸市中央 1 丁目 4 番 1 号
水戸市民会館 (〒310-0805)

TEL 029-224-7521

FAX 029-224-7523

学会本部 (楽屋 5 号室、内線 654
または携帯電話 090-8683-4060)

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. 11 (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り替え用紙でも結構です)。

口座番号：00180-4-22384

加入者名：第 15 回日本毒性病理学会事務局

振込締切：平成 10 年 12 月 25 日 (金)

1. 総合受付は学会両日午前 8 時 30 分から、水戸市民会館ホール入口 2 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 35 mm 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

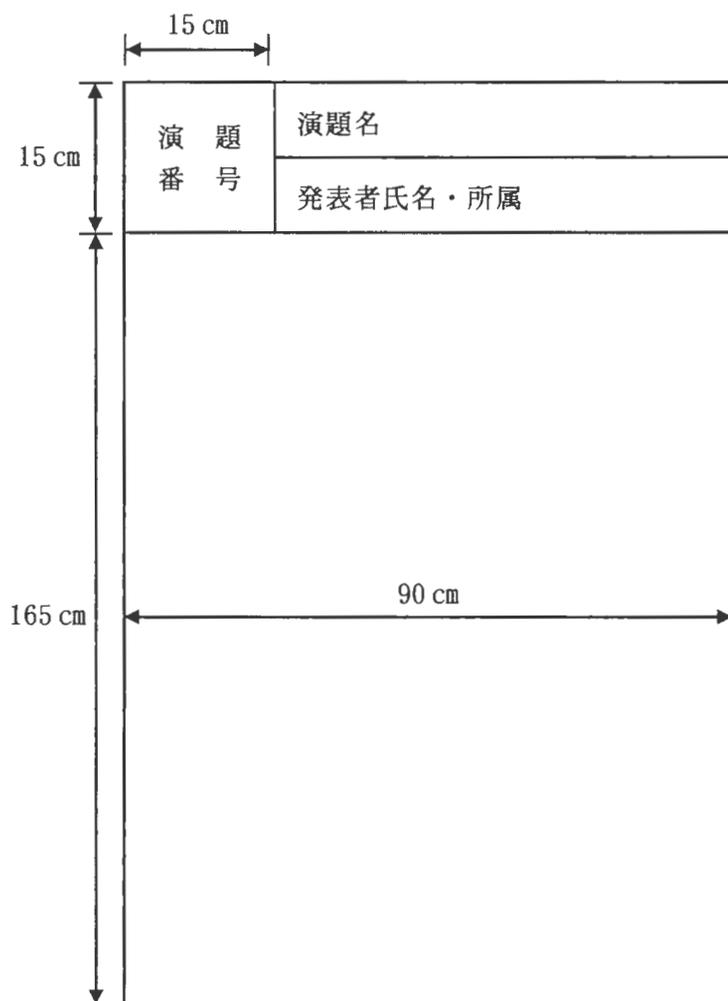
1. 評議員会は学会第 1 日目の 12 時 10 分より 3 階大会議室にて行います (要：昼食代 1,000 円)。
2. 総会は学会第 2 日目の 12 時 00 分よりホールにて行います。

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 分まで水戸駅北口の三の丸ホテル 4 階「オリーブの間」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)。但し、当日参加も可能です。
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. 全演題について学会第1日目の9時30分までに受付と展示（1階中会議室）を済ませて下さい。
2. 展示時間は第1日目の9時30分より第2日目の12時30分までです。第1日目の発表者（演題番号P-1～12, 25～36, 49～58, 69～80, 93～104）は、13時00分から14時00分までの間、第2日目の発表者（演題番号P-13～24, 37～48, 59～68, 81～92, 105～116）は、9時00分から10時00分までの間、必ず会場に居て座長の指示に従い発表ならびに質疑に応じて下さい。
3. 発表時間は2分、質疑は3分です。
4. パネルの大きさは縦180cm、横90cmです（下図参照）。
5. 展示には学会で用意した画鋏を使用して下さい。
6. 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

教育講演	1月28日 (16:30～18:00)	真板敬三	(残農研・毒性)
シンポジウム	1月29日 (10:20～12:00)	土井邦雄	(東大・農・獣医病理)
	1月29日 (13:30～15:10)	三森国敏	(国立衛研・病理)
<hr/>			
口演	1月28日 (9:00～12:00)		
	1～2	梶村哲世	(第一製薬・安全研)
	3～4	今井田克己	(名市大・医・1病理)
	5～7	野々山孝	(武田薬品・薬安研)
	8～9	西川秋佳	(国立衛研・病理)
	10～12	中山裕之	(東大・農・獣医病理)
	13～15	広瀬雅雄	(国立衛研・病理)
	1月28日 (14:10～16:25)		
	16～18	津田洋幸	(国立がんセ・化療)
	19～20	吉田 緑	(佐々木研・病理)
	21～22	渋谷一元	(日生研)
	23～24	高岡雅哉	(三共・安全研)
	25～26	花田貴宣	(山之内製薬・創薬安全研)
<hr/>			
示説	1月28日 (13:00～14:00)		
	P-1～12	北村 均	(横浜市大・医・1病理)
		奥野泰由	(住友化学・生物環境研)
	P-25～36	立松正衛	(愛知がんセ・1病理)
		真鍋 淳	(三共・安全研)
	P-49～58	高橋道人	(昭和大・薬)
		山手丈至	(大阪府大・農・獣医病理)
	P-69～80	白井智之	(名市大・医・1病理)
		山崎寛治	(化検協・安全セ)
	P-93～104	前川昭彦	(佐々木研・病理)
		奈良間功	(摂南大・薬安研)
	1月29日 (9:00～10:00)		
	P-13～24	田中卓二	(金沢医大・1病理)
		土谷 稔	(三菱化学安科研)
	P-37～48	森 秀樹	(岐大・医・1病理)
		川合是彰	(田辺製薬・医薬育成研)
	P-59～68	福島昭治	(大阪市大・医・1病理)
		梅村孝司	(北大・獣医・比較病理)
	P-81～92	堤 雅弘	(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
		榎本秋子	(残農研・毒性)
	P-105～116	今井 清	(食薬セ・病理)
		岩田 聖	(安評セ・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 真 (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
15	水 戸	真 板 敬 三 (残農研)	1999. 1. 28～29	0	教育講演 1 シンポジウム 6	142

教育講演

第1日 (1月28日) 16:30~18:00 司会 真板敬三 (残農研・毒性)

Molecular mechanisms in toxicologic pathology :

A continuing education seminar

.....2

Dr. Robert R. Maronpot (NIEHS, USA)

シンポジウム：毒性発現機序解明試験の実践と評価

第2日 (1月29日) 午前10:20~12:00/午後13:30~15:10

午前10:20~12:00 (肝毒性)

司会 土井邦雄 (東大・農・獣医病理)

S-1. ガラクトサミンによるマウス肝細胞アポトーシス

.....6

吉川泰弘 (東大・農・実験動物)

S-2. 組織スライス培養法を用いた肝毒性メカニズム試験の実践

.....7

○北村和之、時任康弘 (田辺製薬・創薬研)、I. G. Sipes (Univ. of Arizona)

S-3. ラットにおける acetaminophen および diethylnitrosamine による肝毒性および

肝発癌性の発現機序に対する酸化性ストレスの役割とその検出法

.....8

○中江 大、小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

午後13:30~15:10 (腎毒性)

司会 三森国敏 (国立衛研・病理)

S-4. 腎毒性の発現機序

.....9

遠藤 仁 (杏林大・医・薬理)

S-5. フリーラジカル性腎障害への細胞内シグナル物質の関与

.....10

玄番宗一 (大阪薬科大・薬理)

S-6. 薬物誘発性糸球体障害における蛋白漏出について

.....11

○渡辺満利、下井昭仁 (持田製薬・富士中研)

口演プログラム

○：発表者

第1日（1月28日）午前

座長 梶村哲世（第一製薬・安全研）

9：00～9：24

1. アニリンを単回投与したラットに誘発された神経毒性 ……………14
○岡崎欣正^{1,3}, 山下弘太郎¹, 須藤雅人¹, 土谷稔¹, 奈良間功², 山口良二³,
立山 晋³（¹三菱化学安科研, ²摂南大・薬・安全研, ³宮崎大・家畜病理）
2. Ribosomal protein L4 のアポトーシスへの関与 ……………14
○梶川悟¹, 中山裕之², 高嶋明彦³, 村山洋³, 鈴木正寿⁴, 西原真杉⁴, 高橋迪雄⁴,
土井邦雄²（¹山之内製薬・安全研, ²東大・農・獣医病理, ³理研脳センター,
⁴東大・農・獣医生理）

座長 今井田克己（名市大・医・第1病理）

9：24～9：48

3. MNU 誘発ラット新生仔白内障の病理組織学的解析 ……………15
○義澤克彦^{1,2}, 南部裕之³, 楊継紅², 山本大悟², 藤平司郎¹, 大石裕司¹, 三木弘彦³,
螺良愛郎²（¹藤沢薬品・安全研・病理, ²関西医大・病理Ⅱ, ³同・眼科）
4. Histological evaluation of the gill in Channel Catfish exposed to N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine ……………15
○Hans H. C. Chen¹, Greg P. Sykes², In-jen Pan³（¹Natl. Sci. Council Natl. Lab. Anim. Breeding & Res. Ctr., TAIWAN, ²DuPont-Merck Pharmaceuticals, USA, ³Nihon Univ. Coll. Ag. & Vet. Med., JAPAN）

座長 野々山孝（武田薬品・薬安研）

9：48～10：24

5. *Helicobacter pylori* 長期感染スナネズミ胃の病理組織学的検討 ……………16
○高木司郎¹, 平山文博², 河下伸¹, 上村裕洋¹, 内海博之¹, 竹内正紀¹
（¹吉富製薬・吉富安全研, ²同・九州研）
6. p53 ノックアウトマウスにおける MNU 腺胃発癌感受性 ……………16
○山本昌美¹, 塚本徹哉¹, 酒井洋樹^{1,2}, 白井紀充^{1,2,3}, 田中晴就¹, 小林潔^{1,4},
大垣比呂子⁵, 立松正衛¹（¹愛知がんセ・第1病理, ²岐阜大・農・家畜病理,
³ファイザー製薬・中央研, ⁴三菱化学・横浜総研・安全性研, ⁵Unit of Molecular Pathology, IARC, France）
7. 生後1日目に MNU 投与を行った雄ラットに MNNG 再投与の影響 ……………17
○渡辺敦光¹, 上坂敏弘¹, 石村美祐¹, 白木克尚¹, 蔵本憲¹, 平田思², 荘司俊益¹,
加藤修¹（¹広島大・原医研, ²同・医学部）

座長 西川秋佳（国立衛研・病理）

10：24～10：48

8. Protective effects of *Nigella sativa* oil on N,N'-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats ……………17
○Elsayed I. Salim, Tahany Shams, Tetsuhide Taniyama, Keiichirou Moriyama,

Hideki Wanibuchi, Shoji Fukushima (First Dept. of Pathology, Osaka City Univ. Medical School)

9. Inhibitory effects of 3-ethyl(4-geranyloxy-3-methoxyphenyl)-2-propenoate, a novel ferulic acid derivative, on early stage colon carcinogenesis in rats treated with azoxymethane18
○Cheol Beom Park, Nobuo Takasuka, Hiroyasu Baba-Toriyama, Kazunori Sekine, Hiroyuki Tsuda (Exp. Pathol. & Chemother. Div., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.)

座長 中山裕之 (東大・農・獣医病理) 10:48~11:24

10. イヌにおける肝 P450 (CYP2B, CYP3A) の局在と薬物投与による誘導18
○丸山敏之, 渡邊弘, 松井信志, 馬場隆彦, 三好貴子, 星元満里子, 西部泰弘, 大野浩司 (塩野義製薬・新薬研)
11. マウスにおける藍藻肝毒素 microcystin-LR (MCLR) による肝細胞死: 傍中心性壊死, 単細胞壊死およびアポトーシス19
○吉田敏則¹, 武田眞記夫¹, 原田孝則¹, 真板敬三¹, 上野芳夫²
(¹残農研, ²東京理科大・薬)
12. DDT の 28 日間混餌投与試験における肝発癌関連因子の経時的変化19
○武田眞記夫, 富山成人, 渡辺茂美子, 吉田敏則, 小林裕子, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)

座長 広瀬雅雄 (国立衛研・病理) 11:24~12:00

13. ラットの肝発癌過程における癌周囲組織の増殖抑制機構とその意義について20
○渡辺知幸¹, 尾崎正和^{1,2}, 小島隆³, 澤田典均³
(¹STS, ²住友化学・生科研, ³札幌医大)
14. Clofibrate 投与によるラット肝小増殖巣における GST-P mRNA および TGF- α の発現の推移20
○今井俊夫^{1,2}, 田代俊文¹, 早川和宏¹, 中野渡純一¹, 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・第1病理)
15. B6C3F₁ マウス自然発生肝腫瘍における Bcl-2 発現と H-ras 遺伝子変異21
○飯田麻里, 岩田聖, 榎本眞 (安評センター)

第1日 (1月28日) 午後

座長 津田洋幸 (国立がんセ・化療) 14:10~14:46

16. ハムスター膀胱発癌過程における matrix metalloproteinases (MMPs) の役割と MMPs 阻害剤による膀胱発癌の抑制21
○佐々木康孝, 堤雅弘, 辻内俊文, 白岩和巳, 三井雅之, 高島吉治, 笛木修, 安藤信明, 天沼利宏, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
17. 四塩化炭素投与ラットの腎糸球体におけるサイトカインおよびサイトカイン

- レセプターの発現22
 ○緒方聖也¹, 西田恵津子², 板垣慎一², 土井邦雄³, 吉川泰弘²
 (¹三共・安全研, ²東大・農・実験動物, ³同・獣医病理)
18. N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) によるラット膀胱癌の発生に対する
 選択的 cyclooxygenase (COX)-2 阻害剤 nimesulide (NIM) の抑制効果と膀胱癌での
 COX-2 蛋白質の発現22
 ○北山若紫¹, 岡島英二郎^{1,2}, 傳田阿由美¹, 大園誠一郎², 辻内俊文¹,
 佐々木康孝¹, 小笠原裕之¹, 吉田順一¹, 小西陽一¹
 (¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理, ²同・泌尿器科)
- 座長 吉田緑 (佐々木研・病理) 14:46~15:10
19. DMAB 誘発ラット前立腺癌に対する植物由来女性ホルモン活性物質 genistin/genistein
 および daidzin/daidzein の抑制作用23
 ○崔林¹, ニ口充¹, 今井田克己¹, 佐野真士², 加藤浩司¹, 白井智之¹
 (¹名市大・医・第1病理, ²大雄会医科研)
20. p53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスを用いた ENU 誘発子宮腫瘍モデルに
 おけるメトキシクロールの発がん修飾作用23
 ○小野寺博志, 三森国敏, 高木久宜, 安原加壽雄, 糀谷高敏, 広瀬雅雄
 (国立衛研・病理)
- 座長 渋谷一元 (日生研) 15:10~15:34
21. 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) 誘発ラット乳腺発癌に
 対する α -naphthyl isothiocyanate (α NITC) の抑制効果24
 ○杉江茂幸¹, 牛田淳², K.M. Wahidur Rahman², Pham Quang Vinh², 酒々井夏子²,
 若林敬二³, 森秀樹² (¹岐阜大・医・動物実験施設, ²同・第1病理, ³国立がんセ・
 研・生化)
22. ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットの発がん感受性24
 ○鳥山-馬場弘靖¹, 朝元誠人^{1,2}, 安東輝¹, 竹下文隆¹, 外岩戸尚美¹, 辻奈穂美¹,
 津田洋幸¹ (¹国立がんセ・研・化療, ²名市大・医・第1病理)
- 座長 高岡雅哉 (三共・安全研) 15:34~15:58
23. F344 ラット下垂体神経葉における異所性上皮様組織についての免疫組織化学・
 電子顕微鏡学的解析25
 ○岩田聖¹, 木原亨¹, 細井理代¹, 宮島留美子¹, 山本慎二¹, 三上真一¹, 山川誠己¹,
 廣内康彦¹, 榎本眞¹, 今沢孝喜², 三森国敏² (¹安評センター, ²国立衛研・病理)
24. 甲状腺発癌物質の下垂体摘出ラットにおける甲状腺増殖性病変への影響25
 ○田村啓¹, 三森国敏¹, 小野寺博志¹, 森安眞津子², 渋谷淳¹, 広瀬雅雄¹
 (¹国立衛研・病理, ²パナファーム・ラボラトリーズ)

座長 花田貴宣 (山之内製薬・創薬安全研)

15:58~16:22

25. IQL/jic 雌マウスのハプテン反復塗布による皮膚炎26
○池田美穂¹, 黒木宏二¹, 鈴木穂高¹, 上塚浩司¹, 中山裕之¹, 三枝順三²,
土井邦雄¹ (¹東大・農・獣医病理, ²産医研)
26. Flunitrazepam の薬剤耐性と Metallothionein 発現との関連性26
○星田美奈子¹, 伊藤金次², 伊藤敦子¹, 馮永求¹, 林美千子¹
(¹東邦大・医・法医, ²同・第2病理)

示説プログラム

○: 発表者

*: 発表者が40歳未満

第1日 (1月28日) 午後(13:00 ~ 14:00) / 第2日 (1月29日) 午前(9:00 ~ 10:00)

示説/P-1~12

第1日午後

座長 北村均 (横浜市大・医・第1病理)

奥野泰由 (住友化学・生物環境研)

- *P-1 アポトーシス抑制物質 TPCK による海馬遅発性神経細胞死抑制効果28
○原明, 山田泰広, 松永研吾, 川端邦裕, 吉見直己, 森秀樹
(岐阜大・医・病理)
- *P-2 脳内出血モデルラットの組織病理学的変化28
○穴山久志¹, 橋本忠俊², 小田恵美子¹, 平井加津子¹, 佐々木啓¹
(¹武田薬品・薬安研, ²同・創薬研V)
- *P-3 1,4-ジオキサンの2週間および13週間経口投与による脳の空胞変性29
○妹尾英樹, 竹内哲也, 野田圭介, 梅田ゆみ, 片桐卓, 相磯成敏, 長野嘉介,
奥平雅彦 (日本バイオアッセイ研究センター)
- *P-4 3, 3'-iminodipropionitrile (IDPN) を反復投与したラットに観察された血管病変
および腎臓病変29
○山下弘太郎, 岡崎欣正, 須藤雅人, 土谷稔 (三菱化学安科研)
- P-5 メタリルクロライドの104週間吸入暴露によりBDF1マウスの前胃と鼻腔に
発生した病変30
○片桐卓, 竹内哲也, 野田圭介, 梅田ゆみ, 妹尾英樹, 相磯成敏, 長野嘉介,
奥平雅彦 (日本バイオアッセイ研究センター)
- *P-6 珪肺症モデルにおけるラット肺CINC陽性細胞の局在の変化30
○秦純子, 長谷久美子, 三橋弘明, 浅野哲, 池田悦子, 金子英志, 宇野洋
(帝人・医薬開発研)
- *P-7 ラットのプ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 -Ⅲ
-rhG-CSF投与用量の検討-31

- *P-28 乳酸鉄を混餌経口投与したラットの肝臓および腎臓の超微形態像 ……41
 ○尾崎清和¹, 松嶋周一², 松浦哲郎¹, 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)
- P-29 Clofibrate による雄ラット肝臓のペルオキシゾーム増生に対する monosodium glutamate の抑制作用 ……42
 ○矢本敬, 五十嵐功, 渡辺稔之, 緒方聖也, 石川加代子, 牧野俊彦, 真鍋淳
 (三共・安全研)
- P-30 ラット肝臓切片における cytochrome P450 アイソザイムの半定量化 ……42
 ○藤村久子, 三輪恵子, 山田泰弘, 倉部道恵, 宮崎登志子, 川合是彰
 (田辺製薬・創薬研)
- *P-31 PhIP のラット薬物代謝酵素誘導における抗酸化剤 1-o-hexyl-2,3,5-trimethyl-hydroquinone 併用投与の影響 ……43
 ○渋谷淳, 畝山智香子, 豊田和弘, 宮崎恵子, 田村啓, 広瀬雅雄
 (国立衛研・病理)
- *P-32 BHA および PB 投与によるラット肝細胞増殖活性の変化 ……43
 ○牧野俊彦, 緒方聖也, 石川加代子, 真鍋淳, 矢本敬 (三共・安全研)
- *P-33 MeIQx 低濃度域での肝発癌感受性におけるラット系統差 ……44
 ○岩井秀司¹, 鰐淵英機¹, 市原敏夫¹, 堀高明¹, 中江大², 小西陽一²,
 福島昭治¹ (¹大阪市大・医・第1病理, ²奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
- *P-34 WS/Shi および SD/gShi ラットの肝発癌物質 N-nitrosomorpholine に対する感受性 ……44
 ○村井隆^{1,2}, 細野素子², 高嶋彰², 森聖¹, 福島昭治¹
 (¹大阪市大・医・第1病理, ²塩野義製薬・油日ラボ)
- *P-35 柑橘類に含まれる auraptene の, diethylnitrosamine およびコリン欠乏アミノ酸食によるラット肝発癌に及ぼす影響 ……45
 ○楠岡修, 中江大, 赤井弘幸, 堀口浩資, 田村一利, 榎並倫文, 辻内俊文,
 堤雅弘, 傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
- *P-36 ラット中期肝発癌性試験を用いた Dichlorvos の肝発癌修飾作用の検討 ……45
 ○吉野裕子^{1,2}, 佐野真士^{1,2}, 萩原昭裕¹, 玉野静光¹, 今井田克己²,
 伊東信行³, 白井智之² (¹大雄会医科研, ²名市大・医・第1病理, ³名市大)
- 示説/P-37~48 第2日午前 座長 森 秀樹 (岐阜大・医・第1病理)**
川合是彰 (田辺製薬・医薬育成研)
- *P-37 アミンと亜硝酸による発がんに対する HTHQ の抑制効果 ……46
 ○五島英雄¹, 広瀬雅雄², 高橋智¹, 小川久美子¹, 加藤俊男¹, 白井智之¹
 (¹名市大・医・第1病理, ²国立衛研・病理)
- *P-38 ラット主要臓器に対するプロボリスの発がん修飾作用 ……46
 ○木本直哉¹, 広瀬雅雄², 河部真弓³, 小木曾正¹, 杉浦論¹, 金枝純⁴,
 佐藤利夫⁵, 白井智之¹ (¹名市大・医・第1病理, ²国立衛研・病理,

³大雄会医科研, ⁴アピ株式会社, ⁵徳島文理大・薬)

- *P-39 ラット肝中期発癌試験法(伊東法)を用いた α -benzene hexachloride(α -BHC)の発癌修飾作用の検討47
○梶田周佳, 鰐淵英機, 市原敏夫, 須方督夫, 福島昭治
(大阪市大・医・第1病理)
- P-40 マウス肝二段階発がんモデルを用いたペンタクロロフェノール(PCP)のイニシエーション及びプロモーション作用の検討47
○梅村隆志¹, 佐井君江¹, 長谷川隆一¹, 黒川雄二¹, Gary M. Williams²
(¹国立衛研・毒性, ²American Health Foundation, USA)
- *P-41 Wy-14,643により誘発されたラット肝臓腫瘍の休薬による変化48
○後藤和広, 土屋毅幸, 望月淳, 小林潔, 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)
- *P-42 Diethylnitrosamine-Sodium Phenobarbitalで誘発したマウス肝芽細胞腫からの細胞株の樹立48
○坂入鉄也, 小林潔, 後藤和広, 杉本次郎, 務台衛
(三菱化学・横浜総研・安全性研)
- *P-43 マウス肝腫瘍における抗アンドロゲン療法の検討49
○後藤孝彦¹, 中谷玉樹¹, 高橋忠照², 殷宏¹, 伊藤明弘¹
(¹広島大・原医研・予防腫瘍, ²広島鉄道病院)
- P-44 Epichlorohydrinの毒性ならびにその代謝物の関与について49
○伊藤敦子¹, 星田美奈子¹, 林美千子¹, 馮永久¹, 伊藤金次²
(¹東邦大・医・法医, ²同・第2病理)
- P-45 シスプラチン(CDDP)誘発ラット腎線維化病変における細胞外基質の蓄積, TGF- β 及びアポトーシスの発現50
○山手丈至¹, 佐藤恵子¹, 桑村充¹, 仲辻俊二², 小谷猛夫¹, 佐久間貞重¹
(¹大阪府大・獣医病理, ²鐘紡・安全研)
- *P-46 5/6腎摘出ラットを用いた腎不全初期における食塩の影響50
○日下部愛泉¹, 梅田麻美², 坂入鉄也¹, 杉本次郎¹, 佐野文子¹, 務台衛¹
(¹三菱化学・横浜総研・安全性研, ²同・医薬1研)
- P-47 α 2u-グロブリン腎症における尿中脱落細胞と腎臓の細胞増殖性について51
○宇和川賢, 中山厚美, 須方督夫, 尾崎圭介, 奥野泰由, 川崎一
(住友化学・生科研)
- P-48 ラットDMN腎腫瘍に対するコルヒチン投与の影響51
○日比野勤(藤田保健衛生大・短大・病理)

示説/P-49~58

第1日午後

座長 高橋道人(昭和大・薬)

山手丈至(大阪府大・農・獣医病理)

- *P-49 Dimethylarsinic acidのラット膀胱発癌性52
○魏民¹, 鰐淵英機¹, 山本晋史¹, 李威¹, 陳天新¹, 市原敏夫², 河部真弓²,

福島昭治¹ (1大阪市大・医・第1病理, ²大雄会医科研)

- *P-50 ウラシル結石誘発膀胱腫瘍発生の機構解明: Big Blue[®]ラットを用いた突然変異の解析52
○池田佳久¹, 高橋智¹, 小川久美子¹, 朝元誠人¹, 河部真弓², 白井智之¹
(1名市大・医・第1病理, ²大雄会医科研)
- *P-51 Phenylethylisothiocyanate (PEITC)および Benzylisothiocyanate (BITC) 投与によるラット膀胱の初期変化53
○杉浦論¹, 広瀬雅雄², 小川久美子¹, 朝元誠人¹, 池田佳久¹, 小木曾正¹, 白井智之¹ (1名市大・医・第1病理, ²国立衛研・病理)
- *P-52 Adriamicin (ADR) のラット精巣毒性の病理組織学的検討
～精子検査との比較～53
○川口雅子, 長岡有紀, 香川雅孝, 船生志乃, 葛西靖広, 和知正幸
(日研化学・大宮研・安全性)
- *P-53 ラットの精子形成における光の影響54
○須田美穂子¹, 伊藤今日子¹, 石田勝彦¹, 岡宮英明¹, 花田貴宣¹, 江指隆年², 花井美保² (1山之内製薬・安全研, ²国立健康・栄養研・応用食品部)
- *P-54 チアンフェニコールの精巣毒性のメカニズムについて
-Dual Compartment Chamber を用いた *in vitro* 検索-54
○桑原真紀¹, 乾公正¹, 竹内幸子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, ²国立衛研・病理)
- *P-55 Ethinyl estradiol (EE) によるラット精巣上体の萎縮に関する検討
-EE 誘発病変と下垂体除去による病変との比較-55
○土屋毅幸, 佐野文子, 杉本次郎, 小林潔, 後藤和広, 務台衛
(三菱化学・横浜総研・安全性研)
- *P-56 新生仔期 diethylstilbestrol (DES) および 17 β -estradiol (E2) 投与雄 SD ラットにおける雄性生殖器の病理組織学的変化の検討55
○義岡孝子, 川口博明, 船戸護, 吉田浩己 (鹿児島大・医・第1病理)
- *P-57 抗アンドロゲン剤 Chlormadinone acetate の自然発症前立腺肥大イヌにおける精子形成への影響について56
○池田高志¹, 田川正志¹, 池田理恵¹, 村越正典¹, 久田茂¹, 森正雄¹, 中山隆治¹, 五反田浩太郎², 佐々木享子², 本間誠次郎²
(1帝国臓器・安全研, 同・薬理研)
- *P-58 加熱分解産物 PhIP によるラット前立腺癌の発生と大量テストステロンの促進作用56
○加藤浩司, 高橋智, 今井田克己, 崔林, 曹永晩, 二口充, 白井智之
(名市大・医・第1病理)

- *P-59 DMAB ラット前立腺癌発生に対する PhIP による促進作用の検討57
 ○澤村文子^{1,2}, 佐野真士^{1,2}, 田中光², 高橋智¹, 二口充¹, 白井智之¹
 (1名市大・医・第1病理, 2大雄会医科研)
- P-60 6週間の PhIP 投与後に雄 Noble ラットに発生した増殖性病変及び毒性変化57
 ○久田茂¹, 谷藤久人¹, 田川正志¹, 柴田誠司¹, 永嶋雅子¹,
 増田修治¹, 飯田祝子¹, 中山隆治¹, 若林敬二²
 (1帝国臓器・安全研, 2国立がんセ・がん予防)
- P-61 Octylphenol の雌ラットに及ぼす影響 1. 成熟ラットによる検討58
 ○吉田緑, 勝田真一, 黒田博之, 渡辺隆夫, 安藤進, 高橋正一, 前川昭彦
 (佐々木研・病理)
- *P-62 Octylphenol の雌ラットに及ぼす影響 2. 卵巣摘出ラットを用いた検討58
 ○勝田真一, 吉田緑, 黒田博之, 渡辺隆夫, 安藤進, 高橋正一, 前川昭彦
 (佐々木研・病理)
- P-63 内分泌異常と腫上皮の形態変化との関連59
 ○永岡隆晴¹, 竹川潔¹, 竹内正紀¹, 前川昭彦²
 (1吉富製薬・吉富安全研, 2佐々木研・病理)
- *P-64 ラット子宮におけるエストロゲンおよびプロゲステロン受容体に対する
 タモキシフェンの作用59
 ○市村英資, 内田則子, 後藤絵梨, 江原敬子, 渡辺綾子, 林幹人, 山下巧
 (日本化薬・安全性グループ)
- P-65 p53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスでの N-ethyl-N-nitrosourea 誘発性の
 子宮腫瘍に対する ethinylestradiol の修飾作用60
 ○下武男¹, 小野寺博志², 片山淳一¹, 斉藤明美¹, 青木康治¹, 桶崎英一¹,
 永田治¹, 三森国敏² (1北陸製薬・研究開発本部, 2国立衛研・病理)
- *P-66 抗精神病薬およびプロゲステロゲン投与によるイヌ乳腺・生殖系器への影響60
 ○内海博之, 高木司郎, 竹内正紀 (吉富製薬・吉富安全研)
- *P-67 ラット妊娠・授乳・離乳期乳腺における細胞増殖およびアポトーシスについて61
 ○梅村しのぶ¹, 岩坂俊基^{1,2}, 柿本恒知^{1,2}, 長村義之¹
 (1東海大・医・病態診断系病理, 2日本たばこ・安全研)
- *P-68 Estradiol 投与ラットの乳腺における細胞増殖および細胞死の検討61
 ○岩坂俊基^{1,2}, 梅村しのぶ¹, 美谷島克宏², 高橋明美², 柿本恒知^{1,2},
 小泉治子², 宮川義史², 長村義之¹ (1東海大・医・病態診断系病理,
 2日本たばこ・安全研)

- P-69 ニトロフラゾンによるラット乳腺腫瘍発生機序の検討 (I)62

- 高橋正一, 渡辺隆夫, 飯塚生一, 白木克尚, 工藤佳子, 吉田緑, 安藤進,
前川昭彦 (佐々木研・病理)
- *P-70 ニトロフラゾンによるラット乳腺腫瘍発生機序の検討 (Ⅱ)62
○渡辺隆夫^{1,2}, 高橋正一², 飯塚生一², 勝田真一², 黒田博之², 吉田緑²,
安藤進², 前川昭彦² (1興和・安全性, 2佐々木研・病理)
- *P-71 Estradiol dipropionate 投与ラットにおける下垂体増殖病変の系統差63
○佐藤洋¹, 陳忠正², 樫本佳典¹, 梶村哲世¹, 野村護¹
(1第一製薬・安全研, 2同・創薬3研)
- P-72 大豆食で惹起されるラット甲状腺および下垂体の超微形態学的変化63
○今沢孝喜¹, 池田尚子^{1,2}, 西川秋佳¹, 笠原健一郎¹, 木村修一²,
高瀬雅雄¹ (1国立衛研・病理, 2昭和女子大)
- *P-73 コウジ酸のラット甲状腺腫瘍誘発メカニズム -第2報64
○藤本成明, 丸山聡, 殷宏, 中谷玉樹, 伊藤明弘
(広島大・原医研・予防腫瘍)
- P-74 ヘアレス犬の皮膚剥離創に対するキチン・キトサン創傷被覆材の皮膚刺激反応64
○木村透¹, 土井邦雄² (1農産工・中研, 2東大・農・獣医病理)
- *P-75 Fenoldopam 投与における壊死性動脈炎の発現および回復過程における
免疫組織学的検討65
○池上仁¹, 宍戸隆男¹, 石田勝彦¹, 白木克尚¹, 二井愛介¹, 花田貴宣¹,
中山裕之², 土井邦雄² (1山之内製薬・安全研, 2東大・農・獣医病理)
- *P-76 軟骨腫瘍における軟骨特異コラーゲンおよび HSP47 発現
-免疫組織化学的検討-65
○永井博文¹, 青木正美¹, 田中俊光²
(1武田薬品, 2ヘキスト・マリオン・ルセル)
- P-77 乳酸鉄の混餌経口投与によるラットの骨形態計測66
○松嶋周一¹, 丸山敏之¹, 星元満里子¹, 尾崎清和², 奈良間功²
(1塩野義製薬・新薬研, 2摂南大・薬・安全研)
- *P-78 新生ラットにおける YM175 の骨組織内薬物局在66
○中野健二¹, 藤本隆平¹, 白木克尚¹, 二井愛介¹, 泉沢信行¹, 福島慎二²,
高橋浩一郎², 花田貴宣¹ (1山之内製薬・安全研, 2同・応用薬理研)
- *P-79 rhG-CSF 大量投与ラット骨病変における細胞増殖動態の変化67
○鈴木雅実^{1,2}, 足立健児¹, 杉本哲朗¹, 中山裕之², 土井邦雄²
(1中外製薬・安全研, 2東大・農・獣医病理)
- *P-80 ラットにおける乳腺症の発生と骨粗鬆症の関連について67
○川口博明^{1,2}, 爰島洋子², 前田博², 宮脇宏彰², 永田良一², 吉田浩己¹
(1鹿児島大・医・第1病理, 2新日本科学)

- *P-81 CB6F₁-Tg-rasH2 マウスを用いた Di (2-ethylhexyl) phthalate の 26 週間
がん原性試験68
○豊沢かおる, 沖本一夫, 木川英美, 入江眞美, 木島和恭, 田中浩二
(大日本製薬・開発研)
- *P-82 Tg-rasH2 マウスにおける N-methyl-N-nitrosourea (MNU) に対する発がん感受性と
その用量依存性に関する検討68
○小林潔, 後藤和広, 土屋毅幸, 杉本次郎, 佐野文子, 日下部愛泉,
坂入鉄也, 務台衛 (三菱化学・横浜総研・安全性研)
- *P-83 CB6F₁-Tg Hras2 (rasH2) マウスに発生した N-methyl-N-nitrosourea (MNU)
誘発胸腺リンパ肉腫の病理組織像及びフローサイトメトリーによる
リンパ球膜抗原の解析69
○柴田誠司¹, 久田茂¹, 谷藤久人¹, 永嶋雅子¹, 飯塚和弘¹, 森本秀樹¹,
中山隆治¹, 白居敏仁² (¹帝国臓器・安全研, ²実中研)
- *P-84 p53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスにおける N-methyl-N-nitrosourea
(MNU) の発癌感受性69
○高木久宜, 三森国敏, 西川秋佳, 小野寺博志, 古川文夫, 安原加壽雄,
笠原健一郎, 広瀬雅雄 (国立衛研・病理)
- *P-85 新生仔マウス二段階発癌モデルによる PhIP のリスク評価70
○中村英明, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 宮内慎, 高橋道人,
広瀬雅雄 (国立衛研・病理)
- *P-86 新生仔マウス二段階発癌モデルによる MeIQx のリスク評価70
○宮内慎, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 中村英明, 高橋道人,
広瀬雅雄 (国立衛研・病理)
- *P-87 ラットにおける中期検索法を用いたイニシエーション活性法の検討71
○木ノ本寿子¹, 澤多美和¹, 井口綾子¹, 山口格¹, 米良幸典¹, 立松正衛²
(¹ゼリア新薬工業・中央研・安全研, ²愛知がんセ・第1病理)
- *P-88 中期イニシエーション活性検索法におけるイニシエーション活性の加算効果71
○酒井洋樹^{1,2}, 山本昌美¹, 小林潔^{1,3}, 後藤和広³, 務台衛³, 白井紀充^{1,2,4},
柳井徳磨², 榎木利昭², 立松正衛¹ (¹愛知がんセ・第1病理, ²岐阜大・
家畜病理, ³三菱化学・横浜総研・安全性研, ⁴ファイザー製薬・安全研)
- *P-89 核の還元能と凝縮クロマチン 1. 鍍銀染色法による Dexamethasone 誘発
ラット胸腺細胞アポトーシスの検出72
○加国雅和, 竹田剛, 高場克巳, 木本直哉, 佐伯幸司, 池上二郎, 鈴木一生
(協和発酵・安全研)
- *P-90 核の還元能と凝縮クロマチン 2. 鍍銀染色法によるラット胎児発生過程に
おけるアポトーシスの検出72

○竹田剛, 加国雅和, 高場克巳, 木本直哉, 佐伯幸司, 池上二郎, 鈴木一生
(協和発酵・安全研)

- *P-91 マウス monoclonal 一次抗体と抗マウス polyclonal 二次抗体の免疫複合体を利用したホルマリン固定マウス・ラット組織中の特異抗原の検出法 ……73
○谷洋一 (ダコ・ジャパン・技術部)
- P-92 塩酸モルヒネのイヌ硬膜外腔投与時の病理学的検討 ……73
○鳥井幹則, 松嶋周一, 松井信志, 星元満里子, 朝野由美, 渡邊弘, 岡田学, 高須伸夫, 丸山敏之, 畑中薫 (塩野義製薬・新薬研)

示脱/P-93~104 第1日午後 座長 前川昭彦 (佐々木研・病理)
奈良間功 (摂南大・薬・安全研)

- *P-93 全身性カンジダ症モデルマウスにおける病理組織学的変化 ……74
○猪又晃, 森本泰子, 矢戸信之, 滝沢節子, 小林和子, 志賀敏彦, 堀井郁夫 (日本ロシュ研究所)
- *P-94 異物発癌に及ぼす異物周囲の微小環境の影響について ……74
○斉藤義明¹, 白見憲司¹, 永田伴子¹, 横山雄一², 今井清¹
(¹食薬センター・薬野研, ²HOYA 株式会社)
- *P-95 L-Theanine の長期投与における毒性, 殊に発がん性の評価 ……75
○藤井誠志, 有広光司, 武島幸男, 金子真弓, 井内康輝
(広島大・医・第2病理)
- P-96 7-8 週齢 *Klotho* マウスの病理学的特徴 ……75
○西川智¹, 館田千絵¹, 吉竹裕子¹, 柏木豊子¹, 白井章雄², 鍋島陽一³
(¹協和発酵・医薬総合研, ²同・東京研, ³京大・医・病理系腫瘍生物)
- *P-97 2系統の雌性 Donryu ラット (Crj: Donryu, HOS: Donryu) における自然発生病変の比較 ……76
○木谷敏之¹, 笹原健二¹, 飯塚生一¹, 蟹谷昌尚¹, 鳥丸安敬¹, 泉恵子¹, 今村幸子¹, 柳澤利彦¹, 高橋正一², 吉田緑², 安藤進², 前川昭彦²
(¹ツムラ・安全性, ²佐々木研・病理)
- *P-98 B6C3F₁ マウスの生涯試験 ……76
○上田誠, 河南明孝, 中澤素邦, 内本啓史, 上田明子, 俵谷武治, 岩倉啓子, 鷲見信好, 倉紘平 (日本新薬・安全研)
- *P-99 カニクイザルの自然発生病変 (寄生虫病変を含む) の調査 ……77
○山口裕子, 佐藤順子, 堀口浩資, 玉井幸子, 中村厚, 星谷達, 岡庭梓
(ポゾリサーチセンター)
- *P-100 F344 ラットと B6C3F₁ マウスの中樞神経系に観察される自然発生病変について ……77
○山本慎二, 木原亨, 長谷川和成, 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)
- *P-101 F344 ラットに観察された三叉神経変性病変 ……78

	○山川誠己, 長谷川和成, 木原亨, 細井理代, 宮島留美子, 山本慎二, 三上真一, 岩田聖, 廣内康彦, 榎本眞 (安評センター)	
*P-102	遺伝性小脳虫部欠損ラットに自然発生した髄筋芽腫 medullomyoblastoma ○桑村充, 高田秋子, 山手丈至, 小谷猛夫, 佐久間貞重 (大阪府大・獣医病理)	78
*P-103	ビーグル犬の心臓における rhabdomyomatosis の 1 例 ○木澤和夫 ¹ , 古坊真一 ¹ , 守田禎一 ¹ , 三善隆広 ¹ , 河村泰仁 ¹ , 奈良間功 ² (¹ 富山化学工業・総合研, ² 摂南大・薬・安全研)	79
*P-104	B6C3F ₁ マウスの線毛上皮を有する胃嚢胞の 1 例 ○宮島留美子, 長谷川和成, 木原亨, 細井理代, 山本慎二, 三上真一, 山川誠己, 岩田聖, 廣内康彦, 榎本眞 (安評センター)	79
示説/P-105~116 第 2 日午前 座長 今井 清 (食薬セ・病理)		
岩田 聖 (安評セ・病理)		
*P-105	B6C3F ₁ マウスの胃腸管に認められた自然発生性腫瘍 ○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・開発研)	80
*P-106	NW-NIBS ウサギにみられた自然発生性腎糸球体病変 ○杉本加代子, 渋谷一元, 布谷鉄夫, 田島正典 (日生研)	80
*P-107	ラット腎臓の脂肪腫/脂肪肉腫は間葉系腫瘍か? ○森島英喜 ¹ , 森郁生 ¹ , 田中丸善洋 ¹ , 神鳥仁志 ¹ , 佐々木啓 ¹ , 奈良間功 ² (¹ 武田薬品・薬安研, ² 摂南大・薬・安全研)	81
*P-108	F344 ラットに認められた精嚢腫瘍の 1 例 ○正田俊之 ¹ , 三森国敏 ² , 今沢孝喜 ² , 豊田和弘 ² , 田村啓 ² , 高田幸一 ² , 高橋道人 ² , 広瀬雅雄 ² (¹ 鳥居薬品・研究所, ² 国立衛研・病理)	81
*P-109	Donryu ラットの膣に認められた顆粒細胞腫について ○笹原健二 ¹ , 飯塚生一 ¹ , 木谷敏之 ¹ , 蟹谷昌尚 ¹ , 鳥丸安敬 ¹ , 柳澤利彦 ¹ , 前川昭彦 ² (¹ ツムラ, ² 佐々木研・病理)	82
*P-110	若齢 SD 系ラットの下垂体後葉にみられた Craniopharyngeal Derivatives の 1 例 ○高橋統一, 正田俊之, 加藤美穂子, 鈴木優典, 横本泰樹, 来海正輝 (鳥居薬品・研究所)	82
*P-111	SD 系ラットの下垂体にみられた aberrant craniopharyngeal structures ○入江眞美, 木川英美, 豊沢かおる, 糺谷高敏, 沖本一夫, 田中浩二 (大日本製薬・開発研)	83
*P-112	老齢 Crj : CD (SD) IGS ラットにおける下垂体腫瘍の組織学的検討 ○神鳥仁志, 田中丸善洋, 山崎秀樹, 菅野宏, 永藪徳久, 佐倉康文 (武田薬品・薬安研・光)	83
P-113	BALB/c マウスにみられた Adrenocortical carcinoma の 2 例	84

○角将一¹，内田和美¹，高橋政壽¹，安藤稔¹，岩田眞¹，前川昭彦²

(¹ヤクルト本社・中研，²佐々木研・病理)

*P-114 B6C3F₁マウスにみられた耳介肉腫84

○枝元洋，永谷真理子，安藤利恵，工藤佳代子，池崎信一郎，笠原健一郎，
若林佐知子，田村一利（ボゾリサーチセンター）

P-115 B6C3F₁マウスにみられた自然発生性骨腫瘍85

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

P-116 ラット脂肪組織に対する16時間，72時間絶食の影響85

○小川慎一，尾藤柴野，佐藤則博，甲斐清徳，渡邊厚，白岩和己，望月文敏，
小林洋四郎（旭化成・ライフサイエンス総研・安全研）

教育講演要旨

Molecular Mechanisms in Toxicologic Pathology A Continuing Education Seminar

Dr. Robert R. Maronpot

National Institute of Environmental Health Sciences
Research Triangle Park, NC
USA

Molecular Mechanisms in Toxicologic Pathology
A Continuing Education Seminar

R. R. Maronpot
Chief, Laboratory of Experimental Pathology
NIEHS

There are two common terms mentioned at just about all toxicology and pathology meetings these days. One term is “molecular,” and the other is “mechanisms.” They are not synonymous. In the practice of toxicologic pathology, both molecular studies and mechanistic studies are phenomenological. They can be thought of as just another way of describing a lesion or change. The traditional toxicologic pathologist describes and diagnoses lesions. The contemporary toxicologic pathologist must still do that, but, in addition, it is now expected that the toxicologic pathologist can also understand and describe lesions using methodologies that do not employ hematoxylin and eosin-stained slides.

For the toxicologic pathologist, the term “molecular” will most probably mean “molecular pathology.” Molecular pathology may be operationally defined as the study at the molecular level of the causative agents and processes underlying disease. The intelligent application of molecular techniques in toxicologic pathology necessitates an intuitive appreciation for some basics of molecular biology. The understanding of a few basic concepts (e.g., nucleic acids and gene structure, complementarity and hybridization, gene expression, restriction endonucleases, reverse transcription) will provide sufficient background for the toxicologic pathologist to deduce many of the normal and altered processes in an organism. The initial half of this continuing education seminar will focus on providing an understanding of basic molecular concepts that will be of significance to the toxicologic pathologist. Part of this exercise will require becoming acquainted with the language of the molecular biologist. The purpose here is not to make the toxicologic pathologist into a molecular biologist, but rather to provide a basic appreciation of molecular biology so that the toxicologic pathologist can understand the molecular biologist, and so that the toxicologic pathologist can ask appropriate questions of the molecular biologist.

The second term, “mechanisms,” means different things to different people. It is amazing that six individuals can have a discussion about the mechanisms of a particular toxicity and no two will have the same definition of the term mechanism. To some the connotation will imply something molecular simply because that’s the currently fashionable thing to talk about. To others it will mean making quantitative measurements of cell proliferation or apoptosis or studying the progression of a disease process. Still others will equate mechanisms with mode of action or metabolism or biochemical processes. For the toxicologic

pathologist, mechanism means defining the etiogenic linkages between critical or obligatory steps and processes involved in a specific lesion or disease. Thus, it is intrinsically descriptive and phenomenological.

The second half of this continuing education seminar will focus on slide-based molecular mechanisms that can be applied to tissue specimens in the pathology laboratory as well as some general methods such as the polymerase chain reaction (PCR). Specifically, there will be a brief mention of immunohistochemistry to detect protein expression in tissue specimens. Since gene expression is also important for understanding the molecular aspects of a lesion, an understanding of the principles of in situ hybridization (ISH) is important. This will be discussed using specific ISH examples and its quantitative aspects using the RNAase protection assay and laser capture microdissection coupled with real time RT-PCR will be presented. The relationship between gene expression (mRNA levels) and protein expression (protein immunohistochemistry) will be defined. The role of specific gene expression and translation into functional protein is under active investigation in a variety of laboratories through the use of transgenic and knock-out mice. There is a genetically engineered mouse for virtually every important gene that we know about. There is a special role for the toxicologic pathologist in the intelligent use of these genetically engineered mice and the importance of that role will be stressed. Finally, new emerging technologies including laser capture microdissection, molecular arrays, and microchips offer promising new tools for the toxicologic pathologist and an overview of these new technologies will be presented.

—MEMO—

シンポジウム要旨

毒性発現機序解明試験の実践と評価
(S-1~6)

吉川泰弘 (東大・農・実験動物)

発生過程における形態形成や神経系接合に関連するアポトーシス、胸腺におけるポジティブ・ネガティブ選択の際に見られるアポトーシスはプログラム細胞死としてよく知られている。また生理的に起こる内分泌系の退行過程や造血系・消化管系の持続的に起こるアポトーシスについても研究が進んでいる。しかし解毒系の中核的役割を果たしている、肝や腎に関しては上記の細胞群と異なり、アポトーシスを積極的に利用する系なのか、ウイルス感染に見られるような生体防衛的アポトーシスなのか、そのメカニズムは他の系と異なるのかなど、不明な点が多い。

当研究室の筒井らは、ウラシル・ヌクレオチドを枯渇させ、肝細胞の好酸性単個細胞死を起こすことが知られているガラクトサミン (GalN) をC57BL/6Nに投与したとき見られる単個細胞死がアポトーシスであることを明らかにした。またこの細胞死では神経系や免疫系のアポトーシスで中心的役割を果たしているカスパーゼ3 (CPP32)の活性が見られないことから、GalN誘発肝細胞アポトーシスが神経系や免疫系の細胞とは異なった機構で生じている可能性が示唆された。本研究では肝細胞アポトーシスのメカニズムを明らかにするため、GalN誘発肝細胞アポトーシスの経時的解析を行い以下の結果を得た。

1) GalN誘発肝細胞アポトーシスでは、*in vitro*でGalN処置3～12時間後から、*in vivo*では24時間後にDNAの断片化を認めた。こうした変化に先立ちproto-oncogenesの役割を明らかにするため、RT-PCR法を用いてmRNAの発現を調べた。*In vivo*ではGalN投与後p53のup-regulationとc-Mycのdown-regulationが見られたが、Fas抗原、Bcl-2 mRNAの発現の変動は見られなかった。*In vitro*ではGalN処置30分後にp53のup-regulationが生じていた。

2) DNA断片化にはCa/Mg依存性エンドヌクレアーゼが関与している。そこで細胞内遊離Caレベルの動態を測定し、またCaアンタゴニストの前処理がGalN誘発肝細胞アポトーシスに与える影響を検索した。その結果、*in vitro*で細胞内遊離CaレベルはGalN添加後から1時間までは緩やかに上昇し、2時間以降は急速に上昇した。共焦点顕微鏡によりGalN添加後1時間で核周辺に遊離Caが局限し、その後細胞質全域に拡大した。Caアンタゴニストの前処置は*in vivo*, *in vitro*とも、DNA断片化をほぼ完全に阻止した。

以上から、GalN誘発肝細胞アポトーシスではP53の発現が端緒となり、肝細胞内遊離Caの上昇が起こり、CPP32の活性化を経由しないで、DNAの断片化が起こると考えられる。また本実験系では高用量のGalN処置で、アポトーシスでなくCa非依存性にネクローシスが誘発されることも明らかになり、肝細胞死のメカニズムを知るユニークな実験系と思われる。

北村和之, 時任康弘 (田辺製薬・創薬研) I.G.Sipes (Univ. of Arizona)

In vitro における化学物質の肝毒性研究には、従来、初代培養肝細胞や株化肝細胞が広く用いられている。しかし、単離細胞を用いた試験系では当然のことながら肝臓特有の組織構築は失われ、肝小葉を単位とする機能的極性や実質細胞と非実質細胞の細胞間コミュニケーションは欠落する。一方、組織スライス培養では材料採取に蛋白分解酵素などの化学物質を必要としないことから、単離細胞に比較して肝細胞の膜機能（ことにホルモン感受性やイオントランスポーター）や細胞内の各種酵素活性が長時間保持されるとされている。何よりも大きな利点は、組織構築が保存されることから、化学物質に対する反応について、in vivo により近い状態でさらに多くの情報が得られることが期待されることである。ヒト組織が比較的容易に入手できる米国では、動物実験データのヒトへの外挿性の観点からも組織スライス培養法は毒性のみならず、薬物代謝や薬効薬理の各方面の研究に広く普及している。本シンポジウムでは、肝臓スライスを用いた allyl 化合物ならびに acetaminophen の肝毒性発現メカニズムの検証を例に挙げて、肝毒性メカニズム研究における in vitro 組織スライス培養法の有用性について紹介する。

1：ラットの肝臓から 200 μ m 厚のスライスを作製し、各種濃度の allyl acetate を添加した培地で回転培養したところ、濃度および時間依存的な細胞内 ATP およびカリウム含量の低下、蛋白合成能の低下、ならびに培地中への LDH 漏出割合の増加が認められた。これらの変化は carboxylesterase 阻害剤や alcohol dehydrogenase (ADH) 阻害剤の前処置により抑制された。Allyl alcohol も同様の変化を惹起し、障害は ADH 阻害剤で抑制されたが、carboxylesterase 阻害剤の前処置では抑制されなかった。これらの allyl 化合物の肝毒性は、同一の代謝経路上に生成される活性代謝物により惹起されることが推察された。

2：無処置および phenobarbital (PB) 前投与ラットの肝臓からスライスを作製し、5mM の acetaminophen (AAP) を添加した培地で 24 時間培養した。無処置ラットの肝スライスには変化は見られなかったが、PB 投与ラットのスライスではカリウム含量の低下と LDH 漏出割合の増加が顕著であった。AAP による障害はグルタチオン枯渇剤、GST 阻害剤、ならびに硫酸転移酵素阻害剤の前処置により増強された。スライスを組織学的に検査したところ、小葉中心性の肝細胞壊死が確認された。

以上のように肝臓スライス培養法は、肝毒性メカニズム検討を行う上で、形態学的側面からも応用可能な簡便かつ有用な in vitro 試験系であると考えられる。

中江 大, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

酸化性ストレスは、種々の化学物質による毒性および発癌性の発現に関与すると指摘されている。本演題は、ラットにおける acetaminophen (APAP) と diethylnitrosamine (DEN) の肝毒性および肝発癌性の発現に対する酸化性ストレスの関与について検索した結果を報告する。

APAPは、抗炎症剤として使用され、大量投与または長期連用時に肝毒性を示すが、肝発癌性については否定的に評価されている。APAPは、主に glutathione ないし硫酸抱合により解毒され排泄されるが、一部が cytochrome P450 (CYP) 依存性単酸化酵素により活性化され、肝毒性を発揮する。この肝毒性の発現機序は、従来、活性中間体の蛋白質への共有結合による膜構造の破壊に起因するものとされていたが、近年、APAPの活性化過程に生成されるラジカル中間体により酸化性ストレスの発動することが指摘された。我々は、以前に 3-methylcholanthrene により CYP を誘導したラット由来の初代培養肝細胞系における APAP による肝細胞障害の発現機序に、superoxide anion・過酸化水素・触媒鉄の関与する Haber-Weiss 型反応による hydroxyl radical の産生に基く膜脂質過酸化が重要な役割を果すことを報告していたが、6 週齢の CYP 誘導 Sprague-Dawley 系雄ラットを用いた in vivo 条件下においても、APAP による肝細胞壊死の誘発に対し、liposome 封入 superoxide dismutase (LSOD)・脂溶性 vitamin C 誘導体・polyethyleneglycol 抱合 catalase・diphenylphenylenediamine (脂溶性抗酸化剤) などの抗酸化物質や deferoxamine (三価鉄イオンキレーター) の同時投与が、APAP の代謝に影響せず抑制効果を発揮することを見出した。この LSOD の抑制作用は、SOD としての酵素活性に依存し、前述の如く APAP の代謝に影響せず、thiobarbituric acid 反応物質産生を指標として検出される脂質過酸化を抑制することに因っている。従って、APAP のラット肝毒性発現機構には、in vivo においても、鉄触媒下 Haber-Weiss 型反応による hydroxyl radical の産生に基く、脂質過酸化を介する酸化性ストレスが重要な役割を果すものと判明した。

DEN は、強い肝発癌物質であり、ヒトの環境中に存在すると共に、胃の酸性条件下で亜硝酸とアミンから合成されると報告されている。DEN の肝発癌機序は、従来、活性中間体の DNA への付加体形成が重要な役割を果すものとされてきたが、近年、代謝過程における酸化性ストレスの発動とその発癌機序への関与の可能性が指摘されつつある。我々は、6 週齢の Fischer 344 系雄ラットに体重 kg 当り 0.001-100 mg の種々の用量の DEN を 1 回腹腔内投与し、3 日以内の肝における酸化性 DNA 傷害の推移を 8-hydroxyguanine (8-OHG) レベルを指標として検出し、この推移と 2-acetylaminofluorene および四塩化炭素によるセレクション処置後の酵素偏倚前癌病変の発生との相関について検索した。その結果、DEN は投与後 6 時間にて用量に依存して肝 DNA に有意な 8-OHG を生成し、この 8-OHG の高レベルは 3 日後まで持続した。この 3 日間の 8-OHG レベルの推移は DEN の 0.001-0.1 と 1-100 mg の用量範囲で異なる 2 相性の依存性を示し、更にこの推移は前癌病変の発生とよく相関していた。従って、DEN によるラット肝発癌の発現機構には、酸化性 DNA 傷害の生成を介する酸化性ストレスが重要な役割を果すことが明らかとなった。一方、前段に述べた肝発癌性の否定的な APAP も、投与後 6 時間に用量依存性の 8-OHG 生成を惹起するが、8-OHG レベルはその後速やかに正常値に復帰する。従って、酸化性 DNA 傷害を指標とする肝発癌性の評価は、化学物質投与後一定期間におけるその持続的高値を検出することに留意するべきものと示唆された。

肝毒性および肝発癌性の発現機構における酸化性ストレスの関与は、APAP・DEN 以外にも、多くの化学物質について報告されつつある。従って、肝毒性・肝発癌性の発現機序解明試験においては、酸化性 DNA 傷害・脂質過酸化などの酸化性細胞傷害の発生を検出すると共にその推移について検索し、それらの結果を最終的評価に反映せしめる必要のあるものと考えられる。

遠藤 仁 (杏林大・医・薬理)

腎の生理機能と毒性発現

腎は単位重量当りに換算すると(心臓を除いて)最も血流の多い臓器である。主要な機能は尿の産生を介して全身の水・電解質・酸塩基の平衡を司り、生体異物の排泄にも重要な役割を持っている。腎では物質の輸送が盛んであり、能動輸送に使われるATPの産生・消費も大きく、多種類から成る各細胞内代謝も多彩である。その上、尿の濃縮を通して高濃度の異物に曝され、障害を受ける機会も多い。このように腎のユニークな機能と腎毒性とは密接に関連しているので、腎の基本的特徴の解明が腎毒性発現機序の理解に本質的な意味を持つ。

腎前性要因による腎毒性

全身の循環障害が生じた場合、あるいは腎動脈が特異的に攣縮を起こした場合など、一時的な虚血がATPの急速な低下とプリン分解を伴い、その後の再灌流による分子状酸素の供給に続く活性酸素の産生を促す。即ち、虚血-再灌流障害は上述のような血流豊富な腎の場合に顕著に認められる。この際、キサンチンオキシダーゼ活性の高い近位尿細管細胞の障害が随伴する。

体内で生じた抗原抗体複合物は血流の多い腎にも多量灌流されて、糸球体内に沈着する。これにマクロファージや白血球等の遊走細胞が動員されて活性化を受けラジカル産生等を介して糸球体障害を二次的に惹起させる。腎毒性物質の中にはハプテンとなって抗体産生に関与して障害性を示す物質もある。

腎の特異機能に関連した毒性発現機序

〈糸球体〉アミノ配糖体系抗生物質はカチオンで、糸球体上皮細胞や糸球体基底膜を構成するアニオン性糖タンパクと結合して、限外濾過機能を保つための陰荷電障壁を減弱させる。ラットにのみネフローゼを生じさせるpuromycin aminonucleosideはラット糸球体に特異的に高い活性を有するadenosine deaminaseによるプリン代謝亢進に続くフリーラジカルの産生によるものと考えられる。

〈近位尿細管〉最も多くの腎毒性物質の標的となる部位である。ここでは有機物質の輸送が盛んで、原尿中からの重金属やアミノ配糖体などの腎毒性物質や低分子タンパク($\alpha_2\mu$ グロブリンなど)が再吸収されて近位尿細管細胞内に蓄積される。取り込まれた物質によって細胞内代謝に及ぼす作用は異なる。他方、血管側から尿中への有機物質の分泌も盛んであり、カチオンを輸送するトランスポーター(OCT1)やアニオンを輸送するトランスポーター(OAT1, OAT3)分子などが近年明らかにされた。これらの膜タンパクは多選択的で、一分子が膨大な種類の基質(内因性、外来性)を認識する。 β -lyaseによるチオール化合物の産生やP-450による異物の活性化が腎障害を生じさせる。

〈遠位・集合尿細管〉Amphotericin Bは脂質親和性が高く、正常の脂質二重層膜に障害を与えて水や電解質の吸収障害を起こす。Methoxyfluraneはバゾプレシン(V2)受容体の機能を障害し、水の再吸収を阻害して多尿性腎不全を生じさせる。

〈乳頭部〉PhenacetinやAcetaminophenは乳頭壊死を生じさせるが、これは腎髄質内層(乳頭)で多量に産生される血管拡張性PGE₂などの産生を減弱させて、局所循環障害を惹起し、組織壊死を起こす。

玄番宗一 (大阪薬科大・薬理)

インビトロの試験法を用いて腎障害の評価が試みられている。それらにおいては、多数の試料について、種々の条件下で反応させることにより腎毒性発現のメカニズムに迫ることができる。そのような実験系として、腎切片（スライス）、培養腎細胞、単離尿細管フラグメントや細胞内小器官などが挙げられる。腎障害の発現に関わる主要因子の一つとして、活性酸素などのフリーラジカルが考えられている。細胞内カルシウム濃度の上昇もその重要な因子とされる。カルシウムは細胞内で情報伝達を担うことを考え併せると、フリーラジカルによって引き起こされる腎細胞障害とカルシウムを含む細胞内情報伝達系との関わりに興味もたれる。ここでは、インビトロの実験系を用いて、薬物などによるフリーラジカル性腎障害が細胞内シグナル物質によって修飾される可能性について話題を提供したい。

近年、フリーラジカル、特に活性酸素種と生体障害の関連が注目されている。各種の腎細胞は活性酸素種の産生能を有し、そのために腎臓が障害される可能性が考えられる。丸ごとの実験動物のみならず腎切片や培養腎細胞などによる実験系を用いて、シスプラチンのみならず、セファロリジン（CER）、ゲンタマイシンやシクロスポリンなどによる薬物性腎障害へのフリーラジカルの関与が示唆されている。また、薬物ではないが、 HgCl_2 のような重金属と農薬であるパラコートによる腎毒性にも、フリーラジカルが関与するとされている。しかしながら、フリーラジカルの発生が腎障害の原因であるのか、またはその結果にすぎないのかについては、いまだに議論の余地を残している。

腎臓における多様な細胞群の機能を調節する細胞内情報伝達系の過剰な変動は、腎細胞を障害に導く可能性が考えられる。シスプラチンによる腎細胞内カルシウム濃度の増大はフリーラジカル消去剤により抑制された。シスプラチンおよびCERによるフリーラジカル性腎細胞障害に対して、細胞内サイクリックAMP（cAMP）の上昇はその障害を顕著に抑制した。またプロテインキナーゼC（PKC）阻害薬 H-7もこれらの薬物による腎細胞障害を軽減した。腎尿細管上皮細胞においては、cAMP系はフリーラジカル性障害に防御的に、PKCの活性化はその障害に促進的に作用すると思われる。細胞増殖因子の受容体に内在するチロシンキナーゼの活性化もフリーラジカル性腎細胞障害を修飾する可能性がある。

腎毒性、特にフリーラジカル性障害への細胞内シグナル系の関与についての知見は充分とは言えない。細胞内情報伝達系の解明が進歩をとげている今日、これらの相互の関わり の 究明が、腎毒性の解明とその防御の発展につながると考える。

渡辺満利、下井昭仁（持田製薬・富士中研）

薬物による臓器障害の機序を調べるには、まず初期傷害部位を特定することが必要であろう。腎では、糸球体あるいは尿細管いずれの傷害もやがて相互に波及するから、進行した腎病変では初期傷害部位を見つけるのが困難となる。体積比率から糸球体は尿細管より組織切片への出現頻度が低く、変化も尿細管ほどには目立たないことが多いが、糸球体機能の重要性は言うまでもないことであり、糸球体を構成する各細胞の丁寧な観察は毒性評価の上で重要である。

薬物による糸球体の初期傷害部位として、（１）毛細血管内皮細胞、（２）毛細血管基底膜、（３）糸球体壁上皮細胞、（４）メサンジウム細胞、（５）ポウマン囊上皮細胞の糸球体構成細胞のほとんどすべてが挙げられる。さらに、輸入動脈の変化あるいは血圧低下も糸球体障害を惹起する。初期傷害部位がいずれの場所であっても、糸球体障害では蛋白尿が認められることが多い。糸球体における蛋白漏出と基底膜陰性荷電の減少、スリット膜の消失あるいは足突起の剥離などとの関連が報告されているが、反論も多く、蛋白漏出機序は未だに解明されていない。

そこで、蛋白漏出機序解明の基礎的検討として、puromycin aminonucleoside (PAN)投与により蛋白尿を惹起させたラットについて、蛋白漏出と糸球体糸球体壁の変化との関連を、cationized poly-L-lysine gold (PLG)使用の陰性荷電密度の検出およびその他の電顕組織化学的手法により調べた。

蛋白の一日排泄量から動物を、軽度（正常の平均 1.8 倍）、中等度(9.5 倍)および高度(219 倍)の蛋白尿群に分けた。軽度から高度の蛋白尿群で、PLG により検出される足突起および上皮細胞の膜上の、シアル酸で構成される陰性荷電密度が減少していたが、ヘパラン硫酸からなる基底膜の陰性荷電密度には変化がなかった。高度蛋白尿群では尿中に、シアル酸の一つ、N-acetylneuraminic acid が上昇していた。足突起および上皮細胞内には高電子密度小体あるいは絮状物を入れた空胞が出現し、これらの中には血清蛋白および IgG が証明された。また、尿には 200kDa の高分子量蛋白が出現しており、上皮細胞経由の蛋白漏出が示唆された。足突起は平坦化し、正常な足突起にみられるアクチンの規則的配列が乱れていたが、足突起の剥離は高度蛋白尿群においても認められなかった。これらの結果と、シアル酸分解酵素である sialidase 投与で足突起剥離のない蛋白漏出が惹起されるという報告とを考え併せると、上皮細胞膜のシアル酸で構成される陰性荷電の密度の減少は、蛋白漏出につながる変化と考えられる。

— MEMO —

口演要旨

(1~26)

○岡崎欣正^{1,3}, 山下弘太郎¹, 須藤雅人¹, 土谷 稔¹, 奈良間 功², 山口良二³, 立山 晋³ (¹三菱化学安科研, ²摂南大・薬・安全研, ³宮崎大・家畜病理)

アニリンは強力な methemoglobin 形成能を持つことから、主にその血液毒性が注目されてきた。一方、ヒトのアニリン中毒では神経系への影響も指摘されてきているが、十分な検討は行われていない。今回演者らはアニリンを単回大量投与したラットに誘発された神経毒性を機能的、形態的に捉えたので報告する。

【材料および方法】4週齢の雄性 Cri:CD(SD)IGS ラット、42匹に1000mg/kgのアニリンを強制経口投与(Ani群)した。対照として同数のラットにolive油のみを投与し、投与日をDay1とした。症状観察(毎日)、体重測定(週1回)のほか、代表例について機能行動検査(FOB)および自発運動量の測定を定期的実施した。各群の6匹ずつを経時的に(Day4, 8, 12, 15, 22, 30, 60)全身灌流固定した後、脳、三叉神経、脊髄、坐骨・脛骨神経、腓腹筋を採取して病理組織学的に検査した。

【結果およびまとめ】Ani群では体重増加抑制(Day4~29)とチアノーゼ(Day2~5)がみられた。Day8から歩行異常を示す例が現れ、Day12には約9割の動物が後肢の運動異常あるいは麻痺を呈した。しかし、その後これらの例の症状は次第に軽減し、Day20までには全例が回復した。後肢の筋肉の萎縮は明らかでなかった。FOBでは、Ani群で後肢の運動異常(Day5, 12)、立ち上がり回数の減少(Day12, 30, 59)、空中正向反射の異常(Day12, 30)、後肢握力の低値(Day12)がみられた。自発運動量の減少がDay11, 36, 60の検査で認められた。病理組織学的にはAni群でDay8以降の剖検動物の全例で胸部脊髄を中心に白質の空胞化が認められた。空胞化は軸索および腹索の主として上行性神経路で強く発現した。空胞化病変は軸索周囲腔の拡大を特徴とし、マクローファージの浸潤、膠細胞の肥大、増生を伴ってDay12および15でピークに達した。その後の剖検例では軸索周囲腔の拡大は軽減し、Day60では少数の神経線維に散発的な小型空胞と軽度の膠細胞肥大がみられるのみであった。

intra line
解説

oligodendrocyte ← Fe
is control.

○梶川 悟¹, 中山裕之², 高嶋明彦³, 村山 洋³, 鈴木正寿⁴, 西原真杉⁴, 高橋迪雄⁴, 土井邦雄²
(¹山之内製薬 安全研, ²東大 獣医病理, ³理研脳センター, ⁴東大 獣医生理)

ラット副腎褐色細胞腫由来のPC12細胞に、メチル化阻害剤である5-azacytidine (5AzC)を処置するとアポトーシスが誘導される。我々は、5AzC処置により発現が上昇する遺伝子としてrat ribosomal protein L4 (rat rpL4)をクローニングし、その発現のピークがアポトーシス(DNA断片化)のピークに先行することを示した(第124回日本獣医学会)。今回は、rat rpL4の発現ベクターを哺乳動物培養細胞にトランスフェクトし、同細胞にアポトーシスが誘導されるかどうかを検討した。

【材料と方法】pCI-neoベクターに我々がクローニングしたrat rpL4を挿入して発現ベクターを作製し、その0, 1, 2, 5および10 μ gをリボソーム融合法によりCOS-7細胞(アフリカミドリザル腎臓由来)にそれぞれトランスフェクトした。培養48時間後にDNAを抽出し、断片化DNA量をELISA法により吸光度比として測定した。また、Hemoagglutinin (HA)-tagging法により、発現タンパク量を調べた。

【結果と考察】トランスフェクトCOS-7細胞では、トランスフェクトしたベクター量にほぼ依存してHAタンパクの発現量の増加が観察された。また、断片化DNA量も、トランスフェクトしたベクターの量に依存して増加した。今回の結果と、前回報告した「rat rpL4の発現はDNAの断片化に先行する」こととを考え合わせると、rpL4がアポトーシスの実行に関与している可能性が大きいと思われる。

1-174 ELISA 法による
定量化
L4のp-7-6-のキット

3

MNU誘発ラット新生仔白内障の病理組織学的解析

○義澤克彦^{1,2}、南部裕之³、楊 継紅²、山本大悟²、藤平司郎¹、大石裕司¹、三木弘彦³、
螺良愛郎² (藤沢薬品・安全研・病理¹、関西医大 病理Ⅱ²、眼科³)

N-メチル-N-ニトロソアミン(MNU)は網膜毒性を有するアルキル化剤で発癌性・催奇形性化学物質であり、様々な動物種に網膜変性並びに網膜異形成を誘発することを我々は報告した(Tsubura, et al. Anim. Eye Res., 1998)。今回、ラット新生仔期単回投与により、極めて早期に白内障を誘発することを見出し、その発生メカニズム並びに投与時期による感受性の違いについて検討した。(方法)雌雄SD系ラットの0, 5, 10, 15, 20日齢にMNU100mg/kgを単回腹腔内投与後30日まで経時的に白内障の発生を病理組織学的に観察した。全例のHE染色並びに一部の動物につきBrdU免疫染色、AMex包埋を用いた7-MedGua, さらにBax, Bcl-2免疫染色を施行した。また、0日齢投与群について水晶体のTUNEL染色、電顕観察、DNA Fragmentation assay及びWestern blotによるBax及びBcl-2の発現を観察した。(結果)水晶体白濁は、0及び5日齢MNU投与では投与後3日から、10及び15日齢投与では投与後14日目から観察され、20日齢投与では肉眼的に異常をみなかった。0及び5日齢投与では投与翌日から水晶体上皮のアポトーシスをGerminative zoneを中心に認め、TUNEL染色陽性を呈し、DNA ladderが観察された。投与後5日までに水晶体上皮の消失、水晶体線維の膨化、液化に加え、分裂異常を示唆する異型核を有する水晶体細胞がBow領域に観察され、漸次、水晶体全域に病変が進行した。7-MedGua並びにBaxは投与後12時間で発現増加をみたのに対し、Bcl-2は減少した。10日齢以降の投与では病変の程度並びに進行は減弱・遅延した。(考察)MNU誘発ラット新生仔白内障はDNA付加体である7-MedGuaの形成、アポトーシス関連タンパクであるBaxの発現増強並びにBcl-2の減弱に続き、水晶体上皮のアポトーシス、分裂異常、水晶体線維の形成異常が原因で起こり、投与時期が早期なほど、より急速にかつ重篤な白内障が生じることが明らかとなった。

4

Histological Evaluation of the Gill in Channel Catfish Exposed to N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

○Hans HC Chen¹, Greg P Sykes², and In-jen Pan³ (1.Natl Sci Council Natl Lab Anim Breeding & Res Ctr, Nankang, TAIWAN, 2.DuPont-Merck Pharmaceuticals, Newark, Del, USA, 3.Nihon U. Coll of Ag & Vet Med, Fujisawa, JAPAN.)

N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) is a direct-acting carcinogen that has been shown to experimentally induce a variety of tumors in mammals and fish. Fish exposed to MNNG by the aqueous route have been reported to develop surface-related epithelial neoplasms as well as mesenchymal neoplasms. This prompted us to pay close attention to hyperplastic and neoplastic changes in the gills of our exposed channel catfish.

The present study deals with the histological findings of the gills of 172 channel catfish exposed to MNNG for 28 days at concentration of 0.1, and 0.5 mg/liter. Fish were sampled at approximately 3, 6, 9, 12, 18, 24, and 36 months postexposure. Ten gill tumors were observed, including 6 squamous cell papillomas of the gill arch and 4 branchioblastomas. In addition, 5 fish had nodular hyperplasia of gill filament cartilage, 43 fish had focal nodular and 5 had diffuse epithelial hyperplasia of gill filaments, and 1 fish had peripheral nerve hyperplasia in the gill rack region. Other non-proliferative gill lesions included branching (ramification) and fusion of filaments.

The occurrence of branchioblastomas is of interest since the tumors were composed of chondromatous hyperplastic nodules or cartilaginous organoids overlaid with a thick layer of proliferating perichondrium of the embryonic gill (branchia). The occurrence of these neoplastic and non-neoplastic gill lesions were attributed to the 28-day MNNG exposure. Many of the neoplastic lesions and filament deformities were unique.

○高木司郎¹, 平山文博², 河下 伸¹, 上村裕洋¹, 内海博之¹, 竹内正紀¹
(吉富製薬, ¹吉富安全研・²九州研)

【はじめに】我々は, *Helicobacter pylori* (以下 *H. pylori*) をスナネズミに感染させることにより, 胃炎, 潰瘍, 腸上皮化生などの変化が発現することを報告してきた. 今回, 感染後1-2.5年を経過したスナネズミについて, 胃の病理組織学的検査を実施したので報告する.

【材料および方法】7週齢の雄スナネズミ (MGS/Sea) 56匹に *H. pylori* ATCC43504 株 2×10^8 CFU/匹を単回経口投与し, 1-2.5年経過後にエーテル麻酔下に放血致死させた. 直ちに胃を摘出し, 大弯を切開して伸展し, 10%中性緩衝ホルマリン液あるいはカルノア液に固定した. 固定後, 常法に従いパラフィン包埋し, HE染色を行ったほか, Sevier-Munger, Alcian blue-PASなどの染色を行い, 鏡検した.

【結果】*H. pylori* 長期感染例では, 感染1年後までの組織像と同様に, 胃炎および腸上皮化生が高頻度に発現した. 胃炎は, 好中球, リンパ球および単球の浸潤, 表層性びらん, リンパ濾胞の形成, 体部胃腺の消失と幽門腺化生を伴っており, 感染初期の像と同様であった. 潰瘍の発現率は約10%であり, 感染1年後までの発現率に比べてやや低かった. 潰瘍がみられなかった例では, 粘膜の過形成を示す例が多かった. その他, 感染1年後までにみられなかった変化として, カルチノイドおよび腺癌 (低分化型) がそれぞれ19例 (約34%) および1例にみられた. なお, 2.5年間飼育した無処置のスナネズミ3匹の胃には著変はみられなかった.

【まとめ】*H. pylori* をスナネズミに長期間感染させることにより, カルチノイドと腺癌が発現した. カルチノイドの発生には, 固有胃腺の萎縮 (消失) に伴う酸分泌の低下と高ガストリン血症との関連が示唆される.

○山本昌美¹, 塚本徹哉¹, 酒井洋樹^{1,2}, 白井紀充^{1,2,3}, 田中晴就¹, 小林潔^{1,4}, 大垣比呂子⁵, 立松正衛¹ (愛知がんセ・1病, ²岐阜大・農・家畜病理, ³ファイザー製薬・中央研, ⁴三菱化学・横浜総研・安全研, ⁵Unit of Molecular Pathology・IARC, France)

【目的】近年, 短期発癌性試験の実験動物としてp53 knockout (KO)マウスの有用性が検討されている. 今回我々はp53 KOマウスのN-methyl-N-nitrosourea (MNU)に対する感受性を検討した.

【実験1】p53(-/-)に, 30, 60, 120 ppmの濃度で飲水投与し, 感受性を検討した. p53(-/-)の60 ppm以上の投与群は, ほぼ1週間で消化管上皮の変性壊死により死亡したが30 ppm以下では生存した. p53(+/-)はp53(+/+)と同様, 120 ppmでも生存した. 【実験2】生後5週より雄p53(-/-), (+/-)および(+/-)にMNUを30 ppmで隔週, 4週間投与し, 実験開始5週で屠殺した. 胃の抗pepsinogen1 (Pg1)免疫染色を行い, 前癌病変の指標となるPg1 altered pyloric gland (PAPG)の数を検索した. p53 (-/-)MNU投与群ではcontrol(MNU非投与)群に比べ, PAPG数が有意に高く, MNU投与群間においてもp53(-/-)群は(+/-)群ならびに(+/-)群と比べ有意にPAPGの増加が認められた. 【実験3】生後5週より雄p53(-/-), (+/-)および(+/-)にMNU30 ppmを隔週, 10週間投与, 実験開始15週で屠殺し, 胃の病変を検索した. リンパ腫等がp53(-/-) control群において認められたが, p53(-/-)MNU投与群では, より早期, 高率に発生し, 実験開始15週後におけるp53(-/-)MNU投与群の生存率はp53(+/-)MNU投与群およびp53(-/-)control群に比べて, 有意に低くなった. MNU投与群における腺胃の病理組織学的変化は過形成, 腺種および腺癌がp53(+/-)に比べてp53(-/-)において高率に認められた. 【考察】変異の蓄積を促すという意味で, p53 KOマウスを用いる意義は大きく, 短期間で有意に腫瘍発生頻度が高くなったことより, p53 KOマウスは, 短期間でのMNU誘発腺胃発癌の検索に有効であると考えられた.

○渡辺敦光、上坂敏弘、石村美祐、白木克尚、蔵本 憲、平田 思*、
庄司俊益、加藤 修（広大・原医研、広大・医学部*）

【目的】N-nitro-N-methylurea (MNU)は多臓器に標的を持つ強力な発癌物質で、一方N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)は胃に標的を持つ発癌物質である。この2つの発癌物質を投与する事により発生する腫瘍の標的臓器が変化するかを、更に別の系統の母乳の影響を検討した。

【方法】SDラットの生後1-2日目にMNU30mg/kgを1回腹腔内に投与し、同系統もしくはACIラットの里親で授乳し、5週齢で離乳した。6週齢の動物にMNNG 100ppmを16週間投与し、その後普通餌と水道水で飼育した。

【結果】有効動物は112匹であった。MNNG単独群で腎臓、睪丸相対重量がACI里親群で減少した。又MNU群でACI里親群が生存期間がSD親群に比べて増加した。その理由としてSD親群が早期に腫瘍が発生したためであった。同様な事はMNU+MNNG群でも認められた。両方の親を一緒にした腫瘍の経時的な発生はMNU群では45日目より早期に発生し、続いてMNU+MNNG群、MNNG群は遅れて300日以降より発生した。腫瘍の発生率はMNU群で15/17(88%)MNU+MNNG群で32/41(78%)、MNNG群は13/36(36%)で他の2群に比べて有意に減少した($p < 0.01$)。又一匹あたりの腫瘍の個数もMNU群1.88、MNU+MNNG群1.49で、MNNG群は0.42で他の群に比して有意に減少した($p < 0.01$)。MNU群では腎臓、神経等多くの臓器に腫瘍が発生したが、MNNGの場合には主に胃腫瘍であった。MNU+MNNG群の場合には両方の腫瘍が発生した。

【まとめ】SDラットを同系の母親で育てた方がACIラットで育てたよりも早く腫瘍が発生した。又MNU+MNNG群では両者の相加的に腫瘍が出現した。

8

Protective effects of *Nigella Sativa* oil on N,N'-Dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats.

○Elsayed I. SALIM, Tahany SHAMS, Tetsuhide TANIYAMA, Keiichirou MORIMURA, Hideki WANIBUCHI and Shoji FUKUSHIMA.
Osaka City Univ. Medical School, First Dept. of Pathology

In view of the progressing trials to use natural products in cancer chemoprevention, we conducted an approach to assess the chemopreventive potential of the volatile oil of *Nigella sativa* in a murine model of colon carcinogenesis. [Carcinogen administration]: Colon carcinogenesis was initiated in groups 1-3 (15 rats each) by administration of DMH 20mg/kg body weight s.c., 3 times, once a week, between the weeks 4 and 7 of the start of the experiment. [*Nigella sativa* treatment]: Group 1 animals were administered *Nigella sativa* suspended in 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC) 200mg/kg body weight orally (i.g.) 6 days/week before (pre) and in the same time (simultaneous) with the DMH injection. Animals of group 2 were administered the *Nigella sativa* (i.g.) after (post) the DMH initiation and up to the end of the experiment. Group 3 were administered the vehicle (CMC) i.g. and served as the positive DMH control. Group 4 were injected with 0.09% saline s.c. three times, and administered *Nigella sativa* orally (i.g.) for the entire course of the experiment. All animals were sacrificed 14 weeks after the start of the experiment. [Results]: Post administration of *Nigella sativa* significantly inhibited the total numbers of aberrant crypt foci (ACF) as well as the numbers of foci with different crypt multiplicities i.e., 1, 3 and ≥ 4 AC in the colons of treated animals as compared to the controls. Pre and simultaneous treatment of *Nigella sativa* inhibited significantly the numbers of ACF with 1 AC. Treatment with *Nigella sativa* did not show any body weight differences among the groups. [Conclusion]: *Nigella sativa* exerted inhibitory effects on DMH-induced colon carcinogenesis in rats, the mechanism of which remains to be elucidated.

[Purpose] The influence of 3-ethyl (4-geranyloxy-3-methoxyphenyl)-2-propenoate (EGMP), newly synthesized from ferulic acid, on the initiation and post-initiation stages of colon carcinogenesis was investigated in male F344 rats treated with azoxymethane (AOM). [Methods] Experiment 1, EGMP was given in the diet at 0.1 or 0.2% for 1 week together with two s.c. 15mg/kg body weight injections of AOM (initiation stage) on days 1 and 7. Experiment 2, The compound was administered after AOM treatment starting at week 3 (post-initiation stage). Experiment 3, The compound was given throughout the experimental period (both stages). Sacrifice for quantitation of preneoplastic aberrant crypt foci (ACF) was performed at the end of week 5. [Result] Dose-dependent decreases in numbers of ACF were noted with post-initiation and both stage exposures (Experiment 2 and 3), large size lesions considered most likely to be precursor lesions also being significantly reduced in the Experiment 2 case. No effects on body or major organ weights were evident. [Conclusions] The present results thus suggest that EGMP might find application as a non-toxic chemopreventor of colon tumor development, especially applied during the post-initiation stage.

10 イヌにおける肝 P450(CYP2B,CYP3A)の局在と薬物投与による誘導

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

[目的] ヒト及び動物の薬物代謝酵素 (P450) はその分子種により組織内の局在に差があることが知られている。P450 分子種の違いによる肝臓での局在の差については、ヒト及びラットでの研究はあるが、イヌについての報告はない。今回、ビーグル犬の肝臓について、P450 分子種の違いによる肝臓内での各酵素分子の局在の差を明らかにする目的で、phenobarbital 投与により誘導される CYP2B 及び rifampicin 投与により誘導される CYP3A について、ウサギ抗血清を用いた免疫組織化学及び免疫電顕による検討を行い、それぞれの局在を調べた。さらに、phenobarbital 及び rifampicin 投与後の各酵素分子の局在の変化について検討し、肝臓生化学的に得られた各酵素活性の変化あるいは酵素量の変化についての測定結果と比較を試みた。

[方法] 無処置及び phenobarbital (20 mg/kg) あるいは rifampicin (10 mg/kg) を 7 日間連続経口投与したビーグル犬の肝臓を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定、光顕用標本を作製、また、0.5% グルタルアルデヒドと 2% パラホルムアルデヒドの混合液で固定し、Immuno-Bed™ に包埋後電顕用超薄切片を作製し、我々の作製した抗イヌ CYP2B11 あるいは CYP3A12 に対するウサギ抗血清 (7500 倍希釈) を 1 次抗体とした ABC 法 (ベクタステイン ABC キット®; Vector Lab) による免疫組織化学的検討あるいは、二次抗体としてコロイド金で標識した抗ウサギ Ig を用いた免疫電顕的検討を行った。また、得られた結果を肝臓生化学検査値と比較検討した。

[結果及び考察] 免疫組織化学の結果、光顕的に無処置例では CYP2B は主に肝小葉辺縁域、CYP3A は肝小葉中心域に弱い局在を示した。Phenobarbital 及び rifampicin 投与により、CYP2B・CYP3A は共に小葉全体に強い陽性所見を示すようになった。免疫電顕では、CYP2B・CYP3A は共に肝細胞の滑面小胞体膜に一致して陽性所見を認め、phenobarbital 及び rifampicin 投与例では増生を示す滑面小胞体に強い陽性所見を認めた。イヌの肝臓 P450 の分子種による局在の違いは、イヌの毒性試験時の肝臓の変化の解析に有用な情報を与えると考えられた。

○吉田敏則¹、武田真記夫¹、原田孝則¹、真板敬三¹、上野芳夫²
(¹ 残農研、² 東京理科大・薬学部)

【背景】アオコの原因種の藍藻は microcystins (MCs) を産生し、これを経口的に摂取した野生動物や家畜に致死的な肝障害をもたらす。MCs は serine/threonine phosphatase 1・2A の活性を阻害し、実験的には肝毒性に加え肝発癌性も誘発する。このため、飲水を介してヒトに悪影響を及ぼす環境汚染物質と位置づけられている。我々は毒性の強い MCLR の肝病理発生に関する研究を行ってきたが、今回、肝細胞死についてさらに検討した。

【方法】肝細胞死の用量相関性および経時的变化を観察するため、雌の BALB/c マウスに MCLR を 0-82.9 μ g/kg の用量で ip し投与 24 時間で屠殺した。また、60.0 μ g/kg 投与動物を投与 24 時間以内に経時的に屠殺した。肝臓を採取し病理学的解析を行った。

【結果・考察】肝細胞死として巣状～広範性壊死、単細胞壊死およびアポトーシスが観察された。壊死巣は小葉中間部に首座し中心静脈周囲に連続していた。これは虚血性変化を示唆する傍中心性壊死 paracentral necrosis に相当した。単細胞壊死とアポトーシスは小葉中心部に頻発した。用量との関係では、高用量群で傍中心性壊死、単細胞壊死およびアポトーシスが観察され、低用量群では後二者、特にアポトーシスが目立った。経時的観察では小葉中間部に壊死に先立ち出血巣が生じていた。抗 MCLR 抗体を用いて MCLR の局在を観察したところ、まず病変発生部位を含む小葉中心部から中間部にかけて広く分布し、その後、小葉中心部に顆粒状に集積し一部はアポトーシスに一致した。以上の結果、肝細胞死には、1) 出血が引きがねとなる虚血性細胞死と、2) 虚血とは関係なく誘発される細胞死が含まれることが示唆された。

○武田真記夫、富山成人、渡辺茂美子、吉田敏則、小林裕子、原田孝則、真板敬三 (残農研)

非変異原性物質による肝発癌メカニズムを解明するための短期試験法を確立することに主眼を置き、Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) をラットに 28 日間混餌投与し DDT の薬物動態ならびに細胞増殖関連因子について検索したので報告する。(材料と方法) 5 週齢雄の F344 ラットに DDT を 500 ppm の濃度で最長 28 日間混餌投与し、以下の項目について検索した。1) DDT およびその代謝産物である DDD ならびに DDE の血漿、肝臓および脂肪織中濃度の推移。2) 肝臓における PCNA labeling index、BrdU labeling index および Cx32 スポット数の推移。3) 肝臓における E2F-1 および pRb 蛋白の発現量の推移および会合。(結果と考察) 薬物動態：血漿中では DDT のみが検出されたのに対し、肝臓では DDD が DDT より高濃度で検出され、また、脂肪織中では DDT が高濃度で検出された。Ames 陽性である DDE は肝臓および脂肪織中で検出された。細胞増殖関連パラメーター：肝細胞の PCNA labeling index は投与 2-3 日目をピークとしてその後減少傾向を示した。これに対して、BrdU labeling index は減少傾向を示したものの投与 28 日目においても有意に高い値を示していた。また、Cx32 スポット数は試験期間を通して有意に低い値を示していた。転写および抑制因子：S 期に発現される PCNA や DNA polymerase α などの転写因子である E2F-1 蛋白は投与 2 日目より有意に増加していた。これに対して、その抑制因子である pRb は投与 7 日目から有意に増加していた。また、E2F-1 と pRb の会合は投与 7 日目から認められた。以上のことから、DDT は脂肪組織に蓄積される一方で、肝臓では DDT もしくはその代謝物の持つ mitogenic effect により肝細胞は一旦増殖活性を亢進するが、抑制因子の発現によりその増殖が抑制されている可能性が示唆された。

○渡辺知幸¹、尾崎正和^{1,2}、小島隆³、澤田典均³ (STS、²住友化学・生科研、³札幌医大)

【目的】Solt & Farber 法は、ラットにおける実験的肝化学発癌のモデルとして最も広く用いられている。その概要は、ラットに200 mg/kg 体重の diethylnitrosamine (DEN) を単回投与して肝にイニシエーションを与え、その後0.02%の acetylaminofluorene (2-AAF) を経口投与しながら2/3部分肝切除を加えて急速な肝細胞の分裂増殖を促すというものである。しかし、2-AAF はイニシエーションを受けていない肝細胞の増殖を抑制するので、部分切除によって加えられた増殖刺激はイニシエーションを受けた細胞にのみ選択的に作用し短期間に enzyme-altered lesion (EAL) を形成する。Solt と Farber はこの2-AAF の作用を selection pressure と呼んでいる。そこでわれわれは、2-AAF による正常肝細胞の増殖抑制機構に細胞周期チェックポイント因子が関与しているか否かを検討した。【方法】8週令の雄性F344ラットに2-AAFを0.02%の濃度で4週間経口投与し、肝組織中における細胞周期チェックポイント因子、p21/waf1、p27、p16の発現をノザン法により解析した。また、Solt & Farber 法によりEALを誘導し、p21/waf1の発現を免疫組織化学的に検討した。【結果および考察】2-AAF投与ラットの肝組織を用いて細胞周期チェックポイント因子の発現をノザン法でスクリーニングしたところ、p21/waf1の発現が著明に亢進していた。そこで免疫組織化学的に検討したところ、p21/waf1の発現はSolt & Farber 法により誘導したEALにおいて低く、周囲の正常肝細胞において高かった。これらのことから、2-AAFは細胞周期チェックポイント因子であるp21/waf1の発現を著明に誘導することが明らかになった。2-AAFはEAL周囲組織にp21/waf1を誘導しその増殖を強く抑制する。そのためEALの選択的増殖が促進され、肝発癌がプロモートされたと考えられた。同様の所見はLECラットでも報告されており、p21/waf1の発現による癌周囲組織の増殖抑制は肝発癌プロモーション過程で重要な役割を果たしていると思われる。

○今井俊夫^{1,2}、田代俊文¹、早川和宏¹、中野渡純一¹、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)

Diethylnitrosamine (DEN) および 2-acetylaminofluorene を用いた initiation-promotion モデルによる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) 陽性小増殖巣における GST-P mRNA の持続的な発現が、その発育の指標になることを報告してきた。また、transforming growth factor- α (TGF- α) の発現は、小増殖巣から腫瘍への進展に密接に関与していることが指摘されている。今回、DEN 誘発小増殖巣における GST-P mRNA および TGF- α の発現に対する clofibrate (CF) の修飾作用を検討した。【材料および方法】F344 雄ラット 40 匹を使用し、DEN 200 mg/kg b.w. 腹腔内投与 2 週後より 0.3% CF を 18 週あるいは 30 週混餌投与 (CF 群)、あるいは基礎飼料にて飼育した (対照群)。パラフィン切片を用いて肝小増殖巣における免疫組織化学 (IH) による GST-P 蛋白および TGF- α の発現を、ジギキシゲニン標識 RNA プローブを用いて in situ hybridization (ISH) による 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】GST-P-IH 陽性細胞巣の数は、CF 群では DEN 投与 32 週後に、対照群と比較して有意に ($p < 0.01$) 低値を示した。一方、GST-P mRNA-ISH 陽性細胞巣の数においては、CF 群と対照群の間で差はみられず、GST-P mRNA-ISH 陽性細胞巣の面積においては、CF 群において DEN 投与 32 週後に対照群と比較して大きい傾向がみられた。なお、GST-P-IH に陰性で、GST-P mRNA-ISH に陽性を示す細胞巣は認められなかった。CF 群における TGF- α 陽性細胞巣の数は、対照群と比較して多い傾向がみられた。【まとめ】CF 投与によるラット肝小増殖巣における GST-P mRNA および TGF- α の高率な発現は、肝発癌 promotion 作用に関与していることが示唆された。

○飯田麻里, 岩田 聖, 榎本 眞 (安評センター)

(目的) B6C3F₁ マウスの肝腫瘍には H-ras 遺伝子の点突然変異による活性化が高頻度に認められている。我々も自然発生肝腫瘍性病変の H-ras 遺伝子の点突然変異について検索してきた。一方, DEN で誘発された B6C3F₁ マウスの好塩基性肝腫瘍に Bcl-2 の発現が認められることが最近明らかとなった (Lee G.H., Am. J. Pathol., 1997)。bcl-2 遺伝子はその産生蛋白質である Bcl-2 の過剰発現により Apoptosis を抑制することが知られている。そこで今回我々は B6C3F₁ マウスの自然発生生肝腫瘍における Bcl-2 の発現と H-ras 遺伝子変異との相関性を調べた。

(材料と方法) B6C3F₁ マウスを用いた2年間発癌試験の中から対照群に発生した自然発生肝腫瘍(33 例)を材料とした。組織診断後, ウサギ抗ラット・マウス bcl-2 ポリクローナル抗体を用いて免疫組織化学的検索を行った。また肝細胞腺腫について Bcl-2 陽性例と陰性例について, パラフィン標本から DNA を抽出し, non-RI PCR-SSCP 法により H-ras codon 61 の変異について調べた。

(結果) Bcl-2 の陽性率は, 肝細胞増殖巣(25.0%) < 肝細胞腺腫(55.1%) < 肝細胞癌(100%) であった。また表現型 (basophilic, eosinophilic, clear, vacuolated, mixed) の違いによる陽性像の差は認められなかった。肝細胞腺腫での Bcl-2 陽性例では 44% に H-ras 遺伝子の変異が認められたが, Bcl-2 陰性例では 10% と低率であった。今後さらに例数を増やすと共に肝細胞癌, 肝細胞増殖巣での結果を交えて, B6C3F₁ マウスの肝腫瘍における Bcl-2 発現と H-ras 遺伝子の変異との相関性について考察したい。研究協力者: 竹石桂一(静岡県大)

○ 佐々木 康孝, 堤 雅弘, 辻内 俊文, 白岩 和巳, 三井 雅之, 高島 吉治, 笛木 修
安藤 信明, 天沼 利宏, 小西 陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

matrix metalloproteinases(MMPs)は種々の癌において浸潤転移に重要な酵素であるとされているが, 膵癌の発生, 進展への役割に関する知見は乏しい。今回我々は, ハムスター膵発癌実験系を用い MMPs の膵発癌過程における役割および MMPs 阻害剤の膵発癌抑制作用について検索した。

(材料と方法) 雌シリアンゴールデンハムスターを使用し, 短期膵発癌モデルに従い N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine(BOP)にて誘発した膵管癌組織について, MMP-2, MMP-9 の遺伝子発現をノザン解析およびゼラチンザイモグラフィにて, また前癌病変における MMP-2 の発現を免疫組織化学染色にて検索した。またこの膵発癌系において前癌病変の発生した時期より MMPs 阻害剤である OPB3206 をハムスターに混餌投与し, 膵発癌修飾作用について検索した。

(結果と考察) 膵癌において MMP-2 mRNA の過剰発現および活性化がみられ, MMP-2 の発現は免疫組織化学的に, 膵管上皮過形成より病変が進展するにつれて増加する傾向があることが示された。また 0.1%~0.2% の OPB3206 を混餌投与した群においては非投与群に比較して浸潤癌の発生個数の有意な減少を認めた。以上の結果より, 膵管癌の発生および進展に MMP-2 が関与することが判明した。また MMPs 阻害剤は膵発癌抑制作用を有することより, MMPs を標的とした膵癌の化学予防の可能性が示唆された。

四塩化炭素投与ラットの腎糸球体におけるサイトカイン
およびサイトカインレセプターの発現

○緒方聖也¹, 西田恵津子², 板垣慎一², 土井邦雄³, 吉川泰弘²

¹三共安全研, ²東大(農)実験動物, ³東大(農)獣医病理

目的: 四塩化炭素(CCl₄)を長期間反復投与することによって肝硬変様の病変が生じるとともに、腎臓に糸球体硬化性の病変が生じることが知られている。これまでに、腎糸球体に生じる病理組織学的変化および細胞外基質の蓄積に先駆けて免疫グロブリンの沈着が生じることを示してきた(第12回本学会)。ところで、多くの糸球体硬化性病変の成立には transforming growth factor-β (TGF-β)や血小板由来成長因子(PDGF)などのサイトカインが深くかかわっていることが示されているが、肝障害時の糸球体でのサイトカインの発現については未だ知られていない。この点を明らかにするために、CCl₄投与ラットの腎糸球体におけるサイトカインおよびサイトカイン・レセプターの発現を RT-PCR 法を用いて検索した。また、TGF-β type II receptor の発現を免疫組織化学的に検索した。

実験モデル: 5週齢雄 SD ラットに 0.45ml/kg の CCl₄ を週2回、12週間反復経口投与。最終投与の2週間後に剖検

RT-PCR 法による検索項目: TGF-β, TGF-βレセプター, IL-1, IL-1 receptor, TNF-α, PDGF

結果: RT-PCR 法によって TGF-β type I receptor および TGF-β type II receptor の発現が有意かつ大幅に増加していた。免疫組織化学的検索では、TGF-β type II receptor の発現が糸球体のメサンギウム領域に限局していた。

考察: TGF-βは細胞外基質の増加を促すサイトカインであり、TGF-βレセプターの増加は本実験モデルにおける糸球体硬化性病変の成立に深く関与しているものと思われる。

N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine(BBN)によるラット膀胱癌の発生に
対する選択的cyclooxygenase(COX)-2 阻害剤 nimesulide(NIM) の抑制効果と
膀胱癌でのCOX-2蛋白質の発現

○北山若紫¹, 岡島英二郎^{1,2}, 傳田阿由美¹, 大園誠一郎², 辻内俊文¹, 佐々木康孝¹,
小笠原裕之¹, 吉田順一¹, 小西陽一¹ (1奈良医大・がん・腫瘍病理, 2同・泌尿器科)

非ステロイド性抗炎症剤 (NSAID) の piroxicam が、BBNによるラット膀胱癌の発生を抑制する事を報告してきた。今回我々は、BBNによるラット膀胱癌発生機構への COX-2 の関与を検索する目的で COX-2 の選択的阻害剤である NIM の膀胱癌発生に対する修飾効果を検索すると共に、膀胱癌組織での COX-2 蛋白質の発現を、Western blotting (WB) 法及び免疫組織化学により検索した。

(方法) 全実験に6週齢のF344系雄ラットを用いた。発癌実験では、ラットに0.05%BBN含有飲料水を8週間投与し、その後NIMの0, 100, 200, 400ppm含有食を各々12週間投与した。全動物は実験開始20週目に屠殺し、組織学的に膀胱癌の発生について検索すると共に、免疫組織化学的に COX-2 蛋白の発現を検索した。またWB法によるCOX-2及びCOX-1蛋白の発現には、ラットに0.05%BBNを20週間投与して得た膀胱癌組織、3%uracil含有食を10週間投与して得た増殖性病変の粘膜上皮、及びコラゲナーゼ処理により単離した正常膀胱粘膜上皮細胞を各々作製して供した。

(結果) 膀胱癌の発生頻度及び Multiplicity は、BBN単独群では各々90%, 2.35個に対し、NIMの100, 200及び400ppm投与群では各々60%, 50%, 26.3%及び0.75個, 0.56個, 0.37個でありNIMの投与量依存性に有意な減少を示した。また、WB法によるCOX-2蛋白質の発現は、腫瘍組織にて正常膀胱粘膜上皮細胞の1.3~2.2倍の強い発現を示し、増殖性病変では約7倍の増大を示した。COX-1蛋白質は、腫瘍部・非腫瘍部ともに強い発現を示した。免疫組織化学染色では前癌性及び腫瘍性病変のいずれもCOX-2蛋白質の強い発現を示し、腫瘍細胞の核膜と細胞質が強く染色された。非腫瘍部及び増殖性病変では基底細胞のみが強く染色された。以上、選択的COX-2阻害剤NIMがBBNによるラット膀胱癌の発生を抑制する事、また膀胱腫瘍組織中でCOX-2蛋白質の発現が上昇する事が示され、BBNによるラット表在性膀胱癌発生機構へのCOX-2の関与が示唆された。

DMAB誘発ラット前立腺癌に対する植物由来女性ホルモン活性物質 genistin/genistein および daidzin/daidzein の抑制作用

○崔 林¹、二口 充¹、今井田克己¹、佐野真士²、加藤浩司¹、白井智之¹
 (¹名市大・医・1病理、²大雄会医科研)

【目的】大豆などに含まれるイソフラボンである植物由来女性ホルモン活性物質は日本男性におけるヒト前立腺の腫瘍発生抑制の一因と考えられている。そこで、genistin/genistein および daidzin/daidzein についてラット前立腺癌発生に対する抑制作用の有無について検討した。

【方法】6週齢のF344雄ラットを1群20匹として、第1-6群にはDMAB 50mg/kgを2週間毎に10回皮下投与した後、第1群は無処置対象群とし、第2群には0.1%genistin/genisteinを、第3群には0.1% daidzin/daidzeinを、また、4-6群にはDMAB投与後testosterone propionate(TP)を投与し、浸潤癌発生に対し、第4群にはTPを、第5、6群にはTPと0.1%genistin/genisteinあるいは0.1%daidzin/daidzeinを40週間混餌投与した。第7-10群はそれぞれの対照群で、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、その頻度は46%であった。それに対しDMAB→TP群では腹葉癌は認められず、背側葉にも浸潤癌が観察されなかった。一方、Genistin/genisteinとDaidzin/daidzein投与により、その頻度は14%へ減少した。また、ラット1匹あたりに発生した腹葉癌の個数は有意に減少した。背側葉癌は認められなかった。TP+genistin/genisteinとTP+daidzin/daidzein群では浸潤癌（前葉前立腺と精囊）の発生は変化しなかった。

【考察】DMAB前立腺癌の発生に対してgenistin/genisteinとdaidzin/daidzeinの投与は腹葉癌の発生を抑制した。しかし、浸潤癌の発生に対しては抑制効果は見い出せず、今後の検討が必要である。

p53ノックアウト(ヘテロ欠損) CBAマウスを用いたENU誘発子宮腫瘍モデルにおけるメトキシクロールの発がん修飾作用

○小野寺博志、三森国敏、高木久宜、安原加壽雄、梶谷高敏、広瀬雅雄
 (国立衛研・病理)

【目的】我々はp53ノックアウト(ヘテロ欠損)雌CBAマウスにN-ethyl-N-nitrosourea(ENU)を単回投与する事により子宮内膜由来の腫瘍が高率に誘発されたことから、このマウスが短期子宮発がんモデルとして有用であることを報告した(第57回日本癌学会総会・横浜)。そこで今回、このモデルを用い、強いエストロゲン作用を有するethinylestradiol(EE)および、弱いエストロゲン作用を有し内分泌攪乱物質と考えられている有機塩素系農薬のmethoxychlor(MXC)の子宮発がんに対する修飾作用の有無について検討した。

【方法】実験にはp53遺伝子の片側アルルをノックアウトした雌CBAマウス(p53(+/-)マウス:ホエンカ酵母)およびその同腹仔の野生型マウス(p53(+/+)マウス)各40匹を用いた。全動物に生理食塩水に溶解したN-ethyl-N-nitrosourea(ENU)を120mg/kg体重を単回腹腔内投与し、その一週間後より第一群(10匹)には基礎飼料を、第二群(15匹)には5ppmのEEを第三群(15匹)には2000ppmのMXCを飼料に混じり26週間自由に与えた。p53(+/+)マウスもp53(+/-)マウスと同様の処置を行った。第二と三群では投与開始直後より体重の増加抑制が認められたため、投与開始6週目よりEEとMXCの濃度を半量に減じ26週まで実験を継続した。

【結果】ENU+EE群の子宮重量はp53(+/-)マウスおよび(+/+)マウス共にENU単独群に比べ有意に増加し、その増加率はp53(+/-)マウスで顕著であった。p53(+/-)マウスのENU単独群では子宮内膜肉腫が67%、ポリープが22%発生したが、ENU+EE群では内膜肉腫が87%に誘発された。ENU+MXC投与群では内膜肉腫はENU単独群と同頻度であった。p53(+/+)マウスではENU単独群にポリープが30%認められたのみであった。また、子宮内膜腺の明細胞からなる異型腺管がp53(+/-)とp53(+/+)マウスのENU+EE群にのみ53%発現し、p53(+/-)での半数には腺腫が随伴していた。卵巣では、p53(+/-)とp53(+/+)マウス共にENU+EE群およびENU+MXC群において黄体形成停止を特徴とする萎縮が高頻度に認められた。

【まとめ】強いエストロゲン作用を有するEEは子宮内膜や子宮腺の増殖性病変の誘発を増強するが、MXCはそれら増殖性病変に対し増強作用を示さなかった。

- 杉江茂幸¹、牛田 淳²、K.M. Wahidur Rahman²、Pham Quang Vinh²、酒々井夏子²、若林敬二³、森 秀樹² (岐阜大・医・1動物実験施設、²病理、³国立がんセ・研・生化)

【目的】 今迄にPhIPの短期複数回投与、高脂肪食によるラット乳腺発癌モデルを用いて幾つかの発癌抑制物質を見い出してきたが、それらの結果からP-450系酵素の修飾物質がPhIP誘発乳腺発癌において有力な抑制物質となりうることが示唆された。今回、P-450を抑制することが報告されている α NITCをイニシエーション期に投与し、その修飾効果を比較検討し、興味ある結果を得たので報告する。

【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400 ppm α NITC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26週で全動物を屠殺、剖検した。腫瘍を病理組織学的に確認、診断した。

【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。乳腺腫瘍の発生頻度はPhIP単独投与群では56.3% (18/32)であったのに対して、PhIP+ α NITC投与群では6.7% (2/30)と有意な減少を認めた。平均乳腺腫瘍発生個数はPhIP単独投与群で 1.66 ± 2.31 であったのに対して、PhIP+ α NITC投与群では 0.07 ± 0.25 で有為の減少を認めた。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、 α NITCにはPhIP誘発ラット乳腺発癌に対する明らかな抑制効果が認められた。 α NITCはPhIP誘発乳腺発癌に対する癌の化学予防物質となりうることを示唆された。その抑制機序として、P-450の抑制作用の関与が推測された。

- 鳥山-馬場弘靖¹⁾、朝元誠人¹⁾²⁾、安東輝¹⁾、竹下文隆¹⁾、外岩戸尚美¹⁾、辻奈穂美¹⁾、津田洋幸¹⁾ (1)国立がんセンター・研・化療、2)名市大・医・第一病理)

発がん機構の解析や発がん物質の効率的な検索を可能にする発がん高感受性動物を作出することを目的にヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットの作成を行った。このトランスジェニックラットは乳腺と食道を標的とする発がん物質によって極めて短期間に腫瘍を多発する発がん高感受性形質を示し、特に乳腺においては発がん物質の種類に依らない発がん高感受性形質を有することを明らかにしてきた。MNU投与により乳腺に発生した腫瘍における導入 ras 遺伝子の変異をPCR-RFLP法で検索したところ、codon12と61に高頻度に変異がみられたが、サブクローニング法による検索では、変異の存在する腫瘍組織中の変異を持つ腫瘍細胞の割合は少ないことが明らかとなった。食道腫瘍においては、導入 ras 遺伝子の codon12 に高頻度(76%)に変異が認められたが、codon61の変異は認められなかった。変異の認められた食道腫瘍組織中の腫瘍細胞の大多数が変異を持つ腫瘍細胞で、乳腺腫瘍の結果と異なることが明らかとなった。MNU投与後卵巣摘除を行ったが乳腺発がんは卵巣ホルモン非依存性であることが分かった。一方、このトランスジェニックラットにおいて、肝発がんの前癌病変マーカーであるGST-P陽性細胞巢に対する感受性には変化のないことが、DEN投与後部分肝切除を行ったトランスジェニックラットで確認されているが、さらに肝発がんに対する感受性をDEN投与後52週の観察により確認した結果を加え、これまで確認されてきたヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットの発がん感受性についてまとめる。(文部省がん重点、厚生省がん研究助成金、がん克服新10カ年戦略研究事業による)

F344 ラット下垂体神経葉における異所性上皮様組織についての免疫組織化学・電子顕微鏡学的解析

○岩田 聖¹, 木原 亨¹, 細井理代¹, 宮島留美子¹, 山本慎二¹, 三上真一¹, 山川誠己¹, 廣内康彦¹, 榎本 眞¹, 今沢孝喜², 三森国敏² (¹安評センター, ²国立衛研・病理)

【はじめに】F344 ラットの下垂体神経葉には管状構造物や紡錘形細胞から成る上皮様組織が希に自然発生することが知られ、これを MacKenzie と Boorman(1990)は下垂体 μ ク囊遺残組織由来の先天性異常病変として記載している。また、Schaettiら(1994)は、17例の Wistar と SD 系ラットにこの病変とさらに腺房様構造を含め aberrant craniopharyngeal structures と診断している。しかし、この病変の由来や生物学的特徴については未だ明確にされていない。今回我々は、ラットの長期毒性試験からこの病変 10 例について詳細な形態学的解析を行ったところ、興味ある知見を得たので報告する。【材料と方法】21 の F344 ラットを用いた長期毒性試験の対照群に観察された 10 例の異所性上皮様組織(10%PBS ホムリン固定、パラフィン包埋)について H.E.染色を施し観察した。また、P.A.S.反応、抗 μ ク囊、抗 α 平滑筋 α クチン、抗 GFAP の各抗体を用いた免疫組織化学的染色を施した。一部の例においては、新鮮材料について電子顕微鏡学的検索を実施した。【結果】本病変の発生率は雄で 0.14%、雌で 0.12%と稀なものであった。異所性上皮様組織は形態学的に腺房様構造、管状構造、紡錘形細胞の 3 型から構成され、殆どの症例で μ ク囊が随伴して観察された。 μ ク囊は、その形態から一次 μ ク囊と二次 μ ク囊に分類された。免疫組織化学的には、全例 μ ク囊に陽性を示した他、異所性上皮様組織の腺房細胞、管状細胞の基底側または紡錘形細胞の一部は抗 α 平滑筋 α クチンに陽性を示した。電子顕微鏡学的には、いずれの細胞も上皮の性格を有していた他、管状細胞の基底側に位置する細胞は、平滑筋 α クチンと思われるフィラメントを認め、筋上皮様細胞の特徴を有した。 μ ク囊上皮の線毛上皮部分では、中心小管や周辺小管からなる線毛や基底小体などが見られ、鼻腔呼吸上皮に類似する形態を示した。【まとめ】下垂体神経葉の異所性上皮様組織は耳下腺組織へ、また、 μ ク囊の上皮は鼻腔の線毛上皮へ分化する能力があることが示唆され、この異所性上皮様組織は μ ク囊と同様、胎生期の stomatodeum(口窩)に由来する頭蓋咽頭管から派生したものと推察された。

甲状腺発癌物質の下垂体摘出ラットにおける甲状腺増殖性病変への影響

○田村 啓¹, 三森国敏¹, 小野寺博志¹, 森安眞津子², 渋谷 淳¹, 広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理, ²(株)パナファーム・ラボラトリーズ)

【緒言】ラットにおいて Diisopropanolnitrosamine(DHPN)は、高用量単回皮下投与後の長期観察において甲状腺腫瘍を誘発することが報告されている。また DHPN では投与後初期に一過性の血中 TSH の上昇が起るものの、その後正常レベルに戻り、観察後期の 20 週以降では無処置対照群との差が認められないとの報告がある。このことから、抗甲状腺物質の TSH 依存性の甲状腺発癌プロモーション作用とは異なり、DHPN の甲状腺腫瘍誘発には、ネグティブフィードバックを介した血中 TSH の持続的な上昇は関与しないことが推測される。そこで今回、下垂体摘出ラットを用いて、TSH の有無が甲状腺発癌物質の甲状腺増殖性病変の誘発に与える影響を検討し、さらにこのラットへの外来性 TSH 投与により甲状腺増殖性病変が誘発され得るかを明らかにするため以下の予備的検討を行った。【方法】実験 1: 日本エスエル(株)より購入した 10 週齢の雄 F344 下垂体摘出ラットを用いて、無処置対照群(4 匹)、DHPN 2600mg/kg 単回皮下投与群(7 匹)、DHPN 700mg/kg/週 \times 5 回皮下投与群(10 匹)、DHPN 2000mg/kg(6 匹)ならびに 2800mg/kg(4 匹)単回皮下投与後に抗甲状腺物質である Sulfadimethoxine(SDM)を実験終了時まで 0.1% 飲水投与する群を設けた。31 週齢時に全例を屠殺し、種々の検索を行った。実験 2: 8 週齢の雄 F344 下垂体摘出ラットの皮下に、浸透圧ポンプを用いて μ TSH(bTSH, Sigma)を 100 または 500mIU/日の割合で 14 日間、持続注入した。対照群には生理食塩水を注入した。注入開始後 2 日目から 0.1%SDM の飲水投与を行い、4, 7, 14 日目に動物を屠殺し検索を行った。また bTSH のみを 7 日間注入する群も設けた。【結果】実験 1: DHPN+SDM 群に軽度の甲状腺濾胞上皮の肥大が観察されたが、いずれの群にも甲状腺増殖性病変は認められなかった。実験 2: 500mIU bTSH 7 日間投与群では血中 T3/T4 の上昇が顕著に認められた。500mIU bTSH+SDM 群では、血中 T3/T4 は 14 日目に有意に減少したが、甲状腺重量は 4 日以降、有意に増加し、明らかな濾胞上皮の肥大及び μ ク囊の減少が観察された。【結論】下垂体摘出ラットでは、DHPN で μ ク囊処置及び SDM で μ ク囊処置をしても甲状腺増殖性病変は誘発されず、その病変誘発には TSH が強く関与していることが示唆され、また持続的な T3/T4 の減少に対応して甲状腺が外来性の TSH の刺激に反応することが明らかとなった。

○池田美穂¹、黒木宏二¹、鈴木穂高¹、上塚浩司¹、中山裕之¹、三枝順三²、土井邦雄¹
 (¹東大・獣医病理、²産医研)

【目的】 IQI/jic雌マウスでは、血中IgE値の上昇を伴う加齢性の自然発症性皮膚病変がみられる。皮膚病変は、7ヶ月齢頃より少数例の耳介根部あるいは耳介先端に認められ、次第に耳介および頸部に広がり示すとともに、発症例数も増加し、18ヶ月齢では約70%の個体で病変が認められた(第124回日本獣医学会)。今回は、皮膚炎未発症の若齢IQI/jic雌マウスにピクリルクロライド(PCL)で感作および惹起を行い、皮膚炎を誘発した。

【方法】 5%PCLを腹部皮膚に塗布して感作し、その4、11、18、および25日後に0.8%PCLを耳介および背部皮膚に塗布し、皮膚炎を惹起した。それぞれの惹起24時間後に耳介腫脹を測定し、感作4、11、および25日後の塗布24時間後に耳介および背部皮膚を採材し、組織学的および免疫組織化学的検索を行った。

【結果】 耳介腫脹は感作11日後の塗布24時間後をピークとして徐々に減少した。組織学的には、表皮の肥厚、角化亢進が経時的に増強するとともに、肥満細胞、好中球、好酸球などの浸潤も激しくなっていた。感作4および11日後の塗布24時間後では真皮から皮下織に顕著な浮腫がみられたが、感作25日後の24時間後には線維増生が認められた。免疫組織化学的には、抗原提示細胞、好中球、マクロファージ、TおよびBリンパ球が経時的に増加した。

【考察】 今回実験的に誘発した皮膚炎は、リンパ球浸潤を伴う点を除き、本系統マウスにみられる自然発症性皮膚炎と同様の所見を示し、I型アレルギーによるものと考えられた。現在、血中IgE値の測定やサイトカインの動態解析を行っており、またBALB/c雌マウスで同様の実験を行い系統差について検討したい。

○星田美奈子・伊藤金次*・伊藤敦子・馮永求・林美千子
 (東邦大・医・法医、*同・第2病理)

Flunitrazepam(Fz)は、抗不安薬・睡眠薬・導入麻酔薬などとして広く使用されており、少ない臨床容量で高い薬理効果を有する。しかし、長期投与により耐性ならびに依存性を形成することがある。一方、Metallothionein(MT)は、重金属中毒の緩和に寄与する蛋白質として知られているが、最近では薬剤耐性因子としての役割が注目されている。金属や「グルコルチコイド」によりMTは誘導されることはよく知られているが、これまでに比較的多くの物質が誘導因子として判明している。今回、我々はFzに対する耐性機構を検索する目的でFz投与後の体内濃度分布の変化ならびにメッセージレベルと蛋白レベルの両面からMTの変動を観察した。実験動物にはラットを使用し、Fzを反復投与した群と一回のみ投与した群を作成した。

反復投与群では単回投与群に比べて臓器内への取り込み量は低下傾向を示し、排泄も早くなる傾向が見られた。MT-1およびMT-2 mRNAの発現をNorthern blot法にて観察した結果、両群ともに肝・腎で著明な増加が認められた。免疫組織学的観察では反復投与群の腎において、近位尿細管から遠位尿細管にかけての広い範囲でMTの強い染色性が観察された。以上の結果からFzによりMT合成は誘導され、耐性の獲得に少なからず関与していることが示唆された。

示説要旨

(P-1~116)

○原 明、山田泰広、松永研吾、川端邦裕、吉見直己、森 秀樹(岐阜大・医・病理)

【目的】心停止などの短時間脳虚血のあとに一時的に回復をみた患者の脳では、しばしば海馬CA1領域の錐体細胞の崩壊をきたす。この現象はスナネズミ両側頸動脈閉塞による一過性前脳虚血モデルにより再現され、海馬CA1領域に、数分間の前脳虚血後約72時間より錐体細胞死をきたしdelayed neuronal death(DND)と呼ばれている。我々はこれまでDNDがアポトーシスによることを明らかにしてきた(Hara A, et.al. Brain Res 806: 274-277, 1998)。近年、アポトーシスの経過中、プロテアーゼが重要な役割をはたすことが報告され、DNDにおいても、ある種のプロテアーゼ活性が増加するとされている。今回我々は、セリンプロテアーゼ阻害剤であるN-tosyl-L-phenylalanyl chloromethyl ketone (TPCK)による、スナネズミ一過性前脳虚血モデルにおける脳保護作用を検討した(Hara A, et.al. J Cereb Blood Flow Metab 18: 819-823, 1998)。【方法】スナネズミ一過性前脳虚血96時間後に、環流固定した後、HE染色、DNA fragmentationを検索するTUNEL染色(Hara A, et.al. Brain Res 697:247-250, 1995; Hara A, et.al. Neurol Res 17:461-464, 1995)、およびアポトーシス関連蛋白である Bcl-2の免疫組織染色(Hara A, et.al. Brain Res 711: 249-253, 1996; Hara A, et.al. Virchows Archiv 429:249-253, 1996)を行った。【結果】①TPCK(100mg/kg, i.p.)投与により、一過性前脳虚血後、海馬CA1神経細胞のアポトーシスは著明に抑制され、組織学的にも形態の保存を認めた。②TPCK(100mg/kg, i.p.)投与は、虚血1時間前、1時間後いずれも有効であり、虚血24時間後においても、効果を認めた。③TPCKは1時間後の投与において、濃度依存性(25, 50, 100 mg/kg, i.p.)に効果を認めた。④TPCKにより保護された神経細胞は、しばしば、Bcl-2の発現増加を認めた。【結論】虚血後のTPCK投与は、アポトーシス抑制を示すとともにDNDを抑制し、脳保護作用を示した。TPCKのcaspaseファミリープロテアーゼ活性阻害作用により、海馬神経細胞のアポトーシスが抑制されたと考えられた。TPCKによりアポトーシス抑制を受けたCA1神経細胞には、Bcl-2の発現増加を認めたため、Bcl-2蛋白を介した、アポトーシス抑制系の関与が示唆された。虚血24時間後のTPCK投与においても、アポトーシス抑制、神経細胞保護効果が認められ、TPCKの有益な効果が示された。

○穴山久志¹、橋本忠俊²、小田恵美子¹、平井加津子¹、佐々木啓¹
(¹武田薬品工業・葉安研、²武田薬品工業・創薬研V)

【方法】脳内出血は脳血管障害の内死亡が高率なため危険視されている疾患である。今回、脳内出血モデル作製の目的で、線条体にコラゲナーゼを注入したラットの脳について病理組織学的検査を行った。また、線条体障害に続く transneuronal な神経細胞障害がみられたので併せて報告する。

【方法】麻酔下で、Kopf 脳定位固定装置に保定したラットの右側線条体 (bregma 基準; A-P +0.2, L +3, D 6.0 from cranial surface; Paxinos&Watson のラット脳図譜) にコラゲナーゼ(生理食塩液に溶解、2 μl) の0.5 Uを注入し28日後に屠殺した群、コラゲナーゼの0.25 Uあるいは生理食塩液を注入し、20, 60分、2, 6時間、1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21及び28日後にラットを屠殺した群を設けた。

【成績】コラゲナーゼの0.5 Uを注入し28日後に屠殺したラットでは、注入部位を中心として、右側の大脳皮質、線条体、内包、外包、淡蒼球及び視床核等で実質の脱落及び著しい色素顆粒細胞の浸潤が認められ、脱落巣周囲では実質の萎縮を伴うグリオーシスが認められた。これらの変化は黒質に連続しており、神経細胞の減少を伴う萎縮及びグリオーシスが認められた。コラゲナーゼの0.25 Uを注入し、経時的にラットを屠殺した群では、20分後から線条体、内包及び淡蒼球において出血あるいは空胞化がみられ、2時間後にはこれら領域のほぼ全域で出血が認められた。出血部位は、6時間後には壊死に陥り、10日後では色素顆粒細胞の浸潤と共に組織の一部が脱落していた。黒質網状層では1日後から、緻密層では3日後から萎縮及びグリオーシスが認められ、黒質網状層及び緻密層共に時間の経過に伴い神経細胞は減少し病変は広がっていた。また28日後には変化は上丘に及んでいた。

【結論】ラット線条体にコラゲナーゼを注入した際の脳内出血の時間的な変化が明らかとなった。また、線条体障害から遅れて発生する二次、三次的な障害が認められ、本モデルは、神経細胞崩壊の機序の研究あるいは神経細胞保護作用を有する薬物の薬効評価モデルとして有用であると考えられた。

P-3 1,4-ジオキサンの2週間および13週間経口投与による脳の空胞変性

○妹尾英樹、竹内哲也、野田圭介、梅田ゆみ、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介、奥平雅彦
(日本バイオアッセイ研究センター)

ラットに1,4-ジオキサンを2週間あるいは13週間経口投与したところ、高濃度投与で脳に組織学的に空胞変性が発生することを認めたので報告する。

【方法】 6週齢のF344/DuCrj ラット雌雄各10匹/群に1,4-ジオキサンを飲水として2週間あるいは13週間自由摂取させた。投与濃度は2週間試験が0,1110,3330,10000,30000 および90000ppm、13週間試験が0,640,1600,4000,10000 および25000ppmとした。投与終了後に剖検、臓器をホルマリン固定、パラフィン薄切標本を作製し、H&E染色のほかクリューバー・バレラ染色等の特殊染色を施し、光顕的に検索した。

【結果・考察】 動物の死亡は2週間投与の90000ppm群の全例と30000ppm群の雌1例、13週間投与では25000ppm群の雌1例にみられた。これら死亡例では脳の変化は認められなかったが、2週間30000ppm投与群と13週間25000ppm投与群の生存例の脳に空胞変性がみられた。

2週間投与群：小脳前半部と大脳の海馬に空胞の出現が認められた。小脳ではプルキンエ細胞層あるいはその直下の顆粒層に位置する神経細胞体の細胞質内に直径10 μ m以下の微細な空胞がみられ、海馬では錐体細胞層あるいは顆粒細胞層に少数の微細～直径20 μ mにおよぶ空胞が出現していた。

13週間投与群：大脳の海馬の変化は2週間投与に比べてより著明であり、これに加えて大脳の脳梁とその近傍の髄質に多数の空胞の出現がみられた。大脳の空胞は直径10～40 μ m、円形で、神経線維あるいは神経線維間に存在していた。なお、これらの変化は雄が雌より顕著であった。

2週間および13週間投与群とも空胞の周囲に細胞浸潤や壊死性病変を伴わず、ヒトでvacuolar changeあるいはspongy stateと呼ばれる病変に類似していた。また、脳の病変に起因すると思われるラットの行動異常は認められなかった。

なお、この試験は労働省に依頼されたがん原性試験の予備試験として実施した。

P-4 3,3'-iminodipropionitrile(IDPN)を反復投与したラットに観察された血管病変および腎臓病変

○山下弘太郎、岡崎欣正、須藤雅人、土谷 稔 (株三菱化学安科研)

IDPNは近位軸索障害を誘発する代表的な神経毒性物質である。最近、私共は神経行動毒性研究会の共同研究としてIDPNをラットに反復投与し、神経系に血管病変を認めた。しかし、IDPNによる血管系への影響はRetinal angiopathyが知られているにすぎない。そのため今回、血管炎の発現状況を検討するために全身臓器の組織検査を行った。また、腎臓病変についてもこれまで詳細な報告がないので、経時的に観察した。

【材料および方法】 7週齢の雄性Crj:CD(SD)IGSラット60匹をIDPN(125mg/kg)群と対照(精製水)群に分けて、反復経口投与した。組織検査はこれらの動物のうちIDPN群22匹、対照群18匹(第15,30および44日に各群6匹、死亡・瀕死動物の4匹)について実施した。日の表記は投与開始日を第1日とした。

【結果】 IDPN群では血管病変、腎臓病変ともに第30日剖検例から認められた。血管病変：血管壁の硝子化あるいは血管炎を特徴とし、脳底および後大脳動脈、脊髄腹側動脈とそれらの分岐、軸索腫脹の重度な神経節と連絡する脊髄背根近傍の小口径の動脈および網膜の血管に認められた。血管病変の発現は第30および44日剖検例で、ともに神経系で6例中5例、網膜で全例であり、その程度に第30日以降の進展はなかった。腎臓病変：遠位尿細管上皮の変性を特徴とし、第30および44日に剖検した全例にみられた。第30日剖検例では、皮質領域に小型の変性巣として、散発的に認められた。それ以降の剖検例では変性尿細管の占める領域は尿細管上皮の再生像を伴ってより広範囲となり、進行例では集合管に沿って髄質へ拡大した。

【まとめ】 IDPNは神経毒性物質であるとともに、コラーゲンやエラスチンなどの硬蛋白質の成熟を抑制するとされているlathyrogenの1つである。IDPNによる血管壁の硝子化や血管炎は硬蛋白質の成熟抑制に関連している可能性がある。また、脳・脊髄での血管病変は軸索腫脹がみられた領域の近くに限られていたことは興味深い。腎臓病変は、主として遠位尿細管の障害であることが確認された。

○片桐卓、竹内哲也、野田圭介、梅田ゆみ、妹尾英樹、相磯成敏、長野嘉介、奥平雅彦
(日本バイオアッセイ研究センター)

[はじめに]メタリルクロライドは、アクリル繊維染色改質剤、合成樹脂及び農薬の原料などに広く使用されている。がん原性についてはNational Toxicological Programにより、強制経口投与長期試験でマウスの前胃に過形成、扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の発生が報告されている。今回、吸入暴露による長期試験を行ったところ、マウスの前胃に経口投与と同様な変化を認めるとともに、鼻腔にも変性と化生性病変を認めたので、その概要を報告する。なお、本報告は労働省の委託により実施したがん原性試験の一部である。

[材料及び方法]6週齢のBDF1マウス(日本チャールス・リバー)を用い、1群雌雄各50匹からなる4群に各々メタリルクロライドを0ppm,50ppm,100ppm及び200ppmの濃度で1日6時間、週5日間、104週間の吸入暴露を行った。全例について剖検、諸臓器をホルマリン固定し、型の如く病理組織学的検査を行った。

[結果]下表の如く100ppm及び200ppm暴露群に前胃上皮の過形成が増加傾向を示し扁平上皮乳頭腫も少数例に発生していた。前胃の扁平上皮癌は雄の100ppm群の1例にみられたのみであった。鼻腔には滲出物の出現と嗅上皮の萎縮、また加齢性病変である呼吸上皮と嗅上皮のエオジン好性変化及び嗅上皮や鼻腔腺上皮の呼吸上皮化生が濃度依存性に増加した。

Pathological findings	MALE				FEMALE			
	Control	50ppm	100ppm	200ppm	Control	50ppm	100ppm	200ppm
Forestomach								
Mucosal hyperplasia	3	0	8	21	0	1	4	19
Squamous cell papilloma	1	0	3	4	1	0	5	4
Squamous cell carcinoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Nasal cavity								
Exudative change	0	0	6	23	0	5	23	43
Atrophy: olfactory epithelium	0	0	3	21	0	2	9	38
Eosinophilic change: respiratory epithelium	7	31	36	47	38	40	40	49
Eosinophilic change: olfactory epithelium	7	11	23	33	24	19	45	41
Respiratory metaplasia: olfactory epithelium	9	4	15	49	2	5	15	49
Respiratory metaplasia: glandular epithelium	4	3	5	48	4	9	6	49

○秦 純子、長谷久美子、三橋弘明、浅野 哲、池田悦子、金子英志、宇野 洋(帝人㈱医薬開発研)

【目的】シリカをラットに経気道内投与すると、瀰漫性の好中球浸潤に続き肉芽形成を伴った慢性肺炎が惹起される。1997年の本学会において、Lipopolysaccharide(LPS)吸入後、急性肺炎時に発現したIL-8 Cytokine-induced neutrophil chemoattractant(CINC)においては、特にCINC-1がその病態発現に関与していることを報告した。今回我々は、シリカ投与後4週間のCINC局在の経時的变化を検索し、慢性肺炎時にいかなるCINCのサブタイプ(1,2 α ,2 β ,3)が病態に関与しているかを免疫組織学的に比較検討したので報告する。

【方法および結果】6週齢のSD系雄性ラット(各群3匹)を用い、ハロセン麻酔下にシリカ(SIGMA,0.5~10 μ m,80%1~5 μ m)を30mg/0.3ml salineの用量で気道内に投与し、珪肺症を惹起した。シリカ投与後、6時間、1,7,14,21,28日後に肺組織をブアン固定し、抗CINCについて免疫組織学的検討を行った。その結果、これら抗体の陽性細胞はいずれも肺胞領域、気管支粘膜下および血管周囲組織内に浸潤した好中球に認められた。LPS惹起急性肺炎時ではCINC-1が最も強く発現していたのに対し、シリカ惹起肺炎では、LPS投与時に陽性像の認められなかったCINC-2 α ,2 β ,3の陽性像がCINC-1より強く認められ、投与1日後から7日後にかけて最も強い陽性像が認められた。また、CINC-1の陽性像も投与6時間後から1日後に認められたが、LPS投与時のCINC-1や珪肺モデルにおける他のCINC(CINC-2 α ,2 β ,3)と比較するとその反応性は弱かった。

【結論】LPS吸入により誘発された急性肺炎ではCINC-1が病態発現に関与しているのに対し、シリカ投与により誘発された慢性肺炎においてはCINC-1に加え、更にCINC-2 α ,2 β ,3が関わっていることが示唆された。珪肺モデルにおいて、投与1日目までは好中球を主体とした瀰漫性の炎症性細胞浸潤が認められたが、投与7日目からは、好中球浸潤を伴う肉芽形成が認められた。CINC-2 α ,2 β ,3は投与1日後から投与7日後にかけて最も強く産生されており、これらサブタイプのCINCは肉芽形成に関与している可能性が考えられた。

P-7 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—III
—rhG-CSF 投与用量の検討—

○足立健児, 鈴木雅実, 小川友美恵, 萬啓悟, 加藤淳彦, 二木力夫*, 杉本哲朗
(中外製薬・安全研, *SLA 研)

先に我々は, ラットのブレオマイシン(BLM)経気管投与肺傷害モデル(BLM ラット)に recombinant human granulocyte colony-stimulating factor(rhG-CSF)の 30 および 100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ (ヒト臨床用量の 6~20 倍)を 7~28 日間併用投与すると, BLM 肺傷害が増強されることを明らかにした(第 14 回日本毒性病理学会). 今回, rhG-CSF 投与用量と肺傷害増強作用との関係を検討したので報告する.

10 週齢の SD 系雄性ラットに BLM を 2 mg/200 ml/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(中外製薬)の 10, 30 および 100 μg を 7 日間反復皮下投与した. 対照として, 無処置群, 生理食塩水を経気管投与後に rhG-CSF の溶媒または 100 μg を投与する群(Saline+0 または 100 μg), BLM ラットに rhG-CSF の溶媒を投与する群(BLM+0 μg)をそれぞれ設けた(各群 n=8). rhG-CSF 最終投与の翌日に末梢血好中球(Neu)数を測定した後剖検し, 肺の重量測定および病理組織学的検査を行った.

その結果, Saline+0 μg 群では Neu 数および肺に異常な変化は認められなかった. Saline+100 μg 群では Neu 数の顕著な増加がみられたが, 肺に異常な変化は認められなかった. BLM+0 μg 群では肺重量の増加がみられ, 組織学的には肺胞上皮の変性・壊死, 肺胞腔における好中球, マクロファージを主体とする炎症性細胞浸潤といった, びまん性肺胞障害像が認められた. BLM+rhG-CSF 群では, Neu 数の用量依存的な増加が認められ, 肺では BLM+0 μg 群と同様にびまん性肺胞障害像が認められた. 肺傷害の程度を BLM+0 μg 群と比較すると, rhG-CSF 30 μg 以上の群で病変部への好中球浸潤の増加を伴う用量依存的な肺傷害領域の増強が認められた. 一方, BLM+10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群では病変部への好中球浸潤の軽度な増加が認められたものの, 肺傷害の増強は認められなかった. 以上の結果から, rhG-CSF 併用による肺傷害増強は, 顕著な Neu 数ならびに肺の炎症局所での好中球浸潤の増加を来す用量で発現することが明らかとなった.

P-8 エンドトキシン(LPS)およびブレオマイシン誘発肺傷害時の NF- κ B の動態について

○伊藤隆明¹, 掛水信将², 奥寺康司¹, 西川正憲², 蟹沢成好¹, 北村 均¹
(横浜市大・医・¹第 1 病理, ²第 1 内科)

【はじめに】NF- κ B は, 様々な外界刺激に対し, 速やかに核に移行し, 転写活性化因子としてサイトカイン, 接着分子などの発現制御に関与し, 細胞傷害時の炎症反応や細胞増殖に重要な役割を果たすと考えられている. 今回, 我々は LPS およびブレオマイシン投与時の肺における NF- κ B の細胞内局在の変化を, 免疫染色により検討することで, その活性化細胞を同定するとともに, electrophoretic mobility shift assay (EMSA)により, DNA 結合能の変化について明らかにした.

【材料と方法】シアンハムスターに LPS(5mg/kg)を腹腔内投与し, 2 時間-120 時間後に肺を採取し, EMSA および免疫染色 (NF- κ Bp65 および p50)に供した. また, C57/BL6 マウスにブレオマイシン(100mg/kg)を尾静脈投与し, 2 時間-24 時間後に肺を採取し, NF- κ B 免疫染色を行った.

【結果とまとめ】対照群では, p65 および p50 の免疫染色は, 肺胞上皮およびマクロファージの細胞質に弱い陽性像が認められるが, LPS およびブレオマイシン投与により, 投与 2 時間では肺胞上皮細胞およびマクロファージの核内に, さらに投与後 24 時間では肺内に浸潤してきた好中球にも陽性像が認められた. ハムスター肺の EMSA により, NF- κ B の DNA 結合能は投与 2 時間および 24 時間に二相性のピークを示し, 24 時間後の活性化は主として好中球に由来すると思われた. この様に, NF- κ B の活性化から見た肺傷害時における炎症反応は, 早期の傷害組織により誘導される反応とその後の滲出してきた炎症細胞による反応からなると考えられた.

P-9 N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) を用いた二段階発癌モデルにおける 2,6-dimethylaniline (DMA) のラット鼻腔発癌プロモーション作用の検討

○糞谷高敏, 三森国敏, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高木久宜, 広瀬雅雄 (国立衛研・病理)

【目的】2,6-dimethylaniline (DMA) は、家畜の鎮静剤として用いられている α_2 アドレナリン受容体刺激剤 xylazine の代謝物である。DMA はラット鼻粘膜に親和性を持ち、2 年間の発癌性試験で鼻腔腫瘍が誘発されることが報告されている。今回、この DMA に鼻腔発癌プロモーション作用が存在するか否かを検討するため、N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) をイニシエーターとした二段階鼻腔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】DHPN 2400 mg/kg を 50 匹の雄 F344 ラットに単回皮下投与し、DHPN 投与後 1 週目より、DMA (3000 ppm) 添加飼料を 52 週間投与した(DMA 群: 30 匹)。また、対照群(20 匹)には基礎飼料のみを与えた。鼻腔は中性緩衝ホルマリンで固定後、5% 酢酸で脱灰し、6 横断面の標本を作製した。【結果】一般状態では、DMA 群の 3 例に 40 週より自発運動の減少ならびに鼻部の隆起が認められ、53 週までに 4 例の動物が鼻腔腫瘍により瀕死ないし死亡した。組織学的検索では、鼻腔に乳頭腫、腺腫および癌が認められ、これらの腫瘍発生頻度は DMA 群で 16/30、対照群で 4/20 であった。さらに、好塩基性細胞より構成される異形成巣も認められ、DMA 群の発生頻度は 10/30、対照群のそれは 1/20 であった。DMA 群の鼻腔腫瘍および異形成巣の発生頻度は、対照群に比し有意 ($p < 0.01$) に高かった。鼻腔上皮細胞の過形成については、両群間の発生頻度(DMA 群: 30/30、対照群: 18/20)に有意差は認められなかったが、DMA 群の発生個数(6.67 ± 3.00)は対照群(0.60 ± 0.68)に比し有意に増加した ($p < 0.01$)。【結論】DHPN 処置後 DMA 3000ppm を混餌投与することにより 53 週までにラット鼻腔に上皮性腫瘍が高率に誘発されたことから、DMA には鼻腔発癌プロモーション作用の存在することが強く示唆された。

P-10 ウレタン単回および複数回投与ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニック (*rasH2*)マウスにおける肺腫瘍誘発と CyclinD1 の発現

○森 郁生¹⁾、三森国敏²⁾、安原加壽雄²⁾、林 新茂¹⁾、野々山孝¹⁾、柵木利昭³⁾、野村達次⁴⁾
(武田薬品¹⁾、国立医衛研²⁾、岐阜大学³⁾、実中研⁴⁾)

【目的】肺発癌物質であるウレタン(UR)をヒトプロト型 c-Ha-ras 癌遺伝子導入 *rasH2* マウスに投与すると、肺腫瘍が早期から誘発される。しかし、導入遺伝子は腫瘍発生およびその進展に必ずしも関与しない事が報告されている。今回、UR 単回または複数回投与により誘発された肺の増殖性病変と癌関連遺伝子産物の発現および細胞増殖活性の関連について検討した。

【方法】9 週齢の *rasH2* マウス [Tg(+)] および非遺伝子導入マウス [Tg(-)] に UR 1000 mg/kg を単回または 3 回 (隔日) 腹腔内に投与した。投与後、単回投与群は 10 および 20 週、3 回投与群は 10 および 15 週に剖検し、肺の増殖性病変について病理組織学的に検索した。次に CyclinD1, p53, MDM2, HSP70 および PCNA につて免疫染色を施し、画像解析装置を用いて陽性細胞率を計測した。

【結果】UR 投与により Tg(+)および Tg(-)とも増殖性病変が誘発され、Tg(+)の複数回投与群では腺腫/腺癌の発生個数が増加した。CyclinD1 陽性率は、Tg(+)の複数回投与群においては、過形成、腺腫/腺癌のいずれの増殖性病変においても高い陽性率が認められ、単回投与群および Tg(-)の複数回投与群では、過形成に比べ腺腫/腺癌で高値であった。PCNA 陽性率は、いずれの群においても過形成に比べ腺腫/腺癌で高値を示した。なお、p53, MDM2 あるいは HSP70 の異常発現は、いずれの例にもみられなかった。

【まとめ】UR 複数回投与 *rasH2* マウスの肺では、PCNA 陽性率は増殖性病変の進展に従い増加したが、CyclinD1 は過形成より強く発現したことから、UR 複数回投与による肺腫瘍誘発の増強に CyclinD1 の発現が深く関与することが示唆された。

P-11 1-Amino-2,4-dibromoanthraquinoneにより誘発されたマウス肺腫瘍におけるK-ras遺伝子変異：Laser Capture Microdissection法の検討

○豊田和弘、Robert C. Sills¹、Thai-Vu Ton¹、H. L. Hong¹、Robert R. Maronpot¹
(国立衛研・病理、¹Lab. Exp. Pathol., NIEHS, USA)

【目的】B6C3F₁マウスを用いた1-amino-2,4-dibromoanthraquinone (ADBAQ) の2年間の癌原性試験(0, 10000, 20000ppmを混餌投与)で誘発された肺腫瘍におけるK-ras遺伝子の変異を解析して、変異と腫瘍発生との関連性を検討すると共に、米国NIHで考案されたLaser Capture Microdissection (LCM) 法(顕微鏡下で、病理組織切片上に被せたサーモプラスチックフィルムにレーザーを照射し、照射部位の細胞や組織をフィルムに接着させ選択的に採取する方法)による解析を試みた。

【材料と方法】ADBAQの癌原性試験における肺胞・細気管支腺腫0ppm群2例、10000ppm群9例、20000ppm群13例、及び肺胞・細気管支癌0ppm群3例、10000ppm群2例、20000ppm群3例、計32例の腫瘍組織を病理組織切片からカミソリで削り取り(マニュアル採取)、ゲノムDNAを抽出後、Nested PCR法にてK-ras遺伝子のExon 1及び2領域を増幅し、³³Pを用いたDNA Direct Sequencingによってこれらの領域での遺伝子変異を調べた。また、以上の検索において変異を認められた肺腫瘍5例と認めなかった肺腫瘍1例について、新たにLCM法で細胞を採取し(LCM採取)、K-ras遺伝子の同領域での変異を調べて先のマニュアル採取材料の結果と比較した。

【結果】マニュアル採取材料ではK-rasのCodon 12 (GGT→GAT或いはCGT)、13 (GGC→AGC)、61 (CAA→CTA或いはCGA)における塩基置換が認められ、その発生頻度は0ppm群の1/5 (20%) に対し、10000ppm群では6/11 (55%)、20000ppm群では10/16 (63%) とADBAQ投与群の方が高く、ADBAQによる肺腫瘍の発生機序としてK-ras活性化の関与が示唆された。LCM採取材料との比較では、マニュアル採取で変異を認めなかった1例では結果が一致していたが、変異を認めた5例の内4例ではLCM採取材料では変異がみられず、残りの1例では変異の発生部位が異なっていた。以上の結果の不一致については種々の要因が考えられ、LCM法の導入には更なる検討が必要と思われた。

P-12 p53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスの MNUR 誘発肺病変に対する NNK の修飾作用

○安原加壽雄¹、三森国敏¹、糺谷高敏¹、小野寺博志¹、高木久宜¹、広瀬雅雄¹、林 裕造²
(¹国立衛研・病理、²北里大・薬理)

【目的】ヒトの慢性びまん性間質性肺炎に高頻度に肺癌が合併することが疫学的に報告されているが、間質性肺炎や肺線維症の発症から肺癌に至る過程には多くの要因が関与しているため、その機序は殆ど解明されていない。既に我々は肺に対して発癌性かつ催炎性物質である N-methyl-N-nitrosourethane (MNUR) によるマウス肺線維症モデルを作成し、これらの関係を検討してきた。一方、肺腫瘍誘発に関わる内因性因子として p53 癌抑制遺伝子の機能異常の関与が示唆されているが、肺線維症から肺癌に至る過程にこの内因性因子がどのように関与するかについては明らかにされていない。そこで、今回、この遺伝子が欠如しているマウスに MNUR を投与後、たばこ特異的ニトロソアミンのひとつである 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) を投与し、p53 遺伝子欠損および NNK が肺線維症ないし肺腫瘍誘発にどのような影響を及ぼすかについて検討した。

【方法】9週齢の p53 癌抑制遺伝子の片側アレルが欠如している雄性 CBA マウス (p53(+/-)マウス) および同腹仔の野生型 CBA マウス (p53(+/+)マウス) に 0.25mg/個体の MNUR を隔週3回背部皮下に投与した。最終投与後3週時から 10mg/kg の NNK を隔日4回腹腔内に投与した。なお、NNK 単独投与群および溶媒のみを投与した対照群も設けた。最終投与後10週目に動物を屠殺し、肺を病理組織学的に検索した。

【結果】MNUR 投与により限局性の線維化と肺胞上皮の過形成および腺腫が p53(+/-)および p53(+/+)マウスともに誘発されたが、これらの病変の程度あるいは頻度に差は認められなかった。また、MNUR 投与後 NNK を投与した p53(+/-)および p53(+/+)マウスでは、同様の病変が誘発されたが、MNUR 単独群との間に明らかな差異はみられなかった。なお、NNK 単独群では p53(+/-)および p53(+/+)マウスともに増殖性病変は観察されなかった。

【結論】今回の実験条件下では MNUR による肺線維症、肺癌の誘発および NNK の肺発癌修飾作用に p53 癌抑制遺伝子欠損の関与は認められず、また、肺線維症は肺腫瘍発生の促進要因となる可能性も極めて低いことが示唆された。

P-13

酢酸ビニルの長期投与による上部消化管に認められた増殖性病変の分布
—histological mappingによる詳細な発生部位の検討—

○梅田ゆみ、竹内哲也、野田圭介、妹尾英樹、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介、奥平雅彦
(日本バイオアッセイ研究センター)

【はじめに】第13回毒性病理学会では、酢酸ビニルの長期飲水投与により被験物質が直接接触する上部消化管に扁平上皮由来腫瘍の発生を報告した。今回はこれらの腫瘍発生メカニズムを明らかにする一助として、腫瘍及び腫瘍関連病変の分布を検索した。尚、本報告は労働省の委託により実施したがん原性試験の病理標本を更に検討したものである。

【方法】がん原性試験に使用されたラット(F344/DuCrj)とマウス(Crj:BDf1)の最高投与群(10000ppm群)のH&E光顕標本を用い、口腔、食道及び胃の扁平上皮癌、扁平上皮乳頭腫、上皮異形成、扁平上皮過形成及び基底細胞の賦活化について組織学的にmappingした。【結果】マウスの口腔では、雌雄とも腫瘍性病変とそれに関連した病変がレベルV(図)の位置に最も多く見られた。食道では、甲状腺の位置で切り出した高さによく、腹側、背側面で差は見られなかった。胃では扁平上皮癌がlimiting ridgeに多く見られたがその他の増殖病変の頻度とは一致していなかった。ラットでは全体的に例数が少なく、一定の傾向がつかめなかったが、雄の口腔での扁平上皮癌の発生部位はマウスと類似していた。

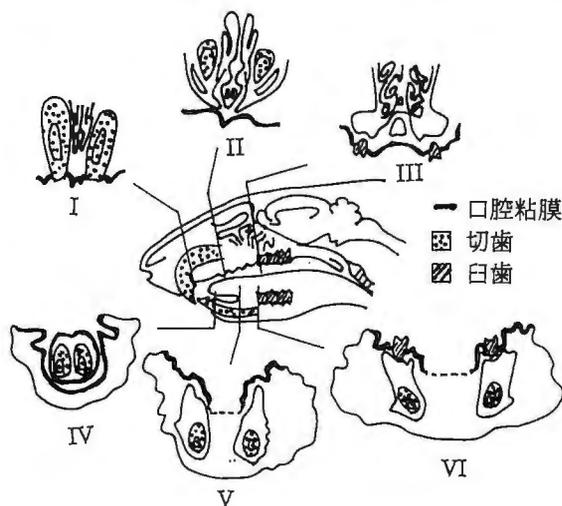


図 ラット・マウスの口腔粘膜検索部位

P-14

F344ラットの口腔扁平上皮癌からの可移植性腫瘍(OSC-S)の確立

○渋谷一元、渋谷延子、金井一享、布谷鉄夫、田島正典(日生研)

ラットにおける口腔内の扁平上皮癌の自然発生はまれである。今回我々は、F344ラットの口腔粘膜原発の扁平上皮癌を認め、病理形態学的に検索するとともに、同系ラットで移植・継代が可能な腫瘍株(OSC-S)を確立したのでその概要を報告する。

【材料と方法】生涯飼育していたF344ラットの雄1匹に、84週齢時から左側頬部の腫脹が観察された。腫脹部は次第に結節状に隆起し、口角部から外側に表面が粗造な不整形の結節として認められるようになったため、88週齢時に剖検した。結節の一部を無菌的に採取し、同系ラット背部皮下に移植した。移植後発生した結節を順次移植した結果、継代が可能な移植株が得られたためOSC-Sと命名した。この原発腫瘍ならびに移植株について、病理組織学的、電顕的および免疫組織化学的に検索した。

【成績】原発腫瘍：肉眼的に、腫瘍は左側上顎頬部粘膜に主座し、臼歯歯肉を巻き込み上口蓋まで波及していた。組織学的に、腫瘍組織は粘膜から粘膜下層へ向かって塊状あるいは索状に浸潤性に増殖していた。上皮性腫瘍細胞は、重層扁平上皮の形態を維持しており、表層部は高度に角化し、粘膜下層に浸潤した腫瘍塊の中心部にしばしばcancer peelを形成していた。腫瘍増殖部の間質には線維芽細胞の増生が顕著であった。電顕的に、腫瘍細胞は細胞質における多数のtonofibril、比較的広い細胞間隙とそこに伸びた細長い細胞突起およびdesmosomeによる隣接細胞との結合が特徴であった。免疫組織化学的に、腫瘍細胞はkeratinおよびcytokeratin(AE3)に陽性を示した。OSC-S：背部皮下に形成された結節は次第に軟性となり、断面において嚢胞状の結節であることが示された。組織学的、電顕的および免疫組織化学的性状は原発腫瘍に良く一致していた。原発腫瘍およびOSC-Sともに遠隔転移は認められなかった。

【考察】以上の結果から、原発腫瘍は口腔粘膜由来の扁平上皮癌と診断され、OSC-Sは原発腫瘍の性質を良く保存していることから、その生物学的性状の解析に有用と考えられた。

○塚本徹哉¹、清水伸幸¹、山本昌美¹、今井俊夫^{1,2}、立松正衛¹
 (¹愛知がんセ・1病理、²エーザイ・安全研)

【緒言】*Helicobacter pylori* (Hp)と胃癌に関する多くの疫学的調査をもとにWHO/IARCはHpを "definite carcinogen"と認定した。スナネズミのHp感染モデルは感染の安定性と病変のヒト類似性で注目を浴びており、我々は、ニトロソ化合物誘発スナネズミ腺胃実験発癌モデルを確立してきた。今回、Hp感染の*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG)腺胃発癌に対する増強作用の検討を行った。【方法】7週齢雄スナネズミに、(1) MNNG (300又は60ppm)10週間飲水投与後にHpを投与、もしくは、(2) Hp投与後にMNNG (100又は20ppm)を30週間飲水投与した。Hpは標準株ATCC 43504、約10⁸ CFU/mlの菌液を、経口ゾンデを用いて24時間絶食後に0.8mlずつ投与した。各群の対照も設けた。50週で屠殺し、抗Hp抗体価を測定し、標本のHE・AB-PAS染色、抗Hp免疫染色を行った。【結果】MNNG投与後にHpを感染させた群(1群)では対照群に対して有意に発癌率が上昇した。担癌個体の抗Hp抗体価は有意に高値を示した。Hp感染後にMNNGを投与した群(2群)のうち、MNNG 20ppm群では対照群に対して有意な発癌率の上昇を認め、抗Hp抗体価も担癌個体では高値であった。一方、100ppm群では発癌率の上昇を認めなかった。発生した癌は高分化型のみならず低分化・印環細胞癌も認められ、免疫染色でHpの存在が確認された。Hp感染単独群と無処置群では腫瘍の発生を認めなかった。【総括】スナネズミのHp感染モデルは感染が安定し、Hp感染のMNNG誘発腺胃発癌に対する増強作用が明らかとなった。MNNG 100ppm投与群では、Hpに対するMNNGの制菌的作用のため発癌の増強が認められなかったと考えられた。今後、長期観察と除菌モデルの検討を行うことにより、Hp感染の胃癌発生に及ぼす影響がより客観的に評価可能になるものと思われる。

○伊藤今日子、石田勝彦、藤本隆平、泉澤信行、北村和夫、三浦久樹、岡宮英明
 (山之内製薬 安全性研究所)

【背景】Lipopolysaccharide (LPS) による消化管障害として血行障害、播種性血管内凝固、出血、潰瘍などが報告されているが、今回大量のLPSをマウスに単回投与することにより、これらとは異なる障害が胃粘膜に誘発されたため、病理組織学的に詳細に検査した。

【方法】ICR および C57BL/6 マウスにLPS (大腸菌, 0111:B4) を50mg/kgの用量で単回皮下投与し、0, 4, 6, 12, および24時間後の胃を中心にし諸臓器を病理組織学的に検査した。

【結果】胃の主な変化は胃底腺の壁細胞および主細胞にみられた。壁細胞には投与後4時間から小さな空胞形成がみられ、時間の経過と共に程度が強くなる傾向を示した。空胞は12時間以降は大型化して細胞質が空胞で置き換えられ、一部の細胞は壊死に陥った。主細胞には投与後12時間より萎縮あるいはapoptosis様変化がみられ、24時間後にはさらに変化の程度が強くなったが、明らかな壊死像はみられなかった。表層粘液細胞には12時間以降に軽度の萎縮がみられたが、上皮の脱落はみられなかった。24時間後には胃、十二指腸、肝臓、腎臓などの諸臓器に血栓形成がみられた。

【結論】以上の結果より、多量のLPSを単回皮下投与した際には、これまでに報告されている血行障害に起因する変化に先立って胃底腺の壁細胞および主細胞に特徴的な変化が誘発されることが示された。

○松永研吾、山田泰広、川端邦裕、原 明、吉見直己、森 秀樹(岐阜大・1病理)

我々は種々の天然性物質の化学予防剤としての検討を行ってきた。今回、マンゴ葉からの抽出物、Mangiferinについてラット大腸発癌モデルで検討した。MangiferinはXanthonoidsの一種で、抗酸化作用を有し、抗ヘルペスウイルス作用も有することが報告されている。[方法] 雄F344ラットを用い発癌剤としてazoxymethane (AOM、15mg/kg,3回皮下注)を使用した。Mangiferinは0.02%及び0.1%混餌投与群をそれぞれAOM投与の前後イニシエーション期の4週間投与群とAOM投与後1週間後から屠殺時までの37週間投与群で検討した。AOM初回投与後40週で全ラットを屠殺し、消化管を観察した。また、短期実験を行った。[結果・考察]AOM単独群で消化管(小腸・大腸)腫瘍発生は73%(16/22)に対し、イニシエーション期投与群のうち、0.02%Mangiferin投与で60%(18/30)であったが、0.1%投与では35%(10/29)と抑制効果を示した。また、ポストイニシエーション期投与において0.02%で42%(11/26)、0.1%で46%(13/28)と抑制効果を呈した。腫瘍多発性では、0.1%Mangiferinイニシエーション期投与群(0.38±0.56 vs AOM単独群 0.91±0.67)を除いて、有意な差はみられなかった。短期実験では、AOM単独群のACFのincidenceは108±42.8、Mangiferin投与群65.1±23.0で抑制効果がみられた。Multiplicityでは、AOM単独群2.22±0.13、Mangiferin投与群2.16±0.24で、有意な差は認めなかった。以上の結果はMangiferinは腫瘍の増殖抑制を示唆するとともに、Mangiferinの発癌イニシエーション過程でのAOM代謝抑制によるブロッキング効果が推察された。

○田中晴就¹、塚本徹哉¹、山本昌美¹、白井紀充^{1,2,3}、酒井洋樹^{1,2}、立松正衛¹
(¹愛知がんセ・1病理、²岐阜大・農・家畜病理、³ファイザー製薬・中央研)

【目的】ヒト大腸癌では、APC/ β -catenin/Tcf pathwayの活性化がその発癌過程に重要な役割を果たしている。2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP)は、過熱した食品中に含まれている発癌物質として近年注目されているが、PhIP誘発ラット大腸癌で、高頻度に β -cateninや、APCの変異が報告されている。我々は、ラットにPhIPを投与することにより大腸癌の前癌病変と考えられているaberrant crypt foci (ACF)や、腫瘍の発生を経時的に検索してきた。今回、腫瘍のみならずACFの遺伝子変異を解析することによりPhIPの大腸発癌過程における役割を検討した。【材料および方法】3週令F344雄ラットにPhIP 100 mg/kgBWを週3回7週間経口投与し、12、25、50および75週で屠殺した。大腸粘膜面のメチレンブルー染色ならびに腺管分離法によりACFを単離検索し、腫瘍は、組織像を確認後、DNAを抽出した。Ki-ras、p53、APC、 β -cateninについて遺伝子異常をpolymerase chain reaction-single strand length polymorphism (PCR-SSCP)法およびdirect sequence法により、解析した。【結果】50および75週で腫瘍の発生が認められた。組織学的には、腺腫および腺癌で粘膜下に浸潤しているものも見られた。16例の腫瘍のSSCP解析の結果、Ki-rasおよびp53には変異は認められなかったが、APCに1例、 β -catenin GSK-3 β リン酸化部位に11例の変異が認められた。12、25、50および75週で発生したACFを同様に検索したところ、APCおよび β -cateninに変異を認めた。【まとめ】ACFと腫瘍の特定の遺伝子に共通の変異がみられたことから、一部のACFから腫瘍に移行することが考えられた。

P-19 PhIP誘発ラット大腸Aberrant Crypt Fociの発育進展

○白井紀充^{1,2,3}、塚本徹哉¹、山本昌美¹、田中晴就¹、酒井洋樹^{1,2}、湯浅啓史^{1,4}、立松正衛¹

(¹愛知がんセ・1病理、²岐阜大・農・家畜病理、³ファイザー製薬・中央研、⁴田辺製薬・安全研)

【目的】2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP) は、食品中に含まれている発癌性物質として、近年注目されている。Aberrant crypt foci (ACF)は、化学発癌実験等で大腸癌の前癌病変として重要性が指摘されており、PhIPの大腸発癌過程における役割をACFの発育・進展を指標に、腺管分離法により三次元的に解析した。【材料および方法】3週令F344雄ラットにPhIP 100 mg/kgBWを週3回7週間経口投与し、12、25、50および75週で屠殺した。大腸粘膜面のメチレンブルー染色によりACFを検索した後、腺管分離法により三次元形態を検索した。腺管の分割の有無によるsubtypeに基づきACFを分類し、その頻度を経時的に検索した。【結果】PhIP投与群における1匹あたり平均ACF数は12、25、50および75週でそれぞれ3.7、6.0、4.2、1.1個であった。また、1ACFあたりのcrypt数は、12週、25週で平均2.1個で、50週、75週では、それぞれ2.9個、5.5個と増加が認められた。陰窩底部にV字の切れ目が認められるBifurcating cryptを増殖性の指標として検討した。12、25、50、75週でそれぞれ21.9%、25.6%、3.7%、0%で、25から50週にかけて有意な減少が認められた。ACFの部位別の発生頻度を比較したところ、12から25週にかけては、直腸から下行結腸側（遠位）に多く、50から75週にかけて上行結腸から盲腸側（近位）にシフトするという結果が得られた。腫瘍の発生も50から75週にかけて上行結腸から盲腸側に優勢に認められた。【まとめ】25週から50週にかけて有意に、(1) 1ACFあたりの構成腺管数の増加、(2) Bifurcating crypt数の減少、(3) ACFの発生好発部位の遠位から近位へのシフトが見られた。腺管分離法は、ACFの三次元的形態解析を可能とし、腺管単位での遺伝子解析を行うのに有用であると考えられた。

P-20 Caffeine, α -tocopherol および n-tritriacontane-16, 18-dione の PhIP 誘発ラット乳腺・大腸発癌に及ぼす影響について

○萩原昭裕¹、今井田克己²、河部真弓¹、玉野静光¹、金子秀雄³、駒井浩一郎³、伊東信行²、白井智之² (¹大雄会医科研、²名市大・医・1病理、³住友化学・生科研)

【目的】ラットにおける PhIP 誘発乳腺・大腸発癌に対する、caffeine, α -tocopherol およびユーカリに含まれる酸化防止剤である n-tritriacontane-16,18-dione(TTAD)の発癌修飾作用を検討した。

【方法】6週齢 F344 系ラット雌の 20 匹より成る群に 0.02% PhIP 混餌投与、PhIP + 0.1% caffeine 飲料水投与、PhIP + 0.5% α -tocopherol 混餌投与および PhIP + 0.1% TTAD 混餌投与し、隔週毎に体重測定並びに触診を行なった。54 週間投与後に剖検し、乳腺および大腸の病理組織学的検査を実施した。また、PhIP 代謝活性化に対する caffeine の影響についても *in vitro* の実験系で検討した。

【結果】PhIP+caffeine 群における乳腺腫瘍発生率は 10%であり、PhIP 単独投与群における発生率 (40%) と比較して有意な抑制を示した。また、 α -tocopherol および TTAD でも、抑制傾向を認めた。一方、caffeine 投与群の大腸腫瘍の発生率(75%)は、対照群値(15%)と比較して明らかな高値を示した。*in vitro* では S9 mix と NADPH の存在下で caffeine の添加により PhIP 代謝産物の生成が用量に関連した減少を示した。

【結論】Caffeine は PhIP 誘発乳腺発癌を抑制するが、逆に大腸発癌に対しては促進作用を示す事が明らかとなった。 α -Tocopherol および TTAD は、乳腺発癌に対して弱い抑制作用を示す事が唆された。

○竹川潔, 井上五子, 香武哲也, 河下伸, 上村裕洋, 高木司郎, 永岡隆晴, 竹内正紀
(吉富製薬・吉富安全研)

【緒言】ヨウ化カリウム(KI)のラット癌原性試験において, 最高用量群の唾液腺に扁平上皮癌が発現した。それらが顎下腺における腺房萎縮に伴う再生性の小導管増生または小葉間導管上皮の重層化などの組織変化部位より, 扁平上皮化生を経て非遺伝毒性的メカニズムにより発生したと推察し, *Jpn. J. Cancer Res.*, Vol. 89 (1997)に報告した。また, 同様の組織変化が KI 以外の各種ヨウ素化合物を1ヵ月間投与することにより共通して発現することを第14回日本毒性病理学会で報告した。今回はこの組織変化の病理発生を検討する目的で投与初期の変化を検索した。【方法】5週齢の雄性 F344/DuCrj ラットに KI を 0, 50, および 2000 mg/kg/day の用量で1ヶ月間連続強制経口投与した。投与開始後3日, 1, 2, および4週に, 唾液腺および導管の開口部を組織学的に検査した。【結果】投与開始後3日より, 50 mg および 2000 mg 群の顎下腺に小葉間導管上皮の重層化, 線状部から顆粒部導管および腺房のびまん性の萎縮, 境界明瞭な限局性の腺房萎縮巣が発現した。導管開口部の上皮も重層化を示した。重層化した導管および限局性の腺房萎縮巣内の小導管において細胞増殖活性が上昇していた。2000 mg 群では, これらに加えて舌下腺に小葉間導管上皮の重層化が認められた。認められた変化の種類および程度は, 投与開始後4週までほぼ同様であった。【結論】KIによる唾液腺の組織変化は, 50 mg 以上で投与開始後ごく初期より発現し同様の程度で持続することが明らかとなった。上皮の重層化は唾液腺導管に特有の反応性変化と考えられるが, 線状部, 顆粒部および腺房の萎縮性変化との関連は明らかではない。限局性萎縮巣における小導管の細胞増殖活性の上昇は再生性の増殖を示唆すると考えられる。これらの病変について, 電子顕微鏡検査を実施中であり, さらに病理学的に精査する。

○古川文夫¹, 西川秋佳¹, 笠原健一郎¹, 千原 猛², 新保 寛², 別府秀彦², 葛谷博磁², 広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理, ²保健衛生大・生薬研)

【はじめに】キダチアロエ(アロエ)はユリ科植物に属し, フェノール系化合物であるアンスロン配糖体(バルバロイン, イソバルバロイン, アロエニン)が抗酸化作用を示すことが報告されている。また, ラット肝, マウス十二指腸および皮膚癌発癌に対する抑制効果を有することが報告されている。今回, アロエをハムスター*N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine(BOP)発癌モデルのポストイニシエーション期に投与し, 腫瘍発生に及ぼす影響を検討した。

【実験材料および方法】5週齢の雌シリアンハムスター120匹を6群に分け, 第1~3群(各30匹)に20mg/kg体重のBOPを1週間に1回, 計2回背部皮下に投与し, 第4~6群(各10匹)はBOP処置を行なわなかった。その後, 第1および4群には1.0%アロエ凍結乾燥粉末, 第2および5群には0.5%アロエ凍結乾燥粉末, 第3および6群には基本食を40週間与えた。

【結果】膵腺癌の発生率は, 第1群では90.0%, 第2群では93.1%, 第3群では86.2%であり, 動物当たりの平均病変数(多発性)は第1群では1.56±1.00個, 第2群では1.58±0.86個, 第3群では1.72±1.22個であった。異形成の発生率は, 第1群では33.3%, 第2群では51.7%, 第3群では55.1%で, 多発性は第1群では0.56±0.93個, 第2群では1.13±1.66個, 第3群では0.86±1.125個であり, 膵腺癌と同様に軽度の抑制傾向を示すのみであった。その他に, 肉眼的に肺, 肝臓, 胆嚢および腎臓に腫瘍性病変の発生が認められたが各群間に有意差はなかった。

【まとめ】ハムスターBOP膵発癌モデルにおいてキダチアロエをポストイニシエーションの時期に投与した結果, 明らかな抑制効果を認めなかった。

○武藤幸子、上塚浩司、中山裕之、土井邦雄（東大・獣医病理）

Fusarium属の真菌により産生されるT-2トキシン（T-2）はリンパ系および造血器系組織に細胞毒性を示すことが知られている。今回、我々はCCI₄誘発肝病変のT-2投与による修飾をしらべ、T-2が肝細胞増殖に及ぼす影響を検討した。

〔材料と方法〕5週齢のICR雄マウスにCCI₄（1 ml/kg）を経口投与し、2日後にT-2（2 mg/kgまたは4 mg/kg）を経口投与した。CCI₄投与1日後（D1）～D7に肝臓を採材し、HE染色による病理組織学的検討を行った。またPCNAおよびconnexin32に対する抗体を用いた免疫染色を行った。アポトーシスの検出にはTUNEL法を用いた。

〔結果と考察〕T-2群、対照群ともにD1からCCI₄に起因する小葉中心性の凝固壊死が認められ、D4からは修復反応がみられた。D3では両群の病変に程度の差を認めなかったが、D4とD5ではT-2群で病変修復が遅延する傾向が認められた。PCNA陽性細胞は両群でD1、D2に多数認められたが、D3以降激減した。TUNEL陽性細胞は両群でD1に多数認められたが、D2以降ほとんどみられなかった。connexin32陽性細胞はD1～D2で減少し、その後増加したが、両群で明らかな差を認めなかった。以上の結果からCCI₄による肝壊死巣の修復がT-2投与によって遅延することがわかった。現在、より詳細な解析を行っている。

○清水洋子、上塚浩司、中山裕之、土井邦雄（東大・獣医病理）

Mini ratは、アンチセンス遺伝子導入により成長ホルモンの合成が抑制されたトランスジェニック動物である。今回は、CCI₄投与による肝障害をMini ratとその由来系統であるWistar ratとで比較検討を行なった。

〈使用動物〉 Mini rat ♂ 6週齢、 Wistar rat ♂ 6週齢

〈方法〉 CCI₄を0.5mg/kg b.w.で経口投与し、6、12、24、36、48、72、96時間後に3匹ずつ安楽殺し、肝を採取した。パラフィン切片でHE染色による組織検索と、BrdU、PCNA、およびCYP2E1に対する免疫染色を行なった。BrdUは安楽殺の1時間前に100mg/kg b.w.で腹腔内投与した。また、肝の一部分からtotal RNAを精製して、TGF-β1とHGFについてcompetitive RT-PCRを行なった。

〈結果〉 Wistar ratでは36時間後をピークとする小葉中心性の脂肪変性が見られたのに対し、Mini ratでは36時間後をピークとする小葉中間帯の脂肪変性に続いて72時間後に小葉中心性の脂肪変性が観察された。PCNAおよびBrdU染色では、分裂活性を示す肝細胞の比率とその経時的変化に両系統間で差が認められた。CYP2E1の免疫染色では、肝小葉内の分布に差は見られなかった。また、HGFおよびTGF-β1の肝内mRNAの定量では、HGFではピークに時間的な差が見られ、TGF-β1では量的に差が見られた。

〈考察〉 Mini ratとWistar ratの間でCCI₄誘発急性肝病変の進行動態が異なる事が示された。この原因の一つとして増殖因子の関与が考えられる。また、CCI₄の代謝に関わるCYP2E1については両系統間で発現量に差が見られるという報告があるため、これらの関連についてはさらに検討を続けたい。

P-25 メタピリレン混餌投与マウスにおける肝臓の病理形態学的変化

○小笠原裕之、武田和典、臼井功二、小林裕幸、藤井久子、笛木 修、村田晃子、高木英利、
田内清憲、堤 雅弘¹、小西陽一¹ (日本レダリー・医薬研、¹奈良医大・腫瘍病理)

【はじめに】 Methapyrilene hydrochloride (以下 MP) はヒスタミン H₁ 受容体拮抗作用を有し、1970 年代抗アレルギー剤として欧米で使用されていた大衆薬である。1980 年にラットにおいて肝発がん性が指摘され市場からは撤退したが、ラット特異的非遺伝毒性肝発がん物質としての発がん機序は現在でも明らかではない。近年 ICH ガイドラインに短・中期のがん原性試験代替法の有用性が提示され、これら試験法のバリデーションの一環として行われている ILSI-HESI 国際共同研究の対象化合物に MP が採用されている。今回、がん原性試験代替法の候補の1つである *rasH2* トランスジェニックマウスの 26 週間がん原性試験の用量設定試験として、その wild type である CB6F₁ マウスを用いて 4 週間混餌投与試験を実施したので、肝臓等の病理形態学的検索を中心に報告する。

【実験材料及び方法】 6 週齢 CB6F₁ 雌雄マウス(日本クレア)各群 6 例に、800、2000、5000ppm の濃度の MP を 4 週間混餌経口投与した。陰性対照群には基礎粉末飼料を与えた。投与期間中は体重、摂餌量を測定、投与期間終了時に血中 ALT、AST 等の測定を行った。さらに、心臓、肝臓、腎臓等の重量を測定し、全身器官・組織について病理組織学的に検索した。5000ppm 群及び対照群全例の肝臓については抗 PCNA 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。

【結果及びまとめ】 5000ppm 群では投与開始から1週間後まで体重減少が、それ以後に体重増加抑制が雌雄ともに見られ、投与期間終了時には基礎飼料群と比較して約 10%の低値を示した。血中 ALT、AST 及び AIP 値の増加が 5000ppm 群に、肝臓重量増加及び肝細胞肥大が 2000ppm 以上の群に、胆管上皮細胞増生が 5000ppm 群にみられ、さらに 5000ppm 群には肝細胞及び胆管上皮細胞の PCNA 陽性像の増加が認められた。これらの変化はいずれも軽度であり、器質的に明らかな傷害像は観察されなかったものの、MP 投与により肝逸脱酵素の血中への遊離や肝実質細胞の増殖活性が高まっていることが示された。ラットの肝臓においては MP 混餌投与により明らかな傷害性変化とともに、高い増殖活性を示すことが報告されており、今回、MP 投与時の肝臓の変化における種間差についても合わせて報告する。

P-26 ジョサマイシンのラットへの 52 週間投与による組織学的変化

○笠原健一郎¹、西川秋佳¹、古川文夫¹、池崎信一郎¹、田中丸善洋¹、李 仁善^{1,2}、
今沢孝喜¹、高橋道人¹、広瀬雅雄¹(¹国立衛研・病理、²韓国啓明大・食品加工)

【はじめに】 マクロライド系抗生物質であるジョサマイシンはマイコプラズマ感染症の治療薬として、ヒトへの臨床適用のほか、主としてブタ、ニワトリ、ブリなどの動物用医薬品として飼料中に添加されることがあり、食肉中への残留の可能性がある。今回、ラットを用いた本剤の慢性毒性試験を実施したので報告する。

【材料および方法】 5 週齢の F344 ラット雌雄各 50 匹を 5 群に分け、2.5%、0.5%、0.1%、0.02%、0%(対照群)のジョサマイシンを 52 週間混餌投与した。投与終了後、生存動物を屠殺、剖検し、常法に従い病理組織学的に検索した。

【結果】 2.5%投与群では雌雄共に有意な体重増加抑制がみられたが、摂餌量の推移は対照群と同様であった。また雌雄いずれの投与群においても死亡例はみられず、投与終了時まで全ての動物が生存した。肉眼的に軽度の盲腸拡張が雄では 0.1%、雌では 0.5%から観察されたが、その他には本剤に起因する変化は認められなかった。

組織学的に、雌の肝臓では 2.5%投与群において軽微な胆管の増生が観察され、対照群に比しその発生例数において有意な増加が認められた。一方、0.1%以上の投与群において好塩基性細胞巣が用量相関性に減少した。盲腸では雌雄いずれにおいても組織学的所見は認められなかった。その他、甲状腺における C 細胞過形成、精巣の間細胞腫および中皮腫、卵巣嚢水腫等が散見されたが、その発生状況において投与群と対照群との間に差は認められず、本系統ラットに好発する加齢性病変と判断された。

【結論】 ジョサマイシンを 2.5%、0.5%、0.1%、0.02%の濃度で F344 ラットに 52 週間混餌投与した結果、雌の肝臓においてその影響が観察された。すなわち、2.5%投与群では胆管増生が増加し、被験物質による胆道系への影響が示唆された。一方、0.1%以上の投与群において好塩基性細胞巣が用量相関性に減少し、その抑制作用が示された。

P-27 ラットのブタ血清誘発肝線維症におけるマクロファージ及び伊東細胞の動態

○仲辻俊二, 中村正典, 島山真理子, 滝岡恵里子, 森元康夫¹
(鐘紡・薬品研究所,¹同・漢方研究所)

慢性肝疾患の実験モデルやヒトの肝線維症ではマクロファージにより産生される種々のサイトカインが伊東細胞を活性化(筋線維芽細胞)し線維化を進行させることが示されている。演者らは昨年の本学会でラットにブタ血清(PS)を8週間投与し肝線維化に一致してマクロファージと筋線維芽細胞が増加することを報告した。今回、PSを長期間投与(16週間)した肝線維症モデルにおけるマクロファージ及び筋線維芽細胞の動態について経時的に観察した。[材料・方法] 8週齢のWistar系ラットにPSを週2回16週間腹腔内投与し、PS投与2, 4, 6, 8, 12及び16週にエーテル麻酔下に採血後肝臓を摘出した。対照群として無処置の同週齢ラットを用いた。肝臓は10%中性緩衝ホルマリン及びメタノールカルノアで固定後、常法に従ってパラフィン切片を作製し、HE及びアザン染色に加えて、ED1(浸潤マクロファージ)、ED2(Kupffer細胞)及び α -平滑筋アクチン(筋線維芽細胞)抗体を用いた免疫染色を行った。また、肝組織中のヒドロキシプロリンを測定するとともに画像解析により線維化領域を計測した。[結果] PS投与2及び4週では中心静脈域で肝細胞の変性と壊死がみられたが線維化は認められなかった。線維化はPS投与6週より観察され、その領域は8週で顕著に増加したが、以後はPS投与により線維化は緩やかに進行し、16週ではその程度はほぼ定常状態を示した。浸潤マクロファージは主に中心静脈域に出現し、その数はPS投与8週で最大となったが12週以降では減少した。筋線維芽細胞は中心静脈域と門脈域との間の架橋した線維化領域に沿って認められ、その数はPS投与8週で最大となったが12週以降では浸潤マクロファージと同様に減少した。Kupffer細胞数はPS投与4週から増加し始め12週まで増加したが16週では減少した。[まとめ] ラットPS誘発肝線維症モデルでは、線維化の初期では肝細胞傷害に反応して現れた浸潤マクロファージ及び筋線維芽細胞の発現が線維形成に関係していること、一方、後期ではこれらの細胞に加えて、他の要因(細胞外マトリクス代謝の不均衡など)が線維化の進展に関与している可能性が示唆された。

P-28 乳酸鉄を混餌経口投与したラットの肝臓および腎臓の超微形態像

○尾崎清和, 松嶋周一¹, 松浦哲郎, 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すると好酸球性胃腸炎や胃病変が誘発されることを報告してきた。ヒトのヘモクロマトーシスでは肝硬変や肝癌をはじめ脾臓、心臓、精巣などへの鉄の過剰沈着を併発することが知られていることから、ラットの誘発性負荷ではこれらの臓器の病変が注目を集めている。乳酸鉄の混餌投与では肝細胞、尿管上皮細胞、腸管上皮細胞内の鉄沈着とGOT, GPT, BUN, クレアチニンの上昇が確認されたかを、その他の臓器ではマクロファージへの鉄沈着はあったが実質細胞には認められなかった。そこで今回は13週間投与したラットの肝臓および腎臓病変を超微形態学的に検討した。

材料及び方法: 乳酸鉄(乳酸第一鉄、武蔵野化学)を5%となるように混合した粉末飼料(CRF-1)を5週齢の雄雌の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、組織学的検査に加えて、肝臓および腎臓を超微形態学的に検索した。

結果: 肝臓では小葉辺縁帯を中心とした肝細胞に電子密度の高い顆粒を多量に容れたリソソーム(光顕的に鉄反応陽性の顆粒)が軽微慢性に認められた。リソソームの大きさは大小さまざまであり、大部分が電子密度の高い顆粒が充満していたが時折低電子密度の顆粒や空胞も存在した。また、リソソームを多量に保有する肝細胞ではリソソーム内に膜状の構造や変性した細胞内小器官が散見されることもあった。肝細胞以外では小葉辺縁帯のクッパー細胞やグリソン鞘内に浸潤したマクロファージが多数のリソソームを蓄積していた。これらの細胞のリソソームは肝細胞に比して大型でかつ多様な形状を呈したが、壊死した肝細胞の処理像と考えられるリソソームは認められなかった。腎臓では近位尿管のリソソーム内に電子密度の高い粗大顆粒を少量含む程度で、細胞内小器官の破壊や細胞壊死は見られなかった。

考察: 肝細胞における膜状の構造をもつリソソームや変性した細胞内小器官は、鉄による細胞障害性の形態学的証拠のひとつと考えられた。しかし、その程度は軽微で小葉辺縁帯のクッパー細胞に壊死した肝細胞の処理像は存在しなかった。また、尿管では鉄沈着が存在したが、BUNやクレアチニンの上昇を裏付ける細胞障害性は認められなかった。

P-29 Clofibrate による雄ラット肝臓のペルオキシゾーム増生に対する monosodium glutamate の抑制作用

○矢本敬, 五十嵐功, 渡辺稔之, 緒方聖也, 石川加代子, 牧野俊彦, 真鍋淳 (三共・安全研)

【目的】Monosodium glutamate(MSG)を新生雄ラットに高量投与すると, 成長ホルモン(GH)の分泌抑制を惹起し, その結果肝臓中薬物代謝酵素プロファイルが雄型から雌型へと変動する. ペルオキシゾーム増生剤に対するラット肝臓の反応には性差があり, 雄で強く変化が発現する. 今回, clofibrate(CPIB)投与時の雄ラット肝臓の変化に対する MSG 前処置の影響を検討した.

【材料および方法】MSG 処置群には F344 雄ラットを用い, 生後 1 日目より MSG(4 g/kg)を一日おきに 5 回投与した. その後, 18 週齢時より CPIB(0, 200 mg/kg)を 14 日間反復経口投与した. MSG 無処置群として 18,あるいは 19 週齢の雌雄 F344 ラットに CPIB を同様に投与した. 投与終了後, 血液生化学的検査, 肝薬物代謝酵素測定, 病理組織学的検査(光顕, 免疫組織化学, 電顕)を実施した.

【結果および考察】MSG 処置群の最終体重が, 無処置群の 60~70%であったこと, Western blotting および免疫組織化学的染色で雄特異的 P450 である CYP2C11 の減少が MSG 処置群で認められたことから, MSG 投与により GH 分泌が抑制されたものと判断した. CPIB 投与による肝重量の増加, 血清総コレステロールおよびトリグリセリドの低下, ペルオキシゾーム増生が認められたが, 変化の程度は MSG 処置群では無処置群の雄よりも軽度であり, 無処置群の雌と同程度であった. P450 の誘導, CYP4A 量の増加, 滑面小胞体の増生は無処置群の雄では, 明らかであったが, MSG 処置群および無処置群の雌ではごく軽度であった. MSG 処置により雄ラットの CPIB に対する反応が減弱したことは, GH 分泌抑制に基づく薬物代謝酵素プロファイルの雌型化に起因するものと考えられ, 雄では GH が CPIB の感受性を亢進させていることが示唆される.

P-30 ラット肝臓切片における cytochrome P450 アイソザイムの半定量化

○藤村久子, 三輪恵子, 山田泰弘, 倉部道恵, 宮崎登志子, 川合是彰 (田辺製薬・創薬研)

【緒言】薬物によって異なった種類の cytochrome P450 アイソザイムが誘導されることはよく知られている. 一般にアイソザイムの定量は Western blot 法によっておこなわれているが, ミクロゾーム画分の調製等煩雑な操作が必要で毒性試験で繁用されるには至っていない. そこで本研究ではアイソザイムの組織内分布の変化を調べると同時に, 迅速に量的変動を検索することを目的として, 蛍光抗体法によりラット肝臓における各種アイソザイムを染色し, 共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて半定量化を試みたので報告する.

【材料と方法】6 週齢の雄 SD ラットを用い各群 3 匹とした. 1 群; 飲水投与対照, 2 群; 5% acetone 飲水投与, 7 日間, 3 群; 4 群の溶媒対照 (corn oil), 4 群; 3-methylcholanthrene (3-MC), 25mg/kg, 腹腔内投与, 3 日間, 5 群; 6,7 群の溶媒対照 (生理食塩水), 6 群; phenobarbital (PB), 80mg/kg, 腹腔内投与, 3 日間, 7 群; dexamethasone (DX), 30mg/kg, 腹腔内投与, 3 日間. 肝組織の未固定凍結切片を作製し, CYP 1A1, 2B1, 2C11, 2E1 および 3A2 を間接蛍光抗体法で染色した (一次抗体; 第一化学薬品). 中心静脈を中央に 1 個体から 6 視野をレーザー走査顕微鏡で取り込み, その蛍光輝度の平均を測定した. なお, レーザー走査顕微鏡を使用することにより, 切片の厚さに関係なくある一断面を走査して, 蛍光の強さおよび陽性面積の総和をデジタル信号として測定できる.

【結果】acetone で CYP2E1 および 2B1 が, 3-MC で CYP 1A1 が, PB で CYP 2B1 が有意に増加しており, 各々陽性域は中心静脈周囲から辺縁へ拡大していた. 半定量化の方法についてはまだ検討の余地があるが, 蛍光抗体法とレーザー走査顕微鏡を組み合わせることにより, cytochrome P450 アイソザイムの組織内分布の変化と量的変動を同時に検索できる可能性が示された.

P-31 PhIP のラット薬物代謝酵素誘導における抗酸化剤 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone 併用投与の影響

○ 渋谷 淳、畝山智香子、豊田和弘、宮崎恵子、田村 啓、広瀬雅雄（国立衛研・病理）

【目的】我々は先に、抗酸化剤である1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone(HTHQ)がヘテロサイクリックアミンPhIPにより誘発されるラット大腸の腫瘍発生とDNA付加体形成を抑制すること、更に cell-freeの実験で、HTHQ が CYP1A1, CYP1A2のそれぞれの活性指標であるEROD、及び MRODの両活性とも顕著に阻害したことから、大腸発癌抑制が薬物代謝酵素の誘導阻害による可能性を見出した。そこで、ラットにPhIPとHTHQを同時投与し、肝臓と共にPhIPの発癌標的である大腸、前立腺における薬物代謝酵素誘導に対する影響を検索した。

【材料及び方法】6週齢の雄F344ラットを用い、0.03% PhIP含有食投与群、0.5% HTHQ含有食投与群、0.03% PhIP+ 0.5% HTHQ含有食投与群、及び基礎食のみの対照群の、計4群を設定した(各群5匹)。投与期間を2週間とし、投与終了後エーテル麻酔下で動物を屠殺し、生理食塩水による全身灌流後、肝臓、結腸/直腸粘膜及び前立腺を採取した。これら各組織につきマイクロソーム画分を調製し、Western blotting にてCYP1A1/2, CYP2B1/2, CYP2E1, CYP3A2, CYP4A1, P450 reductaseの発現量を定量すると共に、実際の酵素活性として7-ethoxycoumarine deethylase (7-ECDE) 及び aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH)の活性を測定した。

【結果及び考察】肝臓のP450分子種の発現に関しては、対照群に比べPhIP群ではCYP3A2の軽度の減少以外は明らかな変動を認めなかった。一方、HTHQ群ではCYP1A2と2B1、PhIP/HTHQ群ではCYP1A2、2B1及び2B2の発現が明らかに増加していた。そのほか肝における軽度の変化として、PhIP/HTHQ群でCYP2E1の増加とAHH活性の低下、PhIP群でAHH活性の低下、HTHQ群でP450 reductaseの減少が認められたが、大腸及び前立腺においてはいずれの酵素も検出限界以下であった。以上より、動物を用いた *In vivo* の実験では、PhIPには明らかなP450分子種誘導作用を認めず、また cell-freeの実験結果とは異なり、HTHQ自身による肝P450分子種誘導作用が明らかとなった。

P-32 BHA および PB 投与によるラット肝細胞増殖活性の変化

○ 牧野俊彦、緒方聖也、石川加代子、真鍋淳、矢本敬（三共・安全研）

【目的】Phase II 酵素誘導剤である *t*-butylated hydroxyanisole (BHA) および *trans*-1,2-bis(2-pyridyl) ethylene (2PY-e) をラットに 7 日間投与すると肝細胞肥大を伴わない肝肥大が惹起され、腫瘍マーカーの一つである GST Yp が BHA では肝小葉辺縁部、2PY-e では肝小葉中心部に誘導される。しかし、BrdU 標識を用いて肝細胞の増殖活性を調べると、2PY-e では肝小葉中心性に増殖活性が増加していたのに対し、BHA では対照群と差が認められなかった(第 124 回日本獣医学会)。今回、投与初期における BrdU 標識を行い、BHA 投与による肝細胞増殖活性の変化について検討した。

【材料および方法】11 週齢の雄 F344 ラットに BHA を 0.7%あるいは PB を 0.08%の割合で粉末飼料に混合し、3 日間および 7 日間与えた。解剖前 3 日目に BrdU を入れた浸透圧ポンプを背部皮下に移植して S 期細胞の標識を行った。投与期間終了後肝臓を摘出、パラフィン切片を作製し、抗 BrdU 抗体を用いた免疫組織化学的染色を実施した。肝細胞の BrdU 標識率は肝小葉中心部と辺縁部に分けて算出した。

【結果】投与後 1~3 日の標識率は BHA および PB 投与群ともに対照群に比べて有意な増加が認められた。また、BHA 投与群では肝小葉辺縁部、PB 投与群では肝小葉中心部で高い標識率を示した。投与後 5~7 日の標識率は BHA 投与群では対照群とほとんど差が認められなかったが、PB 投与群では対照群に比べ有意な増加が認められ、肝小葉辺縁部よりも中心部で高い標識率を示した。

【まとめ】以上のことから、BHA では投与開始 1~3 日で肝細胞の増殖活性が著しく上昇するが、その上昇は一過性のものでその後すぐに増殖活性は正常レベルに戻ることが明らかとなった。一方、PB では比較的長期間増殖活性が維持されることが示唆された。

○岩井秀司¹、鰐淵英機¹、市原敏夫¹、堀 高明¹、中江 大²、小西陽一²、福島昭治¹

(¹大阪市大・医・1病理、²奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

【目的】F344ラットに対するMeIQxの肝発癌性については、低用量域で実際上の無作用量域があることを我々は以前に報告した。本実験では系統の異なるBNラットを用いて、無作用量域の有無を検索し、同時にMeIQxに対する感受性の差異を検討した。

【方法】21日齢の雄性F344ラット180匹と同じくBNラット180匹を用い、それぞれ0、0.1、1、5、10、100ppmの濃度のMeIQxを16週間連続投与し、肝前癌変化の指標であるglutathione S-transferase胎盤型(GST-P)陽性細胞巢の発生、MeIQx-DNA付加体形成、8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)レベルを検索した。

【結果】GST-P陽性細胞巢の発生個数は両系統において5ppm以下では対照群と比較して有意差を認めなかったが、10ppm以上では用量相関性に増加していた。MeIQx-DNA付加体形成は両系統において0.1ppmの低濃度域から用量相関性に増加していた。8-OHdGレベルはF344ラットにおいては用量相関性に増加していたが、BNラットでは各群における有意差はみられなかった。

【考察】MeIQxのラット肝発癌性に対する無作用量域は、F344ラットばかりでなく系統の違うBNラットにおいても認められることが判明した。

○村井 隆^{1,2}、細野素子²、高嶋 彰²、森 聖¹、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】癌の転移機構解析についての研究や転移を抑制する薬物の開発に際し、より単純な処置で短期間に転移を誘発する発癌モデルの確立が待望されている。そこで今回、塩野義製薬油日ラボラトリーズ(油日ラボ)で育成されている純系ラットであるWS/ShiとSD/gShiラットのN-nitrosomorpholine(NNM)肝発癌に対する感受性を検討するとともにその転移能について検索した。

【材料および方法】動物はWS/ShiおよびSD/gShi雄性ラットを1週間以上の予備飼育後、6週齢で用いた。これらのラットに0.02%NNM水溶液を8週間投与した後、12週間休薬した。試験開始より20週目で、エーテル麻酔により動物を屠殺し、肝の腫瘍および転移を病理組織学的に検索した。【結果】実験終了時の生存率と平均生存日数はWS/ShiおよびSD/gShiラットでそれぞれ4/16(25%)と109日および14/16(88%)と140日であった。計画屠殺時における体重100gあたりの肝の平均相対重量値(g)はWS/ShiおよびSD/gShiラットでそれぞれ、16.6および3.9であった。肝癌と肺転移の発生率はWS/Shiでは16/16(100%)と15/16(94%)と極めて高率であったが、SD/gShiでは1/16(6%)と1/16(6%)と低率であった。肝癌と肺転移の平均誘発日数はWS/ShiおよびSD/gShiラットでそれぞれ109日と109日および135日と135日であった。【結論】雄性WS/ShiラットへのNNM投与は肺転移を伴う肝癌を高率に発生し、しかも転移の発生期間が短いことから、転移好発の肝癌モデルとして極めて有用であることが明らかとなった。

P-35

柑橘類に含まれるaurapteneの、diethylnitrosamineおよびコリン欠乏アミノ酸食によるラット肝発癌に及ぼす影響

○楠岡 修、中江 大、赤井弘幸、堀口浩資、田村一利、榎並倫文、辻内俊文、堤 雅弘、傳田阿由美、小西陽一(奈良医大・がんせ・腫瘍病理)

柑橘類に含まれるaurapteneは、マウス皮膚癌およびラット大腸癌を抑制すると報告されているが、肝発癌に及ぼす影響についての検索は為されていない。本研究は、aurapteneのラット肝発癌に及ぼす影響を、強力な肝発癌物質であるdiethylnitrosamine(DEN)による外因性実験系と、活性酸素の関与の下で既知の発癌物質の非存在下に高率に肝発癌を発生せしめるコリン欠乏アミノ酸(CDAA)食による内因性実験系を用いて検索した。

実験は、6週齢のFischer 344系雄ラット60匹を用いて行った。外因性実験系は、体重kg当たり200mgのDENを1回腹腔内投与後3週に部分肝切除を施行する系で、2週よりauraptaneを0, 0.01, 0.02, 0.05%の濃度で飼料に混じて投与し、8週にて屠殺した。内因性実験系は、CDAA食にaurapteneを同様に混入し、12週間の投与後、屠殺した。摘出した肝は、病理組織学的に検索すると共に、免疫組織化学的に胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST-P)陽性前癌病変の数と大きさ、apoptosisの指標である抗single-stranded DNA抗体(ssDNA)標識率およびPCNA標識率を、定量的に検索した。

Aurapteneは、DENにより発生したGST-P陽性病変の個数を用量依存性に減少せしめ、病変の大きさとssDNA標識率には影響せず、0.02%以上にてPCNA標識率を増加せしめた。これに対し、aurapteneは、CDAA食により発生したGST-P陽性病変の個数を増加せしめ、その大きさには影響しない一方、この病変の内部において、ssDNA標識率を用量依存性に減少せしめると共に、0.02%以上でPCNA標識率を増加せしめた。

Aurapteneは、DENによる外因性ラット肝発癌系においてGST-P陽性病変の発生を抑制したが、CDAA食によるラット肝発癌系においてはGST-P陽性病変の発生をむしろ促進せしめた。後者の促進効果は、前癌病変内におけるapoptosisの抑制と細胞増殖の増強に起因するものと示唆された。

P-36

ラット中期肝発癌性試験を用いた Dichlorvos の肝発癌修飾作用の検討

○吉野裕子^{1,2}、佐野真士^{1,2}、萩原昭裕¹、玉野静光¹、今井田克己²、伊東信行³、白井智之²
(¹大雄会医科研、²名市大・医・1病理、³名市大)

中期肝発癌性試験法(伊東法)を用いて、非肝発癌物質で有機リン系農薬であるdichlorvos(DDVP)の肝発癌修飾作用の有無を検討した。【方法】各群15匹の6週齢F344雄ラットにN-nitrosodiethylamine(DEN)を200mg/kgの用量で1回腹腔内に投与し、その2週間後よりDDVPを1,4および8mg/kg/dayの用量で6週間、5日/週、胃内投与し、実験開始8週間後に屠殺剖検した。対照群には溶媒であるコーンオイルを経口投与し、陽性対照群としてSodium phenobarbital(S.PB)を500ppmの濃度で混餌投与した。また、各群10匹でDEN無処置のDDVP,8mg/kgおよび溶媒投与群も設けた。なお、実験開始3週間経過時に全動物について2/3肝部分切除術を施行した。【結果】体重の有意な高値をDEN処置のDDVP,8mg/kg群において第8週に認めた。血清コリンエステラーゼ活性では、DEN投与の有無にかかわらず、全てのDDVP投与群において、それぞれの対照群と比較して活性値の低下を示し、統計学的に有意差を認めた。肝臓重量では、DEN処置の4,8mg/kg群およびDEN無処置の8mg/kg群においてそれぞれの対照群と比較して、絶対および相対重量ともに有意な高値を認めた。GST-P陽性細胞巢の発生は、DEN処置のDDVP投与各群において単位面積当たりの個数および面積はいずれも対照群と同等の値であった。一方、S.PB群では肝臓重量の有意な増加およびGST-P陽性細胞巢の個数および面積の有意な増加を認めた。なお、DEN無処置の各群ではGST-P陽性細胞巢の発生を認めなかった。【結論】DDVPは肝前癌病変の発生に対してプロモーション作用を示さず、肝発癌性を示さないことが確認された。

○五島英雄¹、広瀬雅雄²、高橋智¹、小川久美子¹、加藤俊男¹

白井智之¹ (¹名市大・医・1病理、²国立医衛研・病理)

【緒言】1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone (HTHQ)は抗酸化剤であり、ヘテロサイクリックアミンによる発がんを強力に抑制する。また、フェノール系抗酸化剤の中にはアミンと亜硝酸によるニトロソ化を抑制するものがある一方で、亜硝酸との同時投与により前胃に発がん性を示すものもある。そこで今回は、Aminopyrine (AP)、NaNO₂、HTHQ を単独あるいはそれらを組み合わせて投与し、生体内合成されるニトロサミンによる発がんに対する HTHQ の抑制効果および HTHQ と NaNO₂ による前胃発がんの可能性について、ラット中期多臓器発がんモデルを用いて検討した。

【方法】各群 20 匹の 6 週齢雄性 F344 ラットに DEN、MNU、BBN、DMH および DHPN で 4 週の間イニシエーションを行い、1 週間後より AP と NaNO₂ はそれぞれ 0.05% の濃度で飲料水中に、HTHQ は 0.25% の濃度で飼料中に混じて、それぞれ単独あるいはそれらを組み合わせて投与し、全経過 30 週で屠殺剖検した。

【結果】AP + NaNO₂ 群では肝細胞腺腫が 95%、腎細胞癌が 25% 発生したが、HTHQ を同時投与するとそれぞれ 58%、0% に減少した。また、HTHQ の同時投与により肝臓における GST-P 陽性細胞巢の面積も減少した。一方、NaNO₂ と HTHQ を同時投与した群において、前胃に扁平上皮乳頭腫および扁平上皮癌が増加した。

【結論】HTHQ は AP と NaNO₂ による肝細胞腺腫および腎細胞癌の発生を抑制し、ニトロサミン生成の阻害が示唆された一方、HTHQ と NaNO₂ の同時投与では他のフェノール系化合物と同様に、前胃に対し発がん性を示す可能性が明らかとなった。

○木本直哉¹、広瀬雅雄²、河部真弓³、小木曾正¹、杉浦諭¹、金枝純⁴、佐藤利夫⁵、白井智之¹

(¹名市大・医・1病理、²国立衛研・病理、³大雄会医科学研究所、⁴アビ株式会社、⁵徳島文理大・薬)

【目的】蜂の巣より抽出された健康補助食品であるプロポリス(水、エタノールあるいは超臨界抽出物)のラット諸臓器に対する発がん修飾作用を検討した。

【材料および方法】6 週齢の F344 雌ラットに DMH、DHPN、DMBA および BBN でイニシエーション処置を行った後、水、エタノールあるいは超臨界抽出プロポリス(0.1%あるいは0.01%)を 36 から 40 週間混餌投与した。実験終了後、屠殺剖検し乳腺、大腸、肺、膀胱、肝臓、腎臓、甲状腺、および外耳道腺について組織学的検査を実施した。また、水およびエタノール抽出プロポリスについては中期肝発癌試験法で、肝発癌に対する修飾作用も検討した。

【結果】超臨界抽出プロポリス投与群では、乳癌の発生率及び 1 匹当たりの発生個数が、0.1%プロポリス投与群でそれぞれ 57%、0.6 個、0.01%プロポリス投与群でそれぞれ 52%、0.7 個と、イニシエーション単独群の 86%、1.6 個と比較し有意に減少した。乳癌の抑制傾向は水およびエタノール抽出プロポリス(0.1%)投与群でも認められた。また、水、エタノールおよび超臨界抽出プロポリス(0.1%)は、肝臓の GST-P 陽性細胞巢の単位面積あたりの数および面積を有意に増加させた。その他の臓器に対する明らかな発がん修飾作用は見られなかった。

【結論】プロポリスはその抽出法に係わらず、乳癌の発生を抑制する一方、高濃度投与では、肝発癌に対して促進的に作用する可能性のあることが示唆された。

P-39 ラット肝中期発癌試験法（伊東法）を用いた α -benzene hexachloride (α -BHC) の発癌修飾作用の検討

○榊田周佳、鰐淵英機、市原敏夫、須方督夫、福島昭治
（大阪市大・医・1病理）

【目的】有機塩素系の農薬の1つである α -BHCはラットおよびマウスにおける肝発癌性のため使用が禁止されたが、現在も食物や環境中に微量ながら存在している。今回、 α -BHCの低用量における発癌修飾作用について肝中期発癌試験法（伊東法）を用いて検索を行った。【方法】6週齢の雄性F344ラットを195匹用い、実験開始時にDiethylnitrosamine(DEN)を200mg/kg腹腔内投与し、2週目より500, 125, 60, 30, 15, 7.5, 4, 2, 1, 0.5, 0.1, 0.01, 0ppmの濃度で α -BHCを基礎粉末飼料に混ぜて投与し、3週目に2/3肝部分切除術を施行した。8週目に肝を摘出し、glutathione S-transferase placental form (GST-P)の陽性細胞巢を免疫染色、およびCYP2B1、CYP3A2の蛋白定量をwestern blotting、および蛋白活性をtestosterone hydroxylation assayにて測定した。

【結果】 α -BHCの0.1および0.01ppmの低用量においては前癌病変の指標であるGST-P陽性細胞巢の面積、個数が対照群に比して減少しており、CYP3A2の蛋白量および活性も同様に低下していた。また、高用量においては用量相関性をもってGST-P陽性細胞巢の増加が見られた。【考察】 α -BHCのラット肝発癌作用には閾値の存在の可能性が示唆された。

P-40 マウス肝二段階発がんモデルを用いたベンゾクロフェノール(PCP)のイニシエーション及びプロモーション作用の検討

○梅村隆志、佐井君江、長谷川隆一、黒川雄二、*Gary M. Williams (国立衛研・安全セ・毒性、*American Health Foundation, U.S.A.)

木材の防腐剤として使用されていたベンゾクロフェノール(PCP)はマウスの肝臓に発がん性を有しており、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ている。我々は第12回本学会において、マウス肝二段階発がんモデルを用いたPCPのプロモーション作用について報告した。今回、同時に実施したイニシエーション作用についての結果を併せて報告し、PCPの肝発がん機構について考察する。【方法】雄5週齢のB6C3F1マウスを用い、PCPは飼料に混じて、フェノバルビタール(PB)及びジエチルトリアミン(DEN)は飲水に混じて投与した。1から3の各群5匹には基礎食及びPCPを300及び600ppmの濃度で8週間投与し、肝DNA中の8-OHdGレベル及び細胞増殖活性を測定した。さらに各群20匹を用いて、4から6群にはそれぞれ、実験期間42週間を通じて基礎食のみ、PCP600ppmを実験開始17週目より、フェノバルビタール(PB)500ppmを実験開始13週目より実験終了まで投与した。7から10群にはそれぞれ、ジエチルトリアミン(DEN)20ppmを13週目まで投与した後、基礎食のみ、及び4週間の休業後、PB500ppm、PCP300および600ppmを実験終了まで投与した。11から12の群にはそれぞれ、PCP600及び1200ppmを13週間投与後、PB500ppmを実験終了まで投与、13群ではPCP1200ppm13週間投与のみとした。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。【結果・考察】PCP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。肝二段階発がん試験の結果、DENのみを投与した群に比べて、DEN投与後PCPを投与した群で肝変異巣及び肝細胞腫瘍の発現率、1個体当りの個数の増加が認められた。一方、PCP投与後PBを投与した群ではPBのみを投与した群に比べて、肝変異巣の増加は観察されず、腫瘍の発生も認められなかった。PCPがラット肝には催腫瘍性を示さないことを考慮に入れると、PCPのマウス肝発がん過程には酸化ストレスに起因した細胞増殖活性の上昇がプロモーション作用として関与し、酸化DNA損傷それ自身はイニシエーションとして作用していない可能性が示された。

○後藤 和広, 土屋 毅幸, 望月 淳, 小林 潔, 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)

ペルオキシゾーム増生剤であるWy-14,643は、げっ歯類に高率に肝臓腫瘍を誘発することが知られている非遺伝子毒性発がん性物質である。今回、我々はラットにおいて、Wy-14,643により誘発された肝臓腫瘍の休薬による影響を検討した。

【材料および方法】6週齢の雄性 Fischer (F344/DuCrj) ラット 219 匹を用いた。Wy-14,643 を 100ppm の濃度で混餌投与し、休薬期間を設けた Wy-14,643 処置群として 144 匹、残りの 75 匹を無処置対照群とした。Wy-14,643 処置群は、38 週、44 週、52 週、78 週、104 週時に屠殺する動物と、78 週間投与後 1 週、4 週、13 週、26 週間の休薬を行う動物に振り分けた。屠殺・解剖時に、肉眼検査を行い、肝臓重量を測定した。現在、組織検査を実施中である。

【結果】肝臓重量は、Wy-14,643投与期間中、著しい高値を示したが、休薬により速やかな回復が認められた。肉眼検査において、対照群に肝臓結節は認められなかった。Wy-14,643投与期間中、38週時より肝臓結節が認められ、78週時には12例中10例に肝臓結節が認められ、 3.25 ± 1.58 個/匹 (Mean \pm S.D.) の結節数を示した。しかし、休薬 4週以降、肝臓結節の発生頻度および個体あたりの結節数は経時的に減少した (休薬26週: 0.23 ± 0.39 個/匹)。また、結節の退縮像と考えられる痕跡が認められた。なお、Wy-14,643を104週間投与した動物では全例に肝臓結節が認められ、結節数は 4.08 ± 1.17 個/匹であった。

【まとめ】Wy-14,643により誘発されたラットの肝臓結節は、休薬により著明に退縮することが確認された。本学会では、組織検査結果も含め、詳細に報告する。

○坂入鉄也, 小林 潔, 後藤和広, 杉本次郎, 務台 衛
(三菱化学・横浜総研・安全性研)

【目的】我々は'93年の本学会において、Diethylnitrosamine (DEN) によるイニシエーション、および Sodium Phenobarbital (PB) によるプロモーションからなる二段階発がん法により、B6C3F₁ マウスに肝芽細胞腫 (HB) が誘発されることを報告した。今回、同様の実験プロトコールにより誘発した HB より、新たに細胞株を樹立したので報告する。

【材料と方法】6週齢のB6C3F₁ 雄マウスに 80 mg/kg の用量で1回、DEN を腹腔内投与した。その後、PB を 500 ppmの用量で混餌投与し、DEN 処置後 50 週目に解剖を実施した。3例のマウスから肝臓に形成された白色結節を採取し、ディスペーゼによる分離後、各種増殖因子を含む10% 牛胎児血清含有 DMEM 培地を用いて、常法に従い 5% CO₂ インキュベーター内で静置培養した。電顕による超微形態学的観察に加え、6週齢の同系マウス、ヌードマウス、およびscidマウスを用いて造腫瘍性について検討した。

【結果と考察】3例のマウスから培養を試み、1例から株化に成功した*(MHB-1 株)。同細胞の原発巣は、紡錘形ないし立方型の腫瘍細胞が索状に配列し、時にロゼット形成を示すマウス HB の典型例であり、結節内に肝細胞癌組織は含まれていなかった。MHB-1 株は、培養皿上では、多くの突起を有する紡錘形ないし多角形の形態を示した。電顕的には不規則な核の切れ込みが頻繁に認められ、細胞質はリボゾームに富み、フィラメント状構造が散見された。細胞間にはまれにデスモゾームが観察された。造腫瘍性は陰性であった。本細胞はマウス HB の生物学的特性を解析するうえで有用な *in vitro* モデルと考えられる。現在、免疫組織学的特性、増殖因子に対する反応性について検討中であり、併せて報告したい。

P-43

マウス肝腫瘍における抗アンドロゲン療法の検討

○後藤孝彦, 中谷玉樹, 高橋忠照*, 殷 宏, 伊藤明弘
(広島大・原医研・予防腫瘍, 広島鉄道病院*)

本邦における肝細胞癌は罹患率, 死亡率ともいまだ上昇傾向にある. その治療は年々進歩し, 治療成績も向上しているが併存する肝障害, 高い再発率など多くの解決されない問題を抱えている. 一方, 本疾患は有意に男性に多く発症し, 性ホルモンおよびそれらのレセプターが肝癌の増殖に強く関与していると考えられている. 我々は前回の本総会で雌雄両性マウスに去勢術を行ってテストステロン (TST) を投与すると, 肝腫瘍の発生率, 平均腫瘍数が対照群と同等に回復することを報告した. 今回は肝癌における抗アンドロゲン療法の可能性を検討する目的で, diethylnitrosamine (DEN) 誘発マウス肝腫瘍を用いて, androgen receptor (AR) antagonistであるフルタマイド (FLT) の抑制効果および肝組織ARの反応性について検討した. [方法と結果] 雄B6C3F1マウスを使用. (1) 3週齢でDENを5 mg/kg b.w.腹腔内投与し, 1群は5週齢より通常食, 2群は5週齢より30週齢までFLT 0.5 mg/g含有食, 3群は18週齢より30週齢までFLT含有食を投与し52週齢で屠殺した. 各群の平均腫瘍数, 平均腫瘍径 (mm²) は1群: 25.4, 11.3, 2群: 13.8 (P<0.05), 7.5 (P<0.05), 3群: 18.4 (P<0.05), 5.4 (P<0.05) でFLT投与群で有意な腫瘍抑制効果を認めた. (2) FLTとTST投与による肝組織ARの反応性について検討した. 1群, 2群は6週齢でDENを腹腔内投与し通常食, FLT含有食を投与, 3群, 4群は6週齢で去勢術を行い1mg TST, 5 mg TSTペレットをそれぞれ皮下投与し, いずれも3週後に屠殺, 肝組織ARアッセイをデキストラン・チャコール吸着法で行った. 各群のfmol/mg prot. は1群: 11.1, 2群: 4.1 (P<0.01), 3群: 19.8 (P<0.05), 4群: 50.2 (P<0.01) でFLT投与群で有意なARの低下を認め, TST投与群では容量依存性にARの上昇を認めた. [考察] 以上, 本実験系は肝癌のホルモン療法を検討するうえで有用な実験系であり, FLTの肝腫瘍に対する有用性がARの減少とともに明らかとなったことは, 肝癌に対する抗アンドロゲン療法の可能性を示唆するものと考えられた.

P-44

Epichlorohydrin の毒性ならびにその代謝物の関与について

○伊藤 敦子, 星田美奈子, 林 美千子, 馮 永久, 伊藤 金次*
(東邦大・医・法医, *同・2病理)

Epichlorohydrin (ECH) は反応性に富むため用途の広い物質で, 現在, エポキシ樹脂の大部分はECHから製造されている. 催奇形性, 発癌性などが注目されているが, 日本では産業現場において死亡例を含む事故が発生しており, 急性中毒時の生体影響に関しても詳細な検討が望まれる. 我々はこれまでECHの急性毒性として, 腎障害を観察してきたが, 今回, その毒性に対する代謝物の関与を検討したので報告する. ECHは体内に取り込まれると瞬時にGSH抱合を受けるため, 組織内濃度の証明が困難で, 分析方法を種々検討したが, 実際の事故状況下で体内からECHを証明することは不可能かと思われた. そこでECH代謝産物である α -chlorohydrinの分析方法を検討した結果, 肝, 腎内 α -chlorohydrinは比較的高濃度で検出された. この代謝物自体の生体影響を観察したところ, 血液, 尿の生化学検査からかなりの毒性を有する結果が得られ, 組織学的検査では著しい皮質壊死が観察され, 遠位尿細管では強いうっ血がみられた. ECH中毒時に観察される腎障害は, ECHそのものよりむしろその代謝産物によるところが大であることが考えられた. また, 肝, 腎内GSH濃度はECH中毒時同様に著しく減少しており, α -chlorohydrinはさらにGSH抱合を受けメルカプツール酸として尿中排泄されることがうかがわれたが, ECHほど瞬時に抱合を受けずに比較的長時間経過後も組織内濃度の測定は可能であり, この物質の体内濃度の証明がECH中毒の指標となり得ると考える.

P-45

シスプラチン (CDDP) 誘発ラット腎線維化病変における細胞外基質の蓄積、TGF- β 及びアポトーシスの発現

○山手丈至¹、佐藤恵子¹、桑村 充¹、仲辻俊二²、小谷猛夫¹、佐久間貞重¹
 (¹大阪府大獣医病理、²鐘紡安全研)

腎線維化の病理発生機序は複雑である。今回 CDDP 投与により誘発される腎線維化モデルを用いて、蓄積する細胞外基質 (ECM)、TGF- β 及びアポトーシスの発現について検討した。(材料及び方法) 6 週齢 F344 雄ラット 39 匹を用いた。30 匹に 2mg/kgBW の CDDP を週 1 回、7 週にわたり腹腔内投与し、最終投与終了後 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 及び 19 週に各 3 匹を検査し、残り 9 匹には PBS を同様の方法で投与し、投与終了後 1, 9 及び 19 週に各 3 匹を検査し、対照群とした。BUN 及びクレアチニン値を測定し、組織学的には HE 染色の他にアザン染色を行い線維化率を求めた。また、ED1/ED2 (ラットマクロファージ特異抗体)、OX6 (ラット MHCII 抗体)、 α 平滑筋アクチン抗体 (SMA)、TGF- β 抗体、さらに ECM としてコラーゲン (I, III, IV)、ラミニン及びフィブロネクチンに対する抗体を用いて免疫染色を施した。アポトーシスは TUNEL 法により検出した。(成績・考察) BUN 及びクレアチニン値は 1 週で最高値を示し、腎障害が示されたが、以後徐々に低下し 19 週では対照群のそれに近似した。線維化領域は皮髄境界部の変性・拡張した近位尿細管周囲に形成され、その後再生上皮の出現とともに、その周囲でより顕著となった。線維化率は 1 週より増加し始め、7 週でピークとなり以後 19 週まで徐々に減少した。線維化部位には多くの SMA 陽性の筋線維芽細胞が出現し、1-7 週にかけてその数は有意に増加した。筋線維芽細胞の一部はアポトーシスを示した。ED1 陽性マクロファージは 3-11 週において増加し、同様に ED2 陽性の固着マクロファージと OX6 陽性細胞も線維化の進行に伴って増加した。コラーゲン (I, III, IV)、ラミニン、フィブロネクチンの沈着は 1-5 週で線維化領域で著明であり、その後徐々に低下した。TGF- β 陽性所見は再生尿細管上皮や一部のマクロファージに認められ、その発現は 1-5 週で最も顕著であった。以上より、腎線維化の形成にはマクロファージと筋線維芽細胞が関与すること、その筋線維芽細胞はアポトーシスにより消退すること、線維化に係わる細胞増殖因子である TGF- β は線維化の初期に発現することが示された。また、線維化部位には種々の ECM が沈着することが明らかとなった。

P-46

5/6 腎摘出ラットを用いた腎不全初期における食塩の影響

○日下部 愛泉、梅田 麻美*、坂入 鉄也、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 1 研)

腎切除により腎不全が惹起される 5/6 腎摘出ラットを用い、腎不全初期の段階における糸球体増殖性変化に対する食塩の影響について検討した。

【材料及び方法】6 週齢の Wistar 系雄ラットを麻酔下に左腎を 2/3 切除し、次いで 1 週間後に右腎を全摘出して 5/6 腎摘出 (Nx) ラットを作製した。Nx ラットは体重に基づいて非食塩負荷群 (4 匹) および食塩負荷群 (5 匹) に分けた。これらの他に偽手術群 (4 匹) を設けた。食塩負荷は Nx 後 3 週目より 2 週間飲料水の代わりに 1% 食塩水を自由摂取させた。Nx 後 4 週終了時に血清 Creatinine (Cr)、Creatinine クリアランス (CCr)、BUN、24 時間尿蛋白排泄量 (UP) を測定した。その後、残存腎を採取し、組織評価を行った。

【成績】組織学的検査では非食塩負荷群および食塩負荷群の全例において糸球体肥大が認められ、その程度は非食塩負荷群に比較し、食塩負荷群で増強していた。糸球体硬化の発現頻度やメサンギウム細胞増殖の程度も非食塩負荷群に比較し、食塩負荷群で増加していた。食塩負荷群の 1 例では著しい糸球体硬化やメサンギウム細胞増殖が認められた。臨床生化学的検査では非食塩負荷群および食塩負荷群で偽手術群に比較して Cr、BUN、UP の有意な増加および CCr の有意な減少が認められた。食塩負荷群では非食塩負荷群よりその程度が増強していた。

【まとめ】本実験条件下で、Nx ラットの糸球体病変は食塩負荷により増強した。現在、糸球体病変の形態計測および免疫組織化学的検討を加え、詳細な比較を実施中である。

○宇和川賢、中山厚美、須方督夫、尾崎圭介、奥野泰由、川崎 一（住友化学・生科研）

【目的】 2,2,4-Trimethylpentane (TMP) は、雄ラットに α 2u-グロブリン腎症 (α 2u-G腎症) および腎腫瘍を誘発することが知られている。今回、腎発癌メカニズム解明の一助として、 α 2u-G腎症に伴う細胞障害性と腎発癌の関係を明らかにする目的で、細胞障害性の指標として尿中の脱落細胞に着目し、腎臓の細胞増殖性との関係について検討した。

【方法】 Crj:CD(SD)系ラット(6週令、雄56匹)を用い、TMPの50mg/kg/日を26週間強制経口投与した。投与期間中に尿中の脱落細胞数の測定(1回/週)を行い、さらに、投与2、4、13、26週目に動物を屠殺して、腎尿細管の細胞増殖性(BrdU標識率)の検討および病理組織学的検査を実施した。

【結果】 尿中には α 2u-Gを含む腎尿細管由来の脱落細胞が認められ、この細胞は、TMP投与2週目より増加し、4週目にピークに達し(対照群の約90倍)、その後、26週目まで徐々に減少したが、26週目でも対照群に比較して有意に高い値を示した。腎尿細管の細胞増殖性と α 2u-G沈着量は4週目をピークに、その後減少したが、尿中の脱落細胞と同様に26週目でも高い値を示した。

【まとめ】 腎尿細管の α 2u-G沈着、尿中への細胞の脱落、細胞増殖性には相関性が認められ、 α 2u-Gの過剰沈着によって障害された細胞が尿中に脱落し、その後、代償的に細胞増殖性が亢進すると考えられた。

日比野 勤(藤田保健衛生大・短大・病理)

コルヒチンは細胞分裂阻害剤および痛風の治療薬として用いられている。今回はコルヒチンのDimethylnitrosamine(DMN)投与によるラット腎腫瘍発生に及ぼす影響を観察した。

方法：6週齢のF344雄性ラット80匹を4群に分けた。第1群(20匹)はDMNを40mg/kg体重の割合に生理食塩水0.5mlに溶解し、胃ゾンデで胃内強制投与を1回おこなった。1週間の休業後、コルヒチンを0.5mg/kg体重の割合に生理食塩水0.5mlに溶解後、腹腔内投与を1回おこなった。第2群(20匹)はDMNのみ投与。第3群(20匹)はコルヒチンのみ投与。第4群(20匹)は無処置の対照群とした。実験は40週で終了し、生存動物をエーテル麻酔下に安楽死させた。肝および腎の重量を測定後、通常の方法で病理組織標本作製、腎を中心に腫瘍性病変を観察した。

結果：肉眼的には、周囲組織との境界が不明瞭な白色の腎腫瘍が認められた。腎重量では、対照群の左腎1.23g(体重比%が0.29)、右腎1.22g(0.29)に比し、第1群の左腎1.54g(0.37)、右腎1.18g(0.28)と増加がみられた。組織学的に、DMNとコルヒチン投与の第1群の腎腫瘍は腎芽細胞腫が20匹中9例(45.0%)、腺腫が4例(20.0%)、腎細胞癌が4例(20.0%)であった。DMNのみ投与の第2群では腎芽細胞腫が20匹中12例(60.0%)、腺腫が5例(25.0%)、腎細胞癌が1例(5.0%)であった。しかし第3群および4群には腎腫瘍は認められなかった。また肝腫瘍はいずれの群にもみられなかった。

考察：以上の結果から、F344雄性ラットにおけるDMN腎腫瘍に対して、コルヒチンの1回投与は腫瘍増殖を促進することが示唆された。

○魏民¹、鰐淵英機¹、山本晋史¹、李 威¹、陳 天新¹、市原敏夫²、河部真弓²、福島昭治¹ (¹大阪市大・医・1病理、²大雄会医科学研究所)

【目的】ヒ素は環境中に広く存在し、疫学的にその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dimethylarsinic acid (DMA)は、無機ヒ素の主な尿中代謝物であり、我々は以前にラット多臓器中期発癌性実験法を用いて、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、我々はDMAのラットにおける発癌性を検討した。【方法】10週齢の雄性F344ラット144匹を4群に分け、それぞれに200、50、12.5、0ppmDMAを飲水投与した。ラットは104週終了時に屠殺し、全臓器の病理学的検索をおこなった。また、最終屠殺時に腹部大動脈より採血し、血液学的検査と血液生化学検査をおこなった。【結果】膀胱腫瘍の発生率は200ppm投与群では38.4%、50ppm投与群では19.4%で、12.5ppm投与群と無処置群では膀胱腫瘍を認めなかった。他の臓器において散発的に腫瘍の発生が肉眼的に認められたが、その発生率に有意な差は見られなかった。さらに200ppm投与群では赤血球数は減少な傾向を示し、HT、HBとMCVの値は無処置群と比べて有意に低下していた。【結論】DMAは雄性F344ラットに膀胱発癌性を示すことが明らかとなった。

○池田佳久¹、高橋 智¹、小川久美子¹、朝元誠人¹、河部真弓²、白井智之¹
(¹名市大・医・1病理、²大雄会医科研)

【目的】非変異原物質であるウラシルをラットに投与すると膀胱結石を形成し、乳頭腫症を経て膀胱癌を発生することが知られており、その発生には結石による機械的刺激が深く関与していることを明らかにしてきた。そこで今回はウラシルによる腫瘍発生機構の一端として、in vivo突然変異検出系であるlacI遺伝子を標的遺伝子として導入したBig Blue®ラットを用いてウラシルの変異原性を検討した。【方法】6週齢の雄Big Blue®ラットに3%ウラシルを50週間混餌投与し、その後は基礎食にて飼育した。その間経時的に屠殺し膀胱を採取した。50週以後は膀胱腫瘍の確認されたラットを屠殺し、60週時点で生存ラットはすべて屠殺剖検した。採取した膀胱上皮よりDNAを抽出し、lacI遺伝子をラムダファージにin vitro packaging法により回収後、プラークアッセイ法により突然変異頻度 (mutation frequency, MF) を算出した。また、各々の突然変異遺伝子の塩基配列の解析も行った。【結果】ウラシルを投与したラットでは2週目には膀胱に乳頭腫症が観察され、50週以後ではすべての症例で膀胱癌の発生が認められた。対照ラットの膀胱では0、2、10、20および60週時点におけるMF($\times 10^{-6}$)はそれぞれ8.61、3.21、2.68、4.65および2.73であった。ウラシル投与群では2、10および20週時点で4.85、14.91および13.94、51週時点の移行上皮癌およびその周囲の非腫瘍性粘膜ではそれぞれ41.75および14.16であり、10および51週において対照群と比較して有意な増加を示した。ウラシルによる特異的な突然変異スペクトルは観察されなかった。また、対照群の60週時点における肝のMFは35.56であった。【考察】ウラシル投与群でMFの有意な上昇を認めたが、有意差が10週目からみられる点、その値および対照群の肝におけるMFを考慮すると、今回の系においてもウラシルに変異原性はないものと考えられ、乳頭腫症におけるMFの上昇は膀胱結石によって惹起された膀胱上皮の持続的細胞増殖に起因するものと推察された。(本研究は、国立がんセンター・発がん：大河内江里子、牛島俊和、長尾美奈子博士との共同研究によるものである。)

P-51 Phenylethylisothiocyanate (PEITC)およびBenzylisothiocyanate (BITC)投与によるラット膀胱の初期変化

○杉浦 諭¹、広瀬雅雄²、小川久美子¹、朝元誠人¹、池田佳久¹、小木曾 正¹、白井智之¹
(¹名市大・医・1病理、²国立医衛研・病理)

【目的】 Phenylethylisothiocyanate (PEITC)およびBenzylisothiocyanate (BITC)は西洋わさびなどの十字花科の植物に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、化学予防剤としての有用性が示唆されている。我々は以前、Diethylnitrosamine (DEN)とN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)の2種類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、これらが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ことを報告した。今回、PEITCとBITCの膀胱に対する作用の詳細を究明する目的でラット膀胱の初期変化について検討した。

【方法】 6週齢F344系雌雄ラットに0.1%PEITC、BITCを1週間混餌投与し、経時的に尿分析(pH,潜血,電解質[Na⁺,K⁺,Cl⁻])および病理組織学的検索を行った。

【結果】 尿pHはPEITC、BITCとも1日目には低下したが7日目には回復した。潜血はBITCの雄でのみ認められた。電解質はPEITC、BITCの投与により何れも減少傾向がみられた。膀胱上皮には1~3日目に炎症が認められた。膀胱粘膜は経時的に肥厚し、2日目で過形成、7日目にはPN過形成が発生した。これらの変化はBITCで、また雄でより強く認められた。BrdU標識率は投与後著しく増加し、雄では3日目、雌では2日目で最も高値となり、以後も高値を持続した。

【結論】 PEITCおよびBITCによる膀胱発癌促進作用や単独での発癌性には、投与初期から起こる細胞障害や細胞増殖が大きく関与していることが示唆された。

P-52 Adriamicin (ADR)のラット精巣毒性の病理組織学的検討 ～精子検査との比較～

○川口雅子、長岡有紀、香川雅孝、船生志乃、葛西靖広、和知正幸〔日研化学(株)・安全性〕

【目的】 ADR(抗癌剤)は精祖細胞の壊死を特徴とする精巣障害を有することが知られている。今回、ADRによる精巣毒性の障害性と回復性を病理組織学的検査と精子検査により評価し、その成績を比較検討した。

【方法】 ADR(2.0mg/kg)を雄ラット〔Crj:CD(SD)IGS, 9週齢〕に1回静脈内投与し、病理組織学的検査および精子検査を経時的(投与後1日、3週、8週、13週)に実施した。病理組織学的検査では、精細管を4つのGroup〔Group 1 (I~VI)、2 (VII~VIII)、3 (IX~XI)、4 (XII~XIV)〕に分け、各々のGroupについて、1精細管当たりの精祖細胞、精母細胞および精子細胞を計測することにより定量的に検索した。精子検査では精子活性、奇形精子率、総精子数および運動精子率について検査した。

【結果・考察】 1. 病理組織学的検査では、投与後1日から、Group 1~4の精祖細胞の有意な減少または減少傾向が認められ、ADRの精巣障害は精祖細胞を標的とすることが確認された。投与後3週では、Group 1~4の精祖細胞と精母細胞の有意な減少が認められ、投与後8週では、これらの精細胞の変性・壊死が顕著となりStage鑑別不可能であった。この様に、投与後8週までは、時間の経過と共に精母細胞および精子細胞が順次障害された。投与後13週では、Group 3と4の精子細胞のみに有意な減少が認められたが、Group 1と2の精細胞に変化は認められず、精巣障害の回復性が示唆された。2. 精子検査では、投与後3週まで変化はみられなかったが、投与後8週から精子活性、奇形精子率、総精子数および運動精子率の有意な低下がみられ、それは障害された精祖細胞が精巣上体尾部に移行する日数(約60日)とほぼ合致した。その後、精子機能低下は投与後13週にも継続し、回復傾向はみられなかった。3. 以上より、薬物による精巣毒性の評価において、病理組織学的検査による定量的検索は、1) 障害性変化と回復性変化の早期検出、2) 標的細胞の特定に有用であり、その検出感度は精子検査よりも高感度であることが確認された。

○須田美穂子, 伊藤今日子, 石田勝彦, 岡宮英明, 花田貴宣 (山之内製菓 安全性研究所)
江指隆年, 花井美保 (国立健康・栄養研究所 応用食品部)

【目的】光線 (以下, 光とする) の生殖器官に及ぼす影響や, 生殖に及ぼす栄養の重要性については今まで研究されてきたが, 栄養状態と光が生殖器官に及ぼす相乗作用はほとんど知られていない。また, 生殖活動では雌雄いずれも重要であるが, これまでの研究では雌に比べ雄に関する研究が少ない。そこで, 光の暴露が不足している状態をモデルとして, 連続暗黒飼育条件下にて低蛋白飼料で若齢および成熟雄ラットを飼育し, 精子形成に及ぼす影響を組織学的に検査した。【方法】4 および 10 週齢の雄 F344 ラットを, 正常飼料または低蛋白飼料 (9%カゼイン) で, 正常明暗 (作業台上 300 ルクス) の白色蛍光灯を 1 日 12 時間照明, または連続暗黒 (ただし, 作業に際して写真用暗室ランプ 1 日約 2 時間点灯) の各条件下にて飼育した。4 週間飼育後に剖検して精巣重量を測定後, プアン固定を行い, 組織標本作製した。【結果】成熟ラットの精子形成は, 4 週間の試験期間内では飼育条件や飼料中蛋白質量の違いには影響されず, どの条件下でも多数の精子を形成した。このことから, 成熟ラットがあまり蛋白質を必要としないこと, 環境への抵抗力が強いことが示された。一方, 若齢ラットでは, 低蛋白飼料で正常明暗下で飼育したラットに比べて, 低蛋白飼料で連続暗黒下で飼育したラットでは, 程度にばらつきはあるものの成熟精子は極めて少なく, 顕著な例では精細管径が細くなり, 円形精子細胞は少なく, 伸長精子細胞は認められなかった。従って, 若齢ラットは飼料中の蛋白質量および光に対して感受性が高いことが示された。

○桑原真紀, 乾公正, 竹内幸子, 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)

我々は先にチアンフェニコール (TAP) のラットにおける精巣毒性について検索し, 以下の結果を得た。

(1) TAP 200mg/kg/day 4 週間投与で精巣及び副生殖器の重量並びに血中テストステロン濃度が著減。顕著な精細管萎縮 (楔型の精細胞の脱落像, 精子停留, 巨細胞形成等を含む)。 (2) TAP 100mg/kg/day 4 週間投与の精細管のステージングで多様な成長段階の精細胞が減少。 (3) TAP 100mg/kg/day 投与の経時的検索で 2 週目から精粗細胞が減少。これらの結果から, TAP の標的細胞は精粗細胞ないしセトリ細胞であることが推測され, さらに, 3 ないし 9 週の休薬期間後も精巣病変の回復は完全ではなく, 毒性の不可逆性が疑われることから, セトリ細胞が障害されている可能性が高いと考えられた。そこで今回, 幼若動物からセトリ細胞を分離し, 薬物投与をより *in vivo* に近い状態で行うことのできる Dual Compartment Chamber 法を用い, TAP のセトリ細胞への影響を *in vitro* で検索した。材料と方法: 18 日週齢の SD 系雄ラット 12 匹から精巣を摘出し, 酵素処理によりセトリ細胞分画を得て, ミセルカプセルに植え込み, 24 穴プレートで培養した。培養液は DMEM にテロト[®]及び数種の成長因子を加え, アミノ酸, ビタミンを補強した SFDM を用いた。インサート内及び外層の液量変化により培養セトリ細胞が閉鎖結合を形成しているのを確認した後, TAP を 0.01, 0.1, 1 及び 10mM の濃度で外層に加えた。24 時間後に内及び外層の培養液に含まれるトランスフェリン量を EIA 法で定量し, セトリ細胞の機能障害の指標とした。結果および考察: TAP 投与によりセトリ細胞のトランスフェリン分泌量は用量相関性に減少した。特に外層で顕著な減少が見られ, 投与 24 時間後の 0.1mM 以上で有意差が認められた。内層のトランスフェリン量は 10mM のみで有意に減少した。内外層のトランスフェリン量比は溶媒対照群でおよそ 1 であるのに対し, 投与群では 20 から 30% 増加した。これらの結果から TAP 投与によりセトリ細胞のタパク合成ないし細胞内輸送機能に何らかの異常がもたらされていることが示された。

P-55

Ethinyl estradiol (EE)によるラット精巣上体の萎縮に関する検討
—EE誘発病変と下垂体除去による病変との比較—

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

【緒言】我々は、第13回本学会においてEEの2週間投与によりラット精巣上体において体部の限局した部位に精巣上体管の萎縮性病変（アポトーシスの発現を伴う管腔の狭小化）が生じることを報告した。この病変形成におけるEEの作用機序を検索するために、精巣上体におけるEE誘発病変と下垂体除去による病変を比較検討した。

【材料と方法】[実験1]10週齢のSD系雄ラット27匹にEE(用量:0, 3mg/kg/day)を3週間反復投与した。投与開始1, 2および3週間後に対照群は3匹, EE投与群は6匹ずつ屠殺し精巣上体を採取した。

[実験2]10週齢のSD系雄ラットに下垂体除去術を実施し, 3, 6, 9日後に各3~4匹ずつ屠殺し精巣上体を採取した。採取した精巣上体は重量測定後, 実験1では4%パラホルムアルデヒド液にて, 実験2ではホルマリン液にて固定した後, 常法に従いH. E. 染色標本を作製した。

【成績】[実験1]EE1週間投与後には重量, 組織観察ともに変化は見られなかったが, EE2週間投与後に重量は対照群に比較し有意に低値となり, 組織観察において体部の限局した部位に精巣上体管のアポトーシスの発現を伴う管腔の狭小化が認められた。EE3週間投与後には, 重量はより低値となり, 間質の増生を伴う萎縮が精巣上体全体にわたり観察された。[実験2]下垂体摘出9日後に, 精巣上体重量はEE2週間投与後と同程度に低値となり, 組織観察においてもEE2週間投与後と同様に体部の限局した部位に精巣上体管のアポトーシスの発現を伴う管腔の狭小化が認められた。

【まとめ】下垂体除去動物においても, EE投与によるラット精巣上体の萎縮性病変と同様の病理組織学的変化が観察されたことから, EE投与によるラット精巣上体の病変形成には, EEによる直接作用よりも, EE投与による下垂体ホルモンの分泌低下が寄与していると考えられた。現在, EE投与後の血中のLH, FSH, テストステロン濃度についても検索中である。

P-56

新生仔期diethylstilbestrol(DES)および 17β -estradiol(E2)投与雄SDラットにおける雄性生殖器の病理組織学的変化の検討

○義岡 孝子, 川口 博明, 船戸 護, 吉田 浩己
(鹿児島大学医学部第一病理)

【目的】新生仔期内分泌攪乱物質の雄性生殖器への影響を検討するために、合成卵胞ホルモンであるdiethylstilbestrol(DES)と生体内で合成されている卵胞ホルモンである 17β -estradiol(E2)を生後24時間内に投与し、生後7週目に病理学的検索を行った。

【材料と方法】実験には近交系雄SDラットを使用し、I群は対照群、II群はDES投与群、III群はE2投与群とし、II、III群はさらに4亜群に分け、それぞれ0.1、1、10、100 μ gを投与した。

【結果】I群に比し、(1)体重ではII群で10 μ g以上投与亜群で、III群で100 μ g投与亜群で減少、(2)精巣重量ではII群で全亜群で、III群で100 μ g投与亜群で減少、(3)精巣上体重量ではII群で1 μ g以上投与亜群で、III群で100 μ g群投与亜群で減少、(4)副生殖腺(精囊+前立腺)重量ではII群で10 μ g以上投与亜群で、III群で100 μ g投与亜群で減少していた。(5)停留睪丸がE2 100 μ g投与亜群に2例、E2 0.1 μ g投与亜群に1例認められた。(6)II群およびIII群では幼若な生殖細胞の減少が見られ、精子の形成は認められなかった。

【結語】これらの病理組織学的所見やホルモンレセプター酵素抗体法染色結果は、新生仔期の過剰なestrogenは雄性生殖器の発育に著明に影響を与え、特にDESはその作用が強いことを示した。

P-57

抗アンドロゲン剤 Chlormadinone acetate の自然発症前立腺肥大イヌにおける精子形成への影響について

○池田高志, 田川正志, 池田理恵, 村越正典, 久田 茂, 森 正雄, 中山隆治 (帝国臓器製薬(株) 安全性研究部), 五反田浩太郎, 佐々木享子, 本間誠次郎 (同 薬理研究部)

抗アンドロゲン剤 Chlormadinone acetate (CMA) を自然発症前立腺肥大イヌに 0.03, 0.1 および 0.3mg/kg の投与量で 6 ヶ月間経口投与した後, 剖検し, 器官重量を測定した. また, 精子検査および各種器官の病理組織学的検査を実施し, CMA の影響を機能的および形態的な側面から検討した. その結果, 下垂体, 精巣および精巣上体の重量, 最終体重には CMA の影響は認められなかったが, 前立腺の重量が薬物作用に起因して用量依存的に減少した. 精巣上体尾部から調製した精子サンプルの精子濃度は個体差が大きく, 明瞭な傾向は認められなかったが, 0.3mg/kg 群でも対照群と著しい差はみられなかった. また, 精子活力が CMA 群で低下する傾向にあったが, 緩慢ながら前進運動は認められ, 変化の程度は極めて軽度であった. これらのことより CMA の精子形成や精子運動性へ及ぼす影響は低いと判断されたが, 病理組織学的検査では精子濃度の低下を説明できない場合もあり, 薬物作用の評価における機能的検査の重要性および有用性が示唆された.

P-58

加熱分解産物 PhIP によるラット前立腺癌の発生と大量テストステロンの促進作用

○加藤浩司, 高橋 智, 今井田克己, 崔 林, 曹 永晩, 二口 充, 白井智之
(名市大・医・第一病理)

食品加熱分解産物のヘテロサイクリックアミンである 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP) はヒトの癌の発生に深く関与していることが推察されており, 動物実験ではラットの乳腺, 大腸に加えて, 前立腺にも発癌性があることを報告してきた. 以前, 我々は前立腺発癌物質である DMAB 投与によりラット腹葉に限局癌が発生し, testosterone propionate (TP) を追投与することにより, 背側葉, 前葉および精囊に浸潤癌が発生することを見い出している. そこで, 今回は PhIP 投与後に TP を追投与することにより, 浸潤癌の発生を認めるかどうかを検討した.

【方法】 6週齢 F344 雄ラットを用い, 第1群は PhIP を 400ppm 濃度で 20 週間混餌投与した. 第2群は PhIP を 400ppm 濃度で混餌投与後, 実験 21 週目から実験終了まで 40mg TP 含有シリコンチューブをラットの背部皮下に埋植した. 第3, 4群は第1, 2群に対しての PhIP 無処置対照群とした. 全経過 60 週で屠殺剖検し, 前立腺および精囊を病理組織学的に検索した.

【結果】 PhIP 単独投与群 (第1群) では前立腺腹葉に異型過形成が 18/20 (90%), 腺癌が 11/20 (55%), 前葉と精囊にも異型過形成がそれぞれ 5/20 (25%), 18/20 (90%) に認められた. PhIP 投与後 TP 追投与群 (第2群) では腹葉の異型過形成が 1/13 (8%) と第1群と比較して有意に抑制し, 癌の発生は認めなかった. また, 背側葉, 前葉および精囊に異型過形成がそれぞれ 2/13 (15%), 4/13 (30%), 10/13 (77%), 前葉および精囊の浸潤癌がそれぞれ 1/13 (8%), 2/13 (15%) に認められた.

【結論】 20 週間の PhIP 単独投与により, DMAB モデルよりも高頻度に腹葉前立腺癌を誘発することが判明した. また, TP を追投与により前立腺前葉および精囊にわずかながら浸潤癌が発生することが確認された.

○澤村文子^{1,2}、佐野真士^{1,2}、田中 光²、高橋 智¹、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】ラットの大腸、乳腺以外にも前立腺に対しての発癌性が最近明らかになった 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) の前立腺腹葉に対する発癌促進作用を 3,2'-diethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) によるラット前立腺癌実験系を用いて検討した。

【方法】6 週齢 F344 雄ラットに第 1 群から第 3 群までは DMAB 50mg/kg を 2 週毎に 10 回皮下投与した後、PhIP をそれぞれ 0, 100, 300ppm の濃度で 40 週間混餌投与した。第 4 群から第 6 群までは DMAB 無処置で同様の PhIP 投与を行った。全経過 60 週で屠殺した。

【結果】DMAB 処置群における前立腺腹葉の異型過形成の発生頻度は対照群で 63.2%、100ppm 群で 73.9%、300ppm 群で 63.6%、癌の発生頻度はそれぞれ 15.8%、13.0%、4.5% であり、対照群との間に有意差を認めなかった。しかし、PhIP 単独投与群では異型過形成は対照群の 0% に対し、100ppm 群で 46.7%、300ppm 群で 53.3% と有意な増加が観察された。また、癌の発生においてもそれぞれ 0%、6.7%、27.8% と増加傾向を認めた。精囊では DMAB 処置群においては異型過形成および癌とも発生頻度に有意差を認めなかったが、PhIP 単独投与群では用量相関性に異型過形成が増加した。これに対し、大腸 ACF および小腸腫瘍の発生に対しては PhIP による促進作用が観察された。

【結論】PhIP は前立腺に対して単独では発癌性を有するが、DMAB イニシエーションに対する促進作用は観察されなかった。現在、メカニズムについて解析中である。

○久田 茂、谷藤久人、田川正志、柴田誠司、永嶋雅子、増田修治、飯田祝子、中山隆治 (帝国臓器安全研)、若林敬二 (国立がんセ、がん予防)

PhIP の 52 週間混餌投与により F344 ラットに前立腺癌が発生したことが報告されたので (Cancer Res., 57:195, 1997), 前立腺癌好発系として知られる Noble ラット (以下 Nb ラット) に PhIP を投与することにより、短期間で前立腺癌が発生するか否を検討した。

【方法】雄 Nb ラット (NOBLE/NCr) 100 匹を使用した。7 週齢時から PhIP 85mg/kg を週 3 回の頻度で 7 週間または 6 週間強制経口投与し、それぞれ実験開始 20 週後及び 30 週後に屠殺・解剖した。対照群及び PhIP 投与群の各々に、MF 飼料 (オリエンタル酵母) 或いは AIN-76A 飼料を与える群を設け、20 週目解剖群では各群に 10 匹、30 週目解剖群では無処置群に 5 匹、PhIP 投与群に 25 匹の動物を配した。

【結果】PhIP 投与群に以下の変化が発生した。①投与 6 週目から、後肢の麻痺、歩行異常あるいは褐色尿の排泄などが、主に AIN-76A 飼料群で高頻度に発生した。同飼料群の早期死亡例には心筋の変性、或いは骨格筋線維の萎縮を認めた。② 13 週目から胸腺リンパ肉腫が多発した。フローサイトメトリーによる分析では、腫瘍細胞膜に T 細胞及び B 細胞特異抗原の発現をほとんど認めなかった。③ AIN-76A 飼料群の 1 例に精囊腺腫を認め、両飼料群に精囊上皮の異型過形成を比較的高頻度で認めた。また、MF 飼料群の前立腺腹葉において巣状過形成が増加したが、背側葉及び前葉 (凝固腺) には増殖性的変化を認めなかった。④ PhIP 投与群に網膜萎縮 (光受容細胞の萎縮) を認めた。⑤ 脾臓では早期死亡例に腺房細胞の変性・萎縮、観察期間の後期には腺房細胞の増殖性病変、及び AIN-76A 飼料群に脂肪細胞の浸潤を認めた。

【結論】PhIP を 6 週間投与した Nb ラットに胸腺リンパ肉腫が多発したものの、30 週目においても雄性副生殖器における増殖性病変の発生は軽微であった。

○吉田 緑、勝田真一、黒田博之、渡辺隆夫、安藤 進、高橋正一、前川昭彦 (佐々木研・病理)

Octylphenol(OP) 等の alkylphenol 類は界面活性剤の alkylphenol ethoxylate の生分解によって生じ、下水を通じて広く環境中に放出されている。Alkylphenol 類は、近年エストロゲン様作用を有することが報告され、内分泌攪乱物質として注目されている。しかしながら、これらの物質の安全性の評価、特に反復投与による雌性生殖系に対する影響についてはほとんど報告されていない。今回我々は、alkylphenol 類の中でもエストロゲン様作用が強い OP について反復投与による成熟雌ラットの雌性生殖系への影響を検討した。

材料および方法 正常な性周期を示す 11 週齢の Crj:Donryu 雌ラットを 5 群に分け、DMSO に溶解した OP を 0, 12.5, 25, 50 および 100mg/kg の用量で 4 週間背部皮下に連続投与した。OP 投与群は投与 1, 4 週後に各群 5 例ずつ、対照群は 4 週後に発情期前、発情期、発情後期、休止期を示す各 3 例の計 12 例を屠殺・剖検した。全例について性周期、BrdU による細胞増殖能および病理学的検査に加え、性ホルモン値について測定した。

結果および考察 性周期は 50mg/kg 以上の群で異常が認められ、50mg/kg 群では投与後半に持続発情の傾向を示す個体が増加し、100mg/kg 群では投与開始 1 週間以内に異常が発現、投与 2 週目では全例が持続発情を示した。試験終了時において正常な性周期を示す OP 投与群の子宮重量は対照群の各性周期のそれと同様であったが、100mg/kg 群で持続発情を示した個体では、いずれも子宮重量が増加傾向を示し、対照群における発情前期と発情期間の値を示した。形態学的にも持続発情を示す個体では、個体差があるものの被覆上皮の細胞分裂像・細胞数の増加および間質細胞の円形化等が認められ、これらの変化は 100mg/kg 群でより明らかであった。細胞増殖能は、50mg/kg 群の 4 週後で被覆・腺上皮とも顕著に増加し、100mg/kg 群の 1, 4 週後では被覆・腺上皮、間質細胞ともに増加を示したが、各上皮の陽性細胞数は対照群の発情後期におけるそれよりは低い値であった。エストロゲン値は 50mg/kg 以上の群で低値傾向を示した。以上の結果より、50mg/kg 以上の OP の反復皮下投与は成熟雌ラットの子宮に対してもエストロゲン様作用を示すことが明らかとなった。

○勝田真一、吉田 緑、黒田博之、渡辺隆夫、安藤 進、高橋正一、前川昭彦 (佐々木研・病理)

Octylphenol(OP)が正常性周期を有する雌ラットの雌性生殖器に及ぼす影響については 1.において報告したが、本研究においては、卵巣摘出(OVX)ラットを用いて OP の影響を検討した。

材料及び方法 8 週齢の Crj:Donryu 雌ラットに OVX 術を施し、3 週間後に OP を 0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 及び 200mg/kg の用量で毎日皮下投与した。陽性対照として 17 β -estradiol (E_2) を 5 μ g/kg の用量で投与した。投与期間は 2 日(全用量段階)及び 14 日(200mg/kg については実施せず)とし、最終投与の翌日に動物を屠殺・剖検した(1 群 5 匹)。血清中の OP 量を GC/MS により測定し、主要臓器について組織学的検索を行うとともに、子宮及び膣については細胞増殖能を調べるために BrdU 陽性細胞数をカウントし、子宮の被覆上皮細胞の高さを画像解析装置を用いて計測した。

結果及び考察 OP は OVX ラットの子宮に対して用量に相関した重量増加をもたらし、2 日投与においては 50mg/kg 以上から、14 日投与においては 25mg/kg 以上から有意差がみられ、繰り返し投与による閾値の低下を示したが、 E_2 に比べるとその程度は弱かった。また、子宮被覆上皮の高さも 2 日投与では 100mg/kg、14 日投与では 50mg/kg 以上で有意に高かった。一方、被覆上皮と腺上皮における細胞増殖能については、2 日投与と 14 日投与ではそのパターンに差がみられ、14 日投与では被覆上皮及び腺上皮では用量依存性が消失したものの、腺上皮においては E_2 を上回る BrdU 陽性細胞数の増加がみられた。血清中の OP については用量依存的に濃度が上昇し、2 日投与においては 25mg/kg 以上、14 日投与では 12.5mg/kg 以上で検出された。以上のことから、25mg/kg 以上の OP の反復投与は OVX ラットに対して明らかなエストロゲン様作用を示し、投与期間を 14 日と長くすることにより OP の子宮重量などに対する作用は増強することが明らかとなった。また、比較するパラメーターによっては E_2 と異なる反応性を示すことが示唆された。

○永岡隆晴¹, 竹川 潔¹, 竹内正紀¹, 前川昭彦²

(1吉富製薬・吉富安全研, 2佐々木研・病理)

加齢や抗精神病薬などによって内分泌異常が生じると、ラット膣上皮は正常な性周期の場合とは異なった形態変化を示す。今回、内分泌異常と膣上皮の形態変化との関連について検討するため、種々の内分泌環境下での膣上皮の組織学的観察を行った。

[材料および方法] 実験 1: 生後1年以上のDonryuおよびF344ラット, 妊娠および授乳期間中のDonryuラットならびに抗精神病薬を投与したSDラットについて、膣の粘膜上皮を含む生殖器および内分泌臓器を組織学的に観察した。実験 2: 卵巣摘出および非摘出のDonryuラットにestradiol-17 β (E₂)およびprogesterone(P)を単独あるいは同時に2週間皮下投与した。また、下垂体の移植およびhaloperidol(HP)の2週間経口投与を行った。すべての動物について実験1と同様の組織学的観察を行った。実験1, 2ともに一部あるいは全動物について、血清中のE₂およびPあるいはそれらに加えてprolactin(PR)を測定した。

[結果] 実験 1: 加齢したDonryuラットの膣上皮では、E₂値が相対的に高く、角化の発生率が高かった。一方、F344ラットでは、P値が相対的に高く、粘液細胞(MC)化の発生率が高かった。妊娠期間中では、P値の増加と相関してMC形成の程度が経時的に増強した。授乳期間中では後半にMCが形成された。HPを投与したラットでは、MCが軽度ないし中等度に形成されていた。

実験 2: 卵巣摘出ラットへのE₂投与では角化が、P投与では、低頻度ながらMCが中等度に、E₂およびPの同時投与では、MC細胞が強度に形成された。下垂体移植およびHP投与では、後者でPR値が明らかに上昇したが、いずれも非卵巣摘出ラットのみにもMC細胞が出現した。

[結論] 内分泌異常時に生じる膣の形態変化として、E₂が相対的に高値の場合には角化が、妊娠やPRの影響などでPが相対的に高値の場合にはMCが、それぞれ形成され、卵巣条件下ではPによるMC形成の程度はE₂の付加により増強されることが判明した。

○市村英資、内田則子、後藤絵梨、江原敬子、渡辺綾子、林 幹人、山下 巧 (日本化薬安全性グループ)

[目的] 卵巣摘出ラットを用いて子宮内膜の増殖に対するタモキシフェンの影響を明らかにすることを目的とした。

[方法] 8週令SD系雌ラットの卵巣両側を摘出し、5週間の馴化後、タモキシフェン(11.3mg/kg)を26週間経口投与した。対照として、非卵巣摘出および卵巣摘出ラットへの溶媒投与群を設定した。投与終了後、子宮を摘出し、重量測定後、病理組織検索に供した。また、エストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PR)および細胞増殖マーカーPCNAについて免疫組織化学的検討を実施した。[結果] 非卵巣摘出群ではER、PRは内膜上皮細胞、間質細胞および筋細胞で陽性を示した。ERの染色性(局在・強度)は性周期によって変化しなかったが、PRは内膜上皮において発情前期および発情期に弱陽性を、発情休止期に強陽性を示した。PCNAの染色性は発情前期、発情期、発情後期の順に陽性細胞が増加した。卵巣摘出溶媒投与群の子宮は顕著に萎縮した。内膜上皮におけるER、PRの染色性は強陽性であったが、間質細胞および筋細胞において、ERは陽性、PRは陰性であった。また、内膜上皮でPCNA陽性細胞が散見された。タモキシフェン群では卵巣摘出溶媒群に比し、重量増加が見られた。内膜上皮は多層化し、過形成像を呈した。内膜上皮ではERおよびPRは陽性を示したが、卵巣摘出溶媒群に比し、染色性は弱かった。また、PCNA陽性細胞は基底部に限局して認められた。間質細胞、筋細胞ではERおよびPRは共に陽性であった。[結論] 卵巣摘出溶媒群では内膜上皮のER、PRの染色性が強陽性を示し、間質細胞、筋細胞ではPRの染色性が陰性であった。一方、タモキシフェン群では子宮内膜上皮細胞のERおよびPRの染色性が陽性を示し、間質細胞、筋細胞でPRが陽性を呈した。以上の結果から、タモキシフェンは内膜上皮のERおよびPRの発現と間質細胞、筋細胞のPRの発現に関与することが示唆された。

P-65

p53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスでの N-ethyl-N-nitrosourea 誘発性の子宮腫瘍に対する ethinylestradiol の修飾作用

○下武男¹、小野寺博志²、片山淳一¹、斉藤明美¹、青木康治¹、桶崎英一¹、永田治¹、三森国敏² (¹北陸製薬・研究開発本部、²国立衛研・病理)

【緒言】p53 遺伝子をノックアウトしたマウスが種々の遺伝毒性発がん物質に対し高い感受性を示すことから、短期発がん性試験用動物としての有用性が注目されている。我々は、第 57 回日本癌学会総会 (1998、横浜) で p53 ヘテロ欠損した CBA マウスに N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) を単回腹腔内投与し 26 週までに子宮内膜肉腫が高率に誘発されたことを報告した。そこで今回、同系マウスに ENU 処置に続いて ethinylestradiol (EE) で処置した場合、EE の標的臓器である子宮、卵巣、肝、腎にどのような影響が発現するかを検討した。

【方法】本実験には p53 遺伝子の片側アレルをノックアウトした雌の CBA マウス (p53(+/-)マウス:オリエンタル酵母) およびその同腹仔の野生型マウス (Wild) 各 50 匹を使用した。両マウスを 20 匹 (第 1 群、ENU)、15 匹 (第 2 群、ENU+EE) および 15 匹 (第 3 群、EE) よりなる 3 群に分け、第 1 および 2 群の動物には ENU 120 mg/kg を単回腹腔内投与し、その後第 1 群は無処置とし、第 2 群は 26 週間にわたり EE 1ppm で混餌投与した。第 3 群の動物は 26 週間にわたり EE 1ppm で混餌投与した。投与終了後、子宮、卵巣、肝および腎組織を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定し、H-E 染色に加えて、子宮では抗 PCNA、desmin、 α -smooth muscle actin および cyclin D1 抗体による免疫組織染色を施し検索した。

【結果】p53(+/-)マウスでは第 1 群で子宮腫瘍が 94% (内膜肉腫 75%、ポリープ 19%)、第 2 群で 100% (内膜肉腫 64%、ポリープ 29%、卵黄嚢がん 7%)、第 3 群で 7% (ポリープ) みられ、子宮腺の異形成が 40~63% 認められた。Wild マウスでは第 1、2 および 3 群で子宮内膜ポリープがそれぞれ 37、27 および 0%、子宮腺の異形成が 26、53 および 20% で認められた。免疫組織学的に、子宮内膜肉腫では高い PCNA 標識率と cyclin D1 の発現がみられ、内膜腺異形成では高い PCNA 標識率が認められた。卵巣、肝および腎についてはいずれの処置においても両マウスで腫瘍発現はみられなかった。

【結論】p53(+/-)マウスでは、ENU 単独投与群と ENU+EE 投与群間で子宮内膜肉腫の発生頻度に差がみられなかったことから、EE 1ppm の処置では ENU 誘発子宮腫瘍の発生が増強しないと考えられた。EE 1ppm 投与 p53(+/-)マウスでは子宮、卵巣、肝、腎に何ら増殖性病変はみられなかったことから、非遺伝毒性発がん物質に対しては感受性を示さないことが示唆された。

P-66

抗精神病薬およびプロゲステロン投与によるイヌ乳腺・生殖器系への影響

○内海博之、高木司郎、竹内正紀 (吉富製薬 吉富安全研)

【緒言】演者らは血中プロゲステロン濃度が高い発情後期の雌イヌに、プロラクチン血症を誘発するハロペリドールを投与すると、乳腺の過形成および乳汁の分泌が生じることを報告した (第 8、9 回日本毒性病理学会)。このことから、イヌの乳腺の発育と乳汁分泌には、プロゲステロンとプロラクチンが関与することが示唆された。今回、これらの性ホルモンの影響を明らかにするために、発情周期による血中プロゲステロン濃度の変動が少ない未成熟の雌イヌおよび雄イヌについて、プロゲステロンである酢酸クロルマジノンと、抗精神病薬であるハロペリドールを単独あるいは併用投与し、乳腺と生殖器系に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】雌雄各群 2 匹のビーグル犬に、3mg/kg のハロペリドールおよび 5mg/kg の酢酸クロルマジノンを、単独あるいは併用により 11 週間反復経口投与した。群構成は I 群: ハロペリドール単独 (雌)、II 群: 酢酸クロルマジノン単独 (雌)、III 群: ハロペリドールおよび酢酸クロルマジノン併用 (雌)、IV 群: 酢酸クロルマジノン単独 (雄)、V 群: ハロペリドールおよび酢酸クロルマジノン併用 (雄) とした。各群について、乳腺ならびに生殖器系への影響を病理学的に比較検討した。

【結果】乳腺について、I 群では、乳腺の形成を認めなかった。II および IV 群では、乳腺小葉の形成を認めた。III および V 群では、乳汁分泌を伴う妊娠様変化を示した。子宮では I 群で萎縮が、II 群で子宮腺の増加を認めた。III 群では、萎縮あるいは嚢胞状過形成が認められた。卵巣および膣では、いずれの動物についても、未成熟の無処置動物と同様の組織像を示した。下垂体では、I 群、III 群および V 群で、プロラクチン産生細胞の増加が認められた。

【まとめ】以上の結果より、イヌの乳腺および子宮は、性ホルモン環境—特にプロラクチンとプロゲステロンの影響を受けることが示唆された。

○梅村しのぶ¹、岩坂俊基^{1,2}、柿本恒知^{1,2}、長村義之¹

(¹ 東海大・医・病態診断系病理学部門、² 日本たばこ・安全研)

[目的] ラット妊娠・授乳期における細胞増殖および離乳期における apoptosis についての報告はあるが、妊娠～離乳期間中の細胞動態については充分明らかとはなっていない。ラット妊娠・授乳・離乳期乳腺における細胞動態を明らかにする目的で、組織化学的検討を行ったので報告する。

[材料・方法] Wistar 系雌未経産ラットについて、非妊娠 12 週齢を control とし、13-20 週齢の、妊娠 7、14 日、授乳 1, 7, 14 日、離乳 1, 7, 14 日の各群 4 匹、計 36 匹につき検討した。材料は、鼠径部乳腺を用い、4% Paraformaldehyde 固定、paraffin 包埋切片について、乳腺面積率測定および組織化学的検討を行った。増殖細胞数は、抗 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 抗体を用いた酵素抗体法により、また、アポトーシスは、TdT mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) 法により検討した。小葉内上皮細胞について、小葉単位の平均陽性細胞数(%)(cell count (CC); /lobule)(%)、および上皮細胞 1000 ケ中の陽性細胞数(labeling index (LI); %)を評価し、比較検討した。

[結果] 1. 評価方法; CC、LI とも同様の傾向を示したが、小葉構成細胞数の少ない control 群、離乳後 14 日群では、LI が相対的に高く評価された。2. 乳腺面積率; 授乳 14 日群を peak に増加し、離乳とともに減少した。3. PCNA 陽性細胞数; 授乳 1 日群に最も多く、control、妊娠 7、14 日群には中等度、授乳 7、14 日群は少なかった。4. TUNEL 陽性細胞数; 離乳 1 日群に多く、授乳期間中に少なかった。

[考察] 1. 評価方法による差は、小葉構成細胞数の相違を反映していると考えられた。2. 授乳 1 日群には細胞数増加が、離乳 1 日群においては細胞数減少が優位であると考えられた。3. 授乳 1 日目、離乳後乳腺においては、細胞増殖、アポトーシスともに高頻度に認められる一方、授乳期間においては、細胞動態は安定しているものと推察された。4. 授乳期間中の乳腺面積率の増加は、腺房の拡張によると考えられた。

○岩坂俊基^{1,2}、梅村しのぶ¹、美谷島克宏²、高橋明美²、柿本恒知^{1,2}、小泉治子²、
宮川義史²、長村義之¹ (¹ 東海大・医・病態診断系病理、² 日本たばこ・安全研)

緒言: Estradiol(E2)投与したラットにおける乳腺の増生は報告されているが、その細胞増殖と細胞死の両者の動態を調べた報告は乏しい。今回われわれは高用量の E2 投与ラットの乳腺を用い、その細胞増殖と細胞死を検討したので報告する。

材料及び方法: 動物は 10 週齢の Wistar (Slc: Wistar;SPF)系雌ラットを各群 5-6 匹、合計 33 匹用いた。Estradiol dipropionate を 0, 0.5 及び 1mg/kg/week に筋肉内投与し、投与 1 週間後及び 4 週間(W)後の鼠径部乳腺を採取した。採取した乳腺は 4% Paraformaldehyde で固定・パラフィン包埋、H.E. 染色をし、画像解析装置(Carl Zeiss, IBAS system)による乳腺組織(内腔を含む)面積率(%)の算出を含む組織学的検索、抗 Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)酵素抗体法による腺房細胞の小葉内陽性率及び TdT mediated dUDP-biotin nick and labeling (TUNEL)法による apoptosis 陽性率を検討した。

結果: E2 投与乳腺における乳腺組織面積率は、対照群と比較して 1W および 4W とも用量依存的に有意に増加した。PCNA 陽性率は 1W では用量依存的に増加を示したが、4W では 0.5mg/kg では対照群より増加したのに対し、1mg/kg では対照群とほぼ同様の値を示した。一方、apoptosis 陽性率は 4W で用量依存的な増加を示した。

まとめ: E2 投与により、1W よりいずれの用量でも PCNA 陽性率の増加と共に、形態学的に乳腺組織の増生を示した。しかし 4W では、乳腺組織面積率は 1W 同様の程度に増加したが、apoptosis 陽性率はいずれの用量でも増加し、かつ、PCNA 陽性率は 1mg/kg では対照群と同程度まで減少した。以上のことより、E2 高用量投与による乳腺の増生性変化は比較的早い時期に一定の大きさに達した後、その増殖活性は衰え、apoptosis が亢進する可能性を示唆した。

○高橋正一、渡辺隆夫、飯塚生一、白木克尚、工藤佳子、吉田 緑、安藤 進、前川昭彦
(佐々木研・病理)

【目的】ニトロフラゾン(NF)は、広い抗菌スペクトルを有する合成抗菌剤であり、家畜の種々感染症の治療や予防に用いられている。これまでNFの毒性については、ラットで精巣萎縮や関節軟骨の変性、マウスで卵巣萎縮等が認められ、さらに雌ラットで乳腺腫瘍、雌マウスで卵巣腫瘍の発生が増加する事などが知られている。これらNFによる毒性及び発がん性の発生機序として内分泌系を介したものであることが推測されているものの、詳細については未だ不明である。我々は、本剤のラット乳腺腫瘍発生機序を解明する目的でNF投与による内分泌環境の変化について検討した。

【方法】NFによるラット乳腺腫瘍の発生メカニズムが、内分泌系特に性ホルモンに強く関連する可能性があるため、使用動物は性周期の安定したWistarラットを用いた。雌性Jcl:Wistarラットを日本クレア(株)より4週齢にて搬入し、1群9匹づつ3群(第1群:対照群、第2群:NF500ppm投与群、第3群:NF1000ppm投与群)に分けた。NFは、粉末飼料(CE-7、日本クレア)に混ぜ、8週齢時より5週間自由に摂取させた。投与終了後、被験物質の血清プロラクチン値への影響を調べる目的で、性周期に伴う血清プロラクチンの変動を考慮し、血清プロラクチン値がピークを示す発情前期(午後5時)及び最低値を示す発情休止期(午前10時)に、断頭により屠殺・剖検した。実験期間中、体重の変動、摂餌量、膣スメアによる性周期等を観察した。

【結果及び考察】第3群では軽度の体重増加抑制が見られたが、膣スメアによる性周期の観察では異常を認めなかった。しかしながら、投与終了時の第3群の卵巣重量は対照群の約1.5倍の高値を示した。また、血清プロラクチン濃度は発情休止期では群間で差は無かったが、発情前期では第3群で対照群の約2倍の高値を示した。以上の結果よりNFによるラット乳腺腫瘍発生機序は、NFが性周期の異常を引き起こすまでには至らないものの、視床下部又は下垂体に作用しプロラクチン合成を刺激して、高プロラクチン血症を誘発した結果と考えられた。

○渡辺隆夫^{1,2}、高橋正一²、飯塚生一²、勝田真一²、黒田博之²、吉田 緑²、安藤 進²、前川昭彦²
(¹興和・安全性、²佐々木研・病理)

【目的】ニトロフラゾン(NF)は、ラットで乳腺腫瘍の発生増加を引き起こすことが知られており、その発生機序については、内分泌系を介する可能性が推測されているものの、詳細については未だ不明である。NFのラット乳腺腫瘍発生機序を解明する目的で、ラット二段階乳腺発がん実験法を用い、検討したので報告する。

【方法】Wistar系雌性ラットを4週齢で日本クレア(株)より購入し、4群に分けた。7週齢時に20mg/匹量の7,12-dimethylbenz(α)anthracene(DMBA)を3及び4群に単回経口投与し、8週齢時より2及び4群には1000ppm濃度のNFを27週齢時まで混餌投与し、内分泌学的及び病理組織学的検索を実施した。

【結果及び考察】性周期の異常の有無を実験開始後定期的に調べた結果、持続発情を示した動物は認められなかったが、NFを投与した2及び4群では20%以上の動物が4日周期を外れた。また両群ともに対照群に比し、15%程度の体重増加抑制が認められ、さらに卵巣重量の増加も観察された。乳腺腫瘍の発生はDMBA投与群である3及び4群で13週齢時より顕著に観察された。解剖検査では1匹あたりの腫瘍平均個数が3群で2.3個、4群で2.5個と同程度であったが、腫瘍1個あたりの平均重量では3群が3.2g、4群が5.3gと差がみられた。さらに、巨大腫瘍の発生率で比較したところ、10g以上のものは3群で10%、4群で38%、20g以上のものは3群で9%、4群で21%であった。しかしながら、病理組織学的に乳腺の病変を過形成、腺腫、腺癌及び線維腺腫に分類し比較した結果、腫瘍のほとんどが腺癌であり、発生頻度は3、4群間で差が認められなかった。以上の結果、今回の実験では仁江-シヨ作用が強すぎたため、NFは乳腺腫瘍の発生頻度に対しては影響を与えなかったものの、僅かながら増殖を促進し、その原因として実験(I)でみられた様にNF投与による高プロラクチン血症が考えられた。

P-71 Estradiol dipropionate 投与ラットにおける下垂体増殖病変の系統差

○佐藤 洋¹、陳 忠正²、榎本 佳典¹、梶村 哲世¹、野村 護¹ (第一製薬 安全研¹、創薬3研²)

【緒言】我々は現在までに F344 系ラットを用いて、持続性合成エストロゲンである estradiol dipropionate(ED)を皮下に隔週間欠投与する事により、7 週で下垂体腺腫が、13 週で浸潤性下垂体腫瘍が発生することを報告してきた(第 12、13 回毒性病理学会)。しかしながら、エストロゲンに対する下垂体の反応にはラットの系統差が存在することが指摘されている。そこで今回、F344 系、Sprague-Dawley 系、Wistar 系、Donryu 系および Brown-Norway 系ラットを用い、エストロゲンに対する下垂体反応の系統差を検討した。

【実験材料および方法】7 週齢の F344 系、Sprague-Dawley 系、Wistar 系、Donryu 系および Brown-Norway 系雌雄ラットを用い、25 mg/kg の ED を 6 または 12 週間背部皮下に隔週間欠投与した。動物は試験開始後 7 および 13 週目に安楽死させ、下垂体を蝶形骨に付したまま採材し、組織学的に検査した。また、下垂体の変化を経時的に観察する目的で、動物用 MRI 画像装置(BIOSPEC CSI 47/40 4.7 Tesla)を用い T1 強調画像から推定下垂体重量を算出した。

【結果およびまとめ】MRI 画像で F344 系、Sprague-Dawley 系および Wistar 系ラットでは ED 投与後 3 週より、下垂体の腫大が観察された。組織学的には F344 系、Sprague-Dawley 系および Wistar 系ラットにおいて、7 週で下垂体腺腫が、13 週で浸潤性下垂体腫瘍が発生した。一方、Donryu 系および Brown-Norway 系ラットの下垂体には MRI 画像で腫大は認められず、組織学的に増殖性病変も観察されなかった。ED に反応を示した系統では雌の方が、雄よりも高い感受性を示した。現在、ED に対する反応の異なる系統の代表として、高感受性である F344 系ラット、低感受性である Donryu 系ラットを選択し、tyrosine hydroxylase、ドパミン、p53 蛋白あるいはエストロゲンレセプターに関する検討を実施中である。

P-72 大豆食で惹起されるラット甲状腺および下垂体の超微形態学的変化

○今沢孝喜¹、池田尚子^{1,2}、西川秋佳¹、笠原健一郎¹、木村修一²、広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理、²昭和女子大)

【目的】ラットに過剰の大豆含有飼料を与えると甲状腺濾胞上皮の肥大、過形成を経て腫瘍が誘発される。また、大豆摂取による甲状腺肥大作用はヨード欠乏との相乗効果を示す。今回、そのメカニズム解明の一環としてヨード欠乏あるいは大豆摂取による甲状腺および下垂体ホルモンの動態ならびに超微形態学的変化について検索した。【方法】動物は各群 5 匹の 4 週齢 F344 雌ラットを用いた。群構成は、食餌中 20%グルテン単独投与を I 群(対照)とし、そのヨード欠乏を II 群、20%脱脂大豆単独投与を III 群とし、そのヨード欠乏を IV 群とした。実験開始 10 週後に、エーテル麻酔下で採血後、剖検した。甲状腺および下垂体を採取・固定後、光顕的および電顕的に検索した。【結果】甲状腺の重量は I 群と比較し、他の群では有意に増加し、下垂体の重量は III、IV 群において有意に増加した。血清 T4 は II、IV 群で有意に低下したが、III 群では増加傾向を示した。一方、TSH は III 群、特に IV 群で著しく増加した。光顕的に、IV 群では甲状腺濾胞上皮細胞の過形成、コロイドの消失が認められたが、下垂体には著変がなかった。電顕的観察では、投与群の甲状腺濾胞上皮細胞において粗面小胞体(rER)の拡張、分泌顆粒(EG)の減少、ミトコンドリアの増加、細胞質の blebbing などが IV 群、II 群、III 群の順の強さで観察された。下垂体前葉細胞においては、rER の発達と拡張、EG の減少が IV 群、III 群、II 群の順で認められた。【考察】電顕的に処置群では下垂体あるいは甲状腺ホルモンの産生・分泌の亢進が示唆された。ホルモン動態を考慮するとヨード欠乏では、甲状腺の肥大は下垂体-甲状腺系のネガティブ・フィードバック機構を介する反応であり、大豆過剰摂取が加わると相乗的に作用することが電顕的にも確かめられた。一方、大豆投与では甲状腺の超微形態学的変化は下垂体に比べて軽度で、しかも T4 は増加傾向にあることから、下垂体系への直接反応である可能性が示された。

○藤本成明、丸山聡、殷宏、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、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。この物質の高濃度長期経口投与によりマウス甲状腺に高頻度で腫瘍性病変をつくることが示された。ラットによる解析の結果、コウジ酸が甲状腺機能を障害し、下垂体からの甲状腺刺激ホルモン(TSH)の増加を引き起こすことが示された。しかし、単回経口投与実験では逆に甲状腺へのヨード取り込みが増加するもののホルモンレベルに変動はないという報告もあり必ずしもデータが符合しない。そこで今回、コウジ酸食投与開始後および中止後の甲状腺機能と血中ホルモン動態の解析を行った。【材料と方法】5週令雄の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週目で屠殺、または4週間連続投与後に中止して、6、12、24、48時間後に屠殺した。屠殺前に Na^{125}I 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】1) 甲状腺重量は投与開始後4週目まで直線的に増加した。組織学的には瀰漫性過形成であった。投与中止後48時間では、形態的变化は観察されなかった。2) ヨード取り込みとヨードの有機化率は、経時的に阻害された。投与中断後の回復は速く、有機化率は6時間で正常レベルに戻った。3) 甲状腺ホルモン(T3/T4)値はコウジ酸群で低下、対応してTSHが増加した。投与中止後、ホルモン値はリバウンドを経て24-48時間で正常値に戻った。【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亢進により、甲状腺腫大を引き起こすと考えられた。コウジ酸による甲状腺機能障害は可逆性が高く、投与中止後短時間で機能が回復することが示唆された。単回経口投与実験とのデータの不一致もこれにより説明される。

ヘアレス犬の皮膚剥離創に対するキチン・キトサン創傷被覆材の皮膚刺激反応

○木村 透、土井邦雄¹（農産工・中研、¹東大・農）

我々は、Mexican hairless dog 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た。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、農薬および染毛・脱色剤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、ヒトおよび伴侶動物の形成外科領域で利用されている創傷被覆材の内、接触性皮膚炎の事例が報告され始めたキチン・キトサン製材をヘアレス犬の皮膚剥離創に投与し、その皮膚刺激性を調べた。

【材料および方法】3歳のN4ヘアレス犬、3頭を試験犬とした。被検薬品および被覆材としては、1)キトサン、2)キチン、3)豚真皮製材、4)キトサン製材および5)キチン製材を用い、無処置部位を対照部位とした。背部皮膚に均一な剥離創(2.0×2.0cm)を6か所作り、各被覆試料を投与した。試験部位の観察は毎日行くとともに、病理組織学的検査は、試験開始前および試験開始後1, 2, 3週目に実施した。

【成績】**観察成績**：無処置部位は試験開始2-3週間で、肉芽の形成および上皮の再形成が完了した。無処置部位および1)投与部位では異常な反応は認められなかったが、2)および3)投与部位には炎症反応が生じる場合が見られた。4)投与部位では翌日より炎症反応が現れ、投与をする間は激しい炎症が続いた。5)投与部位の創傷治癒は最も遅れ、創傷治癒の促進効果は確認できなかった。**病理組織学的検査成績**：炎症が生じた2)および3)投与部位では、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認められた。4)投与部位は、肉芽組織中に炎症性細胞の浸潤を認め、創周辺では表皮・真皮両層に強い変性および炎症性細胞の浸潤を主体とした反応が観察された。5)投与部位の肉芽形成および再上皮化は、試験開始後3週目に至っても不十分であった。

【考察】ヘアレス犬の皮膚剥離創を用いた試験成績より、キトサン製材は滲出液の多い場合、強い炎症反応をもたらすことがわかった。また、創の湿潤環境が保たれる場合、豚真皮製材およびキチン製材は必ずしも創傷治癒を促進させるとは限らないこともわかった。

P-75

Fenoldopam 投与における壊死性動脈炎の発現および回復過程における免疫組織学的検討

○池上仁, 宍戸隆男, 石田勝彦, 白木克尚, 二井愛介, 花田貴宣, 中山裕之¹⁾, 土井邦雄¹⁾
(山之内製薬, ¹⁾東京大学農学部獣医病理学教室)

【緒言】 Fenoldopam は, ドーパミンアゴニスト作用を持つ化合物であり, ラットに静脈内持続投与することによって腹腔および骨盤内の動脈に中膜壊死を起こすことで知られる. 今回, 中膜壊死に伴う動脈炎の発現および回復過程を IgG, IgM および C3 の沈着の推移も含めて検討した.

【材料と方法】 Fenoldopam を F344 ラットに 6mg/kg/hr の投与速度で 24 時間静脈内持続投与した. 投与直後および 1, 3, 5, 7, 14 および 28 日後に 3 匹ずつ屠殺した. 精巣動脈, 膵臓および腸間膜のパラフィン包埋切片および凍結切片を作製し, 組織学的に検査した.

【結果】 検査したいずれの組織でも投与直後には動脈の中膜壊死がみられ, 壊死部では赤血球の貯留がみられた. 膵臓および腸間膜では 1 日後, 精巣動脈では 3 日後から内弾性板に隣接する部位から平滑筋細胞の再生がみられ始め, いずれも 7 日後には中膜壊死がほぼみられなくなった. 3 および 5 日後には内皮と内弾性板との間に結晶様構造物が沈着し, IgM 陽性を呈した. 3 および 5 日後には, 壊死部および再生平滑筋細胞間に IgG, IgM の沈着が顕著にみられたが, 7 日後には減少し, 14 日後には消失した. 3 日後には C3 の発現もみられたが, 7 日後には消失した. 外膜では, 1 日後から単核細胞を中心とした炎症性細胞浸潤および線維芽細胞増殖が始まり, 投与 3 日後に最も顕著になったが, 14 日後には消失し, 膠原線維の増生のみがみられた. 膵臓および腸間膜では, 3 および 5 日後に外弾性板が破綻し, 周囲外膜にフィブリン析出がみられ, IgG および IgM 陽性を呈した. 現在, 凍結切片を用いて C3 の発現をさらに詳細に検討中である.

P-76

軟骨腫瘍における軟骨特異コラーゲンおよび HSP47 発現
- 免疫組織化学的検討 -

○永井 博文、青木 正美（武田薬品）、田中 俊光（ヘキスト・マリオン・ルセル）

【緒言】軟骨細胞の腫瘍化に伴う基質産生の変化とその機序を明らかにする目的で、ラットの各種軟骨腫瘍における軟骨特異基質蛋白である II および X 型コラーゲン (Coll II および Coll X) の局在と、コラーゲン特異分子シャペロンと考えられている HSP47 発現との関連について免疫組織化学的に検討した。

【材料と方法】ラットの大腿骨および脛骨に発生した骨軟骨腫 4 例、鼻腔内の軟骨腫 1 例及び下顎骨の軟骨肉腫 1 例の 10%中性緩衝ホルマリン固定、脱灰、パラフィン包埋標本を用いた。各標本について H&E およびサフラニン O 染色の他、抗ラット Coll II および Coll X ウサギポリクローナル抗体 (LSL) および抗ラット HSP47 モノクローナル抗体 (StressGen) を用いて免疫組織化学的染色を行った。

【成績】正常骨端軟骨では Coll II は軟骨基質全体に一樣に、Coll X は肥大軟骨細胞の細胞領域間質に限局してその発現が認められた。骨軟骨腫は主として正常骨端軟骨と同様の組織構築およびコラーゲン発現パターンを示したが、正常な軟骨内骨化を示さない部位において Coll II および Coll X の軟骨小腔/細胞質内に限局した陽性反応がみられた。軟骨腫は分化した軟骨細胞が小葉構造をとりながら圧排性に増殖しており、Coll II は軟骨基質全体に一樣に染色されたが、Coll X の発現は認められなかった。軟骨肉腫は種々の分化段階の腫瘍細胞が様々なパターンで既存の骨組織を破壊、浸潤性に増殖しており、増殖巣の中心部には広範な壊死がみられた。本腫瘍では比較的分化した基質産生の豊富な領域において Coll II および Coll X 共に軟骨小腔/細胞質内に限局した陽性反応を示す腫瘍細胞が散見された。HSP47 は正常および腫瘍性軟骨細胞のほとんど全てで細胞質内にその発現が認められたが、コラーゲンの軟骨小腔/細胞質内局在を示す骨軟骨腫/軟骨肉腫細胞ではその発現が低下あるいは消失していた。

【考察】コラーゲンの軟骨小腔/細胞質内局在と共に HSP47 発現の低下が認められたことから、HSP47 が軟骨細胞においてコラーゲン産生、特にその細胞外分泌に重要な役割を演じていることが示唆された。

○松嶋周一, 丸山敏之, 星元満里子, 尾崎清和¹, 奈良間功¹
 (塩野義製薬・新薬研, ¹摂南大・薬・安全研)

【緒言】ラットに乳酸鉄を混合した粉末飼料を4週間投与すると、ヒトの骨軟化症と類似した病変が誘発される。この誘発病変は軟X線検査による大腿骨および脛骨皮質骨の軽度な菲薄化と、組織学的検査による類骨量増加と石灰化前線への鉄沈着として認められた。しかし、皮質骨の菲薄化が发育抑制によるものか发育遅延によるものか判定し得なかった。今回、乳酸鉄による誘発性骨病変に関する更なる知見を得る目的で、SDラットに乳酸鉄を長期間に亘って反復混餌投与し、骨病変の解析を試みた。

【材料および方法】乳酸鉄(乳酸第一鉄, 武蔵野化学)を5%混合した粉末飼料(CRF-1, 利エカ酵母)を5週齢の雄SDラットに8および13週間混餌投与し、脛骨を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、非脱灰骨をオステオパッドに包埋し、スパーハートナイフで3μmに薄切し、Goldner's masson trichrome染色を施し、二次海綿骨領域を画像解析ソフトImage-Pro Plus(プラネト)で測定した。その他、投与終了時に尿検査および血液生化学検査を実施した。

【結果】投与群において体重増加抑制がみられ、骨代謝マーカーではosteocalcinの増加、PTHの減少、血液生化学検査では尿素窒素、AST、ALT、総ビリルビン、カルシウム、鉄の増加、無機リンの減少、血液学的検査では血小板数、好酸球数の増加、尿検査ではカルシウム、鉄の増加、クレアチニン、無機リンの減少が認められた。骨形態計測では8および13週投与群に骨量の減少、類骨の増加が認められたが、その程度はいずれも8週投与群でやや高度であった。

【まとめ】鉄による骨軟化症の発生機序としては鉄の腎障害に起因する二次障害、鉄欠乏による石灰化障害および骨細胞への直接障害が考えられている。腎障害による骨軟化の生化学所見としてはPTHおよびosteocalcinの増加、血中カルシウムの減少、無機リンの増加、尿中カルシウムおよび無機リンの減少が知られているが、本試験ではPTH、血中カルシウム、血中無機リン、尿中カルシウム値が逆転していた。従って、鉄欠乏による直接障害の可能性が高いと思われるが、病変の程度は投与期間の延長によって増強されなかった。また、形態計測では8週投与群で類骨の増加がみられることから、胃腸への好酸球浸潤から栄養吸収障害性の发育抑制(石灰化障害)の影響も示唆される。

○中野健二, 藤本隆平, 白木克尚, 二井愛介, 泉沢信行, 福島慎二*,
 高橋浩一郎*, 花田貴宣(山之内製薬, 安全研, *:同, 応用薬理研)

【はじめに】YM175は強力な骨吸収抑制作用を有するbisphosphonateである。本薬の作用機序解明の一端として、9週齢ラットにおける薬物局在を第9回本学会(1993年)で発表した。今回、新生ラットを用いて検討した。【材料および方法】3日齢の雌雄SDラットに高放射活性を有する³H-YM175(0.03mg/kg)を単回皮下投与した。投与後12, 24時間および3日に大腿骨を採取し、2% paraformaldehyde/2.5% glutaraldehydeにて4℃、一晚固定した。固定後、非脱灰でGMA包埋し約2μmに薄切し、マイクロオートラジオグラフィ実施後にTRAP染色を施して観察した。【結果】YM175投与後12時間では石灰化軟骨および骨表面全体に薬物が認められ、特に骨形成の盛んな骨端軟骨近傍の海綿骨で高濃度に集積した。投与後3日では骨幹部に近い骨幹端海綿骨表面に高い濃度の薬物局在が認められたのみで、投与後に形成されたと考えられる石灰化軟骨、一次海綿骨には認められなかった。破骨細胞内には投与後12時間より薬物の集積が認められ、時間経過に従って高濃度に分布するようになった。また、アポトーシスあるいはアポトーシス小体様構造物に細片化した破骨細胞が認められ、これらにも薬物の集積が認められた。なお、投与後12時間には骨幹端領域の拡大が認められた。骨芽細胞、骨細胞および骨髄細胞等には観察期間を通して薬物局在が認められなかった。【考察および結論】①石灰化軟骨、骨表面および破骨細胞内に薬物が認められること、②全てのポイントでアポトーシスを示す破骨細胞が認められること、③薬物を含んだ骨あるいは石灰化軟骨が時間経過に伴い減少していることなどから; YM175の骨吸収抑制作用は破骨細胞性骨吸収の結果、薬物が破骨細胞内に取り込まれてアポトーシスを起こすことで生じること、その作用は破骨細胞選択的であること、が示唆された。

○鈴木雅実^{1,2}, 足立健児¹, 杉本哲朗¹, 中山裕之², 土井邦雄²
(¹中外製薬・安全研, ²東大・農・獣医病理)

【目的】我々は、高用量(臨床用量の20~200倍)の recombinant human G-CSF (rhG-CSF)をラットへ反復投与すると、骨髄間質細胞による骨髄腔の置換を伴う破骨細胞性骨吸収の亢進が起こり、その後、膜内骨化による骨形成が発現することを報告した。そこで今回、骨系細胞(破骨細胞、骨芽細胞、骨細胞)および骨髄間質細胞の細胞増殖動態を BrdU の瞬間ならびに連続標識により検討した。

【材料および方法】6週齢のSD系雄ラットに rhG-CSF の 1000 µg/kg を 4, 7, 14 日間反復皮下投与した。瞬間標識では、剖検 2 時間前に BrdU(30 mg/kg)を静脈内投与した。連続標識では、rhG-CSF 投与開始日に BrdU を充填した浸透圧ポンプ(240 µg/hour/rat)を腹腔に埋め込んだ。大腿骨を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液による固定を 24 時間、20% EDTA による脱灰を 14 日間施した後、パラフィン切片を作製した。BrdU 陽性細胞は免疫組織化学的に検出した。

【結果および考察】骨吸収部の破骨細胞では、瞬間標識による BrdU 陽性反応は認められなかった。連続標識では、BrdU 陽性破骨細胞が標識 7 日後より観察され、投与期間を経るにしたがい増加した。骨吸収部の骨髄間質細胞では、瞬間標識による BrdU 陽性反応が、ごく少数の紡錘形から類円形の比較的大型の核を有する線維芽細胞様細胞に認められた。連続標識では、標識 4 日後より、多数の間質細胞に BrdU 陽性反応が認められた。骨形成部では、瞬間標識による BrdU 陽性反応が、新生骨近辺の線維芽細胞様細胞に認められ、連続標識では、線維芽細胞様細胞とともに、新生骨周囲あるいは内部に存在する骨芽細胞および骨細胞に BrdU 陽性反応が認められた。

以上、高用量の rhG-CSF 投与により骨系細胞に加え骨髄間質細胞が増殖し、骨髄微小環境の主な構成細胞である骨髄間質細胞の変化が骨病変の発現に深く関与しているものと考えられた。

○川口博明^{1,2}, 爰島洋子², 前田 博², 宮寫宏彰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> 最近、乳癌が発生したヒトでは、骨粗鬆症の発生頻度が低く、このことは血清中のエストロゲン値が高いことに関連していることが報告された。今回、我々は繁殖用老齢雌ラットについて乳腺疾患の発生と骨粗鬆症の関連について調査したので報告する。

<材料と方法> 未経産、交配経験のある2歳齢近交系雌 SD ラット12匹を体重測定後、安楽死させ、剖検し、種々の器官の重量を測定し、相対重量(体重比)を算出した。また、乳腺部腫瘍を採取し、HE標本作製後、組織検査を行い、担乳腺症動物と非担乳腺症動物に分けた。また、第1~5腰椎(L1-5)および右大腿骨を採取し、dual energy X-ray absorptiometry (DXA)法による骨塩量(BMD)、骨密度(BMC)を測定した。

<結果> ①剖検: 7例(58.3%)に乳腺症腫瘍(1例中1~3個, 0.4~5cm大)がみられた。②体重および器官重量: 非担乳腺症動物と比較して、担乳腺症動物では体重、副腎の絶対重量および甲状腺の絶対・相対重量の有意な高値がみられた。③病理組織学的検査: 乳腺部腫瘍はいずれも乳腺症(腺房性、線維性もしくは嚢胞性)であった。④DXAによる骨塩量・骨密度: (Table 1)

Table 1 (Average ± SD)

		非担乳腺症動物		担乳腺症動物	
L 1-5	BMC	467.5 ± 16.2	466.4 ± 16.2		
	BMD	142.5 ± 7.55	144.9 ± 7.58		
Femur	Whole BMC	142.3 ± 3.66	147.6 ± 5.51		
	Whole BMD	312.9 ± 18.2	332.3 ± 13.3		
	Proximal BMC	138.4 ± 4.82	142.6 ± 5.22		
	Proximal BMD	115.6 ± 7.35	122.4 ± 4.75		
	Mid BMC	141.3 ± 5.71	146.2 ± 5.52*		
	Mid BMD	94.4 ± 5.16	101.4 ± 4.82		
	Distal BMC	147.0 ± 3.16	153.9 ± 9.71		
	Distal BMD	118.0 ± 10.6	124.5 ± 6.49		

*: p<0.05, different from “非担乳腺症動物”

BMD: Bone mineral density (g/cm²), BMC: Bone mineral content (g)

<まとめ> 非担乳腺症動物と比較して、担乳腺症動物の腰椎の骨密度および大腿骨の骨塩量・骨密度は高値傾向を、特に大腿骨骨幹部の骨塩量は有意な高値を示すことより、乳腺症の発生したラットでは、乳癌が発生したヒトでみられているように骨粗鬆症になりにくいことが示唆された。

P-81

CB6F1-Tg-rasH2 マウスを用いた Di(2-ethylhexyl)phthalate の 26 週間がん原性試験

○豊沢かおる、沖本一夫、木川英美、入江眞美、木島和恭、田中浩二（大日本製薬株・開発研）

【緒言】 マウスがん原性試験代替法としてトランスジェニック・マウスを用いた試験が候補として挙げられている。我々はヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入した CB6F1-Tg-rasH2 マウスの有用性を確認する共同研究の一環として、パルチシム増生剤であり齧歯類に肝臓腫瘍を誘発する事が知られている Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) の 26 週間がん原性試験を実施した。

【材料および方法】 対照群、DEHP 1500、3000 および 6000 ppm 群、および陽性対照群（N-methyl-N-Nitroso-urea 75 mg/kg 単回腹腔内投与後 14 週間後に剖検）に CB6F1-Tg-rasH2 マウス雌雄各 15 例を、対照群および DEHP 6000 ppm 群に野生型 CB6F1 マウス（non-Tg）雌雄各 15 例を設定した。DEHP の用量は、野生型 CB6F1 マウスを用いた 4 週間用量設定試験で肝臓に明らかな組織学的変化の見られた 6000 ppm とした。各群 8 週齢から投与を開始し、DEHP は 26 週間混餌投与した。投与期間中は一般状態の観察・体重および摂餌量測定を行い、投与終了時に剖検・器官重量測定、その後に病理組織検査を実施した。

【結果】 陽性対照群では皮膚・前胃の扁平上皮乳頭腫、悪性リンパ腫、肺腺腫が多く見られた。DEHP 投与群では一般状態、体重および摂餌量で投与による変化は見られなかった。剖検では肝臓の重量増加および黒色化（パルチシム増生剤で一般に見られる）が Tg および non-Tg の 6000 ppm 群全例に見られた。また、水腎症が Tg および non-Tg の 6000 ppm 群のみに見られたが、DEHP により水腎症が発生したという報告は見当たらない。肝臓の腫瘍も数例に見られたが、投与あるいは遺伝子導入によるものかは今のところ不明である。現在、DEHP 投与群の病理組織検査を実施中であり、当日は組織検査結果を加えて報告する。

P-82

Tg-rasH2マウスにおける N-methyl-N-nitrosourea (MNU) に対する 発がん感受性とその用量依存性に関する検討

○小林 潔、後藤和広、土屋毅幸、杉本次郎、佐野文子、日下部愛泉
坂入鉄也、務台 衛（三菱化学・横浜総研・安全性研）

【目的】 従来行われてきた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法が提唱されており、現在その有用性に関する検証作業がILSI-HESIの国際共同研究として進められている。その一環として今回我々は、rasH2マウスの MNU に対する発がん感受性および潜伏期間の用量相関性について検討したので報告する。MNU は様々な動物種に対して発がん性を示す遺伝子傷害性の直接的発がん物質であり、マウスでは造血器、皮膚、前胃を標的とすることが知られている。

【材料と方法】 8 週齢の Tg-rasH2 マウス、および Non-Tg-rasH2 マウスの雌雄各 60 匹を用いた。これらを 15 匹づつ 4 群に分け、各群のマウスに MNU を 0、18.75、37.5、75 mg/kg の用量で 1 回腹腔内投与した。瀕死動物は随時安楽殺処分とし、26 週目にすべての動物の病理解剖を行った。

【結果】 Tg マウスでは、MNU の投与によりリンパ腫、前胃粘膜過形成/腫瘍、皮膚腫瘍の発生が認められ、これらの発生頻度、および悪性度（前胃粘膜）は MNU の用量に依存して増大した。一方、Non-Tg マウスでは 75 mg/kg 群においてのみ、リンパ腫および前胃の過形成が散発的に認められた。

【考察】 以上の結果から、Tg-rasH2 マウスは MNU に対して高い発がん感受性を有することが明らかになった。また、今回の短期発がん性試験において用量反応性が認められたことは、がん原性評価における Tg-rasH2 マウスの有用性を支持する所見と考えられた。

P-83

CB6F₁-Tg Hras2 (rasH2) マウスに発生した *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) 誘発胸腺リンパ肉腫の病理組織像及びフローサイトメトリーによるリンパ球膜抗原の解析

○柴田誠司, 久田 茂, 谷藤久人, 永嶋雅子, 飯塚和弘, 森本秀樹, 中山隆治 (帝国臓器安全研), 日居敏仁 (実中研)

我々は、マウス癌原性試験の代替試験法に関する ILSI-HESI の国際共同研究の一環として、rasH2 マウスを用いた cyclophosphamide の週 1 回間欠投与による 26 週間短期発癌実験を実施している。陽性対照群である MNU 投与群に多発した胸腺リンパ肉腫に関して病理組織学的検査、血液学的検査及びフローサイトメトリーによるリンパ球膜抗原の分析 (サブセット分析) を行った。

【材料と方法】雌雄各 15 匹の rasH2 マウス (8 週齢) に 75mg/kg の MNU を単回腹腔内投与し、14 週目に全例を屠殺・解剖して、血液学的検査及び病理組織学的検査を行った。また、肉眼的に認められた胸腺腫瘍についてフローサイトメトリーによるサブセット分析を行った。

【結果】観察期間中に雌雄各 2 例が死亡した。死亡例を含めて雄 14/15 例及び雌 12/15 例に胸腺リンパ肉腫を認めた。これらの内、雄 7 例及び雌 10 例が胸腺腫大例であった。雄 2 例および雌 4 例の胸腺腫瘍についてサブセット分析を行った。その結果、主に CD4⁺CD8⁺細胞を含む腫瘍が 1/6 例、CD4⁺CD8⁺細胞と CD4⁺CD8⁻細胞が混在する腫瘍が 2/6 例、主に CD4⁺CD8⁻細胞を含む腫瘍が 3/6 例で、CD4⁺CD8⁻細胞はほとんど存在しなかった。CD4⁺CD8⁻細胞を含むリンパ肉腫発生例にはリンパ節及び全身諸臓器への腫瘍細胞の転移を認め、転移が顕著であった 2 例には白血球化を認めた。主として CD4⁺CD8⁻細胞を含むリンパ肉腫例には白血球化及びリンパ節への転移はみられず、肺或いは脾臓への軽度な転移のみを認めた。また、CD45-RA の発現はみられず、CD3 の発現はまちまちであった。

【結論】MNU は様々な系統のマウスに胸腺リンパ肉腫を発生させるが、C57BL/6 マウスなどにおけるサブセット分析の結果は今回と同様であり、胸腺リンパ肉腫の誘発における MNU の標的細胞が CD4⁺CD8⁻細胞であると考えられている。従って、rasH2 マウスにおける MNU 誘発胸腺リンパ肉腫の標的細胞は他系統のマウスにおける MNU 誘発胸腺リンパ肉腫の場合と同様と推察された。

P-84

p53ノックアウト (ヘテロ欠損) CBAマウスにおける
N-methyl-*N*-nitrosourea (MNU)の発癌感受性

○高木久宜、三森国敏、西川秋佳、小野寺博志、古川文夫
安原加壽雄、笠原健一郎、広瀬雅雄 (国立衛研・病理)

【はじめに】近年、長期発癌性試験の代替短期発癌実験モデルとして p53ノックアウトマウスの利用が有用視されている。山本らは、p53(Exon5)遺伝子の両側アルルが欠損している p53(-/-)C57BL6マウスおよび p53の片側アルルが欠損している p53(+/-)C57BL6マウスに 30ppm の *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) を隔週で 10 週間飲水投与したところ、p53(-/-)マウスでは p53(+/-)マウスに比して腺胃腫瘍の誘発率が著しく高かったことを報告している (第 57 回日本癌学会: 横浜)。一方、我が国では p53 の Exon2 の片側アルルが欠如している p53 (+/-)CBAマウスがオリエンタル酵母で維持繁殖されているが、この系統マウスでの MNU に対する発癌感受性は明らかにされていない。そこで今回、我々は、この p53(+/-) CBAマウスに MNU を 26 週間飲水投与して、その発癌感受性を検討した。【材料および方法】実験 1 では、雄 p53(+/-)CBAマウスおよびその同腹仔の野生型 CBAマウス (p53(+/+)) マウスそれぞれ 15 匹づつに 50ppm ないし 10ppm の MNU を 26 週間飲水投与し、MNU の投与量の違いによる発癌感受性を検討した。さらに実験 2 では、p53(+/-)CBAマウス (雄 7 匹、雌 10 匹) およびその同腹仔の p53 (+/+)マウス (雌雄それぞれ 10 匹) に 50ppm の MNU を 26 週間飲水投与し、MNU の性差による発癌感受性を検討した。【結果】実験 1 では、腺胃の過形成が MNU 50ppm 投与群で p53(+/-)マウスに 6/13 例、p53 (+/+)マウスに 2/15 例認められ、MNU 10ppm 投与群で p53(+/-)マウスに 5/14 例、p53 (+/+)マウスに 3/15 例認められたが両者に有意な差はみられなかった。実験 2 では腺胃の過形成が雄の p53(+/-)マウスに 2/7 例、p53(+/-)マウスに 2/10 例認められ、雌の p53(+/-)マウスに 3/10 例、p53 (+/+)マウスに 2/10 例認められた。前胃乳頭腫が雄の p53(+/-)マウスに 1/7 例認められた。また、実験 1、2 で p53(+/-) マウスの肝臓に肝細胞増殖巣、肝腫瘍が、肺に腺腫が発生したが、p53 (+/+)マウスと比し有意な差はみられなかった。【結論】今回の実験条件下では、p53(+/-)CBAマウスは p53(+/-) C57BL6マウスより MNU に対する発癌性が低く、また p53(+/-)CBAマウスに比べても明らかな発癌感受性の増強はみられず、同じ p53ノックアウトマウスでも系統によりその発癌感受性が異なることが示唆された。

P-85 新生仔マウス二段階発癌モデルによる PhIP のリスク評価

○中村英明、西川秋佳、古川文夫、笠原健一郎、宮内慎、高橋道人、広瀬雅雄
(国立衛研・病理)

〔目的〕発癌物質の探索を目的とした新生仔マウス二段階発癌モデルの有用性の検討のため、ヘテロサイクリックアミンの一種で、ラットに大腸癌、乳癌および前立腺癌を、マウスに悪性リンパ腫を誘発する既知発癌物質 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP)を対照物質として本試験系における腫瘍発生への影響を調べた。

〔方法〕生後 7 日目の雌雄マウスにイニシエーターとして *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) を 50 mg/kg 体重の割合で単回皮下投与した。2 週間後から 10、50 および 200 ppm の PhIP を混餌投与し、BOP 単独投与群には基礎飼料を与えた。30 週齢時に全生存動物を剖検し、病理組織学的に検索した。

〔結果〕BOP の新生仔期投与により肝臓、肺、鼻腔および膵臓に増殖性の病変が誘発された。特に肝腫瘍（肝細胞腺腫または肝細胞癌）と肺腫瘍（腺腫または腺癌）が高率に発生した。しかし、肝腫瘍、肺腫瘍およびその他の増殖性病変ともに発生率および発生個数において、BOP 単独投与群と BOP+PhIP 投与群との間に有意差は認められなかった。またこの段階では PhIP 投与による悪性リンパ腫の発生は見られなかった。

〔結論〕BOP を用いた新生仔マウス二段階発癌モデルにおいて PhIP は促進作用を示さず、この系では PhIP の発癌プロモーション活性を検出できなかった。

P-86 新生仔マウス二段階発癌モデルによる MeIQx のリスク評価

○宮内 慎、西川秋佳、古川文夫、笠原健一郎、中村英明、高橋道人、広瀬雅雄 (国立衛研・病理)

〔目的〕プロモーター活性検出による発癌性リスク評価を目的として、新生仔マウスに *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) を単回投与後にマウスの肺および肝臓に対する既知発癌物質 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx) を連続投与し、腫瘍性病変の発生状況を検索した。

〔方法〕生後 7 日目の雌雄 ICR マウスにイニシエーターとして BOP を 50 mg/kg 体重の用量で背部に単回皮下投与した。2 週間後から MeIQx を 3, 30 および 300 ppm の濃度で混餌投与した。その他に対照として BOP 単独投与群を設けた。26 週齢時に全生存動物を剖検し病理組織学的に検索した。

〔結果〕主として肝臓、肺、鼻腔および膵臓に増殖性病変が認められた。肝腫瘍（肝細胞腺腫または肝細胞癌）の発生率は雄の BOP 単独投与群で 90.9%、BOP+MeIQx の 3, 30 および 300 ppm 投与群でそれぞれ 71.4, 100 および 100%であった。多発性は BOP 単独投与群の 4.0 個/匹に対して、BOP+MeIQx 300 ppm 投与群で 5.3 個/匹であった。雌についても同様の傾向で、MeIQx による有意な腫瘍促進効果は認められなかった。肺腫瘍（腺腫または腺癌）についても有意な MeIQx の腫瘍促進効果は認められなかった。なお、鼻腔腫瘍は BOP 単独投与群の雄に 2 例、BOP+MeIQx 3 ppm 投与群の雌雄各 1 例に認められた。膵腺房細胞の過形成は、BOP 単独投与群の雌雄に各 2 例、BOP+MeIQx 3, 30, 300 ppm 投与群の雄では 1,3 および 1 例、雌では各 1 例に認められた。

〔考察〕MeIQx 投与により BOP 誘発腫瘍の発生増加は認められず、今回の新生仔マウスを用いる二段階発癌モデルでは、MeIQx のプロモーター作用を検出できなかった。

P-87 ラットにおける中期検索法を用いたイニシエーション活性法の検討

○木ノ本寿子¹, 澤多美和¹, 井口綾子¹, 山口 格¹, 米良幸典¹,
立松正衛² (¹ゼリア新薬・中研・安全研, ²愛知がんセ・1病理)

【目的】ラット肝を指標としたイニシエーション活性中期検索法(5週間)は、その特徴として in vivo においてイニシエーション活性の有無を臓器特異性の枠をこえて検索可能なことが確認されており、現在その有用性についての検証を行っているところである。そこで今回、本試験法のバリデーション確保の一環として、既知の非遺伝毒性発癌物質について Glutathione S-transferase-P(GST-P)陽性細胞巢の誘導能を観察した。

【方法】雄性 F344 ラットの 2/3 肝部分切除(PH)12 時間後に BHA, フェノバルビタール, DEN をそれぞれ単回投与した。PH 後 5 週目に屠殺し、肝臓の病理組織学的検索ならびに免疫組織化学による GST-P の染色を実施した。

【結果および考察】BHA 投与群で GST-P 陽性細胞巢数、面積ともに対照群との比較で統計学的に有意な増加が認められた。しかしながら、今回の被験物質は既知のイニシエーターの値と比較して GST-P 陽性細胞巢の数および面積の発現が非常に低値であったことから、群内でのばらつきが目立ち、明らかな用量相関性がみられなかった。従って、GST-P 陽性細胞巢の発現が低値を示す物質の評価においては、用量依存性等を考慮する必要があるものと考えられ、今後さらなる背景データの蓄積と統計手法ならびに判定基準の検討を進めていく予定である。

P-88 中期イニシエーション活性検索法における イニシエーション活性の加算効果

○酒井洋樹^{1,2}, 山本昌美¹, 小林 潔^{1,3}, 後藤和広³, 務台 衛³,
白井紀充^{1,2,4}, 柳井徳磨², 柵木利昭², 立松正衛¹

(¹愛知がんセンタ・1病, ²岐阜大学・家畜病理, ³三菱化学・横浜総研・安全研, ⁴ファイザー製薬・安全研)

中期イニシエーション活性検索法において、細胞増殖誘導はイニシエーション成立に際し、非常に重要なステップとなる。細胞増殖誘導の方法や誘導された細胞増殖期間での被検物質の投与量および投与回数が、イニシエーション活性検出に影響すると考えられる。今回、非肝発癌物質である dimethylhydrazine(DMH) を CCl₄ 経口投与または肝部分切除により誘導された細胞増殖期間内に分割投与し、イニシエーション活性の加算効果を検討した。

【実験方法】7週齢雄 F344 ラットを用い、CCl₄ 経口投与では、48 時間後に DMH 40 mg/kg を単回投与する群と 24, 36, 48, 60 時間後に 10 mg/kg ずつ 4 回に分割して投与する群に、また、肝部分切除の場合は、24 時間後に DMH 4 mg/kg を単回投与する群と 12, 18, 24, 30 時間後に 1 mg/kg ずつ 4 回に分割して投与する群に分けた。CCl₄ 投与または肝部分切除後 2 週から 4 週まで 2-AAF 混合飼料を与え、その間 3 週目に CCl₄ を投与。5 週目で屠殺し、肝臓の GST-P 陽性巢数及び面積の計測を行い、単回投与群と分割投与群との間でイニシエーション活性を比較した。

【結果および考察】CCl₄ 投与群は、分割投与群の GST-P 陽性巢数及び面積ともに単回投与群に対して有意に高値を示し (p < 0.05)、加算効果が認められ、至適投与期間を有効的に利用した少量分割投与の方が、効率よくイニシエーション活性を検出できることが示唆された。

現在、肝部分切除群について検索中であり、CCl₄ 投与群と比較し報告する。

P-89 核の還元能と凝縮クロマチン

1. 鍍銀染色法による Dexamethasone 誘発ラット胸腺細胞アポトーシスの検出

○加国 雅和, 竹田 剛, 高場 克巳, 木本 直哉, 佐伯 幸司, 池上 二郎, 鈴木 一生 (協和発酵・安全研)

【目的】アポトーシスは核クロマチンの濃縮と核膜への偏在、アポトーシス小体の形成、細胞の収縮などを特徴とする細胞死の一形態である。我々は、鍍銀染色の一種で銀還元力のある物質を検出する Warthin-Starry 染色法を改良した銀染色法が、アポトーシスを特異的に検出する可能性を見出した。そこで、上記銀染色法のアポトーシス検出に対する有効性を検討する目的で、Dexamethasone (DM) 投与ラットの胸腺組織を用いて本銀染色法および TUNEL 法による染色を実施した。

【方法】動物は雄性ラットを用い、DM の 0.5mg/kg を腹腔内投与後 1, 2, 4, 8 時間および 1, 3, 7 日に胸腺を採取し、10%中性緩衝ホルマリン固定後、常法によりパラフィンに包埋した。それぞれのパラフィンブロックから 3 切片を薄切し、各々に H&E、銀染色、TUNEL 染色を施した。また、8 時間後に採取した標本からミラー切片を作製し、一方に銀染色、他方に TUNEL 染色を施して比較観察を行った。

【結果】本銀染色法による陽性細胞の分布は、TUNEL 染色法のものと良く一致した。すなわち、DM 投与 1 時間後、胸腺皮質に核全体が陽性反応を示す細胞が出現し、8 時間後にこれらの細胞が巣状ないし帯状に観察され、胸腺髄質に同様の細胞が少数認められた。その後陽性反応を示す細胞は時間経過と共に減少し、7 日後には殆ど観察されなかった。

【結論】本銀染色法は、DM 投与ラットの胸腺アポトーシス細胞を TUNEL 染色法と同程度に検出することが確認された。

P-90 核の還元能と凝縮クロマチン

2. 鍍銀染色法によるラット胎児発生過程におけるアポトーシスの検出

○竹田 剛, 加国 雅和, 高場 克巳, 木本 直哉, 佐伯 幸司, 池上 二郎, 鈴木 一生 (協和発酵・安全研)

【目的】我々は、鍍銀染色の一種である Warthin-Starry 染色法を改良した銀染色法が、Dexamethasone 誘発ラット胸腺細胞のアポトーシスを検出する可能性を見出した。

本検討では、薬物誘発によるアポトーシスの検出に加え、更に自然発生のアポトーシス検出に対する上記銀染色の有効性を確認する目的で、ラット胎児の手板組織切片を用いた検討を行った。

【方法】材料はラット 15 日胎児の手板とし、10%中性緩衝ホルマリン固定後、常法によりパラフィン包埋し、厚さ約 3 μ m の連続パラフィン切片を得た。これらの切片について、H&E 染色、銀染色法と TUNEL 法のそれぞれの染色標本作製し、比較観察を実施した。

【結果】H&E 染色切片において指間膜にはアポトーシス細胞と考えられる濃縮核細胞が観察された。また、これらの細胞は本銀染色法および TUNEL 染色法で共に陽性反応を示すことが観察された。

【結論】本銀染色法は、発生学分野におけるアポトーシス細胞の検出についても適用可能であることが示唆された。

P-91 マウス monoclonal 一次抗体と抗マウス polyclonal 二次抗体の免疫複合体を利用したホルマリン固定マウス・ラット組織中の特異抗原の検出法

谷 洋一 (ダコ・ジャパン株式会社 技術部)

ヒト組織中の特異抗原検出の目的のために作製されたマウス monoclonal 抗体のなかには、マウス・ラット組織中に存在する homology の高い同一あるいは同種抗原と交差反応をしめすものがあり、酵素免疫組織化学法で検出が可能である。しかしながら、マウス monoclonal 一次抗体と反応する抗マウス polyclonal 二次抗体が、直接マウス組織中に存在する内因性 immunoglobulin と反応し、非特異反応の原因となっている。また、酵素免疫組織化学染色法としては、アビジン・ビオチンの化学反応を利用した ABC 法あるいは LSAB 法が主流であるが、ホルマリン固定組織中の抗原性賦活のためのマイクロウェーブなどによる加熱処理が必要とされる抗原を検出する場合は、加熱処理のため特異抗原性だけでなく、マウス組織中の内因性ビオチンの反応性も増強される。そのため、染色に使用されるアビジンあるいはストレプトアビジン試薬が内因性ビオチンと直接反応し、強い非特異反応として認められることになる。

これらの非特異反応を除去し、核内の細胞増殖関連タンパク (cyclin D1, cyclin D3, Ki-67, PCNA, Topoisomerase 等) のマウス・ラット組織との交差性を検索するため、試験管内でマウス monoclonal 一次抗体を HRP 標識高分子ポリマーに結合させた抗マウス二次抗体と反応させ、その後、さらに正常マウス immunoglobulin と反応させ免疫複合体を形成し、この複合体を組織標本と反応させる染色法を検討した。免疫複合体を利用した検出法により、内因性 immunoglobulin、内因性ビオチンが原因となる非特異反応が回避された。また、免疫複合体を dextranase で処理することにより、核内への浸透性が亢進され、特異反応性の増強を認めた。

P-92 塩酸モルヒネのイヌ硬膜外腔投与時の病理学的検討

○鳥井幹則, 松嶋周一, 松井信志, 星元満里子, 朝野由美, 渡邊 弘, 岡田 学, 高須伸夫, 丸山敏之, 畑中 薫 (塩野義製薬・新薬研)

【目的】癌疼痛治療剤であるモルヒネを従来の経口、静注および皮下投与しても十分な除痛効果が得られない重症患者に対して、脊髄硬膜外腔投与することによって少量のモルヒネ注射液でも鎮痛作用が得られることから、セミディスポーザブルポンプを用いた塩酸モルヒネの脊髄硬膜外持続注入セット (テルモと共同開発) の開発を企図した。そこでイヌの脊髄硬膜外腔に留置したカテーテルより塩酸モルヒネを投与した時の局所刺激性の有無を病理学的に検討した。

【方法】7ヵ月齢のビーグルイヌ1群3頭を用い、まず、ペントバルビタール麻酔下に長槽の方法に従って第6腰椎から頭側方向にポリエチレンカテーテルを挿入した後、他端を後頭部で露出して薬液注入部を確保した。術後5日目に、蒸留水で0.1, 0.5 および3.0% (W/V) に溶解した塩酸モルヒネ水溶液 (pH 3.0) もしくは対照群に生理食塩液を2 ml/min の投与速度で単回投与後2日に腰椎を摘出し、10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。カテーテル挿入部を除く、第2~5腰椎および第7腰椎椎体を ISOMETTM1000 で厚さ5 mm に横断した標本を肉眼的に観察し、脱灰後、常法に従ってパラフィン切片を作製し、H&E 染色を施して光顕的に観察した。

【結果および結論】カテーテル留置部から頭側前方に位置する第3から第2腰椎、カテーテル挿入部の第4および第5腰椎、およびカテーテル挿入部より尾椎側後方の第7腰椎の脊髄硬膜、硬膜外腔および骨膜に肉眼病変は認められなかった。組織学的に、少数例の硬膜に炎症性細胞浸潤と出血、骨膜出血、硬膜外腔の血管周囲に炎症性細胞浸潤が認められ、ほとんどの例で硬膜外腔に軽度から中等度の出血が認められた。また、第4および第5腰椎の留置したカテーテル周囲に早期線維化を伴う肉芽組織が認められた。これらの病変を対照群と塩酸モルヒネ投与群間で比較すると病変の強さや発現率に差は認められなかった。病理組織学的に、出血や早期線維化を伴う肉芽組織や炎症性細胞浸潤が認められたが、これらはカテーテル留置による病変とみなされ、本実験条件下における塩酸モルヒネの局所刺激性はないと結論した。

○猪又 晃、森本泰子、穴戸信之、滝沢節子、小林和子、志賀敏彦、堀井郁夫
(日本ロシユ研究所)

【目的】抗真菌剤開発において全身性カンジダ症モデルマウスはその薬効を評価する際に多用されてきた。今回、我々はこの病態モデル動物について病理組織学的検査を経時的に実施したので報告する。

【方法】4.5週齢のICR雄マウスに *Candida albicans* (CY1002) を 6.5×10^6 conidia/20g bw ずつ尾静脈より接種し病態モデル動物を作製した。実験群は Fluconazole (FCZ) 群、Vehicle 群および無処置対照群の3群に分け、FCZ 群は 1.5 mg/kg を、Vehicle 群は 10 %HPCD を b.i.d. にて感染初日より3日間経口投与した。感染後 1, 8 時間、1, 2, 3, 4, 7 および 10 日目に屠殺し、病理組織学的検査および各種検査を実施した。

【結果】対照群では感染後2日目より症状の悪化が認められ、3日後には既に50%の動物が死亡したが、FCZ 群では感染後8日目にわずかに被毛状態の悪化を認めたのみであった。血液生化学的検査では対照群に感染後1日目よりBUNの著しい増加が認められ、2日後にはCRE, Kの増加が認められたのに対し、FCZ 群では感染後7日目まで変化は認められなかった。剖検時に対照群の腎臓において著しい褪色、腫大および白色病巣が感染後2日目より認められた。病理組織学的に対照群の腎臓の変化は主として菌要素を取り囲むように浸潤した炎症細胞であった。また、対照群の肝臓、大脳および小脳において、比較的感染初期に菌要素に伴う炎症細胞浸潤、出血が散見されたが、感染後2日目には回復する傾向を示した。一方、FCZ 群ではいずれの臓器においても菌の侵襲により引き起こされた変化は著しく軽減していた。

【考察】本モデルマウスでは、主として腎臓への菌侵襲とそれに伴う腎障害が比較的感染初期より認められ、FCZ はこれらの腎臓における障害を抑え薬効を示すものと考えられた。

○斉藤義明¹、白見憲司¹、永田伴子¹、横山雄一²、今井清¹
(1 食薬センター・秦野研, 2 HOYA株式会社)

【はじめに】異物埋植による悪性線維性組織球腫(MFH)の発生に至る過程として異物周囲に形成される被膜、特に材料/組織・界面での組織球由来と考えられる異型細胞の持続性増殖が重要であることが報告されている。また、腫瘍発現のプロモーターとして種々の因子の関与が必要であり、その1つとして埋植材料周囲の微小環境が組織反応あるいは異物発癌に大きな影響を与える可能性があると考えられている。今回、われわれは試料埋植部位における材料/組織・界面での微小環境の変化、特に酸化的ストレスが異物発癌に対して促進的に作用するのではないかと仮説を立て、酸素透過性の異なる材料をラットの背部皮下に埋植し、局所での腫瘍発生率の差を検索するとともに、腫瘍発生に至る過程において、材料/組織・界面での細胞反応および血管新生の程度について光顕あるいは電顕的に検討を行った。

【材料および方法】1群20匹からなる5週齢のF-344系雄ラットの背部皮下に酸素透過性の異なるメタクリル系試料6種 PMMA, PFMA, P(MMA/SiMA), P(FMA/SiMA), PEMA, フタロシアン系色素含有PEMA (酸素透過係数(P): PMMA < PEMA = 色素含有PEMA < PFMA < P(MMA/SiMA) = P(FMA/SiMA), いずれも1×1cm) を埋植して104週間飼育後、定法によりHE染色標本を作製して光顕観察した。また、同試料埋植後、2, 4, 8 および12週目に埋植試料周囲組織を採取してHE染色のほか、GSH-PO, SOD および第Ⅷ因子関連抗原の免疫染色を実施して光顕観察し、さらに埋植試料周囲組織の血管鑄型標本を作製して走査電子顕微鏡で観察した。

【結果および考察】埋植試料周囲組織から発生した腫瘍(MFH)は、PMMA: 3例, PFMA: 4例, P(MMA/SiMA): 4例, P(FMA/SiMA): 4例, PEMA: 6例, 色素含有PEMA: 6例であった。これらの腫瘍発生率と酸素透過性に明らかな相関は認められなかったが、酸素透過性の高い材料を埋植した場合、局所での異型組織球の増殖が活発になり、GSH-POおよびSOD陽性細胞数の増加ならびに染色性の増強がみられ、新生血管も豊富であった。これらのことから、埋植試料周囲の酸化的障害が異物発癌を増強させるプロモーターの1要因に成り得るものと考えられた。

○藤井誠志、有広光司、武島幸男、金子真弓、井内康輝（広島大・医・二病理）

〔はじめに〕食品添加物のひとつであるL-glutamate- γ -ethylamide (L-Theanine)は認可された食品添加物のひとつであるが、この長期摂取における毒性、殊に発がん性については研究報告がない。そこで、マウスを用いた長期経口投与実験を行い、その安全性の再評価を試みた。〔方法〕L-Theanineは味の素(株)より供与され、オリエンタル酵母東京バイオ営業所にてこれを混入した飼料を作成した。これを用いてまず、13週間の亜急性毒性実験を行い、長期投与に用いるMTD(Maximum tolerated dose)を決定した。慢性毒性試験には、4週齢のB6C3F1マウス雄150匹雌150匹を用い、これらを無作為に雄雌とも50匹ずつの3群に分け、2週間基礎食で飼育した後、3群にそれぞれ濃度が5.0%(MTD)、2.5%の検体混入飼料及び対照群となる基礎食を自由に摂取させた。飲料水は蒸留水の自由摂取とした。4週間毎に各マウスの体重測定と飼料摂取量の測定を行った。投与期間は78週とし、その時点で生存するマウスを屠殺後、各臓器、組織における毒性変化及び発がん性変化を病理学的に検討した。〔結果〕78週生存及びそれ以前に担悪性腫瘍状態で死亡したマウスを有効動物とすると、有効動物数は、5%群雄45匹、雌48匹、2.5%群雄40匹、雌46匹、0%群雄40匹、雌47匹となった。雄については、発生した病変のうち肺腫瘍(腺腫及び癌腫)は5%群4.4%、2.5%群7.5%に対して対照群は25%であった。肝腫瘍(肝細胞腺腫及び肝細胞癌)は5%群13%、2.5%群15%に対して対照群は30%であった。また肝では対照群のみに血管腫を認めた。これ以外では脾臓の血管肉腫、軟部組織の線維肉腫、皮下組織の悪性リンパ腫、心臓の血管腫を散発性に認めた。雌では雄に比べ腫瘍の発生率は低く、肺腫瘍は5%群4.2%、2.5%群2.2%、対照群2.1%、肝腫瘍は対照群6.4%であるのに対し、投与群では発生は皆無であった。これら以外では、軟部組織の血管腫、皮膚の脂腺癌、腸管の悪性リンパ腫、脾臓の血管腫、血管肉腫、卵巣の漿液性嚢胞腺腫、未熟性奇形腫を散発性に認めた。〔結論〕マウスを用いた長期経口投与実験では、L-Theanineの発がん性を示唆する所見は認めなかった。

7-8 週齢 *Klotho* マウスの病理学的特徴

○西川 智、館田 千絵、吉竹 裕子、柏木 豊子、白井 章雄¹⁾、鍋島 陽一²⁾

(協和発酵・医薬総合研究所、¹⁾同東京研究所、²⁾京大・医・病理系腫瘍生物)

はじめに)挿入突然変異により早期老化症状を呈する *Klotho* マウスは黒尾等によりその系統が樹立され多彩な老化症状が単一遺伝子の欠損によって発症する事が報告¹⁾されている。今回7-8週齢同マウスの病理学的特徴をTUNEL染色の結果も含めて報告する。

方法)生後7-8週齢の *Klotho* マウスをエーテル麻酔下で腹部大動脈より採血致死させ、常法により組織標本を作成後、主要臓器の病理組織学的観察と一部臓器にはTUNEL染色を実施し検討した。

結果)1)動脈;中膜の広範な石灰化が大動脈を始め全身の中小動脈にも認められた。2)肺;肺胞壁への強い石灰沈着が認められた。3)大腿骨;皮質骨の希薄化、破骨細胞の減少、骨端軟骨への不整な石灰沈着等が認められた。4)精巣;精細管は極めて萎縮し、精子細胞は見られず精子低形成の像を示した。卵巣;二次卵胞やグラーフ卵胞は見られず、黄体は形成されていなかった。5)胸腺;肉眼的には殆どの個体で萎縮し確認不可能であったが、一部動物の組織学的観察ではリンパ球が極めて減少していた。6)下垂体前葉;免疫染色の結果前葉細胞全般に萎縮及び数の減少が認められた。これはGH分泌細胞で著明であったが、FSH/LH分泌細胞も同様の結果であった。7)甲状腺;C細胞の増加傾向が認められた。8)皮膚;毛包、皮脂腺の萎縮、数の減少、表皮、真皮の希薄化等が認められた。また、皮下脂肪は減少して殆ど認められなかった。

以上認められた変化はレスキュー動物(過剰な *Klotho* 遺伝子発現動物とヘテロタイプを交配させた動物)では概ね改善する傾向が認められ、今回得られた *Klotho* 遺伝子が原因遺伝子であると考えられた。

TUNEL法でアポトーシス細胞の検出を行った結果、大腿骨骨端軟骨、精巣(精母細胞)、脾臓(リンパ球)等に陽性細胞が多数認められた。

結語) *Klotho* マウスは、加齢に伴って発症する多くの疾患の成立を解析する為の重要な疾患モデルになると考えられる。

1)文献、Kuro-o M, et al: Nature (1997) 390: 45-51

P-97

2系統の雌性 Donryu ラット (Crj:Donryu, HOS:Donryu) における自然発生病変の比較

○木谷敏之, 笹原健二, 飯塚生一, 蟹谷昌尚, 鳥丸安敬, 泉恵子, 今村幸子, 柳澤利彦, 高橋正一¹, 吉田緑¹, 安藤進¹, 前川昭彦¹ (ツムラ・安全性, ¹佐々木研・病理)

【目的】子宮内膜腺癌の好発系として知られている Donryu ラットは, 現在日本チャールス・リバー株(Crj:Donryu)および日本 SLC 株(HOS:Donryu)の2社のブリーダーより市販されているが, これまで両系統における自然発生病変を比較した報告はない。今回, 雌性 Crj:Donryu 54匹, HOS:Donryu 55匹を約2年間(105週齢)まで飼育し, 自然発生病変を比較・検討した。

【結果】体重, 摂餌量および体重比摂餌量では, 全期間を通じて Crj:Donryu に比べ HOS:Donryu で有意に大きかった。Crj:Donryu では68週齢に最初の死亡が認められ, その後80週齢前後から死亡が増加し, 累積死亡率は50%であったのに対し, HOS:Donryu では最初の死亡は41週齢にみられ, その後70週齢前後から増加し累積死亡率は69.1%であり, 平均生存日数は Crj:Donryu で約97週齢, HOS:Donryu では約91週齢であった。死因は Crj:Donryu では乳腺線維腺腫, 心臓病変, 胸腺腫の順で多く, HOS:Donryu では下垂体前葉腫瘍, 乳腺線維腺腫, 胸腺腫, 心臓病変などであった。自然発生腫瘍の比較では, Crj:Donryu は HOS:Donryu に比べ子宮内膜過形成および内膜腺癌の発症率が高かった。一方, HOS:Donryu では下垂体腫瘍のより早期かつ高率な発症がみられ, また乳腺線維腺腫の発生率には両ラット内で差はないものの, HOS:Donryu ではより早期から発症する傾向がみられ, 腺癌の前がん病変の発生率も高かった。これらのことより, HOS:Donryu は Crj:Donryu に比べ高プロラクチン状態にあることが推察された。

P-98

B6C3F₁マウスの生涯試験

○上田 誠, 河南明孝, 中澤素邦, 内本啓史, 上田明子, 俵谷武治, 岩倉啓子, 鷲見信好, 倉 紘平 (日本新薬 安全研)

【方法】通常のバリアーシステム環境下での無処置Crj:B6C3F₁系マウスの加齢性病変を検索する目的で, 雄119匹, 雌123匹のマウスを5週齢から生涯にわたり金属底ケージで個別に飼育し, 一般状態の観察, 体重測定および病理学検査を実施し, 以下の結果を得た。

【結果および考察】雄では45週齢, 雌では37週齢で最初の死亡が認められ, その後70週齢頃から雌雄とも死亡動物が増加し, 2年間の癌原性試験の試験期間終了時に相当する109週齢時の生存率は雄81.5%, 雌75.6%であった。最長生存動物は雄で179週齢, 雌で168週齢であった。死亡の原因は, 腫瘍性変化によるものが雄81.5%, 雌89.4%であり, 非腫瘍性変化によるものが雄18.5%, 雌10.6%であった。担腫瘍動物は雄84.9%, 雌91.9%であり, そのうち2つ以上の腫瘍を形成していた動物は雄45.5%, 雌46.0%であった。全腫瘍のうち良性腫瘍は雄47.2%, 雌42.1%であった。腫瘍別発生頻度は, 雄では悪性リンパ腫37.8%, 肝細胞腺腫/腺癌36.1%, 細気管支・肺胞上皮腺腫/腺癌21.8%, 雌では悪性リンパ腫58.5%, 下垂体腺腫22.0%, 血管内皮腫/血管肉腫15.4%の順に高かった。2年間の発癌性試験では, 対照群の雄マウスでは肝腫瘍が, 雌マウスでは悪性リンパ腫がそれぞれ最も高頻度に発現することが知られているが, 生涯にわたって飼育した今回の試験では雌雄とも悪性リンパ腫の発現が最も多く認められ, 本系統のマウスは潜在的に悪性リンパ腫の発現が最も高頻度に生じる腫瘍である可能性が考えられた。非腫瘍性変化では肺のうっ血・水腫, 大脳の石灰沈着, 胸腺萎縮, 心筋変性・線維化, 白内障, 糸球体腎炎などが雌雄とも高頻度にみられた他, 雌では子宮の囊胞状内膜過形成および線維性骨異栄養症が高頻度にみられた。また雄では泌尿器症候群(47.9%)が高頻度に認められたが, 本変化が直接の死因と考えられる個体は少数であった。

P-99

カニクイザルの自然発生病変（寄生虫病変を含む）の調査

○山口裕子、佐藤順子、堀口浩資、玉井幸子、中村 厚、星谷 達、岡庭 梓
 （ボゾリサーチセンター）

【目的】安全性試験に供されるサル其自然発生病変あるいは背景資料としての報告は少ない。また、実験動物として使用するサルは自然繁殖に頼るところが大きく、寄生虫を有する場合も多い。今回我々は、薬物投与による変化との鑑別を行う手がかりの一つとして、偶発病変について、病理組織学的検査結果を中心に一般状態、臓器重量および血液学的検査値との関連性について調査を行った。

【材料と方法】当研究所で安全性試験の対照動物に供された2～6歳、雄雌各41頭のカニクイザル（中国産・フィリピン産）を調査対象として用いた。各々ほぼ全臓器を採材し、常法に従いHE染色標本を作製し、病理組織学的に検索した。

【結果】主な自然発生病変とその出現頻度を下記の表に示す。

(表1) Organ	Histopathological finding	MALE(%)	FEMALE(%)
Heart	Cell infiltration/Mononuclear	25.5	19.5
Lung	Parasitic lesion	12.2	12.2
Large intestine	Parasitic lesion	31.7	54.8
Liver	Vacuolation/Hepatocyte	17.1	22.0
Kidney	Vacuolation/Transitional cell/Renal pelvis	19.5	9.8
	Cell infiltration/Mononuclear/Cortical	14.6	14.6

寄生虫保有動物群と非保有動物群間において、一般状態および血液学的検査値に著明な差は認められなかった。また、病理組織学的に成虫を認めなくても、周囲の反応性病変より判断可能な場合もあった。以下に示す種の寄生虫では、寄生部位での局所的障害はあるものの、その個体自身に何ら大きな影響を及ぼしていないことが示唆された。

(表2) Parasite	Organ	MALE(%)	FEMALE(%)
<i>Pneumonyssus</i> spp	Lung	12.2	12.2
<i>Paramphistomoidea</i>	Cecum	5.6	5.6
<i>Oesophagostomum</i> spp	Cecum, Colon	26.8	36.6

P-100

F344 ラットと B6C3F1 マウスの中樞神経系に観察される自然発生病変について

○山本慎二、木原 亨、長谷川和成、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、マウスに自然発生する中樞神経系の腫瘍性・非腫瘍性病変はあまり観察されない。そこで、今回我々は当センターでこれまで実施してきた長期毒性試験の背景病変の中から特に脳の病変に注目し、ラット、マウスそれぞれについて病理組織学的検索を行い比較検討を試みた。

検索対象は、当センターで実施された104週間長期毒性試験のF344ラット30試験（雄：6040例、雌：5840例）およびB6C3F1マウス21試験（雄：4200例、雌：4400例）中に観察された中樞神経系の腫瘍性・非腫瘍性病変について集積した。飼育はSPF環境下個別飼育、飼料は水道水と共に自由摂取させた。剖検材料は定法に従いHE染色標本を作製した。

非腫瘍性病変では、延髄後索神経核域の硝子体の出現がラット、マウス共に最も多く発生し（ラット；雄67.40%、雌58.45%、マウス；雄64.09%、雌67.60%）、視床部の石灰沈着がラットでは高率（雄59.52%、雌58.45%）に発生したがマウスでは低率（雄1.67%、雌1.61%）の発生を示した。その他、ラットでは下垂体腫瘍の圧迫による脳の変形やマウスでは髄膜血管周囲の細胞浸潤などが低率ながら発生した。

腫瘍性病変では、ラットはヒトや他の動物同様グリア細胞系腫瘍、即ちAstrocytoma（雄0.45%、雌0.39%）やOligodendroglioma（雄0.15%、雌0.14%）などが多く、その他にMalignant reticulosis（雄0.23%、雌0.03%）、Granular cell tumor（雄0.10%、雌0.10%）などがしばしば観察された。一方、マウスは腫瘍の発生は殆どなくグリア系腫瘍ではAstrocytomaが1例のみ、Choroid plexus tumorやGanglioneuromaなどの非グリア系細胞腫瘍が僅か1例にのみ観察された。本会では、脳の他に脊髄や末梢神経の自然発生病変も加え、上述のChoroid plexus tumor等の自然発生病例としては珍しい病変を紹介する予定でいる。

○山川誠己, 長谷川和成, 木原 亨, 細井理代, 宮島留美子, 山本慎二,
三上真一, 岩田 聖, 廣内康彦, 榎本 眞 (安評センター)

長期試験で汎用されているFischer344ラットで自然発生する神経系の非腫瘍性病変として, 延髄・脊髄・自律神経節の軸索の膨化, 神経根神経症, 視神経の萎縮等がよく知られている. しかし, 視神経以外の脳神経の病変についての報告はほとんどない. 今回, 我々は脳神経の中でも比較的太い三叉神経について検索を試みた.

2年の長期試験で用いたF344ラットの雌雄について, 51から109週齢までの動物の31匹について検索した. なお, これらの個体には三叉神経の障害を示唆する臨床観察所見は認められず, 肉眼的にも大きな下垂体腫瘍を持つ個体では圧排されている像が見られたが, それ以外に異常は観察されなかった. 三叉神経は脳をはずしたのちに頭蓋骨についた状態で10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定したのち頭蓋底から切り出し, パラフィン包埋後, 薄切しH.E.染色, ポディアン染色, クリューバー・バレラ染色を施した. また, 三叉神経は解剖学的に下垂体両脇を通過していることにより, F344ラットで多発する下垂体腫瘍の機械的圧迫を受ける可能性が高いと考えられ, 下垂体腫瘍と三叉神経の病変の関係についても検討を行った.

神経病変は脱髄を主病変とし, これに軸索の膨化を伴い, しばしば泡沫細胞もみられた. 本病変はほとんどが運動神経と考えられる神経束でみられ, 病変の発生率は81%であった. 神経節および感覚神経束では軽度あるいは認められなかった. また, 下垂体腺腫の大きさや病変の発生あるいは程度との間に関連性は認めなかった. 本病変は運動神経に限局して認められるという点で神経根神経症に類似しているが, 同類の変化であるか否かについては現時点では明確ではない. 現在, 本病変の経時的発生率と系統差および種差について検討中である.

○桑村 充, 高田秋子, 山手丈至, 小谷猛夫, 佐久間貞重 (大阪府大獣医病理)

髄筋芽腫 medullomyoblastoma は, 髄芽腫 medulloblastoma に横紋筋芽細胞が混在する亜型であり, その発生は非常に稀である. 今回, 当講座にて維持している小脳虫部欠損と小脳異形成を特徴とするミュータント“遺伝性小脳虫部欠損ラット(CVDラット)”に自然発生した髄筋芽腫に遭遇したので, その病理所見を報告する.

【症例・結果】症例はCVDラットホモ型(*cvd/cvd*)の雌で, 26週齢頃より痙攣, 過敏反応, 元気消失, 消瘦が見られ始めた. 症状が徐々に悪化し, 全身麻痺, 起立不能に陥ったため, 28週齢時に安楽殺を行った. 剖検では視神経後縁から延髄左側にかけて12mm×10mm大の灰白色腫瘤が認められた. 断面では, 腫瘍はほぼ左側脳幹を巻き込み, 一部では頭頂まで達していた. 組織学的に, クロマチンに富むリンパ球様小型円形細胞のび慢性増殖が見られ, 神経線維網様の好酸性線維性の間質を伴っていた. また, 類円形ないしストラップ状の好酸性線維状の豊富な細胞質を有す横紋筋芽細胞が混在していた. 横紋筋芽細胞はしばしば多核となり, 明瞭な横紋も見られた. 免疫組織化学的には, び慢性NSE陽性所見および一部においてsynaptophysin弱陽性所見が認められ, 横紋筋芽細胞はmyoglobin, desmin, vimentinに陽性を示した. 電顕的に筋原線維とZ帯が確認された.

【考察】我々は, CVDラットにEthylnitrosourea (ENU)を投与し, 13例中4例に小脳腫瘍が誘発され, そのうち2例の小脳腫瘍が髄筋芽腫様腫瘍であったことを報告した(第13回本学会). 今回, CVDラットに髄筋芽腫が自然発生したことは, 小脳異形成とこの腫瘍の発生を考えるうえで興味深い所見であった.

○木澤和夫¹, 古坊真一¹, 守田禎一¹, 三善隆広¹, 河村泰仁¹, 奈良間功²
 (¹富山化学工業株式会社総合研究所, ²摂南大学薬学部薬物安全科学研究所)

心臓の rhabdomyomatosis は限局性グリコーゲン変性とも呼ばれ、真の腫瘍でなく限局性に心筋細胞内にグリコーゲンが過剰蓄積した病変と考えられている。本病変の報告はモルモット以外の実験動物ではほとんどない。今回、我々はビーグル犬の心臓において自然発生性の rhabdomyomatosis を経験したので報告する。

【症例及び方法】症例は 6 箇月齢の雄性ビーグル犬。心臓は外表及び内腔面を肉眼的に観察した後、10%ホルマリン液で固定した。左右心室壁、心室中隔及び心尖部について常法に従い HE 染色標本を作製し、観察した。病変を含む標本はさらに PAS 染色、アミラーゼ消化 PAS 染色及び PTAH 染色を施し、観察した。また、心臓以外の臓器についても組織学的検査を実施した。

【結果】組織学的に、心室中隔の心外膜下にスポンジ状を呈する微少な結節性病変がみられた。病変は境界明瞭で、周囲心組織への圧排像はみられなかった。病変を構成する心筋細胞は大型空胞を有し、細胞質は空胞辺縁に圧排されリム状に残存するのみであった。PAS 染色では、細胞質が陽性を示し、アミラーゼ消化試験で陰性となった。PTAH 染色では、細胞質に横紋構造がしばしば観察された。心臓の他の部位並びに心臓以外の臓器に同様の病変はみられなかった。

【まとめ】本病変は形態的に、大型空胞を有し細胞質にはグリコーゲンを含む心筋細胞からなる結節性病変と特徴づけられた。病変が心臓の一部に限局していることから糖質代謝異常疾患 (glycogen storage disease) での心病変でなく、心臓の rhabdomyomatosis と判断した。現在までのところ、ビーグル犬における自然発生性の rhabdomyomatosis の報告はなく、本例は極めて稀な症例であると考えられた。

○宮島留美子、長谷川和成、木原 亨、細井理代、山本慎二、三上真一、
 山川誠己、岩田 聖、廣内康彦、榎本 真 (財)安評センター

【はじめに】消化管の嚢胞や憩室は、解剖時に観察される病変で、その多くはメッケル憩室または腫瘍等により後天性に嚢胞状に消化管が変形したものである。今回我々は通常観察される嚢胞とは趣を異にし、線毛上皮で内張りされた B6C3F1 マウスの胃嚢胞の症例を報告する。

【症例】癌原性試験の計画解剖時 (109 週齢)、被験物質投与群の雄に観察された。嚢胞は前胃の大湾部に位置し、直径約 12mm であった。組織学的に嚢胞は一層の線毛上皮または一部扁平化した立方上皮で内張りされていた。嚢胞壁は、前胃との付着部位では前胃の内輪走筋を共有し、その外側に前胃の外縦走筋と結合する薄い平滑筋で覆われていた。しかし、付着部位より離れた部位では筋線維が散在しているのみで筋層の発達はなかった。

消化管の先天性疾患はその発生に深く関わり、口腔と肛門を除く消化管は原始腸の内胚葉に由来する。原始腸は前腸、中腸および後腸に分化し、前腸からは咽頭や呼吸器系下部、食道、胃、十二指腸の一部などの器官が発生する。本症例の線毛上皮の由来は (1) 発生原基を胃と同じくする呼吸上皮由来：迷入。(2) 原腸の粘膜は当初線毛を持つ円柱上皮から成り、発育とともに分化し、咽頭、食道などの上部消化管は重層扁平上皮で覆われるため、原腸の一部が残存したもの：遺残。などが考えられた。消化管の先天性疾患で類似したものとしてヒトの消化管重複症がある。食道の重複症では線毛上皮が見られることがあるとされる。胃の重複症の好発部位は大湾で、消化管粘膜を有するのが一般であるが、気管粘膜と胃粘膜とを有する報告*もあり、本症例と大変類似していた。しかし、本症例は壁外層に平滑筋層を持たないことから、消化管重複症ではないと考え、線毛上皮を有する胃嚢胞と診断した。

*Foregut duplication cyst: a report of a case. Laraja RD et.al. Am Surg 1995 Sep;61(9)840-1

○木川英美, 沖本一夫, 糀谷 高敏, 豊沢かおる, 入江真美, 田中浩二 (大日本製薬株, 開発研究所)

B 6 C 3 F₁マウスはがん原性試験に広く使用され, この系統のマウスに生じる腫瘍性病変の報告は多くみられるが, 胃腸管にみられる自然発生性の腫瘍性病変は発生率が低いことから報告が少ない。今回, 我々は2つのがん原性試験と無処置に長期飼育した試験に使用した雄 645 例, 雌 593 例, 合計 1238 例から得られた胃腸管腫瘍 (上皮性腫瘍 34 例, 非上皮性腫瘍 5 例) について報告する。

【材料及び方法】 動物は雌雄の B 6 C 3 F₁マウスで, 剖検の後, 全身器官を 10% 中性緩衝ホルマリン液に固定し, 定法によりパラフィン包埋・薄切し, H.E. 染色を施して病理組織学的検査を実施した。一部の腫瘍については必要に応じて特殊染色, 免疫染色, あるいはもどし電顕による電子顕微鏡的検査を実施した。なお, がん原性試験で被験物質投与群に認められた腫瘍については, 被験物質による影響はなく自然発生と考えられる例について報告する。

【結果】 前胃の扁平上皮乳頭腫が雄 8 例と雌 17 例に, 扁平上皮癌が雌 1 例に, 平滑筋肉腫が雄 2 例に, 腺胃のカルチノイドが雄 1 例に, 小腸の腺腫が雄 1 例に, 腺癌が雄 3 例と雌 2 例に, 平滑筋腫が雄 1 例に, 大腸の印環細胞癌が雄 1 例に, 平滑筋腫が雌 2 例に認められた。その他, 悪性リンパ腫の転移としてパイエル板に腫瘍細胞の浸潤が少数例に, 大腸に接した腹腔内腫瘍として血管肉腫が雄 1 例にみられた。

【まとめ】 B 6 C 3 F₁マウスに認められる胃腸管の自然発生性腫瘍はまれで, その発生率は 0.5% 以下であるが, そのなかでも前胃に認められる乳頭腫がもっとも発生率が高いといわれている。我々の成績も前胃の乳頭腫が 2.0% で発生率ももっとも高く, その他の腫瘍は 0.08~0.41% と極めて低かった。また, 自然発生性の腺胃カルチノイドと大腸の印環細胞癌については, B 6 C 3 F₁マウスにおける報告は現在までなく極めてまれな症例と考えられる。

○杉本加代子, 渋谷一元, 布谷鉄夫, 田島正典 (日生研)

ウサギは実験腎炎のモデル動物として汎用されるため, 実験的に作出された腎病変の報告は多数あるが, 自然発生性腎病変の報告は少ない。当研究所で系統維持されている NW-NIBS ウサギに自然発生性の腎糸球体病変が認められ, 今回, その病理形態学的特徴を経時的に観察したので報告する。

【材料と方法】 3, 4, 6, 7 ヶ月齢の NW-NIBS ウサギ雌雄それぞれ 7~10 羽について, 尿, 血液, 血液生化学的検査ならびに臓器重量測定を行った後, 剖検した。全身臓器について常法により HE 染色標本作製し, 病理組織学的に検索した。腎臓については糸球体病変の発生頻度を調べ, 病変の程度別に糸球体の直径を計測するとともに, AZAN, PAS および鍍銀法を施し観察した。

【成績】 これらのウサギの尿, 血液・血液生化学的検査および臓器重量ならびに他臓器の病理組織学的検査において腎機能の異常を示唆する所見は認められなかった。腎糸球体病変は主に皮質表層部の糸球体に観察された。糸球体病変の発生頻度は, 雌雄とも 4 ヶ月齢で最も高く (雄 7.9%, 雌 9.6%), 6 および 7 ヶ月齢ではむしろ減少していた。初期病変はボウマン嚢壁の肥厚および糸球体上皮細胞の肥大であり (+), 中等度病変では糸球体毛細血管の虚脱, 半月体形成が見られ (++) , 重度の糸球体は萎縮し, 好酸性均一な塊状となりボウマン嚢と癒着していた (+++)。肥厚したボウマン嚢壁および +++ の糸球体はともに AZAN 染色で青色に染まり, PAS 反応強陽性を示した。加えて +++ の糸球体では鍍銀法により線維成分の凝集が観察された。糸球体の直径を計測した結果, 病変を有する糸球体は正常な糸球体よりも有意に小さかった。

【まとめ】 以上の所見から NW-NIBS ウサギの糸球体病変は, ボウマン嚢壁からの線維化と糸球体毛細血管の虚脱から形成されたものと推察された。今後, 糸球体病変の形成にかかわる膠原線維の型別を免疫組織化学的に検討する予定である。

○森島英喜、森郁生、田中丸善洋、神鳥仁志、佐々木啓、奈良間功¹
(武田薬品・薬安研、¹摂南大学・薬学部)

ラットの腎臓における脂肪腫／脂肪肉腫は lipomatous tumors として一括され、老齢動物に比較的まれに発生する腫瘍とされている。本腫瘍は、髄質の1型間質細胞に由来する間葉系腫瘍と考えられており、大小の脂肪滴を含む脂肪細胞あるいは脂肪芽細胞の浸潤性増殖を特徴としている。腫瘍内部には糸球体、尿細管が散見されるが、これらは取り残され、萎縮、変性に向かう既存の糸球体、尿細管と考えられている。また、本腫瘍内に時折認められる円柱上皮に裏打ちされた細胞密度の高い尿細管は嚢胞状拡張に続発する過形成と理解されている。

今回、ある化合物のがん原性試験において脂肪腫あるいは脂肪肉腫と診断された Wistar ラット9例の腎腫瘍について再評価を実施した。その結果、ほぼ全例の腫瘍組織内に未成熟な上皮性細胞による管腔形成がみられた。未成熟な尿細管上皮細胞は、増殖する脂肪細胞間あるいは紡錘型細胞中に管腔を形成して存在し、正常な尿細管に比較して小型の立方状細胞質を特徴としていた。また、核密度が高く、基底側に核が偏在する未分化な円柱状上皮から構成される尿細管も散見された。これらの尿細管は renal dysplasia に認められる幼若尿細管の形態に類似していた。また、周囲に小型糸球体あるいは極めて幼若な糸球体様構造もみられた。ラットの lipomatous tumors に出現する幼若尿細管は萎縮、変性傾向あるいは再生性的変化を示す既存の尿細管とは考え難いことから、腫瘍細胞が分化したと考えるのが妥当であると判断した。すなわち、これらの腫瘍は間葉系の脂肪細胞のみならず上皮性成分への分化能を有することから腎芽腫と診断されるものと考えられる。同様の構造は F344 や SD ラットにおいてもみられることから、従来、ラット腎臓の脂肪腫／脂肪肉腫と診断されたもののなかにはかなりの頻度で腎芽腫と診断されるべきものが含まれていると考えられる。

○正田俊之¹、三森国敏²、今沢孝喜²、豊田和弘²、田村啓²、高田幸一²、高橋道人²、広瀬雅雄²
(1: 鳥居薬品研究所, 2: 国立衛研・病理部)

【はじめに】ラットにおける精嚢腫瘍の自然発生は極めて希であり、今まで詳細な症例報告はない。300以上の長期毒性試験・癌原性試験から成る National Toxicology Program の背景データにおいても、51230例の雄F344ラットで精嚢の腫瘍はadenoma が2例(0.004%)認められているに過ぎない。今回、我々は癌原性試験対照群の109週例のF344ラットの1例に、自然発生精嚢腫瘍を認めたので報告する。

【症例】症例は、癌原性試験の対照群に供したF344/DuCrjラット雄の1例である。飼育環境は、SPFバリアー室内で、飼料(CRF-1:オリエンタル酵母)と水道水は自由摂取させた。104週間の投与期間終了後の計画解剖時に、右側精嚢が黒色～灰白色となり腫大(約18x15x15 mm)しているのが認められた。割面では、乳頭状や結節状に増殖し、黒色～灰白色の分泌物を容れていた。10%中性緩衝ホルマリンで固定後、常法によりパラフィン包埋切片として病理組織学的検索を実施した。また免疫染色(keratin, S-100, vimentin, ED-1, PCNA等)やホルマリン固定からの戻し電顕を実施した。

【組織所見】組織学的に、腫瘍は精嚢腔内で乳頭状に増殖し、辺縁部には圧排された凝固腺も認められた。腫瘍細胞は円形～卵円形のやや好塩基性の核と豊富な細胞質を持ち、充実性もしくは腺管状に増殖していた。核異型や細胞分裂像もしばしば認められ、細胞境界は明瞭であった。また、腺管状部の管腔内にマクロファージ様細胞の集簇像がみられた。免疫染色の結果、腫瘍細胞はkeratinおよびS-100に陽性であり、マクロファージ様細胞はvimentinおよびED-1に陽性であった。電顕観察では、腫瘍細胞は多数の分泌顆粒やmicrovilliを有し、お互いに細胞間結合装置により結合していた。一方、腺管腔内の浸潤細胞は彎入した核と、lysosomeおよび豊富なrERを持っており、反応性に浸潤したマクロファージであった。

【まとめ】本例は、大きさおよび圧排像、核異型や細胞分裂像の頻度、充実性の増殖形態などから、精嚢腺癌と診断した。精嚢の自然発生悪性腫瘍は、F344ラットにおいて初めての報告である。

○笹原健二, 飯塚生一, 木谷敏之, 蟹谷昌尚, 鳥丸安敬, 柳澤利彦, 前川昭彦¹
(ツムラ, ¹佐々木研)

【目的】雌性生殖器における顆粒細胞腫は F344 ラットや SD ラットの子宮や膣に自然発生することが報告されているが, その発生頻度は極めて低い。今回, 我々は子宮発癌ならびに生涯飼育に用いた Donryu ラット (総数 129 例) の膣において 15 例の顆粒細胞腫を認め, その組織学的特徴を検索したので報告する。【材料および方法】動物は Crj:Donryu ラットならびに HOS:Donryu ラットで, 子宮発癌では 10 週齢に N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG) または polyethylene glycol (PEG) を経膣的に子宮腔内に単回投与して, 65 週齢時に, 生涯飼育では両ラットを無処置のまま飼育して, 105 週齢時にそれぞれ剖検した。膣は 15% 緩衝ホルマリンにて固定し, 常法に従いパラフィンブロック, 薄切標本を作製した後, HE, PAS, ジアスターゼ消化 PAS, アルシアン青, トルイジン青染色を行う共に, S-100 蛋白, NSE, ビメンチン, ケラチン, リゾチーム, ED-1, アクチン, ミオシン, ミオグロビンおよび CD34 に対する抗体を用いて免疫組織化学的に検索した。【結果】膣の顆粒細胞腫は Crj:Donryu ラットで 7 例 (PEG および ENNG 投与各 1 例, 生涯飼育 5 例), HOS:Donryu ラットでは 8 例 (ENNG 投与および生涯飼育各 4 例) に見られ, 何れも粘膜固有層に認められ, 胞体内の顆粒はジアスターゼ消化 PAS, アルシアン青, S-100 蛋白, NSE, ビメンチン抗体に陽性を示した。【考察】本病変はこれまでラットの子宮や膣で報告されている顆粒細胞腫に類似した特徴を有しており, その組織学的特徴からシュワン細胞由来が有力視されたものの, 特定するには至らなかった。しかしながら, 今回の Donryu ラットにおける本病変の発生率 (11.6%) は, 他のラットに比べて非常に高く, Donryu ラットは加齢に伴い相対的エストロジェン高値を示すこと, またマウスでは顆粒細胞腫がエストロジェン投与により誘発されることから, Donryu ラットの膣の顆粒細胞腫の発生にエストロジェンが関与している可能性が示唆された。

○高橋統一, 正田俊之, 加藤美穂子, 鈴木優典, 横本泰樹, 来海正輝 (鳥居薬品・研究所)

【はじめに】Craniopharyngeal Derivatives (CD) および Craniopharyngioma は, ラットではともに下垂体後葉に極めて稀に発生するが, 一部の成書では両者が混同して紹介され, 診断名にも混乱がみられている。CD はラトケ嚢由来の先天性非腫瘍性病変と考えられており, 老齢ラットでは Fischer, Wistar, SD 系ラットでいくつかの報告があるが, 若齢ラットにおける報告は Wistar 系ラット雌 10 週齢および雄 11 週齢で認められた 2 例のみであり, 他系統における報告は無い。今回我々は若齢 SD 系ラットにおいて自然発生の CD を認めたので報告する。

【症例】症例は日本チャールス・リバー (株) より 5 週齢で購入した Crj:CD (SD) IGS 雄ラットであり, 2 週間反復経口投与毒性試験の被験物質投与群に供した後, 9 週齢時に計画解剖された。剖検および臓器重量測定においては下垂体に異常は認められず, また被験物質の下垂体に対する影響は各種検査結果より否定された。剖検後, 常法に従い下垂体標本作製し, H.E. 染色, PAS 染色および抗ウシ keratin (wide) に対する免疫組織化学的染色を実施した。

【組織所見】H.E. 染色では, 下垂体後葉の約 1/4 を占める境界明瞭で充実性の構造がみられ, これを構成する大部分の細胞では, 好酸性を示す豊富な細胞質によって小型円形核が辺縁に押しやられ, 唾液腺の腺房に類似した構造が形成されていた。ただし, この腺様構造の中心付近では細胞質が少なく, 細胞は比較的密に配置し, 立方上皮よりなる管状構造も混在した。腺様構造中の細胞は, 部分的に PAS 染色および keratin に陽性を示した。この他, 立方あるいは扁平上皮で内張りされた嚢胞の形成およびラトケ嚢の遺残もみられ, ラトケ嚢腔内は好酸性均質なコロイド状物質により満たされていた。以上の組織所見より症例は下垂体後葉における CD と考えられた。

【まとめ】老齢ラットにおける CD の既報告と同様に腺様に分化した病変が, 本例のような若齢ラットにおいてかなりの大きさで観察されたことは, このような病変が先天的に下垂体後葉に迷入していた可能性を強く支持し, CD が非腫瘍性病変と考えられていることの裏付けの 1 つになりうるものと考えられた。また, 本例で認められた組織所見は第 11 回本学会における加齢 F344 ラットでの報告 (岩田ら) に酷似しており, これらも本例と同一のものと考えられた。

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

【始めに】ヒト, ラットおよびハムスターの下垂体後葉に管状あるいは腺房様構造が認められることがあるが, この病変はラトケ嚢遺残, craniopharyngeal derivatives あるいは aberrant craniopharyngeal structures と報告されており, いずれもラトケ嚢あるいは口蓋咽頭管の口腔咽頭上皮の遺残から生じる先天的な病変と考えられている. この病変はラットでは Fisher 系および Wistar 系ラットに時折発生することが知られているが, Sprague-Dawley 系ラットにおいては本病変に関する詳細な報告は少なく, 1994年に Schaetti らによる一報があるに過ぎない. 今回我々は SD 系ラット 6例に同様の病変を観察する機会を得たので報告する.

【材料と方法】動物は毒性試験に使用された雌雄 SD 系ラットで, 剖検後下垂体を採取し, 10%中性緩衝ホルマリン固定後, H.E.染色標本を作製し病理組織学的検査を行った.

【結果・考察】いずれの例においても肉眼的に下垂体に著変は認められなかったが, 組織学的検査において中間葉から後葉に管状構造あるいは腺房様構造が認められた. さらに一部の例では唾液腺に類似した組織も認められた. 病変を構成する組織の形態は様々であったが, その特徴からいずれも Schaetti らによって報告されている aberrant craniopharyngeal structures と同様の病変と考えられた.

○神鳥仁志, 田中丸善洋, 山崎秀樹, 菅野宏, 永藪徳久, 佐倉康文 (武田薬品・薬安研・光)

【目的】がん原性試験の評価において, 悪性腫瘍の増加は注目すべき所見であり, 良性あるいは悪性の診断基準は極めて重要である. 下垂体腫瘍はラットのがん原性試験で多発する所見であるが, 近年, 蝶形骨を含めた標本上での周囲組織への浸潤を悪性の診断基準とする方法が紹介されている^{1,2)}. Crj:CD(SD) IGS ラットは 1995 年から供給されているが, 長期飼育例の自然発生病変の報告は無い. 今回, 長期飼育した Crj:CD(SD) IGS ラットに上記の診断基準を適用し, 下垂体腫瘍の自然発生頻度について検索した.

【要約】Crj:CD(SD) IGS ラットの, 雌雄各 100 例を 24 ヶ月間無処置飼育した結果, 剖検時に下垂体の腫大が雄 47 例, 雌 80 例にみられた. 全例について蝶形骨を含む下垂体前頭断面, 大脳及び小脳の病理組織標本を作製し, 周囲組織への浸潤を下垂体の悪性腫瘍の指標として観察した. 下垂体前葉の腺腫が雄 38 例(38%), 雌 34 例(34%)にみられ, 同部位の腺癌は雄 25 例(25%), 雌 52 例(52%)にみられた. 成書³⁾には, Crj:SD ラットの下垂体腺腫の発生頻度は雄 66.8%, 雌 84.8%, 腺癌は雄 0%, 雌 0.2%という記載があり, 腺腫と腺癌を合計した発生頻度(雄 66.8%, 雌 85.0%)は今回の検討結果(雄 63%, 雌 87%)とほぼ同等であったが, 腺癌の発生頻度は今回の方が明らかに高かった. この差違は, 蝶形骨を含めた標本を作製したことにより, 周囲組織への浸潤を高率に検出し得た結果と考えられた. また, 今回みられた腺癌のうち脳組織への浸潤を示す例は雄 1 例, 雌 12 例, 蝶形骨周囲への浸潤を示す例は雄 25 例, 雌 44 例であり, 雌雄ともに脳組織への浸潤よりも蝶形骨周囲への浸潤の方が高率にみられた. 以上の結果より, 下垂体腫瘍の診断には標本作製方法が重要な意味を持つことが示唆された.

1) Hosokawa S. et al., Pituitary carcinoma of pars distalis as a common neoplasm in Fischer-344 rats, Toxicologic pathology 21: 283-287 (1993)

2) Satoh H. et al., Invasive pituitary tumors in female F344 rats induced by estradiol dipropionate, Toxicologic pathology 25: 462-469 (1997)

3) 腫瘍組織病理アトラス -実験動物の自然発生腫瘍- (1988) 西塚泰章他 編 文光堂

○角 将一¹・内田和美¹・高橋政壽¹・安藤 稔¹・岩田 眞¹・前川昭彦²
(ヤクルト本社・中研¹、佐々木研・病理²)

一般にマウスの副腎皮質に自然発生する悪性腫瘍は少なく、その組織学的特徴についての詳細な報告はほとんどない。今回、我々は老齢の雌性 BALB/c マウスに、副腎皮質起源と考えられる悪性腫瘍の2例を経験したので報告する。

症例1は128週齢時に一般状態悪化のため、また症例2は73週齢時に計画屠殺のため剖検した。肉眼的に症例1の腫瘍は灰白色調で、左腎臓の上部で背側部に位置し、左側腹腔内から連続性に横隔膜を貫通して胸腔内に達していた。症例2の左側副腎は、約7mmに腫大し、灰白色調を呈していた。

両症例に共通した組織所見として、クロマチンに富む扁平から卵円形の核とわずかな好塩基性細胞質を持った紡錘形もしくは卵円形の細胞(A型細胞)、明るい卵円形の核と空胞のある豊富な細胞質を持った多角細胞(B型細胞)がシート状に配列し、胞巣状構造を形成していた。これらの腫瘍細胞は細胞質に脂肪滴を持ち、細胞増殖活性が高かった。また症例1では、胸部脊髄周囲の骨格筋内へ腫瘍細胞の浸潤性発育がみられ、症例2では壊死像と出血像がみられた。さらに、症例2では一部に好塩基性細胞質を持つ小型の腫瘍細胞の密なシート状配列も観察された。

症例1の電顕観察では、卵円形細胞や紡錘形細胞の細胞質には脂肪滴と、小管状のクリスタをもつ球形ないし楕円形ミトコンドリアが観察され、腫瘍細胞間には、デスマゾームがしばしば認められた。

以上の所見から症例1および症例2とも副腎被膜下細胞であるA型細胞とB型細胞で構成された皮質の悪性腫瘍、すなわち Adrenocortical carcinoma と診断した。これまで報告されているマウスの Adrenocortical carcinoma のほとんどは副腎に限局してみられており、今回の症例1のように、横隔膜を貫通し胸腔まで広く浸潤性増殖するケースはきわめて稀である。これらのことから、本腫瘍は生物学的にきわめて悪性であり、増大するに従って浸潤増殖する性格の腫瘍である事が伺われた。

○枝元 洋、永谷真理子、安藤利恵、工藤佳代子、池崎信一郎、笠原健一郎、
若林佐知子、田村一利 (ボゾリサーチ)

我々は、がん原性を含む長期試験の評価の一助とすべく自然発生病変の収集・整理を行っている。今回は、マウスの耳介に自然発生する肉腫に焦点を当て、当研究所にて長期試験に供された約4000匹のB6C3F₁マウスを対象に回顧的調査を行ったので報告する。

耳介部腫瘍は、外表観察により87週齢の雄に最も早い発生が記録され、110週齢までに雄で約0.2%、雌で約0.3%に発生した。大きさは、最大で35x30x25mmに達し、肉眼的には、いずれも白色充実性であり、一部の症例では腫瘍内に壊死巣や腫瘍上部皮膚に潰瘍を形成するものもみられた。組織学的には、各腫瘍ともほぼ同様の形態を呈す細胞より成っていたが、紡錘形細胞が主体を占めるもの、roundないしpolygonal又はpleomorphicな細胞が主体を占めるもの、さらにこれらが同程度に混在しているものに分けられた。紡錘形細胞はinterlacing pattern、herring bone pattern、さらに時折 storiform pattern を示し、他の細胞はシート状に増殖していた。いずれの症例においても多核細胞やbizarreな核を有する細胞が散見され、盛んな細胞分裂と共に周囲組織へ浸潤増殖し、2例ではさらに肺への遠隔転移もみられたが、表皮層内での増殖は明らかでなかった。また、3例では、ごく少数の細胞にメラニンを疑わせる褐色ないし黒色素が検出された。

マウスの耳介に自然発生する肉腫としては、NTPの最新のデータベース¹⁾ではfibrosarcoma、sarcoma、MFHが0.1%の発生を示しているが、malignant melanomaの記載は見あたらない。今回の腫瘍は、その形態学的特徴においてF344ラットのamelanotic melanoma (neural crest tumor) やイヌのmalignant melanomaなどに比較的好く類似しており、一部症例にメラニンが検出されていることから考えて、malignant melanoma やamelanotic melanoma が強く疑われた。

1) J. K. Haseman, et al. (1998). Spontaneous neoplasm incidence in Fischer 344 rats and B6C3F₁ mice in two-year carcinogenicity studies: a national toxicology program update: Toxicologic pathology 26.(3), 428.

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

〔はじめに〕B6C3F₁マウスは化学物質のがん原性試験に広く使用されているが, この系統のマウスに生じる自然発生性の骨腫瘍の報告は極めて少なく, 骨肉腫が雄で0~0.5%, 雌で0~0.9%の発生率を示し, 骨腫はLang(1989)が雌3例, 廣内ら(1994)が雌3例に認めているが, 雄での報告はChandra(1992)らの1例のみである. 今回, 我々は2つのがん原性試験と無処置に長期飼育した1試験から得られた雄687例, 雌627例, 合計1314例について病理組織学的検査の結果, 骨腫4例(雄3, 雌1例), 骨肉腫4例(雄1, 雌3例), 合計8例の骨腫瘍が観察されたので報告する.

〔材料及び方法〕動物は雌雄のB6C3F₁マウスで, 剖検の後, 全身器官を10%中性緩衝ホルマリン液に固定, 脱灰後に, 定法によりパラフィン包埋・薄切片し, H.E.染色を施して病理組織学的検査を実施した.

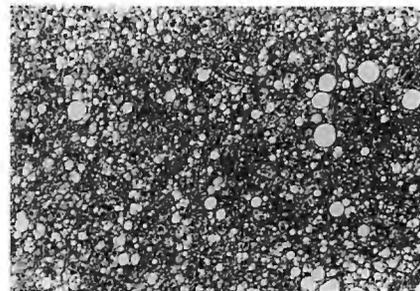
〔結果およびまとめ〕骨腫のみられた症例1~4は途中死亡あるいは瀕死期殺処分が2例, 最終投与後殺処分が2例であったが, いずれも107~109週齢と老齢であった. 一方, 骨肉腫がみられた症例5~8はやはり途中死亡あるいは瀕死期殺処分であったが72~109週齢に発生した. 肉眼所見において, 症例1~5は頭蓋骨の内側面に白色あるいは黄白色の結節として認められ, 症例5(骨肉腫)では, 脳を圧迫し, 出血を伴っていた. 症例6(骨肉腫)は頸椎に局限したハート型の腫瘍を認め, 症例7, 8(骨肉腫)はそれぞれ右腋窩部, 腰椎に腫瘍を認め, さらに肺, 肝臓, 腎臓等に硬い結節がみられた. 組織所見は骨腫の症例1~4は頭蓋骨の内側板から膨張性に増殖し, 緻密な骨よりなり, 層板構造を示し, 細胞成分はほとんどみられなかった. 腫瘍の中には骨髓造血がみられた. 骨肉腫の症例5~8はいずれも腫瘍性類骨が様々な割合で形成され, 円形から多角形の腫瘍細胞が密に増殖していた. 破骨細胞もわずかにみられた. 症例7, 8にみられた上記の肺, 肝臓, 腎臓等における結節は転移巣であった. 今回得られたさらに詳細な知見と他系統のマウスの骨腫瘍例との比較検討を加えて報告する.

○小川慎一, 尾藤柴野, 佐藤則博, 甲斐清徳, 渡邊 厚, 白岩和己, 望月文敏, 小林洋四郎
(旭化成 ライフサイエンス総研 安全研)

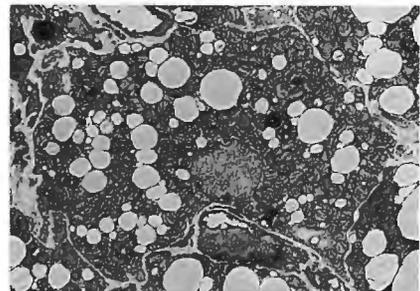
〔はじめに〕摂餌量の減少が脂肪組織に与える組織学的影響を検討した報告は少ない. 今回, 褐色脂肪および白色脂肪について絶食の影響を組織学的に検討したので報告する.

〔方法〕10週齢のCrj:CD(IGS)系雌雄ラット30匹 (n=5)を用いた. 16時間あるいは72時間の絶食後, 屠殺・剖検し, 脂質関連の血液生化学検査, 肩甲骨間褐色脂肪および精巣上体/子宮周囲白色脂肪の重量測定, 光顕および電顕による組織学的検索を実施した. なお, 対照として非絶食群を設けた.

〔結果〕血液生化学値: 72時間の絶食により, 中性脂質は雄で11%, 雌で26%に低下し, 遊離脂肪酸は, 雄で236%, 雌で214%に上昇した. 器官重量: 72時間の絶食により, 褐色脂肪の重量は雄で47%, 雌で62%に減少し, 白色脂肪の重量は雄で76%, 雌で58%に減少した. 組織学的変化: 16時間の絶食により褐色脂肪細胞の脂肪滴は減少し, 細胞サイズも小型化する一方, 大脂肪滴を持つ細胞が散在性に出現し, 72時間絶食でさらにこの傾向は強くなった. 電顕的にはこの大脂肪滴を有する細胞は褐色脂肪タイプのミトリアを有していた. 白色脂肪細胞については, 組織学的には絶食による大きな変化は観察されなかった. 本学会では, 現在検討中の免疫組織化学的検索, 形態計測の結果を加えて報告する予定である.



72時間絶食群 褐色脂肪



同上 電顕像

池田尚子 P-72
 池田高志 P-57
 池田佳久 P-50, P-51
 池上 仁 P-75
 池上二郎 P-89, P-90
 池崎信一郎 P-26, P-114
 今井 清 P-94
 今井俊夫 14, P-15
 今井田克己 19, P-20, P-36, P-58
 今村幸子 P-97
 今沢孝喜 23, P-26, P-72, P-108
 井内康輝 P-95
 猪又 晃 P-93
 井上五子 P-21
 乾 公正 P-54
 入江真美 P-81, P-105, P-111, P-115
 石田勝彦 P-16, P-53, P-75
 石川加代子 P-29, P-32
 石村美祐 7
 板垣慎一 17
 伊藤明弘 P-43, P-73
 伊藤敦子 26, P-44
 伊藤金次 26, P-44
 伊藤今日子 P-16, P-53
 伊東信行 P-20, P-36
 伊藤隆明 P-8
 岩井秀司 P-33
 岩倉啓子 P-98
 岩坂俊基 P-67, P-68
 岩田 聖 15, 23, P-100, P-101, P-104
 岩田 眞 P-113
 泉 恵子 P-97
 泉澤信行 P-16, P-78

K

角 将一 P-113
 香川雅孝 P-52
 甲斐清徳 P-116
 梶川 悟 2
 梶村哲世 P-71
 掛水信将 P-8
 柿本恒知 P-67, P-68
 加国雅和 P-89, P-90

上村裕洋 5, P-21
 金井一享 P-14
 神鳥仁志 P-107, P-112
 金枝 純 P-38
 金子秀雄 P-20
 金子英志 P-6
 金子真弓 P-95
 蟹沢成好 P-8
 蟹谷昌尚 P-97, P-109
 菅野 宏 P-112
 笠原健一郎 P-22, P-26, P-72, P-84, P-85, P-86, P-114
 葛西靖広 P-52
 樫本佳典 P-71
 柏木豊子 P-96
 片桐 卓 P-3, P-5, P-13
 片山淳一 P-65
 加藤淳彦 P-7
 加藤浩司 19, P-58
 加藤美穂子 P-110
 加藤 修 7
 加藤俊男 P-37
 勝田真一 P-61, P-62, P-70
 川端邦裕 P-1, P-17
 河部真弓 P-20, P-38, P-49, P-50
 川口博明 P-56, P-80
 川口雅子 P-52
 川合是彰 P-30
 河南明孝 P-98
 河村泰仁 P-103
 川崎 一 P-47
 木原 亨 23, P-100, P-101, P-104
 木島和恭 P-81
 木川英美 P-81, P-105, P-111, P-115
 木本直哉 P-38, P-89, P-90
 木村修一 P-72
 木村 透 P-74
 木ノ本寿子 P-87
 北村 均 P-8
 北村和夫 P-16
 北村和之 S-2
 木谷敏之 P-97, P-109
 北山若紫 18
 木澤和夫 P-103

小林裕幸 P-25
 小林和子 P-93
 小林 潔 6, P-41, P-42, P-55, P-82, P-88
 小林洋四郎 P-116
 小林裕子 12
 小泉治子 P-68
 小島 隆 13
 爰島洋子 P-80
 駒井浩一郎 P-20
 小西陽一 16, 18, P-25, P-33, P-35, S-3
 小坂忠司 P-54
 小谷猛夫 P-45, P-102
 河下 伸 5, P-21
 糞谷高敏 20, P-9, P-12, P-105, P-111, P-115
 香武哲也 P-21
 工藤佳子 P-69
 工藤佳代子 P-114
 倉 紘平 P-98
 倉部道恵 P-30
 蔵本 憲 7
 黒田博之 P-61, P-62, P-70
 黒川雄二 P-40
 黒木宏二 25
 来海正輝 P-110
 日下部愛泉 P-41, P-46, P-82
 楠岡 修 P-35
 桑原真紀 P-54
 桑村 充 P-45, P-102
 葛谷博磁 P-22

L

李 仁善 P-26
 李 威 P-49

M

前田 博 P-80
 前川昭彦 P-61, P-62, P-63, P-69, P-70, P-97, P-109, P-113
 真板敬三 11, 12, P-54
 牧野俊彦 P-29, P-32
 真鍋 淳 P-29, P-32
 MARONPOT R.R. 教育講演, P-11

丸山博司 P-28
 丸山 聡 P-73
 丸山敏之 10,P-77,P-92
 柵木利昭 P-10,P-88
 榊田周佳 P-39
 増田修治 P-60
 松井信志 10,P-92
 松永研吾 P-1,P-17
 松嶋周一 P-28,P-77,P-92
 松浦哲郎 P-28
 米良幸典 P-87
 三上真一 23,P-100,P-101,
 P-104
 三木弘彦 3
 三橋弘明 P-6
 三井雅之 16
 三森国敏 20,23,24,P-9,
 P-10,P-12,P-54,
 P-65,P-84,P-108
 三浦久樹 P-16
 三輪恵子 P-30
 宮嶋宏彰 P-80
 美谷島克宏 P-68
 宮島留美子 23,P-100,P-101,
P-104
 宮川義史 P-68
 宮内 慎 P-85,P-86
 宮崎恵子 P-31
 宮崎登志子 P-30
 三好貴子 10
 望月文敏 P-116
 望月 淳 P-41
 森 秀樹 21,P-1,P-17
 森 郁生 P-10,P-107
 森 正雄 P-57
 森 聖 P-34
 森本秀樹 P-83
 森本泰子 P-93
 森元康夫 P-27
 森村圭一郎 8
 森島英喜 P-107
 守田禎一 P-103
 森安眞津子 24
 村井 隆 P-34
 村越正典 P-57
 村田晃子 P-25
 村山 洋 2

務台 衛 P-41,P-42,P-46,
 P-55,P-82,P-88
 武藤幸子 P-23
 N
 鍋島陽一 P-96
 永井博文 P-76
 長野嘉介 P-3,P-5,P-13
 永岡隆晴 P-21,P-63
 長岡有紀 P-52
 永嶋雅子 P-60,P-83
 永田 治 P-65
 永田良一 P-80
 永田伴子 P-94
 永谷真理子 P-114
 永藪徳久 P-112
 中江 大 P-33,P-35,S-3
 中村 厚 P-99
 中村英明 P-85,P-86
 中村正典 P-27
 中野健二 P-78
 中野渡純一 14
 中谷玉樹 P-43,P-73
 仲辻俊二 P-27,P-45
 中山厚美 P-47
 中山裕之 2,25,P-23,P-24,
 P-75,P-79
 中山隆治 P-57,P-60,P-83
 中澤素邦 P-98
 南部裕之 3
 奈良間功 1,P-28,P-77,
 P-103,P-107
 二井愛介 P-75,P-78
 二木力夫 P-7
 西部泰弘 10
 西田恵津子 17
 西原真杉 2
 西川秋佳 P-22,P-26,P-72,
 P-84,P-85,P-86
 西川正憲 P-8
 西川 智 P-96
 野田圭介 P-3,P-5,P-13
 野村 護 P-71
 野村達次 P-10
 野々山孝 P-10
 布谷鉄夫 P-14,P-106

O

小田恵美子 P-2
 小笠原裕之 18,P-25
 緒方聖也 17,P-29,P-32
 小川久美子 P-37,P-50,P-51
 小川慎一 P-116
 小川友美恵 P-7
 小木曾正 P-38,P-51
 大垣比呂子 6
 大野浩司 10
 大石裕司 3
 岡田 学 P-92
 岡島英二郎 18
 岡宮英明 P-16,P-53
 岡庭 梓 P-99
 岡崎欣正 1,P-4
 桶崎英一 P-65
 沖本一夫 P-81,P-105,P-111,
P-115
 奥平雅彦 P-3,P-5,P-13
 奥寺康司 P-8
 奥野泰由 P-47
 小野寺博志 20,24,P-9,P-12,
 P-65,P-84
 長村義之 P-67,P-68
 尾崎圭介 P-47
 尾崎清和 P-28,P-77
 尾崎正和 13
 大園誠一郎 18

P

PAN IN-JEN 4
 朴 哲範 9

R

RAHMAN K.M.WAHI DUR 21

S

三枝順三 25
 佐伯幸司 P-89,P-90
 佐井君江 P-40
 斉藤明美 P-65
 斉藤義明 P-94

酒井洋樹 6,P-18,P-19,
P-88
坂入鉄也 P-42, P-46,P-82
佐久間貞重 P-45,P-102
佐倉康文 P-112
SALIM ELSAYED I 8
佐野文子 P-41,P-46,P-55,
P-82
佐野真士 19,P-36,P-59
三善隆広 P-103
笹原健二 P-97,P-109
佐々木啓 P-2,P-107
佐々木享子 P-57
佐々木康孝 16,18
佐藤順子 P-99
佐藤則博 P-116
佐藤利夫 P-38
佐藤 洋 P-71
佐藤恵子 P-45
澤多美和 P-87
澤田典均 13
澤村文子 P-59
関根一則 9
妹尾英樹 P-3,P-5,P-13
SHAMS TAHANY 8
柴田誠司 P-60,P-83
渋谷 淳 24,P-31
渋谷一元 P-14,P-106
渋谷延子 P-14
志賀敏彦 P-93
清水洋子 P-24
清水伸幸 P-15
下 武男 P-65
下井昭仁 S-6
新保 寛 P-22
白井章雄 P-96
白井紀充 6,P-18,P-19,
P-88
白井智之 19,P-20,P-36,
P-37,P-38,P-50,
P-51,P-58,P-59
白岩和巳 16,P-116
白木克尚 7,P-69,P-75,
P-78
宍戸信之 P-93
宍戸隆男 P-75
正田俊之 P-108,P-110
荘司俊益 7

SILLS ROBERT C P-11
SIPES I.G. S-2
須田美穂子 P-53
須藤雅人 1,P-4
杉江茂幸 21
杉本次郎 P-41,P-42,P-46,
P-55,P-82
杉本加代子 P-106
杉本哲朗 P-7,P-79
杉浦 諭 P-38,P-51
須方督夫 P-39,P-47
鷺見信好 P-98
鈴木穂高 25
鈴木一生 P-89,P-90
鈴木雅実 P-7,P-79
鈴木正寿 2
鈴木優典 P-110
酒々井夏子 21
SYKES GREG P 4

T
田川正志 P-57,P-60
田島正典 P-14,P-106
高場克巳 P-89,P-90
高田秋子 P-102
高田幸一 P-108
高木英利 P-25
高木久宜 20,P-9,P-12,
P-84
高木司郎 5,P-21,P-66
高橋明美 P-68
高橋浩一郎 P-78
高橋正一 P-61,P-62,P-69,
P-70,P-97
高橋政壽 P-113
高橋道人 P-26,P-85,P-86,
P-108
高橋迪雄 2
高橋 智 P-37,P-50,P-58,
P-59
高橋統一 P-110
高橋忠照 P-43
高嶋明彦 2
高嶋 彰 P-34
高島吉治 16
高須伸夫 P-92
高須賀信夫 9

武田和典 P-25
武田真記夫 11,12
竹田 剛 P-89,P-90
竹川 潔 P-21,P-63
武島幸男 P-95
竹下文隆 22
竹内正紀 5,P-21,P-63,
P-66
竹内哲也 P-3,P-5,P-13
竹内幸子 P-54
滝岡恵里子 P-27
滝沢節子 P-93
玉井幸子 P-99
玉野静光 P-20,P-36
田村一利 P-35,P-114
田村 啓 24,P-31,P-108
田中晴就 6,P-18,P-19
田中 光 P-59
田中浩二 P-81,P-105,P-111,
P-115
田中俊光 P-76
田中丸善洋 P-26,P-107,P-112
谷 洋一 P-91
谷藤久人 P-60,P-83
谷山哲秀 8
田代俊文 14
館田千絵 P-96
立松正衛 6,14,P-15,P-18,
P-19,P-87,P-88
立山 晋 1
田内清憲 P-25
俵谷武治 P-98
辻内俊文 16
堤 雅弘 16
時任康弘 S-2
富山成人 12
TON THAI-VU P-11
鳥井幹則 P-92
鳥丸安敬 P-97,P-109
鳥山 - 馬場弘靖 22
豊田和弘 P-11,P-31,P-108
豊沢かおる P-81,P-105,P-111,
P-115
螺良愛郎 3
土谷 稔 1,P-4
土屋毅幸 P-41,P-55,P-82
津田洋幸 9,22
辻奈穂美 22

辻内俊文 18,P-35
 塚本徹哉 6,14,P-15,P-18,
 P-19
 堤 雅弘 P-25,P-35

U

内田和美 P-113
 内田則子 P-64
 上田明子 P-98
 上田 誠 P-98
 上野芳夫 11
 上坂敏弘 7
 上塚浩司 25,P-23,P-24
 梅田麻美 P-46
 梅田ゆみ P-3,P-5,P-13
 梅村しのぶ P-67,P-68
 梅村隆志 P-40
 畷山智香子 P-31
 宇野 洋 P-6
 牛田 淳 21
 内海博之 P-66
 臼井功二 P-25
 臼居敏仁 P-83
 臼見憲司 P-94
 内本啓史 P-98
 内海博之 5
 宇和川賢 P-47

V

VINH PHAM QUANG 21

W

和知正幸 P-52
 若林敬二 21,P-60
 若林佐知子 P-114
 鷗淵英機 8,P-33,P-39,
 P-49
 渡邊 厚 P-116
 渡辺綾子 P-64
 渡辺敦光 7
 渡邊 弘 10,P-92
 渡辺満利 S-6
 渡辺茂美子 12
 渡辺隆夫 P-61,P-62,P-69,
P-70

渡辺知幸 13
 渡辺稔之 P-29
 魏 民 P-49
 WILLIAMS GARY M. P-40

Y

山田泰広 P-1,P-17,P-30
 山口 格 P-87
 山口良二 1
 山口裕子 P-99
 山川誠己 23,P-100,P-101,
 P-104
 山本大悟 3
 山本昌美 6,14,P-15,P-18,
 P-19,P-88
 山本晋史 P-49
 山本慎二 23,P-100,P-101,
 P-104
 山崎秀樹 P-112
 山下弘太郎 1,P-4
 山下 巧 P-64
 山手丈至 P-45,P-102
 矢本 敬 P-29,P-32
 柳澤利彦 P-97,P-109
 柳井徳磨 P-88
 楊 継紅 3
 安原加壽雄 20,P-9,P-10,
P-12,P-54,P-84
 殷 宏 P-43,P-73
 横本泰樹 P-110
 横山雄一 P-94
 萬 啓悟 P-7
 吉田浩己 P-56,P-80
 吉田順一 18
 吉田 緑 P-61,P-62,P-69,
 P-70,P-97
 吉田敏則 11,12
 吉川泰弘 17,S-1
 吉見直己 P-1,P-17
 吉野裕子 P-36
 義岡孝子 P-56
 吉竹裕子 P-96
 義澤克彦 3
 湯浅啓史 P-19

第15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

アグレボジャパン(株)	(株)実医研	日本グラクソ(株)
旭化成工業(株)	住友化学工業(株)	日本たばこ産業(株)
石原産業(株)	第一製薬(株)	日本農薬(株)
(株)エス・ディー・エスハイテック	大正製薬(株)	日本バイエルアグロケム(株)
(株)エーダックス	大日本インキ化学工業(株)	日本ベリンガインケルハイム(株)
大塚製薬(株)	大日本製薬(株)	日本レダリー(株)
小野薬品工業(株)	(株)大雄会医科学研究所	ノバルティスファーマ(株)
科研製薬(株)	武田薬品工業(株)	バイエル薬品(株)
鐘紡(株)	田辺製薬(株)	ピーエスエフジャパン(株)
杏林製薬(株)	中外製薬(株)	ファイザー製薬(株)
協和醗酵工業(株)	筑波家田化学(株)	藤沢薬品工業(株)
呉羽化学工業(株)	帝国臓器製薬(株)	(株)三菱化学安全科学研究所
興和(株)	帝人(株)	八洲化学工業(株)
三共(株)	トキワ科学器械(株)	山之内製薬(株)
(株)資生堂研究所	日研化学(株)	吉富製薬(株)

広告関係

加商(株)	(株)大雄会医科学研究所	(株)日本バイオリサーチセンター
(財)残留農薬研究所	ダウ・ケミカル日本(株)	ハンテントライフサイエンス(株)
(株)新日本科学	日生研(株)	(株)バイオ病理研究所
住化テクノス(株)		

(50音順)

第 15 回日本毒性病理学会講演要旨集

平成 10 年 11 月 26 日 印刷

平成 10 年 12 月 8 日 発行

編 集 茨城県水海道市内守谷町 4321 番地

(財) 残留農薬研究所 毒性部

第 15 回日本毒性病理学会

責任者 真板敬三

印 刷 笹氣出版印刷株式会社

東京都港区芝浦 2-14-13

CTBR

Pathology Services

Years of Experience with Routine and Specialized Pathology Services in:

- Bone Evaluation
 - * DXA and pQCT TM Densitometry
 - * Undecalcified Bone Sectioning or Grinding
 - * Histomorphometry
 - * Biomechanics
- Bone Marrow Cytology
- Electron Microscopy
- Histological Preparation and Evaluation of Biomaterials
- Immunohistochemistry
- Male Reproductive Assessment
 - * Testicular Staging
 - * Computer Assisted Semen Analysis
- Neuropathological Evaluation

KASHO 加商株式会社

〒103 東京都中央区日本橋2丁目14番9号
電話 03 (3276) 7670
FAX 03 (3276) 7626

CTBR

87 Senneville Road
Senneville (Montréal), Québec, Canada H9X 3R3
Telephone: (514) 630-8200
Fax: (514) 630-8230

The Institute of Environmental Toxicology (IET)

財団法人 残留農薬研究所

農薬、医薬品、一般化学物質



各種安全性試験の受託およびコンサルタント

【適合 GLP】

農薬取締法 薬事法 化審法 安衛法 OECD EPA

【受託試験項目】

- 急性毒性試験 ○局所刺激性試験 ○一般毒性試験 ○発癌性試験 ○生殖毒性試験
- 変異原性試験 ○薬理試験 ○薬物動態試験 ○毒性・発癌性に関する各種メカニズム試験
- 代謝運命試験 ○物理化学的特性試験 ○作物・土壌残留性試験 など

創業 1970 年依頼の信頼と豊富な実績

試験に関するお問い合わせは、小平研究所業務部業務課までお気軽にお電話下さい。なお、コンサルタント業務も行っております。試験のデザインの立案、翻訳、試験結果の評価など、試験全般に関するご相談にも広く対応致します。

小平研究所 〒187-0011
東京都小平市鈴木町 2 丁目 772 番地
TEL : 042-382-2111 (代表)
FAX : 042-383-7640
E-mail : iet@mxh.meshnet.or.jp

水海道研究所 〒303-0043
茨城県水海道市内守谷町 4321 番地
TEL : 0297-27-4501 (代表)
FAX : 0297-27-1225
E-mail : zanken@iinet.or.jp



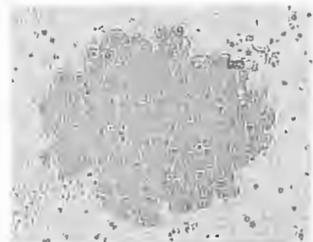
受託試験の内容

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。

- 肝中期発癌性試験
- 多臓器中期発癌性試験
- 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、特に肝中期発癌性試験は、ユニークな方法とデータの信頼



GST-P 陽性細胞

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。



株式会社大雄会医科学研究所

〒491-01 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



安心を
地球規模で考えます。

今そして未来のために、ダウ・アグロサイエンスのできること。

増加の一途をたどる世界人口。深刻化する環境問題。その中で高品質の製品の提供を通して、食糧の安定生産と環境保全に寄与することが私たちに課せられた使命と考えます。現場の声に基づき、環境・使用者への安全に細心の注意を払い、最新技術を駆使した製品を開発することが基本です。ダウ・アグロサイエンスは使用者のニーズに立ち、安心できる優れた製品をお届けすることに地球規模で取り組んでいます。

クリンチャー[®](水稲除草剤)・ビーム[®](水稲殺菌剤)・レルダン[®](水稲、野菜殺虫剤)・テロン[®]92(雑虫剤)
トレファンサイド[®](畑作除草剤)・ダズバン[®](果樹、芝生殺虫剤)・ルビゲン[®](果樹、野菜、芝生殺菌剤)

*ダウ・アグロサイエンス商標

ダウ・ケミカル日本株式会社 ダウ・アグロサイエンス事業部門

部 門 本 部：東京都品川区東品川二丁目2番24号 天王洲セントラルタワー12階 〒140-8617
大 阪 営 業 所：大阪市中央区南船場三丁目10番19号 住友心斎橋ビル10階 〒542-0081
小 郡 開 発 セ ン タ ー：福岡県小郡市山隈821 〒838-0113

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】

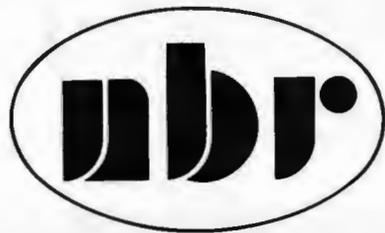
- 一般毒性試験
(単回・反復投与)
- 特殊毒性試験
(生殖・発生、癌原性、局所刺激)
- 病理組織標本の作製・検査
- 血液学・血液生化学的検査
- 機器分析
- その他 (お問い合わせ下さい)



 **日生研株式会社**

〒198-0024 東京都青梅市新町9-2221-1
TEL: 0428-33-1040 FAX: 0428-33-1080

9810



受託研究施設



有効性(薬理)試験から安全性試験まで医薬品開発に
信頼性のある情報・報告をお届けします。

- 薬理試験 薬効薬理試験(中枢神経系、呼吸・循環器系、消化器系、代謝系、
炎症・免疫・アレルギー系、その他)
一般薬理試験(一般薬理試験ガイドラインAおよびB項目)
- 安全性試験 一般毒性試験、生殖試験、変異原性試験、抗原性試験、刺激性試験
がん原性試験、精子検査、分析、その他

株式会社日本バイオリサーチセンター

〒501-6251 岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地 TEL 058-392-6222(代)
FAX 058-392-2432

臨床・非臨床サンプルの分析を受託します。



薬物代謝分析センター

業務内容：

- ・安全性試験におけるTK
- ・臨床試験におけるPK
- ・放射性同位元素を用いた代謝試験

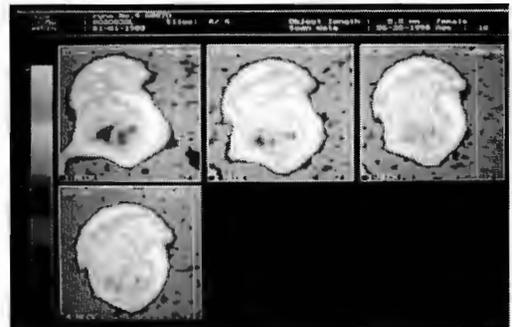
LC/MS/MS (API3000)

骨粗鬆症モデルを用いた薬効評価試験

pQCT(XCT-3000)も導入し、骨量測定がさらに充実しました。



カニクイザルの大腿骨骨頭部



左図の拡大図

新日本科学グループでは、非臨床試験から、臨床試験の受託、申請概要書作成や電子化申請のサポートまで医薬品開発にかかわる総合的なサービスをご提供致します。

安全性研究所：鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦 2438 番地
 薬物代謝分析センター：和歌山県海南市南赤坂 16-1
 臨床薬理研究所：鹿児島市唐湊四丁目 18 番 38 号 CPCクリニック
 東京支社：東京都港区虎ノ門 1-1-23 虎ノ門東宝ビル
 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

☎ (099) 294 - 2600
 ☎ (0734) 83 - 8881
 ☎ (099) 259 - 2470
 ☎ (03) 3500 - 5045
 ☎ (06) 233 - 8411

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協力的にサポートする新しいカタチの画像解析システムです。

- IPAPを用いれば、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。
- パーソナルタイプから大量処理タイプまで、予算および目的用途に合わせお選び頂けます。



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出来ます。
4. 複数画像の一括処理、複数検査データの並行処理、保存も可能です。

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

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にてお送り下さい。 詳しい資料をお届けします。

貴社名／
 部署名／
 役職／
 芳名／
 ご住所／
 TEL／ FAX／

住化テクノサービス (株)
 〒554-8558
 大阪市此花区春日出中3-1-98
 TEL:06(466)5352
 FAX:06(466)5353



Huntingdon
Life Sciences

Working for a better future

頂点をめざすために 本当に必要なこと.....。

ハンティンドン ライフサイエンスは、安全性評価や製品開発の世界で、
いつも新しい世界基準を作ってきました。

だからこそ、医薬品、農薬、化学品など

リーディングカンパニーの製品が

私どもの試験を経て、世に送り出されているのです。

ハンティンドン ライフサイエンスは、

英国と米国に世界最大規模の試験施設を有し、

トップレベルの技術と人材を投入し、

国際的に定評のある試験成績を提供。

その内容的な質の高さはもちろん、

迅速で正確な作業と柔軟な対応は高く評価されています。

ハンティンドン ライフサイエンスは、最高の技術と豊富な経験、

そして仕事に対する厳しい姿勢で、

頂点をめざす企業の国際開発のパートナーとなります。

ハンティンドン ライフサイエンス株式会社
〒102-0076 東京都千代田区五番町12番地1
TEL(03)3238-6381 FAX(03)3238-6388

Huntingdon Life Sciences Ltd.
PO Box 2 Huntingdon
Cambridgeshire, PE18 6ES, England

Huntingdon Life Sciences, Inc.
PO Box 2360 Mettlers Road
East Millstone, NJ 08875-2360, USA

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も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)

〒873-0511
大分県東国東郡国東町小原1200-2
TEL (0978) 72-0454
FAX (0978) 72-2320