

第21回日本毒性病理学会

講演要旨集



2005年1月20日・21日

浜松

目次

第21回日本毒性病理学会概要	P1
交通案内	P2
会場案内	P4
参加者へのご案内	P7
司会・座長一覧	P10
日本毒性病理学会の歩み	P11
日程表	P12
プログラム	
教育講演 (21日)	P13
シンポジウム (20日および21日)	P14
ワークショップ (20日および21日)	P15
示説 (20日および21日)	P17
講演要旨	
教育講演要旨	P28
シンポジウム1-オーガナイザーの言葉	P30
シンポジウム1要旨	P31
シンポジウム2-オーガナイザーの言葉	P37
シンポジウム2要旨	P38
ワークショップ(一般演題)要旨	P44
示説(一般演題)要旨	P52
発表者索引	P103
協賛法人・企業一覧	P109
広告ページ	P111

第 21 回日本毒性病理学会

Twenty-first Annual Meeting of the Japanese Society of
Toxicologic Pathology

1. 期 日 2005 年 1 月 20 日 (木)・21 日 (金)
2. 会 場 アクトシティ浜松 (中ホール・コンgresセンター)
〒430-7790 浜松市板屋町 111-1
Tel:053-451-1111
3. 会 長 今井 清 (財団法人 食品農医薬品安全性評価センター)
4. プログラム委員会
委 員 長 福島 昭治 (大阪市立大学)
委 員 白井 智之 (名古屋市立大学)
堤 雅弘 (済生会中和病院)
奈良間 功 (摂南大学)
野々山 孝 (武田薬品工業 (株)) (50 音順)
5. 大会副会長 : 松沼尚史 (三共 (株) 安全性研究所)
大会顧問 : 榎本 眞 ((財) 食品農医薬品安全性評価センター)
6. 学会協力
株式会社遠鉄トラベル 日本毒性病理学会デスク
〒430-0927 浜松市旭町 12-1 フォルテ 10 階
TEL : 053-452-0137 FAX : 053-456-2582
7. 事務局
<会期前>
〒437-1213 静岡県磐田郡福田町塩新田 582-2
(財) 食品農医薬品安全性評価センター内 第 21 回日本毒性病理学会事務局
TEL : 0538-58-1266 FAX : 0538-58-1293 E-mail : jstp21@anpyo.or.jp

<会期中 : 1 月 19 日 (水) 午後~21 日 (金)>
〒430-7790 浜松市板屋町 111-1
アクトシティ浜松 (中ホール・主催者事務局)
TEL : 053-459-0501 (Fax 兼用)

交通案内

会場

- アクトシティ浜松（中ホール・コンgresセンター）
浜松市板屋町 111-1（TEL 053-459-0501：事務局-会期中のみ）

アクセス

電車の場合

- 東京駅および新大阪駅から JR 浜松駅まで
新幹線 ひかり 約1時間30分
新幹線 こだま 約2時間
- 名古屋駅から JR 浜松駅まで
新幹線 ひかり 約35分
新幹線 こだま 約50分

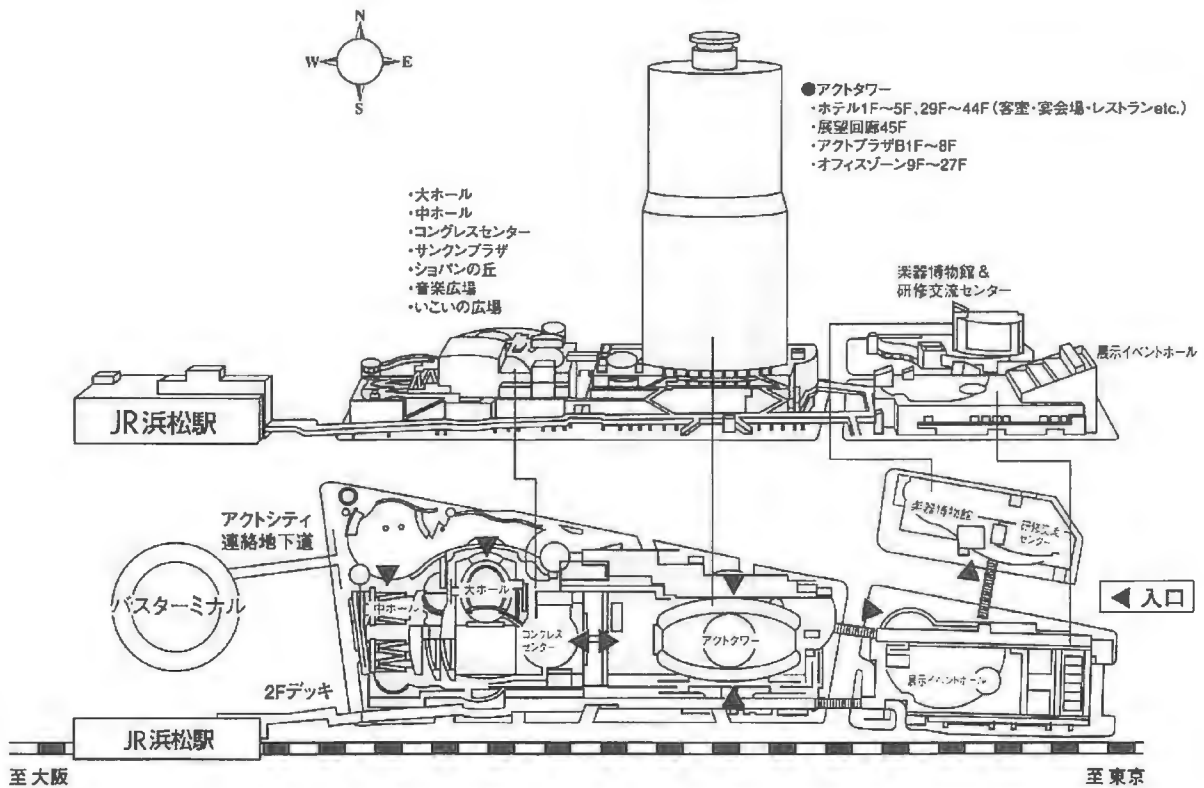
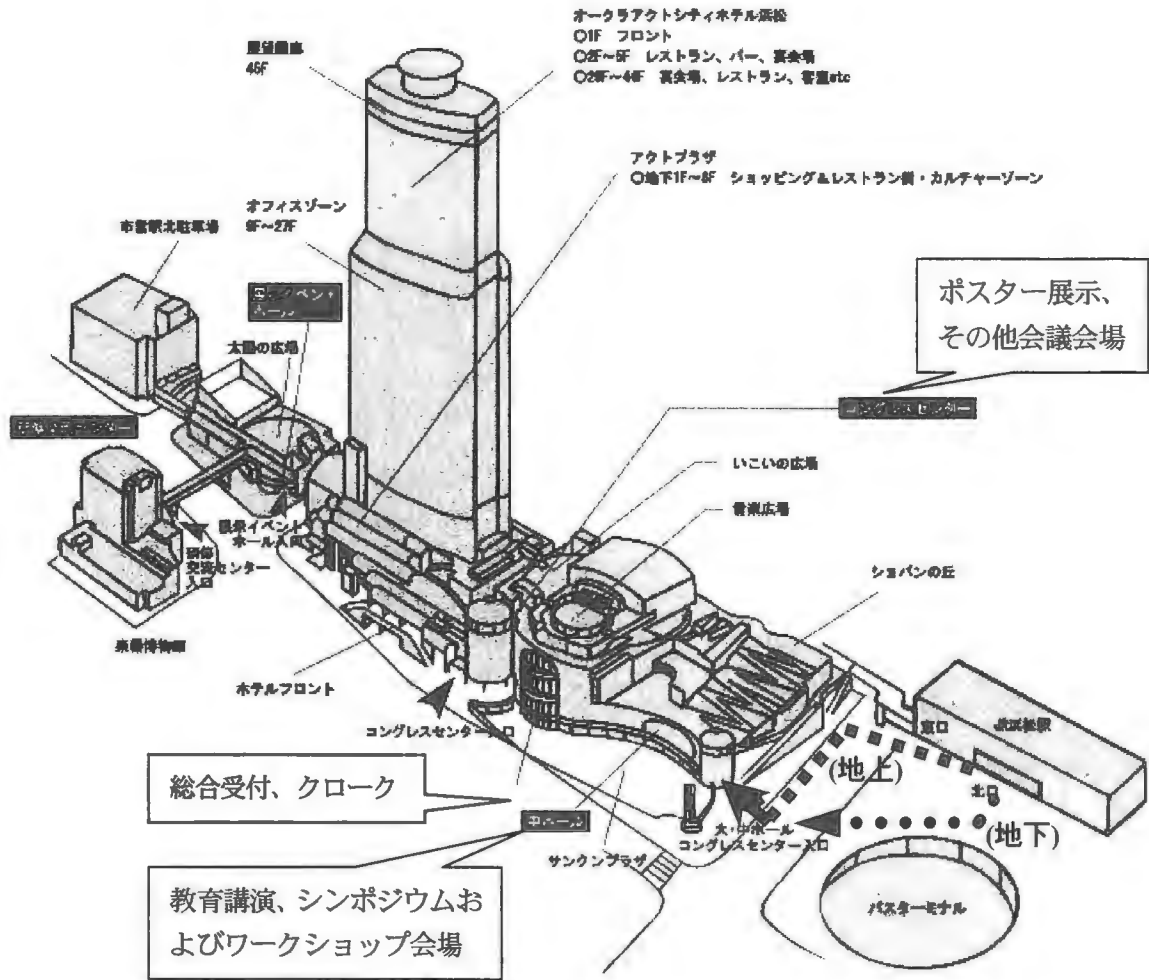
地下1階、JR 浜松駅バスターミナルより中ホール総合受付まで徒歩5分です。

車の場合

- 浜松西 IC、浜松 IC より 約30分
（駐車場に限りがありますので出来る限り公共交通機関をご利用ください）

交通案内図

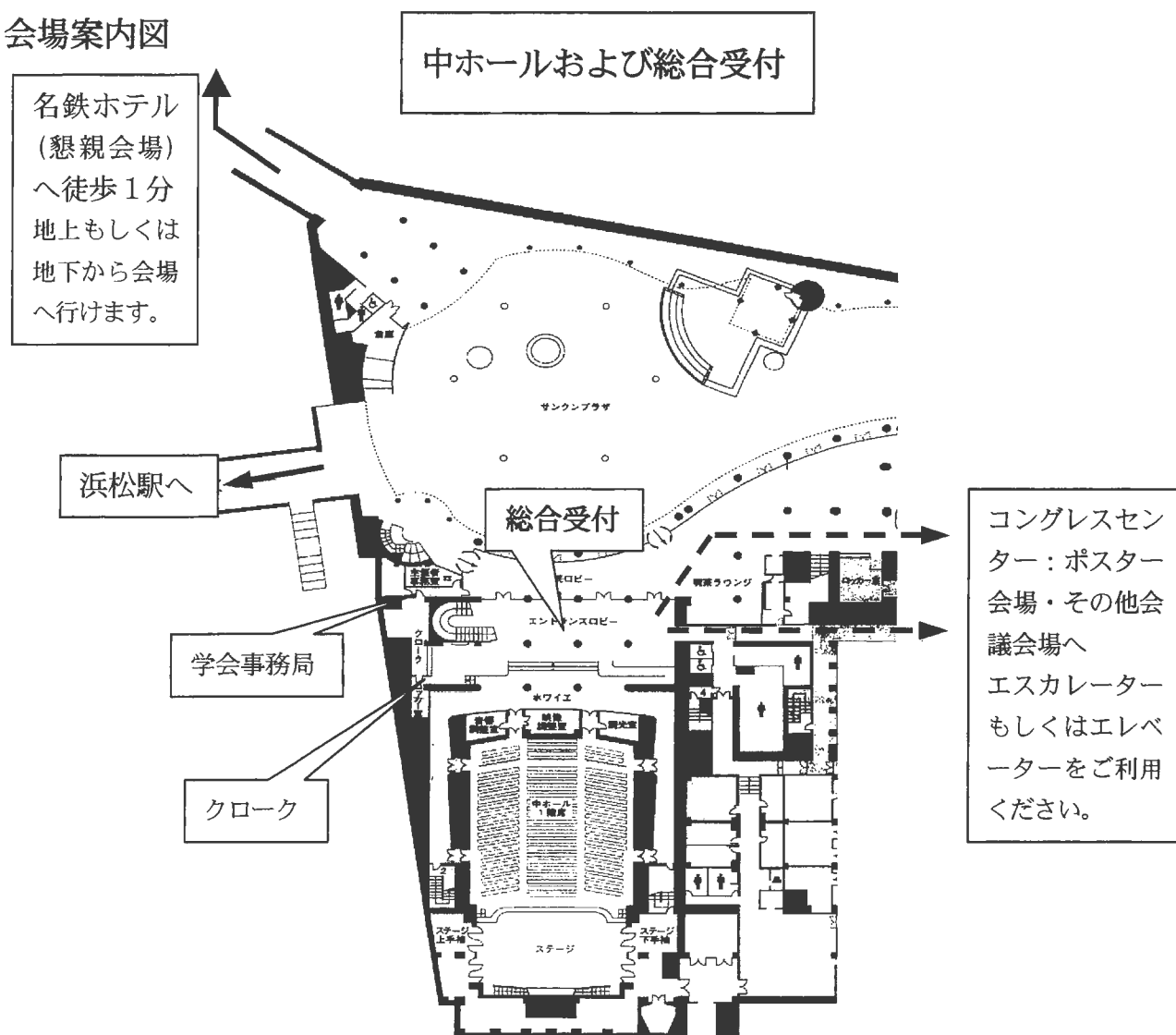




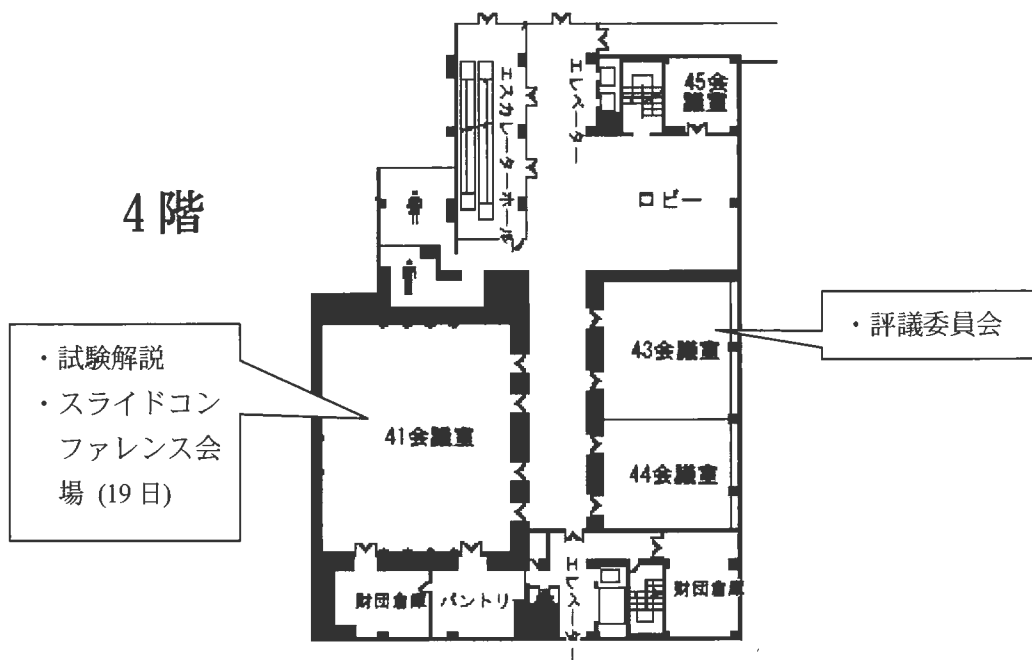
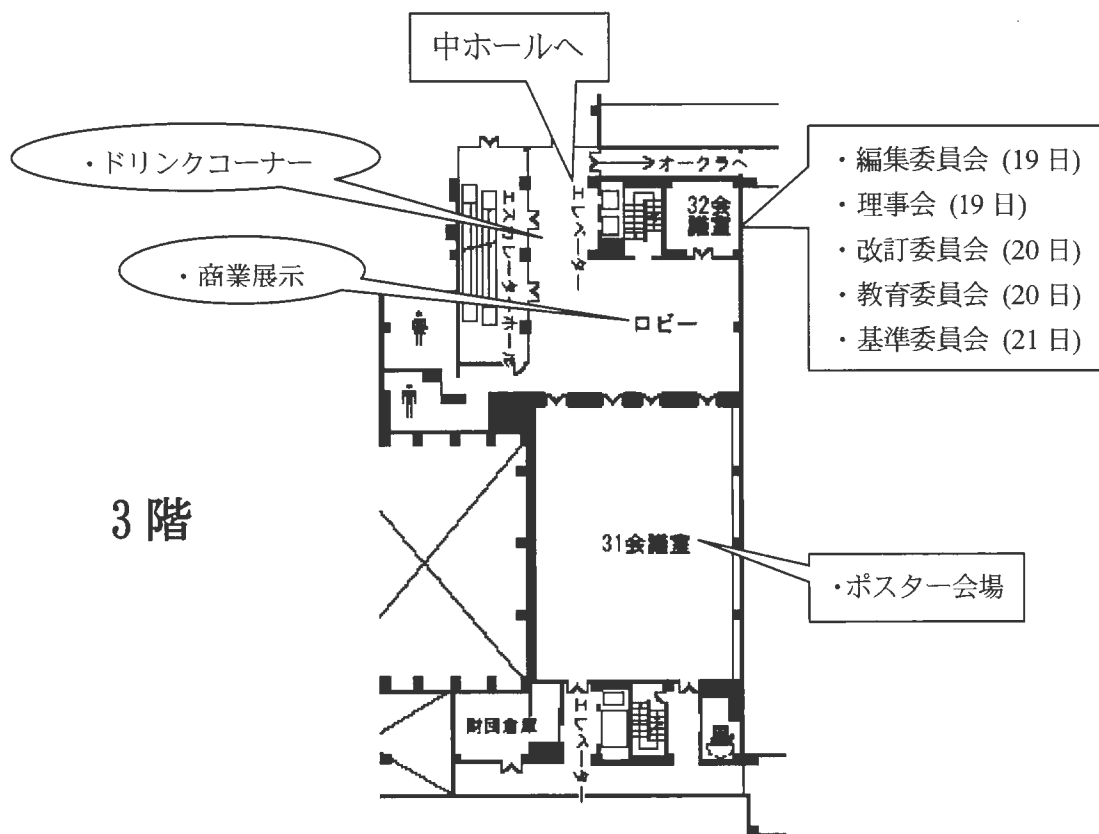
会場案内

- 総合受付：中ホール入り口
- 教育講演，シンポジウム，ワークショップ，総会会場：中ホール
- ポスター発表受付，ポスター・商業展示会場：コンgresセンター3階
- 懇親会場：名鉄ホテル 4階芙蓉の間（20日18:15-20:00）
- クローク：中ホールエントランスロビー（20日9:30-18:15、21日9:00-18:00）
- 改訂委員会：コンgresセンター3階32会議室（20日9:15-10:15）
- 評議員会：コンgresセンター4階43会議室（20日12:00-13:00）
- 教育委員会：コンgresセンター3階32会議室（21日8:30-9:00）
- 基準委員会：コンgresセンター3階32会議室（21日12:00-13:00）
- 学会事務局：中ホール

会場案内図

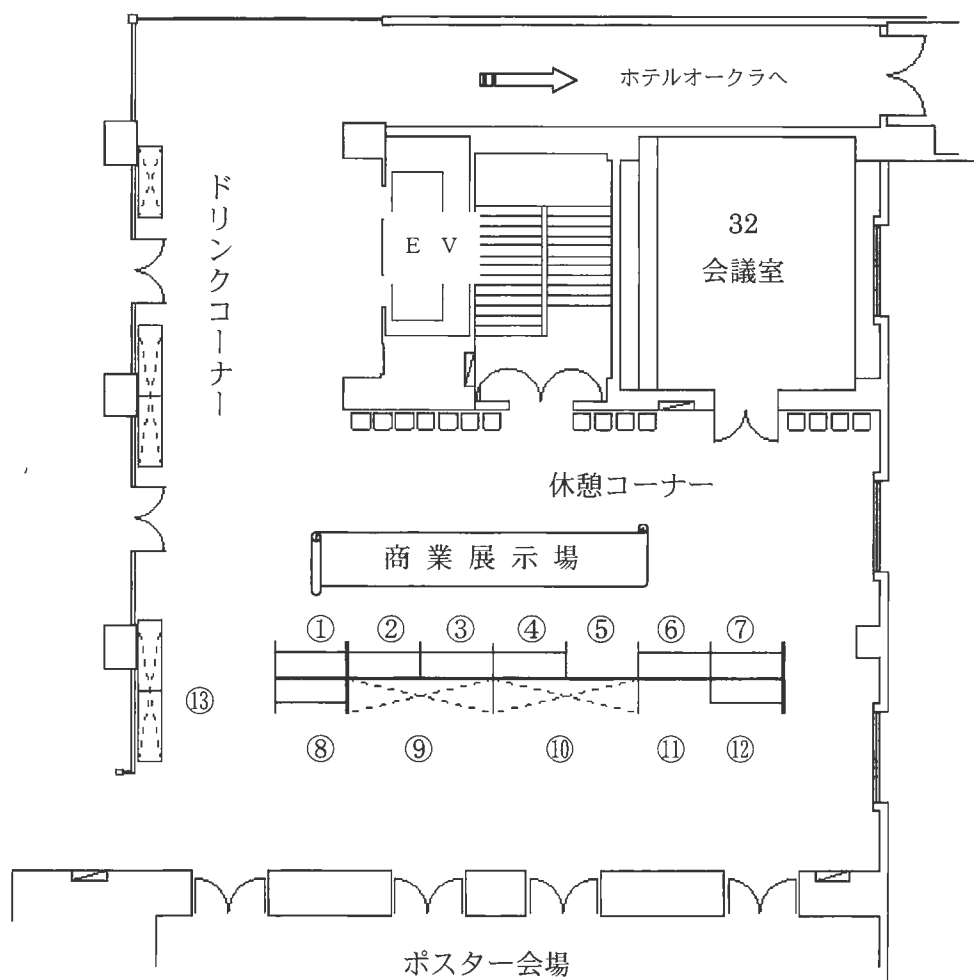


コンgresセンター



商業展示

コンgresセンター3階ロビー



商業展示配置表

- | | |
|---------------------|-----------------|
| ①(財)食品農医薬品安全性評価センター | ⑧(株)組織科学研究所 |
| ②日本クレア(株) | ⑨コーヴァンスジャパン(株) |
| ③日本チャールス・リバー(株) | ⑩(株)DIMS 医科学研究所 |
| ④(株)ニチレイ | ⑪(株)ボゾリサーチセンター |
| ⑤住商情報システム(株) | ⑫(株)ファルマ |
| ⑥(株)ヴィジョンズ | ⑬学際企画(株) |
| ⑦(株)エイチ・アンド・ティー | |

参加者へのご案内

●参加者の方へ

1. 総合受付は学会1日目(1月20日)は午前9:30から、2日目(1月21日)は午前9:00から地下1階中ホール前のエントランスロビー受付にて行います。
2. **事前登録者**: 総合受付で「参加登録確認書」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(一般:11,000円、学生:5,000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。学生の場合は証明書の提示が必要です。
4. 講演要旨集は当日2,000円(非会員:5,000円、学生:2,000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。
6. 示説会場および口演会場内ではすべて禁煙です。(喫煙所が指定されていますのでご確認の上ご利用ください)
7. 携帯電話の使用は禁止させていただきます。会場内では電源をOFFまたはマナーモードにして下さい。
8. 商業展示およびドリンクコーナーは、コンgresセンター3階ロビーです。
9. 昼食は、アクトシティプラザ地下1階、1階、2階および5階のレストランまたは浜松駅構内飲食店を御利用ください。
10. クロークは中ホールエントランスロビー横にございます。なお、受付時間は1月20日9:30-18:15、1月21日9:00-18:00となっております。懇親会に出席される方はご面倒ですが懇親会会場のクロークをご利用ください(17:30-20:30)。
11. 会場内での呼出しは緊急以外いたしませんのでご了承ください。総合受付(中ホール)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。

●総会及び評議員会のご案内

1. 評議員会は学会第1日目(20日)12:00から4階、43会議室にて行います(要昼食代1,000円)。
2. 総会は第2日目(21日)教育講演終了後、11:20から中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(20日)18:15から名鉄ホテル4階芙蓉の間にて開催します。
2. 事前登録制ですが、当日総合受付にて若干名を懇親会費8,000円(学生:5,000円)で受け付けます。
3. 懇親会事前登録者には、参加章に懇親会申し込み済みのレ点およびシールが貼ってありますのでご確認ください。

●座長の先生方へ

1. 遅くともご担当時刻の20分前までには中ホールエントランスロビーの総合受付にお越しください。ワークショップ座長および示説座長の先生に会長賞選定のた

めの評価票をお渡しします。セッション開始前には会場内の次座長席にお着き下さい。

2. 会長賞は 40 歳未満の筆頭演者によるワークショップならびに示説全演題を対象にして選考していただきます。抄録、ワークショップ発表ならびに示説を評価いただき、1月21日14:30までに評価票を総合受付にご提出ください。

●シンポジウム演者の先生方へ

1. 講演時間は25分（20分で予告のランプが点灯します）、討論時間は5分です。
2. 発表機材はPC液晶プロジェクターを使用します。
3. 事前にメディアの受付を行います。1月12日必着でCD-Rにファイルを添付していただき、事務局までご郵送ください。
4. 前演者の発表が始まりましたら、次演者席にお着きください。
5. 講演時間は厳守してください。
6. スライドの送りは演台に備え付けのパソコンあるいはリモコンを用い、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。

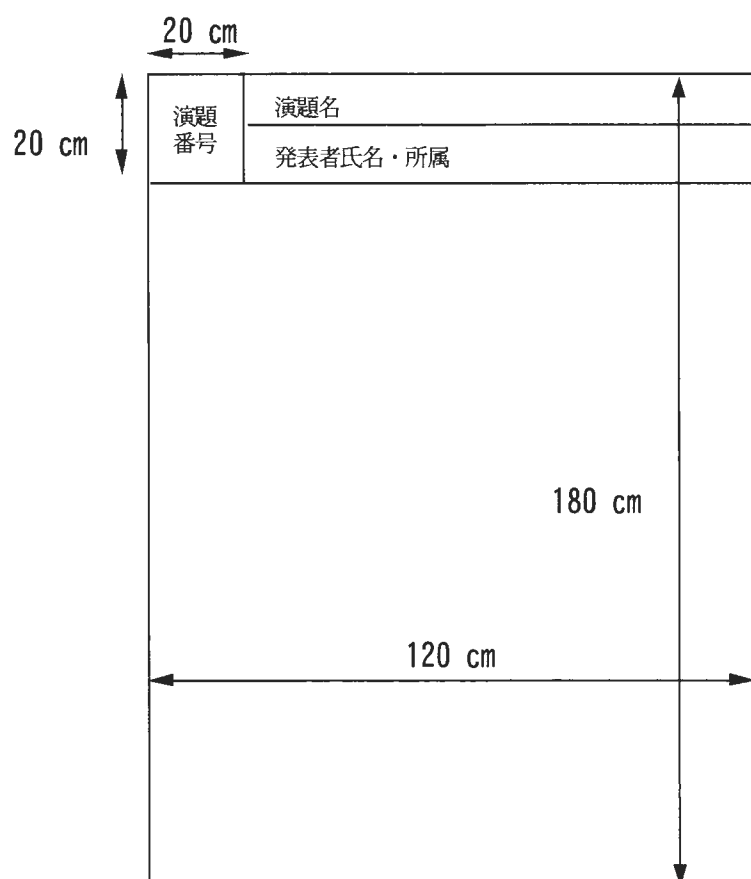
●ワークショップ演者の先生方へ

1. 講演時間は12分（10分で予告のランプが点灯します）、討論時間は3分です。
2. 発表機材にはPC液晶プロジェクターを使用します。
3. 事前にメディアの受付を行います。1月12日必着でCD-Rにファイルを添付していただき、事務局までご郵送ください。
4. 前演者の発表が始まりましたら、次演者席にお着きください。
5. 講演時間は厳守してください。
6. スライドの送りは演台に備え付けのパソコンあるいはリモコンを用い、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。

●ポスター発表をされる先生方へ

1. ポスターは2日間貼りだします。学会第1日目（20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。討論時間（13:00-14:00）には参加章の他に、このリボンを必ず着用しポスター前にいてください。
2. 展示には会場で用意した専用の画鋏をご使用ください。
3. パネルの大きさは縦180cm x 横120cmです（次頁図参照）。
4. 演題名と発表者氏名・所属の表題を次頁図の要領に従って作成し、展示してください。
5. 演題番号については、主催者側で用意いたします。
6. 展示時間は学会第1日目（20日）10:00から第2日目（21日）15:30までです。ポスター発表の討論時間は両日とも13:00-14:00までです。発表者の方は、座長の指示に従って要約発表・討論をお願いいたします（発表3分、質疑3分以内）。発表時間は厳守してください。その他の時間帯は座長なしで自由討論してください。
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。時間までに撤去されないポスターは、事務局で処分いたします。発表者用リボンは受け付けの備え付けの箱へ返却してください。

ポスターパネルの大きさ



司会・座長一覧

教育講演	1月21日(10:15-11:15)	今井 清((財)安評センター)
シンポジウム1	1月20日(14:15-16:45)	福島 昭治(大阪市立大) 松沼 尚史(三共(株))
シンポジウム2	1月21日(14:15-16:45)	奈良間 功(摂南大学) 中江 大(佐々木研究所)
ワークショップ1	1月20日(10:30-11:45)	鰐淵 英機(大阪市立大)
ワークショップ2	1月20日(16:50-17:50)	土谷 稔((株)三菱化学安全科学研究所)
ワークショップ3	1月21日(9:10-10:10)	奥野 泰由(住友化学工業(株))
ポスター発表	1月20日(13:00-14:00) P-1~10 P-21~30 P-41~50 P-61~70 P-81~90	梶村 哲世(第一製薬(株)) 中山 裕之(東京大学) 布谷 鉄夫((財)日本生物科学研究所) 伊藤 隆明(熊本大学) 原田 孝則((財)残留農薬研究所) 萩原 昭裕(大雄会医科学研究所) 長村 義之(東海大学) 傅田阿由美(奈良県立医科大学) 朝元 誠人(名古屋市立大学) 務台 衛(三菱ウェルファーマ(株))
	1月21日(13:00-14:00) P-11~20 P-31~40 P-51~60 P-71~80 P-91~100	岡宮 英明(山之内製薬(株)) 長野 嘉介(日本バイオアッセイ) 立松 正衛(愛知がんセンター) 渋谷 一元((財)日本生物科学研究所) 西川 秋佳(国立衛研) 真鍋 淳(Sankyo Pharma Development) 山崎 寛治((財)化学物質評価研究機構) 大石 裕司(藤沢薬品工業(株)) 堤 雅弘(済生会中和病院) 永井 博文(武田薬品工業(株))

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
20	神 戸	福島 昭治 (大阪市立大)*	2004.2.15-18	2	31	172
21	浜 松	今井 清 (安評セ)	2005.1.20-21	1	23	100

*Joint international meeting of JSTP/IFSTP

第21回 日本毒性病理学会日程表

会期:2005年1月19日-21日

日時	学会前日		学会1日目			学会2日目		
	1月19日(水)		1月20日(木)			1月21日(金)		
	41会議室	32会議室	中ホール	展示(31会議室)	会議	中ホール	展示(31会議室)	32会議室
8:30						開場・準備	開場・準備	教育委員
9:00			開場・準備	開場・準備		9:00 総合受付開始	ポスター発表	会:8:30-
					改訂委員会 9:15-10:15	9:10-10:10 ワークショップ3 (4演題)	展示	
			9:30 総合受付開始	ポスター発表受付・ 展示	32会議室			
10:00	毒性病理学専門 家認定試験 解説		10:20 開会挨拶	ポスター発表 展示		5分間休憩		
11:00			10:30-11:45 ワークショップ1 (5演題)			10:15-11:15 教育講演		
12:00	昼食				評議員会 12:00- 43会議室	11:20-12:00 総会		基準委員 会 (12:00 -)
13:00	第17回スライド コンファランス			13:00-14:00 ポスター発表 質疑1			13:00-14:00 ポスター発表 質疑2	
14:00				ポスター発表 展示			ポスター発表 展示	
15:00		編集委員 会 15:00- 16:00	14:15-16:45 シンポジウム1 (5演題)			14:15-16:45 シンポジウム2 (5演題)		
16:00			5分間休憩				15:30-16:30 ポスター撤去	
			16:50-17:50 ワークショップ2 (4演題)			16:45-17:00 表彰式・閉会式		
17:00		理事会 17:00- 19:00						
18:00			—移動—					
20:00			懇親会 18:15-20:00 (名鉄ホテル芙蓉の間)					

プログラム

教育講演

第2日目(1月21日) 10:15-11:15
司会 今井 清((財)安評センター)

中ホール

EP 遺伝子研究と毒性病理学
竹石 桂一
(静岡県立大学 食品栄養科学部)

10:15-11:15

---P28

シンポジウム1

毒性病理学に期待する

中ホール
○: 発表者

第1日目 (1月20日) 14:15-16:45

座長 福島 昭治 (大阪市立大)、松沼 尚史 (三共㈱)

S-1-1	毒性病理学に期待する-遺伝毒性の立場から- ○ 林 真 (国立医薬品食品衛生研究所)	14:15-14:45	---P31
S-1-2	毒性病理学に期待する-生化学的毒性学の立場から- ○ 吉田 武美 (昭和大学薬学部)	14:45-15:15	---p32
S-1-3	毒性病理学と確率論:hgn/hgn(雄性性腺低形成症:ラット)の 精巣病変とその出現率を例として ○ 鈴木 勝士 (日本獣医畜産大学)	15:15-15:45	---P33
S-1-4	動的病理学への期待 ○ 遠藤 仁 (杏林大学医学部)	15:45-16:15	---p34
S-1-5	食品安全のこれからと食品安全委員会の役割 ○ 一色 賢司 (内閣府食品安全委員会事務局)	16:15-16:45	---p35

シンポジウム2

多臓器毒性を病理する

中ホール

第2日目 (1月21日) 14:15-16:45

座長 奈良間 功 (摂南大)、中江 大 (佐々木研究所)

S-2-1	T-2 toxin による多細胞種でのアポトーシスの誘発 ○ 篠塚 淳子 (田辺製薬㈱)	14:15-14:45	---P38
S-2-2	ラットにおけるDDTの多臓器毒性発現について ○ 首藤 康文 (残留農薬研究所)	14:45-15:15	---p39
S-2-3	薬物代謝酵素誘導によるホルモン代謝変調がもたらす 発癌への修飾作用 ○ 吉田 緑 (佐々木研究所)	15:15-15:45	---P40
S-2-4	多種抗がん剤における多臓器傷害 ○ 佐藤 洋, 甲斐 清徳, 古濱 和久 (第一製薬㈱)	15:45-16:15	---p41
S-2-5	PhIPを中心とした Heterocyclic amines による多臓器毒性 ○ 今井田克己 (香川大医学部)	16:15-16:45	---p42

ワークショップ1 毒性発現と遺伝子発現の変化

中ホール

○: 発表者
*: 発表者が40歳未満

第1日目 (1月20日) 10:30-11:45

座長 鱒淵 英機 (大阪市立大)

- W-1-1* Dicyclanilによるマウス肝腫瘍誘発における酸化ストレスの関与 ---p44
10:30- ○ 本 光喜、梅村隆志、岡村美和、榎田陽子、町田登、三森国敏
(東京農工大・獣医病理、国立衛研・病理部)
- W-1-2* Unique Patterns of Gene Expression Changes in Liver after Treatment of Mice ---p44
10:45- for Two Weeks with oxazepam or methyleugenol
○ Mari Iida^{1,2}, Colleen H. Anna², Wanda M. Holliday², Jennifer B. Collins²,
Michael L. Cunningham², Robert C. Sills² and Theodora R. Devereux²
(¹An-pyo Center, ²NIEHS, NIH)
- W-1-3* 発がん性物質の28日間投与によるラット肝臓におけるp53遺伝子関連遺伝子の発現変動解析 ---p45
11:00- ○ 齋藤文代¹、松本博士¹、宮浦英樹¹、斎藤幸一²、住田佳代²、関島勝³、中山光二³、
大塚雅則¹、矢可部芳州¹、白井智之⁴
(¹化学物質評価研究機構、²住友化学工業株式会社、³三菱化学安全科学研究所、
⁴名市大院・医学研究科)
- W-1-4* LECラットの肝臓におけるN-nitrosomorpholine投与による遺伝子発現 ---p45
11:15- プロファイルに関する解析 -LEAラットとの比較-
○ 河野 友紀子¹、土谷 稔¹、中山 光二¹、関島 勝¹、中江 大²
(¹三菱化学安科研・鹿島、²佐々木研・病理)
- W-1-5* ラットでの遺伝子発現における性周期の影響 ---p46
11:30- ○ 宇波 明、大村 功、松本正博、仲辻俊二、藤平司郎、岡崎欣正、坪田健次郎、大石裕司
(藤沢薬品工業・安全性研究所・毒性病理)

ワークショップ2 胎児・新生児毒性

中ホール

第1日目 (1月20日) 16:50-17:50

座長 土谷 稔 (株)三菱化学安全科学研究所)

- W-2-1 T-2 toxin投与妊娠ラットの肝臓、胎盤および胎児肝臓病変のマイクロアレイ解析 ---p47
16:50- ○ 瀬畑信哉¹、清沢直樹¹、渥美房子¹、伊藤和美¹、矢本敬¹、寺西宗広¹、上塚浩司²、
中山裕之²、土井邦雄²
(¹三共・安全研、²東大院・獣医病理)
- W-2-2 PCB126胎生期暴露のDMBA投与後肝臓におけるCYP1, AhR, ARNTの発現 ---p47
17:05- ○ 和久井信¹、横尾清文¹、鷹橋浩幸²、羽野寛²、古里征国³
(麻布大・比較毒性¹、慈恵医大・病理²、杏林大・病理³)
- W-2-3* 内分泌かく乱化学物質の周産期暴露によるラット視床下部内側視索前野 ---p48
17:20- でのprogesterone receptor発現の変化
○ 高木 広憲、渋谷 淳、藤田 春香、李 京烈、井上 薫、広瀬 雅雄
(国立衛研・病理)
- W-2-4 インドール酢酸はラット胎児に小頭症を誘発する ---p48
17:35- ○ 古川 賢、阿部正義、臼田浩二、小川いずみ
(日産化学工業株式会社 生物科学研究所)

ワークショップ3 遺伝子改変動物における毒性発現

中ホール

○:発表者

*:発表者が40歳未満

第2日目(1月21日)9:10-10:10

座長 奥野 泰由(住友化学工業株)

- W-3-1* Mmh/OGG1ノックアウトマウスにおけるpentachlorophenolによる肝発癌感受性 ---p49
9:10- ○ 渡邊直人、吉田緑、五十嵐麻希、高橋正一、木下アンナ¹、鱈淵英機¹、福島昭治¹、中江大
(佐々木研・病理、¹大阪市大・院・医・都市環境病理)
- W-3-2* Nrf2欠損マウスの肝発がん物質ペンタクロロフェノールに対する感受性 ---p49
9:25- ○ 黒岩有一、梅村隆志、北村泰樹、神吉けい太、今沢孝喜、児玉幸夫¹、伊東 健²、
山本雅之²、西川秋佳、廣瀬雅雄
(国立医衛研・病理、¹毒性、²筑波大・院・人間総合)
- W-3-3* ウレタン誘発肺腫瘍の感受性に対するp53遺伝子改変マウス、 ---p50
9:40- rasH2およびオリジナル系統マウスとの比較検討
○ 尾崎正和^{1,2}、尾崎圭介¹、渡辺知幸¹、宇和川賢¹、奥野泰由¹、白井智之²
(¹住友化学(株)・生物環境科学研、²名市大・院・医・実験病態病理)
- W-3-4* ヒトプロト型c-Ha-rasトランスジェニックラットを用いた発がん物質短期検索法の開発 ---p50
9:55- ○ 大嶋浩¹、深町勝巳¹、土井悠子²、玉野静光²、津田洋幸¹
(¹名古屋市立大学大学院医学研究科分子毒性学、²大雄会医科学研究所)

示説プログラム

コンgresセンター3階31会議室

○:発表者

*:発表者が40歳未満

座長:梶村 哲世(第一製薬株)／中山 裕之(東京大学) (質疑1月20日13:00~14:00)

- P-1* Bisphenol Aの経胎盤および授乳曝露による神経系腫瘍の発生に及ぼす影響 ---p52
○ 今井則夫¹、難波江恭子¹、土井悠子¹、吉野裕子¹、萩原昭裕¹、鱈淵英機²、森村圭一朗²、
船江良彦³、福島昭治²
(¹榊大雄会医科研、²大阪市大・院・医・都市環境病理、³大阪市大・院・医・生体機能解析学)
- P-2* Acrylamideによる神経及び精巣毒性に対する抗酸化物質の予防効果の評価 ---p52
○ 黒岩敬子、渋谷 淳、李 京烈、井上 薫、広瀬雅雄
(国立衛研・病理部)
- P-3* パクリタキセルによるラット腓腹神経に対する障害作用の経時的な検討 ---p53
○ 長井大地¹、市村英資¹、江原敬子¹、林 幹人¹、中村 巖²、松本徹也²、崎玉克彦²、西村千尋¹
(日本化薬株式会社 創薬本部 ¹安全性グループ、²評価グループ)
- P-4* トリメチル錫の学習障害発現機序に関する病理組織学および分子生物学的解析 ---p53
○ 高橋尚史、大塚亮一、竹内幸子、林宏一、松本力、藤江秀彰、首藤康文、武田眞記夫、
小坂忠司、中島信明、原田孝則
(残農研)
- P-5 放射線のマウス内耳におよぼす急性影響 ---p54
○ 新田由美子¹、荒木伸一²、新田耕作³
(¹広島大学原爆放射線医科学研究所、²香川大学医学部、
³医療法人大谷会 大谷リハビリテーション病院)
- P-6* IGSラットのradiculoneuropathyに関する背景データ ---p54
○ 中村圭吾、渋谷一元、菊佳男、平井卓哉、布谷鉄夫
(日生研)
- P-7* ビーグル犬に認められた片側性視神経欠損の1例 ---p55
○ 池田亜紀子、金子吉史、高橋牧子、末吉純久、岩崎省吾、棚瀬裕文、佐藤裕和、
益本吉廣、都留清志
(杏林製薬株式会社)
- P-8* Crj:CD(SD)IGS系ラットにおける網膜病変の発現状況 ---p55
○ 高木みづほ、山口裕子、仁平 礼、藤田由美子、中村 厚、池崎信一郎、楠岡 修、田村 一利
(榊ボゾリサーチセンター)
- P-9* ラットにおけるClofibrate誘発性骨格筋病変の病理組織学的検討 ---p56
○ 岡田味世子、土屋毅幸、井上芳巳、宇部雅進、佐野文子、杉本次郎、高木司郎
(三菱ウェルファーマ・安全性研)
- P-10* 長期強制経口投与したB6C3F1マウスに観察された胸椎結節性病変 ---p56
○ 山下 龍、鈴木麻理、石崎まゆみ、大平東子、安井雄三、木原 亨、長谷川和成、細井理代、
宮島留美子、志賀敦史、岩田 聖、今井 清、榎本 眞
(財)安評センター)

座長:岡宮 英機(山之内製薬㈱)／長野 嘉介(日本バイオアッセイ) (質疑1月21日13:00～14:00)

- P-11* ラットの肺腺がんの発生過程におけるβ-カテニンの変化に関する検索 ---p57
 ○ 五十嵐麻希、吉田緑、渡邊直人、山田俊幸、及川恒之、中江大
 (佐々木研・病理、佐々木研・細胞遺伝)
- P-12* 経気管内投与による各種微粒子の肺に対する毒性評価 ---p57
 ○ 横平政直、竿尾光祐、松田陽子、竹内聖、曾宇、今井田克己
 (香川大学 医学部 腫瘍病理学)
- P-13 グリシドール長期吸入曝露によるラットとマウスの鼻腔腫瘍の発生 ---p58
 ○ 妹尾英樹、竹内哲也、梅田ゆみ、相磯成敏、片桐卓、長野嘉介
 (日本バイオアッセイ研究センター)
- P-14 サブミクロン酸化ニッケル粒子の気管内注入によるラット肺毒性 ---p58
 ○ 大神 明、森本泰夫
 (産業医大 産生研)
- P-15* 肺線維化誘導過程におけるSmad2/3活性化およびCTGF発現の経時的観察 ---p59
 ○ 東山浩之、吉本大輔、小林潔、岡本郁司、吉川日出男、木下美祢、浅野哲
 (グラクソミスクライン筑波研究所薬理研究部)
- P-16* エゾマツ樹皮の主成分であるトリテルペン類PJ-1の癌抑制効果;DMBDD誘発ラット多臓器発癌モデルでの検討 ---p59
 ○ 山口 智晴¹ 木下 アンナ²、サリム エリサイド²、森村 圭一朗²、鰐淵 英機²、福島 昭治²
 (¹大阪薬大・医薬品化学、²大阪市立大学・医・都市環境病理)
- P-17* 肺癌の発生と進展におけるクロナリティーのキメラマウスを用いた解析 ---p60
 ○ 山本昌美⁽¹⁾、塚本徹哉⁽¹⁾、田中晴就⁽¹⁾、平田暁大^(1,2,3)、酒井洋樹^(1,3)、白井紀充^(1,3)、飯高健^(1,3)、日下部守昭⁽⁴⁾、立松正衛⁽¹⁾
 (¹:愛知がんセ・研・腫瘍病理、²:岐大・生命科学総合実験セ・動物実験、³:岐大・応用生物科学・獣医・獣医病理、⁴:アロカ・ANB筑波研究所)
- P-18* N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamineに対するp53ノックアウトマウスの発がん感受性の検討 ---p60
 ○ 平田暁大^{1,3}、塚本徹哉¹、山本昌美¹、酒井洋樹^{1,2}、白井紀充^{1,2}、飯高健^{1,2}、柳井徳磨²、柵木利昭²、立松正衛¹
 (¹愛知がんセ・研・腫瘍病理、²岐阜大・応用生物・獣医病理、³岐阜大・生命科学総合実験セ・動物実験)
- P-19* rasH2マウスのurethane誘発肺腫瘍における遺伝子発現解析 ---p61
 ○ 岡村美和¹、宇波明²、松本正博²、大石裕司²、櫻田陽子¹、町田登¹、三森国敏¹
 (¹東京農工大・獣医病理、²藤沢薬品工業・安全性研究所・毒性病理)
- P-20 RasH2マウスの鼻腔及び気管にみられた増殖性病変の形態及び特徴について ---p61
 ○ 可徳小四郎、中原豊、押方孝文、鍼先恵美子、浜村政夫
 (パナファーム・ラボラトリーズ)

座長: 布谷 鉄夫((財)日本生物科学研究所) / 伊藤 隆明(熊本大学) (質疑1月20日13:00~14:00)

- P-21* F344ラットの鼻腔にみられた平滑筋肉腫 ---p62
○ 笠原健一郎、山川誠己、永谷真理子、鶴亀真依子、田村一利
(株)ボゾリサーチセンター)
- P-22* 実験的ビタミンB1欠乏ビーグル犬の心障害に関する病理組織学的研究 ---p62
○ 澤本 修、原田美輪、福田 立、篠原誠治、早見康高、栗栖和信
(大塚製薬工場・栄養研)
- P-23 カイニン酸誘発心病変におよぼすNMDAおよびNMDA受容体拮抗剤投与の影響 ---p63
○ 尾崎清和、松浦哲朗、荻田喜代一¹、奈良間功
(摂南大・薬・病理、薬理¹)
- P-24* コレステロール負荷ウサギにおけるBenidipine hydrochlorideの大動脈内膜肥厚抑制作用の病理組織学的解析 ---p63
○ 高田千絵、吉竹裕子、高山真、矢尾幸三、木本直哉、加国雅和、竹田剛、西川智、鈴木一生、高場克己
(協和発酵工業(株)医薬研究センター)
- P-25* 抗 α 4インテグリン抗体および抗 α レインテグリン抗体による脾臓marginal zoneへの影響 ---p64
○ 小田部晶、真鍋安博、渡邊暁子、長谷川大樹、小田切泰輝、三輪整
(味の素株式会社・安全性研究室)
- P-26* ラット薬物誘発性溶血性貧血の組織学的パラメータ検討 ---p64
○ 小野美穂子¹、中野健二¹、竹内文乃¹、二井愛介¹、花田貴宣¹、泉澤智子¹、田畑肇¹、代田欣二²
(¹山之内製薬 安全研、²麻布大学 生物科学総合研究所)
- P-27* Fisher 344系ラットにおけるLGL白血病の細胞形態と組織浸潤パターンの検索 ---p65
○ 阿部正義^{1,2}、吉田緑²、古川賢¹、前川昭彦³、中江大²
(¹日産化学・安全性、²(財)佐々木研病理、³(財)佐々木研)
- P-28 DL-Alanineの慢性毒性 ---p65
○ 杉江 茂幸¹、山田 泰広²、鄭 僑²、森下 由起夫³、田中 卓二¹、森 秀樹²
(¹金沢医大・医・腫瘍病理、²岐阜大学 医・腫瘍病理、³筑波大学・医・病理)
- P-29* 化学物質の反復投与毒性試験における病理変化と物質構造との相関 ---p66
○ 爰島 洋子¹、大塚 靖夫²、平塚 秀明¹、友成 由紀¹、土居 卓也¹、菅野 剛¹、涌生 ゆみ¹、土谷 稔¹
(三菱化学安科研 鹿島研究所¹、横浜研究所²)
- P-30 中性pHでの β 2-ミクログロブリン関連アミロイド線維伸長に及ぼすドデシル硫酸ナトリウム(SDS)の影響 ---p66
○ 山口 格^{1,2}、山本 卓^{2,3}、長谷川一浩²、内木宏延²
(¹麒麟麦酒株式会社 医薬開発研究所、²福井大学・医・病因病態医学・分子病理、³新潟大・医歯学総合研究・内部環境医学)

- P-31* カテコール、亜硝酸ナトリウム併用投与によるラット前胃発がん機構の解明 ---p67
○ 石井雄二^{1,2}、梅村隆志¹、西川秋佳¹、神吉けい太¹、黒岩有一¹、中澤裕之²、広瀬雅雄¹
(国立衛研・病理部¹、星薬大・薬品分析化学²)
- P-32* マンゴスチン果皮由来天然抽出物のラットDMH誘導大腸発癌モデルにおける ---p67
がん化学予防効果の検討
○ NABANDITH VIENGVANSAY、森岡孝満、酒々井真澄、吉見直己
(琉球大学医学部腫瘍病理学)
- P-33* 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]-pyridine (PhIP)あるいは ---p68
1,2-dimethylhydrazine (DMH)を用いた炎症関連マウス大腸発がん
○ 鈴木 里加子^{1,2}、高橋 真美³、甲野 裕之¹、杉江 茂幸¹、若林 敬二³、田中 卓二¹
(¹金沢医大・医・腫瘍病理、²日本学術振興会・特別研究員、³国立がんセ・研・がん予防基礎研究)
- P-34* 新生仔期2週間DES投与ラットにおけるDMBAによる大腸腫瘍誘発への影響 ---p68
○ 川島 英夫 川口 博明 早田 正和 堀 隆夫 吉川 剛 船戸 護 吉田 浩己
(鹿児島大学大学院医歯学総合研究科腫瘍病態学)
- P-35 大腸陰窩の分裂・増殖と発癌感受性 ---p69
○ 塚本徹哉、平田暁大、立松正衛
(愛知がんセ・研・腫瘍病理)
- P-36* Toxicopathology Evaluation of 9-nitro-20(S)-camptothecin (Rubitecan) in Beagle Dog ---p69
○ Hui Wang, Wei-Jun Zheng, Jie Feng, Xing-Ju Yuan, Hua Sheng, Yong-zhen Liu, Jin Ren
(Center for Drug Safety Evaluation and Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences)
- P-37 カドミウムの長期投与による膵病変 ---p70
○ 涌生ゆみ¹、倉田祥正¹、平塚秀明¹、土居卓也¹、熊野篤¹、土谷稔¹、梅村孝司²
(¹三菱化学安科研、²北海道大学・獣医・比較病理)
- P-38 ハムスターにおけるサメ軟骨水抽出物の膵発癌抑制効果 ---p70
○ 三井雅之¹、北橋 宗^{1,2}、佐藤健司²、辻内俊文³、堤 雅弘⁴
(¹奈良医大・分子病理、²京府大・院・人環、³近大・理工、⁴済生会中和病院・病理)
- P-39* Epitheliocystis in Carp(Cyprinus carpio) in South Korea ---p71
○ Dong-Jae KIM, Jong-Hwan PARK, Seung-Hyeok SEOK, Sun-A CHO, Min-Won BAEK,
Hui-Young LEE, and Jae-Hak PARK
(Seoul National University, Korea)
- P-40* Developmental Toxicology of Copper Sulfate in Living Embryos of Transgenic Zebrafish ---p71
○ Seung-Hyeok Seok, Jong-Hwan Park, Min-Won Baek, Hui-Young Lee, Dong-Jae Kim,
and Jae-Hak PARK
(Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine,
Seoul National University)

- P-41* ラットブタ血清誘発肝線維化モデルにおける線維化関連因子の変化 ---p72
 ○ 馬場也須子、土井邦雄
 (東大獣医病理)
- P-42* 珪肺症モデルおよびP.Acnes誘発急性肝炎におけるラットCINCsの経時的変化 ---p72
 ○ 秦純子、青木久美子、田村梓、北島なつき、三橋弘明、笠原義典
 (帝人ファーマ(株))
- P-43* Cycloheximide投与により誘発されたラット肝細胞アポトーシスの病理学的検索および遺伝子発現解析 ---p73
 ○ 熊谷和善、清沢直樹、伊藤和美、原公子、寺西宗広、矢本敬、松沼尚史
 (三共・安全研)
- P-44* ナリジクス酸のin vitro遺伝毒性と肝イニシエーション活性 ---p73
 ○ 伊藤 格¹、佐々木 有²、熊谷 木曜美²、酒井 洋樹³、樫田 陽子¹、三森 国敏¹
 (¹東京農工大、²八戸高専、³岐阜大)
- P-45* エタノールのMeIQx誘発ラット肝発がん促進作用 ---p74
 ○ 串田昌彦^{1,2}、森村圭一郎¹、鰐淵英機¹、木下アンナ¹、福島昭治¹
 (1大阪市大・院・医・都市環境病理、2住友化学(株)、生科研)
- P-46 伊東モデルを用いた、無機3価ヒ素、無機5価ヒ素、及びアルセノベタインの肝発癌性及び修飾作用 ---p74
 ○ 柚木孝之¹、鰐淵英機¹、木下アンナ¹、萩原淳司¹、市原敏夫²、高場克己³、加国雅和³、福島昭治¹
 (1大阪市大・院医・都市環境病理、²大雄会医科学研、³協和発酵(株)安全性研究所、)
- P-47* 6種のラット肝細胞癌細胞株の転移能の違い:ヌードマウスの肝内および脾内投与後の増殖と転移の株間差 ---p75
 ○ 唐明希、小川久美子、二口充、白井智之
 (名市大・院・医・実験病態病理)
- P-48* 変異コネクシン32トランスジェニックラットにおけるフェノバルビタール肝プロモーション作用に対するギャップジャンクションの影響 ---p75
 ○ 外岩戸尚美、朝元誠人、小川久美子、鈴木周五、白井智之
 (名市大・院・医・実験病態病理)
- P-49* Hormetic effect of alpha benzene hexachloride (a-BHC) on diethylnitrosamine-initiated hepatocarcinogenesis and possible mechanisms in rats ---p76
 ○ Rawiwan Puatanachokchai¹, Keiichirou Morimura¹, Hideki Wanibuchi¹, Anna Kinoshita¹, Jin Seok Kang¹, Yoshihiko Funae² and Shoji Fukushima¹
 (¹Department of Pathology and ²Department of Chemical Biology, Osaka City University Medical School)
- P-50 ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸食による発がん高リスク環境がN-nitrosobis(hydroxypropyl) amineの発がん性に及ぼす影響 ---p76
 ○ 高橋 正一¹、吉田 緑¹、五十嵐 麻希¹、渡辺 直人¹、植松 史行¹、阿部 正義¹、前川 昭彦²、中江 大¹
 (¹佐々木研・病理、²佐々木研)

座長: 西川 秋佳(国立衛研)／真鍋 淳(Sankyo Pharma Development) (質疑1月21日13:00~14:00)

- P-51* 肝選択的甲状腺ホルモン受容体リガンドKAT-681の短期および長期投与において異なる肝腫瘍抑制効果 ---p77
○ 林守道¹、田村啓¹、奥原裕次¹、長澤達也¹、北村毅¹、黒田淳二¹、柴田信男¹、三森国敏²
(¹キッセイ薬品、²東京農工大・家畜病理)
- P-52* The protective effect of Y-mix against hepatotoxicants in vivo ---p77
○ Min-Won Baek, Jong-Hwan Park, Seung-Hyeok Seok, Hui-young Lee, Dong-Jae Kim, Chul-Sung Huh and Jae-Hak Park
Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Seoul National University
- P-53* 遺伝毒性発がん物質Diethylnitrosamine(DEN)の低用量域におけるラット肝発がん性とin vivo 変異原性の閾値の存在 ---p78
○ 宮地 夏子、鰐淵 英機、山口 貴嗣、村井 隆、森 聖、福島 昭治
(大阪市大・院・医・都市環境病理)
- P-54* Enhancement of hepatocarcinogenicity by 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) in thioacetamide-induced liver damage ---p78
○ Jin Seok Kang, Hideki Wanibuchi, Atsushi Hagihara, Keiichirou Morimura, Elsayed I. Salim, Yoshiaki Tagawa, Shoji Fukushima
(Department of Pathology, Osaka City University Medical School)
- P-55 Hexachlorobenzeneのラット中期肝発がん性試験を用いた用量依存的プロモーション作用の検討 ---p79
○ 市原敏夫^{1,2}、今井則夫^{1,2}、難波江恭子^{1,2}、萩原昭裕¹、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)
- P-56* Modifying potential of dietary D-psicose, a rare sugar, in a medium-term liver carcinogenesis bioassay in rats ラット肝中期発癌性試験法(伊東法)を用いた希少糖 D-psicoseによる肝発癌の修飾作用の検討 ---p79
○ 曾宇、竿尾光祐、松田陽子、横平政直、今井田克己
(香川大学 医学部 腫瘍病理学)
- P-57 有機ヒ素化合物のMMA、DMA、TMAOの肝発がん促進作用の分子病理学的解析 ---p80
○ 鰐淵英機、木下アンナ、魏 民、萩原淳司、柚木孝之、福島昭治
(大阪市大・院・医・都市環境病理)
- P-58* 肝発がん作用を有するエストロゲン様物質によるラット肝臓の遺伝子発現変化-PAMマイクロアレイシステムを用いた解析 ---p80
○ 吉野裕子^{1,2}、市原敏夫^{1,2}、土井悠子^{1,2}、下條尚志^{1,2}、朝元誠人²、白井智之²
(¹大雄会医科学研究所、²名市大・院・医・実験病態病理)
- P-59* Piperonyl butoxide のマウス肝発癌メカニズム; 予備的な分子病理学的検討 ---p81
○ 六車雅子、金美蘭、本光善、櫻田陽子、三森国敏
(東京農工大・獣医・病理)
- P-60* 肥満を伴うNASHモデル動物の作製: 高脂肪食負荷マウスを用いたテトラサイクリン投与による肝の病理組織学的検索 ---p81
○ 辻岡 繁春¹、伊藤 誠²、太田 恵津子¹、松江 健太¹、田口 和博¹、岩浅 央²、鈴木 順²、佐々木 稔¹、金谷 章生²、佐村 恵治¹、錦邊 優¹
(万有製薬・¹安全性研究所、²つくば研究所)

座長:長村 義之(東海大学)／博田 阿由美(奈良県立医科大学) (質疑1月20日13:00～14:00)

- P-61* 肝発がん嫌発(C57BL/6)、及び好発(B6C3F1)系統gpt deltaマウスにおけるPentachlorophenol 投与によるin vivo変異頻度の比較 ---p82
○ 神吉けい太¹、梅村隆志¹、増村健一²、石井雄二¹、黒岩有一¹、児玉幸夫³、能美健彦²、西川秋佳¹、広瀬雅雄¹
(¹国立医衛研・病理、²国立医衛研・変異、³国立医衛研・毒性)
- P-62* 絶食マウスにおける肝臓の形態学的変化と遺伝子発現プロファイル ---p82
○ 高橋明子、三輪恵子、有賀千浪、井手美佳、宮崎登志子、篠塚淳子、湯浅啓史、鳥海互
(田辺製薬株式会社薬物動態研究所探索毒性グループ)
- P-63* Effects of pregnancy on CYPs protein expression in rat liver ---p83
○ Xi Jun He, Noriko Ejiri, Hiroyuki Nakayama and Kunio Doi
(Department of Veterinary Pathology, The University of Tokyo)
- P-64* ラットの甲状腺C細胞増殖性病変に付随する神経節細胞様細胞の発現状況について ---p83
○ 菅野 剛, 土居卓也, 黒滝哲郎, 涌生ゆみ, 土谷 稔
(株三菱化学安科研)
- P-65 DHPN-Sulfadimethoxine誘発甲状腺発がん過程のヌードラットを用いた解析 ---p84
○ 今井俊夫、蓮村麻衣、小野瀬淳一、上田誠、太田世志雄、曹永晩、広瀬雅雄
(国立衛研・病理部)
- P-66* DHPN-sulfadimethoxine誘発ラット甲状腺発がんのプログレッション過程におけるiNOSの関与 ---p84
○ 太田世志雄、今井俊夫、蓮村麻衣、曹永晩、広瀬雅雄
(国立衛研・病理部)
- P-67* 幼若期ヨード欠乏食投与によるラット乳腺及び甲状腺発がん感受性に及ぼす影響 ---p85
○ 曹永晩、今井俊夫、蓮村麻衣、広瀬雅雄
(国立衛研・病理部)
- P-68 SDラットにみられた甲状腺濾胞上皮細胞の空胞化／水腫性変性 ---p85
○ 林修次^{1,2}、鈴木智¹、二宮芙美子¹、入村兼司¹、福島昭治²
(¹大鵬薬品・安全研、²大阪市大・院医・都市環境病理)
- P-69 新しい糖尿病モデルの確立 ---p86
○ 泉 啓介, 中井登紀子, 久保亜貴子, 瀧下英子
(徳島大学大学院・環境病理)
- P-70* Probasin-SV40 Tagトランスジェニックラットの前立腺癌発生に対するアトラジンの抑制作用とカロリー摂取量低下との関連 ---p86
○ 神鳥仁志^{1,2}、鈴木周五¹、朝元誠人¹、村崎敏也¹、唐明希¹、小川久美子¹、白井智之¹
(¹:名市大第一病理、²:武田薬品開発研究センター)

- P-71 腫瘍移植マウスにおけるグレリンの腫瘍増殖への影響 ---p87
 ○ 小笠原裕之¹、中田理美¹、孫喆²、谷口啓介²
 (第一サントリーファーマ¹、パナファーム・ラボラトリーズ²)
- P-72* γ -トコフェロールのPB/SV40 T antigen transgenic rat前立腺発がんに対する抑制効果 ---p87
 ○ 杉浦 諭、村崎敏也、高橋 智、唐 明希、朝元誠人、白井智之
 (名古屋市大・院・医・実験病態病理)
- P-73* Effect of Doxazosin on Epithelial Hyperplasia in Ventral Prostate of Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) ---p88
 ○ Azman Seeni, Satoru Takahashi, Mingxi Tang, Satoshi Sugiura and Tomoyuki Shirai
 (Dept. of Exp. Pathol. and Tumor Biol., Nagoya City Univ.)
- P-74* Epithelial-Stromal Tumor of the Seminal Vesicles in the Transgenic Adenocarcinoma Mouse Prostate (TRAMP) Model ---p88
 ○ Yoshiro Tani,^{1,2} Andrew Suttie,³ Gordon P. Flake,¹ Abraham Nyska,¹
 and Robert R. Maronpot¹
 (¹LEP, NIEHS, ²Sankyo Co., Ltd., ³ILS, Inc.)
- P-75* Crj:CD(SD)IGS系及びF344/DuCrj系ラットの加齢に伴う雌生殖器の形態学的変化の比較 ---p89
 ○ 割田克彦、山口裕子、枝元 洋、松島圭太、青木明美、玉井幸子、工藤佳代子、
 岡崎修三、田村一利
 (株ボゾリサーチセンター)
- P-76* 化学物質あるいは卵巣摘出によるラットDMBA乳癌の退縮に対するアポトーシスの関与-短期処置の影響- ---p89
 ○ 上田 誠、今井俊夫、蓮村麻衣、小野瀬淳一、太田世志雄、曹 永晩、広瀬雅雄
 (国立衛研 病理部)
- P-77* 新生仔期2週間DES投与ラットにおけるDMBAによる乳癌誘発への影響 ---p90
 ○ 川口博明、川島英夫、早田正和、船戸護、堀隆夫、吉川剛、吉田浩己
 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍病態学)
- P-78* 新生仔期エストロゲン単回投与雌ラットにおけるDMBA誘発乳癌実験 ---p90
 ○ 船戸護^{1,2}、川口博明¹、堀隆夫^{1,2}、吉川剛^{1,2}、川島英夫¹、早田正和¹、宮脇宏彰²、
 永田良一²、吉田浩己¹
 (¹鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍病態学、²(株)新日本科学)
- P-79* 新生仔期DES単回投与雌ラットにおける性周期及び乳腺発達への影響 ---p91
 ○ 早田正和、川口博明、川島英夫、吉田浩己
 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・腫瘍学講座・腫瘍病態学分野)
- P-80* セイヨウワサビ抽出物のF344ラットにおける13週間反復経口投与による膀胱毒性 ---p91
 ○ 蓮村 麻衣・今井 俊夫・上田 誠・太田 世志雄・曹 永晩・広瀬 雅雄
 (国立衛研 病理部)

座長: 朝元 誠人(名古屋市立大学) / 務台 衛(三菱ウェルファーマ株) (質疑1月20日13:00~14:00)

- P-81 Recommendations for the Interpretation of Renal Tubule Proliferative Lesions in F344 Rats with Advanced Chronic Progressive Nephropathy (CPN) ---p92
○ John Curtis Seely¹ and Gordon C. Hard²
¹Experimental Pathology Laboratories, Inc., Research Triangle Park, NC
²Consultant, National Toxicolog Program Archives, Research Triangle Park, NC
- P-82 Cisplatin-induced Renal Interstitial Fibrosis in Neonatal Rats, Developing as Solitary Nephron Unit Lesions ---p92
○ Jyoji Yamate¹, Yuuko Machida¹, Mika Ide¹, Mitsuru Kuwamura¹, Takao Kotani¹, Osamu Sawamoto² and Jonathan LaMarre³
(¹Osaka Prefecture Univ., ²Otsuka Pharm. Fact., ³Univ. Guelph)
- P-83* ISH染色による腎線維化病態の解析 ---p93
○ 石井愛子、中村厚
(大正製薬株式会社 動物病態研究室 病理解析グループ)
- P-84* ラット抗Thy-1腎炎モデルにおけるCDC誘発に関わる因子の病理組織学的検討 ---p93
○ 加藤千恵、加藤淳彦、照屋志乃、高居宏武、渡邊 剛、鈴木雅実、杉本哲朗
(中外製薬・安全研)
- P-85 半月体形成を伴った抗Thy-1腎炎モデルの特徴 ---p94
○ 張 連珊¹、中川清詞¹、松田章孝¹、武井由弘¹、板垣伊織²、山本正敏¹、渡辺満利¹
(¹イナリサーチ, ²INA RESEARCH PHILIPPINES)
- P-86* アカネ色素のラット腎および肝に対する発がん性について ---p94
○ 井上 薫、渋谷 淳、高木広憲、榎富直哉、豊田和弘、李 京烈、広瀬雅雄
(国立衛研・病理部)
- P-87* ビーグル犬の腎臓における中腎管由来が疑われたadenoma ---p95
○ 高橋牧子、池田亜紀子、金子吉史、末吉純久、岩崎省吾、棚瀬裕文、佐藤裕和、益本吉廣
(杏林製薬株式会社)
- P-88* STZ投与Göttingen系ミニブタにみられた腎臓腫瘍 ---p95
○ 福岡鮎美¹ 藤井悦子¹ 唐澤弥生¹ 荒川仁² 渡邊利彦² 北村英和² 小田康弘² 三好昌夫¹
伊藤恒夫² 鈴木雅実¹ 杉本哲朗¹
(¹:中外製薬株式会社・安全性研究部 ²:中外医科学研究所・薬理病態研究センター)
- P-89* チェルノブイリ原発事故後の膀胱炎及び膀胱上皮内がんにおける遺伝子変異の検索 ---p96
○ 萩原 淳司、森村 圭一朗、木下 アンナ、魏 民、鰐淵 英機、福島 昭治
(大阪市立大学・院・医・都市環境病理)
- P-90* Effects of Co-administration of Antioxidants and Arsenicals on the Rat Urinary Bladder Epithelium ---p96
○ Min Wei¹, Lora Arnold², Martin Cano², Samuel M. Cohen²
(¹Osaka City University Medical School, ²Nebraska Medical Center)

座長: 堤 雅弘(済生会中和病院) / 永井 博文(武田薬品工業株) (質疑1月21日13:00~14:00)

- P-91 免疫組織化学における加熱処理抗原性賦活化メカニズムについて: ヒト乳腺腫瘍細胞 MCF-7を用いた検討 ---p97
 ○ 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・基盤診療学系病理診断学, ²日本たばこ・安全研)
- P-92 メタカーン固定パラフィン包埋組織の固定・脱水及び保存条件の検討 ---p97
 ○ 渋谷 淳, 李 京烈, 井上 薫, 黒岩敬子, 広瀬雅雄
 (国立衛研・病理部)
- P-93* 遺伝子発現解析のためのRNAサンプル及び組織の保存安定性の検討 ---p98
 ○ 住田佳代¹、斎藤幸一¹、大江田憲治¹、大塚雅則²、辻村和也²、宮浦英樹²、関島勝³、中山光二³、河野友紀子³、河上祐紀³、朝元誠人⁴、白井智之⁴
¹住友化学株式会社 生物環境科学研究所、²財団法人 化学物質評価研究機構、³株式会社 三菱化学安全科学研究所、⁴名古屋市立大学 大学院医学研究科 病態病理学
- P-94 p27kip1欠損マウスのN-methyl-N-nitrosourea飲水投与による腫瘍発生 ---p98
 ○ 小川久美子、村崎敏也、杉浦諭、小木曾正、朝元誠人、白井智之
 (名市大・院・医・実験病態病理)
- P-95 老齢Nr2欠損マウスにおける自然発生腫瘍性病変 ---p99
 ○ 梅村隆志¹、石井雄二^{1,3}、西川秋佳¹、児玉幸夫²、神吉けい太¹、黒岩有一¹、伊東 健⁴、山本雅之⁴、広瀬雅雄¹
 (国立衛研・¹病理部、²毒性部、³星薬大学・薬品分析化学、⁴筑波大学・院・人間総合)
- P-96* Mmh/OGG1ミュータントマウスにおけるDimethylarsinic acidの発がん性 ---p99
 ○ 木下 アンナ¹、鰐淵 英機¹、魏 民¹、野田 哲生²、西村 暹³、福島 昭治¹
 (¹大阪市立大学大学院・医学研究科・都市環境病理、²財団法人癌研究会・癌研究所・細胞生物部、³萬有製薬株式会社・つくば研究所)
- P-97* ラット初代肝細胞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 ---p100
 ○ 鈴木周五¹、唐明希¹、辻村和也^{1,2}、朝元誠人¹、白井智之¹
 (¹名市大・院・医・実験病態病理, ²(財)化評研・日田事業所)
- P-98 肝ギャップ結合の低下により変動する遺伝子発現解析・マイクロアレイを用いた解析 ---p100
 ○ 朝元誠人、村崎敏也、外岩戸尚美、白井智之
 (名市大・院・医・実験病態病理)
- P-99 肝発がん性予測用マイクロアレイ開発 ---p101
 ○ 中山光二¹、河野友紀子¹、河上祐紀¹、森脇紀親¹、関島勝¹、大塚雅則²、矢可部芳州²、宮浦英樹²、斎藤幸一³、住田佳代³、朝元誠人⁴、白井智之⁴
 (¹三菱安科研、²化評研、³住友化学・生科研、⁴名市大・院・医・実験病態病理)
- P-100 マウス乳癌に対する血管新生抑制遺伝子と自殺遺伝子との複合遺伝子治療による抗腫瘍効果並びに転移抑制作用 ---p101
 ○ 柴田雅朗¹、森本純司²、大槻勝紀¹
 (大阪医大 ¹解剖学第一、²実験動物セ)

教育講演要旨

遺伝子研究と毒性病理学

竹石 桂一 (静岡県立大学)

遺伝子研究と毒性病理学

竹石桂一（静岡県立大学・食品栄養科学部）

1953年にワトソンとクリックによって遺伝子の本体であるDNAの構造が明らかにされてから約50年後に当たる2001年2月にヒトゲノムの、また、2002年12月にマウスゲノムの全塩基配列の概要が決定された。続いて、2003年4月にヒトゲノム塩基配列の完全解読が発表され、さらに、2004年4月にはラットゲノム配列の概要決定が発表されて、今やゲノムの時代を迎えている。本講演においてはまず、メンデルが1865年に遺伝する因子の存在を示唆して以降今日に至るまでの遺伝子研究の歴史を振り返り、現在までに明らかにされた遺伝子、特に高等動物の遺伝子の構造、機能部位、発現調節機構等について、演者らの研究成果も含めて概観する。

現在、多くの生物種のゲノム配列の解明が猛烈な勢いで進展しているが、ポストゲノム時代における重要な課題の1つは、解読されたゲノムの塩基配列から推定された各遺伝子の細胞内、さらには生体内における機能を明らかにすることである。そのための解析法がいくつも開発されてきているが、今後ますますそれらの重要性が増してくるものと思われる。

これまで多くの実験モデル生物の遺伝子が明らかにされ、それらとヒトの遺伝子との相同性を利用して、多くのヒトの遺伝子の機能が解明されてきた。ここでは、ごく最近明らかにされたヒトと主要な実験動物であるラットとマウスのゲノム配列およびそれらの解析結果に基づいて、それらの研究成果を毒性病理学に生かすにはどのような可能性が考えられるか考察してみたい。現在までに明らかにされたヒト、ラットおよびマウスのゲノムのサイズはそれぞれ2.9 Gb、2.75 Gbおよび2.6 Gbであるが、いずれにおいても遺伝子の数は約3万で、ほぼ同数の遺伝子がコードされていると推定されている。マウスとラットは約90%のオーソログ（直系相同遺伝子）を持っていることが判明し、約3万の遺伝子の内、99%は3者間で共通していた。残りの約1%（約300遺伝子）のみがヒトあるいはマウス（またはラット）特異的遺伝子と推定されている。これらのゲノム配列レベルで明らかにされたヒトと実験動物の遺伝子間の共通性及び特異性と同時に、今後明らかになってくる発現調節レベルも含めた共通性と特異性を考慮して、実験動物の実験結果を評価することが重要になるとと思われる。また、ヒトとラットやマウスとの発現量も含めた遺伝子レベルの相違点が十分解明されてくれば、その結果を基にして、毒性病理学の分野においてより有用なヒト型化実験動物、特にヒト型化ラットおよびマウスの開発が今後重要な課題になってくるであろうと考えられる。

シンポジウム1 要旨

「毒性病理学に期待する」

S-1-1～S-1-5

オーガナイザーのことば

シンポジウム 1 毒性病理学に期待する

オーガナイザー： 福島 昭治 (大阪市立大学)
松沼 尚史 (三共株式会社)

現代社会は化学物質に大いに依存しているし、これから益々その依存度は増すであろう。一方、それが人々に不安や誤解を与える結果ともなっている。人々は化学物質に対する恩恵とリスクの狭間でもがいていると聞いていいだろう。しかし、学問的には化学物質に対して安全か危険かという段階を過ぎ、将来、発生するかも知れない事象に対する最大の制御を求めるといふ課題の時代に入ってきていると思う。環境化学物質に対するそれぞれの学問領域の取組みは急速なスピードで進んでいる。本シンポジウムでは5名の先生方のそれぞれの立場から環境化学物質に対する取組みをお話し戴き、今日おかれている課題に対して毒性病理研究はどの様な方向の研究をめざすべきか、また、我々はどうか対処すべきであるかの提言を戴きたいと願っております。

毒性病理学に期待する—遺伝毒性の立場から—

林 真 (国立衛研)

先進工業国においては、我々は約10万種類の化学物質と切っても切れない関係で生活している。多くのものは我々の生活を豊かにし、恩恵をもたらすが、中には人に健康危害を与えるものもある。実際には、ほとんどの化学物質はその使用方法により恩恵ももたらすが健康危害を与えることになる両刃の剣と考えられる。現時点でも多くの新しい化学物質が我々の生活環境に入り込んできている。化学物質の安全性を評価するには、実験動物等を用いて毒性試験が行われ、その結果を基に評価されている。遺伝毒性は安全性評価の一環として国内の各種試験ガイドラインでもデータの提出が義務づけられている。現在は「細菌を用いる復帰突然変異試験」、「ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」、「げっ歯類を用いる小核試験」が代表的な試験として行われており、遺伝子や染色体への傷害を検出、評価している。

化学物質の安全性評価における遺伝毒性の位置づけであるが、がん原性が認められ、遺伝毒性がそのがん発生のメカニズムに関わる場合、遺伝毒性がん原物質として扱われ、安全な閾値は存在しないものと解釈されて、行政的判断がなされてきた。危機回避にはそれでも良いのかも知れないが、リスクとベネフィットのバランスを考えた場合、それが本当にかしこい考えであるか否かは不明である。発がんのリスクを認めたとしても、生涯リスクとして他の要因と比較して十分低い場合にもその化学物質との接触を避けるべきであろうか。今、遺伝毒性の研究分野においても閾値問題をはじめ、リスクの考え方についての議論がなされているところであり、解釈における考え方も進化する必要があるものと考ええる。

さて、病理学と遺伝毒性、特に染色体異常、との共通点は形態学が基礎にあることではないだろうか。科学が進み、新しい考え方と技術により我々の分野でも変化が起こり始めている。より詳細に現象を見極めていくことは大切であるが、そこで見られる現象の評価と解釈に関してはこれまでに培われてきた知識と経験を基盤とすべきであろう。我々自身の目で見ることが形態学の基本であり、生命現象を直接観察し、感じることの出来る数少ない方法のひとつである。この基礎の上にこそ、初めて新しい科学が築かれるものであり、今一度試験・研究の基礎を固めることも不可欠であろう。

毒性病理学に期待する—生化学的毒性学の立場から—

吉田武美（昭和大学 薬学部 毒物学教室）

我々が現代生活を生活しているこの環境では、天然物質を含め約 10 万種類の化学物質が用いられ、かつ存在するとされている。これらの化学物質は、その用途に応じ、各種毒性試験により安全性が評価されているものもあるが、天然物はじめ情報が全くないものもある。毒性病理学は、化学物質による病態の成り立ち、進展、帰結に至るまでの、形態学的、機能的変化を解明する分野であり、個体、臓器、組織、細胞、分子レベルで疾患を解析していく学問分野であると理解する。現在までに、古くからのマクロな観察から、組織化学、免疫組織化学に加え、DNA や RNA の解析、画像解析、組織細胞培養などの種々の方法論が開発応用され、安全性評価の精度も高まっている。さらに最近では、トキシコゲノミクスをはじめ毒性スクリーニング的なアッセイ系も構築されている。この流れで毒性病理学は、化学物質に対して“最後の審判”を下す最も重要な役割を果たしている。診断として下される“最後の審判”の内容を理解する上での基本的知識は欠けているが、化学物質の毒性をいささか生化学的観点から取り扱っている立場から、今後への期待を込めて一言述べさせて頂きたい。膨大な数の化学物質は、それぞれ特異的な毒性発現機序があり、その内容も大きく異なることは言うまでもないが、一定程度の分類は可能である。毒作用が物理化学的性質に基づくもの（腐食毒）、特定の酵素に作用するもの（酵素毒）、血液系への作用を主とするもの（血液毒）、神経系に作用するもの（神経毒）、さらに種々の作用を有する金属類（金属毒）のような分類の仕方でも、古くから用いられている。この分類は、最終結果を評価しているものであり、その過程を必ずしも説明するものではない。一方、化学物質の慢性毒性においては、発ガン性をはじめ各種の臓器細胞傷害にいたる過程をどのように理解し、毒性病理学的どのように評価されるかである。さらに、毒性評価に関しては、発現している毒性が可逆的か非可逆的かをどう評価するかという点も極めて重要な問題である。可逆性の問題は、単回投与と反復投与では異なるであろうし、障害を受ける臓器、その障害の強度によっても異なるであろう。毒性病理学の視点から、このような点を説明し、理解することができれば、安全性評価は一挙に確度を高めるであろう。最近の分子生物学の急速な進歩は、化学物質による毒性発現の過程を遺伝子レベルで解析し、理解することを可能にしている。化学物質の多くは、その毒性発現と生体内動態が大きく関係する。もちろん直接的に毒性発現する化学物質もあるが、シトクロム P450 を中心とする薬物代謝酵素による代謝的活性化との関連が多くの例で示されている。さらに、化学物質の毒性発現は、その生体内侵襲とそれに伴う防御応答系反応の破綻の結果と理解できる。これまで化学物質の毒性を語る時、代謝との関連が大きくクローズアップされていたが、生体側には傷害を防御するための多彩な装置を備えている。特に薬物代謝の第 2 相酵素やストレス応答タンパクなどの遺伝子上に抗酸化応答配列/親電子応答配列(ARE/EpRE)が存在し、これらを制御調節していることが明らかにされてきている。この ARE は調節促進因子 Nrf2 や調節抑制因子 Bach1 の相互作用で制御されていることなどが急速に理解されてきている。化学物質は、直接的または間接的にこの調節制御因子に対しても影響していることが示唆されている。この点に関しては、演者らも目下化学物質の毒性発現と防御との関連で検討を進めているところである。おそらくこの関係は、化学物質の慢性毒性においてもつながっていくことと考えられる。科学とその手段は益々急速に展開しており、細胞や組織の障害に対する遺伝子レベルでの理解がさらに深まると考えられる。しかし、“最後の審判”を下すのは、病理学であり、障害の病理学的診断と遺伝子や分子レベルとの関連が明確になれば、より本質に迫ることができる。毒性病理学もすでに障害の本態を分子レベルでの把握の方向に展開されていると思われる。化学物質曝露による分子レベルでの変化も急性作用としては、理解しやすいのであるが、問題は慢性的な評価との関連であり、毒性病理学の真骨頂であると思われる。このような観点からの話題を提供したい。

毒性病理学と確率論：hgn/hgn（雄性性腺低形成症：ラット）の精巣病変とその出現率を例として

鈴木勝士（日本獣医畜産大学 獣医生理学）

毒性病理学、特に発癌性に関わる病理学において、遺伝子障害性に基づく発癌機序には閾値が認められないというのが通説である。そのような癌原性作因の極低用量での暴露の場合には、十分な時間をかければ *in vivo* で必ず癌化が起ると説明されている。その際の発生頻度はどの程度と考えられるのであろうか？百分の一、千分の一、一万分の一、十万分の一、百万分の一のどのレンジに落ちるか、そのような現象を動物実験で検出するための動物数が決まってくる。実験して1回だけそのような現象に出会っても、再現性がなければ因果関係は証明できない。再現性を得るとしたら天文学的な数の動物を使わなければならない。一方で極低用量ということは通常飼育の対照群とほぼ同義語になるので、これらの発生頻度は自然発症的病変と置き換えても良いはずである。

癌好発系統での誘発実験では対照群との統計検定で発癌性の有無が評価される。背景データが参照されているが、誘発という作因と発癌の間の因果関係がどのようにして証明されているのであろうか。

著者は催奇形性試験において、誘発と自然発生を見分ける統計法を提唱している。集団遺伝学におけるハーディワインバークの法則にその根拠を持っている。単純劣性での発症の場合、百分の一の自然発症の場合、その動物の母集団の遺伝子頻度は10%、ヘテロ動物は18%存在することになる。自然発症として発見された雄に生殖性がないミュータント hgn/hgn の生殖器関連病変を示すとともに、それらを系統として確立する過程で得られた知見をもとに、癌の自然発生病変に関する遺伝的分析の必要性を論じる予定である。親子関係が知られた動物を実験に用いることや、既知の癌関連遺伝子の変異に関する背景データと自然発生癌の関係を蓄積し、誘発性の因果関係を証明するためにそれらが除外できるような方法を考案する必要がある。

動的病理学への期待

遠藤 仁（杏林大学 医学部 薬理学教室）

1. 医学、生命学における病理学の意義

病理学は医学、とりわけ臨床医学においては「裁判官」的存在で、臨床医には畏敬の念をもって見られている。基礎医学、特に薬理学、トキシコロジーからは非可逆的作用を裏付ける普遍的証拠を提示する学問として重要視されている。化学物質の生体に及ぼす影響は機能的変化が最初に現われ、一定の時間的経過を経た後に形態変化を示す。従って所謂“出来上がった結果”を意味している。プレゲノム時代の病理学は言い換えれば、「静的病理学」とも言える。

2. ポストゲノムの病理学

現代はポストゲノム時代に入り、化学物質の生体影響は遺伝子変化から始まり、病態の形成過程までを一連の変化として捉えることが可能になった。Toxicogenomics, Proteomics, Phenomics と呼ばれる所謂“-omics”の時代の到来である。従来は静的病理学での対象は一定程度の時間を飛び越した結果であったが、現在扱える病理学の体系は、病態形成過程を時間的に連続して追いかける「動的病理学」の時代に入った、とも言える。

3. 動的病理学への期待

機能を重んじる古典的トキシコロジーにおいての、化学物質の生体影響は病理変化が明らかになる前での機能的変化とも言える“Biomarker”の探求であった。遺伝子変化の後に生じる遺伝子産物（多くはたんぱく質）の変化をバイオマーカーとして取り扱ってきた。これはプロテオミクスにより網羅的に解析されて、変化の最も大きいタンパクを取り上げる戦略の先取りであった。ポストゲノムの病理学に期待する最重要点は、化学物質による遺伝子変化を生体の最も早い反応として可視化することにある。形態学のメリットは組織、細胞、細胞内器官での変化を明らかに出来ることであり、網羅的なトキシコゲノミクスで特定される各遺伝子の動的変化の追跡こそが、今病理学に大きく期待される。必然として、上述のプロテオミクスからの情報も同様に、動的病理学の追求対象になるのは当然である。

食品安全のこれからと食品安全委員会の役割

一色賢司（内閣府食品安全委員会事務局）

食生活を取り巻く情勢の変化に対応し、国民の健康の保護が最も重要であるという基本認識の下、2003年に食品安全基本法が制定された。食品にはゼロ・リスクはあり得ず、安全性を確保するために、国民全員の協力を得て、リスク分析手法を導入することが謳われている。食品安全委員会は、科学的なリスク評価を客観的かつ中立公正に行う機関として、内閣府に設置された。

リスク分析の導入の利点は、1) 事故の未然防止体制の強化、2) 科学と行政の分離、3) 政策決定過程の透明化、4) 消費者への正確な情報提供、5) 食品安全規制の国際的整合性の確保等である。国際食品規格委員会 Codex では、リスク分析を、「ある集団が食品の摂取によって有害事象にさらされる可能性がある場合に、その状況をコントロールするプロセスであり、科学的なリスクの評価（アセスメント）をするだけにとどまらず、最終的なリスク管理（マネジメント）と、情報交換やチェックシステムとしてのリスクコミュニケーションが一体として有効に働く枠組みを構築すること」とされている。単に分析を行うことではない。リスク分析の機能が発揮されるためには、必要量の食料が絶え間なく供給されることが必要である。「空腹は最高の調味料」であるため、量が足りなければ、リスク分析も理性を失い、機能不全となると懸念される。従属栄養生物である人間は、何を食べ、何を食べないようにしてきたのだろうか？ これから、何を、どのように食べて行くのだろうか？

経口摂取された物質によって体調が変動し、不都合な症状をもたらされる場合もあり、また同じものを食べても恒常性維持あるいは体調の向上がもたらされる場合もある。我が国では、いわゆる化学物質を忌避される方も多い。情報発信のあり方や、情報の選択や理解にも問題があると思われるが、化学物質と人体との係わり合いについて専門家による適切でタイムリーな解説も不足しているとも感じられる。その一方で、いわゆる健康食品を利用される方も多い。組成が単純で、微量で生体に対する何らかの影響が現れる物質は、動物実験結果から人体への影響が推測されている。遺伝子組換え食品に代表される丸ごと食品では、組成が複雑であり、変動することもある。比較対照物との分析的な相違点の検索を糸口とする安全性の検討が行なわれている。食品安全委員会は、多種多様なリスク評価のための切り口とより正確なデータ、さらには正確な解釈を必要としている。毒性の解明と安全性の確認は、表裏一体のものを違った観点から行なっている作業であるのかもしれない。食品安全分野でも毒性病理をバックグラウンドとする研究者が、さらに活躍されることを願っている。

シンポジウム 2 要旨

「多臓器毒性を病理する」
S-2-1～S-2-5

オーガナイザーの言葉

シンポジウム 2 多臓器毒性を病理する

オーガナイザー： 奈良間 功 （摂南大学）
中江 大 （佐々木研究所）

化学物質の生体を与える影響に関する毒性研究は、毒性発現メカニズムの解析が主体であるため、全身レベルよりは臓器レベルに、臓器レベルよりは組織・細胞レベルに、更に遺伝子・タンパク質・情報伝達物質などを含む分子生物学的レベルに重点がシフトする傾向にある。この様な流れの中で、毒性病理学的な研究の焦点も全身レベルから臓器、細胞、分子生物学レベルにシフトする傾向にある。

しかし、毒性病理学は本来、個々の細胞の異常、臓器の異常が生体に及ぼす影響のみならず、同一毒性作用にも関わらず臓器によって異なる発現病変や各臓器の毒性的影響の相互作用・因果関係を解析する上で最も有力な手段であり、メカニズム不明の毒性変化を検出するための有力な検査法でもある。本シンポジウムではあえて多臓器毒性を示す化学物質を取り上げ、生殖発生毒性から発癌性までを含めたそれぞれの臓器毒性の発現メカニズム、病変間の相互作用、臓器における毒性発現の違いなどについて、5名のシンポジストの先生にお話いただく。

T-2 toxin による多細胞種でのアポトーシスの誘発

○ 篠塚淳子¹, 瀬畑信哉², 鈴木雅実³, 石上紀明⁴, アルバレンケ・ステラ・マリス⁵,
鳥海亙¹, 土井邦雄⁵

(¹田辺・薬物動態, ²三共・安全研, ³中外・安全研, ⁴小野・安全研, ⁵東大・獣医病理)

T-2 toxin は *Fusarium* 属真菌により産生されるトリコテセン系マイコトキシンである。このマイコトキシンに汚染された食物, 飼料の摂取によるヒトおよび家畜の中毒事例が世界各地で報告されており, 公衆衛生ならびに家畜衛生上重要な問題となっている。これまで *Fusarium* 属カビ毒の毒性解明のために, 様々な実験がなされているが, その細胞障害のメカニズムについてはまだ不明である。そこで, 我々は, T-2 toxin による病変発現のメカニズムを解明する目的で, T-2 toxin を実験動物に投与し, 観察された細胞死について, 形態学および生化学的検索を行ったところ, その病変発現にアポトーシスの関与が示された。T-2 toxin はリンパ球や造血細胞のような細胞増殖活性の高い細胞に, アポトーシスを誘発するが, 造血系組織の変化はリンパ系組織に先行する。これらの組織間で認められたアポトーシスの発現と進行の差は, T-2 toxin に高感受性を示す幼若細胞の分布密度の差およびそれら標的細胞を囲む微小環境の差によるものと考えられた。T-2 toxin によるアポトーシス誘導は, リンパ系組織, 造血系組織以外にも, 小腸陰窩上皮細胞, 胎仔組織, 表皮にも認められ, T-2 toxin は, 分裂活性の高い細胞を有する複数の組織にアポトーシスを誘導することが示された。

RT-PCR 法を用いたアポトーシス関連遺伝子の検索で, T-2 toxin 投与マウスの胸腺ではアポトーシスの発現に先行し, *c-fos* mRNA が持続的に増加した。また, マウス胸腺初代培養系の T-2 toxin 添加においても同様にアポトーシスが誘発され, *c-fos* mRNA の増加が認められた。これらの変化は細胞内カルシウムイオンキレーターや PKC インヒビター前処置により抑制され, T-2 toxin によるアポトーシス誘発に細胞内カルシウムイオン濃度の上昇と *c-fos* の発現が重要な役割を果たすことが示された。

ラットにおける DDT の多臓器毒性発現について

首藤康文 (残留農薬研究所毒性部)

DDT は、神経毒性試験における代表的陽性対照物質として知られているが、神経系以外の諸臓器・組織に対しても毒性を発現することが報告されている。今回、我々はラットを用いた両化合物の反復経口投与毒性試験あるいは長期発癌性試験において認められた多臓器毒性についてその発現機序を含め比較検討したので、その結果を報告する。DDT 投与ラットでは、臨床的に刺激に対する過敏反応あるいは震顫を特徴とする神経症状が観察され、加えて、肝臓 (肝細胞肥大、肝腫瘍の増加など)、腎臓 (慢性腎症の増加)、甲状腺 (濾胞上皮肥大)、下垂体 (前葉腺腫の増加) および生殖腺 (精巣 Leydig 細胞腫、卵巣間質腺の増加) に種々の毒性所見が認められた。これらの多臓器に亘る毒性変化の内、神経毒性については知覚神経の脱分極による持続性興奮に伴う変化で、その原因は神経線維膜のイオンチャンネルによるイオン汲み出し阻害と考えられている。ただし、組織学的には神経系組織に形態的異常は観察されなかった。肝臓では、薬物代謝酵素誘導 (CYP2B、CYP3A)、肝細胞肥大、細胞間連絡阻害 (Cx32 の減少)、酸化ストレスの産生増加 (LPO、8-OHdG の増加) が認められ、長期暴露では好酸性変異肝細胞巣および肝細胞腫瘍が有意に増加した。この肝腫瘍の増加に関しては、上記の酸化ストレス、細胞間連絡阻害に加え DDT の保有する細胞分裂促進作用 (mitogenic activity) が参与し、変異細胞巣の誘発あるいは成長を促進することにより、腫瘍が誘発されたものと解釈された。また、甲状腺の濾胞上皮肥大に関しては肝薬物代謝酵素の誘導、おそらく、UDPGT の誘導に伴う二次的変化と考えられた。その他、下垂体前葉腺腫の増加については DDT のエストロゲン様作用が、精巣の Leydig 細胞腫瘍の誘発に関しては代謝物 DDE の抗アンドロゲン作用がそれぞれ関与しているものと推察した。このように DDT は、神経毒性のみならず肝薬物代謝酵素誘導を介して内分泌系あるいは生殖腺へも影響を及ぼし、また、代謝物の影響も加わり、多彩な毒性を発現することが示唆された。

薬物代謝酵素誘導によるホルモン代謝変調がもたらす発癌への修飾作用

吉田 緑 (佐々木研究所病理部)

多くの化学物質は肝臓中の薬物代謝酵素によって代謝される。肝臓中に誘導された酵素がホルモン代謝に関連する酵素である場合は、化学物質により二次的に肝臓中のホルモン代謝の変調をきたす結果をもたらす。周知の例として、ラットのポリ塩化ビフェニール等の投与による肝臓の UDP-グルクロニルトランスフェラーゼの誘導により甲状腺ホルモンが代謝されて血中濃度が低下し、血中の甲状腺刺激ホルモンが増加した結果生ずる甲状腺腫瘍の誘発が挙げられる。

近年ではさらに、肝臓におけるホルモン代謝の変調が生殖器系腫瘍の発生を修飾することが明らかになりつつあり、直接ホルモン作用を持たない化学物質による生殖器系腫瘍発生の機序の一つとして注目されている。本シンポジウムでは、肝代謝酵素誘導によるホルモン代謝変調がもたらす発癌への修飾作用について、最近われわれが経験した indole-3-carbinol(I3C)によるラット子宮発癌促進作用の結果を中心に述べる。結果の概略を以下に記載する。

肝臓中の cytochrome P450(CYPs)を誘導することが知られている cruciferous vegetables 中に含まれる I3C は、動物実験において発がん予防効果が報告されている一方で、促進作用も報告されていることから、ラット二段階子宮発癌モデルを用いて I3C が発癌過程に与える影響を検索した。その結果、I3C 投与は子宮にエストロゲンおよび抗エストロゲン活性を示さず、長期観察においても性周期への影響を及ぼさなかった。しかし、I3C の長期混餌投与は子宮内膜腺癌の発生頻度あるいは個体当りの子宮増殖性病変数を有意に増加させ、発癌作用の陽性対照群である 4-hydroxyestadiol (4HE)皮下投与と同様の結果を示した。また、I3C 投与により肝臓中の CYP1A1, 1A2, 1B1mRNA の発現が増加し、肝臓中のエストロゲン代謝酵素である estradiol 2-および 4-hydroxylase 特に後者の増加が明らかであった。これらの結果より、I3C 投与による子宮発がん促進作用の発生機序として、I3C による肝臓中 cytochrome P450 酵素の誘導がエストロゲン代謝を変調させた可能性、特に 17- β -estradiol よりも強い子宮癌促進作用を有することが報告されている 4HE の増加が関与している可能性が考えられた。

本シンポジウムではさらに、I3C による他臓器への発癌修飾作用およびその他の化学物質によるホルモン代謝の変調についても述べる予定である。

多種抗がん剤における多臓器傷害

○佐藤 洋, 甲斐 清徳, 古濱 和久 (第一製薬 安全研)

代謝拮抗剤, アルキル化剤, 抗がん性抗生物質, 微小管重合阻害薬, 微小管解重合阻害薬, トポイソメラーゼ I 阻害薬およびアントラサイクリン系薬剤を取り上げ, マウスで認められる主要臓器の傷害を形態学的に概説するとともに, 通常の毒性試験では検索の対象とならない歯および鼻粘膜の変化およびその重要性について紹介する.

上記抗がん剤に共通する細胞増殖抑制作用により, 標的臓器の造血器, 消化管および生殖器では, 主に種々の萎縮性変化が観察された.

切歯の変化は, アルキル化剤で誘発されることが知られている. 80年代後半, cyclophosphamide (CP) は, マウスの非臨床試験で, 投与初期の造血器毒性の他に遅発毒性 (wasting disease) を示すことが報告された (Anton 1987). すなわち, 単回投与 50~120 日前後で 80%以上の動物が死亡し, 死亡前には劇的な体重および白血球の減少がみられた. これらの変化は, CP 投与初期に惹起される抗がん剤特有の毒性に類似していた. しかしその後, この遅発毒性は切歯障害により摂餌困難に陥った動物が, 低栄養性あるいは飢餓性の変化を示したため, 死亡に繋がったと考えられている. 現在, 各種抗がん剤により惹起される切歯の形態的傷害パターンは, 4 つに分類することができる.

鼻粘膜の変化は, 微小管阻害作用を示す vincristine, vindesine, vinblastine および taxol で認められ, 嗅上皮粘膜の嗅細胞の apoptosis によって特徴づけられた. 嗅傷害は, 物言わぬ動物では組織検索を行わない限り見落とす変化である.

以上, 切歯および鼻粘膜の例は, 定型的な全身諸臓器の観察だけでなく, 通常検索の対象ならない組織の木目細かな多臓器観察の重要性を示したものであり, 我々毒性病理に携わる者へのある種の教訓として受け止める事ができる.

Anton, E. (1987). Delayed toxicity of cyclophosphamide in normal mice. *Br J Exp Pathol*, **68**, 237-49.

PhIP を中心とした Heterocyclic amines による多臓器毒性

今井田克己 (香川大学 医学部 腫瘍病理学)

加熱分解産物で、強い変異原性をもち、発がん性を有する Heterocyclic amine (HCA)として、IQ, MeIQx, PhIP, MeAαC など 10 種類が知られている。これらの多くは肝臓や大腸をその発がん標的臓器としているが、PhIP のように、肝臓以外の大腸、乳腺、前立腺と複数の臓器に対して発がん標的性を有する物質もある。そこで、本シンポジウムでは PhIP を中心とした HCA による多臓器における毒性病理学的変化を発がん標的臓器だけでなく、その他の臓器を含めた全身諸臓器において検討したい。

PhIP は雌雄の F344 ラットを用いた長期発がん性試験(0, 25, 100, 400ppm の混餌投与、400ppm 投与群は 52 週間、その他は 104 週間投与)で大腸、雌の乳腺、雄の前立腺にそれぞれ発がん性を有することが明らかにされている。また、PhIP-DNA adduct の形成を各臓器で観察すると、発がん標的臓器でその形成が確認されるだけでなく、上記の発がん標的臓器以外にも、例えば、心臓、膵臓などに高い DNA-adduct の形成を示す臓器があることも報告されている。興味深いことに、高い DNA-adduct 形成の証明されている心臓では、発がん性は見られないものの、PhIP 投与 F344 ラットの心臓で mitochondria の変性を伴う cardiomyopathy の発生が確認されているし、Donryu ラットへの PhIP の投与では心肥大も報告されている。さらに、PhIP を経胎盤に投与した胎児には先天性の眼球異常を示す例も報告されている。また、膵臓では PhIP 投与により degranulation, acinar atrophy, vacuolization, fibrosis, fatty change などの毒性学的な変化が用量依存性に認められている。また、PhIP 以外の HCA でも、例えば、肝に対する発がん性の証明されている MeAαC の投与により発がん標的でない膵臓に PhIP 投与の膵臓の変化と類似の毒性病理学変化が確認されている。

このように、PhIP では発がん標的臓器が複数の多臓器に認められ、さらにこれらの臓器以外の多くの臓器に毒性を示すことが示されている。PhIP 以外の HCA も同様に発がん標的臓器以外の臓器に何らかの毒性を示すものが知られており、HCA による発がん性試験は全身諸臓器の毒性病理学的変化を検討するのに多くの情報を提供するとともに、単一の臓器だけでなく全身諸臓器の毒性学的変化に関しても、十分な観察が必要であることを示す好例であると言える。

ワークショップ要旨

1. 毒性発現と遺伝子発現の変化

(W-1-1～W-1-5)

2. 胎児・新生児毒性

(W-2-1～W-2-4)

3. 遺伝子改変動物における毒性発現

(W-3-1～W-3-4)

W-1-1

Dicyclanil によるマウス肝腫瘍誘発における酸化ストレスの関与

○本光喜、梅村隆志、岡村美和、樫田陽子、町田登、三森国敏
(東京農工大・獣医病理、国立衛研・病理部)

【目的】昆虫成長調節剤である dicyclanil (DC) は、マウス肝に対する非遺伝毒性肝発がん物質と評価されている。我々はこれまでに、dimethylnitrosamine (DMN)によるイニシエーション処置後、プロモーション期に7週間DCを混餌投与した二段階発がんモデルマウスの肝について遺伝子発現解析を行い、DCによるマウス肝腫瘍誘発メカニズムには酸化ストレスが関与する可能性を報告した(2004年度本学会)。そこで今回、マウス二段階発がんモデルを用い、DCによる肝腫瘍誘発への酸化ストレスの関与をさらに明らかにするため以下の実験を行った。【方法】5週齢の雄性ICRマウス(n=3~5)に、生理食塩液に溶解したDMN(0 or 5 mg/kg)を週1回、3週間腹腔内投与し、最終DMN投与の翌週よりDC(0 or 1500 ppm)を13週間混餌投与した。DMN群およびDMN+DC群ではDC投与開始2週目に2/3部分肝切除術を施した。DC投与終了後に解剖し、採取した肝臓についてgamma-glutamyltranspeptidase (GGT)の組織化学染色を含む病理組織学的検索、酸化ストレス関連遺伝子の発現解析を実施すると共に、肝組織DNA中8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)レベルおよび肝組織中過酸化脂質(チオバルビツール酸反応物: TBARS)レベルを測定した。【結果および考察】組織学的検索では、DMN+DC群で軽度の肝細胞肥大およびlipofuscin沈着が観察されると共に、DMN群に比し有意なGGT陽性細胞・陽性巢の数および面積の増加が認められた。遺伝子発現解析では、DMN群に比べ*Cyp1a1*、*Ogg1*、*Por*、および*Sod1*などの酸化ストレス関連遺伝子の発現がDMN+DC群で有意に上昇し、さらに8-OHdGレベルの有意な増加、およびTBARSレベルの増加傾向が認められた。また、DC単独群でも無処置群に比べこれらの遺伝子発現、および8-OHdGレベルが増加する傾向がみられた。以上の結果から、DCによるマウス肝腫瘍誘発過程に酸化ストレスの関与が強く示唆された。

W-1-2

Unique Patterns of Gene Expression Changes in Liver after Treatment of Mice for Two Weeks with oxazepam or methyleugenol

○Mari Iida^{1,2}, Colleen H. Anna¹, Wanda M. Holliday¹, Jennifer B. Collins¹, Michael L. Cunningham¹, Robert C. Sills¹ and Theodora R. Devereux¹
1.NIEHS, NIH, 2.Anpyo Center

In NTP 2-year studies the 2500ppm dose of oxazepam (OX) and the 75 mg/kg dose of methyleugenol (MEUG) as used in this study induced hepatocellular neoplasms in 100% of the mice in addition to a high incidence of hepatoblastomas, a rare tumor in untreated B6C3F1 mice. To determine early biomarkers that may predict hepatocarcinogenesis, we used oligonucleotide microarrays to identify a set of genes that are up or down-regulated in mouse liver early after treatment of Ox or MEUG in this study. Acetaminophen (6000 ppm) was also evaluated as a non-carcinogen. Starting at 6 weeks of age, the mice were treated for two weeks in the diet and then sacrificed, and RNA was isolated from the livers. By oligonucleotide microarray analysis [Agilent Technologies, Palo Alto, CA, over 20,000 well-characterized mouse genes; n=4 individual livers/group, two hybridizations (with fluor-flips)], 221 genes or 183 genes changed compared to control livers following 2 weeks treatment of male or female mice with 2500 ppm OX respectively, and 47 genes were altered in female livers after 75 mg/kg MEUG treatment compared to female control livers. One of the most interesting findings was the striking difference in early expression patterns of cancer-related genes in the liver associated with OX treatment compared to those of MEUG. The data indicate that even if the tumor response, including molecular alterations, is similar, such as for OX and MEUG, early gene expression changes appear to be carcinogen specific and to involved apoptosis and cell cycle related genes.

W-1-3

発がん性物質の28日間投与によるラット肝臓におけるp53遺伝子関連遺伝子の発現変動解析

○齋藤文代¹, 松本博士¹, 宮浦英樹¹, 斎藤幸一², 住田佳代², 関島勝³, 中山光二³, 大塚雅則¹, 矢可部芳州¹, 白井智之⁴ (1化学物質評価研究機構, 2住友化学工業株式会社, 3三菱化学安全科学研究所, 4名古屋市・医学研究科)

【目的】発がん性既知物質を28日間投与したラット肝臓における発がん物質に特徴的なp53関連遺伝子の発現パターンを解析し、発がんとの関連性を考察する。

【方法】85種のラット肝臓発がん性既知物質を反復経口投与(1,3,7,14,28日間)したラットの肝臓からmRNAを抽出し、GeneChip (RGU34A, Affymetrix)を用いて遺伝子発現プロファイルを解析した。発がん性との関与が報告されているp53関連遺伝子を用いてクラスタ解析を行い、特徴的な発現パターンを示す遺伝子群とラット肝臓発がん物質グループを抽出した。

【結果】85化合物をクラスタ解析した結果、がん抑制遺伝子であるp53に関連する遺伝子の中で、p21, BAX, GADD45a, BTG2, CCNG1, MGMT, MDM2の7種の遺伝子により、投与後期にかけて発がん物質のクラスタが形成される傾向にあった。特に、32種のラット肝臓発がん性物質の中で、9物質が最も明瞭なクラスタを形成した。これらの物質には比較的発がん性が強い(TD50値が低い)ものも多く、変異発がんおよび非変異発がんが発がん分類の異なる物質が含まれていた。さらに、7種類の遺伝子群に関連した遺伝子のネットワーク解析から、細胞周期、アポトーシス、転写制御関連遺伝子などとの関係が見出された。これらの遺伝子の発現パターンは、発がんに至る前段における発がん性予測の精度向上に役立つものと考えられる。本研究は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 化学物質総合評価管理プログラム「高精度・簡易有害性(ハザード)評価システム開発」の一環として実施した。

W-1-4

LECラットの肝臓におけるN-nitrosomorpholine投与による遺伝子発現プロファイルに関する解析 -LEAラットとの比較

○河野 友紀子¹, 土谷 稔¹, 中山 光二¹, 関島 勝¹, 中江 大²
(1三菱化学安科研・鹿島, 2佐々木研・病理)

【目的】Long-Evans Cinnamon (LEC) ラットは、*ATP7b* 遺伝子の変異に起因する銅蓄積により肝炎を自然発症後、肝細胞癌を発症する近交系ラットである。また本系統は肝臓発がん化合物に対して高い感受性を示すとされているが、その背景機構には未だ不明な点が多い。本研究は、肝炎自然発症前のLECラットの肝臓発がん化学物質に対する反応について検索することを目的に、N-nitrosomorpholine (NM) の投与による血液生化学的変化、病理組織学的変化及び遺伝子発現プロファイルに関してLong-Evans Agouti (LEA) ラットとの比較解析を行った。【方法】実験は、5週齢雄性LEC・LEA両ラットに対し、NM (10 mg/kg 体重) または溶媒(蒸留水)を1日1回連日反復強制経口投与した。動物は投与開始の7・14・28日後に剖検し、器官重量を測定し、血液生化学的検査及び病理組織学的検査を実施した。さらに、投与開始の28日後の肝臓についてはGeneChip®RAE230Aを用いた遺伝子発現解析を行った。【結果】NMによる器官重量と血液生化学的及び病理組織学的な変化により判定される肝毒性には、LEC・LEA両ラット間で明らかな程度の差はみられなかった。一方、両ラットの遺伝子発現プロファイルは明らかな違いを示した。まず溶媒投与群では、LECラットにおいてLEAラットに比べ10遺伝子の発現が高く、15遺伝子の発現が低かった。次にNM投与により、LEC・LEA両ラットに共通して7遺伝子の発現上昇、6遺伝子の発現減少が認められた。さらに、NM投与群においては16遺伝子の発現上昇と19遺伝子の発現低下がLECラットに特異的にみられ、14遺伝子の発現上昇と17遺伝子の発現低下がLEAラットに特異的にみられた。【考察】以上の結果より、肝炎自然発症前のLECラットの肝臓遺伝子発現プロファイルはLEAラットと異なっており、NMはLECラットにLEAラットと同等の肝毒性を誘発する一方で異なる遺伝子発現プロファイルを誘導することが判明した。従って、LECラットの肝臓発がん化学物質に対する高感受性の背景機構には、肝臓における特異的シグナル状態と、それに基づく発がん刺激に対する特徴的なシグナル反応性が関与する事が示唆された。

W-1-5

ラットでの遺伝子発現における性周期の影響

○宇波 明, 大村 功, 松本正博, 仲辻俊二, 藤平司郎, 岡崎欣正, 坪田健次郎, 大石裕司
(藤沢薬品工業・安全性研究所・毒性病理)

【目的】近年,創薬研究の早期段階で医薬品候補化合物の安全性を評価・予測するシステムの開発を目指し,典型的な毒性物質を処置した動物の各臓器での遺伝子発現プロファイルを解析し,遺伝子発現データベースの構築が進められている。このようなリファレンスデータの蓄積においては,性周期による生理的変動の懸念から主に雄動物が用いられているが,実際に性周期の遺伝子発現プロファイルに及ぼす影響を解析した例は少ない。今回,性周期に中心的な役割を果たしている下垂体と,最も薬剤の標的になりやすい肝臓の網羅的遺伝子発現解析を行い,性周期の各ステージ間での遺伝子発現プロファイル差を調べた。

【方法】10週齢の Crj:CD(SD)IGS 系雌性ラットをエーテル麻酔下で放血死させ,下垂体および肝臓を摘出した。QIAGEN 社 RNeasy Mini Kit を用いて total RNA を抽出し,網羅的遺伝子発現解析は Agilent Technologies 社ラット遺伝子解析用 DNA マイクロアレイを用いて行った。なお,性周期は子宮および膣の病理組織学的検査により決定した。

【結果および考察】下垂体では,階層的クラスタリングおよび主成分分析において,発情前期および発情期にあるラットと発情後期および休止期にあるラットが明確に区別された。また性周期のステージ移行に伴い,細胞増殖およびシグナル伝達に関連する分子の発現変動が認められた。一方肝臓では,発情前期・発情期と発情後期・休止期の間で有意な発現変動を示す遺伝子は83個見出された。しかし,薬物代謝に関わる分子については,転写レベルでは性周期により顕著な影響を受けるものは見出されなかった。今回の解析を含めた,各組織での遺伝子発現プロファイルに関する基礎情報の蓄積は,今後のトキシコゲノミクス研究における毒性発現メカニズム解明およびマーカー分子探索に極めて有用であると考えられる。

W-2-1

T-2 toxin 投与妊娠ラットの肝臓、胎盤および胎児肝臓病変のマイクロアレイ解析

○瀬畑信哉¹、清沢直樹¹、渥美房子¹、伊藤和美¹、矢本敬¹、寺西宗広¹、上塚浩司²、中山裕之²、土井邦雄²

(¹三共・安全研、²東大院・獣医病理)

【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 を妊娠ラットに投与するとリンパ系組織、肝臓をはじめ種々の組織、胎盤および胎児組織にアポトーシスが生じる。しかし、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、肝臓、胎盤および胎児肝臓における遺伝子発現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(3 例/群)に単回経口投与した。投与 1, 3, 6, 9, 12 および 24 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検索および GeneChip[®] (Affymetrix) を用いたマイクロアレイ解析を実施した。

【結果および考察】T-2 toxin 投与群の妊娠ラットにおいて、肝臓、胎盤および胎児肝臓に TUNEL 染色陽性細胞 (アポトーシス細胞) の増加が投与直後から認められた。この結果を基に、各組織で 3 ポイントを選択し、それぞれマイクロアレイ解析を実施した。その結果、各組織において、酸化ストレス関連遺伝子、アポトーシス関連遺伝子の発現増加、脂質代謝関連遺伝子および薬物代謝酵素関連遺伝子の発現減少が共通して認められた。また、アポトーシスに関連した遺伝子の中では、MAPK と c-jun 遺伝子の変化が認められた。以上の結果から、T-2 toxin を妊娠ラットに投与すると、酸化ストレスを誘導し、脂質代謝等に変化を生じ、最終的に MAPK, c-jun 経路が活性化してアポトーシスが誘導される可能性が推察された。

W-2-2

PCB126 胎生期暴露の DMBA 投与後肝臓における CYP1, AhR, ARNT の発現

○和久井信¹、横尾清文¹、鷹橋浩幸²、羽野寛²、古里征国³

(麻布大・比較毒性¹、慈恵医大・病理²、杏林大・病理³)

【背景・目的】我々は過去本学会において 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126)胎生期暴露次世代の DMBA 誘発乳腺発癌に与える影響に関して報告した。これまでの検討から、高用量 PCB126 胎生期暴露は DMBA 誘発乳腺発癌を抑制させるのに対し、中用量 PCB126 胎生期暴露は DMBA 誘発乳腺発癌を亢進させることを明らかにしたがその機序は不明である。また、DMBA は生体内で代謝されることから発癌を進行させることから、主たる代謝酵素である CYP1 の発現について DMBA 投与後 2 日まで過去報告した。今回は、DMBA 投与後 30 日までの CYP1, AhR, ARNT の発現について検討を行った。

【材料・方法】SD(slc)ラット胎齢 13-19 日まで PCB126 を 7.5ug, 250ng, 2.5ng, 0g/kg/day 経口投与を行った。出生後 50 日に各ラットに DMBA100mg/kg 経口投与した後、6 時間、12 時間、1 日、2 日、5 日、10 日、20 日、30 日、後に剖検し肝臓での CYP1, AhR, ARNT の発現について検討を行った。

【結果・考察】7.5ug/kg 群では CYP1A1 の発現延長が認められた。これに対し、250ng/kg 群では CYP1B1 の発現延長が認められた。DMBA は 2 段階の代謝を受ける第一段階の代謝は CYP1A1 あるいは CYP1B1 が進行させる。これに対し第二段階の代謝は CYP1B1 のみが進行させることから、DMBA の発癌性の獲得に CYP1B1 が重要であることが提唱されている。本検討でも、発癌性の亢進を示した 250ng/kg 群で CYP1B1 の高い発現を認めた。

W-2-3

内分泌かく乱化学物質の周産期暴露によるラット視床下部内側視索前野での progesterone receptor 発現の変化

○高木 広憲, 渋谷 淳, 藤田 春香, 李 京烈, 井上 薫, 広瀬 雅雄 (国立衛研・病理)

我々はラットを用いて ethinylestradiol (EE)を陽性対照物質として, methoxychlor (MXC), diisononyl phthalate (DINP)及び genistein (GEN)の周産期混餌投与による児動物の性分化影響を検討し, 1200 ppm MXC において 0.5 ppm EE と同様な雌雄の春機発動の異常, 性周期異常, 性成熟後の雌内分泌関連臓器の病理組織学的変化, 20000 ppm DINP において雌雄性腺の病理組織学的変化を認め, EE 暴露例とはパターンが異なるが MXC 暴露において更に下垂体ホルモン陽性細胞率の変動を伴っていることを報告している。今回は, これらの物質による脳の性分化影響を評価する目的で, まず 0.5 ppm EE を妊娠 15 日から母動物に混餌投与し, 性分化・性行動の中核の 1 つと考えられている内側視索前野 (MPOA) における estrogen receptor (ER) α , ER β , progesterone receptor (PR), steroid receptor co-activator (SRC)-1, SRC-2, gonadotropin-releasing hormone 及び calbindin-D の mRNA 発現レベルを生後 11 日の雌雄児動物において real-time RT-PCR により定量的に解析し, 投与或いは雌雄で異なる発現挙動の認められた遺伝子について, 24, 240, 1200 ppm MXC, 4000, 20000 ppm DINP 及び 1000 ppm GEN 暴露による発現変動を解析した。脳はメタカーン固定・パラフィン包埋し, 視床下部を含む冠状断面の連続切片を作製し, 性的二型核を含む MPOA をマイクロダイセクション法により採取し, total RNA を抽出した。その結果, ER α 及び PR のそれぞれ雌及び雄における高発現が認められ, EE 暴露による雄の SRC-1 及び雌の PR, ER β の発現量増加がみられた。MXC 暴露においては, PR 発現量の雄における減少及び雌における増加が 1200 ppm で認められ, 雄における減少傾向は低用量からみられた。DINP 暴露では, 雌の高用量における PR 発現量の減少が認められた。これらの結果から, 脳の性分化臨界期の MPOA における PR の発現変動は, 性成熟後の生殖機能に関連する内分泌中枢の性分化障害を反映している可能性が示唆された。

W-2-4

インドール酢酸はラット胎児に小頭症を誘発する

○古川 賢, 阿部正義, 白田浩二, 小川いずみ (日産化学工業㈱ 生物科学研究所)

【目的】植物ホルモンのインドール酢酸(IAA)は, げっ歯類に口蓋裂を誘発することが知られているが, ラット胎児における神経系への影響に関する報告はない。今回, 我々は IAA を妊娠ラットに投与したところ, 胎児に小頭症の発現を認めたので, IAA の胎児神経系に対する影響と小頭症発現機序について病理組織学的に検討した。【材料及び方法】0, 500 及び 1000mg/kg の 3 用量を設定し, 各群に 16 匹の妊娠 Han Wistar ラットを供試した。IAA はオリーブオイルに懸濁し, 大脳皮質の形成初期である妊娠 12, 13 及び 14 日に強制経口投与し, 妊娠 14.5, 15, 16 及び 21 日に胎児を摘出した。妊娠 14.5, 15 及び 16 日の胎児は重量測定後, ホルマリン固定した。妊娠 21 日の胎児は外表検査及び重量測定を行い, ホルマリン固定後, 脳を摘出し脳重量を測定した。これら胎児の大脳について組織病理検査を実施した。【結果】1. 母動物体重: 500mg/kg 群では妊娠 15 日, 1000mg/kg 群では妊娠 13 - 21 日で体重増加の抑制が認められた。2. 胎児・胎盤重量: 1000mg/kg 群において胎児重量は妊娠 15 及び 16 日, 胎盤重量は妊娠 16 日に低下が認められた。3. 胎児外表検査: 1000mg/kg 群において口蓋裂の発生 (61.9%) が認められた。4. 胎児脳重量: 処理群において大脳は低形成を示し, その重量は用量相関性に低下していた。5. 胎児組織検査: 妊娠 14.5 日では 500 及び 1000mg/kg 群においてアポトーシスが脳室帯の中間層及び背側層で, さらに 1000mg/kg 群では網膜においても認められた。妊娠 15 日では 1000mg/kg 群においてアポトーシスが脳室帯の中間層, 背側層及びプレパレートで認められた。妊娠 16 日では 1000mg/kg 群にて 4 腹中 1 腹の胎児においてアポトーシスが脳室帯の背側層及び中間帯で認められた。妊娠 21 日では 500 及び 1000mg/kg 群において脳室帯での細胞増殖活性亢進が用量相関性に認められた。さらに 1000mg/kg 群では脳室帯の肥厚, 皮質板の軽度低形成及び中間帯における神経細胞密度の増加が認められた。【結論】IAA は胎児の大脳において脳室帯にて新たに産生された神経細胞にアポトーシスを誘発し, 大脳皮質形成を抑制することにより, 小頭症が誘発するものと推察した。

W-3-1

Mmh/OGG1 ノックアウトマウスにおける pentachlorophenol による肝発癌感受性

○ 渡邊直人、吉田緑、五十嵐麻希、高橋正一、木下アンナ、鱈淵英機、福島昭治、中江大
(佐々木研・病理、大阪市大・院・医・都市環境病理)

【目的】*Mmh/OGG1* 遺伝子は、DNA のグアニン残基の 8 位が酸化ストレスによって傷害された 8-hydroxydeoxyguanoine(8-OHdG)の修復酵素をコードしている。したがって *Mmh/OGG1* 遺伝子を欠損させたマウス(OGG1KO マウス)は、酸化ストレスに高感受性であり、同ストレスの関与する発がん過程を促進する可能性がある。非遺伝性発がん物質である pentachlorophenol(PCP)の B6C3F1 系雄性マウスへの混餌投与は、肝発がん性を示し、その機序として肝臓における 8OHdG 生成を伴う酸化ストレスの関与が指摘されている。本研究は、OGG1KO マウスの発がん感受性について検索することを目的に PCP を用いて二段階肝発がん実験を行った。【方法】実験は C57BL6J 系マウス由来の 16~23 週齢の雄性 OGG1KO マウスの各遺伝子型 (ホモ型(-/-)・ヘテロ型(+/-)・野生型(+/+)) を用い、これらに無処置対照群・PCP600ppm 混餌投与群(PCP 群)・diethylnitrosamine 100 mg/kg 体重腹腔内投与+PCP600ppm 混餌投与群(DEN+PCP 群)・DEN 単独投与群(DEN 群)の 4 群に分け、DEN 投与の 26 週間後に剖検して、肝を中心とした病理組織学的検索と PCNA による細胞増殖活性検索を行った。【結果】最終体重は、全実験群間で有意な差を認めなかった。PCP 群と PCP+DEN 群の肝は、肉眼的に肥大し、組織学的に肝細胞のびまん性肝細胞肥大・変性・壊死と炎症細胞浸潤・線維増生・胆管増生等を示し、それらの変化に DEN 投与の有無または遺伝子型による差を認めなかった。肝の増殖性病変は、いずれの群でもほとんど認められず、処置または遺伝子型による差がなかった。PCNA 陽性肝細胞数は、対照群に比べ PCP・PCP+DEN 両群で増加し、DEN 投与の有無または遺伝子型による差を認めなかった。【結論】以上の結果より、PCP 投与は、OGG1KO マウスにおいて遺伝子型を問わず肝障害と肝細胞増殖を誘発するものの、肝増殖性病変を誘発しなかった。したがって、OGG1KO マウスは、PCP の肝発がん性に対し遺伝子型にかかわらず低感受性であることが判明した。このことの原因の一部は、本マウスが肝腫瘍発症系である C57BL6J 系由来であることによるものと示唆された。

W-3-2

Nrf2 欠損マウスの肝発がん物質ペンタクロロフェノールに対する感受性

○黒岩有一、梅村隆志、北村泰樹、神吉けい太、今沢孝喜、児玉幸夫¹、伊東 健²、山本雅之²、
西川秋佳、廣瀬雅雄 (国立医衛研・病理、¹毒性、²筑波大・院・人間総合)

遺伝子制御領域に抗酸化応答配列を有する異物代謝系第 2 相酵素群の転写因子として知られる Nrf2 は、環境化学物質による発がんや毒性に対する生体防御機構に重要な役割を果たしていると考えられている。今回、Nrf2 の野生型(+/+)、ヘテロ欠失(+/-)ならびにホモ欠失(-/-)マウスに、その発がん機構に酸化的ストレスの関与が予想されるペンタクロロフェノール (PCP) を投与し、肝臓での酸化的ストレスおよび Nrf2 が転写制御する NAD(P)H: キノン酸化還元酵素 (NQO1) の発現レベルについて比較検討した。【方法】雄 7 週令の Nrf2 欠損マウスに PCP を 0、300、600 および 1200 ppm の濃度に混じた飼料を 4 週間自由に摂取させた。肝臓の病理組織学的検索とともに、酸化的 DNA 損傷レベルを 8-オキシデオキシグアノシン (8-oxodG) 量として HPLC-ECD で、脂質過酸化レベルをアクロレイン修飾蛋白量として ELISA で測定した。さらに、NQO1 レベルを Western blot で比較した。【結果】病理組織学的には、いずれの最高用量群でも小葉中心性の肝細胞肥大ならびに限局的な壊死が観察されたが、その他の投与群において、肝細胞肥大の程度は +/- および -/- に比べて強かった。8-oxodG レベルは、+/+ ではないずれの群においても変化は認められなかったが、+/- および -/- では 600 ppm 以上の群で有意な上昇が認められた。一方、アクロレイン修飾蛋白量には PCP 投与による変化は認められなかった。NQO1 蛋白質レベルは +/- および -/- では +/+ に比べて発現量が低く、+/+ では PCP 投与に伴う発現量の増加がみられたが、-/- ではみられなかった。【考察】PCP はベンゾキノンに至る代謝過程で酸化的ストレスを発生すると予想されている。今回、Nrf2 欠損マウスが野生型に比べて PCP の酸化的 DNA 損傷に高感受性であり、また肝臓ではキノン代謝に関わる NQO1 の発現レベルが低値を示し、PCP による誘導も観察されなかったことから、Nrf2 制御下の NQO1 を介したキノン解毒代謝系が PCP による酸化的 DNA 損傷に対する防御の役割を担っていることが示唆された。

W-3-3

ウレタン誘発肺腫瘍の感受性に対する p53 遺伝子改変マウス、rasH2 およびオリジナル系統マウスとの比較検討

○尾崎正和^{1,2}、尾崎圭介¹、渡辺知幸¹、宇和川賢¹、奥野泰由¹、白井智之²
(¹住友化学(株)・生物環境科学研、²名市大・院・医・実験病態病理)

【目的】遺伝子障害性の発癌物質であるウレタンをヒト c-Ha-ras 遺伝子導入マウス(rasH2)に投与することで高率に肺腫瘍が誘発される一方、p53 遺伝子欠損マウス(p53^{-/-})では肺腫瘍が殆ど発生しないことが知られている。しかし、その感受性の差の原因についての詳細は明らかではない。そこで我々は p53^{+/-}、rasH2、およびそれぞれのオリジナル系統である C57BL/6、BALB/c マウスにウレタンを投与し、26 週目に全身臓器の病理組織学的検索を実施し、その感受性について比較検討した。

【材料および方法】p53 遺伝子欠損 (p53^{-/-}) およびその野生型 (p53^{+/+})、ヒト c-Ha-ras 遺伝子導入 (rasH2) およびその野生型 (non-Tg)、C57BL/6 ならびに BALB/c マウス (7 週齢、雄) の各 15 匹にウレタン (500ppm) を飲水投与にて 3 週間投与し、投与開始後 26 週目に諸臓器の病理組織学的検索を実施した。それぞれの対照として、同系マウスの無処置群を設けた。

【考察および結論】rasH2 マウスでは高率に肺腫瘍の誘発を認めたが、p53^{+/-}マウスでは肺腫瘍は誘発されなかった。また、p53^{+/-}マウスの肝臓に血管増殖性病変の発生を認めたが、rasH2 マウスでは肝臓の血管増殖性病変の誘発は低頻度であった。一方、BALB/c マウスでは高率に肺腫瘍が誘発されたが、C57BL/6 マウスでは肺腫瘍は誘発されず、C57BL/6 マウスでは肝臓の血管増殖性病変が高頻度に発現した。以上より、ウレタン投与により p53^{+/-}では肝臓の血管病変、および rasH2 マウスでは肺腫瘍が特異的に誘発されること が示され、これら発がん系統特異性はオリジナル系統マウスの形質を反映したものと考えられた。

W-3-4

ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットを用いた発がん物質短期検出法の開発

○大嶋浩¹、深町勝巳¹、土井悠子²、玉野静光²、津田洋幸¹
(¹名古屋市立大学大学院医学研究科分子毒性学、²大雄会医科学研究所)

市場には様々な化学物質が存在するが、その中で未だ発がん性のデータが得られていない物質が少なくない。通常の長期発がん試験での評価には膨大な費用を必要とするため、前がん病変等を指標とした中期検出モデルや遺伝子操作により発がん期間を短縮したトランスジェニック動物等の開発が行われている。ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入したトランスジェニックラット (Hras128) は、特に乳腺化学発がん物質に高感受性を示し、雌では発がん物質の投与後 6~8 週と短期間で乳腺腫瘍の発生に至る。また乳腺を標的としなが発がん物質でも乳腺に発がんする。今回、Hras128 ラットを用いて乳腺腫瘍の発生を指標とした発がん物質短期検出法の検討を行った。

【実験 1】7 週齢の雌雄 Hras128 ラット 85 匹及び野生型ラット 90 匹に被験物質として、変異原発がん物質である 2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) 80mg/kg、4-(Methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) 100mg/kg、Acrylamide 100mg/kg を実験開始時、実験第 3 および 6 日目に 1 日 1 回、計 3 回投与し、雌は 6 週後および雄は 12 週後に終了し、乳腺発がんの感受性について検討した。その結果、肉眼所見で IQ では雌の Hras128 ラットで乳腺腫瘍の発生率の増加傾向が見られた。

【実験 2】混餌連続投与での感受性を検討した。40 匹の雌雄の Hras128 ラットに IQ 300ppm を投与した。その結果、雌雄共に乳腺腫瘍の発生率の増加傾向がみられ、雌では対照より有意に増加した。

【実験 3】非変異原発がん物質での検出として、77 匹の雌雄の Hras128 ラットにイニシエーターとして DMBA 50mg/kg を胃内投与後に Phenacetin 25,000ppm、Thioacetamide 600ppm、Urethane 2,000ppm を雌に 6 週、雄に 12 週混餌投与した。Phenacetin では乳腺腫瘍の発生率と腫瘍数/ラットは雌で対照より有意に減少した。Thioacetamide では乳腺腫瘍の発生率は対照と差はなかったが、個体あたりの発生数及び腫瘍重量は雌雄共に対照より有意に減少した。Urethane では乳腺腫瘍の発生率は雄で増加傾向がみられた。現在、組織学的検索を行っている。

ポスター要旨 (P-1～P-100)

P-1

Bisphenol A の経胎盤および授乳曝露による神経系腫瘍の発生に及ぼす影響

○今井則夫¹、難波江恭子¹、土井悠子¹、吉野裕子¹、萩原昭裕¹、鰐淵英機²、森村圭一朗²、船江良彦³、福島昭治² (¹榊大雄会医科研、²大阪市大・院・医・都市環境病理、³大阪市大・院・医・生体機能解析学)

【目的】内分泌攪乱作用が指摘されている化学物質のヒトへの影響、特に中枢神経系に及ぼす影響が最近、注目されている。しかし、中枢神経系腫瘍発生との関連は疫学的にも実験的にも全く不明である。さらに、一般に化学物質の胎児期および新生時期曝露による影響は成人曝露と比較して、明らかに異なり、内分泌攪乱化学物質の場合にはその影響が特に顕著であることが推測されている。そこで今回、Bisphenol A (BPA) の経胎盤および授乳曝露による次世代における中枢神経系腫瘍発生への影響をラットを用いて検討した。【方法】11週齢のF344ラットの雌と雄を交配させ、妊娠を確認した母動物に妊娠0日から出生児(F₁)の離乳までの間、BPAを0, 0.05, および200 mg/kg/dayの用量で強制経口投与した。また、N-ethyl-N-nitrosoureaを妊娠18日目に10 mg/kgの用量で1回、静注した。分娩21日後に雄F₁動物を離乳し、40週齢まで飼育した後、中枢神経系の腫瘍発生を病理組織学的に検索した。【結果】分娩時の平均出生児数は対照群とBPA投与群との間に有意差を認めず、妊娠期間にも有意差を認めなかった。また、雄F₁動物の飼育期間中における体重増加および摂餌量にも差を認めなかった。40週齢時における脳の絶対および相対重量には有意な差を認めず、また病理組織学的に脳および脊髄において星状膠細胞腫や乏突起膠細胞腫等の腫瘍発生が認められたが、群間に有意な差を認めなかった。

【結論】BPAの胎児期および新生時期曝露はラット中枢神経系腫瘍の発生に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

P-2

Acrylamideによる神経及び精巣毒性に対する抗酸化物質の予防効果の評価

○黒岩敬子、渋谷 淳、李 京烈、井上 薫、広瀬雅雄(国立衛研・病理部)

【はじめに】Acrylamide(ACR)は炭水化物を含む食品を高温調理することで生成され、食品中のACR摂取による神経・精巣毒性、あるいは甲状腺、乳腺等への発癌影響が懸念されている。本研究ではACRによる神経と精巣への毒性影響を予防する物質の探索を目的として、ACRと共に抗酸化物質である α -lipoic acid (ALA), α -tocopherol (TP), diallyl sulfide (DAS)をラットに併用投与し、その効果を評価した。【方法】雄SD:IGSラットに0.02%のACRを4週間飲水投与した。化学物質の併用投与群として、ACR投与の1週間前より0.2% ALA, 1% TP, 0.1% DASを混餌投与する群を設けた。また、対照群として無処置群、ALA, TP及びDASの単独投与群を設定した。ACR投与期間中、神経症状のgait scoringを週1回の割合で行い、実験開始5週目に剖検し、坐骨神経について有髄線維の軸索変性(腫大)、直径(萎縮の度合い)、密度の定量、小脳皮質分子層におけるsynaptophysin陽性の異常な点状構造の出現頻度、精巣については精母細胞の脱落が見られた精細管の出現頻度を解析した。【結果】gait scoringはALA併用群でACR投与開始1週目より低下傾向を示し、最終週で有意に低下した。体重は無処置群に比し、ACRを投与した全ての群で減少し、そのうちACR単独、ALAないしDAS併用群では精巣相対重量の増加が認められた。病理組織学的には、ACRによる精母細胞の脱落がALAの併用により有意に抑制された。坐骨神経では、ACRによる軸索腫大が、ALAないしTP併用群で有意に減少し、直径3 μ m以下の有髄神経の占める割合が全ての併用群で有意に減少した。また、ACRによる有髄神経密度の低下がALA併用群で有意に抑制され、無処置群と同じレベルに達した。更にACRにより出現した小脳皮質のsynaptophysin異常陽性像の発現頻度が、ALA併用群で有意差はないものの減少傾向を示した。【結論】抗酸化物質の併用投与は、ACRの精巣および神経毒性を抑制し、特にALAが高い抑制効果を示すことが明らかになった。

P-3

パクリタキセルによるラット腓腹神経に対する障害作用の経時的な検討

○長井大地¹、市村英資¹、江原敬子¹、林 幹人¹、中村 巖²、松本徹也²、
西村千尋¹（日本化薬株式会社 創薬本部 ¹安全性グループ、²評価グループ）

抗癌剤であるパクリタキセル (PTX)は副作用として末梢神経障害を誘発することが知られている。臨床的には電気生理学的に計測した SNAP(sensory nerve action potential)の振幅減弱または消失が観察されることが知られている。しかし、電気生理学的な指標と病理組織学的な指標の相関について PTX の影響を詳細に検討した報告は少ない。そこで我々はラットを用いて、主に感覚神経から構成される腓腹神経に対する PTX の影響を病理組織学的、形態計測学的及び電気生理学的変化について経時的に検討した。【方法】雌性 SD ラットに PTX 18 mg/kg あるいは溶媒を 2 回、静脈内投与 (Day 0 及び 3) し、Day 6, 10, 17, 24 及び 42 に、2.5%リン酸緩衝グルタールアルデヒドで灌流固定し、右側の腓腹神経を摘出し、後固定後、エポン樹脂包埋を作製し、その横断面標本を電子顕微鏡及び形態計測学的検索に供した。形態計測はトルイジンブルー染色を施した準超薄標本の画像を用いて、腓腹神経束内に含まれる有髄神経線維の総本数、総横断面積及び平均直径を画像解析ソフト (Image-Pro[®] Plus)を用いて計測し、平均直径は 1 μ m 毎にヒストグラム化した。また、剖検前には左側の腓腹神経を用いて電気生理学的に SNAP を計測し、潜時及び振幅を測定した。【結果】PTX 投与群の腓腹神経束内の有髄神経線維総本数及び総横断面積は対照群に対して Day 10 で有意な減少を示し、以後 Day 42 まで有意な減少が認められた。有髄神経線維平均直径のヒストグラムでは主に 6-7 μ m 径の線維がいずれの時点でも有意な減少を示した。電子顕微鏡学的検索では有髄神経線維の変性及びシュワン細胞の腫大が観察され、この変化は Day 24 が最も顕著であった。Day 42 では有髄神経線維の再生像と無髄神経線維束が観察された。電気生理学的検討では、PTX 投与群の振幅が Day 17 以降、対照群に比べて小さく推移し、Day 24 以降では有意に小さかった。一方、伝導速度には両群で大きな差は認められなかった。【結論】腓腹神経に対する PTX の障害は Day 24 で顕著であり、有髄神経線維の総本数の減少と電気生理学的指標である振幅の減弱の間に関連性があると思われる。

P-4

トリメチル錫の学習障害発現機序に関する病理組織学および分子生物学的解析

○ 高橋尚史、大塚亮一、竹内幸子、林宏一、松本力、藤江秀彰、首藤康文、武田眞記夫、
小坂忠司、中島信明、原田孝則（残農研）

【目的】トリメチル錫 (TMT) を単回経口投与したラットでは、投与数日後から学習能力が低下することが知られている。この変化は、TMT が学習および記憶に関与する海馬錐体細胞に障害を与えることに起因する。そこで我々は、TMT 単回投与後の海馬錐体細胞に生じる変化を検索するために、TMT 投与ラットの学習能力検査、病理組織学的検査および海馬錐体細胞における発現遺伝子の網羅的解析を経時的に実施した。【方法】6-7 週齢の Fischer 系 (F344/DuCrj) 雄ラットに TMT 7.8 mg/kg を単回投与し、投与後 3, 6, 12, 24, 72 時間, 7, 14 および 28 日に M 型水迷路試験を行なった。投与後 72 時間, 7, 14 および 28 日には全身灌流固定後、脳を採材して海馬について免疫組織化学的検索を含む病理組織学的検査を実施した。また投与後 24 および 72 時間の大脳を凍結保存し、凍結切片から Laser Capture Microdissection を用いて海馬錐体細胞層を単離し、Microarray により発現遺伝子の解析を行なった。【結果および考察】学習検査では、投与後 3 から 72 時間までは 83-95% の正解率を示し、対照群の 96% に対し学習能力の低下は認められなかった。投与後 7 および 14 日では、それぞれ 64% および 60% と明らかな学習能力の低下が認められたが、投与後 28 日では 100% と回復していた。海馬錐体細胞層の発現遺伝子解析では、投与後 24 時間で up-regulate した遺伝子にはアポトーシスおよび酸化ストレス関連遺伝子が、down-regulate した遺伝子にはアポトーシス抑制因子が含まれていた。投与後 72 時間で up-regulate した遺伝子には炎症性シグナル関連遺伝子が、down-regulate した遺伝子には神経細胞機能に関わる transporter 系の遺伝子が含まれていた。以上の結果より TMT が海馬錐体細胞に対し酸化ストレスを与え、同時に death-signal が発現されることにより細胞死に陥る可能性が示唆された。またこの過程にはミクログリア等の炎症細胞浸潤が関与することが考えられた。現在、病理組織学的所見と遺伝子解析結果との相関性について検討中である。

放射線のマウス内耳におよぼす急性影響

○新田由美子¹、荒木伸一²、新田耕作³ (¹広島大学原爆放射線医科学研究所、²香川大学医学部、³医療法人大谷会 大谷リハビリテーション病院)

広島原爆は、29.2%が中性子による線量であり、その中性子線のエネルギーは2.0 MeV以下の低い領域である。低エネルギー中性子の生物影響を、 γ 線の場合と比較して、明らかにする研究を行っている。現在までに、マウスモデルで、中性子の胎内被曝影響、卵巣の中性子感受性、および発癌性を報告してきた。本報告では、マウス内耳が中性子感受性を示すことをみつけ、解析したので、報告する。(材料と方法) マウス: C3H/He、オス。放射線: HIRACによる単色中性子(1.026MeV)、Cs-137による γ 線を用いた。照射実験: 生後7日齢のマウスに、放射線を1回全身照射した。対称群には、非照射マウスを設定した。マウスは、照射後6, 24, 48, 72, 144時間後および10, 50週間後に剖検した。病理学的検索: マウスの中、内耳全体をパラフィン包埋、連続切片として、H&E染色により観察した。走査電子顕微鏡観察: マウス内耳をグルタルアルデヒド、オスミウム酸二重固定し、走査電子顕微鏡資料を作成、観察した。(結果と考察) 中性子照射マウス群にのみ、可逆的および不可逆的变化を認めた。生後7日齢マウスの、Greater epithelial ridge (GER)の上皮細胞減少が促進される現象を認めた。6時間目から核アポトシスを認め、72時間目ではほとんどのGER細胞が消失した。GERはコルチ器の原基で、正常では、内耳発生に主要な役割を果たす。生後0日から退縮を開始し生後14日齢でほぼ消失する。生理的消失過程はcaspase-3依存性アポトーシスで、中性子線はこの過程を促進したと考えられた。聴細胞の形態を、走査電子顕微鏡により観察した。中性子照射後6-72時間目まで、聴毛に隣接してprotrusionが認められた。中性子照射は、聴細胞細胞質にフリーラジカルを生成、細胞膜障害が惹起されたと考えられた。

IGS ラットの radiculoneuropathy に関する背景データ

○中村圭吾、渋谷一元、菊佳男、平井卓哉、布谷鉄夫(日生研)

【背景・目的】Crj:CD(SD) IGS ラット(以下 IGS ラットという)は世界各所で可能な限り均一な実験動物を生産する目的で Sprague-Dawley 系(Crj:CD(SD))ラット(以下 CD ラット)を起源として確立された系統である。この系統は国内では1995年から使われ始め、現在ではCDラットに代わって毒性試験で汎用されている。IGSラットは起源系統であるCDラットに比較して加齢に伴う体重の増加が低い、摂餌量が少ない、黄体数、着床数および胎児数が少ない傾向が見られるなどの相違点が報告されており、新たにIGSラットに関する背景データを集積することが重要であると思われる。ラットの radiculoneuropathy は加齢に伴い脊髄神経根をはじめとする末梢神経系に発生が見られる病変であるが、IGSラットにおける本疾患の発生状況に関する詳細な報告は見当たらない。そのため今回我々はIGSラットにおける radiculoneuropathy のデータ収集を目的として脊髄神経根ならびに坐骨神経を病理組織学的に検索した。【材料・方法】9週齢から109週齢のIGSラット、雌雄計313匹の胸髄、腰髄神経根および坐骨神経組織の病理組織学的検査を行い、それぞれの神経病変の加齢に伴う発生率および程度の変化を検索した。【結果】脊髄神経根では雌雄ともに57週齢から初期病変が観察され、100週齢を超えると半数以上の個体で重度な病変が観察された。雌に比べ雄の方が発生率が高く、また胸髄に比べ腰髄の方が発生率が高く病変もより重度であるなど、他の系統のラットにおけるこれまでの報告と同様の傾向が見られた。また坐骨神経においても脊髄神経根と同様、雌に比べ雄の方が発生率が若干高い傾向が見られた。【考察】今回の結果から、IGSラットにおける radiculoneuropathy の病変の発生状況はこれまでの Sprague-Dawley 系のラットでの報告に類似するものであり、また Wister や F344 ラットに比較すると発生週齢は低い傾向が見られた。今回検索した胸髄神経根、腰髄神経根および坐骨神経における病変の特徴、分布および程度ならびに雌雄差に関してはこれまでの他の系統のラットにおける報告と同様の傾向が見られた。今回の背景データは IGS ラットを用いた毒性試験評価に有用であると考えられる。

P-7

ビーグル犬に認められた片側性視神経欠損の1例

○ 池田亜紀子、金子吉史、高橋牧子、末吉純久、岩崎省吾、棚瀬裕文、佐藤裕和、益本吉廣、都留清志（杏林製薬株式会社）

（はじめに）イヌにおける視神経形成不全の発生率は、わずか0.1%と報告されており、視神経無形成の報告は非常にまれである。今回我々は、試験に供した雄 Marshall beagle に、自然発生性の片側性視神経欠損を認めたので、その眼科学的検査、解剖所見及び病理所見の特徴について報告する。（症例）本症例は 長期反復試験に供された動物で、6ヶ月齢における予備飼育時のスリットランプ検査においては、硝子体動脈遺残以外の著変は認められなかったが、眼底カメラ検査において右側眼の視神経乳頭が認められなかった。剖検時、視神経は視神経交叉から右側眼球に向けてわずかに伸びてはいたが、3 mm 程度で欠失していることが確認された。（結果・考察）組織学的観察では、萎縮を伴った視神経組織が眼球後極部付近に認められたが、網膜上に視神経乳頭は認められなかった。網膜組織では神経線維層幅の減少及び神経細胞数の減少が見られ、視神経線維層には褐色色素の沈着が認められた。他の網膜層に組織学的著変はなく、一部の視神経形成不全で報告されている網膜組織の rosette 構造も認められなかった。また、網膜の各層に欠損はなく、coloboma を示唆する所見は認められなかった。視神経交叉部において、視神経欠損が認められた右側視神経束は左側と比較して直径が著しく小さかったが、組織学的な変化は認められなかった。中枢神経領域では、外測膝状体領域に著変は認められなかった。これまでに報告されている視神経無形成の組織学的特徴は、視神経、視神経乳頭及び網膜血管の欠損が挙げられている。本症例では、視神経及び視神経乳頭は認められなかったものの、網膜血管は存在しており、網膜内には血液循環があったものと考えられた。

P-8

Crj:CD(SD)IGS 系ラットにおける網膜病変の発現状況

○高木みづほ、山口裕子、仁平 礼、藤田由美子、中村 厚、池崎信一郎、楠岡 修、田村 一利（株）ボゾリサーチ

【目的】Crj:CD(SD)IGS 系（以下 IGS）ラットは、安全性試験等で広く使用されるようになり、その背景データに関する報告も数多くみられるようになってきた。しかし、自然発生性病変、特に非腫瘍性病変に関しては未だ十分な情報が集積されているとは言えず、被験物質の安全性を評価する上で判断に苦慮する場合が時折生じる。今回我々は、IGS ラットにおける自然発生性網膜病変について調査したので報告する。

【方法】調査は、我々の施設で安全性試験の対照群に供された8、10、19及び32週齢のそれぞれ雄20、309、150及び146例、雌20、287、150及び156例のIGSラット計1238例を対象として行った。

【結果】本調査にて観察された組織学的変化は、Retinal dysplasia と Retinal atrophy であった。Retinal dysplasia は、限局性微小病変として、視神経及び毛様体周辺に好発する傾向にあり、その発現頻度及び程度に明らかな性差及び週齢差は認められなかった。一方、Retinal atrophy は、Retinal dysplasia と同様に多くは限局性微小病巣として視神経及び毛様体周辺にみられた。発現頻度は週齢を増すごとに僅かながら上昇する傾向が窺えたが、性差は明らかでなかった。また、Retinal dysplasia 及び Retinal atrophy の発生は動物ロットによる差が大きかった。

表：Retinal dysplasia 及び Retinal atrophy の週齢別発現頻度

Sex	Male				Female			
	8w	10w	19w	32w	8w	10w	19w	32w
Age	8w	10w	19w	32w	8w	10w	19w	32w
Animal No.	20 (3)	309 (36)	150 (14)	146 (11)	20 (3)	287 (34)	150 (14)	156 (11)
Retinal dysplasia	0.0	4.5	0.0	6.8	0.0	3.1	7.3	2.6
Retinal atrophy	0.0	1.0	2.0	3.4	0.0	2.4	2.7	3.8

() : number of lots

ラットにおける Clofibrate 誘発性骨格筋病変の病理組織学的検討

○岡田味世子, 土屋毅幸, 井上芳巳, 宇部雅進, 佐野文子, 杉本次郎, 高木司郎
(三菱ウェルファーマ・安全性研)

【はじめに】高脂血症薬である PPAR・agonist (fibrate) や HMG-CoA reductase inhibitors (statin) はヒト骨格筋で筋症を引き起こすことが知られているが, 実験動物での報告例は少ない。今回, Clofibrate をラットに経口投与し, I 型筋線維優勢であるヒラメ筋, II 型筋線維優勢である大腿筋膜張筋, I 型・II 型筋線維が混合している大腿二頭筋および横隔膜について病理組織学的に検討した。【材料および方法】6 週齢の雌 IGS ラット (3 匹/群) に, Clofibrate 750mg/kg/day を 2 週あるいは 4 週間強制経口投与した。投与終了後, 採血, 剖検を行い, ヒラメ筋, 大腿筋膜張筋, 大腿二頭筋および横隔膜を採材した。対照群として溶媒投与群を設定した。各骨格筋について光顕検査を行うとともに, 4 週解剖時の動物についてはヒラメ筋および大腿筋膜張筋の電顕検査を実施した。また, 血清中の ASAT, ALAT, CPK および LDH を測定した。【結果・考察】 Clofibrate 投与後 2 週から, ヒラメ筋および横隔膜で変化が認められた。ヒラメ筋では, 筋線維の空胞化および変性/壊死, 白血球浸潤がみられた。横隔膜では空胞化が認められ, その筋線維は I 型であった。ヒラメ筋および横隔膜でみられた空胞は, Oil red O 染色で陽性を示す脂肪滴であった。電顕検査では, ヒラメ筋において, 空胞化に一致して脂肪滴の増加が認められ, ミトコンドリアでは肥大が確認された。大腿筋膜張筋および大腿二頭筋では, 病理組織学的変化はみられなかった。また, 血清中の ASAT, ALAT, CPK および LDH に変化は認められなかった。以上の結果より, Clofibrate により惹起される筋病変は骨格筋間で感受性に差があることが確認された。さらに, I 型筋線維優勢であるヒラメ筋と, 横紋筋の I 型筋線維において変化がみられたことから, Clofibrate による筋病変は I 型筋線維が高感受性であることが示唆された。また, 脂肪滴の蓄積およびミトコンドリアの変化が認められたことから, 高脂血症薬における筋症の発現には, ミトコンドリアにおける脂質代謝の異常が関係している可能性が示唆された。

長期強制経口投与した B6C3F₁ マウスに観察された胸椎結節性病変

○山下 龍, 鈴木麻理, 石崎まゆみ, 大平東子, 安井雄三, 木原 亨, 長谷川和成, 細井理代,
宮島留美子, 志賀敦史, 岩田 聖, 今井 清, 榎本 眞 (安評センター)

長期毒性試験に供された B6C3F₁ マウスにおいて, 時として胸椎腹側正中に白色小結節が認められる (写真)。今回, 本病変の病理発生の解明を目的に検討した。

【材料と方法】当センターで実施された B6C3F₁ マウスを用いた長期毒性試験 8 試験 (強制経口投与: 4 試験, 混餌投与: 4 試験) から得られた動物データおよび H.E. 染色標本を用いて検討を行った。

【結果】①結節は第一胸椎～第三胸椎を中心とした脊柱頸胸彎曲部の腹側正中に見られ, 大きさは直径 1~2mm, 白色で硬く, 単発ないし多発性に観察された。②組織学的には骨膜下に形成された層板状構造を呈する成熟骨組織であり, 単純な osteophyte (骨増殖体) と考えられた。③混餌投与試験では殆ど観察されず, ゾンデを用いた強制経口投与試験において高率に観察された。④雌雄および動物生産所による発生率の違いは認められなかった。⑤本病変の観察された強制経口投与試験 (全て異なる被験物質) において, 被験物質投与群で発生率の減少が認められた。

【結論】投与方法による発生率の違いや発生部位から考え, 本病変の病理発生にはゾンデによる椎骨骨膜への物理的刺激が関与している事が疑われた。被験物質投与群における発生率減少のメカニズムについては不明であった。



ラット肺腺がんの発生過程におけるβ-カテニンの変化に関する検索

- 五十嵐麻希、吉田緑、渡邊直人、山田俊幸、及川恒之、中江大
(佐々木研・病理、佐々木研・細胞遺伝)

〔目的〕β-カテニンの核への蓄積によるWntシグナルの活性化は、大腸がんや肺がんなど種々のがんの発生と進展に関与する。N-nitrosobis(hydroxypropyl)amine (BHP)誘発ラット肺がん実験系は、ヒトに類似した多段階発がん過程を示し、この実験系で誘発した肺増殖性病変でβ-カテニンの変化が報告されている。その意義に未だ不明瞭な点が残されている。我々は、肺がんとβ-カテニンの関係について着目し、BHP誘発ラット肺増殖性病変の構成細胞内におけるβ-カテニンのタンパク発現部位の変化と遺伝子突然変異について検索した。〔方法〕実験はBHPで雄性ラットに誘発した肺の増殖性病変(肺胞上皮異型過形成・腺腫・腺癌)について、β-カテニンタンパクとリン酸化β-カテニンタンパクの発現を免疫組織化学的に検索した。また、各増殖性病変から腺癌(1例)・腺腫(3例)・肺胞上皮異型過形成(高度2例・軽度4例)を選出してDNAを抽出し、β-カテニン遺伝子エクソン2の塩基配列変異を検索した。

〔結果〕免疫組織化学染色の結果、β-カテニンタンパクは、肺胞上皮異型過形成の細胞膜と一部の細胞質、腺腫の細胞膜・細胞質と一部の核、腺癌の細胞膜・細胞質・核にて発現していた。リン酸化β-カテニンタンパクは、いずれの増殖性病変にも検出されなかった。

塩基配列変異検索の結果、腺癌で幾つかの変異が検出され、特に34番目のアミノ酸のグリシン(GGA)からグルタミン(GAA)への点突然変異が13クローン中4個で認められた。この変異は、ラット肝がん・肺腺がん・大腸がんでの報告と同部位であり、リン酸化部位である33番目のセリンに影響を与えていると思われる。腺腫・肺胞上皮異型過形成の変異については、ただ今確認中である。

〔考察〕以上の結果よりタンパク発現は、BHPにより誘導されたラット増殖性病変の進展に伴い、細胞膜から細胞質、そして核へと移行するが、細胞質における発現がかなり早期により見られる変化であることが示唆された。

経気管内各種微粒子の肺に対する毒性評価

- 横平政直、竿尾光祐、松田陽子、竹内聖、曾宇、今井田克己(香川大学医学部腫瘍病理学)

我々は前年度の第20回日本毒性病理学会において、Quartzを用いた微粒子の経気管内投与による短期肺毒性評価モデルを報告した。これは、既知の肺障害物質であるQuartzを経気管内投与後、経時的な観察結果から、投与後1日目と28日目に病理組織学検討とBrdU、iNOS、MMP-3の免疫組織学的検討を総合的に評価することで被験物質の肺毒性の評価法として有用であることを報告したものである。本年度はその成果をふまえ、被験物質として各種微粒子を経気管内投与し、その肺への毒性を検討した。

雄、108匹のラットを8群に分けた。被験物質投与群として、0.2mlの生理的食塩水に均一に攪拌したQuartz、Hydrotalcite、Titanium Octatitanate (TISMO)、Palladium Oxide および0.2mlの10% propylene glycol-1% carboxymethylcellulose (PG-CMC)に均一化したCarbon Black 4mg/ratをそれぞれ14匹ずつ経気管内投与用の特殊器具を用い、経気管内投与した(5群)。経気管内投与後、1日目と28日目にすべての群でそれぞれ7匹ずつ屠殺剖検した。溶媒対照群としては、ラット28匹を溶媒対照群として14匹ずつ、0.2ml生理的食塩水、0.2ml PG-CMCを経気管内投与し、さらに無処置対照群としてラット10匹に同様に、1日目と28日目にそれぞれ7匹(溶媒対照群)および5匹(無処置対照群)ずつ屠殺剖検した。

剖検時、肺を摘出し、臓器重量を測定後、肺の病理組織学的検討および抗BrdU抗体、抗iNOS抗体、抗MMP-3抗体を用いた免疫組織学的検討を行い、総合的に評価した。

この結果、1日目と28日目について、すべての検討項目で、Quartz投与群が最も高値を示し、肺における高い毒性が示された。一方、他の被験物質である各種粒子は組織病理学および免疫組織化学の総合的な評価から、いずれの被験物質も同様で、低毒性と判明した。

以上の結果から、この評価系は肺における経気管内微粒子の毒性評価に有用であることが判明した。

P-13

グリシドール長期吸入曝露によるラットとマウスの鼻腔腫瘍の発生

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

グリシドール(2,3-Epoxy-1-propanol)をラットとマウスに長期吸入曝露した結果、鼻腔腫瘍とその前腫瘍性病変が認められ、これらの病変はラットとマウスで異なった発生を示したので報告する。

【方法】6週齢のF344/DuCrjラットとCrj:BDF₁マウス(雌雄各群50匹)に、ラットは3, 10, 30ppm、マウスは4, 13, 40ppmの濃度のグリシドールを、6時間/日、5日間/週、104週間、全身吸入曝露し、鼻腔の病理検査を行った。

【結果】<ラット>雄は主に扁平上皮癌と腺腫、雌では主に腺腫が発生し、少数例に腺癌や基底細胞癌がみられ、発生部位は鼻腔の前半の呼吸上皮が分布する領域であった。呼吸上皮には過形成、扁平上皮化生、扁平上皮過形成がみられ、これらの病変は異型化(呼吸上皮で核の大型化や形状の不整、扁平上皮化生で基底細胞様の大型細胞の出現や層状分化の不整)や固有層への下方増殖等を伴っていた。また、甲介骨の肥厚も認められた。

<マウス>雌雄共に血管腫と血管肉腫が多く発生し、少数例に、腺腫、腺癌、扁平上皮乳頭腫、扁平上皮癌がみられ、発生部位はラット同様に鼻腔の前半部であった。また、呼吸上皮に扁平上皮化生や扁平上皮過形成がみられ、核の大型化や配列不整などの異型化を伴っていた。本研究は、厚生労働省の委託により実施した。

曝露濃度 (ppm)	ラット								マウス							
	雄				雌				雄				雌			
	0	3	10	30	0	3	10	30	0	4	13	40	0	4	13	40
扁平上皮乳頭腫															1	1
扁平上皮癌				14				2								4
基底細胞癌				1												
腺腫			3	5			4	8			3	2				3
腺癌				1				2				3				2
血管腫										3	13	7				5 10
血管肉腫											17	33		1	16	21

P-14

サブミクロン酸化ニッケル粒子の気管内注入によるラット肺毒性

○大神 明、森本泰夫 (産業医大・産生研)

[背景・目的]粒径がナノ粒子のように小さくなることにより、二酸化チタンのような吸入毒性が低いといわれているものでも肺に影響を及ぼすことが実験的に指摘されてきている。ニッケルはIARC および日本産業衛生学会によって人間の発がん可能性物質(2B)に指定されている。今回、我々はサブミクロン(平均粒子径 0.7μm)の酸化ニッケル粒子を液相分離法により精製し、粒径の小さなものがより毒性が強いかどうかについて、Wistar系雄性ラットに単回気管内注入することにより、経時的な肺への影響を結晶質シリカと比較検討した。

[方法]液相分離法により分離された酸化ニッケル粒子(平均粒子径 0.7μm)と結晶質シリカ(Min-U-5-Silより精製;平均径 0.7μm)を0.4mlの生理食塩水にそれぞれ2mg懸濁させ、十分にソニケーションをくわえたのち、Wistar系雄性ラットに単回気管内注入した。気管内注入後、3日、1週間、1ヶ月、3ヶ月のタイムポイントで解剖した。麻酔下に開胸し、心臓より血液を採取した。右肺に生理食塩水を注入し、気管支肺胞洗浄液(BALF)を回収した。BALF回収液の細胞数を自動血球測定器にて計測し、さらにサイトスピン検体を作成し、分画を計測した。

[結果]酸化ニッケル注入群では注入後3日後、1週後で血液中の白血球数は曝露群で有意に増加していた。また気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞数は経時的に増加し、注入後早期は好中球優位に細胞数が増加していたが、時間の経過とともにマクロファージ、リンパ球優位に変化していた。一方、結晶質シリカ注入群では注入後1ヶ月よりBALF中の炎症細胞数の増加を認めたものの、注入後早期ではそれほど顕著な炎症細胞数増かは認められなかった。肺組織は酸化ニッケル注入3日後では肺胞炎が強く認められたが、結晶質シリカでは注入後1ヶ月より肺胞腔内の泡沫化マクロファージと肺胞蛋白症を多数認めるようになった。

[結論]酸化ニッケルと結晶質シリカどちらも吸入毒性の強い物質として知られているが、特に粒径の小さな分画の気管内注入で炎症性変化の経過に相違が認められた。

肺線維化誘導過程における Smad2/3 活性化および CTGF 発現の経時的観察

○東山浩之、吉本大輔、小林潔、岡本郁司、吉川日出男、木下美祢、浅野哲
(グラクソミスクライン筑波研究所薬理研究部)

近年、Transforming growth factor(TGF) β 経路の転写因子である Smad2/3 活性化が肺線維化誘導に重要であることが報告されている。特に Smad3 は、Smad3(-/-)マウスにおいて薬物誘発性肺線維化が著しく抑制されること、in vitro において I 型コラーゲン等の標的遺伝子の転写活性化を誘導することが報告されている。一方、TGF β 1 の下流での線維化誘導を担っている因子として、Connective Tissue Growth Factor (CTGF)が明らかになり注目されている。しかしながら、肺線維症病変局所における Smad2/3 活性化細胞、CTGF 産生細胞に関しては不明な点が多い。今回我々はブレオマイシン(BM)誘発性肺線維症モデルマウスを作製し、病変誘発期～組織修復期に至る期間の病変局所におけるリン酸化型 Smad2(pSmad2)、Smad3、CTGF 発現に関して免疫組織化学的検索を行った。

その結果、病変誘発後の炎症期(BM 投与後 2-5 日目)においては、pSmad2 および Smad3 の発現は肺胞マクロファージ、II 型肺胞上皮細胞の核内に観察され、CTGF 発現は少数 II 型肺胞上皮の細胞質に観察された。線維化開始～進行期(BM 投与後 7-9 日目)においては、pSmad、Smad3 は多数の浸潤マクロファージ、II 型肺胞上皮、線維芽細胞に高発現し、大部分が核内に局在していた。CTGF 発現 II 型肺胞上皮細胞の著しい増加が認められ、血管内皮、細気管支上皮細胞等の細胞にも発現が観察された。さらに、肺組織のリモデリングが進行すると (BM 投与後 14 日目) 再生上皮の核内に pSmad、Smad3 発現が認められた。

以上の結果から、TGF β 1 は、炎症～線維化進行期において Smad2/3 を介しマクロファージ、II 型肺胞上皮、線維芽細胞の活性化を誘導している可能性が示唆された。また、CTGF は、線維化開始～進行期において II 型肺胞上皮、血管内皮、細気管支上皮細胞により高産生され、肺線維化に寄与している事が示唆された。

エゾマツ樹皮の主成分であるトリテルペン類 PJ-1 の癌抑制効果；
DMBDD 誘発ラット多臓器発癌モデルでの検討

山口 智晴¹(¹大阪薬大・医薬品化学)木下 アンナ²、サリム エリサイド²、森村 圭一郎²、
鰐淵 英機²、福島 昭治²(²大阪市立大学・医・都市環境病理)

[はじめに]エゾマツ樹皮から抽出された 13 α ,14 α -epoxy-3 β -methoxyserrat-21 β -ol (PJ-34)はラット多臓器発癌モデルにおいて肺、大腸の発癌を有意に抑制した。今回、エゾマツ樹皮の主成分で溶解性の高いトリテルペノイド 3 α -methoxyserrat-14-en-21 β -ol (PJ-1)の癌抑制効果を検討した。

[方法]6 週齢雄性 F344 ラット 80 匹を 5 群に分け、3 群に DEN100mg/kg 腹腔内投与 1 回、MNU20mg/kg 腹腔内投与 4 回、DMH40mg/kg 皮下投与 6 回施行し、同時に 0.05%BBN を 4 週間、その後 0.1%DHPN を 2 週間飲水投与し、イネシエーション処置した。その後、ラットに PJ-1 (G1:6mg/kg.b.w、G2:2mg/kg.b.w)を週に 5 回実験終了時まで強制胃内投与した。動物は 30 週目でと殺し、全身臓器の腫瘍発生を検索した。

[結果]、コントロール群 (G3)と比較して肺腫瘍の発生個数が G1 において有意な減少を示した。また、PCNA 染色による肺における細胞増殖能の観察の結果、G1、G2 において PCNA 陽性細胞率の減少傾向がみられた。

[結論] ラット多臓器発がん試験法において PJ-1 をポストイネシエーション期に投与した結果、肺における腫瘍発生が抑制した。この様にエゾマツ樹皮から抽出されるトリテルペン類には、肺癌抑制効果があると考えられる。

肺癌の発生と進展におけるクロナリティーのキメラマウスを用いた解析

○ 山本昌美(1)、塚本徹哉(1)、田中晴就(1)、平田暁大(1,2,3)、酒井洋樹(1,3)、白井紀充(1,3)、飯高健(1,3)、日下部守昭(4)、立松正衛(1) (1:愛知がんセ・研・腫瘍病理, 2:岐大・生命科学総合実験セ・動物実験, 3:岐大・応用生物科学・獣医・獣医病理, 4:アロカ・ANB 筑波研究所)

複数のマウスの胚細胞同士を接着し個体を発生させた集合キメラマウスは、発生分化や形態形成の研究において優れた実験モデルとなる。我々はキメラマウスに N-methyl-N-nitrosourea(MNU)を用いて肺病変を誘発し、C3H マウスのすべての組織で発現している C3H 系統特異抗原(C3H specific antigen, CSA)に対する抗体を用いて、肺で認められた腫瘍性病変のクロナリティーを検索した。

【方法】C3H/HeN と、C57BL/6N または BALB/c の受精卵より集合キメラマウスを作成した。キメラの由来 3 系統のマウスとキメラマウスに、生後 7 週より MNU240ppm を隔週 10 週間飲水投与し、水道水に切換え実験開始後 52 週まで飼育した。組織は酢酸エタノールで固定し、CSA 抗体を用いた免疫組織化学染色によって、肺の正常組織および病変の病理組織学的検索をおこなった。

【結果】正常肺および気管支はモザイク状に 2 系統のマウス由来細胞が混ざり合っており確認され、個体ごとに混合の割合は異なっていたが、構築単位の規則性は確認されなかった。過形成はそれぞれの由来細胞が不規則に混ざり合っており増殖していた。腫瘍性病変はほとんどが CSA 陽性の C3H/HeN 由来もしくは、CSA 陰性の C57BL/6N または BALB/c 由来のモノクローナルな染色性を示したが、マクロ所見でひとつの腫瘍塊と観察されたもので CSA 陽性と陰性の腫瘍が接合している病変も認められた。3 系統のマウスでは BALB/c が有意に高い感受性を示し、キメラマウスにおける腫瘍発生数も BALB/c 由来が有意に高い値を示した。

【考察】MNU 誘発によるマウス肺腫瘍性病変はひとつひとつがモノクローナル性増殖であることが確認され、その発生には細胞の由来系統の感受性が強く影響することが示された。また、腫瘍が進展する過程で近くに発生した複数の腫瘍が接合し、ひとつの腫瘍塊を形成する可能性があることが示された。

N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine に対する p53 ノックアウトマウスの発がん感受性の検討

平田暁大^{1,3}、塚本徹哉¹、山本昌美¹、酒井洋樹^{1,2}、白井紀充^{1,2}、飯高健^{1,2}、柳井徳磨²、柵木利昭²、立松正衛¹ (1 愛知がんセ・研・腫瘍病理, 2 岐阜大・応用生物・獣医病理, 3 岐阜大・生命科学総合実験セ・動物実験)

【はじめに】p53 ノックアウト (KO) マウスは化学物質の発がん性を短期間に評価可能な遺伝子改変動物モデルとして注目を集めている。我々は、p53 KO マウスの各遺伝子型 [野生型 (+/+), ヘテロ変異体 (+/-), ヌル変異体 (-/-)] の各種の化学発がん物質に対する感受性を検討し、(-/-) では臓器および発がん物質の種類に関係なく発がん感受性が促進されるものの、(+/-) では発がん感受性は臓器あるいは発がん物質の種類により異なることを明らかにしてきた。今回、多臓器に発がん標的性を有する N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) に対する p53 KO マウス各遺伝子型の発がん感受性を検討した。

【方法】5 週齢、雄、p53KO マウスを用いた。低濃度短期群として (+/+), (+/-), (-/-) の各マウスに 20 ppm で、高濃度短期群として (+/+), (+/-) の各マウスに 200 ppm で DHPN を 15 週間飲水投与した。さらに、長期群として (+/+), (+/-) の各マウスに 20 ppm で DHPN を 40 週間投与した。

【結果】低濃度短期群: (-/-) において、(+/+) および (+/-) に比較して有意に高率に肺腫瘍および肝血管腫瘍の発生を認めた (肺腫瘍; vs (+/+)、(+/-) いずれも $P < 0.05$ 、肝血管腫瘍; vs (+/+)、(+/-) いずれも $P < 0.0005$)。高濃度短期群および低濃度長期群: いずれの群においても、(+/+) および (+/-) 間で肺腫瘍発生率に有意な差は認められなかったが、肝血管腫瘍は (+/-) において有意に高率に発生した (高濃度短期群; $P < 0.005$ 、低濃度長期群; $P < 0.0005$)。

【考察】(-/-) では、臓器を問わず発がん感受性の亢進を認めた。一方、(+/+) と (+/-) の発がん感受性の比較より、単一の化学物質により腫瘍が誘発された場合でも (+/-) の発がん感受性は臓器により異なり、(+/-) の発がん感受性の違いは化学物質の種類ではなく標的となる臓器に依存することが明らかとなった。

rasH2 マウスの Urethane 誘発肺腫瘍における遺伝子発現解析

○岡村美和¹、宇波明²、松本正博²、大石裕司²、檜田陽子¹、町田登¹、三森国敏¹

(¹東京農工大・獣医病理、²藤沢薬品工業・安全性研究所・毒性病理)

【目的】ヒトプロト型 *c-Ha-ras* がん遺伝子を導入した rasH2 マウスは、短期発がん性評価における有用性が認識されているが、その発がん増強機序については未だ十分明確にされていない。我々は、過去に *N*-ethyl-*N*-nitrosourea (ENU) により誘発した前胃扁平上皮がんの網羅的遺伝子発現解析を行い、腫瘍組織における導入遺伝子およびマウス内在性 *ras* 遺伝子の発現上昇と Ras シグナル経路の活性化を報告した。今回は、肺発がん物質である Urethane (UR) を rasH2 マウスに連続投与し、早期に誘発された肺腫瘍を用いて、種々の遺伝子発現解析を試みた。【方法】7 週齢の雄 rasH2 マウスを 2 群に分け、一方には UR 1000mg/kg を 2 日間隔で 5 回腹腔内投与し、もう一方は無処置対照群とした。投与開始から 10 週後に動物を解剖し、肺腫瘍の採材および病理組織学的検索を行った。直径 1mm 以上の肺腺腫 3 例、および無処置群の肺 3 例より RNA を抽出し、Agilent 社マウス遺伝子解析用 DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析を実施した。さらに、同様に採材した肺腺腫 6 例を用いて、導入遺伝子および Ras 関連遺伝子の mRNA 発現を RT-PCR 法により確認した。【結果】UR 投与群では、全例に肺腺腫 (13.1 ± 4.0 個/匹) の誘発が認められ、連続投与により早期に腫瘍を誘発することができた。遺伝子のクラスター解析では、正常肺組織および肺腺腫の遺伝子発現パターンは明瞭に区別され、肺腺腫では細胞周期関連因子や核酸の代謝に関わる因子の発現上昇が認められた。発現変動遺伝子の中には、*c-myc* により転写調節を受けていると考えられる遺伝子や Ras による形質転換に関与する遺伝子が含まれていた。RT-PCR 法では、UR 誘発腫瘍における導入遺伝子の過剰発現が確認されたが、マウス *ras* 遺伝子の発現変動はみられなかった。【考察】過去の報告と同様に、UR 誘発肺腺腫においても導入遺伝子の過剰発現が腫瘍形成増強に関与していることが確認された。さらに、*c-myc* および Ras による形質転換に関与する遺伝子が *in vivo* においても腫瘍形成に関与している可能性が推察された。

RasH2 マウスの鼻腔及び気管にみられた増殖性病変の形態学的特徴

○可徳小四郎、中原豊、押方孝文、鉦先恵美子、浜村政夫、

(パナファーム・ラボラトリーズ)

c-Ha-ras トランスジェニックマウス (rasH2 マウス) の背景データ収集試験において、鼻腔及び気管に微小な増殖性病変が認められた。本病変は、鼻腔では無処置及び *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) 群ともに、気管では MNU 群のみに認められた。鼻腔の病変については、以前報告された扁平上皮乳頭腫と同様のものもみられたが、それとは異なる形態を示すものが多かった。今回、rasH2 マウスの鼻腔及び気管にみられた増殖性病変の形態的特徴を調べたので報告する。

鼻腔の増殖性病変は、無処置及び MNU 群 (各群雌雄各 30 例) の雄でそれぞれ 1 及び 3 例、雌でそれぞれ 1 及び 5 例であり、MNU 群で発生頻度が高い傾向を示した。また、MNU 群の雌では、個体当たり複数個の発生を示した。個々の病変の形態に群間での明らかな差はなかった。すなわち、病変のほとんどは鼻腔前方 (切歯乳頭部) の腹鼻道において呼吸上皮と扁平上皮の移行部付近に発生し、まれに中鼻道あるいは鼻腔後方 (臼歯前端部) の鼻咽頭管に認められた。また、隆起状に増殖した病変もあったが、ほとんどは乳頭状の増殖を示した。病変の構成細胞には扁平上皮/移行上皮様、線毛細胞様、杯細胞様の細胞とがあり、単一の細胞種で構成される病変、複数の細胞種が混在する病変とが見られた。また、病変部に炎症性細胞がみられるか、病変そのものが既存リンパ組織の上部に位置していた。

気管の増殖性病変は、MNU 群の雄 1 例、雌 2 例で認められた。いずれの病変も、気管の背側にて乳頭状に増殖し、それを覆う細胞の種類とその構成パターンは鼻腔と同様であった。

今回見られた rasH2 マウスの鼻腔及び気管の増殖性病変は、上皮の移行部に多く発生し、複数の細胞から構成されたものもあった。また、病変の発生に炎症が関与している可能性が考えられた。さらに、本病変の発生が MNU 投与により増加傾向を示したことは、rasH2 マウスを用いた短期発ガン試験において、本病変のような微小な病変にも留意する必要があることを示している。

F344 ラットの鼻腔にみられた平滑筋肉腫

○笠原健一郎、山川誠己、永谷真理子、鶴亀真依子、田村一利（ボゾリサーチセンター）

無処置長期飼育したラットの鼻腔に平滑筋肉腫を認めたので報告する。

症例は、83 週齢で死亡した雄の F344 ラットで、剖検時、盲腸に嚢胞様の結節ならびに精巣に萎縮及び黄色巣がみられた以外、特記すべき変化はみられなかった。鼻腔内の腫瘍は、組織学的検査にて発見されたものであり、片側の篩骨甲介において隆起性の腫瘤としてみられた。腫瘍は富細胞性であり、腫瘍細胞は核小体明瞭な桿状ないし卵円形の多形性を示す核及び好酸性の長紡錘形の細胞質を特徴とし、それらが束状をなして交錯するように増殖していた。核分裂像は少数みられ、また壊死巣も散見された。免疫組織化学染色では、腫瘍細胞は Smooth muscle actin に陽性、S-100 タンパク及びデスミンに陰性であった。腫瘍は浸潤性に増殖し、周囲組織との境界は不明瞭であった。また、他の臓器組織では盲腸の腺癌ならびに精巣の間細胞腫がみられた以外、特記すべき変化はみられなかった。以上の結果から、本腫瘍は鼻腔内組織を原発とする平滑筋肉腫と診断された。

一般に、鼻腔における自然発生腫瘍の出現頻度はきわめて低く、F344 ラットでは腺腫及び腺癌などの上皮系腫瘍ならびに線維肉腫、骨肉腫及び軟骨腫などの間葉系腫瘍がわずかに報告されているに過ぎない。鼻腔を原発とする平滑筋肉腫は、ヒトにおいて血管を由来とする平滑筋腫が報告されているが、ラットでの発生は知られておらず、本症例が最初の報告例と考えられた。

実験的ビタミン B₁ 欠乏ビーグル犬の心障害に関する病理組織学的研究

○澤本 修，原田美輪，福田 立，篠原誠治，早見康高，栗栖和信（大塚製薬工場・栄養研）

ビタミン B₁ 欠乏は、ヒトで脚気およびウェルニッケ脳症をひき起こし、その際、運動失調などの神経・筋症状や意識障害の他に循環器障害のみられることが報告されている。この循環器障害は、拡張期血圧の著しい低下と右心の拡大を特徴とし、病理組織学的には心筋細胞の変性・大小不同、間質の水腫・線維症がみられ、心筋の酸化的エネルギー産生の低下が病気の本態とされている。今回、実験的にビタミン B₁ 欠乏を起こしたビーグル犬の病理組織学的検査において、心病変に関する新しい知見が得られたので報告する。

【材料および方法】3 頭の雄ビーグル犬（9 ヶ月齢）を、ビタミン B₁ 無添加精製飼料にて 9 週間飼育した。その後屠殺剖検し、全身組織・器官について病理組織学的に検索した。心臓については PAS 染色およびプルキンエ線維を認識する抗 PGP 9.5 抗体を用いた免疫組織化学による検討を加えた。

【結果および考察】給餌開始 3 週間後から食欲不振がみられ、4 週以降には著明な体重減少が、7 週以降には自発運動減少等の一般状態の悪化が、9 週では 1 例に振戦および起立不能が観察された。血液中総ビタミン B₁ 濃度は、給餌開始前では 61~74 ng/mL であったが、その後漸次減少し、剖検時には 14~22 ng/mL にまで減少した。剖検において、全例で消瘦が、2 例で左心室内膜の出血が認められた。

病理組織学的検査において、大脳、小脳および延髄に空胞変性等が認められ、これら病変の分布はヒトのウェルニッケ脳症に一致していた。肝臓では、肝細胞へのグリコーゲンの過剰蓄積による腫大・明細胞化が観察された。心臓では、2 例で出血を伴う軽度の心筋変性がこれまでの報告と同様にみられ、さらに全例でプルキンエ線維の腫大・空胞化が認められた。プルキンエ線維は、大量のグリコーゲンを容れる特殊な心筋線維であるが、空胞化は糖代謝異常によってグリコーゲンのさらなる蓄積が生じたためと考えられ、特に心室壁内のプルキンエ線維で顕著であった。今回、刺激伝導系であるプルキンエ線維に変化が生じることが示され、このことがビタミン B₁ 欠乏による循環器障害の一つの要因である可能性が示唆された。

P-23

カイニン酸誘発心病変におよぼす NMDA および NMDA 受容体拮抗剤投与の影響

○尾崎清和、松浦哲朗、荻田喜代一¹、奈良間功（摂南大・薬・病理、薬理¹）

カイニン酸は海馬神経細胞の壊死をもたらす痙攣を誘発する中枢神経興奮毒としてよく知られているが、昇圧反応、頻脈、心筋壊死を起こすことも報告されている。神経興奮物質誘発性神経細胞壊死には NMDA 受容体の活性化が中心的な役割を果たすと考えられているが、一方では低濃度の NMDA 投与による NMDA 受容体活性化が神経細胞壊死を抑制することも最近報告された。そこで、低濃度の NMDA および非競合的 NMDA 受容体拮抗剤である MK-801 を前投与し、これら処置の心臓病変におよぼす影響を検討した。

【材料と方法】雄の ddY マウス各 8 匹に生理食塩水、NMDA (100mg/kg) または MK-801 (1mg/kg) を腹腔内投与し、1 日後にカイニン酸(25, 30mg/kg)を腹腔内投与、カイニン酸投与 2 日後に殺処分して剖検した。カイニン酸投与による症状を観察するとともに、心臓について病理組織学的に検索した。

【結果】カイニン酸投与後の症状観察ではミオクローヌス様痙攣または運動の停止を示し、NMDA、MK-801 前投与による影響はなかった。25mg/kg のカイニン酸投与では左右心室における多巣状性の心筋壊死やその周囲へリンパ球を主体とした炎症性細胞浸潤が見られ、加えて心筋間を走行する中口径の血管に血管炎が形成されていた。30mg/kg のカイニン酸投与では心筋細胞の壊死、炎症細胞浸潤の程度が増強されたが、血管炎の頻度・程度は軽減した。NMDA の前投与はカイニン酸誘発性の心筋、血管病変の頻度・程度を明らかに減少させたが、MK-801 前投与による軽減は僅かであった。

【まとめ】NMDA 受容体の活性化が海馬神経細胞と同様にカイニン酸に対する細胞保護作用を誘導することが明らかとなった。また、これまでカイニン酸投与による血管炎の報告は無く、心筋壊死の病理発生を考察する上で興味深い所見と考えられた。

P-24

コレステロール負荷ウサギにおける benidipine hydrochloride の 大動脈内膜肥厚抑制作用の病理組織学的解析

○高田千絵、吉竹裕子、高山真、矢尾幸三、木本直哉、加国雅和、竹田剛、西川智、
鈴木一生、高場克己（協和発酵工業(株)医薬研究センター）

【背景と目的】ベニジピンは、作用の発現が緩徐で持続時間の長いジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬であり、降圧薬および抗狭心症薬として臨床において有用である。高血圧に高脂血症が合併する頻度は高く、日本では高血圧症患者の 36%が高脂血症を併発しているとの報告もある。ベニジピンには血管内皮保護作用や抗酸化作用があることから、動脈硬化の進展抑制に関与する可能性が予想された。そこで、実験的動脈硬化モデルであるコレステロール負荷ウサギを用いて、ベニジピンの大動脈内膜肥厚に対する作用について、画像解析装置を用い病理組織学的に検討した。

【方法】雄性 New Zealand White ウサギを高コレステロール食 (0.5% コレステロール) で飼育した。高コレステロール食開始と同時にベニジピン (10 mg/kg) を 1 日 1 回経口投与した。薬物投与開始後 8 週目に弓状、胸部および腹部の大動脈を採取した。中膜および内膜の面積測定は、エラスチカ・ワンギーソン染色標本を使用した。

【結果】高コレステロール負荷ウサギでは、弓状、胸部および腹部の何れの部位でも内膜肥厚が認められ、病変は泡沫化したマクロファージおよび平滑筋細胞から構成されていた。最も病変の強い弓状大動脈部位について、画像解析装置により内膜肥厚を定量的に評価した結果、ベニジピンはこの内膜肥厚を有意に低下させた。また、血清脂質に変化は認められなかった。

【結論】ベニジピンは血清脂質に影響を与えずに高脂血症に伴う動脈硬化初期病変を抑制する可能性が示された。

抗 $\alpha 4$ インテグリン抗体および抗 αL インテグリン抗体による脾臓 marginal zone への影響

○ 小田部晶, 真鍋安博, 渡邊暁子, 長谷川大樹, 小田切泰輝, 三輪整
(味の素株式会社・安全性研究室)

【緒言】脾臓 marginal zone B cell (MZ B cell) は他の B cell とは異なった特徴を持つ脾臓の marginal zone 領域 (MZ) にのみ分布する B cell である。マウスにおいては $\alpha 4$ インテグリンおよび αL インテグリンが MZ B cell の定着に関与していることを示唆する報告がなされているものの、他の動物種に関する報告はほとんど見当たらず、MZ B cell が MZ に定着する機序は未だ十分に明らかにはされていない。今回我々は抗ラット $\alpha 4$ インテグリン抗体および抗ラット αL インテグリン抗体を用い、ラットにおけるこれら接着因子と MZ B cell の定着との関連性について検討した。

【方法】8週齢のSD系雄ラット(Crj:CD(SD)IGS)に、PBS (10mL/kg)、抗ラット $\alpha 4$ インテグリン抗体(TA-2)の1mg/kg および抗ラット αL インテグリン抗体(WT.1)の1mg/kg をそれぞれ1回尾静脈内に投与した。また、TA-2とWT.1の両抗体の0.5mg/kg ずつを同時に投与する群を設定し、計4群(n=3)で評価を実施した。投与24時間後エーテル麻酔下で腹大静脈より採血し、末梢血中の白血球数の測定を行った。その後脾臓を摘出し、中性緩衝ホルマリンにて24時間固定後、常法にしたがってパラフィン切片を作製し、HE染色および抗ラットIgM抗体を用いた免疫染色を実施した。

【結果および考察】各抗体投与によって明らかな末梢血中のリンパ球の上昇が認められ、その作用は抗 αL 抗体より $\alpha 4$ 抗体で強く、それぞれの抗体を半量ずつ同時に投与した群ではさらに高度な上昇が認められた。脾臓の免疫染色標本の観察では、抗ラットIgM抗体で陽性に染色される領域(MZ B cell)が各抗体投与群において明らかに減少し、 $\alpha 4$ インテグリンおよび αL インテグリンの双方が MZ B cell の MZ への定着に関与していることが示唆された。末梢血中のリンパ球の上昇と同様に、MZ B cell の減少も抗 αL 抗体より抗 $\alpha 4$ 抗体で強く、ラットにおいては MZ B cell の定着には主に $\alpha 4$ インテグリンが関与していると推察された。

ラット薬物誘発性溶血性貧血の組織学的パラメータ検討

○ 小野美穂子, 中野健二, 竹内文乃, 二井愛介, 花田貴宣, 泉澤智子, 田畑肇 (山之内製薬 安全研)、代田欣二 (麻布大学 生物科学総合研究所)

【目的】薬物投与により骨髄抑制を伴わない貧血が認められる場合には溶血性貧血が疑われるが、貧血が極めて軽度である場合や、変化が一過性で臨床検査のタイミングが捕えにくい場合などではその確定診断は難しい。このような際、病理組織検査は過去に起こった事象を把握できるため、諸臓器の詳細な検査は溶血性貧血の診断の一助となると思われる。今回の実験では、異なる機序により溶血性貧血を誘発する2種類の化合物を用いて薬物誘発性溶血性貧血モデルを作製し、脾臓における heme oxygenase 1 (HO-1, ヘムを分解する律速酵素), Bach1 (HO-1 の発現を調整), フェリチン (貯蔵鉄) および ED-1 (マクロファージ) の発現を免疫組織学的に検査した。【方法】ハイツ形成性溶血性貧血を誘発する acetylphenylhydrazine (APHZ) および赤血球膜障害により溶血性貧血を誘発する ethylene glycol monobutyl ether (2-butoxyethanol, EGB) を、8週齢の F344 ラットにそれぞれ皮下および経口にて1日1回、2日間投与した。投与量は極めて軽度な貧血を誘発する用量として、APHZ は10および20 mg/kg、EGB は50および100 mg/kg を設定した。投与終了翌日、血液検査および解剖を実施した。脾臓は重量を測定した後 PLP 液で固定し、上述の抗体を用いて免疫染色を行った。【結果】APHZ 投与群では両用量群において軽度な RBC、HCT や HGB の減少およびハイツ小体の形成がみられ、脾重量は増加していた。EGB 投与群では100 mg/kg 群においてのみ RBC、HCT や HGB の減少および脾重量の増加がみられた。組織学的には、APHZ 投与群では両用量群でうっ血がみられたが、EGB 投与群ではみられなかった。ヘモジデリン沈着量の増加は APHZ 投与群では両用量群、EGB 投与群では100mg/kg 群でのみ認められた。ヘムを分解する HO-1 は対照群でも高い発現がみられ、EGB 投与群では変化はみられなかったものの、APHZ 投与群では発現の増加がみられた。発表ではその他の抗体についての染色結果を併せて、溶血性貧血における病理組織検査の有用性を報告する。

P-27

Fisher 344 系ラットにおける LGL 白血病の細胞形態と組織浸潤パターンの検索

○ 阿部正義^{1,2}、吉田緑²、古川賢¹、前川昭彦³、中江大²
(¹日産化学・安全性、²(財)佐々木研病理、³(財)佐々木研)

【目的】LGL 白血病は、Fisher 344 (F344) 系ラットに高頻度で自然発症する腫瘍であり、これまでに多くの特長が明らかにされている。しかしながら一部の症例は、必ずしも典型的像を示すとは限らず、診断が困難な場合がある。そこで本研究はがん原性試験に供試された F344 系ラットの LGL 白血病について、病理組織学的あるいは免疫組織化学的検査を行い、細胞形態や組織浸潤パターンについて検索した。【材料および方法】材料は、がん原性試験供試された F344 系ラット(雄 180 匹、雌 180 匹)において、LGL 白血病と診断された 43 症例(雄 24 例、雌 19 例、自然発生)を用いた。各症例について、白血病細胞の形態学的特徴および各臓器(主に脾、肝、肺)への浸潤パターンを検索し、一部について免疫組織染色(OX-8、ED-1)を実施した。【結果】脾では多くの場合、好酸性細胞質と腎形核を有する典型的な LGL 白血病細胞が赤脾髄に瀰漫性に増殖していた。しかし 1 例では、組織球様細胞のみの増殖が認められたが、OX-8 陽性、ED-1 陰性であることから LGL 白血病細胞と診断した。肝では、全例において典型的形態を示す LGL 白血病細胞の浸潤が認められた。その多くが類洞内に瀰漫性に浸潤していたが、類洞内だけでなくグリソン鞘周囲中心に浸潤する症例も認められた。肺では、37 例で白血病細胞の浸潤が認められ、典型的細胞形態を示す症例と、肺胞壁において腫瘍細胞と肉芽腫様の細胞が混在し、結節状に増殖する症例が認められた。肺での浸潤パターンは、肺胞壁内に白血病細胞が一様の厚さで瀰漫性に浸潤する症例や、前述の肉芽腫様の結節とが併発する症例が認められた。さらに別の症例では、肺組織のほとんどが LGL 白血病細胞により置換されており、リンパ組織へも高度に浸潤していたことより、リンパ行性の浸潤経路が考えられた。【考察】F344 系ラットの LGL 白血病は、多くが脾や肝において典型的な細胞形態を示し、容易に LGL 白血病と診断できるが、一部に組織球性肉腫との鑑別が必要な症例や、肺での細胞形態に多様性が認められた。LGL 白血病細胞は多くの場合、肝や肺において瀰漫性に浸潤するが、肝におけるグリソン鞘周囲への浸潤例や、肺における結節状あるいはリンパ行性浸潤例が認められ、LGL 白血病の浸潤パターンにも多様性があるものと考えられた。

P-28

DL-Alanine の慢性毒性

杉江 茂幸¹、山田 泰広²、鄭 僑²、森下 由起夫³、田中 卓二¹、森 秀樹²
(¹金沢医大・医・腫瘍病理、²岐阜大学 医・腫瘍病理、³筑波大学・医・病理)

【目的】Alanine は蛋白質を構成するアミノ酸の 1 つであり、人体中を始め、自然界に広く分布している。天然には D-Alanine、L-Alanine が存在し、DL-Alanine は合成が容易で旨み成分として広く食品添加物として使用されている。この DL-Alanine の安全性検証のため、慢性毒性試験を施行し、検討した。

【方法】B6C3F1 マウス雌雄各 150 匹用い、各々 50 匹ずつ 3 群に分けた。6 週齢より 0 % (コントロール食)、2.5 %、5 % DL-Alanine を各々投与し、実験開始 104 週にて実験終了し、犠牲死、剖検した。

【結果】実験終了時 (104 週)、雌雄各群間の体重に有意差は認められなかった。また、実験終了前死亡例は各群 1 - 6 匹認められた。雌雄各群共に肺腫瘍、肝腫瘍、リンパ腫の発生を認めた。各種腫瘍発生率は、肺癌、0%♂2/46 (4.3%)、2.5%♂2/44 (4.5%)、5%♂2/45 (4.4%)、0%♀1/49 (2.0%)、2.5%♀1/49 (2.0%)、5%♀3/44 (6.8%)。肝癌、0%♂9/46 (19.6%)、2.5%♂11/44 (25%)、5%♂12/45 (26.7%)、0%♀1/49 (2.0%)、2.5%♀1/49 (2.0%)、5%♀1/44 (2.3%)。リンパ腫、0%♂8/46 (17.4%)、2.5%♂3/44 (6.8%)、5%♂3/45 (6.7%)、0%♀10/49 (20.4%)、2.5%♀6/49 (12.2%)、5%♀7/44 (15.9%)であったが、有意差はなかった。腫瘍以外の病変にも有意差は認めなかった。

【考察】104 週実験終了時、雌雄各群間の体重に有意差は認められなかった。DL-Alanine 投与濃度による明らかな影響は認められなかった。雌雄内群間で差は、雌雄共に最大 6 % 以内であり、文献的にラットを用いた D-Alanine、L-Alanine の慢性試験 (最大 31 週迄であるが) の報告での体重の変動に比べ、その差は同等ないしそれよりも少なかった。肺、肝等に腫瘍の発生をみたがコントロール群との間に有意差を認めず、また、他の文献との間に著差を認めないので自然発生腫瘍と考えられる。DL-Alanine 投与による明らかな慢性毒性所見は認めなかった。

化学物質の反復投与毒性試験における病理変化と物質構造との相関

- 爰島 洋子¹, 大塚 靖夫², 平塚 秀明¹, 友成 由紀¹, 土居 卓也¹, 菅野 剛¹,
涌生 ゆみ¹, 土谷 稔¹ (三菱化学安科研 鹿島研究所¹, 横浜研究所²)

過去 24 年間 (1980~2004) に, 当研究所で実施した化学物質審査規制法 (化審法) 対応 28 日間反復投与毒性試験でラットに認められた病理変化を再調査した. 対象試験 321 試験中, 病理変化が認められたのは 165 試験であった. 臓器別では, 肝臓が最も多く 27%, 次いで腎臓 22%, 脾臓 11%, 胃 11%, 副腎 8%, 胸腺 5% であった. 多くの試験で変化は複数臓器にわたって発現していた. 肝臓では肝細胞肥大が最も多く 53% (小葉中心性 78%, び慢性 14%, 小葉辺縁性 4%), 次いで肝細胞脂肪化が 13% であった. 腎臓では近位尿細管上皮の硝子滴増加が最も多く 40%, 次いで尿細管上皮の空胞化が 17%, 近位尿細管上皮の硝子滴減少が 12% であった. 肝細胞肥大もしくは肝臓重量増加を伴う近位尿細管上皮の硝子滴増加は 65% であった. 脾臓では髄外造血が最も多く 38%, 次いでヘモジデリン沈着が 20%, 白脾髄萎縮が 21% であった. 胃では前胃扁平上皮の過形成が最も多く 24%, びらん/潰瘍が 20% (前胃 45%, 腺胃 50%, 前胃/腺胃 5%), 前胃境界縁の過形成が 13% であり, その殆どが被験物質の刺激性によるものと考えられた. 次に, 主な病理変化と物質構造との相関について調査した. 小葉中心性肝細胞肥大を示した物質の 57% が芳香基を含み, さらにその半数がハロゲンを含んでいた. 脂環基を含む物質は 5% に過ぎなかった. 一方, び慢性の肝細胞肥大を示した物質の 55% が脂環基と芳香基の両方を含んでおり, 芳香基のみを含む物質は 27%, 脂環基のみを含む物質は 9% を占めるに過ぎなかった. 腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴増加は肝細胞肥大との関係が示唆されている. 今回, 腎臓の硝子滴増加を示した物質のうち, 小葉中心性肝細胞肥大を併発していた物質は約半数であり, その 57% が芳香基を含み, そのうち 70% がハロゲンを含んでいた. 併発していない物質ではその構造に一定の傾向は認められなかった. 胃に対する刺激性を示した物質では, 脂肪族 24%, 芳香基を含む物質 21%, 金属 15% の順で多かったが, 一定の傾向は認められなかった.

中性 pH での β 2-ミクログロブリン関連アミロイド線維伸長に及ぼす
ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) の影響

- 山口 格^{1,2}, 山本 卓^{2,3}, 長谷川一浩², 内木宏延² (¹麒麟麦酒株式会社 医薬開発研究所, ²福井大学・医・病因病態医学・分子病理, ³新潟大・医歯学総合研究・内部環境医学)

[目的] β 2-ミクログロブリン関連アミロイドーシス (透析アミロイドーシス: A β 2M) は, β 2-ミクログロブリン (β 2-m) モノマーの部分的立体構造変化がアミロイド線維形成に必要と考えられている. β 2-m アミロイド線維 (fA β 2M) の試験管内伸長反応においては, 酸性溶液条件下では β 2-m の部分的立体構造変化を示し, 速やかなアミロイド線維伸長が観察される. 我々は第 17 回日本毒性病理学会において, 中性反応液中においてもトリフルオロエタノール (5~20%) 存在下では β 2-m の立体構造変化とともにアミロイド線維伸長が認められることを報告した. 今回我々は, 生体界面活性アナログと考えられるドデシル硫酸ナトリウム (SDS) が, 中性 pH における fA β 2M の伸長反応促進・安定化効果を示すことを見出したので報告する.

[方法] fA β 2M 伸長反応液 (30 μ g/ml fA β 2M シード, 25 μ M β 2-m モノマー, 50 mM PB, 100 mM NaCl, pH 7.5) に SDS を終濃度 0~10 mM になるように添加し, 37°C でインキュベートした. 線維伸長をチオフラビン T (ThT) 法で定量し, さらに電子顕微鏡により確認した. また, SDS による β 2-m モノマーの立体構造変化を CD スペクトル測定により観察した.

[結果及び考察] SDS 非添加における反応液中では, ThT 蛍光の増加は認められず, アミロイド線維の伸長は認められなかった. 反応液中に 0.2~1.0 mM の SDS を添加すると, ThT 蛍光の増加とアミロイド線維の伸長が認められ, 0.5 mM SDS 添加でアミロイド線維伸長は最も促進された. この濃度の SDS 添加中性溶液では β 2-m モノマーの立体構造の部分的な変化が CD スペクトル測定により観察され, さらに形成された fA β 2M の安定化作用も示していた. 一方, SDS の臨界ミセル濃度 (0.67 mM) 以上の添加では, アミロイド線維伸長促進作用は抑制され, 1.5 mM 以上では伸長反応は認められず, 一旦形成された fA β 2M は脱重合しており, β 2-m モノマーの立体構造も完全変性していた.

[結論] β 2-m アミロイド線維伸長において, 陰イオン性界面活性物質である SDS は臨界ミセル濃度以下で β 2-m モノマーの部分的立体構造変化と形成された fA β 2M の安定化作用の相乗効果により, アミロイド線維伸長反応を促進するものと考えられた.

カテコール、亜硝酸ナトリウム併用投与によるラット前胃発癌機構の解明

○石井雄二^{1,2}、梅村隆志¹、西川秋佳¹、神吉けい太¹、黒岩有一¹、中澤裕之²、広瀬雅雄¹(国立衛研・病理部¹、星薬大・薬品分析化学²)

【目的】たばこ煙やコーヒーに含まれるカテコールは、それ自体ラット腺胃および前胃に発がん性を有するが、亜硝酸ナトリウムとの併用により、前胃の発がん性が増強される。本研究ではその増強機序を解明する目的で、以下の酸化ストレスに関与する *in vitro* および *in vivo* の実験を行った。

【方法】<実験 1>酸性条件下における亜硝酸ナトリウムとカテコールの反応におけるラジカル種を検出する目的で、スピントラッピング剤である DMPO、Fe(DTCS)₂ を用い ESR による測定を行った。<実験 2>雄 6 週令の F344 ラットに 0.8%カテコールを飼料に、0.2%亜硝酸ナトリウムを飲水に混じて投与した。投与は 20 時間の絶食後開始し、投与後 12 時間で屠殺し胃を摘出後、前胃粘膜を採取し 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) を HPLC-ECD を用いて測定した。また、投与後 24 時間、1 週および 2 週目の病理組織所見についても検討した。

【結果】<実験 1>Fe(DTCS)₂ を用い、酸性条件下において亜硝酸ナトリウムから Fe(DTCS)₂-NO のスペクトルが濃度依存的に生成することを確認した。また、カテコールに NO 発生剤である NOC 7 を添加した結果、DMPO による OH ラジカルの生成を示すスペクトルが得られた。<実験 2>前胃粘膜の 8-OHdG の値は投与開始 12 時間後に、コントロールに比べ約 1.7 倍の有意な上昇が見られた。また投与後 24 時間で前胃の壁の肥厚が、2 週間で潰瘍性病変が認められた。

【考察】亜硝酸ナトリウムは酸性条件下で NO を生じること、カテコールは NO と反応して OH ラジカルを生じることから、ラット胃内においても、飲水により摂取された亜硝酸ナトリウムが胃酸により NO を産生し、この NO が食餌中のカテコールと前胃内で反応して、その部位で OH ラジカルを生じている可能性が考えられた。実際のラットを用いた併用投与試験で、前胃粘膜の DNA が酸化的損傷を受けていた事実はこれを支持しているものと考えられた。従って、亜硝酸ナトリウムとカテコール併用投与による前胃発がんの増強作用に二剤投与と胃酸の複合作用により生じる酸化的ストレスが関与している可能性が示唆された。

マンゴスチン果皮由来天然抽出物のラット DMH 誘導大腸発癌モデルにおける
がん化学予防効果の検討

○NABANDITH VIENGVANSAY、森岡孝満、酒々井真澄、吉見直己 (琉大・医・腫瘍病理)

〔はじめに〕マンゴスチンは、フルーツの女王と呼ばれ熱帯地域である東南アジアの国々に自生している。マンゴスチンの果皮は古くから、やけど、皮膚炎、口内炎、腸炎、下痢、赤痢などに対し民間療法薬として使用されているとともに、これまでにマンゴスチンの果皮には抗炎症、抗菌、抗ウィルス、抗アレルギー、抗酸化、抗腫瘍作用を示す成分が含まれていることが報告されている。今回、我々は xanthone 誘導体である α -mangostin を約 80% 含有するマンゴスチンの果皮からの抽出物 (CaM) を用いてラット化学大腸発癌モデルで検討した。

〔方法〕5 週齢、雄 F344 ラットを第 1 群: DMH+基礎食 (CE-2)、第 2 群: DMH+0.02% crude α -mangostin (CaM) 含有食、第 3 群: DMH+0.05%CaM 含有食、第 4 群: 0.05%CaM 含有食単独、第 5 群: 基礎食単独投与の 5 群に分け実験を行った。第 1~3 群は、実験開始後 1 週目と 2 週目に DMH (40mg/kg body weight) を計 2 回皮下投与した。全群とも実験開始から 5 週で屠殺し、大腸を摘出した。固定後、methylene blue 染色を行い ACF をカウントした。その後、大腸を長軸方向で 2 分割し、一方を粘膜面に水平な薄切標本作製し、H-E 染色、 β -カテニン及び proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 免疫染色を行い、 β -catenin accumulated crypts (BCAC) の測定、ACF、BCAC における細胞増殖能を、残り的大腸はスイスロール標本作製し crypts の垂直断における PCNA 染色による細胞増殖能を検討した。

〔結果〕①DMH 及び CaM 投与による体重への影響はみられなかった。②ACF 数は 0.02 及び 0.05%CaM を投与することにより有意に減少を示した。③DF 及び BCAC 数は 0.05%CaM 投与のみで有意な減少を示した。④Crypts の垂直断、ACF 及び BCAC における PCNA labeling index は 0.02 及び 0.05%CaM 投与によって有意な減少がみられた。以上より CaM がラット大腸癌の前癌病変である ACF、DF、BCAC 及び細胞増殖活性を抑制することが分かった。これらの結果より CaM の大腸癌に対するがん化学予防剤としての可能性が示唆された。

P-33

2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]-pyridine (PhIP)あるいは1,2-dimethylhydrazine (DMH)を用いた炎症関連マウス大腸発がん

○ 鈴木 里加子^{1,2}、高橋 真美³、甲野 裕之¹、杉江 茂幸¹、若林 敬二³、田中 卓二¹
(¹金沢医大・医・腫瘍病理、²日本学術振興会・特別研究員、³国立がんセ・研・がん予防基礎研究)

【目的】我々は先に炎症を背景とするマウス大腸発がんモデルの作出を試み、雌雄のICRマウスにazoxymethane (AOM)を単回腹腔内投与した1週間後より2% dextran sodium sulfate (DSS)を1週間飲水投与させることで高率に大腸腫瘍を誘発させることができた。今回は、AOM以外のinitiatorとして、加熱食品中に存在する変異原・がん原性ヘテロサイクリックアミンの1つであるPhIP、あるいは、AOMの前駆物質であるDMHを用い、DSS併用投与時のマウス大腸発がんについて検討した。

【方法】雄性ICRマウスにPhIP(強制胃内投与:200 mg/kg体重)ないしDMH(10, 20, 40 mg/kg体重)を単回投与した1週間後より2% DSSを1週間飲水投与した。その他の群としては、PhIPのみ、DMHのみ、DSSのみの群、無処置対照群を設けた。実験開始後16週あるいは20週に剖検し大腸の病理学的、分子病理学的解析を行った。

【結果】PhIP→2% DSS群、DMH→2% DSS群の大腸腺がんの発生頻度はそれぞれ56%、100%であり、その発生個数は0.8±1.0 (PhIP→2% DSS群)、1.3±0.5 (DMH(10 mg/kg体重)→2% DSS群)、5.8±1.8 (DMH(20 mg/kg体重)→2% DSS群)、4.5±1.7 (DMH(40 mg/kg体重)→2% DSS群)であった。一方、他群に大腸腫瘍の発生は認められなかった。また、発生した腫瘍は免疫組織学的にβ-catenin、iNOS、COX-2陽性を示した。さらに、発生した腺がんにおけるβ-catenin遺伝子の変異について解析した結果、PhIP→2% DSS群においては検討した7例全てにおいて、DMH→2% DSS群においては11例中10例に変異が確認された。

【総括】PhIPあるいはDMH単回投与後に2%DSSを飲水投与させることにより、β-catenin変異を介して誘発される大腸腺がんが高率に発生した。本モデルは炎症関連大腸発がんの機構解析に有用であり、これを用いて大腸発がん修飾物質や大腸発がん物質の検出が可能と考えられる。

P-34

新生仔期2週間DES投与ラットにおけるDMBAによる大腸腫瘍誘発への影響

○川島 英夫 川口 博明 早田 正和 堀 隆夫 吉川 剛 船戸 護 吉田 浩己
(鹿児島大学大学院医歯学総合研究科腫瘍病態学)

【目的】

強力なDiethylstilbestrol (DES)を新生仔期に2週間投与した雌雄のSDラットにおいて7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)による大腸への腫瘍誘発への影響を検討した。

【材料と方法】

実験1: 新生仔期(生後0-14日、0-5日、6-14日間)にDES(0, 1μg, 10μg)を連日皮下投与した雄SDラットにDMBA, 10mgを3回(生後28, 42, 56日目)経口投与し長期観察した。

実験2: 新生仔期(生後0-5日、6-14日、0-14日間)にDES(0, 1μg, 10μg)を連日皮下投与した雌SDラットに、DMBA, 10mgを1回(生後50日目)経口投与し長期観察した。

【結果】

実験1: DESを投与した雄ラットは、精巣降下日齢が延長し、長期間投与したラットでは明らかな精巣萎縮がみられた。10μgのDESを生後0-14日間に連日皮下投与した雄ラットでは対照群に比してAberrant crypt foci (ACF)の発生数が増加した。

実験2: DESを投与した雌ラットは全例投与直後より膣が開口し持続的発情に陥り、黄体無形成となったが、ACFの発生数に変動は見られなかった。

【まとめ】

以上の結果より新生仔期のホルモン環境、特に雄においては強力な外来性エストロゲンによる内分泌かく乱状態が、ACFの発生に影響を与える可能性を示唆した。

P-35

大腸陰窩の分裂・増殖と発癌感受性

○塚本徹哉、平田暁大、立松正衛（愛知がんセ・研・腫瘍病理）

Min mouse は、一側の adenomatous polyposis coli (Apc) 遺伝子の codon 850 に Leu→stop となる missense 変異を有し (Apc^{Min/+})、新生児期に化学発癌物質に暴露されると大腸および小腸腫瘍の発生頻度が上昇し、adult ではその腫瘍誘発効果が低下することが知られている。我々は、大腸陰窩は fission mechanism により腺底部が対称分裂し、その分裂溝が腺開口部に達することで増加することを示してきた。発癌物質に対する感受性を規定する因子として、暴露時の細胞分裂あるいは腺の分裂の頻度が考えられる。そこで、今回、Min mouse および同系統の野生型 C57BL6/J (B6/J) (Apc^{+/+}) を対象として、生後 12 日と 50 日のマウスの大腸陰窩の増殖形態を陰窩底部の分裂を示さない single (S) と分裂を示す bifurcated (B) に分類し形態学的変化を比較検討した。B6/J では、S、B それぞれの陰窩の割合は、生後 12 日で、上行結腸(L1)が、40.1 ± 2.7%、59.9 ± 2.7%、下行結腸(L2)が、46.0 ± 4.2%、54.0 ± 4.2% であった。生後 50 日では、L1 で、95.0 ± 1.0%、5.0 ± 1.0%、L2 では、94.0 ± 1.0%、6.0 ± 1.0% であった。一方、Min では、生後 12 日で、L1 で、41.9 ± 2.8%、58.1 ± 2.8%、L2 では、44.7 ± 3.8%、55.3 ± 3.8% であり、生後 50 日では、L1 が、94.7 ± 2.1%、5.3 ± 2.1%、L2 は、97.7 ± 2.3%、2.3 ± 2.3% であった。B6/J、Min とも L1、L2 いずれにおいても、生後 12 日では 50 日より有意に底部の分裂を示す陰窩の割合が多かった。以上より、fission mechanism による分裂途上の陰窩数が発癌感受性と相関することが示唆された。

P-36

Toxicopathology Evaluation of 9-nitro-20(S)-camptothecin (Rubitecan) in Beagle Dog

○Hui Wang, Wei-Jun Zheng, Jie Feng, Xing-Ju Yuan, Hua Sheng, Yong-zhen Liu, Jin Ren
Center for Drug Safety Evaluation and Research, Shanghai Institute of Materia Medica,
Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences

Purpose: 9-nitro-20(S)-camptothecin (Rubitecan, RB) is a semisynthetic derivative of camptothecin and has powerful anticancer activity. In order to detect the possible toxicopathology changes induced by RB we carried out a repeated dose toxicity study in Beagle dogs. **Materials and Methods:** A total of 8 Beagle dogs (4 each sex) received 0.8mg/kg of RB orally at the schedule of 5+2- (5 days on, 2 days off) for 26 weeks at 5 months of age, and were killed 13 weeks (1♂), 26 weeks (2♂, 2♀) after the treatment and 4-weeks recovery phase (1♂, 1♀). Blood cell count, biochemistry analysis, pathology examination and bone marrow smear examination were performed. **Results:** The mortality is 12.5% (1/8, ♀, 4 weeks after the administration). Clinical signs such as vomiting, loose stools and weight loss observed sometimes after the treatment. In the dead case, even bloody stool appeared and the number of WBC, PLT decreased intensively. A few scattered focal hepatocellular necrosis, enteritis in the whole intestinal tract and severe bone marrow depression observed in histological. The data of the survivals were described below. Blood cell count showed the number of WBC increased markedly in 4 weeks (2/7) and decreased obviously in 26 weeks (3/6). Biochemistry analysis showed BUN decreased in 4 weeks (2/7) and ALT increased slightly in 13 weeks (1/6) and 26 weeks (1/6). Histologically, enteritis and vacuolar degeneration in proximal tubule epithelium of kidney were detected from 13 weeks, and bone marrow depression in 26 weeks. Bone marrow smear examination in 26 weeks suggested granulocyte mature-obstacle. Besides the vacuolar degeneration with slight degree, no other remarkable changes were found after the recovery phase. **Conclusions:** Intestine and bone marrow maybe the possible toxicity target organs of RB in Beagle dogs, and lesions in such organs are reversible. Bone marrow depression in our experiment was more obvious than the other reports, and the vacuolar change in proximal tubules of kidneys was detected.

カドミウムの長期投与による脾病変

○ 涌生ゆみ¹, 倉田祥正¹, 平塚秀明¹, 土居卓也¹, 熊野篤¹, 土谷稔¹, 梅村孝司²
(¹三菱化学安科研, ²北海道大学・獣医・比較病理)

低濃度のカドミウムを長期間暴露すると、腎臓、肝臓および骨に病変を生じることはよく知られているが、脾臓の変化については詳細に報告されていない。カドミウムによる卵巣摘出(卵摘)カニクイザルの脾病変に関しては、倉田らが報告している(Jpn. J. Vet. Res. 2003)。今回我々は、カドミウムを卵摘ラットに長期間投与することにより認められた脾病変の経時的変化、およびサルと脾臓病変との比較について報告する。

【材料・方法】卵摘 SD ラットに、CdCl₂を0.05 および0.5mg/kg の用量で静脈内投与した。投与12, 25 および50週間後に、それぞれ各群6例を剖検し、脾臓のHE染色および抗メタロチオネイン(MT)抗体を用いた免疫染色を実施した。【結果】0.05mg/kg 投与群では、いずれの投与期間においても脾臓の組織変化は認められなかった。0.5mg/kg 投与群では、12 および25週間投与後に炎症性細胞浸潤を伴った腺房細胞の変性が認められた。25週間投与後に認められた変化は12週間投与後よりも程度が強く、線維化も認められた。50週間投与後では、腺房細胞は脱落し脂肪組織に置換され、わずかに残存する脾組織に炎症巣が認められた。すべての投与期間において、脾臓に組織変化は認められなかった。抗MT抗体を用いた免疫染色では、全てのCdCl₂投与群において、腺房中心細胞および導管介在部が陽性であった。25 および50週間投与後の0.5mg/kg 群では、脾臓細胞にも陽性反応が認められた。【まとめ】卵摘ラットにおいては、CdCl₂投与により脾外分泌細胞が変性して脾炎が生じ、投与が長期にわたると脾組織は脂肪組織に置換され、炎症は終息へと向かった。脾臓に異常は認められなかった。一方、卵摘サルにおいては脾臓の萎縮が顕著であり、外分泌部の変化はラットよりも軽く、脂肪組織に置換される程の障害像は見られていない。またサルでは腺房細胞および脾臓細胞が抗MT抗体に陽性であったが、ラットでは腺房細胞に明らかな陽性反応は認められなかった。従って本実験により、ラットおよびサルにおいてはカドミウム毒性の発現が異なることが示された。

ハムスターにおけるサメ軟骨水抽出物の脾発癌抑制作用

○三井雅之¹、北橋 宗^{1, 2}、佐藤健司²、辻内俊文³、堤 雅弘⁴

(¹奈良医大・分子病理、²京府大・院・人環、³近大・理工、⁴済生会中和病院・病理)

【緒言】我々はサメ軟骨に水を加えて抽出し、エタノール沈殿後凍結乾燥させた物質(SCE)に matrix metalloproteinases (MMPs) 抑制作用があること、SCE がハムスター脾癌発生系において発癌抑制作用を有することを報告してきた。今回、SCE の発癌抑制機序およびサメ軟骨水抽出液を等電点電気泳動にて分画することにより SCE に含まれる発癌抑制物質について検索した。

【方法】動物は雌シリアンハムスターを用い同様の実験を2回行った。BOP 投与後、短期脾癌発生系に従い、促進圧力操作を2回施行し、実験開始50日目より被験物質を基礎飼料に混じり50日間投与した。被験物質として実験1では、0.2%および0.4% SCE を、実験2では、SCE およびサメ軟骨水抽出液を等電点電気泳動した酸性画分にエタノールを加えて生じた沈澱(SCE-AEtP)とその上清画分(SCE-AEt)、等電点電気泳動の中性・塩基性画分(SCE-NB)、市販されているサメ軟骨由来コンドロイチン硫酸(CSC)をそれぞれ0.4%の濃度で投与した。また、脾癌組織および血清のMMP-2 およびMMP-9の発現量とその阻害活性についての検索を行った。

【結果および考察】実験1において、0.4% SCE 投与群において基礎食投与群に比較して動物1匹あたりの脾癌発生個数の有意な減少がみられた。脾癌組織では MMP-2 および9の発現量が増加し、血清では SCPG 投与により MMP の量に変化はなかった。また SCE 投与動物血清において MMP-9 阻害活性の増加がみられた。一方、tissue inhibitors of MMPs (TIMP)-1 および2の発現量に差はみられなかった。実験2においては、SCE および SCE-AEtP 投与群において基礎食投与群に比較して動物1匹あたりの脾癌発生個数および発生頻度の有意な減少がみられた。以上の結果より、SCE 中のプロテオグリカン画分に脾発癌抑制作用があること、SCE は TIMP 以外の内因性 MMPs 阻害物質を介して発癌抑制的に作用することが示唆された。

P-39

Epitheliocystis in Carp(*Cyprinus carpio*) in South Korea

Dong-Jae KIM, Jong-Hwan PARK, Seung-Hyeok SEOK, Sun-A CHO, Min-Won BAEK, Hui-Young LEE, and Jae-Hak PARK* Seoul National University, Korea

Epitheliocystis has been described in over 30 species of fish, including both wild and cultured marine and freshwater species. Mortality rates ranging from 4 to 100 % in larvae and juveniles of cultured fish with epitheliocystis are common, although the condition is usually benign. Gills and (rarely) skin are the primary target organs. Lesions present as white miliary nodules up to 1 mm in diameter on the skin or gills. Epitheliocystis is characterized by the presence of hypertrophied cells containing fine basophilic granular inclusions in hematoxylin and eosin (HE) staining.

Epitheliocystis in the carp of a pet fish market were investigated by our diagnostic work and collecting information from department of laboratory animal medicine and fish & shellfish laboratory. The epitheliocystis was identified by using histopathological examination. Epitheliocystis was confirmed as inflammation, epithelial hyperplasia, and lamella fusion of the gill tissue. Electron microscopic observation showed that the inclusions were filled with Chlamydia-like organism.

P-40

Developmental Toxicology of Copper Sulfate in Living Embryos of Transgenic Zebrafish

Seung-Hyeok Seok, Jong-Hwan Park, Min-Won Baek, Hui-Young Lee, Dong-Jae Kim, Jae-Hak Park
Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine. Seoul National University

The toxic effects of copper sulfate and other heavy metals have been well described, and many of these and other environmental pollutants are known to be embryotoxic or teratogenic. Furthermore, copper compounds have been intentionally introduced into water bodies as aquatic plant herbicides, algicides and molluscicides. Copper-based fertilizers and fungicides have been widely used in agriculture as well. However, it has proven difficult to identify individual cells that respond to toxicants among the wide range of cell populations in an intact animal, particularly during early development when cells are continually changing their molecular and physiologic characteristics as they differentiate. Here we report the establishment of an *in vivo* system that uses *hsp70* gene activation as a measure of copper sulfate toxicity in living early larvae of transgenic zebrafish carrying a stably integrated *hsp70*-enhanced green fluorescent protein (eGFP) reporter gene. We demonstrate that eGFP expression in this strain of fish acts as an accurate and reproducible indicator of cell-specific induction of *hsp70* gene expression. The transgenic fish following exposure to copper sulfate exhibited up-regulation of eGFP in epithelial cells of the developing skin, gill, olfactory organ, and heart compared to vehicle controls. Copper sulfate exposed fish exhibited gross dysmorphogenesis in vertebral development by 5 days after fertilization and was sensitive enough to detect copper sulfate at doses below the median lethal concentration. It is possible that specific receptor regulated eGFP expression systems could be useful transgenic biosensor systems to detect xenobiotic toxicants in the environment.

Key words: copper sulfate, green fluorescent protein, *hsp70* promoter, transgenic zebrafish, toxicology, zebrafish

P-41

ラットブタ血清誘発肝線維化モデルにおける線維化関連因子の変化

○馬場也須子、土井邦雄（東大獣医病理）

ブタ血清 (PS) 誘発ラット肝線維化モデルは、他の壊死後性線維化モデルと異なり、肝細胞の壊死を殆ど伴わない。我々はこれまでの検討で、本モデルにおいては MHC class II を介した抗原提示が病態発現に深く関与していることを示した。今回、我々は細胞外基質 (7 genes)、細胞外基質産生因子 (4 genes)、細胞外基質産生阻害因子 (1 genes)、細胞外基質分解因子 (3 genes) および細胞外基質分解阻害因子 (3 genes) について、Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法により、その動態を検討した。

6 週齢雄の Brown Norway rat (BN) および Wistar rat に PS (0.5ml: 2 times / week / head) を腹腔内投与した。対照群には生理食塩水を同様に投与した。1, 2, 3, 4 および 8 週間投与後、肝臓を採材し、病理組織検索および RT-PCR を実施した。

肝臓の病理組織学的検索では、BN rat では 2 週投与群より炎症細胞浸潤が認められ、4 週で線維化が確認された。一方、Wistar rat では 4 週投与群より炎症細胞浸潤が認められ、8 週で線維化がみられた。RT-PCR による検索では、BN rat では 3-8 週投与群で細胞外基質 (2 genes)、細胞外基質産生因子 (1 genes)、細胞外基質産生阻害因子 (1 genes)、細胞外基質分解因子 (1 genes) および細胞外基質分解阻害因子 (2 genes) の mRNA 発現の増加傾向が認められた。一方、Wistar rat でも同様に細胞外基質 (1 genes)、細胞外基質産生因子 (1 genes)、細胞外基質分解因子 (1 genes) および細胞外基質分解阻害因子 (3 genes) で mRNA 発現の増加傾向が認められた。

以上の結果から、ラットブタ血清誘発肝線維化モデルでは、種々の線維化関連因子の mRNA 発現増加が確認され、その多くが線維形成期前後に変動することから、肝線維化の進行に関与しているものと考えられる。現在、遺伝子およびタンパク質レベルで追加検索を実施中である。

P-42

珪肺症モデルおよび *P.Acnes*-LPS 誘発急性肝炎におけるラット CINC の経時的変化

○秦純子、青木久美子、田村梓、北島なつき、三橋弘明、笠原義典（帝人ファーマ(株)）

ラットの IL-8 様 Chemoattractant である Cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC) にはサブタイプ (1, 2 α , 2 β , 3) が存在することが知られている。

今回我々は、珪肺症モデルにおける CINC mRNA の変動を検証するため、8 週齢の CD(SD)IGS ラットを用い、麻酔下に珪カ (SIGMA, 0.5-10 μ m, 80%: 1-5 μ m) を 30mg/0.3mL Saline の用量で経気道内投与し、珪肺症を惹起した。珪カ投与後、6 時間、1, 5, 12 日後に肺を摘出し、肺 CINC-3 mRNA の経時的変動をリアルタイム PCR で測定した結果、投与後 1 日後にピークを認め、既報告済み (第 15 回日本毒性病理学会) である珪肺症モデルにおける CINC mRNA レベルの変化と同調した mRNA レベルの変動を確認した。

さらに、我々は肝障害時の CINC の経時的な変化を *Propionibacterium acnes* (*P.Acnes*)-Lipopolysaccharide (LPS) 誘発急性肝炎モデルを用い、免疫組織化学的手法とリアルタイム PCR によって検討した。6 週齢の CD(SD)IGS ラットに *P.Acnes* (VVS 社, 30 mg/kg) を、その 5 日後に LPS (Calbiochem, 350 μ g/kg) を静脈内投与し急性肝炎を誘発させた。LPS 投与後、0.5, 1, 2, 4, 6, 24 時間後に肝臓を摘出し、病理組織学的に検索した結果、単球を主体とする炎症性細胞浸潤が認められ、小肉芽腫および肝細胞壊死巣が広範に認められた。しかし、抗 CINC について免疫組織学的検討を行った結果、これら抗体の陽性細胞はいずれも単球ではなく、類洞内に散見する好中球に認められた。抗 CINC 抗体陽性細胞は、LPS 投与 1-2 時間後に急激に増加し、LPS 投与 24 時間後まで同数もしくは徐々に増加し続けた。また、同肝組織中の mRNA (CINC-1 及び CINC-3) レベルをリアルタイム PCR によって検討した結果、抗 CINC 抗体陽性細胞が急激な増加を認めた LPS 投与 2 時間後にピークを認めた。

珪肺症モデル、*P.Acnes*-LPS 誘発急性肝炎モデルは共に肉芽形成を主体とした炎症モデルであり、CINC が肝臓・肺共に、肉芽成長期に発現していることが確認できた (肺では CINC-2 α , 2 β , 3 のみ)。別途実施したシメチロン・メチロキサシリン酸肝線維化モデルは肉芽形成を伴わず、免疫染色では、抗 CINC 抗体陽性細胞が全く認められていなかったことから、CINC が肝臓・肺に共通し肉芽形成に密接な関わりを持っている可能性が考えられた。

ycloheximide 投与により誘発されたラット肝細胞アポトーシスの病理学的検索および遺伝子発現解析

○熊谷和善, 清沢直樹, 伊藤和美, 原公子, 寺西宗広, 矢本敬, 松沼尚史 (三共・安全研)

【緒言】タンパク合成阻害剤である Cycloheximide (CHX) は肝細胞にアポトーシスを誘発することが知られているが, その詳細な機序については未だ明らかではない. 今回, CHX を投与したラットの遺伝子発現解析により, アポトーシス誘発機序について検討した結果を報告する.

【材料・方法】8週齢の雄 F344/Ducrj ラット (5例/群) に CHX 6 mg/kg を尾静脈内投与した. 投与 1, 2, 6 時間後に解剖し, 肝臓を採取後, 病理組織学的検査, TUNEL 染色陽性核数の計測およびマイクロアレイ解析を行った.

【結果・考察】病理組織学的には CHX 投与 2 時間後で単細胞壊死が増加し, 6 時間後には多発性微小壊死が認められた. TUNEL 染色において, 投与 1 時間後から対照群に比べ陽性核数が増加し, 2 時間後にはピークとなり, 6 時間後でも 1 時間後と同程度の増加傾向を示した. マイクロアレイ解析では CHX 投与 1 時間後からアポトーシス促進遺伝子 (GADD45, p21, p53) の発現が増加していたことから, 投与後速やかに肝細胞のアポトーシスが誘発されたものと推察した. さらに ATF3 や CHOP の遺伝子発現量が投与 1 時間後から著明に増加し, 投与 2 時間後にはピークを示したことから, CHX 投与により肝細胞に小胞体 (ER) ストレスが誘発されていたものと推察した. 以上, 今回の実験では, 病理組織学的検査および TUNEL 染色陽性核数の計測とマイクロアレイ解析の結果に高い相関性が示され, CHX により誘発される肝細胞のアポトーシスは ER ストレスに起因したものであることが示唆された.

ナリジクス酸の *in vitro* 遺伝毒性と肝イニシエーション活性

○伊藤 格¹, 佐々木 有², 熊谷 木曜美², 酒井 洋樹³, 檜田 陽子¹, 三森 国敏¹,
(¹東京農工大, ²八戸高専, ³岐阜大)

第一世代キノロン剤であるフルメキンは, 2003 年の FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会 (JECFA) において, 遺伝毒性発癌物質である可能性が否定できないとされ, 許容一日摂取量 (ADI) が取り消された. 我々は, 第 31 回日本トキシコロジー学会学術年会において, 第二世代キノロン剤であるノルフロキサシンが *in vitro* コメットアッセイおよび小核試験, *in vivo* 中期発癌性試験である肝イニシエーション活性検索法において陽性を示し, ノルフロキサシンが遺伝毒性発癌物質である可能性が高いことを報告した. 今回は, 第一世代キノロン剤として最初に開発されたナリジクス酸について, 同様の検索を実施した. ヒトリンパ腫由来の WTK-1 細胞を 2 日間培養後, ナリジクス酸を培地中に添加して 20 時間処理し, *in vitro* コメットアッセイおよび小核試験を行った. また, 雄の F344 ラットに 3 分の 2 肝部分切除を実施し, その 12 時間後にナリジクス酸を単回強制経口投与した. その 14 日後から 7 日間 2-アセチルアミノフローレン (2-AAF) の混餌投与を行い, その間に四塩化炭素を単回強制経口投与した. さらに 14 日間の休薬期間後, 肝臓を摘出し, 胎盤型グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST-P) 一次抗体を用いて免疫染色を実施し, 肝イニシエーション活性検索法を行った. ナリジクス酸は, *in vitro* コメットアッセイ, 小核試験および肝イニシエーション活性検索法の全てにおいて陰性結果を示した. 以上の成績より, ナリジクス酸は遺伝毒性発癌物質である可能性が低いことが示され, 同じキノロン剤でもその遺伝毒性ポテンシャルが異なることが示唆された.

エタノールの MeIQx 誘発ラット肝発がん促進作用

○串田昌彦^{1, 2}、森村圭一朗¹、鰐淵英機¹、木下アンナ¹、福島昭治¹
 (1 大阪市大・院・医・都市環境病理、2 住友化学(株)、生科研)

【目的】エタノールはヒトの肝がんの発がん因子のひとつとして知られている。しかしながら動物実験においてエタノールの発がん性については、肝発がんプロモーション作用があるという報告がある一方、投与方法、イニシエーターの違いにより否定的な結果が生じることも報告されている。また、その用量相関性、とりわけ低用量域の発がんプロモーションについては明らかではない。以前我々は低用量の MeIQx によりイニシエートしたラットに5%のエタノールを液体餌に混餌投与したところ、ラットの前期癌病変の指標である glutathione-S-transferase placental form (GST-P) 陽性細胞巣の形成が対照群に比べ、有意に増加することを報告した(第18回日本毒性病理学会)。そこで本実験ではエタノールによる肝腫瘍形成のプロモーション作用およびその用量依存性について検討を行った。**【方法】**21日齢のF344ラット230匹を9つの群に分け、1~7群は200ppmのMeIQxを混ぜた餌で、8,9群は通常の餌で8週間飼育した。その後、1~7群には、エタノールを0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 20%の各用量で16週間飲水投与し、実験開始24週後に全例を屠殺し、肝臓の病理組織学的検査を行った。8,9群には0, 20%のエタノールを飲水投与した。**【結果】**肝細胞腫および総腫瘍数の発生頻度は3%を投与した第5群から上昇傾向が認められ、10%以上の群で、有意に増加した。肝細胞癌については、10%群で上昇傾向が、20%群では有意に増加が認められた。腫瘍の発生数についても同様の傾向が認められた。1%以下の群では対照群との変化は認められなかった。腫瘍発生に変化が認められなかった Group1~5 について GST-P を免疫染色し、単位面積あたりの陽性細胞巣の面積、個数について検索したところ、腫瘍形成と同様に、1~4 群には差は認められず、5 群では有意ではないが上昇傾向が認められた。**【結論】**エタノールには MeIQx でイニシエートしたラットにおいて用量依存的にプロモーション作用を発揮することがわかった。

伊東モデルを用いた無機3価ヒ素、無機5価ヒ素、及びアルセノベタインの肝発癌性及び修飾作用

○柚木孝之、鰐淵英機、木下アンナ、萩原淳司、(大阪市大・院医・都市環境病理)、
 市原敏夫(大雄会医科学研)、高場克己、加国雅和、(協和発酵(株)安全性研究所)、
 福島昭治(大阪市大・院医・都市環境病理)

【目的】我々は無機ヒ素の主要代謝産物であるジメチルアルシンサン(DMA)のラット膀胱発癌性と肝発癌促進作用を明らかにしてきた。一方、無機ヒ素はこれまで疫学的に発癌性は指摘されているが、動物発癌データは十分ではない。今回、無機の3価ヒ素5価ヒ素、及び海産物に多く含まれるアルセノベタインの肝発癌性及び修飾作用について伊東モデルを用いて検討した。

【方法】10週齢の雄F344ラットにDEN 200 mg/kg b.w. を1回腹腔内投与し、その2週間後から6週間、0.75mMの無機3価ヒ素、無機5価ヒ素、及びアルセノベタインを飲水投与した。対象群には水道水を投与した。DEN処置3週間後に全動物に対し2/3部分肝切除術を施行し、8週間後に屠殺した。摘出した肝臓について、前期癌病変の指標として GST-P 陽性細胞巣の数及び面積の測定、酸化ストレスの指標として 8-OHdG を測定した。**【結果】**無機3価ヒ素、無機5価ヒ素、及びアルセノベタイン各投与群において GST-P 陽性細胞巣は数及び面積において対象群に比し有意な上昇を認めず、8-OHdG も同様であった。**【結論】**無機3価ヒ素、無機5価ヒ素、及びアルセノベタインはラット肝発癌性及び促進作用を示さないことが明らかになった。

6種のラット肝細胞癌細胞株の転移能の違い：
ヌードマウスの肝内および脾内投与後の増殖と転移の株間差

○唐明希、小川久美子、二口充、白井智之（名市大・院・医・実験病態病理）

我々は、ラット自然肺転移肝細胞癌モデルを開発し、その腫瘍から6種類の細胞株を樹立した。それらはいずれもヌードマウスの皮下移植で造腫瘍性があり、皮下移植や尾静脈内投与では異なる肺転移能を示した。しかし、肝への転移は認めなかった。今回、これらの細胞株の肝への親和性について肝内投与と脾内投与で比較し、併せて肺への転移能についても比較検討した。【実験】Diethylnitrosamine と N-nitrosomorpholine で誘発したラット肝腫瘍から樹立した肝細胞癌細胞株 C1, C2, C5F, C6とN1 および肺転移巣から樹立した L2 をヌードマウスの肝臓内または脾臓内に投与し、4-5 週後に屠殺剖検し、肝、脾および肺での腫瘍結節の形成を病理組織学的に検討した。【結果】肝内投与では、C1とC5Fは肝臓への生着が各々33%と25%と軽度に見るのみであったが、C2, C6, N1, L2は80-100%の動物に十分な生着を認めた。さらにC6は、全例で肺への転移があった。脾内投与では、C1, C6およびL2で75-80%の動物に脾臓内への生着を高度観察した。その内、C1は肝臓への転移はなく、C6およびL2はそれぞれ100%と80%に肝臓への転移も強く認めた。一方、脾での生着が弱かったC2(40%), C5F(0%)とN1(20%)の内、C2とC5Fは肝臓への腫瘍形成は軽度で、N1は脾臓内の結節がない例を含め全例に肝臓での腫瘍形成を認めた。【結論】ヌードマウス皮下での生着は100%で、尾静脈内投与では肝への転移の無かった6種類のラット肝細胞癌細胞株において、肝または脾内への投与による、投与部位あるいは他臓器への生着能は、細胞により大きく異なることが判明した。このことは同一腫瘍であっても転移能の異なる細胞集団から形成されていることを示すと同時に肝由来の悪性腫瘍にも関わらず、肝への転移を示さないものがあることも明らかとなった。これらの細胞株は腫瘍発生と転移成立の機序における、Anatomical theory と Seed and Soil theory の検討に有用と考えられた。

変異コネクシン32トランスジェニックラットにおける
フェノバルビタール肝プロモーション作用に対するギャップジャンクションの影響

○外岩戸尚美、朝元誠人、小川久美子、鈴木周五、白井智之（名市大・院・医・実験病態病理）

我々は肝における細胞間連絡能が低下したドミナントネガティブ変異コネクシン32遺伝子導入ラット(Tg)を作成し、この雄ラットは、Diethylnitrosamine(DEN)に対する初期の肝発がん感受性が高いが、癌の発生は亢進されないことを報告した。肝発がん促進作用を持つフェノバルビタール(PB)では、その作用にギャップジャンクション(GJ)の阻害が関与している事が示唆されている。そこで、今回我々はこの動物を用いてGJの阻害がPBの発がん促進作用にどう影響するかを追究した。6週齢の雄のTg/non-TgにDEN(200mg/kg)を腹腔内投与し、その2週間後から0.05%PBを20週間餌飼投与し、屠殺・剖検を行った。凍結肝よりRNAを抽出し、DENやPBの代謝に関与するラットcytochrome P450各分子種のmRNAの定量的RT-PCRを行った。DENの代謝酵素のCYP2E1および1A2の発現量は各群間に差はなく、PBによって誘導されるCYP2B、3Aに関してはTg、non-TgともにDEN単独群に比較してDEN+PB群で有意に発現亢進が認められ、これらの代謝酵素の発現に細胞間連絡能の低下は影響を与えていない事が明らかとなった。肝の病理組織学的検索、蛍光免疫組織化学的検索と前癌病変マーカーであるGST-P陽性細胞巢の計測を行ったところ、PB投与のNon-TgのGST-P陽性細胞巢の数・面積はTgのDEN単独群と同程度であった。Tg、non-Tgともに、PB投与により、DEN単独群に対して有意にGST-P陽性細胞巢の数・面積ともに亢進した。以上より、ラットのPBによるGST-P陽性細胞巢の発生の促進には、GJの阻害に加えて、さらに別の機序が存在する事が示唆された。

P-49

Homeostatic effect of alpha benzene hexachloride (α -BHC) on diethylnitrosamine-initiated hepatocarcinogenesis and possible mechanisms in rats

Rawiwan Puatanachokchai¹, Keiichirou Morimura¹, Hideki Wanibuchi¹, Anna Kinoshita¹, Jin Seok Kang¹, Yoshihiko Funae² and Shoji Fukushima¹ ¹Department of Pathology and ²Department of Chemical Biology, Osaka City University Medical School.

The hormesis of α -BHC, a non-genotoxic carcinogen, was investigated in male rats injected by DEN and fed with diet containing α -BHC, 0.01-500 ppm for 10 and 32 wks. The plotting α -BHC doses versus preneoplastic lesion (medium-term) and tumor formation (long-term) result in a J-shape. Mechanistic study of hormesis was further done in medium-term protocol. The PCNA labeling index both in GST-P positive foci and the surrounding areas of low dose-treated group declined but increased in GST-P foci of high dose-treated group. The response curves of CYP450, P450 reductase and 8-OHdG contents revealed the same pattern as GST-P positive foci data. CYP2B1, 2E1 and 3A2 activities, protein and mRNA expressions showed threshold dose response manner but 2C11 activity showed an invert J-curve. Thus, α -BHC exerts hormesis of hepatocarcinogenicity demonstrating threshold and might be involved in xenobiotic metabolism that low dose induces detoxifying enzyme and high dose enhances intoxicating enzymes concomitant to reduce detoxifying enzymes in CYP450 system, that influence on free radicals followed by oxidative stress and consequently pathological change in the liver.

P-50

ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸食による発がん高リスク環境が *N*-nitrosobis(hydroxypropyl)amine の発がん性に及ぼす影響

○ 高橋 正一¹、吉田 緑¹、五十嵐 麻希¹、渡辺 直人¹、植松 史行¹、阿部 正義¹、
前川 昭彦²、中江 大¹ (¹佐々木研・病理、²佐々木研)

本研究は、ヒトのがんの多くが固有の高リスク群を持つことを考慮して、高リスク環境下における化学物質の発がんリスク評価や発がん機構解明の戦略を構築するため、コリン欠乏アミノ酸(CDAA)食の短期投与により誘導された発がん高リスク環境が *N*-nitrosobis(hydroxypropyl)amine (BHP)の発がん性に及ぼす影響について検索した。実験は、Fischer 344 系雄性ラット(6 週齢, 1 群 12 匹)を用い、第 1-4 群を基礎食下、第 5-8 群を CDAA 食下で 8 週間飼育した後、基礎食飼育下に第 1・5、2・6、3・7、4・8 群に BHP をそれぞれ 0、10、100、1000 ppm の用量で 16 週間混水投与して動物を屠殺し、肺増殖性病変と肝前がん病変の発生について検索した。その結果、肺増殖性病変は、第 4 および 8 群のみに発生し、両群間の発生頻度・個数に差がなかった。肝前がん病変は CDAA 食を前処置した第 5-8 群のみに発生し、その個数は BHP の用量に依存して増加した。以上の結果より、CDAA 食により誘導された発がん高リスク環境は、BHP の肺発がん性に影響することなく、その肝発がん性を低用量から増強することが判明した。

肝選択的甲状腺ホルモン受容体リガンド KAT-681 の短期および長期投与において
異なる肝腫瘍抑制効果

○林守道、田村啓、奥原裕次、長澤達也、北村毅、黒田淳二、柴田信男（キッセイ薬品）、
三森国敏（東京農工大・家畜病理）

【目的】我々は昨年の本学会で肝選択的甲状腺ホルモン受容体リガンドである KAT-681 の 3 週間投与がラットの肝腫瘍を抑制することを報告した。その 3 週間投与では、細胞増殖活性が亢進したにもかかわらず、前癌病変である肝細胞変異巣の数は著しく減少した。そこで、今回の試験では前回と同じ方法で肝腫瘍を誘発したラットに KAT-681 を 20 週間投与し、その効果を 3 週間投与時と比較検討した。

【方法】6 週齢の雄 F344 ラットを使用し、diethylnitrosamine、2-acethyaminofluorene (2-AAF) ならびに 2/3 部分肝切除を用いた二段階発がん試験法により肝腫瘍を誘発した。2-AAF の投与終了から 5 週間の回復期間をおいた後、KAT-681 (KAT) 0.1 mg/kg を 20 週間強制経口投与して投与 0, 10 および 20 週目に剖検した。同様に媒体のみを投与した対照群を設けた。得られた肝臓より抗 glutathione S-transferase 胎盤型抗体 (GST-P) に陽性である肝増殖性病変 (肝細胞変異巣: AHF, 肝細胞腺腫: HCA) の形態計測ならびに細胞増殖指数 (PI) およびアポトーシス指数 (AI) の計測を実施した。

【結果】20 週間の KAT 投与終了時、GST-P 陽性の AHF は数だけでなく、その平均サイズも減少した。GST-P 陽性の HCA は、対照群では投与前に比べてその平均サイズが徐々に増加したにもかかわらず、KAT 投与群では平均サイズの増加は認められなかった。両病変の PI はともに減少したが、AI には投与期間を通じて変化はみられなかった。

【結論】KAT の 3 週間投与時の効果が細胞増殖活性の亢進を介した肝前癌病変の減少であるのに対し、20 週間の長期投与では、細胞増殖活性の抑制を通して前癌病変のみならず、より進んだ腫瘍の発達も抑制することが示された。

The protective effect of Y-mix against hepatotoxicants *in vivo*

○ Min-Won Baek, Jong-Hwan Park, Seung-Hyeok Seok, Hui-young Lee, Dong-Jae Kim, Chul-Sung Huh and Jae-Hak Park* *Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Seoul National University*

The protective effect of herbal extracts (Y-mix I) and Y-mix II against liver injury induced by ethanol was investigated in mice and rat. The mice were orally administered with different doses of Y-mix I once a day for 2 weeks, followed by administered with ethanol (6g/kg body weight). The rats were orally administered with Y-mix I and II and followed by administered with single (3 g/kg) or triple (2 g/kg) doses of ethanol, and provided with Y-mix I or II for 4 weeks.

In the result, administration with Y-mix I led to the increase of the mice survival rates. The rat administered with Y-mix I and II were ameliorated in histopathological lesions of liver and serological marker (serum ALT, AST, and total bilirubin) compared to positive control. Moreover, oil red O staining revealed that the size of lipid droplets were smaller in Y-mix I and II treated groups than that of positive control.

遺伝毒性発がん物質 Diethylnitrosamine (DEN) の低用量域におけるラット肝発がん性と
in vivo 変異原性の閾値の存在

○宮地 夏子、鰐渕 英機、山口 貴嗣、村井 隆、森 聖、福島 昭治
(大阪市大・院・医・都市環境病理)

【目的】我々はこれまでに、MeIQx の肝発がん性、及び *in vivo* 変異原性に閾値が存在することを証明してきた。今回、Big Blue ラットを用い、遺伝毒性発がん物質 DEN のヒトが実際曝露している用量を含む低用量域の肝発がん性と *in vivo* 変異原性を検討した。【方法】5 週齢の雄性 Big Blue ラットを 6 群に分け DEN を 0, 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1 ppm の用量で 16 週間飲水投与した。肝前がん病変の指標である GST-P 陽性細胞巣と細胞増殖の指標である PCNA 陽性率を免疫組織学的に検索した。また、*lacI* 変異頻度を Plaque Color Screening Assay により検索し、シーケンス解析により変異スペクトラムを同定した。さらに酸化的 DNA 障害の指標である 8-OHdG を HPLC で定量した。【結果】GST-P 陽性細胞巣の数は対照群と比べ 0.01 ppm まで差は認められず、0.1 ppm から増加し、1 ppm では有意な増加が認められた。*lacI* 変異頻度は、0.001 ppm から有意な増加を示したが、ヒト曝露用量とされている 0.0001 ppm では増加はみられなかった。特異的な変異は AT→TA transversion 及び AT→CG transversion で、その割合は対照群と比べ、1 ppm では有意な増加を示したが、0.1 ppm までの低用量域では差は見られなかった。PCNA 陽性率、8-OHdG について、群間に差は認められなかった。【結論】遺伝毒性発がん物質 DEN においても肝発がん性、*in vivo* 変異原性に閾値があることが示された。

Enhancement of hepatocarcinogenicity by 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) in
thioacetamide-induced liver damage

✚

○Jin Seok Kang, Hideki Wanibuchi, Atsushi Hagihara, Keiichirou Morimura, Elsayed I. Salim,
Yoshiaki Tagawa, Shoji Fukushima (Department of Pathology, Osaka City University Medical
School, 1-4-3 Asahi-machi, Abeno-ku, Osaka 545-8585, Japan)

✚

As there may be increasing risk of heterocyclic amines in liver cancer, we investigated the enhancement carcinogenic potential of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), one of heterocyclic amines, in rats liver treated with thioacetamide (TAA). Rats (n=280) were divided into 14 groups. Animals of groups 1-7 received TAA (0.03% in drinking water) for the first 12 weeks, and animals of groups 8-14 received drinking water without TAA. After withdrawal of TAA, all animals received MeIQx at doses from 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 to 100 ppm (either groups 1-7 or groups 8-14, respectively) in pellet basal diet for 16 weeks. Animals of all groups were sacrificed at week 28. Numbers and area of glutathione S-transferase placental form (GST-P) positive foci, which are preneoplastic lesions of the liver, were increased significantly in all the groups received TAA→MeIQx compared to the groups treated with MeIQx alone ($p<0.01$). Moreover, the numbers of GST-P positive foci were significantly increased in groups 7 and 14 (treated with 100 ppm MeIQx) as compared to 0 ppm-MeIQx treated groups 1 and 8, respectively ($p<0.01$), while the areas were significantly increased in group 14 compared to group 8 ($p<0.01$). However, there was no difference of them below 10 ppm MeIQx treatment dose as compared to control levels. On the other hand, there were linear dose-dependent increase of MeIQx-DNA adducts from 0.1 to 100 ppm. Immunohistochemical staining of 5-methylcytosine showed that preneoplastic foci represented hypomethylation status. Taken together, we conclude MeIQx treatment enhances hepatocarcinogenicity in TAA-induced liver damage, and it represents existence of threshold, at least practically, in rat hepatocarcinogenicity.

P-55

Hexachlorobenzene のラット中期肝発がん性試験を用いた用量依存的プロモーション作用の検討

○市原敏夫^{1,2}、今井則夫^{1,2}、難波江恭子^{1,2}、萩原昭裕¹、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)

【目的】Hexachlorobenzene (HCB)は農薬、防かび剤および工業生産物などの原料として使用されてきたが、現在ではほとんどの国では使用されていない。しかし、HCBは自然環境中では分解されにくく生物濃縮される性質を有することから、重要な環境汚染物質とされている。HCBは実験動物において肝細胞腫瘍を誘発させることが知られており、また、HCBは他の非遺伝毒性発がん性を有する農薬と同様に、中期肝発がん性試験法においてプロモーション作用を示すことが報告されている。それゆえ、HCBの発がん性の程度について検索することは重要であり、今回、中期肝発がん性試験法を用いて用量依存的検討を行った。

【方法】6週齢の雄性F344ラットを用い、diethylnitrosamine(DEN) 200 mg/kg, bwを単回投与し、その2週間後にHCBを0、0.002、0.01、0.04、0.15、0.6、1.6、3.0、8.0、15.0、40.0および75.0 ppmの濃度で飼料中に混じて6週間経口投与した。いずれの群も実験3週目に2/3肝部分切除を行い、実験期間8週間で屠殺剖検し、肝の前がん病変であるglutathione S-transferase(GST-P)陽性細胞巢の定量的解析を行った。

【結果】肝臓重量では、15 ppm以上の投与群において絶対重量の、8 ppm以上の投与群において相対重量の有意な高値を認めた。GST-P陽性細胞巢の定量値は、いずれの投与群においても対照群と比較して個数および面積ともに統計学的に有意な差を認めなかったが、最高用量の75 ppm投与群においては個数および面積ともに高値傾向を認めた。

【結論】HCBは雄ラット肝臓に対して発がんプロモーション作用を有し、その最小作用量は75 ppm付近であることが示唆された。

P-56

Modifying potential of dietary D-psicose, a rare sugar, in a medium-term liver carcinogenesis bioassay in rats ラット肝中期発癌性試験法(伊東法)を用いた希少糖 D-psicose による肝発癌の修飾作用の検討

○ 曾宇、竿尾光祐、松田陽子、横平政直、今井田克己 (香川大学 医学部 腫瘍病理学)

D-psicose, a C-3 epimer of D-fructose, is present in small quantities in commercial carbohydrate complexes and agricultural products. The effects of D-psicose on diethylnitrosamine (DEN)-induced hepatocarcinogenesis were examined in male F344 rats using the medium term bioassay system of Ito. Carcinogenic potential was scored by comparing the number and area/cm² of induce glutathione S-transferase placental form (GST-P) positive foci in the liver with those of the corresponding group (control) of rats given DEN alone. Increased relative liver weights were found in 1% D-psicose treatment group as compared with control group, while no significant change happened in 0.1% D-psicose, 0.01% D-psicose, and 1% D-fructose groups. D-psicose did not significantly decrease the quantitative values for GST-P positive liver cell foci observed after DEN initiation. The results thus demonstrate that D-psicose lacks chemoprevention potential for liver carcinogenesis in our medium-term bioassay system.

P-57

有機ヒ素化合物の MMA、DMA、TMAO の肝発がん促進作用の分子病理学的解析

○ 鰐淵英機、木下アンナ、魏 民、萩原淳司、柚木孝之、福島昭治
(大阪市大・院・医・都市環境病理)

【はじめに】我々は無機砒素のほ乳類での主な代謝産物である有機ヒ素化合物の Monomethylarsonic acid (MMA), dimethylarsinic acid (DMA) and trimethylarsine oxide (TMAO) の肝発がん促進作用を明らかにしてきている。今回はこれらの肝発がん促進作用機序について、cDNA マイクロアレー法を用いて代謝酵素を含めた遺伝子発現から解析を試みた。

【方法】動物は雄性 F344 ラットを用い、200ppm の MMA、DMA、TMAO を飲水投与し、5-20 日後に肝を摘出し、遺伝子の発現を cDNA マイクロアレー法を用いて解析し、主な遺伝子の発現は RT-PCR 法で確認した。

【結果】肝におけるチトクローム p450 の総量は MMA、DMA、TMAO 投与のいずれの場合も有意に増加し、ヒドロキシラジカルは 10-15 日のヒ素処置から発生した。また、酸化 DNA 傷害のマーカーである 8-OHdG の形成は MMA および TMAO 処置 20 日に著明に増加していた。Phase I および Phase II 酵素の誘導され、肝における p450 の総量は MMA、DMA、TMAO 投与のいずれの場合も有意に増加していた。ヒ素によるヒドロキシラジカル発生は 10-15 日の処置から発生し、酸化 DNA 傷害のマーカーである 8-OHdG の形成は MMA および TMAO 処置 20 日に著明に増加していた。cDNA マイクロアレー法を用いた遺伝子発現解析では、生体異物の代謝に関わる Phase I および Phase II 酵素の誘導されていた。また、8-OHdG の修復酵素である ogg1 遺伝子の発現も亢進していた。一方、細胞増殖に関わる遺伝子およびアポトーシスに関わる遺伝子も 20 日には発現の亢進がみられた。

【総括】MMA、DMA、TMAO の有機ヒ素化合物投与により Phase I および II 酵素が誘導され、酸化 DNA 傷害が惹起し、細胞増殖関連遺伝子の発現亢進により、肝発がん促進に至ったと考えられた。

P-58

肝発がん作用を有するエストロゲン様物質によるラット肝臓の遺伝子発現変化 -PAM マイクロアレイシステムを用いた解析-

○吉野裕子^{1,2}、市原敏夫^{1,2}、土井悠子^{1,2}、下條尚志^{1,2}、朝元誠人²、白井智之²

(1 大雄会医科学研究所、2 名市大・院・医・実験病態病理)

【目的】これまで我々は中期肝発がん性試験（伊東法）を用いて、GST-P 陽性細胞巢を指標とし、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、PAM マイクロアレイシステム（FD10、オリンパス株）を用い、肝発がんプロモーション作用を有するホルモン様物質に特徴的な遺伝子発現が認められるかどうか検討した。

【方法】6 週齢の雄性 F344 ラットを用い、Diethylstilbestrol (DES)、Ethinylestradiol (EE)、Nonylphenol、Bisphenol A、Genisten、Methyltestosterone および Tamoxifen を飼料中に混じて 2 週間経口投与し、器官重量測定および肝臓における 3 次元マイクロアレイ PamChip (Rat β chip ver. 3.0) を用いた遺伝子発現解析を行った。

【結果】DES および EE 投与群では、 α 2u-globulin の減少、integrin α v subunit および α -1 acid glycoprotein 遺伝子の増加など特徴的な変動を認めた。

【結論】伊東法においてプロモーション作用を示す DES および EE に特徴的な遺伝子発現が認められ、発がん性予測の可能性が示された。

Piperonyl butoxide のマウスにおける肝発癌メカニズム；予備的な分子病理学的検討

○六車雅子、金美蘭、本光善、樫田陽子、三森国敏（東京農工大・獣医・病理）

【緒言】農薬の Piperonyl butoxide (PBO) は、マウスやラットの肝臓に対して発癌性を示すことが報告されている。その発癌メカニズムは Phenobarbital と類似しており、CYP 酵素を誘導すると共に Gap ジャンクション細胞内コミュニケーションを阻害することが報告されている (Okamiya ら Arch. Toxicol. 1998)。しかしながら、遺伝子レベルでの PBO による肝発癌メカニズムには未だ不明な部分が多く残されている。今回、我々は PBO のマウス肝発癌メカニズムを遺伝子レベルで解析すると共に、Phenobarbital (PB) によるそれと比較検討した。【方法】PBO (6000ppm) あるいは PB (1000ppm) を 5 週令 ICR 雄マウスに 4 週間混餌投与した。非投与群には基礎飼料のみを与えた。薬剤投与開始から 4 週間後に肝臓を採取し、一部は常法に従い組織学的検索を行った。また、total RNA 抽出後、低密度 cDNA microarray (GEArray Q series Mouse Stress and Toxicity Pathway Finder Gene Array, SuperArray Bioscience Corp.) と real time RT-PCR 法により遺伝子発現の検討を行った。【結果】組織学的検索では、PBO および PB 投与群のマウス肝臓では顕著な小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。Microarray 解析において非投与群と比較し 1.5 倍以上の遺伝子の発現上昇を示したものは、PBO 投与群あるいは PB 投与群でそれぞれ 24 あるいは 26 遺伝子で、2 群に共通して発現上昇が認められたものは 18 遺伝子であった。一方、発現低下を示したものは PBO 投与群あるいは PB 投与群で、それぞれ 7 あるいは 14 遺伝子であった。発現上昇を示した遺伝子を real time RT-PCR で定量したところ、microarray の結果とほぼ一致していた。2 群に共通して発現上昇が認められた遺伝子は主に酸化および代謝ストレス関連遺伝子群に属し、Cyp2b9, NADPH P450, Glutathione reductase では有意な上昇、Cyp1a1 では有意差はないものの発現上昇傾向が見られ、特に PBO で顕著であった。一方、各群単独で有意に発現上昇を示した遺伝子は、PBO 群では増殖関連遺伝子の Cyclin D1、PB 群では炎症関連遺伝子の Mif, Lta(TNFb)、および DNA 障害および修復関連遺伝子の Xrcc5 であった。【まとめ】PBO と PB は 4 週間のマウスへの投与では酸化および代謝ストレス関連遺伝子で類似した作用を示したが、細胞増殖、炎症、DNA 障害および修復などにおいては異なる反応を有することが示唆された。

肥満を伴う NASH モデル動物の作製：高脂肪食負荷マウスを用いたテトラサイクリン投与による肝の病理組織学的検索

○辻岡 繁春¹、伊藤 誠²、太田 恵津子¹、松江 健太¹、田口 和博¹、岩浅 央²、鈴木 順²、佐々木 稔¹、金谷 章生²、佐村 恵治¹、錦邊 優¹
(¹万有製薬・¹安全性研究所、²つくば研究所)

<目的>Fatty liver disease の一つである非アルコール性脂肪肝炎(NASH)は、放置すると肝硬変にも進展する恐れがあり、早期の治療が必要な疾患であるとの認識が近年高まっている。NASH の治療に向けた研究を進めるには、ヒトへ外挿性のある動物モデルが重要となるが、多くの NASH 患者が併発している肥満や高インスリン血症を示す動物モデルは未だ報告されていない。今回、NASH 患者の病態により近い肥満や高インスリン血症を示す動物モデルの作製を試み、病理組織学的変化を中心に検討した。<方法>新規モデルマウスの作製は、NASH の発生機序として現在最も支持されている「Two hit theory」に基づいて行った。1st hit として、肥満や高インスリン血症を惹起する high fat diet (HFD) を用い、対照群には regular diet (RD) を C57BL/6J マウスに *ad libitum* でそれぞれ 2ヶ月間負荷した。2nd hit には、肝臓への酸化ストレスの発生が報告されているテトラサイクリン (TC) を用い、各 diet 群に 0、10 および 30 mpk の TC を 1 日 1 回 10 日間、腹腔内投与し、各パラメータの解析を行い、肝臓の病理組織学的検索を実施した。<結果>各 HFD 群のマウスは、体重及び fat mass が大きく増加し、食餌性肥満を呈していた。HFD と TC の相乗効果により、HFD & TC 30 mpk 群では肝臓 TG 値の 10 倍以上の増加がみられた。この群では、肝臓 TG 値の増加と並行して、血中 ALT 値や肝臓 TNF α mRNA の発現量も有意に増加しており、一般的な NASH の phenotype を示した。組織学的にもこの群では Oil-red O 染色で陽性を示す肝細胞の空胞化、肝実質への炎症細胞の小集簇が散在性に認められた。また、HFD & TC 30 mpk 群には、同時に投与経路が原因と考えられる肝被膜炎も認められたが、RD & TC 30 mpk 群でも同程度の肝被膜炎が観察されたことから、HFD & TC 30 mpk 群のみに見られる上記パラメータの増加に与える影響は少ないと考えた。<考察>two hit theory に基づいた HFD と TC の新しい組み合わせによって、肥満を呈した NASH 類似病変を惹起することが示唆された。肝被膜炎の影響等、今後課題を残すものの、本 model は今後の NASH の研究に有用であると考えられる。なお、本モデル動物の肝線維化への進展について、type I collagen の mRNA 発現量の変化を含め検討中である。

P-61

肝発がん嫌発 (C57BL/6)、及び好発 (B6C3F1) 系統 *gpt delta* マウスにおける Pentachlorophenol 投与による *in vivo* 変異頻度の比較

- 神吉けい太¹、梅村隆志¹、増村健一²、石井雄二¹、黒岩有一¹、児玉幸夫³、能美健彦²、西川秋佳¹、広瀬雅雄¹ (¹国立医衛研・病理、²国立医衛研・変異、³国立医衛研・毒性)

木材の防腐剤や除草剤として用いられて来た Pentachlorophenol (PCP) は、マウスにおける肝発がん性が知られているが、Ames 試験などによる *in vitro* での変異原性は陰性である。PCP の発がん機構には中間代謝物であるキノン体が引き起こす酸化ストレスが関わっていると考えられているが、それが遺伝子突然変異の誘発に関与するのか、細胞増殖などのエピジェネティックな関与をしているのかははまだ明らかではない。我々は、PCP の代謝過程において発生する酸化ストレスが遺伝子突然変異に関わる可能性を調べるため、*in vivo* 変異原性アッセイ動物として知られる *gpt delta* マウスを用いて、肝臓での酸化 DNA 損傷 (8-oxodG) と遺伝子突然変異頻度を解析した。【方法】6 週令の雄 *gpt delta* マウス (C57BL/6 及び B6C3F1 系統) に PCP を 13 週間混餌投与 (0, 600, 1200 ppm) し、BrdU の前処置後に解剖した。【結果】C57BL/6 系統では肝重量は対照群に比べ 600 ppm 群で約 1.7 倍、1200 ppm 群で約 2.4 倍に増加した。また、8-oxodG 量は対照群に比べ 600 ppm 群で約 1.7 倍、1200 ppm 群で約 3.5 倍に増加した。一方で *in vivo* 変異原性解析の結果、点突然変異頻度は対照群に比べ 600 及び 1200 ppm 群共に有意な上昇は見られなかった。また、欠失変異頻度は 1200 ppm 群でのみ対照群に比べ約 1.6 倍に上昇したが ($P=0.038$)、明らかな濃度依存性は認められなかった。B6C3F1 系統では肝重量の変化は C57BL/6 系統と変わらず、対照群に比べ 600 ppm 群で約 1.6 倍、1200 ppm 群で約 2.3 倍の増加を示した。【考察】C57BL/6 系統における結果から、PCP の代謝に伴う酸化ストレスが遺伝子突然変異に関わる可能性は低いと考えられた。しかし C57BL/6 が肝発がん嫌発系統であることから、肝発がん好発系統である C3H/He との交配によって作製した B6C3F1-*gpt delta* マウスを用いた解析が有意義であると考えられる。今後、本系統における肝臓での 8-oxodG 量、遺伝子突然変異頻度、さらに BrdU を用いた細胞増殖活性の解析を進め、報告したい。

P-62

絶食マウスにおける肝臓の形態学的変化と遺伝子発現プロファイル

- 高橋明子、三輪恵子、有賀千浪、井手美佳、宮崎登志子、篠塚淳子、湯浅啓史、鳥海互
(田辺製薬株式会社薬物動態研究所探索毒性グループ)

【目的】DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子解析は、生体内での遺伝子変動を比較する上で非常に興味深い手法である。毒性試験においても投与した化合物により変動する遺伝子群を代表的な毒性を発現する物質と比較することで様々な知見が得られている。一方、摂餌条件が毒性試験の各種検査結果に影響を与えることはよく知られており、絶食条件下の肝臓では肝細胞内グリコーゲンの減少と脂肪蓄積が認められることから、肝臓中の脂質ならびに糖代謝への影響が推察される。今回、絶食の影響を調べるために、毒性試験に汎用される ICR 系マウスを用い、24 ないし 42 時間絶食処置を施し、各種毒性試験検査項目について検討するとともに、DNA マイクロアレイを用いて、絶食群と非絶食群の肝臓における遺伝子発現の比較を行った。【方法】日本チャールズリバー株式会社より購入した ICR 系 6 週齢雄性マウスを用いた。動物は 12 時間照明下にて飼育し、体重および摂水量は毎日測定した。24 ないし 42 時間絶食後、採血後に解剖し、遺伝子発現解析のために肝臓を採取した。絶食各群と非絶食群のそれぞれ 6 匹の肝臓から抽出した RNA をプールし、標識 cRNA を合成後、DNA マイクロアレイ (Gene Chip®, Mouse Expression Set 430A 2.0) を用いて遺伝子の発現変動を比較した。また、血液学・血液生化学検査、臓器重量測定、病理組織学的検査もあわせて実施した。【結果】試験期間を通じ、いずれの動物においても一般状態には絶食による影響を認めなかった。一方、絶食群において、体重減少、白血球数減少、血糖値や脂質系パラメーターの減少等各種血液生化学データの変動、肝臓等の各臓器重量の減少等が認められ、その多くは 42 時間絶食群においてより顕著であった。病理組織学的検査では、絶食群のいずれの個体においても肝臓で肝細胞の萎縮・グリコーゲン野の減少・空胞化 (脂質蓄積) 等の変化が認められた。遺伝子発現解析においては絶食群で脂質ならびに糖代謝関連遺伝子をはじめとする多数の遺伝子発現の変動が認められた。

Effects of pregnancy on CYPs protein expression in rat liver

Xi Jun He, Noriko Ejiri, Hiroyuki Nakayama and Kunio Doi (The University of Tokyo)

A body of evidence suggests that pregnancy may be responsible for the depression in the microsomal enzyme activity and the reduction in the total content of cytochrome P450 (CYP) in the rat liver. However, changes in expression of individual CYP isozyme remain poorly known. The current study was designed to examine the changes in CYPs protein expression in the liver of F344 rats in mid- and late-pregnancy by Western blot analysis and immunohistochemistry. Total nine anti-rat CYPs antibodies (CYP1A1, CYP2B1/CYP2B2, CYP2C6, CYP2C12, CYP2D1, CYP2D4, CYP2E1, CYP3A1 and CYP4A1) were used. In comparison with age-matched non-pregnant control rats, there were significant decreases in hepatic levels of CYP2B2, CYP2C6 and CYP4A1 in mid-pregnancy (day 13) and CYP2B2, CYP2C6, CYP4A1, CYP1A1, CYP2B1 and CYP2E1 in late-pregnancy (day 19). The expression of CYP2C12, CYP2D1 and CYP 3A1 did not differ between non-pregnant and pregnant rats, and CYP2D4 was not detectable in microsomal proteins obtained from non-pregnant and pregnant rats. Immunohistochemistry showed that there were no differences in the distribution and degree of immunoreaction of the above-mentioned antibodies to nine CYPs between pregnant and non-pregnant rats. These results revealed that pregnancy may change the CYP protein expression in the rat liver and may explain the susceptibility of an animal to chemicals or toxins during pregnancy.

ラットの甲状腺 C 細胞増殖性病変に付随する神経節細胞様細胞の発現状況について

○菅野 剛, 土居卓也, 黒滝哲郎, 涌生ゆみ, 土谷 稔 (三菱化学安科研)

【はじめに】ラットの甲状腺では, C 細胞の増殖性病変に付随して, 時折, 神経節細胞(GC)様細胞の増殖が認められる. げっ歯類腫瘍の国際分類(WHO)のラット内分泌系では, C 細胞増殖性病変に GC 様細胞が混在する場合を complex type, 好酸性基質を伴って GC 様細胞のみが増殖する場合を ganglioneuroma type (なお, 本学会の甲状腺増殖性病変ワーキンググループでは C 細胞腺腫の亜系ではなく, 独立した神経節神経腫と結論している)と分類している. しかし, これらの病変の発現頻度に関する報告は少ない. 今回, 我々は Crj:CD(SD)IGS(以下, IGS), Crj:CD(SD) (以下, SD)および F344/DuCrj(以下, F344)ラットの甲状腺について, 過去, 当研究所で長期飼育されたラットの病理組織標本を再鏡検し, GC 様細胞の各系統における発現状況について検討した.

【材料と方法】2年間飼育された IGS ラットの雄 117 例および雌 122 例, SD ラットの雄 90 例および雌 47 例, ならびに F344 ラットの雄 354 例および雌 367 例の甲状腺を検査した.

【結果およびまとめ】GC 様細胞の発現は IGS ラットの雄 0 例(0%), 雌 3 例(2.5%), SD ラットの雄 3 例(3.3%), 雌 1 例(2.1%), F344 ラットの雄 0 例(0%), 雌 2 例(0.5%)であり, 雌ではすべての系統において発現がみられたが, 雄では SD ラットにのみ発現がみられた. また, IGS および SD ラットではすべての例が ganglioneuroma type であり, complex type の発現はみられなかった. 一方, F344 ラットでは 2 例とも complex type で ganglioneuroma type の発現はみられなかった. 組織学的に GC 様細胞は豊富な細胞質と偏在性の大型類円形核をもち, 明瞭な核仁が特徴的であった. Ganglioneuroma type では, GC 様細胞の細胞質は弱好塩基性を示し, 時折, 空胞が認められた. 一方, complex type で認められた GC 様細胞の細胞質は弱好酸性を示した. 以上の結果から, GC 様細胞の発現頻度は各系統とも, 極めて低いと思われた.

P-65

DHPN-Sulfadimethoxine 誘発甲状腺発がん過程のヌードラットを用いた解析

○今井俊夫、蓮村麻衣、小野瀬淳一、上田誠、太田世志雄、曹永晩、広瀬雅雄（国立衛研、病理部）

【目的】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の経時的解析により、発がん初期過程にみられる甲状腺被膜の炎症が、被膜に浸潤性増殖を示す腺癌の発生に関与する可能性があることを報告してきた。今回、T 細胞免疫の欠如したヌードラット(*rnu/rnu*)及びヘテロ(*rnu/+*)を用いて被膜病変及び浸潤癌の発現状況を比較し、被膜炎と浸潤癌発生との関連性を検討するとともに、被膜炎について免疫組織学的に検索した。【方法】F344/N(*rnu/rnu*)及びF344/N(*rnu/+*) 雄ラット各 15 匹に DHPN を単回皮下投与 (2800mg/kg 体重)し、1 週後より SDM を 0.1%濃度で飲水投与した。SDM 投与開始 5 及び 10 週後にエーテル麻酔下にて剖検して甲状腺試料を採取した。左右の甲状腺を半割し、常法に従ってホルマリン固定、パラフィン包埋を行い病理組織学的に検索するとともに、免疫組織学的には、パラフィン切片あるいは凍結切片を用いて ED1、CD3、CD4 及び CD8a について検索して炎症細胞の同定を行い、さらに炎症における NO の関与を検索する目的で iNOS の発現についても検討した。【結果】5 週目では *rnu/rnu* 及び *rnu/+* に被膜病変はみられず、10 週目の *rnu/rnu* には線維性の被膜肥厚が、*rnu/+* の 6/9 例には ED1 陽性マクロファージ及び CD3 陽性 T 細胞を主体とした細胞浸潤を伴う被膜の炎症性肥厚がみられた。T 細胞の多くは CD8a に陽性を示したが、CD4 には陰性であった。*rnu/+* にみられた被膜の炎症部位には 3/9 例において iNOS 陽性巣が認められた。5 及び 10 週目にみられた濾胞上皮巣状過形成、腺腫及び濾胞組織内腺癌の発生頻度及び発生数において、*rnu/rnu* と *rnu/+* との差は認められなかったが、被膜への浸潤癌の発生数は *rnu/rnu* では 1.6 ± 1.4 と *rnu/+* の 3.3 ± 2.0 個/ラットに比し有意に ($p < 0.05$) 少なかった。【結論】DHPN-SDM モデルでは、CD8 陽性 T 細胞免疫の関与する被膜炎が浸潤癌の発生に寄与していることが示唆され、そのメカニズムとして炎症に伴う NO 産生との関連性が考えられた。

P-66

DHPN-sulfadimethoxine 誘発ラット甲状腺発がんのプログレッション過程における iNOS の関与

○太田世志雄、今井俊夫、蓮村麻衣、曹永晩、広瀬雅雄（国立衛研、病理部）

【目的】甲状腺発癌物質である *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine(DHPN)と抗甲状腺剤である sulfadimethoxine (SDM)によるラット甲状腺二段階発がんモデルにおいて、発がん初期過程にマクロファージとリンパ球を主体とした被膜炎が誘発され、その後被膜へ浸潤性増殖を示す濾胞上皮腺癌が高率に発生することを報告してきた。今回、浸潤癌発生過程における誘導型 NO 合成酵素(iNOS)の役割を検討した。【方法】F344 雄ラットに DHPN(2800 mg/kg)を単回皮下投与し、その 1 週後より 0.1%SDM を飲水投与するとともに iNOS 阻害剤であるアミノグアニジン(AG; 0, 0.2%)を混餌投与した。SDM 投与開始後 4、10 週目に動物を屠殺して甲状腺を組織学的に検索し、免疫組織学的に iNOS の発現を検出した。さらに、NO の関与する細胞傷害の指標として ssDNA 陽性細胞の数を計測した。【結果】4 週では炎症性に肥厚した被膜内に iNOS 陽性巣が観察されたが、その発現頻度と数において AG 投与による影響はみられなかった。iNOS 陽性巣には ssDNA 陽性細胞が認められ、各 iNOS 陽性巣あたりの数は AG0%群の 16.0 ± 15.1 に比し 0.2%群では 8.8 ± 8.0 と減少傾向がみられた。濾胞上皮細胞の前がん病変および腫瘍性病変として、巣状過形成、腺腫、濾胞組織内腺癌および被膜への浸潤癌が認められたが、それらの発生頻度および数において AG 投与による影響はみられなかった。10 週目においては、前がん病変および各種瘍性病変の発生頻度に AG 投与による影響は認められなかったが、浸潤癌の発生数が AG0%群の 4.1 ± 2.2 に比し 0.2%群では 2.4 ± 1.6 とより有意に ($p < 0.05$) 減少した。組織学的に、浸潤癌の多くは被膜に隣接する巣状過形成あるいは腺腫より発生しているのが確認された。【結論】DHPN-SDM 誘発ラット甲状腺発がんのプログレッション過程に対し、被膜炎に伴う iNOS 発現が関与している可能性が示された。

幼若期ヨード欠乏食投与によるラット乳腺及び甲状腺発がん感受性に及ぼす影響

○曹永晩、今井俊夫、蓮村麻衣、広瀬雅雄（国立衛研・病理）

【目的】ヨード摂取量の地域格差と乳癌及び甲状腺癌発生率との関連性が指摘されてきた。海岸から離れたコーカサスやモンゴルなど低ヨード地域では他の地域に比べ乳癌及び甲状腺癌及び卵巣癌の発生率が高く、ワカメやメカブなどヨードの豊富な食物の摂取量が多い日本では乳癌の発生率が低いことから、ヨードの乳腺などに対するがん予防効果のあることが推察される。実験的にはラット成熟期にヨード欠乏食を投与すると、乳腺の過形成が誘発され、逆にヨードの摂取は乳癌の発生を抑制することが報告されている。しかし乳腺組織の成熟する過程である幼若期におけるヨード欠乏の影響については明らかではない。今回、ラットの幼若期にヨード欠乏食を投与することにより乳腺及び甲状腺の発がん感受性に及ぼす影響を検討した。

【方法】妊娠 13 日目の F344 ラット 10 匹を 2 群に分け、出産日より授乳期間中ヨード欠乏食 (AIN93G/iodine free)あるいは通常食 (AIN93G)を与えた。離乳後は、各同腹児に同じ飼料を与えた。生後 7 週時に両群の飼料を通常食 (CRF-1)に切替え、7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) を 50mg/kg BW で単回強制経口投与し、さらに *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) を 0.1、0.2% の濃度で 4 週間飲水投与した。発癌物質処置後、毎週触診により乳腺腫瘍 5 発生頻度、個数、大きさを検索した。生後 50 週時にエーテル麻酔下で屠殺、解剖し乳腺、甲状腺の他、肝、腎、肺、食道及び膀胱の病理組織学的検索を行った。

【結果】実験期間を通じて乳腺腫瘍の発生頻度、個数、大きさにヨード欠乏食の影響は認められなかった。甲状腺や他の臓器における腫瘍性病変の発生頻度、個数についてもヨード欠乏食による影響はみられなかった。

【結論】幼若期のヨード欠乏食は雌雄 F344 ラットの乳腺、甲状腺をはじめとした諸臓器における発がん感受性に影響を及ぼさなかった。

SD ラットにみられた甲状腺濾胞上皮細胞の空胞化／水腫性変性

○林修次^{1,2}、鈴木智¹、二宮芙美子¹、入村兼司¹、福島昭治²(¹大鵬薬品・安全研、²大阪市大・院医・都市環境病理)

【緒言】近年 BrlHan:WIST@Jcl (GALAS)ラットにおいて、自然発生偶発病変として報告されている甲状腺濾胞上皮細胞の空胞化ないし水腫性変性に類似した病変を SD ラットの 1 例で経験したので、その病理学的特徴について報告する。なお、この変化はこれまで F344 ラットの 1 例で報告されているが、SD ラットでの報告はない。

【材料および方法】症例は、ある化合物の長期反復投与毒性試験の低用量群に使用された 1 例（雄 SD ラット、41 週齢；日本チャールスリバー）の甲状腺組織で、HE 染色、PAS 反応および免疫組織化学的に抗サイログロブリン抗体による染色ならびに戻し電顕材料による超微形態学的検索を実施した。さらに血漿中 TSH、 T_3 、 T_4 濃度の定量を行った。

【結果】一般症状、血液学的検査・血液生化学的検査等に特記すべき異常は認められなかった。肉眼的に甲状腺はびまん性に腫大していた。病理組織学的にほとんど全ての濾胞細胞が腫大し、その細胞質内に好酸性均質な物質の貯留を類推させる変化が観察された。この変化は細胞質の核より基底膜側に多く且つ大型のものが観察され、核を濾胞腔側へ押し上げていた。また、細胞質内の好酸性領域は PAS 反応陰性、サイログロブリン染色陰性で、電顕的に粗面小胞体の著しい拡張がみられた。血漿中 TSH、 T_3 、 T_4 の測定値に特記すべき変動はみられなかった。

【考察】本症例では組織学的に F344 ラット (Takaoka, 1994) および Wistar BrlHan ラット (Shimoi, 2001) で報告されている病変と同様な変化が観察された。診断として F344 では「濾胞上皮の水腫性変性ないし細胞質内水腫」、Wistar BrlHan では「濾胞上皮細胞の空胞化」あるいは「甲状腺の形成異常」と呼ばれているが、病理組織学的ならびに電顕的特徴より小胞体貯蔵病 (Endoplasmic reticulum storage disease) の範疇に分類されるものと考えられる。なお、発症には遺伝的要因が考えられているが、発生機序については不明である。

新しい糖尿病モデルの確立

○泉 啓介, 中井登紀子, 久保重貴子, 瀧下英子 (徳島大学大学院・環境病理)

長期飼育した近交系 Long-Evans Agouti (LEA) ラットには糖尿病が自然発症することが最近わかってきた。我々は雄LEA ラットにX線を全身照射すると早期に糖尿病が発症することを見いだした。そこで、遮蔽実験等を行い、新しい糖尿病モデルとしての有用性について検討したので報告する。

雄LEA ラットを用い、6および8週齢にそれぞれ2 Gy照射(計4 Gy)、6週齢に2 Gy照射、およびシャム照射を行った(n=15)。36週齢における各群の尿糖陽性率は、それぞれ100%、87%、13%、生存率は20%、93%、100%であった。組織学的にはX線照射で膵島の縮小、ヘモジデリン沈着がみられた。次に、6週齢雄ラット(n=9)を用いて同様に4 Gy、0 Gy照射を行い、12週齢で2 g/kgブドウ糖負荷試験(OGTT)を行った。空腹時血糖値では4 Gy照射ラットの3/8(38%)、糖負荷後30分の血糖値では5/8(63%)が糖尿病型(>250 mg/dl)を示した。4 Gy照射ラットのインスリン値は非照射群に比してより低い傾向を示した。次に、6週齢雄ラット(n=9)を用いて、膵臓部、大腿骨、胸腺部を鉛板で3 cm幅で遮蔽して4 GyのX線を照射し、12週齢で同様にOGTTを行った。膵臓部、胸腺部遮蔽では糖尿病発症を回避できたが、大腿骨遮蔽では3/8(38%)が糖尿病型を示し、全身照射コントロールの4/8(50%)と変わらなかった。次に、同様に膵臓部、胸腺部のみに3 cm幅で4 Gyを照射したところ、程度は軽いものの膵臓部照射の3/8(38%)のみが高血糖を示した。

これらの結果は、1)LEA ラットはX線照射で早期に糖尿病を発症すること、2)その発症機構として膵臓部へのX線照射による膵島細胞障害が重要であるが、胸腺もしくは骨髄細胞抑制も関与している可能性を示唆する。

Probasin-SV40 Tag トランスジェニックラットの前立腺癌発生に対する
アトラジンの抑制作用とカロリー摂取量低下との関連

○神鳥仁志^{1,2}、鈴木周五¹、朝元誠人¹、村崎敏也¹、唐明希¹、小川久美子¹、白井智之¹

(1:名市大第一病理, 2:武田薬品開発研究センター)

除草剤として世界中で広く使用されてきたアトラジンは、現在では内分泌攪乱物質の可能性が認識されており、雄ラットに対するテストステロン産生抑制作用を示した報告もある。本実験では、15週齢時にアンドロゲン依存性前立腺癌を100%の頻度で発現するprobasin-SV40 Tag トランスジェニックラットに対し、500あるいは1000ppmのアトラジンを6週齢時から13週間混餌投与することで、アトラジンが本モデルの前立腺癌発生にどのような影響を及ぼすかを検討した。同時に、アトラジン投与はラットに体重増加抑制を起こすため、摂餌制限による前立腺癌発生の影響も検討した。前立腺腫瘍は全例の全葉で観察され、本試験の処置による影響は発生頻度及び発生個数としては明瞭にみられなかった。従って、前立腺上皮が組織全体に占める面積比率を計測した。実験期間中に死亡はいずれの群でもみられなかった。アトラジン投与群の体重及び摂餌量は試験期間を通じて用量依存的な低値を示し、アトラジン1000ppm投与群の体重は摂餌制限群とほぼ同等の推移を示した。アトラジン1000ppm群の前立腺側葉の上皮面積比率は対照群と比較して有意に低値を示し、アトラジン投与群の前立腺背葉の上皮面積比率にも低値傾向がみられた。しかしながら、アトラジンを投与していない摂餌制限群においても同様な前立腺癌の発生抑制効果がみられた。血清中テストステロン濃度にはいずれの群でも変化はみられなかった。従って、本実験でみられたアトラジンによるprobasin-SV40 Tag トランスジェニックラット前立腺癌のわずかな発生抑制効果は、カロリー摂取量低下に起因すると推察され、アトラジンの内分泌攪乱作用によるものではないと考えられた。

腫瘍移植マウスにおけるグレリンの腫瘍増殖への影響

○小笠原裕之¹、中田理美¹、孫詰²、谷口啓介² (第一サントリーファーマ¹、パナファーム・ラボラトリーズ²)

グレリンは Growth hormone secretagogue 受容体 (GHS-R) の内因性リガンドとしてラット及びヒト胃から 1999 年に同定されたペプチドホルモンである (児島ら, Nature 402: 656, 1999)。グレリンは強力な GH 分泌亢進作用を示すと共に、摂食亢進作用を有することが明らかにされている。近年、GHS-R を有するヒト膵臓腺がん (PANC-1, Duxbury ら, BBRC 309:464, 2003) 及びヒト前立腺がん (PC-3, Jeffery ら, J Endocrinol 172:R7, 2002) に対し、グレリンの *in vitro* における腫瘍増殖活性が認められた。そこで、ヌードマウスにこれらの腫瘍を移植し、グレリンを 2 週間反復静脈内投与して腫瘍増殖への影響を検討した。

【方法】

1 群雌又は雄各 10 例の PANC-1 又は PC-3 を移植したヌードマウス (BALB/cA Jcl-nu) に、グレリンの 0 (5% マンニトール溶液)、25、150 及び 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を 1 日 1 回 2 週間反復静脈内投与し、一般状態観察、体重測定及び剖検を実施し、腫瘍体積 ($1/2 \times \text{長径} \times \text{短径}^2$) と重量を指標に腫瘍増殖への影響を検討した。

【結果】

PANC-1 及び PC-3 移植群ともにいずれの投与量においても死亡はみられなかった。投与期間中の体重増加率 (投与 1 日目の体重を基準とした増加率) は PANC-1 及び PC-3 移植群ともにいずれの投与量においても対照群と比較して高値を示した。投与期間終了翌日の腫瘍体積は、PANC-1 移植群の対照群、25、150 及び 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 群において 222、227、186 及び 193 mm^3 、PC-3 移植群では 864、736、922 及び 912 mm^3 、腫瘍重量は PANC-1 移植群において 0.17、0.20、0.15 及び 0.17 g、PC-3 移植群では 0.67、0.55、0.73 及び 0.73 g であり、腫瘍体積及び重量にグレリン投与の影響は認められなかった。

【まとめ】

PANC-1 及び PC-3 移植マウスにグレリンを 2 週間反復静脈内投与したところ、投与期間中の体重増加率の高値が認められたが、腫瘍体積や重量への影響は認められず、本実験条件下においてグレリンは腫瘍増殖に対して影響を及ぼさないことが明らかになった。

 γ -トコフェロールの PB/SV40 T antigen transgenic rat 前立腺発がんに対する抑制効果

○ 杉浦 諭、村崎敏也、高橋 智、唐 明希、朝元誠人、白井智之

(名市大・院・医・実験病態病理)

【目的】ビタミン E は計 8 種類あるトコフェロール類、トコトリエノール類の総称であり、穀類や植物油、肉類など多くの食品に含まれているほか、医薬品や食品添加物としても広く用いられている。その代表的な作用は抗酸化作用であり、他にも生体膜安定化などの作用が挙げられる。ビタミン E の腫瘍抑制効果については多くの研究がなされているが、多くは生物活性の最も強い α -トコフェロールに関するものである。 γ -トコフェロールについては前立腺癌細胞の増殖抑制作用や、疫学調査による血中濃度と前立腺癌リスクの逆相関などが報告されているが、実験動物モデルを用いた前立腺癌に対する作用は報告されていない。我々は前立腺発がんモデル動物である PB/SV40 T antigen transgenic (SV40T-Tg) rat を用いて γ -トコフェロールの前立腺発がんに対する抑制効果を検討した。【方法】5 週齢 SV40T-Tg rat (各群 10 匹) に被検物質である γ -トコフェロール (50, 100mg/kg diet) または α -トコフェロール (50mg/kg diet) を混じた飼料 (vitamin E free) を 10 週間投与した後屠殺剖検し、前立腺を中心に病理組織学的検索を行った。また比較対照群として vitamin E free 飼料投与群を設け同様に検索を行った。【結果】飼育期間中の体重は、何れの実験群においても有意な増加抑制は認められなかった。前立腺各葉および肝、腎、精巣の相対重量は、何れの投与群においても対照群に対する有意差は認められなかった。前立腺組織の病理組織学的検索の結果、各葉の腺癌発生率は腹葉および側葉では全群 100%、背葉においては 70% 以上であり、何れの部位においても群間に有意差は認められなかった。そこで画像解析装置を用い腹葉、側葉および背葉腺管上皮の増殖程度を定量的に解析した結果、 γ -トコフェロール投与群において腹葉および背葉で有意な用量相関性を示す抑制効果が認められた。現在、前立腺癌抑制のメカニズムについて解析中である。

P-73

Effect of Doxazosin on Epithelial Hyperplasia in Ventral Prostate of Spontaneously Hypertensive Rats (SHR)

○Azman Seeni, Satoru Takahashi, Mingxi Tang, Satoshi Sugiura and Tomoyuki Shirai.
(Dept. of Exp. Pathol. and Tumor Biol., Nagoya City Univ.)

The influence of hypertension on the development of epithelial hyperplasia in ventral prostate of Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) is not well known although the prostatic epithelial abnormality was improved by the administration of the α 1-adrenoceptor antagonist (Nakamura et al., 1992). Therefore, in this study we try to investigate the cause of this phenomenon by using the α 1-adrenoceptor antagonist, doxazosin. Six SHRs were used as the treated group which given oral doxazosin (32 mg/100ml) daily from 5 to 10 weeks of age. The untreated SHRs group and their normotensive counterparts, Wistar Kyoto (WKY) rats, were used as control. The ventral prostate was excised and weighed. The percent area of epithelium of ventral prostate were determined using Image Processor for Analytical Pathology (IPAP). Although, the systolic blood pressure of treated SHRs group was reduced significantly ($p < 0.01$) compare to control groups, but there was no significant differences of percent area of epithelium in ventral prostate among groups. Thus, this preliminary study showed that doxazosin exposure did not reduce the epithelial hyperplasia, but further investigation should be done, e.g. different age of rats as to conclude the influence of hypertension on the development of epithelial hyperplasia.

P-74

Epithelial-Stromal Tumor of the Seminal Vesicles in the Transgenic Adenocarcinoma Mouse Prostate (TRAMP) Model

○Yoshiro Tani,^{1,2} Andrew Suttie,³ Gordon P. Flake,¹ Abraham Nyska,¹ and Robert R. Maronpot¹
(¹LEP, NIEHS, ²Sankyo Co., Ltd., ³ILS, Inc.)

The TRAMP (transgenic adenocarcinoma mouse prostate) model, designed for researching human prostatic cancer, was genetically engineered to harbor a transgene composed of the simian virus 40 Large-T/small-t antigen promoted by the rat probasin gene. In addition to prostatic neoplasms, the TRAMP mouse develops tumors in the seminal vesicles. The present study was conducted to evaluate the pathology and histogenesis of TRAMP seminal vesicle neoplasms. Tissues of accessory sex organs harvested from 72 TRAMP mice of various ages (11–40 weeks of age) were fixed in neutral buffered formalin and stained with HE, desmin, 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU, treated animals only), and SV40 Large-T antigen (SV40-Tag). In the seminal vesicles we found neoplastic stromal cells that emerged multicentrically just beneath the epithelium, densely packed between the epithelium and the smooth muscle layer. These stromal cells frequently exhibited mitotic figures and showed BrdU incorporation and SV40-Tag protein expression in the nuclei and immunopositivity for desmin. Among twelve 40-week-old mice, two mice exhibited striate muscle differentiation in the mesenchymal neoplasms. The proliferative mesenchymal cells were lined by cuboidal to columnar epithelium. Some of the larger papillary, polypoid lesions exhibited a phyllodes pattern resembling that seen in mixed epithelial-stromal tumors of the breast, prostate, and seminal vesicles of humans. Although the epithelium was negative for SV40-Tag and showed only occasional incorporation of BrdU, it clearly participated in the biphasic proliferation, forming papillary, cystic, and tubuloglandular structures. No conclusive evidence of malignancy (invasion or metastasis) was identified. Our recommended diagnosis of this lesion in the seminal vesicles is epithelial-stromal tumor.

Crj:CD(SD)IGS 系及び F344/DuCrj 系ラットの加齢に伴う雌生殖器の形態学的変化の比較

○ 割田克彦、山口裕子、枝元 洋、松島圭太、青木明美、玉井幸子、工藤佳代子、岡崎修三、田村一利（（株）ボゾリサーチセンター）

【目的】近年開発された Crj:CD(SD)IGS 系（以下 IGS）ラットは、F344/DuCrj 系（以下 F344）ラットと共に安全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多くみられている。今回我々は、IGS ラットと F344 ラットの加齢に伴う雌性生殖器における形態学的変化について比較した。

【方法】動物は、我々の施設で背景データ収集のために実施した試験及び安全性試験の対照群に供された 10、19、32 及び 58 週齢の IGS 雌ラット 603 例及び 10、19 及び 32 週齢の F344 ラット 144 例を用いて、卵巣、子宮及び陰について検索した。

【結果】卵巣の萎縮性変化は、IGS ラットでは嚢胞形成及び黄体の著減/消失を特徴とし、その発現は 19 週齢より少数例にみられ、32 週齢で約 25%、58 週齢で約 50%に達し、その萎縮も明らかに増強された。一方、F344 ラットでは 19 週齢の約 70%の動物で間質腺がやや目立っていたが、IGS ラットにみられた嚢胞形成及び黄体の著減を示す動物はいずれの週齢においてもみられなかった。副生殖器に関しては、IGS ラットの上記卵巣萎縮例では、子宮内膜上皮の丈が比較的高く、陰に角化を伴わない厚い扁平上皮層がみられる傾向があり、卵巣異常との関連性が窺えた。しかし、卵巣の萎縮性変化が明らかでない個体においても、副生殖器の異常（性周期の同定困難）が 32 週齢から少数例にみられ、58 週齢ではほぼ全例にみられた。一方、F344 ラットでは間質腺の増加が高頻度に見られたものの、32 週齢の時点においても副生殖器に明らかな異常は殆どみられなかった。

【結論】雌生殖器において、IGS ラットでは萎縮性病変は 32 週齢より顕著となり、58 週齢ではさらに増強された。一方、F344 ラットではその傾向が伺えなかった。

化学物質あるいは卵巣摘出によるラット DMBA 乳癌の退縮に対するアポトーシスの関与-短期処置の影響-

○上田 誠、今井俊夫、蓮村麻衣、小野瀬淳一、太田世志雄、曹 永晩、広瀬雅雄
（国立医薬品食品衛生研究所 病理部）

抗癌剤をはじめ種々の化学物質の乳癌細胞に対するアポトーシス誘導が報告されているが、臨床あるいは動物モデルでの乳癌の増殖抑制にどの程度アポトーシスが関与しているかは明らかでない。これまで我々はラット 7,12-dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)誘発乳癌を用いて、tamoxifen、nimesulide などの化学物質あるいは卵巣摘出(OVX)による腫瘍の退縮過程について検索を行い、1 あるいは 3 週間投与ではアポトーシスの亢進よりも細胞増殖抑制が強く関与していることを報告してきた。今回、投与初期の影響を検討する目的で 1 日あるいは 3 日処置について検索した。(方法)7週令の SD 系雌ラットに DMBA を経口投与(10mg/rat/週×4)して乳腺腫瘍を誘発し、1 あるいは 3 週間投与で退縮が確認された用量である tamoxifen(1ppm)、5-FU(500ppm)、nimesulide(400ppm)、粉末めかぶ抽出物(1500ppm) 混餌投与および OVX、無処置の各群にわけ、それぞれ 1 あるいは 3 日間処置した。観察期間終了後、摘出した乳腺腫瘍の組織切片に対して TUNEL 法、PCNA、cyclin D1、estrogen 受容体(ER)α、bak、bcl-2 に対する免疫染色あるいは一部凍結材料を用いて western blotting を実施した。(結果)1 および 3 日処置群とも腫瘍体積の変化率に明らかな変化は見られなかった。1 日処置群では nimesulide 群で PCNA 陽性率の有意な低下が認められた。3 日処置群では tamoxifen、5-FU および OVX 群で PCNA 陽性率の有意な(p<0.05)低下が認められたほか、OVX 群では cyclin D1 陽性率の有意な(p<0.05)低下が認められた。bak および ERα の発現状況に明らかな差は認められず、bcl-2 はいずれの群の腫瘍でも検出することができなかった。bak および cyclin D1 の蛋白発現量については腫瘍間のばらつきが大きく、各処置による影響は明らかでなかった。(まとめ)本モデルにおける各種発癌抑制物質ならびに OVX による癌の増殖抑制については、アポトーシスよりも細胞増殖抑制が強く関与していることが示唆され、特に OVX 処置群については cyclinD1 の発現低下が大きく関与している可能性が示された。

P-77

新生仔期2週間DES投与ラットにおけるDMBAによる乳癌誘発への影響

○川口博明¹、川島英夫、早田正和、船戸護、堀隆夫、吉川剛、吉田浩己
(鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍病態学)

【目的】 強力なエストロゲン作用を有する diethylstilbestrol (DES) を新生仔期に2週間投与した雌ラットにおいて7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) による乳癌誘発への影響を検討した。

【材料と方法】 新生仔期(生後0-14日、0-5日、6-14日間)にDES(0、1、10 μ g)を連日皮下投与した雌SDラットに、DMBA、10mgを1回(生後50日目)経口投与し、触診による長期観察を行った。

【結果】

- DESを投与したラットは全例投与直後より膣が開口し持続的発情に陥り、黄体無形成となった。
- 乳癌の発生は新生仔期無処置対照群に比し、DES投与群で著明に抑制されたが、生後6-14日間の1および10 μ g投与2群では、約300日齢以降、新生仔期無処置対照群の発生率と同じになった。
- 乳腺症の発生は新生仔期無処置対照群に比し、生後0-5日間の1 μ g投与、6-14日間の1および10 μ g投与3群では促進され、生後0-14日間の1、10 μ g投与および生後0-5日間の10 μ g投与3群では抑制された。
- 乳腺において生後6-14日間の1および10 μ g投与2群では乳汁産生が顕著にみられたが、生後0-14日、0-5日間の1および10 μ g投与4群ではほとんどみられず、アポクリン化生が認められた。

【まとめ】 新生仔期DES投与により容易に性腺刺激機構を障害し、乳癌及び乳腺症の発生に影響を与えることが明らかとなった。新生仔期DESの投与期間により惹起される内分泌かく乱状態が異なり、その結果、乳腺病変の発生に違いが生じることが示唆された。

P-78

新生仔期エストロゲン単回投与雌ラットにおけるDMBA誘発乳癌実験

○船戸護^{1,2}、川口博明¹、堀隆夫^{1,2}、吉川剛^{1,2}、川島英夫¹、早田正和¹、宮脇宏彰²、永田良一²、吉田浩己¹ (¹鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍病態学、²(株)新日本科学)

【目的】

新生仔期に17 β -estradiol (E₂)を1回投与した雌ラットにおける7,12-dimethyl[a]anthracene (DMBA)誘発乳癌への影響を検討した。

【材料と方法】

生後24時間以内の雌SDラットへE₂(0、0.1、1、10、100、1000 μ g)を皮下投与し、生後50日目にDMBA(10mg)を1回経口投与し、触診による乳癌発生を長期観察した。

【結果】

- 黄体は新生仔期無処置対照群で全例に認められたが、0.1、1、10および100 μ g投与群では、それぞれ79%、80%、74%および55%にしか認められず、1000 μ gにおいては全例に認められなかった。
- 対照群と比較して1000 μ g投与群の卵巢重量には有意な低値が認められた。
- 乳癌の発生率および発生個数はE₂の1000 μ g投与群で著明に減少した。
- 黄体形成のあるラットにおける乳癌の発生は0.1、1、100 μ g投与3群では新生仔期無処置対照群との有意な変化はみられなかったが、10 μ g投与群の乳癌の発生個数において有意な増加がみられた。
- 黄体無形成のラットにおける乳癌の発生は0.1、1、10、100 μ g投与4群に比し、1000 μ g投与群の発生率および発生個数において著明な減少を認めた。

【まとめ】

DMBA誘発乳癌の発生は新生仔期におけるE₂の投与量により影響を受ける。新生仔期E₂による性腺刺激機構の障害による内分泌の異常とE₂の乳腺への直接作用によることが示唆される。

新生仔期 DES 単回投与雌ラットにおける性周期及び乳腺発達への影響

○早田正和, 川口博明, 川島英夫, 吉田浩己
(鹿大大学院医歯学総合研究科・腫瘍病態学)

【目的】新生仔期内分泌攪乱物質の雌SDラットにおける性周期及び性成熟期乳腺への影響を検討した。

【材料と方法】雌SDラットへ生後24時間以内に種々のdiethylstilbestrol (DES: 0, 1 μ g, 100 μ g)を皮下投与し、腔開口及び性周期を観察した。また、生後21日, 35日, 50日目に解剖し、ラット腹部乳腺のwhole mount標本及びER, ki67の免疫染色標本を作製し病理組織学的検索を行った。

【結果】1) DES大量100 μ g投与群では、生後約3日目より腔開口が見られ、全てのラットで性周期の乱れが観察された。2) 生後21日, 35日, 50日目のラット腹部乳腺においてTEB数, TEB内のki67及びER陽性細胞数は、DES少量1 μ g投与群でDES無処置対照群及び大量投与群に比べ、比較的増加傾向にあった。3) 生後50日目のラット乳腺ではwhole mount標本より、腹部乳腺の占める面積を検索したところ、DES大量100 μ g投与群が小さく、逆にDES少量1 μ g投与群では乳腺がより発達し大きくなる傾向を示した。

【まとめ】新生仔期のDESは投与量によりラットの性周期及び乳腺の性成熟期の初期段階より乳腺の発生及び進展に強く影響を及ぼすことが示唆された。

セイヨウワサビ抽出物のF344ラットにおける13週間反復経口投与による膀胱毒性

○蓮村 麻衣・今井 俊夫・上田 誠・太田 世志雄・曹 永晩・広瀬 雅雄 (国立衛研・病理)

【はじめに】セイヨウワサビ抽出物(HRE)は食品添加物(酸化防止剤、製造用剤)として使用されている。その主成分(約85%)であるアリルイソチオシアネート(AITC)の毒性については発がん性を含め種々の報告がみられるが、HREについてはその詳細は明らかではない。今回F344ラットを用いてHREの13週間反復経口投与毒性試験を行い、AITCの毒性と比較した。

【方法】F344ラット雌雄各群10匹にHREを0(対照)、0.0125、0.025及び0.05%、AITCを0.0425%濃度で飲水投与した。投与期間中は体重、飲水及び摂餌量を測定し、終了後はエーテル麻酔下で開腹して採血後、血液及び血清生化学検査を行い、剖検時には主要臓器の臓器重量を測定し、常法に従って組織標本を作製、膀胱について病理組織学的検索を行った。

【結果】雄のHRE-0.05%、AITC群で有意な($p<0.01$)体重増加抑制が認められ、飲水及び摂餌量については雌雄共に対照群に比べ用量に依存して減少した。血液検査では著明な変化はみられなかったが、血清生化学検査において雄の0.025%以上、雌の0.0125%以上の投与群で用量に依存してBUNが有意に($p<0.01$)高値を示し、相対腎重量が雌雄の0.025%以上で有意に($p<0.01$)増加した。AITC群においても雌雄共にBUNが有意に($p<0.01$)高値を示し、雌の相対腎重量が有意に($p<0.05$)増加した。膀胱の病理組織学的検索では、雌雄全投与群において単純性過形成(雄:0.0125%-2/10, 0.025%-3/10, 0.05%-10/10, AITC-10/10, 雌:1/10, 6/10, 10/10, 10/10)が認められ、雌雄のHRE-0.05%群及びAITC群では更に乳頭状/結節性過形成(雄:0.05%-4/10, AITC-4/10, 雌:2/10, 4/10)がみられた。

【結論】HREの13週間反復経口投与によりAITCと同様の膀胱に対する毒性が同程度にみられた。さらに血清生化学検査及び臓器重量データよりHRE及びAITC投与による腎臓への影響が示されたが、腎臓を含め他の臓器の病理組織学的変化については現在検索を行っている。

P-81

Recommendations for the Interpretation of Renal Tubule Proliferative Lesions in F344 Rats with Advanced Chronic Progressive Nephropathy (CPN)

John Curtis Seely¹ and Gordon C. Hard²

¹Experimental Pathology Laboratories, Inc., Research Triangle Park, NC

²Consultant, National Toxicology Program Archives, Research Triangle Park, NC

It is accepted that, in the rodent kidney, tubule profiles with a complex hyperplastic lining, "Atypical Tubule Hyperplasia" (ATH), represent a preneoplastic lesion in the biological continuum that may lead to adenoma and, subsequently, carcinoma development. Chronic Progressive Nephropathy (CPN) is a spontaneous disease of the rat kidney characterized by a spectrum of tubule, glomerular, and interstitial histologic lesions. Advanced CPN may contain many tubule profiles of an apparently proliferative nature that can be a dilemma for diagnosis and interpretation. These tubule profiles may represent tangential sections; tubule cell hypertrophy; intratubular cell clusters; dilated altered tubules; cystic altered tubules and solid tubule profiles. This presentation will describe these different tubule profiles comparing them with unequivocal foci of ATH, and incipient adenomas. Our recommendations are based on the examination of large numbers of kidneys with advanced CPN, characterizing these lesions with a marker of cell proliferation, and serial sectioning of selected examples for tracing tubule profile development. As a result, we have attempted to define criteria that we hope will assist in the interpretation of various tubule profiles encountered in CPN.

P-82

Cisplatin-induced Renal Interstitial Fibrosis in Neonatal Rats, Developing as Solitary Nephron Unit Lesions

○Jyoji Yamate¹, Yuuko Machida¹, Mika Ide¹, Mitsuru Kuwamura¹, Takao Kotani¹, Osamu Sawamoto,² and Jonathan LaMarre³
(¹Osaka Prefecture Univ., ²Otsuka Pharm. Fact, ³Univ. Guelph)

Cisplatin (CDDP)-induced renal lesions in rats prove a useful model for analysis of the pathogenesis of post-tubular injury-renal interstitial fibrosis. This study investigated the histopathological changes in 10-day-old neonatal rats induced by a single injection of CDDP (4.5 mg/kg). Compared with age-matched controls, on post-injection (PI) days 1 to 6, the number of apoptotic cells, demonstrable with TUNEL method, was significantly increased in CDDP-treated neonates, and there was no marked epithelial necrosis nor fibrotic lesions. Fibrotic lesions began to be developed solitarily around some nephrons with dilated ducts in the corticomedullary junction on PI day 10 and the lesions became more prominent until PI day 20. Alpha-smooth muscle actin-positive myofibroblastic cells were seen exclusively in the fibrotic lesions. Additionally, the numbers of macrophages reacting with ED1 (specific for exudate macrophages), ED2 (for resident macrophages), and OX6 (recognizing MHC class II antigens expressed in antigen-presenting macrophages/dendritic cells) were significantly increased around the affected renal tubules. A greater immunoreaction for TGF- β 1 was seen mostly in the renal epithelial cells of CDDP-treated neonates. These findings indicated that macrophage populations and myofibroblastic cells as well as TGF- β 1 may be responsible for the production of neonatal renal interstitial fibrosis. Compared with CDDP-injected adult rats that develop extensive interstitial fibrosis (Yamate *et al.*, *J Comp Pathol*, 1995), the formation of fibrotic lesions was delayed, and the lesions were limited to the area around the affected nephrons; this could be attributable to differences in renal morphology between neonates and mature kidney of adult rats.

ISH 染色による腎線維化病態の解析

○石井愛子、中村厚（大正製薬株式会社 動物病態研究室 病理解析グループ）

【目的】尿細管障害および間質線維化は慢性腎不全および糖尿病性腎症の進展に重要な役割を演じている。本研究ではラット腎線維化モデルを作製し、腎障害に関連する既知遺伝子群発現様式を ISH 染色にて解析し腎線維化病態との関連性について検討した。【方法】ウイスターラット(♂8週令)を用いて以下の処理により腎線維化を誘発した。①麻酔下にて片側尿管を結紮(UUO)、②bromoethylamine 投与(BEA)後、経時的に剖検し、10%ホルマリン固定パラフィン切片を作製した。また、腎からの RNA 精製のために新鮮組織を RNA Later (Ambion)処理後、RNAeasy (Qiagen)にて精製した。Collagen type III, Osteopontin, Clusterin は自動染色ロボット(Ventana)を用いて ISH 染色および免疫染色を行った。Real-Time RT-PCR 解析では精製した RNA を Superscript II (Invitrogen) により sscDNA を合成し、精製後定量サンプルを使用した。また、ISH 染色用遺伝子プローブはラット腎 sscDNA サンプルから Collagen, Osteopontin, Clusterin 遺伝子を PCR にて増幅後、T ベクター(Novagen)にクローニングし、T7 RNA Polymerase により Dig 標識 RNA プローブ (Antisense, Sense) を調整した。【結果】①UUO 処理群および BEA 投与群では経時的に Collagen Type III Antisense RNA プローブ陽性の腎間質線維化が進展していた。また、尿細管においても Osteopontin 遺伝子発現亢進が認められた。これら病理所見は Real-Time RT-PCR 解析結果でも同様な傾向を示した。しかし、Clusterin 遺伝子の発現は UUO 処理後6時間の早期から発現亢進が ISH 染色にて尿細管上皮細胞に確認された。免疫染色では主に尿細管腔内に強陽性の反応は認められたが、細胞質におけるシグナルは微弱であった。Clusterin KO マウスに腎障害が生じる事実より本遺伝子は腎障害が生じた際に発現が尿細管上皮細胞で亢進し腎障害を抑制する機能を有する可能性が示唆され、合成蛋白質は急速に尿中へ排泄されるメカニズムが想定された。【結論】ラット腎障害時の尿細管上皮細胞での Clusterin 遺伝子発現亢進は腎毒性バイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。

ラット抗 Thy-1 腎炎モデルにおける CDC 誘発に関わる因子の病理組織学的検討

○加藤千恵、加藤淳彦、照屋志乃、高居宏武、渡邊 剛、鈴木雅実、杉本哲朗（中外製薬・安全研）

【目的】ラット抗 Thy-1 腎炎モデルは、抗 Thy-1 抗体投与により惹起される CDC (complement dependent cytotoxicity) を病変の発端とする増殖性糸球体腎炎のモデルである。一般的に、CDC 制御機構として①抗原密度、エピトープの存在部位 ②抗体の分布 ③抗体の親和性 ④細胞膜補体制御因子 ⑤液性補体制御因子 ⑥膜侵襲複合体の endocytosis や exocytosis などが知られているが、本モデルでの CDC 制御機構には不明な点が多い。そこで今回、ラット抗 Thy-1 腎炎モデルでの CDC 制御機構の解明を目的として、病変分布と抗原分布、抗体分布および補体沈着とを比較を検討した。【材料と方法】動物は 7 週齢の雄 Wistar 系ラットを用いた。[Thy-1 抗原の全身分布] 無処置群の全身諸臓器について抗ラット Thy-1 マウス抗体を用い免疫組織化学的染色 (IHC) を行った。[モデル動物での検討] 抗ラット Thy-1 マウス抗体を 1mg/kg 尾静脈内投与後、1、3、8、24 時間に剖検し、経時的に観察した。観察臓器は無処置群の抗原分布臓器とし、HE 染色に加え、投与抗体の分布を検出するための抗マウス抗体を用いた IHC、および補体の沈着を検出するための抗 C3 抗体による IHC を施した。【結果】Thy-1 抗原は腎臓メサンギウム細胞、血管およびリンパ管内皮細胞を含む間葉系、神経系、胸腺皮質のリンパ球など全身諸臓器に広く分布した。抗 Thy-1 腎炎モデルでは、投与抗体が投与後 1 時間より、腎臓メサンギウム領域、血管およびリンパ管内皮細胞、一部の神経系組織およびリンパ球に分布し、C3 の沈着は腎臓メサンギウム領域、血管内皮細胞にのみ認められた。組織学的に投与後 1 時間より、腎臓において、細胞崩壊物やメサンギウム細胞の減少などメサンギオライシスが認められた。腎臓メサンギウム細胞以外の抗原分布臓器には投与後 24 時間まで CDC を示す病変は認められなかった。【考察】Thy-1 抗原は全身に広く分布しているにもかかわらず、抗 Thy-1 抗体投与による CDC 誘発性病変は腎臓メサンギウム細胞のみに認められた。抗原が発現し、CDC 病変のみ認められなかった臓器には、1) 抗 Thy-1 抗体の分布しない臓器、2) 抗体のみ分布する臓器、3) 抗体の分布と C3 の沈着がみられる臓器がそれぞれ存在し、本モデルにおいては少なくとも投与抗体の分布、C3 沈着および C3 沈着以降の CDC 発現の各段階において CDC の誘発が制御されているものと考えられた。なお、現在、補体制御因子の解析を進めており、その関与についても考察する予定である。

半月体形成を伴った抗 Thy-1 腎炎モデルの特徴

○張 連珊¹、中川清詞¹、松田章孝¹、武井由弘¹、板垣伊織²、山本正敏¹、渡辺満利¹(¹イナリサーチ, ²INA RESEARCH PHILIPPINES)

[目的] 抗 Thy-1 腎炎は抗ラット胸腺細胞抗血清 (ATS) または抗ラット Thy-1 モノクローナル抗体をラットに 1 回静脈内投与すると誘発されるメサンギウム増殖性腎炎のモデルである。今回、我々は力価の高い ATS を用いて Thy-1 腎炎の傷害像を検討したところ、半月体形成を伴う強い糸球体変化を認めた。その病理組織学的特徴について、これまでの標準タイプ (Classic 抗 Thy-1 腎炎) の腎炎モデルと比較して報告する。

[方法および結果] 6 週齢の SPF 雄 Crj:Wistar ラットに 0.3~0.5mL/100gB.W. の ATS を尾静脈から 1 回投与 (実験 1 日) し、その後の尿中蛋白排泄量の推移を調べ、腎組織を採取して病理組織学的検査に供した。Classic 抗 Thy-1 腎炎では尿蛋白は実験 2 日にピーク (129±39 mg/day) となった後、12 日までにほぼ正常レベルに減少した。病変の増殖期を過ぎた実験 14 日における組織検査では、メサンギウム細胞の増殖と基質の増加が Segmental な変化として残存していた。一方、今回誘発した ATS モデルでは、実験 2 日に尿蛋白のピーク (209±79 mg/day) を示し、実験 3~7 日においても平均値で約 180 mg/day の蛋白尿を維持した。実験 14 日における組織検査ではメサンギウム細胞の増殖と基質の増加が顕著であり、糸球体上皮細胞の肥大と係蹄構造の一部破壊とともに半月体形成が認められた。また、全例に尿細管の萎縮・拡張、間質への炎症性細胞浸潤も認められた。

[結論] 今回作製した ATS では Classic 抗 Thy-1 腎炎とは異なる管外性病変が誘発された。抗 Thy-1 腎炎での半月体形成の報告はほとんどないが、今回誘発したモデルではメサンギウム増殖性病変のみならず糸球体上皮細胞や糸球体基底膜の傷害が管外性病変の形成に関与していると考えられた。

アカネ色素のラット腎および肝に対する発がん性について

○井上 薫、渋谷 淳、高木広憲、榎富直哉、豊田和弘、李 京烈、広瀬雅雄 (国立衛研・病理部)

アカネ色素は、セイウアカネの根から抽出されるアントラキノン系色素で、lucidin-3-O-primeveroside, alizarin, ruberythric acid 等から構成されている。本色素は、本邦で食品添加物として畜産加工品、菓子類等の着色に用いられてきた。本色素やその成分の一種 lucidin は、各種変異原性試験で陽性を示すことが既に報告されている。発がん性に関しては、ラットを用いた 780 日間反復投与により腎臓、肝臓の腫瘍の増加傾向が報告されているが、動物数、検索項目等の点で不十分な点が多いため、今回、本色素の慢性毒性・発がん性併合試験を実施した。[材料と方法] 動物は 5 週齢の F344 ラットを用い、慢性毒性試験では雌雄各 10 匹に各々 0, 0.2, 1.0, 5.0%、発がん性試験では雌雄各 50 匹に各々 0, 2.5, 5.0% の割合で本色素を混入した粉末飼料をそれぞれ 53 週あるいは 104 週間自由摂取させた。剖検では全身臓器を採取したが、今回は腎臓と肝臓の病理組織学的所見について報告する。[結果] 慢性毒性試験では、腎臓において、雌雄の 1.0% 以上の群で近位尿細管上皮の空胞変性、雌雄の 5.0% 投与群で髄質外帯の近位尿細管上皮の核の大小不同が、各々 100% の発生頻度で認められた。また、雌雄の髄質外帯に異型尿細管が出現し、雄では 1.0%、5.0% 群でそれぞれ 20%、90%、雌では 5.0% 群の 50% に認められた。さらに雄の 5.0% 群の 1 例に腎細胞腺腫が認められた。肝臓における GST-P 陽性細胞巢は、雄では単位面積当りの個数、面積は用量依存的に増加し、5.0% 群で有意であったが、雌では対照群との間に差はみられなかった。発がん性試験では、腎臓において、慢性毒性試験と同様の尿細管上皮の核の大小不同、異型尿細管が雌雄ともに投与群すべての個体に認められ、雌雄における腎細胞腺腫+がんの発生頻度は、いずれも用量依存的かつ有意に増加し、5.0% 群の雄で 86%、雌で 31% に達した。肝臓においても、肝細胞腺腫+がんの発生頻度が、雌雄ともに用量依存的に増加し、5.0% 群では雄で 22%、雌で 12.5% と有意差が認められた。[まとめ] 今回の試験により、アカネ色素が雌雄ラットの腎尿細管および肝細胞に対し明らかに発がん性を有することが示された。

ビーグル犬の腎臓における中腎管由来が疑われた adenoma

○高橋牧子、池田亜紀子、金子吉史、末吉純久、岩崎省吾、棚瀬裕文、佐藤裕和、益本吉廣
(杏林製薬株式会社)

【はじめに】

今回、ビーグル犬の腎臓において中腎管由来が疑われた adenoma と診断した 1 例を報告する。

【症例】22 ヶ月齢の雌ビーグル犬、反復投与と毒性試験における回復群の 1 例。試験期間中および剖検時の一般状態、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。

【結果および考察】肉眼的に左腎臓の腎門部近くに陥凹した 2×3mm 大の白色巣が認められ、断面では皮質表層から皮髄境界部の深部にまで達していた。病理組織学的検索では、病変部と正常部の境界は比較的明瞭であり、周囲の既存組織（尿細管、糸球体）の圧排像が認められた。病巣は、多数の管腔構造と間葉系細胞の増生を伴う高度の線維化から構成されていた。管腔を内張りする一層から多層の上皮細胞は、線毛を有し、腺腔内には好酸性から両染色性の分泌物（AZAN 及び Alcian blue (pH2.5)陽性）が貯留していた。免疫組織学的に、上皮系細胞は proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 強陽性、cytokeratin 及び vimentin 陽性、estrogen receptor 陰性及び間葉系細胞は PCNA 弱陽性ないし時に強陽性、vimentin 陽性を示した。なお本病巣内に blastemal cell の増生や原始糸球体構造は認められなかった。

以上の所見から、本症例を中腎管由来が疑われた adenoma と診断した。ラットの nephroblastoma (mesenchymal type)において、しばしば円柱線毛上皮や多列線毛上皮が認められ、由来としては中腎管ないし後腎管由来が示唆されている。本例は、イヌにおいてラットで報告される線毛を有する管腔構造が認められ、かつ腎芽細胞の増生や糸球体原基は認められなかった。我々の知る限りイヌにおいてこのような報告はなく、中腎管様の線毛を有する管腔構造のみが増生する稀な症例であると思われた。

STZ 投与 Göttingen 系ミニブタにみられた腎臓腫瘍

○福岡結美¹ 藤井悦子¹ 唐澤弥生¹ 荒川仁² 渡邊利彦² 北村英和² 小田康弘² 三好昌夫¹
伊藤恒夫² 鈴木雅実¹ 杉本哲朗¹

(1:中外製薬株式会社・安全性研究部 2:中外医科学研究所・薬理病態研究センター)

動物における腎臓原発性腫瘍の発生は一般的に少ない。ブタでも発生率は低く、尿細管由来腫瘍の報告は極めて少ない。また、ミニブタにおける腎臓腫瘍の報告は無い。今回、Streptozotocin(STZ)単回投与後、長期間飼育したミニブタに腎臓尿細管由来腫瘍がみられたので報告する。

動物は5週齢、雄のGöttingen系ミニブタを使用し、4例にSTZ300mg/kgを、2例に溶媒対照として生理食塩水を単回頸静脈内投与した。動物は投与後5年間維持した後、安楽殺し、剖検に供した。肉眼的観察後、全例の腎臓を20%中性緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン標本を作製して病理組織学的に検索した。なお、STZ投与群4例は持続的に高血糖であった(剖検直前の血糖値: 123~255mg/dl)。

STZ投与動物2/4例に腎臓腫瘍がみられた。1例(症例No.1)は、肉眼的に右腎表面に径7~8mmの結節が1個認められ、組織学的に腫瘍は皮質に主座していた。腫瘍内では異型細胞の胞巣状の増殖が充実にみられ、一部では尿細管様の管腔状構造が認められた。異型細胞は弱好塩基性の顆粒または泡沫を含む類円形から多角形の細胞質を有し、核は類円形で淡明、核仁は明瞭であった。分裂像は多数みられ、周囲組織への浸潤も認められた。また、腫瘍内には壊死巣、出血巣も認められた。他の1例(症例No.2)では、肉眼的に両側腎表面に径1~3mmの黄白色巣が散発的に観察された。数箇所の病巣を組織学的に検索した結果、いずれの部位でも皮質に嚢胞状構造が認められ、嚢胞内には円柱状の豊かな細胞質を有する単層上皮の乳頭状増殖がみられた。多くの腫瘍は周囲組織との境界が明瞭であったが、一部の腫瘍に結合組織の増生と浸潤を示唆する像がみられた。なお、両症例ともに、他臓器に腫瘍は認められなかった。対照群2例ならびに他のSTZ投与群2例に腎臓腫瘍はみられなかった。

症例No.1、No.2ともに、腫瘍が皮質に存在し、腫瘍細胞の増殖形態に尿細管の特徴がみられることから尿細管由来の腫瘍と判断した。浸潤像の有無、細胞の異型度から症例No.1をrenal cell carcinomaと診断した。症例No.2はrenal cell adenomaの特徴を示したが、一部に悪性を示唆する像もみられたことより検索を継続中である。尿細管由来腫瘍の自然発生は稀であるが、薬物誘発性としてSTZ単回投与後長期間維持ラットおよびマウスで、renal cell adenoma/carcinomaが高頻度で発生することが報告されている。今回の検索において、腫瘍発生率が2/4例と高いことからSTZ投与が腫瘍発生に関連しているものと推察される。

チェルノブイリ原発事故後の膀胱炎及び膀胱上皮内がんにおける遺伝子変異の検索

萩原 淳司、森村 圭一朗、木下 アンナ、魏 民、鰐淵 英機、福島 昭治
(大阪市立大学・院・医・都市環境病理)

【目的】チェルノブイリ原発事故後、ウクライナ地方の汚染地域では膀胱がんの発生頻度が上昇している。また、この汚染地域住民の膀胱には、尿中に排泄される Cs137 への長期低濃度放射線暴露によると思われる慢性非典型的増殖性膀胱炎や上皮内がんが高率に認められる。今回、この特殊な背景を持つ膀胱炎及び膀胱がんの発生機序を免疫組織学的及び分子生物学的手法を用いて検索した。

【方法】汚染地域及び非汚染地域に住む、膀胱炎症状のない前立腺肥大の患者(第1群及び第2群)に対し、膀胱上皮のランダム生検を施行し、FGFR3 (fibroblast growth factor receptor 3)、EGFR1 (epidermal growth factor receptor 1)、Raf-1 について免疫染色と PCR-SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism)を施行した。

【結果】FGFR3、EGFR1、Raf-1 の発現は第1群と第2群とで有意な差を認めた。また、第1群では FGFR3 に mutation を認めた。

【考察】Raf-1の活性化を伴うFGFR及びEGFRシグナル伝達経路は汚染地域における膀胱病変発生に関与すると考えられる。

Effects of Co-administration of Antioxidants and Arsenicals on the Rat Urinary Bladder Epithelium

○ Min Wei (Osaka City University Medical School),
Lora Arnold, Martin Cano, Samuel M. Cohen (Nebraska Medical Center)

Oxidative stress has been increasingly recognized as a possible mechanism in the toxicity and carcinogenicity of arsenic. Therefore, treatment with antioxidants may afford a protective effect against arsenic-induced cytotoxicity and carcinogenesis. The purpose of the present study was to evaluate the effects of co-administration of antioxidants with arsenicals on the rat urinary bladder epithelium in vitro and in vivo. In vitro, melatonin showed slight inhibition of the cytotoxicity of arsenite, but had no effect on the other arsenicals. N-acetylcysteine (NAC) inhibited the cytotoxicity of monomethylarsonous acid (MMA^{III}), dimethylarsinic acid (DMA^V), dimethylarsinous acid (DMA^{III}), and trimethylarsine oxide (TMAO). Vitamin C inhibited cytotoxicity induced by arsenate, arsenite, MMA^{III} and DMA^{III}. Tiron and Trolox had no effect on the cytotoxicity of any arsenical. The in vitro inhibitory effects of NAC and vitamin C on DMA^V and on DMA^{III}, suggested that these antioxidants might afford preventive effects on DMA^V-induced bladder cytotoxicity and carcinogenicity in rats. To test this hypothesis, a 10-week rat bioassay was conducted. The sodium salt of vitamin C (Na-Asc), but not melatonin or NAC, inhibited the proliferative effects of DMA^V on the bladder epithelium in rats. These results suggest that oxidative stress is at least in part involved in DMA^V-induced rat bladder toxicity and proliferation, and therefore, vitamin C may afford inhibitory effects in DMA^V-induced bladder carcinogenesis in rats.

免疫組織化学における加熱処理抗原性賦活化メカニズムについて:

ヒト乳腺腫瘍細胞 MCF-7 を用いた検討

○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・基盤診療学系病理診断学, ²日本たばこ・安全研)

加熱処理による抗原性賦活化(AR)は、免疫組織化学(IHC)でよく用いられる方法である。ARのメカニズムは、ホルマリン固定による抗原性のmasking、すなわち抗原蛋白の架橋により形成された立体構造障害が加熱により変性/分解されるためと考えられているが、その詳細は明らかではない。先に我々はDot-blot法を用いた解析により加熱処理が分子構造自体のもつmaskingを除去し、ARが起こる可能性を示した。しかし、これらはラット組織を用いた解析であるため、人体組織についての検索は行っていない。そこで、今回ヒト乳腺腫瘍細胞MCF-7を用い、外科病理学の分野でよく用いられる抗体2種(抗Ki-67抗体MIB-1, 抗p53抗体DO-7)について同様の解析を行った。【方法】1) MCF-7: 5%牛胎児血清添加ダルベッコ改変イーグル培地を用い、37°C、5%CO₂の条件下で継代培養を行い、実験に用いた。2) Dot-blot法: MCF-7細胞抽出蛋白を段階希釈し、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NCMに加熱処理(microwave照射, 98°C, 15分)し、抗Ki-67抗体MIB-1及び抗p53抗体DO-7(ともにDAKO社)を用いて間接法にて抗原を検出し、検出感度を比較した。また、抗原を吸着させたNCMをホルマリン固定し同様の検索を行った。3) IHC: 培養細胞を未固定のまま、あるいは30分間ホルマリン固定し、同様に加熱処理を行い、各抗原を検出し(SAB法, ニチレイヒストファイン)、その程度を比較した。【結果】Dot-blot法では、蛋白を吸着させたNCMを無固定まま加熱すると検出感度が増加した。しかし、同様のNCMを固定しても検出感度は減弱しなかった。IHCでは、無固定でも加熱により抗原が検出されたが、非加熱では抗原はほとんど検出されなかった。【考察】今回の結果から、ヒトKi-67およびp53においても、ラットと同様に加熱処理が分子構造自体のもつmaskingを除去しARが起こる可能性を示した。

メタカーン固定パラフィン包埋組織の固定・脱水及び保存条件の検討

○渋谷 淳, 李 京烈, 井上 薫, 黒岩敬子, 広瀬雅雄 (国立衛研・病理部)

我々は既に、マイクロダイセクション・サンプルでの分子生物学的解析に、メタカーン固定法の利用により、パラフィン包埋切片が未固定凍結切片に比肩するパフォーマンスを有することを報告した。本研究では、mRNAと蛋白質の発現解析における固定・脱水時間と包埋後の組織保存の影響を検討した。【方法】組織材料はphenobarbital 80 mg/kgを3日間、腹腔内投与したラットの肝臓を用い、メタカーン固定(4°C)、エタノール脱水(4°C)、パラフィン包埋し、10 µm厚切片を作製した。脱パラフィン後total RNAあるいは蛋白質を抽出し、real-time RT-PCR (GAPDH, CYP2B1)及びWestern blotting(β-actin, PCNA, EGFR)で発現解析を行った。固定・脱水時間の検討として、固定を2, 5時間ないし一晩行った後に脱水を一晩行った場合と、2時間固定後に脱水を1週間行った場合を設定した。包埋組織の保存期間とその温度の影響に関しては、4°Cで1か月、4°Cと室温で3ないし12か月保存した材料を解析した。【結果】total RNAのintegrityをBioanalyzerによる28S/18S ribosomal RNAの量比として解析したところ、固定・脱水時間による明らかな影響はなかった。ブロックの保存条件に関しては、4°Cで12か月間保存しても量比に明らかな影響はなかったが、室温では12か月目で量比を測定できずintegrityが明らかに低下した。mRNAの発現量には固定時間による影響はなかったが、脱水期間が長いとGAPDH量が若干低下した。保存条件に関しては、室温の12か月保存でGAPDH量が若干低下するのみであった。蛋白質に関しては、泳動ゲルのクーマジー染色でpolypeptide bandのintegrityに固定・脱水時間の明らかな影響はなかったが、保存条件では、室温の12か月保存で広い分子量域のbandの染色強度が明らかに低下した。蛋白質シグナルも同様に固定・脱水時間の明らかな影響はなかったが、保存条件に関しては、室温では3か月以上で発現強度の低下する蛋白質が見られ、4°Cでは12か月で同様の傾向が見られた。【まとめ】mRNAと蛋白質の発現解析に固定・脱水時間の影響は少なく、脱水過程で組織の保存が可能であり、包埋後の長期保存の場合は4°Cでの保存が推奨された。

遺伝子発現解析のための RNA サンプル及び組織の保存安定性の検討

住田佳代¹、斎藤幸一¹、大江田憲治¹、大塚雅則²、辻村和也²、宮浦英樹²、関島勝³、中山光二³、河野友紀子³、河上祐紀³、朝元誠人⁴、白井智之⁴

1 住友化学株式会社 生物環境科学研究所、2 財団法人 化学物質評価研究機構、
3 株式会社 三菱化学安全科学研究所、4 名古屋市立大学 大学院医学研究科 病態病理学

トキシコゲノミクスの手法を用いることにより、比較的短期間で遺伝子の発現量変化から化学物質の発がん性を予測することが期待されている。現在、F344 ラットを用いた肝臓における発がん性を予測する新規な手法を開発することを目的として、NEDO トキシコゲノミクスプロジェクトが進行中である。遺伝子発現解析において、解析に用いる RNA サンプルや組織の品質は得られる結果に大きく影響すると考えられる。そこで、我々は、RNA サンプル及び組織の保存安定性を検討したので報告する。

RNA サンプルは-80°Cで、組織（肝臓）はRNAlater (RNA stabilization solution, Ambion) 中に浸漬して-20°Cで、8ヶ月、1.5年、2.5年間凍結保存した。凍結保存した RNA 及び組織から再抽出した RNA を 2100 バイオアナライザー (Agilent Technologies) に供し、RNA の分解の有無を確認したところ、いずれのサンプルも分解は認められなかった。次いで、これらの RNA サンプルを GeneChip システム (RGU34A, Affymetrix) に供して、各遺伝子の発現量を測定し、それぞれのデータを保存前の初期データと比較解析した。その結果、保存前後のデータ間で 2 倍以上の増減が認められたプローブ数は、チップに搭載されているプローブ全体のわずか 3.3%であり、ほとんどのプローブで変動なしとなった。すなわち、2.5 年間の保存前後においても遺伝子の発現量データに著しい変化は認められなかった。

以上の結果から、遺伝子発現解析において、適切な条件下で保存された RNA サンプルあるいは組織を用いることが可能であることが示唆された。

本研究はNEDO(新エネルギー・産業技術総合開発機構)の「高精度・簡易有害性(ハザード)評価システム開発」プロジェクトによるものです。

p27^{kip1} 欠損マウスの N-methyl-N-nitrosourea 飲水投与による腫瘍発生

○小川久美子、村崎敏也、杉浦諭、小木曾正、朝元誠人、白井智之
(名市大・院・医・実験病態病理)

p27^{kip1}はcyclin dependent kinase阻害物質の一つであり、細胞増殖を負に制御している。p27^{kip1}の発現量はヒトの肺癌、大腸癌、胃癌、乳癌、膀胱癌などで低下しており、発現量の低さと予後の悪化の相関が報告されている。我々は、これまでにp27^{kip1}欠損マウスは野生型よりN-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamineによる膀胱発癌が促進されることを見いだした。今回我々はN-methyl-N-nitrosourea (MNU) 飲水投与による各種臓器での腫瘍発生を検討した。【実験】C56BL/6 系でp27^{kip1}遺伝子型-/-, +/-, +/+のマウスを作製し 8週令の雌雄に240ppm MNUを飲料水に混じて1週間おきに10週まで投与と休薬を繰り返し、14週あるいは20週時に屠殺剖検し、諸臓器を病理組織学的に検討した。【結果】雌の対照群は20週で-/-と+/-の体重が+/+より有意に高値であったが、雄には明らかな差異は認めなかった。MNU投与により雄の体重の増加抑制および相対肝重量の増加が見られた。MNU投与群の雄では、-/-の相対肝、腎、脾および胸腺の重量が+/+に比べて増加していた。組織的には、+/+の雌雄ともMNUによって前胃の過形成、幽門腺の異型過形成が有意に誘導されたが、p27^{kip1}の遺伝子型による差異は認めなかった。肺の過形成の発生は-/-で+/-や+/+より多い傾向が見られた。また、雄では14 週での胸腺の悪性リンパ腫は-/- (77.8%) で+/- (0%) および+/+ (16.7%) と有意に高率であった。【考察】p27^{kip1}欠損マウスは、MNU誘発胃癌においては明らかな感受性の増加を示さなかったが、胸腺の悪性リンパ腫に対しては感受性が高く、臓器によってp27^{kip1}発現の腫瘍発生における関与が異なることが明らかとなった。

老齢 Nrf2 欠損マウスにおける自然発生腫瘍性病変

○梅村隆志¹、石井雄二^{1,3}、西川秋佳¹、児玉幸夫²、神吉けい太¹、黒岩有一¹、伊東 健⁴、山本雅之⁴、広瀬雅雄¹(国立衛研・¹病理部、²毒性部、³星薬大学・薬品分析化学、⁴筑波大学・院・人間総合)

遺伝子制御領域に抗酸化応答配列を有する異物代謝系第2相酵素群の転写因子として知られるNrf2は、発がん剤などの環境化学物質に対する生体防御機構に重要な役割を果たしていると考えられ、その欠損マウスでは腫瘍感受性が亢進していることが予想される。そこで今回、Nrf2の野生型(+/+), ヘテロ欠失(+/-)ならびにホモ欠失(-/-)マウスを長期間飼育して、自然発生腫瘍を病理組織学的に検索、あわせて肝臓中の酸化的DNA損傷の程度を比較検討した。【方法】ICR/129SVキメラマウスと10週令の雌ICRマウスの交配によりF1を作製し、さらにF1同士の交配により得た各遺伝子型30匹の雌マウスを、CRF-1固形飼料、水道水にて115週間飼育後、解剖した。全身主要臓器、その他肉眼異常部位を摘出するとともに、肝臓の一部を凍結し、核内DNAを抽出後、HPLC-ECDにより8-oxodeoxyguanosine (8-oxodG)レベルを測定した。【結果】解剖時生存率は、+/+が13/30(43%)、+/-が18/30(60%)、-/-が16/30(53%)であった。最終平均体重、肝臓、腎臓および脾臓の比重量に差は認められなかった。肉眼病変は、肺の白色結節がそれぞれ3例(23.1%)、3例(16.7%)、5例(31.3%)、肝結節性病変はそれぞれ4例(30.8%)、8例(44.4%)、9例(56.3%)、胸腺あるいは脾臓の肥大を伴う全身リンパ節の腫大がそれぞれ4例(30.8%)、8例(44.4%)、6例(37.5%)認められた。その他、前胃、下垂体、膀胱、乳腺、子宮に低頻度ながら結節性病変が散見された。肝臓に病変の認められた個体の非病変部から抽出したDNA中の8-oxodGレベル(個/10⁵dG)はそれぞれ0.45±0.05、0.53±0.15、0.57±0.04(P<0.01)であった。【考察】本系統マウスで報告されている-/-の短命化は本実験条件下では観察されず、また自然発生腫瘍性病変の臓器スペクトラムならびに発現頻度に遺伝子型間で顕著な差は認められなかった。今後、本系統マウスで高頻度の発症が報告されている糸球体腎炎の検索結果を含めた組織学的検討結果を加えて報告する。

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

木下 アンナ¹、鰐渕 英機¹、魏 民¹、野田 哲生²、西村 暹³、福島 昭治¹

¹大阪市立大学大学院・医学研究科・都市環境病理、

²財団法人癌研究会・癌研究所・細胞生物部、

³萬有製薬株式会社・つくば研究所

砒素は皮膚、肺、肝、腎、膀胱などを標的とする発がん物質である。しかし、その本態は不明である。これまで我々は、無機砒素のほ乳類での主な代謝物質である有機砒素の dimethylarsinic acid (DMA)に注目し、その発がん性を検討してきた。我々は今回、DMAの発がん性を8-OHdGの修復酵素である*Mmh/OGG1*遺伝子のミュータントマウスを用いて検討した。17から20週齢の8匹のOGG1^{-/-}、9匹のOGG1^{+/-}のミュータントマウス、12匹の野生株C57BL/6Jマウスに200ppmのDMAを72週間、飲水投与した。DMA投与群では、OGG1^{-/-}のマウスの100%、OGG1^{+/-}の67%、野生株OGG1^{+/-}の50%で腫瘍の発生を認めた。DMA非投与のOGG1^{-/-}マウスでは腫瘍は全く認められなかった。DMA投与のOGG1^{-/-}マウスでは、肺腫瘍を高頻度に認めた。さらに、発生数においても有意の増加が見られた。肺における、DNAの8-OHdG形成および細胞増殖やアポトーシスのレベルはDMA投与OGG1^{-/-}マウスで増加していた。また、悪性リンパ腫の発生増加傾向をともなっていた。膀胱上皮細胞における電子顕微鏡を用いた観察ではDMA投与群OGG1^{-/-}マウスで上皮過形成が認められた。肺または、膀胱においてDMA投与群OGG1^{-/-}マウスでは、ミトコンドリアおよびmicrovilliの発生が増加していた。以上、DMAがOGG1ミュータントマウスにおいて肺の発がん性を示すことが明らかとなった。それにはDMAの酸化的DNA障害による8-OHdGの形成が関与すると考えられた。

P-97

ラット初代肝細胞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

○ 鈴木周五¹、唐明希¹、辻村和也^{1,2}、朝元誠人¹、白井智之¹
(¹名市大・院・医・実験病態病理, ²(財)化評研・日田事業所)

我々は肝細胞癌細胞株を用いて、細胞における遺伝子発現変化から化学物質の発がん性の同定が可能であるかを検討してきた。癌細胞株を用いた実験は簡便だが、癌細胞株は正常の肝細胞の機能が欠損している可能性があり、生体内の遺伝子変化を必ずしも反映しない。そこで、ラット肝組織から肝細胞を分離し初代培養を行い、その発がん物質・非発がん物質における遺伝子発現変化を見ることで、より生体に近い遺伝子発現変化を検討した。方法として10-12週齢、F344雄ラットから肝臓の初代培養を行い、24時間後に発がん物質(aflatoxin B1, Diethylnitrosamine, N-Nitrosomorpholine, 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline)と非発がん物質(ascorbic acid, D-mannitol, acetaminophen, Lithocholic acid)を24時間培養液中に添加し、その後細胞を回収した。細胞からRNAを抽出・精製し、Agilent Rat Oligo Microarray (20,500 genes)を用いて遺伝子発現変化を測定し、種々の化学物質に対する遺伝子発現変化、特に発がんに関わる遺伝子を検討した。

P-98

肝ギャップ結合の低下により変動する遺伝子発現解析 マイクロアレイを用いた解析

○朝元誠人、村崎敏也、外岩戸尚美、白井智之(名市大・院・医・実験病態病理)

ギャップ結合はコネクシン分子の複合体より構成され、細胞間連絡能を司っている。発がん過程においてはその低下、消失が重要な役割を演じていると考えられる。我々はそのメカニズムを固体レベルで詳細に検討するために、コネクシン32の一部を欠失させた変異遺伝子を肝臓で特異的に発現させたトランスジェニックラットを作製した。肝の毒性物質である四塩化炭素やガラクトサミンに対し、正常のラット肝では投与後一日目に広範囲に壊死が認められるが、このトランスジェニックラットの肝臓ではほとんど変化を認めず強い抵抗性を示した。(HEPATOLOGY, 40, 205-210, 2004)一方、肝発がん物質であるジエチルニトロサミンを1回投与すると前癌病変の発生は顕著に亢進するが、癌の発生にはそれ程影響を与えない。また、異なった発がん物質であるジソプロパノールニトロサミンでも同様の結果であった。そこで今回は、肝ギャップ結合が低下したトランスジェニックラットと正常ラットとの肝でいかなる遺伝子発現の違いがあるかをマイクロアレイ解析にて追求した。その結果、トランスジェニックラット肝にはサイトカイン誘導遺伝子群などの大きな変動が認められた。これらは、今まで細胞間連絡能との関連が全く示されていなかったもので、非常に興味深い。また、これらの遺伝子群のジソプロパノールニトロサミン投与に対する影響についても発表する。

肝発がん性予測用マイクロアレイ開発

○中山 光二¹、河野 友紀子¹、河上 祐紀¹、森脇 紀親¹、関島 勝¹、大塚 雅則²、矢可部 芳州²、宮浦 英樹²、斎藤 幸一³、住田 佳代³、朝元 誠人⁴、白井 智之⁴（¹三菱安科研、²化評研、³住友化学・生科研、⁴名市大・院・医・実験病態病理）

トキシコゲノミクス技術は、化学物質の毒性発現機構を解明するための新しい技術と期待されており、我々はその有用性を評価するために2001年から5年計画でトキシコゲノミクスプロジェクトを開始した。プロジェクト開始時点では毒性評価、特に発がん性評価に十分使用でき得るラット用マイクロアレイは存在しなかったため、ラットの肝発がん性の予測に用いることができるマイクロアレイの開発を実施した。

我々はこれまでに「NEDO-ToxArray I」および「NEDO-ToxArray II」という2種類のcDNAマイクロアレイを開発した。これらはPCR増幅物を、インクジェット法でスライドガラス基板にスポットすることで作成した。PCRに用いた遺伝子は、独自に作成した完全長cDNAライブラリーからスクリーニングした。cDNAライブラリーは、F344ラットの正常成獣、胎児由来の肝臓、腎臓、大腸、脾臓および、発がん性既知4化合物投与の成獣由来同4臓器からそれぞれ作成した。シークエンスした46,720クローンは、配列解析から非重複な12,222配列にクラスタリングできた。NEDO-ToxArray Iは、基板当たり2アレイがプリントされており、アレイ当りは9,448スポットされている。NEDO-ToxArray IIではアレイ当たり8,875スポットがされている。NEDO-ToxArray Iは2001年度に2,500アレイ分を作成し、またNEDO-ToxArray IIでは2002から2003年度に合計5,600アレイ分を作成した。これらcDNAマイクロアレイを用いて合計85の既知発がん性有りおよび発がん性無し化合物についてその遺伝子発現プロファイルを取得した。現在、上記で得られた遺伝子発現プロファイルから搭載遺伝子を再選定し、オリゴアレイ「NEDO-ToxArray III」を作成中である。

本研究は、経済産業省の「化学物質総合評価管理プログラム」の一環である「高精度・簡易有害性（ハザード）評価システム開発」として、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）からの委託により実施された。

マウス乳癌に対する血管新生抑制遺伝子と自殺遺伝子との複合遺伝子治療による抗腫瘍効果並びに転移抑制作用

○柴田雅朗¹、森本純司²、大槻勝紀¹（大阪医大¹解剖学第一、²実験動物セ）

血管新生抑制遺伝子のendostatinとangiostatinおよび両者の融合遺伝子を用いて、マウス乳癌に対する実験的遺伝子治療を試み、腫瘍血管新生の抑制による抗腫瘍効果を評価した。次いで抗腫瘍効果の増強作用を目的として、血管新生抑制遺伝子と自殺遺伝子との複合遺伝子治療を実施した。まず、in vitroにて、各血管新生抑制遺伝子を組み込んだベクター[pEndo, pAngioおよび両者の融合遺伝子(pE:A)]がヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)の血管腔形成を阻害する事を確認した。次にin vivoで転移性のマウス乳癌細胞を移植し、各発現ベクターまたは空ベクターを腫瘍内に週1回の割合で計8回、Electropore transferを実施し、8週経過後に屠殺剖検した。その結果、経時的な腫瘍体積ではpEndoおよびpE:Aで有意な抑制が観察された。転移ではpEndoでリンパ節転移の抑制傾向を見たが、有意差は示されなかった。同群では腫瘍細胞のDNA合成は著しく抑制されていた。血管新生抑制遺伝子のベクターとして最も成績の良かったpEndoと自殺遺伝子のpHSVtk/GCVとの複合遺伝子治療を同様のマウス乳癌モデルに対して更に行った。この実験では腫瘍径が1cm以上に達した場合、遺伝子の腫瘍内の分布を向上させるため、注入量を増加させた。その結果、経時的な腫瘍体積ではpEndoおよびpHSVtk/GCVで有意な抑制が観察され、両者の複合投与群ではそれぞれの単独群に比較して、更に抑制が観察された。リンパ節や肺への転移においても、これらの群では有意な抑制が観察された。しかしながら、転移においては遺伝子複合による加算的・相乗的效果は示されなかった。以上、高転移性マウス乳癌モデルに対する血管新生抑制遺伝子を用いた癌遺伝子治療では、endostatinで強い抗腫瘍効果と抗転移作用を発揮し、HSVtk/GCVとの複合投与では更に強い抗腫瘍効果が示されたが、転移についてはその増強作用は見られなかった。

-MEMO-

発表者索引

(数字は演題番号、下線は演者)

A		曹 永晩	P-65, P-66, <u>P-67</u> , P-76, P-80	P-89, P-96	
Colleen H. Anna	W-1-2			福田立	
Lora Arnold	P-90	D		P-22	
相磯成敏	P-13	Theodora R. Devereux	W-1-2	藤井悦子	
青木明美	P-75			P-88	
青木久美子	P-42	土井邦雄	S-2-1, W-2-1, P-41, P-63	藤江秀彰	
浅野哲	P-15			P-4	
朝元誠人	P-48, P-58, P-70, P-72, P-93, P-94, P-97, <u>P-98</u> , P-99	土居卓也	P-29, P-37, P-64	藤田春香	
				W-2-3	
渥美房子	W-2-1	土井悠子	W-3-4, P-1, P-58	藤田由美子	
阿部正義	W-2-4, <u>P-27</u> , P-50	E		P-8	
		サリム エリサイド	P-16, P-54	藤平司郎	
荒川仁	P-88			W-1-5	
荒木伸一	P-5	江尻紀子	P-63	二口充	
有賀千浪	P-62	枝元洋	P-75	P-47	
B		榎本眞	P-10	船江良彦	
Min-Won Baek	P-39, P-40, <u>P-52</u>	江原敬子	P-3	P-1, P-49	
		遠藤仁	<u>S-1-4</u>	船戸護	
馬場也須子	<u>P-41</u>	F		P-34, P-77, <u>P-78</u>	
C		Jie Feng	P-36	古川賢	
Martin Cano	P-90	Gordon P. Flake	P-74	W-2-4, P-27	
Sun-A CHO	P-39			古里征国	
Jennifer B. Collins	W-1-2	深町勝巳	W-3-4	W-2-2	
		福岡鮎美	<u>P-88</u>	古濱和久	
Samuel M. Cohen	P-90	福島昭治	W-3-1, P-1, P-16, P-45, P-46, P-49, P-53, P-54, P-57, P-68,	S-2-4	
Michael L. Cunningham	W-1-2			G	
				H	
				Gordon c. Hard	
				P-81	
				Xi Jun He	<u>P-63</u>
				Wanda M. Holliday	
					W-1-2
				Chul-Sung Huh	
					P-52
				萩原昭裕	P-1, P-55
				萩原淳司	P-46, P-54, P-57, <u>P-89</u>
				蓮村麻衣	P-65, P-66, P-67, P-76, <u>P-80</u>
				長谷川和成	P-10
				長谷川一浩	P-30
				長谷川大樹	P-25

秦純子 P-42
 花田貴宣 P-26
 羽野寛 W-2-2
 浜村政夫 P-20
 林宏一 P-4
 林修次 P-68
 林真 S-1-1
 林幹人 P-3
 林守道 P-51
 早見康高 P-22
 原公子 P-43
 原田孝則 P-4
 原田美輪 P-22
 東山浩之 P-15
 平井卓哉 P-6
 平田暁大 P-17, P-18,
 P-35
 平塚秀明 P-29, P-37
 広瀬雅雄 W-2-3,
 W-3-2, P-2,
 P-31, P-61,
 P-65, P-66,
 P-67, P-76,
 P-80, P-86,
 P-92, P-95
 外岩戸尚美 P-48, P-98
 細井理代 P-10
 堀隆夫 P-34, P-77,
 P-78

I

Mari Iida W-1-2
 飯高健 P-17, P-18
 五十嵐麻希 W-3-1,
 P-11, P-50
 池崎信一郎 P-8
 池田亜紀子 P-7, P-87

石井愛子 P-83
 石井雄二 P-31, P-61,
 P-95
 石上紀明 S-2-1
 石崎まゆみ P-10
 泉啓介 P-69
 泉澤智子 P-26
 板垣伊織 P-85
 市原敏夫 P-46, P-55,
 P-58
 市村英資 P-3
 一色賢司 S-1-5
 井手美佳 P-62, P-82
 伊藤和美 W-2-1, P-43
 伊東健 W-3-2, P-95
 伊藤格 P-44
 伊藤恒夫 P-88
 伊藤誠 P-60
 井上薫 W-2-3, P-2,
 P-86, P-92
 井上芳巳 P-9
 今井清 P-10
 今井田克己 S-2-5,
 P-12, P-56
 今井俊夫 P-65, P-66,
 P-67, P-76,
 P-80
 今井則夫 P-1, P-55
 今沢孝喜 W-3-2
 入村兼司 P-68
 岩浅央 P-60
 岩坂俊基 P-91
 岩崎省吾 P-7, P-87
 岩田聖 P-10

J

K

Jin Seok Kang P-49, P-54
 Dong-Jae KIM P-39, P-40,
 P-52
 金 美蘭 P-59
 甲斐清徳 S-2-4
 柿本恒知 P-91
 加国雅和 P-24, P-46
 笠原健一郎 P-21
 笠原義典 P-42
 檜田陽子 W-1-1,
 P-19, P-44,
 P-59
 片桐卓 P-13
 加藤淳彦 P-84
 加藤千恵 P-84
 可徳小四郎 P-20
 金谷章生 P-60
 金子吉史 P-7, P-87
 唐澤弥生 P-88
 河上祐紀 P-93, P-99
 川口博明 P-34, P-77,
 P-78, P-79
 川島英夫 P-34, P-77,
 P-78, P-79
 河野友紀子 W-1-4,
 P-93, P-99
 神吉けい太 W-3-2,
 P-31, P-61,
 P-95
 神鳥仁志 P-70
 菅野剛 P-29, P-64
 菊佳男 P-6
 北島なつき P-42

北橋宗 P-38
北村毅 P-51
北村英和 P-88
北村泰樹 W-3-2
木下アンナ W-3-1,
P-16, P-45,
P-46, P-49,
P-57, P-89,
P-96
木下美祢 P-15
木原亨 P-10
木本直哉 P-24
清沢直樹 W-2-1, P-43
日下部守昭 P-17
串田昌彦 P-45
楠岡修 P-8
工藤佳代子 P-75
久保亜貴子 P-69
熊谷和善 P-43
熊谷木曜美 P-44
熊野篤 P-37
倉田祥正 P-37
栗栖和信 P-22
黒岩敬子 P-2, P-92
黒岩有一 W-3-2,
P-31, P-61,
P-95
黒滝哲郎 P-64
黒田淳二 P-51
鍬先恵美子 P-20
桑村充 P-82
小泉治子 P-91
甲野裕之 P-33
爰島洋子 P-29
小坂忠司 P-4
小谷猛夫 P-82

児玉幸夫 W-3-2,
P-61, P-95
小林潔 P-15
L
Jonathan LaMarre P-82
Yong-zhen Liu P-36
Hui-Young LEE P-39, P-40,
P-52
李京烈 W-2-3, P-2,
P-86, P-92
M
Robert R. Maronpot P-74
アルバレンケ・ステラ・マリス S-2-1
前川昭彦 P-27, P-50
柘富直哉 P-86
増村健一 P-61
益本吉廣 P-7, P-87
柵木利昭 P-18
町田登 W-1-1, P-19
町田優子 P-82
松浦哲朗 P-23
松江健太 P-60
松島圭太 P-75
松田章孝 P-85
松田陽子 P-12, P-56
松沼尚史 P-43
松本力 P-4
松本徹也 P-3
松本博士 W-1-3
松本正博 W-1-5, P-19
真鍋安博 P-25

三井雅之 P-38
三橋弘明 P-42
三森国敏 W-1-1,
P-19, P-44,
P-51, P-59
宮浦英樹 W-1-3,
P-93, P-99
宮川義史 P-91
宮崎登志子 P-62
宮地夏子 P-53
美谷島克宏 P-91
宮嶌宏彰 P-78
宮島留美子 P-10
三好昌夫 P-88
三輪恵子 P-62
三輪整 P-25
六車雅子 P-59
村井隆 P-53
村崎敏也 P-70, P-72,
P-94, P-98
本光喜 W-1-1, P-59
森聖 P-53
森秀樹 P-28
森岡孝満 P-32
森下由起夫 P-28
森村圭一朗 P-1, P-16,
P-45, P-49,
P-54, P-89
森本純司 P-100
森本泰夫 P-14
森脇紀親 P-99
N
Abraham Nyska P-74
長井大地 P-3
中井登紀子 P-69

永田良一	P-78	布谷鉄夫	P-6	押方孝文	P-20
中江大	W-1-4, W-3-1, P-11, P-27, P-50	野田哲生	P-96	小田切泰輝	P-25
中川清詞	P-85	能美健彦	P-61	小田部晶	<u>P-25</u>
長澤達也	P-51		O	小田康弘	P-88
中澤裕之	P-31	及川恒之	P-11	小野瀨淳一	P-65, P-76
中島信明	P-4	大石裕司	W-1-5, P-19	小野美穂子	<u>P-26</u>
中田理美	P-71	大江田憲治	P-93		P
永谷真理子	P-21	大神明	<u>P-14</u>	Jae-Hak Park	P-39, P-40, P-52
仲辻俊二	W-1-5	大嶋浩	<u>W-3-4</u>	Jong-Hwan Park	P-39, P-40, P-52
長野嘉介	P-13	太田恵津子	P-60	Rawiwan Puatanachokchai	<u>P-49</u>
中野健二	P-26	太田世志雄	P-65, <u>P-66</u> , P-76, P-80		R
中原豊	P-20	大塚雅則	W-1-3, P-93, P-99	Jin Ren	P-36
中村厚	P-8, P-83	大塚靖夫	P-29		S
中村巖	P-3	大塚亮一	P-4	John Curtis Seely	<u>P-81</u>
中村圭吾	<u>P-6</u>	大槻勝紀	P-100	Azman Seeni	<u>P-73</u>
中山光二	W-1-3, W-1-4, P-93, <u>P-99</u>	大平東子	P-10	Hua Sheng	P-36
中山裕之	W-2-1, P-63	大村功	W-1-5	Robert C. Sills	W-1-2
難波江恭子	P-1, P-55	岡崎修三	P-75	Seung-Hyeok Seok	P-39, <u>P-40</u> , P-52
奈良間功	P-23	岡崎欣正	W-1-5	Andrew Suttie	P-74
二井愛介	P-26	小笠原裕之	<u>P-71</u>	孫喆	P-71
西川秋佳	W-3-2, P-31, P-61, P-95	荻田喜代一	P-23	齋藤幸一	W-1-3, P-93, P-99
西川智	P-24	岡田味世子	<u>P-9</u>	齋藤文代	<u>W-1-3</u>
錦邊優	P-60	岡村美和	W-1-1, <u>P-19</u>	竿尾光祐	P-12, P-56
西村暹	P-96	岡本郁司	P-15	酒井洋樹	P-17, P-18, P-44
西村千尋	P-3	小川いずみ	W-2-4	崎玉克彦	P-3
新田耕作	P-5	小川久美子	P-47, P-48, P-70, <u>P-94</u>		
新田由美子	<u>P-5</u>	小木曾正	P-94		
二宮芙美子	P-68	奥野泰由	W-3-3		
仁平礼	P-8	奥原裕次	P-51		
		尾崎清和	<u>P-23</u>		
		尾崎圭介	W-3-3		
		尾崎正和	<u>W-3-3</u>		
		長村義之	P-91		

佐々木稔	P-60	鈴木勝士	<u>S-1-3</u>	高橋正一	W-3-1, <u>P-50</u>
佐々木有	P-44	鈴木一生	P-24	高橋真美	P-33
佐藤健司	P-38	鈴木智	P-68	高山真	P-24
佐藤裕和	P-7, P-87	鈴木周五	P-48, P-70, <u>P-97</u>	田川義章	P-54
佐藤洋	<u>S-2-4</u>			瀧下英子	P-69
佐野文子	P-9	鈴木順	P-60	田口和博	P-60
佐村恵治	P-60	鈴木雅実	S-2-1, P-84, P-88	武井由弘	P-85
澤本修	<u>P-22, P-82</u>			竹石桂一	<u>EP</u>
志賀敦史	P-10	鈴木麻理	P-10	竹内文乃	P-26
篠塚淳子	<u>S-2-1, P-62</u>	鈴木里加子	<u>P-33</u>	竹内哲也	P-13
篠原誠治	P-22	住田佳代	W-1-3, <u>P-93, P-99</u>	竹内聖	P-12
柴田信男	P-51			竹内幸子	P-4
柴田雅朗	<u>P-100</u>	関島勝	W-1-3, W-1-4, P-93, P-99	竹腰進	P-91
渋谷淳	W-2-3, P-2, <u>P-86, P-92</u>			竹田剛	P-24
		妹尾英樹	<u>P-13</u>	武田眞記夫	P-4
渋谷一元	P-6	瀬畑信哉	S-2-1, <u>W-2-1</u>	立松正衛	P-17, P-18, P-35
下條尚志	P-58				
首藤康文	<u>S-2-2, P-4</u>	早田正和	P-34, P-77, <u>P-78, P-79</u>	田中卓二	P-28, P-33
正田俊之	P-91			田中晴就	P-17
白井智之	W-1-3, W-3-3, P-47, P-48, P-55, P-58, P-70, P-72, P-73, P-93, P-94, P-97, P-98, P-99			棚瀬裕文	P-7, P-87
				谷口啓介	P-71
白井紀充	P-17, P-18			谷吉朗	<u>P-74</u>
代田欣二	P-26			田畑肇	P-26
末吉純久	P-7, P-87			玉井幸子	P-75
杉浦諭	<u>P-72, P-73, P-94</u>			玉野静光	W-3-4, P-55
		高居宏武	P-84	田村梓	P-42
杉江茂幸	<u>P-28, P-33</u>	高木司郎	P-9	田村一利	P-8, P-21, P-75
杉本次郎	P-9	高木広憲	<u>W-2-3, P-86</u>		
杉本哲朗	P-84, P-88	高木みづほ	<u>P-8</u>	田村啓	P-51
酒々井真澄	P-32	高田千絵	<u>P-24</u>	塚本徹哉	P-17, P-18, <u>P-35</u>
		高場克己	P-24, P-46		
		高橋明子	<u>P-62</u>	辻内俊文	P-38
		高橋智	P-72, P-73	辻岡繁春	<u>P-60</u>
		高橋尚史	<u>P-4</u>	辻村和也	P-93, P-97
		鷹橋浩幸	W-2-2	津田洋幸	W-3-4
		高橋牧子	P-7, <u>P-87</u>		

土谷稔	W-1-4, P-29, P-37, P-64				
土屋毅幸	P-9				
堤雅弘	P-38				
坪田健次郎	W-1-5				
鶴亀真依子	P-21				
都留清志	P-7				
寺西宗広	W-2-1, P-43				
照屋志乃	P-84				
友成由紀	P-29				
豊田和弘	P-86				
鳥海瓦	S-2-1, P-62				
U					
上田誠	P-65, <u>P-76</u> , P-80				
上塚浩司	W-2-1				
植松史行	P-50				
臼田浩二	W-2-4				
内木宏延	P-30				
宇波明	<u>W-1-5</u> , P-19				
宇部雅進	P-9				
梅田ゆみ	P-13				
梅村孝司	P-37				
梅村隆志	W-1-1, W-3-2, P-31, P-61, <u>P-95</u>				
宇和川賢	W-3-3				
V					
Nabandith Viengvansay	<u>P-32</u>				
W					
Hui Wang	<u>P-36</u>				
Min Wei (魏 民)	P-57, P-89,				
			<u>P-90</u> , P-96		
若林敬二	P-33				
和久井信	<u>W-2-2</u>				
涌生ゆみ	P-29, <u>P-37</u> , P-64				
渡邊暁子	P-25				
渡邊剛	P-84				
渡邊利彦	P-88				
渡辺知幸	W-3-3				
渡邊直人	<u>W-3-1</u> , P-11 P-50				
渡辺満利	P-85				
鰐淵英機	W-3-1, P-1, P-16, P-45, P-46, P-49, P-53, P-54, <u>P-57</u> , P-89, P-96				
割田克彦	<u>P-75</u>				
X					
Y					
Xing-Ju Yuan	P-36				
矢尾幸三	P-24				
矢可部芳州	W-1-3, P-99				
安井雄三	P-10				
柳井徳磨	P-18				
山川誠己	P-21				
山口格	<u>P-30</u>				
山口貴嗣	P-53				
山口智晴	<u>P-16</u>				
山口裕子	P-8, P-75				
山下龍	<u>P-10</u>				
山田俊幸	P-11				
山田泰広	P-28				
山手丈至	<u>P-82</u>				
山本卓	P-30				
山本正敏	P-85				
山本昌美	<u>P-17</u> , P-18				
山本雅之	W-3-2, P-95				
矢本敬	W-2-1, P-43				
湯浅啓史	P-62				
柚木孝之	<u>P-46</u> , P-57				
横尾清文	W-2-2				
横平政直	<u>P-12</u> , P-56				
吉川剛	P-34, P-77, P-78				
吉川日出男	P-15				
吉竹裕子	P-24				
吉田武美	<u>S-1-2</u>				
吉田浩己	P-34, P-77, P-78, P-79				
吉田緑	<u>S-2-3</u> , W-3-1, P-11, P-27, P-50				
吉野裕子	P-1, <u>P-58</u>				
吉見直己	P-32				
吉本大輔	P-15				
Z					
Wei-Jun Zheng	P-36				
Zeng Yu (曾 宇)	P-12, <u>P-56</u>				
Zhang lian-shan (張 連珊)	<u>P-85</u>				
Zheng Qiao (鄭 僑)	P-28				

協賛法人・会社ご芳名

2004年12月1日現在

(有)アグロトックス
(株)アニメック
アベンティスファーマ(株)
アムジェン(株)
イハラケミカル工業(株)
イハラ代弁(株)
エーザイ(株) 安全性研究所
大塚製薬(株) 安全性研究センター 毒性研究部
小野薬品工業(株) 福井安全性研究所
(財)化学物質評価研究機構
科研製薬(株)
杏林製薬(株) 研究センター
キリンビール(株) 医薬開発研究所
グラクソ・スミスクライン(株) 筑波研究所
グレラン製薬(株)
三栄源FFI
三共(株)
三恵商事(株)
(財)残留農薬研究所
(株)三和化学研究所
塩野義製薬(株)
(財)食品薬品安全センター
(株)新日本科学
(有)鈴メディカル

住友化学工業(株)
(株)組織科学研究所
大正製薬(株)
大鵬薬品工業(株)
第一製薬(株)
大日本製薬(株)
(株)大雄会医科学研究所
武田薬品工業(株)
(株)竹中工務店
田辺製薬(株) 安全性研究所
帝国臓器製薬(株)
帝人ファーマ(株)
テルモ(株)
富山化学工業(株)
日本エス・エル・シー(株)
日本新薬(株)
日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究所
バイエル薬品(株)
磐南浄化槽(株)
日立プラント建設(株)
ファイザー製薬(株)
藤沢薬品工業(株)
三菱ウエルファーマ(株)
(株)三菱化学安全科学研究所
持田製薬(株)

50音順

展示ブース会社ご芳名

(株)ヴィジョンズ
(株)エイチ・アンド・ティ
学際企画
コーヴァンス・ジャパン(株)
(株)組織科学研究所
日本クレア(株)

住商情報システム(株)
日本チャールス・リバー(株)
(株)DIMS医科学研究所
(株)ニチレイ
(株)ボゾリサーチセンター
(株)ファルマ

広告掲載会社ご芳名

(株)アニメック
(株)池田理化
(株)DIMS医科学研究所
日本エスエルシー(株)
エルエスジー(株)
サクラファインテックジャパン(株)
(株)組織科学研究所

(株)ケー・エー・シー
住化テクノサービス(株)
(株)日本医学臨床検査研究所
日本コカ・コーラ(株)
(株)バイオ病理研究所
日立プラント建設(株)

SLCの 実験動物



SPF動物

●クローズドコロニー

マウス S/c: ddY
★lar: IVcs
S/c: ICR
ラット S/c: SD
S/c: Wistar
S/c: Wistar/ST
Hos*: Donryu
★lar: Wistar(Wistar-Imamichi)
★lar: Long Evans
モルモット S/c: Hartley
ウサギ S/c: JW/CSK
S/c: NZW
ハムスター S/c: Syrian
●近交系

マウス BALB/c Cr S/c
C57BL/6 Cr S/c
C57BL/6J Jms S/c
C3H/He S/c
DBA/2 Cr S/c
NZW/N S/c
A/J Jms S/c
AKR/N S/c
CBA/N S/c
C3H/He N S/c
C3H/He J Yok S/c
129X1/SvJ Jms S/c
C57BL/10 Sn S/c
B10.A/Sg Sn S/c
B10.BR/Sg Sn S/c
B10.D2/nSn S/c
B10.QBR/Sx S/c
B10.S/Sg S/c

B10
コンジャンク

ラット F344/N S/c
WKAH/Hkm
BN/SsN S/c
LEW/SsN S/c
ACI/N S/c
* Wistar/Ms Nrs
* WM/Nrs
モルモット Strain 2/S/c
Strain 13/S/c
MON/Jms/Gbs S/c

スナズミ ●交雑群
マウス S/c: BDF1
S/c: CBF1
S/c: CDF1
S/c: B6C3F1

●ミュータント系
ヌードマウス BALB/c S/c-nu
KSN/S/c

Clean動物

●クローズドコロニー

マウス Std: ddY
ラット Std: Wistar
Std: Wistar/ST
モルモット Std: Hartley
ウサギ Std: JW/CSK
Std: NZW

Conventional動物

ビーグル犬 国内繁殖生産(日本ノーザン)
カニクイザル 国内繁殖生産ザル(電美大島)
アカゲザル 国内繁殖生産(電美大島)
ミニプタ 国内繁殖生産(日生研)
フェレット 国内繁殖生産(中伊豆)

疾患モデル動物

マウス	ラット	疾患モデル動物
BXSB/MpJ Jms S/c-Yaa (自己免疫疾患)	SHR/Izm (高血圧)	
C3H/HeJ Jms S/c-gld (自己免疫疾患)	SHRSP/Izm (脳卒中)	
C3H/HeJ Jms S/c-lpr (自己免疫疾患)	WKY/Izm (SHR/Izmのコントロール)	
C57BL/6J S/c-gld (自己免疫疾患)	* DJS/Eis (食塩感受性高血圧症)	
C57BL/6J Jms S/c-lpr (自己免疫疾患)	* DIR/Eis (食塩抵抗性)	
MRL/MpJ Jms S/c-lpr (自己免疫疾患)	KDP (I型糖尿病)	
NZB/N S/c (自己免疫疾患)	GK/S/c (II型糖尿病)	
S/c:NZBWF1 (自己免疫疾患)	WBN/Kob S/c (高血糖好発)	
CTS/Shi (免疫不全白内障)	SHR/NDmcr-cp (肥満・糖尿・高血圧)	
S/c:WBB6F1-W/W ^u (肥満・膵膵欠損・貧血)	S/c:Zucker-fa/fa (肥満)	
S/c:WBB6F1-SL/SI ^d (肥満・膵膵欠損・貧血)	DA/S/c (コラーゲン骨関節炎)	
NC/Nea S/c (皮膚炎)	HWY/S/c (ヘアレスラット)	
★ Hos:HR-1 (ヘアレスマウス)	* EHBR/Eis (高ビリルビン血症)	
DBA/1J Jms S/c (コラーゲン骨関節炎)	Gunn/S/c-I/J (高ビリルビン血症)	
S/c:(NZWxBXSB)F1 (心筋梗塞)	NAR/S/c (新アルブミン症)	
SAMR1/Ta S/c (糖尿病/腎臓病)	SDR (矮小体症マウス)	
SAMP1/Sku S/c (老化アミロイド症)	S/c:WsRc-Ws/Ws (腎臓・膵膵欠損・心臓病)	
SAMP6/Ta S/c (老年性骨粗鬆症)	DA/S/c-bg/bg (NK細胞機能低下)	
SAMP8/Ta S/c (学習・記憶障害)	★ コペンハーゲンラット (尿酸増多症)	
SAMP10/Ta S/c (膵膵欠損・骨粗鬆症)	MES (好酸球増多症)	
AKITA/S/c (II型糖尿病)	トリアシエンテ RC-TgR (レギュカリン蛋白質過剰発現による骨病)	
★ C57BL/6J-lar+Lep ^{ob} /Lep ^{ob} (I型糖尿病)	ハムスター APA (腎臓・膵膵欠損・心臓病)	
★ NSY/Hos (II型糖尿病)	J2N-k (心筋モデル)	
HIGA/Nsc S/c (1gA腎症)	J2N-n (J2N-kのコントロール)	
B6.KOR/Stm S/c-Apoe ^{em} (アポE欠損高脂血症)	マウス W-Y-Z系 (胃潰瘍立炎)	
C.KOR/Stm S/c-Apoe ^{em} (アポE欠損高脂血症)	モルモット BHS/NZ S/c (気道過敏系)	
G3.KOR/Stm S/c-Apoe ^{em} (アポE欠損高脂血症)	BHR/NZ S/c (気道非過敏系)	
D2.KOR/Stm S/c-Apoe ^{em} (アポE欠損高脂血症)		

*印は受託生産動物、☆は仕入販売動物です。



日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市湖東町3371番地の8 TEL (053) 486-3178(代)

営業専用TEL

関東エリア (053) 486-3155(代)
関西エリア (053) 486-3157(代)
九州エリア (0942) 41-1656(代)

電動ハンドピペッター

CellMateII

セルメイト2



- 世界初！リチウムイオンバッテリー搭載
- 2時間充電で20時間の連続運転！
- UV耐性のスケルトン素材
- 全5色で用途による使い分けが簡単



株式会社 池田理化 <http://www.ikedarika.co.jp/>

本社 東京都千代田区鍛冶町1-8-6 神田KSビル 〒101-0044
TEL 03-5256-1811 FAX 03-5256-1818

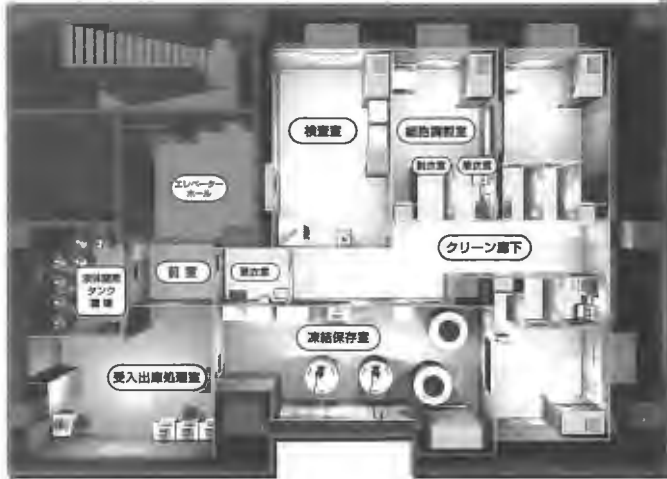
岩本町別館 TEL 03-3861-6211
八王子支店 TEL 0426-42-0570
鶴見支店 TEL 045-501-5881
横浜支店 TEL 045-983-0491
平塚支店 TEL 0463-37-4711
千葉支店 TEL 0436-22-3738

埼玉支店 TEL 049-245-7831
つくば支店 TEL 029-836-6611
三島支店 TEL 055-875-0975
藤枝支店 TEL 054-644-5551
神戸支店 TEL 078-272-9301
つくばT/C TEL 029-837-2131

Hitachi Plant

HITACHI

再生医療施設向けトータルエンジニアリング



日立プラントは、長年培ったエンジニアリング力と施行実績をもとに、GMP・バリデーションに対応した先端再生医療施設のご提案から、設計施工まで一括してお引き受けします。

▲納入例：東京大学医科学研究所（財）献血供給事業団殿納 細胞処理保存施設



〒101-0047 東京都千代田区内神田1-1-14 (日立鎌倉橋ビル) ☎03-3292-8111 (番号案内)
 ●札幌 (011)737-1330 ●仙台 (022)263-3261 ●東京 (03)5281-0121 ●横浜 (045)451-1551
 ●名古屋 (052)261-9331 ●大阪 (06)6266-1931 ●広島 (082)249-2460 ●福岡 (092)262-7600
<http://www.hitachiplant.hbi.ne.jp>

病理組織標本の作製はケー・エー・シーにお任せください。

○各種実験受託

- ・病理組織標本作製
- ・Tg動物作製・繁殖
- ・薬理試験
- ・細胞培養
- ・抗体作製

○実験動物の飼育管理

○研究者技術者派遣

○試薬提供

- ・ヒト組織由来製品
- ・各種動物組織由来製品
- ・血液由来製品 など



本 社

〒604-8423
 京都市
 中京区西ノ京西月光町40
 TEL.075-801-9311
 FAX.075-801-7688
soumu@kacnet.co.jp

東京事業所

〒110-0001
 東京都
 台東区谷中3丁目25-6
 TEL. 03-3822-9311
 FAX. 03-3822-9313
tokyo@kacnet.co.jp

生物科学センター

〒520-3001
 滋賀県栗東市
 TEL. 077-558-3971
 FAX. 077-558-3972
bsc@kacnet.co.jp

<http://www.kacnet.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査
- 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)



好きなときに、好きなものを。

気分に合わせて、おいしいいろいろ。
 わたしたちがお届けする飲みものたちは、
 あなたの近くで今日もがんばっています。



Enjoy!
Coca-Cola

Coca-Cola、コカ・コーラ、Qoo、クー、Fanta、AQUARIUS、GEORGIA、雄、ファン、爽健美茶、
 そうけんびぢゃ、みる茶、茶葉の功、ちゃぼのこうは、The Coca-Cola Company の商標です。
 コカ・コーラは、世界約200カ国で愛され親しまれています。

JCL bioassay

JAPAN CLINICAL LABORATORIES, INC.
BIOASSAY DIVISION



SD:Noriko INOUE Ph.D. Pharmacist



SD:Kaya UCHIDA Pharmacist

Save time where you can ...
... but don't cut your quality!!



Details of Business

I Analytical Chemistry

- ① Development of Bioanalytical Method (LC/MS/MS, GC/MS, HPLC, GC)
- ② Bioanalytical Method Validation
- ③ Determination of Drug Content in Clinical Studies, Bioequivalence Studies, Toxicokinetics

II Drug Stability Tests

III Physicochemical Properties

IV Biodegradation, Bioconcentration, Pow Test

V Environmental Effect



GLP accredited (A)
the Pharmaceutical GLP Standard

GLP accredited (No.017)
the Chemical Substance Control Act

Nishiwaki Laboratory

17-18, Nakahata-Cho, Nishiwaki-Shi, Hyogo 677-0032, Japan
Tel:0795-23-5725 Fax:0795-23-4756, E-Mail: bioinfo@jclbio.com

Osaka Laboratory

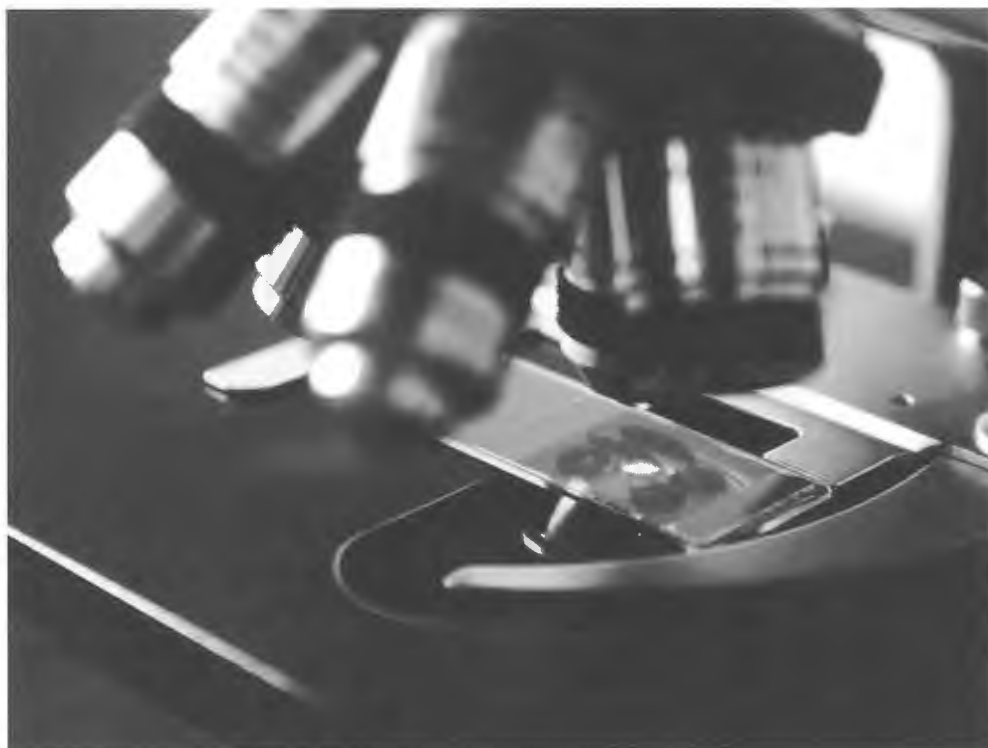
5-16-26, Minamisuita, Suita-Shi, Osaka 564-0043, Japan
Tel: 06-6338-8102 Fax: 06-6338-3775, E-Mail: bioinfo@jclbio.com

JCL bioassay Inc. 1840 Oak Avenue, Evanston, IL 60201, US

Tel: +1-847-866-0410

Fax: +1-847-570-4393 jclbioassay@jclbio.com

<http://www.jclbio.com>



中期発がん性試験開発ラボ

株式会社 DIMS医科学研究所

(旧社名 株式会社 大雄会医科学研究所)

私たち、株式会社大雄会医科学研究所は2004年12月4日を持ちまして、社名を「株式会社 DIMS医科学研究所」に変更いたしました。

従来より使用してまいりましたDIMS(ディムス)の略称を、正式社名に用いることにより、より皆様から親しまれるような社名と致しました。

新社名のもと、皆様方のご期待にお応えすべく、より一層努力してまいりますので、今後も何卒倍旧のご愛顧、お引き立てを賜りますよう、謹んでお願い申し上げます。

〒491-0013 愛知県一宮市浅井町西浅井郷裏64
TEL:0586-51-1201(代) FAX:0586-51-5634
e-mail:query@dims.co.jp
URL:<http://www.dims.co.jp>

New *IPAP-WIN*

病理標本画像解析システム

高精度の画像解析装置で研究をさらに効率化！！



●Windowsの最新のOSに対応

本システムはWindows-2000ならびにXPに対応しています。

●操作性の向上

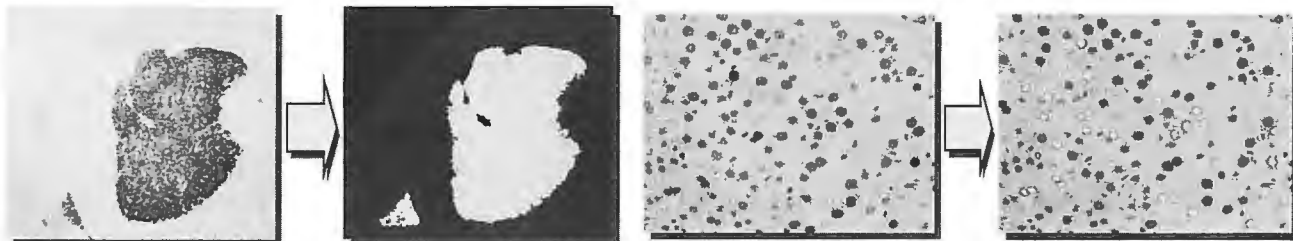
病理検査の画像解析手順に基づいたインターフェースの採用により画像処理の専門知識のない方でも簡単に使用出来ます。

●病理標本の解析に特化

従来のIPAPと同じく、病理組織標本の解析に特化した専用機能を標準搭載しましたので、従来の汎用画像処理装置と比較して、より簡単に、よりスピーディに操作出来ます。

●入力画像の自動補正の実現

画像解析精度を向上させるための、専用アルゴリズムを標準搭載していますので、視野毎に面倒だった画像のシェーディングや色温度の補正が不要です。



販売元: 住化テクノサービス株式会社

- 大阪 〒554-8558 大阪市此花区春日出中3-1-98
TEL(06)6466-5361 FAX(06)6466-5353
- 本社 〒665-0051 兵庫県宝塚市高司4-2-1
TEL(0797)74-2080 FAX(0797)74-2083

私どもの会社は、創立30年にわたり、安全性試験をはじめ様々な試験データの基礎となる病理組織標本の作製を受託業務としてまいりました。近年、医薬品開発はゲノム創薬を中心とした開発志向型に移行しつつあり、お問い合わせの内容も多岐にわたるようになってきました。弊社でも皆様方のご要望に答えるべく、新技術の導入を積極的に心がけ、迅速に対応できる体制でご支援いたします。

業務内容

安全性病理部

■省令及びG L P基準に基づいた安全性試験の病理組織標本作製

病理技術研究部

■各種動物の病理組織標本作製 ■薬効薬理試験の病理組織標本作製及び評価 ■特殊染色標本作製
■免疫染色標本作製 ■インプラント・アパタイト・人工関節・ステント等を含むサンプルの組織標本作製（樹脂包埋） ■組織マイクロアレイ法によるパラフィン切片作製 ■遺伝子改変動物の表現型解析（病理組織学的スクリーニング） ■臨床（動物）の病理組織標本作製及び評価 ■医学・歯学関係の学術研究用や学会発表用の病理組織標本作製

スリーエスジャパン

■医薬品・農薬・化学物質・医療用具・食品等の申請に伴う試験コンサルティング ■技術者の派遣

トピックス

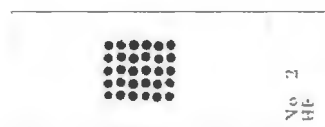
組織マイクロアレイのご案内

「組織マイクロアレイ」は、BEECHER INSTRUMENTS 社の「組織標本アレイヤー」を用いて多数のパラフィン包埋組織の一部を規則正しく並べ直して新たなパラフィンブロックを作製技術です。

「組織マイクロアレイ」の技術により、多数のサンプルを1枚のスライドガラスに貼付し、FISH、ISH、その他の免疫染色を一度に行うことが可能となります。ほぼ同一のパラフィン切片を何枚も作製することができることから、同じ条件で、DNA レベル（FISH）、RNA レベル（mRNA ISH）、タンパク質レベル（IHC）での解析が可能となります。加えて、試薬の節約にもなります。

弊社では、いち早く「組織標本アレイヤー」を導入し、アレイ切片作製をお引き受けする体制が整いました。

（病理技術研究部）





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1200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：15人（主にACVP認定者）
- ・病理科学技術者：200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12,500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



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

BIO-
SERV



地球に住むのは人間だけではない

動物とヒトのアメニティを創造する


Animec
株式会社 アニメック

〒183-0031 東京都府中市西府町3-17-4 tel:042-333-7531 fax:042-333-0602
URL: <http://www5.ocn.ne.jp/~animec/> E-mail: animec@theia.ocn.ne.jp

生検組織の同日診断を実現。
患者さまが求めるのは
迅速で、高品位の医療サービス。



連続迅速自動固定包埋装置

 **ティッシュ・テック® エクスプレス™**
SAKURA

- 約 60 分で脱水・脱脂・パラフィン浸透までを処理
- 15 分間隔の連続作動で約 60 分に 120 カセットを処理
- 確実な検体処理を実行するための安全保護機能
- 専用薬液の使用により薬液の曝露、廃液の減量を実現
- 操作しやすいカラータッチパネル

 **サクラファインテックジャパン株式会社**
SAKURA 東京都中央区日本橋本町3-1-9
TEL 03-3231-1614 <http://www.sakura-finetek.com/>



第 21 回日本毒性病理学会講演要旨集

編集 〒437-1213

静岡県磐田郡福田町塩新田 582-2

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

第 21 回日本毒性病理学会

責任者 今井 清

印刷 有限会社 アイペック

〒170-0002 東京都豊島区巢鴨 1-24-12

(平成 16 年 12 月 20 日発行)

受託機関に求められるもの！

それは技術レベルの高さに加え、永遠に続く
パートナーシップです。

安評センターは、医薬品・農薬・食品・化学物質・医用材料などの
安全性に関する各種実験・調査研究を実施しています。



職員公募

当センターでは、我々といっしょに活躍していただける、
病理学検査の担当および試験責任者を求めています。

(財)食品農医薬品安全性評価センター

<http://www.anpyo.or.jp/>

研究所 〒437-1213 静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜582-2
TEL (0538)58-1266 FAX(0538)59-1170

東京事務所 〒110-0015 東京都台東区東上野2-18-7 共同ビル(上野)5F
TEL (03)3837-2340 FAX(03)3837-7850

