

# 第10回日本毒性病理学会

## 講演要旨集



1994年1月27～29日

広島

# 人へ。 胃へ。 粘液へ。

## 胃炎・胃潰瘍にセルベックス

胃炎：急性胃炎，慢性胃炎の急性増悪期



### We need Mucus.

- 胃粘液分泌により胃粘膜の再生と保護作用を示す。
- 胃炎・胃潰瘍の欠損粘膜を修復し，治癒を促進する。
- 胃炎，特にびらんの内視鏡所見の改善にすぐれる。

#### 【効能・効果】

下記疾患の胃粘膜病変（びらん，出血，発赤，浮腫）の改善  
急性胃炎，慢性胃炎の急性増悪期  
胃潰瘍

#### 【用法・用量】

通常成人，3カプセル又は細粒1.5g（テブレノンとして150mg）を1日3回に分けて食後に経口投与する。なお，年齢，症状により適宜増減する。

#### 【使用上の注意】

##### ①副作用\*

- 1) 消化器／まれに便秘，腹部膨満感，下痢，口渇，嘔気，腹痛等があらわれることがある。
- 2) 肝臓／ときにGOT，GPTが軽度上昇することがある。
- 3) 精神神経系／まれに頭痛等があらわれることがある。
- 4) 過敏症／まれに発疹，痒痒感等があらわれることがあるので，このような症状があらわれた場合には投与を中止すること。

5) その他／まれに総コレステロールの上昇，眼瞼の発赤・熱感があらわれることがある。

##### ②妊婦への投与

妊娠中の投与に関する安全性は確立していないので，妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には，治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること。

##### ③小児への投与

小児に対する安全性は確立していない（使用経験がない）。

\* 1992年1月改訂

愛に科学をそえて



エーザイ株式会社

東京都文京区小石川4-6-10

資料請求先：医薬事業部セルベックス係

胃炎・胃潰瘍治療剤

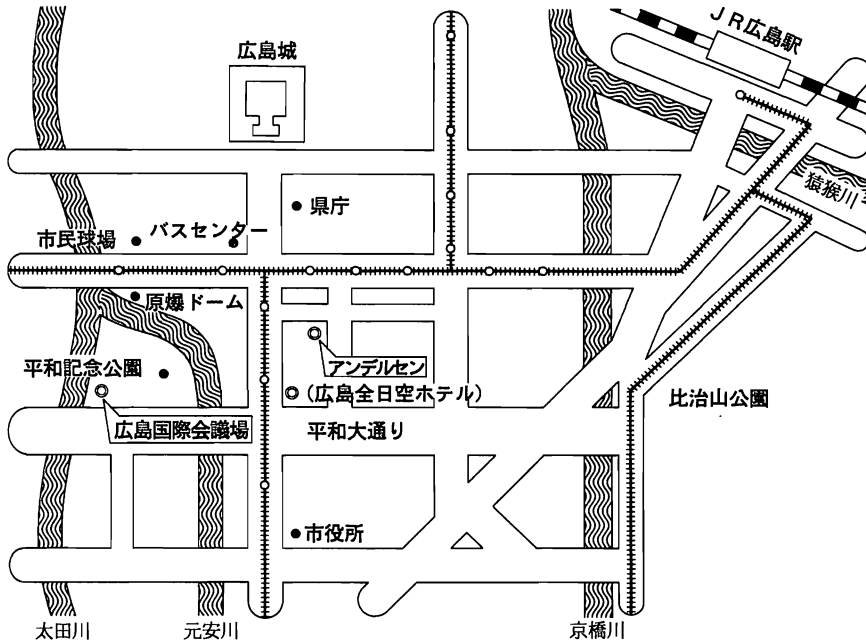
〈薬価基準収載〉

**セルベックス**<sup>®</sup>カプセル/細粒  
50mg/10%  
(テブレノン製剤)

●ご使用に際しては，添付文書をご参照ください。

B-C,9403

## 会場案内図



### JR広島駅から

市内電車	乗場：広島駅前（広島駅南口） 己斐行（②系統） 宮島行（②系統） 江波行（⑥系統） 宇品行（①系統）	原爆ドーム前 下車徒歩10分 袋町下車徒歩10分
バス	◎広島バス 乗場：広島駅南口・駅前広場3番 吉島行（②系統）平和公園前下車 ◎広島電鉄 乗場：広島駅南口・駅前広場1番 広島空港行（⑩系統）平和公園前下車	
タクシー	広島駅南口から10分 ※広島駅には、南口と新幹線口の2箇所の出口がありますが、南口からご利用下さい。	

### \*新広島空港から広島バスセンターまで

飛行機	リムジンバスで約60分	1,200円
-----	-------------	--------

学会・スライドカンファランス会場：「広島国際会議場」

広島市中区中島1-5 TEL 242-7777

懇親会会場：「アンデルセン」

広島市中区本通7-1 TEL 247-2403

評議員会会場：「広島国際会議場」ダリアの間

## 第10回日本毒性病理学会

1. 期 日 1993年1月27日(木), 28日(金), 29日(土)
2. 会 場 広島国際会議場
3. 会 長 伊藤明弘 (広島大学原爆放射能医学研究所)  
副会長 井内康輝 (広島大学医学部)  
組織委員長 渡辺敦光 (広島大学原爆放射能医学研究所)
4. プログラム委員会  
委 員 長 伊藤 明弘 (広島大・原医研)  
委 員 井内 康輝 (広島大・医)  
岡本 太郎 (広島大・原医研)  
佐久間貞重 (大阪府立大・農)  
奈良間 功 (摂南大学・薬安研)  
宮 崎 宏彰 (武田薬品・薬安研)  
渡 辺 敦光 (広島大・原医研)

(50音順)

5. 日 程  
第1日 1月27日(木)  
9:25~9:30 開会挨拶  
9:30~10:50 一般講演  
10:50~11:50 招待講演  
12:00~13:00 昼食・評議員会  
13:00~17:40 一般講演  
18:00~20:00 懇親会  
第2日 1月28日(金)  
9:00~12:00 示 説\*  
12:00~12:10 総 会  
12:10~13:00 昼 食  
13:00~15:20 一般講演  
15:20~17:30 技術セミナー  
第3日 1月29日(土)  
9:00~10:00 ワークショップ  
10:00~12:30 シンポジウム  
12:30~12:40 表彰式・閉会挨拶  
12:40~13:30 昼 食  
13:30~15:30 市民公開講座  
\*示説 展示 1月28日 9:00より17:00まで  
質疑応答 1月28日 9:00~12:00  
10:00~11:00 2分発表



6. 事務局

広島市南区霞1-2-3

広島大学原爆放射能医学研究所

放射線誘発癌研究部門

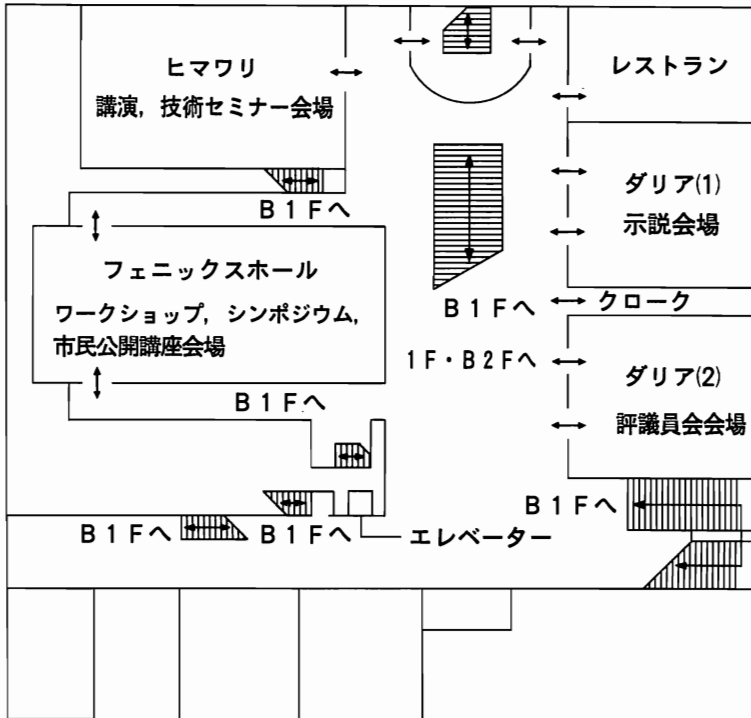
渡辺 敦光

TEL 082-251-1111 (内線3583)

FAX 082-256-7107, 082-255-8339

〈広島国際会議場〉

地下2階



## 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	一 般 講 演
1	東 京	西山保一(北里学園)	1985, 3, 25	2	0	0
2	東 京	藤原公策(東 大)	1986, 2, 7~8	1	5	29
3	名 古 屋	伊東信行(名市大)	1987, 2, 6~7	1	8	47
4	浜 松	榎本 眞(安評セ)	1988, 2, 5~6	1	7	55
5	横 浜	蟹澤成好(横市大)	1989, 1, 27~28	1	6	53
6	札 幌	板倉智敏(北 大)	1990, 2, 13~14	1	6	80
7	東 京	林 裕造(国立衛試)	1991, 1, 17~18	1	ミニシンポジウム 20 一 般 演 題 53	
8	奈 良	小西陽一(奈良医大)	1992, 1, 23~24	1	ミニシンポジウム 17 ワークショップ 2 一 般 演 題 71	
9	東 京	土井邦雄(東 大)	1993, 1, 21~22	2 (含招待 講演)	4	126
10	広 島	伊藤明弘(広 大)	1994, 1, 27~29	1	シンポジウム 6 技術セミナー 4 ワークショップ 6 市民公開講座 2 一 般 演 題 136	

## 参加者へのお願い

### 参加者の方へ

1. 受付で**参加費**（7,000円）を納入して参加章を受取り、氏名・所属を記入のうえ会期中は必ず左胸につけて下さい。
2. 受付は学会3日間とも午前8時45分から国際会議場地下2階ロビーにて行います。  
（開場は8時45分からです）。
3. 質問・討論される方は、座長の指示に従って所属と氏名を述べ発言して下さい。

### 演者の方へ

1. 一般講演の講演時間は8分（7分に予告）、討論時間は2分です。
2. プロジェクターは35mm判用を1台用意します。
3. スライドは講演開始20分前までに会場入口のスライド受付に提出して下さい。  
なお、スライドは20枚以内をお願いします。
4. 次演者の方は次演者席（会場の左端最前列）にお着き下さい。
5. 講演時間は厳守して下さい。

### 座長の方へ

1. 次座長の方は次座長席（会場の右端最前列）にお着き下さい。
2. 持ち時間の範囲内で司会をお願いします。

### 総会および評議員会のご案内

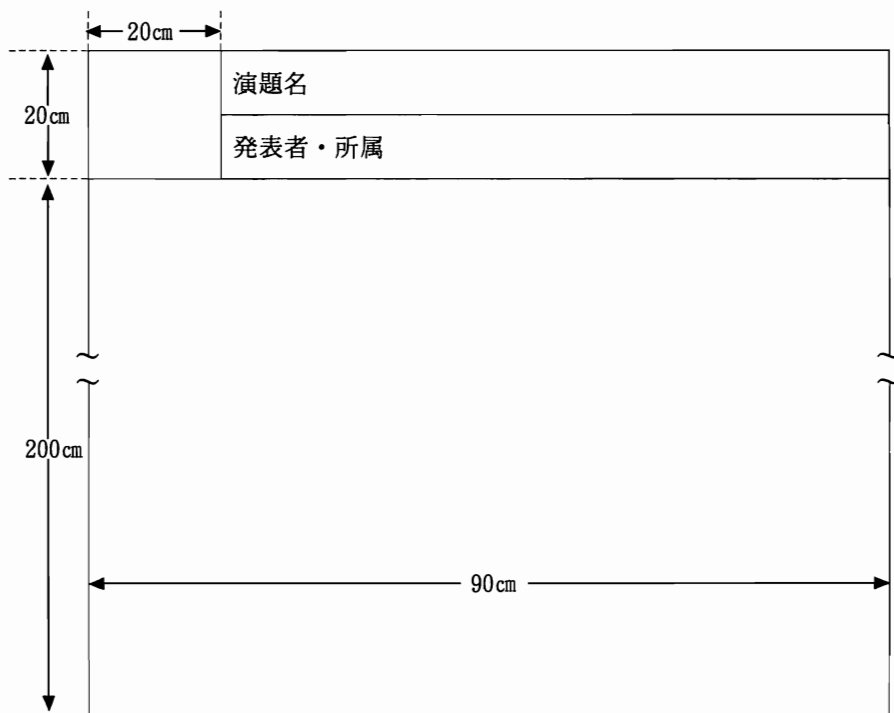
1. 総会は学会第2日の12時00分よりヒマワリにて行います。
2. 評議員会は学会第1日の12時00分よりダリアにて行います。（昼食は有料で用意します）

### 懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第1日の18時から20時までアンデルセン（本通り）にて開催します。
2. 懇親会へ出席の方は学会第1日17時までに学会会場受付にてお申し込み下さい。  
**会費は7,000円**です（学生5,000円）。
3. 学会会場のクロークは18時で閉鎖しますので、以降は懇親会会場（アンデルセン）のクロークをご利用下さい。

### 示説をされる方へ

1. 示説の受付は8時45分より示説会場入口にて行いますので、当日9時00分までに受付と展示を済ませて下さい。
2. 展示時間は9時～17時ですが、9時～12時の間発表者は必ず会場に居て参加者からの質疑に応じて下さい（10時より11時まで2分間座長つきで口演発表）。
3. パネルの大きさは縦200cm、横90cmです（下図参照 — 初めの案内の時と大きさが異っています。御注意下さい）。
4. 展示には学会で用意した画紙などを使用して下さい。
5. 演題名、発表者氏名、所属の表題を下図の要領に従って作成し、持参・展示して下さい（演題番号は主催者で用意します）。



# 招待講演, 技術セミナー, ワークショップ, シンポジウムと市民公開講座プログラム

## 招待講演

- 第1日 (1月27日会場ダリア) 10:50 ~ 11:50 司会 田原 榮一 (広大・医)  
Chemoprevention of mammary cancer by monoterpenes ..... 1  
Michael N. GOULD (ウィスコンシン大)

## 技術セミナー

- 第2日 (1月28日会場ダリア) 15:20 ~ 17:30 司会 森脇 和郎 (国立遺伝研)  
渡辺 敦光 (広大・原医研)
- 新しい動物実験法
- T-1. キメラマウスを用いての実験病理学 ..... 5  
深見博子, 立松正衛 (愛知がんセ・1病理)
- T-2. トランスジェニックマウスを用いての研究 ..... 6  
相沢慎一 (理研・筑波セ)
- T-3. コンジェニックマウスと生物機能モデル ..... 7  
森脇和郎 (国立遺伝研)
- T-4. Restriction landmark genomic scanning (RLGS) 法とそれを用いた機能遺伝子の探索 ..... 8  
林崎良英 (理研・筑波セ)

## ワークショップ

- 第3日 (1月29日会場フェニックスホール) 9:00 ~ 10:00  
抄録集に見られたトピックス 司会 小西 陽一 (奈良医大・がんセ)  
今井 清 (食安セ)
- W-1. LPSを投与したラット骨髄における巨核球のemperipoiesis .....142  
(P-76) ○田中雅治, 阿瀬善也, 成田牧子, 森 英明, 柳 浩由紀, 板垣伊織,  
下内孝司, 藤田常夫 (小野薬品・福井安全研)

- W-2. SHR 大動脈におけるヒドロキシラジカル障害の形態学的検討……………67  
(P-1) ○鳥井幹則<sup>1</sup>, 井上 知<sup>1</sup>, 丸山敏之<sup>1</sup>, 古川 仁<sup>1</sup>, 村岡義博<sup>1</sup>,  
伊藤浩行<sup>2</sup> (<sup>1</sup>塩野義・新薬研, <sup>2</sup>近畿大・医・1病理)
- W-3. 強直性痙攣を呈したチオフェン中毒ラットにおける Fos 蛋白様免疫反応性  
……………144  
(P-78) ○森 文秋, 高屋豪瑩 (弘前大・脳研・神経病理)
- W-4. B6C3F<sub>1</sub>マウス自然発生肝細胞腫瘍における c-H-ras codon 61 の点突然変異  
……………100  
(P-34) ○森 郁生, 林 新茂, 堀之内彰, 野々山孝, 宮嶋宏彰  
(武田薬品・薬安研)
- W-5. パソコン・ネットワークによる毒性病理コンピューターシステムⅡ-安全性  
システムへの発展と今後の方向性- ……………152  
(P-86) ○下地尚史<sup>1</sup>, 牧之瀬俊彦<sup>1</sup>, 小笠原裕之<sup>1</sup>, 村上久子<sup>1</sup>, 村田晃子<sup>1</sup>,  
星谷 達<sup>2</sup>, 高木英利<sup>1</sup> (<sup>1</sup>日本レダリー・生物研, <sup>2</sup>ボゾリサーチセ・  
御殿場研)
- W-6. 画像処理技術を利用した病変定量解析システムの開発 ……………153  
(P-87) ○渡辺知幸<sup>1</sup>, 桂 泰典<sup>1</sup>, 吉武 彬<sup>1</sup>, 政瀧浩和<sup>2</sup>, 森 健<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>住友化学・生科研, <sup>2</sup>住友金属・情報通信)

## シンポジウム

第3日 (1月29日会場フェニックスホール) 10:00 ~ 12:30

司会 井内 康輝 (広大・医・病理)

今井田克己 (名市大・医・病理)

化学物質による呼吸器病変の発生とその修飾

- S-1. マスタードガス障害によるヒト肺癌とその前癌性病変 …………… 9  
井内康輝 (広大・医・2病理)
- S-2. MNU による実験的家兔肺門型肺癌の作製とその抑制 …………… 10  
○山岡直樹, 長谷川健司, 山木戸道郎 (広大・医・2内科)



S-3. 気道幹細胞分化とレチノイド 蟹沢成好（横浜市大・医・1病理）	11
S-4. レチノイドによる肺線維化の抑制 小形岳三郎（筑波大・基礎医・病理）	12
S-5. 実験の間質性肺炎と肺癌発生 三森国敏（国立衛試・病理）	13
S-6. アスベストによる実験肺癌 ○君塚五郎 <sup>1</sup> , 林 豊 <sup>2</sup> (千葉大・ <sup>1</sup> 看護・病態, <sup>2</sup> 同・医・肺癌研病理)	14
副会長 閉会のあいさつ	

## 市民公開講座

第3日（1月29日会場フェニックスホール）13:30～15:30

21世紀の環境科学と毒性病理

司会 伊藤 明弘（広大・原医研）

緒方 幸江（FM広島）

発ガン物質について－ガンから身を守るために－ 伊東信行（名市大・医・1病理）	15
環境を汚しているのは貴方です 北野 大（化学品検査協会企画管理部）	15

後援 広島市

中国新聞社

株式会社中国放送

協賛 大塚製薬

全国味噌中央研究所

# 一般演説プログラム

第1日(1月27日, 会場ダリア)

\*発表者は35才以下  
○印発表者

9:25 会長 開会のあいさつ

9:30 ~ 9:50 座長 宮嶋宏彰(武田薬品・薬安研)

1. クロロホルムの13週間全身暴露による F344 ラット及び BDF<sub>1</sub> マウスの鼻腔病変 ..... 17  
○相磯成敏<sup>1</sup>, 櫻 ゆみ<sup>1</sup>, 妹尾英樹<sup>1</sup>, 片桐 卓<sup>1</sup>, 長野嘉介<sup>1</sup>, 山内勝彦<sup>1</sup>, 松本道男<sup>1</sup>,  
奥平雅彦<sup>1</sup>, 榎本 眞<sup>2</sup> (<sup>1</sup>日本バイオアッセイ研究セ, <sup>2</sup>安評セ)
2. 1, 4-Dioxane の長期間経口投与によるラットの鼻腔病変 ..... 18  
○妹尾英樹<sup>1</sup>, 櫻 ゆみ<sup>1</sup>, 片桐 卓<sup>1</sup>, 相磯成敏<sup>1</sup>, 長野嘉介<sup>1</sup>, 山内勝彦<sup>1</sup>, 松本道男<sup>1</sup>,  
奥平雅彦<sup>1</sup>, 榎本 眞<sup>2</sup> (<sup>1</sup>日本バイオアッセイ研究セ, <sup>2</sup>安評セ)

9:50 ~ 10:10 座長 永田良一(新日本化学)

3. Butylated hydroxytoluene (BHT) のN-Ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine (EHEN) によるマウス肺腫瘍発生に及ぼす影響 ..... 19  
○林 功, 小西 登, 北堀吉映, 日浅義雄(奈良医大・2病理)
4. ハムスターにおける MNUR 誘発肺増殖性病変と肺線維化巣との関連性 ..... 20  
○安原加壽雄, 三森国敏, 吉村博之, 小野寺博志, 下 武男, 高橋道人, 林 裕造  
(国立衛試・病理)

10:10 ~ 10:40 座長 高橋道人(国立衛試・病理)

5. ビタミン C と亜硝酸の複合投与によるラット前胃発癌の促進 ..... 21  
○木村重紀, 吉田康則, 矢田英昭, 玉野静光, 今井田克己, 広瀬雅雄  
(名市大・医・1病理)
6. WF-大阪ラットの伝播性大腸癌について ..... 22  
○今木正文, 赤井啓二, 宮本 誠(阪大・病院・病理)
7. キメラマウス肛門部癌の系統特異抗体による検索 ..... 23  
○山本昌美<sup>1</sup>, 深見博子<sup>1</sup>, 岩田 仁<sup>1</sup>, 増井恒夫<sup>1</sup>, 日下部守昭<sup>2</sup>, 坂倉照好<sup>2</sup>,  
立松正衛<sup>1</sup> (<sup>1</sup>愛知がんセ・1病理, <sup>2</sup>理研・筑波セ)

—— 昼 食 ——

13 : 00 ~ 13 : 30 座長 松沼尚史 (三共・安全研)

8. ラットにおけるバリリン欠乏アミノ酸インバランスの脂肪肝に関する病理学的検討  
..... 24  
○小松博道, 西平哲郎, 標葉隆三郎, 佐川純司, 中野達也, 星野 彰, 吉田和哉,  
森 昌造 (東北大・医・2外科)
9. ジクロロベンゼン3種異性体 (o-, m-, p-DCB) によるマウス肝細胞増殖  
..... 25  
○梅村隆志, 斎藤 実, 高木篤也, 黒川雄二 (国立衛試・毒性)
10. ラット肝におけるN-nitrosodiethylamine (DEN) により誘発される酵素変倚小増殖に対する硝酸鉛及び四塩化炭素の増殖に対する影響  
..... 26  
○遠藤武弘<sup>1</sup>, 傳田阿由美<sup>1</sup>, 安藤信明<sup>1</sup>, 野口 修<sup>1</sup>, 吉田順一<sup>1</sup>, 高島吉治<sup>1</sup>,  
水本靖士<sup>1</sup>, 中江 大<sup>1</sup>, Amedeo COLUMBANO<sup>2</sup>, 小西陽一<sup>1</sup> (<sup>1</sup>奈良医大・がん  
セ・腫瘍病理, <sup>2</sup>Univ. Cagliari, Italy)

13 : 30 ~ 14 : 00 座長 板垣慎一 (東大・農・実験動物)

11. WY-14, 643 および Sodium Phenobarbital 投与ラットにおける肝細胞増殖動態の経時的変化  
..... 27  
○小林 潔, 土屋毅幸, 藤田重晴, 務台 衛 (三菱化成・総研・病理)
12. Clofibric Acid 投与によるラット培養肝細胞の増生抑制効果  
..... 28  
○田中浩二<sup>1</sup>, 河村清次<sup>2</sup>, 松本浩良<sup>1</sup>, 土井邦雄<sup>2</sup> (<sup>1</sup>萬有・開発研, <sup>2</sup>東大・農・実験動物)
13. 脾臓に移植したラット肝 GST-P 陽性細胞巣に対するクロフィプレートの影響  
..... 29  
○溝口靖基<sup>1</sup>, 立松正衛<sup>2</sup>, 加藤俊男<sup>1</sup>, 河部真弓<sup>1</sup>, 広瀬雅雄<sup>1</sup>, 伊東信行<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名市大・  
医・1病理, <sup>2</sup>愛知がんセ・1病理)

14 : 00 ~ 14 : 30 座長 傳田阿由美 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

14. コーン油及びラードのイニシエーション期投与による azoxymethane (AOM) 誘発肝発癌への修飾効果  
..... 30  
○杉江茂幸<sup>1</sup>, 岡本清尚<sup>1</sup>, 田中卓二<sup>1</sup>, 森 秀樹<sup>1</sup>, B.S.REDDY<sup>2</sup> (<sup>1</sup>岐阜大・医・病  
理, <sup>2</sup>Naylor Dana Inst., Am. Health Found.)
15. ユリ科食用植物に含まれる有機イオウ化合物の肝発癌修飾作用: 中期発癌性試験法 (ラット肝癌モデル) による検討  
..... 31  
○高田信康<sup>1</sup>, 松田 勉<sup>1</sup>, 大鳥和彦<sup>1</sup>, 岩田裕之<sup>1</sup>, 矢野善久<sup>2</sup>, 大谷周造<sup>2</sup>, 福島昭治<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>大阪市大・医・1病理, <sup>2</sup>同・医・2生化)
16. Study on the inhibitory effects of diallylsulfide and/or diallyldisulfide in the rat hepatocarcinogenesis  
..... 32  
Yong-Soon LEE, ○Bao-Hwan KIM, Kyung-Sun KANG, Jae-Jin CHO,  
Kwang-Won SEO, Ki-Hoem NAM, Sung-Keun KANG (Coll. of Vet. Med.,  
Seoul Nat'l Univ., Korea )

14:30 ~ 15:00 座長 野々山 孝 (武田薬品・薬安研)

17. マウス肝炎ウイルスおよび化学物質による肝発癌の研究 ..... 33  
姜鍾求<sup>1</sup>, 金在鉉<sup>1</sup>, 金大中<sup>2</sup>, 李榮純<sup>1</sup>, 李俊燮<sup>3</sup> (<sup>1</sup>忠北大・獣医・婦人, <sup>2</sup>国立保健安全研, <sup>3</sup>ソウル大・獣医)
18. 肝部分切除後における化学物質のイニシエーション活性 ..... 34  
○湯浅啓史<sup>1,2</sup>, 手塚則明<sup>2</sup>, 岩田 仁<sup>2</sup>, 増井恒夫<sup>2</sup>, 川合是彰<sup>1</sup>, 立松正衛<sup>2</sup> (<sup>1</sup>田辺製薬安全研, <sup>2</sup>愛知がんセ・1 病理)
19. ビタミン E の発癌に及ぼす作用 ..... 35  
○新田由美子<sup>1</sup>, 神谷研二<sup>2</sup>, 丹羽太貫<sup>2</sup> (<sup>1</sup>広大・原医研・資料センター, <sup>2</sup>同・病理)

15:00 ~ 15:20 座長 森 秀樹 (岐阜大・医・病理)

20. コリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食によるラット肝発癌に対するエチオニンの増強効果 ..... 36  
○小林永策, 辻内俊文, 中江 大, 水本靖士, 堀口浩資, 野口 修, 天沼利宏, 傳田阿由美, 堤 雅弘, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
21. ECD 食で誘発されたラットの胆管腫瘍 ..... 37  
○蛭間正巳<sup>1</sup>, 小野晃弘<sup>1</sup>, 新井 徹<sup>1</sup>, 関あずさ<sup>1</sup>, 栗原 毅<sup>2</sup> (<sup>1</sup>実生研, <sup>2</sup>東京女子医大)

15:20 ~ 15:40 座長 土谷 稔 (三菱化成・安全研)

22. アドリアマイシン誘導体による肝毒性の検討 (第3報) ..... 38  
ー類洞壁細胞特にクッパー細胞に対する毒性ー  
○川畑好之康, 安藤信明, 柏原純一, 園田崇倫, 野原正志, 若松智恵美, 坪田裕子, 岩井正和 (ミドリ十字・安全研)
23. In vitro エストロジェン添加による Kupffer 細胞の膜抗原変化およびその細胞動態 ..... 39  
○井上 知, 鳥井幹則, 丸山敏之, 古川 仁, 村岡義博 (塩野義・新薬研)

15:40 ~ 16:00 座長 西川秋佳 (国立衛試・病理)

24. カルメロースナトリウムの非経口投与による伊東細胞の変化 ..... 40  
○桑村有規, 川合是彰 (田辺製薬・安全性研)
25. ハムスターおよびラット肺発癌プロモーション過程における CV-3611 の修飾効果 ..... 41  
○堀口浩資, 堤 雅弘, 中江 大, 辻内俊文, 小林永策, 白岩和巳, 野口 修, 天沼利宏, 吉田順一, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

**16:00 ~ 16:30 座長 代田欣二 (麻布獣・病理)**

26. アンギオテンシン転換酵素阻害剤投与によるベージュラット (Chediak-Higashi 症候群モデル) の糸球体傍細胞の変化 ..... 42  
○尾崎清和, 前田 博, 奈良間 功 (摂南大学)
27. ベニコウジ色素 (Monascus color) によるラット腎障害について ..... 43  
○北堀吉映, 小西 登, 林 功, 日浅義雄 (奈良医大・2 病理)
28. ラット腎臓における好塩基性尿細管の発生病理 ..... 44  
○山本恵司, 佐々木啓, 山本好一, 宮嶋宏彰 (武田薬品・薬安研)

**16:30 ~ 16:50 座長 日浅義雄 (奈良医大・病理)**

29. Adenine のラット腎細胞腫発生に対するプロモーション作用 - 長期血液透析腎類似の多嚢胞腎モデルにおける腫瘍発生の解析 ..... 45  
○津田洋幸<sup>1</sup>, 松本和幸<sup>2</sup>, 伊藤充哉<sup>2</sup>, 廣野 巖<sup>2</sup> (<sup>1</sup>国立がんセ・研, <sup>2</sup>藤田保健衛生大・医・2 病理)
30. LEC ラットにおける自然発生腎腫瘍 ..... 46  
○北浦敬介<sup>1</sup>, 長根芳文<sup>1</sup>, 鈴木泰夫<sup>2</sup>, 泉 啓介<sup>1</sup>, (<sup>1</sup>徳島大・医・2 病理, <sup>2</sup>同・衛生)

**16:50 ~ 17:10 座長 佐久間貞重 (大阪府大・農・獣医病理)**

31. bisacodyl 投与によるラット膀胱結石の形成機序についての検討 ..... 47  
○豊田和弘, 松井 元, 畝山智香子, 古田京子, 川西 徹, 今沢孝喜, 高橋道人 (国立衛試・病理)
32. ラット膀胱発癌過程における血管新生の病理学的解析 ..... 48  
○鰐淵英機, 高田信康, ヨセフ・エミール, 山本晋史, 福島昭治 (大阪市大・医・1 病理)

**17:10 ~ 17:40 座長 長谷川良平 (名市大・病理)**

33. ラットにおける膀胱発癌プロモーターと  $\alpha_2\text{u}$  グロブリンの関係 ..... 49  
○村井 隆<sup>1</sup>, 大年辰幸<sup>1</sup>, 董 逸敏<sup>1</sup>, 森 聖<sup>2</sup>, 大原忠雄<sup>2</sup>, 牧野 進<sup>2</sup>, 福島昭治<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>大阪市大・医・1 病理・<sup>2</sup>塩野義・油日ラボ)
34. ラット膀胱発癌プロモーションにおける脂肪酸の関与 ..... 50  
○北野光昭<sup>1</sup>, 森 聖<sup>2</sup>, 村井 隆<sup>1</sup>, 細野素子<sup>2</sup>, 福島昭治<sup>1</sup> (<sup>1</sup>大阪市大・医・1 病理, <sup>2</sup>塩野義・油日ラボ)
35.  $\text{NaHCO}_3$  のラット膀胱発癌 promotion 作用に対する L-ascorbic acid の co-promotion 作用 ..... 51  
○岩田裕之<sup>1</sup>, 山本晋史<sup>1</sup>, 鰐淵英機<sup>1</sup>, 林 修司<sup>1</sup>, 湯浅 勲<sup>2</sup>, 大谷周造<sup>2</sup>, 福島昭治<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>大阪市大・医・1 病理, <sup>2</sup>同・2 生化)

第2日(1月28日)

13:00 ~ 13:30 座長 花田貴宣(山之内製薬・安全研)

36. ビタミンD<sub>2</sub>とコレステロール投与によるラット心筋および心血管系への影響  
..... 52  
○恒成一郎<sup>1</sup>, 桑村 充<sup>2</sup>, 山手丈至<sup>2</sup>, 小谷猛夫<sup>2</sup>, 佐久間貞重<sup>2</sup>(<sup>1</sup>日本ペーリンガーインゲルハイム, <sup>2</sup>大阪府立大)
37. 経産・哺育がWistar系雌ラットに及ぼす影響について  
..... 53  
○吉田 緑, 真田靖幸, 鈴木礼子, 藤井享子, 外尾亮治(動物繁殖研)
38. ヘテロサイクリックアミン PhIP および IQ 投与による発癌非標的臓器に対する影響  
..... 54  
○佐野真士, 今井田克己, 加藤俊男, 小川久美子, 白井智之, 伊東信行(名市大・医・1病理)

13:30 ~ 14:00 座長 土井邦雄(東大・農・実験動物)

39. 脳機能改善薬 nefiracetam によるラット精巢障害の病理組織学的研究  
..... 55  
○神藤敏正, 稲毛富士郎, 加藤道幸, 高山 敏(第一製薬・開発研・安全研セ)
40. 1, 3-dinitrobenzene によるセルトリ細胞障害の精子形成サイクルに及ぼす影響  
..... 56  
○松井 元, 豊田和弘, 畝山智香子, 古田京子, 古川文夫, 川西 徹, 高橋道人(国立衛試・病理)
41. ラット子宮内膜における性周期及び加齢による細胞増殖動態の変動  
..... 57  
○安藤(路)進, 西山 寛, 高野智司, 北村 毅, 鈴木謙二, 高橋正一, 前川昭彦(佐々木研・病理)

14:00 ~ 14:30 座長 前川昭彦(佐々木研・病理)

42. ラットの甲状腺増殖性病変の発生・進展と血中 TSH 値の関連性  
..... 58  
○小野寺博志<sup>1</sup>, 三森国敏<sup>1</sup>, 高橋正一<sup>2</sup>, 安原加壽雄<sup>1</sup>, 下 武男<sup>1</sup>, 高橋道人<sup>1</sup>, 林 裕造<sup>1</sup>(<sup>1</sup>国立衛試・病理, <sup>2</sup>佐々木研・病理)
43. 5-Fluorouracil (5-FU) のマウスにおける胎児胸腺細胞分化に与える影響-細胞表面マーカーによる解析-  
..... 59  
○井上智彰, 金崎寛子, 堀井郁夫(日本ロシュ・研・毒性病理)
44. ピペロニル・プトキサイド4週間投与ラットのリンパ・造血組織についての免疫組織化学的観察  
..... 60  
○下 武男, 三森国敏, 北浦敬介, 小野寺博志, 安原加壽雄, 高橋道人(国立衛試・病理)



14:30 ~ 15:00 座長 奈良間功 (摂南大・薬安研)

45. 5-Azacytidine 投与妊娠マウスの胎仔に認められた中枢神経系のアポトーシス  
..... 61  
○Mokbul Md. HOSSAIN, 中山裕之, 後藤直彰 (東大・獣医病理)
46. アクリルアミド投与による末梢神経病変—正常ニホンウズラとニューロフィラメント欠損系  
ウズラにおける変化の比較— ..... 62  
○高橋明美<sup>1</sup>, 水谷 誠<sup>2</sup>, 板倉智敏<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大・獣医・比較病理, <sup>2</sup>日生研)
47. Diethyl dithiocarbamate 投与ラットにおける運動終板の超微形態学的観察  
..... 63  
○今沢孝喜, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加壽雄, 下 武男, 西川秋佳, 高橋道人 (国  
立衛試・病理)
- 15:00 ~ 15:20 座長 板倉智敏 (北大・獣・比較病理)
48. ラットにおけるステロイド性骨粗鬆症モデルの作成 ..... 64  
○山崎秀樹, 佃 良一, 永井博文 (武田薬品・薬安研)
49. SD 系老齢ラットの大腿骨遠位端にみられた関節病変 ..... 65  
○中澤素邦, 俵谷武治, 吉田 勝, 内本啓史, 河南明孝, 吉田 陽, 上田 誠,  
鷺見信好 (日本新薬・安全研)

# 示説プログラム

第2日(1月28日, 会場ヒマワリ)

9:00 ~ 12:00

示説 I (10:00 ~ 11:00) 座長 北村 均(横浜市大・医・病理),  
平井圭一(金沢医大・解剖)

- P-1. SHR 大動脈におけるヒドロキシラジカル障害の形態学的検討 ..... 67  
○鳥井幹則<sup>1</sup>, 井上 知<sup>1</sup>, 丸山敏之<sup>1</sup>, 古川 仁<sup>1</sup>, 村岡義博<sup>1</sup>, 伊藤浩行<sup>2</sup>(<sup>1</sup>塩野義・新薬研, <sup>2</sup>近畿大・医・1病理)
- P-2. Histopathological study of the effect of selenium and Verapamil on cardiac lesions induced by Adriamycin in rats. .... 68  
○Joon Sup LEE, Sang Yoon NAM, Sang Sup NAHM, Je Kyung SEONG, Cheol Beom PARK(Coll. of Vet. Med., Seoul Nat'l. Univ., Korea)
- P-3. \*毒性試験におけるビーグル犬の自然発生病変-イヌ多発性動脈炎症候群- ..... 69  
○森島英喜, 佐々木啓, 宮嶋宏彰(武田薬品・薬安研)
- P-4. \*MeA $\alpha$ C投与によるマウス皮下血管肉腫の病理組織学的検討 ..... 70  
○宮田恵美子, 内藤初美, 長谷川良平, 柴田雅朗, 田中 光, 伊東信行(名市大・医・1病理)
- P-5. \*F344 ラットの鼻咽頭管増殖性病変におけるがん関連遺伝子の解析 ..... 71  
○林 新茂, 堀之内彰, 森 郁生, 野々山孝, 宮嶋宏彰(武田薬品・薬安研)
- P-6. \*F-344 ラット気管の同系背部移植による粘液細胞過形成・過分泌モデルの確立 ..... 72  
○浅野 哲<sup>1,3</sup>, 稲山嘉明<sup>2</sup>, 三橋弘明<sup>3</sup>, 金子英志<sup>3</sup>, 武田利明<sup>3</sup>, 宇野 洋<sup>3</sup>, 伊沢義弘<sup>3</sup>, 蟹沢成好<sup>1</sup>(<sup>1</sup>横市大・医・1病理, <sup>2</sup>同・病院・病理, <sup>3</sup>帝人・医薬開発研究所)
- P-7. \*ヒト好中球エラスターゼにより誘発した気道粘液細胞過形成/粘液過分泌モデルの確立 ..... 73  
○稲山嘉明<sup>1</sup>, 浅野 哲<sup>1,2</sup>, 山中義弘<sup>2</sup>, 武田利明<sup>2</sup>, 宇野 洋<sup>2</sup>, 伊沢義弘<sup>2</sup>, 北村 均<sup>1</sup>, 蟹沢成好<sup>1</sup>(<sup>1</sup>横市大・医・1病理, <sup>2</sup>帝人・医薬開発研究所)
- P-8. \*抗酸化剤のプレオマイシン経気管投与誘発ハムスター肺線維症に対する抑制効果 ..... 74  
○榎並倫宣<sup>1</sup>, 西川秋佳<sup>1</sup>, 古川文夫<sup>1</sup>, 三井雅之<sup>1</sup>, 今沢孝喜<sup>1</sup>, 畝山智香子<sup>1</sup>, 福島昭治<sup>2</sup>, 高橋道人<sup>1</sup>(<sup>1</sup>国立衛試・病理, <sup>2</sup>大阪市大・医・1病理)

P-9.	播種性転移と層板状構造物を特徴とする細気管支／肺胞上皮癌と考えられる胸腔内腫瘍の1例	75
	○山川誠己, 山本慎二, 三上真一, 岩田 聖 (安評セ)	
P-10.	*ウレタン誘発肺腫瘍モデルにおける K-ras 遺伝子の点突然変異	76
	○川野亮二, 金子真弓, 栗原寛治, 武島幸男, 有広光司, 井内康輝 (広大・医・2病理)	
<b>示説 II (10:00 ~ 11:00) 座長 二木力夫 (中外製薬・信州伊那研),</b>		
<b>津田洋幸 (国立がんセ・研)</b>		
P-11.	前胃粘膜肥厚マウスにおける butylated hydroxyanisole (BHA) の前胃発癌性の有無	77
	○森 聖 <sup>1</sup> , 細野素子 <sup>1</sup> , 富田喜久雄 <sup>1</sup> , 大原忠雄 <sup>1</sup> , 牧野 進 <sup>1</sup> , 村井 隆 <sup>2</sup> , 福島昭治 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 塩野義・油日ラボ, <sup>2</sup> 大阪市大・医・1病理)	
P-12.	イヌ胃粘膜に対する食塩の影響-II. 単回投与による初期病変	78
	○三沢保幸, 海野正子, 伊藤恒夫, 杉本哲朗, 二木力夫 (中外製薬・安全研)	
P-13.	*ラット胃粘膜における自然発生性腸上皮化生の細胞分化	79
	○今井俊夫 <sup>1,2</sup> , 福田種男 <sup>1</sup> , 本岡 覚 <sup>1</sup> , 中野渡純一 <sup>1</sup> , 岩田 仁 <sup>2</sup> , 立松正衛 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> エーザイ・安全研, <sup>2</sup> 愛知がんセ・1病理)	
P-14.	ACI ラットを用いた胃の腸上皮化生	80
	○安東保海, 渡辺敦光, 岡本太郎, 山田和正, 伊藤明弘 (広大・原医研・癌)	
P-15.	*低カタラーゼマウス胃部X線照射並びにMNU投与による胃粘膜の印環細胞癌誘発	81
	○札幌保宏, 渡辺敦光, 安東保海, 山田和正, 栗栖和信, 松田正裕, 岡本太郎, 伊藤明弘 (広大・原医研・癌)	
P-16.	*中期発癌試験法における22-oxacalcitriol (OCT) の発癌抑制作用の検討	82
	○大年辰幸 <sup>1,2</sup> , 鰐淵英機 <sup>1</sup> , 岩田裕之 <sup>1</sup> , 西澤良記 <sup>2</sup> , 森井浩世 <sup>2</sup> , 福島昭治 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 大阪市大・医・1病理, <sup>2</sup> 同・2内科)	
P-17.	*マウスを用いた DMH 誘発大腸腫瘍の初期像	83
	○久米村恵 <sup>1</sup> , 齋藤高雄 <sup>1</sup> , 木村弘之 <sup>1</sup> , 清水精一 <sup>1</sup> , 渡辺敦光 <sup>2</sup> , 伊藤明弘 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 大塚製薬・佐賀研, <sup>2</sup> 広大・原医研・癌)	
P-18.	*Azoxymethane 誘発ラット腸管発癌に対する costunolide の抑制効果	84
	○川森俊人, 田中卓二, 森 秀樹 (岐阜大・医・1病理)	
P-19.	*ラット盲腸に好発する肉芽腫性病変	85
	○五藤裕子, 永谷真理子, 中村 厚, 星谷 達, 堀口浩資, 玉井幸子, 合川孝幸, 田村一利 (ボゾリサーチセ・病理)	

示説 Ⅲ (10:00 ~ 11:00) 座長 後藤直彰 (東大・農・獣医病理),  
堤 雅弘 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

P-20. 発生過程におけるラット肝内胆管の免疫組織化学的およびレクチン組織化学的観察 ..... 86  
 ○三善隆広<sup>1</sup>, 吉田一晴<sup>1</sup>, 木澤和夫<sup>1</sup>, 河村泰仁<sup>1</sup>, 児玉卓也<sup>1</sup>, 佐々木素子<sup>2</sup>,  
 寺田忠史<sup>2</sup>, 中沼安二<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>富山化学・安全性研, <sup>2</sup>金沢大学・医・2病理)

P-21. F344ラット肝臓に対する clofibrate の作用 雌雄間の感受性差に対する週齢の影響 ..... 87  
 ○矢本 敬<sup>1,2</sup>, 古川忠司<sup>1</sup>, 真鍋 淳<sup>1</sup>, 高岡雅哉<sup>1</sup>, 寺西宗広<sup>1</sup>, 松沼尚史<sup>1</sup>,  
 牧田登之<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>三共・安全研, <sup>2</sup>山口大・農)

P-22. \*Azaserine 単回投与によるラット膵臓の病理組織学的変化の検討  
 - 腺房細胞の Apoptosis の発現と細胞増殖動態について - ..... 88  
 ○土屋毅幸, 小林 潔, 後藤和広, 杉本次郎, 務台 衛 (三菱化成・総合研・病理)

P-23. \*3-methylcholanthrene と  $\beta$ -naphthoflavone による P-450 isozyme のラット全  
 身諸臓器における誘導 ..... 89  
 ○松田 勉<sup>1</sup>, 船江良彦<sup>2</sup>, 今岡 進<sup>2</sup>, 高場克己<sup>1</sup>, 福島昭治<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>大阪市大・医・1病理,  
<sup>2</sup>同・医・化学)

P-24. Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) 投与ラットにおける肝細胞ペルオキシゾーム  
 増殖の経時的変化 ..... 90  
 ○佐野文子, 大堀祐司, 佐藤聖子, 豊岡正好, 伊藤博子, 望月 淳, 務台 衛 (三菱化  
 成・総合研・安全性研)

P-25. \*Clofibric acid (CFA) 投与によるラットの血清および肝臓中コリンエステラーゼ  
 (ChE) の変動 ..... 91  
 ○山口 格, 米良幸典, 国分由美, 松田和夫 (ゼリア新薬・中研)

P-26. T-2 トキシンの肝細胞増殖抑制作用 ..... 92  
 ○李 旻宰, 板垣慎一, 土井邦雄 (東大・農・実験動物)

P-27. \*低カタラーゼマウス肝臓の加齢及び腫瘍化における活性酸素の役割 ..... 93  
 ○山田和正, 渡辺敦光, 伊藤明弘 (広大・原医研・癌)

P-28. \*アセトアミノフェン肝障害の脾摘による抑制 ..... 94  
 ○園田二郎<sup>1</sup>, 築館一男<sup>1</sup>, 五百部浩昭<sup>2</sup>, 島田美千代<sup>2</sup>, 見上 孝<sup>1</sup>, 名倉 宏<sup>3</sup> ( <sup>1</sup>エー  
 ザイ安全研, <sup>2</sup>カワシマ商事, <sup>3</sup>東北大・医・2病理)

P-29. Colchicine のラットにおける長期反復経口投与毒性試験 ..... 95  
 ○小倉基裕, 森下克美, 南 孝則, 松本智志, 佐藤 亮, 仙頭美和, 三好文暁,  
 三谷公互, 山本硬治 (大塚製薬・徳島研)

P-30. \*Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 免疫染色における画像解析法の基礎  
 的検討 ..... 96  
 ○吉田敏則, 原田孝則, 高橋公正, 真板敬三 (残農研)

示説 IV (10:00 ~ 11:00) 座長 渡辺満利 (持田製薬・安全研), 原田孝則 (残農研)

- P-31. The hepatocarcinogenic potential of Tamoxifen on the hepatocarcinogenesis induced by diethylnitrosamine in F344 rats ..... 97  
○Beom Seok HAN<sup>1</sup>, Dae Joong KIM<sup>1</sup>, Seung Mook CHO<sup>1</sup>, Byeongwoo AHN<sup>1</sup>, Chang Ok KIM<sup>1</sup>, Kwang Sik CHOI<sup>1</sup>, Jong Koo KANG<sup>2</sup>, Joon Sup LEE<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. of Pathol, Nat'l Inst. Safety Res. • <sup>2</sup>Coll. of Vet. Med. Chungbuk Nat'l Univ. • <sup>3</sup>Coll. of Vet. Med. Seoul Nat'l Univ. Korea)
- P-32. Enhancing effects of indole-3-carbinol on hepatocarcinogenesis and thyroid tumorigenesis in a rat multi-organ carcinogenesis model ..... 98  
○Dae Joong KIM<sup>1</sup>, Beom Seok HAN<sup>1</sup>, Byeongwoo AHN<sup>1</sup>, Chang Ok KIM<sup>1</sup>, Kwang Sik CHOI<sup>1</sup>, Ik Soo HAN<sup>1</sup>, Joon Sup LEE<sup>2</sup>(<sup>1</sup>Dept. of Pathol, Nat'l Inst. Safety Res. • <sup>2</sup>Coll. of Vet. Med. Seoul Nat'l Univ. Korea)
- P-33. \*ラット肝中期発癌性試験法による農薬47種の発癌性の検討 ..... 99  
○八尾野真人, 長谷川良平, 小木曾正, 二口 充, 白井智之, 伊東信行 (名市大・医・1 病理)
- P-34. \*B6C3F<sub>1</sub>マウス自然発生肝細胞腫瘍における c-H-ras codon 61 の点突然変異 .....100  
○森 郁生, 林 新茂, 堀之内 彰, 野々山 孝, 宮嶋宏彰 (武田薬品・薬安研)
- P-35. 化学発癌剤 DEN と放射線誘発肝腫瘍における遺伝子変異の比較 .....101  
○神谷研二<sup>1</sup>, 貞本誠治<sup>1</sup>, 新田由美子<sup>2</sup>, 木南 凌<sup>3</sup>, 丹羽太貫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広大・原医研・病理, <sup>2</sup>同・資料センター, <sup>3</sup>新潟大・医・生化)
- P-36. Study on natural killer cell activity and c-myc oncoprotein expression in the rat hepatocarcinogenic inhibition of red ginseng .....102  
○Yong-Soon LEE, Kyung-Sun KANG, Jae-Jin CHO, Bae-Hwan KIM, Kwang-Won SEO, Ki-Hoan NAM, Sung-Keun KANG (Coll. of Vet. Med., Seoul Nat'l Univ., Korea)
- P-37. マウスの Histiocytic sarcoma のレクチン組織化学 .....103  
○伊藤恒夫, 海野正子, 鈴木雅実, 三好昌夫, 杉本哲朗, 鈴木繁生, 二木力夫 (中外製薬・安全研)
- P-38. WBN/Kob ラットの自然発症膵炎におよぼす合成ソマトスタチンの影響 .....104  
○古川文夫, 西川秋佳, 吉村博之, 榎並倫宣, 三井雅之, 佐藤元信, 高橋道人 (国立衛試・病理)
- P-39. \*N-nitrosobis (2-oxopropyl)amine (BOP) によるハムスター短期膵癌発生系における硫酸抱合阻害剤の修飾効果 .....105  
○野口 修, 堤 雅弘, 堀口浩資, 天沼利宏, 長谷川清彦, 辻内俊文, 小林永策, 高島吉治, 傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

- P-40. 膀胱癌物質 4-ヒドロキシアミノキノリン 1-オキシド (4-HAQO) を投与したラットにおける膀胱 DNA 中の 8-ヒドロキシグアニン (8-OHG) の誘発 ……………106  
 ○安藤信明, 中江 大, 水本靖士, 小林永策, 辻内俊文, 吉治仁志, 下地尚史,  
 小笠原裕之, 丸山博司, 傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

**示説 V (10:00 ~ 11:00) 座長 真板敬三 (残農研), 福島昭治 (大阪市大・1 病理)**

- P-41. \*17 $\beta$ -エストラジオールによるマウス水腎症 ……………107  
 ○高橋正一, 鈴木謙二, 西山 寛, 北村 毅, 安藤 (路) 進, 前川昭彦 (佐々木研・病理)
- P-42. ストレプトゾトシン誘発マウス腎病変に関する基礎検討 ……………108  
 ○板垣慎一, 西田恵津子, 土井邦雄 (東大・農・実験動物)
- P-43. \*NO 合成酵素阻害剤のラット腎臓への影響 ……………109  
 ○小笠原裕之, 塩野泰弘, 村田晃子, 下地尚史, 村上久子, 谷中正男, 大丸 香,  
 岩崎靖子, 高木英利 (日本レダリー・生物研)
- P-44. \*Diethylene glycol 投与スナネズミ (*Meriones unguiculatas*) の腎尿細管病変 ……………110  
 ○村上久子, 大村美麻, 竹内哲也, 山口 格, 藤原公策 (日大・農獣医・2 病理)
- P-45. Bisphenol A の13 週間投与によるマウス腎および肝病変について ……………111  
 ○三井雅之, 古川文夫, 篠田和俊, 佐藤元信, 榎並倫宣, 西川秋佳, 高橋道人 (国立衛  
 試・病理)
- P-46. \*イヌの抗 GBM 腎炎における腎糸球体陰性荷電および尿蛋白の経時的変化 ……………112  
 ○杉本次郎<sup>1</sup>, 和崎正彦<sup>1</sup>, 代田欣二<sup>2</sup>, 野村靖夫<sup>2</sup> (<sup>1</sup>三菱化成・総合研, <sup>2</sup>麻布大・獣医  
 ・病理)
- P-47. ネフローゼ自然発症マウスに及ぼす飼料蛋白含量の影響 ……………113  
 ○黒澤 努<sup>1</sup>, 岡本宗裕<sup>1</sup>, 岳 乗飛<sup>1</sup>, 辰巳治之<sup>2</sup>, 小倉淳郎<sup>3</sup>, 浅野敏彦<sup>3</sup> (<sup>1</sup>阪大・医,  
<sup>2</sup>札医大, <sup>3</sup>予研・獣医)
- P-48. グリシン (glycine) の癌原性試験 ……………114  
 ○小西 登, 林 功, 北堀吉映, 日浅義雄 (奈良医大・2 病理)
- P-49. 加齢イヌの膀胱粘膜上皮の病理組織学的検討 ……………115  
 ○常深邦彦<sup>1</sup>, 馬場谷勝廣<sup>1</sup>, 山口尚子<sup>1</sup>, 北川恒代<sup>1</sup>, 林 美樹<sup>1</sup>, 田畑尚一<sup>1</sup>,  
 松木 尚<sup>1</sup>, 大園誠一郎<sup>1</sup>, 平尾佳彦<sup>1</sup>, 岡島英五郎<sup>1</sup>, 福島昭治<sup>2</sup> (<sup>1</sup>奈良医大・泌尿,  
<sup>2</sup>大阪市大・医・1 病理)
- P-50. \*ラット膀胱上皮の増殖性病変における Apoptosis の誘導 ……………116  
 ○武貞徳子, 高橋 智, 森 敏男, 萩原昭裕, 広瀬雅雄, 白井智之 (名市大・医・  
 1 病理)



- P-51. ラット膀胱発癌における DNA ploidy の経時的变化 .....117  
 ○岡本新司, 平尾佳彦, 山口尚子, 北川恒代, 常深邦彦, 林 美樹, 田畑尚一,  
 松木 尚, 百瀬 均, 三馬省二, 大園誠一郎, 岡島英五郎 (奈良医大・泌尿器科)
- P-52. OH-BBN 誘発マウス膀胱発癌に対するアスタキサンチン (AX), カンタキサンチン  
 (CX) の影響 .....118  
 ○田中卓二, 森下由紀雄, 渡辺知幸, 森 秀樹 (岐阜大・医・1病理)

示説 VI (10:00 ~ 11:00) 座長 泉 啓介 (徳大・医・病理),  
 岡宮英明 (山之内製薬・安全研)

- P-53. \*Antiandrogen TZP-4238 と chlormadinone acetate (CMA) のラット下垂体、副  
 腎、前立腺および精巣での作用に関する形態学的検討 .....119  
 ○稲田理恵<sup>1</sup>, 村越正典<sup>1</sup>, 田川正志<sup>1</sup>, 堀内 敏<sup>1</sup>, 久田 茂<sup>1</sup>, 鈴木 稔<sup>1</sup>, 溝上 敦<sup>2</sup>,  
 渡辺慶一<sup>3</sup> (<sup>1</sup>帝臓・安全研, <sup>2</sup>産業医大, <sup>3</sup>東海大)
- P-54. ラット前立腺背側葉における性ホルモンの作用に関する免疫組織化学的検討  
 .....120  
 ○村越正典<sup>1</sup>, 田川正志<sup>1</sup>, 稲田理恵<sup>1</sup>, 堀内 敏<sup>1</sup>, 久田 茂<sup>1</sup>, 鈴木 稔<sup>1</sup>, 溝上 敦<sup>2</sup>,  
 渡辺慶一<sup>3</sup> (<sup>1</sup>帝臓・安全研, <sup>2</sup>産業医大, <sup>3</sup>東海大)
- P-55. L-ヒスチジン塩酸塩の経口投与によるラット精子肉芽腫の形成 .....121  
 ○西川秋佳, 榎並倫宣, 古川文夫, 三井雅之, 今沢孝喜, 豊田和弘, 高橋道人 (国立衛  
 試・病理)
- P-56. \*成熟奇形腫と絨毛上皮癌を併発したカニクイザルの1例 .....122  
 ○豊沢かおる, 沖本一夫, 安場正子, 深川清二, 中村秀雄 (大日本製薬・開発研)
- P-57. \*B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウスに認められた choriocarcinoma .....123  
 ○糀谷高敏, 岡崎欣正, 沖本一夫, 安場正子, 中村秀雄 (大日本製薬・開発研)
- P-58. Ethylenethiourea と亜硝酸ナトリウムの同時経口投与によるマウス発癌性試験  
 IV. 子宮内膜癌の発癌過程におよぼす性ホルモン投与の影響 .....124  
 ○吉田明由, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)
- P-59. \*自然発生 Donryu ラット子宮内膜腺癌に対する indole-3-carbinol の抑制効果と子  
 宮内膜腺上皮に及ぼす影響 .....125  
 ○小島敏弘, 田中卓二, 森 秀樹 (岐阜大・医・1病理)
- P-60. \*3,2'-Dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) 投与ラットにおける包皮腺/陰核腺  
 腫瘍の発生に対する Nalidixic acid (NA) のプロモーション効果 .....126  
 ○佐藤 洋, 梶村哲世, 高山 敏 (第一製薬・開発研・安全研)

示説 VII (10:00 ~ 11:00) 座長 川会是彰 (田辺製薬・安全研),  
白井智之 (名市大・医・1 病理)

- P-61. \*F344 ラットにおける下垂体後葉の加齢性変化 .....127  
○阿瀬善也<sup>1</sup>, 三森国敏<sup>1</sup>, 成田牧子<sup>2</sup>, 今沢孝喜<sup>1</sup>, 高橋道人<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国立衛試・病理,  
<sup>2</sup>小野薬品・福井安全研)
- P-62. 合成サケカルシトニン投与によるラット下垂体中葉肥大の機序に関する検討  
.....128  
○堀内 敏<sup>1</sup>, 磯部充威<sup>1</sup>, 佐藤敦子<sup>1</sup>, 小川哲郎<sup>1</sup>, 村越正典<sup>1</sup>, 久田 茂<sup>1</sup>, 稲田理恵<sup>1</sup>,  
田川正志<sup>1</sup>, 鈴木 稔<sup>1</sup>, 小林靖夫<sup>2</sup> (<sup>1</sup>帝臓・安全研, <sup>2</sup>岡山大・理)
- P-63. Spironolactone の甲状腺発がんプロモーション作用の用量相関と甲状腺および肝臓の  
機能的変化の関連性 .....129  
○務台 衛<sup>1</sup>, 小林 潔<sup>1</sup>, 小島 隆<sup>2</sup>, 藤田重晴<sup>1</sup>, 田中啓介<sup>1</sup>, 杉本次郎<sup>1</sup> (<sup>1</sup>三菱化成  
・総合研・病理, <sup>2</sup>札幌医大・がん研)
- P-64. \*ジドロピリジン系カルシウム拮抗薬のイヌ副腎皮質に及ぼす影響  
.....130  
○森下克美<sup>1</sup>, 北浦敬介<sup>1</sup>, 神辺敏実<sup>1</sup>, 野村岳之<sup>2</sup>, 森田晴夫<sup>2</sup>, 小泉治子<sup>2</sup> (<sup>1</sup>大塚製薬  
・徳島研, <sup>2</sup>同・前臨床医学研)
- P-65. \*マーモセットの副腎および肝臓に同時発生した myelolipoma .....131  
○柿沼千早, 足立知登世, 下井昭仁, 渡辺満利 (持田製薬・安全研)
- P-66. 若齢ラットに認められた自然発生乳腺腺癌の 1 例 .....132  
○大石裕司<sup>1</sup>, 義澤克彦<sup>1</sup>, 松本正博<sup>1</sup>, 鈴木淳也<sup>1</sup>, 牧野奈津代<sup>1</sup>, 藤平司郎<sup>1</sup>,  
長谷喜久美<sup>2</sup>, 山内研司<sup>2</sup> (<sup>1</sup>藤沢薬品・安全研・病理, <sup>2</sup>同・一般毒性)
- P-67. DMBA 誘発雌ラット乳癌に対する性ホルモンの影響 .....133  
○岡崎啓幸<sup>1,2</sup>, 大町勝美<sup>1,2</sup>, 李 建中<sup>1,2</sup>, 尾根田暁<sup>1,2</sup>, 永田良一<sup>1,2</sup>, 吉田浩己<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>鹿大・1 病理, <sup>2</sup>新日本科学)
- P-68. \*MNU 誘発ラット乳腺腫瘍に対するレチノイン酸の抗腫瘍効果 .....134  
○岡本太郎, ロイ・ゴータム, 山田和正, 渡辺敦光, 伊藤明弘 (広大・原医研・癌)

示説 VIII (10:00 ~ 11:00) 座長 梅村孝司 (鳥大・農), 小倉基裕 (大塚製薬・徳島研)

- P-69. \*ラットにおける骨組織構成細胞の増殖動態解析 .....135  
○鈴木雅実, 堤紀美子, 坂牧義之, 杉本哲朗, 鈴木繁生, 二木力夫 (中外製薬・安全研)
- P-70. \*骨粗鬆症モデルとしてのマーモセットの有用性の検討 .....136  
-卵巣摘出, 低Ca・ビタミンD 欠乏食の影響-  
○豊岡正好<sup>1</sup>, 倉田祥正<sup>2</sup>, 牧之段太志<sup>2</sup>, 荒井安洋<sup>1</sup>, 神原由季<sup>1</sup>, 伊藤博子<sup>1</sup>,  
佐野文子<sup>1</sup>, 金田菜穂子<sup>3</sup>, 佐藤信行<sup>3</sup> (<sup>1</sup>三菱化成・総合研・病理, <sup>2</sup>同・安科研,  
<sup>3</sup>同・画像科学)

P-71.	F344 ラットにみられた Aneurysmal Bone Cyst の 1 例 ○一鬼 勉, 浜村政夫, 鍛先恵美子, 津崎慎二 (パナファーム・ラボラトリーズ・安全性研)	137
P-72.	*若齢ラットに認められた耳介軟骨炎 ○北垣雅人, 諏訪隆彦, 白鳥耕也 (資生堂・安全性・分析セ)	138
P-73.	加齢 SD 系ラットに自然発生した多発性骨軟骨腫の一例 ○岩田 聖, 山本慎二, 三上真一, 山川誠己 (安評セ)	139
P-74.	NZB/KN 雄マウスに発症する関節病変の病理組織学的検討 ○木村正明 <sup>1</sup> , 八木健一 <sup>1</sup> , 中根貞雄 <sup>1</sup> , 竹下紀美代 <sup>1</sup> , 土岐秀明 <sup>2</sup> , 中村国衛 <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> 大正製薬・総合研, <sup>2</sup> 同・組織科学研, <sup>3</sup> 北里大・医・分子生物)	140
P-75.	*マウスの periodontal cyst について ○櫻 ゆみ <sup>1</sup> , 妹尾英樹 <sup>1</sup> , 片桐 卓 <sup>1</sup> , 相磯成敏 <sup>1</sup> , 長野嘉介 <sup>1</sup> , 山内勝彦 <sup>1</sup> , 松本道男 <sup>1</sup> , 奥平雅彦 <sup>1</sup> , 榎本 眞 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 日本バイオアッセイ研究セ, <sup>2</sup> 安評セ)	141
P-76.	*LPS を投与したラット骨髄における巨核球の emperipolesis ○田中雅治, 阿瀬善也, 成田牧子, 森 英明, 柳 浩由紀, 板垣伊織, 下内孝司, 藤田常夫 (小野薬品・福井安全研)	142
P-77.	*長期飼育雄 B6C3F <sub>1</sub> マウスにみられた赤血球増多と肝細胞腫瘍およびエリスロポエチンの関連 2. エリスロポエチンの免疫組織学的検討 ○堀之内彰, 林 新茂, 野々山孝, 宮嶋宏彰 (武田薬品・薬安研)	143
示説 IX (10:00 ~ 11:00) 座長 鷲見信好 (日本新薬・安全研), 山手丈至 (大阪府大・農)		
P-78.	*強直性痙攣を呈したチオフェン中毒ラットにおける Fos 蛋白様免疫反応性 ○森 文秋, 高屋豪瑩 (弘前大・脳研・神経病理)	144
P-79.	Oligodendroglioma における血管形態の特徴 (第 1 報) ○広内康彦 (安評セ)	145
P-80.	*塩化トリメチルチンのラットを用いた急性神経毒性試験における病理組織学的変化 ○中川善裕, 和田美紀, 山田倫行, 伊藤聖一, 吉武 彬 (住友化学・生科研)	146
P-81.	SD 系ラット脊髄に発生した上衣腫と考えられる一例 ○吉田一晴 <sup>1</sup> , 三善隆広 <sup>1</sup> , 木澤和夫 <sup>1</sup> , 河村泰仁 <sup>1</sup> , 児玉卓也 <sup>1</sup> , 中沼安二 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 富山化学・安全性研, <sup>2</sup> 金沢大・医・2 病理)	147
P-82.	カニクイザルを用いた実験的網膜症における病理学的検討 ○三好昌夫, 伊東房美, 三沢保幸, 吉野由紀子, 松沢忠紀, 小泉富彦, 杉本哲朗, 田村博志, 二木力夫 (中外製薬・安全研)	148
P-83.	イヌにおける網膜異形成症の眼底像と病理組織学的所見 ○森田晴夫, 下村和裕, 田中孝弘, 須永昌男, 小泉治子 (前臨床医学研)	149

- P-84. \*生体内埋植物質に対する組織反応の病理学的研究 .....150  
 第3報 埋植52週間におけるポリウレタンとシリコンに対する組織反応の比較  
 ○齊藤義明, 永田伴子, 川島二三江, 丸茂秀樹, 山口 肇, 吉村慎介, 今井 清 (食品  
 薬品安全セ・秦野研)
- P-85. \*過度の照明によるマウスのハーダー腺の病理学的変化 .....151  
 ○澤本 修, 栗栖和信 (大塚製薬工場・鳴門研)
- P-86. \*パソコン・ネットワークによる毒性病理コンピュータシステムⅡ  
 -安全性システムへの発展と今後の方向性- .....152  
 ○下地尚史<sup>1</sup>, 牧之瀬俊彦<sup>1</sup>, 小笠原裕之<sup>1</sup>, 村上久子<sup>1</sup>, 村田晃子<sup>1</sup>, 星谷 達<sup>2</sup>,  
 高木英利<sup>1</sup> (<sup>1</sup>日本レダリー・生物研, <sup>2</sup>ボゾリサーチセ・御殿場研)
- P-87. 画像処理技術を利用した病変定量解析システムの開発 .....153  
 ○渡辺知幸<sup>1</sup>, 桂 泰典<sup>1</sup>, 吉武 彬<sup>1</sup>, 政瀧浩和<sup>2</sup>, 森 健<sup>2</sup> (<sup>1</sup>住友化学・生科研,  
<sup>2</sup>住友金属・情報通信)

## 座 長 一 覧

1 月 27 日 午 前 ( 一 般 講 演 )	
9 : 30~9 : 50	宮 嶋 宏 彰 (武田薬品・薬安研)
9 : 50~10 : 10	永 田 良 一 (新日本化学)
10 : 10~10 : 40	高 橋 道 人 (国立衛試・病理)
1 月 27 日 午 後 ( 一 般 講 演 )	
13 : 00~13 : 30	松 沼 尚 史 (三共・安全研)
13 : 30~14 : 00	板 垣 慎 一 (東大・農・実験動物)
14 : 00~14 : 30	傳 田 阿由美 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
14 : 30~15 : 00	野々山 孝 (武田薬品・薬安研)
15 : 00~15 : 20	森 秀 樹 (岐阜大・医・病理)
15 : 20~15 : 40	土 谷 稔 (三菱化成・安全研)
15 : 40~16 : 00	西 川 秋 佳 (国立衛試・病理)
16 : 00~16 : 30	代 田 欣 二 (麻布獣・病理)
16 : 30~16 : 50	日 浅 義 雄 (奈良医大・病理)
16 : 50~17 : 10	佐久間 貞 重 (大阪府大・農・獣医病理)
17 : 10~17 : 40	長谷川 良 平 (名市大・病理)
1 月 28 日 午 前 ( 示 説 )	
10 : 00~11 : 00	
I	北 村 均 (横浜市大・医・病理)
I	平 井 圭 一 (金沢医大・解剖)
II	二 木 力 夫 (中外製薬・信州伊那研)
II	津 田 洋 幸 (国立がんセ・研)
III	後 藤 直 彰 (東大・農・獣医病理)
III	堤 雅 弘 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
IV	渡 辺 満 利 (持田製薬・安全研)
IV	原 田 孝 則 (残農研)
V	真 板 敬 三 (残農研)
V	福 島 昭 治 (大阪市大・1病理)
VI	泉 啓 介 (徳大・医・病理)
VI	岡 宮 英 明 (山之内製薬・安全研)
VII	川 会 是 彰 (田辺製薬・安全研)
VII	白 井 智 之 (名市大・医・病理)
VIII	梅 村 孝 司 (鳥大・農)
VIII	小 倉 基 裕 (大塚製薬・徳島研)
IX	鷺 見 信 好 (日本新薬・安全研)
IX	山 手 丈 至 (大阪府大・農)
1 月 28 日 午 後 ( 一 般 講 演 )	
13 : 00~13 : 30	花 田 貴 宣 (山之内製薬・安全研)
13 : 30~14 : 00	土 井 邦 雄 (東大・農・実験動物)
14 : 00~14 : 30	前 川 昭 彦 (佐々木研・病理)
14 : 30~15 : 00	奈良間 功 (摂南大・薬安研)
15 : 00~15 : 20	板 倉 智 敏 (北大・獣・比較病理)

## 招待講演要旨



— MEMO —

## CHEMOPREVENTION OF MAMMARY CANCER BY MONOTERPENES

Michael N. GOULD, Ph. D., University of Wisconsin–Madison, Department of Human Oncology, K4/332, 600 Highland Avenue, Madison, WI 53792

Monoterpenoids are formed by the condensation of two isoprene molecules. These compounds are commonly and primarily produced by plants and are found in many commonly consumed fruits and vegetables including citrus fruits and food flavoring such as mints. Monoterpenes occur in monocyclic, bicyclic and acyclic forms and are either simple or modified hydrocarbons. The simplest monocyclic monoterpene, limonene, has been shown to inhibit a variety of organ-specific cancer in rodent models including mammary (1, 2), stomach, lung, skin and liver cancers (reviewed in reference 2). Dietary limonene has been shown to prevent rat mammary tumors induced by the indirectly acting carcinogen DMBA when during administered either the initiation or promotion/progression stage (3) and the directly acting carcinogen NMU (4) only when administered during the promotion/progression stage. In addition, dietary limonene can cause the complete regression of established rat mammary carcinomas without associated toxicity (5, 6). Hydroxylated analogs of limonene have been shown to be more potent in both preventing DMBA-induced cancers when given during initiation (7) and in causing the regression of established cancers. For example, perillyl alcohol is 5 to 10 times as potent as limonene in inducing the regression of mammary carcinomas.

Histopathological study of terpene-induced regressing carcinomas suggest that a redifferentiation process is associated with regression. The site at which the carcinoma occupied before regression has the histopathological features of a fibroadenoma after regression is complete (6). However, the removal of the terpene from the diet can lead to carcinoma regrowth (6). The differentiation ability of the monoterpene perillyl alcohol was evaluated using a neuro-2A cell culture model. Exposure of these cells to this monoterpene resulted in cellular differentiation characterized by neuron out growth.

The biochemical and molecular effects of these monoterpenes were further explored using both animal and cell culture models in hopes of shedding

light on the mechanism of the chemopreventive activities of these plant essential oils. The cellular effects of these terpenes thus far demonstrated can be divided into those associated with the increasing cellular levels of specific gene products and those associated with inhibiting enzyme activities associated with the mevalonate/lipid metabolism pathway. Monoterpene exposure has been shown to result in both increased cellular levels of enzymes that could block DMBA initiation of mammary cancer and of receptor proteins that might be associated with prevention during promotion /progression stages and tumor regression. Limonene and to a greater extent its hydroxylated analogs induce phase I and phase II hepatic enzymes that are involved in DMBA metabolism and detoxification. Enzymes whose levels and activities are increased by terpenes include P450 (8) , epoxide hydratase(8), glutathione transferase and glucuronosyl transferase ( Elegbede, Maltzman and Gould, unpublished). Analysis of induced isoforms of these enzymes indicate that terpenes induce a similar but broader spectrum of isozymes than does the classical enzyme-inducer phenobarbital. Structure activity analysis suggests that the induction of phase II detoxification enzymes but not phase I P450 enzymes underlies the inhibition of DMBA initiation of mammary cancer.

Interestingly, also like phenobarbital, limonene was also found to increase the cellular levels of the IGFII receptor. Regressing mammary carcinomas had increased levels of this receptor as determined by histochemical analysis (Jirtle and GOULD, unpublished). This increased receptor level was also associated with increased levels of TGF $\beta$  (Jirtle and GOULD, unpublished), whose activation has been postulated by others to be increased by association with the IGFII receptor. Active TGF $\beta$  has been shown to inhibit mammary growth and differentiation *in vivo* and thus may be involved in preventing mammary cancer development by monoterpenes.

In addition to increasing levels of certain cellular proteins as described above, we have shown that limonene is also able to independently inhibit the synthesis of several products of isoprene metabolism. Specifically, the treatment of cultured cells results in the inhibition of post-translational isoprenylation of certain proteins and the inhibition of ubiquinone (CoQ) synthesis. Many key cellular proteins are isoprenylated by the addition of either

farnesyl (C15) of geranyl-geranyl (C20) to a cysteine at their carboxy termini. Monoterpenes such as limonene and perillyl alcohol inhibit the isoprenylation of a subset of these proteins of a molecular size of 21–26 kd. Most of these are small G proteins including many members of the *ras* family. Inhibition of the isoprenylation of a small G protein such as *ras* prevent its proper subcellular localization and thus its functionality. Monoterpenes inhibit both C15 and C20 protein isoprenylation by specifically inhibiting their respective prenyl transferases (Gelb, Tamanoi and GOULD, unpublished ). Synthesis of ubiquinone (CoQ), a condensation of a long isoprene chain (C45–C50) and a modified tyrosine residue, is also inhibited by monoterpenes following a similar structure activity relationship found for the terpene inhibition of protein isoprenylation. This compound is critical for mitochondrial metabolism but also may be involved in both signal transduction and other important cellular processes. Both the inhibition of protein isoprenylation and CoQ synthesis has the potential of altering both cell growth and differentiation and thus the process of carcinogenesis and tumor progression.

Monoterpenes have a broad range of chemopreventive activities in a variety of organ-specific model systems. This coupled with its lack of toxicity at effective dose levels encourage its further evaluation as both a agent for the prevention and treatment of cancer.

### *References*

1. Elegbede JA, Elson CE, Qureshi A, Tanner MA, Gould MN. Inhibition of DMBA-induced mammary cancer by the monoterpene d-limonene. *Carcinogenesis* 5 : 661–664, 1984.
2. Crowell PL, Gould MN. Chemoprevention of mammary cancer by monoterpenoids. *Crit. Rev. Oncogenesis*, in press, 1993.
3. Elson CE, Maltzman TH, Boston JL, Tanner MA, Gould, MN. Anticarcinogenic activity of d-limonene during the initiation and promotion/progression stages of DMBA-induced rat mammary carcinogenesis. *Carcinogenesis* 9 : 331–332, 1988.

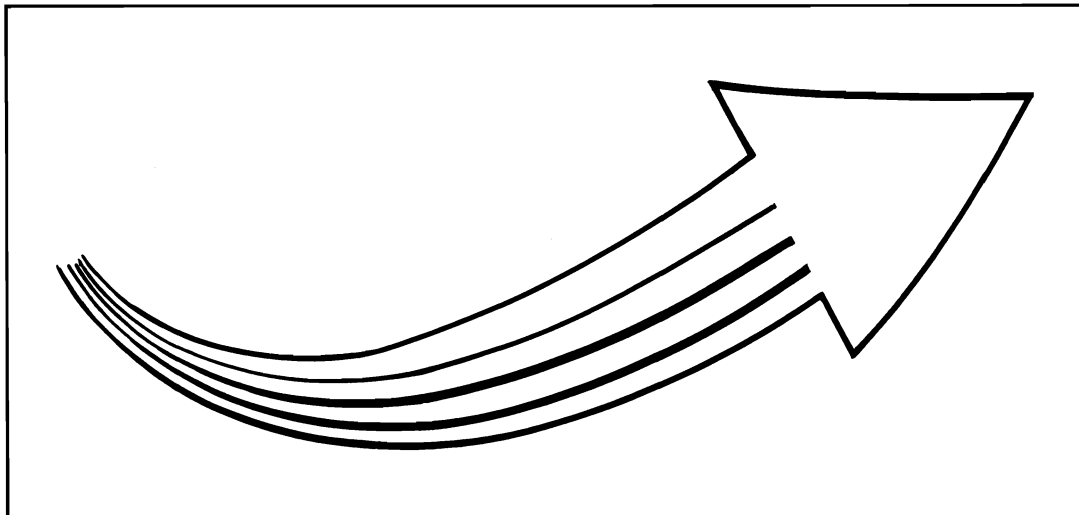
4. Maltzman TH, Hurt LM, Elson CE, Tanner MA, Gould MN. The prevention of nitrosomethylurea-induced mammary tumors by d-limonene and orange oil. *Carcinogenesis* 10 : 781-783, 1989.
5. Elegbede JA, Elson CE, Tanner MA, Qureshi A, Gould MN. Regression of rat mammary tumors following dietary d-limonene. *JNCI* 76 : 323-325, 1986.
6. Haag JD, Lindstrom MJ, Gould MN. Limonene-induced regression of mammary carcinomas. *Cancer Res*, 52 : 4021-4026, 1992.
7. Crowell PL, Kennan WS, Haag JD, Ahmad S, Vedejs E, Gould MN. Chemoprevention of mammary carcinogenesis by hydroxylated derivatives of d-limonene. *Carcinogenesis* 13 : 1261-1264, 1992.
8. Maltzman TH, Christou M, Gould MN, Jefcoate CR. Effects of monoterpenoids on in vivo DMBA-DNA adduct formation and on phase I hepatic metabolizing enzymes. *Carcinogenesis* 12 : 2081-2087, 1991.

# 技術セミナー要旨

( T-1 ~ T-4 )

# 組織標本作製、組織検査から最終報告書まで

—よきパートナー、サイエンティフィックテクニシャンを目指して—



## 受託業務

### 組織標本作製

- ・ヘマトキシリン・エオジン重染色標本作製
- ・特殊染色標本作製
- ・酵素抗体法標本作製
- ・その他

### 組織学的検査

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

### 安全性研究コンサルタント

- ・研究企画から最終報告書まで

秘密は完全に守ります

迅速、廉価です

このような時に御用命下さい

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

サンプル、標本、報告書の受発送は

航空便で当日着きます。

宅配便で九州・関西地区は翌日、関東地区は翌々日に着きます。

※輸送中に固定液の組織へのほど良い浸透が行えます。

大分空港から車で10分（打ち合わせに便利）



株式会社 **バイオ病理研究所**

〒873-05 大分県東国東郡国東町小原1200-2

T E L 0978-72-0454 F A X 0978-72-2320

深見博子, 立松正衛

遺伝的に起源を異にする細胞からなる複合動物をキメラ動物といい、この動物の実験病理学への応用は組織構築や病変の成立過程の検索に極めて有利な情報を提供する。

## [キメラマウスの作製]

胚提供用マウスとしてC3H, BALB/c, C57BL/6J を用い、性腺刺激ホルモン投与を行い、交配後三日目に屠殺し、30ゲージ針注射器で培養液を流し卵管采から8細胞期の胚を取り出す。アシッドタイロイド液 (pH2.5) で透明帯を除去し培養液M2で洗浄する。その後、PHA (5U/ml) を含むM2液内で2種の胚を接着し培養液M16 を用い、炭酸ガスインキュベーター (5% CO<sub>2</sub>, 37°C) 内で一夜培養をおこなう。正常8細胞期で正しく接着された胚はほとんど単一の桑実胚へと成長する。これを交尾後三日目のICR 借腹親の子宮に移植する。子宮への胚の生着には動物室の湿度が影響するため50% 以下にならないよう注意が必要である。なおオスのキメラマウスは、体細胞の構成がXYとXY, XYとXXの個体が有るため、離乳時に尾の先端部を1~2cm 切取り細胞培養し染色体分析を行い、いかなる構成になっていたかを確認している。

## [キメラマウスを用いた発癌実験]

今回、我々は化学発癌においてクローン性の検討より：i) 前胃発癌過程において増殖性病変が反応性か腫瘍性か、ii) 大腸発癌過程において単クローン性増殖が病変の進展に伴い二次的に多クローン性を示すか否か、を検討した。

i) 前胃発癌：C3H とBALB/cのキメラマウスにMNU 0.5mg/マウスを週一回10週投与 (I. G) し、実験開始後 11, 20および30週において検索した。キメラマウスの前胃組織をマイクロウェーブ照射した後、アルコール後固定を行いポリエステルワックスに包埋した。切片を抗C3H 系統特異モノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に染色し、C3H 由来細胞の分布を検討した。前胃粘膜上皮の単純性過形成は多クローン性、結節または乳頭状過形成は単クローン性と多クローン性、扁平上皮癌は単クローン性増殖であった。これらの結果は、多クローン性の単純性過形成と結節または乳頭状過形成は反応性が主体であり、単クローン性に出現した結節または乳頭状過形成は腫瘍性を示すと考えられた。

ii) 大腸発癌：7週齢のC3H とBALB/cのキメラマウスにDMH 20mg/kg b.w. を週一回20週投与 (s. c.) し、実験開始後20および35週で屠殺した。発生した腺腫、腺癌ともに単クローン性に形成されていた。時間の経過と共に多クローン性腺癌が出現したことより、大腸腫瘍は単クローン性増殖により発生し一部は進展の過程で融合し、結果的に多クローン性腫瘍が形成されると考えられた。また現在、大腸発癌好発性のC3H と嫌発性のC57BL/6Jのキメラマウスにおいて、系統差は発癌物質の代謝か細胞レベル感受性の差異によるものかの検討を進めている。



相 沢 慎 一      (理研・筑波セ)

遺伝的に変わったもの・変異体を用いての解析は複雑な生命現象に関わる事柄の解析には必須不可欠である。しかし哺乳動物では世代交代に時間がかかる、産子数に限りがある、飼育に多大のスペースを要する等の理由により、実験的に変異体を得る事が困難で、その数も限られていた。ところが1980年代の中ごろより、クローン化したDNAを受精卵に注入することによって、外来DNAを組み込んだトランスジェニックマウスを作成出来るようになり、遺伝子の過剰発現による異常を観察し、あるいは遺伝子の過剰発現による疾患のモデル動物を作成することが可能となった。更に、1990年代になって全能性を持つ胚性未分化(ES)細胞よりの子孫マウス作成系が確立し、相同組換えにより特定の遺伝子に変異、欠失を起こさせることも可能となった。

本技術セミナーではこれら変異マウス作成のための技術的問題点についてまず紹介し、ついでマウスでの遺伝学的アプローチが発生から高次神経機能迄、哺乳動物での生命現象の解析に有用である事、また薬剤の開発、毒性の検定のために実際にモデル動物を提供し得る事を、我々の研究を例に紹介する。

## 森 脇 和 郎 (国立遺伝学研究所)

今日まで C57BL, C3H, BALB/c などの実験用近交系マウスは医学生物学の分野で広く用いられてきた。系統差を指標とする交配実験から発がん感受性に関与する遺伝子を探索する研究のように、近交系マウスの利用が非常に有効であった例が少なくない。しかし免疫遺伝学研究においてはこれらの近交系マウスの持つ系統差は必ずしも強力な道具とはならなかった。免疫機能に関与する複数の遺伝子がそれぞれ異なる染色体上に分布しており、通常の交配実験によって目的とする遺伝子を解析する事が難しかったためである。米国ジャクソン研究所の G. スネルは、この問題を解決するためコンジュニックマウスを開発育成した。免疫機能を支配する主要な遺伝子群は主要組織適合抗原複合遺伝子 (MHC) といいマウスでは H-2 と呼ばれている。H-2 遺伝子は多型に富み系統毎に特有のハプロタイプを持っている。H-2 以外にもたくさんの組織適合抗原遺伝子があり、免疫機能の分析にあたってそれらの影響を除外するために、スネルは各系統の H-2 遺伝子を 12 代の戻し交配によって C57BL/10 系統に導入した。10 数年の歳月を費やして各種の H-2 コンジュニック系統を育成したが、多くの研究者がこれらの系統を利用することによって始めて免疫機能の遺伝的制御機構の研究が飛躍的な発展を遂げた。これらのマウスで得られた基本的な原理はヒトの免疫機能の解明にも応用され大きな成果をもたらした。スネルはこの貢献によってノーベル賞を与えられた。

スネルのコンジュニックマウスによって得られた免疫の遺伝機構が MHC 遺伝子の種を越えた相同性を基盤としてヒトの免疫機構の理解に大きく貢献したことは、ヒトとの間で遺伝子の相同性をもつモデルマウスの有用性を示唆している。近年ヒトおよびマウスの遺伝子マッピングが飛躍的に発展した結果、両種の間で、染色体上の遺伝子配列にかなりの相同性があることが判り、シンテニーと呼ばれるようになった。これによってヒトの未知の遺伝子をマウスで捜し、ヒトの染色体上に特定することが可能となる。また、ヒトで見つかった遺伝子と相同のものをマウスに求めることも出来、このことはヒトでしばしば問題となる複数の遺伝子の関与する系すなわち遺伝的背景の実験的研究を可能にする。モデル動物としてのマウスの位置は従来に較べて著しく高められたといえよう。一方、遺伝子操作と胚操作を基盤とする遺伝子導入技術いわゆるトランスジェニック技術の発展は、マウスに目的とする変異遺伝子を自由に導入して発現させる新しい方法論を確立したが、このこともマウスの生物機能モデルとしての重要性を益々高めることになった。

林崎良英 (理研・筑波セ)

生物ゲノムのDNAの物理的状态を高速に解析する技術は、生物学研究のみならず、医学研究診断等に大きな影響を及ぼすことが予想される。これらの高速DNA解析技術の開発の方向性の一つとして、我々のグループではゲノムDNAの物理的状态をゲノム全体にわたってサーベイするゲノムスキニングという概念を提唱してきた。

従来DNAの様々な配列をプローブとして利用し、サザンハイブリダイゼーションを行ったり、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR)法を用いて、ゲノム上の座位を検出してきた。しかし、それにかかる費用、時間は大きく、またプローブの数により大きな制約を受け、しかもいったん単離したプローブはその材料となった生物ゲノムにしか適用されないなどの、大きな難点がある。また、1反応でゲノム上の1座位しか検出されない。巨大なゲノムを高速にマッピングしていくには1回の操作で多数の座位を一度に解析できるマルチプレックス法の開発が必要である。

これまでに、我々はゲノム上に分布する制限酵素の認識部位をランドマークとする新しい概念にもとずき(Restriction landmark)、これらのランドマークを直接末端標識し、高分解能二次元ゲル電気泳動法で展開検出するゲノムスキニング法(Restriction landmark genomic Scanning法;RLGS)を開発した。本法にはつぎのような多くの利点がある。1)ゲノム上の約2000以上のゲノム上の座位が1枚のゲルで検出できる。2)本法は制限酵素をランドマークとして用いているためあらゆる生物種に適用が可能である。3)ランドマークの数は制限酵素の種類をかえることにより飛躍的に増大させることができる。4)GC-richな制限酵素を用いると遺伝子近傍に存在するCpG-islandにその認識部位があることが多いので、遺伝子を特異的にスクリーニングすることが出来る。5)スポットの強度がその座位のコピー数を反映する。6)メチル化感受性の酵素を用いるとゲノム上の分化老化等の過程におけるメチル化の変化がスキニングできる。7) 本法のスキニングはゲノム全体をカバーするため、高血圧、糖尿病のような多因子による遺伝疾患にきわめて有効な技法を提供する。

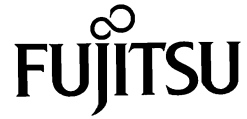
本演題では、ゲノムスキニングという概念と本法の原理について述べ、それによる任意の生物に適用できるRLGS高速マッピング法及び高速ポジショナルクロニング法とその応用について解説する。

# シンポジウム要旨

( S-1 ~ S-6 )

富士通Sファミリーエンジニアリングワークステーション  
病理システムパッケージ

# LATOX-F/PATHOTOX



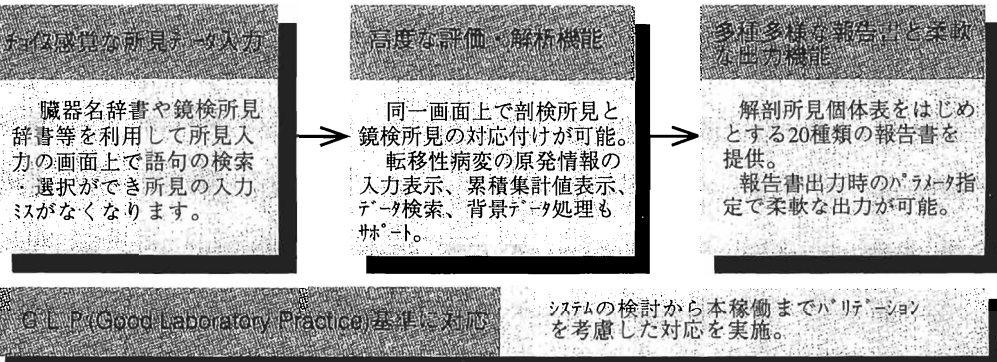
パソコンistのために病理業務の現場ノウハウをパッケージに結集

The screenshot displays the PATHOTOX software interface. It includes a main window with a menu bar (File, Edit, View, Print, Help) and a toolbar. The interface is divided into several panes: a left sidebar with a tree view of organs and findings, a central data entry area with a table of findings, and a right pane showing a detailed view of a specific finding. The table in the center has columns for 'Organ', 'Finding', and 'Frequency'. The right pane shows a detailed view of a finding, including its description and associated data.

## 概要

PATHOTOXは、(飼)食品農医薬品安全性評価センター殿における長年のノウハウをもとに開発されたもので、病理業務の試験計画、所見入力・評価、報告書作成までの一連の処理を多角的にサポートしています。鏡検所見データの収集時には、鏡検中標本の評価に必要な各種情報をデータ入力画面に瞬時に提供します。また、統計処理、剖検所見データと鏡検所見データの対応付けや、所見分類による高度な解析報告書の作成を行います。これらの機能に加え、データ検索・背景データ処理・文書作成処理といった研究者をサポートする豊富なツールにより、質の高い病理評価が可能となります。

## 特長



G.L.P.(Good Laboratory Practice)基準に対応

システムの検討から本稼働までバリデーションを考慮した対応を実施。

連絡先

富士ファコム制御(株)

〒151 東京都渋谷区代々木4-30-3 新宿コヤマビル

TEL 03-3374-1511

第二営業部

井内康輝（広島大・医・第二病理）

マスタードガス mustard gas(dichlor-diethylsulphide、Yperite、以下MGと略す)は発泡、びらん性の毒ガスとして軍事的に用いられてきたが、変異原性及び発癌性の明らかなアルキル化剤である。1927年から1945年までの間、広島県竹原市忠海町の沖合の瀬戸内海に浮かぶ大久野島には旧陸軍造兵廠忠海製造所があり、このMGの製造が行われた。当時の工場従業員は劣悪な作業環境下にあっしてしばしば皮膚のびらんや急性気道炎をおこしたが、戦後はその後遺症としての慢性気管支炎や肺気腫などの慢性呼吸器疾患に苦しむ人が多い。さらにWadaら(1968)によって、元従業員(以下MG障害者と略す)における高頻度な呼吸器癌の発生が報告され、癌発生のハイリスクグループとして注目されるに至った。

これまでにMG障害者の臨床的観察及び病理解剖(1993年8月までに211例を施行)から呼吸器癌発生に関して明らかにされてきた事実は以下のごとくである。

1) 1952年の観察開始時に登録されたMG障害者(全例男性)1632例における肺癌による死亡を、広島県男子のそれと比べた標準化死亡比(観察死亡数/期待死亡数)をみると、1953-1957年の期間では12.5を示し、それ以降1977年まで4.3以上と有意な上昇を示した。

2) 1977年までの剖検例でみると、肺癌は0~I次の太い気管支に多く発生し、組織学的には扁平上皮癌(45%)と小細胞癌(29%)が多く、腺癌(2%)が少ないという特徴があった。

3) MG障害者剖検例の気管・気管支の連続横断標本の組織学的観察では、臨床的に発見されていなかった上皮内癌巢を含めた異型上皮巢の出現率がMG障害者例で有意に高く、この傾向は肺癌剖検例のみならず非肺癌剖検例でも同様であった。また、上皮病変としては、基底細胞や中間細胞の過形成性病変も有意に高頻度に観察され、気管支被覆上皮に出現する杯細胞の粘液性状にも異常が見出された。このことは、MGによる肺癌発生が過形成性病変あるいは異型上皮巢とよぶ前癌性病変を経て多段階的に生じていることを示唆する。

以上の事実から、MG障害者における肺癌発生を化学物質によるヒト肺癌発生のひとつのモデルと捉えて、その発生機序を分子生物学的手法を用いて解析することを試みた。その結果これまでに、MG障害者にみられる肺癌では、p53遺伝子の異常を約50%の例に見出し、殊にG:C to A:T transitionのdouble mutationを示した例の存在が、MG曝露と肺癌発生との関連を示唆する所見として指摘できる。また、前述の前癌性病変についても、同様の手法を用いて解析を進め、その結果を併せて報告する。

広島大学第二内科 ○山岡直樹，長谷川健司，山木戸道郎

【目的】旧陸軍大久野島毒ガス障害者では気道癌が好発することが知られており，いわゆる肺門型肺癌の高危険群と考えられている。当科では長年にわたり毒ガス障害者に対して免疫賦活剤であるN-CWSを投与して，癌腫発生の抑制，並びに遅延効果について報告してきた。今回我々は，化学発癌剤であるMNU (N-Methyl-N-Nitrosourea) を家兎気管内に継続的に注入して毒ガス障害者類似の肺門型肺癌高危険群の実験モデルを作製し，さらに各種BRM (Biological Response Modifiers)の影響について検討したので報告する。

【方法並びに結果】体重3 kgの家兎にMNU 3 mgを月3回，気管内に投与したところ実験期間3ヶ月群 (MNU総投与量27 mg) では発癌家兎は19羽中14羽 (73.7%) であり，得られた癌腫はすべて気管軟骨輪内にとどまる初期浸潤癌であった。また前癌性病変と考えられる異型上皮も全検索標本の約半数に認められた。さらにこの実験期間3ヶ月群17羽を4ヶ月間，無処置の状態で放置したところ発癌家兎は9羽 (52.9%) であり，その9羽中3羽は気管軟骨輪を越えて浸潤する進行癌であった。すなわち，MNUの投与中止によっても癌腫が存続，進展することが明らかとなり，この4ヶ月間を臨床的潜在癌が顕性癌に至る潜伏期と見做し得るものと考え，この実験系がヒト肺門型肺癌高危険群類似の実験モデルになり得るものと考えた。次にMNU 3ヶ月間投与後の4ヶ月間に免疫賦活剤であるBRMを投与しその影響について検討した。すなわちMNU投与後無処置の状態で放置する対照群 (N群)，OK-432単独投与群 (OK群)，N-CWS単独投与群 (CWS群)，OK-432とN-CWSの併用投与群 (OK+CWS群) の4群に区分し癌腫発生状況について検討した。各群の発癌家兎はN群12羽中8羽 (66.7%)，OK群13羽中5羽 (38.5%)，CWS群13羽中7羽 (53.8%)，OK+CWS群15羽中5羽 (33.3%) であり，BRMの投与は癌腫の存続，進展に対して抑制的作用を示すことが窮われ，BRMの併用はその効果を増強する可能性が示唆された。

蟹沢成好（横浜市大・医・第1病理）

ビタミンAが細胞の増殖、分化に関係するばかりでなく、広くレチノイド（天然及び合成ビタミンA類縁化合物）として関与し、殊にヒトを含め癌の発生に密に関係することが知られてきた。その機序についても、抗発癌プロモーション作用や遺伝子発現制御作用等が指摘されている。一方、以前より気道上皮では基底細胞—基底膜に接着し気道表面に露出せず、細胞小器官に乏しい未熟細胞—が幹細胞であると見なされてきたが、近年、否定的見解も提示されている。他方、気道上皮には、気管、気管支と異なり、基底細胞を欠き線毛上皮と無線毛上皮（クララ）細胞から成る細気管支上皮部分があり、この領域の幹細胞—それ自体明確ではない—については、別な分化の様式を考えなくてはならない。かかる状況では、まず幹細胞の確認が必要で、我々は同定に適した実験系として、ラット脱上皮気管培養系を確立し、中枢気道上皮における基底細胞の幹細胞としての位置付けと共に、この系を用いて中枢気道幹細胞の分化に対するレチノイドの影響を検討した。また、末梢域気道上皮については、末梢ヒト気道上皮培養系や、ビタミンA欠乏マウスによる肺発癌実験により、上皮の再生、増殖、分化あるいはレチノイドの影響について検索を行ったので、それらの成績を中心に幹細胞分化におけるレチノイドの意義につき述べる。検索方法：1) ラット脱上皮気管培養系：ラット気管を培養管として摘出、凍結融解を繰り返して作製する。移植用に、家兎気管上皮細胞を酵素処理により採取し、基底細胞分画、その他の分画を得る。培養時、生細胞を1気管当たり約5000個移植する。2) ビタミンA欠乏および非欠乏（対照）ヌードマウス背部皮下に上述の各種分画移植気管を移植し、上皮の再構築、基底細胞の分化を検索する。3) ヒト肺末梢組織の再生過程は、肺癌切除肺胸膜直下の肺組織を細切しヌードマウス背部皮下に作製したポケット内に移植、経時的に移植片を顕微鏡並びに電顕的に検索、またBrdUを用い細胞動態を検索。4) 前記によりビタミンA存在、非存在下で得た気道上皮細胞を無血清培養し、増殖、分化につき検索。5) ビタミンA欠乏マウスによる4NQO肺発癌実験。結果：これらの検索から、基底細胞が幹細胞であること、A欠乏下の気道の扁平上皮化生に基底細胞が幹細胞となること、末梢ヒト肺組織では未熟低円柱上皮細胞から細気管支、肺胞上皮細胞へ分化する、ビタミンA欠乏マウスでの発癌率の有意の増大と腺癌の発生を確認した。



小形岳三郎

筑波大学 基礎医学系病理

## 〔序論〕

肺障害後に生じる肺線維化は、肺胞中隔に存在する間質細胞（中隔細胞）の遊走・増殖・コラーゲン産生に基づいて生じる。肺間質細胞は筋線維芽細胞の一種であるとともに、レチノイドを貯蔵する脂肪貯蔵細胞でもあることが分かった。そこで我々はこのレチノイド貯蔵能という特徴に注目し、レチノイドが肺間質細胞の遊走・増殖に影響を与えるか否かを、*in vivo*実験系および*in vitro*実験系にて検討した。その結果、レチノイドは肺間質細胞の遊走・増殖を低下させ、肺線維化を抑制することが明らかとなった。

## 〔材料・方法〕

1) *in vivo*実験系：レチノイド欠乏ラットをレチノール投与群と無投与群にわけ、パラコート障害肺を作製し、肺障害後の線維化の程度を形態学的に比較した。線維化の程度の指標として、画像解析にて病巣の面積率を用いた。

2) *in vitro*実験系：標的細胞には正常ラットの肺より採取した間質細胞を用いた。

(a) 肺胞マクロファージ由来のサイトカインによる間質細胞の遊走・増殖に対するレチノイドの影響を明らかにするために、PDGF、IGF-1等を添加した培地およびラットのパラコート障害肺より採取した肺胞マクロファージの順化培地を用いて、種々の濃度のレチノイン酸前添加細胞群と無添加細胞群での細胞遊走率およびBrdU標識率を比較した。

(b) 間質細胞自身よりのサイトカインの産生（オートクリン機構）に対するレチノイドの影響を明らかにするために、レチノイン酸添加間質細胞群と無添加間質細胞群から得られた順化培地について間質細胞の遊走率およびBrdU標識率を比較した。

## 〔結果〕

1) *in vivo*実験系：パラコート障害肺での線維化は、レチノール前処置によって有意に抑制された。

2) *in vitro*実験系：レチノイン酸添加群は、無添加群に比較して肺間質細胞の遊走・増殖が有意に抑制された。この抑制は、各種の増殖因子添加培地、肺胞マクロファージ順化培地、間質細胞自身の順化培地を用いた全ての実験にて示された。

## 〔結論〕

肺障害後に生じる肺線維化をレチノイド投与により抑制しうる事を、パラコート障害肺による肺線維化モデルを用いて示した。この肺線維化抑制機構としては、レチノイン酸がマクロファージ由来の増殖因子による肺間質細胞の遊走・増殖を抑制し、さらに間質細胞のオートクリン機構をも抑制することによるものと考えられる。

○ 三森国敏（国立衛生試験所・病理部）

間質性肺炎や肺線維症に肺癌の合併がヒトで報告されているが、肺線維症の発症から発癌に至る過程には多くの要因が関与するため、その機序は殆ど解明されていない。両病変の関連性を解析するためには、慢性に進行する肺線維症の実験モデルが必要であり、bleomycinやparaquat等を用いた実験が報告されているが、実験的肺線維症に続発した肺腫瘍についての記載は著しく少ない。肺線維症の実験モデルの確立および肺線維症と肺癌発現との関連性の解析のため、以下の実験を行った。

【肺線維症モデルの確立】 雌ハムスターにN-methyl-N-nitrosourethane (MNUR)0.8, 0.6, 0.4と0.2mg/個体を隔週あるいは週1回、5回皮下投与したところ、0.6mg群では死に至らない様な肺線維症が実験的に誘発可能であることが示された。雄ICRマウスにmonocrotaline(MC)200mg/kg週1回を9回、150mg/kg週一回を8回、100mg/kg週1回を18回皮下投与した。全投与群の肺に間質性肺炎が誘発されたが、150mg群の病変が肺線維症の遷延過程の解析に適切と考えられた。

【肺線維症発生機序の解析】 0.6mgのMNUR投与群と100mgのMC投与群に対して、投与終了後経時的に一部の動物を殺処分し、その肺線維化過程を組織学・超微形態学的に検索した。MNURやMC投与により肺胞壁の毛細血管内皮障害による肺胞上皮の剝離、間質水腫やマクロファージの著明な浸潤が投与早期よりみられ、以後その炎症性反応に続く肺胞壁のtype III collagenの増加による線維性肥厚が時間の経過とともに明瞭となった。肺組織中のhydroxyproline量の増加も4週以後に認められ、肺胞壁毛細血管の障害に起因する肺障害が肺線維化に進展することが示された。

【肺線維症と肺癌発生との関連性】 0.2ないし0.6mgMNURを毎週あるいは隔週に一回計5回投与後26週間無処置のまま飼育し、肺の増殖性病変の発現を経時的に観察した。0.6mg群では、4週以後、呼吸上皮由来の腫瘍や過形成病変が誘発された。腫瘍は主に乳頭状増殖を特徴とする異型大型細胞あるいは小型細胞から構成されており、約30%に線維化を伴っていた。過形成病変としては、炎症性細胞浸潤あるいは膠原線維の増生部に随伴して細胞増殖活性の低い腺上皮化生が頻繁にみられた。その他、発生数は少なかったが、3つの亜型が認められた。その中で、炎症に必ずしも随伴しない乳頭状小増殖巣は増殖活性が高く、前腫瘍性病変の可能性が示唆された。0.2mg群では、軽度の腺上皮化生を伴う限局性の慢性炎症性病変がみられたが、肺腫瘍の発生率は低く、腺上皮化生や線維化を伴うものはなかった。

以上の成績より、MNURの投与により肺腫瘍のあるものは線維化巣から発現するが、慢性炎症に伴う腺上皮化生から肺腫瘍が発現する可能性は低く、線維化過程が関与しない肺腫瘍の発現も存在することが示唆された。

## S-6 アスベストによる実験肺癌

君塚五郎（千葉大学看護学部病態学）、林 豊（同医学部肺癌研病理）

石綿(アスベスト)は二十世紀の鉱物、魔法の鉱物といわれ、その特質は摩耗、酸、アルカリ、熱に強く、絶縁や防音防熱に優れるなどの性質を兼ね備え、軽量でしかも加工性に優れるなど近代工業に欠くことのできない天然鉱物であった。他方石綿の吸入による生体への障害がある。他の粉塵と異なり広範な使用が一般人への暴露を引き起こし、しかも長い経過の後に影響が現れること、さらに線維の強い吸着性によると思われる他の大気汚染物質とくにタバコ煙中の発癌物質との共同作用が示唆されている。最近ではジゼルガス中の発癌物質との共同作用も取り沙汰されている。

石綿は線維が柔軟性に富み、細いクリソタイルとより太く粗いアンフィボール系（アモサイトやクロシドライト等）に分けられる。吸入された線維は末梢細気管支周囲に大食細胞を主とする炎症反応を惹起し、大食細胞に貪食された石綿は一方では鉄を含む蛋白を付与されて石綿小体となり、他方では石綿の強い細胞毒性のために大食細胞を破壊してライソゾーム等の酵素を遊離させ、白血球が放出する化学媒介物質と共に炎症反応を生じさせて線維増生をもたらし、生じた肺線維化が肺癌発生の母地となり得ると考えられている。

クロシドライト、アモサイトでは、石綿肺の程度と肺癌や中皮腫の合併に強い関連性が見られるが、クリソタイルではこの関連性は明らかでないとする見解もあるが、実験的にはクリソタイルはより肺の反応が強く、またベンツピレンの吸着力はアンフィボール系より強いことより肺癌との関連はクリソタイルが大きいとも考えられる。これらを考慮して、以下の実験を行った。

UICCクリソタイル(Chry)とアモサイト(Amo)とタバコ煙に含まれるベンツピレン(Bap)を混合し気管内に投与、ハムスターは18ヶ月、24ヶ月後に腫瘍（腺腫および癌腫）の発生について肉眼および組織学的に検索した。石綿および Bap 単独投与では腫瘍の発生がなく混合投与群は単独投与群に比較して有意に腫瘍および癌の発生が多かった。表に示すように、Chry+Bap群では12匹に37個の腫瘍、内16個が癌で1匹平均それぞれ3.1、1.3個でAmo+Bap群の30個、11個、2.2、1.0個に比べ多いが統計学的には有意差を認めない。腫瘍あるいは癌を持つ動物数で比較してもChry+Bap群に多い傾向であるが有意の差ではなかった。

Experimental groups		No of tumors			
		18M	24M	Total	Average
Chry+Bap	Chry 0.2mg+Bap 0.4mg	Chry+Bap 15(4)/6	22(12)/6	37(16)/12	3.1(1.3)
Amo +Bap	Amo 0.2mg+Bap 0.4mg	Amo+Bap 9(4)/6	21(7) /6	30(11)/12	2.2(1.0)
Chry	Chry 0.2mg	Chry 0 /5	0 /6	0 /11	
Amo	Amo 0.2mg	Amo 0 /6	0 /6	0 /12	
Bap	Bap 0.4mg	Bap 0 /6	0 /6	0 /12	

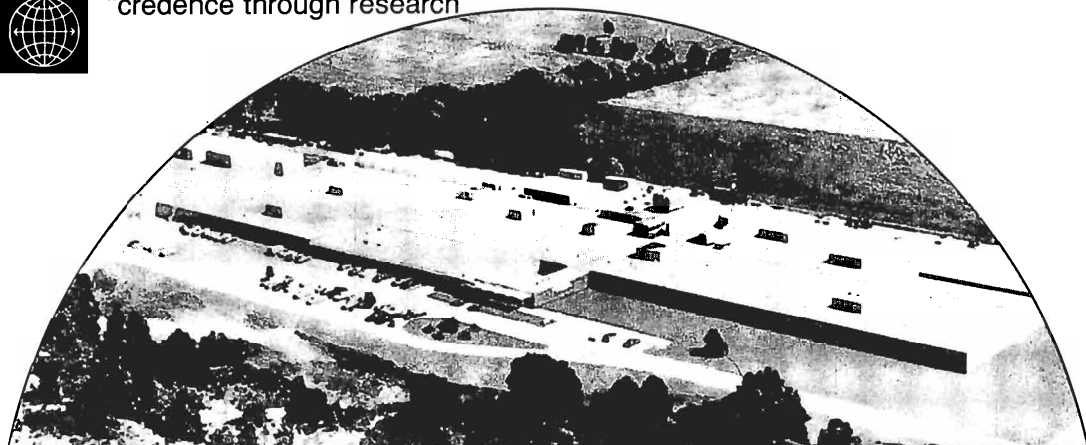
(0.05ml saline suspension x6d) ( ):Number of carcinoma

# 市民公開講座要旨

( L-1 ~ L-2 )



"credence through research"



# IRDC

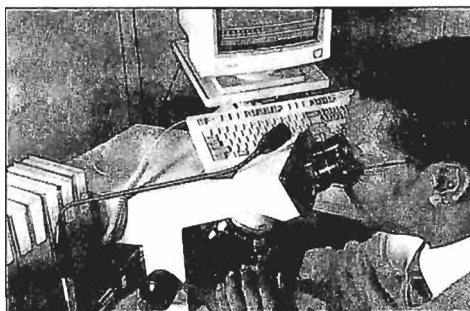
## 総合受託研究所

International Research and Development Corporation (Mattawan, Michigan, U.S.A.) は化学物質の安全性評価試験を行なう完全独立総合受託研究所です。

IRDCは400人の研究員と110acreの敷地に45,100m<sup>2</sup>の施設を擁し、厳密・公正な評価研究を遂行して、医薬・農業・化学薬品・食品・化粧品その他の工業界および公共諸機関の依頼に応じてきました。

IRDCのスタッフはかつて欧米の関係機関で重要な地位にあり、多くの国々・国際機関と密接な関係をもっていた科学者です。

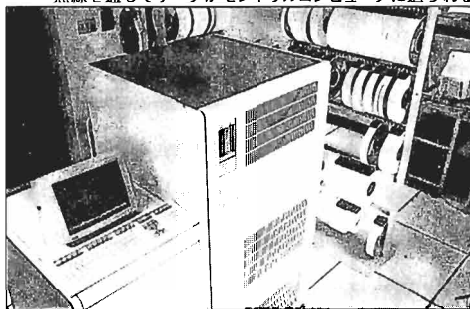
- 一般毒性試験
- 吸入毒性試験
- 生殖・世代試験
- 発癌性試験
- データ統計処理・レポート
- Quality Assurance



音声により病理所見が入力される



無線を通じてデータがセントラルコンピュータに送られる



セントラルコンピュータ

IRDC日本総代理店

**KASHO** 加商株式会社

ライフサイエンス グループ

〒103 東京都中央区日本橋2-1-4 9 ☎(03) 3276-7673・7674

## L-1 発ガン物質についてーガンから身を守るためにー

伊東 信行（名市大）

ガンの原因の大部分は発ガン物質によるとされています。しかも、われわれのまわりにはたくさんの発ガン物質があり、“人は発ガン物質の海の中に住んでいる”とさえいわれています。

しかし、発ガン物質といっても驚くほど強いものから、極めて弱いものまでいろいろです。そればかりでなく発ガン作用を弱めたり消したりする物質もたくさんあることが分かってきました。

発ガン物質の複合により発ガン作用が増すことも知られていますが、発ガンを抑える物質でもその複合により抑える作用が強くなってきます。

ガンから身を守るにはまず発ガン物質やそれを抑える物質と正しくつきあってゆくことが大切なのです。

## L-2 環境を汚しているのは貴方です

北野 大（財）化学品検査協会

昭和30年代、我国は悲惨な公害を体験しました。公害と言われる環境問題では、加害者は常に企業であり、被害者は住民でした。しかし、最近の環境問題は少し様子が異なっています。例えば水の汚濁の場合、かつては企業が廃水の処理を行わなかったために、カドミウム、水銀、シアン等が河川や海を汚染し、イタイタイ病や水俣病などの公害病が発生しました。ところが、現在の水の汚れの主役は私達です。汚れの中身もかつての重金属から生活雑排水といわれるものになっています。大気の汚染もそうです。工場の煙突から出される排気ガスがかつての犯人とするなら、今の犯人は自動車から出される排気ガスです。この意味で、地球規模の環境問題も含め、環境問題を自分達自身の問題としてうけとめねばなりません。即ち、環境を汚しているのは私達なのです。

— MEMO —

1. The first part of the report deals with the general situation of the country and the progress of the work during the year. It is a summary of the work done by the various departments and a statement of the results achieved. It is a general statement of the work done and is not intended to be a detailed account of the work of any one department.

2. The second part of the report deals with the work done in the various departments during the year. It is a detailed account of the work done and is intended to be a statement of the work done by each department.

3. The third part of the report deals with the work done in the various departments during the year. It is a detailed account of the work done and is intended to be a statement of the work done by each department.

— MEMO —

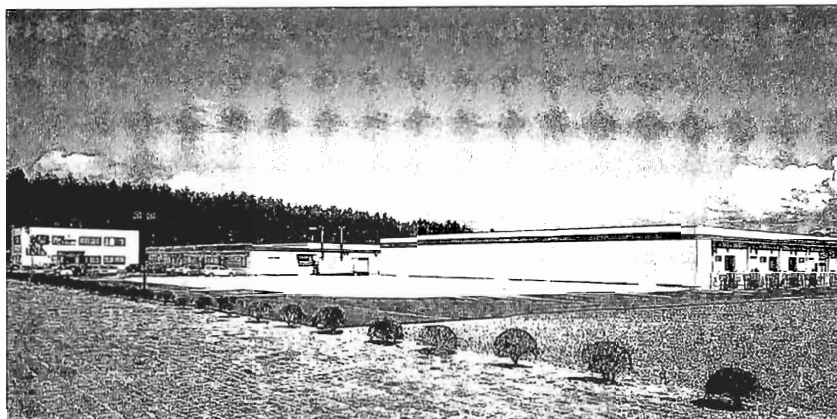


— MEMO —

# 一般講演要旨

( 1 ~ 49 )

恵まれた自然のもと  
充実した設備、すぐれた研究スタッフが  
大切な試験にお応えいたします



<第2研究所>

**受託試験 ◎安全性試験全般**

(サル、イス、ミニブタ、ウサギ、ラット、マウス、モルモット等)

**◎一般薬理試験 (A項目, B項目)**

**◎薬効薬理試験**

(抗腫瘍、抗潰瘍、抗炎症、鎮痛、抗糖尿、抗コレステロール、抗アレルギー、ホルモン関連作用等)

この他に

幼若動物を用いた試験, IVH/PPN, 長時間infusion試験等に幅広い実績を有し、

Toxicokineticsをはじめとする分析分野にも力を入れています。

また、海外ラボへの仲介業務、翻訳業務および実験動物用機器開発でトータルなサービスを提供しています。

 **株式会社 イナリサーチ**

本社研究所

〒399-45 長野県伊那市西箕輪8047番地

TEL 0265-72-6616(代表) FAX 0265-72-6657

第2研究所

〒399-45 長野県伊那市西箕輪2148番地

TEL 0265-73-8611(代表) FAX 0265-73-8612

# 1 クロロホルムの13週間全身暴露によるF344ラット及びBDF<sub>1</sub>マウスの鼻腔病変

○相磯成敏、櫻ゆみ、妹尾英樹、片桐卓、長野嘉介、山内勝彦、松本道男、  
奥平雅彦（日本バイオアッセイ研究センター）、榎本眞（安評センター）

有機溶剤として使用量が多く、また、古典的な吸入麻酔薬であるクロロホルムをF344ラットおよびBDF<sub>1</sub>マウスに13週間全身暴露した。ラットは全て生存し、雌雄とも高濃度群に軽度の肝傷害を認めた。マウス雄は暴露群の殆どが死亡し、腎臓の近位尿管に強い傷害がみられ、それを主死因と考えた。マウスの雌は全て生存し、高濃度群に強い小葉中心性肝細胞壊死を認めた。これらの結果は従来から知られているクロロホルムの腎臓、肝臓に対する傷害作用と符合する。今回は、ラット、マウスともに鼻腔の嗅上皮が選択的に傷害され、かつ、マウスの鼻腔病変の発生にも著明な性差がみられた事を報告をする。

【材料及び方法】 6週齢のF344/DuCrjラット及びCrj:BDF<sub>1</sub>マウスを1群につき雌雄各10匹ずつ使用し、クロロホルムをラットでは400, 200, 100, 50, 25, 0ppm、マウスでは200, 100, 50, 25, 12, 0ppmの濃度でそれぞれ13週間全身暴露させた。暴露期間中の死亡／瀕死動物及び暴露終了動物を剖検、諸臓器を摘出して10%緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従って光顕標本作製、組織学的検査を行なった。なお、鼻腔の切り出しは脱灰後、切歯の後端、切歯乳頭、第一臼歯前端的の3箇所で行った。

## 【結果】

ラット：雌雄とも全例が生存した。鼻腔病変は、粘膜固有層の鈣質沈着と嗅上皮の萎縮（雌雄共、すべての暴露群）、嗅上皮の壊死（雄の200ppmと400ppm群）であった。  
マウス：雌は各群とも全例生存したのに対し、雄の生存数は12ppm群 8例、25ppm群 1例、50ppm群 0例、100ppm群 2例、200ppm群 0例で、生存数に著しい性差をみた。死亡はすべて暴露開始後1週間以内にみられ、腎傷害を主な死因と考えた。雄の死亡ないし瀕死例の鼻腔には嗅上皮の変性（12ppm以上の各群）と基底細胞の過形成（25ppm以上の各群）が高頻度にみられた。これに対し、全例が生存した雌の暴露群では鼻腔の呼吸上皮あるいは嗅上皮にエオジン好性変化が高頻度にみられた。

【まとめ】 クロロホルム13週間全身暴露によるF344ラットの鼻腔病変は嗅上皮の萎縮と壊死が特徴的なものであり、性差は認めなかった。これに対し、BDF<sub>1</sub>マウスでは、生存率、腎傷害および肝傷害と同様に鼻腔病変でも著しい性差がみられた。クロロホルムの暴露によるラット、マウスの鼻腔病変については、詳細な検討がなされていないようであるので、その頻度と実像について報告する。

○妹尾英樹、櫻ゆみ、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介、山内勝彦、松本道男、  
奥平雅彦（日本バイオアッセイ研究センター）、榎本眞（安評センター）

1,4-dioxaneの長期間経口投与により、ラットの鼻腔に扁平上皮癌および鼻腔神経芽細胞腫が発生することが知られている。我々は、前回の本学会で13週間経口投与による呼吸器への影響について報告したが、長期間経口投与によって発生する腫瘍性病変に加えて、特徴的な非腫瘍性病変が鼻腔に観察されたので報告する。

【材料と方法】 6週齢のF344/DuCrjラット400匹を4群に分け(雌雄各50匹)、5000, 1000, 200および0ppmの濃度のdioxaneを飲水として104週間自由に摂取させた。投与終了後、全例を解剖し、諸臓器は10%緩衝ホルマリン液で固定した。鼻腔は脱灰後、切歯の後端、切歯乳頭、第一臼歯の前端の3箇所を切り出し、常法にしたがって光顕標本を作製した。

【結果】 腫瘍性病変：雄の5000ppm群に扁平上皮癌(3/50)、横紋筋肉腫(1/50)、肉腫NOS(2/50)および鼻腔神経芽細胞腫(1/50)、雌の5000ppm群に扁平上皮癌(7/50)および鼻腔神経芽細胞腫(1/50)が観察された。

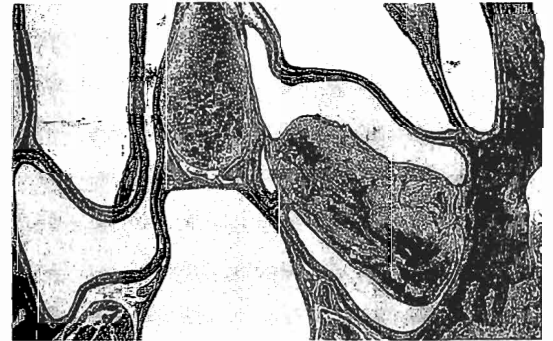
非腫瘍性病変：雌雄とも5000ppm群に呼吸上皮の扁平上皮化生(雄31/50, 雌35/50)および核増大、扁平上皮過形成(雄2/50, 雌5/50)、嗅上皮の萎縮および呼吸上皮化生、嗅上皮(支持細胞)の核増大、鼻粘膜固有層の水腫および硬化、鼻腺の増殖、甲介の癒着などが観察された。なお、嗅上皮(支持細胞)の核増大は雌雄とも1000ppm群でも観察された。

【まとめ】 腫瘍性病変として扁平上皮癌が数多く発生し、その前癌病変と推察される呼吸上皮の扁平上皮化生および扁平上皮過形成も観察された。また、少数例ではあるが鼻腔神経芽細胞腫や非上皮性腫瘍の発生も見られた。

dioxaneの13週間経口投与実験で嗅上皮および呼吸上皮の核増大が観察されたが、この変化は104週間投与群においても観察された。さらに、13週間投与で見られなかった嗅上皮の萎縮および呼吸上皮化生が観察された。また、鼻粘膜固有層に水腫および硬化、鼻腺の増殖、甲介の癒着が認められ、dioxaneの長期投与の影響が鼻腔上皮だけに留まらないことを示唆しているものと考えた。



鼻腺の増殖と鼻粘膜固有層の水腫



甲介の癒着と化骨性変化

### 3 Butylated hydroxytoluene (BHT)のN-Ethyl-N-hydroxyethyl-nitrosamine (EHEN) によるマウス肺腫瘍発生に及ぼす影響

○林 功,小西 登,北堀吉映,日浅義雄(奈良医大・二病理)

(目的) 前回我々はラットに腎上皮性腫瘍を特異的に発生せしめうる、N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine (EHEN) がマウスで肺腫瘍(腺腫~腺癌)を発生することを報告したが、今回 EHEN 誘発肺腫瘍発生における Butylated hydroxytoluene (BHT) の促進効果を検討した。

(方法) SLCから購入したBALB/cマウス雄6週令を基礎食で1週間の予備飼育後、EHEN+BHT群・EHEN単独投与群・BHT単独投与群及び基礎食のみ投与の対照群の4群を作製した。各群20匹で、EHENは1000ppmの濃度で粉末基礎食(オリエンタルM)に混入し、2週間投与後、BHTを1000ppmの割合で同様の方法で34週まで連続投与した。実験期間は34週で、エ-テル麻酔のもとに屠殺後両側肺を縦隔と共に一塊として摘出し、10%中性ホルマリンで固定し肉眼的及び組織検索に供した。肺に発生した腫瘍の個数を組織学的に計測するとともにcell kinetics を検討する為に BrdUを施行した。

(結果) EHEN+BHT投与群は93.3%に肺腫瘍発生をみたが、EHEN単独投与群では66%であり、BHT単独投与群では13.3%であった。BHTはEHENで誘発されるマウスの肺腫瘍の発生に促進傾向を示した。又、マウス当たりの腫瘍数でも同様の結果であった。組織型ではEHEN単独投与の場合と腺腫及び腺癌であった。

○安原 加壽雄、三森 国敏、吉村 博之、小野寺 博志、下 武男、高橋 道人、  
林 裕造（国立衛試・病理）

〔目的〕我々は、ハムスターに 0.6mg の N-methyl-N-nitrosourethane(MNUR)を5回反復投与し、誘発される肺増殖性病変の細胞増殖活性を経時的に検討した結果、過形成性病変が、炎症性病変に随伴して発生する傾向があった。しかし、腫瘍は線維化を必ずしも伴わなかったことを第52回癌学会総会で報告した。今回、これらの増殖性病変が炎症性病変に続発するか否かをさらに検討するため、より低い MNUR の用量での投与実験を行い誘発される病変を 0.6mg 群のそれと比較検討した。

〔方法〕6週齢の雌シリアンゴールデンハムスターに MNUR を 0.5% エチルアルコールに溶解し、背部皮下に 1) : 0.6mg を隔週1回、計5回、2) : 0.2mg を週1回、計5回、また、3) : 雄ハムスターに 0.3mg を1回投与した。最終投与日から 26 週間無処置飼育した後、各群の生存動物 (0.6mg 群 22 匹、0.2mg 群 8 匹、0.3mg 群 14 匹) を屠殺した。肺を摘出しホルマリン液で気管注入固定し、H.E およびマッソントリクロム染色を施し組織学的に検索した。また一部の肺についてはメチルアルコール・カルノア固定し、抗タイプⅢコラーゲンおよび抗チュプリンの免疫染色を行った。

〔結果〕0.6mg 5回投与群では 22 匹全例に腫瘍が発生し、認められた腫瘍の約 30% に膠原線維の増生が伴ってみられた。また、炎症あるいは膠原線維の増生を伴う上皮の過形成性病変も全例に観察された。これら病変の約 50-70% は線毛を有する細胞からなる腺上皮化生であり、多くはマクロファージなどの細胞浸潤からなる炎症性病変を伴っていた。このほか、細胞増殖活性が高い前腫瘍性病変と思われる乳頭状増殖巣も認められたが、炎症性病変を伴うものは少なかった。0.2mg 5回投与群では 8 匹中 7 匹に限局性の慢性炎症が認められ、病変内には軽微な膠原線維の増生も認められた。これら炎症病巣には腺上皮化生が随伴してみられた。腫瘍は 8 匹中 4 匹に認められたが、膠原線維の増生を伴う例は認められなかった。0.3mg 1回投与群では 14 匹中 13 匹に軽度な腺上皮化生が認められたのみだった。

〔結語〕MNUR 0.6mg 群で肺腫瘍は線維化を伴うものが認められたが、低用量投与群では、肺腫瘍に炎症性病変・線維の増殖を伴っていなかったことから、MNUR によって誘発される肺腫瘍が線維化巣を経由する可能性は低いことが示唆された。

○木村重紀, 吉田康則, 矢田英昭, 玉野静光, 今井田克己, 広瀬雅雄  
(名市大・医・1病理)

【はじめに】

アスコルビン酸 (AsA) およびアスコルビン酸ナトリウム (NaAsA) は強い抗酸化作用を有し、ビタミンあるいは食品添加物として広く用いられている。これらはアミンと亜硝酸の反応によるニトロソアミンの生成を阻害する結果、発癌を抑制させることが知られている。しかし、最近我々はNaAsA と亜硝酸ナトリウム ( $\text{NaNO}_2$ ) の4週間同時投与がラット前胃に強い細胞増殖を発生させることを報告した。今回、AsA およびNaAsA と  $\text{NaNO}_2$  を1年間複合投与し、N-Methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine (MNNG) 誘発ラット前胃発癌に対する修飾作用を検討した。

【実験方法】

各群15~20匹のF344雄ラットに体重1kg 当たり150mg のMNNGを1回胃内投与し、1週間後よりNaAsA (1%) と  $\text{NaNO}_2$  (0.3%), AsA (1%) と  $\text{NaNO}_2$  (0.3%),  $\text{NaNO}_2$  (0.3%), NaAsA (1%) またはAsA (1%) をNaAsA とAsA は混餌で、 $\text{NaNO}_2$  は飲水で投与した。MNNGのみおよびMNNGを投与しない対照群も同様に設けた。屠殺解剖は全群52週で行い、前胃を中心に病理組織学的に検索した。

【結果】

MNNG処置群では、 $\text{NaNO}_2$  投与群において前胃扁平上皮癌の発生率 (47%) が基礎飼料群 (10%) に比べ有意に増加した。NaAsA+ $\text{NaNO}_2$  群 (79%) およびAsA+ $\text{NaNO}_2$  群 (85%) では癌の発生は $\text{NaNO}_2$  群 (47%) よりさらに増加した。しかし、NaAsA またはAsA 投与群では何らの作用もみられなかった。MNNG非処置群では、NaAsA あるいはAsA と  $\text{NaNO}_2$  を複合投与した群においても癌の発生はみられなかったが乳頭腫がそれぞれ53%, 20%に認められた。

【まとめ】

$\text{NaNO}_2$  はラット前胃発癌に対しpromoter作用を有し、NaAsA およびAsA は $\text{NaNO}_2$  に対してco-promoter として作用した。さらにNaAsA あるいはAsA と  $\text{NaNO}_2$  の長期複合投与はラットの前胃粘膜に発癌性を示す可能性が示唆された。



今木正文, 赤井啓二, 宮本 誠 大阪大学付属病院 病理部

WF-大阪ラットは、40%に大腸癌の自然発生が認められ、さらにその担癌ラットの40%に癌の自然消退が認められる。これは人間におけるFamilial polyposisのような遺伝的なものと考えられていたが、その担癌WF-大阪母親ラットに育てられた他系一腹のACIラットの子孫にも生後4カ月の頃に大腸癌を生じることから、我々は授乳時のある種の微生物による感染がこれらの癌発生の原因であることを推測し、以下の実験を試みた。

実験1) WF-大阪ラットの血清をACI, LE, W/Shi等の新生児ラットの腹腔内に注射したところ、高頻度の大腸癌発生を認めた。(系に関係なく発生)

実験2) 実験1で癌発生したW/Shiラットの血清をさらにACI新生児ラットの腹腔内に注射すると、すべてのラットに癌発生が認められた。(伝播性)

実験3) 担癌WF-大阪ラットの血清を希釈してACI, LE等の新生児腹腔内に注射すると、その濃度に準じた癌の発生結果が得られた。(Dose response)

実験4) 担癌ラットと他種のラットとの交配では、その子孫に高頻度に癌発生が認められる(特に担癌雌ラットとの交配の場合に高頻度)。(伝播性)

実験5) 担癌ラットの血清(450nmフィルターで濾したもの)をLE新生児ラットの腹腔内に注射すると高頻度の癌発生が認められる。

実験6) 癌組織を培養系とし、そのpassageした癌細胞は、癌が自然消退したラット血清を抗体としたFITC染色でその細胞質に顆粒状の染色粒子を認める。さらにその培養液を3000回転遠心し、ACI新生児の腹腔内に注射すると高頻度の癌発生を認める。450nmフィルターで濾した培養液をACI新生児の腹腔内に注射しても同様である。

実験7) 培養液を超遠心分離し、免疫固相法による電子顕微鏡観察によりこの粒子は約40~50nmの卵円形構造物であることが判明した。

これらの実験結果から我々は、担癌WF-大阪ラットの血清中あるいは癌組織中にもなんらかの transmissible agentが存在し、その本体は約40~50nmの卵円形 virus様粒子であり、けっして遺伝的な癌発生では無いと確信する。

## キメラマウス肛門部癌の系統特異抗体による検索

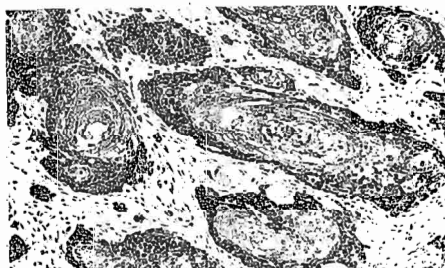
○山本昌美, 深見博子, 岩田仁, 増井恒夫, 日下部守昭,  
坂倉照好, 立松正衛

〔目的〕我々はキメラマウス(C3H↔BALB/c) 1,2-dimethylhydrazine (DMH) 誘発大腸癌において, C3H に対する系統特異抗体を用いた免疫組織化学的検索の結果、大腸腫瘍は単クローン性増殖により発生し、一部は進展の過程で融合、結果的に多クローン性腫瘍が形成されることを発表してきた。今回は DMHで誘発される肛門部癌に焦点を合わせそのクローン性と融合の可能性を検討した。

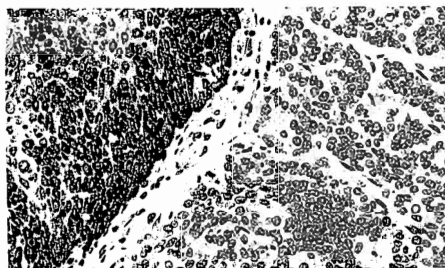
〔材料および方法〕 C3HとBALB/cの初期胚を用いて集合法により作製した7週齢のキメラマウスにDMH 20mg/kg b.w.を週一回20週投与(s.c.)し、実験開始後20および35週で屠殺した。大腸および肛門部組織をマイクロウェーブ照射により前固定したのち、アルコールにより後固定を行いポリエステルワックスに包埋した。切片を抗C3H 系統特異モノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に染色しC3H 由来細胞の分布を検討した。また肛門部扁平上皮のEpidermal proliferative unit(EPU)に相当する表層角質化細胞の検索のため肛門部粘膜のシート標本を作製した。

〔結果〕大腸の陰窩上皮細胞は陰窩単位で単クローン性に組織が構築されていた。肛門部扁平上皮はEPUを構成単位として単クローン性に構成されている事が示唆された。肛門部扁平上皮癌は20週では認められなかった。35週での発生率は キメラ;6/10(60.0%), C3H;6/12(50.0%), BALB/c;8/11(72.7%)で各系統とも扁平上皮癌の発生率に有意な差は認められなかった。キメラマウスにおける C3HならびにBALB/c由来の扁平上皮癌の発生個数は、それぞれ2個と6個で、何れかの細胞由来を示す単クローン性増殖が主体であった。一方、発生した腫瘍が偶然近接し、両者由来の腫瘍細胞が併存していた例が見出されたが、癌組織は独立して形成されていた。

〔結論〕腫瘍は単クローン性増殖により発生するが、複数の腫瘍が発生した場合、進展の過程で同一病変を形成し、結果的に多クローン性腫瘍が形成される可能性が示された。また多クローン性腫瘍が形成された場合、大腸癌(腺癌)と比較し、組織単位で融合する傾向が弱い事より、上皮の種類により腫瘍組織の独立性に差異のあることが示唆された。



C3H抗原陽性扁平上皮癌



陽性および陰性扁平上皮癌

## ラットにおけるバリン欠乏アミノ酸インバランスの脂肪肝に関する病理学的検討

○小松博道, 西平哲郎, 標葉隆三郎, 佐川純司, 中野達也,  
星野 彰, 吉田和哉, 森 昌造 (東北大医第二外科)

目的：癌に対するアミノ酸インバランス療法とは、特定のアミノ酸を欠如させたり、過剰にした輸液を投与することにより、栄養の面より積極的に癌の進展を抑えようとする試みである。特にバリン欠乏アミノ酸インバランス輸液は、優れた腫瘍増殖抑制効果を発現するが、脂肪肝が発生し、当該療法の開発を妨げてきた。今回、我々は非担癌ラットにおける基礎的検討としてバリン欠乏アミノ酸インバランス療法における脂肪肝の発生過程を病理学的に検索するとともに、脂肪肝を防止するための検討も行ったので報告する。

方法：実験1) 脂肪肝の発生過程の検討として体重170～230gのCrj:Donryu系雄ラットを用い、中心静脈(CV)にカテーテルを挿入し、2日間の馴化後3日目より、対照輸液として10%アミノ酸製剤にグルコース等を加えた高カロリー輸液を、またバリン欠乏アミノ酸インバランス輸液は対照輸液からバリンのみ欠如させた輸液を用いて実験を行った。輸液期間は、投与開始後6時間、1日、2日および4日間であり、投与終了後剖検した。常法に従って肝臓の病理組織学的検査と肝臓のホモジネイトによる脂質の定量を行った。

実験2) この脂肪肝の発生を防止するために門脈(PV)から対照群のアミノ酸製剤に含まれるバリンの5%、10%、25%、50%、75%および100%量を4日間投与し、実験1)と同様に検査した。なお両実験とも各群に9～10匹(計157匹)を充当した。

結果：実験1) バリン(-)群では、肝体重比が経時的に高まり、投与開始後4日で5.5%と対照群に比し有意に高値を示した。肉眼的には肝臓は軽度～中等度に黄白色を呈し、組織学的には肝小葉全域に大小さまざまな脂肪空胞(Sudan III 陽性)が軽度～高度に観察された。肝臓の脂質定量ではトリグリセライド値が2日から4日にかけて急激に増加し対照群の約3倍となった。実験2) PVから25%以上のバリンの投与で脂肪肝は認められなくなり、肝小葉周辺にわずかに観察されるに過ぎなかった。脂質定量においてもトリグリセライド値が有意に低下し、対照群とほぼ同じ値となった。

考察：非担癌ラットのバリン欠乏アミノ酸インバランスでは投与開始後4日と比較的早期に脂肪肝が発生した。これはバリン欠乏が原因と考えられた。一方、門脈から少量のバリンを投与すると、肝臓がバリンを摂取し、肝臓の脂肪化が抑制されたと考えている。

○梅村隆志、斎藤実、高木篤也、黒川雄二 (国立衛試・毒性)

芳香族炭化水素ジクロロベンゼンにはo-, m-, p-の3種の異性体が存在する。o-およびm-DCBは樹脂の溶媒や工業的な化学合成時の重要な中間体として利用されている。一方、p-DCBは、防虫剤、防臭剤として広く一般家庭で普及している。しかし、o-およびm-DCBはラットに対して強い肝毒性を持ち、またp-DCBはラットおよびマウスの肝臓に細胞増殖を誘導する事が知られている。そこで今回、o-, m-およびp-DCBをマウスに単回強制経口投与し、肝毒性および肝細胞増殖作用について比較検討した。

材料・方法：コーン油に溶解したo-, m-およびp-DCBを雄6週令のB6C3F1マウス、各群5匹にそれぞれ300、300および1800 mg/kg体重単回強制経口投与し、投与後の1、2、3、4および7日目に解剖し、肝比重量(RL)、肝細胞BrdU標識率(LI)、肝組織壊死面積率(NA)および血清アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性を測定した。前処置としてBrdU100 mg/kg体重を解剖2時間前に腹腔内注射した。対照群にはコーン油のみを1800 mg/kg体重投与した。また、用量相関性を調べる目的で上記と同様の条件でo-およびm-DCBを120、200、300 mg/kg体重、p-DCBを600、1000、1800 mg/kg体重単回強制経口投与して、投与後2日目に同様の項目について検索した。対照群にはコーン油のみをそれぞれの最高用量群と同量投与した。

結果・考察：o-DCBでは、RLが投与後1日目より4日目まで有意の高い値を示した。ALTは投与後1日目を最高値(8815 mU/ml)として、2日目においても依然有意の高い値を維持したが、3日目より急激に減少し、4日目にはほぼ対照群の値に回復した。NAは1日目より上昇し、2日目に44%と最高値に達したが、3日目より急激に減少し、7日目には認められなくなった。一方、LIは2日目より有意な上昇を示し、3日目には8.4%と最高値に達し、以後急激に減少した。用量相関性試験では、投与量300 mg/kg体重でRL、ALTおよびLIが有意の高い値を示し、NAも高い値を示したが、投与量200 mg/kg体重ではALTがやや上昇し有意の値となり、NAもわずかに認められたものの、LIに有意の変化は認められなかった。低用量群では何れの項目についても変化は認められなかった。m-DCBではRLが1日目より3日目まで有意の高い値を維持した。ALT、NAは何れも1日目に最高値(7942 mU/ml, 43%)を示し、以後漸次減少した。LIは2日目より急激に上昇し、3日目に8.3%の最高値に達した後、急激に減少した。用量相関性試験では、投与量200 mg/kg体重以上でRL、ALT、NAおよびLIが用量相関をもって上昇し、RL、ALTおよびLIは有意の変化となった。一方、p-DCBはRLが1日目より3日目まで有意の高い値となった。2日目にはALTが326 mU/mlの有意の変化と0.28%のNAが観察されたが、同時期にLIも上昇し、2.1%の最高値を示し、3日目にも依然有意の高い値を維持した後、漸次減少した。用量相関性試験では、最高用量でALTが有意の値を示し、NAもわずかに観察されたが、RLおよびLIはALTおよびNAに変化の認められなかった1000 mg/kg体重でも有意の変化を示した。以上の結果より、ラットに対してo-DCBが最も強い肝毒性を示すのに対し、マウスではm-DCBがむしろo-DCBより強い肝障害性を示す事が明らかとなった。また、o-およびm-DCB投与後に認められる肝細胞増殖は肝組織障害に続いて生じる代償性細胞増殖であり、p-DCBが示す細胞分裂促進作用とは異なるものと推察された。

○遠藤武弘<sup>1</sup>, 傳田阿由美<sup>1</sup>, 安藤信明<sup>1</sup>, 野口修<sup>1</sup>, 吉田順一<sup>1</sup>, 高島吉治<sup>1</sup>,  
水本靖士<sup>1</sup>, 中江大<sup>1</sup>, Amedeo COLUMBANO<sup>2</sup>, 小西陽一<sup>1</sup> (1奈良医大・がん  
セ・腫瘍病理, 2Univ. Cagliari, Italy)

(目的) 硝酸鉛(LN)は、ラット肝細胞に対しmitogenとして作用して肝細胞増殖を誘発すると共にapoptosisを誘発する。一方、肝部分切除や四塩化炭素(CCl<sub>4</sub>)投与による肝細胞障害の後に誘発される代償性の肝細胞増殖ではapoptosisは誘発されない。今回、我々はラット肝においてN-nitrosodiethylamine(DEN)により誘発される酵素変倚小増殖巣に対する、硝酸鉛による肝細胞増殖と四塩化炭素による代償性の肝細胞増殖の影響を比較した。

(方法) 材料：動物は6週齢の雄性Wistarラットを用いた。DENは生食水に溶解せしめて200mg/kg体重の用量で一回腹腔内投与し、硝酸鉛は蒸留水に溶解せしめて100 $\mu$  mole/kg体重の用量で一回静脈内投与、四塩化炭素はコーン油に溶解せしめて2ml/kg体重の用量にて一回胃ゾンデにて投与した。実験プロトコル：以下の5群を作製した。第1群は、DENでイニシエイトし、2週間後に屠殺した。第2,3,4群は第1群と同様にDENでイニシエイトし、第5群は生食水を投与し、いずれも2週間の回復期間の後、第2、第5群は硝酸鉛を投与、第3群は四塩化炭素を投与、第4群は蒸留水を一回静脈内投与した。第2-5群の動物はいずれも実験開始5週目に屠殺した。全実験群の肝について、glutathione S-transferase placental form(GST-P)陽性小増殖巣の数と大きさを測定した。

(結果) GST-P陽性巣の肝1cm<sup>3</sup>当りの数、大きさ、肝に占める面積は各々第1群では582 $\pm$ 124個、0.023 $\pm$ 0.023mm<sup>2</sup>、0.18 $\pm$ 0.04%、第2群では261 $\pm$ 41個、0.047 $\pm$ 0.038mm<sup>2</sup>、0.25 $\pm$ 0.10%、第3群では667 $\pm$ 40個、0.084 $\pm$ 0.081mm<sup>2</sup>、1.49 $\pm$ 0.26%、第4群では545 $\pm$ 128個、0.034 $\pm$ 0.041mm<sup>2</sup>、0.29 $\pm$ 0.09%、第5群と第6群ではGST-P陽性巣はみられなかった。以上の結果より、第2群では第3群に比しいずれの値も有意に減少し、四塩化炭素による代償性の肝細胞増殖はGST-P陽性肝細胞を更に増殖せしめるのに対し、apoptosisを伴う硝酸鉛による肝細胞増殖は、むしろapoptosisによりGST-P陽性肝細胞を除去する事が示唆された。

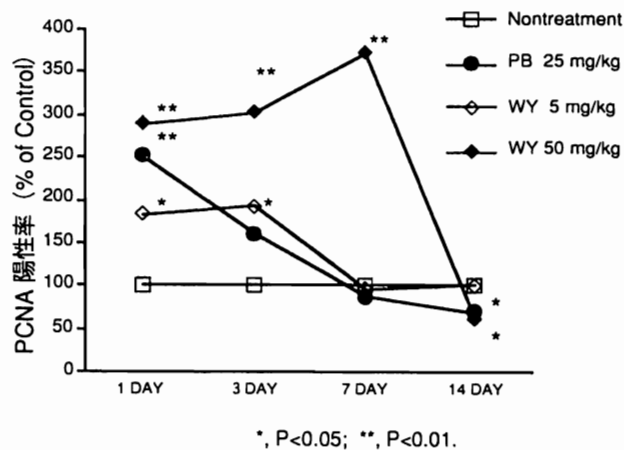
WY-14,643 および Sodium Phenobarbital 投与ラット  
 における肝細胞増殖動態の経時的变化

○小林 潔, 土屋毅幸, 藤田重晴, 務台 衛 (三菱化成総研・病理)

【序】 非遺伝子障害性発癌物質による発癌過程においては、その物質の有する細胞増殖誘発作用が重要な役割を演じるものと考えられている。増殖誘発作用の検出のために、短期間投与時の細胞増殖率を検索する事が提唱されているが、そのための至適な実験条件に関する知見は少ない。そこで我々は、予備的な検討として、ラットの肝臓に対し強力な発癌性を有する、非遺伝子障害性発癌物質 WY-14,643(WY) と代表的な肝発癌プロモーターである Sodium Phenobarbital(PB) をラットに 2 週間反復投与し、肝臓における細胞増殖動態を経時的に検索した。また、これらの物質を用いて実施した、発癌性試験の結果との比較検討も行った。

【方法】 6 週齢 SD 系雄ラットを用い、対照、WY 5、および 50 mg/kg/day 投与 (WYL 群、WYH 群)、ならびに PB 25 mg/kg/day 投与(PB 群) の 4 群を設け、強制経口投与による 2 週間反復投与を行った。投与 1、3、7、14 日目に各群 5 匹の動物を屠殺し、Proliferating Cell Nuclear Antigen(PCNA) に対する抗体を用いて、1 匹あたり 2000 個の肝細胞を対象に PCNA 陽性率を測定し、増殖能の指標とした。発癌性試験は、WYL 群および PB 群とほぼ同程度の暴露量と考えられる WY 100 ppm、PB 500 ppm の 2 用量で、F344 系ラットを用いて混餌投与により実施した。

【結果】 投与 1 日目では WYH 群、PB 群、WYL 群の順に、いずれも対照群に比べ高い PCNA 陽性率を示した。WYH 群は 3、7 日目も高い PCNA 陽性率を示したが、14 日目では対照群と同等か、むしろそれ以下の値を示した。WYL 群、PB 群の PCNA 陽性率は漸減し、7 日目以降は対照群と同程度であった(右図)。一方、発癌性試験における肝細胞腺腫または癌の発生率は、対照群 0 % (0/24)、WY 100 ppm 投与群 100 % (12/12)、PB 500 ppm 投与群 17 % (4/24)であった。



【考察】 ラットの肝臓における、化学物質による細胞増殖動態の経時変化は、投与物質や用量によって異なったパターンとなる可能性が示唆された。このことから、ある物質の細胞増殖誘発の能力を検索する場合、様々な用量を用いた経時的な検索が必要であると考えられた。また、短期間投与時の細胞増殖の誘発の程度は、長期投与時の発癌性の強さとは単純に一致しない事が示唆された。

○田中浩二<sup>1</sup>、河村清次<sup>2</sup>、松本浩良<sup>1</sup>、土井邦雄<sup>2</sup> (1: 萬有開発研、2: 東大実験動物)

【はじめに】ラットの肝にペロキシゾーム増生作用を持つ Clofibril Acid (CA) を 1500, 4500 および 9000ppm の用量でラットに混餌投与すると、*in vivo* で投与初期には用量依存的な著しい肝細胞の増生が誘発されるが、13週後には逆に用量に相関した肝細胞の増生抑制効果が観察される。今回、CA をラットに 9000ppm で13週間混餌投与し、これらの動物から採取した肝細胞の *in vitro* 条件下における Epidermal Growth Factor (EGF) に対する反応を経時的に検索した。

【材料および方法】11週令の雌性 Sprague-Dawley系ラットに CA を 9000ppm の用量で混餌投与し、投与4日後、1,2,5,9 および 13週後に各々3例のラットから肝細胞を採取した。また、投与1,7 および 13週目に各々3例の無処置ラットから肝細胞を採取し対照群とした。肝細胞の分離はketamine/celactal の混合麻酔下でコラーゲナーゼ灌流法により行い、コラーゲンコーティングした Celldesk® に  $3 \times 10^4/\text{cm}^2$  の細胞密度でプレATINGした後、Williams E 培地で初代培養した。培養2時間後に EGF(20ng/ml) と insulin( $10^{-7}\text{M}/\text{ml}$ ) を培地に加え、培養24時間後には Bromodeoxyuridine(BrdU) を  $10 \mu\text{M}/\text{ml}$  で添加し、さらに24時間培養した。培養48時間後に培養細胞を10%中性緩衝ホルマリンで固定した後、免疫組織化学法により BrdU陽性細胞を染色し、4000個の細胞から細胞増生率を求めた。

【結果および考察】CA 投与群の肝細胞増生率は対照群に比較して、投与4日目から低下した。この現象は投与期間の延長とともに強くなり(Fig.1,2 & 3)、13週目における著しい低下は *in vivo* で観察された肝細胞増生抑制作用と一致するもので、CAの持続投与が肝細胞の EGF に対する反応を減じるためと考えられた。

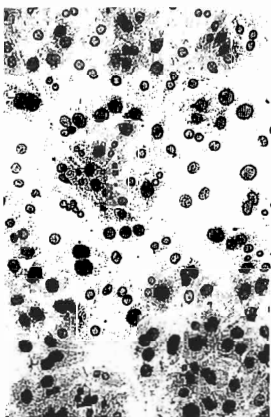


Fig. 1 Control Week13

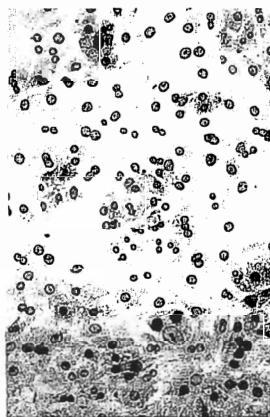
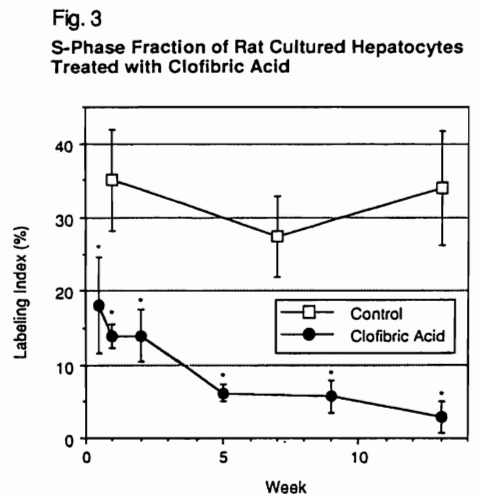


Fig. 2 CA9000ppm Week13



## 脾臓に移植したラット肝GST-P陽性細胞巣に対するクロフィブ レートの影響

○溝口靖基<sup>1</sup>, 立松正衛<sup>2</sup>, 加藤俊男<sup>1</sup>, 河部真弓<sup>1</sup>, 広瀬雅雄<sup>1</sup>, 伊東信行<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>名市大・医・1病理、<sup>2</sup>愛知がんセ・研・1病理)

### 【目的】

肝ペルオキシゾーム増生物質であるクロフィブレートはラット肝において胎盤型glutathione S-transferase(GST-P)陰性の増殖巣や肝癌を発生させることが知られている。そこで、diethylnitrosamine(DEN), 2-acethylaminofluorene(2-AAF)により作製したラット肝のGST-P陽性細胞巣を脾臓に移植し、移植巣のGST-Pの染色性に対するクロフィブレート投与の影響を検討した。

### 【実験方法】

6週齢の雄F344ラットを用いDEN(200mg/kg, ip)、2/3肝部分切除(PH)および6週間の2-AAF(0.01%)混餌投与で誘導されたGST-P陽性細胞巣を同系雄ラットの脾臓に移植した。移植の時期の違いにより、試験開始から8週での移植群をEarly群、24週での移植群をLate群とし、移植後1%クロフィブレート添加飼料または基礎飼料を与えた。試験開始から24週目(Early群のみ)、48週、72週の各時期で屠殺剖検し、移植巣のGST-P染色を行い、基礎食群との比較検討を行なった。なお、対照群として正常肝移植群を設け、1%クロフィブレート添加飼料または基礎飼料を与えた。

### 【結果】

Early群では、各時期ともにクロフィブレート投与群において基礎食群と比べ移植巣数の減少とGST-Pの染色性の低下がみられた。また、移植率については各時期で基礎食群と比べて低く、クロフィブレートおよび基礎食群ともに移植後の日数が経つにつれて各時期での移植率が上昇する傾向がみられた。Late群では、いずれの時期においてもクロフィブレート群において基礎食群と比べて染色性の低下がみられたが、移植巣数については増加する傾向がみられた。また、移植率については各時期ともクロフィブレート群で高くなる傾向がみられた。正常肝移植群(対照群)では、クロフィブレートを与えた動物においてのみ肝細胞の生着をみたが結節は形成されなかった。

### 【結論】

クロフィブレートはGST-P陽性細胞巣を移植したラット脾臓において、GST-P陽性細胞巣を陰性化することが明かとなった。このことより、クロフィブレート誘導の陰性肝癌はその発生過程において、GST-Pの誘導抑制を起こすことが示唆された。また、クロフィブレート投与により移植率が上昇することからクロフィブレートは移植した肝細胞に対し増殖維持に作用することが示され発癌との関係で興味深い結果といえる。



○杉江茂幸<sup>1)</sup>、岡本清尚<sup>1)</sup>、田中卓二<sup>1)</sup>、森 秀樹<sup>1)</sup>、B.S. Reddy<sup>2)</sup>

(1)岐阜大、医、病理、2)Naylor Dana Inst., Am. Health Found.)

【はじめに】

コーン油及びラードは大腸、乳腺等で発癌を促進するプロモーターとして知られている。一方、肝発癌においてはこれらの物質がプロモーション作用を有することが疑われ幾つかの実験が行われ報告がなされているが、促進傾向はあるものの有意差の存在は報告はなされていない。今回我々は、コーン油及びラードをイニシエーション期に混餌投与しAOMにて誘発される肝発癌への修飾効果を検索する目的でglutathione S-transferase placental form (GST-P)陽性巢の解析を行い、興味ある結果を得たので報告する。

【材料と方法】

雄F344ラットを用い、6群に分け、5週齢より5, 13, 6, 23, 5%コーン油ないし5, 13, 6, 23, 5%ラード含有基礎食を投与し、7週齢より15mg/kg体重のAOMないし生食水を週一回2週間、皮下注射を行った。AOM投与一週間後、コーン油投与群は全て5%コーン油含有基礎食に、ラード投与群は全て5%ラード含有基礎食に換え、最終AOM投与34週後、全匹屠殺、剖検した。全ての臓器は肉眼的に観察し、発生した腫瘍ないし腫瘍性病変は計測を行った。ホルマリン固定後、肝を型の如く切り出し、連続切片を作成し、H. E. 染色及びGST-P陽性巢検出のためにABC法による抗GST-P抗体を用いた免疫染色を施行した。GST-P陽性巢は画像解析装置にて計測を行った。

【結果】

コーン油投与群間に於いては5%コーン油群に比べ13, 6%, 23, 5%コーン油群ではGST-P陽性巢平均面積、単位面積当たりのGST-P陽性巢数に増加傾向を認めたが、13, 6%コーン油群と23, 5%コーン油群間には有意の差は得られなかった。3つのラード投与群間においてはGST-P陽性巢平均面積には有意の差を認めなかったが、単位面積当たりのGST-P陽性巢数はラードの濃度に依存性に増加傾向が認められた。ラード投与群に比べコーン油投与群により高いGST-P陽性巢発生率がみられた。

【考案】

コーン油及びラードはイニシエーション期投与によってAOM誘発肝前癌性病変の発生を促進する傾向を有し、コーン油により強い促進傾向があると推定された。

ユリ科食用植物に含まれる有機イオウ化合物の肝発癌修飾作用：  
中期発癌性試験法（ラット肝癌モデル）による検討

○高田信康<sup>1</sup>、松田 勉<sup>1</sup>、大鳥和彦<sup>1</sup>、岩田裕之<sup>1</sup>、矢野善久<sup>2</sup>、  
大谷周造<sup>2</sup>、福島昭治<sup>1</sup>（<sup>1</sup>大阪市大・医・1病理、<sup>2</sup>2生化）

食餌を介して摂取する多数の化学物質のうち、特にユリ科食用植物であるニンニクやタマネギに含まれる有機イオウ化合物に注目し、それに含まれる10種類の化学物質の肝発癌修飾作用の検索結果を第8・9回本学会において発表した。

今回新たに4種類の被検物質を選び出し、それらが肝癌の発生をどのように修飾するかを、ラット肝の中期発癌性試験法を用いて検討した。

〔方法〕動物は6週齢のF344/DuCrj雄性ラット115匹を用い、それらを9群に分けた。第1～5群には実験開始時にdiethylnitrosamine (DEN, 200mg/kg bw)を、また6～9群には溶媒である生食(4ml/kg bw)をそれぞれ1回腹腔内投与し、その2週後より6週間にわたって、第1、6群にはdipropyl trisulfide (DPT, 150mg/kg bw)、第2、7群にはdimethyl trisulfide (DMT, 100mg/kg bw)、第3、8群にはallyl mercaptan (AM, 50mg/kg bw)、第4、9群にはisothiocyanic acid isobutyl ester (IAIE, 100mg/kg bw)を週5回胃内投与した。第5群には被検物質の溶媒であるcorn oil (1ml/kg bw)を胃内投与し、対照群とした。また全てのラットに対して実験開始より3週目に<sup>2</sup>/<sub>3</sub>肝部分切除を行った。実験開始後8週目にラットを屠殺剖検し、肝の前癌病変の指標であるglutathione S-transferase胎盤型 (GST-P)陽性細胞巢の出現を免疫組織学的に検索した。

〔結果〕有効動物数では、第1、2群はそれぞれ14匹、第3、4、5群がそれぞれ15匹、第6、7、8群はそれぞれ9匹、第9群は10匹であった。屠殺時の体重は第3群が $228 \pm 22$ g、第4群が $229 \pm 13$ gと対照群(第5群、 $245 \pm 13$ g)に比して、有意な低下がみられた。また相対肝重量では第2群が $2.83 \pm 0.19$ g、第3群が $2.95 \pm 0.37$ g、第4群が $3.09 \pm 0.21$ gと対照群( $2.64 \pm 0.11$ g)に比して、有意な増加を認めた。

DEN投与群の肝におけるGST-P陽性細胞巢の発生個数(/cm<sup>2</sup>)では第1群( $7.41 \pm 1.98$ )、第3群( $7.23 \pm 1.90$ )、第4群( $8.27 \pm 1.95$ )がDEN単独投与の第5群( $4.41 \pm 0.98$ )に比して、有意な増加を示した。面積(mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>)では第4群( $0.76 \pm 0.16$ )が第5群( $0.55 \pm 0.13$ )に比して有意に増加を示した。またDEN非投与群ではGST-P陽性細胞巢はみられなかった。

〔結論〕IAIEはGST-P陽性細胞巢の個数および面積の有意な増加をもたらし、DPT・AMについては個数のみ有意な増加を示した。したがって、これらの有機イオウ化合物は肝発癌プロモーション作用を有することが明らかとなった。

## Study on the Inhibitory Effects of Diallylsulfide and /or diallyldisulfide in the Rat Hepatocarcinogenesis

YS LEE, BH KIM, KS KANG, JJ CHO, KW SEO, KH NAM, SK KANG.,(Coll. of Vet. Med., Seoul Nat'l Univ.)

The purpose of this study was to examine the anti-cancer effects of diallylsulfide (DAS) and/or diallyldisulfide (DDS), major components of garlic oil, by the diethylnitrosamine-partial hepatectomy (DEN-PH) model in rats.

Sprague-Dawley (SD) rat were initially given a single dose (200 mg/kg) i.p. injection of diethylnitrosamine (DEN), and 2 weeks later, experiment I was treated with DAS (200 mg, i.g., dissolved in corn oil, three times a week) for 6 weeks, respectively or concomitantly, and also was given the same dose of DAS and/or DDS prior to DEN treatment for 2 weeks, and experiment II was treated with potential cancer promoter, 2-AAF (20 mg/kg, i.g., suspended in 1% carboxymethyl cellulose, three times a week). The DAS and/or DDS were treated prior to 2-AAF for 8 weeks, respectively and concurrently. Then the anti-promoting effects of DAS and/or DDS was assessed. All rats were subjected to the two-thirds partial hepatectomy (PH) at week 3 and sacrificed at week 8.

The modifying potentials and anti-promoting effects were examined by the number and area per  $\text{cm}^3$  of induced Glutathion-S-Transferase placental form positive (GST-P<sup>+</sup>) foci in liver, and silver-stained nuclear organizer regions (Ag-NORs) counts per nuclei which have recently introduced as one of the indicators for the cell proliferative activity, comparing with those of the corresponding each control group.

In experiment I, DAS and/or DDS did not have any modifying effects on GST-P<sup>+</sup> foci development and Ag-NORs counts during the promoting stage initiated with DEN. On the contrary, DAS and/or DDS prior to 2-AAF promotion showed obvious inhibition of development of the number and area of GST-P<sup>+</sup> foci.

In experiment II, DAS and/or DDS treatment prior to 2-AAF promotion showed obvious inhibition of development of the number and area of GST-P<sup>+</sup> foci and Ag-NORs counts.

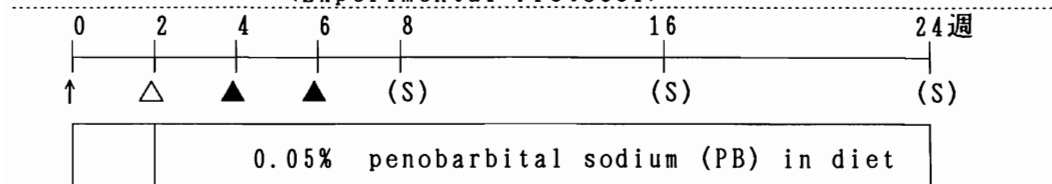
We found that Ag-NORs counts correlated well with preneoplastic hepatic lesions, and anti-cancer effects of DAS and DDS concomitant treatment were a little different from DAS or DDS alone.

○姜鍾求<sup>1</sup>、金在鉉、金大中<sup>2</sup>、李榮純、李俊燮<sup>3</sup>（<sup>1</sup>忠北大、<sup>2</sup>安全研究院、<sup>3</sup>ソウル大学）

肝疾患治療のための肝臓薬効評価系の大部分は化学物質を利用した中毒性系であり、肝発癌性評価系に多用されているItoモデル系も人為的な肝切開と化学物質投与による試験系である。しかし人の肝疾患中、急性劇症肝炎の90%以上、慢性肝炎ならびに肝硬変の70%以上、肝癌患者の70%以上が肝炎ウイルス抗原および抗体陽性である。したがって化学物質による肝疾患評価モデル系の活用に限界がある。本研究では、無胸腺マウスに慢性活動性肝炎および肝硬変を誘発するマウス肝炎ウイルス変異株（MHV-2cc）を投与し、ウイルス肝炎を誘発（initiator）させた後、diethylnitrosamine（DEN）、galactosamine（Galn）等の促進物質（promotor）を投与して肝発癌性を検討した。

実験は3週齢ICR雌マウスにMHV-2cc株を $1 \times 10^6$  PFU腹腔内接種した後、DEN、Galnを腹腔内投与した。また0.05% penobarbital sodiumを含有した飼料を2週経過後より試験終了まで摂取させた。この後8、16、24週で剖検し、体重および肝重量を測定し、普通染色とr-GT、G-6-P染色を行い病理組織学的に検索した。

<Experimental Protocol>



↑: MHV-2cc ( $1 \times 10^6$  pfu/mouse), △: DEN (diethylnitrosamine: 100mg/kg, B.W.), ▲: Galn (galactosamine: 300mg/kg, B.W.), (S): Sacrifice

Group1 : no treatment, Group2 : 0w: MHV-2cc, Group3 : 2-24w: 0.05% PB  
Group4 : 0w: MHV-2cc, 2-24w: 0.05% PB, Group5 : 0w: MHV-2cc, 2w: DEN,  
4,6w: Galn, 2-24w: 0.05% PB, Group6 : 0w: MHC-2cc, 2w: DEN, 4,6w: Galn,  
2-24w: 0.05% PB, Group7 : 2w: DEN, 4,6w: Galn, 2-24w: 0.05% PB

8、16週後屠殺時の各群間の体重には、有意差は見られなかった。肝重量はMHV-2ccとDENまたはGalnを併用投与した5、6群がMHC-2cc（3群）または化学物質単独投与群（7群）に比べ、有意に増加していた。一方、MHV-2ccは有胸腺マウスには肝病変を誘発しないと知られているが、MHV-2ccを投与した後DENを投与した5、6群では劇症肝炎が起こり3週以内に死亡する例が多かった。特にMHV-2ccとDENまたはDEN+DGAを投与した5、6群では、化学物質投与群に比べ小葉中心帯肝細胞がより腫大し、核と核小体も肥大性であって、r-GT、G-6-P陽性増殖結節は2倍に上昇し、明るい細胞質をもつ細胞が肝組織全体に観察された。しかしながら、ウイルスまたは化学物質単独投与群ではこの細胞は観察されず、化学物質単独投与群では炎症細胞の浸潤による小結節巣も観察されなかった。

以上のように、MHV-2cc単独投与群では発癌病巣は観察されなかったが、MHV-2cc-化学物質投与群では化学物質単独投与群に比べ顕著に肝発癌が誘発促進された。また、本群では化学物質単独投与群では観察されなかった炎症細胞浸潤がよく観察された。よって本試験系では従来の化学物質による肝発癌試験系を脱皮し、人の肝疾患病態に最も近いモデル系と考えられる。なお、24週間の実験は現在続行中である。

○湯浅啓史, 手塚則明, 岩田仁, 増井恒夫, 川合是彰, 立松正衛

[目的]

発癌のイニシエーションと細胞分裂とは密接な関係の存在することが指摘されている。また多くの発癌物質は肝臓で代謝されることにより作用を発揮する発癌前駆物質であり、直接的発癌物質とはイニシエーション開始時間の異なる事が推察される。そこで我々は、肝部分切除後の種々の時間において発癌物質の投与を行い、肝臓におけるGST-P 陽性変異細胞巢を指標として、各種発癌物質のイニシエーション活性の時間的差異について検討を行った。

[材料および方法]

7週齢のF344系雄ラットの肝臓を2/3切除し、肝切除後6時間おきに24時間まで化合物を投与した。発癌前駆物質として、肝臓に標的性を示さない4-nitroquinoline 1-oxide(4-NQO) およびbenzo[a]pyrene(BP)ならびに肝臓に標的性を示すN-nitrosodiethylamine(DEN)を、直接的発癌物質としてN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)を投与した。4-NQO, BPおよびMNNGについてはそれぞれ20、100、80 mg/kg体重の用量で胃ゾンデを用いて単回経口投与し、DEN は10 mg/kg体重を腹腔内に投与した。肝切除後2週間の回復期間をおき、2-acetylaminofluorene(2-AAF)および四塩化炭素の投与により酵素変異巢の発育を促進したのち屠殺した。採取した肝臓の一部を冷アセトンで固定し、パラフィン包埋後薄切標本とした。抗ラットGST-P 抗体を用いて免疫組織化学的に染色を施し、陽性細胞巢の数と面積を測定して比較した。

[結果]

4-NQO、BP、DENあるいはMNNGのいずれの投与においても肝臓の部分切除を組み合わせることにより各化合物の単独投与の場合よりGST-P 陽性細胞巢の数は増加した。肝部分切除から化合物の投与までの時間とGST-P 陽性巢の数の関係では、4-NQO およびBPでは肝切除後12時間の投与でGST-P 陽性細胞巢の数は最大に達し、その後減少した。また、DEN およびMNNGでは肝部分切除直後から徐々に増加し、DEN では18時間で、MNNGでは24時間後にGST-P 陽性細胞巢の数は最大に達した。

[考察]

部分切除後の肝臓にイニシエーション活性が最大となる時期が存在することが示唆され、その有効時間帯は活性化に時間を要する発癌前駆物質と直接的発癌物質では差異のある事が示された。

○新田由美子<sup>1)</sup>, 神谷研二<sup>2)</sup>, 丹羽太貫<sup>2)</sup> (広島大・原医研・資料センター<sup>1)</sup>・病理<sup>2)</sup>)

【はじめに】ビタミンEには薬理的抗腫瘍作用のある事が、ヒトの種々の癌に関する疫学調査、動物実験で蓄積され、腫瘍予防薬として臨床応用するため研究されている。また、ビタミンEの化学的抗酸化作用は食品添加物(抗酸化剤)に応用され、その結果ヒトは毎日ビタミンEを摂取している。これらビタミンE使用の基盤には、変異原性(-), 腫瘍原性(-)という安全性評価があるが、一方、ビタミンEも実験条件によっては腫瘍を誘発するという少数の報告がなされた。ビタミンEの安全性をより確立するためには、ビタミンEによる癌化抑制機構の解析と、ビタミンEによる腫瘍誘発機構の解析とが重要であることから、食品添加物として製造された合成、天然ビタミンEを用いて以下の実験を行った。

【実験1】遺伝的に肝癌発生率の高い C57BL/6N x C3H/He F1 (B6C3F1) マウスに発癌物質である diethylnitrosamine を投与して肝、肺、前胃腫瘍を誘発させる実験系において、ビタミンEを長期経口投与してその抗腫瘍効果を検討した。その結果、ビタミンEがプロモーション段階で腫瘍増殖に抑制的に働いた。

【実験2】ビタミンE注射投与により比較的短期間に高率に皮下腫瘍を誘発する実験系を樹立した。Fischer344系ラットの背部皮下に合成ビタミンEを注射投与すると、1年以内の潜伏期で82%に腫瘍を誘発した。誘発腫瘍は Malignant Fibrous Histiocytoma (MFH) で、全例可移植性であった。2系統のマウスにおいてもビタミンE皮下投与により可移植性MFHを誘発できたが、その頻度は低かった。マウスに誘発したMFHの癌遺伝子の変化を検索したところ、44%の腫瘍に c-myc 遺伝子の増幅を検出し、この変化が腫瘍のプロGRESSION段階で起こったものと考えた。

【実験3】ビタミンEの経口投与による腫瘍原性を検出する方法として、遺伝的に肝癌発生率の高い B6C3F1雄マウスを用いた。このマウスに対しビタミンEを混餌投与して長期間観察したところ、肝腫瘍発生率に2.6倍の上昇を検出した。誘発肝癌の癌遺伝子変化を検索したところ、MFHでみられた c-myc 遺伝子の増幅や c-Ha-ras 遺伝子の突然変異(化学発癌剤により誘発される肝癌で多くみられる点突然変異)はなかった。

【まとめ】ビタミンEの生理学的抗酸化作用(生体膜中に存在してフリーラジカルによる脂質過酸化から膜を保護する作用)に関しては解析が進み、この作用が生体免疫系に対し修飾作用をもたらすなど広く生体の恒常性維持に関与している事が明らかになってきたが、この作用と癌化抑制、促進作用との関係はまだ明らかにされていない。

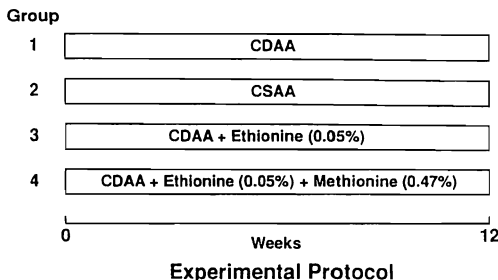
## コリン欠乏アミノ酸(CDAA)食によるラット肝発癌に対するエチオニンの増強効果

○小林永策, 辻内俊文, 中江大, 水本靖士, 堀口浩資, 野口修, 天沼利宏, 傳田阿由美, 堤雅弘, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

[はじめに] 我々は前回までにコリン欠乏アミノ酸(CDAA)食を用いたラット肝発癌機構に酸化性ストレスが関与することを報告してきた。またコリン欠乏(CD)食にエチオニンを添加投与することにより, ラット肝において早期に肝癌が発生することが知られているが, その発生機構については不明な点が多い。今回我々は, CDAA食にエチオニンを添加投与することにより, ラット肝の発癌過程における増強効果を病理組織学的及び分子生物学的に検索した。

[材料及び方法] 動物は5週齢F344雄ラットを用いた。第一群はCDAA食, 第二群はコリン添加アミノ酸(CSAA)食, 第三群はCDAA食に0.05%のエチオニンを含有投与した群, 第四群はCDAA食に0.05%のエチオニンと0.47%のメチオニンを含有投与した群とし, 実験開始より12週目に全動物を屠殺解剖し, 肝の $\gamma$ -glutamyltranspeptidase(GGT)陽性巣の数, %面積及び大きさを計測し, また胆管病変を病理組織学的に検索した。また各群におけるc-myc, c-Ha-rasのmRNAの発現と脂質過酸化誘発量を検索するために, 実験開始2,4,8,11日目に経時的に動物を屠殺解剖し, 肝摘出後, Northern blot法によるmRNAの発現と脂質過酸化誘発の指標とされるTBA reactive substanceの生成量を測定した。

[結果及び考察] 第一群に比べて, 第三群で肝のGGT陽性巣の大きさが増大し, 組織学的に胆管線維症の著明な発生が見られた。しかし第四群ではGGT陽性巣の発生が抑制され, 胆管線維症の発生も見られなかった。また, c-mycとc-Ha-rasのmRNAの発現と脂質過酸化誘発量は, 第一群に比べ第三群では2日目よりいずれも有意な増強が見られたが, 第四群ではそれらの発現増強は抑制された。以上の結果より, CDAAとエチオニンを用いたラット肝発癌の増強には, c-myc, c-Ha-rasのmRNAの発現と脂質過酸化の誘発の関与することが示唆された。



Incidence of histologic liver lesions in rats fed the choline deficient L-amino defined diet(CDAA) and ethionine<sup>a)</sup>

Experimental groups	No. of rats	Fatty change		Altered foci	Preneoplastic nodule	Cholangio-fibrosis
		focal	diffuse			
1. CDAA	12	0(0)	12(100)	12(100)	0(0)	0(0)
2. CSAA	12	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
3. CDAA+ethionine	11	0(0)	0(0)	10(90.0)	3(27.3)	11(100)
4. CDAA+ethionine +methionine	13	13(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

a) The numbers in parenthesis are the corresponding percentages.

○蛭間正巳, 小野晃弘, 新井徹, 関あずさ (実生研), 栗原毅 (東女医大)

目 的：我々はECD (エチオニン添加コリン欠乏) 食投与で早期に腫瘍性結節に加え oval cell と腺管構造 (異型胆管) が顕著に増生する事をすでに報告した (Exp. Med. 1993). 今回は異型胆管の再現性並びにその腫瘍性を確認する為, 新たに回復性試験を行ったのでその概要を報告する.

材料と方法：3週齢の雄性SD系ラット (Crj:CD, SPF) を購入し, ECD食を8週間 (第1群) 50%ECD (コリンを50%に制限) 食を12週間 (第2群) 自由給餌させ, 何れも4週間の回復期間を設けた. また, 第1群においては給餌後1, 2, 4週目での初期病変についても観察した.

結 果：[死亡例] 試験期間中 (投与後48, 54, 78日目) に3例が死亡または予後不良として切迫殺された. 死亡原因はECD食給餌による腎障害と全身性の石灰沈着を伴う質的变化によるもので, 肝障害による影響は少なかった.

[計画殺例] 投与1週目では核小体の腫大がほとんどの肝細胞で見られ, すでに異型的な細胞形態を示していた. また, 小葉中心性に小脂肪滴の沈着が軽度に見られた. 投与2週目ではoval cellが門脈周囲と類洞に沿って彌蔓性に, また時折小腺腔形成を伴い増殖していた. 脂肪滴はやや大きな空胞状となり, 小葉全域に広がっていた. 4週目ではoval cellの増生がより明かとなり, 明瞭なborderの形成と粘液分泌を伴う異型胆管が軽度ではあるが見出された. 腫瘍性結節は初めてこの時点で見ることができた. 投与8週目ではoval cellの, より顕著な増生と線維を伴った異型胆管が増生していた. 12週目 (第2群) では異型胆管がより強くなる傾向を示し, また腫瘍性結節の形成も明らかであった. その他, 肝細胞壊死や好中球が投与1週目から軽度に見られたが時間の経過に伴い増すことはなく, 脂肪沈着も4週目以後は特に目だつほどではなかった.

[回復群] 第1群, 第2群ともoval cellが極端に少なくなり門脈周囲に僅かに見られるに過ぎず, 腫瘍性結節もほとんど見ることは出来なかった. しかし, 異型胆管は門脈周囲に結節状に著しく増殖し, 投与期間中のものよりその拡がり顕著であった. 肉眼的に, この胆管結節は透明感のある小結節として見られ, 計画殺例において乳白色大小の結節として見られた腫瘍性結節とは区別することが出来た.

まとめ：以上よりエチオニン添加コリン欠乏食はラットに対し胆管腫瘍を形成することが, 形態的並びに回復性試験により確認された. また, 長期投与により胆管癌にまで進展する可能性が示唆された.



## アドリアマイシン誘導体による肝毒性の検討（第3報）

### —類洞壁細胞特にクッパー細胞に対する毒性—

○川畑好之康、安藤信明、柏原純一、園田崇倫、野原正志  
若松智恵美、坪田裕子、岩井正和（株）ミドリ十字 安全研

#### 〔はじめに〕

アドリアマイシン(ADM)と酸化デキストラン(OXD)との複合体ADM-OXDは、ADMとは異なる毒性スペクトルを示す。即ち、心臓・腎臓等多くの器官に対する毒性は、複合体とすることにより軽減する反面、新たに肝毒性が出現する。この肝実質細胞障害には脂質過酸化が関与しており、またADM-OXDは、実質細胞のみならずクッパー細胞等類洞壁細胞にも多量にかつ長時間滞留することを第9回大会において報告した。そこで今回ADM-OXDの類洞壁細胞特にクッパー細胞に対する毒性を検討した。

#### 〔材料と方法〕

いずれの検討も5週齢のWistar系雄性ラットを用いた。肝M $\phi$ (クッパー細胞)の食食機能は、ADM-OXDをADM換算量として30mg/kgまたは60mg/kgを静脈内投与後4、12、24および48時間後にカーボン粒子(Pelican Fount India Ink)取り込み能により検討した。肝実質細胞障害と肝M $\phi$ 障害は、ADM-OXD 60mg/kgを投与後8、24および48時間後に、血清トランスアミナーゼ(GOT/GPT)活性、血清カテプシンD活性および肝臓ホモジネート中過酸化脂質(LPO)量の測定により評価し、さらに顕微鏡による形態検索を実施した。また肝M $\phi$ のED2による免疫組織化学染色を実施した。エストロゲン前投与の肝毒性に及ぼす影響においては、メストラノール30mg/kgを1日1回、5日間にわたり経口投与した後、ADM-OXD 45mg/kgを投与、その2日後に血清を採取しトランスアミナーゼ活性を測定した。

#### 〔結果〕

ADM-OXD投与後4時間よりカーボンクリアランス(K値)は用量相関的に低下し、特に60mg/kg投与群における食食能の低下は顕著であった。顕微鏡的にも小葉周辺におけるクッパー細胞のカーボンの取り込みは、ADM-OXD投与により明らかに減少していた。ADM-OXD 60mg/kg投与後初期(8~24時間)における血清トランスアミナーゼ活性の上昇は、投与後48時間におけるそれと比較してはるかに軽度であり、形態的にも48時間後においては、小葉中心性に広範囲な変性・壊死像が認められた。また肝臓ホモジネート中LPOは、投与後24時間より顕著に増加した。一方血清カテプシンD活性は、カーボンクリアランスの低下に相応して、投与後初期より上昇するとともに、超微形態的にもクッパー細胞の変性・壊死像が投与後8時間より目立った。肝M $\phi$ の免疫組織化学染色像は、対照群で小葉周辺にED2陽性細胞が豊富に認められたのに対して、ADM-OXD群では投与後8時間より小葉周辺のED2陽性細胞は顕著に減少した。肝M $\phi$ 増殖亢進作用を有するエストロゲンの投与によりカーボンクリアランスは無処置動物と比較して明らかに上昇したが、このエストロゲン前処理により、ADM-OXD誘発肝毒性は血清トランスアミナーゼの上昇を指標にすると有意に軽減化した。

#### 〔結論〕

ADM-OXDの大量単回投与により、肝実質細胞障害が発現するとともに肝M $\phi$ (クッパー細胞)障害が機能的かつ形態的に出現した。しかもこのクッパー細胞障害は、肝実質細胞障害に先立って投与後初期より出現したことから、ADM-OXDによる類洞壁細胞障害が、肝細胞障害の成立に深く関与しているものと推察される。

○井上 知、鳥井幹則、丸山敏之、古川 仁、村岡義博（塩野義新薬研）

## （緒言）

'92年の本学会で我々は、合成エストロジェンであるmestranolをマウスに連続投与すると、肝類洞内でKupffer細胞が増殖することを示した。今回は、in vitro系におけるmestranolのKupffer細胞に与える影響を、各種モノクローナル抗体を用いた表面抗原解析および抗BrdU抗体を用いた細胞動態の面から明らかにする目的で実験を行った。

## （材料と方法）

AKR系雄マウス (AKR/N Slc, H-2<sup>K</sup>) 10週齢を使用した。麻酔下で門脈より2段階灌流を行い、肝を摘出・細切し、Pronase Eによる酵素消化、Percoll不連続密度勾配法により比重1.04~1.06分画を回収した。Kupffer細胞の純度は $\alpha$ -NBエステラーゼ染色を行って確認した。細胞は20%FCS加RPMI-1640培地に浮遊させ18時間前培養を行った。前培養後非付着細胞を除去し、10%FCS加RPMI-1640培地に種々の濃度のmestranol ( $10^{-5}$ ~ $10^{-8}$ M)あるいはmestranol 30mg/kg投与マウス血清を添加して1、3、5日と経時的に培養した。各培養時点で抗BrdU、抗Ia、抗F4/80、抗Mac1抗体を用いたABC法で染色し、2000個の細胞を計測して陽性細胞率を算出した。また一部の実験ではMTTアッセイも行った。

## （結果と考察）

F4/80陽性細胞率は培養5日まで95%以上であった。Ia陽性細胞率は対照群では培養3日をピーク(約60%)に培養5日では減少する傾向にあった。mestranol ( $10^{-5}$ M)添加群では培養3~5日でプラトーに達し80%前後になっていた。Mac1陽性細胞率も経時的に増加し、mestranol ( $10^{-5}$ M)添加群の方が高い傾向にあった。BrdU陽性細胞率は経時的な増加を示し、対照群に比べmestranol ( $10^{-5}$ M)添加群で高い傾向にあり、培養5日で約26%であった。この増殖活性の用量依存性を確認する目的でmestranol ( $10^{-5}$ ~ $10^{-8}$ M)を添加してMTTアッセイを行ったが、どの培養時点でも対照群と有意な差は検出できなかった。mestranol投与マウス血清を添加すると、培養5日で投与回数の多い動物由来の血清添加群ほど増殖活性の抑制がみられ、脾摘することによりこの抑制の増強がみられた。

以上のことから、in vivoと同様にin vitroにおいてもmestranolによってKupffer細胞は活性化・増殖する事が免疫組織化学的に示された。また、脾摘し、投与回数の多い動物由来の血清ほどKupffer細胞の増殖抑制作用が強いことから、肝内でのmestranolによるKupffer細胞増殖に対するautoregulationが示唆された。

○桑村有規, 川合是彰 (田辺製薬株式会社・安全性研究所)

カルメロースナトリウム(CMC-Na)は薬理学的にはほとんど無害で毒性がなく、消化管からは極少量しか消化・吸収されないことから瀉下剤および製剤原料として使用されている。また、毒性試験においては経口用懸濁剤として繁用され、非経口的にも薬効の延長をはかるために使用されることもある。今回、我々はCMC-Naを非経口投与したラットの諸臓器を病理学的に観察した。

[材料および方法] 6週齢の雄ラットに0.5%および1.5%CMC-Naを1ml/100g(B.W.)/dayの投与量で4日間連続経口、皮下および腹腔内の投与経路で投与し、一部の個体については投与後1週間の無処置期間を設けた。剖検はエーテル深麻酔下において放血致死させた後に行い、全身諸臓器を採材した。光顕観察用臓器は10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定後、パラフィン切片を作製し、H.E.染色、アルシアンブルー(pH2.5)染色を行った。また、抗ED1抗体(ラット抗単球・マクロファージ抗体)および抗デスミン抗体を用いた免疫組織化学的染色(ABC法)を行った。肝臓、腎臓および肺の細片は2.5%グルタールアルデヒド、2%パラホルムアルデヒド混合溶液で3時間固定し1%オスミウム酸で2時間固定後エポキシ包埋した。超薄切片は酢酸ウラン・クエン酸鉛の二重染色を行い、電顕的に観察した。

[結果] 0.5%および1.5%CMC-Naの腹腔内投与では肝臓、腎臓、肺および脾臓に腫大した細胞が散見された。腫大した細胞はすべてアルシアンブルー陽性であった。肝臓における腫大細胞の一部は抗デスミン抗体陽性で、一部は抗ED1抗体陽性であった。その他の諸臓器でみられた腫大細胞はすべて抗ED1抗体陽性であった。肝臓の電顕観察では、類洞内に均質に微小顆粒状物を含む不定形物質がみられた。同様の構造物が肝臓のクッパー細胞あるいは遊走マクロファージの胞体内にみられ、さらに伊東細胞の胞体内部にも同様の構造物が観察された。その他の臓器における抗ED1抗体陽性細胞の胞体内にも同様の構造物がみられた。また、これらの変化は1週間の無処置期間終了時剖検例でも観察された。

経口および0.5%CMC-Naの皮下投与では変化はみられなかった。1.5%CMC-Na皮下投与例においては、腹腔内投与個体と同質の変化が肝臓および脾臓において軽度ながら観察された。

[考察] 腫大細胞にみられたアルシアンブルー陽性物質および電顕で確認された構造物は血中あるいは細胞内のCMC-Naあるいはその代謝物であるとみなされた。

肝臓でみられた腫大細胞はいずれも類洞壁およびグリソン鞘に存在していた。類洞壁は肝非実質細胞である伊東細胞、クッパー細胞、内皮細胞およびピット細胞より構成されている。この4種の非実質細胞のうち伊東細胞のみが細胞質に細胞骨格であるデスミンを有し、抗デスミン抗体によって識別される。したがって、CMC-Na投与によって腫大していた細胞の一部は伊東細胞と考えられた。その他、肝臓および諸臓器でみられた抗ED1抗体陽性細胞は単核食細胞系の細胞(肝臓クッパー細胞、肺泡マクロファージおよび各臓器固有あるいは遊離のマクロファージ)と分類された。今回の実験結果より、CMC-Naはその非経口投与によって肝臓、腎臓、脾臓および肺の単核食細胞系の細胞に取り込まれ、比較的長期にわたり存在することが示されたと同時に、伊東細胞にはCMC-Naあるいはその代謝物を取り込む能力があることが示唆された。

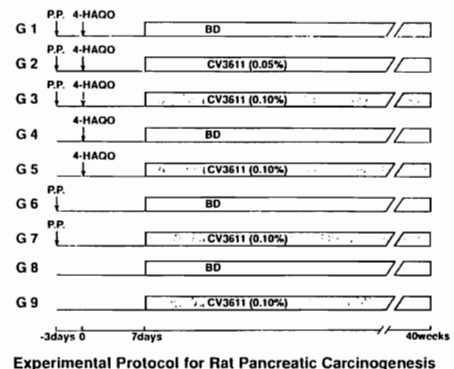
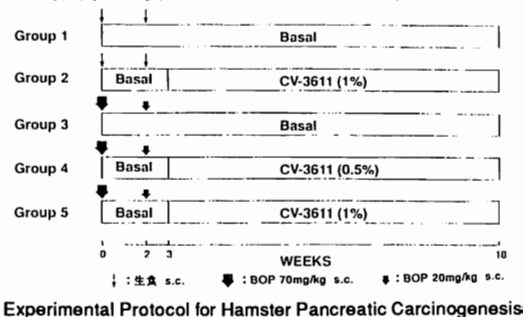
○堀口浩資・堤雅弘・中江大・辻内俊文・小林永策・白岩和己・野口修・天沼利宏・吉田順一・小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

2-O-octadecylascorbic acid(CV-3611)は脂溶性のビタミンC誘導体で、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine(BHBN)により誘導したラット膀胱癌・マウス自然発生肝細胞癌の発生を抑制することが報告されている。そこで今回我々は、ハムスターおよびラットにおける膵癌の発生に対するCV-3611の修飾効果について検討した。

実験Ⅰ：動物は6週齢雌シリアンゴールデンハムスター計97匹を用いた。実験プロトコルはFig 1.に示す。イニシエーションとして70mg/kgおよび20mg/kg N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine(BOP)を皮下投与し、プロモーション期に第3群は基礎食、第4群は0.5%、第5群は1%CV-3611の含有食で飼育した。第1,2群はそれぞれ陰性対照群である。動物は、実験開始18週後に屠殺し、膵臓の病理組織学的検索を行った。

実験Ⅱ：動物は6週齢雄ウイスターラットを用いた。実験プロトコルはFig 2.に示す。イニシエーションとして7mg/kgの4-HAQOを静脈投与した群、また4-HAQOの効果を高めるため部分膵切除(pp)を組合せてイニシエーションとした群、更にプロモーション期に0.05%、0.10%CV-3611含有食を投与した群を作製した。第6~9群はそれぞれの陰性対照群である。動物は、実験開始40週後に屠殺し、膵臓の病理組織学的検索を行った。

実験ⅠおよびⅡの結果：ハムスターにおいてBOPでinitiationした後、1%CV-3611含有食の飼育群と基礎食の飼育群で膵管癌の発生頻度に差は見られなかった。ラットにおいて4-HAQO投与により発生する好酸性異型腺房細胞結節性病変の数をCV-3611は有意に減少させた。これらの結果よりCV-3611は、ハムスターの膵管癌発生系に有意な修飾効果を示さなかったが、ラットの腺房細胞発癌に対し抑制作用を示した。このことより、CV-3611の発癌抑制作用には動物種差および発生する腫瘍の組織型により差異があることが示唆された。



○尾崎 清和、前田 博、奈良間 功 (摂南大学)

**目的:** ACE阻害剤をラットに長期間投与すると腎臓において小動脈壁の肥厚やレニン合成細胞である糸球体傍細胞の過形成および肥大が生じ、これらの変化と血圧との関係が様々に考察されている。しかし、糸球体傍細胞のレニン顆粒の形状や細胞内小器官の活性度については一致した結果は得られていない。これは糸球体傍細胞の過形成と肥大にも関わらずレニン顆粒の大きさおよび形態がほぼ均一で、前駆顆粒が少なくその成熟度および産生状態を推測できない理由による。Chediak-Higashi症候群のモデルであるベージュラットではレニン顆粒が成熟するに従って融合巨大化し、顆粒の大きさが成熟度を知る指標となりうる。そこで高用量のACE阻害剤をこのラットに長期間投与し、ACE阻害下での糸球体傍細胞の形態学的変化と血漿レニン・アンギオテンシン系の状態の関連について検討した。

**材料と方法:** 2カ月令の雄のベージュラット15匹を3つのグループに分け、ACE阻害剤を0(vehicle control)、100、200 mg/kgの用量で28日間強制経口投与した。血圧を投与前日および投与最終日に計測した。動物を麻酔後、大動脈から採血して得られた血漿中のレニン活性およびアンギオテンシンII濃度をRIA法で測定した。血液を採取した後にラットを2%グルタルアルデヒドで灌流固定し、光顕および電顕的検索に供した。光顕的検索は常法に従ってHE染色およびBowie染色を施した。また糸球体傍細胞の活性度を知る目的でBowie染色を施した標本中の200個の糸球体のうち明かな陽性顆粒を持つ糸球体傍装置数を計測した。

**結果:** 投与終了時の血圧は両投与群で投与用量にかかわらず著しく低下した。投与終了時の血漿レニン活性は両投与群で対照群の10%以下に低下し、アンギオテンシンII濃度は対照群に比較して低値を示した。光顕的検査では対照群の動物の糸球体傍細胞内におけるレニン顆粒の大部分が大型であったのに比較して、両投与群では皮質の糸球体傍細胞の過形成、レニン顆粒の増数および小型化が顕著であった。明らかな陽性顆粒を持つ糸球体傍装置の数も投与群で高値を示し、糸球体傍細胞の過形成とレニン顆粒の増数を裏づけていた。電顕的検査では対照群の糸球体傍細胞のレニン顆粒は無構造で均一な中等度の電子密度で融合による巨大化を示すものが多く、前駆顆粒はほとんど認められなかった。両投与群では糸球体傍細胞の数は明らかに増加していたが、顆粒数、その内容および細胞内小器官の状態は個々の細胞により様々であった。対照群と同様の大型顆粒の数は相対的に減少し小型のものが増加する傾向にあった。顆粒内容の微細構造も多岐におよび、多くが均一無構造で中等度の電子密度を示していたが、顆粒状、網状、空胞状で電子密度が高くauto-phagosome様の大型顆粒も細胞質の様々な部位に散見された。顆粒の乏しい細胞も多数認められ、これらの細胞では粗面小胞体が発達して層板状ないし小胞状となり、内腔に中等度の電子密度の物質を容れていた。またゴルジ装置も発達していた。しかし、多数の顆粒を容れる細胞ではそれらの発達は悪かった。

**考察:** ACE阻害剤投与により認められた所見のうち、糸球体傍細胞の過形成、レニン顆粒の小型化および細胞内小器官の発達レニン顆粒の持続的な産生を示唆していた。しかし、血漿レニン活性は著しく低下しておりレニン分泌は抑制されていると考えられる。このレニン顆粒の産生亢進と分泌抑制により、多様な形態の顆粒の多数の出現は過剰に産生された顆粒のcrinophagyを示唆する所見と考えられた。

° 北堀吉映、小西 登、林 功、日浅義雄 (奈良医大・二病理)

【はじめに】 ベニコウジ色素はベニコウジ菌 *monascus anka* の培養物から抽出して得られた天然着色料で、この色素の利用範囲は年々拡大される傾向にある。現在、ソーセージ、ハム、水産練製品、シャーベット類、等と非常に広範囲に利用されている。しかし、毒性ならびに癌原性の有無についての報告は極めて少ないのが現状である。今回、ラットを用い癌原性試験の為の濃度決定を行い興味ある結果を得たので報告する。

【材料と方法】 動物：4週齢のF344ラット雌雄各60匹を日本チャールスリバー社(神奈川)から購入し、1群10匹の各6群を設け実験を開始した。

試料：ベニコウジ色素は、7.0%, 5.0%, 2.5%, 1.25%, 0.6%および 0%の割合で飼料に混じ、自由に摂取させた。使用したベニコウジ色素(ヤエガキ発酵技研株式会社)は30%の割合にデキストリンを混合したものに混合した。

実験：検体の投与期間は12週間とした。

【結果】 検体摂取量：検体を含有した飼料は全期間の平均でみると、対照群と比較し雌雄の7.0%投与群で約11%の増加がみられたが他の群ではほぼ同定度であった。

体重：雄では7.0%, 5.0%投与群、雌では7.0%-2.5%投与群で体重増加抑制が全期間を通じ観察され、いずれも濃度に依存したものであった。

尿検査：エームス尿検査試験紙を用いた潜血反応で検体投与の雌雄群で陽性例が多くみられ、他のウロビリノーゲン、ケトン体、ビリルビン、糖、pHには通常の変動内であった。病理組織学的所見：有効動物は最終時まで生存したもので組織検索を行った。検体投与によると思われる毒性変化は、腎尿細管の壊死・変性ならびに結石が対照群と比較し明らかな差を認めた。近位尿細管の壊死は、雌の7%, 5%群で各々10, 5にみられた。尿細管の変性は雄の7%-1.25%投与群で4, 3, 1および 1例、雌では7%-2.5%投与群で10, 8および 2例に観察された。また、結石の形成は雌の1.2%-0.6%群で高頻度に観察された。

【考察】 ラットを用いたベニコウジ色素の12週間の投与を行い腎近位尿細管上皮の壊死が雌の7%, 5%群で観察され、変性は雌雄の7%-0.6%に濃度依存性にみられた。今回の結果から、ベニコウジ色素の高濃度は腎毒性を示す可能性が示唆された。

○山本 恵司、佐々木 啓、山本 好一、宮畷 宏彰（武田薬品・薬安研）

<はじめに>

毒性試験の病理組織学的検査において腎臓に好塩基性の尿細管(BT)がしばしば発現する。しかし、BTは無処置動物にもみられ、その発生機序は不明であることから、自然発生性のBTと薬物に起因するBTとの区別が困難なことがある。そこで今回、実験的に作製したBTと自然発生性のBTとを比較し、若干の知見を得たのでその概要を報告する。

<材料および方法>

実験には6週齢の雄SDラットを用いた。30匹にセファロジン(CER)の800 mg/kgを単回静脈内投与し、他の30匹に对照群として生理食塩液を投与した。投与後6、12、24、48、72、96、120時間および1、2、4週間に各3匹の腎臓をエーテル麻酔下で10%中性緩衝ホルマリンにて灌流固定した。なお、全例について灌流開始90分前にBrdUの60mg/kgを腹腔内投与した。左腎をパラフィン包埋し、短軸断面の連続切片を作製した。H.E.染色およびアザン染色を施し、CER投与による近位尿細管壊死後のBTおよび对照群に自然発生したBTの組織形態を観察した。また、尿細管上皮細胞の増殖の指標としてBrdUの取り込みを、分化度の指標として未分化な尿細管上皮細胞に発現するビメンチンの存在を免疫組織化学的に検討した。

<結 果>

CER投与後にみられたBTは、以下の4タイプに分けられた。

タイプ1：投与後48-72時間に皮質中層に発現。上皮細胞は大小不同で、両染色～好塩基性の細胞質を有す。BrdU取り込み高度増加、ビメンチン弱陽性。

タイプ2：投与後72-96時間に皮質中層～外層に発現。上皮細胞は扁平な核および細胞質を有す。BrdU取り込み高度増加、ビメンチン陽性。

タイプ3：投与後96時間-1週間に皮質中層～外層に発現。上皮細胞はやや扁平～立方状で、タイプ2からの移行型と思われた。BrdU取り込み軽度増加、ビメンチン弱陽性。

タイプ4：投与2週以降に発現。間質における高度の細胞浸潤、線維性細胞増殖および基底膜の肥厚を伴う。上皮細胞は立方状～扁平で、密な配列を示すものもある。BrdU取り込み正常～軽度増加、ビメンチン陽性。

一方、自然発生性のBTは对照群30例中27例に観察された。BTの多くは間質の変化および基底膜の肥厚を伴っており、上皮細胞は立方状～やや扁平で密な配列を示した。BrdUの取り込みは正常～軽度増加、ビメンチン陽性であった。

<考 察>

CER投与後にみられたタイプ1および2はBrdUの取り込みが高度に増加しており、その移行型と思われるタイプ3を含めて、再生中の尿細管であると考えられる。これらはいずれもBTとして観察されたが、投薬2週後にほぼ消失した。タイプ4は高度の間質の変化と基底膜の肥厚を特徴とし、投薬2週後からみられた。これらの変化は投薬4週後にも多数みられたことから、正常な再生過程ではないと考えられる。また、自然発生性のBTの多くも間質の変化と基底膜肥厚を伴っており、組織形態上タイプ4と同様の変化であると思われる。一方、ビメンチンは全てのタイプのBTに発現しており、今回みられたBTはいずれも分化度の低い上皮細胞で構成されていることが示唆された。

以上のように、BTには様々なタイプがあり、毒性評価の際にはその発生機序を考慮する必要があるものと思われる。

Adenine のラット腎細胞腫発生に対するプロモーション作用—  
長期血液透析腎類似の多嚢胞腎モデルにおける腫瘍発生の解析

津田洋幸<sup>1</sup>、松本和幸<sup>2</sup>、伊藤充哉<sup>2</sup>、廣野 巖<sup>2</sup> (<sup>1</sup>国立がんセ・研、  
<sup>2</sup>藤田保健衛生大・医・2病)

【目的】ヒトの長期血液透析腎に類似した形態像を示す多嚢胞性荒廃腎を実験的に作成し、腎細胞腫発生に対する促進作用とその機序について検討した。

【方法】6週齢 Wistar 系雄ラットに、I 群：0.1% N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine (EHEN)を飲料水に加え3週間投与後1週を経て、基礎飼料中に adenine を加え投与開始2週までは0.5%、以後は毒性軽減の目的で0.3%に減らし27週まで投与後屠殺した。20週以上の生存動物を有効とした。II 群には EHEN投与後基礎飼料のみ、III 群には adenine のみを投与した。

【結果】adenine を投与したI、III 群の全例において、腎は白色調でやや硬く、表面は顆粒状であった。組織学的には尿細管の著しい拡張による大小の多数の嚢胞形成と線維化、および間質中に adenine 代謝物結晶の沈着がみられた。尿細管腔における上皮の多層化または乳頭状増殖（上皮過形成）は、I 群 20/20 匹 (100%、対 II 群  $P < 0.01$ )、II 群 5/10 (50%)、III 群 0/7、腎細胞腫の発生は I 群 15/20 (75%)、II 群 4/10 (40%)、III 群 0/7 であった。また I 群における上皮過形成巣では、細胞質は好酸性を示すものが多く、嚢胞壁の内面に1層～多層の増殖を示すか、部位により軽度の間質増生を伴う乳頭状増殖をも観察された。組織化学的には、G-6-P dehydrogenase, succinate dehydrogenase, g-glutamyl transpeptidase, alkaline phosphatase 等の活性は病変によって多様であった。また、免疫組織化学的には、遠位系腫瘍のマーカーである carbonic anhydrase, cytochrome c oxidase の陽性局在を示す病変が多数見られた。

【結論】adenine による長期血液透析腎に類似した多嚢胞性荒廃腎において、上皮過形成と腎細胞腫の発生が促進され、さらに促進要因として嚢胞壁における上皮過形成が重要な要因であることが示唆された。さらにEHEN-adenine 投与群に発生した増殖性および腫瘍性病変は、EHEN のみの投与によって発生する近位尿細管由来の病変に比べ、酵素表現形質は多様であり、遠位系のマーカーに対しても陽性所見を示すものが多く見られたことから、遠位尿細管または集合管に由来する腫瘍の発生も促進されることが明らかとなった。



○北浦敬介<sup>1</sup>、長根芳文<sup>1</sup>、鈴木泰夫<sup>2</sup>、泉 啓介<sup>1</sup>  
(徳島大・医・<sup>1</sup> 2 病理、<sup>2</sup> 衛生)

【はじめに】 LECラットは肝炎および肝癌を自然発症する。その発生は肝細胞内への銅の異常な蓄積が原因であることが明らかにされている。一方、腎臓については腫瘍性病変を含め自然発生病変に関する報告はほとんどなく、また、腎組織内の銅との関連性も明らかにされていない。

今回、我々は長期飼育LECラットにおいて自然発生腎腫瘍の発生頻度が高いことを見出し、腎組織中の銅含量との関係を検索した。

【材料および方法】 本研究に用いたLECラットは徳島大学動物実験施設で維持されているもので、第二病理学教室で長期飼育されたもの、あるいは発癌実験の対照群として用いた雄83匹、雌34匹である。週齢は、雄では生後57～118週齢、雌では生後62～114週齢である。腎臓は10%中性緩衝ホルマリンに固定し、パラフィン包埋切片を作製し、H-E染色および銅染色を施した。

【結果】 雌雄LECラットの腎腫瘍の発生率は週齢とともに増加し、57～65週齢では4/78 (5.1%)、66～75週齢では3/19 (15.8%)、76～105週齢では3/8 (37.5%)、106～118週齢では7/12 (58.3%)であった。組織学的には腎腺腫12例、腎細胞癌6例であった。腺腫はいずれも顕微鏡的サイズであり、腎細胞癌は65週齢雄 (6mm)、77週齢雌 (顕微鏡的)、99週齢雄 (10mm)、112週齢雄 (15mm)、113週齢雄 (30mm)、114週齢雄 (顕微鏡的)に見られた。非腫瘍部の腎は、組織学的に肝と同様に尿細管上皮細胞核の大型化が観察された。前癌性病変と考えられる異型腺管についても検討した。

腎組織中の銅および鉄含量は、現在、測定中である。

【考察】 LECラットの自然発生腎腫瘍の発生頻度は、過去に報告された他の系統のラットにおける発生率 (F344, Sprague-Dawley, Osborne-Mendel) に比べて高いことが明らかとなった。なお、LECラットの腎組織中の銅濃度は、肝ほどは高値ではないがLEAラットの2～3倍であり (Li, T. et al., 1991)、腎の8-ヒドロキシデオキシグアノシン量は肝と同様高いことより (Yamamoto, F. et al., 1993)、これらのLECラット腎腫瘍の自然発生への関与が示唆される。

## bisacodyl 投与によるラット膀胱結石の 形成機序についての検討

○ 豊田和弘・松井 元・畝山智香子・古田京子・川西 徹  
今沢孝喜・高橋道人 (国立衛試・病理)

我々は先に、F344 雄ラットに対し、緩下薬である bisacodyl を飼料に混じて、1%の用量で2週間、0.5%で14週間、0.3%で17週間の計33週間の投与を行い、高率(100%)に膀胱結石が形成されたこと、また、0.3%の用量で32週間投与した実験では、結石形成が27%と低率にしかみられなかったことを報告した。ラットは bisacodyl 含有食に対し、摂餌忌避が強く、投与初期の1~2週間では bisacodyl の摂取量が非常に少ないことを考慮すると、両実験の結石形成率の差は単に bisacodyl の総摂取量の差によるものではなく、前者の実験の用量1%、2週間の処置において結石形成を促進する何らかの要因が働いていた可能性が考えられた。そこで今回、この結石形成率の差について検討すると共に、bisacodyl による膀胱結石形成の機序の一端を解明する目的で以下の実験を行った。

【実験材料および方法】 8週齢の雄のF344ラットを用い、0.5% bisacodyl 含有食を投与する群(0.5%群、21匹)、bisacodyl 含有食を最初の10日間は1%の用量でその後0.5%に変更する群(1→0.5%群、21匹)、および対照群として基礎食のみ投与する群(21匹)を設けた。投与期間は8週間とし、経時的検索を目的として、10日目、17日目、6週目に各群3匹ずつを屠殺、剖検し、残りの生存動物は全て8週目に屠殺、剖検した。主な検索項目：ICP発光分光分析装置による尿中、血清中および腎組織中の元素分析；尿pH、尿量、尿中シュウ酸量、および小腸の長さの測定；尿潜血反応および尿中結晶成分の検索；膀胱結石形成の確認；腎、膀胱、小腸、肝、脾、副腎、甲状腺の病理組織学的検索。

【結果および考察】 膀胱結石の形成は、0.5%群では6週目で3匹中1匹に、8週目で11匹中10匹に、1→0.5%群では6週目で3匹中2匹に、8週目で8匹中6匹に認められ、結石形成率においては両群間に大きな差はなかった。従って、先の実験の結石形成率の差は主に bisacodyl 摂取量の差に基づくものと考えられた。また、膀胱結石形成に関与し得る主な所見としては、尿中成分においては、結石の主成分と考えられるシュウ酸やCaの増加、また、結石形成の抑制因子といわれているMgの減少が認められた。そのほか、小腸では絨毛の高さおよび小腸の長さの延長がみられ、また、血清中元素量においてもいくつかの変動がみられていることから、小腸における物質の吸収が影響を受けている可能性が考えられた。今回の検索の結果において、結石形成の要因と成り得るいくつかの所見が観察されており、bisacodyl による膀胱結石の形成には、以上の要因が複合的に作用している可能性が考えられた。

○鰐淵英機、高田信康、ヨセフ・エミール、山本晋史、  
福島昭治（大阪市大・医・1病理）

【目的】腫瘍の発生・発育には血管の新生とその腫瘍内への誘導が必要である。発癌過程における血管の新生、増殖上皮内への誘導・発育の様式を明らかにするため、BBNによるラット膀胱発癌過程の血管新生・発育を上皮病変と新生血管を含む間質との関係において病理形態学的に解析し、検討した。

【方法】6週齢の雄性F344ラット50匹を用い、0.05% BBNを2-12週間飲料水投与後、22週まで飼育し、その間0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 22週にそれぞれ5匹を屠殺し、前癌病変を含む膀胱癌に至る上皮病変を得た。組織はホルマリン固定パラフィン切片で病理組織学的に、一部は樹脂包埋して透過型電子顕微鏡を用いて観察した。さらに凍結切片に対してコラーゲンI, III, IV、ラミニン、フィブロネクチン、平滑筋細胞アクチン、Von Willbrand因子および血管誘導因子であるbFGFに対する抗体を用いて、免疫組織化学的に解析を加えた。

【結果】BBN投与開始2週からすでに上皮には単純性過形成がみられ、上皮基底膜下に毛細血管の増加がみられた。上皮が乳頭状ないし結節性過形成に至る過程で新生血管及び間質が上皮層内へ侵入し、乳頭腫および癌では上皮層内で間質の増生と血管の分枝・増生が観察された。電顕的には、新生血管と上皮はそれぞれ基底膜を保っており、腫瘍間質には平滑筋細胞、線維芽細胞、組織球と膠原線維や間質基質がみられた。免疫組織化学的には、上皮基底膜、血管基底膜ともにラミニン、コラーゲンIVが陽性で、腫瘍内間質基質としてコラーゲンI, III、フィブロネクチンの存在が認められた。一方、bFGFは正常時より間質線維芽細胞及び血管、筋細胞に認められたが、発癌過程において上皮に陽性所見は得られなかった。

【結論】ラット膀胱発癌過程において、上皮の過形成病変発生とともに血管が増生、上皮層内へ誘導され、同時に平滑筋細胞、線維芽細胞、組織球の産生する間質基質と密接に関与しながら上皮病変を形成していた。しかし、上皮細胞からのbFGFの産生はみられなかった。

○村井 隆<sup>1</sup>、大年辰幸<sup>1</sup>、董 逸敏<sup>1</sup>、森 聖<sup>2</sup>、大原忠雄<sup>2</sup>、  
牧野 進<sup>2</sup>、福島昭治<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>大阪市大・医・1病理、<sup>2</sup>塩野義・油日ラボ)

我々は、L-アスコルビン酸ナトリウム(Na-AsA)のラット膀胱発癌プロモーション作用発現に尿のアルカリ化と高Na<sup>+</sup>濃度が必須であることを報告した。また、サッカリンナトリウムは、Na-AsAと同じような尿性状と膀胱発癌プロモーション作用を発現する。最近、サッカリンナトリウムの膀胱発癌プロモーション作用発現の説明として $\alpha 2u$ グロブリンがアルカリ性と高Na<sup>+</sup>濃度の尿中下でシリカを含む物質と結合して微小針状結晶となり、その結晶が膀胱粘膜を障害し再生・細胞増殖を促進するからと報告されている。 $\alpha 2u$ グロブリンとNa-AsAのプロモーション作用発現の関連性の有無が問題となっている。

我々は、Na-AsAのプロモーション作用発現に抵抗性を示すODS/ShiおよびWS/Shi系ラットを見いだした。これら系のラットに $\alpha 2u$ グロブリンの生合成能が欠損している可能性が考えられた。このことを確かめるために、ODS/ShiおよびWS/Shi系ラットに腎尿細管上皮の $\alpha 2u$ グロブリン陽性硝子様滴出現を増強する2,2,4-トリメチルペンタン(TMP)を投与し、 $\alpha 2u$ グロブリン陽性の硝子様滴が尿細管上皮細胞に存在するかどうかを検討した。

[ 方法 ] 10週齢のWS/Shi系10匹、ODS/Shi系12匹およびF344/DuCrj系10匹の雄性ラットを用いた。50mg/kgの用量でコーン油に溶解したTMP(和光純薬)をWS/Shi系5匹、F344/DuCrj系5匹およびODS/Shi系6匹のラットにそれぞれ経口投与した。対照群にはコーン油をWS/Shi系5匹、F344/DuCrj系5匹およびODS/Shi系6匹のラットに経口投与した。2日後に麻酔下でラットの腎を20%ホルマリン固定液で灌流固定し摘出した。その後、カルノア固定液で腎を後固定し、パラフィン包埋・薄切を行った。抗ラット $\alpha 2u$ グロブリンウサギ抗体で腎を免疫組織化学染色し、 $\alpha 2u$ グロブリン陽性の尿細管の出現を調べた。

[ 結果 ] すべてのラットで $\alpha 2u$ グロブリン陽性の尿細管が観察された。また、その出現程度に系による顕著な差は認められなかった。2,2,4-トリメチルペンタン投与群と対照群の比較でも、 $\alpha 2u$ グロブリン陽性の尿細管の出現程度に顕著な差は認められなかった。

[ 結語 ] Na-AsAプロモーション作用発現に抵抗性を示すODS/ShiおよびWS/Shi系ラットは $\alpha 2u$ グロブリンを生合成しており、また、TMPによる増強作用も系統間に差を見い出せなかった。

○北野 光昭<sup>1</sup>, 森 聖<sup>2</sup>, 村井 隆<sup>1</sup>, 細野 素子<sup>2</sup>, 福島 昭治<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup>大阪市大・医・1病理, <sup>2</sup>塩野義製薬・油日ラボ)

【目的】膀胱癌発生と脂肪酸摂取との関連性を明らかにするため、二段階発癌試験法を用いて、ラット膀胱発癌における脂肪酸のプロモーション作用の有無を検討した。

【方法】6週齢F344ラット雄100匹を5群(20匹/群)に分け、0.05%N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine(BBN)を4週間飲料水投与した。その後24週間は、第1~3群にはそれぞれ、10% $\alpha$ -リノレン酸、10%リノール酸あるいは10%パルミチン酸と酸化防止のために0.2%butylated hydroxyanisol(BHA)を添加したMF飼料を、第4群には0.2%BHAを添加したMF飼料を、および第5群にはMF飼料のみを与えた。実験開始28週間後にラットを屠殺し、膀胱癌の発生を病理組織学的に検索した。

【結果】膀胱癌の発生率(担癌動物数/有効動物数)は第1群15%、第2群20%、第3群25%、第4群30%、第5群15%であり、有意な差は認められなかった(表1)。また一匹あたりの癌発生個数においても有意な差は認められなかった。なお各群の体重推移、膀胱および腎臓の重量においても差は認められなかった。

【結論】不飽和脂肪酸である $\alpha$ -リノレン酸およびリノール酸、また飽和脂肪酸であるパルミチン酸など、いずれの脂肪酸もラット膀胱発癌においてプロモーター作用を示さなかった。

Table 1, Tumor incidence of the bladder in rats initiated by BBN

Fatty acid	BHA	No. of rats	Papilloma	TCC <sup>a)</sup>	
			Incidence(%)	Incidence(%)	No./rat
$\alpha$ -linolenic a.	+	20	1(5)	3(15)	0.15
linolic a.	+	20	6(30)	4(20)	0.25
palmitic a.	+	20	3(15)	5(25)	0.25
-	+	20	5(25)	6(30)	0.30
-	-	20	2(10)	3(15)	0.15

Statistical analysis were made using Fisher exact test.

<sup>a)</sup> TCC:transitional cell carcinoma

NaHCO<sub>3</sub>のラット膀胱発癌 promotion作用に対する  
L-ascorbic acidの co-promotion作用

○岩田裕之<sup>1</sup>、山本晋史<sup>1</sup>、鰐淵英機<sup>1</sup>、林 修司<sup>1</sup>、  
湯浅 勳<sup>2</sup>、大谷周造<sup>2</sup>、福島昭治<sup>1</sup>（大阪市大・医  
・<sup>1</sup>1 病理、<sup>2</sup>2 生化）

[目的] NaHCO<sub>3</sub>によるラット膀胱発癌 promotion作用に対する、  
L-ascorbic acid(AsA)の co-promotion作用について用量相関的に検  
索することを目的とした。また、AsAの膀胱上皮細胞に与える影響を  
生化学的に検討した。

[方法]実験1: 6週齢のF344ラット83匹を用い、5群に分けた。  
0.05%BBNを4週間飲料水投与し、その後1.5%NaHCO<sub>3</sub>とそれぞれ0,1,  
2,3.5,および5%のAsAの混餌投与をおこなった。実験開始36週後にラ  
ットを屠殺、剖検し、膀胱を病理組織学的及び免疫組織学的に検索  
した。なお、屠殺1時間前に5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 50m  
g/kgを腹腔内投与した。実験2: 6週齢F344ラット30匹を用い、2群に  
分けた。被検物質として1.5%NaHCO<sub>3</sub>と5%AsAの混餌投与を8週間おこ  
ない、対照群には基礎食を投与した。実験開始8週後にラットを屠  
殺し、膀胱上皮のornithine decarboxylase(ODC)、および spermi  
dine/spermine N<sup>1</sup>-acetyltran- sferase(SAT)活性を生化学的に測定  
した。

[結果]実験1: 相対膀胱重量は、AsA投与量にほぼ比例して増加する  
傾向を示した。膀胱癌は各群に高率に発生し、基底膜単位長さ当り  
の癌および乳頭腫の発生個数はAsA投与量に相関して増加傾向を示し  
た。標本上における腫瘍面積（乳頭腫＋癌）も同様の傾向を示した、  
また単純性過形成、PN過形成における上皮細胞のBrdU標識率とAsA投  
与量との間に相関性が認められた。実験2: AsA+NaHCO<sub>3</sub>投与群におけ  
る膀胱上皮のODC活性は対照群に比し上昇していた。尚SAT活性につ  
いては上昇は認められなかった。

[結論]AsAはNaHCO<sub>3</sub>の持つ promotion作用を用量相関的に増強させ、  
ラット膀胱発癌 co-promoterとして働くことが明らかとなった。

○恒成一郎<sup>1</sup>、桑村 充<sup>2</sup>、山手丈至<sup>2</sup>、小谷猛夫<sup>2</sup>、佐久間貞重<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>日本バーリツカ・インゲルハイム、<sup>2</sup>大阪府立大)

【緒言】ラットにビタミンD<sub>2</sub>(VD)を過剰投与すると、心臓や肺などの動脈壁に石灰が沈着し、心臓では心筋壊死が生じることが報告されている。Altman(1973)はラットにおいて、VDにコレステロール(C)を組み合わせることで、血管中膜に石灰沈着を伴う、いわゆる Mönckeberg 型の動脈硬化症に類似した組織学的変化が誘発されることを報告した。しかし、この病変形成過程における心筋および血管構築の変化については十分な検討がなされていない。また、ヒトでは加齢が動脈硬化の誘発因子として加わっていることが知られている。今回、老齢ラットにVDとCとを投与し、実験的VD過剰症を誘発させ、心筋並びに心血管系に発生する変化を血管鋳型樹脂標本並びに免疫組織化学的手法を用いて、病理学的に検討した。

【材料および方法】52週齢 Crj:CD (SD)系雄ラット20匹を使用し、室温 23±3℃、湿度 55±5%、照明 12時間 (08:00~20:00)の飼育室で、固形飼料CA-1 (日本クレア) および水道水を自由に与えて飼育した。投与群にはVD 8 mgおよびC 40 mgを 1 mlのオリーブ油に溶解し、1.5 ml/kg/dayの用量で、5日間連続経口投与した。対照群にはオリーブ油のみを同用量経口投与した。投与開始後 6日に採血を行い、血清中コレステロール、カルシウム、および血漿中コク酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンフォスファターゼ (CPK) を日立705形自動分析装置で測定した。心臓は常法に従いパラフィン標本を作製してHE染色を行い、さらに単球/組織球を特異的に染めるED-1抗体を用いて間接法で免疫組織化学的染色を行った。また心血管系については血管鋳型樹脂標本を作製し、実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡で観察した。

【結果】VDおよびC投与によって体重は減少した。コレステロールおよびカルシウム値は有意に増加し、CPKおよびLDHも有意に増加した。光顕では心筋の菲薄化並びに巣状心筋壊死がび漫性にみられ、壊死部では円形細胞浸潤を伴っていた。これらの細胞はED-1抗体に陽性に反応し、マクロファージであることが示された。左右心室および中隔壁におけるED-1抗体陽性細胞数は左心室壁でやや少なかった。心血管では冠動脈の拡張、並びに平滑筋の菲薄化が顕著で、血管横断面は不整な円形状を呈していた。また場所によっては血管中膜が変性・壊死し、その部位には石灰沈着がみられた。鋳型樹脂標本による冠動脈の観察では、左右冠動脈およびそれから分岐する小動脈は管径が不均一で、それらの走行は波を打った状態を呈していた。毛細血管は対照群では筋鞘に沿って整然と走行していたが、投与群では螺旋状になって終わる場合が多くみられた。

【結論】老齢ラットの心臓ではVD及びC投与により、きわめて短期間のうちに心筋の変性・壊死が発現し、マクロファージの浸潤がみられた。また心血管では平滑筋層の障害だけではなく、その走行にもきわめて早期に変化が発生していることが明らかになった。したがって、血管走行の変化が血流に影響を及ぼす (Stehbens, 1965 ; 恒成, 1993) ことを考えると、今回検索した老齢ラットの心臓については、早期に発現している血管走行の変化が心臓機能の低下を引き起こすことが窺われる。

○吉田緑、真田靖幸、鈴木礼子、藤井享子、外尾亮治（動繁研）

生殖および繁殖に関する安全性試験は、児および母動物に対する被験物質の毒性について評価することを目的として行われている。母動物では、妊娠・分娩・哺育期間中に内分泌的および生化学的に大きな変化が見られる。したがって、経産あるいは哺育が雌ラットに与える影響を把握することは、これらの試験の評価において重要であると思われる。今回、経産および哺育が老齢および若齢ラットに及ぼす影響について病理学的に検討したので報告する。

〔材料および方法〕

実験1：19例のWistar-Imamichiラットを14週齢より同週齢の雄と交配させ、分娩・哺育させた。一定の期間後、再び交配を繰り返した。正常な性周期を示した約1年齢まで2～4回経産・哺育させた。その後約2年齢まで無処置のまま個別飼育した。  
実験2：Wistar-Imamichiラットを11週齢より交配・経産・哺育させ、経産・哺育回数が1回から3回の動物をそれぞれ10例ずつ作出した。各経産回数の動物とも離乳時（哺育22日目）まで飼育した。

実験1、2の対照動物として、それぞれ同週齢の未経産の雌ラットを用いた。

実験1、2の動物は採血後解剖し、血液生化学的検査および病理検査を行った。

〔結果〕実験1で2年齢まで飼育した老齢経産ラットでは、腎臓の基底膜および全身の動脈に石灰沈着が高い頻度で観察された。経産ラットにおいて、慢性腎症の発生頻度は未経産のラットと同様であり、腎臓および動脈の石灰沈着と慢性腎症との関連性も認められなかった。骨および上皮小体の病変は観察されなかった。

また、実験1、2の経産ラットでは、老齢および若齢ともに子宮で着床部位に関連した褐色色素の沈着が認められた。実験2の若齢経産ラットでは、子宮以外に形態学的な変化は観察されなかった。

その他の病変の発生頻度は経産および未経産ラットで差は認められなかった。

血液生化学的検査において、老齢の経産ラットではばらつきが大きく、一定の傾向は認められなかった。哺育終了時に解剖した若齢の経産ラットでは、経産・哺育回数が1～3回のいずれの群においても血清中のCa<sup>2+</sup>の低下が認められた。

〔考察および結論〕老齢の経産ラットで、腎臓および動脈に石灰沈着が高率に観察され、高Ca<sup>2+</sup>血症などで観察される転移性石灰沈着に類似した形態像であった。この石灰沈着は、経産・哺育ラットに特徴的な病変であると思われた。経産ラットにおける腎臓および動脈の石灰沈着は、哺乳と密接な関連性を持った病変であると報告されている。今回、若齢の経産ラットの哺育終了時に認められた血清中のCa<sup>2+</sup>の低値は、老齢経産ラットの石灰沈着病変と関連している可能性も考えられた。さらに、沈着している石灰の由来および病変の発現時期等について検討する必要があると思われた。



ヘテロサイクリックアミンPhIPおよびIQ投与による  
発癌非標的臓器に対する影響

○佐野真士、今井田克己、加藤俊男、小川久美子、白井智之、  
伊東信行（名市大・医・1病理）

【はじめに】 我々は、肉や魚などの加熱食品中に含まれるヘテロサイクリックアミンである2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)がラット大腸および乳腺に発癌性を示すことを明らかにした。また、発癌標的臓器以外でも心、肺、膵などでDNA付加体の形成が高いことが知られており、我々はその内心筋に形態学的変化がみられることを見出した。そこで、今回この非腫瘍性病変の変化を経時的に観察すると共に、これはPhIPにのみ特有の変化であるかを2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinone (IQ)との比較において検討した。

【実験方法】 6週齢のF344雄ラットを用い、PhIPまたはIQをそれぞれ20および40mg/kg 一回強制経口投与した。投与後1、3時間後、および1、4日後にそれぞれ各2匹ずつを屠殺し、心筋の変化を中心に超微形態学的に検討した。なお、対照群は生理食塩水のみを投与し投与後1日に屠殺し同様に検討した。

【結果】 対照群の心筋では大きさの整ったミトコンドリアが整然と配列していた（写真1）が、PhIP投与ラットでは心筋が浮腫状となりミトコンドリアの大小不同、配列の不規則化など心筋の変化が観察された（写真2）。この変化は投与後1時間の時点で既に観察され、その後持続して認められた。また、IQ投与の心筋でも同様の所見が観察された。

【考察】 以上より、発癌非標的臓器でもDNA付加体の形成の高い臓器では超微形態学的には変化が出現し、さらにその変化は投与後早期より認められることが明らかとなった。

写真1

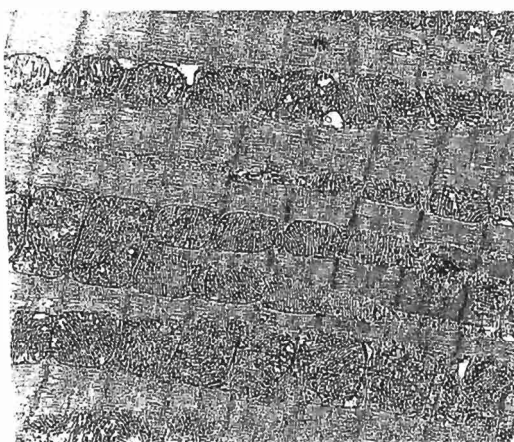
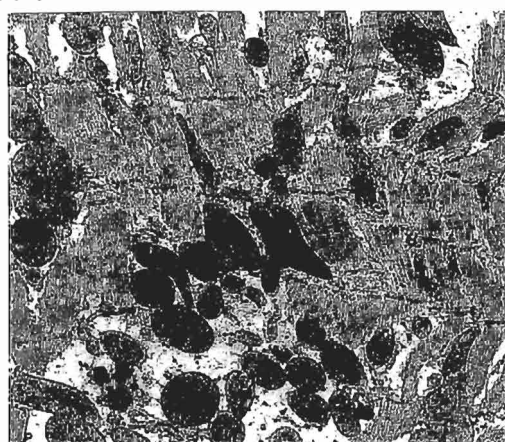


写真2



○神藤敏正、稲毛富士郎、加藤道幸、高山 敏  
(第一製薬、開発研究所、安全性研究センター)

### 【はじめに】

Nefiracetam[N-2,6-dimethylphenyl)-2-(2oxo-1-pyrrolidinyl)acetamide] は、イヌ経口13週間反復投与毒性試験において30および100mg/kg群で精巣病変を惹起したが、ラットの13および52週間経口反復投与毒性試験および生殖毒性試験で精巣障害を示唆する変化を起こさなかった。そこで、これが動物種差によるものかを検討するために、負荷条件下でのラットにおける本薬剤の精巣毒性を検討した。

### 【材料および方法】

5、7および29週齢の雄Crj:CD系ラットの片腎を切除し、これにnefiracetamの800、1000、1200または1500mg/kg/dayを1、2、3または4週間経口投与した。なお、対照群には媒体のみを投与した。それぞれの投与期間終了後に、動物を屠殺し精巣をブアン液で浸透固定後、H-EおよびPAS染色により光顕的に観察した。

### 【結果およびまとめ】

Nefiracetamによる精巣病変が、5週齢ラットでは1200mg/kgで、29週齢では800mg/kg以上で惹起された。7週齢ラットの1500mg/kg群において、初期病変は精母細胞の変性および精子細胞の脱落により特徴づけられた。さらに正常なパキテン期精母細胞は配列不整を示し、精細管のStage分類によりStage XII~XIV期精細管の減少が認められた。投与の継続に伴って精母細胞および精子細胞は減数し、最終的にはこれらの細胞および精祖細胞が消失し、精細管内には精子細胞由来と思われる多核巨細胞とセルトリ細胞のみが残存していた。

以上のように、nefiracetamによる精巣障害は、腎切除、大量投与によりラットにも発現し、加齢により感受性が高まることが示された。その初期病変から、本薬剤は精母細胞および精子細胞の発生過程を障害することが示唆された。

## 1,3-dinitrobenzeneによるセルトリ細胞障害の精子形成サイクルに及ぼす影響

○松井 元、豊田和弘、畝山智香子、古田京子、古川文夫、  
川西 徹、高橋道人（国立衛試・病理）

【はじめに】幼若な生殖細胞から精子が形成される過程は精子形成サイクルといわれる。精子形成サイクルは、生殖細胞の分化段階によっていくつかのステージに分けられ、個々のステージは動物種によって一定の時間経過で進行する。精巣に毒性を示す化学物質のいくつかは、ステージの違いにより障害の感受性に差を示すことから、毒性変化の出現と精子形成サイクルには密接な関係がある。このようなステージ特異性の毒性変化は種々の化学物質で認められているが、障害が精子形成サイクルの進行に及ぼす影響についての報告は少ない。今回、セルトリ細胞を主な標的とする代表的な精巣毒性物質である1,3-dinitrobenzeneを用いて形態学的な検討を行った結果、精巣の障害と精子形成サイクルの進行に関して興味ある成績が得られたので報告する。

【方法】9週齢の雄性Sprague-Dawley系ラットに1,3-dinitrobenzene 25mg/kgを単回強制経口投与した。投与後、1、2、4、7及び14日目に屠殺、剖検して精巣を摘出し、ブアン液を用いて固定した。固定後、常法に従いパラフィン包埋してHE及びPAS染色を行い、病理組織学的に検索した。精巣の横断切片中に存在する全ての精細管の精子形成サイクルのステージを鑑別し、切片中の精細管数に対する各ステージの割合を算出した。ステージ（ラットでは14ステージ）はⅡ～Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ、Ⅶ、Ⅷ、Ⅸ～ⅩⅠ、ⅩⅡ～ⅩⅢ及びⅩⅣ～Ⅰの9つの区分に分類した。また、主な障害像（生殖細胞の変性・壊死、前後ステージの同一精細管断面での混在、精子細胞の遺残など）について、ステージ毎に変化の認められた精細管数を計測した。

【結果】投与後1日目では、ステージⅦ以降の多数の精細管に、主としてパキテナー期精母細胞の変性・壊死が認められた。投与後2日目には、ステージⅧ～ⅩⅠの多くの精細管にステージ間の移行像がみられるようになり、精子細胞の早期剝離、遺残も観察された。この他、投与後1日目と同様に精母細胞の変性・壊死も認められたが、変化はより後期のステージにも出現した。各ステージの割合はⅩⅣ～Ⅰが減少した。投与後4日目にも、2日目と同様にステージⅧ～ⅩⅠの精細管にステージ間の移行像が多数みられ、精子細胞の遺残は、より広範囲のステージに認められた。各ステージの割合はⅨ～ⅩⅠが増加し、ⅩⅡ～ⅩⅢ及びⅩⅣ～Ⅰが減少した。投与後7日目以降には回復傾向がみられた。

【考察】形態学的に精子形成サイクルのステージを鑑別して検索したところ、生殖細胞の障害とともに一部のステージの出現頻度に変動が認められた。このことより、精子形成サイクルの進行は障害により影響を受ける可能性があることが示唆された。

## ラット子宮内膜における性周期及び加齢による 細胞増殖動態の変動

○安藤(路)進、西山寛、高野智司、北村毅、鈴木謙二、高橋正一、前川昭彦：佐々木研・病理

【目的】Donryuラットには子宮内膜癌が高率に自然発生し、その発生には内分泌環境の異常が関与していると考えられている。今回ラット子宮癌の発生機序を解明する研究の一環として、子宮癌好発系Donryu及び嫌発系F344ラットを用いて、内膜上皮及び間質の細胞増殖動態におよぼす性周期および加齢の影響を検討した。

【実験材料及び方法】動物は12時間照明の環境下で飼育した雌性Donryu及びF344ラット（日本チャールス・リバー）を用いた。10、16、26、39及び52週齢時に腔スミア検査により性周期の各ステージ（持続発情したラットではステージを限定せず）それぞれ2匹ずつを選び、午前10時にBrdU 80mg/kgを腹腔内投与し、1時間後に動物を屠殺、剖検した。摘出した子宮は10%緩衝ホルマリン液で48時間固定後、常法に従い脱水、包埋、パラフィン切片を作製し、ABC法でBrdUの免疫組織染色を行なった。

【結果及び考察】26週齢以降Donryuラットでは性周期の乱れが見られはじめ、26週で50%、39週齢を過ぎると90%、52週齢時ではほぼ100%の動物が持続発情状態を呈した。これに対し、F344ラットの性周期は52週齢までほとんど変化が見られなかった。26週齢までの性周期における各ステージでは、両系統ラットとも子宮内膜上皮細胞の増殖は発情後期で最も著明であった。これに対し間質細胞の増殖は主として休止期で認められた。39週齢以降では、持続発情したDonryuラットにおける内膜上皮の細胞増殖は同一週齢のF344ラットにおける発情後期よりは弱い、発情前期あるいは発情期よりは強く、52週齢時にはやや増強する傾向が見られた。一方、F344ラットでは性周期の各ステージにおける細胞増殖動態は39週齢までは加齢による影響が見られなかったが、52週齢時には若干低下する傾向が認められた。

以上のことから、若齢時の性周期における子宮内膜細胞増殖動態には両系統ラットにほとんど差はないが、39週齢以降は両者に違いが見られ、特にDonryuラットでは性周期の乱れに伴い、発情前期あるいは発情期より強い細胞増殖が持続することが示され、この事が同ラットにおける子宮癌好発の一要因と考えられた。

○小野寺 博志<sup>1</sup>，三森 国敏<sup>1</sup>，高橋 正一<sup>2</sup>，安原 加壽雄<sup>1</sup>，下 武男<sup>1</sup>  
高橋 道人<sup>1</sup>，林 裕造<sup>1</sup>（<sup>1</sup>国立衛試・病理，<sup>2</sup>佐々木研・病理）

【はじめに】抗甲状腺作用物質は甲状腺ホルモンの合成阻害により下垂体からの TSH 分泌亢進を来し、投与直後から血中 TSH の上昇に伴い甲状腺濾胞上皮は増殖・肥大する。しかし、その増殖活性は、投与を持続しても約 3ヶ月後には正常に戻る。一方、ラットの甲状腺濾胞上皮由来の腫瘍や増殖性病変の発生・進展に TSH が強く関与していることは良く知られているが、これらの増殖性病変が持続的な TSH の刺激によりどのような反応を示すかについては不明である。今回我々は、甲状腺二段階発癌モデルを用いラットに抗甲状腺物質である sulfadimethoxine(SM)を投与し、経時的に甲状腺を観察し、増殖性病変の組織学的特徴および細胞増殖活性と TSH の関連性を検討した。

【材料と方法】6週齢雄 F344/DuCrj に N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine(DHPN) 280mg/100g を一回皮下投与し、1 週後より 0.1%SM を飲料水として16 週間自由に与えた。SM 投与開始後 1, 4, 8, 12, 16 週目に屠殺・剖検した。また、16 週間 SM を投与し 4 週間休薬した群の甲状腺を病理形態学的に観察すると共に BrdU の免疫染色による増殖性病変の細胞増殖活性と血中ホルモン量を測定した。

【結果】SMの投与1週目からT4の著しい低下と共に、TSH 値は上昇し、8週目で最高値に達した。その後徐々に低下する傾向を示したが、対照群より明らかに高い値で推移した。組織学的には投与1週目では、濾胞内のコロイドの消失を伴う濾胞上皮の肥大・高円柱化がみられ、核分裂像も多数散見された。投与4週目では高円柱上皮の割合が減少し、濾胞内にコロイド様物質を満たし、乳頭状増殖を示す濾胞上皮の過形成が出現した。また、クロマチンの多い異型濾胞上皮の腺様増殖を示す腺腫の初期像と思われる細胞集簇も認められた。投与8週目では腺腫の発生が増加し、癌の発生も認められた。12週以上の投与では、8週投与の像が更に増悪化した。過形成を構成する上皮は扁平状と高円柱状の二型に分かれ高円柱上皮の増殖活性が8週までは高い傾向を示したが、以後いずれも著しく低下した。腺腫と癌も8週までは増殖活性が高かったが、12週以後腺腫の方は低下した。またSMを休薬することにより TSH 値の急激な低下に伴い、過形成と腺腫に加えて癌のあるものも増殖活性が著しく低下した。

【考察】SMの投与12週以後、高 TSH 血症が持続するにもかかわらず過形成と腺腫の増殖活性が低下したことから、これら増殖性病変の TSH に対する反応性が時間の経過と共に減衰することが明らかとなった。また、これらの増殖活性は休薬により急激に低下したことから、腺腫と診断される腫瘍も、TSH に対し著しく依存性が高い事が示唆された。

○井上智彰、金崎寛子、堀井郁夫（日本ロシュ(株)、研究所、毒性病理部）

5-FU は抗癌剤として使用されているが、その細胞増殖抑制作用のために免疫系への抑制作用を有している。今回は、胸腺細胞の成熟過程への薬物の影響を評価するための試験系を確立するために、妊娠マウスに 5-FU を投与することによって誘導される胎児胸腺への影響を、細胞表面マーカーを解析することにより調べたので報告する。

【方法】 C57BL/6 系マウスを交配後、交配確認日を妊娠 0 日目 (GD0) とし、GD6 から GD14 までの器官形成期に 5-FU (0-20 mg/kg/day) を母獣に連日 p.o. 投与し、GD18、及び生後 1、2、4 週目の胸腺細胞を細胞表面マーカーに対する抗体を用いて フロ-サイトメトリ- (FACSSan) により解析、及び凍結切片を免疫組織化学的に検索した。細胞及び凍結切片の染色には、CD4, CD8, J11d, T-cell receptor (TCR)  $\alpha\beta$  及び  $\gamma\delta$  に対する抗体を用いた。

【結果】 GD18 の胎児胸腺では、重量及び細胞数は、5-FU の用量に依存して減少し、特に small cells (SC) の減少が著明であった。CD4/CD8 の二重染色の結果、SC のほとんどが CD4+CD8+ (DP) であり、small DP が特異的に減少していることが分かった。CD4-CD8- (DN), CD4-CD8+ (CD8 SP), large DP は、small DP の著明な減少のために割合は増加した。割合が増加した CD8 SP 及び DN はほとんどが J11d+ であったので、成熟した T-cells ではなく、DP より未熟な胸腺細胞であることが示唆された。また、TCR  $\alpha\beta$  細胞の割合は 5-FU 投与により減少し、TCR  $\alpha\beta$  T-cells の抑制がかかっていることが示唆された。

生後 1 週目には、胸腺重量及び胸腺細胞数は正常レベルまで回復したが、DP の減少傾向及び DN の増加傾向は、生後 2 週目でも認められた。

これらの結果より、マウスにおいて器官形成期に母獣に 5-FU を投与することにより、胎児の胸腺細胞の成熟過程への影響が認められ、胸腺の重量減少と共に、GD18 で最も成熟した細胞集団である small DP の特異的な減少、及び TCR  $\alpha\beta$  T-cells の減少を認めた。これらの変化は生後回復傾向にあり、胸腺重量では変化を捉えることができなかったが、T-cell 系の細胞表面マーカーの解析により、胸腺細胞成熟過程への影響を捉えることができた。このように、5-FU は成体の胸腺に萎縮をもたらすと同時に、胎児胸腺に対しても胸腺細胞の成熟過程に影響を及ぼし、生後まで変化が認められることが分かった。

ピペロニル・ブトキサイド4週間投与ラットのリンパ・造血組織  
についての免疫組織化学的観察

○下 武男, 三森 国敏, 北浦 敬介, 小野寺 博志, 安原 加壽雄,  
高橋 道人 (国立衛試・病理部)

【はじめに】ピペロニル・ブトキサイド (PBX) は, 防虫用食品添加物として使用されているが, チトクロームP450の抑制作用のあることも知られている。我々は, 既に本化合物のラット垂急性毒性試験において3%投与群で著しい体重増加抑制, 肝細胞腫大, 骨髄の低形成, 脾・胸腺の萎縮を認めた。しかし, これらリンパ・造血器障害が本化合物の作用か, 低栄養状態に起因するものか明らかでなかった。今回, 我々はPBX投与ラットのリンパ・造血組織を, 免疫組織化学的に検索し, 低栄養状態ラットのリンパ系組織における変化と比較検討した。

【材料と方法】実験 1: 6週齢雄F344ラット各群10匹に2.5, 1, 0.5%のPBXを4週間混餌投与した。さらに対照群 (5匹) を設けた。投与終了後に血液学的検査, および胸腺と脾の重量を測定し, 骨髄 (大腿骨と胸骨), 胸腺, 脾, 腸間膜リンパ節, パイエル板をホルマリンおよびメタノール・カルノア (MC) 液にて固定した。これらの組織に対して抗 T および抗 B リンパ球 (Pan T および Pan B), PCNAモノクローナル抗体を用いて免疫染色を行なった。骨髄 (造血細胞), 胸腺 (Tリンパ球領域), 脾 (T/Bリンパ球領域), 腸間膜リンパ節とパイエル板 (胚中心) について, リンパ・骨髄細胞のPCNA陽性率を求めた。

実験 2: 各群5匹の7週齢雄Brown Norwayラットに正常飼料および70%セルロース含有制限食飼料を1週間投与した。胸腺と脾の重量を測定し, MC固定後, これらの臓器および腸間膜リンパ節についてTリンパ球 (Pan T) とBリンパ球 (Pan B) 抗体による免疫組織化学的検査を行った。

【結果】実験 1: 2.5%群では, 対照群に比較して有意な体重増加抑制, 末梢血各種白血球数の減少, 胸腺と脾の重量の減少が認められた。組織学的に胸腺皮質の部分的な萎縮, 脾の赤・白脾髄の萎縮と骨髄低形成がみられ, 免疫組織化学的には脾, 胸腺, 腸間膜リンパ節, パイエル板のT/Bリンパ球は軽度から中等度減少し, 特に脾のBリンパ球の減少が顕著であった。脾のT/Bリンパ球領域, 胸腺のTリンパ球領域, 骨髄の有核細胞におけるPCNA陽性率は対照群に比較して有意に減少した。

実験 2: 制限食群では, 胸腺と脾の著明な重量減少, 胸腺皮質や脾の著しい萎縮, 胸腺Tリンパ球の著明な減少, 脾のT/Bリンパ球や腸間膜リンパ節のTリンパ球の中等度の減少が認められた。

【考察】制限食群ではリンパ系組織の著明な萎縮と特にTリンパ球の減少が発現したことから, PBX 2.5%群におけるリンパ・造血組織では低栄養に関係した変化も発現している可能性も考えられたが, PBX群では骨髄の低形成やPCNA陽性有核細胞の減少および末梢血各種白血球数の減少が認められており, リンパ球のみならず骨髄球系細胞も障害されていることが示唆された。

## 5-Azacytidine投与妊娠マウスの胎仔に認められた 中枢神経系のアポトーシス

○Mokbul Md. Hossain、中山裕之、後藤直彰（東大 獣医病理）

5-Azacytidine(5Az)はcytidineのアナログでDNAのメチル化を抑制し、各種遺伝子の発現を誘導することが知られている。また5Azは催奇形性を有し、妊娠マウスに投与すると胎仔の主に神経系に異常を引き起こす。5AzのDNAメチル化抑制による遺伝子発現と催奇形性という2つの作用の関係を明らかにするために、妊娠マウスに5Azを投与し、胎仔の病変の性質とその推移をしらべた。

〔材料と方法〕ICR、C57BL/6、BALB/cの妊娠マウスを用いた。妊娠11日目に5Az 0.2～0.4 mgを腹腔内投与し、その後、適当な間隔で胎仔を採取、光顕および電顕的に観察した。

〔成績〕5Az投与後7日（妊娠18日）に胎仔を観察したところ、死亡して吸収胚となっているものと正常に発育しているものとがあった。吸収胚の割合は、ICRでは5Az 0.2 mg/head 投与で30.4%、0.4 mgで71.2% C57BL/6では0.2 mgで67.2%、BALB/cでは0.2 mgで53.2%であった。

ICRマウスを用いて、5Az投与後毎日胎仔を採取し、組織学的に調べた。投与1日後では脳と脊髄に広範な細胞死領域が認められた。病変部の細胞は核が濃縮し、粉碎されているものが多かった。破壊された核は近接する細胞、マクロファージに貪食されていた。電顕観察によると、核クロマチンの濃縮と核辺縁への凝集、核の断片化が認められた。細胞質では空胞の形成、濃縮、縮小等がみられた。断片化した核は周辺の細胞およびマクロファージに貪食されていた。このような神経組織の細胞死病変は5Az投与後2日で軽減し、3日後ではほとんど正常であった。

〔考察〕5Azは胎仔の主として中枢神経組織に細胞死を誘発し、形態学的にアポトーシスであることが示された。アポトーシスにはその発現にある種の細胞死誘導タンパク質を必要とする型のものがあり、5Azの遺伝子発現誘導作用によって、細胞死タンパク質が発現している可能性がある。しかし、このタンパク質の発現は一時的で、病変の軽い胎仔では神経組織は残存する未分化細胞の分裂によって、速やかに補填され、胚の正常発育が続くと考えられた。



○高橋明美<sup>1</sup>, 水谷誠<sup>2</sup>, 板倉智敏<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大・獣医・比較病理, <sup>2</sup>日生研)

アクリルアミド (AC) は, “distal axonopathy” をヒトや実験動物の中枢および末梢神経系に惹起する neurotoxin である。これによる病変は, 径が太く長い神経線維の遠位部から逆行性に進行する, ニューロフィラメント (NF) 蓄積による軸索腫大とそれに続くウォーラー様変性を特徴としている。我々は, 昨年度の本学会において, ACを連続投与した正常系およびNF欠損系 (Quv) ニホンウズラの中枢神経系病変について報告した。今回は, 両系のウズラにみられたAC投与による末梢神経病変について報告する。なお, Quv系ウズラは, NF欠損に起因する軸索径の低発育を基本病変とするミュータント系である。

〔材料と方法〕10~16週齢の正常ウズラ11羽とQuv系ウズラ9羽を用いた。これらのうち, 正常ウズラ8羽とQuv系ウズラ6羽にAC (100mg/kg) を, 対照として正常ウズラ3羽とQuv系ウズラ3羽に生理食塩水を, 1日おきに腹腔内投与した。歩様踴躍から起立不能までの神経症状を示したウズラの坐骨および脛骨神経を取り出し, 光顕的および電顕的に検索した。また, 近位坐骨神経と遠位脛骨神経についてはときほぐし標本を作製し光顕的に観察した。

〔結果〕AC投与正常ウズラの近位坐骨神経では, 径の太い有髄神経は減少し, 不規則な陥入を示すミエリンの増加が観察された。電顕的には, 径の太い有髄神経の軸索内にNFが蓄積していた。遠位脛骨神経では, ウォーラー変性にみられる一連の変化, すなわち, 神経線維の変性と消失, マクロファージの遊走, シュワン細胞の増殖および神経線維の再生が認められた。Quv系の有髄神経の軸索では, 主として膜性小器官が蓄積するとともに, 軸索内小器官に由来する崩壊産物ならびに均一無構造物質の蓄積あるいは軸索内小器官の消失などの変性変化が, 近位坐骨神経に観察された。神経線維の遠位に行くに従い, それらの軸索内の変化は強くなっていたが, ミエリンはシュワン細胞内で層板状を保持して, 球状, リング状あるいは軸索を囲んだ管状をなしていた。Quv系では, AC投与正常ウズラでみられたマクロファージの遊走, シュワン細胞の増殖および神経線維の再生なども観察されなかった。ときほぐし標本では, ウォーラー変性の初期像に一致して, paranodal regionにおけるミエリンの球状化あるいは陥入を伴った軸索の腫大が両系のウズラに認められた。

〔まとめ〕ACの連続投与は, 正常ウズラにおいて, 鳥類の末梢神経の中では最も径が太く長い神経線維で構成される坐骨および脛骨神経に, “distal axonopathy” を引き起こした。一方, Quv系では軸索変性は惹起されたが, ミエリンは変性・崩壊することなくシュワン細胞内に残存した。ウォーラー変性の一連の過程において, 軸索変性に続くミエリンの変性とその処理は, 血液単球由来のマクロファージが大きな役割を担っていると考えられている。ACを投与した Quv系では, 神経内膜へのマクロファージの遊走が観察されなかったが, これがミエリン処理ならびに正常系でみられた一連の変化の欠如に参与しているものと推察された。先天的なNF欠損により, 径の細い軸索で構成されるQuv系の末梢神経の変性・再生過程は, NFを有する正常ウズラとは異なることが示唆された。

Diethyl dithiocarbamate 投与ラットにおける運動終板の  
超微形態学的観察

○今沢孝喜、三森国敏、小野寺博志、安原加壽雄、下 武男、  
西川秋佳、高橋道人 (国立衛試・病理)

【目的】ziramやthiramはdithiocarbamate系の殺菌剤であり、これらをラットに長期間投与すると後肢麻痺が誘発されるが、そのメカニズムは明らかでない。一方、同系化合物に属するdisulfiramはヒトに末梢神経障害を引き起こし、その最終代謝産物である二硫化炭素はdistal axonopathyを誘発する。以上のことから、dithiocarbamate系化合物は遠位軸索や神経筋接合部を標的とする可能性が疑われる。今回、disulfiramの中間代謝物であるdiethyl dithiocarbamate(DDC)をラットに反復投与し、末梢神経運動終板を超微形態学的に検索した。

【材料及び方法】動物は6週齢のWistar系雌ラットを用い、DDC 1500mg/kgを毎日1回週6回、強制経口投与した。陽性対照群として神経筋接合部阻害作用のある2,4-dithiobiuret (DTB)1mg/kgを2～3日に1回腹腔内投与し、発現する後肢麻痺の程度に従って投与頻度を変更した。対照群には蒸留水を強制経口投与した。投与開始6週後に、生存動物全例を4%パラホルムアルデヒド液で全身灌流固定を行ない、下腿三頭筋及び虫様筋を摘出し、さらに2.5%グルタルアルデヒド液及び四酸化オスミウムで固定後、常法に従い、電顕的に観察した。

【結果】DTB投与ラットでは、2回目の投与後、後肢運動失調を示す動物が出現した。3回目より死亡例が出現したため、後肢麻痺のラットに対しては3～4日の間隔で休薬した。DDC投与ラットでは、投与4週頃より軽度の歩行異常が観察された。

DTB投与ラットの運動終板では、軸索終末の腫脹がみられ、萎縮から崩壊を示すものも認められた。腫脹した軸索終末においては、大小不同のシナプス小胞の増加、神経細線維や神経微小管の増加、不定形の小管構造物の蓄積がみられた。萎縮性の軸索終末では、シナプス小胞の減少を伴い、終末部とシナプス間隙の間が解離し、シュワン細胞突起が空間を埋める像もみられた。これらの運動終板の変化に一致して、骨格筋においては、筋線維の萎縮及びアクチンとミオシンフィラメントの配列の乱れやZ線のstreaming等の変性が認められた。DDC投与ラットでは、DTB程強くはなかったが、運動終板にシナプス小胞や小管構造物の増加による軸索終末の腫脹や軸索終末のシナプスひだからの解離が認められた。

【まとめ】DTBの神経毒性は、運動終板のプレシナプス終末から放出されるアセチルコリンの減少による神経から筋への刺激伝達の障害を特徴としている。今回の実験では、DDC投与ラットにおいても程度は軽度であったが、DTBと同様の変化が運動終板に観察されたことから、DDCの標的部位が運動神経終末部であることが示唆された。

○山崎 秀樹、佃 良一、永井 博文（武田薬品、薬安研）

グルココルチコイド（GC）は強い抗炎症作用や免疫抑制作用を有するが、長期投与患者では骨粗鬆症およびそれに随伴する骨折などの副作用がみられる。GCを若齢ラットに大量投与すると骨形成阻害がみられるが、同時に海綿骨領域の硬化症が発現し、骨代謝改善薬の効果判定のための骨粗鬆症モデルとしての使用は困難である。今回、低用量のGCをラットに投与することにより、薬効評価モデルとしての適否を検討したので報告する。

#### 【材料と方法】

8週齢の雄性SDラットに低用量（1または5 mg/kg×2/週）の酢酸プレドニゾロンを2～12週間皮下投与した。また、カルセイン、キシレノールオレンジ投与により骨標識を行った。投薬終了後、尿、血清、第5腰椎、大腿骨および脛骨を採取し、尿および血清の生化学的検査、大腿骨乾燥重量測定を行った。腰椎および脛骨はVillanueva bone stainで染色後、樹脂包埋し非脱灰切片を作製、腰椎海綿骨および脛骨成長板・骨幹皮質骨の形態計測を行った。

#### 【結果】

プレドニゾロン投与ラットの体重、大腿骨および脛骨長はほぼ投与量および投与期間に依存した成長抑制を示した。成長板の形態計測により長軸方向の成長は4週間以上の投薬で抑制された。骨量は、腰椎海綿骨では5 mg/kg、2週間投薬で軽度増加し、脛骨皮質骨では1および5 mg/kgの6週間以上の投薬で減少傾向を示した。大腿骨骨幹中央部の乾燥重量は、6週間以上の投薬群で減少した。骨石灰化速度および骨形成速度は、全投薬期間中、腰椎海綿骨および皮質骨（骨膜および内骨面）で、それぞれ用量依存性に減少した。骨吸収は、海綿骨、皮質骨ともに6週間以上の投薬群で抑制された。尿および血清の生化学的検査では、全投薬期間で尿中リン排泄量が減少した。尿中カルシウム排泄量は6週間以上の投薬で高値傾向を示し、血清カルシウム濃度は2週間投薬で高値を示した。血清中の上皮小体ホルモンおよびカルチニン濃度に有意な変動はなく、ミネラル代謝との関連はみられなかった。

#### 【考察】

ラットへのプレドニゾロン低用量投与において、骨形成抑制は全投薬期間を通して、骨吸収抑制は6週間以上の投薬で顕著であった。皮質骨量（乾燥重量）は6週間以上の投薬で減少したが、海綿骨量はむしろ増加した。また、カルシウム代謝調節ホルモンレベルに影響はなかった。従って、今回の低用量のプレドニゾロン投与による若齢ラット病態モデルは、二次性上皮小体機能亢進および骨吸収亢進は伴わず、むしろ骨吸収を抑制し、主に骨形成抑制による骨量増加抑制を特徴とするステロイド性骨減少症モデルであり、これらの特徴を活かした薬効評価への応用が望ましいと考えられる。

○中澤素邦、俵谷武治、吉田勝、内本啓史、河南明孝、吉田陽、上田誠、  
鷲見信好  
(日本新薬(株)・安全研)

Degenerative joint disease は、関節の複合病変で、所見としては、関節軟骨の基質中のムコ多糖類の消失、軟骨基質中の線維成分の明瞭化、軟骨表面の糜爛およびそれに伴う軟骨細胞の代償性増殖、軟骨下の骨質部分の関節表面への突出などの諸変化が知られている。同病変は、ヒトを始めとしてイヌ、ネコなどの小動物やラット、マウスなどの実験動物での発生も報告されている。

今回、演者らは同病変について、雄114例、雌112例のSD系ラットの大腿骨遠位端の関節を病理組織学的に検索し、以下の結果を得たので報告する。

【材料および方法】

動物は通常のバリアシステム環境下にて自由摂水、摂餌の条件で飼育された無処置のSD系ラットである。週齢の内訳は、以下の表に示す。(1)これらの動物について、右側の大腿骨遠位端を採取、1.0%中性緩衝ホルマリンに固定し、脱灰処理を施した後、常法に従いパラフィン包埋、H.E.染色を施し関節軟骨の組織学的検索を実施した。(2)関節軟骨の軟骨基質における加齢に伴うムコ多糖類の消失および線維化の程度を検索する目的で、各週齢の動物から数匹の動物を選択して、PAS染色(中性ムコ多糖陽性)、Alcian blue(pH2.5)染色(酸性ムコ多糖陽性)およびアルデヒドフクシン染色を施し、関節軟骨基質の組織化学的検索を実施した。なお、対照として10週齢の動物を雌雄各2例加えた。動物の内訳は以下のテーブルに示す。

【結果および考察】

(1)関節軟骨にみられた病理組織学的変化

「tidemarks」が明瞭に認められ、「tidemarks」から外側の関節面側で軟骨基質の消失、線維化、壊死がみられ(chondromalacia)、糜爛も認められた。一方、「tidemarks」から内側の軟骨の深部側では、石灰化、骨化が認められ、部位によっては表面に露出して象牙化骨質の像も認められた(eburnation)。関節面の輪郭は全体にいびつに変形していた。

Age (weeks)	41~60		61~80		81~100		101~120		121~125	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
No. of animals	5	1	15	7	59	33	31	38	4	33
Degeneration of chondrocytes	60%	100%	67%	86%	78%	85%	61%	68%	25%	79%
Erosion	60%	0%	33%	14%	42%	27%	55%	34%	25%	24%
Chondromalacia and/or Eburnation of ossified submarginal area	80%	0%	100%	86%	95%	88%	94%	87%	100%	82%
Mucinous cystic degeneration	0%	0%	7%	0%	10%	0%	10%	0%	0%	0%

(2)関節軟骨基質の組織化学的検索

10週から41週の間酸性ムコ多糖の染色性の低下が顕著に認められたものの、それ以降の週齢では特に染色性に大きな差は認められず、加齢に伴う関節軟骨からの酸性ムコ多糖の脱落はほぼ41週までに終了する事が示唆された。中性ムコ多糖については、加齢による染色性の影響は認められなかった。また、加齢に伴いムコ多糖の消失に対応して線維化が明瞭に認められた。

Age (weeks)	10		41~60		61~80		81~100		101~120		121~125	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
No. of animals	2	2	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4
Alcian blue (pH 2.5)	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PAS	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Aldehyde fuchsin	PU	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR

+ ; slight ++ ; moderate PU ; Purple, GR ; Green

— MEMO —

— MEMO —

— MEMO —

# 示 説 要 旨

( P-1 ~ P-87 )



# OLYMPUS®

**Y**-shape  
ergonomic design.

**E**xcellent  
optics.

**S**ystem  
Sversatility.

## Y·E·S is the answer.

使う人の声と私たちの理想から、この顕微鏡は生まれました。

### ■あなたにあった操作性を実現する Y-shape ergonomic design

操作がしやすい、見やすい、疲れない。使う人の立場を考えると顕微鏡のフォルムはこうなります。人間工学から生まれた理想のフォルム、それが“Yシェイプ”。こちよい操作性が体感できます。

### ■最上級の観察像を提供する Excellent optics

最上級の見えを実現する“UIS光学系”。70年以上の経験と先端技術から生まれたオリンパスならではの顕微鏡光学システムです。高コントラストでフラットネスの良い観察像を実現します。

### ■研究分野のあらゆるニーズに応える System versatility

コンピュータ・シミュレーション(FEM解析)により、フレームの剛性と安定性を大幅アップ。画像処理や、顕微測光、写真撮影装置など、システム・アップ時の信頼性がさらに向上します。

オリンパス光学工業株式会社 販売元：オリンパス販売株式会社

カタログのご請求は、オリンパス販売株式会社 〒101 東京都千代田区神田駿河台3-4(龍名館ビル) TEL.03-3251-8971へどうぞ。

システム生物顕微鏡

# BX

BX40/BX50

新 登 場

○鳥井幹則<sup>1</sup>、井上 知<sup>1</sup>、丸山敏之<sup>1</sup>、古川 仁<sup>1</sup>、村岡義博<sup>1</sup>、伊藤浩行<sup>2</sup> (<sup>1</sup>塩野義新薬研、<sup>2</sup>近畿大・医・1病理)

(緒言)

SHR (高血圧自然発症ラット) の脳や心臓における高血圧性病変の発生機序に関する形態学のおよび生化学的検索から、SHRではフリーラジカル障害に対する防御系の異常がみられることを明らかにした。今回、大動脈内皮細胞の障害に対するフリーラジカルの関与を明らかにすることを目的として、人為的にヒドロキシラジカルを産生させ、その局在と内皮細胞障害との関係を形態学的に検討した。

(方法)

13週齢雄SHRと正常血圧WKYを用い、t-butyl hydroperoxide (BHP) を灌流することにより障害を作製し、その際発生するヒドロキシラジカルを  $\text{CeCl}_3$  (Ce) をマーカーとして観察した。ペントバルビタールナトリウム麻酔下に開腹し、腹部大動脈より逆行性に7.5 mM BHP添加 Krebs-Henseleit buffer (pH 7.5) を10分間灌流した(10 ml/min)。Ohnoらの方法によりカタラーゼを阻害するために aminotriazole を添加した tris maleate buffer で洗浄後、Ce 添加 tris maleate buffer を灌流して胸部大動脈を採取した。常法に従って、電顕試料を作製し透過型および走査型電子顕微鏡を用いて内皮細胞の変化とCe反応物を観察した。

(結果と考察)

透過電顕では、BHP処置WKYの大動脈内皮細胞には所々bleb形成が認められ、主として、内皮細胞境界に少量の高電子密度物質 (Ce反応物) が認められた。一方、BHP処置SHRでは、内皮細胞にbleb形成、細胞内水腫とミトコンドリアの崩壊などの変性がより強く、細胞境界や細胞膜に沿って連続する多量の高電子密度物質の沈着が認められた。また、変性した内皮細胞質内にもわずかにCe反応物が認められた。走査電顕では、SHRで内皮細胞の敷石状配列に乱れはなかったが、細胞表面に微絨毛とblebが増加し、Ce反応物と思われる多数の微細顆粒状物 (約75~150 nm) が時に集塊を形成して付着していた。WKYではこのような変化はほとんど認められなかった。

以上のように、SHRでは正常血圧ラットと比べてヒドロキシラジカルと反応して生じたCe反応物が大動脈の内皮細胞膜表面に多量に認められ、ラジカル産生による急性細胞膜障害が著明であることが確かめられた。従って、SHRでは血管内皮のラジカル障害に対する防御能が低いと考えられる。

## Histopathological Study of the Effect of Selenium and Verapamil on Cardiac Lesions induced by Adriamycin in Rats

O J S Lee, S Y Nam, S S Nahm, J K Seong, and C B Park (Coll. of Vet Med., SNU)

Adriamycin is an anthracycline antitumor agent and dosing of this agent to the patient is limited due to cardiac toxicity resulting in a prolonged cardiomyopathy. The purpose of this study was to investigate the effect of selenium and verapamil on the adriamycin-induced cardiomyopathy in female rats. A total of 150 Sprague-Dawley female rats were divided into 3 treatment groups (T1, T2, T3) and 3 control groups (C1, C2, C3). The rats of the T1 group and C1 group were given normal saline(0.15ml/rat), the rats of the T2 group and C2 group were given sodium selenite(0.5mg/kg), and the rats of the T3 group and C3 group were given verapamil hydrochloride(15 mg/kg) intraperitoneally three times a week for 4 weeks. The treatment groups were dosed intraperitoneally with adriamycin(3mg/kg/day) five times at the second week(cumulative dose 15 mg/kg). Animals were sacrificed at the 14th, 21st and 28th day after dosing with normal saline, selenium, and verapamil respectively. The cardiac tissues were examined histopathologically and electron microscopically. The survival rate of T2 group was same as in control groups(100%), while it was decreased in T1(80%) and T3 group(73.33%). The mean body weight of T1 and T3 groups was significantly decreased as compared with that of control groups at the 4th week ( $P < 0.05$ ), but that of T2 group was not decreased. The main histopathological findings of heart in the test rats were focal myocytic degeneration, interstitial and intracytoplasmic vacuolization, loss of contractile elements, interstitial edema and fibrosis, and nuclear pyknosis. These lesions were markedly observed in T1 and T3 groups, but they were ill-defined in T2 group. The main ultrastructural findings of heart of sarcomeres due to fragmentation and loss of myofilaments, swelling and formation of myeloid bodies of mitochondria, fragmentation of nucleolus, and myocytolysis with fibroblast proliferation. These lesions were prominent in T1 and T3 groups, but not significant in T2 group.

These results indicate that selenium may act as an inhibitor in the cardiomyopathy induced by adriamycin in the Sprague-Dawley female rats.

○森島 英喜、佐々木 啓、宮脇 宏彰（武田薬品・薬安研）

イヌ多発性動脈炎症候群は特異な臨床症状と全身の中・小動脈の多発性壊死性動脈炎を主徴とする疾患であり、特発性壊死性動脈炎症候群あるいはその臨床症状から beagle pain syndrome とも呼ばれている。本疾患は特定のコロニーでの発生が多いことから、遺伝的素因が関与し、ストレスが誘因となり発症する自然発生の性の変化と考えられているが、その詳細は明らかではない。今回、我々はある毒性試験において本症候群と思われる症例に遭遇し、臨床病理学的ならびに病理組織学的に検索したのでその成績を報告する。

〔材料および方法〕

症例はある化合物の13週間静脈内投与毒性試験に供試した8～11カ月齢のビーグル犬32例（雌雄各16例）のうちの雌雄各2例である。これらの動物はいずれも金属製ケージに個別に収容し、通常的一般状態観察、体重、摂餌量、飲水量測定、眼科学的検査、尿検査、血液検査、剖検、臓器重量測定および病理組織学的検査を実施した。

〔結果および結論〕

イヌ多発性動脈炎症候群に罹患した4例には共通して摂餌量、飲水量の減少、実験開始3～8週以降体重減少がみられ、血液検査では赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の減少がみられた。また、血液生化学的検査ではアルブミンおよびA/G比の減少がみられ、血漿の蛋白分画では $\alpha$ -2および $\beta$ グロブリンの増加がみられた。さらに、雄2例、雌1例では自発運動の減少、好中球を主体とした著明な白血球増加、血漿ALP活性の上昇がみられ、雌雄各1例に著明な消瘦、腎臓の癒痕形成および肝重量の増加、雌1例に脾臓の退色、萎縮、心筋の退色および菲薄化がみられた。病理組織学的には大動脈、心臓、肺、胆嚢、胸腺、甲状腺、胃、食道あるいは十二指腸の中・小動脈に動脈炎がみられた。これらの動脈では好中球、形質細胞、リンパ球、大食細胞等が浸潤し、中膜の変性・フィブリノイド壊死、内弾性板の断裂や内膜の肥厚を伴うものもあった。また、陳旧化した動脈炎では炎症性細胞浸潤は減少し、内膜の肥厚と管腔の狭小化が著明となり、内弾性板の断裂、結合組織の増生もみられた。さらに、雌雄各1例では心筋の線維化、腎皮質の梗塞、肝臓、脾臓および腎臓におけるアミロイド沈着がみられた。

イヌの動脈炎は臨床症状や血液検査での変化の有無により2つに大別されているが、今回の症例では自発運動の減少、貧血や白血球増加等がみられていることから、臨床症状や血液性状の変化を伴うタイプの動脈炎、すなわち“イヌ多発性動脈炎症候群”と診断した。

## MeA $\alpha$ C投与によるマウス皮下血管肉腫の 病理組織学的検討

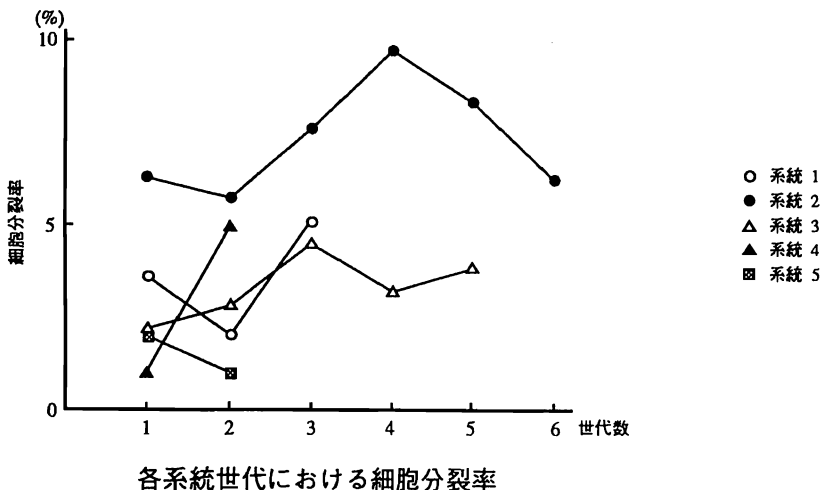
○宮田恵美子、内藤初美、長谷川良平、柴田雅朗、田中 光、  
伊東信行（名市大・医・1病理）

【目的】 蛋白質やアミノ酸の過熱分解産物に含まれるヘテロサイクリックアミンの一つである2-Amino-3-methyl-9H-pyrido-[2,3-b]indole (MeA $\alpha$ C)はCDF<sub>1</sub>マウスに投与すると肝臓及び皮下血管肉腫の発生をみることが知られている。今回、CDF<sub>1</sub>マウスにできた皮下腫瘍をCD-1ヌードマウスに移植し継代するとともにその腫瘍細胞の特性について検討した。

【方法】 6週齢の雌雄CDF<sub>1</sub>マウス各21匹に0.08% MeA $\alpha$ C含有飼料を52週間投与した。実験期間中、皮下腫瘍を認めた雄の最初の5匹から腫瘍を摘出し、6週齢の雄CD-1ヌードマウスの皮下に移植し5系統を確立した。移植に使用しなかった残りの雌雄CDF<sub>1</sub>マウスは52週間投与後に屠殺剖検した。また、5系統の皮下腫瘍は継代移植し、腫瘍の増殖速度および組織像について検索した。

【結果】 CDF<sub>1</sub>マウスの背部の皮下腫瘍は雄に実験開始後37週頃から散発的にみられ、52週の屠殺時までには雄21匹中12匹、雌21匹中11匹に認められた。これらは全て病理組織学的に血管肉腫であった。また、全ての動物の肝臓に肝細胞腺腫および肝細胞癌を認めた。CD-1ヌードマウスに移植した皮下腫瘍は早いものでは3週間で鶏卵大に、遅いものでは移植後8週間以上で同程度の大きさになり、これらの移植5系統の間には明らかな増殖速度の相違がみられた。組織学的にはいずれも血管腔の豊かな血管肉腫で、増殖速度の早いものほど細胞密度が高く、核分裂像、細胞異型が高かった。

【結論】 MeA $\alpha$ CがCDF<sub>1</sub>マウスの肝臓および皮下血管組織に発癌性のあることを確認し、生物学的に特徴ある皮下血管肉腫の移植系を確立した。



# F344ラットの鼻咽頭管増殖性病変におけるがん関連遺伝子の解析

○ 林 新茂, 堀之内 彰, 森 郁生, 野々山 孝, 宮嶋宏彰 (武田薬品・薬安研)

【はじめに】 長期飼育されたラットの剖検時に、消化管のガス貯留による著しい拡張(鼓腸)だけがみられ、主要臓器に著変がみられない例では、上部気道を狭窄／閉塞させる一次病変が潜在することを報告した(第7回日本毒性病理学会)。今回、それらの主病変としてF344ラットの鼻咽頭管にみられた増殖性病変を病理組織学的に分類し、変異がん遺伝子／がん抑制遺伝子の発現、ならびに増殖細胞核抗原(PCNA)の陽性率を組織分化度との関連について検討した。

【材料と方法】 動物は当研究所でがん原性試験に用いられた雌雄各1300匹のF344ラットのうち、剖検時、頭部の矢状割面で鼻咽頭管に肉眼病変がみられた雄7例、雌3例(58～111週齢)である。増殖性病変の病理診断は、IARC(WHO)分類に従った。がん遺伝子 c-Ha-ras codon 61の変異は、脱パラ切片を用いたPCR法により当該DNAを増幅し、dot hybridization法で検出した。免疫組織化学的には抗マウス p21<sup>ras</sup>、c-erbB-2、c-myc、p53およびPCNA抗体を用い、SAB法により発現蛋白／変異遺伝子産物を検索し、PCNA陽性細胞率は画像解析装置を用いて算出した。

【結果】 組織学的に鼻咽頭管の増殖性病変は Squamous cell metaplasia(SCM:雄1,雌1)、Squamous cell papilloma(SCP:雄3)、Squamous cell epithelioma(SCE:雄1)、Squamous cell carcinoma(SCC:雄1)およびAdenocarcinoma(AC:雄1,雌2)であった。c-Ha-ras codon 61の変異(CAA→CGA)は4例(SCM, SCP, SCC, AC:各雄1)および(CAA→CTA)は2例(AC:雌2)に検出された。発現蛋白／変異遺伝子産物の免疫組織化学的成績を下表に示した。抗p21<sup>ras</sup> および抗p53抗体陽性細胞はSCM, SCPで散見され、SCE, SCCで多かった。また、ACの雌雄各1例ではc-erbB-2強陽性細胞がみられた。PCNA陽性細胞率はSCM 48.6%、SCP 52.6%、SCE 60.2%、SCC 64.3%およびAC 69.7%であった。

【まとめ】 以上の成績から、F344ラットの鼻咽頭管増殖性病変では変異がん遺伝子／がん抑制遺伝子の発現が認められ、PCNA陽性率は前がん病変／良性腫瘍に比べて悪性腫瘍で高かった。

Immunohistochemical characterization of nasopharyngeal lesions in F344 rats

Histopathological diagnosis	Number of rats (M/F)	p21 <sup>ras</sup>			c-myc		c-erbB-2		p53		
		-	±	+	±	+	-	+	-	±	+
Squamous cell metaplasia	1/1	0/1	1/0	0/0	1/0	0/1	1/1	0/0	0/1	1/0	0/0
Squamous cell papilloma	3/0	0/0	1/0	2/0	3/0	0/0	3/0	0/0	2/0	1/0	0/0
Squamous cell epithelioma	1/0	0/0	0/0	1/0	0/0	1/0	1/0	0/0	0/0	0/0	1/0
Squamous cell carcinoma	1/0	0/0	0/0	1/0	0/0	1/0	1/0	0/0	0/0	0/0	1/0
Adenocarcinoma	1/2	0/0	0/0	1/2	0/0	1/2	0/1	1/1	0/0	0/2	1/0

## F-344ラット気管の同系背部移植による粘液細胞過形成・過分泌モデルの確立

○浅野 哲<sup>1,3</sup>, 稲山嘉明<sup>2</sup>, 三橋弘明<sup>3</sup>, 金子英志<sup>3</sup>, 武田利明<sup>3</sup>, 宇野 洋<sup>3</sup>, 伊沢義弘<sup>3</sup>, 蟹沢成好<sup>1</sup> (<sup>1</sup>横市大・医・第一病理, <sup>2</sup>横浜市大病院・病理部, <sup>3</sup>帝人・医薬開発研究所)

### 【緒言】

ヒトの慢性気道炎症病態時には、気管および気管支上皮の杯細胞の過形成および粘液の過分泌が認められる。また、分泌粘液の末端糖のシアル酸含有率が増加して粘性が増し、シアル酸およびスルホン酸等の酸性粘液が増加することなども知られている。今回演者らは、ラット気管を同系の皮下に移植し、内因性の好中球により惹起される粘液細胞過形成/粘液過分泌病態モデルを確立したので報告する。

### 【材料と方法】

350g以上の雄性F-344系ラットの気管にポリアクリロニトリド管を支持体として縫合し、無菌的に摘出した。約70 $\mu$ lのHam's F-12 mediumを充填し、開口部を手術糸で結紮した後、6週齢の同系ラット背部に移植した。移植前および1, 3, 7, 14および28日後に、BrdUを尾静注した30分後に移植気管を摘出し、気管内腔の分泌液を採取した。移植気管はBouin's溶液で固定し、パラフィン切片を作製した。アルシアンブルー/PAS (AB/PAS)染色標本で粘液含有細胞数を、また酵素抗体法にてBrdU標識細胞数を計測した。内腔液は総量、pH、エラスターゼ活性、総タンパク質量、総シアル酸量およびコース量を測定した後、シアル酸/コース(S/F)比を算出した。

### 【結果】

移植1日後に好中球の顕著な浸潤が移植気管内および粘膜下に認められ、管腔内のエラスターゼ活性も移植前(0.06 $\pm$ 0.03nM)に比べ有意に増加した(8.70 $\pm$ 0.45nM p<0.01)。以後好中球浸潤およびエラスターゼ活性は経時的に減少し、28日後には1日後に比較し有意に(3.84 $\pm$ 1.35nM, p<0.05)減少した。組織学的には、AB/PAS染色で紫色に染まる粘液を有する杯細胞が移植7日後より増加し、14日後にはほぼプレートに達した。移植気管上皮のBrdU取り込み率は3日後に最高となった。気管内腔液の総量は粘液細胞の増加にともなって増加傾向を示し(28日で最高, 108.0 $\pm$ 9.94 $\mu$ l p<0.01)、管腔内のpHは28日目には移植前の8.0から6.1に低下した。管腔内の総シアル酸量は移植1日後より有意に増加し、経時的に28日後まで増加した。一方コース量は移植7日目に著増、以後28日目まで緩やかな増加傾向を示した。また、S/F比も移植1日後に顕著に増加、以後経時的に増加した。

### 【考察】

ラット気管の同系皮下移植により、移植1日後をピークに顕著な好中球浸潤と管腔内におけるエラスターゼ活性の上昇がみられた。以後認められた杯細胞の過形成および粘液の過分泌は、こうした浸潤好中球より放出されたエラスターゼをはじめとする諸酵素等により惹起された可能性が示唆された。

## ヒト好中球エラストーゼにより誘発した気道粘液細胞過形成／粘液過分泌モデルの確立

○稲山嘉明<sup>1</sup>，浅野 哲<sup>1,2</sup>，山中義弘<sup>2</sup>，武田利明<sup>2</sup>，宇野 洋<sup>2</sup>，  
伊沢義弘<sup>2</sup>，北村 均<sup>1</sup>，蟹沢成好<sup>1</sup>（<sup>1</sup>横浜市大・医・病理，  
<sup>2</sup>帝人・医薬開発研究所）

### 【緒言】

慢性気管支炎等の慢性気道炎症疾患で認められる杯細胞の過形成や粘液過分泌には，好中球のエラストーゼが関与することが示唆されている。今回我々は，脱上皮気管培養法を用いて，好中球エラストーゼ投与により，気管上皮の組織学的変化と分泌液の生化学的特性を同時に検索可能なin vivo培養モデルを確立した。

### 【材料と方法】

350g以上の雄性F-344系ラットの気管にポリリチンチューブを支持体として縫合し，無菌的に摘出，凍結融解を繰り返しラット気管上皮を剥離した（脱上皮気管の作製）。一方，雄性家兎気管から酵素処理により上皮を回収し，Ham's F-12 mediumに浮遊させ（ $1 \times 10^4$  cells/50  $\mu$ l），上述の脱上皮気管に注入した。開口部を結紮後10週齢のヌトマウス背部に移植した。移植4週後にヒト好中球エラストーゼを300  $\mu$ gを移植気管内に注入した。さらに3週後に移植気管を摘出し，気管内腔の分泌液を採取した。移植気管は摘出後Bouin's 液で固定，パラフィン切片を作製し，アルシアンブルー／PAS（AB/PAS）染色標本で粘液含有細胞数を計測した。採取した内腔液は総量，pH，総タンパク質量，総シアル酸量およびフコース量を測定した後，シアル酸／フコース（S/F）比を算出した。

### 【結果】

エラストーゼ投与群では，AB/PASで紫色に染まる酸性粘液を含有した杯細胞＋小粘液顆粒含有細胞数が有意に増加した（ $12.7 \pm 1.3\%$  vs  $31.4 \pm 1.5\%$ ，投与群 vs 対照群，以下同， $p < 0.001$ ）。また，分泌液の酸性度が増加し（pH 8.1 vs 6.2， $p < 0.001$ ），総タンパク質量，総シアル酸量およびフコース量と，投与群でいずれも有意に増加した。さらに，S/F 比の増加も有意に認められた（ $0.63 \pm 0.04$  vs  $0.82 \pm 0.05$   $p < 0.05$ ）。

### 【考察】

以上の結果は，脱上皮気管で培養した家兎気管上皮において，ヒト好中球エラストーゼ投与により粘液細胞過形成および粘液分泌の亢進が惹起されることを示す。即ち，粘液過形成／過分泌において好中球が重要な役割を担うことが強く示唆された。気道上皮の組織学的変化と分泌液の生化学的变化を同時に検索できる本モデルは，粘液細胞過形成／化生・過分泌の病態解明および抗プロテアーゼ剤の薬効評価等に有用なモデルであると考えられる。



抗酸化剤のプレオマイシン経気管投与誘発ハムスター肺線維症に対する抑制効果

○榎並倫宣<sup>1</sup>、西川秋佳<sup>1</sup>、古川文夫<sup>1</sup>、三井雅之<sup>1</sup>、今沢孝喜<sup>1</sup>、畝山智香子<sup>1</sup>、  
福島昭治<sup>2</sup>、高橋道人<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国立衛試・病理、<sup>2</sup>大阪市大・医・一病理)

【はじめに】我々は、昨年の本学会で、プレオマイシン(BLM)の経気管投与(10U/kg、単回投与)で誘発されたハムスターの急性肺胞障害に対し、抗酸化剤 butylated hydroxyanisole (BHA)が抑制的に作用することを報告した。しかし、BLM単独投与群の死亡率が高く、肺の線維化も限局性で肺線維症モデルとして十分とは言い難かった。そこで今回は、投与条件を検討し、死亡率が低く、肺の線維化を効率良く誘発する実験モデルを確立するとともに、この実験系を用いてBLM誘発肺線維症に対するBHAおよびBHT (butylated hydroxytoluene) の修飾作用を検討した。

【材料および方法】《実験1》6週齢の雄シリアンゴールドハムスター20匹にネンプタルによる軽麻酔下に、BLM (2.5U/kg) を0.5ml/100g体重の用量で気管内投与した。これを、1)14日後に2.5U/kgを気管内投与、2)2週間後に1.0U/kgを気管内投与、3)1週間後と2週間後にそれぞれ1.0U/kgを気管内投与、4)10日後と2週間後に20U/kgを腹腔内投与、の4群(1群各5匹)に分けた。対照群5匹には実験開始日、1週間後および2週間後に生理食塩水を気管内投与した。動物は実験開始後4週で屠殺し、肺重量の測定およびH-E染色標本による病理組織学的検索を行った。

《実験2》実験1の結果から、BLM投与群(各群20匹)には実験開始日と2週間後にそれぞれ2.5U/kgのBLMを気管内投与した。初回投与の翌日から各群に1%BHA混餌食(BLM/BHA群)、1%BHT混餌食(BLM/BHT群)、または基礎食(BLM/基礎食群)を与えた。また、溶媒対照群(各群10匹)には生理食塩水を投与し、その後はBLM投与群と同様の処置を行った(BHA群、BHT群、および基礎食群)。動物は実験開始後6週で屠殺、肺を摘出し、重量測定後にユフィックス固定、H-E染色標本を作製し病理組織学的に検索した。また、一部の肺はメタノール・カルノア固定パラフィン切片を作製し、抗ラット type III コラーゲン抗体による免疫染色を行った。

【結果とまとめ】《実験1》1)の2.5U/kgのBLMを2回投与した群で肺重量が顕著に増加し、組織学的には線維化巣が広範に認められた。一方、死亡例は1例と少なかった。以上からハムスターのBLM誘発肺線維症モデルの作成には2.5U/kgを2週間間隔で2回気管内投与するのが適切と判断した。《実験2》死亡動物はBLM/基礎食群で4例、BLM/BHT群で3例みられたのに対しBLM/BHA群では1例であり、BLM/BHA群で死亡率の低下傾向が認められた。肺重量はBLM/基礎食群のみで対照群に比べて有意な増加がみられた。組織学的検索ではBLM/BHAおよびBLM/BHT投与群で肺の線維化が軽減される傾向が認められた。また免疫組織化学的検索によりBLM/BHAおよびBLM/BHT投与群では肺の線維化巣における type III コラーゲンの蓄積が抑えられる傾向が認められた。以上の結果から、BHAおよびBHTはハムスターのBLM誘発肺線維症モデルにおいて肺の線維化を抑制するとともに、type III コラーゲンの蓄積が弱いながら抑制されることが判明した。また、前回の報告と同様に、BLMの急性肺毒性に対する抑制効果はBHAの方がBHTよりも強いと判断された。

(本研究は喫煙財団の助成を受けた)

播種性転移と層板状構造物を特徴とする細気管支/肺胞上皮癌と考えられる  
胸腔内腫瘍の1例

○山川誠己, 山本慎二, 三上真一, 岩田 聖 (安評センター)

【はじめに】 細気管支/肺胞上皮癌はラットでしばしば自然発生し、まれにリンパ節や遠隔臓器への転移が観察されるが胸腔内に播種する例はほとんどない。一方、胸腔内に発生する腫瘍で播種性の増殖を示すものとして胸膜原発の中皮腫がある。胸膜中皮腫は上皮型、二相型、肉腫型に分類され、このうち特に上皮型胸膜中皮腫は肺癌と類似し、鑑別が困難となる。今回我々はラットの細気管支/肺胞上皮癌と考えられる胸腔内腫瘍が心臓、横隔膜、胸壁などの胸腔内諸臓器に播種性に転移し、また原発と考えられる肺においては胸膜面に腫瘍塊の付着を認めるのみで肺自体はほとんどが原型を維持しているなど、あたかも肺外から発生し、胸膜中皮腫様の増殖を示した例を経験したので報告する。

【症例】 動物は長期毒性試験に供されたF 344ラットの雄の1例で、剖検で胸腔内に心臓、肺を取り巻くように腫瘤が観察され、心臓・肺・横隔膜および胸壁に多数の腫瘤が付着し、30 mlの赤色胸水が貯留していた。同様の腫瘤は肉眼的および組織学的ともに胸腔外には観察されなかった。胸腔内に発生した腫瘤について10%中性緩衝ホルマリンから光顕および電顕標本を作成観察し、加えて免疫組織学的検索を行った。

【結果】 組織所見では腫瘍は肺および心臓等の表面に付着するように認められ、臓器内へ浸潤する部位も観察された。腫瘍細胞は立方状で、乳頭状および一部充実性の増殖を示し、マクロファージの集簇巣が散在していた。また、パラフィン包埋HE染色標本では細胞質内に大型の空胞を認めたが、樹脂包埋トルイジンブルー染色標本では空胞ではなく同部位に同心円層板状構造物が観察された。なお、腫瘍表面の中皮細胞はやや肥大するものもあったが形態的に異型も観察されず正常と考えられた。PAMおよびPAS染色では基底膜は観察されなかった。免疫組織学的にはビメンチンは陰性であった。電顕観察では細胞表面に微絨毛を持ち、細胞質内には様々の大きさの層状封入体が多数観察され、樹脂包埋標本でみられた細胞質内層板状構造物と層状封入体とは同じ構造であった。

【考察および結論】 肉眼観察では腫瘍は胸腔内播種性転移をし、且つ肺は正常の形態が明確であるなど中皮腫に類似した増殖を示し、HE標本低倍の観察においても増殖態度および転移は中皮腫を思わせる像であった。一方、大きな塊を形成している部位には中皮腫でよく観察される間質成分は発達せずそのほとんどが上皮成分および点在するマクロファージの集簇巣からなるなど細気管支/肺胞上皮癌様であった。腫瘍細胞の特徴は、立方状の細胞質と細胞質内層板状構造物であり、この細胞質内層板状構造物は電顕での層状封入体に一致し、細胞表面には微絨毛を持っていた。また免疫組織学的にはビメンチンは陰性であった。なお腫瘍の表面の中皮細胞には腫瘍性の形態は観察されず正常な構築であった。この結果から本腫瘍は細気管支/肺胞上皮癌と診断され、その細胞微細構造などからII型肺胞上皮細胞由来と考えられた。今回の症例は肉眼的および組織学的に肺の中から発生したと考えられる所見は得られないこと、細胞質内には巨大な層状封入体を持つこと、播種性転移を示すことなど細気管支/肺胞上皮癌としては特異な例であった。本例のような腫瘍の場合、胸膜中皮腫との鑑別が重要であると考えられた。

川野亮二, 金子真弓, 栗原寛治, 武島幸男, 有広光司, 井内康輝 (広島大・医・2病理)

【はじめに】 演者らは既に、マウスを用いたウレタンの長期経口投与実験によってその発癌リスクのアセスメントを行い、さらに投与時期や投与期間が腫瘍発生率やAgNORsを用いた肺腫瘍の増殖能に及ぼす影響を検討して報告してきた。一方、ウレタン投与によって誘発される肺病変は組織学的に過形成、腺腫、腺癌に大別することが可能であり、さらにこれらには組織学的移行を認める。そこで、これらの肺病変のそれぞれにおけるがん遺伝子の異常を知り、肺病変の発生過程における関与を探ることが重要と考えられる。

そこで今回、ウレタン投与によって誘発されたマウス肺病変についてK-ras遺伝子の異常に着目して、hot spotであるcodon 12および61の点突然変異をRFLP法を用いて検索した。加えて投与時期、投与期間および投与濃度との関連性や各病変を構成する細胞の増殖能との相関を併せて検討した。

【方法】 B6C3F<sub>1</sub>雄マウスを用いて、生後6週よりウレタン混入蒸留水(6, 60, 600, 1200 ppm)の約50週間の連続経口摂取及び生後6週にウレタンの1mg/g body weightの1回腹腔内投与によって誘発した肺病変を対象とした。マウスは屠殺後70%冷アルコールにて還流固定し、肺は連続的に切割してパラフィン包埋標本とした。10 $\mu$ mの薄切標本からmicrodissection法にて肺病変部を採取し、PCR反応系のtemplateを作製した。K-ras遺伝子のexon1および2についてPCR法にて増幅後、制限酵素Hph I, Taq I, Xba Iを用いてcodon12および61における点突然変異の有無を検索した。さらに肺病変構成細胞の増殖能を知る目的で、マウス屠殺前にBrdUの腹腔内投与(20mg/kg body weight)を行い、肺病変の組織標本についての免疫組織学的染色によるBrdUの観察及びPCNAの免疫組織化学的染色による観察を行ない、肺病変構成細胞1000個中の陽性細胞の割合(labeling index)を求めて、肺病変毎の増殖能の指標とした。

【結果と考察】 ウレタンの投与期間及び投与濃度と肺病変の発生数は、投与期間及び投与濃度依存性が認められ、さらに幼若な時期での高濃度のウレタン投与が肺病変の誘発を高率にすることを確認した。これらにおけるK-ras遺伝子の点突然変異は、過形成で21.6%、腺腫で44%、腺癌で50%に認められ、その主たる異常はcodon61のCTAへのtransversionであった。また肺病変の大きさとBrdUおよびPCNAのlabeling indexからみた増殖能とは相関を認めた。以上の結果は、これら肺病変の発生過程において、K-ras遺伝子の点突然変異は早期に生じる異常であることを示唆した。

前胃粘膜肥厚マウスにおけるbutylated hydroxyanisole  
(BHA)の前胃発癌性の有無

○森 聖<sup>1</sup>、細野素子<sup>1</sup>、富田喜久雄<sup>1</sup>、大原忠雄<sup>1</sup>、牧野 進<sup>1</sup>、村井 隆<sup>2</sup>、  
福島昭治<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>塩野義製薬・油日ラボ、<sup>2</sup>大阪市大・医・1病)

前胃粘膜肥厚 (DS-a) マウスの前胃粘膜肥厚形質の発現様式が常染色体単一劣性遺伝によることは、大原らにより明らかにされているが、DS-a系マウスの前胃がどのような特性を持つかは不明である。そこで、ラット前胃に癌を誘発する (マウス前胃には発癌性を示さない) 非変異原性物質であるBHAが、DS-a系マウスの前胃に腫瘍を発生させるかどうかを調べた。

[材料および方法] 6週齢 (実験開始時) DS-aおよびDS系マウスは 油日ラボラトリーズより、B6C3F1系マウスは日本チャールス・リバーより入手した。第1と2群ではDS-a系雄の20と29匹、第3と4群ではDS-a系雌の10と20匹、第5と6群ではB6C3F1系雄の10と10匹、第7と8群ではDS-a系雄の10と19匹、第9と10群ではDS-a系雌の10と18匹、第11と12群ではB6C3F1系雄の10と20匹、さらに、第13と14群ではDS系雄の20と30匹を実験に用いた。奇数群は対照群とし、MF固形飼料を与えた。偶数群には、1%BHA(和光純薬、大阪)添加MF固形飼料を与えた。投与期間は第1-6群、第7-12群および第13-14群ではそれぞれ24、78および60週間とした。実験終了後、マウスの前胃粘膜および肉眼的に異常な臓器を病理組織学的に検索した。

[結果] 24週屠殺群の生存率は、第1-6群 のすべての群で100%であった。前胃粘膜には、乳頭腫がBHAを投与したDS-a系の第2群のみに1/29の割合で発生した。過形成および角化症は、DS-a系の第1-4群の全例に認められた。しかし、B6C3F1系の第5と6群に、それらの病変はいずれも発生しなかった。

78週屠殺群の生存率は、DS-a系の第7-10群では4/10、12/19、6/10および11/18であった。B6C3F1系の第11と12群では全例生存した。また、DS系の60週後の第13と14群の生存率は、17/20と24/30であった。前胃粘膜には、乳頭腫がBHAを投与したDS-a系の第8群にのみ2/17に発生した。過形成および角化症は、第7-10群のほぼ全例に認められた。しかし、B6C3F1系の第11と12群には、それらの病変のいずれも発生しなかった。DS系の第13と14群には、過形成が第13群の1/20に、角化症が第13と14群の1/20と1/28に発生した。その他の腫瘍性病変は、DS-a系雌雄の第7-10群では肺に腺腫あるいは腺癌がそれぞれ6/10、6/17、4/10および6/17に発生した。B6C3F1系雄の第11と12群では肝臓に過形成結節が1/10と1/20に、DS系雄の第13と14群では肺に腺腫あるいは腺癌が2/20と4/28に、皮膚に乳頭腫が3/20と7/28に発生した。

[ 結語 ] BHA投与によるマウスの前胃粘膜病変として、乳頭腫がDS-a系マウスにのみ低率に発生した。

○三沢保幸、海野正子、伊藤恒夫、杉本哲朗、二木力夫  
(中外製薬・安全研)

薬物による胃腸障害作用の基礎的研究として、イヌ胃粘膜に対する食塩の影響を検討しており、すでに連続投与により、再生性異型増殖巣などの病変が発現することは報告した(第9回日本毒性病理学会)。今回は、単回投与による胃粘膜の初期病変について、表層粘液層の変化もあわせて病理学的に検討したので報告する。

【材料および方法】動物は5匹の雌ビーグル犬(8ヶ月齢)を用いた。ゼラチンカプセル(1/2オンス)に充填した食塩5gを、4頭に経口投与し、内視鏡観察を実施しながら、それぞれ0.5、1.5、3.5および5.5時間後に剖検した。1頭は、ゼラチンカプセルのみを投与する対照例とし、0.5時間後に剖検した。胃を摘出し、伸展した後、冷カルノア液に2時間浸漬固定後、パラフィン包埋標本を作製し、常法に従ってH-E, PAS, High iron diamine-Alcian blue(HID-AB), Galactose oxidase-coldthionin Schiff-paradoxical Concanavalin A(GOCTS-ConA), 抗PCNAの各染色を施し病理組織学的に観察した。

【結果および考察】0.5時間では、粘液層においてHID, AB, ConA陽性粘液が著増し、層内に多数の剥離上皮が認められ、粘膜表層には上皮からの粘液流出、変性、剥離などがみられた。粘膜表層が胃小窩中間部より分離する像も観察され、粘膜表層の上皮は広範にHID陽性を呈した。1.5時間では、粘液層は増加したが、噴門部で対照例の状態まで減少した。粘膜表層には変性、剥離に加え、上皮は立方状あるいは扁平化等の形状変化を示し、壁細胞が多数認められた。また、上皮からの粘液流出は減少した。さらに、1.5時間以降では、部位により胃小窩が縮小し、粘膜表層の上皮は広範にHID陽性となり、上皮内の陽性部分が減少した。3.5時間では、粘液層は広範に減少したが、ConA陽性粘液は比較的厚く保持された。粘膜表層には上皮の広範な形状変化や剥離等がみられ、PCNA陽性細胞が多数認められた。さらに、胃小窩の縮小から表層の平坦化が認められた。5.5時間では、粘液層は3.5時間と同様でありConA陽性粘液は広範な上皮剥離部位においても認められた。粘膜表層の変化は、3.5時間よりもさらに強く、胃小窩の縮小から表層の平坦化も顕著であった。また、粘膜固有層における副細胞のConA陽性部位の減少、固有胃腺の変性、腺腔の拡張等を呈する部位もみられた。

表層粘膜上皮のHID陽性所見、表層における壁細胞、PCNA陽性細胞の存在等は、上皮剥離部位に隣接する細胞が上皮剥離後、早期に同部に移動し、粘膜を被覆することが示唆された。また、ConA陽性の腺上皮型粘液は表層粘液細胞由来粘液の減少後、あるいは広範な粘膜剥離部位においても保持されていることから、胃粘膜の保護、修復に深く関与するものと考えられた。

## ラット胃粘膜における自然発生性腸上皮化生の細胞分化

○今井俊夫, 福田種男, 本岡覚, 中野渡純一, 岩田仁, 立松正衛

〔はじめに〕

ラット胃粘膜腸上皮化生はN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidineなどの発癌物質、あるいはX線照射により誘発されるが、自然発生例に関する報告は極めて少ない。今回F344ラットにみられた腸上皮化生について粘液組織化学および免疫組織化学的に検討した。

〔実験材料および方法〕

F344ラットによる104週間癌原性試験における対照群雌雄各50例を対象とした。胃を大弯に沿って切開し、10%中性緩衝ホルマリンにて固定。大弯側、小弯側の2カ所より切出し、常法に従ってパラフィン切片を作製し、粘液組織化学的、免疫組織化学的に以下の染色を施した。

粘液組織化学：AB-PAS, Paradoxical concanavalin A (Con A:Ⅲ型粘液；幽門腺細胞粘液)、Galactose oxidase-Schiff (GOS；胃被覆上皮細胞粘液)、Sialidase-GOS (S-GOS；杯細胞粘液)

免疫組織化学(ABC法)：腸型アルカリフォスファターゼ(I-AP；吸収上皮細胞)

〔結果〕

腸上皮化生は、雄群50例中6例の幽門部にみられた。雌群には認められなかった。化生粘膜は以下のように分類された。

- a) 1層性および2層性腸上皮化生：粘膜全層が腸上皮化生のみで構成されているものを1層性、粘膜上層に腸上皮化生が存在し、下層にⅢ型粘液をもつ幽門腺細胞が残存するものを2層性とした。
- b) A型およびB型腸上皮化生：1層性、2層性腸上皮化生とも腸上皮化生部分を構成する細胞の分化形質発現により次のように分類した。即ち、胃と腸両者の形質発現を示すもの(GOS陽性のⅡ型粘液をもつ被覆上皮細胞とS-GOS陽性のⅡ型粘液をもつ杯細胞が混在)をA型、腸のみの形質発現をするものをB型とし、B型はさらにパネート細胞の存在しないB-1型とパネート細胞の存在するB-2型に細分した。

全検索例において1層性、2層性あるいはA型、B型の腸上皮化生が種々の程度に混在していたが、1層性B-1型腸上皮化生が最も多くみられ、2層性B-2型腸上皮化生は認められなかった。

〔結論〕

F344ラットにおける自然発生性腸上皮化生は、胃と腸の分化形質の発現が組織レベルでも(1層性と2層性)、細胞レベルでも(A型、B型)種々の程度に混在することが明らかとなった。

○安東保海, 渡辺敦光, 岡本太郎, 山田和正, 伊藤明弘 (広大・原医研・癌)

〔目的〕腸上皮化生は雄ラット胃部にX線を照射する事で誘発される。我々はより多くより広く腸上皮化生を起こすラットの系統の検索を行っている。ACIラットはMNNGによる胃腫瘍誘発に感受性の高い系である。そこで今回はこの動物にX線を照射する事により腸上皮化生の誘発を検討し、以前の結果<sup>1)</sup>と比較した。

〔方法〕6週齢雄ACIラットをネブタールで麻酔し、10GyのX線を3日間隔で2回合計20Gyを以前の方法で胃部に照射した。動物はMF餌(オリエンタル酵母)並びに水道水で12時間明暗サイクルの飼育室で6カ月飼育後屠殺した。胃を速やかに取り出し、pHを測定後10%中性ホルマリン液で固定後、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性を調べた。その後胃は通常の方法で組織切片を作成し、HE、アルシアンブルーパス、並びにHID-AB染色を行い病理学的検索を行った。

〔結果〕胃内のpH値は胃底腺領域では $2.67 \pm 0.64$ 、幽門腺領域では $3.00 \pm 0.65$ と他の系統に比較し酸性側に傾いていた。ALP活性を持つ化生は半数(11/22)に認められ、1匹当たりの数は $1.8 \pm 2.7$ とSHR、SD又はF344ラットに比べ低値であった。組織学的な腸上皮化生は11/22(50%)に出現し、胃底腺には僅か1例に認められたにすぎず、大部分は幽門腺に出現し、その内訳は胃腺窩に杯細胞が認められるA型化生が6匹(27%)に、腸型腺窩にパネート細胞を持たないB型は10例(45%)に、パネート細胞を持つC型は本実験では出現しなかった。A型の1匹当たりの数は $0.55 \pm 1.08$ 個で、B型は $1.00 \pm 1.53$ 個で合計 $1.72 \pm 2.18$ 個出現した。又、異型上皮が1例に認められた。

〔考察と結論〕本実験ではMNNGに感受性の高いACIラットの腸上皮化生の誘発はこれまでに検索したラットの系統中では最低であった。SHR、SDやF344系のラットは本実験同じ方法でX線を照射する事によりALP活性を持つ化生が主に出現する。一方Wistar系ではALP活性持つ化生は少なくB型化生が主に認められる。LEWはALP活性を持つ化生や組織学的に認められる化生の数も少ない。本実験で用いたACI系ラットはWKY系よりも更に腸上皮化生が少ない。以上の結果からACIラットはMNNGに感受性が高くても腸上皮化生の誘発に対する感受性は低い事から、胃癌と腸上皮化生との誘発には異なった機構が働いているのではないかと考えられた。

1). Watanabe, H. et al. Acta Pathol Jpn. 35: 841-847, 1985.

低カタラーゼマウス胃部X線照射並びにMNU投与による胃粘膜の  
印環細胞癌誘発

○札幌保宏、渡辺敦光、安東保海、山田和正、栗栖和信、松田正裕、  
岡本太郎、伊藤明弘（広大原医研癌部門）

〔目的〕人の印環細胞癌は若年者や女性に多くその予後が不良である。しかしながら実験モデルは確立されていなく、その系の確立が要望されている。我々は低カタラーゼマウスの胃部にX線照射を行う事により約20%程度の印環細胞癌の誘発に成功した(Jpn. J. Cancer Res., 82:1175-1177, 1991)。今回はX線照射後種々の処理並びにN-methyl-N-nitrosourea(MNU)投与による印環細胞癌の誘発を更に試みた。

〔材料と方法〕我々の研究室で兄妹交配を行った低カタラーゼマウスを実験に用いた。このマウスはC3Hより分離され親系統に比してカタラーゼやパーオキシダーゼ活性が低く、一方スーパーオキシドデスムターゼ活性は高い。

6週齢の雄マウスの胃部にX線を20Gy1回照射しその直後より1%の過酸化水素水を飲料水として投与群、もしくは10%食塩餌（MF餌に10%食塩添加）投与群とした。更に雌雄マウスにMNUを2mg/0.5ml/匹/週で10週胃チューブを用いて、又、MNU100ppmを飲料水に混入し16週間投与した。動物は衰弱した場合、もしくは処置開始後13カ月目で屠殺し病理学検索を行った。

〔結果〕X線照射のみ群では13/18(72%)に腺胃に腫瘍が出現し、2例(11%)の印環細胞癌が生じた。過酸化水素投与群では13/28(48%)腺胃の腫瘍が、低分化腺癌が2例に出現したが、印環細胞癌は認められなかった。又、食塩投与群では10/18(56%)に腺胃の腫瘍が出現し、印環細胞癌は4例であった。各群間での差は認められなかった。印環細胞癌は照射後330日以降に生存した動物に出現した。

一方胃チューブでMNU投与群では前胃の扁平上皮癌がMNU投与開始143日目から認められ、雄では78%に雌では94%に出現し、多くの症例で腹腔内、横隔膜へ転移が認められた。腺胃の腫瘍は雄で12/23(52%)に、雌で12/34(35%)に認められた。印環細胞癌は399日以降生存した雄の3匹(13%)に認められたが、雌では出現しなかった。又、100ppm投与群では雄では1/24(4%)に、雌では5/28(18%)に腺胃の腫瘍が認められたがいずれも高分化型で低分化もしくは印環細胞癌は生じなかった。

〔考察〕X線胃部照射で少数例印環細胞癌が生じるが過酸化水素や10%の食塩投与では増強しなかった。又、MNUを飲料水に混入して投与した場合には立松等のC3Hマウスの結果とは異なり腺胃の腫瘍の発生は少なかった。MNUの1回投与が高濃度の場合扁平上皮癌のため早期から衰弱もしくは死亡したため、印環細胞癌誘発までには至らなかったと考えられる。この低カタラーゼマウスにおいては放射線や化学発癌物質のいずれの場合でも1回の発癌処理を強く行い、なお生存日数が長い場合に印環細胞癌が生じるのではないかと考えた。

〔結論〕低カタラーゼマウスの胃部にX線照射を行ったり、MNUの強制投与を行い長期間生存した動物で印環細胞癌が発生した。



## 中期発癌試験法における22-oxacalcitriol(OCT)の発癌抑制作用の検討

○大年辰幸<sup>12</sup>、鰐淵英機<sup>1</sup>、岩田裕之<sup>1</sup>、西澤良記<sup>2</sup>、森井浩世<sup>2</sup>、福島昭治<sup>1</sup>（大阪市大・医・<sup>1</sup>1病理、<sup>2</sup>2内科）

〔目的〕 $1\alpha,25(\text{OH})_2$ -vitamin $\text{D}_3$ より細胞増殖抑制、分化誘導作用の強いとされる $1\alpha,25(\text{OH})_2$ -vitamin $\text{D}_3$ の新規誘導体、22-oxacalcitriol(OCT)が全身諸臓器における発癌をいかに修飾するかを検討した。

〔方法〕実験1: F344ラット6週齢雄49匹を用い、肝中期発癌試験法（伊東テスト）により検索した。投与群として、0.05%phenobarbital sodium (PB)含有飼料とOCT  $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 腹腔内投与の併用ないし単独群を設けた。実験開始8週後に屠殺し、肝におけるglutathione S-transferase(GST-P)陽性細胞巢の発生を免疫組織化学的に検索した。実験2: F344ラット6週齢雄85匹を用い、標的臓器の異なる5種類(DEN, MNU, BBN, DMH, DHPN)の発癌物質を前処置する多臓器中期発癌試験法により検討した。実験開始6週目より週3回腹腔内投与で、OCT ( $30\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群,  $3\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群)を投与した。実験開始30週後に屠殺し、全身諸臓器を病理組織学的に、さらに肝と腺胃については免疫組織化学的に検索した。

〔結果〕実験1: PBとOCTの併用投与群では、PB投与群と比較し、GST-P陽性細胞巢の個数は変わらないが、面積値は低い傾向を示した。

DEN単独投与群と比較し、DENとOCT単独投与群でGST-P陽性細胞巢の個数、面積は有意差を認めなかった。実験2: 対照群と比較し、OCT  $30\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群で小腸腺癌発生数は有意な減少を認め、さらに大腸腫瘍発生数は減少傾向を示した。食道、甲状腺、胸腺、肺、前胃、腺胃、肝、腎、膀胱その他の諸臓器の腫瘍発生数ではOCT  $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $3\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群ともに対照群と比較し、有意な差を認めなかった。また肝でのGST-P陽性細胞巢の個数、面積および腺胃でのPAPGの個数ともに対照群と比較し、有意な増加を認めなかった。

〔結論〕OCTは小腸、大腸における発癌に対して抑制作用を示すことが強く示唆された。しかし、食道、甲状腺、胸腺、肺、前胃、腺胃、肝、腎、膀胱発癌に対してはOCTの発癌抑制作用は認められなかった。

## P-17 マウスを用いたDMH誘発大腸腫瘍の初期像

久米村恵、斎藤高雄、木村弘之、清水精一（大塚製薬）、渡辺敦光、伊藤明弘（広大原医研）

〔目的〕最近大腸癌は日本人に増加の傾向を示し社会的に大きな問題となっている。早期に検索できるならば今後の研究に役立つはずである。そこで今回はマウスに大腸腫瘍を誘発させ早期に屠殺し、その病理的検索を行なった。

〔方法〕5週齢雄性CD-1(ICR):CrjマウスにN,N'-dimethylhydrazine dihydrochloride(DMH, Nakarai Tesque)を炭酸水素ナトリウム溶液でpHを6.5に調製し、kg体重当たり10mgを1週間間隔で10回筋注した。10回投与後1週目に動物を屠殺し、盲腸内のpH並びに細菌叢を検索した。残り的大腸は10%中性フォルマリンで固定し、組織学的検索を行なった。動物は、AIN-76組成に準じた食物繊維フリー飼料投与群、若しくは3%セルロース添加飼料群で大鋸屑のケージで飼育した。

〔結果〕組織学的には正常な大腸粘膜の増殖域は下半分に認められた。しかし大腸微小腫瘍は腺窩の上半分に認められ、杯細胞を欠き、核は多層化し、下部では正常な腺窩とつながって観察された。分裂像も少数ながら微小腺腫に認められ、necrosisが大部分の症例で認められた。上部は数個の微小腺腫の腺窩が管腔面に露出するか又は一層の上皮細胞に覆われていた。増殖域は腺窩の上部まで広がり、杯細胞の消失に伴い、腺窩の核の配列の異常と核の多層化を生じた。本実験では最少2個の腺窩からなる微小腺腫が認められた。これら微小腺腫は1箇所次第に数を増し、集塊となり、上部へ増殖し、adenoma状を呈すると考えられる。この微小腺腫は下行結腸から直腸にかけて認められ、盲腸部や上行結腸部では認められなかった。食物繊維フリー群では微小腺腫の発生率は67%で1匹当たり2個、一方セルロース添加群では50%で1匹当たり1.3個と、食物繊維フリー群に比して減少傾向を呈した。また、盲腸内細菌叢は、食物繊維フリー群で *Bifidobacterium* の菌数と検出率及びBacteroidaceaeの占有率がセルロース群に比して増加傾向が観察されたが、統計的有意差は認められなかった。

〔考察と結論〕DMH10回投与後1週目で餌による差はなかったが微小腺腫が認められた。この腺腫は11週目で認められることから腺腫発生の解析に有効な方法であると考えられる。また、現在大腸癌発生で話題となっているaberrant cryptについても考察する。

○川森俊人、田中卓二、森 秀樹 (岐阜大・医・1病理)

〔目的〕天然物であるテルペノイド類の発癌修飾作用は、D-limoneneなどのモノテルペン類の抗腫瘍効果が知られている。キク科植物に分布するセスキテルペン類は、抗菌性作用、回虫駆除作用などの生理活性を有するが、発癌修飾作用に関する報告はみられない。今回我々は、azoxymethane (AOM) 誘発ラット腸管発癌モデルを用いてセスキテルペン・ラクトン類の一種であるcostunolideの発癌修飾作用の有無を検討した。〔材料と方法〕動物は7週齢の雄F344ラット115匹を用い、4群に分け、以下の処置を行なった。第1群(30匹)：AOM単独投与群、第2群(30匹)：AOM+costunolide (200 ppm)投与群、第3群(24匹)：Costunolide (200 ppm)単独投与群、第4群(30匹)：無処置対照群。第1、2群のAOM (15 mg/kg 体重)は実験開始後1、2、3週目に皮下注射した。第2、3群のcostunolideは実験開始より4週間、基礎食(CE-2)に200 ppmの濃度で混じて投与し、その後実験終了まで基礎食にて維持した。実験期間は33週とし、実験終了時に屠殺・剖検後、腸管を含む主要臓器の病理学的検索を行なった。同時にBirdらの方法に準じて大腸の非腫瘍部におけるaberrant crypt fociの発生頻度を測定した。〔結果〕腸管腫瘍はAOM投与群(第1、2群)にのみ認められた(Table 1)。同腫瘍の発生率はAOM単独投与群(第1群)に比し、costunolideの混餌投与群(第2群)で有意に減少した(P<0.01)。Aberrant crypt fociの測定結果をTable 2に示すが、大腸の単位面積あたりのaberrant crypt fociの数は第2群では第1群に比し有意に減少した(P<0.001)。しかし、focusあたりのaberrant cryptの数に差は認めなかった。〔まとめ〕キク科植物に分布するセスキテルペン類のひとつであるcostunolideはAOM誘発ラット腸管腫瘍の発生と大腸aberrant crypt fociの発生を抑制する効果を示した。Costunolideは人大腸腫瘍に対するchemopreventive agentの可能性が示唆される。

Table 1. The incidences of intestinal neoplasms in rats of each group

Group	Treatment	No. of effective rats <sup>a</sup>	No. of tumor-bearing rats (%)
1	AOM alone	30	15 (50)
2	AOM+200 ppm costunolide	29	5 (17) <sup>b</sup>
3	200 ppm costunolide alone	23	0
4	No treatment	29	0

<sup>a</sup> Rats that survived for more than 221 days.

<sup>b</sup> Significantly different from group 1 by Fisher's exact probability test (P<0.01).

Table 2. Effect of costunolide on the number, size and multiplicity of aberrant crypt foci induced by AOM

Group	Incidence <sup>a</sup>	No. of foci / cm <sup>2</sup> of colon	Mean crypt multiplicity <sup>b</sup>
1	5 / 5	13.3 ± 2.4 <sup>c</sup>	3.5 ± 0.5
2	6 / 6	4.2 ± 2.1 <sup>d</sup>	3.4 ± 0.7
3	1 / 5	0.015 ± 0.03	1.4 ± 2.8
4	2 / 5	0.048 ± 0.06	1.8 ± 2.4

<sup>a</sup> Number of rats with aberrant crypt foci / total number of rats examined.

<sup>b</sup> Mean number of aberrant crypts per focus.

<sup>c</sup> Mean ± SD.

<sup>d</sup> Significantly different from group 1 by Student's t-test (P<0.001).

○五藤裕子、永谷真理子、中村厚、星谷達、堀口浩資、玉井幸子  
合川孝幸、田村一利 (株)ボゾリサーチセンター 病理部

毒性試験に供される実験動物の背景病変を知ることは、安全性評価を的確に行う上で極めて重要なことである。実験用動物の加齢性病変や偶発性病変に関する報告は多数見受けられるが、未だに十分なる調査や検索等が成されていない病変が数多く残されているのも実状である。今回、我々は、ラットの盲腸に好発する肉芽腫性病変に注目し、その発生状況や病変分布ならびに組織学的特徴について報告する。

#### [材料および方法]

1986年から1993年の7年間において、当社の毒性試験に供された約3万匹のラットを対象に調査した。動物は、Sprague-Dawley(SD)、WistarおよびFischer344の3系統のラットであり、週齢範囲は7から73週齢であった。また、それぞれのラットは、SDは3カ所、Wistarは2カ所、Fischer344は1カ所の生産所から入手した。病変の検出および組織学的検索は、10%ホルマリンで固定された盲腸から任意の1カ所を採取し、常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色を施して行った。

#### [結果]

##### 1. 出現状況

盲腸の肉芽腫性病変は、ある生産所のSD系ラットに好発する偶発性病変であったが、他系統のラットにも低頻度ながら発生することが示された。本病変を好発した生産所のSD系ラットにおける週齢別発生頻度は、10週齢以下、11~30週齢、31~50週齢、51週齢以上に分類してみると、雄ではそれぞれ0%、0.04%、2.09%、5.40%、雌では0%、0.04%、1.26%、4.41%であり、加齢と共に増加することが示されたが、雌雄差は認められなかった。また、本病変の最も早い発生は、雄で19週齢、雌で30週齢であった。

##### 2. 形態学的特徴

肉眼的に比較的变化の強い例において、白色ないし褐色調の辺縁不整な小結節が孤立性あるいは互いに癒合して盲腸漿膜面の血管に沿うように、びまん性に出現しているのが観察され、盲腸壁の肥厚を伴う例も多くみられた。組織学的には、好酸球の浸潤と多核巨細胞の出現をみる肉芽腫性病変であり、粘膜下織を中心に固有筋層、漿膜さらに粘膜固有層にも多発性に病変が出現していた。盲腸に近接した他の腸管領域および周囲組織にも同様の病変がみられた。しかしながら、いずれの例においても潰瘍等の強い粘膜障害を示唆する所見はなく、また、動物の一般状態への影響も認められなかった。本会では、さらに詳細なる病理組織学的検索結果等を加えて報告する。

○三善隆広<sup>1</sup>、吉田一晴<sup>1</sup>、木澤和夫<sup>1</sup>、河村泰仁<sup>1</sup>、児玉卓也<sup>1</sup>、佐々木素子<sup>2</sup>、寺田忠史<sup>2</sup>、  
中沼安二<sup>2</sup>（<sup>1</sup> 富山化学・安全性研究所、<sup>2</sup> 金沢大学・医・二病理）

【目的】肝内胆管は、ヒトでは門脈周囲結合織と肝実質との境界に出現する肝細胞由来の胆管板から発生するとされているが、ラットではヒトの胆管板に相当する構造はみられず、その発生の詳細は不明である。また、近年、細胞の分化・成熟に伴う糖鎖の変化が注目され、特に器官形成に糖鎖の変化が深く関与していることが示唆されているが、発生過程の肝内胆管について糖鎖の変化を調べた報告は少ない。そこで、今回、免疫組織化学およびレクチン組織化学を用いて、ラット肝内胆管の発生過程における糖鎖の変化を中心に検討したので報告する。

【材料と方法】材料は胎齡13, 15日, 17~21の毎日と生後0, 1, 4, 7, 14, 21, 42日のSD系ラット（各群4~12匹使用）の肝。10%中性緩衝ホルマリンで24時間固定後、パラフィン切片を作製し、HE染色およびサイトケチンNo. 8 (CK8)、LeX、LeY、SLeXの各免疫染色(ABC法)ならびにレクチン染色 (PNA, SBA, VVA, ECA, Jacalin, sWG A, LFA, ABC法) を行った。なお、脱シアル酸はneuraminidase処理(=n+)により行った。

【結果】組織像 肝内胆管の発生は組織像から以下の4期に分けることができた。第Ⅰ期(胎齡15日まで):肝内に胆管上皮成分はみられない。第Ⅱ期(胎齡17日~21日):肝内の門脈周囲結合織に接して3種の胆管上皮様成分が出現。1)肝細胞と胆管上皮様細胞からなるhybrid構造(管腔を形成する)、2)肝細胞と胆管上皮様細胞からなるslit様構造(間隙を形成する)、3)胆管上皮様細胞からなる細胆管様構造。第Ⅲ期(生後0~4日):完成した小葉間胆管および細胆管が出現するが、第Ⅱ期にみられた3種の胆管上皮様成分も残存。第Ⅳ期(生後7~42日):グ鞘内には完成した小葉間胆管と細胆管を認め、第Ⅱ~Ⅲ期にみられた3種の胆管上皮様成分は消失。免疫染色およびレクチン染色 第Ⅰ期:胎齡15日の肝門部血管周囲結合織に接する肝細胞がCK8陽性となったが、CK8陽性肝細胞に上記レクチンの結合性は認められなかった。第Ⅱ期:胆管上皮様細胞はCK8陽性で、その管腔面・間隙面にSLeXの陽性所見とPNA(n+)、SBA(n+)、VVA(n+)、ECA(n+)、Jacalin(n+)、sWGA、LFAの結合性を認めた。第Ⅲ~Ⅳ期:日齡の進行に伴い、小葉間胆管と細胆管の管腔面に結合するレクチンの染色性が強くなり、細胞質にもSLeXの陽性所見とPNA(n+)、VVA(n+)、ECA(n+)、sWGA、LFAの結合性を認めるようになった。

【まとめ】ラット肝内胆管の発生を検討し、以下の結論を得た。1. 胎齡15日頃より肝門部血管周囲の肝細胞がCK8陽性となり、肝細胞のCK8陽性化が胆管細胞への形態変化に先行した。2. 胎齡17日より、門脈周囲結合織に接する肝実質辺縁に、胆管上皮様細胞が出現し、hybrid構造、slit様構造、細胆管様構造を形成した。3. 胎齡17日のhybrid構造やslit様構造をつくる胆管上皮様細胞に、成熟胆管と共通した数種のレクチン結合性とSLeXの陽性所見を認めた。成熟胆管になるにしたがい結合するレクチンの数が多くなり、染色性も強くなったことから、肝内胆管細胞は発生過程において順次、成熟型の糖鎖を獲得していくことが明かとなった。

F344ラット肝臓に対する clofibrateの作用  
雌雄間の感受性差に対する週齢の影響

○矢本 敬<sup>1, 2</sup>, 古川忠司<sup>1</sup>, 真鍋 淳<sup>1</sup>, 高岡雅哉<sup>1</sup>, 寺西宗広<sup>1</sup>,  
松沼尚史<sup>1</sup>, 牧田登之<sup>2</sup> (1:三共(株)・安全研, 2:山口大・農)

Clofibrate (CPIB) はゲッ歯類の肝細胞ペルオキシゾーム, および滑面小胞体を増生させるとともにペルオキシゾーム  $\beta$ -酸化系酵素活性, ミクロゾーム  $\omega$ -水酸化活性を上昇させる. このようなペルオキシゾーム増生剤に対する感受性には性差があり, 雌より雄の反応が強い. この性差が週齢に伴い変動するか否かを調べた.

【材料および方法】

F344ラット (F344/DuCrj 雌雄, 日本チャールス・リバー; 4, 8, 12週齢) を用い, 1群 5匹としてそれぞれ CPIB投与群および対照群を設けた. CPIBの投与量は 200 mg/kg/dayで, 1週間連続経口投与した. 対照群には溶媒のみを与えた. 投与終了後, 動物をエーテル麻酔下で開腹し腹大動脈より採血, 放血致死させ肝臓を摘出した. 肝臓は重量を測定した後, 一部を電子顕微鏡的検査に, 残りを薬物代謝酵素活性, およびペルオキシゾーム  $\beta$ -酸化活性の測定に供した.

【結果】

肝重量は, 雄では 8, 12週齢で投与によりそれぞれ対照群の 1.6倍, 1.7倍に増加したが, 雌ではいずれの週齢でもごく軽度な増加を示した. 血清総コレステロール値, およびトリグリセリド値の明らかな減少が雄の 8, 12週齢で認められた. 肝臓中 cytochrome P-450含量は雄の 8, 12週齢で明らかに増加したが, 雄の 4週齢と雌ではほとんど変化しなかった. Carnitine acetyltransferase活性, および palmitoyl CoA oxidation活性は雌雄ともいずれの週齢でも有意に上昇したが, 雄の 4週齢, および雌での上昇の程度は軽度であった. 雄の 8, 12週齢でペルオキシゾームの明らかな増加, 雄の 8週齢で滑面小胞体の軽度増生を認めた.

【考察】

CPIBなどのペルオキシゾーム増生剤は脂肪酸の  $\omega$ -水酸化に関与する cytochrome P450IVAを誘導し, ペルオキシゾーム増生が引き起こされると考えられている. この肝臓中 cytochrome P450IVA の誘導は雄で雌より強く発現し, 性差のあることが報告されている. 本実験でも性成熟に達したラットの CPIBに対する感受性は雌に比較して雄が強く, この結果は従来との報告と一致していた. しかし, 成熟ラットとは異なり, 未成熟のラットの場合には雄でも CPIBに対する感受性が弱いことが本実験で明らかとなった.

以上のことから, CPIBによるペルオキシゾーム増生は雄性ホルモンの影響を強く受けるものと考えられる.

○土屋 毅幸, 小林 潔, 後藤 和広, 杉本 次郎, 務台 衛 (三菱化成総研・病理)

### 【緒言】

Azaserine(Az)は、単回投与でラット膵臓に8週後に前癌病変, 60週以降に腺房細胞腫瘍を誘発することから、ラット膵臓発癌モデルのニセターとして使われている。しかし、Az単回投与後の膵臓の初期変化についての報告は少ない。今回、発癌用量のAzをラットに単回腹腔内投与した後、1週間の病理組織学的変化および腺房細胞の増殖動態を経時的に観察した。

### 【方法】

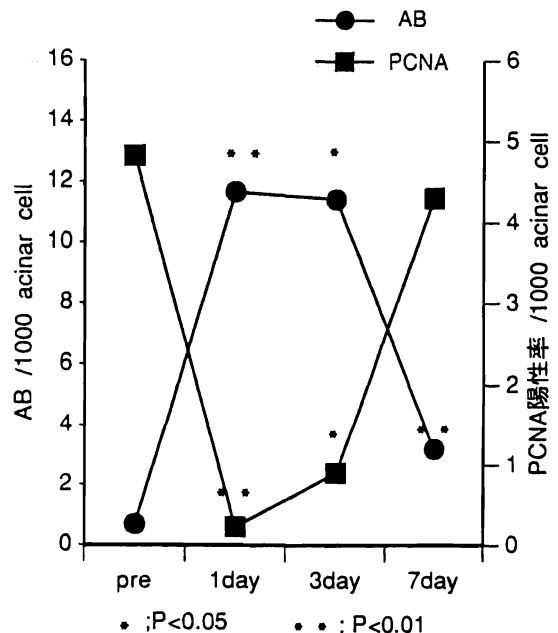
6週齢のWistarラット雄, 32匹にAzを生理食塩水を溶媒とし, 30mg/kgの用量で単回腹腔内投与し, 投与前および投与後1, 3, 7日後に膵臓を採材した。投与前の動物8匹には溶媒のみを投与した。材料は常法に従い, H.E. 標本を作製し組織観察を実施した。腺房細胞のApoptosisについては, H.E. 標本において腺房細胞1000個あたりのApoptic Body(AB)をカウントすることによって定量した。同時に, PCNA( Proliferating Cell Nuclear Antigen ) の免疫染色を行い, 腺房細胞1000個あたりのPCNA陽性細胞数を指標とし, 細胞増殖動態についても検索した。

### 【結果】

観察期間を通して膵臓において壊死および炎症性の変化は軽微であり, 腺房細胞のApoptosisが主たる変化として認められた。ApoptosisはAz投与前にはほとんど認められなかったのに対して, 1~3日目では顕著に増加し, 7日後には減少傾向を示した。一方, 腺房細胞のPCNA陽性率は投与前に比較し投与後1~3日目では顕著に減少し, 7日目に投与前のレベルに回復した。

### 【考察】

近年, ニセターとして用いられる発癌物質を動物に投与した場合, その標的臓器においてApoptosisが誘発されることが報告されている。今回の検討では, ラットにおけるAz単回投与後の膵臓にもApoptosisが誘発されることが明らかになった。一方, 反復投与で報告されているような壊死, 炎症性変化はほとんど認められなかった。Azは, プリン合成阻害によるDNA合成阻害作用を持つことが知られている。今回認められた腺房細胞のPCNA陽性率の低下は, AzのDNA合成阻害作用によって誘発されたものと推察される。また, これらの腺房細胞のPCNA陽性率の低下とApoptosisの増加が一致して認められたことから, Apoptosisの発現と, AzのDNA合成阻害作用の関連性が示唆された。



3-methylcholanthreneと $\beta$ -naphthoflavoneによるP-450 isozymeのラット全身諸臓器における誘導

○松田 勉<sup>1</sup>, 船江良彦<sup>2</sup>, 今岡 進<sup>2</sup>, 高場克己<sup>1</sup>,  
福島昭治<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>大阪市大・医・1病理, <sup>2</sup>大阪市大・医・化学 )

【目的】ラットに3-methylcholanthrene(3-MC)あるいは $\beta$ -naphthoflavone (BNF)を投与し、全身諸臓器におけるP-450 isozymeの誘導を免疫組織化学および生化学的に検索した。

【方法】5週齢F344ラット雄15匹を3群(第1群:対照群、第2群:3-MC投与群、第3群:BNF投与群)にわけ、CE-2固形飼料で飼育し、実験開始5週後の屠殺前に3-MC(20mg/kg)を2日間、BNF(50mg/kg)を4日間連続腹腔内投与し、14~17時間後に半数のラットを屠殺した。残りの半数のラットは実験開始7週後の屠殺前に再び3-MC、BNFを前回と同様に腹腔内投与した後、14~17時間後に屠殺した。その後、全身諸臓器におけるP-450 isozymeの誘導を免疫組織化学および生化学的に検索した。

【結果】P-450 1A1, 2E1, 2C11, 4A1, 2D1, 3A2について免疫組織化学的に検索した結果、3-MCとBNFの両投与群において表1に示す如く種々の臓器に1A1, 2E1, 2C11あるいは4A1の誘導をみた。また、Western blottingでは肝、前立腺、小腸においてP-450 1A1が、両者、特にBNF投与群で上昇する傾向をみせた。なお、5週と7週屠殺群の間では差がみられなかった。

【結論】3-MC, BNF投与によって、肝を中心に種々の臓器に1A1の誘導が認められ、しかも、その局在が明らかとなった。また、他の臓器にも散在性に2E1, 2C11, 4A1の誘導がみられた。

表1.P-450 isozymeの誘導がみられた臓器とその局在

	1A1		2E1		2C11	4A1	
	3-MC	BNF	3-MC	BNF	3-MC	3-MC	BNF
肝臓	Z <sub>3</sub> 優位	Z <sub>1</sub> 優位	—	—	—	—	—
小腸	上皮 <sup>a</sup>	上皮 <sup>a</sup> 小腸線	上皮 <sup>a</sup> 小腸腺	上皮 <sup>a</sup> 小腸腺	—	—	上皮 <sup>a</sup>
大腸	—	—	上皮 <sup>a</sup>	上皮 <sup>a</sup>	—	—	—
前立腺	—	上皮 <sup>a</sup>	—	—	上皮 <sup>a</sup>	—	—
精囊	—	上皮 <sup>a</sup>	—	—	—	—	—
食道	—	上皮 <sup>a</sup> 軽度	—	—	—	—	—

<sup>a</sup>:被覆上皮



Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) 投与ラットにおける  
肝細胞ペルオキシゾーム増殖の経時的変化

○佐野文子, 大堀祐司, 佐藤聖子, 豊岡正好, 伊藤博子, 望月 淳, 務台 衛  
(三菱化成総研・安全性研)

【序】 ペルオキシゾーム増殖剤によるげっ歯類に対する肝発癌性はよく知られているが, 肝細胞ペルオキシゾーム増殖の程度と肝発癌性の関連は未だ明らかではない。また, 肝細胞ペルオキシゾームの増殖の程度は経時的に変動することが知られているが, その経時的変動については, ごく短期間あるいは検査間隔のかなり離れた試験の結果しか報告されていない。そこで我々は, 発癌用量および非発癌用量と考えられる用量の DEHP をラットに投与し, 肝細胞ペルオキシゾームの増殖の経時的変動を形態計測的および生化学的に検討した。

【方法】 5 週齢 F344 雄ラット 72 匹を用い, 対照, DEHP 2000, 6000 および 12500 ppm 投与の 4 群を設け, 4, 8 および 13 週間の混餌投与を行った。各期間とも各群 6 匹の体重測定ならびに肝臓の臓器重量, 顕微鏡検査, 生化学検査 [シアン非感受性脂肪酸酸化酵素活性 (FAOS), カニチンセリトランスフェラーゼ (CAT), カラーゼ] と, 各群 3 匹の電顕検査およびポイントカウンティング法による肝細胞ペルオキシゾームの Volume density (Vv) の算出を実施した。なお, DEHP の投与用量は, 6000 および 12000 ppm で用量相関的に肝腫瘍の増加が認められている Kluge ら<sup>1)</sup> の報告を参考に設定した。

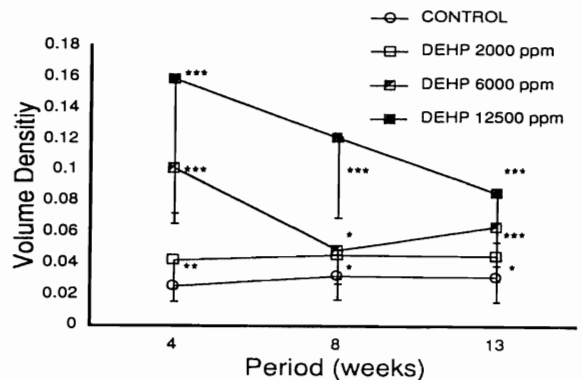
【結果】 DEHP 投与群では対照群と比較して, 肝臓重量 (対体重比) が高値を示し, 顕微鏡検査では肝細胞の肥大が認められ, 電顕検査では肝細胞ペルオキシゾームの増加が認められた。肝細胞ペルオキシゾームの Vv は DEHP 投与の全群で対照群と比較して有意の高値を示した。経時的には, 低用量群では各期間ともほぼ一定の値 (対照群比 139 ~ 165%) を示した。中間用量群では 4 週時に高値 (同 392%) を示したが, 8 週時には低用量群と同等の値 (同 148%) であり, 13 週時には再びやや高値 (同 200%) を示した。高用量群では各期間とも高値 (順に同 612, 370, 269%) を示したが, 対照群との比は経時的に減少した (右図)。生化学検査では FAOS, CAT は DEHP 投与の全群で全期間とも, カラーゼは 4 週時には中間および高用量群で, 8 および 13 週時には高用量群で, 対照群と比較して有意な高値を示した。

【まとめ】 発癌用量と考えられる DEHP の 12500 ppm 群では, 投与後数週で肝細胞ペルオキシゾームの増殖はピークとなり, その後, 漸減した。一方, 非発癌用量と考えられる 2000 ppm 群では, 軽度の増殖が一定して認められ, 経時的変動は認められなかった。このような DEHP 投与による肝細胞ペルオキシゾームの増殖の用量による反応性の相違および経時的変動を考慮すると, 肝細胞ペルオキシゾームの増殖程度と肝発癌性との相関の有無を検討するには, 最も増殖の著しい時期を把握することが必要であると考えられる。

【参考文献】

1) Kluge, W.M. et al. J. Toxicol. Environ. Health. 10:797~815, 1982.

Volume Densities of Peroxisomes in Hepatocytes



## Clofibric acid (CFA) 投与によるラットの血清および肝臓中 コリンエステラーゼ (ChE) の変動

○山口 格、米良幸典、国分由美、松田和夫 (ゼリア新薬工業・中研)

血清中のコリンエステラーゼ (偽性コリンエステラーゼ; ChE) は、肝機能障害により活性の低下がみられ、肝機能の重要な検査項目となっているが、その生理機能についてはいまだよくわかっていない。また、clofibrate 等の peroxisome proliferator をラットあるいはマウスに投与することにより血清中の脂質の低下とともに ChE 活性の上昇がみられることが報告されているが、この血清中 ChE 活性の上昇に関する毒性学的意義も未だ不明である。今回われわれは、ラットに clofibric acid (CFA) を混餌投与し、血清およびその産生臓器と考えられる肝臓中の ChE の変動を観察した。

### 【材料および方法】

10週齢のSD系雄ラットに、CFAを混じた粉末飼料を7日間自由摂取させた。投与群はCFA 1000ppm, 5000ppm, 10000ppm 添加の3群を設けた。対照群には粉末飼料のみを与えた。投与終了後、動物はエーテル麻酔下で腹大動脈より採血した後放血殺し、肝臓を摘出した。得られた血清および肝臓の一部を用いてChE活性の測定を行った。また、残った肝臓の一部を4%パラホルムアルデヒド液にて固定後、凍結切片あるいはパラフィン切片を作製し、ChEの酵素組織化学および免疫組織化学的染色を行った。

### 【結果】

血清中ChE活性はCFA 5000および10000ppm 群で上昇がみられたが、肝臓中ChE活性はいずれの投与群においても対照群と有意な差はみられなかった。対照群の肝臓のChEの酵素組織化学による酵素活性は小葉周辺部の肝細胞の細胞質内に軽度に見られたが、免疫組織化学による陽性反応は小葉中心部の細胞質でやや強く、各々の陽性細胞の局在に違いがみられた。CFA 5000ppm 以上の群での肝臓では、酵素組織化学により小葉周辺部の細胞の酵素活性の増強とともに活性を示す細胞の増加が観察され、免疫組織化学的に小葉中心性の陽性反応域の拡大がみられた。

### 【まとめ】

ラットへのCFA投与により血清ChE活性の上昇がみとめられた。肝臓中のChE活性の測定では変動は観察されなかったが、組織化学的には酵素活性や免疫反応の増強または反応域の拡大がみられ、CFA投与によりChEの誘導が肝臓中で起こると推測された。しかし、酵素活性を示す細胞と免疫組織化学的に陽性を示す細胞の肝組織内の局在は異なっており、CFA投与による反応変動域にも差がみられた。

○ 李 旻宰、板垣慎一、土井邦雄 (東大・実験動物)

【目的】 T-2 トキシンは生体内の増殖の盛んな細胞を障害することが知られており、骨髄、リンパ系臓器、腸管等がT-2の標的臓器となっている。我々は今回、実験的に肝細胞の増殖を誘導したマウスで、T-2の肝細胞増殖抑制作用について検討した。

【実験材料と方法】 112匹のICR:CD-1マウス(5週齢、雄)を2群に分け、下記の実験に供した。実験1:予備実験の結果、2/3部分切除後のマウス肝重量は、肝細胞の増殖により2日目から急激に増加し始め、4日目には切除前肝重量の約80%にまで回復することが示された。

そこで、肝2/3切除後それぞれ1、2あるいは3日目にT-2(4mg/kg, p.o.)を投与し、肝切除後4日目までの肝重量およびBrdU陽性肝細胞数の推移を検索した。実験2:予備実験の結果、四塩化炭素(1ml/kg, p.o.)を投与したマウスの肝では、投与後1日目から小葉中心帯肝細胞の広範な壊死がみられ、以後日を追って壊死病巣は器質化を受けて縮小し、7日目までには周辺から増殖してきた肝細胞でほぼ置換された。

そこで、四塩化炭素投与後、それぞれ1、2、3あるいは4日目にT-2(4mg/kg, p.o.)を投与し、7日目までの小葉中心帯の肝細胞壊死巣の面積とBrdU陽性肝細胞数の推移を検索した。

【結果と考察】 実験1では、T-2投与によって、肝2/3切除後の肝重量増加が抑制された。また、実験2では、T-2投与によって、四塩化炭素による小葉中心帯肝細胞壊死巣面積の縮小が抑制された。なお、いずれの実験でも、T-2投与群でBrdU陽性肝細胞数が有意に少なかったことから、肝重量増加抑制(実験1)および肝細胞壊死巣面積縮小抑制(実験2)はともにT-2の肝細胞増殖抑制作用に基づくものと考えられた。今後、サイトカイン等の動きを含めたT-2の肝細胞抑制作用の機序について検討を加えたい。

○山田和正, 渡辺敦光, 伊藤明弘 (広大・原医研・癌)

superoxide anion( $O_2^-$ ), hydrogen peroxide( $H_2O_2$ )などの活性酸素は、呼吸の副産物としてだけでなく日常我々が摂取する食物に含まれる不飽和脂質の酸化物以外に、電離放射線が照射された場合や、発癌物質など化学物質の生体内代謝の過程でも産出されると考えられている。

C3H系マウスの変異種である低カタラーゼ(C3H/Cs<sup>b</sup>)マウスは、米国アルゴンヌ国立研究所のFeinstein等によりX線照射C3H/Cs<sup>a</sup>マウスより分離開発された。このマウスでは、catalase活性がC3H/HeNに較べて血中で約1/10量であり、十二指腸では約1/20である。Ito等は、このマウスに過酸化水素を投与することにより十二指腸腫瘍が高率に出現し、また中性子線による肝腫瘍もこのマウスの方が発生し易いことを報告している。我々はC3H/Cs<sup>b</sup>マウスの自然発生肝腫瘍における活性酸素種の関与を、生体の活性酸素消去酵素の活性や過酸化脂質量を測定することにより、性差および加齢との関連で検討した。

(実験方法)

マウスの肝臓は、生理食塩液で還流後、直ちに-80℃に凍結保存したものを用いた。過酸化脂質の定量はUchiyama等のTBA法を、catalase活性はPatti等のチタニウム法を用いて測定した。glutathione peroxidase(GPx)活性は、基質としてcumene hydroperoxideと過酸化水素の2つを用い、Lawrence等のcoupled assayにより測定した。また、SOD活性測定はOyanaguiの方法を用いた。

(結果および考察)

C3H/Cs<sup>b</sup>マウスは、13カ月以降より雄に自然発生肝腫瘍が発現し、また腫瘍組織には多数の脂肪変性が出現した。正常マウスの肝臓では、4, 12, 24週と加齢に伴い1.47, 1.70, 2.72 nmoles/mg proteinと過酸化脂質量の増加が確認され、24週以降では一定の過酸化脂質量を示し、性差は全く認められなかった。自然発生肝腫瘍では、正常組織に対し約6倍の過酸化脂質量の増加が観察され、その分解酵素であるGPx活性も約40%にまで低下した。また正常肝のcatalase活性では3カ月以降より性差が見られ、雌のcatalase活性は雄に対し約20%の減少を示した。さらに肝腫瘍では腫瘍重量の増大に比例し、catalase活性及びSOD活性が共に減少することも観察された。以上の結果より、C3H/Cs<sup>b</sup>マウス肝臓では、過酸化脂質は加齢の指標であると共に、肝腫瘍では過剰に蓄積され、活性酸素消去酵素の活性低下により腫瘍の成長を促進していることが示唆された。

## P-28 アセトアミノフェン肝障害の脾摘による抑制

園田二郎<sup>1</sup>、築館一男<sup>1</sup>、五百部浩昭<sup>2</sup>、島田美千代<sup>2</sup>、見上 孝<sup>1</sup>  
名倉 宏<sup>3</sup> (1エーザイ安全研、2カワシマ商事、3東北大・第二病理)

### 〔目的〕

アセトアミノフェン(AAP)による肝細胞障害は、アセトアミノフェンが肝薬物代謝酵素により代謝を受けて生じる活性代謝物によって起こるとされているが、肝内に浸潤したclassI MHC陽性マクロファージおよびCD8陽性Tリンパ球も、肝細胞障害に深く関与していることを本学会にて報告した。今回、これらの浸潤細胞の主要な供給源として考えられている脾を摘出したラットにアセトアミノフェンを投与し、脾摘の影響について検討した。

### 〔材料および方法〕

8週齢のSlc:SD系雄ラット18匹を用い、各群3匹よりなる6群を設定した。AAPは体重当たり500mg/kgを単回経口投与した。脾摘ラットは、エーテル麻酔下で脾を摘出し、その1週間後に実験に使用した。群構成は非脾摘ラットを用いた0.5%MC投与72時間剖検群(非脾摘対照群)、AAP投与24時間剖検群および72時間剖検群、脾摘ラットを用いた0.5%MC投与72時間剖検群(脾摘対照群)、AAP投与24時間剖検群および72時間剖検群とした。

剖検時摘出した肝は、10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従いパラフィン切片、HE染色標本を作製するとともに、その一部を4%パラホルムアルデヒド液で固定後、凍結切片を作製し、ABC法による免疫染色(CD4、CD8、classI MHC、Ia)を実施した。

### 〔結果〕

非脾摘ラットを用いた群では、AAP投与24時間後にGPTで非脾摘対照群の約4.5倍、GOTで約8.6倍の上昇がみられ、72時間後には正常値を示した。脾摘ラットではAAP投与24時間後にGPTで脾摘対照群の約1.9倍、GOTで約2.5倍の上昇しかみられず、72時間後には非脾摘ラット同様正常値を示した。

組織学的にも、脾摘ラットでは投与24時間後に肝細胞壊死および炎症細胞浸潤はみられるものの、非脾摘ラットに比べてその程度は軽減していた。72時間後では非脾摘、脾摘両ラットともに壊死巣は消失していた。免疫染色で、非脾摘ラット24時間後では、壊死巣周囲の肝細胞にclassI MHC抗原の発現がみられ、主としてCD8またはIa陽性単核細胞の浸潤が壊死巣内および類洞内に認められた。脾摘ラット24時間後では、非脾摘と比べclassI MHC発現の低下および類洞内Ia陽性単核細胞の減少が認められた。

### 〔結論〕

アセトアミノフェンによる肝細胞障害は、脾摘により大幅に軽減された。免疫染色で類洞内Ia陽性単核細胞の減少がみられていることから、脾由来マクロファージの肝への浸潤が消失し、肝細胞障害が軽減したものと考えられた。

## P-29 Colchicine のラットにおける長期反復経口投与毒性試験

○小倉基裕、森下克美、南孝則、松本智志、佐藤亮、仙頭美和、  
三好文暁、三谷公互、山本硬治（大塚製薬・徳島研究所）

【はじめに】Colchicine はチューブリン重合阻害作用を有し、細胞分裂を抑制することが知られている。しかし長期反復経口投与した際の変化については詳細な報告がない。そこでColchicine を雌雄のSD (Sprague-Dawley系) ラットに4週間反復経口投与毒性試験を実施し、全身への影響を検討した。

【材料および方法】5週齢の雌雄のSDラット (Sprague-Dawley系、SPF) を用い、Colchicine (SIGMA) を1群5~7匹、0.1, 0.3, 1, 3, 5 および  $7\text{mg/kg}$  の用量を投与した群と対照群を設け、胃ゾンデを用いて4週間連続強制経口投与した。一般状態観察、血液学および血液生化学的検査、病理学的検査を実施した。

【結果】一般状態観察では投与初期に軟便、下痢等が認められた。また、 $7\text{mg/kg}$  群の雄3例、雌1例が投与1週に死亡あるいは切迫屠殺された。

生存例では、雌雄とも高用量群で一過性の体重増加抑制および摂餌量減少が認められ、血液学的検査では、雌雄の高い用量群で血小板数あるいは分節核好中球の増加が認められた。血液生化学的検査では、雌雄とも高い用量群でGOTおよびGPTの増加、ALP、 $\alpha_2, 3$  および $\beta$ -グロブリンの増加、トリグリセライドの低下、遊離脂肪酸の増加、アルブミンおよびA/G比の低下が認められた。剖検では、雌雄とも高い用量群で前胃粘膜面に白色結節が認められた。臓器重量では、肝臓重量の増加腎臓重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、皮膚の毛母基のapoptosis、脾臓リンパ小節及び胸腺皮質の萎縮、リンパ球の壊死、十二指腸粘膜上皮細胞に細胞内シスト、apoptosisの増加および絨毛の矮小化、肝細胞の巨核化、多核化、核の空胞化および単細胞壊死が認められた。また、小葉間胆管上皮細胞、十二指腸粘膜上皮細胞および腎近位尿細管上皮細胞の空胞化も認められた。電子顕微鏡検査では、肝細胞の壊死像や核に細胞質の一部が嵌入したものと考えられる偽封入体が認められ、さらに一部の例ではゴルジ装置の変性もみられた。

途中死亡あるいは切迫屠殺例では、これらの変化に加えて体重の著しい減少、血液学的検査における血小板数および白血球数の減少、病理組織学的検査における骨髓の萎縮、精細管の萎縮、精巣上体管中の精子減少等が認められた。

【考察】周知の如くColchicine はチューブリンの微細管への重合を阻止する作用がある。Colchicine の投与により結果として微細管の崩壊、消失がもたらされ、細胞の分泌、膜蛋白の細胞間輸送の障害、細胞分裂の抑制が引き起こされる。今回、Colchicine を長期投与することによって、細胞分裂の盛んな臓器の著明な萎縮、肝臓の核の異常ならびに肝細胞のapoptosisの像並びに実質細胞の空胞化等を確認することができた。

○吉田敏則, 原田孝則, 高橋公正, 真板敬三 (残農研)

PCNAの免疫組織学的な検出を利用した細胞増殖活性の検討は、現在毒性病理の分野でも広く行われている。PCNA陽性率はBrdU法に比べかなり高く、また弱陽性から強陽性まで様々な染色態度を示す。そのため、研究者により評価基準が一定しておらず、細胞の染色程度にかかわらず全陽性細胞をカウントする場合や、比較的強く染色された細胞のみをカウントする場合がみられる。このように全ての陽性細胞を評価すべきか、あるいは染色性の濃淡を考慮に入れるべきかについては未だ統一見解が得られていない。我々は画像解析装置を用いてPCNAの染色性の濃淡を加味した評価法について基礎的検討を試みた。

## 〔材料および方法〕

材料は伊東らの中期肝発癌試験法に準じ、DDT を0, 20, 100および500 ppm の用量で投与したラットの肝標本（ホルマリン固定、パラフィン包埋）を用いた。抗PCNA抗体はPC10 (Dako)および19A2(Coulter immunology)を用い、ABC 法あるいはAPAAP 法によりDAB あるいはNew fuchsin で発色させた。評価は1) 光学顕微鏡で肝細胞核1000個当たりの全ての陽性核数をカウントする方法と、2) 高解像度画像解析装置ルゼックスⅢ（ニレコ）を用い、一定の濃さ（濃度値）以上の肝細胞核のみを抽出し、単位面積当たりの陽性核の面積率および数で評価する方法で行った。

## 〔結果〕

1) 肝細胞核1000個当たりの全ての陽性核数のカウントでは、対照群に比べ、500 ppm 群で軽度にその数が増加した。また、100 および500 ppm 群では、比較的強く陽性を示す肝細胞核が多く観察された。

2) PCNA陽性核は様々な濃淡を示し、その透過光の強さから濃淡の差を数値化することができた。そこで、一定の濃さ以上の肝細胞核のみを抽出し、各群の単位面積当たりの陽性核の面積率および数を比較したところ、100 および500 ppm 群でその値が増加した。

## 〔考察〕

我々は、先ず通常の方法でPCNAの標識率を検索したが、各群間で顕著な差を見出せなかった。しかし、顕微鏡観察で高用量群に強陽性核を多く認めことから、今回の画像解析を利用した評価法を検討した。現段階では測定条件、手順の検討にとどまるもの、本法は主観の入りがちなPCNA染色結果を客観的に評価する方法として大変有用であり、PCNA染色の評価に染色性の濃淡を加味する必要があることが示唆された。今後、全ての陽性核の濃度ヒストグラムとその平均値を求めることにより、各群間のPCNAの染色性の差を見いだすことも可能と考えている。

## The Hepatocarcinogenic Potential of Tamoxifen on the Hepatocarcinogenesis Induced by Diethylnitrosamine in F344 Rats

○ BS HAN, DJ KIM, SM CHO, BW AHN, CO KIM, KS CHOI, JK KANG\*, JS LEE\*\* ,(NISR; \*CNU; \*\*SNU)

Hepatocarcinogenic potential of anti-estrogen tamoxifen (TMF), which has been widely used drug for the treatment of hormone-dependent breast carcinomas, on the development of glutathione S-transferase placental form (GST-P) positive liver cell foci was investigated by using the medium-term rat liver bioassay system. A total of 70 female F344 rats, 7 weeks olds, was divided into 5 groups. Animals of all groups were initially given a single intraperitoneal injection of diethylnitrosamine (DEN; 200 mg/kg). And then two weeks later animals of groups 1, 2, 3 and 4 were given the diets containing 0.05, 0.025, 0.01% TMF, and 0.05% phenobarbital (PB) for 6 weeks. All rats were subjected to two-thirds partial hepatectomy (PH) at week 3 and were sacrificed at week 8. Liver slices were examined for the immunohistochemical staining of GST-P antibody. The final body weights of DEN+TMF groups were significantly increased as compared to that of DEN alone group ( $p < 0.001$ ). The relative liver weights to final body weights of DEN+TMF groups were significantly increased as compared to that of DEN alone group ( $p < 0.01$  or  $0.001$ ). The final body weight of DEN+PB group was not significant, but the relative liver weight to final body weight of DEN+PB group was significantly increased as compared to that of DEN alone group ( $p < 0.001$ ). The numbers (No./cm<sup>2</sup>) and the areas (mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>) of GST-P positive liver cell foci in DEN+TMF groups were significantly increased compared with the values of DEN alone group ( $p < 0.05$ ). The numbers (No./cm<sup>2</sup>) and the areas (mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>) of GST-P positive liver cell foci in DEN+PB group was significantly increased compared with the values of DEN alone group ( $p < 0.01$ ).

Our results suggest that TMF has the promotional modifying effects on the development of GST-P positive liver cell foci in the medium-term rat liver bioassay model as well as in the newborn rat hepatocarcinogenesis model. And also our results are coincided with the recent reports.



## Enhancing Effects of Indole-3-carbinol on Hepato- carcinogenesis and Thyroid Tumorigenesis in a Rat Multi-Organ Carcinogenesis Model

○ DJ KIM, BS HAN, BW AHN, CO KIM, KS CHOI, KS HAN, JS LEE. \*(NISR; \*Seoul Nat'l Univ)

It has been reported that indole-3-carbinol (I3C), a naturally occurring compound in cruciferous vegetables, exerts anticarcinogenic activity in several organs in rodents. The modifying effects of I3C were therefore assessed using a rat multi-organ carcinogenesis model. A total of 100 male Sprague-Dawley rats were divided into 3 groups. Animals of groups 1 and 2 were sequentially treated with diethylnitrosamine (DEN; 100 mg/kg B.W., i.p.), N-methylnitrosourea (MNU; 20 mg/kg B.W., 4 times for 2 weeks, i.p.), and dihydroxy-di-N-propylnitrosamine (DHPN; 0.1% in D.W. for 2 weeks) for 4 weeks (DMD treatment). Animals were sacrificed at week 24 and 52, respectively. I3C has been clearly demonstrated promoting effects on the development of glutathion S-transferase placental form (GST-P) positive hepatic foci at 24th week of the experiment. And I3C also exerted promoting potential in the hepatocellular adenoma (4/14; 29%) and the adenoma of the thyroid gland (7/14; 50%) at the 52th week of the experiment. Therefore, I3C may promote hepatocarcinogenesis and thyroid tumorigenesis in the rat multi-organ carcinogenesis model.

○八尾野真人，長谷川良平，小木曾正，二口充，白井智之，伊東信行  
(名市大・医・1病理)

【はじめに】現在、世界中で年間に使用される農薬の総量は約300万トンに達し、製造および使用時はもとより、農作物中への残留によるヒトへの暴露の可能性が十分考えられる。我々は種々の農薬の発癌および発癌プロモーター作用について8週間のラット肝中期発癌性試験を実施し、報告してきた。今回、新たな成績を加え、計47種の農薬について、変異原性試験および長期発癌性試験の報告と比較するとともに農薬の構造別および使用目的別にその発癌性について検討した。

【材料および方法】6週齢のF344雄性ラットにdiethylnitrosamine (DEN : 200mg/kg) を腹腔内に単回投与し、2週後から6週間にわたり農薬を投与した後、屠殺剖検した。なお、全動物を対象に農薬の投与開始より1週後に2/3部分肝切除術を施した。各農薬の発癌作用の評価は、肝における胎盤型glutathione S-transferase陽性細胞巢の単位面積当りの数と面積を測定し、DEN単独投与対照群との比較により実施した。

【結果】発癌物質と報告されている19種のうち、肝を標的臓器とする農薬の本試験法による陽性率は100% (12/12) で、それらのうち変異原性陽性は1種であった。一方、肝以外の臓器を標的とするものの陽性率は28.6% (2/7) で、陽性種のうち1種が変異原性陽性であった。発癌性が認められていない農薬11種では非変異原性であるmalathion およびvinclozolin の2種 (18.2%) が陽性を示した。また、発癌性に関する報告がない農薬では64.7% (11/17) が陽性で、うち1種が変異原性陽性であった。本試験法の成績を用い、農薬の構造別にその発癌性の有無を検討した。その結果、塩素系化合物には非変異原性発癌物質が12種あり、11種が本試験法において陽性であった。しかし、本試験の陽性率は、塩素系化合物が66.7% (18/27)、有機リン系化合物が37.5% (3/8) およびその他の化合物が41.7% (5/12) で、それらの間に有意差は認められなかった。また、成績を使用目的別に分類し、その発癌性の有無を検討した結果、陽性率は除草剤が60.0% (3/5)、殺虫剤が55.6% (10/18)、殺菌剤が60.0% (12/20) およびその他のものが25.0% (1/4) であり、有意差はみられなかった。

【まとめ】ラット肝中期発癌性試験法による陽性率は、変異原性の有無に関係なく肝発癌物質で極めて高いものであった。また、本試験法により多くの非変異原性発癌物質が陽性となったことから、本法による検出率は変異原性試験より高いことが示された。今回検討した47種の農薬の成績では、塩素または有機リン系の構造および使用目的と発癌もしくはそのプロモーター作用に明かな関連性は認められなかった。

# B6C3F<sub>1</sub> マウス自然発生肝細胞腫瘍におけるc-H-ras codon 61の点突然変異

○ 森 郁生、林 新茂、堀之内 彰、野々山 孝、宮嶋宏彰 (武田薬品・薬安研)

**【はじめに】** 化学発癌物質により誘発されたB6C3F<sub>1</sub>マウスの肝細胞腫瘍では、自然発生の肝細胞腫瘍と比べ、がん遺伝子の塩基配列の変異パターンに違いがみられる可能性が推察されている。我々は、がん遺伝子の点突然変異を通常の病理検査室でも検出可能な、非アイソトープ法を確立するため、自然発生肝細胞腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて、c-H-ras codon 61 の点突然変異の検出法について検討した。

**【材 料】** 2年間SPF環境下で無処置飼育されたB6C3F<sub>1</sub>マウスにみられた肝細胞癌39例(雄21, 雌18)、肝細胞腺腫20例(雄12, 雌8)の合計59例を用いた。

**【方 法】** 肝細胞腫瘍のパラフィン切片は脱パラ後、組織をスライドガラスから掻き取り polymerase chain reaction(PCR)を2回行い、c-H-ras codon 61 を含む110bpを増幅させた。PCR産物は2%アガロースゲルで電気泳動し、エチジンプロミドで増幅を確認した。プローブとして wild typeのc-H-ras codon 61を含む17bp(5'-CAGGT[CAA]GAAGAGTAT-3')および3種類の点突然変異を含むプローブ(5'-[AAA]-3')、(5'-[CTA]-3')および(5'-[CGA]-3')を用いて dot blot hybridizationした。点突然変異の検出には化学発光法を用いた。

**【成 績】** 肝細胞癌では39例中34例(雄20, 雌14)にDNAの増幅を認め、codon 61.1の変異(CAA→AAA)が15例(雄9, 雌6)に、codon 61.2の変異(CAA→CGA)が11例(雄5, 雌6)および(CAA→CTA)8例(雄6, 雌2)にみられた。肝細胞腺腫では20例中18例(雄11, 雌7)にDNAの増幅を認め、codon 61.1の変異(CAA→AAA)が5例(雄3, 雌2)に、codon 61.2の変異(CAA→CGA)が6例(雄4, 雌2)および(CAA→CTA)4例(雄2, 雌2)に認められた。残りの3例ではDNAの増幅は確認されたが、codon 61の点突然変異は認められなかった。なお、検索した肝細胞腫瘍の組織型とがん遺伝子の点突然変異の間には明らかな相関はみられなかった。

**【ま と め】** 以上の成績より、マウス肝細胞腫瘍におけるがん遺伝子の点突然変異を通常の病理検査室でも検出可能なことが明らかとなった。また、形態学的に差異のみられないB6C3F<sub>1</sub>マウスの自然発生肝細胞腫瘍において、遺伝子の変異パターンに違いがみられることが明らかとなった。

神谷研二<sup>1</sup>，貞本誠治<sup>1</sup>，新田由美子<sup>2</sup>，木南 凌<sup>3</sup>，丹羽太貫<sup>1</sup>  
(広島大・原医研・<sup>1</sup>病理・<sup>2</sup>資料セ，<sup>3</sup>新潟大・医・生化学)

化学発癌物質はDNAに塩基置換による点突然変異を誘発し、誘発腫瘍においても点突然変異による優性癌遺伝子の活性化がしばしば認められる。また、癌化には癌抑制遺伝子の関与も指摘されており、この遺伝子変異はLOHまたは欠失としてとらえられる。他方、放射線により誘発される最も多いDNAの変化は欠失であるが、放射線誘発腫瘍において欠失がtumorigenesisに関与するか否かは明らかでない。

そこで我々は、B6C3F1マウスにdiethylnitrosoamine (DEN)と<sup>252</sup>Cf中性子線を用いて肝腫瘍を誘発し、両者により発症した肝腫瘍をmicrosatellite遺伝子座を指標にして、欠失などの遺伝子変異を比較検討した。

〔方法〕遺伝子座特異的microsatellite primerを用いて、その遺伝子座DNAをPCR増幅した。増幅DNAはアクリルアミドゲル電気泳動により遺伝的多型として検出した。また一部のsampleについてはSSCP解析を行った。

〔結果〕56組のprimerを用いて、11例の<sup>252</sup>Cf誘発肝腫瘍については計610個の遺伝子座を、10例のDEN誘発肝腫瘍については計545個の遺伝子座を検索した。その結果、両者において20%以上の頻度でLOHを示す特定遺伝子座は見つからなかった。LOHと両側のalleleの欠失を加えた合計は、<sup>252</sup>Cf誘発肝腫瘍では610遺伝子座中15個で、DEN誘発肝腫瘍では545遺伝子座中28個であった。

以上のことから、<sup>252</sup>Cf誘発肝腫瘍での欠失の頻度は、DEN誘発肝腫瘍より低い傾向が認められた。

## Study on Natural killer Cell Activity and *c-myc* Oncoprotein Expression in the Rat Hepatocarcinogenic Inhibition of Red Ginseng

○ Y S Lee, K S Kang, J J Cho, B H Kim, K W Seo, K H Nam, S K Kang (Coll. of Vet Med., SNU)

The purposes of study were to examine the anti-cancer effect of Red Ginseng in the diethylnitrosamine-D-galactosamine-partial hepatectomy(DEN-GaIN-PH) induced preneoplastic hepatic lesions in the rat by means of histopathology, natural killer cell activity and *c-myc* oncoprotein expression.

One hundred of male 6-weeks old SPF Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups. For initiating hepatic tumor, rats in groups 1, 2, 3, and 4 were administered to DEN intraperitoneally 200 mg/kg body weight at 0 experimental day. Rats in group 5 were given to saline in same way. After two weeks, rats in groups 1 and 3 were fed on diet containing 0.01 % of 2-acetylaminofluorene(AAF) for 6 weeks, which is strong cancer-promotor, while rats in groups 2 and 4 are fed on water containing 0.05 % of phenobarbital for 6 weeks, which is weak cancer-promotor.

Rats in groups 1 and 2 were treated with diet containing 3 % of Red Ginseng from 9 to 15 weeks. Rats in all groups were necropsied time-sequentially at 8, 15, and 36 weeks.

Carcinogen-induced preneoplastic lesions were expressed glutathione S-transferase placental form(GST-P) at 8 week in groups 1, 2, 3, and 4. Carcinogen-induced hepatic lesions with AAF were increased in positive area of GST-P which were detected by ABC immunocytochemical method and in hepatic preneoplastic lesions which were observed by routine histopathological method, whereas carcinogen-induced hepatic lesions with AAF and Red Ginseng were decreased in positive area of GST-P and preneoplastic lesions. However, anticancer effect of Red Ginseng might be terminated by quitting administration of Red Ginseng. It is suggested that anticancer effect of Red Ginseng might be time-dependent. Besides of anticancer effect, Red Ginseng might suppress hepatic fibrosis in rats.

To elucidate the effect of Red Ginseng in cancer, the relationship between Red ginseng, and natural killer cell activity and *c-myc* oncoprotein expression was examined. On the basis of our results, Red Ginseng enhanced natural killer cell activity against YAC-1 cells *in vitro* and might suppress the expression of *c-myc* oncoprotein in carcinogen-induced hepatic lesions in rats. But *c-myc* oncoprotein had not correlation to specific cell types of the liver or to known histological alterations, such as foci, nodules, or tumor believed to be precursors of neoplasia.

Key word : Red Ginseng, natural killer cell, *c-myc* oncoprotein, anticancer effect, rat, liver, tumor

○伊藤恒夫、海野正子、鈴木雅実、三好昌夫、杉本哲朗、鈴木繁生、二木力夫 (中外製薬・安全研)

【はじめに】 Histiocytic sarcoma (synonyms:reticulum cell sarcoma, type A ; lymphoma, histiocytic) は、その形態学的特徴, erythrophagocytosis および細胞化学的特徴などから組織球由来と考えられており、マウスでは肝臓および子宮に好発することが知られている。腫瘍細胞の由来は bone marrow cells, tissue histiocytes, Kupffer's cells, macrophages などが考えられており、腫瘍細胞の形質に heterogeneity の存在が示唆されるが、未だ詳細は明らかとなっていない。そこで、今回、マウスにみられた histiocytic sarcoma および malignant fibrous histiocytoma (MFH) について、各種レクチンの組織化学的染色を実施し、染色性の特徴について検討したので報告する。

【材料および方法】 動物は、79 週間の癌原性試験に用いた B6C3F<sub>1</sub> マウスで、日常の病理組織学的検査に基づいて診断した histiocytic sarcoma 雄 2 例、雌 4 例と MFH 雄 1 例の合計 7 例である。Histiocytic sarcoma は下表に示した臓器に発生がみられ、MFH は大腿部の皮下腫瘍として認められた。13 種類のレクチンを用い、染色は ABC 法により実施した。

【結果および考察】 Histiocytic sarcoma の腫瘍細胞は、LCA, PSA, WGA, MPA, NA, Con A, GS-I, S-WGA および RCA-I で陽性に染色され、特に RCA-I (糖結合特異性 :  $\beta$ -Gal,  $\beta$ -GalNAc) は腫瘍細胞に対する特異性が高かった。しかしこれらのレクチンは個体および発生組織別の染色態度がほぼ同様と判断され、その heterogeneity に関しては明らかな差はみいだせなかった。また、MFH との染色性の違いもみられなかった。さらに、monocytes/macrophages 系抗原やリゾチームに対する免疫組織化学的な反応を加味し、考察する。

Table Lectin binding to mouse histiocytic sarcoma and malignant fibrous histiocytoma (MFH)

Lectins	Sex/Weeks/Pate Organ	Histiocytic sarcoma											MFH	
		♂/79/Sc	♂/79/Sc				♀/79/Sc		♀/79/Sc		♀/75/D	♀/79/Sc		
		肝臓	脾臓	胸腺	腸L	腎L	子宮	肝臓	子宮	肝臓	子宮	肝臓	骨髄	皮下腫瘍
Ricinus communis Agglutinin I RCA-I		+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> + <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> + <sup>s</sup>	++ <sup>w</sup> ± <sup>s</sup>	± <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>
Lens Culinaris Agglutin LCA		## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	++ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	++ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>
Pisum sativum Agglutinin PSA		## <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>w</sup>	++ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	++ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>
Wheat Germ Agglutinin WGA		## <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	++ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>
Maclura pomifera Agglutinin MPA		± <sup>w</sup>	+ <sup>s</sup>	± <sup>w</sup>	## <sup>s</sup>	± <sup>w</sup>	± <sup>w</sup>	± <sup>w</sup>	-	## <sup>w</sup>	++ <sup>w</sup> ++ <sup>s</sup>	++ <sup>w</sup>	## <sup>s</sup>	± <sup>w</sup>
Peanut Agglutinin PNA		## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>
Concanavalin A Con A		## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>
Griffonia simplicifolia Lectin I GS-I		± <sup>w</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>	+ <sup>w</sup>	± <sup>w</sup>	-	+ <sup>w</sup>	± <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	## <sup>s</sup>	## <sup>s</sup>
Succinylated Wheat Germ Agglutinin S-WGA		-	## <sup>w</sup>	## <sup>w</sup>	± <sup>w</sup>	± <sup>w</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
Others		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : none ; ± : a few positive cells ; + : a slight number of positive cells ; ++ : a moderate number of positive cells ; ## : many positive cells.  
W : Weak reaction, S : Strong reaction, Sc : Schedule, D : Dead, 腸L : 腸間膜リンパ節, 腎L : 腎門リンパ節  
Others : Dolichos biflorus Agglutinin(DBA), Soybean Agglutinin(SBA), Sophora japonica agglutinin(SJA), Ulex europaeus Agglutinin I(UEA-I)

# WBN/Kobラットの自然発症膵炎におよぼす合成ソマトスタチンの影響

○古川文夫・西川秋佳・吉村博之・榎並倫宣・三井雅之・  
佐藤元信・高橋道人（国立衛試 病理）

合成ソマトスタチン（SMS 210-995）は8個のアミノ酸からなるソマトスタチンの誘導体であり、消化管ホルモン産生腫瘍や末端肥大症の治療薬として用いられている。また、膵の外・内分泌機能に対して抑制的に作用するとの報告もある。我々は、WBN/Kobラットにおける自然発症の膵炎がインドメタシンの経口投与により抑制されることを報告してきた。また、この膵病変は雄に特異的であり、エストロゲン投与によりその発症が抑制されることが指摘されている。

今回、WBN/KobラットにSMSを膵炎発症前および発症初期に持続的に投与し、膵炎発症におよぼす影響を検討した。

## 【材料および方法】

10週齢の雄WBN/Kobラット（日本SLC）50匹を用い、浸透圧ポンプを用いてSMSを第1群（20匹）は1匹当り6 $\mu$ g/日量を、第2群（20匹）は1匹当り3 $\mu$ g/日量を、第3群（10匹）は浸透圧ポンプに溶媒である生理食塩水を充填し、28日間連続投与した。浸透圧ポンプの設置は麻酔後、背部皮膚を切開し、皮下に埋植した。実験は処置開始から28日後に終了し、屠殺・剖検した。屠殺時には採血後、血糖をグルコスティックス（マイルス三共）で測定するとともに、RIA法にて血中のSMS量を測定した。膵は重量を測定後、10%中性緩衝ホルマリンにて固定し、常法によりパラフィン包埋しH-E染色を施し、病理組織学的に検討した。

## 【結果】

体重は投与開始からほぼ対照群と同様に推移し、28日後の屠殺時には第1群は316g、第2群は320g、第3群は331gとSMSの用量に比例して増加した。膵重量は第1群は1.05 $\pm$ 0.14g、第2群は1.02 $\pm$ 0.16g、第3群は1.09 $\pm$ 0.17gであった。血糖値は第1群は134 $\pm$ 33mg/dl、第2群は155 $\pm$ 26mg/dl、第3群は155 $\pm$ 25mg/dlであり、第1群と第2群の間に有意差が認められた。血中のSMS量は第1群で1277.1 $\pm$ 362.7(pg/dl)、第2群は435.3 $\pm$ 153.6、第3群は検出限界以下であった。病理組織学的に、第3群は広範な出血を伴う膵炎像を示し、実質の萎縮消失、細膵管の増生、炎症性細胞の浸潤が認められた。それに対して第1群および第2群では膵炎像が認められたものの、局所性であり、外分泌腺およびラ氏島の保存が比較的良好に保たれていた。

【まとめ】WBN/Kobラットに合成ソマトスタチンを持続的に投与すると、血糖値の低下、急性膵炎の軽減が認められた。

○野口 修、堤 雅弘、堀口浩資、天沼利宏、長谷川清彦、辻内俊文、小林永策、高島吉治、傳田阿由美、小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

〔はじめに〕薬物の代謝過程のひとつである硫酸抱合には薬物・毒物の解毒、発癌物質の代謝活性化、脂溶性内因物質の極性化、ホルモン産生過程での役割があることが知られているが、発癌物質のニトロサミンは生体内で硫酸抱合によって代謝活性化されることが示唆されている。今回、我々はニトロサミン代謝における硫酸抱合過程がどのような役割を持っているのかをin vivoで調べる目的で、硫酸抱合阻害剤である Pentachlorophenol (PCP)、2,6-dichloro-4-nitrophenol (DCNP)、Dehydroepiandrosterone-sulfate (DHAS)、Adenosine 3',5'-phosphate (PAP)を用い、これらがハムスター膀胱短期発癌モデルにおいて N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine(BOP)のイニシエーションに対してどのような修飾効果を持つかを検索した。

〔材料と方法〕動物は6週齢の雌ハムスターを用い、以下のイニシエーション処置を行った。なお、実験は2回に分けて行った。

実験1. 1群：生食(s.c.) + 溶媒(i.p.)、2群：BOP(70mg/kg;s.c.)、3群：PCP(5 mg/kg;i.p.)、4群：DCNP(8mg/kg;i.p.)、5群：BOP(70mg/kg;s.c.)+PCP(2.5 mg/kg;i.p.)、6群：BOP(70mg/kg;s.c.) +PCP(5mg/kg;i.p.)、7群：BOP(70mg/kg;s.c.)+DCNP(4mg/kg;i.p.)、8群：BOP(70mg/kg;s.c.)+DCNP(8mg/kg;i.p.)  
実験2. 9群：生食(s.c.)+溶媒(i.p.)、10群：BOP(70mg/kg;s.c.)、11群：DHAS(350 mg/kg;i.p.)、12群：PAP(180mg/kg;i.p.)、13群：BOP(70mg/kg;s.c.)+DHAS(175 mg/kg;i.p.)、14群：BOP(70mg/kg;s.c.)+DHAS(350mg/kg;i.p.)、15群：BOP(70 mg/kg;s.c.)+PAP(90mg/kg;i.p.)、16群：BOP(70mg/kg;s.c.)+PAP(180mg/kg;i.p.)  
どちらの実験とも、この処置の11日後よりハムスター膀胱短期発癌モデルに従い、Augmentation pressureの操作を2回行った。動物は実験開始10週後に屠殺し、膀胱の病理組織学的検索を行った。

〔結果と考察〕膀胱癌の発生率は以下の通りであった。

実験1. 1群：0/15 (0%)、2群：3/17 (18%)、3,4群：0/15,14 (0%)、5群：1/15 (7%)、6群：5/16 (31%)、7群：9/17 (53%)、8群：3/11 (27%)

実験2. 9群：0/10 (0%)、10群：8/15 (53%)、11,12群：0/11 (0%)、13群：11/16(69%)、14群：6/15 (40%)、15群：5/16 (31%)、16群：5/14 (36%)

以上のようにDHASあるいはPAPにより膀胱癌の発生が抑制される傾向が観察された。このことより、BOPの硫酸抱合過程にはDHAS、PAPにより阻害される Hydroxysteroid sulfotransferaseが関与していることが示唆され、PCP、DCNPにより阻害されるAryl sulfotransferaseの関与は乏しいものと考えられた。



## 膵発癌物質 4-ヒドロキシアミノキノリン 1-オキド (4-HAQO) を投与したラットにおける膵DNA 中の 8-ヒドロキシグアニン (8-OHG) の誘発

○安藤信明, 中江 大, 水本靖士, 小林永策, 辻内俊文, 吉治仁志, 下地尚史, 小笠原裕之, 丸山博司, 傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

〔緒言〕近年、酸化性ストレスは、発癌の各段階に関与すると指摘されている。酸化性DNA 傷害である8-ヒドロキシグアニン (8-OHG) は、各種の発癌化学物質の投与によりこれらの標的臓器DNA 中に特異的に生成されることが見出され、それらによる発癌機構における酸化性ストレスの関与を示す指標となると共に何らかの本質的な役割を果たすものと指摘されつつある。本研究は、ラットに膵腺房細胞癌を誘発することの知られている4-ヒドロキシアミノキノリン 1-オキド (4-HAQO) を、種々の用量で、ラットに単回経静脈的に投与した後、標的臓器である膵と非標的臓器である肝のDNA 中における8-OHG 量を経時的に測定し、その推移を膵および肝の細胞障害の病理組織学的ならびに血清学的指標の推移と比較検討した。

〔実験材料および方法〕動物は、6 週齢のWistar系雄性ラット 50匹を用いた。第1群は、対照群とし、無処置のラットを5 匹使用した。第2, 3, 4群は、各群15匹とし、4-HAQOを体重 1 kg 当たりそれぞれ 3.5, 7 および14 mg の用量で経静脈的に投与した。ラットは、投与後 6, 24および48時間に各群5 匹を屠殺し、膵・肝を摘出すると共に、血清を採取した。膵・肝は、細胞障害の発生を病理組織学的に検索し、また、DNA を抽出して酵素的水解によりヌクレオチドに調製し、電気化学検出器を接続した高速液体クロマトグラフィーを用い、デオキシグアニン (dG)  $10^5$ 個当たりの8-ヒドロキシグアニン (8-OHG) の生成量を測定した。また、血清は、生化学的にアミラーゼ (AMY), リパーゼ (LIP), グルタミン酸・オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) および グルタミン酸・ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) の活性を測定した。

〔実験結果および考察〕膵DNA 中における8-OHG 量は、第2-4群のいずれにおいても投与後 6時間に有意に増加し、24時間をピークとして 48 時間には無処置対照群の値のレベルに復帰する推移を示し、6 および24時間には4-HAQOの投与量に依存した増加が認められた。一方、肝DNA 中における8-OHG 量は最高用量群である第4群の24および48時間にごく僅かな増加をみるに過ぎなかった。また、AMY 活性は第4群の48時間のみで増加し、LIP 活性は第4群でのみ 24 時間以降顕著な増加が認められた。GOT およびGPT 活性は、いずれの群においても有意な変化は認められなかった。膵の病理組織学的検索結果は、第4群の48時間においてのみ膵腺房細胞の変性・壊死が認められた。一方、肝は、いずれの群においても有意な病理組織学的変化を示さなかった。以上の結果より、4-HAQOは、その用量に依存して膵DNA に特異的に8-OHG を生成し、この8-OHG は、膵における細胞障害の発生とは無関係に生成・修復されることが判明した。

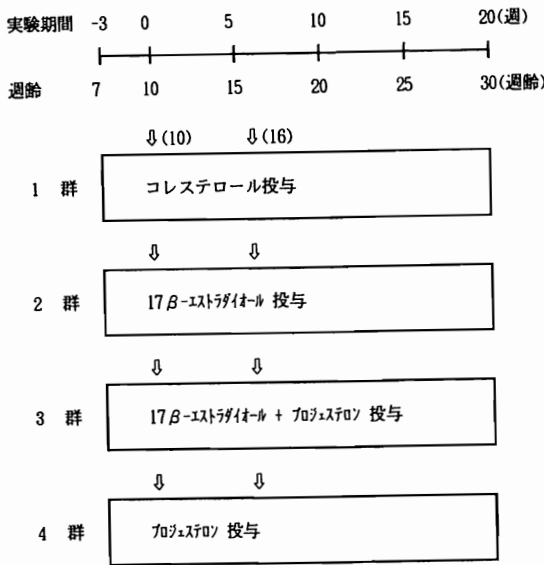
# 17β-エストラジオールによる マウス水腎症

○高橋正一、鈴木謙二、西山 寛、北村 毅、安藤(路)進、前川昭彦：佐々木研・病理

【目的】17β-エストラジオール(E<sub>2</sub>)は、生殖器、肝臓、皮膚等に対し様々な作用を示す事が知られている。今回、E<sub>2</sub>ペレットをマウス皮下に埋没して、E<sub>2</sub>を少量づつ持続的に投与することによって、膀胱の尿貯溜に引き続いて水腎症が発症する事を見出したので報告する。

【材料・方法】動物は雌ICR マウスを用い、7週齢時より24時間室内照明のもとで飼育して持続発情マウスを作成し、性周期

《実験 デザイン》



飼育室は、7週齢より室内照明24時間とし実験を行った。

↓ ペレット皮下埋没

によるホルモンの変動をなくした状態で図(実験デザイン)に示す如く4群を設定し実験を行った。ペレットは、コレステロールをベースに10%E<sub>2</sub>(3.2mg)ペレット、10%E<sub>2</sub>+20%プロジェステロン(PG)(6.4mg)ペレット、20%PGペレットを作成した。10週齢時に持続発情マウスの皮下にペレットを埋没し、6週後にペレットを交換した。ペレット投与後10週目に途中屠殺し、血清中のE<sub>2</sub>及びPGの濃度を測定した。実験は20週で終了、屠殺・剖検し、病理学的検索を行った。

【結果・考察】2群(E<sub>2</sub>投与群)では、ペレット埋没後3週目ごろより膀胱に尿の貯溜する例が見られ、5週目より水腎症による死亡例がではじめた。その後同

様な症状で死亡する例が續発し、最終屠殺までに約70%が死亡した。また、3群(E<sub>2</sub>+PG投与群)でも2群同様に水腎症による死亡例が見られたが、その程度はやや軽く死亡率は50%であった。最終的に2群では生存例も含め全例に膀胱の尿貯溜および水腎症が認められ、病理組織学的には尿道、膀胱粘膜に肥厚などの所見は見られなかった。3群にも全例に同所見が見られたが、1群(対照群)および4群(PG投与群)ではこれらの所見は1例も見られなかった。以上の結果、マウス皮下埋没によりE<sub>2</sub>を持続的に投与することによって膀胱の尿貯溜、それに引き続いて水腎症が発症する事実が判明した。また、この毒性はPGを加える事によって緩和された。

○板垣 慎一・西田 恵津子・土井 邦雄（東大・農）

### 【目的】

ストレプトゾトシン（SZ）投与マウスでは糖尿病とともに腎臓に尿細管を中心とする病変がみられることが知られている（Honjo *et al.*, 1986）。本病変を再現性よく作成する目的で、2系統のマウス雌雄にSZを単回もしくは分割投与し、腎臓を病理学的に検索した。

### 【材料と方法】

8週齢のICRおよびBALB/cマウスの雌雄各30匹を3群に分け、各溶液を以下の要領で腹腔内投与した。

A群：SZ（クエン酸緩衝液に溶解）200mg/kg単回投与

B群：SZ（クエン酸緩衝液に溶解）50mg/kg5日連続投与

C群：クエン酸緩衝液5日連続投与（対照群）

最終投与8週後に全動物を心臓採血により安楽死させ、腎臓を10%緩衝ホルマリンで固定、顕微鏡試料とした。また、血清を用いて血糖値を測定した。

### 【結果と考察】

高血糖症の誘発率はICR雄（A：60%，B：100%），雌（A：100%，B：80%），BALB/c雄（A：40%，B：30%），雌（A：10%，B：0%）で、明らかにICRの方が高かった。

病理組織学的には、腎病変はICR雄A，B群および雌A群で強く、近位尿細管上皮細胞の壊死後の再生像や肥大・巨核化がみられ、一部の遠位尿細管は著しく拡張してその上皮細胞は肥大・重層化していた。また、拡張の著しい嚢胞状を呈するものもみられた。その他の群では、近位尿細管上皮細胞の再生像や巨核化のみが認められた。

遠位尿細管の変化は高血糖症の個体のみで認められ、本病変の形成に持続性の高血糖症の関与が示唆された。一方、近位尿細管上皮細胞の変化は血糖値の変動を示さなかった個体でも観察されており、SZ自体による変化である可能性がある。今回の結果から、ICR雌雄にSZを単回投与するか、ICR雄に分割投与することによって、高度の病変が高頻度に出現することが示された。目下、顕微鏡検索を実施中である。

○小笠原裕之, 塩野泰弘, 村田晃子, 下地尚史, 村上久子, 谷中正男, 大丸香, 岩崎靖子, 高木英利  
(日本レダリー株式会社・生物研究所)

#### 【はじめに】

Nitric oxide (以下NO) は血管や胃腸管等の平滑筋弛緩時のメディエータとして, 白血球の殺細胞作用を担うラジカルとして, また中枢神経系における神経伝達物質として生体内で重要な働きをしていることが近年明らかになっている。NOはその合成酵素により産生されることが知られ, NO合成酵素は上述の細胞・組織の他に, 副腎髄質, 下垂体後葉, 尿路神経等に存在することが免疫組織化学的に証明されている。NO合成酵素阻害剤であるL-アルギニン類似化合物をラットに投与すると血管内皮のNO合成が阻害され, 全身性の血管収縮と血圧上昇を引き起こすが, このNO合成酵素阻害剤投与時の変化を毒性病理学的立場から評価した報告は少ない。そこで今回, NO合成酵素阻害剤であるN<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine-methyl ester (以下L-NAME) をラットに連続静脈内投与し, 昇圧時の腎臓への影響をアンジオテンシン変換酵素 (以下ACE) 阻害剤併用時と合わせて検討し, さらにNO合成酵素が存在する下垂体後葉における変化の有無を検索した。

#### 【実験材料および方法】

6週齢の雄Crj:CD(SD)ラット26匹を用いL-NAME 400mg/kg静脈内投与群, captopril (ACE阻害剤, 以下CP) 200mg/kg経口投与群, L-NAMEおよびCP併用群, 溶媒対照群の4群を設けた。投与期間中には体重, 飲水量, 尿量および尿中NAG量の測定を行い, 10日間連続投与後に麻酔下にて採血, 屠殺, 剖検して腎, 下垂体その他の組織について重量測定後, 光顕および電顕にて病理組織学的に検索した。採取した血液の血液学的検索を行い, 血液化学的に血清中の尿素窒素, クレアチン, ナトリウム, カリウム量を測定をした。またこれらとは別にSDラットを用いてL-NAME 400mg/kg静脈内単回投与後の血圧変化を麻酔下で検討した。

#### 【結果】

体重増加抑制および尿量増加が全ての処置群にみられ, 飲水量増加がCP群およびL-NAME+CP群に認められた。心重量の低値がCP投与群にみられた。尿中NAG量はいずれの群にも変化はなかった。血液中の血小板数の増加がL-NAME+CP群にみられた。血清中の尿素窒素の高値がCP投与群に, アルブミンの低値がL-NAME, L-NAME+CP群に認められたが, ナトリウムやカリウム値の変化はみられなかった。L-NAME投与による血圧上昇率は投与前と比較して投与15分後に90.2%, 3時間後でも83.5%を示した。病理組織学的にL-NAME単独投与群には腎臓の皮髄境界部の近位尿細管上皮に軽度の壊死が散見された。また同部位から皮質上部にわたる多発性の尿細管上皮好塩基性化が全例にみられた。皮質辺縁部にはくさび型を呈するものも存在した。電顕的にL-NAME群の腎糸球体および小血管を観察したが明らかな変化はみられなかった。一方, L-NAME+CP併用群においても電顕的に同様の腎病変が認められたが, L-NAME単独群と比較して発生率は低く, 程度はより軽いものであった。CP投与群の腎臓には1/5例にごく軽度の尿細管上皮好塩基性化がみられたが, 傍糸球体細胞の変化はなかった。下垂体後葉は電顕的観察により, L-NAME投与群に神経終末の分泌顆粒の軽度な減少が認められた。

#### 【考察】

ラットにおいてL-NAMEの連続静脈内投与による腎, 下垂体への影響を検索した。L-NAME投与後に認められた腎尿細管病変は分布, 形態学的特徴およびACE阻害剤で軽減されたことから, 急性的な腎血管収縮による虚血性変化と考えられた。しかしながら慢性の高血圧誘発動物で報告されている糸球体や血管病変あるいは腎機能異常を示唆する変化は今回の実験では認められなかった。L-NAME誘発腎病変がACE阻害剤投与により軽減されたことはL-NAME誘発高血圧にレニン・アンジオテンシン系が少なからず関与していると考えられた。下垂体後葉の神経分泌顆粒の減少は, 尿量増加に伴う生理的な変化と考えられ, 下垂体後葉におけるNOの存在の意義は形態学的に明らかではなかった。

○村上久子, 大村美麻, 竹内哲也, 山口 格, 藤原公策 (日大農獣医, 第2病理)

Diethylene glycol (DEG) による腎毒性は, ヒト・ラットなどで数多く報告されているが, スナネズミ (*Meriones unguiculatas*) での報告はほとんどない。ラットにDEGを投与すると, 血清中の総コレステロール, 中性脂肪, 総タンパクおよび尿素窒素の増加, 腎尿細管上皮細胞の空胞変性および壊死・脱落が起こる。一方, スナネズミは肝臓のコレステロール蓄積および血清総コレステロールがラットより多いことが知られており, この違いがDEGによる腎障害に影響を与える可能性が考えられる。そこで, スナネズミにおけるDEG投与による腎尿細管病変を経時的に検討した。

#### 【材料および方法】

8週齢雄スナネズミ11匹にDEG 7mg/kg/日を経口投与し, 投与後1日に2匹, 2~4日は各3匹を供試した。対照群4匹については, 投与後1~4日に各1匹をエーテル麻酔下で放血屠殺し, 腎臓を採取した。採取した腎臓は光顕用には10%中性緩衝ホルマリン液, 電顕用には1.25%グルタル液で固定後, 標本を作製した。

#### 【成績・考察】

DEG投与後1~4日のいずれの個体にも肉眼的変化はみられなかった。

DEG投与後1日および2日では組織学的変化はなかったが, 電顕的には投与後2日には近位尿細管上皮に空胞が観察され, 一部空胞にはミエリン様構造物がみられた。

投与後3日には, 組織学的に近位尿細管上皮細胞の空胞変性, 一部に核濃縮および尿細管上皮の巣状の脱落が観察された。電顕では, 細胞質は細胞小器官の減少により均一化し, ミトコンドリアは小型化していた。投与後2日と同様, 空胞も観察された。

投与後4日では, 光顕で皮質尿細管上皮の巣状壊死が広範囲に認められ, 電顕では強く障害された尿細管上皮細胞全体に拡張・融合した空胞が充満し, 残存細胞小器官を圧排していた。変化の軽い部位では, やや腫大したミトコンドリアと大小不同の空胞がみられ, 細胞質は均一化していた。基底膜には変化は認められなかった。

以上のように, スナネズミにDEGを経口投与すると, 近位尿細管上皮細胞において細胞小器官数の減少, ミトコンドリアの萎縮, 尿細管上皮細胞の空胞変性および壊死・脱落などラットとほぼ同様の変化が生じ, その障害の程度はラットに比べてやや軽いと思われた。

○三井雅之、古川文夫、篠田和俊、佐藤元信、榎並倫宣、  
西川秋佳、高橋道人  
(国立衛試・病理)

【はじめに】Bisphenol A (BPA) は、既存化学物質 (4-123) の一つで、ポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂などの原料 (単量体) として工業的に用いられている。特に食品の包装材として広く使用されており、樹脂より食品表面に拡散することから、長期曝露による生体に対する安全性が保証されなければならない。

今回、マウスにおけるBPAの13週間経口投与による亜慢性毒性を検討した。

【材料および方法】6週齢のB6C3F<sub>1</sub>マウスを用い、1群雌雄各10匹からなる6群に、各々BPAを4.0、2.0、1.0、0.5、0.2および0%の濃度で粉末飼料に混合し、13週間混餌投与した。全例について一般症状、体重推移、血液学的検査 (白血球百分比を含む)、剖検、臓器重量測定および病理組織学的検査を実施した。また、各群雄5例の肝については、モノクローナル抗体を用いて、PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) の免疫組織化学染色を施し、細胞増殖活性を検索した。

【結果】雌雄とも4.0%および2.0%群で顕著な体重増加抑制がみられ、血液学的検査では0.5%以上の投与群で赤血球系の低下が認められた。また、雄の4.0%群では血小板数の増加、リンパ球比率の減少および好中球比率の増加、赤芽球数の増加がみられた。臓器重量では、4.0および2.0%群で肝重量の増加が、また4.0%群で腎の相対重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、腎尿細管の嚢胞状拡張が雌雄の1.0%以上の投与群で用量依存性に観察され、また雌雄のBPA投与群において、多核肝細胞の出現が認められたが、用量依存性は明らかではなかった。PCNA染色標本の検索では、肝細胞の増殖活性の亢進は認められなかった。

【考察】本試験において肝重量の増加がみられたが、組織学的に明らかな肝細胞腫大は認められなかった。肝細胞多核化については、細胞増殖活性の変動もみられなかったことから、細胞分裂過程における何らかの異常に起因するものと推察された。腎の病変はネフロン単位に発現しており、尿細管遠位部の障害に由来する変化と考えられるが、その発生機序については明らかでなかった。なお、NTPの発がん性試験では陰性であったが、肝については同様の所見が報告されている。しかし、腎の変化の報告はない。

○杉本次郎, 和崎正彦 (三菱化成総合研究所)

代田欣二, 野村靖夫 (麻布大学獣医病理学教室)

最近の糸球体毛細血管壁の物質の濾過に関する研究では, 主に分子の大きさを規制するバリアー (サイズバリアー) とともに糸球体基底膜自体が陰性に荷電していることにより生じる静電的なバリアー (チャージバリアー) の役割が注目されている。

我々はイヌで抗糸球体基底膜腎炎を作成し, 抗血清投与後 8 週までチャージバリアーの変化と蛋白尿の関連を検索した。

抗糸球体基底膜ウサギ血清 (AGBM) および正常ウサギ血清 (NRS) を雄ビーグル犬にそれぞれ体重 1 kg あたり 2 ml, 1 回静脈投与した。投与後 1, 2, 4 および 8 週目にそれぞれのイヌの腎臓について病理学的に検索した。糸球体基底膜 (GBM) の陰性荷電 (AS) の電子顕微鏡学的変化は陽イオンレーサーとしてポリエチレンイミン (PEI, 分子量; 1,800) を使用して観察した。腎臓組織は生検あるいは剖検により採取した。尿検査は抗血清投与前から投与後 8 週目まで実施した。AGBM 投与群のイヌでは重篤あるいは軽微な蛋白尿は静注後 1 日以内に発現し, 2 週目まで持続した。その後, 蛋白尿の程度は徐々に軽減し, 投与後 4 週と 8 週目では AGBM 投与群と NRS 投与群に有意な差は認められなかった。投与後 1 週および 2 週目では AGBM 投与群の GBM の外透明層の 1,000nm あたりの PEI 数は GBM の末梢部, 近位およびパラメサンギウム部の 3 部位のそれぞれにおいて NRS 投与群に比べ減少していた。投与後 1 週目では AGBM 投与群の GBM の末梢部の外透明層の 1,000nm あたりの PEI 数は  $10.5 \pm 1.8$  で, NRS 投与群の同部位の  $14.2 \pm 2.4$  に比べ有意に減少していた ( $P < 0.001$ )。一方, 投与後 4 週目の近位部およびパラメサンギウム部, および静注後 8 週目の GBM の末梢部, 近位およびパラメサンギウム部の 3 部位においては両群の PEI 数に有意な差は認められなかった。免疫組織学的に糸球体のチャージバリアーの主成分であるヘパラン硫酸プロテオグリカンの染色性の程度は投与後 1 週目においても両群に差は認められなかった。蛍光抗体法では投与後 1 週目で, 抗糸球体基底膜抗体であるウサギの IgG は糸球体係締壁に線状に沈着し, 2 週, 4 週, 8 週と経時的に沈着が減少していった。一方, イヌの IgG は投与後 1 週で糸球体係締壁に沈着しており, その程度は軽度であったが, 2 週, 4 週, 8 週と経時的に増強していった。糸球体における組織学的変化は AGBM 投与後 1 から 8 週目まで認められ, その程度は種々であった。

以上のように AGBM 静注群では蛋白尿が認められた時期に GBM の PEI 数, つまり AS の減少がみられること, また, 蛋白尿が改善した時期に一致して GBM の AS は回復していることから, イヌの抗糸球体基底膜腎炎の蛋白尿発現に GBM の AS の変化が深く関与していることが示唆された。

## P-47 ネフローゼ自然発症マウスに及ぼす飼料蛋白含量の影響

黒澤努<sup>1)</sup>、岡本宗裕<sup>1)</sup>、岳秉飛<sup>1)</sup>、辰巳治之<sup>2)</sup>、小倉淳郎<sup>3)</sup>、浅野敏彦<sup>3)</sup>  
(阪大・医<sup>1)</sup>、札医大<sup>2)</sup>、予研・獣医<sup>3)</sup>)

はじめに：ICGNマウスは予研のICRコロニー中に発見され、近交化途上にあるネフローゼの疾患モデル動物である。このマウスは著明なアルブミン尿を伴い、かつ進行性の腎機能障害を呈することを特徴としている。また、最近その遺伝様式の解析によりアルブミン尿の発現は劣性遺伝することが明らかになった。ネフローゼは発症機構が解明されていない難病であり、ICGNマウスの病態解析によりこの病因の解明が期待されている。ネフローゼ症候群の治療の一環として食事蛋白の制限がよく知られている。とくに最近低蛋白食はアルブミン尿を減少させてネフローゼの進展を抑制するとして临床上応用されている。しかしネフローゼにおける蛋白代謝には不明な点も多くモデル動物におけるその解明が期待されている。今回飼料蛋白含量のICGNマウスネフローゼ病態に及ぼす影響について検討した。

材料と方法：実験動物はICGNマウスのホモのオスとヘテロのメスを交配して作成した。アルブミン尿排出を基準としてホモとヘテロを判定し、3週齢で離乳し、同数ずつ用いた。蛋白含量の違う三種の飼料を各群に与えた。中蛋白質飼料は通常のマウス飼育に使われる市販の蛋白質が24.6%のものとした。高蛋白質飼料は蛋白質35.1%、低蛋白質飼料は蛋白質15.1%で同一のカロリーとなるように調整した精製飼料である。これらの飼料を6週間与えた後、腎臓を摘出し、右側腎臓を横断面で腎杯を含むように切断した。固定、パラフィン包埋後、薄切し、H.E及びPAS染色した。観察は光学顕微鏡で行ない糸球体数と尿細管の尿円柱数を計数した。

結果と考察：ホモにおいて糸球体の変性、基底膜の肥厚が見られた。とくに高蛋白群で低蛋白群に比べ糸球体の変性は著しかった。糸球体数では各群間に統計学的に有意な差が見られなかった。ヘテロでは尿円柱を含む尿細管はほとんど見られなかったが、ホモでは多数の尿円柱が観察された。また尿円柱を含む尿細管は各飼料群内で統計学的に有意な差があり、高蛋白群ではより多く、低蛋白群ではより少なかった。ヘテロのマウスでは飼料の蛋白量による腎の異常は認められなかった。以上より高蛋白食はこのネフローゼモデルの腎障害を助長し、低蛋白食は腎障害の進展を抑えるものと考えられた。本ネフローゼマウスはネフローゼの病因解明、とくに食餌中蛋白質のネフローゼに対する影響を検討する上で良いモデルとなることが示唆された。



° 小西 登、林 功、北堀 吉映、日浅義雄 (奈良医大・二病理)

(はじめに)

グリシンは動物性蛋白質中に多く含まれ、呈味作用、制菌作用、キレート作用などを有することから食品添加物として指定をうけている。近年、アミノ酸が食料の構成品として定着しつつあるが、それらの毒性・癌原性についての報告は乏しいのが現状である。今回、ラットを用いたグリシンによる癌原性試験を行ったので報告する。

(材料および方法)

動物：4週齢のF344ラット雌雄各々150匹を日本チャールスリバー社（神奈川）から購入し、1群50匹の実験群2と対照群1を設けた。

試料：グリシンの投与濃度は亜急性試験の結果から5.0および 1.25%とし、飲料水に混入し自由に摂取させた。検体の投与期間は2年間とした。

(結果)

検体摂取量：飲水量は対照群と比べ明らかな差は雌雄ともに認められなかった。

体重：雌雄ともに 5.0%群で全期間を通じ軽度ながら体重増加抑制みられ、最終時には雄で10%、雌で12%の減少が観察された。

尿検査：エームス尿検査試験紙を用いた潜血反応で検体投与の雌雄群で陽性例が多くみられたが、他のウロビリノーゲン、ケトン体、ビリルビン、糖、pHには通常の変動内であった。

病理組織学的所見：有効動物は途中死で腫瘍を有していた71週以降とした。検体投与によると思われる変化は、腎乳頭部のpapillary necrosis、腎盂移行上皮のhyperplasiaおよびpapillomaの発生であった。乳頭部壊死は、雄の5%群で3例、雌で12例、2.5%群では雄で2例、雌で14例に観察された。腎盂移行上皮の乳頭腫の発生は雄5.0%で1例、2.5%で1例、雌では5.0%群で1例、2.5%群で4例に観察された。

(考察)

今回、ラットを用いた長期投与で腎盂移行上皮の過形成ならびに乳頭腫が発生したことは、自然発生では極めてまれな腫瘍であることから、グリシンによる乳頭部壊死に起因する上皮の過形成ならびに乳頭腫の発生の可能性が強く示唆される結果であった。

○常深邦彦<sup>1</sup>、馬場谷勝廣<sup>1</sup>、山口尚子<sup>1</sup>、北川恒代<sup>1</sup>、林 美樹<sup>1</sup>、  
田畑尚一<sup>1</sup>、松木 尚<sup>1</sup>、大園誠一郎<sup>1</sup>、平尾佳彦<sup>1</sup>、岡島英五郎<sup>1</sup>、  
福島昭治<sup>2</sup>（奈良医大・泌尿器<sup>1</sup>、大阪市大・第一病理<sup>2</sup>）

われわれはヒト膀胱癌の実験モデルとして、イヌを用いて発癌の組織発生および進展様式などの検討を進めてきたが、イヌの加齢にともなう膀胱粘膜の変化については報告されていない。今回、加齢ビーグル犬の膀胱粘膜を病理組織学的に観察し、粘膜変化の分類、分布およびそれら変化の性と年齢による相関を検討したので報告する。

【材料および方法】加齢イヌとして8～13歳齢のビーグル犬50頭（雄：8頭、雌：42頭）を、また比較対照群として8および9ヵ月齢のビーグル犬6頭（雄：3頭、雌：3頭）を用いた。これらのビーグル犬はCSKリサーチパーク（株）（諏訪市）で、生後離乳時より屠殺されるまでドッグ・フードのみで飼育されており、生前、膀胱に異常を示す臨床所見は認められず、外科的処置などはまったく施されていないものである。イヌは麻酔-放血-安楽死させた後、開腹し膀胱を全摘出、直ちに10%ホルマリン液を経尿道的に注入して膨らませた後、尿道部を結紮し同固定液に浸漬固定した。固定後、膀胱は「泌尿器科・病理 膀胱癌取り扱い規約」に準じて切開し、組織学的標本のために両尿管口を結ぶ線に平行で約5mm間隔の連続平行剖面切片を作製し、病理組織学的に検索した。なお、粘膜変化の組織学的分類は「Atlas of Tumor Pathology (AFIP)」および「泌尿器科・病理 膀胱癌取り扱い規約」に準じた。

【結果】1. 粘膜上皮の変化は、ブルン細胞巢、扁平上皮化生、リンパ球浸潤、単純性過形成および異型性の5つに分類された。2. ブルン細胞巢は加齢イヌの雌雄全例で膀胱粘膜のどの部位にもみられたが、好発部位は三角部と前壁であった。3. 扁平上皮化生は加齢イヌの雌雄全体50頭のうち23頭(46.0%)にみられたが好発部位はみられず、雌42頭のうち21頭(50.0%)、雄で8頭のうち2頭(25.0%)の発生率であった。また、雌では加齢とともに発生率が増加した。4. リンパ球浸潤は加齢イヌの雌雄全体50頭のうち9頭(18.0%)にみられたが、好発部位および性差は認められなかった。5. 単純性過形成は加齢イヌの雌雄全体50頭のうち41頭(82.0%)にみられたが、好発部位および性差はみられず、雌では加齢とともに発生率が増加した。6. 粘膜上皮の異型性は加齢イヌの雌雄全体50頭のうち14頭(28.0%)にみられ、好発部位および性差はみられなかった。また、雌の8歳齢、11歳齢および雄の13歳齢では認められなかった。7. 弱齢イヌではブルン細胞巢が雌雄各々66.7%にみられ、好発部位は三角部と前壁であった。その他の変化は認められなかった。

【結語】以上、加齢イヌにおける膀胱粘膜の病理組織学的変化についての観察結果は、今後、イヌを用いた実験的膀胱腫瘍の研究の基礎的資料になりうるものとする。

○武貞徳子, 高橋 智, 森 敏男, 萩原昭裕, 広瀬雅雄, 白井智之  
(名古屋市大・医・1病理)

〔目的〕

ラットではUracilを投与することにより膀胱内に結石が誘発され、粘膜に乳頭腫症と呼ばれる増殖性病変が惹起される。しかしUracil投与を中止するとこの乳頭腫症は可逆的に退縮し、最終的には消失することを明らかにしてきた。今回、これらの可逆性増殖性病変ならびにBBN およびUracilで誘発した非可逆性増殖性病変におけるApoptosis について検索し、そのin vivo モデルとしての可能性について検討した。

〔方法〕

動物は80匹の6週齢F344雄ラットを用い2群に分けた。第1群は実験開始時より3% Uracilを8週間混餌投与し、第9週から基礎飼料で25週まで飼育した。この間経時的に8, 9, 10, 11および12週に屠殺剖検した。第2群は実験開始時より0.05% BBN を4週間飲料水投与し、第5週から3% Uracilを8週間混餌投与した。第13週からは基礎飼料で20週まで飼育し、この間12, 13, 14週に屠殺剖検した。1, 2群とも膀胱病変について病理組織学的に検索し、併せてin situ Nick end-labeling 法によりApoptotic bodyの出現率を測定した。

〔結果〕

第1群では8週時点で膀胱上皮は乳頭腫症を呈し、Uracil投与中止と同時に乳頭腫症は急速に退縮していった。この時の膀胱上皮におけるApoptotic bodyの出現数は8週目では100細胞当たり1.8であったのに対し、9, 10, 11, 12週目ではそれぞれ9.6, 8.5, 4.4, 1.0で、乳頭腫症退縮時期に一致してApoptotic bodyの出現が高率にみられた。第2群では12週時点で乳頭腫症とともに腫瘍性病変が混在していた。Uracil投与中止と同時に乳頭腫症は退縮したが腫瘍性病変はほとんど退縮せず存続していた。これらの病変におけるApoptotic bodyを検索すると12, 13, 14週時点の腫瘍性病変周囲の乳頭腫症ではそれぞれ1.4, 9.4, 5.9であったのに対し、腫瘍性病変では2.3, 3.6, 2.7であり、Uracil投与中止によるApoptotic bodyの強い誘発は腫瘍性病変では観察されなかった。

〔考察〕

ラット膀胱上皮における可逆性増殖性病変の退縮過程ではApoptosisが重要な役割を演じているものと考えられ、Uracil誘発膀胱乳頭腫症はApoptosis検索の良いモデルになることが示された。

○岡本新司、平尾佳彦、山口尚子、北川恒代、常深邦彦、林 美樹、  
田畑尚一、松木 尚、百瀬 均、三馬省二、大園誠一郎、岡島英五郎  
(奈良医大・泌尿器科)

【目的】ヒト表在性膀胱癌のモデルであるラット N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) および N-ethyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (EHBN) 膀胱発癌実験系を用いて、経時的に膀胱の病理組織学的検索と同時にFlowcytometry (FCM) による膀胱上皮のDNA ploidyの測定を施行した。

【材料と方法】6週齢の雌性F344ラットを用いた。BBNおよびEHBNは0.05%の濃度で水道水に混じて自由摂取させ、各々実験開始後4週、8週、12週、16週および20週間投与する群を作成し、その後第28週まで観察した。観察期間中、経時的に動物を屠殺し直ちに膀胱を摘出した。摘出膀胱の一部は病理組織学的検索のため10%緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋し組織切片を作製し、病理組織学的検索を行った。また、同群の動物から摘出した膀胱の一部を直ちにリザーバーに接続し1.25%トリプシン (0.05%EDTA含有PBS) を注入した。37℃にて30分間incubationした後、内容液を回収し、FCMでDNA ploidyを測定した。

【結果】BBN投与群ではFCMで4週投与群にaneuploidは出現せず、8週投与群に27%、12週投与群に67%と8週以上投与した群にaneuploidが高い頻度で出現した。しかし、マウスBBN発癌でみられたようなtetraploidは全投与群を通じてみられなかった。病理組織学的検索ではBBN 4週投与群で全期間を通じて11%に、8週投与で47%に、12週投与群ではほぼ全例に腫瘍の発生を認めた。一方、EHBN投与群ではFCMで4週投与群に11%、8週投与群に33%、12週投与群に33%と8週以上投与した群にaneuploidの出現率が増加した。BBN投与群と同様tetraploidは出現しなかった。病理組織学的検索ではEHBN4週投与群で全期間を通じて11%に、8週投与群で73%に、12週投与群ではほぼ全例に腫瘍の発生を認めた。

【結語】本実験より、BBN、EHBN両投与群ともに4週投与群と8週投与群の間において膀胱粘膜のDNA ploidyの大きな変化の生ずることが示唆された。

○田中卓二、森下由紀雄、渡辺知幸、森 秀樹 (岐阜大・医・1病理)

我々はこれまで抗酸化作用を持つ天然物の発癌修飾作用を報告してきた。ビタミンAやその前駆体であるβ-カロテンの発癌抑制作用はよく知られているが、プロビタミンA活性を持たないカロテノイドの中にも発癌抑制作用を持つものがみられる。しかし、β-カロテンを含むカロテノイドの膀胱発癌に対する修飾作用の報告は極めて少ない。最近、プロビタミンA活性のないカロテノイドの一つで甲殻類由来の赤色素であるAXやCXに極めて強い抗酸化作用が見られることが報告された。CXは既に口腔で発癌抑制作用が報告されているが、膀胱発癌ではMathews-Rothらが抑制効果が無いことを報告している (Oncology 48:177-179, 1991)。一方、AXの発癌修飾作用に関する報告はみられない。今回、我々はマウス膀胱発癌に対するAXとCXの修飾効果を比較検討したので報告する。

#### 【材料と方法】

6週齢の雄ICRマウス144匹 (日本SLC) を使用し、6群に分け以下の処置を行った。第1群 (36匹) は250 ppmのOH-BBN (東京化成工業) を飲用水に溶解して20週間投与後、水道水・基礎食CE-2 (日本クレア) で21週間維持した。第2群 (33匹) と第3群 (31匹) はOH-BBN投与後1週間の休養期間をおき、それぞれ50 ppmのAX、CX含有飲用水を20週間投与した。第4群 (14匹) と第5群 (15匹) はそれぞれAX、CXのみの投与群とした。第6群 (15匹) は無処置対照群とした。AX、CXはH. Keller博士 (Hoffmann-La Roche, Basel) より供与されたもので、いずれもDMSOで溶解 (5 mg/0.1 ml DMSO) 後水道水に希釈して投与した。実験期間は41とし、実験終了時に屠殺・剖検後10%ホルマリンで膀胱を含む全臓器を固定、組織学的検索を行ない、膀胱の前癌性病変・腫瘍の発生頻度を測定した。膀胱病変の診断はFukushimaら (Acta Pathol Jpn 32:243-250, 1982) の報告に従った。同時に膀胱の非病変部・病変部におけるAgNORsについて画像解析装置 (IPAP、住友化学工業) を用いて定量を行った。

#### 【結果】

実験期間中AX、CX投与によると考えられる毒性変化はみられなかった。実験終了時の平均体重は第1-6群それぞれ44.4±6.4 g、44.1±5.8 g、44.6±6.3 g、50.4±5.8 g、50.9±4.1 g、53.3±6.5 gで各群間に有意差はなかった。膀胱の過形成、癌 (移行上皮癌ないし扁平上皮癌) の発生頻度はそれぞれ第1群: 20/36 (56%)、15/36 (42%)、第2群: 15/33 (45%)、6/33 (18%)、第3群: 13/31 (42%)、10/31 (32%)で第2、3群いずれも第1群に比し低値であり、第2群の癌の発生頻度は有意に低下していた (P<0.05)。また、第2群の移行上皮癌の発生頻度 (1/33、3%) も第1群 (11/36、31%) に比し有意に低下していた (P<0.003)。第2、3群でみられた各病変及び非病変部のAgNORs数/核も第1群に比し低下していた。

#### 【考察】

以上の結果より、プロビタミンA活性を持たないAXはマウス膀胱発癌を抑制し、その抑制効果には細胞増殖抑制が関与している可能性が示唆された。また、AXの抑制効果はCXよりも強いことが判明した。

○稲田理恵、村越正典、田川正志、堀内敏、久田茂、鈴木稔(帝臓・安全研)、溝上敦(産業医大)、渡辺慶一(東海大)

【目的】新規のステロイド性antiandrogen TZP-4238の下垂体、副腎、前立腺および精巣における作用を形態学的ならびに免疫組織化学的にCMAと比較検討した。

【材料と方法】雄SDラット(6週)を以下の実験群に分けた。

(1)正常無処置群 (2)CMA 50mg/kg 3週間連日経口投与群

(3)TZP-4238 10mg/kg 3週間連日経口投与群。

前立腺腹葉、副腎、精巣および下垂体を摘出、重量測定後、以下の如く処置し検索した。

(A)前立腺：未固定の凍結切片を用いてandrogen receptor(AR)染色

(B)副腎：4% PLP固定後の凍結切片を用いてglutathione-peroxidase(GSH-P0)染色および超微形態学的観察

(C)下垂体：中性緩衝ホルマリウム固定後のパラフィン切片を用いてACTHおよびLHの免疫染色

【結果】前立腺重量は、TZP-4238およびCMA投与後著明に低下し、組織学的にはglandular atrophyを呈するとともに、核ARの減弱ならびに消失を認めた。CMAでは同時に副腎重量の低下も観察され、更に下垂体ACTH陽性細胞の減少も認めた。超微形態学的には、束状層のミトコンドリアcristaeの変化および網状層のミトコンドリア内inclusionの増量を特長的に認め、更に、過酸化脂質の還元酵素であるGSH-P0のミトコンドリア内局在も消失した。一方、TZP-4238投与群では、副腎および下垂体ACTH陽性細胞には著変を認めなかった。また、精巣および下垂体LH陽性細胞には両薬物とも異常を認めなかった。

【考察】TZP-4238の前立腺萎縮作用は、今回の免疫染色からARを介した機構-すなわち、AR antagonistとして作用する可能性を示唆した。CMA投与群では、副腎皮質萎縮も認めしたが、これは下垂体ACTH細胞の機能低下(分泌低下)に伴う変化と解釈された。事実、超微形態学的に観察されたミトコンドリアcristaeの変化およびinclusionの増量は、下垂体摘除等の機能低下状態で観察され<sup>1)</sup>、更に、ACTH-dependentミトコンドリア内GSH-P0<sup>2)</sup>の消失は、当を得た結果と判断された。一方、TZP-4238投与群では、副腎および下垂体ACTH細胞には著変を認めなかった<sup>3)</sup>ことから、TZP-4238は、CMAに比し抗前立腺作用は強く、下垂体-副腎系にはほとんど作用を示さないと評価された。

#### 【参考文献】

1. Murakoshi M, Osamura Y, Watanabe K: Tokai J Exp Clin Med 10: 595-605, 1985.
2. Murakoshi M, Osamura Y, Yoshimura S, Watanabe K: Acta Histochem cytochem 17: 127-137, 1984.
3. Murakoshi M, Tagawa M, Inada R, Shouji M, Suzuki M, Watanabe K: Endocrinol Japon 39: 331-340, 1992.

○村越正典、田川正志、稲田理恵、堀内敏、久田茂、鈴木稔(帝臈・安全研)、溝上敦(産業医大)、渡辺慶一(東海大)

【目的】先に我々は、ヲット前立腺腹葉を対象に、testosteroneとestrogenの同時投与でglandular hyperplasiaを誘発し、その細胞生物学的な特長を主として免疫組織化学的に検討し報告した<sup>1-3)</sup>。今回は、前立腺の背側葉を対象に、性ホルモンの投与後の変化について同様に免疫組織化学的な解析を試みた。

【材料と方法】雄Wistarヲット(200~250g)を以下の実験群に分けた。

(1)正常無処置群 (2)去勢後2日群 (3)去勢2日後testosterone(1mg/head)6週間連日皮下投与群 (4)去勢2日後testosterone(1mg/head)+17 $\beta$ -estradiol (E<sub>2</sub>, 10 $\mu$ g/head)6週間連日皮下投与群。解剖前にBrdU瞬間標識(1hr)を行い、前立腺背側葉を摘出、重量測定後、以下の固定液で処置し各種の免疫染色を施した。

(A)中性緩衝ホルマリウム固定後のパラフィン切片を用いてBrdU染色

(B)4% PLP固定後の凍結切片を用いて過酸化脂質の還元酵素であるglutathione-peroxidase (GSH-P0)染色

(C)未固定の凍結切片を用いてandrogen receptor (AR)染色

【結果】前立腺背側葉重量は、(3)群で増加、(4)群では有意に増加し、更に、(4)群ではBrdU陽性細胞率の増加も認めた。組織学的に(4)群では、腺上皮の過形成と間質(fibro-muscular)の増生を認めた。ARは、(1)群では腺上皮細胞の核に認めたが、(2)群ではほとんど消失した。一方、(3)および(4)群では、腺上皮細胞ならびに平滑筋細胞の核に明瞭にARの局在性を認めた。過酸化脂質の還元酵素であるGSH-P0は、(1)および(2)群ではほとんど認められなかったが、(3)群では、腺上皮細胞内に弱陽性、(4)群では同細胞内に明瞭な局在性を示す様になった。

【考察】前立腺背側葉も腹葉と同様に、testosteroneとE<sub>2</sub>の協調作用で腺上皮細胞の増殖が誘発された結果、BrdU標識率の増加を認めたと解釈された。また、間質の増生は、E<sub>2</sub>の作用と判断された。前立腺腹葉のGSH-P0は、去勢後速やかに消失し、この状態にtestosteroneを投与すると染色性が回復されること、およびARの発現状態と極めて密接に関連していたことからtestosterone-dependentと考えられている。一方、背側葉のGSH-P0は、testosterone投与後に弱陽性、更に、E<sub>2</sub>と同時投与することで明瞭な染色性を認めたことから、背側葉における脂質過酸化および過酸化脂質の生成もE<sub>2</sub>刺激に関連して惹起されると推察された。

#### 【参考文献】

1. Murakoshi M, Inada R, Tagawa M, Suzuki M, Watanabe K: Acta Histochem Cytochem 26: 101-108, 1993.
2. Murakoshi M, Tagawa M, Inada R, Suzuki M, Mizokami A, Watanabe K: Endocrine Journal 40: 479-488, 1993.
3. Murakoshi M, Inada R, Tagawa M, Suzuki M, Mizokami A, Watanabe K: J Toxicol Pathol (In Press)

○西川秋佳、榎並倫宣、古川文夫、三井雅之、今沢孝喜、豊田和弘、高橋道人（国立衛生試験所病理部）

#### 【はじめに】

L-ヒスチジンは、アミノ酸輸血や総合アミノ酸製剤の重要な成分であり、準必須アミノ酸として乳幼児食の強化に使用されている。ラットの腹腔内投与によるLD<sub>50</sub>は23mmol/kgであり、10%添加飼料を経口投与すると8週間にわたって発育の遅滞と死亡率の増加がみられることが報告されている。しかし、より長期の毒性変化については明らかにされていない。今回、F344ラットを用いて、L-ヒスチジン塩酸塩の亜慢性毒性試験を実施した。

#### 【実験材料及び方法】

6週齢のF344ラット雌雄各60匹を6群に分け、それぞれL-ヒスチジン塩酸塩（99.8%）を5%、2.5%、1.25%、0.62%、0.31%及び0%の割合で粉末飼料（CRF-1）に混じり13週間にわたって経口投与した。実験期間中、体重及び摂餌量を週一回測定し、症状の有無を毎日観察した。実験終了時には、全動物をエーテル麻酔下で採血した後、剖検し、主要臓器の重量を測定するとともに10%緩衝ホルマリンにて固定し、病理組織学的に検索した。採取した血液を用いて、血液学的及び血液生化学的検査を実施した。

#### 【結果】

実験期間中、一般状態に著変はなく、死亡した動物はみられなかったが、雄の最高用量群で顕著な体重増加抑制が観察され、実験終了時には対照群に比し有意な抑制を示した。相対臓器重量は、雌雄とも概ね最高用量群の諸臓器で増加し、特に雄の腎重量は用量に相関した有意な増加を示した。血液学的に、L-ヒスチジン投与群で白血球数及び赤血球数の増減がみられたが、投与に伴う一定の傾向はなかった。血液生化学的には、用量にほぼ相関したBUN及びクレアチニンの増加がみられた。組織学的に、最高用量群の10例中5匹（50%）の精巣上体に精子肉芽腫が観察されたが、他の群の動物には認められなかった。腎には、特に雌で散在性の石灰沈着が目立ったが、被験物質の投与とは関連せず、その他に明らかな組織学的変化は認められなかった。

#### 【考察とまとめ】

今回の実験から、L-ヒスチジンは5%の高用量を13週間にわたってラットに混餌投与すると、持続的な体重の増加抑制をきたすとともに、血清BUN値及びクレアチニン値の上昇をきたすことが明らかになった。また、病理組織学的検索により、高用量群において精子肉芽腫が発生することが判明した。これらの変化は常用量をはるかに越えた用量で出現したものであるが、その発生機序にアミノ酸のインバランスが関与しているものと推察された。



○豊沢かおる, 沖本一夫, 安場正子, 深川清二, 中村秀雄 (大日本製薬(株), 開発研)

サル類における卵巣腫瘍の報告は少ない。今回, 我々は成熟奇形腫と絨毛上皮癌を併発したカニクイザルの1例を経験したので報告する。

症例: 当研究所の自家繁殖で生まれたカニクイザルの雌, 剖検時13歳6カ月, 未経産。

臨床: 剖検1カ月前から膈より血様物の流出が認められた。剖検時に行った血液学的検査で赤血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値および血小板数の減少が認められた。同時に行った血液生化学的検査では総蛋白およびアルブミンの減少, GOT, ALP, LDH および TG の増加が認められた。

剖検: 左卵巣には白色硬化部が認められた。

右卵巣と思われる部分 (7×6×6 cm)には白色硬化部, 暗赤色部およびシストが混在していた。

子宮壁は肥厚し, 暗赤色の粘液様物が認められた。

その他, 肝臓, 肺, 横隔膜, 大網および胃の漿膜面に白色あるいは暗赤色の大小多数の結節が認められた。

組織所見: 左卵巣には, 軟骨, 皮膚組織 (角化上皮, 皮脂腺, 毛嚢), 歯および骨のいずれも成熟した組織が認められた。

右卵巣と思われる部分には, cytotrophoblast (栄養芽細胞) および syncytiotrophoblast (合胞体細胞) が不規則, 充実性に並ぶ胞巣を形成し, 著明な破壊性浸潤像および血管内増殖像が認められた。肝臓, 肺, 横隔膜, 大網および胃の漿膜面にみられた結節および子宮にもこれと同様の組織像が認められた。HCG 免疫染色を行ったところ, syncytiotrophoblast が強陽性に染まった。

以上の結果より, 本症例は成熟奇形腫と絨毛上皮癌を併発した非常に稀な1例と考えられた。なお, 成熟奇形腫と絨毛上皮癌を併発したカニクイザルの症例は, 現在まで報告されていない。

○糀谷高敏, 岡崎欣正, 沖本一夫, 安場正子, 中村秀雄 (大日本製薬(株)・開発研)

マウスにおける卵巣腫瘍の発生率は系統により異なるが, 一般的に低いとされている。B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウスにおける卵巣腫瘍の発生率も低く, 特に胚細胞由来の腫瘍の発生は極めて稀である。今回, 我々は B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub> マウスの 2 例の卵巣に胚細胞由来の choriocarcinoma を認めたので報告する。

[材料および検査方法] バリアシステム環境下で飼育され, 毒性試験に供されて 8 週齢時に計画殺 (症例 1) あるいは 67 週齢時に死亡発見 (症例 2) された Crj:B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub> マウス 2 例の卵巣腫瘍を用いた。それぞれの卵巣腫瘍について, 常法に従って組織切片を作製し, H. E. 染色および PAS 染色を施して病理組織学的検査を行った。加えて, パラフィンブロックより作製した組織切片に, ヒト絨毛性ゴナドトロピン (HCG), ヒト胎盤性ラクトゲン (HPL) および pregnancy-specific  $\beta$ -glycoprotein (SP-1) の免疫染色を施して免疫組織化学的検査を行った。免疫染色の対照標本には B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 妊娠マウスの妊娠後期の胎盤を用いた。

[一般状態および剖検所見] 症例 1: 一般状態に異常は認められず, 剖検では左卵巣に約 1 mm 大の暗赤色点が認められたのみであった。症例 2: 一般状態に異常は認められず, 剖検では左卵巣の暗赤色腫大 (血腫状), 胸腺の萎縮, 胸水および腹水の貯留が認められた。

[病理組織学的所見] 症例 1: 腫瘍は左卵巣辺縁部に限局性に存在し, 内部には赤血球と大型の腫瘍細胞が充実に認められた。腫瘍細胞は大型 (大きき約 50~120  $\mu$ m) で, 明瞭な核仁を有する大型・不整な核あるいはヘマトキシリンに濃染する大型・不整な核 (大きき約 20~60  $\mu$ m) とやや好塩基性に染色される豊富な細胞質を持っており, 多核細胞も認められた。腫瘍細胞の細胞質内には PAS 染色陽性の大小様々の顆粒が存在し, 赤血球も認められた。腫瘍による正常な卵巣組織の圧迫は無く, 残存する卵巣組織および右卵巣に異常は認められなかった。症例 2: 腫瘍は血腫状で, 腫大した左卵巣のほとんどを占めて存在していた。腫瘍の内部には赤血球が充満し, 島状にあるいは血腫の辺縁部に付着するように大型の腫瘍細胞が少数認められた。腫瘍細胞は大型 (大きき約 25~60  $\mu$ m) で, 明瞭な核仁を有する大型・不整な核 (大きき約 10~60  $\mu$ m) と好塩基性に染色される豊富な細胞質を持っており, 多核細胞も認められた。一部残存する卵巣組織に軽度な炎症性細胞浸潤が認められたが, 右卵巣には異常は認められなかった。

[免疫組織化学的所見] 症例 1: 腫瘍細胞は HCG に陽性, HPL および SP-1 に弱陽性に染色された。症例 2: 腫瘍細胞は HCG, HPL および SP-1 に弱陽性に染色された。

なお, 対照標本の胎盤の syncytiotrophoblast は HCG に陽性, HPL に陰性, SP-1 に弱陽性に染色された。

[結論] 以上の病理組織学および免疫組織化学的所見より, 本腫瘍は choriocarcinoma と診断された。choriocarcinoma は出血・壊死が顕著な血腫状の腫瘍として認められることが多く, 腫瘍細胞が乏しい場合には診断が困難である。本腫瘍の診断には免疫組織化学的検査が有用と考えられた。症例 1 は偶発的に発見された choriocarcinoma の初期像と推察された。

吉田 明由, 原田 孝則, 真板 敬三 (残農研)

〔目的〕 Ethylenethiourea (ETU) と亜硝酸ナトリウム ( $\text{NaNO}_2$ ) の同時経口投与によって誘発される子宮内膜癌およびその前駆病変の性ホルモンに対する応答性を把握するため、発癌開始時期の動物に progesterone あるいは estrogen を皮下に埋設し、子宮病変への影響を観察した。

〔方法〕 5週齢のICR系雌マウス(Crj:CD-1)にETU(100 mg/kg)と $\text{NaNO}_2$ (70 mg/kg)の混合液を毎週1回、26週間投与した。対照群の動物には蒸留水のみを同様に与えた。試験開始後45週時にOstrander(1985)の法に従ってprogesterone あるいは17 $\beta$ -estradioleを充填したチューブを背部皮下に最長8週間埋設し、これらの動物の子宮を核内エストロゲンレセプターの免疫組織学的染色法を含む病理組織学的検査に供した。

〔結果〕 各群で観察された主な子宮内膜病変の発生頻度を以下に示す。

病変	試験群		III		V	
	性ホルモン		progesterone		17 $\beta$ -estradiole	
	発癌剤投与	無処置	無	有	無	有
検査動物数(計画殺)	10(10)	20(14)	20(18)	20(15)	8(8)	8(6)
内膜腺異型性過形成	0(0)	19(14) <sup>a</sup>	0(0)	11(7) <sup>a,c</sup>	1(1)	8(6) <sup>a</sup>
内膜癌	0(0)	10(8) <sup>a</sup>	0(0)	7(7) <sup>a</sup>	0(0)	4(4) <sup>a</sup>
内膜腺嚢胞状過形成	5(5)	7(3)	4(4)	12(11) <sup>a</sup>	6(6)	7(5) <sup>c</sup>
内膜増殖症	0(0)	1(1)	4(4)	5(4)	7(7) <sup>b</sup>	7(5) <sup>c</sup>
間質ポリープ	3(3)	15(11) <sup>a</sup>	3(3)	14(10) <sup>a</sup>	2(2)	1(1) <sup>c</sup>
血管拡張	0(0)	5(3)	0(0)	6(3) <sup>a</sup>	0(0)	1(0)
血管肉腫	0(0)	3(3)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0)
平滑筋腫/肉腫	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	2(2)

統計検定は総発生頻度について実施

a: 同じ性ホルモン処置群間での有意差 ( $p \leq 0.05$ )

b: I群との比較における有意差 ( $p \leq 0.05$ )

c: II群との比較における有意差 ( $p \leq 0.05$ )

Progesterone 投与の影響として内膜腺異型性過形成の発生頻度が減少し、17 $\beta$ -estradiole 投与の影響として内膜増殖症の発生頻度が増加した。しかしながら、内膜癌の発生頻度には両性ホルモンの投与に起因した有意な増減は認められなかった。

核内エストロゲンレセプターの染色結果は、浸潤性内膜癌ではおおむね陰性であり、ポリープ状内膜癌では陰性部と陽性部が混在した。その他の内膜腺病変では、染色態度にばらつきが認められるものの、陽性と判定された。

〔結論〕 ETU と  $\text{NaNO}_2$  の投与によって誘発されたマウスの子宮内膜癌は、progesterone による抑制効果あるいは17 $\beta$ -estradiole による誘発促進効果を受けなかった。また、浸潤性内膜癌では核内エストロゲンレセプターの欠失あるいは著しい減少が観察された。これらの成績は、本子宮内膜癌が、ヒトにおける非ホルモン応答性の子宮内膜癌に類似する可能性を示唆した。

自然発生Donryuラット子宮内膜腺癌に対するindole-3-carbinolの抑制効果と子宮内膜腺上皮に及ぼす影響

○小島敏弘、田中卓二、森 秀樹(岐阜大・医・1病理)

【目的】Indole-3-carbinol (I3C)は種々の臓器で腫瘍発生抑制効果を有することが知られており、また最近estradiol 2-hydroxylation活性を上昇させ、相対的にestrogen活性を低下させることも報告されている。我々は先にestrogen/progesterone比の上昇により発生すると考えられているDonryuラットの自然発生子宮内膜腺癌に対するI3Cの抑制効果を報告した。今回、I3C混餌投与によるDonryuラット内膜腺上皮増殖能への影響を検討したので報告する。

【材料と方法】6週齢の雌Donryu:HOSラット141匹を4群に分け、以下の処置を行なった。第1群(35匹)：基礎食のみの投与；第2群(35匹)：I3C(200 ppm)を混餌投与；第3群(35匹)：I3C(500 ppm)を混餌投与；第4群(36匹)：I3C(1000 ppm)を混餌投与。実験期間は660日としI3Cは実験開始時から終了時まで投与した。実験終了時に屠殺・剖検後、子宮を含む主要臓器の病理組織学的検索を行ない、同時に各群における子宮内膜腺上皮におけるBrdU標識率を測定し比較検討した。

【結果】第1群の子宮内膜腺癌の発生頻度は37.5%であり第2-4群ではそれぞれ33%, 58%, 62%の減少率であり、第4群では第1群に比し、有意に低下した( $P < 0.05$ )。第1-4群におけるBrdU標識率はそれぞれ7.83%, 8.32%, 7.75%, 7.93%であり、各群間には有意差を認めなかった。

【結語】以上の結果より、I3Cは雌Donryuラットにおける自然発生子宮内膜腺癌を抑制し、特に高濃度投与群(1000 ppm)で抑制作用は著明であった。実験終了時における内膜腺上皮のBrdU標識率とI3Cの抑制効果には相関は認めなかった。

### 3,2'-Dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) 投与ラットにおける包皮腺/陰核腺腫瘍の発生に対する Nalidixic acid (NA) のプロモーション効果

○佐藤 洋、梶村 哲世、高山 敏 (第一製薬・開発研・安全研)

[はじめに] Nalidixic acid (NA) はキノロン系の合成抗菌剤であるが、最近米国 National Toxicology Program (NTP)で実施されたラット癌原性試験において包皮腺/陰核腺のみを標的とする発癌性が認められた。そこで今回、ラット包皮腺/陰核腺をはじめ、小腸、大腸、膀胱、外耳道腺など多臓器に発癌性を示す芳香族アミン 3,2'-Dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB)でイニシエーション処置を行う二段階発癌モデルを用いて包皮腺/陰核腺発癌におけるNAのプロモーション作用を検討した。他に、被験物質として包皮腺/陰核腺をはじめ、皮膚、外耳道腺、小腸、大腸、肝、乳腺、子宮などに発癌性を有する 3,3'-dimethoxybenzidine dihydrochloride (DMB) および、ニューキノロン系合成抗菌剤である Ofloxacin (OFLX) を用いた。

[材料および方法] 6週齢のF344系ラット雌雄各288匹を12群に分け (Table) 以下に示す実験デザインで実施した (Fig.)。1~8群にはイニシエーション処置として1週間に1回 DMABを 50mg/kg b.w.背部皮下に投与した後、10週から26週間 (1~4群) または42週間 (5~8群) 被験物質を投与した。DMAB投与後、2、6、10群には4000ppm NA含有食、3、7、11群には4000ppm OFLX含有食、4、8、12群には330ppm DMB飲料水を投与した。1、5、9群はイニシエーション処置のみの群とした。実験開始後、36または52週目に安楽屠殺し、包皮腺/陰核腺を含む全身臓器を病理組織学的に検索した。

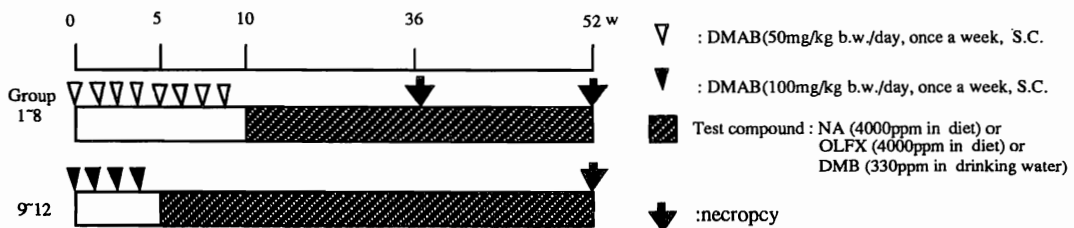


Fig. Experimental design

[結果] 体重増加抑制がNA、OFLXおよびDMB投与群に認められた。生存率の低下はDMB投与群で顕著であった。病理組織学的検査の結果、DMAB 50mg/kg/day 投与36週屠殺群 (1~4群) では2群の腺腫および腺腫+腺癌、4群の腺腫+腺癌が対照の1群と比較して有意な増加を示し、陰核腺では2群の腺腫および腺腫+腺癌、4群の腺腫および腺腫+腺癌が対照群に比して有意な増加を示した。DMAB 50mg/kg/day 投与52週屠殺群 (5~8群) の包皮腺では6群の腺腫および8群の腺腫が、陰核腺では6群の腺腫が対照群 (5群) に比して有意な増加を示した。DMAB 100mg/kg/day投与52週屠殺群 (9~12群) の包皮腺では10群の腺腫および腺腫+腺癌、陰核腺では12群の腺癌が対照群 (9群) に比して有意な増加を示した。包皮腺/陰核腺の他、外耳道腺、乳腺、子宮および大腸に腫瘍の誘発が認められた。

[まとめ]

以上の結果、本モデルではNAおよびDMBはラット包皮腺/陰核腺発癌に対しプロモーション作用を示し、NAの類縁化合物であるOFLXは示さないものと結論された。

Table Incidence of preputial gland tumors in male rats treated with DMAB following test compounds

Group	Study week	Treatment		Effective No. of rats	No. and incidence (%) of rats with preputial gland tumors		
		DMAB (mg/kg)	Test compound		Adenoma	Adenocarcinoma	Adenoma+Adenocarcinoma
1		-	-	23	2(9)	0(0)	2(9)
2	36	50	NA	22	8(36) <sup>a</sup>	0(0)	8(36) <sup>a</sup>
3			OFLX	22	3(14)	0(0)	3(14)
4			DMB	23	6(26)	2(9)	8(35) <sup>a</sup>
5			-	23	0(0)	5(22)	5(22)
6	52	50	NA	23	7(30) <sup>c</sup>	6(26)	13(57) <sup>b</sup>
7			OFLX	24	2(8)	1(4)	3(13)
8			DMB	21	6(29) <sup>c</sup>	4(19)	10(48)
9			-	20	1(5)	2(10)	3(15)
10	52	100	NA	23	6(26)	5(22)	11(48) <sup>d</sup>
11			OFLX	21	4(19)	3(14)	7(33)
12			DMB	17	4(23)	2(12)	6(35)

a: Significant difference from group 1(p<0.05). b: Significant difference from group 5(p<0.05). c: Significant difference from group 5(p<0.01). d: Significant difference from group 9(p<0.05).

F344ラットにおける  
下垂体後葉の加齢性変化

○阿瀬善也<sup>1</sup>, 三森国敏<sup>1</sup>, 成田牧子<sup>2</sup>, 今沢孝喜<sup>1</sup>, 高橋道人<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>国立衛試・病理部, <sup>2</sup>小野薬品工業・福井安全研)

はじめに：F344ラットは発癌性試験の試験系として多用されており、本系統の自然発生性病変に関する背景データが蓄積されてきている。しかし、下垂体後葉(神経葉)に関する情報は殆どない。今回、我々はバリアシステム内で飼育したF344ラットの下垂体後葉を110週齢まで経時的に観察した結果、軸索および神経終末部に加齢性の変性変化を認めたので報告する。

方法：バリアシステム内で無処置のまま飼育したF344/DuCrjラットを雌雄各12(3例), 24(3例), 48(3例), 72(4例), 96(10例), 110(雄3例)週齢で屠殺し、下垂体後葉を2.5%グルタルアルデヒド、1%四酸化オスミウムにて二重固定後、常法に従ってエポン包埋し、超薄切片を酢酸ウラン・硝酸鉛で二重染色して透過電顕(JEM-100S, 日本電子)にて観察した。バリアシステム内の環境は温度 $25 \pm 1$ ℃、湿度 $50 \pm 5\%$ および12時間照明で、動物を4または5匹ずつ床敷き入りのポリカーボネート製ケージに収容し、飼料(CRF-1, オリエンタル酵母)および水道水を自由摂取させた。

結果：12および24週齢では雌雄とも著変は認められず、神経終末部や軸索内の分泌顆粒は大きさが均一で、間質は血管周囲を除いて殆ど目立たなかった。48週齢以降では雌雄とも軸索や軸索膨大部が腫脹し、血管周囲の間質が著明に拡張していた。また、間質での膠原線維の増加も認められた。軸索内では空胞の形成、分泌顆粒の大小不同、ミトコンドリアの変性、ライソゾームおよびミエリン小体が認められた。一部の軸索膨大部では神経細線維やミエリン小体の著しい蓄積が認められ、分泌顆粒の減少を示す軸索も散見された。これらの変化は雌雄とも加齢に伴って強くなる傾向が認められた。

まとめ：48週齢以降で認められた軸索および神経終末部の変性変化は、老齡ラットの延髄背索核や自律神経節の節前線維終末にみられる軸索ジストロフィーに類似しており、下垂体後葉においても同様の変化が加齢によって発生することが明かとなった。

○堀内敏, 磯部充威, 佐藤敦子, 小川哲郎, 村越正典, 久田茂, 稲田理恵, 田川正志, 鈴木稔(帝国臓器製薬・安全研), 小林靖夫(岡山大・理学部)

嚙歯類の下垂体中葉は、ストレス、Na欠乏食投与およびド- $\beta$ -MSH受容体拮抗薬投与などにより刺激されることが報告されている。我々は、合成サケカルシトニン(sCT)を投与したラットで認められる下垂体中葉の肥大について検討し、それが中葉機能の亢進によることを前回の本学会において報告した。今回は、その作用機序解明の一環として、sCTのNa利尿作用と中葉肥大の関連について検討した結果について報告する。

#### 【材料と方法】

6週齢の雄SD系ラットを用い以下の実験を行った。

実験1：sCT120IU/kgを1回皮下投与し、血液中Na、アルドステロンおよび $\alpha$ MSH濃度、尿中Na濃度について経時的に測定した。

実験2：sCT 2, 20および120IU/kg/dayを3日間投与し、屠殺前の72時間にわたりミニホップを用いてbromodeoxyuridine(BrdU)で連続標識した。BrdUの免疫組織化学的染色により中葉細胞の増殖性について調べた。

#### 【結果と考察】

実験1ではsCT投与により、投与後2時間をピークとする尿中Na排泄の亢進が観察された。血中Na濃度は、2時間後より8時間をピークとする低下を認め、血中アルドステロン濃度はこれとは逆に上昇した。血中 $\alpha$ MSH濃度は12時間以降に上昇を認めた。

実験2ではsCTの用量に依存した中葉細胞のBrdU標識率の増加を認め、中葉機能の亢進と細胞増殖性が相関することが確認された。現在、中葉の増殖性を指標として、Naを負荷した時のsCTの作用について検討中である。

以上の結果より、sCT投与後の血中Naおよびアルドステロン濃度の変化はNa欠乏食投与の場合と類似していることが示された。さらに、アルドステロンの分泌あるいは生合成に中葉が関与している事が知られていることから、sCT投与によるラット下垂体中葉の肥大は、sCTによるNa利尿作用と関連する可能性が示唆された。

Spironolactoneの甲状腺発がんプロモーション作用の用量相関と  
甲状腺および肝臓の機能的変化の関連性

○ 務台 衛, 小林 潔, 小島 隆\*, 藤田重晴, 田中啓介, 杉本次郎  
(三菱化成総研・病理, 札幌医大・がん研究所\*)

ラット甲状腺2段階発がんモデルを用いて, 肝臓におけるT4の代謝亢進に基づいて, 甲状腺発がんプロモーション作用を示す, Spironolactone (SPL) の甲状腺に対する発がん性について, その用量相関性と無作用量レベルを検討した. さらに, 同じ用量で行った反復投与試験や発がん性試験の甲状腺の病理学的変化, および肝臓のT4代謝に関わる酵素であるUDP-glucuronyltransferase (UDP-GT) 活性について比較・検討した. SPLの比較対照物質として, 同様の機序による甲状腺発がんプロモーション作用が知られているPhenobarbital Na (PB) を用いた.

【方法】 実験Ⅰ…動物は, 6週齢のF344雄ラット135匹を用いた. 処置群(15匹/群)には, 2,2'-dihydroxy-di-n-propylnitrosamine (DHPN) を200mg/kg/dayの用量で5日間投与し, その後11週間にわたり, PB 500ppm, SPL 200, 600および2000ppmの用量で投与した. 対照として処置群のみの群を設けた. また, 同様の群構成で, DHPN処置を行わない群(12匹/群)も設けた. 実験4週終了後, DHPN非処置群の各群6匹を, 同12週終了後, 残りの全動物を屠殺し, 肝臓のUDP-GT活性, 甲状腺の病理組織学的な検討を行った.

実験Ⅱ…6週齢のF344雄ラット96匹を無処置対照, PB 500ppm, SPL 670および2000ppm投与群の4群に分け, 104週の発がん性試験を行った.

【結果・考察】 実験ⅠのDHPN処置群(下左表)では, SPLの前がん性病変(のう胞状過形成)および腺腫/癌の発生には用量相関性が認められ, 甲状腺発がんプロモーション作用の無作用量レベルは200ppmと考えられた. 実験Ⅱ(下右表)では腫瘍性病変は2000ppm群のみに観察されたが, 670ppm群でも前がん性病変であるのう胞状過形成が見られた. したがって, 実験Ⅰにおけるプロモーション作用の無作用量レベルは, 長期試験の結果に対応するものと考えられた. 実験ⅠのDHPN非処置群の4週および12週時の検索では, SPLにおいて, 甲状腺ろ胞上皮の機能亢進像および肝臓におけるUDP-GTの活性亢進が, 低用量より用量相関的に観察された. PB 500ppmでは, 実験Ⅰ・Ⅱとも, SPL 600ppmレベルと同等の諸変化がみられた. これらの結果より, SPLおよびPBによるT4の代謝亢進と甲状腺ろ胞上皮の機能亢進が, 持続的かつ過剰に起こった場合, 腫瘍発生に至ることがあらためて示唆された. また, 発がんプロモーション作用の検索と予想される発がん機序に関わる諸変化の測定を同一の実験系で行うことにより, メカニズムの解明を含めた安全性評価が比較的簡便に行えると考えられた.

実験Ⅰ：甲状腺の病理変化(第12週時)

DHPN処置	有効動物数	のう胞状過形成	腺腫/癌
Control	14	2	0
SPL 200ppm	15	5	0
SPL 600ppm	15	15	1
SPL 2000ppm	15	15	5
PB 500ppm	15	14	3

実験Ⅱ：甲状腺の病理変化

	有効動物数	のう胞状過形成	腺腫/癌
Control	23	1	0
SPL 670ppm	21	6	0
SPL 2000ppm	24	15	10
PB 500ppm	24	14	0



○森下克美<sup>1</sup>、北浦敬介<sup>1</sup>、神辺敏実<sup>1</sup>、野村岳之<sup>2</sup>、森田晴夫<sup>2</sup>  
小泉治子<sup>2</sup>（<sup>1</sup> 大塚製薬・徳島研究所、<sup>2</sup> 前臨床医学研究所）

【はじめに】カルシウム拮抗薬は細胞の膜電位に依存したカルシウムチャンネルをブロックし、カルシウムイオンの細胞内流入を抑制する。その作用として血管拡張、心筋収縮力の抑制、洞機能・房室伝導系の抑制を示し、高血圧、狭心症等の治療薬として用いられている。カルシウム拮抗薬は構造的に主にジヒドロピリジン系、フェニルアルキルアミン系およびベンゾジアゼピン系の3つに分類される。我々は、特に末梢血管拡張作用が強いとされているジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬である OPC-13340 およびニカルジピンを用い、イヌに反復経口投与した際の副腎皮質に及ぼす影響を内分泌学的ならびに組織学的に検討した。

【材料および方法】7カ月齢の雌雄ビーグル犬を3群に分け、1群雌雄各4～6頭とした。OPC-13340 の 25mg/kg を投与した群、ニカルジピン（塩酸ニカルジピン、ペルジピン散）の 25mg/kg を投与した群、空カプセルを投与した対照群を設けた。投与期間は13週間とし、その後、13ないし26週間の回復期間を設けた。実験期間中、心拍数ならびに投与6時間後の血中アドレナリン濃度、ノルアドレナリン濃度、レニン活性およびアルドステロン濃度を測定した。投与期間および回復期間終了時に動物を屠殺して副腎重量を測定し、ホルマリン固定後、パラフィン包埋切片を作製、H-E 染色を施して鏡検した。

【結果】投与期間中、耳介および腹部の皮膚・口腔粘膜の発赤が OPC-13340 およびニカルジピン群で観察された。ニカルジピン群の雄1例、雌2例が投与初期に死亡あるいは切迫屠殺された。心拍数は、薬物投与2時間後に著しい増加が認められた。血中ホルモンレベルは、OPC-13340 およびニカルジピン群ともに、投与期間中ノルアドレナリン濃度、レニン活性およびアルドステロン濃度の著しい上昇が認められた。アドレナリン濃度には明らかな変化はみられなかった。副腎重量は OPC-13340 およびニカルジピン群ともに対照群に比べて増加した。組織学的には両薬物投与群で副腎皮質球状帯の肥大が認められた。回復期間中は、血中ホルモンレベルに変化はみられず、副腎皮質球状帯の肥大は回復ないし回復傾向を示した。

【結論】ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬である OPC-13340 およびニカルジピンをイヌに13週間経口投与すると、副腎皮質球状帯の肥大が認められた。薬物投与後に血圧低下に対する反射性のもと思われる心拍数の増加が認められ、さらに血中ノルアドレナリン濃度、レニン活性およびアルドステロン濃度の上昇がみられた。これらのことから、副腎皮質球状帯の肥大は、薬物の血管拡張作用による過剰な血圧低下に対する反射性の交感神経興奮、レニン分泌亢進、それに伴うアルドステロンの分泌亢進が長期にわたり持続した結果の機能亢進像であると推察された。また、これらの変化は可逆性であることが示された。

○柿沼千早、足立知登世、下井昭仁、渡辺満利  
(持田製薬・安全性研究所)

コモン・マーモセットにおいて、副腎および肝臓に同時に発生した myelolipoma が認められた。

《はじめに》 myelolipoma は adrenal myelolipoma および extra-adrenal myelolipoma に大別され良性の腫瘍として認識されている。adrenal myelolipoma の報告に比して extra-adrenal myelolipoma の報告はヒト・動物を通じて少ない。また、多発性の myelolipoma についてはヒトでは報告はなく、動物の肝臓における報告が数例あるのみで、さらに、複数の臓器における同時発生は、wild felidae で 1 例 (肝臓・脾臓) あるのみである。いずれの報告においても myelolipoma の悪性腫瘍的所見の記載はない。尚、悪性腫瘍としては myeloliposarcoma の報告が 1 例あるが、これは構成成分の脂肪細胞が悪性の形態を取ったものである。

《症例》 動物は温度  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 15\%$ 、照明 12hr で個別飼育、制限給餌 (マーモセット用飼料、オリエンタル酵母 (株) 製) で飼育された 2.7 歳のコモン・マーモセット (雌) で、自然流産後、運動量減少、食欲不振が観察され切迫屠殺された。

《組織所見》 副腎の myelolipoma は、豊富な脂肪織中に造血細胞と副腎皮質細胞が混在し副腎皮質中に限局するものの、被膜による被覆はみられなかった。肝臓の myelolipoma は多発性で種々の大きさの nodule より構成されており、一部の nodule には被膜形成、骨芽細胞を伴う骨組織片が確認された。特記すべき点として、腫瘍細胞の周囲肝組織への浸潤像が観察された。周囲肝組織の類洞中には骨髓芽球、赤芽球、巨核球等の造血細胞が単独あるいは集簇して観察された。肺では肺胞および肺胞壁に裸核化した巨核球が目立った。

《考察》 本報告は、ヒトおよび動物を含めて副腎および肝臓に myelolipoma が同時発生したものとしては初めての報告である。さらに、肝臓における myelolipoma nodule 内の骨組織は myelolipoma が迷芽を母地として発生する可能性を示唆し、また、細胞形態的には良性の構成成分である造血細胞の浸潤像は myelolipoma の悪性腫瘍的側面を示唆するものと考えられる。

○大石裕司<sup>1</sup>、義澤克彦<sup>1</sup>、松本正博<sup>1</sup>、鈴木淳也<sup>1</sup>、牧野奈津代<sup>1</sup>、藤平司郎<sup>1</sup>、  
長谷喜久美<sup>2</sup>、山内研司<sup>2</sup> (藤沢薬品 安全研、病理<sup>1</sup>・一般毒性<sup>2</sup>)

### 緒言

一般に、乳腺腫瘍は種々の系統の老齢ラットに最も多く自然発生する腫瘍の一つであり、若齢ラットにおいても、7,12-dimethylbenz[a]anthracene(DMBA)やN-methyl-N-nitrosourea(MNU)などの発癌剤により容易に誘発できることが知られている。しかし、自然発生例は老齢ラットに限られ、通常1年以上の老齢ラットに皮下の腫瘤として観察される。今回、我々は10週齢という極めて若齢のSprague-Dawley系雌ラットに自然発生乳腺腺癌を見出したので報告する。

### 症例

症例は、ある新薬の反復毒性試験に用いたS D系(Jcl: Sprague-Dawley)ラットの雌の対照群の1例である。飼育環境は人工環境のSPFバリアー室内で飼料(CE-2, 日本クレア)と飲水は自由摂取させた。6週齢より試験に用いたが、10週齢の時点で右下腹部の第5乳頭付近の皮下に小豆大の可動性の腫瘤が認められ、次第に大きくなり計画屠殺時の24週齢時点では20x35x45mmの大きさであった。本例に腫瘤を有していた以外、一般状態・体重等になんら異常所見は見られなかった。剖検において、腫瘤は灰白色～乳白色の多発結節状で、周囲組織との剥離は容易であった。10%中性緩衝ホルマリンにて固定後、常法の如くパラフィン切片として病理組織学的検索を実施した。なお、下垂体や卵巣を含む他の臓器組織に異常は無く、また、本腫瘍の転移も認められなかった。

### 組織所見

腫瘍は、一層あるいは重層化した上皮により形成された多彩な腺構造、すなわち、大小の腺腔形成、乳頭状～乳頭腺管状構造、あるいは篩状構造から成り、腺腔内には乳汁と思われる弱好酸性の分泌液の貯留が認められた。間質の線維成分は乏しく、被膜様にそれぞれの腫瘍構造を分限し、多結節状構造を形成していた。腫瘍細胞は比較的均一な類円形の核を有し、その細胞質は乏しいものが多く、細胞境界も明瞭ではなかった。分裂像は比較的豊富に散見された。一部では、明かな腫瘍細胞が腺構造から連続性に紡錘細胞に移行し、肉腫様構造を形成していた。

### 結論および考察

本腫瘍は上記の特徴的な所見から、乳腺原発の腺癌と診断した。本腫瘍は、10週齢という極めて若齢のラットに発生したが、その組織像は一般に種々の系統のラットで報告されている老齢ラットの自然発生乳癌と類似したもので、特に明確な差は認められなかった。我々の文献検索した範囲では、このような若齢処女ラットに乳癌の自然発生例の報告は無く、本例がはじめての報告であろう。また、10週齢のラットにも自然発生の乳腺腺癌が発生し得るという事実は、毒性試験実施上の貴重な情報の一つと思われた。

岡崎啓幸<sup>1,2)</sup>, 大町勝美<sup>1,2)</sup>, 李建中<sup>1,2)</sup>, 尾根田暁<sup>1,2)</sup>, 永田良一<sup>1,2)</sup>, 吉田浩己<sup>1)</sup>  
 (1: 鹿大一病理, 2: 新日本科学)

<緒言>

ヒトにおいて妊娠と授乳が乳癌の発生に影響を与えることはよく知られている。本研究はこの作用機序を明かにするために近交系雌ラットに、それらと類似のホルモン環境を作出し、7, 12-Dimethyl benz(a) anthracene (DMBA) による乳癌の発生を観察し、これらの作用機序を検討した。

<材料および方法>

Sprague-Dawley (SD) 近交系雌ラットに生後4週より2週間間隔で3回、DMBA (10 mg/body) を経口投与した。3回目の投与2週後、4群に群分けし、I群は溶媒投与群、II群は卵巣摘出+溶媒投与群、III群はEstrogen 1 mg 投与群、IV群はProgesteron 4 mg 投与群とした。ホルモンと溶媒は、5週間(週3回)、筋肉内投与した。その間、全てのラットは触診と体重測定を週2回行った。投与35日後に屠殺し、乳癌、下垂体、副腎および卵巣の重量を測定し、乳癌は卵巣摘出雌ラットに移植し、ホルモン依存性か否かを確認した。

<結果と考察>

腫瘍の発生率はIからIV群のいずれも高く、群間に有意差が認められなかった。総腫瘍数はI群に比較してIII群で中程度に、II群で高度に低値であった。1匹当たりの腫瘍数でも同様の傾向を示した。IV群とI群では有意差は認められなかった。乳癌の触知までの期間はII群で延長がみられたが、他の3群では同程度であった。移植実験の結果、ホルモン非依存性腫瘍の発生率はI群に比し、II群で高く、III群ではやや低い値を示した。IV群はほぼ同様の値であった。重量ではIII群で下垂体重量が増加し、副腎および卵巣重量が有意に減少した。

以上の結果より、Progesteron 投与ではDMBA誘発乳癌細胞の増殖の抑制は認められなかったが、Estrogen 大量投与群では有意な抑制が認められた。従って、本研究は授乳が、ヒト乳癌の抑制因子である可能性を強く示唆した。現在、この抑制機序を解明するために、大量Estrogenの乳癌細胞へのApoptosis効果を検索中で、その成績も合わせて報告する。

Group	No. of Rats	No. of Rats with tumors	No. of tumors	Tumors/Rat	Latent period
I	9	9 (100 %)	95	10.6 / Rat	19.1 ± 8.8
II	8	8 (100 %)	18	2.3 / Rat **	23.6 ± 9.3
III	8	8 (100 %)	41	5.1 / Rat *	18.6 ± 10.0
IV	6	6 (100 %)	77	12.8 / Rat	17.8 ± 7.6

Significantly different from Group I, \* P<0.05, \*\* P<0.01.

○岡本太郎, 山口一夫, 山田和正, 渡辺敦光, 伊藤明弘 (広大・原医研・癌)

レチノ酸誘導体であるレチノ酸(RA)は細胞の分化と増殖に関与し、さまざまな腫瘍の増殖を抑制または遅延させる。これまでにN-methyl-N-nitrosourea(MNU)により誘発されたマウスの乳腺腫瘍に対して、RAの腫瘍発生および増殖の抑制効果を病理組織学的に検討してきたので報告する。使用した動物は全てSDマウス(メス)で、7週令でMNU40mg/kg(i.v.) (実験②では8週令でMNUを追加)を施行した。実験①では、RA10mg/kg(p.o.)による乳腺腫瘍発生の抑制効果(予防効果)について検討した。Group1はMNUのみ, Group2はMNU+RA(同時投与), Group3はMNU+RA(後期投与:25週令以降投与), Group4はRAのみ, Group5はMNU+E2, Group6はMNU+E2+RA, Group7はE2のみ(E2はエストロゲン $1.25\mu\text{g}$ を背部皮下に埋没)。結果として、RA10mg/kgではMNUとの同時投与では腫瘍発生を抑制したが腫瘍増殖は抑制しなかった。後期投与では腫瘍発生も抑制されなかった。そこで、RAの投与量を増加させ、実験②では、RA50mg/kg(p.o.)とRA200mg/kg(p.o.)により発生した乳腺腫瘍に対する増殖抑制効果(治療効果)について抗エストロゲン剤であるTAMや卵巣摘出(ovx.)と比較検討した。Group1はMNUのみ, Group2はMNU+RA50mg/kg, Group3はMNU+RA200mg/kg, Group4はMNU+TAM, Group5はMNU+E2, Group6はMNU+ovx. (TAMはタモキシフェン $5\text{mg}$ を背部皮下に埋没)。結果として、RA50mg/kg, RA200mg/kg, TAM, ovx. によりMNUで誘発された乳腺腫瘍の増殖を抑制した。RA50mg/kgとRA200mg/kgでは明かな容量依存性は示されなかった。縮小した乳腺腫瘍の組織像ではRA50mg/kg, TAM, ovx. では間質の増生が主体であるのに対して、RA200mg/kgでは細胞変性を認めた。また、普通食含有レチノ酸の約100倍量にあたるRA200mg/kgでは著しい体重減少を認めるなど、治療効果としては限界である。また、実験①, ②を通じて細胞増殖の指標であるproliferating cell nuclear antigen(PCNA)のlabeling indexではRA投与群は何れもcontrol群に比べて低下していた。以上より、RAは投与量に関わらず、個々の細胞レベルでは細胞増殖を抑制する。その投与量としては、予防的投与では10mg/kgでよいが、発生した腫瘍に対しては増殖を抑制し得ない。また、治療的投与では50~200mg/kgの間で、組織学的には細胞変性を伴う200mg/kgと考えるべきだが、毒性を考慮すると、今後TAMとの相乗・相加効果による投与量の減量が期待される。

○鈴木雅実, 堤紀美子, 坂牧義之, 杉本哲朗, 鈴木繁生, 二木力夫  
(中外製薬・安全研)

骨の毒性変化では、骨組織の変化に加え、骨芽細胞、破骨細胞、間葉系細胞など細胞成分の増殖がしばしば観察される。骨組織については形態計測によりその動態が詳細に検討されているが、骨動態に深く関連する細胞の状態を把握することも毒性評価のために必要と考えられる。そこで今回、骨構成細胞の増殖動態に注目し、5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)を用いた解析法の硬組織脱灰標本への応用を試みるとともに、背景データを得るために成長期の正常動物について増殖動態を観察した。

【材料および方法】6週齢のSD系雄性ラットに、BrdUを瞬間ならびに連続標識した。瞬間標識は、BrdU(10mM)ならびに5-fluoro-2'-deoxyuridine(1mM)を含む標識試薬(Amersham社)を10ml/kg静脈内投与し、投与2時間後に剖検した。連続標識は、alzet浸透圧ポンプ(Model 2001;1 $\mu$ l/hr at 37°C)にBrdU(120mg/ml)を充填した後、腹腔内に各個体2本のポンプを埋め込み、2,4ならびに7日間標識し剖検した。剖検時に、大腿骨ならびに空腸を採取し、20%中性緩衝ホルマリン液による浸漬固定を24時間、EDTAによる脱灰を14日間施した後、常法によりパラフィン切片を作製した。標識されたBrdUは、酵素抗体間接法により免疫組織学的に染色した。

【結果および考察】骨組織での検討に先だち、EDTA脱灰のBrdU免疫組織学的染色への影響を明らかにするために、定型的な細胞再生のある空腸を対象組織として検討した結果、非脱灰ならびに脱灰標本ともに同様の染色結果が得られ、EDTA脱灰標本においてもBrdU免疫組織学的染色が可能であると判断された。

骨構成細胞の染色態度については、瞬間標識で、骨幹端の一次海綿質層において成長軟骨層からの移行部に近接し、円形～類円形の比較的大型の核を有する細胞に陽性反応が認められた。連続標識では、骨幹端の一次海綿質層で骨梁に接する骨芽細胞の多くが陽性反応を示し、陽性細胞の分布は標識日数が長くなるにつれ二次海綿質層にまで拡大していった。また、連続標識では、核近傍の明瞭なゴルジ野など形成期の特徴を有する骨芽細胞や、骨組織に囲まれた骨芽細胞ならびに骨細胞など成熟した細胞にも陽性反応が認められた。なお、観察した範囲で破骨細胞や骨幹の骨表面を覆う扁平細胞様に配列した骨芽細胞(lining cell)に陽性反応は認められなかった。

以上、BrdUを用いた増殖動態解析法は硬組織脱灰標本への応用が可能であり、また、瞬間ならびに連続標識を用いることにより増殖細胞と増殖部位の同定ならびに増殖した細胞の動向などの把握が可能であることから、今後、細胞増殖の側面からの骨障害の検出あるいは解析への応用が期待できるものと考えられた。

○豊岡正好<sup>1</sup>, 倉田祥正<sup>2</sup>, 牧之段太志<sup>2</sup>, 荒井安洋<sup>1</sup>, 神原由季<sup>1</sup>, 伊藤博子<sup>1</sup>, 佐野文子<sup>1</sup>,  
金田菜穂子<sup>3</sup>, 佐藤信行<sup>3</sup>(<sup>1</sup>三菱化成総研・病理, <sup>2</sup>同・画像科学, <sup>3</sup>三菱化成安科研)

【序】 マーモセットは新猿類に属する小型霊長類で、ビタミンD<sub>3</sub>に対する反応性が低く、飼料中へのビタミンDの多量の添加が必要とされている。我々は第114回日本獣医学会で、成熟マーモセットの骨で多量の類骨と石灰化が広範にみられることから、本動物の骨は、従来考えられてきた骨軟化症の病態ではなく、骨吸収も骨形成も亢進する高代謝回転の状態にあることを報告した。一方、ヒトのエストロゲン低下による骨粗鬆症も、高代謝回転を示す病態であり、マーモセットの骨の動態と類似していると考えられた。以上のことを考慮し、今回、我々は実験的骨粗鬆症モデル作製の一般的処置である卵巣摘出および低Ca食に加え、ビタミンD欠乏食をマーモセットに処置することにより、骨粗鬆症様病変が発現するかどうかを検討した。

【方法】 18~23カ月齢のコモンマーモセット(*Callithrix jacchus*)の雌に両側卵巣摘出術を施し、手術の1カ月後から低Ca(Ca含量:0.3%)・ビタミンD欠乏食を3あるいは6カ月間各2匹に与えた。対照として、偽手術、正常食(Ca含量:1.2%, ビタミンD含量:1600 IU/飼料100g)を与えた動物を各1匹設けた。3あるいは6カ月間処置後、10日の間隔でカルセインを2回ラベルした後、解剖し、骨を摘出した。腰椎(第3)および肋骨(第5)については、Villanueva Bone Stainを施し、Methyl Methacrylate樹脂に包埋後、約10 $\mu$ mの研磨標本を作製し、画像解析装置(当社開発)を用い、動的小および静的パラメータについて骨形態計測を行った。大腿骨については軟X線撮影し、Digital Image Processing法により、骨密度を測定した。また、同じ大腿骨および腰椎(第4)について乾燥重量、灰分重量を測定した。

【結果・考察】 3および6カ月間処置動物の両者で、対照動物に比較して、ミネラル含量(灰分重量/乾燥重量)および骨密度( $\Sigma$ GS/D)は低値を示した。さらに皮質骨の形態計測によると、皮質多孔率(皮質管腔域/皮質域)は高値を示し、骨量の減少がみられた。海綿骨の形態計測によると、類骨面あたりの骨標識率、補正石灰化速度、骨梁面あたりの骨形成率などの動的骨形成パラメータは高値を示した。また、1日当たりの石灰化速度は対照動物と同等で、類骨幅は低値を示したことから、骨形成面の拡大が窺われた。

以上の結果から、マーモセットは卵巣摘出、低Ca・ビタミンD欠乏食により、骨粗鬆症様の病態を示すものと思われた。この骨量減少に関しては、動的骨形成パラメータが増加していることから、正常でも高代謝回転の状態にある骨の代謝回転がさらに亢進し、骨吸収が骨形成を上回ることにより、引き起こされると推察される。

【結論】 マーモセットは3カ月の処置(卵巣摘出、低Ca・ビタミンD欠乏食)により、骨粗鬆症様病変を発現し、骨粗鬆症の病態モデル動物となりうることが示唆された。

○一鬼 勉、浜村政夫、鎌先恵美子、津崎慎二  
(パナファーム・ラボラトリーズ 安全性研究所)

F344ラットにおいては骨腫瘍の自然発生はまれで、そのほとんどが骨肉腫である。その発生率は1%程度とかなり低く、それ以外の腫瘍としては骨腫、骨軟骨腫及び軟骨肉腫の報告例が知られているのみで、腫瘍様病変においてもほとんど報告例がなく、動脈瘤性骨嚢胞[Aneurysmal bone cyst(以下ABCと略す)]の発生ははまだ報告例がない。今回、我々は癌原性試験において自然発生と思われるABCを認めたので報告する。

#### 【症例および方法】

本症例は、当研究所において癌原性試験に供された110週齢の低用量群のF344雌ラットである。生前、一般状態には変化はなく、剖検時に下垂体、皮下および大腿骨に腫瘤を認めた。下垂体および皮下の腫瘤は組織学的にはそれぞれ下垂体腺腫および陰核腺の腺腫であった。大腿骨の腫瘤は右大腿骨遠位部にみられ、直径10mm程度のほぼ球形をなし、断面は嚢胞状で骨端部付近まで達しており、内部には血液を混じた粘液性の液体が充満していた。大腿骨の腫瘤は10%中性緩衝ホルマリン固定、脱灰後、常法通りパラフィン切片とし、HE染色を施して観察を行った。

#### 【組織学的所見】

本病変は横断面では明かな線維性結合組織で境界された嚢胞を形成し、周囲を圧迫していた。縦断面では病変部は骨幹端から遠位端にまで伸びていた。嚢胞内部の壁付近には出血がみられ、散在性に破骨細胞様巨細胞もみられた。嚢胞壁周囲では小嚢胞、破骨細胞による既存の骨の著明な吸収像や類骨形成ならびに軟骨形成もみられ、豊富な血管を持つ周囲組織内には血栓形成を伴う出血やヘモジデリン沈着がみられた。また、破骨細胞様巨細胞は非常に多くみられ、中には核数が30個を超えるものも散見された。

#### 【まとめ】

以上の所見から、本病変をABCと診断したが、本病変にはその病因や本態に不明の点が多く、また骨巨細胞腫、血管拡張性骨肉腫、血管腫などとの鑑別が困難なことも多い。これらの腫瘍性病変、特に血管拡張性骨肉腫との鑑別という点からも文献的考察を加える。



## 若齢ラットに認められた耳介軟骨炎

○北垣雅人 諏訪隆彦 白鳥耕也 (資生堂 安全性・分析センター)

## 【緒言】

ラットの耳介軟骨炎は 1982 年以来、多くの症例が報告されてきた。いずれの報告でも症例の多くは、週齢が 24 週齢以降で、雌に多く、耳介の片側に金属性耳標が装着されているが、原因は不明であった。今回、我々は若齢ラットに耳介軟骨炎を高頻度に認め、さらに本疾患における耳介軟骨細胞の動態に注目し免疫組織化学的な検討を加えたので報告する。

## 【材料および方法】

動物は日本 チャールス・リバー (株) より導入し、背景 データ 収集試験および毒性試験無処置対照群に使用した 28 週齢までの Crl:CD (SD) ラット 200 匹 (雄雌各 100 匹) の内、耳介軟骨炎を認めた雄 16 匹 (16.0%)、雌 12 匹 (12.0%) が用いられた。病理組織学的検索は 10% 中性緩衝ホルマリン液に固定後、常法によりパラフィン切片を作製し、H-E 染色、グラム染色、アルシアン青染色、トリアジン青染色、PAS 染色、エラスチカワンギンソン染色および PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) 検出のための酵素抗体法による染色を用いて行なった。

## 【結果】

耳介肥厚は、早い症例では 8 週齢ですでに肉眼的に認められた。また、試験期間中に耳標の外れた例は耳介肥厚を殆ど認めず創傷も速やかに治癒した。

病理組織学的に耳介肥厚部には、軟骨組織が断裂し、リンパ球および好中球を主体とする肉芽組織の置換、もしくは軟骨細胞の島状増殖および軟骨内骨化が認められた。炎症部位はグラムおよび PAS 染色陰性であった。軟骨増殖巣中心部の軟骨細胞は腫大し、中心に円形～楕円形の核を有していた。細胞質内には PAS 陽性顆粒を認め、アルシアン青陽性粘液を細胞質内と細胞周辺部に認めた。軟骨増殖巣辺縁部は好酸性で細胞形態も正常範囲であった。中心部間質における弾性線維は粗で、断裂し細顆粒状を呈していた。骨化は軟骨間質の染色性が酸性から塩基性に変化し、トリアジン青染色で異染性を強く示す周囲に認められ、軟骨細胞増殖中心部に主座していた。免疫組織学的検索では軟骨増殖巣中心部に PCNA 陽性細胞が多く認められた。

以上、耳介軟骨の増殖は分化した軟骨細胞の分裂活性が増殖中心部で高いこと、軟骨膜細胞の活性が低いことより、若齢ラットの耳介軟骨炎は間質性成長を主としていることが示唆された。

○岩田 聖、山本慎二、三上真一、山川誠己 (安評センター)

## 【はじめに】

ラットの骨軟骨腫の発生はまれで、塩化ビニールの吸入、放射線照射、または外科的な軟骨膜の反転により誘発されることが少数に報告されている他、自然発生としては1992年にErnst Hが3例の骨軟骨腫を報告した一報があるにすぎない。今回、毒性試験の無処置対照群の動物として計画屠殺された58週齢の雄のSD系ラットに多発性骨軟骨腫を観察する機会を得たので報告する。また、他動物での多発性骨軟骨腫の報告との比較を含め若干の考察を加えた。

## 【症例および検索方法】

本例は経口投与12カ月間反復投与毒性試験において無処置対照群の動物として飼育されていたCrj/CD(SD)ラットで、投与終了時に計画屠殺された。臨床観察において8週間前より、前肢右上腕骨から右肩甲骨にかけて腫瘤が認められていた。剖検後血液学検査および軟X線撮影を施し、材料は10%中性緩衝ホルマリン固定、脱灰後通常の如くH. E. 標本とした。なお、ホルマリン固定材料の一部から電子顕微鏡学的検索を試みた。

## 【結果】

(血液学検査) : WBCが $16,000/mm^3$ とやや高値、TGが $42.5mg/dl$ とやや低値を示した以外特記すべき所見は認められなかった。(剖検所見) : 右上腕骨から右肩甲骨にかけてクルミ大の腫瘤、右最後位の肋骨に大豆大の腫瘤が観察された。いずれもやや堅く切開困難であった。胸腺の萎縮が認められた以外に他臓器には著変はなかった。(軟X線所見) : 肉眼的にクルミ大で単一に見えた前肢の腫瘤は、上腕骨骨幹部の一つ、上腕骨骨端から肩甲骨に及ぶ位置の一つの計2個の腫瘤より形成されていた。腫瘤は海綿状構造を呈し、上腕骨骨端側では正常骨との境界は不明で肩関節も確認できなかった。肋骨の腫瘤も同様に海綿状構造を呈していた。

(組織所見) : 三つの腫瘤はいずれも同じ組織像であった。腫瘤は表面にやや凹凸のある同心円状の構造を呈し、外層は硝子軟骨、中心部は海綿骨および脂肪を多量に含む骨髓より形成されていた。腫瘤表面は骨膜で被われ親骨の骨膜と連続し、一部親骨の骨皮質や骨髓も本腫瘤と連絡していた。硝子軟骨層では軟骨細胞が小柱状あるいは不規則分葉状に配列し、アルシアン青に染まる軟骨基質が認められた。細胞は同齢の軟骨細胞に比べやや大きいものの、異型細胞や多核細胞はなく典型的な軟骨内骨化を示した。(電子顕微鏡所見) : 多数の粗面小胞体、ゴルジ装置、ミトコンドリアなど細胞小器官がよく発達し、分化した軟骨細胞であった。また基質でも膠原細線維や基質顆粒、石灰化小球などの軟骨基質の特徴が認められた。

## 【考察】

骨軟骨腫とは軟骨帽に被われ、中心は軟骨内骨化によってできた海綿骨からなる骨性の腫瘍で、親骨と連続する骨膜で被われることや、親骨の骨髓と交通する骨髓などを特徴とする。骨軟骨腫は単発性あるいは多発性で、多発性骨軟骨腫は人、馬、犬、ではその遺伝性(常染色体上優性遺伝)が知られており、幼若期に発生し骨の成長の停止と共に腫瘍の発育も止まるとされている。多発性軟骨性外骨症という同義語が示す様に真の腫瘍ではないという考え方もされる腫瘍である。一方、猫の多発性骨軟骨腫は非遺伝性で成熟動物に発生し、真の腫瘍とされている。猫白血病ウイルス(FelV)に陽性を示し、軟骨細胞内や細胞表面にC型粒子が観察されるとされており特異的な病態と思われる。今回検索したラットの多発性骨軟骨腫は1992年にErnst Hが報告した骨軟骨腫と同じ形態像を示した。これらのラットの症例はいずれも加齢動物に発生しており遺伝性は認められていない。また、猫の症例に見られるようなウイルスなどの特定の病原体も観察されていない。ラットの多発性骨軟骨腫は、成長軟骨の軟骨芽細胞あるいは骨膜の間葉系細胞起源の真の腫瘍と考えられているようである。

○木村正明, 八木健一, 中根貞雄, 竹下紀美代, 土岐秀明<sup>1)</sup>, 中村国衛<sup>2)</sup>  
 (大正製薬・総合研, <sup>1)</sup>組織科学研, <sup>2)</sup>北里大・医・分子生物学)

**【目的】**多発性関節炎については種々の動物病態モデルを用いて病理学的に広く研究されている。近年, 慢性関節リウマチモデルとして, rheumatoid factor, anti-collagen type II antibody陽性等の免疫異常を有し, 生後4箇月齢以降から高頻度に関節病変を自然発症するNZB/KN雄マウスが知られている。そこで今回, 本動物の関節病変について軟X線解析及び病理組織学的検討を行い, MRL/lマウス及びAdjuvant関節炎ラットのそれと比較した。

**【方法】**生後30週齢のNZB/KN雄マウスをエーテル麻酔下で放血致死させ, 軟X線発生装置(CMB-2型, ソフテックス)を用いて全身撮影し, 骨及び関節部の障害の分布を観察した。病理組織学的検査は左右の後肢足底部を対象に行った。剖検後, 摘出した後肢足底部をLillieの10%緩衝ホルマリン液にて固定した。次いでEDTA法で脱灰後, 常法に従いパラフィン切片による染色標本(H.E, Masson's trichrome, Toluidine blue, Alcian blue +PAS, Safranin O)を作製し, 光顕にて観察した。比較対照として生後22週齢のMRL/l雄マウス及びAdjuvant関節炎発症(7週齢に流動パラフィン0.1mlに懸濁した結核死菌0.6mgを皮内注射して17日間経過)SD系雄ラットを用いた。動物はいずれもエーテル麻酔下で放血致死させ, 左右の後肢足底部を摘出後, 上記と同様の方法で作製した染色標本について光顕的に観察した。

**【結果】**1. **軟X線撮影による解析(NZB/KNマウス)**: 手指・足指骨, 中指・中足骨, 手根・足根骨, 尺骨, 橈骨, 腓骨, 頸骨, 大腿骨, 踵骨等の軟骨部の変形が観察され, この変化は特に前肢及び後肢足底部の関節に多く分布した。2. **後肢足底部関節の組織所見**  
 1) **NZB/KNマウス**: 滑膜, 関節腔において単核細胞の軽度浸潤, フィブリンの析出, 滑膜の表層細胞の増生, 線維性増殖・肉芽腫等の変化, また骨・関節部において, 関節軟骨の表層の不整・萎縮・びらん・消失・cleft形成, 軟骨細胞の増生, (骨膜性)新生骨の増生, 骨生強直等の諸変化が観察された。これら諸所見の中で滑膜における表層細胞の増生・滑膜肥厚, 関節軟骨における表層不整・びらん, 軟骨細胞の増生はほとんどの動物に認められた。2) **MRL/lマウス**: 滑膜においては表層細胞の増生, 表層下の細胞(macrophage, fibroblast)浸潤, 関節周囲組織においては血管炎, 肉芽腫, 炎症性細胞浸潤及び浮腫が認められた。3) **Adjuvant関節炎発症ラット**: 滑膜及び関節腔内へのフィブリン析出, 炎症性細胞(neutrophil, macrophage)浸潤, 滑膜の線維性増殖, 滑膜細胞の増生, pannus形成, 骨膜における類骨組織の増生, 骨髄内の類骨組織・破骨細胞の増加, 肉芽腫及び線維性強直等の種々の変化が認められた。

**【まとめ】**NZB/KN雄マウスに発現した関節病変は軟X線写真で変形, 融合像として捉えることができた。その組織像はMRL/lマウスやラットAdjuvant関節病変と類似していたが, 炎症反応に乏しく, 異所性軟骨細胞の増生及び関節軟骨細胞の著しい増生等の特徴を有していた。したがって, 本関節病変は以後, 軟骨細胞の変化を主徴として進展する可能性が示唆された。今後はNZB/KNマウス関節病変の発症機作の解明を目的として, 免疫学的検索を含めて軟骨細胞の変化について精査していきたい。

○櫻ゆみ、妹尾英樹、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介、山内勝彦、松本道男、  
奥平雅彦（日本バイオアッセイ研究センター）、榎本眞（安評センター）

マウスの菌原性嚢胞については現在までのところ報告がないように思われる。今回、我々は periodontal cystと診断される症例を経験したので若干の考察を加えて報告する。

#### 【症例および発生頻度とその局在】

periodontal cystは、日本チャールスリバー(株)より購入し、混餌投与のがん原性試験の対照群として、オリエンタル酵母(株)より購入した粉末飼料を自由摂取させ、110週齢まで飼育したCrj:BDF<sub>1</sub>およびCrj:B6C3F<sub>1</sub>マウスに見出された。その発生率はBDF<sub>1</sub>マウスの雄に100例中6例、雌に100例中1例、B6C3F<sub>1</sub>マウスの雌に50例中2例の頻度であった。これら9例に見られた病巣は全例が片側性であり、8例では切歯横断面の背側部に、1例では腹側部に存在していた。

#### 【組織学的所見】

単層または2～3層の扁平上皮で被われた単発性嚢胞を形成していた。大きさは、小型ものから鼻腔の構造を変形させる程の大型のもの(写真1)まで様々であった。内容物は、小型ものから中等大の嚢胞では、毛などの異物や好中球、組織球が見られ(写真2)、より大型の嚢胞では粘液の貯留や、少数の好中球、組織球が見られた。また、全ての個体で歯の異形成を伴っていた。

#### 【結論及び考察】

ここに報告したperiodontal cystはWHO分類におけるlateral periodontal cyst(LPC)と形態的に類似していた。しかしながら発生機序については老齢マウスにのみ認められることから後天的なものであり、異物の侵入による炎症反応や歯の異常が原因と考えられ、LPCとは異なるものと推定された。

写真1

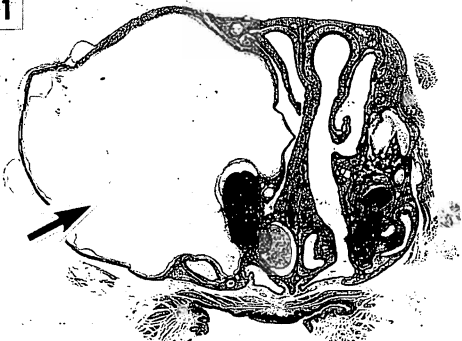


写真2



○田中雅治, 阿瀬善也, 成田牧子, 森 英明, 柳 浩由紀,  
板垣伊織, 下内孝司, 藤田常夫 (小野薬品工業 福井安全研)

【目的】 Emperipolesisは一つの細胞が他の細胞内に無傷のまま貫入する現象をいい、単球系細胞の特徴である phagocytosisとは明らかに区別されている。我々は lipopolysaccharide(LPS)を投与したラットの骨髄において emperipolesisを伴った巨核球を高率に認め、同時に末梢血血小板数の著しい減少を観察している。そこで、LPSを投与したラット骨髄の形態変化を経時的に調べ、末梢血血小板数との関連性を検討した。

【方法】 5週齢の SD系雄性ラットに LPS 0.5mg/kgと生理的食塩水を 7日間静脈内投与し、投与 2, 8, 24時間目と 3, 5, 7日目に屠殺、解剖して大腿骨骨髄の光顕、電顕観察及び血小板数の測定を行なった。また、H-E標本上 500個の巨核球をカウントし、emperipolesisを伴った巨核球の割合を emperipolesis index(EPI)として求めた。

【結果】 光顕的には、LPS投与 3日目より巨核球と顆粒球の増加が認められた。EPIは投与 8時間目より増加し、投与 3日目でピークに達し、その後漸次減少した。巨核球に侵入する細胞の大半は好中球であり、その他、リンパ球や赤血球も認められた。電顕的には、成熟した巨核球の血小板分離膜(PDM)に沿って血液細胞が存在しており、PDM間を移動する像も観察された(Fig. 1)。また、emperipolesisを伴った巨核球は正常であったが、侵入した血液細胞には変性したものも認められた。血小板数は LPS投与 2時間目より低値を示し、投与 3日目で最少値となったが、その後回復傾向を示した。

【結語】 ① LPSをラットに投与することで高率に巨核球の emperipolesisが発生した。② Emperipolesisを伴った巨核球は PDMを形成した成熟型で形態学的に正常であったが、巨核球の PDM間に侵入した血液細胞には変性しているものも散見された。③ Emperipolesisの増加と末梢血血小板数の減少はよく相関し、血小板数の減少はラットにおける巨核球の emperipolesis発生の一因であることが推察された。

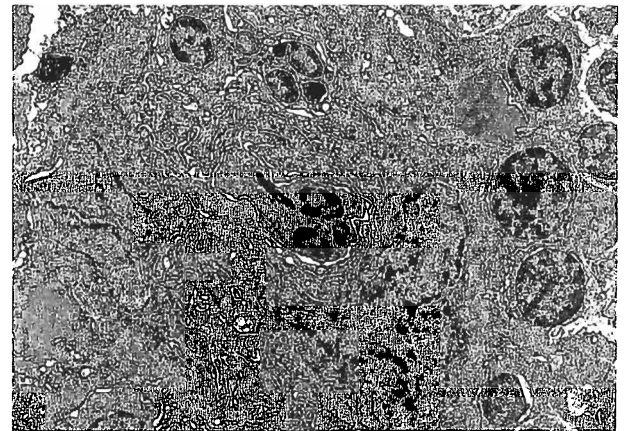


Fig. 1

# 長期飼育雄 B6C3F<sub>1</sub> マウスにみられた赤血球増多と肝細胞腫瘍およびエリスロポエチンの関連

## 2. エリスロポエチンの免疫組織学的検討

○ 堀之内 彰、林 新茂、野々山 孝、宮脇宏彰（武田薬品・薬安研）

**【はじめに】** がん原性試験に繁用されるB6C3F<sub>1</sub>マウスの雄には、自然発生的に肝細胞腫瘍が多発し、剖検時の血液学的検査で担肝細胞腫瘍マウスの末梢血液中に小球性低色素性赤血球の増加がみられる。担肝細胞腫瘍マウスでは非担肝細胞腫瘍マウスに比べて有意な血漿中のエリスロポエチン(EPO)量の増加がみられることを報告した(第9回日本毒性病理学会)。今回、血漿中EPO量の増加と肝細胞腫瘍の関連を明らかにするために、雄のB6C3F<sub>1</sub>マウスにみられた肝細胞癌を免疫組織学的に精査した。

**【材料と方法】** SPF環境下で無処理飼育された25ヵ月齢の雄 Crj : B6C3F<sub>1</sub>マウスの肝細胞癌8例および同月齢の対照(非担がんマウス)10例を用いた。免疫組織学的検査は、1次抗体に抗ヒトEPO抗体、抗ケラチン抗体および抗マウスフィブリノーゲン抗体を用い、直接法あるいはSABキットによる間接法で実施し、発色はDAB(3,3'-diaminobenzidine)を用いた。

**【結果】** 抗EPO抗体陽性細胞は、検索した肝細胞癌群全例の索状構造を示す腫瘍肝細胞の一部あるいは肝細胞癌と正常肝細胞の境界領域付近の腫瘍肝細胞の一部にみられた。抗EPO抗体陽性の腫瘍肝細胞では細胞質内の大型の封入体に一致して顆粒状に陽性反応がみられた。この封入体はHE染色では腫瘍肝細胞の細胞質内に淡い好酸性封入体として肝細胞癌群の全例にみられた。その他、HE染色で肝細胞癌群の半数の腫瘍肝細胞の細胞質内に大小の光輝性の好酸性封入体が見られたが、抗EPO抗体反応は陰性であった。一方、抗ケラチン抗体および抗マウスフィブリノーゲン抗体は、いずれの封入体にも陰性反応を示した。なお、肝細胞癌群の正常肝細胞領域および対照群の肝細胞には、いずれの型の封入体もみられず、いずれの抗体反応も陰性であった。

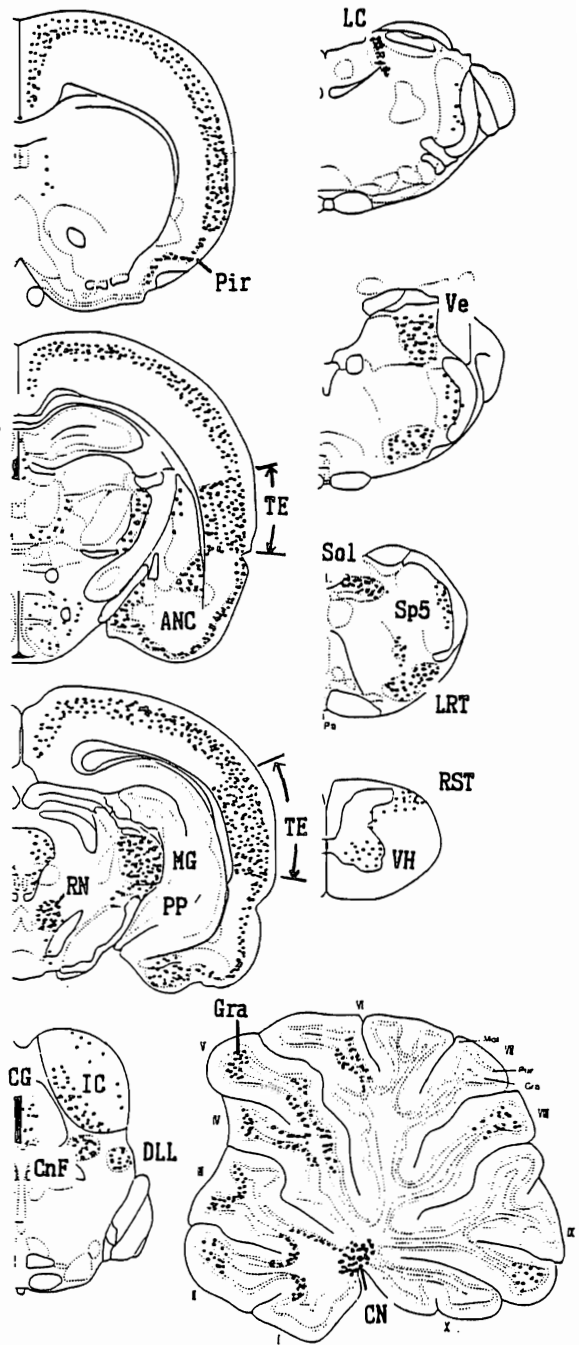
**【まとめ】** 以上の成績から、担肝細胞癌雄B6C3F<sub>1</sub>マウスの二次性赤血球増多症における血漿中のEPO量の増加は、腫瘍細胞の細胞質内に大型の淡い好酸性封入体をもつ腫瘍肝細胞によるEPO産生に起因することが示唆された。

○森 文秋, 高屋豪瑩 (弘前大・脳研・神経病理)

プロトオンコジーンc-fosの転写産物である Fos 蛋白は, 種々の物理化学的刺激に対して, 生理ないし病的に, 神経系細胞内に発現するとされている。これまで, メチル水銀中毒症と似た小脳顆粒細胞変性をもたらすチオフェンをラットに継続投与すると, 痙攣, ABR異常, 血管傷害性小脳変性ととともに, 下丘にPAS陽性反応, 神経細胞壊死がみられることを報告してきた。今回は, 軀幹振動ないし痙攣発作を呈したチオフェン中毒ラットの中枢神経系内で, Fos 蛋白を指標にして検討した。

【材料と方法】ラットに, チオフェンを1日1回, 後肢筋肉内に連日投与した。軀幹振動ないし強直性痙攣を確認できたラットについて, 発作後3時間で, 灌流固定した。1時間後に, 脳を取り出し, 同一固定液に一晚浸漬固定後, 大脳, 中脳, 小脳, 延髄, 脊髓に対し, 免疫組織化学的に Fos 蛋白免疫反応を行い, その反応分布を調べた。

【結果】右図に示したように, ほぼ全断面の大脳皮質のII~IV層(但し, 側頭皮質(TE)ではII~VI層), 毛状皮質(Pir), 視床の一部, 視床下部, 扁桃体(ANC), 脳室周囲, 中心灰白質(CG), 内側膝状体(MG), 傍腕核(PP), 赤核(RN), 被蓋核(CnF), 背側外側毛帯核(DLL), 下丘(IC), 青斑核(LC), 前庭神経核(Ve), 三叉神経脊髄路核(Sp5), 孤束核(Sol), 外側網様体核(LRT), 小脳顆粒細胞層(Gra), 小脳核(CN), 脊髓前角(VH), 脊髓側索背側部(RST, 赤核脊髄路)に, Fos 蛋白陽性細胞が観察された(特に, 下線部で顕著)。これまで, チオフェン投与ラットモデルにおいて報告してきた小脳顆粒細胞変性, 下丘変性は, 上記の部位に含まれており, これらの変性が興奮毒性病変である可能性が示唆された。以上の結果は, 種々の刺激による, 症状と関連した, 早期の神経毒性を検索する際に, Fos 蛋白免疫反応が有効であることを示している。



○ 広内康彦      （安評センター）

【はじめに】

ラットの脳に発生する自然発生腫瘍は極めてまれで、そのうちOligodendrogliomaと診断されたものの発生率は0.5%以下に過ぎない。SD系ラットに発生したOligodendrogliomaの1例について、組織学的な特徴の一つである毛細血管の糸球体様構築に注目して、その免疫組織学および電子顕微鏡的特徴を検索し、また、その他の脳腫瘍との比較検討をおこなった。

【材料と方法】

症例はSD系ラットの雌で、長期毒性試験に供した対照群の50例中に発生し、80週齢時に衰弱のため切迫屠殺された1例である。正中断面で病変を観察し腫瘍の一部を10%緩衝ホルマリン溶液およびメタカーン液にて固定し、特殊染色および免疫染色（Vimentin, S-100, NSE, GFAP, MBP, PCNA, Actin等）を実施した。また、1%グルタルアルデヒド1.5%パラホルムアルデヒド溶液にて固定した材料からは透過型および走査型電子顕微鏡による観察を行った。

【結果】

肉眼的に本腫瘍は灰白色で柔らかく、境界は不鮮明で局所的に赤色調を示した。脳室の拡張は顕著であった。組織学的に腫瘍細胞は比較的均一な細胞で構成され、核は円形で中央に位置し、蜂巣構造および核周囲の明庭が顕著であり電顕検査も行ってOligodendrogliomaと診断した。腫瘍内には糸球体様の血管が数珠玉状（網目状）にしかも連続性に認められ、一部には腫瘍を包むような配列が観察された。糸球体様血管より内側の腫瘍細胞は広範囲に変性および壊死に陥っていた。糸球体様血管の内皮細胞は腫脹し、核は明るくて大きく、くびれを伴った馬蹄および楕円形を呈しており、核小体は明瞭であった。血管内腔は狭小化を示し、内皮細胞には触手様の突起が多数見られ、突起同士の接着も観察された。血管周囲にはやや小型でクロマチンに富む細胞が一層性に取り囲み、内皮細胞と共通の基底膜に包まれていた。この細胞は走査型電顕観察の結果、Ushiwataら（1993年）が報告した細動脈および前毛細血管周囲に観察される、多極性の短小な細胞質突起を特徴とする周皮細胞に類似していた。免疫組織染色では、これらの細胞はアクチン染色に強陽性を示すことから平滑筋に極めて類似することが示唆された。

【考察】

糸球体様血管像はOligodendrogliomaに随伴して観察され、その他の脳腫瘍には類のないことから、その発生にはOligodendrocytoの機能的、形態的な特異性と関連のあることが推察される。またOligodendrogliomaの腫瘍構築や、Astrocytoma, Ependymomaなどとの鑑別点などについて考察し、本血管像の形態発生的な意義を今後の検討課題としたい。



○中川善裕、和田美紀、山田倫行、伊藤聖一、吉武 彬（住友化学・生科研）

【目的】：アメリカ環境保護局（EPA）の神経毒性試験ガイドラインによる試験法評価の一環として、神経毒性物質の塩化トリメチルチンを用いた急性神経毒性試験を実施し神経病理学的に検索を行った。

【材料及び方法】：SD系雄ラット（投与開始時7週齢）を用い、群構成は溶媒対照及び3投与群（6mg/kg, 9mg/kg, 12mg/kg）で動物数は各群10匹とした。1回強制経口投与後1週間或いは2週間目に心臓全身灌流固定により屠殺し剖検を実施した。脳、脊髓、脊髄神経節、坐骨神経、脛骨神経、腓骨神経及び腓腹筋を採取し常法に従いパラフィン包埋薄切切片を作製した後、H・E、ルクソールファスト・ブルー、PTAH、Bodianの各染色を実施した。また、脊髄神経節、坐骨神経、脛骨神経及び腓骨神経については常法通りに樹脂包埋切片を作製しトルイジン・ブルー染色を実施した。全ての組織標本を光学顕微鏡的に観察した。

【結果】：（1）症状としては9mg/kg, 12mg/kg群で過敏、興奮、振戦及び軽い瘦が認められた。（2）剖検においては塩化トリメチルチン投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。（3）パラフィン包埋薄切切片の組織検査において、大脳、中脳及び延髄の神経細胞壊死、小脳のプルキンエ細胞壊死、中脳、橋、延髄、脊髓及び脊髄神経節の中心性色質融解ならびに大脳、中脳、橋、延髄及び脊髓の星状膠細胞増生・肥大が投与群にのみ認められた。また、坐骨神経、脛骨神経及び腓骨神経の散在性軸索膨化が12mg/kg群に、散在性軸索変性及び脱髄の程度及び発生頻度の増加が投与群にそれぞれ認められた。さらに、腓腹筋の筋線維凝固壊死或いは筋線維変性の発生頻度が用量相関的に増加して認められた。（3）樹脂包埋薄切切片の組織検査において病理組織学的変化は認められなかった。

【考察及び結論】：中枢神経系において投与群でのみ認められた変化は塩化トリメチルチンによる神経毒性病変に関するこれまでの報告とほぼ一致していた。また、末梢神経系における散在性軸索変性及び脱髄、散在性軸索膨化は塩化トリメチルチンによる軸索の直接的障害を示唆する結果と考えられた。腓腹筋における変化についてはこれまで報告が無いが塩化トリメチルチン投与に関連した変化と考えられた。尚、今回の試験において樹脂包埋薄切切片には変化を認め得なかったことから、その検索の意義は見い出せなかった。

以上の如く、ラットにおける塩化トリメチルチンの急性神経病理学的影響は全投与群の中枢神経系、末梢神経系或いは腓腹筋において認められることが確認された。

さらに、星状膠細胞の増生・肥大に関してGrial fibrillary acidic protein(GFAP)との相関を免疫組織学的に検討中であり、その結果もあわせて報告する。

○吉田一晴、三善隆広、木澤和夫、河村泰仁、児玉卓也<sup>1)</sup>、中沼安二<sup>2)</sup>  
(<sup>1)</sup>富山化学・安全性研究所, <sup>2)</sup>金沢大・医・二病理)

【はじめに】ラットの脊髄に発生する腫瘍は、AstrocytomaあるいはOligodendrogliomaなどがわずかに報告されている。今回、長期毒性試験に使用したSprague-Dawley(SD)系ラット脊髄に自然発生した上衣腫と考えられる腫瘍を認めたので報告する。

【材料と方法】動物は日本クレア(株)より4週齢で購入し、バリアシステム環境下で1年間の反復投与慢性毒性試験に使用したSD系雌ラット80匹のうち1例である。

本例は1年間の投与期間終了の頃(360日齢)より体重減少と後肢の運動障害が出現した。その3週間後(381日齢)には腹臥状態のまま、後肢は全く動かなくなり、全身状態も悪化したので、エーテル麻酔下で切迫屠殺した。剥皮後、椎骨背面を取り除き、脊髄を露出させた後10%ホルマリン液で固定した。固定後、第1、第3、第5、第7頸神経、第1、第3、第5胸神経、第1腰、第5腰神経の各脊髄神経を切り出し、パラフィン包埋、HE染色およびPTAH染色を行った。また、10%ホルマリン液で固定後の第3胸神経を1%オスミウム酸で再固定し、Quetol 812(日新EM)包埋、超薄切後、酢酸ウラニル、クエン酸鉛で二重染色して、電子顕微鏡(JEOL-100S)で観察した。

【結果】組織学的検査では、腫瘍細胞は主に楕円～多型細胞で、核は円形～楕円形で好酸性の細胞質を持っていた。また、楕円形の核を有し、細長い胞体を持った単極性細胞から成る偽ロゼットもみられた。腫瘍と周囲脊髄組織との境界は不明瞭であった。腫瘍細胞は第5～第7頸神経、第2胸神経にかけて認められた。電子顕微鏡による観察では、腫瘍細胞の細胞間にciliaが認められた。

【まとめ】本例では、上衣腫の診断の決め手となる上衣ロゼットやPTAH染色で明瞭なblepharoplastは認められず、確定診断が出来なかった。しかし、ホルマリン標本から電子顕微鏡試料を作製して、観察したところ、腫瘍細胞の細胞間にciliaが認められたことから上衣腫と診断した。

- 【参考文献】1. G.M.Zwicker et al., Toxicol. Pathol., 20(4), 1992  
2. 川野信之、病理と臨床 Vol.10 臨時増刊, 320-321, 1992

○三好昌夫、伊東房美、三沢保幸、吉野由紀子、

松沢忠紀、小泉富彦、杉本哲朗、田村博志、二木力夫（中外製薬・安全研）

近年、各種抗生物質等による視覚系に対する影響、特に網膜毒性が注目されているが、これら薬物の視覚障害予知にあたっては、種々の動物種を用いて網膜電図(ERG)測定などの視機能検査や超微形態的観察による詳細な検索が必要である。しかし、サルでの網膜毒性の知見は比較的乏しく、今回、ヨード酢酸ナトリウム網膜症を作出し、網膜細胞内小器官の電顕観察を含む病理学的検索を実施した。

#### 【実験方法】

3~3.5才のカニクイザル雄2頭を用い、注射用蒸留水を溶媒として30mg/ml濃度に調製したヨード酢酸ナトリウム溶液を静脈内投与した。1例(Na1)は30mg/kgを2日間投与し、他の1例(Na2)は初回に30mg/kgを、7日後に40mg/kgを投与し、ERG測定を実施した。2例ともに最終投与後約6時間ほどで、一般状態が悪化したため、ペントバルビタル深麻酔下で安楽死させ、直ちに両眼球を摘出後、1%グルタルアルデヒド・2.5%ホルムアルデヒド混合液にて固定し、常法により光学顕微鏡ならびに透過型電子顕微鏡にて網膜を中心に病理学的検索を行った。

#### 【結果およびまとめ】

ERGの測定では、2例ともに同様な変化がみられ、初回投与後3時間で律動様小波の振幅が低下し、a波、b波の減弱が確認された。24時間後には再び各波の振幅が明瞭となり、回復傾向が認められた。2回目投与後3時間の測定では、律動様小波の消失ならびにa波、b波の著しい振幅の低下が確認され、6時間後においても回復傾向は認められなかった。

病理学的検索では、2日間連続投与したNa1において、間歇投与したNa2よりも網膜病変は広範囲に及び、外顆粒層のみならず内顆粒層および神経細胞層にも観察されていた。すなわち、Na1では光顕的に錐・杆状体細胞層ならびに外顆粒層における視細胞の変性に加え、神経細胞層の細胞数減少も認められた。電顕的には、視細胞における外節の空隙形成、細胞質の浮腫性変化および核内への低電子密度物質の出現に加え、内顆粒層ならびに神経細胞層における神経細胞の電子密度低下およびミトコンドリアの膨化等浮腫性の変化が観察された。一方、Na2では光顕的に特筆すべき変化は検出されなかったが、電顕的には網膜外顆粒層を中心に視細胞外節の広範な空隙形成、内節の主に杆状体細胞質内の空隙形成および色素細胞内に貪食された外節の一部と思われるミエリン様の層板構造物などが多数観察された。

ヨード酢酸塩投与による主な網膜毒性発現機序は、視細胞へのエネルギー供給源である解糖反応の過程で必要となる酵素をヨード酢酸塩が抑制するためと考えられており、これまでのラット、ウサギを用いた病理学的検討では、外顆粒層の視細胞を主体として変性過程が生じることが報告されている。今回、他動物種であるサルを用いて投与条件および観察時期などの実験条件を変え詳細な観察を行った結果、従来の報告とは異なる部位にも病変像を示すという新たな興味ある知見が得られた。

○森田晴夫, 下村和裕, 田中孝弘, 須永昌男, 小泉治子(前臨床医学研)

薬物によって惹起される毒性病変を理解するために、我々は生前の諸検査と剖検後の病理組織学的な所見との関連を検討してきている。今回、網膜の異形成を示すビーグル犬に遭遇し、眼科学的検査および病理組織学的検査を実施し、興味ある知見が得られたので報告する。

#### <材料および方法>

メス1頭(7ヵ月齢)に以下の眼科学的検査を行なった。

- ①スリットランプによる前眼部および中間透光体の観察,
- ②通常眼底の観察・撮影,
- ③無赤光線による眼底の観察・撮影,
- ④蛍光眼底の観察・撮影。

諸検査終了後、動物を全身麻酔下で放血致死させ、眼球を摘出した。眼球は3%グルタールアルデヒドと2.5%ホルマリンの混合液を用いて固定し、パラフィン包埋後H-E染色標本作製し、光顕的に観察した。

#### < 結果および考察 >

一般状態の観察では視覚系の異常を示唆するような変化はみられなかった。通常眼底検査では、両眼の網膜にTapetal zoneと Atapetal zoneの両域にわたって、虫が這ったような多数の線状の病変が散在していた。しかし、無赤光線による眼底および蛍光眼底では、それらの病変が同様に散見された以外に、特別な変化はみられなかった。また、前眼部および中間透光体には変化はみられなかった。

病理組織学的検査では、Tapetal zoneと Atapetal zoneの両域を含む網膜(両眼)に、多数のrosetteあるいはfoldingを示す網膜の異形成がみられた。しかし、網膜以外の眼球の組織には、特記すべき変化はみられなかった。

今回みられた眼底の変化は、眼科学的検査および病理組織学的検査所見から、先天的な網膜異形成症と診断された。網膜異形成症はビーグル犬の2.9%にみられたという報告があり<sup>1)</sup>、今回の症例はこれと非常に類似した変化であった。ヒトにおける網膜異形成症の場合には、硝子体動脈遺残や網膜の全剥離を伴い、通常失明しているが、イヌでは付随した病変はなく、失明を示唆するような重大な視覚系の異常はみられなかった。

#### <参考文献>

- 1) Heywood, R. & Wells, G. A. (1970). Vet. Rec., 87, 178.

## 生体内埋植物質に対する組織反応の病理学的研究

## 第3報 埋植 52 週間におけるポリウレタンと

## シリコンに対する組織反応の比較

○斉藤義明、永田伴子、川島二三江、丸茂秀樹、山口 肇、吉村慎介 今井 清

(食品薬品安全センター・秦野研)

実験的に医用材料等の高分子物質を長期間にわたり生体内に埋植すると、埋植局所に悪性線維性組織球腫などの腫瘍が発生することが知られている。昨年度の本学会において、高い発癌性をもつポリウレタンシート (PU) とこれに比べ発癌性の低いシリコンシート (SI) をラット皮下に埋植し、埋植後26週までの経時的な埋植部位周囲の組織変化を免疫組織化学あるいは電顕オートラジオグラフィーを用いて観察し、埋植後26週までの埋植早期には、PUとSIに対する組織反応に差が認められないことを報告した。今回は、PUおよびSIをラットの皮下に埋植し、埋植後52週間目の埋植部位周囲の組織変化を昨年度と同様な方法を用いて観察したので報告する。

【材料と方法】5週齢のF-344ラットの背部皮下にPUあるいはSI(1 x 1 cm)を埋植し、埋植後52週目にPUあるいはSI埋植群の5匹には屠殺1時間前にBromodeoxyuridine(BrdU:40 mg/kg)を腹腔内投与し、1匹は対照として同量のリン酸緩衝液を投与した。動物はネンブタール麻酔下に放血屠殺し、埋植材料周囲の組織を10%リン酸緩衝ホルマリンで固定、パラフィン包埋しHE染色標本を作製した。抗BrdU抗体(Amersham)、抗Proliferating cell nuclear antigen抗体(PCNA, DAKO)を用い、免疫染色標本を作製した。さらに各群2匹には、屠殺30分前に<sup>3</sup>H-Thymidine(18.5 MBq/rat, iv)を投与した後、全身灌流固定し、電顕オートラジオグラフィーを作製し、観察した。

【結果および考察】SI埋植例の埋植片周囲には厚い線維性被膜が形成されており、この被膜内にはほとんど有核細胞が観察されず、わずかに埋植片断端付近で埋植片に接して組織球の浸潤が認められる程度であった。一方、PU埋植例では、埋植片周囲に形成された線維性被膜はSI埋植例に比較して薄く、被膜内あるいは埋植片に接する部位に多数の組織球が観察され、特に埋植片周囲に限局性の異型細胞浸潤が認められたほか、1例では埋植片周囲全周にわたり、異型細胞が層をなして増殖している像が観察された。

以上、埋植26週目にはSIとPU埋植片周囲の組織反応には差は認められず、埋植52週目にはSI埋植片周囲の有核細胞が著明に減少し、一旦形成された異型細胞もほとんど消失するが、PU埋植片周囲には組織球を主体とした細胞成分が多数観察され、異型細胞増殖巣も認められたことから、異物発癌に至る過程として埋植片周囲に形成された異型細胞の持続的増殖が重要な意味をもつ可能性が示唆された。

なお、埋植片周囲の細胞のBrdU、PCNA陽性率および電顕オートラジオグラフィーの観察は現在実施中であり、その成績もあわせて報告する予定である。

○ 澤本 修, 栗栖和信 (大塚製薬工場・鳴門研)

ハーダー腺は、ラット、マウス、ウサギ、ハムスター、モルモット等の実験動物に存在する腺組織であるが、その毒性変化に関する報告は極めて少ない。演者らは、第9回本学会においてラットのハーダー腺は、過度の照明により高度な壊死性変化を引き起こすこと、その要因として、げっ歯類のハーダー腺に存在するポルフィリンの光化学反応が示唆されることを報告した。今回、ラットと同様にポルフィリンを有するマウスを用いて、過度の照明によるハーダー腺への影響を病理組織学的に検討したので報告する。

材料および方法：BALB/c雄マウス(7週齢)を飼育室環境に13日間馴化後、白色蛍光灯(東芝ライテック, 40W, FLR40S・W/M/36)により、ケージ内の照度約3000luxで1日12時間ずつ、2, 4または8日間反復照射した。照射翌日にエーテル麻酔下で放血殺後、ハーダー腺および眼球をDavidson液で固定後、HE染色により組織学的に観察した。

結果：ハーダー腺の変化は、照射期間を通じて眼球近位部に明らかであった。すなわち2日間照射後では、腺上皮の大型空胞を伴う腫大、淡明化、腺腔内への突出あるいは扁平化により極めて不整形を呈し、一部の腺腔内には脱落上皮や退廃物が認められた。これらの部位では好中球および組織球の浸潤と水腫を伴っていた。上記の周囲あるいは変化の軽度な例では、腺腔は分泌物の貯留により拡張し、丈の低い腺上皮で構成されていた。4日間照射後では、腺上皮の腫大や腺腔の拡張等の変化は軽減し、一部の腺上皮に軽度な増殖性変化が認められた。8日間照射後では、腫大等の変化はさらに軽減あるいは消失し、脂肪滴の少ない腺上皮の増生、重層化と細胞浸潤が眼球近位に極めて限局的に認められた。一方、涙腺および眼球の変化は明らかでなかった。

考察およびまとめ：過度の照明により、ラットのみならずマウスにおいてもハーダー腺の炎症性細胞浸潤を伴う変性変化を引き起こした。しかし、その発現には種差のあることがうかがわれた。すなわちラットでは2500luxの照射によりハーダー腺の高度な変性・壊死性変化と網膜外顆粒層および杆・錐状体層に主座する変性・萎縮性変化が見られたのに対し、マウスでは3000luxを照射したにもかかわらず、ハーダー腺の変化はラットに比べて軽度であり、網膜の変化についても明らかでなかった。

ハーダー腺障害の要因として、げっ歯類の特性であるハーダー腺におけるポルフィリンの存在が考えられる。すなわちポルフィリンは、ヒトのポルフィリン症で知られているように重篤な組織障害を引き起こす光毒性物質であることから、機序としてアルビノマウスでは過剰な光線は容易に網膜を透過してハーダー腺に到達し、光化学反応を惹起したものと思われる。またハーダー腺のポルフィリン濃度は、過度の照明により低下することが報告されており、このことが照射期間の延長にもかかわらず、ハーダー腺の障害が軽減した要因と推察される。

○下地尚史<sup>1</sup>、牧之瀬俊彦<sup>1</sup>、小笠原裕之<sup>1</sup>、村上久子<sup>1</sup>、村田晃子<sup>1</sup>、星谷達<sup>2</sup>、高木英利<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日本レダリー 株式会社・生物研究所、<sup>2</sup>ボゾリサーチセンター・御殿場研究所)

### 【はじめに】

我々は第8回の本学会ワークショップにおいて、パソコン・ネットワークによる毒性病理コンピュータシステム(MacMic)について発表した。現在本システムは、改訂を加えて他のシステムとの間でデータの相互参照が可能な安全性システムのサブシステムへと発展している。今回はMacMicの開発現況に加え、製薬企業における病理/安全性システムの望まれる開発の方向と将来的な発展について発表する。

### 【病理/安全性システムの概念】

コンピュータによるシステムは人間の作業を助けるものであってそれ自体が新しい仕事をするわけではない。従ってシステムを考える場合、我々がどのような作業を行なうのかを整理する必要がある。

#### 1. 実験レベルの作業

まず我々は実験を計画し、実施し、結果を評価して報告書を作成する。

#### 2. プロジェクト(薬物)レベルの作業

次に我々は様々な実験の結果から、薬物の安全性/有用性を評価し、開発の続行/中止の判断のための情報を提供しなければならない。

#### 3. 申請レベルの作業

最後に我々は各部門の全てのデータを整理して申請用の資料/概要を作成しなければならない。

我々が行なう作業は上記1.~3.に集約されるであろう。従ってシステムもこれらを支援するものであればよい。1.は最も現場よりの作業であり、既存の病理/安全性システムのほとんどは(MacMicも含め)このレベルである。2.の作業を最も効率よく支援するのはおそらく不定型ドキュメントをも対象とした試験データベースであり、3.の作業の効率化にはネットワークワイドのグループウェアが不可欠と思われる。

### 【病理/安全性システム開発のコンセプト】

我々が開発を継続中の安全性システムは1.に始まり、最終的には2.および3.のレベルをカバーすることを目的としているが、その際の開発の方針は、

#### A. 現場の要求・作業性を最優先する。

上記の、まず1.を充実させるということである。2.や3.のために1.を犠牲にすることはあり得ない。

#### B. 独自の技術・規格を用いない。

設計等に独創性を発揮しても、実現のための技術・規格はすべからず標準に準拠したものとする。

の2点である。

### 【病理/安全性システムの現状】

研究所内のパソコンは大半がLocal Area Network(LAN)により接続され、プログラムは全てDOS上で稼働し、データのフォーマットはdBASE形式で統一されている。現在病理の他に体重、臓器重量、尿、血液、血液生化学のシステムが稼働している。各システムは一部を除いてデータがオンラインでLANサーバ上に取り込まれる。データは全て組織所見入力時に参照可能で、またデータ取り込み直後からネットワーク上の全てパソコンでデータサマリを参照することも出来る。MacMicの機能としては参照機能以外にも、複数の人数での同時スクリーニングを可能にする排他制御機能、スクリーナー同士のコミュニケーションのためのメモ機能/伝言板、報告書作成支援機能等を備え、その他にも入力の作業負荷を軽減するための様々な工夫を行っている。

### 【病理/安全性システムの今後】

1.から2.、3.を包括する形へシステムは発展していく。ただし2.および3.は技術的な負荷が大きいと考えられるため、基本的には市場の流通技術を利用していく予定である。従ってシステムの次期バージョンアップはこれらの技術をフルに利用するための新しいOS環境への移植がメインになる予定である。

# P-87 画像処理技術を利用した病変定量解析システムの開発

○渡辺 知幸<sup>1</sup>、桂 泰典<sup>1</sup>、吉武 彬<sup>1</sup>、政瀧 浩和<sup>2</sup>、森 健<sup>2</sup>  
(1住友化学・生科研、2住友金属・情報通信)

細胞や組織の変化を客観的に表すにはその変化を適当な方法で計量する必要がある。そこでわれわれは、近年特に技術革新のめざましいコンピュータ画像処理技術の応用による高速かつ高精度の病変定量解析システムの開発を試みた。本システムは①核解析および②組織計測により、腫瘍の解析研究ならびに毒性・薬効などの定量評価研究を支援することを目的としたものである。

## 【システム概要】

本システムは、顕微鏡に取り付けたカラーカメラを通じて病理標本の画像を入力し、検査に応じた画像処理を施した後、特徴量の定量化・解析を行うものである。

### I. 検査対象

- 核解析：核、核小体、細胞増殖関連核蛋白の特徴量計測。
- 組織計測：切片上の単位面積当たりの病変の数や広がりなどの計測。

### II. システムの特長

- 高速画像処理：MATROX社の画像処理ボードシステムを採用することにより、高速かつ多彩な画像処理ならびに特徴量計測が可能。処理時間は、最も複雑な場合でも5秒程度。
- 画像合成：オートステージを制御して隣接視野画像を入力した後、複数画像をつなぎ合わせ1枚の画像に合成する機能を装備。これにより、標本の全範囲を一度に観察・処理可能（図1および2）。
- 病理検査固有のデータ構造：測定した特徴量データは、群／個体／スライドの分類で管理。これにより、病理検査に即したデータの集約、帳票出力が可能。

本システムの利用により、病変の定量的、客観的解析が可能となり信頼性の高い診断支援情報を容易に取得することができるようになった。今回は、チオアセトアミド投与ラットにおける肝病変の解析事例をもとに本システムの有用性について考察したので報告する。



図1 原画像（ラット肝・アザン染色）

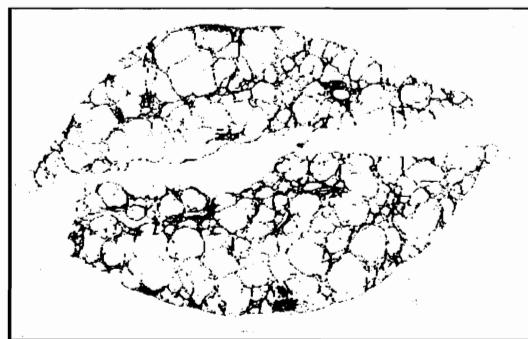


図2 処理画像（線維化領域抽出）



—MEMO—

— MEMO —

— MEMO —

発表者索引 (太字は演者)

A

足立 知登世 P-65  
 合川 孝幸 P-19  
 相沢 慎一 T-2  
 相磯 成敏 1, 2, P-75  
 赤井 啓二 6  
 天沼 利宏 20, 25, P-39  
 安藤 信明 10, 22, P-40  
 安藤 (路) 進 41, P-41  
 安東 保海 P-14, P-15  
 Byeongwoo AHN P-31, P-32  
 新井 徹 21  
 荒井 安洋 P-70  
 有広 光司 P-10  
 浅野 哲 P-6, P-7  
 浅野 敏彦 P-47  
 阿瀬 善也 W-1, P-61, P-76

B

馬場谷 勝廣 P-49

C

Jae-Jin CHO 16, P-36  
 Seung Mook CHO P-31  
 Kwang Sik CHOI P-31, P-32  
 Amedeo COLUMBANO 10

D

大丸 香 P-43  
 傳田 阿由美 10, 20, P-39, P40  
 土井 邦雄 12, P-26, P-42  
 董 逸敏 33

E

ヨセフ・エミール 32  
 榎並 倫宣 P-8, P-38, P-45,  
 P-55

遠藤 武弘 10  
 榎本 眞 1, 2, P-75

F

札幌 保宏 P-15  
 藤平 司郎 P-66  
 藤井 享子 37  
 藤田 重晴 11, P-63  
 藤田 常夫 W-1, P-76  
 藤原 公策 P-44  
 深見 博子 T-1, 7  
 深川 清二 P-56  
 福島 昭治 15, 32, 33, 34, 35,  
 P-8, P-11, P-16,  
 P-23, P-49  
 福田 種男 P-13  
 船江 良彦 P-23  
 古川 文夫 40, P-8, P-38,  
 P-45, P-55

古川 仁 W-2, 23, P-1  
 古川 忠司 P-21  
 古田 京子 31, 40  
 二口 充 P-33

G

岳 秉飛 P-47  
 後藤 和広 P-22  
 後藤 直彰 45  
 五藤 裕子 P-19  
 Michael N. GOULD S L

H

萩原 昭裕 P-50  
 浜村 政夫 P-71  
 Beom Seok HAN P-31, P-32  
 Ik Soo HAN P-32  
 長谷川 健司 S-2

長谷川 清 彦 P-39  
 原 田 孝 則 P-30, P-58  
 長谷喜 久 美 P-66  
 長谷川 良 平 P-4, P-33  
 林 功 3, 27, P-48  
 林 修 司 35  
 林 新 茂 W-4, P-5, P-34,  
 P-77  
 林 美 樹 P-49, P-51  
 林 豐 S-6  
 林 裕 造 4, 42  
 林 崎 良 英 T-4  
 日 淺 義 雄 3, 27, P-48  
 平 尾 佳 彦 P-49, P-51  
 廣 野 巖 29  
 広 瀬 雅 雄 5, 13, P-50  
 広 内 康 彦 P-79  
 蛭 間 正 巳 21  
 久 田 茂 P-53, P-54, P-62  
 外 尾 亮 治 37  
 Mokbul Md, HOSSAIN 45  
 堀 口 浩 資 20, 25, P-19, P-39  
 堀 井 郁 夫 43  
 堀之内 彰 W-4, P-5, P-34,  
 P-77  
 下 武 男 44  
 堀 内 敏 P-53, P-54, P-62  
 星 野 彰 8  
 星 谷 達 W-5, P-19, P-86  
 細 野 素 子 34, P-11  
  
**I**  
 一 鬼 勉 P-71  
 今 井 清 P-84  
 今 井 俊 夫 P-13  
 今井田 克 己 5, 38  
 今 木 正 文 6  
 今 岡 進 P-23  
 稲 田 理 恵 P-53, P-54, P-62

稲 毛 富士郎 39  
 井 内 康 輝 S-1, P-10  
 稲 山 嘉 明 P-6, P-7  
 井 上 知 W-1, 23, P-1  
 井 上 智 彰 43  
 今 沢 孝 喜 31, 47, P-8, P-55,  
 P-61  
 五百部 浩 昭 P-28  
 磯 部 充 威 P-62  
 板 垣 伊 織 W-1, P-76  
 板 垣 慎 一 P-26, P-42  
 板 倉 智 敏 46  
 伊 藤 明 弘 P-14, P-15, P-17,  
 P-27, P-68  
 伊 東 房 美 P-82  
 伊 藤 博 子 P-24, P-70  
 伊 藤 浩 行 W-2, P-1  
 伊 藤 充 哉 29  
 伊 東 信 行 L-1, 13, 38, P-4,  
 P-33  
 伊 藤 聖 一 P-80  
 伊 藤 恒 夫 P-12, P-37  
 岩 井 正 和 22  
 岩 崎 靖 子 P-43  
 岩 田 聖 P-9, P-73  
 岩 田 裕 之 15, 35, P-16  
 岩 田 仁 7, 18, P-13  
 伊 沢 義 弘 P-6, P-7  
 泉 啓 介 30  
  
**J**  
 神 藤 敏 正 39  
  
**K**  
 梶 村 哲 世 P-60  
 柿 沼 千 早 P-65  
 神 原 由 季 P-70  
 神 谷 研 二 19, P-35  
 神 辺 敏 実 P-64

- 金子英志 P-6  
金子真弓 P-10  
金田菜穂子 P-70  
金崎寛子 43  
姜鍾求 17  
Jong Koo KANG P-31  
Kyung-Sun KANG 16, P-36  
Sung-Keun KANG P-36  
蟹沢成好 S-3, P-6, P-7  
柏原純一 22  
片桐卓 1, 2, P-75  
加藤道幸 39  
加藤俊男 13, 38  
桂泰典 W-6, P-87  
川畑好之康 22  
河部真弓 13  
川合是彰 18, 24  
河南明孝 49  
川森俊人 P-18  
河村清次 12  
河村泰仁 P-20, P-81  
川西徹 31, 40  
川野亮二 P-10  
川島二三江 P-84  
Bae-Hwan KIM 16, P-36  
Chang Ok KIM P-31, P-32  
金在鉉 17  
金大中 17  
Dea Joong KIM P-31, P-32  
木村弘之 P-17  
木村重紀 5  
木村正明 P-74  
北垣雅人 P-72  
北川恒代 P-49, P-51  
北堀吉映 3, 27, P-48  
北村均 P-7  
北村毅 41, P-41  
北野大 L-2  
北野光昭 34  
北浦敬介 30, 44, P-64  
木澤和夫 P-20, P-81  
君塚五郎 S-6  
倉田祥正 P-70  
久米村惠 P-17  
栗栖和信 P-15, P-85  
栗原毅 21  
栗原寛治 P-10  
黒川雄二 9  
黒澤努 P-47  
日下部守昭 7  
桑村充 36  
桑村有規 24  
鋏先惠美子 P-71  
小谷猛夫 36  
高屋豪螢 P-78  
糀谷高敏 P-57  
小林永策 20, 25, P-39, P-40  
小林潔 11, P-22, P-63  
小林靖夫 P-62  
児玉卓也 P-20, P-81  
小泉治子 P-64, P-83  
小泉富彦 P-82  
小島隆 P-63  
小島敏弘 P-59  
国分由美 P-25  
小松博道 8  
木南凌 P-35  
小西登 3, 27, P-48  
小西陽一 10, 20, 25, P-39, P-40  
L  
李榮純 17  
Joon Sup LEE P-2, P-31, P-32  
Yong-Soon LEE 16, P-36  
李俊燮 17  
李建中 P-67

M

前田 博 26  
 前川 昭彦 41, P-41  
 真板 敬三 P-30, P-58  
 牧野 奈津代 P-66  
 牧野 進 33, P-11  
 牧之瀬 俊彦 W-5, P-86  
 牧田 登之 P-21  
 真鍋 淳 P-21  
 松沼 尚史 P-21  
 牧之段 太志 P-70  
 丸茂 秀樹 P-84  
 丸山 博司 P-40  
 丸山 敏之 W-2, 23, P-1  
 政瀧 浩和 W-6, P-87  
 増井 恒夫 7, 18  
 松田 和夫 P-25  
 松田 勉 15, P-23  
 松田 正裕 P-15  
 松井 元 31, 40  
 松木 尚 P-49, P-49, P-51  
 松本 浩良 12  
 松本 和幸 29  
 松本 正博 P-66  
 松本 道男 1, 2, P-75  
 松本 智志 P-29  
 松沢 忠紀 P-82  
 三上 真一 P-9, P-73  
 三沢 保幸 P-12, P-82  
 三橋 弘明 P-6  
 見上 孝 P-28  
 南 孝則 P-29  
 三谷 公互 P-29  
 三井 雅之 P-8  
 三井 雅之 P-8, P-38, P-45, P-55  
 三森 国敏 S-5, 4, 42, 44, 47, P-61  
 宮本 誠 6

宮田 恵美子 P-4  
 宮 嶌 宏 彰 W-4, 28, P-3, P-5, P-34, P-77  
 三好 昌夫 P-37, P-82  
 三好 文晁 P-29  
 溝口 靖基 13  
 溝上 敦 P-53, P-54  
 水本 靖士 10, 20, P-40  
 水谷 誠 46  
 村井 隆 33, 34, P-11  
 村上 久子 W-5, P-43, P-44, P-86  
 村越 正典 P-53, P-54, P-62  
 村岡 義博 W-2, 23, P-1  
 村田 晃子 W-5, P-43, P-86  
 務台 衛 11, P-22, P-24, P-63  
 米良 幸典 P-25  
 望月 淳 P-24  
 百瀬 均 P-51  
 森 文秋 W-3, P-78  
 森 郁生 W-4, P-5, P-34  
 森 英明 W-1, P-76  
 森 秀樹 14, P-18, P-52, P-59  
 森 聖 33, 34, P-11  
 森 昌造 8  
 森 健 W-6, P-87  
 森 敏男 P-50  
 森井 浩世 P-16  
 森島 英喜 P-3  
 森下 克美 P-29, P-64  
 森下 由紀雄 P-52  
 森田 晴夫 P-64, P-83  
 本岡 覚 P-13  
 森脇 和郎 T-3  
 N  
 永井 博文 48

長野 嘉介 1, 2, P-75  
 永田 良一 P-67  
 永田 伴子 P-84  
 永谷 真理子 P-19  
 名倉 宏 P-28  
 中江 大 10, 20, 25, P-40  
 中川 善裕 P-80  
 中村 厚 P-19  
 中村 秀雄 P-56, P-57  
 中村 国衛 P-74  
 中根 貞雄 P-74  
 中野 達也 8  
 中沼 安二 P-20, P-81  
 中野渡 純一 P-13  
 中山 裕之 45  
 中澤 素邦 49  
 内藤 初美 P-4  
 Ki-Hoem NAM 16, P-36  
 Sang Sup NAHM P-2  
 Sang Yoon NAM P-2  
 奈良間 功 26  
 成田 牧子 W-1, P-61, P-76  
 二木 力夫 P-12, P-37, P-69,  
 P-82  
 西田 恵津子 P-42  
 西平 哲郎 8  
 西川 秋佳 47, P-8, P-38,  
 P-45, P-55  
 西山 寛 41, P-41  
 西澤 良記 P-16  
 新田 由美子 19, P-35  
 丹羽 太貫 19, P-35  
 野口 修 10, 20, 25, P-39  
 野原 正志 22  
 野村 岳之 P-64  
 野村 靖夫 P-46  
 野々山 孝 W-4, P-5, P-34,  
 P-77

## O

小笠原 裕之 W-5, P-40, P-43,  
 P-86  
 小形 岳三郎 S-4  
 小川 久美子 38  
 小川 哲郎 P-62  
 小木 曾正 P-33  
 小倉 淳郎 P-47  
 小倉 基裕 P-29  
 岡島 英五朗 P-49, P-51  
 岡本 清尚 14  
 岡本 宗裕 P-47  
 岡本 新司 P-51  
 岡本 太郎 P-14, P-15, P-68  
 岡崎 啓幸 P-67  
 岡崎 欣正 P-57  
 沖本 一夫 P-56, P-57  
 奥平 雅彦 1, 2, P-75  
 尾根田 暁 P-67  
 小野 晃弘 21  
 小野寺 博志 4, 42, 44, 47  
 大原 忠雄 33, P-11  
 大堀 祐司 P-24  
 大石 裕司 P-66  
 大町 勝美 P-67  
 大村 美麻 P-44  
 大谷 周造 15, 35  
 大鳥 和彦 15  
 大年 辰幸 33, P-16  
 大園 誠一郎 P-49, P-51  
 尾崎 清和 26

## P

Cheol Beom PARK P-2

## R

B.S.REDDY 14  
 李 旻宰 P-26  
 李 健中 P-67



ロイ・ゴータム P-68

## S

貞本誠治 P-35  
斎藤高雄 P-17  
坂倉照好 7  
真田靖幸 37  
佐川純司 8  
斎藤実 9  
斎藤義明 P-84  
坂牧義之 P-69  
佐久間貞重 36  
櫻 ゆみ 1, 2, P-75  
佐野文子 P-24, P-70  
佐野真士 38  
三馬省二 P-51  
三善隆広 P-20, P-81  
佐々木素子 P-20  
佐々木啓 28, P-3  
佐藤敦子 P-62  
佐藤洋 P-60  
佐藤亮 P-29  
佐藤元信 P-38, P-45  
佐藤信行 P-70  
佐藤聖子 P-24  
澤本修 P-85  
関 あずさ 21  
仙頭美和 P-29  
妹尾英樹 1, 2, P-75  
柴田雅朗 P-4  
島田美千代 P-28  
清水精一 P-17  
下井昭仁 P-65  
下地尚史 W-5, P-40, P-43,  
P-86  
下村和裕 P-83  
下武男 4, 42, 44, 47  
下内孝司 W-1, P-76  
標葉隆三郎 8

篠田和俊 P-45  
塩野泰弘 P-43  
白井智之 38, P-33, P-50  
白岩和己 25  
白鳥耕也 P-72  
代田欣二 P-46  
Je Kyung SEONG P-2  
園田二郎 P-28  
園田崇倫 22  
Kwang-Won SEO 16, P-36  
杉江茂幸 14  
杉本次郎 P-22, P-46, P-63  
杉本哲朗 P-12, P-37, P-69,  
P-82  
鷺見信好 49  
須永昌男 P-83  
諏訪隆彦 P-72  
鈴木礼子 37  
鈴木淳也 P-66  
鈴木謙二 41, P-41  
鈴木雅実 P-37, P-69  
鈴木稔 P-53, P-54, P-62  
鈴木繁生 P-37, P-69  
鈴木泰夫 30  
T  
田畑尚一 P-49, P-51  
田川正志 P-53, P-54, P-62  
高場克己 P-23  
高田信康 15, 32  
高木英利 W-5, P-43, P-86  
高橋明美 46  
高橋公正 P-30  
高橋道人 4, 31, 40, 42, 44, 47,  
P-8, P-38, P-45,  
P-55, P-61  
高橋正一 41, 42, P-41  
高橋智 P-50  
高野智司 41

高岡雅哉	P-21	手塚則明	18
高島吉治	10, P-39	土岐秀明	P-74
高屋豪瑩	W-3, P-78	富田喜久雄	P-11
高山敏	39, P-60	鳥井幹則	W-2, 23, P-1
高木篤也	9	豊田和弘	31, 40, P-55
武田利明	P-6, P-7	豊岡正好	P-24, P-70
武貞徳子	P-50	豊沢かおる	P-56
武島幸男	P-10		
竹下紀美代	P-74	U	
竹内哲也	P-44	内本啓史	49
玉井幸子	P-19	上田誠	49
玉野静光	5	梅村隆志	9
田村博志	P-82	畝山智香子	31, 40, P-8
田村一利	P-19	海野正子	P-12, P-37
田中光	P-4	宇野洋	P-6, P-7
田中啓介	P-63		
田中浩二	12	W	
田中雅治	W-1, P-76	和田美紀	P-80
田中孝弘	P-83	若松智恵美	22
田中卓二	14, P-18, P-52, P-59	鰐淵英機	32, 35, P-16
立松正衛	T-1, 7, 13, 18, P-13	和崎正彦	P-46
俵谷武治	49	渡辺敦光	P-14, P-15, P-17, P-27, P-68
辰巳治之	P-47	渡辺満利	P-65
長根芳文	30	渡辺慶一	P-53, P-54
坪田裕子	22	渡辺知幸	W-6, P-52, P-87
土屋毅幸	11, P-22		
津田洋幸	29	Y	
築館一男	P-28	矢田英昭	5
佃良一	48	安原加壽雄	4, 42, 44, 47
辻内俊文	20, 25, P-39, P-40	八木健一	P-74
常深邦彦	P-49, P-51	山田和正	P-14, P-15, P-27, P-68
恒成一郎	36	山田倫行	P-80
津崎慎二	P-71	山口格	P-44
堤紀美子	P-69	山口肇	P-84
堤雅弘	20, 25, P-39	山口尚子	P-49, P-51
寺田忠史	P-20	山口格	P-25, P-44
寺西宗広	P-21	山木戸道郎	S-2

山 川 誠 己	P - 9, P - 73
山 本 恵 司	<b>28</b>
山 本 好 一	28
山 本 硬 治	P - 29
山 本 昌 美	7
山 本 慎 二	P - 9, P - 73
山 本 晋 史	32, 35
山 岡 直 樹	<b>S - 2</b>
山 中 義 弘	P - 7
山 内 勝 彦	1, 2
山 崎 秀 樹	<b>48</b>
山 手 丈 至	36
矢 本 敬	<b>P - 21</b>
山 内 研 司	P - 66
柳 浩由紀	W - 1, P - 76
谷 中 正 男	P - 43
矢 野 善 久	15
八尾野 眞 人	<b>P - 33</b>
安 場 正 子	P - 56, P - 57
山 内 勝 彦	2, P - 75
湯 浅 啓 史	<b>18</b>
湯 浅 勲	35
吉 田 陽	49
吉 田 明 由	<b>P - 58</b>
吉 田 浩 己	P - 67
吉 田 順 一	10, 25
吉 田 和 哉	8
吉 田 一 晴	P - 20, P - 81
吉 田 勝	49
吉 田 緑	<b>37</b>
吉 田 敏 則	5, P - 30
吉 治 仁 志	P - 40
吉 村 博 之	4, P - 38
吉 村 慎 介	P - 84
吉 野 由紀子	P - 82
吉 武 彬	W - 6, P - 80, P - 87
義 澤 克 彦	P - 66

---

## 第10回日本毒性病理学会講演要旨集

---

平成 5 年12月18日 印刷

平成 5 年12月18日 発行

編 集 広島市南区霞 1 - 2 - 3  
広島大学原爆放射能医学研究所  
放射線誘発癌研究部門内  
第10回日本毒性病理学会事務局

責任者 伊藤明弘

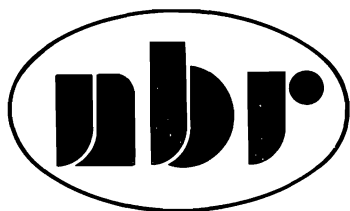
印 刷 広島市西区商工センター 7 丁目 5 - 33  
株式会社 ニシキプリント

第10回日本毒性病理学会 協賛法人・団体

小野薬品工業株式会社 福井安全研究所  
株式会社大雄会医科学研究所  
キッコーマン株式会社研究本部  
国際試薬株式会社研究開発センター  
持田製薬株式会社安全性研究所  
日本醤油協会  
株式会社ミドリ十字安全研究所  
吉富製薬株式会社 中央研究所  
財団法人残留農薬研究所  
鐘紡株式会社薬品安全性研究所  
東レ株式会社基礎研究所  
株式会社資生堂研究所安全性・分析センター  
帝人株式会社生物医学総合研究所 医薬開発  
研究所  
中国醤油醸造協同組合  
エーザイ株式会社安全性研究部  
萬有製薬株式会社研究開発企画部  
日本チャールスリバー株式会社  
日本レダグリー株式会社 生物研究所  
ロース・プーランローラー株式会社 研究開  
発本部  
大鵬薬品工業株式会社製薬センター 安全性  
研究所  
日本新薬株式会社 安全性研究所  
大日本製薬株式会社 研究管理部門  
塩野義製薬株式会社研究所神崎川分室  
日本バイエルアグロケム株式会社日野研究所  
第一製薬株式会社 開発研究所  
キリンビール株式会社 医薬事業本部  
日本商事株式会社 医薬研究所  
サクラ精機株式会社 S. I 事業部  
大塚製薬工場 鳴門研究所  
帝国臓器製薬株式会社  
日本医薬品工業株式会社総合研究所  
科研製薬株式会社 研究企画部  
株式会社 実医研 高崎病理センター  
山之内製薬株式会社 安全性研究所  
藤沢薬品工業株式会社 安全性研究所  
大塚製薬佐賀研究所  
社会保険広島市民病院  
三共株式会社 研究総務部  
田辺製薬株式会社 研究開発企画センター  
エーザイ株式会社 研究開発本部

武田薬品工業株式会社 医薬開発本部 薬剤  
安全性研究所  
サンド薬品株式会社  
ハンテインドン リサーチセンターリミテッド  
日本たばこ産業株式会社 安全性研究所  
日本チバガイギー株式会社研究開発統括部  
日本農薬株式会社安全性研究所  
杏林製薬株式会社中央研究所  
大正製薬株式会社医薬開発研究部  
細川・内藤医院  
旭化成工業株式会社ライフサイエンス安全性  
研究所  
中外製薬株式会社信州伊那研究所  
広島大学医学部緑風会  
全国味噌工業組合連合会  
山崎医院  
加計町立病院  
萬有製薬株式会社  
マツダ病院  
株式会社バイオ病理研究所  
株式会社札幌総合病理研究所  
株式会社日本バイオリサーチセンター  
加商株式会社ライフサイエンスグループ  
株式会社環境バイリス研究所  
株式会社薬効開発研究会  
株式会社三菱化成安全科学研究所  
株式会社アニマルケア  
株式会社パナファーム・ラボラトリーズ  
オリエンタル酵母工業株式会社  
株式会社 イナリサーチ  
オリンパス光学工業株式会社  
和光純薬工業株式会社  
日本セイギケン総合研究所  
株式会社 化合物安全性研究所  
日生研株式会社  
広島県  
広島大学医学部医師会  
広島県医師会  
広島市医師会  
広仁会  
富士ファコム制御株式会社

(順不同)



## 受託研究施設



有効性(薬理)試験から安全性試験まで医薬品開発に信頼性のある情報・報告をお届けします。

- **薬理試験** 薬効薬理試験(中枢神経系, 呼吸・循環器系, 消化器系, その他)  
一般薬理試験(一般薬理試験ガイドラインAおよびB項目)
- **安全性試験** 一般毒性試験, 生殖試験, 変異原性試験, 抗原性試験, 刺激性試験

**株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所**

〒501-62 岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地 TEL 0583-92-6222(代)  
FAX 0583-92-1284

## 非臨床試験の総合受託機関

- **一般毒性試験** 単回投与毒性試験 反復投与毒性試験(マウス、ラット、イヌ、サル)
- **特殊毒性試験** 生殖・発生毒性試験 変異原性試験 痛原性試験 皮膚感作性試験  
皮膚光感作性試験 刺激性試験 抗原性試験 その他
- **一般薬理試験** 一般薬理試験ガイドライン A・B項目、その他
- **薬効薬理試験** 薬理スクリーニング試験、脳波による薬効評価(ラット、ウサギ、ネコ、イヌ)、腎性高血圧モデルでの評価(ラット、イヌ、サル)、その他広範囲の薬効薬理試験に対応
- **薬物動態試験** RIによる動物、植物及び土壌を用いた薬物の吸収、分布、代謝、排泄に関する試験、生物学的同等性試験

■お問い合わせは、弊社渉外部までお願いいたします。



**株式会社 環境バイロリス研究所**

〒528 滋賀県甲賀郡水口町宇川555  
TEL (0748)63-5253 FAX (0748)62-9062

# 薬効研

前臨床から臨床へ移行・医薬品開発のコンサルタントとして、終戦直後から東邦大学薬理学教室に蓄積された技術を基盤に昭和48年設立、昭和62年現地の新研究所に移転した。  
平成3年新体制のもと組織と設備に一層の充実をはかり世界的レベルの受託機関として貢献すべく新しいスタートを踏み出した。

- 安全性・薬理試験受託
- 臨床試験移行へのコンサルタント
- 医薬品開発のデザイン

株式会社 薬効開発研究会

本部 / 〒108 東京都港区高輪3丁目11番地25号 MG高輪ビル  
TEL. 03-3447-6751 FAX. 03-3447-7027  
研究所 / 〒355 埼玉県東松山市大字東平856-1  
TEL. 0493-24-5120 FAX. 0493-24-5429

生体から生態まで、試験から届出まで。  
総合的な安全性評価機関として  
巾広いニーズにお応えする

安全性試験受託機関

 株式会社 三菱化成安全科学研究所

MITSUBISHI-KASEI INSTITUTE OF TOXICOLOGICAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCES

本社 〒105 東京都港区芝2丁目1番30号 (菱化ビルディング) TEL (03) 3454-7571 (代表)

# ハイ! ニーズ

needs



実験動物総合受託事業

こんな時に  
お役に立ちます

1. 自社施設の飼育動物と設備の一括管理を任せたい。
2. 即戦力として飼育管理・動物実験の技術者がほしい。
3. 数時間勤務・祝祭日・年末年始・休日だけの勤務、忙しい時だけの技術者がほしい。
4. 自社職員を教育・研修に出したい。
5. 実験動物関連の情報を知りたい。
6. 自社でセミナー・研修会等を開催したい。

技術とコミュニケーションを大切に



株式会社 アニマルケア

本社 〒164

東京都中野区中野3-47-11

西日本営業所 〒543

大阪府大阪市天王寺区悲田院町8-26

九州営業所 〒811-11

福岡県福岡市早良区早良1-6-34

TEL.092-804-0039 FAX.092-804-4351

パナファーム・ラボラトリーズは数々のノウハウとサービスで  
基礎研究と製品開発のギャップを埋めるべくチャレンジを続けていきます。

パナファームの研究システム

GLP対応

QAU<sup>®</sup> (Quality Assurance Unit)  
(信頼性保証部門)

生化学研究所

- ・抗原抗体反応を利用した病気の診断法の研究
- ・新しい試験方法の開発

代謝薬理研究所

- ・薬効薬理試験
- ・一般薬理試験
- ・生体内動態研究

安全性研究所

- ・一般毒性試験
- ・特殊毒性試験
- ・遺伝毒性試験
- ・依存性試験

動物測定用試薬事業

- ・免疫化学的手法による各種実験動物専用の測定試薬の開発、製造、販売

FILL・THE・GAP



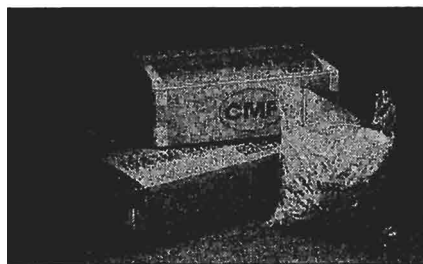
株式会社  
パナファーム ラボラトリーズ

〒869-04 熊本県宇土市栗崎町1285 TEL.0964-23-5111(代) FAX.0964-23-5122

- 安全性研究所 TEL.0964-23-2299 FAX.0964-23-2977
- 生化学研究所 TEL.0964-23-5115 FAX.0964-23-2978
- 代謝薬理研究所 TEL.0964-23-5116 FAX.0964-23-5129
- 大阪連絡事務所 TEL.0727-52-6220 FAX.0727-52-6228



# オリエンタル酵母の実験動物用飼料



40余年の実績から生まれた  
信頼性の高い実験動物用飼料

- マウス・ラット用
- ウサギ・モルモット用
- サル用
- イヌ用
- ネコ用
- 放射線照射飼料
- 精製飼料
- 添加飼料

※動物実験に使用される「精製飼料」調製用の原材料を準備しております。  
(カタログは下記にご請求ください。)



## オリエンタル酵母工業株式会社

〒174 東京都板橋区小豆沢3丁目6番10号

バイオ関連事業部

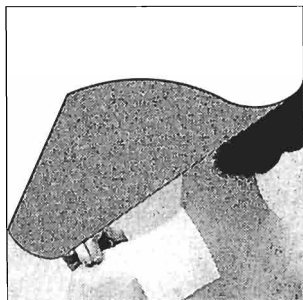
TEL (03) 3968-1108

FAX (03) 3965-6625

# ニューパップ剤は無臭の時代

●しっとりタイプの無臭性

**新発売**



### 【製品特性】

1. 香料を含まない無臭性の新しいパップ剤です。
2. 経皮吸収性にすぐれ、強い鎮痛・消炎作用を示します。
3. 粘着性にすぐれ、水分含有量が多いパップ剤です。
4. 副作用発現率は2.8%(966例中27例)で、主な副作用は発赤、癢痒感などいずれも一過性の皮膚症状のみでした。

### 【効能・効果】

下記疾患並びに症状の鎮痛・消炎

- ◎変形性関節症◎肩関節周囲炎◎膝・腱鞘炎◎腱鞘腫炎
- ◎上肢骨上腕炎(テニス肘等)◎筋肉痛◎外傷後の腫脹・疼痛

【用法・用量】1日2回患部に貼付する。

### 【使用上の注意】

- (1) 一般的注意/◎消炎鎮痛剤による治療は原因療法ではなく対症療法であることに留意すること。
- ◎皮膚の感受性を不顕性化するおそれがあるので、感染を伴う炎症に対して用いる場合には適切な抗菌剤又は抗真菌剤を併用し、観察を十分行い慎重に投与すること。
- ◎慢性疾患(変形性関節症等)に対し本剤を用いる場合には薬物療法以外の療法も考慮すること。また、患者の状態を十分観察し、副作用の発現に留意すること。
- ◎次の患者には使用しないこと/本剤又は他のフェルピナク製剤に対して過敏症の既往歴のある患者
- ◎副作用/皮膚: とくに痒痒、発赤、発疹等の皮膚炎及び刺激感があることがある。これらの症状が強い場合は使用を中止すること。
- ◎妊婦への投与/妊娠中の投与に関する安全性は確立していないので、妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること。
- ◎小児への投与/小児に対する安全性は確立していない(使用経験が少ない)。
- ◎使用上の注意/◎損傷皮膚及び粘貼に使用しないこと。
- ◎過剰又は発疹の部位に使用しないこと。



製造元 帝國製薬株式会社  
〒769-26 香川県大川郡大内町三本松567番地



発売元 日本レダグリー株式会社  
〒104 東京都中央区京橋一丁目10番3号



発売元 武田薬品工業株式会社  
〒541 大阪市中央区道修町四丁目1番1号

# マイルドな組織固定液

ホルマリン含量10%, 15%, 20%

## 中性緩衝ホルマリン液 組織固定用

- 組織を長時間浸してもホルマリン沈着物がつきません。
- 細胞質の固定に優れています。
- 組織化学的検索, 電子顕微鏡にも使用可能。

	10%		15%		20%	
容 量	1 ℓ	20 ℓ	1 ℓ	20 ℓ	1 ℓ	20 ℓ
pH	7.4~7.5		7.3~7.5		7.3~7.5	
ホルムアルデヒド含量	約4%		約6%		約8%	

## マイルドホルム 20N 組織固定用

- ホルマリンの不快臭と刺激臭をワインエキスでマイルドに抑えた20%中性緩衝ホルマリン。

1 ℓ      20 ℓ

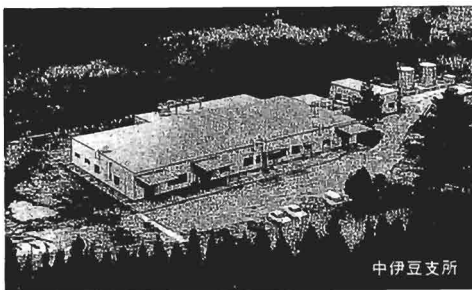
\*資料をご請求下さい。

 **和光純薬工業株式会社**

本 社 大阪市中央区道修町3丁目1番2号  
〒541 電話 大阪(06)203-3741(大代表)  
東京支店 東京都中央区日本橋本町4丁目5番13号  
〒103 電話 東京(03)270-8571(大代表)  
出張所 福岡・広島・名古屋・横浜・大宮・筑波・仙台・札幌

HUMAN & NATURE

## 日本エスエルシーグループの 総合受託試験施設



中伊豆支所

**試験に関する問い合わせ先**

**企画管理部** TEL.053-437-5348代  
FAX.053-436-4320

### 受託試験項目

- ◆サル、イヌを用いた試験 (サルは100~200匹を常時飼育していますので、いつでも試験の開始が可能です)
  - 単回、反復投与毒性試験/薬理試験/生物学的同等性試験/血中・尿中濃度試験/受託飼育
- ◆ラット、マウスを用いた単回、反復投与毒性試験
- ◆ラット、ウサギを用いた生殖・発生毒性試験
- ◆抗原性試験 ◆感受性試験
- ◆光毒性および光感受性試験
- ◆局所刺激性試験 (皮膚・眼・血管刺激性、筋肉障害性、溶血性)
- ◆発熱性物質試験 ◆医療用具の生物学的試験
- ◆外科的病態モデル動物を用いた薬効試験 (下垂体、甲状腺、副腎、腎臓、卵巣、精巣等の摘出)
- ◆疾患モデル動物を用いた薬効試験 (糖尿病、高血圧、痛風、各種炎症等)
- ◆幼若、老齢動物を用いた試験
- ◆各種実験動物の長期飼育

 **SEIGIKEN**  
JAPAN SEIGIKEN RESEARCH CENTER

**齧日本セイギケン総合研究所 (セイギケン)**

浜松研究所/静岡県浜松市葵町95-10 ☎(053)437-5348代 FAX(053)436-4320  
中伊豆支所/静岡県田方郡中伊豆町筏場804-56 ☎(0558)83-2326代 FAX(0558)83-2479

# 北緯 43°

安全性試験 受託いたします  
薬理試験

化学物質の進展とともに

安全性を追究して20余年

益々**研**究を重ねます

 株式会社 化合物安全性研究所

本社 〒001 札幌市北区北30条西11丁目2-20

☎011(757)4039 FAX011(758)7938

東京事務所 〒103 東京都中央区日本橋室町1-6-1 トミービル

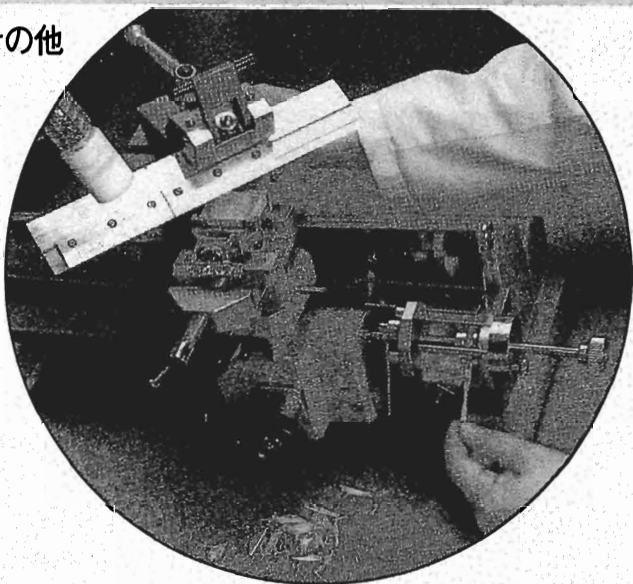
☎03(3241)7405 FAX03(3241)8373

## 信頼できるパートナーとして安全性試験の受託

医薬・農薬・食品添加物・化粧品 その他

### 【受託試験項目】

- 一般毒性試験  
(単回・反復投与)
- 特殊毒性試験  
(生殖・発生、癌原性、局所刺激)
- 病理組織標本の作製・検査
- 血液学・血液生化学的検査
- 機器分析
- その他



 日生研株式会社

〒198 東京都青梅市新町2221-1

TEL. 0428-33-1040 (直)

# HRC

## HUNTINGDON RESEARCH CENTRE

30 years serving the Pharmaceutical, Agrochemical,  
Chemical, Food and Biotechnology Industries

The widest range of Contract Services in:

- Toxicology
- Metabolism
- Pharmacology
- Chemistry
- Genetic Toxicology
- Microbiology
- Environmental Studies

### – Service and Quality –

ハンティンドン リサーチ センター

日本連絡事務所

東京都港区芝公園1-1-11

興和芝公園ビル 5階 (〒105)

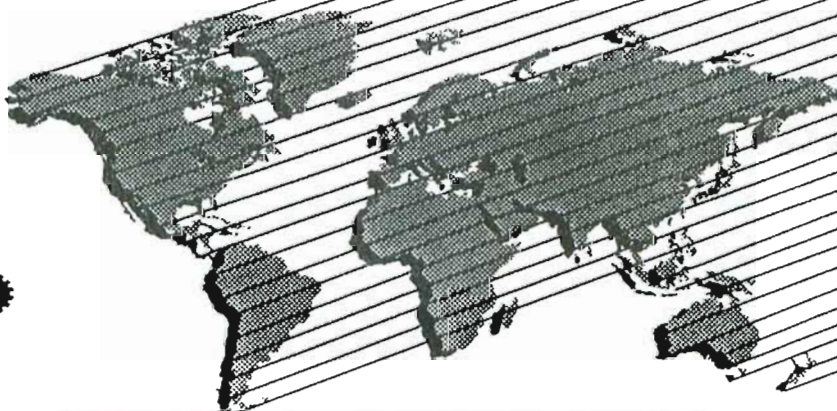
Tel: 03(3436)4446

Fax: 03(3436)5826

Huntingdon Research Centre Ltd.,  
Huntingdon,  
Cambridgeshire,  
PE18 6ES,  
England.

Tel: + 44 (480) - 890431

Fax: + 44 (480) - 890693



THE CENTRE OF EXCELLENCE

毒性病理、人体病理、ペット病理、薬理試験病理

# 病理学のデパート

## 〈業務内容〉

### (1) 病理組織学検査

検査対照：各種の分野に対応

チェックシステム：有資格者による確認

研修制度：標本検討会（週1回）

### (2) 組織標本作製

〔染色項目〕：エラスチカ・H.E.、アザン、  
アルシヤンブルー・PAS、ギッター、  
PTAH、フォンタナマッソン、グリメリウス、  
ベルリン青、コンゴ赤、オルセイン  
パパニコロ、ギムザ、ズダンⅢ、ニッスル、  
トルイジン・ブルー、他。

〔酵素抗体法項目〕：lysozyme, PCNA, S-100,  
Vimentin, Desmin, GFAP, IgA, IgG,  
insulin, keratin, 他。

## (株)札幌総合病理研究所

〒064 札幌市中央区南12条西18丁目3-17

TEL：011-563-6215

FAX：011-563-6299

所長 小野江為則

研究部長 竹内 雅也

