

第22回日本毒性病理学会

講演要旨集



2006年1月26日・27日

鹿児島



Rely on Covance

As the leading provider of regulatory toxicology services to the pharmaceutical and biopharmaceutical industry, we understand the challenges you face in developing new therapies. You can rely on the scientific and regulatory expertise of Covance to provide the full range of nonclinical safety studies to support your drug development goals.

Helping to bring miracles to market sooner.

COVANCE.
THE DEVELOPMENT SERVICES COMPANY

THE AMERICAS
+1 888.COVANCE
(268 2623)

EUROPE
+44 (0)1423.500888

JAPAN
3-12-7 Kyobashi
Chuo-ku, Tokyo 104-0031
Tel: (03) 5159-3363
Fax: (03) 5250-1234

AUSTRALIA
+61 2 8879.2000

E-Mail
info@covance.com

Visit the Covance
Web Site
www.covance.com

目次

第22回日本毒性病理学会総会及び学術集会概要	P1
交通案内	P2
会場案内	P3
参加者へのご案内	P8
司会・座長一覧	P11
日本毒性病理学会の歩み	P12
日程表	P13
プログラム	
特別講演（26日）	P14
シンポジウム（27日）	P15
ワークショップ（26日および27日）	P16
一般口演（26日および27日）	P18
ポスター発表（26日および27日）	P20
講演要旨	
特別講演要旨	P35
シンポジウム要旨	P37
ワークショップ1要旨	P41
ワークショップ2要旨	P43
ワークショップ3要旨	P45
一般口演（一般演題）要旨	P49
ポスター発表（一般演題）要旨	P55
発表者索引	P106
協賛法人・企業一覧	P113
広告ページ	P114

第22回日本毒性病理学会総会及び学術集会

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

1. 期 日 2006年1月26日(木)・27日(金)
2. 会 場 かがしま県民交流センター (県民ホール・大ホール・中ホール他)
〒892-0816 鹿児島市山下町14-50
Tel : 099-221-6600(代)
3. 会 長 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 教授)
大会副会長 宮嶌 宏彰 (株式会社 新日本科学 名誉会長)
4. プログラム委員会
委 員 長 津田 洋幸 (名古屋市立大学)
委 員 泉 啓介 (徳島大学)
小谷 猛夫 (大阪府立大学)
螺良 愛郎 (関西医科大学)
寺西 宗広 (三共株式会社)
永井 博文 (武田薬品工業株式会社)
中山 裕之 (東京大学)
西川 秋佳 (国立医薬品食品衛生研究所)
前田 博 (株式会社 新日本科学)
吉見 直己 (琉球大学) (五十音順)
5. 学会協力 (学会事務局補佐)
日本コンベンションサービス株式会社 九州支社
〒810-0002 福岡市中央区西中洲12-33 福岡大同生命ビル7階
Tel : 092-712-6201 Fax : 092-712-6262
E-mail : jstp22@convention.co.jp
6. 事務局
【会期前】 〒890-8544 鹿児島市桜ヶ丘8丁目35-1
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍学講座 腫瘍病態学分野内
第22回日本毒性病理学会事務局
Tel : 099-275-5263 Fax : 099-264-6348
E-mail : jstp22@m.kufm.kagoshima-u.ac.jp

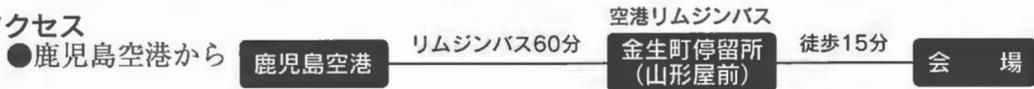
【会期中 : 2006年1月25日(水)午後~27日(金)】
〒892-0816 鹿児島市山下町14-50
かがしま県民交流センター
Tel : 099-221-6600(代) Fax : 099-221-6640

交通案内

会場

- かごしま県民交流センター（県民ホール・大ホール・中ホール他）
〒892-0816 鹿児島市山下町14-50（TEL 099-221-6600代）

アクセス



- JR九州の場合
鹿児島駅から徒歩……………約10分
鹿児島中央駅から市電・バスを利用…………約15分
- 市電・バスの場合
市役所前又は水族館口下車徒歩…………約5分

交通案内図



路面電車（乗車一律160円を降車時にお支払い下さい）
 JR

かごしま県民交流センター

中研修室1

会員委員会 (25日)
 編集委員会 (25日)
 理事会 (25日)
 毒性病理組織学改訂委員会 (26日)
 教育委員会 (27日)

大研修室1

評議員会 (26日)

県民ホール
 シンポジウム
 ワークショップ
 一般口演
 総会

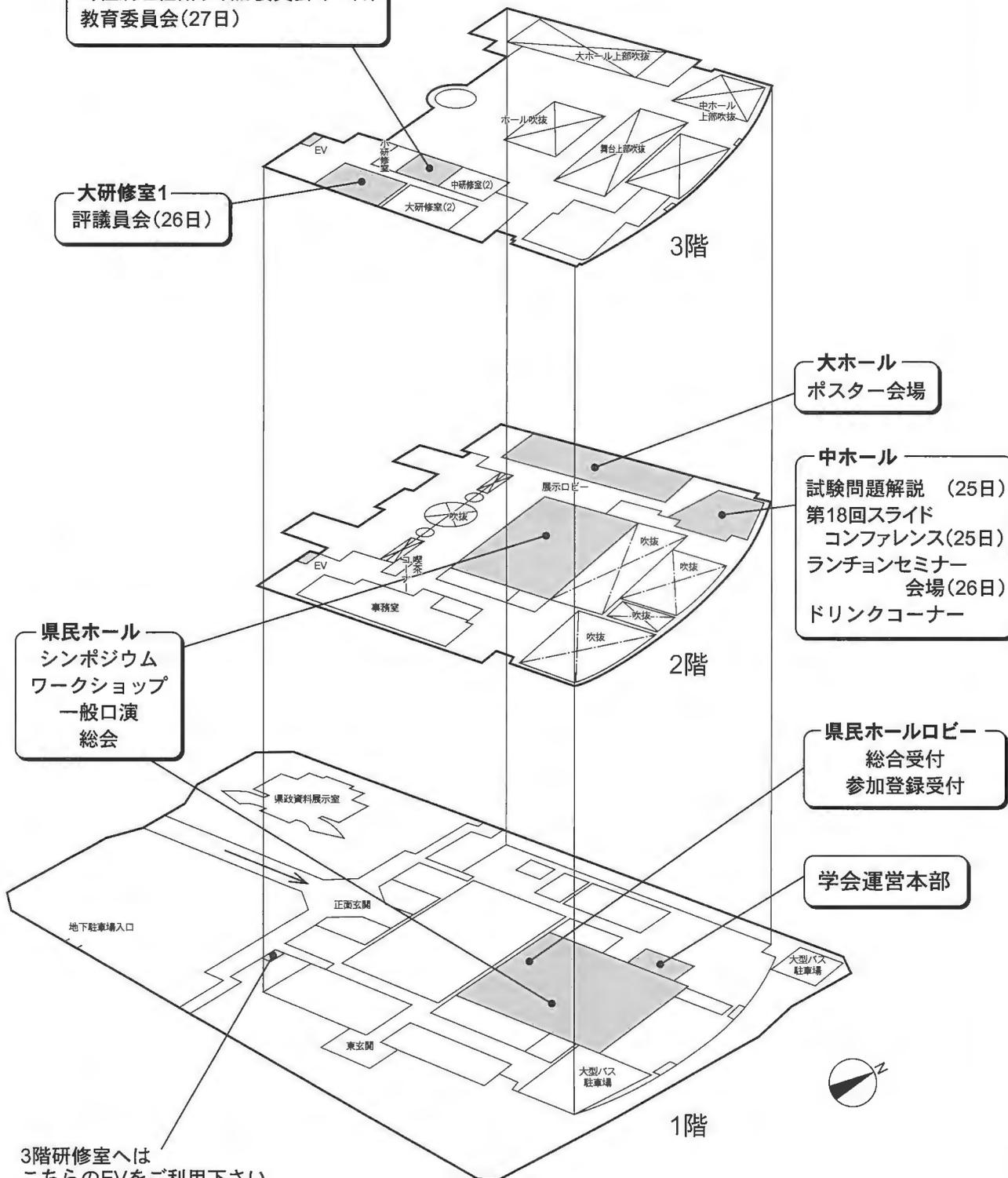
大ホール
 ポスター会場

中ホール
 試験問題解説 (25日)
 第18回スライド
 コンファレンス(25日)
 ランチョンセミナー
 会場(26日)
 ドリンクコーナー

県民ホールロビー
 総合受付
 参加登録受付

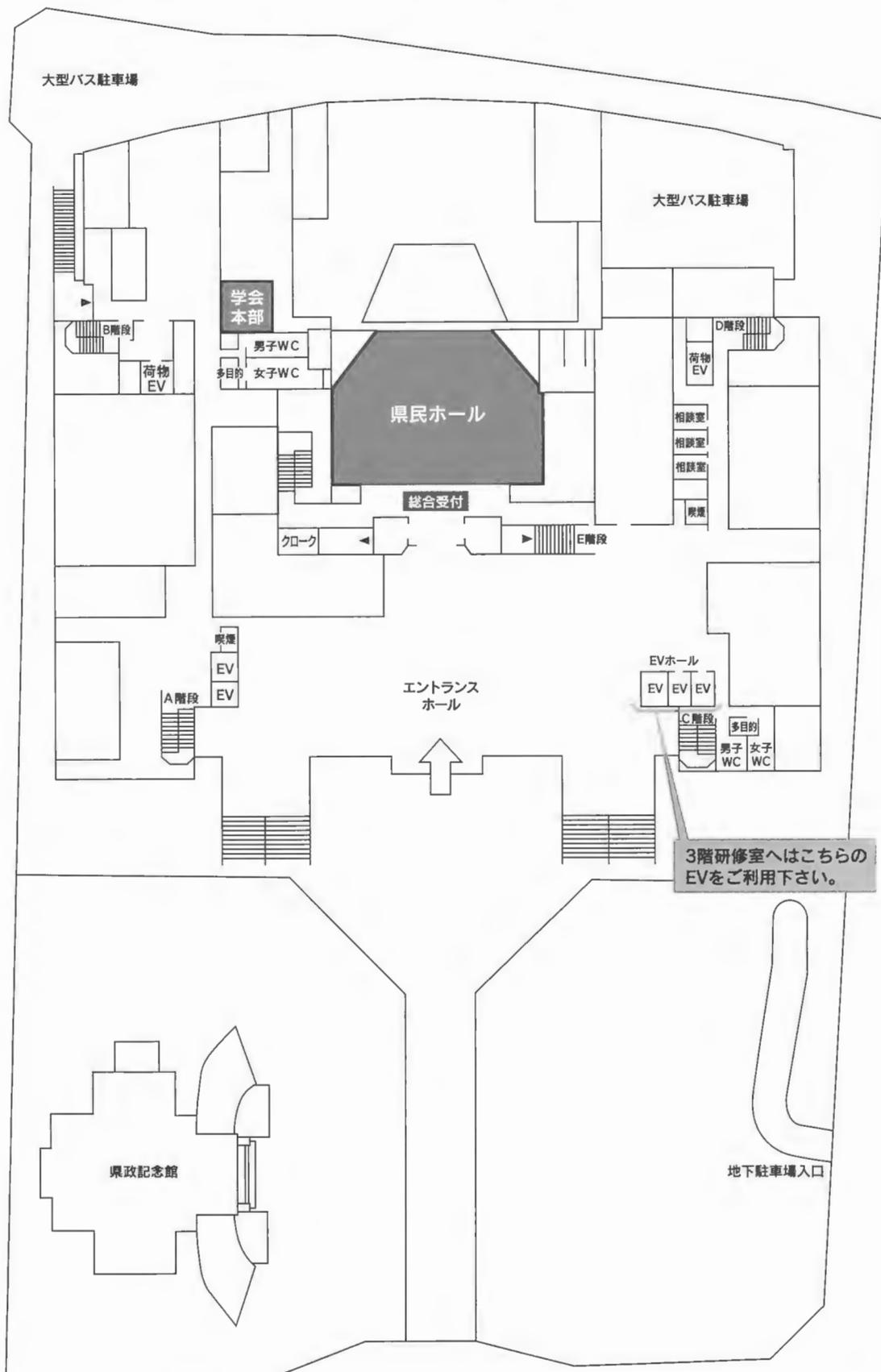
学会運営本部

3階研修室へは
こちらのEVをご利用下さい。



かごしま県民交流センター

1階案内図



かごしま県民交流センター

2階案内図

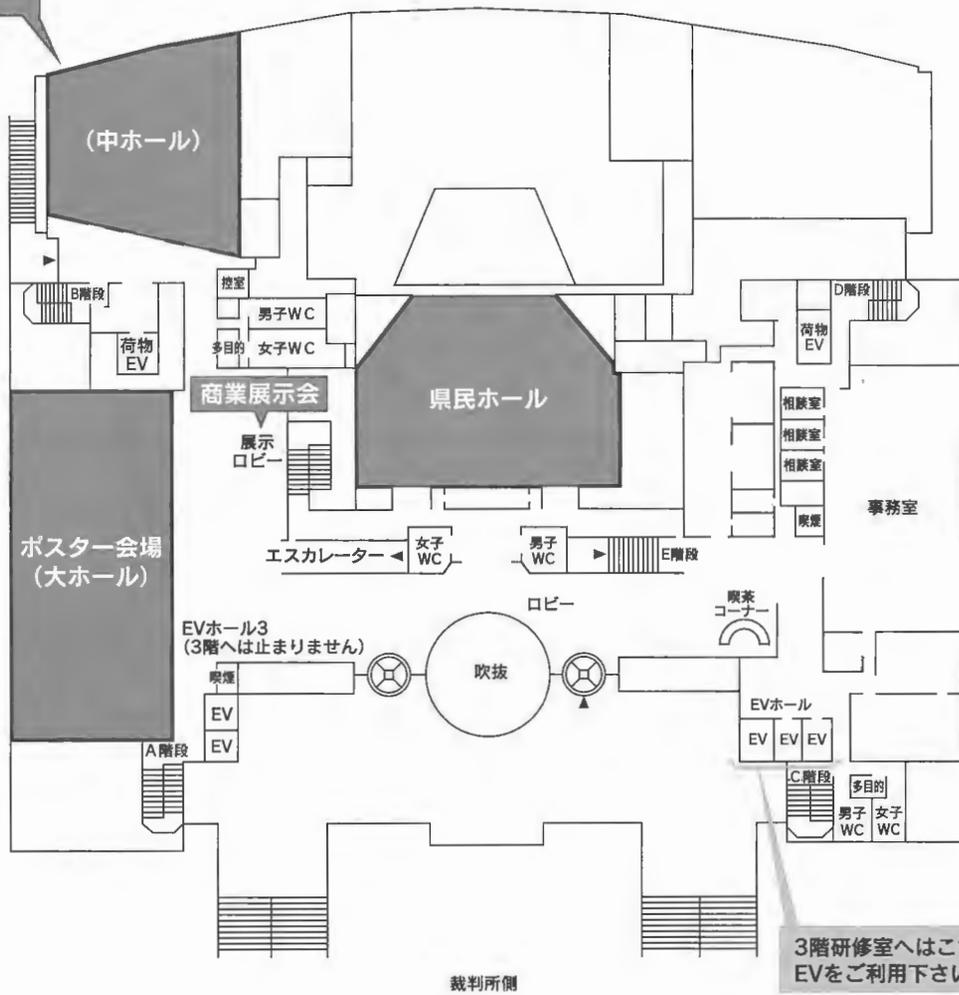
1月25日
・試験問題解説
・第18回スライド
コンファレンス

1月26日
・ランチョン
セミナー

西棟

長田中学校側

東棟



3階研修室へはこちらのEVをご利用下さい。

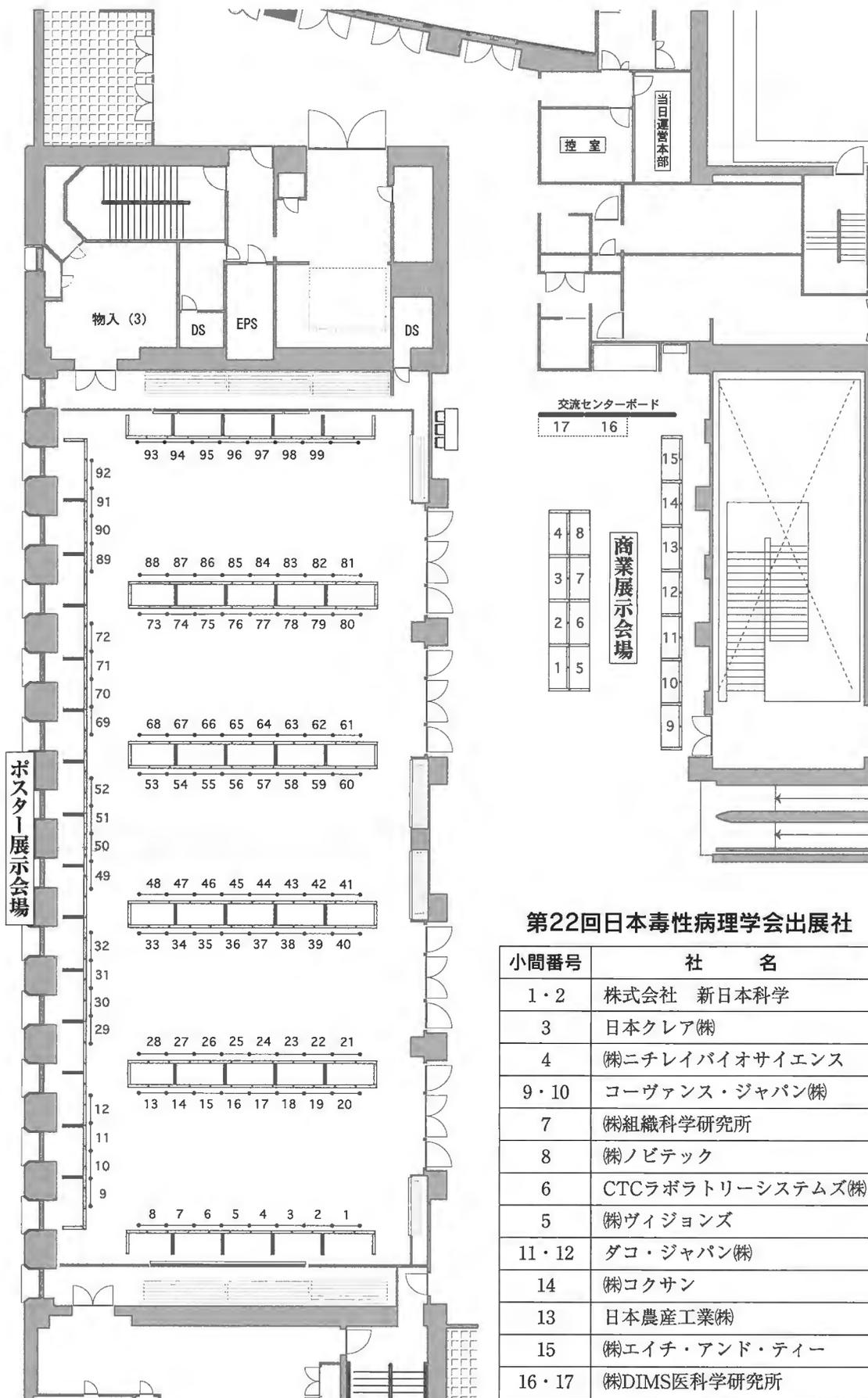
かごしま県民交流センター

3階案内図



交流センター2F 大ホール、展示ロビー

中ホール(ドリンクコーナー)



参加者へのご案内

●参加者の方へ

1. 総合受付は1月26日は午前9：00から、27日は午前8：30からかごしま県民交流センター・県民ホールロビー（1階）にて行います。
2. 事前登録者は「事前登録受付」にて「登録確認証」（E-mailのプリントアウト）を提示し、参加章（ネームカード）を受け取り、氏名・所属を記入の上、会期中は必ず着用してください。
3. 当日参加者は「当日参加受付」にて参加費（一般：11,000円、学生：5,000円）を納入して参加章（ネームカード）を受け取り、氏名・所属を記入の上、会期中は必ず着用してください。学生の場合は学生証の提示が必要です。
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. 会館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ください。
8. 商業展示は2階ロビーです。
9. ドリンクコーナーは2階中ホールです。
10. 昼食時は2階中ホール、3階大研修室1・2を昼食会場としてご利用いただけます。なお、26日は2階中ホールにてランチョンセミナーも開催いたします。
11. 会場近辺はレストラン、軽食喫茶などが非常に少ないので、1月25・26・27日と受付にてお弁当の当日販売を準備しております。ご利用下さい。
12. クロークは1階県民ホールロビーのクロークをご利用ください。受付予定時間は下記のとおりです。
1月26日（木）・27日（金）9：00～17：00
26日の懇親会に出席される方は17：00以降は懇親会会場（城山観光ホテル）のクロークをご利用ください。
13. 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（1階県民ホールロビー）付近にメッセージボードを設置いたしますのでご利用ください。

●総会及び評議員会のご案内

1. 評議員会は学会第1日目（26日）11：30から大研修室1（東棟3階）にて行います。
2. 総会は学会第2日目（27日）11：30から県民ホールにて行います。

●ランチョンセミナーのご案内

1. 高山 昭三先生（昭和大学 客員教授）
「サル類の自然発生腫瘍と医薬品を含むがん原性とげっ歯類との比較」
2. ランチョンセミナー整理券を総合案内（1階県民ホールロビー）にて当日午前9：00より配布いたします。お一人様1枚ずつ、先着順にて配布いたします。ランチョンセミナーは中ホール（26日は3階大研修室1、2へ中ホール映像を中継）にて開催いたします。

●懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第1日目（26日）18：30から城山観光ホテル・鳳凰の間（西側2階）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）受付けます。
3. 懇親会事前登録者には、参加章（ネームカード）に懇親会申込み済のシールを貼ります。

●座長の先生方へ

1. ご担当セッション開始時間の遅くとも20分前までには総合受付（1階県民ホールロビー）にお越しください。ワークショップ座長およびポスター座長の先生には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ください。
2. 会長賞は40歳未満の筆頭演者によるワークショップ、一般口演ならびにポスター全演題を対象に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ポスター発表を評価していただき、1月27日14：50までに評価票を総合受付にご提出ください。

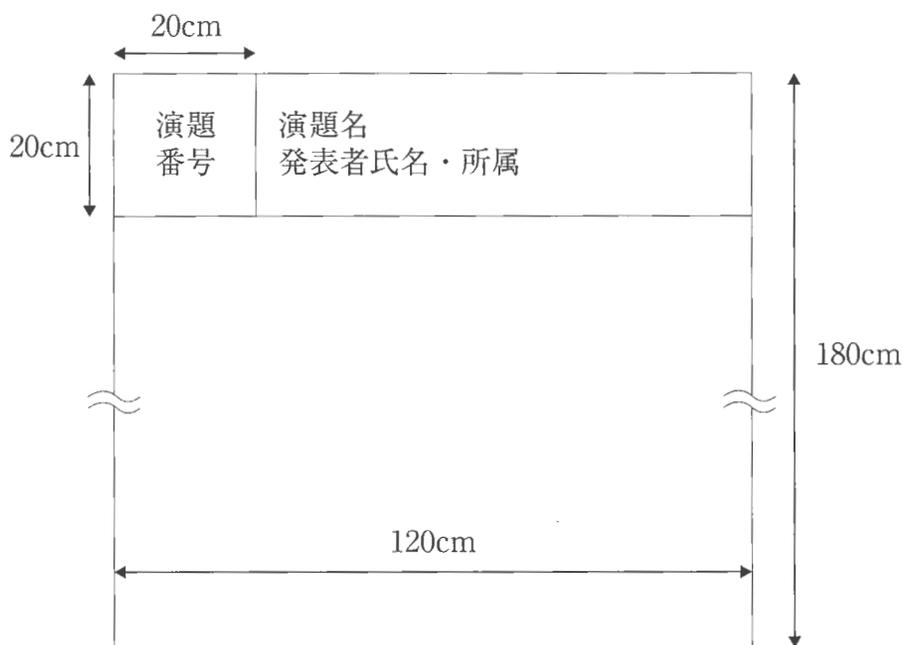
●シンポジウム・ワークショップ・一般口演演者の先生方へ

1. 発表機材はPC液晶プロジェクターを使用します。スライド・ビデオは使用できませんのでご注意ください。
2. 会場にはWindows XPをご用意しております。対応アプリケーションはWindows版PowerPoint2000/2002/2003です。操作は演台にてご自身で行ってください。
3. 事前にメディアの受付を行います。2006年1月16日（月）必着でCD-Rにファイル保存していただき、事務局までご郵送ください。メディアに演題番号（例：S1、WS1-1等）、氏名、所属、PowerPointのバージョンを明記してください。
4. データ作成にあたり、以下の点にご留意ください。
 - ①CD-Rに保存した後、別のパソコンにコピーして正常に再生されることをご確認ください。CD-RへのフォーマットはISO9660方式をご使用ください。
 - ②動画は不可といたします。アニメーションはご使用いただけます。
 - ③使用するフォントは特殊なものではなく、PowerPointに設定されている標準的なフォントをご使用ください。
【日本語の場合】MSゴシック、MSPゴシック、MS明朝、MSP明朝 など
【英語の場合】Century、Century Gothic、Times など
5. 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。
6. 講演時間、討論時間は次のとおりです。講演時間は厳守してください。

セッション名	講演時間	討論時間	予告ランプ
シンポジウム	20分	5分	発表時間17分経過で予告ランプが点灯します。
ワークショップ	15分	5分	発表時間12分経過で予告ランプが点灯します。
一般口演	8分	4分	発表時間6分経過で予告ランプが点灯します。

●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（26日）午前10：00までにポスター会場（2階大ホール）前の受付にて受付し、展示を済ませてください。受付時にポスター発表用のリボンをお受け取りください。討論時間には参加章（ネームカード）のほかに、このリボンを必ず着用してください。
2. ポスター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. パネルのサイズは縦180cm×横120cmです。演題番号については主催者側で用意いたします。演題名と発表者氏名・所属の表題を下記の図に従ってご準備ください。



4. 展示時間は第1日目（26日）10：00から第2日目（27日）15：00までです。ポスター発表の討論時間は次のとおりです。発表者の方は座長の指示に従って要約発表・討論をお願いします。発表時間は厳守してください。

日時	討論時間	発表時間	質疑時間	その他の時間帯は座長なしで自由討論してください。
1月26日(木)	13：30～14：30	5分	5分	
1月27日(金)	13：00～14：00	5分	5分	

5. ポスターは第2日目（27日）15：00～16：00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付の備え付けの箱へ返却して下さい。

●演題の英文抄録提出について（日本毒性病理学会編集委員会より）

1. 演題の英文抄録提出は先に送付した日本毒性病理学会編集委員会が作成の英文抄録の提出要領に従い、学会当日に提出してください。
2. 英文抄録は学会誌『Journal of Toxicologic Pathology』に掲載されます。

司会・座長一覧

セッション名	日 時	司会・座長(所属)	会 場
特別講演	1月26日(木) 17:30~18:30	吉田 浩己(鹿児島大学)	城山観光ホテル
シンポジウム	1月27日(金) 9:50~11:30	吉田 浩己(鹿児島大学) 津田 洋幸(名古屋市立大学)	かごしま 県民交流センター 県民ホール
ワークショップ1	1月26日(木) 10:00~11:20	前田 博(株式会社 新日本科学) 山手 丈至(大阪府立大学)	かごしま 県民交流センター 県民ホール
ワークショップ2	1月26日(木) 15:10~16:10	永井 博文(武田薬品工業株) 尾崎 清和(摂南大学)	
ワークショップ3	1月27日(金) 14:40~16:00	真鍋 淳(三共株) 鰐淵 英機(大阪市立大学)	
一般口演1	1月26日(木) 14:30~15:06	三森 国敏(東京農工大学)	かごしま 県民交流センター 県民ホール
	O-1~O-3		
一般口演2	1月27日(金) 9:00~9:24	桑村 充(大阪府立大学)	
	O-4~O-5		
一般口演3	1月27日(金) 9:24~9:48	杉江 茂幸(金沢医科大学)	
	O-6~O-7		
一般口演4	1月27日(金) 14:00~14:36	立松 正衛(愛知がんセンター研究所)	
	O-8~O-10		
ポスター発表 質疑I	1月26日(木) 13:30~14:30	吉見 直己(琉球大学)	かごしま 県民交流センター 大ホール
	P-1~P-4	中山 裕之(東京大学)	
	P-9~P-12	和久井 信(麻布大学)	
	P-17~P-20	岩田 聖(財安評センター)	
	P-25~P-28	原田 孝則(財残留農薬研究所)	
	P-33~P-36	田中 卓二(金沢医科大学)	
	P-41~P-44	柳井 徳磨(岐阜大学)	
	P-49~P-52	寺西 宗広(三共株)	
	P-57~P-60	螺良 愛郎(関西医科大学)	
	P-65~P-68	小谷 猛夫(大阪府立大学)	
	P-73~P-76	杉本 哲朗(中外製薬株)	
	P-81~P-84	田川 義章(株三和化学研究所)	
P-89~P-92	泉 啓介(徳島大学)		
ポスター発表 質疑II	1月27日(金) 13:00~14:00	今井 俊夫(国立医薬品食品衛生研究所)	かごしま 県民交流センター 大ホール
	P-5~P-8	布谷 鉄夫(財日本生物科学研究所)	
	P-13~P-16	今井田克己(香川大学)	
	P-21~P-24	傳田阿由美(奈良県立医科大学)	
	P-29~P-32	西川 秋佳(国立医薬品食品衛生研究所)	
	P-37~P-40	小川久美子(名古屋市立大学)	
	P-45~P-48	吉村 慎介(財食品薬品安全センター)	
	P-53~P-56	永岡 隆晴(株式会社 新日本科学)	
	P-61~P-64	吉田 緑(財佐々木研究所)	
	P-69~P-72	花田 貴宣(アステラス製薬株)	
	P-77~P-80	玉野 静光(株DIMS医学研究所)	
	P-85~P-88	中江 大(財佐々木研究所)	
P-93~P-96			

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(東京大学)	1986.2.7-8	1	5	29
3	名古屋	伊東 信行(名古屋市立大学)	1987.2.6-7	1	8	47
4	浜 松	榎本 眞 (安評センター)	1988.2.5-6	1	7	55
5	横 浜	蟹澤 成好(横浜市立大学)	1989.1.27-28	1	6	53
6	札 幌	板倉 智敏(北海道大学)	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(奈良医科大学)	1992.1.23-24	1	19	71
9	東 京	土井 邦雄(東京大学)	1993.1.21-22	2	4	126
10	広 島	伊藤 明弘(広島大学)	1994.1.27-29	1	18	136
11	大 阪	佐久間貞重(大阪府立大学)	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(鳥取大学)	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(岐阜大学)	2000.1.26-27	1	12	125
17	淡 路	奈良間 功(摂南大学)	2001.1.25-26	1	10	146
18	東 京	津田 洋幸(国立がんセンター)	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(大阪市立大学)	2004.2.15-18	2	31	172
21	浜 松	今井 清 (安評センター)	2005.1.20-21	1	23	100
22	鹿児島	吉田 浩己(鹿児島大学)	2006.1.26-27	1	15	109

* Joint international meeting of JSTP/IFSTP

第22回 日本毒性病理学会日程表

会期：2006年1月26日～27日

	学会前日 1/25(水)		学会1日目 1/26(木)				学会2日目 1/27(金)				
	中ホール	会議 (中研修室1)	県民ホール	大ホール	中ホール	会議 (中研修室1)	県民ホール	大ホール	中ホール	会議 (中研修室1)	
8:30			開場・準備	開場・準備		毒性病理組織学改訂委員会	8:30 開場・準備・受付開始	開場・準備		教育委員会	8:30
9:00	開場・準備		9:00 総合受付開始	ポスター発表 受付・展示	ドリンク コーナー		口演2・3 (各2題)		ポスター発表 展示	ドリンク コーナー	9:00
9:30			9:50 開会挨拶								9:30
10:00	日本毒性病理 専門家認定試 験における「試 験問題解説」		ワークショップ1 「サル毒性 病理評価」	ポスター発表 展示	ドリンク コーナー		シンポジウム 「乳癌の発生 と進展」	ポスター発表 展示	ドリンク コーナー	10:00	
10:30						11:20					
11:00								11:00			
11:30						評議員会 (大研修室1)	総会	11:30			
12:00	昼食						昼食			12:00	
12:30			昼食		ランチョン (高山昭三先生)	ライブ中継 (大研修室1・2)					12:30
13:00		会員委員会						ポスター発表 質疑Ⅱ			13:00
13:30				ポスター発表 質疑Ⅰ							13:30
14:00	第18回スライド コンファランス	編集委員会			ドリンク コーナー		口演4(3題)	ポスター発表 展示	ドリンク コーナー	14:00	
14:30				口演1(3題)							14:30
15:00				15:10		ポスター発表 展示				15:00	
15:30				ワークショップ2 「Phospholipidosis」				ワークショップ3 「遺伝子・ タンパク発現」		ポスター撤去	15:30
16:00			城山観光ホテルへバスで移動				表彰式・ 閉会式				16:00
16:30			城山観光ホテルへバスで移動								16:30
17:00		理事会	特別講演 (森 亘先生) in 城山観光ホテル								17:00
17:30			特別講演 (森 亘先生) in 城山観光ホテル								17:30
18:00			特別講演 (森 亘先生) in 城山観光ホテル								18:00
18:30			特別講演 (森 亘先生) in 城山観光ホテル								18:30
19:00			懇親会 in 城山観光ホテル								19:00
19:30			懇親会 in 城山観光ホテル								19:30
20:00			懇親会 in 城山観光ホテル								20:00
20:30			懇親会 in 城山観光ホテル								20:30
21:00			鹿児島市内へバスで移動								21:00

プログラム

特別講演

第1日目（1月26日）17:30-18:30
司会 吉田 浩己（鹿児島大学）

城山観光ホテル

座談：クームス先生
－第22回日本毒性病理学会総会に寄せて－
森 亘
（東京大学名誉教授）

17:30-18:30

---P35

シンポジウム 乳癌の発生と進展

県民ホール

○:発表者

*発表者が40歳未満

第2日目(1月27日) 9:50-11:30

座長 吉田 浩己(鹿児島大学)、津田 洋幸(名古屋市立大学)

- S-1 ヒト乳腺における前癌病変と早期癌:臨床病理学的立場から ---P37
9:50- ○森谷 卓也¹⁾、笠島 敦子¹⁾、宇佐美 伸²⁾、大内 憲明²⁾、笹野 公伸^{1,3)}
(¹⁾東北大学病院 病理部、²⁾東北大学 大学院医学系研究科 腫瘍外科学、³⁾東北大学 大学院医学系研究科 病理診断学)
- S-2 犬と猫の自然発生乳腺腫瘍 ---P37
10:15- ○中山 裕之¹⁾
(¹⁾東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医病理学研究室)
- S-3 ラット乳腺発がん重要な遺伝子群の同定の試み ---P38
10:40- ○朝元 誠人¹⁾、外岩戸 尚美¹⁾、白井 智之¹⁾
(¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理分野)
- S-4 7,12-dimethylbenz(a)anthracene誘発ラット乳がんおよび乳腺症の発生と進展について ---P38
11:05- ○吉田 浩己¹⁾、馬嶋 秀行¹⁾、梅北 善久¹⁾、川口 博明¹⁾、早田 正和¹⁾、
小玉 拓郎¹⁾、富田 和男¹⁾、犬童 寛子¹⁾、松岡 洋一郎²⁾、津田 洋幸³⁾
(¹⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍学講座、²⁾関西医科大学 病理学第2、
³⁾名古屋大学大学院医学研究科 分子毒性)

ワークショップ1

最近のサル類における毒性病理評価

県民ホール

○：発表者

*発表者が40歳未満

第1日目（1月26日）10:00-11:20

座長 前田 博（株式会社 新日本科学）、山手 丈至（大阪府立大学）

- WS1-1 カニクイザルの精巢の病理組織学的検査における留意点 ---P41
10:00- ○佐竹 茂¹、和泉 博之¹、椎田 修治¹、堀 隆夫¹、吉川 剛¹、藤島 純子¹、
古川 知宏¹、掛樋 君子¹、楊 秀英¹、平川 公昭¹、桑村 有規¹、上村 裕洋¹、
永岡 隆晴¹、來原 兄忠¹、千早 豊¹、戸門 洋志¹、前田 博¹、宮嶋 宏彰¹
(¹株式会社 新日本科学)
- WS1-2 サルの生殖器および乳腺における加齢性変化 ---P41
10:20- ○永岡 隆晴¹、上村 裕洋¹、平川 公昭¹、佐竹 茂¹、楊 秀英¹、桑村 有規¹、
堀 隆夫¹、吉川 剛¹、古川 知宏¹、藤島 純子¹、戸門 洋志¹、千早 豊¹、
前田 博¹、宮嶋 宏彰¹
(¹株式会社 新日本科学)
- WS1-3 カニクイザルの背景病変と毒性試験評価 ---P42
10:40- ○平川 公昭¹、上村 裕洋¹、堀 隆夫¹、楊 秀英¹、永岡 隆晴¹、桑村 有規¹、
吉川 剛¹、藤島 純子¹、古川 知宏¹、掛樋 君子¹、千早 豊¹、前田 博¹、
宮嶋 宏彰¹、佐竹 茂¹、戸門 洋志¹
(¹株式会社 新日本科学)
- WS1-4 サル類の長期飼育で問題となる病変；特に循環器病変およびリンパ腫について ---P42
11:00- ○柳井 徳磨¹、酒井 洋樹¹、柵木 利昭¹、吉川 泰弘²
(¹岐阜大学 COE野生動物感染症センター、²東京大学大学院農学生命科学研究科
実験動物学教室)

ワークショップ2

Phospholipidosisとその周辺の病理

県民ホール

○：発表者

*発表者が40歳未満

第1日目（1月26日）15:10-16:00

座長 永井 博文（武田薬品工業株）、尾崎 清和（摂南大学）

- WS2-1 薬物誘発性りん脂質症の病理 ---P43
15:10- ○福田 良¹
(¹武田薬品工業株式会社 開発研究センター)
- WS2-2 Metabonomics research for drug-induced phospholipidosis/steatosis ---P43
15:30- ○堀之内 彰¹、村林 美香²、上口 英則²、森 郁生¹
(¹武田薬品 開発研究センター、²武田薬品 探索研究センター)
- * WS2-3 Toxicogenomics Approaches to Drug-Induced Phospholipidosis: Identification of
Candidate Blood Biomarkers and Establishment of in Vitro Screening System ---P44
15:50- ○沢田 啓¹、森 郁生¹、谷口 恵子¹、岩知道 貴子¹、中下 幸江¹、朝日 知¹、
高見 健治¹
(¹武田薬品工業 医薬研究本部)

ワークショップ3
毒性発現と遺伝子・タンパク発現の変化

県民ホール

○:発表者

*発表者が40歳未満

第2日目(1月27日) 14:40-16:00

座長 寺西 宗広(三共株)、鰐淵 英機(大阪市立大学)

- *WS3-1 薬物代謝酵素誘導剤による肝細胞肥大と遺伝子・タンパク質発現の変化 ---P45
14:40- ○牧野 俊彦¹⁾、清沢 直樹¹⁾、伊藤 和美¹⁾、安藤 洋介¹⁾、矢本 敬¹⁾、寺西 宗広¹⁾、
真鍋淳¹⁾
(¹⁾三共 安全研)
- *WS3-2 肝細胞アポトーシスと遺伝子・タンパク質発現の変化 ---P45
15:00- ○熊谷 和善¹⁾、清沢 直樹¹⁾、伊藤 和美¹⁾、安藤 洋介¹⁾、河井 良太¹⁾、矢本 敬¹⁾、
寺西 宗広¹⁾、真鍋 淳¹⁾
(¹⁾三共 安全研)
- WS3-3 アセトアミノフェン、プロモベンゼンによる肝細胞壊死と遺伝子・蛋白発現の変化 ---P46
15:20- ○中江 大¹⁾
(¹⁾財団法人 佐々木研究所 病理部)
- *WS3-4 Buthionine-sulfoximine (BSO) 起因性グルタチオン枯渇と肝細胞の病理組織学的変化 ---P46
15:40- ○大町 康¹⁾
(¹⁾放医研 低線量プロジェクト)

一般口演1

県民ホール

○:発表者

*発表者が40歳未満

第1日目 (1月26日) 14:30-15:00

座長 三森 国敏 (東京農工大学)

- O-1 雄性マウスにおけるNNK誘発肺発がん ---P49
14:30- ○五十嵐 麻希^{1,3)}、吉田 緑¹⁾、高橋 正一¹⁾、植松 史行¹⁾、前川 昭彦²⁾、中江 大¹⁾
(¹⁾佐々木研 病理、²⁾佐々木研、³⁾東京農大 院 生体機能防衛学)
- *O-2 F344, LEC及びLEAラットにおける電離放射線感受性とX線誘発発がん性 ---P49
14:42- ○中井 登紀子¹⁾、泉 啓介¹⁾
(¹⁾徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 環境病理学分野)
- O-3 Bromocriptine長期投与によるラット子宮発癌抑制作用 ---P50
14:54- ○吉田 緑¹⁾、谷本 倫^{1,2)}、前川 昭彦³⁾
(¹⁾(財)佐々木研究所 病理部、²⁾株式会社ヤクルト本社 中央研究所、³⁾(財)佐々木研究所)

一般口演2

県民ホール

○:発表者

*発表者が40歳未満

第2日目 (1月27日) 9:00-9:24

座長 梅村 孝司 (北海道大学)

- O-4 ブスルファンによるラット胎児における小脳症及び小眼球症 ---P50
9:00- ○古川 賢¹⁾、臼田 浩二¹⁾、阿部 正義¹⁾、小川 いづみ¹⁾
(¹⁾日産化学工業 生物科学研究所)
- *O-5 ACAT阻害薬 (K-604) のラット副腎に対する毒性の評価 ---P51
9:12- 渡邊 隆夫¹⁾、○西村 次平¹⁾、大道 浩三¹⁾、秋葉 知英¹⁾、岡村 信志¹⁾、
加藤 直樹¹⁾、高橋 正寿¹⁾、山下 浩史¹⁾、和藤 英司¹⁾、田中 猛¹⁾、
天野 幸紀¹⁾、田辺宗平¹⁾
(¹⁾興和株式会社 富士研究所 安全性研究部)

一般口演3

県民ホール

○:発表者

*発表者が40歳未満

第2日目(1月27日) 9:24-9:50

座長 杉江 茂幸(金沢医科大学)

- O-6 Epstein-Barr virus由来の自立増殖能を有する非ウイルスベクターを用いた遺伝子導入と ---P51
9:24- 実験的遺伝子治療
○柴田 雅朗¹⁾、森本 純司²⁾、伊藤 裕子¹⁾、大槻 勝紀¹⁾
(¹⁾大阪医科大学 基盤医学講座 解剖学、²⁾大阪医科大学 実験動物センター)
- *O-7 N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine(BBN)誘発ラット膀胱癌に対するBCH抗腫瘍効 ---P52
9:36- 果の検討
○武藤 朋子¹⁾、金井 好克¹⁾、和久井 信²⁾、遠藤 仁¹⁾
(¹⁾杏林大学 医学部 薬理学教室、²⁾麻布大学獣医学部比較毒性学研究室)

一般口演4

県民ホール

○:発表者

*発表者が40歳未満

第2日目(1月27日) 14:00-14:40

座長 立松 正衛(愛知がんセンター研究所)

- *O-8 Dicyclanil誘発マウス肝腫瘍における遺伝子発現解析 ---P52
14:00- ○本 光喜¹⁾、岡村 美和¹⁾、六車 雅子¹⁾、三森 国敏¹⁾
(¹⁾東京農工大学 獣医病理)
- *O-9 肝発がんの進展過程におけるConnexin32の働き ---P53
14:12- ○外岩戸 尚美¹⁾、朝元 誠人¹⁾、白井 智之¹⁾
(¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理分野)
- O-10 フェノバルビタール投与の肝発がんホルミシス現象における誘発したラットGST-P陽性 ---P53
14:24- 細胞巢のプロテオーム解析
○木下 アンナ¹⁾、鰐淵 英機¹⁾、魏 民¹⁾、福島 昭治¹⁾
(¹⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

ポスター発表

大ホール

○:発表者

*発表者が40歳未満

座長 吉見 直己 (琉球大学) (質疑Ⅰ 1月26日13:30-14:30)

- P-1 NMDA受容体拮抗薬を投与したビーグル犬にみられた大脳病変 ---P55
○白井 紀充¹⁾、高橋 守¹⁾、田代 俊文¹⁾、古田 千香子¹⁾、二井 愛介¹⁾、
堀井 郁夫¹⁾
(¹⁾ファイザー株式会社 安全性研究統括部)
- P-2 ラット新生仔期の脳分化に関する病理形態学的研究 ---P55
○大平 東子¹⁾、木戸 亮子¹⁾、飯田 麻里¹⁾、長井 佳代子¹⁾、山下 龍¹⁾、
石崎 まゆみ¹⁾、安井 雄三¹⁾、木原 亨¹⁾、長谷川 和成¹⁾、細井 理代¹⁾、
宮島 留美子¹⁾、志賀 敦史¹⁾、岩田 聖¹⁾、今井 清¹⁾
(¹⁾安評センター)
- P-3 3-aminoobenzamideによるMNU誘発ラット網膜変性の抑制効果 ---P56
○三木 克朗¹⁾、義澤 克彦²⁾、螺良 愛郎¹⁾
(¹⁾関西医科大学 病理学第2、²⁾アステラス製薬)
- P-4 3-Acetylpyridineのラット単回腹腔内投与による末梢神経系に対する影響 ---P56
○姜 景涛¹⁾、市川 敦子¹⁾、小林 吉彦¹⁾、楯 美樹¹⁾、根田 公一¹⁾、門田 利人¹⁾
(¹⁾富士バイオメディックス 小淵沢総合研究所)

座長 今井 俊夫 (国立医薬品食品衛生研究所) (質疑Ⅱ 1月27日13:00-14:00)

- *P-5 アニリン投与ラットの脊髄海綿状病変形成過程における2', 3'-cyclic nucleotide 3'-
phosphodiesterase (CNP)発現の経時的変化 ---P57
○黒滝 哲郎¹⁾、小谷 百合¹⁾、河野 友紀子¹⁾、山下 弘太郎¹⁾、土谷 稔¹⁾
(¹⁾安科研)
- P-6 リン酸化型ヒストン3免疫組織染色法による胎児神経幹細胞の分裂能の検出 ---P57
○桑形 麻樹子¹⁾、小川 哲郎²⁾、丸茂 秀樹¹⁾、今野 和則¹⁾、斉藤 義明¹⁾、
塩田 清二²⁾、永田 伴子¹⁾
(¹⁾財 食品薬品安全センター 秦野研究所 毒性部 病理、²⁾昭和大 医学部 第
一解剖)
- *P-7 クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤(CCA)の毒性評価 ---P58
Ⅱ.成熟ラットの神経・免疫系に対する影響
○竹内 幸子¹⁾、小坂 忠司¹⁾、首藤 康文¹⁾、藤江 秀彰¹⁾、松本 力¹⁾、林 宏一¹⁾、
福山 朋季¹⁾、高橋 尚史¹⁾、桑原 真紀¹⁾、榎本 秋子¹⁾、中島信明¹⁾、原田 孝則¹⁾
(¹⁾財団法人 残留農薬研究所 毒性部)
- P-8 クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤(CCA)の毒性評価 ---P58
Ⅲ.幼若ラットの神経・免疫系に対する影響
○桑原 真紀¹⁾、小坂 忠司¹⁾、首藤 康文¹⁾、藤江 秀彰¹⁾、松本 力¹⁾、林 宏一¹⁾、
福山 朋季¹⁾、高橋 尚史¹⁾、竹内 幸子¹⁾、榎本 秋子¹⁾、中島 信明¹⁾、
原田 孝則¹⁾
(¹⁾残留農薬研究所 毒性部)

座長 中山 裕之 (東京大学) (質疑 I 1月26日13:30-14:30)

- *P-9 FITC頻回投与による急性型特発性間質性肺炎モデルの作成 ---P59
○阪本 晃佳^{1,2)}、三井 雅之³⁾、田村 一利⁴⁾、辻内 俊文⁵⁾、堤 雅弘^{2,6)}
(¹⁾京都府立大学 人環 食環境、²⁾奈良県立医科大学 RI、³⁾奈良県立医科大学 分子病理、⁴⁾ボゾリサーチセンター 病理、⁵⁾近畿大学 理工 生命科学、⁶⁾済生会中和病院 病理)
- *P-10 マウス鼻中隔にみられる好酸性沈着物はアミロイドではない ---P59
○土居 卓也¹⁾、小谷 百合¹⁾、熊野 篤¹⁾、友成 由紀¹⁾、爰島 洋子¹⁾、菅野 剛¹⁾、土谷 稔¹⁾
(¹⁾安科研)
- P-11 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)誘発性のLong-Evans (LE)ラット肺血管肉腫の病理形態学的検討 ---P60
○涌生 ゆみ¹⁾、菅野 剛¹⁾、黒滝 哲郎¹⁾、佐藤 順子¹⁾、土谷 稔¹⁾
(¹⁾安科研)
- P-12 ラット肺におけるフラーレン(C60)の気管内注入による生体影響 ---P60
○大神 明¹⁾、森本 泰夫¹⁾
(¹⁾産業医科大学 産業生態科学研究所 呼吸病態学)

座長 布谷 鉄夫 ((財)日本生物科学研究所) (質疑 II 1月27日13:00-14:00)

- *P-13 正常ラットにおける補体の活性化と制御 ~膜補体制御因子の病理組織学的検討~ ---P61
○加藤 千恵¹⁾、加藤 淳彦¹⁾、照屋 志乃¹⁾、松尾 沙織里¹⁾、高居 宏武¹⁾、杉本 哲朗¹⁾、鈴木 雅実¹⁾
(¹⁾中外製薬 安全研)
- *P-14 ラット薬物誘発性溶血性貧血の組織学的マーカーの経時的変化 ---P61
○小野 美穂子¹⁾、中野 健二¹⁾、伊藤 今日子¹⁾、泉澤 信行¹⁾、泉澤 智子¹⁾、田畑 肇¹⁾、代田 欣二²⁾
(¹⁾アステラス製薬 安全研、²⁾麻布大学 生物科学総合研究所)
- *P-15 大動脈狭窄左室肥大モデルにおける経時的変化の病理組織学的解析 ---P62
○東山 浩之¹⁾、井上 宏高¹⁾、菅井 正樹¹⁾、岡本 郁司¹⁾、水谷内 香里¹⁾、串田 宏¹⁾、木下 美弥¹⁾、浅野 哲¹⁾
(¹⁾グラクソ スミスクライン 筑波研究所 薬理研究部)
- *P-16 Left atrial myxomatous thrombus with chondroid metaplasia and alveolar proteinosis in a Long Evans female rat ---P62
○程 克儉¹⁾、丘 雅埼¹⁾、陳 憲全¹⁾
(¹⁾Greenseasons Biotech Company)

座長 和久井 信 (麻布大学) (質疑 I 1月26日13:30-14:30)

- P-17 Dahl食塩感受性ラットを用いて味噌並びに食塩投与による血圧の変動 ---P63
○渡辺 敦光¹⁾、榎本 尚樹¹⁾、梶村 順子¹⁾、神谷 研二¹⁾
(¹⁾広島大学 原医研 分子発がん)
- P-18 若齢ラットにおける限局性心筋炎/心筋変性と老齢ラットにおける心筋線維化の分布の比較 ---P63
○熊野 篤¹⁾、菅野 剛¹⁾、涌生 ゆみ¹⁾、土居 卓也¹⁾、友成 由紀¹⁾、土谷 稔¹⁾
(¹⁾安科研)
- *P-19 3,3'-Iminodipropionitrile (IDPN)を投与したラットにみられた髄膜血管病変の電子顕微鏡学的観察 ---P64
○友成 由紀¹⁾、山下 弘太郎¹⁾、熊野 篤¹⁾、爰島 洋子¹⁾、涌生 ゆみ¹⁾、土谷 稔¹⁾
(¹⁾安科研)
- P-20 若齢ビーグル犬に認められた急性骨髄性白血病の1例 ---P64
○澤本 修¹⁾、岸本 早苗¹⁾、篠原 誠治¹⁾、市川 慎司¹⁾
(¹⁾大塚製薬工場 栄養研究所)

座長 今井田 克己 (香川大学) (質疑 II 1月27日13:00-14:00)

- P-21 ヒト正常型c-Ha-ras遺伝子トランスジェニックラットを用いた4-nitroquinoline 1-oxide誘発舌発がん感受性 ---P65
○田中 卓二¹⁾、甲野 裕之¹⁾、鈴木 里加子¹⁾、杉江 茂幸¹⁾、津田 洋幸²⁾
(¹⁾金沢医科大学 腫瘍病理、²⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性)
- *P-22 Apc^{Min/+}マウス大腸発がんに及ぼすdextran sodium sulfateの影響 ---P65
○鈴木 里加子¹⁾、甲野 裕之¹⁾、杉江 茂幸¹⁾、田中 卓二¹⁾
(¹⁾金沢医科大学 医学部 腫瘍病理)
- P-23 Min mouse大腸放射線発癌における標的細胞の解析 ---P66
○塚本 徹哉¹⁾、平田 暁大¹⁾、立松 正衛¹⁾
(¹⁾愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学)
- P-24 ポタシウムチャンネルKcnq1欠損WTC deafness Kyoto (dfk)ラットの胃病変 ---P66
○桑村 充¹⁾、岡島 涼子¹⁾、山手 丈至¹⁾、小谷 猛夫¹⁾、郷間 宏史²⁾、庫本 高志²⁾、芹川 忠夫²⁾
(¹⁾大阪府立大学大学院 獣医病理、²⁾京都大学大学院 動物実験施設)

座長 岩田 聖 ((財)安評センター) (質疑Ⅰ 1月26日13:30-14:30)

- *P-25 アロキサン誘発糖尿病ラットの胃腸扁平上皮増殖性病変-選択的COX-2阻害薬(エトド
ラク)投与による病変の修飾- ---P67
○佐野 智弥¹⁾、尾崎 清和¹⁾、松浦 哲郎¹⁾、奈良間 功¹⁾
(¹⁾摂南大学 薬学部 病理学研究室)
- *P-26 F344ラットにおけるアロキサン誘発糖尿病性歯周病の病態 ---P67
○中原 豊^{1,2)}、尾崎 清和¹⁾、福里 陽子³⁾、松浦 哲郎¹⁾、奈良間 功¹⁾
(¹⁾摂南大学 薬学部 病理学研究室、²⁾(株)パナファーム ラボラトリーズ、³⁾サンス
ター(株)ヘルスケア研究開発部)
- P-27 ニーム葉抽出物による抗酸化能と大腸前癌病変に対する抑制の検討 ---P68
○新垣 淳也^{1,2)}、金城 達也^{1,2)}、森岡 孝満¹⁾、兼城 達也¹⁾、稲嶺 盛彦¹⁾、
砂川 奈穂¹⁾、千葉 至¹⁾、酒々井 真澄¹⁾、西巻 正²⁾、吉見 直己¹⁾
(¹⁾琉球大学 医学部 腫瘍病理、²⁾病態消化器外科学分野)
- *P-28 茶抽出物(カテキン類)と亜硝酸ナトリウムの併用投与による前胃発がん促進作用 ---P68
○黒岩 有一¹⁾、石井 雄二^{1,2)}、梅村 隆志¹⁾、神吉 けい太¹⁾、西川 秋佳¹⁾、
中澤 裕之²⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理部、²⁾星薬大 薬品分析化学)

座長 傳田 阿由美 (奈良県立医科大学) (質疑Ⅱ 1月27日13:00-14:00)

- P-29 ラット中期大腸発がん試験法におけるムラサキトウモロコシ色素の発がん修飾作用 ---P69
○太田 世志雄¹⁾、今井 俊夫¹⁾、曹 永晩¹⁾、蓮村 麻衣¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理部、²⁾日本曹達株式会社 小田原研究所 安全性研究部)
- *P-30 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline(IQ)に対するp53ノックアウトマウスの発がん
感受性 ---P69
○平田 暁大^{1,2,3)}、塚本 徹哉¹⁾、高須 伸二^{1,3)}、山本 昌美¹⁾、酒井 洋樹³⁾、
柳井 徳磨³⁾、柵木 利昭³⁾、立松 正衛¹⁾
(¹⁾愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学、²⁾岐阜大学 生命科学総合研究支援
センター 動物実験分野、³⁾岐阜大学 応用生物科学部 獣医病理学)
- *P-31 MNU誘発マウス胃病変における性差と系統差-3系統のマウスとキメラマウスを用いた
解析 ---P70
○山本 昌美¹⁾、塚本 徹哉¹⁾、平田 暁大^{1,2,3)}、酒井 洋樹^{1,3)}、高須 伸二^{1,3)}、
柳井 徳磨³⁾、柵木 利昭³⁾、日下部 守昭⁴⁾、立松 正衛¹⁾
(¹⁾愛知がんセ 研 腫瘍病理、²⁾岐阜大 生命セ 動物実験、³⁾岐阜大 応用生物
獣医病理、⁴⁾アロカ ANB筑波研究所)
- P-32 DMH-DSS誘発ラット大腸発がんに対する抗炎症物質の作用 ---P70
○曹 永晩¹⁾、今井 俊夫¹⁾、蓮村 麻衣¹⁾、高見 成昭¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理部)

座長 原田 孝則 ((財)残留農薬研究所) (質疑 I 1月26日13:30-14:30)

- P-33 14-WEEK ORAL TOXICITY STUDIES OF KAVA IN F344 RATS: IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF EXPRESSIONS OF HEPATIC CYTOCHROME P450 ---P71
○義澤 克彦¹⁾、クライトン ナターシャ²⁾、キスリング グレイス²⁾、ブルカ レオ²⁾、
チャン ポーチュエン²⁾、ニスカ アブラハム²⁾
(¹⁾アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室、²⁾National Institutes of Environmental and Health Sciences)
- *P-34 p-Nitroanisole誘発マウス肝芽腫におけるβ-catenin変異の探索 ---P71
○串田 昌彦¹⁾、相磯 成敏²⁾、森村 圭一朗¹⁾、魏 民¹⁾、鰐淵 英機¹⁾、長野 嘉介²⁾、
福島 昭治¹⁾
(¹⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学、²⁾日本バイオアッセイ研究センター 病理検査部)
- *P-35 先天性肝線維症を伴うカロリー病動物モデルPCKラット肝におけるNotchシグナル関連分子の発現 ---P72
○古坊真一^{1,2)}、野崎 佑介^{1,2)}、原田 憲一²⁾、八十島 満枝²⁾、三善 隆広¹⁾、
木澤 和夫¹⁾、中沼 安二²⁾
(¹⁾富山化学工業(株) 総合研究所 安全性研究部、²⁾金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学)
- *P-36 ラット肝中期発癌性試験(伊東法)を用いたD-Allose(希少糖)による肝発癌の修飾作用 ---P72
○横平 政直¹⁾、山川 けい子¹⁾、竿尾 光祐¹⁾、松田 陽子¹⁾、曾 宇¹⁾、細川 京子¹⁾、
今井田 克己¹⁾
(¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学)

座長 西川 秋佳 (国立医薬品食品衛生研究所) (質疑 II 1月27日13:00-14:00)

- *P-37 ビペミド酸の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⁾、川口 恵未²⁾、酒井 洋樹³⁾、三森 国敏¹⁾
(¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾八戸工業高等専門学校 物質工学科、³⁾岐阜大学 獣医病理学教室)
- *P-38 グルタチオンS-トランスフェラーゼ胎盤型酵素陰性ラット肝前癌病変に特異的な新規マーカーの検索 ---P73
○須方 督夫^{1,2)}、宇和川 賢^{1,2)}、尾崎 圭介^{1,2)}、串田 昌彦^{1,2)}、森村 圭一朗²⁾、
鰐淵 英機²⁾、福島 昭治²⁾
(¹⁾住友化学(株) 生科研、²⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)
- *P-39 食品中金属類と食品中化学物質の複合による発がんリスクに関する実験的研究 カテキン及びグルコン酸銅を用いたラット中期多臓器発がん性試験法による検討1 ---P74
○阿部 正義^{1,2)}、鈴木 紀子^{2,4)}、吉田 緑²⁾、五十嵐 麻希^{2,5)}、白田 浩二¹⁾、
古川 賢¹⁾、植松 史行²⁾、高橋 正一²⁾、前川 明彦³⁾、中江 大²⁾
(¹⁾日産化学工業株式会社 生物科学研究所 安全性研究部、²⁾財団法人 佐々木研究所 病理部、³⁾財団法人 佐々木研究所、⁴⁾東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 分子内分泌内科学分野、⁵⁾東京農業大学大学院農学研究科 生体機能防衛学)
- *P-40 ラット肝中期発癌性試験法を用いたプロポリスの肝発癌修飾作用の検討 ---P74
○魏 民¹⁾、鰐淵 英機¹⁾、柚木 孝之¹⁾、カン ジンソック¹⁾、
プアタナチョックチャイ ラウイワン¹⁾、福島 昭治¹⁾
(¹⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

座長 田中 卓二 (金沢医科大学) (質疑 I 1月26日13:30-14:30)

- P-41 BCAA (分枝鎖アミノ酸) の肝発癌修飾作用 ---P75
○柚木 孝之¹⁾、鰐淵 英機¹⁾、市原 敏夫¹⁾、串田 昌彦¹⁾、川田 義章¹⁾、
福島 昭治¹⁾
(¹⁾大阪市大学大学院医学研究科 都市環境病理)
- *P-42 ラット肝臓における悪性化に関わる遺伝子発現の検討 ---P75
○鈴木 周五¹⁾、竹下 健太郎¹⁾、朝元 誠人¹⁾、高橋 智¹⁾、白井 智之¹⁾
(¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理分野)
- P-43 Effect of kojic acid on diethylnitrosamine induced rat hepatocarcinogenesis using
medium-term bioassay ---P76
○チュシリ ヤオワレス¹⁾、プアタナチョックチャイ ラウイワン¹⁾、木下 アンナ¹⁾、
魏 民¹⁾、鰐淵 英機¹⁾、福島 昭治¹⁾
(¹⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)
- *P-44 Effect of α -benzene hexachloride on diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis
in TGF- α transgenic mice ---P76
○プアタナチョックチャイ ラウイワン¹⁾、鰐淵 英機¹⁾、魏 民¹⁾、
カン ジン セオック¹⁾、チュシリ ヤオワレス¹⁾、木下 アンナ¹⁾、福島 昭治¹⁾
(¹⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

座長 小川 久美子 (名古屋市立大学) (質疑 II 1月27日13:00-14:00)

- *P-45 高カロリー高脂肪食負荷マウスにおける経時的な肝臓の病理組織学的変化 ---P77
○辻岡 繁春¹⁾、伊藤 誠²⁾、護守 晃²⁾、石原 あかね²⁾、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 安全性研究所、²⁾万有製薬 つくば研究所)
- *P-46 Fenofibrateのラット肝臓に対する毒性評価-がん原性試験におけるMTD及び肝発癌予
測に関するレトロスペクティブな検証- ---P77
○高橋 正寿¹⁾、渡邊 隆夫¹⁾、秋葉 知英¹⁾、和藤 英司¹⁾、田中 猛¹⁾、樋渡 祐介¹⁾、
高木 隆¹⁾、山下 浩史¹⁾、西村 次平¹⁾、加藤 直樹¹⁾、岡村 信志¹⁾、天野 幸紀¹⁾、
田辺 宗平¹⁾
(¹⁾興和株式会社 富士研究所 安全性研究部)
- *P-47 Gene expression profiling specific to the tumor promotion process of rat
hepatocarcinogenesis induced by fenbendazole ---P78
○禹 桂炯¹⁾、渋谷 淳¹⁾、井上 薫¹⁾、禹 麻美¹⁾、黒岩 敬子¹⁾、五十嵐 勝秀²⁾、
富士本 仁¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理部、²⁾国立衛研 毒性部)
- *P-48 カニクイザルにおける肝臓類洞壁細胞の空胞化について ---P78
○藤島 純子¹⁾、古川 知宏¹⁾、楊 秀英¹⁾、平川 公昭¹⁾、佐竹 茂¹⁾、永岡 隆晴¹⁾、
上村 裕洋¹⁾、桑村 有規¹⁾、千早 豊¹⁾、吉川 剛¹⁾、堀 隆夫¹⁾、前田 博¹⁾、
戸門 洋志¹⁾、宮脇 宏彰¹⁾
(¹⁾株式会社 新日本科学)

座長 柳井 徳麿 (岐阜大学) (質疑 I 1月26日13:30-14:30)

- *P-49 p53^{+/+}/gpt deltaマウスにおけるアクロレイン経口投与によるin vivo遺伝子変異の検索 ---P79
○神吉 けい太¹⁾、西川 秋佳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⁾、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-50 二段階肝発癌モデルを用いたC3H/He系亜系間での肝発癌感受性の差異に関する検討 ---P79
○高木 久宜¹⁾、松井 正樹¹⁾、安藤 なつ代¹⁾、佐藤 紀子¹⁾、三森 国敏²⁾
(¹⁾日本エスエルシー株式会社 バイオテクニカルセンター、²⁾東京農工大 獣医
病理)
- *P-51 TOXICOGENOMIC APPROACH FOR EARLY ASSESSMENT OF POTENTIAL ---P80
HEPATOCARCINOGENICITY OF CHEMICALS IN RATS
○上原 健城¹⁾、廣出 充洋¹⁾、小野 敦¹⁾、宮城島 利一¹⁾、漆谷 徹郎¹⁾、長尾 拓¹⁾
(¹⁾医薬基盤研究所 トキシコゲノミクスプロジェクト)
- *P-52 エチオニン投与ラット肝臓における遺伝子発現解析-肝障害と血液凝固系異常との関連- ---P80
○廣出 充洋¹⁾、上原 健城¹⁾、小野 敦¹⁾、宮城島 利一¹⁾、漆谷 徹郎¹⁾、長尾 拓¹⁾
(¹⁾独立行政法人 医薬基盤研究所 トキシコゲノミクスプロジェクト)

座長 吉村 慎介 ((財)食品薬品安全センター) (質疑 II 1月27日13:00-14:00)

- P-53 2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼンの長期経口投与によるラットの腎臓腫瘍 ---P81
○妹尾 英樹¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、片桐 卓¹⁾、相磯 成敏¹⁾、長野 嘉介¹⁾
(¹⁾日本バイオアッセイ研究センター)
- P-54 アスコルビン酸ナトリウムの膀胱発がん促進作用におけるマウス系統差 ---P81
○村井 隆¹⁾、増野 功一¹⁾、井村 可恵¹⁾、土屋 紀子¹⁾、森 聖²⁾、森村 圭一郎²⁾、
鰐淵 英機²⁾、福島 昭治²⁾
(¹⁾塩野義製薬 新薬研、²⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学講座)
- P-55 クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) の毒性評価 ---P82
I.ラットに対する連続経口投与の影響
○中島 信明¹⁾、川勝 尚夫¹⁾、小嶋 五百合¹⁾、武田 眞記夫¹⁾、榎本 秋子¹⁾、
桑原 真紀¹⁾、竹内 幸子¹⁾、高橋 尚史¹⁾、原田 孝則¹⁾
(¹⁾残農研)
- P-56 臭素酸カリウムによるラット腎OGG1 mRNAおよび8-hydroxydeoxyguanosineの変動と ---P82
in vivo変異原性ならびにイニシエーション活性
○梅村 隆志¹⁾、神吉 けい太¹⁾、黒岩 有一¹⁾、石井 雄二²⁾、岡野 圭太²⁾、
能美 健彦³⁾、西川 秋佳¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立医衛研 病理部、²⁾星薬科大学 分析化学、³⁾国立医衛研 変異遺伝部)

座長 寺西 宗広 (三共株) (質疑 I 1月26日13:30-14:30)

- *P-57 臭素酸カリウムの低用量域における腎発癌性—Big Blue ラットでの検討— ---P83
○山口 貴嗣¹⁾、魏 民¹⁾、大森 雅子¹⁾、鰐渕 英機¹⁾、福島 昭治¹⁾
(¹大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)
- *P-58 アカネ色素によるラット腎発がん過程における酸化ストレスの関与について ---P83
○井上 薫¹⁾、渋谷 淳¹⁾、禹 桂炯¹⁾、禹 麻美¹⁾、五十嵐 勝秀²⁾、黒岩 敬子¹⁾、
富士本 仁¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹国立衛研 病理部、²国立衛研 毒性部)
- *P-59 FT-ICR-MSを用いたAmiodarone誘発性リン脂質症ラットの尿メタボノミクス解析 ---P84
○長谷川 美奈¹⁾、長谷川 陽子²⁾、竹中 重雄^{1,2)}、桑村 充^{1,2)}、津山 伸吾^{1,2)}
(¹大阪府立大学大学院 獣医、²大阪府立大学 獣医)
- P-60 HISTOLOGICAL INVESTIGATION OF PROLIFERATIVE TUBULE PROFILES ---P84
OCCURRING IN ADVANCED CHRONIC PROGRESSIVE NEPHROPATHY (CPN) IN
THE FISCHER 344 RAT
○John Curtis Seely¹⁾ and Gordon C. Hard²⁾
(¹Experimental Pathology Laboratories, Inc., Research Triangle Park, NC
²Consultant, National Toxicology Program Archives, Research Triangle Park, NC)

座長 永岡 隆晴 (株新日本科学) (質疑 II 1月27日13:00-14:00)

- *P-61 ラットを用いたDEHPおよびDEHAの腎機能障害下における雄生殖器機能への影響 ---P85
○難波江 恭子¹⁾、土井 悠子^{1,2)}、高橋 智²⁾、市原 敏夫^{1,2)}、玉野 静光¹⁾、
白井 智之²⁾
(¹株DIMS医科研、²名古屋市立大学大学院医学研究科 実験実態病理)
- P-62 3,3'-iminodipropionitrile (IDPN) のラット精巣に及ぼす影響について ---P85
○中澤 晶子¹⁾、湯浅 敦子¹⁾、阿部 寛²⁾、柿沼 千早¹⁾、寺島 薫¹⁾
(¹富士写真フイルム株 素材試験センター、²順天堂大学医学部病理学第一講座)
- P-63 mono-(2-ethylhexyl)phthalate投与により誘導されるセルトリ細胞障害後に発生する生 ---P86
殖細胞の細胞死の分子学的経路
○山崎 雅輝^{1,2)}、岡村 美和¹⁾、本 光喜¹⁾、六車 雅子¹⁾、榎田 陽子³⁾、
鈴木 雅実²⁾、三森 国敏¹⁾
(¹東京農工大学農学部獣医病理学研究室、²中外製薬株 安全性研究部、³Div.
Medicinal Chemistry & Pharmacognosy, Ohio State University)
- *P-64 NobiletinおよびAurapteneによるprobasin/SV40 T 抗原トランスジェニック ラット前立 ---P86
腺癌の抑制効果
○唐 明希¹⁾、小川 久美子¹⁾、朝元 誠人¹⁾、外岩戸 尚美¹⁾、AZMAN SEENI¹⁾、
鈴木 周五¹⁾、高橋 智¹⁾、田中 卓二²⁾、白井 智之¹⁾
(¹名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理分野、²金沢医科大学 腫瘍病理)

座長 螺良 愛郎（関西医科大学）（質疑Ⅰ 1月26日13:30-14:30）

- *P-65 新生仔期エストロゲン投与雌SDラットにおける乳腺の形成—特にterminal end buds (TEBs) 細胞の遺伝子発現について— ---P87
○早田 正和¹⁾、川口 博明¹⁾、川島 英夫¹⁾、堀 隆夫¹⁾、船戸 護¹⁾、吉川 剛¹⁾、梅北 善久¹⁾、吉田 浩己¹⁾
(¹⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍学講座)
- *P-66 低用量の7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) を長期間頻回投与(週2回)したときの乳癌/乳腺症の発生について ---P87
○堀 隆夫^{1,2)}、川口 博明¹⁾、田口 周平¹⁾、船戸 護²⁾、早田 正和¹⁾、小玉 拓郎¹⁾、吉川 剛^{1,2)}、永岡 隆晴²⁾、吉田 浩己¹⁾
(¹⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍学講座、²⁾株式会社 新日本科学 安全性研究所 病理研究部)
- *P-67 アクリルアミドのラット乳腺発がん作用に対する抗酸化及び第II相酵素誘導物質の抑制効果 ---P88
○高見 成昭¹⁾、今井 俊夫¹⁾、蓮村 麻衣¹⁾、曹 永晩¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理)
- *P-68 CD(SD)IGS雌ラットにおける自然発生性乳癌の免疫組織化学的検索—MMP-2およびMMP-9の発現と肺転移との関連について— ---P88
○安井 雄三¹⁾、長井 佳代子¹⁾、山下 龍¹⁾、石崎 まゆみ¹⁾、大平 東子¹⁾、木原 亨¹⁾、長谷川 和成¹⁾、細井 理代¹⁾、宮島 留美子¹⁾、志賀 敦史¹⁾、岩田 聖¹⁾、今井 清¹⁾
(¹⁾安評センター)

座長 吉田 緑（(財)佐々木研究所）（質疑Ⅱ 1月27日13:00-14:00）

- *P-69 カニクイザルの子宮にみられた異所性卵巣組織 ---P89
○桑村 有規¹⁾、掛樋 君予¹⁾、谷川 洋平¹⁾、上村 裕洋¹⁾、藤島 純子¹⁾、古川 知宏¹⁾、平川 公昭¹⁾、宮嶋 宏彰¹⁾
(¹⁾株式会社 新日本科学 安全研)
- *P-70 F344ラットの子宮内膜がんにおける β -catenin、p53の免疫染色態度について ---P89
○飯田 麻里¹⁾、岩田 聖¹⁾、今井 清¹⁾
(¹⁾(財)安評センター)
- *P-71 ラット甲状腺発がん過程にみられる被膜炎の免疫病理学的解析 ---P90
○蓮村 麻衣¹⁾、今井 俊夫¹⁾、太田 世志雄¹⁾、高見 成昭¹⁾、曹 永晩¹⁾、蜂須賀 暁子²⁾、手島 玲子²⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理、²⁾国立衛研 機能生化)
- P-72 BriHan:WIST@Jcl (GALAS) ラットに認められる甲状腺濾胞上皮細胞の空胞化/水腫性変化における組織細胞化学的観察およびサイログロブリン合成系への関連について ---P90
○斉藤 義明¹⁾、臼見 憲司¹⁾、桑形 麻樹子¹⁾、今野 和則¹⁾、田子 和美¹⁾、高島 宏昌¹⁾、永田 伴子¹⁾
(¹⁾食薬センター 秦野研)

座長 小谷 猛夫 (大阪府立大学) (質疑 I 1月26日13:30-14:30)

- P-73 Crj:CD (SD) IGSラット臍島における自然発生性病変 ---P91
○今岡 尚子¹⁾、後藤 真由美¹⁾、田郷 聡子¹⁾、青木 貴志¹⁾、土屋 俊也¹⁾、
鈴木 貴美¹⁾、野崎 浩介¹⁾、佐藤 洋¹⁾、古濱 和久¹⁾
(¹⁾第一製薬株式会社 安全性研究所)
- P-74 DHPN-sulfadimethoxine誘発ラット甲状腺発がんに対するインドメタシン及びニメスリ
ドの影響 ---P91
○今井 俊夫¹⁾、太田 世志雄¹⁾、蓮村 麻衣¹⁾、高見 成昭¹⁾、曹 永晩¹⁾、
広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理)
- *P-75 変異型Hrasトランスジェニックラットを用いたヒト臍がんモデルの確立 ---P92
○深町 勝巳¹⁾、大嶋 浩¹⁾、アレキサンダー デビッド¹⁾、上田 しのぶ¹⁾、
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)
- *P-76 Estrogen誘発ラットプロラクチノーマの病態とVEGF発現の関連について ---P92
○美谷島 克宏^{1,2)}、竹腰 進²⁾、柿本 恒知^{1,2)}、峰松 健夫²⁾、梶谷 華子²⁾、
正田 俊之¹⁾、岩坂 俊基¹⁾、高橋 明美¹⁾、小泉 治子¹⁾、宮川 義史¹⁾、
長村 義之²⁾
(¹⁾日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所、²⁾東海大学 医学部
基盤診療学系病理診断学)

座長 花田 貴宣 (山之内製薬株) (質疑 II 1月27日13:00-14:00)

- *P-77 Doxilのマウス静脈内間歇投与によるヒトPalmar-Plantar Erythrodysesthesia様皮膚病変 ---P93
○甲斐 清徳¹⁾、鈴木 貴美¹⁾、土屋 俊也¹⁾、梶村 哲世¹⁾、古濱 和久¹⁾
(¹⁾第一製薬株式会社 安全性研究所)
- P-78 乳酸鉄過剰投与ラットの骨減少に及ぼす副甲状腺ホルモンの影響 ---P93
○松嶋 周一¹⁾、土屋 紀子¹⁾、井村 可恵¹⁾、増野 功一¹⁾、鳥井 幹則¹⁾、
尾崎 清和²⁾、奈良間 功²⁾、小谷 猛夫³⁾
(¹⁾塩野義製薬 新薬研究所、²⁾摂南大学 薬学部 病理学研究室、³⁾大阪府立大学
生命環境科学部 獣医病理)
- *P-79 紫外線による皮膚発がんに対するクロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) 暴露の
増強効果 ---P94
○高橋 尚史¹⁾、石塚 勝美¹⁾、川勝 尚夫¹⁾、小坂 忠司¹⁾、山口 悟¹⁾、
大塚 亮一¹⁾、武田 眞記夫¹⁾、竹内 幸子¹⁾、桑原 真紀¹⁾、榎本 秋子¹⁾、
中島 信明¹⁾、原田 孝則¹⁾
(¹⁾財団法人 残留農薬研究所 毒性部)
- *P-80 若齢雄マウスに自然発生した未分化腫瘍の1例 ---P94
○永池 美香¹⁾、野村 政直¹⁾、乾 公正¹⁾、酒井 祈美枝¹⁾、今村 匡志¹⁾、
四谷 収一¹⁾
(¹⁾石原産業 中央研究所)

座長 杉本 哲朗 (中外製薬株) (質疑 I 1月26日13:30-14:30)

- *P-81 28日間反復投与毒性試験における各パラメータの免疫毒性検出力の比較 ---P95
太田 恵津子¹⁾、○藤巻 由紀夫¹⁾、皆川 愛¹⁾、土屋 敏行¹⁾、佐々木 稔¹⁾、
佐村 恵治¹⁾、錦邊 優¹⁾
(¹⁾万有製薬 安全性研究所)
- *P-82 Lipopolysaccharideのラット免疫系組織に対する影響 ---P95
○金子 吉史¹⁾、末吉 純久¹⁾、佐藤 裕和¹⁾、棚瀬 裕文¹⁾、岩崎 省吾¹⁾、
神山 晴¹⁾、高橋 牧子¹⁾、山崎 正和¹⁾、益本 吉廣¹⁾、都留 清志¹⁾
(¹⁾杏林製薬 研究センター 研究一部 安全性研究)
- P-83 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：認識部位の異なる抗エストロ
ゲンレセプター抗体を用いた検討 ---P96
○柿本 恒知¹⁾、美谷島 克宏¹⁾、竹腰 進²⁾、正田 俊之¹⁾、岩坂 俊基¹⁾、
小泉 治子¹⁾、宮川 義史¹⁾、長村 義之²⁾
(¹⁾日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所、²⁾東海大学 医学部
基盤診療学系病理診断学)
- *P-84 ラットの組織におけるPodoplaninの免疫組織学的検索 ---P96
○長井 佳代子¹⁾、山下 龍¹⁾、石崎 まゆみ¹⁾、大平 東子¹⁾、安井 雄三¹⁾、
木原 亨¹⁾、長谷川 和成¹⁾、細井 理代¹⁾、宮島 留美子¹⁾、志賀 敦史¹⁾、
岩田 聖¹⁾、今井 清¹⁾
(¹⁾安評センター)

座長 玉野 静光 (株)DIMS医科学研究所 (質疑 II 1月27日13:00-14:00)

- *P-85 原因不明の発育不全と著しい骨髄膠様変性を呈したカニクイザルの1例 ---P97
○村上 雄一¹⁾、岡崎 欣正¹⁾、松本 正博¹⁾、仲辻 俊二¹⁾、藤平 司郎¹⁾、
義澤 克彦¹⁾、池上 仁¹⁾、坪田 健次郎¹⁾、大石 裕司¹⁾
(¹⁾アステラス製薬株式会社 安全性研究所)
- P-86 若齢ビーグル犬肝臓にみられた先天性の動静脈瘻が疑われた1例 ---P97
○池崎 信一郎¹⁾、笠原 健一郎¹⁾、永谷 真理子¹⁾、山川 誠己¹⁾、青木 明美¹⁾、
工藤 佳代子¹⁾、星谷 達¹⁾、田村 一利¹⁾
(¹⁾ボゾリサーチセンター)
- P-87 若齢SD系ラットの甲状腺に認められた悪性奇形腫の1例 ---P98
○松本 泉美¹⁾、沖本 一夫¹⁾、糀谷 高敏¹⁾、豊沢 かおる¹⁾、河内 眞美¹⁾、
村上 勝史²⁾、紺屋 好美²⁾、田中 浩二¹⁾
(¹⁾大日本住友製薬株式会社 安全性研究所、²⁾株式会社 ケー エー シー)
- *P-88 若齢Sprague-Dawleyラットの心臓および肺にみられた原発不明のYolk Sac Carcinoma
の一例 ---P98
○梶川 悟¹⁾、竹内 文乃¹⁾、白木 克尚¹⁾、中野 健二²⁾、泉澤 信行¹⁾、大石 裕司¹⁾
(¹⁾アステラス製薬 安全性研究所、²⁾アステラスリサーチサービス 病理部)

座長 田川 義章 (株三和化学研究所) (質疑 I 1月26日13:30-14:30)

- *P-89 カニクイザルの肝細胞にみられた非ウイルス性細胞質内封入体の1例 ---P99
○池上 仁¹⁾、岡崎 欣正¹⁾、松本 正博¹⁾、仲辻 俊二¹⁾、藤平 司郎¹⁾、
義澤 克彦¹⁾、坪田 健次郎¹⁾、村上 雄一¹⁾、大石 裕司¹⁾
(¹⁾アステラス製薬 安全性研究所)
- *P-90 C57BL/6Jマウスに認められた、肝細胞の顆粒状変性/脂肪化と細胞周囲性線維化を特徴とする肝病変の1例 ---P99
○中西 雅子¹⁾、桑村 充²⁾、吉田 緑³⁾、前川 昭彦³⁾、中签 齊¹⁾
(¹⁾国立がんセンター 研 生化、²⁾大阪府大 獣医病理、³⁾佐々木研 病理)
- *P-91 甲状腺機能低下症を示すWistar Hanover GALASラットにみられた内分泌系以外の臓器における形態学的変化 ---P100
○爰島 洋子¹⁾、土居 卓也¹⁾、黒滝 哲郎¹⁾、佐藤 順子¹⁾、小谷 百合¹⁾、土谷 稔¹⁾
(¹⁾安科研)
- *P-92 ラット2年間発がん性試験で遭遇した消化管間質腫瘍の1例 ---P100
○富士本 仁¹⁾、渋谷 淳¹⁾、黒岩 敬子¹⁾、井上 薫¹⁾、禹 桂炯¹⁾、禹 麻美¹⁾、
広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

座長 中江 大 ((財)佐々木研究所) (質疑 II 1月27日13:00-14:00)

- P-93 発がん性と非発がん性異性体間での遺伝子発現プロファイル比較 ---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⁾、
白井 智之⁴⁾
(¹⁾株三菱化学安全科学研究所、²⁾(財)化学物質評価研究機構、³⁾住友化学(株)、⁴⁾名古屋市立大学大学院医学研究科)
- *P-94 Global analysis of gene expression in MeIQx-induced rat hepatocarcinogenesis ---P101
○カンジンソック¹⁾、鰐淵 英機¹⁾、森村 圭一郎¹⁾、木下 アンナ¹⁾、福島 昭治¹⁾
(¹⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)
- *P-95 変異発がん性物質と非変異発がん性物質に特徴的な発現変動を示す遺伝子を用いた発がん性予測法の開発 ---P102
○松本 博士¹⁾、矢可部 芳州¹⁾、大塚 雅則¹⁾、美濃部 安史¹⁾、宮浦 英樹¹⁾、
齋藤 文代¹⁾、斎藤 幸一²⁾、住田 佳代²⁾、関島 勝³⁾、中山 光二³⁾、
朝元 誠人⁴⁾、白井 智之⁴⁾
(¹⁾財団法人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⁾名古屋市立大学大学院医学研究科)
- P-96 肝中期発がん性試験法を用いたphenobarbitalによるラット肝発がん促進過程特異的な発現遺伝子のプロファイリング ---P102
○渋谷 淳¹⁾、禹 桂炯¹⁾、井上 薫¹⁾、禹 麻美¹⁾、五十嵐 勝秀²⁾、富士本 仁¹⁾、
広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 毒性部)

座長 泉 啓介（徳島大学）（質疑 I 1月26日13:30－14:30）

- *P-97 DNAメチル化を指標としたマウスマイクロアレイの開発 ---P103
○禹 麻美¹⁾、渋谷 淳¹⁾、加藤 奈津美¹⁾、井上 薫¹⁾、禹 桂炯¹⁾、掛谷 知志²⁾、
富士本 仁¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理部、²⁾株スクラム)
- *P-98 高脂肪食を9週間給餌したC57BL/6JマウスおよびBALB/cAマウスの病理学的解析 ---P103
○西川 智美¹⁾、上塚 浩司¹⁾、八十島 昭¹⁾、中山 裕之¹⁾、土井 邦雄¹⁾
(¹⁾東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医病理学研究室)
- *P-99 自動画像解析ソフトCellengerを用いた脂肪組織における形態計測 ---P104
○岡本 郁司¹⁾、東山 浩之¹⁾、井上 裕規¹⁾、兼松 雅博¹⁾、串田 宏¹⁾、
木下 美弥¹⁾、浅野 哲¹⁾
(¹⁾グラクソ スミスクライン 筑波研究所 薬理研究部)

特別講演

座談：クームス先生

— 第22回日本毒性病理学会総会に寄せて —

森 亘（東京大学名誉教授）

座談：クームス先生
－ 第22回日本毒性病理学会総会に寄せて －
森 亘（東京大学名誉教授）

この度は、第22回日本毒性病理学会総会で何か話をするようにとお招きいただき、光栄に存じます。いささか気後れしておりましたが、会長の吉田教授から「気楽な気持ちで」と励ましを頂戴いたしましたので、お言葉に甘え、本当に座ったまま昔を思い出しつつ、気楽な雑談を30分ほどさせていただきます。

私がふとした弾みで病理学を専攻することになったのは、今から50年も前のことです。その頃は今に比べれば貧しく、知識や情報も乏しい時代でしたが、コンピュータなどがなかったお陰で人間同士の接触が多く、心豊かでありました。私は大変立派な師匠たちに恵まれましたが、今になって振り返りますと、そうした方々の一言一言によって、私の将来が運命付けられたように思います。そこで、当時の大学では師弟の間でどんな会話が交わされていたか、その二、三をご紹介します。

私にとっては、若かった頃の留学経験もまた、大きな喜びと共に強い影響を受けた事柄でありました。したがって最後に、その代表としてクームス先生にご登場いただきたいと思います。先生はあの有名なクームス試験の創始者で、当時は、ケンブリッジ大学病理学教室の免疫学担当教授という立場におられました。そこには素晴らしい研究チームが活躍していましたが、どのような人たちが、どのような考えで病理学の研究を進めていたか、私が受けた印象にも触れるつもりです。

今にして思えば、私が教えを受けたこれら当代一流の人々には、一つの、はっきりした共通点がありました。それは、この上なく真面目に——といっても石部金吉を意味するのではなく、一生懸命に——人生を生きた人たちであり、学問には極めて厳しかったものの、人間としてはまことに暖かく、かつ奥深い優しさをもっておられた、ということです。

シンポジウム要旨
(S-1～S-4)

「乳癌の発生と進展」

S-1

ヒト乳腺における前癌病変と早期癌:臨床病理学的立場から

○森谷 卓也¹⁾、笠島 敦子¹⁾、宇佐美 伸²⁾、大内 憲明²⁾、笹野 公伸^{1,3)}
(¹⁾東北大学病院 病理部、²⁾東北大学 大学院医学系研究科 腫瘍外科学、
³⁾東北大学 大学院医学系研究科 病理診断学)

現在、本邦女性の乳癌発症率は著しく増加し、約20-25人に1人が乳癌に罹患するといわれるようになった。その要因として生活習慣の欧米化が重要と思われるが、一方で乳癌検診の啓蒙によって癌の早期発見がなされるようになったことも一因と考えられる。事実、1980年代には乳癌全体の数%以下でしかなかった非浸潤癌の比率が10%を超えるようになり、我々の施設で2002年6月から2005年9月の間に病理診断がなされた原発性乳癌1368例のなかでは233例(17%)を占めていた。それと同時に、臨床病理の現場において、前癌病変と思われるような病変(異型過形成など)も少なからず見出されるようになり、乳管上皮が腫瘍化して浸潤能を獲得するまでの一連の病変は上皮内腫瘍(intraepithelial neoplasia;以下IN)として取り扱われるようになってきた。米国でのコホート研究では、乳腺内に存在するINの種類によって将来その女性に浸潤性乳癌が発生するリスクが異なることが明らかにされた。また、日本乳癌学会研究班(大内班)の検討でINから浸潤癌発生に至るまでの期間はその種類により異なることも知られるようになった。従って、上皮過形成→異型過形成→非浸潤癌→浸潤癌といった概念も提唱されているが、臨床症例を用いているために必ずしも明快な証明はなされていないのが実情である。今回、ヒト乳腺におけるこれら前癌病変の概念を概説し、我々の施設における臨床データ、および免疫組織化学やLOHの解析結果も紹介する。さらに、一旦乳管内に生じた癌が浸潤を開始した後に、どのような症例が転移を起こしやすいのか、リンパ節への初期転移巣(センチネルリンパ節転移)をどのように的確に把握すべきなのか、病理診断医の立場から述べる。

S-2

犬と猫の自然発生乳腺腫瘍

○中山 裕之
(東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医病理学研究室)

犬と猫は食肉類に属し、人と実験用動物のミッシングリンク動物として、疾病研究分野において重要性が高まっている。また、人と生活環境を共有しているため、人疾病のモニター動物としても活用され始めた。近年、犬・猫の寿命が延長し、腫瘍症例が増加してきた。なかでも乳腺腫瘍は発生頻度が高く、盛んに研究が行われている。今回は犬と猫の乳腺腫瘍について、発生状況、生物学的特性、診断、組織学的分類、治療などについて概説する。犬・猫に発生する腫瘍のうち乳腺腫瘍はそれぞれで40%弱を占めている。雌に限れば腫瘍例の約60%が乳腺腫瘍である。犬・猫いずれも避妊することによって発生率が約30%に減少する。発生年齢は犬で9.6歳、猫では10.7歳である。良性:悪性比率は犬では1:1であるのに対し、猫では90%以上が悪性である。犬・猫いずれも5対ある乳腺に多発する傾向がある。発生原因としてはエストロゲン、プロゲステロン、プロラクチンの関与が指摘されているが、その機構は報告により異なり、未だ明らかでない。治療法は外科的摘出がほとんどで、化学療法、放射線療法なども試みられているが効果は定かでない。1999年にWHOから動物乳腺腫瘍分類のモノグラフが出版され、これに沿った組織学的分類が一般化している。良性と悪性に大きく分け、それぞれで単純上皮性と間葉成分を混じる混合性へと細分している。犬では良性混合腫瘍の発生率が高い。同腫瘍は筋上皮細胞の増殖が顕著になったものとされ、軟骨、骨への化生など特徴的な組織像を示す。猫では腺癌がほとんどを占める。予後決定因子は、犬では人と同様、組織型、組織悪性度、腫瘍サイズ、局所リンパ節転移などであるが、猫の場合はほとんどが悪性なので、手術時期が予後を大きく左右する。時間が許せば、犬の乳腺腫瘍についての我々の最近の研究成果も発表したい。

ラット乳腺発がん重要な遺伝子群の同定の試み

○朝元 誠人、外岩戸 尚美、白井 智之
 (名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理分野)

近年、多数の遺伝子の発現解析が短時間にかつ容易に行なえるマイクロアレイの技術が精力的に開発され、網羅的な遺伝子の発現変化から病態を解析する事が可能となった。細胞のがん化過程においては種々の遺伝子発現異常が報告されている。網羅的に遺伝子の発現を検索する事により、これまでに捉えられなかった重要な機能をもつ多数の遺伝子情報を得る事が可能である。ヒトc-Ha-ras遺伝子導入ラットはN-methyl-N-nitrosourea (MNU) 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) および2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)にいずれも感受性が極めて高く、1回または短期間投与すると数週間後にはほぼすべての乳腺に多数の腫瘍を発生する。この3種の化合物は発がんの作用機序が異なると考えられるが、病理組織学的には区別できない腺癌が発生する。このヒトc-Ha-ras 遺伝子導入ラット発がんモデルを使用する事により短期間で効率的にサンプルを採取し、そこで乳腺腫瘍の遺伝子発現をマイクロアレイで網羅的に解析することにより、乳腺発がん重要な遺伝子変化を同定する。我々はこのトランスジェニックラットを用いて、MNU、DMBA、PhIPの3種の異なるラット乳腺発がん物質の投与実験を行い、発生してきた腫瘍に共通の遺伝子発現変化を、マイクロアレイ技術を用いて同定する事により、乳腺発がんに関与すると考えられる遺伝子候補を同定する事を試みた。その結果、3種類の発がん物質投与で発生した乳癌に共通して発現が2倍以上上昇する遺伝子として572個の遺伝子、0.5倍以下に減少する遺伝子が412個同定された。これらの遺伝子は乳腺発がん重要な遺伝子候補と考えられ、メカニズムの解析、発がんマーカーへの応用等の研究を進めている。本研究は、日本化学工業協会が推進するLRIにより支援されました。

7,12-dimethylbenz(a)anthracene誘発ラット乳がんおよび乳腺症の発生と進展について

○吉田 浩己¹⁾、馬嶋 秀行¹⁾、梅北 善久¹⁾、川口 博明¹⁾、早田 正和¹⁾、小玉 拓郎¹⁾、
 富田 和男¹⁾、犬童 寛子¹⁾、松岡 洋一郎²⁾、津田 洋幸³⁾

(¹⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍学講座、²⁾関西医科大学 病理学第2、³⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性学分野)

7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) 誘発ラット乳癌は、estrogen receptorを有し、その発生と進展はホルモン依存性で、もともと使用されているヒト乳癌の疾患モデルである。DMBAによるもともと遺伝子傷害を受ける細胞(易刺激性細胞)は伸長期乳腺のterminal end buds (TEB)の増殖細胞である。

I、DMBA誘発乳腺症(rat mammary dysplasia)の初期変化は、乳管の先端部に形成される異常大型乳腺小葉結節で、組織型は腺房型腺症(acinar adenosis)である。進展に伴い、腺房型腺症は線維性腺症(fibrotic adenosis)へと移行し、多発している結節は融合し、充実性腫瘤を形成する。この進展過程で、estrogenとprolactinの優位なホルモン環境が持続すれば、乳汁産生が関与し、嚢胞が形成される。

II、DMBA誘発乳癌(rat mammary carcinoma)の初期変化は、

- 1、乳腺症の腺症に発生してくるヒト異型嚢状小葉に一致する異型腺房過形成(atypical acinar hyperplasia)、
- 2、TEBに出現する異型乳管過形成(atypical ductal hyperplasia)である。

乳癌形成には、これらの初期変化からの進展過程において、ホルモン環境が著明な影響を与える。

今回、ラット乳癌および乳腺症の病理学的、生物学的特徴とこれらの発生機序を解明するために、網羅的遺伝子発現プロファイル解析を用いて検索したTEB、初期変化、乳癌および乳腺症における遺伝子発現の結果を紹介する。

— MEMO —

ワークショップ要旨

- 1.「最近のサル類における毒性病理評価」
(WS1-1～WS1-4)
- 2.「Phospholipidosisとその周辺の病理」
(WS2-1～WS2-3)
- 3.「毒性発現と遺伝子・タンパク発現の変化」
(WS3-1～WS3-4)

WS1-1

カニクイザルの精巣の病理組織学的検査における留意点

○佐竹 茂、和泉 博之、椎田 修治、堀 隆夫、吉川 剛、藤島 純子、古川 知宏、
掛樋 君子、楊 秀英、平川 公昭、桑村 有規、上村 裕洋、永岡 隆晴、來原 兄忠、
千早 豊、戸門 洋志、前田 博、宮嶋 宏彰
(株式会社 新日本科学)

カニクイザルを用いた安全性試験では、3～5歳の比較的若い動物が用いられることが多い。雄の動物では、個体により精巣のサイズが小さく、精細管を構成する生殖細胞数が少なく、精子形成はあるものの、精細管の形態的な像としては未熟なものが認められる。未熟な精細管は、生殖細胞が障害され減少した精細管と同様の形態像を示すため、精巣の毒性評価に混乱を招くことがある。しかし、このような精細管が存在することは意外に知られておらず、また、カニクイザルの年齢の違い(性成熟度の違い)による精細管の組織学的形態像に関する詳細な報告もみあたらないため、未熟あるいは障害された精細管かの判定は、各病理担当者の経験と判断に頼っている。今回、1歳から7歳のカニクイザル計18例の精巣を得る機会があり、年齢と精細管の形態像の変化についてまとめたので報告する。別途、精巣の容積、年齢、体重の相関、血中テストステロン及びインヒピンとの相関(第30回日本トキシコロジー学会で発表済み)を調べたデータも合わせて紹介する。結論としては、安定して成熟した精細管を観察するためには5歳以上の動物が適当であるが、3歳あるいは4歳の動物においても未熟像を理解することにより毒性評価は可能と考えられた。また、カニクイザルの精細管ステージの鑑別について、現状ではアカゲザルでの分類をあてはめて広く用いられているが、これについても紹介し、実際の検査時の留意点について触れたい。

WS1-2

サルの生殖器および乳腺における加齢性変化

○永岡 隆晴、上村 裕洋、平川 公昭、佐竹 茂、楊 秀英、桑村 有規、堀 隆夫、
吉川 剛、古川 知宏、藤島 純子、戸門 洋志、千早 豊、前田 博、宮嶋 宏彰
(株式会社 新日本科学)

【はじめに】近年、安全性試験におけるサルの需要はますます高まり、若齢サルの背景データが豊富に集積されている。しかしながら、10歳以上に加齢したサルの背景データは乏しく、その収集が望まれる。今回、我々は、10歳以上のカニクイザルおよび9歳以上のアカゲザルを剖検する機会を得たので、加齢に伴う生殖器および乳腺の形態学的変化について検討した。【材料および方法】未使用あるいは毒性試験に供した後、継続して飼育した中国産のサルを用いた。10-16歳のカニクイザル12匹および15-17歳の卵摘カニクイザル20匹について、卵巣、子宮、陰および乳腺の組織学的検査を実施した。全ての非卵摘カニクイザルおよび13匹の卵摘カニクイザルについては、血中のエストロゲンおよびプロゲステロン値を測定した。アカゲザルについては、9-13歳の9匹についてカニクイザルと同様に組織学的検査を行った。【結果】非卵摘カニクイザルでは、子宮頸部の腫大が7例にみられ、5例が子宮頸腺の増加と腺腔の拡張を伴っていた。また、子宮内膜過形成が1例に、子宮漿膜下に異所性卵巣が2例にみられた。卵巣において、嚢胞および奇形腫が各1例に、乳腺において、腺房の石灰化が4例に、過形成が1例にみられた。一方、卵摘カニクイザルでは、子宮頸部の腫大はなかったが、子宮内膜症が2例にみられた。また、乳腺において、腺房の石灰化が1例に、過形成が2例にみられた。ホルモン測定では、いずれの個体も、ほぼ月経周期に伴った値を示した。アカゲザルでは、子宮頸腺の扁平上皮化生が1例に、乳腺において、腺房の石灰化が2例に、過形成が1例にみられた。【まとめ】16歳までのカニクイザルでは、子宮頸腺の増加・拡張による子宮頸部の腫大および発生異常に関連する病変がみられたが、アカゲザルを含めて生殖器の萎縮性変化はなかった。乳腺の病変の頻度は、カニクイザルおよびアカゲザルともに増加傾向にあった。

WS1-3

カニクイザルの背景病変と毒性試験評価

○平川 公昭、上村 裕洋、堀 隆夫、楊 秀英、永岡 隆晴、桑村 有規、吉川 剛、
藤島 純子、古川 知宏、掛樋 君予、千早 豊、前田 博、宮嶋 宏彰、佐竹 茂、戸門 洋志
(株式会社 新日本科学)

医薬品の安全性試験は、各種試験系を用いて得られた結果を、総合的に解析し、ヒトの臨床使用における外挿性が求められている。近年、病態の遺伝学的、分子病理学的な解析が進み、ヒトにおけるより有効で、副作用の少ない医薬品、あるいはヒト生体関連物質を含めた生物製剤の開発がなされるようになってきた。そのために、系統発生的にヒトに近いサル類が、薬効、安全性及び動態の解析により有用であることが示されつつある。それに伴い、サル類の自然発生病変の集積やその報告は他の動物種と比較して乏しいものの、多くみようになってきた。第19回本学会において、我々は、「カニクイザルの毒性病理学からみた特性」と題して、カニクイザルの背景病変を紹介するとともに、モデル動物としての有用性についても紹介した。本学会では寄生虫を主とする感染性の変化を紹介し、毒性試験評価への影響を解説するとともに、それらの影響を回避する検討への提案をしていく。非腫瘍性病変としては、諸臓器の鉍質沈着、糸球体病変、副腎皮質結節などの内分泌系臓器の病変がしばしば観察される以外に、頻度は低いが多様な病変がみられることが特徴である。また、頻度は減少傾向にあるものの、依然として内部寄生虫を主とする感染性の変化が他の実験動物に比較して多くみられている。その多くは毒性評価にほとんど影響はないと判断されているが、病理組織学的所見として局所の炎症性の変化や壊死などがみられ、他の毒性所見との区別を明確に示す必要がある。これら背景病変の原因の解明をすることにより、よりクリーンな実験動物としてのカニクイザルの確立を目指す必要性を示し、サルの供給元ならびに受け入れ側のそれらへの取り組みを紹介する。

WS1-4

サル類の長期飼育で問題となる病変;特に循環器病変およびリンパ腫について

○柳井 徳磨¹⁾、酒井 洋樹¹⁾、柵木 利昭¹⁾、吉川 泰弘²⁾

(¹⁾岐阜大学 COE野生動物感染症センター、²⁾東京大学大学院 農学生命科学研究科 実験動物学教室)

サルを用いた長期試験の評価で問題となる病変として、特に循環器病変およびリンパ腫があげられる。生涯飼育される機会の多い野外例あるいは動物園飼育サル類ではこれらの病変に遭遇する機会が多い。これらのサル類の自然発生病変に関する情報は、サルの毒性試験の評価においても有用と考えられる。今回、特に重要と考えられる循環器病変およびリンパ腫について紹介する。サル類の循環器系(心臓および血管)においては、加齢、感染に関連して、あるいは原因が明確でないものも含めて様々な変化が認められる。特に野生由来のニホンザル、あるいは動物園で長期飼育した各種のサル類の老齢個体の心臓には種々の病変が認められる。心臓では、心筋に慢性の線維化が種々の程度に認められる。また、心筋の高度な肥厚と線維化を伴った心筋症に相当する変化が動物園で飼育したゴリラ、実験室で飼育したリスザルに認められた。脳の大脳基底核の血管石灰化は、ニホンザルなどマカク属、マーモセットで左右対称性に認められ、特徴的な球状あるいは塊状の形状を示すが、脳実質の障害は伴わない。飼育下のサル類には種々の程度に動脈のアテローム硬化症が認められる。人と同様に運動不足と過栄養は、サル類の血管に動脈硬化症を引き起こす。サル類の造血系腫瘍の中でリンパ腫が比較的発生が多くしばしば診断上問題となる。サル類のリンパ腫はほとんどが非ホジキンリンパ腫で、ホジキンリンパ腫はヒヒの報告が1例あるのみである。サル類においても、リンパ腫は種々の原因で発生する。サル類の自然発生リンパ腫の多くは、STLVなど腫瘍ウイルスに関連した発生が疑われるが不明な点が多い。また、SIVに感染したアカゲザルでは、人のAIDS患者と同様にB細胞リンパ腫の発生が認められる。当教室で経験したリンパ腫を中心に紹介する。本研究の一部は文部科学省21世紀COEプログラムによる研究助成により行った。

薬物誘発性りん脂質症の病理

○福田 良

(武田薬品工業株式会社 開発研究センター)

薬物を投与した実験動物の諸器官・組織の細胞のライソゾーム内に過剰なりん脂質の蓄積が生じる全身性の病態を薬物誘発性りん脂質症と呼んでいる。本症を誘発する薬物の薬効分野は多岐にわたるが、陽イオン性両親媒性薬剤と称する化学構造上の特徴があり、誘発薬物の細胞内蓄積がりん脂質の過剰蓄積と相関して生じていることが多い。りん脂質蓄積の機序として、分解抵抗性の薬物-りん脂質複合体の形成、特定のライソゾーム酵素阻害、ライソゾームの全般的な機能障害、あるいはりん脂質生合成の増加などが提唱されている。

病理像は、H&E染色標本で細胞質の空胞化もしくは泡沫状変化を特徴とし、電子顕微鏡的にはライソゾーム内にlamellar, myelinoidあるいはcrystalloid構造が認められる。病変分布が全身性ではなく、特定臓器に限定される場合もあり、薬物の種類、投与量あるいは投与期間により病像にはバリエーションがある。本症の病理評価にあたっては類似した病態との鑑別のほか、りん脂質以外の物質の蓄積にも注目しておきたい。形態学的な観点からはりん脂質蓄積自体は細胞傷害の結果像ではなく、薬物投与に対する代償・適応現象とされる。従って、りん脂質の過剰蓄積に留まらない形態・機能変化がみられる場合は個々の誘発薬物の特性を反映している可能性が高く、実際に細胞傷害性を有する薬物が本症を誘発する場合は、壊死、炎症などの組織傷害を伴っている。

近年、米国FDAはワーキンググループを発足させ、薬物誘発性りん脂質症の安全性評価ガイダンス制定に取り組んでいる。本症は、一般に休薬により回復する可逆的変化であり、無影響量が認められることが多いが、新薬開発にあたっては慎重な安全性評価が求められており、毒性学的意義の解明が重要である。

Metabonomics research for drug-induced phospholipidosis/steatosis

○堀之内 彰¹⁾、村林 美香²⁾、上口 英則²⁾、森 郁生¹⁾¹⁾武田薬品 開発研究センター、²⁾武田薬品 探索研究センター

Aim: A number of cationic amphiphilic drugs (CADs) have been reported to cause phospholipidosis (PLD)/steatosis in humans and laboratory animals, resulting in histological changes related to abnormal and excess accumulation of phospholipids and/or neutral lipids in many organs such as lung, liver and lymphocytes. As an alternative to hematological and histopathological examination, we have carried out an investigation to identify potential surrogate markers for drug-induced PLD/steatosis in urinary samples of CADs-treated rats using 1H-nuclear magnetic resonance (1H-NMR).

Methods: Six CADs were orally administered to CrI: CD(SD) rats (Male, 6-week old) at 3 dosage levels for 3 consecutive days. After the final dose, urine samples were collected in cooled plastic bottles from treated-rats and age-matched control rats for 6 hours and metabolites analysis was carried out by 1H-NMR. PLD/steatosis were characterized by measurement of the vacuolated lymphocytes ratio in blood smear, and by histopathological examination of the following organs: liver, lung, mesenteric lymph node, spleen, kidney and brain.

Results: Vacuolated lymphocytes ratio increased with increasing dose levels in all CAD-treated rats. Histological changes related to PLD/steatosis were noted in one or more organs for all CAD-treated rats. In the 1H-NMR analysis, increases in phenylacetylglycine (PAG) were observed to show a dose-dependent correlation to decreases in hippuric acid (HA) in all CAD-treated rats.

Conclusion: An increase in the ratio of PAG/HA, which reflects an altered phenylalanine metabolism, may be a useful urinary surrogate marker for PLD/steatosis.

WS2-3

Toxicogenomics Approaches to Drug-Induced Phospholipidosis: Identification of Candidate Blood Biomarkers and Establishment of in Vitro Screening System

○沢田 啓、森 郁生、谷口 恵子、岩知道 貴子、中下 幸江、朝日 知、高見 健治
(武田薬品工業 医薬研究本部)

Phospholipidosis (PLD) is a lipid storage disorder in which excess phospholipids accumulate. Several drugs were reported to induce PLD. This study was undertaken to select potential clinical biomarker genes and to identify specific markers that form an in vitro screening assay. Specifically, we performed DNA microarray analysis on rat blood and human hepatoma HepG2 cells.

Each of 6 drugs was administrated to male Crl:CD(SD) rats daily for 3 or 7 days. Microscopic analysis revealed characteristic PLD changes in all animals. In microarray study, we selected probe sets that were up- or down-regulated by all 6 drugs at each time point as candidate blood biomarkers. On the other hand, HepG2 were treated for 6 or 24 hours with each of 12 drugs that were found to induce PLD by electron microscopy. In microarray analysis, 17 genes that showed a similar expression profile were selected from various functional categories. In real-time PCR study, we identified 12 specific markers and established an in vitro screening assay using the average fold change values of the marker genes. Furthermore, in order to increase throughput, this assay was transferred into a microplate-based multiple mRNAs measuring ArrayPlate assay. The rat blood and HepG2 microarray data suggested that alterations in lysosomal function, lipid metabolism, intracellular transport, cell proliferation, oxidative stress response and immune response were involved in the induction of PLD and/or affected by PLD.

In conclusion, toxicogenomics approaches enabled us to identify candidate blood biomarkers and to establish a rapid and sensitive in vitro screening assay.

WS3-1

薬物代謝酵素誘導剤による肝細胞肥大と遺伝子・タンパク質発現の変化

○牧野 俊彦、清沢 直樹、伊藤 和美、安藤 洋介、矢本 敬、寺西 宗広、真鍋 淳
(三共・安全研)

肝薬物代謝酵素誘導剤として、phenobarbital (PB)、clofibrate (CPIB)およびbutylated hydroxyanisole (BHA)をF344ラット(雄、9週齢)に14日間強制経口あるいは経餌投与して肝臓の病理組織学的検査、GeneChip解析、および2D-DIGEを用いた網羅的タンパク発現解析を実施し、病理形態学的な毒性評価にtoxicogenomicsおよびtoxicoproteomicsを加え、総合的に検討した。PBおよびCPIBはそれぞれ10、100mg/kgおよび20、200 mg/kgの投与用量で強制経口投与、BHAは0.08および0.8%の割合で粉末飼料中に混じ、自由に摂取させ、投与後1、2、4、7、14日後に肝臓を採取した。何れの化合物も肝重量の増加を認めたが、形態学的にはPBおよびCPIBでは小葉中心性肝細胞肥大とSERの増生を認めたのに対し、BHAでは光顕および電顕的に変化は認められなかった。免疫染色ではPBでCYP2B1、CPIBでCYP4A1の小葉中心性の染色強度の増強が認められ、BHAではGST YaおよびYpの誘導が認められた。GeneChip解析ではPBで投与1日目から第I相および第II相酵素関連遺伝子の発現増強を認め、CPIBで投与1日目から第I相酵素関連遺伝子の発現増強および第II相酵素関連遺伝子の減弱を認めた。BHAでは第I相酵素関連遺伝子に変化は認められなかったが、第II相酵素関連遺伝子の発現増強を認めた。2D-DIGE解析ではBHAでタンパクおよび遺伝子発現増強を認めたglutathione S-transferase mu, alphaでシグナル強度の増加が認められた。PBおよびCPIBについては共通して変動するタンパクが認められた。以上のことから、遺伝子およびタンパク発現と形態学的変化を合わせて総合的に評価することにより、有効に毒性評価を行えるものと考えられる。

WS3-2

肝細胞アポトーシスと遺伝子・タンパク質発現の変化

○熊谷 和善、清沢 直樹、伊藤 和美、安藤 洋介、河井 良太、矢本 敬、寺西 宗広、真鍋 淳
(三共 安全研)

肝細胞アポトーシスモデルとしてCycloheximide (CHX)を用いて肝臓の病理学的検査、GeneChip解析、Multiplex cytokine assay、2D-DIGEによる網羅的タンパク発現解析を実施し、形態学的な毒性評価へのtoxicogenomicsおよびtoxicoproteomicsの活用法について検討した。本検討ではF344ラット(雄、8週齢)にCHXを6 mg/kg尾静脈内投与する群に加え、Gadolinium chloride (GD)を10 mg/kg尾静脈内投与24時間後にCHXを6 mg/kg尾静脈内投与する群を別途設け、CHX投与1、2、6時間後に肝臓を採取した。CHXでは形態学的には投与2時間後でアポトーシス小体を胞体内に含む肝細胞または類洞壁細胞が増加し、6時間後には多発性微小壊死を認めた。TUNEL染色では投与2時間後に陽性核数増加がピークを示した。GeneChip解析では投与1時間後からアポトーシス促進遺伝子の発現増加、投与2時間後から炎症性遺伝子の発現増加を認めた。血清および肝臓に対するMultiplex cytokine assayでは投与2または6時間後にproinflammatory cytokineタンパクの発現増加が認められた。GD+CHXでは形態学的にCHX単剤と明白な差は確認されなかったが、TUNEL陽性数が投与6時間後も2時間後と同様にピークを示した。GeneChip解析ではCHX単剤と同様の傾向を示したが、血清および肝臓に対するMultiplex cytokine assayではproinflammatory cytokineタンパクの発現増加が認められなかった。2D-DIGE解析はCHXおよびGD+CHX投与により時間依存的にシグナル強度が増加もしくは低下するスポット群を検出し、その詳細についてMS解析を含めて検索中である。

WS3-3

アセトアミノフェン、プロモベンゼンによる肝細胞壊死と遺伝子・蛋白発現の変化

○中江 大

(財団法人 佐々木研究所 病理部)

本研究は、アセトアミノフェン(APAP)・プロモベンゼン(BB)をF344ラット(雄、9週齢)に単回投与する肝障害モデルを用いて、肝の病理組織学的・免疫組織化学的の検索と共に、GeneChip解析・2D-DIGE網羅的蛋白発現解析を実施し、毒性評価におけるtoxicogeno/proteomicsの活用法について検討した。実験は、APAPを300・1000 mg/kg体重(以下同)で強制経口投与、BBを150・300mg/kgで腹腔内投与し、その1・2・6・24時間後に肝を採取して検索に供した。APAPについて、形態学的には1000mg/kg群投与24時間後に小葉中心性肝細胞壊死を観察するのみであったが、GeneChip解析では両用量群投与6時間後の脂質代謝関連遺伝子の変動と、投与24時間後の300mg/kg群における第II相酵素遺伝子の発現増強および1000mg/kg群におけるCYP関連遺伝子の発現減弱を検出した。さらに、inducible NO synthase (iNOS)およびheme-oxygenase-1 (HO-1)は、1000mg/kg群投与24時間後において、遺伝子発現量が増加し、蛋白について、前者が壊死巣内に、後者が壊死境界部肝細胞に、それぞれ局在するものと免疫組織化学的に証明された。BBについて、形態学的には、両用量群投与24時間後に、小葉中心性肝細胞壊死と、小葉中心部より中間部に至る肝細胞の好酸性化を観察した。GeneChip解析では、両用量群共に、投与6時間後で脂質代謝関連遺伝子の変動を、投与24時間後でCYP関連遺伝子の発現減弱と第II相酵素遺伝子の発現増強を、それぞれ検出した。さらに、HO-1は、両用量群投与24時間後において、遺伝子発現量が増加し、蛋白について、主として好酸性化肝細胞に局在することが免疫組織化学的に証明された。一方、2D-DIGE解析は、APAP・BBで共通あるいは相違して用量・時間依存的にシグナル強度が増強もしくは減弱するスポット群を検出し、その詳細についてMS解析を含めて検索中である。以女纏7結果より、toxicogeno/proteomicsは、形態学と融合させることにより、毒性評価において有効に活用できる可能性のあるものと判明した。

WS3-4

Buthionine-sulfoximine (BSO) 起因性グルタチオン枯渇と肝細胞の病理組織学的変化

○大町 康

(放医研 低線量プロジェクト)

酸化ストレスモデルの一つとして、合成酵素阻害によりグルタチオン枯渇を惹起するbuthionine-sulfoximine (BSO)をF344ラット(雄、9週齢)に4日間反復飲水投与(5、20mM)して肝臓の病理組織学的検査、GeneChip解析、および2D-DIGEを用いた網羅的タンパク発現解析を実施し、病理形態学的な毒性評価へのtoxicogenomicsおよびtoxicoproteomicsの活用法を考察する。BSOを4日間20mMの割合で飲水投与しても形態学的には肝臓に変化は認められなかった。また、血液化学的検査においても、肝障害を示唆する変化は認められなかった。GeneChip解析では酸化ストレスで変動する遺伝子(Nrf2およびその関連遺伝子)の変動と、II相系酵素の誘導を認めた。Nrf2およびその関連遺伝子を基に主成分分析を行なった結果、BSO投与群では酸化ストレスにより肝障害を発現するAPAPと類似したプロファイルを示した。さらにmetallothionein-1, 2の遺伝子発現量の増加が確認でき、免疫染色でも肝細胞にび慢性に陽性反応が認められた。タンパク発現解析では、5 mMおよび20 mMで共通してシグナル強度が増加、もしくは低下するスポットが認められ、これらのスポットについて、MS解析を実施中である。さらに、別のグルタチオン枯渇剤であるdiethyl maleateについてもラットにおける病理組織、遺伝子発現、タンパク発現の比較を、また、グルタチオンにより解毒されるパルプロ酸についてグルタチオン枯渇が毒性発現および遺伝子・タンパク発現にどのような影響を与えるかについても現在検討中であり、それらの成績ともあわせて総合的に考察する。

— MEMO —

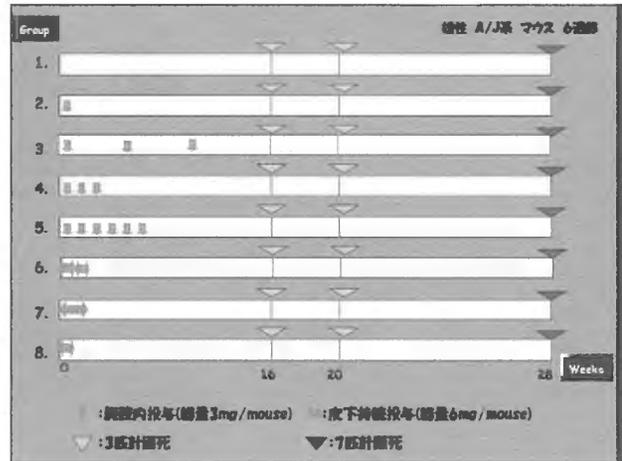
一般口演要旨 (O-1～O-10)

0-1

雄性マウスにおけるNNK誘発肺発がん

○五十嵐 麻希^{1,3)}、吉田 緑¹⁾、高橋 正一¹⁾、植松 史行¹⁾、前川 昭彦²⁾、中江 大¹⁾
(¹⁾佐々木研 病理、²⁾佐々木研、³⁾東京農大 院 生体機能防衛学)

【目的】A/J系マウスは、肺がん好発系であるが、雌の感受性が雄より強いとされていることより、このマウスを使った肺がん研究の多くが雌を用いて行われている。しかし、ヒトにおいては肺がんの相対リスクが女性よりも男性に高いことから、ヒトへの外挿を考慮すると雄における検索も必要である。一方、喫煙は肺がんの強力なリスク因子であり、そのリスクの一部はNNKなどのタバコ関連ニトロ化合物に由来するとされている。したがって、本研究の目的は、A/J系雄性マウスを用いて、NNKにより誘発される肺がんについて検索することである。【方法】実験は、6週齢の雄性A/Jマウスを8群(各13匹)に分け、図で示した方法にて実験を行い、剖検後に肺の増殖性病変の発生を病理学的に検索した。なお、皮下持続投与は、浸透圧ポンプを背部に埋没させることにより行った。【結果】NNKは、28週間でもっとも顕著に、また、腹腔内投与群より皮下投与群、特に第8群の条件でもっとも強い肺発がん性を示した。【結論】NNKは、実験条件によって、A/J系雄性マウスにおいても雌と同等の肺発がん性を示すものと判明した。



0-2

F344, LEC及びLEAラットにおける電離放射線感受性とX線誘発発がん性

○中井 登紀子、泉 啓介
(徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 環境病理学分野)

【目的】近交系Long-Evans Cinnamon (LEC)ラットおよびLong-Evans Agouti (LEA)ラットはDNA2本鎖切断の修復に欠損があるため電離放射線高感受性であることが報告されている。これらのラットの放射線感受性遺伝子座としてLECラットではxhs1およびxhs2、LEAラットではxhs1が報告されている。そこで、これらのラットとコントロールとしてのF344ラットのX線誘発発がん感受性を比較した。【方法】6週齢雄F344,LECおよびLEAラットに2Gy/回のX線を2週間隔で計0,2,4および6Gy全身照射し、78週齢で屠殺した(n=15)。LEAラットの6Gy照射群は設けなかった。【結果】LEAラットの4Gy照射群は早期に糖尿病で死亡したため、発がん性の比較はできなかった。LEAラットとF344ラットは概ね類似した発がん性を示し、肺発がんおよび軟部組織の発がんについては高感受性であった。これらに比べてLECラットは肺発がん、軟部組織発がん抵抗性、大腸発がん感受性であった。F344ラットの軟部腫瘍、LECラットの大腸腫瘍発生率には線量依存性の増加が認められた。X線照射によるLECラットの自然発生腫瘍(肝腫瘍、腎腫瘍)の増加はなかった。LECラット盲腸粘膜には炎症、潰瘍形成が見られ、その頻度は線量依存性に増加した。【結論】我々のこれまでの化学発がん感受性の検索において、LECラットは肺発がん抵抗性、大腸発がん感受性である。X線照射に対してもこれとよく似た発がん傾向を示した。LECラットの大腸癌の発生に盲腸、大腸炎の関与が示唆された。LECおよびLEAラットの電離放射線感受性は、これらのラットのX線誘発発がん性を増強しないと考えられた。

Bromocriptine長期投与によるラット子宮発癌抑制作用

○吉田 緑¹⁾、谷本 倫^{1,2)}、前川 昭彦³⁾

(1) (財) 佐々木研究所 病理部、2) 株式会社ヤクルト本社 中央研究所、3) (財) 佐々木研究所)

プロラクチン(PRL)はラットにおいて黄体の持続と消長双方へ作用することが報告されているがPRLの増加あるいは抑制下における子宮内膜腺癌への影響については不明な点が多い。Bromocriptine (BRC)はPRL分泌を抑制するが、直接的な子宮刺激作用はなく、その長期投与による卵巣への影響も殆ど報告されていない。ラットの子宮内膜腺癌の発生にはヒトと同様、卵巣の機能異常、特に黄体形成のない萎縮卵巣による相対的高エストロゲン状態が重要な役割を担っていることから、我々はラット二段階子宮発癌モデルを用いてBRC長期投与によるPRL抑制が子宮発癌へ与える修飾作用を検討した。動物には子宮内膜腺癌好発系の雌Donryuラット50匹を用い、10週齢にてENNG子宮腔内投与による発癌基始操作後、半数の動物に14.5ヶ月齢までBRC1mg/kg体重を週4~5回皮下投与し、子宮増殖性病変について対照動物と比較した。15ヶ月例で剖検した結果、BRC投与により子宮内膜腺癌の発生頻度および病変数が有意に減少した。しかし、前癌病変と考えられる子宮内膜の高度異型性過形成の頻度はBRC投与群ではむしろ増加し、増殖性病変総数にも差はなかった。BRC投与による性周期への影響は認められなかったが、BRC投与動物では、卵巣の間質腺細胞の空胞化が多く認められ、血清中エストロゲン:プロゲステロン比(相対的エストロゲン値)の低下が認められたことから、BRC長期投与による卵巣への影響が示唆された。さらに同系統ラットを用いたBRC短期投与実験を行った結果、性周期への影響はないものの、血清中プロラクチン値の有意な低値、黄体の消長抑制が認められた。これらの実験結果より、BRC長期投与はラットの子宮内膜腺癌発生を抑制するが、その作用機序として、長期のPRL低値を介した黄体の変化による相対的エストロゲン値の低下が関与していると考えられた。

ブスルファンによるラット胎児における小脳症及び小眼球症

○古川 賢、白田 浩二、阿部 正義、小川 いづみ

(日産化学工業 生物科学研究所)

【目的】抗がん剤のブスルファン(BUS)は妊娠ラットに投与することにより小脳症及び小眼球症を誘発することが知られているが、これに関する詳細な報告はない。本発表ではBUS暴露ラット胎児を病理組織学的に検索し、小脳症及び小眼球症の発現機序について検討した。【材料及び方法】BUSはオリーブオイルに懸濁し、0及び10mg/kgの2用量にて妊娠12、13及び14日にラットに腹腔内投与し、妊娠14.5、15、16及び21日に胎児を摘出した。胎児重量を測定し、ホルマリン固定後、中枢神経系及び眼球について組織病理検査を実施した。また、妊娠21日の胎児については脳を摘出し、重量を測定した。【結果】BUS群の胎児重量は妊娠15日以降、有意に低下し、妊娠21日では大脳及び眼球は低形成を示し、脳重量は有意に低下していた。病理組織学的に脳では神経上皮細胞層において妊娠14.5-16日にアポトーシスが認められ、妊娠15日以降、細胞増殖活性は抑制され、その厚さを減じ、細胞密度は低下していた。妊娠21日では大脳皮質は菲薄化していた。眼球では妊娠14.5-16日に網膜神経層においてアポトーシスが誘発され、細胞増殖活性が抑制され、その厚さを減じていた。水晶体では上皮細胞においてアポトーシスが認められ、赤道部での細胞増殖活性が抑制されていた。妊娠21日では網膜及び水晶体は低形成を示し、水晶体線維は変性していた。【考察】BUS投与により脳では神経上皮細胞層、眼球では網膜神経層と水晶体上皮細胞においてアポトーシスを誘発、さらに細胞増殖を抑制し、大脳皮質、網膜及び水晶体の形成に必要な細胞が十分に産生されないことにより、小脳症及び小眼球症が誘発されるものと推察した。

0-5

ACAT阻害薬(K-604)のラット副腎に対する毒性の評価

渡邊 隆夫、○西村 次平、大道 浩三、秋葉 知英、岡村 信志、加藤 直樹、高橋 正寿、山下 浩史、
和藤 英司、田中 猛、天野 幸紀、田辺 宗平
(興和株式会社 富士研究所 安全性研究部)

【目的】

遊離コレステロールを遊離型からエステル型に変換する酵素(ACAT:acyl coenzyme A cholesterol acyltransferase)の阻害薬であるK-604をラットに1ヵ月間経口反復投与した際、病理組織学的に副腎束状帯の空胞化や好酸性化等の変化が認められる。これらの毒性学的意義を明らかにするために、副腎皮質機能(ホルモン産生能)を指標にK-604の副腎毒性を評価した。

【方法】

6週齢の雌性:Crl:CD(SD)系ラットにK-604の3、10、30及び150mg/kgを4、8、15及び29日間経口反復投与した後、それぞれの最終投与日の18~19時の間に断頭による採血を行い、血中Corticosterone濃度を測定した。また、29日間投与にはACTH負荷群を設定し、非負荷群と比較した。さらに、電子顕微鏡学的検索及び脂肪染色(Oil red O染色)並びに副腎内の総コレステロール及び遊離型コレステロール量測定も実施した。

【結果及び考察】

経口的に血漿中Corticosterone濃度を測定した結果、いずれの投与期間においても対照群との間に差はみられず、29日間投与におけるACTH負荷時の血中Corticosterone濃度も非負荷群との間に差は認められなかった。電子顕微鏡学的検査では細胞内小器官に変化は認められなかった。Oil red O染色では30mg/kg群で副腎束状帯細胞において僅かに陽性顆粒の減少がみられ、150mg/kg群ではそれが著減していた。30mg/kg以上の群では副腎内コレステロール量の減少も認められた。これらの変化は1ヵ月間の休薬により回復した。以上の成績から、K-604投与ラットの副腎で認められた副腎束状帯の空胞化や好酸性化は、副腎皮質のホルモン産生能に影響しないことから、それらの毒性学的意義は乏しいものと考えられた。

0-6

Epstein-Barr virus由来の自立増殖能を有する非ウイルスベクターを用いた遺伝子導入と実験的遺伝子治療

○柴田 雅朗¹⁾、森本 純司²⁾、伊藤 裕子¹⁾、大槻 勝紀¹⁾
(¹⁾大阪医科大学 基盤医学講座 解剖学、²⁾大阪医科大学 実験動物センター)

【目的】Epstein-Barr virus (EB) 由来のプラスミドベクター (pEB) はヒト細胞内では自立増殖するため、耐性抗生物質の添加により目的遺伝子のみを発現した細胞を短期間で作成できる。そこで、pEBベクターの基礎研究への応用性を検討した。【方法および結果】ヒト乳癌細胞株のMDA-MB231にGFPを組み込んだpEB-GFPを遺伝子導入し、1000 µg/ml G418を培養液中に添加し、約1ヶ月の培養後、染色体に組み込まれたStableな系を容易に確立し得た。これをヌードマウス皮下に移植し、その8週後に移植腫瘍、肺、リンパ節を蛍光実体顕微鏡で観察した。移植腫瘍は依然、GFPを発現しており、微小転移も容易に検出し得た。次にジフテリアトキシンA遺伝子を組み込んだpEB-DTAを作成し、MDA-MB231をSCIDマウスに移植し、その移植腫瘍に対する抗腫瘍効果を検討した。週に1回、腫瘍に直接EBベクター (対照群、pEB-GFP; 治療群、pEB-DTA) を注入し、Electroporation transferし、5週後に屠殺剖検した。腫瘍体積は、pEB-DTA群で、pEB-GFP群と比較して、有意に抑制された。転移に対しては、明らかな抑制作用は示されなかった。pEB-GFP群の移植腫瘍では、広範囲にGFPの発現をみた。pEB-DTA群での腫瘍では、アポトーシス細胞の有意な増加が観察された。【考察】EBベクターはヒト由来の細胞株では長期発現を可能にし、またStable transfection系の確立を容易にした。非ウイルスベクターであることから安全性が高く、自立増殖能を有するという性質はin vivo での実験的遺伝子治療に期待が大きい。しかし、DTAのように導入遺伝子自体に殺効果が強過ぎるとEBベクターの自立増殖能が活かされず、遺伝子導入細胞が増殖することなく、局所的に死滅してまうため、導入遺伝子を考慮する必要がある。

0-7

N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) 誘発ラット膀胱癌に対するBCH抗腫瘍効果の検討

○武藤 朋子¹⁾、金井 好克¹⁾、和久井 信²⁾、遠藤 仁¹⁾

(¹⁾杏林大学 医学部 薬理学教室、²⁾麻布大学獣医学部比較毒性学研究室)

【目的】アミノ酸トランスポーターのひとつであるL-type amino acid transporter 1 (LAT1)は必須アミノ酸の多くを輸送するトランスポーターであり、細胞への栄養供給に重要な役割を果たしている。特に癌化した細胞ではLAT1の発現が亢進していることから癌化細胞では増殖能を維持する為にアミノ酸の摂取が亢進しているものと思われる。本検討においてLATの輸送阻害により細胞増殖を抑制することが知られている物質のひとつである2-amino-bicyclo-(2.2.1)-heptane-2-carboxylic acid (BCH)をBBN誘発ラット膀胱癌において、膀胱内注入による癌への作用を検討した。【方法】8週齢のWistar雄ラットに0.05%BBNを10週間飲水投与後、36週齢に浸透圧ポンプを用いてBCHの局所デリバリーを2週間行い、対照群として生理食塩水を同様に設定した。膀胱剖出後、常法に従い病理学的検討後、TUNEL法によるapoptosisの検出を行った。【結果】BCH処理群では、膀胱重量比において対照群に比し減少傾向と腫瘍縮小が認められた。組織学的検討では、BCH処理群においてHE染色での核の凝集を伴うapoptosis様細胞の出現を認め、TUNEL陽性細胞の出現が認められた。【総括】LATの輸送阻害により細胞増殖を抑制するBCHがBBN誘発ラット膀胱癌に対しapoptosisの誘導並びに腫瘍縮小効果を示したことから、LAT抑制薬の腫瘍抑制作用が示唆された。現在マイクロアレイでの網羅的探索を行い、LAT抑制作用における細胞内機序を検討中である。

0-8

Dicyclanil誘発マウス肝腫瘍における遺伝子発現解析

○本 光喜、岡村 美和、六車 雅子、三森 国敏

(東京農工大学 獣医病理)

【目的】我々は昨年本学会において、非遺伝毒性発がん物質であるdicyclanil (DC)により誘発されたマウス肝腫瘍の前腫瘍性病変では、酸化ストレスを介した二次的な酸化的DNA損傷が生じ、これらがDCによる発がん機序の一部として関与している可能性を報告した。そこで今回、DCにより誘発された肝腫瘍での遺伝子発現解析を実施し、腫瘍および非腫瘍組織における酸化ストレス遺伝子群の発現について比較した。【方法】2/3部分肝切除を施した雄ICRマウスへdiethylnitrosamine (DEN)を投与した後、DCを20週間混餌投与して肝腫瘍を誘発し、その肝についての病理組織学的検索に加えマイクロアレイおよびreal-time RT-PCRによる遺伝子発現解析を実施した。【結果】DEN群では肝腫瘍形成は認められなかったが、DEN+DC群では、肝腫瘍(肝細胞癌あるいは肝細胞腺腫)が5/14例(35.7%)で観察された。肝の一部の組織より抽出したRNAを用いたマイクロアレイおよびreal-time RT-PCRでは、酸化ストレス関連遺伝子であるCyp1a1、Txnrd1、Ogg1の有意な発現上昇に加え、抗腫瘍性アポトーシス誘導リガンドの遺伝子Trailの有意な発現低下が認められた。マイクロディセクションによりDEN群の非腫瘍部、DEN+DC群で腫瘍が認められた個体の腫瘍部、およびその近傍(非腫瘍部)から採取した組織でのこれら遺伝子発現を比較した結果、Cyp1a1およびTxnrd1は腫瘍組織で最も強く発現したが、Ogg1はいずれの部位でも遺伝子発現の程度はほぼ同等であり、逆にTrailは非腫瘍組織に比べ腫瘍組織で有意な低下が認められた。【考察】以上の結果から、DCにより誘発されたマウス肝腫瘍およびその近傍組織では酸化ストレスに対する修復機能の低下およびアポトーシスの抑制が生じている可能性が示唆された。

肝発がんの進展過程におけるConnexin32の働き

○外岩戸 尚美、朝元 誠人、白井 智之
(名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理分野)

腫瘍細胞では細胞間連絡能の異常およびそれを司る分子であるConnexinsの発現低下や、消失が数多く報告されている。我々は肝臓で発現するConnexin32のドミナントネガティブ変異体を肝で特異的に発現するトランスジェニック(Tg)ラットを作成し、このTgラットは細胞間連絡能が明らかに低下しているが、正常に発育し、肝毒性物質に対し抵抗性である事を報告してきた。また、肝発がん物質であるジエチルニトロサミン(DEN)を6週齢時に単回投与した後、52週まで継時的に解剖検索したところ、前がん病変の数と面積はトランスジェニックラットのほうが多く発生したが、腫瘍である腺腫と癌の発生は同腹の正常型(Non-Tg)ラットと比較して同等の頻度であった事も報告している。そこで、我々はConnexin32が肝発がんの進展過程においてどのような役割を果たしているのかを追求するため、6週齢の雄のTgラットとNon-Tgラットをそれぞれ3群に分け、1群は溶媒を投与したコントロール群とし、2群はDEN(200mg/kg B.W.)を単回腹腔内投与し、3群はDEN(200mg/kg B.W.)の腹腔内投与した後、前がん病変が多数発生している20週間後にDEN(100mg/kg B.W.)を再投与した。50週間経過した後、屠殺・剖検を行い各群の肝がんの発生率を比較した。その結果、TgおよびNon-Tgラットにおいて、DENの単回投与よりも二回投与によって肝腫瘍の発生率が上昇し、その変化はトランスジェニックラットの方が強い事が示された。このことから、発がん物質の投与に対する反応に細胞間連絡能が関与しており、発がん物質投与時に細胞間連絡能が低下している事が、がんの発生へ大きく影響していることが示され、細胞間連絡能の低下は前がん病変から癌への進展を促進することが示唆された。今後は組織学的な解析などをさらに進め、肝発がんの進展過程におけるConnexin32の働きをより明らかにしていく。

フェノバルビタール投与の肝発がんホルミシス現象における誘発したラットGST-P陽性細胞巢のプロテオーム解析

○木下 アンナ、鰐淵 英機、魏 民、福島 昭治
(大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

[はじめに] 最近、我々是非遺伝毒性発がん物質であるphenobarbitalのラット肝発がん性を検索し、高用量では発がん性を発揮するものの低用量では逆にラット肝発がんを抑制するというホルミシス現象を見出し出している。放射線発がんにおいては、以前より多くのホルミシス現象の報告があるが、化学発がんの領域におけるホルミシス現象の研究はまだ始まったばかりである。本研究では、前がん病変のマーカーであるGST-P細胞巢という微小な病変における微量な試料から、PBの高用量域と低用量域の実際に発現している蛋白・ペプチドの差異に注目し、ホルミシス現象に関わる蛋白を同定し、その機序の解明を試みた。[方法] 6週令雄性F344ラットにDENを100mg/kg腹腔内投与し、PBを0、2、15および500ppmの用量で混餌投与した。実験開始後10週で屠殺し、肝結標本では、前がん病変マーカーであるGST-P陽性細胞巢を免疫染色を行い、レーザーキャプチャー・マイクロダイセクション法(LCM; PALM Microlaser Technologies)を用いて、GST-P陽性細胞巢を凍結標本から切り出し、Q10, CM10 と IMACプロテインチップアレイ(Ciphergen Protein Chip System Series 4000)を用いたGST-P陽性細胞巢のホルミシスに関連した蛋白・ペプチド発現解析を行った。[結果] PBの高用量および低用量投与によるGST-P陽性細胞巢内にかん促進およびがん抑制に関与する特異的な蛋白・ペプチドの発現が認められた。また、PB投与により特異的に発現する蛋白・ペプチドも見られた。現在はPeptide Mass Fingerprinting法を用いて、これらの蛋白が同定中である。[結論] 肝発がんホルミシス現象におけるGST-P陽性細胞巢に特異的な蛋白およびペプチドの発現が示された。

ポスター要旨 (P-1～P-99)

NMDA受容体拮抗薬を投与したビーグル犬にみられた大脳病変

○白井 紀充、高橋 守、田代 俊文、古田 千香子、二井 愛介、堀井 郁夫
(ファイザー株式会社 安全性研究統括部)

【目的】グルタミン酸は、中枢神経系における主要な興奮性伝達物質であり、これを受けるグルタミン酸受容体の一つとして、N-メチル-D-アスパラギン酸(NMDA)により活性化されるNMDA受容体が挙げられる。今回、NMDA受容体に対して特異的に拮抗作用を有する薬物のイヌ中枢神経に対する影響を検討した。【方法】ビーグル犬4例(雄3例・雌1例:体重7~9kg)にNMDA受容体拮抗薬の一定用量を単回、静脈内投与し、投与2日後における脳の病理組織学的検査を実施した。脳は4%paraformaldehyde/0.1%glutaraldehyde液で灌流固定した後、大脳前端から小脳後端にかけて正中線に対して垂直に約5mm間隔で切り出し、各組織片についてHE染色標本を作製して観察した。また、一部の組織片については神経細胞の壊死を同定する目的でFluoro-Jade蛍光染色を施し、蛍光顕微鏡による観察を行った。その他、無処置のビーグル犬雌1例を用い、脳の組織標本を同様に作製し、陰性対照とした。【結果】雄1例が、投与直後より間欠性のjaw snapping(顎をがくがくさせる)・流涎を呈し、投与1日後に振戦・流涎、投与2日後に自発運動の減少を示した。この動物では、海馬および大脳底部の嗅脳皮質における神経細胞が濃縮してエオジンに濃赤染し、Fluoro-Jade蛍光色素で特異的に染色された。一方、他の3例(雄2例・雌1例)は、投与直後より投与1日後にかけて間欠性のjaw snappingを呈したが、脳に病理組織学的変化は認められなかった。今回、脳病変は1例に認められたのみであったが、イヌでNMDA受容体拮抗薬により大脳神経細胞に障害が惹起される可能性が示唆された。

ラット新生仔期の脳分化に関する病理形態学的研究

○大平 東子、木戸 亮子、飯田 麻里、長井 佳代子、山下 龍、石崎 まゆみ、
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
(安評センター)

【目的】性ホルモン様物質を胎児期あるいは新生児期に暴露すると、性分化に関わる神経核に作用し、性成熟後に性機能に異常を来すことが知られているが、その機序は十分に解明されていない。今回、新生児期における性機能に関与する神経発達の経過を明らかにする目的で、以下の実験を行った。

【材料および方法】生後1、3、5、7、10、21日目および10週齢のSprague-Dawley系ラット雌雄各4匹の脳を用いた。ホルマリン固定、パラフィン包埋後、視交叉から視床下部を含む冠状断面の連続切片を作製し、Tyrosine Hydroxylase (TH)およびEstrogen受容体 α (ER α)を免疫組織科学的染色し、病理組織学的に観察し陽性細胞数を計測した。

【結果】性的二型核SDN-POAに相当する神経核すなわち内側視索前野において、TH陽性神経細胞は、生後3日目から認められ、5日目に増加し、7、10、21日目には同程度観察され、10週齢では更に増加していた。TH陽性神経細胞数に雌雄差は認められなかった。ER α 陽性神経細胞は、生後1日目から観察され、3、5、7、10、21日目には、日齢の増加に伴い陽性細胞も増加傾向にあったが、10週齢には減少した。ER α 陽性細胞数は雄より雌の方が多く観察された。視床下部後核に相当する神経核において、TH陽性神経細胞は、雄では生後1、3日目に多数観察され、5日目から21日目までに、減少が認められたが、10週齢では再び多数観察された。一方、雌においても生後1日目から観察され、雄に比べ陽性細胞数は少なく、5日目以降雌雄差は減少した。尚、この部位ではER α 陽性細胞は雌雄共に観察されなかった。黒質において、TH陽性神経細胞は、生後1日目から多数観察され、雌雄差は認められなかった。

【結論】生後数日で視床下部の性的二型核に雌雄差が認められると報告されているが、この雌雄差の主たる要因に、ER α 陽性神経細胞、ドーパミン作動性神経細胞の数が関与する可能性は低いと思われる。

3-amino benzamideによるMNU誘発ラット網膜変性の抑制効果

○三木 克朗¹⁾、義澤 克彦²⁾、螺良 愛郎¹⁾
 (1) 関西医科大学 病理学第2、²⁾ アステラス製薬)

【目的】ラットへのN-methyl-N-nitrosourea (MNU)の単回腹腔内投与により、ヒト網膜色素変性症と同一機転である視細胞アポトーシスに起因する網膜変性を惹起する。この病変は、カスパーゼ阻害剤(Ac-DEVD-CHO)やドコサヘキサエン酸とともにニコチン酸アミド(NAM)により制御可能である。最近は多彩な薬理作用を有するNAMがPoly(ADP-ribose) polymerase(PARP)阻害剤として作用して病態制御に関することを解明した(Uehara et al. Exp Eye Res, in press)。そこで特異的なPARP阻害剤である3-aminobenzamide (3AB)によるMNU誘発網膜変性の抑制効果について投与量、投与時期を検討したので報告する。【方法】50日齢の雌S-Dラットに60mg/kg MNUを単回腹腔内投与し、50、30、10、5、1、あるいは0 mg/kg 3ABを同時に皮下投与した。また、50mg/kg 3ABをMNU投与12時間前、4時間後、6時間後、12時間後に皮下投与し、各群間における網膜障害率を指標として無処置群と比較検討した。【結果】3ABは容量依存性に網膜変性を抑制し、30あるいは50mg/kg 3AB投与群では、有意な網膜変性抑制効果を認め、 ≥ 10 mg/kg 3ABでは抑制傾向をみたが、 ≤ 5 mg/kg 3ABでは抑制をみなかった。また、50mg/kg 3ABの12時間前、4時間後、6時間後、12時間後投与群においては網膜変性抑制効果を認めなかった。【考察】MNU誘発網膜変性症は、 ≥ 30 mg/kg 3ABのMNUとの同時投与群においては有意な抑制効果を認めた。PARPはMNU誘発視細胞アポトーシスに重要な役割を担っており、PARP阻害剤である3ABは網膜変性症制御に有効と考える。

3-Acetylpyridineのラット単回腹腔内投与による末梢神経系に対する影響

○姜 景涛、市川 敦子、小林 吉彦、楯 美樹、根田 公一、門田 利人
 (富士バイオメディックス 小淵沢総合研究所)

【目的】3-Acetylpyridineは、ラットに腹腔内投与することにより延髄のオリブ核神経細胞の消失など中枢神経障害を誘発することが知られている。これまでの多くの実験では中枢神経障害に重点が置かれており、末梢神経系の障害についての報告は少ない。我々は3-Acetylpyridineの末梢神経系の後根神経節及び末梢神経に対する影響について経時的な検討を行った。【材料および方法】SD系雄性ラット(6週齢)を用いた。3-Acetylpyridineの0、30及び60mg/kgを単回腹腔内投与し、投与後6時間、1、3、7及び14日に各群より3匹ずつ2.5%りん酸緩衝グルタルアルデヒドで灌流固定した後、大脳、小脳、延髄、脊髄の頸及び腰膨大部、脊髄神経節及び近位の坐骨神経、近位の脛骨神経および脛骨神経の腓腹筋分枝部を採取し、常法に従って光学顕微鏡及び電子顕微鏡を用いて検索した。【結果】臨床症状では、30mg/kg群には異常が認められなかった。60mg/kg群では投与後1日に歩行異常、よろめき歩行、自発運動の低下、痙攣及び喘ぎ呼吸がみられた。その後、歩行異常及びよろめき歩行は投与後14日まで観察された。組織学的検査では、頸部及び腰部脊髄後根神経節に投与後1日から神経細胞変性がみられた。末梢神経では坐骨神経、脛骨神経及び腓腹筋分枝部に軸索の腫脹、髓鞘球形成及び髓鞘崩壊が投与後3日から観察された。電顕的には髓鞘及び軸索の崩壊、Schwann細胞質に多数の空胞がみられた。その他、延髄では投与後6時間から延髄のオリブ核神経細胞に変性及び壊死、投与後7日から多数の神経膠細胞が認められ、免疫組織化学的には投与後3日から多数のGFAP陽性星状膠細胞がみられた。【結論】以上の結果から、3-Acetylpyridineのラット単回腹腔内投与では、中枢神経障害に加え、脊髄後根神経節と末梢神経に対する影響が明らかになった。

P-5

アニリン投与ラットの脊髄海綿状病変形成過程における2', 3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNP) 発現の経時的変化

○黒滝 哲郎、小谷 百合、河野 友紀子、山下 弘太郎、土谷 稔
(安科研)

アニリンを4週齢のラットへ単回経口投与する事により、脊髄白質に海綿状変化が惹起される(Okazaki et al. J. Vet. Med. Sci. 63: 539, 2001. Okazaki et al. J. Toxicol. Pathol. 14: 19, 2001.)。超微形態学的に髄鞘の解離が原因であると理解されているが、その病変形成メカニズムは不明である。今回演者らは海綿状変化の病変形成メカニズムを明らかにするため、髄鞘の層板構造内に分布している髄鞘構成蛋白に着目し、それら構成蛋白の細胞内動態を病理学的に検索した。【材料と方法】4週齢の雄のCrj:CD (SD) IGSラット35匹を用いた。試験群にはアニリン1000 mg/kgを、対照群にはolive油のみを経口投与し、投与日をDay1とした。経時的(Day 2, 3, 4, 5, 8, 10, 12)に各5匹のラットを4%パラフォルムアルデヒドで全身灌流固定した後、脳、脊髄、三叉神経、坐骨神経を採取した。HE染色ならびにanti-CNP抗体、anti-myelin basic protein (MBP)抗体、anti-myelin proteolipid protein (PLP)抗体、anti-galactocerebroside抗体を一次抗体に用いた免疫染色を行った。またCNPのオリゴDNAプローブを用いたin situ hybridization法を行った。【結果】病理組織学的に脊髄白質の海綿状変化が認められた。病変はDay5から出現し、Day8, 10に最も顕著で、特に胸髄の側索および腹索で強かった。Anti-CNP抗体を用いた免疫組織学的検索において、対照群の陽性細胞はその細胞膜を縁取るように陽性所見が見られた。それに対して試験群では、投与翌日のDay2から一部の陽性細胞の細胞質にドット状に陽性所見が認められ、Day4には灰白質及び白質の全域に陽性細胞が認められた。他の一次抗体ではアニリンの投与による染色性の変化は認められなかった。In situ hybridization法による検索では、CNPの発現亢進が認められた。【考察】アニリンを投与されたラットの脊髄海綿状病変の発現と、CNP蛋白とmRNAの発現は密接に関連していると考えられた。

P-6

リン酸化型ヒストン3免疫組織染色法による胎児神経幹細胞の分裂能の検出

○桑形 麻樹子¹⁾、小川 哲郎²⁾、丸茂 秀樹¹⁾、今野 和則¹⁾、斉藤 義明¹⁾、
塩田 清二²⁾、永田 伴子¹⁾

(¹⁾財 食品薬品安全センター 秦野研究所 毒性部 病理、²⁾昭和大 医学部 第一解剖)

我々は、神経発生毒性試験法における新たな毒性評価法開発の試みとして、胎児および新生児脳に着目し、神経幹細胞の分裂、神経およびグリア前駆細胞の移動・分化、神経細胞のネットワーク形成など神経発生の各過程で化学物質暴露の影響を形態学的に検出し、毒性評価に用いる可能性について検討を試みている。神経幹細胞の分裂・移動マーカーとして5-ブromoデオキシウリジン (BrdU) が広く使用されている。しかし、BrdUはラットあるいはマウスの胎児脳に過剰な細胞死を発現し、さらにこの細胞死の発現には領域特異性が見られることを報告してきた(大脳皮質前頭部には過剰な細胞死が発現するが、中脳領域には発現が極めて少数しか認められない)。今回、新たな分裂マーカーの検討として、分裂中期の細胞を特異的に認識するリン酸化型ヒストン3 (H3) 抗体による免疫組織化学的観察を行った。ラットの胎齢14日およびマウスの胎齢12日の胎児脳を大脳皮質前頭部から延髄まで前頭面方向にてビプラトームを用いて連続切片を作成し、浮遊法にてH3免疫組織化学染色を実施した後、光学顕微鏡写真撮影装置および画像解析装置を用いて、各脳領域の500 μ mあたりのH3陽性細胞数を算出した。マウス、ラット胎児ともに、H3陽性細胞の多くは脳室表面(神経管最内腔)に観察されたが、一部、傍脳室帯域にも観察され、神経幹細胞の分裂は神経管表層のみではなく傍脳室帯域においても発現することが明らかになった。また、H3陽性細胞の分布は、脳の観察領域によって相違性を示したことから、神経幹細胞の分裂能は脳領域によって異なることが明らかになった。以上の結果から、H3を用いた免疫組織学的観察は胎児神経幹細胞の分裂マーカーとして有用であるが、化学物質暴露による神経幹細胞の分裂能への影響を評価するには、胎児脳の領域によって神経幹細胞の分裂能が異なることを考慮する必要があると考えられた。

P-7

クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) の毒性評価 II. 成熟ラットの神経・免疫系に対する影響

○竹内 幸子、小坂 忠司、首藤 康文、藤江 秀彰、松本 力、林 宏一、
福山 朋季、高橋 尚史、桑原 真紀、榎本 秋子、中島 信明、原田 孝則
(財団法人 残留農薬研究所 毒性部)

代表的な木材防腐剤であるクロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) を0、8、40および80mg/kg/dayの用量で、雌雄のWistar Hannoverラットに4週間にわたって連続強制経口投与し、その神経毒性および免疫毒性を検索した。その結果、詳細な状態の観察では40および80mg/kg/day群の雌雄で探索行動および立ち上がり回数の減少が観察された。神経機能検査 (FOB) では40および80mg/kg/day群の雌雄で自発運動量の減少が観察された。また、40および80mg/kg/day群の雌で脳重量が減少したが、組織学的には異常は認められなかった。免疫学的検査では、胸腺重量および胸腺細胞数の減少が40および80mg/kg/day群の雌雄と8mg/kg/day群の雌で、脾臓重量の減少が40および80mg/kg/day群の雄で観察された。40および80mg/kg/day群の雄では、未成熟胸腺細胞であるダブルポジティブ細胞 (DP細胞)、ダブルネガティブ細胞、成熟胸腺細胞であるヘルパーT細胞、サブレッサー/細胞傷害性T細胞および脾臓のNK細胞の減少が認められた。一方、雌ではDP細胞が8、40および80mg/kg/day群で減少し、ヘルパーT細胞およびサブレッサー/細胞傷害性T細胞が80mg/kg/day群で減少した。また、抗ヒツジ赤血球抗体価の低下を示す個体が40および80mg/kg/day群の雄で数例に認められ、組織学的検査では脾臓に未発達な胚中心が観察された。以上の結果から、CCAを反復経口投与した場合、ラットの神経系および免疫系に対して毒性影響を及ぼす可能性が示唆された。

本研究は厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業) の「木材防腐剤として使用される化学物質のリスク評価に関する研究」プロジェクトの一環として実施された。

P-8

クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) の毒性評価 III. 幼若ラットの神経・免疫系に対する影響

○桑原 真紀、小坂 忠司、首藤 康文、藤江 秀彰、松本 力、林 宏一、
福山 朋季、高橋 尚史、竹内 幸子、榎本 秋子、中島 信明、原田 孝則
(残留農薬研究所 毒性部)

代表的な木材防腐剤であるクロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) を、0、1、8および80mg/kg/dayの用量で、雌雄のWistar Hannover幼若ラットに4週間にわたって連続強制経口投与し、その神経毒性および免疫毒性を検索した。投与は離乳直後 (21日齢) より開始し、投与期間中は毎週詳細な状態の観察を実施した。さらに4週時には神経機能検査 (FOB) を行った。投与終了後、神経毒性を検索する動物については全身灌流した後、中枢および末梢神経ならびに効果器の一部を採材して病理組織学的検査を実施した。その他の動物はエーテル麻酔下で放血殺して主要臓器を秤量した。脾臓および胸腺についてリンパ球数を計測後、フローサイトメーターを用いてそのサブセットを解析し、免疫毒性を検索した。

詳細な状態の観察では、80mg/kg/day群の雌雄および8mg/kg/day群の雄で行動量の減少が観察された。さらに80mg/kg/day群の雌では立ち上がり姿勢の減少も見られた。FOBでは、80mg/kg/day群の雌で測定開始後10分間での自発運動量が減少し、これは探索行動が抑制されたことを示すものと考えられた。剖検時には、80mg/kg/day群の雌雄で脳、胸腺および脾臓重量の減少が認められた。免疫学的検査は、80mg/kg/day群の雌雄に胸腺ないし脾臓のT細胞数の減少が認められた。したがって、CCAを反復経口投与した場合、幼若ラットの神経系および免疫系に対して毒性影響を及ぼす可能性が示唆され、現在さらに検討中である。

本研究は厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業) の「木材防腐剤として使用される化学物質のリスク評価に関する研究」プロジェクトの一環として実施された。

FITC頻回投与による急性型特発性間質性肺炎モデルの作成

○阪本 晃佳^{1,2)}、三井 雅之³⁾、田村 一利⁴⁾、辻内 俊文⁵⁾、堤 雅弘^{2,6)}

(¹⁾京都府立大学 人環 食環境、²⁾奈良県立医科大学 RI、³⁾奈良県立医科大学 分子病理、

⁴⁾ボゾリサーチセンター 病理、⁵⁾近畿大学 理工 生命科学、⁶⁾済生会中和病院 病理)

【目的】特発性間質性肺炎(idiopathic interstitial pneumonia, IIP)は、現在治療法が確立していない予後不良の難治性疾患である。現在、IIPの実験系としてBleomycin (BLM)やFluorescein isothiocyanate (FITC)の気管内投与による系が報告されている。しかし、報告されている実験系は外科的処置による気管内投与法を用いるため、薬剤投与回数が制限され、ヒトに見られる重篤なIIP・肺線維症を反映するモデルの作成には至っていない。本研究では、従来の肺線維症誘発法を組み合わせる頻回の気管内投与を行い、ヒト急性型IIPに類似した肺胞上皮障害・肺線維化をきたすIIPモデルの作成を試みた。

【方法】実験動物として6週齢の雄性C57BL/6Jマウス、IIP誘発物質としてFITCおよびBLMを用いた。第1群はFITC 1回(実験開始日に投与)とBLM 3回(14, 21, 28日目に投与)処置群、第2群はFITC 2回(実験開始日と28日目に投与)処置群、第3群はFITC 3回(実験開始日と14, 28日目に投与)処置群とした。気管内投与は、外科的処置を施さず、エーテル麻酔下で気道が確認できるように固定した状態で経気道的に行った。投与開始時から8週間後、動物を剖検し肺について病理組織学的に検討した。

【結果および考察】第2群と第3群において、肺の全葉において肺胞壁に炎症性細胞浸潤および壁肥厚が認められた。一方、第1群においては気管支周囲にはほぼ限局して炎症性細胞浸潤がみられた。FITCの頻回投与は、短期間でより重篤なIIPモデルの作成に有用であることが示唆された。しかし、急性増悪の組織所見として重要な慢性肺胞障害は観察されなかったため、FITCおよびBLM投与条件のさらなる検討が必要である。

マウス鼻中隔にみられる好酸性沈着物はアミロイドではない

○土居 卓也、小谷 百合、熊野 篤、友成 由紀、爰島 洋子、菅野 剛、土谷 稔

(安科研)

マウスでは鼻中隔における鼻腺の間質に好酸性物質の沈着がみられ、その程度は加齢に伴い増強する。成書では、この物質はアミロイドとして記載されている。一方、この物質がコンゴレッド染色に陰性であることを示し、アミロイドであることを否定した報告もある(Toxicol Pathol 2001; 29: 653-61)。しかしながら、この物質について詳細に検討した報告はない。今回、この物質について組織学的および超微形態学的に検討を行った。【材料および方法】組織学的検査には、11, 15, 33週齢のCB6F1-Tg rasH2マウスの雄を各週齢3例ずつ用いた。全例についてHE染色、代表例についてコンゴレッド、PAS(ジアスターゼ処理)、マッソン・トリクローム、渡辺鍍銀、トルイジンブルー、アルシアンブルーの各染色を施し鏡検した。超微形態学的検査は、110週齢のCD-1マウスの雄3例を用いて行った。ホルマリン固定からの戻し材料を用いて、定法に従い標本作製し観察した。【結果】好酸性物質の沈着が鼻中隔における鼻腺領域に認められた。鼻中隔以外での沈着はなかった。鼻中隔にはHEの染色性が異なる(暗調と明調)2種類の鼻腺組織が認められ、好酸性物質は明調な鼻腺領域に沈着していた。11週齢でわずかに沈着がみられ、加齢に伴い増強した。沈着程度が増強しても鼻腺組織の変性・壊死や炎症性細胞浸潤は認められなかった。好酸性物質はコンゴレッド陰性で、PASに陽性(ジアスターゼ耐性)を示した。超微形態学的に分枝しない細線維は認められなかった。沈着物質は均質無構造であり、間質では加えてコラーゲン線維も認められた。同様の均質無構造物質は鼻腺の腺上皮細胞の細胞質内にも認められた。【まとめ】マウス鼻中隔に沈着する好酸性物質はアミロイドではなく、複合糖質とコラーゲン線維から形成されていると思われる。腺上皮細胞内にみられた物質と間質に沈着している物質の関連については検討中である。

○涌生 ゆみ、菅野 剛、黒滝 哲郎、佐藤 順子、土谷 稔
(安科研)

DMBAは様々な腫瘍を引き起こす化学発癌物質としてよく知られているが、血管系腫瘍の誘発に関する報告は少ない。またLEラットにおける肺の血管系腫瘍の報告は、我々が調べる限りでは見当たらない。今回LEラットを用いたDMBA発癌性試験において、肺の血管肉腫が認められたので報告する。なお、DMBAはLEラットに赤白血病を誘発するが、我々はその形態像について第17回本学会において報告した。

【材料・方法】LEラットを用い、3.5週齢時から2週間間隔でDMBAを4回、1セット27、23、23、27mg/kg (雌雄各144例)の用量で尾静脈内投与し、投与開始から26週間観察した。剖検後各臓器をホルマリン固定し、HE標本を作製した。代表例の肺についてエラスチカ・ワンギーソン染色、鍍銀染色およびFactor VIII、PCNA、 α SMAの免疫染色を行った。【結果】肺の血管肉腫は雄7例、雌1例に認められた。これらの例では、剖検時に肺の赤色斑あるいは赤色結節が単発あるいは多発性に認められた。この斑・結節は組織学的に血腫であり、そこに腫瘍増殖を伴っていた。血腫は線維性結合織で取り囲まれ、その内腔面は多層化した異型内皮細胞により被覆され、正常血管との連続性が確認された。腫瘍性内皮細胞の血腫内腔側への乳頭状増殖や血管腔を形成しない敷石状増殖が認められた。また血腫周辺部に、不規則に血管を形成する像も認められた。血腫と関係なく海綿状の血管増生を呈する領域も認められた。腫瘍細胞は円形から楕円形の核を有し、類円形あるいは紡錘形で、細胞境界は不明瞭であった。有糸分裂像も散見された。免疫染色の結果、Factor VIIIおよび α SMAは陰性、PCNA陽性細胞は充実性に増殖した領域で多く認められた。

【まとめ】DMBA誘発性の肺血管肉腫は、血腫の形成が特徴的であった。その増殖部では、他の組織に発現するものと同様に、内皮細胞への分化に伴うさまざまな血管形成像が認められた。

ラット肺におけるフラーレン(C60)の気管内注入による生体影響

○大神 明、森本 泰夫
(産業医科大学 産業生態科学研究所 呼吸病態学)

背景フラーレン(C60)は60の炭素からなるおよそ0.7nmの直径の球状分子で、新素材としてその工業的利用が期待されている。フラーレンは、通常はミクロンサイズの凝集体として生産され、有機溶剤下では単体のナノ粒子として存在する。今後、その工業的増産が期待されるが、C60の吸入による生体影響についてはほとんど知られていない。近年の報告では、ミクロンサイズの粒子と比較して、ナノ粒子のより高い細胞毒性結果が示されている。この研究では、ラット肺への2つの異なるサイズのC60を用いて、吸入性C60の生体影響を評価するために気管内注入後に病理学的変化を比較した。方法異なる直径(0.17 μ m、1.7 μ m)のフラーレン(C60)を、雄性のWistarラットにそれぞれ注入した。(注入量2mg)血液サンプル、BALF(50ml生理食塩水)を、気管内注入後3、7および90日後に採取した。肺組織は3および90日後の組織を評価した。肺標本から得られたデジタル画像は、ポイントカウンティング法(PCM)によって検討された。結果血液中の白血球数は各群で有意差を認めなかった。しかし、0.17 μ mのC60注入群ラットのBALF中のWBCの数、およびPMNパーセンテージは、気管内注入後に1週以内の対照群より有意に上昇していた。肺組織における炎症性の変化は、気管内注入後90日のラット肺においてそれほど顕著ではなかった。C60の炎症スコアは、観察期間でTiO₂気管内注入群の結果と同様のパターンを示した。結語C60気管内注入によるラット肺の毒性に関しては、注入後のBALFにおける急性反応は、より微細な粒子において認められたが、遷延的な炎症の持続や線維化はあまり顕著ではなかった。

P-13

正常ラットにおける補体の活性化と制御 ～膜補体制御因子の病理組織学的検討～

○加藤 千恵、加藤 淳彦、照屋 志乃、松尾 沙織里、高居 宏武、杉本 哲朗、鈴木 雅実
(中外製薬・安全研)

我々は、ラット抗Thy-1腎炎モデルにおけるCDC (complement dependent cytotoxicity) の発現を検討した際、抗体の分布は認められるものの、C3の沈着及びCDCが認められない組織が多数あり、これらには膜補体制御因子 (CrryないしDAF) が発現していることを報告した (第21回本学会)。今回、補体活性化への膜補体制御因子の関与を検討する目的で、正常ラット (Wister: SLC、7週齢、雄、3例) の全身諸臓器について、抗ラットC3、Crry及び DAF抗体を用い免疫組織化学的にその局在を観察した。その結果、C3の沈着が認められた細胞ではCrryないしDAFの発現が認められ、定常的な補体活性化の制御が行われているものと考えられた。一方、C3の沈着が認められない細胞においても CrryないしDAFの発現が認められ、予防的な補体活性化の制御を担っている可能性が考えられた。

	C3	Crry	DAF
細網線維	+	+	+
血管内皮細胞、心外膜、心内膜、脾柱	+	+	-
肝細胞、腎盂粘膜上皮細胞	+	-	+
2型肺胞上皮	-	+	+
腎メサングウム細胞、胸腺Tリンパ球、巨核球	-	+	-
副腎髄質細胞	-	-	+

P-14

ラット薬物誘発性溶血性貧血の組織学的マーカーの経時的変化

○小野 美穂子¹⁾、中野 健二¹⁾、伊藤 今日子¹⁾、泉澤 信行¹⁾、泉澤 智子¹⁾、
田畑 肇¹⁾、代田 欣二²⁾

(¹⁾アステラス製薬 安全研、²⁾麻布大学 生物科学総合研究所)

【目的】2種類の薬物誘発性溶血性貧血ラットを用いて脾臓におけるHemeoxygenase-1 (HO-1) および Ferritin heavy chain (Fh) について経時的発現を検査し、溶血性貧血の組織学的マーカーとしての有用性を検討した。【方法】Heinz小体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管内溶血性貧血を誘発するethylene glycol monobutyl ether (EGB) を、8週齢のF344 ラットにそれぞれ10 mg/kg皮下、100 mg/kg経口にて1日1回、単回または2日間投与した。単回投与後6および24時間、2回投与後24および48時間に屠殺剖検し、血液検査を実施した。脾臓は重量測定し、HEおよびベルリン青染色、HO-1およびFh抗体を用いた免疫染色およびWestern blotting法によるBach1 (HO-1の発現を調整) 発現の確認を行った。【結果】APHZ投与群では単回投与後24時間には70%を越えるHeinz小体がみられ、2日間投与後24時間からHaptoglobin (HP)、Hemoglobin (Hb) およびHematocrit (Ht) が低下し、同48時間ではRBC減少と網赤血球数増加がみられた。HPは遊離型ヘモグロビンと結合する糖蛋白で、溶血によって消費され低下する。脾臓では組織学的に単回投与後24時間からHO-1およびFh発現増加が、2日間投与後24時間からはうっ血、ヘモジデリン沈着増加もみられた。全ての所見は2回投与後48時間が最も顕著であった。一方EGB投与群では単回投与後6時間でHP低下とうっ血がみられ、単回投与後24時間および2回投与後24時間で、Hb低下、ヘモジデリン沈着量増加およびHO-1およびFh発現増加がみられた。しかし、2回投与後48時間ではこれらの血液学的および組織学的所見はほぼ消失し、髄外造血の軽度亢進像を残すのみとなった。Bach1の発現は両化合物で明らかな変化はみられなかった。【まとめ】溶血性貧血の発現機序により経時的な組織像に明確な違いが認められた。EGB投与群では溶血性貧血の確定診断の一つであるHP低下が24時間後にはほぼ回復してしまうため、組織学的マーカーは有用と考えられた。

大動脈狭窄左室肥大モデルにおける経時的変化の病理組織学的解析

○東山 浩之、井上 宏高、菅井 正樹、岡本 郁司、水谷内 香里、串田 宏、木下 美弥、浅野 哲
(グラクソ・スミスクライン 筑波研究所 薬理研究部)

【目的】左室肥大は、高血圧をはじめとする種々の循環器疾患の合併症として知られ、治療対象として注目されている。現在まで左室肥大治療薬物の薬効評価には、大動脈狭窄によるモデルが多用されてきている。今回我々は、腹部大動脈狭窄左室肥大モデルマウスにおける経時的変化の病理組織学的解析を行ったのでその結果について報告する。【方法】左室肥大モデルは5週齢の雄CD-1マウスを用い、腹部大動脈(左右腎動脈間)狭窄手術により誘導した。狭窄手術後3、10、14、21、28、42日目に主要臓器を採取し病理組織学的検討に供した。【結果】本試験の心臓における主要病理組織学所見として、[術後3日] 顕著な好中球・マクロファージの血管周囲を主体とする浸潤、[術後10日以降] 軽度～中等度の冠動脈血管壁の肥厚や血管周囲線維化および軽度のマクロファージを主体とする細胞浸潤、[術後28日以降] 軽微な心筋細胞断面積の増加が観察された。【考察】本モデル心臓においては、大動脈狭窄後の循環動態の変化(血圧上昇)に伴い、(1)初期の急性炎症症状、(2)冠動脈肥厚および血管周囲線維化などの心血管リモデリング、(3)心筋細胞の肥大化が経時的に誘導されていることがわかった。これらの病理評価結果は、左心肥大の病態理解および薬効試験の評価に有用な情報となると考えられる。

Left atrial myxomatous thrombus with chondroid metaplasia and alveolar proteinosis in a Long Evans female rat

○程 克儉、丘 雅埼、陳 憲全
(Greenseasons Biotech Company)

Left atrial myxomatous thrombus with chondroid metaplasia and alveolar proteinosis in a rat. Keojien Cheng, Yachi Chiu, and Hans Chen (GSB Co., LTD, Tanshui, Taipei, Taiwan) An untreated Long Evans female rat was found dead at 429 day-on-exposure (69-week old). Significant gross findings included congested lungs and enlarged uterine body with nodular/protruded masses from the cervix. Histological findings of heart were slightly enlarged left heart encompassing a fairly sized elongated, vertically sitting nodular thrombus overlying/attaching to one of the mitral valves. The thrombus inner portion was a large core of chondroid metaplastic tissue. The outer portion was myxomatous background scattered with long/triangular cells of small eosinophilic cytoplasm. These cells closer to the chondroid core were binucleated with an outer clear cellular space forming lacunae. Various areas of hyperplastic subendocardial connective tissue and myxomatous degeneration were noted in the adjacent mitral valves, atrium and possibly ventricular myocardium. The lung had a marked edema and alveolar proteinosis in that the alveoli were filled with eosinophilic, amorphous material and many large foam cells involving the entire lobe. Many dilated and fused alveoli contained a streams of epithelial cells with collagenous background. The liver had a moderate centrilobular necrosis. The uterine cervix nodular change was endometrial stromal polyp with areas of sarcomatous features and believed to be incidental.

Dahl食塩感受性ラットを用いて味噌並びに食塩投与による血圧の変動

○渡辺 敦光、檜本 尚樹、梶村 順子、神谷 研二
(広島大学 原医研 分子発がん)

【目的】日本人の食生活の中で欠かせない調味料である味噌は塩分濃度が高く、胃癌や高血圧の発症原因として考えられている。我々は以前に味噌の食塩は胃癌誘発には関与しないことを報告した(1999)。そこで今回は味噌による血圧変動を検討した。【方法】動物は6週齢の雌雄Dahl食塩感受性ラット(Dahl S/Jr Sea)並びにSDラット(Cr1:CD)を用いた。MF餌に6ヶ月熟成辛口赤米味噌を10%添加した味噌餌、味噌と同じ食塩濃度の2.3%食塩餌並びに1.8%食塩餌を与え、12週間飼育した。2,4,8並びに12週目に血圧を測定した。実験終了後、一部の動物は血液検査を行い、主要臓器の病理検索を行った。【結果】雄Dahlラットでは食塩投与の両群は8週目より弛緩期、収縮期並びに平均血圧がMF群並びに味噌群に比べて有意に増加した。SDラットではこのような変化は認められなかった。雌Dahlラットでは2.3%食塩群でMF群並びに味噌群に比べて有意に血圧は上昇した。SD群でもMF群に比べると2.3%食塩群で軽度であるが血圧は上昇した。体重や臓器重量はSDラットがDahlラットに比べて重い、投与群間では差は認めなかった。病理学的には、両系ラットの心臓、肝臓等には著変は認められなかった。Dahlラットの糸球体変性は2.3%食塩群でも軽度であったが、近位尿管上皮の硝子円柱変性や、再生上皮並びに細胞浸潤が認められたが、その障害の程度と血圧との相関は認められなかった。またSDラットはこのような変化は認められなかった。雄Dahl 2.3%食塩群で中性脂肪、総コレステロール並びにγ-GTPはMF群に比べて有意に増加した。一方味噌群では総コレステロールのみが増加した。【結論】以上の結果は味噌の中に含まれていると同じ量の食塩投与では食塩感受性ラットの血圧を上昇させるが、味噌群では血圧を上げないことにより、味噌に含まれる食塩は生体内で食塩単独とは異なる作用を行うと考えた。

若齢ラットにおける限局性心筋炎/心筋変性と老齢ラットにおける心筋線維化の分布の比較

○熊野 篤、菅野 剛、涌生 ゆみ、土居 卓也、友成 由紀、土谷 稔
(安科研)

【目的】老齢ラットの心臓では線維化が高頻度に発生し、乳頭筋、左心内膜下、冠状動脈枝の周囲、心尖部に好発することが知られている。この線維化は若齢時にみられる変性および炎症性病変が加齢とともに進行した像とする報告がある(Coleman, J.Gerontol, 1997)。一方、線維化は冠状動脈硬化に関連する血液供給障害に起因するという考え方もあり、線維化の発現機序は未だ議論されている。今回、我々は若齢ラットにおける心筋炎、心筋変性と老齢ラットにおける線維化の分布を比較し、その関連性について検討した。

【材料と方法】当研究所で実施されたCrj:CD(SD)IGSラットを用いた試験・背景データ収集試験の心臓を検査し、心筋炎:単核炎症性細胞の微小な集簇、心筋変性:単核炎症性細胞を伴う/伴わない変性心筋線維の集、線維化の分布について検討した。検討は10、19、32、58、109週齢のラットについて行った。なお心臓は中央部横断切片を作製した。

【結果】心筋炎は10週齢(雄11.7%、雌5.0%)から認められ、58週齢(雄40.0%、雌16.7%)までその発現率は増加したが109週齢(雄21.1%、雌13.2%)で減少した。分布は10-52週齢では右心室壁、109週齢では左心室外膜下に多く認められた。心筋変性は10週齢から認められ、109週齢まで漸時増加した(雄5.0%→18.4%、雌0.0%→7.9%)。分布に特徴は認められなかった。線維化は32週齢から認められ、109週齢まで漸時増加した(雄19.1%→78.9%、雌0.0%→60.5%)。分布は32週齢で左心室外膜下、58週齢で左心室乳頭筋、109週齢では主に左心室乳頭筋およびその周囲の内膜下、次いで左心外膜下に多く認められた。

【まとめ】10、19週齢における心筋炎、心筋変性と32週齢以降に認められた線維化の分布に関連性は認められなかった。今後、他系統のラットにおいても同様に分布を調べ、併せて報告する。

P-19

3,3'-Iminodipropionitrile (IDPN)を投与したラットにみられた髄膜血管病変の電子顕微鏡学的観察

○友成 由紀、山下 弘太郎、熊野 篤、爰島 洋子、涌生 ゆみ、土谷 稔
(安科研)

3,3'-Iminodipropionitrile (IDPN)は強い神経毒性を有する物質であり、中枢神経に近位軸索障害を誘発するほか、網膜に血管病変を発現させる(Heath.H. et.al. Br L Exp Pathol 1965;47:116-120)。吉岡ら(J Toxicol Pathol 2001;14:279-287)、山下ら(J Toxicol Pathol 2005;18:19-25)は脳および脊髄の髄膜にもIDPNによる血管病変が発現することを報告している。山下らはさらに一部例で実施した超微形態学的観察の結果も示した。本検討では、山下らの実験の未観察動物について電子顕微鏡学的に追加観察し、新たな知見が得られたので報告する。【材料と方法】IDPN125mg/kg/day投与39~44日に剖検した9例(IDPN群、光顕的に異常が見られなかった1例を含む)と精製水投与44日に剖検した2例(対照群)のCrj:CD(SD)IGS雄ラットについて、脳底部髄膜の小動脈を電子顕微鏡学的に観察した。【結果】IDPN群では、小動脈内膜の内皮下領域への細胞出現とその変性像、または高電子密度不定形物質の沈着が全例で認められた。また、少数例では内膜に周期性のあるbandが明らかなフィブリンが沈着していた。これらの内膜の変化により小動脈内腔は狭窄していた。さらに、中膜の平滑筋にも変性像が散見された。内皮下領域に出現した細胞は平滑筋の特徴を持つものが多かった。対照群の2例ではこれらの変化は認められなかった。以上のことから、IDPN投与による脳底部小動脈の内膜肥厚は、内皮下への平滑筋様細胞の出現と高電子密度不定形物質の沈着から形成されることが確認された。

P-20

若齢ビーグル犬に認められた急性骨髄性白血病の1例

○澤本 修、岸本 早苗、篠原 誠治、市川 慎司
(大塚製薬工場 栄養研究所)

今回、我々は試験に供したビーグル犬において、自然発生性の初期の急性骨髄性白血病を経験したので、その病理学的特徴について報告する。【症例】動物は、ある化合物の13週間反復経口投与毒性試験の中用量群の1例(ビーグル犬、雌、10ヶ月齢)で、試験期間中の一般状態、試験開始時および投与6週間時の血液および血液生化学的検査では異常はみられなかった。剖検時の血液学的検査では、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、および白血球数が低値を示し、白血球分類では分葉核好中球が0%であった。血液化学的検査では、アルブミンおよびA/G比の低値が認められた。器官重量では、脾臓および肝臓重量が増加していた。【結果および考察】大型の骨髄球様の腫瘍細胞は、胸骨および大腿骨骨髄で増殖し、肝臓では中心静脈周囲および類洞に、脾臓では赤脾髄と一部胚中心に観察された。肝臓および脾臓でみられた腫瘍細胞はMPOおよび特異的エステラーゼに陽性で、非特異的エステラーゼは陰性であった。免疫組織化学的に、リゾチームおよび好中球エステラーゼに陽性で、 $\alpha 1$ -アンチキモトリプシンおよびCD68に陰性を示した。電顕的に、腫瘍細胞は多くの顆粒を有しており、これら顆粒はMPOに陽性であった。また、特に脾臓で顕著な髄外造血も観察されたが、これは骨髄での腫瘍細胞の増殖による骨髄癆の結果起こったと考えられた。本症例は末梢血中に腫瘍細胞が認められないことから、白血病に先行する前白血病状態であることも疑われ、この前白血病状態は骨髄異形成症候群(MDS)と呼ばれている。しかしながら、一般にMDSの状態では肝臓に腫瘍細胞の浸潤をみることはないと言われており、骨髄での顆粒球系腫瘍細胞の増殖の割合が高いこと、腫瘍細胞が各種顆粒球系マーカーに陽性で単球系マーカーに陰性であることから、初期の急性骨髄性白血病と診断した。本症例は、イヌにおける急性骨髄性白血病に関する病理発生を考察する上で興味深い例と考えられた。

P-21

ヒト正常型c-Ha-ras遺伝子トランスジェニックラットを用いた4-nitroquinoline 1-oxide誘発舌発がん感受性

○田中 卓二¹⁾、甲野 裕之¹⁾、鈴木 里加子¹⁾、杉江 茂幸¹⁾、津田 洋幸²⁾
(¹⁾金沢医科大学 腫瘍病理、²⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性)

【目的】ヒト正常型c-Ha-ras遺伝子トランスジェニックラット(Tg)は、乳腺、膀胱、食道などで発がん高感受性を示す(Tsuda H, et al., Cancer Sci 96: 309-316, 2005)。本研究では、Tgおよび野生型ラット(Wt)を用い舌発がん物質である4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO)に対する発がん感受性についての検討を行った。【方法】7週齢の雌雄Tg、Wtラットに4-NQO(20 ppm)を8週間飲水投与させ、実験開始後2、4、6、8週に舌粘膜の白斑数を計測し、実験開始後8、10、12、14、18、22週には舌を含む諸臓器の病理組織学的解析を行った。さらに、舌病変におけるcyclin D1、cyclooxygenase (COX)-2、inducible nitric oxide synthase (iNOS)、 β -catenin、glutathione S-transferase placental form (GST-P)の免疫組織化学的解析およびDNA ploidy解析を行った。【結果】舌粘膜の白斑は4-NQO投与2週後から認められ、時間の経過とともに増加した。また、その数は、Wtに比べTgが多かった。舌腫瘍の発生はTg、Wtでそれぞれ実験開始8週後、12週後に確認され、経時的な増加傾向をみた。4-NQO誘発舌発がん感受性はTgがWtに比べ高く、Tgにおける性差では雄が雌より感受性が高かった。また、舌病変の進行にともないcyclin D1、COX-2、iNOS、 β -catenin、GST-Pの発現が増強し、DNA ploidyパターンの異常がみられた。【考察】ヒト正常型c-Ha-ras遺伝子導入Tgラットは、乳腺、膀胱、食道などに加え、舌でも高発がん感受性を示した。この4-NQO誘発舌発がんTgモデルを利用した各種化合物の舌発がん修飾効果の検討などの応用実験が可能と考えられた。

P-22

Apc^{Min}+マウス大腸発がんに及ぼすdextran sodium sulfateの影響

○鈴木 里加子、甲野 裕之、杉江 茂幸、田中 卓二
(金沢医科大学 医学部 腫瘍病理)

【目的】MinマウスなどのAPC遺伝子欠損マウスはヒト家族性大腸腺腫症の動物モデルとして有用であるが、腸管腫瘍の発生部位は主として小腸である。大腸ではdysplastic ACFや β -catenin-accumulated crypts (BCAC)といった腺がんの前駆病変はみられるものの、腺がんの発生頻度は低い。我々は、大腸起炎物質dextran sodium sulfate (DSS)がマウス大腸発がんにおいて強力な発がん促進作用を発揮することやそのマウス系統差について報告してきたが、本研究ではApc^{Min}/+マウスにDSSを飲水投与させた際の大腸発がんへの影響について検討した。【方法】4週齢の雌雄Apc^{Min}/+マウス、Apc^{+/+}マウスを2%DSS投与(1週間の飲水投与)群と無処置群に分け、実験開始5週後に大腸および小腸の病理学的、免疫組織学的解析を行った。さらに、雌Apc^{Min}/+マウスでは、経時的な(2、3、4、5週)病理学的解析を行った。【結果】雌雄Apc^{Min}/+マウスのDSS投与群は大腸腺がんの発生頻度、個数ともに無処置群と比べて有意に高く、大腸腫瘍は免疫組織学的に β -catenin、iNOS、COX-2、p53、nitrotyrosineが陽性であった。一方、雌Apc^{Min}/+マウスでの経時的解析により、実験開始後2週で腺腫、4週で腺がんが発生し、その発生頻度、個数は経時的に増加した。また、DSS投与により小腸のポリープ数も増加した。なお、Apc^{+/+}マウスの腸管には、腫瘍の発生をみなかった。【考察】Apc^{Min}/+マウスにDSSを飲水投与することにより、実験開始5週間で高率に大腸腫瘍の発生がみられ、Apc^{Min}/+マウス大腸においてもDSSの発がん促進効果が確認された。また大腸腫瘍の発生には、DSS投与によって誘発された炎症により生じるoxidative/nitrosativeストレスが関与していることが示唆された。

Min mouse大腸放射線発癌における標的細胞の解析

○塚本 徹哉、平田 暁大、立松 正衛
 (愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部)

Min mouse (C57BL/6J background)に、生後10日前後までにX線を照射すると大腸および小腸腫瘍の発生頻度が上昇するが、生後40日を過ぎるとその腫瘍誘発効果が激減することが報告されている。昨年までに、生後12日では、BrdUの取り込みを指標とした細胞分裂の頻度よりも、腺の分裂 (fission) の頻度が高く、後者が放射線感受性を規定する因子である可能性を報告してきた。今回、Min mouse (Apc^{Min/+})およびC57BL6/J (Apc^{+/+}, wild type)を対象として大腸分離腺管を、陰窩底部の分裂を示さないsingle (S)、分裂を示すbifurcating (B)、異常あるいは非対称分裂を示すaberrant (asymmetrical) (A)に形態学的に分類した。それぞれの陰窩の割合は、12日齢のwild typeでは、44.96±2.79%、54.97±2.74%、0.07±0.14%、Min mouseでは、44.18±2.76%、55.82±2.76%、0.00±0.00%であった。50-60日齢のwild typeでは、96.65±1.13%、3.22±1.00%、0.14±0.13%、Min mouseでは、94.84±3.70%、5.02±3.63%、0.14±0.07%であった。日齢による差は、いずれのgenotypeでも明らかであったが、両genotype間で、腺管の形態に差はなかった。さらに、上皮細胞の分化を、chromogranin A陽性の神経内分泌細胞系と陰性の粘液/吸収上皮細胞系に分類すると、大腸腫瘍細胞は後者であり、前者の混在はほぼ見られなかった。以上より、大腸陰窩の幹細胞が腺の分裂と共に粘液/吸収上皮細胞に分化する時点が最も放射線感受性が高い事が示唆された。

ポタシウムチャネルKcnq1欠損WTC deafness Kyoto (dfk)ラットの胃病変

○桑村 充¹⁾、岡島 涼子¹⁾、山手 丈至¹⁾、小谷 猛夫¹⁾、郷間 宏史²⁾、庫本 高志²⁾、芹川 忠夫²⁾
 (¹⁾大阪府立大学大学院 獣医病理、²⁾京都大学大学院 動物実験施設)

【目的】WTC deafness Kyoto (dfk)ラットは、難聴および行動異常を主徴とするミュータントラットで、その病態はポタシウムチャネルKcnq1遺伝子の変異によることが明らかとなっている。Kcnq1は、内耳、胃、心筋に高発現し、それぞれ内リンパ液産生、胃酸分泌、再分極に関与している。今回、dfkラットの胃病変を病理学的に検討したので報告する。【方法】動物:4、34週齢のdfkホモ型ラットおよび野生型WTCラットを検討した。胃は大弯に沿って切りだし、HE、アルシアンブルー、PAS、アザン染色を施し、組織学的に検討した。KCNQ1、トリプシノーゲン、ペプシノーゲン、キモトリプシン、PCNAに対する抗体を用いて、免疫組織化学的に評価した。【結果と考察】対照のWTCラットでは、壁細胞にKCNQ1陽性所見が見られたが、dfkラットでは陽性所見を欠いていた。34週齢dfkラットの胃では、粘膜の線維化が特に腺底部で顕著で、病変が進行性に推移することが示唆された。4、34週齢のdfkラットでは、一部の胃底腺細胞が腫大し、基底側に偏在する核と細胞質に多量の好酸性顆粒を有していた。この腫大好酸性化した細胞は、トリプシノーゲン陽性、キモトリプシン陽性、ペプシノーゲン陰性を示し、好酸性顆粒はアザン染色にて鮮紅色となり、膵腺胞化生が示唆された。対照ラットのPCNA陽性細胞は腺頸部にほぼ局限していたが、dfkラットの陽性細胞は腺底部にも散在性に認められ、胃底腺の増殖・分化の異常が示唆された。

○佐野 智弥、尾崎 清和、松浦 哲郎、奈良間 功
(摂南大学 薬学部 病理学研究室)

糖尿病を自然発症する動物WBN/Kobラットにアロキサンを単回投与すると、前胃に一部で腺扁平上皮癌に至る増殖性病変が発生することを第19回の本学会で報告した。同様の変化はF344ラットにおいても再現されたが、今回は増殖性病変に関わる炎症の関与を調べる目的で選択的COX-2阻害薬であるエトドラク投与の影響をF344ラットで検討した。【方法】7~9週齢のF344ラットの雌38匹に、35mg/kgのアロキサンを単回静脈内投与し糖尿病を誘発したのち、エトドラクを0.01%の濃度で25または50週間混餌投与し、アロキサンだけを単回投与した対照群と比較した。【結果】投与後25週には対照群4例の前胃境界縁付近に角化亢進を伴った軽度の扁平上皮過形成が観察されたが、エトドラク投与群には見られなかった。投与後50週には両群ともに扁平上皮過形成が形成されたが、その程度はエトドラク投与群において高度であった。また、基底細胞索の下方への不規則な伸張が数例で見られたが、癌は形成されなかった。両群ともに過形成となった上皮層には真菌およびグラム陽性桿菌の感染を伴う糜爛潰瘍が形成され、粘膜固有層から粘膜下織にリンパ球形質細胞の浸潤からなる慢性炎症性病変が観察された。炎症性病変と過形成の程度は概ね相関していた。このほか、両群の一部のラットでは、糜爛・潰瘍を伴う舌粘膜上皮の増殖性病変が観察され、エトドラク投与群の一例で回盲部に潰瘍が形成されていた。COX-2抗体を用いた免疫染色において、前胃扁平上皮過形成病変を示したすべての動物の粘膜固有層のマクロファージ、繊維芽細胞および一部の上皮細胞が陽性を示した。【結論】エトドラクによって投与後25週には前胃扁平上皮の増殖性および炎症性病変が抑制されたが、投与後50週では逆に増強された。投与期間の延長に伴う影響の逆転にはエトドラクの副作用である消化管の糜爛・潰瘍形成が関与する可能性が示唆された。

F344ラットにおけるアロキサン誘発糖尿病性歯周病の病態

○中原 豊^{1,2)}、尾崎 清和¹⁾、福里 陽子³⁾、松浦 哲郎¹⁾、奈良間 功¹⁾
(¹⁾摂南大学 薬学部 病理学研究室、²⁾(株)パナファーム・ラボラトリーズ、
³⁾サンスター(株)ヘルスケア研究開発部)

糖尿病合併症を発症する病態モデルは少ないが、雄のWBN/Kobラットは約40週齢から高血糖を呈し、様々な糖尿病合併症を自然発症することが知られている。我々は現在、WBN/Kobラットにおける糖尿病合併症研究を継続しており、歯周病の変化も本系統の雄に存在している可能性を報告した。そこで、薬物誘発による糖尿病モデル動物においても、雄のWBN/Kobラットと同様な歯周病の変化が発現するかどうかを検索する目的で、F344ラットにアロキサンを投与し、糖尿病性歯周病の病態モデルとしての可能性を検討した。

【方法】7~9週齢のF344ラットに35mg/kgのアロキサンを単回静脈内投与し糖尿病を誘発した。対照群として同週齢の無処置の動物を用いた。いずれの個体もアロキサン投与後50週に剖検し、下顎臼歯の1)肉眼的観察、2)軟X線による観察、3)病理組織学的観察を行った。

【結果】1)肉眼的観察:アロキサン投与群では、50週まで持続的に高血糖を呈した個体で頻繁に臼歯の欠損および脱落が認められたのに対し、持続的に高血糖を呈さない個体で歯牙の異常は認められなかった。また、対照群では歯牙の異常はなかった。2)軟X線による観察:歯冠部の欠損、歯根からの歯牙の脱落が高血糖持続ラットでみられた。臼歯の欠損・脱落の程度が重篤な個体では、一部で歯槽骨の透過性亢進も伴っていた。3)組織学的観察:肉眼的に歯牙の異常がみられた個体において、齶歯、粘膜上皮の過形成を伴う歯肉炎に加え、歯根と歯槽骨の間に好好中球・リンパ球が主体の炎症性細胞浸潤、線維性結合組織の増生が認められた。軟X線で歯槽骨の透過性亢進がみられた領域に一致して、膿瘍の形成や歯槽骨の破骨細胞性骨吸収が認められた。

【まとめ】アロキサンを投与し糖尿病を誘発したF344ラットにおいても、自然発症糖尿病モデル動物であるWBN/Kobラットと同様な糖尿病性歯周病の病態が形成され、有用な薬物誘発の病態モデルとなる可能性が示唆された。

ニーム葉抽出物による抗酸化能と大腸前癌病変に対する抑制の検討

○新垣 淳也^{1,2)}、金城 達也^{1,2)}、森岡 孝満¹⁾、兼城 達也¹⁾、稲嶺 盛彦¹⁾、
砂川 奈穂¹⁾、千葉 至¹⁾、酒々井 真澄¹⁾、西巻 正²⁾、吉見 直己¹⁾

(¹⁾琉球大学 医学部 腫瘍病理、²⁾病態消化器外科学分野)

(はじめに)ニーム(インドセンダン)は、東南アジアから中近東に自生する熱帯性常緑樹である。ニームの特徴として天然害虫防除があるが、ハーブ茶にして飲んでも害がなく、健康増進に寄与しているとされる。(目的)ニーム葉抽出物による生物学的活性、特に大腸発癌予防を目的として以下3実験を行った。1)抗酸化能の測定評価、2)ヒトの大腸癌培養細胞での細胞増殖抑制の検討、3)ラットでの大腸発癌モデルを用いて、大腸癌の前癌病変の抑制効果を検討した。(方法)ニーム葉抽出物は、ニーム葉を95°Cの蒸留水で10分間煮沸し、濾過して抽出し以下の実験に利用した。1) 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)還元試験を行い、DPPHを半分消去する濃度(IC50)を求めた。2)ヒトの大腸癌培養細胞での細胞増殖抑制の検討。大腸癌培養細胞(HT-29)を培養し、濃度のちがうニーム葉抽出物を、それぞれ培地に加えMTT assayを行い、細胞増殖抑制効果の有無を判定した。3)42匹のF344ラットを6群(G1~G6)に分け、G1~G4にAOM(20mg/kg)を週1回計2回投与した。G1は基礎食をG2,G5に250mg/kg、G3に20mg/kg、G4に100mg/kgのニーム抽出物の量を与えた。実験開始5週目にラットを屠殺し大腸前癌病変とされるACF、MDFの抑制効果の有無と細胞増殖能(PCNA)染色にて検索した。(結果)1)ニーム抽出物のIC50は4348 μ g/mlであった。2)ニーム抽出物濃度があがるほど、大腸癌培養細胞の生細胞率が減少した。3)平均体重、肝臓重量において群間で有意差はなかった。G1のACF総数は121.6 \pm 26.3に対し、G2で83.3 \pm 12.3、G3で76.0 \pm 14.0、G4で80.2 \pm 17.2と有意な減少があり、ACFの数が1~3においても同様な結果を認めた。MDFはG1に対しG2、G3、G4は減少傾向があったが、有意差はなかった。PCNA labeling indexは、G1:13.1 \pm 3.5、G2:7.9 \pm 3.1、G3:5.4 \pm 1.2、G4:4.0 \pm 1.3ニーム抽出物投与群で細胞増殖活性が低下していた。(結論)ニーム葉抽出物は、抗酸化能を有し細胞増殖能抑制効果を認め、がん化学予防剤としての利用が可能と考えられた。

茶抽出物(カテキン類)と亜硝酸ナトリウムの併用投与による前胃発がん促進作用

○黒岩 有一¹⁾、石井 雄二^{1,2)}、梅村 隆志¹⁾、神吉 けい太¹⁾、
西川 秋佳¹⁾、中澤 裕之²⁾、広瀬 雅雄¹⁾

(¹⁾国立衛研 病理部、²⁾星薬大 薬品分析化学)

【目的】茶に多く含まれるカテキン類は強力な抗酸化作用を有することから、その発がん抑制作用が注目されている。しかし我々は、ヒドロキノン、カテコール、没食子酸などのフェノール系抗酸化物質が亜硝酸との併用投与によりラット前胃発がんを増強することを報告しており、類似の分子構造を有するカテキン類についても同様の発がんプロモーション作用が懸念される。そこで本研究では、発がんイニシエーターとしてMNNGを用いたラット2段階胃発がんモデルを用いて、茶抽出物(カテキン類含量83.1%)及び亜硝酸ナトリウム併用投与の胃発がんに対する修飾作用を検証した。

【方法】雄6週齢のF344ラットに、腺胃および前胃に対するイニシエーション処理として、MNNGと食塩をそれぞれ0.01%飲水ならびに5%混餌により10週間併用投与し、さらに実験9週目に100mg/kg MNNGを単回強制経口投与した。その後、茶抽出物と亜硝酸ナトリウムをそれぞれ1%混餌ならびに0.2%飲水により30週間併用投与した。投与期間終了後、エーテル麻酔下で放血致死させ腺胃および前胃の検索を行った。

【結果】肉眼病変として、MNNG投与群の前胃および腺胃に結節が観察されたが、茶抽出物と亜硝酸ナトリウムの併用投与により、前胃結節の1匹あたりの発生数および占有面積にMNNG単独投与群に比較して有意な増加が認められた。一方、腺胃結節の発生頻度には併用投与の影響は認められず、茶抽出物の単独投与群で減少傾向がみられた。今後、病理組織学検査の結果を加えて報告する。

【考察】主にカテキン類により構成される茶抽出物は亜硝酸ナトリウムと併用投与することで、ラット前胃に対する発がんプロモーション作用を有することが示唆された。その機構には、カテキン類と亜硝酸の反応により生じる酸化ストレスの関与の可能性が考えられた。

P-29

ラット中期大腸発がん試験法におけるムラサキトウモロコシ色素の発がん修飾作用

○太田 世志雄¹⁾、今井 俊夫¹⁾、曹 永暁¹⁾、蓮村 麻衣¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理部、²⁾日本曹達株式会社 小田原研究所 安全性研究部)

【目的】ムラサキトウモロコシ色素はアントシアニン系のフラボノイドであるcyanidin-3-O-β-61538;glucosideを主成分とする天然色素であり、食品添加物(着色料)として使用されている。既に本色素は、DMH-PhIPラット大腸発がんモデルにおいて、PhIPと同時に混餌投与することにより発がん抑制作用を示すことが報告されている。しかし、発がんプロモーション期における修飾作用については検討されていない。そこで、今回我々が開発したDMHとDextrin sodium sulfate (DSS)の組合せ投与によるラット中期大腸発がん試験法を用いて、本色素のプロモーション期投与による修飾作用を検討した。【方法】6週齢のF344雄ラット120匹を4群に分け、各群のラットにDMH (40mg/kg 体重)を1週間に3回皮下投与した後、DSS (1%)を1週間飲水投与し、その後1週間は蒸留水及び基礎飼料のみを与えた。第4週より各群にムラサキトウモロコシ色素を0、0.01、0.1及び1%濃度で7及び17週間混餌投与した後剖検した。結腸及び直腸を摘出して切開、0.2%のメチレンブルーにより染色してAberrant crypt foci (ACF)の計測を行った。更に、常法に従ってHE標本を作製し、病理組織学的検索を行った。【結果】第10週剖検群では、ACF及び腫瘍性病変の発生頻度、発生数(Dysplastic foci, Adenoma, Adenocarcinoma:0%群; 0.9±1.0, 0.1±0.4, 0.50±0.6; 0.01%群; 1.2±2.2, 0.3±0.7, 0.2±0.6; 0.1%群; 0.6±1.0, 0.4±0.6, 0.3±0.5; 1.0%; 0.9±2.1, 0.1±0.4, 0.2±0.4/rat)において、群間の明らかな差は認められなかった。第20週剖検群でも群間の差はみられなかった。【結論】DMH-DSSラット中期大腸発がん試験法において、ムラサキトウモロコシ色素は発がん修飾作用を示さなかった。

P-30

2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)に対するp53ノックアウトマウスの発がん感受性

○平田 暁大^{1,2,3)}、塚本 徹哉¹⁾、高須 伸二^{1,3)}、山本 昌美¹⁾、酒井 洋樹³⁾、柳井 徳磨³⁾、榎木 利昭³⁾、立松 正衛¹⁾
(¹⁾愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部、²⁾岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野、
³⁾岐阜大学 応用生物科学部 獣医病理学分野)

【序論】p53ノックアウト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されている。我々は、p53ノックアウトマウスの各遺伝子型(野生型(+/+),ヘテロ変異体(+/-),ヌル変異体(-/-))の各種化学発がん物質に対する感受性を検討し、(+/-)の発がん感受性には臓器特異性があるが、(-/-)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高度に亢進していることを明らかにしてきた。今回、マウスの肺、肝臓、前胃に発がん性を示す2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)に対するp53ノックアウトマウスの発がん感受性を検討した。【方法】5週齢のp53 KOマウスを用いた。短期実験では、(+/+), (+/-), (-/-)に300 ppmのIQを15週間混餌投与した。長期実験では、(+/+), (+/-)に同濃度のIQを40週間混餌投与した後、基礎飼料を12週間投与した。【結果】短期実験では、(+/+)および(+/-)と比較し、(-/-)において前胃の過形成が有意に高率に認められ(p < 0.0005, vs (+/+)およびp < 0.05, vs (+/-))、また、発生率は低かったが、(-/-)にのみ前胃乳頭腫および肺腺腫が発生した。長期実験では、IQ投与群において、肺腺腫、肝細胞腺腫、前胃乳頭腫、前胃扁平上皮癌が発生したが、いずれも散発的であり、(+/+)と(+/-)の発生率に有意な差は認められなかった。【考察】(-/-)では、(+/+)および(+/-)と比較し、IQに対する感受性が亢進していることが示唆された。

MNU誘発マウス胃病変における性差と系統差—3系統のマウスとキメラマウスを用いた解析

○山本 昌美¹⁾、塚本 徹哉¹⁾、平田 暁大^{1,2,3)}、酒井 洋樹^{1,3)}、高須 伸二^{1,3)}、
柳井 徳磨³⁾、柵木 利昭³⁾、日下部 守昭⁴⁾、立松 正衛¹⁾

(¹⁾愛知がんセ 研 腫瘍病理、²⁾岐阜大 生命セ 動物実験、³⁾岐阜大 応用生物 獣医病理、⁴⁾アロカ ANB筑波研究所)

ヒトにおいて男性と女性で発生率に差がある癌のひとつに胃癌があげられる。我々は3系統の雌雄マウスにN-methyl-N-nitrosourea (MNU)を用いて胃病変を誘発し、その発生率を検討するとともに、キメラマウスで誘発した胃病変を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検索し、性と系統の影響を考察した。

【方法】C3H/HeN、C57BL/6N、BALB/cマウスの雌雄、および2系統のマウス受精卵より作成した集合キメラマウスを実験に用いた。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週まで観察した。組織は10%中性ホルマリンまたは酢酸エタノールで固定し、HEおよびキメラマウスにはCSA抗体を用いた免疫組織化学染色をおこない、病理組織学的検索をおこなった。

【結果】雄と雌の胃における腫瘍発生率はそれぞれC3H/HeNで4/16(25.0%)、2/15(13.3%)、C57BL/6Nで10/12(83.3%)、10/16(62.5%)、またBALB/cで7/12(58.3%)、3/8(37.5%)あり、すべての系統で雌よりも雄において高率に認められた。また、腫瘍組織型にも系統によって差が認められ、C57BL/6Nでは細胞の異型性は強いが粘膜内にとどまっている粘膜内癌が高率に認められた。C3H/HeNとBALB/cの雄では、漿膜まで達する浸潤癌が認められた。キメラマウスにおいても発生率と組織型に同様の傾向が認められた。

【考察】マウスMNU誘発胃腫瘍性病変において、雌雄の性および系統による感受性の差が存在することが3系統のマウスで確認された。その差は細胞環境が同一と考えられるキメラマウスにおいても認められ、感受性には細胞環境のみならず細胞そのものの特質も影響することが示唆された。

DMH-DSS誘発ラット大腸がんに対する抗炎症物質の作用

○曹 永晩、今井 俊夫、蓮村 麻衣、高見 成昭、広瀬 雅雄
(国立衛研 病理部)

【目的】我々は、DMHと大腸炎誘発物質であるdextran sodium sulfate (DSS)の組合せ投与による、ラット中期大腸がん試験法を開発してきた。本モデルではDSS投与後初期に遠位結腸粘膜に広範なびらん及び細胞浸潤がみられ、その後再生上皮の形成を経て粘膜が修復されるとともに、同部位に実験開始5-6週より異形成巣、7-8週以降に腺腫・腺癌が発生する。本研究では発がん抑制作用の期待される抗炎症剤を炎症や粘膜傷害のある時期あるいは粘膜修復後の時期に投与し、どの時期の投与が効果を示すかを解析した。【方法】6週齢のF344雄ラット140匹にDMH(40mg/kg 体重)を1週間に3回皮下投与した後、DSS(1%)を1週間飲水投与した。既知の発がん修飾物質として、COX-2阻害剤のnimesulide(0.04%)、抗菌作用及び抗炎症作用を有し、潰瘍性大腸炎治療薬として知られているsulfasalazine(0.5%)あるいは抗炎症作用を含む多機能生理活性を示すlactoferrin(2%)を(i)実験開始2-6週(ii)同7-11週(iii)同2-11週に混餌投与し、実験開始4、6及び11週後に大腸を採取し、病理組織学的に解析した(実験開始11週後については現在解析中)。DMH-DSS処置後、基礎飼料のみを与えた動物を対照とした。【結果】実験開始4週後、nimesulide群においてのみびらん・細胞浸潤がみられた。再生上皮の発現状況に群間の差は認められなかった。6週後においては再生上皮がnimesulide及びsulfasalazine群で残存していた。腫瘍性病変については、対照群に比しsulfasalazine群で増加し、他の群では明らかな差はみられなかった。【考察及び結論】nimesulide及びsulfasalazineは粘膜の再生を遅延させ、sulfasalazineは腫瘍発生を促進する可能性が示された。一方、我々は既に本モデルを用いてnimesulide及びlactoferrinが腫瘍発生を抑制することを明らかにしており、これら抗炎症物質は、DSSによる粘膜傷害/炎症期のみならず、粘膜修復後にも発がん修飾に対して重要な作用を示すことが示唆された。

P-33

14-WEEK ORAL TOXICITY STUDIES OF KAVA IN F344 RATS: IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF EXPRESSIONS OF HEPATIC CYTOCHROME P450

○義澤 克彦¹⁾、クライトン ナターシャ²⁾、キスリング グレイズ²⁾、ブルカ レオ²⁾、
チャン ポーチュエン²⁾、ニスカ アブラハム²⁾

(¹⁾アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室、²⁾National Institutes of Environmental and Health Sciences)

Kava (Piper methysticum) was one of the leading tropical herbs sold in the United States. Consumption of Kava has been linked to hepatic injuries and even liver failure. As a result, Kava has been banned in Europe, Australia and Canada and is subject to cautions and advisories issued by the US FDA. Kava toxicity has been attributed to a CYP2D6 deficiency. We studied the relationship between hepatocellular toxicity and the expression of CYP enzymes. Groups of 10 male and 10 female F344 rats were administered Kava extract by gavage at 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, and 2.0 g/kg/d, 5d/wk for 14 weeks. Gamma-glutamyl-transpeptidase (GGT) activities and/or serum cholesterol levels were significantly increased in males and females dosed at 0.5 g/kg and higher. A dose-related increase in mean liver weights was noted in both sex groups. Histopathologically, increases in incidence and severity of hepatocellular hypertrophy were noted in all treated groups. Immunostaining from 5 animals of each sex of the control and 1.0- and 2.0 g/kg-treated groups indicated that the expression of CYP2D1 (human CYP2D6 homologue) was slightly decreased, significantly for 2.0 g/kg females. Increased manifestation of CYP2B1/2 in both sexes was observed. The slight effect on CYP2D1 expression probably not sufficient to explain the toxicity of Kava. The fact that expression of CYP2B1 and/or CYP2B2 are greatly increased leads to a situation where the usual pathway for metabolism of drug may be inhibited competitively by a Kava constituent.

P-34

p-Nitroanisole誘発マウス肝芽腫における β -catenin変異の探索

○串田 昌彦¹⁾、相磯 成敏²⁾、森村 圭一朗¹⁾、魏 民¹⁾、鰐淵 英機¹⁾、
長野 嘉介²⁾、福島 昭治¹⁾

(¹⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学、²⁾日本バイオアッセイ研究センター 病理検査部)

【目的】マウスの肝芽腫では、ヒトと同様に β -cateninのGSK-3 β リン酸化残基に遺伝子変異が高頻度で認められ、蛋白の局在の異常が認められることが報告されている。一方、以前我々はCrj:BDF1マウスを用いたN,N-Dimethylformamide2年間吸入投与試験に認められた肝芽腫では、 β -cateninの変異が認められなかったことを報告した(Kakuni et. al. J. Toxicol. Pathol., 17(4), 261-265 (2004))。本研究ではp-Nitroanisoleを雄性Crj:BDF1マウスに2年間経口投与して発生した肝腫瘍(肝細胞腺腫、肝細胞癌および肝芽腫)での、 β -cateninの変異について検索した。【方法】p-Nitroanisoleの2年間経口投与試験で用いられた雄性Crj:BDF1マウスの肝臓で認められた、肝腫瘍について、 β -cateninの免疫組織染色を実施した。また、肝細胞腺腫13例、肝細胞癌15例および肝芽腫25例をマイクロダイセクションし、DNAを抽出後、 β -cateninのExon2(ヒトのExon3に相当し、GSK-3 β リン酸化残基を含む)での変異について検索した。【結果】免疫組織染色の結果、肝細胞癌、肝細胞腫においては核や細胞質への移行などの異常な染色を示すものは認められなかった。肝芽腫では β -cateninはほとんど染色されなかった。遺伝子変異頻度は、肝細胞腫0%、肝細胞癌20%、肝芽腫20%であった。肝細胞癌で認められた変異には、アミノ酸の変異を伴うものは認められなかった。肝芽腫で認められた変異のうち、8%はアミノ酸の変異を伴わないもの、8%はアミノ酸の変異を伴うもの、4%は終止コドンへの変異であった。肝芽腫で認められた変異は、何れもGSK-3 β リン酸化残基またはその付近ではなかった。【考察】p-Nitroanisoleを経口投与して認められた肝腫瘍の形成には、 β -cateninの関与は低いものと考えられた。

先天性肝線維症を伴うカロリー病動物モデルPCKラット肝におけるNotchシグナル関連分子の発現

○古坊 真一^{1,2)}、野崎 佑介^{1,2)}、原田 憲一²⁾、八十島 満枝²⁾、
三善 隆広¹⁾、木澤 和夫¹⁾、中沼 安二²⁾

(¹⁾富山化学工業(株) 総合研究所 安全性研究部、²⁾金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学)

Notchシグナル伝達系は、細胞運命の決定や種々の器官・組織のパターン形成に関与しており、胆管の発生や胆管上皮の分化誘導にも重要な役割を果たすことが知られている。PCKラットには、自然発生的に肝内胆管の嚢胞状拡張と進行性線維化がみられ、ヒトにおける先天性肝線維症を伴うカロリー病のモデルとしての有用性が示されている。今回、PCKラットの肝臓におけるNotchシグナル関連分子の発現を検討した。【材料及び方法】胎齢14日から生後7日齢のPCKラットの肝臓より新鮮凍結切片を作製し、Notch1、Notch2及びそれらのリガンドであるJagged1、Jagged2並びにNotchシグナル伝達系の標的分子であるHES1の発現を免疫組織化学的手法により検討した。対照としてSDラットの肝臓を用いた。【結果】Notch1は、胎児期には肝細胞に発現した。出生後は、肝細胞における発現はみられなくなったが、血管、胆管にその発現を認めた。Notch2は胎児期には肝細胞に、出生後は肝細胞、血管及び胆管に発現を認めた。Notch1及びNotch2の発現にはPCKラットとSDラットで明らかな差はみられなかった。Jagged1は主に胎児期の肝細胞に発現し、出生後の発現はみられなかった。一方、Jagged2は胎児期には発現しなかったが、出生後の血管、胆管に発現を認めた。Jagged1及びJagged2の発現には、胎生期及び生後直後にPCKラットとSDラットで明らかな差はみられなかったが、生後7日のPCKラットにおいて、末梢の拡張した胆管にJagged2の高発現を認めた。また、生後7日のPCKラットの胆管にはHES1の高発現も認められた。【結論】ラットの肝臓において、胎児期に発現するJagged1は胆管の発生に、出生後発現するJagged2は胆管の組織構築に関与する可能性が示唆された。また、生後7日のPCKラットの胆管において、Jagged2及びHES1が高発現した。PCKラットの胆管拡張は加齢とともに進行することが知られており、Jagged2を介したNotchシグナル伝達系の活性化が病態の進展に関与する可能性が示唆された。

ラット肝中期発癌性試験(伊東法)を用いたD-Allose(希少糖)による肝発癌の修飾作用

○横平 政直、山川 けい子、竿尾 光祐、松田 陽子、曾 宇、細川 京子、今井田 克己
(香川大学 医学部 腫瘍病理学)

【目的】希少糖は、自然界に微量しか存在しない単糖類であるが、種類は非常に多い(約50種類)。このような希少糖を自然界に多量に存在する単糖から生産し、その機能を解明するプロジェクトが香川県で進んでいる。希少糖のうち、D-Alloseは、活性酸素の産生抑制作用や細胞増殖の抑制作用が報告されている。今回我々は、D-Alloseの発がん修飾作用についてラット肝中期発がん性試験法を用いて検討した。【方法】6週齢の雄性F344ラットを用い、実験開始時にdiethylnitrosamine 200mg/kgを腹腔内投与した。2週目から6週間、基礎飼料(オリエンタルMF)中にD-Alloseを1.0、0.1、0.01%の濃度で混じて、それを自由に摂取させ(それぞれ1~3群)、対照群には基礎飼料のみ(4群)、および基礎飼料中にD-Alloseの生産源の単糖であるD-Glucoseを1.0%の濃度で混じり摂取させた(5群)。3週目に2/3肝部分切除を行い、8週目に屠殺剖検し、肝臓を摘出後、前癌変化の指標であるglutathione S-transferase胎盤型(GST-P)陽性細胞巢の発生を定量的に検討した。さらに、1.0%D-Allose、1.0%D-Glucose、基礎飼料をそれぞれ2週間投与したラット各群5匹ずつの肝臓からmRNAを抽出し、薬物代謝酵素および発癌関連マーカーを中心にマイクロアレイ(OLYMPUS Pamchip microarray FD10 RatTox. Ver. 2.1)による解析を行った。【結果】肝のGST-P陽性細胞巢の単位面積あたりの数および面積は、1~3、5群のいずれもDEN単独投与の4群と統計学的な有意差は見られなかった。マイクロアレイでの解析ではD-Allose投与群でいくつかの薬物代謝酵素の誘導と発癌関連マーカーの上昇が見られた。【結論】今回の実験ではマイクロアレイでいくつかのマーカーの変動が見られたものの、肝発がんに関してD-Alloseによる発がん修飾作用は示されなかった。

ピペミド酸の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⁾、川口 恵未²⁾、酒井 洋樹³⁾、三森 国敏¹⁾
 (1)東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾八戸工業高等専門学校 物質工学科、
³⁾岐阜大学 獣医病理学教室)

我々はこれまでに、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結果を示し、遺伝毒性発癌物質である可能性が高いことを報告した。一方、第一世代キノロン剤であるナリジクス酸は、同様の検索において全て陰性結果を示し、第二世代キノロン剤であるシプロフロキサシンは、コメットアッセイでは陽性結果を示したが、小核試験や肝イニシエーション活性検索法では陰性結果を示し、遺伝毒性発癌物質である可能性が低いことを報告した。今回は、第一世代キノロン剤であるピペミド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、ピペミド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時間後にピペミド酸を単回強制経口投与した。その14日後から10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11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の検索を行った。ピペミド酸は、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、ピペミド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。

グルタチオンS-トランスフェラーゼ胎盤型酵素陰性ラット肝前癌病変に特異的な新規マーカーの検索

○須方 督夫^{1,2)}、宇和川 賢^{1,2)}、尾崎 圭介^{1,2)}、申田 昌彦^{1,2)}、
 森村 圭一郎²⁾、鰐淵 英機²⁾、福島 昭治²⁾
 (1)住友化学(株)・生科研、²⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

前回の本学会において我々は、GST-P陰性前癌病変に $\alpha 2$ -マクログロブリン($\alpha 2$ M)が特異的に高発現していることを報告した。今回、更に $\alpha 2$ M及びそのレセプターであるGRP78の新規マーカーとしての実用性について検討を進めた。実験では、6週齢雄F344ラットにジエチルニトロサミンを単回投与後、Wy-14,643もしくはclofibrateを混餌投与してGST-P陰性肝前癌を誘発した。これら病変に対する検出マーカーとして $\alpha 2$ Mを使用した場合の検出感度を検討するため、in situハイブリダイゼーションを実施、単位面積当たりの $\alpha 2$ M mRNA陽性巢数($\geq \phi 0.1\text{mm}$)と、HE染色標本で確認できるGST-P陰性前癌病変数($\geq \phi 0.1\text{mm}$)を比較した。その結果、いずれの群においても $\alpha 2$ M mRNA陽性数が他方に比較し約1.8倍多く検出された。また近年、 $\alpha 2$ Mに対する受容体として作用することが報告されたGRP78についてGST-P陰性前癌病変における発現異常を検討した。その結果、mRNAの発現増加は認められないものの、蛋白が病変特異的に高発現していることが明らかとなった。更に、ラット及びマウス肝細胞癌におけるこれら2種類の発現異常を検討したところ、マウス肝細胞癌においてGRP78が高発現していることが明らかとなった。以上の結果から、GST-P陰性ラット肝前癌病変は、 $\alpha 2$ M mRNA陽性細胞巢を指標とすることで高感度に検出可能であること、更にその受容体蛋白であるGRP78はマウス肝細胞癌でも高発現していることが今回初めて明らかとなった。

食品中金属類と食品中化学物質の複合による発がんリスクに関する実験的研究
カテキン及びグルコン酸銅を用いたラット中期多臓器発がん性試験法による検討1

○阿部 正義^{1,2)}、鈴木 紀子^{2,4)}、吉田 緑²⁾、五十嵐 麻希^{2,5)}、
白田 浩二¹⁾、古川 賢¹⁾、植松 史行²⁾、高橋 正一²⁾、前川 明彦³⁾、中江 大²⁾
(¹⁾日産化学工業株式会社 生物科学研究所 安全性研究部、²⁾財団法人 佐々木研究所 病理部、³⁾財団法人 佐々木研究所、
⁴⁾東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 分子内分泌内科学分野、⁵⁾東京農業大学大学院農学研究科 生体機能防衛学)

【目的】食品添加物・飲料品・機能性食品成分として使用されるカテキンは、遺伝毒性を示すことより、現在、ラットを用いて1年間慢性毒性試験と2年間発がん性試験が行われているが、in vitroにおいて銅イオンの存在下に酸化性DNA傷害である8-oxoguanineを生成する。一方、グルコン酸銅は、使用基準の改正により栄養機能食品の成分として使用の拡大が予想される。以上より、我々は、カテキンと銅化合物の複合投与時のin vivo発がんリスクを評価する必要性を感じた。本研究は、グルコン酸銅単独の作用を予備的に解析すると共に、カテキンとの複合投与実験の至適用量設定を行った。【方法】実験は、BrlHan:WIST@Jcl (GALAS)系雄性ラット(6週齢)に、N-nitrosodiethylamine (100 mg/kg)腹腔内投与1回、N-methylnitrosourea (20mg/kg)腹腔内投与4回・1,2-dimethylhydrazine (40mg/kg)皮下投与4回・0.05% N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine混水投与2週間・0.1% 2,2-dihydroxy-di-n-propylnitrosamine混水投与2週間より成る計4週間の発がん起始処置を施すと同時に、グルコン酸銅を0・1000・3000・4800・6000・12000ppmの用量にて13週間混餌投与して屠殺し、肝・血清・尿の銅レベル測定と、肝の組織学的・免疫組織化学的検索を行った。【結果・考察】4800ppm以上の群では肝の銅レベル増加とmethalothioneinの発現増強、6000ppm以上の群では肝の小肉芽腫発生と肝細胞増殖亢進、12000 ppm群では血清と尿の銅レベル増加及び肝の8-oxoguanineと前がん病変の発生増強を認めた。以上より、グルコン酸銅は、6000ppmで肝障害を発生させることが判明し、さらに高用量で肝に酸化ストレスを誘導して発がん促進作用を発揮することが示唆された。また、カテキンとの複合投与実験の至適最高用量は、6000ppmが適当と判断された。

ラット肝中期発癌性試験法を用いたプロポリスの肝発癌修飾作用の検討

○魏 民、鰐淵 英機、柚木 孝之、カン ジンソック、プアタナチョックチャイ ラウイワン、福島 昭治
(大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

【目的】健康食品であるプロポリスの肝発癌修飾作用をラット肝中期発癌性試験法(Ito法)を用いて検討した。【方法】6週齢の雄性F344ラットを6群にわけ、第1-4群にはイニシエーション処置としてdiethylnitrosamine (DEN)を一回腹腔内投与した。一方、第5-6群では溶媒である生理食塩水を投与した。2週後、第1-4群には実験群としてそれぞれプロポリスを0, 0.01, 0.1, 1%の用量で6週間混餌投与した。また、第5, 6群には対照群として基礎食あるいは1%プロポリスを投与した。いずれの群も実験第3週目に2/3部分肝切除を行った。実験開始8週後に屠殺し、肝の前癌病変の指標であるglutathione S-transferase (GST-P)陽性細胞巢の個数及び面積を定量的に解析した。【結果】各実験群間では肝GST-P陽性細胞巢の単位面積当たりの数並びに面積には有意差はなかった。また、対照群にはGST-P陽性細胞巢の発生を認めなかった。【結論】プロポリスはDEN誘発ラット肝発癌を促進も抑制もしないことが判明した。

BCAA(分枝鎖アミノ酸)の肝発癌修飾作用

○柚木 孝之、鰐淵 英機、市原 敏夫、串田 昌彦、川田 義章、福島 昭治
(大阪市大学大学院医学研究科 都市環境病理)

【目的】現在、健康食品として、BCAA(分枝鎖アミノ酸)が服用される機会が増加している。しかし一方では発癌性を含みリスク評価は充分になされていない。今回、伊東法を用い、分枝鎖アミノ酸の肝発癌修飾作用を検討した。【方法】7週齢の雄ウイスター・ハノーバーラットにDEN 200mg/kgを1回腹腔内投与し、その2週間後から6週間、バリン、イソロイシン、及びロイシンを各群4%の用量で混餌投与した。対象群には基礎飼料を投与した。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、前癌病変の指標としてGST-P陽性細胞巢の数及び面積の測定、酸化ストレスの指標として8-OHdGを、細胞増殖の指標としてPCNA陽性細胞の測定をした。【結果】バリン、イソロイシン、及びロイシン各投与群においてGST-P陽性細胞巢は数及び面積において対照群に比し有意な上昇を認めず、8-OHdGにも有意差は無かった。【結論】バリン、イソロイシン、ロイシンはラットにおいて有意な肝発癌促進作用を示さなかった。

ラット肝臓における悪性化に関わる遺伝子発現の検討

○鈴木 周五、竹下 健太郎、朝元 誠人、高橋 智、白井 智之
(名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理分野)

我々はラットに発がん物質Diethylnitrosamine (DEN)を経時的に投与することにより比較的短期で肝細胞癌が発生する実験系を用いて、肝の良性腫瘍から悪性腫瘍へ移行するメカニズムを分子生物学的に解析し、癌への悪性化を制御する基礎的なデータを得ることを目的に実験を行った。発生した肝腺腫と肝細胞癌の組織を、凍結組織からlaser microdissectionを用いて採取し、各病変から抽出したtotal RNAを標識化、マイクロアレイ解析により検討した。その結果、肝腺腫から肝細胞癌への進展の際に大きく変動する遺伝子の中から発現の上昇する39遺伝子と低下する35遺伝子を統計学的手法で選出した。これらの遺伝子の機能についてGene Ontologyを用いて解析した結果、良性から悪性への変化に伴い細胞の生理的作用 (cellular physiological process) や代謝 (metabolism) に関わる遺伝子の発現に大きな変動を示すことが明らかになった。特に悪性に進展する際には物質の輸送・存在位置に関わる遺伝子 (localization) が上昇し、刺激に対する反応に関する遺伝子 (response to stimulus) が低下することが示された。また、少ないながらも低下する遺伝子の中には死 (death) に関わる遺伝子も存在した。今後、悪性化のメカニズムについて研究する上で注目すべき候補遺伝子と考えられる。

P-43

Effect of kojic acid on diethylnitrosamine induced rat hepatocarcinogenesis using medium-term bioassay

○チュシリ ヤオワレス、プアタナチョックチャイ ラウイワン、木下 アンナ、魏 民、鰐淵 英機、福島 昭治
(大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

Kojic acid (KA), a natural compound, is contained in traditional Japanese fermented foods and used as a dermatological skin-lightening agent. In the present experiment, its promoting effect on diethylnitrosamine-initiated rat hepatocarcinogenesis was studied in medium-term bioassay. Male F344 rats were initiated with DEN (200 mg/kg b.w. i.p.) and two weeks later administered diet containing 0~2% KA for 6 weeks. Rats were subjected to 2/3 partial hepatectomy three weeks after DEN injection. It was observed that 2% KA treatment significantly increased relative liver and thyroid weights, serum ALT, ALP, and thyroid stimulating hormone (TSH) levels, however, significantly decreased serum triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) levels. Furthermore, in 2% KA treated rats numbers and areas of glutathione-S transferase placental form (GST-P) positive foci were markedly increased, while 0.001~0.5% KA treatment did not show any effect on GST-P positive foci formation. Results indicated that high dose of KA promoted formation of liver preneoplastic lesions initiated by DEN in rats.

P-44

Effect of α -benzene hexachloride on diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in TGF- α transgenic mice

○プアタナチョックチャイ ラウイワン、鰐淵 英機、魏 民、カン ジン セオック、
チュシリ ヤオワレス、木下 アンナ、福島 昭治
(大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

α -Benzene hexachloride (α -BHC), a rodent non-genotoxic hepatocarcinogen, has shown hormesis phenomenon on preneoplastic lesions of rat liver initiated with diethylnitrosamine (DEN). To ascertain whether α -BHC might act by hormesis in the other animal model, male TGF- α transgenic mice were used in this study. Transgenic mice were divided into 7 groups. Group 1-5 were injected with DEN 5 mg/kg bw, ip, at day 15 of ages. Group 6-7 were injected with saline. After injection, various doses of α -BHC (0, 0.05, 0.1, 1 and 500 ppm) were given in group 1 to 5, respectively, for 20 wks. Group 6 and 7 were fed with α -BHC at dose of 0 and 500 ppm, respectively. There was no tumor observed in control mice, group 6. In group 7, α -BHC increased in liver weights and eosinophilic hypertrophy of hepatocytes in the mid zone of liver. Among initiation groups, 500 ppm of α -BHC treated mice significantly increased liver tumor incidence and multiplicity of hepatocellular adenoma and carcinoma, however, low dose treated groups tend to decline liver cancer. Furthermore, the level of serum TGF- α was significantly increased in the highest dose treated mice but decreased in low dose treated groups. The inhibitory effect of α -BHC at low dose on hepatocellular adenoma formation might be caused from the reduction of TGF- α level. In conclusion, α -BHC enhanced DEN-induced liver hepatocarcinogenesis at high dose, however, it tended to suppress hepatocarcinogenesis at low doses in TGF- α transgenic mice. The mechanism of the suppression of liver carcinogenicity by low dose of α -BHC is under investigation.

高カロリー高脂肪食負荷マウスにおける経時的な肝臓の病理組織学的変化

○辻岡 繁春¹⁾、伊藤 誠²⁾、護守 晃²⁾、石原 あかね²⁾、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 安全性研究所、²⁾万有製薬 つくば研究所)

【背景】Fatty liver diseaseの一つである非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は、肝硬変・肝癌に進行することが明らかにされ、近年注目を浴びている。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有用な動物モデルの報告はごく少ない。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作製を試み、病理組織学的変化を中心に検討した。【方法】高カロリー高脂肪食(HFD: 60cal% lard diet)を自由給餌で10、19、34、50週間負荷したC57BL/Jマウスから血液および肝臓の採材を行い、肝臓の病理組織学的検索を含めた各種検索を行った。対照群としてそれぞれ同じ期間、正常食を自由給餌したマウスを用いた。【結果】血中インスリン値および肝臓組織中TG値は全HFD負荷群で有意な増加が認められた。血中ALT値およびAST値は19週間以下の負荷では有意な増加がみられず、34週間以上の負荷で有意な増加がみられた。組織学的には、19週間以下の負荷では軽度な肝細胞の空胞化が認められたが、肝臓の炎症性変化は乏しかった。一方、34週間以上の負荷では、中等度から高度な肝細胞の空胞化に加え、多発性の炎症細胞の小集簇がみられた。さらに、50週間負荷ではAzan染色で門脈域を中心に軽度な線維の増生が認められた。【考察】マウスへの高脂肪食負荷により、34週間負荷から肝臓において軽度な炎症細胞浸潤を伴う脂肪肝がみられ、さらに50週間負荷では病理組織学的にも線維の増生が確認できた。したがって、長期間のHFD負荷マウスはヒトの肥満および代謝性疾患を伴うNASHに外挿性の高い有用なモデルであることが病理組織学的に示唆された。

Fenofibrateのラット肝臓に対する毒性評価-がん原性試験におけるMTD及び肝発癌予測に関するレトロスペクティブな検証-

○高橋 正寿、渡邊 隆夫、秋葉 知英、和藤 英司、田中 猛、樋渡 祐介、高木 隆、山下 浩史、
西村 次平、加藤 直樹、岡村 信志、天野 幸紀、田辺 宗平
(興和株式会社 富士研究所 安全性研究部)

【目的】代表的なPPAR α agonistであるFenofibrateをラットに2週間経口投与し、肝臓における変化を検索し、ラットのがん原性試験におけるMaximum Tolerated Dose (MTD) 及び発癌との関係を検討した。

【方法】Fenofibrateを6週齢のCrl:CD (SD) 系雄性ラットに2週間経口反復投与した。投与量はがん原性試験で肝発癌が発現した180mg/kg、脾臓及び精巣腫瘍が発現した60mg/kg及び13週間経口反復投与試験で対照群に比し10%を超える体重増加抑制を示した30mg/kgを設定した。2週間の経口反復投与後に動物を麻酔下で屠殺し、肝重量測定、肝peroxisome増殖の形態計測、肝peroxisome酵素(Carnitine acetyltransferase, CAT)活性測定及び病理組織学的検査を行った。形態計測は、小葉中心部及び小葉周辺部の肝細胞10個を電顕撮影し、peroxisome数並びにmitochondria数を計測した。また、初回及び14回投与時の血漿中Fenofibric acid (FA)濃度を測定した。

【結果及び結論】Fenofibrateの各用量群の肝重量は対照群の1.4、1.6及び2.1倍に増加した。病理組織学的には60mg/kg以上で肝細胞の肥大が認められた。肝細胞のperoxisome数/ mitochondria数比は対照群の2.1、2.5及び3.4倍(小葉中心部)、2.4、3.1及び4.4倍(小葉周辺部)を示し、CAT活性値は3.0、5.3及び7.8倍であった。FAの血漿中濃度は投与量依存的に増加し、反復投与によるトラフ値の上昇を認めた。以上より、PPAR α agonistをラットに2週間反復投与した時、肝重量、肝peroxisome酵素活性やperoxisome数の増加が用量相関的に認められ、これらはがん原性試験におけるMTDや肝発癌を推定する上で補助的情報を提供できるものと考えられた。

P-47

Gene expression profiling specific to the tumor promotion process of rat hepatocarcinogenesis induced by fenbendazole

○禹 桂炯¹⁾、渋谷 淳¹⁾、井上 薫¹⁾、禹 麻美¹⁾、黒岩 敬子¹⁾、五十嵐 勝秀²⁾、
富士本 仁¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理部、²⁾国立衛研 毒性部)

To elucidate the mechanism of the fenbendazole (FB)-induced hepatocarcinogenesis, we performed global gene expression profiling specific to the early process of tumor promotion by FB using medium-term liver bioassay. After DEN initiation, male F344 rats were administered 400, 1200 or 3600 ppm FB in diet at the promotion stage for 6 weeks. Liver samples (n=4/group) were subjected to microarray analysis using Affymetrix GeneChip Rat Genome 230 2.0 Array. After exclusion of genes specifically responding to each of DEN-alone or 3600 ppm FB, genes were selected in terms of the dose-dependent expression change by FB (≥ 2 -fold difference vs. DEN-alone, $p < 0.05$). Expression levels of the selected genes were validated with real-time RT-PCR. Numbers of up-regulated (UR) genes were 5 at the levels from 400 ppm and 10 from 1200 ppm. Down-regulated (DR) ones were 1 at the levels from 400 ppm and 5 from 1200 ppm. Among them, genes with known function were 6 for UR ones and 3 for DR ones. UR genes included those related to cell growth suppression involving TGF- β signaling (Ltbp1) or Wnt pathway (Axin2). DR genes included function of G1 \rightarrow S cell cycle progression (Mafk) or Wnt signaling-regulated cell growth (Sfrp4). In conclusion, several genes related to cell proliferation were detected in both UR and DR ones after 6 weeks of FB promotion, suggesting a reflection of different cellular potentials between initiated cells and surrounding mitotically inactive cells at this time point. Moreover, two Wnt signal-related genes exhibited opposite expression status, suggesting a dysregulation of Wnt signaling in the early process of FB-induced hepatocarcinogenesis.

P-48

カニクイザルにおける肝臓類洞壁細胞の空胞化について

○藤島 純子、古川 知宏、楊 秀英、平川 公昭、佐竹 茂、永岡 隆晴、上村 裕洋、
桑村 有規、千早 豊、吉川 剛、堀 隆夫、前田 博、戸門 洋志、宮嶋 宏彰
(株式会社 新日本科学)

サルは分類学上ヒトに近く、また、薬物に対する反応、薬物動態の面から、近年、安全性試験に多用されてきている。なかでもカニクイザルはサル類の毒性試験等において、繁殖・飼育、入手の容易さなどから一般的に用いられている。しかし、自然発生病変の集積やその報告は他の動物種と比較して乏しい。我々は、多くの安全性試験の中から、カニクイザルの肝臓における、類洞壁細胞の空胞化がしばしばみられることを経験している。このような空胞化は、伊東細胞が細胞質内に脂肪滴を取り込んでいるといわれている。しかし、類洞壁細胞の空胞化は通常毒性試験に使用されるラット、イヌではほとんどみられていない。そこで、当研究所で毒性試験に使用されたカニクイザル(中国産、オス、4~7才)の対照群にみられた肝臓の類洞壁細胞の空胞化について、Oil Red O染色を実施したところ、空胞は脂肪滴であることが確認された。また、その他にも電子顕微鏡学的検査及び免疫組織化学的検査(CD68、Vimentin)により、空胞がみられる類洞壁細胞の同定ならびにその詳細な検討結果および当社で調査した発生頻度を報告する。

P-49

p53+/-gpt deltaマウスにおけるアクロレイン経口投与によるin vivo遺伝子変異の検索

○神吉 けい太¹⁾、西川 秋佳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⁾、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)

アクロレインは脂質過酸化の生成物の一つであり、DNAやタンパク質に付加体を形成し、マウス皮膚などに発がんを引き起こすことが知られているが、経口投与による2年間の発がん性試験では腫瘍性病変の発生は認められていない。p53+/-gpt deltaマウスはp53遺伝子に特異的な突然変異を介した発がんの高感度検索モデルであり、このマウスを用いてアクロレインの経口投与による肝臓でのタンパク質付加体量、および遺伝子突然変異頻度を調べた。【方法】アクロレイン1 mg, 5 mg/kg体重、および蒸留水を5日間連続で経口投与し、その2週間後に肝臓を採取した。アクロレイン付加体タンパク (FDP-lysine) 量はELISA法により定量した。また、肝DNAを抽出し、点突然変異検索法である6-thioguanine (6-TG) assayにより、変異体出現頻度を測定した。【結果】アクロレイン付加体タンパク (FDP-lysine) 量は投与量依存的に増加した。一方で、点突然変異頻度は低用量群で約2.8倍に有意に増加したが、高用量群では約1.4倍程度であった。低用量投与群における変異頻度上昇がアクロレイン投与の影響によるものかどうかを確かめるため、得られた変異体の遺伝子配列を決定し、遺伝子変異スペクトラムを検討した結果を報告する。

P-50

二段階肝発癌モデルを用いたC3H/He系亜系間での肝発癌感受性の差異に関する検討

○高木 久宜¹⁾、松井 正樹¹⁾、安藤 なつ代¹⁾、佐藤 紀子¹⁾、三森 国敏²⁾
(¹⁾日本エスエルシー株式会社・バイオテクニカルセンター、²⁾東京農工大・獣医・病理)

【目的】近年、同一系統の実験動物において、亜系間で感受性の差異が認められることに注目が集まりつつあり、その背景データの作成が重要となってきた。そこで今回、二段階肝発癌モデルを用いて、日本エスエルシー株式会社にて販売されているC3H/He Slc、C3H/He N SlcおよびC3H/He J Yok Slcの3種類の亜系間の肝発癌感受性の差異を確認した。【方法】6週齢雄C3H/He Slc、C3H/HeN Slc、C3H/HeJ Yok SlcおよびC57BL/6 Cr Slcに5mg/kgのN-nitrosodimethylamine (DMN)を単回腹腔内投与し、1週後より0もしくは0.05%のPhenobarbital (PB)を26週間飲水投与した後、採血・解剖した。採取した肝臓について、Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA)の免疫組織化学染色を含む病理組織学的検索を行うと共に、血清AST、ALT、ALPを測定した。【結果】C3H/He Slc、C3H/HeN SlcおよびC3H/HeJ Yok Slcに肝変異細胞巣と肝腺腫の発生が認められた。C3H/He Slcでは、肝変異細胞巣、肝腺腫とも発生率、発生個数で0.05%PB群のC57BL/6 Cr Slcおよび0%PB群のC3H/He Slcに比し、それぞれ有意な増加が確認された。さらに、0.05%PB群のC3H/He Slcでは、血清AST、ALTおよびALPが0.05%PB群のC57BL/6 Cr Slcに比し有意に増加した。【考察】以上の結果から、本実験条件下では、C3H/He SlcがC3H/Heの亜系の中で最も肝発癌感受性が高く、C3H/Heの亜系間に肝発癌感受性に差異がみられることが確認された。従って、今後実験動物を用いた試験を行う場合、その系統の亜系間での感受性の差異についても考慮に入れて試験を計画する必要性が強く示唆された。

TOXICOGENOMIC APPROACH FOR EARLY ASSESSMENT OF POTENTIAL
HEPATOCARCINOGENICITY OF CHEMICALS IN RATS

○上原 健城、廣出 充洋、小野 敦、宮城島 利一、漆谷 徹郎、長尾 拓
(医薬基盤研究所 トキシコゲノミクスプロジェクト)

Induction of oxidative stress has been proposed as a mechanism of action for cell injury, possibly including participation in nongenotoxic carcinogenesis. In the present study, the gene expression profile, along with two well-known nongenotoxic hepatocarcinogens, methapyrilene (MP) and thioacetamide (TAA), were analyzed in order to understand the relationship between oxidative stress and hepatocarcinogenicity, and to develop identifiers for early assessment of potential hepatocarcinogenicity of chemicals. Rats were administered with MP (10, 30, 100 mg/kg) or TAA (4.5, 15, 45 mg/kg), and euthanized 3, 6, 9, 24 hours after a single dose or 3, 7, 14, 28 days after repeated doses. Hepatic gene expression was assessed using Affymetrix Rat Expression Arrays 230A. By using statistical and clustering tools, time- and dose-dependently expressed genes were extracted and classified according to their ontology. Sustained responses to oxidative DNA damage, as well as cell cycle regulation were characteristic of both compounds. Supervised analysis was carried out by Prediction Analysis for Microarrays (PAM) using the nearest shrunken centroid algorithm. PAM identified a classifier of 112 genes that yielded the greatest predictive accuracy of over 95% in classifying training samples using a 10-fold cross-validation analysis. The prediction confidence of the optimized model was subsequently confirmed with reliable results for class prediction of several other chemicals using our project's large-scale database. This work represents an important step toward early assessment of potential hepatocarcinogenicity of chemicals based on their gene expression profiles.

エチオニン投与ラット肝臓における遺伝子発現解析-肝障害と血液凝固系異常との関連-

○廣出 充洋、上原 健城、小野 敦、宮城島 利一、漆谷 徹郎、長尾 拓
(独立行政法人 医薬基盤研究所 トキシコゲノミクスプロジェクト)

肝機能不全を診断する際には、多くの血液生化学的検査が用いられる。肝細胞障害の指標としては、ASTあるいはALTなどの肝逸脱酵素がその代表例である。一方、肝機能不全の際には血液凝固異常をきたすことも知られており、血漿中のフィブリノーゲン濃度あるいは血液凝固試験からも肝機能不全が推定可能である。今回、我々はトキシコゲノミクスプロジェクト(TGP)で蓄積された遺伝子発現及び毒性学的データベースの中から血液凝固系に異常をきたしたエチオニンを選択し、ラットに反復投与した際のデータを用いてその遺伝子発現変化を検証した。エチオニンは25、80、250 mg/kg/日の3用量でラットに投与し、3、7、14及び28日間の反復投与24時間後に剖検し、遺伝子及び一般的な毒性学的データを得た。網羅的遺伝子発現解析にはAffymetrix Rat 230Aマイクロアレイを用いた。血液学的検査ではAPTT及びPT時間の延長、血清中のフィブリノーゲン濃度低下がみられ、病理組織学的には肝細胞の色調変化がみられたが、血液生化学的検査ではASTあるいはALTを始めとした肝逸脱酵素に異常は認められなかった。一方、遺伝子発現解析では血液凝固カスケード、ストレスなどに関与する遺伝子群が変動していた。これらの遺伝子群は肝機能不全及び薬物による肝毒性に関与している可能性が考えられる。

2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼンの長期経口投与によるラットの腎臓腫瘍

○妹尾 英樹、梅田 ゆみ、片桐 卓、相磯 成敏、長野 嘉介
(日本バイオアッセイ研究センター)

2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼン(DCNB)は、染料や顔料の中間体あるいは医薬品や除草剤の原料として使用されている。DCNBの長期経口投与試験で、ラットに腎臓腫瘍の発生を認めたので報告する。本試験は厚生労働省の委託により実施した。【方法】6週齢のF344/DuCrjラットを用い、群構成は投与群3群と対照群1群、雌雄各群とも50匹(計400匹)とした。投与は混餌自由摂取、投与濃度は雌雄とも750、1500、3000ppmとし、2年間(104週間)行った。【結果】雌雄とも腎細胞腺腫と腎細胞癌の発生が、投与終了時に主に認められ、腫瘍のみられた濃度は、雌雄とも1500 ppm以上であった。腎細胞腺腫と腎細胞癌の発生部位は皮質であり、尿細管上皮に類似した腫瘍細胞が胞巣状に増殖し、周囲を圧排する像を呈していた。また、一つの腎臓に複数個の腫瘍がみられる例も多かった。腎細胞癌は腫瘍内に壊死がみられ、浸潤性増殖や転移はみられなかった。前腫瘍性病変は、近位尿細管の上皮細胞が多層化して充実性に増殖する異型尿細管過形成であり、雌雄とも最低濃度から多発した。また、腫瘍以外の影響として、慢性腎症と近位尿細管の好酸滴が雌雄に、腎乳頭の鉍質沈着と腎盂上皮の過形成が雄にみられた。

投与濃度(ppm)	雄				雌			
	0	750	1500	3000	0	750	1500	3000
腎細胞腺腫			3	26			3	26
腎細胞癌			2	23				12
異型尿細管過形成		46	46	48		28	40	50

アスコルビン酸ナトリウムの膀胱発がん促進作用におけるマウス系統差

○村井 隆¹⁾、増野 功一¹⁾、井村 可恵¹⁾、土屋 紀子¹⁾、森 聖²⁾、
森村 圭一郎²⁾、鰐淵 英機²⁾、福島 昭治²⁾

(¹⁾塩野義製薬 新薬研、²⁾大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学講座)

【目的】アスコルビン酸ナトリウム(NaAsA)による膀胱発がん促進作用はマウスでは発現しないとされる。しかし、ラットにおいてNaAsAに対する感受性には系統差が存在することから、マウスにおいても感受性に系統差が存在する可能性が考えられた。そこでBALB/cAnN、C3H/HeN、C57BL/6N、NON/ShiおよびB6C3F1マウスのNaAsAに対する感受性を比較検討した。

【方法】実験1:6週齢の雄マウスに0.05%濃度N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN)含有飲料水を6週間投与し引き続き5% NaAsA混和飼料を18週間投与する群(A群、24匹)、BBN投与のみの群(B群、24匹)およびNaAsA投与のみの群(C群、12匹)の3群に分けた。実験2: BALB/cAnNマウスの雌雄各60匹を実験1と同様に3群に分けた。BBN投与期間は4週間とし、NaAsA投与期間は32週間とした。両実験とも実験期間終了後に各群の膀胱を病理組織学的に検査した。

【結果】実験1:すべての系統で膀胱癌の発生にA群とB群間で有意差は認められなかったが、BALB/cAnNマウスにおけるA群とB群における過形成からがんまでの膀胱粘膜増殖病変を有する個体の発生率はそれぞれ17/24(71%)と7/24(24%)で有意差が認められた。実験2:雌雄ともに膀胱癌の発生にA群とB群間で有意差は認められなかったが、雄マウスにおいてA群とB群における膀胱粘膜増殖病変を有する個体の発生率はそれぞれ18/24(75%)および6/24(25%)で有意差が認められた。雌マウスの同病変の発生率では両群間で差が認められなかった。

【結語】5系統のマウスのうち雌性BALB/cAnNマウスにのみNaAsAプロモーション作用に対する弱い感受性が示されたことから、マウスにおいても膀胱発がんプロモーターに対する感受性に系統差が存在する可能性が示された。

クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) の毒性評価
I. ラットに対する連続経口投与の影響

○中島 信明、川勝 尚夫、小嶋 五百合、武田 眞記夫、榎本 秋子、桑原 真紀、
竹内 幸子、高橋 尚史、原田 孝則
(残農研)

代表的な木材防腐剤であるクロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) を0、8、40および80 mg/kg/dayの用量で雌雄のWistar Hannoverラットに4週間にわたって連続強制経口投与し、その毒性を検索した。80 mg/kg/day群では投与開始直後に雄1例が死亡し、雌雄の約半数に沈静化がみられた。80および40 mg/kg/day群では流涎を示す動物もみられた。臨床検査では、80mg/kg/day群の雌雄および40 mg/kg/day群の雌に貧血、白血球数の増加、低蛋白血症、高コレステロール血症、血漿電解質の変動が認められ、さらに、80mg/kg/day群の雄では尿素窒素および総ビリルビンの増加がみられた。剖検時、80および40 mg/kg/day群の雌雄の肝臓と腎臓の重量に増加、胸腺重量に減少がみられ、さらに、雄では肺重量の増加、雌では脳重量の減少がみられた。胸腺重量の減少は8mg/kg/day群の雌でも認められた。病理組織学的検査では、80mg/kg/day群の雌雄に前胃粘膜角化亢進、小腸粘膜上皮過形成、腎尿細管褐色色素沈着が観察され、雌ではびまん性肝細胞肥大も観察された。80mg/kg/day群の雌の肝臓では酸化ストレスの産物である8-OHdGが増加した。肝臓でのメタロチオネイン遺伝子の発現は80 mg/kg/day群の雌雄で抑制された。

以上の結果から、CCAをラットに連続強制経口投与すると、血液、肝臓、腎臓および消化管に毒性を発現することが明らかとなった。また、CCAは神経や免疫系に対しても影響を及ぼす可能性が示唆された。これらの毒性は雄よりも雌で強く現れる傾向にあった。

本研究は厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業) の「木材防腐剤として使用される化学物質のリスク評価に関する研究」プロジェクトの一環として実施された。

臭素酸カリウムによるラット腎OGG1 mRNAおよび8-hydroxydeoxyguanosineの
変動とin vivo変異原性ならびにイニシエーション活性

○梅村 隆志¹⁾、神吉 けい太¹⁾、黒岩 有一¹⁾、石井 雄二²⁾、岡野 圭太²⁾、
能美 健彦³⁾、西川 秋佳¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾

(¹⁾国立医衛研 病理部、²⁾星薬科大学 分析化学、³⁾国立医衛研 変異遺伝部)

酸化的DNA損傷を起点とした発がん過程の解明を目的に、臭素酸カリウム (KBrO₃) を投与したラット腎臓におけるOGG1 mRNA、8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dG) レベルならびにin vivo変異原性の時間的変化を検討し、さらにラット腎二段階発がんモデルを用いて、イニシエーション活性の有無を検討した。【方法】<実験1>雄6週齢のgpt deltaラットにKBrO₃を500 ppm (発がん用量) の濃度で飲水投与し、投与開始後の1、5、9ならびに13週目の腎臓中のOGG1 mRNAならびに8-OH-dGレベル、またgptならびにSpi- 変異頻度 (MF) を測定した。<実験2>雄6週齢のF344ラットにKBrO₃を実験1と同様に投与、2週間後より1%のNa₃N₃TAを飼料に混じて37週間投与し、腎増殖性病変について検索した。【結果】<実験1>OGG1 mRNAレベルは投与5週目に有意な増加が認められた。8-OH-dGレベルは1週目より有意な高値を示し、投与5週目をピークに以後漸減した。gptMFに変化は認められなかったが、Spi-MFが9週目より有意に増加した。<実験2>尿細管異型過形成の発生頻度ならびに1匹当たりの個数はKBrO₃/Na₃N₃TA投与群でNa₃N₃TA単独投与群に比べ有意に高い値となった。【結論】KBrO₃を投与したラット腎において8-OH-dGレベルの上昇に遅れてOGG1 mRNAレベルさらにはMFの上昇が観察された。また、gpt deltaラットでは点突然変異 (gpt変異) ではなく、欠失変異 (Spi-変異) が誘導されることが示された。さらに、腎二段階発がんモデルの結果は酸化的DNA損傷を介した発がんイニシエーション作用の可能性を示唆するものと考えられた。

臭素酸カリウムの低用量域における腎発癌性—Big Blue ラットでの検討—

○山口 貴嗣、魏 民、大森 雅子、鰐淵 英機、福島 昭治
 (大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

【目的】臭素酸カリウムは食品添加物であり、また水道水中にも含まれている遺伝毒性発がん物質である。今回、Big Blue ラットを用い、臭素酸カリウムのヒトが実際暴露されていると思われる低用量域の腎発がん性とin vivo 変異原性について検討した。【方法】5週齢の雄性Big Blue ラットを8群に分け臭素酸カリウムを0、0.02、0.2、2、8、30、125、500ppmの用量で16週間飲水投与した。屠殺後、腎臓を病理組織学的に解析するとともに、免疫組織学的に細胞増殖能を検索した。またlac I変異頻度をPlaque Color Screening Assayにより解析した。【結果】病理組織学的検索では、30ppm群から炎症、壊死、尿管の再生等が見られたが、低用量では変化は認められなかった。細胞増殖能については125、500ppmで0ppmと比較し有意に上昇し、30ppm以下では有意な増加は認められなかった。またlac I変異頻度は0ppmと比較し、500ppmでは有意に上昇し、125ppmでは上昇傾向を示したが、30ppm以下では有意な増加は認められなかった。【結論】遺伝毒性発がん物質である臭素酸カリウムは高用量においては腎臓に病理学的所見や細胞増殖能を示し、また突然変異を誘発するが、低用量では病理組織学的所見や細胞増殖能を示さず、また突然変異を誘発しないことが判明した。

アカネ色素によるラット腎発がん過程における酸化ストレスの関与について

○井上 薫¹⁾、渋谷 淳¹⁾、禹 桂炯¹⁾、禹 麻美¹⁾、五十嵐 勝秀²⁾、
 黒岩 敬子¹⁾、富士本 仁¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
 (¹⁾国立衛研 病理部、²⁾国立衛研 毒性部)

[はじめに]アカネ色素はアントラキノン系色素であり、本色素や成分の一種lucidinが各種変異原性試験で陽性を示すことから、その発がん機序に酸化ストレスを介した遺伝子傷害の関与が考えられる。そこで今回、本色素の腎発がん過程での細胞増殖や酸化ストレスに関する経時的な解析を実施した。[材料と方法] 6週齢の雄性F344ラットに本色素を0 (Control)、0.1、1.0、5.0%の用量で混餌投与し、投与後3日、1、4、13週目に腎臓を採取し、病理組織学的及び免疫組織化学的検索(PCNA, nitrotyrosine, nitroguanosine, iNOS)を行い、1週及び13週目においては、Affymetrix社GeneChip Rat Genome 230 2.0 Arrayによる腎皮髄境界部での網羅的遺伝子発現解析を実施した。[結果] 5.0%群において投与後1週目に腎皮質近位尿管での細胞分裂像や高度な空胞変性を伴う好塩基性変化が認められ、4週にはその程度は軽減し、13週には尿管再生が高頻度に認められた。また、4週以降の1.0%以上の群に、本色素による発がん好発部位の髄質外帯近位尿管上皮の核の大小不同が認められた。投与群では同部位でのPCNA陽性細胞を多く認め、その陽性指数は3日と1週目において1.0%以上の群で増加し、13週目においても5.0%群で増加した。nitrotyrosine陽性像は3日目から対照群を含む全群の近位尿管上皮にみられたが、投与により用量依存的にその局在が皮髄境界部から皮質に拡大した。iNOS, nitroguanosineはともに皮質の近位尿管上皮で用量に伴い陽性像が拡大した。マイクロアレイによる遺伝子発現解析の結果、5.0%群において対照群に比し2倍以上発現増加した遺伝子数は、1週で49個、13週で137個あり、そのうち酸化ストレス関連の遺伝子はそれぞれ4個、20個認められ、その中でDNA damage-inducible transcript 3とNAD(P)H dehydrogenaseは両時点で発現増加を示した。[まとめ] 以上の結果より、本色素によるラット腎発がん過程において酸化ストレスに加え遺伝子傷害や細胞増殖が関与していることが示唆された。

FT-ICR-MSを用いたAmiodarone誘発性リン脂質症ラットの尿メタボノミクス解析

○長谷川 美奈¹⁾、長谷川 陽子²⁾、竹中 重雄^{1,2)}、桑村 充^{1,2)}、津山 伸吾^{1,2)}
 (1)大阪府立大学大学院 獣医、²⁾大阪府立大学 獣医)

(目的)リン脂質症は医薬品の開発において問題となることが多く、そのスクリーニング手法が求められている。そこで、我々は、近年メタボノミクス解析の有用なツールとして注目されている、フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析装置 (FT-ICR-MS) を用い、薬剤誘発性リン脂質症ラットの尿メタボノミクス解析を実施した。(方法) 全身諸臓器にリン脂質の蓄積を誘発する抗不整脈薬 amiodarone 300mg/kg を雄性ラットに3日間経口投与し、経時的に尿を採取した。採取した尿は、0.1% 蟻酸アンモニウムを含む溶媒 (アセトニトリル:水=1:1) で希釈し、インフュージョンによるポジティブおよびネガティブイオン測定を実施した。得られたMSスペクトルから多変量解析を行い、さらに、媒体対照群および薬剤投与群間において変動した分子の同定ならびに構造解析を試みた。また、剖検時に臓器を採取し、病理組織学的検査を実施した。(結果および考察) 病理組織学的検査の結果、リン脂質症が誘発されていることを確認した。さらに、MS解析の結果、ネガティブイオンのMSスペクトルは投与とともに変動し、主成分分析によって異なることが示された。さらにNMRを用いたリン脂質症尿メタボノミクス解析で報告のある、フェニルアセチルグリシン (PAG) の増加を確認した。加えて、それ以外の分子の増減も確認した。以上の結果より、FT-ICR-MSは、その質量精度の高さおよび簡便性からリン脂質症メタボノミクス解析の有用な手法であり、バイオマーカー探索も可能であることを明らかにした。

HISTOLOGICAL INVESTIGATION OF PROLIFERATIVE
 TUBULE PROFILES OCCURRING IN ADVANCED
 CHRONIC PROGRESSIVE NEPHROPATHY (CPN)
 IN THE FISCHER 344 RAT

John Curtis Seely¹⁾ and Gordon C. Hard²⁾

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

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

In standard 2-year rat carcinogenicity studies the frequency and severity of chronic progressive nephropathy (CPN), an age-related disease of spontaneous origin, can become a confounding factor in the interpretation and diagnosis of proliferative tubule profiles and their relationship to neoplastic development (Hard and Khan, 2000). This is because proliferative tubule profiles difficult to distinguish from preneoplastic hyperplasia are relatively common. Recently (Hard and Seely, 2005) surveyed a large sample of rats with advanced CPN, identifying proliferative tubule profiles that appeared to be integral components of CPN and providing recommendations for their discrimination from atypical tubule hyperplasia (ATH). In particular, serial sectioning was informative in characterizing the origin and fate of intratubular cell clusters, dilated tubule profiles and solid tubule profiles. In addition, the level of cell turnover was less than was characteristic for ATH. These investigations provide further support that CPN-associated tubule profiles are biologically different from preneoplastic tubule lesions.

P-61

ラットを用いたDEHPおよびDEHAの腎機能障害下における雄生殖器機能への影響

○難波江 恭子¹⁾、土井 悠子^{1,2)}、高橋 智²⁾、市原 敏夫^{1,2)}、玉野 静光¹⁾、白井 智之²⁾

(¹⁾(株)DIMS医科研、²⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 実験実態病理)

【目的】動物を用いた毒性評価あるいは毒性発現の研究は通常、正常の動物が用いられており、毒性の特徴、強度をもとにNOELやNOAELなどが決定されている。ヒトにおけるリスクを評価する場合、幼少期、若齢期など年齢要因は良く検討されている課題であるが、病的状態での評価は重要であるもののほとんどなされていない。そこで今回、プラスチック可塑剤として使用されており、内分泌かく乱作用が疑われているdi(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)とdi(2-ethylhexyl) adipate (DEHA)の雄性生殖器に対する毒性が、腎機能が低下した状態でどのように修飾を受けるかについてラットを用いて検討した。

【方法】5週齢のF344系雄ラットに葉酸を週1回、5週間皮下投与し、腎障害を起こした後DEHPとDEHAをそれぞれ0、6000、25000ppmで飼料に混じて4週間連続投与する全経過9週の実験を行った。対照群には葉酸を投与せずDEHPとDEHAを葉酸投与群と同様の3用量で投与した。

【結果】葉酸投与群では25000ppm DEHPによって精巣重量の著明な減少と精細管の萎縮や消失あるいは精母細胞や精子細胞の空胞化がみとめられ、精子数や精子運動能が明らかに低下した。これらの変化は葉酸非投与DEHP群では観察されなかった。血中、精巣中および尿中のDEHPおよびDEHPのモノ体であるMEHP濃度は葉酸投与によって有意に上昇した。DEHAではいずれの群においても精巣毒性は見られなかった。

【結論】以上、葉酸投与による腎障害を起こすことで、DEHPの雄性生殖器障害が増強されることが明らかとなった。また生化学的研究から血中のMEHPの増加が精巣毒性の増強に関与していることが示唆された。DEHAではいずれの群においても精巣毒性は見られなかった。

追記:本研究は名城大学薬学部衛生化学研究室、小嶋伸夫、戸田千登世、植田康次、岡本誉士展との共同研究である。

P-62

3,3'-iminodipropionitrile (IDPN)のラット精巣に及ぼす影響について

○中澤 晶子¹⁾、湯浅 敦子¹⁾、阿部 寛²⁾、柿沼 千早¹⁾、寺島 薫¹⁾

(¹⁾富士写真フイルム(株) 素材試験センター、²⁾順天堂大学医学部病理学第1講座)

3,3'-iminodipropionitrile (IDPN)は近位軸索変性を起こす神経毒性陽性物質として神経毒性試験に広く使用されている。今回当試験施設においてラットを用いたIDPNの反復投与毒性試験を実施したところ、神経毒性の他に精巣に対しても影響が認められたので報告する。

【方法】6週齢の雄SD:IGSラット40匹を8群に分け、1群あたり5匹に0(対照)または100mg/kgの用量でIDPNを28日間強制反復経口投与した。28日間の投与終了後0、14、28、56日間の休薬期間を設け、休薬終了翌日にそれぞれ対照群と投与群各5匹を屠殺し、精巣および精巣上体の光学顕微鏡による病理組織学的検査を実施した。

【結果】精巣のHE染色標本による病理組織学的検査の結果、28日間の投与終了翌日屠殺した群では精母細胞および精子細胞の壊死が認められた。14日間休薬群では精母細胞および精子細胞の壊死に加えて精細管内の空胞形成が認められた。28日間休薬群の精巣には多核巨細胞が出現し、精子形成細胞の減少による精細管の萎縮が認められた。56日間休薬群では精上皮はほぼ全て消失し、セルトリ細胞が残存するのみで、軽度の精巣間細胞の増生も認められた。精巣上体においては、上記の精巣の変化に対応して精巣上体管内の精子数減少、多核細胞の出現および崩壊産物の増加が観察された。以上の結果より、IDPNの28日間反復経口投与により雄ラット精巣に毒性作用を及ぼすことが示されたが、同変化の報告は過去にはみられない。その毒性発現機序を明らかにするために、現在精細管の免疫組織化学的手法を含めた詳細な検討を実施中であり、その結果も合わせて報告する。

P-63

mono-(2-ethylhexyl) phthalate投与により誘導されるセトリ細胞障害後に 発生する生殖細胞の細胞死の分子学的経路

○山崎 雅輝^{1,2)}、岡村 美和¹⁾、本 光喜¹⁾、六車 雅子¹⁾、樫田 陽子³⁾、鈴木 雅実²⁾、三森 国敏¹⁾
(¹⁾東京農工大学農学部獣医病理学研究室、²⁾中外製薬(株)、安全性研究部、
³⁾Div. Medicinal Chemistry & Pharmacognosy, Ohio State University)

一般的にアポトーシス経路はFas/FasLに代表されるDeath-receptor/ligand経路とミトコンドリア経路の2経路に大別される。セトリ細胞障害後に生殖細胞にアポトーシスを誘導するとされるmono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) についてはFas/FasLの関与が明らかにされている一方、Acytochrome cの増加などミトコンドリア経路の関与も示唆されている。しかし、直接的なミトコンドリア経路に関わる遺伝子発現についての報告はない。そこで今回、アポトーシスの発生とFas/FasLの関与を確認し、ミトコンドリア経路について分子病理学的な検討を行ったので報告する。F344ラットにMEHP (2000mg/kg body weight) を単回経口投与し、アポトーシス証明のために病理組織学的検索、TUNEL染色法、またアポトーシス経路検索のためFas, Bax, Bcl-2, Bcl-XS, Bcl-XLの遺伝子発現をRT-PCR法にて解析した。病理組織学的検索とTUNEL染色法により、MEHP投与12時間後にアポトーシスを起こした生殖細胞の増加が観察された。アポトーシス経路の解析では、Fas/FasL経路に関わる遺伝子であるFasが投与後12時間後に高発現し、Fas/FasL経路の関与を確認した。一方、ミトコンドリア経路に関しては、アポトーシスを促進するBaxおよびBcl-XSのうちBaxが投与12時間後に高発現し、また、アポトーシスを抑制するBcl-2およびBcl-XLのうちBcl-2が投与12時間後に高発現した。これらの結果からMEHPによるラットでの生殖細胞のアポトーシスにはFas/FasL経路とともにミトコンドリア経路も関与していることが示唆された。

P-64

NobiletinおよびAurapteneによるprobasin/SV40 T 抗原トランスジェニック ラット前立腺癌の抑制効果

○唐 明希¹⁾、小川 久美子¹⁾、朝元 誠人¹⁾、外岩戸 尚美¹⁾、AZMAN SEENI¹⁾、
鈴木 周五¹⁾、高橋 智¹⁾、田中 卓二²⁾、白井 智之¹⁾
(¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理、²⁾金沢医科大学 腫瘍病理)

[はじめに] 柑橘類由来の癌予防候補物質であるNobiletin とAuraptene はそれぞれラット化学発がんにおいて前者は大腸癌の、後者は大腸、食道、口腔、肝細胞癌の抑制作用が報告されている。今回、前立腺癌を高率に発生するprobasin/SV40 T抗原トランスジェニック (SV40Tag) ラットを用い、発がん抑制効果を検討した。[方法] 5週齢雄SV40 Tag ラット27匹を3群に分け、対照群は無処置群とし、実験群には0.05% Nobiletin またはAuraptene を15週間混餌投与後屠殺剖検し、前立腺を病理組織学的に検討した。[結果] 各群間で血中Testosterone 濃度に差異はなかった。病理組織学的には全動物に前立腺癌を認め、頻度に有意な差はなかったが、画像解析による定量的検討では、Nobiletin投与群の腹葉と背側葉およびAuraptene投与群の側葉前立腺上皮の相対面積は対照群より有意に低値であり、前立腺腹葉において腺癌細胞が優勢を占める腺の割合は、Nobiletin投与によって有意に減少し、側葉では両者で有意に減少した。前立腺腹葉癌組織のBrdU標識率およびSV40 T抗原の発現はNobiletin投与で有意に減少した。[結論] Nobiletin とAuraptene はSV40 Tag ラットの前立腺発癌に対して抑制作用を有することが示された。腫瘍抑制のメカニズムはまだはっきりわかっていないが、Nobiletin の細胞増殖抑制、SV40 T抗原発現抑制との 関連が示唆された。SV40 TagラットはAndrogen依存性前立腺発癌モデルであるにも関わらず、Testosterone濃度に変化はなく、このメカニズムの解明が期待され、両者とも、ヒト前立腺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-65

新生仔期エストロゲン投与雌SDラットにおける乳腺の形成
—特にterminal end buds (TEBs)細胞の遺伝子発現について—

○早田 正和、川口 博明、川島 英夫、堀 隆夫、船戸 護、吉川 剛、梅北 善久、吉田 浩己
(鹿児島大大学院医歯学総合研究科 腫瘍学講座)

【目的】 新生仔期に内分泌攪乱物質を1回投与した雌SDラットにおける乳腺形成と、特にterminal end buds (TEBs)への影響を検討した。【材料と方法】 生後24時間のSD雌ラットへdiethylstilbestrol (DES: 0, 1 μ g, 100 μ g)を皮下投与し、生後14日、21日、35日、49日目に乳腺を採取し、whole mount法で乳腺形成過程を検索し、さらにマイクロダイセクション法を用いて、採取したTEBsにおける遺伝子発現について検討を行った。【結果】 1)ラット腹部乳腺内におけるTEBs数は、DES無処置対照群に比べDES大量100 μ g投与群では、生後14日目で有意に多く、その後21日、35日、49日目で有意に減少した。またDES少量1 μ g投与群では、DES無処置対照群に比べ14日、21日目では有意な差はなく、35日、49日目では有意に増加した。2)ラット腹部乳腺内TEBsの遺伝子発現については、estrogen receptor α (ER)及びtopoisomerase II α (T)の著明な変化は見られなかったが、TではDES無処置対照群に比べDES大量100 μ g投与群では、35日、49日目には減少傾向にあった。【まとめ】 新生仔期のDESは、投与量によりラットの乳腺形成及びTEBs内の遺伝子発現へ独特の影響を及ぼし、乳癌刺激への感受性に違いを生じさせることが示唆された。

P-66

低用量の7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)を長期間頻回投与(週2回)したときの乳癌/乳腺症の発生について

○堀 隆夫^{1,2)}、川口 博明¹⁾、田口 周平¹⁾、船戸 護^{1,2)}、早田 正和¹⁾、
小玉 拓郎¹⁾、吉川 剛^{1,2)}、永岡 隆晴²⁾、吉田 浩己¹⁾

(¹⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍学講座、²⁾株式会社 新日本科学 安全性研究所 病理研究部)

【目的】 化学発癌物質である7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)を低用量で長期間頻回投与したときの乳癌及び乳腺症発生について調べた。【材料と方法】 雌SDラット(投与開始時の日齢Age28もしくはAge30)に7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA, 100, 200, 500, 1000 μ g/body)を週2回経口投与し、乳癌および乳腺症の発症について調べた。投与は瀕死と判断されるまで継続して実施した。また、100 μ g群及び200 μ g群は、Age35以降散発的に死亡動物がみられたため、腫瘍を観察しながらAge549までに全例解剖を実施した。【結果】 平均解剖日は100, 200, 500, 1000 μ g投与群でそれぞれ499.3, 449.4, 251.6, 140.4日であった。乳癌の発生頻度は100, 200, 500, 1000 μ g投与群でそれぞれ28.6 (2/7例)、62.5 (5/8例)、87.5 (7/8例)、100% (10/10例)であった。乳腺症の発生頻度は100, 200, 500, 1000 μ g投与群でそれぞれ85.7 (6/7例)、87.5 (7/8例)、87.5 (7/8例)、20% (2/10例)であった。乳癌及び乳腺症の潜伏期間は100 μ g投与群で乳癌442.5、乳腺症468.1日、200 μ g投与群で乳癌419.2、乳腺症404.4日、500 μ g投与群で乳癌209.4、乳腺症244.1日、1000 μ g投与群で乳癌121.5、乳腺症153.0日であった。乳癌及び乳腺症の1例あたりの平均個数は100 μ g投与群で乳癌0.29、乳腺症4.14個、200 μ g投与群で乳癌1.25、乳腺症10.63個、500 μ g投与群で乳癌2.63、乳腺症1.13個、1000 μ g投与群で乳癌5.60、乳腺症0.20個であった。【まとめ】 乳癌は用量が高いほど、短期に、高頻度で発生した。乳腺症も用量が高いほど、短期間で発症した。500, 1000 μ g投与群では乳癌の方が乳腺症より早く発症するが、100, 200 μ g投与群では、乳癌と乳腺症はほぼ同時期に発症した。乳癌及び乳腺症の1例あたりの平均個数は100, 200 μ g投与群では乳腺症の方が乳癌より多く、500, 1000 μ g投与群では乳癌の方が乳腺症より多くの腫瘍を認めた。

P-67

アクリルアミドのラット乳腺発がん作用に対する抗酸化及び第II相酵素誘導物質の抑制効果

○高見 成昭、今井 俊夫、蓮村 麻衣、曹 永暁
(国立衛研 病理)

【目的】アクリルアミド(AA)は還元糖及びアスパラギンを含む食品を焼くあるいは揚げることにより生成され、広く加工食品中に含まれている。AAの毒性については神経毒性、生殖毒性の他、遺伝毒性及びがん原性が報告され、IARCでは2Aに分類されている。我々はAAの発がん性を抑制する物質を検索する目的でN-methyl-N-nitrosourea (MNU)によるイニシエーション後AAを投与するラット乳腺発がんに対するスクリーニング系を確立し、抑制候補物質について検索を行ってきた。今回、効果が期待されるいくつかの物質を明らかにしたので報告する。【方法】7週齢のSD系雌ラット100匹にMNU (50mg/kg)を単回腹腔内投与し、その1週後よりAA (40ppm)を飲水投与した。AAと同時に、抗酸化作用をもつ α -lipoic acid (LA)、抗酸化及びAAの代謝活性化に関与するCYP2E1の阻害作用などをもつ18 β -glycyrrhetic acid (GA)、抗酸化及び第II相酵素誘導作用をもつindole-3-carbinol (I3C)、CYP2E1阻害及び第II相酵素誘導作用をもつdisulfiram (DSF)を21週間混餌投与した。実験期間を通じて経時的に触診を行なうとともに、実験終了時には剖検を行い皮下腫瘍/結節を全て採材し病理組織学的検索を行なった。【結果】MNU-AA処置のみを行なった対照群に比べDSF群では顕著な体重増加抑制を示した。乳腺腫瘍の発生頻度及び発生数は、LA、GA及びI3C群において有意な($p < 0.05$)低値あるいは低値傾向を示した。DSF群においても発生頻度及び発生数の有意な($p < 0.01$)低値を示したが、体重増加抑制が影響している可能性が否定できないと考えられた。【結論】AAによるラット乳腺発がんの抑制には抗酸化、CYP2E1阻害あるいは第II相酵素誘導作用をもつ物質が有効であることが示唆された。

P-68

CD (SD) IGS雌ラットにおける自然発生性乳癌の免疫組織化学的検索 -MMP-2およびMMP-9の発現と肺転移との関連について-

○安井 雄三、長井 佳代子、山下 龍、石崎 まゆみ、大平 東子、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
(安評センター)

【はじめに】CD (SD) IGSラットを用いた2年間がん原性試験において、自然発生性の乳癌腫瘍が高頻度に発生する。線維腺腫が最も多く発生するが、それに次いで乳癌の発生も比較的多く(当センター背景データ;乳癌:24.7%)、時折、肺に転移する例も観察される。乳癌および種々の腫瘍の転移において、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)が関与していることがヒトやイヌなどで報告されているが、ラットの自然発生性乳癌におけるMMPの検索に関する報告は見当たらない。今回、我々はラット乳癌の肺転移とMMPの発現との関連性を明らかにする目的で、肺に転移を認めた乳癌3例を含む計13例の自然発生性乳癌について免疫組織化学的検索を試みた。

【材料および方法】がん原性試験に供されたCD(SD)IGS雌ラットで乳癌と診断された対照群13例を検索した。定法に従い病理組織標本作製し、H.E.染色、免疫組織化学的染色(抗体:MMP-2、MMP-9、vimentin、 α -smooth muscle actinなど)を行った。

【結果】13例すべての乳癌において、腫瘍化乳癌上皮細胞がMMP-9に陽性(++~+)を示した。但し対照として検索した線維腺腫および正常乳癌の上皮細胞もMMP-9に陽性(+)であった。肺に転移を認めた乳癌3例において、紡錘形から多角形の間質細胞がMMP-2に陽性(++)を示した。他臓器に転移を認めなかった乳癌10例についてはMMP-2に陰性であった。但し対照として検索した4例中2例の線維腺腫の間質細胞もMMP-2に散在性に陽性(+)を示した。

【考察・まとめ】1.MMP-9は正常乳癌上皮、線維腺腫および全ての乳癌の上皮細胞に対して陽性を示したことから、MMP-9と肺転移との相関を明確にする事は出来なかった。2.MMP-2は肺に転移を認めた乳癌3例の間質細胞に陽性を示したことから、MMP-2と肺転移との相関の可能性があった。3.MMP-2は4例中2例の線維腺腫の間質細胞にも陽性を示したことについては追跡調査が必要である。今後、症例数を増やし、更に検索する予定である。

カニクイザルの子宮にみられた異所性卵巣組織

○桑村 有規、掛樋 君子、谷川 洋平、上村 裕洋、藤島 純子、古川 知宏、平川 公昭、宮嶋 宏彰
(株式会社 新日本科学 安全研)

【はじめに】カニクイザルは安全性試験で汎用され、その背景データも多く報告されている。しかし、サルの子宮における異所性の卵巣組織については、その発生頻度を含めた報告は見当たらない。最近、当施設で実施したカニクイザルを用いた毒性試験において、子宮に卵巣組織がみられた。その発生頻度を調査するとともに、病理組織学的に検討したので報告する。【材料および方法】3~7歳の中国およびインドネシア産カニクイザル118例の子宮について、病理組織学的検査を実施し、異所性卵巣組織の発生率および組織学的特徴を検索した。【結果および考察】子宮における異所性卵巣組織は118例中9例(7.6%)で認められた。同組織は微小であり、切り出し後の断面および漿膜面からは肉眼的に確認できなかった。組織学的に、同部は子宮体部の子宮広間膜付着部の漿膜下にみられ、周囲組織との境界は不明瞭であり、原始卵胞あるいは一次卵胞ならびに紡錘形細胞からなる間質組織で構成されていた。卵胞の多くは一次卵胞であり、閉鎖過程にあるものも散見された。また、少数ではあるが比較的大型の閉鎖卵胞が存在し、一次卵胞以降への成熟が示唆された。なお、正常卵巣組織とは異なり卵巣髄質、成熟卵胞および黄体は確認できなかった。生産地(繁殖場)および年齢による発生率の差はなかった。子宮は、その発生過程で卵巣を巻き込んで進展する子宮広間膜によって保定されていることから、子宮発生のいずれかの時期において、その漿膜下に卵巣組織が迷入したものと推察された。

F344ラットの子宮内膜がんにおける β -catenin、p53の免疫染色態度について

○飯田 麻里、岩田 聖、今井 清
((財)安評センター)

【目的】 F344ラットの自然発生性子宮内膜がんは、従来、発生率1%以下の稀な腫瘍であった。しかし、安評センター病理背景データを調べてみると10年前と比較して増加傾向にある(1991-1993:0.8%、1997-1999:2.8%、2002-2005:3.5%)。また投与物質の種類に関係なく、時として2年間発がん試験において被験物質投与群に発生が増加することもあり問題となる。ヒト子宮内膜がんについては様々なたんぱく質/遺伝子異常が今までに報告されているが、ラットなどのげっ歯類において遺伝子解析はほとんど進んでいない。F344ラットの子宮内膜がんの発生メカニズムを明らかにすることを目的に、今回は子宮内膜がんにおける β -catenin、p53の免疫染色態度について検討した。

【材料】 F344ラットの対照群に発生した自然発生性子宮内膜がん(S)5例および被験物質投与群で増加した子宮内膜がん(I)10例を用いた。

【方法】 p53(NCL-p53-CM5p, Novocastra Ltd., UK)、 β -catenin(BD Biosciences, NJ, USA)の抗体を用いてパラフィン切片から免疫組織学検索を行った。

【結果】 β -cateninの腫瘍細胞の細胞膜での発現減少がSの4/5例、Iの全例において認められた。正常内膜上皮細胞の細胞膜では β -cateninの発現は一定を保っていることから、 β -cateninたんぱく質の発現減少は腫瘍に特有の現象であることが示唆された。また、腫瘍細胞の細胞質内で β -catenin陽性部位が顆粒状を呈するものがSの4/5例、Iの7/10例において認められた。同様の β -cateninの発現態度は様々なヒトのがん(結腸、肝臓、胃、膵臓など)でも観察されている。また核内での β -cateninの過剰発現はSの1/5例、Iの1/10例において認められた。一方p53の核内発現は、現在までのところS:1例、I:2例に認められている。今後はPten、Estrogen Receptor、 β -catenin、p53、k-rasなどのたんぱく質の発現量の変化あるいは遺伝子変異との関連について調査したい。

ラット甲状腺発がん過程にみられる被膜炎の免疫病理学的解析

○蓮村 麻衣¹⁾、今井 俊夫¹⁾、太田 世志雄¹⁾、高見 成昭¹⁾、曹 永晩¹⁾、
蜂須賀 暁子²⁾、手島 玲子²⁾、広瀬 雅雄¹⁾

(¹⁾国立衛研・病理、²⁾国立衛研・機能生化)

【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発がん過程において、SDMの作用によりリンパ球とマクロファージを主体とした被膜炎が誘発され、発がんプログレッションに寄与している可能性のあることを報告してきた。今回、被膜炎の発生原因を明らかにする目的で、その候補の一つとして自己免疫を疑い、免疫組織学的に甲状腺組織におけるthyroglobulin (Tg)の発現変化を検索するとともに、血清中のTg抗体量及び抹消血のリンパ球/NK細胞の動態を解析した。【方法】F344雄ラット40匹にDHPN(2800 mg/kg)を単回皮下投与した1週後より0.1%SDMを飲水投与し、SDM投与開始10週目まで経時的に動物を屠殺して甲状腺を採取し、病理組織学/免疫組織学的検索を行った。また、ELISA法により血清中Tg抗体量の変化を、フローサイトメトリー (FCM)法により抹消血のリンパ球/NK細胞の動態を解析した。無処置あるいはDHPNのみを投与したラット40匹を対照とした。【結果】病理組織学的にSDM投与開始4-5週目をピークとして強い被膜炎がみられるとともに、主に炎症のみられる被膜付近に、濾胞が崩壊、単離した濾胞上皮細胞が被膜へ浸入する像が観察された。また、大部分の濾胞上皮細胞はTg陰性であったが、被膜付近では細胞質がTgに陽性を示す濾胞上皮が僅かながら認められた。血清中のTg抗体量及び抹消血のリンパ球/NK細胞の動態において、被膜炎の発生に関連した明らかな変化は認められなかった。【結論】ラット甲状腺発がん過程において、被膜付近における濾胞の崩壊及び濾胞上皮細胞にTgの蓄積を示唆する所見がみられ、自己免疫の起こり得ることが示されたが、血清中Tg抗体及びFCMでは被膜炎に対する自己免疫の関与について否定的な結果が得られた。現在、Tg以外の甲状腺自己抗体の解析を行っている。

BrIHan:WIST@Jcl (GALAS)ラットに認められる甲状腺濾胞上皮細胞の空胞化/水腫性変化における組織細胞化学的観察およびサイログロブリン合成系への関連について

○斉藤 義明、白見 憲司、桑形 麻樹子、今野 和則、田子 和美、高島 宏昌、永田 伴子
(食薬センター 秦野研)

BrIHan:WIST@Jcl (GALAS)ラットでは、甲状腺濾胞上皮細胞に空胞あるいは水腫性変化がしばしば認められ、この水腫性変化が認められる両親からの児は、約4分の1の確率で矮小児となることが知られている。これら矮小児ではT3およびT4は低値を、TSHは高値を示すこと、矮小性がなく水腫性変化を示す同腹児ではこれらホルモン濃度に影響がないことも報告されている。今回、矮小性がなく水腫性変化がみられる児について組織化学的に検索し、サイログロブリン合成系への関連について検討した。雌雄11週齢のGALASラット(日本クレア株式会社)を交配し、矮小児の同腹児から正常の雄を用いた。対照として、IGS雄ラットを用いた。各動物は、全身灌流固定後に甲状腺を摘出してG-6-P染色を行い、濾胞上皮細胞を電顕的に観察した。また、³H-ロイシン(Le)を静脈内投与5、30および45分後に甲状腺を摘出し、オートラジオグラフィー標本(ARG)を作製した。IGSのG-6-P染色では、小胞体および核膜周囲に陽性反応が認められた。GALASラットにおいても小胞体および核膜周囲に陽性反応を示したが、核基底側の大型空胞には反応性が認められなかった。一方、軽度に拡張した小胞体構造には陽性反応を示したが、拡張の度合いにより分布が異なっていた。IGSのLe投与によるマイクロARG観察では、グレインは投与5分後に濾胞上皮核基底側に、30分ではコロイド側に、45分ではコロイド内に認められた。GALASラットの投与5分後では、核基底側の大型空胞以外の部位に、投与30分後では、コロイド側にグレインがみられたが、投与45分後ではグレインはほとんど観察されなかった。以上の結果から、甲状腺濾胞上皮細胞に水腫性変化を示し、内分泌系に影響を及ぼさないGALASラットでは、サイログロブリンの合成系に正常とは異なった機構あるいは経路が存在する可能性が考えられ、電顕ARGの結果とあわせて報告する。

Crj:CD (SD) IGSラット脾臓における自然発生性病変

○今岡 尚子、後藤 真由美、田郷 聡子、青木 貴志、土屋 俊也、鈴木 貴美、
野崎 浩介、佐藤 洋、古濱 和久
(第一製薬株式会社 安全性研究所)

ラット脾臓では、加齢に伴ったβ細胞の過形成、色素沈着ならびに線維性隔壁形成などの自然発生性病変が報告されているが、出血についての詳細な検討は殆どなされていない。今回、出血を中心とした脾臓の加齢性病変を調べるため、雌雄 Crj:CD (SD) IGS ラット (n=20) にCRF-1飼料 (日本チャールス・リバー) を自由摂取させ、8、12、18および26週齢に屠殺した。試験期間中、一般状態観察、体重および摂餌量測定、血液および血清生化学検査 (血清インスリン測定を含む)、剖検および脾臓の組織検査を行った。その結果、各週齢とも脾臓の肉眼的病変は観察されなかったが、組織学的に、脾臓への褐色色素沈着が雄の12週齢で6例、18週齢で15例、26週齢では18例にみられた。これらの色素はベルリンブルー染色で青染し、鉄色素を含むことが示された。また、出血は12週齢で5例、18週齢で11例、26週齢では16例に認められ、統計学的に加齢による発生頻度の有意な増加がみられた。一方雌では、色素沈着は12週齢の5例、18週齢の7例、26週齢の12例にみられたものの、出血は12および18週齢に各1例、26週齢でも4例に認められたのみであった。脾臓病変は雌雄ともに、脾臓の辺縁あるいは中心部の色素沈着を伴った出血として認められたが、特に雄では加齢とともに脾臓を小巣状に区切る線維性隔壁が厚くなる傾向にあった。各週齢の動物を雌雄毎に、出血の有無によって2群に分け、各種臨床・血清生化学的パラメータを統計学的に比較したところ、出血群で12週齢の体重および血清グルコース値が有意に増加したが、18週齢以降は差がなかった。インスリン値にはいずれの週齢においても差がみられなかった。以上、CD (SD) IGSラットで脾臓の出血が自然発生変化として認められ、その発現頻度は雌に比して雄で高く、加齢により増加した。この結果は、以前に我々が実施した高栄養CMF-R飼料を用いた試験の成績とほぼ一致していた。なお、出血の形態的特徴および転帰の精査のため、電顕および脾臓BrdU免疫染色の所見についても報告する。

DHPN-sulfadimethoxine誘発ラット甲状腺発がんに対するインドメタシン及びニメスリドの影響

○今井 俊夫、太田 世志雄、蓮村 麻衣、高見 成昭、曹 永晩、広瀬 雅雄
(国立衛研 病理)

【目的】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、発がん初期過程にリンパ球とマクロファージを主体とした被膜炎が誘発され、その後、被膜周囲に浸潤性増殖を示す腺癌が高頻度に誘発されることから、炎症が発がんプログレーションに関与している可能性のあることを報告してきた。また、ラット甲状腺濾胞上皮にはcyclooxygenase (COX)-2が構成的に発現し、被膜における炎症細胞でもその誘導がみられるが、濾胞上皮の増殖性病変 (巣状過形成、腺腫及び腺癌) ではその発現が著しく低下することを示した。今回、発がん過程におけるCOX-2の役割を、COX-1/COX-2阻害剤であるインドメタシンあるいはCOX-2阻害剤のニメスリドを用いて検討した。【方法】6週齢のF344雄ラット105例にDHPN (2800mg/kg) を単回皮下投与し、その1週後よりSDM (0.1%) を飲水投与するとともに、インドメタシン (0.0025%) あるいはニメスリド (0.04%) を同時に混餌投与した。SDM投与開始後4、10週目に動物を屠殺して甲状腺重量を測定、病理組織学的及び細胞動態学的検索を行った。【結果】4週ではSDM単独群とインドメタシン/ニメスリド併用群との間に、甲状腺重量、被膜炎の程度及び増殖性病変の発生頻度/数に変化はみられなかった。細胞増殖率については、増殖性病変では変化がなかったが、その周囲濾胞組織ではインドメタシンの併用により有意に ($p < 0.05$) 低下した。10週ではSDM単独群に比し、インドメタシン/ニメスリド投与群で甲状腺重量の有意な ($p < 0.01, 0.05$) 減少が認められたが、増殖性病変の発生頻度/数に影響はなかった。細胞増殖率については4週と同様の結果が得られた。【結論】DHPN-SDM誘発ラット甲状腺発がんモデルにおいてインドメタシンあるいはニメスリドは増殖性病変の発生に影響を示さなかったことから、濾胞上皮細胞に構成的に発現、あるいは炎症細胞に誘導されたCOX-2は、発がんに対して重要な因子ではない可能性が示された。

変異型Hrasトランスジェニックラットを用いたヒト膵がんモデルの確立

○深町 勝巳、大嶋 浩、アレキサンダー デビッド、上田 しのぶ、津田 洋幸
(名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性)

変異型c-Ha-ras遺伝子をin vivoの細胞においてCre/loxPシステムによりコンディショナルに発現させ得るトランスジェニックラットを作製した(Hras200系)。このラットではがんの細胞発生と初期発がん過程を詳細に細胞レベルで観察することが可能であり、また、細胞発生の異なる組織型のがんの生物学的特性の解析に役立てることが可能である。

Cre recombinase発現アデノウイルスベクターをHras250に経胆道的に総胆管から膵管に向かい注入した。その結果、膵管(pancreatic ducts)、腺房中心細胞(centroacinar cells)と介在管(intercalated ducts)において活性型Hras遺伝子が発現誘導され、それぞれよりがんを発生させる事に成功した。5週で膵管上皮の異型過形成、介在管上皮の過形成と介在管の増殖、腺房中心細胞の異型増殖が観察された。9週ではそれぞれから中分化型膵管がんの発生がみられ、膵がん特有なdesmoplastic腺がんも見られた。発生したがんは管状、乳頭状腺がんであり、免疫染色にてCytokeratin19、7、COX2およびMMP7陽性を示した。一方、腺房細胞(acinar cells)にも活性型Hras遺伝子の発現誘導は確認されたが、がんの発生はなかった。ヒトでは、ほとんどが膵管由来であり、Hras250はヒトに極めて類似した膵がんを発生させる事が可能になった。本モデルは短期間に確実に膵管由来のがんを発生させる事が出来ることから、膵がん悪性度や進展様式の解析、化学治療剤の開発等への応用は広いと考える。

Estrogen誘発ラットプロラクチノーマの病態とVEGF発現の関連について

○美谷島 克宏^{1,2)}、竹腰 進²⁾、柿本 恒知^{1,2)}、峰松 健夫²⁾、梶谷 華子²⁾、正田 俊之¹⁾、
岩坂 俊基¹⁾、高橋 明美¹⁾、小泉 治子¹⁾、宮川 義史¹⁾、長村 義之²⁾
(¹⁾日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所、²⁾東海大学 医学部 基盤診療学系病理診断学)

【はじめに】Estrogen誘発ラットプロラクチノーマ(PRLoma)は、下垂体前葉のPRL細胞の増殖に加え、顕著な血管形成を伴うという特徴的な所見を示す。我々は、本モデルにおいてEstrogenの投与量及び投与期間を変えることによる病態と血管増殖因子(VEGF)との関連を解析した。【方法】雌性F344系ラット7週齢にエストラジオール(E2)を30、300、3000 μ g/kgの用量(低、中、高用量)で、4ないし13週間にわたり1週間に1回筋肉内投与した。解剖後に下垂体を採取し、下垂体重量、病理組織学的検査、免疫組織化学(IHC)、Real Time RT-PCR法による解析を実施した。IHCは、VEGF-プロラクチン(PRL)、VEGF-S100の二重染色の他、PRL転写因子であるPit-1及びEstrogen Receptor (ER)、細胞増殖の指標であるki-67について実施した。また、Real Time RT-PCR法によりVEGF、ER α 及び β 、Pit-1のmRNAの発現量について解析した。【結果】下垂体重量及びPRL細胞の増殖活性は、E2の用量及び投与期間に依存して増加し、E2高用量の13週間処置群では全例にPRLomaが誘発された。IHCにおいて、VEGFは対照群の正常下垂体で主にS100陽性を示す濾胞-星状細胞(FS細胞)に認められたのに対し、PRLomaではPRL陽性の腫瘍細胞に認められる傾向を示した。VEGF mRNAは、4及び13週間ともにE2の用量に依存した増加傾向を示し、特にE2高用量で誘発したPRLomaでは顕著な発現の増加が認められた。一方、IHC及びReal Time RT-PCR法による解析の結果、E2高用量で誘発した腫瘍組織ではER、Pit-1のいずれもが対照群の正常下垂体に対し低下することが判明した。【考察】本モデルで惹起されるPRLomaでは、VEGFは主に腫瘍細胞で生成され、E2の曝露条件に相関して増加し、病態の進行に深く関与していることが示唆された。

Doxilのマウス静脈内間歇投与によるヒトPalmar-Plantar Erythrodysesthesia様皮膚病変

○甲斐 清徳、鈴木 貴美、土屋 俊也、梶村 哲世、古濱 和久
(第一製薬株式会社 安全性研究所)

【緒言】臨床においてアントラサイクリン系抗がん薬doxorubicinのリポソーム製剤doxilの用量制限毒性は皮膚のPalmer-Plantar Erythrodysesthesia (PPES) であり、動物では、イヌ静脈内間歇投与でPPES様の皮膚病変がみられることが報告されている。今回、マウスにdoxilを静脈内間歇投与して、皮膚病変作製を試みたので報告する。【方法】7週齢の雄BALB/cAnNCrjマウス(有毛マウス)とそのヌードマウスBALB/cAnNCrj-nu/nu (n = 5)にdoxilの10 mg/kgを4日間隔で3回 (q4d×3) および7日間隔で4回 (q7d×4) 静脈内間歇投与し(初回投与日をDay 1とした)、それぞれDay 20および35に屠殺して、皮膚を形態学的に観察した。投与量は静脈内単回投与試験における最大耐量 (20mg/kg)の1/2量である10mg/kgを設定した。【結果およびまとめ】有毛マウスではq4d×3投与で皮膚症状はみられなかったが、q7d×4投与でDay 26以降に丘疹がみられた。一方、ヌードマウスではq4d×3投与でDay 14以降に皮膚の紅斑、糜爛、痂皮形成および鱗屑が認められ、q7d×4投与では鱗屑を除く皮膚症状が観察された。これらの皮膚変化は両系統とも、頸背部に最も高頻度に認められた。組織学的に、有毛マウスではq4d×3投与で表皮の角化亢進、肥厚および炎症細胞浸潤ならびに毛包および皮脂腺の萎縮が認められ、q7d×4投与では表皮の潰瘍もみられた。一方、ヌードマウスではq4d×3投与で表皮の単細胞死、潰瘍、角化亢進、肥厚ならびに毛包および皮脂腺の萎縮が認められ、q7d×4投与では表皮基底細胞の核に大小不同も観察された。以上より、ヌードマウスでヒトに類似した肉眼変化とともに表皮の壊死性変化が有毛マウスよりも明瞭に認められ、ヒトPPESのモデルになり得ると考えられた。

乳酸鉄過剰投与ラットの骨減少に及ぼす副甲状腺ホルモンの影響

○松嶋 周一¹⁾、土屋 紀子¹⁾、井村 可恵¹⁾、増野 功一¹⁾、鳥井 幹則¹⁾、
尾崎 清和²⁾、奈良間 功²⁾、小谷 猛夫³⁾

(¹⁾塩野義製薬 新薬研究所、²⁾摂南大学 薬学部 病理学研究室、³⁾大阪府立大学 生命環境科学部 獣医病理)

【緒言】第17回の本学会において、ラットに5%の乳酸鉄を2または4週間混餌投与すると副甲状腺ホルモン(PTH)分泌は抑制されているにも関わらず、脛骨の海綿骨領域において破骨細胞が増数し、海綿骨は粗鬆化を呈する骨病変を報告した。しかし、PTH分泌抑制下における破骨細胞の増数の原因は不明であった。そこで、乳酸鉄を静脈内投与し、高濃度の暴露条件下における投与初期のPTHの変動と破骨細胞との関連を調べた。【方法】乳酸鉄10mg/kgを各群6例のラットに単回、あるいは、3日間または6日間反復静脈内投与し、血液生化学検査に加えて、副甲状腺および脛骨の病理学的検査を実施した。【結果】血中PTH値は単回及び3日間投与で増加し、6日間投与では減少傾向を示した。この他、6日間投与では血中の鉄や無機リン値が対照群と比較して有意に減少し、カルシウム値も減少傾向を示した。光顕的に、脛骨の一次海綿骨領域の破骨細胞数は3日間投与で増加し、6日間投与では最も増加した。電顕的に、副甲状腺の主細胞間の乖離が3日間投与で認められ、6日間投与では乖離の程度が進行していた。副甲状腺主細胞の定量的分析では、分泌顆粒数が3日間投与で減少し、6日間投与では最も減少した。また、6日間投与では粗面小胞体も減少していた。【考察】乳酸鉄は投与直後にPTHの分泌を促すが、6日間投与では逆にPTH分泌を抑制し、2週間以上の混餌投与においてもPTH分泌は抑制していた。また、破骨細胞は投与3日目から増数し、4週間混餌投与においても増数していた。乳酸鉄の骨減少は、投与初期のPTH分泌の亢進による破骨細胞の増数が起因となって発症し、投与6日目以後のPTH産生の抑制下では、乳酸鉄の影響で破骨細胞の増数が維持されたと考えられた。

紫外線による皮膚発がんに対するクロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤（CCA）暴露の増強効果

○高橋 尚史、石塚 勝美、川勝 尚夫、小坂 忠司、山口 悟、大塚 亮一、武田 眞記夫、
竹内 幸子、桑原 真紀、榎本 秋子、中島 信明、原田 孝則
(財団法人 残留農薬研究所 毒性部)

代表的な木材防腐剤であるクロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤（CCA）は、疫学的に皮膚発がん性が指摘されているヒ素を含有することから、CCA暴露による皮膚発がんリスクが危惧されている。今回我々は、中波長紫外線（UVB）照射により高率に皮膚腫瘍を誘発可能なSKH-1ヘアレスマウスを用いて、CCAがUVBによる皮膚発がんに及ぼす影響を検索した。雌性SKH-1ヘアレスマウスに週3回UVBを照射するとともにCCAを0、1、10および90ppmの用量で28週間混餌投与し、皮膚腫瘍の数および大きさを毎週観察した。また、UVB非照射群として無処置対照群およびCCA 90ppm単独投与群も設けた。その結果、UVB+CCA 1、10および90ppm群において、UVB単独群と比較し用量相関性に皮膚腫瘍の数および大きさの増加が認められた。無処置対照群およびCCA 90ppm単独投与群では、皮膚腫瘍の発生は認められなかった。UVB単独群およびUVB+CCA 90ppm群の病理組織学的検査では、発生した皮膚腫瘍の大部分が扁平上皮癌と診断された。さらに、腫瘍の分化の程度により3型に分類した結果、UVB+CCA 90ppm群において、低、中分化型扁平上皮癌が増加し、悪性度の増加が示された。背部皮膚における酸化的ストレスの検索では、UVB+CCA 1、10および90ppm群において、UVB単独群と比較し用量相関性に8-OHdG生成量の増加が認められた。以上の結果からCCAはUVBによる皮膚発がんを増強し、その増強効果には酸化的DNA傷害が関与する可能性が示唆された。

本研究は厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）の「木材防腐剤として使用される化学物質のリスク評価に関する研究」プロジェクトの一環として実施された。

若齢雄マウスに自然発生した未分化腫瘍の1例

○永池 美香、野村 政直、乾 公正、酒井 祈美枝、今村 匡志、四谷 収一
(石原産業 中央研究所)

21週齢の無処置雄CD-1マウスにおいて、肩背部皮下に自然発生した脂肪滴や骨組織を伴う未分化腫瘍を経験したので報告する。【材料および方法】本腫瘍は、発がん性試験の対照群に供された雄のCD-1マウスに認められた。18週齢時に右肩背部に直径5mmの皮下腫瘍として確認され、以後急速に大型化し、21週齢時には20×20×40mmとなり一般状態が悪化したため切迫殺し、組織学的検討を行った。【結果】剖検時、本腫瘍以外に異常所見は認められなかった。腫瘍と周辺組織の癒着はなく、腫瘍断面は白色から灰白色を呈し、充実性で部分的に微細硬組織や壊死巣を混じていた。腫瘍組織は、円形～類円形の核を有し弱好酸性の細胞質内に微細な空胞を認める比較的小型の細胞が敷石状で密な腫瘍性増殖パターンを呈し、きわめて未分化な様相であった。腫瘍間質には血管、ならびに疎な結合組織で囲まれた骨様組織が認められたが、いずれも腫瘍細胞との連続性はみられなかった。腫瘍細胞の細胞質内空胞に一致して、オイルレッドO染色で中性脂肪滴が確認された。また、PAS染色では空胞とは別に細胞質内にアマラーゼ抵抗性の強陽性を示す大小の顆粒が散見された。コッサ染色の結果、骨様組織は陽性を示したが、腫瘍細胞に陽性反応は見られなかった。アザン染色を実施したが、間質の膠原線維成分は乏しかった。微細形態学的検査の結果、細胞質内に脂肪滴、電子密度の低い内容物を含む空胞、遊離リボソームが観察された。一方、明確なデスモソームや基底膜は確認できなかった。現在免疫組織学的検討を実施中である。

28日間反復投与毒性試験における各パラメータの免疫毒性検出力の比較

太田 恵津子、○藤巻 由紀夫、皆川 愛、土屋 敏行、佐々木 稔、佐村 恵治、錦邊 優
(万有製薬 安全性研究所)

【目的】反復投与毒性試験と免疫機能検査の免疫系組織への影響の検出力に関する知見は少ない。今回、免疫抑制作用を有するCyclosporin (CY)、Cyclophosphamide (CP) またはPrednisolone (PN) を用いて検出力の比較を行った。免疫機能検査としてヒツジ赤血球 (SRBC) を抗原とした抗体産生能試験を実施した。反復投与毒性試験にはリンパ球サブセット解析を追加した。【材料と方法】:5週齢の雄ラット1群18匹 (反復投与毒性試験8匹/群、免疫機能検査10匹/群) に溶媒 (注射用水)、CY (0.2、1.5、25mg/kg)、CP (0.5、1.5、5、15 mg/kg) またはPN (3、10、30、100 mg/kg) を28日間経口投与した。反復投与毒性試験では血液・病理学的検査およびリンパ球サブセット解析を実施し、抗体産生能試験はwhole SRBC-ELISA法 (当研究所開発) にて血清中のSRBC特異的IgM抗体価を測定した。【結果】CY: 5mg/kg以上で白血球数の減少 (T細胞)、リンパ濾胞の萎縮、胸腺の皮質・髄質比の増加等が認められた。抗体産生抑制は25mg/kg群でのみ認められた。CP: 1.5mg/kgから白血球数の減少 (1.5mg/kgからB細胞、5mg/kgからT細胞)、5mg/kg以上でリンパ濾胞の萎縮、リンパ節と脾臓のリンパ球および骨髄細胞の減少等が認められた。抗体産生抑制は5および15mg/kg群で認められた。PN:3mg/kgから白血球数の減少 (10mg/kg以上の群でTおよびB細胞)、30mg/kg以上で脾臓と胸腺のリンパ球および骨髄細胞の減少が認められた。抗体産生抑制は100mg/kg群でのみ認められた。【考察】CY、CPおよびPNを用いて免疫系組織への影響の検出力の比較を行った。いずれの化合物においても抗体産生能の低下が認められた用量より低い用量から反復投与毒性試験で免疫系の臓器への影響が検出できた。

Lipopolysaccharideのラット免疫系組織に対する影響

○金子 吉史、末吉 純久、佐藤 裕和、棚瀬 裕文、岩崎 省吾、
神山 晴、高橋 牧子、山崎 正和、益本 吉廣、都留 清志
(杏林製薬 研究センター 研究一部 安全性研究)

【目的】ラットに対し免疫賦活作用のあるLipopolysaccharide (LPS) を投与し、胸腺、脾臓及びリンパ節に対する影響を病理組織学的に検討した。【方法】Crlj:WistarラットにLPS 1 mg/kgを単回腹腔内投与し、1、2、3、4、8及び15日後に剖検を行い、胸腺、脾臓及びリンパ節について、光学顕微鏡検査、透過型 (TEM) 及び走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察を実施した。また、血中リンパ球を分離しSEM観察を実施した。【結果】各組織において、光学顕微鏡観察では異常が認められなかったが、TEM観察において脾臓の食細胞に黒色顆粒が沈着し、経時的变化が認められた。一方、TEM及びSEM観察においてリンパ球などの細胞表面に変化は認められなかった。【考察】LPS感作初期には、脾臓においてリンパ球系の細胞ではなく異物除去作用を担う食細胞に特異的な変化が認められ、これが経時的に変化すると考えられた。現在、経時的变化と沈着物の推定並びに発現機序に関する検索を追加実施している。

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:認識部位の異なる抗エストロゲンレセプター抗体を用いた検討

○柿本 恒知^{1,2)}、美谷島 克宏^{1,2)}、竹腰 進²⁾、正田 俊之¹⁾、岩坂 俊基¹⁾、小泉 治子¹⁾、
宮川 義史¹⁾、長村 義之²⁾

(¹⁾日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所、²⁾東海大学 医学部 基盤診療学系病理診断学)

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 のメカニズムは免疫組織化学 (IHC) における加熱抗原性賦活化 (AR) のメカニズムは、ホルマリン固定による抗原性の masking によると考えられているが、先に我々は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。今回は、エストロゲンレセプター (ER) α のアミノ酸 (AA) 配列の一部を抗原として作製された市販抗 ER α 抗体を用いて、抗原の認識部位の違いによる AR 作用の有無を検索した。【方法】ER α 陽性であることが知られているヒト乳癌細胞 MCF-7 をスライドガラス上で一晩培養し、未固定 (風乾) のまま、あるいは風乾後 30 分間ホルマリン固定したものを材料とした。これらに加熱処理 (microwave 照射、98°C、15 分) を行い、10 種の抗 ER α 抗体を用いて IHC を実施し、非加熱処理の場合との AR の程度を比較した。【結果】ER α 抗原 (AA 数 595) の N 末端側又は C 末端側の短い AA を抗原とする抗体 2 種 (AA 1-21、582-595) では固定・未固定、加熱・非加熱に関わらずほぼ同程度に染まり、明らかな AR 作用は認められなかった。一方、N 末端側又は C 末端側の少し長い AA を抗原とする抗体 3 種 (AA 1-190、2-185、495-595) では、未固定のままでも陰性であるが、加熱処理すると陽性となり、明らかな AR 作用を示した。同様に、ER α 抗原の中間部分の AA を抗原とする抗体 4 種 (AA 21-32、151-165、282-339、287-300) でも未固定・加熱処理で明らかな AR 作用が認められた。【考察】分子構造上、抗原蛋白自体のもつ masking がとれないと考えられる N 末端又は C 末端側の短い AA を抗原とする抗体 2 種で AR 作用は認められず、それ以外の抗体 7 種において AR 作用が認められたことは、分子構造自体のもつ masking の除去が AR の発現に重要であるという我々の仮説を支持した。

ラットの組織における Podoplanin の免疫組織学的検索

○長井 佳代子、山下 龍、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
(安評センター)

Podoplanin は腎糸球体 Podocyte の表面に存在する 38kDa の膜関連糖タンパクで、糸球体透過性の調節に関ると言われ、ラットの PAN 腎症による Podocyte の傷害のマーカーとして知られ、Podocyte 以外では正常並びに炎症性のリンパ管に、ヒトでは中皮細胞、リンパ管の内皮細胞等に発現することが報告されている。このタンパクは血管内皮細胞には発現しないため、近年、免疫組織化学的に正常または腫瘍組織において、リンパ管を検出する特異的なマーカーとして注目されている。その他、ヒトではリンパ管腫、中皮腫のマーカーとしても報告されている。

【目的】ラットの自然発症性腎症や中皮腫、リンパ管内皮、血管内皮等での Podoplanin の発現を免疫組織化学的に検出し、ラットでの有用性を検討する。

【実験】当施設の、過去の試験で得られたラットの自然発症性腎症や中皮腫、その他の組織からパラフィン切片を作成し、抗 Podoplanin 抗体 (SIGMA 社製 Anti-Podoplanin HG19) を用いて免疫組織化学を施した。

【結果】自然発症性腎症では、糸球体の Podocyte が硬化病変等で傷害を受けた部位で、発現の消失が認められた。中皮腫では、腫瘍細胞の細胞膜に発現が認められた。腫瘍組織中のリンパ管では、正常組織と同じく発現が認められ、ラットの腫瘍においても血管との識別に有用であった。

原因不明の発育不全と著しい骨髄膠様変性を呈したカニクイザルの1例

○村上 雄一、岡崎 欣正、松本 正博、仲辻 俊二、藤平 司郎、義澤 克彦、
池上 仁、坪田 健次郎、大石 裕司
(アステラス製薬株式会社 安全性研究所)

症例は2歳2ヶ月齢で入荷し、3歳6ヶ月齢まで当施設で飼育した雄カニクイザルである。飼育の1年4ヶ月間、摂餌に異常はなかったが体重はほとんど増加せず(入荷時1.7kg、終体重1.8kg)、腰部脱毛、被毛粗剛、著しい消瘦を呈して状態が悪化したため安楽死させた。飼育中の定期検査では安楽死の3ヶ月前より、MCV・WBC・ALB・IPの低下がみられた。剖検では、胸腺、精巣および副生殖器の小型化がみられたのみであり、全身諸臓器をホルマリン固定して病理組織学的に精査した。

【結果および考察】全身骨髄の膠様変性・造血低下、胸腺・脾臓・腸間膜リンパ節の萎縮、大腿骨・胸骨の皮質骨・骨梁の菲薄化、精巣の未熟がみられ、これらは発育不全に伴う二次的変化と考えられた。膠様変性の本態は脂肪細胞の萎縮と髄腔の粘液様基質による置換であり、基質はPAS反応陽性、アルシアン青(pH2.5)で青染、トリジン青(pH4.1, 7.0)で赤紫色を呈した。膠様変性はヒトで神経性食欲不振や悪液質など高度の低栄養状態により起こるとされ、カニクイザルの毒性試験でも一般状態の悪化した動物にみられることがある。また、腸間膜リンパ節や肝臓にヘモジデリン沈着がみられたが、これらは全身状態悪化に伴う循環不全に基づく変化と考えられた。その他の臓器で特記すべき変化はみられず、感染症を疑う所見も全く認められなかった。本例は著しい低栄養状態にあったと考えられたが、発育不全の原因となる基礎疾患は不明であった。カニクイザル繁殖施設において約0.6%(20頭/約3200頭)に発育不全例がみられるとの報告があるものの、その病因は明らかにされていない。本例もそれと類似した症例と考えられ、さらに病理組織学的には発育不全に伴う諸変化の中でも骨髄膠様変性が特徴的であった。なお、先の報告では、特定の雄ザルの子孫に発症がみられることから遺伝的な関与が疑われているが、本例の遺伝的背景については確認できなかった。

若齢ビーグル犬肝臓にみられた先天性の動静脈瘻が疑われた1例

○池崎 信一郎、笠原 健一郎、永谷 真理子、山川 誠己、青木 明美、
工藤 佳代子、星谷 達、田村 一利
(ボゾリサーチセンター)

【はじめに】5ヶ月齢雌ビーグル犬において、肝臓内血管の先天性異常と考えられる興味深い症例を認めたので報告する。

【症例と方法】症例は、毒性試験で使用するために5ヶ月齢で導入後、検疫・馴化期間(18日間)の7日目に瀕死期殺した雌のビーグル犬1例(HRA Beagle, Covance Research Products Inc.)。体重は入荷時(4.7kg)から低く推移し、摂餌量も低かった。入荷5日と7日目で血漿の淡黄色化、AST、ALT、T-BIL値の上昇がみられた。入荷6日目から消瘦、横臥位、脱糞(濃茶色液状)がみられ、剖検では、肝臓の分葉異常(裂が不明瞭)、退色、小型化(115g)がみられ、剖面においては肝門部付近に拡張した血管が多数認められた。その他、腹水及び脾臓周囲の水腫が肉眼的に観察された。摘出した肝臓及びその他の諸臓器を、常法に従い、10%中性緩衝ホルマリン液で固定、パラフィン包埋後、HE染色を施し、光学顕微鏡下で検査した。

【結果とまとめ】肝門部付近では、径が大きな静脈及び動脈が多数出現し、一部では血栓形成がみられた。静脈はしばしば嚢胞状を呈した。さらに、径が大きな胆管が多数認められた。また、肝臓全体では門脈域の小血管及び胆管の増生がみられた。その他、肝臓では肝細胞の萎縮、炎症性細胞浸潤、小葉中心性の肝細胞空胞化及び胆汁栓が、さらに脾臓周囲組織には水腫がみられた。

以上の如く、本症例では肝門部付近の肝内動静脈の形成異常に起因すると考えられる病変がみられ、先天性の動静脈瘻が疑われた。同様の病変はビーグル犬では過去に1例の報告*があるのみで、極めて稀な症例と考えられた。

*Congenital intrahepatic arteriovenous fistulae in a young beagle dog. K. Yoshizawa et al. Toxicol Pathol 1997 25(5)495-499.

若齢SD系ラットの甲状腺に認められた悪性奇形腫の1例

○松本 泉美¹⁾、沖本 一夫¹⁾、梶谷 高敏¹⁾、豊沢 かおる¹⁾、河内 眞美¹⁾、
村上 勝史²⁾、紺屋 好美²⁾、田中 浩二¹⁾

(¹⁾大日本住友製薬株式会社 安全性研究所、²⁾株式会社 ケー・エー・シー

ラットにおいて生殖器以外での奇形腫の発生は極めて稀であり、若齢ラットの頸部に奇形腫が認められた報告はない。今回、我々は若齢SD系ラットの頸部に、甲状腺の悪性奇形腫と考えられる病変を認めたので報告する。動物はSD系ラットの雄で、実験中に頸部の腫瘤に気づいたため剖検された。剖検時の週齢は6週齢で、剖検まで一般状態に異常は認められなかった。全身臓器を肉眼的に観察した後、頸部の腫瘤、肺、甲状腺、気管および食道を10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、常法によりH.E.染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。頸部腫瘤についてはH.E.染色のほか、特殊染色および免疫染色を施した。剖検時に頸部気管の背側に約2cm径の腫瘤が認められ、気管および食道は蛇行していた。腫瘤は白色で硬く、剖面では出血、壊死が認められた。甲状腺左葉に異常はなかったが、甲状腺右葉は肉眼的に確認できなかった。病理組織学的に、腫瘤と気管は近接していたが、その境界は明瞭であった。甲状腺右葉の位置に一致して正常な構造の濾胞が認められたほか、小型の濾胞が腫瘤周囲の被膜様構造内あるいは腫瘤内に散見された。腫瘤の大部分は未分化な神経上皮様組織で構成されていたが、神経組織、皮膚および付属器官、横紋筋、脂肪組織、気管粘膜上皮で囲まれた腺腔構造、唾液腺、卵黄嚢などの分化した組織・器官も混在していた。本症例は腫瘤内に三胚葉へ分化を示す組織・器官が認められること、及び腫瘤の大部分が未熟な神経上皮様組織で構成されていることより悪性奇形腫と診断した。ヒトでは新生児あるいは幼児にしばしば頸部奇形腫を認め、腫瘤内に甲状腺組織の混在を認める場合、発生源は甲状腺と考えられている。本例も腫瘤内に甲状腺濾胞が認められ、他に原発巣が考えられないことから甲状腺が発生源と考えられた。ラットに自然発生性の頸部奇形腫の報告は現在までなく、極めて稀な症例と考えられる。

若齢Sprague-Dawleyラットの心臓および肺にみられた原発不明のYolk Sac Carcinomaの一例

○梶川 悟¹⁾、竹内 文乃¹⁾、白木 克尚¹⁾、中野 健二²⁾、泉澤 信行¹⁾、大石 裕司¹⁾

(¹⁾アステラス製薬 安全性研究所、²⁾アステラスリサーチサービス 病理部)

【症例】無処置飼育中に、自発運動の減少、眼球蒼白および消瘦を呈して斃死した10週齢の雌Crl:CD (SD)ラットである。剖検では、肝臓の黄色・粗造化および肺の散在性の赤色点がみられたのみで、卵巣および子宮を含む他の臓器には肉眼的異常はみられなかった。主要臓器を10%リン酸緩衝ホルマリン液に固定し、HE染色を行った。肺については、PAS染色および抗ヒト α -fetoprotein (AFP)抗体および抗ラットLaminin抗体を用いて免疫染色を行った。

【組織所見】心臓では、右心室内腔に好酸性硝子様の基質と大型で類円形の腫瘍細胞の巣状増殖からなる腫瘍塊が、肥厚した右心室壁に付着していた。両肺では、多くの動脈内に右心室内の腫瘍塊と同一の組織像を示す腫瘍塊がみられ、一部では肺実質への浸潤や出血性梗塞がみられた。腫瘍塊の好酸性基質はPAS陽性で、腫瘍細胞はAFPあるいはLamininに陽性であった。肝臓では、中心静脈周囲の肝細胞の巣状壊死がみられた。左右の卵巣は連続切片を作製して精査したがなんら異常はみられず、その他の臓器組織にも特筆すべき変化は観察されなかった。

【考察】細胞組織学的特徴および免疫染色の結果から、本腫瘍はYolk Sac Carcinomaと診断した。肺の動脈内の腫瘍塞栓は、血液小循環の方向から右心室内の腫瘍の血行性転移と考えられた。また、肺性心(右心室壁肥厚)を呈していることから、本症例は腫瘍が発生してから比較的長い転帰をとったものと考えられた。ラットの自然発生Yolk Sac Carcinomaの報告例は少ないものの、その原発部位は卵巣や子宮などの生殖器であり、腹腔内に転移することが知られている。本症例は、生殖器で原発巣を見出せず、最大の腫瘍巣が右心室内にあるという不可解な増殖を示し、顕著な血行性転移を示した、極めて貴重な症例と考えられた。

カンクイザルの肝細胞にみられた非ウイルス性細胞質内封入体の1例

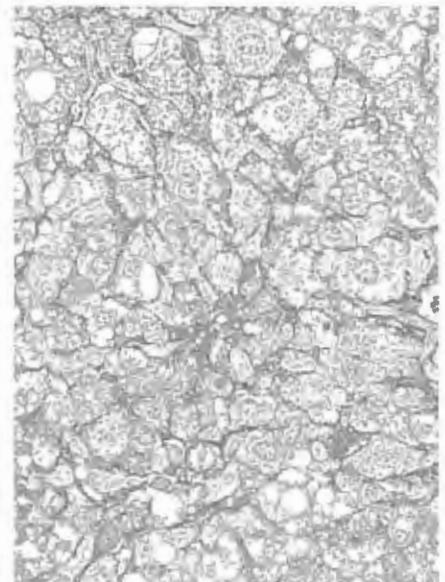
○池上 仁、岡崎 欣正、松本 正博、仲辻 俊二、藤平 司郎、義澤 克彦、
坪田 健次郎、村上 雄一、大石 裕司
(アステラス製薬 安全性研究所)

【症例】本例は4週間経口投与毒性試験にて計画解剖された4歳、雄のカンクイザルであり、投与初期に嘔吐がみられたのみで、体重、摂餌量、血液学的検査に異常はなかった。血液化学的検査では、投与前よりGOT、GPT及びALPが高値を示し(各48、64、2840mU/mL)、GOTとGPTは投与期間中に前値より上昇した(各77、194mU/mL)が、これらの変化はより高用量群の高暴露例には認められず、いずれも非薬物性的変化と判断した。剖検ではいずれの臓器にも異常はなかった。諸臓器をHE染色、肝臓についてはPAS、コロイド鉄及びオイルレッドO染色に加えて、肝臓を電子顕微鏡にて観察した。【組織所見】小葉辺縁帯の肝細胞に、好酸性でスリガラス状を呈し、しばしば微小空胞を内部に含みhaloの形成を伴う封入体が認められた。ジアスターゼ抵抗性のPAS陽性及びコロイド鉄陽性反応が封入体内にほぼ均一にみられ、封入体内部にはオイルレッドO染色陽性の微小滴状物がみられた。電顕では、封入体に限界膜はみられず、封入体内に細胞内小器官は認められず、大小様々な多数の脂肪滴と顆粒状の基質から成り、その構造体により本来の小器官は細胞の辺縁に圧迫されていた。肝細胞の壊死、炎症反応及び電顕でウイルス粒子がみられなかったことからウイルス性を否定した。他臓器組織に同様の所見は認められなかった。【考察】本例の封入体は、polyglucosan小体やEndoplasmic reticulum storage disease (ERSD)で発現する肝封入体との類似性が疑われた。しかし、細胞質内に脂肪滴が多数存在する点、電顕でpolyglucosan小体に特徴的な細線維状構造やERSDに特徴的な拡張した小胞体が認められない点など、上記疾患における特徴と一致しない点もあった。本病態の意義については不明であるが、カンクイザルでの肝細胞封入体の報告はほとんどなく、背景病変として貴重な症例と考えられた。

C57BL/6Jマウスに認められた、肝細胞の顆粒状変性/脂肪化と細胞周囲性線維化を特徴とする肝病変の1例

○中西 雅子¹⁾、桑村 充²⁾、吉田 緑³⁾、前川 昭彦³⁾、中釜 齊¹⁾
(¹⁾国立がんセンター 研 生化、²⁾大阪府大 獣医病理、³⁾佐々木研 病理)

【症例】18週齢のC57BL/6J系統の雌マウスで、Dextran sulfate sodium投与による大腸炎誘発後、早期に計画殺された1例。解剖時、肝は黄白色を呈し、表面ならびに剖面は結節性に硬度を増していた。肝病変は本例のみに確認されており、大腸炎との関連性は無いものと推察された。【結果】肝の全葉において、小葉中間帯から辺縁帯を中心に、肝細胞の不規則な帯状脂肪化が認められた。また、これらの細胞の周辺には、著しく腫大し顆粒状変性を示す肝細胞が巣状に分布しており、炎症細胞が軽度に浸潤していた。肝細胞の分裂像はび慢性に見られ、抗PCNA抗体を用いた免疫染色では多くの陽性像が確認された。肝細胞およびその核の大小不同、細胞質の核内への陥入像も散見された。さらに、変性を示す領域に一致して線維芽細胞の増殖が認められ、アザン染色では、網状あるいは個々の肝細胞を取り囲むような特徴的な線維化が示された(写真)。【考察】細胞周囲性の線維化は、ヒトの脂肪性肝炎の進行病変としてよく知られているが、肝細胞の変性やその分布において本例とは相違がある。本病変の病理発生は不明であるが、マウスにおける自然発生病変として大変興味深い所見であり、電顕観察等を含め、さらなる検討を行っている。



P-91

甲状腺機能低下症を示すWistar Hanover GALASラットにみられた内分泌系以外の臓器における形態学的変化

○爰島 洋子、土居 卓也、黒滝 哲郎、佐藤 順子、小谷 百合、土谷 稔
(安科研)

2002年、当研究所で交配させたWistar Hanover GALASラットからDwarfが発生し、兄妹交配により現在もこの系を維持している。これらの動物では、血中triiodothyronine (T3)、thyroxine (T4)の顕著な低値および甲状腺刺激ホルモン (TSH)の高値が認められ、原発性甲状腺機能低下症と判明した。これを反映する変化として、甲状腺には濾胞細胞の空胞化、コロイド形成の減少および濾胞の小型化が認められている(土居ら、2004、J.Toxicol.Pathol)。今回、我々はこれらの動物の内分泌系以外の全身諸臓器について検査したので報告する。Dwarf (D)ラット雌雄各2例および正常なWistar Hanover GALAS (N)ラット雌雄各5例を、8および45週齢で剖検し、全身諸臓器を採取した。肉眼的に、Dラットは8、45週齢とも肝臓の褐色化、8週齢のみで頭蓋骨の脆弱化を示した。また、DラットはNラットと比較して低体重を示したにも関わらず、45週齢の精巣はNラットとはほぼ同等の大きさであった。組織学的に、Dラットは8週齢で以下のような変化を示した。1) 大腿骨骨端軟骨と成長板の肥厚(軟骨基質増加、軟骨細胞肥大および増加)、2) 褐色脂肪細胞の脂肪滴大型化、3) 皮下、骨髄における脂肪組織増加、4) 骨髄の造血細胞減少、5) 顎下腺の顆粒管の小型化と顆粒減少、6) 精細管の未熟、7) 卵巣萎縮(閉鎖卵胞増加、Sertoliform hyperplasia)、8) 肝細胞の好酸性変化、9) 毛包萎縮。このうち、1)、6)以外の変化は45週齢でも同様もしくは強い程度で認められた。これらの変化はヒトのクレチン病、先天性甲状腺機能低下症のモデルであるrdwラットやhty/htyマウス、胎児期あるいは生後の化学的処置による誘発性甲状腺機能低下症などで認められる変化に類似しており、甲状腺機能低下に起因した変化と考えられる。

P-92

ラット2年間発がん性試験で遭遇した消化管間質腫瘍の1例

○富士本 仁、渋谷 淳、黒岩 敬子、井上 薫、禹 桂炯、禹 麻美、広瀬 雅雄
(国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

【はじめに】ヒトにおいて従来、消化管に発生する非上皮性腫瘍の多くは、平滑筋腫瘍ないしは神経原性腫瘍(神経鞘腫等)と診断されてきたが、最近の免疫染色による検討から、明らかな筋原性あるいは神経原性マーカーが全く証明されない例や、両者が共に証明される例が多く見出され、その殆どがc-kit陽性というCajal細胞の特性を有することから、消化管間質腫瘍(gastrointestinal stromal tumor; GIST)という疾患概念が生まれた。【症例】症例は、既存添加物アカネ色素のF344ラットを用いた発がん性試験における中間用量群(2.5%混餌)の雄で、111週の時点で瀕死・途中屠殺した一例である。肉眼的に、前胃小弯側に径1cm大の境界不明瞭な白色の硬い粘膜下腫瘍を認め、肝臓、脾臓にも同様の結節性病変を認めた。【病理検索結果】組織学的には、紡錘形あるいは不整形の中～小型の核と境界不明瞭な細胞質を有する線維状の腫瘍細胞がstoriformパターンを形成し、平滑筋層を中心として浸潤性増殖していた。腫瘍は前胃から腺胃粘膜固有層及び漿膜面にも直接に浸潤し、肝臓、脾臓、大腿骨骨髄には転移を認め、特に肝臓では多発性転移巣を形成した。免疫組織学的には、c-kit、vimentin及び α -SMA陽性、S-100一部陽性、desmin、caldesmon、cytokeratin及びCD34は陰性を示した。【まとめ】本腫瘍は、その組織型及びc-kitの発現から、前胃粘膜下原発のGISTの一例であると診断した。また、平滑筋のマーカーである α -SMAが陽性、desminが陰性を示し、神経系マーカーであるS-100が一部陽性を示したことから、Rosaiらの分類で、筋肉及び神経への不完全な分化を示すcombined smooth muscle-neural typeであると判断した。最近、ラット十二指腸液逆流による腺胃発がんモデルで誘発されることが報告されているが、GISTのラットにおける自然発生の報告はいまだなく、自然発生でもヒト類似の病変が発生することを念頭に置くべきであろう。

発がん性と非発がん性異性体間での遺伝子発現プロファイル比較

○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⁾、白井 智之⁴⁾

(¹⁾(株)三菱化学安全科学研究所、²⁾(財)化学物質評価研究機構、³⁾住友化学(株)、⁴⁾名古屋市立大学大学院医学研究科)

我々は毒性評価に対するトキシコゲノミクス技術の有用性を評価するために2001年から5年計画でプロジェクトを開始した。本プロジェクトで開発したラット用マイクロアレイ(NEDO-ToxArray IおよびNEDO-ToxArray II)については昨年度大会において報告した。これまでに、発がん性既知の85化合物についてオスF344ラットに最大28日間投与し、肝臓での遺伝子変動情報をNEDO-ToxArray IIを用いて取得した。今回、発がん性に差異のある異性体間での遺伝子発現について比較を行ったので報告する。異性体の組み合わせは、発がん性物質として2-Acetylaminofluorene (2-AAF)、2,4-Diaminotoluene (2,4-DAT)、2-Nitropropane (2-NP)、2-Nitro-p-phenylenediamine (2-NpP)を用い、その非発がん性の異性体として4-Acetylaminofluorene (4-AAF)、2,6-Diaminotoluene (2,6-DAT)、1-Nitropropane (1-NP)、4-Nitro-o-phenylenediamine (4-NoP)を用いた。Welchの方法により、発がん性化合物グループと非発がん性化合物グループで、統計的に有意に発現差のある遺伝子群が抽出され、この遺伝子群を用いた階層的クラスタリングで化合物を分類すると、2-AAF、2,4-DAT、2-NPは同じクラスターを形成したが、2-NpPは4-NoPや4-AAFとクラスターを形成した。2-NpPと4-NoPを除外して再解析した場合でも、クラスターの形成は同一であった。これまで2-NpPはメスB6C3F1マウスに肝発がん性が報告されているが、F344ラットには非発がん性で、今回の遺伝子発現解析結果とも一致した。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からの委託により実施された。

Global analysis of gene expression in MeIQx-induced rat hepatocarcinogenesis

○カン ジンソック、鰐淵 英機、森村 圭一朗、木下 アンナ、福島 昭治
(大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

It is important to detect early response genes to predict carcinogenesis. To clarify and understand the carcinogenesis of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), we investigated the expression of global genes and methylation status in rat liver treated with MeIQx. Animals were fed with MeIQx 100 ppm in pellet basal diet, and were sacrificed at week 4 and 16 for early time points, and week 104 for tumor occurring point. Global expression analysis using oligonucleotide microarrays (Affimetrix Gene Chip, Rat Genome 230 2.0 Array) was carried out to detect altered genes in MeIQx-treated liver for 4 and 16 weeks (n=5, respectively), MeIQx-induced hepatocellular adenoma (HCA; n=3), and hepatocellular carcinoma (HCC; n=3) compared with age-matched normal livers (n=5 * 3 time points). To investigate functional network and gene ontology, several clusters were analyzed using Ingenuity Pathways Analysis. Dot-blot analysis and immunohistochemical staining of 5-methylcytosine were conducted to examine global methylation status. Clustering analysis of global genes represented gene profiles from HCA and HCC were greatly different from those of age-matched normal liver. However, gene profiles from the liver treated with MeIQx for 4 or 16 weeks were similar to those of age-matched normal liver. Methylation assay showed MeIQx treatment caused global hypomethylation in tumors, but not in early stages. In conclusion, molecular signatures were clearly different in tumors as compared with the early stage, and it suggests several pathways such as cell cycle and glutathione metabolism may be involved in MeIQx-induced liver carcinogenesis.

変異発がん性物質と非変異発がん性物質に特徴的な発現変動を示す遺伝子を用いた発がん性予測法の開発

○松本 博士¹⁾、矢可部 芳州¹⁾、大塚 雅則¹⁾、美濃部 安史¹⁾、宮浦 英樹¹⁾、齋藤 文代¹⁾、
齋藤 幸一²⁾、住田 佳代²⁾、関島 勝³⁾、中山 光二³⁾、朝元 誠人⁴⁾、白井 智之⁴⁾

(¹⁾財団法人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⁾名古屋市立大学大学院医学研究科)

【目的】既知の発がん性化合物を投与したラットの肝臓中の遺伝子発現変動から、変異発がん性物質及び非変異発がん性物質に特徴的な発現変動を示す遺伝子セットを選定し、発がん性を高精度に予測する方法を開発する。

【方法】発がん性が既知の85化合物を28日間反復経口投与したラットの1,3,7,14,28日後の肝臓中の遺伝子発現量を、本研究で作製したオリゴマイクロアレイ(NEDO ToxArray3、約6700遺伝子)を用いた2色法によって測定した。アレイに搭載した各遺伝子について投与群と媒体対照群の比をLog2で変換した発現量データから、変異原物質の発がん性予測に有効な遺伝子を選定する為に、変異発がん物質群と変異非発がん物質群の2群間で統計的に有意な差を示す遺伝子をWelch's t-valueを指標に選定した。教師付き分類手法の一つであるサポートベクターマシンを用いて、選定した遺伝子セットの発現量データから変異原物質の発がん性予測式を作成した。同様の手順で、非変異原物質の発がん性予測式についても作成した。それぞれの予測式に用いた遺伝子セットの有効性は、Leave one out (LOO)法による検定で確認した。作成した複数の予測式を組み合わせ、発がん性予測システムを構築した。

【結果】変異発がん物質群と変異非発がん物質群間で発現量差が統計的に有意な遺伝子を用いて作成した予測式で変異原物質の発がん性を予測したところ、90%以上の予測率を示した。同様の手順で作成した非変異原物質の発がん性予測式についても90%以上の予測率を示し、両予測式ともLOOによる検定の結果も良好であった。また、予測式に用いた遺伝子の機能について発がん性との関連調査を行ったので併せて報告する。

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。

肝中期発がん性試験法を用いたphenobarbitalによるラット肝発がん促進過程特異的な発現遺伝子のプロファイリング

○渋谷 淳¹⁾、禹 桂炯¹⁾、井上 薫¹⁾、禹 麻美¹⁾、五十嵐 勝秀²⁾、富士本 仁¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾

(¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 毒性部)

ラット肝二段階発がんにおけるphenobarbital (PB)による促進過程の早期に特異的な発現変動遺伝子のプロファイリングを行った。【方法】雄F344ラットにDEN単回投与後2週目よりPBを56、167ないし500 ppm混餌投与し、3週目に肝部分切除(PH)を行った。DEN及びPB作用特異的な遺伝子を除外する目的でDEN+PH、500 ppm PB+PH群も設定し、PB投与開始後6週目に実験を終了し、肝臓での網羅的発現解析をAffymetrix GeneChip Rat Genome 230 2.0 Arrayにて行った。PBに対する用量反応性で遺伝子を選択し、得られた遺伝子の発現レベルはreal-time RT-PCRで検証した。【結果及び考察】発がん促進過程特異的な発現変動の内、PB用量に伴う2倍以上の増加・減少は、56 ppm以上で各々6、5個、167 ppm以上で各6、17個に認めた。そのうち機能既知のものは発現増加で6個、減少で5個であった。発現増加はcell cycle arrestに関与するWee-1 kinase、腫瘍等の細胞増殖抑制に機能するpregnancy-induced growth inhibitor、鉄輸送蛋白質transferrinのtruncated formであるhemiferrin、trans-Golgi networkとendosomeとの間の物質輸送に機能するsyntaxin-6、先天性膵炎や膵癌の標的遺伝子であるserine protease inhibitor、kazal type 1等が得られ、発現減少はphosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)シグナリングの下流にある癌抑制遺伝子でPTENとも呼ばれるdual specificity phosphatase、trans-Golgi networkに存在し、イノシトール3ないし4リン酸の合成とその機能プールの維持に関与するPI4K、IGF-1の細胞増殖作用に対して促進あるいは抑制に機能するIGFBP-1等が得られた。以上より、細胞増殖抑制に機能する遺伝子の発現増加は、PBによるプロモーション6週目の肝臓ではinitiateされている細胞が少なく、主に細胞増殖活性の低い肝細胞から構成されていることを反映していると考えられ、一方で、鉄を介した細胞機能の亢進やGolgi装置を介したphosphoinositideシグナリングの機能異常の発現が示唆された。

DNAメチル化を指標としたマウスマイクロアレイの開発

○禹 麻美¹⁾、渋谷 淳¹⁾、加藤 奈津美¹⁾、井上 薫¹⁾、禹 桂炯¹⁾、
掛谷 知志²⁾、富士本 仁¹⁾、広瀬 雅雄¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理部、²⁾(株)スクラム)

【はじめに】DNAメチル化を指標としたin vivo 短期発癌性指標遺伝子の網羅的解析を目標として、マウス CpG islandsマイクロアレイの構築を行った。更に、実際に既知の肝発癌物質を投与したマウス肝臓でのメチル化した遺伝子数の用量反応性を検討した。【方法】マウスCpG islands libraryより1143クローンを単離し、PCRにより994遺伝子断片の有効性を確認した。更にinternal controlを10クローン、negative controlとしてB. subtilis遺伝子を3クローン準備し、合わせて1007クローンのPCR増幅遺伝子断片をガラスアレイにスポットし、CpG islandsマイクロアレイを作製した。今回は非遺伝子傷害性肝発癌物質であるphenobarbital (PB) を発癌用量である500ppmとその1/10用量 (50ppm) で28日間投与したB6C3F1マウスの肝臓について網羅的解析を行う目的で、ゲノムDNAを抽出し、制限酵素MseIで処理後、MseI付着末端に会合するLinker DNAを結合させた。このDNA断片をメチル化感受性制限酵素であるBstUIとHpaIIで処理した後、linker特異的なprimerでPCRを行い、CpGがメチル化されBstUIとHpaIIで切断されない断片のみを増幅した。このメチル化CpG特異的なDNA断片を蛍光標識し、作製したマイクロアレイとハイブリダイゼーションを行い、ゲノムのメチル化解析を行った。数値化した各スポットの蛍光強度はexternal controlとして加えたB. subtilis遺伝子スポットの蛍光強度によって正規化した。【結果及び考察】対照群と比較してPB投与群で >1.2 倍シグナル上昇したクローンは50ppmで58個、500ppmで159個得られ、メチル化されているCpGの用量依存的増加が示唆された。また、PB投与群でシグナルが<0.83倍に低下したクローンが、50ppmでは0個、500ppmでは20個認められ、用量依存的な脱メチル化の増加も示唆された。発癌過程でメチル化の変化により転写の変調を司る遺伝子はそのメカニズムに重要であると考えられ、今回開発したようなマイクロアレイはその探索に有効なツールになり得ると考えられる。

高脂肪食を9週間給餌したC57BL/6JマウスおよびBALB/cAマウスの病理学的解析

○西川 智美、上塚 浩司、八十島 昭、中山 裕之、土井 邦雄
(東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医病理)

【背景と目的】肥満は生活習慣病の発症に関わる一種の病的状態であるが、原因や体質などを含めて非常に多様な病態を指していると考えられる。この病態の多様性を病理組織学的に検討する目的で、今回は異なる2系統のマウスで雌雄それぞれに9週間の高脂肪食給餌を行い、その病理組織学的変化を全身臓器について検討した。

【材料と方法】C57BL/6JとBALB/cAの2系統で雄と雌それぞれについて実験を行った。それぞれの実験でマウスを2群に分け、高脂肪食群にはHigh Fat Diet 32(日本クレア;脂肪含有量32%)、通常食群にはCE-2(日本クレア;脂肪含有量4.8%)を5週齢から9週間にわたり自由給餌した。体重(毎週)と非空腹時血糖値(隔週)を測定し、経口糖負荷試験(給餌開始の5、9週後)を行い、給餌開始の9週後に安楽殺した。全身の臓器と脂肪を採取し、重量測定後に10%中性ホルマリンで固定し、パラフィン切片を作成してHE染色を行い、病理組織学的に評価した。

【結果】非空腹時血糖値はBALB/cAの雌を除いて、高脂肪食群の方が高い傾向にあった。経口糖負荷試験ではC57BL/6Jでは雌雄ともに高脂肪食群で血糖値が正常値に戻りにくい傾向を示したが、BALB/cAでは雄のみが同様の傾向を示した。病理組織学的検索では全ての高脂肪食群を通じて、皮下織での脂肪蓄積の増加、脂肪組織での脂肪細胞の肥大が観察された。肝臓では通常食群に比べ、C57BL/6Jの雌雄では肝細胞の軽度の空胞の増加、BALB/cAの雄では重度の増加が観察されたが、雌では変化が見られなかった。腎臓ではC57BL/6Jの雄でのみ尿細管上皮の空胞化が観察された。

【考察】9週間の高脂肪食給餌の結果、耐糖能の低下、脂肪の増加、および肝と腎での空胞化といった変化が生じたが、それら変化にはマウスの系統および雌雄によって違いが認められた。これらの違いには系統や雌雄の違いによる脂肪代謝や糖代謝の違いの影響が考えられる。

自動画像解析ソフトCellengerを用いた脂肪組織における形態計測

○岡本 郁司、東山 浩之、井上 裕規、兼松 雅博、串田 宏、木下 美弥、浅野 哲
(グラクソ・スミスクライン 筑波研究所 薬理研究部)

【目的】近年、脂肪組織の形態学的変化は、肥満や糖尿病などのmetabolic syndromeと密接な関係にあることが報告されている。また、脂肪組織等に発現するperoxisome proliferator-activated receptor (PPAR) は、熱産生、脂質代謝、adipocytokine分泌等に関与し、脂肪組織の形態に影響を与えられと考えられる転写因子である。今回我々は、画像解析ソフト(Cellenger, Definiens AG)を用いて、PPAR- α およびPPAR- γ agonistが白色脂肪組織(WAT)および褐色脂肪組織(BAT)に及ぼす形態学的変化を定量解析し、形態計測の有用性について検討を行った。【方法】肥満モデルとして、7週齢の雄性AKRマウスに高脂肪食を7週間負荷させ、PPAR- α agonistを2週間経口投与した。また、糖尿病モデルとして、8週齢の雄性db/dbマウスを用い、PPAR- γ agonistを2週間経口投与した。各マウスのWATおよびBATを形態計測に用いた。【結果】形態計測は、Cognition Network Technologyを使用した自動解析により、30 sec/imagesのhigh throughputで解析可能であった。PPAR- α agonistは、BATにおける脂肪蓄積を反映するlipid areaを有意に減少させ、WATの脂肪細胞のsizeを有意に減少させた。一方、PPAR- γ agonistは、BATにおける脂肪細胞のsizeを有意に増加させ、WATの脂肪細胞のsizeを有意に減少させた。【結論】Cellengerを用いた形態計測は、PPAR- α , γ の作用の違いを定量的に評価することが可能であった。脂肪組織での形態計測は、脂質代謝、エネルギーバランス、インスリン抵抗性等に関わる病態生理の理解に寄与すると考えられる。

発表者索引

(数字は演題番号、下線は演者)

A					
阿部 寛	P-62		P-67, P-71,	福山 朋季	P-7
阿部 正義	O-4, P-39		P-74	福里 陽子	P-26
相磯 成敏	P-34, P-53	チュシリ ヤオワレス		船戸 護	P-66
秋葉 知英	O-5, P-46		P-43, P-44	古坊 真一	P-35
アレキサンダー デビッド		クライトン ナターシャ		古濱 和久	P-73, P-77
	P-75		P-33	古川 知宏	WS1-1,
					WS1-2,
天野 幸紀	O-5, P-46	D			WS1-3, P-48,
安藤 なつ代	P-50	土井 邦雄	P-98		P-69
安藤 洋介	WS3-1,	土井 悠子	P-61	古田 千香子	P-1
	WS3-2	土居 卓也	P-10, P-18,	古川 賢	O-4
			P-91		
青木 明美	P-86			G	
青木 貴志	P-73	遠藤 仁	O-7	郷間 宏史	P-24
新垣 淳也	P-27	榎本 秋子	P-7, P-8,	護守 晃	P-45
朝日 知	WS2-3		P-55, P-79	Gordon C. Hard	
朝元 誠人	S-3, O-9,	F			P-60
	P-42, P-64,	藤江 秀彰	P-7	後藤 真由美	P-73
	P-95	藤平 司郎	P-85, P-89		
浅野 哲	P-15, P-99	藤巻 由紀夫	P-81	H	
朝岡 愛	P-99	富士本 仁	P-58, P-92,	蜂須賀 暁子	P-71
AZMAN SEENI	P-64		P-96, P-97	原田 憲一	P-35
		藤島 純子		原田 孝則	P-7, P-8,
B			WS1-1,		P-55, P-79
ブルカ レオ	P-33		WS1-2,	長谷川 和成	P-2, P-68,
			WS1-3, P-48,		P-84
C			P-69	長谷川 美奈	P-59
チャン ポーチェン		深町 勝巳	P-75	長谷川 陽子	P-59
	P-33	福田 良	WS2-1	蓮村 麻衣	P-29, P-32,
陳 憲全	P-16	福島 昭治	O-10, P-34,		P-67, P-71,
程 克儉	P-16		P-38, P-40,		P-74
千早 豊	WS1-1,		P-41, P-43,	林 宏一	P-7, P-8
	WS1-2,		P-44, P-54,	東山 浩之	P-15, P-99
	WS1-3, P-48		P-57, P-94	彦坂 健児	P-99
曹 永晩	P-29, P-32,				

平川 公昭	WS1-1, WS1-2, WS1-3, P-48, P-069		P-96	岩坂 俊基	P-76, P-83
平田 暁大	P-23, P-30, P-31	五十嵐 麻希	O-1, P-39	岩崎 省吾	P-82
廣出 充洋	P-51, P-52	飯田 麻里	P-2, P-70	岩田 聖	P-2, P-68, P-70, P-84
広瀬 雅雄	P-28, P-29, P-32, P-47, P-49, P-56, P-58, P-71, P-74, P-92, P-96, P-97	池上 仁	P-85, P-89	和泉 博之	WS1-1
樋渡 祐介	P-46	池崎 信一郎	P-86	泉 啓介	O-2
外岩戸 尚美	S-3, O-9, P-64	今井 清	P-2, P-68, P-70, P-84	泉澤 信行	P-14, P-88
堀 隆夫	WS1-1, WS1-2, WS1-3, P-48, P-65, P-66	今井 俊夫	P-29, P-32, P-67, P-71, P-74	泉澤 智子	P-14
堀井 郁夫	P-1	今井田 克己	P-36	J	
堀之内 彰	WS2-2	今村 匡志	P-80	姜 景涛	P-4
星谷 達	P-86	今岡 尚子	P-73	John Curtis Seely	P-60
細井 理代	P-2, P-68, P-84	井村 可恵	P-54, P-78	K	
細川 京子	P-36	稲嶺 盛彦	P-27	甲斐 清徳	P-77
藤江 秀彰	P-8	犬童 寛子	S-4	門田 利人	P-4
富士本 仁	P-47	井上 宏高	P-15	梶川 悟	P-88
福山 朋季	P-8	井上 裕規	P-99	梶村 順子	P-17
船戸 護	P-65	井上 薫	P-47, P-58, P-92, P-96, P-97	梶村 哲世	P-77
古川 賢	P-39	乾 公正	P-80	梶谷 華子	P-76
I		石原 あかね	P-45	掛樋 君予	WS1-1, WS1-3, P-69
市原 敏夫	P-41, P-61	石井 雄二	P-28, P-49, P-56	掛谷 知志	P-97
市川 敦子	P-4	石崎 まゆみ	P-2, P-68, P-84	柿本 恒知	P-76, P-83
市川 慎司	P-20	石塚 勝美	P-79	柿沼 千早	P-62
五十嵐 勝秀	P-47, P-58,	伊藤 和美	WS3-1, WS3-2	上口 英則	WS2-2
		伊藤 今日子	P-14	上村 裕洋	WS1-1, WS1-2, WS1-3, P-48, P-69
		伊藤 誠	P-45	神谷 研二	P-17
		伊藤 格	P-37	神山 晴	P-82
		伊藤 裕子	O-6	金井 好克	O-7
		岩浅 央	P-45	兼城 達也	P-27
		岩知道 貴子	WS2-3	金谷 章生	P-45
				金子 吉史	P-82
				兼松 雅博	P-99

カン ジンソック P-40, P-44,
P-94
神吉 けい太 P-28, P-49,
P-56
菅野 剛 P-10, P-11,
P-18
笠原 健一郎 P-86
笠島 敦子 S-1
檜田 陽子 P-63
檜本 尚樹 P-17
片桐 卓 P-53
加藤 淳彦 P-13
加藤 千恵 P-13
加藤 直樹 O-5, P-46
加藤 奈津美 P-97
川田 義章 P-41
川口 博明 S-4, P-65,
P-66
川口 恵未 P-37
河井 良太 WS3-2
河上 祐紀 P-93
川勝 尚夫 P-55, P-79
河野 友紀子 P-5, P-93
川島 英夫 P-65
木戸 亮子 P-2
木原 亨 P-2, P-68,
P-84
金城 達也 P-27
木下 美弥 P-15, P-99
木下 アンナ O-10, P-43,
P-44, P-94
岸本 早苗 P-20
キスリング グレイス P-33
清沢 直樹 WS3-1,

WS3-2
木澤 和夫 P-35
小玉 拓郎 S-4, P-66
児玉 幸夫 P-49
甲野 裕之 P-21, P-22
根田 公一 P-4
小泉 治子 P-76, P-83
小嶋 五百合 P-55
爰島 洋子 P-10, P-19,
P-91
今野 和則 P-6, P-72
紺屋 好美 P-87
小坂 忠司 P-7, P-8,
P-79
小谷 猛夫 P-24, P-78
小谷 百合 P-5, P-10,
P-91
河内 眞美 P-87
糝谷 高敏 P-87
工藤 佳代子 P-86
熊谷 和善 WS3-2
熊野 篤 P-10, P-18,
P-19
庫本 高志 P-24
黒岩 有一 P-28, P-49,
P-56
黒岩 敬子 P-47, P-58,
P-92
黒滝 哲郎 P-5, P-11,
P-91
來原 兄忠 WS1-1
日下部 守昭 P-31
串田 宏 P-15, P-99
串田 昌彦 P-34, P-38,
P-41
桑形 麻樹子 P-6, P-72

桑原 真紀 P-7, P-8,
P-55, P-79
桑村 充 P-24, P-59,
P-90
桑村 有規 WS1-1,
WS1-2,
WS1-3, P-48,
P-69
L
M
前田 博 WS1-1,
WS1-2,
WS1-3, P-48
前川 昭彦 O-1, O-3,
P-39, P-90
馬嶋 秀行 S-4
牧野 俊彦 WS3-1
真鍋 淳 WS3-1,
WS3-2
丸茂 秀樹 P-6
柵木 利昭 WS1-4,
P-30, P-31
益本 吉廣 P-82
増村 健一 P-49
増野 功一 P-54, P-78
松田 陽子 P-36
松井 正樹 P-50
松本 博士 P-95
松本 泉美 P-87
松本 正博 P-85, P-89
松本 力 P-7, P-8
松岡 洋一郎 S-4
松尾 沙織里 P-13
松嶋 周一 P-78
松浦 哲郎 P-25, P-26
楯 美樹 P-4

三木 克朗 P-3
 皆川 愛 P-81
 峰松 健夫 P-76
 美濃部 安史 P-95
 三井 雅之 P-9
 三森 国敏 O-8, P-37,
 P-50, P-63
 宮城島 利一 P-51, P-52
 宮寫 宏彰 WS1-1,
 WS1-2,
 WS1-3, P-48,
 P-69
 美谷島 克宏 P-76, P-83
 宮島 留美子 P-2, P-68,
 P-84
 宮川 義史 P-76, P-83
 宮浦 英樹 P-93, P-95
 水谷内 香里 P-15
 森 郁生 WS2-2,
 WS2-3
 森 聖 P-54
 森本 純司 O-6
 森本 泰夫 P-12
 森村 圭一朗 P-34, P-38,
 P-54, P-94
 森岡 孝満 P-27
 森脇 紀親 P-93
 森谷 卓也 S-1
 本 光喜 O-8, P-63
 六車 雅子 O-8, P-63
 村林 美香 WS2-2
 村井 隆 P-54
 村上 勝史 P-87
 村上 雄一 P-85, P-89
 武藤 朋子 O-7

N

難波江 恭子 P-61
 長井 佳代子 P-2, P-68,
 P-84
 永池 美香 P-80
 長野 嘉介 P-34, P-53
 長尾 拓 P-51, P-52
 永岡 隆晴 WS1-1,
 WS1-2,
 WS1-3, P-48,
 P-66
 永田 伴子 P-6, P-72
 永谷 真理子 P-86
 中江 大 WS3-3, O-1,
 P-39
 中釜 斉 P-90
 中原 豊 P-26
 中井 登紀子 O-2
 中西 雅子 P-90
 中野 健二 P-14, P-88
 中沼 安二 P-35
 中島 信明 P-7, P-8,
 P-55, P-79
 中下 幸江 WS2-3
 仲辻 俊二 P-85, P-89
 中山 裕之 S-2, P-98
 中山 光二 P-93, P-95
 中澤 晶子 P-62
 中澤 裕之 P-28
 奈良間 功 P-25, P-26,
 P-78
 二井 愛介 P-1
 西川 秋佳 P-28, P-49,
 P-56
 西川 智美 P-98
 錦邊 優 P-45, P-81
 西巻 正 P-27

西村 次平 O-5, P-46
 能美 健彦 P-49, P-56
 野村 政直 P-80
 野崎 浩介 P-35, P-73
 ニスカ アブラハム
 P-33
O
 大神 明 P-12
 小川 いづみ O-4
 小川 久美子 P-64
 小川 哲郎 P-6
 大平 東子 P-2, P-68,
 P-84
 大町 康 WS3-4
 大道 浩三 O-5
 大嶋 浩 P-75
 太田 恵津子 P-81
 大塚 亮一 P-79
 大内 憲明 S-1
 大石 裕司 P-85, P-88,
 P-89
 岡島 涼子 P-24
 岡本 郁司 P-15, P-99
 岡村 美和 O-8, P-63
 岡村 信志 O-5, P-46
 岡野 圭太 P-56
 岡崎 欣正 P-85, P-89
 沖本 一夫 P-87
 小野 敦 P-51, P-52
 小野 美穂子 P-14
 大森 雅子 P-57
 大塚 雅則 P-93
 長村 義之 P-76, P-83
 太田 世志雄 P-29, P-71,
 P-74
 大塚 雅則 P-95

大槻 勝紀 O-6
尾崎 圭介 P-38
尾崎 清和 P-25, P-26,
P-78

P

プアタナチョックチャイ
ラウイワン P-40, P-43,
P-44

Q

丘 雅埼 P-16

R

S

齋藤 文代 P-95
斎藤 幸一 P-93, P-95
斉藤 義明 P-6, P-72
酒井 洋樹 WS1-4,
P-30, P-31,
P-37
酒井 祈美枝 P-80
阪本 晃佳 P-9
佐村 恵治 P-45, P-81
佐野 智弥 P-25
三善 隆広 P-35
竿尾 光祐 P-36
佐々木 稔 P-45, P-81
佐々木 有 P-37
笹野 公伸 S-1
佐竹 茂 WS1-1,
WS1-2,
WS1-3, P-48
佐藤 洋 P-73
佐藤 順子 P-11, P-91
佐藤 紀子 P-50
佐藤 裕和 P-82
沢田 啓 WS2-3
澤本 修 P-20

関島 勝 P-93, P-95
妹尾 英樹 P-53
芹川 忠夫 P-24
柴田 雅朗 O-6
渋谷 淳 P-47, P-58,
P-92, P-96,
P-97
志賀 敦史 P-2, P-68,
P-84
椎田 修治 WS1-1
篠原 誠治 P-20
塩田 清二 P-6
白井 紀充 P-1
白井 智之 S-3, O-9,
P-42, P-61,
P-64, P-93,
P-95
白木 克尚 P-88
代田 欣二 P-14
正田 俊之 P-76, P-83
首藤 康文 P-7, P-8
早田 正和 S-4, P-65,
P-66
末吉 純久 P-82
菅井 正樹 P-15
杉江 茂幸 P-21, P-22
杉本 哲朗 P-13
須方 督夫 P-38
住田 佳代 P-93, P-95
砂川 奈穂 P-27
酒々井 真澄 P-27
鈴木 順 P-45
鈴木 雅実 P-13, P-63
鈴木 紀子 P-39
鈴木 里加子 P-21, P-22
鈴木 周五 P-42, P-64

鈴木 貴美 P-73, P-77

T

田畑 肇 P-14
田子 和美 P-72
田郷 聡子 P-73
田口 周平 P-66
高木 久宜 P-50
高木 隆 P-46
高橋 明美 P-76
高橋 牧子 P-82
高橋 守 P-1
高橋 正寿 O-5, P-46
高橋 尚史 P-7, P-8
P-55, P-79
高橋 正一 O-1, P-39
高橋 智 P-42, P-61
P-64
高居 宏武 P-13
高見 健治 WS2-3
高見 成昭 P-32, P-67
P-71, P-74
高島 宏昌 P-72
高須 伸二 P-30, P-31
武田 眞記夫 P-55, P-79
竹腰 進 P-76, P-83
竹中 重雄 P-59
竹下 健太郎 P-42
竹内 文乃 P-88
竹内 幸子 P-7, P-8
P-55, P-79
玉野 静光 P-61
田村 一利 P-9, P-86
田辺 宗平 O-5, P-46
田中 浩二 P-87
田中 猛 O-5, P-46
田中 卓二 P-21, P-22

P-64
 棚瀬 裕文 P-82
 唐 明希 P-64
 谷川 洋平 P-69
 谷口 恵子 WS2-3
 谷本 倫 O-3
 田代 俊文 P-1
 立松 正衛 P-23, P-30
 P-31
 寺西 宗広 WS3-1,
 WS3-2
 寺島 薫 P-62
 照屋 志乃 P-13
 手島 玲子 P-71
 千葉 至 P-27
 戸門 洋志 WS1-1,
 WS1-2,
 WS1-3, P-48,
 富田 和男 S-4
 友成 由紀 P-10, P-18,
 P-19
 鳥井 幹則 P-78
 豊沢 かおる P-87
 坪田 健次郎 P-85, P-89
 土谷 稔 P-5, P-10,
 P-11, P-18,
 P-19, P-91
 土屋 紀子 P-54, P-78
 土屋 俊也 P-73, P-77
 土屋 敏行 P-81
 津田 洋幸 S-4, P-21,
 P-75
 辻岡 繁春 P-45
 辻内 俊文 P-9
 塚本 徹哉 P-23, P-30,
 P-31

都留 清志 P-82
 堤 雅弘 P-9
 津山 伸吾 P-59
 螺良 愛郎 P-3
U
 禹 麻美 P-47, P-58,
 P-92, P-96,
 P-97
 上田 しのぶ P-75
 上原 健城 P-51, P-52
 植松 史行 O-1, P-39
 上塚 浩司 P-98
 梅田 ゆみ P-53
 梅北 善久 S-4, P-65
 梅村 隆志 P-28, P-49,
 P-56
 漆谷 徹郎 P-51, P-52,
 宇佐美 伸 S-1
 白田 浩二 O-4, P-39,
 白見 憲司 P-72
 宇和川 賢 P-38
V
W
 涌生 ゆみ P-11, P-18,
 P-19
 和久井 信 O-7
 鰐淵 英機 O-10, P-34,
 P-38, P-40,
 P-41, P-43,
 P-44, P-54,
 P-57, P-94
 渡辺 敦光 P-17
 渡邊 隆夫 O-5, P-46
 和藤 英司 O-5, P-46,
 魏 民 O-10, P-34,
 P-40, P-43,

P-44, P-57
 禹 桂炯 P-47, P-58,
 P-92, P-96,
 P-97
X
Y
 矢可部 芳州 P-93, P-95
 山口 貴嗣 P-57
 山口 悟 P-79
 山川 誠己 P-86
 山川 けい子 P-36
 山本 昌美 P-30, P-31
 山崎 正和 P-82
 山下 浩史 O-5, P-46,
 山下 弘太郎 P-5, P-19,
 山下 龍 P-2, P-68
 P-84
 山手 丈至 P-24
 山崎 雅輝 P-63
 矢本 敬 WS3-1,
 WS3-2
 柳井 徳磨 WS1-4, P-30,
 P-31
 楊 秀英 WS1-1,
 WS1-2,
 WS1-3, P-48
 八十島 昭 P-98
 八十島 満枝 P-35
 安井 雄三 P-2, P-68,
 P-84
 横平 政直 P-36
 吉田 浩己 S-4, P-65,
 P-66
 吉田 緑 O-1, O-3,
 P-39, P-90
 小林 吉彦 P-4

吉川 剛	WS1-1, WS1-2, WS1-3, P-48, P-65, P-66
吉見 直己	P-27
義澤 克彦	P-3, P-33, P-85, P-89,
吉川 泰弘	WS1-4
四谷 收一	P-80
湯浅 敦子	P-62
柚木 孝之	P-40, P-41
Z	
曾 宇	P-36

協賛法人・会社ご芳名

あすか製薬(株)
岩井化学薬品(株)
エーザイ(株)安全性研究所
大塚製薬(株)
小野薬品工業(株)福井安全性研究所
キッセイ薬品工業(株)
杏林製薬(株)研究センター
麒麟麦酒(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
(株)ケー・エー・シー
三共株式会社 安全性研究所
三栄源エフ・エフ・アイ(株)
(株)三州機器
(株)三和化学研究所
塩野義製薬(株)
株式会社 新日本科学
(財)食品農医薬品安全性評価センター

(財)食品薬品安全センター秦野研究所
住友化学(株)
(株)組織科学研究所
第一製薬(株)安全性研究所
大正製薬(株)総合研究所
大鵬薬品工業(株)安全性研究所
武田薬品工業(株)開発研究センター
中外製薬(株)
帝人ファーマ(株)
(株)DIMS医科学研究所
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)
ファイザー(株)
三菱ウェルファーマ(株)安全性研究所
明治製菓(株)
ワイス(株)

展示ブース会社ご芳名

(株)ヴィジョンズ
(株)エイチ・アンド・ティー
(株)DIMS医科学研究所
コーヴァンス・ジャパン(株)
(株)コクサン
CTCラボラトリーシステムズ(株)
株式会社 新日本科学

(株)ノビテック
(株)組織科学研究所
ダコ・ジャパン(株)
(株)ニチレイバイオサイエンス
日本クレア(株)
日本農産工業(株)

広告掲載会社ご芳名

(株)イナリサーチ
小鹿酒造協業組合
(株)ケー・エー・シー
コーヴァンス・ジャパン(株)
(株)札幌総合病理研究所
(財)残留農薬研究所
城山観光ホテル
株式会社 新日本科学
住化テクノサービス(株)
(株)組織科学研究所

(株)DIMS医科学研究所
Charles River Laboratories Preclinical Services・CTBR
(株)トアサイエンス鹿児島支店
日生研(株)
日本コカ・コーラ(株)
(株)バイオ病理研究所
(株)パナファーム・ラボラトリーズ
宝来化学薬品(株)
(株)ボゾリサーチセンター

ランチョンセミナー共催会社ご芳名

株式会社 新日本科学

2005年12月9日現在

50音順

組織標本作製、組織検査から最終報告書まで



■よきパートナー！サイエンティフィックテクニシャンを目指して■

受託業務

組織標本作製

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

組織学的検査

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

安全性研究コンサルタント

- 研究企画から最終報告書まで

秘密は完全に守ります
迅速、廉価です

このような時に御用命下さい

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

サンプル、標本、報告書の受発送は

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



株式会社

バイオ病理研究所

〒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)

Charles River Laboratories Preclinical Services Montreal 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。



病理学試験

Charles River Laboratories Preclinical Services Montreal の経験と専門分野

- ・ 獣医病理学者：17人 (主にACVP 認定者)
- ・ 病理科学技術者：235人
- ・ GLP準拠病理学評価：年間650件以上
- ・ パラフィン包埋組織標本の作成及び評価：年間800,000個以上
- ・ 特殊骨関連試験用標本作成：年間15,000個以上
- ・ 特殊病理学分野の専門責任者による特別指導
- ・ 特殊病理学部門に於ける経験と背景データ
 - 骨関連疾病：骨粗鬆症、関節炎等
 - 生体材料の組織標本作成・評価
 - 骨強度測定
 - 癌原性試験
 - 電子顕微鏡検査
 - イメージング (画像)：DXA、pQCTデンシトメトリー等
 - 免疫組織化学
 - 静注部位の病理学
 - 雄生殖能検査 (MRA)
 - 神経病理学的検査
 - 骨形態計測
 - 呼吸器病理学
 - 獣医臨床病理学
- ・ 受託病理検査、及び *In vivo* 試験

Charles River Laboratories
Preclinical Services Montreal Inc.
87 Senneville Road,
Senneville, Quebec, Canada, H9X 3R3
Tel: (514) 630-8200 Fax: (514) 630-8230
Web site: www.criver.com

チャールズ・リバー・ラボラトリーズ・サービス株式会社
〒103-0025 東京都中央区
日本橋茅場町3-2-2
EKKビル5F
E-mail: pcc_prm@jp.crl.com
Tel: 03-3662-6101 Fax: 03-3662-6102



DIMS医科学研究所は

化学物質の発がん性の有無
を短期的に予測することが
可能な**中期発がん性試験**
を開発確立した研究所です。
そのユニークな方法と膨大な
過去の成果から国際的に
高い信頼と評価を得ており、
新規化学物質の開発を推進する上で重要な
データを提供することができます。



GST-P陽性細胞染



【受託試験の内容】

医薬品、農薬、食品添加物などについて、マウスま
たはラットを用いた下記の試験をGLP対応により
実施いたします。

- 1 中期発がん性試験
(肝、膀胱、胃、腎臓、肺、甲状腺、鼻腔、皮膚等)
- 2 中期多臓器発がん性試験
- 3 発がん性試験(がん原性試験)
- 4 一般毒性試験(単回および反復投与毒性試験)
- 5 病理組織標本の作製及び病理組織学的検査
- 6 肝癌肺自然転移モデル

中期発がん性試験開発ラボ

DIMS

株式会社 DIMS医科学研究所
DIMS Institute of Medical Science, Inc.

〒491-0113 愛知県一宮市浅井町西浅井郷裏64番地
PHONE 0586-51-1201(代) FAX 0586-51-5634
E-mail: query@dims.co.jp
URL: http://www.dims.co.jp



医薬品開発総合受託機関

株式会社 新日本科学

安全性研究所

薬物代謝分析センター

新日本科学グループは、前臨床試験をはじめとして、臨床試験（CRO業務・SMO業務・フェーズI試験）の受託事業、さらに、創薬や医療技術のシーズを橋渡しするトランスレショナルリサーチ事業を通じて、医薬品開発のあらゆるプロセスを支援致します。



(鹿児島)



(和歌山)

連絡先：

鹿児島本店/安全性研究所

鹿児島県鹿児島市宮之浦町2438番地
TEL 099-294-2600 FAX 099-294-3619

薬物代謝分析センター

和歌山県海南市南赤坂16-1 海南インテリジェントパーク内
TEL 073-483-8881 FAX 073-483-7377

東京本社

東京都千代田区有楽町1-5-2 東宝ツインタワービル
TEL 03-3500-5566 FAX 03-3500-5596

大阪支社

大阪市中央区伏見町2-1-1 三井住友銀行高麗橋ビル
TEL 06-6233-8432 FAX 06-6233-8433

SNBL U.S.A., Ltd.

6605 Merrill Creek Parkway Everett, WA 98203
TEL +1 425 407 0121 FAX +1 425 407 8601

<http://www.snbl.com> e-mail: info@snbl.co.jp

信頼できるパートナー

アウトソーシングはお任せください

医薬品・農薬GLP適合受託試験機関

日生研株式会社

(受託試験は財団法人日本生物科学研究所が実施)

受託に関するお問い合わせ先

日生研株式会社 受託事業部 営業・渉外

〒198-0024 東京都青梅市新町9丁目2221番地の1

TEL 0428-33-1040 FAX 0428-33-1080

E-mail shogai@nibs.or.jp

ひとと科学と 深呼吸

最先端の科学技術も、それを生み出しているのは"ひと"です。わたしたちは、そこに携わるお客様と同じ速度で、同じ深さでじっくりと考え、最善のサポートを心がけています。



医療・科学の総合商社
Toa Science

株式会社 トーアサイエンス

本社・宮崎支店
宮崎市老松二丁目3番25号/〒880-0801
TEL/0985-24-5733 FAX/0985-24-4299

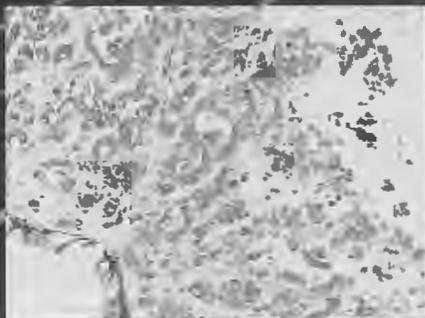
鹿児島支店
鹿児島市実業町3番地23/〒891-0115
TEL/099-260-8831 FAX/099-260-8806

延岡営業所
宮崎県延岡市浜砂二丁目19番21号/〒882-0851
TEL/0982-33-2800 FAX/0982-33-2801

<http://www.seikonet.co.jp/>

創立20年・・・GLP適合施設として歩んでまいりました。
そして2005年10月、新しい体制でさらに研鑽を積み病理
組織検査の専門施設として、皆さまの信頼に応えられるよう努
力してまいります。

病理標本作製・病理組織検査・各種特殊染色を
GLP試験など皆さまのニーズにあった方法で
実施致します。まずは、お問い合わせ下さい。



(株)札幌総合病理研究所

研究所長 森 道夫

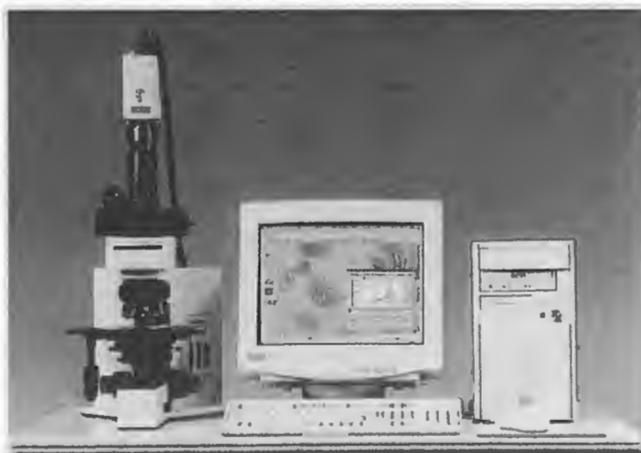
研究部長 竹内 雅也

札幌市中央区南12条西18丁目3-17
Tel 011(563)6215 Fax011(563)6299
e-mail sgpl@sgpl.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。

●蛍光画像処理の追加

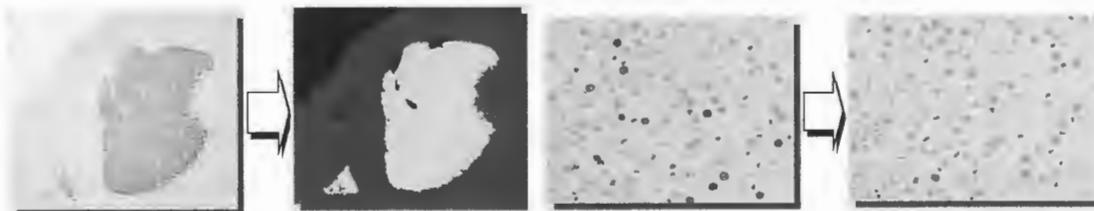
光学顕微鏡による画像解析に加えて、蛍光顕微鏡からの解析も可能となりました。

●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

鹿児島県大隅産の新鮮なさつまいもと国見山系の清らかな銘水…
 豊かな自然の恵みをもとに丹精込めて造り上げた逸品。
 さつまいもの香り豊かでまろやかな味わいの本格的な焼酎です。

鹿児島焼酎
小鹿



飲酒は二十歳を過ぎてから。



小鹿酒造協業組合

〒893-1101鹿児島県肝属郡吾平町上名7312
 TEL(0994)58-7171・FAX(0994)58-8363
<http://www.shochu-kojika.jp>

バイオ研究のパートナー

株式会社ケー・エー・シー

○各種実験受託

Tg動物作製・繁殖

薬理試験

病理標本作製

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・各種動物組織由来製品
 血液由来製品 など

2005年10月19日 病理標本作製業務の
GLP対応 が可能となりました。



株式会社
ケー・エー・シー



本 社

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

詳しくは弊社ホームページをご覧ください <http://www.kacnet.co.jp>

BOZO GROUP

安全性試験受託機関

- 一般毒性試験 ●癌原性試験 ●生殖・世代試験 ●刺激・感作性試験 ●変異原性試験
- 抗原性試験 ●安全性薬理試験 ●病理組織標本作製・検索
- 機器分析/トキシコキネティクス



ボゾリサーチセンターは、ラット・マウス試験(御殿場研究所)、ビーグル犬・サル・ウサギ・モルモット試験(函南研究所)、病理試験(東京研究所)の受託を行っています。

- Inhalation ●Infusion Study ●一般毒性試験 ●薬物動態試験・特殊薬理試験



ITR Laboratories Canadaは、カナダ・モントリオールでボゾリサーチセンターの子会社として、サル・イヌ・ラット試験の受託を行っています。



株式会社 **ボゾリサーチセンター**

本 社 〒156-0042 東京都世田谷区羽根木1-3-11ボゾリサーチビル Tel.03-3327-2111/Fax.03-3327-2115
東京本部 〒151-0065 東京都渋谷区大山町36-7 Tel.03-5453-8101/Fax.03-5453-8109
大阪支部 〒532-0003 大阪市淀川区宮原5-1-3 新大阪生島ビル Tel.06-6397-2851/Fax.06-6397-2852
研 究 所 御殿場研究所・函南研究所・東京研究所



ITR Laboratories Canada Inc.

19601 boul.Clark Graham, Baie d'Urfé (Montréal), Québec, Canada H9X 3T1 Tel.(514)457-7400/(514)457-7303

イナリサーチの病理検査は 質の高い病理組織標本と検査で 毒性試験の評価をサポートします。

■標本作製

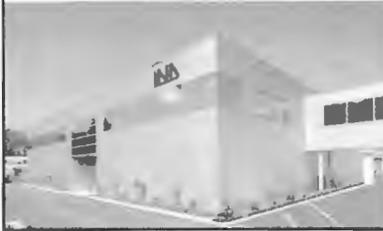
光顕標本（HE染色、特殊染色、免疫染色）、電顕標本

■病理組織学的検査

毒性評価、薬効評価、学術研究用の病理組織学的評価

📣 Topics

2006年春、新研究棟稼働開始！サル飼育室を増設、サル試験の受託能力を拡大します。



イナリサーチは非臨床試験の実施を通して、医薬品開発のお手伝いをしています。



株式会社 **イナリサーチ**



www.ina-research.co.jp

イナリサーチはAAALAC Internationalの完全認証施設です

〒399-4501 長野県伊那市西箕輪2148-188 TEL. 0265-72-6616 FAX. 0265-72-6657

■お問合せは.....

東京支所：TEL.03-3902-2377 FAX.03-3902-2477 tokyo@ina-research.co.jp

大阪支所：TEL.06-6223-1752 FAX.06-6223-1758 osaka@ina-research.co.jp

[取扱い商品]

- ・研究・分析試薬、消耗品
(臨床検査、水質、環境、食品検査等)
- ・研究・分析測定用設備、機器
(臨床検査室、実験、研究室用全般)

HORAI

宝来化学薬品株式会社

- | | |
|-------|--|
| 鹿児島本社 | 〒 891-0123 鹿児島市御本町5番29号
TEL 099-260-2445 FAX 099-260-2859 |
| 福岡支店 | 〒 816-0058 福岡市博多区月隈2丁目9-2-2
TEL 092-583-3240 FAX 092-583-3241 |
| 熊本営業所 | 〒 862-0976 熊本市九品寺4丁目8-26-1
TEL 096-373-1707 FAX 096-373-1708 |
| 宮崎支店 | 〒 880-0916 宮崎市恒久字草葉974-6
TEL 0985-53-3611 FAX 0985-53-7439 |
| 延岡営業所 | 〒 882-0837 延岡市古城町4-2
TEL 0982-22-0855 FAX 0982-22-1590 |



びん・ペットボトルは資源です
Yes!
 リサイクル
No!
 ボイ捨て

好きなときに、好きなものを。

気分に合わせて、おいしさいろいろ。
 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。



Coca-Cola, コカ・コーラ, Fanta, ファンタ, GEORGIA, ジョージア, AQUARIUS, アクエリアス, 爽健美茶, そりけんびら, Oco, クー, 爽爽, さっそう, ー, はじめは, The Coca-Cola Companyの商標です。コカ・コーラは、世界200か国以上で愛され続けています。



株式
会社

組織科学研究所

病理組織学的検査

◆ 病理組織標本作製

1. GLP
 - ・省令およびGLPに基づいた安全性試験の病理組織標本作製
2. 非GLP
 - ・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および評価
 - ・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tent等の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
3. 臨床(動物)
 - ・臨床(動物)の病理組織標本作製および診断
 - ・遺伝子改変動物の表現型解析における病理組織学的スクリーニング
 - ・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

◆ 標本作製技術者の派遣

1. 業務委託 長期間
2. 人材派遣 短期間

◆ 病理組織標本作製技術者の研修

1. 新人病理組織標本作製技術者の研修
2. 病理組織標本作製技術者経験者研修コース
3. オーダー病理組織標本作製技術研修コース

◆ 本社 問い合わせ先 ◆

〒198-0005 東京都青梅市黒沢2-984-1
 電話: 0428-74-4741 FAX: 0428-74-4505
 E-mail: info@hslabo.co.jp
 URL: <http://www.hslabo.co.jp/>

開発支援業務



スリーエス・ジャパン

スリーエス・ジャパンは非臨床分野の専門集団として、開発段階から申請までを総合的にサポート致します。

業務範囲

医薬品・医薬部外品・医療機器・農薬・化粧品・食品等

業務内容

- ◆ 非臨床試験の試験デザインの立案と試験委託先の調査・紹介
- ◆ 委託試験の試験施設への調査・指導
- ◆ 導入剤、新規開発剤の申請戦略に関する各種相談
- ◆ 海外試験レポートの評価(非臨床試験)
- ◆ 治験概要書の作成(臨床試験、非臨床試験)
- ◆ CTD申請資料の作成(非臨床試験)
- ◆ 申請時の照会事項の対応
- ◆ 申請資料のQCおよびレビュー
- ◆ 翻訳
- ◆ 開発に関する各種コンサルテーション
- ◆ 非臨床分野の教育・研修

◆ スリーエスジャパン 問い合わせ先 ◆

〒171-0022 東京都豊島区南池袋2-47-14
 セキネビル3階
 電話: 03-5911-7022 FAX: 03-5911-7028
 E-mail: 3sj@hslabo.co.jp
 URL: <http://www.hslabo.co.jp/threes/>



Panapharm Laboratories

非臨床試験総合受託研究機関

パナファーム・ラボラトリーズ

あらゆるニーズにお応えします。



安全性研究棟



代謝薬理研究棟



生化学研究棟

安全性試験

- 一般毒性試験 (単回投与, 反復投与: マウス, ラット, ウサギ, イヌ)
- 特殊毒性試験 (生殖発生, がん原性, 抗原性, 刺激性等: マウス, ラット, モルモット, ウサギ)
- その他 (TG マウスの表現型解析)

薬理試験

- 安全性薬理試験 (コアバッテリー試験, バッチクランプ法によるhERG試験, フォローアップ試験, 補助的安全性薬理試験)
- 薬効薬理試験 (脳虚血, 喘息, COPD, 心筋梗塞, 皮膚炎, 関節炎, 腎炎, 担がん等の各種病態動物を用いた薬効試験)

薬物動態試験

- マウス, ラット, イヌ, サル, 病態動物等を用いた体内動態試験 (Hot, Cold)
- In vitro* 代謝試験 (ヒト肝ミクロソーム, ヒトP450 発現系)
- Caco-2 細胞を用いた膜透過性試験

分析

- トキシコキネティクス (TK) 分析 (GC, GC/MS, HPLC, LC/MS/MS)
- 生体成分分析 (モノアミン等)

生化学試験

- 培養細胞を用いた *in vitro* 試験 (甲状腺作用, ステロール合成, コラーゲン合成等)
- ホルモン, サイトカイン等の測定 (RIA, EIA: GLP 適用も可能)
- 抗体作製 (免疫抗原作製, ポリ・モノクローン抗体作製, 抗体の標識・精製)
- アッセイシステムの開発 (RIA, EIA: GLP 適用も可能)

非臨床試験総合受託研究機関

株式会社 パナファーム・ラボラトリーズ
Panapharm Laboratories Co., Ltd.

●本社 / 〒 869-0425 熊本県宇土市栗崎町1285
TEL0964-23-5111 FAX0964-23-5122
Head office / 1285 Kurisaki-machi, Uto, Kumamoto, 869-0425 Japan

●東京連絡先 / 〒 105-0014 東京都港区芝2丁目1-30
TEL03-5443-5070 FAX03-3454-7573

●大阪連絡先 / 〒 541-0044 大阪市中央区伏見町4丁目-1-1
TEL06-6204-8541 FAX06-6204-8450

ホームページ <http://www.panapharm.co.jp/>

やすらぎを満たす、水と緑と光。



眼下に広がる鹿児島市の風景をひとりじめ。

標高108m美しい四季の移ろいの中で、
多彩な機能と快適空間が皆様をおもていたします。

景観一望桜島

天然温泉露天風呂「さつまいも湯」で心の癒し。



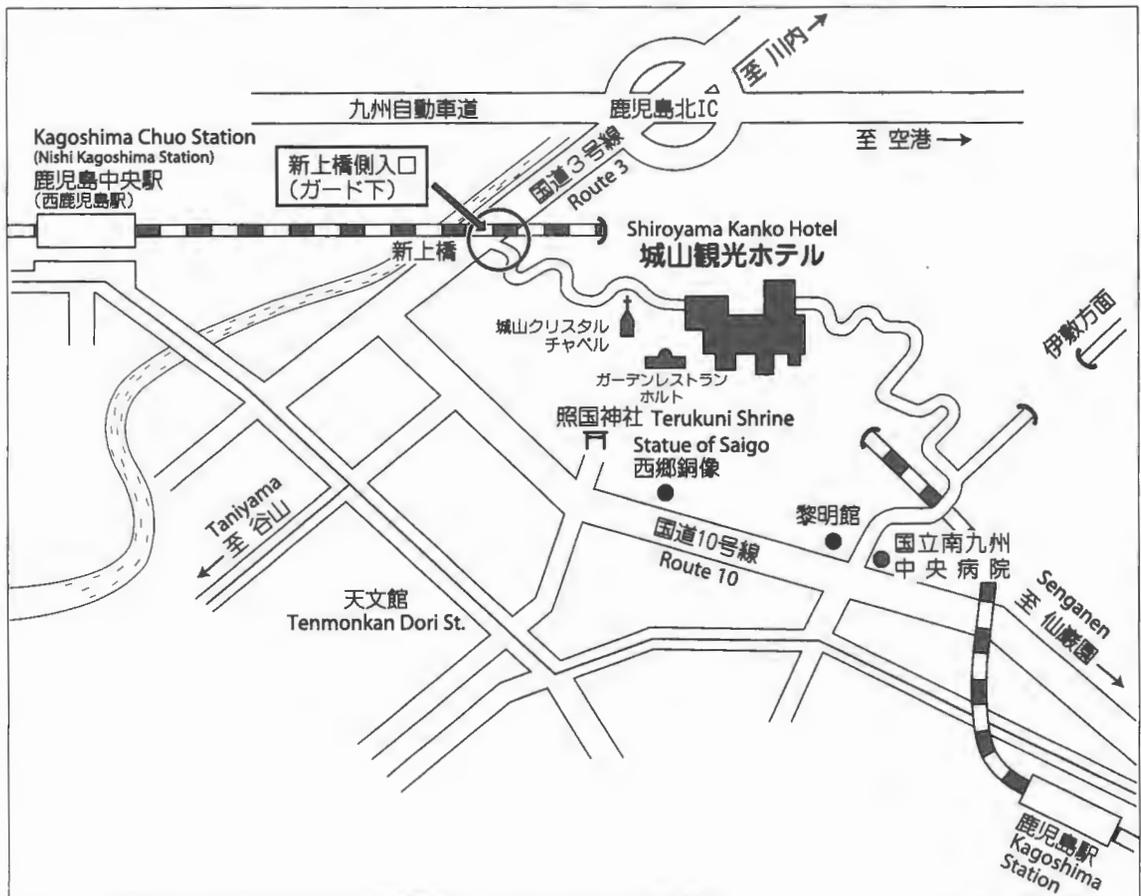
365ROOMS

365室11タイプのお部屋でおくつろぎください



Castle Park Hotel
城山観光ホテル

鹿児島市新照院町41番1号 TEL.099-224-2211(代)
ホームページアドレス www.shiroyama-g.co.jp



農薬、医薬品、一般化学物質

各種安全性試験の受託およびコンサルタント

適合GLP

農薬取締法 医薬品機構法 化審法 安衛法 薬事法(動物用医薬品)

受託試験項目

○各種急性毒性試験○一般毒性試験○発癌性試験○生殖毒性試験○神経毒性試験○免疫毒性試験○各種変異原性試験○毒性・発癌性に関する各種メカニズム試験○内分泌かく乱物質に関する各種評価試験○生体内物質測定試験○遺伝子解析、細胞分画試験○有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験○代謝運命試験○作物・土壌残留性試験○水質汚濁性に関する試験等
試験デザインの立案、翻訳、試験結果の評価など試験全般に関するご相談にも広くお答え致します。

創立 1970 年 以来 の 信 頼 と 豊 富 な 実 績



財団法人 残留農薬研究所

〒303-0043 茨城県常総市内守谷町 4321 番地

(市の名称が 2006 年 1 月 1 日に水海道市より変更されました。)

TEL : 0297-27-4501 (代表) URL : <http://www.iet.or.jp>

試験に関する問い合わせは、試験事業部業務課までお気軽にお電話ください。

TEL : 0297-27-4506,4509 Fax : 0297-27-1225 E-mail : gyoumu@iet.or.jp

第22回日本毒性病理学会講演要旨集

編 集 〒890-8544

鹿児島市桜ヶ丘8丁目35-1

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

第22回日本毒性病理学会

責任者 吉田 浩己

