

第11回日本毒性病理学会

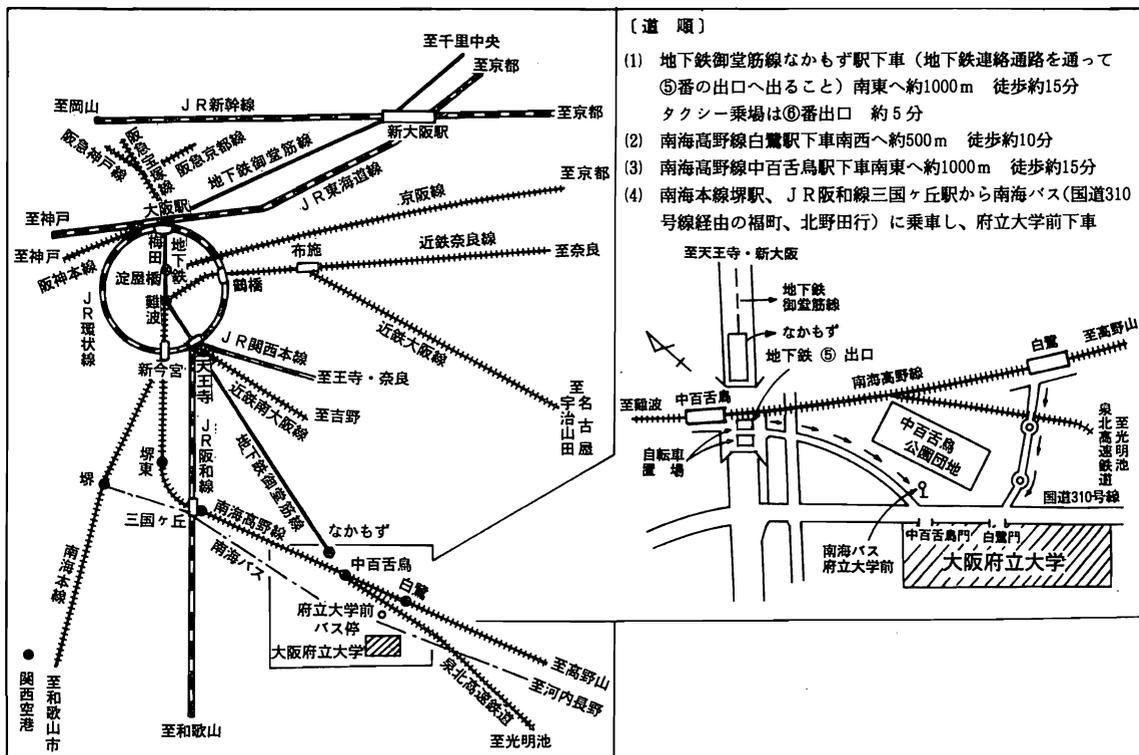
講演要旨集



1995年1月26～27日

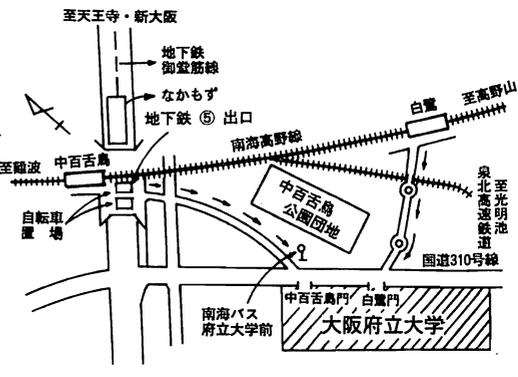
大 阪

会場への交通案内

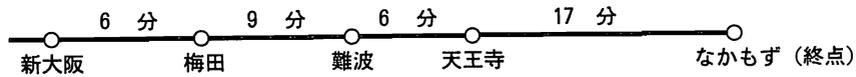


〔道 順〕

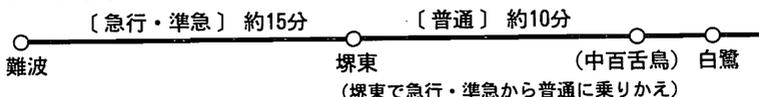
- (1) 地下鉄御堂筋線なかもず駅下車（地下鉄連絡通路を通じて⑤番の出口へ出ること）南東へ約1000m 徒歩約15分
タクシー乗場は⑥番出口 約5分
- (2) 南海高野線白鷺駅下車南西へ約500m 徒歩約10分
- (3) 南海高野線中百舌鳥駅下車南東へ約1000m 徒歩約15分
- (4) 南海本線堺駅、JR阪和線三国ヶ丘駅から南海バス（国道310号線経由の福町・北野田行）に乗りし、府立大学前下車



● 地下鉄御堂筋線 所要時間



● 南海高野線 所要時間（泉北高速鉄道は堺東又は中百舌鳥で乗りかえ）



学会会場：大阪府立大学

総合情報センター・大ホール（第Ⅰ会場）：講演

学術交流会館・多目的ホール（第Ⅱ会場）：講演

コミュニティー棟（第Ⅲ会場）：示説

堺市学園町1番1号 TEL 0722-52-1161（内線2914）

スライドコンファレンス会場：第Ⅱ会場

懇親会会場：第Ⅱ会場

評議員会会場：第Ⅱ会場

<お願い> マイカーでのご来場はご遠慮下さい。

第11回日本毒性病理学会

1. 期 日 1995年1月26日(木), 27日(金)
2. 会 場 大阪府立大学
3. 会 長 佐久間貞重(大阪府立大学農学部)
- 副 会 長 宮 嵐 宏彰(新日本科学)
- 組織委員長 小谷 猛夫(大阪府立大学農学部)
4. プログラム委員会
- 委 員 長 宮 嵐 宏彰(新日本科学)
- 委 員 安藤 孝夫(武田薬品・薬安研)
- 梅村 孝司(鳥取大・農)
- 川合 是彰(田辺製薬・安全研)
- 小谷 猛夫(大阪府大・農)
- 小西 陽一(奈良医大・腫病)
- 白井 智之(名市大・医)
- 福島 昭治(大阪市大・医)
- 真板 敬三(残農研)

(50音順)

5. 日 程

第1日	1月26日(木)	第I会場	第II会場	第III会場
	8:20~	総合受付開始		8:30~9:00
	8:55~9:00	開会挨拶		示説受付・展示
	9:00~10:50	シンポジウム1		9:00~17:30
	11:00~12:00	特別講演1		示説展示
	12:10~13:00	昼 食*	評議員会	(P-1~P-96)
	13:00~15:00	一般講演(1~12)		
	15:00~17:30			示説質疑★
	18:00~20:00		懇親会	

★:示説 質疑応答:15:00~17:30 発表(1題3分):16:00~17:00

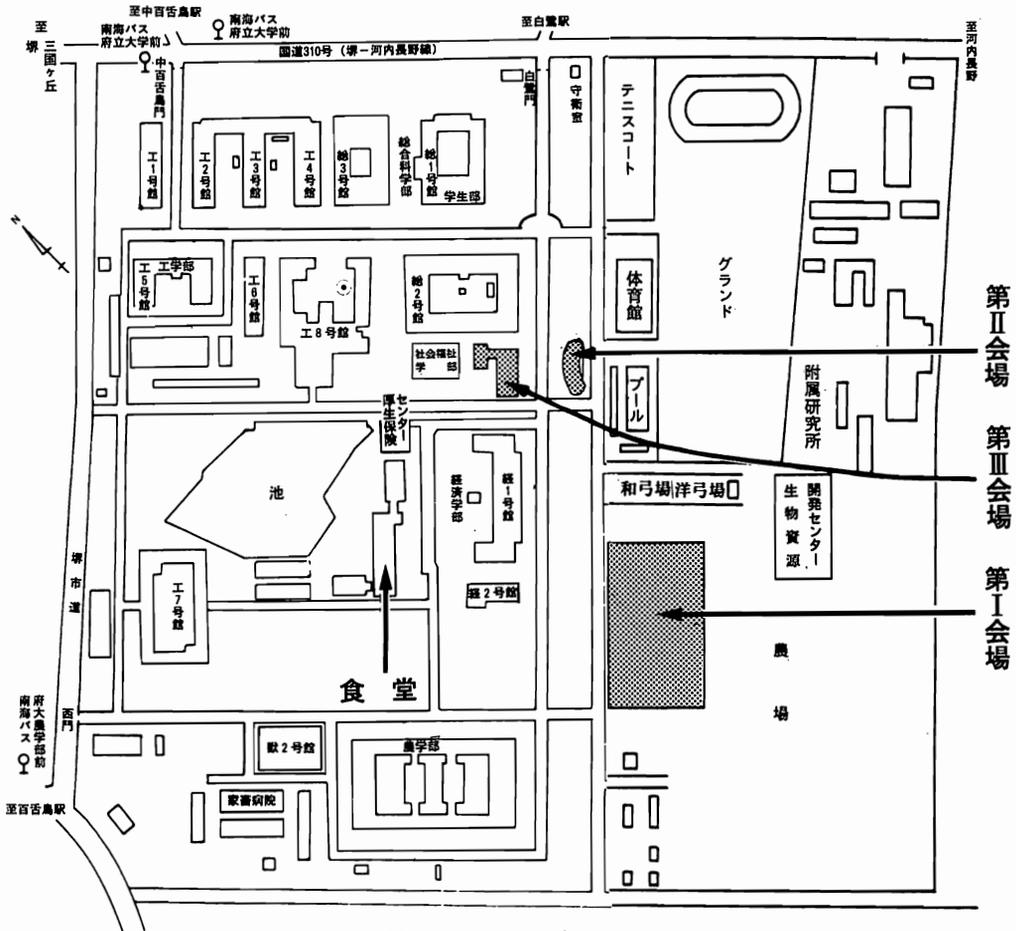
第2日	1月27日(金)	第I会場	第II会場
	9:00~10:50	一般講演(13~23)	一般講演(34~44)
	11:00~12:00	特別講演2	
	12:00~12:10	総 会	
	12:10~13:00	昼 食*	
	13:00~15:20	シンポジウム2	
	15:30~15:50	教育講演	15:30~17:20
	15:50~17:30	一般講演(24~33)	一般講演(45~55)
	17:30~17:45	表彰・閉会挨拶	

*:昼食は学生会館食堂, その他をご利用下さい。

6. 事務局 〒593 大阪府堺市学園町1番1号
 大阪府立大学農学部
 獣医病理学講座 小谷 猛 夫
 TEL 0722-52-1161 (内線2480)
 FAX 0722-50-7208

会場案内図

大阪府立大学学舎



第I会場：総合情報センター・大ホール

第II会場：学术交流会館・多目的ホール

第III会場：コミュニティー棟

◎スライドコンファランス会場：第II会場

◎懇親会会場：第II会場

◎評議員会会場：第II会場

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 演題
1	東 京	西山 保一 (北里学園)	1985. 3. 25	2	0	0
2	東 京	藤原 公策 (東 大)	1986. 2. 7 ~ 8	1	5	29
3	名古屋	伊東 信行 (名 市 大)	1987. 2. 6 ~ 7	1	8	47
4	浜 松	榎本 眞 (安 評 セ)	1988. 2. 5 ~ 6	1	7	55
5	横 浜	蟹澤 成好 (横 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	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	
11	大 阪	佐久間貞重 (大阪府大)	1995. 1. 26 ~ 27	2	9 教 育 講 演 1	151

参加者へのお願い

参加者の方へ

◎原則として事前登録*をお願いします。

1. 総合受付は学会第1日は午前8時20分から、学会第2日は午前8時30分から第I会場（総合情報センター・大ホール）1階ロビーにて行います。
2. 事前登録者：総合受付で「郵便振替払込金受領証」を提示し、参加章を受取り、会期中は必ず左胸につけて下さい。
3. 当日参加者：総合受付で参加費（8,000円）を納入して参加章を受け取り、氏名・所属を記入の上会期中は必ず左胸につけて下さい。
4. 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。

*：登録・送金方法：参加費（7,000円）。学会誌Vol. 7 (No. 2)折込みの郵便振替用紙をご使用下さい（郵便局備え付けの振替用紙でも結構です）。

口座番号：大阪8-86974, 新用紙00980-4-86974

加入者名：第11回日本毒性病理学会事務局

登録締切：平成6年12月16日（金）必着

演者の方へ

1. 一般講演の講演時間は7分（6分に予告）、討論時間は3分です。
2. プロジェクターは35mm版用を1台用意します。
3. スライドは講演開始30分前までに第I・第II各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15枚以内をお願いします。
4. 次演者の方は指定の次演者席にお着き下さい。
5. 講演時間は厳守して下さい。

座長の方へ

1. 座長の方は、ご担当30分前までに各会場入口の受付にお越し下さい。
2. 次座長の方は次座長席にお着き下さい。
3. 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

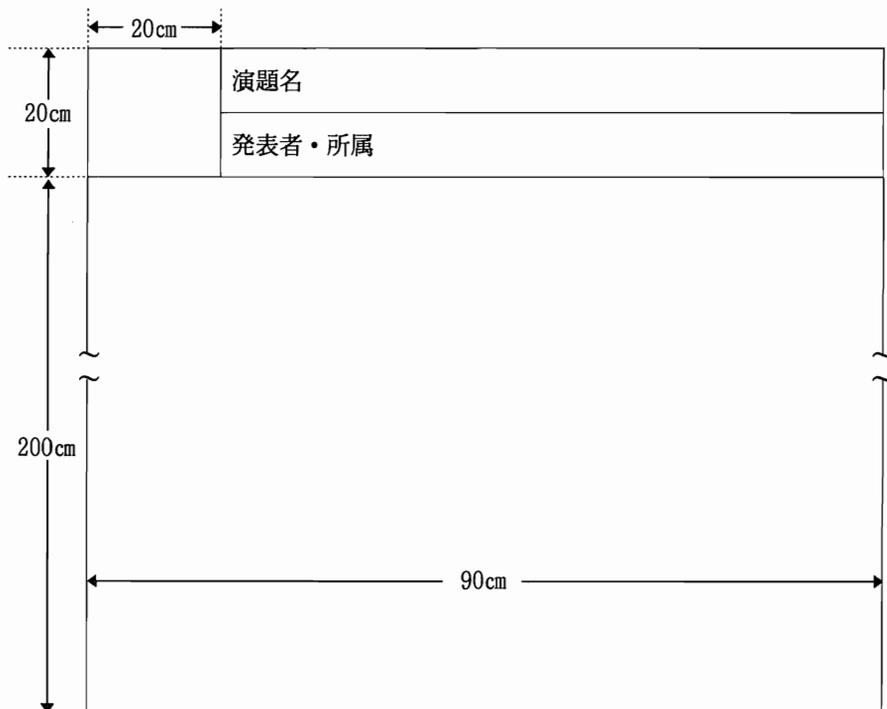
1. 総会は学会第2日の12時00分より第I会場にて行います。
2. 評議員会は学会第1日の12時10分より第II会場（学術交流会館多目的ホール）にて行います。（昼食は有料で用意します）。

懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第1日の18時から20時まで第II会場（学術交流会館多目的ホール）にて開催します。
2. 懇親会費：7,000円 …… 学会参加費と同様、事前登録をお願いします（懇親会費と共にご送金下さい）。
3. 事前登録者は、総合受付で学会参加章とともに懇親会参加章をお受取り下さい。
4. 第I会場のクロックは17時30分で閉鎖しますので、以降は懇親会場のクロックをご利用下さい。

示説をされる方へ

1. 示説の受付は学会第1日・8時30分から第Ⅲ会場（コミュニティー棟）入口にて行います。
総合受付（第Ⅰ会場）で学会参加章を受け取ったのち、9時00分までに示説受付と展示を済ませて下さい。
2. 展示時間は9時00分～17時30分です。
15時00分～17時30分の間、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。
16時00分～17時00分の間は座長付きで発表（3分）・討議（3分）をして下さい。
3. パネルの大きさは縦200cm、横90cmです（下図参照）。
4. 展示には学会で用意した画鋏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製し、持参・展示して下さい（演題番号は主催者で用意します）。



特別講演, 教育講演, シンポジウム プログラム

特別講演 1

第1日 (1月26日, 第I会場) 11:00~12:00 司会 小西 陽一 (奈良医大・腫病)

- 特-1. Recent progress in the field of toxicologic pathology in Europe and the need for standardization. 3
U. MOHR (Inst. Exp. Pathol., Hannover Med. Sch., Germany)

特別講演 2

第2日 (1月27日, 第I会場) 11:00~12:00 司会 宮嶋 宏彰 (新日本科学)

- 特-2. The predictive value of pathological findings in animal toxicity studies. 5
C. GOPINATH (Huntingdon Res. Cent. Ltd., UK)

教育講演

第2日 (1月27日, 第I会場) 15:30~15:50 司会 永田 良一 (新日本科学)

- 教-1. The importance and conduct of quality assessment (peer review) in the United States. 9
J. C. SEELY (PATHCO, Inc., USA)

シンポジウム 1

第1日（1月26日，第I会場）9:00～10:50 司会 宮嶋 宏彰（新日本科学）
小谷 猛夫（大阪府大・農・病理）

病理学からみた免疫毒性とその応用

- S 1 - 1. 免疫担当細胞の分化と抗原認識の形態学 13
岡田幸助（岩手大・農・病理）
- S 1 - 2. 毒性物質による炎症性サイトカインの誘導および細胞死 14
○小野寺 節，松本安喜（東大・農・免疫）
- S 1 - 3. 免疫毒性試験法の現状と問題点 15
○西条武俊，宮嶋宏彰（武田薬品・薬安研）
- S 1 - 4. 医薬品開発における免疫毒性試験の現状 16
牧 栄二（ヤンセン協和）

シンポジウム 2

第2日（1月27日，第I会場）13:00～15:20 司会 前川 昭彦（佐々木研・病理）
福島 昭治（大阪市大・医・1病）

非変異原性化学物質とその発癌性

- S 2 - 1. 肝の発癌性 17
臼居敏仁（ヤンセン協和）
- S 2 - 2. 抗酸化物質による発癌 18
広瀬雅雄（名市大・医・1病）
- S 2 - 3. 性ホルモンと発癌 19
○伊藤明弘，藤本成明（広大・原医研）
- S 2 - 4. 細胞増殖による発がん 20
吉川邦衛（三菱・総合研）
- S 2 - 5. 発癌性評価 21
高橋道人（国立衛試・病理）

一般講演プログラム

○：発表者

第I会場 第1日(1月26日) 午後

13:00~13:30 座長 板垣慎一(東大・農・実動)

1. アドリアマイシン誘導体による肝毒性の検討(第4報)
—類洞壁構造に及ぼす影響— 25
○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, 伊賀崎裕子,
岩井正和(ミドリ十字・安全研)
2. Spironolactone (Spl) 投与ラットに認められた多核肝細胞(Multinucleated Hepatocytes ;
MHs) について 26
○土屋毅幸, 小林 潔, 後藤和広, 杉本次郎, 佐野文字, 務台 衛
(三菱化学・横浜総研・安全研)
3. チオアセトアミドによる肝硬変の発症について 27
○埜田 茂¹, 平川公昭¹, 仲辻俊二¹, 井戸側博一¹, 武部秀太郎¹, 山手丈至²,
佐久間貞重²(¹鐘紡, ²大阪府大・農・病理)

13:30~14:00 座長 渡辺満利(持田製薬・安全研)

4. 担癌ラットにおけるバリン欠乏アミノ酸インバランス抗癌輸液療法の脂肪肝に関する病理学的
的検討 28
○小松博道, 西平哲郎, 陳 正浩, 佐川純司, 標葉隆三郎, 森 昌造
(東北大・医・2外)
5. ガラクトサミンによる初代培養肝細胞におけるアポトーシスの誘発 29
○筒井茂樹¹, 平澤健介¹, 武田真記夫¹, 板垣慎一¹, 前田 健², 見上 彪²,
土井邦雄¹(東大・農・¹実動, ²微生物)
6. 家兔胆嚢上皮細胞のコラーゲンゲル内培養: 極性発現とその異常 30
○吉田一晴¹, 三善隆広¹, 木澤和夫¹, 守田禎一¹, 河村泰仁¹, 児玉卓也¹,
齋藤勝彦², 片柳和義², 中沼安二²(¹富山化学・安全研, ²金沢大・医・2病)

14:00~14:30 座長 泉 啓介(徳大・医・2病)

7. 乳酸鉄のラットにおける消化管毒性について 31
○前田 博, 松浦哲郎, 尾崎清和, 奈良間 功(摂南大・薬・薬物安科研)
8. 天然甘味料 Stevioside 投与によるラットの腸上皮及び腸内の細菌叢への影響 32
○豊田和弘, 松井 元, 畝山智香子, 川西 徹, 高橋道人(国立衛試・病理)

9. フルクトース誘発の高トリグリセリド血症ラットにおけるアセトアミノフェン肝腎毒性の発現様式 33
 ○石田勝彦¹, 坂爪正志¹, 池上 仁¹, 保坂直美¹, 堺 俊治¹, 土井邦雄²
 (¹山之内製薬・創薬安全研, ²東大・農・実動)
- 14:30~15:00 座長 森 秀樹 (岐大・医・1病)
10. ラットにおけるジェチルニトロサミン (DEN) およびコリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食による肝前癌病変誘発に対する (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) の及ぼす影響 34
 ○田村一利, 中江 大, 堀口浩資, 小笠原裕之, 高島吉治, 小西陽一
 (奈良医大・がんセ・腫病)
11. エチオニン添加コリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食によるラット肝発癌機構に対するN, N'-ジフェニール-p-フェニレンジアミン (DPPD) と2-O-オクタデシルアスコルビン酸 (CV3611) の影響 35
 ○小林永策, 辻内俊文, 中江 大, 丸山博司, 遠藤武弘, 野口 修, 長谷川清彦,
 高島吉治, 堤 雅弘, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫病)
12. ラット肝における酸素偏倚小増殖巣の腫瘍性結節への進展に対する促進効果 36
 ○遠藤武弘, 野口 修, 傳田阿由美, 安藤信明, 小林永策, 三井雅之, 吉田順一,
 Amedeo Columbano, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫病)

第I会場 第2日 (1月27日) 午前

- 9:00~9:30 座長 野々山孝 (武田薬品・薬安研)
13. Histogenesis of hepatocellular carcinoma and cholangiofibrosis induced by glyceryl trinitrate in male F344/Ncr rats 37
 Tamano, S. ¹, Diwan, B. A. ², Keefer, L. K. ³, Ward, J. M. ¹
 (¹VTPS&OLAS, NCI, ²BCDP&PRI/Dyn Corp, ³LCC, NCI Frederick, MD, USA)
14. DEN 誘発肝発癌におけるクロロフィリンの修飾効果 38
 ○杉江茂幸¹, 岡本清尚¹, 牧田浩樹¹, 大西将美¹, 渡辺知幸¹, 田中卓二¹, 森 秀樹¹,
 佐藤公彦² (¹岐阜大・医・病理, ²弘前大・医・2生化)
15. 制限給餌がラット肝臓の腫瘍性病変発生におよぼす影響 39
 ○永田伴子, 丸茂秀樹, 斉藤義明, 今井 清 (食薬安全セ・秦野研)

9:30~9:50 座長 原田孝則(残農研)

16. Piperonyl butoxide のラット肝発癌メカニズムに関する研究
I. 反復投与における肝薬物代謝酵素の変動と局在 40
○真鍋 淳¹, 三森国敏², 小野寺博志², 安原加壽雄², 大橋芳彦¹, 高橋道人²
(¹三共・安全研, ²国立衛試・病理)
17. Piperonyl butoxide のラット肝発癌メカニズムに関する研究
II. 反復投与における肝病変の形態学的特徴と connexin 32 の変動 41
○小野寺博志¹, 三森国敏¹, 伊藤聖一², 田中三菜², 今沢孝喜¹, 安原加壽雄¹,
高橋道人¹, (¹国立衛試・病理, ²住友化学・生物環境研)

9:50~10:20 座長 立松正衛(愛知がんセ・1病)

18. ラット胃発癌におけるビタミンD₃類縁化合物の影響 42
○西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 今沢孝喜, 三井雅之, 榎並倫宣, 高橋道人
(国立衛試・病理)
19. マウスにおける Benzo [a] pyrene の胃発癌に対するストレスの影響 43
○北澤利明¹, 原田孝則¹, 吉田明由¹, 木下三佳¹, 吉田敏則¹, 真板敬三¹,
長谷川亨², 清水義治³ (¹残農研, ²佐賀医大, ³埼玉医大)
20. アスピリンのハムスター膀胱発癌プログレッションに及ぼす促進効果 44
○堀口浩資, 堤 雅弘, 小林永策, 野口 修, 辻内俊文, 田村一利, 傳田阿由美,
小西陽一(奈良医大・がんセ・腫病)

10:20~10:50 座長 渡辺敦光(広大・原医研)

21. 十二指腸液逆流によるラット残胃モデルに発生する小腸癌 45
○湯浅啓史^{1, 2}, 稲田健一¹, 山本昌美¹, 増井恒夫¹, 川合是彰², 立松正衛¹
(¹愛知がんセ・研・1病, ²田辺製薬・安全研)
22. WF-Osaka ラットの伝播性大腸癌について 46
○今木正文, 赤井啓二, 宮本 誠(大阪大・病院・病理)
23. ラット DMH 誘発大腸微少前癌病変に対する 22-oxacalcitriol の抑制作用の用量相関性と食餌制限の効果 47
○大年辰幸, 松田 勉, 高田信康, 陳 天新, 福島昭治(大阪市大・医・1病)

第 I 会場 第 2 日 (1 月 27 日) 午後

15:50~16:20 座長 安藤孝夫 (武田薬品・薬安研)

24. ラット慢性腎症の腎間質線維化におけるマクロファージの動態および細胞外マトリックスの
変化について 48
○仲辻俊二¹, 井戸側博一¹, 平川公昭¹, 武部秀太郎¹, 山手丈至², 佐久間貞重²
(¹鐘紡, ²大阪府大・農・病理)
25. シスプラチンの反復投与により誘発されたラット腎間質線維化の病態解析 49
○山手丈至¹, 石田明弘¹, 辻野久美子¹, 辰巳正史¹, 仲辻俊二², 桑村 充¹,
小谷猛夫¹, 佐久間貞重¹ (¹大阪府大・農・病理, ²鐘紡)
26. Epichlorohydrin 暴露ラットの腎障害と Apoptosis 50
○伊藤敦子¹, 渡部美千子¹, 伊藤金次² (¹東邦大・医・法医, ²同・2 病)

16:20~16:50 座長 真鍋 淳 (三共・安全研)

27. Methyl cellulose 腹腔内投与後のラット腎臓の電顕的観察 51
○城塚康毅, 永藪徳久, 伊藤隆康, 安藤孝夫, 佐々木啓 (武田薬品・薬安研)
28. 脳機能改善薬 nefiracetam によるイヌ膀胱および腎病変の検討 52
○櫻田陽子, 吉田貢由, 下田耕司, 宮本恵美, 加藤道幸, 野村 護
(第一製薬・安全研セ)
29. クロロホルム吸入暴露によるマウスの腎臓障害
—腎近位尿管細管壊死 (13週間試験) と腎腫瘍発生 (104週間試験) — 53
○相磯成敏, 竹内哲也, 野田圭介, 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)

16:50~17:10 座長 広瀬雅雄 (名市大・医・1 病)

30. BBN 膀胱癌および uracil 膀胱癌におけるポリアミン代謝ならびに PKC アイソザイムの免疫
組織化学的検討 54
○高田信康, 鰐渕英機, 松田 勉, 高場克巳, 福島昭治 (大阪市大・医・1 病)
31. ラットおよびハムスターにおける 3, 2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) の DNA 付加体
の免疫組織化学的検討 55
○八尾野真人, 長谷川良平, 木村重紀, 小木曾正, 白井智之 (名市大・医・1 病)

17:10~17:30 座長 白井智之 (名市大・医・1 病)

32. ラット膀胱発癌過程における腫瘍性移行上皮病変の扁平上皮化と細胞動態 56
○務台 衛¹, 増井恒夫², 稲田健一², 小林 潔¹, 山本昌美², 長谷川良平³,
立松正衛² (¹三菱化学・横浜総研・安全研, ²愛知がんセ・1 病, 名市大・医・1 病)

33. マウス膀胱がんの遺伝子変異の検索 57
 ○朝元誠人¹, 佐野真士², 岩堀嘉郎¹, 馬場弘靖¹, 津田洋幸¹, 白井智之²
 (¹国立がんセ・研・化療, ²名市大・医・1病)

第Ⅱ会場 第2日(1月27日) 午前

9:00~9:30 座長 茶谷文雄(武田薬品・薬安研)

34. ラットの精巣毒性における巨細胞の形成に関する検討 58
 ○松井 元¹, 北嶋修司¹, 岡田希子¹, 豊田和弘², 川西 徹², 高橋道人²
 (¹化血研・病理, ²国立衛試・病理)
35. 精子通過経路結紮モデルラットにおける精巣および精巣上体の病理組織学的変化 59
 ○白木克尚, 藤本隆平, 穴戸隆男, 泉澤信行, 小野美穂子, 加藤里美, 岡宮英明
 (山之内製薬・創薬安全研)
36. 間細胞腫を発症したラットの精巣にみられた上皮性細胞増殖 60
 ○横山光恵, 勝田 修, 岡崎欣正, 涌生ゆみ, 山岸保彦, 武知雅人, 土谷 稔
 (三菱化学安科研)

9:30~9:50 座長 山崎寛治(化学品検協・安全セ)

37. Bisphosphonate 投与ラットにおける破骨細胞の変化 61
 ○藤本隆平, 白木克尚, 中野健二, 三浦久樹, 高橋浩一郎, 花田貴宣
 (山之内製薬・創薬安全研・臨床薬理研)
38. 局所の炎症により誘発される骨の増生 62
 ○足立民子, 湯浅啓史, 西村友成, 乾 俊秀, 川合是彰(田辺製薬・安全研)

9:50~10:10 座長 勝田 修(三菱安科研)

39. In situ ハイブリダイゼーション法を用いた骨折治癒過程における骨基質蛋白質 mRNA の局在について 63
 ○平川公昭^{1,2}, 仲辻俊二², 井戸側博一², 武部秀太郎²(¹大阪大, ²鐘紡)
40. 摂餌制限ラット大腿骨の形態計測学的検討 64
 ○永井博文, 浜條ひとみ, 今井良悦, 佐々木啓(武田薬品・薬安研)

10:10~10:30 座長 相内聖峰(実医研)

41. 5-Azacytidine による初代培養マウス胎仔神経細胞のアポトーシス 65
 ○Mokbul Md. Hossain, 中山裕之, 上塚浩司, 中村紳一郎, 後藤直彰
 (東大・農・病理)

42. Tri-ortho-cresyl-phosphate (TOCP) 投与による中枢神経病変 —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— …………… 66

○高橋明美¹, 水谷 誠², 板倉智敏³

(¹日本たばこ・安全研, ²日生研, ³北大・獣医・病理)

10:30~10:50 座長 山手丈至 (大阪府大・農・病理)

43. 小脳石灰化の発生機序 —チオフェン中毒ラット— …………… 67

○森 文秋, 高屋豪瑩 (弘前大・脳研・神経病理)

44. ラットのフェニトイン誘発脳血栓症に関する基礎検討 …………… 68

○岩崎 仁¹, 大町 康¹, 宮崎登志子¹, 谷 茂², 糟谷英俊², 清水 隆²

(¹田辺製薬・薬物代謝研, ²済生会栗橋病院)

第Ⅱ会場 第2日 (1月27日) 午後

15:30~16:00 座長 川合是彰 (田辺製薬・安全研)

45. ラットにおける食餌制限による諸臓器の経時的組織学的変化 …………… 69

○今村いづる, 松本博隆, 橋本賢次, 猪又 晃, 山中浩詠, 堀井郁夫 (日本ロシユ研)

46. MNU投与を飲料水で行ったF344雄ラットの低ヨード餌の効果 …………… 70

○渡辺敦光, 後藤孝彦, 安東保海, 山田和正, 岡本太郎, 栗栖和信, 藤本成明,
伊藤明弘 (広大・原医研・腫瘍)

47. サルフアジメトキシソ間欠投与と連続投与によるラット甲状腺増殖性病変誘発力の比較 …………… 71

○下 武男¹, 三森国敏², 小野寺博志², 高橋正一³, 上野芳夫⁴, 永田 治¹,
高橋道人² (¹北陸製薬・研究部, ²国立衛試・病理, ³佐々木研・病理, ⁴東京理科大・薬)

16:00~16:20 座長 今井田克己 (名市大・医・1病)

48. Monocrotaline 誘発マウス肺線維症と肺腫瘍発生との関連性に関する検討 …………… 72

○安原加壽雄, 三森国敏, 小野寺博志, 下 武男, 高橋道人, 林 裕造
(国立衛試・病理)

49. イソプロテレノールを投与したラットにおける心臓の早期形態変化と血圧および心電図における変化との関係について …………… 73

○花見正幸¹, 鈴木 順¹, 佐村恵治¹, 松本浩良¹, 高橋令治²

(¹萬有製薬・開発研, ²麻布大・獣・2病)

16:20~16:50 座長 傳田阿由美 (奈良医大・腫病)

50. ラット多臓器発癌モデルを用いた亜硝酸ナトリウムとメチル尿素またはモルホリンとの複合投与による発癌修飾作用の検討 74
○北野光昭, 高田信康, 大年辰幸, 村井 隆, 福島昭治 (大阪市大・医・1病)
51. LECラットの化学発癌剤に対する発癌感受性の検討 75
○長根芳文, 北浦敬介, 泉 啓介 (徳島大・医・2病)
52. ラットの同系可移植性線維肉腫におけるシスプラチン投与の血管構築への影響 76
○垣成一郎^{1, 2}, 山手丈至², 岩城正枝², 桑村 充², 小谷猛夫², 佐久間貞重²
(¹日本ベーリンガーインゲルハイム, ²大阪府大・農・病理)

16:50~17:20 座長 今井 清 (食薬安全セ・秦野研)

53. rIL-2連続腹腔内注入マウスにおける腹腔内浮遊細胞の特性 77
○矢原 功, 山県英弘, 井上 知 (塩野義製薬・新薬研)
54. スナネズミ骨髄における好塩基球産生 78
○岡田 学^{1, 2}, 有菌直樹² (¹塩野義製薬・新薬研, ²京都府医大・医動物)
55. コンピューターネットワークによる実験動物飼育管理システムの開発 79
○岩堀嘉郎, 馬場弘靖, 朝元誠人, 津田洋幸 (国立がんセ・研・化療)

示説プログラム

○：発表者

* 発表者は35才以下

第Ⅲ会場 第1日（1月26日）

15:00～17:30（質疑応答）

示説 1 （16:00～17:00） 座長 小泉 治子（前臨床医学研）
武部秀太郎（鐘紡・薬安研）

- P-1 * ラット肝に出現する oval cell のレクチン結合性および糖鎖抗原の発現について 83
○三善隆広¹，吉田一晴¹，木澤和夫¹，守田禎一¹，河村泰仁¹，児玉卓也¹，中沼安二²
（¹富山化学・安全研，²金沢大・医・2病）
- P-2 * 高コレステロール食投与スナネズミ（*Meriones unguiculatus*）における肝病変 84
○筒井美麻，野村明日香，中川由紀子，行之内保紀，張 永蓉，山口 格，藤原公策
（日大・農獣・2病）
- P-3 * T-2 トキシンのマウス肝臓に及ぼす影響 85
○李 旻宰¹，河村晴次¹，板垣慎一¹，田村一利²，土井邦雄¹
（¹東大・農・実動，²ボゾリサーチ）
- P-4 * ラット肝線維症モデル（卵黄感作）における各種コラーゲンの局在 86
○城田真理子，田中俊光，後藤鋼星，小林孝好（ヘキストジャパン・開発研）
- P-5 * ストレプトゾトシン誘発糖尿病ハタネズミにおける膵・肝および腎病変について 87
○佐々木稔¹，木村れい子¹，花見正幸¹，松本浩良¹，金子 仁²，高木 素²，
新井敏郎²（¹萬有製薬・開発研，²日獣大）
- P-6 WBN/Kob ラットの自然発症膵炎に対するニコチナマイドの影響 88
○古川文夫，西川秋佳，今沢孝善，榎並倫宣，池崎信一郎，高橋道人（国立衛試・病理）
- P-7 * ビーグル犬にみられた食道の異所性胃粘膜島の1症例 89
○佐藤 亮，小倉基裕，南 孝則，松本智志，仙頭美和，三好文暁，木下啓明
（大塚製薬・徳島研）
- P-8 * ラットの盲腸に好発する肉芽腫性病変 ー統報ー 90
山口裕子（ボゾリサーチ）

示説 2 (16:00~17:00) 座長 布谷鉄夫 (日生研)
村岡義博 (塩野義製薬・新薬研)

- P-9 Bromobenzene, acetaminophen 肝障害に対する phenobarbital と clofibric acid 前処置
の効果 91
○矢本 敬, 真鍋 淳, 大橋芳彦, 寺西宗広, 松本悦嗣, 田中宏治, 瀬畑信哉,
松沼尚史 (三共・安全研)
- P-10 フェノバルビタール投与によるイヌ肝細胞封入体の検討 92
○伊藤隆康, 堀之内彰, 城塚康毅, 安藤孝夫 (武田薬品・薬安研)
- P-11 *イヌの肝臓における酸素誘導と病理形態学的変化
-Phenobarbital と clofibrate の作用- 93
松本悦嗣, ○田中宏治, 矢本 敬, 寺西宗広, 大橋芳彦, 安田充也, 真鍋 淳,
松沼尚史 (三共・安全研)
- P-12 ラットにおけるジエチルニトロソアミン (DEN) およびアセトアミノフェン (APAP)
投与による肝 DNA 中の8-ヒドロキシグアニン (8-OHG) の誘発 94
○安藤信明, 中江 大, 水本靖士, 野口 修, 白岩和己, 天沼利宏, 小笠原裕之,
傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫病)
- P-13 *Non-RI PCR-SSCP を用いた B6C3F₁ マウス肝組織の H-ras 遺伝子の検索 95
○飯田麻里, 山川誠己, 岩田 聖, 榎本 眞 (安評センター)
- P-14 クロロホルムによる肝臓および腎臓の急性毒性と細胞増殖の関係 96
○宮川 誠, 勝田 修, 千田哲士, 村上美枝, 豊田直人, 大塚靖夫, 土谷 稔
(三菱化学安科研)
- P-15 BrdU を用いた in vivo ラット RDS 試験による非変異がん原性物質の検出
-腎臓, 膀胱, 肺, 胃, 膵臓, 甲状腺での検討- 97
○千田哲士, 宮川 誠, 勝田 修, 大塚靖夫, 田子 穰, 井上真奈美, 村上美枝,
土谷 稔 (三菱化学安科研)
- P-16 *Microsatellite DNA polymorphism を指標とした C3H⇔BALB/c キメラマウス大腸
癌の単クローン性の検索 98
○山本昌美¹, 増井恒夫¹, 深見博子¹, 米良幸典², 山口 格², 立松 正衛¹
(¹愛知がんセ・研・1病, ²ゼリア新薬)

示説 3 (16:00~17:00) 座長 津田洋幸 (国立がんセ・研)
田村一利 (ボゾリサーチ・病理)

- P-17 ペンタクロロフェノール投与によるマウス肝細胞増殖と酸化的 DNA 損傷 99
○梅村隆志¹, 加藤君江¹, 斎藤 実¹, 長谷川隆一¹, 黒川雄二¹, 谷村顕雄²
(¹国立衛試・毒性, ²昭和女子大)

P-18	* ペルオキシゾーム増殖剤投与ラットに観察された肝細胞小増殖巣	100
	○吉田敏則, 吉田明由, 北沢利明, 木下三佳, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)	
P-19	* ラット肝発癌過程における HGF の関与	101
	○今井俊夫, 増井恒夫, 稲田健一, 山本昌美, 立松正衛 (愛知がんセ・研・1病)	
P-20	4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide 投与ラットの膵および肝における Apoptosis の経時的観察	102
	○今沢孝喜, 西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 吉村博之, 林 裕造, 高橋道人 (国立衛試・病理)	
P-21	* Azoxymethane 誘発ラット腸管発癌に対する新規レチノイド, 5-hydroxy-4-(2-phenyl-(E)-ethenyl)-2(5H)-furanone (KYN-54) の post-initiation 相投与による抑制効果	103
	○川森俊人, 田中卓二, 大西将美, 杉江茂幸, 森 秀樹 (岐阜大・医・1病)	
P-22	4-NQO 誘発ラット口腔発癌に対する新規アロチノイド, Ro 40-8757 の抑制効果	104
	○田中卓二, 牧田浩樹, 大西将美, 井野夏子, 川森俊人, 森 良雄, 森 秀樹 (岐阜大・医・1病)	
P-23	A myelolipoma with trabecular bone formation arising from a hepatocellular adenoma of the liver in a B6C3F1 mouse.	105
	Junji Kuroda, Katsuhiko Yoshitomi (Sandoz, Tsukuba Res, Inst.)	
P-24	* N-nitrosomorpholine (NM) 誘発肝細胞癌の肺転移巣の免疫組織化学的検索	106
	○溝口靖基 ¹ , 増井恒夫 ² , 小川久美子 ¹ , 矢田英昭 ¹ , 今井田克己 ¹ , 白井智之 ¹ (¹ 名市大・医・1病, ² 愛知がんセ・研・1病)	
示説 4	(16:00~17:00) 座長 花田貴宣 (山之内製薬・安全研) 代田欣二 (麻布大・獣・1病)	
P-25	* カニクイザルの腎集合管における移行上皮化生の1例	107
	○佐竹 茂, 野村正治, 千早 豊, 李 建中, 岡崎啓幸, 永田良一, 宮嶋宏彰 (新日本科学)	
P-26	ヘテロサイクリックアミン MeA _a C の長期投与ラットに観察された腎臓障害の病理組織学的検討	108
	○萩原昭裕, 玉野静光, 田中 光, 長谷川良平, 白井智之 (名市大・医・1病)	
P-27	カニクイザルの腎腫瘍の1例	109
	○千早 豊, 李 建中, 佐竹 茂, 岡崎啓幸, 永田良一, 宮嶋宏彰 (新日本科学)	
P-28	* イヌとサル <small>の</small> 精巣の微細形態学的比較	110
	○町田一彦, 山口達也, 相内聖峰 (実医研・病理)	

- P-29 ハロペリドールによるラット精巣障害の病理組織学的検討 111
 ○高木司郎, 上村裕洋, 堀添 宏, 竹内正紀 (吉富製薬・安全研)
- P-30 Nitrazepam 経口投与によるラット雄性生殖毒性 112
 ○丸山敏之, 金森 進, 佐々木和則, 村岡義博, 岸倉次郎 (塩野義製薬・新薬研)
- P-31 Wistar 系ラットに見られた自然発生と思われる精巣上体の精子性肉芽腫 113
 ○宇都宮忠実, 林 一彦, 岸 和正 (大塚製薬・琵琶湖研)
- P-32 *Testosterone 投与に伴う前立腺内 glutathione-peroxidase (GSH-PO) mRNA の誘導
 に関する研究 114
 ○田川正志¹, 村越正典¹, 稲田理恵¹, 江口勝也¹, 堀内 敏¹, 久田 茂¹, 鈴木 稔¹,
 竹腰 進², 渡辺慶一² (¹帝国臓器・安全研, ²東海大・病理)

示説 5 (16:00~17:00) 座長 長谷川良平 (名市大・医・1病)
 西川 秋佳 (国立衛試・病理)

- P-33 膀胱発癌プロモーターである(2)-t-butyl-4-hydroxyanisole に対するスナネズミの感受
 性 115
 ○森 聖^{1,2}, 村井 隆^{1,2}, 細野素子¹, 橋本世津子¹, 武内康義¹, 武田禮二¹,
 福島昭治² (¹塩野義製薬・油日ラボ, ²大阪市大・医・1病)
- P-34 *Sodium L-ascorbate (Na-AsA) の投与期間によるラット膀胱二段階発癌プロモーション
 作用の差 116
 ○陳 天新, 北野光昭, 岩田裕之, 鰐淵英機, 福島昭治 (大阪市大・医・1病)
- P-35 *NBR 雄ラットの膀胱における BBN 感受性の検討 117
 ○高場克己^{1,2}, 中川善裕¹, 伊藤聖一¹, 吉武 彬¹, 鰐淵英機², 福島昭治²
 (¹住友化学・生科研, ²大阪市大・医・1病)
- P-36 *NON/Shi マウスおよびその姉妹系統マウスの N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)
 nitrosamine 尿路系発癌に対する感受性 118
 ○村井 隆^{1,2}, 森 聖^{1,2}, 細野素子², 橋本世津子², 大原忠雄², 牧野 進²,
 武内康義², 武田禮二², 福島昭治¹ (¹大阪市大・医・1病, ²塩野義製薬・油日ラボ)
- P-37 *マウス BBN 膀胱発癌における加齢による差異 119
 ○田中 光, 柴田雅朗, 宮田恵美子, 広瀬雅雄, 白井智之 (名市大・医・1病)
- P-38 血管新生阻害剤 TNP-470 によるウラシルおよびビーズ誘発ラット膀胱乳頭腫の増殖
 抑制効果 120
 ○鰐淵英機, 岩田裕之, 堀 高明, 林 修次, 福島昭治 (大阪市大・医・1病)
- P-39 *BBN 誘発マウス膀胱癌における P53 癌抑制遺伝子の解析 121
 ○山本晋史^{1,2}, 増井恒夫¹, 森 聖², 村井 隆², 中西速夫¹, 福島昭治², 立松正衛¹
 (¹愛知がんセ・研・1病, ²大阪市大・医・1病)

P-40 * ラット膀胱正常粘膜, uracil 乳頭腫症及び BBN 乳頭腫における cytochrome P-450 4B1 発現の検討 122

○松田 勉, 大年辰幸, 堀 高明, 北野光昭, 福島昭治 (大阪市大・医・1病)

示説 6 (16:00~17:00) 座長 藤井登志之 (藤沢薬品・安全研)
吉村 慎介 (食薬安全セ・秦野研)

P-41 加齢 F344ラットの下垂体後葉に観察される増殖性変化 123

○岩田 聖, 勝又由加, 山本慎二, 三上真一, 山川誠己, 広内康彦, 小林和雄,
榎本 眞 (安評センター)

P-42 チオウレアおよびビタミン A 同時投与による甲状腺増殖病変の増殖促進作用
I. その発現機序についての基礎的研究 124

国松武史¹, ○棚橋清子¹, 渡辺知幸¹, 奥野泰由¹, 川崎 一¹, 田中啓介², 高橋正一³,
小野寺博志⁴, 三森国敏⁴ (¹住友化学, ²三菱化成, ³佐々木研, ⁴国立衛試・病理)

P-43 * Chlormadinone acetate (CMA) 投与ラット副腎のホルモン産生能に関する形態学的
検討 125

○稲田理恵¹, 村越正典¹, 田川正志¹, 堀内 敏¹, 久田 茂¹, 鈴木 稔¹, 溝上 敦²
(¹帝国臓器・安全研, ²産業医大)

P-44 * F344ラットにみられた定型セミノーマ 126

○林 新茂, 森 郁生, 野々山 孝, 宮嶋宏彰 (武田薬品・薬安研)

P-45 * ラット前立腺癌の移植系の確立 127

○加藤浩司, 二口 充, 高橋 智, 佐野真士, 森 敏男, 白井智之 (名市大・医・1病)

P-46 Progesterone 投与によるラット陰核腺腫瘍の発生 128

○久田 茂, 堀内 敏, 村越正典, 田川正志, 稲田理恵, 佐藤敦子, 飯塚和弘,
増田修治, 伊藤清子, 高橋香奈子, 鈴木 稔 (帝国臓器・安全研)

P-47 7, 12-DMBA 誘発雌ラット乳癌に対する Estrogen 大量投与の退縮作用
—特に apoptosis の関与について— 129

○岡崎啓幸^{1, 2}, 大町勝美^{1, 2}, 李 建中^{1, 2}, 二反田隆夫¹, 小玉拓郎¹, 永田良一^{1, 2},
吉田浩己¹ (¹鹿大・医・1病, ²新日本科学)

P-48 X線の局所照射により誘発されたラット乳腺腫瘍 130

○岡田 忍, 宮川秀人, 桶田理喜 (東京医科歯科大・難治研・神病)

示説 7 (16:00~17:00) 座長 飯田晶敏 (資生堂・安全分析)
加藤道幸 (第一製薬・中研)

P-49 * rhG-CSF 大量投与によるラット骨組織の経時的变化 131

○鈴木雅実¹, 坂牧義之¹, 三好昌夫¹, 杉本哲朗¹, 鈴木繁生¹, 二木力夫²
(¹中外製薬・安全研, ²エス・エル・エー研)

- P-50 *6-sulfanilamidoindazole 誘発ラット関節炎に関する基礎的検討 132
 ○大町 康, 戸和秀一, 久米英介, 宮崎登志子, 鳥海 互, 岩崎 仁, 大塚峯三
 (田辺製薬・薬物代謝研)
- P-51 ラットにみられた自然発症した骨軟骨腫 133
 ○田中俊光, 後藤鋼星, 稲津水穂, 小林孝好 (ヘキストジャパン・開発研)
- P-52 *HanIbm: Wistar 系ラットにおける自然発症尾椎骨形成異常の高率発生 134
 ○平塚一幸, 黒田淳二, 吉富克彦 (サンド薬品・筑波総合研・安全研)
- P-53 *p-クロロニトロベンゼンの13週間経口投与によるラット及びマウスの脾臓への影響
 135
 ○櫻 ゆみ, 竹内哲也, 野田圭介, 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)
- P-54 p-クロロニトロベンゼンの104週間混餌投与によるF344ラットに発生した脾腫瘍
 136
 ○片桐 卓, 竹内哲也, 野田圭介, 櫻 ゆみ, 妹尾英樹, 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)
- P-55 *巨核球emperipolesisの発生増加に及ぼす巨核球と顆粒球の動態 137
 ○田中雅治, 阿瀬善也, 西山 寛, 下内孝司, 板垣伊織, 四宮啓祐, 藤田常夫
 (小野薬品・福井安全研・毒病)
- P-56 *若齢SDラットに認められた上皮優勢型胸腺腫の1例 138
 ○正田俊之¹, 蔵元 茂¹, 篠原正巳¹, 渡部和義¹, 島村和位¹, 山手丈至²,
 佐久間貞重² (¹鳥居薬品・研, ²大阪府大・農・病理)
- 示説 8 (16:00~17:00) 座長 三森国敏 (国立衛試・病理)
 中江 大 (奈良医大・腫病)
- P-57 *成熟ラット神経節培養系を用いた末梢神経毒性の検索 139
 ○早川和宏, 築館一男, 日比野信裕, 福田種男, 細川 暁, 園田二郎, 青木豊彦,
 本岡 覚, 中野渡純一, 山津清實 (エーザイ・安全研)
- P-58 *実験用ビーグル犬の脊髄神経根における自然発症性鉍物沈着について 140
 ○山本慎二, 勝又由加, 三上真一, 山川誠己, 岩田 聖, 広内康彦, 小林和雄,
 榎本 眞 (安評センター)
- P-59 C57BL/6系マウスに発現したNeuroaxonal dystrophy 141
 ○高橋政壽, 藤原 弘, 岩田 眞, 土門 晋, 船橋英行 (ヤクルト・中研)
- P-60 ラットにおけるTri-ortho-cresyl phosphate 誘発性脊髄病変に対する
 Phenylmethylsulfonyl fluorideの増強効果の定量的解析 142
 ○乾 公正, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)

- P-61 *アルミトリン代謝物投与ラットの脊髄背根神経節に形成されたライソソーム性層板状小体 143
 ○山中義弘^{1,2}, 浅野 哲², 秦 純子², 金子英志², 武田利明², 宇野 洋²,
 伊澤義弘², 藤原公策¹ (¹日大・農獣・2病, ²帝人医薬開発研)
- P-62 *ICR系(CD-1)マウスにおける自然発生髄膜腫の症例報告 144
 ○木下三佳, 吉田明由, 北沢利明, 吉田敏則, 原田孝則, 真板敬三(残農研)
- P-63 *若齢ラットの三叉神経原発悪性神経鞘腫の自然発生病例 145
 ○義澤克彦¹, 松本正博¹, 牧野奈津代¹, 鈴木淳也¹, 大石裕司¹, 藤平司郎¹,
 山内研司², 岩波黄葵¹, 藤井登志之¹ (¹藤沢薬品・安全研・病理, ²一般毒性)
- P-64 Fischer ラットの腹腔傍神経節腫についての病理学的検討 146
 ○吉田明由, 原田孝則, 北沢利明, 木下三佳, 吉田敏則, 真板敬三(残農研)

示説 9 (16:00~17:00) 座長 土谷 稔(三菱安科研)
 中山裕之(東大・農・病理)

- P-65 *10週齢のF344ラットにみられた上衣腫 147
 ○穴山久志, 山崎秀樹, 渡辺武志, 石村美祐, 城塚康毅, 永井博文, 佐々木啓
 (武田薬品・薬安研)
- P-66 *ラットの胃に自然発生した悪性神経鞘腫に由来する可移植性腫瘍(GT-S)の性状 148
 ○渋谷一元¹, 木崎秀行¹, 渋谷延子¹, 布谷鉄夫¹, 田島正典¹, 山手丈至²
 (¹日生研, ²大阪府大・農・病理)
- P-67 ラットの自然発生眼病変 149
 ○田中浩二¹, 稲垣 覚¹, 花見正幸¹, 久野博司¹, 松本浩良¹, 土井邦雄²
 (¹萬有・開発研, ²東大・農・実動)
- P-68 *N-methyl-N-nitrosourea 誘発網膜障害への光の影響 150
 ○桑村有規, 久世 博, 川合是彰(田辺製薬・安全研)
- P-69 *BrdU(5-bromo-2'-deoxyuridine)のラット新生仔皮下投与による白内障の誘発 151
 ○飯島徹男^{1,2}, 高橋正一², 鈴木謙二², 北村 毅², 高野智司², 西山 寛²,
 安藤 進², 前川昭彦² (¹日新製油, ²佐々木研)
- P-70 *ラットのハーダー腺における光傷害の電顕的および蛍光顕微鏡的観察 152
 ○澤本 修¹, 栗栖和信^{1,2}, 篠原誠治¹, 土居和久¹, 林 正信¹, 渡邊敦光²,
 伊藤明弘² (¹大塚製薬工場・鳴門研, ²廣大・原医研・癌)
- P-71 マウスのハーダー腺における光傷害の系統差および性差 153
 ○栗栖和信^{1,2}, 澤本 修¹, 土居和久¹, 山下邦弘¹, 美好雅文¹, 渡邊敦光²,
 伊藤明弘² (¹大塚製薬工場・鳴門研, ²廣大・原医研・癌)

- P-72 *ラットの自然発生性中皮腫由来細胞株の増殖促進因子産生について 154
 ○桑原真紀, 高橋公正, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)
- 示説 10 (16:00~17:00) 座長 井内康輝 (広大・医・2病)
 宮川義史 (日本たばこ・医薬総研)
- P-73 *ブレオマイシンにより誘発されるハムスター肺線維症に対する Secretory leukoprotease inhibitor の抑制効果 155
 ○金子英志¹, 浅野 哲¹, 三橋弘明¹, 武田利明¹, 山中義弘¹, 秦 純子¹, 宇野 洋¹, 伊澤義弘¹, 益田賢一² (帝人・¹医薬開発研, ²生物工学研)
- P-74 *ブレオマイシン誘発の肺線維化過程における増殖性病変に対する抗酸化剤の抑制効果 156
 ○池崎信一郎¹, 西川秋佳¹, 古川文夫¹, 今沢孝喜¹, 榎並倫宣¹, 福島昭治², 高橋道人¹ (¹国立衛試・病理, ²大阪市大・医・1病)
- P-75 *マウスのモノクロタリン誘発肺線維症に対する 6-nitrochrysene の修飾作用 157
 ○河部真弓, 今井田克己, 武貞徳子, 加藤俊男, 白井智之 (名市大・医・1病)
- P-76 *Sephadex の静脈内投与により誘発したラットの肉芽腫性肺動脈炎における反応細胞の推移 158
 ○西村友成¹, 山手丈至², 川合是彰¹, 佐久間貞重²
 (¹田辺製薬・安全研, ²大阪府大・農・病理)
- P-77 *1 α , 25-dihydroxy vitamin D₃ のラット単回経皮投与による表皮の組織像と細胞増殖動態 159
 ○三沢保幸¹, 松下智哉¹, 加藤淳彦¹, 伊東房美¹, 杉本哲朗¹, 二木力夫²
 (¹中外製薬・安全研, ²エス・エル・エー研)
- P-78 糖尿病に併発したイヌの表在性壊死融解性皮膚炎の1例 (superficial necrolytic dermatitis) 160
 ○吉田 緑^{1, 2}, 茨田享子², 高橋正一¹, 安藤 進¹, 前川昭彦¹
 (¹佐々木研, ²動繁研)
- P-79 *F344ラットにみられたメラニン色素を有する耳介腫瘍の1例 161
 ○妹尾英樹, 竹内哲也, 野田圭介, 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)
- P-80 Benign keratinizing squamous cell tumor in Sprague-Dawley (CD) rat..... 162
 ○Changsu Ha, Boohyun Kang, Hyoung Chin Kim, Kipoong Lee
 (KRICT, Toxicol. Res. Cent.)

示説 11 (16:00~17:00) 座長 平井圭一 (金沢医大・1解)
岩崎 仁 (田辺製薬・代謝研)

- P-81 ヘアレス犬の皮膚を用いた hydroquinone の脱色素試験 163
○木村 透¹, 土井邦雄² (¹農産工・中研, ²東大・農・実動)
- P-82 *ウサギにおける MST-16 のアドリアマイシン誘発心臓傷害軽減作用 164
○生越直仁, 只野尚登, 成田忠臣, 小野 肇, 油井龍五 (全薬工業・研究所)
- P-83 *NO 合成阻害剤単回投与により誘発される心臓および腎臓病変の発生機序 165
○小笠原裕之¹, 村田晃子¹, 坂内なるみ¹, 塩野泰弘¹, 村上久子¹, 高木英利¹,
猪俣訓一¹, 傳田阿由美², 小西陽一² (¹日本レダリー・生物研, ²奈良医大・腫病)
- P-84 *肺発がん抑制モデルにおける抑制要因の研究 166
○栗原寛治, 川野亮二, 金子真弓, 有広光司, 武島幸男, 井内康輝 (広島大・医・2病)
- P-85 *N-nitrosobis (2-hydroxypropyl) amine (BHP) 誘発ラット肺前癌病変における
ras 遺伝子の変異について 167
○野口 修, 堤 雅弘, 小林永策, 白岩和巳, 天沼利宏, 小西陽一
(奈良医大・がんセ・腫病)
- P-86 ラットを用いたアスパラギン酸 Na の癌原性試験 168
○北堀吉映, 小西 登, 松井恵美, 日浅義雄 (奈良医大・2病)
- P-87 *B6C3F1 マウスの肺腫瘍におけるがん関連遺伝子解析 169
○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-88 好酸性顆粒保有細胞から構成される希少なラットの腹腔内腫瘍の1例 170
○永谷真理子¹, 星谷 達¹, 合川孝幸¹, 中村 厚¹, 笠原健一郎¹, 田村一利¹,
奈良間功² (¹ボゾリサーチ, ²摂南大)

示説 12 (16:00~17:00) 座長 堤 雅弘 (奈良医大・腫病)
小倉基裕 (大塚製薬・徳島研)

- P-89 *Pathological and immunohistochemical changes caused by spontaneous mouse
hepatitis virus infection of ICR mice in a Korean breeding colony 171
○Dae Joong Kim¹, Cheol Kyu Kim¹ and Jong Koo Kang²
(¹Dept. Pathol., Natl. Inst. Safety Res., Seoul, ²Coll. Vet. Med. Chungbuk Natl.
Univ., Cheongju, Korea)
- P-90 ラットの長期飼育試験 -SD 系ラット- 172
○中澤素邦, 俵谷武治, 吉田 勝, 内本啓史, 河南明孝, 上田 誠, 鷺見信好
(日本新薬・安全研)

- P-91 ラットの長期飼育試験 -F344系ラット- 173
 ○内本啓史, 俵谷武治, 吉田 勝, 中澤素邦, 河南明孝, 上田 誠, 鷺見信好
 (日本新薬・安全研)
- P-92 Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 免疫組織化学での染色性の変動
 -各種の固定液・固定時間・マイクロウェーブ加熱処理による差- 174
 ○大石裕司¹, 松本正博¹, 義澤克彦¹, 鈴木淳也¹, 藤井登志之¹, 高橋秀樹²,
 螺良愛郎², 森井外吉² (¹藤沢薬品・安全研, ²関西医大・2病)
- P-93 長期ホルマリン固定, パラフィン包埋における高分子量DNAの安定性の解析
 175
 ○新田由美子¹, 麻生博也¹, 星 正治¹, 宇吹 暁¹, 早川式彦¹, 神谷研二²,
 丹波太貫² (広島大・原医研, ¹国際放射線情報セ, ²分子病理)
- P-94 *急性貧血マウスにおける腎臓および肝臓の *in situ* hybridization を用いたエリスロポ
 エチン mRNA の局在の検討 176
 ○堀之内彰, 高見健治, 関口正博, 安藤孝夫 (武田薬品・薬安研)
- P-95 *薬物による DNA 障害細胞における TUNEL 法の有用性 177
 ○市村英資¹, 林 幹人¹, 江原敬子¹, 西村千尋¹, 中島 孝²
 (日本化薬・安全性グループ, ²群大・医・2病)
- P-96 *ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウスにおける化学物質の発がん性検出への有用
 性について 178
 ○不二 哲¹, 児玉幸夫², 田中 悟², 林 裕造² (¹塩野義製薬・新薬研, ²国立衛試)

司会・座長一覧

特別講演 1	1月26日	第I会場	小西 陽一 (奈良医大・腫病)	
特別講演 2	1月27日	第I会場	宮嶋 宏彰 (新日本科学)	
教育講演	1月27日	第I会場	永田 良一 (新日本科学)	
シンポジウム 1	1月26日	第I会場	宮嶋 宏彰 (新日本科学)	小谷 猛夫 (大阪府大・農・病理)
シンポジウム 2	1月27日	第I会場	前川 昭彦 (佐々木研・病理)	福島 昭治 (大阪市大・医・1病)

一般講演		1月26日 午後 第I会場	
1~3	(13:00~13:30)	板垣 慎一 (東大・農・実動)	
4~6	(13:30~14:00)	渡辺 満利 (持田製薬・安全研)	
7~9	(14:00~14:30)	泉 啓介 (徳大・医・2病)	
10~12	(14:30~15:00)	森 秀樹 (岐大・医・1病)	
		1月27日 午前 第I会場	
13~15	(9:00~9:30)	野々山 孝 (武田薬品・薬安研)	
16, 17	(9:30~9:50)	原田 孝則 (残農研)	
18~20	(9:50~10:20)	立松 正衛 (愛知がんセ・1病)	
21~23	(10:20~10:50)	渡辺 敦光 (広大・原医研)	
		1月27日 午後 第I会場	
24~26	(15:50~16:20)	安藤 孝夫 (武田薬品・薬安研)	
27~29	(16:20~16:50)	真鍋 淳 (三共・安全研)	
30, 31	(16:50~17:10)	広瀬 雅雄 (名市大・医・1病)	
32, 33	(17:10~17:30)	白井 智之 (名市大・医・1病)	
		1月27日 午前 第II会場	
34~36	(9:00~9:30)	茶谷 文雄 (武田薬品・薬安研)	
37, 38	(9:30~9:50)	山崎 寛治 (化学品検協・安全セ)	
39, 40	(9:50~10:10)	勝田 修 (三菱安科研)	
41, 42	(10:10~10:30)	相内 聖峰 (実医研)	
43, 44	(10:30~10:50)	山手 丈至 (大阪府大・農・病理)	
		1月27日 午後 第II会場	
45~47	(15:30~16:00)	川合 是彰 (田辺製薬・安全研)	
48, 49	(16:00~16:20)	今井田克己 (名市大・医・1病)	
50~52	(16:20~16:50)	傳田阿由美 (奈良医大・腫病)	
53~55	(16:50~17:20)	今井 清 (食薬安全セ・秦野研)	

示 説		1月26日 第III会場 16:00~17:00	
1	(P1~8)	小泉 治子 (前臨床医学研)	武部秀太郎 (鐘紡・薬安研)
2	(P9~16)	布谷 鉄夫 (日生研)	村岡 義博 (塩野義製薬・新薬研)
3	(P17~24)	津田 洋幸 (国立がんセ・研)	田村 一利 (ボゾリサーチ・病理)
4	(P25~32)	花田 貴宣 (山之内製薬・安全研)	代田 欣二 (麻布大・獣・1病)
5	(P33~40)	長谷川良平 (名市大・医・1病)	西川 秋佳 (国立衛試・病理)
6	(P41~48)	藤井登志之 (藤沢薬品・安全研)	吉村 慎介 (食薬安全セ・秦野研)
7	(P49~56)	飯田 晶敏 (資生堂・安全分析)	加藤 道幸 (第一製薬・中研)
8	(P57~64)	三森 国敏 (国立衛試・病理)	中江 大 (奈良医大・腫病)
9	(P65~72)	土谷 稔 (三菱安科研)	中山 裕之 (東大・農・病理)
10	(P73~80)	井内 康輝 (広大・医・2病)	宮川 義史 (日本たばこ・医薬総研)
11	(P81~88)	平井 圭一 (金沢医大・1解)	岩崎 仁 (田辺製薬・代謝研)
12	(P89~96)	堤 雅弘 (奈良医大・腫病)	小倉 基裕 (大塚製薬・徳島研)

特別講演要旨

- 特-1. Recent progress in the field of toxicologic pathology in Europe and the need for standardization
- 特-2. The predictive value of pathological findings in animal toxicity studies

— MEMO —

特-1 **Recent progress in the field of toxicologic pathology in Europe
and the need for standardization**

U. Mohr

(Inst. Exp. Pathol., Hannover Med. Sch., Germany)

Toxicologic pathology in Europe, as in the rest of the world, has seen a great deal of change over the past ten years, particularly with the advent of many different computerized systems of recording data. Pharmaceutical or chemical products, developed by one particular company, are distributed and registered today worldwide and therefore there is a *need* for an international harmonization of procedures and methods applied in the safety evaluation process of these new components. In order to reduce the number of animal experiments, to allow a comparison between different studies, and to gain better acceptance by regulatory agencies worldwide, the standardization of procedures, the exchange of data in electronic formats, and a harmonization of acceptance criteria are necessary. The various steps in this process, starting with necropsy and the preparation of tissues and histopathological slides, continuing with the diagnoses by the pathologist and finally the performance of data evaluation and reporting need to be carried out and recorded in a standard way for the process to succeed. Modern techniques, such as computerization or new methods applied in the laboratory, general issues of quality assessment, such as GLP aspects, and education in toxicologic pathology are therefore seen as an essential part in achieving the standardization.

In Europe, the development of an information system designed for use in routine toxicologic pathology as well as for educational purposes, named RENI (REGistry Nomenclature Information system) began in 1988 parallel with the establishment of the data base system RITA (Registry of Industrial Toxicology Animal-data) and the implementation of a systematized classification for toxicological pathology. The system of standardized nomenclature and diagnostic criteria has been adopted by the World Health Organization (WHO)/International Agency for Research on Cancer (IARC) after a scientific review by pathology experts from Europe, the United States and Japan. With financial support from the International Life Sciences Institute (ILSI), IARC is currently publishing the nomenclature under the title "*International Classification of Rodent Tumours*" (IARC Scientific Publications, No 122).

RENI presents the electronic version of the internationally recognized printed publication but also includes many useful tools and features to provide the pathologist working in the field of toxicologic pathology with all kinds of necessary and additional information. Because pathology is a "*visual science*", direct access to *pictures* of lesions is very important. For this purpose the RENI program provides the software interface to connect a video disk player to the

personal computer. On the RENI video disk, several colored, high-resolution pictures of histological reference slides are available, to visually explain the diagnostic criteria by showing, for example, different magnifications, different growth patterns, and/or different staining methods. As of 1995, there will be an option to access these slides via CD-ROM instead of video disk.

In the development of new chemical or pharmaceutical products, long-term studies with laboratory rodents are required for the risk assessment of these substances to determine a potential toxic or carcinogenic effect. In order to evaluate and interpret the results of these studies by comparing the incidence and degree of pathological alterations in treatment groups with those in control groups, a fundamental knowledge of the frequency and type of spontaneously occurring lesions, in particular tumours, is necessary. The collection of data derived from various long-term studies and different laboratories in a centralized data base will result in a better knowledge of the incidence of spontaneously occurring tumours. Therefore, the computerized pathology data base RITA (= *Registry of Industrial Toxicology Animal-data*) was set up for the collection and evaluation of histopathological data from control rats and mice. The continuously expanding data base has been in operation in Hannover since 1988 and currently 18 pharmaceutical and chemical companies from 7 European countries participate.

**The predictive value of pathological findings
in animal toxicity studies**

C Gopinath

Huntingdon Research Centre, Huntingdon, United Kingdom

The predictive value of pathological findings in laboratory animal toxicity studies, to man has been the subject of much debate. Experimental toxicologists are repeatedly reminded of species differences by several pressure groups. It must be remembered that generally, the pathological tissue responses are very similar in man and experimental animals. Retrospective studies have revealed that several agents which induced specific side-effects in man are also capable of producing similar lesions in experimental animals. The induction, through direct mechanisms, of dose-related lesions in target sites in laboratory animals, has a strong predictive value for man. Examples of chemicals which induce a similar reaction in man and animals are illustrated. All known human carcinogens have been shown to be carcinogenic in some animal systems. However, the reverse is not necessarily true and obviously very difficult to prove.

Conversely, animal studies sometimes fail to predict human side-effects, especially those exerted through indirect or secondary mechanisms, such as hypersensitivity, abnormal or deviant metabolism, interactions with other drug therapy and complications due to illness. These deficiencies are often highly publicised by some pressure groups. Examples of these types of studies will be included.

Attempts to translate the results of toxic responses in animal studies directly into human hazards can often be misleading. Some toxic end-points in experimental animals have little extrapolative value in man. These are toxicities mediated through indirect mechanisms which have no counterparts in man, and the responses are often species-specific. These could be due to differences in metabolic pathways, hormonal mediation, receptor binding sites, epigenetic mechanisms specific to the species,

and markedly increased species-specific sensitivity. Several examples will be discussed to illustrate these points. The results in the experimental animals in many of these examples appear to be serious, sometimes even showing clear oncogenic potential. Interpretation of these results must be done carefully after studying the underlying mechanisms, and extrapolation can be made only on a case-by-case basis.

There can be a danger that by over-interpreting such results, the world is made a safer place for rodents than for man! But by undertaking suitable mechanistic studies, most of the species-specific responses can be unravelled, and meaningful assessments are more achievable. We must also be aware that toxic responses in man and animals are influenced by nutritional factors, age and sex. Examples of these interactions will also be given. Finally, with a considerable degree of thought and a logical approach, the data generated in animal toxicity studies can be usefully interpreted for human risk assessment. An essential ingredient for a successful outcome in this is close cooperation between the experimental pathologist and the medical profession.

教育講演要旨

教-1. The importance and conduct of quality assessment (peer review) in the United States.

— MEMO —

THE IMPORTANCE AND CONDUCT OF QUALITY ASSESSMENT (PEER REVIEW) IN THE UNITED STATES

John Curtis Seely (PATHCO, Inc.)

Historically the concept of formal quality assessment (peer review) in the United States began within the National Cancer Institute (NCI) in the 1970's. In 1978, pathology quality assessment (QA) became a requirement of 2 year NCI studies and by 1981 the National Toxicological Program (NTP) adopted similar requirements for their subchronic/chronic studies. The Environmental Protection Agency (EPA) issued an official notice in 1987 recommending the process of quality assessment. More recently, the Society of Toxicologic Pathologists in 1991 published a positional paper entitled "Peer Review in Toxicologic Pathology: Some Recommendations". According to the society "The ultimate goal of the process should be to assure the development of accurate pathology data which clearly and cogently support the scientific conclusions". Additional benefits of quality assessment include the use of standardized nomenclature and serves as a source of continuing education for the involved pathologists. Although QA is not currently required by U.S. regulatory agencies, this situation could change in the near future. Some U.S. companies already incorporate QA into their study protocols.

A properly conducted QA should include a target organ(s) review for specific lesion(s) identified as compound-related, a complete histopathologic review of a random sample of animals (usually 10%) and verification of all neoplasms. The QA process should not only look for accuracy but also for diagnostic consistency and confirmation of any "No Effect Levels". The study pathologist and reviewing pathologist often meet to resolve discrepancies which might impact on the study interpretation.

If certain issues can not be resolved or if the study is critical, than a panel review or Pathology Working Group (PWG) consisting of four or more experienced pathologists can be convened. All NTP 2 year chronic studies have PWG's performed. A chairperson examines the important issues, organizes the pathological material and is responsible for writing the PWG report. The slides (control and treated) are presented to the PWG participants in a "blind" fashion (without knowledge of dose groups). Following the consensus opinion of the PWG, the histopathological criteria for specific lesions and possible pathogenetic mechanisms are discussed and recorded.

Sources of disagreement between pathologists often involve unfamiliarity with specific lesions, differing pathological criteria or diagnostic thresholds, differing terminology and diagnostic drift.

Although this is just a brief review of QA, it should be emphasized that peer review is not a pathology audit nor a process for evaluating the competence of a pathologist.

MEMO

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 followed by a detailed account of the various projects and the results achieved. The report concludes with a summary of the work done and a list of the publications issued during the year.

The second part of the report deals with the financial statement of the institution for the year. It shows the income and expenditure and the balance at the end of the year. It also contains a statement of the assets and liabilities of the institution.

The third part of the report deals with the administrative matters of the institution. It contains a list of the members of the governing body and a report on their work. It also contains a list of the staff and a report on their work.

The fourth part of the report deals with the publications of the institution. It contains a list of the books and pamphlets issued during the year and a report on their sale and distribution.

シンポジウム要旨

シンポジウム 1

「病理学からみた免疫毒性とその応用」

(S-1 ~ S-4)

シンポジウム 2

「非変異原性化学物質とその発癌性」

(S-5 ~ S-9)

— MEMO —

S 1 - 1 免疫担当細胞の分化と抗原認識の形態学

岡田 幸助 (岩手大学・農・家畜病理)

1. 牛末梢血リンパ球サブセットの形態

免疫電顕によりヘルパーT細胞は、微絨毛様突起を持たないか持つてもごく少数の細胞であった。キラーT細胞は、時に凹みを持つ類円形の核、少量の細胞質、微絨毛様突起をほとんど持たない細胞であった。 $\gamma\delta$ T細胞は、時にライソゾーム顆粒を有していた。B細胞は、不整形の核、豊富な細胞質、中等数のミトコンドリア、少数の粗面小胞体と空砲、多数の比較的長い微絨毛様突起が特徴的であった。

2. 免疫系組織におけるリンパ球サブセットの分布

胸腺、パイエル板、リンパ節および脾臓における各細胞の分布を解説する。特にパイエル板には十二指腸と空腸に存在する孤在性パイエル板と空腸と回腸に存在する連続性パイエル板があるが、後者はB細胞の中樞リンパ組織としてのファブリクス嚢相同器官であることが明かとなった。

3. ヤギ関節炎脳炎ウイルス感染ヤギにおけるリンパ球サブセットの分布

ヤギ関節炎脳炎ウイルス (CAEV) はレンチウイルスに属しエイズの原因であるHIVと近縁である。このウイルスによる関節病変は人の関節リウマチの病変と非常に類似し、そのモデルとしても注目されている。病変の関節液は18.8%のリンパ球と81.2%の大食細胞からなり、リンパ球の54.8%はCD8陽性であった。

4. 遅延型過敏症皮膚反応におけるリンパ球サブセットの分布

牛白血病ウイルス(BLV)のenv遺伝子を組み込んだDNA組換えワクチニアウイルス接種した羊においてBLVの増殖が抑制される。それらの羊にBLV抗原を皮内接種することにより遅延型過敏症反応が誘導され、CD8陽性の細胞がウイルス増殖抑制に主体を演じることが示唆された。

5. 牛白血病のPhenotypingと腫瘍免疫

地方病性牛白血病の腫瘍細胞はIgの再構成およびクラススイッチ終了後の成熟B細胞であった。また腫瘍組織にはT細胞が散在し、腫瘍免疫の作用をはたしているものと考えられた。

小野寺 節、松本 安喜 (東大・農)

ブドウ球菌や連鎖球菌などの細菌の外毒素の一部は、組織適合抗原(NHC)に結合し、ある特定のT細胞レセプター $V\beta$ (TcRV β)を有するTリンパ球を活性化する。またマウスのゲノムに組込まれた乳がんウイルスのプロウイルス遺伝子にコードされる抗原であるMIs抗原も外毒素と同様に特定のTcRV β に強い反応性を示すことが知られている。これらの抗原はスーパー抗原と呼ばれ、Tリンパ球や単球を強力に刺激してインターロイキン(IL)1、8やTNF等の炎症性サイトカインの産生を亢進させる。スーパー抗原は、最近ヒトにおける関節リウマチの原因として注目され、その際に関節囊液にIL8量の亢進が見られる。我々はイヌIL8の遺伝子クローニング及び形質転換動物細胞での発現に成功し、現在様々な疾病における定量を試みている。

Toxic shock syndrome toxin (TSST-1)は黄色ブドウ球菌の外毒素であるが、ヒト $V\beta$ 2陽性Tリンパ球を活性化し、staphylococcal enterotoxin-B (SE-B)はヒト $V\beta$ 3、12、14、15、17陽性Tリンパ球を活性化し、MIs抗原はマウス $V\beta$ 6、8、1陽性Tリンパ球を活性化する。病変局所のTリンパ球集団がある特定の $V\beta$ 陽性Tリンパ球に偏在している時には、スーパー抗原が何らかに関与している可能性が示唆される。

例えばリウマチ患者滑膜組織のTリンパ球のクロナリティ解析も精力的に行われてきている。 $V\beta$ 14陽性T細胞の集束性などが指摘されている。つまりスーパー抗原によって異常に活性化されたT細胞が交叉反応性あるいは自己反応性リンパ球の抑制解除によって、滑膜組織と反応して自己免疫が発症してくる可能性がある。同時に炎症性サイトカインが産生されると考えられる。また、イヌにおける関節リウマチにおいても $V\beta$ のある群の陽性T細胞の集束性が観察される。

一方TNFは組織障害性Tリンパ球より産生された際には腫瘍細胞やウイルス感染細胞に対してアポトーシスを起こすことが知られている。IL-1、8、TNF等の炎症性サイトカインの産生によりスーパー抗原作用部の病変はさらに拡大すると考えられる。

○西条武俊、宮嶋宏彰（武田薬品・医薬開発本部・薬安研）

免疫毒性は新しい領域であり、Immunotoxicologyの国際ワークショップ(1984)では「医薬品や化学物質など生体異物(xenobiotics)と免疫系との相互作用の結果、生体にとって望ましくない影響が引き起こされる現象」と定義されている。近年、この領域が注目されるようになった理由には、抗生物質などによる薬剤アレルギーやステロイドホルモン、制ガン剤による免疫抑制作用に加えて、インターロイキン2 (IL-2)やインターフェロン α などのサイトカイン、Biological Response Modifier等、免疫系に作用する薬剤が開発され、免疫異常をもたらす毒性が相次いで報告されるようになってきたことがあげられる。

薬物の免疫毒性は、①抗原性を発現することによって起こるアレルギー ②免疫系細胞、組織、器官への直接的、間接的有害作用 ③自己免疫の三つに分けられるが、最近では、免疫毒性学の対象は主として②と③に関する現象を研究するものである。

免疫毒性試験ガイドライン制定への取り組みに関する研究が、免疫抑制剤のアザチオプリン、シクロスポリンAを用いて内外の研究機関で行われ、その成果を基に、どのような指標（試験系）が免疫毒性の検出に有用であるか等の検討がなされている。また、昨年出されたFDAの"Redbook II" (Draft)にもImmunotoxicology studyの必要性が強調されている。

今回は、ラット胸腺毒性に関して、加齢、ストレス、シクロホスファミドの影響や遺伝子組換え型ヒトIL-2の発熱、好酸球増加作用について検討した成績を示す。

また、医薬品以外の生体異物(organotin, dioxin等)による胸腺毒性、医薬品による自己免疫疾患発症、免疫抑制剤による発ガン率増加等についての知見を紹介し、免疫毒性学の重要性に言及する。

今後の、免疫毒性研究の課題として、①免疫学的に「非自己」と考えられる生体異物の種類（一般薬、免疫系薬剤、食品添加物、環境汚染物質等）が増加することに対して、いかに対応するか ②生体異物のそれぞれに対応して動物種（健常動物、免疫疾患モデル動物、トランスジェニックマウス、ノックアウトマウス、SCIDマウス等）をいかに使い分けるか ③ヒトは heterogenous であり、outbred, wildlife であることを動物実験での成績をヒトに外挿する時に、どのような配慮をすべきか等の問題があげられる。

S 1 - 4 医薬品開発における免疫毒性試験の現状

牧 栄二 (ヤンセン協和・研開本部)

本邦における開発医薬品の安全性については、その検討項目がGLPガイドラインで規定されている。しかし、免疫毒性については、現在までのところガイドライン化されるには至っていない。米国ならびにヨーロッパにおいては、それぞれ米国保険環境研究所、オランダ国立衛生環境研究所が、化学物質ならびに医薬品等の環境汚染に伴うヒトにおける免疫毒性を検討するための免疫毒性試験ガイドラインを公表しているが、医薬品の免疫毒性試験についてはFDAにおいてもガイドラインの公示を行っていない。

本邦における医薬品開発における免疫毒性試験の現状を知る手だてとして、前期製薬協・基礎研究部会において実施したアンケート調査があり、その結果より本邦における免疫毒性試験の実施状況を或る程度知ることができる。本調査は、1988年11月から1991年10月の過去3年間の免疫毒性試験の実施状況について、製薬協加盟会社85社を対象に行なわれた。その結果、免疫毒性試験を実施したことがある会社は、回答を得た78社中18社(23%)であった。免疫毒性が検討された医薬品は、抗腫瘍剤、抗ウイルス剤を含む化学療法剤および抗生物質が大半を占めていた。検索項目では、一般毒性試験で行われている病理学的検索が最も多かった。また、本検索で使用されている動物種も、一般毒性試験で汎用されている動物種と一致していたことは、一般毒性試験が免疫毒性試験のスクリーニングに位置づけられていることの反映と考えられる。免疫系の機能検索としては、細胞性免疫系の検索(マイトゲンに対するリンパ球幼若化反応、DTH反応、混合リンパ球培養反応)や、液性免疫系の検索(PFC反応、特異抗体の産生)が多く行われている。また、使用する動物種もマウスおよびラットが多かった。免疫毒性試験を実施した理由として、被験物質の薬理効果、類似薬における動向および一般毒性試験の成績が上げられている。一般毒性試験の成績で、免疫毒性と関連性有りと判断された所見は、免疫系臓器の重量変化(胸腺重量の減少、脾臓重量の増加)、免疫系組織の病理組織学的変化(脾臓および胸腺の萎縮、脾臓胚中心の発達、リンパ節への濾胞細胞の浸潤、白脾髄の変化)、骨髄検査での変化(骨髄有核細胞の低下、骨髄細胞の減少)、血液学的検査での変化(白血球数の変化)および血液生化学的検査の変化(A/G比の上昇)であった。

免疫毒性試験を実施していない企業におけるその理由は、開発中の医薬品に該当するものがない、試験法が定まっていない、申請書として要求されていない、ことに基づいていた。その他、免疫毒性試験に関する意見としては、1)化学物質についての免疫毒性試験は有用であると考えられる。しかし、医薬品については一般毒性試験で免疫毒性に関する情報がかなり得られることより、特殊な医薬品についてのみ実施すべきである、2)免疫毒性試験は、一般毒性試験の中に可能な限り組み入れて、無影響量評価の対象にすべきなのか、あくまでも毒性の質的評価、メカニズム解析等のために別途実施される特殊毒性試験であって、無影響量の評価とは次元の異なるものとして捕らえるものなのか、3)免疫毒性試験として試験法の確立とその実施基準を明確にし、各社の足並みを揃えることが必要、4)免疫系の状態や免疫反応の強さの指標となるものは、極めて多岐にわたり、何を試験項目として選択するかは難しい、などが挙げられた。

以上のごとく、本邦においては、免疫毒性試験は開発医薬品の安全性評価のために、一部の企業を除けば、殆ど実施されていない。しかしながら、ヒトの生命維持に関わる免疫系の関与の深さと、今後の医薬品開発における遺伝子組み替え技術の導入等を考えると、免疫毒性試験の必要性は益々高まることは必至である。

臼居 敏仁 (ヤンセン協和)

DNAに一次的に結合し、遺伝情報を変化させ、変異を誘発し、細胞増殖等多段階の過程を経て細胞を癌化させる変異原性化学物質に対して、現象的に分類されているが、非変異原性化学物質は一次的な生物学的活性としてDNAを障害せず、DNA以外の生物学的機序を障害することにより二次的に変異を起し、多段階の過程を経て癌化に関与すると考えられているがその癌化の機序には不明な点が多い。非変異原性化学物質の作用機序に関しては(1)内分泌臓器の刺激ホルモンの過剰分泌(2)細胞の増殖分化に関する特定のレセプターの活性化(3)細胞の持続的長期の障害(4)その他様々な機序があり、チトクロームP-450の誘導作用、有糸分裂の誘発作用に関連するものも報告されている。NTPの癌原性スクリーニングの成績では301化合物のうち53%がげっ歯類に発癌性を示し、その内40%は非変異原性化学物質であったと報告されている(Ashby and Tennant, '91)。医薬品の開発では抗癌、抗AIDS薬を別にして、一次的な変異原性化合物は除外されるので大部分は非変異原性化学物質であり、げっ歯類の癌原性陽性所見とその機序解明は、ヒトへのリスクの評価に重要である。げっ歯類の肝を標的にする非変異原性化学物質ではペロキシゾーム増生、肝腫大、P-450誘発、細胞分裂刺激、細胞間連絡の変化等の作用を有する様々な化合物がある。ペロキシゾーム増生剤にはフィブラート系化合物をはじめ多様なものがあり、ペロキシゾーム増生活性はげっ歯類の肝発癌性と完全ではないが相関が認められている。詳細な発癌機序については未解明であるが、脂肪酸の β 酸化に関与する酵素の増加により過酸化水素の産生、カタラーゼ活性の相対的低下により、過剰水酸基によるDNAの障害も推定されている。又、最近エストロゲン様核内ホルモンレセプターが同定され、ペロキシゾーム増生化合物によるレセプター活性化の強さとペロキシゾーム増生活性の強度即ち肝発癌性とが相関するとも報告されているが、今後の解明が待たれる分野である。プロモーター作用が解明されているバルビタール系化合物、エチニールエストラジオール等、細胞増殖刺激、細胞分裂刺激、gap junctionを介する細胞間連絡の阻害作用により肝癌誘発作用を示す化合物、合成エストロゲンことにジエチルステルベステロールにはプロモーション作用とイニシエーション作用も報告されている。これらの化合物の発癌経過でのoncogene, suppressor geneの関与、growth factorの関与に関する研究も急速に進展している。

広瀬雅雄 (名市大・医・1病理)

現在、2年間の動物実験により発癌性の明らかにされている抗酸化剤はいずれもフェノール系化合物で、BHA, caffeic acid(CA), 4-methoxyphenol(4-MP), sesamol (SE), catechol (CC), 4-methylcatechol (4-MC), hydroquinone (HQ) の種類が知られている。発癌標的臓器はラット、マウスあるいはハムスターの前胃(BHA, CA, 4-MP, SE, 4-MC), 腺胃(CC, 4-MC) および腎(CA, HQ) に限局しており、ラット前胃では2%の投与量で30~80%の頻度で扁平上皮癌が発生する。これらの物質はいずれもAmes試験陰性であり、非変異原性発癌物質と考えられている。

まず、前胃に発癌性のある抗酸化剤を投与して発生する細胞増殖の特性を検討する目的で以下の実験を行った。BHA, CA などの化合物を2%の発癌量でラットに混餌投与し、前胃粘膜の初期変化を経時的に観察したところ、投与1日でBrdUによる標識率が増加し、ひきつづき細胞増殖が起こり、さらに炎症やびらん、潰瘍などの細胞障害が発生した。c-fos あるいはc-myc のm-RNA は投与後15分ですでに発現していた。つぎに、非変異原性のBHA やCA, および変異原性発癌物質である N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)やN-methyl-nitroso-urethane (MNUR) を発癌量で24週間投与した群と24週投与した後基礎食に戻しさらに24週間観察した群を設けて前胃粘膜増殖性病変の可逆性を比較検討すると、BHA やCAで発生した過形成のほとんどは投与中止後退縮したが、MNNGやMNURによる過形成は投与中止後も退縮せず、扁平上皮癌への進展がみられた。また、MNNGやMNURで高頻度に観察された異型過形成は、CAでも投与中止後わずかに認められ、非変異原性物質でも前胃上皮細胞に形質変換が起こっている可能性が示唆された。

つぎに、発癌における活性酸素の影響を検討するため、まずラットにBHA, CA, あるいは4-MPを1回胃内投与して前胃上皮DNA における8-OH-dGの形成を検討したところ、4-MP で明らかな増加がみられた。さらに、これらの化合物を発癌量で2週間混餌投与すると同時にSOD を1日1回腹腔内投与した結果、4-MPによる前胃粘膜の細胞障害は抑制された。なお、BHA の投与では前胃DNA へのわずかな付加体が³²P-ポストラベル法により証明された。

このように抗酸化剤はいずれも一次的に前胃粘膜の細胞増殖をおこし、活性酸素などを介した細胞障害にもとづく二次的な細胞増殖により強い過形成が発生する。さらに強い細胞増殖の間に活性酸素あるいはDNA への付加体などによる弱い遺伝毒性が加わり、癌化への過程が始まると考えられる。

S 2 - 3 性ホルモンと発癌

○伊藤明弘、藤本成明 (広島大・原医研)

エストロゲンやプロゲステロンなどのステロイドホルモンは、核に受容体を有するステロイドホルモンスーパーファミリーとして最も活発に研究されている。その生物活性は多岐にわたり、個体発生、性分化、各種臓器の機能発現と深く関係している一方、発癌の場でも重要な役割を示している。本研究では、ラット乳癌、ラット甲状腺腫瘍、下垂体腫瘍のモデルを用いて、エストロゲンの増殖と癌進展への生物効果とその作用機序について述べる。

【ラット乳癌】7週令雌ラットに、放射線またはMNUなどの化学発癌物質処理することで乳癌の発生が可能である(ハギンスモデル)。これに、プロラクチン持続投与をおこなうと乳癌発生率の増加が得られる。一方、エストロゲンの投与は宿主下垂体のプロラクチンと共同して、乳癌促進的に働くが、MNU投与前のエストロゲン投与では逆に乳癌の抑制が認められた。【ラット甲状腺癌】5週令のラットを使い2週間低ヨード食で飼育後、MNUを投与した。37週令までの観察期間で、LEラットでは、雄に44%雌に91%の甲状腺癌発生とみた。しかも、雄にエストロゲンを与えるとその頻度は90%に上がり、雌の卵巣摘出により50%に下がり、性ホルモンの関与をよく示した。雄のF344ラットを用いた同様の実験でも、低ヨード食とエストロゲンの併用は、甲状腺腫の発生を強く促進した。

一方ホルモンそれ自身が、発癌のイニシエータでありプロモータである場合もある。ラット下垂体では、エストロゲンによる連続刺激のみで、腫瘍が誘発されることはよく知られている。またヒトでは、合成エストロゲンのDESの発癌性が問題とされてきた。ホルモン自身が変異原性を持たないので、これらの発癌には、遺伝的变化を伴わない遺伝子発現の非可逆的变化が関与しているのではないだろうか。【ラット下垂体腫瘍】エストロゲンによってF344ラットに誘発した下垂体腫瘍を、同系動物の皮下に移植し腫瘍系(MtT/F84)を確立した。この腫瘍は、成長ホルモンとプロラクチン産生能を持ちエストロゲン・甲状腺ホルモン依存的に増殖することが示された。

吉川邦衛（三菱化成 総合研究所）

既存のがん原性物質のうち、その60-70%はAmes試験において陽性結果を示すが、残り30-40%のものはAmes試験において陰性結果を示すいわゆる非変異・がん原性物質(nongenotoxic or nonmutagenic carcinogens)である。この非変異・がん原性物質は各組織や臓器に限定したがん原性を示し、さらにこの事象は動物の種や系統に依存している。

非変異・がん原性物質のがん化はこのもの自身のもつ細胞増殖作用 (cell proliferation) によることが、最近になって特に指摘されるようになった。非変異・がん原性物質の細胞増殖作用ががん化に果たす役割として、現在様々な推測がなされているが、これを要約すると、以下の2つの仮説にまとめられる。

(1) 非変異・がん原性物質は既存の自然発生性の変異細胞を増殖させ、多段階発がん説における発がんプロモーターと同様な役割を果たす（発がんプロモーター説）。

(2) 非変異・がん原性物質は正常細胞に突然変異を誘発しない程度の極めて微弱なDNA修飾を引き起こし、さらにこの遺伝子の不安定な細胞を増殖させることにより、がん細胞を生成させる（遺伝子不安定説）。

上述の両説のいずれにおいても、がん細胞の生成には、細胞増殖過程に起こる発がん抑制遺伝子の不活性化、発がん遺伝子の過剰発現などが直接的に関与するものと考えられている。

最近になって、演者はAmes試験陽性の変異・がん原性物質にもこの細胞増殖作用が存在することを確認した。このように、すべてのがん原性物質が細胞増殖作用をもつことが明らかとなった現在、この細胞増殖作用の解明はがん化の機構を解くための新しいアプローチとして、国際的にも大きな注目を浴びつつある。

ここでは、演者による肝細胞のRDS (replicative DNA synthesis) 試験結果を中心として、非変異・肝がん原性物質のがん化における細胞増殖の役割について考察を加えたい。

S 2 - 5 発 癌 性 評 価

高 橋 道 人 （ 国 立 衛 試 ・ 病 理 ）

化学物質のリスクアセスメントにおいては、少なくとも発癌性物質と非発癌性物質は区別して評価される。発癌性物質の場合、現時点では、化学物質の分子一つがDNAに傷害する可能性があるという理論的な理由から、閾値がないとする立場で評価が行われる。しかしながら、遺伝子に障害を与えない化学物質の発癌性評価は非発癌性物質と同様に閾値を設定して評価することができる。しかし、非変異原性物質に発癌が認められた場合の発癌性評価は、基本的には発癌メカニズムを考慮したものでなければならない。

代表的な非変異原性発癌物質の発癌メカニズムは次のように分類することができる。

- 1) 標的臓器に対する刺激ホルモンの過剰分泌（甲状腺腫瘍、胃カルチノイド、膵腺房細胞腫瘍、精巣間細胞腫瘍等）
- 2) 受容体を介する発癌（ペルオキシソーム増生と肝腫瘍）
- 3) 細胞毒性あるいはミトジェン作用をもつ（サッカリン投与による膀胱腫瘍、 α 2u-グロブリン沈着と雄ラットの腎腫瘍、頻回注射による皮下腫瘍）
- 4) その他のメカニズム（チトクロームP-450誘導と肝腫瘍）
- 5) 種特異的な反応（種特異的な代謝あるいはキネティックス、ヨード欠乏による甲状腺腫瘍）

また、次のようにも分類することができる。

- a) げっ歯類特有なもの（例：肝ペルオキシソーム増生と肝細胞腫瘍、 α 2u-グロブリン沈着と雄ラットの腎腫瘍、プロラクチン上昇と乳腺腫瘍、異物埋植と皮下腫瘍、TSH刺激による甲状腺腫瘍、 β -アドレナリン受容体刺激剤と卵巣間膜腫瘍、結石や結晶あるいはpH異常と膀胱腫瘍）
- b) 高用量時のみに生ずるもの（例：高カルシウム血症と副腎髄質腫瘍、トリプシンインヒビターと膵腺房細胞腫瘍、胃酸分泌抑制剤と胃カルチノイド）
- c) プロモーター作用をもつもの（例：薬物代謝酵素誘導薬とマウス肝細胞腫瘍）

これらの作用を確認するには、各々の病変にみられる適切な指標を短期試験によって確かめると共に、多くの場合、細胞増殖活性を調べることによって総合的に評価し閾値を設定することができる。

一般講演要旨

(1 ~ 55)

— MEMO —

— 類洞壁構造に及ぼす影響 —

○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、伊賀崎裕子、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し、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いること、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および実質細胞障害が出現する前に顕著なクッパー細胞障害が招来されることを前回の大会までに報告した。今回はADM-OXDの類洞壁構造に及ぼす影響とともに、実質細胞障害に関与する生化学的因子を検討した結果を報告する。

(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。ADM-OXD 60mg/kgを静脈内投与した後、4、8、12、24および48時間後に各5匹ずつ検査に供した。肝細胞障害の指標として血清トランスアミナーゼ(GOT/GPT)を測定するとともに血清中のエンドトキシン含量を市販キット(トキシカラースystem)で、補体活性をメイヤーの変法により各々測定した。また形態検索として、類洞壁構造を透過型電顕および走査型電顕により超微形態的に観察した。次に種々の薬物のADM-OXD誘発急性肝細胞障害に及ぼす影響を検討した。即ちADM-OXDを45あるいは60mg/kg投与するとともに、エンドトキシン(LPS)、エンドトキシン中和剤(ポリミキシンB)、補体活性阻害剤(メシル酸ナファモスタット)あるいは抗凝固剤(アンチトロンビンIII)の処理を施し、肝機能障害への影響を検討した。

(結果)

透過型電顕による形態観察においては、ADM-OXD投与後12時間よりクッパー細胞とともに類洞内皮細胞の変性像が認められ、24時間後においてはこれら細胞の壊死像が目立ち、48時間後においては、肝細胞の壊死像も顕著となった。走査型電顕による観察においても投与後24時間で類洞壁構造の消失が認められた。血清生化学的にはトランスアミナーゼの上昇は投与後24時間までは軽微に、投与後48時間には顕著に認められた。エンドトキシンは投与後既に4時間において有意に検出され、以後48時間後まで持続的に認められた。また補体活性は、投与後4時間より有意に低下し、以後漸減し24時間後には顕著に低下するに至った。血清トランスアミナーゼを指標としてADM-OXD誘発肝機能障害に及ぼす種々の薬物の影響を検討したところ、外因性に微量のLPSを負荷することにより、血清トランスアミナーゼ活性が更に顕著に上昇するとともに形態的にも肝細胞障害は増悪した。一方ポリミキシンBあるいはメシル酸ナファモスタットの処理により肝機能障害は明らかに軽減した。またアンチトロンビンIII処理によっては、肝機能障害は影響を受けなかった。

(結論)

ADM-OXDの大量単回投与による肝実質細胞障害が発現する前にクッパー細胞および類洞内皮細胞の障害が認められ、類洞壁構造が消失した。またこれら類洞壁細胞の形態変化とともに、エンドトキシン血症や補体の活性化が誘発され、これら因子が肝細胞障害の発現に深く関与しているものと推察された。今までに得られた実験結果を基に、ADM-OXD誘発急性肝障害の発現機構を本学会において提示したい。

Spironolactone(Spl)投与ラットに認められた 多核肝細胞(Multinucleated Hepatocytes ; MHs)について

○土屋 毅幸、小林 潔、後藤 和広、杉本 次郎、佐野 文子、務台 衛
(三菱化学・横浜総研・安全研)

【緒言】 dioxin等の化合物をラットに投与した場合、MHsが誘発されることが知られているが、その発現機序については明らかにされていない。今回、当研究所において実施したSplのラットにおける毒性試験で高頻度に認められたMHsについて病理学的検索を実施し、その発現機序について検討した。

【方法】 6～7週齢のF344ラット60匹にSplを0, 2000ppmの用量で混餌法により11および104週間投与した後、屠殺、解剖して肝臓を採材し顕微鏡観察および電顕観察を実施した。また、MHsの増殖活性についても検討するため、屠殺前に5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を瞬間標識し、BrdUおよびProliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA)について免疫染色を実施した。

【結果】 〔顕微鏡観察〕 Spl投与群でMHsの高頻度の発現が認められた(写真1)。MHsの発生数および1細胞あたりの核数は経時的に増加し、細胞の大きさも増大する傾向が認められた。Spl投与群のMHsの1細胞あたりの核数は、11週間投与では4～5個であったが、104週間投与では十数個であった。MHsは肝小葉内において慢性に見られ、発現部位に特定の傾向は認められなかった。

〔電顕観察〕 Spl投与群において、肝細胞の細胞膜が消失し隣接する肝細胞が融合する像が認められた(写真2)。一方、MHsの核形態は正常であり、細胞内小器官についても著変は認められなかった。

〔MHsの増殖活性〕 MHsには、核分裂像あるいはBrdUの取り込みおよびPCNA陽性像は認められなかった。

【考察】 電顕的に肝細胞膜が消失し肝細胞の融合が見られたこと、およびMHsの増殖活性は低いと考えられることから、MHsは細胞質分裂を伴わない核分裂よりは、複数の肝細胞の融合により形成される可能性が示唆された。

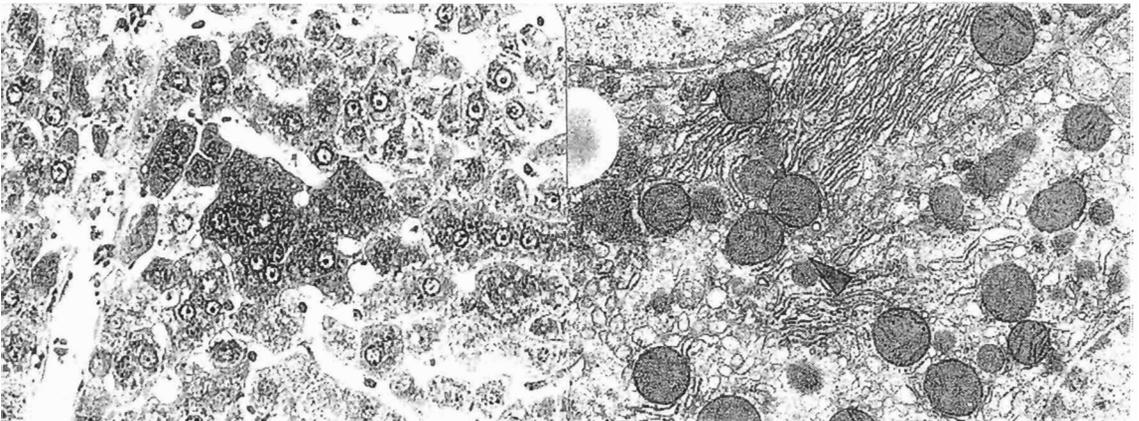


写真1. Spl 104週間投与動物におけるMHs。
(H.E.染色)

写真2. Spl 104週間投与動物における肝細胞の融合像。矢頭の部分で細胞膜が消失している。(ウラン鉛二重染色)

○埜田 茂, 平川公昭, 仲辻俊二, 井戸側博一, 武部秀太郎,
山手丈至¹, 佐久間貞重¹ (鐘紡,¹大阪府大)

【目的】現在までに多くの肝硬変モデル動物の作製が試みられている。しかし人にみられる肝硬変像に近いモデルの作出は未だ十分ではない。以前からWistar系あるいはUje:WISTラットなどを用いてチオアセトアミドによる肝硬変モデルの作出が試みられているが、SD系ラットを用いた報告はない。さらに、チオアセトアミドによる肝硬変の発症において、肝臓の非実質細胞の動態については十分に検討されていない。今回我々は動物実験において広く使用されているSD系ラットを用いて、チオアセトアミド処理による非実質細胞の変化に注目して肝硬変モデルの作製を検討した。

【方法】4週齢のSD系雌ラットに0.03% チオアセトアミドを3ヵ月間飲水として投与し、投与期間中の体重推移、血液化学的検査値の変動、病理組織学的変化について経時的に検討した。病理組織学的検査にはヘマトキシリン・エオジン染色のほか、免疫組織染色を行い非実質細胞の変化について検討した。

【成績およびまとめ】チオアセトアミドの投与により投与開始時より体重の増加抑制が認められ、血清アルカリフォスファターゼ(ALP)活性値が投与2週目より上昇し、3ヵ月の投与期間中高値を維持した。病理組織学的に投与2ヵ月より間質の線維化が認められ、投与3ヵ月で均一な肝硬変像を示した。類洞内ではクッパー細胞の、間質では浸潤マクロファージの増加が観察された。1ヵ月の休薬により体重は急激に増加し、ALP活性値は低下したが、病理組織学的には休薬前と同様、明らかな肝硬変の像が継続して認められた。

以上のようにSD系ラットにおいてもチオアセトアミドの投与により明らかな肝硬変を誘発することができた。これらのことから、この系は肝硬変モデルとして有用であることが示唆された。病理組織学的に肝臓の非実質細胞の変化を認めたことから、現在、クッパー細胞などの肝臓非実質細胞の役割について病態生理学的に検討を行っている。

担癌ラットにおけるバリン欠乏アミノ酸インバランス抗癌輸液療法の脂肪肝に関する病理学的検討

○小松博道、西平哲郎、陳 正浩、佐川純司、標葉隆三郎、森 昌造
(東北大・医・第二外科)

【目的】バリンを欠如させた高カロリー輸液の投与では、顕著に癌の増殖を抑制するが、副作用として脂肪肝が発症する。昨年の本学会で非担癌ラットにおける基礎的実験として実施した本療法における脂肪肝発生過程の病理学的検討結果を報告した。今回は実験1として担癌ラットを用いて本療法の脂肪肝発生における投与カロリーの影響を病理学的に検索した。また、実験2として脂肪肝発生を防止する検討も行った。

【方法】実験1：体重250-300 gのCri:Donryu系雄ラット(90匹)の背部皮下に腹水肝癌AH-109Aを10⁷個移植し、中心静脈(CV)から4日間の輸液実験を行った。対照群には10%アミノ酸製剤にグルコース等を加えた輸液を投与し、バリン(-)群にはバリンを欠如させた輸液を投与した。投与カロリーはグルコース濃度を変えて130、200、270および330kcal/kg/dayの小群に分けた。輸液終了後肝臓の病理組織学的検査と脂質分析定量を行った。実験2：AH-109A担癌ラット(67匹)を用いて、バリン(-)輸液のCV投与下に門脈(PV)から対照輸液に含有するバリンの25%量を持続投与した(25%群)。CVから対照輸液とPVからリンゲル液を投与する群(対照群)とCVからバリン(-)輸液を投与しPVからはリンゲル液のみを投与する群(0%群)も設け、実験1と同様に検査した。

【結果】実験1：対照群において270kcal/kg以下の投与量では肝細胞における脂肪空胞の形成は少なく、肝小葉周辺にわずかに認められたが、330kcal/kgでは脂肪空胞は増加し、肝小葉中間帯と周辺に観察された。一方、バリン(-)群では最低投与カロリーの130kcal/kgでは肝細胞の脂肪空胞は少なく、肝小葉周辺に観察されるに過ぎなかったが、200kcal/kg以上の投与量では投与カロリーに依存して脂肪空胞が増加し、330kcal/kgでは肝小葉全域に豊富に観察された。肝実質中のトリグリセライド(TG)も130kcal/kgにおいてバリン(-)群は低値であり、対照群と有意差はなかった。330kcal/kgでは対照群も軽度増加したが、バリン(-)群では対照群より有意に高値となった。一方バリン(-)群ではいずれの投与カロリーにおいても癌増殖は抑制されていた。実験2：門脈から通常輸液の25%量のバリン投与で肝細胞の脂肪空胞は減少し、肝小葉周辺にわずかに観察されるに過ぎなかった。脂質分析定量においてTG値は低下し、対照群との差はみられなくなった。しかも癌増殖の抑制は維持できた。

【結語】本療法では投与カロリーに依存して肝臓の脂肪蓄積が顕著となり、脂肪肝が発生した。一方バリン(-)輸液の中心静脈投与下で門脈から少量のバリンを同時持続投与したところ、肝臓の脂肪化を抑制することができ、かつ癌増殖抑制は保たれた。

○筒井茂樹, 平澤健介, 武田真記夫, 板垣慎一, *前田 健, *見上 彪,
土井邦雄 (東大・実験動物, *微生物)

[目的] アポトーシスは特に免疫系および神経系の形成過程で, 細胞の増殖, 分化とともに重要な役割を果たしていることが知られている。また, 正常細胞および腫瘍細胞の増殖抑制との関係も徐々に解明されつつある。しかし, 多くの細胞傷害性化学物質によって, 肝臓および腎臓などに引き起こされる細胞死とアポトーシスとの関係についてはまだ報告は少なく, その機序も解明されていない。今回, 我々は *in vivo* における予備実験で, 高濃度のガラクトサミン (GalN) 投与マウスの肝臓に apoptotic body 様の死細胞が散見されることを確認した。そこで, GalN 誘発肝傷害とアポトーシスとの関係を明確にするため, マウス初代培養肝細胞に GalN を添加し, DNA fragmentation assay および位相差顕微鏡, 電子顕微鏡による検索を行った。

[材料・方法] 8~9週齢の雄 C57BL/6NCrj マウスを用い, コラゲナーゼ灌流法により細胞を分離して, 5%牛胎児血清を加えた William's medium E で 24 時間培養後, 10~20mM 濃度の GalN を添加した。DNA は GalN 添加後の肝細胞を Cell Scraper で剥離後, DNA extraction buffer (pronase E を含む) に溶解, 除タンパクし, フェノール/クロロフォルム抽出して得た。DNA fragmentation assay は, DNA を 2% アガロースゲルで泳動することによって行った。また, 電顕試料は 2.5% グルタルアルデヒドで固定後, 1% OsO₄ で後固定し, 樹脂包埋を行った。

[結果・考察] 位相差顕微鏡による観察では, 10mM GalN 添加 24 時間後には核の断片化を伴う apoptotic body 様の死細胞が散見された。20mM GalN 添加では, apoptotic body 様死細胞がさらに多く観察されたが, 同時に壊死性変化も観察された。また, 肝細胞は 40~48 時間で死滅した。DNA fragmentation assay では 20mM GalN 添加 1 時間後に典型的なラダーフォーメーションが観察され, 24 時間以降まで続いた。また, 電顕による検索では, 核の濃縮, 断片化を伴う典型的な apoptotic body が観察された。

以上の結果から, C57BL マウスの初代培養肝細胞では, GalN 添加により, アポトーシスによる細胞死が惹き起こされ, その過程は, 添加後 1 時間以内に始まることが示唆された。現在, この現象をさらに明確にするため, 最初期の変化について検討中で, さらに, 細胞内 Ca²⁺ 動態との関連についても検討する予定である。

家兎胆嚢上皮細胞のコラーゲンゲル内培養：
極性発現とその異常

吉田一晴¹, 三善隆広¹, 木澤和夫¹, 守田禎一¹, 河村泰仁¹, 児玉卓也¹,
齋藤勝彦², 片柳和義², 中沼安二²(¹富山化学・安全性, ²金沢大・医・二病理)

【目的】家兎胆嚢粘膜上皮細胞を分離、単細胞化しコラーゲンゲル内で培養すると内腔に粘液を充満した多細胞性嚢胞を形成する(Lab. Invest., 1989).

今回、家兎胆嚢粘膜上皮細胞をコラーゲンゲル内で三次元的に培養し、胆嚢粘膜上皮が本来持っていた細胞極性の消失と再発現の過程を光顕、電顕、レクチン組織化学染色法により検討した。さらに、培地にアクチン重合阻害剤のサイトカニンB(CB)と細胞分化に関連するTransforming growth factor β 1(TGF β 1)を添加し、多細胞性嚢胞での細胞極性の変化を検討したので報告する。

【方法】家兎の胆嚢を分離剔出し、胆嚢内腔を洗浄後、トリプシンとEDTAの混合液を胆嚢内に入れ、37°Cで80分間静置し、遠心して胆嚢上皮細胞を得た。細胞を0.3%Type 1コラーゲン(新田ゼラチン)7.5ml, ウシ胎児血清1.5ml, 10倍濃度のWilliams' E培地1ml, 上皮成長因子10ng/mlと混合し、静置してゲル化した。Williams' E培地をコラーゲンゲル上に重層して37°C, 5%CO₂でインキュベーションした。CB, TGF β 1の処理はコラーゲンゲル内で3日間培養し、多細胞性嚢胞が形成された細胞にCB 25 μ g/ml及びTGF β 1 1ng/mlを培地に添加した。細胞は経時的に固定し、HE染色, 各種粘液染色, レクチン染色(DBA, SBA, WGA, Con A)および電顕で観察を行った。

【結果】コラーゲンゲル内培養した胆嚢粘膜上皮細胞は、細胞極性の発現から以下の3期に分類し得た。極性消失期; 単細胞化した胆嚢粘膜上皮が細胞極性を消失する時期で細胞内に空胞が見られる。極性獲得期; 細胞は増殖し、細胞質に粘液染色陽性の空胞が形成される。極性成熟期; 多細胞性嚢胞が形成され、嚢胞を形成する壁は1から2層性となり、嚢胞は粘液染色陽性となる。一方、CB添加では、多細胞性嚢胞を構成する細胞は解離傾向を示し、細胞内に粘液染色陽性の小嚢胞が出現した。細胞内小嚢胞は胆嚢粘膜上皮のレクチン結合パターンを示した。TGF β 1添加では、細胞は立方から円柱状になり、一部で多層化し、核は基底側に、また分泌顆粒が内腔縁部に見られ、胆嚢粘膜上皮に類似した形態を示した。

【結論】ウサギ胆嚢上皮細胞を単離し、コラーゲンゲル内で培養すると、細胞が本来持っていた極性が一旦消失するが、培養48時間で極性を獲得し、嚢胞内腔の微絨毛の形成、分泌顆粒の内腔への放出など嚢胞内腔へと向かう極性発現が見られた。一方、CB添加では細胞極性の異常(構成細胞の解離と胞体内に微小粘液嚢胞の出現)がみられたので、多細胞性嚢胞の極性維持にはアクチンの関与が必要と考えられた。一方、TGF β 1は、上皮細胞の形態を変化させ、胆嚢上皮粘膜に類似した形態へと誘導した。本培養モデルは胆嚢上皮細胞の極性発現とその異常の研究に有用と考えられた。

○前田 博、松浦哲郎、尾崎清和、奈良間 功

(摂南大・薬・薬物安全科学研究所)

[緒言] 鉄化合物の経口毒性としては嘔吐、胃潰瘍、代謝性アシドーシスなどの急性毒性および鉄沈着による肝、腎障害などの亜急性毒性などが、吸入毒性としては肺発癌などが知られているが、いずれもその詳細は明らかでない。我々は食品添加物として使用される乳酸鉄の安全性試験で認められた諸変化のうち、今回は消化管毒性について報告する。

[材料および方法] 乳酸鉄（乳酸第一鉄、武蔵野化学）を0.625、1.25、2.5および5%となるように混合した粉末飼料（CRF-1）を5週齢雌雄のF344ラットに2週間、1カ月および3カ月間摂取させた。また、刺激性を検討する目的で、5%乳酸鉄水溶液を5週齢の雌ラットに強制経口し、0.04%および0.2%乳酸鉄生理食塩液を皮下投与した。

[結果] 用量および期間と関連した鉄沈着が消化管及び肝臓、脾臓をはじめとする諸臓器に認められた。消化管における最も顕著な変化は食道を除く消化管全域における好酸球浸潤で、浸潤の程度は胃、盲腸および結腸で最も強く、血液学的な好酸球増多を伴っていた。一方、鉄沈着は胃、十二指腸および盲腸で最も強く、小腸および大腸の後位になるに従って減弱した。胃の好酸球浸潤は鉄沈着と同様に境界縁に近い部分に強く、境界縁の粘膜の増生や、主として境界縁近傍における腺頸部粘膜上皮のApoptosis増加およびGlobular leukocyteの顆粒の巨大化を伴っていた。盲腸および結腸では好酸球浸潤はしばしば鉄沈着の認められない漿膜や腸間膜にまで達していた。小腸および大腸ではGlobular leukocyteの顆粒の巨大化は明らかでなかった。トルイジン青染色標本では乳酸鉄投与ラットにおいて、粘膜固有層から漿膜にかけて好酸球浸潤と一致した肥満細胞の増生が明らかであった。

1カ月および2週間投与においても程度は低いながら同様の変化が認められた。

皮下投与では投与部の広範な壊死が形成されていたが、好酸球浸潤は認められなかった。強制経口投与では胃底腺部粘膜表層の広範な壊死と、粘膜下の水腫およびマクロファージを中心とする炎症細胞浸潤が顕著であった。

[まとめ] ラットにおける乳酸鉄混飼投与で、従来の鉄剤では報告されていない好酸球性胃腸炎に類似した病変が形成されていた。機序の詳細は明らかでないが肥満細胞の何らかの刺激が関与していると考えられる。皮下投与の結果および他の鉄剤の報告から好酸球浸潤は乳酸鉄そのものに起因した変化である可能性は乏しい。また、境界縁の増生やApoptosisの増加は鉄剤に共通した腐食性に起因した変化であろうと思われる。

天然甘味料 Stevioside 投与によるラットの腸上皮及び腸内の細菌叢への影響

○ 豊田和弘・松井 元・畝山智香子・川西 徹・高橋道人（国立衛試・病理）

ラットを用いて天然甘味料である Stevioside の癌原性試験を行ったところ、雌雄とも5%の混餌投与で投与開始時より2週目頃まで一過性に軟便や下痢が認められ、Stevioside がラットの腸に対して何らかの影響を与えている可能性が考えられた。そこで Stevioside 投与による腸上皮の組織学的変化と細胞増殖動態、及び腸内の細菌叢への影響について以下のような検索を行った。

【材料及び方法】実験1：6週齢の雄のF344ラット5群各4匹に Stevioside をそれぞれ20%、10%、5%、2.5%、0%の割合で混合した飼料を1週間投与し、屠殺前にBrdUを腹腔内投与して腸上皮細胞のBrdU取り込み率を検索した。

実験2：6週齢の雄のF344ラットを用い、10% Stevioside 含有飼料を投与する群（20匹）と基礎飼料のみ投与する群（対照群、20匹）を設けて、2日、1週、2週、3週、4週、5週、6週目に摂餌量、排便量及び下痢の程度を調べた。また、2日、1週、2週、6週目には各群5匹ずつをBrdU静注後に屠殺し、腸上皮の病理組織学的検索とBrdU取り込み率の検索、更に腸内の細菌叢への影響を調べる目的で大腸内容物中のSteviol（腸内の細菌による Stevioside の主代謝物）の定量と盲腸内容物のpHの測定を行った。

【結果及び考察】実験1：盲腸及び結腸・直腸の近位部と中間部においてBrdU取り込み率の上昇が投与用量に相関して認められた。実験2：Stevioside 投与群では、摂餌量は2日目で1/3程度に減少したが、1週目では正常レベルに回復し、それ以降では5～16%程度の増加がみられた。排便量の増加は2日、1週、2週、3週目に、下痢の程度は1週と2週目において最も強くみられ、その後徐々に正常レベルに近づいた。組織学的検索の結果、腸上皮には形態的に著変は認められなかった。BrdU取り込み率の上昇は小腸、大腸ともに1週目に最も顕著にみられ、その後低下していった。大腸内容物中のSteviol量は2日目で平均5.1mgであったのに対し、1週及び2週目では2.8mgと減少した（6週目は分析中）。盲腸内容物のpHに有意な変化はなかった。以上の結果より、Stevioside の投与はラットの腸上皮に対して形態学的に傷害は与えないものの、細胞増殖を亢進させることが明らかとなった。また、大腸内容物中のSteviol量の変動より、腸内の細菌の数あるいは代謝活性の変化が示唆された。現在、細胞増殖の亢進と細菌叢の変化との関係について検討中である。

○石田勝彦¹⁾, 坂爪正志¹⁾, 池上仁¹⁾, 保坂直美¹⁾, 堺俊治¹⁾,
土井邦雄²⁾ (1)山之内製薬 創薬安全研, 2)東大 農 獣医 実験動物)

【目的】 フルクトースを飲水投与して高トリグリセリド血症を呈したラットでは、正常ラットと比べ、アセトアミノフェン(AAP)投与による肝毒性が抑制され、腎毒性が増強されることを第118回日本獣医学会で報告した。このメカニズムをより詳細に調べるため、フルクトース誘発の高トリグリセリド血症ラットおよび無処置のラットにAAPを単回投与した後、経時的に剖検し、血中および肝腎組織中の薬物動態と肝臓および腎臓の組織傷害の関連について検討した。

【材料および方法】 8週齢の雄SDラットを2群に分け、上水道水(無処置群)あるいは25%フルクトース水溶液(フルクトース処置群)を5週間自由摂取させた。5週間処置後、AAP750mg/kgを単回腹腔内投与し、投与後15, 30分, 1, 2, 6, 12, 24, 48, 72, 120, 168時間に各群4匹ずつを剖検した。投与前にも各群4匹を剖検し、対照動物とした。各時点での血液、肝臓および腎臓中の薬物濃度をHPLC法により測定した。また、肝臓および腎臓について病理組織学的に検査した。

【結果】 病理組織学的検査；無処置群では、AAP投与の2時間後までは異常はみられなかった。6時間後では、腎髓放線の近位尿細管直部が軽度の拡張を示す例がみられた。24時間後では、全例の近位尿細管直部内に単細胞性の上皮細胞の脱落がみられたが、広範な壊死は認められなかった。48時間後では、脱落上皮細胞は減少しはじめ、72時間後以降には異常はみられなくなった。フルクトース処置群では、AAP投与の2時間後に近位尿細管直部の拡張がみられ始め、6時間後では、全例の近位尿細管直部が著しく拡張し、上皮細胞の壊死、脱落を伴っていた。12時間後には近位尿細管直部上皮細胞が広範な壊死に陥り、その下流の尿細管には多量の尿円柱がみられ、この傷害は48時間後まで継続した。72時間後以降には、壊死性変化は減少し始めたが、168時間後まで、上皮細胞の脱落および再生が観察された。今回の投与量では、両群ともに肝臓に明らかな傷害を示した例はほとんどみられなかった。

薬物濃度；血液および肝臓中の薬物濃度では、無処置群とフルクトース処置群との間に差はみられなかった。しかし、投与の15および30分後の腎臓中の薬物濃度は、フルクトース処置群で有意に高く、それぞれ、無処置群の1.64および1.34倍であった。また、この時点で無処置群では肝臓中の薬物濃度の方が高かったのに対し、フルクトース処置群では腎臓中濃度の方が高かった。

【結論】 フルクトース処置により高トリグリセリド血症を呈したラットでは、無処置のラットと比較し、AAPにより重度の腎傷害を示した。薬物濃度は、無処置のラットでは肝臓が、腎臓よりも高値を示したのに対し、フルクトース処置ラットでは、腎臓の方が高かった。このことから、フルクトース処置ラットでは、AAPの腎臓での分布が増加したことが、腎毒性増強の大きな要因であると考えられた。

ラットにおけるジエチルニトロサミン (DEN) およびコリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食による肝前癌病変誘発に対する (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) の及ぼす影響

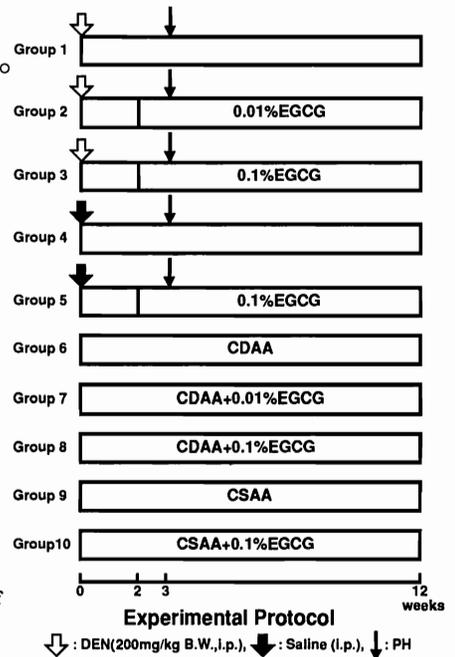
○田村一利, 中江 大, 堀口浩資, 小笠原裕之, 高島吉治, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫病)

緑茶に含まれているポリフェノールは、抗腫瘍作用を有すると報告されている。本研究は、緑茶中に多量に存在するポリフェノールの一種であるEGCGのラット肝発癌に対する作用を解明することを目的とし、DNA付加体を形成するDENと活性酸素の関与するCDAA食によるラット肝前癌病変誘発に対するEGCGの及ぼす影響について検索した。

実験プロトコルは、右図に示す如くである。

動物は、6週齢の雄Fischer 344系ラット105匹を用いた。EGCGは、0.01または0.1%の濃度で蒸留水に溶解し、第2, 3, 5群で実験開始後2週より、第7, 8, 10群で実験開始時より、実験終了時まで自由摂取させた。全動物は、実験開始後12週に屠殺し、肝と血清を採取した。肝は、病理組織学的に検索すると共に、前癌病変である胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ陽性病変の数と大きさを定量した。血清は、アスパラギン酸 (AST) およびアラニン (ALT) アミノトランスフェラーゼと γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) の活性を測定した。肝重量および血清AST, ALT, GGT 活性は、第6~8群のみで対照群に比べ、有意な増加をみた。GSTP陽性病変の1cm³当りの発生個数は、1, 2, 3, 6, 7, 8 群で、それぞれ、1544±378, 1083±473, 1044±128, 421±125, 371±105, 359±159個であり、DEN投与後0.1%EGCG投与群においてDEN単独投与群に比べ、わずかながら有意な減少を見た。GSTP陽性病変の大きさは、第1~3群, 6~8群のそれぞれについて、いずれも有意な差を示さなかった。また、EGCG投与は、DENおよびCDAA食による肝の病理組織学的変化に対して、有意な影響を与えなかった。

以上の結果より、EGCGは、高濃度にてDENによるラット肝前癌病変発生に対し抑制効果を示したが、低濃度では示さず、CDAA食によるそれに対しては影響を及ぼさないことが判明した。



エチオニン添加コリン欠乏アミノ酸(CDAA)食によるラット肝発癌機構に対するN,N'-ジフェニール-p-フェニレンジアミン(DPPD)と2-O-オクタデシルアスコルビン酸(CV3611)の影響

○小林永策, 辻内俊文, 中江大, 丸山博司, 遠藤武弘, 野口修, 長谷川清彦, 高島吉治, 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, CDAA食を用いたラット肝発癌過程におけるエチオニンの増強機構に種々の遺伝子発現の異常及び酸化性ストレスが関与することを報告してきた。今回我々は, この実験モデルを用いてラット肝発癌機構に対する抗酸化剤DPPDとCV3611の影響を病理組織学的及び分子生物学的に検索した。

[材料と方法]動物は6週齢の雄Fischer344 (F344)ラットを用いた。実験群は, 第1群CDAA食投与群, 第2群コリン添加アミノ酸(CSAA)食投与群, 第3群CDAA食+エチオニン投与群, 第4群CDAA食+DPPD投与群, 第5群CDAA食+CV3611投与群, 第6群CDAA食+エチオニン+DPPD投与群, 第7群CDAA食+エチオニン+CV3611投与群とした。全動物は実験開始から12週目に屠殺解剖し, 肝を摘出後, 肝について病理組織学的に検索すると同時に, 経時的にc-myc, c-Ha-ras遺伝子の発現と脂質過酸化誘発量を測定した。

[結果及び考察]病理組織学的検索の結果は, 下表に示すようにDPPDとCV3611投与群では各々の対照群に比してfociとnoduleの発生の抑制がみられた。またc-myc, c-Ha-ras遺伝子の発現及び脂質過酸化誘発量については, 第1群に比して第3群では増強傾向を認めたが, 第4~7群では抑制効果を認めた。

以上より, CDAA食とエチオニン併用投与によるラット肝発癌機構には, c-myc, c-Ha-ras遺伝子の発現と酸化性ストレスが関与し, また, DPPDとCV3611はc-myc, c-Ha-ras遺伝子を発現抑制して酸化性ストレスを抑制することにより, 発癌抑制的に作用することが示唆された。

Experimental groups	No. of rats	Fatty change	Altered foci	Preneoplastic nodule	Cholangio-fibrosis
1. CDAA	12	12(100)	12(100)	0(0)	0(0)
2. CSAA	12	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
3. CDAA+ethionine	11	0(0)	10(90.0)	3(27.3)	11(100)
4. CDAA+DPPD	12	12(100)	1(8.3)	0(0)	9(81.8)
5. CDAA+CV3611	12	12(100)	9(75.0)	0(0)	7(87.5)
6. CDAA+ethionine+DPPD	11	0(0)	2(18.2)	0(0)	9(81.8)
7. CDAA+ethionine+CV3611	8	0(0)	5(62.5)	0(0)	7(87.5)

○遠藤武弘¹, 野口修¹, 傳田阿由美¹, 安藤信明¹, 小林永策¹, 吉田順一¹, Amedeo COLUMBANO², 小西陽一¹ (1奈良医大・がんセ・腫瘍病理, 2Univ. Cagliari, Italy)

[目的]

マイトジェンである硝酸鉛は、ラット肝に対し肝細胞増殖の誘発に伴ってアポトーシスを誘発する。前回我々は、硝酸鉛による肝細胞増殖は、N-nitrosodietylamine (DEN)投与2週間後の早期に誘発される酵素偏倚小増殖巣に対し、増殖刺激となり得ず、むしろアポトーシスによる酵素偏倚小増殖巣の数が減少する事を報告した。今回は、更に進行した腫瘍性病変に対する硝酸鉛の影響を検索する目的で、Solt-Farber法により酵素偏倚小増殖巣を誘発し、腫瘍性結節への進展に対する硝酸鉛の影響を検索した。

[材料と方法]

動物は6週齢のWistar系雄性ラットを用い以下の2群を作製した。全動物はDEN(200mg/kg)を一回腹腔内投与し、2週間後にSolt-Farber法に従い0.02% 2-acetylaminofluorene (2-AAF)を一回胃ソングにて投与して酵素偏倚小増殖巣を誘発した。2-AAF食除去後10日目及びそれ以後は20日毎に計3回、第1群は硝酸鉛(100 μ mol/kg)を、第2群は蒸留水を各々静脈内投与し、最終投与17日後に屠殺し、肝の腫瘍性結節の数と大きさを組織学的に検索した。

[実験結果および考察]

腫瘍性結節の肝1cm²当りの数、大きさ、肝に占める面積%、肝1cm³当り数は各々第1群では5.4 \pm 1.1個、5.9 \pm 3.9mm²、32.0 \pm 4.1%、20.8 \pm 7.5個、第2群では0.8 \pm 0.9個、5.0 \pm 2.5mm²、4.1 \pm 5.9%、4.4 \pm 3.6個であり、硝酸鉛を投与した第1群では、蒸留水を投与した第2群に非し、腫瘍性結節の肝1cm²当りの数と面積%が有意に増大していた。

以上の結果より、硝酸鉛はラット肝の酵素偏倚小増殖巣の腫瘍性結節への進展に対し促進効果を有することが示唆され、肝前癌性病変に対するマイトジェン硝酸鉛の作用は早期に出現する病変と進行した病変とでは異なる事が示唆された。

Histogenesis of hepatocellular carcinoma and cholangiofibrosis induced by glyceryl trinitrate in male F344/NCr rats

Seiko Tamano¹, Bhalchandra A. Diwan², Larry K. Keefer³ and Jerrold M. Ward¹(¹VTPS & OLAS, NCI, ²BCDP & PRI/DynCorp and ³LCC, NCI Frederick, MD, USA)

Glyceryl trinitrate (GTN), the antianginal agent, has been reported to induce hepatocellular carcinoma (HCC) and cholangiofibrosis (CF) in a long-term bioassay in SD rats. GTN is considered to be reductively converted to nitric oxide which is predicted to damage DNA. GTN has elicited mutagenicity in one bacterial assay. This experiment was undertaken to evaluate the histogenesis of hepatic lesions induced by GTN in rats. **[Methods]** Male F344 rats received a single i.g. intubation of GTN 1,200 mg/kg at 6 weeks of age, and were placed on a diet containing 1% of GTN from 8 weeks of age for 76 weeks. Animals were subjected to 2/3 partial hepatectomy (PH) at 9 weeks of age (group 2). GTN i.g. alone (group 1), untreated (group 3), GTN in the diet alone (group 4) and GTN i.g. plus PH animals (group 5) were used for comparison. A total of 5 sequential sacrifices (14, 32, 52, 78 and 84 weeks of age) was performed. **[Results and discussion]** In groups 2 and 4, preneoplastic foci, mainly of clear cell and mixed cell type were found at 50~100% incidences after 14 weeks of age. Mixed cell foci included a mixture of clear and eosinophilic hepatocytes. HCCs were seen at 50~75% incidences after 78 weeks of age. Most were well differentiated with one moderately differentiated HCC. HCCs arose within adenomas that often contained areas of clear cells on the margins. It is suggested that HCCs could originate from clear cell or mixed cell foci. Furthermore, focal eosinophilic areas (atypical foci) composed of atypical hepatocytes often extending into the veins were observed at 80~100% incidences after 52 weeks of age. In addition, there were focal lesions consisting of hepatocytes with marked atypia that appeared as incipient carcinomas in groups 2 and 4. Thus, it is suggested that two different histogenetic types of carcinomas were induced by GTN. CFs were observed at 30~83% incidences in group 4 after 32 weeks of age. These were associated with a mild oval cell hyperplasia. One metastatic cholangiocarcinoma was found in group 4 at 78 weeks of age. CF was rare in group 2 rats.

○杉江茂幸¹⁾、岡本清尚¹⁾、牧田浩樹¹⁾、大西将美¹⁾、渡辺知幸¹⁾、田中卓二¹⁾、森 秀樹¹⁾、佐藤公彦²⁾、(1)岐阜大、医、病理、2)弘前大、医、2 生化)

【はじめに】

クロロフィリンは植物中等に多く含まれ、日頃我々もよく口にするものである。今回我々は、クロロフィリンをイニシエーション期並びにプロモーション期に混餌投与しDiethylnitrosamine (DEN)誘発肝発癌への修飾効果を検索し、併せて前癌性病変を抗 glutathione S-transferase placental form (GST-P)抗体を用いて陽性巣の解析を行い、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、7群に分け、第2群及び第6群に5週齢より2000 ppmクロロフィリン(Sigma Cem. Co.)含有基礎食を投与し、他の群には基礎食(CE-2、日本クレア)を投与した。6週齢より100 mg/kg体重のDENないし生食水を週一回3週間、腹腔内注射を行った。DEN投与一週間後、第2群は基礎食に、第3、第5群は2000 ppmクロロフィリン含有基礎食に換え、第1、2、3、6群には500 ppm phenobarbital (PB)含有飲料水に換え、投与した。最終DEN投与21週後、全匹断頭屠殺、剖検した。肝臓及び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。肝臓はその場で腫瘍並びに各葉より切り出し、アセトン固定を行った。連続切片を作成し、H. E. 染色及びGST-P陽性巣検出のために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陽性巣は画像解析装置(I P A P、住友化学)にて計測を行った。

【結果】

肝腫瘍発生動物数は第1群の較べ、第2、第3群で減少傾向を認めたが、有意差は認めなかったが、腺腫のみに於いては両群とも有意の減少を認めた。平均腫瘍発生個数は第1群の比し、第2、第3群で減少傾向を認め、第3群では肝細胞腺腫、肝細胞癌、全肝腫瘍共に有意差が認められた。第4、第5群間では腫瘍発生数には有意差を認めなかった。GST-P陽性巣の解析結果では、第3群ではGST-P陽性巣平均面積、単位面積当たりのGST-P陽性巣数に減少傾向を認めた。第2群ではGST-P陽性巣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陽性巣数には減少傾向が認められた。第4群に比べ、第5群間では単位面積当たりのGST-P陽性巣数の減少傾向を認めた。

【考案】

クロロフィリンはイニシエーション期、プロモーション期投与共にDEN誘発肝発癌を抑制する傾向があり、特にプロモーション期投与により効果が強く、肝におけるchemopreventive agentの候補となりうると推定された。

○永田伴子、丸茂秀樹、斉藤義明、今井 清
(食品薬品安全センター・秦野研)

カロリー摂取制限により、腫瘍の発生率が低下し、血漿中過酸化脂質が低下することが明らかにされているが、ラット肝臓の自然発生腫瘍についてのカロリー摂取制限の影響は不明である。今回、食餌制限がラット肝臓腫瘍発生におよぼす影響を明らかにするため抗 GST-P 抗体を用いた酵素抗体法により GST-P 陽性巣を検索した。

【材料と方法】6週齢の Fisher および SD 系雄ラット各 40 匹を 20 匹ずつ 2 群にわけ、1 群は非制限給餌群として市販標準飼料 CRF-1 (オリエンタル酵母)を自由摂取させ、2 群は制限給餌群として 1 群の約 70 % の飼料摂取量にあたる同飼料を与え、いずれにも水道水を自由摂取させた。各群の 10 匹を 52 週 および 104 週に麻酔下に解剖し、肝臓を 10 % 緩衝ホルマリンに固定、第 5 葉の中央部、第 3、4 葉の中央部、第 3 葉の辺縁部の 3 箇所をパラフィン包埋し、HE 標本を作製した。さらに、ウサギ抗 GST-P 抗体 (MBL) または陰性対照として正常ウサギ Ig (DAKO) を用い免疫染色を行い (ABC 法)、組織片の面積を計測するとともに、GST-P 染色陽性の細胞集団 (陽性巣) を数え、単位面積あたりの陽性巣の数を算出し、有意差検定として多重比較を行った。

【結果】いずれの動物にも肝細胞癌、肝細胞腺腫は観察されなかった。GST-P 染色では、HE で観察された focus of cellular alteration (FCA) に対応する肝細胞の核および細胞質に陽性反応がみられたほか、1 から数個の肝細胞からなる微小陽性巣が多数観察され、FCA では微小陽性巣に比較し淡い染色傾向がみられた。SD系ラット: 非制限給餌群の 4 例が観察期間中に死亡し、検索対象から除外した。52 週目の非制限給餌群では 10 例全例、平均 21 箇所に陽性巣が認められたが、制限給餌群では 6 例で陽性巣が観察されず、平均 2 箇所であった。104 週では、非制限給餌群の 6 例全例、平均 27 箇所、制限給餌群では 7 例、平均 12 箇所の陽性巣が見られた。Fisher ラット: 52 週目の非制限給餌群の全例、平均 16 箇所の陽性巣が観察され、制限給餌群では 9 例、平均 5 箇所の陽性巣が認められた。104 週では、非制限給餌群で平均 51 箇所、制限給餌群で平均 12 箇所の陽性巣が見られた。SD 系ラットの 104 週を除き、制限給餌群の単位面積当りの陽性巣の数には有意な減少が見られた。

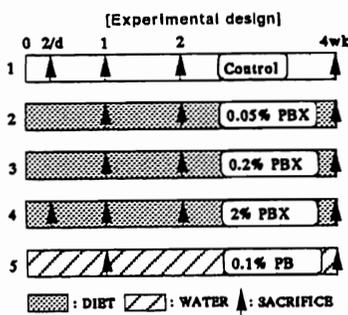
【まとめ】制限給餌により GST-P 陽性巣発生が抑制され、食餌制限により前癌病変発生も抑制される可能性が示唆された。しかし、制限給餌群においても GST-P 陽性巣は経時的に増多していたことは、食餌制限は肝発癌のイニシエーション作用を完全に抑制するものではないとも考えられる。

1. 反復投与における肝薬物代謝酵素の変動と局在

○真鍋淳, 三森国敏*, 小野寺博志*, 安原加壽雄*, 大橋芳彦,
高橋道人*(三共・安全研, *国立衛試・病理)

【目的】食品添加物piperonyl butoxide(PBX)の高用量投与によりラットやマウスに肝腫瘍が誘発されることが報告された。しかし、その変異原性は陰性で、遺伝子障害性はないものと考えられており、腫瘍発現機序は明らかではない。一方、肝腫瘍プロモーターであるphenobarbital(PB)等は肝小葉中心部の肝細胞チトクロームP4502B1/2を誘導し、この誘導と肝腫瘍発生の促進作用との間に強い相関のあることが報告されている。PBXの単回投与はP450を抑制するが、反復投与ではP450が逆に誘導される。しかし、どのP450アイソザイムが誘導されるか不明である。そこで、本実験ではPBXをラットに反復投与し、肝薬物代謝酵素の誘導の有無およびP450アイソザイムの変動と組織内局在を経時的に検索した。

【実験方法】F344雄ラットを用い、PBXを0.05, 0.2, 2%の割合で混餌投与した。



陽性対照として、0.1%のPBを飲水投与する群を設けた。投与期間は最長28日間とし、左図に示す如く、各群を経時的に剖検し、肝臓を採取した。肝臓中P450量、alkoxycoumarin O-dealkylase(ACD), glutathione S-transferase(GST), UDP-glucuronosyltransferase(UDPGT), 活性をそれぞれ測定した。また、5種類のP450アイソザイム(1A1/2, 2B1, 2E1, 3A, 4A)に対する抗体を用い、免疫ブロッティングにより誘導されたP450アイソザイムを同定すると共に、免疫組織化学によりそれぞれの肝小葉内局在を検索した。

【結果および考察】2%PBX群では、P450量および各酵素活性は2日目で対照群のほぼ2倍あるいはそれ以上に上昇し、その後も高値が持続した。0.2%PBX群では1週目で一部の酵素活性の上昇が観察され始め、2週目以降はP450量と全ての酵素活性が有意に上昇した。0.05%PBX群では2週目以降UDPGTとGST活性の上昇およびP450量の軽度の増加が散見されたが、投与期間を通じACD活性の有意な変動はなかった。PB群では投与1週以降P450量の増加、各酵素活性の上昇が認められた。免疫ブロッティングにより、PBX投与では1A1/2, 2B1, 3A, 4Aが、PB投与では2B1, 2E1, 3A, 4AのP450アイソザイムの誘導が確認された。さらに、免疫組織化学により各アイソザイムは肝小葉中心性の局在を示し、P450量の増加、ACD活性の上昇によく相関して誘導部位は小葉辺縁部に向かって拡大した。以上より、PBXの肝薬物代謝酵素誘導パターンはPBのそれに類似することが示唆された。

○小野寺博志、三森国敏、伊藤聖一¹⁾、田中三菜¹⁾、今沢孝喜、
安原加壽雄、高橋道人（国立衛試・病理、¹住友化学・生物環境研）

【はじめに】食品添加物である piperonyl butoxide (PBX) を28日間ラットに混餌投与することにより、肝腫瘍プロモーターであるphenobarbital (PB) と同様、P450 2B1およびその他の薬物代謝酵素が肝に誘導されることを前演者の真鍋らが報告した。一方、PBの反復投与や二段階発癌モデルでのラット肝では、P450 2B1が誘導されている小葉中心部、肝細胞小増殖巣や肝腫瘍部に一致してギャップ結合(gap junction)蛋白のconnexin 32 (Cx32) の減少が同時に発現することが示されており、肝腫瘍発生の促進とP450 2B1誘導ならびにCx32の減少との間に明らかな因果関係があることが示されている。そこで、PBXによる肝腫瘍発生がPBと同様の作用に起因するか否かを明らかにするため、PBXを28日間投与したラットにおける肝病変の形態学的特徴およびCx32の変動を経時的に検索した。

【方法】投与方法・検索時期は前演者らの報告と同様で、ホルマリンで固定した肝を病理組織学的に観察し、細胞増殖核抗原(PCNA)抗体を用いた免疫染色により細胞増殖動態を検索した。また、解剖時に肝の一部を液体窒素で凍結後その薄切標本について、抗Cx32抗体で免疫蛍光染色し、ギャップ結合の数と面積を測定した。2%PBX群については2日目、2および4週目に電子顕微鏡的検索を行った。

【結果】肝の相対重量は、0.2%PBX群で1週目より増加する傾向を示したが、その程度は軽度であった。2%PBX群の肝重量は2日目より投与期間中著明に増加した。形態学的には、2%PBX群で2日目より肝細胞の腫大を認め、単細胞壊死も散見された。電顕的にはSERの著明な増加がみられ、4週時では小空胞を取り巻くSERのmyelin様構造が観察された。細胞増殖活性は2%PBX群で初期に増加したが、その後は対照群と同程度に推移した。2%PBX群のCx32は2日目で肝細胞一個当たりのスポット面積が減少し、1週目以後ではPBX全投与群でスポット数、面積とも減少し、その程度はPBXの用量に相関していた。

【結論】PBX投与ラットの肝では初期より小葉中心部の肝細胞にP450 2B1を主体とする酵素が誘導され、かつ肝細胞ギャップ結合の減少が同時に発現した。これらの所見は、肝腫瘍プロモーターであるPBのそれと非常に類似しており、PBXの肝腫瘍発生にはP450酵素誘導に続く細胞間連絡の障害が関与していることが推察された。

○西川秋佳、古川文夫、池崎信一郎、今沢孝喜、
三井雅之、榎並倫宣、高橋道人（国立衛試・病理）

【はじめに】我々はこれまで、塩化カルシウムの経口投与がラット胃発癌のプロモーション過程に対し抑制的に作用することを明らかにしてきた。その抑制機構として、カルシウムの胃内における粘膜保護作用が主たる要因をなすものと考えられるが、血中カルシウム変動の影響も否定できない。今回、ラット二段階胃発癌モデルを用いて、ビタミンD₃ 類縁化合物(VD₃A)のプロモーション期における修飾効果について検討した。

【材料および方法】6週齢のWistar系雄ラット110匹を5群に分け、第1群から第3群の各30匹には、イニシエーション処置として、100ppmのN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)と10%の食塩を、それぞれ飲料水および基礎食に混じ、8週間にわたって投与した。その後、第1群および第2群には、5ppmおよび2.5ppmのVD₃A混餌食を57週間投与し、第3群には基礎食のみを与えた。第4群の10匹はイニシエーション処置をせずに第1群の対照とし、第5群の10匹は無処置対照群とした。実験は開始から65週で終了し、腺胃の増殖性病変について病理組織学的に検索した。

【結果およびまとめ】体重増加は、イニシエーション処置群において8週までは強く抑制されたが、3群間に差異はみられなかった。第4群は第5群と同様な体重変化を示し、最終体重は5群ともほぼ同じであった。各群間における摂餌量に顕著な差はなく、VD₃Aの推定摂取量は投与量によく相関した。血清生化学的に、Ca値は各群間に差がなかったが、第4群のP値は第5群に比し有意に高かった。臓器重量では、副腎および腎臓の重量が、イニシエーション処置の有無にかかわらず、VD₃Aの投与によって増加するか、増加の傾向を示した。腺胃における異型的過形成の頻度は、VD₃Aの用量に相関して減少する傾向がみられ、個体当たりの平均個数は第1、2、3群でそれぞれ0.45、1.00、1.07であり、用量相関性の有意な抑制効果が認められた。しかし、腺癌の発生は全群において少なかったため、顕著な傾向は見いだせなかった。以上の成績から、VD₃Aによる胃発癌の修飾作用はそれほど強いものではなかったが、プロモーションの時期に投与すると抑制的に作用することが明らかとなった。

○北澤利明¹, 原田孝則¹, 吉田明由¹, 木下三佳¹, 吉田敏則¹, 真板敬三¹,
長谷川亨², 清水義治³ (1 残農研, 2 佐賀医大, 3 埼玉医大)

〔目的〕ストレスと発癌との関連性に関してストレスが発癌を促進することがラットやマウスなどで報告されている。しかし、これらの研究におけるストレス負荷は電気刺激法、水浸法、拘束法あるいは局所刺激薬投与方法など身体に対する直接的な物理的刺激によるものが多く、心理的なストレスの影響に関する根拠は乏しい。そこで、今回我々は電気刺激によるストレスに加えて、心理的な情動刺激によるストレスも負荷できるコミュニケーションボックスを用いてマウスの胃発癌に対する影響について検討を加えた。

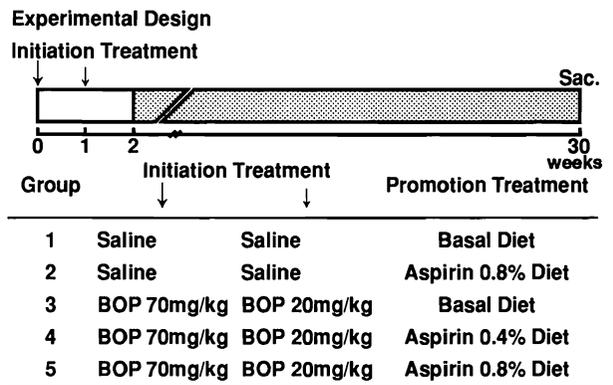
〔材料と方法〕ICR系(Crj:CD-1)雄マウスを8週齢で実験に供した。これらの動物をまず2群に分け、一方の群には1匹あたり1mgのBenzo[a]pyrene(BP)を0.2mlのコーン油に溶解させて毎週1回計4回強制経口投与し、他方の群には0.2mlのコーン油のみを投与した。4回目のBP投与終了後にさらに次の6群(各群15匹)に分け、22週間にわたりコミュニケーションボックスによるストレスを負荷した: I群(対照群), II群(心理的情動ストレス群), III群(電気ストレス群), IV群(BP投与群), V群(BP投与+心理的情動ストレス群), VI群(BP投与+電気ストレス群)

〔結果および考察〕電気ストレスおよび心理的情動ストレス群において対照群に比べ明らかな体重増加抑制がストレス負荷開始直後からみられ、物理的あるいは心理的ストレス動物に対する影響が確認された。22週間のストレス負荷後に各群の動物に対して剖検を実施した結果、BP投与群(第IV, 第V, 第VI群)において前胃に結節が観察された。前胃の結節は第IV群(BP投与群)の15例中8例(53.3%)の発生に対して、第V群(BP投与+心理的情動ストレス群)および第VI群(BP投与+電気ストレス群)では15例中11例(73.3%)の動物に発生が認められた。これらの結節はいずれも病理組織学的検査において乳頭腫であることが確認された。また、担腫瘍動物1匹当たりの平均腫瘍数の比較では、第IV群の平均1.00個に対して第V群では平均1.45個、第VI群では1.64個であり、ストレス負荷群において結節数の増加が確認された。22週間のストレス負荷終了後に、前胃粘膜上皮の厚さを計測した結果、第IV群と第VI群がそれぞれ第I群および第III群に比べ統計学的に有意に高い値を示した。以上の結果から、物理的ストレスだけでなく心理的ストレスによってもマウスにおけるBPの胃発癌が促進される可能性が示唆された。

○堀口浩資, 堤雅弘, 小林永策, 野口修, 辻内俊文,
田村一利, 傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫病)

[緒言] 非ステロイド系抗炎症剤が、ラットの乳癌, 大腸癌, 肝臓癌, マウスの食道癌, 皮膚癌の発癌や増殖に対して抑制効果を持っていることが報告されている。またハムスター膵癌に対してインドメサシンは発癌を抑制するが、アスピリンに関しては明確な結果が得られていない。今回我々はBOPでイニシエイトされたハムスターに非毒性量のアスピリンを投与し、膵発癌のプロモーション過程に及ぼす影響を検索した。

[方法] 動物は6週齢雌シリアンゴールデンハムスターを用いた。イニシエーション処置としてBOPを体重kg当り70mg(0日目), 20mg(7日目)皮下投与し、2週目からプロモーション処置として非毒性量と考えた0.8%, 0.4%のアスピリン含有食を投与した。実験プロトコルを右図に示す。



動物はイニシエーション後30週目に麻酔下で放血屠殺し膵臓を摘出、HE染色にて病変を検索した。
[結果] 体重に関しては何れの群においても抑制傾向は見られなかった。病理組

Effect of Aspirin for Induction of Pancreatic Carcinoma initiated by BOP in Hamsters

Group	Treatment	Effective No. Animals	Incidence of Panc. Lesion (%)			
			Hyperplasia	Atypical hyperplasia	Intraductal carcinoma	Invasive carcinoma
1	Saline BD	5	0	0	0	0
2	Saline Aspirin 0.8% Diet	10	0	0	0	0
3	BOP BD	15	100	67	7	47
4	Saline Aspirin 0.4% Diet	13	100	69	8	68
5	BOP Aspirin 0.8% Diet	12	67	41	0	92*

*P<0.05(against G-3)

織学的検索の結果は上表に示すように、第1,2群には膵管病変は見られず、第3~5群では全例に膵管病変を認め、アスピリン投与量に相関して膵癌の発生頻度の増加を認めた。加えてアスピリン投与群においては、膵小葉サイズを越えて浸潤する大きい腫瘍の数の増加を認めた。

[まとめ] ハムスター膵発癌過程において、プロモーション過程に投与された非毒性量のアスピリンはプロGRESSION促進的に働くことが示唆された。

十二指腸液逆流によるラット残胃モデルに 発生する小腸癌

○湯浅啓史^{1,2}、稲田健一¹、山本昌美¹、増井恒夫¹、川合是彰²、
立松正衛¹ (¹愛知がんセ・研・1病、²田辺製薬・安全研)

ラット腺胃幽門部切除後の胃腸吻合部における十二指腸液逆流による腫瘍性病変はヒトの残胃癌のモデルとして知られている。我々はこのラット残胃癌について検討し、その多くは腺腫様過形成(AH)で、稀に認められる腺癌(AC)は粘液癌が主体であることを報告してきた。今回はこの腺癌を細胞分化と組織発生の面から検討した。

材料および方法 7週齢で胃の幽門部分を切除し、盲端とした十二指腸と吻合し十二指腸液が胃内に流入するように処置したWistar系雄ラット101匹を用いた。動物は術後64週後まで飼育し、その間は経時的に屠殺して胃の変化を組織学的に調べた。標本には腸型アルカリホスファターゼ(I-AP)による免疫染色ならびにGOS、S-GOSあるいはパラドキシカルConA染色を施した。さらに、N-methyl-N-nitroso-N'-nitrosoguanidine(MNNG)により誘発される小腸の腺癌とも比較検討した。

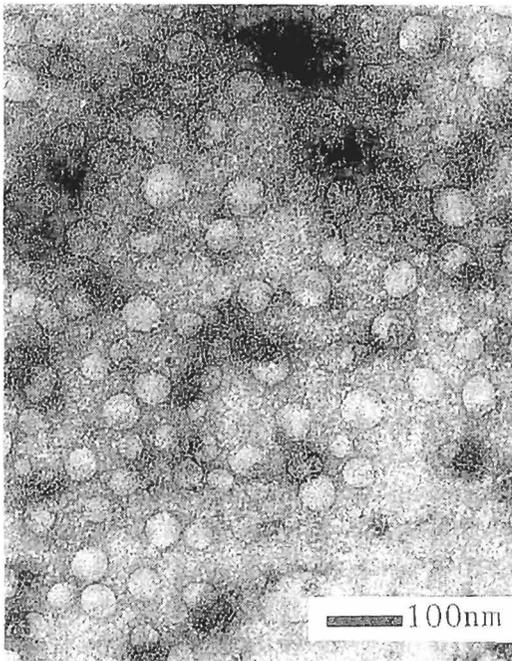
結果 胃小腸吻合部に発生した増殖性病変において、胃小腸吻合手術後の期間が伸びるにつれAHの発生率は高くなったが、ACの発生率には変化がなかった。発生したACは7例で、その内の1例は高分化型腺癌で、他の6例は粘液を多量に産生し、粘液癌の所見を呈した。AHを構成する細胞は胃型あるいは腸型の形質を示しており、それぞれが混じり合うことはなく吻合部胃粘膜に胃型の、また、腸粘膜に腸型の細胞が認められた。一方、発生したACの腫瘍細胞はすべて腸型の形質を示し、強いI-APの発現を伴うものが多く、極めてよく分化していた。MNNGで誘発した小腸腫瘍は多彩な形態を示したが、管状腺癌が多く、粘液産生が著明な例においても残胃でみられるような高度に小腸形質を発現するような腫瘍はなかった。

考察 十二指腸液逆流により胃腸管吻合部に発生するいわゆる腺癌の発生母組織は腸上皮であると考えられ、また、大多数は分化度の高い増殖病変であり、組織発生および悪性度の両面よりヒト残胃癌モデルとして再検討の必要性が示唆された。

○今木正文 赤井啓二 宮本誠 大阪大学附属病院 病理部

前回我々は、担癌WF-Osakaラットの血清中あるいは癌培養細胞上清中にもtransmissible agentが存在し、その本体は約40~50nmの卵円形virus様粒子でありこれは他系のratにも次々と感染し、癌発生の因子と考えられる事実を報告した。

今回、担癌ラット血清を腹腔内注射して免疫した生後8週のBalb/Cマウスの脾細胞とマウス myeloma cell (Sp2/0-Ag14, Dainippon Pharmaceutical Ltd.)とのハイブリドーマ細胞からモノクローナル抗体を作成した。このモノクローナル抗体を用いて、超円心法により精製されたtransmissible agentをWestern blottingするとsharpな2本のbandが形成された。癌組織培養液の上清をmicrowave processor (Bio RAD)で2分間固定しsucroseを用いた超円心法にて精製したtransmissible agentをモノクローナル抗体を用いた固相免疫電顕法により確認した。また同様の粒子を胃癌、リンパ種の腫瘍組織の細胞質内に電顕的に証明できたので報告する。



ラットDMH誘発大腸微小前癌病変に対する22-oxacalcitriolの
抑制作用の用量相関性と食餌制限の効果

○大年辰幸、松田 勉、高田信康、陳 天新、
福島昭治（大阪市大・医・1病理）

〔目的〕 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-vitaminD}_3$ より細胞増殖抑制、分化誘導作用の強いとされる $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-vitaminD}_3$ の新規誘導体、22-oxacalcitriol(OCT)が1,2-dimethylhydrazine(DMH)で誘発される大腸の微小前癌病変 aberrant crypt foci(ACF)の発生をいかに修飾するか、さらにその用量相関と食餌制限についても検討した。

〔方法〕実験1: F344ラット5週齢雄70匹を用い、投与群として、DMH単独群、OCT→DMH群、DMH+OCT群、DMH→OCT群を設けた。DMHは週1回20mg/kg皮下注を計4回行った。OCTは $30\mu\text{g}/\text{kg}$ 週6回腹腔内投与を行い、実験開始8,16週後に屠殺し、大腸におけるACFの発生個数を検索した。実験2: F344ラット5週齢雄58匹を用い、実験1と同じ群を設けて実験開始4,8,12週後に屠殺し、ornithine decarboxylase(ODC)活性およびvitamin D receptor(VDR)を測定した。またDMH→OCT群において実験開始12週後の大腸上皮の PGE_2 , MDA(malondialdehyde)を測定した。実験3: DMH単独群、OCT→DMH群、DMH+OCT群において投与するOCTを1,5,10,20, $30\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量とし、実験開始8週後に屠殺し、大腸におけるACFの発生個数を検索した。実験4: DMH単独群、DMH→70%食餌制限群、DMH→OCT群、DMH→OCT+70%食餌制限群を設け、実験開始12週後の大腸におけるACFの発生個数を検索した。

〔結果〕実験1: ACFの発生個数は対照群であるDMH単独群と比較し、OCT→DMH群、DMH+OCT群、DMH→OCT群のいずれの群においても有意な減少を認めた。実験2: 対照群と比較し、OCT→DMH群の8週でODC活性の有意な減少を認めた。大腸上皮のVDR量は有意差を認めなかった。また対照群と比較し、 PGE_2 , MDAは有意な減少を示さなかった。実験3: またOCT→DMH群、DMH+OCT群ではOCTの投与量にほぼ相関してACFの発生個数は減少し、特に $30\mu\text{g}/\text{kg}$ 群では有意であった。実験4: 対照群と比較し、DMH→70%食餌制限群、DMH→OCT群、DMH→OCT+70%食餌制限群においてACFの発生個数の有意な減少を認めた。しかし食餌制限によるOCTの抑制増強作用は見られなかった。

〔結論〕OCTはDMHとの同時ないし異時投与によりACFの発生個数を抑制したことより、DMH誘発大腸発癌に対して抑制作用を示すことが明らかとなった。しかし、食餌制限による増強作用は見られなかった。

○仲辻俊二，井戸側博一，平川公昭，武部秀太郎，山手丈至¹，佐久間貞重¹
(鐘紡，¹大阪府大)

慢性腎症は多くの系統のラットで自然発生し，加齢とともに進行することが知られている．慢性腎症に随伴する腎間質線維化の進行は腎機能の著しい低下と相関しているが，その発生機序は未だ充分には解明されていない．近年，各種腎障害モデルにおいて腎間質線維化にマクロファージや細胞外マトリックスの変化が重要な役割を演じていることが報告されている．今回，長期飼育ラットにみられた慢性腎症の腎間質線維化について，マクロファージの出現状況ならびに細胞外マトリックスの蓄積に注目して免疫組織化学的に観察した．

【材料と方法】 動物はバリアシステム環境下で2年間飼育した無処置のF344雄ラット70匹を用いた．腎臓は10%中性ホルマリンまたはB5で固定後パラフィン包埋切片を作製し，HE，アザン染色に加え，マクロファージ特異抗体(ED-1)に対する免疫染色を行った．慢性腎症は糸球体，尿細管および間質の変化ならびにこれらの病変の拡がりから4つのグレードに分類し，各グレードについてED-1陽性細胞数および線維化率を観察した．線維化率はアザン染色標本について画像解析装置(MICD, Imaging Research社)を用いて測定した．また，凍結切片を作製し，コラーゲンI，III，IV型，ラミニン，フィブロネクチンおよびテネシンの局在を間接蛍光抗体法により観察した．

【結果】 主に糸球体基底膜の肥厚と近位尿細管の萎縮・変性が散見されたグレード1および2では間質の線維化率に差はみられなかった．これら変化に加えて尿細管拡張と硝子円柱形成，糸球体硬化，間質の単核細胞浸潤が顕著となったグレード3ならびに50%以上のネフロンが障害されたグレード4では線維化率は明らかに増加した．ED-1陽性細胞は慢性腎症の進展にともなって間質の線維化領域で増加する傾向が観察された．各種細胞外マトリックスは萎縮・変性した尿細管基底膜およびその周辺の間質で増加した．とくにコラーゲンI型およびフィブロネクチンは線維化領域で異常な沈着が観察された．コラーゲンIV型およびラミニンは尿細管基底膜以外に間質でも少量みられた．テネシンは拡張した尿細管周囲にのみ発現していた．

【まとめ】 慢性腎症の進展にともなってマクロファージ出現数の増加および細胞外マトリックスの蓄積が観察され，これら両者が腎間質線維化に密接に関係していることが示唆された．

○山手丈至、石田明弘、辻野久美子、辰巳正史、仲辻俊二¹、桑村 充、小谷猛夫、佐久間貞重（大阪府大、¹鐘紡）

腎間質線維化の発生機序は複雑で、未だ明らかにされていない。近年、組織傷害時に反応するマクロファージによって産生される種々の細胞増殖因子が線維芽細胞の筋線維芽細胞への変異と細胞外基質の産生を促し、その結果線維化が導かれると考えられている。我々は、腎毒性を示すcis-diamminedichloroplatinum（シスプラチン；CDDP）の高用量をラットに単回投与することにより誘発した急性腎障害後の間質線維化にマクロファージと筋線維芽細胞が係わることをすでに明らかにした（J. Comp. Pathol. in press）。今回、低用量のCDDPをラットに反復投与し、慢性の腎障害後の間質線維化の形成過程におけるマクロファージと筋線維芽細胞の動態を免疫組織化学的に観察した。

〔材料・方法〕6-7週齢のF344/DuCrj雄ラットを用いた。2mg/kg 体重のCDDPを週1回腹腔内投与し、初回投与後4、7及び10週に各3匹を検査し、同様の方法で生食を投与した各3匹のラットを対照群とした。また、7週間反復投与終了後2、4、6及び8週に各3匹を殺し検査した。剖検時採血しBUN、CRNNを測定した。摘出された腎は10%中性緩衝ホルマリンで固定し、HE染色の他に、画像解析による線維化率を求めるためにトリクローム染色を施した。マクロファージはED-1で、筋線維芽細胞は筋アクチンにより免疫組織化学的に識別し、陽性細胞を数えた。その他、BrdU（殺1時間前に100mg/kg体重投与）、ビメンチン、 α -2u グロブリンに対する免疫染色を実施した。また、通常の方法により腎の電顕観察を行った。

〔結果・考察〕BUNとCRNNはCDDP反復投与7及び10週、7回投与終了後2-8週の間有意に増加した。CDDPの投与により4週では皮髄境界部の近位尿細管上皮に核変性が観察され、7及び10週では近位尿細管上皮が変性・壊死し、管腔が著しく拡張した。変性した尿細管は α -2u グロブリンに対する免疫反応が低下した。投与終了後2週では尿細管上皮に再生像が観察され、BrdU陽性細胞数が最も増加した（下表）。その再生上皮はビメンチン陽性であった。その後、経過とともに管腔の拡張は減じ、傷害された尿細管周囲に線維化が生じた。下表に示すように、線維化率は7及び10週間の反復投与により増加したが、投与終了後ではより著明に増加した。その線維化領域にはアクチン陽性の筋線維芽細胞の増殖があり、電顕により細胞質マイオフィラメントを有する細胞が観察された。アクチン陽性細胞はビメンチンにも反応した。ED-1陽性細胞は、反復投与期間中ほとんど増加しなかったが、投与終了後では有意に増加した。以上より、CDDPの反復投与による腎障害後の線維化は、反復投与終了後に進行性に増強し、その形成にマクロファージ及び筋線維芽細胞が関与することが示された。

群：	CDDP反復投与期間（週）						7週間反復投与終了後（週）			
	4		7		10		2	4	6	8
	対照	投与	対照	投与	対照	投与				
線維化率(%) ¹⁾	3.3	3.4	3.6	5.8	3.1	9.8	14.4	17.7	18.6	16.6
Actin 陽性細胞数 ²⁾	7.4	7.6	8.1	11.4	8.4	13.1	13.6	24.8	22.4	15.4
ED-1陽性細胞数 ²⁾	0	0	0.7	1.4	0.1	0.8	3.1	14.1	14.7	13.0
BrdU陽性細胞数 ³⁾	5.3	32.0	5.6	63.3	6.7	25.0	94.6	49.7	32.0	24.3

¹⁾ 0.5 mm²中のトリクローム染色青色領域の割合。

²⁾ 0.0625 mm²中の平均陽性細胞数。

³⁾ 上皮細胞1000個中の平均陽性上皮細胞数。

○伊藤敦子、渡部美千子（東邦大・医・法医） 伊藤金次（同・2病）

<はじめに>

エポキシ樹脂の最も主要な原料の一つであるEpichlorohydrin (ECH) は多面的に毒性を考
えなければならぬ注意すべき物質である。とりわけ腎での強い毒性が考えられているが、使
用頻度の高い物質であるにも関わらず腎障害に関する報告は比較的少ない。今回、ECH吸入
暴露後の中毒腎の形態学的変化を観察するとともに、薬物中毒による臓器障害の発症において
毒性発現の重要なメカニズムとされるグルタチオン代謝について検索したので報告する。

<材料と方法>

生後10週齢のWistar系雄ラットに、インピンジャー内で気化させたECHを空気とともに
暴露チャンバー内に送込み、強制吸入させた。ECH濃度は150ppmとし、1日1時間、
連続2回吸入暴露した。暴露終了直後に屠殺し、肝および腎組織中reduced glutathion (GSH
) 濃度、glutathione peroxidase (GSH-Px) 活性、glutathione S-transferase (GST)
活性を測定した。組織学的観察は光顕(HE染色、PAS染色、Nick End Labeling Method) ならび
に電顕下で行なった。

<結果及び考察>

腎、肝ともに組織中GSH濃度は著しく減少し、GSH-Px活性の有意の低下および腎で
はGST活性の有意の低下が認められた。高濃度のECH投与により細胞内の酸化還元系が酸
化状態へシフトしてしまい、腎内glutathione cycleが有効に作用しなくなり、新たなGSH合
成は低下し活性酸素処理に十分対応出来なくなると思われる。毒性が肝より腎で強く発現した
のは両臓器間のGSH濃度の差に由来する可能性も考えられる。光顕的に近位尿細管では上皮
の浮腫や、大小様々の大きさの空胞が見られ、一部の上皮は管腔内に脱落している。糸球体に
著変は見られなかった。遠位尿細管では、ヘマトキシリンに濃染を示した核、細胞質の浮腫、
好酸性を示した上皮細胞など、多彩な変性所見が観察された。また、多層性配列を示した尿細
管上皮の再生所見も散見された。ヘマトキシリンにより濃染を示した核は、断片化が観察され、
これらの断片化を示した細胞はNick End Labeling Method、ならびに電顕的観察によりApopt-
osisであることが確認された。

○城塚康毅、永藪徳久、伊藤隆康、安藤孝夫、佐々木啓（武田薬品・薬安研）

[目的] 毒性試験において経口用分散剤として広く使用されている methyl cellulose(MC)を非経口的に投与した場合には、腎障害等を引き起こすことが知られている¹⁾。今回、我々はMCをラットに腹腔内投与した時の腎病変発現の機作を探る目的で、腎臓の変化について経時的に観察した。

[材料および方法] 0.5%MC溶液の5ml/kg/日をF344/Jclラット(5週齢)に腹腔内投与し、初回投与の1、3、6および24時間後、また、3日間連投の24時間後に腎臓を採取した。腎臓は10%中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン包埋し、H.E.およびPTAH染色標本を作製して、光学顕微鏡で観察した。また、1%グルタルアルデヒド、2%パラホルムアルデヒドで固定した材料について、常法に従ってエボン包埋し、透過型電子顕微鏡で観察した。

[結果] 投与1時間後では光顕的および電顕的に異常はみられなかった。3時間後では、光顕的には糸球体毛細血管の拡張、糸球体基底膜の肥厚、メサンギウム領域の拡大、ボウマン腔への好酸性物質の貯留、尿細管の拡張および硝子円柱がみられた。電顕的には、糸球体毛細血管の拡張、血小板の毛細血管内皮への吸着およびfibrin析出がみられ、また、拡張した毛細血管内には好中球およびマクロファージもみられた。24時間後の電顕では、さらに血栓形成およびメサンギウム細胞の空胞化がみられた。3日間連投後では、糸球体毛細血管はさらに拡張し、尿細管上皮の硝子滴沈着および壊死、尿細管腔内および間質における出血がみられた。

[考察] MCをラットに腹腔内投与することにより、糸球体毛細血管の血栓形成を主とした腎病変が発現した。血栓形成あるいは尿細管の変化に先立ち、糸球体毛細血管への血小板の吸着、好中球・マクロファージの遊走がみられることから、MCにより糸球体毛細血管内皮細胞あるいは基底膜に何らかの障害を生じ、その結果として血栓形成 → 循環障害 → 尿細管の虚血性変化を引き起こしたと考えられる。なお、内皮細胞あるいは基底膜に対するMCの影響についてはさらに検討中である。

1) 山本博昭、今井俊介、筒井一男、谷口雄三：ラットに対するMethyl Celluloseの経口、腹腔および静脈内投与による標的臓器の病理組織学的変化。実験動物技術，17，79-84，1982。

脳機能改善薬 nefiracetam によるイヌ膀胱 および腎病変の検討

○榎田陽子, 吉田貢由, 下田耕司, 宮本恵美, 加藤道幸,
野村護 (第一製薬(株) 安全性研究センター)

【はじめに】 脳機能改善薬 nefiracetam (N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(2-oxo-1-pyrrolidinyl) acetamide, DM-9384) は新規のピロリドン (cyclic GABA) 誘導体であり、これまでの安全性研究では、長期の経口投与によりイヌの腎で乳頭壊死および上皮過形成が観察されたが、ラットでは反復投与毒性試験および癌原性試験において腎乳頭壊死は観察されなかった。一般的に、薬剤による腎乳頭壊死はラットで多く報告されているが、イヌでの報告は少ない。そこで、nefiracetam の反復投与により惹起される腎病変の形成過程をイヌを用いて経日的に検討したので、その成績を報告する。

【材料と方法】 実験には雌雄のビーグル犬各9匹を用いた。そのうち各6匹にゼラチンカプセルに充填した nefiracetam 300 mg/kg を4週間または11週間強制経口投与した。対照群には、ゼラチンカプセルのみを11週間投与した。投与1日目および2, 4, 8および11週目に尿検査を実施した。投与4週後に投薬群の半数を、11週後に残りの動物を屠殺し、腎および膀胱を組織学的に検索した。

【結果および考察】 投与3週目から投薬動物で血尿が認められた。投与10から11週目にかけて3例が死亡した。尿検査では、潜血および蛋白の増加が投与4週目以降に認められた。病理学的検査では、投与4週後に屠殺した動物で、膀胱において上皮の変性、壊死、剥離または過形成および固有層の水腫、出血が認められ、腎には変化は認められなかった。一方、11週投与例では、腎乳頭上皮および乳頭部から髓質の集合管および尿細管上皮の変性、壊死、過形成および間質のうっ血、出血が認められた。死亡例では乳頭部から髓質内帯にかけて広範囲に、強い出血および壊死が観察された。しかし、この時点で膀胱の変化はほぼ回復していた。以上の結果から、膀胱の変化が腎病変に先行し、腎では初期に集合管および尿細管上皮の変性および間質の出血が現われ、乳頭壊死に移行することが示された。

クロロホルム吸入暴露によるマウスの腎臓腫瘍
 -腎臓近位尿細管壊死(13週間試験)と腎腫瘍発生(104週間試験)-

○相磯成敏、竹内哲也、野田圭介、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）

Crj:BDF₁ マウスにクロロホルムの全身暴露により13週間試験で腎臓の近位尿細管に強い障害、癌原性試験では、雄のみに腎細胞癌の発生を観察した。

〈13週間試験〉 1群、雌雄各 10匹の動物にクロロホルムを 1日 6時間、週 5日、13週間にわたり、12ppm、25ppm、50ppm、100ppm、200ppmを暴露した。その結果、雌の各群は全例が生じたが、雄では、12ppm群 8匹、25ppm群 1匹、50ppm群 0匹、100ppm群 2匹、200ppm群 0匹が生じ、著しい性差が見られた。雄の近位尿細管上皮細胞には広汎な凝固壊死が生じており、腎障害が死因と考えられた。

〈104週間試験〉 1群、雌雄 50匹に対しクロロホルムの暴露濃度を 5ppm、30ppm、90ppm とした。30ppmと 90ppm の両群は試験開始から 5ppm、10ppm、30ppm、90ppmと各濃度で 2週間づつ暴露を行い 30ppm、90ppmまで段階的に濃度を上げた。暴露は 1日 6時間で、週 5日、104週間実施したが、雌雄共に対照群に比して有意な生存率の低下を示した群はなかった。投与群の雄の腎臓に発生した尿細管の異型的過形成は、上皮細胞の増殖と不整拡張を特徴とし、核の好塩基性の増加や極性の乱れを伴っていた。腎腫瘍は血管を伴う薄壁性の間質で囲まれた大小の区画の中に腫瘍細胞が充実性に増殖するタイプと、尿細管の異型的過形成に似た嚢胞状、乳頭状の増殖を示すタイプに分かれ、いずれも周囲組織を圧排増殖していた。また両タイプが混在する例もあった。腎腫瘍を腺腫と腺癌に鑑別するには、特に大きさを参考とし、直径約 2mm大以上を腎細胞癌とした。なお癌腫では嚢胞状、乳頭状の増殖や充実性蜂巣の中心部に石灰沈着を伴う壊死を示すものが多かった。

《Crj:BDF₁雄マウスに認めた尿細管の異型的過形成と腎腺腫、腎細胞癌の発生数》

実験群	Control	5ppm	30ppm	90ppm
検査動物数	50	50	50	48
尿細管の異型的過形成	0	0	11	13
腎腺腫	0	0	3	1
腎細胞癌	0	1	4	11

○高田信康、鰐淵英機、松田 勉、高場克巳、福島昭治
(大阪市大・医・1 病理)

【はじめに】膀胱癌の発生・進展過程には様々なメカニズムが関与していることが考えられる。したがってそれらのメカニズムを解明することは、腫瘍の発生顕在化および進展の面から非常に重要なことである。今回我々は、変異原物質と非変異原物質の2種類の化学物質により誘発したラット膀胱癌について細胞増殖および細胞内情報伝達系の観点から生化学的・免疫組織化学的に検索を行った。

【材料および方法】動物は6週齢F344ラット雄50匹を用い、以下の3群に分けた。第1群(20匹)は実験開始時よりuracil 3%含有飼料を66週間与え、4週間の休薬期間をおいた。第2群(20匹)は実験開始時よりN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine (BBN) 0.05%を12週間飲料水投与し、38週間の休薬期間をおいた。第3群(10匹)は対照群として基礎飼料のみを与えた。屠殺後直ちに膀胱を摘出し、膀胱癌におけるポリアミン代謝の律速酵素であるornithine decarboxylase(ODC)およびspermidine/spermine N¹-acetyltransferase (SAT)活性測定の為に腫瘍組織を直ちに液体窒素で凍結し、またprotein kinase C (PKC)アイソザイム(α 、 β 、 γ)およびPCNAの免疫組織化学的検索のために膀胱組織をカルノア固定した。

【結果】膀胱癌の発生率は第1、2群ともに100%であったが、腫瘍径は明らかに第1群は第2群より小さく、殆どが5mm以下であった。また転移は両群ともに認められなかった。ODC(pmol/hr/mg protein)とSAT(pmol/10min/mg protein)活性は第1群では 182 ± 149 、 118 ± 93 、第2群では 251 ± 167 、 54 ± 18 であり、第3群(51 ± 36 、 34 ± 12)に比較してそれぞれ上昇を認めた。しかし、第1、2群の間に有意な差は認められなかった。またPCNA染色でも第1、2群の癌部でheterogenousな陽性細胞の増加を認めた。一方、PKCアイソザイムは α 、 γ は癌部ならびに正常上皮で発現を認めず、 β も正常膀胱およびBBN膀胱癌で発現を認めなかったが、uracil膀胱癌では実質に弱い発現を認めた。

【結論】BBNとuracil膀胱癌はともにポリアミン代謝律速酵素の上昇を認め、さらにPCNA陽性率の増加したことよりポリアミン代謝を介した高い細胞増殖能を有していることが明らかとなった。またPKC β が膀胱癌の増殖に関与していることが示唆された。特にuracil膀胱癌で染色性を示したことは、結石などの細胞外刺激と発癌との関連を解明する上で極めて重要な所見と考えられた。

○八尾野真人、長谷川良平、木村重紀、小木曾正、白井智之
(名市大・医・1病理)

【はじめに】3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) は多臓器発癌性を有する芳香族アミンである。発癌標的臓器として、ラットでは小腸、大腸、肺、皮膚、外耳道腺、前立腺、膵臓などが、またハムスターでは膀胱、胆嚢、前胃、小腸、大腸などが報告されている。今回われわれは、発癌の第一段階として重要であると考えられるDMABとDNAとの付加体形成を免疫組織化学的に検索し、発癌標的性との関連性についてラットおよびハムスターで比較検討した。

【材料および方法】実験1：9週齢のF344雄性ラットを用い、コーンオイルに溶解したDMABを10、50または200mg/kgの投与量で単回皮下投与した。投与24時間後に全動物を屠殺し、採取した全身の主要臓器についてDMBA-DNA付加体に対するポリクローナル抗体を用い、免疫組織化学染色を実施した。実験2：6週齢の雄性シリアンゴールデンハムスターを用い、コーンオイルに溶解したDMABを100mg/kgの投与量で単回皮下(sc)、腹腔内(ip)または強制経口(ig)投与した。実験1と同様の方法によりDMAB-DNA付加体の免疫組織化学染色を実施した。

【結果】実験1：検索したほとんどの臓器・組織でDMABの投与量に関連したDMAB-DNA付加体の染色性が認められた。DMABの200mg/kgを投与した群では、ラットにおける発癌標的臓器である前立腺腹葉、結腸、小腸、膀胱、膵、包皮腺、外耳道腺などで中等～強度の染色性が認められた。また、発癌性のない、もしくは発癌性の極めて弱い前立腺背側葉、前葉、精嚢、肝、腎、肺、精巣などでも中等～強度の染色性が認められた。実験2：検索したほとんどの臓器・組織で染色性が認められたが、投与経路で染色性を比較するとigおよびipではほぼ同等、scではそれらと同等もしくはやや弱い染色性を示した。強い染色性がみられたのは、前胃、肝、膵、腎、前立腺背側葉、上皮小体などで、ハムスターにおける発癌標的臓器のうち胆嚢および膀胱は中等度の染色性が認められたのみであった。

【まとめ】各臓器の免疫組織化学的染色性はラットおよびハムスターで必ずしも一致せず、各臓器におけるDMAB-DNA付加体の形成には種差があるものと考えられた。また、両動物種においてDNA付加体の免疫組織化学的染色性とDMABの発癌臓器標的性との一致は認められず、DMABによる腫瘍発生にはDNAとの付加体形成は必要条件であるものの十分条件ではないことが明らかとなった。

- 務台 衛¹, 増井恒夫², 稲田健一², 小林 潔¹, 山本昌美²,
長谷川良平³, 立松正衛² (三菱化学・横浜総研・安全研¹,
愛知がんセ・研・1病理², 名市大・医・1病理³)

ラット膀胱における扁平上皮癌の発生・進展の過程を, N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) 誘発膀胱発癌モデルを用い, 細胞増殖の点から検討した.

【方法】 6週齢のF 3 4 4雄ラット220匹を用い, BBNを0.05%の濃度で飲料水に混ぜ12週間にわたり投与した. その後, 動物には水道水を与え, 60週まで飼育した. 実験開始後8, 12, 18, 30および60週に経時的に動物を屠殺し, 膀胱を採材した. 屠殺前には, Bromodeoxyuridine (BrdU)を用い, 瞬間標識あるいは浸透圧ポンプによる4および7日間連続標識を行った. 膀胱は通常の方法で固定・包埋・薄切し, HE染色およびBrdU免疫組織化学染色により, 病理組織学的に検討した.

【結果】 8週時にはほぼ全例の膀胱粘膜に乳頭状・結節状過形成が, 12週時には約40%に乳頭腫が見られた. 18週時には約90%に乳頭腫が, 40%に癌が見られ, それらの発生率は経時的に増加し, 60週時には全例に癌が認められた. 一方, 18週よりこれらの移行上皮性腫瘍組織の一部に扁平上皮化した細胞が出現し, その発生率および占有面積は経時的に大きくなった. 18, 30および60週の各時点において, これら扁平上皮細胞のBrdU標識率は, 瞬間および連続標識とも, 周囲の移行上皮性腫瘍細胞の標識率のおよそ2倍を示した. また, 周囲粘膜には扁平上皮化生は認められなかった.

【考察】 膀胱移行上皮粘膜における乳頭腫および癌組織中に出現した扁平上皮細胞は, 経時的な発育およびその細胞増殖動態より, 移行上皮性腫瘍細胞の扁平上皮化により発生することが示唆された. また, これらの扁平上皮細胞は, 周囲の移行上皮性腫瘍細胞に比べ, より強い増殖活性を伴う独自の細胞回転を示し急速に増殖し, 腫瘍組織中の移行上皮性腫瘍細胞の構成比率を低下させると考えられた.

以上より, 膀胱の扁平上皮癌は, 上述の扁平上皮性腫瘍細胞が, 時間の経過とともに, 移行上皮性腫瘍細胞と置き換わることにより形成されることが考えられる.

○朝元誠人¹、佐野真士²、岩堀嘉郎¹、馬場弘靖¹、津田洋幸¹、白井智之²
(¹国立がんセ・研・化療、²名市大・医・1病理)

ヒトの種々の臓器のがんにおいては多くのがん遺伝子の活性化またはがん抑制遺伝子の不活性化が知られている。がん抑制遺伝子の検索にはp53の様に特定の遺伝子が同定されている場合にはその遺伝子の点突然変異の有無や欠失の研究が可能であるが、遺伝子が同定されていない場合には、遺伝子座特異的マーカーなどを用いてLOH(loss of heterozygosity)や欠失などを検索することよりがん抑制遺伝子の存在部位が推定されてきた。ヒト膀胱がんでは、浸潤がんではp53の変異が高率に認められ、表在がん浸潤がんの両方で、9番染色体のLOHや欠失が高率に見られる。また、9番染色体には最近クローニングされ多くのがんで異常の見出だされているp16遺伝子が存在している。そこで今回我々は、ヒトの浸潤性膀胱がんのモデルであるBBN誘発マウス膀胱がんにおいてp53の遺伝子変異の検索を行うとともに、ヒトの9番染色体と相同性のあるマウスの4番染色体におけるLOHの検索を試みた。また、間質細胞の混入によるLOH検索に対する影響を検討するために一部のがんをヌードマウスに移植してヌードマウス由来である間質細胞とB6C3F1由来であるがん細胞を遺伝子レベルで区別することを試みた。

(方法) 6週令の雄B6C3F1マウス30匹に0.025%のBBN (*N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine)を飲料水に混じり32週間投与し膀胱がんを発生させ、一部はヌードマウス(ICR-nu/nu)の背部皮下に移植した。これらの腫瘍からDNAを抽出し遺伝子座特異的マイクロサテライトプライマーを用いて、その遺伝子座をPCRで増幅し、遺伝的多型として検出した。また、p53の点突然変異をPCR-SSCP法を用いて検索した。

(結果) 14匹に膀胱がんの発生を認め、組織学的には移行上皮がんの中で扁平上皮がんも認められた。また、4系統のヌードマウス移植腫瘍を確立した。4番染色体のLOHの検索では、1例のヌードマウス初代移植腫瘍において、D4MIT9, D4MIT205, D4MIT31でLOHを認めたが、原発腫瘍のいずれにもこれらの遺伝子変異は認められなかった。また、ヌードマウス移植腫瘍のLOHの検索においては、間質細胞の混入の影響は無視できる範囲であった。p53の突然変異は1例の原発腫瘍に認められたのみであった。

(考察) マウス膀胱がんでは4番染色体の変異およびp53の変異の頻度は低いと考えられる。LOHの検索における間質細胞などの正常細胞の混入は、ヌードマウス移植腫瘍における程度においては無視出来ることが明らかになり、原発腫瘍では、腫瘍部のみからDNAを抽出すれば間質細胞などの混入によるLOHの偽陰性化を防げられると思われる。移植腫瘍でその原発腫瘍に見られないLOHが見いだされたことは、移植過程でこれらの変化がおこったか、またはLOHを持つ細胞が選択された結果と考えられる。

○松井 元¹⁾，北嶋修司¹⁾，岡田希子¹⁾，豊田和弘²⁾，川西 徹²⁾，
高橋道人²⁾（¹化血研・病理，²国立衛試・病理）

【はじめに】精細管にみられる巨細胞の出現は精巣の毒性変化としてしばしば観察される。巨細胞は検出されやすい所見ではあるが，精巣毒性における巨細胞の出現の意義は不明である。そこで今回，セルトリ細胞を標的とする1,3-dinitrobenzene(DNB)，ライディッヒ細胞を標的とするethane-1,2-dimethanesulfonate(EDS)および精祖細胞を標的とするadriamycin(ADR)による精巣障害時の巨細胞の出現状態について比較検討した。

【方法】雄性Sprague-Dawley系ラットにDNB(25mg/kg)，EDS(100mg/kg)あるいはADR(8mg/kg)を単回投与した。DNB投与群は投与後12時間目，1，2，4，7および14日目に，EDS投与群ならびにADR投与群は，3，7，14および21日目に，屠殺し精巣を摘出した。精巣はブアン液を用いて固定し，パラフィン包埋切片を作製し，HEおよびPAS染色を施して病理組織学的に検索した。精巣の横断切片中の全ての精細管を観察し，巨細胞を有する精細管数を精子形成サイクルのステージ別にカウントした。また，観察された巨細胞について，その形態により，精子細胞に類似するもの（1型），核分裂状態にあるもの（2型）あるいはその他の形態を示すもの（3型）の3種類に分類した。

【成績および考察】DNB投与後12時間目にセルトリ細胞の空胞化がみられたが，巨細胞は観察されなかった。投与後1日目には生殖細胞の壊死がみられ，ステージXIVの精細管に2型の巨細胞が認められた。2日目には主にステージI～VIIに1型の巨細胞が出現し，4日目ではステージVIIにも1型のものがみられ，さらにステージVIII～XIには3型の巨細胞が出現した。7日目には生殖細胞の壊死は軽減したが，1型の巨細胞が主にステージIV～XIに認められた。14日目には障害はほぼ回復し，巨細胞も殆どみられなかった。EDS投与群では，投与後3日目にはライディッヒ細胞が消失し，7日目以降には生殖細胞の減少が経時的に進行した。セルトリ細胞の空胞化および生殖細胞の壊死はDNB投与群に比較して軽度で，巨細胞はいずれの時期にも観察されなかった。以上のように，毒性機序の異なる化学物質により巨細胞の形成に差が認められた。DNBでは，巨細胞の出現時期と出現ステージの関係より，ステージXIVの減数分裂時あるいはその他のステージでの生殖細胞における分離の障害により巨細胞化すると考えられ，また，ステージによって種々の形態の巨細胞が出現することが判明した。

○白木克尚, 藤本隆平, 宍戸隆男, 泉澤信行, 小野美穂子, 加藤里美,
岡宮英明 (山之内製薬・創薬安全研)

【目的】

精巣萎縮は, 往々にして精巣上体炎, 精子肉芽腫など精巣上体の障害を伴うことがあり, また精管切除術後に起こることも知られている. その病理発生の一つに精子通過障害が考えられる. 今回我々は精子通過障害モデルを作製し, 精巣および精巣上体に対する影響を病理組織学的に検討した.

【材料と方法】

実験には12週齢のF344雄ラットを用いた. 動物は, 精巣輸出管結紮群, 精巣上体体部結紮群, 精管結紮群の3群に分類した.

結紮術はエーテル麻酔下で, 左側のみ処置を施し, 右側は無処置とした. 術後の精巣および精巣上体の変化を経時的に検索するため, 術後1, 3, 7日にエーテル麻酔下で屠殺解剖し, 両側の精巣および精巣上体を摘出した. 精巣は重量測定し, ブアン液に固定した. 精巣上体は10%ホルマリンで固定した. 固定後, 組織標本を作製し, 精巣および精巣上体の変化を病理組織学的に検索した.

【結果】

精巣上体には, 精管結紮群では術後3日で一部の例に精巣上体尾部および頭部に精子肉芽腫が出現した. 精巣輸出管結紮群, 精巣上体体部結紮群では, 術後7日で結紮部周辺に精子肉芽腫が出現した.

精巣重量は, いずれの群においても初期に増加した後, 減少に転じた. 精巣の組織学的変化は経時的に1)精細管拡張, 2)精細管拡張+精子形成細胞の変性, 壊死, 3)精細管萎縮+精子形成細胞の変性, 壊死, 4)セルトリ細胞のみ残存へと移行した.

精巣の変化は, 精巣輸出管結紮群で最も早く術後1日より発現し, 精管結紮群で最も遅く術後7日より発現した. しかし精管結紮群の精子肉芽腫を形成した例では形成後速やかに精巣の変化が発現した.

【まとめ】

ラットにおいて精子通過障害により急速な精巣萎縮が起こることが示唆された. また精管結紮により精巣上体に高率に精子肉芽腫が形成された.

○横山光恵・勝田 修・岡崎欣正・涌生ゆみ・山岸保彦・
武知雅人・土谷 稔 (株三菱化学安全科学研究所)

<緒言>F344ラットでは自然発生的に精巣の間細胞腫が発現するが、時にこの腫瘍内に腺管様の上皮構造が認められる。その由来として精巣網あるいはセルトリ細胞が疑われている。今回演者らはその発現頻度と上皮性細胞の由来を明らかにする目的で、癌原性試験に用いられたラットの精巣を病理組織学的に検索した。

<材料および方法> 104週間の癌原性試験に用いられた、F344(F344/DuCrj)ラット1344例の精巣2688検体と、SD系(Crj:CD)ラット237例の精巣473検体のH-E染色標本を検索した。腺管様構造の認められたものについて、PAS染色と抗サイトケラチン抗体および抗ビメンチン抗体を用いた免疫染色(LSAB法)を行った。また、代表例については10%中性緩衝ホルマリン固定材料から電顕による観察を行った。

<結果>F344ラットでは2557検体(95.1%)に間細胞腫が認められ、そのうちの248検体(9.7%)に腺管様構造が形成されており、間細胞腫のない精巣ではこのような上皮成分は確認できなかった。SD系ラットでは4検体(0.8%)に間細胞腫が認められたが、腺管様構造は観察されなかった。大多数の検体では、腺管様構造は腫瘍の増殖巣内で管状あるいは嚢胞状を呈しており、拡張した腔内に乳頭状に増殖する部分も認められた。これらを形成している細胞は扁平から立方状あるいは円柱状で、大半は一層、まれに数層に増殖していた。細胞質の遊離面にはPAS染色で陽性を示す微絨毛が認められ、円柱状細胞の中には腸上皮化生を起こし、粘液を分泌しているものも認められた。免疫染色では一部の細胞が抗サイトケラチン抗体に陽性を示したが、抗ビメンチン抗体には陰性であった。

電顕観察で、腺管様構造には基底膜が認められ、構成細胞は楕円から長楕円形の核を有し、核膜の切れ込みが顕著であった。細胞質では細線維が多数認められ、隣接する細胞間には接合装置が発達し、遊離面には微絨毛が認められた。

このほか少数例では、間細胞腫の増殖巣内ではなく精巣の被膜下に腺管様の上皮成分が増殖しており、豊富な結合組織に取り囲まれていた。これらは精巣網上皮との連続性を思わせる像を呈していた。PAS染色、免疫染色の結果は腫瘍の増殖巣内に形成されたものと同様であったが、電顕的には核膜の切れ込み像は少なく、隣接する細胞間には微絨毛様の突起が認められた。

<考察>今回の検索で、腺管様の上皮は間細胞腫を発現した精巣にのみ認められたことから、間細胞腫に伴って現れる変化であると思われた。腫瘍の増殖巣内に形成された腺管様の上皮細胞は、超微形態学的にセルトリ細胞の特徴を有しており、セルトリ細胞に由来するものと思われた。また、被膜下から増生した腺管様構造は精巣網上皮に由来するものと思われた。

○藤本隆平, 白木克尚, 中野健二, 三浦久樹, 高橋浩一郎, 花田貴宣
(山之内製薬・創薬安全研, 臨床薬理研)

【はじめに】

Bisphosphonateはピロリン酸の構造類縁体として開発された薬剤であり, 骨吸収抑制作用を有する. 我々はこれまでにdisodium cycloheptylamino methylene bisphosphonate(cimadronate)を成長期ラットに投与した時の骨形状の変化, 形成骨の成分解析結果, 薬物の骨組織内局在, などを報告してきた.

今回の実験では, cimadronateを投与されたラットの骨組織において, 骨吸収作用の主要を担う破骨細胞がどのような変化を来すのか組織学的に検討した.

【材料および方法】

10週齢のF344 雄性ラットに0.3 mg/5 ml/kgのcimadronateもしくは同液量の生理食塩水を単回静脈内投与した. 投与後6, 12, 24, 48, 72時間の各ポイントにおいて薬物群, 対照群ともに5匹ずつエーテル麻酔下で屠殺し, 血液, 骨組織を採取して血清中イオン化カルシウム濃度測定および長管骨における病理組織学的検査を実施した.

【結果】

血清中イオン化カルシウムはcimadronate投与後48時間に軽度ながら減少したものの, その他のポイントにおいては対照群との間に差を認めなかった.

対照群における破骨細胞の形態学的特徴は, 骨端軟骨直下のprimary spongiosa形成部位~吸収部位, 関節下骨部, および円錐部外側の骨膜下では, 空胞に富み好酸性の細胞質で(酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ染色: TRAcP +), 概ね5個以上の核からなっていた. 一方, 骨幹端および骨端部のsecondary spongiosa, 骨幹部骨膜, 骨内膜の骨表面では細胞質がより扁平で, 核数もやや少ない傾向にあった.

Cimadronate投与例の破骨細胞は, 投与後12時間までは明らかな形態学的変化を認めなかった. 24時間後では, 骨幹端において胞体が大型化する傾向を示した. 48時間後では, 主として骨幹端secondary spongiosa領域において, 核膜の断片化, 核濃縮あるいは核崩壊し, TRAcP染色強陽性で骨梁表面と接着しない円形の胞体によって特徴づけられる退行性変化がみられた. また, 空胞に乏しく核数増加を伴う大型破骨細胞が, 主としてprimary spongiosa領域で増数していた. 72時間後では, 破骨細胞の退行性変化が骨幹端primary spongiosa領域および骨端部においても目立つようになったが, 大型破骨細胞増数はあくまで骨幹端primary spongiosa領域に局限していた.

【考察】

Cimadronateは, 正常ラットの骨組織内に於て破骨細胞選択的に障害を引き起こし, 骨モデリング/リモデリングに影響を及ぼすものと考えられた. また, 限局性の大型破骨細胞増数は, 必ずしもcimadronate投与により障害された破骨細胞機能すべてを代償するためのものではないことを示唆していた.

今後, さらに全身性カルシウム調節因子との関わりおよび形態学的検査について検討を加える予定である.

○足立民子、湯浅啓史、西村友成、乾俊秀、川合是彰（田辺製薬・安全研）

骨の増生には種々の因子が関与し、これらの因子の中には炎症と密接に関係するものがあることが報告されている。そこで今回、我々は局所の炎症をラットの後肢遠位端に誘発し、脛骨の骨病変について経時的に観察し、炎症との関連を検討した。

材料と方法

8週齢のCrj:CD (SD) 系雄ラット66匹を使用した。動物を1群21匹の3群に分け、100%エタノール、カラゲニン（1%生理食塩水懸濁液）、およびプロスタグランジンE₂（0.025%ゴマ油懸濁液、PGE）を右下腿末端部皮下に0.1ml/日の容量で3日間投与した。3回投与後1、2、3、5、7日に各群3匹ずつ、30、60、90日に各群2匹ずつ剖検した。剖検時に後肢を軟X線で撮影した後、中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従ってHE染色標本を作製、光学顕微鏡下で観察した。また対照としてゴマ油のみを投与した群を設け、投与後3、7、30日後に各1匹ずつ剖検し、同様に観察した。

結果

[肉眼及び軟X線所見]投与後7日までの間、対照を除く全群に投与部の腫脹がみられた。軟X線検査では、エタノール及びカラゲニン群で3日後以降に脛骨外側に陰影領域が出現し、時間を経るに従い、不整な骨破壊像と硬化性変化が顕著となった。PGE群でも同様であったが、その程度に個体差があった。

[組織所見]エタノール群では、投与後1日より皮下組織の広範な壊死と急性炎症がみられ、2日より骨膜増生、骨芽細胞の活性化が認められた。投与後7日においても強い炎症が持続し、骨膜下に骨が増生していた。カラゲニン群では、投与後1日にカラゲニンを貪食したと思われるマクロファージの目立つ肉芽が観察され、エタノール群と同様に骨膜増生、骨芽細胞の活性化が認められた。投与後7日においても強い炎症が持続し、骨膜下に骨が増生していた。一方、PGE群では上記2群と異なり炎症は比較的弱く、少数のリンパ球やマクロファージが浸潤するのみであった。しかし投与後7日には上記2群と同様の骨の増生がみられた。対照として用いたゴマ油投与群では、投与後3日にPGE群と同様の弱い炎症と骨膜の増生が見られるものの、骨の増生はなかった。

結論

強い炎症が持続することによって骨増生が誘発された。また炎症が軽い場合においてもPGEを投与することによって骨増生が確認された。これらのことから、骨近接部の炎症によって骨の増生が起これ、このような骨増生機転にはPGEが関与する可能性のあることが示唆された。

In situ ハイブリダイゼーション法を用いた骨折治癒過程
における骨基質蛋白質mRNAの局在について

○平川公昭^{1, 2} , 仲辻俊二² , 井戸側博一² , 武部秀太郎²
(¹ 大阪大学, ² 鐘紡)

【目的】骨折の治癒過程は、骨膜付近の未分化間葉系細胞が軟骨細胞あるいは骨芽細胞へ分化することに始まり、骨の再構築を経てもとの構造に復することで終結する。この現象は古くから組織形態学的に観察されてきたが、分子病理学的な研究はほとんどなされていない。今回我々は、脱灰硬組織標本を用いた in situ ハイブリダイゼーション法を確立し、骨折治癒過程にかかわる骨基質蛋白遺伝子の経時的な発現と形態学的な変化との相関を明らかにした。

【方法ならびに成績】6週齢のF344/DuCrj系雌ラットの大腿骨骨幹中央部をバトバルブカルトリウム麻酔下にダイヤモンドディスクで切断し、術後1、3、5、7、14、28日後に骨折部を含む大腿骨骨幹を経時的に摘出した。4%パラホルムアルデヒド 4℃にて一晚固定後20%EDTA溶液にて4日間脱灰し、パラフィン切片を作製した。検討した遺伝子は、代表的な非コラーゲン骨基質蛋白であるオステオネクチン(ON)、オステオポンチン(OPN)、オステオカルシン(OC)、Matrix Gla protein(MGP)で、プローブはin vitro transcriptionにより合成したディキシジニラベル RNA プローブを用いた。

骨折後1日目の骨折部付近の変化としては、紡錘状の未分化間葉系細胞の増生がみられるのみであるが、この未分化な細胞にはすでにON mRNAの発現がみられた。骨折後3日目には骨折部付近の外骨膜に未熟な骨が形成され、その部の骨芽細胞様細胞にON、OPN及びOCのmRNAの発現がみられた。骨折後5日以降骨折部近傍の外骨膜に形成された軟骨内の未熟な軟骨細胞にON及びMGPのmRNA発現が認められたが、OPN及びOCのmRNAの発現はみられなかった。また、内骨膜部には膜性骨化により新生骨が形成され、同部の骨芽細胞様細胞にもON、OPN及びOCのmRNA発現がみられた。骨折後14日以降では外骨膜の軟骨形成部に肥大軟骨細胞がみられ、OPN及びMGP mRNAの発現を認めた。骨折後14日から28日までには外骨膜部の軟骨内骨化と膜性骨化、内骨膜部の膜性骨化がほぼ完成し、新生骨の骨芽細胞様細胞にはON、OPN及びOCのmRNAが、骨細胞にはOPN mRNAが発現した。

【総括】EDTA脱灰を用いた硬組織におけるin situ ハイブリダイゼーション法を確立した。骨折の修復過程における骨基質蛋白遺伝子発現細胞は胎生期の骨発生過程と類似していた。しかし、胎生期とは異なりOC mRNAとOPN mRNAの発現がほぼ同時にみられたことから、遺伝子発現の調節機構は胎生期と時間的に異なることが示唆された。

○永井 博文、浜條 ひとみ、今井 良悦、佐々木 啓（武田薬品・薬安研）

摂餌制限がラットの骨に与える影響を調べるため、各群雌雄各7匹のF344/DuCrjラットについて、給餌量を自由摂取群（対照群）の75%（75%群）および50%（50%群）に制限した群を設け、6週齢から26週間飼育した。また、試験初期4週間のみ50%に給餌制限し、その後試験26週まで自由摂取とした回復群を設けた。各群とも飼料は市販の粉末飼料（CE-2, 日本クレア）とし、水は水道水を自由摂取させた。飼育期間中定期的に体重を測定し、試験26週時に通常の血液検査および病理組織学的検査を行った。右大腿骨については軟X線フィルム上で骨長を計測後、遠位部および骨幹中央部のmethyl methacrylate包埋、研磨標本のcontact microradiographを用いて骨形態計測学的検討を行った。

体重は、75%群では増加抑制（最終体重：対照群の雄80%、雌86%）が、50%群では初期に減少、その後わずかに増加したが、最終体重は対照群の約60%にとどまった。回復群の体重は初期の減少後、自由摂取に変更した後急速に増加し、最終体重では対照群との間にほとんど差はなかった。血漿中Ca, Pには摂餌制限の影響はみられなかった。左大腿骨の組織学的検索では質的異常は認められなかった。骨形態計測学的検索では75%、50%群の雌雄および回復群の雄で大腿骨長の低値がみられた。成長板幅に変化はなかった。遠位骨幹端海綿骨骨量は75%群の雌および50%群の雌雄で低値であった。骨幹中央部では、全組織面（断面積）は75%および50%群の雌雄で、皮質骨骨量は75%、50%群の雌雄および回復群の雌で低値であった。骨髓量は75%、50%群の雌雄および回復群の雌で高値を示した。

以上のように、摂餌制限は血漿中Ca, P濃度に影響を与えることなく、大腿骨の骨長、海綿骨および皮質骨骨量を摂餌制限の程度に依存して減少させた。試験初期のみの著しい摂餌制限による皮質骨骨量減少は、雌では試験26週においても完全には回復しなかった。摂餌制限による骨量減少は成長抑制に伴う骨外形の縮小の他、骨髓腔の拡大および海綿骨の減少によるものであった。摂餌制限に伴い雌では卵巣萎縮が、雄では副腎の肥大がみられており、性ホルモンの減少あるいは副腎皮質ホルモンの増加による骨内膜骨吸収の亢進が示唆された。

5-Azacytidineによる初代培養マウス胎仔 神経細胞のアポトーシス

○Mokbul Md. Hossain、中山裕之、上塚浩司、中村紳一郎、
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は妊娠マウスに投与すると胎仔の神経系に異常を引き起こす。前回我々はこれが5Azで誘発された神経上皮細胞のApoptosisによるものであることを報告した。今回はマウス胎仔の初代培養神経細胞における5Azの効果を調べた。

〔材料と方法〕妊娠11日目のICRマウス胎仔の全頭部を細片にし、トリプシンとコラゲナーゼで処理、細胞浮遊液を作った。これを1週間培養したところ、間葉細胞がシート状に広がり、その上に長い突起を有する三角形または紡錘形の神経細胞様細胞が散在する細胞系が得られた。これに5Az(0, 5, 50, 500 μ g/ml)を加え、翌日に細胞を固定、光顕、走査電顕および透過電顕で観察した。Apoptosisの確認はTUNEL法を利用した*in situ* Apoptosis検出キット(Apop TagTM, Oncor社)を用い、組織上で行った。

〔成績〕5Az非投与群(0 μ g/ml)では間葉細胞がシート状に広がりこの上にBodian法で染色される長い突起を有する神経細胞が散見された。走査電顕でも間葉細胞のシート状増殖と突起を有する神経細胞が確認された。5 μ g/ml投与群では間葉細胞は変化を示さなかったが、神経細胞体は濃縮し神経突起は消失していた。神経細胞の縮小は核クロマチンの濃縮、凝集として走査および透過電顕でも観察され、一部では小型円形の核片(Apoptosis小体)の集合が認められた。ApopTagTMを用いてApoptosisの確認を行ったところ、濃縮核または崩壊した核質の凝集体に一致してnucleosome単位のDNA分断シグナルが観察された。50および500 μ g/ml投与群では神経細胞は全く認められず、間葉細胞も広範な細胞崩壊を示したが、これは細胞質の崩壊を主とするNecrosisであった。

〔考察〕今回の実験から、5AzでApoptosisが誘導される細胞(神経細胞)と誘導されない細胞(間葉細胞)とがあり、前者では比較的少量でApoptosisが誘導され、後者では多量投与によってNecrosisが誘導されることがわかった。この結果は前回の*in vivo*での結果と一致し、発生期の神経細胞が5Azの標的細胞であることが確認された。

○高橋明美¹, 水谷誠², 板倉智敏³ (¹日本たばこ・安全研, ²日生研, ³北大・獣医・比較病理)

Tri-ortho-cresyl-phosphate (TOCP) は、農薬用駆虫薬として用いられていた有機リン剤の一種であり、ヒトおよび実験動物に、知覚・運動性神経障害を惹起する神経毒である。神経症状の発現には、暴露後ある程度の期間を必要とすることから、その毒性は遅発性神経毒性(delayed neurotoxicity)と呼ばれている。これによる病変は、径が大きく長い神経線維の遠位部から逆行性に進行する軸索変性 (distal axonopathy) と軸索終末変性 (terminal axonal degeneration) を特徴とする。今回我々は、正常系ニホンウズラとニューロフィラメント

(NF) 欠損系ニホンウズラ (以下 Quv系と略) にTOCPを連続投与して神経症状を発現させ、両系のウズラにみられた中枢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 13羽と Quv系ウズラ 13羽を用いた。これらのうち、正常ウズラ 10羽と Quv系ウズラ 10羽にTOCP (0.5 ml/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 3日おきに強制経口投与した。投与期間中は毎日体重測定および平面での歩行検査を行い、臨床症状の程度に応じ殺処分し、残りの動物は 15回投与後に剖検に処せられた。ペントバルビタール麻酔下で、左心室よりパラホルム・グルタルアルデヒド混合固定液を注入し灌流固定した後、脳、脊髄を取り出し、顕微鏡および電顕的に検索した。

<結果> TOCP 6～14回投与後に、後肢麻痺あるいは重度の歩行困難が、正常系ウズラ 7/10例および Quv系ウズラ 5/10例に認められた。残りのTOCP投与正常系ウズラ 3/10例および Quv系ウズラ 5/10例は、TOCP 15回投与後までにおいて、よろめき歩行を示した。顕微鏡検査では、TOCP投与正常ウズラ全例に、脊髄背索を上行する薄束、脊髄側索を上行する脊髄小脳路および脊髄腹索を下行する前庭脊髄路に、神経路の遠位部から近位側に進行する軸索変性 (distal axonopathy) が認められた。電顕的に、有髄神経の軸索内には、NFと管状小胞状の滑面小胞体が蓄積していた。しかしながら、TOCP投与 Quv系ウズラではこれら脊髄の神経路における distal axonopathy の発現は認められず、超微形態学的にも、軸索に異常は観察されなかった。

一方、軸索終末変性は TOCP投与正常ウズラおよび Quv系ウズラのいずれにおいても、脊髄、脳幹、小脳、中脳、間脳および終脳の灰白質や種々の神経核に認められた。電顕的に、変性した軸索は、管状小胞状構造物、膜様構造物および無定型構造物の密な充満あるいは軸索形質の消失を示した。

<まとめ> TOCPの連続投与は、正常ウズラに、脊髄白質の神経路における distal axonopathy を惹起したが、NF欠損により軸索の細い Quv系ウズラでは、脊髄白質にTOCP投与による変化は認められなかった。従って、神経細胞内におけるNFの存在あるいは軸索の太さが、distal axonopathyの発現に関与しているものと解された。一方、軸索終末変性は、TOCPを投与した両系のウズラにおいて、脊髄から終脳まで広範囲にわたり認められた。TOCPは、従来の研究で報告されている脊髄、脳幹および小脳のみならず、それより上位の中枢神経系にも作用し病変を引き起こすことが示された。また、TOCPを投与した Quv系ウズラでは、distal axonopathyを伴わずに軸索終末変性のみが誘発されたことは、TOCPの一次作用部位は軸索終末であり、その毒性発現に、NFとの相互作用は関与していないことが示唆された。

○森 文秋、高屋豪瑩（弘前大・脳研・神経病理）

実験的メチル水銀中毒症ラットが長期間生存していると、小脳および脊髄に石灰化を来す。このメチル水銀中毒症と類似する小脳顆粒細胞変性をおこすチオフェンをラットに継続投与すると、躯幹振動、痙攣などの症状とともに、ABR 異常、血管障害性小脳変性、神経細胞の興奮を示唆する Fos蛋白発現、小脳核・赤核・赤核脊髄路変性がみられることを報告してきた。今回は、躯幹振動ないし痙攣発作を呈したラット小脳の石灰化を検討した。

〔材料と方法〕 SHR 雌にチオフェン 0.15 ml を1日1回、4-12 回にわたり継続投与すると、急激な体重減少および躯幹振動ないし痙攣がみられた。その1-544日後、経心的に4%パラホルムアルデヒド、10%中性緩衝ホルマリンあるいは10%非緩衝ホルマリンで灌流固定し、HE、KB、PAS、Alizarin Red 染色、電顕的検索を行った。

〔結果〕

〔光顕的検索〕 石灰化は、小脳吻側の顆粒細胞層、白質、小脳核にみられ、虫部より半球の方でより高頻度、広範囲に観察された。また、顆粒細胞層のなかでは、より白質に近い部位に石灰化がよくみられた。HEで染まる石灰化は、投与終了後40日が、最短の期間で、Alizarin Red に染まるものは、投与終了後2日であった。投与終了後20日以上経過例では、小脳核の HE、Alizarin Red に染まる陽性所見はなかった。Alizarin Red では、4% パラホルムアルデヒドおよび10% 中性緩衝ホルマリンを用いて固定した例において、HE では検出できない微小石灰化部分が染色された。しかし、その部分も10%非緩衝ホルマリン灌流固定例では染まらなかった。但し、長期間生存していた例でみられた石灰化は、巨大化し、10% 非緩衝ホルマリン灌流固定例でも染色されていた。

〔電顕的検索〕 投与終了10日（投与開始後15日）で Alizarin Red に染まる例の顆粒細胞層では、小脳糸球の後シナプス終末（多分顆粒細胞の樹状突起）内および変性顆粒細胞の胞体内に球状のミトコンドリア様小体表面に針状結晶の集積がみられた。小脳核では、神経細胞の胞体に接合する前シナプス終末（プルキンエ細胞軸索終末）に針状結晶の集積がみられた。投与終了から長期間（投与開始後40日以上）経過した石灰小体は、変性顆粒細胞を中心に、不正形、同心円状の層盤構造をとり、周囲をグリア細線維に富むグリア細胞に取り囲まれていた。

〔結語〕

今回のチオフェン中毒ラットでみられた球状ミトコンドリア様小体表面に発生したと思われる針状結晶は、興奮毒素グルタメートのアゴニストのイボテン酸をラット黒質に直接注射するとその2日後に神経網、特に後シナプス終末に出現するリン酸カルシウム結晶と近似していた。痙攣発作を認めたラットの小脳における石灰化は、Fos蛋白発現で示唆される興奮毒性による神経細胞変性が成因になったものと思われる。

○岩崎 仁¹, 大町 康¹, 宮崎 登志子¹, 谷 茂², 糟谷 英俊², 清水 隆²
(¹田辺製薬・薬物代謝研, ²済生会栗橋病院)

【緒言】 ラットのフェニトイン誘発脳血栓症モデルについては、既に第51回日本脳神経外科学会(1992)および第9回日本毒性病理学会(1993)で紹介した。今回は、基礎的検討として、フェニトイン注入後の大脳表面積と脳水分含量の変化ならびに大脳梗塞部表面積と脳梗塞容積との相関性を調べた。

【材料と方法】 実験には6週齢のSD系雄ラットを用いた。

(1) 脳水分含量の検討: フェニトイン液(アレピアチン注射液の2倍希釈液)の50, 100, 150 μ l注入群および対照群の4群, 20, 19, 20および20匹を用い、エーテル麻酔下で内頸動脈にフェニトイン液を注入後1時間もしくは瀕死期に脳を摘出した。大脳後縁で小脳・延髄を切り離して大脳重量を測定, 脳表面の写真から大脳表面積を測定した。また脳の真空乾燥法により脳水分含量を測定した。

(2) 脳梗塞容積の検討: フェニトイン液150 μ l注入群(20匹)と対照群(19匹)とに分け, フェニトイン液注入後1時間もしくは瀕死期に経心的に墨汁を灌流した。脳摘出, ホルマリン固定, 脳表面の写真撮影後, 厚さ1mmの冠状断脳スライスを作製し, 各断面を写真撮影した。これら写真プリントを用いて画像解析により大脳表面積, 大脳梗塞部表面積ならびに各スライスでの墨汁非灌流領域(梗塞部)の面積を測定し, 概略の脳梗塞容積を算出した。

【結果】 (1) 脳水分含量(%)は対照, フェニトイン液50, 100, 150 μ l群の順に, 79.51 ± 0.03 , $80.54 \pm 0.19^{**}$, $81.19 \pm 0.18^{**}$, $80.94 \pm 0.22^{**}$ で, 大脳表面積は同様に 191.2 ± 1.5 , $200.8 \pm 2.3^*$, $212.3 \pm 2.7^{**}$, $211.3 \pm 2.7^{**}$ mm²であり, いずれも対照群に比べ有意に増加しており, 両パラメータは $r^2=0.789$ で良好な正の相関性を示した。

(2) フェニトイン150 μ l注入群の脳容積に占める脳梗塞部容積の割合は $49.0 \pm 4.3\%$, 大脳表面積に占める大脳梗塞部表面積の割合は $58.5 \pm 7.8\%$ であり, この両パラメータは $r^2=0.634$ で正の相関性を示した。

【結論】 本病態モデルにおいては, 脳表面写真を用いた面積測定法が, 脳障害の程度を知る上で簡便かつ有用な手段であることを確認した。

○今村いづる、松本博隆、橋本賢次、猪又 晃、山中浩詠、堀井郁夫

(日本ロシュ研)

一般毒性試験において、薬物の投与によって摂餌量の減少や体重減少が引き起こされることがしばしばあり、その際認められた組織学的変化が、投与薬物の直接作用か体重減少に伴う変化か判断がつきにくいことがある。特に病理評価において Peer Reviewを実施する際、Reviewer間でこれらの組織変化を正確に把握し統一しておく必要がある。そこで今回我々は、食餌制限によるラットにおける全身諸臓器の組織学的変化を経時的に検索した。

【材料および方法】 動物は5週齢のSD-slc系ラット雌雄を用いた。実験群は、雌雄各群5匹とし、飽食群、飽食群の50%および35%に食餌を制限した制限給餌群を設けた。制限給餌開始後、2、4および13週後に屠殺剖検を行ない、全身諸臓器は10%緩衝ホルマリンにて固定後、H-E染色標本および一部の組織は、PAS染色、脂肪染色および免疫組織化学的染色標本を作製し、病理組織学的に検索した。肝臓および腎臓は電顕的検索も行なった。

【結果】 臓器重量：絶対重量は測定した全ての臓器で減少していた。体重相対重量では、減少の見られた臓器；肝臓、胸腺、脾臓、精嚢腺、前立腺、子宮、変化のなかった臓器；下垂体(雌)、副腎(雌)、精巣、精巣上体、卵巣、増加の見られた臓器；脳、下垂体(雄)、副腎(雄)、甲状腺、心臓、肺、腎臓、唾液腺であった。胸腺、脾臓および精嚢腺の相対重量の減少は、4週後まで認められ、13週後では変化は認められなかった。精巣および精巣上体は、4週後まで変化は認められなかったが、13週後では相対重量は増加していた。

組織学的変化：骨髄；造血細胞の低形成が認められた。胸腺・脾臓；4週後まで萎縮が認められたが、13週後にはほとんど変化は見られなかった。精巣；4週後まで精子形成障害が認められたが、13週後には変化は見られなかった。卵巣；閉鎖卵胞の増加および黄体の縮小が認められた。子宮・膣；萎縮(発育不全)が13週後まで認められた。性周期に伴う組織学的変化は13週後まで見られなかった。肝臓；肝細胞内のグリコーゲン顆粒および脂質滴の減少が認められた。また、2週後では肝細胞の単細胞壊死(Apoptotic body?)が認められた。腎臓；雄において近位尿細管上皮内の好酸体の減少が認められた。

【まとめ】 食餌制限によって、造血障害、生殖器障害、肝細胞の単細胞壊死などが認められ、これらは薬物の直接作用で誘発されることのある変化と重複していた。またそれぞれの変化によって、経時的変化の動態が異なっていた。これらの変化を Back Dataとして正確に把握しておくことは、薬物の毒性をより明確に評価する上で必要であると思われた。

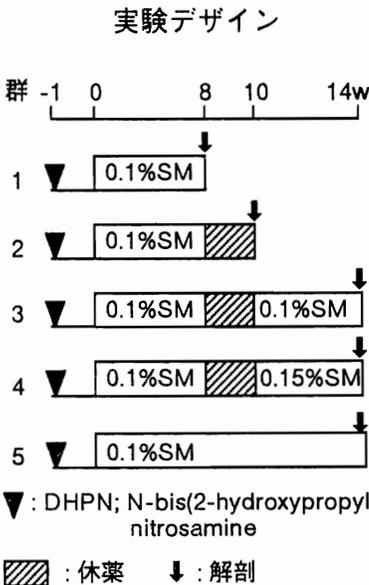
○渡辺敦光、後藤孝彦、安東保海、山田和正、岡本太郎、栗栖和信、藤本成明、伊藤明弘（広大原医研予防腫瘍）

N-methylnitrosourea(MNU)はdirect carcinogenと考えられている。F344ラットにMNUを飲料水で投与する事により胃腫瘍が生じる事が報告されてきた。そこで今回はこれら動物に低ヨード餌を与える事で腫瘍発生にどのような影響を与えるかを検討した。動物は4週齢のF344雄ラットを用いた。MNUの100ppmを蒸留水で溶解し、16週間遮光した吸水瓶を用いて飲料水として投与した。発癌物質投与終了後より屠殺時まで低ヨード餌(IDD)を、又、MNU投与期間以外は水道水を与えた。実験群はMNU投与後普通餌を20匹に与えた群、MNUとIDDを与えた群32匹、並びにIDDのみを与えた21匹からなり、すべての動物はMNU投与開始後251日目で屠殺した。体重はMNU投与群がIDD単独群より有意に減少し、肝臓、腎臓、睪丸、副腎も同様にMNU投与群はIDD群に比して有意に減少した。しかし睪丸の体重比はMNU群が有意に増加した。腫瘍はMNU開始後MNU+IDD群で120日目より認められ94%の動物に、MNU単独群では150日目より100%の動物に出現した。その内訳は胃癌はMNU+IDD群で31%、MNU単独群で30%であり、胸腺リンパ腫が47、35%に、神経腫瘍は50、65%に出現したがいずれの腫瘍も統計的に有意の差は認められなかった。しかし甲状腺腫瘍はMNU+IDD群で84%と、MNU単独群の20%や、IDD単独群の14%に比べて有意に増加し、Kaplan-Meier法で生存曲線差を検討するとMNU+IDD群でMNU単独群に比して有意に発生時期が速まった。その他には脳腫瘍や肉腫が各群に少数例認められた。又、1匹当たり2種類の異なった腫瘍を持つ個体はMNU+IDD群とMNU群間では差は認められなかったが、3種類以上を持つ個体数はMNU+IDD群の方がMNU単独群に比べて有意に増加した。以上実験結果よりMNUの飲料水投与を行う事で胃癌のみならず胸腺リンパ腫や神経腫瘍特に脊髄腫瘍が誘発された。MNU+IDD投与群で甲状腺に腫瘍が認められる事から、MNUの経口投与は全身性にinitiationが行われているが、そのままの状態では腫瘍は発生せず、適当なプロモータを作用させる事によりある腫瘍発生が増強されるものと思われた。

○下武男¹, 三森国敏², 小野寺博志², 高橋正一³, 上野芳夫⁴, 永田治¹, 高橋道人²
 (¹北陸製薬・研究部, ²国立衛試・病理, ³佐々木研・病理, ⁴東京理科大・薬・毒性学・微生物化学)

【目的】ラット甲状腺二段階発がんモデルにおいて, 甲状腺の増殖性病変の発生・進展は抗甲状腺物質の投与期間に依存するが, 濾胞上皮の増殖活性は投与初期に高値を示すものの, その後漸次低下することを既に報告した. このように甲状腺の増殖性病変の発育は抗甲状腺物質投与の中期以降緩慢になっていくものと考えられる. そこで今回, ラットに抗甲状腺物質であるSulfadimethoxine(SM)を8週間投与し, 2週間休薬した後に再度投与した時の増殖性病変の発生個数および細胞増殖活性が連続投与時と比べてどのように修飾されるかについて検討を行った.

【実験方法】動物はF344雄ラットを用い, 実験デザインに示す如くDHPN 2800mg/kgを一回皮下投与し, その1週間後より0.1%SMを8週間飲水投与する第1群, その後2週間休薬させる第2群, さらにその後0.1%および0.15%SMを4週間投与する第3, 4群および0.1%SMを14週間連続投与する第5群を設定し, 各投与(休薬)終了時に各群5匹を屠殺し, 甲状腺の重量測定を行うと共に, その増殖性病変の発生個数およびBrdU標識率を計測した.



【結果】休薬を設けない第1群と第5群の比較では, SMの投与期間が6週間長い第5群において甲状腺重量と甲状腺癌の発生個数が有意に増加したが, 過形成と腺腫のBrdU標識率は有意に減少した. 2週間の休薬を実施した第2群では, 甲状腺の増殖性病変の発生頻度・個数において第1群との間に有意差はみられなかったが, 甲状腺重量, 過形成と腺腫のBrdU標識率は第1群に比し著しく減少した. 第3, 4, 5群の甲状腺重量は, 第1群と比べて高値を示したが, 第3-5群の間では差は認められなかった. 甲状腺濾胞上皮の増殖性病変の発生個数において, 第3群の過形成は第5群と比べて有意に増加した. 腺腫および癌では第3-5群の間で差はみられなかった. BrdU標識率においては, 第3群の過形成は第5群に比し有意に増加した. 腺腫や癌については第3-5群間では有意差は認められなかったが, 腺腫のいくつかは第3群で明らかに高い標識率を示した.

【結論】 SMの間欠投与では連続投与に比べ, 甲状腺増殖性病変の発生個数は増加し, かつ細胞増殖活性も上昇することが示され, 休薬期間を置いて再度投与することにより甲状腺濾胞上皮の増殖性病変の発育がさらに増強されるものと考えられた.

○安原加壽雄、三森国敏、小野寺博志、下 武男、
高橋道人、林 裕造（国立衛試・病理）

【目的】 Pyrrolizidine alkaloidであるmonocrotaline(MCT)は遺伝子障害作用を有し、選択的に肺胞毛細血管内皮細胞を障害するが、肺胞上皮に対しては増殖活性を抑制することが報告されている。我々はマウスにMCTを投与することにより慢性的に進行するびまん性間質性肺炎ならびに肺線維症が実験的に誘発されることを報告した。今回はヒトで疫学的に報告されている肺線維症と肺癌との関連性を明らかにする目的で、このMCT実験モデルを用いて肺線維症が肺腫瘍の発生母地に成り得るか否かを検討した。さらに、この実験モデルに肺発癌性が知られているUrethane(UR)を投与し、その修飾作用を検討したので併せて報告する。

【方法】 実験 I では6週令の雄性ICRマウスを用い、1群(50匹)に150 mg/kgのMCTを皮下に週1回計4回、2群(20匹)には生理食塩水を同様に投与し、その後33週間無処置のまま飼育した。実験 II では1および2群のICRマウス(各30匹)に実験 I と同様のMCTを、また3および4群(各10匹)に生理食塩水を皮下投与した。MCT最終投与4週後、1および3群には1000 mg/kg、2および4群には500 mg/kgのURを腹腔内に単回投与し、その後15週間飼育した。各実験終了後、動物を屠殺し、肺について組織学的に観察した。

【結果】 実験 I の1群では、肺胞内への好中球やマクロファージの浸潤およびフィブリンの析出、肺胞壁の膠原線維の増生が認められた。実験 II の3群では全ての動物に肺胞上皮の腺腫および過形成が、4群では約80%の動物に腺腫あるいは過形成が認められた。1群では実験 I の1群と同様の炎症性病変が肺に認められ、一部の動物には肺胞上皮の過形成が観察された。2群では実験 I の1群と同様の変化が認められたのみで、増殖性病変は発現しなかった。

【結論】 今回の実験条件下では、MCTにより誘発された線維化巣には肺腫瘍は発現しないものと推察された。また、MCT肺線維症モデルにURを投与した群では増殖性病変の発現が抑制されたことから、MCTは肺胞上皮の増殖活性を抑制することがさらに明確となった。（本研究は喫煙財団の研究助成を受けた。）

○花見 正幸、鈴木 順、佐村 恵治、松本 浩良¹⁾、高橋 令治²⁾

1) 萬有製薬株式会社開発研究所、2) 麻布大学獣医学部病理学教室

イソプロテレノール (ISP) は、ラットに大量を投与すると比較的早期に心筋病変を誘発するが、その病理発生については、心筋収縮力の増大や全身血管の拡張による血圧低下などの ISP による薬理作用のみではその病理発生について説明できず、それらの作用に併せて心筋の虚血との関連性が示唆されている。そこで、心筋病変の発現用量から病変が発現しないと考えられる低い用量を投与し、血圧、心電図及び心形態に及ぼす早期影響とそれぞれの関連性について検討した。

【材料および方法】

実験は SD 系成熟雄ラット (約 12 週齢) を用い、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔後、背位保定下で行った。心電図は、標準肢第 II 誘導により記録し(1.5 sec)、血圧は大腿動脈内にカテーテルを挿入して測定した。ISP は 0.02、0.1 および 0.5 mg/kg の 3 用量とした。いずれの投与量についても、薬液は 0.1 ml/kg の液量になるように調製し、大腿静脈に投与した。投与後 30 分にわたる記録観察を行った。30 分間の観察終了後直ちに心臓を摘出、固定し標本を作製した。

【結果および考察】

ISP 0.1 mg/kg 以下の投与では死亡はなかったが、0.5 mg/kg では投与後 10 分以内に死亡した。血圧はいずれの投与量においても著明に低下し、投与後約 1 分で最低値 (収縮期圧: 約 60 mmHg、拡張期圧: 約 40 mmHg) を示した。0.02 mg/kg では、その後 10 分で投与前の値に回復した。0.1 mg/kg では回復がやや遅延し、投与後約 25 分で、投与前の値に回復した。0.5 mg/kg では回復せず死亡した。心拍数も同様に全ての投与量で著明に増加し、投与後約 1 分で最高値 (約 500 bpm) を示した。0.1 mg/kg 以下では、投与後 15 分で投与前の成績 (約 400 bpm) まで回復した。0.5 mg/kg においても同様の変化がみられたが、回復しなかった。0.1 mg/kg 以下では、投与後約 1 分で R 波振幅の増大と S 波振幅の減少がみられ、10 分以内に投与前の振幅に回復した。T 波振幅は R、S 波の変化よりやや遅れて増大し、投与後約 3 分で最大となり、約 7 分で投与前の成績に回復した。0.5 mg/kg でも同様の変化がみられたが回復しなかった。組織学的検査において、0.5 mg/kg では左心室および中隔壁を中心として全域の心筋に限局性多発性の変性性病変が認められた。0.1 及び 0.02 mg/kg では左心室内側の心筋および乳頭筋に散在性で限局性の心筋変性が認められ、用量依存的に変性域の拡大が認められた。なお血圧低下との関連性を精査するため、ISP の投与約 3 分後に左心室内側心筋を採取し、電子顕微鏡下での微細心筋変化を検索中である。

以上の結果から、麻酔下のラットにおいてイソプロテレノールは 0.02 mg/kg の用量で極めて強く、かつ持続的な血圧低下作用を示し、血圧低下と心拍数増加作用の回復時間を用量依存的に延長することが示された。心筋の組織形態学的検査においても、用量依存的な心筋変性病巣の拡大が認められ、血圧低下の持続時間と心筋病変発現との間の関連性が示唆された。

ラット多臓器発癌モデルを用いた亜硝酸ナトリウムとメチル尿素またはモルホリンとの複合投与による発癌修飾作用の検討

○北野 光昭, 高田 信康, 大年 辰幸, 村井 隆,
福島 昭治 (大阪市大・病・1病理)

【目的】それぞれ単独では発癌性を示さない亜硝酸塩とアミンまたはアミドを複合摂取することによって、胃内で発癌性をもつニトロソ化合物がつくられることは周知の事実である。本研究ではラット多臓器発癌モデルを用いて、亜硝酸ナトリウムとメチル尿素あるいはモルホリンの同時投与による発癌修飾作用を検討した。

【方法】6週齢F344ラットの雄110匹を8群（1～3群;20匹/群, 4～8群;10匹/群）に分け、0～4週目まで1～6群にのみ標的臓器の異なる6種類の発癌物質（DEN, ENUR, BBN, MNN, DMH, DHPN）でイニシエーションを行った。実験開始5週目より亜硝酸ナトリウムは0.15%で飲料水に混ぜ、メチル尿素またはモルホリンはそれぞれ0.1%、0.5%で餌に混ぜて投与した。第1群はメチル尿素と亜硝酸ナトリウムを、第2群はモルホリンと亜硝酸ナトリウムを組み合わせで投与し、第3群は基礎飼料のみを与えた。また第4～6群はそれぞれメチル尿素のみ、モルホリンのみ、亜硝酸ナトリウムのみを与えた。イニシエーションを行っていない第7,8群は第1,2群と同様の組合せで投与を行った。実験開始28週間後にラットを屠殺し、全身諸臓器を病理組織学的に検索し、さらに肝臓、腺胃については、それぞれGST-P、PG-1抗体による免疫組織染色を施した。

【結果】対照群と比べ、第1,2群の前胃において腫瘍ならびに前腫瘍性病変の発生率は増加傾向にあり、特にPN過形成の数に関しては第1群で有意に増加した。さらに食道については、第1群にのみ前腫瘍性病変および腫瘍病変が認められた。また第1,2群の肝臓においてGST-P陽性細胞巢の個数および面積が共に有意に増加したが特に第2群において顕著であった。腺胃におけるPG-1 altered pyloric glands については有意な差は認められなかった。小腸、大腸、腎臓、膀胱、その他の臓器における腫瘍発生数についても特に有意な増加は認められなかった。

【結論】メチル尿素と亜硝酸ナトリウムの同時投与は前胃、食道、肝臓発癌を、モルホリンと亜硝酸ナトリウムの同時投与は肝臓、前胃発癌をそれぞれ促進させることが明らかとなった。

○長根芳文, 北浦敬介, 泉 啓介(徳島大・医・二病理)

【目的】L E C ラットは銅代謝異常を有し, 肝細胞癌が高率に自然発生する. しかし, 各種化学発癌剤に対する感受性についての報告は少ない. そこで今回, 我々はDENおよびBBNをLECラットとF344ラットに短期間投与し, その発癌感受性を比較検討した.

【材料および方法】6週齢の雄性LECラット(各群21匹)および雄性F344ラット(各群21匹)を用い, DENは100mg/kgを隔週に3回皮下投与, BBNは0.1%の濃度で隔週に計3週間飲水投与した. それぞれの対照として0.9%NaCl皮下投与群と無処置群を設けた. 動物は投与開始後50週で全例屠殺し, 病理組織学的検索を行った.

【結果】DEN投与群では, LECラットおよびF344ラットの全例(21/21, 21/21)に肝腫瘍がみられ, 肝細胞癌の頻度はそれぞれ16/21(76%), 6/21(29%)であった($P<0.005$). BBN投与群では, 膀胱腫瘍の頻度はLECラットで3/17, F344ラットで21/21であり, 移行上皮癌の頻度はそれぞれ1/17(6%), 17/21(81%)であった($P<0.001$). なお, LECラットではコントロール群の方が肝毒性のあるDENを投与した群より自然発生肝細胞障害(17-24週齢)による死亡率が高かった. また, 自然発生肝腫瘍はLECラットの0.9%NaCl投与群で4/16, 無処置群で1/16であった.

【結論】LECラットはDENによる肝発癌に対して, F344ラットと比較して高い感受性を示した. その原因としては, LECラットの方が一個体当りの肝腫瘍数も多く, 肝に蓄積した銅の発癌促進作用が考えられた. 一方, LECラットはBBNによる膀胱発癌に対しては低感受性であった. その機構を両ラットにおける発癌物質の代謝の面から検索中である.

ラットの同系可移植性線維肉腫におけるシスプラチン投与の血管構築への影響

○恒成一郎^{1, 2}、山手丈至²、岩城正枝²、桑村 充²、
小谷猛夫²、佐久間貞重²

(¹日本ペーリンガー・インゲルハイム、²大阪府大)

【緒言】腫瘍の増殖度あるいは転移度は腫瘍細胞による血管新生の刺激と深く関係する。血管新生を抑制することによって、腫瘍の増殖を抑えるという報告があり、一癌治療法として血管側からの腫瘍増殖抑制へのアプローチが行われている。しかし、抗癌剤の腫瘍組織における血管構築への影響に関する報告は少ない。今回、F344ラットの顎下腺に自然発生した線維肉腫から確立された同系可移植性腫瘍 (SS) を用い、抗癌剤である cisplatin (CDDP) の血管構築への影響について、走査電子顕微鏡を用いて観察したので報告する。

【材料と方法】6週齢の F344/DuCrj 雄ラット 18 匹を用いた。動物は室温 23 ± 3 °C、湿度 55 ± 5 %、照明 12 時間 (08:00 ~ 20:00) の飼育室で、固型飼料 MF (オリエンタル酵母工業株式会社製) および水道水を自由に与えて飼育した。Yamate *et al.*

(*Jpn. J. Cancer Res.*, 82 : 298-307, 1991) の方法に従って、18匹のラットに 2mm 角に細切した組織片を肩甲骨間の背部皮下に外套針を用いて移植した。移植 1 週後に、9 匹のラットに CDDP (4 mg/kg 体重, i. p.) を投与 (CDDP 投与群) し、残りは生理的食塩水投与の対照群とした。投与 2、3 および 4 週後に、各群 3 匹を屠殺し、うち 1 匹は光顕標本用、他の 2 匹は移植腫瘍の血管鑄型樹脂標本 (Mercox CL-2R を使用) 用とした。標本は金蒸着を行い、走査型電子顕微鏡 (日立 S-800) を用い、10 kV の加速電圧で観察した。

【観察結果】SS の移植片は移植 1 週で約 5mm に増殖した。対照群では投与 2 週 (移植 3 週) では平均直径 28mm に成長した。その腫瘍は肉眼的には線維性被膜に覆われ、断面は灰白色、充実性で小分葉状を呈していた。組織学的には楕円形の核を有する卵円形～紡錘形の種々の形態を示す細胞がシート状ないし束状に配列し、しばしば多核巨細胞が混在していた。有糸分裂像は頻繁に認められた。血管鑄型標本では、腫瘍表面を動・静脈が走行し、複雑に絡み合った毛細血管が認められた。腫瘍内部では血管の活発な sprouting が認められた。投与 3 週 (移植 4 週) の対照群では体積は 2.2×10^4 mm³ に増大し、腫瘍組織中心部は壊死に陥り、走査電顕では先端が鋭角な毛細血管で囲まれた血管の分布しない部位が観察された。投与 4 週 (移植 5 週) では体積は投与 3 週の約 2.6 倍に急速に成長し、壊死組織が広がっていた。

CDDP 投与群では、投与 1 週では腫瘍塊は縮小し、触知不能となった。投与 2 週には、再び触知可能となり、平均直径 4mm に増殖し、組織学的には大型で明るい核を有する円形～楕円形の細胞が認められ、有糸分裂像は少なかった。血管鑄型標本では腫瘍表面の毛細血管の密度が対照群に比べ、比較的 low、腫瘍内部では、sprouting 部位がほとんど観察されず、主に血管の枝分かれによる血管新生が認められた。投与 3 週では体積は 3.6×10^2 mm³ に増大し、sprouting による血管新生が増え、投与 4 週ではさらに活発な sprouting が認められた。しかし、腫瘍体積は、対照群の体積の約 1/8 であり、依然、腫瘍の成長は緩やかであった。

以上の所見より、SS において抗癌剤である CDDP の単回投与により、投与 2 週までは腫瘍細胞のみならず血管新生、とくに sprouting の抑制が認められた。

○矢原 功, 山県英弘, 井上 知 (塩野義製薬・新薬研)

【はじめに】

我々は、今までに遺伝子組み換え型ヒトIL-2(rIL-2)をマウスに連続皮下注入すると、ヒトで知られているIL-2の副作用をごく短期間で再現しうることを明らかにし、注入部に集積する特徴的な単核細胞(PGLと仮称)が毒性の主役を演じていることを示した。皮下注入部からのPGLの単離が困難なため、今回、rIL-2の連続腹腔内注入を試み、PGLの特性を検討した。

【材料と方法】

rIL-2(塩野義製薬)を充填したミニ浸透圧ポンプ(Alza)をJc1:ICRあるいはC57BL/6マウスの腹腔内に挿入して50000U/マウス/日を連続注入し、腹腔内浮遊細胞(PEC)の観察と主要器官の病理組織学的検査をおこなった。PECの免疫細胞化学的検査として、抗Lyt2及びNK1.1抗体、抗asGM1抗血清を用いてFACScanにより検討し、サイトスピン標本については抗Thy1.2、L3T4、Lyt2及びF4/80抗体を用いて細胞種を検討した。

【結果】

rIL-2注入マウスでは、経時的に白濁した腹水が貯留してきて数mlに達し、PEC総数は無処置マウスの10~50倍となった。注入9日目のPECの構成は、輪郭の明瞭な円形の小~大型単核細胞が41%、好酸球が50%で大半を占めていた。単核細胞は、小さなくぼみをもつ偏在した核としばしば顆粒を有する好塩基性の豊富な細胞質からなっていた。rIL-2注入マウスのPECでは、Thy1.2陽性細胞が80%を占め、Lyt2及びNK1.1陽性細胞も明らかに増加したが、F4/80陽性細胞は逆に減少した。

主要器官の病理組織学的検査では、これら単核細胞が腹腔壁や横隔膜をはじめ、実質臓器の被膜下に著しく浸潤して周辺組織の破壊がみられた。肝臓及び脾臓ではPAS陽性顆粒をもつ大型の典型的なPGLが多数みられた。脾臓では好酸球の増生像も顕著であった。

【考察とまとめ】

大量のrIL-2をマウスの腹腔内に連続注入すると腹水が貯留し、細胞傷害性T細胞とNK細胞を主体とするPGLと好酸球が高密度に浮遊していることが見いだされた。PGLの周辺組織への浸潤・破壊像がrIL-2連続皮下注入時より強調され、本細胞がrIL-2大量投与時の最も重要な毒性発現因子と考えられた。

○岡田学^{1,2}、有菌直樹² (¹塩野義新薬研、²京都府医大・医動物)

[目的] 好塩基球は骨髄の造血幹細胞に由来し、ヒスタミンやLTC₄などの種々のケミカルメディエーターを産生・放出し、アレルギーの発生において重要な働きをしている。しかし、マウスやラットの好塩基球は血液有核細胞の1%以下と極端に少なく末梢血中や骨髄で観察することが難しいため、好適な実験動物の開発が必要である。そこで齧歯類の一種であるスナネズミの好塩基球産生について調べた。

[方法と結果] 近交系スナネズミ(MGS/Sea)雄8週齢にT細胞依存性の好塩基球産生を惹起することで知られる *Nippostrongylus brasiliensis* (Nb) を感染させ、以後、末梢血中の好塩基球数を経時的に計測し、骨髄を組織化学的、超微形態学的及び細胞化学的に観察した。Nb感染によって末梢血中の好塩基球数は感染前に比べ感染2週後で約20倍に増加した。末梢血中の好塩基球は、従来報告されているラットやマウスの好塩基球と同じ形態学的特徴を有していた。すなわち、細胞の大きさは直径約7 μ m、核は分葉し、細胞質内顆粒は直径約0.7 μ mで正円形ないしは楕円形の形態を示しており、顆粒内部に結晶構造を持たず、大部分の顆粒の電子密度は一様であった。

骨髄をalcian blue-safranin染色で観察すると、感染後、好塩基性細胞(alcian blue⁺/safranin⁻)が増加し、2週後ではその細胞が4 μ m切片上で20~100個集まったクラスタが観察された。クラスタを電顕で観察すると好塩基性後骨髄球や成熟好塩基球だけから構成されており、他の顆粒球や単球等の混在は見られなかった。

骨髄における好塩基球の分化過程は超微形態学的及び細胞化学的特徴からラットやマウスのそれとほぼ同じであった。

[考察] 以上の結果からスナネズミの好塩基球の分化過程はラットやマウスと類似しているが、末梢血での増多が著明であり、また骨髄で好塩基性後骨髄球と成熟好塩基球だけからなるクラスタを形成するといった強い増殖が見られることは他の実験動物と異なっており、このことからスナネズミは好塩基球の分化過程や炎症・アレルギーの研究に有望な実験動物であると思われる。

○岩堀嘉郎、馬場弘靖、朝元誠人、津田洋幸（国立がんセ・研・化療）

実験動物の飼育管理を一括して効率的に行うためにコンピューターネットワークを利用したシステムを開発したのでその概要を報告する。

目的： 当研究所では多様な研究目的のため、多種の実験動物が飼育されている。その中には遺伝子操作を加えた動物およびNude mouseやSCID mouseのように嚴重な感染予防が要求されるものも含まれ、飼育管理業務にはよりきめの細かい対応が要求されるようになってきている。このため実験動物飼育に関する多様なデータを再利用しやすい形で蓄積し、飼育業務の効率的運営と動物実験の円滑な実施に役立てると共に、研究者自身によるデータ管理を可能にするシステムを開発することを目的とした。

方法： 当施設に既存のコンピューターネットワーク(LAN)と各研究者のパーソナルコンピューターを用いてシステムを構築した。

1) システムの概要

市販データベースソフト（ACI社製4D Sever）による①統一された実験コードの発行、②実験動物の発注、③実験動物の種・系統・性別・数・飼育場所および飼育状況の情報管理、④飼育担当者から研究者への情報の総合処理と、当施設に既設の電子メールや電子掲示板を使用した動物実験実施に関する情報の交換等を組み合わせたものからなる。

2) システムの特徴

開発は研究者によりなされた。このため開発に要した期間は短く（2週間）、研究者および飼育業務担当者の業務との連携が密接に保持され、修正や改良が容易であった。また、既存のネットワークシステムを活用し、各研究者のパーソナルコンピューター（Apple社製Macintosh）を端末として使用しているため導入時のインシャルリスクが低く、専用機導入の必要が全くなかった。

3) 本システムの発展と展望

蓄積されたデータを利用して、動物種や実験期間、実験内容に応じた施設の有効利用を図ることが可能である。さらに、小型端末を飼育業務担当者が携帯することにより、各研究者との情報交換がリアルタイムで効率良く行われるように発展させる予定である。

— MEMO —

示說要旨

(P 1 ~ P-96)

— MEMO —

○三善隆広¹、吉田一晴¹、木澤和夫¹、守田禎一¹、河村泰仁¹、児玉卓也¹、
中沼安二² (1 富山化学・安全性研究所、2 金沢大学・医・二病理)

【目的】肝発癌物質を投与したラットの肝には、癌の発生に先行して“oval cell”が出現することが知られているが、oval cellのレクチン結合性と糖鎖抗原の発現について詳細に検討した報告は少ない。今回、oval cellのレクチン結合性と糖鎖抗原の発現をレクチン組織化学および免疫組織化学を用いて検討し、増生細胆管および正常肝内胆管と比較したので報告する。

【材料と方法】35匹のSD系ラット(5週齢)を以下の実験群に分けて用いた。I. oval cell群: 0.06%の3'-Me-DAB(3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene)を含む飼料を連日給餌し、給餌開始後7、14、21、28日に各3匹の肝を採取した。II. 細胆管増生ラット群: 50mg/kg/dayのANIT(alpha-naphthylisothiocyanate)を連日経口投与し、投与開始後1、3、5、7、10、14日に各3匹の肝を採取した。III. 対照群: 5匹の無処置ラット(5週齢)の肝を採取した。これらの肝を10%中性緩衝ホルマリンで24時間固定後、パラフィン包埋切片を作製し、HE染色、レクチン組織化学[11種のビオチン化レクチン(Con A, sWGA, HPA, VVA, SBA, MPA, AlloA, PNA, ECA, UEA-I, LFA)を使用し、脱シアル酸はneuraminidaseで実施(n+)した]および糖鎖抗原(Lewis^x, Lewis^y, Sialyl Lewis^x)の免疫組織化学を行った。なお、レクチン組織化学と免疫組織化学の発色はABC法で行った。

【成績】3'-Me-DAB食給餌ラットの肝に出現したoval cellには、細胞質にConA(n-), sWGA(n-), HPA(n+), VVA(n+), SBA(n+), MPA(n+), AlloA(n+), PNA(n+), ECA(n+), UEA-I(n-)およびLFA(n-, n+)の結合性とSialyl Lewis^xの発現を認めた。また、管腔面にもsWGA(n-), HPA(n+), VVA(n+), SBA(n+), MPA(n+), AlloA(n-, n+), PNA(n+), ECA(n+)およびLFA(n-, n+)の結合性とSialyl Lewis^xの発現を認めた。ANIT投与ラットにみられた増生細胆管のレクチン結合性と糖鎖抗原発現のパターンは細胞質、管腔面ともにoval cellとほぼ一致していた。また、対照群の正常肝内胆管のレクチン結合性と糖鎖抗原発現のパターンは細胞質、管腔面ともにoval cellおよび増生細胆管とほぼ一致していたが、oval cellと増生細胆管の一部の細胞でみられたLFA(n+)の結合性はみられなかった。なお、oval cellと増生細胆管の標本の採取時期による染色性の違いはなかった。

【結論】3'-Me-DAB食給餌ラットの肝に出現するoval cellのレクチン結合性と糖鎖抗原の発現について、レクチン組織化学および免疫組織化学を用いて、ANIT投与ラットの肝にみられる増生細胆管および無処置ラットの肝の正常肝内胆管と比較したところ、oval cellのレクチン結合性および糖鎖抗原の発現のパターンは、増生細胆管ならびに正常肝内胆管とほぼ一致していた。このことから、oval cellは増生細胆管および正常肝内胆管と類似した糖鎖構造を有することが示唆された。

○ 筒井美麻, 野村明日香, 中川由紀子, 行之内保紀, 張永蓉, 山口格, 藤原公策
(日大農獣医第2病理)

[目的] スナネズミは脂質代謝に関する研究に広く使用されており, 高コレステロール飼料投与により血清コレステロール値が急速に上昇し, 肝にコレステロールエステルの蓄積を起こすことが知られている. この場合の肝病変のについては詳しく報告されていないので, マウスとの比較において検討した.

[材料・方法] コンベンショナル環境で飼育した12~14週齢の雄スナネズミ (TUM系) および雌ICRマウスに, コレステロール(3%), コール酸(0.6%), オリーブオイル(15%)を添加した固形飼料 (CE2) を連日与え, 3日~10週後に血清コレステロール値を測定するとともに, 肝組織のHE, Massonトリクロム, 渡辺鍍銀, 免疫染色標本を観察, 電顕観察を行った.

[結果・考察] 高コレステロール食連日投与により, 血清コレステロール値はスナネズミでは3日, マウスでは1週で正常値の約2倍を示し, スナネズミでは2週でさらに高値となったが, マウスでは10週まで横ばい状態であった. スナネズミでは, 投与3日に肝小葉中心域肝細胞に大型脂肪滴, 周辺域肝細胞には微小脂肪滴がみられたほか, 類洞内に多数の泡沫細胞, 多核巨細胞が存在し, 一部で好中球集積巣がみられた. 6週では好中球集積が著明となり, 泡沫細胞周囲には好銀線維がみられ, 10週では肝表面は凹凸を呈して, 大~小白色結節が発現した. 結節部にはコレステロール裂隙がみられ, 肝細胞の脂肪化が著明で異型性が強く, ミトースも高率で, 泡沫状細胞が結節内外に存在した. マウスではスナネズミに比べて変化は軽度で, 6週で好中球集積, 類洞内マクロファージの結節状または島状集積がみられたが, 泡沫細胞は10週で少数みられた. 以上の所見から, 高コレステロール投与スナネズミにみられる早期コレステロール血症は, スナネズミ肝における脂質代謝能力がマウスに比べて低いことによると考えられた.

○李 旻宰、河村 晴次、板垣慎一、*田村一利、
土井邦雄（東大実験動物、*BOZOリサーチ）

【目的】T-2 トキシンは生体内の増殖の盛んな細胞を傷害することが知られており、リンパ系臓器、骨髄、腸粘膜などがT-2 トキシンの重要な標的臓器となっている。我々は、第10回会本大会において、実験的に肝細胞の増殖を誘導したマウスでT-2 トキシンの肝細胞増殖抑制作用について報告した。今回、T-2 トキシンをマウスに最高56日間連続経口投与し、その間数時点で剖検を行い、血液生化学的および病理組織学的検索を行った。

【実験材料と方法】105匹のICR:CD1マウス(5週齢、雄)にT-2 トキシン(0,2,4mg/kg/day)を連続経口投与し、1,7,14,28および56日のそれぞれ剖検1時間前に100mg/kgのBrdUを腹腔内投与した。採材した肝臓の一部は、ホルマリン固定後、常法通りパラフィン切片を製作し、HE染色および免疫組織化学的染色に用いた。免疫組織化学的染色は、抗BrdU抗体を用いてLSAB法で実施した。また、各剖検時点での血液生化学的検索に加え、肝臓のタンパク質含量の測定をlowry法で行った。

【結果と考察】体重及び肝重量は対照群に比べ減少したが、有意差は認められなかった。血液生化学的検査では、T-2トキシン投与群のTP, T-CHO, ALPおよび γ -GTPは対照群に比べ減少を示したが、GOT, GPT, LDHには差は認められなかった。また、肝臓のタンパク質量は、T-2 トキシン投与群で減少傾向が認められた。組織学的には、投与1日目のT-2 トキシン投与群で肝細胞壊死が散見されたが、それ以降は特記すべき変化は認められなかった。また、T-2トキシン投与群では、全観察期間を通じ、用量依存性にBrdUの取り込みの抑制が見られた。これらの結果より、T-2 トキシンは、マウスの肝臓でタンパク質合成抑制を介した増殖抑制を惹起することが示唆された。

○城田真理子、田中俊光、後藤鋼星、小林孝好（ヘキストジャパン(株) 開発研究所）

【緒言】ヒト臨床では肝線維症における線維化の指標として、出現する肝組織中の各種コラーゲンの動態について研究されている。一方、ラットでは実験的肝線維症モデルの代表であるCCl₄投与モデルを用いた各種コラーゲンの動態について報告がみられる。そこで今回、免疫反応により肝線維化が惹起されるといわれる卵黄感作モデルにおける肝線維化の組織像及び各種コラーゲン（I型コラーゲン（I-C）、III型コラーゲン（III-C）及び特に類洞に増加するIV型コラーゲン（IV-C））を組織学的に検討したので報告する。

【方法】7週齢SDラットの左腎臓摘出動物に鶏卵黄を生理食塩水で1.5倍に希釈したものを20ml/kgの割合で週3回尾静脈内投与した。投与開始5週間目に剖検し、肝臓を摘出、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従いHE及びMallory染色標本を作製し観察した。また、肝組織中のI、III、IV-Cの局在を免疫組織化学的に検索した。

【結果】卵黄感作モデルで認められた線維化の症例は、極く軽度の例では細い線維が中心静脈及びグリソン氏鞘から直線的に小葉内に伸展し、軽度の例では中心静脈相互の連結がみられ、中等度の例では中心静脈とグリソン氏鞘間を連結し偽小葉が形成されて數石状を呈し、高度の例では偽小葉が結節状になり、あるいは類洞に線維が増加してさらに偽小葉を細分する像を示していた。肝細胞の変化は線維化の軽度なものではほとんどみられず、線維化が進んだ例で線維隔壁に沿って単細胞壊死が観察されたに過ぎなかった。この時の肝組織でのI、III、IV-Cの局在は、極く軽度の例でみられた中心静脈及び門脈域から伸展した線維、軽度あるいは中等度の例でみられた偽小葉の線維隔壁、高度の例でみられた線維隔壁及び類洞内に増加した線維に一致して観察された。

【まとめ】卵黄感作モデルにおいて、偽小葉を形成する線維化が観察され、I、III、IV-Cは増加した線維に一致して局在が観察された。一方、細胞障害性モデルであるCCl₄投与モデルでは、小葉中心性の肝細胞の脂肪化及び壊死、これに続く線維化がみられ、また線維に一致して各種コラーゲンの局在が認められると報告されている。また、ヒト肝硬変症においてもこれらコラーゲンの局在について同様な報告がされている。

以上より、免疫反応により惹起される卵黄感作性肝線維症モデルは、肝細胞の障害過程で細胞障害性のCCl₄投与モデルと異なるが、線維化の伸展状態は類似し、増加した線維にはCCl₄投与モデル及びヒトにおける肝硬変症と同様にI、III、IV-Cの局在が認められ、線維化の要因に拘らず線維のI型、III型及びIV型コラーゲンの局在は同様であった。

○佐々木稔¹、木村れい子¹、花見正幸¹、松本浩良¹、金子仁²、
高木素²、新井敏郎²（¹萬有製薬・開発研、²日獣大）

ハタネズミは草食性に適応した前胃内発酵消化機能を有するゲツ菌類で、マウスと比べて血糖値が低く、また糖に対する腎閾値や肝解糖系酵素活性が低いといった生理学的特徴を有する。今回、膵島B細胞を標的としインスリン依存性糖尿病を誘発するために広く使われているストレプトゾトシン(STZ)をハタネズミに単回投与し糖尿病の誘発を試み、膵・肝・腎の病理学的および血液生化学的変化をマウスと比較検討した。

【材料および方法】

室内飼育のハタネズミおよびC57BL/6系マウスを用いた。クエン酸緩衝液に溶解したSTZを100 mg/kgの用量で腹腔内に単回投与し、緩衝液のみ投与したものを処置対照群とした。3日毎にテストテープで尿糖を検査し、投与4週間後に採血後解剖し、膵・肝・腎の組織変化を光顕および電顕的に検索した。

【結果および考察】

ハタネズミでは早いものでは1週間後に尿糖陽性を示し、4週間までの累積尿糖発現率は54%であった。これに対し、マウスにおいて本投与量では全例とも尿糖陰性であった。STZ投与により高濃度の尿糖(+++: 0.5%)を認めた尿糖陽性ハタネズミの平均血糖値は289 mg/dlで対照群(71 mg/dl)の約4倍の高値を示し、血漿インスリン値は4 μ U/mlと対照群(17 μ U/ml)の1/4にまで低下していた。尿糖陰性ハタネズミの血糖値およびインスリン値は対照群に近い値を示した。また、STZ投与マウスの血糖値およびインスリン値は対照群と比べほぼ同等であった。尿糖陽性ハタネズミにおいては、膵島の小型化、B細胞の脱顆粒、空胞化、肝細胞の空胞化、好酸性粒状化、および腎尿細管の空胞化と好塩基性化が観察された。電顕的には膵島B細胞質内のインスリン分泌顆粒の著明な減少とグリコーゲン顆粒の蓄積、肝細胞のミトコンドリアの腫脹、腎尿細管上皮ミトコンドリアの電子密度の低下とクリステの消失およびグリコーゲンの蓄積が観察された。尿糖陰性のハタネズミおよびマウスでは組織学的変化を認めなかった。ハタネズミはマウスと比べSTZに対する感受性が高く、膵島B細胞の変化により容易に糖尿病が誘発され、同時に肝および腎にも病変が認められた。

○古川文夫・西川秋佳・今沢孝善・榎並倫宣・池崎信一郎・高橋道人（国立衛試 病理）

【はじめに】

Nicotinamide (NA)は食物中に多く含まれており、腸内細菌のニコチンアミドデアミダーゼによりニコチン酸に分解されて吸収され、血管拡張作用を示す。我々は、WBN/Kobラットの膵炎の初期病変としてランゲルハンス氏島周囲の毛細血管性出血がみられることを本学会ですでに報告した。また、膵炎発症がインドメタシンやエストロジェンの投与により抑制されることも明らかにした。今回、WBN/KobラットにNAを経口投与し、膵炎発症におよぼす影響を検討した。

【材料および方法】

6週齢の雄WBN/Kobラット（日本SLC）60匹を用い、第1群（20匹）は0.5%NA溶液を、第2群（20匹）は0.25%NA溶液を、第3群（10匹）はイオン交換水を飲料水として投与した。実験は処置開始から20週後に終了し、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）で測定した。膵は重量を測定後、10%中性緩衝ホルマリンにて固定、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。

【結果および考察】

体重は投与開始直後から投与濃度に比例した有意な増加抑制が認められた。膵重量は第3群に比し第1群および第2群で減少する傾向がみられた。血糖値は第1群では 133 ± 28 mg/dl、第2群では 123 ± 23 mg/dl、第3群では 136 ± 33 mg/dlであり、有意差は認められなかった。病理組織学的に、すべての群に膵実質の萎縮消失、細膵管の増生、炎症性細胞の浸潤、結合織の増生、脂肪置換などの所見が認められたが、特に第1群および第2群ではこれらの所見が強く発現する傾向が認められた。その理由としてNAが膵の毛細血管に作用して、出血が促進された可能性が考えられた。一方、腫瘍性病変としては第2群で腺房細胞腺腫が2例、好酸性結節が1例みられたが、第1群および第3群では認められなかった。本ラットにおいて腺房細胞由来の自然発生増殖性病変に対する報告はほとんどないことから、NAの膵に対する腫瘍発生の可能性が示唆された。

WBN/KobラットにNAを投与すると、膵炎の増悪がみとめられ、腺房細胞の増殖性病変が発生した。

○佐藤亮、小倉基裕、南孝則、松本智志、仙頭美和、三好文暁、木下啓明（大塚製薬・徳島研究所）

【はじめに】ビーグル犬の異所性の胃組織は、しばしば、小腸粘膜での発生がみられ¹⁾、また、ヒトにおいては食道の異所性胃粘膜が、小児にみられるが、その発生は少ない²⁾。今回、毒性試験に用いられた若齢ビーグル犬の1例の食道において異所性胃粘膜島を認めたので、その症例について報告する。

【材料および方法】動物は(株)日本医科学動物資材研究部から5ヶ月齢で購入した雄ビーグルで、2ヶ月の検疫、馴化期間の後、毒性試験に用いられ、ゼラチンカプセル反復投与13週間および無処置期間5週間後に剖検された。採取した食道は、10%中性緩衝ホルマリン液固定後、常法に従いパラフィン包埋、薄切した後、H. E. 染色標本を作製し、病理組織学的検査を実施した。

【結果】剖検時に食道には、咽頭部より約15cmまでの領域の食道粘膜の直径約1mmの白色隆起巣の多発として認められた。また、組織学的には、肉眼病巣に一致して管状胞状腺構造を有する胃の幽門腺に類似した組織の散在が認められた。尚、異所性幽門組織の粘膜固有層にはリンパ球、形質細胞などの単核球浸潤も認められた。

【まとめ】若齢ビーグル犬の食道における異所性胃粘膜島の1例を報告する。

【文献】

1. Iwata H., Arai C., Koike Y., Hirouchi Y., Kobayashi K., Nomura Y., Enomoto M., Heterotopic gastric mucosa of small intestine in laboratory beagle dogs., *Tox. Pathol.* Vol. 18, (3), (1990).
2. 横山 武、福西 亮、綿貫 勤、嘉納 勇、食道—食道の形成異常、現代の病理学 各論, 241, 金原出版株式会社, (1990).

○山口裕子、永谷真理子、星谷 達、楠岡 修、玉井幸子、
田村一利、岡庭 梓 (株)ポゾリサーチセンター

我々は、某繁殖コロニーで生産されたSprague-Dawleyラットの盲腸の粘膜下織に出現するラングハンス型巨細胞と好酸球の浸潤を特徴とする多発性の肉芽腫に注目し、週齢、系統、性別の発現状況(表1)や病変の分布様式、さらに、血液学的データとの関連性を中心に第10回日本毒性病理学会で報告した。今回は、本病変の組織発生と組織学的特徴を目的とし、盲腸周囲組織を含め詳細に観察したので報告する。

肉眼的には、盲腸壁はびまん性に肥厚し、小結節病巣が盲腸の漿膜面の血管走行に沿うように数珠状に広がって認められた。

組織学的には、この病変は盲腸や隣接する腸管の粘膜下織に出現する以外に、盲腸に近接した腸間膜にも認められた。病変は、比較的高度な好酸球の浸潤を伴った大小様々な肉芽腫の形成を特徴として、一部には血管を核に成長したと思われる部位や肉芽組織が血管壁を貫通し、血管内腔を狭窄あるいは閉塞している像も認められた。

電顕的には、肉芽腫は主にリンパ球、好酸球、組織球および線維芽細胞で構成されており、その内部には変形した小血管や破壊され断片化した血管弾性板や、その断片と思われる物質を貪食した多核巨細胞が認められた。

このような血管との関連を示唆する所見は、腸間膜を走行する比較的太い血管でより容易に観察された。

以上の結果から、この肉芽腫様病変は、該当部の血管から発生したものである可能性が高いと考えられたが、血管あるいは血管周囲炎の発生機序、およびこれが周囲の肉芽腫性病変にいかにして結びつくかは明かでない。しかし、前回の調査結果が示すように、この種の病変を多発する特定コロニー由来の系の個体側の因子が重要と考えられる。

(表1) 系統別出現頻度(%)

	0~10	11~30	31~50	51~71 (週齢)
SD	0	0.04	1.42	3.98
Wistar	0	0	0	0.10
F344	0	0	0	0

Bromobenzene, acetaminophen肝障害に対する phenobarbitalと clofibric acid前処置の効果

○矢本 敬, 真鍋淳, 大橋芳彦, 寺西宗広, 松本悦嗣,
田中宏治, 瀬畑信哉, 松沼尚史(三共・安全研)

【目的】障害の発現にcytochromeP450(P450)による代謝活性化を必要とする肝障害性物質は極めて多い。そして、この肝障害がP450誘導剤であるphenobarbital (PB)等の前処置により増強されることはよく知られている。しかし、最近P450アイソザイムの同定が容易になり、肝障害性物質毎にその代謝活性化に関わるP450アイソザイムが異なること、各誘導剤毎に誘導するP450アイソザイムの異なることが分かってきた。従って、P450誘導剤の肝障害性物質に対する作用は障害に関与するP450アイソザイムを明らかにした上で議論されなければならない。また、P450誘導剤が抱合系酵素を含むいくつかの酵素誘導作用を合わせ持つことも考慮されるべきである。従来、我々は種々のP450誘導剤が、どのP450アイソザイム、抱合系酵素あるいは他の酵素を誘導するかについて情報を蓄積して来た。今回、その内主にCYP2Bを誘導するPBと、CYP4Aを誘導するclofibric acid(CPIBA)の前処置後、P450の代謝活性化により肝障害を発現することが知られるbromobenzene(BB),あるいはacetaminophen(APAP)を単回投与し肝障害の増強の有無を検討した。

【材料および方法】F344ラット(雄, 10週齢)を用い、対照群には粉末飼料のみを、前処置群にはPB Na(0.08%),あるいはCPIBA(0.15%)を混合した粉末飼料を13日間与えた後、BB(300 mg/kg), APAP(800 mg/kg),あるいは溶媒(コーンオイル)のみを単回腹腔内投与した。投与 24時間後にエーテル麻酔下で採血、剖検して血液生化学的検査と肝臓の病理組織学的検査を実施した。

【結果および考察】血清GOT, GPTの測定および病理組織学的検索から、PBあるいはCPIBAの前処置により上記2化合物の肝毒性が以下の様に変化した。すなわち、PB前処置がBBとAPAPの肝障害、CPIBA前処置がBBの肝障害を増強した。このP450誘導剤の肝毒性増強作用はよく知られている現象である。一方、CPIBA前処置はAPAP肝障害を軽減した。CPIBA前処置はCYP4Aを誘導するが、これはAPAPの代謝活性化には関与しないものと思われ、少なくともこの誘導により毒性が増強されることはない。減弱の機序として、活性代謝産物の産生抑制と解毒亢進が考えられ、現在検討を継続している。

肝障害性物質	前処置(誘導される酵素*)	
	PB(CYP2B, 2C, 3A; GST; UDPGT)	CPIBA(CYP4A; CAT; FAOS)
BB	↑ ↑ ↑	↑
APAP	↑	↓ ↓

↑ 軽度増強; ↑↑↑ 重度増強; ↓↓ 中等度減弱; GST glutathione S-transferase; UDPGT UDP-glucuronosyltransferase; CAT carnitine acetyltransferase; FAOS fatty acyl CoA oxidizing system; *大橋ら(1992)第19回日本毒科学会

○伊藤隆康, 堀之内彰, 城塚康毅, 安藤孝夫 (武田薬品・薬安研)

フェノバルビタール投与により肝臓の薬物代謝酵素誘導および滑面小胞体(sER)の増生をひき起こすことはよく知られている。またラットではそれに付随して肝細胞に“membrane whirl”と呼ばれる封入体が発現することも知られている¹⁾。しかし、イヌにおける封入体発現の報告は見当たらない。今回、我々はフェノバルビタールを投与したビーグル犬で同様の肝細胞封入体を見だし、その病理発生について若干の考察を加えたので報告する。

〔材料および方法〕 (実験1)雌のビーグル犬にフェノバルビタールトリウム(PB)、25mg/kg/日を連日筋肉内投与した。投与開始前および投薬4日後に開腹手術により肝外側左葉の一部を採取し、投薬14日後に剖検して同外側左葉を採取した。肝薬物代謝酵素活性測定には、新鮮材料を液体窒素で凍結保存したのを用い、アミノピリン-N-脱メチル化酵素およびアミノ水酸化酵素についてそれぞれ測定した。また、10%中性緩衝ホルマリソ液で固定した材料は、型の如くパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびズグロ黒B染色を行い鏡検した。さらに2.5%グルタルアルデヒド/リン酸緩衝液で固定した材料はエポンに包埋後、超薄切片を作製し、電子顕微鏡で観察した。(実験2)雌雄のビーグル犬にPB、25mg/kg/日(i.m.)およびCoCl₂、10mg/kg/日を7日間併用投与した後剖検して肝外側左葉を採取し、実験1と同様に検査した。

〔成績〕 PB、25mg/kg/日の4日間投与により、肝薬物代謝酵素活性の増加およびsERの増生がみられたが、封入体は認められなかった。しかし、電顕的には封入体形成の初期段階を思わせる粗面小胞体(rER)の馬蹄形配列がみられた。PBの14日間投与後には上記所見に加えて、肝細胞内に封入体が認められ、電顕的にはラットでの報告と同様のいわゆる“membrane whirl”として認められた。本封入体の膜と増生したsERあるいはrERとの間には連続像が確認された。CoCl₂を併用投与した場合、肝薬物代謝酵素活性の増加は抑制されたが、sERの増生ならびに封入体形成は抑制されなかった。

〔結論〕 PB投与による肝細胞封入体の発現メカニズムについては、①酵素誘導に伴う酵素蛋白の増加→②rERにおける膜の産生亢進(rERの増生)→③リボゾームの脱落→④sERの増加→⑤急激に増加したsERが渦巻き状に折り重なる、のように封入体が形成されると推察された。なお、CoCl₂により肝薬物代謝酵素活性の増加は抑制されたものの、sERの増生は抑制されなかったことから、酵素活性とsERの増生との間に直接的な因果関係はないと考えられる。

〔文献〕 1) Herdson, P. B. et al: Lab. Invest., 13; 1032-1037 (1964)

イヌの肝臓における酵素誘導と病理形態学的変化
- Phenobarbital と clofibrate の作用 -

松本悦嗣, ○田中宏治, 矢本敬, 寺西宗広, 大橋芳彦,
安田充也, 真鍋淳, 松沼尚史(三共・安全研)

【目的】Phenobarbital(PB), clofibrate(CPIB)などの酵素誘導剤をラットに投与すると, 肝臓の薬物代謝酵素が誘導され, それぞれ, SERおよびペルオキシゾームが増生し肝細胞は肥大する. また, PBによる酵素誘導が顕著の場合には肝細胞の細胞質は病理組織学的にくもり硝子様を呈するとされ, この変化は肝細胞のくもり硝子様変化と呼ばれる. 一方, イヌの肝臓では, 一般に酵素誘導が発現し難いと考えられており, PBおよびCPIBの投与による酵素誘導の報告は少ない. さらに, 酵素誘導時の病理形態学的変化に関して十分な検索はなされていない. 今回, 我々はPBあるいはCPIBのイヌに対する投与法を工夫することにより, 肝臓に酵素誘導を惹起させることができた. 誘導時の生化学的変化と病理形態学的変化の関連を報告する.

【材料および方法】下表に示すそれぞれ2種(反復投与, 漸増投与)の方法で, ビーグル(自家生産)にPBあるいはCPIBを投与した. 投与後肝臓の生化学的検査, 病理組織学的(光顕)検査と電子顕微鏡学的(電顕)検査を実施した.

【結果および考察】結果を下表(数字は対照群比)に示す. PBとCPIBの反復投与でも酵素誘導は発現したが, 漸増投与により誘導は著明に増強した. PBにより重度に肝細胞のSERが増生すると光顕的にくもり硝子様変化が確認され, この反応はラットと同様であった. CPIBにおいては, CATとFAOS活性が誘導されるのはラットと同様であったが, ラットではペルオキシゾームが増生するのに対し, イヌでは糸粒体の増加が確認された. このことは, CPIBに対する反応がラットとイヌで異なることを示唆する.

誘導剤	肝重量	P-450量	肝臓の酵素活性						肝細胞の形態変化	
			MCD	ECD	PCD	CAT	FAOS	光顕	電顕	
PB	反復IP ^a	N	2.3	4.0	4.4	1.6	N	N	-	SER 軽度増生
	漸増PO ^b	1.7	5.4	9.2	10.8	3.9	0.8	0.3	肥大/くもり硝子様変化	SER 重度増生
CPIB	反復PO ^c	1.1	1.4	1.5	1.4	2.1	1.9	1.2	-	-
	漸増PO ^d	1.5	0.8	0.9	0.9	0.9	4.9	3.0	肥大/好酸性微細顆粒	糸粒体の中等度増加

a 10 mg/kg/day x 9; b 20 mg/kg/day x 7 + 40 mg/kg/day x 7 + 60 mg/kg/day x 14; c 100 mg/kg/day x 14; d 50mg/kg/day x 7 + 100 mg/kg/day x 14 + 150 mg/kg/day x 7; MCD methoxycoumarin O-demethylase; ECD ethoxycoumarin O-deethylase; PCD propoxycoumarin O-depropylase; CAT carnitine acetyltransferase; FAOS fatty acyl CoA oxidizing system; N no data

ラットにおけるジエチルニトロソアミン (DEN) および
アセトアミノフェン (APAP) 投与による肝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, 野口 修, 白岩和己,
天沼利宏, 小笠原裕之, 傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

[緒言]

酸化性DNA傷害である8-OHGは、各種化学発癌物質の投与により、それらの標的臓器のDNA中に特異的に生成されることが見出され、それ自体が突然変異原性を持つことより、発癌過程に重要な役割を果たすとされている。従って、8-OHG生成を測定することは、環境化学物質による発癌リスクを評価する上で、有用なツールとなり得るものと考えられている。本研究は、こうしたことを検証するために、まず、ラット肝に対象をしぼり、発癌物質であるDENと、酸化性毒性を発揮する一方で発癌性の否定的なAPAPを用い、発癌リスク評価における8-OHG測定の意味を検索した。

[実験材料および方法]

DENは、F344系雄性ラット(6週齢)に肝壊死量である100 mg/kg体重と非壊死量の20および10 mg/kg体重、APAPは、メチルコラントレンによる活性化代謝系誘導または非誘導のSD系雄性ラット(6週齢)にLD₅₀近傍の1500 mg/kg体重から比較的低用量の125 mg/kg体重まで、種々の用量で腹腔内へ単回投与した。動物は、各群5匹とし、投与後経時的に屠殺し、肝を摘出すると共に血清を採取した。肝は、病理組織学的に検索すると共に、8-OHGの生成量を測定した。血清は、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)の活性を測定した。

[実験結果および考察]

DENは、何れの用量でも投与後3時間より8-OHGを有意に誘発し、72時間に渡って高値を維持せしめた。APAPは、活性化代謝系を誘導すれば、低用量で高レベルの8-OHGを発生せしめたが、非誘導ラットでは、1500 mg/kg体重を除いて投与後3~6時間に一過性で軽度の8-OHG増加を惹起するに留まった。以上の結果より、8-OHGの持続的な生成と蓄積を検出することは、環境化学物質の発癌リスク評価に利用し得る可能性があるものと示唆された。

Non-RI PCR-SSCPを用いた B6C3F₁ マウス 肝組織のH-ras遺伝子の検索

○飯田麻里、山川誠己、岩田 聖、榎本 眞 (安評センター)

[目的]

マウスに自然発生する肝癌あるいは、発癌物質で誘発された肝癌では、H-ras遺伝子の点突然変異による活性化が高頻度にみられることがよく知られている。今回我々は、加齢にともなう肝細胞H-ras遺伝子の変化が、正常組織あるいは自然発生する腫瘍組織内でどのように起こっているか明らかにするため、通常の実験室内でも検出可能な Non-RI PCR-SSCP法を用いて至適条件の設定、検索を行った。

[材料と方法]

2年間SPF環境下の長期毒性試験 (26W, 52W, 78W, 104W)で無処置対照群で飼育された B6C3F₁ マウスの肝臓組織103例 (正常組織:49例、腫瘍組織:31例、腫瘍組織と同一肝臓の正常部位:23例)を2mm幅で切り出し、凍結保存後DNA抽出した。また同一割面反対側を切り出し10%中性緩衝ホルマリン液にて浸漬固定した。抽出したDNAは、キレート樹脂 (キレックス100) を用いてヘモグロビンを除去した後、PCRを行い H-ras codon61を含む116bpを増幅させた。DNA増幅は熱変性 (94℃ 30sec)、アニーリング (55℃ 1min)、DNA鎖伸長 (72℃ 1min) を1サイクルとして34サイクル繰り返して行った。増幅されたDNA断片をPharmacia社製Phast Systemを用いて Non-RI PCR-SSCPを行い、様々な条件設定を行った。至適条件で得られた変異のバンドのパターンを分類し、各組織、週齢ごとに変異率を求めた。また、点突然変異の確認されたものについては、H. E. 染色と免疫抗体染色 (P21 H-ras) を行い、比較検討した。

[結果と考察]

SSCPの電気泳動は、主にmA数を変化させて、7条件で行った。その結果、300V、15mA、2.5W、4℃の条件下で効率よく H-ras 遺伝子の変異が検出された。103例中 H-ras codon61の変異は、18例検出された。18例の変異のバンドのパターンは2種類に分類された。各組織ごとの変異率は、正常組織:4.09%(2/49)、腫瘍組織:48.39%(15/31)、腫瘍組織と同一肝臓の正常部位:4.35%(1/23)であった。腫瘍組織の内、肝細胞腺腫と診断されたものは8例、肝細胞癌と診断されたものは7例であった。また、P21 H-ras抗体を用いた免疫染色では陽性所見も得られた。さらに、腫瘍組織を週齢ごとに比較すると、78W:100.00%(5/5)、104W:38.46%(10/26)という結果となり、現在のところ試験週104Wよりもむしろ78Wで高頻度に変異がみられている。なお試験週26Wで採取された肝組織は正常であり、H-ras遺伝子の変異は、認められなかった。52W及び追加材料については現在検索中である。また変異の見つかった一部の例でシークエンスによる確認も現在検討中である。以上の結果から、泳動の至適条件を揃えることによって Non-RI PCR-SSCP法で H-ras 遺伝子の変異が2~3時間で容易に検出されることがわかった。今後も発癌試験における H-ras 遺伝子を含めた癌遺伝子の変化について注目していきたい。
共同研究者: 梶村春彦 (浜松医大第1病理)

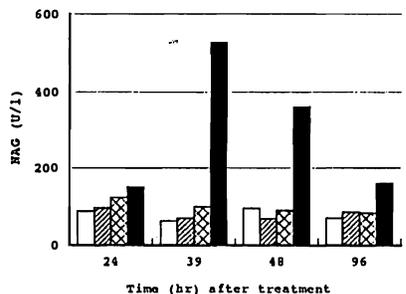
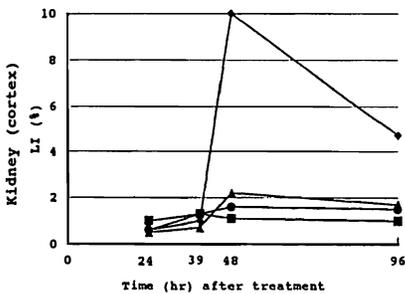
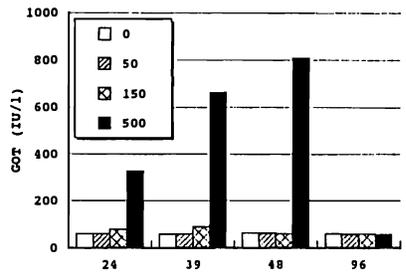
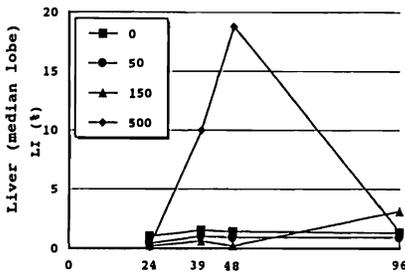
○宮川 誠, 勝田 修, 千田哲士, 村上美枝, 豊田直人,
大塚靖夫, 土谷 稔 (株)三菱化学安全科学研究所)

〔はじめに〕 In vivo-in vitroラット肝RDS(複製DNA合成; replicative DNA synthesis) 試験は, Ames試験陰性の非変異肝がん原性物質を検出する試験法である。本試験は, 単離肝細胞を用いるため被験物質によるRDSの誘発がmitogenicな原因によるものか, cyto-toxicityによる細胞壊死を介したものを識別することはできない。我々はこの点を補完する試験法として, BrdUを用いたin vivoラットRDS試験の検討を実施している。今回, 非変異がん原性物質であるクロロホルムを用いて肝臓, 腎臓, 膀胱における投与量とRDS誘発時間の関係を明らかにし, その生化学および病理像について比較検討した。

〔方法〕 9週齢の雄性F344ラットに被験物質 50, 150, 500mg/kgを単回強制経口投与し, 経時的に各臓器のパラフィン薄切標本を作製した。標本は抗BrdU抗体を用いたLSAB法により免疫組織染色を施した。鏡検は各部位につき1000個の上皮細胞を計数し, Labeling Index (LI)を算出した。なお, 肝臓は内側葉を, 腎臓は皮質, 髓質, 腎盂の3部位を観察した。さらに血液生化学検査(GOT, GPT, BUN, CRE)および尿検査(NAG, GOT, GPT, LDH)を実施した。

〔結果〕 肝臓: 150mg/kg群の96時間にRDSの誘発が見られ, 500mg/kg群の39, 48時間に顕著なRDSの誘発が見られた(左上図)。腎臓: 皮質は500mg/kg群の48, 96時間で(左下図), 髓質は500mg/kg群の48時間で, 腎盂においては500mg/kg群の39, 48時間に顕著なRDSの誘発が見られた。膀胱: 500mg/kg群の48, 96時間にそれぞれ顕著なRDSの誘発が見られた。生化学検査: GOT(右上図), GPTは500mg/kg群の24, 39, 48時間で上昇した。NAGは500mg/kg群の39, 48時間で上昇した(右下図)。病理組織学的検査: 肝臓は500mg/kg群の24, 39, 48時間で肝細胞の肥大と空胞化, また一部で単細胞壊死が見られた。腎臓は500mg/kg群の24, 39, 48時間で尿細管上皮の空胞化と壊死が見られ, 96時間では再生尿細管が見られた。

〔まとめ〕 クロロホルム投与により誘起されたRDSの変動パターンは生化学検査および病理組織学的検査の結果と良く一致しており, これはmitogenicな増生ではなく細胞障害性のpostnecroticな増生によることが明らかとなった。



○千田哲士, 宮川 誠, 勝田 修, 大塚靖夫, 田子 穰, 井上真奈美, 村上美枝,
土谷 稔 (株三菱化学安全科学研究所)

〔はじめに〕 Ames試験で陰性となる非変異がん原性物質が多数存在することが知られている。宇野および吉川は1989年³H-thymidineを用いた既存のin vivo-in vitroラット・マウスの肝RDS(複製DNA合成; replicative DNA synthesis) 試験を改良し, 非変異がん原性物質の検出法を開発した(陽性検出率: ラット; 82%, マウス; 78%)。我々は第23回日本環境変異原学会でin vivo ラットRDS試験がin vivo-in vitroラット肝RDS試験と同様に非変異肝がん原性物質を特異的に検出(84%)できることを報告した。今回は同試験から得られた腎臓, 膀胱, 肺, 胃, 膵臓, 甲状腺について細胞増殖率を算出し, in vivo RDS試験のこれらの臓器への適用性を検討した。

〔被験物質〕 非変異肝がん原性物質19物質, 腎がん原性物質4物質, 膀胱がん原性物質4物質, 膵臓および甲状腺のがん原性物質それぞれ1物質, また非がん原性物質として3物質を使用した。

〔方法〕 被験物質の用量と時間はin vivo-in vitroの肝RDS試験で最大のRDS誘発を示した条件に固定し, 9週齢の雄性F344ラットに被験物質を単回強制経口投与し, 各臓器のパラフィン薄切標本を作製した。標本は抗BrdU抗体を用いたLSAB法による免疫組織染色を施した。腎臓は皮質と髄質, 腎盂, 胃は腺胃粘膜, 肺は肺胞上皮と気管支上皮および膵臓の腺房細胞と甲状腺のろ胞上皮について各部位毎に1000個の細胞を観察してLabeling Index (LI)を算出した。判定は暫定的に無処置群の平均+3SE以上を陽性とし, 自然RDS誘発率の最大値未満を陰性, 両者の間のものを疑陽性とした。

〔結果〕 腎がん原性物質では4物質中3物質が陽性と判定された。また腎のがん原性が報告されていない7物質が陽性, 2物質が疑陽性と判定され, このうち6物質が腎盂特異的なRDSの誘発を示した。膀胱がん原性物質では4物質中2物質が陽性, 1物質が疑陽性と判定された。膀胱のがん原性が報告されていない2物質が陽性, 1物質が疑陽性を示した。肺のがん原性が報告されていない1物質が陽性を示した。膵臓および甲状腺のがん原性物質それぞれ1物質は陰性と判定された。非がん原性の3物質はいずれも肝臓, 腎臓, 膀胱においてRDSの誘発は見られなかった。なお, 全被験物質を通じて胃にはRDSの誘発は見られなかった。

〔まとめ〕 陽性検出率は腎臓が75%, 膀胱については50%であり, これまで報告されている肝臓でのRDS試験に比べ検出率は低く, またfalse-positiveを示した化学物質が多数認められた。今後は臓器毎の最適RDS誘発時間や投与量あるいは投与期間等を検討していく必要があると考える。

Microsatellite DNA polymorphismを指標とした C3H⇔BALB/cキメラマウス大腸癌の単クローン性の検索

○山本昌美¹、増井恒夫¹、深見博子¹、米良幸典²、山口 格²、立松正衛¹
(¹愛知がんセ・研・1病、²ゼリア新薬)

【はじめに】大腸発癌過程における単クローン性増殖を病理組織学的に検索するためにC3H⇔BALB/c集合キメラマウスを作成し、1,2-dimethylhydrazine (DMH)による大腸発癌過程を抗C3H系統特異抗体を用いて免疫組織化学的に検討してきた。今回、polymerase chain reaction(PCR)を用いて、ゲノムにおけるC3HおよびBALB/cのシトシン-アデニン繰り返し配列の相違(Microsatellite DNA polymorphism)が高感度に検出されることに着目し、キメラマウスに発生した腫瘍細胞の由来がDNAレベルで決定可能であるか検索を行った。

【材料と方法】集合法により作成したC3H⇔BALB/cキメラマウス(7週令、雄および雌)にDMH20mg/kgb.w.を週1回20週皮下注射し、投与開始後20週および35週で屠殺した。大腸組織をマイクロウエーブ照射した後、95%アルコール1%酢酸により固定し、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た。抗C3H系統特異抗体陽性および陰性腫瘍部を連続切片よりかき取り、DNAを抽出した後、PCRを用いて複数の常染色体上のmicrosatellite部位についてC3HとBALB/cに特異的なDNA polymorphismを検出し、DNAレベルで細胞由来の検索を行った。

【結果および考察】DMHで誘発されたキメラマウス大腸腺腫および腺癌は、免疫組織染色において抗C3H系統特異抗体陽性のC3Hまたは陰性のBALB/c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。しかし、一部は両者が融合して二次的な多クローン性増殖を示した。これらの腫瘍のMicrosatellite DNA polymorphismは、免疫組織化学的に単クローン性の腫瘍はC3HもしくはBALB/cどちらか一方、多クローン性の腫瘍は両者のパターンが認められ、それらは免疫組織染色の結果と完全に一致した。このことから抗C3H系統特異抗原は大腸腫瘍の発生と進展の過程で変化しないことがDNAレベルにおいて確認され、免疫組織化学的な検索結果の有効性が明らかとなった。また、この検索法によって抗体の存在しない系統を用いたキメラにおいてもDNAレベルでキメリズムの解析が可能であると考えられた。

○梅村隆志¹、加藤君江¹、斎藤実¹、長谷川隆一¹、黒川雄二¹、
谷村顕雄²（¹国立衛試・毒性、²昭和女子大学）

木材の防腐剤、シロアリ駆除剤として使用されているペンタクロロフェノール (PCP) はエームス試験陰性ながらマウスに肝細胞癌を引き起こす事が知られている。生体内代謝物としてテトラクロロヒドロキノンを生産することからその発癌過程に活性酸素の関与が予想されている。事実我々は、PCPを5日間連続強制経口投与するとマウス肝DNA中の8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OH-dG) レベルが上昇する事を明らかにした。そこで今回、PCPを飼料に混じてマウスに投与し、血清生化学検査、肝細胞増殖活性、さらに酸化了的DNA損傷の程度を測定した。

【方法】

基礎飼料(CRF-1)にPCPを300、600および1200 ppmの濃度に混じて6週令のB6C3F1マウス、各群5匹に自由に摂取させた。投与開始後の2および4週目に動物を解剖し、肝比重量、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)活性、肝細胞BrdU標識率(CRF)、および肝細胞核内DNA中の8-OH-dGレベルを測定した。前処置としてBrdU 20 mg/kg体重を解剖2日前より2回/日、解剖2時間前に1回腹腔内投与した。対照群には基礎食のみを投与した。

【結果・考察】

摂餌量より計算した投与量はそれぞれ41、86および200 mg/kgであった。肝比重量は2および4週目で用量相関性を持って上昇し、300 ppm群より対照群に比して有意の変化となった。ALTおよびAST活性は1200 ppm群では2週目より、600 ppm群で4週目より有意の上昇が認められた。しかし、300 ppm群では何れの時期にも有意の変化は認められなかった。CRFは2週目より用量相関性を持って上昇し、300 ppm群より有意の上昇となり、その変化は4週目まで持続した。8-OH-dGレベルは2週目において、300および600 ppm群で対照群に比べて約1.8倍、1200 ppm群では約2.8倍となり何れも有意の値となった(4週目については現在測定中)。PCPのイニシエーション活性およびプロモーション活性については現在試験中であるが、今回認められた肝細胞の持続的な細胞増殖活性がその発癌過程に影響している事が予想された。また、ALTおよびAST活性の上昇が認められなかった300ppm群においても有意な細胞増殖活性の上昇が認められた事から、PCPは代償性細胞増殖とは異なる細胞分裂促進作用を有している事が示唆された。一方、DNAの酸化了的損傷の指標である8-OH-dG付加体が混餌投与によっても投与群の肝DNA中で有意に増加していた事から、PCPの発癌過程に酸化了的ストレスの関与が強く疑われた。また、酸化了的ストレスはその結果として細胞増殖を引き起こす事が知られており、今後はその関連性についても検討していく予定である。

○吉田敏則, 吉田明由, 北沢利明, 木下三佳, 原田孝則,
真板敬三(残農研)

ラット, マウスなどのげっ歯類の肝臓にペルオキシゾームを増殖させる化合物の多くはこれらの動物に対し肝発癌性を示す。しかし, 本系化合物は代表的な前癌病変マーカーであるGST-PやGGTを誘導しないため, 同酵素陽性巣を指標にした短・中期試験モデルでの発癌性の検討は困難である。これらの問題点を考慮し, 種々のペルオキシゾーム増殖剤をラットに投与し, HE染色標本での肝細胞小増殖巣の定量解析を実施し, その有効性を検討した。

〔材料および方法〕

F344ラットの雄 142匹にDEN 200mg/kgをi.p.後, 2週目よりclofibrate(0.3%), di-(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP, 0.3%), dehydroepiandrosterone(DHEA, 0.45%)およびWy-14643(0.01%)を混餌投与し, 試験3週時に2/3肝部分切除を実施した。全経過8, 20および32週時に肝重量測定および生化学的検査〔血清総コレステロール(T.Chol)・トリグリセライド(TG)等, 肝carnitine acyltransferase(CAT)・fatty acyl CoA oxidizing system(FAOS)]を実施し, 肝ホルマリン固定・パラフィン包埋, PCNA(19A2)・HE染色標本における肝細胞小増殖巣の発現状況を画像解析装置を用いて解析した。また, 比較のため, 正常飼料およびDDT(0.05%)を投与する群を設け, 同様の処置を施した。

〔結果〕

肝重量の増加, T.Chol・TGの低下, CAT・FAOSの増加がペルオキシゾーム増殖剤投与群において観察された。肝重量の増加およびTGの低下はDDT群においても観察された。肝の組織検査では, 好酸性/明細胞型, 好塩基性型および両染性型の肝細胞小増殖巣が各群に観察された。DHEA群では8週目より各型の小増殖巣の増加を認め, Wy-14643群では好塩基性型(weakly basophilic)および両染性型の増加がみられた。両群ではこれらの小増殖巣に類似した肝細胞腫瘍が投与20および32週時に観察された。ClofibrateおよびDEHP群では, 好塩基性型および両染性型の軽度の増加が観察された。DDT群では8週目より好酸性/明細胞型が増加し, 投与20および32週時にはこれに類似した肝細胞腫瘍が観察された。対照群およびDDT群にみられた好塩基性型(diffuse basophilic)は, ペルオキシゾーム増殖剤投与群で増加したものとやや染色性が異なっており, また両染性型の頻度は両群では極めて稀であった。

〔考察〕

ペルオキシゾーム増殖剤の肝発癌過程を検索する上で, 通常のHE染色標本での検索が有効であった。ペルオキシゾーム増殖剤投与群では, DDT群とは異なった型の肝細胞小増殖巣が観察され, これらの小増殖巣の発生の増加が本系化合物の肝発癌性過程における特徴のひとつと考えられた。

P-19 ラット肝発癌過程におけるHGFの関与

○今井俊夫、増井恒夫、稲田健一、山本昌美、立松正衛
(愛知がんセ・研・1病)

DENおよび2-acetyl-aminofluorene (2-AAF)、2/3 肝部分切除 (PH) によるラット肝 2 段階発癌モデル (伊東モデル) において、PH 直後より glutathione-S-transferase, placental type (GST-P) 陽性の前癌性結節が観察される。本モデルは、DEN によるイニシエーションの後、2-AAF および PH によるイニシエーションを受けた肝細胞の選択的増殖の促進、即ち 2-AAF による正常肝細胞に対する増殖抑制を利用している。従って、2-AAF の投与期間延長により GST-P 陽性前癌性結節の発育は促進されると考えられる。一方肝細胞増殖因子 (HGF) は成熟肝細胞の強力な増殖因子であり、肝再生因子として重要であるが、発癌過程におけるその役割は明らかではない。今回、上記ラット 2 段階発癌モデルを用い、肝における HGF mRNA レベルを GST-P 前癌性結節の発育との関連のもとに、経時的に検索した。

材料および方法：動物；7週齢F344雄ラット72匹を使用した。実験群；1群-DEN 200mg/kg b.w. 腹腔内投与2週後より150ppm2-AAF混餌投与を2週間、DEN投与3週後にPHを行った。2群-2-AAF混餌投与期間を6週間とし、1群と同様の処置を行った。3群-DENを投与しなかった以外1群と同様の処置を行った。4群-PHのみを行った。各群PH後0、1、8、18、48時間および1、3、5週間で各3匹屠殺し、肝試料を採取した。組織学的検索；免疫組織化学によりGST-P染色を行った。GST-P染色標本により前癌性結節を小型 (ϕ 0.5mm以上、1.0mm未満)、中型 (ϕ 1.0mm以上、1.5mm未満)、大型 (ϕ 1.5mm以上) に区分した。HGF mRNA レベルの測定；ジゴキシゲニン標識ラットHGFアンチセンスRNAプローブを使用し、ドットハイブリダイゼーションを行い、デンストメータを用いて定量解析した。

結果：組織学的検索；PH後1週間で、1(2)群において19.6個/cm²の結節が形成され、大部分が小型結節であった。3週間では1群3.6個/cm²、2群5.8個/cm²、5週間では1群3.6個/cm²、2群12.9個/cm²の中型、大型の結節がみられ、2群におけるGST-P陽性前癌性結節の発育が有意に(p<0.05)促進された。3群および4群には実験期間を通して前癌性結節は殆ど認められなかった。肝におけるHGF mRNA レベル；4群においてPH後8、18時間でピークに達し、48時間以降は低下した。3群においてはPH後1時間で急速に上昇して8時間でピークに達し、18時間以降は低下した。1(2)群においてはPH前より既に上昇傾向にあり、PH直後は3群と同様の傾向を示したが、18時間以降も高値を維持した。2群では3週間、5週間において1群と比較して有意に(p<0.01)高値を持続した。

結論：ラット肝におけるHGF mRNA レベルは、GST-P陽性前癌性結節の形成、発育により高値を維持したことから、発癌過程に強く関与することが示唆された。

○今沢孝喜, 西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎,
吉村博之, 林 裕造, 高橋道人 (国立衛試・病理)

【はじめに】 4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4HAQO)はラットへの単回投与により、膵腺房細胞腫瘍を誘発することが知られている。また、標的細胞の核DNAと付加体を形成し、同時に早期変化として核小体の分離が観察される。今回、標的臓器である膵腺房細胞と非標的臓器である肝細胞におけるApoptosisの出現率を経時的に検索した。【材料および方法】 6週齢雄SDラットに 4HAQO (20mg/kg)を静脈内に単回投与し、2, 4, 6, 8, 24, 48時間後に各4匹ずつを、また72時間後に2匹を屠殺し、膵および肝を摘出した。対照として溶媒投与群を設け、4, 24, 48時間後に各2匹ずつ屠殺した。各臓器は10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定後、常法に従いH&E染色を施し、膵腺房細胞および肝細胞におけるApoptosis細胞の出現率を経時的に計測した。さらに、一部組織を2.5%グルタルアルデヒド溶液で固定し、常法に従い超薄切片を作製し、電顕的に観察した。

【結果】 標的細胞である膵腺房細胞には光顕的に核の凝縮と細胞全体のサイズの縮小がみられ、隣接細胞との間に間隙形成が認められた。同一膵組織の電顕的検索で、腺房細胞に核クロマチンの網状構造の消失や核膜辺縁への半月状の凝縮、核濃縮や核の断片化あるいはApoptotic bodiesなどが確認されたため、上記の組織所見をApoptosisの光顕的マーカーとして計測した。また電顕的に、核小体分離が認められた。膵腺房細胞におけるApoptosisの出現は、4HAQO投与2時間後で平均0.1%強にみられ、その後漸次増加し、投与24時間後で平均10.9%と最も高い出現率を示したが、72時間後では4%まで減少した。一方、投与8時間後に軽微のNecrosisがみられ、以後漸次進行し、72時間後では中等度から高度のNecrosisが観察された。肝細胞および対照群の膵腺房細胞においては、ApoptosisないしNecrosisはほとんど観察されなかった。【考察】 4HAQOは、発癌の主たる標的細胞である膵腺房細胞にApoptosisを誘発することが明らかとなった。Apoptosisの出現率は投与24時間後で最高に達し、72時間後では明らかに減少したのに対し、NecrosisはApoptosisの出現より遅延してみられ、時間の経過とともに進行した。Necrosisの出現は、この実験で投与した4HAQOの量が最小発癌用量の数倍であることから、4HAQOの毒性に起因している可能性があるが、いずれにしても非標的細胞である肝細胞ではApoptosisもNecrosisもほとんどみられなかった。以上のことから、4HAQO誘発の膵発癌機構におけるApoptosisの関与が示唆された。

Azoxymethane 誘発ラット腸管発癌に対する新規レチノイド、5-hydroxy-4-(2-phenyl-(E)-ethenyl)-2(5H)-furanone (KYN-54) の post-initiation相投与による抑制効果

○川森俊人、田中卓二、大西将美、杉江茂幸、森 秀樹
(岐阜大・医・1 病理)

レチノイドは様々な実験系で発癌抑制効果が報告されている。我々は新しく合成されたレチノイドである 5-hydroxy-4-(2-phenyl-(E)-ethenyl)-2(5H)-furanone (KYN-54) の initiation相投与による azoxymethane (AOM) 誘発ラット腸管発癌に対する抑制効果を報告した。今回、KYN-54 の post-initiation相投与による AOM 誘発ラット腸管発癌に及ぼす影響を検討した。

[材料と方法]

7 週齢の雄 F344 ラット 150 匹 (日本 SLC) を使用し、5 群 (各 30 匹) に分け以下の処置を行った。第 1-3 群は週 1 回、AOM を 15 mg/kg 体重、3 週間、皮下注射した。第 2-4 群は、実験開始後 4 週までは基礎食 CE-2 を、実験開始後 4 週より実験終了までそれぞれ KYN-54 を 100, 200, 200 ppm の濃度で混餌投与した。第 1, 5 群は実験期間中基礎食 CE-2 を投与した。実験期間は 32 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 (ACF) の発生頻度を検討した。また、非腫瘍部の大腸粘膜の ornithine decarboxylase (ODC) 活性と大腸粘膜上皮の bromodeoxyuridine (BrdUrd)-index も検討した。

[結果]

腸管腫瘍は AOM 投与群 (第 1-3 群) にのみ認められた。KYN-54 投与による毒性は見られなかった。KYN-54 投与群 (第 2, 3 群) は AOM 単独投与群 (第 1 群) に比し、腫瘍発生率、ラットあたりの腫瘍の発生個数が少なく、その抑制効果は高濃度群 (第 3 群) で著明であった ($P < 0.005$, $P < 0.05$)。また大腸の単位面積あたりの ACF の数は、KYN-54 投与群では第 1 群に比し有意に少なかった ($P < 0.05$)。大腸粘膜の ODC 活性、大腸粘膜上皮の BrdUrd-index も KYN-54 投与群では第 1 群に比し低下していた。

[まとめ]

新規合成レチノイドである KYN-54 は AOM 誘発ラット腸管発癌モデルで post-initiation 相に投与にて腸管発癌を抑制することが判明した。また、その抑制効果には細胞増殖抑制、大腸 ACF 抑制が関与していることが示唆された。KYN-54 はヒト大腸腫瘍に対する chemopreventive agent の可能性が示唆される。

○田中卓二、牧田浩樹、大西将美、井野夏子、川森俊人、森 良雄、森 秀樹（岐阜大・医・1病理）

レチノイドは種々の *in vitro*, *in vivo* 実験で発癌抑制作用が報告されそのなかのいくつかは chemopreventive agent ないし therapeutic agent として臨床応用が進行中である。しかしながら、レチノイドには hypervitaminosis A に関連した副作用が指摘されており、より効果的な発癌抑制作用を有し且つ毒性の少ない新規レチノイドの開発が行なわれている。なかでもアロチノイドは毒性が従来のレチノイドより少なく、また動物実験モデルでの発癌抑制作用が知られているが、現在のところ DMBA 誘発乳癌モデルでの報告がみられるのみで、口腔領域を含む他臓器での発癌修飾作用の検討はなされていない。我々はこれまで 4-NQO 誘発ラット口腔発癌モデルを用いていくつかの天然物や合成化合物の発癌抑制作用を報告してきたが、今回は新規アロチノイドである Ro 40-8757 についてラット口腔発癌に及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】

6週齢の雄F344ラット70匹（日本SLC）を使用し、5群に分け以下の処置を行なった。第1群（19匹）は20 ppmの4-NQO（和光純薬）を飲用水に溶解して8週間投与後、水道水・基礎食CE-2（日本クレア）で23週間維持した。第2群（16匹）と第3群（16匹）は第1群と同様4-NQOを投与し、同時に4-NQOの投与1週間前から投与終了後1週間の間 Ro 40-8757をそれぞれ250 ppm、500 ppmの濃度で10週間混餌投与した。第4群（8匹）はRo 40-8757（500 ppm）のみを実験期間中投与した。第5群（11匹）は無処置対照群とした。Ro 40-8757は田中 裕博士（日本ロシュ）より供与されたもので、上記の2濃度で混餌投与した。実験期間は32週とし、実験終了時に犠牲死させ、剖検後10%ホルマリンで口腔・舌を含む全臓器を固定、組織学的検索を行ない、口腔・舌における前癌性病変・腫瘍の発生頻度を測定した。口腔病変の診断はWHOの診断基準（Oral Surg. 46:518-539, 1978）に従った。同時に舌のポリアミン量、非病変部におけるBrdU標識率、AgNORs数について画像解析装置を用いて定量を行なった。

【結果】

実験期間中Ro 40-8757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1-5群それぞれ354±22 g、357±36 g、340±17 g、351±27 g、349±21 gで第3群（4-NQO+Ro 40-8757）が第1群（4-NQO）に比べ有意に低値を示した（ $P<0.05$ ）。第1-3群の口腔（舌）の乳頭腫、癌（扁平上皮癌）の発生頻度はそれぞれ第1群：5/19（26%）、11/19（58%）、第2群：2/16（13%）、2/16（13%）、第3群：1/16（6%）、1/16（6%）で第2、3群の癌発生頻度がいずれも第1群に比し有意に低下していた（ $P<0.05$ ）。また、第2、3群の前癌性病変（過形成、異形成）の発生頻度〔第2群：2/16（13%）、3/16（19%）；第3群：3/16（19%）、2/16（13%）〕も第1群〔16/19（84%）、13/19（68%）〕に比し有意に低下していた（ $P<0.05$ ）。第2、3群でみられた非病変部のBrdU標識率、AgNORs数/核も第1群に比し有意に低下していた（ $P<0.05$ ）が、舌組織のポリアミン量には低下傾向を認めたものの第1群との間に有意差はみられなかった。

【考察】

以上の結果より、新規アロチノイドRo 40-8757はラット口腔発癌モデルでinitiation相に投与すると口腔発癌を抑制することが判明した。また、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。今後、同発癌モデルでpost-initiation相投与によるRo 40-8757の発癌修飾作用を検討する予定である。

A Myelolipoma With Trabecular Bone Formation
Arising From A Hepatocellular Adenoma of
The Liver in A B6C3F1 Mouse

○Junji Kuroda, Katsuhiko Yoshitomi (Sandoz, Tsukuba Res Inst)

We report the first case of a hepatic myelolipoma with bone formation arising from a hepatocellular adenoma in a mouse. [ANIMAL & TUMOR] A 111-week-old female B6C3F1 mouse had a 3 x 5 x 6 mm, red mass at the left lobe of the liver. Histologically, this mass was a hepatocellular adenoma with a focus of myelolipoma, which consisted primarily of admixtures of mature adipose tissues and myeloid cells including erythroid cells, a small number of megakaryocytes, and hemosiderin-laden macrophages. This myelolipoma also contained several trabecular bones associated with varying numbers of osteoblasts.

[DISCUSSION] Hepatic myelolipoma is extremely rare in man and animals. As the etiology of the tumor, there are a few hypotheses: hamartoma, liver cell metaplasia, and ectopic adrenal gland. The only case of a human hepatic myelolipoma with bone formation originating from a hepatocellular adenoma was interpreted as a hamartomatous growth because of the presence of adipose tissues. This interpretation "hamartoma" is questionable because a hamartoma is a tumor-like malformation characterized by an abnormal mixing of the normal components of the organ. No bone normally exists in the liver. The present bone formation is not secondary to dystrophic calcification because the tumor lesion was free from degeneration, necrosis, and mineralization. The true significance of hepatic myelolipoma is not clear, but the present tumor would be a heterotopia but not a true tumor.

○溝口靖基¹, 増井恒夫², 小川久美子¹, 矢田英昭¹,

今井田克己¹, 白井智之¹ (¹名市大・医・1病理, ²愛知がんセ・研・1病理)

【目的】我々は被検物質の発癌性の有無を短期に検出する多臓器中期発癌性試験法を開発し, 被検物質として用いたN-nitrosomorpholine (NM)の投与により発生した肝細胞癌が高率に肺転移を来すことを認め, 実験的な移転モデルとして有用であると考えた。今回このモデルを用い肝細胞癌の肺転移巢の細胞学的特性を組織化学的に検討した。

【実験方法】6週齢の雄F344ラットを用い, 臓器標的性の異なる5種類の発癌物質を最初の4週間に投与した(DMBDD処置)。すなわち, DEN(100mg/kg)を単回腹腔内投与し, 第1,2週にMNU(20mg/kg)を4回腹腔内投与, 0.05%BBNを飲水投与, さらに第3,4週にDMH(40mg/kg)を4回皮下投与, 0.1%DHPNを飲水投与した。5週目から120ppmのNMを飲水投与し, 実験期間28週で屠殺した。このほか, DEN-NM群およびNM単独投与群, DMBDD処置のみ群を設けた。今回は肝臓の腫瘍性病変, 肺転移巢を中心に病理組織学および胎盤型glutathione S-transferase (GST-P), α -fetoprotein (AFP)などを免疫組織化学的に検討した。

【結果】肝細胞癌はNMを投与した群全てのラットに認められ, DMBDD-NM群で8/10例(80%), DEN-NM群で15/15例(100%), NM単独投与群で9/15例(60%)に肝細胞癌の肺への転移を認めた。また, 肝細胞癌の肺転移巢の数は肺の単位面積あたり(No./cm²), DMBDD-NM群, DEN-NM群でそれぞれ20.2±26.7, 21.3±33.8とNM単独投与群の0.5±0.5に比べて有意に高度であった。DMBDD処置のみの群では肝細胞癌の発生は認められなかった。免疫組織化学的検索の結果, NMを投与した原発巣では種々の分化度, 形態を示す肝細胞癌がみられ, 多くはGST-P陽性であったが, AFPは腺腔様構造部などに限局性に染色された。一方, 肺では血管内にみられる転移巢あるいは血管外に浸潤している転移巢が認められ, GST-Pは多くの転移巢で陽性であったが, DMBDD-NM処置群とDEN-NM処置群を比較すると後者に強く染色される傾向がみられた。肺転移巢ではAFPはほとんど陰性であった。

【結論】DMBDD-NM群ならびにDEN-NM群にみられた肝細胞癌の肺への転移は高頻度で悪性腫瘍の転移を検索する実験モデルとして適切であることが確認された。転移巢における免疫組織化学的特性は認められず, 肝細胞癌の転移能と細胞表現形質に一定の関係を見いだせなかった。

○佐竹 茂, 野村正治, 千早 豊, 李 建中, 岡崎啓幸,
永田良一, 宮寫宏彰 (新日本科学)

尿路系の移行上皮は腎盂, 尿管, 膀胱および尿道の粘膜を構成し, とときにこれら粘膜上皮の異常増殖や化生が起こるが, カニクイザルでの移行上皮化生の発生報告はあまりない. 今回, カニクイザルの腎集合管における移行上皮化生の1例に遭遇したので報告する.

症例はインドネシア原産の雌で, 安全性試験の対照群として用いられた推定年齢3~8歳のカニクイザルである. 一般状態, 血液・尿検査および剖検時の肉眼的観察では, 異常はみられなかった. 腎臓は速やかに10%中性緩衝ホルマリン液にて固定後, 常法に従い脱水, パラフィン包埋, 薄切後HE染色により, 組織学的検査を行った.

右腎臓の腎乳頭部から皮髓の境界部におよぶ広範な集合管に移行上皮の化生がみられた. 上皮細胞には異型性はなく, 厚いところで7層に及ぶ上皮細胞層より構成されていた. 最上層は扁平な移行上皮細胞よりなり, 規則正しい配列, 明らかな極性がみられたが, 核分裂像はほとんどみられなかった. 細胞質には, カニクイザルの腎盂粘膜移行上皮で一般的にみられる細胞質内好酸性封入体が散見された. 皮質近くでは化生上皮は4層程度になり, 正常な上位集合管上皮への移行がみられた. 上皮の多層化により乳頭部が肥大し, 部分的な尿路機能障害のためごく一部に糸球体と尿細管の退行性変化がみられた. 腎盂および膀胱粘膜の移行上皮に異常はみられなかった. また, 左腎臓および全身の器官・組織にとくに異常はみられなかった.

ヘテロサイクリックアミン MeAaCの長期投与ラットに観察された腎臓障害の病理組織学的検討

○萩原昭裕、玉野静光、田中 光、長谷川良平、白井智之（名市大・医・1病理）

【目的】 我々は、肉や魚などの加熱調理食品中に含まれているヘテロサイクリックアミンであるMeAaCを長期間ラットに投与すると肝臓、膵臓、その他に発癌性を示すのみならず、発癌標的臓器以外においても種々の非腫瘍性病変を発現させることを見出した。今回、MeAaCの長期投与に起因した腎病変について α 2Uグロブリンとの関連において病理組織学的に検討した。

【方法】 6週齢のF344系の雌雄ラットでのMeAaCの発癌性試験における腎臓を用いた。MeAaCを飼料中濃度0.08%で26週間、0.04%では52週間、0.02および0.01%では100週間投与した各20匹を剖検し、尿検査、血液生化学検査、および病理組織学的検査を実施した。また、免疫組織学的に α 2Uグロブリン染色およびPCNA染色を行わない検討を行った。

【結果】 26週間0.08%投与群および52週間0.04%投与群において、尿検査では尿量の増加と尿比重の低下を、血液生化学検査ではBUN値の著明な上昇を、臓器重量では腎臓重量体重比の高値を認めた。病理組織学的に軽度～重度の慢性腎症を認めた。尿細管上皮細胞におけるPCNA標識率の上昇を認めたが、 α 2Uグロブリン陽性の硝子滴の出現には対照群との間に差異を認めなかった。100週間0.02%投与群でもBUN値の上昇および慢性腎症を認めたが、0.01%投与群では著変を認めなかった。

【結論】 MeAaCによる腎毒性は、近位尿細管上皮細胞に対する直接的作用によるものであり、 α 2Uグロブリンの関与は少ないものと考えられた。

○千早 豊, 李 建中, 佐竹 茂, 岡崎啓幸, 永田良一,
宮嶋宏彰 (新日本科学)

サルの原発性腎腫瘍の報告は, Jones and Casey (1981) の 17 例およびその他 30 例の報告がみられるが, その発生頻度はきわめて低い. 今回, カニクイザルに発生した原発性腎腫瘍に遭遇したので報告する.

症例はインドネシア原産の雌で, 安全性試験の対照群として用いられた推定年齢 3 ~ 8 歳のカニクイザルである. 一般状態および血液・尿検査では異常はなかった. 剖検時の肉眼的観察では左腎臓の包膜面に直径約 5 mm の白色結節が 1 カ所認められた. 剖面で白色結節は皮質領域に限局しており, 周囲との境界は明瞭であった. 腎臓は速やかに 10% 中性緩衝ホルマリン液にて固定後, 常法に従い脱水, パラフィン包埋, 薄切後 HE 染色により, 組織学的検査を行った.

皮質領域に軽度の結合織に囲まれた嚢胞がみられた. 嚢胞内には毛細血管と微細線維からなる乳頭状構造がみられ, その構造を中心とする上皮性腫瘍細胞の乳頭状増殖がみられた. 腫瘍細胞は, 大型不定形で円形ないし楕円形の淡明な核を持ち, 核仁は明瞭で, 核分裂像はみられなかった. 細胞質は豊富で, 好酸性微細顆粒状または空胞状を呈していた. この微細顆粒は PAS 陽性であった. また, 腫瘍細胞による管腔形成がみられ, 嚢胞壁の内側では腫瘍細胞の一層ないし数層からなる管腔構造が散見された. 以上の所見から明細胞腫 (Clear cell adenoma) と診断した.

○町田一彦、山口達也、相内聖峰（実医研・病理）

ビーグル犬とカニクイザルの精巣は、形態学的に類似点もあるが、精子発生周期ではビーグル犬で8周期、カニクイザルでは12周期と異なっている点が多い。本実験では両動物の精細胞、セルトリ細胞および間細胞の形態について比較検討したのでその結果を報告する。

〔材料及び方法〕 ビーグル犬（14ヶ月齢、12～15kg）およびカニクイザル（推定年齢6-8歳、4.0kg前後）の精巣を採取した後、ブアン液及び一部を10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬固定し、常法に従って顕微鏡用試料を作製し、また精巣を2%グルタルアルデヒド-0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）に浸漬固定し、以下常法に従って電顕用試料とした。

〔結果〕 イヌと比較し、サルでは精母細胞の核仁は明瞭であり、円形精子細胞の核内クロマチンは局所的に凝集し、同細胞の先体小胞は小型であった。

さらにサルのセルトリ細胞では管腔側により多くの核が存在し、細胞質内に多量の脂肪滴が含まれていた（Photo.1）。イヌでは同細胞質内に比較的多くのライソゾームが認められた（Photo.2）。

サルでは間細胞は少なく、細胞質内に多数の細長いミトコンドリアとより少ない同心円状配列を示す滑面小胞体が認められた。一方、イヌでは比較的多くの間細胞がみられ、細胞質内に球状のミトコンドリアを含んでいた

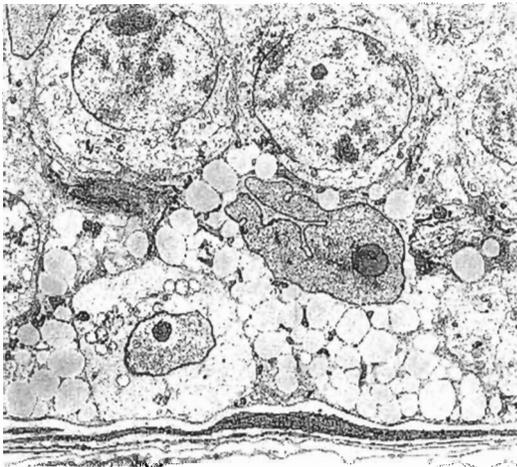


Photo. 1 (×2200)

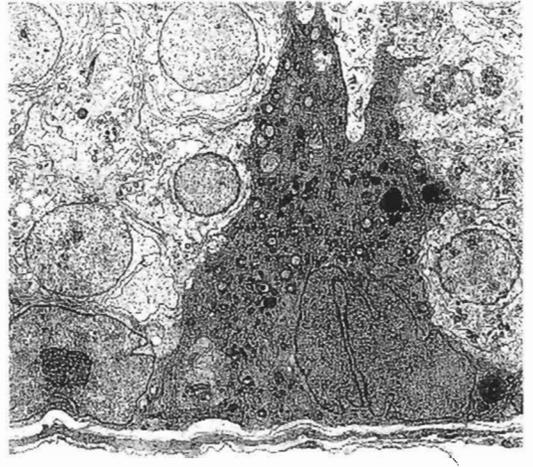


Photo. 2 (×2200)

○高木 司郎, 上村 裕洋, 堀添 宏, 竹内 正紀
(吉富製薬, 安全研)

【緒言】

高用量のハロペリドール投与によりラットに精巣障害が発現することが知られている。しかし、その初期像あるいは経時変化に関する詳細な報告は少ない。今回、ラットの精巣障害を精子形成ステージ毎の精細胞計数により評価した結果、初期変化と思われる像を認めたので報告する。

【材料および方法】

6週齢の雄Crj:CD(SD)ラットにハロペリドールの30および60mg/kgを4週間経口投与した。投与期間終了後に精巣をブアン固定し、H.EおよびPAS染色標本を作製して光顕的に観察した。また、ステージⅡ-Ⅲ、Ⅴ、ⅦおよびⅫの精細管について精細胞数を計数した。

【結果および考察】

60mg/kg投与群では、ステージⅦの精細管のパキテン期精母細胞の変性・壊死、ならびにステージⅦおよびⅫのパキテン期精母細胞数の減少がみられた。また、30mg/kg以上の投与群ではライディッヒ細胞の萎縮がみられた。ステージの経過時間を考慮すると、ステージⅫのパキテン期精母細胞数の減少は、投与3週目以降にステージⅦのパキテン期精母細胞が障害を受けたことに起因すると考える。

下垂体摘出ラットや、抗LH抗体あるいはエタン-1,2-ジメタンスルホネイトを投与したラットでは、テストステロンの分泌が減少し、今回の試験と同様の障害がみられることが報告されている。また、ハロペリドールは、中枢ドパミン受容体遮断作用により、ゴナドトロピン分泌の抑制を介してテストステロンの分泌を抑制するとされている。したがって、ハロペリドールによるラット精巣障害には、テストステロンの分泌抑制が関与していると考ええる。

【結論】

ハロペリドール投与によるラット精巣障害の初期像は、ステージⅦのパキテン期精母細胞の変性・壊死であり、これはテストステロンの分泌抑制により二次的に発現したと推定する。

P-30 Nitrazepam 経口投与によるラット雄性生殖毒性

○丸山敏之、金森 進、佐々木和則、村岡義博、岸 倉次郎
(塩野義製薬・新薬研究所)

[目的] Benzodiazepine 系化合物の多くが、高用量投与時ラットに雄性生殖毒性を示すことが知られているが、その発現機序は明らかでない。Benzodiazepine 系化合物投与による雄性生殖毒性の発現機序を解明する目的で、ラットに nitrazepam を連続経口投与し、精巣の病理組織学的・免疫組織化学的および電子顕微鏡的観察を行い、同時に行なわれた精子検査成績、交配試験での交尾率および受胎率の成績と比較検討した。また、血漿中および精巣あたりのテストステロン含量を測定し、精巣障害と下垂体性腺系の変化との関りを検討した。[方法と結果] 6週齢の雄 Jcl:SD ラットに、0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁した nitrazepam 20, 40, 80 および 100 mg/kg を4週間経口投与した。80 mg/kg 以上の群で体重および精巣・精巣上体重量の減少が、40 mg/kg 以上の群で、組織学的に精子細胞の明らかな減少を主な所見とする精子低形成が観察され、この変化は生殖細胞の分化度による精細管の分類およびステージ分類にもとづく生殖細胞数の検討の結果からも確かめられた。また、精母細胞の変性、Sertoli 細胞の空胞化および Leydig 細胞の軽度な腫大および増数が 40 mg/kg 以上の群でみられ、同様の所見は電子顕微鏡でも確認された。精巣上体では、40 mg/kg 以上の群で精巣上体管腔内に細胞残屑が認められ、80 mg/kg 以上の群では精巣上体管腔内精子の減少が認められた。精巣間質の Leydig 細胞のテストステロン、下垂体 LH 分泌細胞の LH の免疫組織化学的染色態度に異常は認められず、血漿中あるいは精巣あたりのテストステロン含量にも変化はみられなかった。精子検査の結果、40 mg/kg 以上の群で精巣の sperm head count および精巣上体の精子数減少が認められた。80 mg/kg 以上の群ではさらに精子運動性の低下がみられ、アクリジンオレンジで橙-赤に蛍光染色される未熟精子および頭部奇形精子のわずかな増加もみられた。交配試験では、交尾率に異常は認められなかったが、80 mg/kg 以上の群では受胎率の著減がみられた。

[結論] Nitrazepam によるラット雄性生殖毒性は、下垂体性腺系のホルモン分泌の変化を介したものではなく、精細管に対する直接作用により誘発される可能性が示された。また、組織学的観察結果から、Sertoli 細胞が標的の一つである可能性が示唆された。

○ 宇都宮忠実、林一彦、岸和正（大塚製薬、琵琶湖研究所）

[はじめに] ラットの精子性肉芽腫は、DL-Ethionine、Guanethidine、Closantel等の薬剤投与で報告されているが、自然発生については、Sprague-Dawley (SD) 系での報告があるのみで、Wistar系では見られていない。今回、当研究所のWistar系ラット（日本クレア）において、自然発生と思われる精子性肉芽腫が認められたので報告する。尚、比較の意味から、同時にSD系ラット（日本クレア）についても検討したので報告する。

[材料および方法] 動物は、日本クレアより4-8週齢で購入したものを、環境条件をコントロールした飼育室で、剖検時（5-17週齢）まで飼育した。飼料（CE-2, 日本クレア）および水（滅菌水道水）は、自由に摂取させた。精子性肉芽腫について、Wistar系ラット58匹（5-17週齢）、SD系ラット106匹（9-17週齢）を、肉眼的および組織学的（HE染色）に検査した。

[結果および考察] Wistar系ラットでは、9週齢（2/4）、12週齢（1/5）、13週齢（1/1）、14週齢（5/14）と計9例に精子性肉芽腫が認められたが、5週齢（0/24）、8週齢（0/6）および17週齢（0/4）には認められなかった。SD系ラットでは、9週齢（1/5）の1例に精子性肉芽腫が認められたが、10週齢（0/2）、11週齢（0/5）、12週齢（0/21）、13週齢（0/30）、14週齢（0/17）、15週齢（0/14）、17週齢（0/12）には認められなかった。発生部位は、Wistar系ラットでは、全例精巢上体尾部に認められたが、SD系ラットでは、精巢上体頭部に認められた。尚、両側に発生する例は認められず、全例1側のみに発生していた。肉眼的には、黄白色の3-6mmの結節として認められ、組織学的には、肉芽腫の中心に精子塊が見られ、それを取り囲むように、程度の差はあるが炎症性細胞浸潤を伴う肉芽性反応が認められた。

本症の発生原因のひとつとしては、感染等の可能性も考えられるが、細菌学的な検査は実施していないので、この点に関しては不明である。しかし、飼育環境の影響を考慮して、同一条件で飼育したSD系ラットとの比較を行ったところ、発生率および発生部位において異なる結果を示した事より、系統差による影響が示唆された。

○田川正志, 村越正典, 稲田理恵, 江口勝也, 堀内 敏, 久田 茂, 鈴木 稔 (帝国臓器製薬・安全研), 竹腰 進, 渡辺慶一 (東海大・病理)

【目的】

前立腺過形成は, androgenあるいはandrogenとestrogenの協調作用で誘発されることが知られている. 今回は, 前立腺における過酸化脂質の還元酵素であるGSH-POの動態を, ホルモン刺激と関連させて形態学的 (免疫細胞化学的局在観察) 及び生化学的 (酵素活性及びmRNAの定量) に解析を試みた.

【材料と方法】

雄SDラット(8週齢)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 propionate (TP) 1mg/head 3日間連日皮下投与群
- ④去勢2日後TP 1mg/head 7日間連日皮下投与群
- ⑤去勢2日後TP 1mg/head + 17 β estradiol-3-benzoate (EB) 10 μ g/head 3日間連日皮下投与群
- ⑥去勢2日後TP 1mg/head + EB 10 μ g/head 7日間連日皮下投与群

前立腺腹葉を対象に形態学的検討及び生化学的検討を実施した.

- A: 形態学的検討: a)中性緩衝ホルマリン固定後のパラフィン切片を用いてHE染色
b)4% PLP固定後の凍結切片を用いてGSH-PO染色
- B: 生化学的検討: a)GSH-PO活性測定, b)GSH-PO mRNA定量

【結果】

②群では腺上皮は萎縮したが, ③⑤群では回復し, さらに④⑥群では肥厚を呈した. GSH-POは, ①群では腺上皮細胞内に存在したが, ②群ではほとんど消失し, 他の群では回復性を示した. また, ④⑥群では染色性が増強されて観察された. 免疫電顕的には, ④⑥群でcytosolのみならず, lysosome様構造内にGSH-POの局在性が認められた. GSH-POの活性は, ②群で減少したが, ホルモン投与に伴い有意に増加した. また, GSH-PO mRNAのレベルも上述の酵素活性と一致した結果となった.

【考察】

前立腺ではホルモン刺激 (主に testosterone) に伴い, 脂質過酸化及び過酸化脂質の生成が惹起されるために, GSH-PO蛋白も誘発されると判断された. すなわち, 前立腺内のGSH-POは, testosterone-dependentと考えられた. また, GSH-PO発現の誘導及び抑制制御が遺伝子の翻訳レベルで行われているのか, あるいは転写レベルかは不明であったが, ホルモンによるGSH-PO発現制御は, 転写レベルで行われていることが明らかとなった.

P-33 膀胱発癌プロモーターである(2)-t-butyl-4-hydroxyanisoleに対するスナネズミの感受性

○森 聖^{1, 2}、村井 隆^{1, 2}、細野素子¹、橋本世津子¹、
武内康義¹、武田禮二¹、福島昭治²
(¹塩野義製薬・油日ラボ、²大阪市大・医・1病理)

【はじめに】 膀胱発癌物質であるN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)に対して、スナネズミがラットやマウスと同様に膀胱のみに発癌性を示し、さらに誘発された癌の多くが浸潤性を示すことを以前に報告した。一方、(2)-t-butyl-4-hydroxyanisole (BHA)は、F344系ラットの雄においてBBNによる膀胱発癌をプロモーションするが、マウスでは発揮しないことが明らかにされている。そこで、BBNを前投与したスナネズミにおいて、BHAがプロモーション作用を示すかどうかを検討した。

【材料および方法】 5週齢のMGS/Sea [SPF]のMongolian Gerbil (スナネズミ)雄60匹は成和実験動物研究所(福岡県)より入手し、飼育環境に1週間順応させたのち実験に使用した。BBNは東京化成より、BHAは和光純薬より購入した。基礎飼料としてオリエンタルMFを用いた。

実験群の設定：第1群では20匹に0.05%BBN水溶液を6週間投与した後、2%BHA添加MF飼料を30週間給餌した。第2群では20匹に0.05%BBN水溶液を6週間投与した後、MF飼料のみを30週間給餌した。第3群では10匹に水道水のみを6週間投与した後、第1群と同様な処置を施した。第4群は10匹で、無処置対照群とした。実験開始36週間後にスナネズミを屠殺し、膀胱粘膜病変の発生を病理組織学的に検索した。

【成績】 膀胱癌、乳頭状あるいは結節状異形成および単純性異形成は、BBN→BHAの第1群およびBBNのみの第2群に発生し、乳頭腫はいずれの群にも発生しなかった。すなわち、第1および2群における癌の発生率は、15%(3/20)および10%(2/20)であり、そのうち浸潤性癌は33%(1/3)および100%(2/2)と高率に発生した。乳頭状あるいは結節状異形成の発生率は15%(3/20)および10%(2/20)であり、単純性異形成のそれは40%(8/20)および30%(6/20)であった。

【結語】 スナネズミ膀胱に対して、BHAは発癌プロモーション作用を発揮しないことが明らかとなった。

Sodium L-ascorbate(Na-AsA)の投与期間によるラット膀胱二段階発癌プロモーション作用の差

○陳 天新、北野光昭、岩田裕之、鰐渕英機、福島昭治
(大阪市大・医・1病理)

【目的】ラット膀胱二段階発癌におけるsodium L-ascorbate(Na-AsA)のプロモーション作用は濃度依存性を示す。本研究ではNa-AsAのプロモーション作用が投与期間に依存性であるか否かを検討した。

【方法】F344ラット30匹(雄、6週齢)を10匹ずつ3群に分けた。実験期間は12週間とし、0-4週まで0.05%N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine(BBN)含有飲料水を各群に投与した。その後5%Na-AsA含有粉末飼料を第1群には8週間、第2群には4週間投与した。第2群については、8-12週まで基礎飼料を投与した。第3群はBBN投与のみのコントロール群で、4-12週まで基礎飼料を投与した。実験開始12週間後にBrdUを腹腔内投与し、その1時間後に屠殺した。膀胱を病理組織化学的ならびに免疫組織化学的に検索し、腫瘍発生頻度ならびに上皮細胞増殖能を算出した。

【結果】第1、2群における膀胱癌(Transitional cell carcinoma)の発生率はそれぞれ60%、10%であり、腫瘍(Papilloma)の発生率はそれぞれ60%、40%であった。対照群には腫瘍の発生はなく、PN過形成のみが観察された。第1群は、第2群に比べ腫瘍発生率の増加がみられたが、有意差はなかった。さらに、免疫組織染色におけるBrdU陽性細胞数の結果についても投与期間に依存して上昇する傾向があったが、有意差はなかった。

【結論】ラット二段階膀胱発癌におけるNa-AsAのプロモーション作用には投与期間依存性が存在し、それには細胞増殖能が関与していることが明らかにされた。

○高場克己^{1, 2}, 中川善裕¹, 伊藤聖一¹, 吉武彬¹,
鰐淵英機², 福島昭治² (¹住友化学・生科研, ²大阪市大・1病理)

【はじめに】最近、ラット膀胱発癌プロモーション作用において、雄ラット特有たんぱく質である $\alpha 2u$ -グロブリン($\alpha 2u$ -glb)関与の可能性が報告されている。そこで、我々は、 $\alpha 2u$ -glbを先天的に欠損するNCI-Black-Reiter(NBR)ラットが発癌プロモーター検出系である膀胱中期発癌性試験法に供試できるか否かを明らかにするために、イニシエーターであるBBNに対するNBRラット膀胱の感受性について、形態変化および細胞増殖面から検討した。

【材料と方法】動物は、米国NCIより供与後自家繁殖させた39週齢の雄NBRラット12例を用いた。試験期間は8週間であり、BBN投与群(0.05%飲水投与)と無処置対照群を設けた。試験期間中、尿検査(尿pH、尿量と尿電解質)、摂水量および摂餌量測定を2回(4・8週目)実施した。試験終了後、全動物を屠殺し、膀胱と腎臓についてH&Eおよび抗BrdU免疫染色標本を作製し、光学顕微鏡的に検査した。また、腎臓では、抗 $\alpha 2u$ -glb免疫染色標本を作製し、尿細管上皮細胞における $\alpha 2u$ -glbの沈着の有無を確認した。このほか、BBN投与群では、投与4週目に動物を中間屠殺し、同様の病理組織学的検査を行った。

【結果】BBN投与により、膀胱移行上皮の単純およびPapillary and nodular(PN)過形成が全例(5/5例)、扁平上皮化生が60%(3/5例)に認められた。膀胱および腎盂の移行上皮のBrdU陽性率は、BBN投与群で高く、特に膀胱では有意であった($p < 0.001$)。4週間で中間屠殺したBBN投与動物でも、膀胱粘膜の単純過形成が全例(4/4例)に認められ、膀胱および腎盂の移行上皮のBrdU陽性率も高値であった。このほか、腎臓における $\alpha 2u$ -glbの沈着は対照およびBBN投与群とも認められなかった。また、尿検査、摂水量および摂餌量測定において対照群とBBN投与群との間に明らかな差は認められなかった。

【まとめ】雄NBRラットの膀胱はBBNに対して感受性を有することが示され、NBRラットが4週間のBBNイニシエーション処置を行う膀胱中期発癌性試験法に利用できることが明らかとなった。

○村井 隆^{1, 2}、森 聖^{1, 2}、細野素子²、橋本世津子²、
大原忠雄²、牧野 進²、武内康義²、武田禮二²、福島昭治¹
(¹ 大阪市大・医・1 病理、² 塩野義・油日ラボ)

我々は、第5回日本毒性病理学会で水腎症が約30%前後自然発生するNON/Shi(NON)雄マウスに N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)を投与すると、転移形成能をもつ腎盂癌および膀胱癌が発生することを報告した。今回は、NONマウスにおけるBBNによる癌の発生率を、NONの姉妹系統マウスであるCTS/Shi (CTS、水腎症発症)およびNOD/Shi (NOD、水腎症非発症)マウスと比較した。

[材料および方法] 3系統のマウス(油日ラボラトリーズ)はすべて8週齢の雄を用い、第1と2群はNONマウスとしそれぞれ25と25匹、第3と4群はCTSマウスの24と19匹、第5と6群はNODマウスの25と24匹とした。第1、3および5群に0.1%BBN水溶液を、第2、4および6群に0.05%BBN水溶液をそれぞれ8週間投与後、24週間休薬した。実験開始32週目に屠殺し、腎臓、膀胱および転移部を病理組織学的に検索した。

[成績] 腎盂癌の発生率は0.1%BBN投与群では第1、3および5群でそれぞれ5/25、5/22および0/25であり、その転移は第1群にのみみられ4/5であった。0.05%BBN投与群の腎盂癌の発生率は第2、4および6群でそれぞれ13/25、3/19および0/24であり、その転移率は第2群において10/13であった。

膀胱癌の発生率は0.1%BBN投与群では第1、3および5群でそれぞれ14/25、11/22および1/25であり、その腹腔内播種あるいは転移の発生率は第1および3群で2/14および1/11であった。0.05%BBN投与群の膀胱癌の発生率は第2、4および6群でそれぞれ11/25、12/19および0/24であり、その腹腔内播種あるいは転移の発生率は第2および4群で2/11および3/12であった。

[結論] 1. 腎盂癌の発生には系統差が認められ、その発生はNON>CTSの順に高く、NODでは全く発生しなかった。また、腎盂癌の転移はNONにのみ観察された。2. 膀胱癌の発生には腎盂癌と同様に系統差が認められ、BBNに対する感受性はNON=CTS>NODの順であった。また、膀胱癌の腹腔内播種あるいは転移はNONおよびCTS の少数例に観察された。

○田中 光、柴田雅朗、宮田恵美子、広瀬雅雄、白井智之
(名市大・医・1病理)

【はじめに】BBN 誘発ラット膀胱癌は通常乳頭状の非浸潤癌であり、老齢ラットでは若齢に比較してその発癌感受性が高いことが報告されている。一方、BBN 誘発のマウス膀胱癌は非乳頭状で、しかも高率に浸潤癌への進展を示すことが知られており、ヒト膀胱癌のモデルとしてラット同様マウスにおいても極めて重要である。今回、ヒト膀胱癌の実験モデルとして、マウスにおける加齢による発癌感受性の差異を検討した。

【方法】ICR 系雄マウスを用い、6週齢の25匹を若齢群に、36週齢の25匹を中間齢群に割り当てた。両群とも実験開始時よりBBNを0.025%の濃度で飲料水中に混じ、12週間投与した。その後、更に12週間無処置で飼育した後、全経過24週で屠殺剖検し、膀胱を中心に病理組織学的に検索した。また、膀胱病変の経時的変化を調べるため、BBN投与後4および12週に各群それぞれ5匹ずつ屠殺した。なお、4週屠殺時の動物については投与初期の膀胱上皮における細胞増殖能をみるため、5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) によるBrdU標識率を算定し、DNA合成の指標とした。【結果】4週経過時では、dysplasiaが若齢群および中間齢群でそれぞれ4例(80%)および5例(100%)にみられ、BrdU標識率はそれぞれ2.1%および1.8%であり、両群に差異は示されなかった。12週経過時では、若齢群にdysplasiaが4例(80%)、移行上皮癌と扁平上皮癌の混在癌が1例(20%)に認められ、漿膜を越える浸潤癌であった。中間齢群においてはdysplasiaが5例(100%)、乳頭状ないし結節状(PN) dysplasiaが1例(20%)に発生した。最終屠殺時では、若齢群および中間齢群でdysplasiaが15例(100%)および14例(93%)に、PN dysplasiaが2例(13%)および4例(29%)に、移行上皮癌が3例(20%)および2例(14%)にそれぞれ認められ、両群における病変の発生率は同程度であり、いずれも浸潤癌への進展は観察されなかった。また、中間齢群で血管腫が1例(7%)にみられた。【結論】マウス膀胱癌の発生過程は、dysplasiaよりPN dysplasiaが発生し、次いで癌が発生することが確認された。しかしながら、若齢と中間齢との間には膀胱発癌の感受性に全く差異は見出されず、初期細胞増殖においても全く差異は示されなかった。

血管新生阻害剤TNP-470によるウラシルおよびビーズ誘発ラット膀胱乳頭腫症の増殖抑制効果

○鰐淵英機、岩田裕之、堀高明、林修次、福島昭治（大阪市大・医・1病理）

【目的】

TNP-470の血管内皮細胞増殖抑制作用によるウラシルおよびビーズによりラット膀胱に誘発される粘膜上皮の可逆性乳頭状増殖病変（乳頭腫症）の上皮および血管増殖抑制効果を検討した。

【方法および結果】

実験1： Uracil 誘発ラット乳頭腫症に対するTNP-470の効果を検討した。7週齢のF344ラット雄を用い、1) 3%ウラシル含有飼料群 2) 3%ウラシル含有飼料+TNP-470処置群 3) TNP-470処置対照群 4) 無処置対照群を設けた。処置群にはTNP-470を30mg/kg、週3回皮下注射を施行した。ラットは2、4、8週後に屠殺し、膀胱を病理組織学的に検索するとともに、種々の血管および上皮の増殖因子に対する抗体を用いて免疫組織学的に検索した。その結果ウラシル群は2週より無処置対照群に比し、膀胱結石形成を伴った著明な膀胱重量の増加を認め、組織学的に粘膜上皮の乳頭状増殖と血管の新生を認めた。ウラシル+TNP-470処置群では、この粘膜下の血管新生と粘膜上皮の乳頭状増殖の抑制が見られ、膀胱重量もウラシル群に比し有意に減少していたが、同時に結石重量の減少も伴っていた。このことは、粘膜上皮の増殖抑制がTNP-470の増殖抑制効果と結石減少に起因する二次的な結果による可能性を示唆している。なお、bFGF、PDGF、PDGFレセプター、TGF α 、EGFに対する抗体では乳頭腫症の上皮、新生血管ともに陽性所見は得られず、これらの増殖因子の関与は明らかでなかった。

実験2： 結石の形成がTNP-470に影響されないビーズによるラット膀胱乳頭腫症を作成し、TNP-470の効果を検討した。7週齢のF344ラット雄を用い麻酔下に腹部切開後、膀胱頂部より ϕ 1.5mmのプラスチック性ビーズを8個切開注入した。TNP-470処置群には30mg/kg、週3回皮下注射を施行し、対照群には溶媒のみを注射した。また、膀胱切開のみを施行した無処置対照群も設けた。ラットは2、4週後に屠殺し、現在、膀胱を病理組織学的に検査中である。

【まとめ】

TNP-470はウラシル誘発ラット膀胱乳頭腫症で血管の新生を抑制し、上皮の増殖を抑制する可能性が示唆された。この際、bFGF、PDGF、EGF、TGF α の関与は明らかではなかった。また、結石形成の抑制がこの効果に与える影響については現在検討中である。

P-39 BBN誘発マウス膀胱癌における
p53 癌抑制遺伝子の解析

○山本晋史^{1,2}、増井恒夫¹、森 聖²、村井 隆²、中西速夫¹、福島昭治²、
立松正衛¹ (¹愛知がんセ・研・1病、²大阪市大・1病)

[目的]われわれはBBN誘発ラット膀胱癌において、癌抑制遺伝子の一つである p53 遺伝子の変異がヒトの膀胱癌と同様、高率に起こることを報告している。また H-ras 遺伝子の変異は低率ながら種々のラット膀胱癌において認められている。今回、BBN投与によって誘発したマウス膀胱癌におけるこれらの遺伝子の変異の有無について検索した。

[方法] 6週齢のNON/Shi雄マウスに、0.05-0.2% の種々の濃度でBBNを12週間飲水投与し、発生した18例の膀胱癌よりDNAを抽出した。p53のExon5-8、H-rasおよびK-rasExon1,2についてPCR-SSCP法により検索を行ない、得られた異常バンドからDNAsequencerによるDNA塩基配列の決定をおこなった。

[結果]SSCP法による解析では、p53遺伝子のExon5(5/18例)、Exon6(4/18例) Exon7(7/18例)計13/18(72%)に、変異を示す異常バンドが認められた。一方、H-ras遺伝子のExon1-2においては2/18例、K-ras遺伝子のExon1には1/18例にのみ異常がみられた。塩基配列の解析によりそれぞれの変異を確認したが、その全例が、1つの塩基の置換を示す点突然変異であり、p53のExon7の1例(non-sense mutation)を除いて全てアミノ酸配列の異常を伴っていた。

[考察]今回、BBN誘発マウス膀胱癌過程において、p53遺伝子の変異がラットの場合と同様、高率に認められた。また、組織学的にもBBN誘発マウス膀胱癌はヒトの浸潤性進行癌と類似していることより、マウス膀胱癌実験はp53遺伝子が膀胱癌の進展過程にどのように関与しているかを知る良いモデルとなることが示唆された。

○松田 勉、大年辰幸、堀 高明、北野光昭、福島昭治

(大阪中沢・区・1病室)

〔目的〕ヒト膀胱にcytochrome P-450 4B1(CYP 4B1)が存在することが最近報告された。そこで今回はラット膀胱におけるCYP 4B1の存在を確認するために抗ラットCYP 4B1抗体を用いて免疫組織学的ならびにWestern blotting法により膀胱の正常粘膜、uracil誘発乳頭腫症及びBBN誘発乳頭腫を検討した。特に今回の研究ではラット膀胱を免疫組織染色するのにあたり最良の固定方法、抗体希釈濃度等を決定するとともに、ラット膀胱におけるCYP 4B1の局在及び正常粘膜と乳頭腫における染色性の差異を検討した。また、Western blottingによって膀胱におけるCYP 4B1の存在を確認した。

〔方法〕F344ラット5週齢雄を用い、2群に分けた。第1群には基礎飼料に3%uracilを加え、第2群には基礎飼料のみを投与、4週後に屠殺し、膀胱をアセトン、カルマ、ブアソ、ホルマリソ固定し、残りを凍結保存した。各種固定標本で、抗体希釈濃度を変えCYP 4B1の免疫組織染色を行い、凍結標本においてCYP 4B1のWestern blottingを行った。また、0.05%BBNを4週投与した後32週無処置で飼育したラット膀胱ホルマリソ固定切片の免疫組織染色を行った。

〔結果〕CYP 4B1の免疫組織染色にはホルマリソ固定が最適で、抗体希釈濃度は750倍でback groundが薄く比較的よく染色されていた。局在部位としては膀胱粘膜に発現しており、しかも3%uracil投与群では乳頭腫症の被覆粘膜において比較的強く染色されていた。また、第2群の凍結標本においてWestern blottingでCYP 4B1の存在が確認された。比較対照として用いた0.05%BBN投与群では乳頭腫が比較的均一に染色されていた。

〔結論〕CYP 4B1の染色にはホルマリソ固定が最適であり、CYP 4B1が膀胱粘膜に局在していることが確認された。今後、膀胱粘膜内における発癌物質の代謝的活性化の観点から追究の予定である。

P-41 加齢F344ラットの下垂体後葉に観察される増殖性変化

○岩田 聖、勝又由加、山本慎二、三上真一、山川誠己、広内康彦、小林和雄、榎本 眞
(安評センター)

【はじめに】F344ラットに自然発生する下垂体病変の多くは、前葉あるいは中間葉に観察される加齢性変化でありその報告も多い。しかし、下垂体後葉についての情報は少なく本学会でも阿瀬ら(1994)の報告があるのみである。今回我々は、長期毒性試験の背景データからF344ラットの下垂体後葉の増殖性変化に注目して組織学的検索を行った。

【材料と方法】材料は当センターで実施された長期毒性試験21試験(雄:3,700 雌:4,100)中に観察された下垂体後葉の増殖性変化を集積した。なお、被検物質投与群に認められた症例では被検物質に対する影響が下垂体がないことを確認し、全て自然発生病変と考えた。動物はF344/DuCrjラット、実験52週から104週で計画屠殺あるいは切迫屠殺された。飼育はSPF環境下個別飼育、飼料は水道水と共に自由摂取させた。剖検後材料は通常の如く10%PBSホルマリン固定、パラフィン包埋しH.E.染色を施した。また、必要に応じ特殊染色、免疫染色を行い参考とした。

【結果】1. グリア細胞増生 Gliosis: 30例(雄29 雌1)殆ど雄に発生した。

2. 腺様増生 Glandular cell hyperplasia: 4例(雄1 雌3)に発生した。内2例は肉眼的に赤色の結節として認められた。好酸性の豊富な細胞質を有しcytokeratin, P.A.S.反応に陽性を示す唾液腺に類似した腺様細胞が充実に増殖している。全例とも前葉と中間葉との間にラトケ嚢の遺残が観察され、一部に管状細胞の増生も随伴して認められた。
3. 管状細胞増生 Tubular cell hyperplasia: 5例(雄3例 雌2例)に発生した。中間葉と後葉境界領域に立方上皮あるいは線毛立方上皮からなる管状構造が認められた。5例中2例で前葉と中間葉との間にラトケ嚢の遺残が観察された。
4. 下垂体後葉細胞腫 Pituitary adenoma: 1例(雄)に発生した。肉眼的には8mmの白色肥大性病変として観察された。
5. 神経節細胞腫 Ganglioneuroma: 1例(雌)に発生した。肉眼的には5mmの結節として観察された。

【考察とまとめ】加齢F344ラットの下垂体後葉に観察された非腫瘍性増殖性変化としては、グリア細胞増生が最も頻繁に観察された他、腺様増生、管状細胞増生が認められた。腺様増生および管状細胞増生はラトケ嚢の遺残を随伴しており、口腔外胚葉を由来とするラトケ嚢上皮を発生母地とした増殖性病変が下垂体後葉に迷入したものと考えられた。

Lansdown(1971)らもラットに見られるラトケ嚢の異常として、今回我々の報告する管状細胞増生と同じ変化をラトケ嚢の遺残に随伴する小型の二次性嚢胞として報告している。

腫瘍性病変としては、極めてまれな例として下垂体後葉細胞腫、神経節細胞腫がそれぞれ1例に観察された。

以上のようにF344ラットの下垂体後葉では、グリア細胞増生とラトケ嚢上皮に由来した増殖性変化(腺様増生、管状細胞増生)が日常我々の鏡検業務に際し特に留意すべき病変と思われた。

国松武史、○棚橋清子、渡辺知幸、奥野泰由、川崎一、田中啓介¹、高橋正一²

小野寺博志³、三森国敏³(住友化学、¹三菱化成、²佐々木研、³国立衛試・病理)

【目的】ビタミンA(VA)の抗腫瘍活性については、古くから報告されているが、相反する報告も見られ、明確な結論は得られていない。我々は、甲状腺の二段階発癌性試験において、チオウレア(TU)およびVAの同時投与により、甲状腺濾胞上皮の増殖性病変が促進されることを報告した(第83回病理学会)。これらの甲状腺増殖病変に対するVAの修飾作用のメカニズムを解明するため、まず、前回の実験からTUおよびVAの同時投与群において、 T_4 の代謝亢進を示唆する肝薬物代謝酵素の誘導が増強されているか否かについての検討を行い、さらに、ヨードの取り込みあるいは有機化に影響があるか否かを確かめるため、4週間の短期投与実験を行った。

【方法】実験I：雄F334ラットにN-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) 280mg/100g体重を一回皮下投与し、その一週間後より蒸留水のみ(第1群)、0.2%TU含有水(第2群)と0.2%TU含有水と0.1%VA含有飼料(第3群)を19週間自由摂取させた。各群の肝について病理学的に検索し、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GSTP)に対する免疫染色を行った。実験II：雄F334ラットに蒸留水のみ(第1群)、0.1%TU含有水(第2群)、0.1%VA含有飼料(第3群)、0.1%TUと0.1%VA(第4群)を4週間自由摂取させた。投与終了後、動物を屠殺し、甲状腺、下垂体および肝臓重量の測定、甲状腺ホルモンおよび甲状腺におけるヨードの取り込みおよび有機化測定、肝臓のUDP-GT酵素活性測定、肝臓、下垂体および甲状腺の病理組織学的検査を行った。

【結果】実験I：第2と3群の肝の相対重量は第1群に比し有意に増加し、第3群の相対重量は第2群に比べても有意に増加した。組織学的には小葉中心性細胞腫大が第2と3群に発現したが第3群の病変の程度は第2群に比し著しく顕著であった。これらの腫大肝細胞はGSTPに陽性であった。実験II：第2群では第1および3群に比べて、体重の増加抑制、肝臓および甲状腺重量の増加、血中 T_4 の減少、甲状腺におけるヨードの取り込みおよび有機化の阻害、甲状腺における濾胞のコロイドの減少が認められた。TUとVA同時投与の第4群においては第3群と同様の変化がみられたが、両群間に明かな差はみられなかった。

【結論】実験Iより第3群での甲状腺増殖性病変の細胞増殖活性の増加には肝における T_4 等の薬物代謝酵素誘導の増強が関与しているものと考えられた。一方、実験IIではTU単独とTU+VA投与との間に明かな差異はみられず、TUとVAの複合による甲状腺に対する作用の発現にはTUとVAのさらに長期にわたる投与が必要であることが推察された。

○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)

【目的】

ラットの副腎皮質萎縮を誘発させるCMAを用いて、超微形態学およびandrogen receptor (AR)の局在性の面よりホルモン産生能についての解析を試みた。

【材料と方法】

雄SDラット(6週齢)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

副腎を摘出、重量測定後、以下の如く処置し検索した。

(A)10%中性緩衝ホルマリン固定後のH⁺エッチング切片を用いてH. E. 染色

(B)2.5%グルタルアルデヒド/1% OsO₄固定後の超薄切片を用いて超微形態学的観察

(C)未固定の凍結切片を用いてAR染色

【結果】

副腎重量は、CMA投与に伴い著明に低下し、形態学的には、皮質内層(束状層と網状層)の著しい萎縮を伴った。超微形態学的には、(1)束状層細胞でのミトコンドリアsizeの減少、vesicular cristaeの消失とtubulo-vesicular cristaeの出現、小型の脂肪顆粒の増加とGolgi complexおよび滑面小胞体の減少(2)網状層細胞でのミトコンドリアsizeの僅かな減少とその基質内でのparacrystalline structureの増量の特長的に認められた。免疫組織化学的にARは、①群では皮質全層の皮質細胞の核に明瞭に局在したが、髄質ではnegativeであった。一方、CMA投与で萎縮した皮質細胞層でも対照群と同様にARが皮質細胞の核に明瞭に局在した。

【考察】

CMAは、glucocorticoid様活性をもつことから、特にラットの副腎に対しては抑制的(萎縮)に働くと考えられている。副腎皮質の球状層では、aldosteroneが、束状層では、corticosteroneが、また網状層ではandrogenが生合成され、分泌されている。CMA投与で萎縮した、特に束状層でミトコンドリア内cristaeがtubulo-vesicularに変化して観察されたことは、corticosterone合成・分泌の低下を示唆する所見とも考えられた。また、ARが皮質の細胞の核に局在したことは、autocrineの可能性を示唆する所見とも考えられた。CMA投与で萎縮した皮質細胞の層にも同様にARが局在したことは、副腎性androgenは、CMA投与後も減少しないことが更に推察された。

○林 新茂、森 郁生、野々山 孝、宮寫宏彰（武田薬品・薬安研）

【はじめに】 精巣腫瘍の組織発生は、1) 胚細胞由来、2) 精索／性腺間質由来、および 3) 付属器、漿膜ならびに軟部組織由来に大別される。ヒトの精巣腫瘍では、胚細胞由来の例が圧倒的に多く、その90%以上を占める。これに対し、加齢F344ラットでは、ほぼ100%の両側に精索／性腺間質由来の間細胞腫が自然発生するが、その他の型の腫瘍は中皮腫を除くと極めて稀である。われわれは、がん原性試験に用いたF344ラットの1例に自然発生の精上皮腫(セミノーマ)を認めたので報告する。

【材料と方法】 動物は、当研究施設で2年間、個別に飼育されたSPFのF344/Jclラットで111週齢時に剖検された。飼育中、粉末飼料と水は自由に摂取させた。ルチーンの方法に従って、腫瘍／一般状態観察、体重および摂餌量を測定した。病理学的検査は全身諸臓器のHE染色に加えて、精巣についてはPAS染色、弾性線維染色ならびに抗ヒト胎盤型-ALP(PLAP)、抗c-myc、抗PCNA抗p53および抗ras^{p21}抗体を用いた免疫組織学的検査を実施した。

【結 果】 飼育中の観察では、90週齢時から左精巣の矮小化、109週齢時から右精巣の腫大、110週齢時から腹腔内腫瘍が触知された。剖検時の体重は284g(平均体重:341g)であった。肉眼的には左精巣は著しく萎縮(7×3×3mm)し、右精巣は灰白色充実性の腫瘍(22×15×15mm)で占められ、断面は膨隆性、分葉状で壊死巣を交えていた。さらに、肺に灰白色の多発結節(径1~5mm)、右腸骨リンパ節の腫大(10mm)および右腎門リンパ節の腫大(30mm)がみられた。組織学的に右精巣では細胞境界が明瞭な多角形／円形の腫瘍細胞が敷石状に配列し、大きな胞巣では中心部に壊死がみられた。腫瘍細胞の細胞質は好酸性顆粒状で、PAS陽性のグリコーゲン顆粒をもち、類円形の核が胞体の中心に位置していた。核／細胞質比は高く、核分裂像は多かった。腫瘍細胞の細胞膜はPLAP陽性、核はc-myc陽性、PCNA陽性率は50%であったが、抗p53および抗ras^{p21}抗体については、いずれも陰性であった。腫瘍の間質は繊細な血管結合織からなっていた。また、肺およびリンパ節には転移がみられた。一方、左精巣では、精細管の萎縮、石灰化および形質細胞浸潤がみられた。その他の全身臓器に著変はなかった。

【ま と め】 以上の成績から、本症例を定型セミノーマと診断した。F344ラットの精巣における胚細胞腫瘍は、これまで精母細胞性セミノーマが知られているが、定型セミノーマは本例が初めての報告である。

○加藤浩司、二口 充、高橋 智、佐野真士、森 敏男、
白井智之（名市大・医・1病理）

我々は3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB)とtestosterone propionate (TP)で誘発したラット前立腺癌モデルを確立してきた。このモデルを用いて発生した浸潤性前立腺癌をヌードマウスに移植し、継代可能な移植系を確立したので報告する。

【実験方法】

1) ラット前立腺癌の誘発

F344ラットにDMAB(50mg/kg 隔週1回計10回皮下投与)及びtestosterone propionate (40mg 含有シリコンチューブ皮下埋植)の投与により前立腺癌を誘発した。腫瘍組織はラット前立腺背側葉由来及び肝転移病巣由来の腫瘍組織を採取した。

2) ヌードマウスへの移植・継代

採取した腫瘍組織を細切し、それらの一部を移植針にてヌードマウス(ICR-nu/nu)の背部皮下2カ所に移植した。その後経時観察し、移植腫瘍の長径が1~2cmに発育した時点で腫瘍組織を採取、細切し、同系マウスに移植、継代した。以後、継代を繰り返した。

【結果・考察】

我々が保持するラット前立腺癌のヌードマウス移植系は、前立腺背側葉由来の分化型腺癌3系統及び低分化型腺癌2系統、肝転移病巣由来の分化型腺癌1系統の計6系統である。移植腫瘍の継代4~8代目の平均倍加時間は、前立腺背側葉及び肝転移病巣由来分化型腺癌が約8~11日、低分化型腺癌が約13日であった。腫瘍の継代を経ることによる組織型の変化はほとんど認められなかった。また全ての系統で転移が高率に認められ、特に肺への転移は、継代6代目において肝転移病巣由来の分化型腺癌では0%であったが、分化型腺癌では33%~100%の頻度で認められた。また低分化型腺癌の継代3代目における肺転移の頻度は50%であった。まれではあるが、腎臓、心臓にも転移が認められた。肺転移を来した例では、転移先の組織像は移植した腫瘍の組織像と大差なく、分化度の明かな相違は認められなかった。腎臓転移例では、移植した腫瘍の組織像に比べ、分化度が低い傾向がみられた。なお、アンドロゲンレセプターはいずれの移植系においても免疫組織学的には認められなかった。

以上、ラット前立腺癌の移植系を確立したと考える。この移植株は高転移性でもあり、転移の機序を検索する有用な手段にもなり得る。

P-46 Progesterone 投与によるラット陰核腺腫瘍の発生

○久田 茂, 堀内 敏, 村越正典, 田川正志, 稲田理恵, 佐藤敦子, 飯塚和弘, 増田修治, 伊藤清子, 高橋香奈子, 鈴木 稔 (帝国臓器製薬・安全研)

【はじめに】

齧歯類の雌にみられる陰核腺は雄の包皮腺と相同の器官である。これらはナワバリ行動などの性行動に関連するフェロモン様物質を分泌する器官と考えられている。その増殖と分泌機能は, testosterone や下垂体ホルモン (成長ホルモン, プロラクチン及び副腎皮質刺激ホルモン) により調節されていると言われてい。我々は, progesterone (以下, pro) を長期間にわたって投与した雌ラットで陰核腺腫瘍発生率の増加を認めたので報告する。

【材料と方法】

5週齢の雌 F344 ラット 150 匹を用いた。各群の動物数は 50 匹とし, I 群には溶媒として用いたゴマ油(1ml/kg), II 群には pro 100mg/kg, III 群には pro 200mg/kg をそれぞれ週 2 回 (月, 金), 2 年間背部に皮下投与した。投与期間中には体重及び摂餌量を測定し, 剖検時には, 主要臓器の重量を測定後に, 病理組織学的検査

を実施した。

【結果とまとめ】

Pro 投与群で, 全試験期間を通じて体重及び摂餌量が増加し, 80 週以降には陰核腺領域の結節の増加がみられた。臓器重量では, 下垂体及び肝臓重量が増加し, 副腎, 子宮及び卵巣重量が減少した。また, 腫瘍発生例を除いた陰核腺重量の増加が認められた。

病理組織学的には, 下表に示すとおり陰核腺腫瘍発生率の増加が認められた。陰核腺の増殖性病変は, 過形成, 腺腫及び腺癌に分類した。腺房構造が明瞭なものを腺腫, 腺房構造が不明瞭で弱い浸潤性増殖がみられたものを腺癌とした。腺腫は腺癌に比して小さく, また, 腺癌は腺の破綻及び被覆する皮膚の潰瘍を伴うものが多かった。

これまでのところ, 雌の陰核腺の調節機構は明らかとなっていないが, 今回の結果により, pro が陰核腺の増殖に何らかの影響を与えている可能性が示唆された。

表 陰核腺担腫瘍動物数

群	投与量 (mg/kg, 2回/週)	動物数	過形成	腫瘍性病変			
				腺腫	腺癌	その他	計
I	0	49	12	4	0	0	4
II	100	50	10	6	7**	0	13**
III	200	48	8	11*	11**	1	22**

*,** P<0.05, 0.01

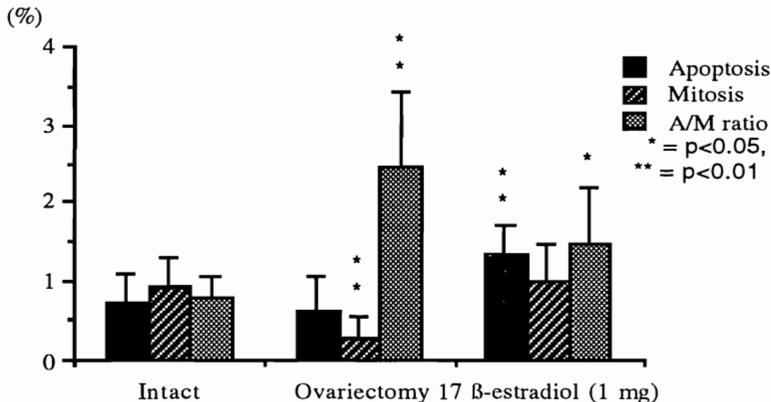
岡崎啓幸^{1,2)}, 大町勝美^{1,2)}, 李建中^{1,2)}, 二反田隆夫¹⁾, 小玉拓郎¹⁾, 永田良一^{1,2)},
吉田浩己¹⁾ (1: 鹿大一病理, 2: 新日本科学)

<緒言> 我々は第10回日本毒性病理学会(1994)において近交系雌ラットに妊娠と授乳に類似したホルモン環境を作出し, 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)による乳癌の発生を観察した結果, Estrogen大量投与によりDMBA誘発乳癌が抑制されることを報告した. 今回は, この乳癌の抑制機序について検討した.

<材料および方法> Sprague-Dawley (SD) 近交系雌ラットに, 生後4週齢より2週間間隔でDMBA (10 mg/body)を3回経口投与し, 誘発した乳癌組織を生後70日齢の同系雌ラットに移植し3~5週間を経て, 適当な大きさに成長したのを確認後, 3群に分け, I群は溶媒投与群, II群は卵巣摘出+溶媒投与群, III群は17- β estradiol (E₂) 1 mg投与群とした. ホルモンと溶媒は, 週3回筋肉内投与し, その間, 移植部の触診を週2回行った. 投与7, 14, 21および28日後に屠殺し, 乳癌重量を測定後, 冷ホルマリン液およびホルマリン液で固定し, DNA fragmentationを認識するApop Tak™染色とH・E染色を施し, apoptotic cellsをカウントした. また, Br-dU投与1時間後に屠殺し, Br-dU陽性細胞数とmitotic cellsをカウントした.

<結果と考察> E₂ 1 mgを投与したIII群の動物の乳癌には著明な乳汁分泌が認められた. 投与21日目では, E₂ 1 mgを投与したIII群のH・E染色標本で顕微鏡的に把握されたapoptotic cellsとApop Tak™陽性細胞が統計学的に有意に増加した. 卵巣を摘出したII群ではmitotic cellsとBr-dU陽性細胞数が有意に減少した.

以上の結果より, estrogen大量投与によるDMBA誘発乳癌抑制効果はcell deathの亢進している結果でapoptosisの関与が示唆された. 現在, estrogen投与後7, 14および28日目のデータを解析中であり, その成績も合わせて報告する.



Apoptotic, Mitotic Cells and Apoptosis/mitosis Ratio of Mammary Carcinomas on the 21st day after Ovariectomy or First Injection of Estradiol

岡田忍, 宮川秀人, 桶田理喜 (東京医科歯科大学難治研神経病理)

緒言

乳腺腫瘍は、ラットにおいてはしばしば観察される病変であり、電離放射線照射によりその発生頻度が増加することが報告されているが、これは全身照射を行った場合で、乳腺も直接照射を受けている。今回、我々は脊髄放射線壊死作製を目的として背部局所にX線を照射したラットにおいて乳腺腫瘍の発生を認めたので報告する。

症例

動物はWistar系ラット雌で、10～12週齢にかけて仰臥位に固定した状態で側方より胸骨剣状突起を中心とした1×3cmの範囲にX線30Gyの照射を行った。照射4～6ヵ月後の屠殺時に1例は腹部皮下、1例は頸部皮下にそれぞれ3×2×1.5cm、3×2×2cmの腫瘍を認めた。

肉眼及び組織所見

腹部の腫瘍は硬く、断面は黄白色で周囲組織との境界不明瞭、頸部の腫瘍は一部に暗赤色ゼリー状の内容物を入れたシストの形成を認め、充実性の部分は黄白色調であった。組織学的には、いずれの腫瘍も乳腺由来で、腹部の腫瘍は典型的な線維腺腫の像を示し、頸部の腫瘍は腺癌であった。腺癌の例では、比較的異型性の少ない上皮細胞が明かな腺管構造を呈して乳頭状に増殖する部分から、小型～紡錘型の異型性の強い腫瘍細胞の増殖を主体とする部分まで多彩な組織像を有し、壊死や核分裂像も認められた。

考察

組織像および発生時の週齢からいずれの腫瘍もX線照射により誘発されたものと考えられた。非照射部位である乳腺に腫瘍が発生したメカニズムについては不明であるが、免疫系の抑制を介している可能性もあり、現在検討中である。

放射線治療は外科的切除、化学療法と並んでヒトの癌治療の柱を成し、これらを併用することにより高い治療効果が期待される。またその副作用を軽減するため、できる限り腫瘍にのみ放射線が照射されるよう様々な努力がなされているが、今回のように非照射部位である乳腺に腫瘍が誘発されたことから、特に抗癌剤の安全性試験の成績をヒトに外捜する場合には放射線治療との併用の可能性についてもある程度考慮する必要があるのではないかと思われる。

○鈴木雅実, 坂牧義之, 三好昌夫, 杉本哲朗, 鈴木繁生, 二本力夫*
(中外製薬・安全研, *エス・エル・エー研究所)

【目的】 Granulocyte colony stimulating factor(G-CSF)は、主に顆粒球系に作用する造血因子であり、造血細胞あるいは好中球への作用については種々の報告がなされている。先に我々は、recombinant human G-CSF(rhG-CSF)のヒト臨床用量の50~500倍に相当する大量をラットへ反復投与することにより、末梢血白血球数の増加や骨髓の顆粒球系を主体とする cellularity の上昇など造血系の変化に加え、骨吸収ならびに骨形成など骨組織の変化が認められることを報告した(第83日本病理学会総会)。今回、rhG-CSF大量投与に伴う骨組織の変化を経時的に観察し、初期病変の把握による病理発生の検討を行ったので報告する。

【材料および方法】 6週齢のSD系雄ラットに臨床用量の500倍に相当するrhG-CSFの1000 μ g/kgを1, 2, 3, 4, 7, 14, 28日間反復皮下投与した。剖検後、大腿骨~趾骨に至る後肢骨を20%中性緩衝ホルマリン液で固定し、EDTA脱灰を施した後、常法に従いHE染色標本を作製した。また、一部の骨については20%中性緩衝ホルマリン液で固定後、塩化シアヌル・メタノール液で処理し吉木法による類骨染色を施した。

【結果および考察】 骨の組織像は経時的に変化したが、主な特徴は次の通りであった。骨梁辺縁に明瞭な刷子縁を有する多数の破骨細胞が存在し、骨組織が虫喰様に吸収されている破骨細胞性骨吸収の亢進像が観察され、その周囲は間葉系細胞に置換されていた。また、間葉系細胞置換部位の一部には不規則な形で類骨を主体とする woven bone が認められた。その表面は塩基性の豊かな胞体と核近傍の明瞭なゴルジ野など活性期の特徴を有する骨芽細胞に一層ないし数層に覆われ、内部には軟骨のcore(spicule of calcified cartilage)がみられず、骨芽細胞に類似した塩基性の豊かな胞体を有する類円形の幼若な骨細胞を埋めることより、膜内骨化による骨形成像と判断された。

経時的には、破骨細胞性骨吸収の亢進が3日後より、膜内骨化による骨形成が7日後より認められ、いずれも投与期間を経るに従い増強した。また、骨吸収が初期に観察されたことに加え、いずれの投与期間においても骨吸収が骨形成の発現頻度を上回っていた。骨の変化は生理的に破骨細胞の働きが盛んな部位に観察され、初期には主に骨幹端の一次、二次海綿質移行部骨梁に、その後投与期間を経るに従い、骨幹端の二次海綿質骨梁、骨端骨梁、骨幹骨内膜部に認められた。

以上、rhG-CSF大量投与による骨の変化は、生理的に破骨細胞の働きが盛んな部位に好発し、病理発生については、破骨細胞性骨吸収が先行し、その後、膜内骨化による骨形成が起こるものと推察された。

○大町 康, 戸和秀一, 久米英介, 宮崎登志子, 鳥海 亙, 岩崎 仁, 大塚峯三
(田辺製薬・薬物代謝研)

【緒言】 6-sulfanilamidoindazole (以下SAI) の反復経口あるいは皮下投与によりラットの四肢に関節炎が誘発されることは古くから知られているが, その病理発生については現在なお不明とされている. 今回, 我々はSAIによる関節炎の発現機作に関する知見を得るため、まずSAIによるラット関節炎の作出を試みた.

【材料および方法】 実験には9週齢のSD系雄ラット20匹を用いた. 試験群は溶媒投与群とSAI(Aldrich) 500mg/kg投与群の2群を設け (各群n=10), SAIを1日1回, 20回反復経口投与した. 動物は7および20回投与翌日にそれぞれ各群5匹をエーテル深麻酔下で安楽殺し, 解剖を行った. 採取した四肢を10%中性緩衝ホルマリン液にて固定後, X線検査を行った後, 脱灰し, 常法に従いパラフィン切片を作製し, HE染色を施し鏡検を行った.

【結果】 SAI投与群では投与期間中体重の増加抑制ないし減少がみられた. また一般状態の悪化から16回投与後に1例を切迫殺した. 肉眼観察では投与開始3から8日目に全例のいずれも後肢の飛節部関節に発赤, 腫脹が見られた. この関節部位の変化は主として両側性にみられた. 関節部位の変化は発症後2から5日まで進展し, その後発赤は消失し, 腫脹も漸次消退したが, 試験終了時までには回復しなかった. 20回投与した例の中で変化の程度が強かった個体では, 試験終了時点で関節の硬直, 皮下の硬化が触知され, X線検査で, 脛骨遠位端に新生骨の付加と思われる陰影像が認められた.

7回投与例の後肢関節部の病理組織学的検査では, 滑膜表層細胞の増生や腔内へのフィブリンの析出, 滑膜組織や関節周囲組織における単核細胞を主体とする炎症細胞浸潤や間質における浮腫といった炎症像が認められた. また同部位では骨周囲性に骨芽細胞の増生や骨形成が認められた. また肉眼的に腫脹が認められなかった関節部でも, 滑膜表層細胞の腫大, 増生ならびに分泌亢進像が認められた.

20回投与例の病理組織学的検査では, 関節部の炎症像は明らかではなかったが, 滑膜, 腱鞘周囲など関節周囲組織に著明な線維増生が認められた. また, 脛骨遠位端や指骨周囲に著明な骨形成とともに軟骨の形成も認められた.

【考察】 今回, SAIによる関節炎誘発を追認した. SAIによる関節病変は単核細胞浸潤を主体とする炎症であった. 肉眼的に腫脹がみられなかった例でも滑膜に変化が見られたことから, 最初に滑膜に何らかの変化が起こることにより炎症が惹起される可能性が示唆された. また骨周囲性の骨あるいは軟骨の形成は炎症に続発したものと思われた.

○田中俊光、後藤鋼星、稲津水穂、小林孝好
(ヘキストジャパン 開発研究所)

【緒言】ラットにおいて、自然発症骨軟骨腫の報告は少ない(Ernst等1992、岩田等1994本学会)。今回、我々はSDラット4例の脛骨及び大腿骨に自然発症した骨軟骨腫を経験し、病理組織学的に検討したので報告する。

【材料と方法】動物は、Crj:SDラット雌雄各2例(53週齢)で、バリアーシステムで飼育され薬効試験に供されていた。腫瘍の認められた脛骨、大腿骨は10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、10%EDTA脱灰後、常法に従いHE、アルシアンブルー染色、酒石酸耐性酸性フォスファターゼ活性検出を行った。また、BMP-2、TGF β 、c-erb B2、S-100の局在を免疫組織化学的に検索した。10%中性緩衝ホルマリン固定材料より電顕検索を行った。

【結果】肉眼的には、腫瘍は直径約10~35mmの球形の灰白色硬結節で、大腿骨遠位骨幹端(1例)、脛骨近位骨幹端(3例)に認められた。4例の腫瘍塊は組織学的にほぼ同一の構造を示していた。腫瘍塊は軟骨細胞の外層と骨梁及び脂肪に富んだ骨髓腔から構成され、腫瘍部の骨髓腔と付着している骨の骨髓腔は連続していた。腫瘍部の軟骨細胞層外周は結合組織成分で覆われ、骨に隣接する部位では骨膜が伸展し直下には皮質骨が連続していた。軟骨細胞層は小型から横長、大型の軟骨細胞が柱状に配列し正常な骨端軟骨と同様の組織構築を示し、内側では破骨細胞、骨芽細胞を認める内軟骨骨化及び骨梁形成がみられ、電顕観察においても正常な組織像を示していた。一部の軟骨層では小葉を形成し、内部へ突出している部位も観察された。この部位の細胞は正常肥大軟骨細胞に比較し大型で卵円形あるいは円形で異型性を示した。電顕的に、豊富な粗面小胞体がみられた。これら細胞では、BMP-2、TGF β 、c-erb B2、S-100の局在が認められた。

【まとめ】ラットにおいて非常にまれな4例の骨軟骨腫を検索した。骨軟骨腫は、骨幹端の軟骨、骨膜あるいは成長板周囲の軟骨膜由来の腫瘍と考えられている。今回検索した4例では、骨幹端軟骨及び成長板軟骨と腫瘍細胞との関係は認められず、骨膜及び皮質骨との連続性がみられたことから骨膜由来と考えられた。また、小葉を形成し増殖していた細胞は肥大軟骨細胞に類似し、軟骨細胞のS-100の局在が認めら、増殖・分化に關与するBMP-2、TGF β 、c-erb B2の局在が認められた。

○平塚 一幸、黒田 淳二、吉富 克彦（サンド薬品、筑波総合研究所、安全性研究部）

【はじめに】当研究所で毒性試験に供するHanIbm:Wistar 系ラットの背景データを収集する目的で動物の一般状態を一定期間観察した。ラットでは尾の自然発症変形異常は極めて希れである。今回、予測に反して、我々は無処置ラットにおいて高い発生率を示す尾椎骨形成異常を観察したので報告する。

【実験材料及び方法】5週齢のHanIbm:Wistar 系ラットをスイスの Biological Research Labsより240匹（雌雄各120匹）購入した。1週間の検疫期間を経た後、ラットを3群に分け夫々13、17、そして26週間無処置で動物の一般状態を自然観察した。これらの動物の尾の変形についてその発現時期、部位、及び状態を肉眼的に観察した。各々の観察期間終了後、全動物を解剖し尾を含む主要臓器・組織を10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定した。固定後、尾の形態を軟X線装置を用いて精査した。また、脱灰した尾の標本を病理組織学的に検索した。

【結果】全観察期間を通じて、尾の変形が合計27例の雌雄ラットに観察された。発生率は雄[20/120(16.7%)]の方が雌[7/120(5.8%)]よりも少し高かった。尾の変形が最初に確認された時の雌雄ラットの平均発現週齢は12.9週であった。最初に異常が発現したのは8週齢の動物そして最も遅い発現は26週齢であった。

<肉眼的所見> 尾の変形は肉眼的には尾の一部が長軸に沿って通常左右いずれかに側弯する所謂“尾曲り”として観察された。また、希に尾の上方弯曲或は最先端部位のほんの僅かな隆起として観察された例もあった。変形した尾の殆どは尾の先端から約2cmにかけての末梢部に集中して多発した。これらの多くは尾の一箇所(23/27)に発生したが、時に2箇所(4/27)に見られた。

<軟X線所見> 側弯変形した尾は軟X線検査において椎骨の形態異常である事が判明した。これらの尾椎骨の形態異常はその形状に基づいて3型に分類された：楔状椎、半椎、そして癒合椎。また軟X線検査によって、肉眼的に正常であった尾の一部に小さな異常椎骨の存在が希に観察された。

<病理組織学的所見> 通常、異常尾椎骨は顕微鏡的には正常のものと比較して左右不対称で短く楔状を為す例が多く、骨端は様々の厚さの間接軟骨に被覆されていた。異常尾椎骨と正常骨との間には変形した椎間板がみられた。

p-クロロニトロベンゼンの13週間経口投与による
ラット及びマウスの脾臓への影響

○櫻ゆみ、竹内哲也、野田圭介、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）、

【はじめに】 芳香族ニトロ化合物及びアミノ化合物は、メトヘモグロビン血症を起こし、ラットでは脾臓に線維化等の変化や、脾臓腫瘍が発生することが報告されている。今回、p-クロロニトロベンゼン(P-CNB)の癌原性試験の投与濃度設定試験(13週間の経口投与)で、ラットとマウスに脾臓への影響を観察したので報告する。

【材料と方法】 6週齢のF344/DuCrjラット及びCrj:BDF1マウス〔日本チャールス・リバー(株)〕の雌雄各10匹に、P-CNBをラットでは0, 24.7, 74.1, 222, 677, 及び2000ppm、マウスでは0, 74.1, 222, 677, 2000, 及び4000ppmの割合で、粉末飼料〔オリエンタル酵母工業(株)〕と混合し、13週間自由に摂取させた。投与終了後、生存した全例を剖検し、全臓器を10%緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従って光顕標本を作製し、検索に供した。

【結果】 脾臓の変化は、雌雄ラット共74.1ppm以上の群に鬱血が、222ppm以上の群に髄外造血亢進と被膜の肥厚を示した。また、雄では74.1ppm以上、雌では24.7ppm以上の群でヘモジデリン沈着の増加を示した(表1)。マウスは雌雄共、677ppm以上の群に鬱血と髄外造血亢進、雄で2000ppm以上、雌で677ppm以上の群でヘモジデリン沈着の増加が認められた(表2)。なお、ラットに脾臓の被膜の肥厚がみられたが、マウスでは被膜の肥厚はみられなかった。上記の変化の程度はP-CNB投与量の増加と平行して増強する傾向がみられた。

【まとめ】 P-CNBの13週間投与により、他の芳香族ニトロ化合物やアミノ化合物とほぼ同様な変化が脾臓に生じたが、主な変化は血液障害とその修復反応と考えられた。

表1 P-CNBの13週間経口投与によるラットの脾臓への影響

群(ppm)	雄						雌					
	0	24.7	74.1	222	677	2000	0	24.7	74.1	222	677	2000
鬱血	0	0	10	10	10	10	0	0	10	10	10	10
髄外造血亢進	0	0	0	5	10	10	0	0	0	9	10	10
被膜の肥厚	0	0	0	7	10	9	0	0	0	10	9	4
ヘモジデリン沈着	0	0	8	10	9	10	0	1	10	10	10	10

表2 P-CNBの13週間経口投与によるマウスの脾臓への影響

群(ppm)	雄						雌					
	0	74.1	222	677	2000	4000	0	74.1	222	677	2000	4000
鬱血	0	0	0	2	10	9	0	0	0	8	10	9
髄外造血亢進	0	0	0	1	10	9	0	0	0	7	10	9
ヘモジデリン沈着	0	0	0	0	9	9	0	0	0	9	10	9

表中の数字は該当所見を示した動物数を示す

p-クロロニトロベンゼンの104週間混餌投与による
F344ラットに発生した脾腫瘍

○片桐卓、竹内哲也、野田圭介、櫻ゆみ、妹尾英樹、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）

【はじめに】 p-クロロニトロベンゼン（p-CNB）は既存化学物質の一つで、労働安全衛生法の特定化学物質等障害予防規則における特定第二類物質に指定されているが、日本においては、アセトアミノフェノンなどの原料、ビタミン製造などに使用されている。今回、経口（混餌）投与によるがん原性試験を行ったところ、脾腫瘍の発生を見たので報告する。

【材料及び方法】 日本チャールス・リバー（株）より購入した6週齢のF344ラットを用い、1群雌雄各50匹からなる4群に各々p-CNBを0ppm、40ppm、200ppm及び1,000ppmの濃度で粉末飼料に混合し、2年間混餌投与した。全例について、剖検、全身諸臓器について重量を測定し、病理組織学的検査を行った。

【結果】 p-CNB投与群に特徴的な剖検所見は腹腔内出血と脾臓の結節性病変の形成がみられたことであった。病理組織学的にはp-CNB投与群の脾臓において雌雄共に非腫瘍性病変として鬱血、ヘモジデリン沈着、線維化、髄外造血、脂肪変態が高頻度にみられ（表1）、腫瘍性病変としては線維腫、線維肉腫、骨肉腫、肉腫NOS及び血管肉腫がみられた（表2）。脾腫瘍の発現時期をみると1,000ppm群の雄では62週、雌では70週以降に腹腔腫瘤として触診されている。また脾臓の悪性腫瘍をみた動物は肝臓、腹膜、膵臓、肺、副腎、リンパ節への転移がみられ、p-CNB投与群の主な死因は腫瘍によるものと判断された。

【考察】 脾臓の腫瘍性病変である間葉系組織由来の線維腫、線維肉腫、骨肉腫、血管肉腫、肉腫NOSなどは非腫瘍性病変である線維化を基盤として発生したものと考えた。

（表1） p-クロロニトロベンゼンの104週間混餌投与F344ラットにおける脾臓の非腫瘍性病変

	MALE				FEMALE			
	Control	40ppm	200ppm	1000ppm	Control	40ppm	200ppm	1000ppm
congestion	0	0	10	0	0	0	24	11
hemosiderin deposition	4	5	6	0	7	8	10	6
fibrosis	0	1	40	47	2	3	31	45
extramedullary hematopoiesis	4	4	18	13	8	16	26	20
fatty metamorphosis	0	0	14	24	0	0	6	9
follicular hyperplasia	0	1	0	0	0	0	0	0
capsular thickening	0	0	43	47	0	0	42	46

（表2） p-クロロニトロベンゼンの104週間混餌投与F344ラットにおける脾臓の腫瘍性病変

	MALE				FEMALE			
	Control	40ppm	200ppm	1000ppm	Control	40ppm	200ppm	1000ppm
fibroma	0	0	1	15	0	0	1	3
fibrosarcoma	0	1	0	29	0	0	0	17
osteosarcoma	0	0	0	11	0	0	0	3
sarcoma: NOS	0	0	1	6	0	0	0	0
hemangiosarcoma	0	0	5	7	0	0	2	4
mononuclear cell leukemia	7	2	1	2	11	1	7	4

巨核球 emperipolesisの発生増加に及ぼす
巨核球と顆粒球の動態

○田中雅治, 阿瀬善也, 西山寛, 下内孝司, 板垣伊織, 四宮啓祐,
藤田常夫 (小野薬品工業 福井安全研 毒性病理グループ)

【目的】 前回,我々は lipopolysaccharide(LPS)を投与したラットの骨髓において,造血の亢進と巨核球の細胞質に好中球が侵入する emperipolesis(EP)を高率に認め,巨核球 EPの発生増加には過度の造血亢進が関与する可能性を示唆した.今回は 侵入細胞である好中球,宿主細胞である巨核球と EPとの関連性を明らかにするために,顆粒球を増加させる 顆粒球コロニー形成刺激因子(G-CSF)と二次的に巨核球を増加させうる 抗血小板抗体(APA)を投与したラットを用いて検討した.

【方法】 6週齢の SD系雄性ラットを Saline + Saline群, Saline + APA群, G-CSF + Saline群及び G-CSF + APA群に分けた. APAは 2ml/kgを屠殺 48時間前に単回腹腔内投与し, G-CSFは 150 μ g/kgを 7日間 静脈内投与した.尚,屠殺は G-CSFの最終投与後 2時間で実施した.ラットはエーテル麻酔下で採血後 剖検し,大腿骨骨髓を10%ホルマリン液にて固定して常法通り H-E染色標本を作製した.

【結果】 EPの発生率は Saline + APA群で 3.66%, G-CSF + Saline群で 4.30%と対照とした Saline + Saline群の 1.38%に比べて増加したが, G-CSF + APA群では 33.74%と著しい増加を示した.また,巨核球に侵入した細胞の大半は成熟した好中球であった.巨核球への平均侵入細胞数及び骨髓内好中球数は G-CSF投与群で増加し,骨髓内巨核球数は APA投与群で増加した(Table).

Table Emperipolesis incidence and the No. of hematopoietic cells on G-CSF or APA-treated rats

Treatments	Emperipolesis incidence ^{a)} (%)	Average No. of cells per megakaryocyte ^{b)} (Mean \pm S. D.)	No. of neutrophils in bone marrow ^{b)} (Mean \pm S. D.)	No. of megakaryocytes in bone marrow ^{b)} (Mean \pm S. D.)
Saline + Saline	1.38	1.51 \pm 0.56	678.8 \pm 22.7	162.2 \pm 31.7
Saline + APA	3.66*	1.85 \pm 0.21	671.0 \pm 53.1	310.5 \pm 15.4***
G-CSF + Saline	4.30**	2.97 \pm 0.56***	1072.0 \pm 137.5***	148.8 \pm 25.8
G-CSF + APA	33.74***	3.31 \pm 0.45***	1073.0 \pm 115.9***	276.0 \pm 46.8**

5 animals were used in each group.

Statistical significance was analysed using χ^2 test(a) or Student's t-test(b).

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

【結語】 以上の結果より,巨核球 EPの発生増加には宿主細胞である巨核球と侵入細胞である好中球,両細胞の増加が重要であることが明らかとなった.

若齢SDラットに認められた

上皮優勢型胸腺腫の1例

○正田俊之¹、蔵元茂¹、篠原正巳¹、渡部和義¹、島村和位¹、山手丈至²、
佐久間貞重² (¹ 鳥居薬品 研究所、² 大阪府立大 獣医病理)

〔緒言〕 一般に、ラットにおける胸腺腫瘍は BUF/Mna, Buffalo などの好発系を除き極めて少なく、Sprague-Dawley (SD) ラットでの発生率は、0% (Thompson, 1961), 4.5% (Naylor, 1988) と報告されている。また、自然発生例は通常1年半以上の老齢ラットに限られる。SDラットの胸腺腫のほとんどがリンパ球優勢型に分類され、上皮優勢型はまれとされている。今回、我々は23週齢という比較的若齢のSD系雌ラットに自然発生上皮優勢型胸腺腫を見いだしたので報告する。

〔症例〕 症例は、バックグラウンドデータ収集のため日本チャールズリバー(株)より5週齢で購入し、生涯飼育試験に用いた Crj:CD (SD)系ラット611匹(雄305例、雌306例)のうちの雌の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。死亡約3週間前から削瘦が目立ち始め、生後163日目に死亡しているのが発見された。剖検では、胸腺部付近に約2×1.5×1.5 cmの乳白色で硬度感のある腫瘤が認められ、それは一部胸骨と癒着していた。その他の臓器に特に異常はみられなかった。病理組織学的検索は、10%中性緩衝ホルマリンに固定後、常法によりパラフィン包埋切片として実施し、またいくつかの特殊染色や免疫染色(Keratin, Vimentin, Desmin, S-100, NSE等)も行った。

〔組織所見〕 腫瘍は、好酸性の核仁を1つ持つ、大型淡明、円形～卵円形の大小不同の核と、細胞境界不明瞭な中等量の淡明な細胞質を持つ細胞からなり、有糸分裂像が小数認められた。細胞間には豊富な結合織の増生がみられ、それは波状や花むしる様形態をとり、その中に腫瘍細胞が散在していた。まれに管腔様構造をとる腫瘍細胞も認められた。リンパ球様細胞はごくまばらに腫瘍組織に散在性にみられた。腫瘍の中心部で壊死巣がみられ、腫瘍塊の辺縁部には圧迫された胸腺組織の残存があった。腫瘍細胞は、抗ケラチン抗体にのみ陽性を呈し、上皮性性格を有することが示された。なお、ハッサル小体は認められなかった。

〔考察〕 本例は、ケラチン陽性の上皮細胞から構成され、辺縁部に圧迫された残存胸腺が認められることから、胸腺原発腫瘍と考えられた。また、核異型がそれほど強くないこと、近傍の組織への明かな浸潤も見られず被膜を被っていたことから良性胸腺腫と診断した。ラットの良性胸腺腫は一般に lymphocytic type と epithelial type に分類されるが、SDラットでの発生は極めて珍しく、そのほとんどが老齢ラットにみられる lymphocytic type である。今回の症例は、豊富な結合織の発達とその中に散在性もしくは島状に腫瘍性上皮細胞が存在し、比較的若齢のSDラットに自然発生したきわめて珍しい Benign thymoma, epithelial type with extensive development of collagen fibers と診断された。

○早川和宏, 築館一男, 日比野信裕, 福田種男, 細川 暁, 園田二郎,
青木豊彦, 本岡 覚, 中野渡純一, 山津清實 (エーザイ・安全研)

【目的】末梢神経毒性をin vitroで評価する方法として, ラットやニワトリの胎児神経節を用いる方法が知られているが, 胎児神経節の培養には神経成長因子(NGF)が必須である。NGFには抗癌剤等による神経毒性を軽減する作用もあることから, これらの薬物評価に際しては, 培養液中にNGFを含まない系の方が好ましいと考えられる。一方成熟ラットの交感神経節(SCG)はその生存にNGFを必要としないことが知られており, 近年成熟動物の神経節を培養できる簡便な三次元培養法も開発された。そこで今回成熟ラットのSCGをNGF非存在下で培養し, 抗癌剤の末梢神経毒性を検索したので報告する。

【方法】成熟ラットのSCGをコラーゲン・ゲル包埋法により無血清培養した。評価系として, 薬物を培養時に添加し, 再生してくる神経突起の長さを指標に評価する方法(再生系)と, 神経突起をいったん伸長させた後薬物を添加し, 神経突起の長さ及び形態を観察する方法(伸長系)について検討した。培養は4~6日間行い, その間神経突起長の計測及び形態学的観察を位相差顕微鏡下にて実施した。培養終了後一部の神経について光顕的に観察するとともに, 電顕的にも観察した。薬物は, 臨床あるいは前臨床試験結果からneuronopathyをおこすと推察される抗癌剤cisplatin(CIS), axonopathyをおこすvincristine(VCR)及びtaxol(TAX)を用いた。

【結果】再生系, 伸長系ともに, CISの $10\mu\text{g/ml}$, VCRの $0.1\mu\text{M}$, TAXの $0.2\mu\text{M}$ 以上で有意な神経突起再生抑制が認められ, 神経突起50%抑制濃度はそれぞれ同一用量であった。伸長系では, さらに位相差顕微鏡下でCISの $20\mu\text{g/ml}$, VCRの $0.1\mu\text{M}$, TAXの $1\mu\text{M}$ 以上で神経突起の変性像が認められ, 電顕的にもそれを裏付けるmembranous structure等の変化が観察された。さらに神経節の光顕像では, CISのみに神経細胞の変性, 脱落が観察された。

【考察及びまとめ】伸長系では全ての薬物添加により神経突起の変性が認められたこと, 再生系, 伸長系ともに神経節ではCISのみに神経細胞の変性脱落が観察されたことから, 両系ともに各薬物の臨床, 前臨床結果を反映していると考えられた。以上より, 両系ともに神経突起の長さや神経細胞の形態で神経毒性の強さ及び質を類推できる点で有用であり, さらに伸長系は伸長させた神経突起の変性過程を観察できる点で, 末梢神経毒性の検索に応用できると思われた。

○山本慎二、勝又由加、三上真一、山川誠己、岩田 聖、広内康彦、小林和雄、榎本 眞
(安評センター)

【はじめに】

ビーグル犬は、非齧歯類動物として安全性試験に用いられているが、しばしば脊髄神経根に自然発生性と考えられる鈣物沈着を観察する。

しかし、本系統の背景病変として、本症についての記載は現在まで殆どないため、その発生頻度、病理組織学的及び組織化学的特徴について検討結果を報告する。

【材料と方法】

ビーグル犬は、L.R.E.Inc.(米国)から生後約5カ月齢で搬入され、2ないし3週間の検査および馴化の後、短期(亜急性)あるいは長期(慢性)試験に使用されたものである。バリアシステム内の環境は、室温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度40~60%、照明時間12時間で、アルミニウム製個別ケージに収容し、飼料はラボダイエット4360(ピュリナ大洋K.K.米国)あるいはDS-5(オリエンタル酵母工業K.K.東京)を一日250g与え、水は水道水を自由に摂取させた。全ての動物について、各試験終了後にペントバルビタールナトリウム麻酔下で腋窩動脈あるいは頸動脈切断により放血屠殺し、摘出器管・組織は、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従ってH・E染色標本作製した。

発生率の検索には、1980年~1993年までの13年間に当センターにおいて、安全性試験で使用した投与群を含む全1280頭のビーグル犬(雄:636頭、雌:644頭)を対象とした。また、沈着物質の性状および沈着部位の検索には、沈着が見られた一部の動物について脊髄を抽出し、連続切片を作製し、各種特殊染色として、PAS染色、PAM染色、コッサ染色及びアリザリン赤S染色を、免疫染色として、第8因子、 α -アクトニン及びS-100を、レクチン染色として、WGA、ConA及びUEA-1を施した。

【結果と結論】

脊髄神経根に観察される鈣物沈着の発生率は、雄:65/619(10.50%)、雌:85/670(12.69%)で、週齢ごとに分類すると、24~28週齢で雄:2/101(1.98%)、雌:3/101(2.97%)、33~46週齢で雄:26/330(7.88%)、雌:20/330(6.06%)、72~80週齢で雄:31/172(18.02%)、雌:56/225(24.89%)、124週齢で雄:6/16(37.50%)、雌:6/14(42.86%)と週齢が増すごとにその発生頻度が高くなる傾向を示し、雌雄差は見られなかった。

組織学的に、鈣物の沈着部位は髄膜内脊髄神経根の背根及び腹根の神経周膜付近に限定して観察され、沈着部及びその周囲には炎症性変化等の退行性変化は観察されなかった。沈着物の大きさは平均 $38.3 \mu\text{m}$ で、H・E染色では好塩基性に染まり、円形~楕円形で層板状構造を呈していた。特殊染色の結果、鈣物はPAS染色、コッサ染色およびアリザリン赤S染色に陽性を示し、鈣物の外縁はPAM染色に陽性、免疫及びレクチン染色では、第8因子、 α -アクトニン、レクチン・WGA、ConAに陽性で、S-100には陰性であった。

以上の結果から、本鈣物は、カルシウム塩が小血管内に存在していることが示唆された。ビーグル犬の腎乳頭集合管近傍の細静脈血管中に観察される石灰沈着(志賀ら、1993)をはじめ上皮小体・骨の病変との関連はなく、飼料中の無機物質の含有量、血中カルシウム値などとの相関を示唆する情報も得られないことから、その病理学的意義については不明である。

○高橋政壽, 藤原 弘, 岩田 眞, 土門 晋, 船橋英行 (ヤクルト中研)

【はじめに】ヒトにおける Neuroaxonal dystrophyは、中枢神経系の軸索に限局性の浮腫や類球体が多発する遺伝的疾患であり、種々の動物でも類似の疾患が報告されている。

我々は、C57BL/6系マウスに生後約15日以降、後肢麻痺を主徴とする歩行障害が発現して約50日齢で死亡する症例を見だし、その中枢神経系に多数の類球体の出現を認めた。

【材料と方法】材料は当研究所で継代、維持している C57BL/6系マウスで、歩行障害の発現後(発症)の3~7週齢のマウスをそれぞれ雌雄計5~15匹、歩行障害の発現前(発症前)の1日齢のマウスを雌雄計6匹および同2週齢を29匹使用した。これらのマウスを麻酔下で放血屠殺し、主要臓器を10%緩衝ホルマリン液で固定、パラフィン包埋・H-E染色標本を作製し、一部の個体の脳について特殊染色および酵素抗体法染色を施して観察した。また、7週齢の発症マウスの大脳および小脳を透過電顕にて観察した。

【結果】類球体の出現時期：3~7週齢の発症マウスには、全例の脳に多数の類球体が観察された。脳以外の後肢骨格筋を含む各器官・組織に顕著な病変は認められなかった。一方、1日齢および2週齢の発症前マウスにも類球体の出現がそれぞれ3/6例および10/29例認められた。類球体の出現部位：類球体は、大脳皮質下の白質、前交連、脳弓、視床、淡蒼球、線条体、小脳核、小脳白質および脊髄白質などに観察された。この類球体は、週齢を経るに従って増大する傾向が認められた。類球体の形態学的特徴：類球体は、H-E染色にて好酸性に染まる直径が約5~20 μ mの球状体として観察され、まれに輪郭が不明瞭なものや内部が淡明なものがみられた。類球体は変性軸索染色のナウタ染色で好染し、ボディアン染色陽性、L.F.B染色弱陽性、抗ユビキチン抗体強陽性、抗シナプトフィジン抗体および抗ニューロフィラメント200抗体陽性、抗MAP2および抗TAU抗体陰性であった。電顕観察では、類球体の周囲はミエリンで囲まれ、内部に変性したミトコンドリア、dense lamellar body, multivesicular bodyおよび微細線維などの集積が認められた。

【まとめ】C57BL/6系歩行障害マウスは、脳以外に顕著な病変が認められず、発症前の1日齢マウスの脳にすでに類球体が出現し、発症例では全例の中枢神経系に多数の類球体が認められた。この類球体は、軸索が限局性に腫大したものであることが明らかとなり、当該マウスは、Neuroaxonal dystrophyと診断され、ヒトにおける Infantile neuroaxonal dystrophy に類似した疾患と考えられた。

P-60 ラットにおけるTri-ortho-cresyl Phosphate誘発性
脊髄病変に対するPhenylmethylsulfonyl Fluoride
の増強効果の定量的解析

○乾 公正, 原田 孝則, 真板 敬三 (残農研)

有機リン剤誘発性遅発性神経毒性 (organophosphorus-induced delayed neurotoxicity: OPIDN)は、毒性物質暴露から一定期間後に脚部の運動失調や麻痺を特徴とする中毒性疾患で、病変は長い神経線維の末端付近に主座する。各国の遅発性神経毒性試験ガイドラインでは雌ドリがモデル動物とされているが、ゲッ歯類を用いた試験系も近年報告されている。OPIDN 発現には、毒性物質による神経細胞中の仮想標的エステラーゼ(neuropathy target esterase: NTE) の不可逆結合(aging) が必須と考えられている。今回、我々はラットに対しtri-ortho-cresyl phosphate(TOCP)を単回投与し頸部脊髄の一次感覚神経線維末梢部に神経病変を誘発させ、これに対する非aging/非有機リン系エステラーゼ抑制性化合物のphenylmethylsulfonyl fluoride(PMSF)後処置によるOPIDN 増強効果を画像解析装置を用いて形態計測学的に定量評価した。

【材料と方法】35~38週齢のWistar系雄ラットを4群に分け、以下の処置を施した。第I群は溶媒対照(n=6)、第II群はTOCPを1392 mg/kg B.W. 単回経口投与(n=6)、第III群はTOCP投与後1および2日時にPMSFを60 mg/kg B.W. 腹腔内投与(n=6)、第IV群はPMSFのみ投与(n=4)した。TOCP投与後3週時に動物を深麻酔下で全身灌流固定後、頸部脊髄(C1~C2)を採材し、背索部をエポン包埋・横断厚切り切片トルイジン青染色標本を作製した。また、同部位の凍結切片Nauta 染色標本も作製した。コンピュータビルト社製自動画像解析装置CB-TASPER を用い、前者は薄束中の単位面積あたりの正常神経線維数、後者は同部位の鍍銀面積率を測定した。

【成績】トルイジン青染色標本ではTOCP投与によるワラー様変性が第IIおよびIII群の頸部脊髄薄束部に観察され、第III群がより重度の変化を示した。単位面積あたりの正常神経線維数は第I群に比べ、第II群では11%、第III群では17% 減少した。鍍銀染色標本における病変部分の面積率は第III群は第II群の1.6 倍の値を示した。

【考察】今回の試験条件下で、TOCP単回投与による脊髄病変に対するPMSF後投与による増強効果を客観的に評価することができた。我々の試験系はOPIDN 予測において簡便かつ有意義な手法と考えられる。毒性増強のメカニズムは、神経毒性物質投与後に補填あるいは新生されるはずのNTE が、PMSF投与によって障害されるためと推察された。

○山中義弘^{1,2}, 浅野 哲², 秦 純子², 金子英志², 武田利明², 宇野 洋²,
伊澤義弘², 藤原公策¹ (¹日大農獣医・第2病理, ²帝人医薬開発研究所)

【緒言】 末梢化学受容体刺激作用を有するアルミトリンは、欧州では慢性呼吸不全患者の治療に使用されている。副作用として、足底の感覚異常を主徴とする末梢感覚性ニューロパシーが起こることが報告されてきたが、その発症機序には不明な点が多く、実験動物での再現性については報告がない。今回は、ヒトの血中に出現するアルミトリン代謝物のひとつである脱トリアジン代謝物 (DTMA) をラットに投与して腰髄背根神経節の変化を観察した。

【材料と方法】 SD系6週齢雌ラット24匹を、対照群, DTMA 5 mg/kg/day, 20 mg/kg/day 投与群の3群にわけ、16週間反復経口投与終了時および、その8週後に3匹ずつを屠殺した。20 mg/kg 投与群では、投与の途中4, 8週に3匹ずつを屠殺した。ペントバルビタール麻酔下で、心臓から灌流固定を行い、腰髄 (L4~L6) 背根神経節を摘出し、トルイジンブルー染色厚切り標本および電顕標本を作製した。

【結果】 20 mg/kg 投与群では痙性歩行が観察され、後肢踵を上げて爪先立ちで歩行し、ときにはつまずくことがあった。この所見は投与7週から現れ、16週には4/6例に観察された。5 mg/kg 投与群では1/6例に軽度の歩行異常が認められた。光顕観察では、腰髄背根神経節の神経細胞にトルイジンブルー好染の細胞質内封入体が多数観察され、外套細胞、シュワン細胞、血管内皮細胞にも少数ながら同じ封入体が観察された。この封入体は、電顕では高電子密度で限界膜に囲まれ、径 0.4~1.2 μm, 層板状構造物を含むものと、結晶状構造物を含むものの2種類が観察された。これらの封入体形成は投与4週から観察され、投与期間に従いその出現頻度が増し、休薬によって層板状構造物は消失し、リポフスチン沈着が認められた。

【考察】 DTMA は、いわゆる amphiphilic cationic 構造を有するので、投与ラットに観察された層板状構造物は、ライソソーム性層板状小体であると考えられた。Perhexiline や amiodarone がヒトやラットに層板状小体の形成を伴う末梢神経障害を起こすことが知られており、アルミトリン誘発末梢神経障害においては、その代謝物である DTMA が発症に重要な役割を果たしていることが示唆された。

○木下三佳, 吉田明由, 北沢利明, 吉田敏則, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)

【目的】

実験動物における髄膜腫の自然発生頻度は低く, ラットでは Fischer 系で 0.2 ~ 0.3%, Wistar 系で 4 ~ 5% と報告されているが, マウスにおける本腫瘍の自然発生に関しては殆ど報告がみられない。今回, 我々はマウスの自然発生髄膜腫 8 例についての病理組織学的検索を行ったので, その成績を報告する。

【症例および方法】

今回の症例は当研究所の長期試験に使用した ICR 系 (Crj:CD-1) マウスの雄 9686 例中 3 例, 雌 9674 例中 5 例に観察された自然発生髄膜腫で, 担腫瘍動物の週齢は 24 から 96 週齢と広範囲であった。剖検時の肉眼観察では, 8 例中 4 例が明らかな腫瘤 (最大直径 12 mm) として確認され, 3 例はび慢性の髄膜肥厚を呈したが, 残りの 1 例は肉眼的には不明瞭であった。組織像から類推した腫瘍の発生部位は, 大脳底部および後頭葉が各 2 例ずつ, 前頭葉, 頭頂葉, 側頭葉および菱形窩からの発生が各 1 例ずつ認められた。腫瘍は脳実質を圧迫する膨張性増殖のほか, 脳動脈枝に沿った脳実質内への浸潤あるいは髄膜からの脳実質内への広範な浸潤性の増殖を呈し, 病巣部では不整核を有する線維芽細胞様の腫瘍細胞が特徴的な渦巻き状あるいは波状配列像を示した。これらの腫瘍細胞の細胞間隙はしばしば水腫性に解離し, 腫瘍細胞の周囲には豊富な細網線維が認められた。免疫組織学的染色では, 腫瘍組織は Vimentin および Keratin に対して陽性, S-100 および NSE に対しては陰性の成績を示した。電顕的観察では, 核膜の著しい嵌入による特異的な核形とともに粗面小胞体の増数および嚢胞状拡張が本腫瘍細胞の特徴像として捉えられた。

【まとめ】

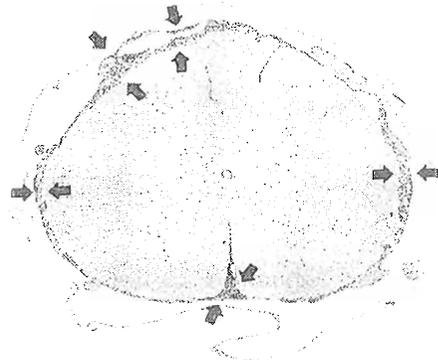
今回検索したマウスの髄膜腫は, 主に線維芽細胞性髄膜腫の範疇に含まれるものと診断され, その組織像に明らかな性差はみられなかった。なお, ICR 系 (CD-1) マウスにおける本腫瘍の自然発生頻度は当研究所の Database では雄 0.03%, 雌 0.05% と極めて低いことが確認された。

○義澤克彦¹、松本正博¹、牧野奈津代¹、鈴木淳也¹、大石裕司¹、藤平司郎¹、
山内研司²、岩波黄葵¹、藤井登志之¹ (1藤沢薬品・安全研・病理、2一般毒性)

【緒言】 ラットの頭蓋腔内原発の自然発生腫瘍の中で下垂体や神経膠由来以外の腫瘍発生は極めて稀であり、生後1年未満の発生はほとんど報告されていない。今回、19週齢という若齢のラットに三叉神経原発の悪性神経鞘腫を観察する機会を得たので、その臨床経過並びに病理像について報告する。

【症例】 症例はある毒性試験の対照群に使用した19週齢の雌ラット(Jcl:SD)の1例である。人工環境下のSPFバリアー室内で飼育し、固形飼料(CE-2、日本クレア)と飲水を自由摂取させていた。6週齢時より試験に用いたが、13週齢時から体重が減少し、よろめき歩行や自発運動の低下が観察された。計画屠殺時の19週齢時点では、体重が13週齢時(304g)の約1/2(148g)にまで減少した。剖検では頭蓋腔底部の三叉神経、小脳底部を中心に5x10mmの黄色ゼリー状腫瘍が認められ、被膜は見られず、脳実質等の周囲組織との境界は不明瞭であった。

【病理組織学的所見】 光顕的に腫瘍は小脳髄質、延髄、三叉神経を中心にシート状に浸潤増殖し、小脳及び大脳の脈絡叢・髄膜、三叉神経節(写真上)、下垂体前葉及び胸脊髄の髄膜(写真下)にまで浸潤していた。その他の臓器に腫瘍の転移は見られなかった。腫瘍細胞はクロマチンの豊富な卵円形の核を有し、細胞質は乏しく、細胞境界は不明瞭であり、分裂像も散見された。また、一部でpalisadingを想起させる様な配列パターンも観察された。免疫組織学的には、腫瘍細胞はVimentin、S-100蛋白に陽性、Keratin、GFAPに陰性であり、PCNA抗体に対しては多くの細胞が反応した。ホルマリン材料からの戻し電顕による観察では、腫瘍細胞は不規則な紡錘型で細胞内小器官に乏しく、細長い細胞突起を有し、基底膜様構造や一部で突同士の入り組みや接着装置が観察された。



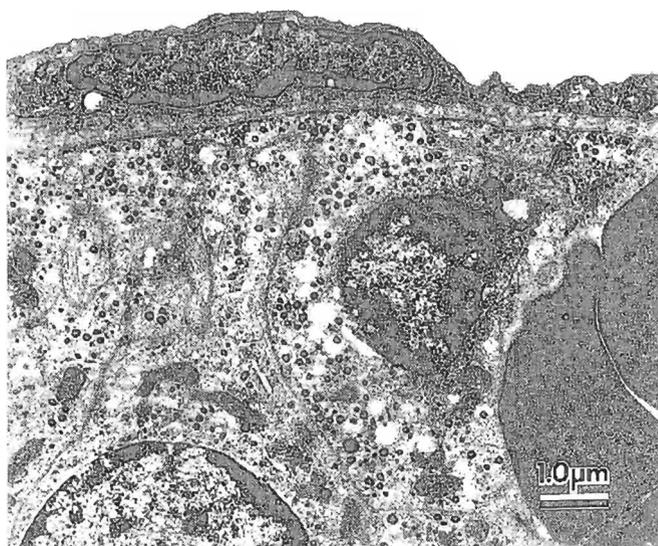
【結論】 本腫瘍は上記の病理所見から三叉神経原発の悪性神経鞘腫と診断された。小脳での強い浸潤増生、大脳・胸脊髄への髄膜浸潤や比較的高い細胞増殖能等から、本例の悪性度は高いものと思われた。また、本腫瘍は19週齢という極めて若いラットでの発生であり、毒性試験での貴重なバックグランドデータと考えられた。

○吉田明由, 原田孝則, 北沢利明, 木下三佳, 吉田敏則, 真板敬三 (残農研)

Fischer ラットの腎後部腹壁正中に発生する傍神経節腫は, 副腎褐色細胞腫に類似する極めて稀な腫瘍であり, ツッケルカンドル器官あるいは交感神経系傍神経節がその発生母地と考えられている。今回我々は, 本腫瘍について免疫組織学的染色を含めた詳細な病理学的検索を実施したので報告する。

【成績】 本腫瘍は長期毒性試験に用いた Fischer ラット (F344/DuCrj) の雄動物 8750 匹中 5 例 (0.06%, いずれも 24 カ月週齢) に認めた。雌での発生はなかった。腫瘍は線維性被膜に覆われた限界明瞭な淡赤色ないし赤色の腫瘤として観察され, 直径は最大 40 mm に達した。組織学的検査では, 定型的な胞巣状構造のほか, 多量の赤血球を入れた類洞様構造あるいはシート状増殖など様々な組織構築像が認められ, すべての腫瘍細胞の細胞質内にはグリメリウス染色陽性の好銀性顆粒が観察された。腫瘍細胞は, これらの細胞質内顆粒の分布密度によって, 明細胞および暗調細胞の 2 種に分類された。NSE, Synaptophysin, Chromogranin, Neurofilament に対する免疫組織学的染色では, 副腎髄質細胞と同様に, すべての症例が陽性を示したが, S-100 蛋白については陰性であった。電顕的観察 (写真) では, 腫瘍細胞の細胞質内に限界膜を有する直径 130~160 nm の高電子密度の分泌顆粒が観察され, 明瞭なハローを備えるものが主体を占めた。稀に基底膜側の血管外腔に向けた開口分泌像, マイクロチュブールおよびマイクロフィラメントも認めた。

【まとめ】 雄のフィッシャーラットに発生する腹腔傍神経節腫はツッケルカンドル器官と同様に, カテコールアミン分泌細胞 (主細胞) で構成された。また, 免疫組織学的染色の成績は, 本腫瘍と副腎髄質細胞との高度の類似性を示した。



○穴山久志、山崎秀樹、渡辺武志、石村美祐、城塚康毅、
永井博文、佐々木啓（武田薬品・薬安研）

実験動物における上衣腫は稀な腫瘍で、SDラットにおける上衣腫の発生頻度は0.08%（1278例中1例）であり（Mac kenzie et al., 1973）、上衣腫の発生部位として第4脳室や側脳室（Schardein, 1968; Fitzgerald, 1974）、第3脳室（Thompson et al., 1961）および脊髄（吉田ら、1994）などが報告されている。ラットでみられる脳腫瘍はがん原性試験の剖検時や神経症状が発現して初めて発見される場合が多いため老齢ラットでの報告がほとんどで、上衣腫の平均発生日齢は430日齢（Fitzgerald et al., 1974）、また、早期に発生した例として235日齢（Mac kenzie et al., 1973）が報告されている。今回、亜急性毒性試験に使用した10週齢のF344ラットの第3脳室に自然発生した上衣腫を認めたので報告する。

【材料および方法】 動物は日本チャールスリバー（株）より5週齢で購入し、4週間反復投与毒性試験に使用したF344/DuCrj雌雄120匹のうちの雄1例である。臨床症状はなく、剖検、10%中性ホルマリン固定、パラフィン包埋、標本作製の後、鏡検により初めて腫瘍が発見された。HE染色およびPTAH染色を行った。

【結果】 腫瘍組織は脳梁下の第3脳室に位置し、第3脳室腔に突出していた。腫瘍細胞は多形性を示すが、単極性の細胞質を持ち一部にロゼットおよび腺管様構造がみられた。PTAH染色で細胞質内に暗青色顆粒がみられた。

【まとめ】 上衣腫は脳室系に密接して発育するが多いが、脳室系と無関係に大脳白質内に発生することもある。いずれの場合も腫瘍細胞は実質内に内包されて存在していて、今回のように脳室腔に突出する上衣腫は上衣腫の1亜型の上衣下細胞腫の可能性が考えられた。しかし、上衣下細胞腫の組織構造が、グリア線維からなる基質の中に上衣細胞集団が存在するのに対し、今回のF344ラットでみられた腫瘍は上衣下グリアの関与が見られなかったことから、脳室上衣腫と診断した。

○渋谷一元、木崎秀行、渋谷延子、布谷鉄夫、田島正典（日生研）、山手丈至（大阪府大・農・獣医病理）

ラットの胃腸管の間葉系腫瘍には平滑筋及び線維芽細胞由来腫瘍などの他に、悪性神経鞘腫があり、ある種の発癌物質の投与によりラットの胃腸管に誘発されるものの自然発生は極めてまれであるため、その生物学的性状の詳細な検索はほとんど見あたらない。一方、ヒトの胃腸管間質腫瘍 (gastrointestinal stromal tumor) も平滑筋及び神経系に由来する腫瘍があることが示され、これらの鑑別診断は重要である。演者らは、老齢F344ラットの前胃に自然発生した悪性神経鞘腫を見だし、その同系ラットへの可移植性腫瘍 (GT-S) を樹立したので、その生物学的及び病理学的性状について報告する。

【材料と方法】起源腫瘍は109週齢のFischer 344雄ラットの胃に発生した。この腫瘍の薄片 (2 x 2 x 2 mm) を移植材料とし、移植針を用いて同系ラットの背部皮下に移植し、20代まで継代した。同様にICR系ヌードマウスの背部皮下にも移植した。各代から発生した移植腫瘍を、病理組織学的、電顕的及び免疫組織化学的に検索した。また、腫瘍の新鮮材料からdot blottingあるいはSDS-PAGE及びwestern blottingによる中間径フィラメント (IF) の構成ならびに核型を分析した。

【成績】組織学的に、起源腫瘍は前胃粘膜固有層から漿膜にわたる紡錘形から多形性の細胞による瀰漫性増殖を示し、その細胞境界は不明瞭であった。個々の腫瘍細胞は繊細な嗜銀線維によって囲まれていた。電顕的に、腫瘍細胞は不規則な細胞突起、細胞を囲む1層ときに数層の基底膜様構造、細胞質内の豊富なIFが特徴的であった。免疫組織化学的に、腫瘍細胞はvimentin、GFAP、S-100及びNSE陽性を示したが、 α -SMA、neurofilament及びMBPは陰性であった。肺に転移巣が観察された。これらの特徴所見から起源腫瘍は悪性神経鞘腫と診断された。

GT-Sの移植2代までの移植腫瘍が触知されるまでの期間は8 - 10週間であったが、移植3代以降は移植後2週間で触知され、その後急速に増大し、4 - 5週間で宿主動物を致死させた。皮下に形成された腫瘍は波動感があり、周囲組織からの剥離が比較的困難であった。腫瘍は嚢胞状を示し、内腔にやや粘稠性の赤褐色透明液を入れており、壁は灰白色腫瘍組織から成っていた。組織学的に、GT-Sは紡錘形細胞の瀰漫性増殖からなり、腫瘍内腔側は壊死に陥っていた。腫瘍細胞の周囲組織への浸潤像が見られ、細胞分裂像が頻繁に観察された。GT-Sの電顕的特徴は起源腫瘍にほぼ類似していたが、基底膜様構造は目立たなかった。免疫組織化学的特徴は起源腫瘍と同様であった。IFのdot blottingの結果、GT-SがGFAP及びvimentinを発現していることが確認された。SDS-PAGE及びwestern blottingによる検索を現在実施している。GT-Sの染色体数のmodal numberは50であった。

【考察】GT-Sはnone-myelinating Schwann cellの特徴をもち、胃腸管に発生する悪性神経鞘腫のモデル腫瘍になると考えられ、その生物学的特性の解明ならびに鑑別診断の確立に寄与するものと思われる。

田中浩二¹、稲垣 覚¹、花見正幸¹、久野博司¹、松本浩良¹、土井邦雄²
(1: 萬有 開発研、2: 東大 実験動物)

[はじめに]

化合物の安全性試験を実施するにあたり、使用する動物の背景病変を熟知しておく必要性はいうまでもない。眼組織については病理組織学的な検索に加えて、臨床的な検査により病変の有無を早期に把握できるばかりでなく病変の経時的な観察が可能である。今回、ラットに認められた代表的な自然発生眼病変の病理組織学的検査成績を一部の臨床眼科的検査成績と合わせて報告する。

[材料および方法]

安全性試験に使用する為に購入した Crj:CD(SD)ラットを検疫期間中ないしは試験期間中に倒像検眼鏡およびスリットランプ検眼鏡を用いて眼科学的に検査し、異常がみられた例について組織学的検査を行った。

[成績]

1. 角膜炎：比較的頻繁に観察され、組織学的には病変の時期に応じて細胞浸潤、血管新生あるいは治癒像と様々な像がみられた。2. 角膜石灰沈着：臨床的には主に眼瞼裂に沿ってみられる微細白濁として、組織学的には角膜上皮と固有層間の石灰沈着として観察された。3. 虹彩毛様体炎：角膜内皮を損傷した場合には重度の角膜水腫を併発し、また、慢性化した場合には前眼房内への血管結合織の増殖を伴っていた。4. コロボーマ：眼科検査で眼底の色調異常ならびに異常な血管走行がみられ、組織学的には脈絡膜と当該部位の網膜の欠損として特徴づけられた。5. 限局性網膜脈絡膜萎縮：網膜の点状出血に始まり48時間以内に非常に限界明瞭な網膜および脈絡膜萎縮が臨床ならびに組織学的に認められた。6. び慢性網膜萎縮：加齢動物に頻繁に観察され網膜が様々な程度にび慢性に萎縮し、高度に進行した例では網膜血管が色素上皮層に連続した像がみられた。しかし、当該部位の脈絡膜に異常は認められなかった。7. 網膜の異形成：網膜の褶曲、ロゼット様配列が主な像で、時には大食細胞を伴っていた。8. 水晶体脱臼：前方に脱臼した場合には角膜内皮と癒着し、後方に脱臼した場合には水晶体が硝子体内に位置した。9. 水晶体破裂：加齢動物にみられ、臨床的には水晶体後極の水晶体包の外側に位置する半透明円板として観察され、組織学的には水晶体後極に微小孔が形成されることによる水晶体線維の流出と硝子体内での変性線維が認められた。10. 網膜小動脈ループ形成：網膜血管が中心動脈から分岐した後、硝子体内を走行してから網膜血管に移行する像が組織学的に確認された。

○桑村有規, 久世博, 川合是彰 (田辺製薬・安全研)

N-methyl-N-nitrosourea(MNU)は発癌作用を有するほかに, DNAを損傷することによって網膜障害を惹起することが知られている. 我々は, 第14回比較眼科学会においてMNUによるラットの網膜障害を電気生理学および病理学的に検査し, MNUによる網膜病変は光刺激を受けやすい視神経乳頭部において重篤であることを報告した. そこで, 本研究ではMNU誘発網膜病変の形成を光刺激を遮断して検討した.

[方法]

3週齢のSlc:SD系雄ラットの右側眼瞼を縫合し, 右側眼球への光の侵入を遮断した後, 24時間照明下(約150lux)で飼育した. 縫合後7日に投与群には70mg/kg(B.W.)のMNUを単回腹腔内投与した. 投与群および対照群(生理食塩水投与)にはそれぞれ12匹のラットを用い, 投与後1, 2, 3, 7, 14および21日に各群2匹のラットを解剖し, 網膜を病理学的に検査した.

[結果]

MNUを投与したラットの光照射眼球(左眼)では, 投与後1日に外顆粒層の核の配列が乱れ, 14日に外顆粒層が消失し, 21日にはさらに内網状層および外網状層で空胞が形成されていた. 一方, MNUを投与し, 光刺激を遮断した眼球(右眼)においても, 投与後1日には光照射眼球と同様に外顆粒層の核の配列が乱れていた. しかし, 投与後21日の右眼球では外顆粒層は菲薄ではあったが消失することなく, さらに変化が内網状層および外網状層に及ぶこともなかった. MNUを投与したラットの眼球では光刺激の有無に関わらず, 両眼球とも視神経乳頭部付近が強く傷害されていた.

対照群ラットの光照射眼球(左眼)では, 光遮断眼球(右眼)に比較して生理食塩水投与後3日以降に, 網膜全周において外顆粒層の核の数がやや減少していた.

[結論]

MNU誘発網膜障害は視神経乳頭部付近で重篤であり, 同部位の病変形成には光刺激の影響はなかった. しかし, MNUを投与し光刺激を与えた眼球では, 光を遮断した眼球より早期に病変形成が進行していた. 以上の結果から, 光刺激はMNU誘発網膜障害の病変分布には関与しないが, 病変の形成を加速することが示唆された.

○飯島徹男^{1,2}、高橋正一²、鈴木謙二²、北村毅²、高野智司²、
西山 寛²、安藤 進²、前川昭彦² (¹日清製油、²佐々木研)

【緒言】

チミジン類似物質であるBrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine) は、チミジンと同様に、細胞分裂周期の中ではDNA合成期 (S期) の細胞核内に取り込まれる性質を持ち、核酸の合成機序や突然変異の研究用試薬として利用されている。この物質を妊娠後期のラットに腹腔内投与した場合、仔の100%に白内障が発生することが報告されている。今回我々は、Donryuラットの新生仔にBrdUを皮下投与した結果、高頻度に白内障の発生を認めたので報告する。

【材料と方法】

動物は、Donryu系の成熟雄ラットと成熟未経産雌ラットを1:1で交配、妊娠後得られた新生仔ラット (雄16匹、雌22匹) を用い、出生後2, 4, 6および21日目にBrdU: 3.2mg/0.1ml distilled water/body を、計4回皮下投与した。観察期間は18ヶ月間とし、生存動物を屠殺、剖検後、病理組織学的検索を行った。生存動物の眼球については、タビッドソ液による固定後、通常の標本作製を行った。

【結果】

一般状態観察では、7ヶ月齢頃より雄雌ともに一部の動物で肉眼的に眼球の混濁を認め、8ヶ月齢では雄雌ともに約半数に、12カ月齢では雄で約88%、雌で約64%、全観察期間を通しては、雌雄共にほとんどの動物 (雄16匹中15匹、雌22匹中18匹) に眼球の混濁を認めた。組織学的には、肉眼的に混濁を示していた眼球の多くは、強い皮質水晶体線維の膨化、蛋白変性、被膜の破裂、網膜への癒着等を示し、進行した皮質白内障の所見であった。

【考察】

BrdU投与による白内障については、妊娠後期 (16~20日) のラットの腹腔内に100mg/kgを連日投与した場合、全例に先天性の白内障が発生するという報告がなされている。今回我々は新生仔ラット皮下へのBrdU (3.2mg/body) 投与を行った結果、高頻度に白内障の発生を認めたことから、BrdUが出生後の水晶体に対しても明かな毒性を示すことが示唆された。

○澤本 修¹, 栗栖和信^{1, 2}, 篠原誠治¹, 土居和久¹, 林 正信¹, 渡邊敦光²,
伊藤明弘² (¹大塚製薬工場・鳴門研, ²廣大・原医研・癌)

ポルフィリン(Por)の存在を特徴とするげっし類のハーダー腺(H腺)は、光毒性物質であるPorの代謝異常あるいはPor症に関するモデルとして考えられている。しかしH腺のPorの生理学的意義や産生部位については明らかでない。演者らは第9, 10回本学会においてラット、マウスのH腺の光傷害の組織学的変化とその要因としてPorの存在が示唆されることを報告した。今回、ラットのH腺の光傷害について電顕的、蛍光顕微鏡的観察を行い、Porとの関連を検討したので報告する。

【材料および方法】Wisatr系雄ラット(6-8週齢)を用いて、白色蛍光灯によりケージ内の照度約2,500luxで1日12時間ずつ、1, 2, 4および8日間照射した。動物数は各群8匹を配した。H腺は照射翌日に麻酔下で心臓より灌流固定後採取し、電顕的に観察した。さらにH腺に存在するPorの赤色蛍光を凍結切片により蛍光顕微鏡下で観察した。

【結果】腺細胞は形態的に2つに大別され、その大部分を占めるA型は大型・豊富な分泌空胞(線維・顆粒状物を含む)、長形・少数のミトコンドリア(Mit)と密なsERから成り、B型は小型・少数の分泌空胞(辺縁に層板状～線維・顆粒状物)と小型・多数のMitを特徴とした。腺腔には脂質とコイル状3層構造物が見られた。照射1~2日間後、A型ではsERの拡張、断裂・小胞化、Mit・クリステの拡張、分泌空胞の融合、脂質と退廃物を含む大型空胞、微絨毛の消失が、B型では層板状物の増加が認められ、傷害はA型に比べて軽度であり、残存した丈の低いB型細胞が多く見られた。大食細胞と好中球の浸潤、腺腔には多量の脂質、細胞退廃物、コイル状3層構造物を容れて拡張した。4日間以降上記の小器官の変化は軽減し、分泌空胞の減少または大型・不整形化、層板状物の増加が見られた。さらに少数・大小の分泌空胞、発達したrER、リボゾームの増加、長形のMit、不整形な細胞・核等を持つ再生腺細胞が見られた。H腺のPorの赤色蛍光は、正常腺組織全域に見られるのに対し、照射4日間以降傷害部位で明らかに減弱した。

【考察および結論】H腺の光傷害はA型細胞で強く発現し、傷害の軽減に伴いA, B型のいずれにも属さない再生細胞が見られた。傷害の軽減は、障害部位におけるPor量の低下によることが蛍光所見からうかがわれた。Porの産生部位は、B型の分泌空胞の層板状物とPor症の肝臓に見られる結晶様物との形態的類似性からB型とする報告がある。しかし赤色蛍光は正常腺組織全域に見られること、細胞傷害はB型が軽度なこと、層板状物はむしろ増加することから、層板状物はPor自体ではなく、Porの産生はA型細胞と関連することが推測される。

○栗栖和信^{1, 2}, 澤本修¹, 土居和久¹, 山下邦弘¹, 美好雅文¹, 渡邊敦光²,
伊藤明弘² (¹大塚製薬工場・鳴門研, ²広大・原医研・癌)

げっし類の特性としてハーダー腺に存在するポルフィリンは、明暗サイクル、気温、性ホルモン、薬剤等の様々な因子により増減することが報告されている。しかしその生理学的意義については全く不明である。演者らは第9, 10回本学会においてラットおよびマウスのハーダー腺は過度の照明により変性・壊死性変化を引き起こすこと、その要因としてポルフィリンの関与が示唆されることを報告した。今回、ハーダー腺のポルフィリン量に明らかな系統差および性差があるとされるマウスを用いて、ハーダー腺の光障害とポルフィリンの関連について検討したので報告する。

〔材料および方法〕動物は、文献的に(Shiramaら1981)ポルフィリン量の少ない系統としてBALB/c(雄:0.3 μ g/glands)を、ポルフィリン量に性差のある系統としてICR(雄:12, 雌:22 μ g/glands), 各9週齢を用いた。光源は白色蛍光灯を用い、ケージ内の照度を約3000luxとした。照射は1日12時間で、2, 4および8日間照射し、BALB/cは各群5例、ICRは各群10例を配した。照射終了の翌日にハーダー腺および眼球を採取し、組織学的に観察した。またハーダー腺の凍結切片により蛍光顕微鏡(U励起)下でポルフィリンの赤色蛍光を経時的に観察した。さらに無処置マウスのハーダー腺ホモジネート上清に血液を混和し、太陽光照射による光溶血性の系統差についても検討した。

〔結果および考察〕照射2日間後には、ハーダー腺細胞の変性・壊死、分泌物・退廃物による腺腔の拡張、間質の水腫・細胞浸潤を惹起した。以上の光障害には明らかな系統差があり、ICRはBALB/cに比べて高度であった。性差としてICRの雌では雄に比べてやや強い傾向にあったが顕著な差ではなかった。これらの変化は、照射期間の延長にもかかわらず4日間以降は腺細胞の再生性変化へと移行し、回復傾向を示した。網膜は照射8日間後においても変化が認められなかった。無処置マウスのハーダー腺の赤色蛍光は、ICR雌で最も強く、次いでICR雄、BALB/cの順に微弱となった。照射4日間以降に、ハーダー腺の赤色蛍光は傷害部位で明らかに減弱または消失した。ハーダー腺ホモジネートによる光溶血性は、ICRがBALB/cに比べて明らかに強く発現した。

〔結論〕ハーダー腺の光障害には明らかな系統差があり、この傷害は照射期間の延長にもかかわらず軽減した。一方、性差は明らかでなかった。これらの要因は、ハーダー腺に存在するポルフィリン量の差にあることが蛍光顕微鏡所見からうかがわれた。また光溶血性試験の結果は、ハーダー腺の光傷害の発現とも一致しており、ハーダー腺のポルフィリンが、光毒性物質として膜傷害性を惹起することを示唆している。

P-72 ラットの自然発生性中皮腫由来細胞株の増殖促進因子産生について

○桑原 真紀, 高橋 公正, 原田 孝則, 真板 敬三 (残農研)

我々は、雄F344ラットに自然発生した腹腔内中皮腫由来の細胞株3株 (MeET-4, 5 および6)を樹立し、その形態学的特性がヒト悪性中皮腫由来細胞株ないしラットのアスベスト誘発性中皮腫由来細胞株に類似していることを報告した (第118 回獣医学会)。ヒトやアスベスト誘発性中皮腫由来細胞株は、細胞培養上清中に細胞増殖因子を分泌することが知られていることから、今回、MeET-4, 5および6の培養上清について、正常中皮細胞の増殖に及ぼす影響を検索したので報告する。

【材料と方法】 F344ラットに自然発生した腹腔内中皮腫由来の3細胞株のうち、MeET-4 および6は上皮様細胞から、MeET-5は上皮様細胞と紡錘形細胞から構成されている細胞株であり、すべての細胞がケラチンおよびビメンチン陽性であった。各細胞株は10%牛胎仔血清 (FCS) および抗生物質を添加したDMEM培地で維持しているが、無血清培地でも増殖可能である。また、MeET-5の倍加時間は10%FCS添加の方が1%FCS添加に比較して有意に短縮したが、他の2株の倍加時間はFCSの濃度に影響されなかった。これらの細胞株を125cm²の培養ボトルに播き、10%FCS添加培地で高密度に増殖させた (ボトル面積の約80%以上) 後、培養上清を捨てて洗浄し、FCSを含まないDMEM35mlを加え、24, 48および72時間培養後、培養上清を回収した。これらの培養上清をDMEMにそれぞれ33ないし66%で混ぜ、96穴マイクロプレートに播いた正常中皮細胞に添加し、24時間後の細胞数をCell counting kit を用いて計測した。対照には無血清培地および10%FCS添加培地を用いた。正常中皮細胞は漿膜をスクレイパーでかきとって、初代培養したもので、全細胞がケラチンおよびビメンチン陽性であることを確認し、継代5代目以内に実験に用いた。

【成績】 MeET-4の24時間後の培養上清33%添加および72時間後の培養上清66%添加以外のすべての処理で、正常中皮細胞は無血清培地に対し有意に増加した。また、MeET-5および6の72時間後の培養上清は33および66%で10%FCS添加培地に対し正常中皮細胞の増殖を有意に増加させた。正常中皮細胞の増殖を最も促進したのは、MeET-4では48時間後の培養上清33%添加、MeET-5およびMeET-6では72時間後の培養上清33%添加であり、無血清培地に対する細胞数の比率はそれぞれ、1.8, 2.0および2.1 (10%FCS 添加培地では1.4)であった。

ブレオマイシンにより誘発されるハムスター肺線維症に対する
Secretory Leukoprotease Inhibitor の抑制効果

○金子英志¹, 浅野 哲¹, 三橋弘明¹, 武田利明¹, 山中義弘¹,
秦 純子¹, 宇野 洋¹, 伊澤義弘¹, 益田賢一² (帝人・¹医薬
開発研究所, ²生物工学研究所)

【緒言】 Secretory Leukoprotease Inhibitor (SLPI) は、分子量約12kDaの蛋白質であり、好中球エラスターゼ、トリプシン、トリアシリン等に対し阻害作用を有する。SLPIは上気道に多く分布し、これらの酵素による気道上皮細胞の障害を防御すると考えられている。一方、ブレオマイシン(BLM)を動物に投与した場合、投与初期に好中球の肺内への浸潤が顕著に認められ、不可逆的で重篤な肺線維症へと移行することから、肺の線維化の過程に好中球の障害因子が関与することが示唆されている。今回我々は、BLMにより惹起されるハムスター肺線維症に対して、遺伝子工学的にデザインされたSLPI誘導体の効果を組織学的に検討したので報告する。

【材料と方法】 6週齢の雄シリアゴールゲンハムスターに、ハロセン麻酔下10mg/kgのBLMを気管内投与した。注射剤としての適性をより強化することを企図して遺伝子工学的手法により作製した half-size SLPI (Arg⁵⁸-Ala¹⁰⁷; 好中球 elastase 阻害活性は native SLPI と同等, 以下1/2 SLPIと略) の10および30mg/kg/dayを1日二回に分けてBLM投与日から10日間腹腔内投与した。対照群には生理食塩水を投与した。各群9匹ずつの動物を用い、BLM投与から1(対照群のみ), 3, 7, 14および28日後の生存例の右肺から肺胞洗浄液(BALF)を得た。左肺は Bouin's 溶液で固定し、常法に従ってH.E.およびアザン染色標本作製した。

【結果】 BLMおよび生理食塩水を投与した対照群では、体重増加の抑制、死亡が認められ、BLM投与28日後の生存例は2/9であった。1/2 SLPI投与群では体重増加抑制、死亡率ともに改善が認められ、28日後の生存数は10, 30mg/kg/day群でそれぞれ4/9, 5/9例であった。BALF中の総細胞数はBLM投与後1~7日後まで顕著に増加したが、1/2 SLPIの投与により特に好中球数の増加が抑制傾向にあった。病理組織学的検索では、BLM投与1日後には、肺胞内および肺胞壁に好中球を主体とした炎症性細胞の浸潤がみとめられた。3日後には肺胞壁の単核性細胞を主体とした炎症性細胞の浸潤が増加し、軽微な肺胞壁の肥厚およびⅡ型肺胞上皮の増生・腫大が認められた。7日目以降肺の線維化は経時的に進行し、細気管支上皮化生や蜂窩肺病変も認められた。1/2 SLPI投与群では、肺胞壁の線維化、肥厚および細胞浸潤が抑制された。

【考察】 以上の結果より、BLM惹起肺線維症の病態形成のメカニズムに好中球が関与していることが示唆されたと共に、間質性肺炎等の肺の線維化の抑制に1/2 SLPI が有効であると考えられた。

○池崎信一郎¹, 西川秋佳¹, 古川文夫¹, 今沢孝喜¹, 榎並倫宣¹,
福島昭治², 高橋道人¹ (¹ 国立衛試・病理, ² 大阪市大・医・1病理)

【はじめに】我々はこれまでに、肺の線維化を効率よく誘発し、しかも死亡率の低いハムスターのブレオマイシン (BLM) 誘発肺線維症モデルを作成し、さらにこのモデルにおいてbutylated hydroxytoluene (BHT) およびbutylated hydroxylanisole (BHA) などの抗酸化剤が肺の線維化を抑制することを明らかにしてきた。今回、このハムスター肺線維症モデルを用いて、線維化の進展過程で出現する細気管支肺胞上皮領域の過形成巣の細胞増殖活性に対するBHTおよびBHAの影響について、増殖細胞核抗原 (PCNA) および核小体形成体部位関連蛋白 (AgNORs) を指標として、組織化学的に検討した。

【材料および方法】6週齢の雄シリアンゴールデンハムスター90匹を6群に配し、実験開始日 (0日目) および14日目の2回、ネンプタールによる軽麻酔下で第1~3群 (20匹/群) には2.5U/kgのBLM溶液を、溶媒対照群の第4~6群 (10匹/群) には同用量の生理的食塩水を気管内投与した。さらに、初回投与の翌日 (1日目) から第1および第4群には基礎食、第2および第5群には1%BHT混餌食、第3および第6群には1%BHA混餌食を与えた。実験42日目に、動物をエーテル麻酔下で放血致死させたのちに肺を摘出し、ユフィックスを30cm水柱の圧力で注入して固定した。固定後パラフィン包埋切片とした後、H. E. 染色標本により組織学的に検索するとともに、PCNA免疫染色およびAgNORs染色を施し、過形成巣における細胞増殖活性について検討した。PCNAは細胞100個あたりの陽性数として、またAgNORsは細胞100個あたりの核内平均個数として、各群間で比較検討した。

【結果および考察】BLMを投与した各群では、いずれにも肺の線維化、マクロファージの集簇および細気管支肺胞上皮の過形成巣がみられたが、その出現頻度および病変の程度はBHTないしBHAの併用投与群で低下・軽減する傾向がみられた。また、肺胞上皮過形成巣のPCNA-labeling indexはBLM単独投与群で平均7.15であるのに対し、BLM+BHT群およびBLM+BHA群ではそれぞれ平均2.00および3.92と低く、さらに核あたりの平均AgNORs数においても、BHTないしBHAの併用投与群で減少した。以上の結果から、BLMによる肺の線維化の進展と同時に、細気管支肺胞上皮病変の増殖動態においても抗酸化剤BHTおよびBHAが抑制的に作用する可能性が示唆された。(本研究は喫煙財団の研究助成を受けた。)

P-75 マウスのモノクロタリン誘発肺線維症に対する
6-nitrochrysene の修飾作用

○河部真弓、今井田克己、武貞徳子、加藤俊男、白井智之
(名市大・医・1病理)

【目的】

モノクロタリン(MC)をマウスに投与するとヒト肺線維症に類似した病変が誘発されることが報告されている。今回我々はMCの投与前あるいは投与後に、肺に対し発癌性の報告されている6-nitrochrysene(6-NC)を投与することにより、MC誘発の線維化がいかなる修飾作用を受けるかについて検討したので報告する。

【方法】

5週齢のICR系雄マウス100匹を用い、1群には2200nmolの6-NC 1mlを腹腔内投与し、その1週後よりMCを200mg/kg体重の用量で1週間に1回の頻度で10回皮下投与した。2群はMC投与1週後に6-NCを投与、3群はMCの単独群とした。また、4群および5群はそれぞれ1および2群の6-NC単独投与群とした。動物は25週間で屠殺剖検し、肺について病理組織学的に検索した。

【結果】

MCを投与した1～3群において、投与期間中より体重の増加抑制が観察され、1群では24週までに全例が死亡、また2群および3群においても最終屠殺時の生存匹数は2例ないしは3例であった。病理組織学的検査では、MCを投与した1～3群で肺胞におけるフィブリンの析出および組織球の浸潤が高率に観察された。線維化はMC投与の前後に6-NCを投与した1および2群で、それぞれ19例中18例(95%)および17例中13例(76%)に発生し、単独群の20例中4例(20%)と比較して有意な増加を示した。また、MC投与により細気管支上皮に強い核異型を伴った過形成が観察され、特にMC投与後に6-NCを投与した2群で有意な増加を示した。

【結論】

6-NCの投与は、MC投与による肺線維症の発生を有意に増加させたが、6-NC投与時期による差は観察されなかった。しかしながら、MC投与により発生したと考えられる細気管支上皮の過形成は、6-NCを後で投与することによりさらに増強されることが明らかとなった。

○西村友成¹、山手丈至²、川合是彰¹、佐久間貞重²(¹田辺製薬・安全研、²大阪府立大・農・獣医病理)

近年、組織傷害に反応するマクロファージによって産生される種々の増殖因子が筋線維芽細胞を筋線維芽細胞へ転化させ、肉芽形成および線維化が進行すると考えられている。一方、ゲル濾過担体である多糖類、Sephadex G-200 をラットに静脈内投与すると、Sephadexの塞栓によって肺の好酸球症および肉芽腫性肺動脈炎が誘発される。そこで、我々はこの肉芽腫性肺動脈炎の形成に関与するマクロファージおよび筋線維芽細胞の動態を免疫組織化学的に観察した。

【材料および方法】7週齢のF344/DuCrj雄性ラット30匹にSephadex G-200を生理食塩液に溶解し、1mg/ml/匹の投与量で尾静脈より単回投与した。投与後1、4、8、12、24時間および3、7、14、21、28日に各3匹のラットをエーテル深麻酔下で放血致死させ、肺を摘出した。なお、剖検1時間前にBrdUを100mg/kg体重の割合で腹腔内に投与した。肺は10%中性緩衝ホルマリンあるいはメタノール・カルノア液で固定し、パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、アザン染色、ルナ染色およびPAS反応を実施し、さらに増殖細胞をBrdUで、マクロファージをED1およびED2で、筋線維芽細胞を α -smooth muscle actinで免疫組織化学的に識別した。

【結果】投与後1から4時間ではSephadex塞栓部周囲に好中球と少数のED1陽性マクロファージが浸潤し、投与後8時間からED1陽性マクロファージおよび好酸球の浸潤が目立った。投与後24時間ではED1陽性マクロファージおよび好酸球はさらに増加し、一方好中球は減少した。マクロファージの一部はBrdUに陽性であった。投与後3日では塞栓動脈の構造は消失し、ED1陽性マクロファージはSephadexを中心に密に集簇した。マクロファージ内にはSephadexの断片と思われるPAS陽性の赤色顆粒が認められた。また、BrdU陽性マクロファージおよびED1陽性の多核巨細胞も散見され、塞栓部周囲には筋線維芽細胞が出現した。投与後7から14日にかけて肉芽腫は縮小する傾向にあった。この時期、肉芽腫周囲には膠原線維が出現し、新生したと思われる扁平な肺動脈が観察され、その中膜の一部はBrdU陽性であった。投与後28日ではSephadex粒子を中心に極めて少数のED1陽性マクロファージと紡錘形細胞および膠原線維がみられた。なお、ED2陽性細胞は対照および投与群とも観察期間を通じて気管支周囲の結合織に散見されたのみで、その数および動態に変化はなかった。

【考察】今回、Sephadexによる肺の肉芽腫形成にED1陽性マクロファージと筋線維芽細胞が関与することが示され、Sephadexによる肉芽腫性肺動脈炎は肺の肉芽腫形成にかかわる病態を解明する上で有用であると思われた。

○三沢保幸, 松下智哉, 加藤淳彦, 伊東房美, 杉本哲朗, 二木力夫*
(中外製薬・安全研, *エス・エル・エー研究所)

近年, vitamin D₃誘導体が表皮細胞の増殖抑制や分化誘導作用を有することがin vitro実験で明らかにされている。先に我々は1 α ,25-dihydroxy vitaminD₃ (Calcitriol) のラット単回経皮投与により, 表皮サイトケラチンサブユニットパターンの変化や表皮細胞の増生等が発現することを報告した(第21回日本毒科学会)。今回は, 表皮の経時的な組織像と細胞増殖動態について報告する。

【材料および方法】6週齢のSD系雄性ラットの背部皮膚(3×4cm)にCalcitriolの1000 μ g/ml/kgまたは溶媒対照としてエタノールの1ml/kgを単回経皮投与し,投与後1,3,4および5日に採材した。2つの実験群を構成し,BrdUの標識条件を変えて細胞増殖動態を検討した。すなわち,1)投与1時間前にBrdUを腹腔内投与して基底細胞を標識し,表皮細胞の基底層から角質層直下の顆粒細胞に到達するまでの移行時間を検討した。2)投与前および投与後1,3,4と5日に,採材の1時間前にBrdU標識して各時期における基底細胞のラベリングインデックス(LI)を検討した。採取した皮膚は,20%中性緩衝ホルマリン固定およびAMeX法によりパラフィン切片を作製し,H-E染色および抗BrdU(Amersham),抗ラットIa(Sera-lab)による免疫組織化学染色を施した。

【結果および考察】投与前に約4細胞層から成る表皮は,投与後1日では7~8細胞層に増生し,顆粒層におけるケラトヒアリン顆粒の増加を伴っていた。投与後3日あるいは4日では表皮細胞の増生は顕著となり表皮細胞の肥大を伴い,角質層が肥厚した。また,不全角化や角質層下における角質に類似したエオジン好性部位の存在,ならびにケラトヒアリン顆粒の乏しい棘細胞との境界が不明瞭な顆粒細胞の増加がみられ,各層への非生理的移行を示した。投与後5日では角質層の肥厚を除いて投与後1日と同様の組織像を呈した。さらに,投与後1日から4日まで基底細胞層における分裂像の増加,投与後1日から5日まで各細胞の核小体の大型化,細胞間隙の開大等も認められ,投与経過とともにIa抗原陽性のランゲルハンス細胞と考えられる樹状細胞が肥大し,明瞭となった。また,投与後3日以降では表皮下の毛細血管の拡張,増殖もみられた。基底細胞のLIに関しては,投与前は2.3%であったが,投与後1日に12.7%,3日に10.3%,4日に12.1%を示し,5日後には4.1%に低下した。また,投与1時間前にBrdUにより標識された基底細胞はCalcitriol群では投与後3日で角質層直下に到達したのに対して,溶媒対照群では5日を要した。

以上,Calcitriolによる表皮の増生や非生理的移行像は,細胞増殖の亢進に加えて,細胞分化の促進が背景にあることが示唆された。

糖尿病に併発したイヌの表在性壊死融解性皮膚炎の1例
(superficial necrolytic dermatitis)

○吉田 緑^{1,2}、茨田 享子²、高橋 正一¹、安藤 進¹、前川 昭彦¹
(¹佐々木研、²動繁研)

実験用ビーグル犬には糖尿病の発生は稀ではないとされているが、皮膚病変の併発についての報告は少ない。今回、比較的若齢のビーグル犬に糖尿病に併発して表在性の壊死融解性皮膚炎が観察されたので報告する。

【動物】あるブリーダーより搬入した7ヶ月齢の雄ビーグル犬。入手時(6ヶ月齢)に異常は認められなかったが、入手1カ月後より、趾間の糜爛・趾部の痂皮が発現した。その後、急激に一般状態が悪化し、削瘦が顕著となったため切迫屠殺した。

【剖検所見】皮膚の変化は四肢に観察された。趾間は腫脹し、剖面では膿汁が認められ、一部では出血していた。内部臓器では、肝臓の黄色化、腎臓皮質に線状の褪色部、脾臓の水腫が観察された。また削瘦が著しく、生殖器系臓器および胸腺の萎縮が観察された。

【血液生化学的検査】血糖、アルカリフォスファターゼ、総コレステロール、脾アミラーゼの増加。

【血清アミノ酸分析】総アミノ酸は正常範囲内であったが多くの項目で変動が観察された
増加: タウリン、グルタミン酸、バリン等、
減少: グルタミン、プロリン、アラニン、アルギニン等

【組織学的所見】四肢の皮膚では特徴的な所見として角化層と表皮の解離、有棘層上部の細胞の壊死および風船様の空胞化が観察された。表皮が剥離脱落した部位、表皮内および皮下組織には好中球等の炎症性細胞の浸潤が認められた。残存する表皮では角化亢進を伴った過形成が観察された。血管、毛嚢および皮脂腺に異常は観察されなかった。肝臓では脂肪化が著しく、腎臓では近位尿細管上皮の空胞化が認められた。脾臓では島細胞が殆ど観察されず、免疫組織化学染色ではグルカゴン陽性細胞のみが認められた。

【診断】同個体は、血液生化学検査結果および脾臓、肝臓、腎臓の組織所見より糖尿病と診断した。また皮膚では表皮に壊死性の変化が観察されたことから、表在性の壊死融解性皮膚炎(superficial necrolytic dermatitis)と考えられた。

【皮膚病変と糖尿病との関連性について】イヌでは糖尿病あるいは脾臓腫瘍等によって生じる肝臓の脂肪化あるいは肝硬変等の肝臓障害が、肝臓および組織中のアミノ酸合成を阻害し、表在性の壊死融解性皮膚炎を起こすことが報告されている。本例の皮膚病変は組織学的所見から、糖尿病による血管障害に起因するものではないと考えられた。加えて、低アミノ酸血症はみられなかったものの、肝臓の脂肪化が顕著であったことから、皮膚病変の発生には肝臓の代謝障害が関与している可能性が高いと考えられた。

○妹尾英樹、竹内哲也、野田圭介、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）

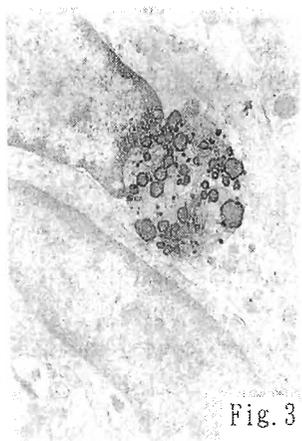
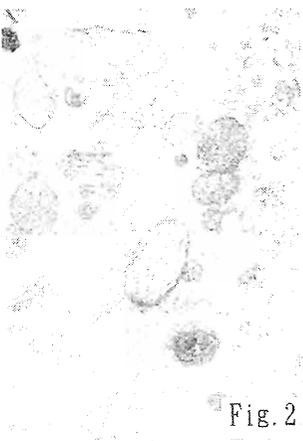
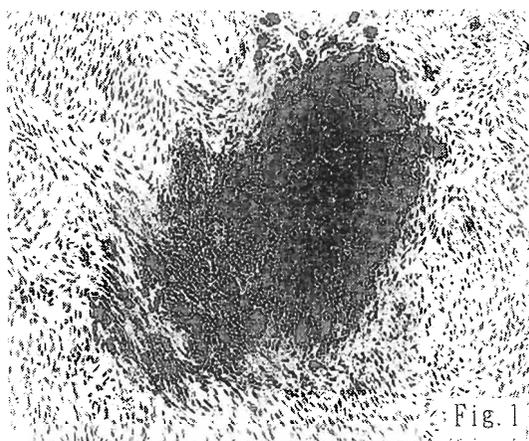
F344ラットにみられる耳介腫瘍の多くは、その光顕的形態から neurofibroma, Schwannoma, fibroma等と診断されてきたが、現在は超微形態学的観察により腫瘍細胞内にプレメラノゾームが存在する事から neural crest neoplasm (amelanotic melanoma)と考えられている。しかし、メラニン色素を認めた症例は報告されていない。今回、我々はアルビノであるF344ラットの耳介にメラニン色素を有する腫瘍を認めたので報告する。

【症例および検索方法】

検索した動物は発癌性試験に供した長期飼育のF344/DuCrjラットの雄1例である。動物は通常のバリアシステムで飼育し、飼料はオリエンタル酵母(株)のCRF-1粉末を、飲水は市水をフィルターろ過し紫外線滅菌したものを自由摂取させた。動物は49週齢時に耳介部に直径約5mmの腫瘍が認められ、瀕死解剖時の107週齢では一部に潰瘍化を伴う25×17mmの腫瘍塊となっていた。剖検では、耳介腫瘍はやや硬く、断面は白色で一部黒色を呈していた。本例には腹膜の中皮腫と包皮腺の腺腫を認めた。耳介腫瘍は10%中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン切片を作成し、H・E染色の他、各種の特殊染色および免疫組織化学的染色を施した。また、戻し電顕による超微形態学的観察を行った。

【組織学的所見】

耳介腫瘍の組織像は、主として紡錘形の比較的均一な腫瘍細胞が palisading, storiform patternあるいは herring-bone patternで配列し、neural crest neoplasmとされているものと同様の形態であった。また、腫瘍細胞の一部はメラニン色素を有していた(Fig. 1)。細胞密度の高い領域では有糸分裂像が目立ち、壊死が散見されたが、他臓器への転移は認めなかった。腫瘍細胞はS-100蛋白陽性であり、超微形態的にプレメラノゾーム(Fig. 2)に加えてメラニンを含んだメラノゾーム(Fig. 3)の存在を認めた。褐色色素は腫瘍の一部に局在しており、Fontana-Masson染色で陽性を示し、漂白法で漂白されたことからメラニンであることを確認した。



Benign Keratinizing Squamous Cell Tumor
in a Sprague-Dawley (CD) Rat

○ C. S. Ha, B. H. Kang, H. C. Kim, and K. P. Lee

Toxicology Research Center

Korea Research Institute of Chemical Technology

BKSCT has been reported in rats exposed by inhalation with a variety of dust particles. The tumors were characterized by an epidermoid cyst-like appearance with keratin mass surrounded by well-differentiated squamous cells. The lung tumors were classified as BKSCT in the WHO tumor classification of rats. However, the lung tumors were morphologically indistinguishable from so-called "squamous (epidermal) cyst" designated in the proposed standardized nomenclature by the Society of Toxicologic Pathologists. Recently, the diagnostic problem was discussed but unanimous agreement was not achieved for the nomenclature between the two schools. An important finding in dust exposure experiments was that the lung tumors developed predominantly in female rats. Another striking finding was the species-specific nature of the lung tumor induction by dust exposure. The lung tumors developed in rats but not in hamsters or mice. It is a rare spontaneous lung tumor in rats and the other laboratory animals.

Two hundred fifty two male and 252 female rats were divided into 4 groups of 63 each and fed a Rifamycin derivative at 0, 100, 200, 400 ppm for two years. There was no compound-related tumor incidence in any group of treated animals. BKSCT was found only in one male rat fed 100 ppm of the test compound and not in any other treatment group. In dust-induced BKSCT, the initial lesions were found in the alveolar duct region where alveolar bronchiolarization occurred with squamous metaplasia. Subsequently, metaplastic squamous cells produced progressively keratin material and attained large cystic keratin mass with a squamous epithelial cell rim. Since such precursory tissue changes of the BKSCT were absent in the lungs of any treated group and the incidence of BKSCT was not dose-related, one case of the BKSCT seen at 100 ppm of the test compound is considered to be a spontaneous lung tumor and not related to the test compound. Morphological evidences of the continuous outward growth of the BKSCT were: (a) the presence of numerous keratin pearls and sequestered squamous epithelial tissue in the central keratin mass, and (b) keratin pearl formation in the proliferating squamous epithelial rim surrounding the peripheral keratin mass. The number of keratin pearls and the size of keratin cyst were progressively increased since the epithelial cell rim continued remodeling by inward keratinization and outward squamous cell proliferation with keratin pearl formation. Based on the proliferative nature of squamous cell rim and large keratin cyst formation suggesting autonomous growth, the BKSCT is more proper term than the squamous cyst.

○木村 透、土井邦雄¹（農産工・中研、¹東大・農）

〔緒言〕我々はMexican hairless dog (MHD)を導入し、ビーグル犬との戻し交配から実験用ヘアレス犬を作出している。ヘアレス犬の皮膚は顕著な加齢性変化を示し、成犬ではヒトの老人性色素斑に似た色素沈着を現す。また、表皮に多数のメラノサイトを有するが、個体により出生時から体表に白斑部分をあわせ持つ。今回は、試験1として、若齢のヘアレス犬について、皮膚の有色部位と白斑部位を組織学的に検査した。次に、試験2として、成犬の皮膚に現れた色素斑に脱色素剤hydroquinone (HQ) を塗布し、その脱色素効果を調べた。

〔材料と方法〕試験1—生後3週齢のヘアレス犬BCF1雄3頭(F1雄×ビーグル犬雌)を対象に、皮膚の有色部位および白斑部位について組織学的検査を実施した。

試験2—4歳のヘアレス犬F1雄(MHD雄×ビーグル犬雌)を3頭用い、体表の色素斑に3%HQ溶液を1か月間連続塗布した。皮膚色の測定は、試験前および試験開始1か月後に実施した。皮膚の組織は試験前および試験開始1か月後に採取し、一部の材料はDOPA陽性メラノサイト数の計測に、また残りの皮膚は組織学的検査に供した。

〔成績〕試験1—有色部位の表皮には、基底層と有棘層にメラニン顆粒を多数認められた。真皮にもメラノサイトの遊走像が観察された。有色部位の皮膚には極めて少数ながら被毛が存在し、被毛と毛包にはメラニン顆粒の沈着が認められた。一方、白斑部位では、表皮・真皮ともメラニン顆粒はなく、毛包原器とみなされる表皮ingrowth部にもメラニン顆粒は認められなかった。白斑部位の被毛は白毛であり、被毛と毛包にメラニン色素は見られなかった。

試験2—(1)皮膚色：HQ塗布後1週間で肉眼的に脱色素が見られた。脱色素はHQ塗布1か月後には体表の1/4程度までに広がった。さらに、試験終了後半年で全身の皮膚が脱色素を受けた。色彩色差計でもHQの脱色素効果はとらえられ、HQ塗布1か月後で明度は顕著に上昇した。(2)DOPA陽性メラノサイト数：HQ塗布1か月後、DOPA陽性メラノサイト数は試験前値の1/5にまで著しい減少を示した。(3)組織学的検査：色素沈着部位では基底層と有棘層にかけて多量のメラニン顆粒の沈着が観察された。HQ塗布1か月後の皮膚は、明らかな色素沈着の消退を示し、脱色素効果を証明した。メラニン顆粒の減少以外には、炎症性変化も見られず、表皮および真皮層に形態学的変化は認められなかった。

〔考察〕試験1の成績から、ヘアレス犬の白斑の発現とメラノサイトの遊走および表皮のメラニン顆粒の分布との間には何らかの関連があることが示唆された。試験2の成績から、ヘアレスの皮膚は、皮膚色、DOPA陽性メラノサイト数および組織学的検査の3つの方法により、脱色素剤HQの効果を正しく評価できる実験動物であることがわかった。

ウサギにおけるMST-16の アドリアマイシン誘発心臓傷害軽減作用

○ 生越直仁 只野尚登 成田忠臣 小野肇 油井龍五 (全薬工業・研究所)
【はじめに】MST-16 (ソブゾキサソ) は全薬工業 (株) から発売されたジケト・ピペラジン骨格を有する新規制癌剤で、臨床において悪性リンパ腫や成人T細胞白血病に効果が認められている。一方、アドリアマイシン (ADM) は広く臨床で用いられているが、その特徴的な副作用である心筋傷害が使用上の問題となっている。現在、MST-16の類縁化合物であるICRF-187が、ADMによる心傷害を軽減することが知られていることから、MST-16にも同様に心傷害軽減作用を有する可能性が考えられる。そこで我々はADMによる心傷害が比較的ヒトに近いとされるウサギを用いて、組織学的変化ならびに脂質過酸化反応の関与に注目してMST-16のADM誘発心臓傷害軽減作用を検討した。

【材料および方法】NZW雄ウサギを1群4羽で用いた。投与群は①対照群、②MST-16 25mg/kg 投与群、③ADM 1mg/kg 投与群、④ADM+MST-16 25 mg/kg 併用群および⑤ADM+ICRF-187 25 mg/kg 併用群を設けた。MST-16はADM投与の60分前に経口投与し、ICRF-187はADM投与の30分前に腹腔内投与した。ADMは耳介静脈内投与した。投与は2回/週で10回行った。最終投与後4週間の観察期間を設けて剖検し、心臓を摘出して光顕、電顕を用いた病理組織学的検査および過酸化脂質や生体内抗酸化物質の測定を行った。

【結果および考察】ADM投与により心臓肥大が認められ、心筋細胞の空胞変性、壊死および線維化など様々な病変がみられた。超微形態的にはcontraction bandの形成、unit membraneで囲まれた大小の空胞が多発し、ミトコンドリアを取り囲んだ2次ライソゾームの増加とミエリン様構造物が認められた。MST-16およびICRF-187の併用により、これら病変は軽減し、心筋空胞化面積を指標にした形態計測では、ADM投与群と比較して有意に減少し、組織学的に心臓傷害軽減作用が認められた。一方、心臓の過酸化脂質や生体内抗酸化物質の変動は認められなかった。HermanらはICRF-187のADM心臓傷害軽減作用はFeイオンをキレートし、Fe-ADM complexの形成を阻害することによると推定している。MST-16の心臓傷害軽減もICRF-187同様、キレート作用により、Fe-ADM complexの形成を阻害して、膜脂質の過酸化反応を防禦することによるとと思われる。

NO合成阻害剤単回投与により誘発される 心臓および腎臓病変の発生機序

○小笠原裕之¹, 村田晃子¹, 坂内なるみ¹, 塩野泰弘¹, 村上久子¹, 高木英利¹, 猪俣訓一¹,
徳田阿由美², 小西陽一² (1日本レダリー・生物研, 2奈良医大・腫瘍病理)

【はじめに】

一酸化窒素 (NO) は新しい情報伝達物質として, 広範な器官・組織で作用していることが明らかになってきている。昨年の本学会において, NO合成阻害剤である*Nω*-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) を単回および反復投与することにより腎臓および心臓に壊死性病変が出現することを報告した。今回はその毒性学的特徴をさらに検討する目的で, 経時的に形態像および尿・血液生化学的検査値の変動を検索し, さらに電顕的に細胞内小器官の変化を観察, その時の変化を, 急性腎尿細管壊死を誘発する代表的な薬物等と比較した。また, L-NAMEの投与量を段階的に下げ, 病変発現の閾値の検討も行った。

【実験材料および方法】

6週齢の雄Crj:CD (SD) ラットを用い, L-NAMEの800mg/kg量を単回静脈内投与し, 投与1, 6, 24, 48時間後の心臓および腎臓のHE染色標本の光顕像の観察, および投与6, 24, 48時間後の尿生化学, 投与1, 6, 24, 48時間後の血液生化学的パラメータ測定を行なった。投与6時間後の動物は電顕的観察を行なった。急性腎尿細管壊死を誘発する薬物としてcefaloridine, gentamicin, cisplatinを用い投与6, 24, 48時間後の変化, さらに腎虚血再還流処置 1, 6, 24時間後の変化を観察し, L-NAME投与時と比較した。また, L-NAMEの5, 25, 100, 400mg/kg量を投与し, 低用量における心, 腎病変の出現の有無を検索した。(各群3~5例)

【結果および考察】

1. L-NAME800mg/kg投与時の心臓および腎臓の変化

心臓では投与1時間後から主に心室中隔に巣状またはびまん性の心筋凝固壊死が全例にみられ, 24時間後以降は同領域のほとんどに単核細胞浸潤を認めた。腎臓では1時間後から髄質外帯 (外層および内層) に尿細管壊死が全例に観察され, 24時間後には再生像が散見された。尿中NAG活性は投与6時間後から高値を示し, 48時間後も継続した。血中尿素窒素およびクレアチニン値も同様な変動を示した。血中AST値は投与6時間後に高値を示した。電顕観察では, 心筋細胞のミトコンドリア内にwoolly densitiesが観察された。腎臓でも尿細管上皮細胞のミトコンドリア内にwoolly densitiesが観察され, 尿細管基底膜の損傷が散見された。

2. 他剤投与および腎虚血再還流時の変化との腎形態像の比較

腎虚血再還流時の腎尿細管壊死は投与1時間後より, 皮質から髄質外帯 (外層および内層) にみられ, 電顕的にミトコンドリア内のwoolly densitiesが観察された。Cefaloridine, gentamicin, cisplatinでは腎尿細管壊死は皮質から髄質外帯外層にみられたが, 電顕的にwoolly densitiesは観察されなかった。

3. L-NAME 低用量投与時の心臓および腎臓病変出現の検索

心臓, 腎臓ともに25mg/kg以上より, 軽度ながら壊死性病変が観察され, 病変の程度と投与量には用量相関性が認められた。

以上より, L-NAMEにより誘発される心および腎病変は投与1時間後より既に出現し, 尿・血液生化学的パラメータはそれに随伴して変化することが明らかになった。心臓は電顕像から, 腎臓は病変の分布および電顕像, 虚血再還流または他剤投与時の変化との比較から, これらの変化は虚血性の変化である可能性が示唆された。また, 同病変は25mg/kg以上の投与で出現することを確認した。

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

はじめに 演者らはこれまで、既知の発がん物質である urethane (ethyl carbamate) のマウスへの投与実験を行い、virtually safe dose (VSD) を指標として発がんリスクの定量的評価 (第8回本学会, 1992) に加え、投与期間の差異が VSD の値を左右することなどを指摘してきた (第51回日本癌学会総会, 1992)。さらに、urethane 投与によって生じた肺腫瘍の生物学的特性については、早期の高濃度の投与が肺腫瘍の増殖能に負の要因となることを示した (第9回本学会, 1993)。そこで、今回はこのマウスを用いた肺発がんモデルに抑制物質の同時投与を行い、その発がんの抑制作用の機序を探ることを試みた。

実験材料および方法 4週齢の B6C3F1 雄マウス 240 匹 (平均体重 23g) を 2 週間基礎食で飼育した後、無作為に 40 匹ずつ 6 群に分けた。そのうち 2 群には urethane 混入蒸留水 (60ppm, 240ppm) の投与を行い、他の 2 群には 12% ethanol をこの urethane 混入蒸留水にさらに加えて投与し、残る 2 群には 0.1mg/kg body weight の容量にて butylated hydroxytoluene (BHT) を週一回腹腔内投与した。これらマウスを 50 週間飼育した後屠殺し、病理組織学的検索に供した。**結果** 各群において発生した肺病変 (過形成および腺腫) を Table 1. に示す。肺病変をもつ動物の有効動物数に対する比率をみると (Table 2.), 60ppm および 240ppm いずれの投与群でも ethanol, BHT の投与群で低値である。また病変の最大径を顕微鏡下で計測し、各群におけるすべての病変の average size と、各動物に発生した最大の病変の maximum average size を算出すると、60ppm および 240ppm いずれの投与群でも ethanol, BHT の投与群で average size, maximum average size とともに小さい傾向があった。さらにアルコール固定、パラフィン包埋材料の薄切標本を Ploton らの "one step method" により AgNORs 染色を施し、400 倍視野で 100 個の構成細胞についての平均 AgNORs 数をみたが、各群間に特定の傾向を認めなかった。Ki67 および PCNA の免疫組織化学的染色による増殖能の評価と K-ras gene の mutation の頻度についても検討して報告する。

Table 1. Number of Mice with Lung Lesions

Treatment	Lung Lesions	Number of mice with lesions in:					
		Sacrifice period (weeks) at:					
		10	20	30	50	50	50
60ppm UR*	Aveolar/bronchiolar hyperplasia	3/5	0/5	0/10	5	20	
	Aveolar/bronchiolar adenoma	3/5	0/5	3/10	3	20	
60ppm UR* + 12% Eth**	Aveolar/bronchiolar hyperplasia	0/5	0/5	0/10	5	10	
	Aveolar/bronchiolar adenoma	0/5	0/5	0/10	2	10	
60ppm UR* + BHT***	Aveolar/bronchiolar hyperplasia	0/5	0/5	0/10	7	18	
	Aveolar/bronchiolar adenoma	0/5	0/5	0/10	2	18	
240ppm UR*	Aveolar/bronchiolar hyperplasia	0/5	0/5	3/6	8	16	
	Aveolar/bronchiolar adenoma	0/5	0/5	1	6	10	16
240ppm UR* + 12% Eth**	Aveolar/bronchiolar hyperplasia	0/5	0/5	0/10	7	17	
	Aveolar/bronchiolar adenoma	0/5	0/5	1	10	9	17
240ppm UR* + BHT***	Aveolar/bronchiolar hyperplasia	0/5	0/5	0/10	9	19	
	Aveolar/bronchiolar adenoma	0/5	0/5	0/10	3	19	

* UR : Urethane
 ** Eth : Ethanol
 *** BHT : Butylated hydroxytoluene

Table 2. Incidence of Mice with Lung Lesions

Group	No. of mice with lung lesions (%)	Total no. of lung lesions (per mouse)	Average size (mm)	Average maximum size (mm)	AgNORs
60ppm UR	7/40 (17.5%)	21 (3.0)	0.66	0.82	2.46
60ppm UR + 12% Eth	6/39 (15.4%)	17 (2.8)	0.64	0.81	2.45
60ppm UR + BHT	5/38 (13.2%)	15 (3.0)	0.58	0.77	2.34
240ppm UR	16/32 (50.0%)	69 (4.3)	0.89	1.11	2.41
240ppm UR + 12% Eth	16/37 (43.2%)	64 (4.0)	0.81	1.04	2.44
240ppm UR + BHT	16/39 (41.0%)	55 (3.4)	0.82	1.03	2.51

○野口修、堤雅弘、小林永策、白岩和巳、天沼利宏、小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

目的

ヒトの発癌要因として重要と考えられるニトロソアミンによる肺前癌病変についてのKi-ras遺伝子変異の検索は十分ではなく、また、ヒト肺癌における腺癌および扁平上皮癌の組織型によるKi-ras遺伝子の変異の頻度の差の原因は明らかではない。今回我々は、ラット肺に高率に腺癌、扁平上皮癌を発生させるN-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP)を用いて腺癌、扁平上皮癌および、その前癌病変である肺胞上皮過形成、扁平上皮化成におけるKi-ras遺伝子の変異の頻度をPCR-SSCP解析を用いて検索した。

材料と方法

動物は6週齢のWister系雄ラットを用い、2000ppmのBHP含有飲料水を15週間投与し、その後水道水にて飼育し、実験開始後20から27週間後に屠殺した。肺は摘出後、エタノール固定し、パラフィン包埋標本より組織切片を作成、これから病変部分のみを切り出してDNAを抽出した。解析はPCR-SSCP法を用いて行い、Ki-ras遺伝子のexon 1の変異を検索した。

結果および考察

病変の発生頻度は、肺胞上皮過形成64%、腺腫33%、腺癌33%、扁平上皮化成55%、扁平上皮癌18%、腺扁平上皮癌27%であった。これらの病変についてras遺伝子の変異を検索した結果、肺胞上皮過形成40%、腺腫36%、腺癌72%、扁平上皮化成20%、扁平上皮癌50%、腺扁平上皮癌50%にKi-ras遺伝子exon 1の変異を認めた。この変異はDirect SequenceによってCodon 12のGGTからGATへの変異であることが明らかになった。

以上の結果より、ニトロソアミンによるラット肺発癌には、腺癌、扁平上皮癌といった組織型とは関係なく、早期よりKi-ras遺伝子の変異が重要な役割を果たしていることが示唆された。

P-86 ラットを用いたアスパラギン酸 Na の癌原性試験

○北堀吉映，小西 登，松井恵美，日浅義雄（奈良医大・二病理）

[はじめに]

アスパラギン酸はグルタミン酸と共に自然界に広く存在し，蛋白質を構成するアミノ酸のうち比較的量が多く，ナトリウム塩は呈味作用（うま味及び鹹味）があり一般家庭において調味料として広く使用されている。昭和36年，食品添加物として指定された。近年，酸味を和らげ，うま味を増すことから，果斗飲料に広く採用されている。しかし，長期投与した際の癌原性及び毒性の有無についての報告はない。我々はラットに長期投与を行い，病理組織学的に検索した。

[材料と方法]

動物：4週齢のF344ラット雄雌各150匹を日本チャールスリバー社から購入し，1群50匹の各3群を設け，1週間の予備飼育後実験を開始した。

材料：L-アスパラギン酸ナトリウムは味の素株式会社から入手し，亜急性毒性試験の結果に基づいて5%，2.5%および0%の割合で水道水に混じ，自由に摂取させた。

実験：試料の投与期間は2年間とした。

[結果]

検体摂取量：アスパラギン酸 Na を含有した摂水量は全期間を通じ各群間に明らかな差は認められなかった。

体重及び飲水量：雄5%投与群に軽度ながら体重増加抑制が観察されたが，ほかの群においては明らかな差は認められなかった。また，飲水量は5%群の雄雌共に各週間のバラツキがあるものの増加傾向がみられた。

病理組織学的所見：有効動物は著明な貧血および腹部膨満状態を呈し，剖検により著明な脾腫を認めた81週以降として，その後死亡及び最終時まで生存した動物について組織検索を行った。検体投与により出現したと思われる変化は，膀胱上皮の過形成で，雄5%群で5例，雌5%群で3例に観察された。他に腫瘍の発生は下垂体，甲状腺，精巣，副腎，皮膚などで，対照群と比較し明らかな差は観察されなかった。

[まとめ]

L-アスパラギン酸は生体内で大部分脱アミノ化によりオキザロ酢酸となり，TCAサイクルで酸化されると考えられ，生体内への毒性はないものとされている。今回，わずかながらの膀胱上皮の過形成が観察されたことは，それ本体の毒性によるものか，Na 塩との関係かは明らかではないが，興味深い結果を得た。

B6C3F1マウスの肺腫瘍におけるがん関連遺伝子解析

○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】 B6C3F1マウスを用いた長期がん原性試験において肺の細気管支／肺胞上皮腺腫・腺癌は肝細胞腫瘍、白血病／リンパ腫とともに発生頻度が高い腫瘍である。しかし、細気管支／肺胞上皮腺腫と腺癌の分類／鑑別診断には統一見解はなく、一般的な原則に頼らざるを得ない。そこで、B6C3F1マウスにみられた自然発生肺腫瘍について病理組織学的分類と変異がん遺伝子／がん抑制遺伝子の発現について免疫組織学および分子生物学的手法を用いて比較検討し、さらに増殖細胞核抗原(PCNA)の陽性率との相関について検討した。

【材料と方法】 当研究施設で実施した2年間のがん原性試験に用いたB6C3F1マウスのうち、最終剖検時に採取した肺腫瘍46例のHE染色標本について、腫瘍細胞の異型度を重視して細気管支／肺胞上皮過形成、腺腫および腺癌に診断した。免疫組織学的には、抗c-myc、抗c-jun(Novocastra)および抗p-53(Oncogene Science, Ab-3)抗体について発現蛋白／変異遺伝子産物の発現を検索した。また抗p-53抗体陽性例(腺癌5例)については、PCR-SSCP法を用いてP-53のexon5,6,7および8における遺伝子変異について検討した。PCNA抗体陽性細胞率は画像解析装置(Video plan, Carl Zeiss)で算出した。

【結 果】 HE染色標本による病理組織学的診断では、細気管支／肺胞上皮過形成11例〔細気管支型6例、肺胞上皮型5例〕、腺腫26例〔肺胞型(Ap)6例、乳頭状型(Pp)7例、腺管型(Tp)8例、充実型(Sp)4例、混合型(Mp)1例〕、腺癌9例〔Pp:7, Tp:2〕に分類された。免疫組織学的には抗c-myc抗体について、過形成(陽性5/11)、腺腫(陽性24/26)、腺癌(陽性9/9)、抗c-jun抗体について、過形成(陽性3/11)、腺腫(陽性11/26)、腺癌(陽性4/9)、抗p-53抗体について、過形成(陽性0/11)、腺腫(陽性0/26)、腺癌(陽性5/9)であった。また、抗p-53抗体陽性5例についてPCR-SSCP法で変異を調べた結果exon6に1例(Pp)とexon7に2例(Pp:1, Tp:1)の変異が存在した。PCNA陽性細胞率は過形成10%、腺腫11%および腺癌50%であった。

【ま と め】 以上の成績から、加齢B6C3F1マウスに自然発生した細気管支／肺胞上皮由来の過形成、腺腫および腺癌では、がん遺伝子産物 c-myc, c-junの陽性率に差はなかったが、p-53がん抑制遺伝子産物は、腺癌のみで発現しPCR-SSCPでその変異が一部に確認された。PCNA陽性率は過形成および腺腫に比較して腺癌でより高かった。従ってB6C3F1マウスの肺腫瘍では複数のがん遺伝子／がん抑制遺伝子の関係が示唆された。

○永谷真理子¹、星谷達¹、合川孝幸¹、中村厚¹、笠原健一郎¹、
田村一利¹、奈良間功²（¹ボゾリサーチセンター ²撰南大学）

好酸性細胞質顆粒が豊富な腫瘍細胞から構成されるラットの腫瘍としては、脳軟膜、腹腔内、雌生殖器あるいは舌の顆粒細胞腫、基底細胞腫（顆粒細胞型）などが報告されている。今回我々はラットの腹腔内において、多数の好酸性顆粒を保有した腫瘍細胞から構成され、従来報告された顆粒細胞腫とは発生起源を異にするとと思われる希有な自然発生腫瘍を認めたので、その肉眼的、組織学および電子顕微鏡の特徴を報告する。

動物は長期毒性試験に供された雄 Slc:Wistarラットで58週齢時に死亡したもので、血液および血液生化学的検査は実施できなかった。全身臓器および腫瘍組織は10%緩衝ホルマリンにて固定し、常法に従いパラフィン包埋・薄切後、HE染色に加え特殊染色としてギムザ染色・PTAH染色・PAS反応およびトルイジン青染色、さらに、ホルマリン固定組織から電子顕微鏡用試料を作製して超微形態的に観察した。

肉眼的には、腹腔内に小豆大ないし母指頭大の乳白色（一部赤色調）不整形な腫瘍が多発して認められた。この腫瘍は膵臓および精索脂肪織を主に、脾門部、肝門部、胃漿膜面、膀胱、右精巣周囲にも認められた。この他左精巣上体、精嚢が結節性に腫大し、縦隔リンパ節が軽度に腫大していた。なお、肝臓および脾臓に明らかな腫大は認められなかった。

組織学的に、腫瘍は1~2個の明瞭な核小体を有するクロマチンに乏しい円形~馬蹄形核をもったやや大型の類円形細胞と、比較的クロマチンの豊富な核をもった小型類円形細胞からなり、前者は明るい細胞質を、後者は弱好塩基性細胞質を特徴としていた。これら両細胞の細胞質内には好酸性微細顆粒が数個~多数みられた。この顆粒はギムザ染色で赤く、PTAHで青く染まり、PAS反応陽性で、トルイジン青染色では異染性を示さなかった。腫瘍細胞は腫瘤部で充実性・シート状に増殖し、周囲脂肪織内へ浸潤していた。肉眼的に腫大していた左精巣上体と精嚢では、腫瘍細胞は間質に浸潤し増殖していた。このほか腫瘍細胞は縦隔リンパ節と大腿骨遠位端骨端骨髓にも瀰漫性に浸潤し、肝臓類洞内と小葉間結合織および肺胞壁毛細血管内には遊走した腫瘍細胞が多数認められた。

超微形態的に、顆粒はほぼ円形の均質な Electron-dense body（直径0.44-1.10 μ m）としてみられ、周囲に Electron-lucentな領域をもち、単位膜で囲まれていた。細胞周囲には基底膜や細胞間接着装置はみられず、概して細胞内小器官には乏しかったが、層板状や同心円状に配列した粗面小胞体が時折認められた。

本腫瘍は形態的な特徴に加え、その増殖・浸潤態度から遊走細胞に由来すると考えられた。すなわち、顆粒の特殊染色結果および超微形態から Globule leukocyteが、粗面小胞体の配列からは形質細胞が疑われたが、腫瘍細胞の発生起源を特定するには至らなかった。

**Pathological and immunohistochemical changes
caused by spontaneous mouse hepatitis virus
infection of ICR mice in a Korean breeding colony**

Dae Joong KIM, Cheol Kyu KIM and Jong Koo KANG¹ (Dept. Pathol., Nat'l. Inst. Safety Res., Seoul 122-020 and ¹Coll. Vet. Med., Chungbuk Nat'l. Univ., Cheongju 360-763, Korea)

This study was carried out to detect spontaneous **mouse hepatitis virus (MHV)** infection of mice in a breeding colony in Korea by pathological and immunohistochemical methods. ICR mice, 6 weeks old (female 1, male 1) were found to be sudden death during the experiment. Grossly, the liver appeared dark red color, scattered with the white pin-point spots. Multi-focal hepatocellular necrosis was seen in the liver without preference for any particular zone of the liver lobule. A focal hepatocellular necrosis was infiltrated with inflammatory cells. For identifying MHV antigen, an immunohistochemical staining method using avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) was applied in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. Positive reactions against MHV antigen were shown in many hepatocytes or the lesions of focal hepatocellular necrosis. In conclusion, mice that were spontaneously infected with a strain of MHV in domestic breeding system were detected by pathological and immunohistochemical (ABC) methods. This technique can be used for the definitive diagnosis of an active mouse hepatitis virus infection using commercially available reagents and formalin-fixed, paraffin-embedded tissues.

Keywords : Mouse hepatitis virus (MHV), focal hepatocellular necrosis, immunohistochemical staining, avidin-biotin-peroxidase complex (ABC).

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

通常のバリアシステムの環境下で無処置S1c:SD系ラットの加齢性病変を検索する目的で、雌雄各120匹、計240匹のラットを5週齢から飼育し、給餌および給水については自由摂取の条件下で最長、雄で125週齢、雌で126週齢まで生涯にわたり飼育した。飼育期間中は臨床症状の観察、体重および摂餌量を測定し、白血病が疑われた一部の瀕死期殺処分動物については血液学検査を実施した。さらに、全動物の病理学検査を実施し、以下の結果を得た。

1. 雄では39週齢で最初の死亡が認められた。その後、70週齢前後から急速に死亡動物が増加し、79週齢から104週齢の間に死亡のピークがみられ、104週齢の時点で累積死亡率は80.0%であった。雌では52週齢で最初の死亡が認められ、78週齢前後から死亡動物が増加し、105週齢から126週齢の間に死亡のピークがみられた。104週齢の時点で累積死亡率は40.8%であった。最後の死亡例の週齢は雄が125週齢、雌が126週齢であった。
2. 死因に関しては、腫瘍による死亡が雄では24.2%、雌では70.0%であった。死因の内訳は雄では慢性腎症が最も多く(69.2%)、以下、白血病・リンパ肉腫(10.8%)、下垂体腫瘍(7.5%)などが認められた。雌では下垂体腫瘍が最も多く(34.2%)、以下、慢性腎症(23.3%)、乳腺腫瘍(18.3%)、白血病・リンパ肉腫(10.8%)などが認められた。
3. 一般臨床検査では雄で66週齢から、雌では44週齢から腫瘤ないし結節が認められたが、病理組織学的には殆ど皮膚、皮下織ないし乳腺の腫瘍であった。体重に関しては、雄では80週齢まで、雌では100週齢まで、順調な増加がみられたが、その後、飼育期間が終了するまで死亡あるいは瀕死期殺処分動物の個体値の減少に起因する平均値の減少が継続して認められた。摂餌量に関しては、雌雄ともに飼育期間を通じて大きな変動は認められなかった。
4. 担腫瘍動物数は雄93例、雌115例、全腫瘍数は、雄143、雌227で、良性腫瘍数は雄113、雌189、悪性腫瘍数は雄30、雌38であった。個々の腫瘍別には、下垂体の腺腫が雌雄ともに最も多く、次いで雌乳腺の線維腺腫、雄精巣の間細胞腫、雌雄の副腎の pheochromocytoma、雌甲状腺の C cell adenoma、雌子宮の stromal polyp、雌乳腺の乳癌の発生頻度が高かった。
5. 非腫瘍性病変については、慢性腎症が高頻度に認められ、それに関連して心臓の cardiomyopathy、動脈の polyarteritis nodosa、上皮小体の hyperplasia、骨の fibrous osteodystrophy および全身諸臓器への転移性石灰沈着が認められた。その他、胸腺の atrophy、肝臓の foci of cellular alteration、精巣の tubular atrophy などの加齢性病変が多数認められた。

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

通常のバリアーシステムの環境下で無処置 S1c : F-344 系ラットの加齢性病変を検索する目的で、雌雄各 60 匹、計 120 匹のラットを 8 週齢から 92 ないし 93 週齢まで飼育し、一般臨床検査、血液学検査、血清生化学検査および病理学検査を実施し、以下の結果を得た。

1. 死亡は雄では 19 週齢に 1 例、80~90 週齢に 3 例の計 4 例に認められた。雌では 69 週齢と 71 週齢に各 1 例の計 2 例に認められた。死因として、雄では大腸の adenocarcinoma、下垂体の腺腫および腎臓の慢性腎症が、雌では large granular lymphocyte leukemia および osteosarcoma がそれぞれ認められた。
2. 一般臨床検査では、雄で 90 週齢から、雌では 82 週齢から腫瘤ないし結節が認められたが、病理組織学的には殆ど皮膚ないし皮下織の腫瘍であった。その他、一部の動物で斜頸、眼球白濁などの変化が認められた。体重に関しては、死亡動物の体重減少に伴う平均値の変動はあるものの概ね順調な増加を示し、摂餌量および摂水量の推移に関しては、明らかな変動は認められなかった。
3. 血液学検査では 92 ないし 93 週齢時の血液で、赤血球数、血小板数ならびに白血球数で雌に比し雄の方が高値を示した。白血球分類では、加齢性的変化と考えられる好中球比率の増加ならびにリンパ球比率の減少が認められた。
4. 血清生化学検査では 92 ないし 93 週齢時の血清で、雌雄共に動物の肥満に伴う triglyceride の増加が認められた。
5. 担腫瘍動物数は雄 59 例、雌 33 例、全腫瘍数は、雄 110、雌 55、良性腫瘍数は雄 98、雌 44、悪性腫瘍数は雄 12、雌 11 であった。個々の腫瘍別には、精巣の間細胞腫が最も高率に認められ、その他、下垂体の腺腫および甲状腺の C cell adenoma が比較的高率に認められた。
6. 非腫瘍性病変については脾臓の extramedullary hematopoiesis、 hemosiderin deposition、胸腺の atrophy、肝臓の bile duct hyperplasia、foci of cellular alteration、膵臓の atrophy of acinar cells、腎臓の慢性腎症、精巣の tubular atrophy、下垂体、副腎皮質および髄質の nodular hyperplasia および眼球の corneal dystrophy が比較的高率に認められた。

Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA)

免疫組織化学での染色性の変動

—各種の固定液・固定時間・マイクロウェーブ加熱処理による差—

○大石裕司¹、松本正博¹、義澤克彦¹、鈴木淳也¹、藤井登志之¹、
高橋秀樹²、螺良愛郎²、森井外吉² (1藤沢薬品・安全研、²関西医大・2病)

〔緒言〕PCNAは一般の毒性試験内で簡便に使用できる唯一の細胞増殖マーカーとして、その研究報告は本学会においても何度か議論されている。しかし、その陽性率は同一材料においても固定液の種類や固定時間あるいはマイクロウェーブ加熱処理による抗原性の賦活化により、激変することはあまり知られていない。今回、ラットの胸腺皮質を用いこれら条件の組み合わせによる陽性率を検討し、興味深い知見を得たので報告する。

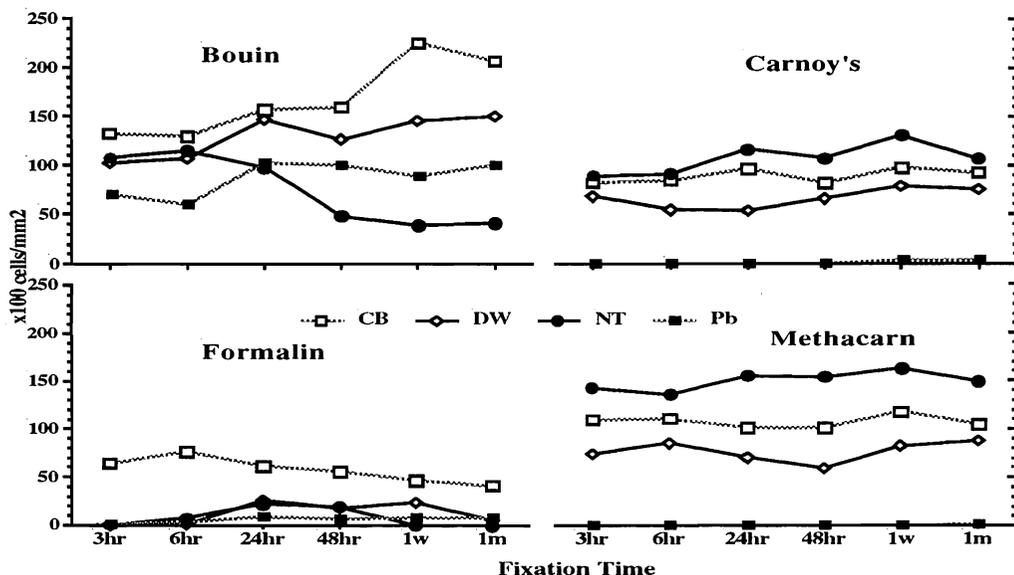
〔方法〕6週齢の雄Jcl:SDラットより採取した胸腺を下記の固定液および固定時間の24種のパラフィンブロックを作製し、それぞれ無処理および3種の抗原性賦活化処理を行った。計96種の切片は、可溶性PCNAを除去する為0.1%Tween20で20分間洗浄した後、一次抗体にはPC10(1:200)を用いABC法-DAB発色により同時に一括して染色した。PCNA陽性細胞は100倍の対物レンズ下にて同一標本につきそれぞれ5箇所を数え、1mm²あたりの陽性細胞数を算出した。

固定液：10%Formalin, Bouin, Carnoy's, Methacarn

固定時間：3 hr, 6 hr, 24 hr, 48 hr, 1 wk, 1 month

賦活化：non-treatment(NT), distilled water(DW), citrate buffer(CB), saturated lead thiocyanate(Pb)

〔結果/考察〕アルコール系の固定液では賦活化や時間経過に関わらず、それぞれの組み合わせでほぼ一定の陽性率を示したが、賦活化処理ではいずれも逆に低下しPb処理では殆ど染色されなくなった。Bouin固定の無処置では24hrまで高くその後低下するものの、賦活化処理はいずれも有効で1週間固定CB処理で今回検討した最大陽性数を数えた。Formalinの無処置では24hr固定をピークとし、賦活化処理はCB, DWが有効であったが、他の固定液に比べ低い陽性率であった。結論として、PCNA染色は固定や染色法により激変するが、アルコール系固定液では賦活化処理は不要で固定時間に依存した変動はほとんどなく、アルデヒド系固定液ではCBによる賦活化処理が最適である。



新田由美子¹，麻生博也¹，星正治¹，宇吹暁¹，早川式彦¹，神谷研二²，
丹羽太貫²（広島大，原医研，国際放射線情報センター¹，分子病理²）

近年、病理サンプルに対しても分子遺伝学的手法を用いた解析が行われるようになった。特に、PCR (polymelase chain reaction)法を用いて、パラフィン包埋材料からのDNAについて癌遺伝子、癌抑制遺伝子の変異を検出したという報告がなされている。これは、膨大な数の病理サンプルの分子病理学的検索をレトロスペクティブに行いうる可能性を示している。

広島大，原医研，国際放射線情報センターでは、被爆者の剖検資料を収集，保有し、平成3年度までにホルマリン固定臓器標本数が8044例に達している。演者らは、この材料からDNAを抽出し、ホルマリン長期保存が臓器DNAに及ぼす影響を調べ、抽出DNAにおける遺伝子変異の有無の検出可能性についてPCR法により検索した。

（材料） 1962年および1989年に剖検されて10%ホルマリン固定され室温保存されていた肝を、各50例，計100例用いた。対照群には、白血病より樹立した白血病細胞株5種類を用いた。

（方法） 1. 定重量肝あたりのDNA回収率をShumidt-Taunhauser-Schneider法で測定。2. 抽出したDNAの分子量を推定。3. N-ras, K-ras 遺伝子について、PCR法による遺伝子増幅を試みた。

（結果） 肝の病変について、16例に肝硬変の記載があったが、これ以外に病変はなかった。肝200mgあたりのDNA回収率は、1962年標本で $43.48 \pm 10.58 \mu\text{g}$ ，1989年標本で $45.02 \pm 11.09 \mu\text{g}$ であった。DNA分子量は、1962年標本では500bp以下が大半であったが、1989年標本では低分子量のもの以外に、2Kbから10Kbにも分布していた。現在1989年標本のについて、N-ras, K-ras 遺伝子の増幅を試みている。

○堀之内 彰、高見健治、関口正博、安藤孝夫（武田薬品・薬安研）

〔はじめに〕

エリスロポエチン(EPO)は赤血球の生合成を制御している糖蛋白質であり、その合成は主として腎臓で、一部は肝臓で行われることが知られている。今回、急性貧血マウスの腎臓および肝臓におけるEPO mRNA発現についてanti-sense合成DNA probeを用いた*in situ* hybridization法により検討した。

〔材料と方法〕

急性貧血を誘導した7週齢のCrj: B6C3F₁あるいはJcl:ICR雄マウス5例ならびに同週齢の無処置対照5例の腎臓および肝臓を用いた。急性貧血は剖検の8、16および24時間前にエーテル麻酔下で眼窩静脈叢から500 μl採血することにより惹起した。腎臓および肝臓は動物をエーテル麻酔下で放血後、液体窒素で凍結した。凍結材料は8 μmの凍結切片を作製後、4%ホルマリン・PBS液で30分間4℃で固定した。なお、一部の腎臓および肝臓はホルマリンあるいはPLP固定を実施し、パラフィン包埋標本作製した。*In situ* hybridizationのprobeにはマウスのEPO遺伝子の3つの異なったエクソン領域に対する合成anti-sense DNAを用い、その3'末端を³⁵S-dATPで標識して使用した。*In situ* hybridization法には、合成した3種類のDNA probeのうち、1種類あるいは3種類のprobe混合液を用いた。

〔結果〕

凍結標本では、急性貧血マウス全例の腎臓にEPO mRNAの陽性反応がみられた。陽性反応は腎臓皮質のみに限局しており、髄質にはみられなかった。皮質の陽性反応は間質細胞にみられ、糸球体および尿細管上皮細胞にはみられなかった。また、anti-sense DNA probeの1種類と3種類混合液を用いた場合のEPO mRNA検出の比較では、混合液を用いた方が陽性反応が強く発現していた。一方、対照群の腎臓と肝臓および急性貧血マウスの肝臓ならびにホルマリンあるいはPLP固定標本の腎臓および肝臓には陽性反応はみられなかった。

〔まとめ〕

以上の成績から、マウスのEPO遺伝子の³⁵S標識合成anti-sense DNA probeを用いた*in situ* hybridization法により、急性貧血マウスの腎臓皮質にEPO mRNAが検出され、その固定には新鮮凍結固定が適していることが示された。

○市村英資¹, 林 幹人¹, 江原敬子¹, 西村千尋¹, 中島 孝²

(¹日本化薬・安全性グループ, ²群大・医・2病理)

【目的】抗がん剤等多くの薬剤によりDNAが障害されることが知られているが、実際に組織切片上でDNA切断された細胞を観察することは容易ではない。今回、我々は抗がん剤であるエトポシドをラットに投与しこれにより誘発された胸腺、消化管、精巣細胞のDNA障害像をDNA切断末端を組織化学的に染色する方法であるTUNEL法を用いて経時的に検索した。また、電子顕微鏡的に核の形態についても検索した。

【材料および方法】11週令のWistar系雄ラット18匹にエトポシド(60 mg/kg)を尾静脈より単回投与し、1, 3, 6, 12, 24, 48時間後に胸腺、十二指腸、空回腸、直腸、精巣を採材した。また、対照群として、動物 6匹には溶媒のみを投与した。

材料は10%リン酸緩衝ホルマリンに固定後、パラフィン切片を作製し、H.E.染色を行った。また、隣接切片に対して、TUNEL法によるDAB染色を用いてDNA切断末端を検出した。また、材料の一部は、2.5%グルタルアルデヒド固定後、2%四酸化オスミウムで後固定し、エボン包埋した。常法に従い、超薄切片を作製し、ウラン・鉛の二重染色後、透過型電子顕微鏡で観察した。

【結果】小腸粘膜上皮では、TUNEL染色陽性細胞が投薬後1時間で既にクリプトの増殖帯付近に認められ、6時間では増殖帯の上方にまで多数観察された。その後、陽性細胞は次第に減少し、24時間以降ではほとんど観察されなかった。大腸上皮細胞でも同様に3時間まで増殖帯付近で陽性細胞が認められたが、6時間以降減少し、12時間ではほとんど観察されなかった。胸腺では陽性細胞は3時間以降、皮質に多数認められ、6時間でピークに達した。その後、次第に陽性細胞は減少した。精巣では投与後1時間より陽性細胞が精祖細胞に散見され、12時間まで陽性細胞は増加した。その後、24時間以降では精祖細胞の他に精母細胞も染色された。電顕的には、胸腺では1時間以降、小腸では1時間以降、更に精巣では6時間以降に核の凝集化、細片化等の変化が認められ、経時的にこれらの変化を呈した細胞がマクロファージに処理された像が観察された。

【まとめ】エトポシドはその作用機序として、トポイソメラーゼⅡ(ToPoⅡ)と結合してToPoⅡの活性を阻害することにより増殖細胞においてDNA障害を起こし、また、培養細胞でアポトーシスを誘発する¹⁾とされている。今回、我々はエトポシドをラットに投与し、これによりDNAに障害を受けた細胞をTUNEL法により特異的に分別し、且つ、経時的に観察することができた。以上、TUNEL法はDNA障害を受けた細胞を組織切片上において検索する方法として有用な方法であると考えられた。また、核の凝集、細片化など電顕的観察の結果からエトポシドによる増殖細胞への障害にはアポトーシスの関与が示唆された。

文献 1. 山田武 他(1994):癌と化学療法, Vol. 21, pp602-607.

ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウスにおける
化学物質の発がん性検出への有用性について

○不二 哲（塩野義新薬研），児玉幸夫，田中 悟，林 裕造（国立衛試）

〔目的〕 化学物質の発がん性の検出は、ヒトに対する発がん性の有無のみならずその標的器官・細胞を検出することが重要であると考えられる。実中研で開発されたヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウス (rasH2) は、導入遺伝子がそれ自身のプロモーターとともに導入されており、理論的には全ての細胞で導入遺伝子の発現・活性化による腫瘍発生が期待される。この性質は、化学発がんにおいても発揮されることが期待できる。そこで我々は、このマウスの発がん性の検出への有用性を検討するため、遺伝子障害性発がん物質から 4-Nitroquinoline-1-Oxide (4NQO) および Cyclophosphamide (CYP) を選び発がん実験を行った。

〔方法〕 4NQO：12 週齢の雌雄 rasH2 マウスおよび ras 非導入マウスに、15 mg/kg の 4NQO を一回皮下投与した。対照群には媒体のみを投与した。投与後、8, 12, および 16 週後に屠殺、剖検した。CYP：10 週齢の雄 rasH2 マウスおよび非導入マウスそれぞれに注射用蒸留水に溶解させた CYP 30 mg/kg, 10 mg/kg および対照群として蒸留水を、25 週にわたって週 2 回強制経口投与後、実験終了時全例屠殺、剖検した。各実験において標的および主要器官を中性緩衝ホルマリン固定し、H.E.標本を作成し病理組織学的に検索した。

発生腫瘍における導入遺伝子の活性化との相関関係を検索するため、皮膚乳頭腫のパラフィン包埋切片より DNA を抽出し、ヒト c-Ha-ras のコドン 12 付近を PCR 法にて特異的に増幅、T ベクターにつなぎ大腸菌に形質転換しクローニング、塩基配列を決定した。

〔成績〕 ras 導入、4NQO 投与群のみで投与後僅か 3 週間後から皮膚乳頭腫／扁平上皮がんが発生し、16 週では雄雌とも 80% 以上の高率となった。また、肺腺腫／腺がんが、僅か 8 週で導入群のみに発生しており、16 週後においては、導入群で発生率が有意に上昇していた。その他の器官には有意な腫瘍発生を認めなかった。また、皮膚乳頭腫から得た DNA に頻度は低いものの、コドン 12 の点突然変異を検出した。

〔考察〕 本系統マウスは通常飼育で、4 か月齢から皮膚および前胃の乳頭腫／扁平上皮がん、脾における血管肉腫、肺腺腫／腺がんなどの発生が報告されている。本系統マウスに遺伝子障害性発がん物質を投与すると、これらの特定の器官の特定の細胞においては、腫瘍発生までの時間短縮ないし発生率上昇を示す可能性が示唆された。導入遺伝子の活性化に依存した自然発生性の腫瘍がより早くかつ高率に発生するものと考えられた。本系統マウスは、標的器官の検出よりも発がん性の有無を鋭敏に検出しうるスクリーニング系として有用であると考えられる。

発表者索引 (数字は演題番号, 太字は演者)

- A**
- 足立民子 38
 合川孝幸 P-88
 相磯成敏 29, P-53, P-54,
 P-79
 相内聖峰 P-28
 赤井啓二 22
 天沼利宏 P-12, P-85
 Amedeo COLUMBANO 12
- 穴山久志 P-65
 安藤進 P-69, P-78
 安藤信明 1, 12, P-12
 安藤孝夫 27, P-10, P-94
 安藤保海 46
 青木豊彦 P-57
 新井敏郎 P-5
 有広光司 P-84
 有蘭直樹 54
 朝元誠人 33, 55
 浅野哲 P-61, P-73
 麻生博也 P-93
 阿瀬善也 P-55
- B**
- 馬場弘靖 33, 55
 茨田享子 P-78
- C**
- 陳天新 23, P-34
 千田哲士 P-14, P-15
 千早豊 P-25, P-27
 陳正浩 4
 長根芳文 51
 張永蓉 P-2
- D**
- 傳田阿由美 12, 20, P-12, P-83
 Diwan Bhalchandra A 13
 土居和久 P-70, P-71
 土井邦雄 5, 9, P-3, P-67,
 P-81
 土門晋 P-59
- E**
- 江原敬子 P-95
 江口勝也 P-32
 榎並倫宣 18, P-6, P-74
 遠藤武弘 11, 12
 榎本真 P-13, P-41, P-58
- F**
- 藤平司郎 P-63
 藤井登志之 P-63, P-92
 藤本成明 S 2-3, 46
 藤本隆平 35, 37
 藤田常夫 P-55
 藤原弘 P-59
 藤原公策 P-2, P-61
 深見博子 P-16
 福島昭治 23, 30, 50, P-33,
 P-34, P-35, P-36,
 P-38, P-39, P-40,
 P-74
 福田種男 P-57
 船橋英行 P-59
 古川文夫 18, P-6, P-20,
 P-74
 二口充 P-45
 不二哲 P-96

G

Gopinath C. 特-2
 後藤和広 2
 後藤鋼星 P-4, P-51
 後藤直彰 41
 後藤孝彦 46
 行之内保紀 P-2

H

萩原昭裕 P-26
 浜條ひとみ 40
 花田貴宣 37
 原田孝則 19, P-18, P-60
 P-62, P-64, P-72
 長谷川清彦 11
 長谷川良平 31, 32, P-26
 長谷川隆一 P-17
 長谷川亮 19
 橋本世津子 P-33, P-36
 橋本賢次 45
 秦純子 P-61, P-73
 早川和宏 P-57
 早川式彦 P-93
 林一彦 P-31
 林正信 P-70
 林幹人 P-95
 林新茂 P-44, P-87
 林修次 P-38
 林裕造 48, P-20, P-96
 日浅義雄 P-86
 日比野信裕 P-57
 平川公昭 3, 24, 39
 平澤健介 5
 平塚一幸 P-52
 広瀬雅雄 S2-2, P-37
 広内康彦 P-41, P-58

久田茂 P-32, P-43, P-46
 堀高明 P-38, P-40
 堀口浩資 10, 20
 堀井郁夫 45
 堀之内彰 P-10, P-87, P-94
 堀内敏 P-32, P-43, P-46
 堀添宏 P-29
 保坂直美 9
 星正治 P-93
 星谷達 P-8, P-88
 細川暁 P-57
 細野素子 P-33, P-36
 フセインモクブル 41
 河昶守 P-80

I

市村英資 P-95
 井戸側博一 3, 24, 39
 伊賀崎裕子 1
 飯田麻里 P-13
 飯島徹男 P-69
 飯塚和宏 P-46
 池上仁 9
 池崎信一郎 18, P-6, P-20,
 P-74
 今井清 15
 今井良悦 40
 今井俊夫 P-19
 今井田克己 P-24, P-75
 今木正文 22
 今村いづる 45
 今沢孝喜 17, 18, P-6, P-20,
 P-74
 稲田健一 21, 32, P-19
 稲田理恵 P-32, P-43, P-46
 稲垣覚 P-67

井 内 康 輝 P-84
 稲 津 水 穂 P-51
 井 野 夏 子 P-22
 猪 俣 訓 一 P-83
 猪 又 晃 45
 井 上 真奈美 P-15
 井 上 知 53
 乾 公 正 P-60
 乾 俊 秀 38
 石 田 明 弘 25
 石 田 勝 彦 9
 石 村 美 祐 P-65
 板 垣 伊 織 P-55
 板 垣 慎 一 5, P-3
 板 倉 智 敏 42
 伊 藤 明 弘 S 2-3, 46, P-70,
 P-71
 伊 藤 敦 子 26
 伊 藤 金 次 26
 伊 藤 清 子 P-46
 伊 藤 聖 一 17, P-35
 伊 藤 隆 康 27, P-10
 伊 東 房 美 P-77
 岩 堀 嘉 郎 33, 55
 岩 井 正 和 1
 岩 波 黄 葵 P-63
 岩 崎 仁 44, P-50
 岩 城 正 枝 52
 岩 田 聖 P-13, P-41, P-58
 岩 田 裕 之 P-34, P-38
 岩 田 真 P-59
 伊 澤 義 弘 P-61, P-73
 泉 啓 介 51
 泉 澤 信 行 35

K

姜 鍾 求 P-89
 金 大 中 P-89
 金 喆 圭 P-89
 上 村 裕 洋 P-29
 神 谷 研 二 P-93
 金 森 進 P-30
 金 子 英 志 P-61, P-73
 金 子 仁 P-5
 金 子 真 弓 P-84
 姜 富 鉉 P-80
 笠 原 健一郎 P-88
 檉 田 陽 子 28
 柏 原 純 一 1
 糟 谷 英 俊 44
 片 桐 卓 29, P-53, P-54,
 P-79
 片 柳 和 義 6
 加 藤 淳 彦 P-77
 加 藤 君 江 P-17
 加 藤 浩 司 P-45
 加 藤 道 幸 28
 加 藤 里 美 35
 加 藤 俊 男 P-75
 勝 又 由 加 P-41, P-58
 勝 田 修 36, P-14, P-15
 川 端 好之康 1
 河 部 真 弓 P-75
 川 合 是 彰 21, 38, P-68, P-76
 河 南 明 孝 P-90, P-91
 川 森 俊 人 P-21, P-22
 河 村 泰 仁 6, P-1
 河 村 晴 次 P-3
 川 西 徹 8, 34
 川 野 亮 二 P-84
 川 崎 一 P-42

Keefer Larry K.	13	藏 本 茂	P-56
花 見 正 幸	49, P-5, P-67	栗 原 寛 治	P-84
木 村 重 紀	31	栗 栖 和 信	46, P-70, P-71
木 村 れい子	P-5	黒 田 淳 二	P-23, P-52
木 村 透	P-81	黒 川 雄 二	P-17
Kim. H. C.	P-80	久 世 博	P-68
木 下 三 佳	19, P-18, P-62, P-64	楠 岡 修	P-8
木 下 啓 明	P-7	桑 原 真 紀	P-72
岸 倉次郎	P-30	桑 村 充	25, 52
岸 和 正	P-31	桑 村 有 規	P-68
北 堀 吉 映	P-86	L	
北 嶋 修 司	34	李 建 中	P-25, P-27, P-47
北 野 光 昭	50, P-34, P-40	李 起 豊	P-80
北 村 毅	P-69	李 旻 宰	P-3
北 浦 敬 介	51	M	
北 澤 利 明	19, P-18, P-62, P-64	前 田 博	7
木 崎 秀 行	P-66	町 田 一 彦	P-28
木 澤 和 夫	6, P-1	前 田 健	5
小 林 永 策	11, 12, 20, P-85	前 川 昭 彦	P-69, P-78
小 林 和 雄	P-41, P-58	真 板 敬 三	19, P-18, P-60, P-62, P-64, P-72
小 林 潔	2, 32	牧 栄 二	S 1-4
小 林 孝 好	P-4, P-51,	牧 野 奈津代	P-63
小 玉 拓 郎	P-47	牧 野 進	P-36
児 玉 卓 也	6, P-1	牧 田 浩 樹	14, P-22
児 玉 幸 夫	P-96	真 鍋 淳	16, P-9, P-11
小 松 博 道	4	丸 茂 秀 樹	15
小 西 登	P-86	丸 山 博 司	11
小 西 陽 一	10, 11, 12, 20, P-12, P-83, P-85	丸 山 敏 之	P-30
小 谷 猛 夫	25, 52	増 田 修 治	P-46
高 屋 豪 瑩	43	益 田 賢 一	P-73
久 米 英 介	P-50	増 井 恒 夫	21, 32, P-16, P-19, P-24, P-39
国 松 武 史	P-42	松 田 勉	23, 30, P-40
久 野 博 司	P-67		

松井惠美	P-86	水谷誠	42
松井元	8, 34	Mohr V.	特-1
松本悦嗣	P-9, P-11	森文秋	43
松本博隆	45	森秀樹	14, P-21, P-22
松本浩良	49, P-5, P-67	森郁生	P-44, P-87
松本正博	P-63, P-92	森聖	P-33, P-36, P-39
松本道男	29, P-53, P-54, P-79	森昌造	4
松本智志	P-7	森敏男	P-45
松本安喜	S1-2	森良雄	P-22
松沼尚史	P-9, P-11	森井外吉	P-92
松下智哉	P-77	守田禎一	6, P-1
松浦哲郎	7	本岡覚	P-57
米良幸典	P-16	村井隆	50, P-33, P-36, P-39
三上真一	P-41, P-58	村上久子	P-83
見上彪	5	村上美枝	P-14, P-15
南孝則	P-7	村越正典	P-32, P-43, P-46
三沢保幸	P-77	村岡義博	P-30
三橋弘明	P-73	村田晃子	P-83
三井雅之	18	務台衛	2, 32
三森国敏	16, 17, 47, 48, P-42	N	
三浦久樹	37	永井博文	40, P-65
宮川秀人	P-48	長野嘉介	29, P-53, P-54, P-79
宮川誠彰	S1-3, P-25, P-27, P-44, P-87	永田治	47
宮本誠	22	永田良一	P-25, P-27, P-47
宮本恵美	28	永田伴子	15
宮田恵美子	P-37	永谷真理子	P-8, P-88
宮崎登志子	44, P-50	永藪徳久	27
三好昌夫	P-49	中江大	10, 11, P-12
三好文暁	P-7	中川善裕	P-35
美好雅文	P-71	中川由紀子	P-2
溝口靖基	P-24	中島孝	P-95
溝上敦	P-43	中村厚	P-88
水本靖士	P-12	中村紳一朗	41

中西速夫	P-39	小倉基裕	P-7
中野健二	37	大橋芳彦	16, P-9, P-11
中野渡純一	P-57	大西将美	14, P-21, P-22
中沼安二	6, P-1	大町康	44, P-50
仲辻俊二	3, 24, 25, 39	大塚峯三	P-50
中山裕之	41	大塚靖夫	P-14, P-15
中澤素邦	P-90, P-91	大石裕司	P-63, P-92
奈良間功	7, P-88	岡田幸助	S 1-1
成田忠臣	P-82	岡田学	54
二本力夫	P-49, P-77	岡田希子	34
西平哲郎	4	岡田忍	P-48
西川秋佳	18, P-6, P-20, P-74	岡宮英明	35
西村千尋	P-95	岡本清尚	14
西村友成	38, P-76	岡本太郎	46
西山寛	P-55, P-69	岡庭梓	P-8
二反田隆夫	P-47	岡崎啓幸	P-25, P-27, P-47
新田由美子	P-93	岡崎欣正	36
丹羽太貫	P-93	桶田理喜	P-48
野田圭介	29, P-53, P-54 P-79	奥平雅彦	29, P-53, P-54 P-79
埜田茂	3	奥野泰由	P-42
野口修	11, 12, 20, P-12 P-85	大町勝美	P-47
野原正志	1	小野肇	P-82
野村明日香	P-2	小野美穂子	35
野村護	28	小野寺博志	16, 17, 47, 48, P-42
野村正治	P-25	小野寺節	S 1-2
野々山孝	P-44, P-87	大原忠雄	P-36
布谷鉄夫	P-66	大年辰幸	23, 50, P-40
		尾崎清和	7
		S	
O		佐川純司	4
小笠原裕之	10, P-12, P-83	西条武俊	S 1-3
小川久美子	P-24	斎藤勝彦	6
小木曾正	31	斎藤実	P-17
生越直仁	P-82	斎藤義明	15

堺 俊 治	9	白 井 智 之	31, 33, P-24, P-26,
坂 牧 義 之	P-49		P-37, P-45, P-75
坂 内 なるみ	P-83	白 岩 和 己	P-12, P-85
坂 爪 正 志	9	白 木 克 尚	35, 37
佐久間 貞 重	3, 24, 25, 52, P-56,	城 田 真理子	P-4
	P-76	城 塚 康 毅	27, P-10, P-65
櫻 ゆ み	29, P-53, P-54,	穴 戸 隆 男	35
	P-79	正 田 俊 之	P-56
佐 村 惠 治	49	柴 田 雅 朗	P-37
三 善 隆 広	6, P-1	清 水 義 治	19
佐 野 文 子	2	標 葉 隆三郎	4
佐 野 真 士	33, P-45	塩 野 泰 弘	P-83
佐々木 和 則	P-30	園 田 二 郎	P-57
佐々木 稔	P-5	園 田 崇 倫	1
佐々木 啓	27, 40, P-65	杉 江 茂 幸	14, P-21
佐 竹 茂	P-25, P-27	杉 本 次 郎	2
佐 藤 敦 子	P-46	杉 本 哲 朗	P-49, P-77
佐 藤 公 彦	14	鷺 見 信 好	P-90, P-91
佐 藤 亮	P-7	鈴 木 順	49
澤 本 修	P-70, P-71	鈴 木 淳 也	P-63, P-92
Seely J. C.	教-1	鈴 木 謙 二	P-69
瀬 畑 信 哉	P-9	鈴 木 雅 実	P-49
関 口 正 博	P-94	鈴 木 稔	P-32, P-43, P-46
妹 尾 英 樹	29, P-53, P-54,	鈴 木 繁 生	P-49
	P-79		
仙 頭 美 和	P-7	T	
渋 谷 一 元	P-66	只 野 尚 登	P-82
渋 谷 延 子	P-66	田 川 正 志	P-32, P-43, P-46
島 村 和 位	P-56	田 子 穰	P-15
清 水 隆	44	田 島 正 典	P-66
下 武 男	47, 48	高 場 克 己	30, P-35
下 田 耕 司	28	高 田 信 康	23, 30, 50
下 内 孝 司	P-55	高 木 素	P-5
篠 原 正 巳	P-56	高 木 英 利	P-83
篠 原 誠 治	P-70	高 木 司 郎	P-29
四 宮 啓 祐	P-55	高 橋 明 美	42

高橋秀樹	P-92	田中雅治	P-55
高橋香奈子	P-46	田中三菜	17
高橋公正	P-72	田中悟	P-96
高橋浩一郎	37	田中卓二	14, P-21, P-22
高橋正一	47, P-42, P-69, P-78	田中俊光	P-4, P-51
高橋政壽	P-59	谷茂	44
高橋道人	S 2-5, 8, 16, 17, 18, 34, 47, 48, P-6, P-20, P-74	谷村顕雄	P-17
高橋令治	49	立松正衛	21, 32, P-16, P-19 P-39
高橋智	P-45	辰巳正史	25
高見健治	P-94	俵谷武治	P-90, P-91
高野智司	P-69	寺西宗広	P-9, P-11
高島吉治	10, 11	鳥海互	P-50
武部秀太郎	3, 24, 39	戸和秀一	P-50
武知雅人	36	豊田和弘	8, 34
武田禮二	P-33, P-36	豊田直人	P-14
武田利明	P-61, P-73	螺良愛郎	P-92
武田真記夫	5	土谷稔	36, P-14, P-15
竹腰進	P-32	土屋毅幸	2
武貞徳子	P-75	津田洋幸	33, 55
武島幸男	P-84	辻内俊文	11, 20
竹内正紀	P-29	築館一男	P-57
武内康義	P-33, P-36	恒成一郎	52
竹内哲也	29, P-53, P-54, P-79	筒井茂樹	5
玉井幸子	P-8	筒井美麻	P-2
玉野静光	13, P-26	堤雅弘	11, 20, P-85
田村一利	10, 20, P-3, P-8, P-88	辻野久美子	25
棚橋清子	P-42	U	
田中光	P-26, P-37	宇吹曉	P-93
田中啓介	P-42	内本啓史	P-90, P-91
田中宏治	P-9, P-11	上田誠	P-90, P-91
田中浩二	P-67	上野芳夫	47
		上塚浩司	41
		梅村隆志	P-17
		畝山智香子	8

宇野 洋 P-61, P-73
臼居 敏仁 S2-1
宇都宮 忠実 P-31

W

若松 智恵美 1
涌生 ゆみ 36
鰐淵 英機 30, P-34, P-35,
P-38

Ward Jerrold M. 13

渡部 美千子 26
渡辺 敦光 46, P-70, P-71
渡部 和義 P-56
渡辺 慶一 P-32
渡辺 武志 P-65
渡辺 知幸 14, P-42

Y

矢田 英昭 P-24
矢原 功 53
山田 和正 46
山 梶 英弘 53
山 岸 保彦 36
山口 格 P-2, P-16
山口 達也 P-28
山口 裕子 P-8
山川 誠己 P-13, P-41, P-58
山本 昌美 21, 32, P-16, P-19
山本 晋史 P-39
山本 慎二 P-41, P-58
山中 浩詠 45
山中 義弘 P-61, P-73
山崎 秀樹 P-65
山下 邦弘 P-71
山手 丈至 3, 24, 25, 52, P-56,
P-66, P-76

山津 清實 P-57
山内 勝彦 29, P-53, P-54,
P-79

山内 研司 P-63
矢本 敬 P-9, P-11
八尾野 真人 31
安田 充也 P-11
安原 加壽雄 16, 17, 48
横山 光恵 36
吉田 明由 19, P-18, P-62,
P-64

吉田 浩己 P-47
吉田 順一 12
吉田 一晴 6, P-1
吉田 勝 P-90, P-91
吉田 緑 P-78
吉田 貢由 28
吉田 敏則 19, P-18, P-62,
P-64

吉川 邦衛 S2-4
吉村 博之 P-20
吉富 克彦 P-23, P-52
義澤 克彦 P-63, P-92
吉武 彬 P-35
湯浅 啓史 21, 38
油井 龍五 P-82

第11回日本毒性病理学会講演要旨集

平成6年11月30日 印刷

平成6年11月30日 発行

編 集 堺市学園町1-1

大阪府立大学農学部

獣医病理学講座内

第11回日本毒性病理学会

責任者 佐久間 貞 重

印 刷 大阪市東成区東中本2-16-28

新写植出版株式会社

— MEMO —

— MEMO —

— MEMO —

— MEMO —

第11回日本毒性病理学会 協賛法人・団体

ロート製薬(株)	扶桑薬品工業(株)	日本たばこ産業(株)
藤沢薬品工業(株)	旭化成工業(株)	(株)三和化学研究所
日本グラクソ(株)	杏林製薬(株)	東京田辺製薬(株)
(株)協和安全性研究所	山之内製薬(株)	テルモ(株)
日本シェーリング(株)	科研製薬(株)	味の素(株)
(株)ツムラ	三共(株)	ラボリックサービス(株)
参天製薬(株)	(株)ミドリ十字	(株)ヤクルト本社
(株)ボゾリサーチセンター	(株)大塚製薬工場	ヤンセン協和(株)
三菱化学(株)	日本レダグリー(株)	日本コココーラ(株)
ヘキストジャパン(株)	エーザイ(株)	サントリー(株)
(株)実医研	サクラ精機(株)	第一製薬(株)
(株)三菱化学安全科学研究所	帝国臓器(株)	(株)バイオ病理研究所
吉富製薬(株)	大塚化学(株)	和光純薬工業(株)
武田薬品工業(株)	バイエル薬品(株)	加商(株)
住友化学工業(株)	(有)新東洋製作所	(株)実医研
キッコーマン(株)	中外製薬(株)	(株)薬効開発研究会
千代田テクノエース(株)	千寿製薬(株)	(株)アニマルケア
日本商事(株)	(株)大雄会医科学研究所	盟和商事(株)
鳥居薬品(株)	藤本製薬(株)	日生研(株)
大日本製薬(株)	日本ロシュ(株)	(株)イナリサーチ
日本農薬(株)	ファルマシア(株)	(株)ケー・エー・シー
(株)イナリサーチ	(助)化学品検査協会	新写植出版(株)
持田製薬(株)	日本医薬品工業(株)	(株)バイオックス
森下ルセル(株)	丸石製薬(株)	(株)富士バイオメディクス
キリンビール(株)	キッセイ薬品工業(株)	ケイエスオリンパス(株)
住友製薬(株)	(株)新日本科学	(助)動物繁殖研究所
大塚製薬(株)	興和(株)	(株)札幌総合病理研究所
(株)資生堂	富士レビオ(株)	柴田科学器械工業(株)
大正製薬(株)	日本ロシュ(株)	(株)実生研
ファイザー製薬(株)	シェーリング・プラウ(株)	酒見医科器械舗
鐘紡(株)	生活科学研究所	日本チバガイギー(株)
日本チャールス・リバー(株)	東菱薬品工業(株)	サンド薬品(株)
日本新薬(株)	(株)日本バイオリサーチセンター	
(助)残留農薬研究所	愛知県経済農業協同組合連合会	
大鵬薬品工業(株)	日本ベーリンガーインゲルハイム(株)	
田辺製薬(株)	(株)日本医科学動物資材研究所	
小野薬品工業(株)	スミスクライン・ピーチャム(株)	
塩野義製薬(株)	ハンティンドンリサーチセンターリミテッド	
萬有製薬(株)	アップジョンファーマシューティカルズリミテッド	

(順不同)



"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45,100m²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。

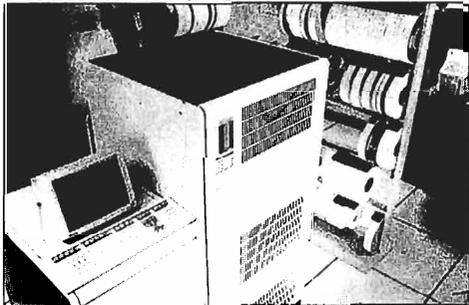
- 一般毒性試験
- 吸入毒性試験
- 生殖・世代試験
- 発癌性試験
- データ統計処理・レポート
- Quality Assurance



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

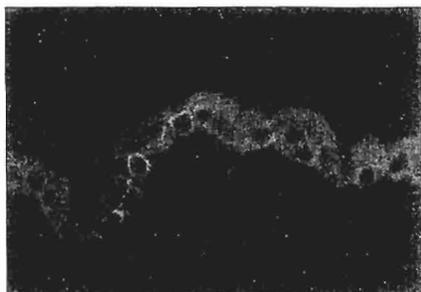
KASHO 加商株式会社

ライフサイエンスグループ

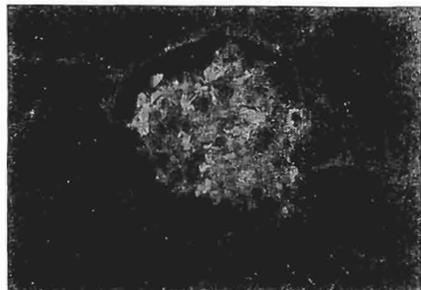
〒103 東京都中央区日本橋2-1-4-9 ☎(03)3276-7673・7674

病理組織標本の作製並びに 組織検査の受託

確立された手法に従い、当社の
技術センターにおいて
切片標本の作製、染色、
組織検査を行います。



抗アレクラチン抗体で染色されたマウス皮膚。



マウス腎糸球体に沈着した補体(C'3)。

業務内容

(1) 病理組織標本作製

- ・ホルマリンなどの固定組織、
凍結組織よりの作製
- ・ブロック標本よりの作製
- ・各種染色
一般染色、特殊染色、免疫染色

(2) 組織検査

- ・個体別の検査
- ・群別集計
- ・報告書作成
- ・顕微鏡写真撮影

(3) 骨髓細胞の鑑別観察

* お問い合わせは下記へお願いします。

TEL 0726-54-9861 FAX 0726-54-5579 (高田)



実験動物の未来をひらく

KAC

株式会社 ケーイーシー

本社・京滋営業所 京都市中京区西ノ京西月光町40番地
〒604 TEL 075(801)9311 FAX 075(801)7688

大阪営業所 大阪府茨木市中穂積1丁目1番59号
(茨木田中ビル)
〒567 TEL 0726(24)8541 FAX 0726(24)8528

技術センター 大阪府摂津市鳥飼本町5丁目3番4号
〒566 TEL 0726(54)9861 FAX 0726(54)5579

京都技術センター 京都市下京区中堂寺南町17番地
京都リサーチパーク内
〒600 TEL 075(315)9891 FAX 075(315)9894

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



HRC

HUNTINGDON RESEARCH CENTRE

40 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 (1480) - 890431

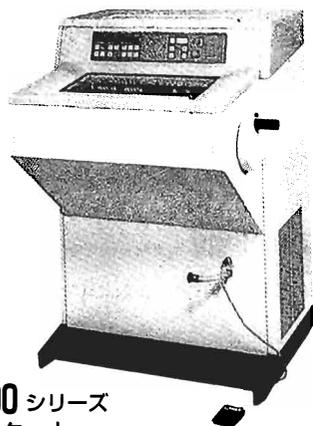
Fax: + 44 (1480) - 890693



THE CENTRE OF EXCELLENCE

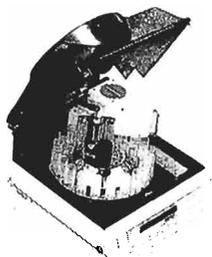
病理組織検査関連機器

 **Meiwu**



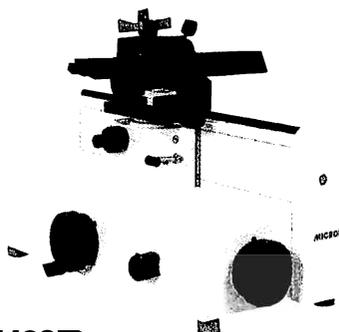
HM500 シリーズ クリオスタット

- 高性能の冷却システムはチャンバー内温度を -40°C までコントロールができます。
- 試料送り精度は $0.5\sim 60\mu\text{m}$ 、リターンストロークでのリトラクション機能付マイクロームが内蔵されています。
- 電動による試料粗動及び微動送り機構が付いているので試料の面出しが素早くできます。
- X、Y軸の試料面オリエンテーションができます。



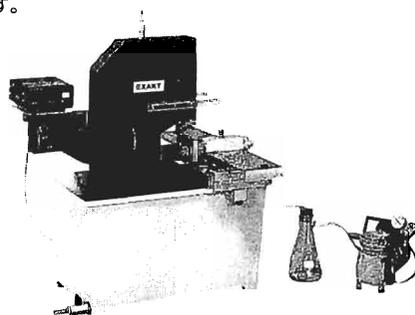
RX-90 オート・ティッシュ・プロセッサ

- TEM試料の固定から100%樹脂の浸透はむろん電子染色、ブロック染色、光学顕微鏡用試料の水溶性樹脂包埋、組織化学反応による試料作製などの用途にも使用できます。
- 薬液量が少ないためランニングコストが少なくてみます。
- 小形軽量で安全対策も万全です。



HM400R スライディング・マイクローム

- 浮き上がり防止用にクロスローラーベアリングを採用のため大きく固い試料でも均一な厚さの切片が得られます。
 - 滑走面への注油不要で油のべたつきがありません。
- ※上級機種にはHM440Eがあります。同機は上記の条件だけでなくリトラクション機構付きで試料の上下動は自動です。



BS-3000N マイクロ・カッティング・マシン

- 脱灰前の硬組織試料を均等な厚さに切り出しが行えることにより、固定・脱水時間が短縮され、固定された試料は全面に対し浸潤効率が高く脱灰ムラの無い処理が行えます。
- 脱灰ムラの無い試料は各部にスムーズにパラフィンが浸透しやすくなるのでマイクローム等での切片作製時の組織の脱落、欠損が減少し、より正確な検査が行えます。

●上記以外の電子・光学顕微鏡関連機器も取扱っております。カタログ及び詳しい資料ご入用の節はご請求下さい。

盟和商事株式会社

大阪：大阪市住吉区千鉢2丁目4番25号
〒559 TEL(06) 674-2224(代) FAX(06) 674-2323
東京：東京都新宿区新宿1-14-2 (KI国際ビル)
〒160 TEL(03) 5379-0051(代) FAX(03) 5379-0811
福岡：福岡市博多区奈良屋町1-1(ヤシマ博多ビル)
〒812 TEL(092) 281-1135(代) FAX(092) 281-1108
大阪ショールーム：大阪市住吉区千鉢2丁目4番25号
東京ショールーム：東京都新宿区新宿1-14-2 (KI国際ビル)

調液済で、長期安定なABCを使用！

ABC-POD Kit

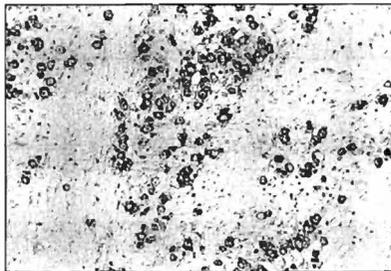
新発売

免疫組織染色用…Pathostain Kit
ブロッティング用…Immunoblotting Kit

- ABC溶液を調製する手間が省けます。
- ABC溶液は長期間安定です。

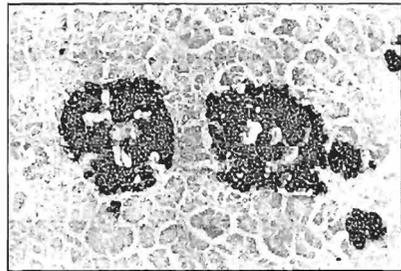
【Pathostain Kitを使用した染色例】

(M)



抗原名：CEA(癌胎児性抗原)
倍率：200倍

(R)



抗原名：Insulin
倍率：200倍

295-50701	Ⓢ	Pathostain ABC-POD (M) Kit	免疫組織染色用	100回用
291-50801	Ⓢ	Pathostain ABC-POD (R) Kit	免疫組織染色用	100回用
297-50901	Ⓢ	Immunoblotting ABC-POD (M) Kit	ブロッティング用	20レーン用
293-50903	Ⓢ	Immunoblotting ABC-POD (M) Kit	ブロッティング用	100レーン用
297-51001	Ⓢ	Immunoblotting ABC-POD (R) Kit	ブロッティング用	20レーン用
293-51003	Ⓢ	Immunoblotting ABC-POD (R) Kit	ブロッティング用	100レーン用

* 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三丁目1番2号
〒541 電話 大阪(06)203-3741(代表)
東京支店 東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号
〒103 電話 東京(03)3270-8571(代表)
出張所 福岡・広島・名古屋・横浜・大宮・筑波・仙台・札幌

おかげさまで、20歳です。



子供の頃なりたかったもの。
花嫁さん、ステewardess、学校の先生.....。
今、私はアニマルケアで皆さんの健康を支える
お手伝いを、ほんの少しだけさせてもらっています。

アニマルケアも、彼女と共に20歳の成人式を迎える事が出来ました。
これからも、より良い実験動物の総合管理をめざして、成長してゆきます。



より確かな実験動物の総合管理をめざして20年

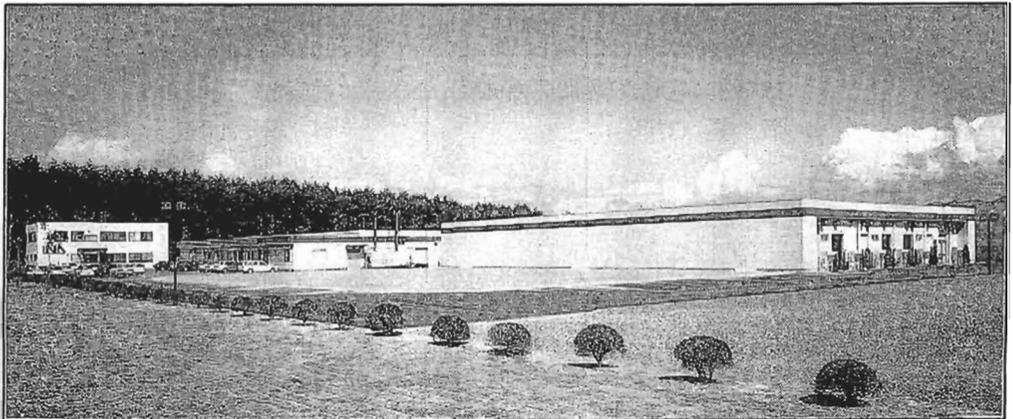


技術とコミュニケーションを大切にする
株式会社 アニマルケア

本社 〒164	東京都中野区中野3-47-11
TEL03-3384-9013	FAX03-3384-9150
西日本営業所 〒543	大阪府大阪市天王寺区悲田院町8-26
	TEL・FAX06-772-6070
九州営業所 〒814	福岡県福岡市早良区荒江3-11-34
	TEL・FAX092-831-8865

株式会社 イナリサーチ 安全性試験受託機関

イナリサーチ第2研究所全景



業務内容 ■一般毒性（単回，反復） ■生殖毒性（Seg I・II・III） ■特殊毒性（刺激性，抗原性，皮膚感作性，光毒性，光アレルギー，身体依存性，腎毒性，耳毒性） ■がん原性 ■変異原性（Amesテスト，染色体異常，小核試験） ■薬効・薬理試験 ■TK分析 ■翻訳 ■関連装置・機器の開発と販売
使用動物種：ラット，マウス，モルモット，ウサギ，イヌ，ブタ，サル他

本社研究所：〒399-45	長野県伊那市西箕輪8047番地	TEL0265 72 6616(代)	FAX0265 72 6657
第2研究所：〒399-45	長野県伊那市西箕輪2148番地	TEL0265 73 8611(代)	FAX0265 73-8621
東京出張所：〒160	東京都新宿区西新宿6-16-18-201	TEL03 3340 1572	FAX03-3340-1573

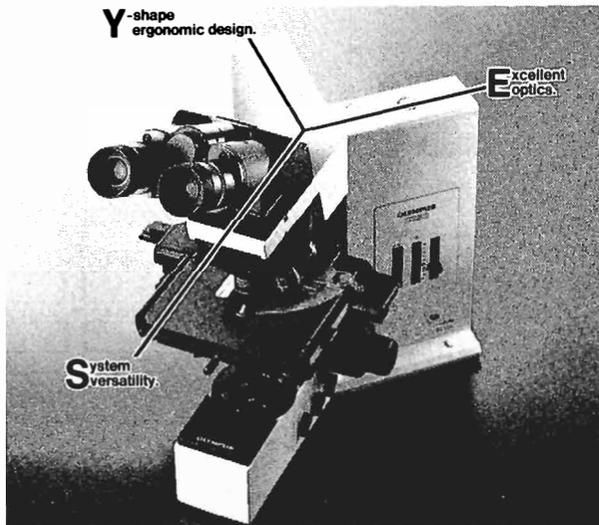
OLYMPUS®

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。



新登場



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、顕微鏡測光、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 総代理店

KSオリンパス株式会社

本社 〒101 東京都千代田区晴台1-8-3 神田91ビル3階 TEL 03(3252)2301 FAX 03(3256)8959

ホルマリン簡易測定器

ニューホルテスター®

新製品

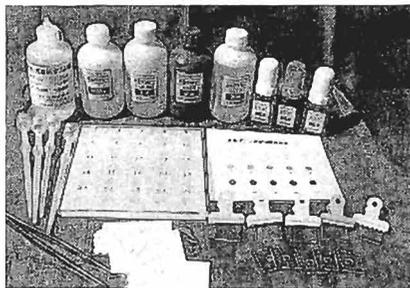
早い。簡単。経済的。
テスト品も傷つけません。

ニューホルテスターの6つの特徴

- 1) 試料採取後90分で測定が可能。
- 2) 商品検体を傷つけないで、室温で測定可。
- 3) 分光光度計：湯煎器等の設備不用。
- 4) 操作が簡単で初めての人でも現場ですぐ測定値を判読できる。
- 5) 衣料、木材、作業場内他ホルマリンの放置するものすべてについて測定が可能。
- 6) 正規のテスト前のスクリーニング法により、経費材料の損失を最大限抑えられる。

安全基準内の商品を提供することは企業のイメージを高めます

基準値は守られていますか、商品は完全に安全ですか、心配をニューホルテスターによって少しでもやわらげられますよ。



ホルマリンテストの画期的な進歩です。

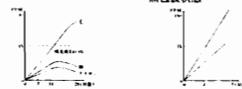
価格 ¥70,000

ホルマリン移染はいつでもどこでも起こり得ます

厚生省令第34号、A A法、木材合板のデシケーター法等の試験前のスクリーニングテストとして最適。
家庭用品、食品、合板(パーティクルボード)作業場内よりの遊離又はホルマリンガス消毒後の残留量を段階比色により判定できる。

〈ホルマリン移染状況〉

例1) 7月度・無包装状態 例2) ベニヤ合板と衣料の接触時・無包装状態



(資料提供・某百貨店商品試験室)

ホルテスターによる検査はスクリーニング法であります

A A法、デシケーター法等の正規のテストを必ず行って、確認して下さい。

(有) Sakami

〒577 東大阪市高井田本通2丁目12番12号
TEL 06-781-7532 FAX 06-781-7561

非臨床試験受託センター

薬効薬理試験から安全性試験までの一貫受託

主な受託試験実績一覧 (1992.4現在)

細菌感染試験

- ラットの点滴静注法による抗生物質の薬効薬理試験
- 熱傷感染症に対する抗菌剤の生物学的同等性試験
- 実験的ヘルペス感染症に対する抗ウイルス作用試験
- 抗菌剤のスクリーニング試験
- 実験的中耳炎モデルによる薬効薬理試験
- 抗生物質の組織濃度促進効果
- 胆道障害ラットによる抗生物質の胆汁内移行の実験的研究
- 免疫活性化剤及び免疫抑制剤による薬効薬理試験

アレルギー試験

- マウス・モルモットによる抗喘息薬の薬効薬理試験
- 抗アレルギー薬のスクリーニング試験
- 漢方薬の抗アレルギー試験

降圧作用試験

- 各種高血圧モデルラットによる抗高血圧剤の薬効薬理試験
- 抗アレルギー薬のスクリーニング試験
- 漢方薬の抗アレルギー試験

脂代謝試験

- ラットによる抗コレステロール薬の効果試験
- 高脂血症モデルに対する薬効試験
- 実験的糖尿病モデルラットによる薬効試験

実験的肝硬変モデルラットによる薬効試験

- 各種炎症モデルを用いた薬効試験 (アジュバンド関節炎・各種急性関節炎、コットンペレット法、etc.)
- 各種腎毛剤のマウスに対する再発毛促進効果試験
- 卵巣摘出マウスおよびラットによる薬効薬理試験
- 実験的腎不全モデルによる薬効試験
- 副甲状腺摘出ラットによる薬効試験
- 卵巣摘出ビーグル犬の薬効試験
- 各種胃潰瘍モデルを用いた薬効試験
- マウスによる薬剤誘発性自己抗体産生能試験
- ウサギの筋肉内局所免疫性試験
- ウサギの筋肉内注射による生物学的同等性試験
- ニフトリヒナによるカルシウム吸収性試験
- 小動物による点滴静注反復投与毒性試験
- 薬剤の溶血性試験
- 線膜面に対する酸化剤の速効的殺菌効果の試験
- 各種抗血清の作成
- ビーグル犬による糞糞挿入で胃内PH測定
- ビーグル犬による層管を用いたガストン等消化液の分泌量測定
- ◆薬効薬理試験
- ◆一般薬理試験
- ◆安全性試験
- ◆変異原性試験(三種)

- 薬効薬理試験
- 一般薬理試験
- 安全性試験 (依存性試験)
- 薬物動態試験
- 生物学的同等試験
- 病理学的病性鑑定
- 各種動物の免疫
- 安定性試験



株式会社 **実生研**

筑波研究所 〒300-024 茨城県稲敷郡岡田町14-24E-5-1
 ☎0298(02)903700 FAX0298(02)9065
 本社 〒171 東京都豊島区西池袋5-24-3
 ☎03(3530)21010 FAX03(3595)2110

柴田科学の動物吸入実験装置

頭部ばく露吸入実験装置

試験物質を実験動物の鼻部のみにはく露して実験するものです

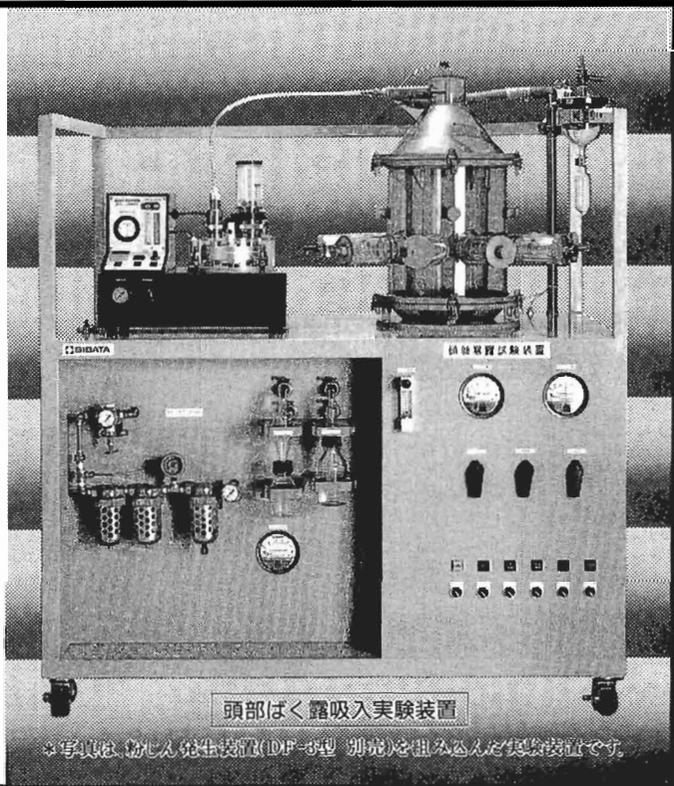
- 全身ばく露型と異なり皮膚などの影響を無視できます
- ホルダーは透明アクリル製で、実験動物の生態が外部より観察できます (実用新案)
- チャンバーが回転するためホルダーの取り付け、取り外しが容易です
- チャンバー、ホルダーは完全密閉型であり、毒性の強い物質の吸入試験にも安心して使用できます

主な関連製品

- 粉じん発生装置 (DF-3型)
- ミスト発生装置 (ネブライザー)
- 呼吸数カウンター (RC-10型)
- デジタル粉じん計 (P-5L2型)
-などが、あります。

柴田科学器械工業株式会社

本社 〒110 東京都台東区池之端3-1-2 電話 (03)3822-2111
 営業所 大阪、名古屋、九州、筑波、神奈川



頭部ばく露吸入実験装置

※写真は、粉じん発生装置(DF-3型)別売を組込んだ実機表示です。

全国の高校・大学の
同窓会会員名簿・記念誌・会報等の
編集・出版



新写植出版株式会社

本社	〒537	大阪市東成区東中本2-16-28	TEL 06-974-0481
名古屋支店	〒465	名古屋市名東区一社2-30-202	TEL 052-704-0755
熊本支店	〒862	熊本市神水2-7-10	TEL 096-387-3300
福島営業所	〒960	福島市北五老内町8-13	TEL 0245-36-5361
横浜営業所	〒224	横浜市都筑区仲町台1-20-11	TEL 045-943-8713

IMAMICHI INSTITUTE FOR ANIMAL REPRODUCTION



安全性試験研究センター

受託業務

医薬・化粧品・農薬等 GLP適合安全性試験
薬理試験、検討試験等

Iar (財) 動物繁殖研究所

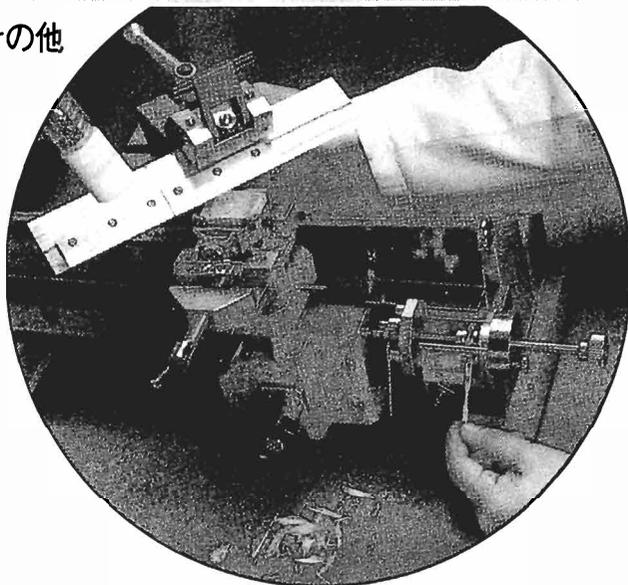
〒300-01
茨城県新治郡出島村深谷1103
TEL. 0298-97-0631
FAX. 0298-97-1158

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. 0428-31-5135 (代)

Experimental Animals

Hazleton. R.P.Inc.代理店 Japan Laboratory Animals, Inc.



取扱品目

SPF動物

マウス・ラット

ウサギ

クリーン動物

マウス・ラット

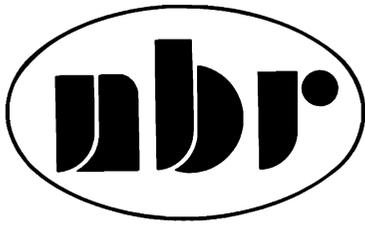
ウサギ・モルモット

輸入動物(ヘーゼルトン)：ビーグル犬・モングレル犬・ハウント犬・霊長類・ウサギ・モルモット etc.

その他実験動物 獣血液・血清・臓器 床敷 飼料 飼育器具・器材

株式会社 **日本医科学動物資材研究所**

〒179 東京都練馬区春日町6丁目10番40号
TEL (03) 3990-3303 FAX (03) 3998-2243



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

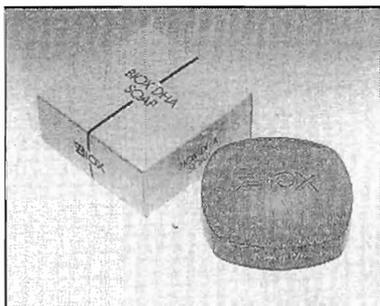
日本ベーリンガーインゲルハイム

私たちの新薬は世界品質です。



Today's Research
for
Tomorrow's Health

笑顔は健康のシンボル
あなたの笑顔が
私たちのエネルギーです
笑顔に会いたい



お肌に、リンス。

炎症を抑える働きについても最近、話題を集めている不飽和脂肪酸、DHA(ドコサヘキサエン酸)。マグロやカツオ、ブリなど青背の魚に多く含まれるDHAは、健康面はもちろん脳への働きなどでも注目されるすばらしい栄養素として知られています。バイオックスは、このDHAの働きにいち早く着目。お肌のトラブルにお悩みの方や敏感肌の方にぜひ一度、お試しください。新タイプのソープです。

BIOX DHA SOAP

バイオックス DHA ソープ

メーカー希望小売価格 2個入り 2,400円(税抜)
透明化粧石鹸・粹練 標準重量1個80g

総発売元 株式会社 **バイオックス**
東京都中央区東日本橋 2-24-7

非臨床試験から臨床第 I 相試験まで

新薬開発のすべてのステージでお客様の信頼にお応えします。

安全性試験 Safety studies

- 一般毒性 (TK 対応試験)
- 生殖・発生毒性
- 局所刺激性
- 抗原性
- 変異原性
- 癌原性
- 幼若動物を用いた試験
- 精巢毒性

薬理試験 Pharmacology

- 炎症、潰瘍、循環器系など各種モデル動物を用いた薬効試験

臨床試験 Clinical studies

- 臨床薬理
- 臨床第 I 相～初期第 II 相

BE・BA

- 血中推移・尿中排泄からみた生物学的同等性
- 薬効評価からみた生物学的同等性
- バイオアベイラビリティ

薬物分析 Drug analysis

- HPLC、GC-MS等を用いての薬物定量分析

臨床検査 Clinical laboratory and pathology

- 一般血液検査
- 生化学検査
- 尿検査
- 病理組織標本作製
- 免疫染色、その他特殊染色標本
- 病理組織所見
- 細胞診

統計解析 Statistical analysis

コンサルティング Consulting



株式会社

富士バイオメディックス

■管理センター
〒330 埼玉県大宮市東大成町 2-250-3
TEL (048)664-7139(代) FAX (048)665-4641

■小淵沢総合研究所
〒408 山梨県北巨摩郡小淵沢町 10221
TEL (0551)36-2455(代) FAX (0551)36-3895

■与野研究所
〒338 埼玉県与野市下落合 1653-5
TEL (048)824-4959(代) FAX (048)822-6534

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656-1
TEL. 0493-24-5120 FAX. 0493-24-5429

PATHOLOGY

〈病 理 受 託〉

■人体病理

組織診断報告書作成
細胞診断報告書作成
細胞検査報告書作成
電子顕微鏡所見報告書作成

〈認定病理医〉
〈認定指導医〉
〈認定細胞検査士〉
〈電顕病理学者〉

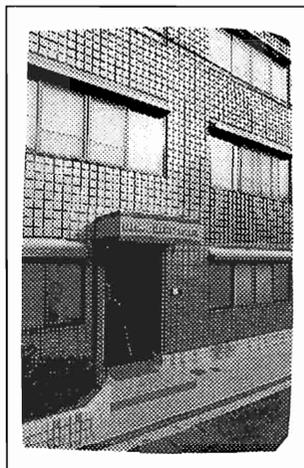
■実験病理

病理組織学的所見報告書作成
電子顕微鏡所見報告書作成

〈病理学者〉
〈電顕病理学者〉

■病理組織標本作製

光学顕微鏡用標本作製
(H.E.染色標本) (各種特殊染色標本)
(各種免疫染色標本) (凍結切片標本)
電顕用標本作製及び写真撮影
(走査型) (透過型)



LABORIC

LABORIC SERVICE CO., LTD.

ラボリックサービス株式会社

PATHOLOGICAL-
STUDY SECTION

1-12-4 NISHIMIKUNI YODOGAWA-KU,
OSAKA 〒532, TEL.06(350)2812

病理部 〒532 大阪市淀川区西三国1-12-4
TEL.06(350)2812 FAX.06(350)2814

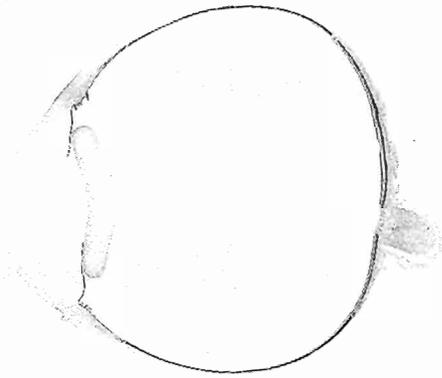
— MEMO —



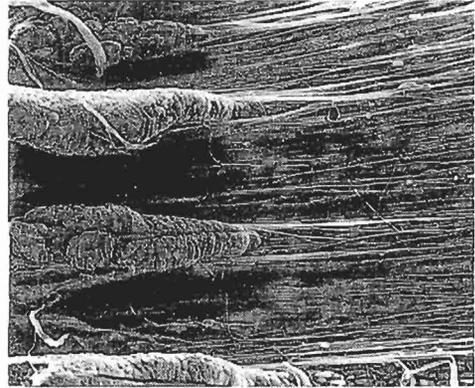
Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

High Quality and Advanced Technology

カニクイザルの同一眼球から得た光顕および電顕像



眼球全体像 (光顕 H E × 3)



毛様体 (走査型電顕 × 120)



中心窩 (光顕 H E × 25)

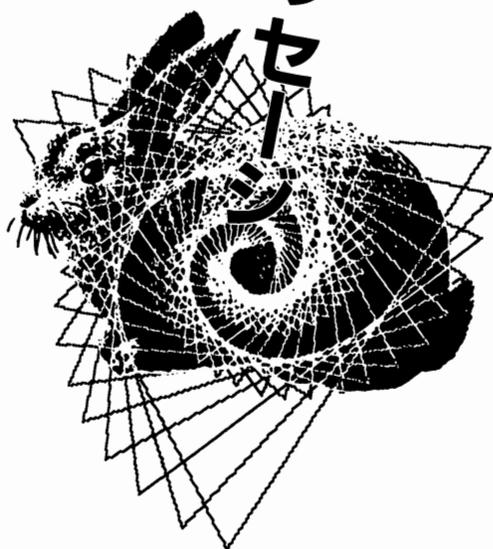


網膜 (透過型電顕 × 2700)

株式会社 **新日本科学**

〒891-13 鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦2438 TEL0992-94-2600 FAX0992-94-3619

組織標本作製、組織検査から最終報告書まで



■よきパートナー・サイエンティフィックテクニシャンを目指して■

受託業務

組織標本作製

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

組織学的検査

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

安全性研究コンサルタント

- 研究企画から最終報告書まで

秘密は完全に守ります
迅速、廉価です

このような時に御用命下さい

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

サンプル、標本、報告書の受発送は

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



株式会社

バイオ病理研究所

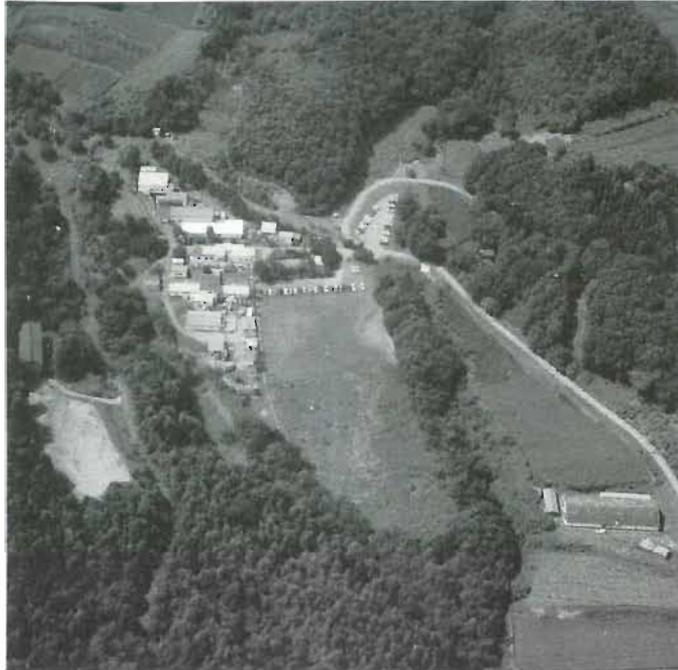
大分空港から車で10分
(打ち合わせに便利)

〒873-05
大分県東国東郡国東町小原1200-2
TEL (0978) 72-0454
FAX (0978) 72-2320

株式会社 実 医 研

NIPPON EXPERIMENTAL MEDICAL RESEARCH INSTITUTE CO.,LTD.

本社・榛名試験所：〒377-09 群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸3303-58 TEL.0279-69-2216 FAX.0279-69-2851
東京営業所：〒103 東京都中央区日本橋本石町3-3-8 TEL.03-3242-3981 FAX.03-3242-3980
高崎病理センター：〒370-33 群馬県群馬郡榛名町大字中里見416 TEL.0273-74-4951 FAX.0273-74-4957
大阪営業所：〒530-18 大阪府大阪市北区中之島2-2-2 ニチメンビル13F TEL.06- 227-4011 FAX.06- 227-4012



日本の名峰「榛名山」。
その山麓、海拔700メートルに位置する深い森林に囲まれた榛名試験所。
国内では数少ないフィラリアのいないこの地域は、イヌにとっては最良の環境。

受 託 業 務

【医薬品の安全性試験】

単回投与毒性試験
短期反復投与毒性試験
長期反復投与毒性試験
生殖・発生毒性試験
癌原性試験
抗原性試験
局所刺激性試験
皮膚感作性試験
光感作性試験
光毒性試験
変異原性試験
一般薬理試験

【農薬の毒性試験】

急性経口毒性試験
急性経皮毒性試験
亜急性経口毒性試験
亜急性経皮毒性試験
慢性毒性試験
発癌性試験
慢性・発癌性併合試験
繁殖試験
催奇形性試験
局所刺激性試験
皮膚感作性試験
生体の機能に及ぼす影響

【その他の試験・検査】

薬効試験
持続注入試験
眼科毒性試験
人工臓器の安全性
感染試験
スクリーニング試験
血中動態試験
骨格・内臓検査
病理組織標本作製
病理組織診断
電子顕微鏡標本作製
翻訳・農薬抄録作製