第19回日本毒性病理学会

講演要旨集

JSTP

2003年1月23日・24日

東京

第１９回日本毒性病理学会

１．期　　日　　2002年1月23日（木）・24日（金）

２．会　　場　　江戸川区総合区民ホール
東京都江戸川区船堀4-1-1（Tel. 03-5676-2211）

３．会　　長　　布谷鉄夫（財団法人　日本生物科学研究所）

４．プログラム委員会
委員長　　津田洋幸（国立がんセンター研究所）
委　　員　　梶村哲世（第一製薬株式会社）
中江　大（財団法人　佐々木研究所）
原田孝則（財団法人　残留農薬研究所）
広瀬雅雄（国立医薬品食品衛生研究所）
三森国敏（東京農工大学）　　（50音順）

５．運営顧問　　板倉智敏（理化学研究所脳科学総合研究センター）

６．旅行宿泊協力
㈱日本旅行　MCSセンター　毒性病理学会デスク
〒105-0004　東京都港区新橋2-16-1　ニュー新橋ビル９階
TEL：03-3581-2751　FAX：03-3581-2875　E-mail：mcs_center@nta.co.jp

７．事務局
＜会期前＞
〒198-0024　東京都青梅市新町9-2221-1
（財）日本生物科学研究所内　第19回日本毒性病理学会事務局
TEL：0428-33-1042　FAX：0428-33-1080　E-mail：JSTP2003@nibs.or.jp
＜会期中＞
〒134-0091　東京都江戸川区船堀4-1-1
江戸川区総合区民ホール
TEL：03-5676-2211（ホール代表）　FAX：03-5676-2501

交通案内

会　　場

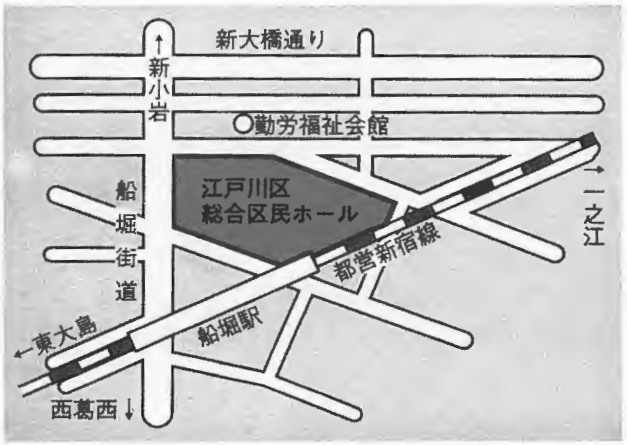
●江戸川区総合区民ホール
　東京都江戸川区船堀 4-1-1（TEL 03-5676-2211）

アクセス

●東京駅から：①営団地下鉄丸の内線にて「淡路町駅」下車→（徒歩 3 分乗り換え）→
　都営新宿線「小川町駅」乗車→「船堀駅」下車・徒歩 1 分
　②JR 総武快速線にて「馬喰町駅」下車→（西口乗り換え）→
　都営新宿線「馬喰横山駅」乗車→「船堀駅」下車・徒歩 1 分
●新宿駅から：都営新宿線にて「船堀駅」下車・徒歩 1 分
●船堀駅前までのバス

系統	乗車停留所名	終点名	時間	のりば
葛西 24 甲	葛西駅前	船堀駅行き	約 15 分	6
錦 25	葛西駅前	錦糸町駅行き	約 15 分	5
新小 21	西葛西駅前	新小岩駅行き	約 16 分	3

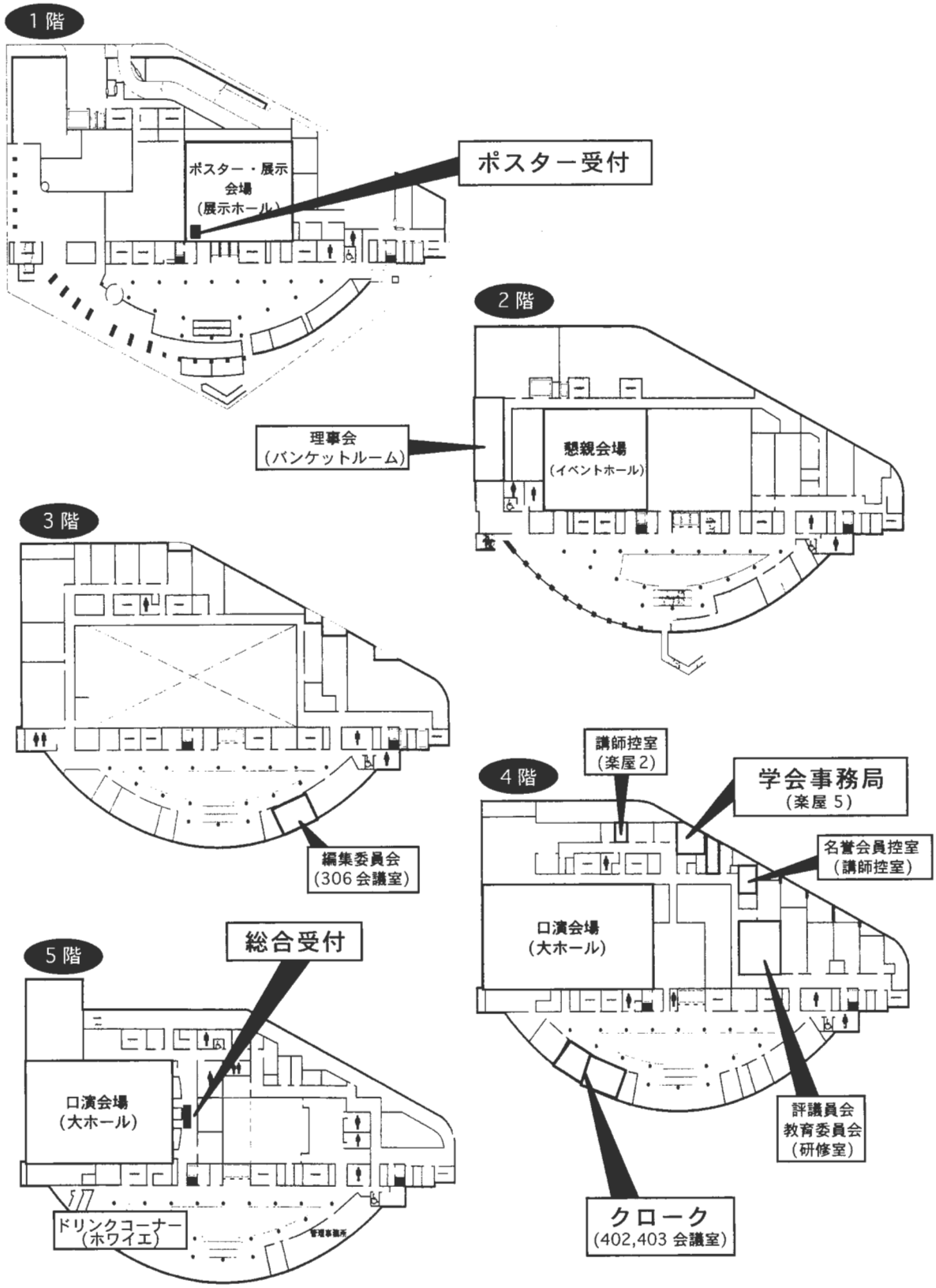
交通案内図



会場案内

●総合受付，スライド受付：5 階大ホール入り口
●特別講演，シンポジウム，一般講演，総会会場：5 階大ホール
●ポスター発表受付，ポスター・商業展示会場：1 階展示ホール
●懇親会：2 階イベントホール（瑞雲・平安）
●クローク：4 階 403，404 会議室（23 日 9:30 から 24 日 17:30 まで）
●評議員会：4 階研修室（23 日 12:15～13:00）
●教育委員会：4 階研修室（23 日 9:30～10:30）
●ドリンクコーナー：5 階ホワイエ
●学会事務局：4 階大ホール楽屋 5

会場案内図


1階
ポスター・展示
会場
(展示ホール)
ポスター受付
2階
理事会
(バンケットルーム)
懇親会場
(イベントホール)
3階
編集委員会
(306会議室)
4階
講師控室
(楽屋2)
学会事務局
(楽屋5)
名誉会員控室
(講師控室)
口演会場
(大ホール)
評議員会
教育委員会
(研修室)
クローク
(402,403会議室)
5階
総合受付
口演会場
(大ホール)
ドリンクコーナー
(ホワイエ)

参加者へのお願い

●参加者の方へ

1. 総合受付は学会両日午前 9:30 から 5 階大ホール前のロビー受付にて行います。
2. 事前登録者：総合受付で「郵便払込金受領証（コピーでも可）」を提示し，参加章を受け取り，氏名・所属を記入の上，会期中は必ず身につけてください。
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，会期中は必ず身につけて下さい。
4. 講演要旨集は当日 2,000 円（非会員：5,000 円）で販売となります。忘れずにご持参ください。
5. 質問･討論される方は，マイクの前に並んだ上，座長の指示に従って所属と氏名を述べてから発言してください。

●総会及び評議員会のご案内

1. 評議員会は学会第 1 日目(23 日)12:15 から 4 階研修室にて行います(要昼食代 1,000 円)。
2. 総会は第 2 日目（24 日）11:40 から 5 階大ホールにて行います。

●懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第 1 日目（23 日）18:00 から 2 階イベントホールにて開催します。
2. 懇親会費 8,000 円：事前登録制（7,000 円）ですが，当日総合受付にて若干名を受け付けます。
3. 事前登録者には，参加章に懇親会申し込み済みのスタンプが押してありますのでご確認ください。

●座長の方へ

1. 座長の方は，**ご担当の演題発表の 20 分前までに総合受付にお越しください。**座長用リボンならびに会長賞選定のための評価票をお渡しします。
2. 会長賞は 40 歳未満の筆頭演者による全演題を対象にして選考していただきます。抄録，口演発表ならびに展示ポスターなどを評価いただき，1 月 24 日 15:00 までに評価票を総合受付にご提出ください。

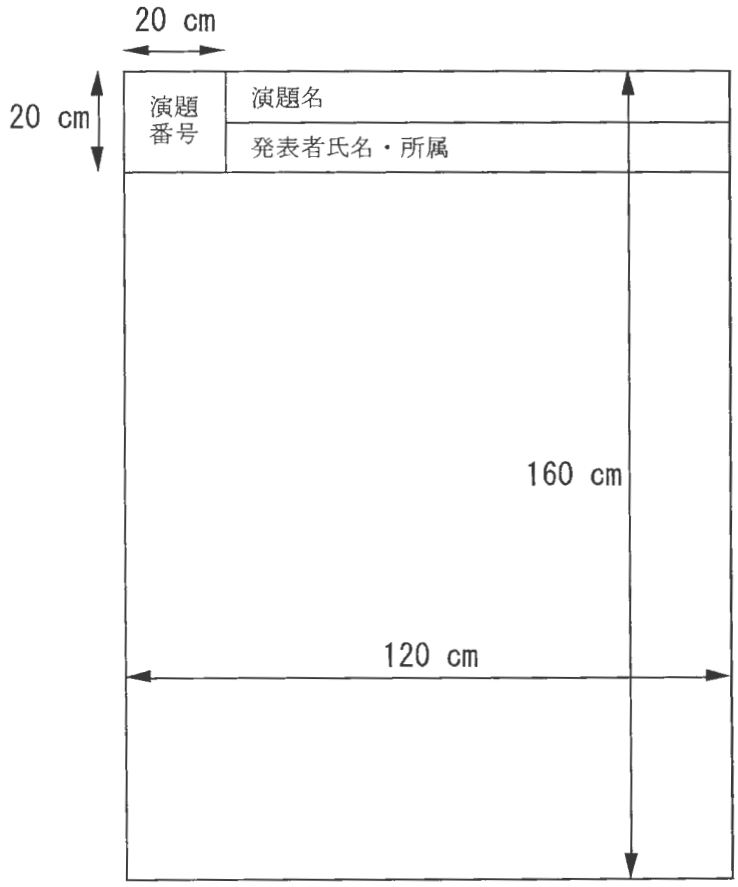
●一般口演演者の方へ

1. 講演時間は 8 分（7 分で予告の青ランプが点灯します），討論時間は 3 分です。
2. プロジェクターは 35 mm 版用を 1 台用意します。
3. スクリーンは横長のものを使用しますので，スライドは横位置のみとします。縦位置のものは，上下の一部が投影されませんのでご了承ください。縦･横サイズの個々の調整は行いません。
4. スライドは**講演開始 30 分前まで**に会場前のスライド受付にて試写の上ご提出下さい。尚，スライドは 20 枚以内でお願いします。
5. 次演者の方は次演者席にお着きください。

6. 講演時間は厳守してください。
7. スライドの送りは演台に備え付きのリモコンを用い，演者自身で行ってください。フォーカス調整については係員が行いますが，お気に召さない場合はリモコンをご利用ください。

●ポスター発表をされる方へ

1. **学会第 1 日目（23 日）10:00 までに受付と展示を済ませてください。**受付時にポスター発表者用のリボンをお受け取りください。会期中は参加章の他に，このリボンを必ず着用してください。
2. 展示時間は学会第 1 日目（23 日）10:00 から第 2 日目（24 日）15:30 までです。ポスター発表の**討論時間は両日とも 13:00 から 14:00 まで**です。発表者の方は，座長の指示に従って発表･討論をお願いいたします（発表 3 分，質疑 5 分以内）。その他の時間帯は座長なしで自由討論してください。
3. パネルの大きさは縦 160 cm，横 120 cm です（下記参照）。
4. 展示には会場で用意した専用の画鋲をご使用ください。
5. 演題名と発表者氏名･所属の表題を下図の要領に従って作成し，展示してください。
6. 演題番号については，主催者側で用意します。
7. ポスターは第 2 日目 15:30～16:30 の間に撤去してください。注）時間までに撤去されないポスターは，事務局で処分させていただきます。



●その他のご案内

1. 会場の江戸川区総合区民ホールは，学会の会期中他の一般の方々も出入りされます。参加者の方は学会会場等へ入場の際は，必ず参加章を胸ポケット等の見やすい部位にお付けください。
2. 会場内は禁煙となっておりますので，喫煙される方は指定の喫煙コーナーを御利用ください。
3. 一般口演およびポスター発表の会場内での携帯電話・ PHS 等の御使用は御遠慮ください。入場の際は忘れずに電源をお切りになるか，マナーモードに設定してください。
4. 一般口演およびポスター発表の会場内での呼出しはいたしませんのでご了承ください。一般口演会場前にメッセージボードを設置いたしますので御利用ください。
5. 会期中，ポスター発表会場内において機器・試薬等の展示を行っておりますので，御利用ください。
6. 無料のドリンクコーナーを 5 階一般口演会場横のホワイエに設置しておりますので御利用ください。
7. 昼食は，区民ホール 1 階および 7 階のレストランまたは近隣の飲食店を御利用ください。

司会・座長一覧

特別講演	1月23日（14:00～15:15）	布谷鉄夫（日生研）
シンポジウム	1月24日（14:00～16:30）	広瀬雅雄（国立衛研・病理） 三森国敏（農工大・獣医・病理）
口演発表	1月23日（10:30～12:00）	
	O-1, 2	塚本徹哉（愛知がんセ・研・腫瘍病理）
	O-3, 4	小川久美子（名市大院・医・実験病態病理）
	O-5, 6	田中卓二（金沢医大・１病理）
	1月23日（15:30～17:30）	
	O-7, 8	堤　雅弘（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）
	O-9, 10	北村　均（横浜市大・医・１病理）
	O-11, 12	山崎寛治（化評研）
	O-13, 14	杉本哲朗（中外製薬・創薬企画推進）
	1月24日（9:40～11:40）	
	O-15, 16	今井俊夫（国立衛研・病理）
	O-17, 18	鰐渕英機（大阪市大院・医・都市環境病理）
	O-19, 20	真鍋　淳（三共・安全研）
	O-21, 22	野々山　孝（武田薬品・薬物機能２研）
ポスター発表	1月23日（13:00～14:00）	
	P-1～4	吉村慎介（食薬セ）
	P-9～12	杉江茂幸（岐阜大・医・病理）
	P-17～20	中江　大（佐々木研・病理）
	P-25～28	渋谷　淳（国立衛研・病理）
	P-33～36	吉田　緑（佐々木研・病理）
	P-41～44	大石裕司（藤沢薬品・安全研）
	P-49～52	中山裕之（東大院・獣医病理）
	P-57～60	梶村哲世（第一製薬・安全研）
	P-65～68	神谷研二（広島大・原医研）
	P-73～76	西川秋佳（国立衛研・病理）
	1月24日（13:00～14:00）	
	P-5～8	和久井　信（麻布大・獣医・比較毒性）
	P-13～16	立松正衛（愛知がんセ・研・腫瘍病理）
	P-21～24	原田孝則（残農研）
	P-29～32	山手丈至（大阪府大院・動物応用形態学）
	P-37～40	吉田浩己（鹿児島大・医・１病理）
	P-45～48	今井田克巳（香川医大・腫瘍病理）
	P-53～56	泉　啓介（徳島大・医・環境病理）
	P-61～64	尾崎清和（摂南大・薬・安全研）
	P-69～72	花田貴宣（山之内製薬・安全研）
	P-77～80	岩田　聖（安評セ）

日本毒性病理学会の歩み

回	開催地	会　長 （所　属）	会　期	特別講演	シンポジウム ワークショップ その他	一般演題
1	東　京	西山　保一 （北里学園）	1985.3.25	2	0	0
2	東　京	藤原　公策 （東　大）	1986.2.7～8	1	5	29
3	名古屋	伊東　信行 （名市大）	1987.2.6～7	1	8	47
4	浜　松	榎本　眞 （安評セ）	1988.2.5～6	1	7	55
5	横　浜	蟹澤　成好 （横浜市大）	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　祐造 （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 （広島大）	1994.1.27～29	1	18	136
11	大　阪	佐久間　貞重 （大阪府大）	1995.1.26～27	2	10	151
12	東　京	高橋　道人 （国立衛試）	1996.1.24～25	0	16	147
13	鳥　取	梅村　孝司 （鳥取大）	1997.1.23～24	1	11	151
14	東　京	前川　昭彦 （佐々木研）	1998.2.3～4	1	9	143
15	水　戸	真板　敬三 （残農研）	1999.1.28～29	0	7	142
16	岐　阜	森　秀樹 （岐阜大）	2000.1.26～27	1	12	125
17	淡　路	奈良間　功 （摂南大）	2001.1.25～26	1	10	146
18	東　京	津田　洋幸 （国立がんセ）	2002.1.24～25	0	2	119
19	東　京	布谷　鉄夫 （日生研）	2003.1.23～24	1	5	102

日程表

日時	学会1日目		学会2日目	
	1月23日（木）		1月24日（金）	
	大ホール	展示ホール	大ホール	展示ホール
9:00	開場・準備	開場・準備	開場・準備	開場・準備
	9:30 総合受付開始 教育委員会 9:30～10:30 （研修室）	ポスター発表 受付・展示	9:30 総合受付開始 9:40	ポスター発表 展示
10:00	10:20 開会挨拶	ポスター発表 展示	口演3 (0-15～22)	
	10:30			
11:00	口演1 (0-1～6)		11:40～12:10 総会	
12:00	評議員会 12:15～13:00 （研修室）			
13:00		13:00～14:00 ポスター発表 質疑1 (40題)		13:00～14:00 ポスター発表 質疑2 (40題)
14:00	14:00～15:15 特別講演		14:00～16:30 シンポジウム (S-1～5)	
15:00				
	15:30～17:30			
16:00	口演2 (0-7～14)			15:30～16:30 ポスター撤去
			16:30～16:45 表彰式・閉会式	
17:00				
18:00	18:00～20:00 懇親会 （イベントホール）			
19:00				

＊1月24日（金）・25日（土）は第10回実験病理組織技術研究会が小ホールにて開催されます。

プログラム

特別講演

第1日目（1月23日）14:00～15:15　　5階　大ホール
司会　布谷鉄夫（日生研）

SP　老年性痴呆症、特にアルツハイマー病発症機構解明の最前線
-アルツハイマー病とAβ代謝-
西道隆臣
（理化学研究所・脳科学総合研究センター）

…… 25

シンポジウム

サルおよびミニブタの実験動物としての特性と毒性病理学

第2日目（1月24日）14:00～16:30　　5階　大ホール

座長　広瀬雅雄（国立衛研・病理）
三森国敏（農工大・獣医・病理）

○：発表者

S-1　サル類およびミニブタの前臨床試験における有用性
○ 真鍋　淳，寺西宗広，高崎　渉，安田充也
（三共・安全研）

…… 29

S-2　カニクイザルの毒性病理学からみた特性
○ 前田　博，宮嶌宏彰
（新日本科学）

…… 30

S-3　マーモセットの毒性病理学からみた特性
○ 土谷　稔，倉田祥正
（三菱化学安科研）

…… 31

S-4　カニクイザルを用いたヘテロサイクリックアミン長期発がん性試験
○ 小川久美子[1]，津田洋幸[2]，馬場弘靖[2]，杉村　隆[3]，若林敬二[3]，白井智之[1]
（[1]名市大院・医・実験病態病理，[2]国立がんセ・研・化療，[3]国立がんセ・研・がん予防）

…… 32

S-5　ミニブタの前臨床試験における有用性と毒性病理学
○ 千葉修一
（中外製薬・安全研）

…… 33

口演プログラム

第1日目（1月23日）

○：発表者
＊：発表者が40歳未満

口演1　1月23日 10:30～12:00

10:30～11:00　　**座長　塚本徹哉（愛知がんセ・研・腫瘍病理）**

O-1　MeIQxの低用量発がん性に及ぼすアルコール摂取の影響
○ 鰐渕英機，カリム レザウル、カン ジン ソック，李　昌治，森村圭一朗，福島昭治
（大阪市大院・医・都市環境病理）

…… 37

O-2　ラットにおける種々の化学物質の発がん性に対してコリン欠乏アミノ酸食の先行投与が及ぼす影響
○ 中江　大[1]，高橋正一[1]，吉田　緑[1]，下元貴澄[1]，片嶋紗弓[1]，小西陽一[2]，岸田秀樹[2]，楠岡　修[2]，前川昭彦[1]（[1]佐々木研・病理，[2]奈良医大・腫瘍病理）

…… 37

11:00～11:30　　**座長　小川久美子（名市大院・医・実験病態病理）**

O-3　マウス染色体２番欠失ミュータント*Del(2)Sey3H*^{Pax6} は，前胃扁平上皮がん，十二指腸腺がんを発症する
○ 新田由美子（広島大・原医研）

…… 38

O-4＊　腫瘍性病変を指標としたラット中期大腸発がん試験法の開発
○ 小野瀬淳一，今井俊夫，蓮村麻衣，上田　誠，広瀬雅雄（国立衛研・病理）

…… 38

11:30～12:00　　**座長　田中卓二（金沢医大・１病理）**

O-5　コウジ酸のp53ノックアウトマウスおよびラットにおける肝発がん作用
○ 瀧澤　保[1,2]，今井俊夫[1]，田村　啓[1]，上田　誠[1]，安原加壽雄[1]，三森国敏[1,3]，広瀬雅雄[1]
（[1]国立衛研・病理，[2]徳島大・医・環境発癌病理，[3]農工大・獣医・病理）

…… 39

O-6＊　コウジ酸のマウス肝発癌性に関する追加検討マウスにおける26週間反復投与実験，*in vivo* コメットアッセイ及び再生肝小核試験
○ 渡邉隆夫[1]，大澤浩一[2]，横濱奈津恵[2]，佐々木　有[2]，樫田陽子[1]，三森国敏[1]（[1]農工大・獣医・病理、[2]八戸高専・物質工学）

…… 39

口演2　1月23日 15:30～17:30

15:30～16:00　　**座長　堤　雅弘（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）**

O-7　コモン・マーモセットにおける微量メチル水銀の胎児への慢性曝露影響
○ 衛藤光明（国立水俣病総合研究セ）

…… 40

O-8＊　薬物性心機能負荷ラットにおけるANP及びBNPの変化について
○ 宮田裕人，大野理絵，中西　豊，木村正明（大正製薬・安全研）

…… 40

16:00～16:30　　座長　北村　均（横浜市大・医・1病理）
O-9　BHP 誘発ラット肺発癌モデルを利用した肺腺癌の化学予防効果評価系の開発
○ 吉田　緑，片嶋紗弓，前川昭彦，中江　大（佐々木研・病理）
…… 41
O-10　フルメキン肝発癌機序に関する研究
○ 樫田陽子[1]，佐々木　有[2]，大澤浩一[2]，中川慎也[2]，横濱奈津恵[2]，渡邉隆夫[1]，新井克彦[1]，高橋明子[1]，三森国敏[1]（[1]農工大・獣医・病理，[2]八戸高専）
…… 41

16:30～17:00　　座長　山崎寛治（化評研）
O-11* 内分泌撹乱化学物質オクチルフェノールのラットへの新生仔期曝露による卵巣への影響
○ 片嶋紗弓[1,2]，吉田　緑[2]，前川昭彦[2]，鎌田壽彦[1]，渡辺　元[3]，田谷一善[3]，中江　大[2]（[1]農工大・生物生産，[2]佐々木研・病理，[3]農工大・家畜生理）
…… 42
O-12* PCB126胎生期暴露雌ラットの性周期と卵胞発育に関する検討
○ 武藤朋子[1]，鷹橋浩幸[2]，羽野　寛[2]，和久井　信[3]，古里政國[1]（[1]杏林大・医・病理，[2]慈恵医大・病理，[3]麻布大・獣医・比較毒性）
…… 42

17:00～17:30　　座長　杉本哲朗（中外製薬・創薬企画推進）
O-13* ビーグル犬におけるアロキサン糖尿病，特に血糖関連パラメータの推移，白内障の発現などについて
○ 渡辺　大，石井俊也，中良裕美，赤木圭介，山口裕子，星谷　達，長島吉和，岡庭　梓（ボゾリサーチ・函南）
…… 43
O-14　Issues to Consider in the Histopathology of Nasal Cavities of Laboratory Animals
○ Pierre Tellier (CTBR)
…… 43

第2日目（1月24日）

口演3　1月24日 9:40～11:40
9:40～10:10　　座長　今井俊夫（国立衛研・病理）
O-15* 遺伝毒性発癌物質PhIPには実際上の閾値が存在する；AOM-PhIP誘発ラット大腸発癌モデルでの証明
○ 土井賢一郎，鰐渕英機，魏　民，三橋　誠、星　学，沈　鈞、森村圭一朗，エリサイドサリム，福島昭治（大阪市大院・医・都市環境病理）
…… 44
O-16* RNA抽出過程を省略したOne-step RT-PCR法によるレーザーマイクロダイセクション試料の遺伝子発現解析
○ 小林　潔，内海博之，岡田味世子，桝富直哉，日下部愛泉，坂入鉄也，池田五子，高木司郎（三菱ウェルファーマ・安全研）
…… 44

10:10～10:40　　**座長　鰐渕英機（大阪市大院・医・都市環境病理）**

0-17* メタカーン固定・免疫染色後microdissectionにより採取した微小組織領域での突然変異解析
○畝山智香子，渋谷　淳，高木広憲，加藤奈津美，藤田春香，井上弘子，広瀬雅雄（国立衛研・病理）
…… 45

0-18* ラット肝癌細胞株を用いた肝発がん修飾物質による網羅的遺伝子発現変化
○辻村和也[1,2]，朝元誠人[1]，外岩戸尚美[1]，白井智之[1]（[1]名市大院・医・実験病態病理，[2]化評研）
…… 45

10:40～11:10　　**座長　真鍋　淳（三共・安全研）**

0-19* 肝発がん修飾物質による遺伝子発現変化 －3次元マイクロアレイによる迅速解析－
○外岩戸尚美[1]，朝元誠人[1]，小川久美子[1]，廣田　毅[2]，市原敏夫[2]，玉野静光[2]，白井智之[1]（[1]名市大院・医・実験病態病理，[2]大雄会医科研）
…… 46

0-20* ３次元マイクロアレイによる発がんリスク解析
○森村圭一朗[1]，木下アンナ[1]，鰐渕英機[1]，カン ジン ソック[1]，朝元誠人[2]，外岩戸尚美[2]，白井智之[2]，福島昭治[1]（[1]大阪市大院・医・都市環境病理，[2]名市大院・医・実験病態病理）
…… 46

11:10～11:40　　**座長　野々山　孝（武田薬品・薬物機能2研）**

0-21* 非遺伝子傷害性肝発がん物質長期間投与によって発現の変化する遺伝子群のカタログ化
○井上弘子[1,2]，渋谷　淳[1]，高木広憲[1]，加藤奈津美[1]，李　京烈[1]，有村卓朗[1]，畝山智香子[1]，藤田春香[1,2]，広瀬雅雄[1]（[1]国立衛研・病理，[2]第一製薬・研技セ）
…… 47

0-22 *IL-12*遺伝子を用いたElectrogene transferによるマウス乳癌に対する抗腫瘍効果並びに抗転移作用
○柴田雅朗[1]，森本純司[2]，伊藤裕子[1]，大槻勝紀[1]（[1]大阪医大・1解剖，[2]大阪医大・実動セ）
…… 47

ポスタープログラム

第1日目（1月23日）

○：発表者
＊：発表者が40歳未満

ポスター発表　質疑 1　　**1月23日 13:00～14:00**
神経系　　**座長　吉村慎介（食薬セ）**

P-1＊ BrlHan:WIST@Jclラットにおける小脳異形成
○ 桑村有規，足立民子，高谷尋美，佐々木義文，西村友成，小林欣滋，藤原利久，小口　敦，山村高章，湯浅啓史（田辺製薬・安全研）
…… 51

P-2＊ 穿孔脳症を示したラットの病理組織学的特徴
○ 加国雅和，小嶋　聖，竹田　剛，木本直哉，佐藤　均，水谷昌人，鈴木一生，高場克己（協和発酵・安全研）
…… 51

P-3　網膜神経細胞プログラム細胞死と低体温による神経保護作用
○ 原　明，坂田佳子，片山雅貴，久野寿也，山田泰広，廣瀬善信，森　秀樹（岐阜大・医・腫瘍病理）
…… 52

P-4＊ Morphologic Characteristics of Retinal Degeneration Induced by Sodium Iodate in Mice
○ 義澤克彦[1]，木内克治[2]，森口佳映[2]，坪田健次郎[1]，松本正博[1]，仲辻俊二[1]，藤平司郎[1]，大石裕司[1]，螺良愛郎[2]（[1]藤沢薬品・安全研，[2]関西医科大・病理）
…… 52

消化器系 1　　**座長　杉江茂幸（岐阜大・医・病理）**

P-9＊ テオフィリンによるラット唾液腺の組織学的変化
○ 梶川　悟[1]，三浦久樹[1]，中野健二[1]，白木克尚[1]，二井愛介[1]，中山裕之[2]，土井邦雄[2]（[1]山之内製薬・安全研，[2]東大院・獣医病理）
…… 55

P-10＊ アロキサン単回投与によるラット前胃扁平上皮における発癌の誘発
○ 児玉安史，尾崎清和，近藤由美，松浦哲郎，奈良間　功（摂南大・薬・安全研）
…… 55

P-11＊ MNNGラット二段階腺胃発がんにおける選択的COX-2阻害剤Nimesulideの影響
○ 神吉けい太，西川秋佳，古川文夫，岡崎和志，梅村隆志，北村泰樹，今沢孝喜，広瀬雅雄（国立衛研・病理）
…… 56

P-12＊ N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine誘発ラット胃癌進展におけるβ-cateninの異常
○ 塚本徹哉[1]，山本昌美[1]，酒井洋樹[1,2]，平田暁大[1,2]，立松正衛[1]（[1]愛知がんセ・研・腫瘍病理，[2]岐阜大・家畜病理）
…… 56

肝臓 1　　座長　中江　大（佐々木研・病理）

P-17* ラット実験肝発がんの悪性進展におけるTGFαの果たす役割
○ 内藤暁宏，上田しのぶ，高須賀信夫，津田洋幸（国立がんセ・研・化療）
…… 59

P-18 Aminophenylnorharmanのp53ノックアウトマウスにおける肝臓薬物代謝酵素誘導と発がん
○ 飯高　健[1,2]，塚本徹哉[1]，山本昌美[1]，酒井洋樹[1,2]，白井紀充[1,2]，戸塚ゆ加里[3]，若林敬二[3]，立松正衛[1]（[1]愛知がんセ・研・腫瘍病理，[2]岐阜大・家畜病理，[3]国立がんセ・研・がん予防）
…… 59

P-19 チオアセトアミド誘発肝障害ラットにおけるマクロファージ遊走阻止因子の分布と発現
○ 佐藤　伸[1]，堀　友花[2]，山手丈至[3]，斎藤　健[4]，蔵崎正明[5]，嵯峨井　勝[1]（[1]青森県立保健大・健康科学，[2]函館短大・食物栄養，[3]大阪府大院・獣医病理，[4]北大院・医・環境医学，[5]北大院・地球環境・環境情報医学）
…… 60

P-20 LECラット肝におけるメタロチオネイン，HNE修飾蛋白およびHSP60の免疫電顕的観察
○ 今沢孝喜[1]，西川秋佳[1]，曽根秀子[2]，梅村隆志[1]，北村泰樹[1]，神吉けい太[1]，広瀬雅雄[1]（[1]国立衛研・病理，[2]国立環境研）
…… 60

肝臓 3　　座長　渋谷　淳（国立衛研・病理）

P-25* 肝障害誘発物質投与によるラット肝臓の病理組織学的変化とmRNAの発現
①CCl_4およびacetaminophenを用いた初期毒性マーカーの検討
○ 日下部愛泉[1]，内海博之[1]，岡田味世子[1]，田中英樹[2]，坂入鉄也[1]，土屋毅幸[1]，小林　潔[1]，高木司郎[1]（[1]三菱ウェルファーマ・安全研，[2]三菱ウェルファーマ・創薬基盤研）
…… 63

P-26* 肝障害誘発物質投与によるラット肝臓の病理組織学的変化とmRNAの発現
②α-NaphthylisothiocyanateとConcanavalin Aを用いた作用機序解析の有用性
○ 岡田味世子[1]，池田五子[1]，内海博之[1]，田中英樹[2]，坂入鉄也[1]，後藤和広[1]，佐野文子[1]，杉本次郎[1]，高木司郎[1]（[1]三菱ウェルファーマ・安全研，[2]三菱ウェルファーマ・創薬基盤研）
…… 63

P-27* フェノバルビタールによる遺伝子発現の用量相関性 －３次元マイクロアレイシステムを用いた解析－
○ 市原敏夫[1]，廣田　毅[1]，今井則夫[1]，朝元誠人[2]，外岩戸尚美[2]，白井智之[2]，玉野静光[1]（[1]大雄会医科研，[2]名市大院・医・実験病態病理）
…… 64

P-28* M期特異的抗体HTA28によるラット肝部分切除(PH)後の細胞増殖動態の解析
○ 平田暁大[1,2]，稲田健一[1]，塚本徹哉[1]，酒井洋樹[1,2]，山本昌美[1]，稲垣昌樹[3]，立松正衛[1]（[1]愛知がんセ・研・腫瘍病理，[2]岐阜大・家畜病理，[3]愛知がんセ・研・発癌制御）
…… 64

生殖器系 1　　座長　吉田　緑（佐々木研・病理）

P-33* L-システイン誘発ラット精子肉芽腫におけるマクロファージの動態の免疫組織化学的検討
○ 澤本　修[1,2]，山手丈至[2]，篠原誠治[1]，桑村　充[2]，小谷猛夫[2]，栗栖和信[1]（[1]大塚製薬工場・栄養研，[2]大阪府大院・獣医病理）
…… 67

P-34* Crj:CD(SD)IGSラットの精巣における自然発生萎縮性病変の形態学的検索
○ 寺田あゆみ，永谷真理子，楠岡　修，若林佐知子，工藤佳代子，中村　厚，田村一利（ボゾリサーチ）
…… 67

P-35* Crj:CD(SD)IGSラットの卵巣における萎縮性変化とその関連組織の変化
○ 枝元　洋，中村　厚，鶴亀真依子，池崎信一郎，玉井幸子，岡崎修三，田村一利（ボゾリサーチ）
…… 68

P-36　Nihonラット(遺伝性腎癌ラット)の子宮内膜に認められた病変
○ 沖本一夫[1]，河内眞美[1]，黒木宏二[1]，松本泉美[1]，豊沢かおる[1]，糀谷高敏[1]，田中浩二[1]，松岡信男，樋野興夫[2]（[1]大日本製薬・安全研，[2]癌研・実験病理）
…… 68

生殖器系 3　　座長　大石裕司（藤沢薬品・安全研）

P-41* カニクイザルの雄性生殖器における年齢と成熟度について
○ 山口裕子，佐藤順子，寺田あゆみ，星谷　達，中村　厚，田村一利（ボゾリサーチ）
…… 71

P-42* 雌カニクイザルにおける性周期と生殖器・乳腺の変動
○ 佐藤順子，山口裕子，笠原健一郎，枝元　洋，中村　厚，田村一利（ボゾリサーチ）
…… 71

P-43* カニクイザルの卵管に認められたatypical polypoid adenomyoma(Müllerian tumor) に関する病理組織学的解析
○ 佐藤　洋，甲斐清徳，矢部光一，今岡尚子，藤井文隆，梶村哲世，古濱和久（第一製薬・安全研）
…… 72

P-44* カニクイザルにみられた乳癌の1例
○ 小嶋　聖，楊　秀英，鈴木秀幸，桑原拓美，上村裕洋，平川公昭，前田　博，宮嶌宏彰（新日本科学）
…… 72

内分泌系・皮膚　　座長　中山裕之（東大院・獣医病理）

P-49　卵巣または睾丸摘除ヒトプロト型c-Ha-rasトランスジェニックラット-Hras-(Tg)のnonylphenolの乳腺発がん修飾効果
○ C. K. Kim，高須賀信夫，飯郷正明，津田洋幸（国立がんセ・研・化療）
…… 75

P-50* 新生児期DMBA単回投与により誘発された雄SDラット背部間葉系腫瘍における病理組織学的検討
○ 田口周平，川口博明，堀　隆夫，早田正和，小玉拓郎，吉田浩己（鹿児島大・医・1病理）
…… 75

P-51* 塩化カドミウム皮下投与における投与部位に発生した腫瘤のラット系統差に関する検討
○ 須方督夫[1,2], 山田智也[1], 坂東清子[1], 串田昌彦[1,2], 尾崎圭介[1,2], 宇和川賢[1,2], 関　高樹[1], 奥野泰由[1], 福島昭治[2] ([1]住友化学・生科研, [2]大阪市大院・医・都市環境病理)
…… 76

P-52 Inhibitory Effect of Glycolic Acid on UV-Induced Skin Tumorigenesis in SKH-1 Hairless Mice and its Mechanism
○ J. T. Hong[1], D. J. Kim[2], K. S. Ahn[3], K. M. Jung[3], T. M. Kim[2], Y. W Yun[2], K. W. Oh[1], M. K. Lee[1] ([1]Coll. Pharm., Chungbuk Nat'l. Univ., [2]Coll. Vet, Med., Chungbuk Nat'l. Univ., [3]Dept. Toxicol., Nat'l. Inst. Toxicol. Res.)
…… 76

試験法 2　　座長　梶村哲世（第一製薬・安全研）

P-57* 抗PCNA抗体PC10はホルムアルデヒドにより化学修飾された抗原を認識する？
○ 柿本恒知[1,2], 美谷島克宏[1,2], 竹腰　進[1], 正田俊之[2], 岩坂俊基[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, [2]日本たばこ・安全研)
…… 79

P-58* メタカーン固定・パラフィン包埋切片におけるlaser microdissection, real-time RT-PCRを用いた微小細胞領域におけるmRNA発現解析法の開発
○ 藤田春香[1,2], 高木広憲[1], 渋谷　淳[1], 畝山智香子[1], 井上弘子[1,2], 加藤奈津美[1], 広瀬雅雄[1] ([1]国立衛研・病理, [2]第一製薬・研術セ)
…… 79

P-59* Ethinylestradiol 28 日間反復投与時のラット肝臓における遺伝子の網羅的発現解析
○ 加藤奈津美[1,2], 渋谷　淳[1], 高木広憲[1], 眞島恵介[2], 畝山智香子[1], 井上弘子[1], 藤田春香[1], 広瀬雅雄[1] ([1]国立衛研・病理, [2]立教大・理学部)
…… 80

P-60* p53ノックアウトマウス腺胃癌由来細胞株の樹立とその性状
○ 山本昌美[1], 塚本徹哉[1], 平田暁大[1,2], 酒井洋樹[1,2], 白井紀充[1,2], 飯高　健[1,2], 立松正衛[1] ([1]愛知がんセ・研・腫瘍病理, [2]岐阜大・家畜病理)
…… 80

発癌　　座長　神谷研二（広島大・原医研）

P-65* *Mmh/OGG1*ミュータントマウスにおけるDimethylarsinic acidの発がん性
○ 李　昌治[1], 木下アンナ[1], 鰐渕英機[1], カリム レザウル[1], 野田哲生[2], 西村　暹[3], 福島昭治[1] ([1]大阪市大院・医・都市環境病理, [2]癌研・細胞生物, [3]万有製薬・つくば研)
…… 83

P-66* MeIQxの*gpt* deltaマウスにおける *in vivo* 変異原性とがん原性の比較
○ 北村泰樹[1], 西川秋佳[1], 神吉けい太[1], 梅村隆志[1], 今沢孝喜[1], 増村健一[2], 能美健彦[2], 広瀬雅雄[1] ([1]国立衛研・病理, [2]国立衛研・変異遺伝)
…… 83

P-67* 薬物代謝酵素誘導物質によるMeIQxの肝発がん修飾作用
○ 栗林正伯[1,2], 朝元誠人[1], 鈴木周五[1], 白井智之[1] ([1]名市大院・医・実験病態病理, [2]小野薬品・安全研)
…… 84

P-68* Crj:CD(SD)IGSラットを用いた中期多臓器発がん性試験 -F344ラットとの比較
○ 佐野真士[1], 河部真弓[1], 萩原昭裕[1], 二口　充[2], 玉野静光[1], 白井智之[2] ([1]大雄会医科研, [2]名市大院・医・実験病態病理)
…… 84

細胞　　**座長　西川秋佳（国立衛研・病理）**

P-73　ラット肺癌培養細胞株（RLCNR）の樹立
○ 天沼利宏[1]，辻内俊文[2]，丸山博司[2]，三井雅之[2]，国安弘基[2]，堤　雅弘[2]（[1]日本農薬・総合研，[2]奈良医大・がんセ・腫瘍病理）
…… 87

P-74* ラット肺腺癌由来移植腫瘍より確立した異なる性状を示す二つのクローン細胞株の特性解析
○ 中西雅子[1]，川島　牧[1]，桑村　充[1]，熊谷大二郎[1]，澤本　修[2]，山手丈至[1]（[1]大阪府大院・動物応用形態学，[2]大塚製薬工場・栄養研）
…… 87

P-75* マウス肝芽腫由来培養細胞における遺伝子発現解析
○ 坂入鉄也，後藤和広，岡田味世子，杉本次郎，土屋毅幸，小林　潔，高木司郎（三菱ウェルファーマ・安全研）
…… 88

P-76　F344ラットの子宮に自然発生した悪性シュワン細胞腫由来細胞株（LY-PPB6、LY-H12）の特性解析
○ 山手丈至[1]，阪森真由子[1]，中西雅子[1]，川島　牧[1]，仲辻俊二[2]，熊谷大二郎[1]，桑村　充[1]（[1]大阪府大院・動物応用形態学，[2]藤沢薬品・安全研）
…… 88

第2日目（1月24日）

ポスター発表　質疑 2　　**1月24日 13:00～14:00**

呼吸器系　　**座長　和久井　信（麻布大・獣医・比較毒性）**

P-5*　各種抗がん薬のマウス静脈内単回投与による鼻粘膜への影響
○ 甲斐清徳，佐藤　洋，吉田貢由，鈴木貴美，梶村哲世，古濱和久（第一製薬・安全研）
…… 53

P-6*　G-CSFは線維化に至らないブレオマイシン誘発肺傷害を増強しない
○ 足立健児[1,2]，小川友美恵[1]，鈴木雅実[1]，杉本哲朗[1]，上塚浩司[2]，中山裕之[2]，土井邦雄[2]（[1]中外製薬・安全研，[2]東大院・獣医病理）
…… 53

P-7　Butylated hydroxytoluene（BHT）投与によるマウス肺障害の病理学的検討
○ 佐藤　亮，福田芽衣子，下元貴澄，松本智志，北浦敬介，南　孝則，山本硬治（大塚製薬・徳島研）
…… 54

P-8*　粒径の異なる結晶質シリカ気管内注入によるラット肺の経時的変化
○ 大神　明[1]，森本泰夫[2]（[1]産業医大・産生研，[2]労衛工・呼吸病態）
…… 54

消化器系 2　　**座長　立松正衛（愛知がんセ・研・腫瘍病理）**

P-13　銅、亜鉛強化酵母のazoxymethane(AOM)誘発大腸aberrant crypt foci (ACF)発生における修飾作用
○ 杉江茂幸[1,2]，片山雅貴[1]，久野寿也[1]，吉田浩二郎[1]，坂田佳子[1]，廣瀬善信[1]，山田泰広[1]，Pham Quang Vinh[1]，森　秀樹[1]，嶋田昇二[3]（[1]岐阜大・医・病理，[2]岐阜大・医・動物実験施設，[3]オリエンタル酵母）
…… 57

P-14* 内分泌かく乱物質のAzoxymethane誘発大腸発がんに対する効果の検討
○ 金田信也，大塚敏広，滝澤　保，大西隆仁，泉　啓介（徳島大・医・環境病理）
…… 57

P-15* 沖縄原産の薬草であるボタンボウフウ(長命草)のラットAOM誘導大腸発癌モデルにおけるがん化学予防効果の検討
○ 森岡孝満，酒々井真澄，Nabandith Viengvansay，稲嶺盛彦，吉見直己（琉球大・医・1病理）
…… 58

P-16* Minマウス大腸粘膜内における異型腺管巣
○ 山田泰広，廣瀬善信，原　明，杉江茂幸，森　秀樹（岐阜大・医・腫瘍病理）
…… 58

肝臓 2　　**座長　原田孝則（残農研）**

P-21　DEN低濃度長期投与により生じるマウス肝内胆管嚢胞状過形成に対するペンタクロロフェノールの促進効果
○ 梅村隆志[1]，児玉幸夫[2]，神吉けい太[1]，北村泰樹[1]，今沢孝喜[1]，西川秋佳[1]，広瀬雅雄[1]（[1]国立衛研・病理，[2]国立衛研・毒性）
…… 61

P-22* L-Buthionine(S,R)-sulfoximine (BSO) の飲水投与による持続的 glutathione (GSH) 低下モデル動物の作製
○ 渡辺稔之，匂坂秀樹，荒川真悟，柴谷由佳梨，加藤かおり，寺田仁美，渡辺真弓，村松啓子，五十嵐　功，戸塚繁夫，真鍋　淳，高崎　渉（三共・安全研）
…… 61

P-23　The LPS Effects on the PEA-induced Hepatotoxicity in Rats
○ H. Chen[1]，C. C. Chiu[2]，H. L. Chuang[3]，Y. T. Huang[4]（[1]Green Seasons Biot. Co.，[2]Nat'l. Chunghsing U.，[3]Nat'l. Taiwan U.，[4]Nat'l. Lab. Anim. Breeding & Res. Ctr.）
…… 62

P-24* Trimethylarsine Oxideのラットにおける発癌性の検討
○ 沈　鈞，鰐渕英機，エリサイド サリム，魏　民，土井賢一郎，福島昭治（大阪市大院・医・都市環境病理）
…… 62

泌尿生殖器系　　**座長　山手丈至（大阪府大院・動物応用形態学）**

P-29　ウシγグロブリン誘発カニクイザル糸球体腎炎モデルの作製
○ 楊　秀英，寶来直人，河野一樹，上村裕洋，平川公昭，前田　博，宮嶌宏彰（新日本科学）
…… 65

P-30* 4-Nonylphenol投与によるラット再生尿細管の増加
○ 竹下文隆[1]，今井田克己[2]，二口　充[1]，小川久美子[1]，鈴木周五[1]，白井智之[1]（[1]名市大院・医・実験病態病理，[2]香川医大・腫瘍病理）
…… 65

P-31　BEA誘発ラット腎乳頭壊死発生における血小板凝集の役割
○ 南　孝則，福田芽衣子，下元貴澄，佐藤　亮，松本智志，北浦敬介（大塚製薬・徳島研）
…… 66

P-32* PhIPラット前立腺癌におけるPINからCarcinomaへの進展に関わる因子の追究
○ 曹　永暁，二口　充，朝元誠人，稲熊真悟，白井智之（名市大院・医・実験病態病理）
…… 66

生殖器系 2　　**座長　吉田浩己（鹿児島大・医・1病理）**

P-37* ICRマウスの子宮発がんモデルにおけるArctiinの子宮腫瘍修飾作用
○ 北村　毅[1]，奥原裕次[1]，林　守道[1]，長澤達也[1]，黒田淳二[1]，柴田信男[1]，三森国敏[2]（[1]キッセイ薬品・安全研，[2]農工大・獣医・病理）
…… 69

P-38* Bisphenol A(BPA)の妊娠期・授乳期曝露が仔マウス子宮に与える影響について
○ 下元貴澄[1,2]，高橋正一[1]，吉田　緑[1]，植松史之[1]，前川昭彦[1]，中江　大[1]（[1]佐々木研・病理，[2]大塚製薬・徳島研）
…… 69

P-39* 子牛，妊娠マウスへのアトラジン接種試験 ー生殖器・免疫器官への影響ー
○ 山田　学，中村菊保（動衛研）
…… 70

P-40* 化学物質によるラット乳癌退縮時におけるアポトーシスの関与
○ 上田　誠，今井俊夫，小野瀬淳一，蓮村麻衣，瀧澤　保，広瀬雅雄（国立衛研・病理）
…… 70

内分泌系　　**座長　今井田克巳（香川医大・腫瘍病理）**

P-45* パラアミノ安息香酸のラット甲状腺発がん促進作用
○ 蓮村麻衣，今井俊夫，小野瀬淳一，瀧澤　保，広瀬雅雄（国立衛研・病理）
…… 73

P-46　DHPN-Sulfadimethoxine誘発ラット甲状腺浸潤癌の発生過程
○ 今井俊夫，小野瀬淳一，蓮村麻衣，上田　誠，瀧澤　保，広瀬雅雄（国立衛研・病理）
…… 73

P-47　グルコン酸カルシウム持続静脈内投与によるラット副腎髄質細胞増殖活性の変化
○ 伊藤恒夫[1]，加藤淳彦[1]，三澤保幸[1]，藤井悦子[1]，浅沼健太郎[1]，小泉富彦[1]，小松俊一朗[1]，渡部一人[1]，鈴木雅実[1]，杉本哲朗[2]（[1]中外製薬・安全研，[2]中外製薬・創薬企画）
…… 74

P-48* Ethinylestradiol の周産期曝露により誘発されるラット内分泌・生殖器系の変化に及ぼすgenisteinの修飾作用の検討
○ 高木広憲[1,2]，渋谷　淳[1]，畝山智香子[1]，李　輝哲[3]，西原真杉[3]，三森国敏[4]，広瀬雅雄[1]（[1]国立衛研・病理，[2]岐阜大連合獣医・病態獣医，[3]東大院・獣医生理，[4]農工大・獣医・病理）
…… 74

試験法 1　　座長　泉　啓介（徳島大・医・環境病理）

P-53* 開発初期段階における抗癌剤の毒性評価系としてのヌードマウスの有用性
○ 上原健城[1]，杉山幸嗣[1]，永田雅史[1]，内田直美[2]，鳥井幹則[1]，丸山敏之[1]（[1]塩野義製薬・新薬研，[2]塩野義製薬・創薬研）
…… 77

P-54* D-galactosamine(D-gal)腹腔内投与を細胞増殖刺激に用いたイニシエーション活性検索法
○ 酒井洋樹[1,2]，浅岡由次[1]，平田暁大[1,2]，塚本徹哉[2]，山本昌美[2]，白井紀充[1,2]，飯高　健[1,2]，柳井徳磨[1]，柵木利昭[1]，立松正衞[2]（[1]岐阜大・家畜病理，[2]愛知がんセ・研・腫瘍病理）
…… 77

P-55* ヒト変異型c-Ha-rasコンディショナル・トランスジェニックラットにおける乳腺がんの発生
○ 上田しのぶ[1]，高須賀信夫[1]，内藤暁宏[1]，落合孝広[2]，津田洋幸[1]（[1]国立がんセ・研・化学療法，[2]国立がんセ・研・がん転移）
…… 78

P-56* PLP固定とAMeX法を組み合わせたパラフィン標本作製技法“PLP-AMeX法”の*In situ* hybridizationへの応用
○ 高居宏武[1]，渡邉　剛[1]，小川友美恵[1]，勝山清加[1]，塚本こず恵[1]，藤井悦子[1]，萬　啓吾[2]，伊藤恒夫[1]，鈴木雅実[1]（[1]中外製薬・安全研，[2]中外製薬・育成セ）
…… 78

試験法 3　　座長　尾崎清和（摂南大・薬・安全研）

P-61 Ethinyl estradiol 及び propylthiouracil を用いた *in utero* through lactational exposure プロトコールの検討
○ 佐脇正邦[1]，麻生　直[1]，野田修志[1]，室井貴子[1]，三苫秀雄[1]，高倉サオリ[1]，坂本聡幸[1]，山崎寛治[1]，伊東信行[2]（[1]化評研，[2]名市大・医）
…… 81

P-62* 遺伝子組み替えトウモロコシのラットを用いた13週間反復投与毒性試験
○ 堤　友子[1]，萩原昭裕[1]，今井則夫[1]，土井悠子[1]，難波江恭子[1]，朝元誠人[2]，今井田克己[3]，白井智之[2]（[1]大雄会医科研，[2]名市大院・医・実験病態病理，[3]香川医大・腫瘍病理）
…… 81

P-63 Dietary toxicity of isazofos and pyraclofos, organophosphorus compounds in Japanese quail
○ S-H. Seok, Jong-H. Park, S-A. Cho, Jae-H. Park (Dept. Lab. Anim. Med., Col. Vet. Med., Seoul National Univ.)
…… 82

P-64 Safety and protective effect of a disinfectant for white spot syndrome viral infection in shrimps
○ Jong-H. Park, S-H. Seok, S-A. Cho, Jae-H. Park (Dept. Lab. Anim. Med., Col. Vet. Med., Seoul National Univ.)
…… 82

モデル動物　　**座長　花田貴宣（山之内製薬・安全研）**

P-69* Poly(ADP-ribose)polymerase-1 (Parp-1) ノックアウトマウスにみられた歯牙病変
○楠岡　修[1,2]，堤　雅弘[1]，野崎中成[3]，藤原久子[3,4]，辻内俊文[1]，田村一利[2]，堀口浩資[2]，白岩和己[5]，鎌田宣夫[6]，中釜　斉[3]，杉村　隆[3]，高戸　毅[4]，益谷美都子[3]（[1]奈良医大・がんセ・腫瘍病理，[2]ボゾリサーチ，[3]国立がんセ・研・生化，[4]東大・医・口外，[5]旭化成，[6]中外・医科研）
…… 85

P-70 Effect of a GM-CSF on Ulcerative Lesions Cheek Pouch of Syrian Hamsters
○S-A. Cho, Jong-H. Park, S-H. Seok, Jae-H. Park (Dept. Lab. Anim. Med., Col. Vet. Med., Seoul National Univ.)
…… 85

P-71* 特殊飼料によるKlotho変異マウス特異病変の制御
○木本直哉[1]，高場克己[1]，鈴木一生[1]，竹田　剛[1]，佐藤　均[1]，加国雅和[1]，森下幸治[2]，神谷俊一[2]，西川　智[3]（[1]協和発酵・安全研，[2]協和発酵・筑波研，[3]協和メディックス）
…… 86

P-72* T-2 toxin 投与の妊娠ラットにおける形態学的変化
○瀬畑信哉[1,2]，寺西宗広[2]，上塚浩司[1]，中山裕之[1]，土井邦雄[1]（[1]東大院・獣医病理、[2]三共・安全研）
…… 86

症例　　**座長　岩田　聖（安評セ）**

P-77 F344ラットにおける自然発生腫瘍の発生率の年次推移
○相磯成敏，竹内哲也，梅田ゆみ，妹尾英樹，片桐　卓，長野　嘉介（日本バイオアッセイ）
…… 89

P-78* F344ラットに認められた悪性血管周皮腫の1例
○高橋尚史，竹内幸子，吉田敏則，桑原真紀，榎本秋子，中島信明，千葉裕子，武田眞記夫，真板敬三，原田孝則（残農研）
…… 89

P-79 インスリン陽性細胞が腺管状の増殖を示したビーグル犬の膵島芽細胞症の1例
○大平東子，萩原　孝，長谷川和成，石崎まゆみ，安井雄三，木原　亨，細井理代，宮島留美子，志賀敦史，山川誠己，岩田　聖，今井　清，榎本　眞（安評セ）
…… 90

P-80* CD(SD)ラットに発生したYolk sac carcinoma様腫瘍とSex cord/stromal tumor様腫瘍との併発がみられた卵巣腫瘍の１例
○細井理代，長谷川和成，石崎まゆみ，大平東子，安井雄三，木原　亨，宮島留美子，志賀敦史，山川誠己，岩田　聖，今井　清，榎本　眞（安評セ）
…… 90

特別講演要旨

老年性痴呆症，特にアルツハイマー病発症機構解明の最前線

－ アルツハイマー病とＡβ代謝 －

西道　隆臣

（理化学研究所・脳科学総合研究センター）

1月23日（木）　14:00～15:15

老人性痴呆症，特にアルツハイマー病発症機構解明の最前線
－アルツハイマー病とAβ代謝－

西道隆臣
理化学研究所・脳科学総合研究センター

アミロイドβペプチド（Aβ）は、脳内で定常的に産生される生理的ペプチドである。ただし、その生理機能は明確ではなく、前駆体蛋白質のプロセッシングにおける副産物であると考えるのが、現時点では妥当であろう。そのような副産物は、通常、速やかに代謝され、アミノ酸として再利用される。

ところが、アルツハイマー病に至る過程で、Aβは徐々に蓄積する。その速度は、加齢に伴って加速し、特に蓄積性の高い分子種であるAβ42は、正常状態の１万倍にも達することが知られている。この蓄積のメカニズムの詳細は、明らかではないが、選択的蓄積はAβの特に凝集しやすいという物性に起因すると考えてよいだろう。一方で、家族性アルツハイマー病原因遺伝子変異の表現型の解析から、脳内におけるAβ42の定常レベルが約１．５倍上昇することが、若年におけるAβ蓄積をひきおこす原因であると考えられるようになった。このことは、アミロイド前駆体遺伝子を含む第２１染色体のトリソミーによってAβレベルが１．５倍上昇するダウン症患者においても若年のAβ蓄積が見られることとも、一致する。

以上のことは、脳内における定常的Aβ量は、厳密に制御されなければならないこと、そして、そのレベルに影響を与える因子は、アルツハイマー病発症リスクに影響を与えることを意味する。また、若年のアルツハイマー病やダウン症においても、実質的にAβ蓄積が生じるのに２０年以上は要するので、この時間のファクターは病因解明の本質にかかわる命題である。一つの解釈として、脳内Aβレベルの恒常的上昇によって生じるAβアミロイドーシスは、（高血圧症や成人型糖尿病に類似するという意味で）代謝性慢性疾患として位置づけることが出来る。これらのことは、さらに、Aβ代謝を介したAβ定常レベルの制御は、アルツハイマー病の原因療法のみならず、予防法を開発するための有効な戦略であることを意味する。Aβ代謝は、基本的に、Aβの合成と分解によって規定される。合成系についてはすでに膨大なデータの蓄積があるが、分解系については、ようやく最近になって明らかになりつつある。我々の研究室では、分解系を解明するための in vivo のパラダイムを作成し、中性エンドペプチダーゼであるネプリライシンがAβ分解の律速を担う主要な酵素であることを見いだした。マウス脳において、ネプリライシン遺伝子の破壊によって、遺伝子量に逆送関してAβ代謝が減速した。これは、老化に伴ったネプリライシンの発現や活性の部分的低下が、Aβの蓄積、ひいては、アルツハイマー病発症の原因となりうること、および、ネプリライシンの発現や活性を正方向に制御することによって脳内におけるAβ蓄積を抑制できることを示している。

シンポジウム要旨

(S-1～5)

サルおよびミニブタの実験動物としての特性と毒性病理学

1月24日（金）　14:00～16:30

S-1　サル類およびミニブタの前臨床試験における有用性

○ 真鍋　淳，寺西宗広，高崎　渉，安田充也（三共・安全研）

薬剤の前臨床試験，特に安全性試験では実験動物に薬剤を投与して得られる試験結果からヒトに対する薬剤の影響を外挿する．一般に，実験動物にはげっ歯類としてラットおよびマウスが，非げっ歯類としてはイヌ（ビーグル）が用いられることが多い．しかし，近年，非げっ歯類として，サル類およびミニブタの使用頻度が増加しつつある．

いうまでもなく遺伝的相同性からはサル類が最もヒトに近く，DNA sequence の相同性は，チンパンジーで 98.3%，オランウータンで 96.9%，アカゲザルで 92.2%と報告されている．したがって，一般的には，イヌあるいはミニブタに比較してサル類の反応がよりヒトに近いと理解される．一方，遺伝的相同性ではサル類より劣るものの，ミニブタはヒトと生理学的・解剖学的な類似点が多いことから生物学的・医学的研究に有用であると考えられている．特に，皮膚，消化器，心臓血管系などはイヌよりミニブタの方がヒトに明らかに近い．

遺伝的な背景の中でも，薬剤に対する動物種差に最も大きく関与すると考えられるのが薬物代謝酵素の遺伝的な差異である．遺伝子工学が急速に発展した 90 年代には，多くの動物種の主な薬物代謝酵素分子種，特に cytochrome P450（CYP）の遺伝子配列が決定され，ヒト分子種との相同性解析による種差の解析が盛んに行われた．その結果，カニクイザルやマーモセットなどのサル類に存在する酵素分子種はヒトとほぼ 90%以上の相同性を有するのに対し，ラット・マウス等のげっ歯類やイヌ，ミニブタなどに存在する酵素分子種には 80%前後の相同性しか認められなかった．したがって，上述の全般的な遺伝的相同性と同様，この点から判断してもヒトでの毒性を予測するのに最も適した実験動物はサル類であると考えられた．しかし，ここ数年，酵素分子種の相同性のみでなく酵素分子種の存在量などにも注意を払うべきとの観点から，化学物質の代謝活性や阻害剤・抗体等による阻害パターンなどを検討し，薬物代謝に関する種差が論じられてきた．これらの中には，ヒトで多くの医薬品の代謝に関与する CYP3A の触媒活性がミニブタとヒトでほぼ同等であるとの論文や，マウスやイヌなどヒト酵素分子種との相同性でサルに劣ることが明らかな動物種でもヒトに近い触媒活性を示す例を報告する論文も散見される．また，薬物代謝酵素に関する種差として酵素誘導に関する種差も存在する．したがって，全般的な遺伝子の相同性あるいは薬物代謝酵素の遺伝的相同性のみから，サル類が常にヒトに類似した反応を示すと結論することはできない．評価対象薬剤に応じ，目的に応じて動物種を選択すべきと思われる．

S-2

カニクイザルの毒性病理学からみた特性

○前田　博、宮嶌　宏彰(新日本科学)

はじめに:サル類は系統発生的にヒトに近いが、中でも繁殖飼育の容易さなどの理由からニホンザルと同じマカク属に属するカニクイザルが、近年安全性試験に多用されている。しかし、自然発生病変の集積やその報告は他の動物種と比較して乏しい。本シンポジウムでは、安全性試験に用いられるカニクイザルの背景病変を紹介するとともに、モデル動物としての有用性についても紹介する。

臓器重量や組織像のヒトとの類似性:他の動物種と比較してサル類およびヒトでは脳の相対重量が大きく、大脳の発達が著しいなど，主要臓器の相対重量は近似している。組織学的にサル類およびヒトでは脾臓やリンパ節におけるリンパ濾胞が大きく、脾臓では脾洞の構造が明瞭に観察できる。また、肝小葉、腎糸球体、肺胞の大きさがマウス、ラット、イヌ、サル類、ヒトの順に大きくなるなど、類似点が多い。

自然発生病変:非腫瘍性病変としては、諸臓器の褐色色素の沈着、鉱質沈着および動脈硬化、糸球体腎炎などの糸球体病変、腎盂および膀胱上皮の硝子滴、副腎皮質結節などの内分泌系臓器の病変が頻発すること以外に、頻度は低いが多彩な病変がみられることが他の実験動物にない特徴である。安全性試験で用いる年齢のカニクイザルは10才以下で若いため、腫瘍性病変の発生頻度はきわめて低い。

ヒトとの類似性を生かしたカニクイザルを用いた実験

1. 生殖試験:一般的にラットおよびウサギが使われることが多いが、生物製剤などでラットやウサギにみられないヒトと類似の生理活性により生殖発生毒性がみられること、大脳の発達がヒトと同様によく、アルコール症候群など脳に影響を与える薬剤の生殖発生毒性の検出に適していること、抗菌剤や油性の投与液を使う必要がある場合などウサギが使えない場合の代替となること、更に性周期や胎盤構造、器官形成時期がヒトに類似しているなどの利点から、カニクイザルが用いられている。
2. 一般毒性試験:生物製剤やクロフィブレートなどでは、カニクイザルとヒトで毒性学的に類似の反応を示す薬剤がある。
3. 薬効薬理試験:
   1) 脳梗塞モデル:イヌと比べて梗塞が出やすく、またラットと比べて神経症状の観察が容易であるなどの理由でカニクイザルの脳梗塞モデルは有用である。
   2) 骨粗しょう症:カニクイザルを用いた卵巣摘出モデルではイヌと比較して、骨粗しょう症が容易に作出できる点、ヒトと同様に骨成長が思春期以降停止する点、ヒトで用いられる骨代謝マーカー測定キットが使えるなどの点で、カニクイザルを用いたモデルは有用である。

本シンポジウムでは、その他にも、カニクイザルを用いた実験の有用性を紹介する。

S-3 マーモセットの毒性病理学からみた特性

○土谷 稔, 倉田 祥正(三菱化学安科研)

コモンマーモセット(*Callithrix jacchus*)は真猿類に属する小型霊長類である. 繁殖効率が良い, 体重 200～400g 程度で取り扱いが容易, 限られた被験物質量での実験が可能等の利点がある. 国内での人工繁殖が確立しており, 月齢を厳密に揃えたり, 幼若動物を用いた試験も容易である. いくつかの生理的, 毒性学的, 薬理学的特性が報告されているが(Tanioka ed.), 例えば肝 CYP3A 遺伝子およびアミノ酸配列はヒトとの相同性が高く(Igarashi et al.), ラットでは検出できないリファンピシンによる本酵素の誘導を検出できる. 病理組織学的にも髄外造血等マーモセットに特徴的な病変について背景データが蓄積されている(Okazaki et al.). 本シンポジウムでは当所で実施したいくつかの毒性試験の結果を示し, マーモセットの特性について考察する.

1. Phenobarbital, spironolactone, methimazole の甲状腺に対する影響

ラットでは肝薬物代謝誘導に伴う甲状腺腫大がしばしば認められるが, 本事象のヒトへの外挿性は乏しい. Phenobarbital(50 mg/kg)および spironolactone(10, 30, 100 mg/kg)をマーモセットに 4 週間反復経口投与した結果, 甲状腺ろ胞上皮の軽度肥大あるいはろ胞の拡張が認められたものの, 血中 T_3,T_4 に変化はなかった. T_4 合成阻害作用を有する methimazole(10, 30, 100 mg/kg)を同様に投与した結果, 30 mg/kg 以上の群で血中 T_3,T_4 の低下とともに, 甲状腺ろ胞上皮の中等度肥大が認められた. しかし, いずれの場合もラットの変化に比べ軽度であった.

2. Di(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP)の肝臓および精巣に対する影響

DEHP は可塑剤として広く用いられているが, ラットにおいて肝肥大(ペルオキシソーム増生)あるいは精巣萎縮を誘発し, ヒトへの影響が懸念される. DEHP(100, 500, 2500 mg/kg)を成熟マーモセットに 13 週間反復経口投与した結果, 肝ペルオキシソーム増生および精巣萎縮は認められなかった. また, 性成熟期の精巣への影響の有無を検索するために, 離乳直後(14～15 週齢)から65 週間に亘って同じ用量を反復経口投与した結果, 体重増加抑制に伴う未熟精巣が散見されたものの, 特異な精巣毒性は認められなかった. これらのことから, 何れの変化も齧歯類特有の変化と考えられた. DEHP はラットの精巣に高濃度に分布することが分かっている.

3. カドミウム(Cd)の腎臓に対する影響

Cd は普遍的に存在する環境汚染物質であり, 長年に亘る職業暴露や食物を介した暴露による人体影響(腎, 骨障害)が懸念される. $CdCl_2$(5 mg/kg)を 2 回／週, 6 週間反復静脈内投与した結果, 病理組織学的に高度の腎障害像が観察され, マーモセットの Cd に対する高い感受性が示されるとともに, 病態モデル動物としての有用性が示唆された. 現在, 13 週間に亘る経口投与(5 mg/kg)および静脈内投与(1 mg/kg)実験を実施中であり, この成績についても報告する.

S-4　カニクイザルを用いたヘテロサイクリックアミン長期発がん性試験

○小川久美子[1]、津田洋幸[2]、馬場弘靖[2]、杉村隆[3]、若林敬二[3]、白井智之[1]
([1]名市大・院・医・実験病態病理、[2]国立がんセ・研・化学療法部、
[3]同・がん予防研究部)

カニクイザルはニホンザルと同じ霊長目オナガザル科マカカ属に属し、人工繁殖ができ、感染性疾患の発生減少が可能なため、発がん試験に供されてきた。今回、米国国立癌研究所との共同実験で行われたカニクイザルを用いたヘテロサイクリックアミンの長期発がん実験について総説する。

ヘテロサイクリックアミン類は加熱食品中に存在し、Amesテストでは強い変異原性を示すものも多い。中でも、2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline (IQ), 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx), 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) は齧歯類で複数臓器に発がん性が示され、ヒトの発がんへの関与が危惧されている。これまでに、IQおよびMeIQxはラットやマウスの肝、消化管、皮膚などに、PhIPはラットに大腸、前立腺、乳腺腫瘍を、マウスにリンパ腫を発生させることが報告されている。

一方、カニクイザルにおいては、6年以上の胃内投与 (20mg/kg/day, 5days/week) により、IQは肝細胞がんを高率に発生させたが、MeIQxとPhIPでは腫瘍の発生は全くなかった。

観察されたこれらの発がん性の種差はヘテロサイクリックアミン類のDNA付加体形成に関わる代謝酵素の誘導が、種によって異なるためと考えられる。化合物によってはカニクイザルよりむしろラットのほうがヒトに類似している場合もあり、薬物代謝を考慮した発がん性試験の選択および解釈が必要と考えられた。

S-5　ミニブタの前臨床試験における有用性と毒性病理学

千葉修一（中外製薬㈱安全性研究部）

医薬品の前臨床試験において、ミニブタはヒトとの皮膚の類似性から、経皮剤の毒性評価に有用な実験動物として使用されるケースが多い。また、動物愛護の問題からイヌに替わって医薬品の毒性試験に使用する非げっ歯類動物種の一つとしても注目されている。

しかしながら、実験動物技術の面では、飼育機材、ハンドリング、各種試料のサンプリング等の技術が十分に普及しているとは言えない。また、バックグランドデータについて十分な蓄積がないことも、医薬品開発においてミニブタの使用が普及し難い理由の一つと考えられる。

毒性試験の実施には、投与法、瀕回採血法、採尿法など、一連の実験手技が連携した実験系の確立が重要と考えられる。我々はミニブタを用いたビタミン D 誘導体を用いて反復経皮投与毒性試験における各種毒性パラメータが評価可能か検討した。

6～7カ月齢のミニブタ（Miniature Swine/CSK）雄10匹に無麻酔・無拘束下の採血用に、予め外科的に前大静脈洞に静脈留置用カテーテルを留置し、各種検査用の採血を行なった。ビタミンD3誘導体軟膏剤3用量と基剤投与群に2～3例づつ割り付けた。投与は全体表面積の 10%に相当する皮膚の範囲で設定し、2 週間反復経皮投与した。1日の投与は投与部位を開放下で 5 時間維持した後に軟膏を拭き取り投与終了とした。トキシコカイネティクス用採血は経皮投与を継続した状態で留置したカテーテルを採血経路として投与後1日と14日に実施した。

投与部位においては投薬群で投薬期間後半に赤色化が認められた。これらの所見は組織学的には角質層の肥厚（透明層を含む）、表皮角化細胞（有棘細胞および顆粒細胞）の増生およびケラトヒアリン顆粒の増加として認められた。50μg/kg群の1例で投薬開始後9日より、25μg/kg 群の1例で投薬期間終了時に、血中カルシウム濃度の上昇を示したが、両群の他の例では異常は認められなかった。50μg/kg 群の血中カルシウム濃度が高値を示した例では、BUN の上昇、腎臓の重量増加と石灰沈着などが認められた。血清中1α,25(OH)$_2$D$_3$濃度は投薬群で低値を示した。反復投与により血中薬物濃度に変化は認められなかった。

ミニブタを用いた2週間の経皮反復投与毒性試験を実施した結果、投与量に応じた薬物への暴露が確認され、ビタミン D$_3$誘導体が持つ血中カルシウム増加作用などの毒性所見の経時的観察を評価する事が可能であった。

ミニブタは背部に四肢、口が届かないという身体的特徴があり、この点を利用した一連の手技を用いることが経皮反復投与毒性試験の他、持続静脈内投与への応用も容易であると考えられる。またやや神経質な性格に対応するためにヒト、器材を含む実験環境への馴化を充分に図ることが重要であると考えられる。

口　演　要　旨

(0-1～22)

口演１：１月 23 日（木）　10:30～12:00

口演２：１月 23 日（木）　15:30～17:30

口演３：１月 24 日（金）　9:40～11:40

O-1

MeIQx の低用量発がん性に及ぼすアルコール摂取の影響

○鰐渕英機、カリム レザウル、カン ジン ソック、李昌治、森村圭一朗、福島昭治
（大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理）

【はじめに】疫学的にアルコール摂取の肝障害が肝がん発生に及ぼす影響については従来より多く報告されている。今回は、調理肉中に含有されるヘテロサイクリックアミンの一種、MeIQx によって誘発される肝がん発生に及ぼすアルコール摂取の影響について、特に、低用量の MeIQx 肝発がん性に関して検討した。【方法】21 日齢の雄性 F344 ラットを 14 群に分け、第 1～7 群には 10%エタノールを飲料水として投与し、第 8～14 群には水道水のみを投与した。第 1～7 群、第 8～14 群にはそれぞれ MeIQx を 0～100ppm の用量で混餌投与した。動物は 16 週後に屠殺し、肝前癌病変である GST-P 陽性細胞巣、酸化的ストレスのマーカーである 8-OHdG レベル、および細胞増殖能を示す PCNA を検索した。【結果】エタノール非投与群では、肝 GST-P 陽性細胞巣の数が MeIQx 10 ppm までは対照群（MeIQx 0 ppm）と有意な差異は認めない無作用領域であったが、エタノール投与群では MeIQx 10 ppm からその対照群に比べ有意に増加が見られた。また、それぞれの MeIQx 投与用量で比較するとエタノール投与により MeIQx 10 ppm 以上で有意に GST-P 陽性細胞巣の数の増加が見られた。一方、エタノール投与群では PCNA 陽性細胞率が MeIQx 各用量群で非投与群に対し有意に増加し、また、対照群(MeIQx 0 ppm)に対し、MeIQx 10 ppm 以上で有意に増加していた。8-OHdG レベルはエタノール非投与群では MeIQx 100 ppm のみで増加したが、エタノール投与群では 1 ppm 以上で増加が見られた。【総括】MeIQx 肝発がん性はエタノール投与によりその発がんリスクの上昇がみられ、低用量域における無作用量の狭小化が明らかとなった。

O-2

ラットにおける種々の化学物質の発がん性に対してコリン欠乏アミノ酸食の先行投与が及ぼす影響

○中江　大，高橋 正一，吉田　緑，下元 貴澄，片嶋 紗弓，小西 陽一 *，岸田 秀樹 *，楠岡　修 *，前川 昭彦（佐々木研 病理，* 奈良医大 腫瘍病理）

慢性炎症に代表される持続性の変化は，ヒトの発がんの多くの場合に促進因子として作用し，発がん機構において一定の役割を果すと共に，環境化学物質の低用量発がんリスクに何らかの影響を及ぼす可能性がある．コリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食は，ラットに連続投与することにより発がん物質を投与することなく肝細胞癌を発生させるが，その過程でヒトのウイルス性慢性肝炎に類似した持続性かつ反復性の肝障害を誘発する．我々は，これまでに，CDAA 食の先行投与がdiethylnitrosamine や *N*-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine の肝発癌性を著明に促進することを見出した．本研究は，この現象の普遍性を検証する目的で，種々の化学物質の発がん性に対して CDAA 食の先行投与が及ぼす影響について検索した．動物は，6 週齢の Fischer 344 系雄性ラットを用いた．被検物質は，2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx)・2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP)・2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline (IQ) [100 mg/kg i.g.]・dimethylarsinic acid (DMAA) [50 mg/kg i.p.]・aflatoxin B1 (AFB1) [1 mg/kg i.p.]・azoxymethane (AOM) [20 mg/kg i.p.]・benz[*a*]pyrene (BAP)・*N*-nitrosodiethanolamine (NDEtlA) [100 mg/kg i.p.] を用いた．実験は，全期間に CDAA 食または対照食を投与するもので，実験開始の 6 日後に 3 分の 2 部分肝切除を行い，その 1 日後に被検物質を単回投与して，実験開始の 9 週間後に動物を屠殺した．主要臓器について肉眼的・組織学的検索を行うと共に，肝および大腸については，それぞれの前癌病変である胎盤型 glutathione S-transferase (GST-P) 陽性病変の数と大きさおよび aberrant crypt foci (ACF) の発生頻度と 1 匹当たりの数について検索した．その結果，肝に対して発がん標的性を有すると報告されている MeIQx・IQ・AFB1・BAP・NDEtlA と AOM は，CDAA 食投与群において，GST-P 陽性病変の数と大きさを有意に増加させた．肝に対するプロモーション作用を指摘されている DMAA は，CDAA 食投与群において，GST-P 陽性病変の大きさのみを有意に増加させた．一方，大腸に対して発がん標的性を有すると報告されている PhIP・IQ・AOM は，CDAA 食投与群において，ACF の発生頻度と 1 匹当たりの数を有意に増加させた．対照食投与群においては，いずれの化学物質の投与によっても GST-P 陽性病変または ACF の発生に有意な変化がみられなかった．その他の臓器については，いずれの群においても，腫瘍性病変の発生を認めなかった．以上の結果より，CDAA 食の先行投与は化学物質の肝発がん性と共に大腸発がん性をも促進するものと判明し，本実験系はヒトの高リスク群における発がん機構の解明とそのような群を念頭に置いた発がんリスク評価手法の確立に資する情報を与え得るものと示唆された．

O-3

マウス染色体2番欠失ミュータント *Del(2)Sey3H^{Pax6}* は、前胃扁平上皮がん、十二指腸腺がんを発症する。

新田由美子（広島大学・原爆放射線医科学研究所）

マウス染色体2番欠失ミュータント *Del(2)Sey3H^{Pax6}* は、放射線により急性骨髄性白血病を高頻度に誘発できる系統であり(1)、欠失部位に新たながん抑制遺伝子の存在が予測されることから、その解析を進めている。

Del(2)Sey3H^{Pax6} の急性骨髄性白血病発症は12～16か月齢までに終息する。その後もがん未発症動物を終生観察すると、20か月齢頃に著しく削蒼・衰弱した。剖検・病理学的検索により、消化器系がんを発症していた。本発表では、ミュータントマウスに認められた消化器系の腫瘍を病理学的に検索したので報告し、マウス急性骨髄性白血病抑制遺伝子との関連を、ゲノムインフォーマテイックスの観点から考察する。

JF1 マウスは野生マウスに属し、自然発生腫瘍の頻度が著しく低い。ラボラトリーマウス間のゲノム塩基配列多型を利用し、がん組織の遺伝子解析をする目的で、(JF1 x Sey3H) F1 マウスを作成した。10週齢時に3 Gy のγ線を全身被曝させると、(JF1 x Sey3H) F1 マウスは、膵島腺腫・腺がん（4例、19.0%)、十二指腸腺がん（4例、19.0%)、肝がん（4例、19.0%)、前胃扁平上皮がん（2例、9.5%）を発症した。一方、肝腫瘍を自然発症するラボラトリーマウスの C3H/He 系を遺伝的背景に用いた場合、(C3H/He x Sey3H) F1 マウスは、10 週齢時3 Gy のγ線全身被曝で、前胃扁平上皮がん（4例、14.8%)、十二指腸腺がん（2例、7.4%）を発症した。これらのがんは、正常兄妹には全く認められなかった。

(JF1 x Sey3H) F1、(C3H/He x Sey3H) F1 の無処置群の2年生存率は90%以上であった。早期に衰弱・剖検した例は、前胃扁平上皮がんまたは十二指腸腺がんであった。

(1)Nitta Y., et al., The hemizygous chromosomal deletion mutant, *Del(2)Sey^{Pax6}*, is susceptible to radiation for the induction of myeloid leukemia., ISBER2002.

O-4　腫瘍性病変を指標としたラット中期大腸発がん試験法の開発

○小野瀬淳一、今井俊夫、蓮村麻衣、上田誠、広瀬雅雄（国立衛研・病理）

【目的】腫瘍性病変を最終指標とした短・中期大腸発がん修飾物質検出系を確立する目的で、大腸発がん物質である 1,2-Dimethylhydrazine (DMH)および大腸炎誘発物質である dextran sodium sulfate (DSS)を組み合わせて投与することにより大腸発がん早期誘発モデルの作製を試みた。

【方法】F344 雄ラット 40 匹を 2 群に分け、DMH (40mg/kg BW)あるいは生理食塩水を 1 週間に 3 回皮下投与した。さらに各群 5 匹に DSS をⅰ)DMH によるイニシエーションと同時に 1 週間、ⅱ)イニシエーション終了後 1 週間、ⅲ)ⅰ＋ⅱのスケジュールで 1%濃度にて飲水投与した。実験開始後 10 週間で剖検し、aberrant crypt foci (ACF)の数をメチレンブルー染色により測定した後、定法に従ってパラフィン包埋切片を作製し、HE 染色およびβ-カテニン免疫染色を行った。

【結果】DMH 投与群における ACF 数は DMH 単独投与群で 47.3 個/ラットであったのに対し、DSS 併用群ではⅰ)13.4、ⅱ)10.8、ⅲ)4.8 個/ラットといずれも減少した。組織学的検索では、DMH 及び DSS の併用群において腺腫/腺癌がⅰ)0/4、ⅱ)2/5、ⅲ)1/4 例に発生し、異形成がⅰ)3/4、ⅱ)3/5、ⅲ)0/4 例認められた。これらの病変のいずれにおいてもパネート様細胞が混在し、細胞核および細胞質はβ-カテニンに陽性を示した。

【考察】イニシエーション後に DSS を 1 週間投与することにより、最も高頻度に大腸腺腫および腺癌が発生したことから、本モデルが試験法としてすぐれていると考えられた。また、ACF は発がんの指標となり得ず、β-カテニン陽性病変が重要であることが確認された。

O-5 コウジ酸のp53ノックアウトマウスおよびラットにおける肝発がん作用

○瀧澤 保[1,2]，今井俊夫[1]，田村 啓[1]，上田 誠[1]，安原加壽雄[1]，三森国敏[1,3]，広瀬雅雄[1]
([1]国立医衛研・病理，[2]徳島大・医・環境発癌病理，[3]東京農工大・家畜病理)

【目的】食品添加物や美白剤として使用されているコウジ酸(KA)の B6C3F1マウスを用いた長期混餌投与発がん性試験（1.5, 3%）において，雄の1.5%群で肝腫瘍の増加傾向，雌の3%群で有意な増加を示すことが報告されている。今回，KA のp53ノックアウト CBA[p53(+/-)]マウスにおける肝発がん性および中期肝発がん性試験法を用いてラット肝に対する発がん修飾作用について検討した。【方法】（実験１）p53(+/-)およびその野生型雄マウスに1.5，3%の KA を26週間混餌投与した。剖検時に肝臓を摘出し，病理組織学的に検索した。（実験２）F344雄ラットに diethylnitrosamine 200 mg/kg を単回腹腔内投与し，2週後から0.125，0.5，2%の KA を6週間混餌投与すると共に，3週後に部分肝切除を施した。肝臓の免疫組織化学を行いGST-P 陽性細胞巣の数と面積を計測した。【結果】（実験１）1.5%以上の KA 投与により肝細胞腺腫が認められ，その頻度は野生型マウスに比べ p53(+/-)マウスでやや高率であった。（実験２）2%KA 群で肝単位面積あたりの GST-P 陽性巣の個数および面積が有意に($p<0.01$)増加した。【結論】KA は p53(+/-)およびその野生型マウスにおいて肝発がん性を示した。また，その発現頻度が p53(+/-)マウスで高率であったことから，KA の弱いイニシエーション作用も否定できない。ラットでも肝発がん性が示唆されたが，GST-P 陽性細胞巣の発現状況からその強度は弱いことが推定され，食品中に含まれるような低用量暴露では腫瘍誘発の可能性は非常に低いと考えられた。

O-6

コウジ酸のマウス肝発癌性に関する追加検討
マウスにおける 26 週間反復投与実験、*in vivo* コメットアッセイ及び再生肝小核試験

○渡邉隆夫[1]、大澤浩一[2]、横濱奈津恵[2]、佐々木有[2]、樫田陽子[1]、三森国敏[1]
([1]東京農工大・獣医・病理、[2]八戸高専・物質工学)

【目的】コウジ酸（KA）の B6C3F1 マウスにおける長期発癌実験において肝腫瘍が増加することが報告されている。また、遺伝毒性発癌物質に高感受性を示す *p53* ヘテロ欠損 CBA マウス及びその野生型マウスに KA を 26 週間投与した結果、イニシエーション処置なしでも肝細胞腫瘍が誘発されることが見出された。その再現性を確認するため、*p53* ヘテロ欠損 CBA マウスの野生型である CBA 雄マウスを用いて 26 週間投与実験を実施した。さらに KA の *in vivo* 遺伝毒性の有無を検討する目的で、マウスを用いたコメットアッセイ及び再生肝小核試験を行った。【方法】6 週齢の CBA 雄マウス 40 匹を 4 群に分け、0, 0.5, 1 及び 2%の KA を混餌投与した。26 週後に生存動物全例を屠殺・剖検し、病理組織検査を実施した。コメットアッセイでは 8 週齢の ddY 雄マウス及び同週齢の Wistar 雄ラットに KA の 1,000mg/kg を最高用量として単回強制経口投与し、投与 3 及び 24 時間後に屠殺した。また、KA の 1.5 及び 3%を 1～10 日間 ddY マウスに混餌投与し、投与開始 1, 2, 4, 6, 10 日後に屠殺した。屠殺時に腺胃、結腸、肝、腎、膀胱、肺、脳、骨髄を摘出し、コメットアッセイ標本を作製した。小核試験では KA の 1,000mg/kg を最高用量として ddY マウスに経口投与した。投与 24 時間後に 2/3 部分肝切除術を施し、その 4 日後にコラゲナーゼ灌流により再生肝細胞を分散させた。【結果及び考察】26 週間投与実験では肝増殖性病変の発現率及び平均肝細胞小増殖巣発生個数が高用量群で増加傾向を示した。コメットアッセイでは KA の単回投与でマウス、ラットともに肝及び腺胃に DNA 損傷がみられた。ラットでは肺と骨髄でも陽性であった。マウス混餌投与では投与開始 4 日以降に肝で DNA 損傷がみられた。再生肝小核試験では KA の用量に依存して小核の誘発がみられた。以上より KA がマウス肝に対して発癌性を示す可能性が再確認され、その肝発癌に KA の DNA 障害性が関与していることが示唆された。

O-7　コモン・マーモセットにおける微量メチル水銀の胎児への慢性曝露影響

衛藤　光明　（国立水俣病総合研究センター）

［研究目的］メチル水銀の感受性の最も高いとされる胎児をターゲットとして、コモン・マーモセットにおける低レベルメチル水銀慢性曝露影響の病理学的検索を行う。

［研究対象および方法］母親に 1ppmHg/Water を 1 年以上自由給水させた後、妊娠・出生した児 2 匹を、母親と共に自由給水させ、3 ヶ月後に剖検した。生化学的には、各症例の大脳、小脳、肝臓および腎臓の総水銀および無機水銀濃度を測定した。病理学的には、神経系臓器に関して、光顕的に HE 染色、Klüver-Barrera (KB)染色、GFAP 染色、末梢神経には、HE 染色、KB 染色の他、マッソン・トリクローム染色を追加し、大脳、小脳、肝臓および腎臓に水銀組織化学反応を行った。また、大脳、小脳および坐骨神経を電子顕微鏡的に検索した。

［研究成績と考察］母親の後頭葉鳥距野に神経細胞脱落とグリオーシスを認める病変が 2, 3, 5 層に限局しているのに比して、胎児例では後頭葉鳥距野の皮質全層に及んでいた。これは神経細胞の成熟度に関係していると思われる。また、新生児の小脳組織に、分子層とプルキンエ細胞層を欠く形成異常（異形成）が認められた。さらに、顆粒細胞層にプルキンエ細胞の遺残があり、発育異常を確認出来た。電顕的には、胎児例神経細胞の Nissl 顆粒の減数・消失が、母親よりも強く認められた。

O-8　薬物性心機能負荷ラットにおける ANP 及び BNP の変化について

○宮田裕人，大野理絵，中西豊，木村正明（大正製薬㈱・安全性研）

【目的】我々はラットの Atrial Natriuretic Peptide (ANP)及び Brain Natriuretic Peptide (BNP)について，それらによる心毒性評価の意義を検討してきた．三環系抗うつ薬である desipramine(DES)は，ヒトで循環器系への副作用とラットにおいても心臓への毒性が知られており，本剤投与による BNP の変動については第 17 回本学会にて報告を行った．今回，DES 単回投与後の ANP 及び BNP の病理組織学的及び血液化学的変動を解析したところ両ペプチドに異なった挙動が見られ，また心機能との相関についても若干の検討を行ったので報告する．

【方法】desipramine(DES；45mg/kg, i.p.)をラットに単回投与し，0，0.5，2，4，8，24 時間後経時的に採血を行い心臓を摘出した．心臓は常法に従ってパラフィン切片を作製後，HE 染色，抗 ANP または抗 BNP 抗体を用いた免疫組織化学的染色を施し光顕下で観察した．血中の ANP 及び BNP 濃度は RIA 法により測定した．また，同一条件下ラットにおける心拍数及び血圧については，非観血式血圧計（MK-2000,室町機械）にて測定した．【結果と考察】DES 投与後 0.5 時間にて血中 BNP 濃度の増加と ANP 濃度の低下及びその持続が認められた．免疫組織化学的に心臓における ANP 及び BNP 陽性細胞は心耳およびその周囲に多数観察されたが，DES 投与により BNP の一過性の増加と ANP の右心房領域における減少が観察された．心拍数及び血圧は投与により低下が認められ，心機能への明らかな影響が捉えられた．DES 投与では心筋の変性・壊死等の病理組織学的変化は観察されなかった．DES 投与後初期の血中または免疫組織化学的 ANP 及び BNP の変化は，心拍数及び血圧への影響が認められていることから，DES による心臓への作用を速やかに反映したものであると同時に，両ペプチドは器質的変化を伴わない可逆性を示す心臓への影響についても評価しうるパラメータとなる可能性が示唆された．

O-9 BHP 誘発ラット肺発癌モデルを利用した肺腺癌の化学予防効果評価系の開発

○吉田　緑、片嶋 紗弓、前川 昭彦、中江　大（佐々木研究所・病理）

ヒトの末梢性肺腺癌は日本や欧米で増加傾向にあり、喫煙との関連が明らかでないことより禁煙以外の予防方策の確立が求められている。化学予防はその有力な候補であり候補物質の化学予防効果について動物を用いた個体レベルでの評価系の確立が要求されている。6 週齢の Wistar 系雄性ラットに *N*-Nitrosobis(2-hydorxypropyl)amine (BHP)2000 ppm の飲水投与により、形態学的特徴や肺胞上皮過形成から腺癌に至る発生過程がヒトの末梢型腺癌に類似した肺腺癌が誘発される。この事実より BHP によるラット肺発癌系を利用して、肺腺癌に対する化学予防効果を比較的短期間かつ鋭敏に検索できる *in vivo* 評価系を開発することを目的に据え、その至適実験条件と適切な endpoint markers の選定を行った。モデルとなる被験処置は抗生物質である aminobenzylpenicillin (ABPC;400ppm 混餌)とラジカル捕捉剤で抗炎症効果の強い phenyl *N-tert*-butyl nitrone (PBN;300ppm 飲水)の併用投与(Chemo.)を採用した。候補となる endpoint marker は BHP 誘発腺癌の前癌病変にしばしば検出される γ-glutamyltransferase (GGT)陽性表現型に着目し、GGT 陽性病変の発生の有用性を検索した。第 1 実験は、ラットに BHP を 4･6･8 週間投与した後、それぞれ 21･19･17 週間を無処置または Chemo.にて飼育し、実験開始の 25 週間後における肺増殖性病変発生と GGT 表現型の変化について検索した。その結果、各群の肺に過形成･腺腫・腺癌が発生したが、過形成は全て GGT 陰性で、一部の腺腫および腺癌が GGT 陽性を示した。Chemo.により BHP6･8 週間投与群の腺癌の頻度/個数および GGT 陽性数が有意に減少し、8 週間投与群で総腫瘍病変数および総 GGT 陽性病変数も有意に減少した。第 2 実験はラットに BHP を 8 週間投与した後、4･8･12･17 週間を無処置または Chemo.にて飼育し、実験 1 と同様の検索を行った。その結果、Chemo.では全群の過形成数とおよび BHP 投与後 8 週間飼育群以外の群の総腫瘍数が有意に減少し、BHP 後 12 週間飼育群の総 GGT 陽性病変数および GGT 陽性過形成数も有意に減少したが、BHP 後 17 週間飼育群では GGT 陽性過形成数が増加する傾向を示した。以上の結果より、本評価系の至適実験条件として、BHP を 8 週間投与した後に被験物質を 12 週間投与するものが推奨され、endpoint markers のひとつとして GGT 陽性表現病変が有用である可能性が示された。

O-10

フルメキン肝発癌機序に関する研究

○樫田陽子[1]、佐々木有[2]、大澤浩一[2]、中川慎也[2]、横濱奈津恵[2]、渡邉隆夫[1]、
新井克彦[1]、高橋明子[1]、三森国敏[1]　([1]東京農工大、[2]八戸高専)

【目的】動物用キノロン系抗菌剤フルメキンはマウスの肝臓に対して発癌性を示すことが知られているが、FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会（JECFA）は本物質の発癌性は非遺伝毒性メカニズムに起因するものとして許容一日摂取量（ADI）を設定している。しかしながら、これまでのマウスを用いた発癌性試験結果からはフルメキンがプロモーション作用のみならずイニシエーション作用を有する可能性が指摘されている。そこでフルメキンのイニシエーション作用およびプロモーション作用について検討を行った。【方法と結果】イニシエーション作用の検討として、マウスを用いた in vivo コメットアッセイ、ラットを用いた肝イニシエーションアッセイおよび in vitro でトポイソメラーゼ II/DNA ジャイレース阻害活性測定を行った。その結果、コメットアッセイでは、成熟マウスにおいて肝臓における DNA 損傷は散発的であったものの、若齢マウスおよび肝切除マウスの肝臓においてはフルメキン投与 3 時間後に用量相関的に DNA 損傷が認められた。肝イニシエーションアッセイでは、フルメキン投与群で肝増殖巣数および面積の増加傾向が認められた。トポイソメラーゼ II/DNA ジャイレース阻害活性測定では、フルメキンは比較的高いトポイソメラーゼ II/DNA ジャイレース阻害活性を有することが明らかになった。また、プロモーション活性の検討として、フルメキンの 4000ppm を 4 週間混餌投与した雄 C3H マウスの肝臓においてマイクロアレイ解析を行うとともに、肝細胞増殖に関連すると思われる遺伝子について、RPA における定量および in situ hybridization を実施した結果、フルメキン投与動物で、肝における細胞増殖活性の亢進およびアポトーシスの抑制を示唆する所見が得られた。【まとめ】今回の結果からフルメキンは肝臓に対してイニシエーション作用を有し、その作用は DNA 損傷、特に DNA 鎖切断の誘導に起因することが強く示唆された。さらに、フルメキンの細胞増殖活性の付与が肝腫瘍の成長に大きく関与しているものと思われた。

O-11　内分泌撹乱化学物質オクチルフェノールのラットへの新生仔期曝露による卵巣への影響

片嶋 紗弓[1,2],吉田 緑[2],前川 昭彦[2],鎌田 壽彦[1],渡辺 元[3],田谷 一善[3],中江 大[2]
([1]東京農工大・生物生産科学,[2]佐々木研・病理,[3]東京農工大・家畜生理)

オクチルフェノール(OP)は,エストロゲン様作用を示す内分泌撹乱化学物質で,新生仔期のラットに大量投与すると,子宮・膣の発育・分化に対して直接的に,または視床下部・下垂体・性腺系による内分泌調節機構を障害して雌性生殖器系へ間接的に不可逆的な影響を与える.しかし,卵巣への直接的影響については明らかでない. そこで我々は,大量の OP(100mg/kg/day)を生後(Postnatalday:PND)1日目よりそれぞれ隔日 3 回(PND1-5 群)あるいは 8 回(PND1-15 群)皮下投与し,Donryu ラットにおける新生仔期への OP 曝露が卵巣に及ぼす影響を検索した.

実験 1:生後 30 日齢において両側の卵巣を摘出して別の卵摘ラットの頸部皮下に移植する卵巣交換を各群間で行った.その後,膣スメア像を指標に性周期を観察し,卵巣交換をしていない各投与群の動物と比較検討した.対照群と PND1-15 群のレシピエントは,ドナーの処置にかかわらず,移植の 5 週間後以降には大部分の個体がそれぞれ正常性周期と持続発情を示した.また,PND1-5 群のレシピエントはドナーの処置にかかわらず,移植の 4 週間後以降には約半数が正常性周期を示し,卵巣交換をしていない各投与群の性周期と同様の傾向であった.

実験 2:生後 14 週齢にて,卵巣の重量測定と肉眼的・組織学的検索および卵管内の排卵数の検索を行った. 対照群(正常性周期)と PND1-5 群(正常性周期)では卵巣に肉眼的・組織学的異常は認められず,卵巣重量と排卵数も同様であったが,PND1-5 群(持続発情)と PND1-15 群(持続発情)では排卵は認められず,卵巣は著明な萎縮を示した.

実験3:対照群と PND1-5 群(正常性周期)を用い,無処置の同系雄性ラットと交配させて出産予定日に開腹し,胎仔について検索した. 胎仔数と胎仔重量,及び,外表検査において対象群との差はなかった.

以上の結果より,OP のラット新生仔期大量曝露は,卵巣の形態および機能に直接的な影響を及ぼさないものと考えられた.

O-12

PCB126 胎生期暴露雌ラットの性周期と卵胞発育に関する検討

○ 武藤朋子[1]、鷹橋浩幸[2]、羽野寛[2]、和久井信[3]、古里政國[1]
([1]杏林大・医・病理、[2]慈恵医大・病理、[3]麻布大・獣・比較毒性)

【目的】我々はダイオキシン類化合物の一つである PCB126 胎生期暴露の影響について検討を行ってきた。今回は PCB126 胎生期暴露雌ラットの性周期と卵胞発育に関して検討を行った。【方法】妊娠ラット 13-19 日間に PCB126 を 7.5ug、250ng、2.5ng、25pg/kg 投与後、次世代ラットの膣開口・性周期・卵胞の発育について検討した。【結果】高用量 PCB126 暴露群では膣開口の有意な遅延と、膣開口後の性周期が安定するまでの期間の有意な延長が認められたが、その後の性周期は対照群と同様であった。生後 30 日・ 50 日齢の高用量 PCB126 暴露群の卵巣では、胞状卵胞の減数と閉鎖卵胞の増数が認められ、さらに 50 日齢では黄体の減数が認められた。また、50 日齢では脂肪中の PCB126 レベルの有意な上昇を認めた。【総括】本検討に用いた PCB126 暴露用量では思春期後までに及ぶ卵巣機能撹乱は認められなかったが、思春期の卵巣機能撹乱は比較的低用量 PCB126 暴露群でも認められた。

O-13 ビーグル犬におけるアロキサン糖尿病、特に血糖関連パラメータの推移、白内障の発現などについて

○渡辺大、石井俊也、中良裕美 、赤木圭介、山口裕子、星谷達、長島吉和、岡庭梓（ボゾリサーチ・函南）

目的：我々は糖代謝に及ぼす毒性研究の一環として、アロキサンを用いたイヌモデルにおける糖尿病発症の推移を明らかにすることを目的として長期観察中である。**方法**：ビーグル犬（雄雌各 5 頭、10－33 カ月齢）にアロキサンの投与量を 50mg/kg として 1 回 i.v.注、経時的に臨床及び臨床病理学的検査を実施、現在 8 カ月、死亡例は病理形態検査に供している。**結果**：雄全例が急性経過で著しい尿糖、血糖、経口耐糖能、フルクトサミンの変動を呈し、多飲、摂餌量正常にも拘わらず飢餓状態で体重激減、投与後 6、8，11，18 及び 20 週で死亡又は瀕死の状態になる。一方、雌では 8 カ月の時点で死亡は無く、1/5 が投与初期から糖尿病状態を呈し、血糖値は 4 カ月以降，投与前値の 2 倍以上を維持、1/5 では初期から断続的に尿糖などに糖尿病陽性所見を認め、残りの 3/5 には第 1～2 週に尿糖強陽性、血糖値上昇を認めたが、その後は異常を認めていない。血糖関連パラメータの推移：急性経過例では相互の関連は明かでないが、緩慢な経過例では尿糖値上昇が最も早く発現、これにフルクトサミン値上昇と経口耐糖能の低下が続き、血糖値の上昇は最も遅い。眼科学的所見：両眼水晶体前嚢赤道域を初発部とする小水泡性変化の発現を特徴とする白内障が 4 週から認められ逐次進展、ERG では現在まで異常を認めていない。病理組織所見：主要な変化は腎尿細管上皮におけるグリコーゲン蓄積、肝細胞の萎縮で、膵島は例外なく萎縮していた。**まとめ**：今回の観察で、ビーグル犬のアロキサンに対する感受性には性差と個体差が目立つことが示された。糖関連パラメータでは糖尿病病態の状況を知る上で、尿糖、フルクトサミン、及び経口耐糖能の検査が重要なことが分かった。

O-14

Issues to Consider in the Histopathology of Nasal Cavities of Laboratory Animals

P. Tellier, D.V.M., Dip. Path., M.Sc., Dip A.C.V.P., Vice-President, Division of Pathology, CTBR

In order to have histological sections of the nasal cavities of optimal quality for the pathologist to evaluate, several critical steps are necessary. Precautions must be taken in necropsy to avoid damage to the nasal structures and special fixation methods can be used. Standardization of the nasal sections to be evaluated is pivotal in all common species used in toxicology. Anatomical landmarks for trimming in rats, dogs and monkeys will be discussed. Knowledge of the normal histology of the nasal cavities including the morphology and distribution of the different types of epithelium and specialized nasal structures (e.g. vomeronasal organ) will enable the pathologist to recognize lesion from non-lesion. Minimal irritation can induce subtle changes in the nasal mucosa which can be difficult to differentiate from normality; such changes include goblet cell hypertrophy/hyperplasia of the respiratory epithelium and eosinophilic inclusions in the olfactory epithelium. Inflammatory alterations that may be present, especially in dogs and monkeys, may also complicate the evaluation and interpretation of the results.

O-15 遺伝毒性発癌物質PhIPには実際上の閾値が存在する；AOM-PhIP誘発ラット大腸発癌モデルでの証明

○土井賢一郎、鰐渕英機、魏民、三橋誠、星学、沈鈞、森村圭一朗、エリサイド・サリム、福島昭治（大阪市大、院、医、都市環境病理）

[はじめに] 食事の焼けこげに含まれる、ヘテロサイクリックアミンの一種であるPhIPは、遺伝毒性発癌物質で雄ラットに大腸癌を発生させる。今回我々は、Azoxymethane (AOM) 誘発ラット大腸発癌モデルを用いて、PhIPの低用量大腸発癌性を検討した。[方法] 6週齢雄性F344ラット192匹を8群に分け、全群にAOM15mg/kg皮下投与 (週1回) で2回施行し、1週間後より各群に対しPhIP (0、0.001、0.01、0.1、1、10、50、200ppm) を混餌投与した。16週でACFを、36週で大腸腫瘍を病理学的に検索した。[結果] PhIP投与による毒性は、200ppmでのみ明らかであった。16週の大腸において、単位面積当たりのACFの全発生数は、全群間において差は認めなかったが、近位大腸においては、200ppmPhIP投与群で有意に増加した。大腸腫瘍の発生頻度は、0から10ppmまでの各群で差を認めず (38～75%)、50と200ppmでは100%に発生した。腫瘍の発生個数も、0から10ppmまで差を認めず (0.75～1.06/匹)、50と200ppmで有意にかつ著明に増加し、高用量では用量依存性を認めた。十二指腸・小腸・盲腸の腫瘍発生も、全群で有意差は無かったものの、十二指腸と盲腸においては、200ppmで増加傾向を認めた。[考察] 全ACF発生数に差が無かったのは、AOM投与によって大多数が誘導されるため、PhIP投与による作用がマスクされた為と考えられる。大腸腫瘍については10ppmまで頻度と個数共に有意差を認めず、PhIPの発癌ポテンシャル (AOM投与後のプロモーション作用、または相乗作用と推測される) には、実際上の閾値が存在することが明らかとなった。

O-16 RNA 抽出過程を省略した One-step RT-PCR 法による レーザーマイクロダイセクション試料の遺伝子発現解析

○小林　潔，内海博之，岡田味世子，桝富直哉，日下部愛泉，坂入鉄也，池田五子，高木司郎（三菱ウェルファーマ・安全性研）

レーザーマイクロダイセクション（LMD）法の確立により，組織切片から検索対象の細胞を限定して採取し，分子生物学的な解析を行う事が可能となった．一方，LMD により得られた微小なサンプルからは充分量の核酸，蛋白材料を得にくいため，以後の解析が困難となる場合が少なくない．とりわけ遺伝子発現解析では，RNA 抽出過程における損失が問題となる．本研究では LMD 法により採取した微小サンプルを用い，RNA 抽出過程を省略した One-step RT-PCR 法による遺伝子発現解析法を検討した．ラットの肝臓を OCT コンパウンドに包埋し，未固定凍結切片を作成した．ヘマトキシリン単染色後，LMD により肝細胞を切り出し，DNase 処理後に直接 RT-PCR のテンプレートとした．アルブミンプライマーにより cDNA の増幅を行った結果，最小の場合肝細胞 25 個から発現を確認できた．肝細胞，近位尿細管上皮，腎糸球体を用いて増幅反応の特異性を検索した結果，肝細胞においてのみアルブミン cDNA 特異的なバンドを検出した．定量的 PCR 法への応用の検討では，通常のサーマルサイクラーで 10 サイクルの増幅を行った後，反応液をリアルタイム PCR 用の 96 穴プレートに移すことにより，微小サンプルから定量的 RT-PCR を行うことが可能であった．今回の実験プロトコールは極めて簡便かつ高感度であり，LMD により得られた微小サンプルの遺伝子発現解析に有用と考えられる．Puromycin 誘発ラット腎症モデルを用いた，ケモカイン（MPC-1）遺伝子の発現解析の結果を併せて報告する．

O-17

メタカーン固定・免疫染色後microdissectionにより採取した微小組織領域での突然変異解析

○畝山智香子、渋谷淳、高木広憲、加藤奈津美、藤田春香、井上弘子、広瀬雅雄
（国立衛研・病理）

【はじめに】ヒト腫瘍組織での癌関連遺伝子の変異に関する報告は多数あるが、実験発癌研究においては前癌病変から悪性腫瘍に至るまでの遺伝子変異の様子を経時的に解析できる利点がある。こうした解析を可能にするため、メタカーン固定・パラフィン包埋組織切片で免疫染色を行った後にmicrodissectionにより採取した細胞からのDNA断片の検出及び解析方法の開発を試みた。【実験方法】肝中期発癌性試験法を利用して、F344雄ラットにdiethylnitrosamine (DEN) 200 mg/kgを腹腔内投与した後、3週目に2/3肝部分切除を行い、DEN投与後2週目より肝発癌物質であるthioacetamide (TAA) 400 ppmを混餌投与し、8週後に解剖した。採取した肝組織をメタカーン固定し、パラフィン包埋後microdissection用のメンブレン上に薄切標本を作製した。定法通りにglutathione S-transferase placental form (　GST-P)免疫染色を行い、laser microbeam microdissection法により組織を採取してDNAの回収率とPCRで検出可能なDNA断片の長さを調べた。さらに前癌病変と考えられるGST-P陽性及び陰性の細胞領域を各々採取し、PCR-direct sequencingによりK-ras遺伝子の部分配列を解析した。【結果】パラフィン包埋後免疫染色を行った肝組織切片ではDNAの回収率は未染色切片の11%程度と著しく低下するものの、半径150 μmの円状に切り出したサンプルで184 bpのDNA断片の検出が可能であることを見いだした。またK-rasのhot spotであるコドン12を含むexon 1及びコドン61を含むexon 2の合計およそ300 bpについて配列解析を行ったが、TAA投与8週の時点ではGST-P陽性及び陰性どちらの細胞でも変異は検出されなかった。

O-18　ラット肝癌細胞株を用いた肝発がん修飾物質による網羅的遺伝子発現変化

○辻村和也[1,2], 朝元誠人[1], 外岩戸尚美[1], 白井智之[1]
([1]名市大・院・医・実験病態病理、[2](財)化学物質評価研究機構　安全性評価技術研究所)

近年、分子生物学の進歩に伴い新しい毒性学部門として「トキシコゲノミクス」が生まれ、主要な技術としてはDNAアレイ技術が発展してきた。これにより、数千から数万の遺伝子が同時にモニターでき、網羅的な発現解析が可能となった。また、in vitroでの毒性評価のひとつとして細胞株を用いる方法がある。この方法は、個体での毒性評価に比べ、期間が短い、均一性が高く扱いやすいなどの利点を有する。そこで、我々はこれらの手法を用い化学物質暴露細胞株における遺伝子発現変化からその化学物質の毒性プロファイリングの可能性を検討した。用いた化学物質は、過去の毒性試験から変異原性や発がん性が特徴付けられている10物質(Clofibrate, 8-Hydroxyquinoline Quinoline, CCl4, 2,4-Diaminotoluene, 2,6-Diaminotoluene, Phenobarbital, D-Mannitol, L-Ascorbic acid)を選定した。また、細胞株は、MH1C1を用いた。暴露濃度は、３日間で生存が可能な最高濃度を検討し設定した。その後、totalRNAを採取し、cDNAアレイ分析（NEDOアレイver.1，9418遺伝子）を行った。その発現変化の結果を用い、解析をしたところ発がん物質及び変異原物質がクラスターを形成した。また、相関分析においては構造類似体で毒性が異なる化合物のうちQuinolineと8-Hydroxyquinolineで各遺伝子の発現の相関が低く発現パターンが異なっていた。また、化学物質暴露MH1C1と同物質暴露ラット肝臓との発現比較では、暴露においてMH1C1特有に変化する遺伝子群が存在した。

O-19 肝発がん修飾物質による遺伝子発現変化 —3次元マイクロアレイによる迅速解析—

○ 外岩戸 尚美[1]、朝元 誠人[1]、小川 久美子[1]、廣田 毅[2]、市原 敏夫[2]、玉野 静光[2]、白井 智之[1]（1名市大・院・医・実験病態病理、2大雄会医科学研究所）

肝発がん物質や、肝発がん修飾作用を持つ物質をラットに投与した時に生じる遺伝子変化を、薬物代謝酵素遺伝子群30種類を中心に搭載した新規3次元マイクロアレイ（PAMchip）およびハイブリダイゼーションシステム（オリンパス光学工業（株））を用いて検索した。肝発がん物質である7種類の肝発がん物質および肝発がん修飾物質と8種類のがん化学予防候補物質を6週齢の雄のF344ラットに2週間投与した。凍結肝組織からTotal RNAを抽出し、実験に用いた。このシステムでは、2群間の比較はハイブリダイゼーションから解析までの所要時間は約2～3時間であり、迅速な解析が可能となった。また得られた結果は再現性、定量性に優れていた。このチップでは各投与物質それぞれに報告されている遺伝子変化が観察された。肝細胞癌由来の細胞株で正常に比較して発現の変動が見られた遺伝子144種類を搭載したチップを用いて同様に得られた実験データをGeneSpring Software (Silicon Genetics)でクラスター解析を行ったところ、肝発がん物質は遺伝毒性と非遺伝毒性物質で分類され、さらに化学予防候補物質を加えた検索では発がん物質と化学予防物質で分類が可能であった。以上から、このハイブリダイゼーションシステムを用いた迅速解析により、化学物質をラットに2週間投与した後、その遺伝子発現パターンを解析する事により発がん作用および発がん修飾作用の予測の可能性が示唆された。

O-20 3次元マイクロアレイによる発がんリスク解析

○森村圭一朗[1]、木下アンナ[1]、鰐渕英機[1]、カンジンソック[1]、朝元誠人[2]、外岩戸尚美[2]、白井智之[2]、福島昭治[1]([1]大阪市立大学大学院・医・都市環境病理、[2]名古屋市立大学大学院・医・実験病態病理)

【背景】これまでに我々は DEN-PB ラット肝二段階発がんモデルにおいて、PB を低用量投与とするとラット肝前がん病変マーカーが PB 非投与群に比べ有意に抑制されるいわゆるホルミシス現象が認められることを報告してきた。今回、3次元マイクロアレイ；Pam Chip とハイブリダイゼーションシステム (オリンパス光学工業(株))を用い、この現象の機序解明を試みた。【方法】DEN 処理した雄性 F344 ラットに PB を 0, 2, 15, 500ppm の濃度で 10 週間混餌投与し、肝 GST-P 陽性細胞巣を検索し、さらに薬物代謝酵素関連遺伝子約 30 種類のオリゴ DNA プローブを搭載した試作 Pam Chip（Rat ß-chip ver. 2.2）またはがん関連遺伝子約 90 種類のオリゴ DNA プローブを搭載した試作 Pam Chip（Rat ß-chip ver. 4）を用いた遺伝子発現解析を行った。各個体の肝より抽出した全 RNA から蛍光標識した cDNA を作成し、hybridization に用いた。反応後、各スポットの蛍光輝度を算出し発現解析を実施した。【結果】GST-P 陽性細胞巣は PB 2ppm 投与群で有意に抑制、PB 500ppm 投与群で有意に増加していた。Pam Chip（ver. 2.2）解析により PB 500ppm 投与群で CYP 3A2 等の薬物代謝酵素関連遺伝子が上昇しており、これは従来の競合的 RT-PCR の結果とほぼ一致していた。Pam Chip（ver. 4）解析より PB 500ppm 投与群では薬物代謝酵素関連遺伝子の著明な発現上昇とともに anti-mitogenic な反応が認められた。一方、PB 2ppm 投与群では anti-mitogenic な反応が認められたが、薬物代謝酵素関連遺伝子の発現上昇は認められなかった。【考察】DEN-PB 二段階ラット肝発がんモデルにおけるホルミシス現象のメカニズムには、PB 用量差に起因する PB の anti-mitogenic 作用と薬物代謝酵素遺伝子発現上昇率とのバランスの変化が関与する可能性が示唆された。このシステムはある程度絞り込まれた遺伝子群について、迅速かつ簡便な遺伝子発現解析が可能であり、今後、発癌リスク解析分野への応用が期待される。

O-21 非遺伝子傷害性肝発がん物質長期間投与によって発現の変化する遺伝子群のカタログ化

○井上弘子[1,2]，渋谷　淳[1]，高木広憲[1]，加藤奈津美[1]，李　京烈[1]，有村卓朗[1]，畝山智香子[1]，藤田春香[1,2]，広瀬雅雄[1]（[1]国立衛研・病理部，[2]第一製薬研究技術センター）

【はじめに】非遺伝子傷害性発がん物質の in vivo 短期検索指標の探索を目的として，我々は既にラット 28 日間投与例の肝臓での網羅的発現解析により，発現低下する遺伝子が様々な機能クラスターに及び，それらの詳細な内訳は各化学物質間で異なることを報告した．今回は，長期投与時での発現変動遺伝子の網羅的解析を行い，特徴的な発現様式を示す遺伝子を検索した．【材料・方法】SD:IGS/DuCrj ラットに 6 週齢より，既知の非遺伝子傷害性肝発がん物質である phenobarbital (PB)-600ppm，thioacetamide (TA)-600ppm，diethylhexyl phthalate (DEHP)-20,000ppm と，肝毒性を持つが肝発がん作用のない acetaminophen (APAP)-10,000ppm の混餌投与を行った．投与開始後 1 及び 2 年目に動物を屠殺し，各群 4 匹について肝臓より total RNA を抽出し，GeneChip Rat Genome U34A Array (Affymetrix)による発現遺伝子の網羅的比較解析を行った．但し，TA 投与例に関しては途中死亡例が多く 70 週の時点で最終屠殺し，2 例について解析を行い，他の 2 年目の群と比較した．【結果・考察】28 日間投与例と比較し，無処置対照に対して 2 倍以上ないし 1/2 以下の変動をする遺伝子数は 1 年目と 2 年目で増加し，2 倍以上の上昇遺伝子数は 1 年目で最も多かった．1 及び 2 年目を通じて上昇遺伝子数は TA 投与例で最も多く，APAP 投与例で最も少なかった．変動遺伝子の機能分類では，1, 2 年目とも APAP を含むいずれの化合物によっても酵素類遺伝子の発現が最も多く増減し，細胞小器官／骨格遺伝子，シグナル伝達関連遺伝子の増減がそれに次いだ．また，低下遺伝子の多くは機能未定遺伝子ないし EST からなっていた．発がん物質に共通して発現上昇（2 倍以上）ないし低下(1/2 倍以下)した遺伝子は 1 年目で最も多く，各々267, 50 個であり，2 年目は各々16, 18 個と減少していた．これらのうち，28 日目と 1 年目で同様の発現増加をする遺伝子として fatty acid translocase/CD36，1 及び 2 年目に発現上昇するものとして一つの EST が得られ，1 年目で発現低下した carboxyl methyltransferase は 2 年目では発現上昇していた．以上より，化学物質の長期間投与により，投与 1 年目で細胞機能の変化が最も強く現れることが推察されたが，経時的に発がん物質に共通した発現様式を示す遺伝子は殆ど得られなかった．

O-22 *IL-12*遺伝子を用いたElectrogene transferによるマウス乳癌に対する抗腫瘍効果並びに抗転移作用

○柴田雅朗[1]、森本純司[2]、伊藤裕子[1]、大槻勝紀[1] (大阪医大・[1]一解剖、[2]実動セ)

免疫系を増強する*IL-12*遺伝子のマウス乳癌に対する遺伝子治療効果を検討した。マウス乳癌細胞BJMC3879を免疫学的に同一なBALB/c系雌マウスの鼠径部皮下に移植し、腫瘍径約0.2 cmより50μgのマウス*IL-12* cDNA (p35+p40)を組み込んだベクターまたは空ベクターを腫瘍内に週1回投与し、Electrogene transferを実施した。その結果、腫瘍径は遺伝子導入の1週後より、空ベクター群と比較して、IL-12群で有意な抑制が観察され、実験終了の8週まで続いた。更に同群ではリンパ節への転移も有意に抑制された。IL-12投与群では腫瘍中および血清中のIL-12レベルは有意な増加を示した。また、インターフェロンγも同様に著しい高値を示した。しかしながら、末梢血あるいは脾臓より分離したリンパ球を解析した結果、IL-12投与群と空ベクター群との比較において、$CD4^+$および$CD8^+$のTリンパ球の割合に差異は認められず、NK細胞においても差異は示されなかった。更に、*IL-12*遺伝子に直接的な細胞殺傷効果があるか否かを見るために、*IL-12*遺伝子を乳癌細胞に導入した結果、有意差は示されなかったものの、空ベクターの生存細胞数の約35%の細胞が死滅した。

以上、*IL-12*遺伝子を安全性の高いElectrogene transferを用いて、マウス移植乳癌に対して遺伝子治療を行った結果、抗腫瘍効果並びに抗転移作用を示した。また、IL-12は免疫系を活性化する以外の機序によっても少なからず殺傷効果を有していると考えられた。今回、免疫学的にcompetentな移植系モデルを用いたが、宿主自身より発生してくる乳癌モデルを用いて、更に研究を発展させたい。

ポスター要旨

(P-1～80)

質疑１：１月 23 日（木）　13:00～14:00

質疑２：１月 24 日（金）　13:00～14:00

P-1 BrlHan:WIST@Jcl ラットにおける小脳異形成

○ 桑村有規，足立民子，高谷尋美，佐々木義文，西村友成，小林欣滋，藤原利久，
小口敦，山村高章，湯浅啓史（田辺製薬 安全研）

【はじめに】 BrlHan:WIST@Jcl ラットは，生存率が高いことおよび体重が比較的軽いことから，欧州において実験動物として汎用されている．我々は，背景データの収集を目的に本系統ラットの組織学的検査を実施したところ，高頻度に小脳異形成を認めたので報告する．

【材料・方法】 BrlHan:WIST@Jcl 雌雄各 100 例の無処置動物を 8，10，14，19 および 23 週齢時に雌雄各 20 例を病理解剖し，小脳をはじめとする全身諸臓器の組織学的検査を実施した．小脳は虫部矢状断を薄切し，HE 染色ならびに抗 Calbindin，抗 Parvalbumin および抗 GFAP 抗体を用いた免疫組織化学的染色を実施した．

【結果・考察】 飼育期間中のラットに神経行動学的な異常はなかった．小脳の異形成が全検索例 200 例中 50 例に認められた．性別および週齢による発生頻度に差はなかった．異常が認められたラットでは，小脳第一裂溝あるいは第二裂溝の形成が不完全であり，同部では小脳分子層と顆粒層が混在し，小脳皮質の層構築が乱れていた．異形成の分子層には籠細胞，星細胞および走行の乱れたベルグマングリアの突起が認められ，分子層と顆粒層の境界部にはプルキンエ細胞が確認された．ラットの先天的小脳異形成は偶発所見としても認められるが，遺伝的に発生するとの報告がある．今回，BrlHan:WIST@Jcl ラットで認められた小脳異形成については，その発生頻度から，何らかの遺伝的背景の関与が推察された．

P-2 穿孔脳症を示したラットの病理組織学的特徴

○加国 雅和、小嶋 聖、竹田 剛、木本 直哉、佐藤 均、水谷 昌人、鈴木 一生、高場 克己(協和発酵・安全研)

毒性試験に供与された雌ラット（Slc:Wistar、６週齢）の１例に穿孔脳症が認められたため、病理組織学的検査を実施した。

肉眼所見では、右前頭部において頭蓋骨から大脳実質に達する穿孔が認められた。孔径は、頭蓋骨において直径２㎜、大脳では3×5㎜であった。該当部位の皮膚および皮下組織に異常所見は認められなかった。切り出し時には右第三脳室の拡張が認められた。頭蓋骨と大脳の剥離は容易であった。

組織学的検査では、肉眼所見に一致して大脳および頭蓋骨に限局性の組織欠損が観察された。大脳では欠損部と連続する第三脳室に拡張が認められた。大脳および頭蓋骨の病変部を含む全ての領域において炎症反応は認められず、小脳を含むその他の部位においても異常所見は観察されなかった。

穿孔脳症は、ヒトをはじめとする種々の動物種で先天性発生異常あるいは後天性神経疾患として報告されているが、その発生は極めて稀である。本症の発生原因としてウィルス感染との関連性が示唆されているが、今回の症例では発生原因が不明であった。

P-3

網膜神経細胞プログラム細胞死と低体温による神経保護作用

○原　明、坂田佳子、片山雅貴、久野寿也、山田泰広、広瀬善信、森　秀樹
（岐阜大・医・腫瘍病理）

【目的】網膜神経細胞は中枢神経系と由来が同じであるため、網膜のプログラム細胞死(PCD)を検討することは複雑な中枢神経の PCD 解明の手掛かりにもなると考えられる。我々は、高眼圧による網膜虚血と神経興奮性物質投与の二つの異なった要因による網膜神経細胞 PCD を経時的、形態学的に検討した。また、低体温による網膜神経細胞保護効果を検討した。 **【方法】**以下の実験①～③を行い、HE 染色、DNA fragmentation を検索する TUNEL 染色を行った。①眼球内に 176 cm H_2O に 45 分間、圧負荷をかけて一過性網膜虚血とした。その後、3、6、9、12、15、18、21、24 時間後、眼球摘出し、網膜を固定した。②神経興奮性物質 NMDA をマウス眼球内に直接投与、その後、12、24、72、168 時間後、眼球摘出し、網膜を固定した。③さらに実験①において眼球内圧負荷中に 29、33、35、37 ℃の温度に保ち、12 時間後の組織の TUNEL 陽性率を、また 24 時間後の網膜内層厚を検索した。 **【結果】**①一過性網膜虚血により、網膜内 ganglion cell layer (GCL)、inner nuclear layer (INL)において、PCD、および神経細胞脱落が認められた。②NMDA 投与においても GCL、INL に PCD、神経細胞脱落が認められた。③低体温により TUNEL 陽性率は下がり、網膜内層厚は保存された。温度が低いほどその効果は高かった。**【結論】**一過性虚血、神経興奮性物質投与により網膜神経細胞に PCD が認められた。PCD 発現の時間経過、発現パターンにおいて両者に若干の相違が認められた。低体温により PCD は抑制され、神経保護効果が認められた。

P-4

Morphologic Characteristics of Retinal Degeneration Induced by Sodium Iodate in Mice

○Katsuhiko Yoshizawa[1)], Katsuji Kiuchi[2)], Kaei Moriguchi[2)], Kenjro Tsubota[1)], Masahiro Matsumoto[1)], Shunji Nakatsuji[1)], Shiro Fujihira[1)], Yuji Oishi[1)], and Airo Tsubura[2)] (1: Toxicol. Res. Lab., Fujisawa Pharmaceutical Co. Ltd., 2: Pathol II, Kansai Medical Univ.)

(Purpose) Sodium iodate ($NaIO_3$) possesses selective toxicity for retinal pigment epithelial (RPE) cells and large doses cause photoreceptor cell damage in a variety of species including of human. Although $NaIO_3$ has been used extensively as a retinotoxin, there are few reports concerning the precise sequential morphological observation which define the mode of retinal cell death. In the present study, retinal degeneration induced by $NaIO_3$ in mice was evaluated morphologically. **(Methods)** Male and female ICR and C57BL mice received a single intraperitoneal injection of 100 mg/kg of $NaIO_3$ at 7 weeks of age, and were killed 6, 12, 24 hrs, and 3, 7 and 28 days after the treatment. Retinas were examined histologically, ultrastructurally, immunohistochemically (PCNA, GFAP), and by the TUNEL method. **(Results)** Retinal degeneration was evoked in all $NaIO_3$-treated mice. The primary site of damage appeared in the RPE cells followed by photoreceptor cell degeneration. Initially, the RPE cells showed necrosis starting 6 hrs post-$NaIO_3$, followed by photoreceptor outer segment disruption and photoreceptor cell apoptosis at 24 hrs; photoreceptor cell apoptosis peaked at day 3 and was completed by day 7. At day 3, Müller cell proliferation, macrophage migration within the retina, and regeneration of damaged RPE cells occurred. Finally at day 7 and day 28, the retina showed a mosaic pattern of relatively normal retina and areas lacking RPE cells and photoreceptor cells. **(Conclusions)** RPE cell necrosis followed by photoreceptor cell apoptosis and the resulting mosaic pattern of the retina phenotypically resembles gyrate atrophy of the choroid and retina.

P-5　各種抗がん薬のマウス静脈内単回投与による鼻粘膜への影響

○ 甲斐清徳、佐藤洋、吉田貢由、鈴木貴美、梶村哲世、古濱和久（第一製薬株式会社 安全性研究所）

【緒言】ﾁｭﾌﾞﾘﾝ阻害型抗がん薬 vincristine (VCR)をﾏｳｽに静脈内単回投与すると鼻腔の嗅上皮粘膜に apoptosis が認められる事は既に報告した。今回、4 種のﾁｭﾌﾞﾘﾝ阻害型（ﾁｭﾌﾞﾘﾝ重合および解重合阻害）抗がん薬を含む計 7 種の薬剤について、先の実験と同様の条件下で鼻粘膜への影響を検討したので報告する。

【方法】実験には 8 週齢の雄 BALB/c マウス(n = 5)を用い、vincristine (VCR), vindesine (VDS), vinblastine (VBL), paclitaxel (PTX), mitomycin C (MMC), 5-fluorouracil (5-FU)および cisplatin (CDDP) の概略の LD_{10} 量を静脈内単回投与した（投与日を Day 1 とした）。動物は Day 2, 5 および 15 に経時的に屠殺し、各 4 例について 3 ﾚﾍﾞﾙで切り出し鼻粘膜を光学顕微鏡にて観察した。また、各屠殺時点、各 1 例について第 3 ﾚﾍﾞﾙの電子顕微鏡観察を行った。さらに、PTX および 5-FU の ^{14}C ﾗﾍﾞﾙ体を同様に投与し、投与後 1 および 24 時間後の鼻腔部位を含む全身ｵｰﾄﾗｼﾞｵｸﾞﾗﾌｨｰを実施した。

【結果およびまとめ】ﾁｭﾌﾞﾘﾝ重合阻害剤である VCR, VDS および VBL、ﾁｭﾌﾞﾘﾝ解重合阻害剤である PTX において、Day 2 および 5 で嗅上皮粘膜に単細胞死が認められ、その程度は PTX が最も強かった。しかし、MMC, 5-FU および CDDP では鼻粘膜上皮に傷害は認められなかった。電顕的には全てのﾁｭﾌﾞﾘﾝ阻害剤で基底膜側の嗅細胞にｸﾛﾏﾁﾝ凝集および核の断片化が認められ、それらは apoptosis と診断された。ｵｰﾄﾗｼﾞｵｸﾞﾗﾌｨｰでは PTX と 5-FU とも投与 1 時間後に鼻腔部位で血液とほぼ同程度の放射能が認められたが、投与 24 時間には PTX は鼻腔部位で血液より高い放射能がみられ、5-FU では痕跡程度の放射能しか認められなかった。以上より、ﾁｭﾌﾞﾘﾝ阻害型抗がん薬は鼻粘膜の嗅細胞に apoptosis を起こすとともに、鼻粘膜への薬剤分布および貯留性が毒性発現の一つの要因となることが示唆された。

P-6　G-CSF は線維化に至らないブレオマイシン誘発肺傷害を増強しない

○足立健児[1,2]、小川友美恵[1]、鈴木雅実[1]、杉本哲朗[1]、上塚浩司[2]、中山裕之[2]、土井邦雄[2]（[1]中外製薬・安全研、[2]東大・獣医病理）

【緒言】我々は、線維化に至る重度なブレオマイシン（BLM）誘発肺傷害に Granulocyte colony-stimulating factor（G-CSF）を投与すると、G-CSF は BLM 肺傷害の炎症初期に影響し、その病変を用量依存性に増強することを報告した（第 14、15、18 回本学会）。肺傷害の増強には、肺病変部において炎症初期に増加し、持続するアルカリフォスファターゼ（ALP）陽性好中球浸潤が関与しているものと考えられた。今回、種々の程度の BLM 肺傷害に対する G-CSF の影響を検討した。【実験 1】BLM（0.2～2000 μg/200 μl、*i.t.*）をラットに単回投与して 3 および 14 日後（Day 3、14）に剖検し、肺の病理組織学的検索を行った。その結果、0.2 μg 以上の群で肺傷害が用量依存性にみられた。2 μg 以下の群では肺胞あるいは血管周囲における単核球系細胞浸潤等がわずかにみられた。20 μg 以上の群では肺胞への好中球浸潤を伴うび漫性肺胞傷害に継発して線維化病変形成がみられ、2000 μg 群では体重減少を伴う全身状態の悪化もみられた。【実験 2】BLM（0.2、20、2000 μg/200 μl、*i.t.*）をラットに単回投与後、G-CSF（100 μg /kg/day、*s.c.*）を反復投与し、Day 3、14 に剖検し、肺の病理組織学的検索を実施した。その結果、BLM 0.2 μg + G-CSF 群では、肺胞毛細血管において ALP 陽性好中球が顕著にみられたが、それらの肺胞への浸潤および肺傷害の増強はみられなかった。一方、BLM 20 および 2000 μg + G-CSF 群では、Day 3 において肺胞への ALP 陽性好中球浸潤を伴う肺傷害領域の増強がみられた。Day 14 では、20 μg 以上の BLM 投与群で線維化病変がみられたが、G-CSF による肺傷害の増強はみられなかった。【結論】G-CSF は、急性炎症期に肺胞への好中球浸潤がなく、線維化に至らない軽度な肺傷害を増強しないことが明らかとなった。G-CSF による肺傷害の増強には、顕著な肺胞への活性化好中球浸潤に加え、線維化に至る重度な肺傷害が背景病変にあることが必要であると考えられる。

P-7

Butylated hydroxytoluene (BHT) 投与によるマウス肺障害の病理学的検討

○佐藤　亮，福田芽衣子，下元貴澄，松本智志，北浦敬介，南　孝則，山本硬治（大塚製薬・徳島研）

【はじめに】Butylated hydroxytoluene（以下 BHT と略す）はび漫性肺胞障害を誘発する薬物であることが知られている。Hirai らや Smith は BHT の初期病変がⅠ型肺胞上皮細胞および毛細血管内皮細胞にみられることを，マウスの肺の電顕検査で確認している [1, 2]。今回， BHT 単回投与マウスの肺について経時的な形態観察を実施した結果，毛細血管内皮には変化は認められず，Ⅰ型肺胞上皮細胞障害が初期病変であることが示唆されたので，その成績について報告する。【材料および方法】雄性 ICR マウスに BHT を 500mg/kg の用量で単回，腹腔内投与し，投与後 1 日，3 日，5 日，7 日および 14 日に剖検し，それぞれの肺について光顕および電顕検査を実施した。【結果】透過型電顕検査では投与後 1 日でⅠ型肺胞上皮細胞の変性が，投与後 3 日でⅠ型肺胞上皮細胞の剥離・脱落がみられた。投与後 1 日および 3 日でⅡ型肺胞上皮の小胞体拡張がみられた。また，走査型電顕検査において投与後 1 日でⅠ型肺胞上皮細胞の剥離・脱落がみられた。光顕検査では投与後 3 日より肺胞上皮細胞の増生，核の異型および肺胞マクロファージの増加がみられた。【まとめ】毛細血管内皮細胞には変化はみられず，BHT の標的細胞はⅠ型肺胞上皮細胞であることが示唆された。

【文献】

1. Hirai K, Witschi H, Cote MG. Electron microscopy of Butylated Hydroxytoluene-induced lung damage in mice. *Exp. Mol. Pathol.* 1977; 27: 295-308.
2. Smith L. Lung damage induced by Butylated Hydroxytoluene. *Am. Rev. respir.* Dis. 1984; 130: 895-904.

P-8　粒径の異なる結晶質シリカ気管内注入によるラット肺の経時的変化

○大神　明、森本泰夫*（産業医大、産生研、労衛工、呼吸病態*）

【はじめに】粒径の異なる結晶質シリカを用いて粉じんの生体影響を、末梢血中および気管支肺胞洗浄液(BAL)における好中球、特に骨髄由来の未熟な好中球(BrdU 陽性細胞)の曝露後の経時的な質的、量的変化に焦点を当てて解析を行った。

【方法】結晶質シリカ(Min-U-5)より遠心分離法にて、粒径の小さい分画を抽出して Fine Silica を作成し、Min-U-5 群、Min-U-10 群、Fine Silica 群の３群で影響を比較した。雄性 Wistar ラットに結晶質シリカを各粒径ごとに 2mg 気管内注入した。１群は７匹づつとした。気管内注入後３日後、７日後、１ヵ月後、３ヵ月後、６ヶ月後にラットを解剖。解剖日の 72 時間前に BrdU (100mg/kg)を静注し PMN をラベリングした。解剖時に心臓採血し総白血球数、PMN 分画を算定し、全血より PMN 分画を分離した。得られた好中球分画をサイトスピンにてプラパラート上に散布し、固定後 BrdU で免疫染色し、BrdU 陽性細胞を算定した。一方、気管支肺胞洗浄液(BAL)を右肺より 15ml 採取し、細胞数をカウントしたのち、サイトスピン標本での白血球分画を検討した。

【結果】気管内注入後３ヶ月より各曝露群共に肺の炎症性変化と線維増殖性変化が顕著に認められた。血中の白血球数は各群で経時的変化の中での有意差は見られなかった。末梢血中の好中球の数と、白血球全体に対する割合は、Min-U-5 と fine silica 群で、注入 30 日以降で対照群に比べ高い傾向が見られた。末梢血中の BrdU 陽性細胞数の割合は、注入３日後で、Min-U-10 群で高い傾向を示したが、経時的には各群で有意差は見られなかった。BAL 中の白血球数は、曝露群で対照群に比べ経時的に有意に高く、特に Min-U-5 群での上昇が著しかった。この BAL 中の白血球数の上昇要因は好中球の増加によるものであった。BAL 中の好中球は fine silica 群で注入後３０日の割合が他群と比べ低下している傾向が見られ、結晶質シリカの肺内における粒径の違いによる滞留性やクリアランスの影響を示唆する結果となった。

P-9 テオフィリンによるラット唾液腺の組織学的変化

○梶川悟，三浦久樹，中野健二，白木克尚，二井愛介，中山裕之[1]，土井邦雄[1]
（山之内製薬·安全研，[1]東大·獣医病理）

【緒言】テオフィリンはホスホジエステラーゼ阻害剤の 1 つで，細胞内の cAMP を増加させることにより血管や気管支の平滑筋弛緩作用を有することが知られている．テオフィリンをラットに 4 日間(2 回/日)反復腹腔内投与して翌日に解剖すると，唾液腺が肥大することが報告されている．これと同一のプロトコールで実験をおこなったところ結果はよく再現したが，加えて投与 2 日目の投与直後から投与後 1 時間にかけて唾液分泌亢進を示唆する一般症状がみられた．そこで，投与直後の唾液腺の組織変化を明らかにする目的で以下の実験をおこなった．
【材料と方法】9 週齢の雄 F344 ラットにテオフィリン 50 mg/kg を 4 日間(2 回/日)反復腹腔内投与した．最終投与の直前，投与後 1 時間(唾液分泌亢進時)および 4 時間(症状消失時)に解剖し顎下腺，耳下腺を採取した(各 n=3)．対照群(n=3)には，生理食塩液を同様に投与した．体重および臓器重量を測定し，組織検査(H&E，α平滑筋アクチン染色，電子顕微鏡検査)をおこなった．
【結果】テオフィリンの投与により体重に有意な変化はみられなかった．臓器重量は，顎下腺，耳下腺ともに最終投与直前には対照群に比べ約 1.5 倍に増加していたが，投与後の時間経過とともに減少した．組織検査では，両唾液腺ともに最終投与直前解剖例には分泌顆粒の増加による腺房肥大がみられた．時間経過とともに，分泌顆粒の減少とエルガストプラスムの増加がみられた．顎下腺には介在部導管上皮細胞に空胞がみられ，電子顕微鏡検査では上皮細胞間に解離がみられた．筋上皮細胞には，両唾液腺ともに分泌に関連した形態変化はみられなかった．
【考察】テオフィリンにより唾液腺腺房は肥大すると考えられていたが，投与直後には逆に重量は減少し，腺房では分泌顆粒の減少がみられた．これらのことから，テオフィリンは腺房細胞の開口分泌に特に作用していること，および反復投与時の腺房肥大は代償性変化である可能性が考えられた．また，これまで注目されることの少なかった介在部導管も唾液分泌に何らかの関与をしている可能性が示唆された．

P-10 アロキサン単回投与によるラット前胃扁平上皮における発癌の誘発

○児玉安史、尾崎清和、近藤由美、松浦哲郎、奈良間功 （摂南大学・薬・安全研）

WBN/Kob ラットの雄は 40 週齢頃から糖尿病を発症するが、糖尿病の早期発症を誘発する目的でアロキサンを単回投与したラットが、投与後 50 週以後、舌、食道、前胃において扁平上皮の増殖性変化を示し、胃では扁平上皮癌に進展したので、今回は胃病変の組織像を中心に報告する。
【方法】7～36 週齢の WBN/Kob ラット 30 匹（雄 18 匹、雌 12 匹）のうち、雄には 50mg/kg、雌には 40mg/kg のアロキサンを尾静脈より単回投与した。経時的に尿糖血糖を測定して糖尿病状態の継続を確認し、投与後 50 週と 75 週時に剖検した。
【結果】剖検した雌雄全例において境界縁付近を中心に前胃の扁平上皮は角化亢進を伴った過形成を示し、境界縁から離れるにつれその程度が減弱した。過形成の程度は大弯側よりも小弯側でより高度であった。週齢の増加に伴い上皮は時折粘膜筋板を越えて下方に増殖し、角質嚢胞を形成した。
また、基底細胞索の下方への不規則な伸張が加齢に伴って増加した。明らかな癌はおよそ 30%のラットに雌雄差なく発生し、組織型は大部分が扁平上皮癌であったが、少数例では腺扁平上皮癌となっていた。癌の大部分は粘膜下織への浸潤にとどまったが、漿膜への浸潤や周囲リンパ節への転移も数例に認められた。粘膜上皮層には化膿性炎症があり、多数例で上皮内に真菌およびグラム陽性桿菌が感染していた。全例において粘膜固有層から粘膜下織には頻繁にリンパ球形質細胞の浸潤からなる慢性炎症性変化を伴っていた。
【結論】アロキサンを投与していない WBN/Kob ラットでは、これまで胃に増殖性病変の発症はなく、本病変は明らかにアロキサンで誘発されたと考えられる。しかし、我々の知る限りアロキサンの発癌性についての報告はなく、発癌のメカニズムは不明である。全例に見られた持続的な炎症や糖尿病状態と増殖性変化の関連について今後検討を加えたい。

P-11

MNNG ラット二段階腺胃発がんにおける選択的 COX-2 阻害剤 Nimesulide の影響

○神吉けい太, 西川秋佳, 古川文夫, 岡崎和志, 梅村隆志, 北村泰樹, 今沢孝喜, 広瀬雅雄(国立医衛研・病理)

[目的] 選択的COX-2阻害剤であるNimesulide (NIM) はこれまで乳腺, 小腸, 膀胱, 大腸などにおいて発がん予防効果が認められている. 一方, COX-2はヒト胃がん組織においても強く発現していることが知られ, NIMによる同様の抑制効果が期待できる. 今回, 胃発がんにおける修飾作用を *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitroso guanidine(MNNG) ラット二段階腺胃発がんモデルを用いて調べた. [方法] 6週齢の雄Wistar系ラットにイニシエーション処置として0.01%のMNNGを8週間飲水投与し, 同時に5%の食塩食を与えた. 9週目からは被験物質であるNIMを400 ppm, もしくは100 ppmの濃度で混餌投与した. 陽性対照群にはイニシエーション処置後に基礎飼料を与えた. さらにイニシエーション処置を施さずに群に9週目から400 ppmのNIMを投与した群, および無処置対照群を設けた. 実験開始から52週間後に屠殺・剖検し, 腺胃について病理組織学的に検索した. [結果] 腺胃粘膜組織における異型的過形成病変をmild, moderate, severeに分類して検索した結果, NIMの投与による有意な修飾効果は見られなかった. また, 腺癌の発生頻度についても陽性対照群の14.3%に対し, 100 ppmのNIM投与群で25.9%, 400 ppmのNIM投与群で11.5%と有意差は見られなかった. [考察] 選択的COX-2阻害剤であるNimesulideのラット腺胃発がんに対する修飾作用は今回の実験条件下では明らかにできなかった.

P-12

N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 誘発ラット胃癌進展における β-catenin の異常

○ 塚本徹哉[1]、山本昌美[1]、酒井洋樹[1,2]、平田暁大[1,2]、立松正衞[1]
([1]愛知県がんセンター・研・腫瘍病理、[2]岐阜大・獣医)

近年、ヒト胃癌で *β-catenin* の変異が報告されている。胃癌発生進展における *β-catenin* 変異の果たす役割をラット腺胃発癌モデルを用いて検討した。8週齢オス ACI ラットに 83 mg/L N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine を 32 週間飲水投与し、第 72 週で屠殺し、発生した胃癌 23 例を検索した。β-catenin の免疫組織学的検索により分化型腺癌の 4 例(17.4%)で異型性の強い部分で核への染色性を認めた。他の 4 例 (17.4%)で細胞質への染色性、残りの 15 例 (65.2%)では膜の染色性のみ見られた。それぞれの箇所より、DNA を抽出し、*β-catenin* 遺伝子の変異を検索したところ、核への染色性の見られる部位で有意($P<0.05$～$P<0.001$)に高率(検索可能な 3/3 例[100%])に変異(codon 34、41、45)が見られたが、他の部位では、変異は認めなかった。ラット胃発癌過程では、β-catenin は多段階発癌において癌の進展する時期に活性化され、細胞異型および構造異型の増強に関与すると考えられた。

P-13

銅、亜鉛強化酵母の azoxymethane(AOM)誘発大腸 aberrant crypt foci(ACF)発生における修飾作用

○杉江茂幸[1,2]、片山雅貴[1]、久野寿也[1]、吉田浩二郎[1]、坂田佳子[1]、廣瀬善信[1]、山田泰広[1]、Pham Quang Vinh[1]、森　秀樹[1]、嶋田昇二[3]　(岐阜大・医・[1]病理、[2]動物実験施設、[3]オリエンタル酵母)

Zn、Cu は、必須微量元素として知られ、共に superoxide dysmutaze に関連する物質である。Zn は、欠乏症が様々報告され、欠乏食で食道癌の促進作用が動物実験報告されている。これらのことから癌の化学予防の有力な候補物質として考えられているが、過剰による毒性も報告されている。一方、酵母については、大腸発癌抑制作用も報告されている。今回、Zn、Cu 強化酵母の修飾効果を ACF を指標とした AOM 誘発大腸発癌モデルにおいて検討したので報告する。

【方法】90 匹の雄 F344 ラットを 20 群に分け、第 1～10 群各 5 匹、第 11～20 群各 4 匹とし、5 週齢より第 2、11 群に 10% Yeast 含有食、第 3、12 群に 5% Yeast 含有食、第 4、13 群に 3% Yeast 含有食、第 5、14 群に 1% Yeast 含有食、第 6、15 群に 5% Zn/Cu 強化 Yeast 含有食、第 7、16 群に 3% Zn/Cu 強化 Yeast 含有食、第 8、17 群に 1% Zn/Cu 強化 Yeast 含有食、第 9、18 群に 5% Zn 強化 Yeast 含有食、第 10、19 群に 5% Cu 強化 Yeast 含有食を与え、第 1、20 群には基礎食を与え、6 週齢より第 1～10 群に 15 mg/kg 体重の AOM を、第 11～第 20 群には生食水を週 1 回計 2 回、皮下内投与した。AOM 最終投与 4 週間後、全匹屠殺、剖検し、ACF の計測と病理組織学的診断を行った。

【結果】 ACF 計測結果、濃度依存性はなかったが、10% Yeast、1% Yeast、3% Zn/Cu 強化 Yeast、5% Cu 強化 Yeast に抑制傾向が認められた。より発癌に関連すると言われる 4 個以上の crypt の ACF は 10% Yeast、5% Yeast、5% Zn/Cu 強化 Yeast、3% Zn/Cu 強化 Yeast、5% Zn 強化 Yeast、5% Cu 強化 Yeast に抑制傾向が認められた。

【考案】Cu、 Zn 並びにその併用投与は、癌の化学予防物質の候補となりうることが示唆された。

P-14

内分泌かく乱物質の Azoxymethane **誘発大腸発がんに対する効果の検討**

○金田信也, 大塚敏広, 滝澤　保, 大西隆仁, 泉　啓介 (徳島大学・医学部・環境病理)

エストロゲン様作用が疑われている界面活性剤の Octylphenol および農薬について Azoxymethane (AOM)誘発ラット大腸発がんに対する効果を検討した。

【材料と方法】6 週齢の雌雄 F344 ラットを7群 (n=9-12)に分け, 20 mg/kg AOM を週 1 回, 計 4 回皮下注射後, 基礎食, 400 ppm 4-n-Octylphenol (nOP), 200 ppm 4-t- Octylphenol (tOP), 400 ppm 2,4-Di-chlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 400 ppm 1,1-Bis(4-chlorophenyl) -2,2,2-trichloroethane (*p,p'*-DDT), 200 ppm Zinc dimethyldithiocarbamate (Ziram)を混餌投与し, また 0.29 mg β-Estradiol 3-benzoate コレステロールペレットを皮下投与し, 24 週後に屠殺した。

【結果】雄の大腸腫瘍については nOP, tOP, 2,4-D, Ziram では修飾作用を示さなかったが, *p,p'*-DDT では促進作用がみられた (P<0.05, 腫瘍個数については P<0.001)。雄の小腸腫瘍, 雌の大腸および小腸腫瘍についてはいずれの試験物質も有意な修飾作用を示さなかった。なお, 陽性コントロールとして用いたβ-Estradiol は体重の増加抑制を示し, 大腸発がん修飾作用を示さなかった。

【結論】今回の条件では *p,p'*-DDT のみが大腸発がん促進作用を示した。さらに, 動物数を追加して検討している。また, Nonylphenol の結果も報告する。

P-15 沖縄原産の薬草である ボタンボウフウ(長命草)のラット **AOM** 誘導大腸発癌モデルにおけるがん化学予防効果の検討

○森岡孝満、酒々井真澄、NABANDITH VIENGVANSAY、稲嶺盛彦、吉見直己
(琉大・医・1 病)

[はじめに] 沖縄県は、長寿県として知られており、生活環境、生活スタイル及び食生活などの観点から長寿因子に関する検討がなされている。しかし、沖縄原産の薬草のがん化学予防効果に関しては科学的な評価はされていないのが現状である。今回、沖縄原産の薬草であるボタンボウフウのがん化学予防効果をラット azoxymethane (AOM)誘導大腸発癌モデルを用いて検索した。
[方法] 5 週齢、雄 F344 ラットを A 群:AOM+基礎食(CE-2)、B 群:AOM+0.2%ボタンボウフウ含有食、C 群:AOM+1%ボタンボウフウ含有食、D 群:AOM+0.025%クロゲン酸含有食(ACF 抑制対照群)、E 群:基礎食単独、F 群:1%ボタンボウフウ含有食単独の 6 群に分け実験を行った。A~D 群において、各 diet 投与開始後、週 1 回 2 週間 AOM(20mg/kg)を皮下注射し、大腸に aberrant crypt foci (ACF)を誘発した。実験開始 5 週間目に剖検し、ACF をカウントした。 さらに、AOM 非投与群である E、F 群において、肝重量測定及び組織学的検索を行いボタンボウフウの肝毒性についても検討した。
[結果] ①C、F 群は、それぞれ A、E 群に比較して体重の抑制傾向がみられた。②C、F 群において肝重量及び体重 100g 当りの肝重量は、それぞれ A、E 群に比較して有意に抑制がみられた。③大腸粘膜における ACF 数は、B 群(低濃度ボタンボウフウ)の方が A 群に比較して有意に低かった。C 群(高濃度ボタンボウフウ)の ACF 数は A 群に比較して低いものの有意差はみられなかった。

P-16 Min マウス大腸粘膜内における異型腺管巣

○山田　泰広、廣瀬　善信、原　明、杉江　茂幸、森　秀樹
(岐阜大・医・腫瘍病理)

＜背景＞ヒト家族性大腸腺腫症(FAP)のモデルマウスである Min マウスは *Apc* 遺伝子に変異を有し、消化管に多数の腫瘍を発生することが知られる。しかしその腫瘍発生の部位はヒト FAP と異なり、大部分が小腸であり、大腸の腫瘍はごく少数である。今回我々は Min マウスの大腸粘膜内病変の有無について検索した。また、大部分の Min マウス腫瘍に認められる *Apc* 遺伝子の LOH について、微少病変に対して検索を行った。
＜方法＞Min マウスは SPF 管理下に、基礎食にて飼育し、150 日齢以降のマウスを使用した。大腸粘膜を粘膜面に水平方向に包埋後、連続切片を作製し HE 染色を行い、粘膜内病変を観察した。組織切片上の粘膜内病変は、LMM および LCM により採取し、DNA を抽出後、ミスマッチプライマーを用いた PCR-RFLP 法にて LOH を検索した。
＜結果＞Min マウス大腸粘膜内には少なくとも 20 個以上の異型腺管巣を認めた。異型病変の面積あたりの数は小腸よりも大腸の方が有意に多かった。小腸の異型病変は様々な大きさを示したが、大腸異型腺管巣は 95%以上が直径 300 μm 以下であり、1~6 個の異型腺管の集合であった。腫瘍のみならず、大腸異型腺管巣でもすでに *Apc* 遺伝子の LOH が認められた。
＜考察＞Min マウスにおいて、小腸と同様に大腸にも異型腺管病変が存在することが分かった。大腸異型腺管巣では、すでに Apc 遺伝子の LOH が観察され、*Apc* 遺伝子 LOH は小腸のみならず大腸においても頻繁に生じていることが示唆された。しかしながら大腸では大部分の病変は 300 μm 以下の微少病変であり、小腸とは異なり *Apc* の不活化のみでは腫瘤形成には不十分であることが推察された。

P-17 ラット実験肝発がんの悪性進展における TGFαの果たす役割

○内藤　暁宏、上田　しのぶ、高須賀　信夫、津田　洋幸（国立がんセ・研・化療）

【目的】TGFαは肝細胞の増殖に関与し、In vitro で肝がん細胞において mRNA 及びタンパク質の発現がみられる。更に、TGFαトランスジェニックマウスを用いた実験系等から、前癌病変の発生におけるその役割が認識されてきた。しかし、前がん病変から進展悪性化過程における役割に関するデータは得られていない。ラットにおいては、前がん病変の陽性マーカー(GST-P 陽性巣等)が存在し、腫瘍病変の性格や発がん過程の修飾因子についてのデータが豊富なことから TGFαトランスジェニックラットを作出し、TGFαの肝発がんの発生・悪性進展化に関する役割を検討を始めた。
【方法】TGFαトランスジェニックラットの導入遺伝子は Cre/loxP を用いたコンディショナルな発現系とした。導入遺伝子の発現制御はユビキタスな CAG プロモータを用いるが、Cre 非共存下では 2 つの loxP サイト間に neo 耐性遺伝子が介在するため発現できないが、Cre 存在下では除去され、TGFα遺伝子の発現が誘導される方法である。Cre は肝臓への特異性を持たせるため、Adenovirus(AdeX/Cre)を用いた。作製したトランスジェニックラットを用いて、8 週齢時に門脈より AdeX/Cre を静注し 4 週後屠殺し、腫瘍の自然発生に対する影響について検討を行った。また、18 週齢時に部分肝切除を行い、24 時間後に AdeX/Cre を投与、更に 6 日後 DEN(40mg/kg)を腹腔内投与し、3 週後に屠殺し DEN 誘発肝発がんに対する影響について検討を行った。
【結果】トランスジェニックラットに AdeX/Cre を門脈より注入した個体の肝臓では前がん病変の GST-P 陽性巣の発生が確認された(AdeX/Cre:6.7 foci/cm^2, Cont:0 foci/cm^2)。更に、DEN 誘発肝発がん実験系に於いても GST-P 陽性巣の顕著な増加(AdeX/Cre:60.1 foci/cm^2, Cont:20.8. foci/cm^2)が見られ、肝発がんが促進された。
現在、コンディショナルな発現形質を生かし、DEN 投与後に TGF α の発現を誘導し、ポストイニシエーション過程における TGF α の果たす役割につて検討を行っている。

P-18

Aminophenylnorharman の p53 ノックアウトマウスにおける肝臓薬物代謝酵素誘導と発がん

○飯高 健[1,2]、塚本 徹哉[1]、山本 昌美[1]、酒井 洋樹[1,2]、白井 紀充[1,2]、戸塚 ゆ加里[3]、若林 敬二[3]、立松 正衞[1]
([1]愛知がんセ・研・腫瘍病理、[2]岐阜大学・農・家畜病理、[3]国立がんセ・研・がん予防)

Aminophenylnorharman (APNH)の発癌性を検討するため、p53 ノックアウトマウス null (-/-), heterozygous (+/-), wild type (+/+) を用いた発癌性試験を行い、APNH の肝標的性および肝発癌性を示唆するデータを得た。長期試験における肝増殖性病変は、雄に比較して雌で発生頻度が高く、肝臓を含む代謝あるいはホルモン環境との関連性が示唆された。今回、APNH のマウス肝臓における薬物代謝酵素誘導について検討した。肝臓における APNH の薬物代謝酵素誘導活性を検討するため、p53 ノックアウトマウス wild type (C57BL/6J Jcl) 5 週令雌に 3, 10, 30 及び 100ppm の APNH を 1 週間混餌投与し、RT-PCR 法にて、肝組織のチトクローム P450 1A1, 1A2 (CYP1A1, CYP1A2) mRNA の発現量を調べた。3, 10, 30ppm 投与群の mRNA の発現量は CYP1A1, CYP1A2 ともにほぼ対照群と同様であったが、100 ppm 群では、対照群に比較し CYP1A1 で約 9 倍、CYP1A2 で約 1.6 倍の発現誘導がみられた。同時に肝臓における DNA adduct 形成を調べたところ，投与濃度依存性に増加が認められた。さらに，性差および genotype と薬物代謝酵素誘導との関連性を検討するため，雌雄 p53 ノックアウトマウス null (-/-), heterozygous (+/-), wild type (+/+) 5 週令に 3, 10, 30 及び 100ppm の APNH を 1 週間混餌投与し，肝組織の CYP1A1, CYP1A2 mRNA の発現量を調べ，長期試験で得られたデータとあわせて APNH のマウス肝臓における薬物代謝酵素誘導の発癌性とを関連を検討した。

P-19

チオアセトアミド誘発肝障害ラットにおけるマクロファージ遊走阻止因子の分布と発現

○佐藤 伸[1]、堀 友花[2]、山手丈至[3]、斎藤 健[4]、蔵崎正明[5]、嵯峨井 勝[1]
([1]青森県立保健大・健康科学、[2]函館短大・食物栄養、[3]大府大院・獣医病理、[4]北大院・医・環境医学、[5]北大院・地球環境科学・環境情報医学)

【はじめに】肝線維化の進展においてマクロファージは、種々のサイトカインを放出することから重要な役割を果たしていると考えられている。一方、マクロファージ遊走阻止因子(MIF)は、炎症部位でマクロファージの集積を調節する因子として知られているが、肝線維化進展における MIF 発現とマクロファージ浸潤との関連についてはほとんど知られていない。そこで、本研究では肝線維化における MIF の役割を調べるために、チオアセトアミド(TA)投与により誘発した肝障害ラットの肝中の MIF 及びマクロファージの局在を免疫組織化学的に検討した。【方法】Wistar 系雄性ラット(4 週齢)に TA(200mg/kgBW、週 3 回)を腹腔内投与し、投与後 1 あるいは 6 週に屠殺し、血漿及び肝を採取した。また、同量の生理食塩水を投与したものを対照群とした。得られた血漿中の AST、ALT 及び ALP を測定した。肝についてはパラフィン切片を作製し、HE 染色及びアザン染色を施した。また、ED1(ラット浸潤マクロファージ)及び MIF に対する免疫染色を施した。なお、ED1 陽性細胞については単位面積あたりの出現数を求めた。【結果及び考察】TA 投与 6 週では、AST、ALT 及び ALP 値は、対照群に比べて上昇した。また、組織学的には、線維束によって分断される偽小葉が形成され、進行性の肝線維化の特徴的な組織像が観察された。免疫組織化学的には ED1 陽性細胞は TA 投与 1 週で中心静脈周囲から門脈域にかけて観察され、6 週では線維化領域に認められた。その出現数は対照群に比べて増加していた($p<0.001$)。一方、MIF の陽性反応は TA 投与 6 週における線維化領域に隣接する肝細胞で強く認められたが、線維化部域ではほとんど観察されなかった。これらの結果から、肝線維の過程において MIF は主に肝細胞で産生され、放出されることにより線維化領域にマクロファージが集積する可能性が示唆された。

P-20

LECラット肝におけるメタロチオネイン、HNE 修飾蛋白およびHSP60 の免疫電顕的観察

○今沢孝喜[1]、西川秋佳[1]、曽根秀子[2]、梅村隆志[1]、北村泰樹[1]、神吉けい太[1]、広瀬雅雄[1]
([1]国立衛研・病理部、[2]国立環境研)

【目的】LECラットは銅の代謝異常を有し、肝炎発症後に肝細胞癌を自然発症する。今回、LECラットの肝障害発症のメカニズムを追究する目的で、銅の代謝に関連するmetallothionein (MT)の誘導、酸化的ストレスに関連する4-hydroxynonenal (HNE)修飾蛋白およびheat shock protein 60 (HSP60)の局在について経時的に免疫電顕的に検索した。【方法】4、16、20、24週齢のLECラットおよび対照として4、20週齢のLEAラットを各6匹ずつ剖検し、肝を摘出した。LR. White樹脂包埋し、超薄切片作製後、金コロイド法により抗MT抗体、抗HNE抗体および抗HSP60抗体を用いて免疫電顕的に染色した。【結果】LECラットの16週齢で二次性ライソゾームの増生、20週齢で核内封入体の出現、24週齢ではこれらの変化に加え小胞体の拡張や核形状の不整が観察された。MTはLECラットの4週齢からミトコンドリアを除く細胞質全体に、20週齢では最も強く発現していたが、24週齢では発現が弱くなった。HNEはLECラットの16、20週齢でミトコンドリアや核周囲に認められ、24週齢では核内にも発現した。HSP60 は16週齢よりミトコンドリアに強発現したが、核は陰性～弱陽性を示し、その後も発現性は変わらなかった。【考察】免疫電顕的に、MTは4週齢から発現し、20週齢で最も強く認められたことから、肝炎発症前まで銅はMTと複合体を形成・蓄積し、それに同調してHNEが発現するものと考えられた。HSP60は熱ショック因子(HSF)によって発現が制御され、HSFが核内へ移行して役割を果たすものと推定されている。本実験では核内のHSP60の発現が弱かったことから、HSFが核内に移入されず、シャペロンとして細胞防御の機能を充分に果たしてないことが推察された。

P-21　DEN 低濃度長期投与により生じるﾏｳｽ肝内胆管嚢胞状過形成に対するﾍﾟﾝﾀｸﾛﾛﾌｪﾉｰﾙの促進効果

○梅村隆志、児玉幸夫[1]、神吉けい太、北村泰樹、今沢孝喜、西川秋佳、広瀬雅雄（国立医衛研・病理、[1]毒性）

「目的」DEN をﾏｳｽに低濃度で長期間暴露すると、肝内胆管嚢胞状過形成が観察される。形態学的に同様の病変は SV-40 T-antigen ﾄﾗﾝｽｼﾞｪﾆｯｸﾏｳｽで生後１ヶ月目より自然発生し、時間の経過と共に胆管癌へと進行する。そこで、DEN 投与により生じる本病変が化学物質投与により腫瘍へと進展する可能性を検索する目的で、ﾏｳｽ肝ﾌﾟﾛﾓｰﾀｰ物質ﾍﾟﾝﾀｸﾛﾛﾌｪﾉｰﾙ(PCP)とﾌｪﾉﾊﾞﾙﾋﾞﾀｰﾙ(PB)による影響を検討した。「方法」（実験 1）各群 5 匹の雄 5 週令の B6C3F1 ﾏｳｽに、それぞれ基礎食、PCP 600 ppm を混餌、PB 500 ppm を飲水にて 2 週間投与した。動物には BrdU を前処置し、肝細胞ならびに肝内胆管上皮細胞における標識率を計測した。同時に肝から核 DNA を抽出し、HPLC-ECD により 8-ﾊｲﾄﾞﾛｷｼﾃﾞｵｷｼｸﾞｱﾉｼﾝ(8-oxodG)レベルを測定した。（実験 2）1～5 群の各群 20 匹のﾏｳｽに、それぞれ最初の 2 群には蒸留水を、残りの 3 群には DEN 20 ppm を 13 週間飲水投与し、4 週間の休薬後、1 および 3 群には基礎食、2 および 4 群には PCP 600 ppm を混餌、5 群には PB 500 ppm を飲水にて 25 週間投与した。肝内胆管病変は HE 染色標本により嚢胞状過形成、異型過形成、胆管腺腫、胆管腺癌に分類した。「結果」PCP の 2 週間投与により、肝細胞、肝内胆管上皮細胞の BrdU 標識率と肝 DNA 中 8-oxodG レベルの有意な上昇が認められた。一方、PB 投与では肝細胞の BrdU 標識率の上昇は認められたが、胆管上皮に変化は観察されず、8-oxodG レベルの上昇も認められなかった。また、DEN を 13 週間投与したすべての群で嚢胞状過形成が観察されたが、DEN 投与後 PCP を投与した群では異型過形成、胆管腺腫および胆管腺癌の発現が有意に促進された。しかし、PB 投与は胆管病変に影響を与えなかった。「考察」DEN 誘発の肝内胆管嚢胞状過形成は PCP 投与により胆管腫瘍へと進展したことから、嚢胞を裏打ちする上皮細胞はｲﾆｼｴｰﾄされた細胞であり、PCP が引き起こす酸化的ｽﾄﾚｽは胆管上皮に対してもﾌﾟﾛﾓｰｼｮﾝ作用を発揮する可能性が示された。

P-22　L-Buthionine (S,R)-sulfoximine（BSO）の飲水投与による持続的 glutathione（GSH）低下モデル動物の作製

○ 渡辺稔之，匂坂秀樹，荒川真悟，柴谷由佳梨，加藤かおり，寺田仁美，渡辺真弓，村松啓子，五十嵐功，戸塚繁夫，真鍋淳，高崎渉（三共株式会社・安全性研究所）

【目的】化学物質による毒性の機序解明への応用を目的として，GSH 合成阻害剤である BSO をマウスに飲水投与し，持続的 GSH 低下モデル動物の作製を検討した．【方法】① マウスに BSO（0, 5, 10, 20 および 30 mM）を 14 日間飲水投与し，肝臓，腎臓，脳，肺，心臓，脾臓，膵臓，小腸，大腸，骨格筋，血球および血漿中の GSH 含量を定量した．同時に BSO による毒性の有無を検討した．② マウスに BSO（0 および 20 mM）を 14 日間飲水投与後，9:00, 13:00, 17:00, 21:00, 1:00 および 5:00 に解剖した．方法 ① 同様に組織中 GSH 含量を定量し，BSO が GSH 含量に及ぼす影響を時間帯毎に検討した．③ BSO（0 および 20 mM 飲水投与）ならびに acetaminophen（APAP, 0, 0.125 および 0.25%混餌投与）を 14 日間併用したマウスにおいて，APAP による毒性に BSO が影響を及ぼす可能性を検討した．【結果】① BSO 投与に起因する毒性は，30 mM 投与群における有意な肝臓重量減少のみであった．GSH 含量は BSO 投与用量の増加に伴い減少し，20 mM 投与群では肝臓（対照群比 45%），腎臓（同 10%）をはじめ，脳を除くすべての組織で対照群の約半分以下に減少した．② 一部の臓器では GSH 含量に日内変動が認められたが，BSO 投与群の GSH 含量はすべての時間帯で対照群よりも低値を示した．③ BSO と 0.25% APAP の併用群では 10 例中 9 例が投与 2 日目に死亡し，小葉中心性の肝細胞壊死ならびに腎尿細管上皮細胞の壊死が認められた．また，BSO と 0.125% APAP の併用群では死亡例は認められなかったものの，一部の動物に小葉中心性の肝細胞壊死が認められた．一方，APAP 単独投与群には障害は認められなかった．【結論】BSO（20 mM）のマウスに対する 14 日間飲水投与により，毒性を発現することなく，脳を除く各種臓器で持続的に GSH 含量が減少した．また，APAP の併用により，両剤の単独投与では認められなかった肝細胞ならびに腎尿細管上皮細胞の壊死が認められた．以上の結果から，BSO（20 mM）のマウスに対する飲水投与により，持続的 GSH 低下モデル動物の作製が可能であり，化学物質による毒性の機序解明に応用できることが明らかとなった．

P-23

The LPS Effects on the PEA-induced Hepatotoxicity in Rats

O陳憲全HANS CHEN(Green Seasons Biot Co.,Taiwan),邱健昭CC CHIU(Nat'l Chunghsing U),莊曉莉 HL CHUANG (Nat'1 Taiwan U),and 黃彥智 YT HUANG(Nat'1 Lab Anim Breeding & Res Ctr)

Pseudomonas aeruginosa elaborates exotoxin A (PEA) that may play major roles to liver damage in deliberated or immunodeficient patients. Lipopolysaccharide (LPS), an endotoxin generated in Gram-negative bacteria during the infection may also play important roles. The purpose of present study is to detect if the LPS of various bacterial origins contributes a symbiotic or intensive effect on the PEA-induced hepatotoxicity. A variety of LPSs at a dose level of 40 ug/kg was administered to our established rat model (the hepatoxicity evaluated in rats with i.v. injection of PEA at dose levels of 20 to 60 ug/kg/head and at different time points of 12 to 72 hours). Rats following the LPS exposure for 20 min, a dose of PEA at 15 mg/kg (non-hepatotoxicity level) was injected. The effects were evaluated in clinical observations, blood chemistry, and histopathology. Animal mortality was 37.5, 25, or 20% in the rats with LPS of *S. typhimurium*, *E. coli* B5, or *S. abortus equi*, respectively. No death was observed in rats with LPS of *E. coli* B4, or *P. aeruginosa* origin. Different blood chemistry effects were noted in the rats with LPS of *S. typh* (ALT 1871±246.3, AST 2474±185.7), *E. coli* B5 (ALT 1134±199.2, AST 1671±337.5), *S. abor* (ALT 3387±592.9, AST 4720±727.1), *E. coli* B4 (ALT 1005±260, AST 1502±405.4), and *P. aeru* (ALT 1659.8± 218.4, AST 2110±287.2). Similar differences were noted in liver pathology as to focal necrosis and Councilman-like acidophilic body. In conclusion, liver toxicity induced in rats with LPS of *S. tyhy*, *S. abor*, and *E. coli* B5 origin, and with subsequrnt PEA treatment was more severe than that of *E. coli* B4 and *P. aeru.*

P-24

Trimethylarsine Oxideのラットにおける発癌性の検討

○沈 鈞、鰐渕英機、エリサイド・サリム、魏 民、土井賢一郎、福島昭治
（大阪市大・院・医・都市環境病理）

［目的］砒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。有機砒素化合物のDimethylarsinic acid(DMA), Monomethylarsonic acid(MMA), Trimethylarsine Oxide (TMAO) は、無機砒素の主な尿中代謝物であり、我々は以前DMAがラット膀胱に発癌性は明らかにした。また、MMAの膀胱およびMMA ,DMAとTMAOの肝臓発癌促進作用をラット中期発癌性試験法を用いて明らかにした。今回、我々はTMAOのラットにおける2年間発癌性試験を実施した。
［方法］10週齢の雄性F344ラット129匹を3群分け、それぞれに0、50、および200 ppmのTMAOを飲水投与した。ラットは104週実験終了時に屠殺し、全臓器の病理学的検索をおこなった。また、最終屠殺時に腹部大動脈より採血し、血液学的検査と生化学検査、肝臓の8-OHdG測定をおこなった。
［結果］TMAO 0 ppm、50 ppm、200 ppm 投与群の肝臓腺腫発生率はそれぞれ14.3%、28.6%、37.8 % (無処置群に対し、p＜0.05) であった、各群の非腫瘍部の肝臓PCNA陽性細胞率 (陽性細胞数／1000 細胞) はそれぞれ30.78、54.11、61.09と用量反応の関連性を示し、さらに200 ppm 投与群の肝臓8-OHdG陽性細胞率は無処置群より有意に増加した。
［結論］TMAOは雄性F344ラットに肝臓発腫瘍性を示すことが明らかとなった。また、酸化的DNA損傷の形成と細胞増殖の亢進が発腫瘍性に関与性いることが明らかとなった。

P-25 肝障害誘発物質投与によるラット肝臓の病理組織学的変化とmRNAの発現 ① CCl_4およびacetaminophenを用いた初期毒性マーカーの検討

○ 日下部愛泉[1]、内海博之[1]、岡田味世子[1]、田中英樹[2]、坂入鉄也[1]、土屋毅幸[1]、小林潔[1]、高木司郎[1] (三菱ウェルファーマ・[1]安全性研、[2]創薬基盤研)

【はじめに】肝障害物質である四塩化炭素（CCl_4）およびacetaminophen（APAP）投与により誘発されるラット肝臓のmRNA発現と血液生化学的および病理組織学的変化を比較し、mRNAの発現が肝毒性のより鋭敏な初期毒性マーカーとなる可能性について検討した。
【材料および方法】6週齢の雌IGSラットに、CCl_4 1.2 mL/kgおよびAPAP 1000 mg/kgをそれぞれ単回経口投与し、投与8および24時間後に各3例を採血後，放血致死させ肝臓を摘出した。また、対照群として溶媒投与群を設定した。肝臓からtotal RNAを抽出し、肝障害に関わると推定される各種遺伝子（TNFα, IL-1β, NF-κB, IFNγ, iHSP70, HO-1, iNOS, GADD45, Caspase 3, HGF, UDPGTなど）についてmRNAの発現をQuantitect SYBR Green RT-PCR Kit（QIAGEN）を用いて、real timePCR（ABI PRISM7900）により定量化した。また、血清中のASAT, ALAT, アルカリホスファターゼおよび総ビリルビンの測定および肝臓の病理組織学的検査を行った。
【結果およびまとめ】CCl_4投与群：投与8時間後では、血液生化学的および病理組織学的検査に異常は認められなかった。24時間後では、ASATおよびALATの上昇と小葉中心性の肝細胞壊死および水腫変性が認められた。mRNAの発現については、ALATの上昇や病理組織学的変化に先行して、投与8時間後からTNFα, IL-1β, NF-κB, iHSP70, HO-1, iNOS, GADD45が増加し、さらに24時間後にはHGFの発現が増加した。APAP投与群：投与8時間後では、血液生化学的および病理組織学的検査に異常は認められなかったが、投与24時間後にはASATおよびALATの上昇と小葉中心性の肝細胞壊死が認められた。mRNAの発現については、投与8時間後からiHSP70, HO-1, iNOS, GADD45が増加し、24時間後にさらにTNFα, IL-1β, HGFの発現が増加した。以上の結果から、薬剤誘発性の肝障害においてiHSP70, HO-1, iNOS, GADD45などのmRNAの発現は、より鋭敏な初期毒性マーカーとなる可能性が示唆された。

P-26 肝障害誘発物質投与によるラット肝臓の病理組織学的変化とmRNAの発現 ② α-Naphthylisothiocyanateと Concanavalin Aを用いた作用機序解析の有用性

○ 岡田味世子[1]、池田五子[1]、内海博之[1]、田中英樹[2]、坂入鉄也[1]、後藤和広[1]、佐野文子[1]、杉本次郎[1]、高木司郎[1] (三菱ウェルファーマ・[1]安全性研、[2]創薬基盤研)

【はじめに】肝障害物質であるα-Naphthylisothiocyanate (ANIT)およびConcanavalin A (ConA)投与により誘発されるラット肝臓のmRNA発現と血液生化学的および病理組織学的変化を比較し、mRNA発現の毒性機序解析における有用性について検討した。
【材料および方法】6週齢の雌IGSラット(2-3匹/群、計20匹)に、ANIT 200 mg/kgおよびConA 20 mg/kgをそれぞれ単回経口あるいは静脈内投与し、ANITでは投与8, 24, 48時間後に、ConAでは投与4, 8, 24時間後に採血し、放血致死させ肝臓を摘出した。対照群として溶媒投与群を設定した。肝臓からtotal RNAを抽出し、肝障害に関わると推定される各種遺伝子についてmRNAの発現をreal time PCRにより定量化した。また、血清中のASAT, ALAT, アルカリホスファターゼ(ALP)および総ビリルビン(T-Bil)の測定および肝臓の病理組織学的検査を行った。
【結果およびまとめ】ANIT投与群：mRNAの発現については、投与8時間後からiNOSが、24時間後からIL-6およびUDPGTが、48時間後ではTNFαおよびPCNAがそれぞれ増加した。血液生化学的検査では、投与8時間後からT-Bilが上昇し、さらに24時間以降はASAT, ALATおよびALPが上昇した。病理組織学的検査では、8時間後から門脈域の白血球浸潤が、24時間以降では胆管炎が認められた。ConA投与群：mRNAの発現については、投与4時間後からTNFα, IL-6, IFN-γ, iNOS, Caspase3, NF-κB, IL-1β, GADD45およびFasLが増加し、24時間後には減少傾向が認められた。血液生化学的検査では、投与4時間後にASATおよびALATが上昇したが、8時間後にASATが、24時間後にはALATが正常値に戻った。投与4時間後の病理組織学的検査では、変化は認められなかったが、8および24時間後に門脈域および中心静脈周囲で単核球系細胞浸潤が認められた。ANITでは胆汁うっ滞に関わるUDPGTのmRNAの発現が増加し、ConAでは細胞性免疫およびアポトーシスに関するmRNAの変動が認められた。以上、薬剤誘発性の肝障害において、mRNAの発現はその作用機序の解析に有用であることが示唆された。

P-27

フェノバルビタールによる遺伝子発現の用量相関性 —3次元マイクロアレイシステムを用いた解析—

○市原敏夫[1]、廣田毅[1]、今井則夫[1]、朝元誠人[2]、外岩戸尚美[2]、白井智之[2]、玉野静光[1]（[1]大雄会医科研、[2]名市大・院・医・実験病態病理）

【目的】これまで我々は肝中期発がん性試験（伊東法）を用いて、前がん病変であるGST-P陽性細胞巣を指標とし多くの化合物の発がん性評価を行ってきた。近年マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析による発がん性予測の可能性について検討が進められている。そこで今回、3次元マイクロアレイシステム（PamChip、オリンパス光学工業㈱）を用い、ラット肝発がんプロモーターであるSodium Phenobarbital（PB）の肝中期発がん性試験におけるGST-P陽性細胞巣の発現頻度と遺伝子発現を検討した。
【方法】6週齢の雄性F344ラットを用い、DENを200mg/kgの用量で1回、腹腔内投与し、その2週間後よりPBを0,30,60,125ppmの濃度で飼料中に混じて6週間経口投与した。また、生食を投与後、PBを同様に投与する群を設けた。いずれの群も実験3週目に2/3肝部分切除を行った。実験期間8週間で屠殺剖検し、GST-P陽性細胞巣の定量的解析および3次元マイクロアレイシステムを用いた遺伝子発現解析を行った。PBのみを2週間混餌投与することによる遺伝子発現解析についても行った。
【結果】PBによる用量に依存した肝重量の増加が認められ、DEN投与群においてはGST-P陽性細胞巣がPBの用量に依存して増加した。3次元マイクロアレイシステムを用いた解析ではPB投与群でCYP2B1、CYP3A2等の遺伝子発現が用量依存的に増加した。
【結論】3次元マイクロアレイシステムは遺伝子発現の用量反応解析に適していることが明らかとなった。

P-28

M期特異的抗体HTA28によるラット肝部分切除（PH）後の細胞増殖動態の解析

○平田暁大[1,2]，稲田健一[1]，塚本徹哉[1]，酒井洋樹[1,2]，山本昌美[1]，稲垣昌樹[3]，立松正衞[1]
（[1]愛知がんセ・研・腫瘍病理，[2]岐阜大・農・家畜病理，[3]愛知がんセ・研・発癌制御）

現在，組織学的に細胞増殖期のM期のみを特異的に認識する抗体は存在しない。HTA28はヒストンH3（H3）のリン酸化されたSer28に対するラットモノクローナル抗体である。H3のSer28のリン酸化反応は，M期の初期に染色体濃縮と一致して起こることが報告されており，HTA28は組織学的にM期を特異的に認識可能なマーカーになり得ると考えられる。今回，ラット肝部分切除（PH）後の細胞増殖動態について，HTA28およびBrdU免疫染色，H.E.染色による核分裂像の同定を行い比較検討した。　【方法】1群3～5匹の7週齢，♂，F344ラットを用いた。PHを施し，屠殺1時間前にBrdUを腹腔内投与し，PH12,18,24,30,36,48,60,72時間および7日後に屠殺した。肝臓を摘出し，10%中性ホルマリンにて24時間固定後，BrdUおよびHTA28の免疫染色、H.E.染色を行い，陽性率を算出した。　【結果】BrdU陽性率は上昇，低下を繰り返し，18,36,60時間後を頂点とする三峰性の変化を示した。核分裂像の動態は，BrdU陽性細胞の動態と約12時間の時間差で相関性を示し，同様に三峰性の変化を示した。HTA28陽性率は、核分裂像の動態と高い相関性を示し，核分裂像と比べ高い陽性率を示した。HTA28の免疫染色において，陽性細胞の核は濃染し容易に識別可能であり，有糸分裂像のみではなく，M期の初期と考えられる正常な核形態を示す細胞も陽性を示した。　【考察】HTA28陽性率は核分裂像の動態と高い相関性を示し，初期の細胞から広くM期の細胞を認識可能なマーカーであることが示された。また、肝部分切除後の細胞増殖動態ではS期とM期の間には約12時間の時間差が認められた。

P-29　ウシγグロブリン誘発カニクイザル糸球体腎炎モデルの作製

○楊秀英、賓来直人、河野一樹、上村裕洋、平川公昭、前田博、宮嶌宏彰（株式会社　新日本科学)

[初めに] 糸球体腎炎のモデルについては，種々の実験動物により作製が試みられているが，その臨床像においては，ヒトの糸球体腎炎との相違があり、よりヒトに近い糸球体腎炎モデルを作製することが望まれている．今回、我々はカニクイザルを用いて糸球体腎炎モデルの作製を試みたので報告する。 [方法] １５例の４～6 歳の雄カニクイザルを用いて、ウシγグロブリン(BGG)溶液と Freund 完全アジュバント（１回目感作）あるいは Freund 不完全アジュバント（２，３回目感作）を等量混合した後、皮内投与により感作を行った。その後、BGG 溶液を前腕橈側皮静脈内に１０週間投与(週に 5 回投与)した。惹起後２，４，６，８および１０週に血液生化学的および尿検査を行い、惹起終了後１０週に 5 例の腎組織を採取し、病理組織標本（HE, PAM, Masson trichrome）および電子顕微鏡標本を作製し、検索した。 [結果] 血液生化学的検査では、惹起後２週目から総蛋白 の増加傾向、アルブミンの減少、４週目から BUN およびクレアチニンの増加が認められた。尿検査では、尿蛋白量の増加および尿中クレアチニンの減少が観察された。病理組織学的検査では、5 例の中２例に糸球体の分葉状像、メサンギウム領域の拡大、局所的な Mesangiolysis および癒着が観察され、電子顕微鏡的検査では免疫複合体の沈着がメサンギウム領域およびパラメサンギウム領域に確認できた。 [結論] BGG 感作によりカニクイザルのメサンギウム増殖性糸球体腎炎が誘発されることが明らかとなった。今後，糸球体腎炎の発生における感作方法並びに臨床病理学的検査との関係を検討し，カニクイザルにおける糸球体腎炎モデル動物としての有用性を検討する予定である.

P-30　4-Nonylphenol投与によるラット再生尿細管の増加

○竹下 文隆[1]、今井田 克己[2]、二口 充[1]、小川久 美子[1]、鈴木 周五[1]、白井 智之[1]
（1名市大・院・医・実験病態病理、2香川医大・医・腫瘍病理学）

【緒言】4-Nonylphenol (4NP)は、ゴムやプラスチック製品、塗料などの製造過程で用いられているが、estrogen receptorに結合しestrogen様作用を示すという報告があり、ヒトへの内分泌攪乱作用が懸念されている。我々はこれまでに、3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl（DMAB）誘発ラット前立腺がんモデルにおいて、4NPは前立腺に対して発がん修飾作用を示さないことを報告してきた。今回は、DMABの非標的臓器である腎臓において4NP投与により再生尿細管の発生増加がみられ、環境中で検出されうるに近い低用量も含め、その用量相関性を検討した。

【方法と材料】6週齢のF344雄ラットを用い、DMAB（50 mg/kg bw）を隔週1回計10回皮下投与し、実験開始第20週より4NP（2000, 250, 25, 0 ppm）をsoybean free diet中に混じて第60週まで投与した。また、DMABを投与せずに、第20週から40週間4NP（2000, 250 ppm）を投与した群を設けた。全群を投与期間終了後、屠殺剖検した。DMAB単独投与群を4NP非投与群として、腎臓を病理組織学的に検索した。

【結果】屠殺時の腎臓の相対重量は、DMAB+4NP 2000 ppm群で、DMAB+4NP 25 ppm群および4NP 250 ppm単独投与群に対して有意な増加がみられた。腎臓の再生尿細管のラット1匹あたりの個数は、DMAB+4NP 2000 ppm群（10.4±4.9）と4NP 2000 ppm単独投与群（11.4±3.7）は、ほぼ同じ程度で、いずれも4NP非投与群（3.5±2.2）に比べて有意に増加した。一方、4NP 250 ppmおよび25 ppmの投与では、DNAB投与の有無に関わらず、4NP非投与群との間の有意差、および濃度依存性はみられなかった。

【結論】4NPはラットの腎臓に対してDMAB投与の有無に関わらず高濃度で毒性を示すことが示唆されたが、環境中から検出されるうる低濃度では毒性発現の可能性は低いと考えられた。

P-31

BEA 誘発ラット腎乳頭壊死発生における血小板凝集の役割

○南　孝則，福田芽衣子，下元貴澄，佐藤　亮，松本智志，北浦敬介（大塚製薬・徳島研）

【緒言】2-bromoethylamine (BEA)誘発腎乳頭壊死では毛細血管内に血小板凝集が観察される。ラットでは血小板凝集は腎乳頭壊死の結果であり，壊死発生に血小板凝集は関与していないと報告されているが，スナネズミでは血小板凝集による梗塞が腎乳頭壊死の原因と考えられている。我々は抗血小板剤を投与したラットに BEA を投与し，ラットの BEA 誘発腎乳頭壊死の発生または増悪に血小板凝集の関与がないのかどうかを調べた。

【方法】6 週齢の雄性 SD 系ラットに抗血小板剤のチクロピジン 300 mg/kg を 1 日 1 回，5 日間連続経口投与を行った。対照群には媒体(1%HPMC 溶液)を経口投与した。媒体またはチクロピジンの 3 回目投与 1 時間後に BEA 100 mg/kg を腹腔内投与した。投与期間中毎日体重を測定した。最終投与日の午後に採血を行い，採血した血液を用いて ADP 添加による血小板凝集能を測定した。腎臓は腎乳頭壊死の観察および乳頭壊死面積の測定を行った。

【結果】1)チクロピジン投与により体重増加抑制がみられた。2)チクロピジン投与群の血小板凝集率は有意に抑制され，その値は対照値の 33%～70%であった。3)腎乳頭壊死の発生頻度および乳頭壊死面積にチクロピジン投与の影響はみられなかった。

【考察】ラット BEA 誘発腎乳頭壊死において血小板凝集は腎乳頭壊死の原因ではなく，腎乳頭壊死の結果生じた生体反応であることが強く示唆された。

P-32

PhIPラット前立腺癌におけるPINからCarcinomaへの進展に関わる因子の追究

○曹　永晩、二口　充、朝元誠人、稲熊真悟、白井智之（名市大・院・医・実験病態病理）

環境発がん物質である2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine(PhIP)によりラット前立腺に前癌病変であるprostatic intraepithelial neoplasia (PIN)およびadenocarcinoma (Ca)が誘発される。この進展に関して病理組織学的に検索し、細胞増殖因子の変化およびβカテニンの変異について追究した。

【方法】6週齢のF344雄ラットにPhIPを400ppmで20週間混餌投与し、実験第20, 40, 60週で屠殺剖検し、前立腺を病理組織学的に検索した。 Ki-67, PCNA, p21, p27, Cyclin D1, Cyclin Eを免疫組織学的に染色しPINおよびCaにおける標識率を算出した。またLaser Capture Microdissectionを用いて病変部のみを切り抜き、βカテニンの点突然変異の有無を検討した。

【結果】病変の進展に伴い構造異型・核異型が増加した。Ki-67, PCNA, Cyclin D, Cyclin Eの陽性細胞率はPINに比してCaでは上昇傾向が、p21, p27陽性細胞率は減少傾向がみられた。いずれの病変もβ-カテニンの発現は細胞膜に限局し、β-カテニンの遺伝子変異は見られなかった。

【結論】ラット前立腺において、前癌病変から癌へ進展するには、組織学的に構造異型・核異型が増し、より強力な細胞増殖が行われることが明らかとなった。この進展には、βカテニンの変異の関与はみられず他の要因が示唆された。

P-33 L-システイン誘発ラット精子肉芽腫におけるマクロファージの動態の免疫組織化学的検討

○澤本　修[1,2], 山手丈至[2], 篠原誠治[1], 桑村　充[2], 小谷猛夫[2], 栗栖和信[1]
([1]大塚製薬工場・栄養研, [2]大阪府大・院・獣医病理)

我々はこれまでに生体内に存在するアミノ酸の一つである L-システインの高暴露により, 性成熟期のラットの精巣上体に精子肉芽腫が高率に誘発されることを報告してきた(Toxicol Pathol, in press)。精子肉芽腫における液性または細胞性免疫に関する報告はあるものの, マクロファージを中心とした細胞動態に関する詳細な報告は少ない。今回、マクロファージの由来やその抗原提示能について, 免疫組織化学的に検討したので報告する。

【材料および方法】6週齢の Crj:CD(SD)IGS 雄ラットに, L-システイン 1000mg/kg(5%水溶液)を1, 2, 3および4週間腹腔内投与した。各最終投与の翌日に精巣上体を採取し, 右精巣上体は中性緩衝ホルマリン, 左はカルノア固定液で固定した。左右精巣上体は, 常法に従い HE 染色を施し, 病理組織学的検査を実施した。カルノア固定した精巣上体は, ED1(滲出マクロファージ), ED2(固着マクロファージ)および OX6(MHC Class Ⅱ, 抗原提示細胞)抗体を用いて, 免疫組織化学的に検討した。さらに, ホルマリン固定パラフィンブロックから, 精子肉芽腫を戻し電顕を包埋し, 透過型電子顕微鏡で観察した。

【結果および考察】精子肉芽腫において, 精子を取り囲む類上皮細胞のほとんどがED1(滲出マクロファージ)に強陽性であり, ED2(固着マクロファージ)には陰性であった。電顕的に, この類上皮細胞には貪食された多数の精子が観察され, 旺盛な貪食能を有していたことが示唆された。OX6(抗原提示細胞)は, L-システイン2週間投与後における精子肉芽腫の類上皮細胞の一部で陽性を示したが, 4週間では陰性となった。以上の結果, 精子肉芽腫形成初期において滲出マクロファージの一部が抗原提示能を有することが明らかとなった。

P-34 Crj:CD(SD)IGS ラットの精巣における自然発生萎縮性病変の形態学的検索

○寺田あゆみ、永谷真理子、楠岡修、若林佐知子、工藤佳代子、中村厚、田村一利（ボゾリサーチセンター）

精巣は毒性変化が頻繁にみられる臓器であり、その変化の大部分は精子形成細胞を標的とする萎縮性病変である。ラットの精巣には自然発生性の精細管萎縮が若週齢からみられ、その萎縮性変化に多様性があることから、精巣毒性を評価するにあたり時折混乱を招いている。そこで、我々は Crj:CD(SD)IGS（以下 IGS）ラットの精巣における自然発生萎縮性病変を詳細に把握するため、その形態学的特徴および発生頻度について検索した。【材料と方法】8-110 週齢の無処置および毒性試験の対照群に用いた IGS ラット、計 916 匹の精巣の HE 染色標本について、下記の基準に基づいて分類し、検討した。

Intratubular minimal atrophy：精細管内で、部分的に精子形成細胞が脱落する。

Focal atrophy：精巣横断面において萎縮した精細管が限局性にみられる。

F1：萎縮精細管が精巣網付近に限局する。F2：萎縮精細管が精巣周辺部（被膜下）に限局する。F3：萎縮精細管が不特定部位にみられる。

Diffuse atrophy：精巣横断面において萎縮した精細管が散在性あるいは全体的にみられる。

D1：セルトリ細胞だけの精細管から正常な精細管まで、様々な萎縮精細管が散在する。D2：正常な精細管の中に、セルトリ細胞のみの精細管が散在する。D3：すべての精細管が同程度に萎縮する。

Sertoli cell-only atrophy：すべての精細管がセルトリ細胞だけで構成される。

週齢（w）		8	10-12	14-23	32	110
検索動物数		33	275	230	172	206
Intratubular minimal atrophy(%)		0	2.9	0.4	1.2	1.5
Focal atrophy(%)	F1	0	0	0	0.6	1.9
	F2	0	0	0	0	1.5
	F3	0	0.7	0	0.6	1.0
Diffuse atrophy(%)	D1	0	1.1	1.7	1.7	8.3
	D2	0	0	0	0	0.5
	D3	0	0	0	0	2.4
Sertoli cell-only atrophy(%)		0	0	0.4	0.6	1.9

【結果】各タイプの精細管の萎縮性病変は 10 週齢からみられ、このうち Focal atrophy と Diffuse atrophy は、32 週齢まではほぼ同様な出現頻度でみられ、110 週齢で出現頻度が増加した。一方、Intratubular minimal atrophy は 10-12 週齢で最も頻度が高く、その後出現頻度は低下した。

P-35 Crj:CD(SD)IGS ラットの卵巣における萎縮性変化とその関連組織の変化

○枝元　洋、中村　厚、鶴亀真依子、池崎信一郎、玉井幸子、岡崎修三、
田村一利（ボゾリサーチセンター）

Crj:CD(SD)IGS（以下 IGS）ラットは、一般毒性試験やがん原性試験等で広く使用されるようになり、その生物学的特性や背景病変に関する報告も数多くみられるようになってきた。我々は本動物の背景病変を中心とした各種データを整理してきたが、今回は卵巣に焦点をあて、構成組織の加齢による推移及び卵巣萎縮と他組織との関連性について、我々の施設で背景病変検索のために実施した試験及び毒性試験に供された対照群の 10 から 110 週齢の IGS ラット 644 例を対象に調査した。

その結果、10 及び 19 週齢に比べて 32 週齢では、卵胞及び黄体数が減少すると同時に、間質腺やセルトリ様細胞の増生が目立つようになり、110 週齢になると更にその傾向は顕著になった。また、卵胞のう胞あるいは黄体のう胞は、19 週齢より発現し、加齢と共に増加した。一方、19 及び 32 週齢動物を正常卵巣群と萎縮卵巣群に分けて、平均器官重量を比較すると、19 週齢では卵巣は 70mg vs 63mg、下垂体は 17mg vs 21mg、子宮は 570mg vs 772mg であり、同様に 32 週齢の卵巣は 73mg vs 43mg、下垂体は 17mg vs 24mg、子宮は 673mg vs 844mg であり、組織学的に卵巣萎縮のみられた動物では下垂体及び子宮重量が正常動物に比して高値を示した。

本総会では、これらの結果に加えて、組織学的特徴等を含め報告する。

P-36 Nihon ラット（遺伝性腎癌ラット）の子宮内膜に認められた病変

○沖本一夫[1)]，河内眞美[1)]，黒木宏二[1)]，松本泉美[1)]，豊沢かおる[1)]，糀谷高敏[1)]，田中浩二[1)]，松岡信男[1)]，樋野興夫[2)]（大日本製薬・安全研[1)]，癌研・実験病理部[2)]）

我々は Eker ﾗｯﾄとは異なる遺伝性腎癌ﾗｯﾄとして，SD 系ﾗｯﾄから新規の遺伝性腎癌ﾗｯﾄを発見し，Nihon ﾗｯﾄと命名した．Nihon ﾗｯﾄにおける腎癌の発症はﾒﾝﾃﾞﾙの法則に従った単一遺伝子による常染色体優性遺伝形式をとり，ﾍﾃﾛ接合体は 100%腎癌を発症し，その表現型がﾋﾄ腎癌に多く認められる clear cell type 優位の腎癌を発症する．今回は Nihon ﾗｯﾄの腎癌以外の病変について検討するため，Nihon ﾗｯﾄおよび正常ﾗｯﾄ(wild type)を長期観察し，全身臓器の病理組織学的検査を実施したので報告する．動物は Nihon ﾗｯﾄの兄妹交配から得られた F2 および F3 の雄 118 例，雌 110 例を用いた．いずれの動物も飼育環境の調節された動物室で，市販の固形飼料と滅菌した水道水を自由に与えて飼育した．

Nihon ﾗｯﾄは 10 ヶ月齢(42 週齢)から死亡あるいは瀕死期動物がみられ始め，1 年齢(53 週齢)までに 40 例(17.5%)が死亡した．そこで，55 週齢および 68 週齢の時点で全例殺処分し，剖検の後，病理組織学的検査を実施した．

用いた動物 228 例(雄：118 例，雌：110 例)のうち，死亡あるいは瀕死期殺処分した 40 例中 39 例に腎癌の発症がみられ，その他重篤な病変もみられないことから，39 例は腎癌により死亡したと考えられた．40 例中 1 例(腎癌の発生なし)は下垂体腫瘍による死亡であった．死亡例を含めた腎癌の発症は 143 例(雄：69 例，雌：74 例)にみられた．腎癌以外の Nihon ﾗｯﾄ特有の病変は前回本学会で報告した若齢時にのみ認められた心臓の横紋筋腫症様の病変以外に，子宮内膜上皮の clear cell の hyperplasia (1 例は腺腫)／変異巣が 20 例(27.0%)に，唾液腺の導管の clear cell 化が 16 例(13.0%)にみられた．また，腎癌内には骨化生が 42 例(29.4%)にみられた．正常ﾗｯﾄでは上記の病変はいずれも認められず，Nihon ﾗｯﾄ特有の病変と考えられた．さらに，子宮においては加齢ﾗｯﾄで認められる頸部の扁平上皮化生が 17 例(23.0%)に認められ，1 例には扁平上皮癌もみられた．現在，子宮の過形成病変がさらに腫瘍(腺腫・腺癌)へと進行するかどうかを長期観察している．

P-37 ICR マウスの子宮発がんモデルにおける Arctiin の子宮腫瘍修飾作用

○北村 毅[1)]，奥原裕次[1)]，林 守道[1)]，長澤達也[1)]，黒田淳二[1)]，柴田信男[1)]，三森国敏[2)]
1)：キッセイ薬品 安全研，2)：東京農工大獣医・病理

ICR マウスの子宮発がんモデルを用いて，ゴボウなどに含まれるリグナンで植物エストロゲンとして知られている Arctiin の子宮腫瘍に対する修飾作用を検討したので報告する。
【方法】5 週齢の Slc:ICR 系雌マウス 90 匹に生理食塩液に溶解した N-ethyl-N-nitorosourea(ENU)をエーテル麻酔下で経腟的に片側子宮腔に投与（投与量 50 mg/kg，0.1 mL/head）してイニシエーション処置とした。動物を対照群を含む 4 群(20 匹/群)に分け，6 週齢より Arctiin を 0.004，0.02，0.1%ないし 0%濃度で混合した大豆蛋白を含まない基礎飼料を 26 週間自由摂取させた。1 週間に 1 回，体重および摂餌量を測定した。投与期間終了時生存例は投与終了翌日に剖検し，卵巣および子宮重量を測定した。卵巣，子宮，腟，肺，肝臓および肉眼的異常部位を常法に従いパラフィン包埋薄切切片を作製して，ヘマトキシリン・エオジン染色を施し，鏡検した。途中死亡例および切迫屠殺例は速やかに剖検し，同様に病理組織学的に検索した。
【結果】体重および摂餌量に群間で差は認められなかった。肉眼的に卵巣および腟に異常は認められなかったが，対照群を含む全群に子宮の形態異常（大きさ，形，色等）が観察された。卵巣および子宮では重量に群間で差はみられなかった。病理組織学的には，0.004 および 0.1%群の各 1 例において子宮腺癌が観察されたが，各群での子宮内膜の異型過形成および過形成，間質ポリープあるいは脱落膜腫/脱落膜反応の出現に差はみられなかった。その他，肺に肺胞腺腫が認められたが、その発生頻度に群間で差は認められなかった。肝臓には腫瘍性あるいはその前駆病変と推察される所見は観察されなかった。
【結論】Arctiin の 0.004，0.02 および 0.1%混餌投与においては，マウスの子宮増殖性病変に対してなんら修飾作用は認められなかった。

P-38 Bisphenol A (BPA) の妊娠期・授乳期曝露が仔マウス子宮に与える影響について

○下元貴澄[1, 2]，高橋正一[1]，吉田 緑[1]，植松史之[1]，前川昭彦[1]，中江 大[1]
([1]佐々木研・病理，[2]大塚製薬株式会社・徳島研)

【はじめに】 Bisphenol A (BPA)は，弱いエストロゲン様作用を有する内分泌撹乱化学物質であるが，プラスチックの原材料として使用され，環境中に比較的大量に存在していることより，ヒトの健康に及ぼす影響が懸念されている。一方，胎仔期・新生仔期の動物が，ある種の内分泌撹乱化学物質に曝露されると，成熟期と異なる内因性および外因性の estrogen 類に対する高感受性を反映して，生殖器系の発育・分化異常や子宮癌の高率発生など重篤な障害を引き起こす。今回我々はマウスを用いて，BPA の母動物への妊娠期・授乳期曝露が仔の雌性生殖器，特に *N*-ethyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (ENNG) 誘発子宮内膜増殖性病変に及ぼす影響について検討した。
【材料および方法】 懐妊雌性 CD-1 マウスを用いて，妊娠 4 日目から離乳(仔マウス 21 日齢)まで，BPA を 0，0.05，1，20 および 400mg/kg 体重/day の用量で連日強制経口投与した。各投与群の雌性仔マウスを，離乳後基礎食にて飼育し，10 週齢時に ENNG を 25mg/kg 体重の用量で子宮腔内単回投与した後，40 週齢時に剖検し，BPA の ENNG 誘発子宮内膜増殖性病変に対する修飾作用および仔マウス雌性生殖器の変化について検索した。
【結果および考察】 BPA を胎児期・新生仔期に曝露された各投与群の雌性仔マウス腟開口日齢に有意な変化はなく，腟の外観や試験期間中の腟スメア像による性周期判定にも異常は認められなかった。ENNG 投与による限局性の子宮内膜上皮過形成(focal endometrial hyperplasia)が対照群を含む全群で見られたが，その発生頻度および程度に差は認められなかった。組織学的に本病変は，類円形の核および比較的好酸性の胞体を有する比較的均一な細胞が管状構造を密に形成し，限局性に増殖する病変として見られた。今回の実験において，形態学的に明らかな子宮内膜腺癌の発生は認められなかったが，BPA 20mg 群の 1 例において，子宮筋層への侵襲はないものの明らかな異型性を示す管状および乳頭状の増殖巣が，前述の過形成病変に連続して観察された。以上の結果より，本実験の投与量および投与条件での妊娠期・授乳期曝露において，BPA はマウスの ENNG 誘発子宮内膜増殖性病変に修飾作用を及ぼさないと結論した。

P-39

子牛、妊娠マウスへのアトラジン接種試験　―生殖器・免疫器官への影響―

○山田学、中村菊保　（動衛研）

【目的】アトラジンはトリアジン系除草剤の一つとして広く使用されているが、環境庁が示した内分泌かく乱作用の疑われる化学物質の一つに挙げられている。牧草あるいは飲み水に、アトラジンが汚染し、牛に対して何らかの影響を与えることが想像される。今回、アトラジンの内分泌かく乱作用を、子牛、妊娠マウスおよび培養細胞を用いて，形態学的に検索した。
【材料及び方法】アトラジン(40mg/kg/calf)を2頭の雄子牛（6週齢）に皮下接種し、4週間飼育後、生殖器・免疫器官への影響を病理組織学的に検索した。同週齢の雄子牛 2 頭を対照牛とした。また、アトラジン(4mg/kg および 40mg/kg/mouse)を 2 系統の妊娠マウス（BALB/CAJcl および C57BL/6NJcl）に皮下接種し（妊娠後 10 日)、母マウスへの影響を病理組織学的に検索した。また生まれた子マウスを4週齢まで飼育し、生殖器、免疫器官について病理組織学的に検索した。さらに、ヒト乳腺上皮培養細胞（MCF7 細胞）の単層形成後、アトラジンを 1000 倍希釈から10の7乗まで培地で希釈した培養液をそれぞれ加え、8日間培養継続。その後、アトラジン含培地を除き、PBS で洗浄後継代して、単層形成後（3日後）の細胞を組織学的に検索した。
【結果】子牛を用いたアトラジン接種試験では、生殖器、免疫器官の組織形態において、対照群との有意な相違は認められなかった。精巣については電子顕微鏡学的にも検索を行ったが、対照群との差異は認められなかった。4週齢子マウスの平均体重および臓器重量の比較では、アトラジン群は対照群に比べ、若干発育がよかったものの、両群の間に有意差は認められなかった。精巣(卵巣)、脾臓を含めた全身諸臓器の組織学的検索でも、対照群、アトラジン群の間に有意な差は認められなかった。母マウスの乳腺、子宮を含めた全身諸臓器の組織学的検索においても、対照群、アトラジン群の間に有意な差は認められなかった。乳腺培養細胞においてもアトラジン処理の細胞と対照との間に組織形態的な相違は認められなかった。
【結論】今回、アトラジンの単回投与では子牛、マウスの生殖器・免疫器官に対して組織形態学的に内分泌かく乱作用は認められなかった。

P-40

化学物質によるラット乳癌退縮時におけるアポトーシスの関与

○上田　誠、今井俊夫、小野瀬淳一、蓮村麻衣、瀧澤　保、広瀬雅雄（国立衛研・病理）

（はじめに）培養細胞を用いた実験では抗癌剤をはじめ種々の化学物質により癌細胞のアポトーシスが誘導されるとの報告があるが、臨床での抗癌作用あるいは動物モデルでの癌の増殖抑制におけるアポトーシスの関与については不明な部分が多い。今回7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)誘発ラット乳癌を用いて、卵巣摘出あるいは種々の化学物質投与による乳癌退縮過程におけるアポトーシスの関与について検索した。**（方法）**7週令のSD系雌ラットに5mgのDMBAを週1回、4週間にわたり胃内投与して乳癌を誘発した。乳癌が発生した後、無処置、卵巣摘出あるいはtamoxifen(1ppm)、5-FU(500ppm)、nimesulide(400ppm)、粉末めかぶ抽出物(1500ppm)の各混餌投与群に分け1週後に剖検した。経過中、触知可能な乳癌の個数および体積を観察した。剖検時に採取した乳癌のパラフィン切片に対してPCNA免疫染色およびTUNEL法を実施し各陽性細胞数を計測した。また一部の癌の凍結材料より総RNAを抽出しcaspaseの発現状況をRT-PCR法にて検索した。**（結果）**各処置により癌の体積が減少ないしは明らかな増加抑制を示し、PCNA陽性率の有意な($p<0.01$)低下がみられた。一方TUNEL陽性率には明らかな群間の差はなく、caspaseの発現状況にも差は認められなかった。**（まとめ）**本モデルにおける卵巣摘出ならびに今回検索した化学物質による癌の増殖抑制に対してアポトーシスはあまり関与せず、細胞増殖抑制が強く関与していることが示唆された。

P-41　カニクイザルの雄性生殖器における年齢と成熟度について

○山口裕子、佐藤順子、寺田あゆみ、星谷　達、中村　厚、田村一利　（ボゾリサーチセンター）

【緒言】安全性試験に使用されるカニクイザルの多くは、3 歳～5 歳齢である。この年齢層は、雄生殖器の成熟途中である個体が多く、精巣に対する影響を評価する上で雄生殖器の成熟度を把握することは重要である。今回、年齢と成熟度の関係を、形態学的及び重量より検索したので報告する。

【材料及び方法】動物は、我々の施設で保有あるいは安全性試験の対照群に供した雄のカニクイザル 110 頭（2 歳前半～9 歳後半）であり、これらの年齢を基に層別化し、精巣、精巣上体、前立腺及び精嚢の成熟度を組織学的に検索すると同時に、年齢及び器官重量との相関について調査した。組織学的特徴に基づく成熟度は、未成熟（成熟度 0）、成熟過程（成熟度 1～3）及び成熟（成熟度 4）の 5 段階に分類し評価した。なお、精巣上体に関しては、未成熟（成熟度 0）、成熟過程（成熟度 1）及び成熟（成熟度 2）の 3 段階で評価した。

【結果】精巣では、3 歳未満ではいずれも成熟度 0 か 1 であり、3 歳以上で成熟度のばらつきが認められ始め、いずれの組織も 5 歳以上で成熟度のばらつきが殆どなくなることが判明した。年齢層による成熟度を表に示す。

	精巣	精巣上体	前立腺	精嚢
3 歳	0.5	1.1	0.8	1.2
4 歳	1.8	1.5	1.8	2.1
5 歳	3.2	1.9	3.4	3.4
6 歳	3.6	1.9	3.6	3.8

5 歳以上で成熟していない頻度は、精巣：11.4%(4/35)、精巣上体及び精嚢：8.6%(3/35)、前立腺：5.7%(2/35)であった。また、形態学的に成熟した個体の重量を検索すると、精巣（両側）：20g 以上、精巣上体：2g 以上、前立腺：2g 以上が成熟の目安になると思われた。特に精巣上体は、成熟途中の形態学的な段階分けは難しく、重量による評価がより簡易と思われた。また、イヌにしばしばみられる未成熟精巣での巨細胞の出現は、今回検索したカニクイザル中には観察されなかった。

P-42　雌カニクイザルにおける性周期と生殖器・乳腺の変動

○佐藤順子、山口裕子、笠原健一郎、枝元　洋、中村　厚、田村一利　（ボゾリサーチセンター）

安全性試験において霊長類の代表としてカニクイザルが多く用いられている。霊長類は性周期が人と類似しており、約３０日前後の短い性周期での生殖器の変動を把握しておくことは、毒性評価上極めて重要になる。今回我々は、試験に供された対照群の雌カニクイザル 109 匹を用い、卵巣・子宮の組織像より７つのステージ（未成熟期、卵胞期初期・卵胞期・排卵前期・黄体期初期・黄体期・月経期）に分類し、それに対応する腟及び乳腺を組織学的に観察した。また各性周期について、生殖器重量、月経からの日数、年齢による差異、黄体の退行過程について検索した。

【性周期に伴う変化】卵巣・子宮重量は卵胞期初期から黄体期に向かって増加した。サルは片側排卵のため、左右卵巣には排卵側と非排卵側とがあり、黄体期に向かうに従い両者の間で重量の差が大きく認められるようになり、非排卵側にだけ着目すると、いずれの周期においてもほぼ一定した平均重量であった。各性周期の月経初日からの最短日数は、卵胞期初期：3 日、卵胞期：4 日、排卵前期：10 日、黄体期初期：10 日、黄体期：15 日であり、月経期間は 3 日間であった。【年齢に伴う変化】各性周期とも 4 歳齢頃まで卵巣・子宮重量の増加傾向がみられた。2 歳代では未成熟のものが散見され、卵巣・子宮重量は卵胞期初期の約 1/2 であった。また 3 歳 5 ヶ月齢までは卵胞期にある個体の割合が多く、正常なサイクルには至っていないと考えられた。従って性成熟に達した雌カニクイザルを試験に用いることを目的とした場合、3 歳 6 ヶ月齢以上の動物を選択することが必要と思われた。【黄体の変化】退行して行く黄体はかなり長い期間残存し、月経より 100 日以上まで観察された。この古い黄体を観察することにより、月経血の観察がない場合でも（自分でなめた場合や少量で観察できない場合）、性周期の回転状況を推測可能と考えられた。【腟の変化】未成熟の腟粘膜は角化が不完全であった。腟粘膜には性周期による変動はほとんどないが、黄体期の終わりと月経期に一部角化層の剥離が見られる場合があった。【乳腺の変化】乳腺の腺房組織は、4 歳齢頃まで発達傾向を示した。性周期別にみると月経期に向かい発達傾向にあるが、個体差が極めて大きく、一概に述べることはできなかった。

P-43 カニクイサルの卵管に認められた atypical polypoid adenomyoma (Müllerian tumor) に関する病理組織学的解析

○佐藤 洋，甲斐 清徳，矢部 光一，今岡 尚子，藤井 文隆，梶村 哲世，
古濱 和久 (第一製薬 安全研)

【緒言】霊長類のミュラー氏管由来腫瘍は上皮系および間葉系腫瘍細胞が混在する特徴を有し，ヒトでは発生は少ないものの詳細な症例報告がなされている．一方，サルでは現在のところミュラー氏管由来腫瘍の発生報告や，その病理組織学的検討は十分なされていない．今回，毒性試験に用いた 6.5 歳の雌カニクイサルにおいて卵管に発生したミュラー氏管由来腫瘍を経験したのでその病理組織学的解析を報告する．
【症例】6.5 歳の雌カニクイサル (フィリピン産)．反復投与毒性試験における低用量群の 1 例．試験期間中および屠殺時の一般観察，血液および血液生化学的検査には異常はみられなかった．
【結果およびまとめ】肉眼的に腫瘤は，右側卵巣近くに認められ，卵管と接続し，子宮からは分離していた．腫瘤の表面は滑らかで，乳白色，卵円形を呈し，長径は約 3.5 cm であった．矢状断面の観察では，シストおよび分葉状の結節が確認された．光顕では，これらの腫瘤はポリープ状結節を呈し，間葉系細胞および上皮系細胞の混在増殖が観察された．また，腫瘍塊の中には，ネスト状あるいは塊状に脂質に富んだ泡沫細胞が散見された．局所浸潤および遠隔転移は見られなかった．免疫組織化学的に，上皮系および間葉系細胞は proliferating cell nuclear antigen (PCNA) に強陽性を示し，上皮系細胞は cytokeratin に，間葉系細胞は vimentin, desmin および alpha (α)-smooth muscle actin にそれぞれ陽性を呈した．さらに，腫瘍中に散在する泡沫細胞は testosterone に弱陽性を示した．電顕的に間葉系腫瘍細胞には actin filament, basement membrane, および electron-dense cytoplasmic body が観察され，上皮系細胞では核の嵌入像が観察された．一方，泡沫細胞の細胞質には多量の脂肪滴が認められた．以上の所見から腫瘍は良性の上皮および平滑筋細胞からなるミュラー氏管由来腫瘍で atypical polypoid adenomyoma と診断された．また，腫瘍中に認められた巣状の泡沫細胞集簇は生殖索への分化を示すものと考えられた．

P-44 カニクイザルにみられた乳癌の1例

○小嶋聖、楊秀英、鈴木秀幸、桑原拓美、上村裕洋、平川公昭、前田博、宮嶌宏彰
（株式会社　新日本科学）

【はじめに】乳癌はヒトで多くみられる腫瘍の1つであり、その多くは乳管上皮細胞由来である。ヒトを除く霊長類ではヒトと同様に乳管上皮細胞に由来する乳癌の報告が少数あるが、カニクイザルでの報告はない。今回、従来報告されているサルの乳癌とは由来が異なるカニクイザルにおける乳癌の1例を報告する。【症例】7歳齢の雌性カニクイザルである。【結果】乳腺部に4×2×2cmの腫瘤として触知され、腫瘤部の皮膚は一部痂皮で覆われていた。腫瘤と周囲組織との境界は一部不明瞭、割面は灰白色、充実性で壊死及び出血巣が散見された。病理組織学的検索では、細胞質が豊富で紡錘形あるいは卵円形の異型性に富む腫瘍細胞が瀰漫性に増殖し、多数の癌真珠形成を伴う肉腫様を呈していた。肺、肝臓及び胆嚢に転移像が認められた。免疫組織化学的検索では、肉腫状の増殖を示す大部分の腫瘍細胞はα-smooth muscle actin（αSMA)に強陽性、Vimentinに中程度陽性、Cytokeratinが散在性に陽性であった。Desminは陰性であった。また、P53、erb B-2及びProgesterone receptorは核に陽性を示したが、Estrogen receptorは陰性であった。癌真珠形成部位はCytokeratinに強陽性であった。【結論】肉腫状の形態を示す腫瘍細胞はαSMA及びVimentin陽性であることから筋上皮細胞由来と考えられ、また癌真珠形成を特徴とした上皮系由来の腫瘍細胞が混在することから、悪性混合腫瘍と診断した。

P-45

パラアミノ安息香酸のラット甲状腺発がん促進作用

○ 蓮村 麻衣、今井 俊夫、小野瀬 淳一、瀧澤 保、広瀬 雅雄 (国立衛研、病理部)

【はじめに】パラアミノ安息香酸（PABA）は水溶性ビタミンB群のひとつで、葉酸の構成成分として自然界に広く分布している。紫外線から皮膚を守る役割があることで知られているが、その過剰摂取による発がんへの影響は知られていない。今回N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine（DHPN）を用いたラット二段階発がんモデルによりPABAの発がん修飾作用を検討した。

【方法】F344雄ラット60匹にDHPN（2800 mg/kg）を単回皮下投与し、1週後よりPABAを0、0.25、0.5および1.0%の濃度で40週間混餌投与した。DHPN非投与群の20匹のラットには0および1.0%のPABAを与えた。投与期間終了後、エーテル麻酔下で動物を屠殺して肝臓、腎臓、肺、下垂体および甲状腺を採取し、重量を測定した後病理組織学的に検索した。

【結果】DHPNでイニシエーション後、PABAを0、0.25、0.5および1.0%投与した各群では、甲状腺の濾胞上皮腺腫/腺癌の発生頻度が3/14、7/15、11/15および15/15例とPABA投与により用量相関性に著明に増加した。その他の臓器では、PABA投与による腫瘍発生に対する影響はみられなかった。DHPN非投与群ではPABAによる甲状腺重量の増加はみられず、組織学的にも濾胞上皮細胞の肥大や過形成は認められなかった。

【結論】DHPNラット二段階発がんモデルにおいて、PABAは甲状腺に対して明らかな発がん促進作用を有することが示された。現在、その機序を解析する目的で追加実験を行ない、PABA投与による血中T3、T4およびTSH濃度に対する影響を検索している。

P-46

DHPN-Sulfadimethoxine誘発ラット甲状腺浸潤癌の発生過程

○今井俊夫，小野瀬淳一，蓮村麻衣，上田 誠，瀧澤 保，広瀬雅雄（国立衛研・病理）

甲状腺発がん物質である *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine(DHPN)と抗甲状腺剤であるsulfadimethoxine(SDM)によるラット二段階発がんモデルにおいて，早期かつ高率に被膜に浸潤する腺癌の発生することを報告してきた。今回，浸潤癌発生の機序を明らかにするため，経時的に甲状腺の病理組織学的検索を行った。[方法] 1群：F344雄ラットに DHPN(2800 mg/kg)を単回皮下投与し，1週後よりSDM(0.1%)を飲水投与した。2群：DHPNの投与を行わず，SDMのみを与えた。SDM投与開始後0～10週で動物を屠殺して甲状腺を採取し，病理組織学的に検索した。[結果] 1，2群ともにSDM投与開始後，濾胞上皮細胞はびまん性に肥大し増殖した。1群では，SDM投与開始4週以降に巣状過形成(FH)及び腺腫(Ad)の数が著明に増加し，8週より被膜に近接するFH/Adから浸潤癌が多発した。浸潤癌における細胞増殖率は，FHやAdに比較して有意に($p<0.05$)高値を示した。2群には浸潤癌はみられなかった。非増殖性病変として，4～6週目に1，2群において強い被膜炎がみられ，同時に被膜に近接する濾胞組織が崩壊し，上皮細胞が被膜(外)に侵出する像がみられた。当該上皮細胞の細胞膜はβ-カテニンに陽性を示した。その後被膜は線維性に肥厚し，被膜内には細胞増殖率の低い小型濾胞の集簇がみられた。[結論] DHPN-SDM誘発ラット甲状腺発がん過程において，SDMの投与に伴って一時的に発生する被膜炎あるいは被膜に近接する濾胞上皮細胞間の接着性低下が，FH/Adから浸潤癌への進展に関連することが示唆された。

P-47 グルコン酸カルシウム持続静脈内投与によるラット副腎髄質細胞増殖活性の変化

○伊藤恒夫、加藤淳彦、三澤保幸、藤井悦子、浅沼健太郎、小泉富彦、小松俊一朗、渡部一人、鈴木雅実、杉本哲朗*
（中外製薬・安全研、*創薬企画推進）

ﾗｯﾄでは、ﾎﾟﾘｵｰﾙ類、ﾚﾁﾉｰﾙ、ﾋﾞﾀﾐﾝD 誘導体の投与により副腎髄質の過形成・褐色細胞腫の発現が増加することが知られている。その原因として高ｶﾙｼｳﾑ(Ca) 血症が想定されている。しかし、Ca 剤のみを投与した条件下で副腎髄質の変化を検討した実験成績はみあたらない。我々は第 14 回本学会において、一過性に血中 Ca 濃度を増加させる条件でｸﾞﾙｺﾝ酸 Ca(G-Ca)をﾗｯﾄに投与した場合、副腎髄質細胞の増殖活性に変化がないことを報告した。今回、増殖活性の変化には持続的な高 Ca 血症が必要との仮説を立て、G-Ca の 7 日間持続静脈内投与により持続的な血漿 Ca 濃度の上昇を惹起し、髄質細胞の増殖活性を検討した。

G-Ca を生理食塩液で 0、10、20、40 および 60mg/ml の濃度に調製し、各濃度を SD 系雄ﾗｯﾄ(1 群 6～7 例)に 7 日間持続静脈内投与した。投与は 9 週齢時にﾃｰﾙｶﾌ法によりｶﾃｰﾃﾙを後大静脈内に留置し、11 週齢時より G-Ca をｼﾘﾝｼﾞﾎﾟﾝﾌﾟを用いて投与速度 4mL/kg/hr にて行った。また、G-Ca 投与開始日に BrdU を充填した浸透圧ﾎﾟﾝﾌﾟを腹腔内へ埋込み、7 日間連続標識(120μg/hr)した。投与開始後 7 日に安楽殺し、副腎を摘出した。副腎は重量測定後、10％中性緩衝ﾎﾙﾏﾘﾝ液にて 24 時間固定し、ﾊﾟﾗﾌｨﾝ包埋薄切標本を作製した。薄切標本に抗 BrdU 染色を施した後、副腎髄質細胞 500 個中の BrdU 陽性細胞数を計測し、陽性細胞比率を算出した。血漿 Ca 濃度は投与前、投与開始後 1、2、3 および 6 日に測定した。

0、10、20 および 40 mg/ml 群の血漿 Ca 濃度は、それぞれ投与開始後 1 日に 10.48±0.25、10.54±0.14、11.07±0.25 および 12.66±0.37 mg/dl、投与開始後 6 日に 10.53±0.15、11.46±0.33、12.55±0.80 および 15.26±1.51 mg/dl を示し、投与量に応じた血漿 Ca 濃度の上昇が投与期間中維持された。なお、これらの群に一般状態の異常はみられなかった。一方、60mg/ml 群は投与開始後 2 日に血漿 Ca 濃度が約 20 mg/dl を示し、投与開始後 4 日までに死亡・切迫殺されたため、病理学的検索を実施しなかった。病理組織学的検査ではいずれの群でも副腎に形態学的変化は観察されなかったが、40 mg/ml で重量の有意な増加がみられた。副腎髄質細胞の BrdU 陽性細胞比率は、0、10、20 および 40 mg/ml 群でそれぞれ 8.0±3.9、14.8±3.5、14.2±2.8 および 24.9±4.1%を示し、10 mg/ml 以上の群で有意に増加した。

以上、G-Ca 投与による持続的な血漿 Ca 濃度の上昇は副腎髄質細胞の増殖活性亢進を惹起し、持続的高 Ca 血症がﾗｯﾄにおける副腎髄質腫瘍誘発の要因であることが強く示唆された。

P-48 Ethinylestradiol の周産期曝露により誘発されるラット内分泌・生殖器系の変化に及ぼす genistein の修飾作用の検討

○高木広憲[1,2], 渋谷淳[1], 畝山智香子[1], 李輝哲[3], 西原真杉[3], 三森国敏[4], 広瀬雅雄[1]
([1]国立衛研・病理部, [2]岐阜大連合獣医・病態獣医, [3]東京大学･獣医生理, [4]東京農工大･家畜病理)

［緒言］一般に使用されているげっ歯類実験用飼料には大豆やアルファルファに由来する phytoestrogen が含まれている．我々は ethinylestradiol (EE)のラット母動物の周産期曝露による児動物の内分泌・生殖器系への影響が，当施設における標準飼料（CRF-1）と大豆・アルファルファを含まない飼料（SAF-NIH07）で比較すると前者でより強く現れることを見出している．CRF-1 には phytoestrogen である genistein (GEN)が 100 ppm 程度含まれていることから，基礎飼料中の GEN が EE と相乗作用することによる児動物の内分泌･生殖器系影響の可能性が示唆された．そこで，本研究では EE と GEN の周産期同時曝露による児動物への影響について検討した．［方法］Crj:CD(IGS)SD ラットに妊娠 15 日から出産後 10 日目まで，EE 0.5 ppm，EE 0.5 ppm 及び GEN 100 ppm，EE 0.5 ppm 及び GEN 1250 ppm，GEN 1250 ppm を SAF-NIH07 に混じて投与した．SAF-NIH07 基礎飼料群も設定した．出産後 10 日目に全群の飼料を CRF-1 に変え，生後 21 日目に離乳，生後 11，20 週目に解剖した．投与期間中には母動物の体重，摂餌量，児動物の体重を検索し，投与終了後には春期発動期，性周期，性成熟後の内分泌･生殖器官の重量および組織変化を検索した．［結果及び考察］現在 11 週目の病理検査までが終了しており，EE を投与した全群において母動物及び児動物の体重低下，雌の春期発動の早期化，雄の春期発動の遅延，性周期異常（持続発情）が認められ，雌では更に，多膿胞性卵胞，子宮の内膜上皮過形成と扁平上皮化生，乳腺の腺房過形成，下垂体前葉のびまん性過形成が認められたが，GEN 同時投与による増強効果は明らかではなかった．また，GEN 単独投与群では性周期異常（休止期延長）が認められた．以上より，現在までの結果では，GEN は周産期曝露により児動物の内分泌･生殖器系に影響を及ぼすが EE の影響を増強する効果は認められなかった．

P-49　卵巣または睾丸摘除ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラット-Hras-(Tg)の nonylphenol の乳腺発がん修飾効果

Chuel Kyu Kim　高須賀信夫　飯郷正明　津田洋幸（国立がんセ・研・化療）

［目的］洗剤由来の内分泌かく乱物質である nonylphenol(NP)について乳腺がん高感受性ラットの乳腺発がんに対する修飾効果を卵摘(OVX)または去睾(ORX)状態にて検討した。［方法］50 日齢の雌雄の Tg および野生型(W)ラットに、卵巣(OVX)または睾丸(ORX)摘除後 1 週を経て DMBA を 25mg/kg 胃内投与し、投与翌日より、NP を 0、1、5、10ppm の用量にて雌は 12 週、雄は 20 週まで混餌投与し、屠殺した。［結果］乳腺腫瘍の個数/ラットは OVX ラットでは、NP 投与 0、1、5、10ppm で雌 Tg はそれぞれの用量で各々3.33、3.43、1.83、3.4、W では 0.2、0.1、0、0.1 であり群間に差はなかった。しかし、10ppm 投与群において Tg では OVX3.4 に対して Sham 10.4、W で OVX1.0 に対して Sham0.78 であり、数は有意に減少($p<0.05$)した。また雄 Tg ORX ではそれぞれの用量で各々5.5、1.8、2.4、6 であり、NP 投与群間に差はなかった。また ORX によって Sham に対しても差はなかった。［まとめ］乳腺発がん高感受性ラットで、卵巣または睾丸摘除によって背景となる内因性エストロゲンまたはテストステロンレベルを下げた状態において、エストロゲン作用の報告されている NP は DMBA 誘発乳腺発がんに対して、5ppm 投与では数が減少する傾向がみられたが、他群も含めて有意差はなく修飾作用は事実上ないと考えられた。

P-50　新生児期 DMBA 単回投与により誘発された雄 SD ラット背部間葉系腫瘍における病理組織学的検討

○ 田口 周平、川口 博明、堀 隆夫、早田 正和、小玉 拓郎、吉田 浩己（鹿児島大・医・第一病理）

新生児期ラットの背部皮下に 7,12-Dimethyl-benz(a)anthracene (DMBA)の投与により、高頻度に間葉系肉腫を誘発し、腫瘍細胞における myoglobin、desmin、ED1、p53、Ki-67 の発現を検索した。

［方法］生後 24 時間内の Sprague-Dawley 雄ラットの背部皮下に DMBA（I 群：0μg、II 群：1μg、III 群：10μg、IV群：100μg、V群：500μg）を投与、生後 250 日齢まで観察した。腫瘍細胞を病理組織学的に検索し、分類した。

［結果］I、II、III、IV、V群の背部腫瘍発生頻度は、0、0、0、76.9、94.1%であった。V群において誘発された背部腫瘍 16 例は、現時点で①myoglobin 陽性 desmin 陽性 ED1 陽性細胞腫瘍（7 例）、②myoglobin 陰性 desmin 陽性 ED1 陽性細胞腫瘍（4 例）、③myoglobin 陰性 desmin 陰性 ED1 陽性細胞腫瘍（4 例）、④myoglobin 陰性 desmin 陰性 ED1 陰性細胞腫瘍(1 例)と分類した。腫瘍細胞における p53、Ki-67 の発現率を下に示す。

組織型	①型腫瘍	②型腫瘍	③型腫瘍	④型腫瘍
P53 陽性細胞 (%, mean±SD)	17.6±18.8	15.2±18.3	19.7±13.2	0%
Ki-67 陽性細胞 (%, mean±SD)	41.6±13.9	44.4±26.0	27.6±10.4	26.6%

［結論］新生児期 DMBA 単回皮下投与にて、多彩な間葉系腫瘍が発生することを示した。

P-51 塩化カドミウム皮下投与における投与部位に発生した腫瘤のラット系統差に関する検討

○須方督夫[1,2]、山田智也[1]、坂東清子[1]、串田昌彦[1,2]、尾崎圭介[1,2]、宇和川賢[1,2]、
関高樹[1]、奥野泰由[1]、福島昭治[2]([1]住友化学・生科研、[2]大阪市大・院医・都市環境病理)

(目的) カドミウムをラットに皮下投与することにより投与部位に肉腫が誘発され、F344ラットでは、Wistarラットに比較し高頻度かつ早期にその発現が認められることが報告されている。そこで今回、我々はこの肉腫の発現感受性に及ぼす系統差の影響について検討を行った。(方法) F344/DuCrj及びLEW/Crjの各系統のラット (14週齢) に20μmol/kg塩化カドミウムを週1回、5週間にわたって投与し、75週後に病理学的検査に供した。(結果) 剖検の結果、投与部位に発現した皮下腫瘤の頻度は、F344/DuCrjでは8/20例 (途中死亡5/9例) 、LEW/Crjでは4/10例 (途中死亡3/4例) であった。また、投与部位に白色結節が両系統のほぼ全例に認められた。光学顕微鏡的検査の結果、皮下腫瘤の主体はビメンチン陽性の線維芽細胞であったが、デスミン、S-100蛋白陽性領域が混在し、加えて類骨形成を含むosteogenicな腫瘍細胞からなる領域も認められ、混合肉腫と診断された。Peto検定の結果、肉腫の発現頻度には有意差は認められなかった。一方、肉眼的に白色結節の認められた部位には重度の鉱質沈着が認められ、沈着部位周囲には主に線維芽細胞の増生が認められた。(結論) 触診による皮下腫瘤の確認時期 (もしくは死亡時期) と発現頻度について、F344/DuCrjラットとLEW/Crjラットとの間に明らかな系統差は認められなかった。投与部位には重度の鉱質沈着と線維芽細胞を主体とする間葉系細胞の顕著な増生が認められたことから、変異原物質であるカドミウムによるイニシエーションと投与部位の修復を目的とした持続的な細胞増殖刺激によるプロモーションにより多能性間葉系幹細胞に由来する混合肉腫が誘発されたものと考えられた。

P-52 Inhibitory Effect of Glycolic Acid on UV-Induced Skin Tumorigenesis in SKH-1 Hairless Mice and Its Mechanism

O Jin Tae Hong[1], Dae Joong Kim[2], Kwang Soo Ahn[3], Kyoung Mi Jung[3], Tae Myoung Kim[2], Young Won Yun[2], Ki Wan Oh[1], and Myung Koo Lee[1] ([1]Coll. Pharm. And [2]Coll. Vet. Med., Chungbuk Nat'l. Univ., Cheongju 361-763; [3]Dept. Toxicol., Nat'l. Inst. Toxicol. Res., Korea FDA, Seoul 122-704; Korea)

We examined the inhibitory effects of glycolic acid (GA) on UV (UVA+UVB)-induced skin tumorigenesis examined in SKH-1 hairless mice and its related mechanisms. Inbred hairless female mice (15 /group) were irradiated for 5 days a week for a total dose of 74.85 J/cm^2 of UVA and 2.44 J/cm^2 UVB for 22 weeks. GA was topically applied twice a week at a dose of 8 mg/cm^2 immediately after UV irradiation. GA reduced UV-induced skin tumor development. The skin tumor incidences were decreased about 20%. The multiplicities of skin tumor also reduced into 55% of the control. The number of large size of tumors (larger than 2 mm) reduced into about half. GA also delayed the development of the skin tumor. The inhibitory effect of GA on UV-induced tumor development was accompanied with down expression of the UV-induced cell cycle regulatory proteins: PCNA, cyclin D1, cyclin E and their associated subunits cdk2 and cdk4. The down expression of cell cycle regulatory proteins PCNA, cyclin D1, cyclin E, cdk2 and cdk4, and the signal mediators JNK, p38 kinase and MEK may play a significant role in the inhibitory effect of glycolic acid on the UV-induced skin tumor development. In addition, the inhibition of the activation of transcription factors AP-1 and NF-κB could also significantly contribute to the inhibitory effect of glycolic acid. (supported by NITR, KFDA, Korea)

P-53

開発初期段階における抗癌剤の毒性評価系としてのヌードマウスの有用性

○上原健城[1]，杉山幸嗣[1]，永田雅史[1]，内田直美[2]，鳥井幹則[1]，丸山敏之[1]
（塩野義製薬・[1]新薬研究所，[2]創薬研究所）

【緒言】新規抗癌剤開発における in vivo 薬効評価では担癌ヌードマウスが多用されている．一方，げっ歯類を用いる毒性評価ではラットやマウスが繁用されているにもかかわらず，ヌードマウスでの毒性検討は少ない．薬物動態や薬物反応性の種差に関するデータが少ない抗癌剤の開発初期段階において，ヌードマウスでの薬効と毒性を並行して評価することは意義のあることと考える．そこで我々は，臨床の場で消化管や骨髄毒性を惹起することが知られている抗癌剤 5-Fluorouracil（5-FU）をヌードマウスへ反復静脈内投与し，経時的に毒性を検索することで評価系としての有用性を検討した．【方法】11 週齢，雌のヌードマウス（BALB/cA Jcl-nu）を用いた．投与量は，5-FU の MTD を指標として 30 及び 15 mg/kg とし，5 日間×2 反復静脈内 bolus 投与（2 日間休薬）した．一般状態観察，体重・摂餌量・摂水量測定を行い，Day 2，4 及び 12（初回投与日：Day 0）に各群 4 例ずつを屠殺し各種検査{血液学的検査，骨髄有核細胞数測定，フローサイトメトリーによる骨髄細胞型別分類（杉山ら，第 18 回日本毒性病理学会），病理検査}を実施した．また，消化管の各部位について各種免疫染色（PCNA 及び TUNEL 染色）を実施し，陰窩上皮における増殖活性及びアポトーシス頻度についての検討を行った．【結果・総括】5-FU 投与群では，軟便，粘液便などの便異常が 30 mg/kg 群で Day 4 から，15 mg/kg 群でも Day 10 からそれぞれ発現し，摂餌量の減少を伴った体重減少が認められた．消化管毒性として，十二指腸から結腸までの陰窩粘膜上皮の単細胞壊死や陰窩の拡張，粘膜上皮再生が 15 及び 30 mg/kg 群で Day 4 以降に認められた．一方，骨髄毒性は消化管毒性に先行して発現し，有核細胞数の減少及び骨髄低形成，ならびに骨髄毒性を反映した白血球数の減少が 15 及び 30 mg/kg 群で Day 2 以降に認められた．消化管及び骨髄毒性はその発現時期，程度ともに用量との関係が認められた．また，便異常の発現時期と消化管の器質的障害から，5-FU の臨床副作用である遅延性の下痢を確認することができた．これらのことから，ヌードマウスを用いた本試験系は新規抗癌剤の薬効と毒性の関係を把握するための有用な評価系であると考えられる．

P-54

D-galactosamine(D-gal)腹腔内投与を細胞増殖刺激に用いたイニシエーション活性検索法

○酒井洋樹[1,2]，浅岡由次[1]，平田暁大[1,2]，塚本徹哉[2]，山本昌美[2]，白井紀充[1,2]，飯高健[1,2]，
柳井徳磨[1]，柵木利昭[1]，立松正衛[2]
（[1]：岐阜大学・家畜病理，[2]：愛知がんセンター・研究所・腫瘍病理）

我々は過去に，D-gal 胃内投与によるイニシエーション活性検索法を試み，その有用性があるものの，あまり高い検出感度は得られず，その原因が細胞増殖誘導の弱さにあることを示した．今回，D-gal の投与経路として腹腔内投与を行い，D-gal を細胞増殖刺激として用いた本法の改善を試みた．【実験 1】雄，7 週齢，F344 ラットに D-gal 1000mg/kg または 700mg/kg を腹腔内投与し，投与後 12 時間から 12 時間間隔で 108 時間まで，および 7 日後に安楽殺．細胞増殖活性を BrdU 標識法にて算定した．【実験 2】雄，7 週齢，F344 ラットに D-gal 1000mg/kg(高用量群)，700mg/kg(低用量群)を腹腔内投与後，非肝発がん物質である DMH または MNNG の投与時間(24,48,60,72,84 時間後)によってそれぞれ 5 群に分け，イニシエーション活性検索法に従い，ラット前がん病変である GST-P 陽性巣の数および面積を計測した．【結果】実験 1 では D-gal 投与 84 時間後に BrdU 標識率は 1000mg/kg 投与で 35%、700mg/kg 投与で 30%に達し，胃内投与時の 5 倍以上であった．実験 2 の高用量群では，DMH，MNNG ともに D-gal 投与 84 時間後に GST-P 陽性巣の誘導が最高を示したが，ラットの生存率が低かった．低用量群においても同様に GST-P 陽性巣は D-gal 投与 84 時間後に最高となり，さらに生存率は高用量群より高かった．また，過去の D-gal 胃内投与の結果に比較し，GST-P 陽性巣の誘導は 3 倍以上であった．【まとめ】D-gal 腹腔内投与は胃内投与に比較し，高い細胞増殖が誘導でき，イニシエーション活性検出感度も飛躍的に改善された．

P-55

ヒト変異型 c-Ha-ras コンディショナル・トランスジェニックラットにおける乳腺がんの発生

○上田　しのぶ[1]、高須賀　信夫[1]、内藤　暁宏[1]、落谷　孝広[2]、津田　洋幸[1]
（1 国立がんセ・研・化学療法、2 国立がんセ・研・がん転移）

【目的】先に樹立したヒト正常型 c-Ha-ras トランスジェニックラット(Hras128)は発がん物質の投与により高頻度かつ早期に乳腺がんを発生し、その腫瘍では導入遺伝子の変異が高頻度に起こることを観察した。本研究では乳腺がん発生機序における *ras* の変異の果たす役割を明らかにする目的で、Cre/loxP によるコンディショナルな発現系を用いたヒト変異型 c-Ha-ras トランスジェニックラット(Hras250)を作成し、変異型 Ras 発現の乳腺がん発生への関与を検討した。【方法】CAG プロモーター下に制御されるコドン 12 に変異(G→V)を持つヒト c-Ha-ras cDNA を導入したトランスジェニックラット Hras250 を作成し、Cre リコンビナーゼを発現するアデノウイルス(AxCANCre)の感染によって組織特異的な変異型 Ras の発現誘導を行った。AxCANCre を雌 Hras250 の乳頭から注入し、変異型 Ras を発現誘導した後、経過観察した。【結果】免疫染色の結果、Cre リコンビナーゼの発現は乳腺上皮および筋上皮特異的であることを確認した。発現誘導から 3 週間後には肉眼で確認出来る腫瘍が発生し、組織学的には adenocarcinoma であった。【結論】導入したヒト変異型 c-Ha-ras(コドン 12・G→V)の発現がラット乳腺がんの一因であることを明らかにした。

P-56

PLP 固定と AMeX 法を組み合わせたパラフィン標本作製技法“PLP-AMeX 法”の *In situ* hybridization への応用

○　高居宏武[1]、渡邉剛[1]、小川友美恵[1]、勝山清加[1]、塚本こず恵[1]、藤井悦子[1]、萬啓悟[2]、伊藤恒夫[1]、鈴木雅実[1]（中外製薬・安全研[1]、育成センター[2]）

【目的】我々は、periodate-lysine-paraformaldehyde (PLP)固定と AMeX 法によるパラフィン包埋を組み合わせた PLP-AMeX 法が通常のホルマリン固定パラフィン標本に比べ抗原性ならびに内因性酵素活性の保持に優れていることを報告してきた。今回、PLP-AMeX 法の分子病理学的研究への応用の可能性を検討するために、PLP-AMeX 法により作製されたパラフィン標本での *in situ* hybridization（ISH）を試みた。
【材料・方法】SD 系雄ラット(10 週齢)から膵臓を採材し、PLP-AMeX 法によりパラフィンブロックを作製した。薄切標本を作製後、インスリンを対象に ISH 並びに免疫組織化学的染色（IHC）を行った。ISH は、インスリン mRNA に対するジゴキシゲニン標識合成オリゴデオキシヌクレオチド probe と抗ジゴキシゲニン抗体を用いて行った。また、28S rRNA に対する probe による ISH を行い、組織標本の RNA 保持状態を確認した。IHC は抗インスリン抗体を用い LSAB 法により実施した。
【結果・考察】28S rRNA antisense probe 用いた ISH の結果では、膵島細胞、外分泌線細胞をはじめ種々の細胞の核仁、細胞質に 28S rRNA の存在が観察され、組織標本上にハイブリダイズ可能な RNA が良好に保持されていることが確認された。一方、インスリン antisense probe を用いた ISH では、膵島細胞のみにシグナルが観察され、組織標本上で特異的な mRNA の検出が可能であることが示された。なお、いずれの ISH においても sense probe にシグナルは検出されなかった。また、単一の組織ブロックより得られた連続切片標本で ISH によるインスリン mRNA と、ISH によるインスリンタンパク質の検索を試みたところ、mRNA、タンパク質ともに陽性反応が膵島細胞に検出された。
以上の結果より、PLP-AMeX 法は、ハイブリダイズ可能な RNA を良好に保持しており、免疫組織化学的検索や酵素組織化学的検索のみならず分子病理学的解析にも応用可能であることが示された。

P-57 抗 PCNA 抗体 PC10 はホルムアルデヒドにより化学修飾された抗原を認識する？

○柿本恒知[1,2], 美谷島克宏[1,2], 竹腰進[1], 正田俊之[2], 岩坂俊基[2], 小泉治子[2], 宮川義史[2], 長村義之[1] ([1]東海大・医・病態診断系病理診断学部門, [2]日本たばこ・安全研)

【はじめに】抗 Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)抗体を用いた免疫組織化学(IHC)は、その汎用性の高さから毒性病理学の分野では細胞増殖のﾏｰｶｰとして現在も用いられている。今回我々の行った実験では、抗 PCNA 抗体は本来の抗原よりもﾎﾙﾏﾘﾝ固定により変性した抗原を認識しやすいと考えられる結果を得た。【方法】1) IHC: SD 系ﾗｯﾄ子宮を急速凍結し、無固定凍結切片を作製した。これらを無固定のまま、あるいは 10%緩衝ﾎﾙﾏﾘﾝで 30 分、1、2、4、7 日間固定し、ﾏｲｸﾛｳｪｰﾌﾞ(MW)照射(100℃, 15 分)を行った。これらを抗 PCNA 抗体(PC10, Dako)を用いた酵素抗体間接法を実施し、PCNA 抗原を検出し、その程度を固定の有無、加熱処理の有無間で比較した。2) Dot-blot 法: ﾗｯﾄ子宮ﾎﾓｼﾞﾈｰﾄを遠心分離(13000g, 30 分)し、その上清を段階希釈し、Dot blotter (Bio-Rad 社)を用いてﾆﾄﾛｾﾙﾛｰｽ膜(NCM)上に吸着させた。この抗原が吸着した NCM をﾎﾙﾏﾘﾝ固定(30 分)し、MW 照射(100℃, 15 分)を行い、抗 PCNA 抗体を用いて抗原を検出し、その検出感度を固定の有無、加熱処理の有無間で比較した。【結果】1) IHC: 無固定のまま、あるいは 30 分間固定した凍結切片では抗原はほとんど検出されず、これらに加熱処理を施しても抗原は検出されなかった。1～7 日間固定した切片でも抗原は検出されなかったが、これらに加熱処理を施すと抗原は検出された。2) Dot-blot 法: 30 分間固定した NCM での検出感度は、無固定の場合より軽度に減弱、もしくはほぼ同程度であった。加熱処理を施した NCM では、非加熱の場合と比較して検出感度は明らかに増強した。これは無固定の NCM を加熱処理した場合も同様であった。【考察】先に我々は抗 Ki-67 抗体、抗ｴｽﾄﾛｹﾞﾝ受容体抗体等を用いた実験により、加熱処理による抗原性賦活化のﾒｶﾆｽﾞﾑとして、加熱処理は蛋白分子構造自体のもつ masking を除去する可能性を示した(第 6 回日米合同組織細胞化学会議)。今回の抗 PCNA 抗体 PC10 を用いた検討の結果からも、同様の抗原性賦活化ﾒｶﾆｽﾞﾑが示唆された。しかし、PC10 は抗 Ki-67 抗体等と異なり、抗原性賦活化にはﾎﾙﾏﾘﾝ固定が必要であることが明らかとなり、PC10 はﾎﾙﾑｱﾙﾃﾞﾋﾄﾞにより化学修飾された抗原を認識するものと推察された。

P-58 メタカーン固定・パラフィン包埋切片における laser microdissection, real-time RT-PCR を用いた微小細胞領域における mRNA 発現解析法の開発

○藤田春香[1,2], 高木広憲[1], 渋谷淳[1], 畝山智香子[1], 井上弘子[1,2], 加藤奈津美[1], 広瀬雅雄[1] ([1]国立衛研・病理部, [2]第一製薬研究技術ｾﾝﾀｰ)

［緒言］近年，病理組織切片中の特定細胞領域での遺伝子解析に laser microdissection 技術が用いられるようになってきた．その中で RNA の発現解析には凍結切片の利用が一般的であるが，目的部位の同定の困難さや切片中での RNA 分子の不安定性の観点から多数のｻﾝﾌﾟﾙでの定量解析には困難を伴う．我々はこれまでに，ﾒﾀｶｰﾝ固定・ﾊﾟﾗﾌｨﾝ包埋した組織(Methacarn-fixed, paraffin-embedded tissue, M-PET)が DNA，RNA，蛋白質の解析において未固定凍結材料に順ずる能力を保持することを報告してきた．今回は，M-PET 切片から調製した total RNA を用いて，real-time RT-PCR 法により特定遺伝子の mRNA 発現量を測定し，未固定凍結材料を用いた結果と比較した．また実際に，周産期に内分泌かく乱作用物質に曝露された児動物の視床下部微小領域(medial preoptic area, mPOA)における mRNA 発現解析を行い，定量解析に必要な total RNA 量を求めた．［方法］実験 1：phenobarbital (PB)を投与（80, 20, 5, 1.25, 0 mg/kg，3 日間）したﾗｯﾄ肝臓の未固定凍結材料及び M-PET における CYP2B1 の濃度依存的な発現変動を real-time RT-PCR 法を用いて測定した．同時にﾍﾏﾄｷｼﾘﾝ染色の影響も検討した．実験 2：methoxychlor（MXC, 24, 240, 1200 ppm），diisononylphthalate（DINP, 4000, 20000 ppm）あるいは genistein（GEN, 1000 ppm）を母ﾗｯﾄに妊娠 15 日から出産後 10 日まで混餌投与し，生後 10 日目の雌雄児動物の脳M-PET を用いて microdissection 法により採取した mPOA から total RNA を調製し，estrogen 応答性遺伝子である estrogen receptor α(ERα)，ERβ及び GABA transporter-1(GAT-1) の発現量を定量した．［結果及び考察］実験 1：M-PET においても未固定凍結材料と同等の PB の濃度依存的な CYP2B1 の発現変動が検出された．その比定量にﾍﾏﾄｷｼﾘﾝ染色の影響は認められなかった．実験 2：ERα の発現量には雌雄差が認められ，雌で高発現しており，20000 ppm DINP を曝露した雄では ethinylestradiol 曝露例（既に報告）と同様に GAT-1 の発現量の低下が認められた．更に，20 ng 程度の total RNA より複数の遺伝子発現解析が可能であることが見出され，ﾒﾀｶｰﾝ固定法はﾊﾟﾗﾌｨﾝ包埋切片中の微小領域での定量的な遺伝子発現解析に有用であると考えられた．

P-59 Ethinylestradiol 28 日間反復投与時のラット肝臓における遺伝子の網羅的発現解析

○加藤奈津美[1,2]，渋谷淳[1]，高木広憲[1]，眞島恵介[2]，畝山智香子[1]，井上弘子[1]，藤田春香[1]，
広瀬雅雄[1]（[1]国立衛研・病理部，[2]立教大学・理学部）

【緒言】内分泌かく乱化学物質を成熟動物に一定期間投与した時の内分泌関連臓器の変化を高感度に検出する新規パラメーターの探索を目的として，エストロジェンを 28 日間投与したラット肝臓で，発現の変動する遺伝子の網羅的解析を行った．【方法】雌雄各群 5 匹の SD:IGS ラットに ethinylestradiol (EE) を 0.01, 0.1, 1.0 ppm の割合で 28 日間混餌投与し，雄は 28 日目に屠殺し，雌は投与 22 日目から性周期を観察して 28 日目から発情休止期を示す日に屠殺・剖検した．採材後 RNA later に保存した肝組織から total RNA を抽出し，各群 3 匹につき CLONTECH Atlas Glass Rat 3.8 Array と Silicon Genetics 社の GeneSpring software を用いて解析を行った．【結果及び考察】1.0 ppm 群の雌雄で体重増加抑制，雄で乳腺腺管の過形成，雌で発情期の延長と子宮内膜上皮の高円柱上皮化等を認めた．Microarray 解析の結果，EE 投与により，いずれかの用量で 5 倍以上の発現上昇を示す遺伝子は雌で多く，0.2 倍以下の発現低下をする遺伝子は雄で多く認められた．上昇遺伝子のうち用量依存性の反応を示すものが雄で 3 個，雌で 24 個得られた．その中で，雌では相対発現量の高い遺伝子が 13 個得られ，特に高い反応性を示した PAG608（p53 の下流に存在し，酸化的ストレスによる細胞死に関与する転写因子） や mitochondrial malate dehydrogenase はエストロジェン作用の検出指標となる可能性が示唆された．一方，発現低下遺伝子のうち用量依存性の反応を示す遺伝子は雄では認められず，雌では 3 個得られたのみであった．雌雄で用量に依存しないで発現変動を示した遺伝子の多くと雄で用量依存性に発現上昇した 3 個の遺伝子は，相対的発現量が低く，個体間のばらつきが認められた． 以上より，EE の 28 日間投与により，雌で特に発現上昇する遺伝子が得られ，その用量依存性は 0.01 ppm から変動するものが多く，病理組織や性周期回帰の検索では 1.0 ppm のみで変化を認めたことを考慮すると，これらの遺伝子はエストロジェン作用の高感度検出指標になりうるものと考えられた．雄では，用量依存性に強く発現変動する指標遺伝子の候補は得られなかった．

P-60

p53 ノックアウトマウス腺胃癌由来細胞株の樹立とその性状

○山本昌美[1]、塚本徹哉[1]、平田暁大[1,2]、酒井洋樹[1,2]、白井紀充[1,2]、飯高健[1,2]、立松正衞[1]
（[1]愛知がんセ・研・腫瘍病理、[2]岐阜大学・農・家畜病理）

【背景】我々はこれまでにニトロソ化合 N-metyl-N-nitrosourea(MNU)誘発 BALB/c および BDF1 マウス腺胃癌細胞株について報告してきたが、転移性を示すマウス腺胃癌細胞株はいまだ報告されていない。今回我々は p53 ノックアウトマウスに MNU を用いて誘発した腺胃癌から転移能を有する細胞株を樹立したので報告する。
【方法】雄 p53(+/-)ノックアウトマウス(C57BL/6J 由来)に MNU30ppm を隔週 10 週間飲水投与し、実験開始後 40 週で屠殺した。認められた腺胃癌を培養材料として継代培養を試みた。
【結果】12 個の胃癌のうち 1 個の継代培養に成功し、マウス腺胃癌細胞株(MGT0) を樹立した。この細胞株は同系統マウスへの移植が可能であり、MGT0 を移植して得られた腫瘍より再度培養をおこない樹立した細胞株 MGT1 は、肺転移、リンパ節転移能を示した。病理および細胞生物学的に胃原発腫瘍と移植腫瘍の性状を検索したところ、原発腫瘍は高分化型であり、免疫染色により Pepsinogen 1 (Pg1)は陰性、腸型 alkaline phosphatase (ALP)は一部陽性を示した。MGT0 移植腫瘍は中分化型腺癌の組織像を示し、Pg1、ALP 染色性は原腫瘍と一致していたが、転移性を示す MGT1 移植腫瘍は低分化から中分化型腺癌で、Pg1、ALP ともに陰性であった。原発腫瘍から DNA を抽出し PCR-SSCP 法によって p53 exon5-8 において検索をおこなったが、変異は認められなかった。細胞株 MGT0 および MGT1 から DNA を抽出し、genotype の判定をおこなったところ wild type の欠失が認められた。
【まとめ】今回樹立した細胞株は転移能を有する高い悪性度を示したが、それには p53 の不活化が関与していることが示唆された。マウス腺胃癌由来細胞株 MGT1 は分化形質発現や転移の研究に有用な細胞株であると考えられる。

P-61 Ethinyl estradiol 及び propylthiouracil を用いた *in utero* through lactational exposure プロトコールの検討

○佐脇正邦[1]、麻生直[1]、野田修志[1]、室井貴子[1]、三苫秀雄[1]、高倉サオリ[1]、坂本聡幸[1]、山崎寛治[1]、伊東信行[2]([1]化学物質評価研究機構、[2]名市大・医)

胎児期または乳児期は、性ホルモンや甲状腺機能を阻害するような化学物質への暴露に対して成体に比べてより感受性が高いと考えられている。我々はEPAの提案する"*in utero* through lactational exposure"プロトコールの予備検討を行い、その有用性及び適切なエンドポイントを検討した。妊娠Crj: CD (SD) IGS BRラット(2または3例/群)にethinyl estradiol (EE) 0、0.5、5、50 μg/kg/dayまたはpropylthiouracil (PTU) 0、0.0032、0.016、0.08、0.4 mg/kg/dayを妊娠7日から分娩後18日まで強制経口投与を行った。なお各物質についての試験は独立して行った。EE投与試験では、出生児の一般状態、体重、肛門-生殖器間距離、腟開口、性周期及び包皮開裂等の発育分化検査を行い、8-9週齢で剖検した。結果として、母動物に異常はみられなかった。出生児では、cleft phallusが雌50 μg/kgでみられた。卵巣、子宮、及び腟の病理組織学的検査では異常はみられなかった。このほか雌雄50 μg/kgで軽度の体重増加抑制がみられた以外に異常はみられなかった。PTU投与試験は特に発育分化、反射及び学習能力に主眼をおいて行い、40日齢で剖検した。母動物では0.4 mg/kgで甲状腺濾胞上皮の肥大がみられた。出生児において、雌雄0.4 mg/kgで体重増加抑制、切歯萌出の遅延がみられ、また聴覚驚愕反射は13日齢において陰性であったが、35日齢では陽性であった。水迷路検査では、雌0.4 mg/kgで直線路及び迷路遊泳時間の延長、錯誤数の増加がみられた。また、雄0.4 mg/kgでは甲状腺の濾胞におけるコロイドのうっ滞がみられた。以上の結果から、EE投与試験では誘発された変化はcleft phallusのみであり、雌の外性器の形態が有用なエンドポイントである可能性が示唆された。また、PTU投与試験では切歯萌出、聴覚驚愕反射、水迷路検査、甲状腺の病理組織学的検査が有用である可能性が示唆された。これら2つの予備検討から、胎児または乳児へのエストロゲンあるいは甲状腺機能阻害物質の影響の検出において、本プロトコールが有用であることが示された。

P-62

遺伝子組み替えトウモロコシのラットを用いた13週間反復投与毒性試験

○堤　友子[1]、萩原昭裕[1]、今井則夫[1]、土井悠子[1]、難波江恭子[1]、朝元誠人[2]、今井田克己[3]、白井智之[2]([1]大雄会医科研、[2]名市大・院・医・実験病態病理、[3]香川医大・腫瘍病理)

【目的】現在、除草剤耐性や害虫抵抗性を目的として作られた多くの遺伝子組み換えトウモロコシが食用として使用されている。T-25はグルホシネート耐性遺伝子組換え除草剤耐性トウモロコシであるが、その毒性学的検討については今日まで行なわれていない。そこで今回T-25の毒性学的影響を調べる目的でラットを用いた13週間反復投与毒性試験を行った。
【方法】5週齢F344ラット雌雄各40匹に、遺伝子組み換えトウモロコシと非遺伝子組み換えトウモロコシを0%/24.5%、8.2%/16.3%および24.5%/0%の比率で飼料中に混じて13週間自由に摂取させた。投与期間中に臨床症状の観察を行い、体重、摂餌量、摂水量の測定を行った。投与最終週には尿検査および眼科学的検査を、また屠殺剖検時に血液学的検査、血液生化学的検査および病理学的検査を実施した。
【結果】実験期間中、死亡例はみられず、投与に関連する臨床症状を認めなかった。また体重、摂餌量、摂水量、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼的病理検査、器官重量および病理組織学的検査いずれにおいても投与に関連する変化を認めなかった。
【結論】遺伝子組み替えトウモロコシ（T-25）を24.5%の飼料中濃度で雌雄ラットに13週間投与しても毒性学的に意義のある変化を認めないことが明らかとなった。

P-63

Dietary toxicity of isazofos and pyraclofos, organophosphorus compounds in Japanese quail

Seung-Hyeok Seok, Jong-Hwan Park, Sun-A Cho, Jae-Hak Park

Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, 441-744, Suwon, Korea

A great deal of information is asked the risk assessor to evaluate how the chemical might impact the fitness of the animal in the environment. Wild birds are a nondestructive biomarker for monitoring the toxicological risk. Japanese quails (*Coturnix japonica*) were exposed to the organophosphorus insecticide isazofos, pyraclofos. The dietary LC_{50} toxicity values of isazofos, pyraclofos were determined for Japanese quail based on OECD guideline. The LC_{50} of isazofos, pyraclofos was 47.88 mg/kg, 91.81 mg/kg body weight in female. And the LC_{50} in male was 47.88 mg/kg, 103.86 mg/kg body weight. Respectively isazofos was the most susceptible of organophosphorus compounds to Japanese quail in both sexes. The symptoms of poisoning were similar in all chemicals. The clinical signs in Japanese quail were ataxia, salivation, diarrhea, ruffled feather and convulsion at dead point. There were severe haemorrhage and necrotic villi in lamina propria in all compounds at death. Also, the decolared liver and kidney were observed in isazofos and pyraclofos exposed groups. The recovery was after 1 week in sublethal dose.

P-64

Safety and protective effect of a disinfectant for white spot syndrome viral infection in shrimps

Jong-Hwan Park, Seung-Hyeok Seok, Sun-a Cho, Jae-Hak Park

Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, 441-744, Suwon, Korea

White spot syndrome virus (WSSV) is the major agent causing extensive motality in shrimp. Safety and protective effect for WSSV infection, of the disinfectant produced from electrolyzing water and sodium chloride was evaluated in shrimp. As two-month-old and spawning shrimps added in tanks of each two fold diluted concentration of the disinfectant, definitive LC_{50} of was determined 2.25 and 3.79 ppm, respectively. All shrimps raised in seawater added only with WSSV homogenate were dead at 2 days after infection, however, shrimps in seawater with the treament of the disinfectant over 0.125 ppm before the viral infection were not. Planktons were not affected in the disinfectant below 0.3125 ppm. This study showed that the disinfectant can be useful to prevent WSSV infection in shrimp.

P-65

Mmh/ OGG1 ミュータントマウスにおける Dimethylarsinic acid の発がん性

○ 李昌治[1]、木下アンナ[1]、鰐渕英機[1]、カリムレザウル[1]、野田哲生[2]、西村暹[3]、福島昭治[1]
([1]大阪市大・院・医・都市環境病理、[2]癌研・細胞生物、[3]万有製薬・つくば研)

【目的】Dimethylarsinic acid (DMA)は無機砒素の代謝物であり、ヒトに対する発がん性を有することが知られている。また、これまでに我々は DMA が雄性 F344 ラットの膀胱に発がん性を持ち、その発がん機序には酸化的ストレス傷害が関与していることを報告してきた。今回、我々は8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の修復酵素である OGG1 をノックアウトした *Mmh/ OGG1* ミュータントマウスを用い、DMA の発がん性を検討した。
【方法】17～33 週齢 *Mmh/ OGG1* ミュータントマウスの *Mmh/ OGG1* (-/-)8 匹、*Mmh/ OGG1* (+/-)9 匹、および *Mmh/ OGG1* (+/+)12 匹を２群に分け第１群には DMA を 200ppm 濃度で飲水投与し、第２群は DMA 非投与とした。70 週目に屠殺し、病理組織学的検索および、免疫組織学的検索として 8-OHdG、PCNA、アポトーシスを測定した。
【結果】DMA 投与群での腫瘍発生率は、*Mmh/ OGG1* (-/-):100%、*Mmh/ OGG1* (+/-):67%、*Mmh/ OGG1* (+/+):50%であった。腫瘍の発生個数においても同様の傾向であった。腫瘍の内訳はリンパ腫、肝細胞癌、肺腺腫、肺腺癌、乳腺癌、副腎腺腫などであった。DMA 非投与群での腫瘍発生率は *Mmh/ OGG1* (-/-):0%、*Mmh/ OGG1* (+/-):20%、*Mmh/ OGG1* (+/+):50%であった。肝組織中の 8-OHdG レベルは両群とも(-/-)が、(+/-)、(+/+)に対して有意に上昇していた。PCNA は肝、肺、膀胱すべて(-/-)において DMA 投与群が非投与群に対して有意に上昇していた。また電子顕微鏡検索では DMA 投与群の *Mmh/ OGG1* (+/-)の膀胱粘膜上皮、肺胞上皮に過形成変化を認めた。
【結論】*Mmh/ OGG1* ミュータントマウスにおける DMA の発がん性が示唆された。

P-66

MeIQx の *gpt* delta マウスにおける *in vivo* 変異原性とがん原性の比較

○北村　泰樹[1]、西川　秋佳[1]、神吉　けい太[1]、梅村　隆志[1]、今澤　孝喜[1]、増村　健一[2]、能美　健彦[2]、広瀬　雅雄[1](国立医衛研・[1]病理、[2]変異遺伝)

「【目的】*in vivo* での変異原性とがん原性の関連を調べる目的で、既知の遺伝毒性発がん物質で肝臓に発がん性を示す 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) をレポーター遺伝子導入マウスである *gpt* delta に投与し、両者の関連について検討した。【方法】雄の *gpt* delta マウスに MeIQx を 0、3、30、300 ppm の濃度で 12 週間混餌投与し、病理組織学的に検索するとともに PCNA 陽性率を免疫組織化学的に調べた。また、肝臓及び大腸から DNA を抽出し、6-thioguanine selection により *gpt* 変異頻度を検索した。同様に 78 週間投与のがん原性について病理組織学的に検索した。【結果】投与 12 週後において、病理組織学的変化はみられず、PCNA 陽性率の増加も認められなかった。一方、*gpt* 変異頻度は 30 ppm 群以上の肝臓及び 300 ppm 群の大腸で有意に増加した。しかし、投与 78 週後において、MeIQx 投与による腫瘍発生の有意な増加は認められなかった。【結論】*gpt* delta などのレポーター遺伝子導入マウスは、MeIQx など遺伝子障害性物質の *in vivo* での変異原性検索に有用なモデルと考えられた。しかし、がん原性を示すためには、変異原性に加えて細胞増殖などのエピジェネティックなイベントが必須であることが示唆された。

P-67 薬物代謝酵素誘導物質によるMeIQxの肝発がん修飾作用

○栗林正伯[1, 2]、朝元誠人[1]、鈴木周五[1]、白井智之[1]
（1名市大・院・医・実験病態病理、2小野薬品・安全研）

【目的】MeIQxは体内で代謝活性化され、DNAと結合し、遺伝子に変異を誘発すると考えられている。ヒトはMeIQxを含む多くの化学物質に暴露されていると考えられ、それらの物質の相互作用が疑われる。そこで、薬物代謝酵素誘導物質をMeIQxと同時投与してMeIQxの肝発癌作用がいかに修飾を受けるかを検索した。

【方法】6週齢のF344雄ラットを3群に分け、中期発癌性試験法に従いDEN投与後、1群にはMeIQx（0.01%）、2群にはMeIQxと薬物代謝酵素誘導物質である Phenobarbital （0.05%）、DEN（0.01%）、Clofibrate（0.3%）、Caffeine（0.1%）、3群には2群と同じ薬物代謝酵素誘導物質を混餌あるいは飲水投与した。得られた肝臓を用い、肝の前癌病変であるglutathione S-transferase胎盤型(GST-P)陽性細胞巣の発生を免疫組織学的手法により解析した。

【まとめ】MeIQx投与群と比較しMeIQx+DEN投与群でGST-P陽性細胞巣の有意な増加が認められ、その効果は相乗的であった。MeIQx+PB投与群においては、GST-P陽性細胞巣の軽度の増加が認められ、MeIQx+Clofibrate投与群ではGST-P陽性細胞巣の有意な減少が認められた。また、Caffeine投与はMeIQx活性化酵素CYP1A2を誘導するが、明らかな作用は見いだされなかった。

P-68 Crj:CD(SD)IGS ラットを用いた中期多臓器発がん性試験 –F344 ラットとの比較

○佐野真士[1]、河部真弓[1]、萩原昭裕[1]、二口　充[2]、玉野静光[1]、白井智之[2]（[1]大雄会医科研、[2]名市大・院・医・実験病態病理）

中期多臓器発がん性試験は化学物質の発がん性とその標的臓器を短期に検索でき、マウス長期発がん性試験の代替法の一つに挙げられている。通常、中期多臓器発がん性試験はF344 ラットを用いているが、用量設定の参考にする毒性試験は IGS ラットを用いている場合が多い。そこで、IGS ラットを用いた中期多臓器発がん性試験を実施し、背景データと比較することによって F344 ラットとの感受性の違いを検討した。【方法】6 週齢の IGS ラット雄（日本チャールスリバー）を用いた。全動物に対して実験開始時に DEN (100 mg/kg)を 1 回腹腔内投与、その後 2 週間に MNU (20 mg/kg)を 4 回腹腔内投与し、実験第 3 週および 4 週には DHPN (0.1%)を飲料水投与した（DMD 処置）。実験第 5 週より、第 1 群には基礎飼料(対照群)、第 2 群には N,N-dibutylnitrosamine (DBN) (0.005%)を飲料水投与、第 3 群には Catechol (CC) (0.8%)、第 4 群にはγ-Oryzanol (2%)、第 5 群には Caprolactam (1.0%)、第 6 群には Sodium phenobarbital (S.PB) (0.05%)をそれぞれ混餌投与した。実験 20 週経過後全動物を剖検し、病理組織学的に前腫瘍性病変および腫瘍性病変について検索した。【結果】DBN 投与群では食道の過形成および乳頭腫の有意な増加、CC 群では前胃の過形成および乳頭腫、S.PB 群では甲状腺の濾胞過形成および腺腫の有意な増加および肝 GST-P 陽性細胞巣の有意な増加が観察された。非発がん性物質であるγ-Oryzanol および Caprolactam 群ではいずれの臓器においても増殖性病変の増加は認められなかった。しかし、対照群を含めて各臓器の前腫瘍性および腫瘍性病変の発生頻度および肝 GST-P の発現は、F344 ラットを用いた背景データと比較すると、同等あるいは低値を示した。【結論】IGS ラットは F344 ラットと比較してプロモーション作用の検出力はやや低いことが示され、中期多臓器発がん性試験には F344 ラットが適していると結論した。

P-69

Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (Parp-1)ノックアウトマウスにみられた歯牙病変

○楠岡　修[1,2]、堤　雅弘[1]、野崎中成[3]、藤原　久子[3,4]、辻内俊文[1]、田村一利[2]、堀口浩資[2]、白岩和己[5]、鎌田宣夫[6]、中釜　斉[3]、杉村　隆[3]、高戸　毅[4]、益谷美都子[3]　([1]奈良医大・がんセ・腫瘍病理、[2]ボゾリサーチ、[3]国立がんセ・研・生化、[4]東大・医・口外、[5]旭化成、[6](株)中外医科学研究所)

Parpは、DNA修復、細胞死や細胞分化の誘導に関与する。*Parp-1*$^{-/-}$マウスではアルキル化剤やガンマ線に対する致死感受性、及び *N*-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP)やazoxymethaneによる発がん感受性が亢進する。*Parp-1*ノックアウトマウスの長期飼育を行い、歯牙病変の自然発生を観察したので報告する。【材料と方法】マウスはICR/129Svの遺伝的背景を有する系統で、*Parp-1*$^{-/-}$の雄10匹と、*Parp-1*$^{+/+}$の雄13匹を用い、2年間基礎飼料にて飼育した。動物はエーテル麻酔下で放血致死させfull autopsyを行い、臓器は10%ホルマリンで固定し、硬組織については蟻酸・ホルマリンで脱灰後パラフィン包埋して切片とし H・E 染色を施し病理組織学的検索を行った。【結果および考察】*Parp-1*$^{-/-}$マウスは、検索した10例全ての動物の切歯に象牙質を主体とする形成異常が観察された。*Parp-1*$^{+/+}$マウスの切歯は歯髄腔側に象牙芽細胞が整然と配列しているが、*Parp-1*$^{-/-}$マウスでは象牙質が顕著に肥厚し、形態異常を起こしていた。歯髄腔内での象牙質の形成や象牙芽細胞の不規則な配列も認められた。以上の結果より、Parp-1は歯牙形成、象牙芽細胞の分化に重要な役割を果たしていることが示唆された。

P-70

Effect of GM-CSF on mucous epithelium in cheek pouch of syrian hamster

Sun-A Cho, Jong-Hwan Park, Seung-Hyeok Seok, Jae-Hak Park
Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Seoul National University

This study is aimed to know the effect of GM-CSF on the mucous epithelia of hamster cheek pouch. After anesthelized hamster with ketamine and xylazine, we administered 60mg/kg, 5-FU on 0 and 2 days. And we scratched the mucosa of hamster cheek pouch by 23 gauge needle on 2 and 3 days. After scratching, hamsters were administrated with GM-CSF at the dose of 5, 10, and 20 ug/ml , and with sterile saline for negative control and with bovine lactoferrin(0.5 mg/ml) for positive control. To examine the healing effect and cytokine expression, we performed RT-PCR analysis for pro-inflammatory cytokines IL-1b, IL-2, TNF-a and TGF-b.
On gross and histopathological evaluation, all groups showed a tendency to heal, but GM-CSF treated groups heal rapidly than control groups. And there are no significant difference between GM-CSF groups. In immunohistochemistry, Ki67 antigen increased in GM-CSF groups. And there is a active connective tissue proliferation in GM-CSF groups in Masson trichrome stain. And RT-PCR analysis, all cytokine expression level reduced according to healing effect, especiaaly GM-CSF treatment groups. From the these result, we suggest that a GM-CSF induce the rapid healing of mucous epithelial damage regardless dose of GM-CSF.

P-71 特殊飼料によるKlotho変異マウス特異病変の制御

○木本直哉[1]、高場克己[1]、鈴木一生[1]、竹田剛[1]、佐藤均[1]、加国雅和[1]、森下幸治[2]、神谷俊一[2]、西川智[3]
([1]協和発酵・安全性研究所、[2]協和発酵・筑波研究所、[3]協和メディックス)

Klotho変異マウスは、Kuro-oらによって樹立された挿入突然変異により早期老化症状を呈するマウスである(Nature. 390:45-51, 1997)。同マウスは、Klotho 遺伝子と早期老化症状との関連を研究する上で有用であると考えられているが、過度に短命であることが実験系として不都合とされてきた。しかしながら、森下らの研究で、Klotho 変異マウスを特殊飼料（低リン、高亜鉛含有飼料=Klotho Rescue Diet: KRD）で飼育することにより、著しく延命することが確認された。そこで、KRD飼育がKlotho変異マウスに及ぼす影響を病理組織学的に検索した。また、KRD 飼育から一般飼料飼育に切替えた場合の変化についても併せて検討を行った。【方法】KRDで11週齢まで継続飼育したKlotho変異マウス、あるいは5週齢よりKRDから一般飼料に切替えた動物の全身諸器官について、経時的に病理組織学的検査を実施し、一般飼料で継続飼育したKlotho変異マウスの病変と比較した。検査は各ポイントごとに雌雄各10例について実施した。【結果およびまとめ】KRDで継続飼育したKlotho変異マウスでは、雌雄ともに病変の発現が抑制されていた。一方、KRDから一般飼料に切替えた動物では、全身性の石灰化病変、肺気腫、生殖器の萎縮、骨の異常等、一般飼料で飼育したKlotho変異マウスに近い病変が得られることが確認された。餌切替えの影響は雌動物で特に顕著であった。低リン、高亜鉛含有飼料により病変の抑制が認められたことより、リンあるいは亜鉛がKlotho遺伝子を介した病変の発現に関与しているものと思われた。また、KDR で飼育することで延命および病変発現の制御ができることより、同飼育モデルは、今後Klotho遺伝子の機能を解析していく上で有用なものになりうると考えられた。

P-72 T-2 toxin 投与の妊娠ラットにおける形態学的変化

○瀬畑信哉[1,2],寺西宗広[2],上塚浩司[1], 中山裕之[1], 土井邦雄[1] ([1]東大院・獣医病理, [2]三共・安全研)

【はじめに】T-2 toxin は真菌（*Fusarium* spp.）により産生されるマイコトキシンである．T-2 toxin を妊娠マウスに投与すると胎仔の死亡および骨格異常等の催奇形性を有することが知られている．しかし，胎仔毒性のメカニズムは依然不明であり，妊娠ラットにおける T-2 toxin の毒性，胎仔毒性については報告が少ない．そこで，本試験は，T-2 toxin を妊娠ラットに投与して，その形態学的変化を検索する目的で実施した．

【材料および方法】T-2 toxin 2 mg/kg を妊娠 13 日目の Wistar ラットに単回経口投与した．投与 24 および 48 時間後に動物を解剖し，妊娠ラット，胎盤および胎仔の病理組織学的変化を検索した．

【結果および考察】T-2 toxin 投与群の妊娠マウスにおいて，胸腺，脾臓，肝臓，消化管，唾液腺および膵臓に壊死／単細胞壊死が認められた．また，肝臓では脂肪化も認められた．T-2 toxin 投与 24 時間後の動物では，膣からの出血が認められ，病理組織学的に胎盤の出血および栄養膜細胞の単細胞壊死が認められた．胎仔では，T-2 toxin 投与 24 時間後に中枢神経系において神経細胞の単細胞壊死が，投与 48 時間後に肝臓において造血細胞の単細胞壊死の増加と肝細胞壊死が認められた．これらの結果は，T-2 toxin は妊娠ラット，胎盤および胎仔において同質の変化，すなわち壊死／単細胞壊死を生じさせることを示している．また，胎仔における変化は T-2 toxin の直接作用によることを示唆している．

P-73

ラット肺癌培養細胞株(RLCNR)の樹立

○天沼利宏[1]、辻内俊文[2]、丸山博司[2]、三井雅之[2]、国安弘基[2]、堤雅弘[2]
（1：日本農薬（株）総合研究所、2：奈良医大腫瘍病理）

［はじめに］N-ニトロソ化合物によるラット肺癌実験系は、ヒトの肺腺癌あるいは扁平上皮癌と組織学的に類似した癌が発生し、分子生物学的にもヒトの癌と類似点を有することより、ヒト肺非小細胞癌の優れた実験系とされている。この実験系において腺癌は、肺胞上皮過形成、腺腫を経て腺癌へと進展することが示されており、肺腺癌の多段階的な発生過程、特に発癌初期過程を検索するために有用ではあるが、転移など発癌後期の進展過程を検索することは困難である。今回、我々は肺腺癌の進展過程を検索するため、ラット肺腺癌より培養癌細胞株を樹立したので報告する。
［材料と方法］雄 Wistar ラットに N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP)を飲料水に混じ投与し、発生した径約２mm の肺腫瘤を無菌的に摘出し、表面をエタノールで短時間洗浄後、抗生物質添加 10%ウシ胎児血清含有 EMEM 培養液中で鋭利な刃物で細切、CO_2 incubater 中で培養した。線維芽細胞を機械的に剥ぎ取り、上皮細胞を選択的に増殖させることにより、増殖の強い１個のコロニーを得ることに成功した。この細胞コロニーを分離培養し細胞株(RLCNR)を樹立し、in vitro での増殖能の検索、電子顕微鏡による検索および K-ras 遺伝子異常の検索を行った。
［結果および考察］RLCNR の細胞倍化時間は 19.2 時間であった。超微形態的には、細胞質内に層板小体と考えられる電子密度の高い膜状構造物が認められた。K-ras 遺伝子コドン 12 に G→A transition がみいだされた。以上の結果より、RLCNR は II 型肺胞上皮由来の腺癌であることが示唆された。ラット肺癌の培養細胞株は、文献的に発表されているものがみられないことから、RLCNR は肺癌の基礎的研究に有用な細胞株であると考えられる。

P-74

ラット肺腺癌由来移植腫瘍より確立した異なる性状を示す二つのクローン細胞株の特性解析

○中西雅子[1]、川島牧[1]、桑村充[1]、熊谷大二郎[1]、澤本修[2]、山手丈至[1]
（[1]大阪府大院・応用形態学、[2]大塚製薬工場・栄養研）

肺癌は、随伴病変として悪性高 Ca 血症（HHM）を誘起し、また、しばしば骨転移を併発することが知られている。その詳細な病理発生機序は複雑であり、未だ不明な点も多い。我々が確立したラット肺腺癌由来移植腫瘍株(IP)は、PTHrP を産生し、F344 ラットへ移植すると HHM を惹起する(Nakanishi et al., *Virchows Arch*, 2002)。今回、IP から分離した二つのクローン細胞株（IP-B12、IP-M-B3）の細胞特性ならびに転移能について解析した。【方法】2×10^6 個の細胞を F344 雄ラットの腹腔内あるいは頸背部皮下に接種し、腫瘍随伴病変を解析した。また、10^6 個の細胞を左心室腔内へ接種することで骨転移能とその病態を観察した。【結果】上皮様の形態を示す IP-B12 は PTHrP を産生し、担腫瘍ラットに HHM、白血球増多症および悪液質の病態を惹起した。一方、間葉系様の細胞形態を呈する IP-M-B3 は PTHrP 非産生性であり、白血球増多症のみを引き起こした。また、IP-B12 を左心室に接種すると、脊髄圧迫や骨折を伴った骨融解型転移（主に腰椎、大腿骨）が高率に認められたのに対し、IP-M-B3 では、上腕や大腿部の筋肉、副腎、あるいは腸間膜にも転移が見られた。骨転移の程度は IP-B12 に比較して低く、破骨細胞の出現ならびに骨融解像は軽度であった。興味あることに、IP-M-B3 はこれら転移部位において粘液肉腫様あるいは脂肪肉腫様などの様々な組織像を呈した。【まとめ】ラット肺腺癌に由来する IP-B12 と IP-M-B3 は、その細胞特性と転移能において異なる性状を示したことから、HHM や骨転移などの腫瘍随伴病変の発生を比較病理学的に解析できる有用なモデルである。これらの病態の形成には PTHrP の関与が示唆されることから、現在、PTHrP の発現制御機序と腫瘍細胞および骨芽細胞/破骨細胞との相互作用について検討を加えている。

P-75 マウス肝芽腫由来培養細胞における遺伝子発現解析

○ 坂入鉄也，後藤和広，岡田味世子，杉本次郎，土屋毅幸，小林潔，高木司郎
（三菱ウェルファーマ・安全性研）

【緒言】 肝芽腫は，化学物質の長期暴露により，D2B6F1 や B6C3F1 等のマウスに誘発されることが知られている．しかしながら，その組織発生については，ヒトの場合と同様，未だ意見が分かれるところである．本研究では，マウス肝芽腫の生物学的特性を検索し，その組織発生を考察する目的で，Diethylnitrosamine-Sodium phenobarbital 投与により誘発したマウス肝芽腫について，本腫瘍より樹立した細胞株（MHB-2 株）を用いて，その遺伝子発現について検索した．

【材料と方法】 MHB-2 細胞より Total RNA を抽出し，肝細胞の分化度を判別し得る遺伝子の発現を RT-PCR 法により検索した．遺伝子は，幹細胞マーカーとして c-kit ならびに Thy-1，幼若肝細胞マーカーとしてα-fetoprotein (AFP)，成熟肝細胞マーカーとして Albumin (ALB)ならびに Glucose-6-phosphatase (G6P)を選択した．

【結果と考察】 MHB-2 細胞には，Thy-1 mRNA が顕著に発現していることが確認された．c-kit に関しては，mRNA の発現が確認され，免疫細胞化学的にも陽性像が散見された．一方，AFP，ALB，G6P mRNA は，いずれも非検出あるいは極めて低発現であった．MHB-2 細胞において，肝細胞マーカーの明らかな発現が認められなかったことは，過去に報告されている *in vivo* でのマウス肝芽腫の組織化学的性状と遺伝子レベルで一致する結果となった．加えて，本細胞が，幹細胞マーカーである Thy-1 ならびに c-kit mRNA を発現していることは，その細胞分化度が極めて低いことを示しており，誘発された肝芽腫が幹細胞様の非常に未分化な細胞より発生した可能性を示唆するものであると考えられた．

P-76 F344 ラットの子宮に自然発生した悪性シュワン細胞腫由来細胞株(LY-PPB6、LY-H12)の特性解析

○山手丈至[1]、阪森真由子[1]、中西雅子[1]、川島　牧[1]、仲辻俊二[2]、熊谷大二郎[1]、桑村　充[1]
（大阪府大院・[1]動物応用形態学講座、[2]藤沢薬品・安全研）

2年にわたり長期飼育された F344 ラットには 0.1%の割合で子宮原発の悪性シュワン細胞腫が自然発生する。今回、24 ヵ月齢の F344 雌ラットの子宮頚部に自然発生した悪性シュワン細胞腫から同系ラットにおける移植腫瘍株(LY)と LY から異なる性格を示す二つのクローン細胞株（LY-PPB6 と LY-H12）の確立に成功したので、その細胞特性を報告する。

【方法・結果】起源腫瘍から得た径 2 mm の組織片を同系雌ラットに移植することで LY を確立した。起源腫瘍と 5 代まで連続継代した LY は、円形から卵円形の細胞が密あるいは束状に配列し、電顕により断裂した基底膜様構造が観察された。免疫組織化学的に、腫瘍細胞はビメンチン、S-100 蛋白、GFAP、MBP、NSE に種々の程度陽性であった。LY から誘導した LY-PPB6 は紡錘形細胞から成り、腫瘍原性があり、その免疫反応性は LY と同様であった。一方、LY-H12 は大型円形細胞から成り、腫瘍原性はなく、α-SMA に対し陽性に反応する特性があった。LY-H12 に TGF-β1 を添加したところα-SMA 陽性細胞数が減少し、同様の現象は LY-PPB6 と抗 TGF-β1 抗体を同時に添加した際にもみられた。RT-PCR により、両クローン細胞株には、NGF と TGF-β1 の mRNA 発現が示された。

【まとめ】LY-PPB6 はシュワン細胞由来の細胞株で、LY-H12 は筋線維芽細胞の特性を示す非腫瘍性細胞株であった。これら細胞株は、子宮原発の肉腫における腫瘍細胞と間質細胞との関連を知る上で有用な実験系である。

P-77　F344ラットにおける自然発生腫瘍の発生率の年次推移

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

【はじめに】1984年から15年間に当施設に導入したF344ラットの導入年次による自然発生腫瘍の発生率の推移を検討した。【ラット】F344/ DuCrjを4週齢で導入、2週間の検疫・馴化を経てがん原性試験(104週間)の対照群に供試。【飼育条件】バリアー区域の チャンバー内(吸入試験)または飼育室内(経口試験)で単飼。温・湿度は 吸入試験: 23±2℃, 55±15%、経口試験: 24±2℃, 55±10%。明暗サイクル:12時間。CRF-1飼料と市水は自由摂取。【病理診断】H&E染色標本の光顕診断。【結果・考察】平均発生率が 10%を越えたものを抜粋して下表に示した。これまでのところ導入年次によるF344/ DuCrj ラットの自然発生腫瘍の発生率に大きな変動はないと判断した。

雄　導入年	1984	1985	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	平均
単核球性白血病 (%)	15.0	13.1	16.0	20.0	15.0	10.0	10.7	16.0	9.0	7.5	4.0	12.7	12.0	12.2
下垂体腺腫 (%)	45.0	28.6	32.0	44.0	35.4	41.0	25.3	30.6	40.0	39.4	28.6	34.0	50.0	35.7
甲状腺C-細胞腺腫 (%)	6.0	11.9	15.0	12.0	14.1	15.0	13.3	6.0	9.0	15.0	16.0	18.0	12.0	13.0
副腎褐色細胞腫 (%)	28.0	15.6	20.0	11.0	18.0	14.0	10.7	12.0	7.0	12.5	10.0	8.1	4.0	13.5
精巣間細胞腫 (%)	91.0	91.5	88.0	83.0	89.0	88.0	90.7	86.0	90.0	84.0	82.0	68.7	74.0	85.5
動物数(匹)	100	200	100	100	100	100	150	50	100	200	50	150	50	計: 1450
雌　導入年	1984	1985	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	平均
単核球性白血病 (%)	11.0	20.1	18.0	14.0	13.0	13.0	10.7	12.0	10.0	10.1	9.0	10.0	16.0	13.1
下垂体腺腫 (%)	50.0	50.3	33.0	44.0	44.4	27.0	41.2	22.0	43.0	46.5	34.0	32.0	46.0	40.4
甲状腺C-細胞腺腫 (%)	6.0	11.2	8.0	13.0	6.2	4.0	10.7	10.0	8.1	14.1	13.0	10.1	16.0	9.9
乳腺線維腺腫 (%)	3.0	9.0	13.0	9.0	9.0	11.0	12.1	6.0	16.0	16.2	14.0	14.0	10.0	11.2
内膜間質性ポリープ (%)	11.0	15.6	15.0	19.0	16.0	13.0	14.8	8.0	16.0	10.1	16.0	12.8	16.0	14.3
動物数(匹)	100	200	100	100	100	100	150	50	100	100	100	150	50	計: 1400

P-78　F344 ラットに認められた悪性血管周皮腫の 1 例

○高橋尚史、竹内幸子、吉田敏則、桑原真紀、榎本秋子、中島信明、千葉裕子、武田眞記夫、真板敬三、原田孝則　(残農研)

【はじめに】　ラットにおいて、血管周皮腫は極めて稀であり報告も少ない。今回我々は、長期飼育した雌性 F344 ラットに自然発生性の悪性血管周皮腫を認めたので、その病理学的特徴について報告する。
【症例】　本症例は、p,p'-DDT の発がん性試験に用いた投与群の動物で、試験 99 週時より薬物投与の影響による振戦が認められ、100 週時に切迫殺された個体である。剖検時には、35×30×20 mm および 20×10×10 mm の 2 つの褐色腫瘤が、直腸付近の腸間膜脂肪織に癒着して認められた。両腫瘤とも割面は白色充実性で、一部に出血、壊死巣を含んでいた。
【結果】　組織学的検索では、腫瘍細胞は、一層の内皮細胞が内張りする不規則な鹿の角状 (Stag horn) の血管腔を中心として、シート状に充実性増殖を示し、一部では類円形の血管腔を中心とした同心円状配列もみられた。腫瘤辺縁では、周囲脂肪織への浸潤が認められた。腫瘍細胞は、円形から楕円形の核と空胞状あるいは弱好酸性の細胞質を有し、細胞境界は不明瞭で、分裂像が多数認められた。免疫組織学的には、腫瘍細胞は vimentin、desmin、α-SMA に陽性、factor Ⅷ-related antigen、S-100 protein、GFAP、lysozyme、chromogranin A に陰性であった。また、PCNA、P27 強陽性、VEGF、ERα弱陽性を示した。PTAH 染色では、腫瘍細胞内に明らかな筋線維は認められなかった。電子顕微鏡観察では、腫瘍細胞が互いに細胞質を突起状に伸ばし interdigitation を形成する像が認められ、不完全な基底膜、hemidesmosome、pinocytotic vesicles、focal density も観察された。
【考察】　以上の結果から、本症例はヒトの悪性血管周皮腫と類上皮平滑筋肉腫に類似していたが、紡錘型の腫瘍細胞の束状の増殖がみられないこと、加えて電顕による細胞形態において interdigitation を示していることから、悪性血管周皮腫と診断した。

P-79　インスリン陽性細胞が腺管状の増殖を示したビーグル犬の膵島芽細胞症の１例

○大平　東子，萩原　孝，長谷川　和成，石﨑　まゆみ，安井　雄三，木原　亨，細井　理代，
宮島　留美子，志賀　敦史，山川　誠己，岩田　聖，今井　清，榎本　眞（安評センター）

【はじめに】イヌでは膵島芽細胞症が自然発生にしばしば発生することが知られている．その組織像は肥大した島細胞と膵管細胞が混在して腺房間に不規則散在性に増殖することを特徴としている．今回我々は，ビーグル犬において免疫組織学的には insulin 陽性細胞が腺管状の配列を示し，限局性増殖を特徴とする自然発生性の膵島芽細胞症の１例を経験したので報告する．

【症例および方法】症例は１年間毒性試験対照群に用いられた 20 ヶ月齢の雌のビーグル犬の１例である．一般症状，血液生化学および肉眼所見では異常は認められなかった．膵臓は常法に従い病理組織標本を作製し，HE 染色，AB-PAS 染色，抗 Keratin, 抗 PCNA, 抗 insulin, 抗 glucagon, 抗 somatostatin 抗体を用いた免疫染色を実施した．

【結果および考察】HE 染色では基底側に核を有する円柱細胞が腺管状に増殖し，チモーゲン顆粒は認められなかった．核分裂像が散見され，軽度の核異型性が観察された．また，円形ないし類円形の淡明な細胞質を持つ島細胞様細胞の限局性増殖巣も見られた．AB-PAS 染色ではいずれの増殖巣共に陰性であった．免疫染色では，前者の腺管状増殖巣のほとんどが insulin 陽性，一部で glucagon，somatostatin は陽性を示し，PCNA 陽性細胞が散見されたが，Keratin は陰性であった．後者の島細胞様細胞は，insulin，glucagon，somatostatin のいずれにも陽性を示し，一部の領域で Keratin 陽性で，PCNA 陽性細胞が散見された．以上の結果より，膵島芽細胞症と考えられたが，従来の不規則散在性増殖ではなく，限局性増殖を示し異型的な腺管様構造を特徴とする極めて稀少な症例と思われた．

P-80　CD(SD)ラットに発生したYolk sac carcinoma様腫瘍とSex cord/stromal tumor様腫瘍との併発がみられた卵巣腫瘍の１例

○細井理代，長谷川和成，石﨑まゆみ，大平東子，安井雄三，木原　亨，宮島留美子，志賀敦史，
山川誠己，岩田　聖，今井　清，榎本　眞（安評センター）

【はじめに】今回我々は，長期飼育したCD(SD)ラットに自然発生性のYolk sac carcinoma様腫瘍とSex cord/stromal tumor様腫瘍の併発と考えられる興味深い卵巣腫瘍を認めたので，その病理学的特徴について報告する．

【材料と方法】動物は74週齢に臨床的に腹腔内腫瘤が触知され，79週齢に蒼白，腹部膨満など状態悪化のため，切迫解剖に処された1例である．肉眼観察において，左卵巣は70×50×40 mmに肥大し，膵臓，大網，腸間膜，子宮広間膜，腹膜に直径2～5 mmの多数の白色結節が，また100 mlの赤色腹水が観察された．臓器は10 %中性緩衝ホルマリン液に固定後，パラフィン包埋し，常法に従いH.E.標本を作製し，組織学的検査を行った．

【結果および考察】肥大した卵巣の割面は充実性で，半透明，白色または褐色の組織が入り混じりまだら状を呈していた．組織学的に既存の卵巣構造は確認できず，腫瘍組織で置換されていた．腫瘍組織を構成する細胞は，３種類の特徴的な形態を示していた．①Yolk sac carcinoma様腫瘍細胞：大きな核，明瞭な核小体とエオジン好性の豊富な胞体を有す卵円形細胞が巣状，索状またはリボン状の配列を示し，淡好酸性の無構造均一な基質中に浮かんだ状態で増殖し，細胞の大小不同，異型性が著しく，核分裂像も多い細胞，②Sertoli cell tumor様腫瘍細胞：精細管様の管腔内に紡錘形細胞が索状に配列し，好酸性微細顆粒状で，空胞を有す細胞質と，円形または卵円形の核を持つ細胞，③Granulosa cell tumor様腫瘍細胞：②の組織と移行像を示す核／細胞質比の大きい小型円形細胞の増殖．

なお，腹腔臓器に認められた多数の白色結節は，Yolk sac carcinoma様腫瘍細胞のみからなる転移巣であった．以上の所見から，卵巣由来のYolk sac carcinoma様腫瘍とSex cord/stromal tumor様腫瘍（Sertoli cell tumor様腫瘍とGranulosa cell tumor様腫瘍）の併発を考えた．ラット卵巣において異なる分化を示す２つの腫瘍（Yolk sac carcinomaとSex cord/stromal tumor）の発生は珍しく，本症例は，病理発生を考察する上で興味深い例と考えられた．今後さらに病理発生について詳細な検討を加えたい．

発表者索引

（数字は演題番号、下線は演者）

A

K. S. Ahn P-52
荒川 真悟 P-22
新井 克彦 O-10
赤木 圭介 O-13
浅岡 由次 P-54
浅沼 健太郎 P-47
相磯 成敏 P-77
足立 健児 P-6
足立 民子 P-1
朝元 誠人 O-18, O-19
O-20, P-27
P-32, P-62
P-67
天沼 利宏 P-73
麻生 直 P-61
有村 卓朗 O-21

B

馬場 弘靖 S-4
坂東 清子 P-51

C

H. Chen P-23
H. L. Chuang P-23
C. C. Chiu P-23
S-A. Cho P-63, P-64
P-70
千葉 裕子 P-78
曹 永晩 P-32

D

土井 賢一郎 O-15, P-24
土井 邦雄 P-6, P-72
P-9
土井 悠子 P-62

E

榎本 秋子 P-78
榎本 眞 P-79, P-80
枝元 洋 P-35, P-42
衛藤 光明 O-7

F

古川 文夫 P-11
古里 政國 O-12
古濱 和久 P-5, P-43
藤井 悦子 P-47, P-56
藤井 文隆 P-43
藤原 久子 P-69
藤原 利久 P-1
藤田 春香 O-17, O-21
P-58, P-59
藤平 司郎 P-4
二口 充 P-30, P-32
P-68
福田 芽衣子 P-7, P-31
福島 昭治 O-1, O-15
O-20, P-24
P-51, P-65

G

後藤 和広 P-26, P-75

H

J. T. Hong P-52
Y. T. Huang P-23
羽野 寛 O-12
外岩戸 尚美 O-18, O-19
O-20, P-27
原 明 P-3, P-16
原田 孝則 P-78
広瀬 雅雄 O-4, O-5
O-17, O-21
P-11, P-20
P-21, P-40
P-45, P-46
P-48, P-58
P-59, P-66
細井 理代 P-79, P-80
星 学 O-15
星谷 達 O-13, P-41
長谷川 和成 P-79, P-80
萩原 孝 P-79
萩原 昭裕 P-62, P-68
樋野 興夫 P-36
平川 公昭 P-29, P-44
平田 暁大 P-12, P-28
P-54, P-60
堀 友花 P-19
堀 隆夫 P-50
堀口 浩資 P-69
林 守道 P-37
蓮村 麻衣 O-4, P-40
P-45, P-46
寶来 直人 P-29
廣瀬 善信 P-3, P-13
P-16
廣田 毅 O-19, P-27

I

伊東 信行 P-61
伊藤 恒夫 P-47, P-56
伊藤 裕子 O-22
井上 弘子 O-17, O-21
P-58, P-59
稲垣 昌樹 P-28
稲熊 真悟 P-32
稲田 健一 P-28
稲嶺 盛彦 P-15
岩坂 俊基 P-57
岩田 聖 P-79, P-80
五十嵐 功 P-22
今井 俊夫 O-4, O-5
P-40, P-45
P-46
今井 清 P-79, P-80
今井 則夫 P-27, P-62
今井田 克己 P-30, P-62
今岡 尚子 P-43
今沢 孝喜 P-11, P-20
P-21, P-66
市原 敏夫 O-19, P-27
石井 俊也 O-13
石崎 まゆみ P-79, P-80
泉 啓介 P-14
池崎 信一郎 P-35
池田 五子 O-16, P-26
飯郷 正明 P-49
飯高 健 P-18, P-54
P-60

J

K. M. Jung P-52

K

C. K. Kim P-49
D. J. Kim P-52
T. M. Kim P-52
カリム　レザウル 0-1, P-65
カン　ジン　ソック 0-1, 0-20
倉田　祥正 S-3
加国　雅和 P-2, P-71
加藤　かおり P-22
加藤　淳彦 P-47
加藤　奈津美 0-17, 0-21 P-58, P-59
河内　眞美 P-36
河部　真弓 P-68
河野　一樹 P-29
柿本　恒知 P-57
笠原　健一郎 P-42
樫田　陽子 0-6, 0-10
梶川　悟 P-9
梶村　哲世 P-5, P-43
鎌田　宣夫 P-69
鎌田　壽彦 0-11
岸田　秀樹 0-2
久野　寿也 P-3, P-13
近藤　由美 P-10
金田　信也 P-14
串田　昌彦 P-51
熊谷　大二郎 P-74, P-76
栗栖　和信 P-33
栗林　正伯 P-67
桑原　真紀 P-78
桑原　拓美 P-44
桑村　充 P-33, P-74 P-76
桑村　有規 P-1
工藤　佳代子 P-34
甲斐　清徳 P-5, P-43
国安　弘基 P-73
黒田　淳二 P-37
黒木　宏二 P-36
児玉　安史 P-10
児玉　幸夫 P-21
勝山　清加 P-56
小玉　拓郎 P-50
小口　敦 P-1
小松　俊一朗 P-47
小西　陽一 0-2
小泉　治子 P-57
小泉　富彦 P-47
小谷　猛夫 P-33
小嶋　聖 P-2, P-44
小林　欣滋 P-1
小林　潔 0-16, P-25 P-75
上村　裕洋 P-29, P-44
神吉　けい太 P-11, P-20 P-21, P-66
神谷　俊一 P-71
川口　博明 P-50
川島　牧 P-74, P-76
蔵崎　正明 P-19
楠岡　修 0-2, P-34 P-69
日下部　愛泉 0-16, P-25
片桐　卓 P-77
片山　雅貴 P-3, P-13
片嶋　紗弓 0-2, 0-9 0-11
北浦　敬介 P-7, P-31
北村　毅 P-37
北村　泰樹 P-11, P-20 P-21, P-66
木下　アンナ 0-20, P-65
木原　亨 P-79, P-80
木村　正明 0-8
木内　克治 P-4
木本　直哉 P-2, P-71
糀谷　高敏 P-36

L

M. K. Lee P-52
李　輝哲 P-48
李　京烈 0-21

M

丸山　博司 P-73
丸山　敏之 P-53
宮川　義史 P-57
宮田　裕人 0-8
宮島　留美子 P-79, P-80
宮嶌　宏彰 S-2, P-29 P-44
柵木　利昭 P-54
三井　雅之 P-73
三浦　久樹 P-9
三橋　誠 0-15
三森　国敏 0-5, 0-6 0-10, P-37 P-48
三苫　秀雄 P-61
三澤　保幸 P-47
室井　貴子 P-61
松浦　哲郎 P-10
松岡　信男 P-36
松本　正博 P-4
松本　泉美 P-36
松本　智志 P-7, P-31
森　秀樹 P-3, P-13 P-16
森岡　孝満 P-15
森下　幸治 P-71
森口　佳映 P-4
森村　圭一朗 0-1, 0-15 0-20
森本　純司 0-22
森本　泰夫 P-8
真鍋　淳 S-1, P-22
真板　敬三 P-78
水谷　昌人 P-2
前川　昭彦 0-2, 0-9 0-11, P-38
前田　博 S-2, P-29 P-29, P-44
増村　健一 P-66
村松　啓子 P-22
南　孝則 P-7, P-31
美谷島　克宏 P-57

武藤　朋子　0-12
桝富　直哉　0-16
李　昌治　0-1, P-65
眞島　恵介　P-59

N

永谷　真理子　P-34
永田　雅史　P-53
新田　由美子　0-3
西原　真杉　P-48
西川　秋佳　P-11, P-20
P-21, P-66
西川　智　P-71
西村　友成　P-1
西村　暹　P-65
中釜　斉　P-69
中江　大　0-2, 0-9
0-11, P-38
中山　裕之　P-6, P-9
P-72
中西　雅子　P-74, P-76
中西　豊　0-8
中川　慎也　0-10
中村　菊保　P-39
中村　厚　P-34, P-35
P-41, P-42
中島　信明　P-78
中野　健二　P-9
中良　裕美　0-13
仲辻　俊二　P-4, P-76
長島　吉和　0-13
長野　嘉介　P-77
長澤　達也　P-37
奈良間　功　P-10
内藤　暁宏　P-17, P-55
難波江　恭子　P-62
二井　愛介　P-9
能美　健彦　P-66
野崎　中成　P-69
野田　修志　P-61
野田　哲生　P-65

O

K. W. Oh　P-52
奥原　裕次　P-37
奥野　泰由　P-51
岡崎　修三　P-35
岡崎　和志　P-11
岡庭　梓　0-13
岡田　味世子　0-16, P-25
P-26, P-75
沖本　一夫　P-36
小川　久美子　S-4, 0-19
P-30
小川　友美恵　P-56
P-6
小野瀬　淳一　0-4, P-40
P-45, P-46
大神　明　P-8
大西　隆仁　P-14
大石　裕司　P-4
大塚　敏広　P-14
大槻　勝紀　0-22
大平　東子　P-79, P-80
大野　理絵　0-8
大澤　浩一　0-6, 0-10
長村　義之　P-57
尾崎　圭介　P-51
尾崎　清和　P-10
落合　孝広　P-55

P

Jae-H. Park　P-63, P-64
P-70
Jong-H. Park　P-63, P-64
P-70

S

S-H. Seok　P-63, P-64
P-70
エリサイド・サリム
0-15, P-24
西道　隆臣　SP
下元　貴澄　0-2, P-7
P-31, P-38
関　高樹　P-51
佐々木　義文　P-1
佐々木　有　0-6, 0-10
佐藤　均　P-2, P-71
佐藤　順子　P-41, P-42
佐藤　伸　P-19
佐藤　洋　P-5, P-43
佐藤　亮　P-7, P-31
佐野　真士　P-68
佐野　文子　P-26
佐脇　正邦　P-61
嵯峨井　勝　P-19
斎藤　健　P-19
坂田　佳子　P-3, P-13
坂入　鉄也　0-16, P-25
P-26, P-75
坂本　聡幸　P-61
阪森　真由子　P-76
志賀　敦史　P-79, P-80
篠原　誠治　P-33
柴谷　由佳梨　P-22
柴田　雅朗　0-22
柴田　信男　P-37
酒井　洋樹　P-12, P-18
P-28, P-54
P-60
酒々井　真澄　P-15
渋谷　淳　0-17, 0-21
P-48, P-58
P-59
須方　督夫　P-51
杉江　茂幸　P-13, P-16
杉山　幸嗣　P-53
杉村　隆　S-4, P-69
杉本　次郎　P-26, P-75
杉本　哲朗　P-6, P-47
瀬畑　信哉　P-72
正田　俊之　P-57
曽根　秀子　P-20
早田　正和　P-50
沈　鈞　0-15, P-24
嶋田　昇二　P-13
匂坂　秀樹　P-22
白井　紀充　P-18, P-54
P-60
白井　智之　S-4, 0-18
0-19, 0-20
P-27, P-30
P-32, P-62
P-67, P-68
白岩　和己　P-69

白木　克尚　P-9
妹尾　英樹　P-77
鈴木　一生　P-2, P-71
鈴木　雅実　P-6, P-47
P-56
鈴木　貴美　P-5
鈴木　周五　P-30, P-67
鈴木　秀幸　P-44
澤本　修　P-33, P-74

T

P. Tellier　O-14
千葉　修一　S-5
玉井　幸子　P-35
玉野　静光　O-19, P-27
P-68
戸塚　ゆ加里　P-18
戸塚　繁夫　P-22
高居　宏武　P-56
高橋　尚史　P-78
高橋　正一　O-2, P-38
高橋　明子　O-10
高戸　毅　P-69
高崎　渉　S-1, P-22
高場　克己　P-2, P-71
高須賀　信夫　P-17, P-49
P-55
高倉　サオリ　P-61
高谷　尋美　P-1
高木　広憲　O-17, O-21
P-48, P-58
P-59
高木　司郎　O-16, P-25
P-26, P-75
寺西　宗広　S-1, P-72
寺田　あゆみ　P-34, P-41
寺田　仁美　P-22
鷹橋　浩幸　O-12
瀧澤　保　O-5, P-14
P-40, P-45
P-46
竹下　文隆　P-30
竹腰　進　P-57
竹田　剛　P-2, P-71
竹内　幸子　P-78
竹内　哲也　P-77
鳥井　幹則　P-53
津田　洋幸　S-4, P-17
P-49, P-55
塚本　こず恵　P-56
塚本　徹哉　P-12, P-18
P-28, P-54
P-60
辻村　和也　O-18
辻内　俊文　P-69, P-73
坪田　健次郎　P-4
鶴亀　真依子　P-35
堤　雅弘　P-69, P-73
堤　友子　P-62
田口　周平　P-50
田村　一利　P-34, P-35
P-41, P-42
P-69
田村　啓　O-5
田谷　一善　O-11
田中　英樹　P-25, P-26
田中　浩二　P-36
土屋　毅幸　P-25, P-75
土谷　稔　S-3
武田　眞記夫　P-78
豊沢　かおる　P-36
螺良　愛郎　P-4
立松　正衞　P-12, P-18
P-28, P-54
P-60

U

宇和川　賢　P-51
上原　健城　P-53
上塚　浩司　P-6, P-72
上田　しのぶ　P-17, P-55
上田　誠　O-4, O-5
P-40, P-46
植松　史之　P-38
畝山　智香子　O-17, O-21
P-48, P-58
P-59
内海　博之　O-16, P-25
P-26
内田　直美　P-53
梅村　隆志　P-11, P-20
P-21, P-66
梅田　ゆみ　P-77

V

N. Veingvansay
P-15
P. Q. Vinh　P-13

W

若林　敬二　S-4, P-18
若林　佐知子　P-34
渡部　一人　P-47
渡辺　元　O-11
渡辺　真弓　P-22
渡辺　大　O-13
渡辺　稔之　P-22
渡邉　剛　P-56
渡邉　隆夫　O-6, O-10
和久井　信　O-12
鰐渕　英機　O-1, O-15
O-20, P-24
P-65
魏　民　O-15, P-24

Y

Y. W. Yun　P-52
安田　充也　S-1
安井　雄三　P-79, P-80
安原　加壽雄　O-5
横濱　奈津恵　O-6, O-10
義澤　克彦　P-4
吉見　直己　P-15
吉田　浩己　P-50
吉田　浩二郎　P-13
吉田　貢由　P-5
吉田　敏則　P-78
吉田　緑　O-2, O-9
O-11, P-38
山口　裕子　O-13, P-41
P-42
山崎　寛治　P-61

山手　丈至　P-19, P-33, P-74, P-76
山川　誠己　P-79, P-80
山村　高章　P-1
山田　学　P-39
山田　泰広　P-3, P-13, P-16
山田　智也　P-51
山本　硬治　P-7
山本　昌美　P-12, P-18, P-28, P-54, P-60
湯浅　啓史　P-1
矢部　光一　P-43
柳井　徳磨　P-54
楊　秀英　P-29, P-44
萬　啓吾　P-56

協賛法人・会社ご芳名

アムジェン（株）
岩井化学薬品（株）
エーザイ（株）開発安全性研究部
大塚製薬（株）
（株）大塚製薬工場　栄養研究所
（財）化学物質評価研究機構　日田事業所
杏林製薬（株）研究センター安全性研究部
協和発酵（株）安全性研究所
グラクソ・スミスクライン（株）
（株）札幌総合病理研究所
サクラファインテックジャパン（株）
三栄源エフ・エフ・アイ（株）
三共（株）研究総務部
三光医理化（株）
参天製薬（株）
（財）残留農薬研究所
（株）三和化学研究所　総合研究所
塩野義製薬（株）新薬研究所
（財）食品農医薬品安全性評価センター
（株）新日本科学
（株）新薬開発研究所
住友化学工業（株）
生化学工業（株）中央研究所
大正製薬（株）医薬研究所安全性研究室
大鵬薬品工業（株）製薬ｾﾝﾀｰ安全性研究所
武田薬品工業（株）薬物機能第二研究所
田辺製薬（株）研究開発本部
第一製薬（株）安全性研究所
大正製薬（株）
大日本製薬（株）
（株）大雄会医科学研究所
中外製薬（株）安全性研究所
帝人（株）生物医学総合研究所
帝国臓器製薬（株）
日本コカ・コーラ（株）
日本新薬（株）
日本たばこ産業（株）医薬総合研究所
日本チャールス・リバー（株）
日本ベーリンガーインゲルハイム（株）
日本ロシュ（株）
日本ワイズレダリー(株)
日研化学（株）医薬研究所
（株）日栄東海
（株）バイオ病理研究所
（株）パナファーム・ラボラトリーズ
ファイザー製薬（株）
藤沢薬品工業（株）安全性研究所
（株）ボゾリサーチセンター
三菱ウェルファーマ（株）
（株）三菱化学安全科学研究所鹿児島研究所
明治製菓（株）薬品総合研究所
（株）ヤクルト本社中央研究所研究管理部
山之内製薬（株）
ライオン（株）安全性評価センター

50音順

第 19 回日本毒性病理学会講演要旨集
編　集　　〒198-0024　東京都青梅市新町 9-2221-1
財団法人　日本生物科学研究所
第 19 回日本毒性病理学会
責任者　　布　谷　鉄　夫
印　刷　　有限会社　アイペック
〒170-0002　東京都豊島区巣鴨 1-24-11
（平成 14 年 12 月 20 日発行）

SNBL

医薬品開発総合受託機関

株式会社 新日本科学

安全性研究所
薬物代謝分析センター
臨床開発事業本部
臨床薬理研究所
SNBL USA, Ltd.(安全性研究所)

新日本科学グループでは、前臨床試験から臨床試験(Phase Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ)の受託、申請概要作成や電子申請のサポートまで医薬品開発にかかわる総合サービスをご提供します。
米国 シアトル郊外にSNBL USA, Ltd.を開設し、海外での医薬品開発をサポート致します。

連絡先:本社 鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦2438番地
TEL 099-294-2600 FAX 099-294-3619
Homepage: http://www.snbl.com http://www.snblusa.com

Introducing the Internationally Harmonized

Wistar Hannover GALAS Rat

for Toxicology and Pharmacology

Taconic M&B

CLEA JAPAN, INC.

Taconic
Quality Laboratory Animals and Services for Research

Global Alliance for Laboratory Animal Standardization

KPMG REGISTRAR

JAB
QS Accreditation
R025

ISO 9002

日本クレア株式会社

TEL.03 (5704) 7011 http://www.CLEA-japan.co.jp

組織標本作製、組織検査から最終報告書まで

■よきパートナー・サイエンティフィックテクニシャンを目指して■

受託業務

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

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

安全性研究コンサルタント
- 研究企画から最終報告書まで

秘密は完全に守ります
迅速、廉価です

このような時に御用命下さい
- 標本作製、組織学的検査を一括委託したいとき
- 実験が立て込んで期限に間に合わないとき
- 病理要員が急に不足したとき
- 安全性研究以外で病理設備・要員のいない研究室

※切り出し、包埋、薄切、染色、検査のどの段階からもお引き受けいたします。

サンプル、標本、報告書の受発送は

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

株式会社 **バイオ病理研究所**

〒873-0511
大分県東国東郡国東町小原1200-2
TEL（0978）72−0454
FAX（0978）72−2320
E-Mail:biopathology@muj.biglobe.ne.jp

大分空港から車で10分
（打ち合わせに便利）

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、1984年以来日本の医療業界の皆様とお仕事をしてまいりました。CTBRでは、研究者、技術者、サポート・スタッフを含む従業員総数1100人以上を雇用し、報告書オンタイム提出成績98%を誇っています。常に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

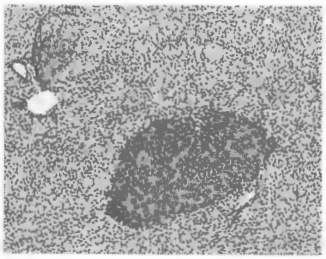
- 獣医病理学者：14人（主にACVP認定者）
- 病理科学技術者：190人
- GLP準拠病理学評価 ：年間620件以上
- パラフィン包埋組織標本の作成及び評価：年間750,000個以上
- 特殊骨関連試験用標本作成 ：年間14,000個以上
- 特殊病理学分野の専門責任者による特別指導
- 特殊病理学部門に於ける経験と背景データ
  - 骨関連疾病：骨粗鬆症、関節炎等
  - 生体材料の組織標本作成・評価
  - 骨強度測定
  - 癌原性試験
  - 電子顕微鏡検査
  - イメージング（画像）：DXA、pQCTデンシトメトリー等
  - 免疫組織化学
  - 静注部位の病理学
  - 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

エルエスジー株式会社
〒162-0814 東京都新宿区
新小川町 6-36 S&Sビル3階
TEL: 03 (3513) 6534
FAX: 03 (3513) 6535

CTBR
A Member of the Invesgen Research Group
87 Senneville Road, Senneville, Quebec, Canada, H9X 3R3
Tel: (514) 630-8200 Fax: (514) 630-8230
E-mail: japanmarketing@ctbr.com Web site: www.ctbr.com

大雄会医科学研究所は

化学物質の発がん性の有無を短期的に推測することが可能な**中期発がん性試験**を開発確立した研究所です。そのユニークな方法と膨大な過去の成果から国際的に高い信頼と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。



GST-P陽性細胞巣

DAIYU-KAI
INSTITUTE
OF
MEDICAL SCIENCE

DIMS

わたしたちは化学物質と人の関係を考えています。

【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た下記の試験をGLP対応により実施いたします。

1 **中期発がん性試験**
（肝、膀胱、胃、腎臓、肺、甲状腺、鼻腔、皮膚等）
2 **中期多臓器発がん性試験**
3 **発がん性試験**
4 **一般毒性試験（単回および反復投与毒性試験）**
5 **病理組織標本の作製及び検査**
6 **独自開発のがん転移モデルによる試験**
このモデルを活用して転移抑制剤の開発に有用なデータを提供することが可能です。

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郷裏64番地
PHONE 0586-51-1201㈹　FAX 0586-51-5634
E-mail : query@daiyu-kai.com
URL : http://www.daiyu-kai.com/ **情報発信中!**

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ﾒｶﾆｽﾞﾑ試験○内分泌かく乱物質に関する各種評価試験○各種ﾎﾙﾓﾝ測定試験
○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 年以来の信頼と豊富な実績

試験に関するお問い合わせは、業務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。

〒303-0043
茨城県水海道市内守谷町 4321 番地
TEL : 0297-27-4501　FAX : 0297-27-1225
URL : http://www.iet.or.jp　E-mail : gyoumu@iet.or.jp

東京事務所　〒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

財団法人 日本生物科学研究所

NIBS

NIPPON INSTITUTE FOR BIOLOGICAL SCIENCE

CONTRACT TESTING DEPARTMENT

信頼できる
パートナーとして

● MC/MS を用いた薬物動態研究

●実験動物・疾患モデル
を用いた毒性・薬効評価

●毒性病理学的研究

お問い合わせ連絡先

財団法人　日本生物科学研究所　受託事業部

〒198-0024 東京都青梅市新町 9-2221-1

HP http://group.lin.go.jp/nibs/　E-mail shogai@nibs.or.jp

TEL 0428-33-1040　FAX 0428-33-1080