

第 24 回日本毒性病理学会

講演要旨集



2008 年 2 月 6 日・7 日

名古屋



We're investing in
toxicology services
so you won't have to.

Covance continues to invest in our industry-leading toxicology business in locations around the world. We're focused on providing efficient, effective nonclinical toxicology studies to reduce the time and cost of developing your new drugs.

Covance is committed to investing in the technologies, facilities, processes and personnel required to help you achieve your study goals. We're enhancing our specialty toxicology services, and offering innovative approaches to nonclinical drug development. As a result, you can focus your resources, attain greater efficiencies and maintain control throughout the development process.

To find out more about how our global investments can benefit you, visit **www.covance.com/toxicology**.

COVANCE

THE DEVELOPMENT SERVICES COMPANY

コーヴァンス・ジャパン株式会社

104-0031

東京都中央区京橋 3-12-7 京橋山本ビル 7F

TEL 03-5159-3362 FAX 03-5250-1234

第 24 回日本毒性病理学会総会及び学術集会

目 次

第 24 回日本毒性病理学会総会及び学術集会概要	1
会場への交通案内	2
会場案内	3
企業展示・ポスター展示会場	4
参加者へのご案内	5
司会・座長一覧	11
日程表	12
日本毒性病理学会のあゆみ	13
プログラム	
ワークショップ	14
特別講演	15
一般口演	16
ポスター発表・質疑	18
講演要旨	
ワークショップ要旨	31
一般口演要旨	39
ポスター要旨	47
発表者索引	95

第 24 回日本毒性病理学会総会及び学術集会

Twenty-fourth Annual Meeting of
The Japanese Society of Toxicologic Pathology

1. 期 日 2008 年 2 月 6 日 (水)・7 日 (木)

2. 会 場 名古屋国際会議場
〒 456-0036 名古屋市熱田区熱田西町 1 番 1 号
TEL : 052-683-7711

3. 会 長 白井 智之
(名古屋市立大学大学院医学研究科 生体機能・構造医学専攻
病態病理学講座 実験病態病理学分野 教授)

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 青木 豊彦 (株式会社エーザイ)
今井田克己 (香川大学)
宇和川 賢 (住友化学工業株式会社)
中江 大 (東京都健康安全研究センター)
中山 裕之 (東京大学)
山口 修司 (大鵬薬品工業株式会社)

5. 事務局

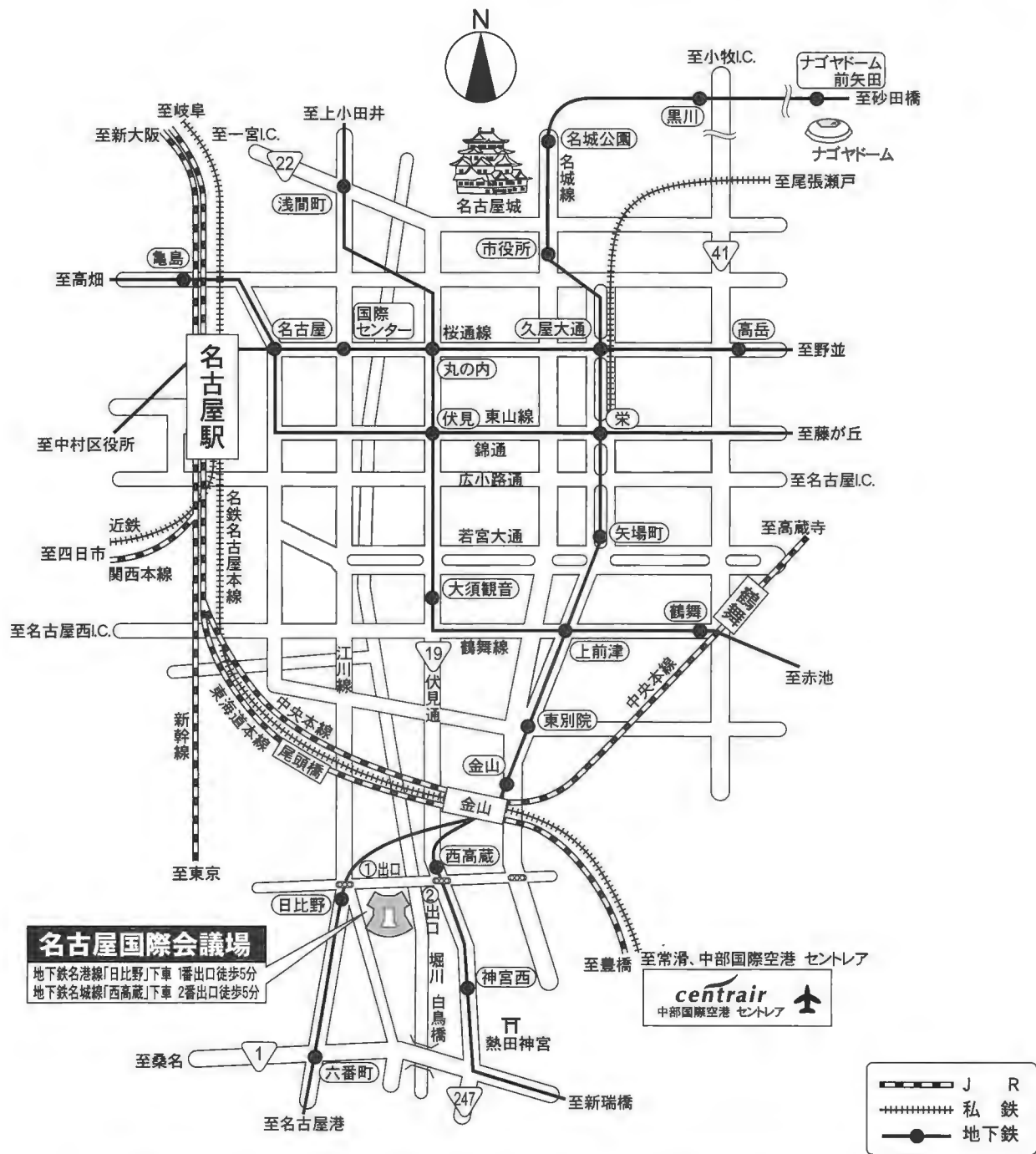
【会期前】 第 24 回日本毒性病理学会事務局
〒 467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1
名古屋市立大学大学院医学研究科 生体機能・構造医学専攻
病態病理学講座 実験病態病理学分野
TEL : 052-853-8156 FAX : 052-842-0817
E-mail : jstp24@med.nagoya-cu.ac.jp

【会期中】 2008 年 2 月 6 日 (水) ～ 7 日 (木)
TEL : 052-683-7111

6. 学会準備室

株式会社コングレ中部支社
〒 460-0004 名古屋市中区新栄町 2-13
TEL : 052-950-3369 FAX : 052-930-3370
E-mail : jstp24@congre.co.jp

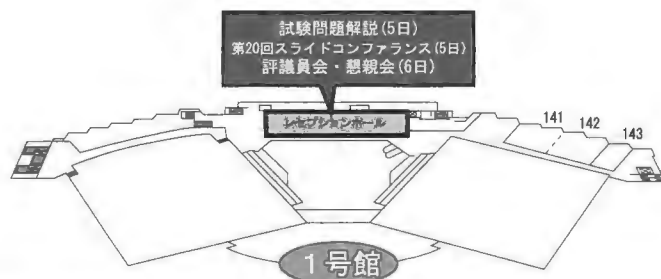
会場への交通案内



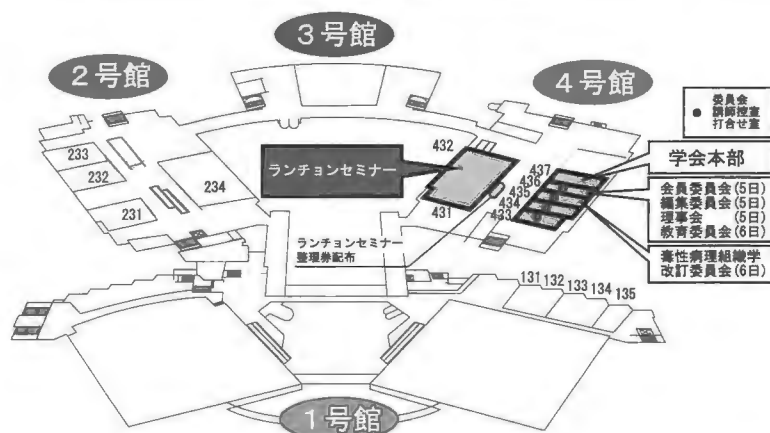
名古屋駅より	中部国際空港 セントレア より
タクシー 名古屋駅 → 名古屋国際会議場 約1,500円 約20分	タクシー 中部国際空港 → 名古屋国際会議場 空港定額タクシー 10,200円 約40分 (有料道路料金含まず)
地下鉄 名古屋駅 → 栄(東山線)または久屋大通(桜通線)のりかえ 230円 4分 8分	名鉄 中部国際空港 → 日比野(名古屋港行) 空港線+地下鉄 西高蔵(左回り)下車 名鉄空港特急 ミニバスカイ 約30分 790円 地下鉄 200円 徒歩 5分
JR・名鉄 JR160円 名鉄180円 +地下鉄200円 名古屋駅 → 日比野(名古屋港行) 3分 → 西高蔵(左回り)下車 2分 徒歩5分	

● 公共交通機関をご利用ください

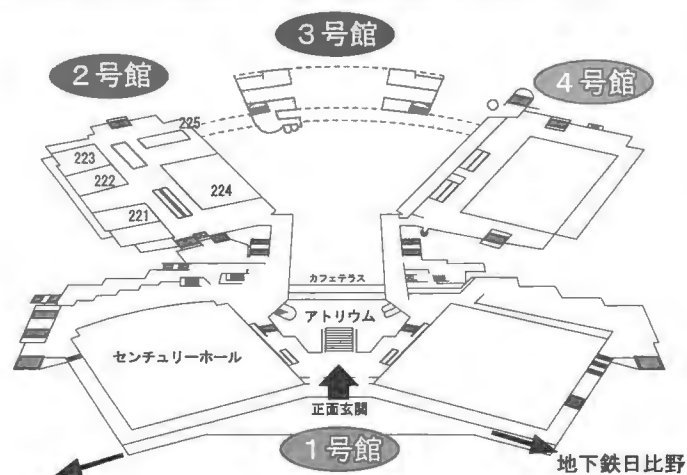
会場案内



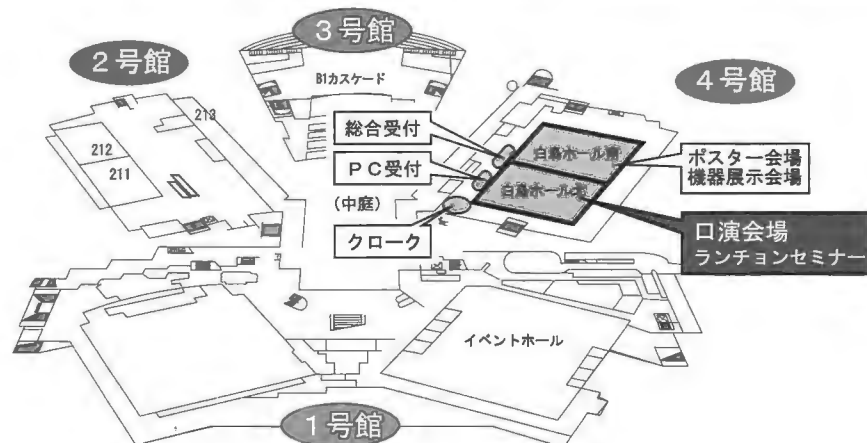
4
F



3
F

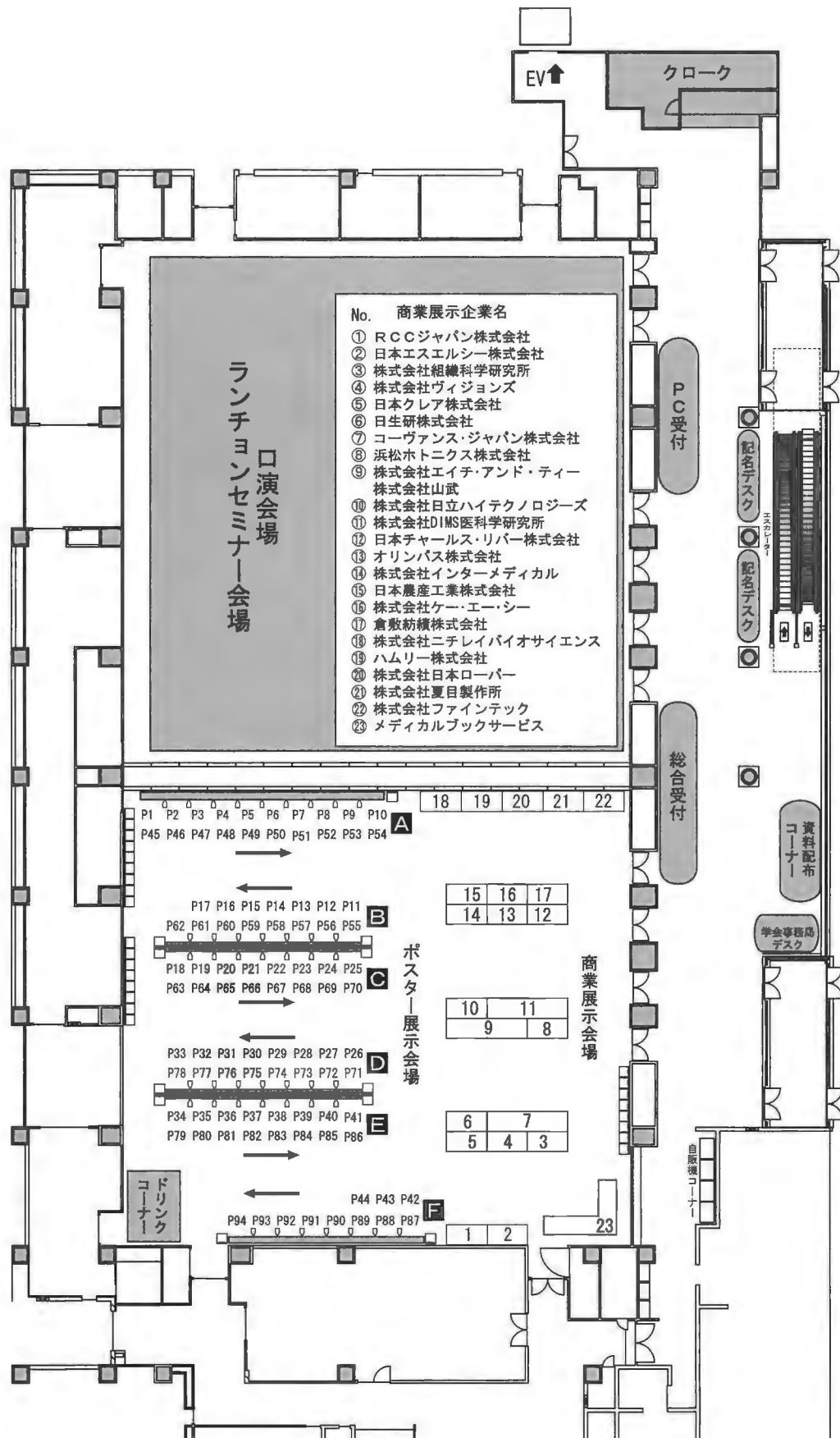


2
F



1
F

企業展示・ポスター展示会場



参加者へのご案内

●参加者の方へ

1. 総合受付は2月6日・7日両日ともに午前9:00から名古屋国際会議場ロビー（4号館1階）にて行います。
2. 事前登録者はあらかじめ講演要旨集と送付された参加章（ネームカード）を持参し、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. 講演要旨集は事前に郵送いたしますので、忘れずにご持参ください。当日のお求めは非会員:5,000円、会員・学生:2,000円で販売いたします。
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. 会場内では携帯電話の電源をOFFまたはマナーモードにしてください。
8. 商業展示は4号館1階 白鳥ホール南です。（ドリンクコーナー併設）
9. 会場内はレストラン2ヶ所、軽食喫茶1ヶ所ございます。（1号館7階 レストラン パステル／3号館地下1階 レストラン カスケード／2号館連絡通路2階 喫茶ユリ）
10. クロークは4号館1階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。
2月6日（水）9:00～18:20
2月7日（木）9:00～16:50
6日の懇親会に出席される方は懇親会会場（1号館4階 レセプションホール）内に設置した荷物机をご利用ください。（貴重品の管理は各自お願いいたします）
11. 会場内での呼び出しは緊急以外にいたしませんのでご了承ください。資料配布コーナー（4号館1階ロビー）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。
12. 講演会場において写真撮影・録画・録音はご遠慮ください。

●総会及び評議会のご案内

1. 評議員会は学会第1日目（6日）12:10からレセプションホール（1号館4階）にて行います。
2. 総会は学会第2日目（7日）11:25から白鳥ホール北（4号館1階 口演会場）にて行います。

●ランチョンセミナーのご案内

1. 平成 20 年 2 月 6 日（水）・7 日（木）の両日とも、4 号館 1 階白鳥ホール北（口演会場）と 4 号館 3 階会議室 431-432 の二カ所においてランチョンセミナーを行います。

ランチョンセミナーⅠ

平成 20 年 2 月 6 日（水）12：10～13：10 4 号館 1 階 白鳥ホール北

「トキシコゲノミクス手法を用いた化学物質の短期発がん性予測法の開発」

演 者：名古屋市立大学大学院医学研究科 高橋 智

株式会社三菱化学安全科学研究所 河野友紀子

財団法人化学物質評価研究機構 斎藤文代

司会者：株式会社三菱化学安全科学研究所 関島 勝

協 賛：住友化学株式会社

株式会社三菱化学安全科学研究所

財団法人化学物質評価研究機構

ランチョンセミナーⅡ

平成 20 年 2 月 6 日（水）12：10～13：10 4 号館 3 階 会議室 431-432

「Differences in rat strains」

演 者：RCC Ltd, Klaus Weber

司会者：病理ピアレビューセンター 高橋道人

協 賛：日本エスエルシー株式会社

ランチョンセミナーⅢ

平成 20 年 2 月 7 日（木）12：10～13：10 4 号館 1 階 白鳥ホール北

「Biomarkers of Nephrotoxicity」

演 者：Biotrin International, Martin Shaw

司会者：日本農産工業株式会社 榎本康弘

協 賛：日本農産工業株式会社

ランチョンセミナーⅣ

平成 20 年 2 月 7 日（木）12：10～13：10 4 号館 3 階 会議室 431-432

「マウス腎臓アミロイド症と類緑疾患の鑑別」

演 者：RCC Ltd, 岩田 聖

司会者：RCC Ltd, Klaus Weber

協 賛：RCC ジャパン株式会社

2. ランチョンセミナー整理券は、4 号館 3 階ロビーにて、セミナー開催日の午前 9:00 より配布します。
ふるってご参加ください。

●懇親会の御案内

1. 懇親会は学会第1日目（6日）18：30 から1号館4階レセプションホールにて開催します。
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（学生：5,000 円）を申し受けます。
3. 懇親会事前登録者には、参加章（ネームカード）に懇親会参加の押印をします。

●座長の先生方へ

ワークショップ・一般口演の座長の先生へ

1. 来館されましたら、総合受付（4号館1階ロビー）にお越しください。会長賞選定のための評価票をお渡しします。
2. ご担当セッションにつきましては、開始時間の遅くとも20分前までには、総合受付にお越しください。
3. セッション開始10分前には、会場内の次座長席にお着きください。
4. 会長賞は、40歳未満の筆頭演者による一般口演、ポスターの全演題を対象に選考していただきます。抄録と口演発表もしくはポスター発表を評価していただき、2月7日14：30までに評価票を総合受付にご提出ください。

ポスター発表の座長の先生方へ

1. 総合受付（4号館1階ロビー）にお越しください。会長賞選定のための評価票をお渡しします。
2. ご担当セッション討論時間の遅くとも10分前までには、総合受付（4号館1階ロビー）内の受付にお越しください。指示棒、リボンをお渡しします。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。
3. 会長賞は、40歳未満の筆頭演者による一般口演、ポスターの全演題を対象に選考していただきます。抄録と口演発表もしくはポスター発表を評価していただき、2月7日14：30までに評価票を総合受付にご提出ください。

●ワークショップ・一般口演演者の先生方へ

発表時間の遅くとも60分前までには、PC受付（4号館1階ロビー）にお越しください。発表用データの動作確認を行っていただきます。

※本年度は事前に発表データを提出していただくことはありませんので、なるべくお早めに総合受付にてデータの動作確認をお願いいたします。

発表機材はPC液晶プロジェクターを使用します。35mmスライド・ビデオは使用できませんのでご注意ください。

《注意事項》

●メディアのみをお持ちの方へ

- ・学会本部で用意しておりますコンピュータの OS とアプリケーションは 以下のとおりです。
Windows XP (Power Point 2000 / Power Point XP / Power Point 2003)
※ Machintosh、Keynote、Windows Vista および Office 2007 で作成されたデータをご使用の場合、
必ずご自身のコンピュータをお持ちください
- ・一般演題のデータ容量は 10MB 以下としてください。
- ・フォントは OS 標準のみ使用可能です。
日本語：MS ゴシック、MSP ゴシック、MS 明朝、MSP 明朝
英 語：Times New Roman、Arial、Arial Black、Arial Narrow、Century、Century Gothic、
Courier、Courier New Georgia (※画面レイアウトの乱れを防ぐため、上記のフォント
のご使用をお奨めします)
- ・メディアは CD-R もしくは USB フラッシュメモリにてお持ちください。
ただし CD-R の書き込みはハイブリッドフォーマットでお願いいたします。
MO や FD などのご利用できません。
(※パケットライトなど特殊な機能は不具合を生じる原因になりますので使用なさらないでくだ
さい)
- ・メディアのみをお持ちの場合、動画は使用できません。
- ・お持ちいただくメディアには必ず所属・氏名をご記入ください。
なお、ファイル名は「演題番号－演者名」としてください。
- ・必ずバックアップデータも併せてご用意ください。
(バックアップデータを持参されなかったために発表が不可能となりましても責任を負いかねま
すのであらかじめご了承ください)
- ・メディアを介したウィルス感染の事例がございます。
最新のウィルス駆除ソフトを使用しチェックを行ってください。
- ・メディア作成後、正常に作動するかを他のコンピュータを用いてチェックしてください。
- ・お預かりしましたデータはご発表後破棄いたします。

●コンピュータをお持ちの方へ

- ・利用機種、OS、アプリケーションに制限はありません。
- ・コンピュータをお持ちの場合、設定で外部画面出力になっているかあらかじめご確認ください。
- ・外部出力端子は D-sub15 ピンを用意いたします。
お持ちいただくコンピュータから D-sub15 ピンへの変換コネクタが必要な場合は、各自ご用
意ください。D-sub15 ピン以外の接続はお受けできませんのでご了承ください。
- ・動画も利用可能ですが、お持ちいただくコンピュータで再生できるかを事前に必ずご確認ください。
なお、確認している場合でもメディア受付にて外部出力モニター接続のうえ、再度動作を確認
してください。
- ・スクリーンセーバーならびに省電力設定はあらかじめ解除してください。
- ・バッテリーでのご発表はトラブルの原因となりますので、必ず電源ケーブルをお持ちください。

- ・お持ちいただくコンピュータに保存されているデータの損失回避のため、事前にバックアップを行ってください。

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。

一般口演時間、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	予告ベル
一般口演	8分	4分	発表時間7分経過で、ベル1鈴 発表時間8分経過で、ベル2鈴

●ポスター発表をされる先生方へ

ポスター添付・撤去時間

	演題番号	準備時間	討論時間	撤去時間
2月6日(水)	P-1～44	9:30～10:00	13:20～14:20	16:20～18:00
2月7日(木)	P-45～94	9:00～9:30	13:20～14:20	15:10～16:10

ポスター発表者受付について

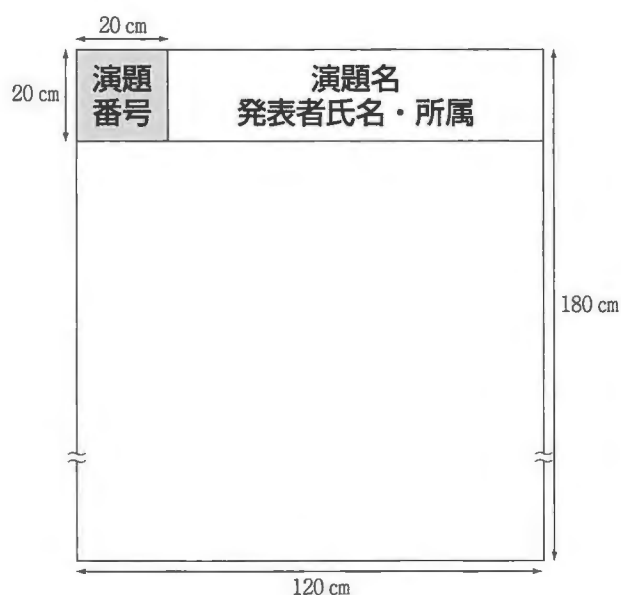
演題番号 P-1～44の方は、学術集会1日目(6日)午前10:00までに、演題番号 P-45～94の方は、学術集会2日目(7日)午前9:30までに総合受付(4号館1階ロビー)にて受付し、ポスター発表用のリボンをお受け取りになり、展示を済ませてください。

また、討論時間の遅くとも10分前には、ポスター会場にお越しください。

討論時間には、参加章(ネームカード)のほかに、発表用リボンを必ず着用してください。

※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。

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。



討論は、1 演題あたり発表 5 分、質疑 5 分です。発表者は、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。討論時間以外の時間帯は、座長なしで自由に討論してください。

ポスターの撤去は、撤去時間に済ませてください。

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、画鋏は総合受付に返却してください。

●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）

学術集会発表者各位におかれましては、恒例により、Journal of Toxicologic Pathology に掲載するため、御演題の英文抄録を作成いただきますよう、お願い申し上げます。なお、今回は、JSTP24 ホームページ「発表者の方へ」を御参照の上、以下の規定に従って作成・提出いただきますよう、お願い申し上げます。

日本毒性病理学会 編集委員会 委員長 中江 大

1. 抄録は、Microsoft Word を使用し、A4 用紙・上下マージン各 40 mm・左右マージン各 66 mm・9 ポイント Times フォント・シングルスペース・左揃えの設定で作成してください。なお、ギリシャ文字は、9 ポイント Symbol フォントを使用してください。
2. 文字数の制限はありませんが、抄録は上記設定下の 1 ページ以内で作成してください。
3. 演題名は、ボールドとし、接続詞等を除いて第 1 文字を大文字としてください。
4. 演者名は名（第 1 文字のみ大文字）・ミドルイニシャル（要時）・姓（すべて大文字）とし、所属が異なる場合は上付数字・後括弧で識別してください。
5. 所属名は、適宜省略してください。
6. 本文において、第 1 段落は左端開始とし、第 2 段落以後は 1 字の字下げで開始してください。
7. 抄録は、Word フォーマットで保存し、中江宛 <agalennde.dai@nifty.com> の電子メールに添付して、学術集会終了日（2008 年 2 月 7 日）までに提出してください。
8. 御質問は、中江宛をお願いします。

司会・座長一覧

セッション名	日 時	司会・座長（所属）	会 場
ワークショップⅠ	2月6日（水）10：10～12：00	今井田克己（香川大・腫瘍病理） 堤 雅弘（済生会中和病院）	白鳥ホール （北）
ワークショップⅡ	2月6日（水）16：20～18：00	藤林 靖久（福井大・高エネルギー研セ） 渋谷 淳（東農大・病態獣医学）	
ワークショップⅢ	2月7日（木）14：20～16：10	三森 国敏（東農大・病態獣医学） 中江 大（東京都健康安全研）	
特 別 講 演	2月7日（木）10：30～11：25	津田 洋幸（名市大・分子毒性）	
一般口演 1	2月6日（水）14：20～15：15 O-1～O-4	田中 卓二（金沢医大・腫瘍病理）	
一般口演 2	2月6日（水）15：15～16：10 O-5～O-8	務台 衛（田辺三菱・安全研）	
一般口演 3	2月7日（木）9：30～10：30 O-9～O-12	西川 秋佳（国立衛研・病理）	白鳥ホール （南）
ポスター発表 質 疑 Ⅰ	2月6日（水）13：20～14：20 P- 1～P- 4 P- 5～P- 7 P- 8～P-10 P-11～P-14 P-15～P-17 P-18～P-21 P-22～P-25 P-26～P-29 P-30～P-33 P-34～P-37 P-38～P-41 P-42～P-44	長野 嘉介（日本バイオアッセイ） 古川 文夫（DIMS 医科研） 今井 俊夫（国立衛研・病理） 中山 裕之（東大・獣医病理） 奈良間 功（摂南大・薬・病理） 朝元 誠人（名市大・実験病態病理） 山手 丈至（大阪府大・獣医病理） 田村 一利（ボゾリサーチ・病理） 鰐渕 英機（大阪市大・都市環境病理） 小川久美子（名市大・実験病態病理） 尾崎 圭介（住友化学・生活環境） 二口 充（名市大・実験病態病理）	
ポスター発表 質 疑 Ⅱ	2月7日（木）13：20～14：20 P-45～P-48 P-49～P-51 P-52～P-54 P-55～P-58 P-59～P-62 P-63～P-66 P-67～P-70 P-71～P-74 P-75～P-78 P-79～P-82 P-83～P-86 P-87～P-90 P-91～P-94	吉見 直己（琉球大・腫瘍病理） 横平 政直（香川大・腫瘍病理） 奥野 泰由（住友化学・生科研） 下 武男（富士薬品・生物研究部） 真鍋 淳（第一三共・安全研） 高橋 智（名市大・実験病態病理） 宇和川 賢（住友化学・生科研） 福田 良（武田薬品・開発研究センター） 傳田阿由美（奈良医大・分子病理） 森 聖（シミック） 寺西 宗広（第一三共・安全研） 永井 博文（武田薬品・開発研究センター） 津田 洋幸（名市大・分子毒性）	白鳥ホール （南）

日程表 2008年2月6日(水)～7日(木)

学術集会前日 2/5(火)		学術集会1日目 2/6(水)							学術集会2日目 2/7(木)		
	レセプション ホー ル	会議室 436	白鳥ホール 北	白鳥ホール 南	ピアソン ホール	会議室 431-432	会議室 436	会議室 435	白鳥ホール 北	白鳥ホール 南	会議室 431-432
8:30			8:30 準備・開場	8:30 準備・開場			8:30 教育 委員会	8:30 毒性病理 組織学 改訂 委員会	8:45 準備・開場	8:45 準備・開場	8:30
9:00	9:00 準備・開場		9:00 総合受付 開始	9:30 ポスター 受付・貼出					9:00 受付開始	9:00 ポスター 受付・貼出	9:00
9:30							9:30		9:30	9:30	9:30
10:00	10:00		10:00 開会挨拶 10:10	10:00				10:00	一般口演Ⅲ		10:00
10:30	日本毒性病理 専門医認定試験 における 「試験問題解説」		ワークショップⅠ						10:30 特別講演		10:30
11:00				11:10 ポスター 掲示 閲覧	11:10 準備・開場				11:25 総会	ポスター 掲示 閲覧	11:00
11:30		11:30 会員 委員会				12:00 補講			12:00 準備・開場 12:10		11:30
12:00			12:00 準備・開場 12:10		12:10 評議員会	12:10 ランチョン セミナー Ⅱ					12:00 補講 12:10 ランチョン セミナー Ⅳ
12:30		12:30	ランチョンセミナーⅠ						ランチョンセミナー Ⅲ		12:30
13:00	13:00	13:00	13:10	13:10	13:10	13:10			13:10		13:00
13:30		編集 委員会		13:20 ポスター 発表 質疑Ⅰ						13:20 ポスター 発表 質疑Ⅱ	13:30
14:00											14:00
14:30	第20回 スライド コンファランス	14:45	14:20 一般口演Ⅰ	14:20					14:20 ポスター 掲示 閲覧		14:30
15:00		15:00	15:15 一般口演Ⅱ	ポスター 掲示 閲覧				ワークショップⅢ	15:10 ポスター 撤去		15:00
15:30											15:30
16:00			16:10 Tea break 16:20	16:20					16:10 表彰式・閉会式 16:30		16:00
16:30		理事会									16:30
17:00			ワークショップⅡ	ポスター 撤去							17:00
17:30											17:30
18:00		18:00	18:00	18:00							18:00
18:30					18:30						18:30
19:00											19:00
19:30					懇親会						19:30
20:00											20:00
20:30					20:30						20:30

日本毒性病理学会のあゆみ

回	開催地	会長（所属）	会 期	特別 講演	シンポジウム ワークショップ その他	一般 演題
1	東 京	西山 保一（北里学園）	1985.3.25	2	0	0
2	東 京	藤原 公策（東京大学）	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 裕造（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
23	東 京	三森 国敏（東京農工大学）	2007.1.30-31	0	15	107
24	名古屋	白井 智之（名古屋市立大学）	2008.2.6-7	1	13	106

* Joint international meeting of JSTP/IFSTP

プログラム

○：発表者 *発表者が40歳未満
(一般口演・ポスター発表者)

ワークショップⅠ 気管内投与による新たな毒性評価

第1日目(2月6日) 10:10～12:00

白鳥ホール(北)

座長 今井田克己(香川大・腫瘍病理)

堤 雅弘(済生会中和病院)

- WS1-1 全身曝露による吸入毒性の評価32
○長野 嘉介、梅田 ゆみ、妹尾 英樹、片桐 卓、相磯 成敏、福島 昭治
(中央労働災害防止協会、日本バイオアッセイ研究センター)
- WS1-2 タバコ特異的ニトロソアミンの経気道投与条件によるラット肺発がん性の差異32
○北橋 宗¹⁾、楠岡 修²⁾、阪本 晃佳²⁾、辻内 俊文³⁾、三井 雅之⁴⁾、堤 雅弘⁵⁾
(¹⁾ 国立がんセンター・研・がん予防基礎研究、²⁾ ボゾ・リサーチセンター・御殿場研・病理、
³⁾ 近大・理工・生命科学、⁴⁾ 三重大学・創研研セ、⁵⁾ 済生会中和病院・病理)
- WS1-3 ラットを用いた反復経気道投与法の開発33
○古川 文夫、中島 弘尚、土井 悠子、難波江 恭子、河部 真弓、
萩原 昭裕、玉野 静光
(株) DIMS 医科学研究所 第一試験研究部)
- WS1-4 ラット気管内投与法による微粒子の肺毒性評価への挑戦33
○横平 政直、橋本 希、久野 壽也、今井田 克己
(香川大学 医学部 腫瘍病理学)
- WS1-5 気管内注入試験による吸入性化学物質の有害性評価34
○森本 泰夫
(産業医科大学 産業生態科学研究所 呼吸病態学)

ワークショップⅡ 画像イメージングと毒性病理学の接点

第1日目(2月6日) 16:20～18:00

白鳥ホール(北)

座長 藤林 靖久(福井大・高エネルギー研セ)

渋谷 淳(東農大・病態獣医学)

- WS2-1 PET 分子イメージングとは?35
○藤林 靖久
(福井大学高エネルギー医学研究センター、放射線医学総合研究所分子イメージング
研究センター)
- WS2-2 バイオイメージングによるがん転移モデルでの病態把握と治療評価系への応用35
○落谷 孝広、外岩戸 尚美、竹下 文隆
(国立がんセンター研究所がん転移研究室)

WS2-3 光イメージングを用いた生体応答の可視化と治療薬・診断薬の開発	36
○近藤 科江 ^{1,2)} 、平岡 真寛 ¹⁾	
(1) 京都大学医学研究科、放射線腫瘍学・画像応用治療学、2) 21世紀COE「病態解明を目指す基礎医学研究拠点」)	

WS2-4 中枢神経系の再生戦略	36
○岡野 栄之	
(慶應義塾大学医学部生理学教室・教授)	

ワークショップⅢ 毒性病理学的診断基準の国際的諸問題，欧米の現状と動向

第2日目（2月7日）14：20～16：10 白鳥ホール（北）

座長 三森 国敏（東農大・病態獣医学）
中江 大（東京都健康安全研）

WS3-1 The New International Nomenclature Project – INHAND and the GESC	37
○Peter C. Mann	
Diplomate, American College of Veterinary Pathology	
Chair, GESC	
Manager, EPL NorthWest	
Seattle, WA, USA	
WS3-2 毒性病理学用語・診断基準の国際統一化に向けた JSTP の活動状況について	37
○原田 孝則	
(財団法人 残留農薬研究所)	
WS3-3 毒性病理学用語にまつわる評価上の諸問題	38
○西川 秋佳	
(国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・病理部)	
WS3-4 毒性病理学的診断・用語・所見：実務での諸問題	38
○大石 裕司	
(アステラス製薬（株） 安全性研究所 毒性病理研究室)	

特別講演

第2日目（2月7日）10：30～11：25 白鳥ホール（北）

座長 津田 洋幸（名市大・分子毒性）

A Framework of Human Relevance Analysis of Information of Carcinogenic
Modes of Action in Animals

○Samuel M. Cohen, M.D.,Ph.D., (Professor, Pathology and Microbiology,
University of Nebraska Medical Center)

一般口演 白鳥ホール（北）

○：発表者 *発表者が40歳未満
(一般口演・ポスター発表者)

一般口演Ⅰ

第1日目（2月6日）14：20～15：15

白鳥ホール（北）

座長 田中 卓二（金沢医大・腫瘍病理）

- *O-1 マウス大腸における分化細胞と未分化細胞の分離とその遺伝子発現解析 40
○平田 暁大¹⁾、山田 泰広²⁾、山下 聡³⁾、牛島 俊和³⁾、田口 紋子²⁾、原 明²⁾、
森 秀樹²⁾
(¹⁾ 岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野、²⁾ 岐阜大学大学院
医学系研究科 腫瘍病理学分野、³⁾ 国立がんセンター研究所 発がん研究部)
- *O-2 活性型 Hras コンディショナルトランスジェニックラット（Hras250）を用いた 40
早期肺癌血清診断法確立の試み
○深町 勝巳¹⁾、萩原 良明^{4,5)}、田中 創始²⁾、柳原 五吉³⁾、樋野 興夫⁴⁾、
津田 洋幸¹⁾
(¹⁾ 名市大 医 分子毒性、²⁾ 名市大 医 臨床機能内科、³⁾ 国立がんセ 研 実験動物、
⁴⁾ 順天堂大 医 病理 腫瘍学、⁵⁾ (株) 免疫生物研究所)
- *O-3 高砂糖食の肺癌がん促進作用の検索 41
○阪本 晃佳¹⁾、合屋 道士²⁾、出川 洋子²⁾、森 俊雄²⁾、田村 一利¹⁾、
堤 雅弘^{2,3)}
(¹⁾ 株式会社 ボゾリサーチセンター 病理部、²⁾ 奈良県立医科大学 RI センター、
³⁾ 済生会中和病院 臨床病理部)
- O-4 4NQO 誘発ラット舌発がんに対するジアシルグリセロールの 41
プロモーション作用の検索
○梅村 隆志¹⁾、前田 真智子¹⁾、石井 雄二¹⁾、岡村 俊也¹⁾、田崎 雅子¹⁾、
井上 知紀¹⁾、広瀬 雅雄²⁾、西川 秋佳¹⁾
(¹⁾ 国立医衛研 病理部、²⁾ 内閣府食品安全委員会)

一般口演Ⅱ

第1日目（2月6日）15：15～16：10

白鳥ホール（北）

座長 務台 衛（田辺三菱・安全研）

- O-5 活性型 Hras^{V12} コンディショナルトランスジェニックラット（Hras250）を用いた 42
肺癌がんモデルの確立と起始細胞の探索
○大嶋 浩¹⁾、深町 勝巳²⁾、アレキサンダー デビッド²⁾、津田 洋幸²⁾
(¹⁾ 財団法人化学物質評価研究機構、²⁾ 名古屋市立大学 分子医学講座)
- *O-6 Ogg1 欠損マウスにおける NNK 誘発肺増殖性病変の EGFR 突然変異 42
○五十嵐 麻希^{1,2)}、吉田 緑³⁾、渡邊 学²⁾、阿部 正義⁴⁾、菅野 純夫²⁾、
中江 大⁵⁾
(¹⁾ 東農大 院 生体機能防衛、²⁾ 東大 新領域、³⁾ 国立衛研 病理、⁴⁾ 日産化学工業、
⁵⁾ 東京都健康安全研究セ)

O-7	Nitron anti-cancer activity in APC ^{min} model of colon cancer	43
	○ FLOYD ROBERT A. ^{1,2)} 、TOWNER RHEAL A. ¹⁾ 、WU DEE ³⁾ 、 GUO WEI-XING ¹⁾ 、FOSTER STEVEN B. ¹⁾ 、HUYCHE MARK ^{4,5)} (¹⁾ Oklahoma Medical Research Foundation、 ²⁾ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Oklahoma University Health Sciences Center、 ³⁾ Department of Radiological Sciences, Oklahoma University Health Sciences Center、 ⁴⁾ The Muchmore Laboratories for Infectious Disease Research, Department of Veterans Affairs Medical Center、 ⁵⁾ Department of Medicine, Oklahoma University Health Sciences Center)	
*O-8	Gpx2/Cytokeratin19 発現比を用いた <i>in vitro</i> 短期発がん性試験法確立の試み	43
	○ 内木 綾 ¹⁾ 、朝元 誠人 ¹⁾ 、小川 久美子 ¹⁾ 、佐藤 慎哉 ¹⁾ 、津田 洋幸 ²⁾ 、 白井 智之 ¹⁾ (¹⁾ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、 ²⁾ 名古屋市立大学 大学院 医学研究科 分子毒性学)	

一般口演Ⅲ

第2日目 (2月7日) 9:30 ~ 10:30

白鳥ホール (北)

座長 西川 秋佳 (国立衛研・病理)

O-9	Cell cycle and apoptosis regulation in neural progenitor cells of the etoposide-treated developing fetal brain	44
	○ 南 春子、土井 邦雄、中山 裕之 (東京大学 農学生命科学研究科 獣医学専攻)	
O-10	メルカプトプリンのラット胎盤に対する影響	44
	○ 古川 賢、白田 浩二、阿部 正義、林 清吾、小川 いづみ (日産化学工業株式会社 生物科学研究所 安全性研究部)	
O-11	雌ラット新生児期 DES 曝露による遅発型影響発現と曝露量との関連性	45
	○ 吉田 緑 ¹⁾ 、井上 薫 ¹⁾ 、高橋 美和 ¹⁾ 、前川 昭彦 ²⁾ 、西川 秋佳 ¹⁾ (¹⁾ 国立衛研 病理部、 ²⁾ 製品評価技術基盤機構)	
O-12	X 線照射によって糖尿病を発症しないコンジェニック LEA.F-Xdm1 ラットの作出	45
	○ 泉 啓介、佐藤 亮 (徳島大学 大学院 HBS 研究部 環境病理)	

ポスター発表・質疑 白鳥ホール（南）

○：発表者 *発表者が40歳未満
(一般口演・ポスター発表者)

座長：長野 嘉介（日本バイオアッセイ）

（質疑Ⅰ 2月6日 13:20～14:20）

- P-1 1,4 ジオキサン長期投与によるラットの鼻腔腫瘍及びその関連病変48
 -吸入曝露と飲水投与による病変の種類と発生部位の比較-
 ○梅田 ゆみ、妹尾 英樹、片桐 卓、相磯 成敏、長野 嘉介、
 福島 昭治
 （中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター）
- *P-2 マウス鼻中隔における好酸性物質の沈着機序についての検討48
 ○土居 卓也、小谷 百合、爰島 洋子、菅野 剛、土谷 稔
 （安科研・鹿島）
- *P-3 Phenylhydrazine 投与ラットにみられた急性肺病変49
 ○佐藤 寛子、山田 勉也、嶋津 紀子、篠塚 淳子、湯浅 啓史、藤村 久子、
 鳥海 互
 （田辺三菱製薬 安全性研究所）
- *P-4 PCB126 胎生期暴露ラットの N-nitrobis(2-hydroxypropyl)amine 誘発肺癌への49
 影響に関する検討
 ○小林 康子¹⁾、武藤 朋子²⁾、横尾 清文¹⁾、遠藤 仁²⁾、金井 好克^{2,3)}、
 和久井 信¹⁾
¹⁾ 麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室、²⁾ 杏林大学 医学部 薬理学教室、
³⁾ 大阪大学大学院 薬理学研究科 薬理学講座 生体システム薬理学)

座長：古川 文夫（DIMS 医科研）

（質疑Ⅰ 2月6日 13:20～14:20）

- *P-5 DDAC 気管内投与によって誘発された肺線維化病変における TGF- β の関与50
 ○大沼 彩、田島 悠、吉田 敏則、山口 悟、大塚 亮一、武田 眞記夫、
 福山 朋季、林 宏一、佐々木 淳矢、富田 真理子、小嶋 五百合、
 高橋 尚史、竹内 幸子、桑原 真紀、千葉 裕子、小坂 忠司、中島 信明、
 原田 孝則
 （財団法人 残留農薬研究所 毒性部）
- *P-6 多層カーボンナノチューブ（Multi-Wall Carbon Nanotubes, MWCNT）の50
 ラット気管内投与における投与液の懸濁状態による病理学的変化の違い
 ○小谷 百合¹⁾、土居 卓也¹⁾、佐々木 啓¹⁾、涌生 聖¹⁾、土谷 稔¹⁾、
 広瀬 明彦²⁾
¹⁾ 安科研・鹿島、²⁾ 国立衛研)
- P-7 吸入曝露による酸化ニッケルナノ粒子のラット肺への影響と HE 標本上での51
 元素マッピングの試み
 ○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）

- P-8 A role of RTP801, a suppressor of the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway, in cigarette smoke-induced pulmonary injury51
 ○吉田 敏則^{1,2)}、メット イゴ⁴⁾、ジエン リジ²⁾、リヒタ エイミ²⁾、ランガサミ テイルマライ³⁾、チムラッパ ラジェツシュ³⁾、ピアウォル シャイアム³⁾、ペトラッキ アリナ²⁾、ファインシュタイン エレナ⁴⁾、ツダァ ルビン²⁾
⁽¹⁾ Institute of Environmental Toxicology、⁽²⁾ Johns Hopkins University School of Medicine、⁽³⁾ Johns Hopkins University Bloomberg School of Public Health、⁽⁴⁾ Quark Biotech, Inc.)
- *P-9 Pulmonary injuries by combined intratracheal administration of oxidative stress inducers chromium (VI) and arsenate (V) in mice52
 ○田島 悠、大沼 彩、吉田 敏則、福山 朋季、林 宏一、佐々木 淳矢、山口 悟、大塚 亮一、武田 眞記夫、富田 真理子、小嶋 五百合、高橋 尚史、竹内 幸子、桑原 真紀、千葉 裕子、小坂 忠司、中島 信明、原田 孝則
 (The Institute of Environmental Toxicology)
- *P-10 Beagle 犬の肺に観察される Nodular Hyperplasia の発現状況について52
 ○山下 龍、植田 芳英、長井 佳代子、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、今井 清
 (安評センター)

- *P-11 臭素化難燃剤のラット発達期暴露による脳白質障害の標的分子の探索53
 ○富士本 仁¹⁾、渋谷 淳^{1,2)}、禹 桂炯¹⁾、三枝 由紀恵²⁾、井上 薫¹⁾、高橋 美和¹⁾、広瀬 雅雄^{1,3)}、西川 秋佳¹⁾
⁽¹⁾ 国立衛研 病理部、⁽²⁾ 東京農工大 獣医病理、⁽³⁾ 食品安全委)
- P-12 5-Fluorouracil の Wistar 系ラットの胎児及び胎盤に及ぼす影響53
 ○福永 八千代、山口 裕子、青木 明美、松島 圭太、江畑 知憲、池谷 政道、田村 一利
 ((株) ボゾリサーチセンター)
- *P-13 アクリルアミドによって誘発される神経毒性の胎児・乳幼児期暴露による感受性の予備的検討54
 ○高橋 美和¹⁾、渋谷 淳^{1,2)}、井上 薫¹⁾、富士本 仁¹⁾、広瀬 雅雄^{1,3)}、吉田 緑¹⁾、西川 秋佳¹⁾
⁽¹⁾ 国立衛研 病理、⁽²⁾ 東京農工大 獣医病理、⁽³⁾ 食品安全委)
- *P-14 臭素化難燃剤ヘキサブロモシクロデカン (HBBD) 及びテトラブロモビスフェノール A (TBBPA) のラット発達期暴露による毒性評価ー特に脳発達影響についてー54
 ○三枝 由紀恵^{1,2)}、渋谷 淳¹⁾、富士本 仁⁴⁾、禹 桂炯⁴⁾、高橋 美和⁴⁾、井上 薫⁴⁾、三森 国敏¹⁾、広瀬 雅雄³⁾、西川 秋佳⁴⁾
⁽¹⁾ 東京農工大学 獣医病理、⁽²⁾ 岐阜大 院 連合獣医、⁽³⁾ 内閣府 食品安全委員会、⁽⁴⁾ 国立衛研 病理)

- *P-15 実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）モデルマウスにおける病態進行と脊髄の病理組織学的変化55
 ○丸尾 益美、原 敦子、江幡 幸子、平井 利武、國上 敏浩、小林 正
 （日本ケミファ（株）創薬研究所 創薬第二研究室）
- *P-16 N-ethyl-N-nitrosourea 誘発ラット脳腫瘍の免疫組織学的検索55
 ○馬場 也須子、渋谷 一元、大嶋 篤、兼田 直人、中村 圭吾、布谷 鉄夫
 （財団法人 日本生物科学研究所）
- *P-17 Crl:CD(SD) ラットに発生した脳内浸潤を伴う頭蓋腔内悪性神経鞘腫の組織学的特徴56
 ○藤田 由美子、永谷 真理子、山口 裕子、櫻井 香織、中村 厚、
 大平 東子、工藤 佳代子、田村 一利
 （（株）ボゾリサーチセンター）

- P-18 Potential of a Noninvasive High-Frequency Ultrasonography for Investigation of Vascular Injury in Comparison with Histopathology56
 ○下地 尚史、鈴木 栄子、富岡 聡子、亀田 治子、永江 祐輔
 （ノバルティス ファーマ株式会社 SP&A 開発部 薬理・毒性探索グループ）
- *P-19 ラット肝臓のホルマリン固定パラフィン包埋組織からの mRNA 抽出と定量57
 ○桑原 知樹、内海 博之、小川 靖子、福成 篤
 （田辺三菱製薬（株）先端医療研究所 薬効病理グループ）
- *P-20 ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）標本を用いた遺伝子発現解析手法に関する検討57
 ○河野 友紀子¹⁾、小口 想²⁾、田代 信彦¹⁾、井合 宏道²⁾、関島 勝¹⁾
 （¹⁾ 三菱化学安全科学研究所、²⁾ 株式会社日立ハイテクノロジーズ）
- *P-21 マウス肝芽腫由来細胞株の遺伝子発現解析 - 3次元培養による転写因子の発現変動 -58
 ○坂入 鉄也、岡田 味世子、西川 智美、佐野 文子、杉本 次郎、
 高木 司郎
 （田辺三菱製薬・安全性研究所）

- P-22 マウスとラットにおける血管系腫瘍の標的臓器58
 - 19の化学物質の吸入曝露における発がん性試験データの解析 -
 ○妹尾 英樹、梅田 ゆみ、片桐 卓、相磯 成敏、長野 嘉介、福島 昭治
 （中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター）
- *P-23 ミニプタ動脈硬化モデルの病理学的特徴ならびに本モデルへの G-CSF の影響59
 ○山崎 雅輝¹⁾、高居 宏武¹⁾、三好 昌夫¹⁾、加藤 淳彦¹⁾、伊藤 恒夫²⁾、
 鈴木 雅実¹⁾
 （¹⁾ 中外製薬株式会社 安全性研究部、²⁾ 株式会社中外医科学研究所）

P-24	高血圧自然発症ラットの血圧上昇およびマクロファージ浸潤に及ぼす 小豆抽出物の影響	59
	○佐藤 伸 ¹⁾ 、向井 友花 ¹⁾ 、山手 丈至 ²⁾ (¹⁾ 青森県立保健大院 健康科学、 ²⁾ 大府大院・獣医病理)	
*P-25	幼若ラットにおけるアクリルアミドの12週間反復経口投与による毒性学的影響	60
	○高見 成昭 ¹⁾ 、今井 俊夫 ¹⁾ 、チョウ 永晩 ¹⁾ 、広瀬 雅雄 ²⁾ 、西川 秋佳 ¹⁾ (¹⁾ 国立衛研・病理部、 ²⁾ 内閣府・食品安全委員会)	

座長：田村 一利（ボソリサーチ・病理）

（質疑Ⅰ 2月6日 13:20～14:20）

*P-26	L-asparagine のラット 90 日間反復経口投与毒性試験	60
	○橋本 希、横平 政直、山川 けいこ、細川 京子、鈴木 智、久野 壽也、 今井田 克己 (香川大学 医学部 腫瘍病理学)	
P-27	ラットにおける L-アスパラギン酸の 90 日間反復経口投与毒性試験	61
	○多田 幸恵、矢野 範男、高橋 博、湯澤 勝廣、安藤 弘、久保 喜一、 長澤 明道、小縣 昭夫、上原 眞一、中江 大 (東京都健康安全研究センター 環境保険部 生体影響研究科)	
P-28	コチニール色素のラットにおける 90 日間混餌投与毒性試験	61
	○林 新茂 ¹⁾ 、河部 真弓 ²⁾ 、土井 悠子 ^{2,3)} 、難波江 恭子 ²⁾ 、今井 則夫 ^{2,3)} 、 萩原 昭裕 ²⁾ 、坂田 慎 ¹⁾ 、香田 隆俊 ¹⁾ 、安原 加壽雄 ¹⁾ (¹⁾ 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社、 ²⁾ 株式会社 DIMS 医科学研究所、 ³⁾ 名古屋市立 大学大学院医学研究科実験病態病理学)	
*P-29	ダイズサポニンの F344 ラットにおける 90 日間経口反復投与毒性試験	62
	○曹 永晩 ¹⁾ 、今井 俊夫 ¹⁾ 、高見 成昭 ¹⁾ 、広瀬 雅雄 ²⁾ 、西川 秋佳 ¹⁾ (¹⁾ 国立医薬品食品衛生研究所 病理部、 ²⁾ 内閣府 食品安全委員会)	

座長：鰐淵 英機（大阪市大・都市環境病理）

（質疑Ⅰ 2月6日 13:20～14:20）

P-30	Mitemcinal のがん原性リスク評価：ラットがん原性試験にみられた malignant lymphoma 発生頻度の増加とリスクアセスメント	62
	○藤井 悦子、木村 和也、溝口 啓二、加藤 淳彦、高梨 契典、鈴木 雅実 (中外製薬株式会社)	
P-31	WBN/Kob ラットにおける悪性リンパ腫	63
	○佐野 智弥 ¹⁾ 、尾崎 清和 ¹⁾ 、児玉 安史 ²⁾ 、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⁾ 広島国際大学 薬学部 毒性薬理学教室)	
*P-32	ラットにおける補体活性時の病理組織学的変化に関する検討	63
	○富田 里美、石澤 由希、新屋 希子、清川 見香、松井 元、志垣 隆通 (財団法人化学及血清療法研究所 病理部)	

- *P-33 *Parp-1* 欠損マウス由来不死化胚性線維芽細胞の移植により発生した腫瘍の
病理組織学的特徴64
○安藤 亮¹⁾、堤 雅弘²⁾、青木 明美¹⁾、枝元 洋¹⁾、田村 一利¹⁾、荻野 秀樹³⁾、
益谷 美都子³⁾
(¹⁾ ポゾリサーチセンター、²⁾ 済生会中和病院 臨床病理、³⁾ 国立がんセ・研・ADP-
リボシル化とがん制御・生化)

座長：小川 久美子（名市大・実験病態病理）

（質疑Ⅰ 2月6日 13:20～14:20）

- *P-34 カニクイザルの卵管にみられた Müllerian Tumor64
○古川 知宏、藤島 純子、谷川 洋平、西田 善郎、桑村 有希、佐竹 茂、
平川 公昭、前田 博、永岡 隆晴、宮嶌 宏彰
(株式会社 新日本科学)
- P-35 カニクイザルの肥大心に見られた動脈硬化症65
○佐藤 順子、友成 由紀、黒滝 哲郎、土谷 稔
(安科研・鹿島)
- P-36 カニクイザルの卵巣にみられた腺管様嚢胞性病変の一例65
○岡崎 欣正、義澤 克彦、穴川 明子、村上 雄一、坪田 健次郎、
松本 正博、仲辻 俊二、藤平 司郎、大石 裕司
(アステラス製薬株式会社 安全性研究所)
- P-37 加齢ビーグル犬1例に認められた Jet lesion (Mural endocardiosis)66
○蛭間 正巳、江田 景、小林 吉彦、小林 立弥、市川 敦子、楯 美樹、
門田 利人
(富士バイオメディックス 小淵沢総合研究所)

座長：尾崎 圭介（住友化学・生活環境）

（質疑Ⅰ 2月6日 13:20～14:20）

- P-38 ラットにおいて *N*-Nitrosobis (2-hydroxypropyl) amine (BHP) 投与群にみられた
鼻腔神経芽細胞腫と考えられた一例66
○高木 みづほ、白岩 和己、楠岡 修、山川 誠己、玉井 幸子、中村 厚、
池崎 信一郎、田村 一利
((株) ポゾリサーチセンター)
- P-39 Diet-induced obesity マウスにみられた頸部皮下腫瘍の1例67
○井手 美佳、田中 雅治、篠塚 淳子、藤村 久子、湯浅 啓史、鳥海 互、
務台 衛
(田辺三菱製薬株式会社 安全性研究所)
- P-40 マウスの下顎部嚢胞67
○満石 三喜男、中原 豊、押方 孝史、可徳 小四郎、鋤先 恵美子、
浜村 政夫
(株式会社三菱化学安全科学研究所 熊本研究所)
- P-41 症例報告：B6C3F₁ マウスにおける肝臓原発と考えられた平滑筋肉腫68
○安井 雄三、植田 芳英、長井 佳代子、山下 龍、木原 亨、長谷川 和成、
細井 理代、宮島 留美子、志賀 敦史、今井 清
(安評センター)

- P-42 マウス Lewis 肺癌脳転移モデルの作製 68
 ○張 澤安¹⁾、職 玉珠¹⁾、王 強利¹⁾、羽鳥 努²⁾、野中 博子²⁾、渋谷 和俊²⁾
 (¹⁾ 上海中医薬大学 薬物安全性評価研究中心、²⁾ 東邦大学 医学部 病院病理学教室)
- P-43 ルシフェラーゼ高発現の転移性マウス乳癌モデルの確立 69
 ○柴田 雅朗¹⁾、森本 純司²⁾、大槻 勝紀¹⁾
 (¹⁾ 大阪医科大学 基盤医学Ⅰ講座 解剖学教室、²⁾ 大阪医科大学 実験動物センター)
- *P-44 骨微小環境における前立腺癌の進展に及ぼす COX2 阻害剤の効果 69
 ○佐藤 慎哉¹⁾、二口 充¹⁾、小川 久美子¹⁾、内木 綾¹⁾、高橋 智^{1,2)}、
 白井 智之¹⁾
 (¹⁾ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、²⁾ 名古屋市立大学病院
 病理部)

- *P-45 沖縄原産の薬草であるペニバナボロギクのマウス炎症性大腸発癌モデルにおける
 腫瘍抑制効果の検討 70
 ○森岡 孝満、森田 奈苗、砂川 奈穂、千葉 至、吉見 直己
 (琉球大学 医学部 腫瘍病理学)
- P-46 DMH-DSS ラット大腸発がんモデルにおける初期病変と腫瘍性病変の細胞動態解析 70
 ○今井 俊夫、高見 成昭、曹 永晩、西川 秋佳
 (国立医薬品食品衛生研究所 病理部)
- P-47 Dextran sulfate sodium による大腸潰瘍の修復過程：
 C3H ↔ C57BL/6-Green mouse キメラマウスを用いた検討 71
 ○塚本 徹哉、高須 伸二、坂 久代、張 霞、立松 正衛
 (愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学)
- *P-48 AOM/DSS 誘発大腸発がんに対する NNK の影響 71
 ○金 美慧¹⁾、杉江 茂幸¹⁾、宮本 真吾¹⁾、安井 由美子¹⁾、甲野 裕之¹⁾、
 鈴木 里加子¹⁾、中釜 斉²⁾、田中 卓二¹⁾
 (¹⁾ 金沢医大、腫瘍病理、²⁾ 国立がんセ、研、生化)

- P-49 Comparative effects of Nobiletin and Auraptene on proliferation and
 apoptosis in human colon cancer cell lines. 72
 ○宮田 かおり¹⁾、AZMAN SEENI¹⁾、小川 久美子¹⁾、唐 明希¹⁾、高橋 智^{1,2)}、
 白井 智之¹⁾
 (¹⁾ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、²⁾ 名古屋市立大学病院
 病理部)
- P-50 Lauric acid による AOM 誘発 ACF への影響 72
 ○甲野 裕之¹⁾、宮本 真吾²⁾、安井 由美子¹⁾、金 美慧¹⁾、杉江 茂幸¹⁾、
 村上 明²⁾、大東 肇²⁾、田中 卓二¹⁾
 (¹⁾ 金沢医科大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾ 京都大学 大学院 農学研究科 食品生物
 科学専攻)

- *P-51 Chrysin による azoxymethane 誘発ラット大腸 aberrant crypt foci の抑制作用73
 ○安井 由美子¹⁾、宮本 真吾²⁾、金 美慧¹⁾、甲野 裕之¹⁾、杉江 茂幸¹⁾、
 村上 明²⁾、大東 肇²⁾、田中 卓二¹⁾
 (¹⁾ 金沢医大 腫瘍病理学、²⁾ 京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻)

座長：奥野 泰由（住友化学・生科研）

（質疑Ⅱ 2月7日 13:20～14:20）

- *P-52 COX-2/mPGES-1 トランスジェニックマウスにおける胃発がん性の解析と73
 COX-2 阻害剤の抗腫瘍効果の検討
 ○高須 伸二¹⁾、塚本 徹哉¹⁾、曹 雪源¹⁾、豊田 武士¹⁾、大島 正伸²⁾、
 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⁾ 金沢大学 がん研究所 腫瘍遺伝学)
- P-53 *Helicobacter pylori* 感染による *N*-methyl-*N*-nitrosourea74
 誘発マウス腺胃発癌の促進効果
 ○山本 昌美、塚本 徹哉、坂 久代、高須 伸二、豊田 武士、立松 正衛
 (愛知県がんセンター 研究所 腫瘍病理)
- *P-54 *Helicobacter pylori* 感染スナネズミモデルにおける74
 植物リグナン (nordihydroguaiaretic acid; NDGA) の胃癌抑制効果
 ○豊田 武士、塚本 徹哉、高須 伸二、立松 正衛
 (愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部)

座長：下 武男（富士薬品・生物研究部）

（質疑Ⅱ 2月7日 13:20～14:20）

- P-55 慢性腎不全ラットにおける Ghrelin および Neuropeptid Y の免疫組織学的研究75
 ○江田 景、小林 吉彦、小林 立弥、市川 敦子、楯 美樹、蛭間 正巳、
 門田 利人
 (富士バイオメディックス小淵沢総合研究所)
- *P-56 ラット副腎髄質アドレナリン産生細胞の空胞変性75
 ○梶川 悟¹⁾、中川 由紀子²⁾、中野 健二²⁾、竹内 文乃¹⁾、白木 克尚¹⁾、
 小野 美穂子¹⁾、泉澤 信行³⁾、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テクノロジー 安全性研究
 部、³⁾ アステラス製薬 プロジェクト統括部)
- *P-57 Crj:CD(SD)IGS ラットの松果体にみられる横紋筋線維の検討76
 ○友成 由紀、佐藤 順子、涌生 ゆみ、土谷 稔
 (安科研・鹿島)
- P-58 DEHP の短期間経口投与によるラット精巣における組織学的変化並びに76
 遺伝子発現変動に関する探索
 倉田 祥正、○河野 友紀子、石村 純一、友成 由紀、涌生 ゆみ、
 田代 信彦、関島 勝
 (三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)

- *P-59 Crj:CD(SD)IGS ラットにおける大腿骨遠位端の自然発生骨軟骨症77
○矢部 光一、加藤 道幸、今岡 尚子、神藤 敏正、真鍋 淳
（第一三共株式会社 安全性研究所）
- P-60 Elucidation of the histogenesis of malignant fibrous histiocytoma (MFH);
mesenchymal differentiations of a rat MFH-derived cell line (MT-9)77
○山手 丈至¹⁾、緒方 敬子¹⁾、湯浅 隆宏¹⁾、桑村 充¹⁾、竹中 重雄¹⁾、
熊谷 大二郎¹⁾、伊藤 和幸²⁾、ラマー ジョナサン³⁾
(¹⁾大阪府立大学 生命環境科学研究科 獣医学専攻、²⁾大阪府立成人病センター、
³⁾カナダダゲル大学オントリオ獣医学部)
- *P-61 TNCB 反復塗布マウス皮膚炎モデルにおける PDE4 阻害剤の作用78
○高田 千絵¹⁾、柏木 豊子¹⁾、原田 大輔²⁾、鈴木 美波¹⁾、木本 直哉¹⁾、
竹田 剛¹⁾、高場 克己¹⁾、佐伯 幸司¹⁾
(¹⁾協和発酵工業(株) 医薬研究センター 安全性研究所、²⁾協和発酵工業(株)
医薬研究センター 薬理研究所)
- *P-62 局所刺激性試験に関する検討 -投与経路による変化の比較-78
○石澤 由希、富田 里美、新屋 希子、清川 見香、松井 元、志垣 隆通
(財団法人 化学及血清療法研究所 病理部)

- *P-63 マウス肝発がんにおける前がん病変マーカーの検索および機序解析79
○加藤 あゆみ¹⁾、梯 アンナ¹⁾、魏 民¹⁾、多胡 善幸¹⁾、山野 莊太郎¹⁾、
村井 隆²⁾、鰐淵 英機¹⁾
(¹⁾大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学、²⁾塩野義製薬株式会社
新薬研究所安全性研究部門)
- *P-64 ラット肝発がんにおける GST-P 陽性細胞巢の
プロテオームおよびバイオマーカー解析79
○梯 アンナ¹⁾、魏 民¹⁾、森村 圭一朗¹⁾、串田 昌彦¹⁾、福島 昭治²⁾、
鰐淵 英機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)
- *P-65 前臨床試験における肝障害の新しい指標の検討と
組織マイクロアレイ法の応用～第二報～80
○橋浦 進一郎、橋爪 昌美、清水 宏之、榎本 眞
(株式会社 組織科学研究所)
- P-66 グルコン酸銅摂取によるラット肝酸化的ストレスの誘発と
カテコール併用投与による修飾効果の検討80
○岡村 俊也¹⁾、石井 雄二¹⁾、井上 知紀¹⁾、田崎 雅子¹⁾、梅村 隆志¹⁾、
広瀬 雅雄²⁾、西川 秋佳¹⁾
(¹⁾国立衛研 病理部、²⁾内閣府食品安全委員会)

- *P-67 ラット肝中期発がん性試験法（伊東法）を用いたマスティックの発がん性評価81
○土井 賢一郎、加藤 あゆみ、多胡 善幸、山野 莊太郎、大西 真理子、
鰐淵 英機
（大阪市立大学 院 医 都市環境病理学）
- *P-68 Fenofibrate (FF) の rasH2 マウス肝二段階発がんモデルを用いた81
発がん機序に関する研究
○川合 正臣¹⁾、金 美蘭^{1,3)}、西村 次平^{1,2)}、出羽 康明^{1,2)}、三枝 由紀恵^{1,2)}、
松本 明¹⁾、谷合 枝里子¹⁾、渋谷 淳¹⁾、三森 国敏¹⁾
（¹⁾ 東京農工大 獣医病理、²⁾ 岐阜大 連合獣医、³⁾ 東京農工大 連合獣医）
- *P-69 Fenofibrate のラット肝腫瘍形成期における分子病理学的解析82
○西村 次平¹⁾、出羽 康明^{1,2)}、金 美蘭^{1,3)}、三枝 由紀恵^{1,2)}、川合 正臣^{1,2)}、
岡村 俊也^{2,4)}、梅村 隆志⁴⁾、三森 国敏¹⁾
（¹⁾ 東京農工大 獣医病理、²⁾ 岐阜大 院 連合獣医、³⁾ 東京農工大 院 連合農学、
⁴⁾ 国立衛研 病理）
- P-70 The role of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and nitric oxide82
in cancer development
○FLOYD ROBERT A.^{1,2)}、古武 弥成¹⁾、TOWNER RHEAL A.¹⁾、
中江 大^{3,4)}、小西 陽一⁵⁾
（¹⁾ Oklahoma Medical Research Foundation、²⁾ Department of Biochemistry and
Molecular Biology, Oklahoma University Health Sciences Center、³⁾ 東京都健康安全
研究センター、⁴⁾ 東京農業大学、⁵⁾ 国際毒性病理学会連合）

- *P-71 β -ナフトフラボンのラット肝腫瘍形成期における分子病理学的解析83
○出羽 康明^{1,2)}、西村 次平^{1,2)}、金 美蘭^{1,3)}、川合 正臣^{1,2)}、三枝 由紀恵^{1,2)}、
岡村 俊也^{2,4)}、梅村 隆志⁴⁾、渋谷 淳¹⁾、三森 国敏¹⁾
（¹⁾ 東京農工大 獣医病理、²⁾ 岐阜大 連合獣医、³⁾ 東京農工大 連合農学、
⁴⁾ 国立衛研 病理）
- *P-72 Troglitazone(TRG) の rasH2 マウスにおける肝二段階発がんモデルでの83
発がん感受性
○金 美蘭^{1,2)}、三枝 由紀恵^{1,3)}、松本 明¹⁾、出羽 康明^{1,3)}、西村 次平^{1,3)}、
安野 弘修¹⁾、高島 正義¹⁾、渋谷 淳¹⁾、蓮見 恵司²⁾、三森 国敏¹⁾
（¹⁾ 東京農工大学 農学部 獣医病理、²⁾ 東京農工大 院 連合農学、
³⁾ 岐阜大 院 連合獣医）
- *P-73 OGG1 遺伝子欠損マウスにおける多臓器発がんの検討84
○植松 真美¹⁾、梯 アンナ¹⁾、魏 民¹⁾、森村 圭一朗¹⁾、北野 光昭²⁾、
福島 昭治³⁾、鰐淵 英機¹⁾
（¹⁾ 大阪市立大学 大学院医学研究科 都市環境病理学、²⁾ カネカ ライフサイエンス
研究所、³⁾ 日本バイオアッセイ研究センター）
- *P-74 ラット肝における 1,4-ジオキサンの発がん性および *in vivo* 変異原性の検討84
○大西 真里子¹⁾、大森 雅子¹⁾、増村 健一²⁾、能美 健彦²⁾、鰐淵 英機¹⁾、
福島 昭治³⁾
（¹⁾ 大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学、²⁾ 国立医薬品食品衛生研究所
変異遺伝部、³⁾ 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター）

- *P-75 ラットにおける血清アルブミンによるガラクトサミン肝毒性の増強 85
 ○今岡 尚子、加藤 道幸、玉中 恵美、服部 浩之、真鍋 淳
 （第一三共株式会社 安全性研究所）
- *P-76 アセトアミノフェン誘発マウス肝障害モデルを用いたカテコールの酸化ストレス発生機構 85
 ○石井 雄二、岡村 俊也、田崎 雅子、井上 知紀、梅村 隆志、西川 秋佳
 （国立衛研・病理部）
- *P-77 ラット肝細胞障害と cytokeratin 8 リン酸化の関係 86
 ○熊谷 和善、安藤 洋介、伊藤 和美、矢本 敬、寺西 宗広、真鍋 淳
 （第一三共株式会社 安全性研究所）
- *P-78 ハムスター腭中期発がんモデルを用いた MTBITC 及び curcumin の修飾効果 86
 ○井上 知紀¹⁾、岡村 俊也¹⁾、田崎 雅子¹⁾、石井 雄二¹⁾、梅村 隆志¹⁾、
 中村 考志²⁾、西川 秋佳¹⁾
 （¹⁾ 国立衛研 病理部、²⁾ 京都府立大 食保健）

- P-79 アカネ色素成分とその代謝産物の中期多臓器発がん性試験による腎発がんプロモーション作用の検索 87
 ○井上 薫¹⁾、渋谷 淳^{1,2)}、吉田 緑¹⁾、高橋 美和¹⁾、富士本 仁¹⁾、
 広瀬 雅雄^{1,3)}、西川 秋佳¹⁾
 （¹⁾ 国立衛研 病理部、²⁾ 東京農工大 獣医病理、³⁾ 食品安全委員会）
- P-80 A Distinctive Amphophilic-Vacuolar Renal Tubule Tumor Phenotype in Rat Studies Conducted by the National Toxicology Program, NIEHS, NIH 87
 ○John Curtis Seely¹⁾、Gordon C. Hard²⁾、Grace E. Kissling³⁾、
 Laura J. Betz⁴⁾
 （¹⁾ EPL, Inc.、²⁾ Private Consultant, Tairura, New Zealand、³⁾ National Institute of Environmental Health Sciences, NIH、⁴⁾ Constella Health Sciences）
- *P-81 臭素酸カリウムのラット腎臓における変異原性と発がん性の閾値の存在 88
 ○魏 民¹⁾、森村 圭一朗¹⁾、梯 アンナ¹⁾、串田 昌彦²⁾、当真 香織¹⁾、
 鰐渕 英機¹⁾、福島 昭治³⁾
 （¹⁾ 大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学、²⁾ 住友化学株式会社 生物環境科学研究所、³⁾ 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター）
- *P-82 Wistar Hannover ラット（BrlHan:WIST@Jcl（GALAS））の長期飼育における尿路系背景データ 88
 ○栗林 正伯、石上 紀明、下内 孝司、大口 敦子、東山 真澄、阿瀬 善也
 （小野薬品工業（株） 研究本部 福井安全性研究所 毒性評価グループ）

- *P-83 マウスとラットの慢性腎症における糸球体病変の形態学的比較89
 ○長井 佳代子、植田 芳英、山下 龍、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、今井 清
 （安評センター）
- *P-84 リン酸水溶液の静脈内投与によるラットにおける腎糸球体初期病変の検討89
 ○土屋 紀子¹⁾、鳥井 幹則¹⁾、井村 可恵¹⁾、増野 功一¹⁾、村井 隆¹⁾、
 松嶋 周一¹⁾、奈良間 功²⁾、松井 高峯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⁾ 帯広畜産大学
 獣医・病理)
- P-85 抗生物質による腎毒性の比較90
 ○太田 恵津子
 （万有製薬株式会社 安全性研究所）
- *P-86 p-Cumylphenol 誘発ラット多発性嚢胞腎の発生週齢に関する検討90
 ○中澤 朋美、笠原 健一郎、八幡 めぐみ、西村 信雄、阪本 晃佳、
 安藤 亮、田村 一利
 （株式会社 ボゾリサーチセンター）

- *P-87 Inhibition of prostate carcinogenesis by ellagic acid *in vitro* and *in vivo*91
 ○TEERA CHEWONARIN^{1,2)}、朝元 誠人¹⁾、小川 久美子¹⁾、唐 明希¹⁾、
 二口 充¹⁾、白井 智之¹⁾
 (¹⁾ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、²⁾ Department of
 Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiangmai University)
- P-88 cDNA アレイを用いた前立腺発がん物質に特異的な遺伝子の検索91
 ○二口 充¹⁾、佐藤 慎哉¹⁾、住田 佳代²⁾、斉藤 幸一²⁾、高橋 智^{1,3)}、
 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 実験病態病理学、²⁾ 住友化学 生物化学環境
 研究所、³⁾ 名古屋市立大学病院 病理部)
- *P-89 膀胱内投与による DMA の膀胱傷害に対する抗酸化剤 NAC の増強効果92
 ○高橋 尚史、石塚 勝美、吉田 敏則、大沼 彩、田島 悠、竹内 幸子、
 桑原 真紀、北澤 利明、中島 信明、原田 孝則
 （残農研）
- *P-90 ラット膀胱発癌におけるロイシン、イソロイシンの修飾作用の検討92
 ○山野 莊太郎¹⁾、柚木 孝之¹⁾、梯 アンナ¹⁾、森 聖³⁾、福島 昭治²⁾、
 鰐淵 英機¹⁾
 (¹⁾ 大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学、²⁾ 中央労働災害防止協会
 日本バイオアッセイ研究センター、³⁾ 塩野義製薬（株）安全管理部）

*P-91	Bowman-Birk Inhibitor (BBI) による前立腺癌の抑制効果	93
	○唐 明希 ¹⁾ 、朝元 誠人 ¹⁾ 、小川 久美子 ¹⁾ 、内木 綾 ¹⁾ 、二口 充 ¹⁾ 、高橋 智 ^{1,2)} 、 白井 智之 ¹⁾ (¹⁾ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、 ²⁾ 名古屋市立大学病院 病理部)	
*P-92	アンギオテンシン受容体ブロッカーによるラット前立腺癌に対する抑制	93
	○AZMAN SEENI ¹⁾ 、高橋 智 ^{1,2)} 、唐 明希 ¹⁾ 、佐藤 慎哉 ¹⁾ 、白井 智之 ¹⁾ (¹⁾ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、 ²⁾ 名古屋市立大学病院 病理部)	
*P-93	大豆イソフラボンのラット乳腺癌および子宮に対する修飾作用	94
	○多胡 善幸 ¹⁾ 、梯 アンナ ¹⁾ 、今中 麻幸代 ¹⁾ 、魏 民 ¹⁾ 、森村 圭一郎 ¹⁾ 、 林 修次 ²⁾ 、鰐渕 英機 ¹⁾ (¹⁾ 大阪市大学大学院 医学研究科 都市環境病理学、 ²⁾ 中外製薬（株） 安全研	
P-94	2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) 誘発ラット乳腺癌に おける基礎食、高脂肪食の影響	94
	○杉江 茂幸、安井 由美子、金 美慧、甲野 裕之、田中 卓二 (金沢医科大学 医学部 腫瘍病理学講座)	

ワークショップⅠ

気管内投与による新たな毒性評価

(WS1-1 ～ WS1-5)

ワークショップⅡ

画像イメージングと毒性病理学の接点

(WS2-1 ～ WS2-4)

ワークショップⅢ

毒性病理学的診断基準の国際的諸問題、
欧米の現状と動向

(WS3-1 ～ WS3-4)

WS1-1

全身曝露による吸入毒性の評価

○長野 嘉介、梅田 ゆみ、妹尾 英樹、片桐 卓、相磯 成敏、福島 昭治

(中央労働災害防止協会、日本バイオアッセイ研究センター)

全身曝露による吸入実験は、吸入チャンバー内に動物を収容し化学物質を含む空気を曝露する方法であり、一般環境や労働環境において空気中に存在する化学物質の人への曝露形態に最も近い投与方法である。このため、大気汚染物質や空気中に拡散する可能性のある産業化学物質の有害性を評価するための実験方法として、全身曝露による吸入実験が第一選択肢として多用されている。本報告では、気管内投与による毒性評価の意義と課題を把握することを目的として、化学物質の全身曝露による吸入毒性評価について述べる。

全身曝露による吸入実験は1) 肺への影響や吸収後の全身影響に加えて、化学物質と直接接触する上部気道、皮膚および眼粘膜への局所作用を調べることができる、2) 空気中に存在する化学物質の形態は物理化学的性状や発生状況により異なり、ガス(蒸気)、ミスト、ヒューム、粉体及びその混合物に分類され、これら全ての曝露形態に対応した実験が可能である、3) 動物へのストレスが少ない、4) 連続的な長期間の曝露が可能であり発がん性試験を実施できる、5) 曝露物質の粒子径や溶解性による肺への到達率を考慮した総合的な評価が可能である、6) 一般環境における大気汚染物質の環境目標値や労働環境における化学物質の許容濃度を設定するための根拠となる気中濃度と曝露影響の関係を把握することができる。

一方、気管内投与と比較して、全身曝露による吸入実験は1) 特別な施設や装置を必要とする、2) 化学や工学系を含む多分野の専門家が必要である、3) 多額の実験費用がかかる、4) 被験物質の使用量が多い、5) 皮毛に付着した化学物質を動物が舐めるという課題がある。

このような全身曝露と気管内投与の特性を把握したうえで、投与方法を選択し、結果の評価を行う必要がある。

WS1-2

タバコ特異的ニトロソアミンの経気道投与条件によるラット肺発がん性の差異

○北橋 宗¹⁾、楠岡 修²⁾、阪本 晃佳²⁾、辻内 俊文³⁾、三井 雅之⁴⁾、堤 雅弘⁵⁾

(¹⁾ 国立がんセンター・がん予防基礎研究、²⁾ ボゾ・リサーチセンター・御殿場研・病理、³⁾ 近大・理工・生命科学、

⁴⁾ 三重大学・創研研セ、⁵⁾ 済生会中和病院・病理)

【緒言】近年、多くの国で肺腺がんの相対的増加傾向が見られ、その要因の一つとして、フィルター付タバコの普及による暴露粒子径やその到達部位の変化が挙げられている。タバコ中に含まれる発がん物質を用いた動物肺発がんモデルは多数存在するが、暴露条件の違いによる肺腺がんの発生に関する実験的知見は乏しい。そこで、本実験において、タバコ特異的ニトロソアミンである4-(N-methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)を用いて、様々な暴露条件による肺腫瘍性病変発生の差異について検討した。

【方法】エーテル麻酔を施した7週齢雄性Wistarラットに対して、目視下に声帯を確認し、気管内ヘンデを挿入して溶液を週1回、合計8回投与した。投与条件として0.2 ml生理食塩水(第1群)、生理食塩水に懸濁した28 mg/ml酸化鉄0.2 ml(第2群)、56 mg/ml酸化鉄および140 mg/ml NNKを含む溶液0.1 ml(第3群)、28 mg/ml酸化鉄と28 mg/ml NNKを含む溶液0.2 ml(第4群)および28 ml/mg NNKを含む溶液0.2 ml(第5群)を設定し、第2、4および5群には溶液が肺全体に散布されるように、溶液と同時に空気0.5 mlを注入した。そして実験開始より69週間後に剖検し、肺組織における腫瘍性病変の発生について検討した。

【結果と考察】肺腫瘍発生頻度、動物1匹当たりの平均発生個数は第2群で17%、0.17個、第3群で33%、0.33個、第4群で60%、0.60個および第5群で29%、0.29個であった。NNKの投与量は第4群において44.8 mgであり第3群の112 mgに比べて少量であったが、肺腺腫の発生は第4群が最も多く見られた。以上から、NNKが肺に広く散布されることで発がんが促進される可能性が示唆され、気管内に実験試薬溶液を投与する際には溶液の散布状態で毒性発現に差が生じることに注意が必要であると考えられた。

WS1-3

ラットを用いた反復経気道投与法の開発

○古川 文夫、中島 弘尚、土井 悠子、難波江 恭子、河部 真弓、萩原 昭裕、玉野 静光

((株) DIMS 医科学研究所 第一試験研究部)

ラットを用いた経気道投与法には通常の経口ゾンデを用いて空気と共に投与するか、専用の経気道投与ゾンデで投与する方法がある。しかし、これらの方法は浅い麻酔下で行うため、反復投与の場合には麻酔薬による試験への影響が懸念されることから長期間の経気道投与毒性試験は実施されていない。我々が開発した投与方法は DIMS 型ゾンデ（仮称）を用いて無麻酔で投与する方法である。この投与方法の確立のため投与量、投与回数、使用ラットの系統について検討を行った。また、粘性の高い化合物の投与が可能な DIMS 型ゾンデについても開発を行った。

F344 ラットによる DIMS 型ゾンデを用いて投与量および投与回数の検討を行った結果、生理食塩水で 0.3 ml を 12 回、コーン油で 0.3 ml を 28 回まで投与が可能であった。一方、8 週齢の 3 系統のラット (F344/N Slc, Slc:SD, Slc:WistarHannover/Rcc)、雄各 10 匹に超微粒子酸化チタン（粒径 20 nm）を生理食塩液に 1.25 mg/0.1 ml の濃度で懸濁し、1 回/日、5 回/週、無麻酔下で 4 週間経気道内投与した。肺に発生した変化（肉芽腫、泡沫細胞浸潤、マクロファージ集簇など）および発生には明瞭な系統差は認められなかったこと、また生存率が良く、適度の体重増加率が良好であること、投与の容易さから Slc:WistarHannover/Rcc ラットが最も経気道投与モデルに有用と考えられた。DIMS 型ゾンデは油状（粘性の高い）化合物でも粒子状になり、肺の比較的末梢まで達することが確認された。今まで投与が不可能であった油状（粘性の高い）化合物、特に粘性の高いニトロソアミン系発癌物質の投与が可能であると考えられた。

WS1-4

ラット気管内投与法による微粒子の肺毒性評価への挑戦

○横平 政直、橋本 希、久野 壽也、今井田 克己

(香川大学 医学部 腫瘍病理学)

微粒子曝露による肺毒性評価として、気管内投与法による微粒子の毒性評価法は欠点もあるが、簡便かつ短期間に多種類の微粒子の肺毒性スクリーニング評価に用いるには有用であると考えられる。我々は肺障害性をもつ代表的な微粒子として quartz を用い、F344 ラットにおいて気管内投与法による微粒子の短期毒性評価モデルの開発を行ってきた。

まず、気管内投与後の至適評価時期について検討した。4mg の quartz を気管内投与後、経時的に摘出した肺について評価を行った。病理組織学的変化に炎症に関連する 6 つの所見（肺胞内好中球浸潤、肺胞壁内好中球浸潤、肺水腫、線維化、マクロファージ出現、肺胞壁再構築、肉芽形成）について点数化を行い、さらに免疫組織学的に BrdU: Bromodeoxyuridine、iNOS: inducible nitric oxide synthase の Labelling Index を算出し、それらを総合評価とした。その結果、quartz を投与後 1 日目と 28 日目に総合評価することで毒性学的に特徴的なデータが得られることが判明した。次に、「微粒子の至適投与濃度」と「微粒子を溶媒に懸濁し投与する方法の是非」について、同様に quartz を用いて検討した。その結果、2mg の被検物質を 0.2ml の生理的食塩水に懸濁した方法が最適と考えられた。

以上より確立された試験系を用いて、ナノサイズの粒子を含めた多種類の微粒子について毒性評価を行った。その結果、毒性が quartz より低い物質については詳細な毒性評価が可能であったが、quartz より毒性が高い物質に関しては投与用量的に致命的となり、詳細な評価が不可能な場合があることが判明した。その場合、この試験系において全群の投与量の減量を検討する必要があると考えられた。現在、さらにこの試験系を応用し、微粒子の発がん性や発がん修飾作用の有無について評価可能な気管内投与法による試験系についても検討中である。

気管内注入試験による吸入性化学物質の有害性評価

○森本 泰夫

(産業医科大学 産業生態科学研究所 呼吸病態学)

化学物質の有害性やリスク評価において、経口、腹腔など様々な曝露経路からの動物試験が行われている。一方、石綿代替品などを中心とした吸入性化学物質において肺内滞留性が、肺の線維化や腫瘍の発生と関連するため、肺への沈着とクリアランスを想定した曝露経路、つまり経気道的曝露が、有害性評価においても極めて重要であると考えられる。ここでは、気管内注入試験を用いた吸入性化学物質の有害性評価、特に繊維状物質について報告する。1) 気管内注入試験における肺病理所見が化学物質の有害性と一致するか、2) また同試験における肺病理所見が有害性と関連が深い肺内滞留性と相関があるかを検討した。

1) 気管内注入試験における肺病理所見と化学物質の有害性との関連

クロシドライト、結晶質シリカ、二酸化チタン、チタン酸カリウムウイスカ (PT1)、シリコンカーバイドウイスカ (SiCW) を 2mg 気管内注入し 3 日から 6 ヶ月までの観察期間をおき、HE 染色やファンギーソン染色の肺病理組織標本作製。コンピューターに画像を取り込み、ポイントカウンティング法にて炎症や線維化を定量した。高い線維化能や発がん性を持つクロシドライトや結晶質シリカでは、炎症や線維化スコアも持続的に高値を示し、有害性の少ない二酸化チタンでは一過性の増加はあるが、陰性対照（生理食塩水）曝露群と同程度まで低下した。石綿ほどではないが線維化能を有する PT1 と SiCW は両者の中間であった。

2) 気管内注入試験における肺病理所見と肺内滞留性との関連

結晶質シリカ、石灰石、硫酸マグネシウムウイスカ、PT1 を同様に 2mg 気管内注入後、3 日から 6 ヶ月までの観察期間をおき、肺病理組織における炎症の定量化と滞留性を観察するために肺内沈着量から半減期を算定した。半減期の延長に伴い、肺内の炎症が認められた。以上の結果より、気管内注入試験は、吸入性化学物質の有害性評価に有効であることが示唆された。

WS2-1

PET 分子イメージングとは？

○藤林 靖久

(福井大学高エネルギー医学研究センター、放射線医学総合研究所分子イメージング研究センター)

「生体内における分子・細胞レベルでの事象の非侵襲的画像化」と定義される「分子イメージング」なる研究分野が注目を集めている。その中でも、我々が対象としているポジトロン CT は、超微量の生理活性物質の体内挙動を追跡することによって、生体内の酵素やレセプターの分布や機能評価を画像として検出できるため、病態診断や医薬品開発の分野において大きな期待がもたれている。本技術は、薬物の挙動や作用機序の疾患モデルヒト患者との間での直接比較や人種間での比較を容易に行うことができ、動物種差や人種間多型性などを理解する上で非常に有用である。さらに複雑系であるインビボ特有の事象が見出されるなど、新しい学問分野としても興味が持たれる。本発表では、分子イメージングの現状とその応用について PET を中心に述べる。

WS2-2

バイオイメージングによるがん転移モデルでの 病態把握と治療評価系への応用

○落谷 孝広、外岩[†] 尚美、竹下 文隆

(国立がんセンター研究所がん転移研究室)

がんの病態解明と治療応用の分野で、non-coding small RNA のもたらす情報と応用の意義は深まりつつあり、small interfering RNA (siRNA) によるがん関連遺伝子のノックダウンによる新規のがん治療戦略の開発が進んでいる。また、内在性の micro RNA (miRNA) による発がん制御機構の存在や、miRNA のがんのバイオマーカーとしての有用性が明らかにされつつある。こうした核酸医薬によるがんの治療応用研究を促進するためには、生体内の病変部位への核酸医薬の的確なデリバリー方法の開発に加えて、病態をリアルタイムに把握し、その治療効果を解析する技術が求められる。我々の研究室では、主のがんの転移を模倣する動物個体モデルを作製し、バイオフィotonicsによるイメージングをもとに、治療の分子標的を絞り込むと同時に、核酸医薬のデリバリーの評価や、治療効果を判定するシステムを構築している。生体内でのイメージング技術の進展はめざましく、病変部位を検出するためのプローブとしての蛍光試薬は多岐にわたる。近赤外の蛍光試薬は生体透過性が高く、非侵襲的に生体内での動向をリアルタイムでトレースする事が可能であるため、これらの手法を応用し、がんの進展や転移に伴う血管新生の動態を動物個体レベルで解析する手法も試みている。本発表では、こうした in vivo イメージングと small RNAs の組み合わせによる転移性がんの病態把握と治療応用モデルについて概説するとともに、バイオフィotonicsの有用性について考察する。

参考文献

1. Minakuchi Y., et al. (2004) *Nucleic Acids Res* 32, e109.
2. Takeshita F., et al. (2005) *Proc natl Acad. Sci USA* 102, 12177-12182.
3. Yanagihara K., et al. (2006) *Cancer Res* 66, 7532-7539
4. Hokaiwado N., et al. (2007) *Medical Bio* 4, 34-38.

WS2-3

光イメージングを用いた生体応答の可視化と治療薬・診断薬の開発

○近藤 科江^{1,2)}、平岡 真寛¹⁾

(京都大学医学研究科、¹⁾ 放射線腫瘍学・画像応用治療学、²⁾ 21世紀C O E「病態解明を目指す基礎医学研究拠点」)

透過性に限界がある光も、マウスのような小動物では生体イメージングに有用である。光を使った生体イメージングは、経済性に優れ、動物にも優しい手法である。また、簡便性、安全性、迅速性、多様性の面で、他のモダリティよりも優位な点も多く、単なる実験用ツールとしてではなく、次世代の臨床用画像診断ツールとしても注目されている。実験レベルで使われている生体光イメージングでは、化学発光と蛍光という2種類の光を利用しており、また各々の光において、波長の違いでシグナルを区別することにより、多種類のシグナルを経時的にモニターする事が可能である。

我々は、光イメージングを低酸素に密接に関与する HIF-1 という転写因子の活性を指標に解析している。HIF-1 は、「病的な低酸素」「炎症」により活性化され、癌、脳梗塞、心筋梗塞といった本邦の三大疾病に関わっている。HIF-1 活性のイメージングは、病態の基礎的研究や創薬研究に有用な情報を与えるのみでなく、実験用ツールとしても有用である。例えば、HIF-1 活性をモニターできる癌細胞を移植した担がんマウスを用いると、癌の生体内での増殖をモニターすることができる。HIF-1 活性をモニターできるトランスジェニックマウスを用いると、発がん、虚血処置、放射線照射、化合物の全身投与等によって活性化される HIF-1 活性を全身応答として経時的に観察することができる。一方で、近赤外蛍光色素標識したプローブを用いることにより、プローブの体内動態を経時的にモニターすることができる。ここでは、これまで我々が、生体イメージングで得られた結果を基に、生体応答を観察するツールとしての光の有用性について紹介する。

謝辞：本研究は、独立行政法人科学技術振興機構から指定を受けた京都市地域結集型共同研究事業「ナノメディシン拠点形成の基盤技術開発」の一部として実施された研究の成果である。

WS2-4

中枢神経系の再生戦略

○岡野 栄之

(慶應義塾大学医学部生理学教室・教授)

哺乳類成体中枢神経系において、前脳から脊髄に至るまで、脳室周囲部を中心に神経幹細胞が存在するものの、成体においてニューロン新生が生理的条件下で認められるのは、嗅球、海馬歯状回のみである。しかしながら、線条体や大脳皮質では、生理的条件下では、成体ニューロン新生は見られないあるいは検出感度以下であるものの、脳虚血などの傷害が加わると、ニューロン新生が誘導される (Insult-induced Neurogenesis)。Insult-induced Neurogenesis は、①内在性神経幹細胞の活性化、②前駆細胞 (Transit amplifying cells) の分裂と幼弱ニューロンの移動、③新生ニューロンの生存と成熟といった各ステップを経て進行していくことが明らかとなっており、私達は独自の方法により、これらの制御機構の解明を進めている。①内在性神経幹細胞の活性化については、a) ショウジョウバエ成虫型神経幹細胞制御機構解明を目指した遺伝学的アプローチ、b) 神経幹細胞増殖因子スクリーニング系と proteomics を用いたアプローチ (例、Galectin-1)、c) R N A 結合蛋白質 Musashi-1 を用いた candidate gene アプローチ、d) すでに知られたシグナル系と既に開発された薬剤を用いたアプローチをおこなっている。さらに②前駆細胞 (Transit amplifying cells) の分裂と幼弱ニューロンの移動について、前駆細胞移動メカニズムの解明を目指して canonical Wnt pathway にフォーカスした解析、成体脳における新生ニューロン移動メカニズムの解明を目指して Slit/Robo システムを中心とした解析をおこなっている。本研究会では、これの中で最もホットな展開を示しているトピックについて紹介したい。

WS3-1

The New International Nomenclature Project - INHAND and the GESC

○ Peter C. Mann

Diplomate, American College of Veterinary Pathology

Chair, GESC Manager, EPL NorthWest

Seattle, WA, USA

For the past two years, members of the major Societies of Toxicologic Pathology (JSTP, BSTP, ESTP and STP) have been involved in an international collaborative effort to codify and publish uniform nomenclature for both proliferative and non-proliferative lesions in laboratory rodents.

The project goes under the acronym INHAND (International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions in Rats and Mice). Project oversight is provided by the Global Editorial and Steering Committee (GESC). The GESC currently has 8 members: 2 from the JSTP, 3 from the STP, 2 from the ESTP and 1 from the BSTP. In addition, a liaison from the Fraunhofer Institute (which provides computer support) also participates. Dr Peter Mann from the STP is the current chair of the GESC.

The GESC appoints Organ System Working Groups, whose responsibility it is to write the nomenclature guidelines for both proliferative and non-proliferative lesions for their assigned organ system. Each Organ System Working Group has a Chair and members from each of the participating STPs. A member of the GESC serves as a liaison to each Organ System Working Group.

The draft documents from each Organ System Working Group are placed on the goRENI website (www.goreni.org) for discussion and comments from any member of the participating STPs. After comments have been addressed, the GESC approves the final document, and it is published on the website. In addition, the documents will be published in the journals of the participating STPs.

To date, the following Organ System Working Groups have been formed: Respiratory, Immune, Cardiovascular, Central nervous System, Urinary and Liver. The draft documents for the Respiratory Subcommittee are available on the goRENI site. Other Organ System Working Groups are preparing their documents. Additional Organ System Working Groups will be formed in the coming year.

WS3-2

毒性病理学用語・診断基準の国際統一化に向けた JSTP の活動状況について

○原田 孝則

(財団法人 残留農薬研究所)

医薬、農薬、一般化学物質等のリスク評価の国際化が進むにつれ各国で実施される毒性試験データを関係諸国で共同利用する機会が増大している。しかしながら、病変の分類、用語および診断基準はまだ国際的に統一されていないため、病理学者によって病理所見の表現あるいは解釈等が異なり、国際的に病理データを相互に評価する際にこの不統一に起因する問題がしばしば発生している。このため毒性病理学分野において組織学的病変の種類、命名法および診断基準の国際的標準化の必要性が指摘され、1994年以降米国毒性病理学会 (STP)、国際生命科学研究所 (ILSI)、NACAD および欧州 RITA グループ等が主体となってその統一化が進められ、2000年に各臓器ごとに国際調停案が提示されたが、それは主として増殖性病変に限定されたものであった。そこで STP の諮問機関である SRPC は、さらに非腫瘍性病変を含めたラット・マウスにおける組織病変の国際的統一化を図ることを提案し、それを受けて ESTP/RITA は 2005 年にその原案 International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions in Rats and Mice (INHAND) を作成した。この INHAND 推進機関として STP/ESTP/BSTP/JSTP の各代表者よりなる GESC 委員会 (Global Editorial and Steering Committee) が結成され、2006 年に第 1 回会議がバンクバーで開かれた。また、その下部組織として臓器別小委員会が設立され、現在、呼吸器系、免疫系、神経系、循環器系、肝臓、泌尿器系、骨・骨格筋、感覚器、消化器、生殖器系、軟部組織の順に準備が進められている。我が国の JSTP から GESC および小委員会の各委員が選出され、この統一化に参画している。本プロジェクトは 2008 年から正式に開始され、2012 年末までに終了する予定である。

WS3-3

毒性病理学用語にまつわる評価上の諸問題

○西川 秋佳

(国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・病理部)

化学物質の毒性リスクを評価する上で支障となる諸問題の中に、診断や所見に関する毒性病理学用語の不適切な使用と不統一による混乱が含まれる。不適切な使用例を総論的にまとめると、以下のような要因が指摘されうる。①和訳の際の誤訳、②意味不明な所見、③標的細胞が特定されていない場合（肝過形成、脳変性など）、④部位が記載されていない場合（肝細胞肥大が観察された部位が不明など）、⑤総合的な組織診断がない場合（慢性腎症の際の円柱、再生尿細管、間質リンパ球浸潤などの羅列）、⑥組織所見が細かすぎる場合などが挙げられる。また、結果のまとめ方や考察が不適切なために評価に支障をきたす要因として、①全身影響についての包括的な考察がない場合、②一連の腫瘍性病変全体としての考察がない場合（異形成、腺腫、腺癌など）、③死亡・切迫殺・計画殺例を区別せずに記載している場合、④不十分なデータにより確信的に考察している場合、⑤沈着物が未同定なために毒性の特徴が不明となっている場合などがある。さらに、本質的な問題として、現行の用語の不統一に伴う混乱が存在する。その例として、①ヒト症例と同じ診断名で組織像も類似するが、病因が明らかに異なる病変、②ヒト症例と同じ診断名であるが組織像が異なる病変、③ヒトに外挿できない／し難い実験動物に特異的な病変、④現行の分類には当てはまらない病変などが含まれる。本ワークショップでは、製薬企業体等からのこれまでの毒性試験報告において、誤解を招くような、あるいは不適切な用語を用いた事例を具体的に紹介し、その要因について考察したい。それを踏まえて、適切な毒性病理学用語を用いた毒性試験報告がいかに必要とされているかについて学会員全体の認識が高まることを期待する。同時に、本ワークショップの成果が「毒性病理組織学」の改定や GESC の統一化作業に少しでも参考になれば役目はほぼ全うできたことになる、と独善的に了解している。

WS3-4

毒性病理学的診断・用語・所見：実務での諸問題

○大石 裕司

(アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室)

本学会員の多数は化学物質の毒性リスク評価を目的として、実験動物から得られた病理標本に対して、毒性病理学的な診断を下す、あるいは所見をとっている。その後、他の諸検査データと合わせ、当該化学物質の毒性試験でのリスク評価を行っている。毒性病理データは、病変部分の形態計測、免疫反応性や遺伝子解析など、比較的客観的な数値データとして得られることもあるが、取りも直さず、毒性病理専門家の目から得られた情報を文字として表現したデータ（診断・所見+病理報告書）即ち、極めて個人に依存した文字情報を礎としている。本ワークショップでは、この礎たる文字情報（診断・所見）について、国際的な診断基準及び用語のハーモナイゼーションを中心とした活動の紹介や審査行政サイドからの要望などの論議を示される予定である。私のセッションでは、所属する医薬品企業の実務現場での経験を踏まえ、まず、診断に苦慮する事例のみならず、基本的な診断や所見用語にかかわる具体的な問題事例を紹介して論議すると共に、新たな診断基準に向けた本学会教育委員会における肝細胞結節病変に関するワーキンググループでの論議を紹介する。次に、毒性病理データは日常の毒性試験報告の中で、通常帳票化されて報告されるが、その帳票化に絡む課題に触れる。観察された組織変化をより普遍的・客観的に表現する為の診断・所見用語・グレード／程度表現の使用法に関して、日常的な毒性試験での遭遇する問題を論議することで、具体的なこれら諸問題解決の私の一策を模索する。

一般口演要旨

(0-1 ~ 0-12)

*O-1

マウス大腸における分化細胞と未分化細胞の分離とその遺伝子発現解析

○平田 暁大¹⁾、山田 泰広²⁾、山下 聡³⁾、牛島 俊和³⁾、田口 紋子²⁾、原 明²⁾、森 秀樹²⁾

(¹⁾ 岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野、²⁾ 岐阜大学大学院 医学系研究科 腫瘍病理学分野、
³⁾ 国立がんセンター研究所 発がん研究部)

【はじめに】正常大腸の未分化細胞と大腸がん細胞には類似性があり、Wnt pathway に代表されように、両者には共通の分子メカニズムが働いていることが知られている。今回、大腸上皮細胞の増殖・分化制御メカニズムを明らかにするため、マウスの大腸において細胞増殖を指標に分化（静止期）細胞と未分化（増殖期）細胞を分離し、両者の遺伝子発現を比較した。【方法】Doxycyclin (Dox) の投与により導入遺伝子の発現を自由に制御可能な Histone H2B-GFP inducible マウスを用いた。同マウスでは、Dox の投与により Histone H2B-GFP 融合タンパク質が生成され、投与を中止するとその生成は停止する。Dox 投与を中止後、増殖期にある細胞では細胞分裂とともに GFP は減衰するが、静止期にある細胞では GFP は保持されるため、両者を GFP 強度の違いとして分別することができると考えた。はじめに、同マウスに Dox を 7 日間投与し、大腸腺管を観察したところ、全ての細胞の核が一様に GFP で標識されていた。次に、Dox の投与を中止して 2.5 日経ったマウスの大腸腺管を観察したところ、腺管上部の細胞では GFP 強度は保持され、腺管下部の細胞で特異的に GFP は減衰していた。この腺管を酵素処理により細胞単位に分離し、FACS により GFP 強度の高い細胞と低い細胞を分取し、マイクロアレイにより両細胞の遺伝子発現を網羅的に解析し、必要に応じて定量的 RT-PCR による確認を行った。【結果・考察】大腸腺管の下部で活性が高い Wnt pathway の標的遺伝子は、いずれも GFP 強度の低い細胞で発現が高かった。逆に、腺管上部で発現の高い p21 等の遺伝子は GFP の高い細胞で発現が上昇していた。以上より、我々の用いた方法により、腺管上部の分化細胞と腺管下部の未分化細胞が分離されていることが示唆された。また、両者で発現の差がみられた遺伝子の中に、大腸がんで発現異常が報告されている遺伝子が見出され、本研究は正常大腸細胞の増殖・分化制御メカニズムの解析のみならず、がん研究にも応用可能であることが示唆された。

*O-2

活性型 Hras コンディショナルトランスジェニックラット（Hras250）を用いた早期膵がん血清診断法確立の試み

○深町 勝巳¹⁾、萩原 良明^{4,5)}、田中 創始²⁾、柳原 五吉³⁾、樋野 興夫⁴⁾、津田 洋幸¹⁾

(¹⁾ 名古屋市 医 分子毒性、²⁾ 名古屋市 医 臨床機能内科、³⁾ 国立がんセンター 実験動物、
⁴⁾ 順天堂大 医 病理 腫瘍学、⁵⁾ (株) 免疫生物研究所)

膵がんは早期発見が最も難しいがんのひとつであり、発見された時には進行がんであり切除できない場合が多く、予後不良ながんである。新しい治療開発には動物モデルが必要であるが、今までに化学物質によってラットとマウスは膵管がんを発生させることはできなかった。新しい診断法と治療の開発を進めるためヒト膵がんのモデル動物が必要である。我々が確立した Cre/loxP システムを用いた活性型 Hras^{V12} コンディショナルトランスジェニックラット（Hras250）を用いて、Cre リコンビナーゼ発現アデノウイルス（AdeX/Cre）を経胆道的に総胆管から膵管内に注入することによりヒトモデルの膵管がんを発生させることが可能となった。最近ヒトで膵がん幹細胞の存在が報告されているが、我々のモデルで膵がん幹細胞は膵管・介在管・腺房中心細胞に存在することが示唆された。遺伝性腎がんモデルである Eker rat で高発現する遺伝子として同定された Erc (expressed in renal carcinoma) は、ヒトにおいては中皮腫・卵巣がん、Mesothelin、さらに膵がん細胞の培養上清中で MPF (megakaryocyte potentiating factor) として同定されている。Hras250 ラットに発生した膵がんにおいて Erc/Mesothelin/MPF 遺伝子は高発現していた。そこで、ラット Erc の ELISA システムを用い、膵がんの発生した Hras250 ラットの血清中濃度を測定した。血清中 Erc/Mesothelin/MPF 濃度は、正常に比べ膵がんを発生させたラット血清で有意に上昇していただけでなく、初期病変においても有意に高値を示したことから、早期膵がん血清診断マーカーとなりうる事が明らかとなった。ラット膵がんの血清診断が可能になれば抗がん剤等の開発、治療効果の検定に有用となる。

*O-3

高砂糖食の膵発がん促進作用の検索

○阪本 晃佳¹、合屋 道士²、出川 洋子²、森 俊雄²、田村 一利¹、堤 雅弘^{2,3}

(¹ 株式会社 ポゾリサーチセンター 病理部、² 奈良県立医科大学 RI センター、³ 済生会中和病院 臨床病理部)

【目的】高脂肪食が種々の臓器の発がんを促進することはよく知られており、膵がんについては血中中性脂肪の増加と膵発がんの関連が最近注目されているが、中性脂肪増加要因の1つである糖質摂取と膵発がんについての知見は乏しい。今回、砂糖摂取が膵発がんに及ぼす影響を検索する目的で、飼料の重量あたりのカロリーや他の栄養組成を同一にするために飼料中の澱粉を砂糖に置換した飼料（以下、高砂糖食）を用いて、膵発がん実験を行った。

【方法】6週齢の雄性シリアンハムスターを用いて、実験開始時および1週間後に、それぞれ体重 kg あたり 50mg、20mg の BOP を皮下注射した。2週間後に動物を2群に分け、第1群は基礎食 (n = 15)、第2群は高砂糖食 (n = 15) を投与した。基礎食および高砂糖食の各栄養素のエネルギー比率は、炭水化物 67.5%、タンパク質 20.8%、脂質 11.7% であり、高砂糖食は基礎食で炭水化物源として用いた澱粉を 100% 砂糖に置換した。実験開始 12 週間後から高砂糖食群で動物の死亡がみられたため、14 週間後から澱粉の 50% を砂糖に置換した飼料に変更した。動物を実験開始から 25 週間後に剖検し、膵がんの発生（有効匹数は第1群 n = 15、第2群 n = 10）について検索した。

【結果および考察】実験終了時の体重および肝臓、膵臓、精索脂肪組織のそれぞれの相対重量について、群間に有意な差は認められなかった。膵がんの発生頻度は、第1群で 6.7%、第2群で 50.0%、発生個数は、第1群で 0.1 ± 0.3 個、第2群で 0.6 ± 0.7 個となり、第2群で有意な増加がみられた。本実験より、砂糖の過剰摂取は膵発がんの危険要因の1つとなることが考えられた。

O-4

4NQO 誘発ラット舌発がんに対するジアシルグリセロールのプロモーション作用の検索

○梅村 隆志¹、前田 真智子¹、石井 雄二¹、岡村 俊也¹、
田崎 雅子¹、井上 知紀¹、広瀬 雅雄²、西川 秋佳¹

(¹ 国立医衛研 病理部、² 内閣府食品安全委員会)

ジアシルグリセロール (DAG) は体内でトリアシルグリセロール (TAG) へ再合成されにくい化学的特徴から、特定保健用食品として流通している。しかし、DAG の2つの構造異性体のうち、1,2-DAG はプロテインキナーゼ C 活性を有していることから、その発がんプロモーション作用が懸念される。そこで今回、4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO) 誘発ラット舌発がんモデルを用いて、そのプロモーション作用を検索した。【方法】雄、5 週齢の SD ラット、各群 30 匹を 11 群に配し、最初の 8 群に 4NQO を 10 ppm の濃度で 10 週間、飲水に混じて投与した。残りの 3 群には蒸留水を投与した。4NQO 投与 1 週間後より、11% DAG、5.5% DAG + 5.5% TAG、2.75% DAG + 8.25% TAG、1.38% DAG + 9.62% TAG、11% TAG、11% 高リノール酸 TAG (HLTG)、5.5% DAG、2.75% DAG ならびに蒸留水投与群では 11% DAG、11% TAG、11% HLTG 添加飼料を 24 週間自由に摂取させた。実験終了後、舌ならびに口腔粘膜の腫瘍性病変を病理組織学的に検索した。【結果】4NQO 投与群で途中死亡例が 27 ~ 50% の割合で認められ、その多くは口腔内に腫瘤形成が確認された。病理組織学的検索の結果、4NQO 投与群で高頻度に舌および口腔粘膜に乳頭腫および扁平上皮癌が認められた。しかし、その頻度、個数に群間による差異は認められなかった。【考察】ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入ラットを用いた実験では、4NQO 誘発舌がんが DAG の投与により促進されたとの報告があるが、今回、その背景系統である SD ラットを用いたところ、DAG に明らかなプロモーション作用は認められなかった。

O-5

活性型 Hras^{V12} コンディショナルトランスジェニックラット (Hras250) を用いた肺がんモデルの確立と起始細胞の探索

○大嶋 浩¹⁾、深町 勝巳²⁾、アレキサンダー デビッド²⁾、津田 洋幸²⁾

(¹⁾ 財団法人化学物質評価研究機構、²⁾ 名古屋市立大学 分子医学講座)

【目的】近年、肺がんは世界で男女ともに癌死の上位を占めている。肺腺癌の起始細胞は完全に解明されていないものの、肺胞 II 型細胞及びクララ細胞が有力視されている。肺腫瘍病変の早期段階の解明には早期肺がんモデルの開発が不可欠である。今回、CreloxP システムにより活性型 Ha-ras^{V12} 遺伝子を時期・臓器特異的に発現調節可能なトランスジェニックラット (Hras250) を用い、早期肺がんモデルの確立および起始細胞同定の可能性について検討した。

【方法】Hras250 ラットの気管より CreloxP リコンビナーゼ発現アデノウイルスベクターを投与し、変異型 Ha-ras^{V12} 遺伝子を発現させて肺発がんを惹起させた。ウイルス投与 2 週間及び 6 週後に動物を解剖し、病理組織学的検索を実施した。

【結果】ウイルス投与 2 週間には組織学的に肺胞上皮および呼吸細気管支上皮の過形成、腺癌がみられた。投与 6 週間後には肉眼的に肺に結節性病変が多数見られ、組織学的に肺胞上皮の過形成、腺腫、腺がんのみならず化学発がんでは発生させることが困難な扁平上皮がんもみられた。免疫染色により、過形成および腺腫には肺胞 II 型上皮又はクララ細胞のマーカーである SPC、CC10 陽性細胞がそれぞれ認められた。しかし、腺がんではクララ細胞のマーカーである CC10 陽性細胞は認められたが、肺胞 II 型上皮のマーカーである SPC 陽性細胞はみられなかった。腺がんからは一部、連続して扁平上皮がんがみられ、CC10 および扁平上皮細胞のマーカーである CK5/6 に陽性を示した。しかしながら、SPC 陽性細胞から腺がんおよび扁平上皮がんへの連続性はみとめられなかった。

【考察】Hras250 ラットを用いた短期肺発がんモデルおよび発がん物質では発生させることが困難であった肺扁平上皮がんモデルが確立できた。また、発生した腺癌および扁平上皮癌は呼吸細気管支上皮のクララ細胞から発生することが示唆された。

*O-6

Ogg1 欠損マウスにおける NNK 誘発肺増殖性病変の EGFR 突然変異

○五十嵐 麻希^{1,2)}、吉田 緑³⁾、渡邊 学²⁾、阿部 正義⁴⁾、菅野 純夫²⁾、中江 大⁵⁾

(¹⁾ 東農大 院 生体機能防衛、²⁾ 東大 新領域、³⁾ 国立衛研 病理、⁴⁾ 日産化学工業、⁵⁾ 東京都健康安全研究セ)

Ogg1 遺伝子は、酸化了的 DNA 傷害である 8-oxoguanine(8-oxoG) を特異的に修復する酵素をコードしている。我々は、前回までに酸化ストレスに対する感受性が増強される Ogg1 遺伝子欠損マウスにおいて、NNK 誘発肺増殖性病変の発生頻度が雌でのみ上昇することを報告した。本研究では、この現象の背景機構を解明することを目的に、誘発された肺増殖性病変における 8-oxoG と、K-ras および EGFR の遺伝子変異の発生について検索した。

免疫組織化学的検索においては、Ogg1 欠損マウスに誘発された肺増殖性病変に 8-oxoG の高発現を認めた。同様の結果は、ヒト組織アレイによって得られた肺腺がんにおいても認められた。突然変異検索においては、K-ras で Q61R (caa → cga) と R72R (aga → agg) が、EGFR で L718M (ctg → atg) の変異をそれぞれ検出した。

以上の結果より、Ogg1 欠損によるマウス肺増殖性病変発生には、酸化ストレス亢進による酸化了的 DNA 傷害の蓄積が関与しているものと示唆された。本研究で検出した EGFR の変異は、化学物質により誘発した動物肺増殖性病変由来として初めての報告であり、ヒト肺がんでは報告されている変異にきわめて近い部位に発生したものである。この変異は、女性・アジア人・非喫煙者の肺腺がんによく見られ、細胞の悪性化に関わる一方、ゲフィチニブへの親和性を高めるものと報告されている。また、DNA 修復能は女性の方が男性より低く、肺がん感受性は女性の方が高いという報告もある。本研究においては、Ogg1 欠損雌性マウスにおける NNK 肺発がん促進の背景機構として、酸化了的なものを含む DNA 傷害に対する修復能の低下に基づく突然変異による EGFR の恒常的活性化が重要な役割を果たすものと示唆された。また、本研究で用いた実験系は、ヒト (特に女性) の肺腺がんの動物モデルとして有用であることが判明した。

O-7

Nitron anti-cancer activity in APC^{min} model of colon cancer

○ FLOYD ROBERT A.^{1,2}、TOWNER RHEAL A.¹、WU DEE³、
GUO WEI-XING¹、FOSTER STEVEN B.¹、HUYCHE MARK^{4,5}

(¹ Oklahoma Medical Research Foundation、² Department of Biochemistry and Molecular Biology, Oklahoma University Health Sciences Center、³ Department of Radiological Sciences, Oklahoma University Health Sciences Center、⁴ The Muchmore Laboratories for Infectious Disease Research, Department of Veterans Affairs Medical Center、⁵ Department of Medicine, Oklahoma University Health Sciences Center)

We examined the anti-cancer activity of the nitron *a*-phenyl-*tert*-butyl nitron (PBN) in the APC^{min} model of colon cancer. PBN was administered in drinking water to the mice starting at age day 21. Tumor development in three groups of 15-20 mice each were examined using gadolinium probe enhanced magnetic resonance imaging (MRI) taken 4 times (7,12,16 and 18 weeks) during tumor development. Termination pathologic data of tumor size and number was also done. MRI showed in the untreated, a time-dependent increase in tumor number and size, but the PBN-treated mice showed a time-dependent significant decrease in tumor volume and number throughout the treatment period. Pathologic data agreed with the MRI data. Human colon cancer cells (HCT-116) were used to determine if PBN would interfere with oxaliplatin killing of colon cancer cells. PBN up to 2 mM had only a small effect (4-5%) on oxaliplatin killing. PBN has previously been shown to have anti-cancer activity in animal models of hepatocellular carcinoma and glioblastoma. Supported in part by OARS grant AR052-041, OCAST fMRI.002 and VA Merit Review Program.

*O-8

Gpx2/Cytokeratin19 発現比を用いた *in vitro* 短期発がん性試験法確立の試み

○内木 綾¹、朝元 誠人¹、小川 久美子¹、佐藤 慎哉¹、津田 洋幸²、白井 智之¹

(¹ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、² 名古屋市立大学 大学院医学研究科 分子毒性学)

従来の *in vitro* 発がん性試験においては、長期の実験期間の他、多大な費用および多くの動物の犠牲を伴うという欠点があり、新たな短期間での発がん性試験法の確立が望まれている。以前に我々はラット乳腺発がんモデルである c-Ha-ras 遺伝子導入ラット (Hras128) に N-methyl-N-nitrosourea (MNU), 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) および 2-amino-6-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) の 3 つの発がん機序の異なると考えられる発がん物質で誘発された乳癌に共通して発現上昇のみられる遺伝子として Glutathione peroxidase 2 (Gpx2) を報告してきた。さらに Gpx2/Cytokeratin19 (CK19) 発現比は、Hras128 乳癌由来の 6 種類の乳癌細胞株において正常乳腺組織と比較して安定して高値を示すことも明らかにしてきた。

そこで今回我々は、乳腺発がん物質を含む既知の発がん物質 10 種類および 2 種類の非発がん物質を種々の濃度で Hras128 由来乳癌細胞株 RMC-2 に暴露し、3 日後に RNA 抽出を行い、定量的 RT-PCR を用いて Gpx2/CK19 発現比の変動を見た。その結果、検討したすべての発がん物質暴露細胞において、無処置対照細胞と比較して Gpx2/CK19 発現比が 2 倍以上の上昇を示す暴露濃度が同定された。一方、非発がん物質暴露では、Gpx2/CK19 発現比が安定して 2 倍以上になるものは見いだされなかった。

以上より、Gpx2/CK19 発現比が、新たな *in vitro* 簡易発がん性試験法に応用できる可能性が示唆された。

O-9

Cell cycle and apoptosis regulation in neural progenitor cells of the etoposide-treated developing fetal brain

○南 春子、土井 邦雄、中山 裕之

(東京大学 農学生命科学研究科 獣医学専攻)

Etoposide (VP-16), a topoisomerase II inhibitor, is an antitumor agent which is also known to show embryotoxicity and teratogenicity. In our previous studies, it was shown that VP-16 induced S-phase accumulation and G2/M arrest, and eventually resulted in apoptosis via p53-related pathway in the fetal brain. Pregnant ICR mice were injected intraperitoneally with VP-16 (4 mg/kg) on day 12 of gestation, and fetuses were collected from 1 to 48 hours after treatment (HAT). Fetal telencephalons analyzed by TUNEL, cell cycle analysis, DNA microarray, real time RT-PCR and Westernblotting. S-phase accumulation of neural progenitor cells might be induced at 4 HAT by acceleration of G1/S transition rather than the inhibition of DNA replication. VP-16 treatment increased the expression of puma, noxa, bax, fas, p21 and cyclin G in fetal brains. ATM and H2AX were concurrently phosphorylated at ser 1981 and ser 139 after VP-16 exposure, respectively. Phosphorylation of p53 (ser 15 and 20) and cdc2 (tyr 15), an increase of p21, cyclin A and cyclin B1, and a decrease of cdc 25A were also confirmed by Westernblotting. The TUNEL-positive cells were not observed in the p53-null fetuses. In p53-deficient brains, VP-16 treatment induced S-phase accumulation, but did neither G2/M arrest nor apoptosis. The results revealed that VP-16 causes DNA double stranded breaks, and induces S-phase accumulation, G2/M arrest and finally apoptosis through activating ATM-Chk 2-Cdc25A, ATM-p53-p21 and ATM-Chk2-p53 pathways, respectively. In addition, it was shown that p53 is essential for VP-16-induced G2/M arrest and apoptosis, but not necessary for S-phase accumulation.

O-10

メルカプトプリンのラット胎盤に対する影響

○古川 賢、白田 浩二、阿部 正義、林 清吾、小川 いづみ

(日産化学工業株式会社 生物科学研究所 安全性研究部)

【目的】抗がん剤のメルカプトプリン (6-MP) は妊娠ラットに投与することによりファコメリア、矮小、指異常、鎖肛及び臍ヘルニアなどを誘発することが知られているが、胎盤への影響に関する報告は少ない。本発表では 6-MP 暴露ラットの胎盤について経時的に病理組織学的検索を実施し、その影響について検討した。【材料及び方法】6-MP はオリーブオイルに懸濁し、0 及び 60mg/kg の 2 用量にて妊娠 11 及び 12 日にラットに腹腔内投与し、妊娠 13、15 及び 21 日に胎盤を摘出した。胎盤重量を測定し、ホルマリン固定後、組織病理検査を実施した。【結果】投与群では母動物体重低下、胎児死亡率の増加及び奇形が認められた。胎盤重量は妊娠 15 及び 21 日で低下し、妊娠 21 日の胎盤は肉眼的に小型で、辺縁部の白色領域が拡大していた。組織病理検査では迷路層においては栄養膜細胞の細胞増殖活性の低下が妊娠 13 及び 15 日、アポトーシスの増加が妊娠 15 及び 21 日で認められ、栄養膜細胞の減少、栄養膜中隔の部分的菲薄化、母体血管腔の不規則な拡張が観察された。さらに妊娠 21 日では栄養膜細胞の変性及び壊死が認められ、これら変化により、迷路層は妊娠 15 及び 21 日で菲薄化していた。基底層においては海綿状栄養膜細胞の細胞増殖活性の低下が妊娠 13 日で認められた。さらに対照群では海綿状栄養膜細胞は妊娠 13 日においてのみ PAS 陽性顆粒を含有していたのに対し、投与群では妊娠 15 日においても PAS 陽性顆粒が観察された。妊娠 21 日では出血、多発性の巣状壊死及びグリコーゲン細胞嚢胞変性が認められ、これら基底層を構成する細胞は退縮せずに残存し、基底層は肥厚していた。脱落膜では著変は認められなかった。【考察】6-MP は迷路層では栄養膜細胞に対してアポトーシスを誘発し、その細胞増殖を抑制、基底層では海綿状栄養膜細胞の分化を遅延させることにより小胎盤に至るものと推察した。胎児影響については 6-MP の直接影響のみならず、胎盤機能障害が影響しているものと推察した。

O-11

雌ラット新生児期 DES 曝露による遅発型影響発現と曝露量との関連性

○吉田 緑¹、井上 薫¹、高橋 美和¹、前川 昭彦²、西川 秋佳¹

(¹ 国立衛研 病理部、² 製品評価技術基盤機構)

【目的】 エストロゲン類の新生時期曝露による重要な影響として、高用量で生後短期間に検出可能な androgenization ではなく、より低い用量で性成熟後に発現する遅発型影響 (delayed anovulated syndrome, DAS) が注目されている。遅発型影響は視床下部・下垂体・性腺系への異常が引き金になっていると考えられ、卵巣機能の早期低下による無排卵や持続発情の早期化、子宮癌促進などとして検出されるが、発現機序の多くは不明である。我々はラット新生児期に合成エストロゲンである diethylstilbestrol (DES) を曝露し、投与量と遅発型影響の発現との関連性について検討した。【方法】 生後 24 時間以内の Donryu 雌ラットに 0.15、1.5、15、150 および 1500 μ g/kg 体重の DES を単回皮下投与し、12 ヶ月齢まで経時的な形態学的変化と性周期の観察を行った。また 10 週齢において ENNG 子宮腔内投与による発癌起始操作を行った。【結果】 1500 μ g 群全例と 150 μ g 群の一部では膣開口前から明らかな androgenization が確認された。150 μ g 群の大部分と 1.5 および 15 μ g 群の全例では生殖器に形態学的異常は認められなかったものの、遅発型影響として性周期観察で持続発情発現の早期化がそれぞれ 5、15 および 17 週齢以降有意に増加した。150 μ g 群では子宮癌が増加した。0.15 μ g 群では異常は認められなかった。成熟動物を用いた子宮肥大試験では 1.5 μ g 群以上の DES はエストロゲン様作用を示した。【考察】 今回の実験結果において、遅発型影響はエストロゲン作用量で発現しており、新生児期の DES 曝露量との間に相関性が認められた。また、性周期観察は遅発型影響の検出に有用な指標であると考えられた。子宮癌発生の増加には、持続発情の早期化による相対的エストロゲン高値が関連していると推察された。

O-12

X 線照射によって糖尿病を発症しない コンジェニック LEA.F-*Xdm1* ラットの作出

○泉 啓介、佐藤 亮

(徳島大学 大学院 HBS 研究部 環境病理)

【目的】 Long-Evans Agouti (LEA) ラットは Long-Evans ラットの近交系化によって樹立された系統の 1 つであり、8 週齢くらいから膵島炎を起こす糖尿病モデルである。この LEA ラットに X 線を全身照射すると早期に糖尿病が発症する。(F344xLEA)xLEA バッククロスラットを用いた QTL 解析の結果、X 線誘発糖尿病の責任遺伝子座の一つは第 20 番染色体上の D20Rat47-D20Mgh4 (20p12) 近傍にマップされた。そこでスピードコンジェニック法によって F344 ラットの D20Rat47-D20Mgh4 領域を LEA ラットに導入したコンジェニック系統 LEA.F-*Xdm1* ラットの作出を試みた。【方法】 雄 LEA/Tj ラットと雌 F344/DuCrj ラットを交配して N1 を作製し、この雄ラットと雌 LEA ラットの交配によって N2 を作製した。D20Rat47-D20Mgh4 をヘテロに持つ最良雄ラットとの戻し交配を N5 まで繰り返し、最終的にヘテロラット同士を交配し、ホモラットの LEA.F-*Xdm1* ラットを得た。X 線照射による糖尿病の Bioassay system として、6 週齢および 8 週齢にそれぞれ 2 Gy の X 線全身照射 (日立 X 線照射装置) を行い、12 週齢で 2 g/kg 糖負荷試験を行う方法を用いた。糖負荷後 30 分の血糖値を測定した。【結果と考察】 X 線照射雄 LEA ラットおよび雄 LEA.F-*Xdm1* ラット (n=9) の糖負荷後 30 分の血糖値はそれぞれ、 403 ± 85 mg/dl、 191 ± 15 mg/dl ($P < 0.001$) であった。LEA.F-*Xdm1* ラットでは LEA ラットとは異なり膵島のリンパ球浸潤は軽微であったが膵島炎は完全には抑制されなかった。20p12 は MHC 遺伝子領域であり、その LEA ラットの X 線誘発糖尿病への関与が疑われる。また、LEA ラットの自然発症糖尿病には別の遺伝子の関与が示唆される。

ポスター要旨

(P-1 ~ P-94)

P-1

1,4-ジオキサン長期投与によるラットの鼻腔腫瘍及びその関連病変 －吸入曝露と飲水投与による病変の種類と発生部位の比較－

○梅田 ゆみ、妹尾 英樹、片桐 卓、相磯 成敏、長野 嘉介、福島 昭治

(中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター)

1,4-ジオキサンは水環境・大気環境を汚染し、経口や吸入の両経路から曝露を受ける可能性がある。また、ラット発がん性試験では吸入曝露、飲水投与のいずれの投与経路でも鼻腔腫瘍が発生する。今回はそれぞれの投与経路による鼻腔腫瘍とその関連病変について病理組織学的変化の種類と発生部位を比較した。【方法】吸入曝露・飲水投与とも動物は6週齢のF344/DuCrIcrIj雄ラット(各群50匹)を用い、病理組織学的検索(鼻腔は前方からレベル1、2、3の前額断面で標本を作製)を行った。投与は、吸入曝露では、0、50、250及び1250ppmの濃度で、1日6時間、週5日間、2年間全身曝露し、飲水投与では0、200、1000及び5000ppmの濃度で飲水に混入し2年間自由摂取させた。【結果・考察】1,4-ジオキサン投与により吸入・飲水いずれの経路でも、鼻腔に扁平上皮癌と扁平上皮過形成が発生し、また、呼吸上皮に扁平上皮化生、炎症及び核の増大、嗅上皮に萎縮、呼吸上皮化生及び核の増大、固有層に水腫様変性と硬化、鼻腺の増生が認められた。これらの病変の発生部位については、扁平上皮癌と扁平上皮過形成は吸入・飲水いずれの経路ともレベル1～2の背側に認められた。また、呼吸上皮の扁平上皮化生、嗅上皮及び固有層の変化は投与経路による発生部位の違いはなかった。しかし、呼吸上皮の核の増大は投与経路による差がみられ、吸入曝露の50ppm群では鼻腔前方であるレベル1の背側、250と1250ppm群では呼吸上皮が分布する全領域(レベル1～3)にみられた。一方、飲水投与では5000ppm群の全領域(レベル1～3)にみられた。以上のように、1,4-ジオキサン投与による鼻腔の扁平上皮癌、扁平上皮過形成及び扁平上皮化生は吸入・飲水の両経路で類似した病変の分布を示した。しかし、呼吸上皮の核の増大は吸入曝露(50ppm群)では鼻腔前方部にみられ、上部気道の直接的な接触による局所影響が強いものと考えられた。

*P-2

マウス鼻中隔における好酸性物質の沈着機序についての検討

○土居 卓也、小谷 百合、爰島 洋子、菅野 剛、土谷 稔

(安科研・鹿島)

マウスの鼻中隔間質には好酸性物質(ES)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、ESはアミロイドと記載されているが、我々は以前に、ESがアミロイドではないことを証明した。また、ESは複合糖質と思われる物質(超微形態学的に均質無構造物質)とコラーゲン線維から形成され、前者はHEで明調に染まる鼻腺上皮細胞により産生されると考えられた(Doi et al. Vet Pathol 44, 2007)。今回、鼻腺上皮細胞で産生された複合糖質と思われる物質が間質へ移行する機序について、形態学的に検討したので報告する。【方法】11および33週齢のCB6F1-Tg rasH2マウスの雄の各週齢2例ずつに渡辺鍍銀染色を施し鏡検した。超微形態学的検査は、42週齢のB6C3F1/CrIjマウスの雄3例を用いて行った。【結果】渡辺鍍銀染色標本観察：ES沈着が軽微な11週齢マウスでは、明調な鼻腺は好銀線維束により全周性に取り囲まれていた。一方、ES沈着が顕著な33週齢マウスでは、明調な鼻腺の基底側と好銀線維束との間に間質と同質の沈着物質がみられる領域や、鼻腺を取り囲む好銀線維束が部分的に間質側に圧排されて疎になり、鼻腺と間質の境界が不明瞭な領域が認められた。超微形態学的観察：鼻腺上皮細胞の細胞質に、間質でみられたものと同質の均質無構造物質が認められた。また、鼻腺周囲を取り囲むコラーゲン線維が部分的に消失し、鼻腺上皮細胞基底部の粗面小胞体と隣接する無構造物質が間質側の無構造物質と連続する像が観察された。この様な領域でも、鼻腺上皮細胞の変性はみられなかった。【まとめ】ESの構成成分である均質無構造物質は、明調な鼻腺上皮細胞により産生され、その基底側から間質へ移行すると推察された。鼻腺上皮細胞の変性はみられないことから、この物質が合目的に存在しており、細胞傷害性に働くことはないと考えられた。

*P-3

Phenylhydrazine 投与ラットにみられた急性肺病変

○佐藤 寛子、山田 勉也、嶋津 紀子、篠塚 淳子、湯浅 啓史、藤村 久子、島海 互

(田辺三菱製薬 安全性研究所)

【目的】 Phenylhydrazine (PHZ) は赤血球の酸化溶血を引き起こす毒性物質として古くから知られ、溶血性貧血モデル作製時にも使用されている。PHZ 投与時の病理所見については、脾臓、肝臓などの造血系組織における変化の報告は一般的であるが、他臓器の病変の報告は少ない。今回我々は、PHZ 投与ラットにおいて認められた肺の病変について詳細に検索したので報告する。

【材料と方法】 6 週齢の Crl:CD(SD) 雄ラットに PHZ 50 mg/kg を 3 日間反復腹腔内投与した。最終投与翌日に病理解剖学的検査および主要臓器の病理組織学的検査を実施した。

【結果】 初回投与 6 時間後から四肢の皮膚および可視粘膜が蒼白となり貧血症状を呈した。2 回投与以降に自発運動の低下が認められ、3 回投与後に 3 例中 2 例が死亡した。病理解剖学的検査では、肺が全葉にわたって赤色～暗調を呈していた。組織学的検査では、肺胞壁に好酸性物質が認められ、一部で水腫ならびに出血がみられた。この好酸性物質はマッソントリクローム染色で赤染、PTAH 染色に一部弱染した。戻し電顕では、肺の毛細血管内あるいは一部肺胞腔内にフィブリン様の線維性構造物が認められ、肺胞壁に認められた好酸性物質は毛細血管内に形成された血栓と考えられた。なお、血栓は左心耳内にも観察された。その他、脾臓および肝臓の赤血球貪食像・髓外造血充進、諸臓器の色素沈着などの変化が認められた。

【まとめ】 PHZ 投与ラットでは肺胞毛細血管内に血栓が形成された。ヒトにおいては、血管内溶血が播種性血管内凝固 (DIC) の基礎疾患となり得ることや、PHZ による血栓症の発生が報告されている。しかし PHZ 投与ラットにおける血栓形成の報告はない。本例でみられた血栓形成のメカニズムは解析中である。

*P-4

PCB126 胎生期暴露ラットの N-nitrobis(2-hydroxypropyl)amine 誘発肺癌への影響に関する検討

○小林 康子¹、武藤 朋子²、横尾 清文¹、遠藤 仁²、金井 好克^{2,3}、和久井 信¹

(¹ 麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室、² 杏林大学 医学部 薬理学教室、
³ 大阪大学大学院 薬理学研究科 薬理学講座 生体システム薬理学)

【目的】 ポリ塩化ビフェニルなどの PCB は過去、コンデンサーやトランスなどの商業に大量に生産、使用されてきたが、近年、残留性有機汚染物質として、環境汚染物質であり水や大気などの媒体を通して拡散したものが食物連鎖等により濃縮され人体に影響を及ぼすことが指摘されている。過去、我々は本学会にて胎生期暴露ラットの乳腺腫瘍について検討を行った。本検討では、近年増加しつつある肺がんについての検討を行った。【材料と方法】 妊娠 13-19 日目までの間に PCB126 を 7.5ug、250ng、2.5ng、対照群として溶媒を投与し、産出した雌雄ラット各群 8 匹に生後 5 週齢に N-nitrobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP) を 8 週間投与し、25 週齢で解剖を行った。摘出した肺組織は主にタンパクの検出を目的とし、免疫組織化学的染色および western にて検討を行った。【結果】 組織化学的所見には Adenoma、Adenocarcinoma、Squamous Adenocarcinoma に分類をして検討を行ったところ、雄では Adenoma7.5ug 群で、雌については投与群に対照群に比べ減少を認めた。Adenocarcinoma は、雌では有意な差は認められなかった。Squamous Adenocarcinoma については、雌雄共に、投与群全体で有意な増加を認めた。免疫組織化学的染色では MEK、ERK の発現が強く認められたことから、western において Tpl-2 の発現を確認したところ PCB 投与群での発現上昇が認められた。【考察】 Tpl-2 は MEK を活性化させるキナーゼであり、MAP キナーゼ経路などの活性化にも関与していることが知られている。PCB 投与によるこれら発現の上昇がホルモン因子により MAP キナーゼ下流に存在する細胞増殖に関連し、重要な調節因子であることが示唆された。現在、MAP だけでなく、Ras シグナル経路についての検討も行っている。

*P-5

DDAC 気管内投与によって誘発された肺線維化病変における TGF- β の関与

○大沼 彩、田島 悠、吉田 敏則、山口 悟、大塚 亮一、武田 眞記夫、福山 朋季、
林 宏一、佐々木 淳矢、富田 真理子、小嶋 五百合、高橋 尚史、竹内 幸子、
桑原 真紀、千葉 裕子、小坂 忠司、中島 信明、原田 孝則

(財団法人 残留農薬研究所 毒性部)

4 級アンモニウム化合物 (陽イオン表面活性剤) のひとつである塩化ジデシルジメチルアンモニウム (DDAC) は、殺菌消毒剤や木材防腐剤として広く利用されている。これまで我々は、木材防腐剤の毒性解明の一環として DDAC の接触及び経口曝露を想定した種々の毒性を評価してきた。しかし、今までのところ木材を加工する際の本粉や溶剤噴霧時に誤って吸入した場合などの呼吸器系に対する毒性は明らかにされていない。今回、C57BL/6J マウスを用いて DDAC の気管内投与試験を実施し、肺に与える影響について検討した。まず、0.001%、0.01%、0.1% の DDAC を気管内投与したところ、0.1% 投与群では投与後数時間で全例が著しい肺のうっ血水腫を示し死亡ないし切迫殺された。残りの各群について、投与後 3 日目に気管支肺胞洗浄液 (BAL) 中の炎症細胞数を計測した結果、0.01% 投与群では細胞数の増加がみられたが、0.001% 投与群にはほとんど影響がなかった。そこで、0.01% DDAC を用いて経時的観察を行う目的で投与後 1、3 ないし 7 日の BAL を採取したところ、好中球、マクロファージ、リンパ球が経時的に増加し、特に 7 日目における反応は明瞭であった。Flow-cytometric beads array による BAL 中 cytokine の測定では、投与 7 日目には IL-6 が著しく増加したが、IL-10、-13 および IFN- γ に変化はなかった。加えて、投与後 3 及び 7 日目の肺では、肉芽腫様の線維化病変が巣状に観察され、7 日目においてより病巣が拡大していた。そこで、細胞外マトリックス産生に関与する TGF- β 1、- β 2、- β 3 mRNA の発現量を Real-time RT-PCR により比較したところ、TGF- β 1 mRNA が投与 7 日目に明らかに増加した。また、マウスの肺より分離・培養した線維芽細胞様細胞に DDAC を処置した結果、TGF- β 1 mRNA が増加していたのに対し、TGF- β 2 及び - β 3 mRNA は減少した。以上の結果より、吸入された DDAC は肺において肉芽腫様の慢性炎症を引き起こし、その病変形成過程には TGF- β family の発現が関与している可能性が示唆された。

*P-6

多層カーボンナノチューブ (Multi-Wall Carbon Nanotubes, MWCNT) のラット気管内投与における投与液の懸濁状態による病理学的変化の違い

○小谷 百合¹⁾、土居 卓也¹⁾、佐々木 啓¹⁾、涌生 聖¹⁾、土谷 稔¹⁾、広瀬 明彦²⁾

(¹⁾ 安科研・鹿島、²⁾ 国立衛研)

【背景・目的】産業用ナノマテリアルである多層カーボンナノチューブ (Multi-Wall Carbon Nanotubes, MWCNT) は、その高機能性から生産量の増加が見込まれている物質である。ヒトへは、経皮および経気道による暴露が危惧されているが、易凝集性のため、単離した MWCNT の経気道暴露による健康影響評価報告は少ない。本研究では、異なる懸濁状態の MWCNT 投与液をラットに気管内投与し、発現する毒性影響を病理学的に比較した。【方法】MWCNT を人造肺サーファクタントに溶解した投与液 (未粉碎 MWCNT)、さらにそれを乳鉢で粉碎したもの (粉碎 MWCNT)、陽性対照としてシリカ、陰性対照として溶媒を、それぞれ 12 例のラットに気管内単回投与後、各群 3 例ずつ 2 日目、8 日目、29 日目、92 日目に剖検し、肺、気管、気管支リンパ節の組織学的検査を実施した。【結果・考察】MWCNT 投与両群では 2 日目の肺において投与物質の蓄積が認められたが、未粉碎 MWCNT 群は気管支腔に、粉碎 MWCNT 群は肺胞腔により顕著な蓄積が認められた。また、未粉碎 MWCNT 群では気管支粘膜のびらんとともに無気肺が強く発現したのに対し、粉碎 MWCNT 投与群では肺胞上皮の肥大が認められた。この相違は、未粉碎 MWCNT は気管支にとどまる傾向があるが、粉碎 MWCNT は肺胞に到達しやすいことによると考えられる。一方、8 日目以降の肺で肺胞腔および間質に投与物質を貪食したマクロファージの浸潤が認められたが、未粉碎 MWCNT 群では肺胞腔よりも間質で顕著に認められたのに対し、粉碎 MWCNT 群では間質より肺胞腔に顕著に認められた。この意義については不明である。

P-7

吸入曝露による酸化ニッケルナノ粒子のラット肺への影響と HE 標本上での元素マッピングの試み

○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)

[目的]

酸化ニッケルナノ粒子 (NiO) をラットに4週間吸入曝露し肺への影響を病理組織学的に検討し、肺内での粒子分布を HE 標本を用いて元素分析することを試みた。

[方法]

Wistar 系雌性ラット (8週齢) を用いて、NiO ナノ粒子を4週間吸入曝露した。対照群は新鮮空気のみを曝露した。曝露期間中の平均粒径および曝露濃度は、 140 nm 、 $1.0 \pm 0.5 \times 10^5$ 個/ccであった。曝露終了後4日目、1ヶ月目、3ヶ月目に各群 (n=5) の解剖を行い、右肺より気管支肺胞洗浄液 (BALF) を50ml採取し、左肺は定圧固定後組織標本作製し、病理組織学的検索を行った。また、作成した HE 標本及び BAL 標本を走査型電子顕微鏡およびエネルギー分散形 X 線分析装置を用いて元素マッピングを行った。

[結果]

NiO ナノ粒子曝露群では、BALFにおいて曝露終了直後に有意な白血球数の増加を示したが、曝露終了1ヶ月後以後は対照群と差は見られなかった。病理組織学的所見では、曝露終了後1ヶ月の NiO ナノ粒子曝露群では、肺胞腔内にやや泡沫化したマクロファージが増加した部位も見られ、曝露直後に比べ軽微ではあるが炎症がみられた。曝露終了後3ヶ月でも、NiO ナノ粒子曝露群では、軽微な肺胞炎を認めたが、肺野は対照群とほぼ同様な像を呈し、線維化、腫瘍形成は認められなかった。肺の炎症領域を画像でのポイントカウンティング法 (PCM) により定量的に評価した結果でも、炎症度は NiO ナノ粒子曝露群で曝露終了後より対照群に比べ高い炎症度を示し、曝露終了後1ヶ月まで上昇したが、終了後3ヶ月では対照群と同様なレベルまで低下していた。元素マッピングでは Ni は肺胞マクロファージを中心に凝集塊として肺組織上に散見された。

[まとめ]

NiO ナノ粒子曝露による軽度炎症性は認められた。今後も他臓器での病理の解析なども行い、粒子の沈着状態などさらに検討する必要があると思われる。

P-8

A role of RTP801, a suppressor of the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway, in cigarette smoke-induced pulmonary injury

○吉田 敏則^{1,2}、メット イゴ¹、ジエン リジ²、リヒタ エイミ²、ランガサミ テイルマライ^{3,1}、
チムラッパ ラジェッシュ³、ピアウォル シャイアム³、ペトラッキ アリナ²、
ファインシュタイン エレナ⁴、ツダエルビン²

(¹ Institute of Environmental Toxicology, ² Johns Hopkins University School of Medicine, ³ Johns Hopkins University Bloomberg School of Public Health, ⁴ Quark Biotech, Inc.)

RTP801 is a stress-responsive gene, which inhibits mTOR, and thus affects cell growth and protein synthesis. We determined whether RTP801 contributes to acute pulmonary injury in mice following cigarette smoke (CS) exposure. CS increased RTP801 mRNA and protein levels in the lung of RTP801 WT mice, and the protein expression was prevented by the antioxidant N-acetylcysteine. Although RTP801 had been expected to be an mTOR repressor, WT mice paradoxically showed increased mTOR activity, as demonstrated by hyperphosphorylation of ribosomal protein S6, a downstream target of mTOR, with evidence of alveolar inflammation and apoptosis. The role in alveolar injury was supported by the findings that rapamycin, an mTOR inhibitor, prevented CS-induced inflammation, a protection that was associated with hyperphosphorylation of AKT. RTP801 KO mice had a higher baseline level of mTOR activity than WT mice, and showed significant protection against CS-induced alveolar injury, along with inactivation of NF- κ B. These effects were also dependent on mTOR as rapamycin restored KO susceptibility to CS. Supportive evidence was obtained from isolated lung fibroblasts which showed increased baseline level of phosphorylated S6 and reduced sensitivity to CS extract-induced NF- κ B activation in KO cells when compared with WT cells. These findings suggest that RTP801 regulates mTOR, which has a dual function of promoting alveolar injury after CS exposure and of preventing lung pathology when increased at baseline. Targeting RTP801 might provide a new therapeutic target of CS-mediated pulmonary diseases.

*P-9

Pulmonary injuries by combined intratracheal administration of oxidative stress inducers chromium (VI) and arsenate (V) in mice

○田島 悠、大沼 彩、吉田 敏則、福山 朋季、林 宏一、佐々木 淳矢、山口 悟、大塚 亮一、
武田 眞記夫、富田 真理子、小嶋 五百合、高橋 尚史、竹内 幸子、桑原 真紀、
千葉 裕子、小坂 忠司、中島 信明、原田 孝則

(The Institute of Environmental Toxicology)

Most wood preservatives developed to protect wood contain toxic or hazardous chemicals that can cause adverse impacts to human health. Amidst a rising tide of concern about the arsenical preservatives, especially Chromated Copper Arsenate, our recent research has been focused on understanding its toxic effects by oral and dermal exposure routes. Whereas chromium (Cr) and arsenic (As) within metal fumes impact respiratory diseases in human, the combined effects of these metals have not been elucidated. The present study was conducted in mice when intratracheally instilled As and/or Cr to evaluate inflammatory response, cytotoxicity, and oxidative stress on respiratory system. C57BL/6 mice received 1250 μ g/kg of CrO_3 , 1560 μ g/kg of As_2O_5 , their mixture, or PBS. Bronchoalveolar lavage (BAL) and lungs were sampled 2 days after administration. Administration of As or Cr increased the number of BAL neutrophils, which was greater in Cr exposure than in As. Concurrent As exposure worsened Cr-induced BAL neutrophils, which were associated with increasing the numbers of BAL macrophages and lung neutrophils. These findings were supported by evidence of elevated IL-6, total protein, and LDH activity in BAL and caspase-8 and -9 activities in the lung, along with enhanced ROS production caused by co-treatment, when compared with the controls. *In vitro* MTT assay revealed that Cr rather than As induced cytotoxicity in a dose-dependent manner and co-treatment of As enhanced Cr-induced cytotoxicity. These findings suggest that adverse effect of Cr is more evident than that of As on respiratory system, and Cr exposure with As makes its effect enhanced.

*P-10

Beagle 犬の肺に観察される Nodular Hyperplasia の発現状況について

○山下 龍、植田 芳英、長井 佳代子、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、今井 清

(安評センター)

犬の肺における Nodular Hyperplasia は、1965 年に A. Hajdu らにより「Multifocal Pulmonary Nodular Hyperplasia in Beagle Hounds.」で報告された。この病変は肺の胸膜下にできる灰白色の多病巣性の小結節で、硬く弾力性があり、肺の前葉および雌に好発する。組織学的には肥厚した胸膜から瘢痕様組織が広がり、瘢痕内には上皮細胞よりなる腺管様、樹枝状構造がみられ、ときおり扁平上皮化生が認められる。原因は明らかではないが、肺実質の退行性変化に続く自然発生性的変化と考えられている。

この報告以来、本病変に関する詳細な報告はなされていないため、本病変の調査を行った。今回は先ず組織像を紹介し、併せて発生率等の疫学的調査の結果を報告する。

【材料と方法】1996 年から 2006 年に実施した 65 試験（解剖時月齢：5 ヶ月から 25 ヶ月齢）のデータおよび組織標本を用いて、性差や月齢による発生率、組織像等の違いを検討した。

【結果】肉眼および組織学的特徴は A. Hajdu らの報告と類似していた。発生率の性差および月齢差は明らかではなかったが、雄において若干発生率が高い傾向が認められた。対照群における発生率は、雄 13.7% (32/234)、雌 11.8% (28/238) であった。

また、月齢による組織像の違いが認められた。月齢の若い動物では、肺胞構造を比較的保持した肺胞壁の肥厚や肺胞上皮の腫大・増生などが主体に認められ、多くのものに炎症細胞浸潤が認められた。加齢と共に間質結合組織の増生が増し、巣状の瘢痕化および上皮細胞の腺管様構造、扁平上皮化生が目立つ傾向が認められた。

【結論】Beagle 犬に認められた肺の所謂 Nodular hyperplasia は、雌雄共に 1 割強の動物に自然発生的に認められた。月齢による組織像の変化が認められ、経時的な病巣の慢性化あるいは陳旧化を示唆する変化が認められた。病変の発生率と月齢の間に明らかな差が認められないことから、本病変の多くは月齢の若いうちに発生する肺の実質傷害に起因した反応性的変化ではないかと考えられた。

*P-11

臭素化難燃剤のラット発達期暴露による脳白質障害の標的分子の探索

○富士本 仁¹、渋谷 淳^{1,2}、禹 桂炯¹、三枝 由紀恵²、井上 薫¹、高橋 美和¹、
広瀬 雅雄^{1,3}、西川 秋佳¹

(¹ 国立衛研 病理部、² 東京農工大 獣医病理、³ 食品安全委)

抗甲状腺物質の発達期暴露により、ニューロンやオリゴデンドロサイト (Oligo) を標的とした脳発達障害の発生が懸念される。本研究では、弱い抗甲状腺作用を有する難分解・高蓄積性化学物質に起因する脳障害の評価系確立を目的として、臭素化難燃剤 decabromodiphenyl ether (DBDE) を発達期暴露したラット児動物脳での白質障害指標遺伝子を、抗甲状腺剤を陽性対照とした組織部位特異的なマイクロアレイ解析により探索した。得られた指標候補分子については、DBDE の他、同様の難燃剤である hexabromocyclododecane (HBCD)、tetrabromobisphenol A (TBBPA) の発達期暴露例で免疫組織化学的局在を検討した。【方法】雌 SD:IGS ラットに妊娠 10 日から離乳時 (生後 21 日) まで、抗甲状腺剤 methimazole、propylthiouracil を飲水投与、DBDE は 10、100、1000 ppm、HBCD ないし TBBPA は 100、1000、10000 ppm の割合で混餌投与した。DBDE では暴露終了時の雄児動物脳より白質 (脳梁及び左右大脳白質) をマイクロダイセクション法で採取後、Affymetrix GeneChip により解析した。11 週齢時には、大脳白質の形態計測を行った。【結果および考察】離乳時に軽度ながら DBDE、HBCD で血中 T3 が低下し、HBCD では TSH が増加した。11 週齢では、100 ppm 以上の DBDE 暴露で、抗甲状腺剤と同様に、脳梁面積、Oligo 密度が減少し、HBCD の最高用量でも Oligo 密度が減少した。白質マイクロアレイ解析では、DBDE の全用量に共通した発現変動遺伝子を抽出した結果、その約 1 割が抗甲状腺剤暴露例と共通し、グリア細胞分化、軸索ガイダンス、ミエリン形成に関与する分子であった。局在解析ができた分子のうち vimentin は、抗甲状腺剤と共に、DBDE、HBCD の中間用量から白質で陽性細胞数の増加を示し、TBBPA では変化を示さなかった。以上、甲状腺機能低下に起因する白質発達障害の指標候補遺伝子を多数同定した。また、弱い甲状腺機能低下を示した DBDE、HBCD で不可逆的な白質障害が検出され、vimentin はその早期検出指標として有望であることが判明した。

P-12

5-Fluorouracil の Wistar 系ラットの胎児及び胎盤に及ぼす影響

○福永 八千代、山口 裕子、青木 明美、松島 圭太、江畑 知憲、池谷 政道、田村 一利

((株)ボゾリサーチセンター)

【目的】抗腫瘍薬である 5-Fluorouracil (5-Fu) は胎児及び新生児に対し催奇形性を有することが知られている。本報告では、5-Fu が胎児及び胎盤に及ぼす影響と、その経時的変化を検討した。【方法】5-Fu を 0、15、30、50 mg/kg の投与量で妊娠 13 日の Wistar 系ラット (Slc:Wistar) に単回腹腔内投与し、投与 12、24、48 時間後に胎児及び胎盤を摘出、重量測定後、10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、病理組織学的に検索を行った。【結果】重量は胎児、胎盤ともに、投与 48 時間後の 50 mg/kg 群において有意に減少していた。組織学的に胎児では、pyknotic cell が 30 及び 50 mg/kg 群の中樞神経組織、脊髄、頭蓋顔面領域の間葉組織、肢芽、肝臓の造血前駆細胞、肺や消化管の上皮細胞、生殖腺の生殖細胞において観察され、特に終脳と脊髄での発現が顕著であった。pyknotic cell の発現は、30 及び 50 mg/kg 群とも前述臓器において投与 12 時間後に最も強く発現し、その後経時的に減少した。しかし、50 mg/kg 群の脊髄では、pyknotic cell の顕著な発現が他の臓器より遅れて投与 24 時間後にみられ、投与 48 時間後もなお残存していた。15 mg/kg 群では、いずれの検索時間においても変化はみられなかった。尚 pyknotic cell は TUNEL 染色陽性であり、また電子顕微鏡下ではクロマチンの濃縮と核の断片化が観察されたことから、アポトーシスであると考えられた。胎盤においてはいずれの群及び検索時間においても変化はみられなかった。【考察】5-Fu 暴露胎児では、種々の臓器でアポトーシスの数が増加しており、特に終脳と脊髄で顕著であった。今回の検索で観察された終脳病変は、既報の 5-Fu による小頭症の発現に繋がる変化であると考えられた。

*P-13

アクリルアミドによって誘発される神経毒性の胎児・乳幼児期暴露による感受性の予備的検討

○高橋 美和¹⁾、渋谷 淳^{1,2)}、井上 薫¹⁾、富士本 仁¹⁾、広瀬 雅雄^{1,3)}、吉田 緑¹⁾、西川 秋佳¹⁾

(¹⁾ 国立衛研 病理、²⁾ 東京農工大 獣医病理、³⁾ 食品安全委)

食品の調理過程で生成されるアクリルアミド (ACR) による神経毒性に関して、胎児・乳幼児期暴露における感受性を評価するため、ラットを用いて以下の検討を行った。【材料及び方法】妊娠 10 日目の SD:IGS ラットに ACR を 0、50、100、200 ppm の用量で離乳 (生後 3 週) まで飲水投与し、児動物について、暴露終了時および生後 11 週目での神経系の形態計測を含む病理組織学的検索を行った。また、ACR に直接暴露される群として、生後 2 日齢の新生ラットに ACR 50mg/kg を離乳まで週 3 回腹腔内投与し、飲水投与群と比較した。【結果】母動物では、ACR の用量依存性に神経症状の進行と体重低値が認められ、それらは授乳期間中に顕著であった。暴露終了時では、100 ppm 以上で神経障害を示唆する病理変化 (三叉神経ニューロンの中心性色質融解、坐骨神経の軸索変性、小脳皮質分子層でのシナプトフィジン陽性の異常な点状構造の出現) が確認された。飲水投与群の児動物では、雄では 50 ppm 以上、雌では 100 ppm 以上で出生直後より用量に依存した体重低値が認められ、生後 11 週まで持続した。しかし、神経症状は観察されず、組織学的検索では、体重低値に起因する発達遅延の影響が認められたものの、ACR の直接影響としての神経障害を示唆する所見は確認されなかった。一方、腹腔内投与群では、歩行異常と坐骨神経の軸索変性が確認された。【考察】飲水投与群において、出生直後に認められた児動物の体重低値は、ACR の発達期毒性作用として知られている胎児期暴露影響と考えられた。腹腔内投与では神経障害が誘発されたのに対し、母動物を介した暴露では神経毒性作用が認められなかった。以上より、飲水投与では、母動物の神経症状の進行に伴う全身状態の悪化により、乳汁を介した ACR 暴露の減少したことが示唆され、それが児動物に神経毒性を示さなかった原因のひとつと考えられた。

*P-14

臭素化難燃剤ヘキサブプロモシクロドデカン (HBCD) 及びテトラブプロモビスフェノール A (TBBPA) のラット発達期暴露による毒性評価 - 特に脳発達影響について -

○三枝 由紀恵^{1,2)}、渋谷 淳¹⁾、富士本 仁⁴⁾、禹 桂炯⁴⁾、高橋 美和⁴⁾、井上 薫⁴⁾、三森 国敏¹⁾、広瀬 雅雄³⁾、西川 秋佳⁴⁾

(¹⁾ 東京農工大学 獣医病理、²⁾ 岐阜大 院 連合獣医、³⁾ 内閣府 食品安全委員会、⁴⁾ 国立衛研 病理)

【目的】抗甲状腺作用を示す化学物質の発達期暴露により甲状腺機能低下を介した神経や免疫系の発達の他、性分化の障害が懸念されている。難分解・高蓄積性である臭素化難燃剤の多くは弱い抗甲状腺作用が指摘されているが、本研究ではそのうち HBCD と TBBPA について、ラット発達期暴露による児動物の毒性影響、ことに脳発達影響に関する検討を行った。【方法】雌 SD:IGS ラットに妊娠 10 日から離乳時 (生後 3 週) まで両物質を各々 100、1000、10,000 ppm の用量で混餌投与し、経胎盤・経乳的に児動物暴露を行った。出生後 3 及び 11 週目に児動物の血清中の甲状腺関連ホルモン (T3、T4、TSH) の測定 (雄) と病理組織学的検査 (雌雄) を行った。脳発達に対する影響評価として、生後 11 週の脳 (雄) で、抗甲状腺剤の発達期暴露で変動を示すことが報告されている海馬 CA1 領域ニューロンの分布、脳梁面積及び CNPase 陽性であるオリゴデンドロサイト (Oligo) 数の計測を行った。【結果】HBCD では、投与終了時に 10,000 ppm で母動物甲状腺の重量増加及び濾胞上皮細胞のび慢性肥大、児動物では体重低値、肝臓重量の増加及び肝細胞空胞変性、軽度の T3 の低値と TSH の高値を認めた。11 週目には 1000 ppm 以上で甲状腺重量の増加及び T3 の軽度の低値、10,000 ppm では副腎皮質の空胞変性を認めた。脳への影響としては、10,000 ppm で軽度の Oligo 数の減少を認めたが、海馬 CA1 領域ニューロンの分布及び脳梁面積には影響はみられなかった。TBBPA では明らかな変化を認めなかったが、母動物甲状腺の重量及び濾胞上皮肥大の増加傾向、児動物の用量依存性のない T3 の低値 (3 週目) 及び白質の Oligo 数の減少傾向がみられた。【考察】HBCD の中間用量以上で児動物に軽微な甲状腺機能低下作用、最高用量で Oligo 数の減少を示し、甲状腺機能低下を反映した軽度の白質低形成の可能性が示唆された。

*P-15

実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）モデルマウスにおける 病態進行と脊髄の病理組織学的変化

○丸尾 益美、原 敦子、江幡 幸子、平井 利武、國上 敏浩、小林 正

（日本ケミファ（株）創薬研究所 創薬第二研究室）

【はじめに】実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）モデルマウスは、ヒトの中樞神経の炎症性脱髄病変を特徴とする多発性硬化症の動物モデルとして多くの研究に用いられているが、病態進行による脳脊髄の病理組織学的変化についての報告は少ない。今回マウスを用いて詳細に検討する機会を得たのでここに報告する。

【方法】8週齢 C57BL/6 雌性マウスを用いて、EAE モデルを作製した。myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG, 東京大学医科学研究所) と Mycobacterium tuberculosis H37RA (DIFCO) を用いてエマルジョンを作製し、0.25ml ずつ背部に皮下接種した。その後 pertussis toxin (PTx, Sigma) 0.25ml を腹腔内投与した。PTx 投与はエマルジョン接種 2 日後にも行った。その後約 3 週間経過観察し、EAE を発症したマウスのうち、軽症例（重症度スコア 1.0；尻尾の下垂）と重症例（重症度スコア 4.0；対麻痺）について検討を行った。マウスは 4% パラホルムアルデヒドで還流固定後に脳と脊椎を摘出し、脊椎は 20% EDTA 脱灰液に 4 日間浸漬した。脱灰終了後に脊椎を部位ごと（C 前半、C 後半、T1～13、L1～7、S1～4）に切り出しを行い、常法に従ってパラフィン切片を作製し HE 染色、クリューバー・バレラ染色、および免疫染色（抗 CD3, Ibal 抗体）を実施した。

【結果および考察】脳については著変は認められなかった。脊髄ではその程度は多少異なるが頸髄から仙髄まで CD3 や Ibal に陽性反応を示す単核細胞の浸潤が認められた。脱髄は軽症例では腰髄より末梢に限局して認められ、重症例では胸髄の前半から仙髄まで連続性に認められた。以上のことから、EAE モデルでは脱髄は末梢側から発生し、上行性に進行し麻痺症状につながると考えられた。

*P-16

N-ethyl-N-nitrosourea 誘発ラット脳腫瘍の免疫組織学的検索

○馬場 也須子、渋谷 一元、大嶋 篤、兼田 直人、中村 圭吾、布谷 鉄夫

（財団法人 日本生物科学研究所）

【目的】N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) 誘発ラット脳腫瘍について、これまでに多くの免疫組織学的検索がなされてきたが腫瘍病変とタンパク発現をパネル化した報告は少ない。今回、我々は ENU 誘発ラット脳腫瘍モデルを用いて免疫組織学的検索を実施し各病変における関連タンパクの発現差異について検討を行った。【方法】妊娠 20 日の F344/DuCrj ラットに ENU10.0 mg/kg を尾静脈より投与した。30 週齢の児ラットを剖検後、星状膠細胞腫、乏突起膠細胞腫、星状膠細胞微小腫瘍、乏突起膠細胞微小腫瘍と診断された病理組織標本について免疫組織学的検索を実施した。検索には中間径フィラメント（Vimentin, Neurofilament, α -Internexin, Nestin, GFAP）、神経（S-100, NSE, Synaptophysin）、細胞増殖（PCNA, Ki-67）、糖輸送担体（GLUT1, 3, 5）、水チャネル（AQP 1）関連マーカーを用いた。【結果】星状膠細胞腫では一部の腫瘍細胞で Nestin が陽性、一部の間質で α -Internexin が陽性、一部の血管内皮細胞で AQP 1 が弱陽性を示したのに対し、他の腫瘍では陰性であった。また全ての腫瘍において GLUT1 は血管内皮細胞、GLUT3 および 5 は一部の腫瘍細胞で陽性であった。その他のマーカーについては既報とほぼ同様の結果が得られた。【考察】ENU 誘発脳腫瘍では星状膠細胞腫は神経幹細胞マーカーである Nestin、神経分化初期マーカーである α -Internexin が陽性を示した。Nestin はヒトでは PNET、膠芽腫、上衣腫および星状膠細胞腫などで、ラットでは悪性膠腫瘍で陽性になることが知られている。今回の検索で微小腫瘍では Nestin が陰性となることから、異型度の高い星状膠細胞腫の発生には Nestin の発現が関連している可能性が示唆された。ラットでは AQP 1 が星状膠細胞腫で弱陽性であり、ヒトと同様に脳浮腫発生に AQP 1 が関与していることが考えられた。GLUT 分子ではヒトの脳腫瘍とほぼ同様の発現が認められ、糖の取り込み能が腫瘍巢内で活性化していることが示唆された。

*P-17

Crl:CD(SD) ラットに発生した脳内浸潤を伴う 頭蓋腔内悪性神経鞘腫の組織学的特徴

○藤田 由美子、永谷 真理子、山口 裕子、櫻井 香織、中村 厚、
大平 東子、工藤 佳代子、田村 一利

((株) ボゾリサーチセンター)

【はじめに】ラットの頭蓋腔内悪性神経鞘腫は稀な腫瘍の一つである。今回、脳実質内への高度な浸潤を示した三叉神経由来と思われる自然発生性の悪性神経鞘腫に遭遇したので、その組織学的特徴について報告する。【症例】症例は毒性試験に供された28週齢の雄ラットの1例で、死亡1週間前から体重が減少し、死亡当日には痙攣、腹臥、横臥及び呼吸数の減少が観察された。【結果】剖検では、頭蓋腔底部に三叉神経を巻き込むような形で、一部暗赤色を呈した灰白色腫瘍(10x10x5 mm)が認められた。その他に頭頂骨に大小2個(10x10x5 mm, 5x5x2 mm)の腫瘍が認められ、このうちの大型腫瘍は脳と癒着していた。組織像は頭蓋腔底部、頭頂骨腫瘍とも概ね同様で、楕円ないし細長い核を有する紡錘形細胞が束をなして波状あるいは錯走する部分、クロマチンに富む類円形核を有する細胞質の乏しい類円形ないし短紡錘形細胞が密に増殖する部分及びこれらが混在する部分から成り、腫瘍内には腫瘍細胞で内張りされた血液嚢胞がみられた。腫瘍細胞は周囲の骨組織を圧排あるいは破壊性に増殖し、下垂体及び脳に浸潤していた。脳に浸潤した腫瘍細胞の形態は頭蓋腔底部腫瘍と同様で、腫瘍細胞は髄膜に沿って浸潤すると同時に、血管周囲や脳実質内に浸潤性に増殖していた。脳実質内の浸潤病巣は周囲組織との境界が不明瞭で、病巣内には反応性星状膠細胞が頻繁にみられた。免疫組織学的には、頭蓋腔底部及び頭頂骨腫瘍では多くの腫瘍細胞がS-100蛋白陽性で、GFAP陽性腫瘍細胞も散見された。一方、脳に浸潤した腫瘍細胞では、S-100蛋白は一部の細胞に陽性で、GFAPは陰性であった。また、鍍銀染色では繊細な好銀線維が個々の腫瘍細胞を取り囲むような像が認められた。【まとめ】本腫瘍は上記病理所見から三叉神経由来の悪性神経鞘腫と診断された。脳における本腫瘍の浸潤様式はラットの悪性細網症あるいは悪性星状膠細胞腫のそれに類似しており、腫瘍細胞の脳内浸潤を考える上で興味深い症例と思われた。

P-18

Potential of a Noninvasive High-Frequency Ultrasonography for Investigation of Vascular Injury in Comparison with Histopathology

○下地 尚史、鈴木 栄子、富岡 聡子、亀田 治子、永江 祐輔

(ノバルティス ファーマ株式会社 SP&A 開発部 薬理・毒性探索グループ)

We evaluated a potential of a high-frequency ultrasonography (US) system, Vevo 770 (VisualSonics) in the continuous non-invasive observation of a development of aneurysm using vascular injury model induced by angiotensin II (AngII) in comparison with histopathology. Eight weeks old 25 male apolipoprotein E deficient (apoE^{-/-}) mice were used. A high fat diet was fed to mice throughout the study. AngII was infused subcutaneously with osmotic pump at the dose of 1.44 mg/kg/day for 4 weeks. Blood pressure (BP) was monitored by a telemetry system. US observation was performed on the abdominal aorta (AA) and renal artery (RA) periodically. After the 4-week treatment, mice were euthanized and examined grossly. General histopathological examination was conducted on vessels. AngII-induced vascular dilation was detected with US in the AA and RA from the 1st week of treatment. Thoracic and abdominal aortic aneurysm (vascular dilation of $\geq 200\%$) were observed in 1 and 3 mice out of 15 mice, respectively. US images of vessels were consistent with histopathology in terms of shape. Type of aneurysm (e.g. dissecting aneurysms) could be predicted by US images in case that lesions were severe. Hemodynamic changes could be also detected with US. [CONCLUSION] Vascular remodeling in AngII-treated apoE^{-/-} mice, including vascular dilation, hemodynamic dysfunction and aneurysms, could be estimated with the high-frequency US. Morphological observation with US was consistent with histopathology. Thus, it is suggested that the high frequency US system is a valid method of vascular dysfunction assessment in noninvasive longitudinal rodent studies.

*P-19

ラット肝臓のホルマリン固定パラフィン包埋組織からの mRNA 抽出と定量

○桑原 知樹、内海 博之、小川 靖子、福成 篤

(田辺三菱製薬(株) 先端医療研究所 薬効病理グループ)

ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織標本は、医学生物学分野において膨大な量の組織標本として収集・保管されている。FFPE 標本中の mRNA や蛋白質は高度に断片化や修飾を受けていることから、その利用は主に切片の組織染色 (免疫組織化学・in situ hybridization) に限定されてきた。しかし、FFPE 標本からの mRNA や蛋白質の発現解析が可能であれば、臨床診断あるいは病理診断と対応させることにより、今後のバイオマーカー探索等へのレトロスペクティブな有効利用が期待される。今回我々は、ラット肝臓 FFPE 標本からの定量的 mRNA 発現解析を試みた。結果の妥当性を検証するため、肝臓に特定の遺伝子発現を誘導する化合物をラットに投与し、肝臓 FFPE 標本から mRNA を抽出後、定量 RT-PCR 法により発現量を測定するとともに、常法 (ホモジェネート法) で得られた既存データとの比較を行った。フィブレート系化合物 LY-518674 をラットに 2 週間投与すると、PPAR α の活性化を介して CYP4A1 および FACO の遺伝子発現が誘導される。約 3 年前に作製した FFPE 組織切片から抽出した mRNA の発現量を測定した結果、CYP4A1 および FACO の発現上昇が再現された。また、デオキシコール酸 (DCA) を投与したラット肝臓において発現上昇が認められている HO-1 および HSP70 についても、対応する FFPE 組織での発現上昇が確認された。これらの結果は、FFPE 切片で観察された小葉中心領域をレーザーマイクロダイセクションにより選択的に回収した場合の解析結果と同様であった。以上より、肝臓 FFPE 標本を用いた遺伝子発現解析は可能であると結論された。

*P-20

ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 標本を用いた 遺伝子発現解析手法に関する検討

○河野 友紀子¹、小口 想²、田代 信彦¹、井合 宏道²、関島 勝¹

(¹ 三菱化学安全科学研究所、² 株式会社日立ハイテクノロジーズ)

【背景】近年 FFPE 標本を材料に遺伝子発現解析を行う方法が報告されている。FFPE 標本を用いる解析は多くの利点がある一方、標本作製過程における核酸の変性や分解がデータに影響することから、解析を行う場合は様々な点について考慮する必要がある。今回我々は FFPE 標本を用いた遺伝子発現解析法について、SYBR Green-RT-PCR 法および MassARRAY 法 (競合 PCR の原理と MALDI-TOF MS を組み合わせた質量分析法) について検討を行ったので報告する。【材料および方法】DEHP 投与したラットの精巣から FFPE 標本 (FFPE) 及び RNAlater 標本 (Later) を得た。ホルマリン固定は 1 および 7 日間行い FFPE 標本を作製した。FFPE、Later から total RNA を精製し、品質・濃度を測定した。Later RNA を用いて GeneChip 解析を行い、発現量が異なる比較候補の 3 遺伝子及びハウスキーピング遺伝子として Actin および GAPDH を選択し、計 5 遺伝子について FFPE と Later との比較を行った。【結果および考察】1 及び 7 日間固定 FFPE からはそれぞれ $2.75 \pm 0.03 \mu\text{g}$ 、 $1.32 \pm 0.56 \mu\text{g}$ の total RNA を回収した。品質、精製量とも固定時間による影響が認められたが、FFPE 標本からも解析に十分量の RNA を回収することが出来た。RT-PCR 法において、ハウスキーピング遺伝子で比較した場合 FFPE-RNA では Later-RNA と比べて発現量が 1/500 程度に減少していたが、アンプリコンサイズを 90bp 以下にすることで定量的解析が可能であった。MassARRAY 法では、発現量が極端に低い遺伝子においても発現量の差を比較することが可能であった。更に本手法では最小 1aM (3 コピー) の遺伝子量を高精度に定量出来たことから、MassARRAY 法は FFPE の RNA 発現解析に有効なツールであることが示唆された。

*P-21

マウス肝芽腫由来細胞株の遺伝子発現解析 － 3次元培養による転写因子の発現変動－

○坂入 鉄也、岡田 味世子、西川 智美、佐野 文子、杉本 次郎、高木 司郎

(田辺三菱製薬・安全性研究所)

【はじめに】我々は、薬剤誘発性マウス肝芽腫より樹立した細胞株（MHB-2細胞）の生物学的特性を検索し、本腫瘍が未分化な細胞から発生した可能性ならびに胆管系への分化能を示唆するデータを報告した（第19回、第23回本学会）。マウス肝芽腫は、一般に肝細胞あるいは未分化な細胞に由来すると考察されているが、肝細胞癌との類似性や肝細胞由来を示唆する特徴はほとんど観察されない。今回、MHB-2細胞を用いて、特殊な培養条件下での遺伝子発現変動を解析し、肝細胞系の特徴の有無を検索するとともに、本腫瘍の生物学的特性について考察を試みた。

【材料および方法】MHB-2細胞を2種類の3次元培養プレートで10日間培養した後、通常条件で培養した同細胞を基準として、Albumin (ALB) ならびに肝臓の形成・分化に関連する転写因子 (LETFs) mRNA の相対発現量をリアルタイム RT-PCR 法により解析した。比較対照として、マウス肝臓癌由来細胞株である Hepa 1-6 細胞を用いた。

【結果・考察】MHB-2細胞は、培養プレート上で球形あるいは不定形の増殖形態を示した。リアルタイム RT-PCR 法を用いた解析では、球形の増殖を示した一部の細胞塊において、HNF1alpha, HNF4alpha など、肝細胞の分化に関わる転写因子ならびに ALB mRNA の発現量に増加傾向が認められた。Hepa 1-6 では、いずれの条件でも比較的大型の球形スフェロイドを形成し、LETFs mRNA の変動はわずかであったが、ALB mRNA の発現量増加がみられた。MHB-2細胞において、一定の培養条件下で肝細胞の分化に関わる転写因子の遺伝子発現量に増加傾向が認められたことは、本細胞の肝細胞系への分化能を示唆するものである。過去に報告した胆管系への分化能ならびに未分化な生物学的特性を考え合わせると、本腫瘍細胞が肝前駆細胞様の性質を有するものであると考えられた。

P-22

マウスとラットにおける血管系腫瘍の標的臓器 － 19の化学物質の吸入曝露における発がん性試験データの解析－

○妹尾 英樹、梅田 ゆみ、片桐 卓、相磯 成敏、長野 嘉介、福島 昭治

(中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター)

【目的】19種類の化学物質について、吸入曝露による発がん性試験におけるラットとマウスの血管系腫瘍の発生を比較した。【方法】各試験はいずれも B6D2F1/Crlj マウスと F344/DuCrI Crlj ラット（1対照群・3濃度曝露群、雌雄各群50匹）を用い2年間の全身吸入曝露を行った。被検物質として四塩化炭素、1,2-ジクロロエタン、メチルブロミド、テトラクロロエチレン、クロロホルム、パラジクロロベンゼン、1,1,1-トリクロロエタン、塩化メチル、メタリルクロライド、ジクロロメタン、ジメチルホルムアミド、クロトンアルデヒド、グリシドール、アリルクロリド、シクロヘキセン、1-ブロモ-3-クロロプロパン、n-ブチルグリシジルエーテル、1,2-ジクロロプロパン及びプロピオニトリルを用いた。また、背景データはこれらの吸入試験の対照群（雌雄各約950匹）の血管系腫瘍を集計した。【結果】5物質でマウスに血管系腫瘍の誘発がみられた。グリシドールは鼻腔の血管腫（雄26%、雌20%）と血管肉腫（雄66%、雌42%）、n-ブチルグリシジルエーテルは鼻腔の血管腫（雄28%、雌14%）、テトラクロロエチレンは脾臓と肝臓の血管肉腫（いずれも雄10%）、1,2-ジクロロエタンは肝臓の血管肉腫（雄12%）、ジクロロメタンは肝臓の血管腫（雌雄とも10%）の発生増加をもたらした。マウスの対照群での血管系腫瘍の発生は、血管肉腫が脾臓（雄2.4%）と肝臓（雄3.4%、雌1.5%）、血管腫が脾臓（雄2.2%、雌1.1%）と肝臓（雄2.6%、雌1.5%）にみられ、他の臓器での発生は1%未満であった。これに対して、ラットではいずれの化学物質でも血管系腫瘍の発生増加はなく、対照群の血管系腫瘍の発生はいずれの臓器も1%未満の発生であった。【結論】マウスでの化学物質による血管系腫瘍の誘発は、鼻腔、肝臓及び脾臓に認められた。また、血管系腫瘍の自然発生は脾臓と肝臓に多い傾向があった。ラットでは、血管系腫瘍は化学物質による誘発・自然発生とも稀であった。

*P-23

ミニブタ動脈硬化モデルの病理学的特徴ならびに本モデルへの G-CSF の影響

○山崎 雅輝¹、高居 宏武¹、三好 昌夫¹、加藤 淳彦¹、伊藤 恒夫²、鈴木 雅実¹

(¹ 中外製薬株式会社 安全性研究部、² 株式会社中外医科学研究所)

背景：G-CSF は、好中球系細胞の分化・増殖・機能を促進すると同時に骨髓幹細胞を末梢血へ動員する作用がある造血因子である。近年、米国国立衛生研究所で行われた冠動脈疾患（CAD）患者を対象にした G-CSF の臨床試験（動員された骨髓幹細胞の血管新生作用による心筋虚血改善効果をみる臨床試験）で、G-CSF との関連が否定できない重篤な副作用（心筋梗塞）が 16 人中 2 人に発生した。CAD の背景には、動脈硬化が存在することが知られているが、G-CSF を循環系疾患患者へ投与する際の安全性については、系統的な研究が行われていない。そこで、ミニブタ動脈硬化モデルを用いて G-CSF の本モデルへの影響を検討した。材料と方法：Gottingen 系ミニブタ（3 ヶ月齢、雌雄）に高コレステロール飼料を 3 ヶ月間給餌し、9 匹の動脈硬化モデル動物を作出後、G-CSF（0.5 または 10 μ g/kg/day）を頸部皮下へ 10 日間反復投与した。最終投与翌日に剖検を行い、動脈 20 箇所を採取し、病理組織学的に評価した。結果と考察：G-CSF 投与群では、白血球数の増加を始めとする G-CSF の薬理作用に関連する変化が観察された。各動脈では、米国心臓病学会（AHA）が提唱する I 型（内膜への泡沫細胞浸潤が散在性にみられるタイプ）から V 型（lipid core に加え、線維性キャップの形成がみられ、しばしば石灰沈着を伴うタイプ）に類似する動脈硬化病変が病理学的に観察された。動脈硬化病変の病理組織所見、発現頻度、程度及び分布に対照群と投与群との間で差は認められなかった。また、いずれの動脈硬化病変においても、病変部へ好中球浸潤は認められなかった。以上の結果から、G-CSF 投与による動脈硬化病変の増悪ないし修飾は起こらないことが示唆された。

P-24

高血圧自然発症ラットの血圧上昇および マクロファージ浸潤に及ぼす小豆抽出物の影響

○佐藤 伸¹、向井 友花¹、山手 丈至²

(¹ 青森県立保健大院 健康科学、² 大府大院 獣医病理)

【目的】酸化ストレスと高血圧性臓器障害との関連が注目されつつある。例えば、高血圧状態では動脈硬化進展に関与するマクロファージ（M ϕ ）の活性化、遊走や血管内皮への接着等がみられる。一方、小豆は抗酸化能をもつポリフェノールを多く含むが、血圧上昇や M ϕ の臓器への浸潤に及ぼす影響はほとんど知られていない。そこで、高血圧での小豆ポリフェノール（ABE）の生理的役割を明らかにするために、高血圧自然発症ラット（SHR）に ABE を投与し、心臓や腎臓中の M ϕ 浸潤を検討した。【方法】ABE は小豆粒を粉碎して抽出し、凍結乾燥して得た。SHR 及び Wistar Kyoto Rat（WKY）（5 週齢、雄性）に 0 及び 0.8% ABE 飼料を 8 週間与えた。投与期間中に血圧を測定した。屠殺後、心臓及び腎臓を摘出し、ルシゲニン化学発光法を用いて NAD(P)H オキシダーゼ由来のスーパーオキシド（O₂⁻）生成量を測定した。また、組織切片を作製し、ED1 抗体（ラット M ϕ 抗体）を用いて免疫染色を施し、ED1 陽性細胞数を計測した。【結果】WKY 群に比べて、SHR 各群の血圧は加齢とともに上昇した。SHR+0.8% 群の血圧は SHR+0% 群に比べて有意に低値であった。心臓及び腎臓中の NAD(P)H オキシダーゼ由来の O₂⁻量は WKY 群に比べて、SHR+0% 群で増加した。しかし、SHR+0.8% 群の O₂⁻量は SHR+0% 群に比べて低下した。また、腎臓の間質及び糸球体中の M ϕ 数は WKY+0% 群に比べて SHR+0% 群で増加した。一方、SHR+0.8% 群では SHR+0% 群に比べて低下した。心臓中の M ϕ 数も SHR+0.8% 群では SHR+0% 群に比べて低値であった。また各臓器の M ϕ 数と血圧との間には正の相関がみられた。【結論】以上の結果から、ABE は血圧上昇を抑制し、心臓や腎臓の M ϕ 浸潤を抑制することが示唆された。

*P-25

幼若ラットにおけるアクリルアミドの12週間反復経口投与による毒性学的影響

○高見 成昭¹、今井 俊夫¹、曹 永晩¹、広瀬 雅雄²、西川 秋佳¹

(¹ 国立衛研・病理部、² 内閣府・食品安全委員会)

【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等の高温調理することによって生成され、広く加工食品中に含まれている。大人に比べて体重当たりの推定摂取量が多いとされる小児のリスク評価のための十分な実験データがないことから、AAの幼若期投与によるラット反復投与試験を実施した。【方法】12匹の妊娠F344ラットを4群に分け、AAを0(対照)、10、20及び40ppmの濃度で出産直後から離乳までは母動物に、離乳後は12週齢まで児動物に飲水投与した。投与期間終了後、エーテル深麻酔下にて放血屠殺、剖検を行い、全身諸臓器を採取して、病理組織学的検索を行った。【結果】いずれの群においてもAA投与による一般状態の変化はみられなかった。雌の20ppm群で6～7週目、40ppm群で3～9週目に体重の有意な低値がみられた。摂餌量及び摂水量に群間の差は認められず、10、20及び40ppm群のAAの一日摂取量は、雄で各々1.0、2.1及び4.4mg/kg体重、雌で各々1.2、2.5及び4.9mg/kg体重であった。相対臓器重量では、対照群に比して雌の10ppm群で甲状腺が低値を、40ppm群で甲状腺及び脾臓が高値を示した。病理組織学的には、雄の40ppm群で精巣の精細管萎縮及び精巣上体管腔内の剥離上皮細胞の増加がみられた。また、心臓では雄の対照群2/7例(29%)に対し、10、20及び40ppm群では各々6/12例(50%)、7/13例(54%)及び8/12例(67%)と心筋炎の発生が増加傾向を示した。雌の40ppm群で腎臓の尿細管上皮石灰化の発生頻度が減少した。坐骨神経、甲状腺及び脾臓を含むその他の臓器・組織にAA投与に関連すると考えられる病理組織学的変化はみられなかった。【結論】幼若ラットにAAを12週間経口投与した結果、精巣毒性は思春期以降の投与結果と同様に認められたが、末梢神経の変化は雌雄共に確認されなかった。また、雄で心筋炎の発生頻度の増加傾向が、雌の腎臓において石灰化の発生頻度の減少がみられ、幼若期投与による特異的な変化である可能性が示唆された。

*P-26

L-asparagine のラット 90 日間反復経口投与毒性試験

○橋本 希、横平 政直、山川 けいこ、細川 京子、鈴木 智、久野 壽也、今井田 克己

(香川大学 医学部 腫瘍病理学)

L-asparagine は旨みを出す調味料や栄養分を付け加える栄養強化剤として既存添加物名簿(厚生労働省)に記載されている。また、近年の健康増進ブームでサプリメントとしても大量に摂取され、その安全性評価が求められている。今回、我々は安全性評価の一環としてラットを用いた90日間の反復投与毒性試験を行った。【方法】5週齢のF344/DuCrIjラット雌雄各40匹を約1週間の馴化期間の後、雌雄とも各群10匹ずつ4群に配した。L-asparagine は味の素ライフサイエンス研究所から提供された原体を規定量混じたものを検体として使用した。検体の最高用量を混餌投与の上限とされる5%とし、以下公比2で2.5および1.25%の用量に設定し、L-asparagine をそれぞれの濃度で含有する基礎飼料を90日間自由に摂取させ、対照群にはL-asparagine をコーンスターチで置き換えた合成基礎飼料のみを摂取させた。毎週1回体重および摂餌量を測定し、投与期間中一般状態の観察を連日実施した。動物は剖検前日より絶食させ、翌日エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血後、屠殺・剖検し、血液学的検査、血清生化学的検査、諸臓器重量および5%投与群と対照群においては病理組織学的検討を行った。【結果】5%投与群のうち、雄では脳、腎臓、精巣で相対重量の増加が、雌ではGLU、PLK、ALTなどの有意な上昇が見られた。各群間の体重および摂餌量には有意差は見られず、5%群での病理組織学的検索において異常所見は認められなかった。【結論】以上の結果より、無毒性量(NOEL)は飼料中濃度2.5%(雄1.65g/kg体重/日、雌1.73g/kg体重/日)と結論された。

P-27

ラットにおける L- アスパラギン酸の 90 日間反復経口投与毒性試験

○多田 幸恵、矢野 範男、高橋 博、湯澤 勝廣、安藤 弘、久保 喜一、
長澤 明道、小縣 昭夫、上原 眞一、中江 大

(東京都健康安全研究センター 環境保険部 生体影響研究科)

【背景】L- アスパラギン酸 (L-Asp) は、酸味の改良・味質の調整などを目的として、果汁飲料や清涼飲料水などに使用される。最近、サプリメントとしても大量に摂取されるようになってきているが、その危険性・有害性に関する報告がほとんどなく、早急な安全性評価が求められている。【方法】試験は6週齢のF344/DuCrI CrIj ラットの雌雄各50匹をそれぞれ5群に分け、0 (対照; 改変 AIN93G 粉末飼料)・0.05・1.25・2.5・5.0% の L-Asp を添加した飼料を90日間摂取させた後、尿検査と血液・血清生化学的及び病理学的検索を行った。【結果】投与期間中、雌雄とも全群で死亡例はなく、一般状態、体重、摂餌・摂水量及び血液性状について特記すべき変化は認めなかった。血清生化学検査では、総コレステロールが雄の2.5%以上群と雌の5.0%群で減少、トリグリセリドが雄の0.05%以上群と雌の1.25%以上群で減少した。また、尿素窒素は雄の2.5%以上群と雌の5.0%群、クレアチニンは雄の2.5%以上群と雌の1.25%以上群、尿酸は雄の2.5%群と雌の1.25%以上群で、それぞれ減少した。尿検査では、ビリルビン陽性が雄の5.0%群、ケトン体陽性が雄の1.25%以上群と雌の1.25及び2.5%群、蛋白陽性が雄の1.25%以上群と雌の2.5%以上群で増加した。雄の5.0%群では、腎臓の相対重量が増加し、組織学的に管腔の拡張を伴った再生尿細管を高頻度に観察した。また、雌雄の5.0%群で顎下線の、雌雄の2.5%以上群で耳下腺の腺房細胞の肥大を、それぞれびまん性に観察した。血清脂質の減少については、相応する臓器重量の変動や組織学的変化の欠如より毒性変化と判断しなかった。【結論】血清脂質の減少及び唾液腺の肥大について発生機序の解明を要するが、本試験条件下における無毒性量 (NOAEL) は、雌雄とも0.05% (雄26.9、雌28.7 mg/kg 体重/day 相当) であると評価した。

P-28

コチニール色素のラットにおける 90 日間混餌投与毒性試験

○林 新茂¹、河部 真弓²、土井 悠子^{2a}、難波江 恭子²、今井 則夫^{2b}、
萩原 昭裕²、坂田 慎¹、香山 隆俊¹、安原 加壽雄¹

(¹ 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社、² 株式会社 DIMS 医科学研究所、³ 名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学)

【はじめに】コチニール色素はアントラキノン系カルミン酸を主成分とし、飲料や食品の着色料として使用されている。しかし、コチニール色素による即時型アレルギーの症例が報告され、その後の研究によりアレルギーはカルミン酸ではなく、原料由来のタンパクであることが明らかとなった。今回、我々は、新たに開発されたアレルギーとなるタンパクを極力除去したコチニール色素をラットに90日間混餌投与し、その毒性影響を検討した。【材料と方法】1群雌雄各10匹のF344/DuCrj ラットにコチニール色素を0、0.15、0.5、1.5および5.0%の濃度で90日間混餌投与した。投与期間中、毎日、一般状態を観察し、体重、摂餌量および飲水量を1週間に1回測定した。投与最終週に、尿検査および眼科学的検査を行った。投与期間終了後、一晩絶食し、エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血し、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検および器官重量の測定を行った。病理組織学的検査は、対照群および5.0%群の全身諸臓器および中間用量群の腎臓について実施した。【結果】投与期間中、死亡例はなく、一般状態では被毛および糞の着色がみられた。体重、摂餌量、飲水量、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検および器官重量ではコチニール色素投与の影響は認められなかった。病理組織学的に5.0%群の雄では腎臓の髄質外帯に鉍質沈着の増加、雌では同変化の程度の増強がみられた。【まとめ】以上、コチニール色素を5.0%の濃度でF344/DuCrj ラットに90日間投与したところ、病理組織学的に腎臓の鉍質沈着の発生率あるいは程度の増強がみられたことから、本試験条件下におけるコチニール色素の無毒性量 (NOAEL) は1.5%群 (雄: 913 mg/kg/日、雌: 1062 mg/kg/日) であると結論した。

*P-29

ダイズサポニンの F344 ラットにおける 90 日間経口反復投与毒性試験

○曹 永晩¹、今井 俊夫¹、高見 成昭¹、広瀬 雅雄²、西川 秋佳¹

(¹ 国立医薬品食品衛生研究所 病理部、² 内閣府 食品安全委員会)

【目的】ダイズサポニンはマメ科ダイズ (*Glycine max* MERRILL) の種子から得られ、食品用乳化剤として利用される既存添加物である。その安全性は確立されていないことから、今回、ラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験を行った。【方法】ダイズサポニンを 0 (対照)、1.25、2.5 及び 5% の濃度で添加した混合飼料を雌雄各群 10 匹の F344 ラットに 90 日間自由摂取させた後、採血および剖検を行った。【結果】実験期間中に被験物質投与に起因した死亡および一般状態の変化はみられなかった。雄の 5% 投与群及び雌の全投与群では、対照群と比較し有意な体重増加抑制が認められたが、摂餌量に変化はみられなかった。血液学的検査において、雄の 5% 投与群で RBC および Ht が有意に低値を、MCV が有意に高値を示した。血清生化学的検査において、雄の 5% 群および雌の 2.5% 以上の各群で BUN の増加が、また雄の 5% 群および雌の 1.25% 以上の群で腎臓の相対重量の増加がみられた。雄 2.5% 以上投与群では TP および Alb が有意に増加し、雌の 1.25% 以上の群で TG が有意に減少した。肝重量は、雄の 1.25% 以上の群で実重量および相対重量の増加が、雌の 2.5% 以上の群で相対重量の増加がみられた。雄の 5% 投与群全例に前立腺腹葉の上皮細胞の萎縮、雌では膣の粘液産生亢進像と粘膜上皮の萎縮ならびに卵巣における閉鎖卵胞の増加がそれぞれ 5% 群の 3、4、4 例、2.5% 投与群の 2、2、2 例に観察された。【結論】雄の肝重量の増加および雌の体重増加抑制、腎重量増加により無毒性量は雌雄とも 1.25% (雄 707.2mg/kg b.w./day、雌 751.8mg/kg b.w./day) 未満と判断された。また、前立腺および膣、卵巣にみられた変化はダイズサポニンの抽出後に十分な精製が行われていないことにより含まれるイソフラボンの影響が示唆された。

P-30

Mitemcinal のがん原性リスク評価：ラットがん原性試験にみられた malignant lymphoma 発生頻度の増加とリスクアセスメント

○藤井 悦子、木村 和也、溝口 啓二、加藤 淳彦、高梨 契典、鈴木 雅実

(中外製薬株式会社)

Mitemcinal はエリスロマイシン誘導体であり、モチリン受容体のアゴニスト作用を有する。Mitemcinal のがん原性評価を目的とし、p53(+/-) C57BL/6 マウスを用いた中期発がん性試験と CD(SD)IGS ラットにおける 104 週のがん原性試験を実施した。マウスにおいては 250 mg/kg/day、26 週間反復投与でがん原性を示唆する変化は認められなかった。一方、ラットにおいては malignant lymphoma の発生頻度が対照群で雄 1/60 例、雌 0/60 例であったことに対し、高用量群 (60 mg/kg/day) では雄 5/60 例、雌 8/60 例で認められ、雌では統計学的に有意差がみられた。ラットの malignant lymphoma には複数の細胞由来の腫瘍が含まれることより由来を免疫組織学的に解析した結果、mitemcinal 投与ラットにおける malignant lymphoma と自然発生性の malignant lymphoma はともに T 細胞由来であった。これらの結果より、ラットがん原性試験では自然発生性の malignant lymphoma の発生頻度が増加したものと考えられた。この変化は非遺伝毒性メカニズムに起因し、閾値があるものと考えられ、系統あるいは種特異的な背景に基づいているものと考えられた。また、ラットがん原性試験の高用量群は AUC で臨床用量の約 1,600 倍の用量であり、十分な安全域も確保されているものと考えられた。結論として、ヒトにおける mitemcinal 投与に起因した発がん性の可能性は極めて低く、許容可能なリスクであるものと判断された。

WBN/Kob ラットにおける悪性リンパ腫

○佐野 智弥¹、尾崎 清和¹、児玉 安史²、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 広島国際大学 薬学部 毒性薬理学教室)

近年、一般の毒性試験や発癌性試験ではF344 ラットが汎用されており、この系統以外のラットの自然発生腫瘍に関する報告は極めて限られている。WBN/Kob ラットは40 週頃より雄が糖尿病を発症し、加齢に伴い様々な糖尿病合併症を併発するが比較的長期間生存し、これらの長期生存例を中心に時折悪性リンパ腫が発生する。そこで、本系統のラットに自然発生した悪性リンパ腫の形態学的特徴について報告する。症例は10 例で、当研究室で長期飼育した動物の約1%であった。罹患ラットは剖検時平均60 週齢であり、臨床的には後肢の歩行異常を示し発見されるケースが大半を占めた。剖検時肉眼所見として、多数例において全身のリンパ節の軽度～中等度腫大に加え、胸椎から腰椎の大動脈周囲に沿って並ぶ径3mm 程度の白色数珠状の腫瘍の形成が特徴的であった。脾臓も様々な程度に腫大し暗色調を呈したが、肝臓の腫大は軽度であった。血液塗抹では腫瘍細胞は小型から中型で、明瞭な核小体、凝集したクロマチン、ややくびれのある円形核および乏しい塩基性の細胞質を特徴とした。組織学的に小型のリンパ球に類似する腫瘍細胞は全身の骨髓組織を完全に置換し、脾臓においても白脾髄のみならず赤脾髄にも瀰漫性に浸潤していた。また、リンパ節では実質内のみならず周囲組織への浸潤・増殖が目立った。最も特徴的な組織像は腫瘍細胞の全身の脂肪組織、骨膜および骨格筋への高度な浸潤・増殖で、腎門部や脊椎骨周囲に腫瘍を形成していた。特に胸椎・腰椎を構成する骨の骨膜下、骨周囲の骨格筋間質や実質内には頻繁に腫瘍細胞が浸潤・増殖していた。腫瘍細胞はB 細胞マーカーであるPAX-5 に多数が陽性、T 細胞マーカーであるCD3 には陰性で、Malignant lymphoma, lymphocytic (lymphoblastic), B cell lymphoma と診断された。諸臓器に浸潤するリンパ腫がT cell lymphoma やLGL の一部例で知られているが、本系統のラットのリンパ腫はB 細胞性で、高頻度で高度な浸潤が特徴であった。

*P-32

ラットにおける補体活性時の病理組織学的変化に関する検討

○富田 里美、石澤 由希、新屋 希子、清川 見香、松井 元、志垣 隆通

(財団法人化学及血清療法研究所 病理部)

医薬品の投与あるいは投与された医薬品に対する抗体産生により補体が活性化されることがある。補体活性時の変化を把握するために、毒性試験に頻用されるラットに代表的な補体活性物質を投与したときに誘発される変化について検討した。

【方法】投与物質として第二経路を活性化する代表的な物質であるザイモザン及びイヌリンを用いた。5 週齢の雄性SD 系ラットの尾静脈内に、ザイモザン(25mg/kg)及びイヌリン(50mg/kg)をそれぞれ1 回投与した。投与後4 時間、1 日、2 日及び3 日目に各群3 匹ずつペントバルビタールナトリウム麻酔下で腹大動脈より採血後解剖し、補体価の測定及び血液学的検査を行った。また、肝臓、脾臓、腎臓、心臓及び肺を摘出し、常法に従いパラフィン包埋切片を作製し、HE 染色標本を施して光学顕微鏡下で観察した。

【結果】ザイモザン及びイヌリンを投与したいずれの群でも、投与直後より元気消失がみられたが、投与後1 日目には回復した。補体価はザイモザン及びイヌリンいずれの投与群でも投与後4 時間目より低下した。投与後1 日目以降には回復傾向が見られたが、3 日目までに完全には回復しなかった。血液学的検査では、ザイモザン及びイヌリンいずれの投与群でも投与後4 時間目より血小板数の低下がみられた。イヌリンに比べてザイモザンでは血小板数の減少が持続する傾向が見られた。病理組織学的検査では、いずれの投与群でも投与後4 時間以降、肝臓にクッパー細胞の大型化が認められた。投与後2 日目以降、ザイモザンでは小肉芽が散見され、イヌリンでもごく軽度認められた。また、いずれの群にも、脾臓の白脾髄辺縁に多数の単核細胞を認める例があった。

【まとめ】ラットにおけるザイモザン及びイヌリンによる補体活性時の主な変化はクッパー細胞の大型化、血小板数の減少であり、いずれの物質でも同様の変化が観察された。ラットでは補体活性により貪食能を有するクッパー細胞のみならず、血小板も影響をうけることが示唆された。

*P-33

Parp-1 欠損マウス由来不死化胚性線維芽細胞の移植により発生した腫瘍の病理組織学的特徴

○安藤 亮¹⁾、堤 雅弘²⁾、青木 明美¹⁾、枝元 洋¹⁾、田村 一利¹⁾、荻野 秀樹³⁾、益谷 美都子³⁾

(¹⁾ ポリリサーチセンター、²⁾ 済生会中和病院 臨床病理、³⁾ 国立がんセンター・研・ADP-リボシル化とがん制御・生化)

【目的】ポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼ (PARP) -1 はハウスキーピング遺伝子の一つであり、DNA 修復、遺伝子安定性、細胞死の誘発、分化調節、腫瘍形成等に関与する。今回、不死化した *Parp-1* 欠損マウス由来胚性線維芽細胞 (*Parp-1*^{-/-} MEF) と野生型 MEF をヌードマウスに移植したところ、*Parp-1*^{-/-} MEF でのみ腫瘍が形成された。形成された腫瘍の性質を明らかにするため、病理組織学的及び免疫組織化学的に解析した。【方法】ヌードマウス (BALB/c-*nu/nu*、12 週齢、雄) の皮下 (腋窩部および背部) に 2×10^6 個の野生型及び *Parp-1*^{-/-} MEF をマトリゲルと共に移植し、形成された腫瘍を 8 週後切除した。切除した腫瘍組織はホルマリン固定後、パラフィン包埋、薄切し、HE 染色ならびに免疫染色を施した後、光学顕微鏡下で観察した。【結果】皮下移植により *Parp-1*^{-/-} MEF でのみ腫瘍形成が認められ、8 週間後に $1 \sim 6 \text{ cm}^3$ の腫瘍塊を形成した。形成された腫瘍は多様な形態を示す間葉系細胞の無秩序な増殖からなり、主に herringbone pattern ないし storiform pattern を示していた。腫瘍細胞は紡錘形細胞を主体とし、時折円形から多角形の細胞や bizarre な核を有する巨細胞が散見され、比較的多数の核分裂像を伴っていた。免疫染色の結果、vimentin 陽性、 α -smooth muscle actin 陽性 (紡錘形細胞の一部)、S-100 陽性 (主に核、一部細胞質でも陽性) を示し、ミオジェニン、c-kit、factor VIII、neurofilament に陰性であった。【考察】増殖様式は線維肉腫、多型性悪性線維性組織球腫の特徴を有し、免疫組織化学的に筋線維芽細胞等、いくつかの分化の方向性が見出されたが、現段階では未分化多形肉腫と診断するのが妥当と考えられた。*Parp-1*^{-/-} MEF では *insulin-like growth factor 2 (Igf2)* の発現上昇が観察される。従って、*Parp-1* 欠損は、MEF より発生する腫瘍の分化の方向性には影響を与えないが、*Igf2* 等の遺伝子発現異常による増殖亢進を介して造腫瘍性に関与する可能性が考えられる。

*P-34

カニクイザルの卵管にみられた Müllerian Tumor

○古川 知宏、藤島 純子、谷川 洋平、西田 善郎、桑村 有希、
佐竹 茂、平川 公昭、前田 博、永岡 隆晴、宮脇 宏彰

(株式会社 新日本科学)

カニクイザルは毒性試験で汎用され、背景データも蓄積されつつあるが卵管における腫瘍性病変の報告は稀である。今回、2 例のカニクイザルの卵管に腫瘍を認めたので報告する。【材料及び方法】症例 A: 10 歳、中国産。症例 B: 11 歳、中国産。腫瘍はホルマリン液で固定、パラフィン包埋した。H.E. 染色、マッソントリクローム (MT) 染色、抗マウス PCNA 及び抗ヒト α -SMA 抗体を用いた免疫組織化学染色を実施した。【結果及び考察】症例 A: 剖検で左卵管膨大部にカリフラワー状、灰白色の直径約 2.5 cm の腫瘍がみられた。組織検査では、腫瘍は束状あるいは錯綜配列を持つ紡錘形の間葉系細胞で構成され、表面は乳頭状に突出し、絨毛を有する上皮細胞で覆われていた。上皮細胞は単層の円柱上皮細胞であり、杯細胞もみられたが、一部では立方化、多列化、重層化あるいは cribriform 様構造をしていた。MT 染色では間葉系細胞の周囲に細い膠原線維が認められた。 α -SMA 染色では間葉系細胞の多くが陽性、PCNA 染色では乳頭状部位の上皮細胞の多くが陽性、同部位の間葉系細胞の少数が陽性であった。症例 B: 剖検で左卵管膨大部にカリフラワー状、灰白色の直径約 5 cm の腫瘍がみられた。組織検査では腫瘍は紡錘形の細胞及び交錯して増殖する豊富な線維の束の間葉系細胞で構成され、表面は乳頭状に突出して絨毛を有する上皮細胞で覆われており、杯細胞もみられた。上皮細胞は単層の扁平～円柱状であった。MT 染色では乳頭状部位に膠原線維が認められ、 α -SMA 染色では同部位の陽性の細胞は少なく、間葉系細胞は線維細胞由来と考えられた。PCNA 染色では、乳頭状部位の上皮細胞は多くが陽性、同部位の間葉系細胞は陰性であった。2 つの症例は、いずれも上皮及び間葉系細胞の腫瘍性増殖が認められ、Müllerian tumor と考えられた。増殖した間葉系細胞の違いより症例 A を Adenomyoma、症例 B を Adenofibroma と診断した。

P-35

カニクイザルの肥大心に見られた動脈硬化症

○佐藤 順子、友成 由紀、黒滝 哲郎、土谷 稔

(安科研・鹿島)

人における動脈硬化症は、老化やコレステロール・中性脂肪の増加に関連して、高率に発現する。サル類でも、動脈硬化の発生はしばしば見られるとされているが、実験動物で用いられるような若い動物では、局所的な内膜肥厚以上の変化、すなわち内膜への脂質沈着、線維化、血管内腔狭窄を伴う動脈硬化像を経験することは少ない。今回カニクイザルで、冠状動脈における動脈硬化の発現と同時に、心筋の虚血性変化ならびに心筋肥大を経験したので報告する。症例はマレーシア産カニクイザル、雌、5才齢で、肉眼的に左心室壁および中隔の肥厚が見られた。組織検査において、動脈硬化像が左冠状動脈前下行枝のほぼ全域およびその分岐動脈において認められた。内膜は平滑筋細胞、泡沫細胞を挟むように増生した線維組織により肥厚し、内弾性板の断裂および重層化が見られた。硬化による血管内腔の狭窄は、前下行枝中間部以下の冠状動脈で顕著であった。この動脈支配領域のうち左室前壁および中隔前 1/3 において、限局的な虚血性の心筋消失・線維化が認められた。左室全体に心筋線維の横径の増加、核の腫大が認められ、特に線維化領域内およびその周囲では心筋線維の肥大が顕著であった。左室壁内小動脈では中膜平滑筋増生、弾性板の重層化が散見された。その他、大脳、肺、盲腸、膣の動脈で壁内動脈と類似の変化が認められた。今回の症例では血圧測定は行っていない。しかし、心肥大や壁内動脈およびその他臓器の動脈肥厚の像から、高血圧の状態を疑うことができる。動脈硬化と高血圧は相関関係にあり、血圧上昇が血管系の力学的負荷や内皮透過性の亢進を誘発し動脈硬化へとつながり、また逆に動脈硬化があれば血管腔の狭小化が血圧の上昇へとつながる。本例では、動脈硬化と心肥大から示唆される高血圧との前後関係についての詳細なメカニズムはわからないが、両者の密接な関係を示すことができる症例である。

P-36

カニクイザルの卵巣にみられた腺管様嚢胞性病変の一例

○岡崎 欣正、義澤 克彦、穴川 明子、村上 雄一、坪田 健次郎、
松本 正博、仲辻 俊二、藤平 司郎、大石 裕司

(アステラス製薬株式会社 安全性研究所)

カニクイザルを用いた毒性試験の中で、卵巣の自然発生病変に遭遇することは稀である。今回我々は、腺管様の組織像を呈した卵巣の嚢胞性病変に遭遇したので、その組織学的特徴について報告する。

【症例】動物は 13 週間毒性試験の対照群に用いた中国産の 4 歳、雌のカニクイザルで、投与期間中に月経は 4 週ごとに確認された。その他、標準的な臨床検査、剖検及び器官重量では特記すべき異常はなかった。ホルマリン固定、パラフィン包埋した全身臓器について病理組織学的検査を行った。

【組織所見とまとめ】片側卵巣の皮質深部に孤立性の嚢胞性病変が認められ、これにより周囲組織は圧迫されていた。嚢胞壁は内側から顆粒膜細胞層、血管、平滑筋及び莢膜細胞で構成される卵胞膜からなり、周囲の黄体組織や間質と境されていた。さらに本病変の特徴として、卵胞膜が顆粒膜細胞層とともに内腔側へ乳頭状に突出し、腺管様の組織像を呈していた。嚢胞壁を構成する細胞に異型や異常分裂像はみられず、顆粒膜細胞層には単細胞壊死や嚢胞腔内への脱落が散見された。また、嚢胞壁の顆粒膜細胞と莢膜細胞はいずれも泡沫状の細胞質となり、黄体化の傾向が示唆された。卵巣皮質には様々な成熟段階の卵胞がみられ、対側卵巣に異常は認められなかった。子宮及び膣は増殖期後半に相当する組織像であった。また、下垂体を含めて、その他の器官に異常は認められなかった。

本病変は、周囲組織への圧迫と嚢胞内腔側への乳頭状突出が腫瘍性変化を思わせ、当初、顆粒膜細胞腫が疑われた。しかし、嚢胞を構成する細胞に異型性がないうえ、黄体化過程にある卵胞壁に類似する構造を保っていることから、黄体嚢胞の一種と見なすのが妥当と考えた。若齢カニクイザルの卵巣の自然発生病変の報告は少なく、本症例のような奇異な嚢胞性病変は、毒性試験の背景病変として貴重な症例であると考えられた。

P-37

加齢ビーグル犬 1 例に認められた Jet lesion (Mural endocardiosis)

○蛭間 正巳、江田 景、小林 吉彦、小林 立弥、市川 敦子、楯 美樹、門田 利人

(富士バイオメディックス 小淵沢総合研究所)

Jet lesion (噴流病変) は主に左心房内膜における限局性の縞状ないしは斑状肥厚として肉眼的に認められる病変であり、その多くは僧帽弁の異常に基づき心房内へ血液が逆流することにより生ずる二次的变化とみなされている。イヌではしばしば房室弁の不整ないし結節性の肥厚として現れる弁膜性心内膜症 valvular endocardiosis が観察され、その組織像は成書にも記載されている。しかしながら、心房内膜の病変である Jet lesion に関する病理組織学的報告は少ない。今回、ビーグル犬の加齢病変を検索する中で、左心房内膜に縞状肥厚を呈した 1 例に遭遇し、組織学的に検索する機会を得たのでその概要を報告する。【材料と方法】

実験用ビーグル、雄、8 歳 7 ヶ月齢で、心臓以外には肉眼的病変は認められなかった。【結果】肉眼的には左房室弁近位の心房内膜が白色縞状に肥厚し、それは房室口と平行に数層形成されていた。左房室弁には著変は認められなかった。組織学的には心房内膜は大小の起伏に富んだ丘状隆起を示し、隆起程度により組織像が異なっていた。すなわち、軽度な隆起部では、線維成分からなる内膜の限局性肥厚として認められたに過ぎないが、顕著な隆起部では軟骨に類似した組織構造を呈し、大型の球状化した細胞や、エオジン好性の均質無構造な間質成分が主体を成していた。内膜以外の病変としては、内膜近位の心筋層における心筋線維の融解壊死巣が観察された。以上より、肉眼的に Jet lesion として認めれた心内膜病変は線維成分の増生に留まらず、軟骨化生を招来した奇異な病変として捉えられた。

P-38

ラットにおいて *N*-Nitrosobis (2-hydroxypropyl) amine (BHP) 投与群に みられた鼻腔神経芽細胞腫と考えられた一例

○高木 みづほ、白岩 和己、楠岡 修、山川 誠己、玉井 幸子、
中村 厚、池崎 信一郎、田村 一利

((株)ボゾリサーチセンター)

【はじめに】ラットにおいて、種々のニトロソ化合物の投与により鼻腔の嗅上皮に腺癌、扁平上皮癌及び神経芽細胞腫が発生することは知られているが、BHP 投与により鼻腔神経芽細胞腫が誘発されたという報告や、鼻腔神経芽細胞腫の自然発生の報告はほとんどない。今回我々は、BHP を投与した 26 週齢ラットにおいて鼻腔神経芽細胞腫と考えられた症例を経験したので報告する。【材料と方法】本症例は、6 週齢の Wistar 系 SPF ラットに BHP を 2000ppm の濃度で 12 週間飲水に混じて投与し、8 週間の後に計画剖検を行った実験的発癌試験における 1 例である。投与終了後剖検時に摘出した鼻腔について、10%中性緩衝ホルマリン液で固定、脱灰、パラフィン包埋後、H・E 染色および免疫染色 (Keratin、Vimentin、Desmin、SMA、S-100、NF68、NF120/200、Shinaptophysin、GFAP、NSE、Nestin、Tubulin) を施し、光学顕微鏡下で観察した。【結果】腫瘍は、鼻腔後方の内側甲介 3 を中心に腹側面から外側甲介 2 を巻き込むように侵襲性に増殖し、細線維性基質を伴って充実性にシート状あるいは索状に配列し、部位によってはロゼット様構造を呈していた。腫瘍細胞は、クロマチンに乏しい大型で円形から楕円形の核と好塩基性の細胞質を有し、細胞境界は不明瞭で、有糸分裂像が散見された。免疫組織化学検査では、細線維性基質が Tubulin 陽性を示し、他の抗体は陰性であった。【考察】本腫瘍は、発生部位が嗅上皮分布域の鼻腔後方であること、組織形態学的に、神経芽細胞腫に特徴的なロゼット様及び神経細線維様の細線維性基質構造を伴った増殖パターンを示すこと、免疫染色では Keratin 等の中間径フィラメントが陰性を示す一方で Tubulin は腫瘍内の細線維性基質において陽性を示すことから、本腫瘍は鼻腔神経芽細胞腫の可能性が高いと考えられた。

P-39

Diet-induced obesity マウスにみられた頸部皮下腫瘍の 1 例

○井手 美佳、田中 雅治、篠塚 淳子、藤村 久子、湯浅 啓史、鳥海 亙、務台 衛

(田辺三菱製薬株式会社 安全性研究所)

薬効試験に用いられた Diet-induced obesity マウス（以下、D I O）において、多彩な組織像を示す頸部皮下腫瘍に遭遇したので、その病理組織学的特徴について報告する。

【材料と方法】症例は、C57BL/6J 雄性マウスを 3 週齢から高脂肪食（35.9% fat, 5.578 kcal/g）にて飼育し、51 週齢から 2 週間反復経口投与による薬効評価に用いられた低用量群の 1 例である。解剖時に頸部皮下に腫瘍が認められたため、組織学的、免疫組織化学的および超微形態学的に検索した。

【結果】腫瘍は直径約 1.2 c m 大で、皮膚、唾液腺などの周囲組織とは境界明瞭で被膜様構造がみられた。固定後の断面は白色充実性、一部暗赤色を呈していた。解剖学的位置から、腫瘍は顎下リンパ節と考えられた。組織学的には、大小様々な血管様構造が不規則に増生する領域と小型のリンパ濾胞様構造が胞巣状にみられる領域が混在していた。血管様構造を呈する領域は、腫瘍内に地図状に認められ、紡錘系の細胞が錯綜し、不規則な血管腔の形成が認められた。渡銀法では好銀線維が血管様構造を囲み、細かく入り込む像がみられた。電顕的には、血管内皮様細胞に細胞接着装置と基底膜構造が認められた。一方、リンパ濾胞様構造が増生する領域において、渡銀法では、好銀線維が、細かく入り込む像や、リンパ球が集簇した濾胞様構造を囲む像が認められた。光顕的に細胞分裂像はほとんど認められなかったが、抗 PCNA 抗体を用いた免疫染色では、陽性像を呈する細胞が散見された。電顕的には、層状の粗面小胞体を有する細胞質の豊富な形態を呈する形質細胞や、リンパ球が観察された。今回見られた D I O マウスに見られた腫瘍と高脂肪食付加との関連性は不明であるが、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、免疫組織化学的検索を含め、さらなる検討を行っている。

P-40

マウスの下顎部囊胞

○満石 三喜男、中原 豊、押方 孝史、可徳 小四郎、楢先 恵美子、浜村 政夫

(株式会社三菱化学安全科学研究所 熊本研究所)

【症例】本症例は、ある化合物の 2 週間反復皮下投与試験の中用量群に供試した 13 週齢の雌マウス Crl:CD1(ICR) である。投与期間中の症状及び体重推移に異常は認められなかった。計画剖検時に、左唾液腺（顎下腺及び舌下腺）に接して波動感のある柔らかい $8 \times 6 \times 3$ mm の囊胞がみられ、内腔には透明な粘稠液が貯留していた。頸部に外傷はなかった。摘出した囊胞を 10% リン酸緩衝ホルマリンに固定し、定法に従って HE 染色、過ヨウ素酸-シッフ (PAS)、アルシアン青 (pH2.5) 及びコロイド鉄染色標本を作製して鏡検した。【結果】組織学的には、囊胞は顎下腺と舌下腺の間に位置し、その内腔には薄い好塩基性物質が認められた。囊胞壁は、ほとんど線維性結合組織（一部肉芽腫様）から構築され、上皮性細胞の裏打ちは認められなかった。囊胞壁を構成する組織は、浮腫状に解離し、解離した部分には囊胞内腔と同様の薄い好塩基性物質がわずかに認められた。囊胞壁及び内腔にマクロファージがみられたが、好中球などの炎症性細胞の浸潤は認められなかった。薄い好塩基性物質は、PAS、アルシアン青 (pH2.5) 及びコロイド鉄染色で陽性を示した。これらの染色態度は、舌下腺及び顎下腺の粘液細胞の分泌顆粒と同様であった。【まとめ】本症例にみられた囊胞は、顎下腺と舌下腺の間に位置し、内腔の好塩基性物質が顎下腺と舌下腺の分泌顆粒と同様の染色性を示したことから、唾液腺由来と考えられた。唾液腺由来の囊胞としては、げっ歯類では異物（結石）あるいは炎症に伴って唾液腺の導管が拡張して生じる囊胞が知られているが、そこでは多少とも導管上皮の裏打ちが認められる。本症例は、囊胞壁に上皮性細胞の裏打ちが一切みられないこと、また、その他の組織学的特長から唾液瘤 (Sialocele) と診断した。

P-41

症例報告：B6C3F₁ マウスにおける肝臓原発と考えられた平滑筋肉腫

○安井 雄三、植田 芳英、長井 佳代子、山下 龍、木原 亨、長谷川 和成、
細井 理代、宮島 留美子、志賀 敦史、今井 清

(安評センター)

【はじめに】長期毒性試験に用いられる B6C3F₁ マウスにおいて、上皮系腫瘍として肝細胞腺腫、肝細胞癌などが時折自然発生する。一方、間葉系腫瘍としては血管腫、血管肉腫、組織球性肉腫、伊東細胞腫等が発生するが、その他の間葉系腫瘍についての報告は殆ど見当たらない。今回、我々は B6C3F₁ マウスの肝臓原発と考えられた平滑筋肉腫を疑う腫瘍に遭遇したので、その病理組織学的検索結果を報告する。【材料および方法】当センターで実施された長期毒性試験に供された B6C3F₁ マウス（雌、110 週齢）に発生した腫瘍について、病理組織学および免疫組織化学的に検索した。【結果・まとめ】肉眼的には肝臓内側葉を主座として硬結な白色巣（20 × 14 mm）が認められた。組織学的には、紡錘形細胞が束状配列または錯状配列を呈して充実性に増殖し、腫瘍内には萎縮した肝細胞が散在性に認められた。一部では腫瘍細胞が血管壁と連続して類洞内で増殖する像が認められた。また、外側左葉では線維化している部位が広範囲に認められた。さらに、肺、脾臓被膜および脾・十二指腸リンパ節への腫瘍細胞の転移も認められた。なお、血管肉腫のような腫瘍細胞が血管腔を形成して赤血球を容れるような組織構造や組織球性肉腫の際にみられる多核巨細胞、また、典型的な伊東細胞腫でみられる空胞状細胞質を呈する腫瘍細胞は認められなかった。免疫染色では vimentin、 α -smooth muscle actin および desmin に陽性、von Willebrand factor および cytokeratin に陰性であった。以上の結果より、本症例を「肝臓原発の平滑筋肉腫」と診断した。B6C3F₁ マウスの肝臓における平滑筋肉腫は極めて稀な症例と考えられた。現在、電子顕微鏡検査中である。

P-42

マウス Lewis 肺癌脳転移モデルの作製

○張 澤安¹⁾、職 玉珠¹⁾、王 強利¹⁾、羽鳥 努²⁾、野中 博子²⁾、渋谷 和俊²⁾

(¹⁾ 上海中医薬大学 薬物安全性評価研究中心、²⁾ 東邦大学 医学部 病院病理学教室)

転移性脳腫瘍の約半数は肺癌の転移であることが知られている。しかし、今まで実験的肺癌脳転移モデルはごく少なく、そのほとんどはヌードマウスを用い開発したもので、適用範囲は限られている。我々は C57BL/6NCrj 系マウスを用い、経内頸動脈腫瘍細胞注入法にて Lewis 肺癌脳転移モデルの作製を試みた。方法：Lewis 肺癌の継代担癌マウスより腫瘍を無菌的に摘出し、腫瘍細胞浮遊液を作製した。6 週齢の C57BL/6NCrj 系雄性マウスをネンブタールで麻酔し、頸部皮膚を正中に縦切開した。実体顕微鏡下で右総頸動脈を針付 10-0 号縫合糸で結紮し、その遠位側からカテーテルに装着したガラスカニューラを右内頸動脈に挿入し、腫瘍細胞浮遊液を注入した。挿入部の遠位血管を結紮した後、皮膚を縫合した。結果：腫瘍細胞は高率で脳内に生着し、血管周囲腔に沿って広がり、時間とともに脈絡叢や脳実質内にびまん性に増殖した。3 日目では右側脳室脈絡叢や脳実質内血管周囲鞘に腫瘍細胞の生着が確認され、6 日目では右側脳室内脈絡叢に小さな腫瘍形成を認めた。9 日目では右脳表からも腫瘍の存在が認められた。腫瘍は右側に限局し、反対側に及んでいなかった。12 日目では左半球にも腫瘍細胞の増殖を認め、15 日目では両側半球、視床、側脳室と第 3 脳室の脈絡叢に広汎な腫瘍細胞浸潤と腫瘍形成を認めた。約 2 割の動物は脳に転移巣が認められなかった。考察：腫瘍細胞は主として血管周囲腔に沿って増殖し、早期には結節形成傾向に乏しく、ヒト転移性脳腫瘍と趣をやや異にしていた。腫瘍細胞が脳に生着しない原因としては動物個体の差異、注入した腫瘍細胞の活性の低下、注入する時点の腫瘍細胞の漏れ等があげられた。

ルシフェラーゼ高発現の転移性マウス乳癌モデルの確立

○柴田 雅朗¹⁾、森本 純司²⁾、大槻 勝紀¹⁾

(¹⁾ 大阪医科大学 基盤医学 I 講座 解剖学教室、²⁾ 大阪医科大学 実験動物センター)

pTracer-CMV/Bsd にルシフェラーゼ遺伝子を組み込み、pTracer-Luc2 ベクターを構築し、BJMC3879 乳癌細胞に遺伝子導入した後、blasticidin にて選択し、2 クローンを得た。DL-luciferin を 150 μ g/ml 濃度で培養液中に添加し、Photon Imager (Biospace Measures, France) を用いて、ルシフェラーゼを高発現している 1 クローンを安定的発現株として樹立した (BJMC3879Luc2)。次いで、BJMC3879Luc2 細胞を BALB/c 雌マウスの単径部皮下に移植し、経時的に腫瘍径の計測と DL-luciferin を投与した後、Photon Imager による腫瘍のフォトン計測および全身のバイオイメーキングを移植後の 9 週まで行った。10 週目には生存動物を屠殺剖検し、全身諸臓器を病理組織学的に検索した。なお、瀕死動物はその都度、屠殺剖検し、病理組織学的検査を実施した。その結果、腫瘍体積と腫瘍のフォトン計測値は高い相関を示した。Photon Imager を用いたバイオイメーキングにより、4 週時の 1 例において、腹部に強いシグナルが観察され、切迫屠殺し、剖検した。病理組織学的検査の結果、肝臓、卵巣、腸骨リンパ節への転移であることを確認した。7 週では、移植した反対側の単径部リンパ節にシグナルが観察され始めた。8 週では単径部リンパ節、腋窩リンパ節、顎下リンパ節、腹部など広範な部位にシグナルが認められ、9 週になると、更にそのシグナルは強くなり、胸部や背部にもシグナルが観察された。全ての動物について、バイオイメーキングと病理組織学的検査の結果を照合した結果、本モデルは転移の有無や部位を 90% 以上の精度で検出可能であった。以上、ルシフェラーゼを癌細胞のバイオマーカーとして用いた場合、動物を生きたまま、転移の有無や部位を概ね同定出来、より臨床に近いトランスレーショナル・リサーチが可能となると考えられる。

*P-44

骨微小環境における前立腺癌の進展に及ぼす COX2 阻害剤の効果

○佐藤 慎哉¹⁾、二口 充¹⁾、小川 久美子¹⁾、内木 綾¹⁾、高橋 智^{1,2)}、白井 智之¹⁾

(¹⁾ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、²⁾ 名古屋市立大学病院 病理部)

【目的】Cyclooxygenase(COX) 抑制剤は、大腸癌や乳癌細胞に Apoptosis を誘導し、また破骨細胞の誘導を抑制する作用が報告されている。前立腺癌の骨転移の進展には、腫瘍の増殖と共に、破骨細胞の骨溶解による、増殖に必要な空間の確保が重要である。我々は以前に、ラット前立腺癌を頭部に移植し、頭蓋骨浸潤部 (TBI) にヒト前立腺癌の骨転移巣と同じ組織像を示す動物モデルを開発した。今回このモデルを用いて、前立腺癌の骨転移の進展に対する COX の関与を検索した。

【方法】ラット前立腺癌を頭蓋骨直上に移植後、COX1 および 2 を阻害する Indomethacin の 50ppm 飲水投与群 (IM)、COX2 阻害剤である Nimesulide の 400ppm 混餌投与群 (NIME)、及び無処置対照群を設けた。30 日後に屠殺剖検し、TBI における骨破壊の程度、および TRAP 染色を用いて誘導された破骨細胞の数を測定した。また TBI における COX1 および 2 の蛋白発現量及び PGE2 濃度を検索した。さらに TUNEL 染色を用いて Apoptosis を起こした腫瘍細胞の数を計測した。そしてラット骨髄の初代培養細胞を用いて、PGE2 が破骨細胞への分化を誘導するかどうか検索した。

【結果】TBI における COX1 および 2 の蛋白発現量は、有意な差は見られなかったが、PGE2 の濃度は対照群に比べ IM、NIME 群で有意な減少が見られた。さらに骨破壊の程度および誘導された破骨細胞数も IM、NIME 群で有意に抑制された。また NIME 群でのみ、Apoptosis を起こした腫瘍細胞の割合が有意に高かった。In vitro において、PGE2 は RANKL による骨髄初代培養細胞から破骨細胞への分化誘導作用を促進した。

【結論】COX 阻害剤は溶骨性変化を抑制することが示された。さらに Nimesulide は腫瘍細胞に対して Apoptosis も誘導したことから、前立腺癌の骨転移に有効であることが示唆された。またこのモデルは骨転移に対する有用な薬剤の開発に大いに役立つと考えられる。

*P-45

沖縄原産の薬草であるベニバナボロギクのマウス炎症性大腸発癌モデルにおける腫瘍抑制効果の検討

○森岡 孝満、森田 奈苗、砂川 奈穂、千葉 至、吉見 直己

(琉球大学 医学部 腫瘍病理学)

【はじめに】我々は、昨年度の本学会においてベニバナボロギク *Crassocephalum crepidioides* (CC) 熱水抽出物がラット Azoxymethane (AOM) 誘導大腸発癌モデルにおいて大腸癌の前癌病変である大腸陰窩変異巣 (ACF) とムチン涸渇巣 (MDF) の発生を抑制することを報告した。今回、CC 投与による大腸腫瘍抑制効果をマウス炎症性大腸発癌モデルを用いて検討した。【方法】5 週齢雄 CD1 マウスを第 1 群: AOM+ 基礎食、第 2 群: AOM+0.1%CC 含有食 (initiation phase)、第 3 群: AOM+0.5%CC 含有食 (initiation phase)、第 4 群: AOM+0.1%CC 含有食 (post-initiation phase)、第 5 群: AOM+0.5%CC 含有食 (post-initiation phase)、第 6 群: 0.5%CC 含有食、第 7 群: 基礎食の 7 群に分け実験を行った。第 1-5 群は実験開始 1 週目に AOM の皮下注射 (10mg/kg) と 2 週目より 1 週間、2% dextran sulfate sodium (DSS) を飲水投与し ACF、MDF 及び大腸腫瘍を誘発した。実験開始 5 週目に第 1-3 群の各 10 匹を屠殺し大腸を摘出、ホルマリン固定後、alcian blue (pH2.5) 染色による MDF のカウントと methylene blue 染色による ACF のカウントを行い CC の initiation phase における前癌病変に対する修飾効果を検討した。残りは、実験開始 14 週目に屠殺し大腸腫瘍をカウントし CC の initiation 及び post-initiation phase における腫瘍抑制効果を検討した。【結果・結論】実験開始 5 週目における MDF 数は、0.1% 及び 0.5%CC 投与により減少傾向を示したが有意な抑制効果は認められなかった。腫瘍の発生率は、0.1%CC の post-initiation phase において減少傾向を認めたが有意な差は得られなかった。0.5% 高濃度 CC では逆に増加傾向を示した。以上より本モデルでの有意な CC の大腸腫瘍抑制効果は認められなかった。

P-46

DMH-DSS ラット大腸発がんモデルにおける初期病変と腫瘍性病変の細胞動態解析

○今井 俊夫、高見 成昭、曹 永晩、西川 秋佳

(国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

我々は、1,2-dimethylhydrazine (DMH) と大腸炎誘発物質の dextran sulfate sodium (DSS) との組合せ投与によるラット大腸発がんの初期過程において、パネート化生 (PM) と β -catenin の蓄積 (BCA) を伴う再生粘膜がみられることを報告した。今回、当該病変と発がんとの関連性を明らかにする目的で、DMH あるいは DSS 単独投与群を加え、誘発される初期病変の細胞動態を比較検討した。【方法】F344 雄ラット 50 匹を (1) DMH 皮下投与 (40 mg/kg 体重 x3 回、1 週目) (2) DSS 飲水投与 (1.5 %、2 週目) (3) (1)+(2) (4) 無処置の各群に分けた。実験開始 6、10 および 14 週目に BrdU (100 mg/kg 体重) を腹腔内投与後に屠殺、結腸、直腸を採取し、パラフィン包埋切片を作製した。HE 染色と細胞増殖に関連する指標として BrdU、 β -catenin および cyclin D1、アポトーシスに関連して NF- κ B (p65) に対する免疫染色を行った。【結果】6 週目より (3) 群には PM/BCA を伴う再生粘膜および伴わない再生粘膜がみられたが、(2) 群には PM/BCA を伴わない再生粘膜のみがみられた。(1) および (3) 群には ACF 様の腺管が散見された。14 週目において、前がん/腫瘍性病変は (3) 群にのみみられ、異型腺管 15、腺腫 2、腺癌 3 個のうち、各 12、2、2 個が PM/BCA を伴う粘膜に隣接していた。PM/BCA を伴う再生粘膜に cyclin D1 陽性細胞を伴う腺管の増加がみられたが、BrdU 陽性率は PM/BCA を伴わない再生粘膜と明らかな差を示さなかった。ACF 様腺管では cyclin D1 の発現に明らかな変化はみられなかったが、BrdU 陽性率が周囲粘膜に比し有意に ($p < 0.01$) 増加した。いずれの初期病変においても p65 の発現に明らかな変化はみられなかった。腫瘍性病変では、 β -catenin の蓄積、cyclin D1 あるいは p65 の核での陽性像が高頻度に観察された。【結論】PM/BCA を伴う再生粘膜は腫瘍の前駆病変と考えられ、cyclin D1 の発現異常を伴う一部の腺管から腫瘍が発生することが示唆された。

P-47

Dextran sulfate sodium による大腸潰瘍の修復過程： C3H ↔ C57BL/6-Green mouse キメラマウスを用いた検討

○塚本 徹哉、高須 伸二、坂 久代、張 霞、立松 正衛

(愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部)

【はじめに】潰瘍性大腸炎は原因不明の炎症性腸疾患であり、経過と共に大腸癌合併の危険性が増してくる。Dextran sulfate sodium (DSS) は、齧歯類に潰瘍性大腸炎類似の炎症を起こし、また、大腸発癌促進因子として広く用いられている。今回、キメラマウスを用いて、DSS 誘発大腸潰瘍の修復過程における細胞の clonality と増殖形態を検討した。【材料と方法】C3H 及び green fluorescent protein トランスジェニックマウス (C57BL/6J 系統、Green mouse) より、8 細胞期の受精卵を採取し、透明帯を除去した後、凝集させ仮親 (ICR) に移植しキメラマウスを作製した。5～6 週齢のキメラマウスに 2% DSS を 7 日間飲水投与し、実験第 8 日、10 日、14 日、21 日に BrdU を 1 時間投与後、屠殺した。大腸組織を C3H 特異抗体 (CSA) 及び抗 BrdU 抗体で免疫染色し、再生上皮の clonality と増殖パターンを検討した。【結果】DSS 投与により、盲腸から直腸に至るまで、多数の潰瘍が発生した。潰瘍部の粘膜欠損部分は、隣接する陰窩上皮と同系統の上皮が伸展することにより修復され、その後、一層の修復上皮の一部に BrdU 陽性の増殖単位が出現し、徐々に陰窩の形態を形成した。また、潰瘍に隣接する陰窩では、腺底部に多数のくびれ (bifurcation) が出現し、細胞分裂と共に陰窩の分裂を示す部位も見られた。【考察】以上より、潰瘍修復過程には、隣接する陰窩からの上皮細胞の供給とその後の陰窩単位の形成、さらに陰窩の bifurcation による分裂が重要であると考えられた。

*P-48

AOM/DSS 誘発大腸発がんに対する NNK の影響

○金 美慧¹、杉江 茂幸¹、宮本 真吾¹、安井 由美子¹、甲野 裕之¹、
鈴木 里加子¹、中釜 斉²、田中 卓二¹

(¹ 金沢医大 腫瘍病理、² 国立がんセ 研 生化)

【目的】肺がんの最も重要な危険因子は喫煙であることが、疫学的調査及び動物実験より証明されている。一方、喫煙は大腸がんの危険因子であることも疫学調査により知られている。しかし、動物による喫煙の大腸がん促進作用についての報告は少ない。そこで、本研究では、アゾキシメタン (AOM)/ デキストラン硫酸塩 (DSS) 誘発炎症関連大腸発がんにおけるタバコ特異的肺発がん物質である 4-(メチルニトロソアミン)-1-(3-ピリジル)-1-プタノン (NNK) の影響を検討した。【方法】5 週齢雄性 A/J マウスを 1 群：NNK+AOM+DSS、2 群：AOM+DSS、3 群：NNK + DSS、4 群：NNK、5 群：AOM、6 群：DSS、7 群：無処置対照群の計 7 実験群に分けた。実験開始時に NNK を 10 μ mol 濃度で腹腔内投与し、その一週間後、AOM を 10 mg/kg 体重の濃度で腹腔内投与し、さらに一週間後から 1.5% (w/v) 濃度の DSS を一週間飲水投与した。実験開始から 22 週に実験を終了、解剖を行い、すべての臓器を摘出し、病理組織学的に観察した。【結果】大腸において、NNK+AOM+DSS 群は総腫瘍数 4.00 ± 3.58 個であり AOM+DSS 群 (1.20 ± 1.69 個) より 3 倍以上に増加した ($p < 0.05$)。また、大腸腺がんの発生率も AOM+DSS 群の 40% に比べ、NNK+AOM+DSS 群は 80% ($p < 0.05$) と増加していた。肺腫瘍の発生は NNK+AOM+DSS 群、NNK+DSS 群、NNK 群、AOM 群に見られたが、群間に有意な差は得られなかった。【考察】以上の結果より、NNK は AOM+DSS 誘発の炎症関連大腸発がんを顕著に増強させることが明らかとなった。さらなる検討を必要とするが、今後、喫煙と大腸発がんリスクの関連を検討していく上で、この実験系は有効なモデルになり得ることが示唆された。

P-49

Comparative effects of Nobiletin and Auraptene on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines.

○宮田 かおり¹⁾、AZMAN SEENI¹⁾、小川 久美子¹⁾、唐 明希¹⁾、高橋 智²⁾、白井 智之¹⁾

(¹⁾ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、²⁾ 名古屋市立大学病院 病理部)

[Introduction] Nobiletin and Auraptene are citrus phytochemicals which have been shown to act as chemopreventive agents against rat colon carcinogenesis. However, their mechanisms of action remain to be elucidated. Therefore we investigated the effects of these agents on growth of human colon cancer cell lines, and assessed the differences of protein pathway which may be regulated by both agents. **[Methods]** Human colon adenocarcinoma cell lines, Caco-2, DLD-1 and HT-29, were cultured with DMEM medium. EC50 values on day 3 were determined individually and changes of the cell cycle and apoptosis (on day 3) were analyzed at these doses. Cellular proteins which have been reported to regulate colon cell differentiation and proliferation, e.g: b-catenin, PTEN, PPAR α and cyclin D1 were analyzed on HT-29 by Western blotting. **[Results]** We demonstrated that both agents reduced the proliferation of all three cell lines studied and induced G0/G1 phase arrest in HT-29 and Caco-2 cells. Auraptene induced the apoptosis in HT-29 and DLD-1 cells, significantly. Furthermore, Nobiletin reduced b-catenin activation in HT-29 cells. **[Discussion]** The effectiveness of Nobiletin and Auraptene at inhibiting cell growth show a comparative effects especially in the cell cycle and apoptosis analysis and consequently Nobiletin show specific effect by suppressing the phosphorylation of b-catenin. Further investigations are ongoing to conclude possible protein regulation relevant to the chemopreventive effects of these agents.

P-50

Lauric acid による AOM 誘発 ACF への影響

○甲野 裕之¹⁾、宮本 真吾²⁾、安井 由美子¹⁾、金 美慧¹⁾、杉江 茂幸¹⁾、
村上 明²⁾、大東 肇²⁾、田中 卓二¹⁾

(¹⁾ 金沢医科大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾ 京都大学 大学院 農学研究科 食品生物科学専攻)

【目的】 大腸がんの発生と脂肪摂取の関わりは古くから指摘されており、摂取脂肪酸種による大腸がん発生に対する修飾作用も多く報告されている。Lauric acid (LA: C12H24O2) はココナッツ油、ヤシ油や母乳などに含まれる中鎖飽和脂肪酸であり、様々な食品や化粧品などに含まれている。最近、培養細胞を用いた実験において、LA が大腸がん発生に関与すると考えられている cyclooxygenase-2 (COX-2) ならびに inducible nitric oxide synthase (iNOS) の発現を増強させるとの報告があった。そこで、本研究では、LA による大腸がん発生に対する作用について、大腸がん前駆病変である aberrant crypt foci (ACF) を指標として検討を行った。**【方法】** 5週齢雄性 ICR マウスを使用した。実験群は 1 群 azoxymethane (AOM) / dextran sulfate sodium (DSS) 群、2 群 AOM/DSS/1% LA 群、3 群 AOM/1% LA 群、4 群 DSS/1% LA 群、5 群 AOM 群、6 群 DSS 群、7 群 1% LA 群、8 群未処理群の 8 群とした。マウスは 1 週間予備飼育後、AOM 投与群には 10 mg/kg を腹腔内投与した。DSS 投与群は AOM 投与後 1 週目から 1% dextran sulfate sodium (DSS) を 1 週間飲水投与した。LA は AOM 投与あるいは DSS 投与後 1 週目から 1% LA の濃度で実験終了まで混餌投与した。実験開始後 10 週目にマウスを犠牲死させ、ACF 数の測定ならびに病理組織像の解析を行った。**【結果】** ACF の発生は AOM 投与群および AOM/DSS 投与群でのみ認められ、AOM/DSS 投与群では AOM 投与群に比べ ACF 数が約 3 倍であった。一方、AOM/DSS 投与群では LA の投与による ACF 数の増加は認められず、また AOM 投与群では有意さはないものの ACF 数の低下が認められた。大腸粘膜における炎症スコアならびに COX-2 免疫組織化学染色の検討でも、LA 投与による影響は観察されなかった。**【考察】** 以上の結果より、LA は化学物質誘発大腸がんや炎症を背景とする大腸発がん系に対して発がん促進作用を有さないことが示唆された。

*P-51

Chrysin による azoxymethane 誘発ラット大腸 aberrant crypt foci の抑制作用

○安井 由美子¹、宮本 真吾²、金 美慧¹、甲野 裕之¹、杉江 茂幸¹、
村上 明²、大東 肇²、田中 卓二¹

(¹ 金沢医大 腫瘍病理学、² 京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻)

【目的】Chrysin は多くの植物のほか、蜂蜜、プロポリスなどにも含まれる isoflavone であり、CYP1A、aromatase などに対する酵素阻害作用や白血病細胞株に対するアポトーシス誘導作用などが知られている。そこで、本研究では、chrysin による azoxymethane (AOM) 誘発ラット大腸 aberrant crypt foci (ACF) に対する抑制作用について検討を行った。【方法】4 週齢雄性 F344 ラットを 1 週間予備飼育後、10 ppm および 100 ppm の chrysin を 4 週間混餌投与した。AOM (20 mg/kg) は実験開始後 1 週、2 週に皮下投与し、4 週目でラットを犠牲死させた。摘出した大腸は中性ホルマリンにて固定し、ACF 数の測定ならびに病理組織像の解析を行った。【結果】AOM 単独投与群の ACF 数は 73 ± 13 個/ラットであったが、10 ppm chrysin 投与群では 37 ± 17 個/ラットならびに 100 ppm chrysin 投与群 40 ± 10 個/ラットと ACF 発生個数の有意な抑制が認められた。特に、大腸発がんに関連が強いとされる 4 個以上の crypt からなる ACF 数は、100 ppm chrysin 投与群で有意な抑制を示した。さらに、crypt を構成している上皮細胞の観察では、10 ppm および 100 ppm の chrysin 投与群でアポトーシス細胞の割合が 3 倍以上の有意な増加を示した。【考察】以上の結果より、chrysin は大腸がん前駆病変である ACF を抑制し、その抑制作用にはアポトーシス誘導作用が関与していることが示唆された。

*P-52

COX-2/mPGES-1 トランスジェニックマウスにおける 胃発がん性の解析と COX-2 阻害剤の抗腫瘍効果の検討

○高須 伸二¹、塚本 徹哉¹、曹 雪源¹、豊田 武士¹、大島 正伸²、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 金沢大学 がん研究所 腫瘍遺伝学)

Helicobacter pylori (Hp) 感染は胃発癌と深く関わりがあり、Hp 感染 / 胃癌発生には COX-2 の過剰発現が関与すると報告されている。今回、胃粘膜において COX-2 及び microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1) を発現し、胃底腺領域に過形成性病変を生じるトランスジェニックマウス (K19-C2mE Tg) マウスを用いて、COX-2/mPGES-1 及び Hp 感染の胃癌発生に与える影響を検討した。また、選択的 COX-2 阻害剤である etodolac の腫瘍抑制効果を検討した。Tg 及び野生型マウス (WT) に、それぞれ Hp 感染、N-methyl-N-nitrosourea (MNU) 投与、Hp 感染 + MNU 投与の処置を行なった。また、etodolac 投与は Hp 感染 + MNU 投与及び Hp 感染マウスに対して実施し、全マウスとも 52 週で屠殺した。結果、MNU 非投与群に胃癌の発生は認められなかった。幽門腺部において、MNU 投与群、Hp 感染 + MNU 投与群の Tg、WT 両者に全例で胃癌の発生が認められた (MNU: Tg: 15/15, WT: 12/12, Hp + MNU: Tg: 19/19, WT: 24/24)。胃底腺部では、Tg マウス MNU 投与群 (4/15, 26.7%)、Tg マウス Hp 感染 + MNU 投与群 (4/19, 21.1%) で胃癌の発生を認めた。WT には、胃底腺部に胃癌の発生は見られなかった。etodolac 投与群では、Tg、WT 共に幽門腺部の胃癌の発生が etodolac 非投与群に比較して有意に減少した (Tg: $p < 0.01$, WT: $p < 0.05$)。Tg マウスは、MNU 投与により幽門腺領域のみならず胃底腺領域でも胃癌を発生し、近年、欧米で増加している近位部胃癌のよい動物モデルと考えられた。また、etodolac はマウス胃発がんに対して抑制効果を有することが示された。

P-53

Helicobacter pylori 感染による *N*-methyl-*N*-nitrosourea 誘発マウス腺胃発癌の促進効果

○山本 昌美、塚本 徹哉、坂 久代、高須 伸二、豊田 武士、立松 正衛

(愛知県がんセンター 研究所 腫瘍病理)

【目的】 *Helicobacter pylori*(Hp) は胃発癌の重要な因子である。スナネズミは、Hp 感染腺胃発癌モデルとして非常に有用であるが、遺伝的情報が乏しいのが難点である。今回、遺伝的背景の明らかなマウス(C57BL/6 系統)を用いて、Hp 感染の腺胃発癌に与える影響を検討した。

【方法】 5-6 週齢オス C57BL/6 マウスをコントロール群、120 ppm *N*-methyl-*N*-nitrosourea 10 週間間歇投与群(MNU 群)、Hp (Sydney strain) 感染群(Hp 群)、10% 食塩食群(NaCl 群)、Hp + NaCl 群、MNU + NaCl 群、MNU + Hp 群、MNU + Hp + NaCl 群の 8 群に分けた。実験開始後 40 週で屠殺し、発生した胃癌を病理組織学的に検索した。また胃癌の細胞分化と β -catenin の局在を検討した。

【結果】 MNU + NaCl 群、MNU + Hp 群および MNU + Hp + NaCl 群の腫瘍の発生率と発生数は、それぞれ 8/14 (57.1%) と 1.0 ± 1.2 個/個体、4/4 (100%) と 3.3 ± 1.0 、9/9 (100%) と 2.6 ± 1.1 で、MNU + NaCl 群と比較して、腫瘍発生率は MNU + Hp + NaCl 群で有意に高く ($P < 0.05$)、腫瘍発生数は MNU + Hp 群、MNU + Hp + NaCl 群で共に有意に高かった ($P < 0.01$)。発生した腺癌 35 例は、いずれも高分化型から中分化型の組織像を示し、32 例において、Alcian blue、periodic acid Schiff、intestinal-alkaline phosphatase の染色性が低下し、 β -catenin の核または細胞質への集積が認められた。

【まとめ】 マウス MNU 誘発腺胃発癌モデルにおいて、Hp 感染により有意に胃癌が多発することが明らかになり、ヒトでの Hp 陽性胃癌局所切除後のフォローアップの重要性が示唆された。また、 β -catenin の核または細胞質への集積も高頻度に見られ、胃癌進展における Wnt シグナル経路の重要性が示された。

*P-54

Helicobacter pylori 感染スナネズミモデルにおける植物リグナン (nordihydroguaiaretic acid; NDGA) の胃癌抑制効果

○豊田 武士、塚本 徹哉、高須 伸二、立松 正衛

(愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部)

【背景と目的】 リグナンはイソフラボン、クメスタンとともに植物性エストロゲンに属する低分子化合物の総称であり、種々の抗腫瘍効果を有することが報告されている。近年、*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 除菌療法による耐性菌の出現が問題となっており、抗 *H. pylori* 効果を有する天然成分の、胃癌予防への応用が期待されている。今回我々は、*in vitro* で *H. pylori* 増殖抑制効果を示した 2 種のリグナン (arctigenin, nordihydroguaiaretic acid; NDGA) を用いて、*H. pylori* 感染スナネズミの胃癌予防効果を調べた。

【方法】 5 週齢雄 SPF スナネズミに *H. pylori* を胃内接種し、10 ppm *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) を 20 週間飲水投与した。感染後 8 週より 0.1% arctigenin あるいは 0.25-0.01% NDGA を混餌投与し、52 週で解剖、病理組織学的検索に供した。また、DNA 酸化傷害のマーカーである血清 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) 測定および胃粘膜での *H. pylori* 特異的 *ureaseA* 遺伝子の定量を行った。

【結果と考察】 各実験群の腺胃発癌率は陽性対照群 (*H. pylori* + MNU) で 65.5% (19/29) であったのに対し、それぞれ 56.7% (17/30; 0.1% arctigenin)、39.4% (13/33; 0.25% NDGA)、55.2% (16/29; 0.05% NDGA)、60.7% (17/28; 0.01% NDGA) と 0.25% NDGA 群で有意に低かった。同群では幽門腺・胃底腺ともに腸上皮化生の形成が抑制された。血清 8-OHdG 値は、0.1% arctigenin、0.25% および 0.05% NDGA 群で有意に低下し、これらリグナンによる抗酸化作用が示唆された。一方、胃粘膜 *H. pylori* の定量では各群に有意な差は無く、リグナンによる静菌作用は確認されなかった。以上の結果から、NDGA は *H. pylori* 感染スナネズミにおいて胃癌抑制作用を有することが示されたが、*in vivo* での抗菌作用は明らかではなく、抗酸化作用ならびに慢性胃炎の進展阻害効果が発癌抑制に重要であると考えられた。

P-55

慢性腎不全ラットにおける Ghrelin および Neuropeptid Y の免疫組織学的研究

○江田 景、小林 吉彦、小林 立弥、市川 敦子、楯 美樹、蛭間 正巳、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：Ghrelin は主に胃粘膜の内分泌細胞から産生され摂食促進ペプチドで、最近ではヒトの慢性腎不全患者において血漿中 Ghrelin 量が増加するとの報告がある。しかしながらその発生機序は十分に解明されていない。今回、ラットの慢性腎不全モデルを検索する機会を得、胃における Ghrelin ならびに視床下部における Neuropeptid Y(NPY) の分布状態を観察し若干の知見を得たので報告する。材料および方法：9 週齢 Crl.CD(SD), SPF ラットを用いて、0.75% アデニン含有混餌飼料を 4 週間自由摂取させた。対照群、投与群および 2 ヶ月間の回復群の 3 群（各群 5 匹）とした。一般状態、体重測定、摂餌量測定、血液生化学検査、病理学的検査および Ghrelin と NPY の免疫組織化学的検査を行った。結果：投与群および回復群において体重と摂餌量の有意な減少、BUN、Creatinine および P の高値、Fe 及び Ca の低値が認められた。組織学的には、腎臓病変（結晶沈着、尿細管の変性、拡張、萎縮、間質線維化、炎症細胞浸潤）並びに胃病変（腺胃筋層の平滑筋変性および石灰化）が顕著で、投与群よりも回復群で強く認められた。Ghrelin 分泌細胞は腺胃粘膜に認められ、対照群よりも投与群および回復群で増加し、さらに投与群よりも回復群で数および面積が増加していた。NPY においても Ghrelin 同様に投与群より回復群で分布程度が増していた。以上より、アデニン誘発慢性腎不全ラットにおいて、腎障害に比例して Ghrelin ならび NPY の分泌亢進が示唆された。

*P-56

ラット副腎髄質アドレナリン産生細胞の空胞変性

○梶川 悟¹、中川 由紀子²、中野 健二²、竹内 文乃¹、白木 克尚¹、
小野 美穂子¹、泉澤 信行³、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テクノロジー 安全性研究部、
³ アステラス製薬 プロジェクト統括部)

【目的】短期の毒性試験において副腎髄質に病理変化を認めることは少ない。今回我々は、髄質のアドレナリン産生細胞に局限した病理所見に遭遇したので報告する。【方法】症例は 4 日間反復投与毒性試験の高用量群に供された 8 週齢の雄 Crl:CD(SD) ラットで、投与期間中に体重減少がみられ、剖検時の臨床検査ではリンパ球数の減少や電解質異常などがみられた。主要臓器をリン酸緩衝 10%ホルマリン液に固定してパラフィン包埋し、HE 染色標本を作製した。副腎については、HE、PAS、アルシアン青、アザン、グリメリウス染色、およびアドレナリン合成酵素であるフェニルエタノールアミン N-メチルトランスフェラーゼ(PNMT) の免疫染色を実施した。ホルマリン固定材料から電子顕微鏡検査も実施した。【結果】両側の副腎髄質には空胞化を示す細胞が観察され、特に皮質に近い領域に多く分布していた。空胞は大小様々で類円形を呈し、細胞内に 1～数个みられた。空胞化を示す細胞は、全て PNMT 免疫染色に陽性であったことからアドレナリン産生細胞と考えられた。電子顕微鏡観察により、空胞は電子密度の低い内容を容れた拡張した小胞体であることが確認された。空胞は HE、PAS、アルシアン青、アザン染色にも陰性であったことから、拡張した小胞体腔にはタンパク成分に乏しい細胞外液が貯留していると考えられた。空胞化を示す細胞の細胞質ではグリメリウス陽性顆粒が著減しており、電子顕微鏡観察でも分泌顆粒はほとんど認められなかった。一方、PNMT 免疫染色に陰性の細胞に空胞は観察されず、グリメリウス陽性顆粒の数にも変化はみられなかった。その他の主な組織所見として、副腎皮質の細胞肥大や胸腺皮質のリンパ球壊死がみられた。【まとめ】本例の空胞は、副腎髄質の PNMT 陽性細胞の細胞質における小胞体腔の拡張であったことから、アドレナリン産生細胞における空胞変性と診断した。変性細胞はアドレナリン顆粒の減少を伴っていることから、小胞体腔の拡張とアドレナリン分泌顆粒の減少の関連性が考えられた。

*P-57

Crj:CD(SD)IGS ラットの松果体にみられる横紋筋線維の検討

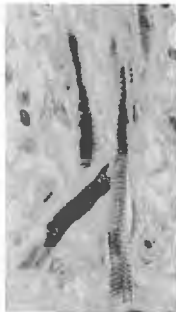
○友成 由紀、佐藤 順子、涌生 ゆみ、土谷 稔

(安科研・鹿島)

げっ歯類など実験動物の松果体は毒性試験で検査することがほとんどなく、その組織変化に接する機会が少ない。ラット松果体における横紋筋線維の発現は加齢性に増加すると報告されているが、週齢を細かく分けて発現状況を比較した報告はない。そこで我々は、20～111週齢の雌雄ラットの松果体について、組織学的に横紋筋線維の発現状況を調べたので報告する。【材料・方法】20～111週齢の雄195例、雌167例のCrj(CD)SDラットの松果体について、10%中性緩衝ホルマリン液固定後、HE染色およびPTAH染色標本を作製し、横紋筋線維の有無を確認した。【結果・まとめ】検査例数と横紋筋線維発現例数を表1に示す。雄では合計14例に横紋筋線維が認められたが、雌では認められなかった。雄の発現状況から、50週齢以上で横紋筋線維の発現数が増加することが示唆された。組織学的には、横紋筋線維は松果体実質の線維化領域に認められることが多かった。発表時には、20週齢以下での横紋筋線維発現状況とともに、横紋筋線維と周囲松果体組織との関連性について免疫染色等を用いた検討結果を合わせて報告する予定である。

表1:検査例数と横紋筋線維発現例数

性別	雄		雌	
	検査例数	横紋筋線維発現例数	検査例数	横紋筋線維発現例数
週齢				
111w	57	5 (9%)	57	0
77～85w	46	4 (9%)	48	0
51～58w	59	4 (7%)	62	0
20w	33	1 (3%)	0	0
合計	195	14 (7%)	167	0



P-58

DEHPの短期間経口投与によるラット精巣における組織学的変化並びに遺伝子発現変動に関する探索

倉田 祥正、○河野 友紀子、石村 純一、友成 由紀、涌生 ゆみ、田代 信彦、関島 勝

(三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)

【背景】代表的な可塑剤であるフタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) は、げっ歯類の精巣に毒性を示すことが知られているが、その発現機序については未だ不明な点が多い。我々はラット精巣におけるDEHP投与初期の変化を探索する目的で、精巣の組織学的変化および発現遺伝子変動について解析した。【材料と方法】5週齢の雄性Crj:CD(SD)ラット4～5匹/群にDEHPを0、300および1,000 mg/kgの用量で1、4、7日間強制経口投与し、一般毒性および組織学的検査の他、GeneChip法等を用いて精巣の遺伝子発現変動について解析した。【結果と考察】1,000 mg/kg投与群において、重量の有意差は見られなかったものの7日後の1例で精巣の小型化が観察された。組織学的には1日後にステージIX～XIの精細管において精子細胞の単細胞壊死が、4日後にはステージXII～XIIIの変性精細管や基底側に位置する単細胞壊死した精子細胞が認められた。7日後にはelongate精子細胞の見られないステージI～VIの精細管が散見され、障害を受けた精子細胞がセルトリ細胞に貪食された結果であると推察された。精母、精粗および間細胞に組織学的変化は見られなかった。GeneChip解析の結果、1日後にはFree Radical Scavenging等、細胞障害に関わる遺伝子群の変動が認められた。4日後には細胞障害に加え細胞増殖関連遺伝子群が、7日後ではCellular Function and Maintenance等の細胞機能に関わる遺伝子群が変動しており、組織的变化に相対したものであると推定された。これら変動した遺伝子の中でもTimpl、Hsd11b1などが特異的な変動を示しており、これらはDEHPの毒性に関連した変動である可能性が示唆された。一方、報告のあるステロイド代謝酵素やPPARに関連する遺伝子変動は確認されなかった。300 mg/kg群ではいずれの変化も認められなかった。

*P-59

Crj:CD(SD)IGS ラットにおける大腿骨遠位端の自然発生骨軟骨症

○矢部 光一、加藤 道幸、今岡 尚子、神藤 敏正、真鍋 淳

(第一三共株式会社 安全性研究所)

【はじめに】従来使われてきた SD ラットの骨軟骨症病変は上腕骨近位端および大腿骨遠位端の関節軟骨に自然発生し、56 週齢まで発現率が上昇すると報告されている。しかし、近年、安全性研究で広く用いられている Crj:CD(SD)IGS ラットにおける報告はない。今回、我々は 104 週齢まで飼育した本系統ラットの大腿骨遠位端における骨軟骨症の発現を調べた。【方法】雌雄 Crj:CD(SD)IGS ラットを 4 週齢で入手、CRF-1 飼料 (日本チャールス・リバー) および塩素添加上水道水を自由摂取させて飼育し、39、52、78 および 104 週齢で安楽殺して、左右大腿骨遠位端を病理学的に検索した。【結果】骨軟骨症病変は大腿骨顆 (遠位端) における円形白色巣、部分的陥凹および関節軟骨欠損を伴った骨顆全域の白色化として認められた。その発現率は、39、52、78 および 104 週齢の雄でそれぞれ 16.7% (5/30 例)、26.7% (8/30 例)、26.5% (9/34 例) および 17.9% (5/28 例) であった。一方、雌ではそれぞれ 6.7% (2/30 例)、6.7% (2/30 例)、2.8% (1/36 例) および 4.3% (1/23 例) であった。【まとめ】以前の報告と一致して、骨軟骨症病変の発現率は雌よりも雄で明らかに高かったが、その報告とは異なり、39 週齢以降 104 週齢まで発現率は大きく変動しないことが示された。

P-60

Elucidation of the histogenesis of malignant fibrous histiocyte (MFH); mesenchymal differentiations of a rat MFH-derived cell line (MT-9)

○山手 丈至¹、緒方 敬子¹、湯浅 隆宏¹、桑村 充¹、竹中 重雄¹、
熊谷 大二郎¹、伊藤 和幸²、ラマー ジョナサン³

(¹ 大阪府立大学 生命環境科学研究科 獣医学専攻、² 大阪府立成人病センター、
³ カナダグエルフ大学オンタリオ獣医学部)

Malignant fibrous histiocyte (MFH) is regarded as an undifferentiated pleomorphic sarcoma with unproven histogenesis. We investigated pathobiological characteristics of a newly-established rat MFH cell line (MT-9). Immunocytochemically, MT-9 cells and MT-9-induced tumors reacted to vimentin, A3 (a rat MFH cell-specific antibody), macrophage markers and alpha-smooth muscle actin (alpha-SMA; myofibroblastic marker) to varying degrees, indicating that MT-9 showed both histiocytic and (myo)fibroblastic features. Adipogenic supplement-added MT-9 cultures showed increased accumulation of lipid droplets. Addition of BMP-2 or osteogenic supplement to MT-9 enhanced osteoblastic markers such as ALP activity, osteocalcin mRNA expression and calcification. TGF-beta1-treated MT-9 revealed increased numbers of alpha-SMA-immunopositive cells, and enhanced protein levels of alpha-SMA, vimentin and fibronectin, indicating myofibrogenesis. Next, we investigated the distribution of A3-immunopositive cells in rat tissues. A3 labeled with immature mesenchymal and perivascular cells in fetuses and neonates, and with bone marrow stem cells in adults. c-kit mRNA expression was seen in tissues from bone marrow and MT-9. Collectively, progenitors of MFH may be involved in the lineage of bone marrow stem cells capable of differentiating into divergent mesenchymal cells, consequently showing heterogeneous histological features depending on surrounding microenvironmental conditions. MT-9 and A3 antibody should provide valuable tools for studies on MFH or mesenchymal differentiation.

*P-61

TNCB 反復塗布マウス皮膚炎モデルにおける PDE4 阻害剤の作用

○高田 千絵¹⁾、柏木 豊子¹⁾、原田 大輔²⁾、鈴木 美波¹⁾、木本 直哉¹⁾、
竹田 剛¹⁾、高場 克己¹⁾、佐伯 幸司¹⁾

(¹⁾ 協和発酵工業 (株) 医薬研究センター 安全性研究所、²⁾ 協和発酵工業 (株) 医薬研究センター 薬理研究所)

慢性接触性皮膚炎モデル、2,4,6-trinitro-1-chlorobenzene (TNCB) 反復塗布マウス皮膚炎モデルにおける phosphodiesterase (PDE) 4 阻害剤 KF66490 の作用を病理組織学的に解析した。雄性 BALB/c マウスの右耳内側に TNCB を反復塗布し、皮膚炎モデルを作製した (組織学的特徴について第 20 回日本毒性病理学会で発表)。KF66490 は 3 および 10 mg/kg、対照薬である prednisolone は 10 mg/kg を 23 日間、それぞれ 1 日 1 回経口投与した。TNCB 反復塗布および化合物投与開始初日を day 0 とし、化合物の最終投与翌日の day 23 に病変部である右耳を採取した。耳介は中央部より縦軸方向に 2 分割し、一方は 10 vol% 中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従いパラフィンに包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびマスト細胞を同定する目的でトリイズン青染色を施し、病理組織学的評価に使用した。他方は、OCT compound に包埋後、液体窒素により凍結し、免疫組織化学的検討に用いた。凍結切片を用いて、T 細胞 (抗 CD3 抗体) および MHC class II を持つ細胞 (抗 I-A/I-E 抗体) を検出し、その分布について観察した。病理組織学的検査の結果、陽性対照群では表皮の肥厚、真皮の肥厚、好酸球および好中球を主体とした炎症細胞浸潤、線維芽細胞の増生およびマスト細胞の浸潤が認められた。また、I-A/I-E および CD3 陽性細胞の増加が認められた。KF66490 は 10 mg/kg において表皮および真皮の肥厚、線維芽細胞の増生を有意に抑制した。さらに KF66490 は I-A/I-E 陽性細胞浸潤は抑制しなかったが、CD3 陽性細胞浸潤を有意に抑制した。一方、prednisolone は、マスト細胞浸潤のみを抑制した。以上から、KF66490 は皮膚における T 細胞浸潤を抑制することにより薬効を示す可能性が示唆された。

*P-62

局所刺激性試験に関する検討 ― 投与経路による変化の比較 ―

○石澤 由希、富田 里美、新屋 希子、清川 見香、松井 元、志垣 隆通

(財団法人 化学及血清療法研究所 病理部)

【目的】局所刺激性試験では臨床適用経路が筋肉内あるいは皮下注射の如何に関わらず、ウサギに筋肉内投与した時の変化により刺激性を評価されることが多い。しかし、筋肉及び皮下の組織構造は異なるため、同じ医薬品を筋肉に投与した場合と、皮下に投与した場合とでは、投与局所の変化が異なる可能性がある。そこで、ウサギに筋肉内投与した場合と皮下投与した場合の病理組織変化を比較検討した。【方法】投与物質として 1.7% 酢酸溶液 (pH による刺激)、9.0% 食塩液 (浸透圧による刺激) 及び沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合 (DPT) ワクチン (免疫反応を惹起) を用いた。1 群 6 匹の雄性ウサギの外側広筋及び背部皮下に各物質を 1 回注射し、投与後 2 日目並びに 7 日目に半数ずつ剖検し、投与部位の変化を肉眼的に観察した。投与部位のパラフィン包埋切片を作製し、H.E. 染色を施し、病理組織学的に検索した。【結果】<筋肉内投与> 1.7% 酢酸及び 9.0% 食塩液では投与後 2 日目に広範囲の変性 / 壊死が認められ、その周囲に単核細胞を主体とする細胞浸潤が認められた。投与後 7 日目には変性 / 壊死部周囲の細胞浸潤が強くなり、線維化及び筋線維の再生などの修復像も認められた。DPT ワクチンでは投与後 2 日目に単核細胞を主体とする軽度な細胞浸潤が認められ、投与後 7 日目には投与後 2 日目と比較して細胞浸潤は旺盛になった。<皮下投与> 1.7% 酢酸では投与後 2 日目に単核細胞を主体とする細胞浸潤及び皮筋の変性 / 壊死が軽度認められ、投与後 7 日目には皮筋の修復像が認められた。9.0% 食塩液では投与後 2 日目及び 7 日目のいずれにおいても明らかな変化は認められなかった。DPT ワクチンでは投与後 2 日目には皮下に単核細胞を主体とする軽度な細胞浸潤が認められた。投与後 7 日目には細胞浸潤が旺盛になり、皮筋でも囲管性に細胞浸潤が認められた。【考察】以上のように、投与する物質及び投与経路によって病理組織変化に違いが認められ、局所刺激性試験における投与経路は刺激性評価上の重要な因子と考えられた。

*P-63

マウス肝発がんにおける前がん病変マーカーの検索および機序解析

○加藤 あゆみ¹、梯 アンナ¹、魏 民¹、多胡 善幸¹、山野 莊太郎¹、村井 隆²、鰐渕 英機¹

(¹ 大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学、² 塩野義製薬株式会社 新薬研究所安全性研究部門)

【はじめに】我々は、ラット肝発がんにおける GST-P 陽性細胞巢のプロテオーム解析を行い、Cytokeratin 8(CK8)と Cytokeratin 18(CK18)の発現増加を認めた。CK8とCK18は、Complex(CK8/18)となり、癌化を促進すると考えられている。CK8/18は、ラット肝発がんにおいて腫瘍に分化する GST-P 陽性細胞巢内のマーカーとなる可能性が示唆された。

一方、マウスの肝発がんにおいて、有用な前がん病変マーカーは知られていないため、本研究では、マウス肝発がんにおける前がん病変マーカーとして CK8/18 の有用性について検討を行った。

【方法】14 日齢 C57BL/6J マウス、B6C3F1 マウスに DEN10mg/kg b.w. を腹腔内に 1 回投与後、PB を 1000ppm の濃度で 38 週まで投与した。また、対照群として PB 投与なしの群を設けた。HE 染色、CK8/18 免疫組織染色、CK8/18 および PCNA 二重染色を行い、細胞巢と腫瘍における CK8/18 の発現を調べた。また、レーザーキャプチャー・マイクロダイセクション法(P.A.L.M 社)を用いて、マウスの好塩基性細胞巢および腫瘍の組織を回収し、プロテオーム解析を行った。

【結果および結論】免疫組織染色より、細胞巢と腫瘍において CK8/18 の発現が見られた。また、CK8/18 陽性細胞巢において、周囲肝組織に比べ PCNA 陽性細胞の有意な増加が認められ、CK8/18 発現と細胞増殖の相関性が示唆された。また、好塩基性細胞巢におけるプロテオーム解析の結果、特異的なペプチド、タンパクの発現低下が認められた。以上の結果より、CK8/18 は、マウス肝発がんにおいて有用な前がん病変マーカーとなる可能性が示唆された。

*P-64

ラット肝発がんにおける GST-P 陽性細胞巢のプロテオームおよびバイオマーカー解析

○梯 アンナ¹、魏 民¹、森村 圭一朗¹、串田 昌彦¹、福島 昭治²、鰐渕 英機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)

【はじめに】本研究では、ラット肝前がん病変のマーカーとして知られている Glutathione-S transferase (GST-P) 陽性細胞巢における、バイオマーカー蛋白の差異に注目し、phenobarbital (PB) 投与による肝発がんプロモーションに関わる蛋白を同定し、その発がんに対する寄与を検討した。【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、および 500ppm の用量で混餌投与し、実験開始後 13 週および 36 週で屠殺した。肝臓の凍結標本を用いて、GST-P 免疫組織染色を行い、その陽性細胞巢をレーザーキャプチャー・マイクロダイセクション法を用いて、凍結標本から切り出し、Q-STAR Elite LC-MS/Ms (Applied Biosystems Japan) を用いた蛋白発現解析を行った。【結果】PB の高用量および低用量投与群における GST-P 陽性細胞巢内にがんの促進あるいは抑制に関与すると考えられる特異的な蛋白の発現を認めた。プロテオーム解析結果により、DEN のみ、および DEN の後 PB を 500ppm を与えたラット肝の GST-P 陽性細胞巢内に 75 蛋白質が同定された。PB の 2ppm 投与群の GST-P 陽性細胞巢内に 41 蛋白質が同定された。また、免疫組織染色結果により、肝前がん病変や肝細胞がんにおけるバイオマーカー蛋白の過剰発現が確認できた。【結論】GST-P 陽性細胞巢内に発現している特異的な蛋白および有用なバイオマーカーが認められ、500ppmPB 投与の肝における Cytokeratin 8/18 の出現は GST-P 陽性細胞巢から腫瘍に進展する前がん病変マーカーであることが示唆された。また、開発したシステムはサンプル量が微量でも解析可能なシステムであることが示された。

***P-65**

**前臨床試験における肝障害の新しい指標の検討と
組織マイクロアレイ法の応用～第二報～**

○橋浦 進一郎、橋爪 昌美、清水 宏之、榎本 眞

(株式会社 組織科学研究所)

【背景・目的】第23回毒性病理学会学術集会において、各種肝障害マーカーによる多角的な検討法を導入し、組織マイクロアレイの有用性について紹介した。今回は第二報として、肝障害モデルラットの組織マイクロアレイを用いて、ミトコンドリアマーカーについて検索を行った。

【まとめ】今回はミトコンドリアのマーカーである、抗プロヒビチン抗体とアルトマン染色を用いて検索を行った。

プロヒビチンはミトコンドリアの内膜に局在し細胞増殖を調節する蛋白質で、酵母からヒトまでのホモログが知られている。細胞増殖の負の調節因子と思われ、癌抑制因子である可能性がある。肝障害物質として四塩化炭素などを選びラットへの経時的投与実験をおこなった結果、抗プロヒビチン抗体は急性肝障害の指標として有用であることが示唆された。さらに他臓器の障害にも特異性のあることについても検討する。

P-66

**グルコン酸銅摂取によるラット肝酸化的ストレスの誘発と
カテコール併用投与による修飾効果の検討**

○岡村 俊也¹⁾、石井 雄二¹⁾、井上 知紀¹⁾、田崎 雅子¹⁾、
梅村 隆志¹⁾、広瀬 雅雄²⁾、西川 秋佳¹⁾

(¹⁾ 国立衛研 病理部、²⁾ 内閣府食品安全委員会)

【目的】食品中の銅含有化合物の過剰摂取はラット肝に銅の蓄積を惹起し、肝障害を誘発することが報告されている。また、遺伝的に肝臓に銅を蓄積するLECラットでは酸化的ストレスを生じることが知られている。今回、グルコン酸銅をラットに投与し、銅蓄積による酸化的ストレス誘発の有無を検討した。さらに、*in vitro*において銅イオンを触媒とした活性酸素生成系を有するカテコールを併用投与し、*in vivo*におけるグルコン酸銅との複合効果を検討した。【方法】実験1：6週齢の雄F344ラットにグルコン酸銅を0.6%混餌で2週間投与後、カテコールを150 mg/kgの用量で単回強制経口投与した。カテコール投与0、2、6、12及び24時間後に解剖し、肝臓の脂質過酸化(TBARS)ならびに8-OHdGレベルを測定した。実験2：6週齢の雄F344ラットにグルコン酸銅とカテコールをそれぞれ0.6%混餌及び0.1%飲水で13週間投与し、血清生化学的検査、血清及び肝組織中の銅濃度、8-OHdGレベルを測定した。【結果】実験1：TBARS及び8-OHdGレベルはグルコン酸銅投与により対照群と比べて有意に増加した。しかし、カテコールの併用投与の影響は認められなかった。実験2：グルコン酸銅投与により、8-OHdGレベルの上昇と共に、血清中のALT、ASTならびにALP、さらに血清及び肝組織中の銅濃度の高値が認められた。しかし、これらに対するカテコール併用の影響は観察されなかった。【考察】グルコン酸銅投与によりラット肝に銅蓄積に起因すると考えられる酸化的ストレスが誘発され、13週間投与では肝障害が認められた。しかし、今回の実験条件下ではカテコールによる複合効果はみられず、*in vitro*で報告されている遷移金属を触媒とした抗酸化物質による酸化的ストレスは*in vivo*で明らかとはならなかった。

*P-67

ラット肝中期発がん性試験法（伊東法）を用いたマスティックの発がん性評価

○土井 賢一郎、加藤 あゆみ、多胡 善幸、山野 莊太郎、大西 真理子、鰐淵 英機

（大阪市立大学 院 医 都市環境病理学）

【目的】Mastic (*Pistacia lentiscus*) は地中海沿岸に自生する常緑灌木であり、ギリシャのヒオス島で特に栽培され、世界中に輸出されている。幹から採取される樹脂や葉の煮汁は民間療法として使用され、また食品や化粧品、抗菌材料や歯磨き粉、チューニングガムなどに添加されている。しかしながら、動物を用いた毒性試験の報告は一つしかなく、発がん性試験の報告は皆無である。従って、今回の研究がマスティックの発がん性に焦点を当てた最初の報告である。【方法】6週齢雄性F344ラットを用い、確立されている伊東モデルを施行した。被検物質はヒオス島産のマスティック樹脂をパウダー状に粉碎したもので、0、0.01、0.1、1%の濃度で基礎食に混餌投与した。【結果】肝重量はDEN単独群に比べDEN+0.01%群から有意に増加しており、DEN+1%群まで用量相関性を認めた。しかし血液データでは肝機能障害は全く認められなかった。肝前がん病変マーカーであるGST-P陽性細胞巣（直径 $\geq 0.2\text{mm}$ ）の個数と面積は共に、DEN+1%群にて有意に増大した。更に個々のFoci自体の平均面積も同群でのみ有意に高く、特に直径 $\geq 0.4\text{mm}$ の大型病変個数が有意に増加した。BrdU+GST-P 2重染色法によるGST-P内部での細胞増殖能は、DEN+1%群にてDEN単独群の約4.7倍にまで増加した。DEN単独群とDEN+1%群の肝凍結標本を用いたRT-PCR解析の結果、マスティック投与により、肝全体に対してはCYP3Aファミリーを中心に多くのPhase-I酵素と、Phase-II解毒酵素が誘導されており、逆に低下したのものにはMapk3やVEGF、IGF-IRなどの増殖系シグナル遺伝子が含まれていた。酸化損傷のDNA損傷のマーカーである8-OHdG形成レベルに差は認めなかった。【結論】マスティックはラット肝発がんに対してプロモーション作用を発揮しうることが示された。またGST-P陽性細胞巣の内部での作用と、肝組織全体に及ぼす作用メカニズムとは、異なっていることが示唆された。

*P-68

Fenofibrate (FF) の rasH2 マウス肝二段階発がんモデルを用いた発がん機序に関する研究

○川合 正臣¹、金 美蘭^{1,3}、西村 次平^{1,2}、出羽 康明^{1,2}、三枝 由紀恵^{1,2}、
松本 明¹、谷合 枝里子¹、渋谷 淳¹、三森 国敏¹

¹ 東京農工大 獣医病理、² 岐阜大 連合獣医、³ 東京農工大 連合獣医

【目的】ヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子を導入した遺伝子改変マウス（rasH2マウス）は、6ヶ月短期発がん性試験においてはPPAR α アゴニストに対して肝発がん感受性を示すことが報告されている。しかし、その発がん機序については明らかにされていない。そこで今回、その肝発がん機序を解明する目的で、rasH2マウス肝二段階発がんモデルを用いて、PPAR α アゴニストであるFFの肝発がん機序を分子病理学的に検討した。【方法】7週齢の雄性rasH2マウス35匹を4群に分け、2/3部分肝切除24時間後、diethylnitrosamine (DEN) 単回腹腔内投与 (30 mg/kg) し、1週間後から0、1200ないし2400 ppmのFFを7週間混餌投与した。実験終了後、生存動物を殺処分後剖検し、肝臓について病理組織学的・免疫組織学的検査を実施した。また肝臓の一部を採取し、real-time RT-PCRによる遺伝子解析を行った。【結果】FF投与群の肝臓の絶対重量及び相対重量の有意な増加が観察された。組織学的には、FF投与群において肝細胞肥大がみられ、さらに2400 ppm群においては変異増殖巣がみられた。またFF 2400 ppm投与群では、細胞増殖核抗原 (PCNA) 陽性率及びCytokeratin 8/18陽性変異増殖巣数が有意に増加した。遺伝子発現解析では、2400 ppm群において血管内皮マーカーであるVEGF、ras/MAPKの活性化に係る*Ha-ras*、*c-myc* 及び*c-jun*、細胞回転に関連するcyclin D1の発現増加が認められ、FF投与によりras/MAPK pathway および細胞増殖の亢進していることが示唆された。【結論】今回の実験結果から、rasH2マウスにおけるFFの肝発がん機序には、導入遺伝子およびras/MAPK pathway 関連遺伝子の発現増加の関与が推察された。

*P-69

Fenofibrate のラット肝腫瘍形成期における分子病理学的解析

○西村 次平¹⁾、出羽 康明^{1,2)}、金 美蘭^{1,3)}、三枝 由紀恵^{1,2)}、川合 正臣^{1,2)}、
岡村 俊也^{2,4)}、梅村 隆志⁴⁾、三森 国敏¹⁾

(¹⁾ 東京農工大 獣医病理、²⁾ 岐阜大 院 連合獣医、³⁾ 東京農工大 院 連合農学、⁴⁾ 国立衛研 病理)

【目的】我々は、現在までに、PPAR α アゴニストである Fenofibrate (FF) のラット肝発がんメカニズムに活性酸素種 (ROS) 産生に伴う酸化ストレスが関与する可能性を見いだしている。本研究では FF の肝発がんメカニズムをより詳細に解析するため、ラット二段階肝発がんモデルを用いて、腫瘍の進展過程に関わる遺伝子の分子病理学的解析を実施した。【方法】F344 ラット (6 週齢、雄) に N-diethylnitrosamine (DEN) を単回腹腔内投与 (200 mg/kg) し、その 2 週間後から 0 あるいは 3,000 ppm の FF を 28 週間混餌投与した。FF 投与開始 1 週後には 2/3 肝部分切除を実施し、28 週間後に得られた肝臓を用いて、病理組織学的検査と酵素活性測定 (GST) を行うと共に、非癌部肝組織を用いて Real-time RT-PCR を行った。【結果】肝細胞増殖巣の数、肝腫瘍の発生頻度 / 個数は、DEN 単独群に比し、DEN+FF 群で有意に増加した。Real-time RT-PCR では、DNA 修復に関わる Apex1, Xrcc5, Mlh1, Nbn, Ogg1, Gadd45a の mRNA レベルが FF 投与により有意に増加した。また第二相薬物代謝酵素である Gpx2, Ugt1a6, Yc2 の mRNA 発現増加ないし Gsta2, Gstm2, Gstm3 の mRNA 発現減少とともに、GST 活性値の有意な減少が認められた。更に、細胞周期に関わる Cyclin D1 の mRNA 発現増加及び p21 の mRNA 発現減少、発癌との関連が示唆されている Serpinel の mRNA 発現増加が FF 投与でみられた。【考察】DEN イニシエーション後に FF を 28 週間投与することにより肝腫瘍発現が促進され、それには二次的 DNA 損傷並びにレドックスバランス変調の関与が示唆された。発表では、腫瘍性増殖に関連するシグナル解析結果も併せて報告する。

P-70

The role of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and nitric oxide in cancer development

○FLOYD ROBERT A.^{1,2)}、古武 弥成¹⁾、TOWNER RHEAL A.¹⁾、中江 大^{3,4)}、小西 陽一⁵⁾

(¹⁾ Oklahoma Medical Research Foundation、²⁾ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Oklahoma University Health Sciences Center、³⁾ 東京都健康安全研究センター、⁴⁾ 東京農業大学、⁵⁾ 国際毒性病理学会連合)

Nitric oxide (NO) is important in cancer development in both experimental animals and in humans and there is a strong correlation between the presence of iNOS and the occurrence of rapid tumor growth. Our observations on the choline-deficiency rat model of hepatocellular carcinoma show that iNOS/NO is an important factor in cancer development. We have shown that PBN (*a* -phenyl-*tert* butylnitron) has potent anti-cancer activity in this model. The anti-cancer action is strongly correlated with observations demonstrating that it depends in part on its action to suppress the expression of iNOS and that this is associated with potent apoptosis exclusively of the cells within the pre-neoplastic nodules. Based upon many experimental observations we have concluded that it is likely that NO-mediate S-nitrosylation of key enzymes and regulatory proteins and that this causes a concerted action of preventing cancer cell apoptosis and simultaneously enhancing oncogenic cell growth and DNA mutations. Research funded in part by NIH grant RO1CA82506, OCAST fMRI-002 and Japan Food Chemical Research Foundation.

*P-71

β -ナフトフラボンのラット肝腫瘍形成期における分子病理学的解析

○出羽 康明^{1,2}、西村 次平^{1,2}、金 美蘭^{1,3}、川合 正臣^{1,2}、三枝 由紀恵^{1,2}、
岡村 俊也^{2,4}、梅村 隆志¹、渋谷 淳¹、三森 国敏¹

(¹ 東京農工大 獣医病理、² 岐阜大 連合獣医、³ 東京農工大 連合農学、⁴ 国立衛研 病理)

【目的】 β -ナフトフラボン (BNF) は薬物代謝酵素 CYP1A 誘導作用を有する化合物で、Ames 試験陰性の非遺伝毒性発癌物質であることが示唆されている。我々は昨年の本大会において、BNF の肝発癌促進早期には代謝過程において生じる活性酸素の亢進による酸化ストレスが関与することを報告した。今回、BNF の肝発癌機序をより詳細に検討することを目的として、ラット二段階肝発癌モデルを用いて BNF を 28 週間投与し、腫瘍を誘発させた肝臓について解析を行った。【方法】6 週齢の雄性 F344 ラットに DEN を単回腹腔内投与 (200mg/kg) し、2 週間後から BNF (1.0%, 0%) を混餌投与した。BNF 投与 1 週間後に肝部分切除を施し、28 週後に採取した肝臓について解析を行った。【結果・考察】BNF 投与ラット肝では、GST-P 陽性細胞巣及び肝細胞腺腫の有意な増加が観察された。Real-time RT-PCR 解析の結果、酸化ストレスの関与が示唆される第 I 相 (Cyp1a1, Cyp1a2, Cyp1b1, Aldh3a1, Nqo1) 及び第 II 相 (Yc2, Afar, Gpx2, Gstml) 薬物代謝酵素の mRNA 発現は BNF 投与により有意に増加した。さらに脂質過酸化レベルは投与 8 週時に比較して有意な増加が確認され (TBARS 法)、BNF の長期投与により酸化ストレス傷害が蓄積されることが示唆された。また細胞周期関連蛋白である Cyclin A、Cyclin B、Cdc2a、Wips2 の mRNA 発現増加と共に Ki-67 免疫染色による陽性細胞数の増加が確認され、BNF 投与における細胞周期制御破綻並びに細胞増殖の亢進が示唆された。さらに、発癌との関連が示唆されている COX-2 及び Guanylate cyclase の mRNA 発現増加が確認され、BNF 発癌機序への関与が推察された。今回、これらの酸化ストレス・細胞増殖関連遺伝子の転写産物・蛋白分子の発現レベルについて検討した結果を併せて報告する。

*P-72

Troglitazone (TRG) の rasH2 マウスにおける肝二段階発がんモデルでの発がん感受性

○金 美蘭^{1,2}、三枝 由紀恵^{1,3}、松本 明¹、出羽 康明^{1,3}、西村 次平^{1,3}、
安野 弘修¹、高島 正義¹、渋谷 淳¹、蓮見 恵司²、三森 国敏¹

(¹ 東京農工大学 農学部 獣医病理、² 東京農工大 院 連合農学、³ 岐阜大 院 連合獣医)

【目的】我々は rasH2 マウスが troglitazone (TRG) に対して軽度の発がん感受性を示すが、ウレタン誘発脾臓血管肉腫に対しては明らかな腫瘍促進作用を示さないことを報告した。一方、TRG は 2 年間の発がん性試験では血管系腫瘍のみならず、肝腫瘍も誘発している。rasH2 マウスは、PPAR α アゴニストに対しては肝に対して発がん感受性を示すことが報告されており、PPAR γ アゴニストに対しても発がん感受性を示す可能性が推察される。そこで、rasH2 マウスの肝二段階発がんモデルを用いて、TRG の発がん感受性について検討した。【方法】6 週齢、雌雄の rasH2 マウス 60 匹を各 3 群に分け、その 2 群に対して 2/3 肝部分切除 12 時間後に DEN を単回腹腔内投与 (30 mg/kg) し、その 1 週後から TRG (0 または 6000 ppm) を 7 週間混餌投与した。残る一群は無処置対照群とした。実験終了後、全生存動物を解剖し、肝臓について、重量測定、PCNA 免疫染色、GGT 染色、cDNA 低密度マイクロアレイ解析、real-time RT-PCR を行った。【結果】雌の TRG 群では、絶対肝重量が DEN 単独群に比較して有意に増加した。雌雄の TRG 群における GGT と PCNA 陽性細胞数は、DEN 単独群に比べ有意な差は認められなかった。雌の肝臓における cDNA 低密度マイクロアレイ解析においては、主に浸潤や転移に関連する遺伝子や血管新生関連遺伝子などが発現増加を示したが、導入遺伝子、*c-fos*、cyclin D1 等の ras/Mapk 経路や細胞増殖関連遺伝子についての Real-time RT-PCR 解析では、TRG 群と DEN 単独群との間に有意な差は認められなかった。【考察】本実験条件下では、rasH2 マウスは、PPAR γ アゴニストに対して肝発がん感受性を示さないものと推察されるが、今後、マイクロアレイ解析で発現上昇した遺伝子については更なる解析を行う必要がある。

*P-73

OGG1 遺伝子欠損マウスにおける多臓器発がんの検討

○植松 真美¹⁾、梯 アンナ¹⁾、魏 民¹⁾、森村 圭一郎¹⁾、北野 光昭²⁾、福島 昭治³⁾、鰐渕 英機¹⁾

(¹⁾ 大阪市立大学 大学院医学研究科 都市環境病理学、²⁾ カネカ ライフサイエンス研究所、
³⁾ 日本バイオアッセイ研究センター)

【はじめに】今回我々はマウスの発がん機序の一つに酸化的 DNA 傷害が関与するかどうかを調べるために、8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) の修復酵素である oxoguanine glycosylase 1 (OGG1) の遺伝子欠損マウス (*Ogg1*^{-/-}) およびその野生型である C57BL/6J マウス (*Ogg1*^{+/+}) を用いて、5 種類の遺伝毒性発がん物質 (DEN, MNU, BBN, DHPN, DMH:DMBDD) でがんを誘発し、腫瘍の発生について検討した。

【方法】6 週齢の雄雌、*Ogg1*^{-/-} および *Ogg1*^{+/+} に、DMBDD を 6 週間にわたり投与した。400ppmDEN を 3 日間、0.1% DHPN を 2 週間、そして 0.05%BBN を 3 週間、飲水投与し、20mg/kg 体重の MNU を 4 回腹腔内投与し、その後、10mg/kg 体重の DMH を 6 回皮下投与した。実験開始後 30 週目に全動物を屠殺し、標的臓器の病理学的検索を行った。

【結果】DMBDD 投与群における腫瘍発生率について、肝臓は、雄、雌それぞれ *Ogg1*^{-/-} で 16%、12%、*Ogg1*^{+/+} で 4%、8% であった。大腸は、雄、雌それぞれ *Ogg1*^{-/-} で 16%、0%、*Ogg1*^{+/+} で 8%、16% であった。また、膀胱は雄、雌それぞれ *Ogg1*^{-/-} で 4%、12%、*Ogg1*^{+/+} で 8%、0% であった。また、腫瘍発生個数に関しても同様の傾向が認められた。一方、DMBDD 非投与群において、各臓器ともに腫瘍発生は認められなかった。

【結論】DMBDD 投与による *Ogg1*^{-/-} マウスの発がん感受性は、肝臓において雄雌ともに亢進していたが、大腸、膀胱においては雄雌で差がみられた。発がん感受性の性差や臓器による差については、今後さらに検討する予定である。

*P-74

ラット肝における 1,4-ジオキサンの発がん性および *in vivo* 変異原性の検討

○大西 真里子¹⁾、大森 雅子¹⁾、増村 健一²⁾、能美 健彦²⁾、鰐渕 英機¹⁾、福島 昭治³⁾

(¹⁾ 大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学、²⁾ 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部、
³⁾ 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター)

[目的]

1,4-ジオキサンは塗料などの工業溶剤として用いられる合成有機化合物である。また浄水処理においては除去されないため水道水にも含まれている。*in vitro* 試験で弱い遺伝毒性作用を示し、げっ歯類で高用量投与における肝腫瘍の発生が確認されている。しかし、1,4-ジオキサンの低用量での肝発がん性と *in vivo* 変異原性については不明である。今回、1,4-ジオキサンの肝発がん性と *in vivo* 変異原性の低用量域における用量相関性を検索し、それぞれの no-effect levels を比較検討した。

[方法と結果]

実験 1 では、3 週齢の雄性 F344 ラットを 6 群に分け 1,4-ジオキサンを 0, 2, 20, 200, 2000, 5000 ppm の用量で 16 週間飲水投与後、肝臓の前がん病変指標である GST-P 陽性細胞巢の発生を検索した結果、0 ppm と比較して 2000 ppm と 5000 ppm の高用量投与群で有意な増加が認められたが、200 ppm 以下では差は見られなかった。

実験 2 では、6 週齢の雄性 *gpt delta* ラットを 3 群に分け 1,4-ジオキサンを 0, 200, 1000, 5000 ppm の用量で 16 週間飲水投与後、肝における変異原性について *gpt* 変異頻度を *gpt* assay を用いて解析し、また *red/gam* 変異頻度を *spi* assay を用いて解析した。*gpt* 変異頻度は 0 ppm と比較して 1000 ppm で増加傾向を示し、5000 ppm では有意な増加が認められた。*red/gam* 変異頻度では 1,4-ジオキサン投与による有意な変動は認められなかった。また、肝 GST-P 陽性細胞巢の発生数は 5000 ppm でのみ有意に増加した。

[結論]

1,4-ジオキサンは肝において変異原性を示すことが判明した。またその肝発がん性、変異原性には no-effect level が存在することが判明し、閾値の存在が示唆された。しかも、変異原性の no-effect level は発がん性のそれよりも低いことが明らかとなった。

*P-75

ラットにおける血清アルブミンによるガラクトサミン肝毒性の増強

○今岡 尚子、加藤 道幸、玉中 恵美、服部 浩之、真鍋 淳

(第一三共株式会社 安全性研究所)

目的：薬物を投与された患者において、極めて稀に重篤な肝障害の発現が報告されているが、動物にこれを再現するのは困難である。我々は、薬物性肝障害の検討の一環として、アルブミンによる D-galactosamine (GalN) 肝毒性の増強を認め、それに関与する因子を検討したので報告する。方法：6 週齢の雄 Crj:CD(SD) ラット (n = 6) を対照、GalN、ラット血清アルブミン (RALB) および GalN + RALB 群に分けた。RALB 100 mg/kg の静脈内投与直後に、GalN 800 mg/kg を腹腔内投与し、6 および 24 時間後に動物をエーテル麻酔下で放血屠殺した。対照群には生理食塩水を投与した。また、GalN + RALB 群の 24 時間後屠殺例で死亡が認められたので、組織検査を目的に、死亡時屠殺群を追加した。屠殺時に、通常の血液検査および血清化学検査に加えて、血清 TNF α および lipopolysaccharide-binding protein (LBP) 濃度を測定し、また、肝を組織学的に検査した。結果：GalN 群では、投与 6 時間後に血清 ALT と AST の増加、および LBP の減少を伴う軽度の肝細胞死が認められ、24 時間後にはこれらの変化がより顕著になった。RALB 群では、6 時間後に血液好中球数および血清 LBP の増加、また肝臓洞内好中球の軽度集積がみられた。しかし、24 時間後には血液好中球数以外の変化は消失した。一方、GalN + RALB 群では、6 時間後に、血清 ALT と AST が GalN 群よりも増加し、さらに血清 BIL と TNF α の増加も認められた。組織学的には、肝細胞死の程度が増加し、軽度のうっ血を伴っていた。24 時間後には 4/6 匹が死亡し、残りの 1/2 匹に広範囲の肝細胞死が認められた。追加した群では、投与 7 ~ 8 時間後に 2/6 匹が死亡し、肝病変はびまん性の強いうっ血、また出血により特徴づけられた。結論：雄ラットにおいて、RALB は GalN 肝毒性を増強することが示され、増強因子として血清 TNF α 増加が示唆された。

*P-76

アセトアミノフェン誘発マウス肝障害モデルを用いた カテコールの酸化ストレス発生機構

○石井 雄二、岡村 俊也、田崎 雅子、井上 知紀、梅村 隆志、西川 秋佳

(国立衛研・病理部)

【目的】我々はこれまで、カテコールが NO 消去過程でセミキノンラジカルを経て、活性酸素種 (ROS) や活性窒素種 (RNS) を生成し、酸化ストレスを引き起こすことを明らかにしてきた。NO は種々の炎症性疾患においてその過剰生成が知られていることから、炎症疾患時におけるカテコールの摂取は同様の反応機構により酸化ストレスを引き起こす可能性が考えられる。今回、NO 生成が知られるアセトアミノフェン (APAP) 誘発肝障害モデルを用いて、カテコールの持続的な摂取によるマウス肝臓の酸化ストレス発生機構について検討した。【方法】雄 7 週令の ICR マウスに 0.8% カテコールを混餌投与し、投与 2 週間後に APAP 300 mg/kg を単回腹腔内投与した。投与後 1.5、4 および 24 時間目の血清 AST および ALT、肝臓中の還元型グルタチオン (GSH)、脂質過酸化 (TBARS)、8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) および 3-nitrotyrosine (NO₂Tyr) 量を測定した。【結果】カテコール摂取の有無に関わらず、APAP の投与により、血清 AST および ALT 値は投与後 24 時間で有意に上昇し、GSH レベルは投与後 1.5 時間で有意に減少した。一方、カテコールの併用投与により、TBARS レベルは APAP 投与後 1.5 時間から上昇し、8-OHdG は投与後 24 時間において無処置対照群の約 3 倍の有意な上昇を示した。さらに、NO₂Tyr は投与後 1.5 時間から有意に上昇した。【考察】APAP 誘発の肝毒性にカテコールは影響しなかった。しかし、APAP 単独投与では観察されなかった TBARS、8-OHdG および NO₂Tyr の上昇がカテコール併用投与により認められた。この事実は、APAP 投与により生じた NO とカテコールの反応により ROS および RNS が生成したことを示すものであり、炎症時におけるカテコールの持続的な摂取が NO を介した酸化ストレスを引き起こす可能性が示された。

*P-77

ラット肝細胞障害と cytokeratin 8 リン酸化の関係

○熊谷 和善、安藤 洋介、伊藤 和美、矢本 敬、寺西 宗広、真鍋 淳

(第一三共株式会社 安全性研究所)

【目的・背景】肝細胞の主要な cytokeratin (CK) は CK8 および 18 である。最近のヒトおよびマウスの研究から、MAPK 系による CK8 の部位特異的なリン酸化が肝細胞障害に保護的に働くことが明らかとなっている。しかし、ラット肝細胞障害と CK8 の関係は未だ明らかではない。以上のことから、我々は両者の関係に着目し、肝細胞障害を誘発する cycloheximide (CHX) および bromobenzene (BB) を用いて以下の検討を実施した。【材料・方法】8 週齢の雄性 F344 ラットに、CHX 6 mg/kg を投与 (i.v.) した群、または BB 300 mg/kg を投与 (i.p.) した群を設けた。それぞれの群には別途、溶媒対照群 (saline または corn oil) を設けた。CHX 投与後 1 または 2 時間、BB 投与後 12 または 24 時間に肝臓を採取し、二次元電気泳動 (2D-DIGE) と質量分析によるタンパク発現解析、二次元電気泳動後の CK8 タンパク質スポットについてリン酸化タンパク質染色を行った。さらに、TUNEL 染色による定量解析、肝臓中 caspase 3/7 活性測定を実施した。【結果・考察】タンパク質発現解析の結果、CHX 投与後 2 時間、BB 投与後 24 時間に対照群と比して有意な変化 (投与群 / 対照群 > 1.2 倍または < 1/1.2 倍, $p < 0.05$) を示したスポットのうち、異なる pI 値を示す CK8 の 2 スポットが観察された。また、投与群では対照群と比して、高い pI 値のスポットが減少し、低い pI 値のスポット (リン酸化染色陽性) が増加したことから肝細胞障害に伴う CK8 のリン酸化が示唆された。TUNEL 陽性数および肝臓中 caspase 3/7 活性はいずれも、CHX 投与後 2 時間、BB 投与後 24 時間に対照群と比して有意に増加したことから、肝細胞アポトーシス誘発が示唆された。CK8 リン酸化が阻害されたヒトおよびマウスのモデルでは肝細胞アポトーシスへの感受性が増すと報告されている。本試験結果からラット肝細胞アポトーシスにおいても CK8 リン酸化の関与が示唆された。現在、CK8 リン酸化に関連する複数の分子について検索しており、本会ではこの結果を含め、CK8 によるラット肝細胞保護作用に関して考察する。

*P-78

ハムスター腭中期発がんモデルを用いた MTBITC 及び curcumin の修飾効果

○井上 知紀¹⁾、岡村 俊也¹⁾、田崎 雅子¹⁾、石井 雄二¹⁾、梅村 隆志¹⁾、中村 考志²⁾、西川 秋佳¹⁾

(¹⁾ 国立衛研 病理部、²⁾ 京都府立大 食保健)

【目的】N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) 誘発ハムスター腭発がんでは、組織形態学的にヒト症例に類似した腭管由来の管状腺癌が誘発されることから、腭がん予防物質の検索モデルとして頻用されている。我々は、本モデルを改良し、前がん病変である腭管上皮異型過形成 (AH) を指標とした 16 週間腭中期発がんモデルを開発してきた。今回、イソチオシアネート類 (ITCs) の大根辛み成分である 4-(methylthio)-3-butenyl isothiocyanate (MTBITC) 及び COX-II 阻害作用を有する curcumin (CUR) のイニシエーション期あるいはポストイニシエーション期における修飾効果について検討した。【方法】実験 1: 6 週齢の雄シリアンハムスターに BOP 10 mg/kg を 1 週間に計 4 回皮下投与し、MTBITC 80 ppm または curcumin 2000 ppm を BOP 投与の 1 週間前から 1 週間後まであるいは BOP 投与 1 週間後より実験終了までそれぞれ混餌投与し、腭臓の腺癌 (ADC) を含む増殖性病変について検索した。実験 2: 同様の実験プロトコルにより MTBITC 700 ppm の修飾効果を検索した。【結果】実験 1: MTBITC のイニシエーション期投与群において AH と ADC を併せた発生頻度が BOP 単独投与群に比して有意に減少した。一方、MTBITC のポストイニシエーション期投与群及び CUR 投与群では変化は認められなかった。実験 2: 高濃度の MTBITC 投与により実験 1 と同様に、AH もしくは AH と ADC を併せた病変の多発性がそれぞれ有意に減少した。【考察】本実験条件下では CUR の修飾効果は認められなかった。一方、ITCs は BOP などのニトロソアミン類の代謝活性化を抑制し、解毒を促進することが知られており、今回の MTBITC のイニシエーション期投与群での抑制効果は本機序によるものと考えられた。

P-79

アカネ色素成分とその代謝産物の中期多臓器発がん性試験による 腎発がんプロモーション作用の検索

○井上 薫¹、渋谷 淳^{1,2}、吉田 緑¹、高橋 美和¹、富士本 仁¹、広瀬 雅雄^{1,3}、西川 秋佳¹

(¹ 国立衛研 病理部、² 東京農工大 獣医病理、³ 食品安全委員会)

[はじめに] 我々はこれまでにアカネ色素 (MC) がラットの腎臓及び肝臓に発がん性を有し、MC 投与初期の腎近位尿細管 (PTC) に認められる皮質での空胞変性や髓質外帯での核の大小不同の発現に、その色素成分 Alizarin (Alz) や代謝産物 Rubiadin (Rub) が各々関与することを報告してきた。そこで、MC 投与で DNA 付加体形成が報告されている腎臓、肝臓、大腸における MC 色素成分とその代謝産物の発がんプロモーション作用を検索する目的で、ラット中期多臓器発がん性試験を実施した。今回は腎臓の検討結果について報告する。[材料と方法] 6 週齢の雄 F344 ラットに 5 種のイニシエーター (DEN, MNU, DMH, BBN, DHPN) を常法に従って実験 4 週までに各々投与し (DMBDD 処理)、5 週目から Alz, Rub を 0.04% の用量で 23 週間混餌投与した。採取した腎臓の PTC に見られた形態学的に異なる増殖性病変を、部位別 (皮質または髓質外帯) に詳細に評価した。[結果] 対照群を含む全実験群の皮質と髓質外帯の PTC に様々な染色性を示す PTC や異型尿細管、腎細胞腺腫が認められた。MC による腫瘍好発部位である髓質外帯では、0.04% Rub 投与により好塩基性 PTC と異型尿細管の発生頻度、発生個数が有意に増加し、同部位における腎細胞腺腫や腺がんの発生頻度の増加傾向がみられた。0.04% Alz 投与では、髓質外帯の異型尿細管の発生頻度が有意に増加し、腎細胞腺腫、腺がんの発生も認めたが、発生数は少なく、好塩基性 PTC の増加は認めなかった。[まとめ] 今回の検索で、異型尿細管や腺腫、腺がんの発生状況から、腎髓質外帯の PTC に対し Rub は明らかな発がんプロモーション作用を有することが示され、Alz も弱い発がんプロモーション作用を有することが示唆された。

P-80

A Distinctive Amphophilic-Vacuolar Renal Tubule Tumor Phenotype in Rat Studies Conducted by the National Toxicology Program, NIEHS, NIH

○ John Curtis Seely¹、Gordon C. Hard²、Grace E. Kissling³、Laura J. Betz¹

(¹ EPL, Inc., ² Private Consultant, Tairura, New Zealand,

³ National Institute of Environmental Health Sciences, NIH、⁴ Constella Health Sciences)

Carcinogenicity studies, utilizing primarily the Fischer 344 rat, conducted by the National Toxicology Program, NIEHS, NIH were reviewed for the occurrence and distribution of a distinctive renal tubule tumor phenotype. Both control and treated groups were examined. The main features of this tumor included the uniform lobular arrangement of eosinophilic to amphophilic stained, large round to polyhedral cells with finely granular cytoplasm and the presence of numerous variably-sized clear vacuoles and/or minilumens. Central degeneration/necrosis was also prominent in most cases. It is referred to as the "Amphophilic-Vacuolar" renal tubule tumor to help distinguish it from the predominant rat renal tumors which are basophilic staining. Out of 1012 rats surveyed with renal tumors (adenomas, carcinomas or adenocarcinomas), 100 of these had the amphophilic-vacuolar morphology. In a few cases, tumors were multiple and bilateral. These tumors were equally distributed between sexes, did not metastasize, at least to the lungs. The distribution of this tumor was random across studies and dose groups suggesting it was spontaneous and not chemically induced. Results from this review and other published reports of similar appearing tumors, particularly from young and possibly sibling rats, indicate that this tumor may be of familial origin. If this hypothesis can be validated then tumors of this phenotype could be excluded from final tumor counts when assessing the carcinogenic potential of test chemicals in preclinical studies. This tumor will be briefly compared to Eker and Nihon rats which are familial renal cancer models.

*P-81

臭素酸カリウムのラット腎臓における変異原性と発がん性の閾値の存在

○魏 民¹⁾、森村 圭一朗¹⁾、梯 アンナ¹⁾、串田 昌彦²⁾、當真 香織¹⁾、鰐淵 英機¹⁾、福島 昭治³⁾

(¹⁾ 大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学、²⁾ 住友化学株式会社 生物環境科学研究所、
³⁾ 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター)

【目的】臭素酸カリウム (KBrO₃) はげっ歯類に腎発がん性を示す遺伝毒性発がん物質である。一方、KBrO₃ はパン生地改良効果を有しており、パンの製造過程にその発がん性の原因となる臭素酸が産生されているが、最終パン製品から検出されないため、現在も食品添加物として使用されている。また、水道水にも臭素酸が含まれ、我々は水道水を介して普段から2～5 ppb のレベルで臭素酸を摂取している。本研究では、低用量域と発がん用量である高用量域での KBrO₃ のラット腎臓における変異原性と発がん性を検討し、KBrO₃ の低用量発がんリスクの解明を行った。【方法と結果】実験1では、雄性 Big Blue ラットを8群に分け、KBrO₃ を0, 0.02, 0.2, 2, 8, 30, 125, 500 ppm の用量で16週間飲水投与し、腎臓における *in vivo* 変異原性の指標である lacI 遺伝子の変異頻度および酸化 DNA 傷害を検索した。lacI 遺伝子の変異頻度は0 ppmと比較して500 ppmでのみに有意に上昇した。酸化 DNA 傷害の有意な増加は125 ppm以上でみられた。実験2では、雄性 Wistar ラットを8群に分け、N-Ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine (EHEH) を2週間飲水投与後、KBrO₃ を0, 0.02, 0.2, 2, 8, 30, 125, 500 ppm (12週以降、250 ppmに変更) の用量でそれぞれ24週間飲水投与し、KBrO₃ の腎発がんプロモーション作用を検討した。その結果、EHEHにより誘発したラット腎腫瘍および前がん病変はKBrO₃ の500→250 ppm投与によってその発生数が有意に増加し、125 ppmで増加傾向を示したが、30 ppm以下の用量では0 ppmと差を認めなかった。実験3では、EHEHの2週間投与後、KBrO₃ を実験2の各用量で2週間投与した。酸化 DNA 傷害は125 ppmから有意に増加したが、30 ppm以下では認められなかった。【結論】KBrO₃ は高用量では腎臓に酸化 DNA 傷害を誘発するとともに、変異原性と発がん性を発揮したが、30ppmではそれらの作用が認められなかった。したがって、KBrO₃ の変異原性と発がん性の両者ともに閾値、少なくとも実質的な閾値が存在すると考えられた

*P-82

Wistar Hannover ラット (BrlHan:WIST@Jcl (GALAS)) の
長期飼育における尿路系背景データ

○栗林 正伯、石上 紀明、下内 孝司、大口 敦子、東山 真澄、阿瀬 善也

(小野薬品工業 (株) 研究本部 福井安全性研究所 毒性評価グループ)

【目的】Wistar Hannover ラットはSD ラットと比較して増体重が少なく、2年生存率は75%を超えることから、がん原性試験等に好適であるとされている。今回、BrlHan:WIST@Jcl 系ラットを長期飼育し、尿路系を中心とした背景データを収集した。

【方法】BrlHan:WIST@Jcl 系ラットは、日本クレア (株) より4週齢で入荷し、雌雄各99匹を110週齢まで無処置にて飼育して剖検を行った。飼料は低蛋白飼料であるCE-7 (日本クレア (株)) を、飲水は限外濾過した上水道水をそれぞれ自由に摂取させた。84および107週齢時に尿検査 (早朝1時間蓄尿) を実施するとともに、腎臓および膀胱の病理組織学的検査を実施した。

【結果】110週齢における平均体重は雄576g、雌378g、生存率は雄82%、雌74%であった。尿検査の結果 (平均値) を以下に示す。病理組織学的観察の結果、雄では1/99例に膀胱の乳頭腫、雌では各1/99例に腎細胞癌、移行上皮癌が認められた。また、雄では慢性腎症が認められたが雌ではほとんど認められず、一方、雌では尿管上皮の変性/壊死および髄質の石灰沈着が高頻度に認められた。その他、膀胱および腎臓に著変は認められなかった。

【結論】BrlHan:WIST@Jcl 系ラットは腎臓、膀胱の自然発生性病変が少なく、尿路系に影響のある化合物のがん原性評価に有用であることが示唆された。

Urinalysis of the Wistar Hannover rat at 84 and 107 weeks of age															
	Volume ml	pH	Cre mg/dl	LDH IU/L	ALP IU/L	γ-GTP IU/L	LAP IU/L	NAG IU/L	Ca mEq/L	P mg/dl	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	AMPC %	APG %
♂	84W	0.48	7.15	96	43	568	331	32	12.2	3.1	116	175	200	184	45.8
	107W	0.33	6.79	91	44	512	308	28	12.1	4.5	159	165	210	185	32.3
♀	84W	0.53	7.32	42	26	96	133	7	5.6	6.1	55	107	115	92	24.3
	107W	0.46	6.97	51	37	100	134	8	7.0	7.4	92	104	138	98	24.4

AMPC: ammonium magnesium phosphate crystal. APG: amorphous phosphate granule.

*P-83

マウスとラットの慢性腎症における糸球体病変の形態学的比較

○長井 佳代子、植田 芳英、山下 龍、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、今井 清

(安評センター)

長期毒性試験に用いられるげっ歯類のうち、ラットでは、慢性腎症は非常に多く見られる加齢性病変であり、厳密には未だ明らかにされていないものの、発生機序、発症初期から末期に至る病態、疫学的調査まで多くの研究・報告がなされている。一方、マウスでも加齢性の慢性腎症が起こることが知られているが、ラットと比べて発生数は少なく、毒性評価の妨げとなることも少ないためか、報告は少ない。両者の組織像には若干の違いが認められ、マウスの慢性腎症は、一般的にラットほど重症化しないといわれている。

そこで、我々はマウスとラットの慢性腎症における糸球体病変の違いを形態学的に検索し、病態の比較を行った。

材料は、当施設で実施した長期試験において、慢性腎症と診断された B6C3F1 及び ICR マウスと、F344 及び SD ラットの腎臓を用いた。パラフィン切片で特殊染色及び免疫組織学的染色を実施し、マウスとラットの病変を比較した。なお、現在電子顕微鏡による超微形態学的観察を実施中である。

発生率の比較では、当施設の 104 週試験での慢性腎症は、B6C3F1 マウスでは雄 2.0%、雌 1.3%であったのに対し、F344 ラットで雄 91.2%、雌 59.6%という結果であった（共に過去 5 試験）。

特殊染色を実施したところ、PAS 及び PAM 染色では、マウスの慢性腎症で糸球体基底膜に沿って PAS 陽性の小さい粒状の物質が付着しているのが観察された。一方、ラットの慢性腎症ではこのような粒状物質は観察されず、糸球体係蹄のびまん性肥厚が特徴的であった。さらに、免疫組織学的あるいは電子顕微鏡学的所見についても考察し、両者の形態学的特徴を比較、検討したい。

*P-84

リン酸水溶液の静脈内投与によるラットにおける腎糸球体初期病変の検討

○土屋 紀子¹、鳥井 幹則¹、井村 可恵¹、増野 功一¹、村井 隆¹、
松嶋 周一¹、奈良間 功²、松井 高峯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 帯広畜産大学 獣医・病理)

媒体として使用されている第二リン酸水素ナトリウム (Na_2HPO_4) 水溶液（以下、リン酸水溶液）をラットに 2 週間静脈内投与すると、糸球体上皮の石灰沈着と変性を生じることを第 18 回日本毒性病理学会（2002 年）において報告した。今回、初期の病態を検討する目的で、リン酸水溶液を単回、3 日もしくは 8 日間反復静脈内投与し、経時的に尿、光顕および電顕検査を実施して糸球体障害の発生機序について検討した。

【方法】 6 週齢の JclSD 雄ラット計 24 例を、360 mM リン酸水溶液（4 mL/kg/分）投与群と生理食塩液投与対照群の 2 群に分けた。投与開始日、3 日、5 日および 8 日目に 4 時間尿を採取して尿検査を実施した。投与 24 時間後、4 日目、9 日目に、リン酸水溶液投与群 5 例、対照群 3 例ずつを剖検し、腎臓ほか主要臓器の肉眼検査および組織検査を行った。また、腎皮質のエポソニ包埋試料を作製して、電顕的に観察した。

【結果】 投与 3 日目以降尿たん白陽性例が増加した。単回投与時、肉眼・光顕的な異常はなかったが、電顕的にポウマン嚢腔や糸球体上皮細胞に空胞が認められた。光顕的に、3 日間投与例のポウマン嚢上皮に限局性の石灰沈着、8 日間投与例のポウマン嚢上皮・糸球体上皮増殖および糸球体基底膜への石灰沈着がそれぞれ見られた。また、電顕的には 3 日間および 8 日間投与により、ポウマン嚢腔内、糸球体の上皮や基底膜に低電子密度の層板状構造物が出現した。免疫組織化学的に、8 日間投与の腎糸球体上皮およびポウマン嚢上皮細胞質において、糸球体上皮マーカーであるボドプラニンの発現減少と、糸球体上皮傷害時のマーカーであるデスミンの発現増強がタンパク尿の排泄に関連して認められ、糸球体上皮の変性後の再生が示唆された。

【結論】 リン酸水溶液による糸球体障害発生の先行病変として糸球体上皮細胞の変性が重要であり、糸球体の機能障害によるタンパク尿と上皮再生が引き続いて発生することが確認された。

抗生物質による腎毒性の比較

○太田 恵津子、西田 陽子、佐々木 稔

(万有製薬株式会社 安全性研究所)

【背景】ヒト臨床において抗生物質による腎障害は薬物性腎障害のうちでも、NSAIDs、抗リウマチ薬について発生頻度が高く、死亡例に占める割合も多いと報告されている。今回、抗生物質による腎毒性への感受性が高いとされているウサギを用いて各種抗生物質により誘発した腎毒性の特徴を詳細に比較、検討したので報告する。

【材料と方法】12-14 週齢の日本白色ウサギ(雄)を各群 4 匹用い、Cephaloridine (CER)、Vancomycin (VCM)、Meropenem (MEPM)、および Ceftazidime (CAZ) を 200 または 400 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。対照群には生理食塩水を投与した。投与の 48 時間後に採血、解剖し、血液生化学、尿検査および組織学的検査を行った。また、RT-PCR によりいくつかの因子の mRNA レベルの検索を行った。

【結果および考察】CER 投与群では高・低用量ともに BUN、s-クレアチニン、尿中 GGT、TP 等の増加が認められ、組織学的には尿細管壊死が観察された。VCM 投与群では高・低用量ともに BUN、s-クレアチニン等の増加が認められ、組織学的には尿細管の拡張と壊死が観察された。MEPM および CAZ 群では高用量で組織学的に好塩基性尿細管が散見されたのみだったが、尿中 GGT と TP は軽度増加していた。

腎皮質での TNF alpha と iNOS の mRNA レベルは CER 群で腎病変の増強に伴い増加していた。TNF alpha の mRNA レベルは VCM および CAZ の高用量群でやや高く、OAT1 mRNA のレベルは検索したすべての抗生物質の高用量群で対照群と比して低かった。CuSOD と TGF beta の mRNA レベルはすべての群でほとんど変化しなかった。

以上より、通常の検索項目に加えて尿中 GGT や mRNA 発現レベル等のパラメーターを追加することで、腎毒性をより確実に検出できる可能性が示唆された。

*P-86

p-Cumylphenol 誘発ラット多発性嚢胞腎の発生週齢に関する検討

○中澤 朋美、笠原 健一郎、八幡 めぐみ、西村 信雄、阪本 晃佳、安藤 亮、田村 一利

(株式会社 ポゾリサーチセンター)

【目的】p-Cumylphenol [p-(*o*, *o*-dimethylbenzyl, phenol)] (PCP) はポリカーボネイト、界面活性剤、殺菌剤 ならびに防腐剤などの用途に広く使用されている工業用化学物質である。我々は先に、本剤を生後 4 日の新生児ラットに 18 日間連続経口投与することにより、腎髓質集合管の拡張による多発性嚢胞が惹起される一方、6 週齢時より投与されたラットでは起こらないことを報告した。今回は、本剤による嚢胞形成の臨界期 (critical period) を詳細に探ることを目的とし、各週齢の若齢ラットに PCP を投与し、週齢と嚢胞腎の発生の関連性について検索した。

【方法】動物は 2, 3, 4, 5 及び 6 週齢の雄性 Crl:CD(SD) ラットとした。PCP はオリブ油に懸濁し実験に供した。投与量及び投与期間は、先の実験にて明らかな嚢胞腎を惹起した 300 mg/kg/日とし、14 日間の反復経口投与とした。各投与期間終了後、全動物をエーテル麻酔下にて安楽殺し、腎臓を採取し病理組織学検査を行った。

【結果】2 週齢群において、腎髓質外帯集合管の著明な拡張がみられた。これらの集合管は核密度の高い過形成性上皮に覆われており、軽微な単細胞壊死や核分裂像がみられた。集合管の拡張は髓質内帯及び皮質にもみられたが、いずれも軽微な程度であった。同様の変化は、3 週齢群においてもみられたが、病変程度は軽減し、4 週齢以後の群にはみられなかった。

【まとめ】PCP によるラットの腎嚢胞形成には臨界期が存在し、その期間は生後から 3 週齢までの間であることが明らかとなった。また、その発生には腎臓の成熟過程が関与する可能性が示唆された。

*P-87

Inhibition of prostate carcinogenesis by ellagic acid *in vitro* and *in vivo*

○ TEERA CHEWONARIN^{1,2}、朝元 誠人¹、小川 久美子¹、唐 明希¹、二口 充¹、白井 智之¹

¹ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、

² Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiangmai University)

Ellagic acid, a plant derived polyphenol was investigated for the anti-proliferative and proapoptotic effects on human prostate cancer cell lines (LNCaP, PC-3 and DU145). Cancer cells were incubated with ellagic acid for 24 and 48 hours, then cell viability and number of apoptotic cell was determined. Ellagic acid (25 - 100 mM) was able to decrease cell viability of hormone sensitive, LNCaP, whereas this effect was not observed in PC-3 and DU145. Ellagic acid had also potential to induce cell death by apoptosis in only LNCaP. In vitro results lead to investigation the modulating effect of ellagic acid on prostate carcinogenesis in transgenic rats developing adenocarcinoma of prostate (TRAP). Three weeks old male transgenic rats were fed phytoestrogen low diet supplement with ellagic acid (0, 0.1 and 1.0% respectively) for 10 weeks then sacrificed. The results showed that rats received ellagic acid had lower relative prostate weight compared to non-treated group whereas the serum level of testosterone, estradiol was similar. The histology alteration prostate tissue was evaluated. The level of malondialdehyde (MDA) was slightly increased during experimental period and in week 10 the level of MDA in serum of rat received 0.1% ellagic acid was lower than control group ($p < 0.05$). The results suggested that ellagic acid had a potential to induce apoptosis in human prostate cancer cell (LNCaP) and might reduce oxidative damage in vivo. The molecular mechanisms on anti-carcinogenesis of prostate will be further studied.

P-88

cDNA アレイを用いた前立腺発がん物質に特異的な遺伝子の検索

○二口 充¹、佐藤 慎哉¹、住田 佳代²、斉藤 幸一²、高橋 智^{1,3}、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 実験病態病理学、² 住友化学 生物化学環境研究所、

³ 名古屋市立大学病院 病理部)

前立腺癌は欧米諸国の男性の罹患率の高い悪性腫瘍で、本邦においても近年増加傾向にあることから、前立腺発がん性を示す未知の化学物質の存在が示唆される。このような未知の前立腺発がん物質を短期にスクリーニングできる実験系のマーカーを確立する目的で、既知のラット前立腺癌発がん物質を投与した前立腺腹葉における遺伝子の網羅的解析から、前立腺発がん性に特異的な遺伝子の選出を試みた。【方法】既知のラット前立腺発がん物質である 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP), 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) および Cadmium を用いて、これらの発がん物質に共通して発現が上昇／下降する遺伝子を網羅的に検索した。6 週齢のラットに PhIP (100mg / kg 体重), DMAB (50mg / kg 体重) および Cadmium (3mmol/kg 体重) を、それぞれ Day0 および Day7 に投与し、Day 10 に屠殺剖検して腹葉前立腺から RNA を抽出した。Affymetrix 社の Rat Genome 230 2.0 Array を用い、搭載された 31,000 個の probe における発現量を測定した。【結果と考察】対照群と比較して発がん物質投与群で、発現量が 2 倍以上に上昇／下降する遺伝子を検索した結果、発現上昇が観察された遺伝子は、PhIP では 40 個、DMAB では 43 個、Cadmium では 53 個で、3 つの発がん物質で共通して発現が上昇したものは、oncomodulin(OM) をはじめとする 3 個であった。また発現低下が観察されたものは、PhIP では 725 個、DMAB では 744 個、Cadmium では 712 個で、3 化合物で共通して発現が低下したものは、594 個であった。さらに、発がん物質群の腹葉前立腺における OM の発現上昇を確認する目的で定量的 RT-PCR を行った結果、GAPDH で補正した OM の相対発現量は、対照群で平均 0.1 に対して、PhIP 群で 2.4, DMAB 群で 5.0, Cadmium 群で 1.3 と発現上昇が確認できた。今後、前立腺癌における oncomodulin の機能を検索し、この結果をもとに oncomodulin が未知の化学物質の前立腺発がん性をスクリーニングする方法が妥当かどうか追究する予定である。

*P-89

膀胱内投与による DMA の膀胱傷害に対する抗酸化剤 NAC の増強効果

○高橋 尚史、石塚 勝美、吉田 敏則、大沼 彩、田島 悠、竹内 幸子、
桑原 真紀、北澤 利明、中島 信明、原田 孝則

(残農研)

ヒ素の主要な尿中代謝物である Dimethylarsinic acid (DMA) は、ラットにおいて膀胱がんを誘発し、その作用には酸化的ストレスの関与が示唆されている。今回、我々は DMA と共に抗酸化剤である N-acetylcysteine (NAC) を膀胱内に投与した結果、予想に反し細胞傷害および細胞増殖を増強する結果を得たので報告する。ペントバルビタールによって麻酔した雌性 F344 ラットの外尿道口よりカテーテルを挿入し、DMA (10 mg/kg) と低用量 (1.6 mg/kg) あるいは高用量 (90 mg/kg) の NAC を膀胱内に同時投与した。暴露は 2 時間とし、3 日間隔で 2 回投与した。対照群として溶媒対照群、DMA および NAC (低および高用量) の単独投与群および無処置対照群を設けた。最終投与の 1 日後に剖検し、膀胱内にホルマリンを注入後、採材した。組織学的検査の結果、DMA 単独群および NAC 高用量群ではそれぞれ 1/4、1/6 例で、DMA+NAC (低あるいは高用量) 群では、半数以上の割合で、好中球を主体とする炎症細胞浸潤が認められた。炎症の程度が強かった DMA+NAC 高用量群の 2/5 例では、移行上皮過形成がみられた。細胞増殖活性検索の結果、DMA 単独群および NAC 高用量群では溶媒対照群に比較し、DMA+NAC (低あるいは高用量) 群では DMA 単独群に比較し、有意な増加がみられた。細胞増殖シグナル伝達に関する免疫組織化学的検索では、DMA+NAC 高用量群でみられた過形成部分に一致して Cyclin D1 およびリン酸化 MAPK (ERK1/2) の発現が認められた。以上の結果より、本実験条件下において NAC と DMA の同時暴露では各単独群に比較し、より強い炎症および細胞増殖活性がみられ、移行上皮への傷害作用の増強が示唆された。また細胞増殖の増強には Cyclin D1 および ERK シグナル伝達経路が関与する可能性が示された。本病変と酸化的ストレスとの関連について現在検討中である。

*P-90

ラット膀胱発癌におけるロイシン、イソロイシンの修飾作用の検討

○山野 莊太郎¹⁾、柚木 孝之¹⁾、梯 アンナ¹⁾、森 聖³⁾、福島 昭治²⁾、鰐淵 英機¹⁾

(¹⁾ 大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学、

²⁾ 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター、³⁾ 塩野義製薬 (株) 安全管理部)

【目的】欧米では、最近の疫学研究により高蛋白質の摂取によって膀胱癌の発生頻度が増加しているとの報告がある。また、日本においても健康食品を介して、ロイシン、イソロイシンなどの分岐鎖アミノ酸(BCAA)を摂取する機会が増加している。そこで今回、N-butyl-N(4-hydroxy)nitrosamine (BBN) 誘発ラット膀胱発癌モデルを用いて、ロイシン、イソロイシンの膀胱発癌修飾作用を検討した。【方法】実験 1、雄性 F344 ラットに 0.05%BBN の飲水投与を 4 週間行った後、基礎飼料として AIN-93G を用い、ロイシン又はイソロイシンをそれぞれ 0%、0.5%、1.0% 及び 2.0% の用量で混餌投与し、36 週にて剖検した。実験 2、同ラットを用いて 0.05%BBN の飲水投与を 4 週間行った後、基礎飼料として AIN-93G 及び MF を用い、ロイシン又はイソロイシンをそれぞれ 0% 及び 2.0% の用量で混餌投与し、AIN-93G 群は 29 週、MF 群は 29、36 週で剖検した。両実験とも膀胱の病理組織学的解析を行った。【結果】AIN-93G を用いた 36 週の実験で、ロイシン又はイソロイシン投与群では対照群と比較し、腫瘍の発生に有意な変化はみられなかったが、29 週において腫瘍(癌 + 乳頭腫)の発生頻度では対照群 (53%) と比較しイソロイシン投与群 (80%) で有意に増加した。また、癌の発生頻度では対照群 (20%) と比較しロイシン投与群 (50%) で有意に増加した。一方、MF 群では、29、36 週ともにロイシン又はイソロイシン投与群では対照群と比較し、腫瘍の発生に有意な変化はみられなかった。【結論】基礎飼料に AIN-93G を用いると、ラット膀胱発癌に対してロイシン及びイソロイシンの促進作用が見られた。一方、MF を用いた場合その作用はみられなかった。以上より、ラット膀胱発癌に対するロイシン、イソロイシンの修飾作用は、基礎飼料に依存することが示された。

*P-91

Bowman-Birk Inhibitor (BBI) による前立腺癌の抑制効果

○唐 明希¹、朝元 誠人¹、小川 久美子¹、内木 綾¹、二口 充¹、高橋 智^{1,2}、白井 智之¹

(¹ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、² 名古屋市立大学病院 病理部)

【目的】大豆由来のトリプシンインヒビター (Bowman-Birk Inhibitor, BBI) は、in vitro での悪性転化の抑制と in vivo での前立腺移植癌の進展抑制などの抗腫瘍効果が報告されている。今回、我々が開発したラット前立腺癌トランスジェニックモデル (TRAP) とヒト前立腺癌細胞株 LNCaP に対する BBI の効果を検討した。【方法】3週齢雄 TRAP ラット 24 匹を 2 群に分け、対照群には 2%corn oil 混餌基礎食 (soy free)、BBI 群は 3%BBI+ 2% corn oil を 10 週間混餌投与後、屠殺剖検し、病理組織学的に検討した。さらに、LNCaP をさまざまな濃度で 96-Well プレートで培養し、24 時間後、WST-1 アッセイで細胞増殖抑制効果を調べた。また、LNCaP に 500 μ g/ml BBI を暴露し、Connexin (Cx)43 と apoptosis の誘導作用を経時的に検討した。【結果】1) 投与群の摂餌量と飲水量、肝、腎、脾の絶対および相対重量、血中 testosterone と estrogen 濃度は対照群に比較し有意差は認めなかった。2) BBI 投与群において体重、精嚢を含む副生殖器の前立腺および側葉前立腺絶対重量は対照群に比較し有意に減少し、精巣重量は有意に増加した。3) 病理組織学的には全動物に前立腺癌が認められ、その頻度に有意な差はなかった。4) 画像解析による定量的検討では、BBI 投与群の側葉前立腺での腺房における腺上皮の占める相対面積は対照群より有意に減少した。側葉腺癌細胞が優勢を占める腺の割合は BBI 投与によって有意に減少し、正常と Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) が優勢を占める腺の割合は有意に増加した。WST-1 アッセイにより、BBI は LNCaP に対する増殖抑制作用が明らかとなり、Western blotting で、BBI による、Cx43 発現増加と apoptosis の誘導が示された。【考察】BBI の TRAP ラット前立腺発癌の抑制作用は testosterone 濃度と関連がなく、apoptosis の誘導による細胞増殖抑制と Cx43 の増加と関連していることが示唆された。これらの結果から、BBI は前立腺発癌の抑制に作用する有力な物質であると考えられた。

*P-92

アンギオテンシン受容体ブロッカーによるラット前立腺発がんに対する抑制

○AZMAN SEENI¹、高橋 智^{1,2}、唐 明希¹、佐藤 慎哉¹、白井 智之¹

(¹ 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、² 名古屋市立大学病院 病理部)

【目的】近年レニン-アンギオテンシン経路が前立腺癌の増殖・進展に関与していることが報告され、臨床的にも進行性前立腺癌患者にアンギオテンシン受容体ブロッカー投与することにより腫瘍増殖抑制、QOL の改善がみられることが報告されている。そこで今回我々はアンギオテンシン受容体ブロッカーの前立腺発がんに対する抑制効果を Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) model を用いて検証を行った。【方法】3週齢 TRAP rat に Telmisartan (2, 10mg/kg/day) を混じた飲料水を 7 週間投与した後屠殺剖検した。【結果】前立腺腹葉における癌発生率は減少傾向はあるものの群間に有意差は認められなかったが、側葉では有意に減少した。画像解析装置を用いて前立腺腹葉の腺管上皮の増殖程度を定量的に解析した結果、Telmisartan 投与群において有意な抑制効果が認められた。また腹葉では Ki-67 index は群間で差がなかったが apoptotic index は Telmisartan 投与群で有意な増加を示した。ウエスタン解析では Caspase 3/7 の活性化、リン酸化 Erkl/2 および p38 MAPK の低下が観察された。前立腺腹葉腫瘍性病変内における毛細血管密度および VEGF タンパク発現量は各群間で明らかな差はみられなかった。以上の結果から Telmisartan は MAPK pathway を抑制することによってアポトーシスを促進させ、前立腺発がんを抑制すると考えられた。

*P-93

大豆イソフラボンのラット乳腺発がんおよび子宮に対する修飾作用

○多胡 善幸¹⁾、梯 アンナ¹⁾、今中 麻幸代¹⁾、魏 民¹⁾、森村 圭一郎¹⁾、林 修次²⁾、鰐淵 英機¹⁾

(¹⁾ 大阪市大学大学院 医学研究科 都市環境病理学、²⁾ 中外製薬(株) 安全研)

【はじめに】大豆イソフラボンは植物性エストロゲン作用を有することが知られており、食品安全委員会においてヒトでの摂取量の上限値が定められた。本研究では、ヒト摂取量の上限と同等量と考えられる大豆イソフラボンをラットに投与したときの乳腺発がん修飾作用および子宮に対する修飾作用を検討するため、大豆イソフラボン投与ラットの乳腺上皮細胞の細胞増殖能、性周期および子宮重量への影響について確認した。【方法】実験1では、5週齢雌性 Donryu ラットに 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA) を 50mg/kg BW で単回胃内強制投与し、大豆イソフラボン(キッコーマン、ソイアクト)を 0(対照群)または 0.2% の濃度で 4 週間混餌投与した。屠殺前に 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与し、細胞増殖能の検討を行った。基礎食には、NIH-07PLD (Phytoestrogen Low Diet) を用いた。実験2では、5週齢雌性 Donryu ラットの卵巣摘出後 14 日から 28 日にかけて、実験1と同濃度の大豆イソフラボンを混餌投与した。【結果および考察】実験1の 0.2%大豆イソフラボン群の乳腺において、対照群に対して細胞増殖の有意な上昇が認められた。実験2の 0.2%大豆イソフラボン群において、対照群に対して正常性周期の回復および子宮重量の有意な増加が認められた。以上より、0.2%大豆イソフラボンの短期投与によりラット乳腺および子宮に対するエストロゲン作用が示された。

P-94

2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) 誘発ラット乳腺発癌における基礎食、高脂肪食の影響

○杉江 茂幸、安井 由美子、金 美慧、甲野 裕之、田中 卓二

(金沢医科大学 医学部 腫瘍病理学講座)

【目的】PhIP の短期複数回投与と高脂肪食投与によってラット乳腺発癌を高率に発生しうる実験系を確立し、使用してきた。今回、高脂肪食と本邦で繁用されている CE-2 (日本クレア) を用い、その発がんに与える影響を比較検討した。【方法】6 週齢の雌 SD ラット 80 匹を 4 群に分け以下の処置を行った。第1、第2群各群 32、30 匹とし、PhIP 85mg/kg (corn oil に懸濁) を 7~8 週齢に亘り計 8 回の胃内強制投与を行った。第3、4群は各群 8、10 匹とし、vehicle 処置とした。第1、第4群には全実験期間に亘り高脂肪食 (AIN-76、corn oil 23.52%) を与え、第2群、第3群は CE-2 を全実験期間に亘り与えた。実験開始後 26 週で実験終了、安楽死、病理組織学的に検索を行った。【結果】乳腺腫瘍発生動物数は、高脂肪食投与群 19 匹 / 32 匹 (59.4%)、CE-2 投与群 6 匹 / 30 匹 (20.0%) と CE-2 投与群で有意に少なかった ($P < 0.05$)。腫瘍発生個数においても高脂肪食投与群 1.72 ± 2.26 、CE-2 投与群 0.23 ± 0.50 と CE-2 投与群で有意に少なかった ($P < 0.001$)。また、対照処置群では腫瘍の発生は見られなかった。組織型は、概ね、invasive ductal carcinoma であった。【考案】今回の結果から PhIP 誘発乳腺発がんモデルにおいて CE-2 投与群では、高脂肪食に比べ、乳腺腫瘍発生は、抑えられていた。CE-2 の組成についての検討による詳細な検討が必要と考えられる。

発表者索引

(数字は演題番号)

A

阿部 正義 O-6, O-10
相磯 成敏 WS1-1, P-1, P-22
Alexander David B.
O-5
穴川 明子 P-36
安藤 弘 P-27
安藤 亮 P-33, P-86
安藤 洋介 P-77
青木 明美 P-12, P-33
朝元 誠人 O-8, P-87, P-88,
P-91
阿瀬 善也 P-82
Azman Seeni P-49, P-92

B

馬場 也須子 P-16
坂 久代 P-47, P-53
Biswal shyam P-8

C

曹 雪源 P-52
千葉 至 P-45
千葉 裕子 P-5, P-9
曹 永晚 P-25, P-29, P-46

D

出川 洋子 O-3
出羽 康明 P-68, P-69, P-71,
P-72
土井 賢一郎 P-67
土井 邦雄 O-9
土居 卓也 P-2, P-6
土井 悠子 WS1-3, P-28

E

江幡 幸子 P-15
江畑 知憲 P-12
江田 景 P-37, P-55
枝元 洋 P-33
遠藤 仁 P-4

榎本 真 P-65

F

Feinstein elena P-8
Floyd robert A. O-7, P-70
Foster steven B.
O-7
藤林 靖久 WS2-1
藤平 司郎 P-36
藤井 悦子 P-30
富士本 仁 P-11, P-13, P-14,
P-79
藤村 久子 P-3, P-39
藤島 純子 P-34
藤田 由美子 P-17
深町 勝巳 O-2, O-5
福永 八千代 P-12
福成 篤 P-19
福島 昭治 WS1-1, P-1,
P-22, P-64, P-73,
P-74, P-81, P-90
福山 朋季 P-5, P-9
古川 文夫 WS1-3
古川 賢 O-10
古川 知宏 P-34
二口 充 P-44, P-87, P-88,
P-91

G

Gordon C. Hard P-80
合屋 道士 O-3
Grace E. kissing
P-80
Guo wei-xing O-7

H

萩原 昭裕 WS1-3, P-28
萩原 良明 O-2
浜村 政夫 P-40
原 明 O-1
原 敦子 P-15
原田 大輔 P-61

原田 孝則 WS3-2, P-5, P-9,
P-89
長谷川 和成 P-10, P-41, P-83
橋本 希 WS1-4, P-26
橋浦 進一郎 P-65
橋爪 昌美 P-65
蓮見 恵司 P-72
羽鳥 努 P-42
服部 浩之 P-75
林 宏一 P-5, P-9
林 清吾 O-10
林 新茂 P-28
林 修次 P-93
東山 真澄 P-82
樋野 興夫 O-2
平井 利武 P-15
平川 公昭 P-34
平岡 真寛 WS2-3
平田 暁大 O-1
広瀬 明彦 P-6
広瀬 雅雄 O-4, P-11, P-13,
P-14, P-25, P-29,
P-66, P-79
蛭間 正巳 P-37, P-55
外岩戸 尚美 WS2-2
細井 理代 P-10, P-41, P-83
細川 京子 P-26
Huyche mark O-7

I

井合 宏道 P-20
市川 敦子 P-37, P-55
五十嵐 麻希 O-6
池谷 政道 P-12
池崎 信一郎 P-38
今井 清 P-10, P-41, P-83
今井 則夫 P-28
今井 俊夫 P-25, P-29, P-46
今井田 克己 WS1-4, P-26
今中 麻幸代 P-93
今岡 尚子 P-59, P-75
井村 可恵 P-84

井上 薫 O-11, P-11, P-13,
P-14, P-79
井上 知紀 O-4, P-66, P-76,
P-78
石井 雄二 P-66
石上 紀明 P-82
石井 雄二 O-4, P-76, P-78
石村 純一 P-58
石澤 由希 P-32, P-62
石塚 勝美 P-89
伊藤 和美 P-77
伊藤 恒夫 P-23
伊藤 和幸 P-60
泉 啓介 O-12
泉澤 信行 P-56

J

金 美蘭 P-68, P-69, P-71,
P-72, P-94
神藤 敏正 P-59
John Curtis Seely
P-80

K

門田 利人 P-37
門田 利人 P-55
梶川 悟 P-56
梯 アンナ P-63, P-64, P-73,
P-81, P-90, P-93
亀田 治子 P-18
金井 好克 P-4
兼田 直人 P-16
菅野 剛 P-2
笠原 健一郎 P-86
柏木 豊子 P-61
片桐 卓 WS1-1, P-1, P-22
加藤 淳彦 P-23, P-30
加藤 あゆみ P-63, P-67
加藤 道幸 P-59, P-75
可徳 小四郎 P-40
河部 真弓 WS1-3, P-28
川合 正臣 P-68, P-69, P-71
河野 友紀子 P-20, P-58
木原 亨 P-10, P-41, P-83
金 美慧 P-48, P-50, P-51,
P-94
木本 直哉 P-61
木村 和也 P-30

北橋 宗 WS1-2
北野 光昭 P-73
北澤 利明 P-89
清川 見香 P-32, P-62
小林 正 P-15
小林 立弥 P-37, P-55
小林 康子 P-4
小林 吉彦 P-37, P-55
香田 隆俊 P-28
児玉 安史 P-31
甲野 裕之 P-48, P-50, P-51,
P-94
小嶋 五百合 P-5, P-9
爰島 洋子 P-2
小西 陽一 P-70
近藤 科江 WS2-3
小坂 忠司 P-5, P-9
古武 弥成 P-70
小谷 百合 P-2, P-6
久保 喜一 P-27
工藤 佳代子 P-17
熊谷 大二郎 P-60
熊谷 和善 P-77
國上 敏浩 P-15
久野 壽也 WS1-4, P-26
倉田 祥正 P-58
栗林 正伯 P-82
黒滝 哲郎 P-35
串田 昌彦 P-64, P-81
楠岡 修 WS1-2, P-38
桑原 真紀 P-5, P-9, P-89
桑原 知樹 P-19
桑村 充 P-60
桑村 有希 P-34
鋤先 恵美子 P-40

L

Lamarre Jonathan
P-60
Laura J. Betz P-80

M

前田 博 P-34
前田 真智子 O-4
前川 昭彦 O-11
真鍋 淳 P-59, P-75, P-77
Mann Peter C.
WS3-1

丸尾 益美 P-15
増村 健一 P-74
増野 功一 P-84
益谷 美都子 P-33
松井 元 P-32
松井 高峯 P-84
松本 正博 P-36
松本 明 P-68, P-72
松島 圭太 P-12
松嶋 周一 P-84
松浦 哲郎 P-31
松井 元 P-62
Mett Igor P-8
井手 美佳 P-39
三井 雅之 WS1-2
満石 三喜男 P-40
三森 国敏 P-14, P-68, P-69,
P-71, P-72
宮寫 宏彰 P-34
宮島 留美子 P-10, P-41, P-83
宮本 真吾 P-48, P-50, P-51
宮田 かおり P-49
三好 昌夫 P-23
溝口 啓二 P-30
森 秀樹 O-1
森 聖 P-90
森 俊雄 O-3
森本 純司 P-43
森本 泰夫 WS1-5, P-7
森村 圭一朗 P-64, P-73, P-81,
P-93
森岡 孝満 P-45
森田 奈苗 P-45
向井 友花 P-24
村井 隆 P-63, P-84
村上 明 P-50, P-51
村上 雄一 P-36
務台 衛 P-39
武藤 朋子 P-4

N

難波江 恭子 WS1-3, P-28
永江 祐輔 P-18
長井 佳代子 P-10, P-41, P-83
長野 嘉介 WS1-1, P-1, P-22
永岡 隆晴 P-34
長澤 明道 P-27
永谷 真理子 P-17

内木 綾 O-8, P-44, P-91
 中江 大 O-6, P-27, P-70
 中釜 斉 P-48
 中川 由紀子 P-56
 中原 豊 P-40
 中島 弘尚 WS1-3
 中村 厚 P-17, P-38
 中村 圭吾 P-16
 中村 考志 P-78
 中野 健二 P-56
 中島 信明 P-5, P-9, P-89
 仲辻 俊二 P-36
 中山 裕之 O-9
 中澤 朋美 P-86
 南 春子 O-9
 奈良間 功 P-31, P-84
 西田 善郎 P-34
 西川 秋佳 WS3-3, O-4, O-11, P-11, P-13, P-14, P-25, P-29, P-46, P-66, P-76, P-78, P-79
 西川 智美 P-21
 西村 次平 P-68, P-69, P-71, P-72
 西村 信雄 P-86
 能美 健彦 P-74
 野中 博子 P-42
 布谷 鉄夫 P-16

O

落谷 孝広 WS2-2
 大神 明 P-7
 小縣 昭夫 P-27
 緒方 敬子 P-60
 小川 いづみ O-10
 小川 久美子 O-8, P-44, P-49, P-87, P-91
 小川 靖子 P-19
 萩野 秀樹 P-33
 小口 想 P-20
 大口 敦子 P-82
 大東 肇 P-51, P-50
 大平 東子 P-17
 大沼 彩 P-5, P-9, P-89
 大嶋 篤 P-16
 大嶋 浩 O-5
 太田 恵津子 P-85

大塚 亮一 P-5
 大塚 亮一 P-9
 大石 裕司 WS3-4, P-36, P-56
 岡田 味世子 P-21
 岡村 俊也 O-4, P-66, P-69, P-71, P-76, P-78
 岡野 栄之 WS2-4
 岡崎 欣正 P-36
 大森 雅子 P-74
 大西 真理子 P-67
 大西 真里子 P-74
 小野 美穂子 P-56
 押方 孝史 P-40
 大島 正伸 P-52
 大槻 勝紀 P-43
 尾崎 清和 P-31

P

Petrache Irina P-8

R

Rangasamy Tirumalai

P-8

Richter Amy P-8

S

三枝 由紀恵 P-11, P-14, P-68, P-69, P-71, P-72
 佐伯 幸司 P-61
 斉藤 幸一 P-88
 坂入 鉄也 P-21
 阪本 晃佳 WS1-2, O-3, P-86
 坂田 慎 P-28
 櫻井 香織 P-17
 佐野 文子 P-21
 佐野 智弥 P-31
 佐々木 淳矢 P-5
 佐々木 淳矢 P-9
 佐々木 啓 P-6
 佐竹 茂 P-34
 佐藤 寛子 P-3
 佐藤 亮 O-12
 佐藤 伸 P-24
 佐藤 慎哉 O-8, P-44, P-88, P-92
 佐藤 順子 P-35, P-57

関島 勝 P-20, P-58
 妹尾 英樹 WS1-1, P-1, P-22
 柴田 雅朗 P-43
 渋谷 淳 P-11, P-13, P-14, P-71, P-72, P-79
 渋谷 一元 P-16
 渋谷 和俊 P-42
 志賀 敦史 P-10, P-41, P-83
 志垣 隆通 P-32, P-62
 嶋津 紀子 P-3
 清水 宏之 P-65
 下地 尚史 P-18
 下内 孝司 P-82
 篠塚 淳子 P-3
 篠塚 淳子 P-39
 新屋 希子 P-32, P-62
 白井 智之 O-8, P-44, P-49, P-87, P-88, P-91, P-92

白岩 和己 P-38
 白木 克尚 P-56
 渋谷 淳 P-68
 菅野 純夫 O-6
 杉江 茂幸 P-48, P-50, P-94
 杉本 次郎 P-21
 杉江 茂幸 P-51
 住田 佳代 P-88
 砂川 奈穂 P-45
 鈴木 栄子 P-18
 鈴木 雅実 P-23, P-30
 鈴木 美波 P-61
 鈴木 里加子 P-48
 鈴木 智 P-26

T

多田 幸恵 P-27
 多胡 善幸 P-63, P-67, P-93
 田口 紋子 O-1
 田島 悠 P-5, P-9, P-89
 高場 克己 P-61
 高畠 正義 P-72
 高田 千絵 P-61
 高木 みづほ P-38
 高木 司郎 P-21
 高橋 博 P-27
 高橋 美和 O-11, P-11, P-13, P-14, P-79

高橋 尚史 P-5, P-9, P-89
 高橋 智 P-44, P-49, P-88, P-91, P-92
 高居 宏武 P-23
 高見 成昭 P-25, P-29, P-46
 高梨 契典 P-30
 高須 伸二 P-47, P-52, P-53, P-54
 武田 眞記夫 P-5, P-9
 竹田 剛 P-61
 竹中 重雄 P-60
 竹下 文隆 WS2-2
 竹内 文乃 P-56
 竹内 幸子 P-5, P-9, P-89
 玉井 幸子 P-38
 玉中 恵美 P-75
 玉野 静光 WS1-3
 田村 一利 O-3, P-12, P-17, P-33, P-38, P-86
 田中 創始 O-2
 田中 雅治 P-39
 田中 卓二 P-48, P-50, P-51, P-94
 唐 明希 P-49, P-87, P-91, P-92
 谷合 枝里子 P-68
 谷川 洋平 P-34
 田崎 雅子 O-4, P-66, P-76, P-78
 田代 信彦 P-20, P-58
 楯 美樹 P-37, P-55
 立松 正衛 P-47, P-52, P-53, P-54
 Teera Chewonarin P-87
 寺西 宗広 P-77
 Thimmulap-p-a Rajesh P-8
 富岡 聡子 P-18
 富田 真理子 P-5, P-9
 富田 里美 P-32, P-62
 友成 由紀 P-35, P-57, P-58
 鳥井 幹則 P-84
 鳥海 互 P-3, P-39
 當真 香織 P-81
 Towner Rheal A. O-7, P-70
 豊田 武士 P-52, P-53, P-54

坪田 健次郎 P-36
 土谷 稔 P-2, P-6, P-35, P-57
 土屋 紀子 P-84
 津田 洋幸 O-2, O-5, O-8
 塚本 徹哉 P-47, P-52, P-53, P-54
 堤 雅弘 WS1-2, O-3, P-33
 Tudor Rubin MP-8
 辻内 俊文 WS1-2

U

植田 芳英 P-10, P-41, P-83
 上原 眞一 P-27
 植松 真美 P-73
 梅田 ゆみ WS1-1, P-1, P-22
 梅村 隆志 O-4, P-66, P-69, P-71, P-76, P-78
 牛島 俊和 O-1
 臼田 浩二 O-10
 内海 博之 P-19

W

涌生 聖 P-6
 涌生 ゆみ P-57, P-58
 和久井 信 P-4
 王 強利 P-42
 鰐渕 英機 P-63, P-64, P-67, P-73, P-74, P-81, P-90, P-93
 渡邊 学 O-6
 魏 民 P-63, P-64, P-73, P-81, P-93
 禹 桂炯 P-11, P-14
 Wu Dee O-7

Y

矢部 光一 P-59
 八幡 めぐみ P-86
 山田 勉也 P-3
 山田 泰広 O-1
 山口 悟 P-5, P-9
 山口 裕子 P-12, P-17
 山川 けいこ P-26
 山川 誠己 P-38
 山本 昌美 P-53
 山野 莊太郎 P-63, P-67, P-90

山下 龍 P-10, P-41, P-83
 山下 聡 O-1
 山手 丈至 P-24, P-60
 山崎 雅輝 P-23
 矢本 敬 P-77
 柳原 五吉 O-2
 矢野 範男 P-27
 安原 加壽雄 P-28
 安井 由美子 P-48, P-50, P-51, P-94
 安井 雄三 P-10, P-41, P-83
 安野 弘修 P-72
 横尾 清文 P-4
 横平 政直 WS1-4, P-26
 吉田 緑 O-6, O-11, P-13, P-79
 吉田 敏則 P-5, P-8, P-9, P-89
 吉見 直己 P-45
 義澤 克彦 P-36
 湯浅 啓史 P-3, P-39
 湯浅 隆宏 P-60
 柚木 孝之 P-90
 湯澤 勝廣 P-27

Z

張 霞 P-47
 張 澤安 P-42
 Zhen Lijie P-8
 職 玉珠 P-42

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



【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>



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、ステント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/>

◎病理組織学的検査

病理組織標本作製

HE染色、特殊染色、免疫組織化学的染色、
酵素組織化学的染色（GLP対応）

病理組織学的検査

Non-GLP試験（安全性試験、薬効薬理試験等）
の実験病理組織標本作製および評価

硬組織標本作製

非脱灰、インプラント留置等の研磨標本作製



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 bseigyo@kacnet.co.jp

東京支社

〒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 tokyo3@kacnet.co.jp

◎実験動物の飼育管理の請負

◎薬理・非GLP安全性試験受託

◎研究者・技術者派遣

◎試薬・ヒト細胞提供

ヒト・各種動物組織由来製品
血液由来製品 など



KAC管理棟・病理部

生 物 科 学センター 病理部

〒520-3001
滋賀県栗東市東坂531-1
TEL: 077-558-3971
FAX: 077-558-3972
E-mail pathology@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>

非臨床試験の総合的安全性評価施設

An-pyo Center

長い経験と実績に基づく遺伝毒性試験とがん原性試験。
豊富な毒性病理学的知識に裏打ちされたメカニズム解析試験の実施。
確かな技術と信頼をベースにした皆様のパートナー

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

（財）食品農医薬品安全性評価センター

BIOSAFETY RESEARCH CENTER, FOODS, DRUGS, AND PESTICIDES

437-1213 静岡県磐田市塩新田 582-2 Tel 0538-58-1266(Main) Fax 0538-59-1293

病理組織標本作製は

さらなる進化へ

2007.3月「病理用切り出しフォルダー」新発売！
詳細はwebにて掲載しております。

<http://www.biopathology.jp/folder/folder.htm>

●組織標本作製

HE染色標本作製(複数場所試験対応GLP, 医薬品GLP, 非GLP対応など)
特殊染色標本作製(PAS, MT, Azan, LUNA, Bodian 染色など多数)
免疫組織化学染色(CD, 関連IL, 関連抗体, TUNEL, 8-OHdG, 4HNE, F4/80, etc.)
凍結切片・凍結非脱灰標本作製(脂肪染色・免疫染色対応)

病理組織標本作製および検査

株式会社 バイオ病理研究所

Biopathology Institute Co., Ltd

●組織学的検査

GLPに則し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

〒873-0511

大分県国東市国東町小原1200-2

TEL:0978-72-0454 FAX:0978-72-2320

E-Mail: mail@biopathology.jp

URL : <http://www.biopathology.jp>

●病理学的研究コンサルタント

研究企画から最終報告書まで

The Institute of Environmental Toxicology (IET)

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 年以來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

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 : info@iet.or.jp

CaHC

For Customer

ライフサイエンス サポート企業へ。

株式会社「カーク」は、『創造と努力』『誠実と感謝』を企業理念とし、
科学・医学・産業の研究・開発の発展に寄与するため
試薬をはじめ、工業薬品、検査薬、分析機器の販売を通して
顧客に貢献しています。

特に、バイオサイエンス・ライフサイエンスの
分野において、オンリーワン、ナンバーワンとしての
存在を目指しています。



株式会社 **カーク**

〒460-0002 名古屋市中区丸の内3-8-5
Tel 052-971-6533(代)
<http://www.cahc.co.jp>

愛知東営業所 0564-66-1580
岐阜営業所 058-268-8151
浜松営業所 053-431-6801
三重営業所 059-236-2531



「興味、好奇心、創造性がつまった世界 そのドアを開けてみませんか？」



まず生命から発想する —。

この創業以来培ってきた事業スタンスをベース
に、私たちは世界の人々の健康で豊かな暮らしに
貢献する画期的な新薬の創造を目指しています。

可能性の芽を育みます。

新薬の研究開発は、未知の世界から新薬の可能
性を秘めた“種”を見出し、それを有用な薬に育て
ていくという、慎重で地道なプロセスをたどります。

Communion&Collaboration

私たちは、自由な発想とオリジナリティを尊重
する風土の中から生まれる創造性を活かして、また、
たゆまぬコミュニケーションの中で互いに啓発し
合いながら、夢の創薬実現に努めています。

Communication & Collaboration

協和発酵 医薬研究センター

〒411-8731 静岡県駿東郡長泉町下土狩1188 TEL:055-989-2004 FAX:055-986-7430



歴史に学び、「今を考え」
「有り難い」ことの実現を提案します。

八神製作所は、130余年に亘り、医療の発展とともに歩んできました。
その間、医療のあり方が治療のみならず、健康開発、介護・福祉へと広がるにつれて業容を拡大。
現在は「健康開発」「疾病治療」「介護・福祉」「保守点検・修理」を4本柱として確立。
ひたすら「有り難い」ことの実現を提案します。

株式会社 八神製作所

本社/〒460-8318 名古屋市中区千代田2-16-30 TEL (052) 251-6671 (代)
URL <http://www.yagami.co.jp/>

SNBL

医薬品開発総合受託機関

株式会社 新日本科学



安全性研究所

- ・一般毒性試験
- ・生殖試験
- ・遺伝毒性試験
- ・安全性薬理試験
- ・特殊毒性試験, その他

薬物代謝分析センター

- ・薬物動態試験
- ・各種アッセイ, ホルモン測定
- ・非臨床試験試料, 臨床試験試料の分析

SNBL U.S.A., Ltd.

- ・一般毒性試験
- ・生殖試験
- ・安全性薬理試験
- その他

連絡先: 鹿児島県鹿児島市宮之浦町2438番地

TEL 099-294-2600 FAX 099-294-3619

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

私達は、その異状を見逃しません。

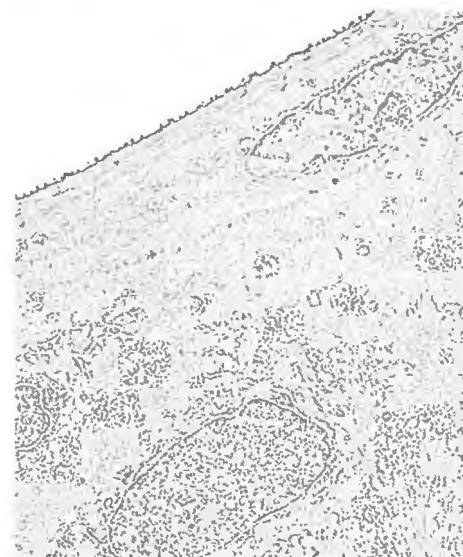
イナリサーチの病理検査は
質の高い病理組織標本と検査で
毒性試験の評価をサポートします

■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



お客様の“より良い医薬品をより早く”をサポートします



株式会社 **イナリサーチ**

www.ina-research.co.jp

〒399-4501 長野県伊那市西箕輪2148番地188

TEL 0265-72-6616 FAX 0265-72-6657

株式会社イナリサーチは、AAALAC Internationalの国内最初の完全認証施設です

■お問い合わせは

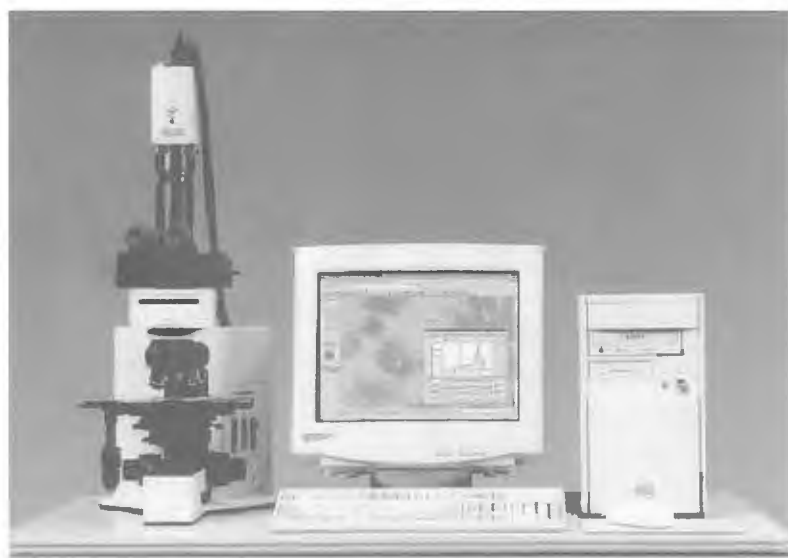
東京支所：TEL 03-5846-3525 tokyo@ina-research.co.jp

大阪支所：TEL 06-6223-1752 osaka@ina-research.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！！

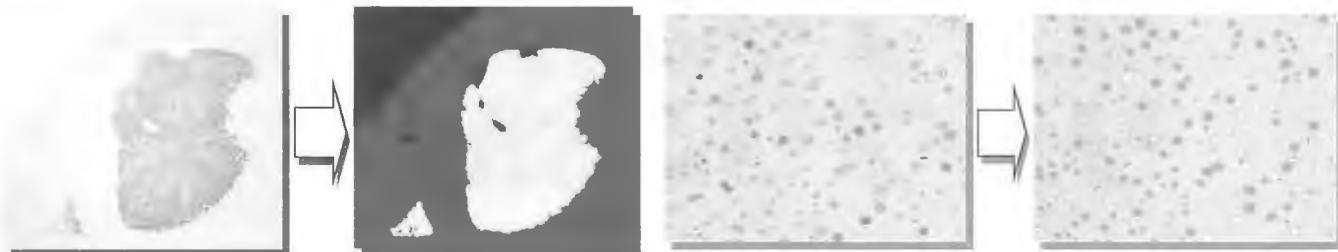


●Windows XPのOSに対応した形でバージョンアップ

1. 画像処理のスピードが従来品（パーツがなく修理対応不可）に比べ格段に早くなっています。
2. 解析画像がより鮮明になり精度の高い画像解析ができます。
3. 従来品と同様にマクロ装置（別注）からの画像取込み及び解析ができます。

●機能アップの具体例

1. 画像解析処理メニューが従来品の12種から22種に増加し、生活習慣病治療薬などの研究開発に利用できます。
2. 光学顕微鏡による画像解析に加えて蛍光顕微鏡からの画像解析も可能となっています。



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



LEUPLIN

明日も変わらぬ毎日に。

武田薬品は、自らが開発したマイクロカプセル型徐放性製剤「リュープリン」を通じて、世界の前立腺癌患者さんの治療に貢献していきたいと考えています。

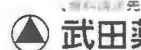
LH-RH誘導体マイクロカプセル型徐放性製剤

劇薬 指定医薬品 処方せん医薬品 (注意—医師等の処方せんにより使用すること。) 薬価基準収載

リュープリン 注射用 3.75
注射用キット 3.75
リュープリンSR 注射用キット 11.25

(注射用酢酸リュープロレリン)

◆効能・効果、用法・用量、禁忌を含む使用上の注意等は添付文書をご参照ください。



、資料請求先

武田薬品工業株式会社 〒540-6645 大阪市中央区道修町四丁目1番1号

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

Slc:WistarHannover/Rcc

日本エスエルシー株式会社は、
Slc:WistarHannover/Rccの販売を開始いたしました。

日本エスエルシー(株)は、2004年に

HanRcc:WIST(SPF)をRCC Ltd.から導入し、

生産、供給を開始いたしました。

このSlc:WistarHannover/Rccのオリジンである

HanRcc:WIST(SPF)は、RCC Ltd.で豊富な背景

データが蓄積されており、欧州での使用実績があ

る系統です。

● 毛色：アルビノ

性質温順、発育良好

長期毒性試験・生殖試験・薬理・薬効試験・

各種研究に使用されております。



日本エス エル シー株式会社

〒431-1103 静岡県浜松市西区湖東町3371番地の8

TEL(053)486-3178(代) FAX(053)486-3156

http://www.jslc.co.jp/

(Slc:WistarHannover/Rcc)に関する注文・お問い合わせは▼

営業専用

T E L

関東エリア(053)486-3155(代)

関西エリア(053)486-3157(代)

九州エリア(0942)41-1656(代)

第 24 回日本毒性病理学会講演要旨集

編 集 第 24 回日本毒性病理学会事務局
〒 467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1
名古屋市立大学大学院医学研究科
生体機能・構造医学専攻
病態病理学講座 実験病態病理学分野

責任者 白井 智之

商業展示会社ご芳名

RCC ジャパン株式会社
株式会社インターメディカル
株式会社ヴィジョンズ
株式会社エイチ・アンド・ティー
オリンパス株式会社
倉敷紡績株式会社
株式会社ケー・エー・シー
コーヴァンス・ジャパン株式会社
株式会社組織科学研究所
日本チャールス・リバー株式会社
株式会社 DIMS 医科学研究所
株式会社夏目製作所

株式会社ニチレイバイオサイエンス
日生研株式会社
日本エスエルシー株式会社
日本クレア株式会社
日本農産工業株式会社
株式会社日本ローパー
浜松ホトニクス株式会社
ハムリー株式会社
株式会社日立ハイテクノロジーズ
株式会社ファインテック 名古屋営業所
株式会社山武

広告掲載会社ご芳名

株式会社イナリサーチ
株式会社カーク
協和発酵工業株式会社 医薬研究センター
株式会社ケー・エー・シー
コーヴァンス・ジャパン株式会社
財団法人残留農薬研究所
財団法人食品農医薬品安全性評価センター
株式会社新日本科学

住化テクノサービス株式会社
株式会社組織科学研究所
武田薬品工業株式会社
株式会社 DIMS 医科学研究所
日本エスエルシー株式会社
株式会社バイオ病理研究所
株式会社八神製作所

ドリンク協賛会社ご芳名

日本コカ・コーラ株式会社
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所

森永乳業株式会社

ネームホルダー協賛会社ご芳名

大日本住友製薬株式会社 安全性研究所

書籍展示会社ご芳名

有限会社メディカルブックサービス

第 24 回日本毒性病理学会総会及び学術集会を開催するにあたり、多くの法人・会社からご協力を賜りました。ここにお名前を記して厚く感謝申し上げます。

会長 白井 智之

協賛法人・会社ご芳名

有限会社アグロトックス
旭化成ファーマ株式会社
あすか製薬株式会社
アステラス製薬株式会社 安全性研究所
アスピオファーマ株式会社
アムジェン株式会社
株式会社イワケン
エーザイ株式会社
大塚製薬株式会社
小野薬品工業株式会社
財団法人化学物質評価研究機構 日田事業所
科研製薬株式会社
株式会社化合物安全性研究所
可塑剤工業会
株式会社カネカ
キッセイ薬品工業株式会社
杏林製薬株式会社
サクラファインテックジャパン株式会社
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
三省製薬株式会社
参天製薬株式会社
株式会社三和化学研究所
シェリング・プラウ株式会社
塩野義製薬株式会社
財団法人食品薬品安全センター
シンジェンタジャパン株式会社
株式会社新日本科学
住友化学株式会社
ゼリア新薬工業株式会社
株式会社組織科学研究所
第一三共株式会社
大正製薬株式会社

大日本住友製薬株式会社 安全性研究所
大鵬薬品工業株式会社
高取器械店
武田薬品工業株式会社
田辺三菱製薬株式会社 安全性研究所
財団法人畜産生物科学安全研究所
中外製薬株式会社 富士御殿場研究所
帝人ファーマ株式会社
株式会社 DIMS 医科学研究所
富山化学工業株式会社
日本新薬株式会社
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所
中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター
株式会社日本ハイボックス
日本メジフィジックス株式会社
日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社
ノバルティスファーマ株式会社
バイエル薬品株式会社
萬有製薬株式会社
株式会社富士バイオメディックス
株式会社富士薬品 第二研究所
株式会社文祥堂 名古屋支店
ホーユー株式会社
株式会社ポーラファルマ 医薬研究所
株式会社ボゾリサーチセンター
保土谷化学工業株式会社
三井化学株式会社
持田製薬株式会社
株式会社薬物安全性試験センター
理科研株式会社
ワイス株式会社

ランチョンセミナー共催会社ご芳名

RCC ジャパン株式会社
財団法人化学物質評価研究機構
住友化学株式会社

日本エスエルシー株式会社
日本農産工業株式会社
株式会社三菱化学安全科学研究所