

第16回日本毒性病理学会

講演要旨集



2000年1月26日~27日

岐阜

開始時間の変更

26 日のシンポジウム 1 の後、会場の移動を考慮して、示説発表開始時間を全体的に 15 分遅らせる予定です。シンポジウム 1 の終了後、16 時 15 分から 18 時 15 分までに変更となり。このため、懇親会開始も 18 時 45 分からは予定しています。

ページ	訂正箇所 行等	訂正
緑の(2)	上から 9 行目	学会本部：3 F 第 2 会議室ないし第 1 会議室
緑の(3)	1.期日と 5.日程	26 日(水)、27 日(木)
緑の(4)	演者の方へ 追加	口演の最中に、予告として 7 分後にベル 1 回、終了合図として 8 分後にベル 2 回を、最後に質疑終了のベル 3 回 12 分後に鳴らします。
緑の(6)と(9)	O-4, 5 の座長名	梶村哲也 → 梶村哲世
緑の(8)	シンポジウム 2 の司会	司会者の一人を、黒川雄二先生 (国立衛研安全センター) から西川秋佳先生 (国立衛研・病理) に交代。
緑の(10)	O-16	題目内「モデル ミテストステロン...」は「モデル ニテストイテロン...」に
緑の(13)	P-10	P-10 の発表者の 40 歳未満のマークを取る。
緑の(18)	P-55, P-56	発表者に 40 歳未満のマークを付ける。
緑の(19)	P-73	レセプター a をレセプター α に。
3	下から 8 行目	198 を 1998 に
30	O-18 下から 7 行目と 2 行目	「学的検索では...」を「【結果】組織学的検索では...」に。 また、「DHPN と...」の前に「【結論】」を挿入。
38	P-6 最終行に参考文献の追加	1) S.Yamamoto et al. Carcinogenesis 17:2455-2461 (1996)
48	P-26 下から 6 行目	「におい α 」の空白は「において TGF- α 」です。
53	P-35	発表者と所属のアラビア数字を肩文字に
72	P-73	11 カ所の ER__ mRNA は全て ER α mRNA です。また、材料及び方法(行 4)、結果及び考察(行 9)、結論(行 15)の項目名に下線にて区別して下さい。
77	P-83 Table 内最下段	16 / 16, 5 / 8, 4 / 10, 0 / 8, 0 / 9 の \angle が薄い。
93	寄付金・賛助金関係	興和 (株) を追加下さい。

第16回日本毒性病理学会関連行事日程表

(但し、学会は平成12年1月26・27日のみ)

日時	1/25 (火)	1/26 (水)	1/27 (木)
		8:30	
9:00		8:55 受付 開会式	受付
10:00		口演 (1Fメインホール)	9:15 示説 (4F大会議室)
11:00	マイクロ試験 問題の解説 (4F)		特別講演 (1Fメインホール)
12:00			総会・表彰式 (1F)
13:00		評議員会 (5F) / 昼食	昼食
14:00	第13回 スライド コンファラ ンス (4F)	シンポジウム 1 (1Fメインホール)	口演 (1Fメインホール)
15:00			シンポジウム 2 (1Fメインホール)
16:00			
17:00		示説 (4F大会議室)	閉会式
18:00			
19:00		懇親会 (ルネッサンス ホテル 2F)	

岐阜長良川国際会議場にて

第6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11年9月4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、カラー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25日(火) 午前10:30～11:50

会場：長良川国際会議場 4階大会議場
岐阜市長良福光 2695-2

TEL058-296-1339 / FAX058-296-1339

(詳細は講演要旨集の会場案内図を参照下さい。)

解説：福島昭治 (試験委員長)

会費：無料 (参加自由)。 尚、会場の収容定員は約250名です。

尚、同会場では午後1時から4時30分に、真板敬三先生(残農研)のお世話で第13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. 12 (No.2)の折り込みのコンファランス開催案内をご参照下さい。

会場案内図



交通のご案内

名古屋からはJRないし名鉄で岐阜まで20～30分。岐阜羽島からは名鉄で岐阜まで約30分。
 JR岐阜駅または名鉄新岐阜駅よりバスで約20分、タクシーで約15分。

岐阜市営バス：三田洞線13番、長良川国際会議場行で長良川国際会議場前下車。
 長良線11番、長良鷺山まわり、または長良線1番、忠節鷺山まわりで岐阜女子短大前下車。

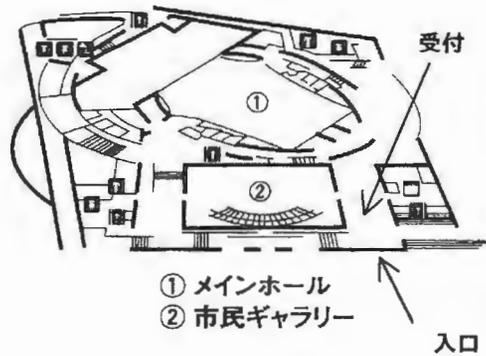
岐阜バス：忠節長良線、または岐阜メモリアル循環線で岐阜女子短大前下車。

会場内案内

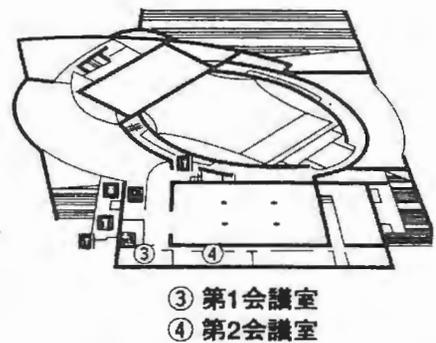
JSTP認定試験問題解説およびスライドコンファランス(学会前日)：4F大会議室
 総合受付・スライド受付およびクローク：1F会場入口周辺
 口演・特別講演・シンポジウムおよび総会：1Fメインホール
 示説受付：4F大会議室入口
 示説：4F大会議室(A~C)
 評議員会：5F国際会議室
 機器展示および一般休憩室：1F市民ギャラリー
 学会本部：3F第1会議室

館内案内図

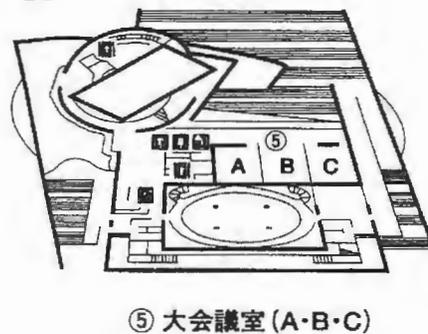
1F



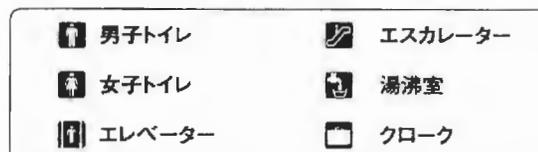
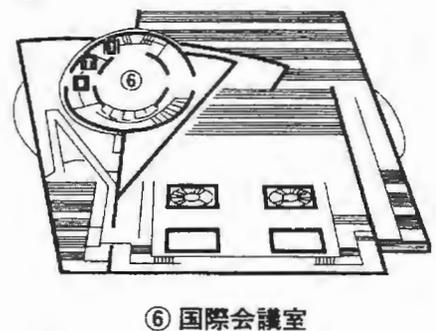
3F



4F



5F



第16回日本毒性病理学会

1. 期 日 2000年1月26日(火)、1月27日(水)
2. 会 場 長良川国際会議場
3. 会 長 森 秀樹(岐阜大)
事務局 吉見直己(岐阜大)
4. プログラム委員会 (50音順)
今井 清 (財)食品薬品安全セ・秦野研)
白井 智之(名古屋市立大・第一病理)
立松 正衛(愛知県がんセンターセ・第一病理)
田中 卓二(金沢医科大・第一病理)
西川 秋佳(国立医薬品食品衛生研・病理部)
野々山 孝(武田薬品・薬剤安全性研)

5. 日 程

第1日 1月26日(火)

口演会場(1Fメインホール さらさーら)		示説会場(4F大会議室)	
8:30	総合受付開始		
8:55~9:00	開会式	8:45~9:30	受付展示(全演題)
9:00~12:24	口演1(17題)		
12:30~13:30	昼食		
	評議員会(5F国際会議室)		
13:30~16:00	シンポジウム1		
		16:00~18:00	質疑応答(81題)
18:30~		懇親会(岐阜ルネッサンスホテル)	

第2日 1月27日(水)

口演会場(1Fメインホール さらさーら)		示説会場(4F大会議室)	
8:30	総合受付開始	9:15~10:15	質疑応答(20題)
10:30~11:30	特別講演		
11:30~12:00	総会・表彰式		
12:00~13:00	昼食	12:00~13:00	示説撤去(全演題)
13:00~14:24	口演2(7題)		
14:30~17:00	シンポジウム2		
17:00~17:05	閉会式		

6. 事務局

(会期前) 〒500-8705 岐阜市司町40番地
岐阜大学医学部
TEL 058-267-2235
FAX 058-265-9005

(会期中) 〒502-0817 岐阜市長良福光2695-2
長良川国際会議場
TEL 058-296-1339
FAX 058-296-1339

参加者への御願い

参加者の方へ

◎原則として事前登録を御願ひします。

登録・送金方法：参加費 8,000円

学会誌 Vol.11 (No.2) 折り込み郵便振替用紙を御使用ください。

(郵便局備え付けの振替用紙でも結構です。)

口座番号：00860-8-14395

加入者名：第16回 日本毒性病理学会事務局

振込締切：平成12年1月7日(金)

1. 総合受付は学会両日午前8時30分から、長良川国際会議場ホール入口にて行います。
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付けて下さい。
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付けて下さい。
4. 質問・討論される方は、座長の指示に従って所属を氏名を述べた上で発言して下さい。

演者の方へ

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

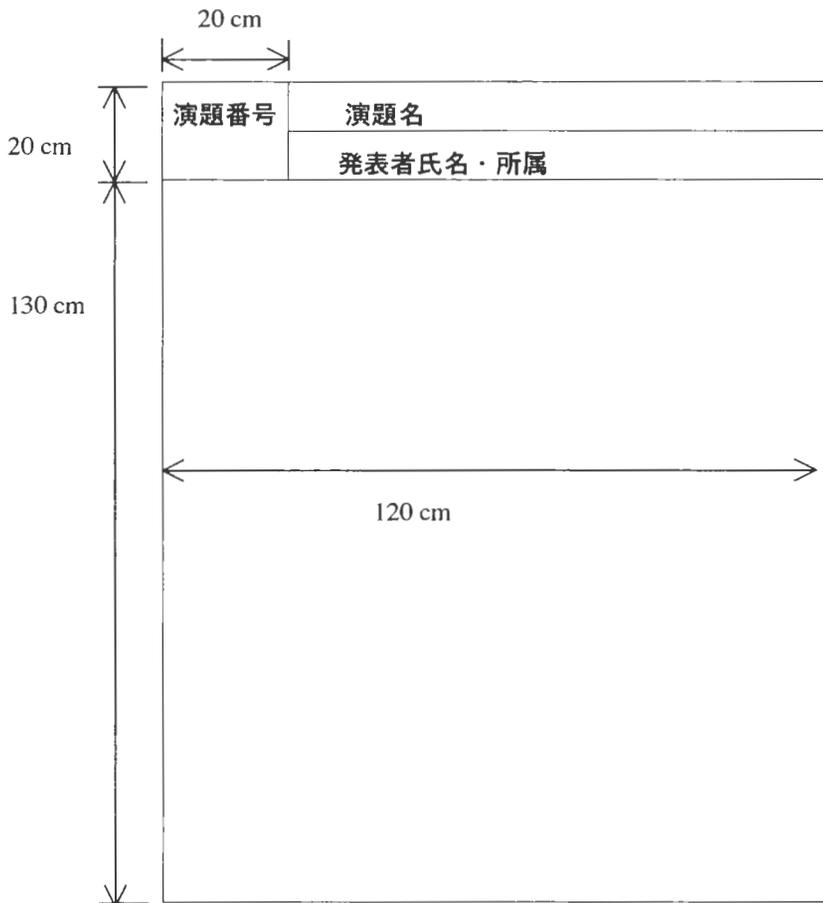
1. 評議員会は、学会第1日目の12時30分より5階の国際会議室にて行います。
(要：昼食代 1,000円)
2. 総会の学会第2日目の11時30分よりホールにて行います。

懇親会の御案内

1. 懇親会は、学会第1日目の18時30分から20時30分まで、学会会場隣接の岐阜ルネッサンスホテル2階にて開催します。
2. 懇親会費7,000円：学会参加費と同様、事前登録を御願ひします(学会参加費とともにご送金ください)。当日参加(8,000円)は人数制限となりますので、ご了承下さい。
3. 事前登録者は、総合受付で学会・懇親会参加章をお受け取り下さい。

示説をされる方へ

1. 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を済ませてください。指定の位置にお張り下さい。
2. 展示時間は第1日目の9時30分より第2日目の12時00分までです。第1日目第一セッションの発表者（演題番号P-1~10・100・101、21~30、41~50、60~69）は、16時00分から17時00分までの間、第1日目第二セッションの発表者（演題番号P-11~20、31~40、51~59、70~79）は、17時00分から18時00分までの間、第2日目第三セッションの発表者（演題番号P-80~89、90~99）は、9時15分から10時15分までの間、必ず会場に居て下さい。
3. 発表者は初日の示説展示受付時にお渡しするリボンを上記質疑応答時間中はお付け下さい。本年度は演者による簡単な発表は行いませんが、簡単に要旨を説明できる用意はしておいて下さい。順次、座長の指示に従い、参加者の質疑に応じて下さい。質疑時間は各演題5分です。尚、予備・総合討論時間として、一通りの質疑終了ののちに各セッション10分を用意してあります(但しP-1~10・100・101の部は時間厳守して下さい)ので、演者は各セッション時間内はその場に留まって下さい。尚、40歳未満の発表者から会長賞を3名ほど選出し、第2日の総会時に表彰いたします。
4. パネルの大きさは縦150cm、横120cm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

特別講演	1月27日 (10:30~11:30)	森 秀樹	(岐阜大・一病理)	
シンポジウム 1	1月26日 (13:30~16:00)	長村義之	(東海大・病理)	
		今井 清	(食薬セ・病理)	
シンポジウム 2	1月27日 (14:30~17:00)	黒川雄二	(国立衛研安セ)	
		臼居敏仁	(実験動物中央研)	
口演	1月26日 (9:00~12:24)	O-1~3	杉江茂幸 (岐阜大・一病理)	
		O-4,5	梶村哲也 (第一製薬・安全研)	
		O-6~8	中山裕之 (東大・農・獣医病理)	
		O-9~11	野々山 孝 (武田薬品・薬剤安全性研)	
		O-12~14	福島昭治 (大阪市立大・一病理)	
	1月27日 (13:00~14:24)	O-15~17	吉田浩己 (鹿児島大・一病理)	
		O-18~20	井内康輝 (広島大・二病理)	
		O-21~24	堤 雅弘 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)	
示説	1月26日	第一セッション (16:00~17:00)		
		P-1~10,100,101	奈良間 功 (摂南大・薬安研)	
			吉村慎介 (食薬セ・病理)	
		P-21~30	土谷 稔 (三菱化学安科研)	
			小泉治子 (日本たばこ・安全研)	
		P-41~50	白井智之 (名市大・一病理)	
			川合是彰 (田辺製薬・安全研)	
		P-60~69	立松正衛 (愛知がんセ・一病理)	
			田中卓二 (金沢医大・一病理)	
		第二セッション (17:00~18:00)		
		P-11~20	長野嘉介 (日本バイオアッセイ研究セ)	
			古川文夫 (国立衛試・病理)	
	P-31~40	泉 啓介 (徳島大・二病理)		
		原田孝則 (残農研・毒性)		
	P-51~59	渡辺満利 (持田製薬・安全研)		
		萩原昭裕 (大雄会医科研)		
	P-70~P-79	山崎寛治 (化検協・安全セ)		
		真鍋 淳 (三共・安全研)		
1月27日	第三セッション (9:15~10:15)			
	P-80~89	花田貴宣 (山之内製薬・創薬安全研)		
		岩田 聖 (安評セ・病理)		
	P-90~99	渡辺敦光 (広島大・原医研・環境変異)		
		山手丈至 (大阪府大・農・獣医病理)		

日本毒性病理学会のあゆみ

回	開催地	会長	会期	特別 講演	シンポジウム・ワー クショップ・その他	一般 演題
1	東京	西山 保一 (北里学園)	1985.3.25	2	0	0
2	東京	藤原 公策 (東大)	1986.2.7~8	1	5	29
3	名古屋	伊東 信行 (名市大)	1987.2.6~7	1	8	47
4	浜松	榎本 眞 (安評セ)	1988.2.5~6	1	7	55
5	横浜	蟹澤 成好 (横市大)	1989.1.27~28	1	6	53
6	札幌	板倉 智敏 (北大)	1990.2.13~14	1	6	80
7	東京	林 裕造 (国立衛試)	1991.1.17~18	1	20	53
8	奈良	小西 陽一 (奈良医大)	1992.1.23~24	1	19	71
9	東京	土井 邦雄 (東大)	1993.1.21~22	2	4	126
10	広島	伊藤 明弘 (広大)	1994.1.27~29	1	18	136
11	大阪	佐久間 貞重 (大阪府大)	1995.1.26~27	2	10	151
12	東京	高橋 道人 (国立衛試)	1996.1.24~24	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	7	142
16	岐阜	森 秀樹 (岐大)	2000.1.26~27	1	12	125

特別講演

第2日 (1月27日) 10:30~11:30 司会 森 秀樹 (岐阜大・一病理)

Quantification of Dose- Response Relationships in Chemical Hepatocarcinogenesis: 2
Application of Toxicologic Pathology Dr. Gary M. Williams (New York Medical College, NY, USA)

シンポジウム

シンポジウム 1 「内分泌臓器の毒性変化と内分泌攪乱化学物質」

第1日 (1月26日) 13:30~16:00 司会 長村義之 (東海大・病理)
今井 清 (食品薬品安全セ)

S1-1 はじめに 内分泌攪乱科学物質による内分泌臓器の病理学的変化 6
長村義之 (東海大・病理)
S1-2 下垂体 7
藤本成明 (広島大・原医研・予防腫瘍)
S1-3 甲状腺 8
広瀬雅雄 (国立衛研・病理)
S1-4 雄性生殖器の毒性変化と内分泌攪乱化学物質 9
奥野泰由 (住友化学・生物環境研)
S1-5 内分泌攪乱化学物質、特にエストロゲン様作用を有する 化学物質の雌性生殖器への影響 10
吉田 緑、前川 昭彦 (佐々木研・病理)
S1-6 むすび 11
今井 清 (食品薬品安全セ・秦野研)

シンポジウム 2 「発がん性検出のための短期代替試験の評価上の問題点」

第2日 (1月27日) 14:30~17:00 司会 黒川雄二 (国立衛研安全センター)
臼居敏仁 (実験動物中央研究所)

S2-1 短期発癌代替法の基本概念：メカニズムを中心に 14
三森国敏 (国立衛研・病理部)
S2-2 遺伝子改変動物 1 15
TGF α トランスジェニックマウス、Hras128トランスジェニックラット 津田洋幸 (国立がんセンター研究所・化学療法部)
S2-3 遺伝子改変動物 2 16
(rasH2, P53+/-, Tg. AC, XPA-/-) mouse 臼居 敏仁 (実験動物中央研究所)
S2-4 遺伝子改変動物 3 18
レポーター遺伝子導入マウス 西川秋佳 (国立衛研・病理)
S2-5 二段階発がんモデル 19
今井田克己、白井智之 (名市大・医・一病理)
S2-6 新生児モデル 20
務台 衛 (三菱東京製薬・横浜研究所安全性研)

口演プログラム

○：発表者

第1日 (1月26日) 午前

座長 杉江茂幸 (岐阜大・一病理)

9:00~9:36

- O- 1 CX32 遺伝子欠損マウスにおける肝発癌 22
○渡辺知幸¹、尾崎正和^{1,2}、小島隆³、澤田典均⁴
(¹住化テクノサービス、²住友化学・生科研、³札幌医大・がん研病理、⁴札幌医大・
2病理)
- O- 2 内因性および外因性ラット肝発癌における apoptosis 関連遺伝子発現レベルの変化と
auraptene による修飾 22
○岸田 秀樹¹、中江 大¹、楠岡 修¹、村上 明²、小清水 弘一²、大東 肇³、
小西 陽一¹
(¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理、²近畿大・生物理工・生物工学、³京大・農)
- O- 3 ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸食による肝発癌に対するフェノバルビタール投
与の及ぼす影響 23
○楠岡 修、中江 大、岸田秀樹、赤井弘幸、北山若紫、安藤信明、榎並倫宣、
田村一利、傳田阿由美、小西陽一
(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

座長 梶村哲也 (第一製薬・安全研)

9:36~10:00

- O- 4 2, 5- ヘキサンジオンによる遠位軸索症に関する病理学的研究
- 正常ウズラとニューロフィラメント欠損ウズラの比較 - 23
○平井卓哉¹、梅村孝司²、板倉智敏³、水谷誠¹、布谷鉄夫¹
(¹日生研、²北大院、³理研)
- O- 5 Phosphodiesterase 阻害剤によるラット網膜変性症 24
○石田尚夫¹、義澤克彦¹、大石裕司¹、太田康彦²
(¹藤沢薬品工業・安全研、²鳥取大・獣医・実験動物機能学)

座長 中山裕之 (東大・農・獣医病理)

10:00~10:36

- O- 6 抗アンドロゲン剤 Chlormadinone acetate(CMA)の自然発症前立腺肥大(BPH)イヌの
前立腺、下垂体及び精巣に対する作用の形態学的検討 24
○村越正典¹、田川正志¹、池田理恵¹、中山隆治¹、五反田浩太郎²、三枝 衛²、
本間誠次郎²
(¹帝国臓器製薬・安全研 ²帝国臓器製薬・薬理研)
- O- 7 Basal cell apoptosis in the dorsal skin of WBN/ ILA- Ht rats topically applied
with T- 2 toxin 25
○Albarenque SM、鈴木和彦、篠塚淳子、中山裕之、土井邦雄
(東京大・農・獣医病理)
- O- 8 ハムスター短期膀胱癌系における N-(4- hidroxyphenyl)retinamide (4- HPR) の
膀胱および胆管発癌修飾作用 25
○村田奈保、堤雅弘、笛木修、辻内俊文、堀口浩資、天沼利宏、丸山博司、小西陽一
(奈良医大・腫瘍病理)

座長 野々山 孝 (武田薬品・薬剤安全性研)

10:36~11:12

- O- 9 ヒトプロト型 c- Ha- ras トランスジェニックラットにおける DMBA- TPA 皮膚塗布
二段階発がんモデルの確立 26
○深町勝巳、朴哲範、高須賀信夫、松岡洋一郎、津田洋幸
(国立がんセ・研・化療)

- O-10 ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットにおける自然発生腫瘍の頻度と突然変異の解析 26
 ○内藤暁宏¹、鳥山一馬場弘靖¹、大西隆仁¹、朝元誠人²、津田洋幸¹
 (¹国立がんセ・研・化学療法部、²名市大・医・1 病理)
- O-11 ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットにおける乳腺発がんの初期変化について 27
 ○鳥山一馬場弘靖、山本扶美、藤田健一、韓 範錫、津田洋幸
 (国立がんセ・研・化療)
- 座長 福島昭治 (大阪市立大・一病理) 11:12~11:48
- O-12 ラットにおける Tsc1 および TSc2 蛋白の組織および細胞内局在 27
 ○福田智一、小林敏之、樋野興夫
 (癌研・実験病理)
- O-13 F344 ラットの BBN 誘発膀胱発がんに対する Cu-NTA の抑制効果 28
 ○南 孝則、長根芳文、金田信也、泉 啓介
 (徳島大・医・二病理)
- O-14 ラットの微量カドミウム長期間曝露における毒性発現閾値評価に関する研究 28
 ○渋谷 淳¹、三森国敏¹、佐藤伸一²、西島基弘³、平塚秀明⁴、佐藤雅彦⁵、広瀬雅雄¹、安藤正典⁶
 (¹国立衛研・1 病理、²イナリサーチ、³都立衛研、⁴三菱安科研、⁵国立環境研、⁶国立衛研・環境衛生化学)
- 座長 吉田浩己 (鹿児島大・一病理) 11:48~12:24
- O-15 可移植性ラット子宮内膜間質肉腫の細胞特性の解析、特に樹状細胞の特性の表出と TGF- β 産生による筋線維芽細胞の誘導 29
 ○山手丈至、横山友紀、桑村充、小谷猛夫、佐久間貞重
 (大阪府大獣医病理)
- O-16 前立腺癌トランスジェニックラットモデル ミ テストステロン投与および去勢の影響 29
 ○朝元 誠人、外岩戸 尚美、高橋 智、曹 泳晩、池田 佳久、今井田 克己、白井 智之
 (名市大・医・1 病理、CREST)
- O-17 p53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスを用いた ENU による二段階多臓器発がんモデルにおけるビスフェノール A, DDT, きなこの発がん修飾作用 30
 ○小野寺 博志、三森 国敏、高木 久宜、安原 加壽雄、梶谷 高敏、田村 啓、広瀬 雅雄
 (国立衛研・病理)

第 2 日 (1月27日) 午後

- 座長 井内康輝 (広島大・二病理) 13:00~13:36
- O-18 DHPN を用いたラット鼻腔二段階発癌モデルにおける 2,6-dimethylaniline (DMA) 誘発増殖性病変の免疫組織化学的・超微形態学的検討 30
 ○梶谷高敏¹、三森国敏¹、安原加壽雄¹、豊沢かおる²、小野寺博志¹、高木久宜¹、田村啓¹、広瀬雅雄¹
 (¹国立衛研・病理、²大日本製薬(株)・開発研)
- O-19 BHP 誘発ラット肺腫瘍及び 4-NQO 誘発ラット舌腫瘍における Cyclooxygenase (COX)-2 蛋白質の発現 31
 ○北山若紫¹、塩谷洋史²、傳田阿由美¹、吉田順一¹、佐々木康孝¹、小笠原裕之¹、佐藤洋¹、堤雅弘¹、山本一彦²丸山博司¹、小西陽一¹
 (¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理、²奈良医大・口腔外科)

O-20	BHP 誘発ラット肺発癌系におけるエトドラクおよび PBN と抗生物質の複合投与による発癌抑制作用 ○佐々木康孝、堤雅弘、辻内俊文、白岩和巳、三井雅之、高島吉治、小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理) 31
	座長 堤 雅弘 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)	13 : 36~14 : 24
O-21	F344 ラットにおける胃腸管間葉系腫瘍の組織学的および免疫組織化学的特徴 ○渋谷一元、杉本加代子、平井卓哉、布谷鉄夫、田島正典 (日生研) 32
O-22	Donryu ラットを用いて胃底腺切除の X 線誘発腸上皮化生の影響 木下健、○渡辺敦光、石村美祐、白木克尚、陸恵梅、小原正之、上坂敏弘、荘司俊益、加藤修 (広大原医研環境変異) 32
O-23	MNU 腺胃発癌過程における p53 遺伝子の役割 ○山本昌美 ¹ 、塚本徹哉 ¹ 、酒井洋樹 ^{1,2} 、白井紀充 ^{1,3} 、大垣比呂子 ⁴ 、立松正衛 ¹ (¹ 愛知がんセ・研・1 病、 ² 岐阜大・農・家畜病理、 ³ ファイザー製薬・中央研、 ⁴ Unit of Molecular Pathology・IARC, France) 33
O-24	リモノイド (obacunone、limonin) による azoxymethane 誘発ラット大腸変異腺窩巢の抑制 ○田中卓二 ¹ 、甲野裕之 ² 、川端邦裕 ³ 、和田啓爾 ⁴ (¹ 金沢医大・1 病理、 ² 金沢医大・血清、 ³ 岐阜大・1 病理、 ⁴ 北海道医療大・薬・衛生化学) 33

示説プログラム

第1日(1月26日)午後(16:00~18:00)/ 第2日(1月27日)午前(9:15~10:15)

○:発表者

*:発表者が40歳未満

第1日(1月26日) 第一セッション 午後 16:00~17:00

示説/P-1~10, 100, 101
(神経・試験法等)

座長 奈良間 功 (摂南大・薬安研)
吉村慎介 (食薬セ・病理)

- * P- 1 アニリンを15日間反復経口投与した時のラットの神経系に及ぼす影響 36
○岡崎 欣正^{1,3}、山下 弘太郎¹、石井 宏幸¹、豊田 直人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、³宮崎大)
- P- 2 アクリルアミドにより誘発されるラット末梢神経障害の形態計測学 36
○市川一仁、田川義章、熊澤俊彦、奥山 学、水野幸恵、朝枝伸幸
(株)三和化学研究所 安全性研究所)
- * P- 3 脳血管内皮細胞におけるGDNF(glial cell line derived neurotrophic factor)/
GFR α -1(GDNF receptor)システムとBBB(blood brain barrier)の機能的変化 37
○内海博之¹、五十嵐陽²、千葉英樹²、高木司郎¹、阿部俊一¹、森道夫²、澤田典均²
(¹吉富製薬・安研、²札幌医科大・第二病理)
- * P- 4 L-システインによるラットの脳病変に関する検討2 -アポトーシスとの関連- 37
○萩原 里香、澤本 修、栗栖 和信
(大塚製薬工場、鳴門研究所)
- * P- 5 ブドウ糖代謝阻害剤2-DGによる海馬遅発性神経細胞死抑制および高体温による
抑制阻害効果 38
○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- 100 加齢F344ラットの黒質におけるドーパミン性神経細胞の減少について 85
○岩田 聖、飯田麻里、長谷川和成、木原 亨、細井理代、宮島留美子、
山本慎二、三上真真一、山川誠己、廣内康彦、榎本 眞
(安評センター)
- * P- 101 F344ラットおよびB6C3F1マウスの自然発生Schwannomaについて:
発生率、発生部位、種差、雌雄差および組織学的検討 86
○細井理代、長谷川和成、木原 亨、宮島留美子、山本慎二、三上真一、
山川誠己、岩田 聖、廣内康彦、榎本 眞
(安評センター)
- * P- 6 CB6F1-Tg rasH2マウスを用いたPhenobarbital(PB)の26週間癌原性試験 38
○上田明子、北山英太、河南明孝、中沢素邦、内本啓史、上田 誠、俵谷武治、
鷲見信好、岩倉啓子、倉紘平
(日本新薬・安全研)

* P- 7	CB6F1-Tg-rasH2 マウスを用いた Ampicillin の 26 週間がん原性試験 ○足立民子、佐々木義文、谷本憲昭、桑村有規、西村友成、藤原利久、小林欣滋、 小口敦、山村高章、湯浅啓史、乾俊秀 (田辺製薬・安全研) 39
P- 8	Tg-rasH2 マウスにおける sulfamethoxazole の 26 週間がん原性試験 ○鳥井幹則、伊藤文男、藪内一也、三好貴子、松井信志、花房友行、松嶋周一、 岡田 学、高須伸夫、丸山敏之 (塩野義製薬・新薬研) 39
* P- 9	CB6F1-Tg-rasH2 マウスに対する clofibrate の発がん感受性に関する検討 ○今井俊夫、青木豊彦、石原和明、安藤智美、園田二郎、早川和宏、福田種男、 細川 暁、築館一男、佐神文郎 (エーザイ・薬理安全研) 40
* P-10	CB6F1-Tg-rasH2 マウスへの低頻度、高用量の cyclophosphamide 投与による 発がん性の検出 ○久田 茂 ¹ 、谷藤久人 ¹ 、柴田誠司 ¹ 、永嶋雅子 ¹ 、佐藤敦子 ¹ 、磯部充威 ¹ 、 森本秀樹 ¹ 、飯塚和弘 ¹ 、増田修治 ¹ 、飯田祝子 ¹ 、臼居敏仁 ² (¹ 帝国臓器安全研、 ² 実中研) 40

示説/P- 21～30 (その他・肝等)

座長 土谷 稔 (三菱化学安科研)

小泉治子 (日本たばこ・安全研)

* P-21	Phenobarbital 長期投与による雌雄マウスの肝臓および副腎への影響について ○上田 誠、河南明孝、北山英太、中澤素邦、上田明子、内本啓史、俵谷武治、 岩倉啓子、鷺見信好、倉 紘平 (日本新薬・安全研) 46
P-22	ラット生殖・発生毒性試験における母動物の病理学的背景データに関する研究 -肝肥大について- ○木原 亨、細井理代、宮島留美子、山本慎二、三上真一、山川誠己、田中亮太、 岩田 聖、榎本 真 (安評センター) 46
P-23	1,2-エージハロアルカンの GSH 抱合による活性化に関する組織学的検索 ○伊藤敦子 ¹ 、星田美奈子 ¹ 、林 美千子 ¹ 、伊藤金次 ² (¹ 東邦人・医・法医、 ² 第2病理) 47
* P-24	Differential Display 法を用いたラット肝細胞癌肺転移関連遺伝子の検索 ○竹下文隆 ¹ 、小川久美子 ¹ 、朝元誠人 ¹ 、今井田克己 ¹ 、二口 充 ¹ 、高木功子 ² 、 白井智之 ¹ (¹ 名市大・医・1病理、 ² 大雄会医科研) 47
P-25	マウス EHEC 肝嚢胞における性差 ○日比野 勤 (藤田保健衛生大・短大・病理) 48
* P-26	Wy-14,643(WY)誘発ラット肝増殖性病変における TGF- α および Bcl-X の 免疫組織学的検討 ○土屋 毅幸、小林 潔、後藤 和広、佐野 文子、杉本 次郎、務台 衛 (三菱東京製薬(株)安全性研究所) 48

- * P-27 3'-Me-DAB 誘発ラット肝細胞癌における TGF- α の免疫組織化学的局在性、組織学的分化度および細胞増殖動態 49
 ○小林 潔、土屋毅幸、坂入鉄也、日下部愛泉、佐野文子、杉本次郎、務台 衛
 (三菱東京製薬(株)安全性研究所)
- * P-28 四塩化炭素肝硬変モデルラットにおける病態発現の肝臓葉間差 49
 ○萬 啓悟¹、伊藤 浩孝²、照屋 志乃¹、小川 友美恵¹、鈴木 雅実¹、
 二木 力夫³、杉本 哲朗¹
 (¹中外製薬・安全研、²創薬一研、³SLA 研)
- P-29 四塩化炭素誘発マウス肝病変の T-2 トキシンによる修飾 50
 ○武藤幸子、篠塚淳子、上塚浩司、中山裕之、土井邦雄
 (東大・獣医病理学)
- * P-30 Diethylnitrosamine および Sodium Phenobarbital によるマウス肝芽細胞腫の誘発および免疫組織化学的解析 50
 ○坂入鉄也、小林 潔、土屋毅幸、後藤和広、杉本次郎、務台 衛
 (三菱東京製薬(株)安全性研究所)

示脱/P-41~50 (泌尿器)

座長 白井智之 (名市大・一病理)
 川合是彰 (田辺製薬・安全研)

- * P-41 塩化ガドリニウム投与ラットの腎糸球体病変 56
 ○久米英介、宮崎登志子、藤村久子、北村和之、川合是彰
 (田辺製薬・創薬研)
- * P-42 PCNA 標識率を指標とした微量カドミウム2年間投与ラットにおける腎傷害性の評価 56
 ○仁保直子¹、渋谷 淳¹、三森国敏¹、佐藤伸一²、広瀬雅雄¹、安藤正典³
 (¹国立衛研・病理、²イナリサーチ、³国立衛研・環境衛生化学)
- P-43 塩化カドミウムの長期微量投与ラットにおける近位尿細管上皮細胞内でのカドミウムとメタロチオネインの分布様式の解析 57
 ○今沢孝喜¹、渋谷 淳¹、赤木 巧²、三森国敏¹、佐藤伸一³、西川秋佳¹、
 広瀬雅雄¹、安藤正典⁴
 (¹国立衛研・病理、²理科研・脳科学総合研究セ、³イナリサーチ・第2研、⁴国立衛研・環境衛生化学)
- P-44 抗 α 2u-グロブリン抗体を用いた免疫組織化学染色の検討 57
 ○可徳小四郎¹、押方孝文¹、鎌先恵美子¹、石井三和子¹、浜村政夫¹、一鬼 勉¹、
 大村有子³、那須昌弘³、森安真津子³
 (¹ハナファーム・病理、³ハナファーム・機能生化学)
- * P-45 NW-NIBS ウサギにおける自然発生性腎糸球体病変の免疫組織化学的検索 58
 ○杉本加代子、渋谷一元、布谷鉄夫、田島正典
 (日生研)
- * P-46 Long Evans Cinnamon(LEC)ラットと Fischer 344(F344)ラットにおける腎尿細管増殖性病変の比較 58
 ○岡田味世子、後藤和広、佐野文子、杉本次郎、務台 衛
 (三菱東京製薬(株)安全性研究所)

* P-47	F1(Wistar- Fischer)ラットにおける EHEN 腎腫瘍の発生について ○高島健次 ¹ 、大園誠一郎 ¹ 、中農 勇 ¹ 、太田匡彦 ¹ 、田中雅博 ¹ 、谷 満 ¹ 、 趙 順規 ² 、平尾和也 ¹ 、日浅義雄 ² 、平尾佳彦 ¹ (¹ 奈良医大・泌尿器科、 ² 病理)	59
* P-48	脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) の腎臓に対する 塩酸ペニジピンの効果 ○加国雅和、竹田剛、高橋淳子、水谷昌人、木本直哉、高場克己、鈴木一生、西川智 (協和発酵・安全研)	59
* P-49	Dimethylarsinic acid の F344 雄ラットにおける発癌性 ○魏民、鰐淵英機、森村圭一朗、岩井秀司、小川元女、福島昭治 (大阪市大・医・1 病理)	60
* P-50	Brown Norway ラットと F344 ラットにおける塩化水銀誘発腎間質線維化 病変の進展過程の比較 ○鈴木和彦、中山裕之、土井邦雄 (東大・獣医病理学)	60

示説／P-60～69 (消化器)

座長 立松正衛 (愛知がんセ・一病理)
田中卓二 (金沢医大・一病理)

* P-60	p53 ノックアウトマウスにおける食道発がん感受性 ○森村圭一朗、サリムエリサイド、森川剛志、岩井秀司、鰐淵英機、福島昭治 (大阪市大・医・第一病理)	65
* P-61	N-nitrosomethylbenzylamine 誘発ラット食道癌におけるエタノール同時投与の プロモーション作用 ○金子雅宏、森村圭一朗、西川隆之、清家則孝、鰐淵英機、福島昭治 (大阪市大・医・1 病理)	66
* P-62	N-Nitrosomethylbenzylamine (NMBA) 誘発食道腫瘍の auraptene 混餌投与による 抑制 ○川端邦裕 ¹ 、田中卓二 ² 、片山雅貴 ¹ 、山田泰広 ¹ 、松永研吾 ¹ 、原 明 ¹ 、吉見直己 ¹ 、 杉江茂幸 ¹ 、村上明 ³ 、小清水弘一 ⁴ 、大東肇 ⁴ 、森秀樹 ¹ (¹ 岐阜大・1 病理、 ² 金沢医大・1 病理、 ³ 近畿大・生物理工、 ⁴ 京大・農)	66
* P-63	ラット MNNG 誘発腺胃発癌におけるクルクミンの影響 ○池崎 信一郎 ^{1,2} 、西川 秋佳 ³ 、古川 文夫 ³ 、工藤 佳代子 ² 、笠原 健一郎 ² 、 岡崎 修三 ² 、田村 一利 ² 、森 秀樹 ¹ (¹ 岐阜大・1 病理、 ² ボゾリサーチ、 ³ 国立衛研・病理)	67
* P-64	Helicobacter pylori 感染スナネズミモデルにおける粘膜下増殖巣の腸形質の獲得 ○田中晴就 ¹ 、野崎浩二 ¹ 、清水伸幸 ¹ 、塚本徹哉 ¹ 、山本昌美 ¹ 、湯浅啓史 ^{1,2} 、 小林潔 ^{1,3} 、立松正衛 ¹ (¹ 愛知がんセ・研・第1 病理、 ² 田辺製薬・安全研、 ³ 三菱東京製薬(株) 安全性研究所)	67
* P-65	腺管分離法による 1,2-dimethylhydrazine 誘発ラット大腸 aberrant crypt foci の hexosaminidase 染色性と β -catenin 遺伝子変異 ○塚本徹哉 ¹ 、田中晴就 ¹ 、山本昌美 ¹ 、酒井洋樹 ^{1,2} 、白井紀充 ^{1,2,3} 、今井俊夫 ^{1,4} 、 立松正衛 ¹ (¹ 愛知がんセ・研・一病、 ² 岐阜大・農・家畜病理、 ³ ファイザー製薬・中央研、 ⁴ エーザイ・安全研)	68

* P-66	p53 knock out mouse における dimethylhydrazine に対する大腸発癌感受性 68
	○酒井洋樹 ^{1,2} 、山本昌美 ² 、白井紀充 ^{1,2} 、塚本徹哉 ² 、柳井徳磨 ¹ 、柵木利昭 ¹ 、立松正衛 ² (¹ 岐阜大学・農・家畜病理、 ² 愛知県がんセンタ・研究所・第一病理)	
P-67	β-クリプトキサンチン、ヘスペリジン高含有粉末のラット大腸 ACF 抑制作用 69
	○甲野裕之 ¹ 、川端邦裕 ² 、隅田孝司 ³ 、東 誠広 ³ 、小川浩史 ⁴ 、田中卓二 ⁵ (¹ 金沢医大・血清、 ² 岐阜大・医・1 病理、 ³ 愛媛柑橘資源開発研究所、 ⁴ 愛媛県農業協同組合連合金、 ⁵ 金沢医大・1 病理)	
* P-68	Monoglucosylrutin (monoglucosylrutin) の azoxymethane 誘発ラット大腸発癌に対する修飾効果 69
	○松永 研吾、山田 泰広、片山 雅貴、原 明、吉見 直己、森 秀樹 (岐阜大・医・1 病理)	
* P-69	Crj:CD (SD) IGS 系雄ラットに自然発生した回腸粘液分泌腺癌 70
	○古川 賢 ^{1,2} 、小林 清 ¹ 、臼田浩二 ¹ 、宮本康夫 ¹ 、林 憲一 ¹ 、金子岩男 ¹ 、池山聖一 ² 、御領政信 ² 、岡田幸助 ² (¹ 日産化学工業、 ² 岩大家畜病理)	

第 1 日 (1 月 2 6 日) 第二セッション 午後 17:00~18:00

示説 / P-11~20	(呼吸器・その他等)	座長 長野嘉介 (日本バイオアッセイ研究セ) 古川文夫 (国立衛試・病理)	
* P-11	ラット胎仔初代肺細胞培養系における Bleomycin (BLM) の影響 41	
	○猪又晃、井上智彰、堀井郁夫 (日本ロシュ研究所・前臨床科学研究部)		
* P-12	ラット肺発癌に及ぼす砒素の影響 41	
	○清家則孝、鰐淵英機、魏民、小川元女、金子雅宏、福島昭治 (大阪市大・医・1 病理)		
P-13	Diethlnitrosamine によって惹起された気道病変: p53 欠損マウスを用いた単回腹腔内投与による 6 ヶ月発癌性試験で認められた変化 42	
	○勝田 修、千田哲士、岩井 淳、長谷川良美、土居卓也、武知雅人、土谷 稔 (三菱化学安科研)		
* P-14	Diethlnitrosamine (DEN) によるマウス気道病変の経時的解析 42	
	○河野友紀子、勝田 修、千田哲士、岩井 淳、友成由紀、武知雅人、土谷 稔 (三菱化学安科研)		
P-15	ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウスにおける 2,6-dimethylaniline の発癌感受性 43	
	○安原加壽雄、三森国敏、糀谷高敏、小野寺博志、高木久宜、田村啓、広瀬雅雄 (国立衛研・病理)		
* P-16	ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウスにおける Urethane 誘発肺増殖性病変に対する Cinnamaldehyde の修飾作用 43	
	○田村 啓、三森国敏、安原加壽雄、糀谷高敏、小野寺博志、高木久宜、広瀬雅雄 (国立衛研・病理)		

* P-17	高 PTHrP 血症によるラットの切歯病変 ○加藤淳彦 ¹ 、唐沢弥生 ¹ 、斉藤英美 ¹ 、小沼悦朗 ² 、鈴木雅美 ¹ 、二本カ夫 ³ 、 杉本哲朗 ¹ (¹ 中外製薬・安全研、 ² 創薬 2 研、 ³ SLA 研)	44
* P-18	T-2 toxin 投与妊娠マウスの胎仔にみられたアポトーシス病変および骨奇形 ○石上紀明、篠塚淳子、片山圭一、中山裕之、土井邦雄 (東京大・獣医病理学)	44
* P-19	ラット悪性上皮腫の播種性転移経過に関する形態的検索 ○桑原真紀、竹内幸子、中島信明、原田孝則、真板敬三 (残農研)	45
* P-20	低蛋白食で 2 年間飼育された Crj:CD(SD)ラットにおける自然発生病変 ○工藤佳代子、中村厚、山口裕子、若林佐知子、永谷真理子、佐藤順子、玉井幸子、 星谷達、岡崎修三、田村一利、岡庭梓 (ボゾリサーチセンター)	45

示説 / P-31 ~ 40 (肝)

座長 泉 啓介 (徳島大・二病理)
原田孝則 (残農研・毒性)

* P-31	MelQx 誘発のラット肝発癌に対する N-acetylcysteine, S-methylcysteine, および cysteine の抑制効果 ○小川元女 ¹ 、鰐淵英機 ¹ 、市原敏夫 ¹ 、矢野善久 ² 、大谷周造 ² 、福島昭治 ¹ (¹ 大阪市大・医・1 病理、 ² 大阪市大・医・2 生化)	51
* P-32	MelQx 誘発ラット肝発癌におけるタバコ煙負荷の増強効果 ○宮内 慎 ¹ 、西川秋佳 ¹ 、古川文夫 ¹ 、中村英明 ¹ 、孫 和永 ¹ 、森 幸雄 ² 、広瀬雅雄 ¹ (¹ 国立衛研・病理、 ² 岐阜薬大・放射化学)	51
* P-33	ラット肝中期発癌試験 (伊東法) を用いた dieldrin の肝発癌作用 ○西川隆之、鰐淵英機、榊田周佳、北野光昭、市原敏夫、福島昭治 (大阪市大・医・1 病理)	52
* P-34	トリテルペン化合物の肝発癌修飾作用—ラット肝発癌中期モデルによる検討 ○岩井秀司、魏 民、レザウルカリム、木下アンナ、鰐淵英機、福島昭治 (大阪市大・医・第一病理)	52
* P-35	ラット肝中期発がん試験法を用いた melatonin の用量相関性の検討 ○葛谷和也 ¹ 、今井田克己 ¹ 、萩原昭裕 ² 、佐野真士 ² 、宮下嘉代子 ² 、伊東信行 ³ 、 白井智之 ¹ (¹ 名市大・医・1 病、 ² 大雄会医科研、 ³ 名市大)	53
* P-36	N,N-ジメチルホルムアミドの 2 週間・13 週間吸入暴露によるラットとマウスの 肝臓病変 ○妹尾英樹、竹内哲也、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)	53
* P-37	ラット肝臓における phorone による heme oxygenase 誘導部位と CYP 阻害 部位の相関 ○田中宏治、五十嵐功、佐久間恭子、高岡雅哉、真鍋淳 (三共・安全研)	54

- * P-78 ラット 28 日間反復投与試験法 "enhanced OECD test Guideline 407" 確立のための 17a-methyltestosterone を用いた予備的検討 74
 ○中村英明、西川秋佳、今沢孝喜、古川文夫、宮内慎、池田尚子、広瀬雅雄
 (国立医衛研・病理部)
- * P-79 性ホルモン投与による肝細胞内 alpha2u-globulin 発現レベルの検索: Enhanced OECD Test Guideline 407 の新規パラメーターとしての可能性について 75
 ○畝山智香子¹、渋谷 淳¹、宮崎恵子¹、仁保直子¹、武吉正博²、豊田和弘¹、広瀬雅雄¹
 (¹国立衛研・病理部 ²化学品検査協会・安全性評価技術研究所)

第 2 日 (1 月 27 日) 第三セッション 午前 9:15~10:15

示説 / P-80~89 (生殖器) 座長 花田貴宣 (山之内製薬・創薬安全研)
 岩田 聖 (安評セ・病理)

- * P-80 ホウ酸によるラット精巣毒性の 2 週間反復投与による検出 75
 ○廣出充洋、福田良¹、松本好枝、森島英喜¹
 (武田薬品工業・薬物機能第一研究所、¹第二研究所)
- * P-81 制御給餌におけるラット雄性生殖器への影響 76
 ○木ノ本寿子
 (ゼリア新薬工業(株)中央研究所 開発研究部)
- P-82 チュブリン重合阻害剤 E7010 のラットにおける精巣毒性の検討 76
 ○早川和宏、田代俊文、佐藤国夫、葛山富春、今井俊夫、青木豊彦、福田種男、岡田文弘、細川暁
 (エーザイ・薬理安全研)
- * P-83 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(第 2 報) 77
 ○義岡孝子、川口博明、小玉拓郎、早田正和、吉田浩己
 (鹿児島大・医・第一病理)
- P-84 内分泌攪乱物質検出系 (Hershberger assay, Pubertal male assay) における雄性生殖器の変化と抗アンドロゲン物質の検出感度の比較 77
 ○宮田かおり、山田智也、須方督夫、藪下晴津子、角南整、奥野泰由
 (住友化学・生科研)
- * P-85 マウス移植ヒト前立腺組織における発がん物質-DNA 付加体の形成についての免疫組織化学的検討 78
 ○崔 林、高橋 智、鈴木周五、二口 充、竹下文隆、加藤浩司、白井智之
 (名市大・医・一病理)
- * P-86 ヘテロサイクリックアミン類の卵巣摘出ラットにおけるエストロゲン様作用の検討 78
 ○川森俊人
 (国立がんセンター研究所・がん予防研究部)

P-97	Crj:BDF1 マウスにみられる組織球性肉腫 —発生頻度、臓器分布及び病理像について— ○片桐 卓、竹内哲也、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) 84
* P-98	2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PHIP)投与 Donryu ラット にみられた心筋症 ○石村美祐 ¹ 、渡邊敦光 ¹ 、川真田 聖一 ² 、若林敬二 ³ (¹ 広大・原医研・環境変異、 ² 広大・医・保健、 ³ 国立がんセ・研・生化) 84
* P-99	若齢 B6C3F1 マウスに見られた赤芽球系白血病の1例 ○枝元 洋、永谷真理子、諏訪浩一、工藤佳代子、笠原健一郎、若林佐知子、 田村一利 (ボゾリサーチ) 85

特別講演要旨

Quantification of Dose-Response Relationships
in Chemical Hepatocarcinogenesis :
Application of Toxicologic Pathology

Gary M Williams, M.D.

New York Medical College, Valhalla, NY
USA

Quantification of Dose-Response Relationships in Chemical Hepatocarcinogenesis: Application of Toxicologic Pathology

Gary M Williams, M.D.

New York Medical College, Valhalla, NY 10595

Toxicologic pathology provides critical methods for elucidating the pathogenesis of chemical-induced cancer, which in turn informs the assessment of potential human risk of chemical exposures. The application of specific pathologic methods in assessment of dose-response relationships in hepatocarcinogenesis in rats and the implications of the findings for risk assessment will be presented.

Results will be described from a series of exposure-response studies of hepatocarcinogenesis using two well-studied DNA-reactive carcinogens, 2-acetylaminofluorene and diethylnitrosamine (1) for which extensive dose-response information is available (2, 3). In these investigations, we are pursuing the paradigm that DNA binding leads to mutations which are enhanced by increased cell proliferation; mutations lead to preneoplasia; and further alteration in preneoplastic populations and promotion results in tumors. In these experiments, exact doses of carcinogens were administered to male F344 rats during an initiation segment followed by phenobarbital as a liver tumor promoter to enhance manifestation of initiation. This protocol results in carcinogenicity comparable to lifetime exposure to the carcinogens. These experiments have provided evidence for the following: (i) formation of DNA adducts can be nonlinear, with a plateau at higher exposures; (ii) cytotoxicity shows no-effect levels and is related to exposure; (iii) compensatory hepatocyte proliferation shows no-effect levels and can be supralinear at high exposures; (iv) formation of preneoplastic hepatocellular altered foci can show no-effect levels and appears supralinear at high exposures; (v) no-effect levels can exist for tumor development and the exposure-response can be supralinear (4-8). We interpret these findings to demonstrate thresholds for hepatocellular initiating effects of these carcinogens and exaggerated responses at high exposures due to cytotoxicity and compensatory hepatocyte proliferation. Such enhanced proliferation of hepatocytes harboring DNA damage likely results in an exaggerated yield of mutations in critical growth control genes leading to supralinear initiation of carcinogenesis. Thus, mechanisms of carcinogenesis differ between low and high exposures. From these observations, we suggest that linear extrapolation from high toxic exposures to postulated low exposure effects of DNA-reactive carcinogens can yield overestimates. Such extrapolation must be supported by mechanistic information. The finding of no-effect levels provides a basis for

understanding why very low level environmental exposures of humans to even DNA-reactive carcinogens may convey no cancer risk (9).

References

1. Williams, G.M , Iatropoulos, M.J and Jeffrey, A.M. Mechanistic basis for non-linearity and thresholds in rat liver carcinogenesis by the DNA-reactive carcinogens 2-acetylaminofluorene and diethylnitrosamine. *Toxicologic Pathology* in press. (1999)
2. Verna, L , Whysner, J. and Williams, G.M. N-Nitrosodiethylamine mechanistic data and risk assessment: bioactivation, DNA-adduct formation, mutagenicity, and tumor initiation. *Pharmacology & Therapeutics*, 71:57-82, 1996.
3. Verna, L , Whysner, J. and Williams, G.M. 2-Acetylaminofluorene mechanistic data and risk assessment: DNA reactivity, enhanced cell proliferation and tumor initiation *Pharmacology & Therapeutics*, 71 :83-106, 1996.
4. Umemura, T , Tokumo, K., Gebhardt, R., Poirier, M. and Williams, G.M. Dose response effects of 2-acetylaminofluorene on DNA damage, cytotoxicity, cell proliferation and neoplastic conversion in rat liver. *Cancer Letters*, 73:1-10, 1993.
5. Williams, G.M., Gebhardt, R. Shirma, H, and Stenbäck, F. Non-linearity of neoplastic conversion induced in rat liver by low exposures to diethylnitrosamine. *Carcinogenesis*, 14:2149-2156 1993.
6. Williams. G.M., Iatropoulos, M.I., Wang, C.X., Rivenson, A., Peterson, L.A., Schulz, C. and Gebhardt. R. Diethylnitrosamine exposure-responses for DNA damage, centrilobular, cytotoxicity, cell proliferation and carcinogenesis in rat liver exhibit non-linearities. *Carcinogenesis*, 17:2253-2258, 1996.
7. Williams, G.M., Iatropoulos, M.D., Wang, C.X., Jeffrey, A., Thompson, S., Pittman. B., Palasch, M. and Gebhardt, R. Non-linearities in 2-acetylaminofluorene exposure-responses for genotoxic and epigenetic effects leading to initiation of carcinogenesis in rat liver. *Toxicological Sciences*, 45:152-161, 198.
8. Williams. G.M., Iatropoulos, M.J . Jeffrey, A.M., Luo, F-Q. , Wang, C.X., Thompson, S. and Pittman, B. Diethylnitrosamine exposure-responses for DNA ethylation, hepatocellular proliferation and initiation of carcinogenesis in rat liver display non-linearities and thresholds. *Archives of Toxicology*, in press (1999)
9. Williams, G.M. Mechanistic considerations in cancer risk assessment. *Inhalation Toxicology*, 11:549-554, 1999.

— MEMO —

Grady M. Williams. : — の 研究 所長.

Director of Env. Path.

• DNA-Reactive

• Epigenetic

Promoter

Hormone-modifier

Immunosuppressor

Cytotoxin.

DNA adduct

L M H

Arylsulfotransferase

+ ++ ++

Glutathione synthetase zone

シンポジウム要旨

シンポジウム 1

内分泌臓器の毒性変化と内分泌攪乱化学物質

(S 1 - 1 ~ 6)

S 1 - 1 はじめに

内分泌攪乱科学物質による内分泌臓器の病理学的変化： 視床下部—下垂体—卵巣—乳腺系を視点にいて

長村義之

東海大学医学部病態診断系病理学

内分泌攪乱化学物質（いわゆる Endocrine Disrupting Chemicals:EDCs）は、“生体の恒常性、生殖、発生、あるいは行動に關与する種々の生体内ホルモンの合成、貯蔵、分泌、体内輸送、受容体結合、そのホルモン作用、そのクリアランスなどの諸過程を阻害する性質を持つ外来性の物質”であり（井上、菅野）、内分泌学および内分泌病理学の分野にも種々の極めて重要な課題を提示して来ている。生体内の内分泌システムが、ホルモン合成か分泌、標的臓器での作用などを含んでいるところから、EDCsの障害部位も多岐にわたっていると云える。特に、EDCsによるホルモンの合成分泌障害、標的細胞に局在するレセプター（受容体）への影響は重要であるといえる。これまで取り上げられてきた EDCsの多くのものがエストロゲン様作用を有しており、卵巣、乳腺との関連なども注目されている。内分泌領域で取り上げる問題点として、まずホルモンの合成については近年急速に判明してきている転写因子であろう。下垂体ホルモン、睥ラ氏島ホルモンについて転写因子およびその協調因子などの詳細の解析が進んでいる。下垂体では、視床下部ホルモンの制御、標的細胞よりのフィードバックを受けて機能しているが、ホルモンの合成障害を解析する際には、転写、受容体などの分子機構への影響を検討することが要求される。下垂体細胞でのプロラクチン（PRL）の合成には、GH/PRL/TSH cell lineageを規定する転写因子である Pit-1 とエストロゲンレセプター（ER）の協調作用が關与している（長村、山王ら）。一方、乳腺にも近年開発された新しい technology（RT-PCR など）により PRL の合成のみならず PRLレセプター（PRL-R）の存在も明らかにされてきている〔岩坂ら〕。乳腺での PRL 合成は、卵巣の影響を受けており下垂体—乳腺—卵巣系も複雑な過程で EDCsの影響を受けるものと思われる。また、卵巣機能を司る下垂体性腺刺激ホルモン（ゴナドトロピン）遺伝子のプロモーター領域に作用する転写因子、協調因子も明らかにされてきており卵巣よりのインヒビション、アクチベーションなどの影響も注目されている。本シンポジウムでは各内分泌臓器における EDCs の及ぼす病理学的変化の詳細につき議論される。本講演では、視床下部—下垂体—卵巣—乳腺の系でのエストロジェンの影響を視点に入れ EDCsの解析における内分泌学、内分泌病理学の果たす役割などにつき述べてみたい。

参考文献

1. Osamura RY, et al., Mechanism of hormone production in pituitary cells and pituitary neoplasms; Synergistic actions of transcription factors, *Acta Histochem. Cytochem* 32:107-110, 1999
2. Sanno N, Osamura RY, et al., Expression of human Pit-1 product in the human pituitary and pituitary adenomas, *Arch Pathol Lab Med* 120:73-77, 1996
3. Iwasaka T, Umemura S, Osamura RY, Expression of PRL mRNA in the rat mammary gland. A detection by in situ RT-PCR method, *J Histochem. Cytochem.* 46:A30, 1998

S 1 - 2 下垂体

藤本成明

広島大・原医研・予防腫瘍研究分野

下垂体には少なくとも6種類のホルモン分泌細胞および folliculo-stellate 細胞が共存しており、上位からの制御と下位からのフィードバック制御および下垂体細胞間のパラクリン調節を受けながら種々のホルモンを産生している。この腺からのホルモンの動態を系統的に見るような系が構成できれば、内分泌かく乱物質のアッセイ系として非常に有効なものとなるであろう。下垂体への内分泌かく乱作用についてここでは、1) 下垂体ホルモン産生への作用及び、2) 下垂体の腫瘍性変化について述べる。

【発癌プロモーターとしての下垂体ホルモン】 1. プロラクチン (PRL) 産生細胞：一般にエストロゲンは乳ガン発生を促進するとされるが、ラットやマウスの乳ガン発生においては PRL が重要なプロモーターであることが広範な研究から明らかにされてきた。一方、下垂体の PRL 産生はエストロゲンにより調節されている。したがって、エストロゲンによる乳ガンのプロモーション作用のかなりの部分は、実はエストロゲンの下垂体 PRL 細胞への作用を見ているのであり、その意味でこの細胞は、内分泌かく乱物質の重要な標的であるといえる。 2. TSH 産生細胞：多くの甲状腺腫瘍のプロモーター物質は、そのメカニズムに違いはあれ、最終的に甲状腺ホルモンを低下させ下垂体からの TSH 産生を増加させることで甲状腺の腫瘍化をもたらす。この TSH 産生は、さらにエストロゲンにより影響されうる。たとえば低ヨード状態のラットで亢進した TSH 産生はエストロゲンよりさらに増加し、甲状腺腫瘍形成を促進することが示された。このことは、エストロゲン様の内分泌かく乱が TSH 細胞を通して甲状腺腫瘍のプロモーションをする可能性を示唆する。

【下垂体の腫瘍化】 ホルモン分泌刺激に対して下垂体の細胞はまずそのホルモンの分泌と合成を促進するが、刺激が持続した場合には、特定の産生細胞の増殖によって組織全体としてホルモン産生を増加させる。これは、ラットの GH/PRL 細胞では顕著で、エストロゲンの連続刺激によりこれらの細胞は過形成を経て腫瘍化にまで至ることは古くから知られてきた。実際には、この現象はラットの系統により大きく異なっており、F344 系や Sprague-Dawley 系などでは顕著であるが、Brown-Norway 系や Holtzman 系ではほとんど観察されない。さらにこの過形成は数十 $\mu\text{g}/\text{rat}$ 以上の大多量のエストロゲン投与ではじめて観察されるものであり、エストロゲン様の内分泌かく乱物質単独により腫瘍化が引き起こされることは考え難い。事実、去勢した F344 ラットに最大 10mg/rat のビスフェノールAを連続投与しても下垂体の重量増加は見られなかった。興味深いことに、ひとたび腫瘍化した下垂体細胞はエストロゲンに対して鋭敏に応答して増殖する。我々が樹立した下垂体腫瘍細胞をラットに移植した実験系では、ビスフェノールA投与による腫瘍形成促進が観察された。

S 1 - 3 甲状腺

広瀬雅雄

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

甲状腺を標的とする内分泌かく乱物質は数多くのものが報告されており、現在もその数は増加している。これらはいずれも非遺伝毒性と考えられるが、組織学的に短期間で DNA 合成の増加、濾胞上皮の肥大、コロイドの減少や過形成を引き起こす。これらは投与を中止するとともに戻る可逆的な変化である。しかし、長期にわたって投与すると腫瘍を発生させる場合もある。また、ラット 2 段階発がんモデルでは一般に甲状腺発がんを促進する。これらのメカニズムは、主に血中甲状腺ホルモン (T3、T4) の低下に基づく、視床下部・下垂体 negative feedback 機構を介した血中甲状腺刺激ホルモン (TSH) の増加に起因している。甲状腺ホルモン低下の要因は多岐にわたっており、ヨード欠乏、甲状腺へのヨード取り込み阻害、甲状腺 peroxidase 阻害、甲状腺からの T3、T4 放出障害、末梢組織で T4 を活性化する 5'-monodeiodinase の阻害、T4 を抱合・排泄する肝 UDP-GT 活性の増加などが考えられている。

我々は甲状腺 2 段階発がんモデルを用い、食品や化粧品の添加物として知られているコージ酸、家畜の鎮静剤である xylazine に発がんプロモーション作用があり、そのメカニズムとして甲状腺へのヨード取り込み阻害と有機化阻害が関与することを報告した。一方、このような negative feedback 機構を介さない他のメカニズムによる甲状腺の細胞増殖や発がん修飾作用の存在を示唆する所見も得ている。

(1) ヨード欠乏食と高大豆食による甲状腺増殖作用

F344 雌ラットに正常食、ヨード欠乏食、20%大豆食あるいはヨード欠乏+20%大豆食を 10 週間与え屠殺剖検した。その結果、甲状腺比重量は同時投与群でヨード欠乏単独に比べ約 7 倍増加し、組織学的にも強い過形成が確認された。血中 T4 は両群とも同様に低下していたが、T3 は対照レベルであった。一方、TSH は対照の 4.36ng/dl に対し、大豆食 5.78、同時投与群 126 と同時投与群で著しい増加が認められ、従来からの negative feedback のみでは理解できない結果も得られている。

(2) エストロジェンによる甲状腺発がん修飾

卵摘を行った雌の Long-Evans 系ラットに N-methylnitrosourea でイニシエーションを行い、その後 estradiol benzoate (EB) を皮下埋植すると、甲状腺腫瘍の頻度が増加する事がすでに報告されている。このメカニズムとして、EB が直接下垂体の TSH 産生細胞を刺激し、あるいは EB が甲状腺のエストロジェン受容体に作用して濾胞上皮を増殖させる可能性が示唆されているが、まだ十分には解明されていない。エストロジェンによる甲状腺発がん修飾に関する実験は現在進行中であり、これらの実験結果についても併せて提示したい。

S 1 - 4 雄性生殖器の毒性変化と内分泌攪乱化学物質

奥野泰由

住友化学工業株式会社、生物環境科学研究所

化学物質による雄性生殖器毒性は、様々なメカニズムによって発現することが知られている。精巣毒性のメカニズムとしては精細管上皮への直接障害、ホルモンを介した障害、循環障害、栄養障害などが知られている。雄性副生殖器毒性のメカニズムとしてもホルモンを介した障害、細胞障害作用によるものなどが報告されている。現在、内分泌攪乱化学物質の定義は若干曖昧であるが、上記のメカニズムのうちホルモンを介した毒性を有するものが対象になると思われる。しかも、特にアンドロゲン受容体やエストロゲン受容体に直接作用することが知られている化学物質が狭義の意味では問題にされている。

代表的な内分泌攪乱化学物質の雄性生殖器への毒性病理学的影響は以下のように報告されている。

1. 抗アンドロゲン剤フルタマイド

幼若雄ラットへの20日間投与、あるいは若齢雄ラットへの1ヶ月間投与によって、前立腺、精嚢、肛門挙筋および球海綿体筋重量の低値を認め、組織学的にはこれら臓器の萎縮、精巣間細胞の肥大／増殖が認められた。また、妊娠－授乳期間の投与によって、F1雄の肛門生殖器間距離の短縮、副生殖器の小型化などが観察されている。

2. アンドロゲン剤メチルテストステロン

若齢雄ラットへの1ヶ月間投与によって精巣、精巣上体重量の低値、組織学的には精細管の萎縮、精巣間細胞の萎縮などが報告されている。

3. エストロゲン剤エチニルエストラジオール

若齢雄ラットへの1ヶ月間投与によって精巣、精巣上体、副生殖器重量の低値、組織学的には精細管の萎縮、セリトリ細胞の空胞化、精巣間細胞の萎縮、前立腺、精嚢の萎縮などが報告されている。

このように、それぞれに特徴のある所見が得られている。一般的に臓器重量の感度が優れており、病理組織学的検査の感度はやや低い。これらの変化のいくつかは血中ホルモンの動きで説明できるものもあるが、メカニズムが不明なものもある。可能な限りこれらについて考察し、同時に毒性病理学的な留意点についても言及したい。

これらの内分泌攪乱化学物質の雄性生殖器毒性についての毒性病理学的検討課題はいくつか存在する。妊娠母獣でのエストロゲン剤投与後のF1の精巣毒性について、非可逆的なセリトリ細胞数の減少が原因であるとの仮説が言われていたが、最近、17β-エストラジオールを用いた実験によってこの仮説は否定されている。また、抗アンドロゲン剤の胎児期暴露による雄性生殖器毒性のメカニズムについてもいくつかの研究が行われている。これらの内、testosterone-induced/repressed prostatic messageに係わる遺伝子に関する研究は興味もたれる。これらの基礎研究の現状と課題についても紹介したい。

S 1 - 5 内分泌攪乱化学物質、特にエストロゲン様作用を有する化学物質の雌性生殖器への影響

吉田 緑、前川 昭彦
佐々木研・病理

雌性生殖器系が内分泌攪乱化学物質の最も重要な標的臓器の一つであることは言うまでもない。生殖器系は視床下部、下垂体、性腺系の内分泌機構に制御されており、加えて雌は排卵に伴う性周期を有するために雄より複雑な様相を呈する。従って内分泌攪乱物質の雌性生殖器系への影響を検出するためにはまずその正常像を把握することが必要である。次に観察された変化が投与した化学物質の直接的影響によるものか、間接的なものなのかを判別しなければならないが、上述の制御機構の存在が評価を複雑にしている場合が多い。卵巣摘出動物あるいは幼若動物を用いることで子宮・膣に対する影響をある程度把握できるが、一部の抗エストロゲン物質では性周期を有する動物と反対の結果を示す場合もある。

内分泌攪乱化学物質と雌性生殖器系腫瘍との関連性については、diethylstilbestrol (DES)等一部の化学物質を除いては明らかでなく、その発生機序についても解明されていない部分も多い。しかし、エストロゲン様物質がエストロゲンレセプターと結合して細胞を増殖させるという事実は、これらの物質の長期投与が雌性生殖器の増殖性変化を引き起こす可能性を示唆している。また、雌性生殖器は加齢とともに大きく変化する臓器であり、化学物質と腫瘍発生との関連性を評価する場合は、加齢に伴う内分泌環境の変動や種差・系統差などを考慮に入れる必要がある。

さらに内分泌攪乱化学物質が有する重要な問題として、胎児あるいは新生児期暴露の問題がある。この時期のエストロゲンあるいはアンドロゲン様物質の暴露は脳内の性的二型核を変化させてしまうために生殖器および内分泌環境に不可逆的な影響をもたらす。また、この時期の暴露は直接標的臓器に作用し、生殖器の腫瘍や奇形などの発生にも影響を与える。DES がヒトにおいて膣癌および子宮の奇形などを誘発することはよく知られた事実である。

本シンポジウムでは内分泌攪乱化学物質のうち、エストロゲン様作用を持つ幾つかの化学物質を、新生児期および成熟後にそれぞれ暴露した場合の雌性生殖器、特に子宮への影響について、安全性試験で汎用されているラットを中心に紹介する。

S 1 - 6 むすび

今井 清

食品薬品安全センター・秦野研究所

近年、内分泌化学物質問題が社会問題へと発展するのに伴って、毒性病理の分野においても、内分泌臓器の病理学的変化に関する研究が急速に活発化してきている。内分泌攪乱化学物質の定義については、幾つかの提案がなされているが、1997年に世界保健機構・国際化学物質安全性機構 (WHO/IPCS) は "内分泌機能を変化させ、正常個体 (Intact Organism) あるいはその子孫のいずれかの段階で健康に悪影響を及ぼす外来性の物質あるいはその混合物" と定義している。しかし、WHO と共同して内分泌攪乱化学物質に取り組んでいる経済協力開発機構 (OECD) では、内分泌攪乱化学物質のスクリーニング法を検討しているが、その第1段階で実施される試験管内試験法のほとんどは、receptor binding assay 法あるいは reporter gene assay 法である。このことから明らかなように、狭義には、内分泌攪乱化学物質は、受容体を介して内分泌機能に変化を与える化学物質と考えるのが一般的と思われる。本シンポジウムでは、各演者から代表的な化学物質を例にとり、それぞれ担当の内分泌臓器について受容体原性の病理学的変化を中心に話題を提供して頂く予定であるが、各内分泌臓器の受容体原性の変化の特徴を明らかにすることは、これら内分泌臓器の毒性の発現機序を解明する上でもきわめて重要な情報を提供するものと期待される。一方、本シンポジウムにおいて一部の演者から紹介されるように、ホルモン様作用を有する物質が胎児期あるいは新生児期に暴露されると、脳の性分化に関与する神経核が変化して内分泌環境に不可逆的な影響が現れることが明らかにされており、胎児期あるいは新生児期に及ぼすホルモンあるいはホルモン様作用を有する化学物質の影響についても、今後の内分泌臓器の毒性病理の重要な研究テーマと考えられる。本シンポジウムを契機に内分泌臓器の毒性病理学的研究が、更に飛躍することを期待する。

— MEMO —

シンポジウム要旨

シンポジウム 2

発がん性検出のための短期代替試験の 評価上の問題点

(S2-1~6)

S 2 - 1 短期発癌代替法の基本概念：メカニズムを中心に

三森国敏
国立衛研・病理部

医薬品のがん原性評価のためには、従来より、2種のげっ歯類を用いた長期がん原性試験が要求されてきた。この試験の是非については、ICH(医薬品の国際ハーモナイゼーション会議)のがん原性に関する専門家委員会において既に1991年から議論されている。この議論においては、マウスのがん原性試験で肝腫瘍の発生増加のみで規制の対象となった例はこれまでにないこと、片方の動物種でがん原性が陽性であった物質のうちラットのみの場合にはマウスのみの場合の約2倍であったこと、そしてマウスは肝腫瘍が高頻度に自然発生することなど、マウスを用いるがん原性試験に対するいくつかの問題点やマウスでの肝に対する催腫瘍性の試験成績は必ずしもヒトに外挿できないという疑問点が指摘されてきた。これらの指摘に基づき、1997年のICH全体会議では、がん原性試験においては2種のげっ歯類を用いた長期試験を実施する替わりに、一種のげっ歯類を用いたがん原性試験の実施に加えて、遺伝子改変動物を用いた短期発がん試験モデル、イニシエーション・プロモーションモデルや新生仔動物モデルの中から一つを選び、その試験を実施し、それらの結果から、医薬品についてのがん原性評価を行おうとする旨の新しいガイドラインが策定された。

この新しいガイドラインにおいては、ラットの長期がん原性試験でほぼ90%以上のがん原性物質は検出可能であるが、残る数%のものについてはそのがん原性を見逃す危険性があることから、それを従来の長期がん原性試験に比し発癌メカニズムの解析が容易と思われる新しい短期発癌代替法で補填して行くという新しい考え方が基本概念となっている。ヒトでの発癌における重要なプロセスはプロト型癌遺伝子の活性化と癌抑制遺伝子の不活化にあると考えられていることから、癌遺伝子を導入したトランスジェニック(Tg)マウスや癌抑制遺伝子をノックアウトしたマウスの応用は近年急速に拡大してきており、その発癌メカニズムの解明に有用な動物としてこれらが注目されている。例えば、ヒトの腫瘍の30%ではプロト型 *ras* 遺伝子の点突然変異による活性化がみられていることから、ヒトプロト型 *c-Ha-ras* 遺伝子を導入した Tg マウス (*rasH2* マウス)が開発されており、このマウスでは導入遺伝子の変異により種々の腫瘍が誘発されることが既に報告されている。イニシエーション・プロモーションモデルとしては、既に伊東らにより作出された肝二段階発癌モデルや多臓器発癌モデルがあげられる。これらにおいては、あらかじめ遺伝毒性発癌物質でイニシエーション処置を施しているため、被験物質について短期間に発癌性の可能性を検出することが可能であると共に、その発癌メカニズムの解析にこのモデルが非常に適していることも示されている。新生児モデルは新生時に被験物質を1-2回投与し、その発癌性を検出するモデルであり、強い遺伝毒性発癌物質の検出には有用であることが示されている。

以上のように、短期発癌代替法としては、種々のモデルが今後開発されることが予測され、医薬品のがん原性検出のモデルとして使用されるものが出現すると思われる。しかし、それらのモデルについてはがん原性評価に用いた正当な科学的根拠が要求されていることから、その発癌感受性が不明瞭で、検証作業も不十分なモデルは使用されないものと思われる。上記の短期発癌代替法は現在も検証中であり、必ずしも全ての発癌物質を検出できないとの報告もなされており、今後多くの検証作業の集積が望まれる。

S 2 - 2 遺伝子改変動物 1

(TGF α トランスジェニックマウス、Hras128 トランスジェニックラット)

津田洋幸

国立がんセンター研究所化学療法部

TGF α トランスジェニックマウス

ヒトプロト型 TGF α 遺伝子をマウス metallothionein-I のプロモーターにつなげた CD-1 (MT42) トランスジェニックマウスは亜鉛の投与により導入遺伝子が活性化される (Jhappan et al, Cell, 1990)。DEN (15mg/kg, i.p.) 投与後 23 週では肝腫瘍 (腺腫+HCC) の発生率は 80%、HCC の数は 4.0 個/ラット、37 週では 100%、7.8 個に対し野生型では 0%であった (P<0.01)。 (Tamano et. al, Carcinogenesis, 15, 1994)。我々はヘテロサイクリックアミンの IQ (50mg/kg, i.g., 4 週間に 8 回投与) に対する肝発がん感受性について検索した。実験開始後 40 週で屠殺したところ、肝腫瘍 (腺腫+HCC) は雄で 3/14 (21.4%)、雌で 1/8 (12.5%)、野生型では雌雄とも 0%であり。このマウスは肝発がん感受性が高いことが示された。

ヒト正常型 c-Ha-ras 遺伝子トランスジェニックラット

正常型ヒト c-Ha-ras 遺伝子導入マウス (rasH2 マウス) は化学発がん高感受性であり、発がん物質中期検索法への利用が検討されている。一方、ラットでは前がん病変の特性について豊富な情報が得られておりマウスより有用な面がある。我々はヒト正常型 c-Ha-ras 遺伝子を導入し、全臓器で mRNA の発現を認めたトランスジェニックラット (Hras128) を作成し、発がん感受性実験を実施した。その結果、1) 雌では MNU、DMBA、PhIP のいずれの乳腺を標的とする発がん物質に対してわずか 8~12 週間で全例に乳がんが多発し、高感受性であることが分かった。2) NMBA による食道発がんを高感受性であった。3) 雌雄において DMBA \rightarrow TPA 背部塗布による皮膚発がん実験を実施した。第 1 群は DMBA (2.5mg/ml) の 1 週後より TPA (100nmol/0.5ml) 1 週 3 回塗布し 30 週にて終了した。第 2 群は DMBA、第 3 群は TPA のみとした。野生型ラットにも同処置を行った。雄では塗布した背部と塗布していない陰囊に皮膚腫瘍 (乳頭腫+SCC) が発生し、それぞれの腫瘍の頻度は DMBA \rightarrow TPA で 80、86.7%、DMBA で 75、37.5%、TPA で 16.7%、0%、野生型では DMBA \rightarrow TPA で 0、60%であった。雌では非塗布部に乳腺腫瘍 (腺腫+がん) が発生し、DMBA \rightarrow TPA で 64.3%、DMBA で 75%、TPA で 33.3%であった。野生型では DMBA \rightarrow TPA、DMBA で、ともに 0%、TPA で 10%であった。従って、DMBA/TPA 皮膚塗布によって、雄では皮膚腫瘍、雌では乳腺腫瘍が高率に発生することが示された。また、とくに雌では乳腺を標的としない発がん物質を投与した場合でも、乳線腫瘍が好発することが明らかとなってきた。皮膚と乳腺腫瘍は、動物を生存状態で経時的に観察することが容易であり、ラットを用いた発がん物質中期スクリーニングモデルとして新しい展開をみる可能性が示された。

S 2 - 3 遺伝子改変動物 2

(r a s H 2 , P 5 3 + / - , T g . A C , X P A - / -) m o u s e

臼居 敏仁

(財) 実験動物中央研究所

医薬品の発がん性を評価するための伝統的な試験法、げっ歯類二種を用いた長期試験成績の予見価値に関しては近年多くの問題点が指摘され I C H でデータベースの検討により特にマウスの長期試験成績が医薬品規制担当者の判断材料として利用価値が少ない事も明らかになった。多くの討議検討の結果 I C H の Working Group はげっ歯類二種の試験の継続を採択したが、同時に新しい扉を開かせる事になった。げっ歯類二種の試験から得られる情報をより有効に使うため、マウスの長期試験の代替として短、中期の in vivo 試験即ち initiation - promotion モデル、transgenic mouse モデル、及び neonatal mouse モデルの採用がガイドライン化された、と同時にこれら新しい試験法を選択するに当たって、実施者は選択が適切であるという科学的根拠と 2 年間のバイオアッセイでは得られない新しい情報を提供しなければならなくなった。

I C H 当時からアッセイ系として使用できる遺伝子改変動物は遺伝学的、微生物学的高品質が要求されるため r a s H 2 , P 5 3 + / - , T g . A C , X P A - / - の四モデルであり、これらのモデルのバリデーションが I L S I を中心に国際共同研究として行われてきているので、以下に現況を述べる。

r a s H 2 モデル (Oncogene activation model) ; 日本で開発された proto-oncogene based のモデルで正常 H - r a s proto-oncogene の産物である蛋白は導入遺伝子自身のプロモーターで制御され多くの組織で過剰発現している。Proto-oncogene の遺伝子発現が高レベルである事は transgene のコピー数が多い (5 - 6 コピー) 事とイントロンの 3' に有る変異が H - r a s の messenger RNA を安定化させているのではないかと考えられている。このモデルの腫瘍発生のメカニズムは genotoxic は H - r a s proto-oncogene の重要な c o d o n のひとつに変異を起し標的組織の細胞を initiate すると考えられている、更に H - r a s gene のコピー数が多い事から遺伝子発現が上昇し標的組織での腫瘍発生が増加すると考えられている。最近の我々の成果で Methyl nitrosourea (MNU) による前胃腫瘍の human c - H a - r a s の mRNA を RT-PCR で測定したところ発現レベルは non-Tg で 0 レベルに較べて、Tg の正常胃組織では優位に高まり Tg の腫瘍では更に優位に高くなっている事を確認した。urethane 投与による肺でも同様な結果が得られた。human c - H a - r a s の点突然変異は MNU では c o d o n 1 2 に (G G C - G A C) 、 urethane では c o d o n 6 1 に (C A G - C T G) 略 1 0 0 % 近く認められた。

以上のようにこのモデルの genotoxic carcinogen の腫瘍発生メカニズムは解明された

が、transgeneの変異が見つからない腫瘍も報告されているのでそれらの発生メカニズムの検討も開始している。

このモデルの短期発がん性試験（6カ月）のバリデーションはAmes陽性、陰性の発がん物質、非発がん物質に付いて多くおこなわれ、採用した投与量も2年の発がん性試験と同じで検討を行ってきた。Ames陽性の発がん物質には後に投与量をMTDに修正し再実験したものをふくめ略100%反応した。またAmes陽性、陰性の非発がん物質には全く反応せず false positive は無かった。Ames陰性の発がん物質に関しては、clastogenには強く反応するが他の様々な腫瘍発生メカニズムについては、若干弱い陽性反応を示した。ホルモン receptor、peroxisome proliferator receptor を介した腫瘍発生も認められているが、その他のメカニズムについては今後の検討に待ちたい。

その他のモデル；

P53 +/- Heterozygous Knockout Mouse (Tumor Suppressor Gene Model,

Tg.AC Transgenic Mouse (Model for Altered Gene Regulation)

XPA-/- Knockout Mouse

の問題点にも言及したい。

S 2 - 4 遺伝子改変動物 3

(レポーター遺伝子導入マウス)

西川秋佳

国立衛研・病理

発がん物質は一般に遺伝子障害性および遺伝子非障害性の二つに分類されるが、その判定は主として *in vitro* での変異原性試験の結果に基づいてなされる。しかし、*in vitro* での変異原性試験とげっ歯類を用いるがん原性試験の間にはしばしば矛盾した結果が存在する。最近、プロモーター領域を含まない *lacI*、*lacZ*、*gpt* など種々のレポーター遺伝子を導入したマウスを用いる *in vivo* での変異原性検出システムが開発され、短期に臓器レベルでの検索が可能で、変異スペクトラムを解析できるなどの利点から注目されている。そこで、染色体異常誘発性、細胞増殖活性等の検索を加えて、化学発がんの分子機構解析のためのレポーター遺伝子導入マウスモデルの可能性について検討したので、概説する。

lacI 遺伝子導入マウスに、DMN を腹腔内に単回投与または 5 日間連続投与し、MeIQx を単回強制経口投与または 12 週間混餌投与した。また、*gpt*Δマウスに MeIQx を 12 週間混餌投与した。*lacI* 遺伝子の変異頻度は plaque assay で検索し、*lacI* 変異体の塩基配列は蛍光標識 cycle sequence 法で解析した。*gpt*Δマウスにおける変異頻度は Sp-/thioguanine selection により検索した。染色体異常誘発性は末梢血中の小核出現頻度で、細胞増殖活性は増殖細胞核抗原(PCNA)の標識率で調べた。

DMN 投与により、肝において *lacI* 変異頻度が有意に増加したが、その程度は連続投与の方が大きかった。DMN 投与で得られた *lacI* 変異体を解析した結果、約半数が欠失であり、残りの塩基置換の殆どは GC→AT transition であった。一方、対照動物の変異体のうち、大部分は塩基置換であり、欠失は低頻度であった。MeIQx の単回投与では *lacI* 変異は増加しなかったが、混餌投与により肝および大腸で有意に増加し、*gpt*Δマウスの肝および大腸でも MeIQx の混餌投与で *gpt* 変異頻度が増加した。MeIQx による肝での変異頻度の上昇は、主として GC→TA transversion の増加によるものであった。小核誘発性は DMN の方が MeIQx よりも強い傾向がみられた。PCNA 標識率は全般に低く、増加した場合でも必ずしも発がん標的性に一致しなかった。

このように、レポーター遺伝子導入マウスを用いた短期反復投与は、遺伝子障害性発がん物質の標的性検出及び化学発がんの分子機構解析に有用なモデルとなり得ることが示されたが、投与方法、投与量、用いるマウスの種類などを含めその評価上の問題点について考察する。

(本研究は国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部との共同研究である。)

S 2 - 5 二段階発がんモデル

今井田克己、白井智之

名古屋市立大学医学部第一病理

ICH で提唱された二段階発がん性試験法(initiation-promotion model)としてはラット肝中期発がん性試験法(initiation-promotion model for detection of hepatocarcinogens and modifiers)とラット多臓器発がん性試験法(multi-organ carcinogenesis model)がある。今回は主に肝中期発がん性試験法について述べる。

ラット肝中期発がん性試験法: 6 週齢の F344 雄ラットを用い、動物を 3 群に分け、第 1 群には生理食塩水に溶解した Diethylnitrosamine (DEN)を体重 1kg あたり 200mg を単回腹腔内投与し、2 週後より被験物質を 6 週間投与する。実験開始 3 週目に、肝の 2/3 を部分切除する。第 2 群は DEN 投与を行うが被験物質は投与しない対照群である。第 3 群は DEN を投与せず、生食のみを投与し、被験物質を 6 週間投与する群である。いずれの群も 8 週間で終了し、ラットを屠殺剖検する。肝の 3 葉から各 1 切片ずつを切り出し、肝組織を 4° C の冷アセトンで固定後、パラフィン包埋標本を作製し、ABC 法による胎盤型 Glutathione S-transferase (GST-P, MBL Co. LTD)免疫組織化学染色を行う。被験物質の評価判定はこの GST-P 陽性細胞巢を指標とし、画像処理装置を用いて定量的に解析する。GST-P 陽性細胞巢のうち、直径 0.2mm 以上のものを有効として肝の単位面積当りの数あるいは面積のいずれかが統計学的に有意に高い値を示したとき陽性と判定している。

現在までの結果、問題点および考察: 我々はすでに 300 以上の被験物質に関して検索を終了している。主として動物実験から得られた発がん性の評価および文献的に報告されている Ames 試験の結果別にこれらの陽性率を比較検討した。その結果、肝に発がん標的性を示す発がん物質(hepatocarcinogen)は、92%の陽性率を示し、肝に発癌標的性を示さない物質でも 21%に陽性を示した。さらに、注目すべき点は発がん性を示さない物質は極めて低い陽性率(2%)しか示さない点で、偽陽性を示す可能性が極めて低いことは検索系としては重要であり、本試験法のすぐれた点であるといえる。また、GST-P 陽性細胞巢を指標とした本試験結果と肝細胞がんを指標とした 2 年の発がん性試験結果とが用量相関性に一致していることを確認している。しかし、肝に発がん標的性を示す発がん物質でも陽性を示さなかったものが 4 化合物あり、それは Clofibrate などの peroxisome proliferator であった。これら peroxisome proliferator は GST-P を誘導しないため、GST-P を指標酵素としている本試験法では検出ができない。このような場合は、H.E.染色標本を用いて肝に発生した過形成病変を病理組織学的に検出し評価することが可能であり、このような方法を組み合わせることによりより正確な評価ができる。

一方、この検索系の利点としては、長期発がん性試験の結果を短期間に予想できること、偽陽性や偽陰性の例が極めて少ないこと、検索物質が少量ですみ、被験物質の用量相関性の検討が可能であること、被験物質相互の相乗作用や拮抗作用の効果判定ができること、抑制作用の検討も可能であるなどが挙げられる。この中期発がん性試験法と多臓器発がん性試験法の比較を含め、これらの利点ならびに問題点について考察する。

S 2 - 6 新生児モデル

務台 衛

三菱東京製薬（株）横浜研究所安全性研究所

医薬品のがん原性評価法に関する ICHガイドライン(S1B, 1997)において、マウスを用いた長期がん原性試験の代替試験法のひとつとして新生児マウス発がん法（以下新生児モデル）が提唱された。マウスあるいはラットの新生児期に被験物質を投与する発がんモデルは、以前からがん原性を検索する方法として、さまざまな実験デザインで試みられてきており、概ね遺伝毒性物質（特にヒトに対する発がん物質）について検出力が高く、長期がん原性試験との相関のとれた試験法として位置づけられている。

実験モデルの長所としては、(1)被験物質の必要量が少量でよいこと、(2)生後1年以内に実験が終了するため腫瘍発生頻度を指標に発がん性を検討する際、自然発生腫瘍の影響を考慮する必要がないこと、(3)一般的に新生児期（授乳期含む）は、成獣に比べ発がん物質に対する感受性が高く、腫瘍の発生時期の早期化や多発化を指標にした用量反応解析も可能なこと、(4)投与をはじめとする実験処置に労力を要さず、実験期間（1年）の面からも経済的であることが挙げられる。一方、(1)投与経路が腹腔内あるいは皮下に限定されること、(2)新生児期（授乳期含む）の薬物代謝や内分泌環境とそれらに対する被験物質の影響についての知見が少ないこと、(3)医薬品の安全性評価に近年必須になりつつある全身曝露評価が難しいこと、(4)技術的に発がんに必要な投与量を投与できない場合もあること等、実験成績をヒトへ外挿する場合の問題点もある。これらの事項を踏まえると、新生児モデルは、単回あるいは少数回投与される医薬品や遺伝毒性に懸念のある医薬品のがん原性評価やリスク比較に有用であると考えられる。本モデルで陽性を示した場合、その被験物質のヒトに対するがん原性リスクがあること示す成績となると思われる。一方、その陰性成績ががん原性リスク評価に与える意義については、今後の検討課題であろう。

新生児モデルに関するこれまでの報告では、使用する動物（種・系統）、投与時期・回数、観察期間等の実験デザインは一定ではなかった。医薬品のがん原性評価の実場面に新生児モデルを適用するためには、試験系選択の正当性を科学的に説明する必要がある。そのため、実験デザインの標準化とそれを用いた新生児モデルの有効性や限界を検討する検証研究が、FDA-NCTR と ILSI-HESI で開始されている。標準化された実験デザインの骨子は、20～24 匹/群の B6C3F1 あるいは CD-1 マウスを用い、被験物質は生後 8 および 15 日の 2 回腹腔内投与、投与用量は予備試験から求められた新生児マウスにおける最大耐量を用いる、1 年間経過を観察し屠殺・剖検後、腫瘍の発生を検索することからなっている。検証研究で使用される化学物質としては、医薬品を中心にさまざまなクラスの物質が選択されている。これらの標準化された実験デザインでの検証成績とこれまで報告されてきた実験成績を総合することによって、今後の医薬品のがん原性評価における Weight of Evidence 評価の一試験系としての新生児モデルの有用性が更に明確になることが期待される。

口演要旨

(0-1 ~ 24)

O-1 CX32遺伝子欠損マウスにおける肝発癌

○渡辺知幸¹、尾崎正和^{1,2}、小島隆³、澤田典均⁴

(¹住化テクノサービス、²住友化学・生科研、³札幌医大・がん研病理、⁴札幌医大・2病理)

Hepatocarcinogenesis in connexin32(CX32)-deficient mice

TOMOYUKI WATANABE¹, MASAKAZU OZAKI^{1,2}, TAKASHI KOJIMA³, NORIMASA SAWADA⁴

(¹ Sumika Technoservice Corp., ² EHSL, Sumitomo Chemical Co., Ltd., ³ Cancer Research Institute and ⁴ 2nd Dept. of Pathol, Sapporo Med. Univ. Sch. Med.)

遺伝子改変マウスを用いた短期発癌性試験に関する各方面での検討結果から、同マウスの発癌感受性は原系統の形質を反映することが示唆されている。たとえば、C57BL/6を原系統として確立されたp53遺伝子欠損マウスを用いた場合、dimethylnitrosamine (DMN)などの肝細胞癌誘発物質を投与しても肝細胞由来の腫瘍の発生が見られない。今回我々は、組織恒常性や細胞増殖制御に関与し肝発癌プロモータの標的として知られる細胞間接着装置gap junction (GJ)の構成蛋白connexin32 (CX32)を遺伝子レベルでノックアウトしたC57BL/6マウスを用いて、diethylnitrosamine (DEN)に対する肝発癌感受性ならびに肝細胞の増殖能について検討した。

【材料及び方法】CX32遺伝子欠損 (CX32-KO) マウスの生後12日目に10 μ g/g体重のDENを腹腔内に1回投与し、6週間後に1/3肝部分切除、その後12週間を経て肝臓を摘出した。発癌感受性は、肝におけるbcl-2陽性細胞巢の発現を指標に定量的に解析した。また、肝細胞の増殖能を調べる目的で1/3肝部分切除 (PH) 後のBrdUラベリングインデックス (LI) を経時的に調べた。なお、bcl-2陽性細胞巢およびLIの定量解析には画像解析装置IPAPを使用した。

【結果および考察】DEN投与CX32-KOマウスにおいてbcl-2陽性細胞巢の有意な発生増加を認めたことから、CX32-KOマウスは、肝腫瘍嫌発系であるC57BL/6を原系統とするものの、肝発癌物質に対して好感受性であることが示唆された。PH後の肝細胞の増殖能は、CX32-KOマウスにおいてPH後36および96時間目に有意な低下を示した。また、PH後48時間目以降に肝重量の増加抑制を認めた。昨年の本学会にて、2-acetylaminofluorene (AAF)によるp21^{waf1/cip1}を介したラット肝細胞に対する増殖抑制作用が、肝発癌促進 (selective growth) に重要な役割を果たしていることを報告したが、CX32-KOマウスの肝発癌促進機構においても同様のコンセプト (癌周囲組織の増殖抑制による癌の選択的増殖) が当てはまるかも知れない。

O-2 内因性および外因性ラット肝発癌における apoptosis 関連遺伝子発現レベルの変 auraptene による修飾

○岸田 秀樹¹、中江 大¹、楠岡 修¹、村上 明²、小清水 弘一²、大東 肇³、小西 陽一¹

(¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理、²近畿大・生物理工・生物工学、³京大・農)

Alteration of Expression of Apoptosis-related Genes in Endogenous and Exogenous Rat Hepatocarcinogenesis and Its Modulation by Auraptene

KISHIDA HIDEKI¹, NAKAE DAI¹, KUSUOKA OSAMU¹, MURAKAMI AKIRA², KOSHIMIZU KOICHI², OHIGASHI HAJIME³, KONISHI YOICHI¹

(¹Dept. Oncol. Pathol., Cancer Center, Nara Med. Univ., ²Fac. Biol. Sci. and Tech., Kinki Univ., ³Fac. Agric., Kyoto Univ)

目的：我々は、前回の本学会で、コリン欠乏アミノ酸(CDAA)食による内因性と DEN による外因性のラット肝発癌過程に apoptosis の誘導が関与し、auraptene (Aur)は、apoptosis の抑制により、これらの肝発癌を促進することを報告した。本研究は、この知見を基に apoptosis 関連遺伝子の発現を検索した。

方法：実験1は、6週齢F344系雄ラットにCDAA食又は基礎食を投与し、0, 1, 2, 3, 7, 14, 28, 112日目に経時的に屠殺し、肝を摘出した。実験2は、内因性肝発癌系にCDAA食を単独又は0.05%のAurと共に16週投与し、外因性肝発癌系に100 mg/kg体重のDENを1週毎に3回腹腔内投与後、5週に部分肝切除し、14週に屠殺、Aur (0.05%)は4週より10週間投与した。肝のFas, bcl-x, Fas ligand, caspase(Cas) 1-3, bax, bcl-2のmRNA発現は、ribonuclease protection assay法にて検索した。

結果：CDAA食単独でCas 1の発現が増強、AurによりCas 2, 3とbaxの発現が増強された。また、DEN単独でFas, Cas 3, bcl-xの発現が増強、Aurによりbcl-xの発現が増強された。

以上より、ラット肝発癌における apoptosis の誘導と Aur によるその修飾は、複数の遺伝子により制御されることが示唆された。

O-3 ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸食による肝発癌に対するフェノバルビタール投与の及ぼす影響

○楠岡 修、中江 大、岸田秀樹、赤井弘幸、北山若紫、安藤信明、榎並倫宣、田村一利、
傳田阿由美、小西陽一
(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

Effects of phenobarbital on hepatocarcinogenesis by a choline-deficient, L-amino acid-defined diet in rats
KUSUOKA OSAMU, NAKAE DAI, KISHIDA HIDEKI, AKAI HIROYUKI, KITAYAMA WAKASHI, ANDO NOBUAKI, ENAMI TOMONORI, TAMURA KAZUTOSHI, KONISHI YOICHI
(Dept. Oncol. Pathol., Cancer Center, Nara Med. Univ.)

本研究は、コリン欠乏アミノ酸(CDAA)食による内因性ラット肝発癌系における、フェノバルビタール(PB)の及ぼす影響を検索する目的で行った。実験は、Fischer 344系雄ラットを用い、12週間のCDAA食またはコリン添加アミノ酸(CSAA)食投与の後に一部を屠殺し、残りのラットをCSAA食または0.05% PB含有CSAA食の40週間投与の後、実験開始後52週にて屠殺した。肝は、組織学的に検索すると共に、胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST-P)陽性前癌病変の発生を定量的に解析した。その結果、CDAA食12週投与後CSAA食40週投与時におけるGST-P陽性病変数は、CDAA食12週投与後に比し、発生個数の有意な増加を認めたが、大きさの変化は認めなかった。一方、PBは、CDAAまたはCSAA食12週投与後に40週投与すると、いずれにおいても同程度にGST-P陽性病変の数を軽度増加せしめたが、大きさには影響しなかった。以上より、PBは、CDAA食による内因性肝発癌系において、有意なプロモーター作用を示さないものと判明した。

O-4 2,5-ヘキサンジオンによる遠位軸索症に関する病理学的研究

- 正常ウズラとニューロフィラメント欠損ウズラの比較 -

○平井卓哉¹、梅村孝司²、板倉智敏³、水谷誠¹、布谷鉄夫¹
(¹日生研、²北大院、³理研)

Pathological studies on distal axonopathy caused by 2,5-hexanedione
-Comparative study using normal and neurofilament-deficient quail -
Takuya HIRAI, Takashi UMEMURA, Chitoshi ITAKURA, Makoto MIZUTANI, Tetsuo NUNOYA (NISEIKEN)

2,5-ヘキサンジオン(2,5-HD)は神経毒性を有し、遠位軸索症を起こす。この変化はニューロフィラメント(NF)の蓄積による遠位軸索の腫大と、これより末梢部の軸索変性と解されている。しかし、後者の軸索変性は2,5-HDの直接作用により惹起されるのか、あるいはNFの蓄積による軸索輸送障害に続発するのかは未だに不明である。

NF欠損ウズラ(Quv)はNF-L蛋白質の欠損によりフィラメントを重合できず、中枢および末梢神経の軸索にNFを欠いている。2,5-HD(350mg/kg/日)を正常ウズラに連続投与すると4~6週間で遠位軸索症が誘発されたのに対し、Quvには数日で急性神経中毒が惹起された(第124回日本獣医学会)。そこで今回は、より低い用量を長期間投与し、遠位軸索症の発生にNFがどのように関与するかを調べた。

【材料と方法】10週齢の雄ウズラを、正常ウズラの2,5-HD投与群(n=9)および生理食塩水投与群(n=3)、Quvの2,5-HD投与群(n=9)および生理食塩水投与群(n=3)の四群に分類した。2,5-HDの用量を175mg/kg/日とし、腹腔内に24週間連日投与した。投与期間終了後に安楽殺し、中枢・末梢神経組織を光顕的および電顕的に検索した。

【成績】正常ウズラの2,5-HD投与群では、9羽中5羽に軽度の歩行異常が観察された。症状を示したウズラの中枢および末梢神経には遠位軸索症が認められた。一方、Quvの2,5-HD投与群では、9羽中4羽が投与開始後3~6日までに強直性痙攣による呼吸困難で死亡した。これらのウズラの神経系に形態学的変化は認められなかった。残り5羽のQuvは投与期間中に症状を示さず、薬物による神経病変を認めなかった。

【まとめ】2,5-HDの連続投与により、9羽中5羽の正常ウズラに遠位軸索症が惹起された。一方、2,5-HDを投与した全てのQuvに遠位軸索の変性は認められなかった。以上の結果より、腫大軸索遠位側の変性は2,5-HDの直接作用ではなく、NFの蓄積がないと遠位軸索の変性が起こらないことが示唆された。

O-5 Phosphodiesterase 阻害剤によるラット網膜変性症

○石田尚夫、義澤克彦、大石裕司（藤沢薬品工業・安全研）、太田康彦
（鳥取大・獣医・実験動物機能学）

Retinal Degeneration induced by Phosphodiesterase-Inhibitor in Rats
HISAO ISHIDA¹, KATSUHIKO YOSHIZAWA¹, YUJI OISHI¹, YASUHIKO OHTA²
(¹FUJISAWA PHARMACEUTICAL Co., Ltd., ²TOTTORI UNIV.)

[目的] 細胞内の cGMP・cAMP 濃度を調節する酵素である Phosphodiesterase(PDE)は様々な薬理作用を有し、網膜における PDE 阻害は網膜機能の変化を惹起することが報告されている(Beavo JA., *Physiol. Rev.*, 1995)。我々は当社で合成した PDE 阻害剤がラットに顕著な網膜変性症を引き起こすことを見だし、その病理組織学的解析とその発症メカニズムについて検討を加えたので報告する。

[方法] 6週齢の IGS 系雌性ラットに本剤を単回経口投与し、6および12時間後、1、3および14日後に屠殺して眼球を採取し、以下の検討を施した。HE染色による病理学的観察と網膜各層の厚みの計測、TUNEL染色による外顆粒層単位面積当たりの陽性細胞数の算出：TUNEL INDEX(Yoshizawa K, et al., *Lab. Invest.*, 1999)、および電子顕微鏡による観察。

[結果] 組織学的に12時間後より視細胞の配列の乱れ、主として外顆粒層の核濃縮/破壊像、桿体錐体層の空胞化/破壊像が観察された。これら視細胞-外顆粒層の荒廃は時間経過とともに進行し、7日後には外顆粒層並びに桿体錐体層がほとんど消失し顕著な網膜変性症の組織像を示した。網膜厚は14日後で対照群の51%まで減少した。TUNEL染色では12時間後より視細胞核に局限して陽性シグナルが得られ、また、TUNEL INDEXもピークを示した。その後徐々に陽性シグナルは減少したものの、14日後においても残存していた。電顕観察では12時間後より視細胞核の著しいクロマチン凝集像がみられ、加えて桿体錐体層の外節の変性像や色素上皮細胞内にミエリン様構造物が観察された。

[まとめ] PDE阻害剤の単回投与でラットの網膜変性症に引き起こされた。上記観察より本剤による網膜変性症は視細胞のアポトーシスが原因で生じ、その進行は極めて早いことが明らかとなった。さらに現在、アポトーシスの誘導における Caspase-3 の関与などについて検討中である。

O-6 抗アンドロゲン剤 Chlormadinone acetate(CMA)の自然発症前立腺肥大(BPH)イヌの前立腺、下垂体及び精巣に対する作用の形態学的検討

○村越正典、田川正志、池田理恵、中山隆治(帝国臓器製薬・安全研)、五反田浩太郎、三枝 衛、本間誠次郎 (帝国臓器製薬・薬理研)

Histopathological studies of chlormadinone acetate (CMA) in prostate, testis and pituitary gland on canine spontaneous benign prostatic hyperplasia
MASANORI MURAKOSHI, MASASHI TAGAWA, RIE IKEDA, TAKAHARU NAKAYAMA, KOTARO GOTANDA, MAMORU MIEDA, SEIJIRO HONMA
(Safety Research Department, Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd.)

イヌは自然発症 BPH が高頻度に認められる実験動物種である。ヒト及びイヌの BPH には幾つかの相違点はあるが、イヌ BPH モデルは BPH 治療薬の開発あるいは臨床的評価の面で最も有用と考えられている。今回は、抗アンドロゲン剤 CMA の作用を自然発症 BPH イヌを用いて、その前立腺、下垂体及び精巣に着目して形態学的に評価した。

[材料と方法] 自然発症 BPH 雄性ビーグル犬(5-8 年齢)に、CMA を 0 (BPH 対照群)、0.03、0.1、0.3/mg/kg/day の各用量で 6 ヶ月間連日経口投与した。剖検時に摘出した前立腺、精巣及び下垂体は、ホルマリン固定後にパラフィン切片を製作し、HE染色を施した。さらに下垂体については抗 LH 抗体を用いた免疫組織化学を実施し、LH 陽性細胞数を算定した。

[結果] 前立腺重量は、対照群で 28.86 ± 2.15 g、CMA 投与群でそれぞれ 18.21 ± 3.05 g (0.03mg)、 9.92 ± 1.05 g (0.1mg)、 8.09 ± 0.15 g (0.3mg)であり、組織学的には、腺上皮の著しい萎縮に伴い間質が優位であった。精巣重量は、対照群と各 CMA 投与群との間に有意な差は認められず、組織学的には 0.3mg 群で精細管の萎縮を認めた。間質のライディッヒ細胞には著変が観察されなかった。下垂体重量は、対照群と各 CMA 投与群との間に有意な差は認められず、下垂体 LH 陽性細胞数についても、対照群で 132.00 ± 9.95 、CMA 投与群でそれぞれ 137.23 ± 10.55 (0.03mg)、 135.26 ± 7.71 (0.1mg)、 138.66 ± 7.85 (0.3mg)であり有意差を認めなかった。

[考察] CMA は 0.1mg/kg/day 以下の用量では、精巣及び下垂体 LH 細胞に著変を誘発させないと考えられた。CMA 0.3mg/kg/day 投与群では、精細管の萎縮を認めたが下垂体 LH 細胞には変化が無かった。CMA の精巣及び下垂体に対する直接的あるいは間接的作用が示唆された。

Prostal[®] → アロケチロン誘生

O-7 Basal cell apoptosis in the dorsal skin of WBN/ IIA- *Ht* rats topically applied with T-2 toxin

○Albarenque SM, Suzuki K, Shinozuka J, Nakayama H and Doi K
(Tokyo Univ.)

Depression of basal cell proliferating activity (3 hrs after treatment: 3 HAT) and subsequent induction of basal cell apoptosis (12HAT) in the epidermis were observed in the dorsal skin of hypotrichotic WBN/ IIA- *Ht* rats following topical application of T-2 toxin in our previous study (Histol Histopathol 1999; 14: 337-342). In the present study, the levels of TGF- β 1 and apoptosis-related oncogenes mRNAs (*p53*, *bcl-2*, *c-ki-ras*, *c-fos*, *c-jun*) were investigated by RT-PCR method at 3, 6, 12 and 24 HAT. The level of TGF- β 1 mRNA in the T-2 toxin-treated skin showed slight elevation from 6 to 12 HAT and reached the significantly higher level at 24 HAT compared with the control skin. In addition, the expression of 2 (*c-fos* and *c-jun*) out of 5 oncogenes mRNAs significantly increased at 3 HAT and maintained the high level until 24 HAT as observed in the thymus of T-2 toxin-treated mice (J Toxicol Pathol 1999; 12: 77-81). These results suggest that the elevated levels of *c-fos* and *c-jun* mRNAs as well as that of TGF- β 1 may have a close relation to the induction of basal cell apoptosis following the topical application with T-2 toxin.

O-8 ハムスター短期膵発癌系における N-(4-hidroxyphenyl)retinamide (4-HPR) の膵および胆管発癌修飾作用

○村田奈保、堤雅弘、笛木修、辻内俊文、堀口浩資、天沼利宏、丸山博司、小西陽
(奈良医大・腫瘍病理)

Effects of N-(4-hydroxyphenyl)retinamide on pancreatic and intra-hepatic bile duct carcinogenesis by N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine in hamsters

NAO MURATA, MASAHIRO TSUTSUMI, OSAMU FUEKI, TOSHIFUMI TSUJIUCHI, KOUSUKE HORIGUCHI, TOSIHIRO AMANUMA, HIROSHI MARUYAMA, YOICHI KONISHI
(Dept.of Oncol.Pathol.,Nara.Med.Univ.)

【目的】4-HPR の膵、胆管発癌修飾作用について、ハムスター短期膵発癌発生モデルを用い、膵管の前癌病変が発生している時期より 4-HPR を投与し検索した。また 4-HPR の膵発癌修飾機構を解明するため、膵癌培養細胞株におけるアポトーシスの誘導についての検索も行った。

【方法】8 週齢の雌性シリアンゴールデンハムスター 100 匹を 5 群に分けて N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) を投与後、ハムスター短期膵発癌発生モデルに基づき一連の augmentation pressure を行い、実験開始 50 日目から第 1 群 (対照群) は基礎食を投与し、第 2~5 群は、被験物質として 4-HPR を 0.0015, 0.004, 0.01, 0.04% の濃度で基礎食に混餌投与した。実験開始後 105 日で全動物を屠殺し病理組織学的に膵および肝内胆管病変を検索した。ハムスター膵管癌培養細胞株には 4-HPR を処理し、アポトーシス誘導能を検索した。

【結果および考察】膵管病変については、対照群に比較し 4-HPR 0.0015% 投与群において総膵管病変数の有意な減少が認められた。4-HPR 0.01% 以上の投与群で肝内胆管癌の発生頻度、発生個数の有意な増加がみられた。また膵癌細胞株で *bax* が発現していること、4-HPR により癌細胞のアポトーシスが誘導されることが判明した。以上より 4-HPR は、低用量で膵管発癌を抑制し、高用量では胆管発癌を促進させる 2 相性の作用を有することが判明し、この膵発癌修飾作用には、アポトーシスが関与することが示唆された。

O-9 ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットにおける DMBA-TPA 皮膚塗布二段階発がんモデルの確立

○深町勝巳、朴哲範、高須賀信夫、松岡洋一郎、津田洋幸
(国立がんセ・研・化療)

High Susceptibility of c-Ha-ras transgenic rats (Hras128) to two stage DMBA-TPA skin carcinogenesis
KATSUMI FUKAMACHI, CHEOL BEOM PARK, NOBUO TAKASUKA, YOICHIRO MATSUOKA, HIROYUKI TSUDA
Exp. pathol. & Chemother. Div., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.

【目的】従来 DMBA→TPA による皮膚二段階発がんモデルを用いた発がん研究は、マウスでは行われてきたが、ラットでは成功していない。我々の確立したヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラット (Hras128) (Tg) を用いて、DMBA→TPA による皮膚二段階発がんモデルを試みた。

【方法】雌雄の Tg および non-Tg ラットを用い、DMBA 2.5 mg (アセトン溶解) を剃毛した背部皮膚に 1 回塗布し、1 週間後より TPA 100 nm/0.5ml (アセトン溶解) を週 3 回、29 週間塗布した。

【結果】塗布部の皮膚腫瘍(扁平上皮乳頭腫+がん)は雄 Tg で 12/15 (80%) と高い頻度で発生したが non-Tg では雌雄ともに皮膚腫瘍はなかった。Tg において DMBA、TPA を塗布しない部位で雄で陰囊皮膚腫瘍が 13/15 (87%)、皮下軟部肉腫が 2/15 (13%)、雌では乳腺腫瘍(腺腫+がん)は 9/14 (64.3%)、皮下軟部肉腫が 2/14 (14%) であった。non-Tg はいずれの腫瘍の発生もなかった。

腫瘍における c-Ha-ras 遺伝子の変異をスライドの上から組織像を確認のうえ削り取り DNA を抽出し、内因性のラット c-Ha-ras については PCR-SSCP、導入したヒト c-Ha-ras については PCR-RFLP にて検討した。その結果、内因性 c-Ha-ras 遺伝子の変異は全くみられなかったが、導入遺伝子については、ほぼすべての腫瘍で検出されたが、それぞれの腫瘍におけるその変異をもつ細胞の占める割合は最大でも 50%を超えなかった。

【まとめ】c-Ha-ras トランスジェニックラットでの DMBA→TPA による二段階発がんモデルを確立した。この実験系において、雄は皮膚・陰囊、雌は乳腺発がん高感受性であることが明らかとなった。特に、DMBA、TPA を塗布しない部位にも腫瘍の発生がみられ、これらの物質が塗布局所以外でも作用することが明らかとなった。また、内因性のラット c-Ha-ras 遺伝子に変異はなく、導入遺伝子の変異はあるものの、その細胞数は少なく発がんに主たる役割を果たしていない可能性が示された。(CREST 科技団、厚生省がん研究助成金)

O-10 ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットにおける自然発生腫瘍の頻度と突然変異の解析

○内藤暁宏¹、鳥山-馬場弘靖¹、大西隆仁¹、朝元誠人²、津田洋幸¹
(¹国立がんセ・研・化学療法部、²名古屋市大・医・1 病理)

Analysis of spontaneous tumor incidence and mutational characteristics of Human c-Ha-ras Proto-onco gene transgenic rats
AKIHIRO NAITO¹, HIROYASU TORIYAMA-BABA¹, TAKAMASA OHNISHI¹, MAKOTO ASAMOTO², HIROYUKI TSUDA¹

¹Exp. Pathol. and Chemother. Div., National Cancer Center Res. Inst., ²1st Dept. Pathol. Nagoya City Univ. Med. Sch.

【目的】発がん物質や発がん抑制物質を効率よく探索する為には短期間に腫瘍の発生する動物モデルが必要である。そのためのモデル動物として通常のラットを用いた実験系に様々な工夫が凝らされてきた。我々は早期に発がんに至る系としてヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラット(Hras128)を作製し、これまで乳腺、食道等を標的とする発がん物質に高感受性を示す事を報告してきた。今回は、自然発生腫瘍の頻度と遺伝子変異に関し興味ある知見を得たので報告する。

【方法】Hras128 と対照群を最長 78 週齢まで基礎食にて飼育した。屠殺後、各臓器をホルマリン固定し、H/E 染色にて組織診断を行った。また、乳腺、皮下軟部肉腫、皮膚腫瘍については凍結及びホルマリン標本とした。凍結標本はクリオスタットで 3µm x 6 枚薄切し、5 枚を Proteinase K/ Phenol-CHCl₃ 抽出/EtOH 沈殿にて DNA 抽出を行い、1 枚は組織診断用とした。導入遺伝子の変異の検索は、抽出した DNA を Cy-5 標識プライマーでコドン 12 もしくは 61 の部分を増幅し、制限酵素(コドン 12:MspI, コドン 61:AlwNI)処理後、DNA 蛍光オートシークエンサーを用い RFLP で解析した。変異細胞の割合は各フラグメントのピーク面積から相対値として算出した。内在性のラット c-Ha-ras 遺伝子の変異については PCR/SSCP にて解析した。

【結果と考察】Hras128 における皮下軟部肉腫と皮膚腫瘍の発生頻度は雌雄とも野生型より有意に増加したが、化学発癌物質の投与で高頻度に腫瘍が発生する乳腺においては差は見られなかった。導入 c-Ha-ras 遺伝子の変異の頻度は全ての腫瘍組織で検出されたが変異を持つ細胞の混在する割合は最大で皮下軟部肉腫のコドン 12 での 45.2%であり、他の腫瘍では 18.5%~25.6%であった。また、内在性の c-Ha-ras 遺伝子のコドン 12 に変異が導入されている例は認められなかった。従って、導入 c-Ha-ras 遺伝子の変異はこれらの発がんにおいて主たる役割を果たしていない可能性が示唆された。(CREST 科技団)

O-11 ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットにおける乳腺発がんの初期変化について

○鳥山一馬場弘靖、山本扶美、藤田健一、韓 範錫、津田洋幸
(国立がんセ・研・化療)

Analysis of Early Lesions of Mammary Carcinogenesis in Human c-Ha-ras proto-oncogene Transgenic rats.
TORIYAMA-BABA Hiroyasu, YAMAMOTO Fumi, FUJITA Kenichi, Han Beom Seok, TSUDA Hiroyuki
(Exp. Pathol. & Chemother. Div., Natl. Cancer Center Res. Inst.)

ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニック(Tg)ラットは乳腺発がん高感受性形質を示すことを本学会等において明らかにしてきたが、今回、MNU 投与後に腫瘍発生に至るまでの乳腺の初期変化について検討した。

【方法】同腹の Tg と non-Tg ラットに MNU 50mg/kg を静脈内投与後 5 日毎に屠殺後剥皮してホルマリン固定後に全乳腺組織を摘出し、Whole mount(WM)と準連続 H.E.染色標本を作製して、同一個体における乳腺腺房と乳管上皮の増殖性変化を観察した。

【結果】MNU 投与後 10 日までは Tg と non-Tg に明らかな差異は見られなかった。15 日に Tg ラットでは WM 標本で観察される乳腺腺房の肥大結節が 4/9 (44%)の動物にみられ、平均個数は 1.1 ± 0.5 個/ラットであった。同時期の組織標本では乳管上皮の過形成が 8/9(88.9%)に認められた。non-Tg では、腺房肥大結節は 1/9(11.1%)、 0.1 ± 0.1 個/ラットで、上皮過形成は認められなかった。20 日では、Tg ラットにおいて腺房肥大結節が 100%、数は 10.7 ± 2.2 個/ラットと増加した。上皮過形成は 10/11(90.9%)であった。non-Tg には同様の変化は認められなかった。さらに 25 日では、Tg ラットで腺房肥大結節は 100%、 43.4 ± 4.8 個/ラットと著しく増加し、上皮過形成は 9/9(100%)であった。non-Tg では、腺房肥大結節は 1/10(10%)、 0.3 ± 0.1 個/ラットで、上皮過形成はみられなかった。また、25 日の Tg ラットには直径 3mm 以上の腫瘍性結節(上皮過形成/腺腫)が触知された(平均 13 個)が、Non-Tg には 1 個が観察されたのみであった。

【まとめ】ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットに乳腺発がん物質を投与すると短期間に発がんするが、乳腺腺房および乳管上皮の増殖性変化は MNU 投与後わずか 15 日の早期から認められ、25 日で Adenoma に至ることが明らかとなった。(CREST 科技団、厚生省新がん克服 10 カ年戦略事業による)

O-12 ラットにおける Tsc1 および Tsc2 蛋白の組織および細胞内局在

○福田智一、小林敏之、樋野興夫
(癌研・実験病理)

Tissue and cellular distributions of Tsc1 and Tsc2 proteins in normal rat tissues detected by immunohistochemistry
TOMOKAZU FUKUDA, TOSHIYUKI KOBAYASHI, OKIO HINO
(Dep. of Experimental Pathology, Cancer Institute)

【目的】Eker rat は遺伝性に腎癌を発生する動物モデルである。我々はこの腎癌の原因遺伝子がヒト結節性硬化症原因遺伝子(TSC2)のラット相同遺伝子の異常であることを明らかにした。Tsc2 遺伝子は腎癌の最も早期病変である変異尿細管においても 2nd hit が認められ、腫瘍抑制遺伝子として機能しているものと考えられるが、その詳細については不明な点が多い。近年、ヒト結節性硬化症のもう一つの原因遺伝子として TSC1 遺伝子が単離、同定された。In vitro の解析よりこれらの 2 つの TSC 蛋白質は結合することが示唆されているが in vivo においてその結合の生物学的意義については不明である。そこで我々はこれらの 2 つの TSC 蛋白の機能解析の一環として、2 者の正常ラット組織における分布を免疫組織学的に検出した。

【方法】ラット Tsc2 の Exon 26、ならびに Tsc1 の C 末ペプチドに対するウサギポリクロナール抗体を作成した。ラットは 12 週令の雌雄を用いた。

【結果】1)臓器分布：Tsc1 蛋白の組織分布を検出し、Tsc2 蛋白の分布と比較検討した。結果、腎臓、肝臓、肺ならびに子宮では 2 者の分布は完全に一致した。しかし脳、脾臓ならびに膵臓では重なる組織が存在したが完全には一致しなかった。また卵巣、甲状腺ならびに乳腺など内分泌に関連した臓器に Tsc1 の発現が認められ機能的な関連が示唆された。

2)細胞内分布：2 者の Tsc 蛋白各々に対する特異的抗体を用いて同一切片上で蛍光抗体法にて分布を検索した。結果、多くの組織でほとんどの Tsc 蛋白が独立して検出された。このことは生体内ではごく一部の Tsc1 および Tsc2 蛋白が結合する、ならびに Tsc1 および Tsc2 の結合は可逆的であるという 2 つの可能性を示す。この結果は Tsc 蛋白質の in vivo における動態を示す初めての報告であり、TSC 蛋白の機能ならびに疾患の発生機序において重要な結果である。

O-13 F344 ラットの BBN 誘発膀胱発がんに対する Cu-NTA の抑制効果

○南 孝則、長根芳文、金田信也、泉 啓介

(徳島大・医・二病理)

Inhibitory effect of copper nitrilotriacetate on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced bladder carcinogenesis in F344 rats

TAKANORI MINAMI, YOSHIFUMI CHONE, SHINYA KANEDA, KEISUKE IZUMI

(Dept. of Pathol., The Univ. of Tokushima Sch. of Med.)

【目的】 LEC ラットの N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)による膀胱発がん低感受性の理由の一つとして尿中銅の抑制効果が考えられる。そこで BBN 誘発膀胱発がんに対する尿中銅の効果を調べるために F344 ラットを用いて銅ニトリロ 3 酢酸 (Cu-NTA)を用いた二段階試験を行った。

【方法】 Cu-NTA は 0.4% 硫酸銅を 0.1 M ニトリロ 3 酢酸 2 ナトリウムに溶解し、pH 7.4 に調整した。実験 1: 雄 F344 ラット 63 匹に 0.1% BBN を 6, 8, 10, 12 週齢から 1 週間飲水投与した。これらを 3 群に分け(n=21), Group 1 には 14-42 週齢まで Cu-NTA を週 1 回腹腔内注射し、Group 2 には NTA のみを注射し、Group 3 は無処置とした。26 週齢に注射直後の 24 時間尿を採取し (n=6), Cu, Fe, Zn 濃度を原子吸光法で測定した。46 週齢で全生存動物を屠殺した。実験 2: 雄 F344 ラットを用いて、Group 1 には 6 週齢から Cu-NTA を週 1 回腹腔内注射し (n=6), Group 2 には NTA のみを注射し、Group 3 は無処置とした。12 週齢前後で Day 1-5 の新鮮尿の pH を、15 週齢前後で 24 時間尿の Cu, Fe, Zn 濃度を測定した。

【結果】 実験 1: 屠殺時の Group 1, Group 2 の平均体重はそれぞれ Group 3 の 94%, 96%であった。Group 1-3 の 2 mm 以上の膀胱腫瘍の平均個数は 0.74 個 (P<0.05), 1.40 個, 1.24 個, 移行上皮癌の頻度は 9/19 (47%), 16/20 (80%), 14/21 (67%)であった。Group 1-3 の尿 Cu 濃度は 8.18 mg/ml (vs. Group 2, P<0.001), 0.53 mg/ml, 0.45 mg/ml, 尿 Fe 濃度は Group 1 でやや高値, Group 1-3 の尿 Zn 濃度は 5.40 mg/ml, 4.53 mg/ml, 0.36 mg/ml であった。実験 2: Cu-NTA 群の新鮮尿 pH は Day 2-4 で他の 2 群より高値であった。重金属濃度の変動は測定中である。

【考察】 1) Cu-NTA の腹腔内注射により尿 Cu 排泄量が増加し、BBN 誘発膀胱発がんに対する尿中 Cu の弱い抑制効果が示唆された。2) 70-80 年代に NTA の経口投与による尿 pH の上昇と尿路発がん性が報告されたが、今回の条件では NTA の発がん促進効果はみられなかった。

O-14 ラットの微量カドミウム長期間曝露における毒性発現閾値する研究

○渋谷 淳¹、三森国敏¹、佐藤伸一²、西島基弘³、平塚秀明⁴、佐藤雅彦⁵、広瀬雅雄¹、安藤正典⁶

(国立衛研・¹病理・⁶環境衛生化学、²イナリサーチ、³都立衛研、⁴三菱安科研、⁵国立環境研)

Study on the relationship between the development of toxicities and cadmium accumulation in rats given minimum amounts of cadmium for long-term.

MAKOTO SHIBUTANI¹, KUNITOSHI MITSUMORI¹, SHIN-ICH SATO², MOTOHIRO NISHIJIMA³, HIDEAKI HIRATSUKA⁴, MASAHIKO SATO⁵, MASAO HIROSE¹, MASANORI ANDO⁶

(¹Division of Pathology and ⁶Division of Environmental Health Chemistry of National Institute of Health Sciences, ²In Research Inc., ³The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, ⁴Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd. ⁵National Institute for Environmental Studies)

【目的】 生体内に摂取されたカドミウム(Cd)は特に腎臓蓄積性が高く、ヒトで尿細管傷害による腎病変を誘発することが知られている。我々は既にラットを用いた最高 8 カ月間にわたる Cd 投与実験により、短期間大量曝露では強い肝及び腎病変を誘発するが、長期低用量曝露では、Cd の蓄積は徐々に増加するものの、腎病変を誘発しないことを報告した。今回我々は更に長期間の Cd の微量曝露実験を行い、臓器内の Cd 蓄積性、メタロチオネイン(MT)の誘導状況及び病理組織学的所見の関連性について検討を行い、その毒性発現に関する閾値評価を行った。

【方法】 5 週齢の雌性 SD ラットを用い、各群 50 匹として、対照群(I 群)には 28%の精製飼料と 72%の普通米からなる飼料、II 群には普通米の代わりに Cd 汚染米(1.5 ppm)からなる飼料、III~VI 群には対照群と同様の飼料にそれぞれ塩化 Cd を 1.1, 5, 20, 40 ppm の割合で添加した飼料を自由摂取させた。投与開始から 12, 18, 22 カ月後に、血液・血液生化学及び尿検査を行い、動物を屠殺後、臓器中・血清中・尿中の Cd 及び MT 濃度の測定と、肝臓と腎臓の病理組織学的検索を行った。

【結果】 投与期間を通じての体重及び摂餌量、屠殺例の血液・血液生化学・尿の検査データに変化は認めなかった。肝臓及び腎臓の Cd 含量は投与 Cd の用量に依存して増加し、V, VI 群で 18 カ月目にピークを示した。MT の誘導レベルは、Cd による急性傷害例の文献値に比較してかなり低いものの、12 カ月目から腎臓は IV 群以上で、肝臓は V, VI 群で有意に増加し、22 カ月目では IV 群以上の肝臓で有意に増加した。血清中、尿中の MT 濃度は、それぞれ肝臓及び腎臓の MT 濃度と相関していた。病理組織学的には、いずれの群にも短期間大量曝露によるものと同様な病理変化は認めなかった。また、自然発生病変を認めたが、Cd 投与に起因する発生率の増加ないし程度の増強は認めなかった。【まとめ】 最高 40 ppm までの微量 Cd 投与により、Cd は用量依存性に肝臓と腎臓に蓄積するものの、MT の誘導レベルは低く、Cd に起因する臓器毒性は認められないと判断された。

O-15 可移植性ラット子宮内膜間質肉腫の細胞特性の解析、特に樹状細胞の特性の表出と TGF- β 産生による筋線維芽細胞の誘導

○山手丈至、横山友紀、桑村 充、小谷猛夫、佐久間貞重 (大阪府大獣医病理)

Characterization of a transplantable rat endometrial stromal sarcoma, with the particular references to expression of dendritic cell-like nature and induction of myofibroblasts by the produced TGF- β

JYOJI YAMATE, YUKI YOKOYAMA, MITSURU KUWAMURA, TAKAO KOTANI, SADASHIGE SAKUMA
(Department of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University)

我々は F344 ラットの子宮頸部に自然発生した子宮内膜間質肉腫から移植腫瘍(RY)を確立し、さらに RY から培養細胞(RY-PB)とクローン細胞(RY-B-E3)を誘導し、この腫瘍細胞は組織球と筋線維芽細胞の特性を現すことを示した(第 125 回日本獣医学会)。今回、これらの細胞特性をさらに精査したところ、この腫瘍細胞は樹状細胞の特性を現し、さらに筋線維芽細胞の形成には TGF- β が係わることが実験的に示されたので報告する。免疫細胞学的観察：第 10 代まで移植継代した RY と RY-PB 及び RY-B-E3 を同系ラットに接種し誘発した腫瘍 (*in vivo* 腫瘍) を構成する細胞は、ピメンチンに強陽性、ED1/ED2 (ラット単球/マクロファージ特異抗体)並びに OX6(ラット MHC クラス II 抗体)に中等度陽性であった。また、 α -平滑筋アクチン(SMA)陽性細胞も散見された。RY-PB 及び RY-B-E3 細胞 (*in vitro* 細胞)においても同様の免疫染色結果が得られた。微細構造学的観察：*In vivo* 腫瘍細胞には、細胞質に多くのリソソームとやや拡張した囊胞状・管状の構造から成る tubulovesicular system が特徴的に観察された。また、絨毛状のよく発達した細胞突起があった。*In vitro* 細胞においても、多くのリソソームと tubulovesicular system 構造がより明瞭に観察され、さらに細胞突起は樹枝状に伸び、隣接する細胞間で絡みあっていた。TGF- β との係わり：線維化部位に出現する筋線維芽細胞は SMA 陽性で、その SMA 発現には TGF- β が係わるとされる。*In vitro* 細胞には SMA 陽性細胞が存在したことから、TGF- β との係わりを検討した。ラット MFH 由来の MT-8 細胞を比較対照として用いた。TGF- β (0.1、0.5、1.0 ng/ml)を培地に添加したところ、RY-PB 及び RY-B-E3 とともに SMA 陽性細胞数が無添加時に比べて有意に増加し、抗 TGF- β 抗体(0.1、0.5、1.0 ng/ml)を添加すると SMA 陽性細胞数が有意に減少した。MT-8 細胞にはこのような変化は認められなかった。TGF- β (1 ng/ml)の添加により MT-8 では DNA のラダーリング法でアポトーシスが検出されたが、RY-PB 及び RY-B-E3 には出現しなかった。RY-PB 及び RY-B-E3 には TGF- β の mRNA の発現が RT-PCR により確認された。まとめ：子宮の間質細胞の特性は不明な点が多い。今回、この子宮内膜間質細胞は、樹状細胞 (OX6 陽性、tubulovesicular system 構造の存在) の特徴を示し、TGF- β を産生し autocrine を通じ筋線維芽細胞へ変異する性質があることが示された。

O-16 前立腺癌トランスジェニックラットモデル - テストステロン投与および去勢の影響

○朝元 誠人、外岩戸 尚美、高橋 智、曹 泳晩、池田 佳久、今井田 克己、
白井 智之

(名市大・医・1病理、CREST)

A Transgenic rat model of prostate cancer - Effects of testosterone and castration -

MAKOTO ASAMOTO, NAOMI HOKAIWADO, SATORU TAKAHASHI, YOUNG-MAN CHO, YOSHIHISA IKEDA,
KATSUMI IMAIDA, TOMOYUKI SHIRAI

(Dept. of Pathol., Nagoya City Univ. Med. Sch., CREST)

【目的】我々は化学発がん物質を用いたラット前立腺癌モデルを作成してきたが、癌の発生には 1 年以上の長期間の飼育が必要であった。一方、前立腺に腫瘍を比較的短期間に発生するトランスジェニック(Tg)マウスモデルが報告されている。ラットはマウスに比較して大型で、解析するのに十分な材料が得られ、多くの化学発がんに関するデータが蓄積しているなど有用な点が多い。そこで、我々は、ラット前立腺に特異的に発現するとされる Probasin 遺伝子のプロモーター下に SV40 T 抗原遺伝子を発現させ、前立腺癌 Tg ラットモデルの確立を試みた。さらに、テストステロン投与と去勢の影響を検索した。

【方法】Probasin のプロモーター下流に SV40 T 抗原遺伝子を導入した Tg ラットを 4 匹得、その内 1 匹より良好に繁殖する系統を確立した。雄の Tg ラットを 5 週令に 3 群に分け、第 1 群は対照群とし、第 2 群は精巣摘出、第 3 群は 1.5cm シリコンチューブ内に充填したテストステロンを皮下に移植し、15 週令で全群剖検屠殺し、前立腺の病変を病理組織学的に検索した。

【結果と考察】第 1 群の対照群では全例に前立腺全葉にびまん性に高度異型過形成がみられ、一部では癌の発生を認めた。第 2 群では前立腺は全体に萎縮しており腫瘍性病変は認められなかった。第 3 群では前立腺全体が著明に腫大しており、浸潤癌の発生を高率に認めた。これらの所見より、この Tg ラットのの前立腺腫瘍発生はアンドロゲン依存性であり、テストステロンにより短期間かつ顕著に前立腺腫瘍を進展させることが明らかとなり、前立腺癌モデルとして極めて有用である。

O-17 p53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスを用いた ENU による二段階多臓器発がんモデルにおけるビスフェノールA, DDT, きなこの発がん修飾作用

○小野寺 博志、三森 国敏、高木 久宜、安原 加壽雄、梶谷 高敏、田村 啓、広瀬 雅雄
(国立衛研・病理)

Modifying Effects of Bisphenol A, DDT and Powdered Soybean in a Two-stage Multiorgan Carcinogenesis Model Using Heterozygous p53 Deficient CBA Mice Initiated with N-ethyl-N-nitrosourea.

HIROSHI ONODERA, KUNITOSHI MITSUMORI, HISAYOSHI TAKAGI, KAZUO YASUHARA, TAKATOSHI KOUJITANI, TORU TAMURA, MASAO HIROSE
(Div. of Pathol., Ntl. Inst. Hlth. Sci.)

【目的】我々は p53 遺伝子の片側アレルをノックアウトした p53 ノックアウト(ヘテロ欠損)CBA マウス(p53(+/-)マウス:オリエンタル酵母)の雌に N-ethyl-N-nitrosourea(ENU)を単回投与することにより子宮内膜や肺腫瘍が高率に誘発され、また、DMN 投与後フェルタルルやフルメキの反復投与により肝増殖性病変が高率に誘発されることを既に報告した。さらに、この ENU モデルにエストロゲン作用の強い ethinylestradiol を投与することにより子宮腫瘍の発生が増強されることも報告した。今回、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ビスフェノール A(BpA)、有機塩素系農薬の DDT および多くのイソフラボン含有するきなこ(粉末大豆)について ENU の標的臓器である子宮、肺および肝に対する発がん修飾作用を検討した。

【方法】雌 p53(+/-)マウスに 120mg/kg の ENU を単回腹腔内投与し、その一週間後より第一群(5匹)には基礎飼料を、第二群(14匹)には1%の BpA を、第三群(14匹)には350ppm の DDT を第四群(7匹)には20%のきなこを基礎飼料に混じり26週間自由に与えた。

【結果】生存率は第一群で100%、第二群で86%、第三群で50%、第四群で71%であった。子宮重量は第一群に比べ第二から四群で低下する傾向を示した。子宮腫瘍の発生率は第一群の100%に対し第二から第四群でそれぞれ83%、71%、100%であった。肺での腫瘍や過形成の発生率および発生個数は群間に差は認められなかった。肝では第三群に肝細胞腺腫が100%発現した。他群では肝増殖性病変の発生は認められなかった。

【まとめ】ビスフェノール A, DDT およびきなこは子宮や肺に対して発がん修飾作用を示さなかった。一方、DDT は肝に腫瘍プロモーション作用を有することが報告されているが、本 p53(+/-)CBA が肝腫瘍プロモーターに著しく感受性が高いことが示唆された。

O-18 DHPN を用いたラット鼻腔二段階発癌モデルにおける 2,6-dimethylaniline (DMA)誘発増殖性病変の免疫組織化学的・超微形態学的検討

○梶谷高敏¹、三森国敏¹、安原加壽雄¹、豊沢かおる²、小野寺博志¹、高木久宜¹、田村 啓¹、広瀬雅雄¹ (¹国立衛研・病理、²大日本製薬(株)・開発研)

Immunohistochemical and ultrastructural observations of DMA-induced nasal proliferative lesions in a two-stage nasal carcinogenesis model in DHPN-treated rats

TAKATOSHI KOUJITANI¹, KUNITOSHI MITSUMORI¹, KAZUO YASUHARA¹, KAORU TOYOSAWA², HIROSHI ONODERA¹, HISAYOSHI TAKAGI¹, TORU TAMURA¹ and MASAO HIROSE¹

(¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²Department of Developmental Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.)

【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。我々は、DHPN を用いたラット鼻腔二段階発癌モデルを用いて、DMA に鼻腔腫瘍プロモーション作用があることを既に報告している。今回、DMA により誘発された増殖性病変について免疫組織化学的・超微形態学的検索を行い、その病理発生を検討した。

【材料および方法】DHPN 2400 mg/kg を雄 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。鼻腔は中性緩衝ホルマリンで固定後、5%キ酸で脱灰し、6横断面の HE 染色標本を作製した。一部の例の背鼻道部嗅上皮粘膜および腫瘍についてメタカン固定材料あるいは電頭材料を採取した。抗サイトケラチン、抗ニューロフィラメントおよび抗ビメンチン抗体を用いた免疫組織化学に加え、電子顕微鏡観察を実施した。

学的検索では、DMA 誘発増殖性病変として鼻腔上皮の過形成(大部分は腺様過形成)、異形成巣および癌が認められた。それらの病変は主に嗅上皮粘膜に認められ、発生頻度はそれぞれ 30/30、10/30、10/30 であった。免疫組織化学では、腺様過形成および異形成巣の一部が抗サイトケラチン抗体に陽性を示したが、癌では陰性であった。抗ニューロフィラメントおよび抗ビメンチン抗体はすべて陰性であった。電子顕微鏡観察では、腺様過形成、異形成巣および癌に基底膜構造、デスモゾーム、ボウマン腺上皮の分泌顆粒と思われる顆粒および微絨毛が認められた。DHPN と DMA により誘発される腺様過形成、異形成巣および癌はボウマン腺由来であり、また、異形成巣は癌の前癌病変であることが示唆された。

O-19 BHP 誘発ラット肺腫瘍及び4-NQO 誘発ラット舌腫瘍における Cyclooxygenase(COX)-2 蛋白質の発現

○北山若紫¹、塩谷洋史²、傳田阿由美¹、吉田順一¹、佐々木康孝¹、小笠原裕之¹、
佐藤洋¹、堤雅弘¹、山本一彦²、丸山博司¹、小西陽一¹

(¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理、²奈良医大・口腔外科)

Increased expression of cyclooxygenase-2 protein in rat lung tumors induced by N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine and rat tongue tumors induced by 4-nitroquinoline 1-oxide

WAKASHI KITAYAMA¹, HIROSHI SHIOTANI², AYUMI DENDA¹, JUNICHI YOSHIDA¹, YASUTAKA SASAKI¹, HIROYUKI OGASAWARA¹, HIROSHI SATOH¹, KAZUHIKO YAMAMOTO², MASAHIRO TSUTSUMI¹, HIROSHI MARUYAMA¹, YOICHI KONISHI¹

(¹Dep. Oncol. Pathol., Cancer Center, Nara Med. Univ., ²Dep. Oral and Maxillofacial Surgery, Nara Med. Univ.)

(目的) N-Nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine(BHP)によるラット肺発癌モデル、及び4-nitroquinoline 1-oxide(4-NQO)によるラット舌発癌モデルを用いて、肺及び舌発癌機構へのCOX-2の関与を検索する目的で、肺及び舌の腫瘍性組織におけるCOX-2蛋白質の発現を免疫組織化学染色(IH)及びウェスタンブロッティング(WB)にて検索した。

(方法) 6週齢Wistar系雄ラットに2000ppm BHP含有飲料水を12週間投与し、20週目に肺に発生した腫瘍性病変をIH及びWBに供した。また、正常肺胞上皮細胞画分を、Y. Kikkawaらの方法に準じて肺胞マクロファージを除去後、エラスターゼ処理にて単離し、WBに供した。6週齢F344雄ラットに10ppm 4-NQO含有飲料水を24週間投与した後、舌に発生した病変をIH及びWBに供した。また、正常舌上皮を、A.Terserらの方法に準じて剥離し、WBに供した。

(結果) IHにて、肺では、正常肺胞上皮細胞はCOX-2蛋白質陰性を示したが、検索した肺胞上皮過形成病変の12%、腺腫の90%、腺癌の100%がCOX-2蛋白質陽性を示し、扁平上皮癌の50%が弱陽性を示した。WBにて、プールした腺腫および腺癌は、単離した正常肺胞上皮細胞画分の約2倍のCOX-2蛋白質の発現亢進を示した。舌では、正常上皮は基底細胞層が散在性に陽性を示し、過形成病変の50%、上皮異形成病変、乳頭腫及び扁平上皮癌の全例で、COX-2蛋白質陽性を示した。WBにて扁平上皮癌は剥離した正常舌上皮の約5.5倍の亢進を示した。

(考察) BHPによるラット肺腺腫、腺癌、及び4-NQOによるラット舌癌発生機構へのCOX-2蛋白質の関与が示唆された。

O-20 BHP誘発ラット肺発癌系におけるエトドラクおよびPBNと抗生物質の複合投与による発癌抑制作用

○佐々木康孝、堤雅弘、辻内俊文、白岩和巳、三井雅之、高島吉治、小西陽一
(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

Inhibitory effect of combined administration of antibiotics and etodolac or PBN on lung carcinogenesis initiated by BHP in rat

YASUTAKA SASAKI, MASAHIRO TSUTSUMI, TOSHIFUMI TSUJUCHI, KAZUMI SHIRAIWA, MASAYUKI MITSUI, YOSHIHARU TAKASHIMA, YOICHI KONISHI

(Dept. Oncol. Pathol. Cancer Center, Nara Med. Univ.)

(目的) 我々はこれまでにラットの肺発癌過程において抗生物質と抗炎症性生薬の複合投与により肺発癌が抑制されることより、細菌感染による慢性炎症が肺発癌に関与していることを報告してきた。今回、慢性炎症による肺発癌促進機序におけるcyclooxygenase(COX)-2とNOラジカルの関与を解明するため、それぞれの阻害剤による肺発癌修飾作用について検索した。

(材料と方法) 動物は6週齢Wistar系雄ラットを用い、同様の実験を2回行った。2000ppmのN-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine(BHP)を12週間飲水中に混ぜ投与したのち、実験1は、Group1;基礎食投与群、Group2;0.02%クラリスロマイシン(CAM)混餌投与群、Group3;0.015%エトドラク混餌投与群、Group4;CAMおよびエトドラク複合投与群とし、実験2では、Group1;基礎食投与群、Group2;0.04%アンピシリン(ABPC)混餌投与群、Group3;300ppmPBN飲水投与群、Group4;ABPCおよびPBN複合投与群とした。実験開始20週後に剖検して肺病変の発生を病理学的に検索した。

(結果と考察) 実験1の結果、対照群にくらべてGroup2,Group3,Group4において腺癌、腺扁平上皮癌および扁平上皮癌を含む肺癌の動物1匹あたりの発生個数に有意な減少を認めた。また実験2の結果、対照群にくらべてGroup4において肺癌の発生頻度、腺癌の動物1匹あたりの発生個数に有意な減少を認めた。以上の結果より、ラット肺発癌における慢性炎症の発癌促進機序においてCOX-2およびNOラジカルが関与すること、これらを抑制する薬剤により肺癌の発生を化学予防しうる可能性が示唆された。

O-21 F344 ラットにおける胃腸管間葉系腫瘍の組織学および免疫組織化学的特徴

○渋谷一元、杉本加代子、平井卓哉、布谷鉄夫、田島正典（日生研）

Histological and Immunohistochemical Characteristics of Gastrointestinal Mesenchymal Tumors in F344Rats

KAZUMOTO SHIBUYA, KAYOKO SUGIMOTO, TAKUYA HIRAI, TETSUO NUNOYA, MASANORI TAJIMA
(Nippon Institute for Biological Science)

ヒトの胃腸管間葉系腫瘍 (gastrointestinal mesenchymal tumor:GIMT) には、平滑筋あるいは神経組織への分化を示すものの他に、明瞭な平滑筋、神経組織あるいは血管系組織への分化を示さない腫瘍が含まれ、胃腸管間質腫瘍 gastrointestinal stromal tumor(GIST) と呼ばれている。今回我々は、F344 ラットに発生した GIMT について病理組織学的に観察し、それらの組織分類と免疫組織化学的性状について検討したのでその概要を報告する。

【材料と方法】材料は、当所において実施した F344/ DuCrj ラットの長期毒性試験において観察された GIMT 19 例の 10%中性緩衝ホルマリン固定材料である。これら材料から HE 染色標本を作製し、病理組織学的に観察した。加えて、AZAN、PAS および鍍銀染色を実施するとともに、免疫組織化学的に S-100protein(S100)、vimentin(VIM)、neurofilament(NF)、 α -smooth muscle actin(SMA) および glial fibrillary acidic protein(GFAP)の局在について検索した。

【成績】GIMT は、前胃に 3 例、空腸に 10 例、盲腸に 5 例および結腸に 1 例みられた。これらの腫瘍は粘膜固有層から筋層、漿膜にかけて攔慢性の増殖を示していた。前胃の 3 例および盲腸の 1 例は紡錘形あるいは多形性細胞からなり、GFAP、VIM および S100 陽性であることから神経鞘腫と診断され、空腸の 3 例は blunt-ended の長円形核をもつ紡錘形細胞からなり、SMA 陽性であることから平滑筋腫/肉腫と診断された。空腸の 2 例は増殖活性の高い紡錘形細胞からなり、膠原線維が豊富で免疫組織化学的に神経原性あるいは筋原性の特徴を示さないことから線維肉腫と診断された。空腸の 3 例、盲腸の 2 例および結腸の 1 例は類上皮様、多形性あるいは紡錘形細胞からなり、S100 陽性を示したことから神経原性腫瘍の可能性が考えられた。残りの 4 例は紡錘形あるいは多形性細胞からなり、全ての抗体に対して陰性であった。

【考察】以上の結果から、F344 ラットにみられる GIMT には明らかな平滑筋あるいは神経組織への分化がみられず、GIST に分類される腫瘍が存在するものと考えられた。

O-22 Donryu ラットを用いて胃底腺切除の X 線誘発腸上皮化生の影響

木下健、○渡辺敦光、石村美祐、白木克尚、陸恵梅、小原正之、上坂敏弘、荘司俊益、加藤修

(広大原医研環境変異)

Effect of subtotal gastrectomy in the fundic gland on development of intestinal metaplasia induced by X-irradiation in Donryu rats

KEN KINOSHITA, HIROMITSU WATANABE, YOSHIMASA ISHIMURA, KATSUHISA SHIRAKI, HUIMEI LU, MASAYUKI OHARA, TOSHIHIKO UESAKA, SHUNKEI SHOJI, OSAMU KATOH

(Dept of Environment and Mutation, Res. Inst. Radiat.Biol.Med., Hiroshima Univ)

【目的】腸上皮化生の誘発は胃内の酸度の低下がその原因であろうと我々は考えている。そこで今回は胃底腺切除を行い X 線照射の影響を検討した。

【方法】8 週令の Crj:Donryu 雄ラットに胃底腺切除を行い、2 カ月後に 10Gy の X 線を胃部に 3 日間隔で 2 回照射した。動物は X 線照射開始 6 カ月後に屠殺剖検した。実験群は、手術のみ群 (第 1 群)、手術+ X 線照射群 (第 2 群)、X 線照射群 (第 3 群) 並びに無処置対照群 (第 4 群) を設けた。

【結果】有効動物数は第 1 群 22 匹、第 2 群 19 匹、第 3 群 20 匹並びに第 4 群は 19 匹であった。手術群の体重は第 4 群に比べて有意に減少した。アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性を持つ腸上皮化生の発生率は 73% から 90% で全ての群で認められたが、統計的な差は認められなかった。その数は第 1 群で 9.5 ± 12.4 腺管、第 2 群では 42.5 ± 71.3 腺管、第 3 群では 28.0 ± 22.0 腺管、第 4 群では 4.9 ± 5.1 腺管であった。第 2 群で第 1 群並びに第 4 群に比べて有意に増加した。組織学的に胃の形質を持ち杯細胞を持つ A 型が潰瘍周縁に認められた。第 2 群では 70% の発生率で第 3 群は 32% で両者の間に統計的有意差が認められた ($P < 0.05$)。パネート細胞を持たない腸型腺窩 (B 型) は第 1 群で 36%、第 2 群で 65%、第 3 群で 84%、第 4 群で 11% と X 線照射群で増加の傾向を呈した。又その数は第 2 群 (0.8 ± 1.4 個) は第 1 群 (5.6 ± 7.1 個) よりも有意に増加した。パネート細胞を持つ腸上皮化生 (C 型) は X 線照射群で認められた。全腸上皮化生の発生率は第 1 群 (50%) は第 2 群 (85%) 並びに第 3 群 (84%) に比べて有意に減少した。又その数も第 1 群 (5.0 ± 6.5 個) は第 2 群 (10 ± 9 個) に比べて有意に減少した。

【結論】X 線で誘発される腸上皮化生は胃底腺切除を行うと X 線単独照射よりも腸上皮化生が多く認められた。この結果は我々が以前に提案した、腸上皮化生は胃底腺の萎縮若しくは機能不全による酸の分泌の減少で生じるのではないかという作業仮説を支持していると思われる。

O-23 MNU 腺胃発癌過程における p53 遺伝子の役割

○山本昌美¹、塚本徹哉¹、酒井洋樹^{1,2}、白井紀充^{1,3}、大垣比呂子⁴、立松正衛¹

(¹愛知がんセ・研・1病、²岐阜大・農・家畜病理、³ファイザー製薬・中央研、

⁴Unit of Molecular Pathology・IARC, France)

Usefulness of nullizygous p53 knockout mice for N-methyl-N-nitrosourea induced stomach carcinogenesis

MASAMI YAMAMOTO¹, TETSUYA TSUKAMOTO¹, HIROKI SAKAI^{1,2}, NORIMITSU SHIRAI^{1,3}, HIROKO OHGAKI¹, MASAE TATEMATSU¹ (¹Lab.Pathol., Aichi Cancer Center Res. Inst., ²Dept. of Vet. Pathol., Gifu Univ., ³Central Res. Pfizer Pharmaceuticals Inc., ⁴Unit of Molecular Pathology, IARC, France)

【目的】 癌抑制遺伝子として知られている p53 遺伝子の knockout (KO) マウスは短期発癌性試験の実験モデル動物として注目されている。今回我々は N-methyl-N-nitrosourea (MNU) に対する p53 KO マウス感受性の短期および長期観察と p53 遺伝子検索を行い、MNU 誘発胃発癌試験における p53 KO マウスの有用性と p53 の MNU 腺胃発癌過程における役割を検討した。

【方法】 5 週令 wild-type (+/+), heterozygous (+/-), null (-/-) 雄 p53KO に、MNU 30 ppm を、4 週間隔週飲水投与し、5 週後に屠殺 (実験 1)、あるいは 10 週間投与し、15 週後に屠殺した (実験 2)。5 週令雄および雌 p53KO マウス (+/+), (+/-) に、MNU 120 ppm または 30 ppm を、10 週間隔週飲水投与し、40 週後に屠殺した (実験 3)。胃腫瘍発生数を検索し、病変部から DNA を抽出し、PCR-SSCP 法で p53 exon 5-8 の遺伝子検索を行った。

【結果】 (実験 1) MNU 投与 (-/-) は (+/+) および (+/-) に比べ、胃前癌病変と考えられている pepsinogen 1 altered pyloric gland 数が、有意に高かった。(実験 2) MNU 投与群において過形成、腺種、および腺癌の発生頻度が (+/+) および (+/-) に比べて (-/-) において有意に高く認められた。(実験 3) (+/+) と (+/-)、また同じ遺伝子型の雄と雌のあいだで腫瘍発生頻度に有意な差は認められなかった。病変部 DNA の PCR-SSCP 検索の結果、いずれの病変部でも p53 遺伝子変異は認められなかった。

【考察】 (1) p53 (-/-) は MNU 短期発癌試験のモデル動物として有効であった。(2) p53 遺伝子は MNU の直接の標的ではないが、p53 (-/-) においては DNA ダメージを受けた変異細胞の除去がおこりにくいため、感受性が高くなると考えられた。

O-24 リモノイド (obacunone, limonin) による azoxymethane 誘発ラット大腸変異腺窩巢の抑制

○田中卓二¹、甲野裕之²、川端邦裕³、和田啓爾⁴

(¹金沢医大・1病理、²金沢医大・血清、³岐阜大・1病理、⁴北海道医療大・薬・衛生化学)

Citrus limonoids (obacunone and limonin) inhibit azoxymethane-induced aberrant crypt foci in rats

Takuji Tanaka¹, Hiroyuki Kohno², Kunihiro Kawabata³, and Keiji Wada⁴

(Departments of ¹Pathology and ²Serology, Kanazawa Medical University, ³Department of Pathology, Gifu University School of Medicine, and ⁴Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido Iryo University)

【目的】 リモノイドには解毒酵素 glutathione S-transferase (GST) の誘導作用を有するものがあり (J Agric Food Chem 37: 878, 1989)、limonin (Limo) や nomilin に関しては、これまでハムスター頬部発がん抑制作用やマウス前胃発がん抑制作用が報告されている (Carcinogenesis 10: 1535, 1989; Nutr Cancer 17: 1, 1992)。今回、柑橘の苦味物質として知られている obacunone (Oba)、limonin (Limo) について、その大腸発がん修飾作用を予測する目的で azoxymethane (AOM) 誘発ラット大腸変異腺窩巢 (ACF) と肝解毒酵素に対する修飾作用を検討した。

【方法】 96 匹の雄 F344 ラットを用い、AOM (20 mg/kg 体重) を週 1 回、計 2 回皮下注射して ACF を誘発した。Oba, Limo は 0.02%、0.05% の濃度で AOM 投与期間中と投与後にそれぞれ 4 週間混餌投与し、大腸 ACF の頻度と肝 GST, quinone reductase (QR) 活性を測定した。

【結果】 大腸 ACF の頻度は、実験開始後 4 週で AOM 群が 143 ± 14 であったのに対して AOM+0.02% Oba 群で 50 ± 8 、AOM+0.05% Oba 群で 50 ± 11 といずれも 65%* の減少率、AOM+0.02% Limo 群で 65 ± 14 、AOM+0.05% Limo 群で 63 ± 6 とそれぞれ 55%*、56%* の減少率であった (*P<0.05)。実験開始後 8 週では、AOM 群が 149 ± 36 であったのに対して、AOM→0.02% Oba 群で 91 ± 13 、AOM→0.05% Oba 群で 87 ± 13 とそれぞれ 39%、42%* の減少率、AOM→0.02% Limo 群で 107 ± 33 、AOM→0.05% Limo 群で 102 ± 27 とそれぞれ 28%、32% の減少率であった (*P<0.05)。肝 GST, QR 値は両物質投与で上昇した。

【結論】 両物質とも ACF の発生を減少させたが、その抑制作用は AOM との同時投与で著明であった。(厚生省新がん克服 10 年戦略事業による)

— MEMO —

示説要旨

(P-1 ~ 101)

P-1 アニリンを15日間反復経口投与した時のラットの神経系に及ぼす影響

○岡崎 欣正^{1,3}、山下 弘太郎¹、石井 宏幸¹、豊田 直人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、³宮崎大)

The effects on the nervous system after 15-day-repeated oral doses of aniline in rats
YOSHIMASA OKAZAKI^{1,3}, KOTARO YAMASHITA¹, HIROYUKI ISHII¹, NAOTO TOYOTA¹, MINORU
TSUCHITANI¹, ISAO NARAMA², RYOJI YAMAGUCHI³, SUSUMU TATEYAMA³
(¹Mitsubishi Chem. Safety Inst., ²Setunan Univ., ³Miyazaki Univ.)

大量のアニリンの若齢ラットへの単回投与によって後肢の麻痺と脊髄白質の空胞化を特徴とする神経毒性が誘発される(第15回本学会、第128回日本獣医学会)。この神経毒性の特徴をさらに明らかにする目的で、今回はアニリンを15日間にわたってラットに反復経口投与し、神経系に及ぼす影響について検討したので報告する。

【材料および方法】4週齢の雄性Crj:CD(SD)IGSラット、24匹を1群あたり6匹に振り分け、アニリンの100、300あるいは500 mg/kgおよび溶媒対照としてオリーブ油を15日間にわたって反復経口投与した。この間、体重測定(1、3、8および15日目)と一般状態観察(毎日)のほか14日目に詳細な症状観察、着地開脚幅の測定、前後肢の握力測定を実施した。血液学的検査は剖検日(15日目)に心臓から採取した血液について実施した。病理組織学的検査は全身灌流固定後の脳、脊髄、三叉神経、坐骨および脛骨神経ならびに腓腹筋について実施した。

【結果およびまとめ】アニリン500 mg/kg群で3~5日目に4例が死亡した。体重は500 mg/kg群で3日目に減少、8および15日目においても対照群に比べて有意な低値であった。300 mg/kg群では15日目でのみ有意な低値を示した。一般状態の観察では、チアノーゼが500 mg/kg群の1例で2日目にみられた。可視粘膜の蒼白化が3日目から300および500 mg/kg群の全例でみられ、剖検時まで継続した。着地開脚幅の減少傾向および後肢握力の低下傾向が500 mg/kg群でみられたが、これは体重増加抑制と関連した変化と考えられた。血液学的には赤血球数の減少がアニリンを投与した全3群でみられた。また、ヘモグロビン値の減少、MCVの増加、MCHの増加、MCHCの減少、網赤血球率の増加、血小板数の減少が300および500 mg/kg群でみられた。病理組織学的には、15日目まで生存した500 mg/kg群の2例中1例の脊髄白質で軸索周囲腔の拡大による空胞が散発的に認められた。

アニリンを反復投与されたラットは著しい貧血状態に陥ったが、神経機能・行動異常を示す個体はなく、病理学的にも高用量投与で生残した1例で脊髄白質の軽度な空胞化がみられるにすぎなかった。

P-2 アクリルアミドにより誘発されるラット末梢神経障害の形態計測学的評価

○市川一仁、田川義章、熊澤俊彦、奥山 学、水野幸恵、朝枝伸幸
(株)三和化学研究所 安全性研究所)

Morphometric Study of Peripheral Nerves from Rats Intoxicated with Acrylamide.
Kazuhiro ICHIKAWA, Yoshiaki TAGAWA, Toshihiko KUMAZAWA, Manabu OKUYAMA, Yukie MIZUNO and
Nobuyuki ASaeda
(Safety Assessment Laboratory, Sanwa Kagaku Kenkyusho Co.)

【目的】神経毒性試験は、1991年に米国EPAで試験法が策定され、1995年OECDでもガイドラインに取り入れられた。近年日本国内でも本試験法は注目され、ガイドライン化に向けて検討が進められている。今回、我々は神経毒性物質として知られているアクリルアミドをラットに13週間反復投与し、末梢神経に対する影響を形態計測による定量的評価方法を用いて検討した。

【方法】7週齢のCrj:CD系雄ラットにアクリルアミド12mg/kg(生理食塩液に溶解)を13週間腹腔内投与(5日/週)し、全身灌流固定後、坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経を採取した。その後、各神経についてエボン包埋厚切り切片(横断切片)のトルイジンブルー染色標本を作製し、神経束あたり並びに単位面積あたりの有髄神経線維数、異常有髄神経線維の出現頻度を計測した。

【結果および考察】各神経において神経束あたり並びに単位面積あたりの有髄神経線維数の減少が認められた。それらの程度は腓腹神経で最も強く、坐骨神経では軽微であった。また、いずれの神経においても小径線維より大径線維で顕著であった。一方、異常有髄神経線維の計測においては、各神経で軸索変性を示す神経線維の明らかな増加が認められ、髄鞘の肥厚、軸索内のglycogenosomes、軸索の腫大なども軽度な増加を示した。

以上の結果はアクリルアミドによる末梢神経障害の特徴をよく反映していることから、形態計測を用いた定量的評価が末梢神経毒性の検出に有用であることが確認された。なお、各神経の横断面並びに縦断面の電子顕微鏡による観察も実施したので、その結果もあわせて報告する。

P-3 脳血管内皮細胞における GDNF(glial cell line derived neurotrophic factor)/GFR α -1 (GDNF receptor)システムと BBB(blood brain barrier)の機能的変化

○内海博之¹、五十嵐陽²、千葉英樹²、高木司郎¹、阿部俊一¹、森道夫²、澤田典均²
(¹吉富製薬・安研, ²札幌医科大・第二病理)

System of GDNF(glial cell line derived neurotrophic factor) GFR α -1(GDNF receptor) in brain capillary and barrier function of the blood-brain barrier(BBB)

HIROYUKI UTSUMI¹, SHIRO TAKAGI¹, SYUNICHI ABE¹, Yo IGARASHI², HIDEKI CHIBA², MICHIO MORI², NORIMASA SAWADA² (¹Toxicology Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries, Ltd., Department of Pathology, Sapporo Medical University School of Medicine)

【目的】GDNF はアストロサイトから放出される神経栄養因子で神経細胞の生存活性を高めることが知られている。今回我々はこの GDNF と脳血管内皮細胞の関係を検討した。はじめに、ラット大脳血管内皮細胞に GFR α -1 が発現することを確認し、この GFR α -1(GDNF receptor)とタイト結合関連蛋白との関係、ならびに GFR α -1 の発現と BBB 機能の成熟する時期を発生学的に検討した。さらに、ブタ大脳血管内皮細胞を単離・培養し、GFR α -1 の発現を確認するとともに、この細胞の GDNF 存在下での BBB 機能の変化を検討した。

【材料および方法】成熟ラットの各種臓器・組織について、RT-PCR を用いて GFR α -1 の発現を検討した。次に、生後 1—2 1 日後、および 6 カ月後のラット大脳皮質を塗抹状にスライドガラスにひき、エタノール：アセトン 1：1 で固定し、蛍光免疫染色を実施した。一次抗体は抗 GFR α -1 抗体、タイト結合関連蛋白の抗 ZO-1、抗 Occludin、抗 Barmotin 抗体とした。さらに、生後 4—2 1 日後 3 カ月後のラットに Evans blue を腹腔内投与し、2 時間後の大脳薄切切片において、Evans blue の自己蛍光の漏れを蛍光顕微鏡で観察した。また、ブタから大脳血管内皮細胞を単離・培養し、GFR α -1 の発現を RT-PCR・southern blotting で確認した。この細胞をフィルター上に単層培養し、GDNF の存在下あるいは非存在下で、TER(trans-cell の電気抵抗)を測定し、バリア機能と相関する透過性を検討した。

【結果】GFR α -1 はラット大脳皮質の血管内皮細胞に特異的に発現した。発生学的には GFR α -1 は生後 3—7 日後にかけて発現が増強し、生後 10 日後で成熟ラットと同等の発現を示した。タイト結合関連蛋白である ZO-1、Occludin および Barmotin は生後 1 日後から成熟ラットまで同様に発現した。Evans blue による BBB からの漏出試験では、新生児ラットは生後 2—3 週にかけて、成熟ラットと同じ機能を有するようになった。ブタ脳から単離した血管内皮細胞は GFR α -1 を発現し、この培養細胞に GDNF を処理させると TER は上昇し、透過性は低下した。以上の結果より、脳血管内皮細胞における GFR α -1 の発現と BBB の成熟時期は相関し、GDNF/GFR α -1 システムが BBB の機能形成に関与すると考えられた。

P-4 L-システインによるラットの脳病変に関する検討 2 —アポトーシスとの関連—

○萩原里香、澤本 修、栗柄和信
(大塚製薬工場、鳴門研)

L-Cysteine-Induced Brain Damage in Adult Rats : Neuronal Death Related to Apoptosis

Rika Hagiwara, Osamu Sawamoto, and Kazunobu Kurisu

(Naruto Research institute, Otsuka Pharmaceutical Factory Inc., Naruto, Tokushima, Japan)

L-システイン投与により幼若動物で広範囲な脳病変を起こす事は知られているが、成熟動物では限局性の脳病変を惹起すること、さらにその神経細胞死にはアポトーシスが関与する可能性を第 14 回本学会において報告した。今回我々は L-システインによる神経細胞死におけるアポトーシスの関与を確認する目的で電顕、さらに電気泳動による検索を行った。

【材料と方法】6 週齢の SD 系雄ラットに L-システイン 1500mg/kg (5%水溶液)を腹腔内に単回投与後 15, 24 時間、さらに 3, 7 日後 (各群 5 匹)にて灌流固定し、脳について HE 染色、また DNA 断片化を検索する目的で TUNEL 染色、電顕観察、DNA 電気泳動を行った。

【結果および考察】脳の組織変化は大脳皮質および小脳表層部に局在して認められた。すなわち大脳では皮質浅層部の神経細胞の空胞化、pyknosis、重度な例では虚血-再還流病変に類似する梗塞様病変を呈した。小脳では分子層、プルキンエ細胞層、顆粒層の全層にわたる神経細胞の pyknosis、脱落が認められ、経時的なグリア細胞の反応、重度な例では著明な脂肪顆粒細胞の増殖を示す軟化巣を呈した。TUNEL 陽性細胞は小脳で 24 時間後より散発的に認められ、その後 3 日目まで著増した。3 日後の小脳で電顕的にアポトーシス小体、さらに DNA 電気泳動にて明瞭な DNA ラダーを認めた。

L-システインは幼若動物に広範囲な脳病変を形成するとされるのに対し、今回の成熟ラットの病変は質的に幼若動物と同様であるものの、その発現は限局性であった。さらに電顕的、電気泳動の結果から L-システインによる脳病変の進展にアポトーシスが関連することが確認された。また梗塞様病変の形成には何らかの循環障害がからんでいることが示唆された。虚血再還流障害との比較を含めて、現在アポトーシス関連蛋白の免疫組織学的検討を実施中である。

P-5 **ブドウ糖代謝阻害剤 2-DG による海馬遅発性神経細胞死抑制および高体温による抑制阻害効果**

○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)

Prevention of Ischemia-Induced Hippocampal Neuronal Damage by 2-Deoxy-D-Glucose and Failure of the Effects by Induced Hyperthermia

Akira HARA, Yasuhiro YAMADA, Kengo, MATSUNAGA, Kunihiro KAWABATA, Naoki YOSHIMI, Hedeki MORI (Dep. Patholo., Gifu Univ. Med. Sch.)

【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 (Brain Res 806: 274-277, 1998)、低体温あるいは薬剤による DND の抑制効果についても報告してきた (Neurol Res 17:461-464, 1995, J Cereb Blood Flow Metab 18: 819-823, 1998)。今回はブドウ糖代謝阻害剤である 2-deoxy-D-glucose 投与による DND の抑制、および高体温による抑制効果の阻害作用を検討した (Brain Res 840: 167-170, 1999)。

【方法】スナネズミを一過性前脳虚血 96 時間後に環流固定し、HE 染色により障害を受けた細胞数のコントロールに対する比率 (%) を求め、さらに DNA fragmentation を検索する TUNEL 染色を行ない、アポトーシスをきたしていることを確認した。

【結果】1) 2-DG (4g/kg 虚血 5 分後, 2g/kg 虚血 4 時間後) i.p. 投与により、5 分間前脳虚血後、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。2) 虚血 5 分後の 2-DG 投与は、虚血 4 時間後に 2g/kg を追加することにより、濃度依存性に抑制効果を認めた。3) 2-DG (4g/kg 虚血 5 分後, 2g/kg 虚血 4 時間後) i.p. 投与 2 週間後のスナネズミにおいても形態的に神経細胞の保護効果の持続が認められた。4) 虚血中 37、37.5℃ の体温では 2-DG による DND 抑制効果が認められたが、38℃ の高体温は 2-DG の効果を阻害した。

【結論】虚血後の 2-DG 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。2-DG 投与によりブドウ糖代謝が阻害され、低体温による脳保護効果と類似した海馬神経細胞保護効果が認められ、2-DG の有益な作用が示された。

P-6 **CB6F1-Tg rasH2 マウスを用いた Phenobarbital の 26 週間癌原性試験**

○上田明子、北山英太、河南明孝、中沢素邦、内本啓史、上田 誠、俵谷武治、
鷺見信好、岩倉啓子、倉 紘平
(日本新薬・安全研)

Twenty-six week carcinogenicity study of phenobarbital (PB) in CB6F1-Tg rasH2 mice

AKIKO UEDA, EITA KITAYAMA, AKITAKA KAWAMINAMI, MOTOKUNI NAKAZAWA, HIROSHI UCHIMOTO, MAKOTO UEDA, TAKEHARU TAWARATANI, NOBUYOSHI SUMI, KEIKO IWAKURA, KOHEI KURA (NIPPON SHINYAKU CO., LTD. TOXICOLOGY LABO.)

【目的】マウスを用いた長期癌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マウス (CB6F1-Tg rasH2 マウス) を用いた短期癌原性試験が候補として挙げられている。今回、我々はその有用性に関する ILSI-HESI の国際共同研究の一環として、齧歯類において肝臓腫瘍のプロモーターである Phenobarbital (PB) の CB6F1-Tg rasH2 マウス (Tg) を用いた 26 週間癌原性試験を実施した。

【材料および方法】対照群、PB500, 1000 および 1400ppm 群、陽性対照群 (N-methyl-N-Nitrosourea, 75mg/kg 単回腹腔内投与後 14 週間目に剖検) に Tg マウス雌雄各 15 匹を、対照群および PB1400ppm 群に野生型 CB6F1 (non-Tg) マウス雌雄各 15 匹を設定した。各群 8 週齢から投与を開始し、PB は 26 週間混餌投与した。投与期間中は一般状態の観察、体重および摂餌量の測定を行い、26 週目に全生存動物について剖検、臓器重量測定および組織学検査を行った。

【結果】陽性対照群では皮膚・前胃の扁平上皮乳頭腫または扁平上皮癌、悪性リンパ腫、肺腺腫が多く認められた。PB 投与群では中枢作用による歩行失調が Tg の 1000ppm 以上の投与群および non-Tg の 1400ppm 群で投与初期において認められた。剖検では肝肥大が Tg の 1000ppm 以上の投与群および non-Tg の 1400ppm 群で、肝重量の増加が Tg および non-Tg とともに各 PB 投与群で認められ、組織学的には小葉中心性肝細胞肥大を示していた。しかしながら、肝臓を含め、腫瘍発生の増加は Tg および non-Tg とともに認められなかった。

【まとめ】以上の結果、PB を CB6F1-Tg rasH2 マウスに 26 週間混餌投与しても肝臓を含め、全ての臓器において腫瘍の誘発は認められなかった。本試験系モデルは肝臓腫瘍のイニシエーターである 1,2-Diethylnitrosamine を投与しても同様に肝臓腫瘍を誘発しないこと 1) から、肝臓に対する感受性は低いものと考えられた。

P-7 CB6F1-Tg-rasH2 マウスを用いた Ampicillin の 26 週間がん原性試験

○足立民子、佐々木義文、谷本憲昭、桑村有規、西村友成、藤原利久、小林欣滋、
小口敦、山村高章、湯浅啓史、乾俊秀
(田辺製薬・安全研)

26 weeks carcinogenetic study of Ampicillin in CB6F1-Tg-rasH2 mice

TAMIKO ADACHI, YOSHIFUMI SASAKI, NORIAKI TANIMOTO, YUKI KUWAMURA, TOMONARI NISHIMURA,
TOSHIHISA FUJIWARA, KINJI KOBAYASHI, ATSUSHI KOGUCHI, TAKAAKI YAMAMURA, HIROFUMI YUASA,
and TOSHIHIDE INUI

(Safety Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co.,Ltd.)

【目的】がん原性試験代替法の1つとして、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マウスである Tg-rasH2 マウスを用いた短期がん原性試験が挙げられており、その有用性を確認するため、ILSI-HEIS が中心となり国際共同研究が進められている。我々はその一環として、非発がん性物質である抗生剤 Ampicillin(ABPC)を用いて、26 週間がん原性試験を行った。

【方法】Tg-rasH2 マウスに ABPC を 0, 350, 1000 および 3000mg/kg の用量で、ワイルドタイプ CB6F1(Non-Tg) マウスには 0 および 3000mg/kg の用量で 9 週齢から 26 週間連続経口投与した。陽性対照群として 9 週齢の Tg-rasH2 マウスに N-methyl-N-Nitrosourea(MNU)75mg/kg を単回腹腔内投与した。各群とも雌雄各 15 匹を配した。なお、ABPC の最高用量は National Toxicology Program(NTP)で実施された長期がん原性試験と同じであった。

【結果】陽性対照群では投与後 8 週以降途中死亡例が発現し、投与後 18 週に生存動物を剖検した。同群の組織学的検査では、皮膚および前胃の乳頭腫、悪性リンパ腫などが認められた。一方、ABPC 群では Tg-rasH2、Non-Tg マウスともに軟便および体重増加抑制がみられたが、途中死亡例の増加はなく、投与期間終了時に剖検を行った。組織学的検査では、少数の Tg-rasH2 マウスに皮膚の乳頭腫、脾臓の血管肉腫などが散見されたが、対照群および投薬群ともその発生頻度は低く、投薬に関係のない自然発生腫瘍と判断された。

【考察】従来のマウスを用いた長期がん原性試験において陰性の結果を示した ABPC は、Tg-rasH2 マウスを用いた短期がん原性試験においても同様に発がん性はないものと判断された。

P-8 Tg-rasH2 マウスにおける sulfamethoxazole の 26 週間がん原性試験

○鳥井幹則、伊藤文男、薮内一也、三好貴子、松井信志、花房友行、松嶋周一、岡田 学、
高須伸夫、丸山敏之
(塩野義製薬・新薬研)

Twenty-six-week carcinogenicity study of sulfamethoxazole in TgHras2/CB6F1 mice.

MIKINORI TORII, FUMIO ITOH, KAZUYA YABUUCHI, TAKAKO MIYOSHI, SHINJI MATSUI, TOMOYUKI HANAFUSA, SHUICHI MATSUSHIMA, MANABU OKADA, NOBUO TAKASU, TOSHIYUKI MARUYAMA
(Develop. Res. Lab., Shionogi Co. Ltd.)

【緒言】トランスジェニックマウスを用いるがん原性代替試験に関する ILSI-HESI 国際共同研究の一環として、Tg-rasH2 を用いて non-genotoxic limited rodent carcinogen とされる sulfamethoxazole (以下、SMX)のがん原性試験を実施したので、その成績を報告する。

【方法】8 週齢の Tg-rasH2(以下、Tg)及びその wild type マウス(以下、non-Tg)を 1 群雌雄 15 例用い、SMX の 0, 25, 100, 400 mg/kg/day を Tg に、0, 400 mg/kg/day を non-Tg に 26 週間混餌投与した。陽性対照として N-methyl-N-nitrosourea(以下、MNU)を 75 mg/kg 単回腹腔内投与した(17 週で生存全例を中間殺)。一般状態観察、体重、摂餌量、血漿中薬物濃度、血液学的検査、器官重量測定を行い、諸器官・組織を病理組織学的に検索した。

【結果および結論】MNU 群では、摂餌量減少を伴う体重増加抑制がみられ、雄 8 例、雌 4 例が途中死亡した。病理検査では悪性リンパ腫が高頻度に認められ、前胃や皮膚の乳頭腫がほぼ全例で観察された。SMX 群では、400 mg/kg 投与 Tg 及び non-Tg 群において摂餌量減少を伴う体重増加抑制が認められたが、SMX 投与に起因した死亡例の発生はなかった。SMX 群の病理検査では、甲状腺の濾胞上皮肥大や過形成が用量に依存して認められたが、腫瘍性病変は認められなかった。この他、肺に腺腫、皮膚の乳頭腫、脾臓の血管肉腫などが対照群も含めて散見されたが、統計学的に有意差なく、いずれも自然発生腫瘍とみなされた。SMX の Tg における催腫瘍作用は陰性と結論できる。

P-9 CB6F1-Tg-rasH2 マウスに対する clofibrate の発がん感受性に関する検討

○今井俊夫, 青木豊彦, 石原和明, 安藤智美, 園田二郎, 早川和宏, 福田種男, 細川 暁,
築館一男, 佐神文郎
(エーザイ・薬理安全研)

Carcinogenic susceptibility of CB6F1-Tg-rasH2 mice to clofibrate

Toshio Imai, Toyohiko Aoki, Kazuaki Ishihara, Tomomi Ando, Jiro Sonoda, Kazuhiro Hayakawa, Taneo Fukuta, Satoru Hosokawa, Kazuo Tsukidate, Fumio Sagami

(Drug Safety & Disposition Research Laboratories, Eisai Co., Ltd.)

【緒言】ペルオキシゾーム増生剤である clofibrate は、ラットを用いた長期がん原性試験において、肝腫瘍を誘発することが確認されている。今回、長期がん原性試験の代替法として ILSI-HESI の国際共同研究において検討が進められている、ヒトプロト型の c-Ha-ras 遺伝子を導入した CB6F1-Tg-rasH2 (rasH2) マウスの有用性を検討する目的で、clofibrate の 26 週間がん原性試験を実施した。

【材料および方法】8 週齢の rasH2 マウスを雌雄各 75 例および CB6F1-nonTg-rasH2 (non-Tg) マウスを雌雄各 30 例使用した。rasH2 マウスを対照群, clofibrate 125, 250, 500mg/kg 群および陽性対照群 (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosourea; MNU, 75mg/kg 腹腔内単回投与 14 週間後剖検) に、non-Tg マウスを対照群および clofibrate 500mg/kg 群に分け、26 週間強制経口投与後剖検し、病理組織学的に検索した。

【結果】MNU 群では、前胃乳頭腫、悪性リンパ腫、肺腺腫などが頻発した。clofibrate 投与群においては、rasH2 マウス雄の対照群で 1/15 例、雄の 250 および 500mg/kg 群で各々 3/15 例に肝細胞腫がみられた。rasH2 マウス雌および non-Tg マウス雌雄のいずれの群にも肝腫瘍は認められなかった。

【結論】rasH2 マウスにおける clofibrate の 26 週間がん原性試験を実施した結果、250 および 500mg/kg 群において肝細胞腫の発現頻度の増加が認められ、rasH2 マウスは clofibrate に対して肝を標的とした発がん感受性を示すことが明らかとなった。

P-10 CB6F1-Tg-rasH2 マウスへの低頻度、高用量の cyclophosphamide 投与による発がん性の検出

○久田 茂, 谷藤久人, 柴田誠司, 永嶋雅子, 佐藤敦子, 磯部充威, 森本秀樹, 飯塚和弘,
増田修治, 飯田祝子 (帝国臓器安全研)、臼居敏仁 (実中研)

Carcinogenic effects of cyclophosphamide observed in CB6F1-Tg-rasH2 mice given intermittently higher dosage for 26 weeks

SHIGERU HISADA¹, HISATO TANIFUJI¹, SEIJI SHIBATA¹, MASAKO NAGASHIMA¹, ATSUKO SATO¹, MITSUI ISOBE¹, HIDEKI MORIMOTO¹, KAZUHIRO IIZUKA¹, SHUJI MASUDA¹, NORIKO IIDA¹, TOSHIMI USUI²

(¹Safety Res. Dep., Teikoku Hormone, ²CIEA)

【背景】ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入した CB6F1-Tg-rasH2 マウスは、発癌物質の投与により 6 ヶ月以内に腫瘍が発生することから、短期がん原性試験モデルとして有望視されている。しかしながら、山本らの報告では、ヒトおよび動物の発癌物質である cyclophosphamide (以下 CP) を最高 30mg/kg の用量で週 2 回、25 週間強制経口投与した rasH2 マウスには、同腹仔の非遺伝子導入 non-Tg マウスと比較して有意な腫瘍発生の増加が認められなかった。

【方法】我々は、0, 30, 50, 70 および 90mg/kg の用量で 4 週間の用量設定試験を行い、CP の週 2 回投与では 50mg/kg 以上の長期投与は困難であるが、週 1 回投与では 90mg/kg 以上で長期投与が可能であること、および、いずれの場合にも 70mg/kg 以上で雌に膀胱移行上皮の単純過形成が発生する事を確認した。これらの結果を基にして、rasH2 マウスが CP の発がん性を検出できるかどうかを再確認するために、rasH2 マウスおよび non-Tg マウスに 0, 50, 100 及び 150mg/kg の用量で CP を週 1 回、26 週間強制経口投与した。

【結果】CP 投与 rasH2 マウスでは、雌で移行上皮の高度な乳頭状-結節状 (PN) 過形成および癌及がが発生し、雄で PN 過形成の発生率が増加した。ハーダー腺では雌で過形成、腺腫及び腺癌が、雄では過形成及び腺腫が発生した。さらに細気管支/肺腺腫の発生率が雌で増加した。

【結論】遺伝子改変動物を用いる短期がん原性試験における高用量の選択は、フルスケールがん原性試験と同様に、連続投与下におけるわずかな体重減少等の指標を根拠にしてなされることが多い。しかし、今回の実験からは、rasH2 マウスに最大耐量の CP を頻回投与するよりも、投与頻度を減らしてより高い用量で CP を間欠投与した場合に、CP の発がん性が明白に示されることが判明した。従って、rasH2 マウスを用いて被験物質の発がん性を評価する場合に、最高用量あるいは投与スケジュールは機械的に決めるべきではなく、被験物質の特性に応じて、ケースバイケースで決定する必要があると思われた。

P-11 ラット胎仔初代肺細胞培養系における Bleomycin (BLM) の影響

○猪又晃、井上智彰、堀井郁夫

(日本ロシユ研究所・前臨床科学研究部)

Effects of Bleomycin (BLM) on fetal rat primary lung cells

AKIRA INOMATA, TOMOAKI INOUE, IKUO HORII

(Dept. of Preclinical Sciences, Nippon Roche Research Center)

【目的】ラット胎仔初代培養肺細胞（単層およびスフェロイド培養系）を用い、ラットにおいて間質性肺炎および肺線維症を誘発することで知られる Bleomycin (BLM) の影響について検討したので報告する。

【方法】胎生 19 日齢（陰栓確認：0 日）の SD ラット胎仔から肺を摘出し、単離細胞分散液を調製した。単層培養系では、予め単離細胞を上皮細胞と線維芽細胞とに分離し、プラスチックプレートに分注後、37°C、5%CO₂にて培養した。一方、スフェロイド培養系では、単離細胞分散液をそのまま Poly-HEMA コートプレートに分注し、単層培養系と同一条件下でロータリーシェイカー上で培養した。各々 1、7 日間の前培養の後、0、10、100 µg/ml の濃度で BLM を添加し、単層培養系では培養上清中 LDH 活性測定および形態観察、スフェロイド培養系については、病理組織学的検索を実施した。

【結果】単層培養系において、BLM 処理により上皮細胞群において培養上清中の LDH 活性が用量相関的に著明に上昇したが、線維芽細胞群において変化は認められなかった。また、スフェロイド培養系では 7 日間の前培養後、表層に上皮様細胞が再配列し、内部に管腔構造を有するスフェロイドが形成され、BLM 処理により、用量相関的に上皮様細胞の変性、壊死、間質領域の浮腫性変化および管腔構造の拡張等が認められた。

【結論】ラット胎仔初代培養肺細胞を用いた培養系から得られた結果は、in vivo での BLM の肺傷害作用を反映しており、肺に対する化合物の毒作用を解明する上で重要であると考えられた。

P-12 ラット肺発癌に及ぼす砒素の影響

○清家則孝、鰐淵英機、魏民、小川元女、金子雅宏、福島昭治

(大阪市大・医・1 病理)

The Promoting Effect of Dimethylarsinic Acid on Rats Lungcarcinogenesis

NORITAKA SEIKE, HIDEKI WANIBUCHI, MIN WEI, MOTOME OGAWA, MASASHIRO KANEKO SHOJI

FUKUSHIMA

(1st Dept. Pathol., Osaka City Univ. Med. Sch.)

【目的】砒素は環境中に広く存在し、疫学的にヒトに対する発癌性が明らかになっている。無機砒素の哺乳類での尿中代謝物である dimethylarsinic acid (DMA) が膀胱、肝、腎、甲状腺に対する発癌を促進することは見いだされているが、肺発癌に及ぼす影響はほとんど報告されていない。そこでラット多臓器中期発癌試験法を用いて DHPN 誘発のラット肺発癌に及ぼす DMA の影響を検討した。

【方法】8 週齢の F344 ラット 60 匹を用い、肺発癌物質である N-bis(2-hydroxypropyl)-nitrosamine(DHPN)を 0.1%の濃度で 1 週間、飲料水で投与し、1 週間の休薬後に DMA を飲料水にて 200、100ppm の濃度で 30 週間投与した。対照群として DHPN 投与後に水道水を投与する群及び無処置群を設けた。実験開始後 32 週で屠殺した。肺を約 3mm の厚さで全割し、それぞれ HE 染色を行い、上皮病変を過形成、腺腫、腺癌の 3 種類にラットごとに分類した。

【結果】DHPN 投与群において DMA 投与による体重抑制は認められなかった。DHPN のみ、DHPN と DMA100ppm または 200ppm 投与群とも肺に過形成、腺腫、腺癌の形成がみられ、それらの個数では DMA 投与群、DHPN のみ投与群で有意差は認められなかった。

【結論】ラット肺発癌に対して DMA の飲料水投与は促進作用を示さないことが明らかとなった。

P-13 Diethylnitrosamine によって惹起された気道病変：p53 ヘテロ欠損マウスを用いた単回腹腔内投与による6ヵ月発癌性試験で認められた変化

○勝田 修、千田哲士、岩井 淳、長谷川良美、土居卓也、武知雅人、土谷 稔
(三菱化学安科研)

Diethylnitrosamine-induced airway tract toxicity: a single dose carcinogenicity study for six months in heterozygous p53 knockout mice

OSAMU KATSUTA, TETSUO CHIDA, ATSUSHI IWAI, YOSHIMI HASEGAWA, TAKUYA DOI, MASATO TAKECHI, MINORU TSUCHITANI (Mitsubishi Chem. Safety Inst.)

p53ヘテロ欠損(p53KO)マウスを用いた短期発癌性試験を実施するにあたり、基礎データを得る目的で、遺伝子障害性発癌物質であるDiethylnitrosamine(DEN)を本系統マウスに単回腹腔内投与した後6ヵ月間観察し、病理学的検査を行った。その結果、腫瘍性変化とは別に、DENによる毒性影響が気道に強く現れた。今回はそれらの病理像について報告する。

【材料と方法】 5週齢のp53KOマウス雌雄各45匹と同腹の野生型マウス雌雄各30匹を免疫生物研究所から購入した。馴化検査後、15匹/群、5匹/ケージ宛でp53KOマウスを3群、野生型マウスを2群に分けた。6週齢時に、p53KOマウスには50あるいは100mg/kgのDENを、野生型マウスには100mg/kgのDENを1回腹腔内投与した。両系統のマウスとも溶媒対照として生理食塩液投与群を設けた。投与後6ヵ月間飼育観察した後計画解剖を行い、全身臓器について病理組織標本作製した。途中死亡動物も同様に病理検査を行った。

【結果】 DENによる急性肝障害のため、p53KO100mg/kg群の雄2例、雌3例、野生型100mg/kg群の雄1例、雌4例が投与後2週までに死亡した。組織検査の結果、p53KOマウスでは気管支/肺胞上皮腺腫が100mg/kg群の雌1例、前胃粘膜の乳頭腫が50mg/kg群の雄1例、皮下の横紋筋肉腫が100mg/kg群の雄1例に認められた。野生型マウスでも気管支/肺胞上皮腺腫が100mg/kg群の雌1例、前胃粘膜の乳頭腫が100mg/kg群の雄1例に認められた。両系統のマウスとも、肝臓に腫瘍は発現しなかった。ところが、DENによる毒性影響が気道で顕著に認められ、鼻腔と細気管支の傷害が際だっていた。鼻腔では嗅粘膜上皮の再生が特に顕著であった。再生上皮にはほぼ正常に復した部分と、呼吸上皮化生を起こした部分があり、後者ではしばしばエロジオン好性変化が伴っていた。細気管支では粘膜上皮の再生による扁平上皮化生、周囲組織の線維化が高頻度に認められた。これらの変化は50mg/kg群より100mg/kg群で重度であったが、系統間に差はなかった。また、死亡動物の気道では粘膜上皮の壊死・剥離が目立っていた。

【考察】 DENによる気道の発癌には壊死後の細胞増殖に起因した遺伝子変異もその可能性として考えられる。

P-14 Diethylnitrosamine (DEN) によるマウス気道病変の経時的解析

○河野友紀子、勝田 修、千田哲士、岩井 淳、友成由紀、武知雅人、土谷 稔
(三菱化学安科研)

Diethylnitrosamine (DEN) induced airway tract toxicity: a time course study in mice

YUKIKO KAWANO, OSAMU KATSUTA, TETSUO CHIDA, ATSUSHI IWAI, YUKI TOMONARI, MASATO TAKECHI, MINORU TSUCHITANI
(Mitsubishi Chem. Safety Inst.)

先に実施したp53ヘテロ欠損KOマウスを用いたDENの6ヵ月発癌性試験において、鼻腔や気管支でDENに起因した粘膜の再生性変化が高頻度に認められた。そのため、DEN投与後の気道を経時的に観察し、それら組織の動態を検討した。

【材料と方法】 5週齢のC57BL/6NCrjマウス雄40例にDEN80mg/kgを1回腹腔内投与した後3, 6, 12, 24, 48時間、3, 7, 14日目に5例ずつ、また生理食塩液のみを投与した5例を対照として14日目にそれぞれ計画解剖した。全例の鼻腔、気管、肺およびこれら以外のDEN標的器官である肝臓と胃を摘出し、病理組織標本とした。また各ポイント2例ずつ、解剖前2時間にBrdUを腹腔内投与した。

【結果】 気道では、鼻腔の嗅粘膜上皮が最も激的な変化を示した。支持細胞の単細胞壊死が投与後3時間目からすでに起こり、24時間でピークに達し14日目まで持続した。再生上皮は48時間目には出現し、3日目以降は嗅上皮の再構築が始まり、一部では扁平上皮化生や呼吸上皮化生も認められた。気管では12時間目から粘膜上皮の単細胞壊死が散見された。細気管支では粘膜上皮の剥離が3時間目から認められ、24, 48時間目で明瞭になった。気管、気管支とも48時間目以降再生上皮が認められた。肝臓では小葉中心性の肝細胞肥大が3, 6時間目で観察され、12, 24時間目には肝細胞の空胞化へと変化した。48時間から7日目までは単細胞壊死の散発、3日目から14日目までは核分裂像の増数、核カマチンの増加が認められた。胃では腺胃粘膜表層細胞の壊死が3時間目に認められた。免疫染色の結果、鼻腔では6時間目にBrdU陽性細胞数が減少し、24時間目までほとんど認められなかった。48時間目には逆にその数がピークに達し、多くは嗅および呼吸粘膜上皮の基底側で観察された。3日目以降減少傾向を示したものの、陽性細胞は14日目にも背鼻道の嗅粘膜で認められた。肝臓では48時間目以降、散発的に観察されるようになり、その数は14日目にピークに達した。

【まとめ】 気道では、DENによる上皮の壊死とそれに伴う再生性変化が投与後かなり早い時期から起こり、肝臓や胃の動態とは異なることが判明した。

**P-15 ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウスにおける
2,6-dimethylaniline の発癌感受性**

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

Carcinogenic sensitivity of transgenic mice carrying the human prototype c-Ha-ras gene to 2,6-dimethylaniline
YASUHARA KAZUO, MITSUMORI KUNITOSHI, KOUJITANI TAKATOSHI, ONODERA HIROSHI, TAKAGI
HISAYOSHI, TAMURA TORU, HIROSE MASAO
(Div. of Pathol., Natl. Inst. Hlth. Sci.)

【目的】2,6-Dimethylaniline(DMA)はラット鼻粘膜に親和性を持ち、その長期投与により鼻腔腫瘍が誘発されることが報告されている。一方、DMA は動物用医薬品で家畜の鎮静剤として用いられている Xylazine (XZ)の代謝物でもあることから、畜産食品中に残留する XZ のヒトへの影響が懸念されている。今回、短期発癌試験系の動物モデルとして遺伝毒性発癌物質の検出に感受性が高いことが示されているヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入した CB6F1 トランスジェニックマウス (rasH2 マウス) を用いて DMA に対する発癌感受性を検討した。

【方法】9 週齢の雌雄の rasH2 マウスおよび同腹仔の非遺伝子導入 CB6F1 マウス (Non-Tg マウス) をそれぞれ 2 群に分け、一方に DMA 3000ppm 混餌飼料、他方に基礎飼料を 26 週間自由に摂取させた。実験終了時、生存動物全てを剖検し、病理組織学的に検索した。

【結果】雌雄の rasH2 および Non-Tg マウスともに DMA 群で明らかな体重増加抑制が認められた。組織学的に DMA 投与に起因する腫瘍の誘発は認められなかったが、投与した全動物の鼻腔に嗅腺の萎縮、腺管の増生、呼吸上皮化生、また、嗅上皮の配列不整、呼吸上皮化生が認められた。なお、鼻腔で観察されたこれらの病変の程度は雌雄ともに Non-Tg マウスに比べ rasH2 マウスで重篤であった。

【考察】rasH2 マウスを用いた今回の実験では、DMA 投与により如何なる臓器にも腫瘍の誘発は認められなかった。これは、DMA がラット鼻腔発癌物質であり、培養細胞を用いる姉妹染色分体交換試験は陽性ではあるが、Ames 試験は陰性であり、明らかな遺伝毒性物質ではないために発癌性が検出出来なかったものと考えられる。しかし、DMA のラットでの発癌メカニズムとしては嗅腺の萎縮、再生や炎症性細胞浸潤による修飾作用等による、非遺伝毒性発癌メカニズムが関与するものと考えられることから、rasH2 マウスにおいても DMA の投与期間を延長することにより、嗅腺の萎縮や腺管の増生に続き鼻腔腫瘍が Non-Tg マウスより早期に誘発される可能性が推察された。

**P-16 ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウスにおける
urethane 誘発肺増殖性病変に対する Cinnamaldehyde の修飾作用**

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

Modifying effects of cinnamaldehyde on the development of lung proliferative lesions induced by urethane in transgenic mice carrying the human prototype c-Ha-ras gene.
TORU TAMURA, KUNITOSHI MITSUMORI, KAZUO YASUHARA, TAKATOSHI KOUJITANI, HIROSHI ONODERA, HISAYOSHI TAKAGI, MASAO HIROSE
(Div. of Pathology, National Inst. of Health Sci.)

【緒言】現在まで、タバコ煙のみによる動物への発癌性は証明されていないものの、タバコ煙の長期暴露が、マウスの自然発生性もしくは発癌物質誘発性の肺腫瘍発生を促進することが明らかとなっている。Urethane(UR)はタバコ煙中に含まれる化合物の1つで、マウスに肺腫瘍を誘発することが報告されている。また食品添加物として広く用いられている Cinnamaldehyde(CNMA)もタバコ煙中に含まれる化合物の1つで、Rec-assay や in vitro の染色体異常試験では陽性を示し、肺発癌への影響が懸念される。今回、遺伝毒性発癌物質に高感受性であるヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウス(CB6F1-Tg rasH2 マウス:Tg(+))マウスを用いて、UR で誘発される肺増殖性病変に対する CNMA の修飾作用を検討した。

【方法】UR 250mg/kg を 8 週齢の雄 Tg(+))マウス及びその同腹子である非遺伝子導入 CB6F1 マウス(Tg(-))マウス各 20 匹に 1 回腹腔内投与し、その 1 週間後から各々 12 匹に 5000ppm の CNMA 混合飼料ないし 8 匹に基礎飼料を自由摂取させた。また UR 無処置 (溶媒のみ投与) の群も設け、同様の処置を行った。26 週間後に全生存動物を屠殺し、肺について病理組織学的検索を行った。

【結果】Tg(+))マウスの UR 単独群で 3 例、UR+CNMA 群で 4 例が死亡した。病理組織学的には、Tg(+))マウスでは各群に肺胞上皮過形成が散見され、さらに CNMA 単独群を除く無処置群、UR 単独群および UR+CNMA 群に腺腫、もしくは癌の発生が認められた。しかし UR 単独群と UR+CNMA 群の間で、これら肺増殖性病変の発生頻度ならびに 1 個体あたりの発生個数に統計学的な差は認められず、また発生した腺腫、癌の PCNA 標識率にも顕著な差は認められなかった。Tg(-))マウスにおいても無処置群、UR 単独群ならびに UR+CNMA 群に肺胞上皮過形成もしくは腺腫が観察されたが、発生は Tg(+))マウスと比べて低頻度、かつ群間に差は認められなかった。

【結論】今回の実験条件下では、CNMA は rasH2 マウスの UR 誘発肺増殖性病変に対して修飾作用を示さず、CNMA が肺増殖性病変を促進させる可能性は著しく低いことが示唆された。

P-17 高 PTHrP 血症によるラットの切歯病変

○加藤淳彦¹、唐沢弥生¹、斉藤英美²、小沼悦朗²、鈴木雅実¹、二木力夫³、杉本哲朗¹
(中外製薬¹安全研、²創薬2研、³SLA研)

Incisor change induced by excessive PTHrP in rats

Atsuhiko KATO, Yayoi KARASAWA, Hidemi SAITO, Etsuro ONUMA, Masami SUZUKI, Rikio NIKI, Tetsuro SUGIMOTO (¹Safety Assessment Laboratory,²Pharmaceutical Research Laboratory II, Chugai Pharmaceutical CO.,LTD.,³SLA Research, INC.)

PTHrP は paracrine/ autocrine 因子として骨/軟骨の発達、平滑筋トーンの調節等の様々な生理機能を持ち、また悪性腫瘍に伴う高 Ca 血症 (HHM) の一因となることが知られている。PTHrP 産生腫瘍移植 HHM モデルラットを病理組織学的に検索したところ、高 PTHrP/ Ca 血症に関連する上皮小体の囊胞性萎縮、腎臓の尿細管石灰沈着、骨における活性化破骨細胞の増加および海綿骨の減少等の変化に加え、PTHrP との関連が明らかでない切歯の破折がみられた。そこで、PTHrP と切歯病変との関連を明らかにする目的で病理組織学的に検討した。

〈材料と方法〉8週齢のヌードラット (F344/N jcl-rnu) を用い、PTHrP 産生腫瘍 (ヒト肺大細胞癌株; LC-6) を移植する群 (LC-6群, n=5) と無処置対照群 (対照群, n=3) を設定した。腫瘍移植後 12週に剖検し、下顎切歯の 20%中性緩衝ホルマリン固定、脱灰パラフィン包埋 H-E 染色標本を作製した。なお、剖検時の血中イオン化 Ca 濃度は LC-6群で、2.44mmol/L、対照群で 1.39 mmol/L、血中 PTHrP 濃度は、LC-6群で 46.4 pmol/L、対照群で測定限界以下であった。

〈結果および考察〉齧歯類の切歯は生涯成長し、口唇側をエナメル質、舌側をセメント質が覆う象牙質と、その内部にある歯髄から成る。象牙、エナメル、セメントの各芽細胞は、基質表面に配列し接着面へ付加的に基質を分泌するとされている。LC-6群では、象牙芽細胞の配列が乱れ、象牙芽細胞間あるいは歯髄にも基質が分泌され、一部の象牙芽細胞はこの基質に取り囲まれていた。さらに基質に取り囲まれた象牙芽細胞が成長とともに移動した部位では、同細胞が壊死し、象牙質内の空胞として観察された。また象牙細管の消失、好塩基化など、象牙基質の変化もうかがわれた。このような変化は、切歯の口唇側で顕著で、舌側では極めて軽微であった。一部の例では、歯髄内の骨形成、セメント質外側の膠原線維増生およびエナメル芽細胞の配列異常もみられた。なお、切歯病変は抗 PTHrP 中和抗体 (LC-6移植後 6~12週の間、週1回静脈内投与) により消失し、PTHrP の作用によることが確認された。

以上の結果から、PTHrP はラットの象牙芽細胞に作用点を有し、高 PTHrP 血症は象牙芽細胞ならびに象牙質の変化に伴う切歯の力学的強度低下により切歯の破折を惹起するものと考えられた。

P-18 T-2 toxin 投与妊娠マウスの胎仔にみられたアポトーシス病変および骨奇形

○石上紀明、篠塚淳子、片山圭一、中山裕之、土井邦雄
(東大・獣医病理)

Apoptotic lesion and bone malformation in mouse fetuses from dams exposed to T-2 toxin.

Noriaki ISHIGAMI, Junko SHINOZUKA, Kei-ichi KATAYAMA, Hiroyuki NAKAYAMA, Kunio DOI
(Dept, Vet, Pathol., Univ Tokyo)

Fusarium 属の真菌により産生される T-2 toxin は、リンパ系および造血系組織に強い細胞毒性 (アポトーシス) を示すことが知られている。我々は第 14 回本学会で、T-2 toxin 投与妊娠マウス (胎齢 11日) の中枢神経系や骨格原基等の病変が神経芽細胞や軟骨性原基等のアポトーシスに起因することを明らかにした。今回は、妊娠中期~後期の T-2 toxin 投与妊娠マウスの胎仔の病変について検索した。

〔方法〕妊娠 8.5~16.5 日目の ICR マウスに、一晚絶食後、Propylene Glycol で溶解した 2mg/kg B.W. の T-2 toxin を経口投与した。対照群には溶媒のみを同様に投与した。投与 24 時間後にエーテル麻酔下で屠殺して胎仔を摘出し、病理組織学的検索、断片化 DNA の検出 (TUNEL 法) および電子顕微鏡学的観察を行った。また、妊娠 17.5 日目に胎仔を摘出して骨格標本を作製し、骨格観察を行った。

〔結果〕T-2 toxin 投与 24 時間後に、様々な器官で核クロマチンの凝集、核濃縮、核崩壊などの変化が認められた。13.5 日群では中等度から重度の核濃縮が中枢神経系の peri-ventricular zone から subventricular zone に、また、軟骨芽細胞や軟骨細胞にもわずかに認められた。16.5 日群で中等度から重度の核濃縮が胸腺および腎臓の皮膜直下の細胞に観察された。TUNEL 法では、上述した細胞の核および核崩壊物に一致して陽性反応が検出された。17.5 日目には、T-2 toxin 群の 13.5 日および 14.5 日投与群の一部の胎仔で、肋骨の彎曲と肩甲骨の短縮が観察された。

〔まとめ〕T-2 toxin 誘発マウス胎仔細胞アポトーシスの発現器官は胎齢により異なり、骨格奇形の誘発には軟骨芽細胞や軟骨細胞におけるアポトーシスが関与することが示唆された。

P-19 ラット悪性中皮腫の播種性転移経過に関する形態的検索

○桑原真紀、竹内幸子、中島信明、原田孝則、真板敬三
(残農研)

Morphological observation of dissemination process of rat malignant mesothelioma

KUWAHARA MAKI, TAKEUCHI YUKIKO, NAKADHIMA NOBUAKI, HARADA TAKANORI, MAITA KEIZO

(The Institute of Environmental Toxicology)

我々は先に F344 ラットの自然発生性悪性中皮腫より細胞株を樹立した。この細胞では、血清低依存性、軟寒天培地でのコロニー形成および同系統ラットへの可移植性等が観察される。同系統ラットの腹腔内に投与すると活発な播種性転移を示し、投与後およそ 3 週間で動物が斃死する。このような播種性の細胞の定着は、人では卵巣癌、大腸癌、へパトーマなどで報告されており、腫瘍の播種性転移の再現モデルとして検索が進んでいる。今回我々は、悪性中皮腫由来細胞株を用い、播種性転移の一段階である正常中皮細胞への腫瘍細胞の接着を *in vivo* および *in vitro* で形態的に観察した。

材料と方法: *in vitro*: 悪性中皮腫細胞株は、10%牛胎仔血清添加 DMEM で 37°C/5%CO₂ の条件で維持している。正常中皮細胞は、成熟雄 F344 ラットの腹腔内より酵素液による消化で回収し、腫瘍細胞株と同様の条件で維持した。24 穴カルチャープレートにセルインサートをセットし、正常中皮細胞を撒き、単細胞層が形成されたのを顕微鏡下で確認した後、各インサートに腫瘍細胞を加えた。3, 6, 12, 24, 36 時間後にインサート内部を洗浄し、接着していない腫瘍細胞を取り除いて、2.5%グルタルアルデヒドで固定した。*in vivo*: 成熟雄 F344 ラットの腹腔内に 10⁶ 個の腫瘍細胞を 2ml の DMEM に懸濁して投与した。投与後 1, 3, 7 日後に動物を屠殺し、壁側および臓側腹膜ならびに横隔膜を採材し、グルタルアルデヒドで固定した。これらの材料を定法どおり処理し、走査型電子顕微鏡で観察した。

結果および考察: *in vitro* 試験では、腫瘍細胞添加後 3 時間より腫瘍細胞が中皮細胞に接着する像が観察され、添加後 36 時間ではシート状に増殖した。下敷きとなった中皮細胞は縮み、単細胞層は破壊され、細胞間隙が散見された。一方 *in vivo* では、投与 1 日で腹膜に腫瘍細胞の層が観察され、7 日後には肝臓表面に腫瘍結節が観察された。*in vivo*, *in vitro* ともに卵巣癌等で見られる中皮細胞下への腫瘍細胞の侵入は認められなかったため、悪性中皮腫細胞に特有の転移形態があるものと考えられた。現在さらに詳細に検索中である。

P-20 低蛋白食で 2 年間飼育された Crj:CD(SD)IGS ラットにおける自然発生病変

○工藤佳代子、中村厚、山口裕子、若林佐知子、永谷真理子、佐藤順子、玉井幸子、
星谷達、岡崎修三、田村一利、岡庭梓
(ボゾリサーチセンター)

Spontaneous lesions of IGS rats fed low protein commercial diet for 2 years

KAYOKO KUDO, ATSUSHI NAKAMURA, YUKO YAMAGUCHI, SACHIKO WAKABAYASHI, MARIKO NAGATANI, JUNKO SATOH, SACHIKO TAMAI, TOHRU HOSHIYA, SYUZO OKAZAKI, KAZUTOSHI TAMURA, AZUSA OKANIWA

(BOZORESEARCH CENTER)

近年、International Genetic Standard System で生産された Crj:CD(SD)ラット (以下 IGS ラット) が安全性試験に使われる機会が多くなり、特に長期試験の背景データの収集が急がれている。そこで今回我々は、低蛋白食を 2 年間与えた IGS ラットについて、腫瘍性病変を中心に病理組織学検査結果を報告する。

材料と方法: 動物は日本チャールスリバー から供与された 5 週齢の IGS ラット雄雌各 100 匹を、1 週間検疫・馴化後、6 週齢から試験のスタートとし、SPF 環境下で金属製網ケージに単独飼育し、飼料は放射線滅菌粉末 CR-LPF (蛋白含量 18%) を自由に摂取させた。動物はがん原性試験と同様に 104 週間飼育した後、110 週齢で剖検し、その後、常法に従い HE 染色標本を作製し、病理組織学検査を行った。

結果: 110 週齢における試験終了時の生存率は雄: 53%、雌: 49%で、雌雄差は認められなかった。最も早い死亡は雄が 54 週齢 (血管肉腫)、雌が 35 週齢 (胸腺リンパ腫) であり、雄雌とも 91 週齢以降に死亡が多発 (全死亡例中雄は 66%、雌は 64%) した。死亡原因としては腫瘍性変化が雄: 66%、雌: 98%で、死因となった最も高頻度の腫瘍性変化は雄雌とも下垂体腫瘍で、その発生率はそれぞれ 32%および 84%であった。担腫瘍動物は雄: 86%、雌: 97%で、5%以上の発生率を示した腫瘍は、雄では下垂体前葉細胞の腺腫(48%)および腺癌(5%): 担腫瘍動物 53%、膵島細胞の腺腫(13%)および癌(11%): 担腫瘍動物 21%、副腎の褐色細胞腫(15%)、甲状腺の C 細胞腺腫(7%)、雌で下垂体前葉細胞の腺腫(63%)および腺癌(20%): 担腫瘍動物 83%、乳腺の線維腺腫(40%)および腺癌(30%): 担腫瘍動物 57%、子宮内膜間質ポリープ(10%)、胆管嚢胞腺腫(6%)であった。なお、雄では乳腺腫瘍は観察されなかった。非腫瘍性変化としては小胆管増生 (雄雌)、胃底腺拡張 (雄雌)、心筋線維化 (雄雌)、肺動脈壁鈣質沈着 (雄)、腎盂鈣質沈着 (雌)、腸間膜リンパ節色素貪食マクロファージ (雄雌)、角膜鈣質沈着 (雄雌)、副腎ペリオーシス (雌)、前立腺炎が比較的高頻度に観察された。慢性腎症は雄 38%、雌 13%にみられたが、その程度は比較的軽く、慢性腎症による死亡は雄の 1 例のみであった。

P-21 Phenobarbital 長期投与による雌雄マウスの肝臓および副腎への影響について

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

Changes induced by long term administration of Phenobarbital in liver and adrenal in CB6F1 mice
MAKOTO UEDA, AKITAKA KAWAMINAMI, EITA KITAYAMA, MOTOKUNI NAKAZAWA, AKIKO UEDA,
HIROSHI UCHIMOTO, TAKEHARU TAWARATANI, KEIKO IWAKURA, NOBUYOSI SUMI, KOHEI KURA
(Toxicology Lab., Nippon Shinyaku Co.,Ltd)

(はじめに) Phenobarbital(以下PB)は毒性病理の分野でもげっ歯類を対象とした肝薬物代謝酵素の誘導実験などで広く用いられているが、その多くは雄ラットを対象としたものであり、雌動物、特にマウスについて組織学的に検索されたデータは少ない。今回雌雄のCB6F1マウスを用い、PBの長期投与により生じる変化についてその特徴を組織学的に検索した。

(方法) PBを雌雄のCB6F1マウスに4週あるいは26週混餌投与(1400ppm)し、全身諸臓器をホルマリン固定後、常法に従ってHE染色標本作製し観察した。さらに26週投与群については肝臓組織の写真を撮影し、小葉中心部の肝細胞についてそのpixel数を計測し(NIH image, Ver.1.55, NIH)、面積を算出した。また市販の抗ラットP450抗体(第一化学薬品、抗ラット2B1、2C6、3A2)を用いて肝臓の免疫染色標本(ABC法)を作製し、その反応性を検討した。

(結果およびまとめ) 一般に知られているように、PB投与群では4週および26週の投与で臓器重量の増加を伴う肝肥大が認められ、組織学的には小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。肝細胞の肥大は雄で特に顕著であったが、26週投与時の肥大肝細胞の面積は雌雄とも対照群のそれぞれ約3倍程度であった(対照群=雄:805±299 μm^2 、雌:366±96 μm^2 、PB投与群=雄:2503±1233 μm^2 、雌:957±394 μm^2)。抗P450抗体を用いた肝臓の免疫染色標本では雌雄とも肥大肝細胞が今回検索したいずれの分子種に対しても陽性を示した。その他、従来PBで誘発されることが知られていなかった副腎のlipogenic pigmentationが26週投与時の雌でのみ高頻度に認められた。以上、PBはマウスに対して肝臓のみならず副腎に組織学的変化を誘発することが明らかとなった。

P-22 ラット生殖・発生毒性試験における母動物の病理学的背景データに関する研究 —肝肥大について—

○木原 亨、細井理代、宮島留美子、山本慎二、三上真一、山川誠己、田中亮太、
岩田 聖、榎本 眞 (安評センター)

Dam's Pathological Background Data in Rat's Reproductive and Developmental Study —Hepatomegaly—
TOHRU KIHARA, MASAYO HOSOI, RUMIKO MIYAJIMA, SHINJI YAMAMATO, SHIN-ICHI MIKAMI, SEIKI
YAMAKAWA, RYOTA TANAKA, HIJIRI IWATA and MAKOTO ENOMOTO
(An-Pyo Center)

【はじめに】ラットを用いる生殖・発生毒性試験では、被験物質投与による影響について妊娠・産期における生理的変化との鑑別が時として必要となる。しかし、これらの動物について病理学的検査に関する報告は殆ど無い。現在、我々は各種生殖・発生毒性試験の病理学的検査に対応するラット母動物の生理的背景値を集計している。そこで、今回は母動物の肝肥大について報告する。

【材料と方法】当センターで実施したCrj:CD(SD)ラットを用いた生殖・発生毒性試験の対照群に使用した妊娠15、20、哺育4および22日の雌について、体重、胎児数または出生児数、肝の重量および組織学的検索としては単位面積当たりの肝細胞数およびPCNA陽性率を計測し、肝組織像における妊娠の経時的影響について比較検討をした。なお、各群の比較の基準として同時期の不妊雌6例を非妊娠群として用いた。

【結果と考察】肝重量は妊娠15日をピークとして減少する傾向を示した。一方、肝細胞数は妊娠15日では650前後、妊娠20日以後ではいずれも1000前後であった。また、肝細胞容積を推定する為、(肝重量/肝細胞数)比を算出したところ、肝重量と同様に妊娠15日をピークとして以後減少する傾向を示した。PCNAによる肝細胞増殖活性の検討では、妊娠15日群で非妊娠群の12倍以上の高値を示していたが、妊娠20日以降では非妊娠群とほぼ同等或いはそれ以下にまで低下した。以上の結果から、妊娠中の肝重量の高値は妊娠15日の時点まで主に肝細胞の肥大、妊娠20日以降では細胞数の増加によるものと考えられた。現在、肝重量減少に対するapoptosis関与の有無および肥大肝細胞の微細構造を含め、詳細な検討を進めている。

P-23 1,2-ジハロアルカンの GSH 抱合による活性化に関する組織学的検索

○伊藤敦子¹、星田美奈子¹、林 美千子¹、伊藤金次²

(¹東邦大・医・法医、²第2病理)

Role of glutathione levels in toxicological aspect of 1,2-Dibromoalkane
ATSUKO ITO, MINAKO HOSHIDA, MICHIKO HAYASHI, KINJI ITO
(Department of Legal Medicine, School of Medicine, Toho University)

医薬中間体として使用されている 1,2-ジブロモプロパン(DBP)や、かつて殺虫剤として製造されいた 1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン(DBCP)などの有機臭素化合物は発癌性物質として知られているが、活性代謝物は GST によって生成するハロプロピル-SG であると考えられている。それらの研究の多くは放射線物質を使用したトレーサー実験で検索されており、ジハロアルカンの毒性を組織学的に観察した報告は少ない。我々は有機臭素化合物の生体影響、特に肝、腎毒性について化学的あるいは組織学的に観察し、その毒性発現機序を検討した。

[方法]Wistar 系ラットを使用し、DBP 投与群(50%DBP/oil 0.08ml, i.p)ならびに DBCP 投与群(50%DBCP/oil 0.05ml, i.p)を作成し、時間経過に伴い血液、尿の生化学的検査、肝、腎内 GSH 濃度の測定、組織学的観察を行い、GST の局在性は免疫組織学的に検索した。

[結果]DBP、DBCP 群ともに投与 5 時間後には白血球数の著明な減少が認められ、DBP 群では時間経過で回復傾向が見られたが DBCP 群ではさらに減少した。血液・尿の生化学的検査で両群ともに異常値が観察されたが、DBCP 群での変化が著しかった。肝、腎内 GSH 濃度は投与後まもなく減少し 6~8 時後に減少はピークに達し以後は両群ともに回復した。組織学的に DBP 群では肝小葉中心~中間部に浮腫性変化、軽度の脂肪変性が観察されたが、時間経過で障害が進行することはなかった。DBCP 群では肝小葉はびまん性の大小の脂肪変性、single cell necrosis が散在性に見られ、巣状壊死が観察され、腎でも多様な所見が観察され、時間経過と共に変化は強くなる傾向にあった。免疫組織学的に肝、腎とも GST の減少が著しく、GSH 濃度の減少と一致しており、時間経過による組織変化と考え合わせて GST と GSH が毒性発現に大いに関与しており、活性代謝物による影響は Cl>Br であることが示唆された。

P-24 Differential Display 法を用いたラット肝細胞癌肺転移関連遺伝子の検索

○竹下文隆¹、小川久美子¹、朝元誠人¹、今井田克己¹、二口 充¹、高木功子²、白井智之¹

(¹名古屋市大・医・1病理、²大雄会医科研)

Identification of genes associated with the lung metastasis of the rat hepato cellular carcinoma by differential display method
FUMITAKA TAKESHITA¹, KUMIKO OGAWA¹, MAKOTO ASAMOTO¹, KATSUMI IMAIDA¹, MITSURU FUTAKUCHI¹, NORIKO TAKAGI², TOMOYUKI SHIRAI¹
(¹1st Dept. Pathol., Nagoya City Univ. Med. Sch., ²Daiyu-kai Inst. Med. Sci.)

[目的]我々はこれまでに、diethylnitrosamine と n-nitrosomorpholine の投与によりラット肝細胞癌自然肺転移モデルを作成し、さらに原発巣および転移巣から 6 種の細胞株を樹立した。その後、これらの細胞をヌードマウスに静脈内投与したところ、高転移株と低転移株とに分けることができた。そこで今回 Differential Display 法を用い、これら転移能の異なる細胞株間で発現量の異なる遺伝子の検索を行った。

[方法・結果]6 種の細胞株から RNA を抽出し、16 種類の arbitrary primer と 3 種の anchor primer を用いて mRNA Differential Display を行った。この Differential Display の結果は、発現量に差がみられた遺伝子断片を probe として Northern blot を行うことで確認した。次にそれらの遺伝子断片の配列を決定し、NCBI の BLAST により検索を行ったところ、高転移株で高発現していた遺伝子断片の 1 つは sodium-dependent bile acid transporter、低発現していた遺伝子断片はそれぞれ elastase I、LI-cadherin、castration induced prostatic apoptosis related protein-1 (CIPAR-1) と相同性が高いことが判明した。一方、既知遺伝子との相同性が確認できなかった、高転移株で高発現していた遺伝子断片のうちの 1 つについて、5'-RACE 法により伸長させ、open reading frame を含む配列を決定し、再度既知遺伝子との相同性を確認したところ、この遺伝子はヒト glutaredoxin との相同性が高いことが判明した。

[結論]転移能の異なる細胞株間で、発現量に差がみられた遺伝子を 5 種同定することができた。現在、これらの遺伝子と細胞の特性との関連について検討中である。

P-25 マウス EHEN 肝嚢胞における性差

○日比野 勤 (藤田保健衛生大・短大・病理)

Sex difference of Liver cysts induced by N-ethyl-n-hydroxyethylnitrosamine in DBA/2J and DBA/2FG-psy mice
Tsutomu Hibino

(Department of Pathology, Fujita Health University College)

目的：癌原性物質の N-ethyl-n-hydroxyethylnitrosamine (EHEN) をマウスに 2 週間経口投与により、成人型肝嚢胞が誘発されることを明らかにした。今回は、遺伝性嚢胞腎症モデル DBA/2FG-psy 及び DBA/2J の雌雄マウスに EHEN を投与し、その性差について観察した。

実験方法：DBA/2FG-psy 及び DBA/2J 雌雄マウスは、本学・実験動物センターで自家繁殖させた 6 週令のものをそれぞれ 20 匹ずつ使用した。実験群は 10 匹で EHEN を飲料水中に 0.1% の割合に混じ、2 週間自由に摂取させた後、通常飲料水を投与した。無処置の対照群はそれぞれ 10 匹とした。飼料はオリエンタル MF、通常飲料水には純水をそれぞれ自由に摂取させた。マウスの体重は週 1 回測定し、実験期間は 40 週間とした。実験終了後、通常の方法で組織標本作製し、肝及び腎を中心に病理組織学的に観察した。

実験結果：2 系統の雌雄マウスとも、EHEN 投与期間中は体重減少がみれたが、投与終了後からは順調に回復した。実験終了時の平均体重は、DBA/2J では対照群の雄が 28.8g、雌が 26.8g に比し、EHEN 投与では雄が 28.2g、雌が 26.8g 及び DBA/2FG-psy では対照群の雄が 19.1g、雌が 19.6g に比し、EHEN 投与では雄が 2.10g、雌が 17.3g であった。平均肝重量(体重比%)は、DBA/2J の対照群では雄が 1.23g(4.3%)、雌が 1.30g(4.9%) に比し、EHEN 投与では雄が 2.36g(8.4%)、雌が 1.56g(7.6%) 及び DBA/2FG-psy では対照群が雄が 0.84g(4.3%)、雌が 0.91g(4.6%) に比し、EHEN 投与では雄が 2.23g(10.6%)、雌が 1.91g(11.0%) であった。EHEN 投与した DBA/2J 雄及び DBA/2FG-psy 雌雄マウスの肝重量は、多発性肝嚢胞により、対照群に比し有意に ($p < 0.05$) 増加した。

肉眼的に、肝嚢胞は多発性で、肝表面に突出し淡黄色の漿液を充満していた。組織学的には、EHEN 投与の 2 系統雌雄マウスとも全例に肝嚢胞が認められた。肝細胞癌の発生は DBA/2J 雄マウスは 5 例(50.0%)、雌が 4 例(40.0%) 及び DBA/2FG-psy 雄マウスは 6 例(60.0%)、雌が 5 例(50.0%) にみられた。対照群には、肝腫瘍及び肝嚢胞の発生は認められなかった。

結語：DBA/2J 及び DBA/2FG-psy マウスにおける EHEN 肝嚢胞の発生率は、雌雄マウスとも同じであったが、実質肝重量の増加は雄において顕著であることが示された。

P-26 Wy-14,643(WY)誘発ラット肝増殖性病変における TGF- α および Bcl-X の免疫組織学的検討

○土屋 毅幸, 小林 潔, 後藤 和広, 佐野 文子, 杉本 次郎, 務台 衛
(三菱東京製薬(株)安全性研究所)

Immunohistochemical analysis of TGF- α and Bcl-X expression in Wy-14,643-induced proliferative lesions in rat liver
TAKAYUKI TSUCHIYA, KIYOSHI KOBAYASHI, KAZUHIRO GOTO, FUMIKO SANNO, JIRO SUGIMOTO, MAMORU MUTAI
(Pharmacokinetics and Toxicology Laboratory, Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals, Inc.)

【緒言】ペルオキシゾーム増生剤である WY 投与により誘発されるラットの肝増殖性病変を用い、肝細胞の増殖因子として知られる TGF- α および細胞死制御に関連する Bcl-X の発現と肝発癌との関連性について免疫組織学的に検討した。【材料と方法】6 週齢の F344 系雄ラットに、WY を 100ppm の濃度で 78 週間混餌投与し、肝増殖性病変を誘発した。常法に従い肝臓の HE 染色標本作製し観察に供した。さらに、Hepatocellular Carcinoma (HCC), Hepatocellular Adenoma (HCA), Diffusely Basophilic Foci (DFB), Eosinophilic Foci (EF) について TGF- α および Bcl-X の発現程度(染色性を -, +, ++, +++ の 4 段階に分類した)を免疫組織化学的に検索した。【結果】TGF- α の発現は癌(n=11)では、++27%, +++73%, 腺腫(n=26)は、-4%, +4%, ++42%, +++50%, DFB(n=18)は、-17%, +28%, ++33%, +++22%, EF(n=2)は、-50%, +50% であった。Bcl-X は正常の肝細胞においても +++ 程度の発現が認められたが、HCC(n=13)では、-8%, +69%, ++15%, +++8%, HCA(n=30)は、-3%, +13%, ++37%, +++47%, DFB(n=23)は、++35%, +++65%, EF(n=7)は、++14%, +++86% であった。【考察】免疫組織化学的検討において TGF- α は、肝増殖性病変の組織学的悪性度が高いほどその発現程度が高くなっていることから、WY によるラット肝発癌の指標となる可能性が考えられた。一方、Bcl-X は肝増殖性病変において、組織学的悪性度が高いほど発現が抑制されており、組織学的悪性度の増大に伴い Bcl-X を介した細胞死制御が低下している可能性が示唆された。現在、各肝増殖性病変の細胞動態(細胞増殖および Apoptosis)と各因子の発現状況との関連性を解析中である。

Bcl-X は関連性あり

P-27 3'-Me-DAB誘発ラット肝細胞癌におけるTGF- α の免疫組織化学的局在性、組織学的分化度および細胞増殖動態

○小林 潔、土屋毅幸、坂入鉄也、日下部愛泉、佐野文子、杉本次郎、務台 衛
(三菱東京製薬(株)安全性研究所)

Immunohistochemical localization of TGF- α , histological differentiation and cell proliferation kinetics in 3'-Me-DAB-induced rat hepatocellular carcinomas.

KIYOSHI KOBAYASHI, TAKAYUKI TSUCHIYA, TETSUYA SAKAIRI, MANAMI KUSAKABE, FUMIKO SANO, JIRO SUGIMOTO AND MAMORU MUTAI
(Pharmacokinetics and Toxicology Laboratory, Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals, Inc.)

【緒言】TGF- α は肝細胞に対する強力な増殖因子であり、再生肝細胞および肝腫瘍細胞においてその発現が亢進することが知られている。今回、3'-methyl-4-(dimethylamino)azobenzene(3'-Me-DAB)により誘発したラット肝細胞癌(HCC)におけるTGF- α の発現、およびその局在性と、これらの腫瘍の組織学的分化度、および細胞増殖動態の関係について検討したので報告する。【材料と方法】6週齢のF344系雄ラット21匹に、3'-Me-DABを600ppmの用量で混餌投与し、HCCを誘発した。投与開始後30週の時点で、S期細胞の標識を目的としてBromodeoxyuridine (BrdU)を100mg/kgの用量で1回腹腔内投与し、その1時間後に解剖した。常法に従い肝臓のHE染色標本を作製し、HCCを病理組織学的に充実型、低分化腺様型、索状型、および高分化腺様型の4型に分類した。これらについてTGF- α の発現およびBrdU標識率を免疫組織化学的に検索した。各腫瘍のTGF- α の染色性に関しては核型、細胞質型、陰性型の3型に分類した。【結果】BrdU標識率については、充実型HCC(n=24)、低分化腺様型HCC(n=6)、索状型HCC(n=28)、および高分化腺様型HCC(n=20)の順に高値を示した。充実型HCCおよび低分化腺様型HCCは全例がTGF- α 陽性であり、局在性に関しては全て核型であった。索状型HCCにおけるTGF- α の発現に関しては、核型46%、細胞質型43%、陰性型11%であり、同じく高分化腺様型HCCでは核型35%、細胞質型35%、陰性型30%であった。また、TGF- α の発現パターンと細胞増殖との関連については、核型、細胞質型、陰性型の順に高いBrdU標識率が認められた。【考察】ラットHCCにおけるTGF- α の発現および局在性と組織型および細胞増殖動態の間に関連性が認められた。すなわち、HCCの組織学的な分化度の低下に伴い、高い細胞増殖率、TGF- α 陽性率が認められ、TGF- α の発現が核型である割合が増加した。以上の結果から、TGF- α がラット肝腫瘍の悪性度に関する免疫組織化学的なマーカーとなりうる可能性が示唆された。

P-28 四塩化炭素肝硬変モデルラットにおける病態発現の肝臓葉間差

○萬 啓悟¹、伊藤浩孝²、照屋志乃¹、小川友美恵¹、鈴木雅実¹、二本力夫³、杉本哲朗¹
(中外製薬¹安全研、²創薬一研、³SLA研)

The difference of injury among hepatic lobes in CCl₄-induced liver cirrhosis in rats
Keigo YOROZU, Hirota ITO, Shino TERUYA, Yumie OGAWA, Masami SUZUKI, Rikio NIKI, Tetsuro SUGIMOTO
(¹Safety Assessment Laboratory, ²Pharmaceutical Research Laboratory II, Chugai Pharmaceutical CO., LTD., ³SLA Research, INC.)

肝臓における毒性発現が葉間で異なる場合があることは、経験的には知られているようだが、報告はほとんど見当たらない。我々はProctor and Chatamraの方法による四塩化炭素(CCl₄)肝硬変モデルラットの作出実験で、病態の程度が肝臓各葉間で著しい差を示すことを認めたので報告する。

【材料・方法】6週齢のSlc:Wistar系雄ラットにフェノバルビタール(PB; 35mg/dl)を飲水により不断投与し、2週後からCCl₄を1回/週で9週間経口投与した。CCl₄の投与量は1回目を最小致死量の1/2相当量の40 μ l/headとし、以後9週目まで暫増させた(総投与量1480~1680 μ l)。最終投与後1週に剖検し、肝臓を外側左葉、内側葉(内側左葉・内側右葉)、外側右葉、尾状葉および乳突起に分けて、病態の程度を検索した。

【結果・考察】PB群では、無処置群に比較して全肝重量は増加していたが、各葉の重量比率にほとんど差異はなかった。一方、CCl₄群では、全肝重量はPB群とほぼ同じであったが、内側葉および外側右葉は減少し、逆に、外側左葉および乳突起は増加した。病理組織学的に、CCl₄群において偽小葉形成あるいは微小結節形成からなる肝硬変像は、内側葉および外

群		全肝重量に対する肝臓各葉の重量比率		全肝重量に対する重量比率(%)				
		剖検時体重 (g)	全肝重量 (g)	外側左葉	内側葉	外側右葉	尾状葉	乳突起
無処置 (n=5)	mean	352.1	11.0	34.3	36.2	12.4	7.2	9.8
	SD	7.0	0.4	2.1	0.3	0.7	0.7	1.2
PB (n=5)	mean	375.0	13.2 ^a	33.9	36.9	13.6	5.6 ^b	10.0
	SD	20.4	1.3	2.3	2.9	1.1	0.9	1.6
CCl ₄ (n=5)	mean	289.4 ^{b,c}	12.8 ^b	44.5 ^b	17.5 ^b	8.4 ^{b,c}	7.4	22.1 ^{b,c}
	SD	13.6	0.9	4.0	6.9	1.8	3.5	4.9

^aP<0.05, ^bP<0.01 t-test VS 無処置群 ^cP<0.01, t-test VS PB群

側右葉(特に両葉境界)に強く認められ、外側左葉および乳突起の重量増加は代償性肥大によるものと考えられた。また、CCl₄群の各葉における形態計測によるアザン青染の線維化比率およびアミノ酸分析によるヒドロキシプロリン量は、各葉重量比率の変化とよく一致し、内側葉では外側左葉に比べて約2倍の高値を示した。本病態に肝臓葉間差が生じる要因は明らかではないが、亜致死量大量経口という投与条件と門脈の肝内走行が関係すると推察している。

P-29 四塩化炭素誘発マウス肝病変の T-2 トキシンによる修飾

○武藤幸子、篠塚淳子、上塚浩司、中山裕之、土井邦雄

(東大・獣医病理)

Modification of CCl₄-induced Liver Lesions in Mice by T-2 toxin

Yukiko MUTO, Junko SINOZUKA, Koji UETSUKA, Hiroyuki NAKAYAMA, Kunio DOI
(Dept. Vet. Pathol., Univ. Tokyo)

Fusarium 属の真菌により産出される T-2 トキシン (T-2) はリンパ系および造血系組織に細胞毒性を示すことが知られている。第 15 回本学会で、我々は CCl₄ 処置後 T-2 を投与することにより肝細胞壊死巣の修復が遅延することを報告した。今回は、T-2 の投与時期を変えて、肝細胞壊死巣の修復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 CCl₄ (1ml/kg) を経口投与し、その 1 日前 (T-2 (-1)) と一日後 (T-2 (+1)) に T-2 (4mg/kg) を経口投与した。また、対照群として CCl₄ のみを投与した群を設けた。CCl₄ 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、26 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(-1,+1)群、対照群ともに、D1 から CCl₄ に起因する小葉中心性の凝固壊死が認められたが、T-2(-1)群では D1 における壊死巣の大きさが明らかに小さく、D2 以降は全く認められなかった。対照群では D3 まで、また、T-2(+1)群では D4 まで壊死巣が認められ、以降修復反応へと移行したが、D2 から D5 にかけて T-2(+1)群で病変の修復が遅延する傾向が認められた。PCNA 陽性細胞は対照群で D2 に、T-2(+1)群では D3 に多数認められたが、T-2(-1)群では、D3 に軽度の増加が認められたのみであり、全群とも D4 以降激減した。

TUNEL 陽性細胞は対照群で D1 に、T-2(+1)群で D2 に多数認められたが、D3 以降ほとんどみられなかった。Connexin32、26 陽性細胞は対照群では D1~D2 で、T-2(+1)群では、D2~D3 で減少し、その後回復したが、T-2(-1)群では、全期間を通して発現量に変化は認められなかった。以上の結果から、T-2 の 1 日前投与では CCl₄ による肝細胞壊死巣の発現が抑制され、1 日後投与では CCl₄ による病変の修復が遅延することが示された。現在、その原因についてより詳細な解析を行っている。

P-30 Diethylnitrosamine および Sodium Phenobarbital によるマウス肝芽細胞腫の誘発および免疫組織化学的解析

○坂入鉄也、小林 潔、土屋毅幸、後藤和広、杉本次郎、務台 衛

(三菱東京製薬 (株) 安全性研究所)

Induction of mouse hepatoblastomas by diethylnitrosamine-sodium phenobarbital and immunohistochemical characterization
TETSUYA SAKAIRI, KIYOSHI KOBAYASHI, TAKAYUKI TSUCHIYA, KAZUHIRO GOTO, JIRO SUGIMOTO, MAMORU MUTAI

(Pharmacokinetics and Toxicology Laboratory, Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals, Inc.)

【目的】マウス肝芽細胞腫 (HB) の組織発生あるいは生物学的特性については未だ不明な点が多い。今回、我々は、Sodium Phenobarbital (PB) によるマウス HB の促進作用および同腫瘍の免疫組織化学的特徴に関して、肝細胞癌 (HCC) との比較/検討を行ったので報告する。【材料と方法】6 週齢の B6C3F₁ 雄マウスに、Diethylnitrosamine (DEN) を 80mg/kg の用量で 1 回、腹腔内投与した。その後、基礎食あるいは 500ppm PB 含有食で飼育し、DEN 処置後 50 週目に解剖を実施した。常法に従い、肝臓の HE 染色標本を作製し、組織学的検査を実施した。また、Keratin, α -fetoprotein (AFP), Albumin, TGF- α , PCNA について免疫組織化学的検索を行った。

【結果】PB により肝細胞腺腫/癌が高頻度に誘発された。腫瘍内には HB の発生が数多く認められ、組織学的には、細胞質に乏しい紡錘形細胞が索状に増殖するマウス HB の典型像が観察された。HB は、核分裂像および壊死傾向が HCC に比べ顕著であった。免疫組織化学的検索では、HB は HCC に比較して高い PCNA 陽性率を示した。また、HB, HCC いずれも TGF- α 陽性であったが、特に、HB では陽性細胞の割合が高かった。さらに、HB は、Keratin, AFP, Albumin いずれも陰性で、一部 AFP 陽性の HCC とは異なる性質を示した。なお、正常肝細胞および胆管上皮細胞は、それぞれ Albumin 陽性、Keratin 陽性であった。

【考察】PB による明らかなプロモーションが認められた点、およびそれらの多くが肝細胞腺腫/癌内に認められた点より、マウス HB が肝細胞に由来する可能性が示唆された。しかし、免疫組織化学的に、マウス HB の由来が肝細胞か胆管上皮細胞かを決定できる所見は得られなかった。また、TGF- α は肝腫瘍細胞の増殖に促進的に働くと考えられている。HCC に比較して HB で高い TGF- α および PCNA 陽性率が認められたことから、細胞増殖に関する HB の HCC に対する優位性に、TGF- α の発現が関与している可能性が示唆された。

P-31 MeIQx 誘発のラット肝発癌に対する N-acetylcysteine, S-methylcysteine, および cysteine の抑制効果

○小川元女¹、鰐淵英機¹、市原敏夫¹、矢野善久²、大谷周造²、福島昭治¹

(¹大阪市大・医・¹病理、²大阪市大・医・²生化)

The inhibitory effects of N-acetylcysteine, S-methylcysteine and cysteine on rats hepatocarcinogenesis by MeIQx
MOTOME OGAWA¹, HIDEKI WANIBUCHI¹, TOSHIO ICHIHARA¹, YOSHIHISA YANO², SHUZO OTANI², SHOJI FUKUSHIMA¹

(¹1st Dept. Pathol., Osaka City Univ. Sch. Med., ²2nd Dept. Biochem., Osaka City Univ. Sch. Med.)

【目的】我々は diethylnitrosamine (DEN) 誘発の肝 GST-P 陽性細胞巢の発生をニンニクに含まれる有機イオウ化合物である S-methylcysteine (SMC) と cysteine (Cys) が抑制することを見いだした。今回は日常生活で摂取している焼けこげに含まれる肝発癌物質 MeIQx に対して、N-acetylcysteine (NAC) を加えた 3 種の水溶性有機イオウ化合物の発癌抑制効果を有効投与時期とその作用機序を中心に検討した。

【方法】21 日齢 F344 / DuCri 雄性ラット 120 匹を 8 群 (各群 15 匹) に分け、MeIQx 100 ppm を 10 週間混餌投与した。第 1~4 群には MeIQx と同時に NAC, SMC, Cys および、生理食塩水をそれぞれ強制胃内投与して与え、残りの 4 群には MeIQx 投与終了 1 週間後より 3 種のイオウ化合物を同様に 13 週間与えた。全観察期間は 24 週間である。屠殺後、前癌病変のマーカーである肝 GST-P 陽性細胞巢および細胞増殖マーカーの AgNORs を検索した。

続いて MeIQx 投与後、Cys の後投与における全 12 週間の実験で細胞増殖因子 p21, p53 の mRNA の発現と Insulin-Like Growth Factor (IGF)-I を経時的に観察した。

【結果】肝 GST-P 陽性細胞巢数は MeIQx と有機イオウ化合物の同時投与では各群とも有意差は認められなかった。MeIQx の後投与では三者とも有意に陽性細胞巢数の発生を抑制し、その程度は NAC > Cys > SMC の順であった。また抑制効果のあった後投与群について AgNORs 染色したところ、コントロール群に対し 3 種の有機イオウ化合物とも細胞増殖を抑制していた。また全 12 週間の実験で Cys は細胞増殖因子 p21, p53 の mRNA の発現をおよぼさなかったが、血清 IGF-I レベルは対照群に対し Cys 投与群が有意に減少していた。

【結論】MeIQx 投与後に水溶性の有機イオウ化合物、NAC, SMC, および Cys を投与することにより肝発癌抑制効果が認められた。またその作用機序は細胞増殖因子 IGF-I の抑制に関与していることが示唆された。

P-32 MeIQx 誘発ラット肝発癌におけるタバコ煙負荷の増強効果

○宮内 慎¹、西川秋佳¹、古川文夫¹、中村英明¹、孫 和永¹、森 幸雄²、広瀬雅雄¹

(¹国立衛研・病理、²岐阜薬大・放射化学)

Enhancing effects of cigarette smoke on MeIQx-induced rat liver carcinogenesis

MAKOTO MIYAUCHI¹, AKIYOSHI NISHIKAWA¹, FUMIO FURUKAWA¹, HIDEAKI NAKAMURA¹, HWA-YOUNG SON¹, YUKIO MORI², MASAO HIROSE¹

(¹Div. Pathol., Natl. Inst. Hlth. Sci., ²Lab. Radiochem., Gifu Pharm. Univ.)

【目的】タバコ煙 (CS) をラットまたはハムスターに曝露すると、肝臓の CYP1A2 を誘導し、その肝から調製した S9mix はヘテロサイクリックアミンの変異原性を増加させる。そこで今回、MeIQx 誘発ラット肝発癌のイニシエーション期またはプロモーション期にタバコ煙を負荷し、その影響を調べた。

【方法】4 週齢の雄性 F344 ラットを各群 15 匹ずつ 7 群に配した。1 群および 2 群には 300 ppm の MeIQx を 16 週間混餌投与すると同時に 1 群は CS 処置を、2 群は sham smoke (SS) 処置を行った。3 群から 5 群までは MeIQx を 4 週間投与し、3 群は MeIQx と同時に CS 処置を 1 週から 4 週まで、4 群は MeIQx 投与終了後 CS 処置を 4 週から 16 週まで、5 群は SS 処置を 16 週間行った。6 群および 7 群は基礎飼料を与え、6 群は CS 処置、7 群は SS 処置を 16 週間行った。実験終了後、全生存動物について剖検し、肝臓の GST-P 陽性細胞巢、大腸の aberrant crypt foci (ACF) の検索を行った。

【結果】肝臓の GST-P 陽性細胞巢数は、5 群 (1.6 個/cm²) に比べて 3 群 (3.7 個/cm²) で有意に増加した (P<0.05)。面積は、5 群に比べて 3 群で増加傾向は認められるものの、統計学的な有意差は認められなかった。また、大腸の ACF は 5 群 (1.8 個) に比べて 4 群 (3.7 個) で、7 群 (0.1 個) に比べて 6 群 (0.8 個) で有意に増加した (P<0.05 および P<0.01)。

【結論】MeIQx 誘発ラット肝発癌モデルにおいて、CS のイニシエーション期負荷により GST-P 陽性細胞巢数が増加し、CS によるヘテロサイクリックアミンの代謝活性化の関与が考えられた。また、プロモーション期負荷により大腸の ACF が増加し、CS の大腸発癌促進作用が示唆された。

P-33 **ラット肝中期発癌試験(伊東法)を用いた dieldrin の肝発癌作用**

○西川隆之、鰐淵英機、榊田周佳、北野光昭、市原敏夫、福島昭治
(大阪市大・医・1病理)

Dose response of dieldrin on rat liver carcinogenesis using medium-term bioassay:

TAKAYUKI NISHIKAWA, HIDEKI WANIBUCHI, CHIKAYOSHI MASUDA, MITSUAKI KITANO, TOSHIO ICHIHARA, SHOJI FUKUSHIMA

(1 Dept. Pathol., Osaka City Univ. Med. Sch.)

有機塩素系殺虫剤のひとつである dieldrin は国内では使用禁止とされているが、その組成は非常に安定かつ難分解性であるため現在も土中に微量残存し、それに伴う人体への影響が示唆されている。さらに内分泌攪乱化学物質のひとつであり、マウスではその肝発癌性が証明されている。今回 dieldrin の肝発癌性をラット肝中期発癌試験(伊東法)を用いて検討した。

【方法】6週齢の雄性 F344 ラット 120 匹を用いて DEN200 mg/kg 腹腔内投与し、2週目より 100,33,10,3.3,1,0.3,0.1,および 0ppm (実験1)ならびに 5.0,2.5,1.25,0.625,0.3,0.15,および 0ppm (実験2)の濃度で dieldrin 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週目に肝を摘出し前癌病変の指標である glutathione S-transferase placental form (GST-P)の陽性細胞巢を検索した。

【結果】GST-P 陽性細胞巢は面積、個数とも実験 1,2 を通して dieldrin の低用量域では、0.3ppm で一旦高値を示し 1ppm 付近で control より低値(いわゆる逆 U 字現象)を示した後、用量相関性に上昇を示した。

【考察】dieldrin のラット肝発癌作用は低用量域で逆 U 字現象を示すものの、無作用量の存在の可能性が示唆された。

P-34 **トリテルペン化合物の肝発癌修飾作用—ラット肝発癌中期モデルによる検討**

○岩井秀司、魏 民、レザウルカリム、木下アンナ、鰐淵英機、福島昭治
(大阪市大・医・第一病理)

Inhibitory effect of abieslactone on rat hepatocarcinogenesis using diethylnitrosamine(DEN)-induced rat liver medium-term bioassay

IWAI SHUJI, WEI MIN, REZAUL KALIM, KINOSHITA ANNA, WANIBUCHI HIDEKI, FUKUSHIMA SHOJI

(1st. Dept. Pathol., Osaka City Univ. Med. Sch.)

【目的】トリテルペン化合物には発癌抑制作用が認められることが報告されている。トリテルペン化合物である AVB-1 及びその修飾物質である AVB-1 acid、AVB-1 acid methyl ester はこれまでにマウス皮膚発癌の抑制が認められており、本実験ではこれら 3 種類のトリテルペン化合物の肝発癌抑制効果をラット肝発癌中期モデル法(伊東法)を用いて検討した。

【方法】6週齢の雄性 F344 ラットを用い、実験開始時に diethylnitrosamine を 200mg/kg bw 腹腔内投与した。実験1では2週目から終了時まで AVB-1、AVB-1 acid、AVB-1 acid methyl ester を各々 1mg/kg bw の投与量で週に 5 回強制胃内投与した。実験2では AVB-1 を 3、1、0.3mg/kg bw の投与量で週に 5 回強制胃内投与した。また実験開始第 3 週目に 2/3 肝部分切除を施行し、第 8 週目に屠殺した。肝前癌変化の指標である glutathione S-transferase 胎盤型(GST-P)陽性細胞巢の発生と 5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)標識率を検索した。

【結果】実験1では GST-P 陽性細胞巢の発生個数は AVB-1 投与群で有意に減少していた。実験2では全ての用量で GST-P 陽性細胞巢の発生個数は抑制されたが、用量相関性は認めなかった。

【まとめ】AVB-1 はラット肝発癌を抑制することが強く示唆された。

P-35 ラット肝中期発がん試験法を用いた melatonin の用量相関性の検討

○葛谷和也 1, 今井田克己 1, 萩原昭裕 2, 佐野真士 2, 宮下嘉代子 2, 伊東信行 3, 白井智之 1

(1 名市大・医・1病, 2 大雄会医科研, 3 名市大)

Dose-response effect of melatonin on a rat medium-term liver bioassay for carcinogen
KAZUYA KUZUTANI¹, KATSUMI IMAIDA¹, AKIHIRO HAGIWARA², MASASHI SANO²,
KAYOKO MIYASHITA², NOBUYUKI ITO³, TOMOYUKI SHIRAI¹
(¹ 1st Dept. Pathol., Nagoya City Univ. Med. Sch., ² Daiyu-kai Inst. Med. Sci., ³ Nagoya City Univ.)

【目的】我々はラット肝中期発がん試験法を用いて高周波電磁波曝露が肝の前がん病変の発生を促進せず抑制傾向を示すことを明らかにし、血中の melatonin が有意に高値を示すことを報告した。今回同様の方法を用いて melatonin を経口投与し、その用量反応性を検討した。

【方法】6 週齢の F344 ラットに、diethylnitrosoamine(DEN, 200mg/kg bw)を ip 投与し、その 2 週後より melatonin 20, 10, 5, 1 及び 0mg/L を飲料水に混じて投与した。投与は日内変動を考慮して 18 時より翌朝の 9 時まで 1 週 5 日間行った。いずれの群も 3 週目に 2/3 部分肝切除を行い、8 週目に深夜 0 時と 9 時頃の 2 回に分けて屠殺し、肝臓、前立腺及び精巣の重量を測定するとともに、血中 melatonin の測定と肝の glutathione S-transferase placental form(GST-P)陽性細胞巢を定量的に解析した。

【結果ならびに考察】melatonin の血中濃度は投与濃度に相関した上昇がみられ、10mg/L 以上では日内変動の消失がみられた。GST-P 陽性細胞巢の数及び面積はともに 0 から 10mg/L の濃度で用量依存性に減少した。今回、10mg/L 以下の投与群で血中 melatonin 濃度の増加に伴う GST-P 陽性細胞巢の数及び面積の減少がみられたことから、電磁波曝露実験での GST-P 陽性細胞巢の減少傾向の機序に melatonin の変動が関与していると考えられた。また、melatonin 投与群では体重増加抑制に伴う前立腺腹葉及び精巣の相対重量減少も観察された。

P-36 N,N-ジメチルホルムアミドの 2 週間・13 週間吸入曝露によるラットとマウスの肝臓病変

○妹尾英樹、竹内哲也、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)

Hepatic lesions in rats and mice after 2 and 13 weeks inhalation exposure to N,N-dimethylformamide
SENOH HIDEKI, TAKEUCHI TETSUYA, UMEDA YUMI, KATAGIRI TAKU, AISO SHIGETOSHI, NAGANO KASUKE
(Japan Bioassay Research Center)

有機合成の溶媒や触媒として使用されている N,N-ジメチルホルムアミドをラットとマウスに 2 週間あるいは 13 週間吸入曝露を行ったところ、肝傷害が認められたので、その病理組織像について報告する。

【方法】6 週齢の F344/DuCrj ラットと Crj:BDF1 マウスに N,N-ジメチルホルムアミドを 1 日 6 時間、週 5 日間全身曝露による経気道投与を行った。ラット、マウスとも、曝露濃度は 2 週間曝露が 0, 100, 200, 400, 800 および 1600ppm、13 週間曝露が 0, 50, 100, 200, 400 および 800ppm とし、雌雄各群 10 匹の群構成とした。投与終了後に剖検し、臓器を 10%緩衝ホルマリン液で固定、常法に従い光顕標本作製し、検索した。

【結果】ラットの 2 週間曝露では、雌雄とも 1600ppm 曝露で重度の肝小葉中心性壊死による死亡がみられ、生存例では石灰沈着を伴う小葉中心帯の線維化と巣状壊死がみられた。また、800ppm 曝露では肝臓に単細胞壊死が認められた。13 週間曝露では、雌雄とも肝臓重量の増加が 50ppm 曝露まで認められ、200ppm 以上の曝露で肝細胞の単細胞壊死や小葉中心性腫脹、細胞分裂像の増加、ヘモジデリン沈着がみられた。

マウスの 2 週間曝露では死亡はみられなかったが、肝小葉中心性変性が雄では 200ppm 以上、雌では 800ppm 以上の曝露でみられ、1600ppm 曝露では雌雄とも肝細胞に単細胞壊死が発生した。13 週間曝露では、雄では肝臓重量の増加が 50ppm 曝露まで認められ、800ppm の曝露で肝細胞に単細胞壊死や小葉中心性腫脹が全例にみられ、中心性壊死や巣状壊死、セロイドやヘモジデリンあるいは石灰沈着の見られる例もあった。これに対し、雌では肝臓重量の増加を示さなかったが、肝細胞の単細胞壊死が 50ppm 曝露までみられ、細胞分裂像の増加やヘモジデリン沈着、石灰沈着が 200ppm 以上、小葉中心性の腫脹が 800ppm 曝露で認められた。

以上のように、N,N-ジメチルホルムアミドの吸入曝露でみられた肝傷害像はラットとマウスで類似していたが、その発生濃度には動物種差がみられ、マウスでは性差があった。この試験は労働省から依頼されたがん原性試験の予備試験として実施した。

P-37 **ラット肝臓における phorone による heme oxygenase 誘導部位と CYP 阻害部位の相関**

○田中宏治、五十嵐功、佐久間恭子、高岡雅哉、真鍋淳
(三共・安全研)

Immunohistochemical localization of heme oxygenase induction and CYP inhibition in the rat liver treated with phorone
KOHJI TANAKA, ISAO IGARASHI, KYOKO SAKUMA, MASAYA TAKAOKA, SUNAO MANABE
(Med.Safety.Res.Labs., Sankyo Co., Ltd.)

【目的】我々はサポニン的一种であり CYP 阻害作用を有することが知られている α -hederin (α -Hed) をラットに投与し、 α -Hed による肝小葉内 CYP の阻害部位に注目した結果、阻害 (CYP 蛋白の減少) が小葉辺縁部の肝細胞で見られることを報告した (第 13 回日本毒性病理学会)。しかし、CYP の阻害を免疫組織化学的に検討した報告は少なく、小葉辺縁部における阻害が他の阻害剤でもみられるかは明らかではない。今回、heme oxygenase-1 (HO-1) の誘導を介して CYP を阻害することが知られている phorone (diisopropylidene acetone) をラットに反復投与し、肝小葉内 CYP の阻害部位と HO-1 の誘導部位を免疫組織化学的に検索した。

【方法】F344 ラット (雄) に 125 mg/kg の phorone を 7 日間反復腹腔内投与し、血液化学的検査、抗 HO-1 抗体および抗 CYP 抗体を用いた免疫組織化学的染色および肝薬物代謝酵素測定を経時的 (投与 3, 12, 24 時間後、投与 3, 7 日後) に行った。

【結果および考察】血液化学的検査では、肝障害を示唆する変化は検出されなかった。免疫組織化学的には、phorone の投与により小葉中心部の肝細胞で HO-1 の誘導が確認され、投与期間中誘導が持続した。この間、HO-1 の誘導部位に一致して小葉中心性の CYP 蛋白の減少が確認された。生化学的にも、CYP 蛋白の減少および活性の低下がみられ、この減少および低下は phorone の投与期間中持続した。その他、グルタチオン含量の一過性の著しい減少および他の第 II 相酵素の誘導がみられた。以上、phorone 投与により HO-1 が肝小葉中心部で誘導され、その誘導部位に一致して CYP が阻害されることが明らかになった。本実験結果は HO-1 の誘導を介して CYP 阻害を発現するとの従来の考えかたを支持するものである。

P-38 **Microcystin-LR (MCLR) 誘発性肝細胞死に対する Gadolinium Chloride (GdCl₃) 腹腔内前投与の影響**

○吉田敏則、武田真記夫、竹内幸子、原田孝則、真板敬三、上野芳夫¹
(残農研,¹東京理科大薬学部・栃木臨床病理研)

Modifying Effect of Intraperitoneal Injection of Gadolinium Chloride (GdCl₃) on Microcystin-LR-Induced Hepatic Cell Death
YOSHIDA TOSHINORI, TAKEDA MAKIO, TAKEUCHI YUKIKO, HARADA TAKANORI, MAITA KEIZO, UENO YOSHIO¹
(The Institute of Environmental Toxicology, ¹Totigi Clin. Pathol. Labo.)

【緒言】GdCl₃ は肝臓の Kupffer 細胞に取り込まれ同細胞を枯渇させる。本剤は、前処置により CCl₄ などの肝細胞死を抑制するから、肝毒性における Kupffer 細胞の関与の検討に利用されている。一方、GdCl₃ 投与により反応性に TNF- α は増加し肝細胞の増殖が亢進する。今回、通常(iv)とは異なる投与経路(ip)を選択した結果、GdCl₃ による肝細胞死の増強効果が明らかとなった。これを利用してアオコ毒素 MCLR 誘発性肝細胞死の病理発生を検討した。

【方法】雄性 B6C3F1 マウスに GdCl₃ (2 mg/匹) を 1 回 (MCLR 投与 24 時間前) ないし 2 回 (24 時間および 18 時間前) 投与(ip)した。その後、MCLR (35 μ g/kg) を単回投与(ip)して 24~33 時間後に剖検した。

【結果】GdCl₃ 投与により腹膜炎や石灰沈着を伴う肝実質内および被膜下の好中球浸潤がみられた。TNF- α 陽性(類洞壁)細胞、NF- κ B(p65)および PCNA 陽性肝細胞(核)が増加し、血清 TNF- α の増加を示す個体も観察された。MCLR との併用投与ではこれらの反応に加え、好中球浸潤を伴う被膜下壊死が頻発した。MCLR 単独投与では apoptosis が生じるが、併用投与ではさらにその頻度が増加した。MCLR の組織内分布は GdCl₃ 投与の影響を受けなかったが、強陽性顆粒(apoptosis に相当)は増加した。

【考察】これまでの研究において MCLR 投与による肝細胞死には TNF- α の関与が示唆され、好中球の過剰反応 (活性酸素や protease の分泌) により壊死が増強される可能性が考えられた。今回、GdCl₃ の ip 前投与により TNF- α および好中球に依存したと考えられる肝細胞死が増加したことから、MCLR に暴露された肝細胞はこれら因子に対し感受性が高く、細胞死に至る確率が高いことが示唆された。

P-39 非遺伝子障害性発癌物質投与によるラット肝細胞での PCNA、p27/ Kip1 及び Ref-1 の経時的变化

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

Sequential analysis of PCNA, p27/Kip1 and Ref-1 expressions in the liver of rats treated with non-genotoxic carcinogens KAZUHIRO TOYODA, MAKOTO SHIBUTANI, CHIKAKO UNEYAMA, KEIKO MIYAZAKI, NAOKO NIHO, MASAO HIROSE
(Div. of Pathol., Natl. Inst. of Health Sci.)

【目的】非遺伝子障害性発癌物質の投与早期における変動マーカーを探索する目的で、非遺伝子障害性発癌物質である Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) と非発癌性肝毒性物質であるアセトアミノフェンをラットに混餌投与し、細胞周期関連因子である PCNA と p27/ Kip1、及び DNA 修復酵素である Ref-1 の肝臓における蛋白質発現を経時的に検索した。

【方法】6 週齢の雄 F344/ DuCrj ラットを用いて 2%DEHP 混入飼料を投与する群、1%アセトアミノフェン混入飼料を投与する群、及び基礎食のみの対照群を設け(各群 40 匹)、いずれも 18 時間の絶食の後に混餌投与を開始し、投与後 1、3、6 時間及び 1、3、7、14、28 日目で各群 5 匹ずつを経時的に屠殺し、肝臓を摘出して病理組織学的検索を行うと共に、PCNA、p27/ Kip1、Ref-1 の蛋白質発現レベルを Western blotting 法にて検索した。

【結果及び考察】DEHP 投与群では、対照群に比べて肝重量が 6 時間と 1 日目で有意に減少、3 日目以降で有意に増加し、病理組織学的検索の結果、3 日目以降でペルオキシソーム増生による顕著な肝細胞肥大が認められた。Western blotting の結果、対照群に比べて PCNA が 1、3 時間目で増加、3 日目以降で減少したほか、3 日目以降の検索で p27/ Kip1 の減少と Ref-1 の増加がみられた。アセトアミノフェン投与群では、肝重量の有意な減少が 6 時間と 1 日目で、小葉中心領域の肝細胞壊死が 6 時間目以降で認められた。PCNA は 3 時間目で減少、6 時間～3 日目で増加、14 日目で減少し、3 日目以降の検索では、p27/ Kip1 は 7 日目まで減少し 14 日目以降で増加、Ref-1 はその発現増加が認められた。以上、DNA ポリメラーゼの補助因子である PCNA の増加は細胞周期の S 期進行の促進、CDK inhibitor である p27/ Kip1 の減少は G1 期の進行促進、DNA 修復酵素であり AP-1 activator である Ref-1 の増加は酸化ストレスに起因する DNA 傷害を反映する変化であると考えられ、それぞれの相互作用について今後更に検討する。

P-40 p53 ノックアウト(ヘテロ欠損) CBA マウスを用いた二段階肝発癌モデルにおける flumequine の肝イニシエーション作用

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

Initiating Effect of Flumequine in a Two-Stage Hepato-carcinogenesis Model Using Heterozygous p53 Deficient CBA Mice HISAYOSHI TAKAGI, KUNITOSHI MITSUMORI, HIROSHI ONODERA, KAZUO YASUHARA, TAKATOSHI KOUJITANI, TORU TAMURA, MASAO HIROSE
(Div. of Pathol., Natl. Inst. of Health Sci.)

【はじめに】flumequine (FL) は、グラム陰性菌に抗菌活性を示すキノロン系抗菌剤であり、主に動物の感染治療薬として用いられている。吉田ら (Cancer Letter 141(1999) 99-107) は、CD-1 マウス二段階発癌性実験で、DEN+FL 群のみならず FL18 週間単独投与群においても肝細胞増殖巣がわずかに誘発されると報告しており、FL にはプロモーション作用に加え、イニシエーション作用の可能性が示唆されている。そこで、今回我々は、肝発癌に感受性のある p53 ノックアウト(ヘテロ欠損) CBA マウス(p53(+/-)マウス)を用いて、FL の肝臓に対する発癌修飾作用を検索した。

【材料および方法】オリエンタル酵母で繁殖維持されている p53 (+/-) マウスおよびその同腹仔の野生型 マウス (p53 (+/+)) マウス) に 0 ないし 50mg/kg の dimethylnitrosamine (DMN) を腹腔内投与し、1 週間の休薬後に 0 ないし 4000ppm の FL を 26 週間混餌投与した。

【結果】肝細胞増殖巣の発生頻度は、p53 (+/-) マウスでは、DMN 単独群(雄 2/6 例、雌 0/5 例)に比し DMN+FL 群(雄 13/13 例、雌 8/8 例)で、また、無処置群(雄 0/5 例、雌 0/5 例)に比し FL 単独群(雄 14/14 例、雌 8/8 例)で有意に増加した。発生個数は雌より雄で有意に多かった。肝細胞腺腫は、雄では DMN+FL 群および FL 単独群でそれぞれ 1/13 例、雌では DMN+FL 群で 1/8 例みられた。肝細胞癌は、雌の DMN+FL 群で 1/8 例みられた。p53(+/-)マウスでも、p53(+/-)と同様の傾向がみられた。

【まとめ】p53(+/-)マウスを用いた実験系で、DMN+FL 群のみならず FL 単独群においても肝細胞増殖巣が短期間に、また高頻度に発現したことから、FL には明らかな発癌性があり、かつプロモーション作用のみならずイニシエーション作用も有する可能性が強く示唆された。一方、FL の肝増殖性病変に対する感受性は雌より雄で著しく高かったが、p53(+/-)マウスと p53(+/-)マウスとの間の感受性に明らかな差異はなかった。

P-41 塩化ガドリニウム投与ラットの腎糸球体病変

○久米英介、宮崎登志子、藤村久子、北村和之、川合是彰
(田辺製薬・創薬研)

Glomerular lesion in gadolinium chloride treated rats

EISUKE KUME, TOSHIKO MIYAZAKI, HISAKO FUJIMURA, KAZUYUKI KITAMURA, YOSHIAKI KAWAI
(Discovery Research Laboratory, TANABE SEIYAKU Co., Ltd.)

【目的】網内系細胞に対する毒性物質として知られる塩化ガドリニウム($GdCl_3$)は、化学物質の肝毒性とクッパー細胞との関連を調べるツールとして汎用されている。このため、塩化ガドリニウムの肝に対する影響については多くの研究者が検討を行っているが、他臓器に対する影響に関する報告は少ない。今回、 $GdCl_3$ をラットに単回投与し、その全身諸臓器、特に腎に対する影響について検討した。

【方法】6週齢SD系雄性ラットに $GdCl_3$ を、10,30mg/kgの用量で単回尾静脈内投与し、24時間後に剖検した。各種血液学的検査および血液生化学的検査を実施し、諸臓器の重量を測定した。常法に従い、全身諸臓器の病理組織学的検査を実施した。腎については、超微形態学的検査も実施した。

【結果および考察】臨床検査では白血球数の増加、血小板数の減少、AST,ALT活性値の軽度上昇などの変化が認められた。脾、腎重量が軽度に上昇した。組織学的には、腎で糸球体への好中球浸潤、個体により尿円柱(タンパク円柱)などが観察された。腎の超微形態学的検査では、電子密度の高い微粒子が糸球体基底膜(血管内皮側)およびメサンジウム領域に沈着していた。また、内皮細胞が基底膜から剥離する部位が観察された。腎以外の臓器では、肝で類洞壁細胞の水腫変性・壊死、肝細胞の巣状壊死が、脾で脾細胞の減少および赤脾髄領域への好酸性物質の蓄積が認められた。

以上の結果から塩化ガドリニウムが腎糸球体内皮細胞障害性を有することが明らかとなった。基底膜やメサンジウム領域への微粒子の沈着と内皮細胞障害との関連性については今後検討を加える予定である。

P-42 PCNA 標識率を指標とした微量カドミウム2年間投与ラットにおける腎傷害性の評価

○仁保直子¹、渋谷 淳¹、三森国敏¹、佐藤伸一²、広瀬雅雄¹、安藤正典³
(国立衛研・¹病理・³環境衛生化学、²イナリサーチ)

Estimation of renal lesions by PCNA-labelling index of proximal tubular epithelia in rats given minimum amounts of cadmium for long-term.

NAOKO NIHO¹, MAKOTO SHIBUTANI¹, KUNITOSHI MITSUMORI¹, SHIN-ICHI SATO², MASAO HIROSE¹,
MASANORI ANDO³

(¹Division of Pathology and ³Division of Environmental Health Chemistry of Natural Institute of Health Sciences, ²Ina Research Inc.)

【目的】我々は、カドミウム(Cd)をラットに短期間大量投与した場合、強い腎臓蓄積性により近位尿細管上皮細胞に変性・壊死を主体とした病変が誘発されることを報告した(第14回本学会)。我々は今学会にて、ラットへの2年間に及ぶ微量塩化Cdの経口投与では、Cd²⁺に起因すると考えられる腎病変は誘発されないことを報告する(渋谷ら)が、本研究では、これらのラットにおいて、腎傷害の評価指標として近位尿細管上皮のPCNA標識率を求め、微量Cdの長期間暴露による腎傷害性の評価を行った。

【方法】5週齢の雌性SDラットを用い、28%の精製飼料と72%の普通米あるいはCd汚染米(1.5ppm)の混合飼料投与群、及び28%の精製飼料と72%の普通米に塩化Cd(1.1,5,20,40ppm)を添加した群を設けた。投与開始後、12、18及び22カ月時に剖検した。メタカーン固定後パラフィン包埋した腎臓についてStreptABC法にてPCNA免疫染色を行い、各群における近位尿細管上皮細胞のPCNA陽性率を求めた。Cdに起因する腎傷害の陽性対照として、塩化Cdの0,8,40,200,600ppmを4カ月間投与したラットの腎尿細管におけるPCNA陽性率を求めた。

【結果】塩化Cdの4カ月間混餌投与例におけるPCNA標識率は用量依存的に増加し、600ppm群では多くの近位尿細管に陽性細胞が広く分布していた。長期間微量投与したラットにおけるPCNA陽性細胞は、多くは慢性腎症と考えられるネフロン単位の巣状の再生尿細管に一致して出現し、その標識率は多くの個体で非常に低かった。また、18カ月時の40ppm投与群及び22カ月時の20ppm投与群を除き、対照群との間に差はなく、Cdの用量に起因する増加を認めなかった。

【まとめ】Cdを最高22カ月間投与した際に近位尿細管上皮に出現したPCNA陽性細胞は、Cd短期間大量投与例とは異なり慢性腎症による再生像を反映しており、Cd長期微量投与による近位尿細管への傷害性はないと考えられた。

P-43 塩化カドミウムの長期微量投与ラットにおける近位尿細管上皮細胞内でのカドミウムとメタロチオネインの分布様式の解析

○今沢孝喜¹、渋谷 淳¹、赤木 巧²、三森国敏¹、佐藤伸一³、西川秋佳¹、広瀬雅雄¹、安藤正典⁴
(¹国立衛研¹病理・⁴環境生化学、²理科研・脳科学総合研究セ、³イナリサーチ・第2研)

Subcellular distribution of cadmium and metallothionein in the proximal tubular epithelia of rats given minimum amounts of cadmium chloride for long-term

TAKAYOSHI IMAZAWA¹, MAKOTO SHIBUTANI¹, KUNITOSHI MITSUMORI¹, TAKUMI AKAGI², SHINICHI SATO³, AKIYOSHI NISHIKAWA¹, MASAO HIROSE¹, MASANORI ANDO⁴

(¹Division of Pathology and ⁴Division of Environmental Health Chemistry of National Institute of Health Sciences, ²Lab. for Neural Architecture Brain Science Institute of Riken, ³Ina Reseach Inc.)

【はじめに】カドミウム(Cd)の生物学的半減期は非常に長く、腎臓に蓄積することにより、ヒトにおいて尿細管障害を主体とする毒性を発現させることが知られている。我々はラットに Cd を短期間大量曝露すると、腎臓の近位尿細管に変性・壊死を誘発することを報告した。Cd の毒性機序の一つとして、ミトコンドリアの酸化的リン酸化が阻害されるため、膜構造が呼吸阻害により破壊されて、細胞傷害が起こると考えられる。我々は今学会において、2年間に及ぶ微量の塩化 Cd の経口投与によりラットの腎臓に Cd が蓄積するものの、Cd に起因する腎病変は誘発されないことを報告する(渋谷ら)が、本研究では蓄積した Cd に対する尿細管上皮の防御機構を解明する目的で、微量の Cd を長期間投与したラットにおける尿細管上皮細胞内での Cd の局在とメタロチオネイン(MT)の分布を比較した。

【方法】5週齢雌 SD ラットに微量塩化 Cd(40ppm)含有飼料を自由摂取させ、対照群として Cd を含まない飼料を同様に与えた。投与後 18 および 22 カ月目に各群 2 匹ずつ屠殺し、腎皮質を細切し、2.5%グルタルアルデヒド液で固定後、常法に従い電顕標本を作製した。超薄切片作製後、分析透過型電子顕微鏡による Cd の分析および抗 MT 抗体を用いて免疫電顕による MT の局在性を解析した。

【結果】超微形態学的に Cd 投与したラット腎尿細管および糸球体の構成細胞は対照群と比較して著変を認めなかった。Cd はラット近位尿細管上皮細胞の二次性ライソゾームに高度に集積しているのみであったが、MT は尿細管上皮の二次性ライソゾームに、その他、細胞質基質にも多数存在し、核にも陽性像が散見された。しかし、ミトコンドリアには分布を認めなかった。

【まとめ】微量の Cd をラット長期間投与すると Cd は近位尿細管上皮細胞のライソゾーム内に局限して集積し、MT と安定した複合体を形成することにより、細胞傷害性を生じさせることなく尿中に放出させられるものと推察された。

P-44 抗 α_{2u} -グロブリン抗体を用いた免疫組織化学染色の検討

○可徳小四郎¹、押方孝文¹、楯先恵美子¹、石井三和子¹、浜村政夫¹、一鬼 勉¹、大村有子²、那須昌弘²、森安眞津子² (¹パナファーム・病理、²パナファーム・機能生化学)

Investigation for immunohistochemical staining with anti- α_{2u} -globulin antibody

KOSHIRO KATOKU¹, TAKAFUMI OSHIKATA¹, EMIKO KUWASAKI¹, MIWAKO ISHII¹, MASAO HAMAMURA¹, TSUTOMU ICHIKI¹, YUKO OHMURA², MASAHIRO NASU², MATSUKO MORIYASU²

(¹Panapharm Laboratories · Pathology, ²Panapharm Laboratories · Biochemistry)

【目的】雄ラット腎臓でみられる好酸性小体/硝子滴は、雄ラットに特異的に出現する α_{2u} -グロブリン(α_{2u} -G)を含む沈着物として知られており、化学物質、農薬などの投与により増強することを少なからず経験するが、多くの場合、PAS 染色に対する染色状態から α_{2u} -G を含む沈着物であることを推定するにとどまっている。今回、新規作製した抗 α_{2u} -G 抗体の病理組織学的検査への適用の有用性について、*d*-リモネン誘発の α_{2u} -G 腎症モデルを用いて検討したので報告する。

【方法】抗 α_{2u} -G 抗体は、老齢雄ラットの尿から精製した α_{2u} -G を Freund's adjuvant を用い常法に従ってウサギに免疫して作製した。標本は、11週齢の Crj:CD(SD)IGS 雌雄ラットに *d*-リモネンの 0(対照)、150 及び 300 mg/kg を 10 日間反復経口投与後、腎臓を含む主要器官を摘出し、ホルマリン固定したものをを用いた。常法に従ってパラフィン切片を作製し、HE 染色及び抗 α_{2u} -G 抗体を用いた免疫組織化学的染色を施して観察を行った。また、尿、腎臓及び肝臓の α_{2u} -G 含量を測定するとともに、腎臓の電子顕微鏡検査を実施し、 α_{2u} -G 腎症モデルとしての妥当性を確認した。

【結果及び考察】*d*-リモネンの 300 mg/kg を投与した雄ラットでは、HE 染色標本において近位尿細管上皮に円形ないし類円形の好酸性小体/硝子滴の増加がみられ、それらは抗 α_{2u} -G 抗体を用いた免疫組織化学的染色により強陽性を示した。また、全群の雄ラットで腎臓の近位尿細管上皮の細胞質及び肝臓の小葉中心部の肝細胞が弱陽性を示したが、その他の組織及び雌ラットでは陽性反応はなかった。*d*-リモネンの 300 mg/kg を投与した雄ラットでは、尿、腎臓及び肝臓中の α_{2u} -G 量は増加ないし増加傾向を示し、腎臓の電子顕微鏡検査でも既に報告されている α_{2u} -G 腎症に一致する所見が得られた。以上のように、今回作製した抗 α_{2u} -G 抗体は α_{2u} -G に対し免疫組織化学的に特異性は高く、また、ホルマリン固定のパラフィン切片を使用できることから、本抗体は日常の病理検査において、 α_{2u} -G 沈着の有無を確認する上で有用であると考えられる。

P-45 NW-NIBS ウサギにおける自然発生性腎糸球体病変の免疫組織化学的検索

○杉本加代子、渋谷一元、布谷鉄夫、田島正典
(日生研)

Immunohistochemical study on spontaneous renal glomerular lesions in NW-NIBS rabbits
KAYOKO SUGIMOTO, KAZUMOTO SHIBUYA, TETSUO NUNOYA, MASANORI TAJIMA
(Nippon Institute for Biological Science)

第 15 回本学会において我々は、当研究所で系統維持されている NW-NIBS ウサギに認められた自然発生性腎糸球体病変を病理組織学的に観察し、この糸球体病変がボウマン嚢壁からの線維化と糸球体係蹄の虚脱性萎縮から形成されていることを報告した。今回、糸球体病変の形成に関わる細胞外基質について、免疫組織化学的に検索したのでその概要を報告する。

【材料と方法】3, 4, 6, 7 カ月齢の NW-NIBS ウサギ雌雄それぞれ7~10羽を剖検後、常法により腎臓の HE 染色標本を作製し、病理組織学的に観察するとともに、I、III および IV 型コラーゲンならびにラミニンの免疫組織化学的局在について検索した。

【成績】ボウマン嚢壁の肥厚および糸球体上皮細胞の肥大などの初期病変(+)を示す糸球体では、肥厚したボウマン嚢基底膜において IV 型コラーゲンが強陽性を示した。糸球体係蹄の虚脱、半月体形成などの中等度病変(++)では、半月体の最外層には III 型コラーゲンが、半月部の細胞間には層状に IV 型コラーゲンおよびラミニンが陽性を示した。さらに糸球体係蹄におけるラミニンの染色性は一部消失して連続性を欠く部分が観察された。糸球体がボウマン嚢と癒着し好酸性均一な塊状に萎縮した重度病変(+++)では、その硝子化した糸球体の中心部が IV 型コラーゲン陽性、周辺部が I および III 型コラーゲン陽性を示した。ラミニンは周辺部に斑状に弱陽性を示すのみで、中心部は陰性であった。

【まとめ】以上の所見から NW-NIBS ウサギの糸球体病変において、ボウマン嚢壁からの線維化部位には I および III 型コラーゲンの集積が、糸球体係蹄の虚脱部位には IV 型コラーゲンの凝集とラミニンの消失が明らかとなった。これらの変化はヒトの萎縮腎にみられる荒廃化糸球体の形態像と類似し、これらの糸球体障害の形成機序の解明に有用な動物モデルと考えられる。

P-46 Long Evans Cinnamon(LEC)ラットとFischer 344(F344)ラットにおける腎尿管増殖性病変の比較

○岡田味世子、後藤和広、佐野文子、杉本次郎、務台 衛
(三菱東京製薬(株)安全性研究所)

Compare Long Evans Cinnamon (LEC) rat with Fischer 344 (F344) rat of proliferative renal tubular lesions
MIYOKO OKADA, KAZUHIRO GOTO, FUMIKO SANO, JIRO SUGIMOTO, MAMORU MUTAI
(Pharmacokinetics and Toxicology Laboratory, Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals, Inc.)

LECラットは、肝炎および肝癌を自然発生することが知られている。長期生存例の約半数で腎細胞腫瘍が発生するとの報告はあるが、それ以外の腎病変に関する報告は少ない。一方、F344ラットでは加齢性に再生尿細管の発現は増加するが、腎細胞腫瘍の発生は0.3~0.6%と少ない。今回、LECラットの腎病変を組織学的に検索し、F344ラットと比較した。

【材料と方法】日本チャールス・リバー社より5週齢の雄LECラットを50匹購入し、無処置長期飼育した。比較に用いたF344ラットは32週齢に屠殺した6例(早期屠殺例)、84, 86, 89, 98および110週齢に屠殺した54例(長期生存例)の雄60例である。すべての動物の腎臓について常法によりパラフィン切片を作製し、HE染色を施して病理組織学的に検索した。

【結果】LECラットでは21~26週齢時に劇症肝炎により34例が死亡した(早期死亡例)。その他16例(長期生存例)のうち10例は70~108週齢時に死亡、6例は111週齢時に屠殺、剖検した。なお、長期生存例全例で肝細胞癌がみられた。早期死亡例では、近位尿細管の広範囲な壊死(全例)、再生尿細管(4例)が観察された。前癌病変である過形成尿細管はみられなかった。長期生存例では、全例で再生尿細管および過形成尿細管が認められ、腎細胞癌の発生は1例であった。F344ラットでは、各週齢のほぼ全例において同時期のLECラットに比べ広範囲に再生尿細管がみられた。過形成尿細管は長期生存例の1例にのみ認められた。

【まとめ】長期生存例のLECラットでは、同時期のF344ラットに比べ、再生尿細管の発現頻度は低かった。一方、前癌病変である過形成尿細管は長期生存例全例でみられ、LECラットはF344ラット等の汎用される系統に比べ、腎細胞腫瘍を発症しやすい系統であることが示唆された。しかし、本実験におけるLECラットの長期生存例の腎細胞腫瘍発生率は既報に比べて低く、LECラットの腎癌は実験環境による影響を強く受ける可能性が示唆された。現在、腎細胞腫瘍発生の引き金になる銅の蓄積について検討中である。

P-47 F1(Wistar-Fischer)ラットにおけるEHEN腎腫瘍の発生について

○高島健次¹、大園誠一郎¹、中農 勇¹、太田匡彦¹、田中雅博¹、谷 満¹、趙 順規²、平尾和也¹、日浅義雄²、平尾佳彦¹
(奈良医大, ¹泌尿器科、²病理)

EHEN renal carcinogenesis in F1(Wistar-Fischer) rats

KENJI TAKASHIMA¹, SEIICHIRO OZONO¹, ISAMU NAKANOU¹, MASAHIKO OTA¹, MASAHIRO TANAKA¹, MITSURU TANI¹, MASAKI CHO², KAZUYA HIRAO¹, YOSHIO HIASA², YOSHIHIKO HIRAO¹
(Dept. of Urol., Pathol., Nara Med. Univ.)

[目的] EHEN(N-ethyl-N-hydroxyethlnitrosamine)による腎腫瘍の発生には、種差、系統差ならびに性差のみられることが知られている。今回、われわれは、Wistar系、Fischer系およびそのF1ラット(WF:母Wistar×父Fischer,FW:母Fischer×父Wistar)における腎腫瘍の発生率を検討した。

[対象と方法] 6週齢のWistar(雄26匹、雌26匹)、Fischer(雄26匹、雌26匹)、WF(雄27匹、雌40匹)、FW(雄25匹、雌26匹)ラットを雌雄別に8群に分け、2000ppm EHENを2週間経口投与後、32週まで基礎食を投与した。屠殺後、両側腎を各々4切片に分割してHE染色し、病理組織学的検索は、simple hyperplasia, adenomatous hyperplasia, renal cell neoplasmに分類して検討した。

[結果] 雄性ラットにおけるrenal cell neoplasmの発生率は、1ラットあたり、Wistar、Fischer、FW、WFラットで0.81、0.00、0.30、0.28個と、Wistarラットでもっとも多く認められたが、WF、FWラットで差はみられなかった。一方、雌ラットにおいても同様に、renal cell neoplasmの発生率は、1ラットあたり、Wistar、Fischer、FW、WFラットで0.31、0.04、0.08、0.15個認められ、WF、FWラットで差はみられなかった。

[結語] EHEN 誘発腎腫瘍は、Wistar 系雄性ラットにおいてもっとも高頻度に発生するが、父母の系統が腎腫瘍の発生に影響しないことが示唆された。

P-48 脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) の腎臓に対する塩酸ベニジピンの効果

○加国雅和、竹田 剛、高橋淳子、水谷昌人、木本直哉、高場克己、鈴木 一生、西川 智
(協和発酵・安全研)

Effects of Benidipne hydrochloride on stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHRSP) kidney.

MASAKAZU KAKUNI, TSUYOSHI TAKEDA, JYUNKO TAKAHASHI, MASAO MIZUTANI, NAOYA KIMOTO, KATSUMI TAKABA, KAZUO SUZUKI, SATOSHI NISHIKAWA
(Toxicological Reserch Laboratories, Kyowa)

高血圧症患者の臨床治療では、抗高血圧薬投与による血圧降下と同時に腎組織障害の軽減効果も報告されており、その有用性が注目されている。我々は、カルシウムチャンネルブロッカーである塩酸ベニジピンについて、高血圧症モデル動物の腎臓組織障害への効果を病理組織学的に検討した。

高血圧症モデルとして利用した動物は、脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (SHRSP) の 10 週齢、雄性動物である。これらの動物に食塩負荷を行って早期に脳卒中を発症させ、神経症状の確認前(実験1)および確認後(実験2)から塩酸ベニジピン投与を開始した。投与終了後、麻酔下において放血致死させた動物から腎臓を採取し、常法によりパラフィン包埋した後に薄切およびヘマトキシリン・エオジン染色を行った。腎臓組織の観察および評価は、血管、糸球体および尿細管について実施した。対象病変は、血管については類線維素性壊死、糸球体については糸球体の硬化、硝子化と水腫様肥厚およびボーマン腔の拡張とした。また、尿細管と間質の変化については、I 型領域として蛋白円柱または拡張した尿細管の領域、II 型領域として再生尿細管または円形細胞浸潤および線維化した間質とした。これらの対象病変はそれぞれ数値化した後に統計学的処理によって解析した。

その結果、神経症状の確認前後いずれの投与においても、塩酸ベニジピンの 3 mg/kg 以上の投与によって有意な腎臓組織障害の軽減が認められた。

P-49 Dimethylarsinic acid の F344 雄ラットにおける発癌性

○魏民、鰐淵英機、森村圭一郎、岩井秀司、小川元女、福島昭治
(大阪市大・医・1 病理)

Carcinogenicity analysis of dimethylarsinic acid in male F344 rats

WEI MIN, WANIBUCHI HIDEKI, MORIMURA KEIICHIRO, IWAI SHUJI, OGAWA MOTOME, FUKUSHIMA SHOJI
(1st. Dept. Pathol., Osaka City Univ. Med. Sch.)

【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、無機ヒ素の主な生体代謝物であり、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。そこで、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、および 0ppm DMA を飲料水にて投与した。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。

【結果】DMA 投与群と無処置群で生存率、最終体重に差異は認められなかった。膀胱腫瘍の発生は 97 週以後に生存している動物にのみ認められた。膀胱腫瘍の発生率は 200ppm 投与群では 39%、50ppm 投与群では 26% で、12.5ppm 投与群と無処置群では膀胱腫瘍を認めなかった。細胞増殖能指標である BrdU labeling index は DMA 200 と 50 ppm 群では無処置群に比べ有意に増加した。尿中ヒ素代謝産物としては DMA と trimethylarsine oxide (TMA) が最も多く排泄され、また、未同定のヒ素代謝産物、ピーク 1 とピーク 2 も検出された。肝臓、腎臓及び甲状腺において散発的に腫瘍の発生が認められたが、DMA 投与による発生率に有意な差は各群間に見られなかった。

さらに、DMA の膀胱発癌のメカニズムを解明するために DMA により誘発された膀胱癌における p53 と ras 遺伝子変異および Microsatellite instability (MSI) の検索を行った。DMA により誘発した膀胱癌では p53 遺伝子変異が認められなかった。一方、ras 遺伝子変異が低頻度 (10%) ながら観察された。また、現在、検索した限りにおいては MSI は認められていない。

【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。

P-50 Brown Norway ラットと F344 ラットにおける塩化水銀誘発腎間質線維化病変の進展過程の比較

○鈴木 和彦、中山 裕之、土井 邦雄
(東大・獣医病理)

Comparison of mercuric chloride-induced renal interstitial fibrosis between Brown Norway rats and F344 rats

Kazuhiko SUZUKI, Hiroyuki NAKAYAMA, Kunio DOI

(Department of Veterinary Pathology, The University of Tokyo)

【目的】中程度の塩化水銀($HgCl_2$)を 1 ないし数回ラットに投与すると、尿細管壊死に続き間質線維化が起こるため、この試験系は線維化の進展機構の研究に利用されている。今回我々は、免疫応答能が高く、 $HgCl_2$ の少用量反復投与により自己免疫性糸球体腎炎が誘発される Brown Norway (BN) ラットと長期毒性試験に供される F344 ラットを用い、 $HgCl_2$ による腎間質線維化の進展を比較した。

【方法】9 週齢雄の BN ラットおよび F344 ラットに $HgCl_2$ (1mg/kg b.w.) を 1 ないし 3 回投与し、尿細管間質病変の進展過程を病理組織学的に、また、各種間質浸潤細胞の動態を免疫組織化学的に検索した。さらに、線維化促進サイトカインとして知られる transforming growth factor (TGF) - $\beta 1$ の mRNA レベルでの発現を competitive RT-PCR 法により検索した。

【結果】尿細管病変は両系統とも主に皮髄境界部の近位尿細管に認められ、上皮の壊死及び脱落、再生、管腔拡張と推移した。こうした病変の程度は両系統間で差はなかった。その後、尿細管周囲性に単核細胞浸潤と線維化がみられたが、その程度は BN ラットで高度であった。浸潤細胞は ED1 陽性 M ϕ と CD8 陽性細胞が主体で、day 6 以降に増数し、 α -smooth muscle actin (SMA) 陽性筋線維芽細胞も day 6 以降に尿細管周囲で増数した。これら間質細胞の動態は両系統でほぼ同様であったが、その程度は BN ラットで高度であった。TGF- $\beta 1$ mRNA の発現の動態は、両系統で類似していた。

【考察】 $HgCl_2$ 投与後に BN ラットにみられた腎間質線維化は、F344 ラットと比べてより高度で、その過程には $HgCl_2$ による直接的な尿細管障害に対する反応のみでなく、 $HgCl_2$ により誘発された免疫学的反応も関与している可能性が示唆された。

P-51 ラットにおける PhIP 胎内曝露の次世代に及ぼす影響：前立腺と大腸における PhIP-DNA 付加体形成および催奇形性

○曹永暉、高橋 智、池田佳久、葛谷和也、陳 協、今井田克己、白井智之
(名市大・医・1 病理)

Effects of transplacental and trans-breast milk exposure of PhIP on the next generation in male rats: PhIP-DNA adduct formation in the prostate and large intestine, and teratogenicity
YOUNG-MAN CHO, SATORU TAKAHASHI, YOSHIHISA IKEDA, KAZUYA KUZUTANI, XIE CHEN, KASTUMI IMAIDA, TOMOYUKI SHIRAI
(1st Dept. of Pathol., Nagoya City Univ. Med. Sch.)

【目的】我々は 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP)への胎内および経乳曝露がその後の乳腺発がんの素因となる事を報告したが、今回は PhIP への曝露が雄仔の前立腺および大腸発がんにも影響するかどうかを検討する目的で、PhIP-DNA 付加体の形成を調べた。また PhIP による新生仔の奇形発生についても観察した。

【方法】7 週齢の F344 雌ラットに PhIP 200ppm を 4 週間混餌投与した後、無処置の同系雄ラットと交配し妊娠動物を得た。妊娠ラットにはさらに妊娠期間および授乳期間を通じて PhIP を与え、新生仔(雄仔)は 3 週齢時に解剖し、前立腺と大腸を中心に PhIP-DNA 付加体形成の免疫組織学的検索と奇形の有無の肉眼的な観察を行った。

【結果】3 週齢の雄仔では PhIP の発がん標的臓器である前立腺、乳腺および大腸上皮細胞において PhIP-DNA 付加体形成を高率に認めた。前立腺腹葉における細胞増殖度は対照群(4.4%)に対し PhIP 処置群(5.7%)と有意差を認められないものの増加傾向が認められ、大腸上皮における細胞増殖度は対照群(5.3%)に対し PhIP 処置群(11.5%)で有意な増加が観察された。また無処置母ラットからの新生仔には奇形は観察されなかったのに対し、PhIP 投与母ラットからの新生仔では 10/49 例(20.4%)に無眼球症等の先天異常が認められ、繰り返し行った 2 回目の実験においても、34/63 例(54.0%)に同様の奇形が観察された。

【結論】胎盤および乳汁を介して曝露した PhIP は前立腺および大腸に PhIP-DNA 付加体を形成し、上皮細胞における細胞増殖を促進する事が明らかとなった。これらの結果は乳腺と同様に胎仔期および新生仔期の母体への PhIP 曝露が前立腺および大腸発がんの危険因子となりうる可能性を示唆するものと考えられた。また PhIP は高濃度曝露によってラットにおいて催奇形性を示すことが明らかとなった。

P-52 DMAB ラット前立腺発癌における testosterone と estrogen による発がん修飾作用の検討：用量効果

○加藤浩司¹、今井田克己¹、二口 充¹、小木曾正¹、崔 林¹、加藤俊男^{1,2}、白井智之¹
(¹名市大・医・1 病理、²大雄会病院・病理)

Interaction of testosterone and estrogen on DMAB-induced rat prostate carcinogenesis : Dose-related effects
KOJI KATO¹, KATSUMI IMAIDA¹, MITSURU FUTAKUCHI¹, TADASHI OGISO¹, LIN CUI¹, TOSHIO KATO^{1,2}, TOMOYUKI SHIRAI¹
(¹1st Dept. of Pathol., Nagoya City Univ. Med. Sch.,²Dept. Pathol., Daiyu-kai Hospital)

【目的】DMAB ラット前立腺発癌モデルにおいて、テストステロン・プロピオネート(TP)により浸潤癌が誘発され、更にエストロゲン(EE)の追投与により発がん性のスペクトラムが変化する。今回、それぞれの投与量を変化させ、前立腺各葉および精囊における発がん修飾作用を検討した。

【方法】DMAB(50mg/kg)を隔週 1 回計 10 回皮下投与後、1cm のシリコンチューブに TP を封入したもの[TP(1cm)]を皮下埋植すると同時に、0.5cm シリコンチューブ封入 EE [EE(0.5cm)]皮下埋植および 1.5, 0.5, 0ppm 混餌にてそれぞれ投与した。また、0.5cm シリコンチューブ封入 TP [TP(0.5cm)]においても同様の EE 投与を行い、54 週で屠殺剖検後、前立腺および精囊について病理組織学的検索を行った。

【結果】DMAB/TP(1cm)群の腹葉、側葉、背葉、前葉前立腺および精囊の異型過形成の頻度はそれぞれ 42, 58, 21, 63 および 95%であるのに対し、+EE (0.5cm)群では 100, 85, 55, 70 および 60%であり、腹葉と背葉前立腺では有意な増加を示し、側葉と前葉前立腺では増加傾向を示したが、精囊では反対に有意な減少がみられた。また、DMAB/TP(1cm)群の腹葉、側葉、背葉、前葉前立腺および精囊の癌の頻度はそれぞれ 0, 11, 11, 26 および 21%であるのに対し、+EE(0.5cm)群では腹葉、側葉および背葉前立腺では癌の発生を認めず、精囊は 10%と減少傾向を示したが、前葉前立腺では 70%と有意な増加がみられた。TP(0.5cm)各群は、TP(1cm)各群と同様の病変発生傾向を示したが、病変の頻度は減少傾向を示した。

【結論】DMAB 誘発前立腺癌は、TP と EE の相互作用により、前立腺各葉および精囊に対して、異なった発がん性と用量効果を示すことが明らかとなった。

P-53 p53 ヘテロ欠損マウスの膀胱発癌感受性の検討：Na-OPP、ウラシルの細胞増殖性について

○宇和川賢¹、須方督夫¹、尾崎正和¹、尾崎圭介¹、奥野泰由¹、福島明治²
(¹住友化学・生科研、²大阪市大・1 病理)

Lack of Induction of Epithelial Cell Proliferation by Sodium o-Phenylphenol and Uracil in the Urinary Bladder of Heterozygous p53 Knockout Mice.

Satoshi UWAGAWA, Tokuo SUKATA, Masakazu OZAKI, Keisuke OZAKI, Yasuyoshi OKUNO, Shoji FUKUSHIMA
(¹EHSL, Sumitomo Chemical Co., Ltd., ²1st. Dept. Pathol., Osaka City Univ. Med. Sch.)

【目的】p53 ヘテロ欠損マウスは genotoxic な膀胱発癌物質、BBN に対して発癌高感受性を示すと共に投与初期より膀胱粘膜上皮細胞の増殖異常亢進が認められることを報告した。即ち、正常マウスでは遺伝子に傷害を受けた際、p53 遺伝子を介した機能により傷害の固定化が回避されるが、p53 遺伝子を先天的に欠損したマウスでは修復機能が不十分なため、遺伝子の傷害が固定化され癌化へ向かい易いと考えられた。これより、p53 ヘテロ欠損マウスは non-genotoxic な発癌物質に対しては高感受性を示さない可能性が示唆される。そこで、ラット膀胱発癌物質である sodium o-phenylphenate (Na-OPP) とラット、マウスに発癌性を示すウラシルの影響について、膀胱上皮の細胞増殖性を指標として比較検討した。

【方法】p53 ヘテロ欠損マウス(TSG-p53 マウス)と正常マウス(野生型マウス)の雌雄各 15 匹(10 週令)を用いた。Na-OPP (2%)、ウラシル(2.5%)を 4 週間混餌投与した後、膀胱粘膜上皮の細胞増殖性(BrdU 標識率)および病理組織学的検査を実施した。

【結果】Na-OPP を投与した TSG-p53 マウス、野生型マウスともに、尿 pH は上昇したが、細胞増殖性に差異は認められなかった(BrdU 標識率%;TSG-p53 マウス雄 0.08、雌 0.07;野生型マウス雄 0.13、雌 0.07)。ウラシルを投与した TSG-p53 マウス、野生型マウスともに、結石が見られ膀胱粘膜上皮の増生が認められたが、細胞増殖性については両系統に差異は認められなかった(BrdU 標識率%;TSG-p53 マウス雄 17.94、雌 15.36;野生型マウス雄 17.37、雌 15.92)。

【まとめ】Na-OPP、ウラシルを投与した TSG-p53 マウス、野生型マウスともに、膀胱粘膜上皮の細胞増殖性に差異は認められず、p53 ヘテロ欠損マウスは non-genotoxic な膀胱発癌物質に対して発癌高感受性を示さない可能性が示唆された。

P-54 Sodium L-ascorbate(Na-AsA)によるラット膀胱上皮における細胞増殖の経時的变化

○北野光昭、森村圭一郎、榊田周佳、サリムエリサイド、鰐淵英機、福島昭治
(大阪市大・医・1 病理)

Time course study of epithelial cell proliferation in the urinary bladder of rats by sodium L-ascorbate

MITSUAKI KITANO, KEIICHIROU MORIMURA, CHIKAYOSHI MASUDA, ELSAYED SALIM, HIDEKI WANIBUCHI, SHOJI FUKUSHIMA

(1st Dept. Pathol., Osaka City Univ. Med. Sch.)

【目的】sodium L-ascorbate(Na-AsA)はラット膀胱発癌においてプロモーション作用を示すことが知られている。本研究では、Na-AsA によるラット膀胱上皮の細胞増殖作用について、経時的な変化を検索した。

【方法】6 週齢の雄性 F344 ラット 173 匹を使用した。ラットを 4 群に分け(第 1 群:50 匹、第 2-4 群:41 匹)、試験開始時より 8 週間 Na-AsA を CE-2 粉末飼料に混合して与えた。濃度は 1.25, 2.5, 5.0% とし、対照群には CE-2 粉末飼料のみを与えた。対照群の 9 匹のみを試験開始時に屠殺し、以後すべての群について 1,2,4,6,8 週経過時にラットを屠殺し、膀胱を摘出した。屠殺前に 5-bromodeoxyuridine(BrdU)を腹腔内投与し、膀胱上皮における BrdU 陽性率をマーカーとして細胞増殖作用を検索した。また 0,2,4,8 週経過時に屠殺したラットについては、RT-PCR 法を用いて細胞増殖関連因子である Cyclin D1 の mRNA について検索した。

【結果】膀胱上皮の BrdU 陽性率においては、1 週目で増加し、2~4 週目で一旦減少し、再度 8 週目に増加するというパターンが観察された。これらの変化は Na-AsA の濃度にほぼ依存しており、特に 5.0%投与群においては顕著であった。RT-PCR 法を用いた Cyclin D1 mRNA の発現に関しては多少の変動はみられたが、顕著な変化ではなく、BrdU 陽性率との関連は明らかではなかった。BrdU 陽性率については、上記と同様の方法で再現性を検討した結果(ラット 126 匹を使用)、ほぼ同じ結果が得られた。

【結論】Na-AsA によるラット膀胱上皮の細胞増殖作用は、経時的に変化(増減)することが明らかとなった。しかし、細胞増殖関連因子の一つである Cyclin D1 との関連は明らかではなかった。

P-55 Phenethyl isothiocyanate (PEITC)によるラット膀胱病変の可逆性

○杉浦 諭¹、小川久美子¹、朝元誠人¹、今井田克己¹、小木曾 正¹、広瀬雅雄²、白井智之¹

(¹名市大・医・1 病理, ²国立衛研・病理)

Reversibility of rat bladder lesions induced by phenethyl isothiocyanate (PEITC)

SATOSHI SUGIURA¹, KUMIKO OGAWA¹, MAKOTO ASAMOTO¹, KATSUMI IMAIDA¹, TADASHI OGISO¹, MASAO HIROSE², TOMOYUKI SHIRAI¹

¹1st Dept. Pathol., Nagoya City Univ. Med. Sch., ²Div. Pathol., National Inst. Health Sci.

【目的】 Phenethyl isothiocyanate (PEITC)は西洋わさびなど十字花科の植物に glucosinolate として含まれており、種々の発癌物質の発癌作用をイニシエーション段階で抑制することから、化学予防剤としての有用性が注目されてきた。我々は以前、PEITC が強力な膀胱発癌促進作用を有し、単独での発癌性も強く示唆される結果を報告した。今回、PEITC の膀胱に対する作用の詳細を検討する目的で、PEITC の投与中止、或いは持続による膀胱病変の変化について検討した。

【方法】6 週齢 F344 雄ラットを 3 群に分け、1 群は 0.1%PEITC を 32 週間混餌投与後中止し、基礎食に変更後 1,3,7 日目と 16 週間目に屠殺剖検した。また 2 群は 0.1%PEITC 48 週間持続投与群、3 群は対照群とした。屠殺剖検後、膀胱を中心に病理組織学的検索を行った。

【結果】PEITC 投与中止により、経時的に膀胱重量は減少し、膀胱粘膜病変の大部分を占める単純・PN 過形成は経時的に消退した。一方、異型を伴う病変は消退せず、投与中止 16 週間後には癌も高率(58%)に認められた。48 週間持続投与群では更に高率(92%)に癌が認められた。BrdU 標識率は、単純・PN 過形成では PEITC 投与中止後に低下する傾向が認められたが、異形成、癌では中止後も高い値を維持した。

【結論】PEITC によるラット膀胱病変には可逆性と不可逆性のものが混在し、不可逆性病変は投与中止後も発達し、高率に癌化することが考えられる。

P-56 PEITC のラット膀胱、肝発がん促進に対する用量相関作用

○中西 巧^{1,2}、陳 協²、小川久美子²、崔 林²、鈴木周五²、広瀬雅雄³、白井智之²

(¹大雄会医科研, ²名市大・医・1 病理, ³国立衛研・病理)

Dose-dependent promotion of PEITC in the rat urinary bladder and liver carcinogenesis.

NAKANISHI TAKUMI^{1,2}, CHEN XIE², OGAWA KUMIKO², CUI LIN², SUZUKI SHUGO², HIROSE MASAO³, SHIRAI TOMOYUKI²

¹Daiyu-kai Inst. Med. Sci., ²1st Dept. Pathol., Nagoya City Univ. Med., ³Div. Pathol., Natl. Inst. Hlth. Sci.

【目的】 Phenethyl isothiocyanate (PEITC) は十字花科植物に含まれ、肺癌や食道癌の化学予防剤として有効と考えられている。我々は以前、PEITC が膀胱および肝臓発がんを促進し、かつ単独投与で膀胱の発がん性を発見した。今回は膀胱および肝臓発がんプロモーション作用の用量効果について検討した。

【方法】6 週齢 F344 雄ラット 68 匹に、diethylnitrosamine (DEN) 200mg/kg を 1 回腹腔内に投与し、その 2 日後から 4 週間、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) 0.05%を飲料水投与して肝臓および膀胱に対し、イニシエーション処置を施した。その 3 日後より、0, 0.01, 0.05 または 0.1% PEITC 混合飼料を実験 36 週まで与えた。更に上記用量の PEITC 単独投与群を設けた。発生した膀胱および肝臓の病変を病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検索した。

【結果】膀胱では、イニシエーション群において PN 過形成および移行上皮癌の発生率が PEITC の投与用量に依存して有意に増加し、更に移行上皮癌では浸潤癌の発生が増していた。非イニシエーション群においても PEITC の 0.05%以上の投与群で過形成を、0.1%群で乳頭腫が観察された。肝臓では、GST-P 陽性細胞巢の個数および面積が PEITC の投与用量に依存して有意に増加していた。

【結論】PEITC は F344 ラットの膀胱および肝臓発がんを 0.01%から用量依存的に促進を示すことが明らかとなった。

P-57 BITC および PEITC 関連化合物のラット泌尿器系諸臓器に対する影響

○吉野裕子^{1,2}、小川久美子²、玉野静光¹、佐野真士^{1,2}、河部真弓¹、二口 充²、
広瀬雅雄³、白井智之²

(¹大雄会医科研、²名市大・医・1 病理、³国立衛研・病理)

Cell proliferative and toxic effects of BITC and PEITC related compounds on the urinary system.

HIROKO YOSHINO^{1,2}, KUMIKO OGAWA², SEIKO TAMANO¹, MASASHI SANO^{1,2}, MAYUMI KAWABE¹, MITSURU FUTAKUCHI², MASAO HIROSE³, TOMOYUKI SHIRAI²

(¹Daiyu-kai Inst. Med. Sci., ²1st Dept. Pathol., Nagoya city Univ. Med. Sch., ³Div. Pathol., Natl. Inst. Hlth. Sci)

【目的】我々は、肺癌や食道癌の化学予防剤として報告されてきた Benzyl isothiocyanate (BITC) および Phenethyl isothiocyanate (PEITC) が膀胱発癌に対してプロモーション作用を示し、かつ単独投与での発癌性を見出した。今回、この関連化合物 10 種類の短期間混餌投与によるラット泌尿器系諸臓器に対する影響を検討した。

【方法】6 週齢 F344 雄ラット 68 匹に、Isothiocyanate 関連化合物 10 種類について 0.1% の濃度で 2 週間それぞれ混餌投与した。経時的に尿検査を実施し、さらに腎臓、尿管、膀胱についての細胞増殖活性の検索および病理組織学的検査を実施した。

【結果】Benzyl thiocyanate および Phenyl isothiocyanate 投与群で体重増加抑制が、 α -Naphthyl isothiocyanate 投与群で有意な体重減少が認められた。膀胱上皮の BrdU 標識率を指標とした細胞増殖活性は、BITC, PEITC, Phenyl isothiocyanate, α -Naphthyl isothiocyanate および Butyl isothiocyanate 投与群で対照群と比較して有意な高値を示した。組織学的変化では、BITC および PEITC 投与群で膀胱上皮の単純性過形成および PN 過形成が、Phenyl isothiocyanate および Butyl isothiocyanate 投与群で単純性過形成が認められた。また Benzyl thiocyanate 投与群で腎臓の尿細管上皮において好酸性物質貯留の増加が、 α -Naphthyl isothiocyanate 投与群で空胞化が観察された。

【結論】BITC および PEITC のみならず Phenyl isothiocyanate および Butyl isothiocyanate にも膀胱発癌に対する標的性が示され、Benzyl thiocyanate および α -Naphthyl isothiocyanate は腎臓毒性が示唆された。

P-58 若齢 SD 系ラットにみられた腎尿細管上皮の腫瘍性病変

○河内真美、木川英美、豊沢かおる、梶谷高敏、沖本一夫、田中浩二

(大日本製薬(株)・開発研)

Neoplastic lesions of the renal tubules in young Sprague-Dawley rats

MAMI KOHCHI, EMI KIKAWA, KAORU TOYOSAWA, TAKATOSHI KOUJITANI, KAZUO OKIMOTO, KOHJI TANAKA

(Developmental Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.)

15/347 例 7-16 週令

腎臓の尿細管上皮由来の腫瘍性病変は実験的には種々の化学発癌物質により比較的容易に発生させることができる。一方、自然発生性の腎尿細管腫瘍の発生率は SD 系ラットでは腺腫および腺癌がそれぞれ 0.2~0.7% と稀であり、主に長期試験に認められる。また、腎細胞腫が常染色体優性遺伝によってラットに発生することも知られており、生後数週間から数ヶ月のごく早期に両側性および多発性に腎腫瘍が発生する。今回、当研究所で実施した毒性試験に使用した SD 系ラットの腎臓に尿細管上皮の過形成あるいは腺腫を 15 例に認めたので報告する。

本病変は、関連のない 3 種類の被験物質を用いた 5 つの毒性試験に用いられた同一繁殖場から購入した 7~16 週齢の若齢 Jcl:SD ラットにみられ、対照群 2 例を含む合計 15 例に腺腫が 7 例、過形成が 8 例みられた。本病変は約 1 年の間に実施された毒性試験にみられ、それ以前あるいはそれ以後の試験では本病変の発生はみられていない。

肉眼的には腎臓の皮質に直径 1 mm 前後の小型のシストあるいは白色点が主に両側性かつ多発性にみられ、過形成の場合には肉眼的な病変は明らかではなかった。組織学的には好酸性、空胞状あるいは淡明な細胞質を有する尿細管上皮細胞が充実性、管状あるいは拡張した尿細管腔内に乳頭状に増殖していた。

以上のように、これらの病変は複数例の若齢ラットの腎臓に両側性および多発性にみられたことから、遺伝的な要因によって発生したことが疑われた。

Hyper Ad Ca
15/15 8/15 3/15

Testis Tubular Atrophy 14 (23.8%)

P-59 毒性試験の対照群に用いた雄性ビーグル犬に見られた自然発生病変

○朝比奈政利、大町 康、久米英介、篠塚淳子、北村和之、川合是彰 (G.Cell '20(33.9%))
(田辺製薬・創薬研)

Spontaneous lesions detected in the male beagle dogs used in control group of toxicity studies.
MASATOSHI ASAHINA, YASUSHI OHMACHI, EISUKE KUME, JUNKO SHINOZUKA, KAZUYUKI KITAMURA,
YOSHIKI KAWAI
(Discovery Research Laboratory, TANABE SEIYAKU Co., Ltd.)

ビーグル犬における背景病変については、過去にいくつか報告されているが、最近の報告は見当たらない。そこで、我々は当研究所において毒性試験の対照群に用いられた雄性ビーグル犬 63 頭の全身主要臓器組織について、病理組織学的検索を行ったのでその成績を報告する。

【材料および方法】対象動物は、当研究所において 1993～1998 年に実施された毒性試験に対照群として使用した 8～12 カ月齢の雄性ビーグル犬 63 頭である。全身諸臓器は 10% 中性緩衝ホルマリン液、精巢は 10% 中性緩衝ホルマリン液もしくはホルマリン・酢酸液にて固定し、常法に従いパラフィンに包埋した。薄切片を作製し、HE 染色を施して病理組織学的検索を行った。

【結果および考察】観察された主要な自然発生病変とその個体の発生頻度を以下に示す。

肝臓：微小肉芽腫 93.3%、グリソン鞘内炎症細胞浸潤 31.7%、胆嚢：粘膜下单核細胞浸潤 45%、腎臓：腎乳頭鉍質沈着 82.9%、未熟糸球体 58.1%、尿管脂肪変性 30.8%、心臓：乳頭筋間動脈内膜肥厚 33.3%、肺：微小肉芽腫 23.3%、炎症細胞浸潤 15.0%、脾臓：被膜または脾柱出血 51.7%、下垂体：前葉嚢胞形成 25.9%、上皮小体：嚢胞形成 8.8%、胃：粘膜鉍質沈着 11.7%、小腸：限局性陰窩拡張 28.3%、精巢：萎縮精細管 23.7%、前立腺：単核細胞浸潤 35.1%、脳：上衣細胞下におけるミクログリア集簇 43.6%、脊髄：神経根部神経周膜における鉍質沈着 30.9%、坐骨神経：粘液変性 9.3%、皮膚：毛包周囲炎 33.9%。

以上のように、個々の発生頻度に違いがあるものの、既存の報告にある自然発生病変が観察された。更に、特殊染色等を用い、より詳細な検討を加える予定である。

P-60 p53 ノックアウトマウスにおける食道発がん感受性

○森村圭一朗、サリムエリサイド、森川剛志、岩井秀司、鰐淵英機、福島昭治
(大阪市大・医・第一病理)

Carcinogenic Potential of Esophageal Epithelium on Heterozygous p53 knockout mice:
MORIMURA KEIICHIROU, SALIM ELYSAYED, MORIKAWA TAKASHI, IWAI SHUJI, WANIBUCHI HIDEKI,
FUKUSHIMA SHOJI
(1st. dept. pathol., Osaka City Univ. Med. Sch.)

【目的】現在までに我々は p53 ノックアウトマウスが膀胱発がん物質である N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) に対し高感受性を示すことを証明してきた。今回 p53 ヘテロノックアウトマウスの食道上皮の発癌感受性を検索するために N, N-dibutyl nitrosamine (DBN) を用い発がん実験を行った。

【方法】6～7 週齢の雄性 p53 ヘテロノックアウトマウス 40 匹およびその野生型マウスである C57BL/6 マウス 40 匹を 3 群にわけ、それぞれの群に 0.05、0.025、0% の DBN を飲料水投与し、実験開始後 20 週目にエーテル麻酔下に屠殺し、食道および他臓器における腫瘍の検索を行った。

【結果】DBN を投与した全ての群で食道に腫瘍が認められた。また膀胱においても腫瘍が認められた。肝に関しては異型細胞巣が認められたが、腫瘍は認められなかった。食道腫瘍に関しノックアウトマウス群では 0.025、0.05% 投与群ともに発生率は 100% を示し、野生型マウスでは 0.025、0.05% 投与群の発生率はそれぞれ 69、54% でありノックアウト群で有意に高い発生率を示した。正常食道粘膜の細胞増殖能を PCNA を指標として免疫染色にて評価したが、有意差はどの群にも認められなかった。膀胱癌に関しノックアウトマウス群では 0.025、0.05% 投与群での発生率は 71、80% であり、野生型マウス群のそれぞれの発生率 14、46% に比べ 0.025% 投与群で有意に高い発生率を示した。

【考察】p53 ヘテロノックアウトマウスは食道発がん物質である DBN に対し高発がん感受性を示した。また膀胱上皮に関して、BBN だけではなく DBN に対しても高発がん感受性を示したことより、p53 ヘテロノックアウトマウスは膀胱発がん感受性試験に応用できると思われた。

P-61 N-nitrosomethylbenzylamine 誘発ラット食道癌におけるエタノール同時投与のプロモーション作用

○金子雅宏、森村圭一朗、西川隆之、清家則孝、鰐淵英機、福島昭治
(大阪市大・医・1病理)

Promotion effect of ethanol on esophageal tumor development simultaneous initiated by N-nitrosomethylbenzylamine
KANEKO MASAHIRO, MORIMURA KEIICHIROU, NISHIKAWA TAKAYUKI, SEIKE NORITAKA, WANIBUCHI HIDEKI, FUKUSHIMA SHOJI
(1st Dept. Pathol., Osaka City Univ. Sch. Med.)

〔目的〕疫学的に過度の飲酒は食道癌発生の危険因子とされている。前回我々は N-nitrosomethylbenzylamine(NMBA)0.5mg/kg 皮下注射後のポストイニシエーション期におけるエタノールのプロモーション作用について検討し、エタノールが弱いプロモーション作用を持つことを報告した。またエタノールと細胞増殖能には関連性を認めなかったが、Cyclin D1 との関連性を認めた。今回は NMBA を 0.5mg/kg と、さらに低用量の 0.1mg/kg を皮下注射し、エタノール同時投与さらに継続投与による修飾作用、およびそのメカニズムについて検索した。

〔方法〕6週齢の F344 系ラット 90 匹を用い、第 1、2、3 群には NMBA(0.5mg/kg)を週 3 回、5 週間皮下注射し、第 1 群にはエタノール(10%)を 5 週間同時飲水投与後、水道水を投与した。第 2 群は続けてエタノールを投与した。第 3 群は水道水のみ投与した。また第 4、5、6 群には NMBA(0.1mg/kg)を同様に皮下注射し、第 4 群にはエタノールを 5 週間同時投与後、水道水を投与した。第 5 群は続けてエタノールを投与した。第 6 群は水道水のみ投与した。実験開始後 24 週で屠殺し、食道病変を肉眼的、組織学的に検索した。また PCNA 免疫染色を行い細胞増殖能を検索した。さらに Cyclin D1 免疫染色を行い、その発現とエタノールとの関連性について検索した。

〔結果・考察〕肉眼的に直径 1mm 以上の腫瘍、また組織学的に乳頭腫、過形成病変の 1 匹あたりの発生数が第 2 群、第 1 群、第 3 群の順で増加傾向を示した。また第 4、5、6 群では腫瘍を認めなかったが、過形成病変の 1 匹あたりの発生数で第 4、5 群が第 6 群に対し増加傾向を示した。以上よりエタノールは同時投与によってもラット食道癌に対しプロモーション作用を持つことが示唆された。細胞増殖能および Cyclin D1 の発現との関連性については現在検索中である。

P-62 N-Nitrosomethylbenzylamine (NMBA)誘発食道腫瘍の auraptene 混餌投与による抑制

○川端邦裕¹、田中卓二²、片山雅貴¹、山田泰広¹、松永研吾¹、原 明¹、吉見直己¹、杉江茂幸¹、村上明³、小清水弘一⁴、大東肇⁴、森秀樹¹

(¹岐阜大・1病理、²金沢医大・1病理、³近畿大・生物理工、⁴京大・農)

Suppression of N-nitrosomethylbenzylamine(NMBA)-induced rat esophageal tumorigenesis by dietary feeding of auraptene
Kunihiro KAWABATA¹, Takuji TANAKA², Masaki KATAYAMA¹, Yasuhiro YAMADA¹, Kengo MATSUNAGA¹, Akira HARA¹, Naoki YOSHIMI¹, Shigeyuki SUGIE¹, Akira MURAKAMI³, Kouichi KOSHIMIZU³, Hajime OHIGASHI⁴, Hideki MORI¹

(¹1st Dept. Pathol., Gifu Univ. Sch. Med., ²1st Dept. Pathol., Kanazawa Med. Univ., ³Fac. Biosci. Technol., Kinki Univ., ⁴Fac. Agric., Kyoto Univ.)

〈目的〉柑橘類中には d-limonene をはじめ、いくつかの発がん抑制物質が存在する。我々はこれまでに、ミカンなどに存在し、抗酸化作用の強い auraptene についてラット大腸、口腔発がん抑制作用を報告してきたが、今回は NMBA 誘発食道腫瘍に対する auraptene の修飾作用を検討したので報告する。

〈方法〉6週齢雄 F344 ラット 108 匹を 7 群に分け、以下の処置を行った。第 1 群:NMBA(0.5mg/kg 体重)を週 3 回、計 15 回皮下投与。第 2、3 群:NMBA 投与開始 1 週間前よりそれぞれ 0.01%、0.05% Auraptene を 7 週間混餌投与。第 4、5 群:NMBA 投与終了 1 週間後よりそれぞれ 0.01%、0.05% Auraptene を 13 週間混餌投与。第 6 群:0.05% Auraptene 投与群。第 7 群:無処置対照群。実験期間は 20 週とし、食道腫瘍発生頻度と細胞増殖 biomarkers(PCNA 陽性細胞数等)の変化を比較した。

〈結果〉食道腫瘍発生頻度は第 1-5 群でそれぞれ 75%、44%、39%、43%、29%と第 2-5 群で減少傾向を示し、高濃度(0.05%)群で有意に減少した(P<0.03)。また、auraptene 投与で食道上皮の PCNA 陽性細胞数が低下した。

〈結論〉Auraptene は食道腫瘍の発生を抑制し、その作用として細胞増殖抑制効果との関連が推察された。

P-63 ラット MNNG 誘発腺胃発癌におけるクルクミンの影響

○池崎 信一郎^{1,2}、西川 秋佳³、古川 文夫³、工藤 佳代子²、笠原 健一郎²、
岡崎 修三²、田村 一利²、森 秀樹¹
(¹岐阜大・1 病理、²ボゾリサーチ、³国立衛研・病理)

Chemopreventive effects of curcumin on glandular stomach carcinogenesis induced in rats by MNNG and sodium chloride
SHINICHIRO IKEZAKI, AKIYOSHI NISHIKAWA, FUMIO FURUKAWA, KAYOKO KUDO, KENICHIRO KASAHARA, SHUZO OKAZAKI, KAZUTOSHI TAMURA, HIDEKI MORI

(¹First Department of Pathology, Gifu University School of Medicine, ²Bozo(Biology & Zoology) Research Center Inc. ³Division of Pathology, National Institute of Health Sciences)

【はじめに】*Curcuma longa* の地下茎から得られる黄色色素 turmeric は、古くから炎症の治療薬や天然着色料及びスパイスとして広く使用されている。この turmeric の主成分であるクルクミンは抗炎症及び抗酸化作用を有し、マウスやラットの乳腺、皮膚、前胃及び大腸に対して、腫瘍発現の抑制効果があることが知られている。今回、ラットの腺胃発癌に対する効果を明らかにする目的で、ラット胃二段階発癌モデルを用いて、ポストイニシエーション期におけるクルクミン (pure curcumin) の修飾効果について検討した。

【材料及び方法】6 週齢の Wistar 系雄ラットを 110 匹を 4 群に分け、第 1 から 3 群の各 30 匹には、イニシエーション処置として、100ppm の *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) と 5% の NaCl を、それぞれ飲料水及び基礎食に混じり、8 週間にわたって投与した。その後、第 1 及び 2 群には、0.2 及び 0.05% のクルクミン混餌食を 55 週間投与し、第 3 群には基礎食のみを与えた。第 4 群の 20 匹は無処置対照とした。実験開始から 63 週後に各群とも基礎食に切り替え、67 週後に生存動物を屠殺・剖検し、腺胃の増殖性病変について病理組織学的に検索した。

【結果及びまとめ】第 1 から 3 群において、イニシエーション処置期間中に軽度の体重増加抑制がみられた。しかし、各群間における摂餌量及び臓器重量(心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓及び副腎)に明らかな差はなかつた。腺胃における増殖性病変はイニシエーション処置群のみにみられ、異型的過形成巣と腺癌に分類された。異型的過形成巣の多発性(ラット 1 匹当たりの病変数)は、第 1 から 3 群でそれぞれ 4.63、5.41、7.14 であり、第 3 群に比して、第 1 群 (0.2%クルクミン) で有意な抑制がみられた。一方、腺癌の発生に対しては、明らかなクルクミンの影響はみられなかつた。以上の如く、クルクミンはマウスやラットの乳腺、皮膚、前胃及び大腸以外に、ラットの腺胃発癌過程に対しても抑制効果を有することが明らかになった。

P-64 Helicobacter pylori 感染スナネズミモデルにおける粘膜下増殖巣の腸形質の獲得

○田中晴就¹、野崎浩二¹、清水伸幸¹、塚本徹哉¹、山本昌美¹、湯浅啓史^{1,2}、小林潔^{1,3}、立松正衛¹

(¹愛知がんセ・研・第 1 病理、²田辺製薬・安全研、³三菱東京製薬(株)安全性研究所)

Intestinalization of Submucosal Proliferative lesions of Glandular Stomach in Mongolian gerbils Infected with *Helicobacter pylori*

HARUNARI TANAKA, KOJI NOZAKI, NOBUYUKI SHIMIZU, TETSUYA TSUKAMOTO, MASAMI YAMAMOTO, HIROHUMI YUASA, KIYOSHI KOBAYASHI, MASAE TATEMATSU

(Lab. of Pathol., Aichi Cancer Center Res. Inst.)

【目的】腸上皮化生は分化型腺癌の前癌病変とされているが、我々は正常胃腺管の腸型化と胃癌の腸型化は独立したプロセスであることを主張してきた。スナネズミ *Helicobacter pylori* (Hp) 感染モデルにおいて、多数の腸上皮化生の発生が報告されており、スナネズミ Hp 感染モデルは腸上皮化生の発生過程を検索する良好なモデルであると考へ、スナネズミの胃における腸型形質の発現について、立体構築の観点から検討した。

【方法】これまで我々が作成してきたスナネズミ Hp 感染モデルを用いて、Hp 感染後 25 週、50 週、100 週における粘膜増殖巣に対して連続切片を作成し、画像解析装置による 3 次元立体構築を行い検討した。

【結果】Hp 感染 25 週で、幽門腺領域に胃腸混合型-腸上皮化生が出現し、Hp 感染 50 週になると、胃腸混合型-腸上皮化生は比較的高頻度に確認された。Hp 感染 100 週で初めてパネート細胞を有する腸単独型(完全型)の腸上皮化生が認められるようになった。粘膜下増殖巣は、Hp 感染 25 週で腺境界を中心に出現し、その殆どが胃型粘液を産生する、胃型の粘膜下増殖巣であった。Hp 感染 50 週になると、粘膜下増殖巣は腸型上皮成分が高率にみられるようになり、一部のものは、腸型上皮成分のみから構成されるものも認められた。

【まとめ】粘膜内の腸上皮化生は、経時的に胃腸混合型より腸単独型への移行が認められた。粘膜下増殖巣でも独自に、同様の形質変化を認め、それ自身が次第に腸形質を獲得した。これらの事より、スナネズミ胃粘膜上皮ならびに胃粘膜下増殖巣上皮、とくに胃型上皮より腸型上皮への移行が明らかとなり、種々の腸型胃病変は、それぞれ胃型上皮を起点とする事が示唆された。

P-65 腺管分離法による 1,2-dimethylhydrazine 誘発ラット大腸 aberrant crypt foci の hexosaminidase 染色性と β -catenin 遺伝子変異

○塚本徹哉¹、田中晴就¹、山本昌美¹、酒井洋樹^{1,2}、白井紀充^{1,2,3}、今井俊夫^{1,4}、立松正衛¹
(¹愛知がんせ・研・一病、²岐阜大・農・家畜病理、³ファイザー製薬・中央研、⁴エーザイ・安全研)
Down regulation of hexosaminidase activity and beta-catenin mutations in 1,2-dimethylhydrazine-induced colonic aberrant crypt foci
TETSUYA TSUKAMOTO¹, HARUNARI TANAKA¹, MASAMI YAMAMOTO¹, HIROKI SAKAI^{1,2}, NORIMITSU SHIRAI^{1,2,3}, TOSHIO IMAI^{1,4}, MASAE TATEMATSU¹
(¹Lab. of Pathol., Aichi Cancer Center Res. Inst., ²Dept. of Vet. Pathol., Gifu Univ., ³Central Res. Inst., Pfizer Pharmaceuticals Inc., ⁴Drug Safety & Deposit. Res. Lab., Eisai Co., Ltd.)

【目的】大腸発癌過程において aberrant crypt foci (ACF) は前癌病変と考えられているが、その遺伝子変異を検索するために腺管分離法は非常に有用な方法である。正常腺管と ACF を区別するのは非常に困難であったが、hexosaminidase (Hex) 染色を利用し、分離腺管の中から ACF を単離することを試みた。また、分離 ACF の β -catenin 遺伝子変異を解析した。

【材料および方法】F344 雄ラットに 1,2-dimethylhydrazine (DMH) を皮下投与し、投与開始後 10 および 20 週で屠殺し、methylene blue あるいは Hex 染色した大腸粘膜を観察した。腺管分離法により大腸癌の前癌病変と考えられている ACF を分離し、分離腺管における Hex 染色を試み、Hex(+) および Hex(-) 腺管の長径、管最大径を計測した。また分離 ACF から DNA を抽出し、 β -catenin の遺伝子変異を PCR-single strand conformation polymorphism および direct sequence 法で検討した。

【結果および考察】大腸粘膜面で ACF は、Hex(-) を示した。分離腺管における Hex 染色を確立し、正常腺管は Hex(+), ACF は Hex(-) であることを見いだした。分離腺管の最大径 d は、Hex(+) 腺管では $60 \pm 14 \mu\text{m}$ 、Hex(-) 腺管は $86 \pm 32 \mu\text{m}$ と有意な差を認め ($p < 0.0001$)、正常の 2 倍程度の最大径 ($2d = 120 \mu\text{m}$) の腺管を分離すれば、99.999% 以上の確率で ACF を単離可能であることがわかった。ACF の SSCP 解析により β -catenin の変異を調べたところ、30% 程度に変異が見られ、 β -catenin の変異は極めて早期に検出されることが示された。

P-66 p53 knock out mouse における dimethylhydrazine に対する大腸発癌感受性

○酒井洋樹^{1,2}、山本昌美²、白井紀充^{1,2}、塚本徹哉²、柳井徳磨¹、柵木利昭¹、立松正衛²
(¹岐阜大学・農・家畜病理、²愛知県がんセンタ・研究所・第一病理)
Colon carcinogenesis in p53-deficient mice induced by dimethylhydrazine
HIROKI SAKAI^{1,2}, MASAMI YAMAMOTO², NORIMITSU SHIRAI^{1,2}, TETSUYA TSUKAMOTO², TOKUMA YANAI¹, TOSHIKI MASEGI¹, MASAE TATEMATSU²
(¹Dept. of Vet. Pathol., Gifu Univ., ²Lab. Pathol. Aich Cancer Res. Inst.)

大腸がんは、様々な遺伝子変異の集積による悪性化の過程が詳細に解析されている腫瘍の一つである。この中でも、多段階発がんにおいて p53 の不活化が大腸がんの悪性化に関与すると考えられている。近年、p53 knock out (KO) mouse を用いた発がん実験が多数報告され、短期発がん性試験における有用性が検討されている。

今回、我々は、p53 KO mouse の dimethylhydrazine (DMH) に対する大腸発がん感受性を検討した。さらに、発生した病変において、大腸腫瘍の進展に関わるとされている β -catenin の染色性を加えて検討した。

【実験】6 週令、雄 p53 +/+、+/-、-/- それぞれにおいて DMH 20mg/kg BW を週一回 5 週間投与群 (12 週令で屠殺) と 15 週投与群 (22 週令で屠殺) において大腸の病変を病理組織学的に検索した。病変は、Thurnherr らの分類に従い、Focal atypia (FA)、腺腫および腺癌に分類した。さらに、各病変につき、抗 β -catenin 抗体を用いた免疫組織化学にて β -catenin の染色性を検討した。

【結果】5 週間投与群では、-/- に FA (28.6%) 及び腺腫 (21.4%) が認められたが、+/+ および +/- には、これらの病変を含む腫瘍性病変は認められなかった。また、15 週投与群においては、+/+ および +/- に FA 及び腺腫が発生した (+/+ : FA 30%, 腺腫 10%, +/- : FA 13.3%, 腺腫 20%) が、腺癌の発生は認められなかった。一方、-/- では、腺癌の発生が高率に認められ (70%)、その他にも FA が 95%、腺腫が 90% と極めて高い発生率を示した。また、正常大腸粘膜において、 β -catenin は細胞辺縁に強陽性を示したが、FA、腺腫および腺癌において β -catenin は細胞質または核が強陽性に染色された。

【考察】以上の結果より、p53 -/- mouse は DMH による大腸発がん性に対して非常に感受性が高いことが示された。また、 β -catenin の細胞内の蓄積が認められ、 β -catenin の分解過程の異常あるいはそれ自身の変異が示唆された。

P-67 b-クリプトキサンチン、ヘスペリジン高含有粉末のラット大腸 ACF 抑制作用

○甲野裕之¹、川端邦裕²、隅田孝司³、東 誠広³、小川浩史⁴、田中卓二⁵

(¹金沢医大・血清、²岐阜大・医・1 病理、³愛媛柑橘資源開発研究所、⁴愛媛県農業協同組合連合会、⁵金沢医大・1 病理)

Suppressive effect of a powder rich in b-cryptoxanthin and hesperidin on azoxymethane-induced aberrant crypt foci in rats

HIROYUKI KOHNO¹, KUNIHIRO KAWABATA², TAKASHI SUMIDA³, YOSHIHIRO AZUMA³, HIROSHI OGAWA⁴, TAKUJI TANAKA⁵ (Depts.¹Serol &²Pathol, Kanazawa Med.Univ., ³Dept.Pathol.,Gifu Univ.Sch.Med., ³Ehime Citrus Res.Inst., ⁴Ehime Fed. Agriqult. Co. Assoc.)

【目的】幾つかのカロテノイドやフラボノイドの発がん修飾作用が知られている。先に、我々はフラボノイドのヘスペリジンについて、その発がん抑制作用を報告した。一方、京都府立大・西野教授らのグループは、b-クリプトキサンチンのマウス皮膚発がん抑制作用や抗プロモーター効果 (in vitro 実験) を報告している。最近、我々は柑橘 (温州蜜柑) 果汁の製造工程で産出される遠心分離後のパルプから b-クリプトキサンチン、ヘスペリジン高含有粉末 (CHRP) を調整したので、その大腸発がん修飾作用を予測する目的で azoxymethane (AOM) 誘発ラット aberrant crypt foci (ACF) に対する影響を検討した。

【方法】動物は雄性 F344 ラット (5 週齢) 32 匹を使用し、以下の 4 群に分けた。第 1 群 (10 匹) は AOM を週 1 回、計 2 回、皮下注射、第 2 群 (10 匹) は AOM+500 ppm CHRP (AOM 投与の 1 週間前より、4 週間混餌投与、その後は基礎食で維持)、第 3 群 (6 匹) は CHRP を 4 週間混餌投与、その後基礎食で維持、第 4 群 (6 匹) は無処置対照群とした。ACF は実験開始後、4 週、11 週でラットを犠牲死させ、測定した。別に、20 匹の雄性 F344 ラット (5 週齢) に CHRP (0、40、200 ないし 400 mg/kg 体重) を連日 5 回、強制胃内投与し、最終投与の 30 分後に犠牲死させ、肝、大腸の GST、QR 活性を測定した。尚、CHRP は (株) 愛媛柑橘資源開発研究所から供与を受けた。

【結果】ACF の発生は 4 週時で、第 1 群: 80 ± 3 / 大腸、第 2 群: 64 ± 9 / 大腸 (p < 0.01)、11 週時で、第 1 群: 119 ± 5 / 大腸、第 2 群: 97 ± 11 / 大腸 (p < 0.005) であった。第 3、4 群に ACF の発生はなかった。一方、CHRP の強制胃内投与 GST は肝で 1.24-1.44 倍 (p < 0.005)、大腸で 1.11-1.15 倍 (p < 0.05) に、QR 活性は肝で 1.23-1.32 倍 (p < 0.02)、大腸で 1.01-1.13 倍 (p < 0.001) に増加した。

【結論】以上より、柑橘 (温州蜜柑) 果汁の製造工程で産出される遠心分離後のパルプから得た b-クリプトキサンチン、ヘスペリジン高含有粉末 (CHRP) には AOM 誘発ラット ACF の発生を抑制することや肝や大腸で解毒酵素の誘導作用を有することが判明した。

P-68 Monoglucosylrutin の Azoxymethane 誘発ラット大腸発癌に対する修飾効果

○松永 研吾、山田 泰広、片山 雅貴、原 明、吉見 直己、森 秀樹

(岐阜大・医・1 病理)

The modifying effects of monoglucosylrutin on azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis

Kengo, MATSUNAGA, Yasuhiro YAMADA, Masaki KATAYAMA, Akira HARA, Naoki YOSHIMI, Hedeki MORI (Dep. Patholo., Gifu Univ. Med. Sch.)

【目的】フラボノイドの一種である monoglucosylrutin は、食品添加物として色素の安定化・抗酸化作用を目的に使用されている。今回我々は azoxymethane 誘発ラット大腸発癌における monoglucosylrutin の修飾効果を検討した。

【方法】5 週齢雄 F344 ラットを 7 群に分け、6-8 週齢時 1-5 群に AOM15mg/kg を皮下注射した。2,3 群にはそれぞれ 100ppm, 500ppm monoglucosylrutin を initiation 期に、4,5 群に 100ppm, 500ppm monoglucosylrutin を promotion 期に混餌投与した。6 群は 500ppm monoglucosylrutin を混餌投与、7 群は無処置とした。短期実験として 10 週齢時に 1-3,6,7 群を屠殺し ACF (aberrant crypt foci), BrdU labeling index を測定した。長期実験は 40 週齢で全匹屠殺、病理学的検索を行った。

【結果】短期実験では focus 当たりの aberrant crypt 数、大腸当たりの 4crypts 以上持つ ACF 数、それぞれ 1 群は 1.87 ± 0.18, 6.0 ± 5.1, 3 群は 1.68 ± 0.16, 1.3 ± 1.3 となり統計学的有意差を認めた。長期実験では組織学的に腫瘍発生率が 1-5 群それぞれ 65.5, 45.5, 54.2, 60.9, 40.0%, 多発性はそれぞれ 1.04 ± 0.71, 0.86 ± 0.94, 0.96 ± 1.04, 0.87 ± 0.81, 0.72 ± 0.79 と抑制傾向を認めた。短期実験では BrdU labeling index が、長期実験では PCNA index が統計学的有意差をもって抑制された。

【結論】monoglucosylrutin は AOM 誘発ラット大腸発癌において細胞増殖を抑制することが示され、大腸発癌を抑える可能性が示唆された。

P-69 Crj:CD (SD) IGS 系雄ラットに自然発生した回腸粘液分泌腺癌

○古川 賢^{1,2}、小林 清¹、白田浩二¹、宮本康夫¹、林 憲一¹、金子岩男¹、池山聖一²、
御領政信²、岡田幸助²

(¹日産化学工業、²岩大家畜病理)

Spontaneous Mucin-secreting Adenocarcinoma of the Ileum in a Male Crj:CD(SD) IGS Rat

S. FURUKAWA^{1,2}, K. KOBAYASHI¹, K. USUDA¹, Y. MIYAMOTO¹, K. HAYASHI¹, I. KANEKO¹, S. IKEYAMA², M. GORYO² and K. OKADA²

(¹Shiraoka Research Station of Biological Science, Nissan Chemical Industries, Ltd., Shiraoka, Saitama, 349-0294 and

²Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka, Iwate, 020-8550, Japan)

ラット小腸における自然発生腫瘍は極めて稀である^{a,b)}。今回、我々はCrj:CD (SD) IGS系ラットにおいて回腸原発と思われる腫瘍に遭遇したので、本腫瘍の組織学的、免疫学的及び電顕学的特徴について報告する。

○症例及び臨床所見：動物は長期飼育した無処理 Crj:CD (SD) IGS 系雄ラットで、74 週齢 (892g) 以降、体重減少が認められ、78 週齢において 770g にまで減少したため、切迫殺された。

○肉眼所見：腫瘍塊は回腸・腸管腔に連続する 30×25×20 mm 大の白色軟腫瘤として認められた。

○組織所見：腫瘍塊は大小不規則な粘液腺及び粘液含有嚢胞よりなり、これら腺腔は円柱、立方形及び扁平な腫瘍細胞により内張りされていた。腫瘍細胞は腸腺上皮細胞に類似した形態を呈し、核は多型性で、基底側に位置していた。有糸分裂像は多数認められ、多くの細胞は PCNA 陽性を示した。免疫組織化学的に腫瘍細胞は抗 p 5 3、抗 Bcl-2 及び抗 Bax 抗体に対して陰性を示した。細胞内及び腺腔内の粘液はアルシアン・ブルー染色 (pH 2.5 and pH 1.0) 及び PAS 染色陽性を示した。これら腫瘍細胞に混じてパネート細胞様細胞も認められた。間質は線維性結合組織よりなり、炎症性細胞浸潤及び骨形成が認められ、骨組織内には破骨細胞様細胞が認められた。腫瘍細胞の漿膜への浸潤性増殖は認められたものの、腸間膜リンパ節を含めその他臓器への転移は認められなかった。

○電顕所見：腫瘍細胞表面には微絨毛が認められたが、正常腸管上皮細胞と比較して不規則で短く、その数も少なかった。細胞質は粗面小胞体が豊富で、低電子密度の粘液顆粒が認められた。細胞間にはデスモゾームが認められた。

以上の所見より、本腫瘍は肉眼的に回腸に連続して認められ、組織学的に腫瘍細胞は腺管形成を伴う粘液産生細胞よりなることから、回腸粘液分泌腺癌と診断された。

a) Chandra, M. et. al. (1993). *Lab. Anim.* 28, 274-276. b) Wells, G. A. H. (1971). *J. Pathol.* 103, 271-275.

P-70 ヘアレス犬の皮膚を用いたセルフタンニング剤の皮膚毒性試験

○木村 透、土井邦雄¹

(農産工・研究開発センター、¹東大・農)

Dermatotoxicity of the artificial tanning agent in the skin of hairless dogs

TOHRU KIMURA, KUNIO DOI

(Nihon Nosan Kogyo Co.,Ltd.,R&D Center)

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、現在第 8 世代 (N8) の作出に至っている。ヘアレス犬の無毛の皮膚は、刺激性を有する化学物質に鋭敏に反応することから、大気汚染物質、農薬や染毛剤などの皮膚毒性試験ならびに外用薬や創傷被覆材の治療効果試験に用いられている。今回は、紫外線照射によらず皮膚色を変化させるセルフタンニング剤をヘアレス犬の皮膚に投与して、その皮膚刺激性を調べた。

【材料および方法】2 頭の N7 ヘアレス犬 (雄、2 歳) および 1 頭の N5 ヘアレス犬 (雌、4 歳) を試験犬とした。セルフタンニング剤である dihydroxyacetone (DHAT) をプロピレングリコール、エタノールおよび蒸留水 (1:2:2) に溶解して 5% 溶液とした。5% DHAT を背部の左側皮膚 (6×6cm) に、4 μl/cm² の割合で毎日 1 回、6 週間連続投与した。反対側には基剤のみを同様に投与し、対照部位とした。皮膚の経過観察は毎日行い、病理組織学的検査は、試験開始前および DHAT 投与開始 3、6 週間後に実施した。

【成績】5% DHAT を投与して 6~12 時間後に、投与部位は明瞭な茶褐色の着色を示した。DHAT 投与開始 3 週間後までは、皮膚の着色は濃くなり、安定した着色状態であった。しかし、その後、DHAT の投与を続ける中で、炎症反応が現れた。組織学的には、DHAT 投与開始 3 週間後、色素の着色は角質層に留まり、表皮細胞におけるメラニン顆粒の増加は観察されなかった。DHAT 投与開始 6 週間後、表皮角質層は肥厚し、表皮細胞の変性が見られた。真皮層では、炎症性細胞の浸潤が観察された。6 週間の全試験期間を通して、基剤投与の対照部位には変化は認められなかった。

【考察】以上の成績から、DHAT は投与開始 3 週間後まではヘアレス犬の皮膚に大きな変化はもたらさなかった。しかし、その後、徐々に角質層の傷害を伴う皮膚の炎症を引き起こすことがわかった。この変化は、ヘアレス犬の皮膚のターンオーバーと何らかの関係があるように思われた。

P-71 PEG-rHuMGDF 投与マウス骨髄における線維化および骨新生について

○井出陽¹、山中絵理¹、並木泰子¹、石井裕三¹、川原潤一¹、土井邦雄²

(¹キリンビール医薬開発研、²東大農)

Myelofibrosis and osteogenesis in the mouse bone marrow injected with PEG-rHuMGDF

Youichi IDE, Eri YAMANAKA, Yasuko NAMIKI, Hiromi ISHII, Jun-ichi KAWAHARA, Kunio DOI

(¹KIRIN BREWERY CO.,LTD. Pharmaceutical development laboratory, ²Department of veterinary pathology, graduate school of agricultural and lifesciences, the University of Tokyo)

[目的] 遺伝子組替えにより生産されたヒト型トロンボポエチンをポリエチレングリコール(PEG)で修飾した PEG-rHuMGDF(キリン・アムジェン社)は、マウス・ラット・サルの末梢血血小板を増加させるが、大量投与によりラット骨髄の可逆的な線維化および骨新生を誘発し、骨髄内で増加した巨核球由来の TGF- β がその原因の一つと考えられている。今回は、PEG-rHuMGDF 大量投与マウスにおいて、骨新生および骨吸収に関与する細胞の動態を調べ、血中 TGF- β 値との関連を検討した。

[方法] Balb/c マウスに PEG-rHuMGDF (1,000 μ g/kg/day)を 5 日間皮下投与し、初回投与後 9、11、13、15 日に 5 匹ずつを剖検、4%パラホルムアルデヒド・0.5%グルタルアルデヒドで灌流固定後、大腿骨を摘出して EDTA 脱灰後、パラフィン包埋した。切片(約 1 μ m)を HE、酒石酸耐性酸性フオスファターゼおよび鍍銀染色し、また、DIG-RNA プローブを用いての in situ hybridization により、マトリックスタンパクであるオステオポンチン(OPN)およびオステオカルシン(bone Gla protein,BGP)の mRNA を検出した。

[成績] Day9 では骨内膜からの細網線維増生、Day11 では線維化の亢進および骨新生、Day15 では新生骨の吸収が認められた。酒石酸耐性酸性フオスファターゼ陽性破骨細胞は Day9 で減少し、Day15 では増加した。OPN-、BGP-mRNA とともに Day9 では検出されなかったが、Day11 では増生細網線維の一部に OPN-mRNA が発現、Day15 では新生骨周囲で OPN-、BGP-mRNA の発現が認められた。血中 TGF- β は Day9 で正常値の約 2 倍に達した。以上から、PEG-rHuMGDF 大量投与マウスでは、骨髄内で TGF- β の上昇を介して骨吸収抑制および骨形成促進が誘発され、線維化および骨新生がおこることが示唆された。

P-72 6-Sulfanilamidoindazole 誘発ラット関節病変の病理学的検討

○大町 康、宮崎登志子、北村和之、川合是彰(田辺製薬・創薬研)、土井邦雄(東大・獣医病理)

Histopathological study on joints in rat treated with 6-sulfanilamidoindazole

YASUSHI OHMACHI, TOSHIKO MIYAZAKI, KAZUYUKI KITAMURA, YOSHIAKI KAWAI (Discovery Research Laboratory, TANABE SEIYAKU), KUNIO DOI(Dept. of Pathol., Tokyo Univ.)

[緒言] 6-Sulfanilamidoindazole (以下 6SAI)によりラットに誘発される関節炎の病理発生については不明な点が多い。また、関節病変の分布と推移についての詳細な検討報告は見当たらない。我々は今回、6SAI 投与ラットの全身の関節について経日的に詳細な検討を行い、6SAI 誘発関節炎の病理発生について考察を加えたので報告する。

[材料と方法] 9 週齢の雄性 CD(SD)IGS 系ラットに 6SAI(500mg/kg)を反復経口投与し、4 週まで 1 週ごとに解剖し、全身関節を採取して病理組織学的検査を行った。更に、足根関節については、1 週まで 1、2、3、5、7 日の時点で解剖し、病理組織学的検査を行った。

[結果] 関節炎は後肢足根関節にもっとも高頻度に起こり、ついで膝や手根関節に見られた。股関節では変化の程度は軽かったが、頻度は高かった。肘や肩の変化は稀で、首や顎には変化は見られなかった。高頻度に変化が認められた関節では、発症時期は概して早い、その消退も早い傾向にあった。いずれの部位でも、程度や進展に差はあるものの変化は組織学的に同質であった。すなわち、初期の関節部滑膜における限局的な単核細胞浸潤に始まり、その後、好中球浸潤、フィブリン析出、出血が顕著となった。足根、膝および手根関節では、関節周囲組織を巻き込む形で更に炎症が拡大した。足根関節を用いた投与 1 週までの検討の結果、投与 1 日後より関節滑膜および関節周囲腱滑膜に限局的な単核細胞浸潤が少数例で認められた。投与 5 日後より単核細胞浸潤に加え、好中球浸潤、線維芽細胞増生、浮腫、一部で出血が認められ、以後、これら炎症性変化は関節全体に波及した。

[考察] 6SAI 誘発関節炎は多発性の変化であることが明らかとなった。全身の関節における病変の発現頻度や程度の違いは、各関節にかかる負体重と関係しているものと推察される。また、今回の検討の結果、6SAI 誘発関節病変の初期病変として、関節ならびに腱滑膜における限局的な炎症反応が重要とみなされた。

P-73 正常性周期を示すラット及び新生仔期 p-tert-octylphenol 曝露により持続発情を来した雌ラット子宮内膜におけるエストロゲンレセプター α mRNA の局在変化

○勝田真一^{1,2}、吉田 緑¹、黒田博之¹、渡辺隆夫¹、安藤 進¹、高橋正一¹、前川昭彦¹

(¹佐々木研・病理、²日本食品分析セ・安全性)

Uterine estrogen receptor α mRNA in rats of normal cycling and persistent estrus induced by neonatal exposure of p-tert-octylphenol

Shin-ichi Katsuda^{1,2}, Midori Yoshida¹, Hiroyuki Kuroda¹, Takao Watanabe¹, Jin Ando¹, Masakazu Takahashi¹, Akihiko Maekawa¹ (¹Dept of Pathol, Sasaki Inst; ²Dept of Biol Safety Res, Jpn Food Res Lab)

エストロゲンレセプター(ER)は2種類あることが知られており、子宮においては主に ER α が発現しているといわれている。そこで雌ラットを用いて、正常性周期における ER α mRNA の子宮内膜における組織局在性を in situ hybridization (ISH)法により調べた。さらに内分泌攪乱物質の疑いもたれている p-tert-octylphenol (OP)を新生仔期に曝露し、その後持続発情となった子宮内膜の ER α mRNA の localization を検討した。材料及び方法 4日の規則正しい性周期を有する Crj:Donryu 雌ラットの子宮を各性周期のステージ毎に採取し、4% paraformaldehyde で固定してパラフィン切片を作製し、ラット ER α mRNA の digoxigenin 標識 anti-sense oligonucleotide を用いて、ISH 法により ER α mRNA の発現を調べた。次に OP(100mg/kg)を出生後 1-15 日の間、隔日計 8 回皮下投与し、持続発情状態となった 11 週齢の子宮の ER α mRNA についても検索した。なお、血清性ステロイドホルモンは RIA 法により測定した。結果及び考察 正常性周期ラットにおいては、血清中のエストロゲン(E)レベルが上昇する発情休止期から前期にかけて子宮内膜の ER α mRNA のシグナルは増強したが、発情期においては被覆上皮のシグナルはやや減少し、腺上皮のシグナルはほとんど消失した。発情後期になると腺上皮に陽性のシグナルが再び現れた。以上のように ER α mRNA の発現は血清 E レベルに関連することが明らかとなった。新生仔期 OP 曝露による持続発情ラットでは、血清 E 値は対照の発情期と比べ高値傾向であり、プロジェステロン(P)値は低値を示した。組織学的に子宮内膜には過形成性の変化が見られ、腺上皮にも ER α mRNA の明確なシグナルが発現しており、持続発情状態にある子宮の ER α mRNA は発情期と異なることが示された。結論 子宮の ER α mRNA の発現は、正常性周期においては基本的に血清 E レベルに関連していた。一方、新生仔期 OP 処置により持続発情となったラットにおいては、E/P 比が高値傾向を示すとともに、子宮内膜での ER α mRNA の組織発現性は発情期とは異なっており、子宮内膜の増殖性の変化と関連する可能性が示唆された。

P-74 幼若ラットを用いた子宮増殖アッセイにおける投与開始日齢及び離乳日齢の検討

○佐脇正邦、山崎寛治、野田修志、室井貴子、三苦秀雄、江田雅雄、高倉サオリ、坂本聡幸

((財) 化学物質評価研究機構・安全性評価技術研究所)

Effects of age at start of administration and weaning on the uterotrophic assay using immature female rats.

MASAKUNI SAWAKI, KANJI YAMASAKI, SHUJI NODA, TAKAKO MUROI, HIDEO MITOMA, MASAO KODA, SAORI TAKAKURA, SATOKO SAKAMOTO

(Chemicals Assessment Center, Chemicals Evaluation and Research Institute)

In vivoにおけるエストロゲンまたは抗エストロゲン作用を有する化学物質のスクリーニング手法として、離乳後の雌幼若ラットを用いる子宮増殖アッセイがOECDによって提案されている。被験物質の投与開始日齢について Odumら(Reg. Toxicol. Pharmacol., 25, 176-188, 1997)は21-24日齢が望ましいと報告している。また、最近のOECD案では、投与開始日は17-18日齢とされている。今回我々は、本試験法において、高感度にホルモン様作用を検出するために投与開始日齢をいつとするのがよいのかを、エストロゲン作用物質であるEthinylestradiol (EE)を用いて検討した。またこれに加え、離乳日齢が検査に及ぼす影響についても検討した。実験には、妊娠ラット(Crj: CD (SD) IGS)を購入、当研究所で分娩後、得られた出生児を使用した。実験は投与開始日齢の異なる3つの実験プロトコール(実験1, 18及び21日齢; 実験2, 21及び23日齢; 実験3, 21及び25日齢。18日齢投与開始のものは17日齢、それ以外は20日齢で離乳)に分けて行った。各日齢ごとにそれぞれEEを0, 0.06, 0.6及び6 μ g/kgを3日間皮下投与する群(n=5-10)を設定した。これらにおいて、子宮重量の増加を指標とした際の日齢間の検出感度の相違の有無を検討した。また、離乳日齢の比較のため、17または20日齢で離乳、投与開始日を21日齢とし、上記と同様の実験を行った(実験4)。いずれの実験においても、0.6 μ g/kg群まで対照群と比較して統計学的に有意な子宮重量の増加がみられた。しかし、実験1-3において、媒体対照群の平均子宮重量に対する6 μ g/kg群の子宮重量の比は、下表のようであり、投与開始日齢が若いほど感度の高いことが示唆された。また、実験4の離乳日齢の比較では、20日齢離乳よりも17日齢離乳の方が子宮重量比において感度が低く、子宮増殖アッセイに対して離乳日齢が影響を及ぼす可能性のあることが示唆された。

投与開始日齢	(実験 1)	18	21	(実験 2)	21	23	(実験 3)	21	25
子宮重量比		666	529		502	470		629	435
(6 μ g/kg 群:媒体対照群, %)									

P-75 低用量 TCDD によるラット甲状腺ホルモンの変動

○西村典子¹、佐藤巳喜夫^{1,2}、宮原裕一^{1,4}、大村昌子⁴、米元純三^{3,4}、青木 康展^{1,4}、
遠山千春^{1,4}

(国立環境研・¹環境健康部、²地域環境、³筑波大・医、⁴科技団・CREST)

Hypothyroxinemia caused by a low oral dose of TCDD in female Sprague Dawley rats.

NORIKO NISHIMURA¹, MIKIO SATO^{1,2}, YUICHI MIYABARA^{1,4}, MASAKO OHMURA⁴, JUNZO YONEMOTO^{1,4},
YASUNOBU AOKI^{1,4}, CHIHARU TOHYAMA^{1,4}

(¹Environ Health Sci Div and ³ Regional Environ Div, Natl Inst Environ Studies, ²Inst Clinical Medicine, Univ Tsukuba, ⁴ CREST, JST)

【目的】2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)は発がん性、生殖毒性、免疫毒性を有することから、環境中のダイオキシンへの曝露により健康障害が生じうるかどうか近年大きな社会問題となっている。本実験は低用量のTCDD一回投与が甲状腺機能へ及ぼす影響とその作用機序についてラットを用いて検討を行った。

【実験方法】6週齢の雌 Sprague-Dawley(SD)ラットに1.0、2.0、4.0 μ g/kg bwのTCDDをコーンオイルに溶かして1回経口投与した。7日後に血液、甲状腺、下垂体および肝臓を採取した。血清中 thyroxine(T4)、triiodothyronine(T3)はRIA法で、thyroid stimulating hormone(TSH)量はELISA法で測定した。UDP-glucuronosyltransferase-I(UGT-1)とcytochrome P4501A1(CYP1A1)mRNAの発現をRT-PCR法で解析した。T4およびTSHの組織内局在性は免疫酵素抗体法により観察した。血清及び脂肪組織のTCDD濃度はGC-MS法により分析を行った。

【実験結果】2.0および4.0 μ g/kg bwのTCDD投与により血清T4レベルは有意に低下した。4.0 μ gTCDD/kg投与群では、血清TSHレベルが有意に上昇し、さらに免疫染色で下垂体前葉 β 細胞にTSH染色性の増強が観察された。UGT-1およびCYP1A1 mRNA量は、1.0 μ g TCDD/kg投与群から有意に増加した。血清および脂肪組織のTCDD濃度は、共に投与量に依存した蓄積を認めた。

【考察】本実験結果は、従来の報告よりも低用量のTCDDにより肝臓でArylhydrocarbon(Ah)レセプターを介してUGT-1が誘導され、T4のグルクロン酸抱合化が高まることによりT4の胆汁への排泄が促進することを示唆した。さらに、血中T4レベルの低下は、ネガティブフィードバック機構により、下垂体前葉でのTSHの合成・分泌を促進することが免疫染色により確認された。すなわち、低用量のTCDD単回投与は、肝臓-下垂体-甲状腺を介して濃度依存的な甲状腺ホルモン低下をもたらすことが明らかとなった。

P-76 Effects of soy isoflavone on the thyroid of rats treated with Iodine deficiency

○Hwa-Young Son¹, Akiyoshi Nishikawa¹, Takako Ikeda^{1,2}, Takayoshi Imazawa¹,
Hideaki Nakamura¹, Makoto Miyauchi¹, Megumi Yamagishi^{1,2}, Shuichi Kimura², and
Masao Hirose¹

(¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, and ²Showa Women's
University, Tokyo, JAPAN)

We have reported the dramatic synergism between soy intake and iodine deficiency on the development of thyroid hyperplasia in rats. Because isoflavones are active constituents of soybeans, in the present study the possible contribution of soy isoflavones was examined. Female F344 rats were divided into 8 groups, and respectively received a basal diet containing 0.2% soy isoflavone mixture (SI), 0.2% SI + iodine deficiency (ID), 0.04% SI, 0.04% SI + ID, 20% defatted soybean (DS), 20% DS + ID or ID or a basal diet alone for 5 weeks. Serum T4 level was significantly ($p < 0.01$) decreased by the ID treatments as compared to the control value, which was not affected by SI regardless of ID but significantly ($p < 0.01$) increased by DS alone. Except for 2.5 times increase of serum TSH in the DS + ID group, serum T3 and TSH were almost comparable among groups. Histopathologically, diffuse hypertrophy and/or hyperplasia of thyroid follicles were observed in the ID-treated groups, the severity of which was not enhanced by SI but DS. Thyroid weight was also increased by the ID diet, which was not influenced by SI, but DS significantly ($p < 0.01$) increased by DS even as compared to the ID group value. These results thus suggest that soybean constituents other than isoflavones may be involved in the mechanism underlying the synergistic thyroid effects with iodine deficiency. (This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Research on Environmental Health from the Ministry of Health and Welfare of Japan).

P-77 去勢成熟ラットを用いた(抗)アンドロゲン活性評価における病理組織学的変化
○涌生 ゆみ、片山 誠一、佐藤 徹哉、永井 賢司、前田 真希、飯塚 宏美、土谷 稔
(三菱化学安科研)

Histopathological change in assessment of (anti-) androgenic activity using castrated adult male rats
YUMI WAKO, SEIICHI KATAYAMA, TETSUYA SATO, KENJI NAGAI, MAKI MAEDA, HIROMI IIZUKA,
MINORU TSUCHITANI
(Mitsubishi Chem. Safety Inst).

【目的】化学物質の(抗)アンドロゲン活性を検出するためのスクリーニング試験法として去勢雄ラットを用いたハーシュバガー試験が知られているが、実験者によって使用動物の週齢、投与経路、投与期間等に違いがある。そこで我々は本試験法確立のため、去勢成熟ラットにアンドロゲン作用物質である Testosterone propionate(TP) および抗アンドロゲン作用物質である Flutamide(FLU)を用いて検討を行った(第26回日本トキシコロジー学会発表)。また本試験法は臓器重量の変化を評価の指標としているため、各臓器の組織変化に関する報告はほとんどない。今回は、用量反応性試験で見られた組織変化について報告する。

【方法】SD系雄ラットを9週齢で去勢した。アンドロゲン活性(AA)検出試験ではTPを0.01, 0.03, 0.1, 0.3mg/kgの用量で、抗AA検出試験ではTP0.1mg/kgと同時に、FLUを0.1, 0.3, 1, 3mg/kgの用量でそれぞれ7日間皮下投与した。前立腺腹葉、精囊、肛門挙筋、球海綿体筋、肝臓、腎臓、下垂体、甲状腺、副腎の重量を測定後、ホルマリン固定し、定法に従いHE染色標本を作製し、鏡検した。

【結果】AA検出試験では、精囊、前立腺および球海綿体筋の重量が0.1mg/kg以上の群で増加し、精囊および前立腺の上皮の過形成が0.03mg/kg以上の群に認められた。上皮の過形成は用量の増加に伴い程度を増し、前立腺では分裂像が散見された。ただし0.03mg/kg群では前立腺に間質の線維化や平滑筋層の肥厚など去勢の影響が残っていた。肛門挙筋および球海綿体筋の肥大が0.3mg/kg群に見られ、下垂体前葉の好塩基性細胞の肥大が同群で減少した。以上の結果より抗AA検出試験に用いるTP量は、組織学的に去勢の影響の見られない0.1mg/kgが適していると思われる。抗AA検出試験では、精囊および前立腺の重量減少と両臓器の組織学的な萎縮がFLU0.3mg/kg以上の群で認められた。1mg/kg以上の群の前立腺では間質の線維化、平滑筋層の肥厚を伴い、3mg/kg群で精囊腺腔内の分泌物はほぼ消失した。0.3mg/kg群の前立腺では、萎縮が見られる一方、TPの影響による上皮の過形成や分裂像も一部に見られた。下垂体前葉の好塩基性細胞の肥大が3mg/kg群で見られた。抗AA検出感度は、重量と組織変化は同程度であった。

P-78 ラット 28日間反復投与試験法 "enhanced OECD test Guideline 407" 確立のための 17 α -methyltestosterone を用いた予備的検討

○中村英明、西川秋佳、今沢孝喜、古川文夫、宮内慎、池田尚子、広瀬雅雄
(国立医衛研・病理部)

Prevalidation study of proposed protocol for an "enhanced OECD test guideline 407" using 17 α -methyltestosterone
HIDEAKI NAKAMURA, AKIYOSHI NISHIKAWA, TAKAYOSHI IMAZAWA, FUMIO FURUKAWA,
MAKOTO MIYAUCHI, TAKAKO IKEDA AND MASAO HIROSE
(Div. Path., NIHS)

【目的】内分泌かく乱化学物質の探索を目的とした "enhanced OECD test Guideline407" の Draft Protocol を用いて、17 α -methyltestosterone (17 α -MT) の 28 日間反復投与試験を実施し、種々の検査項目について内分泌関連作用の検出感度を検証した。

【方法】7週齢のCrj:CD(SD)IGSラット雌雄各40匹を1群10匹の各4群に配した。17 α -MTはコーン油に用時混合し80、20、5、0 mg/kg/dayの用量で強制経口投与した。雄は投与回数を28回とし、最終投与の翌日に全生存動物を屠殺した。雌は膣スメア法によって投与20日目から性周期を観察し、28回投与の翌日から4日後までの発情休止期に屠殺、或いは性周期の異常を認めた場合は28回投与の翌日に屠殺し、いずれも屠殺前日まで投与を継続した。主な検査項目として、血清中ホルモンの定量、内分泌及び生殖関連器官の重量測定と病理組織学的検索、精上皮細胞系の定量的解析及び精子検査を実施した。

【結果及び考察】17 α -MTの28日間反復投与試験において内分泌関連作用の検出感度が良好であった検査項目は器官重量、病理組織学的検索及び雌の性周期観察であった。投与量の設定に関しては、今回の試験ではNOELを設定できず、ホルモン作用の強い場合は公比4を限度とする3つの用量段階で検索することは困難であり、上限を拡大するなどの対応が必要と考えられた。

P-79 性ホルモン投与による肝細胞内 $\alpha 2u$ -globulin 発現レベルの検索：Enhanced OECD Test Guideline 407 の新規パラメーターとしての可能性について

○畝山智香子¹、渋谷 淳¹、宮崎恵子¹、仁保直子¹、武吉正博²、豊田和弘¹、広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理部、²化学品検査協会・安全性評価技術研究所)

A preliminary study to establish a new parameter, expression analysis of $\alpha 2u$ -globulin in the liver, for the Enhanced OECD 407 Test Guideline

CHIKAKO UNEYAMA¹, MAKOTO SHIBUTANI¹, KEIKO MIYAZAKI¹, NAOKO NIHO¹, MASAHIRO TAKEYOSHI², KAZUHIRO TOYODA¹, MASAO HIROSE¹

(¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²Chemicals Assessment Center, Chemicals Inspection & Testing Institute)

「目的」内分泌かく乱化学物質の *in vivo* スクリーニング試験（ラット 28 日間反復投与試験）において、内分泌影響を高感度に検出できる新規パラメーター候補の一つとして、ラットの雄に特異的に発現する蛋白質である $\alpha 2u$ -globulin に着目して、性ホルモン投与によるその発現量の変動を解析した。

「方法」7 週齢の雄ラット各群 5 匹に、エチニルエストラジオール(EE)0.5, 5, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、雌ラットにプロピオン酸テストステロン(TP)1, 10, 100 mg/kg をそれぞれ二週間にわたり連日強制経口投与した。さらに溶媒投与群及び投与開始 2 日前に精巣又は卵巣を摘出したうえでホルモンを投与した群、肝毒性物質であるアセトアミノフェン(AP)を 1.25%混餌投与した群（雄）を設けた。実験終了時に採血及び肝を摘出し、血清生化学検査、血中ホルモン濃度の測定と肝組織中の $\alpha 2u$ -globulin 及び albumin の Western blotting による検出を行った。

「結果及び考察」実験終了時の体重は AP 群と雄の精巣摘出/ EE50 群で対照群より減少、雌の卵巣摘出/ TP100 群で増加した。血中 E2 及びテストステロンレベルは採血が投与の一日後だったためか群間に大きな差はなかった。肝組織中の $\alpha 2u$ -globulin 蛋白質量は、雄の EE50 群でその対照群よりやや抑制、精巣摘出/ EE50 群で著しく抑制が見られ、雌では卵巣摘出/ TP100 群でのみ発現が確認された。AP 群ではやや抑制傾向であった。albumin 蛋白質量には群間で大きな差は見られなかった。これらの結果から肝 $\alpha 2u$ -globulin 蛋白質量は投与した性ホルモンと内因性ホルモンに依存して変動することが示唆された。 $\alpha 2u$ -globulin は性ホルモンにより転写レベルで発現制御を受けていることから、Northern blotting によるその mRNA の発現について解析する予定である。

P-80 ホウ酸によるラット精巣毒性の 2 週間反復投与による検出

○廣出 充洋、福田 良¹、松本 好枝、森島 英喜¹
(武田薬品工業・薬物機能第一研究所、¹第二研究所)

Detection of boric acid-induced testicular toxicity in rats by 2-week repeated dose study.

Mitsuhiro HIRODE, Ryo FUKUDA, Yoshie MATSUMOTO, Hideki MORISHIMA

(Drug Analysis and Pharmacokinetics Research Laboratories, Drug Safety Research Laboratories, Pharmaceutical Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd.)

【目的】厚生科学研究の「2 週間の反復投与毒性試験による雄性生殖器への影響の可否に関する研究（ICH-2W 大野班）」が 98 年秋に発足し、製薬企業による共同研究が行われている。我々は雄ラット生殖器への毒性が知られているホウ酸をモデル化合物として、2 週間反復投与でラットの精巣毒性が検出可能か否かを検討した。

【方法】ホウ酸の 300 及び 500 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ を各群 6 匹の雄性 Jcl:Wistar ラットに 8 週齢から 2 週間あるいは 6 週齢から 4 週間経口投与した。対照群には 6 週齢から 4 週間、注射用蒸留水を同様に投与した。投与期間終了後、精巣及び精巣上体の器官重量測定及び病理組織学的検査を行った。

【結果】器官重量測定では、2 週間投与の 500 mg/kg 群で精巣重量が低値を示し、4 週間投与では 300 及び 500 mg/kg 群で精巣及び精巣上体の重量が低値を示した。病理組織学的検査では、2 週間投与の 300 及び 500 $\text{mg}/\text{kg}/\text{群}$ で円形精子細胞の剥離、精子遺残及び異型遺残体がみられ、500 mg/kg 群ではさらに限局性の精細管萎縮、細胞残屑、多核巨細胞形成及び精母細胞の壊死もみられた。一方、4 週間投与では、300 mg/kg 群で円形精子細胞の剥離、精巣遺残、異型遺残体、精細管の限局性萎縮、細胞残屑及び精母細胞の壊死がみられ、500 mg/kg 群では精細管の萎縮はびまん性かつ重度になり、細胞残屑及び多核巨細胞形成がみられた。精巣上体では 2 週間投与の 500 mg/kg 群及び 4 週間投与の 300 及び 500 mg/kg 群で管腔内に細胞残屑及び精子減少が認められた。

【結論】2 週間投与の 300 mg/kg 群から病理組織学的に精巣への軽度な影響が認められ、2 週間投与の 500 mg/kg 群では 4 週間投与の 300 mg/kg 群と同程度の明確な変化が認められた。従って、ホウ酸のラット精巣毒性は、十分な用量を投与することにより、2 週間の反復投与で検出可能と考えられた。

P-81 制限給餌におけるラット雄性生殖器への影響

○木ノ本寿子、澤多美和、小川秀治、井口綾子、山口 格¹、米良幸典
(ゼリア新薬・中研・開発研,¹創薬研)

Effects of food restriction on male reproductive organs in rats.

Toshiko KINOMOTO, Miwa SAWADA, Shuji OGAWA, AYAKO IGUCHI, Itaru YAMAGUCHI, Yukinori MERA
(Applied Research Central Research Laboratories ZERIA Pharmaceutical Co., Ltd.)

【目的】一般毒性試験において強い体重抑制とともに雄性生殖器に変化を認めることがある。この場合、直接的な精巣毒性であるのか、体重抑制に伴う二次的な変化であるのかを区別する必要がある。今回、我々は制限給餌により体重を抑制したラットを用いて体重低下が雄性生殖器におよぼす影響について検討した。

【方法】6週齢のCrj:CD(SD)IGS雄ラットに4週間、制限給餌(対照群:自由摂取(100%)、85%制限群、70%制限群、55%制限群)を行った後、生殖器重量測定および精巣について病理組織学的検査を実施した。精巣のステージ鑑別は精細管を4つのグループに大別し検索した。

【結果】最終体重は、対照群に比して85%制限群で12%、70%制限群で20%、55%制限群で32%それぞれ低値を示した。器官重量では、精巣、精巣上体、精囊および前立腺の絶対重量の有意な減少が70%および55%制限給餌群で、また精巣および精巣上体の相対重量の有意な増加が全ての制限給餌群または70%以上の制限給餌群で認められた。ステージ鑑別では、55%制限群は対照群に比して減少傾向がみられたが、有意な差は認められず、精子形成に対する大きな影響は認められなかった。

(Mean ± S.D.)

ステージ	群	G/S	P1/S	L/S	Z/S	P/S	T/S
1 (I ~ VI)	対照	0.91±0.47				2.58±0.61	8.16±1.80
	55%制限給餌	0.59±0.30				2.40±0.40	7.32±1.12
2 (VII ~ VIII)	対照	0.11±0.11	2.37±0.64			3.35±0.77	9.10±2.06
	55%制限給餌	0.08±0.08	2.27±0.56			3.03±0.62	8.46±1.68
3 (IX ~ XI)	対照	0.15±0.11		2.26±0.52		3.30±0.65	7.09±1.74
	55%制限給餌	0.18±0.10		2.13±0.43		2.96±0.51	6.82±1.38
4 (XII ~ XIV)	対照	0.26±0.12			2.45±0.52	3.36±0.53	6.00±1.07
	55%制限給餌	0.22±0.10			2.30±0.51	3.12±0.69	5.99±1.54

P-82 チュブリン重合阻害剤 E7010のラットにおける精巣毒性の検討

○早川和宏、田代俊文、佐藤国夫、葛山富春、今井俊夫、青木豊彦、福田種男、岡田文弘、細川暁
(エーザイ・薬理安全研)

Testicular toxicity of E7010, a tubulin polymerization inhibitor, in rats.

Kazuhiro Hayakawa, Toshifumi Tashiro, Kunio Sato, Tomiharu Katsurayama, Toshio Imai, Toyohiko Aoki, Taneo Fukuta, Fumihiko Okada, Satoru Hosokawa (Drug Safety & Disposition Research Laboratories, Eisai Co., Ltd.)

【目的】チュブリン重合阻害剤 E7010(N-[2-[(4-hydroxyphenyl)amino]-3-pyridinyl]-4-methoxybenzenesulfonamide)は、ラットに円形精子細胞の減少・消失を特徴とする精巣障害を誘発することを既に報告した(J.Toxicol.Sci.,20,217,1995)。今回、E7010による精巣毒性について、標的細胞および障害メカニズムを明確にする目的で検討を加えたので報告する。

【方法】E7010の50、75mg/kgを各群5例の8週齢SDラットに2週間反復投与した。精巣および精巣上体を摘出後、重量を測定し、FSA液にて固定した。常法に従いパラフィン切片を作製後、H-E、PAS染色ならびにTUNEL染色を施し病理組織学的に観察した。さらに、E7010 50mg/kgの単回投与1週間後に剖検し、精巣・精巣上体を病理組織学的に観察すると共に、4つのステージ(II-III、V、VII、XII)について、セルトリ細胞あたりの各精上皮細胞数を計測した。

【結果】2週間投与群では、75mg/kg群で著しい精巣障害が認められた。精上皮細胞の減少・消失がびまん性に認められ、セルトリ細胞のみを残す精細管も観察された。50mg/kg群では、種々の成熟段階の精上皮細胞の減少、細胞死が観察されたが、特にステージXIVの減数分裂期の精母細胞の細胞死が特徴的であった。TUNEL染色では、細胞死を呈する細胞の多くが陽性を示した。50mg/kgの単回投与群では、ステージVIIにおける円形精子細胞の減少が特徴的であり、減数分裂期における障害が反映されているものと判断された。

【考察】今回の結果から、E7010は種々の成熟段階の精上皮に影響を及ぼすものの、特に減数分裂期の精母細胞に選択性の高い障害作用を有することが示唆された。また、障害された精上皮細胞はTUNEL染色に陽性を示したこと、ならびに本剤の薬理作用がチュブリン重合阻害であることから、E7010による細胞死には細胞分裂阻害に基づくアポトーシスが関与すると考えられた。

P-83 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官の病理組織学的変化の検討(第2報)

○義岡孝子、川口博明、小玉拓郎、早田正和、吉田浩己
(鹿児島大学医学部第一病理)

Effect of Neonatal Administration of Diethylstilbestrol(DES) and 17β-estradiol(E2) on Development of Male Genital Organs in Rats.

Takako YOSHIOKA, Hiroaki KAWAGUCHI, Takuro KODAMA, Masakazu SOHDA, Hiroki YOSHIDA
(Department of Pathology, Kagoshima University, Faculty of Medicine)

【目的】合成卵胞ホルモンである diethylstilbestrol (DES)と生理的卵胞ホルモンである 17β-estradiol (E2)を生直後に投与し、新生仔期内分泌攪乱物質の雄性生殖器官への影響を検討した。

【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 μg を 24 時間以内に皮下投与し、生後 7 週目および 14 週目に病理学的検索を行った。

【結果】I 群に比し、(1)精巣重量は 7 週目では II 群の全亜群で、III 群で 100 μg 投与亜群で減少、14 週目では II 群、III 群の全亜群で減少した。(2)精細管内のセルトリ細胞は II 群で著明に、III 群でも軽度減少が見られた。セルトリ細胞と各精細胞の比には II, III 群とも各亜群に有意差は認めなかった。

【結語】これらの病理組織学的所見より、新生仔期の過剰な estrogen はセルトリ細胞に一次的に障害を引き起こす結果、精子形成異常を惹起する可能性が示唆された。

	Groups				
	I None (n=16)	II DES			
		0.1 μg (n=8)	1 μg (n=10)	10 μg (n=8)	100 μg (n=9)
Paired Testes Wt.(g) (100g body weight)	1.85±0.10	1.74±0.14*	1.59±0.38*	1.55±0.30**	1.45±0.13**
No. of Sertoli Cells in a Seminiferous tubules Germ Cells Sertoli Cells	17.0±1.16	16.6±0.95	14.5±0.75**	12.7±0.73**	11.6±0.87**
Spermatogonia	2.97±0.22	2.96±0.13	2.98±0.20	2.95±0.25	3.01±0.21
Spermatocyte	3.21±0.32	3.16±0.17	3.13±0.22	3.18±0.15	3.14±0.21
Round Spermatid	8.73±0.20	8.79±0.28	8.72±0.22	8.76±0.24	8.70±0.22
Total Germ Cells	15.6±0.12	16.0±0.45	15.8±0.51	15.7±0.22	15.2±0.51
Spermatozoa in Epididymis	16 16	5 8	4 10	0 8	0 9

Results expressed as means ± SD. Significantly different from control; *p<0.05, **p<0.01.

P-84 内分泌攪乱物質検出系 (Hershberger assay, Pubertal male assay) における雄性生殖器官の変化と抗アンドロゲン物質の検出感度の比較

○宮田かおり、山田智也、須方督夫、薮下晴津子、角南整、奥野泰由 (住友化学・生科研)

The effects on the male reproductive organs and comparison of the sensitivity to the detection of antiandrogenic activity (Hershberger assay, Pubertal assay).

MIYATA KAORI, YAMADA TOMOYA, SUKATA TOKUO, YABUSHITA SETSUKO, SUNAMI OSAMU, OKUNO YASUYOSHI
(EHSL, Sumitomo Chemical Co., Ltd.)

Hershberger assay はアンドロゲンあるいは抗アンドロゲン様作用物質を検出する系として、EDSTAC における Tier1 あるいは OECD の *in vivo* スクリーニング法のひとつとして提案されている。今回我々は、抗アンドロゲン様作用物質として Flutamide と p,p'-DDE を Crj:CD(SD)IGS ラットに投与し、雄性生殖器官への影響を検討した。また、Flutamide については Hershberger assay の代替法として提案されている Pubertal male assay についても検討した。

【材料および方法】実験 1. Hershberger assay : 11 週齢のテストステロン処置ラットに、Flutamide を 0.15, 0.6, 2.5, 10.0mg/kg、p,p'-DDE を 10, 100mg/kg の用量で、5 日間反復経口投与した。実験 2. Pubertal male assay : 21 日齢の雄ラットに Flutamide を 0.15, 0.6, 2.5, 10.0mg/kg の用量で 20 日間反復経口投与した。実験 1, 2 ともに、最終投与翌日に屠殺、剖検し、雄性生殖器官について重量を測定、病理組織学的検査 (H-E 染色、アンドロゲン受容体 (AR) 免疫染色) を実施した。また血清中のテストステロンおよび LH の濃度を測定した。

【結果】実験 1. Flutamide では 0.6mg/kg から前立腺、精囊および肛門挙筋+球海綿体筋(筋肉)重量の低値傾向あるいは低値が、2.5mg/kg 以上で LH の上昇および組織学的に精囊および前立腺の萎縮が、10mg/kg 群ではさらに筋肉の萎縮も認められた。AR 免疫染色では対照群と比較し、染色性および局在性の差は認められなかった。p,p'-DDE では 10mg/kg 以上で前立腺腹葉、精囊および筋肉重量の低値傾向あるいは低値が、100mg/kg の用量で組織学的に前立腺萎縮が認められた。実験 2. Flutamide の 0.6mg/kg で精囊重量の低値傾向が、2.5mg/kg 以上で前立腺、精囊、筋肉重量の低値、および組織学的に精囊萎縮が認められた。10mg/kg 群ではさらに LH の上昇、前立腺、精囊および筋肉の萎縮と精巣間細胞の肥大/増生が認められた。

【結論】今回用いた検出系では Hershberger assay がより検出感度が高く、またいずれの系でも鋭敏なパラメーターは臓器重量であった。尚、Flutamide と p,p'-DDE では AR の染色性および局在性に対照群との差は認められなかった。

P-85 **マウス移植ヒト前立腺組織における発がん物質-DNA 付加体の形成についての免疫組織化学的検討**

○崔 林、高橋 智、鈴木周五、二口 充、竹下文隆、加藤浩司、白井智之
(名市大・医・一病理)

Immunohistochemical demonstration of DNA adducts of PhIP in human prostate tissues transplanted into nude mouse subcutis

LIN CUI, SATORU TAKAHASHI, SHUGO SUZUKI, MITSURU FUTAKUCHI, FUMITAKA TAKESHITA, KOJI KATO, TOMOYUKI SHIRAI
(1st Dept. of Pathol., Nagoya City Univ. Sch. Med.)

【目的】 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-*b*] pyridine(PhIP)は主に肉類、魚などの食品加熱分解産物およびタバコタールに比較的多量に含まれている。PhIP は動物実験で、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。今回はヒト前立腺発癌における PhIP の関与を研究する目的で、移植ヒト前立腺組織での PhIP-DNA 付加体形成の有無および PhIP の代謝に関わる CYP1A2、NAT2 の mRNA 発現について検討した。

【方法】 膀胱全摘術から得られたヒトの正常前立腺辺縁域組織を 5mm 角に細切後、KSN 系ヌードマウスの背部皮下に移植し、10 日目に 200 ppm の PhIP を経口投与した。移植ヒト前立腺組織および正常ヒト前立腺培養細胞について免疫組織化学および RT-PCR 法により解析した。

【結果】 PhIP 投与により移植ヒト前立腺上皮および間質細胞において DNA 付加体の形成が観察された。ヌードマウスの前立腺、精嚢上皮および肝細胞にも DNA 付加体が形成されることを認めた。RT-PCR 法により、正常のヒト前立腺上皮培養細胞では NAT2 および CYP1A2 の mRNA は認められた。前立腺線維芽培養細胞では NAT2 の mRNA は発現されるのに対し CYP1A2 は発現されなかった。また、4 例のヒト前立腺組織でも NAT2 および CYP1A2 の mRNA 発現は認められた。

【結論】 PhIP はヌードマウスの肝臓のみならず、移植ヒト前立腺組織でも CYP1A2、NAT2 によって代謝されると推測される。もちろん、マウス肝臓で *N*-OH-PhIP がつくられ、前立腺で最終的に活性化されるルートも存在する。これらの結果から、PhIP はヒト前立腺で代謝活性化が可能であり、ヒト前立腺癌の発生に関与する可能性が示唆される。

P-86 **ヘテロサイクリックアミン類の卵巢摘出ラットにおけるエストロゲン様作用の検討**

○川森俊人 (国立がんセンター研究所・がん予防研究部)

Modifying Estrogenic Effects of Heterocyclic Amines on Ovariectomized Rats

TOSHIHIKO KAWAMORI

(Cancer Prev. Div., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.)

内分泌攪乱物質として幾つかの物質が同定され、その発がん性が検討されている。環境中に含まれるヘテロサイクリックアミン類は、乳腺などを含め幾つかの臓器に対して発がん性を示す。そこで、その作用機序の解明を目的として、ヘテロサイクリックアミンのエストロゲン様作用の有無について、卵巢摘出ラットを用いて検討した。**【材料と方法】** SD 雌ラットを 5 週齢で卵巢摘出後、1 週間後から 17β estradiol(E2)を 50 μg/kg b.w./day、IQ、PhIP、Glu-P-2 を 50mg/kg b.w./day の容量で 3 日間腹腔内投与した。最終投与翌日に全動物を屠殺、剖検し、子宮重量測定、病理組織学的検査、子宮内膜および上皮細胞の高さの測定、BrdU を用いた子宮の細胞増殖率の測定を行なった。**【結果と考察】**E2 投与群では、子宮重量はコントロールに比し増加し、その子宮内膜および上皮細胞高も増加していた。また、細胞増殖率も増加していた。IQ、PhIP、Glu-P-2 を投与したラットでは、子宮重量はほとんど変化なく、子宮内膜および上皮細胞の高さにも変化は認められなかった。また最も鋭敏である細胞増殖率においても変化はなかった。これらの結果から、この三種のヘテロサイクリックアミンには、エストロゲン様作用はないものと考えられた。

P-87 新生仔期内分泌攪乱物質(DES)のDMBA誘発ラット乳癌への影響

○川口博明、二之宮謙次郎、田口周平、義岡孝子、小玉拓郎、早田正和、吉田浩己
(鹿児島大学医学部第1病理)

Effect of neonatal administration of diethylstilbestrol on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinomas in female SD rats.

Hiroaki KAWAGUCHI, Kenjiro NINOMIYA, Syuhei TAGUCHI, Takako YOSHIOKA, Takuro KODAMA, Masakazu SOUDA, Hiroki YOSHIDA (The Department of Pathology I, Faculty of Medicine, Kagoshima University)

【目的】新生仔期内分泌攪乱物質のDMBA誘発ラット乳癌への影響を検討した。

【材料と方法】雌SDラットへ生後24時間以内にdiethylstilbestrol(DES, I:0, II:0.1μg, III:1μg, IV:10μg, V:100μg)を皮下投与し、生後50日に7,12-dimethylbenz[a]anthracene(DMBA, 10mg)を経口投与後、乳腺を触診し、乳癌の発生を検索した。また、I, IIIおよびV群の生後50日のラット腹部乳腺のKi67による免疫染色標本とwhole mount標本を作製し病理組織学的検索を行った。

【結果】1) I, II, III, IV, V群それぞれ0,0,20,76.5,100%のラットには卵巣に黄体が形成されず、膈上皮の連続角化と乳腺の乳汁分泌がみられた。2)V群(DES大量100μg投与)では乳癌の発生頻度と腫瘍個数が減少し、乳癌の発生は抑制されたが、III群(DES1μg投与)では発生頻度と腫瘍個数が増加し、特に正常な性周期を有するDES投与ラットで著明に乳癌発生が促進された。3)生後50日(DMBA暴露時)のラット乳腺において、V群ではterminal end bud(TEB)の数が減少し、逆にIII群ではTEB数およびTEB内のKi67陽性細胞数が増加した(Table1,2)。

Table 1: Terminal end buds (TEBs) in whole mount preparation of the abdominal gland of a 50 days old rat with neonatal administration of Diethylstilbestrol (DES)

Group	Treatment	No. of rats	The number of TEBs (Mean ± SD)
I	None	5	42.1 ± 0.7
III	DES, 1 μg	5	59.2 ± 6.0**
V	DES, 100 μg	5	29.3 ± 4.1**

**different from None, p<0.01

Table 2: Ki67-positive cells (%) in terminal end buds (TEBs) in the abdominal gland of a 50 days old rat with neonatal administration of Diethylstilbestrol (DES)

Group	Treatment	No. of rats	Ki67-positive cells (%) in TEBs (Mean ± SD)
I	None	5	81.8 ± 1.0
III	DES, 1 μg	5	84.3 ± 2.0**
V	DES, 100 μg	5	83.4 ± 1.9

**different from None, p<0.01

【まとめ】DESは投与量により視床下部の排卵機構の障害や、乳腺の発癌刺激への感受性の変化など多彩な内分泌攪乱を引き起こし、乳癌の発生に強く影響を及ぼすことが示唆された。

P-88 天然、植物性及び化学エストロゲンの乳腺の発達及び乳癌発生への影響

○股宏、後藤孝彦、中谷玉樹、杉桂二、伊藤明弘
(広大原医研予防腫瘍)

Effects of natural phytoestrogen and chemical estrogen on mammary gland's differentiation and breast cancer's development

HONG TIN, TAKAHIKO GOTOH, TAMAKI NAKATANI, KEIJI SUGI, AKIHIRO ITO

(Res. Inst. Radiat. Biol. Med., Hiroshima Univ.)

背景: Russo, Lamartinire, 岡本らの研究成果から、乳がんの発現には乳腺の原基であるTEB(乳腺終末管)、TD(乳腺原基)などの存在が重要であることが明らかとなった。更にLamartinireらの報告で、新生児期Genistein(G)の投与により、上記乳腺原基に変動が認められることも明らかとなった。

目的: エストロゲン及び植物性、化学性エストロゲンの乳腺幹細胞動態及び乳癌発癌率の影響を観察して、エストロゲンあるいはエストロゲン類似物の乳腺における分化及び発癌の作用を解明すること。

方法: 新生児期SDラットを用い、化学エストロゲンとして、Bisphenol A(BSP)、植物エストロゲンとして、Biochanin A(Bc.A)、及び17β-estradiol(E2)の3物質を対比させて、これらを新生児期の2、4、6日のラットに皮下投与を行った。なお、実験動物は1群19~25匹とした。観察期間は、約30週間であった。

結果: 1) E2の0、0.1、10μg/ラット投与群では、実験開始後、13週より乳癌の発生を認めた。20週以後では、対照群に比べ、E2、0.1、10μg群ではいずれも発生率の低下を認めた。2) BSP: 0、0.1、10mg/ラットを3回皮下投与し、30週間の観察期間とした。その結果、13週より乳癌の発生を認め、投与量に逆相関して乳癌の発生率、平均個数ともに減少した。3) Bc.A: 0、0.1、10mg/ラット投与群の間で、発生率、平均腫瘍数に差が認められなかった。要約: 以上の結果、E2、BSPでは用量依存性に乳癌発生率を抑制し、Bc.Aでは、効果が認められなかった。

P-89 Estrogen 投与によるラット乳腺における prolactin-receptor(PRL-R)mRNA の影響 -正常および下垂体除去ラットでの比較-

○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)

Effects of prolactin-receptor (PRL-R) mRNA in the rat mammary gland treated with estrogen; Comparison of the intact and hypophysectomized rat

Toshiki IWASAKA^{1,2}, Shinobu UMEMURA¹, Katuhiro MIYAJIMA², Akemi TAKAHASHI², Kouti KAKIMOTO^{1,2}, Haruko KOIZUMI², Yoshifumi MIYAKAWA², Yoshiyuki OSAMURA¹

(¹Department of Pathology, Tokai University School of Medicine, ²Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.)

緒言: われわれは、ラット乳腺腫瘍で腫瘍細胞のみならず、正常乳腺組織においても prolactin-receptor long form (PRL-RL)mRNA の顕著な発現を認め、下垂体腫瘍による全身的な hormone regulation 支配下で PRL-RL が発現する可能性を本学会誌 (Vol.12-4) において報告した。今回われわれは、Estradiol dipropionate (E2) を投与し、乳腺における PRL-RL mRNA の発現動態を検討すると共に、血中 PRL の消失した下垂体除去ラットでの変化も同様に調べ、ホルモン動態との関連を検討した。

材料及び方法: 実験 1: 10 週齢の Wistar (Jcl:Wistar;SPF) 系雌ラットを各群 5~6 匹、合計 33 匹用い、E2 を 0、0.5 及び 1 mg/kg を週 1 回筋肉内に投与し、1 及び 4 週間 (W) 後の鼠径部乳腺を採取した。

実験 2: 8 週齢時に下垂体除去術または Sham-Ope を実施した Wistar (Jcl:Wistar;SPF) 系雌ラットを各群 3~6 匹、合計 27 匹用い、10 週齢時に実験 1 と同様に E2 を投与し 1W 後の乳腺を採取した。両実験共、血中 PRL 及び E2 値を測定し、乳腺の組織学的変化及び RT-PCR による PRL-RL mRNA の発現の有無を検討した。

結果: 実験 1: E2 投与により血中 PRL 及び E2 値は対照群に比べ 1W で軽度ながら有意に増加し、4W ではより著名であった。乳腺は 1W より顕著な lobulation を示し、4W では内腔の拡張を示した。1W では PRL-RL mRNA の発現を示す個体が用量依存的に増加したが、4W には用量依存的に減少した。実験 2: PRL-RL mRNA は、血中 PRL 値の上昇を認めない下垂体除去ラットではいずれの個体においても発現が認められなかった。

まとめ: E2 投与により、1W 後に正常ラット乳腺の PRL-RL mRNA の誘導を認めた。この PRL-RL mRNA の発現には血中 E2 及び PRL の軽度な上昇が必要と考えられ、下垂体除去ラットでは見られないことより、血中 E2 の単独の上昇のみでは誘導されないことが示唆された。

P-90 WBN/Kob ラットの膵線維化病変の検討

○桑山知登世、柿沼千早、宮内 慎、阿部 寛
(順天堂大・医・病理学第一)

An investigation of pancreatic fibrosis in WBN/Kob rats

CHITOSE KUWAYAMA, CHIHAYA KAKINUMA, MAKOTO MIYAUCHI, HIROSHI ABE
(Dept. of Pathol., Juntendo Univ. Sch. Med.)

【目的】 ヒトの慢性膵炎は持続的な線維化を伴う。一方、動物モデルの膵線維化は、一過性に形成されその後消退する。このことは、動物モデルの膵線維化の機序をヒト慢性膵炎にあてはめることの難しさを示す反面、動物モデルの線維化消退機構の解明が、ヒト膵線維化の治療指針の一助となる可能性を示す。そこで我々は、2 ヶ月齢より膵炎を発症し、その後一過性の線維化を示す雄 WBN/Kob ラットを対象とし、線維化消退機序の検討を行った。

【方法】 雌雄 WBN/Kob ラットの生後 2, 4, 8, 10 ヶ月齢を用いた。膵重量の測定、病理・免疫組織学的検査 (α -平滑筋アクチン、type I・III コラーゲン、プロリルハドロキシラーゼ (PH) 等)、膵総面積に占める線維化、脂肪織領域の画像解析、血中および膵中の PH 量 (ng/ml) ならびに膵中コラーゲナーゼ活性 (unit/g) の測定を実施した。

【結果】 雄 WBN/Kob ラットは、生後 2 ヶ月齢において膵炎を発症し、4 ヶ月齢をピークに線維化が進展しその後消退した。線維成分の主体はコラーゲンで、免疫組織学的には type I が主体であった。生後 2 ヶ月齢以降、雄では血中 PH が高値を推移し、一方、膵中コラーゲナーゼ活性は 4 ヶ月齢以降漸次増加した。

【考察】 雄 WBN/Kob ラット膵線維化病変の消退は、1) 線維成分の主体が type I ではなく type III であること、2) 血中 PH 濃度が高値で線維成分が持続的に亢進している一方、膵中コラーゲナーゼ活性が増加し線維分解過程が進むこと、を反映したものと考えられた。

P-91 キダチアロエのハムスター BOP 膵発癌イニシエーション期における抑制効果

○古川 文夫¹、西川 秋佳¹、孫 和永¹、宮内 誠¹、中村 英明¹、千原 猛²、新保 寛²、別府 秀彦²、葛谷 博磁²、李 仁善³、広瀬 雅雄¹

(¹国立衛研・病理、²保健衛生大・生薬研、³韓国啓明大学・食品加工)

Inhibition by aloe of pancreatic carcinogenesis in hamsters treated with BOP

FUMIO FURUKAWA¹, AKIYOSHI NISHIKAWA¹, HWA-YOUNG SON¹, MAKOTO MIYAUCHI¹, HIDEAKI NAKAMURA¹, TAKESHI CHIHARA², KAN SHIMPO², HIDEHIKO BEPPU², HIROSHI KUZUYA², IN-SEON LEE³, MASAO HIROSE¹

(¹Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²Fujita Memorial Inst. Pharmacog., Fujita Health Univ., ³Dept. Food Sci. Tech., Keimyung Univ.)

【はじめに】キダチアロエ(アロエ)はユリ科植物に属し、抗酸化作用を示すフェノール系のアンスロン配糖体(バルバロイン、イソバルバロイン)も含まれている。また、ラット肝、マウス十二指腸および皮膚発癌をプロモーション期投与において抑制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)膵発癌モデルの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90匹を3群に分け、第1~3群(各30匹)に10mg/kg体重のBOPを1週間に1回、計4回背部皮下に投与し、第1群には基本食、第2群には1%アロエ凍結乾燥粉末食、第3群には5%アロエ凍結乾燥粉末食を5週間与え、その後基本食に替え、実験開始から54週間後に生存動物を屠殺・剖検し、膵を中心に病理組織学的に検索した。

【結果】膵腺癌の発生率は、第1~3群それぞれ86.6%、56.6%($P<0.05$)、58.6%($P<0.05$)であり、動物当たりの平均病変数(多発性)は第1~3群1.20個、0.77個($P<0.05$)、0.69個($P<0.01$)であった。膵管異形成の発生率は、第1~3群それぞれ56.6%、43.3%、27.5%($P<0.05$)で、多発性は0.76個、0.70個、0.34個($P<0.05$)であった。

【まとめ】ハムスター BOP 膵発癌モデルにおいて、アロエをイニシエーションの時期に BOP と同時投与した結果、明らかな抑制効果を示した。アロエ成分が BOP 代謝活性化の阻害に関与した可能性が考えられた。

P-92 Probasin プロモーター制御下 SV40T 抗原発現遺伝子導入ラットに発生した舌味蕾由来と考えられる神経芽細胞腫

○外岩戸 尚美、朝元 誠人、高橋 智、曹 泳晩、杉浦 論、白井 智之

(名古屋市大・医・1病理、CREST)

Neuroblastomas derived from taste bud of the tongue in SV40T antigen transgenic rats controlled by probasin promoter.

NAOMI HOKAIWADO, MAKOTO ASAMOTO, SATORU TAKAHASHI, YOUNG-MAN CHO, SATOSHI SUGIURA, TOMOYUKI SHIRAI

(Dept. of Pathol. Nagoya City Univ. Med. Sch., CREST)

PGP9.5のIHC

【目的】我々はラット前立腺に特異的に発現する probasin 遺伝子のプロモーター制御下に SV40T 抗原を発現させたトランスジェニック (Tg) ラットを作製したが、前立腺以外に舌、リンパ節、脊髄に高頻度に腫瘍を認めた。そこで、これらの腫瘍の組織発生を詳細に検討すると同時に、前立腺における probasin プロモーター活性はアンドロゲンにより制御されるので、これらの腫瘍のホルモン依存性についても検討した。

【方法】5週齢の雄の Tg ラットを用いた。動物は3群に分け、テストステロン投与群と精巣摘出群とコントロール群とした。テストステロンは1.5cmのチューブに詰めたものを背部皮下に埋め込み、6週間ごとに交換した。15週齢で解剖し、病理組織学的観察を行った。

【結果および考察】このラットは15週という短期間に前立腺に異形成および癌を誘発すると同時に舌、リンパ節、脊髄に腫瘍形成がみられた。一部のラットは脊髄腫瘍によると考えられる下肢麻痺がみられた。腫瘍の発生頻度は精巣摘出およびテストステロン投与群間で明らかな差異は認められなかった。これらの腫瘍は組織学的にクロマチンに富む核を有し、胞体は少なく密に配列し、時にロゼットの形成があり神経芽細胞腫に類似していた。肉眼的には正常に見える舌も有郭乳頭内の味蕾に局限して小さい腫瘍形成を認めた。また、この腫瘍および正常味蕾は SV40Tag の免疫染色により強陽性を示した。以上より、この Tg ラットには味蕾由来の神経芽細胞腫と考えられる腫瘍が発生し、高率にリンパ節、脊髄に転移することが明らかとなった。また、男性ホルモン非依存性であることも明らかとなった。これは味蕾由来の腫瘍の初の報告と考えられ、組織発生の解析や転移モデルとして有用であると考えられる。

P-93 脱髄を特徴とするミュータント *dmy* ラットに自然発生した acoustic neurinoma の 1 例

○桑村 充¹、金原稔子¹、山手丈至¹、小谷猛夫¹、山崎賢一²、北田一博²、芹川忠夫²
(¹大阪府大獣医病理、²京都大院・動物施設)

A spontaneous acoustic neurinoma in *dmy* rat, a mutant with demyelination

MITSURU KUWAMURA¹, TOSHIKO KANEHARA¹, JYOJI YAMANE¹, TAKAO KOTANI¹, KENICHI YAMASAKI², KAZUHIRO KITADA², TADAO SERIKAWA²

(¹Department of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University, ²Institute of Laboratory Animals, Graduate School of Medicine, Kyoto University)

ヒトの脳神経原発の神経鞘腫は稀な腫瘍であるが、内耳神経(第8神経)に好発し、acoustic neurinoma 聴神経鞘腫あるいは cerebellopontine angle tumor 小脳橋角腫瘍とも呼ばれる。今回、脱髄病変を特徴とする *dmy*(demyelination)ミュータントラットにおいて、近交化途中のラットに自然発生した acoustic neurinoma に遭遇したので、その病理所見を報告する。(症例・病理所見) *dmy* ラットは、Sprague-Dawley ラットに見いだされ、脊髄および脳の脱髄を特徴とするミュータントであり、この形質はラット第17番染色体上の劣性遺伝子により支配されている(Kuramoto T *et al*, 1996)。症例は、F344/N の遺伝背景にオリジナル *dmy* を導入し、コンジェニックラット作製途中(6代目)の、10週齢の雌ラット(*dmy* / *dmy*)である。臨床的に、脱髄に起因すると考えられる後駆運動失調、横臥姿勢の症状が観察された。肉眼的には、右橋部に直径約1.5mmの変色巣が認められた。組織学的には、第8脳神経から橋実質にかけて紡錘形腫瘍細胞の密な浸潤性増殖が見られ、腫瘍細胞は免疫組織化学により S-100 蛋白、Myelin basic protein(MBP)に陽性を示し、多くの PCNA 陽性細胞が認められた。その他、脳および脊髄の白質においては、*dmy* 形質に基づく脱髄病変が広範に観察された。(考察)本症例の病理所見は、この腫瘍が神経鞘細胞由来であることを示しており、発生部位とあわせて、acoustic neurinoma と診断された。*dmy* ミュータントには、末梢神経病変は認められないとされ、本腫瘍細胞も MBP に陽性を示した。本例は、10週齢と非常に若齢であり、この点からも希少例と考えられた。Kuramoto T *et al*, A rat mutation producing demyelination(*dmy*) maps to Chromosome 17. Mamm Genome, 7:890-894, 1996

P-94 若齢 IGS ラットに認められた卵巣悪性奇形腫

○坪田健次郎、大石裕司、義澤克彦、松本正博、仲辻俊二、能登貴久、藤平司郎、橋本正晴
(藤沢薬品工業株式会社・安全性研究所・毒性病理)

Malignant teratoma of ovary in Crj:CD(SD)IGS rat

KENJIRO TSUBOTA, YUJI OISHI, KATSUHIKO YOSHIZAWA, MASAHIRO MATSUMOTO, SHUNJI NAKATSUJI, TAKAHISA NOTO SHIRO FUJIHARA, MASAHARU HASHIMOTO

(Dept. of Pathol., Toxicol. Res. Lab., Fujisawa Pharm.CO., LTD.),

ラットの卵巣に原発する自然発生の奇形腫は報告が極めて少なく、その報告もほとんどない。また特に IGS 系ラットについては現在もバックグラウンドデータの収集・蓄積が始まったばかりで、卵巣原発の腫瘍の報告はみられない。今回我々は IGS 系ラットの自然発症の卵巣悪性奇形腫を 1 例経験したので、その病理組織学的特徴について報告する。

症例は 6 週齢 Crj:CD(SD)IGS ラットで、検疫期間中に触診で腹腔内に腫瘤が検知された。剖検では腫瘤は 25×40×40mm 大で右側子宮角端に接した卵巣部分に位置していた。表面は比較的平滑で周囲組織との癒着は認められず、赤色腹水の貯留以外、他の器官・組織に異常は認められなかった。

病理組織学的には腫瘤は極めて多彩な組織より構成されており、周辺の一部に既存の卵巣と思われる卵胞および黄体が残存していた。構成組織として、皮膚・付属器官、神経系組織、横紋筋、骨・骨髄、軟骨、脂肪組織、結合組織、膵臓、唾液腺、消化管、気管など内胚葉、中胚葉、外胚葉からそれぞれ分化した組織が認められた。さらに紡錘形の未分化間葉系細胞に周囲を囲まれた未熟な軟骨組織や未熟な神経管構造が混在しており、分裂像も散見された。

上記に認められた組織は本来同所に存在するものではなく、また正常な器官形成を伴わない、三胚葉すべてに由来する様々な組織の異常増殖による胚細胞腫瘍であり、一部に未熟な軟骨組織および神経管も認められたことから、未熟型奇形腫であると診断した。WHO のげっ歯類腫瘍の国際分類では奇形腫は良性あるいは悪性で分類されるため、本症例も最終診断名はそれに習い悪性奇形腫とした。我々の知る限りラットの奇形腫は雄で認められた症例が多く、ラットの卵巣に自然発生する腫瘍は比較的少なく、その殆どが老齢動物に認められる性索間質性腫瘍である。従って本腫瘍は極めて希少な症例であると考えられる。

P-95 IGS ラットにみられた自然発症卵巣奇形腫の1例

○林修次^{1,2}, 鈴木智¹, 箱井加津男^{1,2}, 山口修司¹, 入村兼司¹, 鰐淵英機², 福島昭治²
(¹大鵬薬品工業・安全研, ²大阪市大・医・1病理)

Spontaneous ovarian teratoma in a IGS rat

SHUJI HAYASHI^{1,2}, SATOSHI SUZUKI¹, KAZUO HAKOI^{1,2}, SHUJI YAMAGUCHI¹, KENJI IRIMURA¹, HIDEKI WANIBUCHI², SHOJI FUKUSHIMA²

(¹Drug Safety Research Lab., Taiho Pharmaceutical Co., LTD., ²1st. Dept. of Pathology, Osaka City Univ. Medical School)

【はじめに】近年、SD系に替わり種々の毒性試験に使用され始めたIGS系ラットにおいて、自然発症の卵巣奇形腫を1例経験したので、その病理組織学的特徴を報告する。

【材料と方法】症例は、13週間反復毒性試験の対照群の1例(雌IGSラット;日本チャールスリバー社)で、溶媒のHPMC投与4日(6週齢時)に触診で腹腔内の異常に気づき、次第に腹部膨満は顕著となり、投与30日には貧血が進行したため、エーテル深麻酔下で放血・屠殺し、剖検に供した。

【結果】肉眼的に腹腔内には淡褐色の腹水が約160ml貯留しており、左卵巣は8.5×7.0×4.0cmに腫大し、表面は不整で周囲組織と癒着する部位がみられたが分離は容易であった。剖面では粘液状あるいはゼラチン様物を容れた大小の嚢胞、軟組織様の充実性領域及び骨・軟骨様の小白色硬組織が散在性にみられた。病理組織学的に固有の卵巣組織は観察されず、主として神経組織、網膜あるいは水晶体様構造、皮膚及び付属組織、歯胚、横紋筋、平滑筋、軟骨、骨及び骨髄組織、脂肪組織、扁平上皮で裏打ちされた角質嚢胞様構造、呼吸粘膜上皮あるいは腸管粘膜上皮で囲まれた腺腔構造、膵臓外分泌腺及びラ氏島、乳腺、胸腺、甲状腺、肝細胞など比較的分化した組織が混在して観察された。その他、広範な領域で卵黄嚢腫瘍組織が、散在性に脱落性の壊死組織が、また、限局性に絨毛癌組織が観察された。さらに、一部に未分化な神経管様構造がみられるのを特徴としていた。一方、右卵巣には大型嚢胞が散見されたのみであった。その他の主要器官では、病理学的に異常は認められなかった。

【まとめ】本症例は大部分が3胚葉すべてに由来する様々な組織の異常増殖による腫瘍であるが、一部に未分化な神経管様構造が観察されたことから未熟奇形腫と診断された。今回の症例では眼の網膜を含め比較的分化した器官・組織が多数観察されるとともに、卵黄嚢腫瘍や絨毛癌などの他の胚細胞腫瘍成分が共存していた。このような症例の報告はこれまでにラットではなく、本症例は極めて稀少な症例であると考えられる。

P-96 CB6F1-non-Tg-rasH2 マウスにみられた真性半陰陽の1例

○豊沢かおる、沖本一夫、木川英美、河内眞美、田中浩二
(大日本製薬(株)・開発研)

A case of true hermaphrodite in CB6F1-non-Tg-rasH2 mouse

KAORU TOYOSAWA, KAZUO OKIMOTO, EMI KIKAWA, MAMI KOHCHI, KOHJI TANAKA
(Developmental Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd)

真性半陰陽とは組織学的に精巣と卵巣を兼ね備えている個体を指し、染色体・外生殖器・性腺以外の内生殖器の状態は本症定義上には関係ない。マウスの真性半陰陽の報告は少なく、BALB/cBm マウスでは0.05%の発生率と報告されている。今回、マウスがん原性試験代替法の共同研究であるCB6F1-Tg-rasH2 マウスを用いた試験でCB6F1-non-Tg-rasH2(BALB/cとC57BLのF1、ヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子の導入されていない野生型、実験動物中央研究所)のDi(2-ethylhexyl)phthalate 6000ppm投与群の1例に本症がみられたので報告する。

【経過】本例は雄動物として6週齢で購入され、馴化期間中に一般状態・体重ともに異常はみられず、8週齢で26週間がん原性試験に供された。投与開始時の体重はほぼ群平均値であったが、剖検時の体重は群平均より14%低くやや小さめであった。33週齢時から陰嚢の腫脹が観察された。

【剖検】左側の精巣および精巣上体は認められず、かわりに卵巣および子宮がみられた。子宮は水様液を容れて著しく拡張しており、これが陰嚢の腫脹の原因と考えられた。精嚢の左側起始部に白色結節がみられ、子宮との連続性がみられた。右側の精巣は通常の約半分の重量であったが、精巣上体や前立腺は正常であった。

【組織検査】卵巣は正常な卵胞や黄体がみられたが、間細胞が非常に増えていた。子宮は内腔にケラチン様物や脱落上皮細胞様のものを大量に容れ拡張していたが、内膜は正常であった。精嚢の白色結節は腔組織であり、内腔は子宮と同様にケラチン様物を大量に容れ拡張していた。右精巣は限局性の精細管萎縮がみられるが、精子形成が行われている精細管も多く、精巣上体や前立腺も正常な組織像を示した。

【結論】本症例は一側卵巣、対側精巣であったことから、JonesとScottの分類ではI型と分類された。

**P-97 Crj:BDF₁ マウスにみられる組織球性肉腫
—発生頻度、臓器分布及び病理像について—**

○片桐卓、竹内哲也、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)

Histiocytoma in Crj:BDF₁ mouse - incidence, organ distribution and pathological findings -
TAKU KATAGIRI, TETSUYA TAKEUTI, YUMI UMEDA, HIDEKI SENOH, SHIGETOSHI AISO, KASUKE
NAGANO, MASAHICO OKUDAIRA (Japan Bioassay Research Center)

当研究センターではマウスのがん原性試験に C57BL/6NCrj(♀)と DBA/2NCrj(♂)の交雑系である Crj:BDF₁ マウスを使用している。BDF₁ マウスには組織球由来と考えられる腫瘍(組織球性肉腫)が自然発生する。今回、104 週間がん原性試験(1 群雌雄各 50 匹の 10 試験)の対照群に用いた BDF₁ マウス(雌雄各 500 匹)の中で組織球性肉腫と診断した例について、発生頻度、臓器分布及び病理像を検索したので報告する。[発生頻度と臓器分布]発生頻度は雄(2%-12%, 36/500 例)に比べ雌(12%-28%, 91/500 例)で高い。病変は複数の臓器に見られることが多く、雄では肝臓(3%)、精巣(2.4%)、膀胱(1.4%)及び肺(1.4%)、雌では子宮(16.8%)、肝臓(11.2%)、卵巣(10.2%)、肺(7.2%)、及び腎臓(4.4%)に病変を認める例が多い。[病理像]途中死亡動物では外見所見として腹部の膨満が観察される。解剖所見では血性の腹水や皮下の浮腫と共に、雄では肝臓の腫大と白色斑、精巣上体の結節、雌では、子宮の結節、肝臓や卵巣の腫大がみられ、病変部の色調は黄色ないし白色を呈することが多い。病理組織学的には肝臓は雌雄とも類洞内に組織球様の細胞が瀰漫性ないし結節状に増殖する。子宮では肝臓と同様に組織球様の細胞が増殖する部分と紡錘状の細胞が束状に配列して神経鞘腫と類似した像が混在する。精巣上体や卵巣では組織球様の細胞が結節状に集簇し、肺や腎臓では血管周囲に病変がみられることが多い。なお、組織球性肉腫と診断した動物の近位尿細管の細胞質内には硝子滴がみられる例が多く、雄では、36 例中 8 例、雌では 91 例中 63 例に認められた。

Crj:BDF₁ マウスに観察される上記の病変は、複数の臓器に発生するが、光顕的に組織球様細胞の増殖が共通しており、同一範疇の病変と考えられ、組織球性肉腫という診断名を用いるのが適切と考える。原発巣は、臓器分布と臓器内での病変の広がりから、雄では多くの例が肝臓から発生するが精巣上体や膀胱原発と考えられる例もあり、雌では子宮と肝臓のいずれかから発生する例が多かった。

**P-98 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP)投与 Donryu
ラットにみられた心筋症**

○石村美祐,¹ 渡邊敦光,¹ 川真田 聖一,² 若林敬二³

(¹ 広大・原医研・環境変異、² 広大・医・保健、³ 国立がんセ・研・生化)

Cardiomyopathy in 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) treated Donryu rats

YOSHIMASA ISHIMURA,¹ HIROMITSU WATANABE,¹ SEIICHI KAWAMATA,² KEIJI WAKABAYASHI³

(¹ Dept. Environ. Mut., Res. Inst. Radiat. Biol. Med., Hiroshima Univ., ² Div. Phys. Ther., Inst. Health Sci., Hiroshima Univ. Sch. Med., ³ Cancer Prev. Div., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.)

【はじめに】2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP)は加熱食品中に含まれる環境発癌物質として知られるヘテロサイクリックアミンの 1 つであり、ラットに大腸がん、前立腺がん、乳がんなど欧米型の腫瘍を誘発することが知られている。今回、我々は PhIP を投与したラットに心筋症が高率に発現することを観察したので報告する。

【材料と方法】18 週齢の雄 Donryu:Crj ラットに PhIP の 75 mg/kg/日 を 3 週間に隔日 10 回強制経口投与した。途中死亡例及び投与 52 週後の計画屠殺例の心臓について光顕的及び電顕的観察を実施した。また、同じヘテロサイクリックアミンの 1 つである 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline(MeIQx)を投与し、比較検討した。

【結果および考察】対照群、PhIP 及び MeIQx 投与群の死亡率はそれぞれ 20、40 及び 15 %であり、その 25、75 及び 0 %が心肥大を示した。また、PhIP 投与群の死亡例には左心室拡張、左心房内血栓、胸水貯留が高率に観察された。この様なうっ血性心不全を示して死亡したラットは PhIP 投与 120 日以降に観察された。肥大心では組織学的に左心室及び中隔の線維化並びに左心室及び左心房の器質化血栓形成が認められ、電子顕微鏡観察を行った PhIP 投与群のほとんどの例の心筋細胞に筋原線維の減少及びミトコンドリア数の増加が認められた。PhIP は心臓に多量の DNA-adduct をつくり、心毒性を示すことが知られており、ミトコンドリアの機能障害に起因することが示唆されている。今回、ミトコンドリアの障害は認められなかったが、PhIP による心筋障害が心機能を低下させ、左心房および心室内血栓を生じ、全身性の循環障害を引き起こしたと考えられた。

【結論】PhIP を Donryu ラットに長期間投与することにより、うっ血性心不全による死亡例が多発し、これは PhIP の心筋障害に起因する心筋症が原因と考えられた。

P-99 若齢 B6C3F₁ マウスに見られた赤芽球系白血病の 1 例

○枝元 洋、永谷真理子、諏訪浩一、工藤佳代子、笠原健一郎、若林佐知子、田村一利
(ボゾリサーチ)

Erythroblastic leukemia in a young B6C3F₁ mouse

EDAMOTO HIROSHI, NAGATANI MARIKO, SUWA KOUICHI, IKEZAKI SINICHIRO, KASAHARA KEN-ICHIRO, TAMURA KAZUTOSH (BOZO RESERCH)

マウス赤白血病は実験的には retrovirus により誘発されるが、自然発生は極めて稀である。今回我々は、無処置飼育された若齢マウスに赤芽球系細胞の増殖よりなる白血病を認めたので報告する。

症例は、6 週齢の雄性 B6C3F₁ SPF マウスであり、バリアシステムの飼育室にて飼育された。臨床症状的には、軽度の腹部膨満以外、特に目立ったものはなかった。剖検では、肝臓及び脾臓の顕著な腫大がみられた。末梢血検査では、有核赤血球及び網状赤血球の著増と共に巨赤血球の出現及び大小不同症がみられた。有核赤血球は、多染性及び正染性赤芽球が大半を占め、少数の前赤芽球及び好塩基性赤芽球もみられたが、細胞異型性は乏しかった。その他、リンパ球の増数及び血小板の減少がみられ、さらに好中球及び好酸球の増数もみられたが左方移動はなかった。骨髓検査では、前赤芽球及び好塩基性赤芽球の増数並びに M/E 比の低下がみられた。その他、骨髓芽球の増数もみられたが、巨核球系細胞は殆どみられなかった。組織学的には、腫瘍細胞は粗大なクロマチンを有する類円形、不整形及び馬蹄形の大形核と好塩基性の狭小な細胞質をもつものから、小型で円形の濃縮核と好酸性細胞質をもつものまで様々であった。このような腫瘍細胞は、脾臓、肝臓、骨髓、副腎及び腎臓で増殖し、特に脾臓及び肝臓で顕著であり、さらに種々な組織の血管内にも頻りに認められた。腫瘍性変化以外では、腎系球体における好酸性均質物質の沈着、小腸粘膜固有層及びリンパ節の血管壁における鉾質沈着、さらに胸腺萎縮並びに腺胃びらんがみられた。

ヒト赤白血病は赤芽球系と同時に顆粒球系細胞の腫瘍性増殖を特徴とし、また赤血病においても末梢血に骨髓芽球がしばしば出現することが知られている。一方、マウスにおいては、自然発生例に関する報告は極めて少なく十分な情報が得られていないが、Friend virus による実験モデルでは、同ウイルスが赤芽球系細胞をターゲットし、同細胞のみの腫瘍性増殖よりなる白血病を誘発すると報告されており、本例はこれに類似した病態と考えられた。

P-100 加齢 F344 ラットの黒質におけるドーパミン性神経細胞の減少について

○岩田 聖、飯田麻里、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、山川誠己、廣内康彦、榎本 眞 (安評センター)

Decreased dopamine neuron in substantia nigra of aging F344 rats

HIJIRI IWATA, MARI IIDA, KAZUSHIGE HASEGAWA, TOHRU KIHARA, MASAYO HOSOI, RUMIKO MIYAJIMA, SHINJI YAMAMOTO, SHIN-ICHI MIKAMI, SEIKI YAMAKAWA, YASUHIKO HIROUCHI and MAKOTO ENOMOTO (An-Pyo Center)

Felten(1992)らは、F344 ラットの脳において黒質のドーパミンが加齢性に減少することを報告した。今回我々は Tyrosine hydroxylase (TH) 抗体を用いて免疫組織学的に若齢ラットと加齢ラットの黒質緻密部および線条体のドーパミン性神経細胞について比較検討した。パーキンソン病モデルとされている MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) 投与動物でも黒質ドーパミン含有細胞数の減少が知られており、Apoptotic cell death に起因するものとされている。そこで、加齢ラットの黒質について Apoptotic cell death の可能性も検討した。

【材料と方法】無処置雄 F344 若齢ラット(13 週齢)、加齢ラット(106 週齢)の各 10 例の脳を 10%PBS ホルマリン固定、パラフィン包埋し、黒質・線条体を含む位置で連続的に薄切した。一次抗体には抗 TH ウサギポリクローナル抗体 (Eugene Tech International 社製) を用いた。1 個体当たり 5 切片について黒質緻密部では単位面積当たりの陽性細胞数を、線条体では単位面積当たりの陽性部の吸光度を測定した。Apoptotic cell death の検討として、TUNEL 法によるアポトーシスの検出や、抗 Bax および抗 Bcl-2 による免疫組織化学的検討を試みた。

【結果】黒質緻密部の抗 TH 陽性細胞数は若齢ラットに比べ加齢ラットで有意に減少した。線条体の抗 TH 陽性部の吸光度については明らかな差は認められなかった。黒質緻密部における TUNEL 法によるアポトーシスの検出や、抗 Bax および抗 Bcl-2 による免疫組織化学的検討を試みたがいずれも陰性であった。

【まとめ】加齢 F344 ラットでは若齢ラットに比べ、黒質ドーパミン含有細胞の数が有意に減少していた。しかし、MPTP 投与動物の黒質に観察されているような Apoptotic cell death は観察されなかった。

**P-101 F344 ラットおよび B6C3F1 マウスの自然発生 Schwannoma について：
発生率，発生部位，種差，雌雄差および組織学的検討**

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

Spontaneous Schwannoma in F344 Rats and B6C3F1 Mice: Incidence, Sites, Species, Sex and Histological Examination.
MASAYO HOSOI, KAZUSHIGE HASEGAWA, TOHRU KIHARA, RUMIKO MIYAJIMA, SHINJI YAMAMOTO,
SHIN-ICHI MIKAMI, SEIKI YAMAKAWA, HIJIRI IWATA, YASUHIKO HIROUCHI and MAKOTO ENOMOTO
(An-Pyo Center)

【はじめに】F344 ラットおよび B6C3F1 マウスで自然発生する末梢神経系の腫瘍性病変として Schwannoma が観察される。これら動物の Schwannoma の発生率，発生部位，種差，雌雄差および組織像の特徴について，比較検討を試み，興味深い知見を得たので報告する。

【材料と方法】当センターにおける2年の長期試験に使用されたラットおよびマウスに観察された自然発生の病変のうち，Schwannoma と診断された57例（ラット53例，マウス4例）を用いた。各症例は常法に従いHE標本を作製し，組織学的検査を行った。症例は Schwannoma が疑われた症例の中からS-100抗体による免疫染色や電子顕微鏡検査により確定診断されたもののみを選択した。

【結果】発生率は，F344 ラットの雄 0.69% (44/6350)，雌 0.13% (9/6750)，B6C3F1 マウスの雄 0.06% (3/5000)，雌 0.02% (1/5200) であり，ラットの方がマウスに比べて高く，また，ラットでは雌より雄の方が高い結果であった。発生部位は（多い順に記載）ラットでは，唾液腺，腰椎，眼窩内，皮下組織（腋窩，頸部），心臓，縦隔，皮下組織（背部，腹部，腰部），子宮，三叉神経，精囊，甲状腺等で，またマウスでは三叉神経等に見られた。良性/悪性の区別をしてみると，唾液腺，腰椎，眼窩内，縦隔，子宮，精囊，甲状腺等の内臓から発生したものは悪性が多く（例外；心臓は良性），また皮下組織のうち，頭部付近および腹部付近から発生したのも悪性が多く，例数は少ないが背部の皮下組織から発生したものはすべて良性の結果であった。その他，悪性腫瘍のうち遠隔転移を示した Schwannoma は，眼窩内，頭部および頸部皮下組織，唾液腺など，主に頭部付近の器官から発生したものに多く観察された。組織像における発生率は，Antoni type A と type B の混合 (40.4%) > type A (36.8%) > type B (15.8%) > 血管周囲性 (7.0%) の順であった。血管周囲性の増殖形態を示す Schwannoma の発生部位は，ほとんど皮下組織由来であった。

発表者索引 (数字は演題番号、下線は演者)

A		土居 卓也 P-13	韓 範錫 O-11
阿部 寛 P-90			花房 友行 P-8
阿部 俊一 P-3		E	原 明 <u>P-5</u> , P-62,
足立 民子 <u>P-7</u>	枝元 洋 <u>P-99</u>		P-68
相磯 成敏 P-36,P-97	サリム エリサイド P-54, P-60		原田 孝則 P-19, P-38
赤木 巧 P-43	榎並 倫宣 O-3		長谷川 和成 P-100,P-101
赤井 弘幸 O-3	榎本 眞 P-22, P-100,		長谷川 良美 P-13
Albarenque SM <u>O-7</u>	P-101		橋本 正晴 P-94
天沼 利宏 O-8		F	早川 和宏 P-9, <u>P-82</u>
安藤 正典 O-14, P-42,			林 憲一 P-69
P-43	笛木 修 O-8		林 美千子 P-23
安藤 信明 O-3	藤平 司郎 P-94		林 修次 <u>P-95</u>
安藤 進 P-73	藤本 成明 <u>S1-2</u>		日浅 義雄 P-47
安藤 智美 P-9	藤村 久子 P-41		日比野 勤 <u>P-25</u>
青木 豊彦 P-9, P-82	藤田 健一 O-11		樋野 興夫 O-12
青木 康展 P-75	藤原 利久 P-7		平井 卓哉 <u>O-4</u> , O-21
朝枝 伸幸 P-2	深町 勝巳 <u>O-9</u>		平尾 和也 P-47
朝比奈 政利 <u>P-59</u>	福田 良 P-80		平尾 佳彦 P-47
朝元 誠人 O-10, <u>O-16</u> ,	福田 智一 <u>O-12</u>		平塚 秀明 O-14
P-24,P-55,	福島 昭治 P-12, P-31,		廣出 充洋 <u>P-80</u>
P-92	P-33, P-34,		広瀬 雅雄 <u>S1-3</u> , O-14,
東 誠広 P-67	P-49, P-53,		O-17, P-16,
	P-54, P-60,		O-18, P-15,
	P-61, P-95		P-32, P-39,
B	福田 種男 P-9, P-82		P-40, P-42,
別府 秀彦 P-91	古川 文夫 P-32, P-63,		P-43, P-55,
	P-78, <u>P-91</u>		P-56, P-57,
C	古川 賢 <u>P-69</u>		P-76, P-78,
陳 協 P-51, P-56	二口 充 P-24, P-52,		P-79, P-91
千葉 英樹 P-3	P-57, P-85		廣内 康彦 P-100,P-101
千田 哲士 P-13, P-14		G	久田 茂 <u>P-10</u>
千原 猛 P-91			外岩戸 尚美 O-16, <u>P-92</u>
曹 泳晩 O-16, <u>P-51</u> ,			本間 誠次郎 O-6
P-92	御領 政信 P-69		堀口 浩資 O-8
趙 順規 P-47	五反田 浩太郎 O-6		堀井 郁夫 P-11
長根 芳文 O-13	後藤 和広 P-26, P-30,		星田 美奈子 P-23
崔 林 P-52, P-56,	P-46		星谷 達 P-20
<u>P-85</u>	後藤 孝彦 P-88		細井 理代 P-22, P-100,
			<u>P-101</u>
D		H	細川 暁 P-9, P-82
傳田 阿由美 O-3, O-19			
土井 邦雄 O-7, P-18,	萩原 昭裕 P-35		
P-29, P-50,	萩原 里香 <u>P-4</u>		
P-70, P-71,	箱井 加津男 P-95		
P-72	浜村 政夫 P-44		
		I	
			市原 敏夫 P-31, P-33

桑村 有規 P- 7
鋤先 恵美子 P-44
桑山 知登世 P-90
葛谷 和也 P-35, P-51
葛谷 博磁 P-91

L

李 仁善 P-91
陸 恵梅 O-22

M

前田 真希 P-77
前川 昭彦 S1-5, P-73
真板 敬三 P-19, P-38
真鍋 淳 P-37
丸山 博司 O- 8, O-19
丸山 敏之 P- 8
柵木 利昭 P-66
梶田 周佳 P-33, P-54
増田 修治 P-10
松井 信志 P- 8
松本 正博 P-94
松本 好枝 P-80
松永 研吾 P-5, P-62,
P-68
松岡 洋一郎 O- 9
松嶋 周一 P- 8
米良 幸典 P-81
三枝 衛 O- 6
三上 真一 P-22, P-100,
P-101
南 孝則 O-13
三苫 秀雄 P-74
三井 雅之 O-20
三森 国敏 S2-1, O-14,
O-17, O-18,
P-15, P-16,
P-40, P-42,
P-43
宮原 裕一 P-75
宮島 留美子 P-22, P-100,
P-101
美谷島 克宏 P-89
宮川 義史 P-89

宮本 康夫 P-69
宮下 嘉代子 P-35
宮田 かおり P-84
宮内 慎 P-32, P-78,
P-90
宮内 誠 P-76, P-91
宮崎 恵子 P-39, P-79
宮崎 登志子 P-41, P-72
三好 貴子 P- 8
水野 幸恵 P- 2
水谷 誠 O- 4
水谷 昌人 P-48
森 秀樹 P-5, P-62,
P-63, P-68
森 道夫 P- 3
森 幸雄 P-32
森川 剛志 P-60
森本 秀樹 P-10
森村 圭一郎 P-49, P-54,
P-60, P-61
森島 英喜 P-80
森安 眞津子 P-44
村上 明 O- 2, P-62
村越 正典 O- 6
村田 奈保 O- 8
室井 貴子 P-74
務台 衛 S2-6, P-26,
P-27, P-30,
P-46
武藤 幸子 P-29

N

永井 賢司 P-77
長野 嘉介 P-36, P-97
永嶋 雅子 P-10
永谷 真理子 P-20, P-99
内藤 暁宏 O-10
中島 信明 P-19
中江 大 O- 2, O- 3
中村 厚 P-20
中村 英明 P-32, P-76,
P-78, P-91
中西 巧 P-56
中農 勇 P-47

中谷 玉樹 P-88
仲辻 俊二 P-94
中山 裕之 O- 7, P-18,
P-29, P-50
中山 隆治 O- 6
中沢 素邦 P- 6, P-21
並木 泰子 P-71
奈良間 功 P- 1
那須 昌弘 P-44
仁保 直子 P-39, P-42,
P-79
二木 力夫 P-17, P-28
二之宮 謙次郎 P-87
西島 基弘 O-14
西川 秋佳 S2-4, P-32,
P-43, P-63,
P-76, P-78,
P-91
西川 智 P-48
西川 隆之 P-33, P-61
西村 典子 P-75
西村 友成 P- 7
野田 修志 P-74
能登 貴久 P-94
野崎 浩二 P-64
布谷 鉄夫 O- 4, O-21,
P-45

O

小笠原 裕之 O-19
小川 浩史 P-67
小川 久美子 P-24, P-55,
P-56, P-57
小川 元女 P-12, P-31,
P-49
小川 秀治 P-81
小川 友美恵 P-28
小木曾 正 P-52, P-55
小原 正之 O-22
大垣 比呂子 O-23
大町 康 P-59, P-72
大村 昌子 P-75
大村 有子 P-44
大西 隆仁 O-10

太田 康彦 O- 5
 大石 裕司 O- 5, P-94
 岡田 文弘 P-82
 岡田 幸助 P-69
 岡田 学 P- 8
 岡田 味世子 P-46
 岡庭 梓 P-20
 岡崎 修三 P-20, P-63
 岡崎 欣正 P- 1
 沖本 一夫 P-58, P-96
 奥平 雅彦 P-36, P-97
 奥野 泰由 S1-4, P-53,
 P-84
 奥山 学 P- 2
 小野寺 博志 O-17, O-18,
 P-15, P-16,
 P-40
 小沼 悦朗 P-17
 大東 肇 O- 2, P-62
 長村 義之 S1-1, P-89
 押方 孝文 P-44
 太田 匡彦 P-47
 大谷 周造 P-31
 尾崎 圭介 P-53
 尾崎 正和 O- 1, P-53
 大園 誠一郎 P-47

P

朴 哲範 O- 9

R

レザウルカリム P-34

S

佐神 文郎 P- 9
 斉藤 英美 P-17
 酒井 洋樹 O-23, P-65,
P-66
 坂入 鉄也 P-27, P-30
 坂本 聡幸 P-74
 佐久間 恭子 P-37
 佐久間 貞重 O-15
 佐野 文子 P-26, P-27,
 P-46

佐野 真士 P-35, P-57
 佐々木 康孝 O-19, O-20
 佐々木 義文 P- 7
 佐藤 敦子 P-10
 佐藤 国夫 P-82
 佐藤 雅彦 O-14
 佐藤 巳喜夫 P-75
 佐藤 伸一 O-14, P-42,
 P-43
 佐藤 徹哉 P-77
 佐藤 洋 O-19
 佐藤 順子 P-20
 澤多 美和 P-81
 澤田 典均 O- 1, P- 3
 佐脇 正邦 P-74
 澤本 修 P- 4
 清家 則孝 P-12, P-61
 妹尾 英樹 P-36, P-97
 芹川 忠夫 P-93
 柴田 誠司 P-10
 渋谷 淳 O-14, P-39,
 P-42, P-43,
 P-79,
 渋谷 一元 O-21, P-45
 清水 伸幸 P-64
 新保 寛 P-91
 篠塚 淳子 O- 7, P-18,
 P-29, P-59
 塩谷 洋史 O-19
 白井 紀充 O-23, P-65,
 P-66
 白井 智之 S2-5, O-16,
 P-24, P-35,
 P-51, P-52,
 P-55, P-56,
 P-57, P-85,
 P-92
 白岩 和巳 O-20
 白木 克尚 O-22
 荘司 俊益 O-22
 早田 正和 P-83, P-87
 孫 和永 P-32, P-76,
 P-91
 園田 二郎 P- 9

杉 桂二 P-88
 杉江 茂幸 P-62
 杉本 次郎 P-26, P-27,
 P-30, P-46
 杉本 加代子 O-21, P-45
 杉本 哲朗 P-17, P-28
 杉浦 諭 P-55, P-92
 須方 督夫 P-53, P-84
 鷺見 信好 P- 6, P-21
 隅田 孝司 P-67
 角南 整 P-84
 諏訪 浩一 P-99
 鈴木 和彦 O- 7, P-50
 鈴木 一生 P-48
 鈴木 雅美 P-17, P-28
 鈴木 智 P-95
 鈴木 周五 P-56, P-85

T

田川 正志 O- 6
 田川 義章 P- 2
 田口 周平 P-87
 田島 正典 O-21, P-45
 高場 克己 P-48
 高木 久宜 O-17, O-18,
 P-15, P-16,
P-40
 高木 功子 P-24
 高木 司郎 P- 3
 高橋 明美 P-89
 高橋 淳子 P-48
 高橋 正一 P-73
 高橋 智 O-16, P-51,
 P-85, P-92
 高倉 サオリ P-74
 高岡 雅哉 P-37
 高島 健次 P-47
 高島 吉治 O-20
 高須 伸夫 P- 8
 高須賀 信夫 O- 9
 武知 雅人 P-13, P-14
 武田 眞記夫 P-38
 竹田 剛 P-48
 竹下 文隆 P-24, P-85

竹内 哲也 P-36, P-97
 竹内 幸子 P-19, P-38
 武吉 正博 P-79
 玉井 幸子 P-20
 玉野 静光 P-57
 田村 一利 O-3, P-20,
 P-63, P-99
 田村 啓 O-17, O-18,
 P-15, P-16,
 P-40
 田中 晴就 P-64, P-65
 田中 浩二 P-58, P-96
 田中 宏治 P-37
 田中 雅博 P-47
 田中 亮太 P-22
 田中 卓二 O-24, P-62,
 P-67
 谷 満 P-47
 谷藤 久人 P-10
 谷本 憲昭 P-7
 田代 俊文 P-82
 立松 正衛 O-23, P-64,
 P-65, P-66
 立山 晉 P-1
 俵谷 武治 P-6, P-21
 照屋 志乃 P-28
 股 宏 P-88
 遠山 千春 P-75
 友成 由紀 P-14
 鳥井 幹則 P-8
 鳥山一馬場弘靖 O-10, O-11
 豊田 和弘 P-39, P-79
 豊沢 かおる O-18, P-58,
P-96
 豊田 直人 P-1
 坪田 健次郎 P-94
 土谷 稔 P-1, P-13,
 P-14, P-77,
 土屋 毅幸 P-26, P-27,
 P-30
 津田 洋幸 S2-2, O-9,
 O-10, O-11

辻内 俊文 O-8, O-20
 塚本 徹哉 O-23, P-64,
P-65, P-66
 築館 一男 P-9
 堤 雅弘 O-8, O-19,
 O-20

U

内本 啓史 P-6, P-21
 上田 明子 P-6, P-21
 上田 誠 P-6, P-21
 上野 芳夫 P-38
 上坂 敏弘 O-22
 上塚 浩司 P-29
 梅田 ゆみ P-36, P-97
 梅村 孝司 O-4
 梅村 しのぶ P-89
 畝山 智香子 P-39, P-79
 白田 浩二 P-69
 白居 敏仁 S2-3, P-10
 内海 博之 P-3
 宇和川 賢 P-53

W

和田 啓爾 O-24
 若林 敬二 P-98
 若林 佐知子 P-20, P-99
 涌生 ゆみ P-77
 鰐淵 英機 P-12, P-31,
 P-33, P-34,
 P-49, P-54,
 P-60, P-61,
 P-95
 渡辺 敦光 O-22, P-98
 渡辺 隆夫 P-73
 渡辺 知幸 O-1
 魏 民 P-12, P-34,
P-49
 Gary M Williams 特別講演

Y

薮下 晴津子 P-84

薮内 一也 P-8
 山田 智也 P-84
 山田 泰広 P-5, P-62,
 P-68
 Yamagishi Megumi P-76
 山口 格 P-81
 山口 良二 P-1
 山口 修司 P-95
 山口 裕子 P-20
 山川 誠己 P-22, P-100,
 P-101
 山本 慎二 P-22, P-100,
 P-101
 山本 扶美 O-11
 山本 一彦 O-19
 山本 昌美 O-23, P-64,
 P-65, P-66
 山村 高章 P-7
 山中 絵理 P-71
 山崎 寛治 P-74
 山崎 賢一 P-93
 山下 弘太郎 P-1
 山手丈至 O-15, P-93
 柳井 徳磨 P-66
 矢野 善久 P-31
 安原 加壽雄 O-17, O-18,
P-15, P-16,
 P-40
 横山 友紀 O-15
 米元 純三 P-75
 萬 啓悟 P-28
 吉田 浩己 P-83, P-87
 吉田 順一 O-19
 吉田 緑 S1-5, P-73
 吉田 敏則 P-38
 吉見 直己 P-5, P-62,
 P-68
 吉野 裕子 P-57
 義岡 孝子 P-83, P-87
 義澤 克彦 O-5, P-94
 湯浅 啓史 P-7, P-64

— MEMO —

第 16 回日本毒性病理学会 協賛（寄付・広告）法人・会社御芳名

寄付金・賛助金関係

旭化成工業（株）	第一製薬（株）
アムジェン（株）	（株）大雄会医科学研究所
伊勢久（株）	武田薬品工業（株）
岩井化学薬品（株）	中外製薬（株）
エーザイ（株）	帝国臓器製薬（株）
小野薬品工業（株）	帝人（株）
科研製薬（株）	日研化学（株）
加茂医師会立総合保健センター	日本たばこ産業（株）
グラクソ・ウェルカム（株）	日本ベーリンガーインゲルハイム（株）
埼玉第一製薬（株）	ノバルティスファーマ（株）
（財）岐阜コンベンション・ビューロー	バイエル薬品（株）
三共（株）安全性研究所	ファイザー製薬（株）
新日本科学（株）	藤沢薬品工業（株）
スミスクライン・ビーチャム製薬（株）	山之内製薬（株）
住友化学工業（株）	吉富製薬（株）
大正製薬（株）	

広告関係

井上精機（株）	（株）大雄会医科学研究所
加商（株）	中部科学資材（株）
（財）岐阜県公衆衛生検査センター	（株）東海細胞研究所
（財）残留農薬研究所	日生研（株）
（株）新日本科学	（株）日本バイオリサーチセンター
住化テクノサービス（株）	（株）バイオ病理研究所

機器展示関係

（株）エイチ・アンド・ティー／（株）大雄会医科学研究所	
協和メデックス（株）	（株）ニチレイ
住化テクノサービス（株）	フェザー安全剃刀（株）
ダコ・ジャパン（株）	

（50 音順）

第 16 回日本毒性病理学会講演要旨集

平成 11 年 12 月 1 日 印刷

平成 11 年 12 月 15 日 発行

編集 岐阜市司町 4 0 番地
岐阜大学医学部病理学第一講座
第 16 回日本毒性病理学会

責任者 森 秀樹 / 吉見直己

印刷 笹氣出版印刷株式会社
東京都港区芝浦 2-14-13

最新の技術と信頼性で 皆さんの健康と 生活環境を守る。

わたしたちは、安心して住めるまちづくりをめざし、生活環境を取りまくさまざまな問題に関するご相談に応じています。

また、グローバルスタンダードを基本としたマネジメントシステムの構築のためにISO9000やISO14000の認証取得に取り組まれる方々のご相談にも応じています。

環境衛生検査

- 水質・底質・土壌・廃棄物分析
- 大気・悪臭・煙道排ガス測定
- 騒音・振動測定
- 食品検査
- 医薬品・化粧品検査
- 環境微生物検査
- 水生生物調査
- 浄化槽法定検査
- 簡易専用水道検査

環境アセスメント・コンサルティング

- 環境アセスメント
- 廃棄物コンサルティング
- 廃棄物処理施設機能検査
- 食品HACCPコンサルティング

臨床検査

- 新生児異常症検査
- がん細胞診検査
- 病理組織検査
- 保菌者検索

研修・研究

- 研修活動
- 研究活動
- 生態影響調査
- 大学との共同研究
- 学会等への参加
- 専門分野の講師紹介



財団法人 岐阜県公衆衛生検査センター

本 所 岐阜市曙町4丁目6番地 TEL058-247-1300(代) FAX058-248-0229
 飛騨支所 高山市岡本町2丁目8番地2 TEL0577-35-0950 FAX0577-35-0950

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○免疫毒性試験
- 神経毒性試験○生体機能試験○一般薬理試験○薬物動態試験○変異原性試験○培養細胞試験
- 毒性・発癌性に関する各種in vivo試験○内分泌かく乱物質に関する各種評価試験○各種in vitro測定試験
- 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 年以來の信頼と豊富な実績

試験に関するお問い合わせは、小平研究所業務部あるいは試験企画部までお気軽にお電話下さい。
 なお、試験企画部ではコンサルタント業務も行っておりますので、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 FAX: 042-383-7640
 E-mail: iet@mxh.mesh.ne.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 FAX: 0297-27-1225
 E-mail: zanken@iinet.ne.jp



SINCE1933
MEDICALINSTRUMENTS
SCIENTIFICINSTRUMENTS

地域の医療に貢献して60有余年!

医理科器械 / 放射線器械 / ME機器 / 輸入機器 / 病医院設備機器 / 心臓循環機器

井上精機株式会社

本 社 〒500-8687 岐阜市玉宮町1-11 TEL(058)265-4501(代) FAX(058)262-7858
高山(営) 〒506-0823 高山市森下町2-117 TEL(0577)32-6277(代) FAX(0577)32-5689



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

新日本科学の米国拠点

SNBL USA



SNBL-Biosupport研究所 (Seattle Redmond)



99年9月完成

SNBL-Biosciences研究所 (Seattle Everett)

お問い合わせ先

株式会社 新日本科学 研究企画室(鬼丸)
〒891-1394 鹿児島郡吉田町宮之浦2438番地
電話 099-294-2600 FAX 099-294-3619
<http://www.snbl.co.jp> E-mail: onimaru@snbl.co.jp

良質の実験動物を確実に迅速に供給



実験動物

SPF 動物

マウス

ddY, ICR, BALB/c, C3H/He
C57BL/6, DBA/2, BDF1, CDF1,
B6C3F1, BALB/c-nu/nu (ヌードマウス)

ラット

SD, Wistar, Fischer, Donryu

Conventional 動物

マウス

ddY

ラット

Wistar, Donryu, SHR

ハムスター

Golden

モルモット

Hartley

ウサギ

日本白色種, New Zealand White

イヌ

Beagle

営業品目

実験動物用飼料

各種固型・粉末飼料、特殊実験用飼料(ビタミン欠乏、ミネラル欠乏、低ビタミン、他)、滅菌飼料、放射線滅菌(コバルト60照射滅菌)

飼育管理機器器材

各種飼育ケージ・ラック、自動水洗架台、自走式自動飼育機、ベルト式自動飼育機、環境制御飼育装置、微生物制御飼育装置、ピニールアイソレーター、オートクレーブ、自動式ケージワッシャー(ロータリー)、作業台、固定器、動物用ハカリ、焼却炉、消毒器、洗浄消毒剤、動物用床敷、実験衣



中部科学資材株式会社

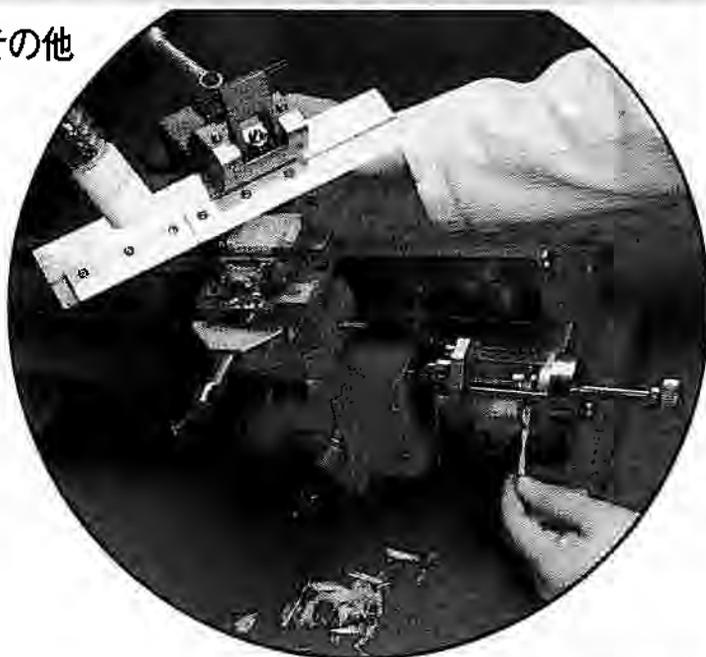
〒464-0842 名古屋市千種区桐林町1-16
電話 (052) 763-2116 (代表)
FAX (052) 763-3731

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)



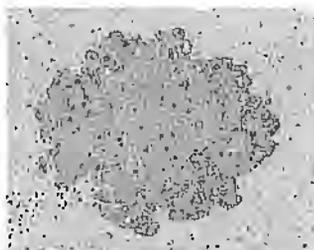
 **日生研株式会社**

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

9810

中期発癌性試験

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



GST-P 陽性細胞

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。

【受託試験の内容】

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

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

【安全性試験支援システムの販売】

ユーザフレンドリーなホームページ型コンピュータシステムにより、安全性試験における報告書作成までの一連の業務を統合的に支援します。



新研究所

2000年1月完成

dims

株式会社大雄会医科学研究所

〒491-0113 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
E-mail : dims@imart.or.jp
URL : <http://www.imart.or.jp/~dims/>

組織標本作製、組織検査から最終報告書まで



■よきパートナー！サイエンティフィックテクニシャンを目指して■

受託業務

組織標本作製

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

組織学的検査

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

安全性研究コンサルタント

- 研究企画から最終報告書まで

秘密は完全に守ります
迅速、廉価です

このような時に御用命下さい

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

サンプル、標本、報告書の受発送は

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



株式会社

バイオ病理研究所

大分空港から車で10分
(打ち合わせに便利)

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

病理学的検査専門 検査センター

迅速で正確な検査データの提供

追求

追求

追求

検査項目

病理組織検査
細胞診検査
ホルター心電図解析

特徴

コンピューターによるデータ管理
多種類の免疫染色・特殊染色
手術材料マクロ写真
カラースライド（学会用）
顕微鏡写真
最新のマイクロダイセクションによる遺伝子検索

1. 結果の報告日数が早くなります。（病理組織検査 約4日、細胞診検査 約3日）
2. 病理組織迅速病理検査が可能になります。
3. 統計学（集計表）の提出を致します。
4. その他、上記の特徴に、記載事項が出来ます。

受付から報告まで一貫した精度管理のもとで専門スタッフによる高度な知識と技術により先生方に信頼がおける検査センターとして努力を続けてまいります。

財団法人 医療関連サービス振興会認定
〒500-8285 岐阜市南鶉 4 丁目 33 番地

株式会社東海細胞研究所

TEL (058) 273-4399 FAX (058) 273-4392

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を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)

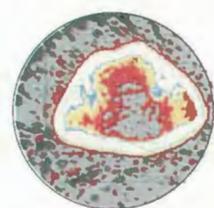
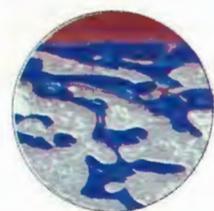
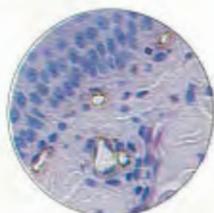
〒554-8558
 大阪市此花区春日出中3-1-98
 TEL:06(6466)5352
 FAX:06(6466)5353



**CTBRはクオリティー（品質）・リスポンシブネス（迅速）・
イノベーション（革新）をモットーとして皆様のニーズにお応えいたします。**

CTBR - 信頼と貢献に基づいた相互関係の発展をめざして...

CTBRは、過去15年間に亘り、日本の医療業界の皆様とお仕事をしてまいりました。今日、日本はCTBRにとって、米国に次いで世界第二の市場になっています。CTBRでは、研究者、技術者、管理部門スタッフ等、従業員総数800人以上により、年間850件以上のGLP前臨床試験を手掛け、報告書オンタイム提出成績98%を誇っています。1984年に日本と取引を始めて以来、私どもの皆様に対するコミットメントは今も変わりません。最高レベルのサービスを提供し、皆様の新薬開発の成功に貢献していくことを目指しています。



病理学試験 - CTBR の経験と専門分野

- ・ 獣医病理学者：11人（内ACVP認定7人）
- ・ 病理科学・技術者：130人
- ・ GLP病理学評価：年間500件以上
- ・ パラフィン包埋組織標本の作成及び評価：年間600,000個以上
- ・ 特殊骨関連試験用標本作成：年間10,000個以上
- ・ 特殊病理学分野の専門責任者による特別指導
- ・ 特殊病理学部門に於ける経験と背景データ
 - 骨関連疾病：骨粗鬆症、関節炎等
 - 生体材料の組織標本作成・評価
 - 骨強度測定
 - 癌原性試験
 - 電子顕微鏡検査
 - イメージング（画像）：DXA、pQCTデンシトメトリー等
 - 免疫組織化学
 - 静注部位の病理学
 - 雄生殖能検査（MRA）
 - 神経病理学的検査
 - 骨形態計測
 - 呼吸器病理学
 - 獣医臨床病理学
- ・ 受託病理検査、及び *in vivo* 試験

ご連絡はCTBR 総代理店、加商まで。CTBR の新しいウェブサイト <http://www.ctbr.com> もご覧ください。

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

87 Senneville Road, Senneville, Quebec, Canada, H9X 3R3
Tel: (514) 630-8200 Fax: (514) 630-8230 E-mail: marketing@ctbr.com
Web site: www.ctbr.com