

第12回日本毒性病理学会

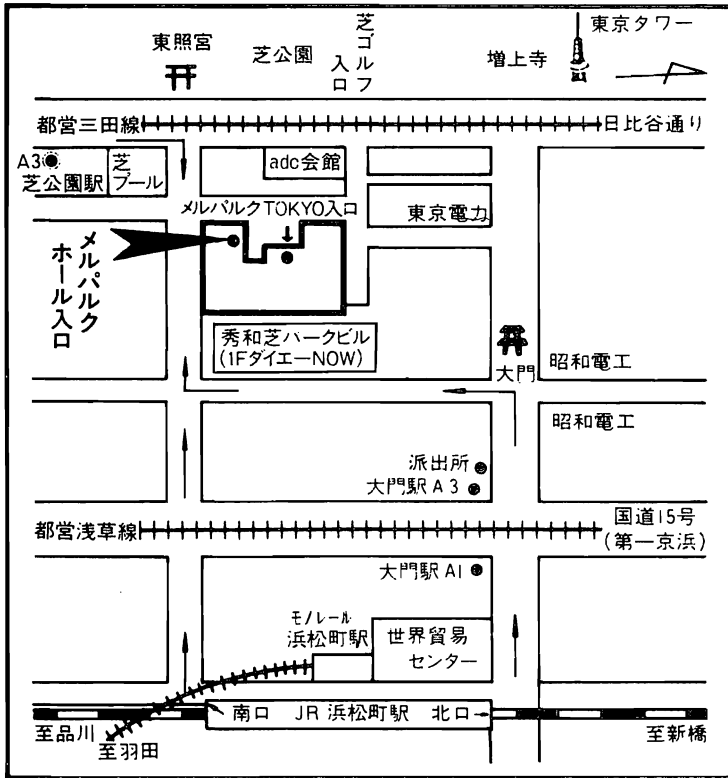
講演要旨集



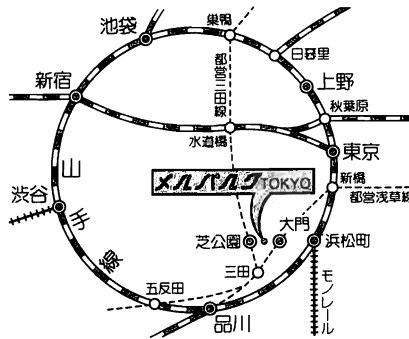
1996年1月24~25日

東京

会場への交通案内



- JR・モノレール
浜松町駅 (北口) 徒歩 10 分
- 都営地下鉄三田線
芝公園駅 (A3) 徒歩 5 分
- 都営地下鉄浅草線
大門駅 (A3) 徒歩 5 分
- 首都高速道路 芝公園



メルパルクホール・メルパルク TOKYO

〒105 東京都港区芝公園2丁目5番20号
電話 (03)3459-5501 (代表)

第12回日本毒性病理学会

1. 期 日 1996年1月24日, 25日
2. 会 場 メルパルクホール・メルパルク TOKYO
3. 会 長 高 橋 道 人 (国立衛試・病理)
4. 日 程

第1日 1月24日 (水)

口演会場 (メルパルクホール)		示説会場 (メルパルク TOKYO)	
8:30	総合受付開始		
8:55~9:00	開会挨拶		
9:00~12:00	口演 (1~15)	9:00~10:00	示説受付・展示
12:00~13:00	昼食	12:10~13:00	評議員会
		13:00~14:00	示説質疑応答 (P 1~56)
14:00~16:00	口演 (16~25)	15:30~16:00	示説撤去
16:10~17:45	ワークショップ1		

懇親会 (メルパルク TOKYO 5階「瑞雲」) 18:00~20:00

第2日 1月25日 (木)

口演会場 (メルパルクホール)		示説会場 (メルパルク TOKYO)	
8:30	総合受付開始		
9:00~10:12	口演 (26~30)	9:00~10:00	示説受付・展示
10:15~11:50	シンポジウム		
11:50~12:15	総会		
12:15~13:10	昼食		
		13:10~14:10	示説質疑応答 (P 57~105)
14:12~16:36	口演 (31~42)	15:30~16:00	示説撤去
16:36~16:50	表彰		
16:50~18:20	ワークショップ2		
18:20	閉会挨拶		

5. 事務局 〒158 東京都世田谷区上用賀1丁目18番地1号
国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター病理部
Tel 03-3700-1141 (内線424)
Fax 03-3700-2348

毒性病理学会のあゆみ

回	開催地	会 長 (所属)	会 期	特別 講演	シンポジウム ワークショップ その他	一般 演題
1	東 京	西山 保一 (北里学園)	1985. 3. 25	2	0	0
2	東 京	藤原 公策 (東 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 真 (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	20	53
8	奈 良	小西 陽一 (奈良医大)	1992. 1. 23~24	1	19	71
9	東 京	土井 邦雄 (東 大)	1993. 1. 21~22	2	4	126
10	広 島	伊藤 明弘 (広 大)	1994. 1. 27~29	1	18	136
11	大 阪	佐久間貞重 (大阪府大)	1995. 1. 26~27	2	10	151
12	東 京	高橋 道人 (国立衛試)	1996. 1. 24~25	0	16	147

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. 総合受付は学会両日午前8時30分から、メルパルクホール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。
3. 当日参加者：総合受付で参加費（10,000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た上で発言して下さい。

*：登録・送金方法：参加費（8,000円）。学会誌 Vol. 8 (No. 2) 折り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：東京 00100-0-82732

加入者名：第12回日本毒性病理学会事務局

振込締切：平成7年12月末日

演者の方へ

1. 口演時間は8分（7分に予告）、討論時間は4分です。
2. プロジェクターは35mm版用を1台用意します。
3. スライドは口演開始30分前までに会場入口のスライド受付に提出して下さい。
なお、スライドは20枚以内をお願いします。
4. 次演者の方は次演者席にお着き下さい。
5. 口演時間は厳守して下さい。

座長の方へ

1. 口演担当の座長の方は、ご担当30分前までに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。
4. 示説担当の座長の方は質疑応答10分前までに示説受付（メルパルク TOKYO 3階）にお越し下さい。

総会および評議員会のご案内

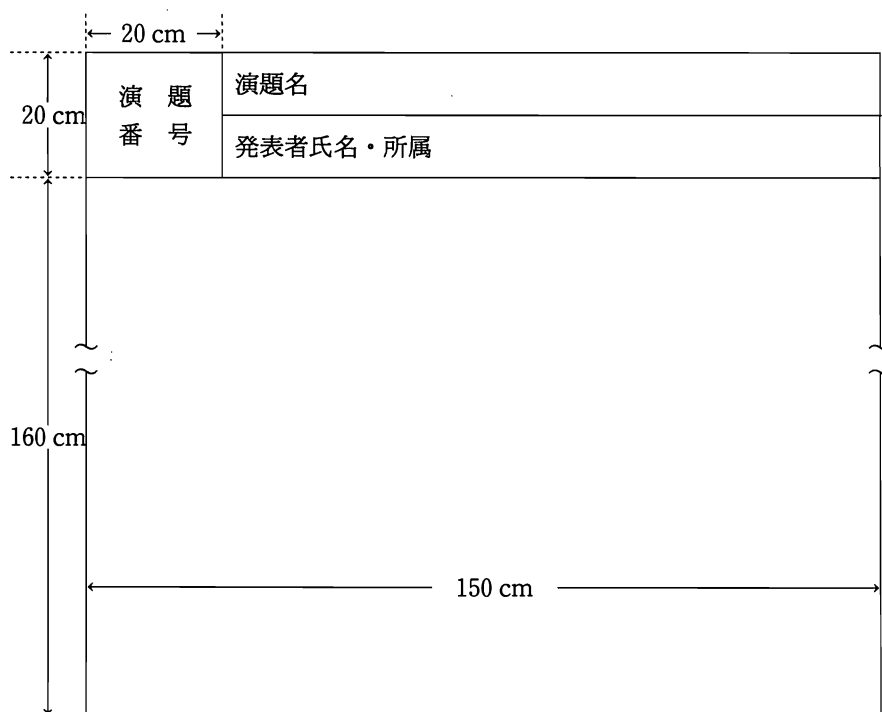
1. 総会は学会第2日の11時50分よりメルパルクホールにて行います。
2. 評議員会は学会第1日の12時10分よりメルパルク TOKYO 4階「孔雀」にて行います（昼食は有料で御用意いたします）。

懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第1日目の18時から20時までメルパルク TOKYO 5階「瑞雲」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（学会参加費とともにご送金下さい）。
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け取り下さい。

示説をされる方へ

1. 示説の受付は学会両日とも9時～10時までに示説受付（メルパルク TOKYO 3階）と展示を済ませて下さい。
2. 展示時間は10時～15時30分です。16時までに撤去して下さい。
第1日13時～14時、第2日13時10分～14時10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。
3. パネルの大きさは縦180cm、横150cmです（下図参照）。
4. 展示には学会で用意した画紙を使用して下さい。
5. 演題名、発表者氏名、所属の表題を下図の要領に従って作成し、展示して下さい（演題番号は主催側で用意します）。



シンポジウム・ワークショップ プログラム

シンポジウム 病変発現における化学物質の相互作用

第2日 (1月25日, メルパルクホール) 10:15~11:50

座長 白井 智之 (名市大・医・1病理)

土井 邦雄 (東大・農・獣医病理)

- S-1. 医薬品の併用による副作用発現の可能性 3
川西 徹 (国立衛試・生物薬品)
- S-2. 薬剤における毒性発現の複合作用 4
加藤 道幸 (第一製薬・安全研)
- S-3. 免疫抑制剤による腎毒性を軽減するための薬剤探索における問題点 ... 5
藤井登志之 (藤沢薬品・安全研)
- S-4. ラット肝発癌におけるヘテロサイクリックアミンの複合作用 6
長谷川良平 (名市大・医・1病理)
- S-5. 腸管発癌における化学物質の修飾作用 7
田中 卓二 (岐阜大・医・1病理)

ワークショップ1 精巣毒性

第1日 (1月24日, メルパルクホール) 16:10~17:45

座長 高橋 道人 (国立衛試・病理)

真板 敬三 (残農研・毒性)

W-1-1. Cyclophosphamide 投与によるラット精巣毒性 樋口 敏浩 (住友化学・生科研)	8
W-1-2. 医薬品により誘発された特殊な精巣病変 茶谷 文雄 (武田薬品・薬安研)	9
W-1-3. Ethinylestradiol (EE) の4週間反復投与によるラット精巣, 精巣上体病変の 形成および回復性について 土屋 毅幸 (三菱化学・横浜総研・安全研)	10
W-1-4. Di-(2-ethylhexyl) phthalate および 2,5-Hexanedione 投与によるラットの 精巣障害, 特に初期病変について 今井 清 (食薬センター・秦野研)	11
W-1-5. げっ歯類における精巣のジニトロベンゼン誘発性アポトーシスとアポトーシス 関連タンパクの発現について 守田 禎一 (富山化学・安全研)	12
W-1-6. 細胞増殖能およびアポトーシスを指標とした精巣毒性の形態学的解析 安原加壽雄 (国立衛試・病理)	13

ワークショップ2 マウス肝腫瘍診断上の問題点

第2日 (1月25日, メルパルクホール) 16:50~18:20

座長 榎本 眞 (安評センター)

今井 清 (食薬センター)

W-2-1. マウス肝腫瘍組織分類基準の国際的動向 原田 孝則 (残農研・毒性)	14
W-2-2. 自然発生肝腫瘍の問題点: BDF1 マウス 片桐 卓 (日本バイオアッセイ)	15
W-2-3. 自然発生肝腫瘍の問題点: B6C3F1 マウス 玉野 静光 (大雄会医科学研)	16
W-2-4. 長期毒性試験におけるマウスの肝結節性病変の意義 廣内 康彦 (安評センター)	17
W-2-5. マウス肝腫瘍の遺伝子変異と組織像 B6C3F1 マウスにおける c-H-ras 遺伝子変異について 森 郁生 (武田薬品・薬安研)	18

口演プログラム

○：発表者

口演会場 第1日 (1月24日) 午前

9:00~9:48 座長 奈良間功 (摂南大・薬物安全科学研)

1. イヌにおける β 刺激剤による心毒性に関する検討 (I) 21
○花井幸次, 中川善裕, 井上忠志, 中野 実, 奥野泰由, 松尾昌季
(住友化学)
2. ビーグル犬の三尖弁に認められた valvular telangiectasis の立体構築像 (第1報) ... 22
○武田利明, 小西英里, 浅野 哲, 山中義弘, 金子英志, 秦 純子,
宇野 洋, 伊澤義弘 (帝人・医薬開発研)
3. F344 ラットの Large Granular Lymphocyte Leukemia 由来培養細胞株
(MCL-SP) の樹立とその性状 23
○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・獣医病理)
4. T-2 toxin 投与マウスにみられたリンパ系組織のアポトーシス病変 24
○篠塚淳子, W. Kiatipattanasakul, 上塚浩司, 中山裕之, 土井邦雄
(東大・農・獣医病理)

9:48~10:36 座長 森 秀樹 (岐阜大・医・1 病理)

5. Aberrant crypt foci (ACF) の粘液性状に関する検討 25
— Crypt multiplicity との関連について —
○内田和美, 角 将一, 尾上正治 (ヤクルト本社・中研)
6. 胃部 X 線照射 SD ラットに生じたランゲルハンス島の insulinoma 26
○渡辺敦光, 安東保海, 山田和正, 栗栖和信, 正岡良之, 後藤孝彦,
藤本成明, 伊藤明弘 (広大・原医研・予防腫瘍)
7. 急性肝障害モデルラットにおける肝特異性 MRI 造影剤の肝での造影効果
および安全性について 27
○井原真哉¹, 佐藤 伸¹, 辻本太一¹, 橋元律子¹, 加藤直樹¹,
矢ヶ崎修¹, 山口基徳¹, 菅野 司² (¹日本シェーリング・研究部,
²大阪府大・農)
8. フェノバルビタールによる肝細胞の薬物代謝酵素誘導に対する
コルヒチンの作用 28
○吉田一晴, 守田禎一, 河村泰仁, 児玉卓也 (富山化学・安全性研)

10:36~11:12 座長 渡辺満利 (持田製薬・安全研)

9. Oxfendazole 反復投与ラットにおける肝 P450 アイソザイムおよび
コネクシン 32 の変動 29
○小野寺博志¹, 三森国敏¹, 畝山智香子¹, 今沢孝喜¹, 伊藤聖一²,
竹川 潔¹, 安原加壽雄¹, 高橋道人¹ (¹国立衛試・病理, ²実医研)
10. ラット肝における低用量ジエチルニトロサミン (DEN) のイニシエーション活性
に対する 8-ヒドロキシグアニン (8-OHG) の関与に関する検索 30
○小林洋三, 中江 大, 大橋一夫, 小笠原裕之, 榎並倫宣, 高島吉治,
野口 修, 堤 雅弘, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
11. 酸化還元酵素系修飾下での Menadione 投与による活性酸素産生系による
ラット肝発癌プロモーション効果 31
○遠藤武弘, 野口 修, 天沼利宏, 小笠原裕之, 田村一利, 傳田阿由美,
小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

11:12~12:00 座長 野々山孝 (武田薬品・薬安研)

12. Triazine 誘導体のラット肝発癌における抑制作用 32
○堀 高明, 朝元誠人, 岩堀嘉郎, 金 大中, 金 振萬, 津田洋幸
(国立がんセ・研・化療)
13. 水溶性有機イオウ化合物のラット肝発癌抑制作用とその作用機構の検索 33
○高田信康¹, 矢野善久², 堀 高明¹, 林 修次¹, 大谷周造²,
福島昭治¹ (大阪市大・医・¹病理, ²生化)
14. ラットにおけるジエチルニトロサミン (DEN) またはコリン欠乏
アミノ酸 (CDAA) 食による肝発癌に対する N-(4-hydroxyphenyl)-
retinamide (4-HPR) の抑制効果 34
○田村一利, 中江 大, 堀口浩資, 小林洋三, 吉田順一, 長谷川清彦,
小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫病)
15. Diethylstilbestrol (DES) 経胎盤投与によるラット雌生殖器への影響について 35
○北村 毅^{1,4}, 西村 進^{2,4}, 笹原健二^{3,4}, 吉田 緑⁴, 安藤(路)進⁴,
高橋正一⁴, 前川昭彦⁴ (¹キッセイ薬品, ²ポゾリサーチ, ³ツムラ,
⁴佐々木研・病理)

口演会場 第1日 (1月24日) 午後

14:00~14:48 座長 鷲見信好 (日本新薬・安全研)

16. ラット, マウスにおける N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine とその代謝物の
発癌性に関する研究 36
○妻谷憲一¹, 林 功¹, 北堀吉映¹, 小西 登¹, 日浅義雄¹,
大園誠一郎², 岡島英五郎² (奈良医大・¹2 病理, ²泌)

17. ヘアレス犬の皮膚による皮膚毒性試験	37
○木村 透 ¹ , 土井邦雄 ² (¹ 農産工・中研, ² 東大・農)	
18. Lipopolysaccharide 誘発ウサギ関節炎モデルに対する Dexamethasone の作用	38
○井戸側博一 ¹ , 松尾呼野美 ¹ , 吉武国徳 ¹ , 今村淳資 ¹ , 平川公昭 ² , 大橋正美 ¹ (鐘紡・ ¹ 創薬研, ² 安全研)	
19. 制限摂餌および水浸拘束ストレスの性成熟期ラット雄生殖器への影響	39
○神鳥仁志, 濱島敏之, 佐倉康文 (武田薬品・薬安研)	
14:48~15:24 座長 前川昭彦 (佐々木研・病理)	
20. Dimethylarsinic acid (カコジル酸) によるラット膀胱発癌プロモーション	40
○鰐淵英機, Meenakshi Vijayaraghavan, 山本晋史, 堀 高明, 福島昭治 (大阪市大・医・1 病理)	
21. ラット膀胱発癌プログレッション過程における p53 遺伝子変異の検索	41
○尾崎正和, 柴田雅朗, 高橋 智, 小木曾正, 岩崎省吾, 白井智之 (名市大・医・1 病理)	
22. N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine 誘発ラット膀胱腫瘍における グリシン及びアスパラギン酸の修飾作用	42
○陶 明, 小西 登, 松田博文, 北堀吉映, 妻谷憲一, 日浅義雄 (奈良医大・2 病理)	
15:24~16:00 座長 福島昭治 (大阪市大・医・1 病理)	
23. Nedaplatin 単回投与によるラット腎毒性とその抑制	43
○渡邊 弘, 越田 光, 伊藤文男, 井上 知, 中村益久, 村岡義博 (塩野義・新薬研)	
24. Phenobarbital, clofibrate 投与によるラットおよびイヌ腎臓の変化	44
○瀬畑信哉, 五十嵐功, 牧野俊彦, 安田充也, 真鍋 淳, 矢本 敬 (三共・安全研)	
25. メチマゾールのラット腎腫瘍における抑制作用	45
○松田博文, 小西 登, 陶 明, 北堀吉映, 妻谷憲一, 日浅義雄 (奈良医大・2 病理)	

口演会場 第2日 (1月25日) 午前

9:00~10:12 座長 井内康輝 (広島大・医・2病理)

26. 顎下腺におけるクロロホルムの影響 46
 ○上田忠司 (金沢医大・解剖)
27. c-Ha-ras transgenic mouse を用いた 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) および urethane による肺発癌 47
 ○織田信一郎, 高橋 智, 佐野真士, 今井田克己, 七野 裕, 白井智之
 (名市大・医・1病理)
28. ラットにおける N-Nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP) により誘起された肺胞上皮過形成の可逆性について 48
 ○福田智一, 堤 雅弘, 辻内俊文, 野口 修, 小林永策, 三井雅之, 天沼利宏, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
29. ラット DHPN 肺発癌における 4-Methylthiobenzamide 投与の影響 49
 ○山口 剛, 今井田克己, 広瀬雅雄, 二口 充, 倉田 靖, 白井智之
 (名市大・医・1病理)
30. 肺発がん抑制モデルにおける抑制要因の検討 50
 ○栗原寛治, 武島幸男, 金子真弓, 有広光司, 井内康輝
 (広島大・医・2病理)

口演会場 第2日 (1月25日) 午後

14:12~15:00 座長 吉村慎介 (食薬センター・秦野研)

31. 小脳顆粒細胞変性に遅発するプルキンエ細胞軸索変性 (torpedo) — チオフェン中毒ラット — 51
 ○森 文秋, 高屋豪瑩, 丹治邦和 (弘前大・脳研・神経病理)
32. Difluorobenzhydrylpiperadine 投与ラットにおける末梢神経および骨格筋病変 52
 ○山中義弘^{1,2}, 島田 徹¹, 望月理加¹, 筒井美麻¹, 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・2病理, ²帝人・医薬開発研)
33. 1-Ethyl-nitrosourea (ENU) 誘発脳腫瘍における canthaxanthin の修飾効果 53
 ○杉江茂幸, 岡本清尚, 牧田浩樹, 大西将美, 川森俊人, 原 明, 田中卓二, 森 秀樹 (岐阜大・医・病理)

34. 2,5-Di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone 経口投与ラットにおける運動終板の超微形態学的検索 54
 ○今沢孝喜¹, 三森国敏¹, 北嶋 聡², 小野寺博志¹, 西川秋佳¹,
 古川文夫¹, 井上 達², 黒川雄二², 高橋道人¹ (国立衛試・¹病理, ²毒性)
- 15:00~15:36 座長 日浅義雄 (奈良医大・2 病理)**
35. サルファジメトキシシン漸増投与によるラット甲状腺増殖性病変発育の亢進 55
 ○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,
 齋藤明美¹, 永田 治¹, 高橋道人² (¹北陸製薬・研究開発本部,
²国立衛試・病理, ³佐々木研・病理, ⁴東京理科大・薬)
36. DHPN 誘発ラット甲状腺濾胞上皮増殖性病変における P53, HSP70 および MDM2 の発現 56
 ○林 新茂¹, 三森国敏², 小野寺博志², 安原加壽雄², 森 郁生¹,
 野々山孝¹, 高橋道人² (¹武田薬品・薬安研, ²国立衛試・病理)
37. ラット自然発生腫瘍と発癌誘発腫瘍における Ki-ras 遺伝子変異の比較 57
 ○北堀吉映¹, 小西 登¹, 松井恵美¹, 廣内康彦², 星谷 達³,
 古川文夫⁴, 日浅義雄¹ (¹奈良医大・2 病理, ²安評センター,
³ポゾリサーチ, ⁴国立衛試)
- 15:36~16:36 座長 川合是彰 (田辺製薬・安全研)**
38. 卵巣摘出ラットでの長期飼育による内分泌・乳腺の腫瘍性病変について 58
 ○義澤克彦, 大石裕司, 松本正博, 鈴木淳也, 牧野奈津代, 藤平司郎,
 藤井登志之 (藤沢薬品・安全研・病理)
39. ラット子宮平滑筋腫/肉腫および下垂体腺腫におけるヒト結節性硬化症 (Tsc2) 遺伝子変異の解析 59
 ○樋野興夫, 梶野一徳, 菊地 泰, 久保宣明, 小林敏之, 青木 宏,
 福田智一, 三谷弘明 (癌研・実験病理)
40. ハムスター短期発癌モデルにおける α ・ β -カロチン, 緑茶ポリフェノールの発癌抑制効果の検索 60
 ○小林永策, 辻内俊文, 堤 雅弘, 白岩和己, 堀口浩資, 長谷川清彦,
 吉田順一, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
41. 非遺伝毒性発がん物質のラット肝イニシエーション作用の証明 61
 ○岩堀嘉郎, 馬場弘靖, 金 大中, 堀 高明, 津田洋幸
 (国立がんセ・研・化学療法)
42. 放射線誘発による C3H, B6C3F₁ マウス肝腫瘍の特性 62
 ○伊藤明弘, 渡辺敦光, 藤本成明, 安東保海, 山田和正
 (広大・原医研・予防腫瘍)

示説プログラム

○：発表者

示説会場 第1日 (1月24日) 10:00~15:30

示説 1 (13:00~14:00) 座長 渡辺敦光 (広島大・原医研)

- P- 1. ラットおよびマウスの舌に発生する小動脈炎 65
○楠岡 修, 山口裕子, 中村 厚, 玉井幸子, 堀口浩資, 工藤佳代子,
笠原健一郎, 田村一利, 岡庭 梓 (ボゾリサーチ)
- P- 2. ラットの巨核球 emperipolesis でみられる侵入好中球の apoptosis 66
○田中雅治, 阿瀬善也 (小野薬品・福井安全研・毒性病理)
- P- 3. カドミウムのラット静脈内投与による肺内肺静脈泡沫細胞栓子の形成 67
○勝田 修¹, 平塚秀明^{1,2}, 土谷 稔¹, 梅村孝司²
(¹三菱化学安科研, ²鳥取大学・農)
- P- 4. 増生骨における骨髓様組織誘導の検討
— 抗 GM-CSF 抗体を用いた経時的観察 — 68
○足立民子, 湯浅啓史, 川合是彰 (田辺製薬・安全研)
- P- 5. *Helicobacter pylori* 感染スナネズミ胃の病理組織学的検討 69
○高木司郎¹, 河下 伸¹, 内海博之¹, 上村裕洋¹, 堀添 宏¹,
竹内正紀¹, 平山文博², 池田敬史² (吉富製薬・¹安全研, ²創薬研)
- P- 6. C3H↔BALB/c キメラマウス大腸腫瘍における性決定遺伝子
(sex determining region Y gene; Sry) の検索 70
○山本昌美, 増井恒夫, 深見博子, 今井俊夫, 小林 潔, 湯浅啓史,
立松正衛 (愛知がんセ・研・1 病理)
- P- 7. MNNG 誘発ラット胃癌の腸上皮化生と細胞増殖 71
○湯浅啓史^{1,2}, 川合是彰², 山本昌美¹, 稲田健一¹, 立松正衛¹
(¹愛知がんセ・研・1 病理, ²田辺製薬・安全研)
- P- 8. MNU および DMH による LEC ラットの大腸発がん感受性 72
○長根芳文, 北浦敬介, 泉 啓介 (徳島大・医・2 病理)

示説 2 (13:00~14:00) 座長 立松正衛 (愛知がんセ・1病理)

- P-9. フェノール系化合物によるラット前胃粘膜増殖性病変発生に対する非ステロイド系
抗炎症剤 (NSAID), Superoxide dismutase (SOD) および Catalase の影響 …… 73
○星谷 達^{1,2}, 溝口靖基^{1,2}, 中村 厚^{1,2}, 赤木圭介^{1,2}, 山口裕子²,
白井智之¹, 広瀬雅雄¹ (¹名市大・医・1病理, ²ボゾリサーチ)
- P-10. カテコールおよび 4-メチルカテコールの長期投与ラットに観察された胃の
非上皮性悪性腫瘍の病理組織学的検討 …………… 74
○萩原昭裕^{1,2}, 佐野真士^{1,2}, 小久保百合子^{1,2}, 田中 光^{1,2},
広瀬雅雄², 白井智之² (¹大雄会医科学研, ²名市大・医・1病理)
- P-11. ラット MNNG 誘発胃発癌におけるオルニチン脱炭酸酵素阻害剤の影響 …………… 75
○田中丸善洋¹, 西川秋佳¹, 古川文夫¹, 池崎信一郎¹, 金 亨津¹,
今沢孝喜¹, 田中卓二², 高橋道人¹ (¹国立衛試・病理,
²岐阜大・医・1病理)
- P-12. ラット腺胃腺癌における組織形態像と PCNA・AgNORs 二重染色による
細胞増殖活性の比較検討 …………… 76
○林 修次¹, 古川文夫², 森村圭一朗¹, 高橋道人², 福島昭治¹
(¹大阪市大・医・1病理, ²国立衛試・病理)
- P-13. Modifying Effects of The Chelidoni Herba Extract on a Rat Stomach
Carcinogenesis Induced by *N*-Methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine …………… 77
○Dae Joong KIM¹, Beob Yi LEE², Beom Seok HAN²,
Byeongwoo AHN², Seok Min HONG², Kwang Sik CHOI²,
Jin Man KIM¹ and Hiroyuki TSUDA¹
(¹Chemother. Div., Natl. Cancer Center. Res. Inst.
²Dept. of Pathol., Natl. Inst. Safety Res., Korea)
- P-14. ラット MNNG 誘発胃癌発生における魚粉および亜硝酸の影響 …………… 78
○古川文夫, 西川秋佳, 池崎信一郎, 今沢孝喜, 田中丸善洋, 金 亨津,
高橋道人 (国立衛試・病理)
- P-15. 長期毒性試験に用いた F344 ラットに観察される十二指腸粘膜上皮増生 …………… 79
○山川誠己, 高木留美子, 松木由加, 山本慎二, 三上真一, 岩田 聖,
廣内康彦, 小林和雄, 榎本 眞 (安評センター)
- P-16. F344 ラット, B6C3F₁ マウスの腺胃に観察された腫瘍性病変の比較検討 …………… 80
○三上真一, 高木留美子, 松木由加, 山本慎二, 山川誠己, 岩田 聖,
廣内康彦, 小林和雄, 榎本 眞 (安評センター)

示説 3 (13:00~14:00) 座長 山崎寛治 (化学品検査協会)

- P-17. ラット卵黄感作性肝線維症モデルにおける病理組織学的検討
— 伊東細胞の変化 — 81
○城田真理子, 田中俊光, 佐伯和子, 後藤鋼星, 関谷久美子, 小林孝好
(ヘキストジャパン・開発研)
- P-18. LEC ラットにおける脂質過酸化生成物 4-hydroxynonenal の局在 82
○西川秋佳¹, 古川文夫¹, 田中丸善洋¹, 池崎信一郎¹, 金 亨津¹,
内田浩二², 豊國伸哉³, 北浦敬介⁴, 泉 啓介⁴, 高橋道人¹
(¹国立衛試・病理, ²名大・食品機能化学, ³京大・病理, ⁴徳島大・病理)
- P-19. Sodium phenobarbital の肝発癌プロモーション作用と CYP 誘導の
用量相関性 83
○松田 勉¹, 北野光昭¹, 萩原昭裕³, 谷山哲秀¹, 船江良彦²,
白井智之³, 福島昭治¹ (¹大阪市大・医・1 病理, ²化学,
³名市大・医・1 病理)
- P-20. ラット肝発癌過程における HGF および *c-met*mRNA の発現および分布 84
○今井俊夫^{1,2}, 増井恒夫¹, 稲田健一¹, 山本昌美¹, 中野渡純一²,
本岡 寛², 立松正衛¹ (¹愛知がんセ・研・1 病, ²エーザイ・安全研)
- P-21. Non-RI PCR-SSCP 法を用いた B6C3F₁ マウス肝組織の Ha-ras 遺伝子の検索 (2)
— 肝細胞腫瘍性病変について — 85
○飯田麻里, 岩田 聖, 榎本 真 (安評センター)
- P-22. ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食により肝に誘発される
早期の変化 86
○安藤信明, 中江 大, 小林洋三, 小林永策, 遠藤武弘, 赤井弘幸,
辻内俊文, 傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
- P-23. 長期飼育ラット (約 36ヶ月齢) の骨の研究 87
○田中弘光¹, 乾 公正², 吉岡直記¹, 真板敬三², 岩田光夫¹
(¹呉羽化学, ²残農研)
- P-24. 6 種農薬についてのラット中期肝発癌性試験法での解析 88
○田中 光^{1,2}, 武貞徳子^{1,2}, 萩原昭裕^{1,2}, 玉野静光^{1,2}, 長谷川良平²,
白井智之² (¹大雄会医科学研, ²名市大・医・1 病理)

示説 4 (13:00~14:00) 座長 堤 雅弘 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

P-25. Studies on Non-surgical Medium-term Carcinogenicity Bioassay Model Using D-galactosamine	89
Ki-Hoan Nam, Jae-Jin Cho, O Yong-Soon Lee (Department of Veterinary Medicine, Graduate School, Seoul National University)	
P-26. Cancer risk assessment by a medium-term carcinogenicity bioassay using repeated administration of D-galactosamine	90
O Hyoung-Chin Kim ¹ , Chang-Su Ha ¹ , Shin-Woo Cha ¹ , Jung-Koo Roh ¹ , Yong-Soon Lee ² , Akiyoshi Nishikawa ³ , Fumio Furukawa ³ , Zen-yo Tanakamaru ³ , Shinichiro Ikezaki ³ , and Michihito Takahashi ³ (¹ KRICT, Daejeon, ² Seoul Natl. Univ., ³ NIHS, Tokyo)	
P-27. 肝中期発癌試験法における Proliferating Cell Nuclear Antigen(PCNA) の発現	91
O吉田敏則, 吉田明由, 北沢利明, 榎本秋子, 木下三佳, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)	
P-28. 実験的高 Ca 血症犬と正常犬の甲状腺 C 細胞の PCNA 法による比較	92
O加藤淳彦, 赤羽房美, 三沢保幸, 足立健児, 坂牧義之 (中外製薬・安全研)	
P-29. 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	93
O新田由美子 ¹ , 星 正治 ¹ , 早川式彦 ¹ , 神谷研二 ² , 丹羽太貫 ² (広島大・原医研・ ¹ 国際放射線情報センター, ² 分子病理)	
P-30. <i>lac Z</i> 遺伝子導入によるラット前立腺癌微小転移モデルの作製	94
O小林 潔 ^{1,2} , 中西速夫 ¹ , 山本昌美 ¹ , 務台 衛 ² , 二口 充 ³ , 白井智之 ³ , 立松正衛 ¹ (¹ 愛知がんセ・研・1 病理, ² 三菱化学・横浜総研・安全性研, ³ 名市大・1 病理)	
P-31. アルキル化剤投与ラットにおける O ⁶ -methyldeoxyguanosine および N ⁷ -methyldeoxyguanosine の免疫組織化学的検索	95
O北野光昭 ¹ , 鰐淵英機 ¹ , Youssef Emile ¹ , 李 威 ¹ , 周 鉅文 ¹ , 津田洋幸 ² , 福島昭治 ¹ (¹ 大阪市大・医・1 病理, ² 国立がんセ・研・化療)	
P-32. ラット発癌イニシエーション活性中期検索法による非肝発癌性物質の GST-P 陽性細胞巢の誘導	96
O山口 格 ¹ , 米良幸典 ¹ , 宮田裕人 ¹ , 澤多美和 ¹ , 小林奏子 ¹ , 井口綾子 ¹ , 亀井 力 ¹ , 立松正衛 ² (¹ ゼリア新薬・中研, ² 愛知がんセ・研・1 病理)	

示説 5 (13:00~14:00) 座長 板垣慎一 (東大・農・実験動物)

- P-33. 四塩化炭素による化学的肝部分切除を用いた非肝発癌性物質の肝臓における
発癌イニシエーション活性の検索 97
○後藤和広¹, 小林 潔^{1,2}, 務台 衛¹, 山本昌美², 稲田健一²,
立松正衛² (¹三菱化学・横浜総研・安全性研, ²愛知がんセ・研・1 病理)
- P-34. Big Blue マウスにおける dimethylnitrosamine 誘発の遺伝子突然変異と
細胞増殖活性の相関性 98
○池崎信一郎¹, 西川秋佳¹, 古川文夫¹, 田中丸善洋¹, 金 亨津¹,
鈴木孝昌², 伊藤俊明², 林 真², 祖父尼俊雄², 高橋道人¹
(国立衛試・¹病理, ²変異遺伝)
- P-35. Apoptosis の検出に関する形態学的評価法 99
○池田理恵, 村越正典, 大谷昌士, 田川正志, 久田 茂, 飯塚和弘,
増田修治, 鈴木 稔 (帝国臓器製薬・安全研)
- P-36. ヒト c-Ha-ras 遺伝子導入マウスにおける化学物質の発がん性の
短/中期検出 100
○不二 哲¹, 児玉幸夫¹, 田中 悟¹, 林 裕造², 野村達次³
(¹国立衛試, ²北里大, ³実中研)
- P-37. SD ラットにみられた自然発生性閉塞性黄疸症の病理組織学的検討 101
○佐藤 亮, 山本硬治, 三谷公互, 小倉基裕, 南 孝則, 松本智志,
仙頭美和, 三好文暁 (大塚製薬・徳島研)
- P-38. ホスホロチオエート化オリゴヌクレオチド投与マウスにおける諸臓器の
病理組織学的検討 102
○萬 啓悟, 森口佳之, 相川 仁, 木下道子, 勝山清加, 矢野圭一,
牛尾秀敏 (中外製薬・創薬開発研)
- P-39. マウス膀胱がん移植により誘発されたヌードマウス由来非上皮性腫瘍の一例
— Microsatellite DNA polymorphism を用いた検索による確認 103
○朝元誠人¹, 堀 高明¹, 佐野真士², 白井智之², 津田洋幸¹
(¹国立がんセ・研・化療, ²名市大・医・1 病理)
- P-40. ラットの精巣にみられた Yolk Sac Carcinoma の 1 例 104
○中澤素邦, 俵谷武治, 吉田 勝, 内本啓史, 河南明孝, 上田 誠,
岩倉啓子, 鷺見信好 (日本新薬・安全研)

示説 6 (13:00~14:00) 座長 土谷 稔 (三菱安科研・鹿島研・病理)

- P-41. ラット子宮に自然発生した胎児性癌と思われる 1 例 105
 ○若林佐知子, 永谷真理子, 星谷 達, 山口裕子, 赤木圭介, 田村一利,
 岡庭 梓 (ボゾリサーチ)
- P-42. F344 雄ラットに認められた松果体腫瘍の一例 106
 ○山本慎二, 高木留美子, 松木由加, 三上真一, 山川誠己, 岩田 聖,
 廣内康彦, 小林和雄, 榎本 眞 (安評センター)
- P-43. Donryu 系雌ラットにみられた Pineoblastoma の 2 例 107
 ○飯島徹男^{1,2}, 高橋正一², 吉田 緑², 鈴木謙二², 北村 毅²,
 安藤 進², 前川昭彦² (¹日清製油, ²佐々木研・病理)
- P-44. 若齢 SD ラット耳下腺に自然発生した低分化型腺癌の 1 症例 108
 ○恒成一郎¹, 河内 護¹, 南里博俊¹, 信岡大介¹, 山手丈至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・獣医病理)
- P-45. カニクイザルにみられた下垂体腫瘍 109
 ○永井博文, 石村美祐, 関口正博, 穴山久志, 佐々木啓
 (武田薬品・薬安研)
- P-46. ラット子宮角に観察された granulated metrial gland cell (GMG cell) の
 びまん性増殖性病変について 110
 ○吉田 緑¹, 高橋正一¹, 安藤 進¹, 笹原健二², 木谷敏之¹,
 前川昭彦¹ (¹佐々木研・病理, ²ツムラ)
- P-47. F344 ラットにみられた唾液腺腺癌の 1 例 111
 ○寺西宗広, 松本悦嗣, 矢本 敬, 田中宏治, 瀬畑信哉, 真鍋 淳
 (三共・安全研)
- P-48. F344 ラットの甲状腺に見られたカルシトニン産生悪性腫瘍の一例 112
 ○相磯成敏, 櫻 ゆみ, 妹尾英樹, 野田圭介, 竹内哲也, 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)

示説 7 (13:00~14:00) 座長 山手丈至 (大阪府大・農・獣医病理)

- P-49. BDF₁ マウスの肝臓に認められた血管筋脂肪腫様病変の一例 113
○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)
- P-50. Wistar 系ラットに見られた自然発生と思われる精巢上体の
精子性肉芽腫 (続報) 114
○宇都宮忠実, 林 一彦, 岸 和正, 田中好美 (大塚製薬・琵琶湖研)
- P-51. SD ラットに認められた嚢胞腎様病変 115
○佐野文子, 杉本次郎, 小林 潔, 土屋毅幸, 後藤和広, 及川直矢,
務台 衛 (三菱化学・横浜総研・安全性研)
- P-52. NZW 系 (クリーン) ウサギに高率に認められた全身性微胞子虫感染症について 116
○高島吉治^{1,2}, 影山明彦¹, 井原真哉¹, 矢ヶ崎修¹, 山口基徳¹,
堤 雅弘², 小西陽一² (¹日本シェーリング・研,
²奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
- P-53. 若齢ビーグル犬にみられたボウマン嚢壁の肥厚を主体とする
腎糸球体病変の 1 例 117
○大町 康, 鳥海 互, 八十島昭, 藤村久子, 岩崎 仁, 高島紘毅
(田辺製薬・医薬育成研)
- P-54. ビーグル犬に見られた子宮の分節欠損の一例 118
○上田 誠, 俵谷武治, 吉田 勝, 中澤素邦, 内本啓史, 河南明孝,
岩倉啓子, 鷺見信好 (日本新薬・安全研)
- P-55. ビーグルの眼球網膜異形成の 3 例 119
○川口博明, 佐竹 茂, 千早 豊, 前田 博, 李 建中, 永田良一,
宮脇宏彰 (新日本科学)
- P-56. NO 合成阻害剤 NG-nitro-L-arginine (L-NNA) 誘発脳卒中ラットにおける
行動薬理的及び病理組織学的検討 120
○伊東一女, 井原真哉, 藤本峰子, 津崎真由美, 藪内文恵, 辻 孝司,
赤井哲夫, 矢ヶ崎修, 山口基徳 (日本シェーリング・研究部)

示説会場 第2日 (1月25日) 10:00~15:30

示説 8 (13:10~14:10) 座長 花田貴宣 (山之内製薬・創薬安全研)

- P-57. ラットにおける実験的誘発小脳症の形態学的研究,
 (1) 体性感覚領の皮質層構築の変化 121
 ○板橋正文, 斉藤俊樹, 布谷鉄夫, 田島正典 (日生研)
- P-58. 3-acetylpyridine 投与による運動失調ラットの脳の病理組織学的変化 122
 ○関口正博¹, 橋本忠俊², 永井康雄², 志野晟生¹, 佐々木啓¹
 (武田薬品・¹薬安研, ²創薬一研)
- P-59. 遺伝性高コレステロール血症 (KHC) ウサギに発生した
 高脂血症性眼病変について 123
 ○原 敦子, 江幡幸子, 仲野善久, 篠原基輝, 望月由美子, 松崎勝寛
 (日本ケミファ・研究所)
- P-60. Phenazopyridine hydrochloride によるイヌ涙腺上皮細胞の崩壊について 124
 ○木下啓明, 山本硬治, 佐藤 亮 (大塚製薬・徳島研)
- P-61. サルファジメトキシンの間欠投与と連続投与における TSH 産生細胞の
 超微形態学的変化の比較 125
 ○斉藤明美¹, 下 武男¹, 三森国敏², 小野寺博志², 高橋正一³,
 片山淳一¹, 永田 治¹, 高橋道人² (¹北陸製薬・研究開発,
²国立衛試・病理, ³佐々木研・病理)
- P-62. Estradiol dipropionate 誘発下垂体前葉腫瘍の経時的形態変化 126
 ○佐藤 洋¹, 梶村哲世¹, 陳 忠正², 山田一孝³, 尾崎善孝²,
 広田豊彦², 青柳一治², 野村 護¹ (第一製薬・¹開発研・安全性 C,
²試験 C, ³探索 3 研)
- P-63. 雄ラットにおける 7,12-DMBA による乳癌誘発に対する Estrogen の促進作用 ... 127
 ○李 建中^{1,2}, 川口博明^{1,2}, 大町勝美^{1,2}, 岡崎啓幸^{1,2}, 永田良一²,
 小玉拓郎¹, 吉田浩己¹ (¹鹿大・1 病理, ²新日本科学)
- P-64. 雌ラットにおける 7,12-DMBA による乳癌誘発への卵巣摘除と
 Estrogen 大量投与の抑制効果 128
 ○大町勝美^{1,2}, 李 建中^{1,2}, 川口博明^{1,2}, 岡崎啓幸^{1,2}, 永田良一²,
 二反田隆夫¹, 吉田浩己¹ (¹鹿大・1 病理, ²新日本科学)

示説 9 (13:10~14:10) 座長 泉 啓介 (徳島大・医・2 病理)

- P-65. 病理グレードシステムに関するアンケート調査 129
○佐々木啓, 穴山久志, 山崎秀樹, 渡辺武志, 石村美祐, 関口正博,
永井博文 (武田薬品・薬安研)
- P-66. sulfadimethoxine (SDM), propylthiouracil (PTU), potassium
thiocyanate (KSCN) および phenobarbital (PB) によるラット
甲状腺腫瘍誘発に及ぼす vitamin A (VA) 同時投与の影響 130
○竹川 潔¹, 三森国敏¹, 小野寺博志¹, 高橋正一², 下 武男¹,
安原加壽雄¹, 高橋道人¹ (¹国立衛試・病理, ²佐々木研・病理)
- P-67. ラットにおける乳酸鉄の混餌経口投与による毒性
(鉄の臓器毒性の発生機構について) 131
○奈良間功¹, 尾崎清和¹, 松浦哲郎¹, 増岡桃子¹, 丸山博司¹,
大原健扶², 高島英伍² (¹摂南大・薬, ²星ヶ丘厚生年金病院)
- P-68. ラットにおける乳酸鉄の混餌経口投与による毒性
(鉄の組織沈着と細胞障害の形態について) 132
○尾崎清和, 松浦哲郎, 増岡桃子, 丸山博司, 奈良間功
(摂南大・薬, 星ヶ丘厚生年金病院)
- P-69. L-イソロイシンの F344 ラットにおける 13 週間亜急性経口毒性試験 133
○小久保百合子^{1,2}, 河部真弓^{1,2}, 萩原昭裕^{1,2}, 田中 光^{1,2},
白井智之² (¹大雄会医科学研, ²名市大・医・1 病理)
- P-70. しゅう酸の B6C3F₁ マウスに対する発癌性の検討 134
○佐野真士^{1,2}, 武貞徳子^{1,2}, 玉野静光^{1,2}, 河部真弓^{1,2},
伊東信行², 白井智之² (¹大雄会医科学研, ²名市大・医・1 病理)
- P-71. β-cyclodextrin の F344 ラットにおける癌原性試験 135
○正田俊之, 豊田和弘, 畝山智香子, 高田幸一, 高橋道人
(国立衛試・病理)
- P-72. 小核試験陽性のキノロン系化合物による新生仔発癌実験 136
○森 聖^{1,2}, 村井 隆^{1,2}, 細野素子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)

示説 10 (13:10~14:10) 座長 今井田克己 (名市大・医・1 病理)

- P-73. 金属結合蛋白質メタロチオネインのイヌの体内における局在 137
 ○島田章則, 梅村孝司 (鳥取大・農)
- P-74. 正常ヒトリンパ球大量移入 SCID マウスにおける血中 Hu-IgG の出現と
 Hu-PBL の臓器分布 138
 ○北嶋修司¹, 松井 元¹, 新屋希子¹, 佐々木巧², 森山 毅²,
 内布洋一¹ (化血研・¹病理, ²研究開発)
- P-75. Bleomycin により誘発された肺線維化に対する抗酸化剤 (1-O-Hexyl-2,3,5-
 trimethylhydroquinone, HTHQ) の効果 139
 ○姜 鍾求¹, 鄭 載晃¹, 李 俊燮², 香田 繁³, 新納靖規³,
 三木徳太郎³ (¹韓国 忠北大, ²韓国 Seoul 大, ³日本ハイボックス)
- P-76. Methotrexate 低用量反復投与によるラットの肺病変 140
 ○小笠原裕之, 村田晃子, 藤井久子, 野口 修, 村上善紀, 田内清憲,
 高木英利 (日本レダリー・生物研)
- P-77. モルモット鼻腔組織標本作製法と卵白アルブミン誘発鼻炎モデルにおける
 好酸球浸潤の分布 141
 ○山崎秀樹¹, 山崎将司², 永井博文¹, 川村幸子¹, 佐々木啓¹
 (武田薬品・¹薬安研, ²創薬 2 研)
- P-78. F344 ラットの異物性鼻炎 — 発生率, 好発部位および
 病理組織学的所見 — 142
 ○竹内哲也, 野田圭介, 櫻 ゆみ, 妹尾英樹, 相磯成敏, 片桐 卓,
 長野嘉介, 松本道男, 山内勝彦, 奥平雅彦 (日本バイオアッセイ)
- P-79. β -クロロプロピオン酸の 13 週間飲水投与により発生したマウス鼻腔呼吸上皮の
 エオジン好性変化 143
 ○妹尾英樹, 竹内哲也, 野田圭介, 櫻 ゆみ, 相磯成敏, 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)
- P-80. 四塩化炭素誘発糸球体硬化症における免疫グロブリンおよび細胞外基質の
 経時的变化 144
 ○緒方聖也¹, 板垣慎一¹, 土井邦雄²
 (¹東大・農・実験動物, ²同・獣医病理)

示説 11 (13:10~14:10) 座長 津田洋幸 (国立がんセ・化学療法)

- P-81. Progesterone および medroxyprogesterone acetate による慢性腎症および心筋線維化の発生 145
 ○久田 茂, 佐藤敦子, 飯塚和弘, 伊藤清子, 増田修治, 高橋香奈子, 田川正志, 池田理恵, 村越正典, 堀内 敏, 鈴木 稔
 (帝国臓器製薬・安全研)
- P-82. Brown Norway ラットにおける nephrotoxic serum 腎炎の病理学的検討 146
 ○鳥海 互, 藤村久子, 奥村文和, 菅野賢吉, 内藤一秋, 八十島昭, 岩崎 仁 (田辺製薬・医薬育成研)
- P-83. 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. IV. 147
 ○石田勝彦¹, 坂爪正志¹, 平位奈美¹, 池上 仁¹, 花田貴宣¹, 土井邦雄² (¹山之内製薬, ²東大・農・獣医病理)
- P-84. マウスを用いた抗 GBM 腎炎モデルの病理学的検討 148
 ○望月治美¹, 柏木豊子¹, 伊東良子³, 矢尾幸三², 村井美紀², 唐沢 啓², 西川 智¹, 長村義之³ (¹協和発酵・医薬研病理, ²薬理, ³東海大・病理)
- P-85. BBN 誘発マウス尿路上皮癌における *p53*, *ras* 遺伝子変異の発生部位による差異 149
 ○山本晋史^{1,2}, 陳 天新¹, 増井恒夫², 森 聖¹, 村井 隆¹, 中西速夫², 立松正衛², 福島昭治¹ (¹大阪市大・1 病理, ²愛知がんセ・研・1 病理)
- P-86. DMAB によるハムスター膀胱癌の発生とその組織学的特性 150
 ○崔 林, 加藤浩司, 加藤俊男, 長谷川良平, 小川久美子, 北村 毅, 白井智之 (名市大・医・1 病理)
- P-87. *p53* 遺伝子欠損トランスジェニックマウスの BBN 誘発膀胱発癌に対する感受性検討と *p53* 癌抑制遺伝子の解析 151
 ○須方督夫¹, 尾崎圭介¹, 山本晋史², 徳山佳美¹, 宇和川賢¹, 関 高樹¹, 吉武 彬¹, 福島昭治² (¹住友化学・生科研, ²大阪市大・医・1 病理)
- P-88. N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine マウス尿路系発癌に対するフェナセチン同時投与の影響 152
 ○村井 隆^{1,2}, 森 聖^{1,2}, 細野素子², 福島昭治¹
 (¹大阪市大・医・1 病理, ²塩野義製薬・油日ラボ)

示説 12 (13:10~14:10) 座長 萩原昭裕 (大雄会医科学研・研究部)

- P-89. ラットにおける purpurin の長期毒性試験；膀胱腫瘍の誘発 153
 ○大西将美, 杉江茂幸, 川森俊人, 田中卓二, 森 秀樹
 (岐阜大・医・1 病理)
- P-90. 鉄ニトリロ三酢酸が引き起こすラット腎酸化的ストレスに対するチオール化合物の抑制効果 154
 ○梅村隆志¹, 長谷川隆一¹, 加藤君江¹, 井上 達¹, 西川秋佳²,
 古川文夫², 高橋道人², 内田浩二³, 豊國伸哉⁴, 黒川雄二¹
 (¹国立衛試・毒性, ²病理, ³名大・食品機能化学, ⁴京大・病理)
- P-91. Tris-CP による胃発癌過程にみられた尿細管上皮過形成および巨核化の意義 ... 155
 ○高田幸一¹, 豊田和弘¹, 畝山智香子¹, 正田俊之¹, 門馬純子²,
 高橋道人¹, 黒川雄二² (国立衛試・¹病理, ²毒性)
- P-92. CD-1 マウスの性周期による子宮内膜の細胞増殖とホルモンレセプターの出現に関する免疫組織学的検討 156
 ○美谷島克宏, 高橋正一, 吉田 緑, 安藤 進, 木谷敏之, 白木克尚,
 前川昭彦 (佐々木研・病理)
- P-93. ENU 及び 17 β -estradiol によるマウス子宮内膜腺癌の誘発 157
 ○西村 進^{1,2}, 高橋正一², 安藤 (路) 進², 吉田 緑², 笹原健二²,
 前川昭彦² (¹ポゾリサーチ, ²佐々木研・病理)
- P-94. Wistar 系ラットに発生した雌性生殖器の顆粒細胞腫の病理組織学的検討 158
 ○豊沢かおる, 木川英美, 沖本一夫, 梶谷高敏, 安場正子, 西村耕一
 (大日本製薬, 開発研究所)
- P-95. Donryu ラットの子宮にみられた顆粒細胞小増殖巣について 159
 ○笹原健二^{1,2}, 安藤 (路) 進¹, 高橋正一¹, 吉田 緑¹, 飯島徹男^{1,3},
 前川昭彦¹ (¹佐々木研, ²ツムラ, ³日清製油)
- P-96. ICR 系マウスに多発する卵巣のう胞の形態学的検討 160
 ○涌生ゆみ, 山岸保彦, 勝田 修, 土谷 稔 (三菱化学安科研)

示説 13 (13:10~14:10) 座長 奥野泰由 (住友化学・生科研)

- P-97. カニクイザルの精巣毒性における精子形成サイクルのステージをグループ化した簡便的な評価方法の検討 161
 ○松井 元¹, 北嶋修司¹, 新屋希子¹, 内布洋一¹, 豊田和弘², 高橋道人² (¹化血研・病理, ²国立衛試・病理)
- P-98. 精巣の固定法に関する検討 162
 ○戸和秀一, 大町 康, 鳥海 互, 岩崎 仁 (田辺製薬・医薬育成研)
- P-99. 精巣における固定液の検討 163
 ○後藤綱星, 田中俊光, 城田真理子, 関谷久美子, 小林孝好 (ヘキストジャパン・開発研)
- P-100. ラット精巣毒性評価法におけるビメンチン免疫染色法の応用について 164
 ○町田一彦, 伊藤聖一, 相内聖峰 (実医研・病理学研究)
- P-101. 化合物 O によるイヌの雄性生殖器毒性と薬物動態および作用機序に関する検討 165
 ○澤本 修¹, 栗栖和信¹, 長根芳文¹, 幸下雅俊¹, 姜 定克¹, 下野和之¹, 久保秀治¹, 辰巳邦彦² (¹大塚製薬工場・鳴門研, ²大塚製薬・藤井記念研)
- P-102. Estradiol Benzoate 皮下投与によるラット精巣の病理組織学的変化 166
 ○秦 純子, 池川 直, 金子英志, 山中義弘, 浅野 哲, 武田利明, 宇野 洋, 伊澤義弘 (帝人・医薬開発研)
- P-103. Ethinylestradiol (EE) 投与によるラット雄性生殖毒性の病理組織学的検討 — 交配検査, 精子検査との比較検討 — 167
 ○及川直矢, 佐野文子, 土屋毅幸, 岩瀬隆之, 村上朋子, 後藤和広, 杉本次郎, 務台 衛 (三菱化学横浜総研・安全性研)
- P-104. 非ステロイド系抗炎症剤であるインドメタシンの前立腺発癌に対する修飾作用 168
 ○河部真弓^{1,2}, 玉野静光^{1,2}, 高橋 智², 二口 充², 今井田克己², 白井智之² (1 大雄会医科学研, 2 名市大・医・1 病理)
- P-105. 細胞増殖と細胞死を指標とした免疫系組織の細胞動態解析法の検討 169
 ○豊田和弘, 正田俊之, 畝山智香子, 高田幸一, 高橋道人 (国立衛試・病理)

座 長 一 覧

シンポジウム	1月25日 (10:15~11:50)	白井 智之 (名市大・医・1病理)
		土井 邦雄 (東大・農・獣医病理)
ワークショップ1	1月24日 (16:10~17:45)	高橋 道人 (国立衛試・病理)
		真板 敬三 (残農研・毒性)
ワークショップ2	1月25日 (16:50~18:20)	榎本 眞 (安評センター)
		今井 清 (食薬センター)
口 演 (メルパルクホール)		
	1月24日 午前	
	1~4 (9:00~9:48)	奈良間 功 (摂南大・薬物安全科学研)
	5~8 (9:48~10:36)	森 秀樹 (岐阜大・医・1病理)
	9~11 (10:36~11:12)	渡辺 満利 (持田製薬・安全研)
	12~15 (11:12~12:00)	野々山 孝 (武田薬品・薬安研)
	1月24日 午後	
	16~19 (14:00~14:48)	鷺見 信好 (日本新薬・安全研)
	20~22 (14:48~15:24)	前川 昭彦 (佐々木研・病理)
	23~25 (15:24~16:00)	福島 昭治 (大阪市大・医・1病理)
	1月25日 午前	
	26~30 (9:00~10:12)	井内 康輝 (広島大・医・2病理)
	1月25日 午後	
	31~34 (14:12~15:00)	吉村 慎介 (食薬センター・秦野研)
	35~37 (15:00~15:36)	日浅 義雄 (奈良医大・2病理)
	38~42 (15:36~16:36)	川合 是彰 (田辺製薬・安全研)
示 説 (メルパルク TOKYO)		
	1月24日 (13:00~14:00)	
	1 (P 1~ 8)	渡辺 敦光 (広島大・原医研)
	2 (P 9~ 16)	立松 正衛 (愛知がんセ・1病理)
	3 (P 17~ 24)	山崎 寛治 (化学品検査協会)
	4 (P 25~ 32)	堤 雅弘 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
	5 (P 33~ 40)	板垣 慎一 (東大・農・実験動物)
	6 (P 41~ 48)	土谷 稔 (三菱安科研・鹿島研・病理)
	7 (P 49~ 56)	山手 丈至 (大阪府大・農・獣医病理)
	1月25日 (13:10~14:10)	
	8 (P 57~ 64)	花田 貴宣 (山之内製薬・創薬安全研)
	9 (P 65~ 72)	泉 啓介 (徳島大・医・2病理)
	10 (P 73~ 80)	今井田克己 (名市大・医・1病理)
	11 (P 81~ 88)	津田 洋幸 (国立がんセ・化学療法)
	12 (P 89~ 96)	萩原 昭裕 (大雄会医科学研・研究部)
	13 (P 97~105)	奥野 泰由 (住友化学・生科研)

シンポジウム・ワークショップ 講演要旨

(S-1-1~5, W-1-1~6, W-2-1~5)

— MEMO —

S-1 医薬品の併用による副作用発現の可能性

川西 徹（国立衛試・生物薬品）

臨床の場では薬物療法を行なう際に2種以上の医薬品を併用する事が多いが、高齢化社会の進行に伴い、複数の疾患を合併する患者が多くなることを考えると、多剤併用は今後ますます避けられ難くなることが予想される。しかし医薬品を併用すると、相互作用によって一方あるいは双方の効果に影響を及ぼしあい、作用の減弱あるいは増強がおこり、副作用となって現われることがある。そこで、医薬品の併用による副作用のメカニズムについてまとめ、動物実験からヒトでの相互作用を予測する方策について考察したい。

薬物相互作用が発現するメカニズムは大きくわけて 1) 薬物動態的 (pharmacokinetic) 相互作用と 2) 薬力学的 (pharmacodynamic) 相互作用にわけられる。1) は相互作用を被る薬物の吸収・分布・代謝・排泄の変化を原因とする相互作用である。例えば以下のような機序により、薬物の作用部位での濃度は影響をうける：a) 経口投与された薬物同士の消化管内での結合・複合体形成・吸着、あるいは消化管内 pH あるいは消化管運動の変化による吸収の変化；b) 血管内でアルブミン等の血漿蛋白と結合する薬物間の、結合部位の競合による体内分布の変化；c) 薬物代謝酵素の阻害あるいは酵素誘導による併用薬物の代謝の変化；d) 尿細管における分泌、再吸収への影響による尿中排泄の変化。2) は作用部位における薬物の（見かけ上の）感受性の変化による相互作用である。例えば、同一受容体への作用によって効果を発現する薬物間では、刺激薬と遮断薬は相互作用を生じる。また作用部位が異なる薬物同士でも、臨床的に観察される効果が共通あるいは相反する場合、それぞれの作用を増強または減弱しうる。さらに、通常量の投与量では臨床的に顕在化しないが、併用によって副作用が現われる場合もある。実際に現われた相互作用を機構別に分類すると、1) では吸収部位での相互作用7%、分布の変化による相互作用2%、代謝部位でおきる相互作用37%、排泄における相互作用7%、2) に分類される相互作用は35%、その他機構が不明なもの12%、となるという報告がある（千葉寛：ファルマシア 31, 992-996 (1995)）。前臨床試験データからこれら相互作用を予測するには、毒性を含めて薬物の有する生物作用のメカニズムを明らかにし、整理することが重要である。

S-2

薬剤における毒性発現の複合作用

加藤道幸（第一製薬・安全研）

1. 臨床で好中球増多薬として用いられているロムルチドは、アジュバント活性を持つムラミルディペプチドの誘導体であり、ラットに関節炎を惹起する。アジュバント関節炎の発現を阻止する免疫抑制剤サイクロスポリンA (CsA)がロムルチド関節炎を増強したので、その機序について検討した。ロムルチドによる足関節の初期変化は、滑膜における表層細胞の多層化および軽度の好中球浸潤であった。これらは経時的に強くなり、1日後には表層細胞の増殖、剥離および好中球、滲出物を含む関節腔の拡張がみられた。足関節の肥厚は反復投与1週目より始まり、2週目まで漸次増強した。滑膜には水腫、表層部壊死および強い細胞浸潤が認められたが、これらは休薬により回復した。CsAを併用すると、後期の足関節肥厚が増強され、組織学的に肉芽組織の骨内侵入がみられた。In vitro 実験により、ロムルチド関節炎の初期には大食細胞系細胞が産生するケモカインの関与が示唆された。また、後期にはロムルチドによるサブレッサーT細胞の減少がCsA併用により促進された。

2. キノロン系抗菌薬による光毒性または光アレルギー反応の発現が臨床で稀に報告されている。そこで、アルビノマウスにキノロン薬の大量を単回経口投与した後に、長波長紫外線(UVA)を4時間照射し(20 J/cm²)、耳介皮膚および網膜の光毒性病変について検討した。耳介の厚さは照射直後より4日後まで増加し続けた。真皮では、初期に水腫および好中球浸潤がみられ、その程度は経日的に強くなり、最終的には壊死が認められた。網膜では、杆錘状体層の空胞化に始まり、次いで外顆粒層および外網状層の菲薄化が認められ、4日後にこれらの層は部分的に消失した。種々の抗酸化薬および抗炎症薬の併用実験により、耳介皮膚炎症および網膜変性の発現に活性酸素が関与し、皮膚炎症にはさらにアラキドン酸代謝物の関与が示唆された。また、これら病変の程度は有色マウスでは顕著に軽減し、メラニン色素が光毒性発現に防禦的役割を果たすと考えられる。

S-3

免疫抑制剤による腎毒性を軽減するための薬剤探索における 問題点

藤井 登志之（藤沢薬品・安全研）

薬剤併用による新たな副作用の発現，あるいはそれぞれの薬剤に由来する副作用の増悪は，薬剤の相互作用の暗い面である。これとは別に副作用軽減を期待して使用される併用剤も当然薬剤の相互作用から導かれるもので，これら解毒剤の存在は臨床現場に安心感を生む。ここでは免疫抑制剤“プログラフ”の腎毒性を例にとり解毒剤検索のためのアプローチとその成績について紹介し，最後に問題点について考察したい。

①プログラフ腎毒性のプロフィール：自然発症高血圧ラット(SHR)へのプログラフの投与は血中クレアチニン，BUNの増加及びクレアチニークリアランスの低下を示し，形態学的には腎細動脈の収縮，尿細管の好塩基性化及び皮髄界面部石灰沈着が観察される。

②発症に関与する因子（化学伝達物質）の探索：プログラフ投与後の尿中エイコサノイド量をプロスタサイクリン(PGI₂)及びトロンボキササン(TX)に焦点をあて測定したところPGI₂は減少しTXは増加した。これに加え，腎傍糸球体装置が顕在化，レニンmRNA発現の亢進及び血中レニン活性の上昇がみられた。更に，血中エンドセリンも上昇することが知られている。このような因子の増加は腎血管収縮と符合し，クレアチニークリアランスの低下が腎血管収縮を介していることを窺わせる。

③化学伝達物質の拮抗剤による解毒効果の可能性：アデノシン拮抗剤，エンドセリン拮抗剤，抗PAF剤， α_2 ブロッカー，TX阻害剤(TX ant.)，アンジオテンシンII拮抗剤(AT ant.)及びカルシウム拮抗剤(Ca ant.)を併用してクレアチニークリアランスを指標に解毒作用をみたところ， α_2 ブロッカー，TX ant.は部分的に，AT ant.及びCa ant.はほぼ完全に解毒作用を発揮した。この結果は本剤の腎毒性発現の主たるものはレニン-アンジオテンシン系の賦活であることを示唆する。また，Ca ant.の完全な作用は本剤の腎毒性が血管収縮にあることを窺わせる。

④問題点：解毒剤として必要な要素は，主薬の薬理作用をそこなわないこと，さらに他の毒性発現あるいは増悪を起こさないことにある。

Ca ant.を例にとってみると，腎毒性を軽減する投与量は本剤の免疫抑制活性を低下させず，さらに本剤の血中濃度を増加せしめることもなかった。

但し，これまでの研究では腎を除く毒性所見に関しては検討しておらず，さらに本剤のヒトでの主たる代謝酵素のP450はジヒドロピリジン系Ca²⁺拮抗剤の代謝にも関与していることが知られているので，臨床の場では使い難い面がある。従って，解毒剤探索には，これらの点を克服することが今後の課題となるものと思われる。

S-4

ラット肝発癌におけるヘテロサイクリックアミンの複合作用

長谷川良平（名古屋市大、医、1 病理）

焼け焦げ中の発癌物質であるヘテロサイクリックアミン(HCA)10種類を用いて、低濃度複合効果の影響をラット肝中期発癌性試験法にて検討した。雄F344ラットにdiethylnitrosamine (200mg/kg, ip)を投与し、2週後よりHCA添加飼料を与えた。第3週に2/3肝部分切除を施行、8週にて屠殺剖検し、肝の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 (GST-P) 陽性細胞巣を定量的に解析した。HCAの組み合わせとその最高用量（発癌試験用量）は、[実験1] Trp-P-1 (0.015%)、Glu-P-2 (0.05%)、IQ (0.03%)、MeIQ (0.03%)、MeIQx (0.04%) の5種類で、最高用量の1/5 および 1/25 の複合と各物質単独群 (1/1, 1/5, 1/25)、[実験2] Trp-P-2 (0.05%)、Glu-P-1 (0.05%)、MeA α C (0.08%)、A α C (0.08%)、PhIP (0.04%) の5種類で、最高用量の1/5 および 1/25 の複合と各物質単独群 (1/1, 1/5, 1/25)、[実験3] 10種類すべてを 1/10 および 1/100で複合投与および1/10の単独投与である。なお、今回は直径 0.1mm以上の陽性細胞巣を有効とした。

その結果、1) PhIPを除く9種類に少なくとも最高用量群で GST-P 陽性細胞巣の発生促進がみられた、2) 複合投与群も含めて概ね下に凸の用量作用曲線を描いた、3) 実験1では1/5投与群で複合群の値は対照群の値を差し引いた各単独群の「効果」の加算値とほぼ同じ数値に、1/25では効果の単純加算値以上の値を示した、4) 実験2では複合効果の影響はいずれの濃度でも認められ、単純な加算値以上の値を示した、5) 実験3では、低用量(1/10)の各単独群ではほぼ対照群と同じ値を示したが、10種類の複合でははるかに高い値を示した。

以上、複合投与の影響は組み合わせの種類や濃度により多少異なったが、一般に単独群の効果の単純加算値よりも大きい数値を示した。とくに、10種を1/10で複合した群で著明であった。しかし見方を変えて検討すると、n個のHCAを複合投与した場合組み合わせに用いた個々の物質をn倍の濃度で単独投与した群の平均値に近い値になった。

この結果を踏まえ、一般的な相乗効果の検定法に加えて用量作用曲線を考慮した相乗効果の評価方法を紹介する。前者に従えば相乗効果ありとされる場合でも後者に従えば期待された結果と評価されることがあり、今回の複合結果は概ねこれに当てはまるといえる。しかし期待値以上の結果になった複合群もあり、そのような真の相乗効果が現れたのは肝発癌性は弱いが主要な代謝酵素を誘導する物質が組み合わせられていたためと推察された。

S-5

腸管発癌における化学物質の修飾作用

○田中卓二、森 秀樹（岐阜大・医・第一病理）

癌は多段階のプロセスを経て発生する。その各段階で数多くの内的・外的因子が関与し発癌が促進的ないし抑制的に修飾されることが知られ、これら発癌修飾因子の関与は極めて多彩である。また、動物実験モデルを用いた化学物質による発癌修飾作用の研究は古くから行われている。ヒト癌の発生には食事要因が極めて重要であることから、我々の教室では癌の化学予防を目指し、特に天然性化学物質による諸臓器の発癌抑制の実験的研究を行っているが、ここでは腸管発癌における発癌修飾、特に発癌抑制の現象についてその実験的データを紹介する。

動物は雄性F344ラット（一部はハムスター）を使用し、腸管発癌物質としてはazoxymethane、methylazoxymethanol acetateないし1,2-dimethylhydrazineを用いた。天然性化合物のうちフェノール化合物（chlorogenic acid、protocatechuic acid）、フラボノイド（hesperidin、diosmin）、カロテノイド（astaxanthin、canthaxanthin）、含硫化合物（S-methylmethanethiosulfonate）、生薬成分（flavoglucin、shikonin、gingerol、costunolide、1'-acetoxychavicol acetate）、微量元素（ $Mg(OH)_2$ ）を被験物質とした。これらの物質は短期実験（5週）でイニシエーション相に、長期実験（約36週）でイニシエーション相ないしプロモーション相に混餌投与し、それぞれ大腸の異型腺窩巢（aberrant crypt foci）ないし大腸腫瘍の発生に対する影響を病理組織学的に検討した。同時に大腸粘膜における細胞増殖に及ぼす影響もBrdU標識率、AgNORs数、ODC活性、polyamine量（組織ないし血中）を指標として検討した。その結果、これらの物質にはいずれも大腸の異型腺窩巢ないし腫瘍の発生を抑制する作用が認められ、同時に大腸粘膜の発癌剤投与による細胞増殖誘発を抑制した。また、被験物質単独投与では各臓器に明らかな毒性所見は認められなかった。したがって、これら物質の大腸発癌抑制作用には細胞増殖の制御が関与している可能性が示唆された。

W-1-1

Cyclophosphamide 投与によるラット精巣毒性

○樋口敏浩¹、中岡政直¹、川村聡¹、奥野泰由¹、松尾昌季¹、安原加壽雄²、
高橋道人²（¹住友化学工業(株)・生科研、²国立衛生試験所・病理部）

【緒言】Cyclophosphamide(CP)は、精祖細胞の分裂を抑制することで精巣毒性を誘発するが、ライディッヒ細胞およびセルトリ細胞には障害を及ぼさないため、その障害像は単純な形態学的観察で把握するのは困難であることが多い。今回我々はCPによるラットの精巣毒性を精子形成サイクルを考慮して定量的に評価し、加えて、休薬後の形態変化についても解析を試みたので、その結果を報告する。

【方法】Crj:CD(SD)雄ラット(9週齢)にCPの5, 10, 20および40mg/kgを2週間経口投与し、無処置雌と交配させた後、屠殺、剖検して、精巣および精巣上体を重量測定後にブアン液にて固定、常法に従ってパラフィン包埋し、HEおよびPAS-H染色を行い、光学顕微鏡下で観察した。また、休薬後の障害像を解析するためにCPの40mg/kgを1週間経口投与し、投与期間終了直後ならびに3週間および8週間の休薬後にそれぞれ屠殺、剖検して精巣および精巣上体の重量測定後に片側を精子数の計測に供し、もう一方の精巣をブアン液にて固定、同様に組織標本を作製して観察した。精巣組織の定量的評価としては精子形成サイクルのステージ鑑別に基づき、II~III、V、VIIおよびXIIの4ステージについて、ほぼ輪切りの精細管内の精細胞数およびセルトリ細胞数を計測、各精細管ともセルトリ細胞あたりの精細胞数として平均値を算定した。

【結果】2週間投与では、精巣組織については形態的に顕著な異常は認められなかったが、定量的評価の結果、精祖細胞およびプレレプトテン期精母細胞の減少が20mg/kg群より認められた。40mg/kgの1週間投与後では同様に精祖細胞の減少がみられるに過ぎなかったが、休薬3週間で、精細管の萎縮等の顕著な障害像が散見され、精母細胞の減少が認められた。休薬8週間では精巣上体精子数が減少するものの精巣の障害像に回復傾向が認められた。

【結論】CP投与によるラットの精巣毒性は精巣組織の定量的評価により明確に捉えることができた。また、その障害像は休薬後に顕著になるが、かなりの時間を要するもののCPによる精祖細胞の障害には回復性があるものと考えられた。

W-1-2

医薬品により誘発された特殊な精巣病変

○茶谷 文雄、大島 洋次郎 (武田薬品・薬安研)

● ICH関連の雄性生殖能に関する共同研究でみられたCompound T投与によるラット精巣病変 (J Am Coll Toxicol 14: 266, 1995 及びJ Toxicol Sci 20: 229, 1995)を紹介する。向知能薬のCompound Tの50 mg/kg/日を11週齢の雄Jcl:Wistarラットに4週間経口投与すると、数個の円形精子細胞が本来の精上皮の位置から精細管の腔側に移動して存在する状態 (剝離)が精巣の病理組織学的検査で認められた。この変化はStage I~Vにみられ、精巣上体の管腔内にも精上皮由来と考えられる剝離細胞がみられた。前立腺重量の軽度低下もみられたが、精子の数や運動性に異常はなかった。9週間投与では生殖能力の低下がみられ、13週間投与では精母・精子細胞の変性が認められた。血漿テストステロン濃度の軽度低下があることから、精上皮の変化はそれに起因した変化と推測するが詳細は不明である。以上より、9週間以上の投与でみられる精巣の組織学的変化は4週間投与後でも捉えうることが示された。

● hCG (human chorionic gonadotropin)をFischer344ラットに皮下投与すると精巣尾部に限局した壊死が生じる。その変化のラット系統差、用量相関、週齢差、病理組織学的な経時変化並びに壊死に至る機序について紹介する。F344/JclラットではhCGの200 IU/kg以上で精巣壊死がみられたが、Wistarラットでは2000 IU/kgでも壊死はなく、両系統間には投与量換算で100倍の感受性の差があった。SDラットは両系統の中間の感受性であった。F344ラットの11週齢以上の時のhCG 2000 IU/kg投与では比較的広範囲(重度)の壊死がみられたが、5及び8週齢時投与では壊死はなく、性成熟以後の感受性の発現が示された。hCG投与1~2日後には精巣尾部の精上皮は壊死に陥り、間質にも壊死細胞とともに炎症性細胞浸潤がみられ、壊死巣周囲の精上皮には多数の多核巨細胞が認められた。1~4週間後には凝固壊死部は石灰化し、多核巨細胞は減少した。精巣の頭部や体部などには異常はなく、正常部と壊死部との境界は比較的明瞭であった。壊死はプロスタグランジン (PG)の精巣内投与でも生じ、また、PG合成酵素阻害剤のインドメタシンやPGレセプター拮抗薬の単回経口投与または精巣ライディット細胞破壊剤のethane dimethane sulfonateの腹腔内投与によってhCGによる壊死が抑制されたことから、PG及びライディット細胞の精巣壊死への関与が示された。また、hCG投与後には精巣動脈内に投与した色素が精巣下極に到達しないことから、同部位の血管の収縮が考えられた。以上の結果から、hCGによるラット精巣の限局性壊死の発生機序は「hCG投与→ライディット細胞によるPG分泌→血管攣縮→限局性虚血→壊死」と結論する。

W-1-3

Ethinylestradiol (EE) の4週間反復投与による ラット精巣、精巣上体病変の形成および回復性について

○土屋 毅幸, 佐野 文子, 及川 直矢, 後藤 和広, 神原 由季,
杉本 次郎, 務台 衛 (三菱化学横浜総研・安全性研)

【緒言】EEは視床下部-下垂体-性腺系ホルモンの不均衡を介し、ラットの精巣に病変を生じさせる。今回、EEを4週間反復投与し、精巣および精巣上体病変の形成過程および回復性に関して病理組織学的に検討したので報告する。

【材料および方法】10週齢の雄Crj:CDラット24匹に、EE (0, 3mg/kg) を4週間反復経口投与した。2あるいは4週間投薬後および5週間休薬後にそれぞれ剖検し、精巣、精巣上体の病理組織検査を実施した。精巣はブアン、精巣上体は10%中性緩衝ホルミンで固定し、H.E.染色およびPAS染色を施した。また、アポトーシス鑑別のためパラフィン切片を用いTUNEL解析を実施した。

【結果および考察】精巣においては、2週間投薬後にライディック細胞の中等度の萎縮、軽度の精母細胞・円形精子細胞の変性・細胞死/剥離、精細管内の精子遊離障害が認められた。精子遊離障害は、ステージIXの精細管内腔側およびステージVIII~XIVの精細管深部での精子遺残として認められ、EEによる病変の初期変化と考えられた。4週間投薬後のこれらの病変は重篤度を増し、精細管内においては重度の精母細胞・精子細胞の変性・細胞死/剥離、巨細胞形成、セルリ細胞の空胞化、および間質の水腫が観察された。しかし、精祖細胞に変化は観察されなかった。精巣上体では、2週間投薬後に精巣上体管萎縮、上皮細胞の細胞死、管腔内精子数の減少・精上皮剥離細胞の出現、間質の増生がいずれも軽度に観察された。4週間投薬後では同様の萎縮性病変が重度となっていたが、上皮細胞の細胞死は減少していた。精母細胞・円形精子細胞および精巣上体管上皮の細胞死はTUNEL解析でいずれも陽性を示したことから、EEによる精細管萎縮、精巣上体管萎縮にアポトーシスが関与する可能性が示唆された。

5週間休薬後では精巣の変化は回復していた。しかし精巣上体では萎縮性病変が軽度に観察され、精巣より回復が遅れる傾向がみられた。

【結論】以上のことから、EEの精巣病変は精母・精子細胞への障害および精子遊離障害を主徴とした初期変化の後、重度の萎縮性病変となるが5週間の休薬でほぼ回復することが明らかとなった。なお、精巣の電顕観察、休薬後の初期および5週以降の回復過程の詳細についても検討中である。

W-1-4

Di-(2-ethylhexyl) phthalate および 2,5-Hexanedione 投与によるラットの精巣障害、特に初期病変について

○今井 清¹⁾, 斉藤義明¹⁾, 白見憲司¹⁾, 永田伴子¹⁾, 丸茂秀樹¹⁾,
加藤正信²⁾, 高橋道人³⁾
(1:食薬セキア・秦野研 2:三菱化学安科研 3:国立衛試・病理部)

プラスチック製品の可塑剤である Di-(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP)と、n-ヘキサンの代謝産物で塗料等の原料として使用されている 2,5-Hexanedione(HD)はいずれも精巣に障害を起し、標的細胞は主として Sertoli細胞であると考えられている。今回、これらの物質をラットに経口投与し、精細管の初期病変を光顕および電顕的に観察し、比較検討した。

【材料と方法】10週齢の Sprague-Dawley 系ラットに、DEHP は 2800 mg/kg を単回投与後経時的に剖検し、また、HD は 500 mg/kgを7日および14日間強制経口投与したのち翌日に剖検した。各動物は 0.1Mカコジル酸緩衝1%パラホルム-3%グルタルアルデヒド固定液で全身灌流固定を行い樹脂包埋後、厚切り切片トルイジンブルー染色標本を作製して光顕で観察し、さらに超薄切片を作製して型の如く電顕で観察した。

【結果および考察】DEHP投与では、投与3時間後から精子形成サイクルのステージIX-Iにおいて、Sertoli細胞間のtight junctionに近接して存在する粗面小胞体の拡張および接合装置の軽度な破壊、Sertoli細胞膜の断裂を伴う解離が認められ、また精母細胞の変性、壊死も観察されたが、対照群と比較して軽度であった。一方、HD7日間投与の Sertoli細胞間には軽度な解離がみられるのみで、tight junctionに変化はなく、ステージIXでは著しく腫大した減数分裂精母細胞および変性した精母細胞が観察された。14日間投与では、ステージIX-Iの精細管の一部のSertoli細胞間に解離がみられるのみで、Sertoli細胞にはほとんど影響は認められなかったが、ステージVII-VIIIの精細管では多核巨細胞がみられ、これらの核周囲にはアクロソームを有していることから円形精子細胞由来であると考えられた。

以上の結果から、DEHPは Sertoli細胞間の接合装置に障害を与え、二次的な変化として精母細胞の変性・壊死を引き起こすことが考えられた。一方、HDは Sertoli細胞に対する変化よりもむしろ精上皮細胞、特に細胞分裂に起因したと考えられる巨細胞形成が特徴的であった。なお、現在両化学物質による血液精巣関門に対する影響をラントレーズ法を用いて検討中であるので併せて報告したい。

W-1-5

げっ歯類における精巣のジニトロベンゼン誘発性アポトーシスとアポトーシス関連タンパクの発現について

○守田禎一，吉田一晴，河村泰仁，児玉卓也
(富山化学工業(株)安全性研究所)

【目的】我々はこれまでに 1,3-dinitrobenzene (DNB) の単回投与によりラット精巣にアポトーシスが誘発されることを病理組織学的検査，TUNEL 解析及びアガロース・ゲル電気泳動法により示してきた(第22回毒科学会総会，1995)。本研究では、マウスにおいても DNB によりアポトーシスが誘発されるか否かを検討した。また、ラットを用いてアポトーシス発症の機序を解明する一端として、アポトーシス関連タンパクの発現について検討を行った。

【方法】1. マウスでの検討；6~8週齢の ICR 系雄性マウスに DNB 50mg/kg 及び 100mg/kg を単回経口投与し、24時間後に精巣を採取した。精巣をブアン固定後にパラフィン包埋切片を作製し、病理組織学的検査及び *in situ* nick end labeling 解析 (TUNEL 解析) を実施した。2. ラットでの検討；6~8週齢の Crj:CD (SD) 系雄性ラットに DNB 30mg/kg 及び 60mg/kg を単回経口投与し、投与24時間後に精巣を採取した。左側精巣をブアン固定後にパラフィン包埋切片を作製し、抗 p53 抗体あるいは抗 myc 抗体を用いての免疫組織化学染色を実施した。右側精巣からは総タンパクを抽出し、上記の抗 p53 抗体を用いての western blot 解析を実施した(現在継続中)。

【結果】1. マウスでの検討；病理組織学的検査では、精細管上皮(精母細胞)に acidophilic body 様の死細胞の出現が観察され、その出現数は DNB 投与量に依存して増加した。TUNEL 解析では、これらの acidophilic body に一致すると思われる細胞核に DNA 断片化を示す TUNEL 陽性所見が観察された。2. ラットでの検討；免疫組織化学染色の結果、DNB 30mg/kg 群では多数の精祖細胞や精母細胞の細胞核に一致して p53 protein の局在が認められた。60mg/kg 群では、さらに一部の精子細胞の細胞核にも p53 protein の局在を認めた。溶媒陰性対照群では p53 は陰性であった。myc protein に関しては、全群で陰性であった。

【考察】マウス精巣においてラットと同様に DNB 投与によりアポトーシスが誘発された。一方、p53 や c-myc 等の細胞増殖関連タンパク遺伝子(いわゆるアポトーシス関連タンパク遺伝子)の発現がアポトーシスの発症に関与することが報告されている。今回、DNB 投与ラット精巣に p53 protein の局在が見られたことより、精巣における DNB 誘発性アポトーシスには p53 遺伝子の発現が関与することが示唆された。

W-1-6

細胞増殖能およびアポトーシスを指標とした精巣毒性の形態学的解析

○安原加壽雄，三森国敏，畝山智香子，小野寺博志，竹川 潔，川島邦夫[＊]，高橋道人（国立衛試・病理，[＊]毒性）

【はじめに】精巣毒性の形態学的解析においては，従来の光顕観察に加え，精子形成サイクルを考慮にいれた形態計測を加味して評価することが重要である。しかし，通常のHE染色標本のみでは，化学物質がどの細胞に作用し，また，誘発された病変が可逆的か否かを予測することは困難である。今回，我々は，アドリマイシン(ADM)，ニトロベンゼン(NB)およびエタンジメタンスルホネート(EDS)を用い，その病理発生および病変の可逆性について細胞増殖能およびアポトーシスを指標として以下の検討を行った。

【実験方法】9～12週齢のSD系雄ラットを用い，ADMは0.25～1 mg/kgを，NBは60 mg/kgを10週間反復投与し，ADMは2週目から，NBは1週目から以後，10週まで経時的に剖検した。また，NBを単回投与後8時間から6週まで，EDSは単回投与後1日から3週まで経時的に剖検した。精巣はブアン液で固定しHE染色を施した。さらに，増殖細胞核抗原(PCNA:DAKO)の免疫染色あるいはTUNEL法による酵素組織化学やDNA fragmentation assayも行った。

【結果および考察】ADM反復投与動物の精巣では，PCNA陽性の精祖細胞は0.5および1 mg/kg群では2週目で，0.25 mg/kg群では3週目で殆ど消失した。NB反復投与動物では1週でパキテン期精母細胞の変性がステージ VIII～XIII期の精細管に散発的に認められるのみであった。2週では精子細胞の変性および多核巨細胞が出現し，4週以降はセルトリ細胞のみからなる精細管が認められたが，PCNA陽性の精祖細胞を有する精細管も認められた。NB 単回投与動物では，1日目にパキテン期精母細胞の変性，2日目には精子細胞の変性が認められ，3日目では多核巨細胞が散発的に認められた。EDS投与動物では1日目にライディッヒ細胞の変性が認められた後，3～5日目よりステージ VII～VIII期のパキテン期精母細胞の変性が認められた。NBおよびEDS で認められた初期病変におけるライディッヒ細胞および精母細胞の多くはTUNEL 陽性を示した。また，NB投与後1日のDNA fragmentation assayでは典型的なラダーフォーメーションが観察された。

以上の成績より，① PCNA免疫染色の結果より，ADMの反復投与条件下では細胞増殖能を有する精祖細胞が消失し，障害された精細管に再生能はないものと考えられた。一方NBでは，障害の程度により異なるがPCNA陽性精祖細胞が認められ，休薬することにより再生する可能性が推察された。② TUNEL法 およびDNA fragmentation assay から，NBおよびEDS 投与により初期に発現するライディッヒ細胞および精母細胞の変性はアポトーシスであることが確認された。

W-2-1

マウス肝腫瘍組織分類基準の国際的動向

原田孝則（残農研・毒性）

マウスはラットとともに代表的な実験動物種として化学物質の毒性あるいは癌原性を検索するための安全性試験に広く使用されているが、医薬品等の国際化が進むにつれ各国で実施された毒性試験データを関係諸国で共同利用する機会が増大している。このため毒性病理学分野においても実験動物に観察される組織学的病変の種類、命名法および診断基準の国際的標準化の必要性が指摘され、現在米国毒性病理学会（STP）および国際生命科学研究所（ILSI）が主体となってその統一化が進められている。特にマウスの肝臓は種々の化学発癌物質に対する感受性が高いことから、胆嚢を含む肝組織に発生する腫瘍性病変の種類、用語、診断基準等を国際的に統一する意義は大きい。この統一化を図るためにSTPとILSIは1993年以降に共同委員会（Joint STPs/ILSI Committee on International Standardization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Toxicologic Pathology）を設立し、同委員会が組織した構成メンバーにより、現在各臓器ごとにその作業が進められている。マウスの肝臓・胆嚢の腫瘍性病変の分類および診断基準に関しては1995年6月に米国 San Diego で開催された第14回STP学会で構成メンバーのChairであるDr. Cattley (CIIT)によりそのDraft outline が提示された。この内容についてはマウスの系統差も考慮し、現在各国の専門家の意見を求め詳細に検討されているが、一応全内容を網羅したDraft manuscriptの作成を1996年の4月までに完了するように作業が進められている。そのDraft は各国の毒性病理学会に提出され、Consensus が得られた後にWHOのInternational Agency for Research on Cancer (IARC)の協力のもとに出版物として正式に発刊される予定である。

W-2-2

自然発生肝腫瘍の問題点：BDF₁マウス

○ 片桐 卓（日本バイオアッセイ研究センター）

当センターでは、マウスのがん原性試験にC57BL(♀)とDBA(♂)の近交系間交配マウスであるBDF₁マウスを使用している。この近交系間交配マウスを選択した理由は、B₆C₃F₁(C57BL(♀)×C3H(♂))に肝腫瘍が多くみられるのは父親(C3H)が肝腫瘍好発系であるためと考え、DBAを父親にもつBDF₁は肝腫瘍の自然発生が少ないと期待したからである。今回の報告では、当センターで実施してきたCrj:BDF₁を用いた10種類のがん原性試験(混水試験:3, 混餌試験:2, 吸入試験:5)の対照群のマウス(雌雄各50匹/試験, 雌雄各499匹)に観察された肝臓の自然発生腫瘍性病変ならびに肝細胞の小増殖巣のデータを集計し検討した。

【材料と方法】各試験とも4週齢のCrj:BDF₁(C57BL/6NCrj(♀)×DBA/2NCrj(♂))を日本チャールス・リバーより導入し、2週間の検疫・馴化の後、試験に供した。動物は当センターのバリアシステム環境下において金網ケージで個別飼育し、飼料(オリエンタル酵母(株)CRF-1)及び水道水を自由摂取させた。試験開始後104週(110週齢)で計画屠殺または途中死亡・切迫屠殺した動物を剖検し、肝臓をはじめ諸臓器を10%中性緩衝ホルマリン固定、常法に従って組織標本を作製し、光顕観察を行った。

【結果】がん原性試験(104週間)終了時の生存率は、雄で72.4%(62.0%~94.0%)、雌で60.0%(44.0%~68.0%)であった。肝臓の腫瘍性病変ならびに肝細胞の小増殖巣の発生を下表に示した。

Crj:BDF₁マウス肝臓の自然発生腫瘍性病変ならびに小増殖巣

病理所見	雄(499例)		雌(499例)	
	発生例数(発生率)	試験別の発生率	発生例数(発生率)	試験別の発生率
好塩基性小増殖巣	20 (4.0%)	0-10%	6 (1.2%)	0-6 %
好酸性小増殖巣	6 (1.2%)	0-4 %	0	
明細胞性小増殖巣	23 (4.6%)	0-12%	4 (0.8%)	0-4 %
空胞性小増殖巣	1 (0.2%)	0-2 %	2 (0.4%)	0-2 %
混合性小増殖巣	8 (1.6%)	0-6 %	2 (0.4%)	0-4 %
肝細胞腺腫	75(15.0%)	4-30%	22 (4.4%)	2-8 %
肝細胞癌	114(22.8%)	2-36%	10 (2.0%)	0-4 %
血管腫	1 (0.2%)	0-2 %	1 (0.2%)	0-2 %
血管肉腫	32 (6.4%)	0-12%	13 (2.6%)	0-8 %
組織球性肉腫	16 (3.2%)	0-6 %	75(15.0%)	6-20%

【考察及び問題点】1)肝細胞腺腫の発生率は雄で4-30%(平均15.0%)、雌で2-8%(平均4.4%)また肝細胞癌は雄で2-36%(平均22.8%)、雌0-4%(平均2.0%)であり、試験間の差が大きく、雌に比べて雄に高率であり、またB₆C₃F₁と比較して顕著な発生抑制はみられない。2)小増殖巣の発生は雌雄とも、肝細胞腺腫や肝細胞癌に比較して少ない。3)組織球性肉腫が雌に高率に発生する。

W-2-3

自然発生肝腫瘍の問題点：B6C3F₁マウス

玉野 静光（大雄会医科学研究所）

B6C3F₁マウスを用いた発癌性試験において、最も発生頻度の高い腫瘍の一つとして肝細胞癌があり、病理組織学的診断のみならず、その評価をめぐって議論のあるところである。雄に多く発生し、加齢と共に増加する。その組織発生として、変異細胞巢、腺腫、腺腫内癌を経て肝細胞癌へと進展すると考えられ、腺腫では、高分化腫瘍細胞が周囲の正常肝細胞を圧排して増殖し、正常な小葉構造は失われている。このような腺腫内に、悪性化へと進展する可能性を持つ異形成を伴った細胞巢が出現する。

肝細胞癌は、大きくtrabecular, adenoid およびsolid の3つのタイプに分けることができる。さらに分化度によってwell, moderately, poorlyに分類される。分裂像がしばしば観察され、局所的な浸潤像に加えて、稀に遠隔転移を見る。

日頃、我々は変異細胞巢と腺腫、腺腫と肝細胞癌との境界病変に遭遇し、しばしば診断に苦慮する。これら前腫瘍性病変あるいは腫瘍性病変の特徴として、組織化学的に鉄吸収能の欠損、glucose-6-phosphatase 活性の低下、ATPase活性の上昇あるいは低下、PAS 反応陽性、免疫組織化学的にAFP 陽性、さらに、最近では癌遺伝子c-jun 産物の増加などの報告があるが、必ずしも明確ではないし、自然発生腫瘍の場合と化学発癌物質により誘導された場合とでそれらの活性に変動が見られる。また、肝細胞癌における悪性度を判定する指標として異型度や分化度などを考慮するが、細胞増殖活性などを指標としたより客観的な診断方法を取り入れていく必要がある。

この他の腫瘍として、hemangioma, hemangiosarcomaが低頻度に観察されるが、hepatoblastoma, cholangioma, cholangiocarcinoma, cholangiohepatocellular carcinoma, histiocytic sarcomaなどは稀である。

W-2-4

長期毒性試験におけるマウスの肝結節性病変の意義

○廣内 康彦, 岩田 聖, 榎本 眞 (安評センター)

マウスに観察される肝の結節性病変は肝細胞の増殖性あるいは腫瘍性組織像としてとらえられるものである。マウスの長期反復性投与試験で慣用される B6C3F₁, BDF₁の両系では自然発生性のこれら病変が多発し, また化学物質の腫瘍発生能に対する感受性も高いことから注目される反面, 個々の病変の分類法や成績の評価などでは問題点も多い。特に自然発生性と誘発性の肝結節性病変の差異が単に発生率, 発生時期による推察にとどまり, 2段階発癌試験法の開発など, 物質によるイニシエーション, プロモーション効果などの知見をふまえた把握にほど遠い現状である。

一方, マウスの肝腫瘍性病変については遺伝子解析も進み, 特に Ha-ras 遺伝子の点突然変異による活性化が高率にみられることが知られている。われわれも日常的に検出可能な Non-RI PCR-SSCP法を用いて各結節性病変の週齢による変異率の検索をおこなってきた。またラットに比べ知見の乏しい生物学的マーカーによるマウス肝結節性病変の反応性についても, 薬物代謝酵素誘導能(特に活性化)と肝細胞の増殖動態の関連などについて解析を試みてきた。今回は, 長期試験で B6C3F₁マウスに肝発癌性の証明されている遺伝子障害性および非遺伝子障害性物質の両者を用い, 単回投与, 短期反復投与試験, 2段階発癌試験で観察された増殖性病変を比較検討した成績から, 以下に列記した幾つかの項目にスポットをあてて本問題の解明に取り組みたい。なお, プロモーション効果についてはフェノバルビタール, エストロジェン(雌), テストステロン(雄)を用いた。生物学的マーカーは PCNA, チトクローム P-450 (抗ラット CYP3A2, 1A1, 2E1, 2B1抗体) の他, π -GST, P. A. S. なども使用した。

1. 肝細胞核の PCNA 陽性率の増加と時間的な推移。
2. チトクローム P-450 アイソザイムによる肝小葉内分布と陽性反応の増強。代謝活性化や肝細胞増殖動態(PCNA, BrdU)との関連。各結節性病変における特徴。
3. 特に高用量群や短期試験で観察される肝細胞腫脹や細胞障害像, 分裂増加, アポトーシス, 多核細胞の出現と増殖性病変の関連。
4. 各結節性病変像の発生時期と P. A. S., π -GST 染色性の特徴。プロモーター作用の関連。
5. 増殖性および腫瘍性病変の性差の知見。
6. Oval Cellの出現。Hepatoblastomaの発生。

以上について, 電子顕微鏡観察所見も加えた見解と未解決点について述べる。

W-2-5

マウス肝腫瘍の遺伝子変異と組織像 B6C3F1マウスにおけるc-H-ras遺伝子変異について

○ 森 郁生¹、林 新茂¹、J.M.Ward²、野々山孝¹
(¹武田薬品・葉安研、²NCI, USA)

【はじめに】 B6C3F1マウスの肝細胞腫瘍発生には、複数の遺伝子変異の関与が示唆されているが、とりわけras遺伝子群の解析が自然発生と発癌物質による腫瘍の鑑別に役立つものと期待されている。我々は第10回本学会において形態学的に差異のないB6C3F1マウスの自然発生肝細胞腫瘍においてc-H-ras codon61の変異パターンに3型の違いがあることを報告した。今回、非変異原性のperoxisome proliferatorであるdi-2-ethylhexylphthalate (DEHP)により誘発した肝細胞腫瘍のc-H-ras遺伝子の変異を解析し、組織像との関連性ならびに自然発生肝細胞腫瘍のそれと比較検討した。

【材料と方法】 2年間SPF環境下で無処置飼育した雄46例および雌35例、およびDEHPを1~1.5年間経口投与して誘発した雄23例の肝細胞増殖性病変（肝細胞小増殖巣、腺腫および癌）について、パラフィン包埋切片からDNAを抽出し、PCR法でc-H-ras exon2を増幅後、dot blot hybridization法によりcodon61の変異について検討した。病理組織診断は米国National Toxicologic Program(NTP)の分類に従った。また、連続切片の免疫組織染色により増殖細胞核抗原(PCNA)の陽性率を各病変ごとに算出した。

【結 果】 組織学的に自然発生およびDEHP誘発腫瘍には組織型に差はみられずいずれも主として好塩基性細胞から構成されていた。遺伝子解析の結果、DEHPで誘発した肝細胞腺腫および癌における遺伝子変異には自然発生腫瘍との間に差はみられず、codon61にCAA→CGAの変異が多く認められた。肝細胞小増殖巣、腺腫および癌の免疫組織染色によるPCNAの陽性率はいずれの場合も小増殖巣と腺腫に差はみられなかったが、癌でより高率であった。

【ま と め】 非変異原性のDEHPにより誘発した肝細胞腫瘍の遺伝子解析においては自然発生のもと同様にcodon61にCAA→CGAの変異を主とする変異パターンが認められた。このことは、DEHPにより誘導した肝細胞腫瘍は自然発生のそれと同様に何らかの原因で、あるいは遺伝的素因としてイニシエートされた肝細胞が腫瘍化したものと考えられる。B6C3F1マウスに誘発した肝細胞腫瘍の遺伝子変異パターンには、DEHPと同様に自然発生腫瘍のパターンをプロモートする場合、ある種の化合物のように遺伝子変異パターンの頻度に変化がみられる場合、自然発生例ではみられない領域に変異が検出される場合、ras以外の遺伝子に変異がみられる場合などがあり、化合物の投与回数や飼育期間の違いにより遺伝子変異の頻度が減少する場合も報告されている。肝細胞増殖性病変の進展と遺伝子変異の関与を更に明らかにすることにより化学物質の発癌性評価の精度が向上するものと考えられる。

口 演 要 旨

(1 ~ 42)

— MEMO —

1

イヌにおける β 刺激剤による心毒性に関する検討(Ⅰ)

○花井幸次、中川善裕、井上忠志、中野実、奥野泰由、松尾昌季
(住友化学工業株式会社)

【緒言】アドレナリン β 刺激作用を有する化合物や血管拡張薬により、イヌをはじめとする種々の動物で左心室乳頭筋を中心とした心筋変性が発現することが知られている。その原因として、冠状動脈の血圧低下、心臓の運動亢進による心筋の酸素需要の増加に加え、心拍数増加や収縮力の増大によって左心室の内膜側、特に乳頭筋への血液循環不足が考えられている。しかし、心筋変性発現に関わる血圧低下あるいは心臓の運動亢進の程度や持続時間の影響については詳細な検討はなされていない。今回我々は、イヌを用いてisoproterenol(以下isop.)を持続的に静脈内投与し、血圧および心拍数をモニタして、これらの変化の強さや持続時間が心筋変性の発現にどのように関連しているのか検討したので報告する。

【方法】1群3頭のペントバルビタールで麻酔したビーグル犬(5群)に、isop.の5 μ g/ml/分を5、15あるいは30分間、および1.25 μ g/ml/分を15あるいは60分間、インフュージョンポンプにより静脈内に持続注入した。各動物について、大腿動脈より大動脈中位までカテーテルを挿入して、観血的に血圧を、投与開始後2時間まで1~5分間隔で測定した。また同時に、心電図(Ⅱ誘導)を記録し、心拍数を算出した。実験の翌日以降に動物を屠殺して心臓を摘出し、10%中性緩衝ホルマリンで固定後、定法に従ってパラフィン包埋薄切標本(厚さ5 μ m)を作製し、H&E染色後に光学顕微鏡により病理組織学的検査を実施した。

【結果】5 μ g/ml/分では、投与直後から投与終了まで血圧の低下および心拍数の増加が強く認められ、5分間投与では1/3例で、15分以上では全例で左心室の乳頭筋に心筋変性が認められた。1.25 μ g/ml/分では、投与中に心拍数は増加したが、血圧の低下は軽度であった。病理組織学的には60分の持続投与でも心筋に変性は認められなかった。

【結論】 β 刺激薬によるイヌの心筋変性の発現には、血圧低下および心拍数増加の強度および持続時間が重要な要因であると考えられた。

以上

2

ビーグル犬の三尖弁に認められた valvular telangiectasis の立体構築像 (第1報)

○武田利明, 小西英里, 浅野哲, 山中義弘, 金子英志, 秦純子, 宇野洋, 伊澤義弘 (帝人・医薬開発研究所)

【はじめに】

イヌやウシ等の房室弁に暗赤色の変化として認められる valvular telangiectasis (VT) は, 自然発生病変として知られている。我々は, すでにビーグル犬に認められた各種サイズの VT について病理組織学のおよび免疫組織化学的検索を行い, その形態学的特徴を明らかにした¹⁾。今回, 新たに三次元画像構築システムを用いて本病変の立体構築像について検索した。

【材料および方法】

ビーグル犬 (7~16カ月齢) に認められた6例の VT について検索した。三尖弁内に暗赤色の病変が認められた5例の心臓は, 10%中性緩衝ホルマリン液にて固定後, 病巣領域について200~250枚の連続切片を作製した。また, 肉眼的に異常が認められなかった47例の三尖弁について組織学的に検索した結果, 微細な VT 1例を認めたので本症例については50枚の連続切片を作製した。各組織切片は, HE染色あるいはvictoria-blue染色を施し組織学的検索を行った。三次元の立体構築像は, COSMOZONE 2SA (日本光学) を用いて作製した。

【結果】

組織学的検索において, VT と弁表面との交通は認められなかった。肉眼で三尖弁に異常が認められなかった微細な VT の立体構築像は, 単一血管の紡錘状拡張であった。肉眼で暗赤色の小円形として認められた VT では, 2本の血管が紡錘状に拡張し, 拡張血管の一部に癒合像が認められた。また, 紡錘状に拡張した血管の一部から血液が周囲を圧迫するように流出した症例も認められた。VT の周辺には炎症性変化等の病変は認められなかった。

【考察】

VT の初期発生過程には, 複数の血管が紡錘状に拡張しお互い癒合する場合, および拡張した血管の一部から血液が周囲に流出し微小血管瘤状の形態をとる場合の少なくとも2種のタイプがあると考えられた。このように VT が多様な発生過程をとるのは, 弁の激しい動きおよび弁特有の粗な組織に起因すると考えられた。

【文献】

1. T. Takeda, T. Makita, N. Nakamura, G. Kimizuka: Morphologic Aspects and Morphogenesis of Blood Cysts on Canine Cardiac Valves. *Vet Pathol* 28:16-21, 1991.

3

F344ラットのLarge Granular Lymphocyte Leukemia由来培養細胞株(MCL-SP)の樹立とその性状

○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）

老齢F344ラットにおけるlarge granular lymphocyte (LGL) leukemiaの発生率は10～35%と高率でこのラットの老齢時の主要な死因であるため、その病理組織学的特徴だけでなく、生物学的性状を十分に理解しておく必要がある。腫瘍の生物学的性状あるいはその宿主に及ぼす影響の検索には、恒常的に新鮮材料が得られることから、起源腫瘍の特徴をもつ培養細胞株あるいは可移植性腫瘍を樹立することが有効な手段のひとつである。F344ラットのLGL leukemiaはこれまで皮下、腹腔内及び静脈内接種によって継代が可能な可移植性腫瘍株が樹立されてきたが、in vitroで恒常的に増殖する培養細胞株の報告はない。今回演者らは、先に山手ら(1991)が樹立したF344ラットのLGL leukemiaの可移植性株(MCL-YSK)から培養細胞株(MCL-SP)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。

【細胞株の樹立】起源腫瘍にはMCL-YSKの20代目の腫瘍塊を用いた。皮下で増殖した腫瘍を無菌的に摘出し、細切、メッシュ濾過して細胞浮遊液を得た。細胞浮遊液を遠心し、ペレットを洗浄した後、培養液(RPMI1640, 15% FBS, 100 U/mlペニシリン, 100 µg/ml ストレプトマイシン)に浮遊し、5%CO₂環境下で培養した。培養後、良好に増殖し継代できた細胞をMCL-SPと命名し、実験に用いた。MCL-SPは継代5代目からFBSの添加量を10%とし、以降1週間間隔で継代した。これまでの継代数は60代を越え、約2年間の継代が可能となっている。

【MCL-SPの性状】MCL-SPは培養ディッシュ内で浮遊しながら増殖した。塗抹標本の細胞の直径は15～25 µmで、1～数個の核小体をいれる円形から卵円形ときに腎形の核と中等量の細胞質を持っていた。細胞質内にはしばしばアズール顆粒が観察された。核分裂像は頻繁に観察され、細胞の倍加時間は22.7時間であった。染色体数は41～46の範囲にあり、モードは42であった。MCL-SPは酵素組織化学的検索で、酸性ホスファターゼ(+)、β-グルクロニダーゼ(+)、非特異的エステラーゼ(+)、アルカリホスファターゼ(-)、ペルオキシダーゼ(-)を示した。現在MCL-SPの表面抗原の性状を検索中である。

【MCL-SP接種実験】1～2.5×10⁶個のMCL-SPをF344ラットの静脈内、皮下及び腹腔内に接種したところ、全ての接種経路において腫瘍発生がみられ、その発生率はそれぞれ87.5、100及び100%、21週間の観察期間内での致死率はそれぞれ85.7、25及び100%、平均生存期間はそれぞれ10.8、8及び8週間であった。MCL-SPの静脈内接種ラット12匹及びPBS投与対照ラット6匹から3週間間隔で頸静脈から採血し白血球数を測定したところ、4匹の接種ラットにおいて死亡前の白血球数の著明な増加がみられ、血液塗抹標本においてLGL leukemiaに特徴的な腫瘍細胞が多数観察された。これらの接種ラットの皮下、腹腔内、肺あるいはリンパ節に形成された腫瘍は形態学的にMCL-YSKに類似したが、脾腫がみられたのは1匹のみであった。

【考察】MCL-SPは、F344ラットへの接種で宿主にLGL leukemiaを発症させることができ、この白血病の病態解明に有用な細胞株と考えられる。

4

T-2 toxin投与マウスにみられたリンパ系組織の アポトーシス病変

○篠塚淳子, W. Kiatipattanasakul, 上塚浩司, 中山裕之, 土井邦雄
(東大・農・獣医病理)

Fusarium 属の真菌により産生されるT-2 toxinはリンパ系組織や造血組織に強い細胞毒性を示し, リンパ形成や造血機能を抑制し, 致死的な白血球減少症を引き起こすことが知られている。今回は, T-2 Toxin投与後のリンパ系組織の変化を観察し, アポトーシスの出現の有無を形態的および生化学的に検索した。

(方法) 5週齢のICR, BALB/c, C57BLマウスを用いた。一晚絶食後, 20%アルコールで溶解したT-2 Toxinを(2.5, 5, 10mg/kg.BW)を経口投与した。対照群には20%アルコールのみを投与した。投与24時間後にエーテル麻酔下でと殺, 胸腺, 脾臓, 小腸を摘出し, 病理組織学および電顕的観察を行った。また, 断片化DNAの検出には *in situ* DNA end labeling (TUNEL法) およびアガロース電気泳動法によるDNAラダー検出を行った。

(結果) T-2 toxin投与群では対照群に比較して胸腺重量, 脾重量, 体重増加率の減少が認められた。光顕的には胸腺皮質の狭小化, 脾リンパ濾胞の萎縮が認められた。これらの変化は投与量に依存していた。胸腺皮質, 脾濾胞, パイエル板リンパ球, 小腸陰窩上皮細胞に核クロマチンの凝集, 核濃縮, 核崩壊などの変化が認められた。電顕ではクロマチンの核辺縁への凝集, 核の断片化および, いわゆるアポトーシス小体の形成が認められた。TUNEL法では上述した細胞の核および核崩壊物に一致して陽性反応が認められた。さらに, 胸腺および脾細胞のDNA電気泳動法によってラダーが検出された。上述したT-2 toxin投与に対する感受性には性差および系統差が認められ, ♀は♂より高感受性であり, また, C57/BL> BALB/C> ICRの順に感受性が高いことが示された。

(まとめ) T-2 toxin投与マウスにみられたリンパ系組織および小腸陰窩上皮細胞の変化はアポトーシスであることが確認された。現在, T-2 toxinによって誘導されるアポトーシスの発現様式をより詳細に検討するため, 経時的観察を行っている。

5

Aberrant crypt foci(ACF)の粘液性状に関する検討 -Crypt multiplicityとの関連について-

○内田和美、角 将一、尾上正治（ヤクルト本社中研）

【目的】 Aberrant crypt foci(ACF)は大腸癌の発現を修飾する種々な因子によってその発現数に影響がみられることから、大腸癌のintermediate biomarkerとして発癌抑制物質あるいは促進物質の検索に利用されている。また大腸癌やACFではSialomucin(SiM)の増加が知られている。今回我々はACFの粘液性状についてcrypt multiplicityとの関連を検討した。

【材料および方法】 6週齢の雄F344/Du Crjラットに1,2-dimethylhydrazine・2HClの20mg/kgを1週間間隔で2回腹腔内投与し、ACFを誘発した。DMH初回投与後4、8、12および35週目に各々5匹を屠殺し、遠位部結腸を10%緩衝ホルマリンで固定して0.2%メチレンブルーで染色した。実体顕微鏡を用いてACFをそれを構成するクリプト数ごとにカウントし、採材後クリプトが横断面に現れるようにパラフィン包埋した。ACFを構成するクリプト数別発現頻度は遠位部結腸に観察されたACFの総数に対する割合であらわした。粘液性状の評価はクリプト上部の杯細胞についてHigh iron diamine-Alcian blue pH2.5(HID-AB)染色を施し、Sulphomucin(SuM)とSiMの割合をスコア化しておこなった。

【結果】 ACFの発現総数は35週目で有意($p < 0.01$)に増加した。ACF当たりの平均クリプト数は12週目まで経時的に増加したが、12週目と35週目では有意な差はみられなかった。各クリプト数別の発現頻度は12週目と35週目で類似の傾向がみられた。ACFスコアでは8週目以降で、クリプト数3個以下のACFと4個以上のACFに有意($p < 0.01$)な差が認められた。1クリプトからなるACFでは8週目において、2および3クリプトからなるACFでは12週目においてSiM優位のクリプト数の割合が減少し、SuM優位のクリプト数の割合が増加した。4クリプト以上のACFでは経時変化はほとんどなく、SiM優位な傾向は残っていた。各クリプト数別のSuMとSiMの量的割合は12週目と35週目でほぼ同じパターンを示した。

【まとめ】 DMH初回投与後4週目のACFでは、粘液性状とcrypt multiplicityとの関連は少なく、どのACFにおいても同様な粘液性状を有していた。しかし3クリプト以下のACFではその後SuM優位のクリプト数の割合が増加し、回復傾向にあることが示唆された。これらのことから、大腸癌との関連において4個以上のクリプトからなるACFの存在が重要であると考えられた。また12週目以降のACFでは発現総数に差がみられるものの、その性状には差がない可能性が示唆された。

6 胃部X線照射SDラットに生じたランゲルハンス島の insulinoma

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

《目的》ラット胃部にX線を局所照射する事により腸上皮化生のみが生じる事を我々は報告してきた。今までの結果は照射後1年間の観察でそれ以降の変化については検討を行っていない。今回はX線照射を行い約22ヶ月間飼育したラットにinsulinomaが発生したのでその結果を報告する。《方法》動物は5週齢のCD:Jcr(SD)雄ラットを使用した。胃部に10 GyのX線を3日間隔で2回合計20Gyを照射した。2回照射後1%食塩添加餌(オリエンタル酵母、MF餌)並びに水道水で674日間飼育した。動物が瀕死の状態、死亡した場合若しくは22ヶ月の実験終了時に屠殺した。体重並びに主要臓器の重量を測定後10%中性ホルマリン液で固定した。胃は大弯側より開き、歯科用のパラフィンの上で広げピンで止め固定した。固定後胃は水洗後アルカリフォスファターゼ活性を調べた後、切り出しを行った。通常の薄切切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理学的検索を行った。ランゲルハンス島腫瘍はガストリン、ソマトスタチン、インスリン、グルカゴンの免疫染色を行った。《結果》最後の動物はX線照射後674日まで飼育した。399日以前に屠殺若しくは死亡した動物には腫瘍の発生は認められなかった。照射後400日目に屠殺した動物に照射部位に乳腺腫瘍が認められた。400日以降に剖検した有効動物76匹中45匹(59%)に腫瘍が発生した。一カ所に腫瘍を持つ動物は33匹(43%)、異なった部位の2カ所に腫瘍を持つ動物数は11匹(14%)、3カ所に出現した動物が1匹(1%)認められた。照射後411日より胃腫瘍が出現し、3例(4%)に認められたが、全て高分化腺癌で癌組織内並びに癌周囲には腸上皮化生は認められなかった。腎臓腫瘍は404日より出現し、ランゲルハンス島の腫瘍は455日から出現し、その発生率はそれぞれ15例(20%)であった。照射部の乳腺に腫瘍が9例(12%)に発生した。更に腹腔内に肉腫が9例(12%)に、照射部位の皮下に肉腫が3例(4%)、1例に扁平上皮癌が発生した。その他胆管腫瘍が2例、肝腫瘍1例、小腸腫瘍並びに肺腫瘍が各々1例ずつ発生した。ランゲルハンス島腫瘍は大部分の細胞はインスリン抗体に陽性で、一部の細胞ではソマトスタチン並びにグルカゴン陽性であり、ガストリン陰性であった。即ちX線で誘発された膵臓のランゲルハンス島腫瘍はインスリノーマであることが示された。《結論》分割照射の場合イニシエーションは行われているが放射線による癌化は長時間必要とするため400日以降に腫瘍が出現したと考えられる。X線胃部照射SD雄ラットは1年迄の飼育では腫瘍は生じないが照射後400日を過ぎるとランゲルハンス島(インスリノーマ)、腎臓、乳腺等に腫瘍が、又、腹腔内や皮膚に肉腫が発生する事が判明した。

7

急性肝障害モデルラットにおける肝特異性 MRI 造影剤の肝での造影効果および安全性について

○井原 真哉、佐藤 伸、辻本 太一、橋元 律子、
加藤 直樹、矢ヶ崎 修、山口 基徳、菅野 司¹
(日本シエーリング(株) 研究部、¹大阪府立大学 農学部)

【目的】超常磁性酸化鉄コロイド製剤マグネタイト(SH U 555A)および常磁性金属キレート剤 Gd-EOB-DTPA は、磁気共鳴画像(MRI)造影剤で、前者は肝細網内皮系に、後者は実質細胞に取り込まれることにより、腫瘍部とのコントラストをつけて肝腫瘍の検出に寄与すると考えられている。肝腫瘍は、発現時には肝炎を併発していることが知られているが、肝炎患者に対するこれら MRI 造影剤の影響はいまだ明らかではない。一方、前臨床試験では、常に健常動物を用いて安全性の検討が行われており、疾患動物における知見はほとんど得られていない。本研究では、急性肝障害モデルラットに対する両造影剤の肝での造影効果および安全性について検討した。

【方法】7-8 週齢の SD 系雌ラットに *Corynebacterium parvum* 加熱死菌を静注し、7 日後に lipopolysaccharide(LPS)を追加静注して急性肝障害モデルラットを作成し、LPS 投与 5 時間後に以下の実験を行った。肝での造影効果： マグネタイト(10 $\mu\text{mol/kg}$)あるいは Gd-EOB-DTPA (30 $\mu\text{mol/kg}$)を静注後、直ちに 4.7T 動物用装置(Omega, CSI-II, BRUKER)を用いて MR 画像撮影し、肝の信号強度(Relative signal intensity, RSI)を経時的に測定した。血液化学的検査および病理学的検索： マグネタイト(100 $\mu\text{mol/kg}$)あるいは Gd-EOB-DTPA (300 $\mu\text{mol/kg}$)を静注後、経時的に血漿中 GOT, GPT, ALP, コリンエステラーゼ(Ch-E)および総ビリルビン(T-Bil)値を測定した。肝は、常法に従って切片を作製し、HE 染色を施した。マグネタイト投与群には、Berlin blue による鉄染色を施した。

【結果】肝での造影効果： 肝障害ラットにマグネタイトを投与した場合、対照群と比して RSI の減少程度は小さく、一方 Gd-EOB-DTPA の場合、RSI 上昇後の減少程度が対照群に比べて小さくなった。血液化学的検査： 各造影剤投与群の血漿中 GOT, GPT, ALP, Ch-E および T-Bil 値は、投与 4, 24 および 48 時間後において対照群と有意な差は認められなかった。病理学的検索： 各造影剤投与群の肝組織像は、投与 4, 24 および 48 時間後において対照群と同様な変化を示した。また、Berlin blue 染色の結果、マグネタイト投与群では、細網内皮系に鉄粒子が認められたが、実質細胞および変性・壊死部位には認められなかった。

【結語】以上、マグネタイトでは、MR 画像撮影により、細網内皮系における取り込みの低下が示された。一方、Gd-EOB-DTPA では、実質細胞からの排泄の遅延が示された。また、十分な造影効果が得られる量の 10 倍量の両造影剤の投与によっても、本モデルラットの肝障害は悪化しないことが明らかとなった。

8

フェノバルピタールによる肝細胞の薬物代謝酵素誘導 に対するコルヒチンの作用

○吉田 一晴、守田 禎一、河村 泰仁、児玉 卓也
(富山化学工業(株)安全性研究所)

【目的】フェノバルピタール(PB)はラット肝細胞の薬物代謝酵素の誘導を引き起こし、光頭的に肝細胞の肥大、電頭的に滑面小胞体の増生が起こることが知られている。一方、コルヒチン(CLC)は微小管の重合阻害剤であり、細胞に対しては核分裂を阻害することが知られている。今回、PB投与により肝細胞の薬物代謝酵素の誘導を引き起こしたラットに、CLCを投与し、薬物代謝酵素に対する作用を免疫組織化学的染色法で検討した。

【方法】6週齢のSD系雄ラットに、PB 100mg/kgを1日1回、7日間反復腹腔内投与した(PB群)。CLCは1mg/kgをPB最終投与後に腹腔内投与し(PB+CLC群)、24時間後に解剖を行った。肝を摘出し、中性ホルマリン固定、パラフィン包埋、HE染色を行った。また、抗CPY2C11抗体、抗CPY2E1抗体、抗CPY2B1抗体、抗CPY3A2抗体及び抗 β -チューブリン抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。さらに、2.5%グルタルアルデヒドとオスミウム酸で固定した肝を電頭的に観察した。

【結果】PB群では投与24時間後の肝臓で小葉中心帯の肝細胞の肥大がみられ、免疫組織化学的染色では、抗CPY2C11抗体、抗CPY2E2抗体が小葉中心帯に陽性となり、抗CPY2B1抗体、抗CPY3A2抗体が小葉全体にびまん性に陽性となった。電頭では肝細胞に滑面小胞体の増生がみられた。PB+CLC群の投与24時間後では、小葉中心帯の肝細胞の肥大は消失し、免疫組織化学染色では、抗CPY2C11抗体、抗CPY2E1抗体が小葉中心帯で、抗CPY2B1抗体、抗CPY3A2抗体が小葉辺縁部で、それぞれ、陰性となった。電頭観察では滑面小胞体の増生は消失した。一方、抗 β -チューブリン抗体による染色では、PB群で肝細胞の細胞膜及び細胞質全体が繊細なネットワーク状に陽性となったが、PB+CLC群では細胞質内のネットワークは陰性となり、細胞膜だけが陽性であった。

【考察】以上、PB投与によって誘導された薬物代謝酵素がCLC投与によって消失し、また、同時期に微小管の消失もみられたことから、薬物代謝酵素の誘導に微小管が関与している可能性も考えられた。今後、微小管と薬物代謝酵素の誘導の関係を検討する予定である。

9

Oxfendazole反復投与ラットにおける肝P450アイソザイム およびCYP32の変動

○小野寺博志¹、三森国敏¹、畝山智香子¹、今沢孝喜¹、
伊藤聖一²、竹川潔¹、安原加壽雄¹、高橋道人¹
(¹国立衛試・病理、²実医研)

【はじめに】

動物用内寄生虫駆除薬であるFenbendazole(Fen)はラットに肝腫瘍を誘発する事が報告されている。一方、Fenの主代謝物であるOxfendazole(Oxf)については、催腫瘍性は認められていないが、その原因として用量が低かったことが予想された。そこで今回、Oxfに肝腫瘍プロモーター作用があるか否かを明らかにすると共に、肝毒性についての病理発生を検討した。

【材料および方法】

動物は5週齢の雄F344ラットを用い、Diethylnitrosamine(DEN)を100mg/kg一回腹腔内に投与し、その一週後より、Oxfを500,250,100,10および0ppm含有する粉末飼料を自由に与え、8週後に屠殺した。また、DENを処置しないOxf500,250,100および0ppm群を設け、同様に8週間投与した。さらに、DEN処置と未処置のOxf250ppm群については初期変化を観察する目的で投与開始後1週目に解剖した。肝については、P450アイソザイムの変動を免疫ブロットングにより検索し、GST-Pおよびキヤップ結合蛋白(CYP32:Cx32)抗体による免疫染色も行った。さらに、一部の肝については超微形態学的観察を行った。

【結果】

投与1週目では体重に対照群と差は見られなかったが、肝相対重量は全投与群で有意に増加した。8週目の肝重量は250ppm以上の群で増加した。組織学的には小葉中心性肝細胞肥大が100ppm以上の群でみられた。P450アイソザイムは1A1,2B1,4A1が用量依存性に誘導され、特に1A1の誘導が明らかであった。GST-P陽性肝細胞数は250ppm群以上で増加する傾向がみられた。500ppm群ではCx32のスポット数と面積は対照群に比し有意に減少した。電顕的に500ppm群では小葉中心部の肝細胞においてSERの増加がみられた。

【結論】

Oxfを投与された肝の小葉中心部では、P450 1A1を主体とする薬物代謝酵素が誘導され、かつ肝細胞キヤップ結合の減少およびGST-P陽性細胞数の増加が認められたことから、本物質が肝腫瘍プロモーター作用を有する可能性が示唆された。

10

ラット肝における低用量ジエチルニトロサミン(DEN)のイニシエーション活性に対する8-ヒドロキシグアニン(8-OHG)の関与に関する検索

○小林洋三, 中江 大, 大橋一夫, 小笠原裕之, 榎並倫宣, 高島吉治, 野口 修, 堤 雅弘, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

ジエチルニトロサミン(DEN)は, DNA付加体を形成する強力な外因性発癌物質であるが, 従来の発癌実験において主として最大耐量に近い用量で検索されており, ヒトの暴露量を想定した低用量での評価は十分になされていない。一方, 酸化性ストレスは発癌過程に関与するとされ, 中でも酸化性DNA傷害の重要性が指摘されている。8-ヒドロキシグアニン(8-OHG)は, この酸化性DNA傷害の中で最も主要なもので, 発癌過程におけるその役割についての検索はなされてはいるが, 近年, 環境化学物質の発癌リスク評価の指標としての有用性が注目されつつある。本研究は, 8-OHGレベルを指標として低用量のDENのイニシエーションに対する関与を検索する目的で行った。

動物は, 5週齢のFischer 344系雄ラット139匹を用いた。DENは, 0.9%塩化ナトリウム水溶液にて希釈し, ラットの腹腔内へ投与した。実験は9群を設定し, 第1群は3匹のラットを実験開始時に屠殺した。第2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9群は, 各群17匹のラットに実験開始時にDENをそれぞれ体重kgあたり0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 20, 100 mgの用量で投与した後6, 24, 48, 72時間に各群より3匹を屠殺し, 残り5匹について, 実験開始後4時間に部分肝切除(PH)を施行し, 実験開始後2週より4週まで0.02%アセチルアミノフルオレン含有食を投与すると共に実験開始後3週に体重kgあたり1 mlの四塩化炭素を強制経口投与を行い, 実験開始後5週に屠殺した。屠殺時に肝を摘出し, この内, 実験開始後0-72時間に採取したものはDNAを抽出してその8-OHGレベルを高速液体クロマトグラフィーを用いて電気化学的に測定し, 実験開始後5週に採取したものはアセトン固定後に前癌病変である γ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)陽性小増殖巣の数と大きさを組織化学的に定量した。

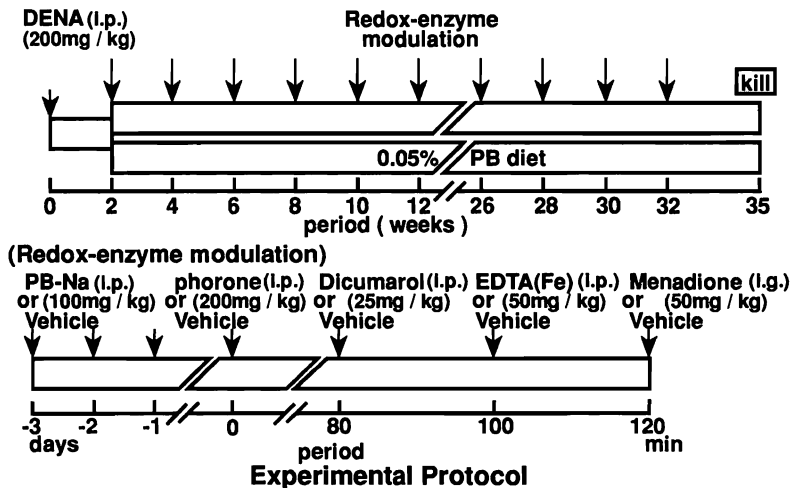
その結果, DEN投与後早期の8-OHGレベルは, 体重kgあたり0.001 mg以上の用量で, 投与後6時間に有意な増加を認め, 24時間後にはさらに増加し, その後漸減したが, 72時間後に至ってもなお対照値に比して有意な高値を保っていた。各群の8-OHGレベルは, DENの用量によく依存していた。一方, DENにより発生したGGT陽性巣の個数は, 8-OHGレベルとよく相関して, 体重kgあたり0.001 mg以上の用量で有意かつ用量依存性に増加した。病変の大きさは, DENの体重kgあたり0.001および0.01 mgの用量では平均で $15 \times 10^{-2} \text{ mm}^3$ 未満で対照値と有意な差がなく, 0.1 mg以上の用量では平均で $70 \times 10^{-2} \text{ mm}^3$ 以上で用量依存性に増加した。以上の結果より, DENは, 0.001 mg/kg体重という極めて低い用量でもイニシエーション活性を発揮する可能性が示唆された。また, DEN投与後早期の8-OHGレベルは, そのイニシエーション活性の指標として有用なものであることが判明した。

11

酸化還元酵素系修飾下でのMenadione投与による活性酸素産生系によるラット肝発癌プロモーション効果

○遠藤武弘、野口修、天沼利宏、小笠原裕之、田村一利、
傳田阿由美、小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

[目的] 内因性に産生される活性酸素は発癌の全過程に関与し得る事が推測されている。我々は、ラット肝にてphenobarbital(PB)による cytochrome P-450 reductaseの増大、phoroneによる glutathione の枯渇化、dicumarol による DT-diaphorase の抑制、EDTA-Na-Fe(III) による鉄の増大による酸化還元酵素系修飾下にmenadioneを投与すると、肝DNAに8-OHdGが誘発され、肝細胞障害が誘発される活性酸素産生系について報告してきた。更に、本産生系はラット肝発癌イニシエーション及びプログレッション 活性を示さない事を報告した。今回は、本活性酸素産生系のラット肝発癌プロモーション活性について検索した。[方法] 動物は6週令のFischer344系雄ラットを用いた。全動物はN-nitrosodiethylamine (200mg/kg 体重)を一回腹腔内投与してイニシエートした。2週間の回復期間の後、下図に示す如く実験群は活性酸素産生系の処置を2週間に1回計30週間行った。対照群は、溶媒のみの処置を同様に行い、また、陽性対照群として0.05%PB含有食を投与した。全動物は実験開始35週後に屠殺し肝の γ -glutamyltransfarase (GGT)陽性増殖巣の数と大きさ更に腫瘍性結節の発生頻度と個数を組織学的に検索した。[結果] 活性酸素産生系の処置を行った実験群では対照群に比し、GGT陽性巣の数と面積%が有意に増大し、その大きさも増大傾向を示したが、陽性対照群に比し低値を示した。また、実験群における腫瘍性結節の数と発生頻度は陽性対照群とほぼ同様の高値を示した。以上の結果より、本活性酸素産生系によりラット肝に誘発される酸化性細胞障害は、肝発癌プロモーション 活性を有する事が判明した。



12

Triazine誘導体のラット肝発癌における抑制作用

○堀 高明, 朝元誠人, 岩堀嘉郎, 金 大中, 金 振萬, 津田洋幸
(国立がんセ・研・化療)

【目的】 6-(2,5-dichlorophenyl)-2,4-diamino-s-triazine(DCPDAT)は血管新生抑制作用および細胞間連絡能を増強させる作用を有しており発癌への関与が注目される。我々はDCPDATとその誘導体 2CPDAT, 3CPDAT, 4CPDAT, PyDAT, Py4NODATの肝発癌抑制作用を, ラット肝前癌病変のGST-P陽性細胞巢を指標とした中期発癌性検索法にて検討し, また発癌抑制の機序として β -カロテン等に見られる様な細胞間連絡能の増強作用の有無を, Scrape Dye Loading法を用いて検討した。【方法】 実験1: 5週齢雄F344ラットを用い, 第1群は, DENを1回(20 mg/ kg)腹腔内投与後, 2週後より被検物質を基礎飼料に加えて投与した。被検物質投与開始1週後に肝部分切除を行い, 全経過8週間で屠殺した。対照群として, 第2群はDENのみを, 第3群は被検物質のみを投与した。免疫組織化学的に肝GST-P陽性細胞巢を定量計測し, 第2群の値と比較した。実験2: ラット肝細胞株 IAR20を用いて, 被検物質6種を各々添加した培地で3日間培養し, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA)を1時間作用後, Scrape Dye Loading法により細胞間連絡能の変化を測定した。また TPA処置なしの対照群も設けた。【結果】 実験1: 対照群の数と面積に対し, 2CPDATは38%と22%, 3CPDATは44%と25%, 4CPDATは49%と31%, Py4NODATは34%と19%であり, 特に2CPDATとPy4NODATにGST-P陽性細胞巢の数と面積の抑制作用が著明であった。実験2: 被検物質6種の, TPAによる細胞間連絡能低下に対する抑制は見られなかった。また被検物質の細胞間連絡能の増強作用も認められなかった。【結論】 上記4種の化合物による顕著な発癌抑制作用を有することが見い出されたが, その機序として細胞間連絡能の増強作用の関与は低いと考えられた。

13

水溶性有機イオウ化合物のラット肝発癌抑制作用 とその作用機構の検索

○高田信康¹、矢野善久²、堀 高明¹、林 修次¹、大谷周造²、
福島昭治¹ (大阪市大、医、1病理、2生化)

【目的】 癌の一次予防の観点からニンニクやキャベツに含まれる水溶性有機イオウ化合物に注目し、それらから肝発癌抑制物質を見出し、さらにその作用機構検索した。

【方法】 動物はF344ラットの雄 6週齢110匹および7週齢42匹を用いた。

実験1: ラット肝中期発癌性試験法(伊東法)に従って、被検物質であるS-allyl-cysteine、S-propylcysteine、S-ethylcysteine、S-methylcysteine(SMC)、Cysteineをそれぞれ100mg/kg,i.g.で投与して肝GST-P陽性細胞巢の個数および面積をイメージアナライザーで測定した。

実験2: 実験1で抑制効果のみられたSMCとCysteineを用いて、イニシエーション期における修飾作用を検索するために肝GST-P陽性細胞巢の個数および面積をイメージアナライザーで測定した。

実験3: SMCとCysteineを肝部分切除(PH)の48、24、0時間前に投与し、PH4時間後のPCNA陽性率および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)活性について検討した。

実験4: SMCを肝部分切除の48、24、0時間前に投与し、その後24時間の*c-fos*、*c-jun*、*c-myc*の mRNAの発現を定量した。

【結果】 実験1: DEN処置各群間に最終体重および相対肝重量ともに有意な変化はみられなかった。肝GST-P陽性細胞巢の発生ではSMCとCysteineで対照群に比較して面積および個数の有意な減少が認められ、他の3検体でも個数において減少傾向がみられた。

実験2: DEN処置各群間に最終体重および相対肝重量ともに有意な変化はみられなかった。また肝GST-P陽性細胞巢の発生はSMCおよびCysteineにより有意に抑制された。

実験3: PH4時間後のSMC投与群では無処置群に比較してODC、SAT活性ともに有意な低下を認めた。一方Cysteine投与群でもODC活性の有意な低下を認めた。しかしPCNA陽性細胞率でも両投与群ともに対照群と差は認められなかった。

実験4: *c-jun* mRNAは8時間後まで発現の減少を認めたが、*c-fos*、*c-myc*には変化はなかった。

【結論】 SMCとCysteineはプロモーション期、イニシエーション期の両方で肝発癌に対して抑制作用を示した。かつそれらの抑制作用にはポリアミン代謝の低下と*c-jun*などの癌遺伝子の発現の遅延が関与していることが明らかとなった。

ラットにおけるジエチルニトロサミン(DEN)またはコリン欠乏アミノ酸(CDAA)食による肝発癌に対するN-(4-hydroxyphenyl)retinamide (4-HPR)の抑制効果

○田村一利、中江 大、堀口浩資、小林洋三、吉田順一、長谷川清彦、小西陽一
(奈良県立医科大学附属がんセンター腫瘍病理)

レチノイドは、分化誘導・増殖抑制・アポトーシス誘発などを介して、発癌抑制あるいは癌の退縮・消失をきたすと報告されている。しかしながら、多くのレチノイドは、その作用発現が受容体に依存し、長期連用時に受容体遺伝子転写の down regulation により投与量の増量が必要となり、種々の副作用発現につながる欠点を有している。4-HPRは、比較的新しい合成レチノイドで、毒性の弱さと共に、受容体依存性を殆ど持たないために長期連用においても投与量の増量を必要としないことで注目され、動物のみならずヒトでも乳癌などで発癌抑制効果が報告されている。本研究は、4-HPRの肝発癌に対する効果を検索する目的で、DNA付加体を形成する強力な外因性発癌物質であるDENと酸化性ストレスの関与する内因性機序で発癌するCDAA食による異なった2種類のラット肝発癌系を用い、前癌病変の発生に対する4-HPRと天然レチノイドの代謝過程で生成されるall-trans-retinoic acid (tRA)の効果について検索した。

動物は、6週齢のFischer344系雄ラット120匹を用い、DENは、和光純薬製のものを0.9%塩化ナトリウム水溶液で希釈して体重kg当り200mgの用量で腹腔内へ投与した。DENまたは対照の溶媒を投与したラットは、その3週後に部分肝切除を行い、投与後8週で屠殺した。CDAA食または対照のコリン添加アミノ酸(CSAA)食は、米国Dyets社より購入し、ラットに12週連続投与した。4-HPRは米国R.W.Johnson薬学研究所より供給を受け、0.04、0.08、0.16%の濃度で飼料に混入せしめて投与した。tRAはSigma社のものを用い、その毒性の故に0.004、0.008、0.015%の濃度とし、同様に投与した。実験は、各群6匹のラットを用い、DENまたはCDAA食単独投与群、DEN投与後2週以降またはCDAA食と共に4-HPRまたはtRAを投与した群、DEN溶媒またはCSAA食単独投与群、DEN溶媒投与後2週以降またはCSAA食と共に4-HPRまたはtRAをそれぞれ最高濃度で投与した群にて行った。全動物は、実験終了時にエーテル麻酔下に放血屠殺し、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(GST-P)陽性病変の数と大きさを定量し、さらに酸化性DNA傷害の指標である8-ヒドロキシグアニン(8-OHG)量を測定した。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。

その結果、4-HPRは、DENおよびCDAA食により誘発された肝前癌病変の数と大きさ、および8-OHGレベルを用量依存性に減少せしめたが、その効果はCDAA食投与群においてDEN投与群より顕著であった。また、CDAA食投与によりラット肝に発生する病理学的変化である脂肪蓄積・肝細胞壊死・線維化などは、4-HPRの用量に依存して抑制された。一方、tRAは、DENにより誘発された肝前癌病変の数と8-OHGレベルをわずかに減少せしめたものの、病変の大きさには影響しなかった。CDAA食によるラット肝前癌病変の数と大きさおよび8-OHGレベルは、tRAの用量に依存して減少し、病理学的変化も同様に抑制された。

以上の結果より、4-HPRは、DENおよびCDAA食によるラット肝発癌に対して、優れた抑制効果を示し、その効果は内因性機序に基く後者においてより顕著であることが判明した。これに対して、tRAは、CDAA食によるラット肝発癌に対しては抑制効果を示したが、DENによるそれに対してはほとんど効果を示さなかった。従って、弱い毒性と受容体非依存性により長期連用の可能な4-HPRは、肝発癌に対しても優れた予防効果を期待できるものと示唆された。

15

Diethylstilbestrol (DES) 経胎盤投与によるラット雌生殖器への影響について

○北村毅^{1, 4}, 西村進^{2, 4}, 笹原健二^{3, 4}, 吉田緑⁴, 安藤(路)進⁴, 高橋正一⁴,
前川昭彦⁴ (¹キッセイ薬品, ²ボゾリサーチ, ³ツムラ, ⁴佐々木研・病理)

〔目的〕

Diethylstilbestrol (DES) は合成エストロゲンの一種であり、ヒトでは経胎盤曝露により膣および子宮頸部の淡明細胞癌が発生し、マウスでは子宮体部、頸部および膣に腫瘍を誘発することがよく知られている。しかし、ラットでの報告は少なく、膣腫瘍の僅かな発生が報告されているのみである。今回、我々は子宮腺癌好発系であるDonryuラットを用いて、DESの経胎盤投与による雌生殖器への影響を病理組織学的に検討したので、ここに報告する。

〔材料・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24時間同居・交配させ、交尾・妊娠が確認された雌をDES投与2群および対照群の計3群に分け、投与群にはオリーブ油に溶解したDES 0.1および0.01mg/kgを、対照群にはオリーブ油のみを妊娠第18および20日目(交尾確認日を妊娠第1日目とした)の計2回皮下投与した。出産時に出産率、平均産仔数等を算出し、離乳時まで生存した雌仔のみについて、以後性周期、一般状態、体重等を経時的に観察し、18ヵ月齢で全生存動物を屠殺・剖検し、病理組織学的検索を行った。

〔結果・考察〕

DES 0.1mg/kg投与により正常出産率の低下、平均産仔数の減少が認められた。膣垢による性周期の経時的観察では、対照群および0.01mg/kg群では生後約6ヵ月から性周期の乱れが観察されたのに対し、0.1mg/kg群では13週目から性周期停止が観察された。剖検時の肉眼観察では、特にDES 0.1mg/kg投与群で卵巣嚢の嚢胞、卵管の形状異常、子宮頸部の発育不良等が認められた。病理組織学的には子宮内膜腺癌が対照群で5%、DES 0.01mg/kg群で10%にみられたのに対し、0.1mg/kg群では24%と、その発生が増加すると共に、内膜過形成の程度も増強していた。それと共に0.1mg/kgでは卵巣の萎縮、膣上皮の肥厚および下垂体の腺腫が増加した。0.01mg/kg群の1例に卵巣の顆粒膜細胞腫が認められた。その他、対照群も含めた各群に乳腺をはじめ副腎皮質、甲状腺や胸腺の腫瘍が認められた。これらのことから、DESの0.01mg/kg投与群では内分泌環境への明瞭な影響は認められなかったが、0.1mg/kg投与ではより早期から内分泌異常が惹起され、その結果として、子宮内膜腺癌の発生が促進されたものと推察された。

16

ラット、マウスにおけるN-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamineとその代謝物の発癌性に関する研究

○妻谷憲一、林 功、北堀吉映、小西 登、日浅義雄 (奈良医大・2病理)
大園誠一郎、岡島英五郎 (奈良医大・泌)

N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine(EHEN)はラット腎上皮性腫瘍を特異的に誘発するが、その機序やその代謝産物の発癌性については明らかではない。この研究の目的はEHENの発癌機序解明で、その1手段としてEHENとその代謝産物であるN-ethyl-N-formylmethylnitrosamine(EFMN)、N-ethyl-N-carboxymethylnitrosamine(ECMN)の発癌性をラット、マウスで検討し、さらにラットでのニトロソ化合物の尿中排泄を検索した。

(方法)

Wistarラット、Balb/cマウスにEHEN、EFMN、ECMNを各々1000ppm、2000ppmの濃度で2週間投与した後、ラットではその後2週間目まで尿中ニトロソ化合物量を測定し、ラット、マウスとも32週目に屠殺し、腎、肝、肺における腫瘍発生頻度を検討した。

(結果)

EHEN、EFMN、ECMNいずれの投与群でも尿中総ニトロソ量と尿中ECMN量に差はなかった。またラットではEHEN投与群で、1000ppmで腎に12/23(52.2%)、肝に3/23(13.0%)、2000ppmでは腎に14/27(51.9%)、肝に1/27(3.7%)に腫瘍発生をみたが、肺には腫瘍を認めなかった。一方、マウスではEHEN投与群で、1000ppmで腎に1/15(6.7%)、肺に10/15(66.7%)、2000ppmでは肺に5/5(100%)に腫瘍を認めた。EFMN群では、1000ppmで肝に1/21(4.8%)、肺に4/21(19.0%)、2000ppmでは肝に1/20(5.0%)、肺に8/20(40.0%)に腫瘍を認めた。ECMN群では、1000ppmで肺に2/17(11.8%)に腫瘍を認めた。

(結語)

以上よりEHENはラットでは、腎、肝に対して発癌性を有するが、その代謝産物であるEFMN、ECMNには発癌性は認められなかった。しかしマウスでは、EHENは腎、肝よりも肺に対してより強い発癌性を有し、EFMN、ECMNにも肺に対しては弱いながらも発癌性を有することが示唆された。

ヘアレス犬の皮膚による皮膚毒性試験

○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を繰り返して実験用ヘアレス犬を作出している。ヘアレス犬の皮膚は紫外線照射に対して敏感に反応し、photodermatology分野で活用されている。また、太陽光暴露を伴う大気汚染物質が関与する皮膚毒性試験にもその使用例を認める(Doi *et al.*)。今回は、ヘアレス犬の背部皮膚に農薬を塗布し、皮膚への毒性作用を調べた。さらに、紫外線(UVA+B)照射後に農薬を塗布し、皮膚に及ぼす両要因の影響も検討した。

【材料および方法】3頭のヘアレス犬BCF3(オス、2歳)を試験犬とした。農薬は、1)ペンタクロロフェノール、2)2,4-ジクロロフェノキシ酢酸、3)マネブおよび4)ジネブを1%濃度溶液(エタノール:プロピレングリコール:蒸留水 = 40% : 20% : 40%)として用いた。ヘアレス犬の背部皮膚について、右側には1)~4)の農薬を1日1回、1週間連続塗布した。対照部位には基剤のみを投与した。左側には、紫外線(UVA+B)を1回照射した後、同様の薬剤を1週間連続塗布した。試験前日および塗布終了後翌日に皮膚を採取したが、その後も異常が現れたときは採材を実施し、組織学的検査に供した。

【成績】右側のUVA+B無照射部位では、農薬1)~4)を1週間投与しても肉眼的には明瞭な変化を認めなかった。組織学的にも軽度な水腫性変化を認めただけであった。しかし、投与終了2週間後、農薬3)を塗布した部位に紅斑、浮腫を主とした強い皮膚炎が生じた。表皮は肥厚し、構成細胞は壊死および顕著な水腫性変化を示した。真皮層では、表皮直下に多数の炎症性単核細胞が浸潤し、水腫性変化も観察された。真皮全層にわたり血管の拡張も認められた。

左側のUVA+B照射部位(照射量25kJ/m²)では、農薬投与1週間後に紫外線照射による色素沈着が見られた。組織学的にも表皮基底層にメラニン顆粒の沈着が認められた以外、大きな変化は生じていなかった。しかし、投与終了2週間後、農薬3)塗布部位では著明な皮膚炎が現れた。組織学的には、紫外線無照射側の農薬3)塗布部位より組織変化は激しかった。紫外線照射による表皮細胞の過形成ならびに真皮層の弾性繊維、膠原繊維の変性も観察された。

【考察】ヘアレス犬の背部皮膚を用いた皮膚毒性試験では、農薬3)は遅延して皮膚の炎症を誘発させることがわかった。また、紫外線照射は農薬3)がもたらす炎症反応を強めることがわかった。

18

Lipopolysaccharide誘発ウサギ関節炎モデルに対する Dexamethasone の作用

○井戸側博一¹、松尾呼野美¹、吉武国徳¹、今村淳資¹、
平川公昭²、大橋正美¹ (鐘紡・¹創薬研・²安全研)

【目的】 Lipopolysaccharide (LPS) (50 μ g/head) を3回、ウサギの関節内に反復投与することにより、病理組織学的に関節の骨・軟骨破壊および滑膜にリンパ濾胞の形成が認められ、慢性関節リウマチに類似した慢性炎症像が短期間で形成された。今回、このLPS 誘発関節炎モデルが抗リウマチ薬の短期的な薬効評価系として応用できるかどうかを、dexamethasone を関節内に投与し、関節炎に対する作用を調べることにより検討した。

【材料および方法】 関節炎は雄性のNew Zealand White rabbitの左膝関節内にLPS (50 μ g/head) を3回、4日間隔で投与することにより惹起し、剖検をLPS の最終投与後7日目に行った。Dexamethasone は0.3mg/headをLPS 投与直後より4日間隔で4回投与した。Dexamethasone の関節炎に対する抑制作用は関節腫脹、滑液細胞数、滑液細胞中の白血球百分比と、関節の破壊を病理解剖および病理組織学的に評価することにより検討した。

【結果】 対照群では関節腫脹の持続や偽好酸球（好中球）を主体とする滑液細胞数の増加および病理解剖学的には滑液の増量、粘度亢進、滑膜の過形成や退色が認められた。病理組織学的にも滑膜で表層細胞の重層化、線維化、炎症性細胞浸潤およびリンパ濾胞の形成、関節軟骨のサフラニン-0 染色性の著しい低下が認められ、また、腓腹筋の種子骨において骨梁表面が不整になり、一部で骨梁が消失していた。この関節炎に対し、Dexamethasone は関節腫脹や滑液細胞数の増加を抑制し、病理解剖学的にも滑液の量や粘度、滑膜の過形成や退色を軽減した。さらに、病理組織学的には、滑膜の炎症性変化や関節軟骨のサフラニン-0 染色性の低下の改善および種子骨の骨梁破壊を明らかに改善した。

【考察】 以上の成績より、dexamethasone はLPS 誘発ウサギ関節炎モデルにおける関節破壊に対して著明な改善効果を示した。このことより本モデルが抗リウマチ薬の短期評価系として応用できる可能性が示唆された。今後さらに、他の抗リウマチ薬の作用を検討し、本モデルの薬効評価系としての位置付けを行う予定である。

制限摂餌および水浸拘束ストレスの性成熟期ラット雄生殖器への影響

○神鳥仁志、濱島敏之、佐倉康文（武田薬品・薬安研）

ラットの反復投与毒性試験では通常6週齢頃に投薬を開始するが、体重増加抑制を伴う生殖器の萎縮性変化にしばしば遭遇する。この萎縮性変化は摂餌量の減少あるいは投薬時の拘束、疼痛等のストレスによると判断される場合があるが、いずれが主要因なのかは不明なことが多い。そこで、性成熟期の雄ラットに摂餌制限および人工的ストレス負荷を施し、生殖器の変化を観察した。

雄性F344/Jclラットを、6週齢時剖検の未成熟群、8週齢時剖検の無処置群、6週齢から50%の摂餌制限後8週齢時剖検の摂餌制限群および6週齢から毎日約6時間水道水中で拘束した後8週齢時剖検のストレス負荷群の4群(各5匹)に分けた。肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脳、精巣、精巣上体、前立腺および精嚢を重量測定後、病理組織学的に検索した。剖検時に採血し、テストステロン濃度を測定した。

6週齢時に対し8週齢時の体重は、無処置群で1.65倍、制限摂餌群で1.03倍、ストレス負荷群で0.99倍であった。摂餌量は、ストレス負荷群では処置開始3日目まで無処置群の約50%であったがその後回復した。器官重量は、制限摂餌群の精巣は絶対値で低値、比体重値で高値、精嚢は絶対値および比体重値共に低値を示した。ストレス負荷群の胸腺、精巣、精巣上体、前立腺および精嚢は絶対値および比体重値共に低値、副腎は絶対値および比体重値共に高値を示した。病理組織学的に、未成熟群の精巣には成熟した精子細胞がなく、精巣上体には精子がみられなかった。前立腺および精嚢の腺腔は狭く、分泌物も少なかった。制限摂餌群の前立腺および精嚢の腺腔はやや狭く、分泌物も少なかったが、精巣および精巣上体には異常はなかった。ストレス負荷群の精巣にはelongate spermatidの顕著な減少、round spermatidの脱落および巨細胞の出現、精巣上体には細胞残屑がみられ、前立腺および精嚢は腺腔が狭小で分泌物が少なく、上皮の一部は丈が低かった。同群ではさらに、副腎の束状層細胞の脂肪滴の減少および胸腺の顕著な萎縮がみられた。血清中テストステロン濃度はストレス負荷群<未成熟群<制限摂餌群<無処置群であった。

以上のように、制限摂餌群とストレス負荷群の体重増加抑制は同程度であったが、ストレス負荷群の方が生殖器の萎縮性変化は明らかに強く、血清中テストステロン濃度も低かったことから、性成熟期のラット雄生殖器には制限摂餌よりもストレス負荷の方がより強く影響するものと考えられた。

20

Dimethylarsinic acid (カコジル酸) による ラット膀胱発癌プロモーション

- 鰐淵英機、ミナクシュ ヴィジャヤラガ ヴァン、山本晋史、
堀 高明、福島昭治 (大阪市大・医・1病)

【緒言】ヒ素は自然環境中に広く存在し、ヒ素暴露と発癌との因果関係は疫学的に明確にされている。我々は、最近ラット多臓器中期発癌性試験法を用いて、有機ヒ素化合物のdimethylarsinic acid (DMA) の膀胱、腎、肝および甲状腺に対する発癌促進作用を明らかにした。今回は、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine (BBN) によるラット中期発癌性試験法を用いてDMAの膀胱発癌プロモーション作用の用量相関性について検討したので報告する。

【方法】実験1. DMAの膀胱発癌プロモーション作用に関する実験：動物は6週齢のFischer 344 (F344) 雄ラット144匹を用いた。動物を8群に分け、第1～6群に0.05%BBNを飲料水にて4週間投与後、0、2、10、25、50、および100ppmのDMAを飲料水にて32週間投与し、動物を屠殺、膀胱病変を病理組織学的に検索した。なお、第7、8群にはBBN無処置でDMA0、ないし100ppmを投与した。また、尿を30週目に強制排尿により採取し、DMAの尿中代謝産物を測定した。実験2. DMAの膀胱上皮細胞増殖亢進作用に関する実験：動物は6週齢のF344雄ラットを用い、0、10、25、100ppmのDMAを飲料水にて8週間投与し、膀胱上皮病変を走査型電子顕微鏡で検索した。また、一部は屠殺前に5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を投与し、膀胱上皮細胞のBrdU陽性率をもって細胞増殖能を検索した。

【結果および考察】 実験1：膀胱腫瘍の発生頻度は乳頭腫、癌ともにDMA10ppmより用量相関性に増加し、25ppm以上の濃度で有意差を示した。また、1匹あたりの腫瘍の数は10ppmより有意差をもって用量相関性に増加を示した。なお、DMAのみの群では腫瘍の発生は見られなかった。尿中のDMA代謝産物はDMAが最も多くついでtrimethylarsine oxide (TMA₃O) が検出された。実験2：膀胱上皮の走査型電子顕微鏡による観察では、上皮の増殖性変化とされるropy or leafy microridge、short uniform microvilliがDMA10ppmより用量相関性に見られ、DMAによる膀胱上皮増殖の亢進が示された。また、BrdU陽性率もDMA投与群で上昇した。以上の結果より、DMAはラット膀胱発癌の促進作用を用量相関性に示すことが明らかになった。また、DMAには膀胱上皮増殖亢進作用が用量相関性に見られたことより、ラット膀胱発癌のプロモーション作用に上皮の増殖亢進が強く関与していることが示唆された。

21

ラット膀胱発癌プログレッション過程 における p53 遺伝子変異の検索

○尾崎正和・柴田雅朗・高橋 智・小木曾正・
岩崎省吾・白井智之（名市大・医・1病理）

【目的】膀胱癌の発生・進展には様々な遺伝子が関与していると考えられている。BBN誘発膀胱病変に対してMNUを追投与することにより浸潤癌発生が促進されるが、このプログレッション過程にはras遺伝子変異の関与は少ないことを報告した。そこで今回同様の実験系を用いて、ラット膀胱癌のプログレッション過程におけるp53遺伝子変異を検索すると同時に、大腸発癌抑制物質として知られるインドメタシンをこの過程に投与してその修飾効果についても検討した。

【方法】6週齢F344雄ラットに0.05% BBNを10週間飲料水投与した後、1、2群には50 mg/kg bw MNU を実験開始後20週目に単回腹腔内投与し、さらに1、3群にはインドメタシン20ppmを20週目から40週目まで飲水投与した。4群はBBN投与のみの対照群とした。1群では実験開始から10、20および30週目、2および4群では30週目に中間屠殺を行い、40週目には全例の動物を屠殺して膀胱病変を病理組織学的に検索した。さらに、得られた腫瘍性病変のp53遺伝子変異についても検討を行った。

【結果】10および20週目の中間屠殺では、1群で乳頭腫がそれぞれ0/5例、4/5例、30週目では乳頭腫および癌が1群でそれぞれ1/9、4/9例、2群で4/9、3/9例、4群で3/5、2/5例に観察された。40週目の最終屠殺では1～4群にそれぞれ15/15、15/15、12/15、14/14例に癌が認められた。2群では4群と比較して、癌の深達度においてより強い進展傾向が観察されたが、インドメタシン投与による修飾作用はみられなかった。膀胱病変におけるp53遺伝子変異は2、4群のいずれも低頻度で、群間に明らかな差は認めず、癌の進展との相関はみられなかった。1、3群については現在検索中である。

【考察】BBN誘発ラット膀胱発癌過程において、MNU追投与による明らかなプログレッション効果が観察されその再現性が確認されたが、インドメタシンによる明らかな抑制効果は見い出せなかった。また、p53遺伝子変異はラット膀胱癌のプログレッションを惹起する要因としての可能性は低いものと推察された。

22

N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine 誘発ラット膀胱種瘍における グリシン及びアスパラギン酸の修飾作用

○陶 明、小西 登、松田博文、北堀吉映、妻谷憲一、日浅義雄 (奈良医大・2病理)

[はじめに]

グリシン及びアスパラギン酸は蛋白質に含まれるアミノ酸として存在し、その呈味作用により食品添加物として指定を受けている。我々はこれらの物質の2年間におよぶ癌原性試験から腎盂の乳頭部壊死や膀胱の hyperplasia が少数ながら認められることを報告してきた(第10、11回日本毒性病理学会)。今回 N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN)で誘発したラット腎盂及び膀胱の移行上皮腫瘍発生に対してグリシン及びアスパラギン酸がいかなる修飾作用を示すのかを検討したので報告する。

[材料と方法]

動物はF344ラット雌雄各々100匹を6群に分け第1-3群0.05% BBNを飲料水に混じて4週間投与した。第1、4群は5.0%グリシンを第2、5群は5.0%アスパラギン酸を同様に飲料水に混じて4週目から35週間連続投与した。実験終了後腎盂、膀胱については組織学的検索とともにBromodeoxyuridine (BrdU)のlabeling indexも検討した。

[結果とまとめ]

腎は雌雄とも対照群に比して腫大傾向を示したがアスパラギン酸の方がその傾向が強く、腎盂の乳頭部壊死もアスパラギン酸投与群に散見された。血中生化学検査では雌雄ともグリシン及びアスパラギン酸投与によってBUNの軽度上昇がみられ、特にアスパラギン酸投与群はT.G.やU.A.の上昇をみた。組織学的には雄ラットにおいてアスパラギン酸投与群ではBBNのinitiationの有無に関わらず乳頭壊死に伴うsimple hyperplasia及びPN hyperplasiaの増加が観察されたが、グリシン投与群は明らかな変化を認めなかった。雌ラットではその傾向は雄ほどではないが、同様にアスパラギン酸投与群でsimple hyperplasiaの増加をみた。一方膀胱においては、雌雄ラットとも第1群(BBN→Asp)にPN hyperplasia, papilloma, carcinomaの増加が第3群(BBNのみ)に比ベ有意に増加し、その促進作用を認めた。しかしながらグリシンには膀胱において促進作用を認めず、第3群と同程度の変化であった。以上のことからアスパラギン酸はBBNによるラット膀胱腫瘍病変の発生において促進作用を有することが明らかとなった。

23

Nedaplatin単回投与によるラット腎毒性とその抑制

○渡邊弘, 越田光, 伊藤文男, 井上知, 中村益久, 村岡義博 (塩野義製薬・新薬研)

抗腫瘍性白金錯体nedaplatin (NP) 単回iv投与時のラット腎毒性の性格と水負荷による抑制を明らかにするために本実験を行った。

NPの腎毒性は弱く, SDラットへの単回iv投与では, すでに致死量に達している24 mg/kg (LD₅₀は約30 mg/kg) で現れた。致死量投与時のNP腎毒性は, 乳頭に位置する集合管上皮と乳頭を覆う上皮のヒアリン滴変化 (電顕的にはライソゾームの増生), 壊死および増生で示される腎乳頭病変が主で, これらは乳頭先端に向かって強かった。近位尿細管病変は軽度であった。一方, 白金錯体cisplatin (CDDP) もiv単回投与時, 腎乳頭壊死を起こすが, 近位尿細管壊死がより顕著であった。これらの両検体による腎障害は, SDラットよりWistarラット, 若週齢より高週齢ラットで感受性が高い傾向にあった。

8週齢の雄Wistarラットを用いて, 非水負荷 (Nr) または水負荷 (Hyd, NP投与前1時間, 投与後2時間にわたって静脈内に生理食塩水30 ml/kg/hr注入) の条件下でNP 20 mg/kgを単回iv投与した。対照群にはNPの媒体である5%キシリトールを投与した。NP投与後, 8日間にわたって, 状態, 摂餌量, 体重, 尿検査を経時的に調べ, 尿中白金濃度測定を投与0-2, 2-24, 24-48時間後に, 血漿成分分析を投与8日後に行った。腎臓と骨髄は, ホルマリン固定して組織学的に観察した。

Hyd-NP群では, Nr-NP群でみられた腎乳頭病変は完全に抑制された。しかし, 骨髄病変は殆ど抑制されなかった。他に, Hyd-NP群では, Nr-NP群でみられた体重・摂餌量減少, 尿中NAGの上昇, CRNクレアランスの低下, 血漿中CRN, BUNの上昇を明らかに軽減し, 死亡率はNr-NP群の25%に対して, Hyd-NP群では0%であった。Hyd-NP群の尿中白金排泄量は0-2時間値で, Nr-NP群の1.2倍に増加したが, 濃度では水負荷による多尿のため1/6に低下した。HydによるNP腎乳頭障害は, 尿濃縮機構により乳頭が高濃度のNPに暴露されるために発生し, 水負荷で投与初期に著しい多尿を起こすことにより, NPの希釈, 尿細管上皮との接触時間の短縮が起こり, 障害が抑制されたと考えられた。

24

Phenobarbital, clofibrate投与によるラットおよびイヌ腎臓の変化

○瀬畑信哉, 五十嵐功, 牧野俊彦, 安田充也, 真鍋 淳,
矢本 敬 (三共・安全研)

【目的】我々は薬物代謝酵素誘導剤あるいはペルオキシゾーム増生剤に対するラットとイヌの肝臓の反応を検索し, 両者の反応に明らかな種差のある事を報告した (第11回日本毒性病理学会)。今回, 肝臓とともに薬物の代謝・排泄の主要器官である腎臓に注目し, phenobarbital(PB)とclofibrate(CPIB)をラットあるいはイヌに投与して, 両動物種の腎臓と肝臓の変化を比較した。

【材料および方法】F344雄ラット (8週齢) 1群各5匹に, PB(0.08, 0.16%)を14日間あるいはCPIB(0.15, 0.3%)を7日間混餌投与した。雄ビーグル犬, 1群各3匹に, CPIBあるいはPBを28日間にわたり漸増投与した*。投与後腎臓および肝臓を採材し, 電子顕微鏡的検査を実施するとともに薬物代謝酵素の誘導とそのmRNAの発現を免疫組織化学的検査および*in situ*ハイブリダイゼーション法を用いて調べた。

*PB漸増投与 : (20 mg/kg/day x 7日)+(40 mg/kg/day x 7日)+(60 mg/kg/day x 14日)

CPIB漸増投与 : (50 mg/kg/day x 7日)+(100 mg/kg/day x 14日)+(150 mg/kg/day x 7日)

【結果および考察】PB投与；ラット：肝臓では滑面小胞体(SER)が中等度に増生したが, 腎臓では増生は認められなかった。イヌ：肝臓ではSERが重度に増生したが, 腎臓では軽度の増生が認められるに過ぎなかった。また, PB投与の肝臓で顕著に誘導されるCYP2B1は, 腎臓では軽度の誘導しか認められなかった。

CPIB投与；ラット：肝臓ではSERが軽度, ペルオキシゾームが中等度に増生した。腎臓では近位尿細管上皮細胞でペルオキシゾームの軽度の増生が認められた。また, CYP4A1は肝臓で誘導されたが腎臓では誘導が確認されなかった。acyl-CoA oxidase mRNAの発現は肝臓でのみ軽度に増強されていた。イヌ：肝臓および腎臓ともにミトコンドリアの増加が観察された。しかし, CYP4A1の誘導は肝臓および腎臓ともに認められなかった。acyl-CoA oxidase mRNAの発現は肝臓でのみ軽度に増強されていた。

以上, PB, CPIB投与群ともに肝臓より腎臓の形態学的変化は軽度であった。また, PB投与の場合, ラット, イヌともに肝臓での代謝が飽和するのに伴い腎臓の変化が発現したものと推測する。一方, CPIB投与の場合, ラットでは肝臓と腎臓でペルオキシゾーム増生が惹起されたのに対し, イヌでは肝臓, 腎臓ともにミトコンドリアの増加が認められた。このことはイヌのCPIBに対する反応が肝臓のみならず腎臓でもラットと異なることを示唆している。

○松田博文、小西 登、陶 明、北堀吉映、妻谷憲一、日浅義雄（奈良医大・2病理）

メチマゾールは抗甲状腺剤として使用され、抗酸化作用を有し、実験的には腎毒性による腎障害を軽減すると報告されている。この作用に注目して、N-ethyl-N-hydroxyethyl nitrosamine (EHEN) で誘発し、異なる機序で促進すると考えられるプロモーター3種によって発生したラット腎腫瘍に対して、メチマゾールが及ぼす修飾作用について検討した。

[実験方法]

各群20匹の Wistar 雄ラットに、1000ppm EHEN を粉末基礎食に混合し2週間投与した後、第1、4群は1% trisodium nitrilotriacetate (NTA) を、第2、5群は10% potassium dibasic phosphate (PDP) を、第3、6群は2% hydroquinone (HQ) を20週間連続投与した。第1、2、3、群は300ppmメチマゾールを併用投与した。第7群はEHEN投与後メチマゾールを、第8群はEHENのみ投与した。各群のラットはEHEN投与終了1週間後に左腎の摘出を行なった。実験終了後、得られた腎組織については Bromodeoxyuridine (BrdU) 及び α_{2u} -globulinの免疫組織学的検討を加えるとともに、尿及び血清生化学的検査も合わせ行った。

[結果]

血清電解質ではカルシウムが第1、2群において有意に高値を示し、第5群において低値を示した。尿中クレアチニン及びBUNについては各群間で有意な差を示さなかった。組織学的にはPDP投与群が最も強い腎症をあらわし、更に石灰沈着が尿細管上皮内にみられた。BrdU LI はプロモータ投与群すべてに上昇していたが、メチマゾールを併用投与することにより程度の差はあるものの減少傾向を示した。これらの値は腎の前腫瘍性病変と考えられる simple hyperplasia や adenomatous hyperplasia の発生頻度と比較的相関していたがNTAを用いた群のみEHEN腎腫瘍発生メチマゾールの抑制作用は認められなかった。またいずれの群においても α_{2u} -globulin の発現は対照群と比べてもほぼ変化がないか、むしろ低下していた。

[まとめ]

メチマゾールは程度の差こそあれ、腎毒性を軽減し、これに伴った腎前腫瘍性病変を抑制する傾向がみられた。しかしながらおそらく genotoxic な結果として生じた腎腫瘍についての抑制は認められなかった。

顎下腺におけるクロロホルムの影響

上田 忠司 (金沢医大・解剖)

クロロホルムの毒性は肝臓、腎臓に於いて顕著に現われることはよく知られている。他の臓器として鼻腔については最近検索が進んでいるが、その他の臓器については詳細な報告をあまり見ない。

気道系におけるクロロホルムの影響を観察した結果、気管及び細気管支の特に無線毛細胞に毒性が発現された(第7回 国際毒科学会議発表、1995)。また、同時に気管に於いては気管腺も障害を受ける事が確認された。今回、腺組織の一種である顎下腺についてクロロホルムの影響を検討した。

【材料と方法】 Jcl:MCH(ICR)マウスにコーン油に溶解したクロロホルムを10 mmol/kgの割合で腹腔内単回投与を行い、経時的に屠殺した。観察は主に電子顕微鏡で行なった。

【結果及び考察】 クロロホルム投与後、24時間で顎下腺の顆粒管の一部に著しい変化が生じた。無処理の顆粒管に於いてはやや拡張ぎみの小胞体が、投与群の場合さらに大きく膨らんで、互いに融合する像も観察された。変性を生じた顆粒管の分泌顆粒の数も減少した。しかしながら他の腺房細胞には著しい変化は観察されなかった以上の事から顎下腺に於いては、顆粒管にクロロホルムの障害が起きる事が明らかになった。気管腺に於いて、導管が影響を受けやすい事を観察しているが、顎下腺に於いても腺房から介在部を経ての線条部、すなわち顆粒管に障害が生じた。クロロホルムの障害が起こる場合はcytochrome P-450保有含量の多い細胞とされているので、小胞体の多い顎下腺の顆粒管はフェロモンや多種類のペプチドホルモン物質、並びに神経成長因子を分泌するのみならず薬物代謝にも関与しているものと推察される。

c-Ha-ras transgenic mouse を用いた 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) および urethane による肺発癌

○織田信一郎, 高橋 智, 佐野真士, 今井田克己, 七野 裕, 白井智之
(名古屋市大・医・1 病理)

【目的】我々はヒト c-Ha-ras gene を組み込んだ transgenic mouse に、環境発癌物質である 6-nitrochrysene (6NC) および urethane を投与すると肺の腫瘍性病変が高率に誘発され、これらは導入した c-Ha-ras gene の point mutation を有することを報告した。今回は同様の実験系を用い、タバコ中に特異的に含まれる nitrosamine である 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) の肺腫瘍発生能について検討した。さらに肺腫瘍が発生していると考えられる実験途中に urethane の追投与を行い、この影響についても検索した。

【方法】6 週齢の雌 c-Ha-ras transgenic mouse (C57BL/6 × BALB/c, TG) に NNK 10 μ mol を、対照群には生理食塩水を腹腔内投与し、44 週後に屠殺した。さらに、NNK ならびに生理食塩水投与群のそれぞれについて、投与後 25 週より 2 週間 urethane 500ppm を飲水投与する群を設けた。また、non-transgenic mouse (non-TG) についても同様の群構成とし、実験を行った。

全身諸臓器について腫瘍性病変を検索し、ホルマリン固定後、肺は全葉について組織標本を作製し、病理組織学的に増殖性病変を精査した。

【結果】増殖性病変は主に肺において認められた。腺腫および癌の発生頻度ならびに 1 匹あたりの発生個数は、NNK 単独処置群は対照群に比べ増加傾向を示したが、TG と non-TG の間に差は認められなかった。NNK + urethane 投与群では TG で腫瘍発生の著明な促進効果がみられた。

Incidence & Multiplicity of Pulmonary Neoplastic Lesion

Animals	Treatment	No. of mice	Adenoma + Carcinoma	
			Incidence (%)	Multiplicity (No./animal)
TG	NNK	15	5 (33)	0.40 \pm 0.63
	NNK \rightarrow Urethane	5	5 (100) *	2.80 \pm 3.03
	Saline	5	0	0
	Saline \rightarrow Urethane	5	4 (80)	1.80 \pm 1.10 *
non-TG	NNK	15	8 (53)	0.53 \pm 0.52
	NNK \rightarrow Urethane	5	1 (20)	0.20 \pm 0.45
	Saline	5	1 (20)	0.20 \pm 0.45
	Saline \rightarrow Urethane	5	1 (20)	0.20 \pm 0.45

*

P<0.05 compared with non-TG group.

【考察及び結論】前回の実験結果から、この TG は肺発癌物質に対し高い感受性を有すると考えられたが、今回用いた NNK に対しては予想された肺腫瘍の高率な発生はみられなかった。しかし、NNK 投与 25 週後より 2 週間 urethane を追投与することにより、non-TG 群に比べ TG 群では肺腫瘍発生の有意な増加が認められた。これらの腫瘍発生と遺伝子変異との関連性について、現在解析を行っている。

28

ラットにおけるN-Nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP)により誘起された肺胞上皮過形成の可逆性について：

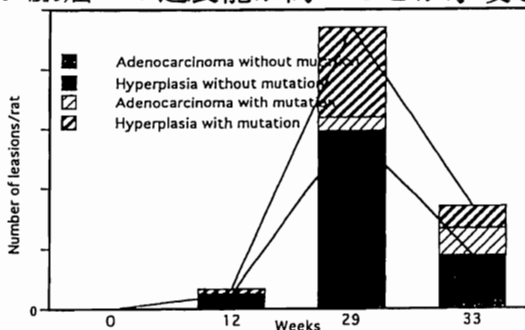
○福田智一, 堤雅弘, 辻内俊文, 野口修, 小林永策, 三井雅之, 天沼利宏, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

【はじめに】ラットにN-Nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP)を経口投与すると肺に腺癌と扁平上皮癌を誘発することができることより、この実験系はヒト肺非小細胞癌を研究する上で有用である。前回、我々はBHP誘発ラット肺癌においてK-ras遺伝子変異が肺腺癌と扁平上皮癌ともに高頻度で見られること、および両者の前癌病変でもみられることからラット肺発癌においてK-ras遺伝子変異は重要であり、かつ発癌早期に生じる遺伝子異常であることを発表した。今回はBHP投与後、動物を経時的に屠殺し前癌病変である肺胞上皮過形成の腺癌への進展とK-ras遺伝子変異の関連を検索した。

【材料および方法】動物は6週令のWistar系雄ラットを用いた。2000ppmBHP含有飲料水を15週間投与した後、水道水にかえてさらに飼育を行った。実験開始後12週、16週、20週、24週、29週、33週目に屠殺剖検した。肺を摘出し氷冷エタノールにて固定後、常法に従い組織切片を作製した。肺病変についてHE染色標本にて病理組織学的検索を行い、連続切片の無染色薄切標本より病変部のみを切り出しGenomic DNAを抽出した。PCR-SSCP法によりK-ras遺伝子 Exon 1 の変異を解析した。

【結果】肺胞上皮過形成の発生個数はラット1匹あたり12週後で1.7、29週後で22.0、33週後で5.3個であった。一方腺癌の発生個数はラット1匹あたり12週で0.1、29週後1.5、33週後3.1個であった。ラット1匹あたりの発生病変個数とK-ras遺伝子変異の頻度をまとめた結果を図に示す。この結果K-ras遺伝子変異のない過形成病変は33週で減少することが示された。

【まとめ】以上の結果よりK-ras遺伝子変異をもつ肺胞上皮過形成は遺伝子変異のないものと比較し、腺癌への進展能が高いことが示唆された。



ラットDHPN肺発癌における 4-Methylthiobenzamide投与の影響

○山口 剛, 今井田 克己, 広瀬 雅雄, 二口 充, 倉田 靖, 白井 智之 (名市大・医・1病理)

【目的】 4-Methylthiobenzamide(MTB)は、ラット肺に対して強い毒性作用を示しその修復過程において非常に高いDNA合成を示すことが報告されている。従って、肺発癌物質とMTBの組み合わせ投与により肺の腫瘍発生が促進する事が考えられる。そこで今回、ラットの肺発癌物質であるDihydroxy-di-n-propylnitrosamine(DHPN)投与期間中、このMTBを異なった時期に投与することによりDHPNで誘発される肺腫瘍を早期に発生させることができるかどうか検討を行った。

【材料及び方法】 6週齢のF344雄ラット115匹を用い、6群に分けた。1～5群は実験開始時より2週間0.1% DHPNを飲料水投与し、1群は1mmol/kg b.w. MTBをDHPN投与開始24時間前に1回腹腔内投与した。また、2、3及び4群には0.5mmol/kg b.w. MTBをそれぞれDHPN投与開始24時間前、開始1週間後、投与終了時に投与した。5群はDHPN投与のみ、6群は1mmol/kg b.w. MTB投与のみの対照群とした。1及び5群は8、12、16週目、2、3、4及び6群は16週目に屠殺剖検した。摘出した肺は重量測定後10%ホルマリンを注入し、固定後に肉眼的に各葉における結節性病変を検索し、その後常法により病理組織標本を作製し、病理組織学的に肺の腫瘍性病変を検索した。

【結果】 1群ではMTB投与直後に死亡動物がみられ、MTB非投与群である5群に比較して8、16週時点で有意に体重増加抑制が認められ、3及び4群でも16週時点で5群に比較して体重増加抑制を観察した。相対肺重量はいずれの群においても明らかな有意差はみられなかった。

病理組織学的検索の結果をTableに示す。肺の1匹当たりの過形成の数は1群でいずれも5群より有意に増加し、特に16週で顕著であった。また、0.5mmol/kg b.w. MTBの投与時期をみるとDHPN投与24時間前に投与した2群が最も高い値を示した。

Table

Exp.Period	Group	Treatment (+DHPN)	No. of rats	Lung Hyperplasia	
				No./rat	
8W	1	1mM MTB(before 24hrs)	8	5.38±2.56*	
	5	Control	10	3.20±1.81	
12W	1	1mM MTB(before 24hrs)	8	11.00±2.98**	
	5	Control	10	6.60±2.37	
16W	1	1mM MTB(before 24hrs)	11	20.00±5.76***	
	2	0.5mM MTB(before 24hrs)	10	18.10±4.82***	
	3	0.5mM MTB(after 1wk)	10	17.00±4.78***	
	4	0.5mM MTB(after 2wks)	10	13.90±3.51*	
	5	Control	14	10.30±3.60	

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs respective control,
before 24hrs:24hours prior to DHPN treatment start
after 1 wk:1 week after DHPN treatment start
after 2 wks:2 weeks after DHPN treatment start

【結論および考察】 以上の結果より、DHPN投与開始24時間前にMTBを投与することにより、有意に高い肺過形成が8週の時点より認められた。従って、0.5mmol/kg b.w. を発癌物質投与開始24時間前に投与する事により肺の前癌病変の発生が有意に促進され、今後被験物質の肺腫瘍発生における修飾作用、特にその抑制作用の検索に有用な実験系と考えられた。

肺発がん抑制モデルにおける抑制要因の検討

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

[はじめに] 化学物質による発がんの予防については, 予防効果のある物質の発見とともに, その作用機序の解明が重要である。そこで urethane による動物発がんモデルを用い, ethanol と BHT による発がん抑制効果の判定と抑制機序を明らかにするために形態学的, 分子生物学的検討を試みた。

[実験材料および方法] 4 週齢の B6C3F₁ 雄マウス 240 匹を 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。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 混入蒸留水に加えて投与し, 残る 2 群には 0.1mg/1kg body weight の容量にて butylated hydroxytoluene (BHT) を週一回腹腔内へ投与した。これらマウスを 50 週間飼育した後, 屠殺して病理組織学的検索に供した。さらに, これらの病変のパラフィン包埋材料の薄切切片から, PCR-RFLP 法および Dideoxy 法を用いて K-ras 遺伝子の点突然変異の有無を検討した。

[結果] 肺病変をもつ動物の有効動物数に対する比率をみると, 60ppm, 240ppm いずれの投与群でも, ethanol, BHT の併用投与群は低値を示した。病変の最大径を顕微鏡下で計測し, 各群における全ての病変の大きさの平均を算出すると, 60ppm, 240ppm いずれの投与群でも, ethanol, BHT の投与群は有意に小さい値を示した。また, 病変の構成細胞の増殖能を PCNA の免疫組織化学的染色によって評価すると, 60ppm, 240ppm いずれの投与群でも, ethanol, BHT の投与群で低値を示し, 構成細胞の増殖能が低いことが示唆された。一方, K-ras 遺伝子の点突然変異の頻度は, 対照では 60ppm 群 14%, 240ppm 群 37% の割合で認められたが, ethanol, BHT の投与群ではそれぞれ 38% と 35%, 20% と 35% であった。

31

小脳顆粒細胞変性に遅発するプルキンエ細胞軸索変性 (torpedo) -チオフェン中毒ラット-

○ 森 文秋、高屋豪瑩、丹治邦和 (弘前大・脳研・神経病理)

水俣病 (メチル水銀中毒症) の小脳変性は、顆粒細胞変性を主とし、プルキンエ細胞 (P-cell) の変性もしばしば伴う (熊本医学会誌, 41:25, 1967)。メチル水銀中毒症と類似小脳顆粒細胞変性を認めるチオフェンをラットに継続投与すると、軀幹振動、痙攣、ABR異常などの臨床所見とともに、血管障害性小脳変性 (石灰塩形成を伴う)、特定できる中枢神経系での Fos 蛋白発現、小脳核・赤核・赤核脊髄路変性が生じることを報告してきた。今回は、血管障害による顆粒細胞変性時 P-cell の軸索変化を中心に検討した。

〔材料と方法〕チオフェン中毒ラットの作製と検索は 既報 (J Toxicol Pathol, 5:21, 1992) に準じ行った。小脳の虫部 (正中部矢状断面) に軸索検索のための Bodian 染色 を施した。

〔結果〕1) 顆粒層および/あるいは白質で観察された軸索腫脹は、(1) 軸索が限局性に円形ないし楕円系に膨化 (径 $5\mu\text{m}$ 以上) してみえる限局性軸索腫脹 ("torpedo")、そして (2) 軸索が一定の長さに互って一定の太さ (径 $2\mu\text{m}$ 以上) に膨化し、しばしば、捻れたり、断裂した軸索膨化の二種類であった。(2) の軸索膨化については、正常軸索との区別が難しかったので定量的検討をしなかった。"torpedo" については、小葉別に、さらに、各小葉を、先端から、山頂、山腹、谷部に三等分して、各区分内の数を測定し検討した。

白質における "torpedo" は、投与開始直後から、虫部吻側小葉で比較的多く観察され、投与開始後 5-6 日の時点で、頻度が最高にみられた。11 日以降になると、その頻度は減少したが、100 日以上経過してもしばしば観察された。顆粒層における "torpedo" は、投与開始 15 日後から観察され、時間経過とともに、その出現頻度も増加していた。いずれの時期にも虫部吻側小葉、特に、3、4、5 小葉で高頻度にみられたが、時間が経過するとともに、虫部尾側の小葉 (9ab、9c) でも観察された。"torpedo" は、各小葉の谷部 (基部) よりも山頂ないし山腹でより多くみられた。嚢胞病変や顆粒細胞の脱落病変の近傍、そして白質の離断した小葉の一部では島状に隔離された顆粒層内に高頻度に観察された。P-cell 層に近い分子層の下半分の層で平行に走行する線維の嗜銀性の増加と腫大がみられた。また、P-cell が脱落し、そこに置換するように、やや腫大した神経線維が増生している像 (Empty basket) がみられたが、そこに連続するような軸索は見いだせなかった。P-cell の樹状突起がしばしば好銀性を増し形態異常を示した。深部小脳核には、HE 染色標本で投与開始 15 日後までに空胞形成が、さらに神経細胞体の周囲に好酸性の構造物がみられた。

〔結語〕嚢胞により離断された部分および嚢胞周囲部分並びに顆粒細胞の脱落病変の近傍で、"torpedo" が高頻度にみられた。チオフェン中毒の初期に顆粒層では、血管障害の影響が、浮腫や顆粒細胞変性、石灰化を作り、P-cell の軸索に対して、物理的ないし化学的影響を与え、二次的に "torpedo" を形成するものと思われる。しかし、白質の "torpedo" は、投与開始直後から観察されていることから、チオフェンおよびその他の因子による影響も示唆された。

○山中義弘^{1,2}, 島田 徹¹, 望月理加¹, 筒井美麻¹, 武田利明², 宇野 洋²,
伊澤義弘², 藤原公策¹ (¹日大獣医 2 病理, ²帝人医薬開発研)

Almitrine 投与患者では四肢末端部の異常感覚を主徴とする末梢性ニューロパシーが発症する。われわれはさきに, almitrine 代謝物のひとつである difluorobenzhydrylpiperadine (DFBP) をラットに反復投与し, 失調性歩行がおこること, 脊髄背根神経節の神経細胞, シュワン細胞, グリア細胞および血管内皮細胞にライソソーム性層板状小体が出現することを報告した。今回は, 主病変の局在を明らかにする目的で, 中枢神経, 末梢神経および局所筋組織について系統的病理学的検索を行なった。

[材料・方法] F344系雄ラット18匹に蒸留水(溶媒), DFBP 30mg/kg, あるいは 60 mg/kg を反復経口投与した。20週にわたる投与終了後, ペントバルビタール麻酔下で全身灌流固定を行い, 脳, 脊髄, 脊髄背根神経節, 脛骨神経, 腓腹筋, ヒラメ筋, 足底骨間筋を摘出し, パラフィン包埋HE/LFB染色標本あるいは樹脂包埋トリジンブルー染色厚切り標本を作製した。光顕的に変化がみられた組織について透過電顕観察を行なった。

[成績] DFBP 30, 60 mg/kg 投与開始後6~7週から, 全動物に爪先立ち歩行を特徴とする歩行失調が観察された。病理検索では, 脳・脊髄・脛骨神経に脱髄などの顕著な変化はみられなかったが, 脊髄背根神経節の神経細胞, シュワン細胞, グリア細胞および血管内皮細胞にライソソーム性層板状小体(LLB)がみられた。ヒラメ筋, 骨間筋では筋線維の変性が認められ, 筋線維, 筋紡錘, 筋内シュワン細胞, 血管内皮細胞にLLBが観察された。腓腹筋にも同様の変化がみられたが軽度であった。

[考察] DFBP 投与により歩行異常を示したラットの主病変は, 脊髄背根神経節の感覚神経細胞, 後肢末端の骨格筋および筋紡錘に認められ, LLB形成を特徴としていた。LLB形成は薬物とリン脂質のライソソーム内蓄積によると考えられ, 病変部におけるリン脂質代謝異常が示唆された。

1-Ethyl-1-nitrosourea(ENU)誘発脳腫瘍における
canthaxanthinの修飾効果

○ 杉江茂幸、岡本清尚、牧田浩樹、大西将美、川森俊人、原明、
田中卓二、森秀樹（岐阜大、医、病理）

[はじめに] 発癌プロモーション過程においてギャップ結合の減少が重要な役割を果たしていると仮説、提唱され、幾つかの報告証明もなされている。我々も肝発癌プロモーターによるギャップ結合の減少を報告してきた。脳においてはギャップ結合は主にCx43が報告されているものの脳腫瘍発生にギャップ結合がどのような役割を持つかは不明である。一方、*in vitro*の実験ではあるが、培養グリア細胞でCx43がカロチノイドによって増加するという報告がなされている。今回、我々はカロチノイドの1つとして知られているcanthaxanthinの修飾効果をENU誘発ラット脳腫瘍において検討したので報告する。

[方法] 妊娠第19日の雌SDラットにENUを50 mg/kg体重*i.p.*投与し、生後4週で母子を分離し、同時に雌雄別ケージとした。分離時より基礎食(CE-2)、0.2% canthaxanthin含有基礎食を与え、生後34週で全匹屠殺、剖検した。大脳は4切片、小脳、脳幹部1切片、脊髄20切片HE標本をを作製した。

[結果、考案] 中枢神経系腫瘍発生率は基礎食群で100%(雄100%、雌100%)に対して、canthaxanthin投与群では85%(雄87%、雌83%)、平均腫瘍発生個数は、基礎食群で 2.7 ± 1.7 (雄 3.0 ± 1.9 、雌 2.4 ± 1.3)に対して、canthaxanthin投与群 2.0 ± 1.3 (雄 2.0 ± 1.1 、雌 2.0 ± 1.5)と雌雄併せた腫瘍発生率のみ有意の低下を認め、他においても軽度抑制傾向を認めた。脳腫瘍発生率は基礎食群で81%(雄73%、雌90%)に対して、canthaxanthin投与群では79%(雄78%、雌79%)、平均腫瘍発生個数は、基礎食群で 1.4 ± 1.1 (雄 1.3 ± 1.3 、雌 1.4 ± 0.9)に対して、canthaxanthin投与群 1.3 ± 1.1 (雄 1.2 ± 0.8 、雌 1.4 ± 1.2)と概ね差を認めなかった。脊髄腫瘍発生率は基礎食群で64%(雄77%、雌50%)に対して、canthaxanthin投与群では51%(雄57%、雌46%)平均腫瘍発生個数は、基礎食群で 1.3 ± 1.3 (雄 1.9 ± 1.3 、雌 1.0 ± 1.3)に対して、canthaxanthin投与群 0.7 ± 0.8 (雄 0.8 ± 0.9 、雌 0.6 ± 0.8)、と雄並びに雌雄併せた腫瘍発生個数において有意の低下を認め、他においても抑制傾向を認めた。canthaxanthinはENU誘発中枢神経系発がんにおいて軽度の抑制効果が推定された。

○今沢孝喜¹, 三森国敏, 北嶋 聡, 小野寺博志, 西川秋佳,
古川文夫¹, 井上 達, 黒川雄二², 高橋道人¹
(国立衛試・¹病理, ²毒性)

【目的】2,5-Di (tert-butyl)-1,4-hydroquinone (DTBHQ) は、粘着テープや油類等の家庭用品に酸化防止剤として使用されている。一方、DTBHQは、*in vitro* の系において、小胞体Ca²⁺ ATPaseの阻害剤としても知られており、結果的に、細胞内Ca²⁺量の上昇が引き起こされ、培養神経細胞においては神経伝達物質の遊離が促進されることが報告されている。我々は、既にDTBHQをラットに投与することにより、運動失調が誘発されることを見だし、DTBHQが遠位軸索や神経筋接合部を標的とする可能性が疑われた。しかし、その病理発生については明らかにすることはできなかった。そこで、今回、我々は、DTBHQをラットに反復投与し、末梢神経運動終板を超微形態学的に検索した。

【実験材料および方法】動物は6週齢のWistar系雌ラットを用い、コーンオイルで溶解したDTBHQ (80mg/kg) を0.5ml/100gb. w. の割合で5日間、毎朝1回連続強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを同様に投与した。投与終了後、各2匹ずつエーテル麻酔下で屠殺・剖検後、虫様筋を摘出し、2.5%グルタルアルデヒド液および四酸化オスミウム液で固定した。常法に従い超薄切片を作製し、超微形態学的に観察した。

【結果】DTBHQ投与ラットでは第2回目の投与後に腹臥、流涎、流涙、下痢および筋脱力等が認められた。第3回目の投与後ではこれらの症状が強くなり、左右の揺れを伴う腰高の歩行異常が認められた。第4, 5回目の投与後ではさらに症状は強くなり、後肢運動失調を示すラットが発現した。第2回目の投与以降、体重の減少がみられた。虫様筋についての光学顕微鏡的観察では、異常と思われる変化は認められなかった。しかし、超微形態学的観察では、投与ラットの運動終板において、シナプス小胞およびミトコンドリアの消失が認められ、その結果として、プレシナプス終末の変性がみられた。一方、投与ラットの筋細胞にはほとんど変化は認められなかった。

【まとめ】今回の実験では、DTBHQ投与ラットにおいて運動終板にシナプス小胞の消失を特徴とする超微形態学的変化が観察されたことから、DTBHQの標的部位が運動神経終末部であることが示唆された。DTBHQの神経毒性は、運動終板のプレシナプス終末から放出されるアセチルコリンの枯渇による神経から筋への刺激伝達の障害に起因するものであり、その結果として、運動能の減少、さらには歩行困難が引き起こされたものと考えられた。

- 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、
斎藤明美¹、永田治¹、高橋道人²（¹北陸製薬・研究開発本部、
²国立衛試・病理、³佐々木研・病理、⁴東京理科大・薬）

【はじめに】ラット甲状腺二段階発癌モデルにおいて、サルファジメトキシシン(SM)の間欠投与により、血中TSHが再度上昇し、高い細胞増殖活性を伴い甲状腺濾胞上皮過形成の発生が亢進することを第11回本学会で報告した。これらの結果から、プロモーション期間を通して血中TSHが漸次上昇すれば、濾胞上皮のTSH刺激に対する反応性は持続し、甲状腺増殖性病変の発育が亢進し得ると考えられる。今回我々は、漸増投与実験を実施し、甲状腺増殖性病変の発生個数および細胞増殖活性を連続投与と比較検討した。

【実験方法】動物はF344雄ラットを用い、N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) 2800 mg/kgを1回皮下投与し、その1週後より0.1%SMを20週間飲水投与する第1群、SMの0.025、0.05および0.1%をそれぞれ8、4および4週間飲水投与する第2群ならびにSMの0.025、0.05、0.1および0.2%をそれぞれ8、4、4および4週間飲水投与する第3群を設定した。さらに、20週間にわたり無処置とする第4群を設定した。各投与終了時に血清T3、T4、TSHおよび甲状腺重量の測定を行うと共に、甲状腺増殖性病変の発生個数およびBrdU標識率を計測した。

【結果】第2群のSM摂取量は第1群の約半分であり、第3群のそれも第1群と比べて少なかったが、第3群の甲状腺の絶対および相対重量は第1群と比べて有意に増加した。血清TSH値は全処置群で無処置群と比べて有意に増加し、第2および3群ではより高値を示し、第1群と比べても有意差が認められた。さらに、第3群の血清TSH値は第2群よりも高値を示した。濾胞上皮過形成(第2、3群)および腺管状腫瘍(第3群)の発生個数は第1群と比べ有意に増加し、第2および3群の濾胞上皮、過形成および腺管状腫瘍の細胞増殖活性も第1群と比べて有意に高かった。

【考察】漸増投与では、SMの摂取量が少ないにもかかわらず、甲状腺増殖性病変の発育が亢進することが示された。これはSMの漸増投与により血中TSHの漸増的な増加を伴って甲状腺濾胞上皮の高い細胞増殖活性が維持されるためと考えられた。従って、漸増投与法はラット甲状腺二段階発癌モデルにおいて甲状腺腫瘍プロモーター検出のために感受性の高い方法となり得ることが示唆された。

DHPN誘発ラット甲状腺濾胞上皮増殖性病変における P53、HSP70およびMDM2の発現

○ 林 新茂¹、三森国敏²、小野寺博志²、安原加壽雄²、森 郁生¹、
野々山孝¹、高橋道人²、（¹武田薬品・薬安研、²国立衛試・病理）

【はじめに】 ラットにN-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN)でイニシエーション処置後、抗甲状腺物質を投与することにより、血中TSH値の上昇をきたし甲状腺癌が誘発されることは良く知られている。我々はこの発癌モデルにおける濾胞上皮増殖性病変の進展と変異遺伝子の関与を明らかにするため、抗甲状腺物質としてSulfadimethoxine (SM)を用いて誘発した増殖性病変におけるP53、HSP70及びMDM2の免疫組織学的発現を経時的に検索した。

【材料と方法】 6週齢の雄F344/DuCrjラットにDHPN 280mg/100gBWを単回皮下投与し、1週後より0.1%SMを飲水投与した。SM投与1,4,8,12,16週間後及び16週間投与後4週間休薬したラットをそれぞれ剖検し、甲状腺重量を測定した。濾胞上皮増殖性病変の病理組織診断は、米国 Society of Toxicologic Pathologistsの分類に従った。免疫組織化学的には抗P53(野生型および変異型,CM1,Novacastra),抗heat shock protein 70(HSP70,DAKO)及び抗murine double minute 2(MDM2,Ab-1,Oncogene Sci.)抗体を用い、SAB法により発現蛋白/遺伝子産物を観察した。

【結 果】 甲状腺重量はSM投与1週後から高値を示し、12週後を最高値とし以後漸減したが、4週間の休薬後においても無処置対照群に比べ有意な高値を示した。組織学的に濾胞上皮の増殖性病変がSM投与4週後からみられ、8週以降で腺腫及び癌が発生した。過形成の発生頻度はSM投与12週後まで増加し、腺腫および癌は12週及び16週後に多く、休薬によりやや減少した。免疫組織学的にはSM投与4週後に過形成とその周辺の肥大を示す濾胞上皮に抗P53及び抗HSP70抗体の陽性反応がみられた。腺腫と癌ではSM投与12週以降で両抗体に陽性を示した。抗P53及び抗HSP70抗体に対する陽性率は癌では休薬後も高値であったが、腺腫ではやや低下した。MDM2はいずれの病変においても陰性であった。濾胞上皮の過形成、腺腫及び癌それぞれの総増殖性病変に対しP53は1.1%、13.6%及び67.2%が、また、HSP70は3.4%、22.2%および73.4%がそれぞれ陽性を示した。

【ま と め】 以上の成績から早期の増殖性病変から腺腫及び癌への移行に際してP53とHSP70の関与が示唆された。P53には野生型と変異型があるが、野生型P53は半減期が短いことから、変異型のP53がHSP70と核内で結合、安定化し、免疫組織学的に過剰発現したものと考えられた。一方、MDM2はいずれの病変にも陰性であったことからMDM2の過剰発現による野生型P53の抑制はなかったものと考えられた。

○北堀吉映、小西 登、松井恵美、¹廣内康彦、²星谷 達、³古川文夫、日浅義雄 (奈良医大・
2病理、¹安評センター、²ボゾリサーチセンター、³国立衛試)

(はじめに) 癌原性試験の組織評価を行うにあたり、自然発生か? あるいは薬物によるものか? これらの区別は極めて困難なことをしばしば経験する。近年、ホルマリン固定標本からDNA抽出を行い、比較的簡単に遺伝子変異の解析が可能となった。今回、癌原性試験でしばしば経験する甲状腺腫瘍について自然発生腫瘍と発癌剤(DHPN)で誘発したものについてKi-rasを中心に遺伝子変化を比較検討し、興味ある結果を得たので報告する。

(材料と方法) 発癌剤誘発腫瘍の作成は、WistarラットにN-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine(DHPN)を体重100g当たり200mgを週1回腹腔内投与し、計3回投与後35-40週目に屠殺剖検した8例と、癌原性試験の対象群に発生した自然発生腫瘍10例(当教室および他施設:国立衛試、ボゾ)について、すべてを組織学的に診断するとともにDNA解析の部位を決め、以降の操作を行った。抽出したDNAは特異プライマーで増幅後、15% polyacrylamide (with 5% glycerol) gelでSSCPを行い、shift bandを切り出し塩基配列の同定を行った。

(結果) Ki-ras遺伝子の点突然変異は、すべての腫瘍で観察された。そのうち自然発生腫瘍については変異形式に下表に示すごとくGAT, GTTあるいはCGTの変異が観察された。また、複数の変異をもつ腫瘍についても自然発生群に多く(5例)みられた。

Tumor source	Activated Ki-ras gene	Codon 12 (GGT)		
		GTT	GAT	CGT
Spontaneous	10/10	4	8	2
DHPN	8/8		8	1

(まとめ) 発癌剤で誘発した腫瘍と自然発生についてKi-ras遺伝子変異を比較し、発癌剤によるものは比較的変異形式に均一性みられるが、自然発生では多種にわたり、また同一個体中に複数の変異が観察された。このことは癌原性試験の評価を行うにあたり一助となる可能性が示唆された。今後、さらに高発臓器腫瘍について検討する予定である。

卵巣摘出ラットでの長期飼育による 内分泌・乳腺の腫瘍性病変について

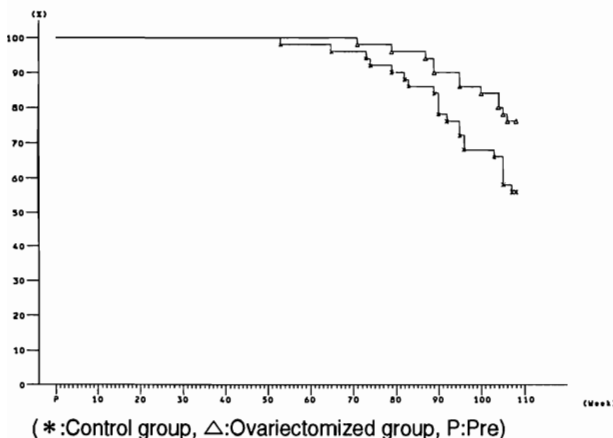
○義澤克彦、大石裕司、松本正博、鈴木淳也、牧野奈津代、
藤平司郎、藤井登志之（藤沢薬品工業・安全研・病理）

加齢に伴う内分泌及び乳腺の腫瘍性病変の発生はSD系ラットの長期飼育でしばしば観察される。これらの腫瘍と性ホルモンの関係は従来から盛んに研究論議され、生殖器摘出による研究も報告されているが、SPF環境下での長期にわたる詳細な観察報告は見あたらない。今回、卵巣を摘出したラットを104週間長期飼育し、その内分泌系及び乳腺の腫瘍性病変の発生について検討を行った。

【材料及び方法】 SD(Crj:CD)系ラットの雌50匹を4週齢時に卵巣摘出した卵摘群と同数の無処置対照群を設け、SPF環境下にて粉末飼料CRF-1（オリエンタル酵母）と濾過水道水を自由摂取させ、104週間飼育観察した。途中死亡・切迫屠殺も含めて全例を剖検し、血中estradiol濃度の測定と内分泌系臓器及び乳腺の病理組織学的検索を行った。

【結果】 両群の摂餌量は試験中を通じ差は見られなかったが、体重については試験開始後4週より卵摘群で有意に増加し、104週時点で対照群の約1.3倍であった。104週時点での生存率は卵摘群で76%（対照群の約1.4倍）であり、卵摘による延命効果が顕著であった。血中estradiol値は卵摘群で測定限界以下の例を数多く認めた。臓器重量では卵摘群の下垂体及び副腎が対照群に比べ有意に減少した。病理組織学的には卵摘群で下垂体腺腫、副腎髄質の過形成、乳腺の過形成・腫瘍（fibroadenoma、adenoma、carcinoma）の発生率が著しく減少し、乳腺腫瘍については1匹あたりの腫瘍数や悪性腫瘍の出現も減少した。しかし、他の内分泌臓器の腫瘍性病変の発生については両群に差は見られなかった。

Fig.1 : Survival curve



【考察】 卵摘による乳腺・下垂体の腫瘍性病変の発生率の減少は従来の報告通りであり、卵摘によるエストロジェンの欠損、下垂体からのプロラクチン分泌の低下が関与しているものと考えられた。また、副腎髄質の増殖性病変も一部報告されているプロラクチンとの関連性が示唆された。

39

ラット子宮平滑筋腫／肉腫および下垂体腺腫におけるヒト結節性硬化症 (Tsc2) 遺伝子変異の解析

○樋野興夫、梶野一徳、菊地泰、久保宜明、小林敏之、青木宏、福田智一、三谷弘明 (癌研、実験病理部)

遺伝性腎癌ラットは、1954年ノルウェーのEkerによって発見され、腎癌発生は、Mendelの法則に従い、単一遺伝子による常染色体優性遺伝形式をとる。我々は、本ラットの発癌機構を解明すべく、positional cloning法によって原因遺伝子の単離・同定をめざし、ついにヒト結節性硬化症の原因遺伝子(TSC2; human chromosome 16p13.3)のrat homologue (rat chromosome 10q12)に本ラットに特異的なgerm line mutationを見出した(Nature Genetics, 9: 70-74, 1995)。腎癌はもとより極く初期の変異尿細管細胞にも、正常対立遺伝子の喪失(loss of heterozygosity; LOH)が高率にみられKnudsonの“two-hits”が適用され、原因遺伝子は癌抑制遺伝子であることが考えられた(Cancer Res., 54: 2633-2635, 1994, Cancer Res., 55: 989-990, 1995)。興味のあることに、本ラットには腎癌以外にも子宮腫瘍、脾臓腫瘍および下垂体腺腫が高率に発生することが明らかになった(Cancer Lett., 83: 117-121, 1994, Transplantation Proceedings, 27: 1529-1531, 1995)。

今回、我々は、子宮腫瘍、および下垂体腺腫の2nd hitについて検討を行った。まず子宮腫瘍は、特殊染色(Actin, muscle actin HHF35, alpha-smooth muscle actin, vimentin and desmin 陽性; S100 陰性)より平滑筋由来の腫瘍と考えられた。下垂体腺腫は、ACTH and prolactinともに陰性でnon-functioning tumorと考えられた。子宮平滑筋腫／肉腫および下垂体腺腫においてrat chromosome 10のDNAマーカーを用い、LOHがそれぞれ4/11 (36%), 11/31 (35%)に観察された。microsatellite instabilityは見られなかった。興味のあることに、下垂体腺腫の1例においてTsc2遺伝子内(5'端)にSouthern blot法でrearrangementが明瞭に認められた。現在、その分子cloningを行いbreakpointの解析を行っている。

今回の実験動物からえられたデータは、TSC2遺伝子がヒト子宮平滑筋腫／肉腫および下垂体腺腫にも関与している可能性を示すものである。

ハムスター短期膵発癌モデルにおける α ・ β -カロチン、緑茶
ポリフェノールの発癌抑制効果の検索

○小林永策、辻内俊文、堤雅弘、白岩和己、堀口浩資、
長谷川清彦、吉田順一、小西陽一（奈良医大、がんせ、腫瘍病理）

（はじめに）膵癌の早期発見は、近年の診断、治療技術の向上にも関わらず極めて困難で、その治療成績は他の癌と比べても不良であり、膵癌の発生と進展を阻止する広域の化学予防に関する研究は重要な課題となっている。今回我々は、膵癌を化学予防しうる物質を検索する目的で、ハムスター短期膵発癌モデルにおいて膵管上皮過形成の出現時期に被験物質を投与し、膵発癌抑制効果の有無について検索した。

（材料と方法）動物は6週齢雌シアンゴールゲンハムスターを用いた。短期膵発癌モデルに従い、BOP70mg/kg s.c.のインジェクション処置を施行し、エチオン500mg/kg i.p.・メチオン800mg/kg i.p.・BOP20mg/kg s.c.・choline deficient dietより成る促進圧力操作 (augmentation pressure)を3回行った。その後以下の9群に動物を分け、実験開始50日目より実験終了まで被験物質を投与した。第1群は蒸留水群、第2群はカロチンの溶媒である乳化剤を投与した群、第3・4群は各々0.0025%・0.005% α -カロチン投与群、第5・6群は各々0.0025%・0.005% β -カロチン投与群、第7・8群は各々0.01%・0.1%GTP投与群、そして第10群は0.0025% α -カロチン+0.0025% β -カロチン+ 0.01% GTP投与群とした。なお、被験物質の投与は飲水中に混じて投与した。動物は実験開始後105日目に屠殺し、膵臓を摘出し、病理組織学的検索を行った。

（結果）実験終了時、各群間の体重に有意差はみられなかった。膵管病変の発生個数は、退形成が第1群にて21.3±9.2個であったのに対し第5群で9.1±5.4個と減少し、また膵管癌も第1群で3.0±2.8個に対し第5群では0.9±0.9個と有意差をもって減少していた。以上の結果より、0.0025% β -カロチンの膵管癌発生に対する抑制効果の可能性が示唆された。

Mean Numbers of Pancreatic Duct Lesions in Female Hamsters

Experimental groups	Effective number of hamsters	Hyperplasia	Atypical hyperplasia	CIS	Carcinoma	Total
1 tap water	6	21.3±9.2	3.5±3.0	0	3.0±2.8	27.8±11.3
2 vehicle emulsion	5	22.8±6.3	2.0±1.6	0.8±1.0	2.4±2.1	28.0±3.9
3 0.0025% α -carotene	12	16.0±10.3	3.5±3.1	0.7±1.2	2.6±1.7	22.9±13.8
4 0.005% α -carotene	15	18.6±12.4	7.5±7.9	0.7±1.6	2.3±1.2	29.2±20.2
5 0.0025% β -carotene	12	9.1±5.4 **	4.0±2.6	0.6±0.8	0.9±0.9 *	14.8±6.6 **
6 0.005% β -carotene	7	19.7±10.2	2.3±1.9	0.3±0.4	1.3±0.8	23.2±10.8
7 0.001% GTP	8	21.1±8.4	2.8±2.1	1.3±1.4	2.6±1.9	27.9±7.0
8 0.01% GTP	9	19.5±5.7	2.0±1.7	0.5±0.7	1.8±1.3	23.9±4.9
9 0.0025% α -carotene + 0.0025% β -carotene + 0.001% GTP	11	24.9±9.0	2.4±1.6	1.1±1.4	2.3±1.6	30.8±9.6

* : Significantly different from group 1, $p < 0.05$

** : Significantly different from group 1, $p < 0.01$

41

非遺伝毒性発がん物質のラット肝イニシエーション作用の証明

○岩堀嘉郎、馬場弘靖、金大中、堀高明、津田洋幸（国立がんセ・研・化療）

【目的】非遺伝毒性発がん物質のイニシエーターとしての作用をイニシエーションモデルを用いて検索し、スクリーニング法としての確立をめざした。

【材料と方法】被検物質としては既知の非遺伝毒性発がん物質である α -hexachlorocyclohexane (α -HCH)、dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)、hexachlorobenzene (HCB)、diethylstilbestrol (DES)を用い、陽性対照として diethylnitrosamine (DEN)を使用した。実験方法は雄のF344ラットを用い、第1群には部分肝切除12時間後に α -HCH 1.0g/kg, DDT 100mg/kg, HCB 5.0g/kg, DES 20mg/kg, DEN 20mg/kgの用量にて胃内投与した。プロモーション処置として2週目から24週目までdeoxycholic acidを基礎食に0.15%混入し、さらに3週目にD-galactosamine 300mg/kgを腹腔内投与した。第2群は部分肝切除後に第1群における被検物質に代えて溶媒であるオリーブ油もしくは生理食塩水を投与し、第1群と同様のプロモーション処置を行い対照群とした。第3群には部分肝切除と被検物質の投与のみ行った。全ての動物は24週で屠殺した。結果の判定はアセトン固定パラフィン包埋した肝切片にGST-P免疫染色を行い、single cell以上の全ての陽性細胞と陽性巣（以下陽性巣）についてその数と面積を測定した。

【結果】途殺時の体重は全ての群において有意な差はみられなかった。相対肝重量(%)は第1群で α -HCH, 2.97 ± 0.21 (n=9); DDT, 2.76 ± 0.05 (n=9); HCB, 2.66 ± 0.05 (n=13); DES, 2.80 ± 0.08 (n=9)でありHCB投与群において第2群の 2.83 ± 0.05 (n=13)に比べ減少していた。(P<0.01) GST-P陽性巣の数 (No./cm²) は第1群で α -HCH, 1.56 ± 0.39 ; DDT, 1.15 ± 0.21 ; HCB, 1.07 ± 0.17 ; DES, 0.90 ± 0.16 と対照群の 0.56 ± 0.11 に比してDESを除いて有意(P<0.05)に増加していた。面積 ($\mu\text{m}^2/\text{cm}^2$) では α -HCH, 14.14 ± 7.95 ; DDT, 17.68 ± 4.9 ; HCB, 24.11 ± 8.95 ; DES, 9.48 ± 2.23 と対照群の 14.30 ± 3.61 と有意な差はなかった。また、プロモーションを行わない第3群ではわずかのGST-P陽性巣の発生がみられた。一方DEN投与群(n=13)は第1群のGST-P陽性巣の数 (No./cm²) が 50.03 ± 4.08 、面積 ($\mu\text{m}^2/\text{cm}^2$) が 1492.88 であった。これより数においてDENにくらべて α -HCHは1/33、DDTは1/44、HCBは1/47、DESは1/56のイニシエーション強度を有すると算定された。

【結論】以上より非遺伝毒性発癌物質においても本法によってイニシエーション作用の評価が可能であることが明らかとなった。

42

放射線誘発によるC3H, B6C3F₁マウス肝腫瘍の特性

○伊藤明弘, 渡辺敦光, 藤本成明, 安東保海, 山田和正
(廣大原医研・予防腫瘍)

- 1) ⁶⁰Coガンマー線²⁵²Cf核分裂中性子線の両放射線 1回全身照射に対し、雄C3H, B6C3F₁マウス肝腫瘍は、照射線量相関性に発現率は増加する。又、⁶⁰Coに対する²⁵²CfのRBEは雄で15.2, 雌で2.5であった。加えて、雌雄間で発現率に性差があり、雄>雌である。
- 2) 上記の実験系で去勢により雌雄ともに腫瘍発現率は減少し、テストステロン投与でも顕著な回復は認めなかった。3) X線の全身照射は肝の局所照射に勝り、肝をさけての照射は更に腫瘍発生率が低下した。4) 以上1, 2, 3, の放射線による肝腫瘍の発現は、組織学的には肝細胞の空胞変性化で始まり、生化学的に脂質過酸化物質の蓄積があり、1年余の潜伏期を経て腺腫、腺癌に進展する。5) B6C3F₁系マウスを用いて、父親のC3Hに200 cGy以下の²⁵²Cf照射を行い、正常の母親C57BLと交配した。そのF₁の肝腫瘍発生率は照射父親よりのF₁では、非照射父親よりのF₁に比べ有意に高頻度の腫瘍発生を認めた。6) ²⁵²Cf照射B6C3F₁及び無処置C3Hでの発生腫瘍は、10%味噌及び大豆成分の一つであるバイオカニン10, 20 ppm の経口投与で種々の程度に抑制された。又、制限食による体重増加抑制により、肝腫瘍発生の低下をもたらした。7) 5μg/g体重のDEN 1回投与ではほぼ100%のB6C3F₁マウスに悪性度の高い肝癌の発生をみたが、放射線や自然発生の腫瘍ではDEN誘発型腫瘍はほとんど認められなかった。

「要約」

C3H, B6C3F₁系に発現するマウス肝腫瘍は基本的に強い遺伝的背景の影響を受けるが、これに加えて肝腫瘍の増殖や促進又は抑制作用を示す化学物質に対して鋭敏に反応する。

近年は、強い発癌物質のようにinitiation及びpromotion(又はinhibition)活性を有しているものから、段々と弱い活性を示すものの検索が多くなりつつあり、又、複合効果などについても検討が必要となってきた。これらの微妙な差異を見い出すには、低感受性の系よりも高感受性の実験系が適していると考えられる。

示 説 要 旨

(P-1 ~ 105)

— MEMO —

P-1

ラットおよびマウスの舌に発生する小動脈炎

○楠岡 修、山口裕子、中村 厚、玉井幸子、堀口浩資、工藤佳代子、
笠原健一郎、田村一利、岡庭 梓 (ボゾリサーチセンター)

動物を用いて化学物質の毒性作用を検索するにあたり、それら動物の背景病変を正確に理解することは必要要件の一つと認識され、これまでに数々の背景病変に関する報告がなされている。今回我々は、舌に発生する血管炎に注目し、その発現状況および組織学的特徴について調査したので報告する。

調査は、無処置で長期飼育、あるいはがん原性試験の対照群に供されたF344ラット(雄390匹、雌388匹)、Wistarラット(雄100匹、雌100匹)、B6C3F1マウス(雄300匹、雌250匹)について行った。動物は、バリアシステムの飼育室にて金網ケージに個別に収容し、粉末飼料(CRF-1; オリエンタル酵母株式会社, あるいはCE-2; 日本クレア株式会社)と水道水を自由に摂取させた。舌は、10%ホルマリンで固定後、パラフィン切片を作製し、H・E染色、エラスチカワンギーソン染色、PTAH染色を施し検索した。

舌における動脈炎は、数層の中膜平滑筋層より構成される小動脈を主に発生し、組織学的には、他の組織の場合と同様に、中膜のフィブリノイド壊死、内弾性板の断裂、中膜や内膜の肥厚、血管壁あるいは血管周囲への小円形細胞浸潤が主な所見であった。この病変の発生頻度は、F344ラットで雄15.6%、雌12.6%、Wistarラットで雄20.0%、雌4%、B6C3F1マウスで雄2.3%、雌3.6%であった。このように、Wistarラットの雄では、舌の血管炎が高率に発生すると共に、病変の程度も同系の雌、F344ラット、B6C3F1マウスに比べ激しく、舌以外の臓器での発生も含めると、70%の動物が動脈炎をもっていた。一方、F344ラットでは、舌以外の臓器における動脈炎の発生は極めて少なく、舌が動脈炎発生の好発部位であることが示された。また、B6C3F1マウスでは、雄に比べ雌でやや動脈炎発生率が高い傾向にあったが、両性ともに低頻度の発生にとどまった。

以上、老齢のF344ラット、WistarラットおよびB6C3F1マウスの舌に発生する動脈炎について調査した結果、雄Wistarラットでは全身に発現する動脈炎の一部として舌も同時に侵されるものと考えられたが、F344ラットでは、舌の小動脈が主に侵されることが判明した。また、マウスでは、ラットに比べ発生頻度が低いものの、ラットと同様に舌動脈が動脈炎の好発部位の一つと考えられた。

P-2

ラットの巨核球 emperipolesis でみられる侵入好中球の apoptosis

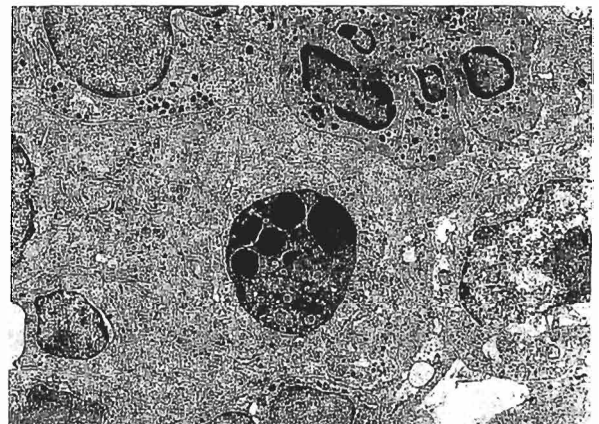
○ 田中雅治, 阿瀬善也 (小野薬品・福井安全研・毒性病理)

【はじめに】 Emperipolesis (EP) は一つの細胞が他の細胞内に貫入する現象を示し、侵入した細胞は破壊されることなく宿主細胞内で存在できるとされている。一方、我々は lipopolysaccharide (LPS) 投与ラットの骨髄において好中球を侵入細胞とした巨核球 EP を認め、光顕的に正常好中球の他に変性好中球も観察している。今回はこの変性好中球の特性を明らかにするため、LPS 投与によって誘発した巨核球 EP を超微形態学的ならびに細胞化学的に検索した。

【方法】 6週齢の SD 系雄性ラットに LPS 0.5mg/5ml/kg を 3日間静脈内に反復投与し、最終投与 24時間後に屠殺した。大腿骨骨髄を 10%緩衝ホルマリン液にて固定後、パラフィン切片を作製し、H-E 染色及び TUNEL 法による組織化学染色を実施して光顕的に観察した。また、一部を 3%グルタールアルデヒドと 1%オスミウム酸による二重固定後、エポキシ樹脂に包埋して、電顕的に観察した。

【結果】 LPS を投与したラットの骨髄では巨核球及び顆粒球の増加と巨核球 EP が高頻度に認められ、巨核球に侵入する細胞は分葉核好中球が大半であった。また、EP を伴った巨核球に変性等の異常所見は観察されなかったが、侵入好中球には変性したのもみられ、このような好中球の核は TUNEL 陽性であった。電顕的には成熟した巨核球の血小板分離膜 (PDM) に沿って好中球が存在し、正常な好中球が PDM を通過して毛細血管腔へ移動する像も観察された。また、侵入好中球の中には核クロマチンの凝集や apoptotic body の形成といった apoptosis の形態学的特徴を示す細胞がみられた。しかし、変性好中球周囲の PDM に変化はなく、phagolysosome の形成等も観察されなかった (Fig.1)。

【まとめ】 今回の結果から、侵入好中球の変性像は apoptosis であることが示唆された。さらに、巨核球に侵入した好中球には正常構造を保持したまま巨核球を通過して循環血中に入るものと巨核球内で apoptosis に陥るものとが認められた。これらのことは LPS 投与によって増加した骨髄内の好中球がある程度巨核球内で淘汰されている可能性を示唆するものである。(Fig.1)



P-3

カドミウムのラット静脈内投与による 肺内肺静脈泡沫細胞栓子の形成

○勝田 修¹・平塚秀明^{1,2}・土谷 稔¹・梅村孝司² (¹三菱化学安科研, ²鳥取大学)

〔緒言〕我々は卵巣摘出ラットの静脈内に塩化カドミウム(CdCl₂)を連日投与することで、イタイタイ病の病態モデルを作出した。この実験系では腎および骨病変が短期間で発現するが、同時に、肺では肺静脈壁に単球由来泡沫細胞の付着がおこることが判明した。今回はその病変を形態学的に検索し、若干の考察を加えたので報告する。

〔材料と方法〕CdCl₂の3.0および2.0mg/kg2週間投与、2.0および1.0mg/kg13週間投与、0.5および0.05mg/kg50週間投与、0.5mg/kg70週間投与の各試験に用いた卵巣摘出ラット合計98例の肺について光顕的に観察した(表1)。また一部の動物では、von Willebrand factor あるいはMetallothionein 等に対する免疫組織化学的検索、およびホルマリン固定あるいは新鮮材料からの電顕検索を行った。

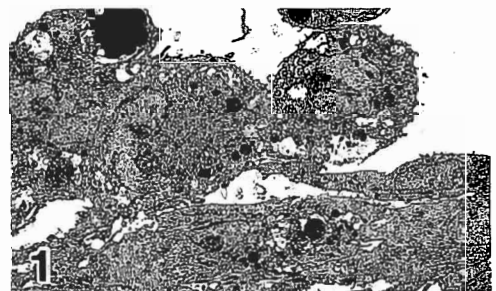
〔結果〕3.0mg/kg2週間投与ではしばしば単球の血管内皮への付着が認められたが、泡沫細胞の形態を呈しているものはなかった。マクロファージ/泡沫細胞の血管内皮への付着は、2.0mg/kg8週以降、1.0mg/kg13週、0.5mg/kg25週以降に認められ、投与が進むにつれて病像も進行していた。病変程度の激しい静脈では血管内皮の連続性が失われ、あたかも腫瘍細胞の血管内栓子をおぼせるように泡沫細胞が幾重にも集積しており、血管腔は狭小化していた。また、内皮下から中膜平滑筋層に浸潤した泡沫細胞によって粥状硬化の様相を呈する血管も認められた。さらに病変が進行すると血管周囲に好中球やリンパ球等の炎症性細胞が浸潤していた。電顕的には内皮細胞の基底膜からの剝離、脂肪空胞や高電子密度物質を含んだファゴソームを多数有するマクロファージの集簇(図1)、平滑筋細胞の変性等が認められた。気道や肺胞および動脈系に変化はなく肺以外の臓器内静脈や左心房にも光顕的に異常は認められなかった。なお、卵巣非摘出ラットを用いた2週間の追加試験でも、卵巣摘出ラットと同様に単球の血管内皮への付着が認められた。

〔考察〕本病変は粥状硬化の初期像に類似していたが、①病変が肺内肺静脈に限定している、②血管腔を閉塞するまでに泡沫細胞の集簇があるが内皮下への浸潤は比較的軽い、③平滑筋細胞の増生が軽いこと等が粥状硬化と異なる点であった。しかもこれまでの検討で、血中コレステロールやトリグリセライドに著変がないことが判っている。したがって、一連の実験で認められた泡沫細胞の集簇は、いわゆる動脈硬化とは異なるメカニズムによって発現したものと思われる。特に、高酸素分圧下にある肺静脈のみに発現していたことから、カドミウムを介した活性酸素の関与があるものと考えられる。

表1. マクロファージ/泡沫細胞の血管内皮への付着・浸潤発現頻度

CdCl ₂ *	1週	2週	4週	8週	13週	25週	50週	70週
3.0	0/5 [#]	0/5	-	4/8	6/8	-	-	-
2.0	-	-	0/8	4/8	4/8	-	-	-
0.5	-	-	-	-	0/8	3/8	4/8	4/6

* , mg/kg/day ; # , 発現例数/検査例数 ; - , 未検査



P-4

増生骨における骨髄様組織誘導の検討 -抗GM-CSF抗体を用いた経時的観察-

○足立民子、湯浅啓史、川合是彰（田辺製薬・安全研）

ラットの後肢遠位部に激しい炎症を惹起することによって脛骨骨幹端の周囲に骨組織が増生し、この骨組織は炎症消退後、破骨細胞によって吸収される。この場合、しばしば海綿状の骨組織が形成され、骨髄様の構造が存在することを昨年度の本学会において報告した。今回、この骨髄様の組織に注目し、顆粒球・マクロファージ増殖因子であるGM-CSFに対する抗体を用いて骨髄様組織の形成過程をマウスを用いて検討した。

【材料および方法】

6週齢のマウスの後肢遠位部の3箇所にてエタノール0.1mlを投与し、炎症を惹起させた。エタノール投与開始から1週間後より経時的にマウスを屠殺し、形成された骨の消退と出現する細胞について検討を行った。用いた抗マウスGM-CSF抗体はgenzyme社のMonoclonal Rat Anti-Mouse抗体を使用した。後肢はブアン液で1日間固定し、型のごとく脱灰してパラフィンに包埋した。

【結果】

抗マウスGM-CSFラット抗体の染色性は、正常な骨を含む後肢では骨髄内の単核多形細胞およびリンパ節内の単核円形細胞がGM-CSF抗体で陽性となった。また、投与後1週間および2週間に屠殺した動物では、上記以外に炎症部位の間質において単核類円形細胞、紡錘形細胞および血管内皮細胞が陽性となった。増生骨内の骨髄組織には陽性細胞はなかった。

P-5

Helicobacter pylori 感染スナネズミ胃の病理組織学的検討

○高木 司郎¹, 河下 伸¹, 内海 博之¹, 上村 裕洋¹, 堀添 宏¹, 竹内 正紀¹,
平山 文博², 池田 敬史² (吉富製薬, ¹安全研, ²創薬研)

【はじめに】

我々は*Helicobacter pylori* (以下Hpと略) をスナネズミの胃内に投与すると胃炎が発現することを報告した¹⁾。今回, Hpで発現した胃炎の病理組織像について詳細な検討を加えたので報告する。

【材料および方法】

7週齢の雄スナネズミ (MGS/Sea) 5匹に*H. pylori* ATCC43504株 2×10^8 CFU/匹を単回強制経口投与した。6週後にエーテル麻酔下に放血致死させて胃を摘出し, 冷カルノア液で約2時間固定した。固定後, 常法に従いパラフィン包埋し, HE, AB-PAS, およびgalactose oxidase cold thionin Schiff-paradoxical concanavalin A (GOCTS-PCS) の各染色ならびにHp免疫染色を行い, 鏡検した。また, 解剖の1時間前にBrdUの100mg/kgを腹腔内投与して, 細胞増殖動態についても検討した。

【結果】

肉眼的には, 幽門部から胃体部との境界付近の領域に粘膜の浮腫状肥厚と点状出血がみられた。組織学的には, 主に幽門部粘膜に表層性のびらん, 出血, 好中球およびリンパ球を主体とした間質細胞浸潤, ならびに粘膜固有層あるいは粘膜下織でのリンパ濾胞の形成がみられ, 粘膜は肥厚していた。病変部の粘膜上皮細胞には分裂像が多くみられ, BrdU陽性細胞も明らかに増加していた。粘液染色ではGOCTS陽性粘液の減少がみられた。幽門部に隣接した胃体部粘膜には, 上記の炎症性変化に加えて固有胃腺の消失とPCS陽性の偽幽門腺の出現ならびにGOCTS陽性粘液の増加を伴う被覆上皮の過形成がみられた。また, 粘液層あるいは被覆上皮に近接した部位にはHpの存在が確認された。

【まとめ】

Hp感染スナネズミの胃では, 幽門部から胃体部の一部に及ぶ領域にリンパ濾胞の形成を伴う炎症性変化がみられ, 胃体部では固有胃腺の消失も認められた。これらの変化は, ヒトでの, Hp感染によると考えられている組織像と極めて類似していた。

1) Hirayama F. et al. 第1回日本消化器*Helicobacter pylori* 研究会, 1995.

P-6

C3H↔BALB/cキメラマウス大腸腫瘍における性決定遺伝子(sex determining region Y gene ; Sry)の検索

○山本昌美、増井恒夫、深見博子、今井俊夫、小林潔、湯浅啓史、立松正衛
(愛知がんセ研・一病)

【はじめに】 一般に男性は女性に比べて同一臓器における癌発生率が高いことが知られている。また実験発癌においても感受性に著しい性差が認められる発癌物質が報告されている。この感受性の差がホルモンなどによるものか、XYを持つ細胞自らに依存しているのかを病理組織学的に検索するうえでXX↔XYのキメラマウスは非常に興味深い動物である。今回、C3H↔BALB/cキメラマウスを作成し、1,2-dimethylhydrazine (DMH)により誘導した大腸腫瘍を抗C3H系統特異抗体を用いて免疫組織化学的に検討した。さらにY染色体上の性決定遺伝子 (sex determining region Y gene ; Sry) をPCRにより同定し、そのCA (シトシン-アデニン) 繰り返し配列におけるC3HとBALB/cの相違 (Microsatellite DNA polymorphism) を指標として、大腸腫瘍細胞の系統および雌雄が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 (雄8匹、雌3匹)、C3H (雄20匹、雌20匹)、およびBALB/c (雄16匹、雌16匹) に7週令よりDMH 20mg/kg b.w.を週1回20週皮下投与し、投与開始後35週で屠殺した。大腸を10%緩衝ホルマリンで固定、パラフィン包埋、キメラマウス大腸は0.1Mリン酸緩衝液中で40℃20分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C3HおよびBALB/cのSry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によって誘発された大腸腫瘍の発生個数はC3H雄雌、およびBALB/c雄雌においてそれぞれ14.9, 4.6, 9.8, 5.7個であった。キメラマウスにおいてXX↔XYであると認められた3例は、いずれも雄性生殖器のみを有し、SryはC3Hが検出され、C3HがXY, BALB/cがXXの性染色体を持つと考えられた。それぞれの系統別腫瘍発生個数をキメラ率で割った修正腫瘍発生数はC3H(XY)が36.3個、BALB/c(XX)が15.0個であり同一個体中でXY細胞が腫瘍発生率が高い傾向が認められた。今後この手法を用いてさらに検索を進める予定である。

P-7

MNNG誘発ラット胃癌の腸上皮化生と細胞増殖

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

MNNG誘発ラット胃癌はヒト胃癌の実験的モデルとして知られている。誘発される多くの腫瘍は分化型の腺癌で、腫瘍細胞が産生する粘液あるいは腫瘍細胞の特性により胃型と腸型の形質に区別することができる。胃癌における腸型の形質としては、Galactose oxidase Schiff (GOS) 陰性、Sialidase-GOS 陽性の小腸杯細胞粘液や小腸の吸収上皮に存在する腸型アルカリホスファターゼ(I-ALP)の発現などがある。また、これらの陽性腫瘍細胞は形態的にも杯細胞や小腸吸収上皮細胞に類似している。今回、我々は胃癌組織に発現する腸型形質をもつ部分と通常の胃型の形質を持つ部分について、細胞増殖率を検討し比較したので報告する。

【材料および方法】

MNNGを100 µg/lの割合で混入した飲料水を7週齢の雄ラット70匹に30週間にわたって与え、その後20週間無処置で飼育した。試験期間終了後、動物を屠殺し、胃に発生した腫瘍について検索を行った。検索にあたっては、腸型形質を確認する目的でGOS染色、S-GOS染色、AB(2.5)/PAS染色および抗腸型アルカリホスファターゼ抗体を用いた免疫染色を施して観察した。また、細胞増殖を調べる目的で、抗PCNA抗体を用いた免疫染色も行った。個々の腫瘍組織について腸型形質を有する部分を同定し、腫瘍組織内における分葉状況に応じて増殖帯を定義し、その増殖帯に属する腺管のPCNA陽性細胞を測定した。胃型と腸型の腫瘍増殖率の比較は、固定状況によって抗原性が変動するため同一の腫瘍内で実施した。

【結果】

発生した腫瘍42例のうち、腸型形質を発現した腫瘍は22例であった。その全てが分化型の腺癌で、I-ALPおよび粘液は増殖帯から離れ、より分化した腫瘍細胞の増殖率の低い部分で発現した。同様に胃型の形質もその増殖帯から離れた部位で発現した。腸型および胃型のそれぞれの増殖帯とより分化した腺管部分の増殖率を比較した場合、腸型の形質を持つ腺管で高かった。胃癌の進展に伴い腸型細胞の出現率と占有率が増大すると報告してきたが、腫瘍細胞で増殖率が高いことはこれを支持する結果と考えられた。

P-8

MNUおよびDMHによるLECラットの大腸発がん感受性

○長根芳文, 北浦敬介, 泉 啓介 (徳島大・医・二病理)

〔目的〕 LECラットの発がん物質に対する感受性検討の一環として, N-methyl-N-nitrosourea (MNU), 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride (DMH) に対する大腸発がん感受性をF344ラットと比較した。

〔方法〕 7週齢の雄性LECラットおよびF344ラット (各21匹) に50mg/kgのMNU (in 0.1M citrate buffer, pH 6.0) を週1回, 計6回腹腔内投与し, 開始後24週で屠殺, 剖検した。また, 6週齢の雄性LECラットおよびF344ラット (各21匹) に40mg/kgのDMH (in 0.9% NaCl) を隔週に計3回皮下注射し, 開始後50週で屠殺した。

〔結果〕 肝障害で死亡したLECラットや死後変化の強いラットは除外した。MNU腹腔内投与によるLECラットおよびF344ラットの大腸癌の頻度はそれぞれ12/13 (92%, $P < 0.001$), 3/14 (21%), 平均個数は 5.6 ± 3.4 個 ($P < 0.001$), 0.2 ± 0.4 個であった。小腸癌の頻度はそれぞれ10/13 (77%), 9/14 (64%)であった。前胃乳頭腫の頻度はそれぞれ1/13 (8%), 6/14 (43%)であった。一方, DMH皮下注射によるLECラットおよびF344ラットの大腸癌の頻度はそれぞれ1/20 (5%), 4/21 (19%)であり, 両ラットともに小腸および胃腫瘍は見られなかった。

〔考察〕 MNU腹腔内投与の場合, LECラットでは大腸癌が, F344ラットでは前胃腫瘍や小腸癌が多く発生する傾向があった。DMH皮下注射による大腸癌の頻度は両ラットとも低く, さらに検討を要する。

P-9

フェノール系化合物によるラット前胃粘膜増殖性病変発生
に対する非ステロイド系抗炎症剤 (NSAID), Superoxide
dismutase(SOD) および Catalaseの影響

○星谷達^{1,2}、溝口靖基^{1,2}、中村厚^{1,2}、赤木圭介^{1,2}、山口裕子²、
白井智之¹、広瀬雅雄¹ (1: 名市大1病 2: ポゾリサーチ)

[目的] フェノール系化合物によるラット前胃発癌の機序を追究するための一環
として、フェノール系化合物にCyclooxygenaseの阻害剤であるアスピリン
およびインドメタシンなどのNSAIDや抗酸化酵素であるSOD、あるいは
Catalaseをそれぞれ同時に投与し、前胃粘膜増殖性病変発生に及ぼす影響を
検索した。

[方法] <実験1> 6週齢のF344系雄ラット60匹を用いた。

フェノール系化合物として2%BHA, 2%4-methoxyphenol(4-MP),
2%Caffeic acid(CA)の混餌飼料を用い、それらにNSAIDとして0.005%
Indomethacin(IM) あるいは0.5%Aspirin(Asp)を同時に混餌投与した群
およびそれぞれの単独投与群を設けた。

<実験2> 9週齢のF344系雄ラット60匹を用いた。

フェノール系化合物としては、実験1と同一のものを用い、150000U/kg
体重のSODあるいは9000U/kg体重のCatalaseを毎日腹腔内投与で同時に
投与した群およびそれぞれの単独投与群を設けた。

動物は実験1および2ともに投与2週間後にエーテル麻酔下で放血致死させ、
前胃の病理組織学的検索を行い、前胃粘膜上皮の厚さ、およびBrdU標識率を
計測した。

[結果] 4-MP単独投与群では実験1・2とも全例に、びらんおよび潰瘍が発生
したが、IM, Asp およびSODとの同時投与により、その発生率はそれぞれ0%、
20% あるいは0%と明らかに抑制され、さらに上皮の厚さも4-MP単独投与群
に比して1/2~1/3程度に減少した。一方、CA投与群ではIMとの同時投与群
でのみ、潰瘍の発生頻度や粘膜の厚さが減少し、BHA投与群ではIMあるいは
Asp同時投与群で、粘膜の厚さの減少傾向が見られた程度にすぎなかった。

また、Catalaseを同時に投与した群では、いずれのフェノール系化合物にも
影響を示さなかった。

[結論] 4-MPによるラット前胃病変発生はCyclooxygenaseを介した活性酸素
の影響が強く示唆されたが、BHA, Caffeic acidでは、前胃病変の発生に
Cyclooxygenaseのみでない他の機序も考慮する必要があると考えられた。

P-10

カテコールおよび4-メチルカテコールの長期投与ラットに観察された胃の非上皮性悪性腫瘍の病理組織学的検討

○萩原昭裕^{1,2}、佐野真士^{1,2}、小久保百合子^{1,2}、
田中 光^{1,2}、広瀬雅雄²、白井智之²
(¹ 大雄会医科学研究所、² 名市大・医・1 病理)

【目的】自然環境中に存在するフェノール系酸化防止剤であるカテコール(CC)および4-メチルカテコール(4-MC)は、ラットの腺胃に対して発癌性を示す。CCおよび4-MCのラットにおける長期投与実験において、胃の幽門腺部における腺腫および腺癌の発生に加えて低頻度ながら非上皮性悪性腫瘍の発生を認めている。今回、これらの腫瘍の組織起源を明らかにする目的で病理学的に検討した。

【方法】F344系またはWistar, Lewis, WKY, SD系ラットでのCC投与あるいはF344系ラットでの4-MC投与の計4つの2年間混餌投与実験において観察された胃の非上皮性悪性腫瘍の10% 緩衝ホルマリン固定標本を用いて病理組織学的、免疫組織化学的、および電顕的に検討した。

【結果】胃の非上皮性悪性腫瘍の発生頻度は、F344ラット雄におけるCC投与では0.8%群 4/55, 0.4% 群 1/25, 0.2% および0.1%群 0/25, 0.0% 群 1/55, Wistar およびLewis ラットの0.8%群ではそれぞれ2/20, WKY およびSDラットでは0/20であった。また、F344ラットにおける2% 4-MC投与では雌雄とも3/30であった。病理組織学的に、腫瘍は胃の幽門腺部の粘膜固有層～漿膜に渡り紡錘形～多形性の細胞の増殖を示した。また、部分的に細胞境界の明瞭な円形ないし類円形で、胞体の明るい細胞の増殖を示す部も見られた。個々の腫瘍細胞は嗜銀線維で囲まれていた。免疫組織化学的に、vimentin, muscle actinが陽性、keratin, NSE, chromogranin A, S-100は陰性であった。電顕的には、細胞質内にfilamentous componentsが見られた。

【結論】以上、これらの腫瘍は平滑筋肉腫と診断されたが、部分像として平滑筋芽細胞腫を認める例もあった。また、本腫瘍は胃の幽門腺部に発生し、また用量との相関を示すことよりCCおよび4-MCにより誘発されたものと考えられた。

P-11

ラットMNNG誘発胃発癌におけるオルニチン 脱炭酸酵素阻害剤の影響

○田中丸善洋¹、西川秋佳¹、古川文夫¹、池崎信一郎¹、金亨津¹、今沢孝喜¹、
田中卓二²、高橋道人¹（¹国立衛試・病理、²岐阜大・医・1病理）

【はじめに】オルニチン脱炭酸酵素(ODC)はポリアミン代謝における律速酵素の一つであり、細胞増殖活性を反映するとされている。ODCの阻害剤である α -difluoromethylornithine(DFMO)は、化学物質誘発による肝臓、大腸、舌などの腫瘍発生を抑制することが知られている。今回、ラット胃二段階発癌モデルを用いて、ポストイニシエーション期におけるDFMOの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90匹を6群に分け、第1から3群の各20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NaCl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および2群には、2000ppmおよび500ppmのDFMO混餌食を70週間投与し、第3群には基礎食のみを与えた。第4および5群の各10匹にはイニシエーション処置をせずにそれぞれ第1および2群の対照とし、第6群の10匹は無処置対照群とした。実験開始から78週後に生存動物を屠殺・剖検し、胃の増殖性病変を中心に病理組織学的に検索した。

【結果】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、その後のDFMO投与による差はみられなかった。また、各群間における摂餌量および臓器重量に顕著な差はなかった。腺胃における増殖性病変はイニシエーション処置群でのみみられ、異型的粘膜上皮過形成と腺癌に分類された。異型的粘膜上皮過形成の発生頻度は第1から3群でそれぞれ78.9%、88.2%、77.8%で、多発性（ラット1匹当たりの病変数）はそれぞれ1.95、1.88、2.06であった。また、腺癌の発生頻度は第1から3群でそれぞれ36.8%、52.9%、38.9%で、多発性はそれぞれ0.37、0.53、0.39であり、いずれも群間において差は認められなかった。その他の臓器における腫瘍発生においても差はなかった。

【まとめ】ラット胃二段階発癌モデルのポストイニシエーション期において、DFMOは明らかな抑制効果を示さなかった。しかし、今回の実験ではDFMOと同時に胃発癌プロモーターが投与されていないので、それらの併用投与による影響をさらに検索する必要がある。

ラット腺胃腺癌における組織形態像と PCNA・AgNORs
二重染色による細胞増殖活性の比較検討

○林 修次¹, 古川文夫², 森村圭一郎¹, 高橋道人²,
福島昭治¹ (¹大阪市大・医・1 病理, ²国立衛試・病理)

【はじめに】これまでヒトおよびラットの癌の組織学的悪性度と AgNORs の形態学的定量解析により、AgNORs が組織学的異型度に相関しており、また AgNORs の不整形化は増殖活性とも相関していることを報告した。今回、ラット腺胃腺癌における組織形態像と細胞増殖活性について、PCNA および AgNORs の二重染色を施し、比較検討した。

【実験方法】雄性 Wistar ラットに *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitro-soguanidine (MNNG) で誘発した胃幽門腺癌を病理組織学的に被覆上皮細胞型、幽門腺細胞型および未分化細胞型に分類し、その連続標本を用いて PCNA・AgNORs 二重染色を行い、PCNA 陽性率、AgNORs の核当たりのドット数、不整形 AgNORs ドットの出現頻度を顕微鏡下でカウントした。さらに、代表例について画像解析システム (IPAP;住友) にて AgNORs の円形度、面積などを定量的に解析した。

【結果】未分化細胞型では幽門腺細胞型および被覆細胞型に比較して、PCNA 陽性率および不整形 AgNORs ドットの出現頻度は高率で、AgNORs の核当たりのドット数は高値であった。また、画像解析システムによる定量的解析では AgNORs の円形度は低く、AgNORs の面積は大きかった。被覆細胞型では幽門腺細胞型に比較して、不整形 AgNORs ドットの出現頻度および PCNA 陽性率は高率であった。幽門腺細胞型では未分化細胞型および被覆細胞型に比較し、AgNORs の核当たりのドット数および AgNORs の円形度のバラツキが少ない傾向がみられた。

【結論および考察】細胞増殖活性の観点から胃幽門腺癌において、未分化細胞型が最も高い増殖活性を示し、次いで被覆細胞型、幽門腺細胞型の順であり、異型度においては幽門腺細胞型が比較的弱いことが確認された。以上、これらは固有の胃粘膜上皮細胞における生理的な増殖動態を反映しているものと考えられた。

P-13

Modifying Effects of The Chelidoni Herba Extract on a Rat Stomach Carcinogenesis Induced by *N*-Methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine

○Dae Joong KIM,¹ Beob Yi LEE,² Beom Seok HAN,² Byeongwoo AHN,² Seok Min HONG,² Kwang Sik CHOI,² Jin Man KIM¹ and Hiroyuki TSUDA¹ (¹Chemother. Div., Natl. Cancer Center. Res. Inst ²Dept. of Pathol., Natl. Inst. Safety Res., Korea)

The modifying effects of the Chelidoni herba extract (*Chelidonium major L.*), which have been prescribed in the traditional herb medicine as an analgesics of the stomach and duodenal ulcer patients, on the forestomach and glandular stomach carcinogenesis in rats initiated by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) were examined. Seventy-six male 6-week-old Wistar rats were given a twice intragastric injection of MNNG (200mg/kg b.w.) for two weeks. The animals of groups 1, 2, and 3 were given saturated sodium chloride (NaCl) solution (1ml/rat) by intragastric injection twice a week for 3 weeks from week 1. The animals of groups 1 and 2 were placed on basal diet containing 0.1% and 0.2% the Chelidoni herba (CH) extract for 16 weeks from week 4. The animals of groups 3 and 4 were placed on basal diet instead of the diet containing Chelidoni herba extract for the same periods. All rats were fasted for 24 h prior to sacrifice at the end of week 20 of the experiment. The forestomach was fixed in 10% formalin for histological examination and the pyloric gland was fixed in sublimated formalin for the immunohistochemical demonstration of preneoplastic pepsinogen 1 altered pyloric gland (PAPG). The final body weight of MNNG+NaCl+CH groups (groups 1 and 2) were not significant. The relative kidney weights were significantly decreased compared with those of the MNNG+NaCl group ($P < 0.05$ or 0.01). The incidence and the number of PAPG of the MNNG+NaCl+CH groups (0.1 or 0.2%) were not significant. The incidences of neoplastic lesions (SCC) of forestomach in the MNNG+NaCl+CH groups were increased in the high dosed group, but not significant. The results suggest that the Chelidoni herba extract do not exert any modifying effects on a rat stomach carcinogenesis induced by MNNG.

Key words: *Chelidonium major L.*, MNNG, Stomach carcinogenesis, pepsinogen 1 altered pyloric gland (PAPG).

P-14

ラット MNNG 誘発胃癌発生における魚粉および亜硝酸の影響

○古川文夫・西川秋佳・池崎信一郎・今沢孝喜・田中丸善洋・金亨津・高橋道人
(国立衛生試験所・病理部)

【はじめに】

F344 ラットに2年間にわたり高濃度の魚粉と亜硝酸を同時投与すると、腎腫瘍が発生することを第56回日本癌学会(1995)において報告した。一方、胃には腫瘍の発生を認めなかったが、糜爛、潰瘍、胃底腺の拡張、幽門腺の萎縮など多くの非腫瘍性病変がみられた。両者の併用投与がプロモーション作用を有するか否か検討する可能性が示唆された。

今回、*N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine(MNNG)によるラット胃二段階発癌モデルを用い、プロモーション時期に魚粉と亜硝酸を同時に投与して、腫瘍発生における影響を検討した。

【実験材料および方法】

6週齢雄 Wistar ラット 120 匹を用い、1 から 3 群 (各 30 匹) にはイニシエーション処置として 100 ppm MNNG を飲水中に混じ、また 10% NaCl 添加飼料を同時期に 8 週間与えた。4 から 6 群 (各群 10 匹) はイニシエーション処置を行わず、水道水のみを与えた。その後、全群に 0.12% 亜硝酸ナトリウム水溶液を与え、更に 1 および 4 群には 64% 魚粉添加飼料、2 および 5 群には 32% 魚粉添加飼料、3 および 6 群には 8% 魚粉添加飼料 (通常食) を 52 週間与えた。60 週後に生存動物を屠殺・剖検し、胃を中心に病理組織学的検索を行った。

【結果】

体重は 3 群および 6 群に比し、それぞれ 1 群と 4 群で増加抑制がみられた。胃の増殖性病変を異型的粘膜上皮過形成、腺腫、腺癌に分類したが、発生率および多発性において各群間に有意差は認めなかった。しかし、異型的粘膜上皮過形成は 3 群に比し、1 群で増加傾向を示した。一方、小腸の腺癌は 3 群に比し、1 群および 2 群で有意に減少した。また 3 群に比し、肝細胞小増殖巣が 2 群で、胆管腺腫が 1 群で、精巣の間細胞腫が 2 群で有意に増加した。

【まとめ】

ラット胃二段階発癌モデルにおいて、亜硝酸と高濃度の魚粉の同時投与によるプロモーション作用は認められなかった。一方、小腸腫瘍に対してはむしろ抑制的に作用した。

P-15

長期毒性試験に用いたF344ラットに観察される 十二指腸粘膜上皮増生

○山川誠己，高木留美子，松木由加，山本慎二，三上真一，岩田 聖，廣内康彦，小林和雄
榎本 眞 （安評センター）

【はじめに】F344ラットの自然発生性の十二指腸粘膜の増生は，腫瘍，潰瘍，糜爛などの病変に伴う反応性病変としてしばしば観察される。今回我々は十二指腸粘膜の増生が上述の十二指腸病変等に関係なく，衰弱した個体に特異的に発生する例を認めたので報告する。

【材料と方法】当センターで実施された2年間長期毒性試験3試験で使用されたF344/Ducrjラット（雄1,380，雌1,380）について検索を行なった。検索対象とした試験は，試験の結果からそれぞれ遺伝毒性発癌物質，マウスの肝臓で腫瘍性病変の増加を示した物質，非発癌性物質でラットの胆汁排泄機能に障害を示す物質であることが判明している。なお，死亡動物で十二指腸が自己融解している例については検索の対象外とした。

【結果】十二指腸粘膜の増生が観察された個体は，3試験合計して雄17例，雌8例であった。粘膜増生が観察された動物のうち雄は計画屠殺動物が1例，切迫屠殺動物が16例，雌は計画屠殺動物が1例，切迫屠殺動物が6例，死亡動物が1例であった。雌の計画屠殺動物の1例は十二指腸に腺腫を認めたが，他の動物については炎症，糜爛，潰瘍あるいは腫瘍性病変などの粘膜増生の原因と成り得る病変は観察されなかった。肉眼的に十二指腸は軽度に拡張し，組織学的には絨毛の数および丈が増加し，粘膜および筋層が瀰漫性に肥厚していた。また，十二指腸粘膜の比較的高度な例では同変化が回腸にまで及んでいた。十二指腸粘膜増生以外には各個体に共通する肉眼および組織所見はなかった。なお，十二指腸粘膜増生とそれぞれの投与物質との間に関連性はなく，被検物質の十二指腸上皮増生に対する影響は否定された。

【考察とまとめ】この十二指腸粘膜の増生の特徴は，本病変を認める個体が計画屠殺の雌の1例を除いてすべて衰弱した動物であり，粘膜増生を誘発する病変もなく，十二指腸以外に各個体に共通した病変が認められない点である。この十二指腸粘膜の増生を認めた動物は全例が低体重を示しており，切迫屠殺動物の中でも特に体重減少の著しい個体に集中して観察された。また，本病変は肉眼的に軽度の拡張を認めたこと，組織学的に筋層の肥厚を伴うことから，1. 動物の衰弱に起因する十二指腸運動の低下 2. 十二指腸腔内のガスの鬱滞および拡張 3. ガスの貯留及び拡張による持続的な機械的刺激 4. 反応性の上皮増生および筋層の肥厚，という系統的な病理発生が考えられた。このことは，被験物質投与群で十二指腸粘膜増生が増加した場合，その毒性評価を行なう際に本病変とその動物の臨床症状，体重，転機との関連性および組織学的に十二指腸筋層の肥厚などを考慮する必要があることを示している。

P-16

F 3 4 4 ラット, B 6 C 3 F₁マウスの腺胃に観察された腫瘍性病変の比較検討

○三上真一, 高木留美子, 松木由加, 山本慎二, 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】

ラット, マウスの実験動物において自然発生する腺胃の腫瘍性病変は極めて希である. そこで, 今回我々は当センターでこれまで実施してきた長期毒性試験の背景病変の中から特にヒトへの外挿と云う点で腺胃の腫瘍性病変に注目しラット, マウスそれぞれについて病理組織学的検索を行い比較検討を試みた.

【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のラット24試験(雄:4, 650例 雌:5, 050例)およびマウス27試験(雄:5, 200例 雌:5, 600例)中に観察された腺胃の腫瘍性病変(自然発生病変, 誘発性病変)を集積した. なお, 被験物質投与群に認められた症例では被験物質による影響が胃に無く, さらに被験物質が遺伝毒性発癌物質では無いことを確認したのものについてはその発生率中極めて低い点から自然発生性病変と考えた. F 3 4 4 / DuCrjラットおよびB 6 C 3 F₁ (C57BL/6×C3H)マウスを実験71週から104週で計画屠殺あるいは切迫屠殺した. 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ホルマリン固定後パラフィン包埋しH. E染色を施した. また, 必要に応じ特殊染色, 免疫染色を行ない診断の参考とした.

【結果】

ラットではシュワン細胞腫1例(雌), 平滑筋腫1例(雄), 平滑筋肉腫2例(雌雄各1例), 線維肉腫3例(雄2例, 雌1例), 悪性カルチノイド1例(雌)が自然発生した. なお, これらの他, 胃に作用する被験物質(H2ブロッカー)の投与によると考えられるカルチノイドが雌1例に発生した.

マウスでは腺腫1例(雄), 腺癌3例(雄2例, 雌1例), 組織球肉腫1例(雄), 悪性カルチノイド2例(雄)が自然発生した. この他, 雌に腺腫1例, 雄に腺癌2例が遺伝毒性発癌物質投与の高用量群に発生し, 雄の腺癌1例が胃に作用する被験物質(プロトンポンプ阻害剤)の投与例に観察された.

【考察】

ラット, マウスいずれにおいても腺胃腫瘍の発生率は0.018%および0.086%と極めて低かった. 自然発生性腫瘍はラットでは非上皮性腫瘍, マウスでは上皮性腫瘍の発生が主体であったがカルチノイドはいずれにも観察された. また, マウスでは雄に多く発生する傾向が見られた.

マウスで見られた上皮性腫瘍のうち発生部位では幽門部付近が4/8例, 胃体部および前胃との境界部がそれぞれ2例ずつであった. 自然発生性と誘発性との発生部位での比較では特に変化は認められなかった. なお, ヒトでは胃腫瘍の殆どは上皮性腫瘍であり全悪性腫瘍中非上皮性の腫瘍は1.4%を占めるにすぎない(1). 腺胃腫瘍については, マウスの方がヒトに近い自然発生を示したが化学物質による誘発性腫瘍では, ニトロソグアニジンなどで上皮性腫瘍はラットでも報告されている.

(1) 全国胃がん登録調査報告. 第32号, 胃癌研究会, 1992.

P-17

ラット卵黄感作性肝線維症モデルにおける病理組織学的検討 —伊東細胞の変化—

○城田真理子 田中俊光 佐伯和子 後藤鋼星 関谷久美子 小林孝好
ヘキストジャパン開発研究所

【目的】

ヒト肝線維症あるいは実験的肝線維症において、伊東細胞の筋線維芽細胞化（活性化）と肝線維化との関連が示唆されている。そこで今回、免疫反応により線維化が惹起されると考えられる、卵黄感作性肝線維症モデルにおける活性化された伊東細胞の変化を検討したので報告する。

【方法】

7週齢雄性SDラットに生理食塩水で2.5倍に希釈した鶏卵黄液20ml/kgを週3回尾静脈内投与した。投与開始3週間後に剖検し肝臓を摘出、光顕的(HE、Mallory染色)及び電顕的に観察し、また、筋線維芽細胞の一指標である α Smooth Muscle Actin (α SMA)の局在を免疫組織化学的に検索した。対照は無処置動物とした。

【結果】

無処置動物の肝臓では、 α SMAの局在は、中心静脈、グリソン鞘の血管壁平滑筋細胞、胆管壁に認められた。電顕的に、伊東細胞は紡錘形を呈し、細胞質に脂肪滴、粗面小胞体、Golgi装置が目立った。

卵黄投与動物の線維化がみられた肝臓では、 α SMAの免疫染色性は、小葉内に伸展する細い線維や、形成された幅の薄い線維性隔壁に強くみられたが、厚い隔壁では周囲部で強く内部では弱かった。電顕的観察では、線維の伸展部に認められた長い紡錘形の細胞は、周囲にコラーゲンが観察され、細胞質突起をコラーゲンが増生した類洞に沿って不規則に伸展し、また細胞質には脂肪滴、拡張した粗面小胞体を有し、核の伸展や核縁の不整化なども認められた。

また、本モデルの線維化は、主として中心静脈から線維が伸展し、中心静脈—中心静脈間、中心静脈—門脈域間、門脈域—門脈域間の順に連結して偽小葉を形成し、更に小葉を細分していくと考えられた。しかしながら、肝細胞の変化は、線維に沿って単細胞壊死が軽度のみであった。

【まとめ】

肝細胞の変化をほとんど伴わずに主に中心静脈周囲から線維が伸展する本モデルにおいて、コラーゲンが増生した線維の伸展部に認められた紡錘形の細胞は、筋線維芽細胞化マーカーである α SMAの局在及び形態的特徴から筋線維芽細胞化した伊東細胞と考えられた。

以上より、卵黄感作性肝線維症モデルにおいても、 CCl_4 投与及び豚血清感作性肝線維症モデルで報告されているように、線維増生と筋線維芽細胞化伊東細胞の関連性が強く示唆された。

P-18

LECラットにおける脂質過酸化生成物4-hydroxynonenalの局在

○西川秋佳¹、古川文夫¹、田中丸善洋¹、池崎信一郎¹、金亨津¹、内田浩二²、豊國伸哉³、北浦敬介⁴、泉啓介⁴、高橋道人¹（¹国立衛試・病理、²名大・食品機能化学、³京大・病理、⁴徳島大・病理）

【はじめに】

我々はこれまで、四塩化炭素を強制経口投与したラットの肝臓において、脂質過酸化の最終生成物の一つ、4-hydroxynonenal(HNE)が短時間に出現し消失することを免疫組織化学的に明らかにしてきた。LECラットは銅の代謝異常を示し、肝炎後に肝細胞癌や腎細胞癌を自然発症することが知られており、その発癌機構として脂質過酸化の関与が示唆されている。今回、肝炎発症前後のLECラットの肝臓および腎臓を用いて、HNE修飾蛋白を免疫組織化学的に検索した。

【材料および方法】

6週齢および37週齢の無処置の雄性LECラットを剖検し、速やかに肝臓および腎臓を摘出した。採取後、各臓器はメタノールカルノア液などに固定後、パラフィン包埋し、連続切片についてH-E染色により病理組織学的に検索するとともに、各週齢の肝臓および腎臓におけるHNE修飾蛋白の局在を、抗HNE/KLH抗体を用いてABC法により免疫組織化学的に検討した。

【結果】

6週齢における肝臓は、明らかな肝炎の所見はなく、腎臓にも顕著な変化を認めなかった。免疫組織化学的に、肝臓にはHNEの陽性細胞が僅かに散見されたが、この所見はほぼ同週齢のF344ラットにおけるものと同様であった。一方、腎臓には陽性所見はみられなかった。

37週齢における肝臓は、肝炎遷延期の変化を示し、肝実質は免疫組織化学的にHNEがほぼびまん性に染色された。HNEは肝細胞質内に存在し、小葉中心部を中心に小葉辺縁部のごく近傍の肝細胞まで強く染色された。さらに、肝炎所見を伴わない肝細胞にも明らかな陽性像が観察された。腎臓には顕著な変化を認めなかったが、尿細管上皮細胞のHNE陽性巣が軽度ではあるが散見された。

【まとめ】

四塩化炭素を投与したラット肝と同様に、LECラットの肝臓および腎臓でも脂質過酸化産物HNEが細胞質内に生成することが明らかにされた。HNEはDNAとも反応し、1, N²-propanodeoxyguanosineなどの特殊な付加体を形成することが知られており、LECラットにおける発癌機構へのHNEの関与が示唆される。

P-19

Sodium phenobarbitalの肝発癌プロモーション作用とCYP誘導の用量相関性

○松田 勉¹、北野光昭¹、萩原昭裕³、谷山哲秀¹、船江良彦²、白井智之³、福島昭治¹ (1大阪市大・医・1病理、2化学、3名市大・医・1病理)

〔目的〕肝中期発癌性試験法を用いてsodium phenobarbital (PB)のラット肝発癌プロモーション作用と肝組織中におけるCYP誘導との関連性を検討した。

〔方法〕6週齢のF344系雄ラットを用い、実験開始時にdiethyl-nitrosamine(DEN)を200mg/kg体重の濃度にて1回腹腔内投与し、2週経過後よりPBを0、7.5、15、30、60、125、250および500ppm (実験1) または0、1、2、4、7.5、15、500ppm (実験2) の濃度で6週間混餌投与した。全群3週経過後に2/3肝部分切除を行い、8週経過後に屠殺剖検した。各群の肝に発生した胎盤型glutathione S-transferase (GST-P)陽性細胞巢の単位面積あたりの個数および面積を、画像処理装置を用いて測定し、対照群と比較検討した。また、ラット肝におけるCYPの誘導を免疫組織化学的に、およびWestern blot法にて検索した。

〔結果〕肝におけるGST-P陽性細胞巢の定量的解析値では、125ppm以上の群で有意な増加を、60ppm群で増加傾向を認めた。肝組織中におけるCYP 2B1、2C6、3A2蛋白発現量では60ppm以上の用量で有意な増加を認めた。一方、PBの低用量投与実験 (実験2) においてGST-P陽性細胞巢の定量値は、7.5ppm以下で減少傾向を示し、特に1および2ppm群で有意な減少を観察した。また、PBの15ppm以下の用量ではCYP 3A2蛋白発現量の減少が認められた。しかし、CYP 2C6では変化は見られず、2B1では検出できなかった。

〔結論〕PBの肝発癌プロモーション作用は、60ppm以上で用量相関性に発現し、CYP 2B1、2C6、3A2蛋白の発現誘導と相関していた。しかし、低用量では、逆に肝発癌抑制作用を示し、GST-P陽性細胞巢の定量値とCYP 3A2蛋白発現量との間に相関性を認めた。このことよりCYP 3A2がPBの肝発癌プロモーション作用に関連していることが明らかになった。

P-20

ラット肝発癌過程におけるHGFおよびc-met mRNAの発現および分布

○今井俊夫^{1,2}、増井恒夫¹、稲田健一¹、山本昌美¹、中野渡純一²、本岡覚²、立松正衛¹ (¹愛知がんセ・研・1病、²エーザイ(株)安全研)

昨年の本学会において、DEN および 2-acetyl-aminofluorene (2-AAF)、2/3肝部分切除 (PH) によるラット肝発癌モデルによる glutathione-S-transferase-P form (GST-P) 陽性結節の発育に伴い、肝細胞増殖因子 (HGF) mRNA が持続的に発現することを報告した。今回 GST-P 陽性結節の発育との関連のもとに、HGF の受容体である c-met mRNA レベルならびに免疫組織化学および *in situ* hybridization 法 (ISH) による HGF 産生細胞の分布の検索を加え、HGF ならびに c-met のラット肝発癌におよぼす影響を検討した。材料および方法：動物；7週齢 F344 雄ラット113匹を使用した。実験群；1群-DEN200mg/kg b.w. 腹腔内投与2週後より150ppm2-AAF混餌投与を6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2週間とし、1群と同様の処置を行った。3群-DEN投与およびPHを1群と同様に行った。4群-2-AAF投与およびPHを1群と同様に行った。5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染色を行い、 ϕ 0.2mm以上のGST-P陽性細胞巢の数および面積を画像解析装置により測定した。HGF産生細胞の分布は免疫組織化学およびISHにより検索した。HGFおよびc-met mRNAレベルの測定；ジゴキシゲン標識ラットHGFおよびc-met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；oval cellの増生；PH1週後に1群、2群および4群においてoval cellの増生が認められた。GST-P陽性結節の発育；PH1週後に1群および2群においてGST-P陽性結節の数が著明に増加した。その後1群においては面積が経時的に増加した。2群においてはPH3週後までは1群と同様に発育したが、PH5週後では1群と比較して有意な($p < 0.01$)発育の抑制がみられた。HGF産生細胞の分布；1群および2群のGST-P陽性結節においてHGF産生細胞は殆ど認められず、周囲正常肝細胞およびoval cell増生域にしばしば密な分布が観察された。肝におけるHGF mRNAレベル；1群および2群においてはPH前より既に有意に($p < 0.01$)上昇し、PH直後でピークに達した。2-AAF投与期間中は高値を維持したが、投与中止と共に急速に低下した。4群においてはPH1週後において高値を示した。肝におけるc-met mRNAレベル；1群、2群および4群においてPH1週後に高値を示し、2群においてはその後も高値を維持した。

まとめ：GST-P陽性結節の発育と肝HGFおよびc-met mRNAレベルの変動には関連は認められず、正常肝細胞の2-AAFによる増殖抑制期およびoval cellの増生期においてHGFおよびc-met mRNAレベルは高値を示した。HGF産生細胞はHGF mRNAレベルの変動を支持する分布形態を示した。

結論：HGFおよびc-metはラット肝発癌過程に直接関与せず、正常肝細胞およびoval cellの増殖に関与していることが示唆された。

P-21

Non-RI PCR-SSCP法を用いたB6C3F₁マウス 肝組織のHa-ras遺伝子の検索(2) —肝細胞腫瘍性病変について—

○飯田麻里, 岩田 聖, 榎本 眞 (安評センター)

(はじめに)

我々は, 前回の本学会において, B6C3F₁マウスの凍結肝組織からNon-RI PCR-SSCP法を用いてHa-ras遺伝子の変異が簡便に検索できることや, 同法による自然発生性腫瘍組織と正常組織についての検索結果を報告した. 今回は, パラフィン包埋材料からの抽出方法の検討と, B6C3F₁マウスを用いて行われた2年間発癌試験のパラフィン包埋材料から, 自然発生性肝腫瘍と誘発性肝腫瘍におけるHa-ras遺伝子(codon61)の変異を比較検討したので報告する.

(材料と方法)

当センターでB6C3F₁マウスを用いて行われた2年間発癌試験の中から対照群に発生した肝腫瘍を自然発生性肝腫瘍として, また被験物質投与群に有意に増加した肝腫瘍を誘発性肝腫瘍として検索した. なお, 誘発性肝腫瘍についてはAmes試験法による変異原性の有無により分類した.

—DNA抽出— パラフィンブロックより6-8 μ mの厚さで薄切標本を2-3枚作製し, 脱パラ後, 正常部あるいは鏡検により確認された病変部を替刃メスで削り落とし, 1.5mlチューブに移した. サンプルチューブ内にInstagene(Bio-Lad)を200 μ lとprotenaseK(200 μ g/ml BOEHRINGER MANNHEIM)を加えVortexをかけた後, 55 $^{\circ}$ Cで1時間加熱した. その後8分間沸騰水中で加熱し, 15000rpm, 5分間遠心分離させ上清の7 μ lをDNA抽出液とした.

—PCR-SSCP法— PCRの条件は, 熱変性(94 $^{\circ}$ C 30sec), アニーリング(55 $^{\circ}$ C 1min), DNA鎖伸長(72 $^{\circ}$ C 30sec)を1サイクルとし, 38サイクル繰り返してHa-ras codon61を含む116bpを増幅させた. 増幅されたDNA断片を Phast System(Pharmacia)により300V, 15mA, 2.5W, 4 $^{\circ}$ Cの条件下でSSCP解析した.

(結果と考察)

自然発生性肝腫瘍は当センターにおいて試験26週で1例(腺腫), 52週で5例(腺腫)みられたが, その内 Ha-ras codon 61の変異率は, それぞれ100%(1/1), 60%(3/5)であった. 自然発生性肝腫瘍では早い時期から既にHa-ras遺伝子の変異が起こっていることが示唆された. 一方26週, 52週の正常組織からHa-ras遺伝子の変異は認められなかった. 前回の成績と合わせると正常組織において加齢性に伴うHa-ras遺伝子の変異率は78週以前には低いものと考えられた. なお試験104週での自然発生性肝腫瘍の変異率は44%, 正常組織では5.1%であった.

誘発性肝腫瘍のうちAmes試験陽性の被験物質Xを投与して発生した肝細胞腫瘍性病変のHa-ras遺伝子の変異率は肝細胞癌:33.3%(5/15), 肝細胞腺種:23.1%(3/13), 肝細胞増生巣:42.9%(6/14)であった. 一方, Ames試験陰性の被験物質Yを投与して発生した肝細胞腫瘍性病変のHa-ras遺伝子の変異率は肝細胞癌:13.3%(2/15), 肝細胞腺種:6.7%(1/15), 肝細胞増生巣:6.7%(1/15)であった. 両者を比較するとAmes試験陽性の誘発性肝腫瘍の方がAmes試験陰性の誘発性肝腫瘍よりもHa-ras遺伝子の変異率が高いことが明らかとなった. 現在, 他の誘発性肝腫瘍についても同様にHa-ras遺伝子の変異を検索中である. なお, 変異は自然発生性腫瘍, 誘発性腫瘍いずれの腫瘍においてもCAA \rightarrow AAAがもっとも多く次いでCAA \rightarrow CGAであった.

研究協力者: 相村春彦 (浜松医大第一病理)

P-22

ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食により肝に誘発される早期の変化

○安藤信明, 中江 大, 小林洋三, 小林永策, 遠藤武弘, 赤井弘幸, 辻内俊文, 傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

既知の発癌物質を含まない CDAA 食は, Fischer 344 系雄 ラットに投与すると, 酸化性ストレスの関与する内因性機序により, 12週で肝に前癌病変を, 52週で肝硬変を伴う肝細胞癌を, いずれも 100% の頻度で発生せしめる。近年, 内因性発癌は, 外因性のものと同様に重要であると指摘されているが, その機序の詳細は明らかでない。本研究は, 内因性発癌機構解明に資する情報を得る目的で CDAA 食により誘発される肝の早期の組織学的変化を解析した。

実験は, 6 週齢の Fischer 344 系雄 ラットを 2群各 45 匹を用い, それぞれ CDAA 食および対照の コリン添加 アミノ酸 (CSAA) 食を, 84日間連続投与した。ラット は, 実験開始後 0, 1, 2, 3, 7, 14, 28, 56, 84日に各群より 5匹を屠殺し, 肝と血清を採取した。肝は, 組織学的に検索すると共に, 免疫組織化学的に胎盤型 カルチオン S-トランスフェラーゼ (GST-P) と プロピオンキリジン (BrdU) の重染色を行い, 前癌病変たる GST-P陽性病変の発生と BrdU 標識率を指標とした細胞増殖活性を定量的に解析し, さらに DNAを抽出して酸化性 DNA傷害の指標である 8-ヒドロキシグアニン(8-OHG) レベルを高速液体 クロマトグラフィーを用いて電気化学的に測定した。

その結果, CDAA食投与により, 第3日以降肝相対重量の経時的増加を認めた。肝の組織学的変化は, 第2日より肝細胞の脂肪蓄積が zone 2 にみられ, 第7日に瀰漫性の脂肪肝と門脈域内の oval cellの出現がみられ, 第14日にて脂肪嚢胞・門脈域外への oval cellの浸潤・肝細胞の単細胞壊死と核大小不同および分裂像を認めた。さらに, 第28日には門脈域より隣接門脈域および中心静脈域への線維増生を見出し, 第56日には小葉構造の改築傾向が明らかとなり, 第84日に至って脂肪蓄積を伴う肝硬変に進展した。血清 ASTおよび ALT活性は, 第7日より有意に上昇し, 第10日にピークを示して, 第84日まで高値を維持した。GST-P 陽性病変は, 第14日より陽性単細胞または数個の細胞より成る小型巣状病変として少数認められ, 第56日に至って10個以上の陽性細胞より成る小増殖巣の発生を認め, これらは増大しつつ増加し, 第84日には大型の陽性結節を多数認めた。BrdU標識率は, 第3日より有意な上昇を認めた。BrdU陽性所見は, 初期には肝細胞のみにみられたが, 第7日以降門脈域より出現する oval cell でも認められ, いずれも漸増した。また, BrdU陽性所見は, GST-P 陽性病変内において, 周囲組織より多数認められた。8-OHG レベル は, 第1日にして既に僅かではあるが有意な上昇を認め, 以後第84日に至るまで直線的に増加した。

以上の結果より, ラット 肝における CDAA 食による変化は, 8-OHG レベル 上昇に端を発し, その後脂肪蓄積・肝細胞壊死と再生・oval cell の浸潤・線維増生を経て肝硬変へと進展する組織学的変化の過程で, 前癌病変の発生することが判明した。

長期飼育ラット (約36ヵ月齢) の骨の研究

○田中 弘光^{*}、乾 公正^{**}、吉岡 直記^{*}、真板 敬三^{**}、岩田 光夫^{*}
 ※呉羽化学工業株式会社 ※※(財) 残留農薬研究所

[緒言]ラットは通常の長期毒性試験において2年間飼育され、加齢に伴う変化は組織別に多々報告されている。しかし、3年以上飼育された動物試験は少なく、特に骨組織に関する情報は乏しい。今回、約36ヵ月齢の老齢ラットにおける骨について、主に形態学的に検索する機会を得たので、これを報告する。

[材料と方法](財)東京都総合老人研究所より導入した、約36ヵ月齢のWistar (Slc:Wistarを近交系育成)系雌ラット3例、Fischer F344(F344/DuCrj)系雌ラット1例を用いた。動物は飼育期間中、和光化学工業社製実験用固形飼料CRF-1(P:約0.9g, Ca:約1.25g, VD₃:約500IU/100g中 飼)を自由摂取させた。これらの動物について、①骨塩量 ([DCS-600R:アロカ社製]による骨密度)測定、②骨組織学的検査 (Villanueva Goldner染色標本、10日間隔カルセイン2回皮下投与による骨二重標識) ③その他の臓器・組織の病理組織学的検査を実施した。なお比較対照として17週齢のSlc:Wistar系雌ラット6例の骨組織について骨塩量測定及び骨組織学的検査を行った。

[成績および考察]老齢ラットは17週齢ラットと比較して、長管骨の骨端部における骨梁増加と成長軟骨の減少が明らかであった。微細形態学的に骨芽細胞や破骨細胞数は少なく、骨代謝回転は低下しているものと思われた。Wistar系老齢ラット1例において、全身性の骨硬化が観察された。同動物では骨密度が顕著に増加(No.1 Wistar 160.5mg/cm²: 17週齢平均136.4mg/cm²)し、骨組織学的検査においても骨梁の肥大が明らかであった。骨以外の組織における病理組織学的検査の結果、老齢ラットにおいて通常観察される慢性腎症、甲状腺C細胞腺腫/過形成、上皮小体腺腫などが認められたが、骨組織に対する影響は不明であった。



No.1 Wistar 大腿骨
骨密度 160.5mg/cm²



Wistar 17weeks 大腿骨
骨密度 145.2mg/cm²

骨密度 (mg/cm²)

動物No.	大腿骨	
	全体	脛骨上部 2/5
No.1 Wistar	160.5	143.3
No.2 Wistar	127.6	110.1
No.3 Wistar	134.9	123.0
No.4 F344	142.2	120.4
17週齢Wistar平均		136.4 123.8

P-24

6種農薬についてのラット中期肝発癌性試験法での解析

○田中 光^{1,2}、武貞徳子^{1,2}、萩原昭裕^{1,2}、玉野
静光^{1,2}、長谷川良平²、白井智之²

(¹ 大雄会医科学研究所、² 名市大・医・1 病理)

【目的】現在、我々の生活環境中で広範に使用されている6種の農薬、carbamate系殺虫剤(2種)および有機リン系殺虫・殺菌剤(4種)の肝臓に対する影響を、ラット中期肝発癌性試験法を用いて検索した。

【方法】6週齢のF344系雄ラットを用い、実験開始時に diethylnitrosamine (DEN, 200mg/kg b.w.) を1回腹腔内投与し、その2週後より carbamate系殺虫剤 ethiofencarb (500, 250ppm), pirimicarb (400, 200ppm) および有機リン系殺虫・殺菌剤 EPN (150, 75ppm), diazinon (1000, 500ppm), phenthoate (1000, 500ppm), iprobenfos (1000, 500ppm) の各混合飼料を6週間にわたり投与した。対照群には基礎飼料を同様に投与した。全群3週経過後に2/3肝部分切除を行い、全経過8週にて屠殺剖検した。各群の肝臓に発生した直径0.2mm以上の胎盤型 glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞巢の単位面積(cm^2)あたりにおける発生個数および面積を画像解析装置を用いて測定し、対照群と比較検討した。

【結果】肝重量は、ethiofencarb 500ppm 投与群で絶対および相対重量ともに有意な増加が示され、EPN 150ppm, phenthoate 1000ppm および iprobenfos 1000ppm 投与群でも相対重量の増加が認められた。GST-P 陽性細胞巢の発生個数および面積は、ethiofencarb 500ppm 投与群でそれぞれ5.70個/ cm^2 および0.42 mm^2/cm^2 であり、対照群の3.51個/ cm^2 および0.23 mm^2/cm^2 と比較して有意($P < 0.01$)な増加を観察した。また、EPN 75ppm 投与群では個数および面積ともに有意な減少が認められた。なお、pirimicarb, EPN, diazinon, phenthoate および iprobenfos 投与群においては対照群との間に差異はみられなかった。

【結論】6種の農薬(carbamate系殺虫剤ないしは有機リン系殺虫・殺菌剤)についてラット中期肝発癌性試験法を用いて検索した結果、高濃度(500ppm)のethiofencarbはGST-P陽性細胞巢の発生を増加させたことから肝発癌促進作用が示唆された。また、pirimicarb, EPN, diazinon, phenthoate および iprobenfos は肝発癌性を示さないことが明らかとなった。

Ki-Hoan Nam, Jae-Jin Cho, Yong-Soon Lee

Department of Veterinary Medicine, Graduate School, Seoul National University

This study was carried out to establish the non-surgical medium-term carcinogenicity bioassay model using D-galactosamine(DGA) in the rats. Eighteen chemical compounds were tested in this study(chlordane, diethylstilbestrol, α -hexachlorocyclohexane, urethane, benzo[a]pyrene, carbazole, dimethylnitrosamine, orotic acid, sodium nitrate, butylated hydroxyanisole, clofibrate, di(2-ethylhexyl)phtalate, diaminodiphenylmethane, sodium saccharin, 8-nitroquinoline, quercetin, dimethylsulfoxide and 8-methylquinoline). A total of 168 6-week-old male Fischer rats were divided into 18 test groups and 3 control groups. All the test and control rats were given a single intraperitoneal dose of diethylnitrosamine(200mg/kg body weight) on the initiation day of the experiment, and these rats were also given D-galactosamine(300mg/kg body weight) intraperitoneally at 2 and 5 weeks of the experiment. The rats in one of the 18 test groups were given one of the 18 test chemical compounds through the diet for 6 weeks, and the rats in control groups were given corn oil through the diet for 6 weeks. Every rat in both groups was sacrificed at 8 weeks and liver tissues were taken for histopathological and immunohistochemical examinations. The results obtained were as follows: The numbers and areas of GST-p positive foci in the livers of test rats dosed with chlordane, diethylstilbestrol, α -hexachlorocyclohexane, urethane, benzo[a]pyrene, dimethylnitrosamine, orotic acid, diaminodiphenylmethane, sodium saccharin and dimethylsulfoxide, respectively were significantly increased in comparing with those of control group. The mean numbers of silver binding nucleolar organizer regions(AgNORs) per nucleus of hepatic cells in test rats dosed with chlordane, DES and α -HCH, respectively significantly increased comparing with those of control group. There was no false positive result in all test groups when GST-p positive foci in the liver and the mean number of AgNORs per nucleus of the hepatic cells were used as markers for preneoplastic lesions. A detection rate of hepatocarcinogens obtained by measuring the GST-p positive foci was 89% and that of non-liver carcinogens was 33%. The detection rate of hepatocarcinogens obtained by measuring the mean numbers of AgNORs per nucleus of hepatic cells was 33%.The results indicate that measuring the GST-p positive foci in the livers of rats after dosing with the chemical compounds is reliable for carcinogenicity bioassay. But it seems that the measurment of the numbers of AgNORs in the hepatic cell nucleus is not so useful in the rats for this study model.

P-26 **Cancer risk assessment by a medium-term carcinogenicity bioassay using repeated administration of D-galactosamine**

OHyoung-Chin Kim^a, Chang-Su Ha^a, Shin-Woo Cha^a, Jung-Koo Roh^a, Yong-Soon Lee^b, Akiyoshi Nishikawa^c, Fumio Furukawa^c, Zenyo Tanakamaru^c, Shinichiro Ikezaki^c and Michihito Takahashi^c (^aKRICT, Daejeon, ^bSeoul Natl. Univ. and ^cNIHS ,Tokyo)

This study was performed for developing a new medium-term carcinogenicity bioassay treated with D-galactosamine (DGA) as a non-surgical method without partial hepatectomy (PH).

[Materials and Methods]

In male F344 rats initiated with diethylnitrosamine (DEN, 200 mg/kg i.p.), enhancing effects of DGA (300 mg/kg i.p.) given twice 3 weeks apart during the promotion procedure with 2-acetylaminofluorene (2-AAF, 0.01% in diet) were compared along with those of PH by analyzing preneoplastic glutathione S-transferase placental form positive (GST-P+) hepatocyte foci as endpoint marker lesions. Then several chemicals such as aflatoxin B₁, benzo[a]pyrene, diethylstilbestrol, urethane, sodium saccharin, bucetine, D-mannitol and sodium chloride were examined by this non-surgical bioassay protocol.

[Results]

Although both bioassay protocols were effective to detect the potential hepatocarcinogenicity of 2-AAF, the number and area of GST-P positive foci per cm² were larger in the bioassay using DGA than in that using PH, the number being statistically significant ($p < 0.05$). In the DGA protocol, aflatoxin B₁, urethane, diethylstilbestrol and benzo[a]pyrene were positive, and sodium saccharin, buctin, D-mannitol and sodium chloride were negative, being consistent with the previous data using the PH model.

[Conclusion]

Our results thus suggest that the present bioassay protocol with repeated administration of DGA instead of PH may offer a new and sensitive method to screen large numbers of environmental carcinogens.

肝中期発癌試験法における Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA)の発現

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

PCNAはDNAポリメラーゼの補助蛋白で, 細胞周期のG₁後期・S期に高濃度に出現する。DABを発色基質として用いた免疫染色標本において細胞周期ごとの染色性のパターンが報告されており, それによるとS期核は褐色から黒色に均一に濃染すると言う。これを利用してBrdUなどの前処置のない標本においても細胞増殖活性の検討が可能となり現在広く利用されている。可溶性PCNAは細胞周期のすべての時期に存在するが, 細胞増殖因子の作用により休止期の細胞でもPCNAが増加することが報告されており, PCNAの細胞増殖マーカーとしての特殊性が注目されている。今回, 用量相関性に肝細胞腫大と肝細胞小増殖巣(AHF)を発現する肝中期発癌試験法の肝標本を用い, PCNAとBrdUの標識率を比較し, さらに増殖因子の関与を検討するためTGF α の免疫染色を併せて実施した。

〔材料および方法〕

F344ラットの雄にDEN 200mg/kgをi.p.後, 2週目よりDDT (0, 20, 100, 500 ppm)を混餌投与した。試験3週時に2/3肝部分切除を実施し, 全経過8週で動物を解剖した。一部の動物にはBrdU 100mg/kgを剖検2時間前にi.p.した。肝パラフィン包埋標本を用い, 一次抗体にPC10(希釈抗体あるいは精製抗体を1:100に希釈して使用)および19A2の2種類のPCNA抗体, BrdU抗体, TGF α 抗体を用いて免疫染色した。PCNA標識率は濃染核(S期核)および淡染核(非S期核)に分け計測した。

〔結果〕

PC10および19A2とも濃染核の標識率はBrdU標識率とほぼ同様であり, これらのAHFの標識率は周囲組織の標識率よりも高値であった。また, AHFおよび周囲組織の標識率とも用量相関性の明らかな増加を示さなかった。一方, 淡染核の標識率では, PC10でAHFおよび周囲組織とも高用量群で増加あるいは増加傾向を示し, かつ, 高用量群において周囲組織の標識率はAHFのそれより高値を示した。これらの淡染核は小葉中心性に認められた腫大肝細胞に一致した。19A2では, 両領域の標識率とも高用量群で増加したが, 周囲組織の標識率はAHFのそれより低値であった。TGF α は一部のAHFで陽性を示し, 周囲組織では陰性であった。

〔考察〕

PCNA(PC10, 19A2)の濃染核およびBrdU陽性核の標識率と異なり, PC10の淡染核の標識率はAHFよりも周囲組織で高値を示したことからDNA複製とは関係のない変化と推察された。肝発癌過程におけるAHFの伸展にはDNA複製を制御するTGF α を含めた様々な増殖因子・受容体が関与するが, PCNA淡染核の増加も発癌過程の1事象としてとらえることができるのではないかと考えられた。

P-28

実験的高Ca血症犬と正常犬の甲状腺C細胞のPCNA法による比較

○加藤淳彦、赤羽房美、三沢保幸、足立健児、坂牧義之（中外製薬・安全研）

〈はじめに〉 イヌにおける甲状腺C細胞過形成は、代表的な毒性所見の一つである。一方、イヌの甲状腺では特徴的に、C細胞が多数集簇するC細胞複合体なる部位が生理的に存在することが知られている。しかし、高Ca血症を引き起こす薬剤等の毒性評価の際、薬剤投与に起因するC細胞過形成と、C細胞複合体の鑑別はしばしば問題となるところである。そこで今回両者の鑑別を目的として、実験的高Ca血症犬と正常犬の甲状腺C細胞をH-E染色、カルシトニン免疫染色、およびPCNA免疫染色を用いて比較したので報告する。

〈材料および方法〉 動物は7~8カ月齢のビーグル犬8頭を用いた。うち4頭はVitamin D誘導体を2あるいは4週間投与した高Ca血症群、他の4頭は溶媒を同期間投与した正常群とした。これらの個体から、投与期間終了後にそれぞれ血中Ca濃度測定のために採血を行った後、甲状腺を摘出した。これにより得た甲状腺を、24時間20%中性緩衝ホルマリンで固定した後、常法により作製したパラフィンブロックから連続切片を作製し、5枚おきにH-E染色を施した。さらにその中からC細胞が最も多く集簇する部位を探し、それに隣接する切片に抗カルシトニン抗体あるいは抗PCNA抗体を用いたABC法による免疫染色を施し、顕微鏡的に観察した。また、PCNA染色を施した標本についてC細胞1000個中のPCNA陽性細胞数を計測しLabeling Indexを算出した。

〈結果および考察〉 H-E染色を施した連続切片の観察により、今回観察した甲状腺内のC細胞の存在様式は、C細胞複合体の典型像、実質内のC細胞複合体様集簇、および少数のC細胞の散在のいずれかに分類された。しかし、H-E染色標本で高Ca血症に伴うC細胞の増殖活性の上昇あるいは機能亢進を示唆する所見を得ることは困難であった。また、抗カルシトニン抗体を用いた免疫染色においても、両群のC細胞の染色性は同様で機能亢進に伴う変化はみられなかった。一方、血中Ca濃度およびLabeling Indexについては、高Ca血症群において両パラメーターとも高値を示し（表1）、高Ca血症に伴いC細胞の増殖活性は上昇していることが明らかとなった。

〈まとめ〉 以上の成績から、イヌの甲状腺における、C細胞複合体とC細胞過形成の鑑別には、PCNA法等の細胞増殖動態の検討が有用であると思われる。

表1 各個体の血中Ca濃度およびLabeling Index

実験群	正常群				高Ca血症群*			
	1	2	3	4	5	6	7	8
血中Ca濃度(mg/dl)	11.03	11.01	11.02	10.88	19.00	16.88	15.74	15.70
Labeling Index	0.90	0.40	0.60	0.30	6.90	5.00	2.10	3.70

*Vitamin D誘導体を2週間(No.5)または4週間(No.6,7,8)投与

P-29

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

- 新田由美子¹, 星正治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)

広島大学, 原爆放射能医学研究所, 国際放射線情報センターでは、設立当初(1961年)から、原爆被爆者の剖検資料の収集, 保存を継続し、ホルマリン固定臓器標本数は、平成4年度までに7005例に達している。被爆後50年を迎え、この膨大なサンプルの分子病理学的検索の可能性を検索するために、DNA抽出を試みた。ここでは、どうやって高分子量DNAを回収するかが重要なポイントとなるが、ホルマリンはDNAを壊す物質であり、長期間ホルマリン固定材料からのDNA抽出が容易でないことも予測された。そこで、ホルマリン固定時間が臓器DNAに及ぼす影響も、実験的に調べた。

(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、計99例用いた。対照群には、ヒト白血病細胞株を用いた。ホルマリン固定影響の経時的解析には、マウス肝を用いた。

(方法) 1. 定重量肝あたりのDNA回収率をSTS(Shumidt-Taunhauser-Schneider)法で測定。2. 肝材料をパラフィン包埋後、フェノール・クロロフォルム法でDNAを抽出し、DNAの分子量を推計した。3. K-ras 遺伝子について、PCR法による遺伝子増幅を試みた。4. ホルマリン固定したマウス肝の経時的DNA回収率をSTS法で測定した。5. 1, 7, 14, 21日間ホルマリン固定したマウス肝をパラフィン包埋後、フェノール・クロロフォルム法でDNAを抽出し、DNAの分子量を推計した。

(結果) 定重量肝あたりのDNA回収率は、1962年標本と1989年標本とで差がなかったが、対照群より有為に低かった ($p < 0.01$)。パラフィン包埋、フェノール・クロロフォルム法によるDNA抽出では、1962年標本からはDNAを抽出できなかったが、1989年標本からは数キロベースのDNAを抽出できた例があった。その3例について K-ras 遺伝子の増幅を試みたが、増幅例は得られなかった。

定重量マウス肝あたりのDNA回収率は、1, 7, 14, 21日と固定時間依存性に減少した。その減少率は、緩衝ホルマリン、4℃固定の条件で最も小さかった。パラフィン包埋、フェノール・クロロフォルム法によるDNA抽出では、緩衝ホルマリン固定7日まで高分子量DNAを回収できた。

P-30

lac Z 遺伝子導入による ラット前立腺癌微小転移モデルの作製

○小林 潔^{1,2}, 中西速夫¹, 山本昌美¹, 務台 衛², 二口 充³, 白井智之³, 立松正衛¹
(1愛知がんセ・研・1病, 2三菱化学・横浜総研・安全性研, 3名市大・1病)

【目的】 転移性細胞に酵素遺伝子をマーカーとして導入することにより、その細胞を *in vivo* で高感度に検出することが可能となる。今回、大腸菌由来 β -galactosidase (*lac Z*) 遺伝子導入により、ラット前立腺癌の微小転移モデル作製を試みた。

【方法】 宿主細胞としてはDMAB誘発ラット前立腺癌由来の細胞株(PLS 30-P)を用いた。プラスミドベクターとしてpCMV*lac Z*を用い、リポフェクション法により*lac Z*を導入した。G418により遺伝子導入細胞を選択し、数10個のコロニーを得た。さらに、酵素組織染色(X-gal染色)を指標として酵素を強く発現する細胞株を選択した。この細胞をCD-1系雄マウスの静脈内に1匹あたり 2×10^6 個静注し、接種後60分、1日、3日、6日、11日、14日後に屠殺し、肺を採取した。0.2%グルタルアルデヒド・2%ホルムアルデヒドによる固定後X-gal染色を施し、実体鏡による観察後、樹脂包埋、薄切を行い、組織学的検索を行った。

【結果】 *lac Z*遺伝子導入細胞は、培養皿上ではX-gal染色により細胞質がびまん性、または顆粒状に染色された。静注後の肺組織の検索では、実体顕微鏡下で転移細胞の検出ができ(Fig. 1)、微小転移の定量化が可能であった(Fig. 2)。組織学的検索では、1~数個の細胞からなる極めて微小な転移を客観的かつ容易に観察することが可能であった(Fig. 3)。

【考察】 ラット前立腺癌細胞に*lac Z*遺伝子を導入することにより、微小転移の段階でその転移巣を極めて高感度に検出することができる転移モデルを作製した。本実験系は、癌細胞の転移過程の解析、抗癌剤の転移抑制効果の評価などに応用可能であると考えられる。

Fig. 1

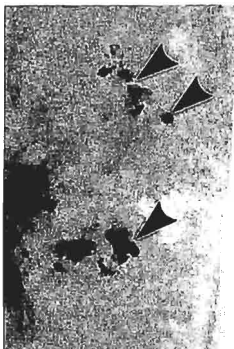


Fig. 2

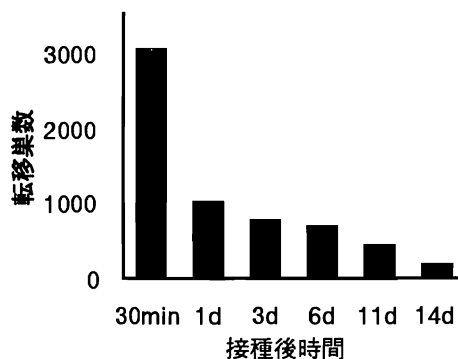
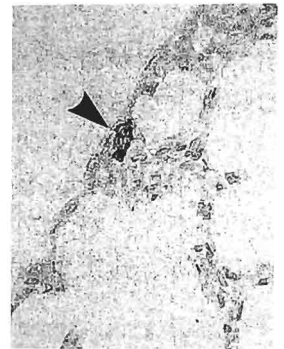


Fig. 3



P-31

アルキル化剤投与ラットにおける O^6 -methyldeoxyguanosine および N^7 -methyldeoxyguanosineの免疫組織化学的検索

○北野 光昭¹, 鰐淵 英機¹, ヨセフ・エミル¹, 李 威¹, 周 鉅文¹,
津田 洋幸², 福島 昭治¹ (¹大阪市大・医・1病理, ²国立がんセ・研・化療)

【目的】アルキル化剤による細胞の癌化はDNA付加体の生成に起因することが知られている。本研究ではアルキル化剤投与を行ったラットの諸臓器におけるDNA付加体、特に O^6 -methyldeoxyguanosine (O^6 -medG) および N^7 -methyldeoxyguanosine (N^7 -medG) の検出を免疫組織化学的に検討した。

【方法】6週齢の雄性F344ラットにdimethylnitrosamine (DMN) を60mg/kgで腹腔内投与、あるいはN-methyl-N-nitrosourea (MNU) を20mg/kgで強制経口投与した。投与後10時間でラットを屠殺し、肝臓または胃を摘出した。また8週齢の雄性F344ラットを一晩絶食させ、0.4%メチル尿素を含む粉末飼料を1時間摂取させた後、亜硝酸ナトリウムを100mg/kgで強制経口投与した。投与後8時間でラットを屠殺し、肝臓、腎臓、胃、食道を摘出した。臓器はすべて冷アセトン固定後、ホルマリン包埋して組織切片を作製した。それらに抗 O^6 -medGモノクローナル抗体および抗 N^7 -medGモノクローナル抗体を用いて免疫組織染色を施した。

【結果】DMN投与ラットの肝臓において、 O^6 -medGが小葉中心性に (Fig. 1)、 N^7 -medGがびまん性に核に染色された。MNU投与ラットでは前胃および腺胃で、 N^7 -medGが上皮細胞の核に高頻度に染色された (Fig. 2)。 O^6 -medGは同ラットの前胃においてのみ、ごく少数の陽性細胞がみられた。複合投与を行ったラットにおいては、前胃においてのみ N^7 -medG陽性細胞が少数ながら認められた。その他の臓器では陽性所見は認められなかった。

【結論】アルキル化剤の投与または胃内でのアルキル化剤の合成により標的臓器に生成されるDNA付加体を免疫組織化学的に検出することができた。

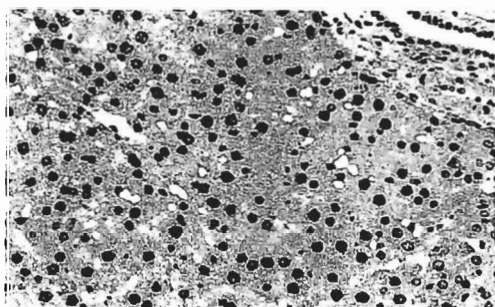


Fig. 1. O^6 -medG positive cells in the liver (DMN, i. p.)

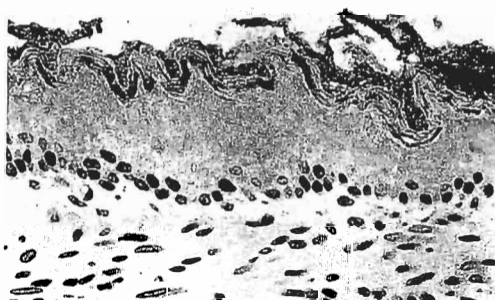


Fig. 2. N^7 -medG positive cells in the forestomach (MNU, i. g.)

P-32

ラット発癌イニシエーション活性中期検索法による 非肝発癌性物質のGST-P陽性細胞巢の誘導

○山口 格¹, 米良幸典¹, 宮田裕人¹, 澤多美和¹, 小林奏子¹, 井口綾子¹,
亀井 力¹, 立松正衛² (1 ゼリア新薬・中研, 2 愛知がんセ・研・1病)

【目的】我々は、ラット肝GST-P陽性細胞巢を指標とするイニシエーション活性中期検索法(5週間)が肝標的性の有無にかかわらず、変異原性発癌物質に陽性を示すことを発表してきた。今回、我々は本法を用いて種々の非肝発癌性の発癌前駆物質および直接発癌物質によるGST-P陽性細胞巢の誘導を検討した。

【材料と方法】10週齢雄F344ラットを用い、2/3肝部分切除12時間後に肝を標的とする発癌前駆物質としてdiethylnitrosamine (DEN; 5mg/kg)を、肝以外を標的とする発癌前駆物質としてN-butyl-N-(hydroxybutyl) nitrosamine (BBN; 500mg/kg), N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (BHPN; 500mg/kg), 3-methylcholanthrene (3-MC; 200mg/kg), benzo[a]pyrene (B[a]P; 150mg/kg), 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA; 50mg/kg), 1,2-dimethylhydrazine (DMH; 60mg/kg)を、直接発癌物質としてN-methyl-N-nitrosourea (MNU; 50mg/kg)およびN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG; 100mg/kg)を単回腹腔内または胃内投与した。肝切除2週間後にAAF(0.015%)含有飼料を2週間摂取させた。実験開始3週目にCCl₄(0.8ml/kg)胃内投与も併せて実施した。実験開始5週目に屠殺し、採取した肝臓の一部を冷アセトンで固定、パラフィン包埋後薄切標本とし、抗ラットGST-P抗体を用いて免疫組織化学的に染色を施し、陽性細胞巢の数と面積を測定した。

【結果】肝標的性発癌前駆物質であるDENでは顕著なGST-P陽性細胞巢の誘導が観察された。非肝標的性発癌物質であるBBN, BHPN, 3-MC, B[a]P, DMBA, DMHにおいても対照群に比較して有意なGST-P陽性細胞巢の誘導が観察されたが、BBNではその程度はやや低かった。直接発癌物質であるMNUおよびMNNGにおいてもGST-P陽性細胞巢の有意な増加を示したが、他の発癌前駆物質に比較してやや少ない傾向を示した。

【考察】イニシエーション活性中期検索法は肝発癌性の有無にかかわらず、発癌前駆物質および直接発癌物質のイニシエーション活性を検出可能であることが確認された。現在、これらの物質によって誘導されたGST-P陽性細胞巢の長期飼育による癌化について検討中である。

四塩化炭素による化学的肝部分切除を用いた 非肝発癌性物質の肝臓における発癌促進活性の検索

○後藤和広¹、小林 潔^{1,2}、務台 衛¹、山本昌美²、稲田健一²、立松正衛²
(¹三菱化学・横浜総研・安全性研、²愛知がんセンター・研・1病理)

四塩化炭素(CCl₄)を用いた化学的肝部分切除(CPH ; Chemical Partial Hepatectomy)後に、検索物質を単回投与する発癌促進活性検索系における至適投与時期設定のため、CPH後の検索物質投与時間・肝細胞増殖動態・発癌促進活性の関係について検討したので報告する。

【方法】6週齢雄F344ラット 315匹にCCl₄ (1.0ml/kg, p.o.) 単回投与によるCPH後、6, 12, 18, 24, 36, 48, 72時間に肝臓に標的性を有しない発癌性物質であるMNNG (80mg/kg, p.o.) またはB(a)P (100mg/kg, p.o.) を単回投与した。CPH後2週から2週間 2-AAF 150ppmを混餌投与し、CPH後3週経過時にCCl₄ (0.8ml/kg, p.o.) を単回投与した。CPH後5週で屠殺して、肝臓のGST-P陽性細胞巢の計測を行い、発癌促進活性を検索した。

また、CPH後の肝細胞増殖動態測定のため、6週齢雄F344ラット 69匹にCCl₄ (1.0ml/kg, p.o.) 単回投与によるCPH後6, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 96, 168時間で動物を屠殺した。屠殺1時間前にBrdU瞬間標識を行い、BrdU Labeling Index(L.I.)を計測して、各時点での肝細胞増殖動態を検索した。

【結果および考察】CPH後24~72時間にMNNGおよびB(a)P を単回投与した動物では、著しいGST-P陽性細胞巢の誘発が認められた。また、この期間、肝臓において高いL.I.が得られ、細胞増殖の程度と検索物質の発癌促進活性の発現に強い相関性の存在することが示唆された。CPH後96時間以降のL.I.は、無処置動物と同様のレベルにまで低下していた。

以上の結果より、CCl₄投与によるCPH後に検索物質を単回投与する発癌促進活性検索系により、非肝発癌性物質の発癌促進活性が検出可能であることが明らかとなった。また、検索物質の至適投与時期は、肝細胞が増殖亢進状態にあるCPH後24~72時間と考えられた。

なお、CPH後の肝細胞増殖動態が正常レベルに回復しているCPH後96, 168時間にMNNGあるいはB(a)Pを投与した場合の発癌促進活性を現在検索中である。

P-34

Big Blueマウスにおけるdimethylnitrosamine 誘発の遺伝子突然変異と細胞増殖活性の相関性

○池崎信一郎¹, 西川秋佳¹, 古川文夫¹, 田中丸善洋¹, 金亨津¹,
鈴木孝昌², 伊藤俊明², 林 真², 祖父尼俊雄², 高橋道人¹
(国立衛試・¹病理, ²変異遺伝)

【はじめに】

in vivoでの遺伝子突然変異誘発性を検索する手段として, *lacI*または*lacZ*遺伝子を組み込んだトランスジェニックマウスを用いた試験系が検討されている. 今回, *lacI*遺伝子を組み込んだBig Blueマウスにdimethylnitrosamine(DMN)を投与し, 増殖細胞核抗原(PCNA)を指標とした細胞増殖活性と*lacI*遺伝子の変異頻度との相関性を臓器レベルで比較検討した.

【材料および方法】

実験1: 7週齢の雄Big Blueマウスを3群に配し, 10, 1mg/kgのDMNおよび溶媒のみをそれぞれ5日間連続腹腔内投与した. 各群とも投与開始後12日目に全身諸臓器を摘出した. 肝臓, 腎臓, 脾臓, 肺および膵臓についてはその一部をメタカーン固定してパラフィン包埋切片とし, PCNA免疫染色を施した. 細胞増殖活性は, 細胞100個あたりのPCNA陽性数として計測した. 摘出した諸臓器は凍結後DNAを抽出してin vitro packaging法により目的の*lacI*遺伝子をラムダファージへ回収し, プラークアッセイにより変異頻度を算出した.

実験2: 実験1のDMN10mg/kg×5群の全例が投与開始後3日目までに死亡したため, DMNの投与量を考慮した細胞増殖活性に関する追加実験を実施した. 7週齢の雄Big Blueマウスを3群に配し, 10, 5mg/kgのDMNおよび溶媒のみを腹腔内単回投与し, 14日後に諸臓器を採取した.

【結果および考察】

実験1のDMN1mg/kg×5群での*lacI*遺伝子の変異頻度は, 肝臓で6.2倍, 腎臓で2.4倍, 肺で2.1倍の増加がみられた. 一方, PCNA-labeling indexは肝および腎では有意な上昇を認めなかったが, 気管支上皮では, 実験1の対照群で平均0.5であるのに対してDMN1mg/kg×5群で平均7.33と有意な上昇がみられた他, 実験2においても, DMN10mg/kg×1群, 5mg/kg×1群および対照群で平均5.33, 2.33および0.75と用量相関性の上昇が認められた. マウスにおけるDMNの主たる発癌標的臓器が呼吸器系であることを考え合わせると, 発癌過程においては遺伝子突然変異のみではなく細胞増殖活性亢進(プロモーション)が極めて重要であることが示唆された.

P-35

Apoptosisの検出に関する形態学的評価法

○池田理恵、村越正典、大谷昌士、田川正志、久田 茂、飯塚和弘、増田修治、鈴木 稔(帝国臓器製薬・安全研)

【目的】

Apoptosisを誘発させるvincristineを用いて、ラットの胸腺、小腸および肝臓における経時的な変化をapoptosisの形態学的検出法であるTUNEL法と生化学的検出法であるアガロースゲル電気泳動法を用いて検討した。

【材料と方法】

雄SDラット(5週齢)を以下の実験群に分けた。

- (1)Vincristine投与後3時間経過群 (2)Vincristine投与後6時間経過群
(3)Vincristine投与後9時間経過群

胸腺、小腸および肝臓を摘出後、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パラフィン切片を用いたH. E. 染色。
(B)10%中性緩衝ホルマリン固定後のパラフィン切片を用いたTUNEL法染色¹⁾
(Oncor社製kit)。
(C)アガロースゲル電気泳動法を用いたDNAマイクローム単位での切断をゲルとして検出。

【結果】

病理組織学的検査では、小腸および肝臓においてvincristine投与3時間後には、mitosis像の著明な増加が、6時間以降では、時間の経過と共にapoptosis像が増加して観察された。胸腺においては、6時間以降のapoptosis像が特に髄質に増加して認められた。TUNEL法を施した切片では、病理組織学的検査でmitosisと診断された細胞の中にapoptosis陽性の細胞が認められた。更に、6時間以降の小腸および肝臓並びに胸腺については、病理組織学的検査と一致した所見が得られた。一方、生化学的検査では、胸腺では3時間以降に、小腸では3時間以降に、肝臓では9時間以降でDNAのゲルパターンが観察された。

【考察】

Vincristineが、apoptosisを誘導することはよく知られたことである。今回の検索で、ラットの小腸および肝臓の投与3時間後のHE染色で、mitosisと診断された細胞の中にTUNEL法による陽性細胞が観察されたことは、既にDNAの変化、すなわち、apoptosisが誘導された可能性を示唆した。また、アガロースゲル電気泳動法を用いた検索でDNAのゲルパターンが認められた同時刻、あるいはそれ以前にもTUNEL法陽性細胞が明瞭に認められたことは、いわゆるapoptosisの初期像がTUNEL法によって形態学的に評価できる可能性も示唆された。

【参考文献】

- 1)Murakoshi, M. et al., Immunolocalization of glutathione-peroxidase (GSH-PO), apoptosis and bcl-2 protein in the rat ventral prostate -Effects of castration and administration of testosterone-, J. Toxicol. Pathol. (In press).

P-36

ヒト c-Ha-ras 遺伝子導入マウスにおける 化学物質の発がん性の短/中期検出

○不二 哲、児玉幸夫、田中 悟（国立衛試）、
林 裕造（北里大）、野村達次（実中研）

〔緒言〕 我々は、昨年（第 11 回）本学会において、ヒト c-Ha-ras 遺伝子導入マウス（rasH2）が、遺伝子傷害性発がん物質である 4-Nitroquinoline-1-Oxide（4NQO）および Cyclophosphamide（CYP）の短ないし中期検出に極めて有用である可能性を示した。

今回、本系統マウスの有用性を継続して検討するため、新たに遺伝子傷害性発がん物質の中から N-Methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine（MNNG）、遺伝子非傷害性発がん物質として Ethylenethiourea（ETU）を選び発がん実験を行ったのでその成績を報告する。

〔方法〕 MNNG：13 週齢の雌雄 rasH2 マウスおよび ras 非導入マウスに、100 ppm の MNNG を 24 週間飲料水投与し、実験開始後 28 週で屠殺・剖検した。

ETU：10 週齢の雌 rasH2 マウスおよび非導入マウスそれぞれに ETU を CRF-1 粉末飼料に 0.3%、0.1% および 0%（w/w）の割合で 28 週間混餌投与し、屠殺・剖検した。肝、下垂体、甲状腺については器官重量を測定した。

各実験において標的器官、自然発生腫瘍が報告されている肺、胃、皮膚、脾などをはじめ、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。

〔成績〕 ras 導入、MNNG 投与群で雌雄ともに前胃乳頭腫の発生頻度が有意に上昇（雄 ras+ 70% : ras- 0%、雌同、25% : 0%）し、1 例には口腔に扁平上皮がんが発生した。ETU では、用量依存性に甲状腺および肝重量の増加を認め、組織学的にも甲状腺濾胞上皮のびまん性増生を認め、一部では腺腫の発生を認めた。器官重量を含めたこれらの変化は、ETU 同用量では、ras 遺伝子導入群でより顕著な傾向にあった。ras+、0.3% 投与群では、2 例に腺がんの発生を認めた。肝臓では用量依存性の小葉中心性の肝細胞肥大が観察されたのみであった。

〔考察〕 遺伝子傷害性発がん物質については、MNNGの実験成績および昨年度発表した 4NQO、CYP の成績を総合的に考察すると、本系統マウスは感受性が極めて高く、鋭敏に検出しうることを示唆された。一方、遺伝子非傷害性発がん物質の検出についても、今回の成績では、腫瘍発生率の有意な上昇は認められなかったが、腺がんの発生が ras+ 群に限られていたことから、投与期間を延長することにより中期的には有意な腫瘍発生率の上昇を示すか、または、器官重量の増加、病理組織学的変化が同用量では ras+ 群でより強い傾向にあったことから、これらの検査を詳細に行なうことによりリスクを判定しうる可能性が考えられる。

P-37

SDラットにみられた自然発生性閉塞性黄疸症の病理組織学的検討

○佐藤 亮, 山本硬治, 三谷公互, 小倉基裕, 南 孝則, 松本智志, 仙頭美和, 三好文暁 (大塚製薬・徳島研究所)

【はじめに】胆道結石の自然発生はヒト以外の動物では極めて稀である。ヒトでは胆管の結石の機械的閉塞機転により閉塞性黄疸が生じ、その閉塞機転が長期にわたると肝、腎をはじめとする臓器不全が発現し、致命的な結果を招くことが報告されている。

今回、毒性試験に供され、肉眼的に結石による総胆管の閉塞がみられ、可視粘膜および皮膚の一部が黄色調を呈し、閉塞性黄疸が疑われたSDラットの1例の病理組織学的特徴を報告する。

【材料および方法】

動物はSDラット5週齢で、26週間の毒性試験に供された後、剖検され、病理組織学的検査を実施した。また、体重測定、一般症状観察、血液学的検査、血液生化学的検査もあわせて実施した。

【結果】

〔一般状態〕

耳介、眼粘膜、口腔粘膜および尾が黄色調を呈していた。

〔血液生化学的検査〕

著しい総ビリルビンの上昇 (9.3ml/dl) がみられ、その他、アルカリフォスファターゼ、LDH、GOT、GPT、コレステロールおよびリン脂質の上昇も認められた。

〔剖検所見〕

全身の皮下組織、皮下脂肪織、腹腔内脂肪織および諸臓器 (肝臓、腎臓等) が黄色調を呈し、総胆管は拡張し、十二指腸開口部付近に直径2mm程度の結石が認められた。その他、肝臓は腫大し、直径1mm以下の黄白色隆起巣が散在していた。

〔病理組織学的検査〕

肝臓には凝固壊死巣の多発がみられ、グリソン域は拡大し、著しい小葉間胆管の増生がみられ、その周囲には炎症性細胞の浸潤も認められた。また、膵臓では間質において水腫および小円形細胞の浸潤がみられ、小葉間導管は拡張し、増生していた。そのような導管の周囲には炎症性細胞の浸潤および線維化も認められた。また、腎臓では近位尿管上皮細胞の細胞質に胆汁染色陰性の黄褐色色素の沈着および微小な空胞が認められた。その他、肝臓での胆汁のうっ滞あるいはいずれの臓器においても胆汁色素は認められなかった。

【まとめ】

閉塞性黄疸が疑われたSDラット1例の病理組織学的特徴について報告する。

P-38

ホスホロチオエート化オリゴヌクレオチド投与マウスにおける 諸臓器の病理組織学的検討

○萬 啓悟、森口佳之、相川 仁、木下道子、勝山清加、矢野圭一、牛尾秀敏
(中外製薬・創薬開発研)

【はじめに】

ホスホロチオエート化オリゴヌクレオチド（以下P S-オリゴ）は、ヌクレオチドのリン酸基の酸素原子の1つをイオウ原子に置き換えたもので、DNA分解酵素に対する耐性が付与されている。しかし、P S-オリゴの生体への影響を病理学的に検討した報告は少ない。今回我々は、P S-オリゴをマウスに1週間静脈内反復投与し、その影響を病理組織学的に検討したので報告する。

【材料および方法】

動物は、8週齢のSlc:ddY雄性マウスを用い、control(PBS)、P S-オリゴの10,50,100および200mg/kgを各群7匹、計35匹で、1週間尾静脈内反復投与を行った。剖検後、肝、腎、心、肺、脾、副腎、胸腺、膵臓、精巣、腸管膜リンパ節および脳を20%中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従いパラフィン切片を作製し、HE染色および核酸染色であるフォイルゲン染色、メチルグリーン染色を施した。また、剖検時には血清生化学的検査も併せて行なった。

【結 果】

検索したすべての臓器に、HE染色で弱好塩基性に染まる泡沫状物質（以下foamy material）の存在が認められ、200mg/kg投与群では、肝臓で巣状壊死、腎臓では尿細管および集合管のfoamy materialによる閉塞ならびに管腔の拡張、肺では血管内皮の肥厚・増生、脾臓では顕著な濾胞の活性化等が観察された。これらの変化のいくつかは、100mg/kg投与群でも認められたが、50,10mg/kg投与群においては、多くの臓器でfoamy materialが観察された以外、重篤な変化は観察されなかった。血清生化学的検査では、100mg/kg以上の投与群でGOT、GPT値の上昇が認められた。

また、今回観察されたfoamy materialは、肝臓ではクッパー細胞、他の臓器でもマクロファージ等に貪食されているようであり、核酸染色であるフォイルゲン染色およびメチルグリーン染色のいずれにも陽性であった。このことから、foamy materialは、投与薬物であるP S-オリゴ自体あるいは、その代謝物である可能性が示唆された。現在、この物質について、DIG標識オリゴプローブを用いたin situ ハイブリダイゼーション法による検出を検討中である。

P-39

マウス膀胱がん移植により誘発されたヌードマウス由来非上皮性腫瘍の一例 - Microsatellite DNA polymorphism を用いた検索による確認

○朝元誠人 1、堀高明 1、佐野真士 2、白井智之 2、津田洋幸 1（1 国立がんセ・研・化療、2 名市大・医・1 病理）

ヒトの原発腫瘍をヌードマウスに移植し、その腫瘍を *in vitro* で培養すると、混入したマウス間質細胞の高率な悪性化が観察されることが報告されている。一方、我々は、B6C3F1 マウス膀胱がんを ICR ヌードマウスに移植し、腫瘍の Loss of Heterozygosity (LOH) の検索を進めるとともに、その LOH 検索時の間質細胞の混入の影響を検討し、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できることを明らかにしてきた。今回、我々は、マウス膀胱がんのヌードマウス移植継代過程において、腫瘍移植部位に悪性リンパ腫様腫瘍の発生を認め、この腫瘍がヌードマウス由来であることを Microsatellite DNA polymorphism のパターンから証明し得たので報告する。

（方法）6週令の雄 B6C3F1 マウス 30 匹に 0.025% の BBN (N-Butyl-N-hydroxy butylnitrosamine) を飲料水に混じり 32 週間投与し、発生した膀胱がんをヌードマウス (ICR-nu/nu) の背部皮下に移植し継代維持した。これらの腫瘍より 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、移植継代腫瘍の組織像を HE 標本にて確認した。

（結果）30 匹中 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や扁平上皮がんも認められた。これらの癌より 4 系統のヌードマウス移植腫瘍を確立した。そのうちの 1 系統で、原発腫瘍移植から 2 代目の移行上皮癌において、腫瘍塊の周辺にリンパ球様の腫瘍細胞浸潤を認め、3 代目では移植腫瘍は主に悪性リンパ腫様の組織像を呈し移行上皮癌細胞は腫瘍塊周辺に少数認められるのみであった。この悪性リンパ腫様腫瘍は Microsatellite DNA polymorphism から recipient である ICR ヌードマウス由来の腫瘍であると証明しえた。

（結論）マウス膀胱がんの移植により recipient のヌードマウス由来の非上皮性腫瘍が誘発された。腫瘍のヌードマウス移植過程で組織像が未分化な像へ変化したような時には、ヌードマウス由来の腫瘍の誘発も念頭にいれる必要があると考えられる。

P-40

ラットの精巣にみられた Yolk Sac Carcinoma の 1 例

○中澤素邦、俵谷武治、吉田 勝、内本啓史、河南明孝、上田 誠、岩倉啓子、
鷺見信好

(日本新薬(株)・安全研)

齧歯類の Yolk sac carcinoma は、1954年に Stevens らがマウスの精巣由来の teratocarcinoma を子宮に継代して分離確立した報告例の記載があるが、その後、実験誘発例や少数の自然発生例が報告されている。ヒトにおいても、精巣ないし子宮由来の同腫瘍の症例が報告されている。

今回、我々はラットの精巣における Yolk sac carcinoma の 1 例に遭遇したので報告する。

動物は、生涯試験に供された雄 Slc:SD ラットで106週齢で切迫屠殺したものである。全身臓器および腫瘍組織を10%中性緩衝ホルマリンに固定し、常法に従いパラフィン包埋し薄切後、H. E. 染色標本に加えPAS反応および抗ラミニン抗体 (Calbiochem-Novabiochem Corporation製) を用いてABC法にて免疫染色を実施した。さらに、パラフィン包埋ブロックより、電子顕微鏡用試料を作製し超微形態的に観察した。

剖検時の観察では、右側の精巣がうずら卵大(3.2×1.6×1.2cm)に腫大し、被膜が緊張して黄白色巣が地図状に瀰漫性に広がっていた。

組織所見としては、大部分を壊死領域が占めるが、エオジン好性でヒヤリン様無構造の間質の中に腫瘍細胞の小集簇巣が島状に浮かんでみられた。腫瘍細胞はロゼット状に配列し、円形ないし卵円形の核を有し、立方状ないし多角形の細胞質で空胞が多数認められた。また、立方状の上皮様細胞で裏打ちされた管腔様構造物もわずかながら観察された。

PAS反応および抗ラミニン抗体を用いた免疫染色の結果、間質を構成するヒヤリン様無構造物はPAS反応に対して陽性を示し、抗ラミニン抗体に対しては細胞質内、および腫瘍細胞が構成するロゼット状配列の周囲を基底膜状に陽性所見が得られた。

電子顕微鏡検査では、細胞内小器官の保存が悪く詳細な検討は出来なかったが、腫瘍細胞の細胞質内に多数の空胞が認められ、拡張した小胞体も目立って認められた。また、間質部分は層板状構造を示し、腫瘍細胞周囲を板状構造が同心円状に取り巻いていた。

以上、腫瘍は胎膜の一部であるライヘルト膜および卵黄嚢壁側板の特徴を示す多量の間質と腫瘍細胞が大部分を占め、加えて、臓側板の特徴を示す管腔様構造物もわずかながら認められたことから、Yolk sac carcinoma と診断された。なお、左側の精巣は、肉眼的に軽度に腫大し黄褐色の小病巣が浸潤しており、組織学的に間細胞腫が確認された。

ラットの Yolk sac carcinoma の自然発生例の報告は極めて少なく、しかも、我々が調べた範囲では発生部位は全て子宮であった。今回、認められた雄ラット精巣での発生例は極めて稀なケースと考えられる。

P-41

ラット子宮に自然発生した胎児性癌と思われる1例

○若林佐知子、永谷真理子、星谷 達、山口裕子、赤木圭介、
田村一利、岡庭 梓 (ボゾリサーチセンター)

老齢ラットの子宮に、未分化腫瘍細胞が主体で、一部に腺腔形成や軟骨形成をみる悪性腫瘍の発生をみたので報告する。

症例は、無処置飼育された109週齢のF344雌ラットで、膣口からの出血を主症状にし、急激な全身状態の悪化を来し切迫屠殺された。

剖検で、本腫瘍は子宮左角部における20x20x45mm大の白色充実性腫瘤として観察され、腫瘤内には種々な大きさの壊死巣が散見された。また、腹腔内では、本腫瘍の転移と思われる大小様々な大きさの結節が諸臓器組織の表面あるいは実質中にみられたが、胸腔内に著変はなかった。

組織学的に、腫瘍は未分化細胞、上皮性細胞および非上皮性細胞より構成され、その大半は未分化腫瘍細胞で占められ、壊死傾向が強くみられた。未分化な腫瘍細胞は、類円形あるいは短紡錐形細胞の比較的大型の細胞で、異型性の強い核と狭小な好塩基性胞体を特徴とし、盛んに分裂しながら敷石状あるいは索状に増殖していた。また、これらの細胞に混じって、少数ながら多核あるいはbizarreな巨大核を有する腫瘍細胞が出現した。一方、上皮性性格をもつ腫瘍細胞は、多くは立方ないし円柱状を呈し、一層に配列しながら腺腔を形成し、非上皮性性格を持つ腫瘍細胞は軟骨を形成しながら島状に出現した。本腫瘍は、脈管侵襲性が強く、膀胱、卵巣、腎臓、肝臓、脾臓および腹腔内の諸リンパ節に転移し、肺では腫瘍塞栓が認められた。これらの転移巣では、原発巣と同様に未分化な腫瘍細胞が大半を占め、腺管構造もみられたが、軟骨成分は認められなかった。

以上、本腫瘍は、異型性の強い未分化な腫瘍細胞に混じって、腺腔を形成する上皮性成分と軟骨を形成する非上皮性成分をもつ子宮原発の悪性腫瘍で、その組織学的特徴より、胎児性癌と考えられた。

P-42

F344雄ラットに認められた松果体腫瘍の一例

○山本慎二、高木留美子、松木由加、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）ラットに発生する松果体の腫瘍は極めて稀であり、その詳細な報告も少なく（Wister系ラット；山本修等1991年、SD系ラット；岩坂等1993年本学会）、当センターの背景値（F344ラット）でも雄 4900頭中1例（0.0204%）、雌 5100頭中1例（0.0196%）に過ぎない。

今回、我々はある長期毒性試験に用いたF344雄ラットの1例に松果体由来と考えられる興味ある症例を経験し、病理組織学的に検討したので報告する。

（症例と方法）動物はF344/DuCrj雄ラットの一例で83週齢時に切迫屠殺した。臨床症状として頭部皮下の腫瘤及び全身性の瘦削が観察された。剖検時に頭頂から後頭部皮下に27×30×20mm大の淡赤色の髄様腫瘤が認められた。表面を覆う頭頂骨及び頭頂間骨は非薄化し一部消失していた。本腫瘤と脳実質との連続はみられず、左大脳半球及び小脳は著しく圧迫され扁平化していた。

腫瘤は10%中性緩衝ホルマリンおよびメタノール・カルノア液で固定後、パラフィン切片を作成し、HE染色、特殊染色（渡辺鍍銀、マッソ・トリクロム、PAS、グリメリウス等）ならびに免疫染色（サトウチ、ピマチ、S-100、NSE、5-HT、70kD グラニン等）を施し鏡検した。また、ホルマリン固定材料の一部から透過型電子顕微鏡検索も試みた。

（結果と結論）本腫瘤は髄様充実性で、島状あるいは胞巣状構造を呈していた。間質には比較的血管が豊富で、広範な石灰沈着や一部に間質の軟骨・骨化生も観察された。腫瘍細胞の細胞質は好酸性微細顆粒を有し、核は淡明で類円形～多形性で1～数個の明瞭な核小体を持ち、有糸分裂像も多数観察された。また、本腫瘍の転移像は全身検索の結果観察されなかった。特殊染色の結果、腫瘍細胞はグリメリウス染色に弱陽性を示し、免疫染色ではNSE、5-HTにそれぞれ一部陽性を示した。電子顕微鏡観察の結果、腫瘍細胞の核の切れ込み像や複雑に嵌合する細胞突起、細胞間のテスモゾーム様構造が観察された。また、大小様々の脂肪顆粒が腫瘍細胞内に観察された他、ゴルジ装置近隣には直径160～200nm大の分泌顆粒様有芯顆粒が少数観察された。

以上の所見より、本腫瘍を悪性松果体細胞腫と診断した。松果体細胞腫は、大型の明調細胞と小型の暗調細胞の2細胞から構成されることや偽ロゼット形成などが特徴とされている。今回の症例は組織学的に細胞異型も強く、上記の特徴が乏しいこと、頭頂骨を破り（あるいは巻き込み）頭部皮下にまで発育するなど、松果体腫瘍としては特異で、稀な腫瘍と考えられた。松果体腫瘍は解剖学的な発生部位や発育様式などが診断の根拠として重要になる。本例のように石灰の沈着が豊富で、一部に基質の軟骨・骨化生がみられるような場合には骨肉腫と、また松果体の間質は髄膜由来であり電顕的に多くの共通点があるため、未分化で電顕観察によって分泌顆粒が乏しいか、みられない場合には髄膜腫と、鑑別が重要である。

P-43

Donryu系雌ラットにみられたPineoblastomaの2例

○飯島徹男^{1,2},高橋正一²,吉田 緑²,鈴木謙二²,北村 毅²,
安藤 進²,前川昭彦² (¹日清製油, ²佐々木研病理)

【はじめに】

ラットの松果体腫瘍の発生は極めて稀であるとされている。今回、我々は BrdUをラットの新生仔に皮下投与した動物の2例に本腫瘍を認めたので報告する。

【症例及び検索方法】

症例は出生後 2, 4, 6, および 21 日目の計 4 回 BrdU 3.2mgを皮下投与した Donryu ラット (雄 1 6 匹、雌 2 2 匹) のうちの雌 2 例である。共に観察期間中に体重減少と共に一般状態の悪化を来したため、症例 1 は 3 8 週齢、症例 2 は 5 3 週齢で切迫屠殺を行なった。剖検時、大脳後頭葉から小脳前葉にかけて、症例 1 では 1.5×1.0cm、症例 2 では 1.7×1.4cm大の出血性で境界明瞭な灰白色の結節性軟腫瘍塊として観察された。断面では、脳実質部分を強く圧排し、一部では実質内への浸潤を認めた。2 症例ともその他の臓器については腫瘍性病変を認めなかった。腫瘍組織を含む主要臓器は、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従い標本作製し、H E 染色により病理組織学的検索を行った。また、特殊染色として PAS 染色、鍍銀染色を行い、加えて S-100 蛋白、NSE、GFAP、セトニンについて免疫組織化学的検索を実施した。

【組織学的所見】

2 症例共に同様の組織所見であり、腫瘍細胞は繊細で境界不明瞭な細胞質と大型で多形核を有する比較的大型細胞の充実性増殖を主体とし、不明瞭ながらも狭い血管結合織で境された胞巣状構造が認められ、一部に偽ロゼット様の構造もみられた。細胞は強い異型性を示し、核分裂像も頻見された。また、これら大型の腫瘍細胞に混じって、乏しい胞体または空胞状の胞体と円形の濃染する核を有する小型細胞が僅かながら認められたが、ヒトの Pineocytoma に比較的特徴的とされる典型的な two cell pattern の像はみられなかった。以上に加えて腫瘍組織内には出血壊死を伴い、脳実質内への浸潤像も認められた。免疫組織学的検索では、腫瘍細胞は NSE、セトニンで陽性部分を認めたが、その他は陰性であった。

【考察及び結論】

本腫瘍ではグリア系腫瘍との鑑別が問題となるが、腫瘍が解剖学的に松果体部位を中心に発育し、組織学的には多くの内分泌器官に特徴とされる胞巣状構造を認め、また NSE、セトニンで陽性部分を示し、かつ強い悪性を示していたことから Pineoblastoma と診断した。また、本腫瘍が BrdU 投与群で認められたことから BrdU の影響を疑うが、小スケールでの実験であったため、更に検討が必要と思われる。

P-44

若齢 SD ラット耳下腺に自然発生した低分化型腺癌の 1 症例

○恒成一郎¹、河内 護¹、南里博俊¹、信岡大介¹、山手丈至²、佐久間貞重²
(日本ベーリンガーインゲルハイム¹、大阪府立大学²)

【緒言】 発癌性試験に繁用される SD および F344 ラットにおいて、唾液腺由来の自然発生腫瘍は極めて稀である (0.28%)。これまでに報告されている唾液腺由来腫瘍は、腺腫、腺癌、扁平上皮癌あるいは間葉系腫瘍に分類されている。今回、我々は若齢の SD ラットの耳下腺に自然発生した低分化型腺癌の 1 例を観察する機会を得たので、その病理学的特徴について報告する。

【症例および検査方法】 毒性試験に供する予定で 4 週齢で購入した Crj:CD (SD) ラットの雌 1 例に、購入後の馴化期間中に右側の耳介基部に腫瘤が触知された。そのため、試験から除外し、直ちに屠殺剖検した (剖検時 6 週齢、体重 158 g)。腫瘍組織は、10%中性緩衝ホルマリンで固定した後、常法に従いパラフィン包埋切片を作製し、H-E 染色の他に、アザン、PAS、アルシアンブルー及び鍍銀染色等の特殊染色、並びに種々の免疫組織化学的染色を LsABC 法を用いて行った。また、ホルマリン固定材料から戻し電顕標本作製し、腫瘍細胞の微細構造を観察した。

【剖検所見】 腫瘤は耳下腺に接して認められ、皮膚及び周囲皮下組織とは容易に剥離し、腫瘤を覆う皮膚には潰瘍などは認められなかった。腫瘤は、大きさ 4×3×3 cm で、硬度があり、周囲に出血が認められた。断面は灰白色充実性であった。

【組織・電顕所見】 腫瘍は集簇した腫瘍細胞が島状に配列する organoid 状部位、あるいは腫瘍細胞が密にシート状に配列する部位から主に成っていた。これら組織間には少量の膠原線維が存在した。これらの部位を構成する腫瘍細胞は、数個の核小体を有する卵円形の比較的明るい核を持った円形ないし楕円形の細胞で核の極性はなかった。さらに、腫瘍組織には、紡錘形の細胞が束状に配列する一見間葉系腫瘍を窺わせる部位が認められた。腫瘍細胞が密にシート状に配列する部位では、細胞間に空隙が散見され、空隙内にはアルシアンブルーに染まる物質が認められた。部位により腫瘍細胞間には少量の鍍銀線維があり、リンパ球及び好中球の浸潤がしばしば観察された。腫瘍細胞には PAS 陽性物質あるいは扁平上皮化生などは認められなかった。有糸分裂像は頻繁に認められた。免疫組織化学的に、腫瘍細胞は、ケラチンに陽性で、ビメンチンに対して陰性であった。電顕観察により、腫瘍細胞間には、接着装置がしばしば認められ、小腔を形成するように微絨毛様の細胞突起が時にあった。細胞質には多くの遊離リボゾームがあり、中等度に発達した粗面小胞体やミトコンドリア、そして束状のマイクロフィラメントが観察された。

【まとめ】 本例は、発生部位から判断し耳下腺に由来する腫瘍と考えられ、明瞭な腺・管構造を欠いていたことから低分化型腺癌と診断した。ヒトでは、唾液腺の未分化癌は耳下腺に比較的多くみられ、壮年以上に発生するとされている。本例のように若齢ラットに認められた耳下腺の低分化型腺癌は珍しい症例と考えられた。

P-45

カニクイザルにみられた下垂体腫瘍

○永井博文、石村美祐、関口正博、穴山久志、佐々木啓
(武田薬品・薬安研)

【はじめに】ヒトを除く霊長類における下垂体腫瘍の報告はまれで、カニクイザルでは、これまでにthyrotroph cell adenomaが1例報告されているに過ぎない(Tsuchitani & Narama, Vet Pathol 21: 444, 1984)。今回、我々は老齢カニクイザルの剖検において遭遇した下垂体腫瘍について病理組織学的に検討した。

【材料と方法】症例はマレーシア産の31歳、雄性カニクイザルで、金沢医科大学において29年間飼育された後、当研究所で安楽殺後、剖検した。臨床的に特記すべき異常はなかった。剖検時体重は6.925 kg、下垂体は重量114.1 mgで、肉眼的に異常はみられなかった。下垂体は10%中性緩衝ホルマリン液で固定、パラフィン包埋後、H&EおよびPAS-orange G染色標本作製し、病理組織学的に検査した。

【成績】腫瘍は、下垂体前葉中央部に位置し、径約2 mmの類円形で、周囲正常組織を軽度に圧排、増殖していたが、明らかな被膜の形成は認められなかった。腫瘍は小型、類円形ないし多角形の均一な細胞より成り、核は類円形で明るく、核小体が比較的明瞭であったが、核分裂像は認められなかった。ほとんどの腫瘍細胞の細胞質は微細顆粒状を呈しており、H&E染色でエオジン好性、PAS-orange G染色ではorange Gで染色された。腫瘍細胞は充実性に増殖し、血管に富む繊細な結合組織により索状の細胞群に分画されていた。以上の特徴から、組織学的分類ではeosinophilic adenoma、sinusoidal typeと診断された。

下垂体前葉腺腫はその細胞質の染色性に基づいて好酸性、好塩基性、嫌色素性に分類されるが、このような組織学的分類と臨床的内分泌症候とは必ずしも一致せず、現在では免疫組織学および電顕所見に基づいた機能的病理分類が行われることが多い。本症例についても、免疫組織化学的および電顕的検索を実施し、機能的病理分類を行うと共に臨床内分泌像との関連についても考察する予定である。

ラット子宮角に観察された granulated metrial gland cell (GMG cell)のびまん性増殖性病変について

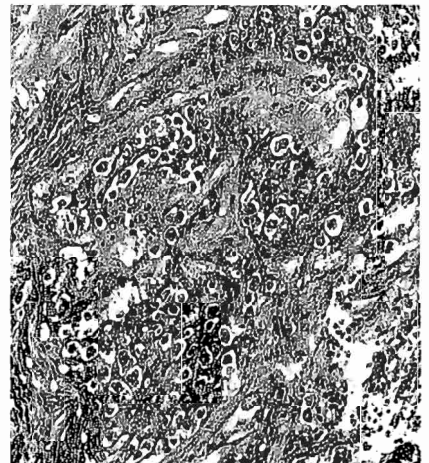
○吉田 緑¹、高橋 正一¹、安藤 進¹、笹原 健二²、
木谷 敏之¹、前川 昭彦¹ (1 佐々木研)(2 ツムラ)

Granulated metrial gland cell(GMG cell)は、妊娠期および授乳期のラットあるいはマウスの子宮に認められ、特徴的な細胞質内好酸性顆粒を有する大型の細胞である。GMG cellは脱落膜腫内にも観察されるが、子宮の病変としてのGMG cellの変化については殆ど報告されていない。今回、われわれは15ヶ月齢および18ヶ月齢の雌Donryuラットの子宮にGMG cellのびまん性増殖を認めたので報告する。

〔材料と方法〕 2症例とも子宮癌誘発実験に用いた動物で、症例 1は10ヶ月齢に子宮腔内にENNGを投与し18ヶ月齢まで飼育した動物で、症例 2は20週齢より10週間背部皮下にエストロゲンパレットを埋め24時間明照明下で15ヶ月齢まで飼育した動物である。固定後の全子宮は約 5mmの長さに切り出して包埋し鏡検した。

〔結果および考察〕 2症例とも肉眼的には認められなかった病変で、顕微鏡下において発見された。症例 1は、頸部に近い子宮角部の血管極側、固有層から筋層にわたる部分にびまん性の細胞増殖部として認められた。この増殖部に接する子宮腔側には扁平上皮癌が認められた。症例 2は頸部に近い角部の子宮内膜より漿膜に及ぶ横断面全域にわたるびまん性の細胞増殖として観察された。増殖している細胞は 2症例とも、円形の大型細胞であり核が偏在していた。症例1では大部分の細胞質内にPAS反応二陽性を示す粗な好酸性顆粒が充満していた(図)。症例 2では、間質細胞に類似する細胞も一部に認められたが、空胞状の細胞質を有する細胞が目立ち、顆粒を認める細胞の出現頻度は症例1と比べ低かった。これらの大型の細胞は、アルリアブルー、S-100抗体に陰性であり、ヒマンチン抗体に陽性を示した。またこの細胞は子宮以外の組織では観察されなかった。

これらの 2症例で子宮に増殖していた細胞は、形態学的特徴からGMG cellであると思われた。今回、GMG cellが増殖した各々の原因については不明であるが、何らかの刺激に対する反応性増殖のひとつの型である可能性が考えられた。



P-47

F344ラットにみられた唾液腺腺癌の1例

○寺西宗広, 松本悦嗣, 矢本 敬, 田中宏治, 瀬畑信哉, 真鍋 淳(三共・安全研)

ラットにおける唾液腺腫瘍の自然発生は稀であり, 形態学的特徴について記載した文献も少ない(Squire, 1978; Elwell, 1990; Neuenschwander, 1990). 今回, 唾液腺腺癌と診断されるF344ラットの症例を経験したので, その形態学的特徴について報告する.

[材料および方法]

症例は当研究所で生産・長期飼育され, 一般状態悪化のために安楽死剖検されたF344ラット(無処置, 94週齢, 雄)である. 腫瘍は肉眼的に右側の下顎部皮下の顎下腺相当部にみられた, 大きさ30x30x20 mm, 淡褐色, 弾性でやや硬い腫瘍であり, 断面は比較的均質であった. なお, 左側は肉眼的に正常であった. その他の臓器ではF344ラットにみられる加齢性の変化が散見され, 瀕死の原因は下垂体腫瘍による脳底圧迫であった. 腫瘍は10%中性緩衝ホルマリンに固定し, 常法に従いH-E染色などの光顕標本を作製し観察した. また, 固定材料から電顕試料を作製し微細形態学的に調べた.

[結果]

(光顕所見)

腫瘍内に線維性結合織により分界された種々の大きさの充実性胞巣を認め, 周囲結合織内に孤在性あるいは小集塊状の腫瘍細胞の浸潤を認めた. 増殖した腫瘍細胞により圧迫された既存の顎下腺および舌下腺を腫瘍内に, 萎縮した耳下腺を辺縁部に認めた. 個々の胞巣は腺房細胞に類似した上皮性細胞のシート状増殖よりなり, クロマチンに富んだ偏在性の核および淡明な細胞質あるいは好酸性顆粒を有する細胞, N/C比の高い小型細胞, 核小体の明瞭な胞状核を有する細胞など多彩であり, 腫瘍細胞間の移行像, 壊死巣, 偽嚢胞形成および有糸分裂像が散見された. 胞巣内では管構造は明らかではなかったが, 稀に周囲結合織内に管状を呈し浸潤する像を認めた. なお, 他臓器への転移は認められなかった.

(電顕所見)

核は概してクロマチンに乏しく, 核小体を1~数個認め, 大小不同, 核膜彎入など異型性が強かった. 未分化な細胞では細胞内小器官に乏しかったが, 細胞間にデスモゾームを認めた. 低分化の細胞では, 粗面小胞体が拡張し, 分化した細胞では, 核が偏在し, 発達した粗面小胞体と低電子密度の粘液様顆粒を認めた. また, 一部の分化した細胞に高電子密度の漿液様顆粒を認めた. なお, 腫瘍部に筋上皮細胞は認められなかった.

[考察]

光顕および電顕的特徴から, 本腫瘍は粘液性および漿液性腺房細胞への分化を示す唾液腺腺癌と診断した. ヒトでは組織像の類似性のみから発生母地を特定するのは困難とされており, 唾液腺の発生との関連, 特に ductal reserve cell由来を想定する説や, 分化した導管上皮および腺房細胞にも増殖能があるとの証拠を根拠にこれら導管上皮および腺房細胞由来をも想定すべきとの説などがある. ラットでは顎下腺は混合腺, 舌下腺は粘液腺, 耳下腺は漿液腺であり, 既存の唾液腺に由来したと仮定すれば, 粘液性および漿液性の腺房細胞に分化し得る顎下腺の腺房細胞に由来した可能性が考えられる.

P-48

F344ラットの甲状腺に見られたカルシトニン産生悪性腫瘍の一例

○相磯成敏、櫻ゆみ、妹尾英樹、野田圭介、竹内哲也、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)

【はじめに】F344ラットの甲状腺に発生する悪性腫瘍は通常、濾胞状腺癌とC細胞癌に分類されている。がん原性試験のF344ラット 1匹の甲状腺に濾胞状腺癌様の多様な組織形態を示しながら、腫瘍構成細胞が免疫組織化学的にカルシトニン強陽性を示す腫瘍の発生をみたので報告する。

【症例および検索方法】症例は、がん原性試験の中間用量群の、110週齢で計画屠殺した雌性F344Du/Crjラットの気管上部に最大径15mmの白色結節として認められた。肺にも径1~2mmの転移結節を多数認めた。動物の飼育は当センターのバリアー内で単飼し、被験物質を混合したCRF-1(オリエンタル酵母工業㈱)粉末飼料および濾過・滅菌した市水を104週間自由摂取させた。諸臓器を10%緩衝ホルマリン液で固定後、常法によりH&E染色し、気管上部の結節と肺の両組織についてはPAS、マッソン・トリクロームと鍍銀、コロイド鉄、ムチカルミン等の染色の他、抗カルシトニン抗体(DAKO JAPAN CO., LTD)を用いた免疫染色標本を作製して検索した。

【組織学的所見】一側の甲状腺に生じた腫瘍組織は周囲組織へ著しい浸潤性・破壊性の増殖を示し、対側の甲状腺を巻き込む一方、気管周囲に複数の腫瘍結節をつくり喉頭および気管上皮直下でも旺盛に増殖し、気道狭窄を来していた。腫瘍の増殖形態は大小の腺腔を形成するものと充実性に増殖するものとが入りまじり、両者の移行も認めた。腫瘍組織には豊富な線維性間質が存在した。腺腔を形成する部分は線維性間質を伴う上皮の乳頭状の増殖が目立った。この腺腔内には、H&E染色で弱塩基好性に染まる液が貯留し、貯留液はコロイド鉄、ムチカルミンおよびPASには陽性、マッソン染色では青色を呈した。一方、免疫染色では、充実性に増殖している腫瘍細胞の他、大小の腺腔を形成する腫瘍細胞にもカルシトニン強陽性を示す細胞が、また肺の転移病巣にもカルシトニン陽性が確認された。これらの所見のほかに、腫瘍組織の一部に極めて分化程度の良い骨および軟骨の形成を認めた。

【まとめ】本例は腺腔の形成や腺腔内貯留液の性状から甲状腺の濾胞あるいは気管支腺由来の腫瘍を疑わせたが、肺転移病巣を含めて、腫瘍細胞のカルシトニン陽性所見から甲状腺のC細胞癌と診断した。また、この試験での甲状腺腫瘍の発生率から本例は自然発生したものと考えられる。なお、甲状腺の混合腫瘍に関しては、イヌで濾胞状腺癌に骨や軟骨の悪性間葉系成分を含む例を malignant mixed thyroid tumorとしている報告もあるが、本例の骨・軟骨形成は成熟型であることから反応性のものと考えた。

P-49

BDF₁マウスの肝臓に認められた血管筋脂肪腫様病変の一例

○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】 肝臓の血管筋脂肪腫(Angiomyolipoma以下AMLと略す)はヒトにおいても極めて稀である。BDF₁マウスの肝臓にAML類似の病変を経験したのでここに報告する。

【症例】 症例は癌原性試験に供した長期飼育のCrj:BDF₁雄マウスの1例。飼育条件は通常のバリアシステムで単飼、飼料はオリエンタル酵母工業(株)の固形飼料を、飲水は市水をフィルター濾過し紫外線滅菌したものを自由摂取させ、110週齢で放血屠殺し剖検した。肉眼的に、肝臓の中央葉及び左葉に2個の白色腫瘤が認められ、その最大径は25mmであった(写真 1)。10%緩衝ホルマリン液で固定し、常法により光顕標本を作製し、検索に供した。

【組織学的所見】 病変は肝表面より隆起していたが、周囲肝実質への圧迫像や被膜形成は認めない。これらの病変は肝組織を置換するように増殖しており、多数の中小の筋性血管を取り巻くように比較的小型で楕円形の核を有する平滑筋細胞と思われる間葉系細胞が増殖、配列し、それらの間を主として成熟した脂肪細胞が埋めており、病変内に既存の肝細胞が不規則に索状ないし島状に混在していた(写真 2)。本病変内には組織肥満細胞がやや多く存在しており、一部は骨形成を伴っていた。

【まとめ】 BDF₁マウスの肝臓に認めたAML様の病変はヒトの腎臓にみられるAMLと形態的に類似しており、またヒトの肝臓のAMLにも類似する点が多かった。しかしながら、従来 Lipomatous lesionとして報告されているものにも酷似しているため、その診断名については今後検討が必要と思われる。

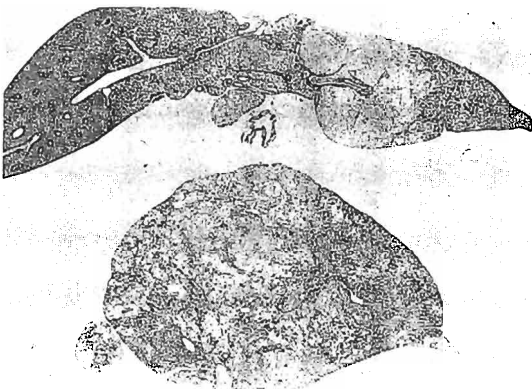


写真 1 中央葉及び左葉に認めた白色腫瘤のルーペ像 (HE染色)

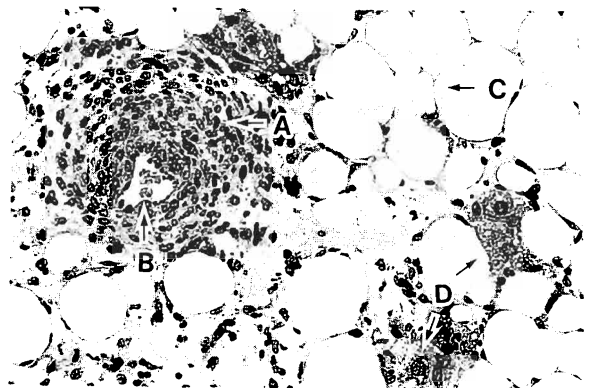


写真 2 強拡大像 (HE染色)

A:間葉系細胞 B:血管
C:脂肪細胞 D:既存肝細胞

P-50

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（続報）

○宇都宮忠実、林一彦、岸和正、田中好美（大塚製薬、琵琶湖研究所）

[はじめに] 我々は、第11回日本毒性病理学会において、Wistar系ラットに見られた精巣上体の精子性肉芽腫について、Sprague-Dawley(SD)系ラットとの比較において報告した。今回は、さらに検査動物数を追加し、剖検時の週齢についても前回報告したものよりも幅広く追加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4-9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(5-39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151匹(5-19週齢)、SD系ラット327匹(5-39週齢)を、肉眼的および組織学的(H.E.染色)に検査した。

[結果および考察] Wistar系ラットでは、9週齢から16週齢において精子性肉芽腫が認められ、8-19週齢での発生率は15.0%(19/127)と前回報告と同じように高値を示した。SD系ラットでは9週齢から18週齢において精子性肉芽腫が認められ、8-19週齢での発生率は2.7%(8/294)と前回報告値よりも若干高値を示したが、Wistar系ラットとの比較では、前回報告と同じように明らかに低値を示した。発生部位については、前回報告(Wistar系ラット:精巣上体尾部、SD系ラット:精巣上体頭部)より変化が見られ、Wistar系ラットでは、精巣上体尾部(16/19)と精管(3/19)に、SD系ラットでは、精巣上体頭部(2/8)、精巣上体尾部(5/8)と精管(1/8)に認められた。しかし、前回報告と同じく、Wistar系ラットでは、精巣上体頭部での精子性肉芽腫の発生は認められなかった。前回報告では、両側性に発生する例は認められていなかったが、今回、Wistar系ラット(16週齢)の1例に、両側性に精子性肉芽腫の発生が認められた。

以上の結果より、Wistar系ラットとSD系ラットでの精子性肉芽腫の発生率には、系統差が見られるようである。なお、各週齢での検査動物数が少ないので、断定的なことは言えないが、現在までのデータでは、発生率のピークはWistar系ラットで9-10週齢と13-14週齢に、SD系ラットで9-11週齢に見られた。

P-51

SDラットに認められた嚢胞腎様病変

○佐野文子, 杉本次郎, 小林 潔, 土屋毅幸, 後藤和広, 及川直矢, 務台 衛
(三菱化学横浜総研・安全性研)

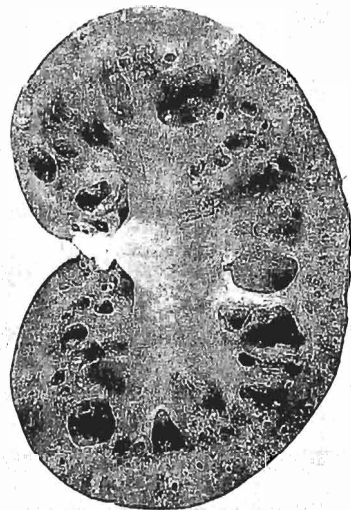
【序】 ヒトの腎臓の遺伝的疾患として幼児型嚢胞腎および成人型嚢胞腎が知られている。これらの疾患では、主として集合管あるいはヘンレの係蹄における嚢胞形成が両側に認められ、また、多くの場合に肝内胆管の拡張を伴っている。遺伝的に同様の病変を発現する疾患モデル動物としては、C57BL/6J cpk/cpkマウス、DBA/2FG pcy/pcy マウスあるいはHan:SPRD cy ラットが知られている。今回、我々はSDラットにおいてヒトの嚢胞腎とよく類似した病変を観察する機会を得たので報告する。

【材料と方法】 対象となったラットは雌雄のCrj:CD(SD)ラットである。肉眼検査において腎臓に多発性嚢胞が認められたラットの一部の例について、常法により H-E 染色標本作製し、病理組織検査を実施した。

【結果】 肉眼検査では、腎臓は両側に腫大し、表面粗造が認められた。割を入れると皮髄境界部に大小多数（最大径 5 mm）の嚢胞が認められた（写真）。また、肝臓においても腫大および表面粗造が認められた。組織検査では、腎髄質外帯部を主体とする尿細管の嚢胞性拡張がび漫性に認められた。また、尿細管上皮の好塩基性変化、線維化、あるいは白血球浸潤が随伴して認められた。肝臓では、小葉間胆管の嚢胞性拡張がび漫性に認められ、それに伴い、胆管周囲性の白血球浸潤、線維化あるいは胆管増生が認められる例もあった。その他の臓器には異常は認められなかった。なお、該当動物の一般状態に異常は認められなかった。

上述の肉眼変化は、当研究所で1994年以降使用した 7 から19週齢の無処置、対照あるいは被験物質投与動物の雄10例、雌 4 例に認められた。発現頻度は入荷ロット毎に異なっていたが、比較的高頻度な場合もあった。

【まとめ】 7 から19週齢のCrj:CD(SD)ラットにおいて肝内胆管拡張を随伴する嚢胞腎様病変が認められた。この病変は無処置あるいは対照動物でも認められること、腎臓、肝臓の両臓器で認められること、およびヒトの遺伝性嚢胞腎ときわめて類似していることから、先天性の変化と推察される。



P-52

NZW系（クリーン）ウサギに高率に認められた 全身性微胞子虫感染症について

○高島吉治^{1,2}、影山明彦¹、井原真哉¹、矢ヶ崎 修¹、山口基徳¹、
堤 雅弘²、小西陽一²（日本シェーリング・研¹、奈良医大・がんセ・腫病²）

ウサギは生殖・発生毒性試験をはじめとする毒性試験で繁用されているが、ラットやイヌに比して一般毒性学的背景病変の報告が少ない。著者らはNZW系（クリーン）雌ウサギ（3～4ヶ月齢）を用いた毒性試験で当該被験薬によるものとは考えられない慢性炎症性病変が高率に認められたので報告する。

本試験は新規造影剤の単回投与試験の一端として実施されたものである。実験は対照群 5例、被験薬投与群 15例（低・中・高用量群各 5例）について行った。被験物質または対照生理食塩液を単回静脈内投与後、死亡例は直ちに、生存例は投与 4日目にペントバルビタール麻酔下で放血屠殺した。剖検後、肝、心、肺、脳を採取し、ホルマリン固定後、肝・肺は左葉の一部を、心は心室および心房の横断面を、大脳および小脳は各頭頂部の横断面を切り出し、常法に従って、パラフィン包埋後、HE染色標本を作製して組織検索した。

一般症状および剖検ではこの炎症性病変を示唆するような異常は認められなかった。しかし、組織検索により対照群を含む全20例中 8例に、大脳部では皮質、海馬、視床、脳室周囲、脈絡膜、髄膜などに、小脳頂部では皮質、髄質、橋、脳室周囲において、特に血管周囲を中心に小型円形細胞浸潤がみられ、そのうち 2例に肉芽腫性脳炎像を認めた。これら 8例には心では左右の心室を中心に心筋線維への巣状リンパ球浸潤が、7例の肝には門脈域のリンパ球浸潤と小肉芽腫、2例に巣状壊死が認められた。また、これらの動物のうち 6例の肺に軽度から中等度のリンパ球浸潤による間質性肺炎が認められた。さらに、脳組織内に 1例ではあるがグラム陽性の胞子状虫体が検出された。これらの所見から、微胞子虫 (*Encephalitozoon cuniculi*) 感染症と考えられた。

以上、ウサギの *Encephalitozoon* 不顕性感染による病変として肉芽腫性脳炎、心筋炎、肝炎を認めたほか、報告例のない間質性肺炎を高率に認めた。本疾患は多くの家兎に蔓延しており、その感染率はコンベンショナル動物で 50～75%、SPF動物では 5%と報告される。本実験結果はクリーン動物についてであるが、感染率は 40%と SPF動物での報告に比して高いようである。なお、多くの例について検討する必要があるが、認められた結果は薬物の毒性試験の結果評価を複雑にするものであり、十分に配慮しなければならない。

P-53

若齢ビーグル犬にみられたボウマン嚢壁の肥厚を主体とする 腎糸球体病変の1例

○大町 康，鳥海 互，八十島 昭，藤村久子，岩崎 仁，高島紘毅
(田辺製薬・医薬育成研)

【はじめに】

若齢ビーグル犬の腎臓において，自然発生と思われるボウマン嚢壁の顕著な肥厚を特徴とする糸球体病変を経験したので，その組織像について報告する．

【症例】

動物は40週齢の雄のビーグル犬で，ある化合物の1週間反復静脈内投与毒性試験の対照動物として用いた1例である．本例は，血清尿素窒素がやや高値(17.5~25.3mg/dl)を示した他は，臨床病理学および病理解剖学的に特に腎臓の異常を示す所見は認められなかった．

病理組織学的検査では，両側腎臓にびまん性に種々の程度のボウマン嚢壁の肥厚が認められた．ボウマン嚢壁の肥厚は全周性に認められたが，特に尿細管極で強く，同部ではしばしば線維状の解離がみられた．そして，肥厚の強いものではボウマン嚢上皮の腫大，立方化，ボウマン嚢周囲のリンパ球，形質細胞を主体とする著明な細胞浸潤が認められた．電顕的には，軽度の肥厚がみられたボウマン嚢壁では基底膜成分の増生が認められ，また高度のものでは基底膜成分の増生に加えて膠原線維の顕著な増加を伴っていた．

糸球体は全体的に腫大傾向で，一部の糸球体で軽度のメサンギウム細胞の増生，係蹄の虚脱あるいは傍糸球体領域の拡張などが散見され，ボウマン嚢壁の肥厚が高度なものでは糸球体硬化像が認められた．ボウマン嚢壁の肥厚が軽度な糸球体のなかには光顕的，電顕的に異常がみられないものもあった．

尿細管の変化としては，皮質では限局性の好塩基性尿細管が，髄質，腎乳頭部では尿円柱や石灰沈着が少数認められた．

腎臓以外では，脳髄膜に軽度の小動脈周囲の肉芽性炎が認められた他は全身諸臓器には特に異常は認められなかった．

【まとめ】

臨床病理学的にほぼ正常と思われたビーグル犬の腎臓において慢性炎症性反応を伴ったボウマン嚢壁の肥厚を主体とする糸球体病変が認められた．このような自然発生の腎病変についての症例報告は極めて少なく，ビーグル犬における偶発性病変を知る上で貴重な症例であると考えられた．

P-54

ビーグル犬に見られた子宮の分節欠損の一例

○上田 誠、俵谷武治、吉田 勝、中澤素邦、内本啓史、河南明孝、
岩倉啓子、鷺見信好 (日本新薬(株)・安全研)

毒性試験の対照群の中で片側子宮角の分節欠損を認めたビーグル犬を検索する機会を得たので報告する。

動物は某ブリーダーより5ヶ月齢で購入した雌ビーグル犬で、1ヶ月の検査後、6ヶ月齢で対照群として毒性試験に供され、13週間の投与期間の後、5週間の回復期間を経て計画殺された。試験期間中特筆すべき症状は認められず、剖検時に左子宮角の分節欠損が認められた。

左子宮角の尾側は約3.5 cm にわたって欠損し、痕跡的な索状の組織が子宮広間膜によって子宮体とつながっているのみであった。残された左子宮角の頭側は5×2.5×2.5 cm に腫大し内腔に白色透明の漿液を満たしていたが粘膜面に異常は認められなかった。その他の肉眼的な異常は左卵巢を含め生殖器官には認められなかった。その他の臓器では大脳右側脳室、第三脳室および第四脳室の拡張による内水頭症が認められた他、組織学検査の結果も含め特筆すべき変化は認められなかった。

子宮の分節欠損 (Segmental aplasia) はミューラー管の発育異常によって生じると考えられており、ウシ、ブタでの発生が知られているがその他の動物での発生は希とされている。イヌにおけるミューラー管の発育不全については膣の分節欠損や膣弁の閉塞、単角子宮などの発生例が少数報告されているのみであり、今回の症例は希なケースであると考えられた。

○川口博明, 佐竹 茂, 千早 豊, 前田 博, 李 建中, 永田良一,
宮寫宏彰 (新日本科学)

イヌの網膜の異形成は先天性の疾患として知られており, 遺伝的要因あるいは非遺伝的要因による発生がいわれている. Sealyham terrier, Bedlington terrier, Yorkshire terrier, Labrador retriever, English springer spaniel, American cocker spaniel 等では遺伝的要因による発生が報告されており, また, ビーグルでは外的要因による発生も疑われ, 新生仔イヌへの実験的 Herpesvirus 感染での発生も報告 (Albert ら, 1976) されている. Heywood ら (1970) はビーグルでの 2.9 % の発生を報告している. 今回, 網膜異形成を示すビーグルの 3 例に遭遇したので報告する.

症例は, 同時購入の雄 33 頭と雌 33 頭の合計 66 頭 (日本クレア・株) のうちの雄 3 例であった. 購入後, 検疫時の眼底検査で異常が認められた. 月齢は 1 例が 8 カ月齢, 2 例が 10 カ月齢であった. 10 カ月齢の 2 例は同腹仔であり, 3 例の雄親は同一の動物であった. 眼底カメラ (RC-2 興和) を用いた眼底検査において, 3 例とも左右両側の眼底に, 白色を呈する縞状あるいは筋状の病巣が視神経円板を中心に多数認められた. 麻酔下 (ペントバルビタールナトリウム) での安楽死後, 左右の眼球を摘出し, グルタルアルデヒド・ホルムアルデヒド混合固定液による注入固定を行い, 常法によりパラフィン包埋, 薄切後, H・E 染色標本を作製し病理組織学的検査を行った.

病理組織学的に, 3 例の左右の眼球には眼底検査で異常がみられた部位に一致して網膜の異常が認められた. 網膜の異常は視神経円板を中心に分布しており, 網膜の杆状体錐状体層および外顆粒層の硝子体側への隆起および皺襞形成, さらに杆状体錐状体層および外顆粒層によるロゼット形成がみられた. 隆起および皺襞形成を示す部位の中心の網膜色素上皮細胞は腫大し, 増殖傾向を示していた. 外網状層から神経線維層までは硝子体側へ圧迫され菲薄化を示していた. 皺襞およびロゼット形成を示す部位には空隙形成がみられた. 空隙の内側は杆状体錐状体層により内張りされ, 内腔には弱好酸性の顆粒を有する大型の胞体細胞が認められた. 網膜異常部位に細胞浸潤等の反応性の変化は認められなかった. 眼球の他の部位においては異常は認められなかった.

今回の 3 例は雄親が同一動物で, また, 2 例は同腹仔であり, その発生には遺伝的要因の関与が示唆された.

P-56

NO 合成阻害剤 NG-nitro-L-arginine(L-NNA)誘発脳卒中ラット における行動薬理学的及び病理組織学的検討

○伊東一女、井原真哉、藤本峰子、津崎真由美、藪内文恵、
辻孝司、赤井哲夫、矢ヶ崎修、山口基徳
(日本シエーリング(株) 研究部)

<緒言> 多発梗塞性痴呆(MID)はアルツハイマー型痴呆同様に日本で多くみられる老人性痴呆の一種であるが、MID の進行を抑え、記憶障害を改善するような有益な治療薬はまだ開発されていない。この理由の一つとして MID 動物モデルが未だ確立していないことがあげられる。L-NNA を健常ラットに投与すると、重篤な高血圧から脳卒中が発症し、死にいたることは既に報告されている。本試験では L-NNA をラットに投与し、脳卒中を発症させた後休薬し、その後、回復した動物の学習を含む行動変化と脳血管障害を比較検討し、MID 動物モデルの確立を試みた。なお、病理組織学的な検索と共に、脳血管障害の非侵襲的検出に磁気共鳴画像(MRI)を用いた。

<方法> 4 週齢の雄 Wistar ラット(日本クワ株式会社)に SP 粉餌(船橋農場)に 0.023% L-NNA(W/W)を加え、混餌として、脱イソ水と共に与え、飼育した。対照として同週齢の雄 Wistar ラットに標準食および水道水を与えた。全ての動物に対して、体重測定と Akiguchi らの方法²⁾に従い神経症状の観察を毎日行い、無麻酔下、非観血的に尾動脈圧を週毎に測定した。これらの動物が神経症状および急激な体重減少からなる脳卒中症状を呈した後、L-NNA 処理を中止し、標準食および水道水に変えた。脳卒中発症後、動物用 MRI 装置で T₂ 強調画像の撮影を行った。脳卒中発症 5 週間後より、神経症状が軽減したラットを用いて 3-panel runway 装置で学習能を検討した。その後脳を摘出し、固定後、大脳から 5 つの垂直断面を薄切し、H.E.染色を施し、組織学的検索に供した。

<結果および考察> 血圧: L-NNA 投与に従い、血圧が徐々に上昇し、投与 5 週間後には 200 mmHg 以上の値を示した。症状観察: 5-14 週間後に全例で神経症状(攻撃性および過敏性の亢進) および急激な体重減少からなる脳卒中の発症を観察した。脳卒中発症後 L-NNA 処理を中止した動物は徐々に神経症状および体重減少の回復を示した。MRI: MR 画像では大脳皮質に浮腫が高信号に描出された。学習試験: 対照群に比して学習試験において高いエラー数が長期間続くことが示された。組織学的検索: gliosis, edema, softening, cyst, angionecrosis, 動脈壁肥厚、血管周囲炎、出血巣等が大脳皮質に散見された。

<結語> ラットに L-NNA を与えると、重篤な高血圧が誘発され、脳卒中を発症し、脳梗塞にいたった。脳卒中発症後 L-NNA 中止により神経症状および体重減少の回復を見たが、学習能の障害が残存した。MR 像で確認された大脳皮質の高信号領域は組織学的に浮腫などの広範な血管障害と一致していた。本試験の結果から、L-NNA 誘発脳卒中ラットは脳血管性痴呆動物モデルとなり得ることが示唆された。

- 1) 家森幸男, 池田克己 : Dementia 8, 184-188 (1994)
- 2) Akiguchi, I. *et al.*: In Prophylactic Approach to Hypertensive Disease. p185-194. Raven Press, New York (1979)

P-57

ラットにおける実験的誘発小脳症の形態学的研究、(1)体性感覚領の皮質層構築の変化

○板橋正文、斎藤俊樹、布谷鉄夫、田島正典（日生研）

妊娠ラットにメチルアゾキシメタノール（MAM）を投与すると、その産児に大脳の形成障害を生じることが知られている。胎児の大脳の形成の早期に相当するラット（CD:Crj）の妊娠13日あるいは妊娠15日に、MAM 30mg/kgBWを1回腹腔内投与して、産児に小脳症を誘発させた。その産児の大脳について、障害時期の差異による脳の発生障害の形態学的な特徴を把握することを試みた。

1.大脳の形成障害は妊娠13日処理のラット（GD13）でより重度であり、12週齢の大脳の重量は対照（2,188g）に比して約50%であった。妊娠15日処理のラット（GD15）の大脳の重量は約80%であった。

2.大脳の中央部の体性感覚領はラットの大脳皮質の形態学的な特徴を有している部位である。その体性感覚領の内側方の運動野（エリア4）は無顆粒域であり、中間の一般感覚野（エリア3）及び外側方の感覚受容器域（エリア2）は顆粒域である。これらエリアの層構築の変化を調べた。

(1)エリア4：皮質の厚さは対照で約1,680 μ mであり、GD13で1,010 μ m、GD15で960 μ mであった。皮質の層を構築するニューロン数は対照（240 \square /250 μ m幅）に比してGD13で90%、GD15で70%であり、特にGD15でII・III, V層に減少が目立った。一方、そのニューロン密度はGD13、15とも対照よりも増加していた。

(2)エリア3：皮質の厚さは対照で約1,760 μ mであり、GD15で1,130 μ m、GD13で1,050 μ mであった。層を構築するニューロン数は対照（270 \square /250 μ m幅）に比してGD13で60%であり、IV, VI層で減少した。GD15では50%まで減少しており、IV層を欠損し、II・III, V層で減少した。ニューロン密度はGD13のII・III層で増加したが、GD15の全層で低下した。

(3)エリア2：皮質の厚さは対照で約1,540 μ mであり、GD15で1,090 μ m、GD13で840 μ mであった。層を構築するニューロン数は対照（200 \square /250 μ m幅）に比してGD15で70%であり、そのIV層は欠損し、VI層では増加した。GD13では65%であり、V・VI層に減少がみられた。ニューロン密度はGD13のII・III, IV層で増加したが、GD15では対照に近似していた。

P-58

3-acetylpyridine投与による運動失調ラットの 脳の病理組織学的変化

○関口正博¹、橋本忠俊²、永井康雄²、志野晟生¹、佐々木啓¹
(武田薬品・¹薬安研、²創薬一研)

【緒言】3-acetylpyridine (3-AP)は補酵素NADあるいはNADPの阻害作用を有し、ラット中枢神経系の特定部位の神経細胞を障害することにより、運動失調を起こすことが知られている。また、3-AP投与ラットは、ヒトの脊髄小脳変性症の病態モデルとして有用と考えられている。3-AP投与ラットの運動機能を逃避可能水面深度で定量的に評価したところ、用量依存的に運動機能の低下が認められた。特に3-APの40 mg/kg以下の投与と45 mg/kg以上の投与とでは、運動機能に明確な差異が認められ、この2用量間で脳病変の差異が予想された。今回の実験では、3-AP投与ラットの運動障害に関与している脳病変の発現部位を明らかにする目的で、脳幹の障害を受けた神経細胞の分布領域を調べた。

【材料と方法】12週齢の雄性Wistarラットに3-APを30, 40, 45および75 mg/kgの用量で1回腹腔内投与し、その4.5時間後にnicotinamideを300 mg/kg腹腔内投与した。投与10日後に剖検し、心臓よりFAM固定液(ホルマリン：酢酸：メタノール=1：1：8)で灌流後、脳を摘出して同固定液に浸漬した。文献¹⁾を参考にして脳幹の横断標本を作製し、鏡検した。

【結果】3-APの75 mg/kg投与では下オリーブ核、舌下神経核、疑核および黒質に核濃縮および細胞質の好酸性化を特徴とする神経細胞の変性が認められた。45 mg/kg以下の投与では黒質に異常は認められなかったが、下オリーブ核における障害を受けた神経細胞の分布は45 mg/kg投与と75 mg/kg投与とで差がなかった。45 mg/kg投与では下オリーブ核の全ての垂核 [medial accessory olive (IOM), dorsal cap of Kooy (IOK), nucleus β (β), ventrolateral outgrowth (IOVL), dorsal fold of dorsal accessory olive (IODdf), dorsal accessory olive (IOD), dorsomedial cell column (IOMC), dorsomedial group (IODM), principal olive (IOPr)] の神経細胞に変性が認められた。40 mg/kg投与では下オリーブ核のIOKと β に神経細胞の変性が認められなかった。30 mg/kg投与ではどの神経核にも異常は認められなかった。

【まとめ】運動機能検査で明確な差異の認められた3-APの40 mg/kg投与あるいは45 mg/kg投与ラットにおける障害を受けた神経細胞の分布領域の差異から、下オリーブ核のIOKと β が本ラットの運動機能障害に深く関与していることが示唆された。

文献 1. Balaban, CD: Brain Research Reviews 9: 21-42, 1985.

P-59

遺伝性高コレステロール血症 (KHC) ウサギに発生した 高脂血症性眼病変について

○原 敦子、江幡幸子、仲野善久、篠原基輝、望月由美子、松崎勝寛
(日本ケミファ (株) 研究所)

【緒言】眼器は複雑な構造を有し、活発な生化学的反応の場であり、肝に次いで薬物毒性の出現し易い部位とされる。KHCウサギ(Kurosawa and kusanagi-hypercholesterolemic rabbit)はLDLレセプター遺伝子欠損による高脂血症モデル動物で、1985年に日本白色種(Jla:JW)より確立された。本ウサギを実験に使用したところ、24~30週齢から眼球突出が半数以上に発生し、病理組織学的検査で全例に眼病変が認められたので報告する。

【材料および方法】10~13週齢のKHC雄性ウサギ19羽(体重 1648.2~2464.5g)を使用し、約17週間にわたり、ウサギ用固形飼料(RC4)を投与開始から9週目までは1日当たり100g、その後は120gの制限給餌とし、水は自由摂取させて飼育した。その間約1ヵ月毎に脂質の血液生化学的検査を実施した。摘出した眼球は、FG固定液浸漬後切り出し、20%中性緩衝ホルマリン液で再固定し、常法によりパラフィン切片標本を作製してH-E染色、または凍結切片標本を作製してSudan black B染色を行って鏡検した。

【結果】全例に高脂血症(総コレステロール 755.2~1348.6 mg/dl)が継続して認められた。12例に眼球突出、3例に角膜混濁、1例に眼房水混濁が認められた。肉眼的には1例に網膜肥厚、16例に網膜剥離がみられた。病理組織学的検査では全例に脈絡膜から強膜にかけて泡沫状マクロファージ(泡沫細胞)集簇がみられた。泡沫細胞は角膜固有質、虹彩にも散見された。角膜強膜移行部の泡沫細胞集簇巣ではコレステロール針状結晶形成を伴った炎症反応も認められた。泡沫細胞はSudan black B染色陽性であった。その他、脈絡膜及び網膜の浮腫がみられたが、レンズ及び視神経に異常はなかった。大動脈(弓部~腸骨分岐部)内膜下には粥状硬化巣が全例に認められた。

【考察】これらは高脂血症に伴う眼病変と考えられた。変性LDLを過剰に取り込んで泡沫細胞化したマクロファージ集簇とその変性に伴ってコレステロール針状結晶形成と角膜強膜移行部の炎症、微小循環障害が推察される脈絡膜及び網膜の浮腫が生じ、眼球容積増大による圧迫が眼窩からの眼球突出を来したものと考えられた。角膜の病変についてはウサギ(WHHL, 高脂食NZW), ヒト, イヌ等でlipid keratopathyとして報告されている。しかし、何れの場合も泡沫細胞集簇は角膜、虹彩に限局しており、今回KHCウサギで多発した強膜を含む重度の高脂血症性眼病変はヒト高コレステロール血症例でも報告がない。

P-60

Phenazopyridine hydrochloride によるイヌ涙腺腺上皮細胞の崩壊について

○木下啓明、山本硬治、佐藤亮（大塚製薬(株)徳島研究所）

<目的>

Phenazopyridine hydrochlorideの投与により、イヌの涙腺腺上皮細胞に色素沈着、腺上皮細胞間腔に炎症細胞の浸潤あるいは細胞崩壊が起こり、乾性角結膜炎が惹起されることが知られているが、腺上皮細胞崩壊の機序は明らかではない。そこで、我々はその機序について検討した。

<方法>

11～19ヶ月齢の雌ビーグル犬6頭にPhenazopyridine hydrochlorideを30mg/kg/dayの用量で最長14日間反復経口投与した。一般眼科学的検査及びシルマー試験紙による涙液量測定を行った。剖検時に、眼窩涙腺について一部を10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、常法に従ってH. E. 染色標本を作製して病理組織学的検索を行った。さらに、電子顕微鏡的検索を行うと共にGlutathione-S-Transferaseを用いた電顕酵素抗体法による検索も行った。

<結果>

眼脂、結膜の充血あるいは瞬膜の露出が認められ、涙液量の減少あるいは減少傾向が認められた。剖検では、眼窩涙腺の褐色化が観察され、光顕的に眼窩涙腺の腺上皮細胞に黄褐色から褐色の色素顆粒の沈着が認められた。また、腺房に好中球主体の炎症性細胞の浸潤及び腺房の崩壊像が認められた。

電顕的には、腺上皮細胞に正常分泌顆粒の顕著な減少、光顕的に色素顆粒として認められる電子密度の高い二次ライソゾームの増加が認められた。さらに、ミトコンドリアの減少、極少数のミトコンドリアの変性像及び変性したミトコンドリアを貪食した二次ライソゾームが認められた。一方、電顕酵素抗体法による検索においてもミトコンドリア内にGlutathione-S-Transferaseの免疫陽性反応が認められ、ミトコンドリアの膜の崩壊が示唆された。なお、ゴルジ装置、粗面小胞体及び核に変化は認められず、二次ライソゾームの腺腔への放出像もみられなかった。

<結語>

Phenazopyridine hydrochlorideによるイヌ涙腺腺上皮細胞崩壊の主因はミトコンドリアの変性であると考えられた。

P-61

サルファジメトキシンの間欠投与と連続投与におけるTSH産生細胞の超微形態学的変化の比較

○ 斉藤明美¹、下武男¹、三森国敏²、小野寺博志²、高橋正一³、片山淳一¹、永田治¹、高橋道人²

(¹北陸製薬・研究開発本部、²国立衛試・病理、³佐々木研・病理)

【はじめに】我々は、ラット甲状腺二段階発癌モデルにおいて抗甲状腺物質を連続投与することにより血中TSHは投与初期には高値を示すが、その後漸次低下し、細胞増殖活性も著しく減少する知見を得ている。この結果に基づき、サルファジメトキシン(SM)の間欠投与と実験を実施し、間欠投与により、血中TSHの再上昇と高い細胞増殖活性を伴い濾胞過形成の発生が亢進することを第11回本学会で報告した。一方、甲状腺摘出あるいは抗甲状腺物質投与により、超微形態学的に下垂体TSH産生細胞が機能亢進像を示すことが知られているが、休薬後あるいは再投与後にどのような形態像を示すかについては不明である。そこで今回、ラットにSMを間欠投与した時のTSH産生細胞の超微形態学的変化を経時的に検索すると共に、連続投与時のこれら所見と比較した。

【実験方法】動物はF344雄ラットを用い、N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) 2800mg/kg を1回皮下投与し、その1週後より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%SMを4週間投与する第3群を設定した。また、DHPN処置後0.1%SMを14週間連続投与する第4群および8週間無処置とする第5群を設定した。各投与(休薬)終了後に各群5匹を屠殺し、血清T3、T4、TSHを測定すると共に、下垂体について光顕的ならびに電顕的に検索した。

【結果】血清TSH値は、第1、3および4群で無処置群と比べ有意に高かった。第1群では最も高値を示し、第3および4群間では差はみられなかった。第2群の血清TSH値は無処置群値よりも低値を示した。下垂体の光顕所見では第1から4群でTSH産生細胞の肥大が認められた。TSH免疫組織化学染色で細胞当たりのTSH陽性物質は第1、3および4群で減少し、程度的に第4群は第1または3群よりも弱かった。電顕所見では第1、3および4群のTSH産生細胞に粗面小胞体の拡張がみられ、その中に高電子密度な顆粒が随伴していた。また、細胞質内の分泌顆粒数は第1および3群では中等度に、第4群では軽度に減少した。第2群では無処置群と同様な像を示した。

【考察】14週間連続投与群のTSH産生細胞質内の分泌顆粒数は8週間連続投与群よりも多かったことから、抗甲状腺物質の連続投与によりTSH分泌活性は次第に低下することが示唆された。これは連続投与14週目の血中TSHが8週目よりも低値を示したことを反映する所見と考えられた。一方、間欠投与群では14週間連続投与群よりもTSH分泌活性が高かったのは、休薬後の再投与で急激にTSHが血中へ放出されたことに起因すると考えられた。

Estradiol dipropionate 誘発下垂体前葉腫瘍の 経時的形態変化

○佐藤 洋¹、梶村 哲世¹、陳 忠正²、山田 一孝³、尾崎 善孝²、広田 豊彦²、青柳 一治²、野村 護¹ (第一製薬(株)¹ 開発研 安全性C、²試験C、³探索3研)

【はじめに】 エストロジェン誘発ラット下垂体腫瘍は人や動物の下垂体腫瘍モデルとして広く用いられている。本腫瘍については現在までに数多くの研究報告があるが、形態学的に周囲組織との関連や悪性腫瘍の発生に関して詳細に検討した報告は無い。今回、我々は estradiol dipropionate (EP) を用い下垂体腫瘍を誘発し、経時的に腫瘍細胞の形態的变化と、周囲組織との関連について観察したところ興味ある知見を得たので報告する。

【材料および方法】 8週齢のF344系雌性ラット24匹に5 mg/animal のEPを1回/2週で計7回背部皮下に投与し、実験開始後1、3、5、7、9、11および13週目に各2~6匹屠殺した。また、同系ラット4匹を対照動物とした。下垂体は底蝶形骨に付したまま採材し、矢状断および横断組織の標本を作製し、顕微鏡的に観察した。また、屠殺時点に合わせ、動物用MRI造影装置 (BIOSPEC CSI 47/40 4.7 Tesla) を用い、下垂体の矢状断面のT1強調画像 (TR/TE = 1000/15 ms) およびT2強調画像 (TR/TE = 6000/20 ms) を経時的に撮像した。

【結果】 肉眼的に下垂体は3週目より腫大し、経時的にその大きさを増した。7週より下垂体は暗赤色を呈し、脳底部を明らかに圧迫していた。組織学的に投与後1週で下垂体ラトケ囊遺残体は拡張し、3週目には類洞の拡張と色素嫌性細胞の肥大、増加が瀰漫性に認められた。5~7週目には下垂体前葉は不正形に増殖し、脳底を明らかに圧迫する腺腫像を呈していた。9週以降より下垂体前葉細胞は被膜外浸潤を示し、投与開始後11または13週後の動物には血管内浸潤、底蝶形骨骨髓浸潤が観察された。また、増殖する下垂体前葉色素嫌性細胞は免疫組織学的にプロラクチン陽性を示した。細胞分裂率およびPCNA陽性率も腫瘍化または悪性化とともに増加する傾向を示していた。一方、MRI造影においても屠殺動物と同様に経時的に下垂体は大きさを増し、7~9週目より出血巣の形成が観察された。

【まとめ】

- 1、EPの隔週1回、間歇投与で形態的に5週で腺腫を、9週で腺癌を誘発する事が明らかとなった。
- 2、EP誘発下垂体悪性腫瘍の多くは被膜外浸潤を示し、周囲血管、底蝶形骨および後頭骨の軟骨部分や骨髓へ浸潤するものもあった。
- 3、エストロジェン誘発ラット下垂体腫瘍は形態的に悪性腫瘍が少ないとして現在まで認識されて来たが、剖検時に周囲組織（下垂体被膜、底蝶形骨、後頭骨および三叉神経等）から分離せずに採材する事により、周囲組織への浸潤が究めて明瞭になり、細川等¹⁾の採材方法は形態的に下垂体腫瘍の悪性診断をする場合、適した方法と考えられた。
- 4、MRI撮影装置を用いる事により、非観血的に下垂体腫瘍の成長を観察することができ、同一動物による経時的腫瘍形成の観察が可能と思われた。

【参考文献】

- 1) Hosokawa S et al. (1993) Pituitary carcinoma of pars distalis as a common neoplasm in fischer-344 rats. *Tox. Path.*, 21, 283-287.

P-63

雄ラットにおける7,12-DMBAによる乳癌誘発に対するEstrogenの促進作用

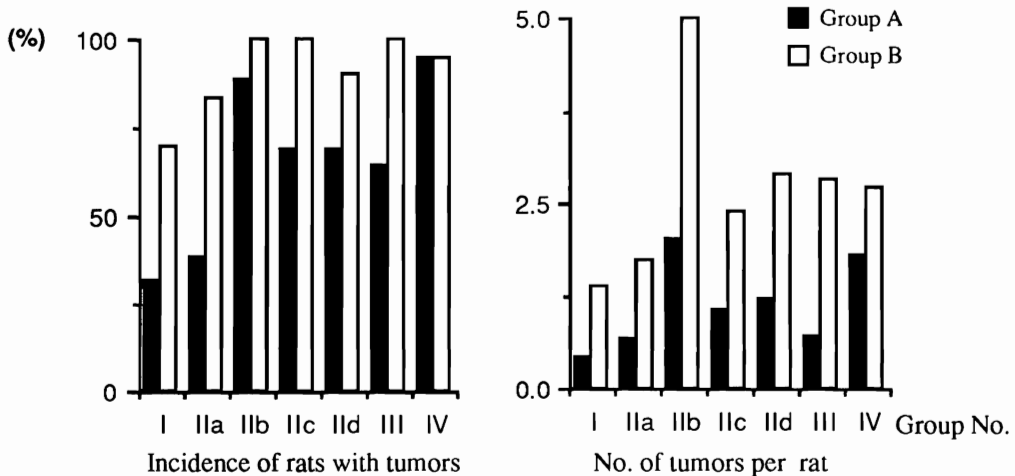
○李建中^{1,2)}, 川口博明^{1,2)}, 大町勝美^{1,2)}, 岡崎啓幸^{1,2)}, 永田良一²⁾, 小玉拓郎¹⁾, 吉田浩己¹⁾ (1: 鹿大一病理, 2: 新日本科学)

<目的> 男性乳癌の発生と進展過程はほとんど解明されていない。7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) 誘発雄ラット乳癌を疾患モデルとして、その発生過程におけるホルモンの影響について検討したので報告する。

<方法> Sprague-Dawley (SD) 近交系雄ラットを使用した。A群では生後28日齢より3回、B群では5回、2週間間隔でDMBA 10 mg/body を経口投与した。両群とも最終回のDMBA投与後2週間目にI, II, III, IV群に分けた。さらに、II群は去勢し、IIa, IIb, IIc, IId亜群に細分した。I群は無処置対照群、IIa群は去勢ホルモン非投与群とした。IIb群には10 ug 17-β estradiol (E₂)、IIc群には100 ug E₂、IIdとIII群には1000 ug E₂、IV群には4000 ug Progesterone (P) を週3回、A群では9週間、B群では5週間の筋肉内投与を行った。発生した腫瘍は去勢雄ラット、10 ug E₂ 投与去勢雄ラット、1000 ug E₂ 投与去勢雄ラットに移植し、これらのラットでの腫瘍の増殖を観察し、生物学的特性を検討した。

<結果と考察> 図で示すごとく、A群ではI, IIa群に比し、性ホルモン投与群では乳癌の発生頻度が増加した。また、これらの群では一匹当りの乳癌個数も増加し、特にIIb群で著明であった。B群では全ての群で高頻度の乳癌の発生がみられたが、乳癌の発生個数はIIb群が他の群に比し顕著であった。また、移植試験の結果、ホルモン投与群に発生した乳癌にはホルモンの増殖が促進されるものが高頻度にみられた。

以上の結果は、雄ラットの乳癌発生において、性ホルモンが促進的に作用することを示した。



P-64

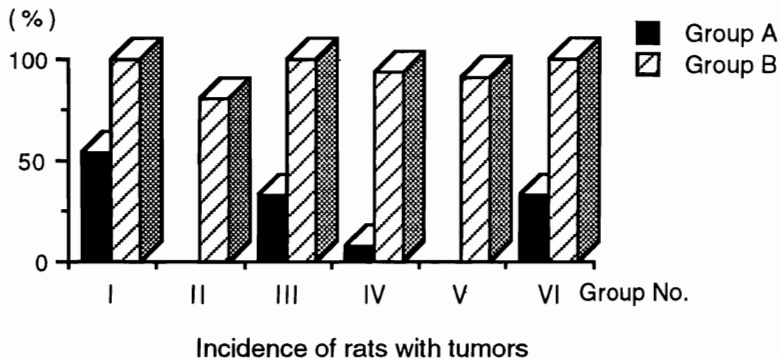
雌ラットにおける 7,12-DMBA による乳癌誘発への卵巣摘除と Estrogen大量投与の抑制効果

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

＜緒言＞ 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) 誘発乳癌の発生, 進展過程における性ホルモンの影響について検討したので報告する。

＜材料および方法＞ Sprague-Dawley (SD) 近交系雌ラットを使用した。10 mg DMBA を A 群では生後 42 日目に 1 回経口投与, B 群では生後 28 日目より 3 回, 2 週間間隔で経口投与した。A 群, B 群とも生後 70 日目に 6 群に分け, I 群は無処置対照群, II 群は卵巣摘除群とした。III 群には 10 µg 17β-estradiol (E2), IV 群には 100 µg E2, V 群には 1000 µg E2, VI 群には 4 mg Progesterone (P) の週 3 回の筋注を開始した。発生した乳癌は種々のホルモン環境の雌ラットに移植し, その増殖を観察した。

＜結果と考察＞ 乳癌の発生 (担癌動物の発生率) を下図に示した。A 群 (DMBA 投与後 119 日目) では, I, III, VI 群で乳癌の発生がみられたが, IV 群ではわずかにみられたのみで, II 群と V 群では全くみられなかった。B 群 (DMBA 初回投与後 77 日目) で乳癌の発生は大差がなかったが, 一匹当りに発生した乳癌の個数では I 群に比し, II, IV, V 群で有意の減少がみられ, 特に II と V 群で著明であった。移植試験の結果, 性ホルモンの存在する環境で発生した乳癌は, 性ホルモンにより増殖が促進されるものが多くみられた。以上の結果は, 卵巣摘除と estrogen 大量投与が雌ラットにおける乳癌の発生と進展に抑制的に作用することを示した。



P-65

病理グレードシステムに関するアンケート調査

○佐々木啓、穴山久志、山崎秀樹、渡辺武志、石村美祐、関口正博、永井博文
(武田薬品、薬安研)

開発化合物の海外開発に伴い、病理組織所見の Peer Review を受ける頻度が高まり、Reviewer との間で幾つかの問題を経験した。そこで我々は、海外における病理グレードシステムに関する調査を実施し(1995年2月～6月)、毒性試験受託機関9社、中立的毒性病理専門家8名及び製薬企業1社から回答を得たので報告する。

1) 評価グレード (18回答)

5段階評価 (minimal, slight/mild, moderate, marked, severe) が 11/18、
4段階評価 (minimal, slight/mild, moderate, marked) が 7/18 であった。

2) グレードの幅 (17回答)

等間隔 (ほぼ等間隔を含む)・7/17、等間隔ではあるか病変により変更 4/17、
等間隔でないが 6/17 であった。

3) 等間隔でない場合の評価方法 (7回答、変更の1回答を含む)

病理担当者の主観に基づき試験ごと或いは病変の Biological spectrum (minimal: まさに気づくほどの最小の変化、severe: 起こりうる最も極度の変化、moderate: minimalとsevereのほぼ中間)により基準が異なる。(例1: ラット腎臓における再生尿細管 minimal >3尿細管、mild 4-10、moderate 10-30、marked >30 或いは、minimal: 単発性1病巣、mild: 散在性病巣、moderate: 多発性病巣、marked: 病巣が標本上の皮質の1/2、severe: 1/2以上。例2: マウス/ラットの脾臓における髓外造血 minimal: 増加が気づくほどの変化、severe: 脾臓は肥大し、造血により正常構造が失われる。)

4) 絶対評価か相対評価か (17回答)

絶対評価が 9/17、相対評価が 4/17、病変により異なるが 4/17であった。

5) 試験期間の差により背景基準が異なる場合 (例: 脾臓の髓外造血) の評価 (18回答)

試験期間の差に無関係に同一のグレード評価 16/18

動物の週齢 (或いは月齢) の背景基準以上をグレード評価 2/18

6) 自然発生病変をグレード評価しているか (18回答)

18回答すべてがグレード評価していた。

7) がん原性試験の非腫瘍性病変をグレード評価しているか (18回答)

ほとんどの非腫瘍性病変 (但し、abscess, fracture, ectopic tissue, nematodiasis, polycystic kidneys, cysts, sperm granuloma, granuloma などは present と表示) が 16/18、前がん病変のみ 1/18、グレード評価せずが 1/18 であった。

P-66 sulfadimethoxine (SDM), propylthiouracil (PTU), potassium thiocyanate (KSCN) および phenobarbital (PB) によるラット甲状腺腫瘍誘発に及ぼす vitamin A (VA) 同時投与の影響

○竹川潔¹⁾, 三森国敏¹⁾, 小野寺博志¹⁾, 高橋正一²⁾, 下武男¹⁾, 安原加壽雄¹⁾, 高橋道人¹⁾ (¹⁾ 国立衛試・病理, ²⁾ 佐々木研・病理)

〔目的〕我々は thiourea (TU) により誘発されたラット甲状腺濾胞上皮由来の腫瘍の発生が VA を同時投与することにより増強されることを第54回日本癌学会で報告した。TU+VA群では血中のT3とT4の値が著しく減少したことから、この腫瘍発生の増強は甲状腺・下垂体ネガティブフィードバック機構を介したTSHの分泌促進に起因していることが推察された。また、同群では肝での T4 uridine diphosphate glucuronosyl transferase (UDP-GT) が誘導されたことから、甲状腺腫瘍誘発の増強に肝でのT3/T4代謝亢進が強く関与していることが示唆された。今回は、TU以外の作用機序の異なる4種の抗甲状腺物質について、その甲状腺腫瘍発生に対するVA同時投与による影響を検討した。

〔方法〕6週齢の雄性F344ラットにN-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) 2800mg/kgを単回皮下投与した後、0.1%SDM, 0.1%PTU, 0.5%KSCNおよび0.05%PBをそれぞれ19週間飲水投与する4群ならびにそれらの投与に加えて0.1%VAを同時に19週間混餌投与する4群を設けた。対照群はDHPN処理後無処置のまま19週間飼育した。投与終了後に血清中のT3, T4およびTSHを測定し、肝、甲状腺および下垂体の重量を測定した。甲状腺については濾胞の過形成と腫瘍の発生率および発生個数を組織学的に検索した。

〔結果〕いずれの抗甲状腺物質単独投与群およびそれらにVAを同時投与した群も対照群に比較してT3およびT4値が減少したが、TSH値はSDM, PTU, SDM+VAおよびPTU+VA群のみで増加した。肝重量はPB群およびPB+VA群のみで増加したが、甲状腺の重量は全投与群で増加し、甲状腺濾胞上皮の過形成および腫瘍が誘発された。一方、抗甲状腺物質およびVAを同時投与した群ではいずれも抗甲状腺物質単独投与群に比し、血清T4値はさらに低下したが、TSH値には差異は認められなかった。甲状腺の過形成および腫瘍の発生率または発性個数には、4種の化合物のいずれにおいてもVA同時投与による増加は認められなかった。

〔結論〕SDM, PTU, KSCNやPBなどの抗甲状腺物質とVAとの同時投与においては甲状腺増殖性病変発生は増強されなかったことから、抗甲状腺物質の中でもTUとVAを併合投与した場合にのみ甲状腺腫瘍発生が増強されるものと考えられた。

P-67

ラットにおける乳酸鉄の混餌経口投与による毒性 (鉄の臓器毒性の発生機構について)

○奈良間 功、尾崎 清和、松浦 哲郎、増岡 桃子、丸山 博司
大原 健扶、高畠 英伍(摂南大・薬学部、星ヶ丘厚生年金病院)

〔緒言〕鉄の毒性発現機序としては生体内還元系に関与した活性酸素やフリーラジカルによる脂質過酸化が考えられているが、鉄の過剰沈着による病変として良く知られたヘモクロマトーシスは遺伝的要因、肝疾患、慢性貧血などの鉄吸収過剰を起こす要因なしには起こらないとされている。乳酸鉄を大量に反復混餌投与すると、好酸球増多症とともに消化管の全域にわたって好酸球性胃腸炎が生ずることを第11回本学会で報告したが、今回は全身諸臓器・組織における鉄沈着と細胞障害との関連について報告する。

〔材料および方法〕乳酸鉄(乳酸第一鉄、武蔵野化学)を0.625 および 5%となるように混合した粉末飼料(CRF-1、オリエンタル酵母)を5週齢の雌ラットに2週間、4週間および13週間にわたって給与し、一般的な血液学的検査、血清生化学的検査および病理組織学的検査に加えて血清鉄濃度を測定した。また、肝臓、腎臓および血清について、脂質過酸化の指標としてひろく利用されているチオバルビツール酸反応物質(TBA-RS)を測定した。

〔結果〕血清鉄の濃度は投与2週から13週まで、投与群と対照群でおおむね同等の値を示すか、あるいは逆に高用量群で低下した。尿中ビリルビン濃度の上昇を示す例が投与期間の延長とともに増加し、投与13週では一部の例で尿潜血および蛋白の増量をともなった。血清生化学的検査では投与13週の5%群においてトランスアミナーゼ活性値の上昇の比較的顕著な上昇とクレアチニンと尿素窒素の軽度な増量が認められた。

2週間投与後の肝組織中のTBA-RSの産生は0.625%群では12倍に達したが、5%群では対照群と同等であった。また、2.0%の乳酸鉄を6カ月間投与したラットにおけるTBA-RS産生は肝組織中で対照群の1.5~2.5倍、腎組織中で1.3~2.0倍に増加していたが、血清中では対照群と同等であった。

〔まとめ〕鉄の過剰沈着による毒性所見であるヘモクロマトーシスで認められる血清鉄の上昇は欠いていたが、血清生化学的所見および尿所見は乳酸鉄の大量投与が軽度ながら肝臓および腎臓毒性を示すことを示唆していた。これらの臓器におけるTBA-RSの産生は対照群に比較して増加しており、沈着した鉄の脂質過酸化作用が毒性発現に直接的要因であるのかも知れない。鉄の沈着は大食細胞と実質細胞に分けられるが、これらの臓器では実質細胞の細胞質内に鉄が沈着していることもこの考察を支持する。しかし、2週間の時点での肝組織内TBA-RS産生は低用量群で対照群の12倍に達していたのに対し、高用量群では逆に対照群と同等であり、投与期間を延長した場合にも逆にTBA-RSの増加は軽度に留まった。これらの結果は鉄の毒性発現には鉄の吸収および組織沈着の機構が深く関与することを示唆していた。

P-68

ラットにおける乳酸鉄の混餌経口投与による毒性 (鉄の組織沈着と細胞障害の形態について)

○尾崎 清和、松浦 哲郎、増岡 桃子、丸山 博司、奈良間 功
(摂南大・薬学部、星ヶ丘厚生病院)

〔緒言〕 鉄の毒性発現機序としては生体内還元系に関与した活性酸素やフリーラジカルによる脂質過酸化が考えられているが、鉄の過剰沈着による病変として良く知られたヘモクロマトーシスは遺伝的要因、肝疾患、慢性貧血など消化管粘膜上皮の鉄吸収過剰を起こす要因なしには起こらないとされている。われわれは、食品添加物として使用される乳酸鉄を大量に反復混餌投与すると、好酸球増多症とともに胃から直腸にまで至る消化管の全域にわたって好酸球浸潤と鉄沈着が生ずることを第11回本学会で報告した。今回は全身諸臓器・組織における鉄沈着と細胞障害との関連について報告する。

〔材料および方法〕 乳酸鉄(乳酸第一鉄、武蔵野化学)を0.625 および 5%となるように混合した粉末飼料(CRF-1、オリエンタル酵母)を5週齢の雌ラットに2週間、4週間および13週間にわたって給与し、病理組織学的検査に検査した。

〔結果〕 ヘルリンブルー陽性の微細顆粒は肝臓において最も顕著に沈着していた。肝臓の鉄沈着は投与2週間で既に認められ、小葉辺縁帯の肝細胞でより高度であった。投与期間の延長に伴い肝細胞のみならず、クッパー細胞およびグリソン氏鞘に集積した大食細胞にも鉄が沈着したが、肝細胞内の鉄沈着量には投与期間による差は認められなかった。脾臓における鉄沈着量は対照群のそれを上回ったが、肝臓に比較して軽度であった。胃から直腸に至る消化管の粘膜上皮細胞の胞体内には、投与初期には高度に鉄が沈着していたが、投与13週にはかえって認められなくなった。13週投与後の腎臓の近位尿細管上皮細胞内には微細な鉄陽性顆粒が散在したが、沈着の程度は肝細胞に比較してきわめて軽度であった。鉄陽性顆粒はこれ以外の実質細胞には沈着していなかったが、消化管の粘膜固有層には鉄を多量に貪食した大食細胞が集積しており、その量は投与期間の延長とともに高度となった。また、腸間膜リンパ節、胸腺等の造血器にも鉄陽性顆粒を保有した大食細胞が集積していたが、その他の組織では間質に浸潤した大食細胞が希に鉄反応陽性を示したに過ぎなかった。肝細胞の孤在性壊死および消化管粘膜上皮のapoptosisが高用量群に散見された以外に細胞障害性を示唆する変化は認められなかった。

〔まとめ〕 生体内の鉄は大部分がヘモグロビンおよびミオグロビンに存在し、一部が肝臓および全身網内系にフェリチン、ヘモジデリンとして貯蔵される。不足鉄分は消化管からの吸収されるが、補給完了後は粘膜からの吸収・取り込みはブロックされると言われる。細胞質内に高度に鉄が沈着した消化管粘膜上皮と肝細胞は細胞の壊死に陥ったが、鉄を貪食したマクロファージの変性は明らかでなかった。また、鉄を貪食したマクロファージの集積した組織においても、明らかな変性所見は得られなかった。

P-69

L-イソロイシンのF344ラットにおける 13週間亜急性経口毒性試験

○小久保百合子^{1,2}、河部真弓^{1,2}、萩原昭裕^{1,2}、田中 光^{1,2}
白井智之²（¹ 大雄会医科学研究所、² 名市大・医・1 病理）

【目的】

必須アミノ酸の1つであるL-イソロイシンは、食品添加物や、医療用輸液などに広く用いられている。L-イソロイシンは、変異原性は示さないが、膀胱発癌に対してはプロモーターとして作用することが報告されている。今回、L-イソロイシンをラットに13週間混餌投与し、その毒性の有無について検討した。

【方法】

6週齢のF344/DuCrj系ラット（日本チャールズ・リバー株）を雌雄各50匹の計100匹用いた。雌雄とも各群10匹とし、L-イソロイシンを8.0, 5.0, 2.5, 1.25および0%の濃度で基礎飼料（オリエンタル粉末飼料CRF-1）に混じり、13週間経口投与した。投与13週目には尿検査を実施し、13週間経過後、全動物を屠殺剖検し、血液検査、血液生化学的検査および病理組織学的検査を実施した。

【結果】

雌雄とも試験期間中被験物質投与に起因する症状の発現、死亡例は、全く見られず、体重、飼料摂取量および血液学的検査においても影響は認められなかった。尿検査では、8.0%投与群雌雄で尿量の統計学的に有意な増加を認め、血液生化学的検査では、5.0%以上の投与群雌雄で種々の血清電解質値の変動が観察された。臓器重量では、8.0%投与群雌雄において相対腎重量の増加を認めた。しかしながら、被験物質投与に関連すると考えられる病理組織学的変化は泌尿器系を含むいずれの臓器においても観察されなかった。

【結論】

L-イソロイシンを13週間混餌経口投与した結果、5.0%および8.0%投与群の雌雄において尿量の増加および血清電解質の変動および相対腎重量の増加を認めたものの、体重および病理組織所見には何らの変化も観察されなかったことから、その毒性学的意義は軽微なものと考えられた。以上の結果を基に、現在雌雄とも5.0%および2.5%の投与濃度を用いて発癌性試験を実施中である。

P-70

しゅう酸のB6C3F₁マウスに対する発癌性の検討

○佐野真士^{1, 2}、武貞徳子^{1, 2}、玉野静光^{1, 2}、
河部真弓^{1, 2}、伊東信行²、白井智之²
(¹ 大雄会医科学研究所、² 名市大・医・1 病理)

【目的】しゅう酸は多くの植物や野菜に含まれているほか、食品添加物を始めとし種々の工業的用途で使用されている。しゅう酸は変異原性を示さないものの、高濃度投与では腎障害を起こすことが知られている。今回、しゅう酸のマウスに対する毒性および発癌性の有無を検討した。

【方法】6週齢のB6C3F₁マウス雌雄50匹総計100匹を用い、雌雄とも5群に分け、しゅう酸を0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0%の濃度で粉末飼料中に混じて13週間投与試験を行った。その結果から、0.5 および2.0%の濃度を選択し、6週齢のB6C3F₁マウス雌雄各150匹総計300匹を用い、78週間混餌投与による発癌性試験を行った。全動物を剖検し、血液学的、血液生化学的検査、尿検査および全身諸臓器の病理組織学的検索を行った。

【結果】しゅう酸を4.0%濃度の13週間投与では、明らかな体重増加の抑制および腎障害（間質性腎炎）がみられた。78週間の試験ではしゅう酸投与に関連すると考えられる症状の発現および死亡例は認められなかった。2.0%群の雌雄とも第1週目から投与終了時まで、著明な体重増加抑制を観察し、0.5%群の雌で第18週目、雄では第26週目から増加抑制を認めた。生化学的検査では2.0%群の雌でアルカリフォスファターゼの高値を認めた。臓器重量では肝臓、腎臓および脾臓などで絶対および相対重量に統計学的な有意差を観察したが、いずれも投与群の低体重に起因するものと考えられた。病理組織学的検査では、しゅう酸投与群に認められた各臓器における腫瘍性病変の発生頻度は、雌雄とも対照群のそれらと比較して差異はなく、いずれも自然発生腫瘍と考えられた。

【結論】しゅう酸を4.0%濃度でB6C3F₁マウスに13週間混餌投与すると、明らかな体重増加の抑制および腎障害（間質性腎炎）を示した。しかし腎障害のみ認められなかった0.5%または2.0%濃度で78週間投与しても腎毒性は示さず、またいずれの臓器においても発癌性を示さないことが明らかとなった。

P-71

β -cyclodextrin のF344ラットにおける癌原性試験

○正田俊之，豊田和弘，畝山智香子，高田幸一，高橋道人（国立衛試・病理）

【目的】 β -cyclodextrin (β -CD) は、7個の D-glucose が α -1,4 結合した環状オリゴ糖であり、分子中央の空洞内に親油性基を持つ化合物を取り込み包接化合物を形成することが知られ、その抱接能を利用して医薬品の副作用の軽減や、味・におい・溶解性の改善など様々な用途で用いられている。 β -CD の毒性作用については経口投与の場合、ほとんど認められないと報告されているが、 β -CDの長期投与による発癌性についての十分な知見は未だ得られていない。そこで今回、 β -CD の癌原性を検索する目的で、ラットを用いた104週間混餌投与による癌原性試験を実施した。

【材料および方法】 β -CDを、先に実施した13週間の用量設定試験の結果を参考に、0%（対照群）、2.5%、5%の用量で含有させた粉末飼料を、6週齢のF344ラット（日本チャールス・リバー）雌雄各群50匹計300匹に104週間自由に摂取させた。投与終了後5週間の休薬期間をおき、全生存動物を麻酔下で屠殺・剖検し、常法に従い病理組織学的に検索した。

【結果および結論】体重では、雄の5%群で投与初期から、2.5%群で投与開始後約2カ月目から対照群に比べ軽度な増加抑制傾向がみられ、雌では5%群で投与開始後約1年目から軽度な増加抑制傾向がみられ、これらの傾向は投与終了時まで続いた。投与終了時の対照群に対する平均体重比は92%（雄5%群）94%（雄2.5%群）、91%（雌5%群）、98%（雌2.5%群）であった。摂餌量は投与群と対照群で差はみられなかった。最終生存率は、雄の対照群、2.5%群、5%群でそれぞれ60%、74%、68%であり、雌ではそれぞれ80%、72%、70%であった。病理組織学的に、対照群を含む全群で単核球性白血病、乳腺線維腺腫、下垂体腺腫をはじめとする種々の器官組織に腫瘍を認めたが、これらは発生頻度、組織型とも対照群と類似し自然発生腫瘍と考えられた。また、 β -CDに起因すると考えられる毒性所見や前癌病変も認められなかった。

以上の結果より、 β -CDをF344ラットに5%および2.5%の用量で104週間混餌投与したが、癌原性は認められなかった。

また、最近、 β -CDの癌原性をF344ラットおよびCD-1マウスで検索した結果、癌原性は認められなかったとの報告がなされており、今回の結果はこの報告を支持するものであった。(Waner, T. *et al.* Arch Toxicol 69:631-639, 1995.)

P-72

小核試験陽性のキノロン系化合物による新生仔発癌実験

○森 聖^{1,2}、村井 隆^{1,2}、細野素子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】変異原性試験のひとつである小核試験で強い陽性を示したキノロン系化合物が、マウス新生仔に対して発癌性を示すかどうかを検討した。

【材料および方法】動物はDS/Shi系マウスの雌の0-1日齢を用い、1群当り21-32匹とした。化合物は、Aの7-(1R*,5S*)-1-ethyl-aminomethyl-3-azabicyclo-[3.3.0]-octan-3-yl)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline carboxylic acid hydrochloride、Bの7-(1R*,5S*)-1-methylamino-ethyl-3-azabicyclo-[3.3.0]-octan-3-yl)-5-amino-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline carboxylic acid hydrochloride、Cの7-(1R*,5S*)-1-methylaminomethyl-3-azabicyclo-[3.3.0]-octan-3-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid hydrochlorideおよびurethanを用いた。化合物は1% gelatin水溶液に懸濁し、12.5 μ l/gの容量で背部皮下に1回投与した。実験群は、A 75と50mg/kg群(1と2群)、B 150と75mg/kg群(3と4群)、C 150と75mg/kg群(5と6群)、urethan 150と50mg/kg群(7と8群)、溶媒群(9群)および無処置群(10群)を設定した。投与20週間目にマウスを解剖し、腫瘍の有無を病理組織学的に検索した。無処置対照群と比較して、統計学的に有意な差がP<0.05で認められた時には#印で示した。

【成績】実験開始、4および20週間目の生存動物数は、1群でそれぞれ30、15#、10#匹と推移し、2群で29、22#、12#匹、3群で32、12#、11#匹、4群で28、25、25匹、5群で15、0#、0#匹、6群で21、20、20匹、7群で28、28、28匹、8群で24、24、24匹、9群で29、24、24匹、10群で31、30、30匹であった。リンパ腫は、1群で2/15(13%)、2群で9/22(41%)#、3群で2/12(16%)および7群で2/28(7%)に発生し、その平均発病時間は14、17(最小-最大:14-20)、20および20週間であった。その多くは、悪性リンパ腫、胸腺型であった。肺腺腫は、1群で1/15(7%)、7群で17/28(61%)#、8群で5/24(21%)および10群で2/30(7%)に発生した。その平均発生個数は、0.07、0.79#、0.29および0.07であった。その他の検査した臓器には、前癌病変および前腫瘍性病変は認められなかった。

【結論】キノロン系化合物のうちAが、マウス新生仔発癌実験で悪性リンパ腫、胸腺型を誘発することを明らかにできた。

P-73

金属結合蛋白質メタロチオネインのイヌの体内における局在

○島田章則、梅村孝司（鳥取大学・農）

〈緒言〉 金属結合蛋白質メタロチオネイン（Metallothionein: 以下MT）は、重金属の他、薬剤、生理活性物質など様々な刺激により実験的に誘導される。生体内諸組織においても様々な生理的条件下で発現が認められることから、MTの生体内での役割については不明な点が多い。また、MTは構成アミノ酸（哺乳類では61個）の一部が異なるいくつかのイソ蛋白から成っており、ヒトでは10種類以上のiso-MT genesが知られ、そのうちあるgeneは臓器特異的に発現する。それぞれのMTイソ蛋白の生体内での誘導の様式あるいは生理的役割に何らかの違いがあることが予想される。MTの生体内における役割に関しては*in vitro*下での研究が多く、*in vivo*下での研究もマウスやラットなどの実験動物に限られている。今回、MT局在の臓器特異性およびMTの生体内での役割を知る目的で、家庭内で飼育されているイヌの生体内におけるMTの局在について免疫組織学的並びに分子生物学的に検索した。

〈材料と方法〉 1日齢～18才齢のイヌ26匹の全身諸臓器を10%中性緩衝ホルマリンにて3日間浸漬固定し、定法にてパラフィン切片を作成し、抗MT蛋白モノクローナル抗体（DAKO, E9）を用い免疫染色（LSAB法）を行った。また、MT mRNAの発現を確認するため、RT-PCR法により得たイヌ肝臓由来MT cDNAフラグメント（102bp）をプローブとしてノザンブロットングを行った。

〈結果および考察〉 MTは肝臓および腎臓において最も強く認められ、陽性所見は加齢とともに強くなった。また、両臓器の陽性所見の程度は互いに同程度で推移する傾向にあった。これまでの報告では、MTは生体の発達期においてより強い発現が認められ細胞増殖への関与が指摘されてきたが、今回の検索では逆の結果が得られ、生体内に摂取された金属の体内移行・蓄積とMTとの関連が示唆された。金属の侵入経路として経口、経気道および経皮のルートが一般的に考えられるが、消化管、気道および皮膚におけるMT陽性所見は乏しかった。また、汗腺、子宮腺や乳腺などの腺組織内腺上皮細胞並びに腺腔内に陽性所見が認められ、亜鉛をはじめとする金属の分泌との関連が示唆された。中枢神経系においてはアストロサイトに陽性所見が認められた。

P-74 正常ヒトリンパ球大量移入SCIDマウスにおける血中Hu-IgGの出現とHu-PBLの臓器分布

○北嶋修司¹, 松井 元¹, 新屋希子¹, 佐々木巧², 森山 毅², 内布洋一¹
(化血研・¹病理部, ²研究開発部)

【はじめに】 Severe combined immunodeficiency (SCID)マウスは、機能を有するTおよびBリンパ球を持たないミュータントマウスである。このSCIDマウスにヒト末梢血リンパ球 (Hu-PBL) を移入して、ヒトの免疫環境をin vivoで構築する試みが行われており、ヒトの免疫機能・応答の解析、自己免疫疾患の病態解析等に 응용されている。Hu-PBL1.0~10x10⁶個の腹腔内移入により、移入後2~3週間後に血中にヒト型免疫グロブリン (Hu-IgG) が認められ始める。2~3ヶ月後にはその値は0.5~1.0mg/mlとなり、その後数ヶ月にわたって持続する。移入したHu-PBLは主に腹腔内にとどまり、他の臓器への移行はみられないとの報告がある。また、いっぽうでHu-PBLの移入により短期間のうちに致死的なgraft versus host disease(GVHD)、Epstein-Barr virus(EBV)によるlymphocyte proliferating diseaseの発生も報告されている。今回、Hu-PBLを大量移入した後のSCIDマウスにおける血中Hu-IgGの産生、Hu-PBLの臓器分布について病理組織学的に検討した。

【材料及び方法】健康なヒト末梢血からリンパ球分離液で分離したHu-PBL1.0x10⁸個/0.2mlを5週齢の雄SCIDマウスの腹腔内に移入した。移入後経時的に血中のHu-IgG量をELISAで測定した。途中の死亡および瀕死動物は発見次第、残った動物は移入後2ヶ月目に安楽殺して病理検査を行った。採材した組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋標本を作製、H-E染色ならびに抗ヒトリンパ球抗体による免疫組織化学的染色を施しHu-PBLの臓器分布を検索した。

【結果】移入後1週目には血中にHu-IgGが検出された。その値は0.018~0.093mg/mlであった。移入後1ヶ月目では、血中のHu-IgG量は0.09~5.0mg/mlを示した。移入後1週目から死亡例が認められ、移入後1~2ヶ月にかけて死亡例が多発した。移入後約1ヶ月目の瀕死例では肝の黄色斑、脾の萎縮が観察された。組織学的には肝の巣状壊死とグリソン鞘における単核細胞の浸潤、脾の造血系細胞の減少と線維の増生、腹腔内脂肪組織、脾間質、肺および腎間質等に単核細胞の浸潤が観察された。移入後2ヶ月目では肝の結節形成、脾の腫大ならびに腹腔内に白色腫瘍の形成が5例中3例に観察された。組織学的にはリンパ芽球様細胞の浸潤増殖が腹腔内の白色腫瘍、脂肪組織、肝、肺、脾、腎等で観察された。免疫組織化学的検索では、組織に浸潤した単核細胞のほとんどが抗ヒトリンパ球抗体に陽性を示し、特に腹腔内脂肪組織、肝、肺および脾に多数の陽性細胞が認められた。

【まとめ】Hu-PBLの大量移入することにより早期(移入後1週目)から血中にHu-IgGが検出され、かつ高値(5.0mg/ml)を示し、移入したHu-PBLは腹腔内以外の臓器、特に肝、肺および脾にも多数移行するのが認められた。しかし、GVHDならびにEBVによると考えられるlymphocyte proliferating diseaseの発生も高率に認められるようになった。

P-75

Bleomycin により誘発された肺線維化に対する抗酸化剤 (1-O-Hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone, HTHQ) の効果

○姜鍾求, 鄭載晃(韓国 忠北大), 李俊燮(韓国 Seoul 大),
香田繁, 新納靖規, 三木徳太郎(日本ハイボックス)

【目的】 抗酸化剤が bleomycin(BLM)により誘発された肺線維化を抑制すると報告されたのち, 抗酸化剤による BLM の副作用抑制に関する多くの研究が遂行されている. 本研究は, 強い抗酸化能をもつ 1-O-Hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone (HTHQ)が BLM により誘発された肺線維症に及ぼす効果を調べるために行った.

【材料及び方法】 動物は 10 週齢の Sprague-Dawley 系ラット 72 匹を用い, BLM 単独投与群, BLM+HTHQ(200mg/kg)高用量投与群, BLM+HTHQ(50mg/kg)低用量投与群および BLM 無処置対照群の 4 群とし, 各群当たり 18 匹ずつ配置した. すべての BLM 投与群に BLM 5.5mg/ml/kg を 1 回気管内投与し, 無処置対照群には同量の生理食塩水を気管内投与した. その 24 時間後に BLM 単独投与群と対照群には滅菌生理食塩水を体重 kg 当たり 10ml ずつ経口投与し, BLM+HTHQ の併用投与群には上記投与量の HTHQ を毎日 1 回経口投与した. BLM 投与後, 7 日目, 14 日目および 21 日目に各群当たり 6 匹ずつを剖検し, 気管支-肺胞洗浄液(bronchoalveolar lavage, BAL)を採取して総細胞数, 各細胞分面の検索を行った. また肺胞マクロファージを分離培養し, その活性(貪食能, ロゼット形成能, 化学走化能, NO 活性)の検討および肺の病理組織学的検査(H&E, Masson trichrome)を実施した.

【結果及び考察】 肺の相対重量の変化において, BLM 投与後 7 日目には BLM 単独投与群と HTHQ 併用投与群の間に有意差は認められなかった. 14 日目には HTHQ 50mg/kg 併用投与群($p<0.05$)で, 21 日目には HTHQ 50mg および 200mg/kg 併用投与群で肺相対重量が BLM 単独投与群に比べ有意に減少した($p<0.05$). 病理組織学的所見では投与後 7 日目に BLM 単独投与群では血管周囲の浮腫, 鬱血, 肺水腫, 肺胞マクロファージの集簇, 肺胞壁の肥厚等が観察されたが, HTHQ 併用投与群ではその病変の出現頻度および程度が BLM 単独投与群に比べ顕著に減少した. また 14 日目および 21 日目には肺胞壁の肥厚, 気管支上皮の増生, 肺線維化の病変の程度においても HTHQ 併用投与群は BLM 単独投与群に比べ減少した. 以上の結果から HTHQ は BLM による肺線維化をかなり抑制することが示唆された. なお肺線維化の抑制機作に関係する BAL 内の各細胞分面の分析ならびに肺胞マクロファージの活性については現在検査中である.

P-76

Methotrexate 低用量反復投与によるラットの肺病変

○小笠原裕之、村田晃子、藤井久子、野口修、村上善紀、田内清憲、高木英利
(日本レダリー・生物研)

【はじめに】

葉酸代謝拮抗剤である Methotrexate (MTX) は、欧米では既に少量療法により慢性関節リウマチ (RA) の治療に用いられ、その効果は我国でも注目を集め、その適用が期待されている。古来、抗癌剤として適用後、副作用として肺病変が発生することが知られており、近年 RA の少量間欠投与においても低頻度ながら、間質性肺炎の発現が指摘され、その発生には細胞障害性またはアレルギー性機序の関与の可能性が考えられている。一方、動物実験では、ラット短期反復投与で肺胞壁肥厚、炎症性細胞浸潤、長期反復投与で線維化巣等が観察されているが、いずれも骨髄・リンパ抑制を伴っており、感染による肺障害の可能性が高いと言われている。しかし、感染以外の関与については未だ不明であり、ヒト肺障害性機序の解明のために動物における肺病変の発生機序を明らかにしておく必要がある。そこで今回、低用量の MTX をラットに反復投与し、肺病変の検討を行ったので報告する。

【実験材料および方法】

6週齢の雄 Crj:CD(SD)SPF ラット 80 匹を 8 群に分け、1~4 群の動物には腎予備能を低下させる目的で 1/2 腎摘出を、5~8 群の動物にはその対照として偽手術を施した。11 週齢に達した時点から、腎摘出および偽手術群の各群について、MTX の 0.06、0.2、0.6mg/kg または溶媒を 28 日間反復経口投与し、肺および骨髄、リンパ器官について HE 標本を作製して光学顕微鏡にて観察した。また、別群を設け、MTX0.6mg/kg を 14 日間反復経口投与し、肺について電子顕微鏡で観察した。

【結果および考察】

死亡または瀕死動物が、腎摘出群の 0.6mg/kg 群に 9/10 例、偽手術群の 0.2、0.6mg/kg 群の 1/10、3/10 例にみられた。肺胞壁肥厚/好塩基性化が、腎摘出群の 0.06、0.2、0.6mg/kg 群に 4/10、3/10、8/10 例、偽手術群の 0.2、0.6mg/kg 群の 2/10、5/10 例にみられ、0.6mg/kg 群の変化は著しいものであった。肺実質壊死を伴う細菌塊が、腎摘出群の 0.2、0.6mg/kg 群に 1/10、6/10 例、偽手術群の 0.2、0.6mg/kg 群の 1/10、3/10 例にみられた。その他肺には、肺胞水腫、出血、血管周囲細胞浸潤がみられた。骨髄細胞および胸腺リンパ球減少は、腎摘出群および偽手術群ともに 0.2、0.6mg/kg 群にみられ、その程度は 0.6mg/kg 群の方が強かった。一方、0.6mg/kg 14 日間反復投与群の電顕観察では、肺小血管内皮細胞の軽度な腫大および細胞質小胞増加がみられた。

以上を踏まえ、MTX 低用量反復投与によって誘発された肺病変と細菌感染および造血・リンパ抑制との関連性について考察する。

モルモット鼻腔組織標本作製法と卵白アルブミン
誘発鼻炎モデルにおける好酸球浸潤の分布

○山崎秀樹¹、山崎将司²、永井博文¹、川村幸子¹、佐々木啓¹
(武田薬品・¹薬安研、²創薬2研)

【緒言】鼻腔の構造は複雑で、切り出し部位により鼻腔の形態、上皮細胞および病変の分布が異なることから鼻腔の病理組織学的検査は一定の部位での評価が求められる。モルモットはアレルギーのモデル動物としてしばしば用いられるが、鼻炎モデルにおける標準的な組織学的評価方法は確立されていない。今回、モルモット鼻腔構造および上皮細胞の分布を明らかにし、評価部位を標準化する目的で、モルモット鼻腔標本作製方法を検討した。また、標準化した標本作製法を用いて、卵白アルブミン(OA)により感作、誘発した鼻炎モデルの鼻腔組織における好酸球浸潤の分布について検討した。

【材料と方法】モルモット鼻腔組織標本作製法の標準化：不要組織を除去したHartley系雄性モルモットの頭部は、10%中性緩衝ホルマリン液を鼻咽腔より注入後、1週間浸漬固定した。2日間の脱脂、1週間の脱灰後、切り出しを行った。切り出しは図1に示す7カ所で鼻骨の背側面に対し垂直に行い、パラフィン包埋後、後方より薄切した。

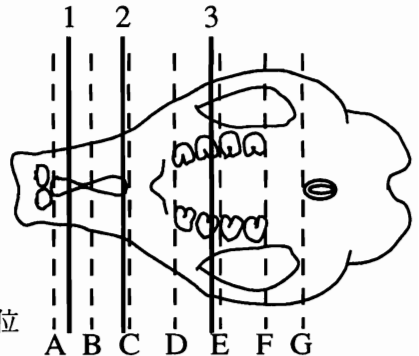
鼻炎モデルの鼻腔組織における好酸球浸潤の分布：モルモットにエアゾル化した1%OA生理食塩水を10分間、2週間に2回吸入させ、OAによる能動感作を行った。2回目の感作の1週間後に麻酔下で、切開した気管から鼻咽頭管に挿入したポリエチレンチューブを介して0.3%OAを10分間灌流した。灌流7時間後に放血屠殺した後、鼻腔組織標本作製し、好酸球浸潤の分布について検討した。

【結果およびまとめ】モルモット鼻腔は、ラットと比較して、篩骨甲介の数、分岐ともに多かった。また、扁平上皮、呼吸上皮が鼻腔後方まで分布し、移行上皮が広い範囲に認められた。組織標本作製は切歯後縁から後方へ、切歯乳頭後縁および第2、3臼歯間から前方へ薄切した3カ所の標本作製で扁平上皮、移行上皮、呼吸上皮および嗅上皮の各上皮細胞の評価が可能と考えられた(図の1, 2, 3)。モルモット鼻炎モデルの好酸球浸潤は、呼吸上皮の粘膜固有層で多く、ついで移行上皮、扁平上皮粘膜固有層で認められた。嗅上皮粘膜固有層の好酸球浸潤はごく軽度であった。各上皮間の好酸球浸潤の差は、抗原灌流時の暴露量や上皮の感受性の差により生じたと考えられた。

図

- A) 切歯後縁
- B) A, C の中央
- C) 切歯乳頭後縁
- D) 第1臼歯前縁
- E) 第2、3臼歯間
- F) 第4臼歯後縁
- G) 鼻咽腔前縁

1, 2, 3) 標本作製部位



P-78

F344ラットの異物性鼻炎

— 発生率、好発部位および病理組織学的所見 —

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

【はじめに】ラットを用いた長期毒性試験では、鼻腔に被毛や飼料が原因と思われる炎症（異物性鼻炎）が自然発生することが知られている。しかし実際にどのくらいの頻度で、また鼻腔のどの部位に多く見られるのかについては報告がない。そこで我々は当センターにおけるF344ラットの異物性鼻炎についてその発生率、好発部位および病理組織学的所見を調べたので報告する。

【材料・方法】当センターで実施されたF344/DuCrjラットを使用した癌原性試験9試験の無処置対照群のデータ（雌雄各50匹／試験、計雌雄各450匹）を集積した。動物は、日本チャールス・リバーより4週齢で導入し、バリアシステム環境下において2週間の検疫・馴化後、金網ケージで個別飼育し、飼料（オリエンタル酵母・CRF1）および水道水を自由摂取させた。試験開始後104週（110週齢）で計画屠殺または途中死亡・切迫屠殺した動物を剖検し、10%中性緩衝ホルマリン固定、脱灰後、上顎を切歯の後端（レベルⅠ）、切歯乳頭（レベルⅡ）および第一臼歯の前端（レベルⅢ）の3ヶ所で横断し、常法によりパラフィン切片を作製、光顕観察を行った。

【結果】異物性鼻炎の発生率は試験により差が見られ、雄で18%～52%、雌では4%～28%であり、また何れの試験においても雄が雌よりも高い発生率を示した。病変は、レベルⅠ・Ⅱ・Ⅲすべてにおいて発生しており、雌雄ともにレベルⅡでの発生率が最も高かった。病理組織学的には鼻道内に好中球に囲まれた異物が認められ、その周辺の粘膜上皮及びその粘膜下の固有層に好中球の浸潤を主とする炎症像が見られ、またこれらの炎症病変の一連の変化として嗅上皮の呼吸上皮化生や、杯細胞の分泌亢進も認められた。なお、異物の種類はほとんどが動物の被毛であった。

【まとめ】加齢F344ラットに発生する異物性鼻炎について次のことを明らかにした。1) 試験ごとに発生率に差があり、2) 雄は雌より高い発生率を示し、3) レベルⅡに好発する。4) 原因と思われる異物のほとんどは動物の被毛である。

P-79

β -クロロプロピオン酸の13週間飲水投与により発生したマウス鼻腔呼吸上皮のエオジン好性変化

○妹尾英樹、竹内哲也、野田圭介、櫻ゆみ、相磯成敏、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)

【はじめに】鼻腔呼吸上皮のエオジン好性変化は加齢により自然発生し、上皮の細胞形質にエオジン好性の硝子様物質が貯留、充満する変化である。 β -クロロプロピオン酸(以下 β -CPA)の飲水経路による13週間投与と実験を行ったところ、自然発生とは異なった部位でエオジン好性変化の発生を見たので報告する。

【材料及び方法】6週齢のCrj:BDF₁マウス雌雄各10匹/群の6群に β -CPAを0%、0.1%、0.2%、0.4%、0.8%及び1.6%の濃度で各群の飲水に混合し、13週間自由摂取させた。投与終了後に全例を剖検し、病理組織学的に検索した。なお、鼻腔の切り出しは、切歯の後端(レベルI)、切歯乳頭(レベルII)及び第一臼歯の前端(レベルIII)で行った(図1)。

【結果】 β -CPA投与群に特徴的な所見として、鼻腔の呼吸上皮にエオジン好性変化が見られたが、嗅上皮には見られなかった。雄における発生は1.6%群では見られず、0.8%群で2例、0.4%群で5例に見られた。雌では1.6%群で8例、0.8%群で6例、0.4%群で6例に見られ、さらに0.2%群でも2例に見られた。また、その変化の発生は鼻腔の全体ではなく一部の領域に限られた(図2)。すなわち、レベルIでは上顎甲介腹側(a)と鼻口蓋管に近い呼吸上皮(b)、レベルIIでは鼻口蓋管に近い呼吸上皮(c)に見られた。さらに、レベルIでの上顎甲介腹側(a)の変化は雌の1.6%群の全例に見られたが、その他の投与群では少数例であった。また雌の1.6%群ではレベルIの鼻口蓋管に近い呼吸上皮(b)での変化は見られなかった。

【考察】鼻腔呼吸上皮のエオジン好性変化は長期飼育により自然発生する変化だが、 β -CPA投与で早期からその発生が見られた。また、自然発生例では一般に嗅上皮との境界領域に発現するが、投与例はその分布も異なったことから投与の影響と考えた。この変化は雌雄で発生率に差があり、発生部位は投与濃度により異なった。

なお、この実験は労働省の委託により行った。

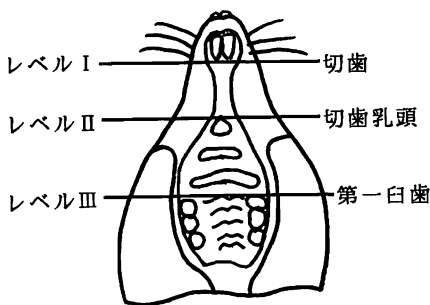


図1. 鼻腔切り出し部位

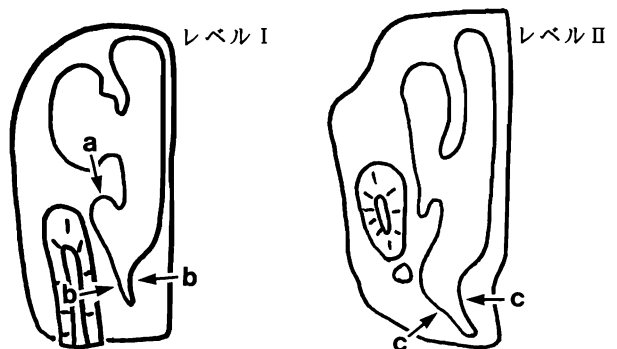


図2. 呼吸上皮エオジン好性変化の発生部位(矢印)

P-80

四塩化炭素誘発糸球体硬化症における 免疫グロブリンおよび細胞外基質の経時的変化

○緒方聖也¹，板垣慎一¹，土井邦雄²
(¹ 東大 - 農 - 実験動物，² 同 - 獣医病理)

緒言：ヒトでは重度の肝障害の際に糸球体硬化症が生じることがあり，hepatic glomerular sclerosis あるいは cirrhotic glomerulosclerosis と呼ばれている。ラットに四塩化炭素 (CCl₄) を長期反復投与することによって同様の病変が生じることが知られているが，その病理発生については未だ不明な点が多い。今回，ラットに CCl₄ を反復投与し糸球体硬化症を誘発し，腎糸球体の細胞外基質の変化および免疫グロブリン，C3 の沈着を免疫組織化学的に検索した。

材料と方法：動物は 5 週齢のオス SD ラットを用い，0.5ml/kg 体重の CCl₄ を週 2 回経口投与し，4 週，8 週および 12 週後に剖検した。細胞外基質すなわち，type IV collagen, fibronectin, laminin, heparan sulfate proteoglycan については，PFA 固定あるいはカルノア固定パラフィン切片を用いた LSAB 染色をおこなった。免疫グロブリンすなわち，IgA, IgM, IgG に関しては凍結切片を用いた蛍光抗体法，C3 については凍結切片を用いた LSAB 法をおこなった。

結果：IgA, IgM, C3 については，CCl₄ 投与 8 および 12 週目の全個体の主にメサンギウム領域で沈着が認められた。また，IgG の沈着は投与 8 および 12 週目の一部の個体で認められた。一方，細胞外基質については，対照群に比べ，投与 8 週目の一部の個体および投与 12 週目の全個体で陽性領域の増加が認められた。

考察：投与 8 週目に IgA, IgM, C3 の沈着が細胞外基質の増加に先駆けて認められた。本実験モデルでは，免疫グロブリンおよび C3 のメサンギウム領域への沈着が CCl₄ 誘発糸球体硬化症の引き金になっている可能性が示唆された。

P-81

Progesterone および medroxyprogesterone acetate による慢性腎症 および心筋線維化の発生

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

[緒言]

栄養条件がラットの加齢性病変である慢性腎症や心筋線維化の発生に影響を与えることが知られている。我々は progestogen の示す体重増加作用が雌ラットの自然発生病変の発生に及ぼす影響を検討するために、体重増加作用を有する 2 種類の progestogen を生涯投与して、慢性腎症および心筋線維化の発生について検討したので報告する。

[材料および方法]

雌 F344 ラットを用いて、progesterone (Pro) および medroxyprogesterone acetate (MP) の 104 週間がん原性試験を行った。Pro はゴマ油に懸濁させて、100 および 200mg/kg の用量で週 2 回皮下投与し、MP は 300ppm の濃度で混飼投与した。それぞれの薬物の対照として、ゴマ油皮下投与群および無処置群を設けた。それぞれの投与用量は、3 カ月間の予備試験を行い、progestogen 作用に基づくと考えられる体重増加、子宮内膜過形成、および排卵抑制（卵巣萎縮）などが認められた用量として設定した。動物数は各群 50 匹とした。

[結果及び考察]

Pro 投与群および MP 投与群のいずれも、ほぼ全投与期間にわたり有意な体重の増加を認めたが、投与期間の後半（60～68 週以降）には対照群との差が減少する傾向がみられた。摂餌量は、Pro 投与群では、ほぼ全投与期間にわたり用量相関的な増加または増加傾向がみられた。MP 投与群では、投与 64 週目までは有意な増加を認めたが、68 週目以降には対照群との差が消失した。

解剖時の所見としては、MP 投与群に腎臓の重量増加が認められ、Pro 200mg/kg 投与群および MP 投与群で腎表面の粗造化がみられた。病理組織学的には、Pro および MP 投与群に慢性腎症および心筋線維化の発生率の増加、ならびに病変の増悪がみられた。病変増悪の程度は MP 群がより高度であった。Progestogen 作用による摂餌亢進や体重増加が慢性腎症および心筋線維化の発生に影響を及ぼしたと考えられる。しかし、Pro および MP 投与群はほぼ同等の体重増加を示したにもかかわらず、MP 投与群の病変増悪の程度がより高度であった。Glucocorticoid が慢性腎症の増悪因子であることが知られており、MP がより強い glucocorticoid 様作用を有することから、MP 投与群にみられた慢性腎症および心筋線維化の増悪因子のひとつとして glucocorticoid 様作用が関与していた可能性が考えられた。

P-82

Brown Norwayラットにおけるnephrotoxic serum腎炎の病理学的検討

○鳥海 互、藤村 久子、奥村 文和、菅野 賢吉、内藤 一秋、
八十島 昭、岩崎 仁（田辺製薬（株）、医薬育成研究所）

【緒言】Brown Norway (BN)ラットは塩化第二水銀投与による自己免疫性腎炎、あるいは尿管基底膜抗原感作による間質性腎炎の好発系で、免疫学的反応性が高い系統とされている。今回、BNラットのnephrotoxic serum (NTS)腎炎に対する反応性を明らかにする目的で、NTSを投与したBNラットの病態、腎病変を経時的に検討したので、その成績を報告する。

【材料および方法】実験には60匹のBNラット（雌、6週齢）を使用し、半数にNTS（抗ラット糸球体基底膜家兎血清、生理食塩水で2倍希釈）を2.5 ml/kgの割合で単回静脈内投与し（NTS群）、残る半数は無処置対照群とした。NTS投与の1、4、8、15、29および43日後に各群の5匹について血液生化学的検査、尿検査および腎臓の病理組織学的検査を実施した。また、NTSに対する反応性のラット系統差を検討する目的で、NTSをSDラット、およびWKYラットに投与し、NTS投与後29日の糸球体病変を病理組織学的に比較検討した。

【結果】臨床検査では、NTS群で実験期間を通じて高度の蛋白尿、高コレステロール・低アルブミン血症が認められたほか、NTSの投与1～4日後には血清尿素窒素・クレアチニン値の顕著な上昇が認められた。病理組織学的には、NTS投与の翌日に糸球体毛細血管における著明なフィブリン血栓の形成が全例で瀰漫性に観察された。4日後以降には糸球体毛細血管のフィブリン血栓は消退したが、4～15日後にかけては糸球体における顕著な白血球浸潤、糸球体毛細血管の囊胞状拡張、糸球体とボーマン囊の癒着が全例で観察され、これらの病変は8日後で最も顕著であった。そして、8日後以降においては、PAS陽性の細胞外基質の産生を伴うメサンギウム細胞の増殖が一部の個体で観察され、この変化は15～43日後にかけて時間経過とともにより顕著になった。このようなBNラットの糸球体病変に対して、NTS投与29日後におけるSDラットの糸球体病変は糸球体の腫大と軽度の円形細胞浸潤を、WKYラットの糸球体病変は高度の半月体形成を、それぞれ特徴としており、メサンギウム細胞の増殖性変化は明らかではなかった。

【まとめ】BNラットのNTS腎炎における糸球体病変は、顕著なメサンギウム細胞の増殖を特徴とし、管内性増殖を特徴とするSDラットのNTS腎炎、あるいは半月体形成を特徴とするWKYラットのNTS腎炎とはその組織像が異なっていたことから、NTS投与によりラットで惹起される糸球体病変には系統差があるものと考えられた。

P-83

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. IV.

○石田 勝彦, 坂爪 正志, 平位 奈美, 池上 仁, 花田貴宣,
土井 邦雄¹ (山之内製薬, ¹東大 農 獣医病理)

【背景および目的】 フルクトース誘発の高トリグリセリド血症ラット(高TG血症ラット)ではアセトアミノフェン(APAP)による肝毒性が抑制され, 腎毒性が増強される。これまでの実験により, この毒性発現の変化には, 肝臓および腎臓でのフルクトース代謝およびTG合成の亢進が関与していると考えられた。また, 高TG血症ラットではAPAP投与後初期に通常よりも多量の薬物が腎臓に分布することが腎毒性増強の一要因であると考えられた。今回, 高TG血症ラットでみられるAPAP腎毒性増強のメカニズムをさらに詳細に調べるため, いくつかの処置を施して正常ラットおよび高TG血症ラットにおける腎傷害の発現を比較した。

【方法】 正常ラットおよび高TG血症ラットに以下の処置を施した後, 発現する腎傷害を比較した。

1. APAP腎毒性の原因代謝産物のひとつと考えられている*p*-aminophenol (PAP)を直接投与した。
2. 代謝活性を受けず未変化体のままで腎毒性を示すgentamicinを投与した。あるいは, 45分間腎動脈虚血後再灌流処置を施した。
3. 肝臓での薬物代謝能を低下させる目的で, 70% hepatectomyを施した後, APAPを投与した。
4. MFO inhibitorであるpiperonyl butoxide, あるいはdeacetylationのinhibitorであるbis(*p*-nitrophenyl) phosphate (BNPP)を施した後, APAPを投与した。

【結果】

1. 高TG血症ラットはPAP腎毒性に対しても高い感受性を示した。
2. gentamicinおよび虚血による腎傷害では, 正常ラットと高TG血症ラットとの間に差はみられなかった。
3. 正常ラットおよび高TG血症ラットともにhepatectomyによりAPAPの腎毒性は変化しなかった。
4. 正常ラットでは肝毒性がpiperonyl butoxideで有意に抑制されたが, 腎毒性は変化しなかった。高TG血症ラットでは肝毒性に変化がみられなかったが, 腎毒性はpiperonyl butoxideおよびBNPPにより有意に抑制された。

【まとめ】

以上の結果より, 高TG血症ラットでのAPAP腎毒性の増強には, 肝臓でのAPAP代謝の変化はあまり関与していないと考えられた。腎臓では, 傷害に対する内因性の感受性には変化はみられず, APAPの蓄積, および代謝・排泄能に変化が起こっている可能性が考えられた。

P-84

マウスを用いた抗GBM腎炎モデルの病理学的検討

○望月治美, 柏木豊子, 伊東良子**, 矢尾幸三*, 村井美紀*, 唐沢啓*, 西川智, 長村義之** (協和発酵・医薬研病理, *同薬理, **東海大・病理)

【目的】

抗GBM血清 2回投与による抗GBM型腎炎のラットでのモデルはすでに報告されている(鈴木ら: 応用薬理, 21, 503-513(1981))がマウスでの報告はない。今回マウスを用い、抗GBM血清を1回投与したものと2回投与したものを病理学的に比較検討したので結果を報告する。

【材料と方法】

ddY系雄性マウスにウサギIgG 0.25mgを含む complete Freund's adjuvantの乳化剤0.25mlで予備免疫した後抗GBM血清0.075mlを1回(予備免疫4日後)又は2回(予備免疫4・11日後)投与し発症させた。病態の指標は尿中総蛋白量(U-TP)、尿中アルブミン量(U-ALB)、腎糸球体のPAS染色での陽性範囲を0~4までの5段階で標示したスコアー平均値(片腎の半分糸球体30~50個測定)を用いた。その他腎糸球体の電顕的検討、及び凍結切片を用いた免疫組織化学的検討を行った。

【結果及び考察】

抗GBM血清 1回投与では抗GBM血清投与1週目より尿中蛋白の上昇が見られ2週目のU-TP 1024mg/kg/24h(normal 549)、U-ALB 380mg/kg/24h(normal 94)の値をピークに5週目でU-TP 876(normal 684)、U-ALB 206(normal 79)と減少する。抗GBM血清 2回投与では、尿中蛋白のピークは2回目の抗GBM血清投与後2週目でU-TP 1495(normal 571)、U-ALB 631(normal 69)と高値を示し、以後8週以上持続し8週目の値はU-TP 917(normal 442)、U-ALB 395(normal 128)であった。抗GBM血清 2回投与での8週目の腎糸球体のPAS陽性範囲のスコアー平均値は2.9でnormal 1.8と比較し有意($P < 0.001$)に高値を示し、尿細管腔の蛋白円柱、間質の炎症細胞浸潤も広範囲に見られた。電顕的には糸球体基底膜の肥厚、足突起の融合、メサンギウム領域での基質の増生、mesangial interposition等がみられた。免疫組織化学的には、抗GBM血清 2回投与で糸球体上皮細胞にIL-6が特異的に認められた。

マウスでの抗GBM血清 2回投与の系は、ラットの報告と同様にnephrotic typeの腎炎モデルと考えられ、長期投薬を必要とする薬剤の評価に充分利用可能であると考えられる。

P-85

BBN誘発マウス尿路上皮癌における*p53*、*ras*遺伝子変異の発生部位による差異

○山本晋史^{1,2}、陳 天新¹、増井恒夫²、森 聖¹、村井隆¹、中西速夫²、立松正衛²、福島昭治¹
(¹大阪市立大学第一病理、²愛知県がんセンター研究所病理学第一部)

[目的]前回我々は、BBN投与によって誘発したNON/Shiマウス膀胱癌において*p53*遺伝子の変異が高頻度(78%)であることを報告した。今回同じモデルを用いて得られた転移を有する膀胱癌および腎盂癌について*p53*、*ras*遺伝子変異の検索を行った。

[方法]6週齢のNON/Shi雄マウスに、0.05-0.2%のBBNを12週間飲料水投与し、発生した膀胱癌(10例)、腎盂癌(6例)の原発巣および転移巣よりDNAを抽出した。*p53*のExon5-8、*H-ras* Exon1,2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DNA塩基配列の決定をおこなった。

[結果]16例の尿路上皮癌は全て浸潤性であり、移行上皮癌(TCC):扁平上皮癌(SCC)の割合は膀胱癌と腎盂癌でそれぞれ4:6、4:2であった。*p53*遺伝子については、膀胱癌では9/10例(90%)に、腎盂癌では1/6例(17%)に点突然変異を認めた。変異の存在部位では、膀胱癌で*p53*のExon5-8にそれぞれ5/10例(50%)、2/10例(20%)、7/10(70%)例、1/10(10%)例と、前回の転移を伴わない膀胱癌についての報告とほぼ同じ分布を示していた。また腎盂癌では*p53*遺伝子のExon7に1例、遺伝子変異を認めた。一方、*H-ras*遺伝子のExon1-2においては、膀胱癌では2/10例(20%)と低頻度であったのに対し、腎盂癌では3/6例(50%)に変異を認めた。*H-ras*遺伝子の変異は合計8個であり、うち2個がcodon12の従来まで一般に認められるhot spotであったが、のこり6個は前回報告したcodon44の2nd letterのTからCへの変異であった。また*p53*ないし*H-ras*遺伝子変異の認められた膀胱癌の4/10例、腎盂癌の2/6例で、原発巣と転移巣に共通の変異を有していた。

[結論]同じモデルにより得られた膀胱癌と腎盂癌で、遺伝子変異の様式が異なることが明らかとなった。

P-86

DMABによるハムスター膀胱癌の発生とその組織学的特性

○崔 林、加藤 浩司、加藤 俊男、長谷川 良平、
小川 久美子、北村 毅、白井 智之（名市大・医・1病理）

[目的]3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl(DMAB) はラットの腸管、前立腺、膀胱、外耳道腺などに発癌性を示し、また、ハムスターでは皮下投与によって膀胱癌が発生することが報告されている。今回DMAB単独あるいはDMABとethinyl estro-diol(EE)を組み合わせるハムスターに投与し、発生した膀胱癌について病理組織学的に検討し、その発育と形態学的特性について追求した。[方法]6週齢のハムスター雌雄各90匹を4群に分けた。1群はDMAB(100mg/kg,sc)を実験開始時より週1回20週まで投与し、さらに、EE(0.75ppm)を終了時まで混餌投与した。2群と3群はそれぞれの単独投与群で、4群は無処置とした。実験は20週での一部途中屠殺を含め50週で終了した。

[結果]DMAB投与各群では実験終了時において雌雄ともに膀胱の単純過形成とPN過形成が100%、異形成が80%以上の高頻度に発生した。50週では膀胱癌は雄の1群に78%、2群に65%、雌はそれぞれ79%、80%と高頻度に発生し、EEの影響はなかった。癌は大多数が内尿道口付近より発生し、非乳頭状浸潤性の発育を特徴とする移行上皮癌であって、異型度に相関した深達度を示した。一部に扁平上皮癌、腺癌の合併を認めた。DMAB非投与群では腫瘍性病変は認めなかった。

[結論]DMAB皮下投与によりハムスター膀胱移行上皮癌を高頻度に認めた。ラットでは主に非浸潤性乳頭状の膀胱癌が発生するが、今回の実験からハムスターに発生する膀胱癌は浸潤傾向が強く、ヒト膀胱の浸潤癌モデルとして有用であることが示された。

群	処置	週	匹数	過形成		異形成	乳頭腫	移行上皮癌
				単純性	PN			
雄 1	DMAB-EE	20	9	9(100%)	3(33%)	6(67%)	0	1(11%)
		≤50	18	18(100%) ^c	18(100%) ^c	18(100%) ^c	1(6%)	14(78%) ^c
2	DMAB	20	9	9(100%)	5(56%)	1(11%)	0	0
		≤50	17	17(100%) ^c	17(100%) ^c	15(88%) ^c	0	11(65%) ^a
雌 1	DMAB-EE	20	7	7(100%)	3(43%)	2(29%)	0	1(14%)
		≤50	14	14(100%) ^c	14(100%) ^c	14(100%) ^c	1(7%)	11(79%) ^b
2	DMAB	20	7	7(100%)	3(43%)	5(71%)	0	0
		≤50	5	5(100%) ^b	5(100%) ^b	4(80%) ^a	1(20%)	4(80%) ^a

PN :乳頭腫ないし結節状

a,b,c :P<0.05,P<0.01,P<0.001 (雌雄:DMAB無処置群と比較)

P-87

p53 遺伝子欠損トランスジェニックマウスの BBN 誘発膀胱発癌 に対する感受性検討と p53 癌抑制遺伝子の解析

○須方督夫¹、尾崎圭介¹、山本晋史²、徳山佳美¹、宇和川賢¹、関 高樹¹、
吉武 彬¹、福島昭治² (¹住友化学・生科研、²大阪市大・医・1 病理)

【目的】化学物質の発癌性早期検索性の確立を目的として、癌抑制遺伝子である p53 のヘテロ欠損トランスジェニックマウス(TSG-p53マウス)に膀胱発癌物質である N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine(BBN)を投与し、正常マウス(C57BL/6マウス)との膀胱発癌感受性を比較検討した。また、p53 遺伝子の解析と BBN 投与初期における膀胱上皮細胞の増殖能を検索し、発癌感受性との関連性について検討を行った。【方法】実験 I : 正常マウスと TSG-p53マウスの雄 60 匹ずつを用い、BBN を 0.025 (1 群)、0.0075 (2 群)、0.004 (3 群)、0.002 (4 群) % の各濃度で 20 週間飲料水に混じて投与した。その後、膀胱粘膜上皮病変を病理組織学的に検索し、各病変部の DNA を抽出し、PCR-SSCP 法とダイレクトシークエンス法により p53 遺伝子 Exon 5~8 の変異解析を実施した。更に、TSG-p53マウス群の Exon 6~8 については、LA-PCR 法により p53 遺伝子の正常な allele 由来 p53 遺伝子を増幅し、認められた変異が正常 allele 由来のものであるかどうか検討した。実験 II : BBN 投与初期における膀胱粘膜上皮細胞の増殖性を検討するため、正常マウスと TSG-p53マウスの雄 10 匹ずつに対し 0.0075% BBN を 2 および 4 週間飲料水投与し、BrdU 標識率を測定した。【結果】膀胱粘膜上皮の前癌病変である上皮異形成は TSG-p53マウスでは 4 群以上に見られたが、正常マウスでは 3 群から発生が見られた。移行上皮癌は TSG-p53マウスでは 1 群で 4/12 例、2 群で 7/12 例、3 群で 1/13 例に見られたのに対し、正常マウスでは 1 群の 2/9 例に見られたのみであった。更に、扁平上皮癌は TSG-p53マウスでは 1 群の 6/12 例、2 群の 2/12 例に見られたが、正常マウスでは見られなかった。検出された p53 遺伝子の変異は全て点突然変異であり、TSG-p53マウスでは 3 群の 3/13 例、正常マウスでは 2 群の 3/11 例に上皮異形成から認められた。また、癌に対する p53 遺伝子変異は TSG-p53マウスでは 27.6%、正常マウスでは 27.3% と同程度であった。更に、膀胱上皮細胞の増殖性は、BBN 投与 2 週間後で既に TSG-p53マウスの方が正常マウスに比べ有意に亢進していた。【結論】 TSG-p53マウスは正常の C57BL/6マウスに比較して、低濃度から高頻度に膀胱腫瘍を発生し、BBN 発癌に極めて高感受性であることが明らかとなった。その原因として、TSG-p53マウスでは BBN 投与初期から正常マウスに比較して細胞増殖が亢進しており、DNA 損傷時、P53 蛋白による G1 arrest が十分に起こらず、発癌の要因となる DNA 損傷の修復が困難である事が膀胱発癌高感受性の要因の一つであると推察された。また、癌に対する p53 遺伝子の頻度は両系統のマウスで同程度であり、p53 遺伝子の点突然変異は膀胱発癌感受性に直接影響していないと考えられた。

P-88

N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamineマウス尿路系発癌 に対するフェナセチン同時投与の影響

○村井 隆^{1,2}、森 聖^{1,2}、細野素子²、福島昭治¹

(¹ 大阪市大・医・1 病理、² 塩野義製薬・油日ラボ)

我々は、第8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)雄マウスにフェナセチン(PH)を前投与し、引き続きN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)を投与した時に、尿路系癌のうち腎盂癌発生率およびその転移率が、BBN単独投与群より有意に増加したことを報告した。今回は、PHをBBNと同時投与したときに、PHが腎盂癌あるいは膀胱癌の発生に影響を与えるか否かをNON、NONの姉妹系統マウスであるCTS/Shi (CTS、水腎症発症)およびCrj:CD-1 (CD-1、水腎症非発症)マウスを用いて検討した。

[材料および方法] 実験群の第1-3群はCTS(油日ラボ)、第4-5群はNON(油日ラボ)、および第6-7群はCD-1(日本チャールスリバー)とし、すべて8週齢の雄を用いた。BBNは0.05%の濃度で飲料水に溶解し、また、PHは1%の濃度でMF飼料に添加し、自由摂取させた。実験開始から8週目まで第1(24匹)、4(32匹)および6群(24匹)はBBNとPHを同時投与し、第2(24匹)、5(32匹)および7群(24匹)はBBNのみを投与し、また、第3群(16匹)はPHのみを投与し、その後それぞれ24週目まで無処置とした。24週経過後、マウスを屠殺し、腎、膀胱および転移部を中心に病理組織学的に検索した。

[成績] 腎盂癌の発生率は第1、4および6群でそれぞれ3/24(13%)、5/32(16%)および0/24であり、その転移は第4群のみにみられ4/5(80%)であった。第2、5および7群で3/24(13%)、1/32(3%)および0/24であり、その転移は第5群のみにみられ1/1(100%)であった。第3群では腎盂癌は認められなかった。

膀胱癌の発生率は第1、4および6群で20/24(83%)、21/32(66%)および5/24(21%)であり、その転移は第1および4群にみられ3/20(15%)および7/21(33%)であった。第2、5および7群でそれぞれ15/24(63%)、22/32(69%)および9/24(38%)であり、その転移は第5群のみにみられ5/22(23%)であった。第3群では膀胱癌は認められなかった。

[結論] 今回の実験系では、PHの同時投与はすべての系統において膀胱癌および腎盂癌の発生率に影響を与えないことが明らかとなった。

P-89

ラットにおけるpurpurinの長期毒性試験；膀胱腫瘍の誘発

○大西将美、杉江茂幸、川森俊人、田中卓二、森 秀樹
(岐阜大・医・1病理)

アンスラキノン系化合物は天然に広く存在し、天然系、合成系アンスラキノンは色素剤などとして広く使用されている。我々は先に1,8-dihydroxyanthraquinone (クリサジン)、1-hydroxyanthraquinoneが、その長期投与により、大腸腫瘍を誘発することを示した。今回、サルモネラ菌の変異原性、肝細胞/DNA修復試験などに陽性を示す天然性hydroxyanthraquinoneの1つであるpurpurinのラットにおける慢性毒性の検索を行った。

<方法>

2群の5週齢♂F344ラットを用い、第1群にはpurpurinを1%濃度にて実験期間(520日)中飼料投与した。第2群には対照として基礎食のみを与えた。

<結果>

第1群の平均体重は第2群に比し実験期間中少なかった。第1群の有効動物27匹全例は慢性進行性腎症を示したが、そのいずれに於いても腎盂粘膜の高度の乳頭状肥大を伴った。15匹は膀胱上皮の乳頭状乃至結節状肥大を示し、そのうち5匹には移行上皮癌又は扁平上皮癌を呈した。腎盂腔や膀胱内には高頻度にpurpurinの代謝産物と尿酸塩などとの混合物と考えられる物質の沈着を認めた。20匹には両側又は片側のLeydig cell tumorを認めた。第2群でも慢性進行性腎症をかなりの頻度で認めたが、程度は第1群に比し軽度で腎盂粘膜上皮、膀胱上皮の過形成、膀胱腫瘍の誘発は見られなかった。第1群の腎盂粘膜、膀胱粘膜上皮の過形成及び膀胱腫瘍の発生率は第2群に比し有意に高かった。第2群でもLeydig cell tumorの出現を28匹中25匹に認めた。

<結論>

今回のpurpurinの長期投与実験では1-hydroxyanthraquinoneや1,8-dihydroxyanthraquinoneにみられる様な大腸の変化はみられなく、主として病変は泌尿器系にみられた。Purpurinは腎に毒性を有すると考えられpurpurin代謝物質と尿酸塩などとの複合体の腎盂腔及び膀胱内での貯留と同部位における過形成性、腫瘍性病変との関連性が興味深いと考えられる。

P-90

鉄ニトリロ三酢酸が引き起こすラット腎酸化的ストレスに対するチオール化合物の抑制効果

○梅村隆志¹、長谷川隆一¹、加藤君江¹、井上達¹、西川秋佳²、古川文夫²、高橋道人²、内田浩二³、豊國伸哉⁴、黒川雄二¹（¹国立衛試・毒性、²病理、³名大・食品機能化学、⁴京大・病理）

鉄ニトリロ三酢酸(Fe-NTA)は変異原性試験陰性ながら、ラットの腎臓に催腫瘍性を有している。また、その投与により腎臓DNA中の8-ハイドロキシデオキシグアノシン(8-OHdG)レベルが上昇し、また腎尿細管に脂質過酸化生成物の一つ、4-ハイドロキシノネール(HNE)が検出される。従って、その発癌過程には酸化的ストレスの関与が疑われている。一方、抗癌剤の副作用軽減薬として知られる2-メルカプトエタンサルフォネート(MESNA)および2-アセチルシステイン(NAC)はその投与により効率的に腎臓中のSHレベルを上昇させる。そこで今回、Fe-NTAの引き起こす腎酸化的ストレスに対するこれら2種の化合物の抑制効果について検討した。

材料と方法：雄6週令のWistarラット各群4匹にFe-NTA 12mgFe/kg及び生理食塩水を単回腹腔内投与した。また、これらの動物にさらにMESNA 100mg/kg、NAC 200mg/kg及び生理食塩水を上記処置前後1時間に強制経口投与して、Fe-NTA投与後3時間目に動物を解剖し、腎臓中の脂質過酸化(LPO)レベルをTBA法により、腎臓核画分より分離したDNA中の8-OHdG量をHPLC-ECD検出系により測定した。また、ホルマリン固定後、常法によりパラフィン切片を作製しHNE抗体による免疫染色を施した。さらに血清中の尿素窒素(BUN)及びクレアチニン(CRN)レベルも同時に測定した。

結果と考察：Fe-NTA投与によりLPO及び8-OHdGレベルが対照群に比べて有意に上昇したが、MESNA及びNACの投与によりこれらの変化は有意に抑制された。また、近位尿細管にHNE陽性上皮細胞が認められたが2剤の投与によりその発現が抑制された。さらに、Fe-NTA投与により腎毒性の指標となる血清中のBUN及びCRNレベルの有意の上昇が観察されたが、2剤の投与はこれらの変化を有意に抑制した。以上の結果、MESNA及びNACがFe-NTAにより引き起こされる腎臓への酸化的ストレスの防御に有効である事が明らかとなった。

P-91

Tris-CPによる腎発癌過程にみられた尿細管上皮過形成および巨核化の意義

○高田幸一¹、豊田和弘¹、畝山智香子¹、正田俊之¹、門馬純子²、高橋道人¹、黒川雄二²（¹国立衛試験病理部、²毒性部）

【はじめに】

Tris(2-chloroethyl)phosphate (Tris-CP)はリン酸系難燃剤の1つである。類似物質のTris(2,3-dibromopropyl)phosphate(Tris-BP)、Bis(2,3-dibromopropyl)phosphate(Bis-BP)においてはラットで腎を標的とする発癌性が報告されている。近年、難燃剤は電気カーペット、電気毛布、カーテン、壁紙等に多く使用されており、生活環境において接触する機会が多い。Tris-CPはマウスにおいて経口（混餌）投与により、腎に発癌性が示されており、今回は経時的に発癌過程を追求した。

【材料および方法】

5週齢の slc:ddYマウス（日本SLC株）を雌雄各群50匹として、Tris-CPを1.5%、0.3%、0.06%、0.012%および0%（対照群）の濃度で飼料に添加し、18ヵ月間自由に摂取させた。さらに雌雄各10匹を同様に飼育し、6および12ヵ月目に雌雄各群5匹づつを麻酔下で屠殺・剖検し、血液学的検査、臓器重量および病理組織学的検査を実施した。

【結果および結論】

体重は1.5%群では雌雄ともに投与初期より有意な増加抑制がみられたが、他の群では対照群と差はみられず、摂餌量においても雌雄ともに対照群との間に差はみられなかった。最終生存率は雄の1.5%群、0.3%群、0.06%群、0.012%群および対照群でそれぞれ38%、56%、54%、63%および60%であり、雌ではそれぞれ36%、44%、52%、60%および64%であった。病理組織学的には腎に尿細管由来の腎細胞腺腫および腎細胞癌が雄で用量相関的に増加し、1.5%群で有意であった。腎細胞癌は12ヵ月目の定期解剖においても、雄の1.5%群で2/5例認められた。非腫瘍性変化として尿細管上皮細胞の過形成および巨核化がみられ、雄では過形成が0.3%群以上で、巨核化が0.06%群以上で用量相関的に増加し、雌では巨核化が1.5%群のみで増加した。また、雄の1.5%群では6および12ヵ月目の定期解剖において過形成および巨核化が増加し、雌の1.5%群では12ヵ月目の定期解剖で巨核化が増加した。

Tris-CPによりddYマウスにみられた腎臓の尿細管上皮細胞の過形成、巨核化など、これらの病変と腫瘍発生の関連性につき論ずると共に、前癌病変としての意義について論じる。

P-92

CD-1マウスの性周期による子宮内膜の細胞増殖と ホルモンレセプターの出現に関する免疫組織学的検討

○美谷島克宏、高橋正一、吉田緑、安藤進、木谷敏之
白木克尚、前川昭彦（佐々木研究所・病理）

【目的】

子宮内膜の過形成や癌の発生と増殖にはステロイドホルモンの関与が重要な役割を果たすと考えられている。マウスの子宮癌についてもその進行度や悪性度に伴いホルモンレセプターが変動することが報告されている。我々はマウス子宮癌の発生機序解明のための基礎的研究の一環として、性周期による内膜細胞の増殖とホルモンレセプターの変動について免疫組織学的な検索を実施したので報告する。

【実験材料および方法】

CD-1(ICR)マウスは6週齢で購入し、予備馴化飼育の後8週齢より実験を開始した。膣スメア採取は毎日午前9時に実施し、規則性のある性周期を呈している11～12週齢のマウスから、性周期の各ステージ毎に7～8匹を選んで解剖した。解剖に先立ち午前9時30分にBrdU100mg/kgを腹腔内に投与し90分後に屠殺・剖検し、子宮、卵巣、膣を採材した。採材した臓器は1夜のホルマリン固定の後、常法に従い組織標本を作製しHE染色を施すとともに、スメア像に加え組織像からの性周期の形態的特徴を確認し、各ステージ毎に5匹ずつを選び子宮内膜細胞の増殖およびホルモンレセプター（エストロゲンレセプター：ER、プロジェステロンレセプター：PR）の検索を行なった。子宮にはBrdU、ER、PRに対する免疫組織学的染色をLSAB kitを用いて実施し、被覆上皮、腺上皮、間質細胞の染色性の強弱、陽性細胞数の割合を検索した。

【結果および考察】

性周期に伴う子宮のBrdUの取り込みとER、PRの染色性と陽性細胞の出現率の算出を被覆上皮、腺上皮、間質に分けて検索した。BrdUでは、被覆上皮は発情前期に最も高い陽性率を示したのに対し、腺上皮は発情後期に高い陽性率が得られた。一方、間質細胞では発情休止期に最も高い陽性率が得られた。ERでは、主に腺上皮が強く染色され、陽性率は発情期に最も高値を示したが、被覆上皮は殆ど染色されなかった。間質にも全ステージを通して陽性細胞が観察されたが、発情期は他のステージに比べ染色性も弱く陽性率も低値を示し、発情後期や発情休止期には強い染色性と高い陽性率が得られた。PRでは、性周期による明らかな変化は見い出せなかったが、全周期を通して上皮よりも間質細胞が強い染色性と高い陽性率を示すと同時に筋層も強陽性を示した。以上の結果から性周期に伴うホルモンレセプター（特にER）の変動が認められたが、BrdUの取り込み時期とホルモンレセプターの発現時期は必ずしも一致していなかった。また被覆上皮と腺上皮との間では、BrdUの取り込みおよびERの出現時期、強さに明らかな違いが見られ、両上皮細胞は機能的にも異なったものと考えられた。しかしその生理的意義の解明については更なる検討が必要であると思われた。

P-93

ENU及び17 β -estradiolによるマウス子宮内膜腺癌の誘発

○西村進^{1,2}、高橋正一²、安藤(路)進²、吉田緑²、笹原健二²、
前川昭彦² (1ボゾリサーチセンター、2佐々木研・病理)

【緒言】

ヒトにおいては、子宮内膜癌と内分泌異常との関連が古くより指摘され、なかでもエストロゲンの関与が最も重要視されている。今回、マウスの子宮内膜腺癌発生に対するエストロゲンの影響をみる目的で、1-ethyl-1-nitrosourea (ENU) 及び17 β -estradiol (E₂) による子宮内膜腺癌の誘発実験を行い、きわめて早期かつ高率な発生がみられたので報告する。

【方法】

CD-1 (ICR) マウスを用いて、7週齢時より24時間照明下で飼育することにより性周期停止マウスを作成し、4群に分け実験を行った。9週齢時より1群(対照群)にはcholesterolペレットを背部皮下に埋設し、10週齢時にpolyethylene glycol (PEG) を経膣的に子宮腔内(片側子宮角)単回投与、2群(E₂+PEG投与群)にはそれぞれE₂ペレット及びPEG、3群(cholesterol+ENU投与群)にはcholesterolペレット及びENU、4群(E₂+ENU投与群)にはE₂ペレット及びENUを1群と同様に処置した。尚、ENUはPEGに溶解して50mg/kgを投与した。動物はENU投与の15週間後に屠殺剖検し、子宮内膜腺癌の発生を病理組織学的ならびに内分泌学的に比較した。

【結果及び考察】

子宮内膜腺癌の発生率は、それぞれ3/25 (12%)、9/25 (36%)、2/25 (8%) 及び19/24 (79%) であった。以上の結果、ENUの単独投与群では子宮内膜腺癌の誘発はみられなかったが、E₂ペレットを背部皮下に投与する方法で、E₂単独投与群において36%の子宮内膜腺癌の発生率がみられた。一方、ENU及びE₂の併用投与群では発生率が約80%とE₂投与群の約2倍であった。最終屠殺時の内分泌学的検索では、2及び4群でE₂/P比の有意な上昇がみられた。このことから、E₂は内分泌環境を変えることにより、それ自体で子宮内膜腺癌の発生を促進させると共に、E₂とENUの併用投与により、ENUでイニシエートされた子宮内膜に対しプロモーター的に作用し、早期かつ高率に子宮内膜腺癌を誘発させたことが示唆された。

P-94

Wistar系ラットに発生した雌性生殖器の顆粒細胞腫の病理組織学的検討

○豊沢かおる，木川英美，沖本一夫，糀谷高敏，安場正子，西村耕一
(大日本製薬(株)，開発研究所)

ラットの自然発生性の顆粒細胞腫 (GCT) はほとんどが脳髄膜部に発生すると言われており，舌や雌性生殖器での発生は数例の報告しかない。今回，我々はWistar系ラットを用いたがん原性試験で300例中18例の雌性生殖器 (子宮および膣) にGCTの発生を経験し，その病理組織学的検討を行ったので報告する。

材料は，ある被験物質を2年間投与したCrj:Wistarラットの雌300例のうち雌性生殖器にGCTのみられた18例を用いた。GCTの発生は被験物質投与群でもみられたが，Fisher検定の結果，被験物質投与とGCTの発生に相関性がみられなかったので，すべて自然発生性のGCTとして扱った。また，脳におけるGCT発生は300例中3例で，そのうち1例で膣にもGCTが発生した。材料は10%中性緩衝ホルマリンで固定後，常法に従いHE染色標本作製した。特殊染色としてPAS，アルシアンブルー，マッソトリクロムを行い，免疫染色としてS-100蛋白，Neuron-specific enolase (NSE)，テスミン，ミグロビン，ヒマンチンに対する染色を行った。また，一部の材料についてホルマリン固定材料からのもどし電顕による観察を行った。

18例のGCTのほとんどが子宮あるいは膣の漿膜面における結節状腫瘤として存在していたが，数例で漿膜面を覆うように増殖しているもの，あるいは間質中に浸潤するように増殖しているものもあった。いずれも正常組織との境界は不明瞭で，顆粒を持った細胞の周囲を膠原線維が被っていた。顆粒はPAS陽性で，ジアスターゼ処理後も陽性であった。また，アルシアンブルー染色では，pH 2.5で陽性，pH 1.0で陰性であった。マッソトリクロム染色では顆粒細胞間に多量の膠原線維が観察された。免疫染色では，S-100蛋白に陰性，NSEに陽性，テスミンおよびミグロビンに陰性，ヒマンチンに一部陽性であった。電子顕微鏡による観察では，様々な電子密度のライソソームを細胞質中に充満させた顆粒細胞がみられたが，基底膜は不明瞭であった。顆粒細胞間には膠原線維が豊富に存在し，細胞を分離していた。

ラットの雌性生殖器に発生したGCTの既報告の発生率は1%以下 (NTPが公表したがん原性試験のFischerラットでは子宮・膣とも0.1%) である。今回の我々の試験では子宮で3.3%，膣で3.4%という高い発生率を示した。18例はいずれも形態学的に既報告のGCTの特徴とよく一致していた。免疫染色の結果は既報告の中でも結果が一様ではないが，今回の18例は全例がS-100蛋白，テスミンおよびミグロビンに陰性，NSEに陽性であった。雌性生殖器のGCTの由来は明らかにはできなかったが，形態学的には脳髄膜に発生するGCTよりも膠原線維の量が豊富で，舌に発生するGCTの形態に近かった。

P-95

Donryuラットの子宮にみられた顆粒細胞小増殖巣について

○笹原健二^{1,2}、安藤(路)進¹、高橋正一¹、吉田緑¹、
飯島徹男^{1,3}、前川昭彦¹ (¹佐々木研、²ツムラ、³日清製油)

【目的】 これまでF344ラットやSDラットの子宮において極めて稀ながら顆粒細胞腫の自然発生が報告されている。今回我々は子宮発癌実験に使用した Donryuラット(総数約800匹)の子宮において、好酸性顆粒を有する細胞から構成される光学顕微鏡レベルの小増殖巣を11例の個体に認めたので報告する。

【材料・方法】 動物はN-ニトロ化合物を経腔的に子宮腔内単回投与および/あるいはエストロゲンペレットを皮下投与した雌 Donryuラット(日本ファルマ・リバー社)であり、44~75週齢時で剖検した。子宮は10%緩衝ホルマリンにて固定し、常法に従いパラフィンブロック、薄切標本を作製した後、H. E. 染色の他、PAS及びジアスターゼ消化PAS、アルシアン青、マッソントリクローム及びPTAH染色を行うと共に、抗S-100蛋白抗体、抗デスミン抗体、抗ビメンチン抗体、抗リゾチーム抗体及び抗GFAP抗体を用いて免疫組織化学的に検索した。さらに、1例の個体についてパラフィン包埋ブロックから電子顕微鏡試料を作製して超微形態学的に観察した。

【結果・考察】 組織学的には好酸性顆粒を有する細胞からなる、50x70~1000x1700 μm^2 の大きさの類円形から三日月形の増殖巣として観察された。個々の細胞は1個の核小体を有する円形核を持ったやや大型の類円形細胞で、胞体内にはジアスターゼ消化耐性PAS陽性顆粒を豊富に有していた。また、この顆粒はアルシアン青で僅かに染色され、マッソントリクローム染色では赤紫色から青色に染まり、PTAH染色では褐色に染色された。免疫組織化学的染色では抗S-100蛋白抗体に4例が弱陽性から陽性、抗デスミン抗体に1例が弱陽性を示したが、抗ビメンチン抗体、抗リゾチーム抗体及び抗GFAP抗体は全て陰性であった。超微形態的には、顆粒は単位膜に囲まれたほぼ円形、大小様々の高電子密度小体として観察された。

本病変は形態的、免疫組織化学的および超微形態的特徴から、これまで文献的に報告されているラット、マウスの顆粒細胞腫に類似した細胞よりなる小増殖巣と考えられた。病変の多くは子宮内膜固有層内に認められたが、一部は筋層や間質ポリープ内にもみられ、組織化学的並びに免疫組織化学的検索結果からシュワン細胞由来が疑われたものの、その発生母細胞を特定するには至らなかった。一方、マウスでは顆粒細胞腫がエストロゲンにより誘発されることが報告されている。Donryuラットは加齢に伴い相対的エストロゲン高値を示すことが知られており、かつ11例中7例は更にエストロゲンを投与した動物にみられたことから、本病変の発生にはエストロゲンが関与している可能性が示唆されたが、その発生機序解明には更なる検討が必要であると思われる。

P-96

ICR系マウスに多発する卵巣のう胞の形態学的検討

○浦生ゆみ・山岸保彦・勝田 修・土谷 稔（三菱化学安科研）

ICR系CD-1マウスは癌原性試験にしばしば用いられ、背景病変についてもいくつかの報告が見られる(Maita *et al.*, 1988; Sher *et al.*, 1982). しかしそのほとんどが腫瘍性変化に関するものであり、卵巣の非腫瘍性変化であるのう胞の組織像については詳細な報告はなされていない. 今回我々は、本系統のマウスを用いて実施した78週癌原性試験において、自然発生性に認められた卵巣のう胞について病理組織学的検査を行いその形態学的特徴についてまとめたので報告する.

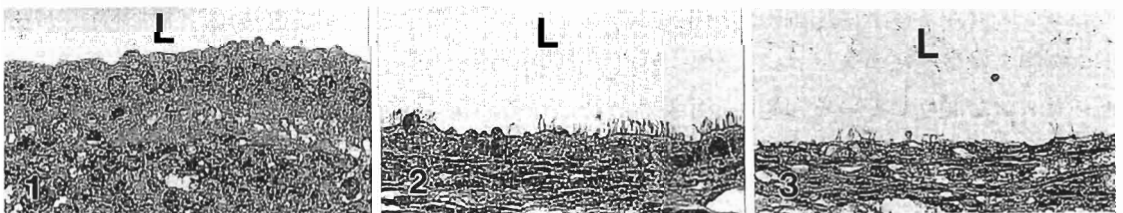
〔材料及び方法〕78週の癌原性試験に用いられたCD-1マウス400例の卵巣のH-E染色標本を検索した. 代表例について、オイルレッドO染色、PAS染色およびマッソントリクローム染色を行った. また戻し電顕によって上皮の観察を行った.

〔結果〕剖検では直径1mmから20mm大のう胞が、207例(51.75%)に認められた. ほとんどの動物ではのう胞内に透明な漿液が貯留していたが、少数例では直径10mm以上の血腫を形成しており、これが衰弱および死亡の原因となった.

組織検査では123例で両側に、128例で片側に、合計251例(62.75%)にのう胞が認められた. 71例(17.75%)では両側あるいは片側に複数ののう胞が見られた. これらののう胞は、18週齢程度の若い動物ではしばしば門部近くに認められたものが、週齢を経るにつれて卵巣組織を圧迫するまでに拡張するものと思われた. 比較的小型ののう胞は立方から円柱状の上皮で裏打ちされ(写真1, 2; L, 内腔), その遊離面にはPAS染色陽性の微絨毛やしばしば線毛が見られた. また細胞質に脂肪滴を充満するものもあった. 大きなのう胞では、大部分が扁平細胞で裏打ちされていたが、一部に線毛を有し扁平化しつつある上皮(写真3)が確認された. また少数例では紡錘形細胞が上皮の外側を薄く取り巻いたり、上皮下に厚い層をなして増生する像が見られた. 血腫を形成したものでは、のう胞壁に出血および紡錘形細胞の増生を伴い、裏打ちする細胞はほとんど脱落していたが、一部に上皮細胞が認められた.

電顕的にも上皮の遊離面には微絨毛およびしばしば線毛が認められ、隣接する細胞間には接着装置が、上皮細胞直下には基底膜が見られた.

〔まとめ〕CD-1マウスに見られた卵巣のう胞の発現率は、癌原性試験に頻繁に用いられるB6C3F₁マウスと比較すると、顕著に高かった. DBA₁マウスでは卵巣網由来ののう胞が認められるが、本系統のマウスに認められたのう胞も発生部位および上皮の形態から卵巣網に由来するものと思われた.



P-97

カニクイザルの精巣毒性における精子形成サイクルのステージをグループ化した簡便的な評価方法の検討

○松井 元¹⁾、北嶋修司¹⁾、新屋希子¹⁾、内布洋一¹⁾、
豊田和弘²⁾、高橋道人²⁾
(¹化血研・病理、²国立衛試・病理)

【はじめに】精巣の毒性変化を病理組織学的に検出するために、種々の評価方法が検討されている。これらの検討は毒性評価に頻用されるラットを用いて行われている。カニクイザルはラットと並んで毒性評価にしばしば用いられるが、精子形成サイクルについての基礎的な解析は少なく、精巣毒性の評価方法に関する報告も少ない。先に演者らは、ラットにおいて精子形成サイクルのステージをいくつかのグループに分けて毒性変化を検出する簡便的な評価方法について報告した。今回、カニクイザルについてもステージをグループ化した形態学的評価方法を確立することを目的にして、ステージ毎に生殖細胞数及び各ステージの精細管の出現頻度を計測し、ステージを最適な区分でグループ化するための検討を行ったので報告する。

【方法】推定5才以上（歯による推定）の雄性カニクイザルの精巣をブアン固定し、パラフィン包埋切片を作製してHE及びPAS染色を行った。Clermontら（1959）が報告したアカゲザルの精子形成サイクルに照らし合わせて、各ステージ（IからXIIまで）について横断面がほぼ円形を呈する精細管を5本ずつ選びだし、精上皮の数をカウントした。カウントした各種生殖細胞の数は1精細管あたりのセルトリ細胞の数に対する割合で表した。また、切片中に存在する精細管の横断面のステージを判別して、各ステージの出現頻度を求めた。

【結果及び考察】各ステージの生殖細胞数の検索では、ステージIIからIIIに変わる時点で精祖細胞数の増加が認められ、ステージVIにおいても精祖細胞がプレレプトテン期精母細胞に分化する段階で細胞数の増加がみられた。これらの生殖細胞数の増加は生殖細胞の発育・分化に伴う細胞分裂によるものであった。また、減数分裂が行われるXIIでは、分裂の度合いにより精母細胞数は大きく変動した。各ステージの精細管の出現頻度では、ステージVIIあるいはVIIIが他のステージに比較して高い頻度で認められた。これらの生殖細胞数の変動とステージの出現頻度ならびに各ステージを構成する生殖細胞の種類をもとに考察したところ、生殖細胞数が一定の周期で増加変動するIII、VI及びXIIと、円形精子細胞の核が変形し始めるIXの4箇所を境にして、IとII、IIIからV、VIからVIII、IXからXI及びXIIの少なくとも5つ以上のグループに分類する必要があると考えられた。

精巢の固定法に関する検討

○戸和秀一、大町 康、鳥海 互、岩崎 仁（田辺製薬・医薬育成研究所）

精巢の固定液として推奨されているブアン液は、ピクリン酸による器具の汚染、脱ピクリン酸処理が必要、固定時間が限定される、などその取扱いが繁雑である。近年、精巢の固定液としてブアン液と同等の固定効果を示し、かつピクリン酸を含まないFSA液（ホルマリン-シヨ糖-酢酸混液）が考案された¹⁾。我々もFSA液による精巢の固定を試みたところ、同液はブアン液と同等の固定効果を示したが、両固定液共に精上皮基底部の空胞化および精上皮-基底膜間の解離などのアーティファクトがみられた。そこで、FSA液の組成を再検討した。

7、10および18週齢のSD系雄ラットをエーテル深麻酔下で放血殺後、精巢を摘出し各固定液（表）で浸漬固定した。ブアン液での固定期間は3日間、FSA液およびFA液による固定期間は5～10日間とした。3mm厚に切り出し後10%中性緩衝ホルマリン液中で保存し、常法に従いパラフィン切片を作製し、HEおよびPAS染色を施し鏡検した。その結果、10週齢以上のラットの精巢を、ブアン液、FSA液で固定した場合、精上皮基底層における空胞形成および精上皮-基底膜間の解離がみられ、その程度は週齢と共に顕著になった。これに対して、FA液で固定した場合、若干の週齢の影響はあるもののこのような像はほとんど認められなかった。またFA液では固定期間の違いによる組織像の差は認められず、10%中性緩衝ホルマリン液中で1カ月間保存した後も組織像、染色性に変化はなかった。これらのことから、FA液はアーティファクトが生じにくく、固定効果が優秀であるのみならず、ピクリン酸を使用しない、調製が容易であるなどの利点を有し、精巢固定液として有用であると思われる。

各種固定液組成表（容量比）

	ホルマリン原液	蒸留水	5%シヨ糖水溶液	酢酸	ピクリン酸飽和水溶液
ブアン液	5	—	—	1	1.5
FSA液	5	—	1.5	0.8	—
FA液	2.5	17.5	—	0.8	—

参考文献 1) 村田晃子 他：ラット精巢の固定法の検討。実験病理組織技術研究会誌 2, 87-91, 1993

精巣における固定液の検討

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

【目的】毒性試験における臓器の固定は、ホルマリン液で行う事が一般的であるが精巣においてはホルマリン固定・パラフィン包埋標本ではアーティファクトが生じる為 Bouin固定・パラフィン包埋が推奨される。Bouin固定液では脱ピクリン酸の煩雑な操作が必要である。そこでホルマリン液と同様な容易に取扱いができる固定液の検討を行ったので報告する。

【方法及び材料】8~9週齢のSDラットの精巣を用い、以下の固定液についてパラフィン包埋、HE染色及びPAS反応標本で比較検討した。〔検討1〕既存固定液の検討：10, 20, 30%中性緩衝ホルマリン液、10%ホルマリン液、エタノール・ホルマリン液、PLP液、Davidson液、Karnovsky液、Bouin液の固定の比較。〔検討2-1〕酢酸添加したKarnovsky系固定液の検討：1, 2, 3, 4, 5%酢酸の添加した固定液の比較。〔検討2-2〕3%酢酸添加時のグルタルアルデヒド(GA)、パラホルムアルデヒド(PA)濃度の検討：1, 2, 3, 4, 5%GA-4%PA、2%GA-1, 2, 3, 4, 8%PAの組合せによる固定液の比較。〔検討2-3〕PAとホルマリンの互換性の検討：2%GA-5, 10, 15, 20, 30%ホルマリン-3%酢酸の組合せの固定液の比較。〔検討2-4〕切出し時間の検討：固定後6時間、1~7日後について比較。

【結果】既存固定液の検討では、臓器切出しの操作性、組織の変形、間質の拡大、精上皮細胞形態について評価した結果、最も良好なものはBouin液であり、次いで変形、間質の拡大がみられたが、Karnovsky液であった。そこで Bouin液とKarnovsky液の組成の違いである酢酸添加について検討した結果、3~5%の酢酸添加により変形、間質の拡大が減少した。次いで、3%酢酸添加時のGA、PAの有効濃度を検討した結果、2~5%GA-2~8%PA混合液で良好な結果が得られた。更に、調整に煩雑な PAの代わりにホルマリンを用いた場合の検討では、15~30%ホルマリン濃度で良好な結果が得られた。2%GA-15%ホルマリン-3%酢酸の混合液が最も良好な固定液であった。切出し時間の検討では、6時間後では中央部の未固定部分が盛り上がり標本上でも間質の拡大は強くみられたが、1~7日後の切出しでは間質の拡大像は軽微であった。

【まとめ】2%GA-15%ホルマリン-3%酢酸混合液(GFA固定液)を用いた場合、精上皮細胞の形態はBouin固定液と同等の良好な組織像を呈し、軽微な被膜の収縮と軽度の精巣中央部の間質の拡大がみられるが、間質の拡大は Bouin固定よりも軽度で良好な結果であった。本固定液は、Bouin液に比べ脱ピクリン酸操作が無く通常のホルマリン固定と同様に取扱いられ有用である。

P-100

ラット精巣毒性評価法におけるビメンチン免疫染色法の応用について

○町田一彦、伊藤聖一、相内聖峰（実医研・病理学研究部）

雄性生殖毒性の評価法として、精子形成サイクルのステージ別精細管上皮細胞数のカウントがこれまでの病理観察に比べ有用と考えられている。上皮細胞分類上の問題点として精子細胞および精母細胞は位置する領域も決まっており、またその核は特徴的な形態を示すため比較的容易に同定が可能であるが、セルトリ細胞と精祖細胞はいずれも基底膜の近くに位置し、その核の形態も類似していることから鑑別には熟練を要する。セルトリ細胞は化学物質、その他の影響を受けても比較的intactであることから、各精細胞数はセルトリ細胞当りの数で表すことが推奨され、セルトリ細胞数を正確にカウントすることは評価の上でポイントとなっている。そこでセルトリ細胞の細胞質に発現する中間径フィラメント構成蛋白であるビメンチンによる免疫染色法を用いたところセルトリ細胞と精祖細胞の区別の容易な染色像を得、さらにステージの詳細な判定をするためPAS染色による重染色を試み良好な結果を得たので報告する。

【方法】 正常成熟雄ラットの精巣をブアン液に浸漬固定し、常法に従いパラフィン切片を作製した。脱パラの後マイクウェーブ処理し、抗ビメンチン抗体(V9株：DAKO社)を用いニューフクシンで発色させ、さらにDWで洗浄後常法通りPAS染色を行ない、水性の封入剤を用いて封入した。

【結果および考察】 セルトリ細胞質中のビメンチンが免疫反応により赤く陽性を示し、精祖細胞は核周囲が免疫反応陰性であるため、両細胞の区別は免疫染色を施さない標本に比べ容易となった(Photos. 1, 2)。重染色したPAS反応は良好でステージの区別に支障なかった。ビメンチン免疫染色にPAS染色を重染色することでセルトリ細胞と精祖細胞の区別が容易かつ詳細なステージ分類の可能な像を得、ブアン液固定、パラフィン切片で染色可能であることからセルトリ細胞の確実な識別方法として有用と考えられた。また発色が明瞭であるため画像解析による細胞のカウントへの応用が考えられた。現在、細胞のカウントにおけるPAS染色のみの標本との比較について検討中である。

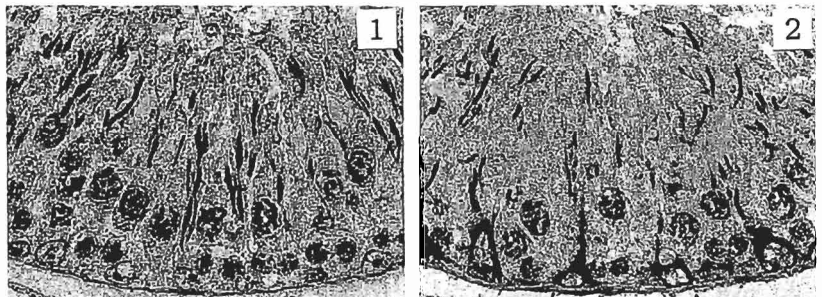


Photo. 1 :
PAS 染色

Photo. 2 :
ビメンチン+PAS 染色

P-101 化合物Oによるイヌの雄性生殖器毒性と薬物動態および作用機序に関する検討

○澤本 修, 栗栖和信, 長根芳文, 幸下雅俊, 姜 定克, 下野和之, 久保秀治, 辰巳邦彦¹ (大塚製薬工場・鳴門研, ¹大塚製薬・藤井記念研)

化合物Oは、キサンチン酸化酵素・脱水素酵素を阻害する新規化合物である。本剤のラットおよびイヌの反復投与試験において、イヌでのみ精子形成障害、副生殖器の萎縮を主徴とする変化が発現した。種差の要因として代謝物M-1の関与が示唆された。すなわちM-1は腸内細菌により化合物Oから還元生成、腸管で吸収されるが、イヌでは殆ど代謝されず、親化合物に比べて極めて高い血中濃度を示した。そこで、生殖器毒性発現の要因を探索するため、病理学的変化と薬物動態との関連および作用機序について以下の検討をした。

[材料および方法] 雄性ウイスター系ラット(6週齢), ビーグル犬(7~8カ月齢)を用いた。

①ラットおよびイヌの血中および生殖器における薬物濃度の検討: 化合物Oを、それぞれ1, 7, 21日間反復投与し、化合物Oおよびその代謝物M-1について血中、精巣および前立腺組織における薬物濃度を経時的に測定した。

②化合物Oおよび代謝物M-1のイヌの雄性生殖器に対する作用: 化合物O自体の評価は、腸内細菌によるM-1の生成を可能な限り抑制し、親化合物のみを高曝露にした条件であることを前提とした。そのために抗生物質(バシラシン, ネマイシン, スレプトマイシン)との併用下で、化合物Oを投与した。代謝物M-1自体の評価は、M-1を投与した。それぞれ4週間反復投与後、生殖器の病理組織変化と血中アンドロジェンおよび血中薬物濃度との関連を検討した。

③去勢ラットによる化合物Oおよび代謝物M-1の抗アンドロジェン作用: 去勢後、テストステロンとともに、化合物OまたはM-1を7日間同時投与し、副生殖器を指標とした抗アンドロジェン作用の有無および程度を、塩酸クロルマジノン(CMA)を陽性対照に検討した。

④イヌおよびラットの前立腺を用いたアンドロジェン受容体(AR)への作用: 前立腺サイトゾルを用いて、ARへの³H-DMNT(Mibolerone)結合に対する化合物Oおよび代謝物M-1の作用を、CMAを陽性対照に検討した。

⑤ラット精巣初代培養細胞に対する化合物OおよびM-1の作用: 精巣から分離した遊離細胞を、培養条件下で化合物Oまたは代謝物M-1を添加し、セルトリ細胞からの精細胞の剥離および壊死を指標として観察した。

[結果] ①M-1は、ラットに比しイヌの血中および生殖器(特に精巣)で高い薬物濃度を示した。②イヌの精子形成障害および前立腺の萎縮は、親化合物の高曝露下では発現せず、M-1の高曝露下で発現した。血中アンドロジェンの変動はなかった。③M-1は、CMAと同程度の抗アンドロジェン作用を示した。④M-1は、イヌおよびラット由来ARへのMibolerone結合をCMAと同程度に阻害した。⑤in vitroで精細胞の剥離・致死作用は、M-1で見られた。

[まとめ] 化合物Oによる雄性生殖器毒性は、腸内細菌により生成された代謝物M-1の高曝露に起因し、その種差はイヌの代謝特性に基づくものと考えられた。機序として、代謝物M-1のARへのアンドロジェン結合阻害作用に加えて精巣に対する細胞障害性が示唆された。

P-102

Estradiol Benzoate 皮下投与によるラット精巣の病理組織学的変化

○秦 純子, 池川 直, 金子英志, 山中義弘, 浅野 哲,
武田利明, 宇野 洋, 伊澤義弘 (帝人(株)・医薬開発研)

【目的】

雄性ラットに Estradiol Benzoate(E_2B) を筋肉内投与することで精巣に萎縮等の重篤な障害が誘発することが知られているが、精巣を精子形成サイクル別にステージ分類した病理組織学的検査は行っていない。今回、我々は、ステージ分類により、ステージ I X, X, X I の精細管において精子細胞(長形)の遺残を確認したので報告する。

【方法および結果】

E_2B 5, 50, 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を Slc:SD 系雄ラット(各群5匹)に2週間および5週間皮下投与し、精巣の病理組織学的検査において、精細管萎縮、生殖細胞剥離、精母細胞変性・壊死、精子数減少、巨細胞形成、ライディヒ細胞の萎縮等を確認した。これらの変化の多くは、 E_2B の精巣毒性として以前より知られている変化であるが、今回、精子細胞(円形)の形態からステージ I X, X, X I に相当すると考えられる精細管に精子細胞(長形)が数細胞残存している像を検出し、 E_2B 投与によりステージ I X, X, X I の精細管において精子細胞の遺残傾向が認められることを確認した。さらに、この実験結果を参考として、 E_2B 0.2, 2, 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を同系ラット(各群12匹)に、4週間および9週間皮下投与し、ステージ I X, X, X I の精細管に着目した病理組織学的検査を実施した。その結果、精子細胞(長形)の遺残が著明な組織変化を伴わない精細管においても認められた。

【結論】

E_2B の精巣毒性変化として知られている著明な変化の誘発されない低用量においても、精子形成サイクルのステージ分類を実施することにより、ステージ I X, X, X I の精細管における精子細胞(長形)の遺残が検出できた。

P-103

Ethinylestradiol (EE)投与によるラット雄性生殖毒性の病理組織学的検討 -交配検査、精子検査との比較検討-

○及川 直矢, 佐野 文子, 土屋 毅幸, 岩瀬 隆之, 村上 朋子,
後藤 和広, 杉本 次郎, 務台 衛 (三菱化学横浜総研・安全性研)

【緒言】近年, 雄性生殖毒性を評価する際の投薬期間が9週から4週へと移行しつつあり, より感度の高い検査指標が求められている. 今回, 雄性生殖毒性を有することが知られているEEをラットに4週間反復投与し, 雄性生殖器への影響について病理組織学的に検討し, 交配検査, 精子検査結果とその検出感度について比較検討した.

【材料および方法】10週齢の雄Crj:CDラットにEE (0, 0.1, 0.3, 3.0, 10mg/kg, 10匹/群) を4週間反復経口投与し, さらに投与を継続しながら1週間同系無処置雌ラットと同居させ, 交配検査 (交尾率, 妊娠率) を実施した. その後屠殺し精巣上体内精子検査 (精子数, 精子生存率) を行い, 精巣, 精巣上体, 精囊, 前立腺の病理検査を実施した. また, アポトーシス鑑別のため, パラフィン切片を用いTUNEL解析を実施した.

【結果】病理組織検査では0.1mg/kg以上の投薬群の精巣, 精巣上体, 精囊, 前立腺で萎縮性変化が観察された. 精巣においては精母細胞・円形精子細胞の変性, 細胞死/剥離, 巨細胞形成, セルトリ細胞の空胞化, ライディッヒ細胞の萎縮が観察された. 精母細胞, 円形精子細胞の細胞死はTUNEL解析で陽性を示したことからアポトーシスの可能性が考えられた. 精巣上体では精巣上体管の萎縮, 精巣上体管内の精子数減少・精上皮剥離細胞の出現が, 精囊・前立腺では萎縮が認められた. これらの病理変化は用量の増加に伴い発現頻度と程度が高くなっていった. 交配検査では3.0mg/kg以上の投薬群において交尾率および妊娠率の低下が観察された. 精子検査では精子数の減少が0.1mg/kg以上の投薬群に観察された. 精子生存率は, 3.0mg/kg以上の群では精子数が著しく少なかったため測定不能であり, 0.3mg/kg以下の群では変化は認められなかった.

【結論】EEの雄性生殖毒性の病理組織検査による検出感度は交配検査, 精子検査 (精子生存率) よりも高かった. また, 精子検査 (精子数) は病理組織検査と同等の検出感度を示した. 以上より, EEの雄性生殖毒性は, 精巣, 精巣上体, 精囊, 前立腺の病理組織検査を実施することで簡便かつ高感度に評価可能であると考えられた.

P-104

非ステロイド系抗炎症剤であるインドメタシンの前立腺発癌に対する修飾作用

○河部真弓^{1,2}、玉野静光^{1,2}、高橋 智²、二口 充²、今井田克己²、白井智之² (¹ 大雄会医科学研究所、² 名市大・医・1 病理)

【目的】非ステロイド系の抗炎症剤であるindomethacin(IM)は、PGE₂の合成を阻害し、大腸、膀胱、膵臓および乳腺などの腫瘍性病変の発生に対し、抑制的に作用することが報告されている。今回、3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl(DMAB) およびtestosterone propionate (TP)投与により誘発されるラット前立腺癌発生に対するIMの修飾作用について検討した。

【方法】実験1：6週齢のF344系雄ラット130匹を用い、DMABを50mg/kgの濃度で10回皮下投与し、同時にTPの40mg含有シリコンチューブを6週毎に背部皮下に埋植した。DMAB投与後よりIMを20ppmの濃度で飲料水中に混じ、自由摂取させた。また、DMAB投与のみのIM投与群も設け、全経過57週で屠殺剖検し、前立腺、精囊を中心に病理組織学的に検索した。実験2：8週齢のF344系雄ラット32匹を用い、実験開始時にTPの40mg含有シリコンチューブを背部皮下に埋植し、1週後より20ppm IM含有飲料水を自由摂取させた。全経過4週で動物を屠殺剖検し、前立腺、精囊および肝臓組織中のPGE₂濃度を測定し、またBrdU染色による細胞動態の検討も行った。

【結果】DMAB単独投与で前立腺の非浸潤癌が、またDMABとTPで前立腺背側葉、前葉および精囊の浸潤癌が高率に発生したが、発生頻度に各群間の差はなく、IMによる影響は認められなかった。また、皮下をはじめとする種々の臓器に腫瘍性病変が観察されたが、いずれの発生率に対してもIM投与の影響はみられなかった。前立腺背側葉および精囊組織中のPGE₂濃度はIMの投与により有意に減少したが、TP埋植後にIMを投与した場合には、明らかな差異は観察されなかった。また、IMの投与はTP埋植の有無にかかわらず前立腺腹葉におけるBrdU標識率を有意に抑制したが、その他の部位では明らかな作用を示さなかった。

【結論】PGE₂合成阻害剤であるIMは前立腺組織内のPGE₂レベルを減少させるにもかかわらずDMAB前立腺発癌に対し、何らの影響も及ぼさないことが明らかとなり、前立腺癌発生にはPGE₂が関与していないことが推察された。

P-105

細胞増殖と細胞死を指標とした 免疫系組織の細胞動態解析法の検討

○ 豊田和弘・正田俊之・畝山智香子・高田幸一・高橋道人 (国立衛試・病理)

免疫系組織はストレスやホルモン、更に種々の毒性物質や抗原によって萎縮や肥大等の細胞数の増減に関わる細胞動態の変化が顕著な組織として知られている。これらの変化を細胞増殖の側面からだけでなく、細胞増殖と細胞死の両側面から検索することにより、細胞動態の変化をより詳細に把握することが可能と考えられる。そこで今回、BrdUの核内への取り込みを細胞増殖の指標、DNAの断片化を細胞死の指標として、免疫系組織の細胞動態の定量的解析法の検討を目的として、以下のような検索を行った。

【材料及び方法】 8週齢の雄のF344ラットを用い、無処置対照群（20匹）、5日間の絶食の後通常飼育に戻す群（絶食群、20匹）、及び実験開始から3日後に20mg/kg体重量のcyclophosphamideを1回強制経口投与する群（CP群、20匹）を設けた。対照群と絶食群は実験開始から4日、5日、6日、7日、10日後に、また、CP群は3日（cyclophosphamide投与後6時間）、4日、5日、7日、10日後にそれぞれ4匹ずつをBrdU静注の後に屠殺し、胸腺、脾臓、パイエル板、副腎を摘出してホルマリン固定を施した。各組織について病理組織学的検索を行うと共に、抗BrdU抗体を用いてBrdU取り込み細胞核を、また、TUNEL法を用いて断片化されたDNAを検出し、両者をStrept-ABC法にて可視化して各組織におけるBrdU及びTUNEL標識率の経時的变化を検索した。

【結果及び考察】 病理組織学的検索の結果、胸腺においては絶食群、CP群共に皮質構成細胞数の減少による萎縮が実験開始から4日～7日後の屠殺動物で認められ、萎縮の程度は絶食群では6日後、CP群では5日後で最も強かった。10日後では両群とも皮質は再生の段階にあり、構成細胞数の増加が認められた。胸腺皮質のTUNEL標識率は、両群とも組織学的に認められた萎縮に先行する形で上昇が認められ、また、BrdU標識率も組織の再生に先だって上昇する傾向がみられた。その他、CP群ではパイエル板においても組織の萎縮や再生に伴ってTUNEL標識率とBrdU標識率の変動が認められた。今回の結果より、TUNEL標識率はその組織の細胞数の減少、また、BrdU標識率は細胞数の増加に先だって上昇することが示され、これらの両標識率の相対的比率を基に、その組織の細胞動態が増殖局面、平衡状態あるいは萎縮局面のいずれの状態にあるかを推測し得るものと考えられた。

発表者索引 (数字は演題番号, 太字は演者)

A

足立健児 P-28
 足立民子 **P-4**
 安丙祐 P-13
 (Ahn Byeongwoo)
 相川仁 P-38
 相磯成敏 **P-48, P-49, P-78,**
 P-79
 相内聖峰 P-100
 赤羽房美 P-28
 赤木圭介 P-9, P-41
 赤井弘幸 P-22
 赤井哲夫 P-56
 天沼利宏 11, 28
 穴山久志 P-45, P-65
 安藤信明 **P-22**
 安東保海 6, 42
 安藤(路)進 15, P-43, P-46,
 P-92, P-93, P-95
 青木宏 39
 青柳一治 P-62
 有広光司 30
 朝元誠人 12, **P-39**
 浅野哲 2, P-102
 阿瀬善也 P-2

B

馬場弘靖 41

C

Cha Shin-Woo P-26
 茶谷文雄 **W-1-2**
 陳忠正 P-62
 (Chen Chun-Jen)
 陳天新 P-85
 (Chen Tianxin)

千早豊 P-55
 曹在鎭 P-25
 (Cho Jae-Jin)
 崔光植 P-13
 (Choi Kwang Sik)
 長根芳文 **P-8, P-101**
 周鉅文 P-31
 (Chou Chiwen)
 崔林 **P-86**
 (Cui Lin)

D

傳田阿由美 11, P-22
 土井邦雄 4, 17, P-80, P-83

E

江幡幸子 P-59
 榎並倫宣 10
 遠藤武弘 **11, P-22**
 榎本秋子 P-27
 榎本眞 W-2-4, P-15, P-16,
 P-21, P-42

F

不二哲 **P-36**
 藤平司郎 38
 藤井久子 P-76
 藤井登志之 **S-3, 38**
 藤本峰子 P-56
 藤本成明 6, 42
 藤村久子 P-53, P-82
 藤原公策 32
 深見博子 P-6
 福田智一 **28, 39**
 福島昭治 13, 20, P-12, P-19,
 P-31, P-72, P-85,
 P-87, P-88

船江良彦 P-19
 古川文夫 34, 37, P-11, P-12,
P-14, P-18, P-26,
 P-34, P-90
 二口充 29, P-30, P-104

G

後藤和広 W-1-3, **P-33**, P-51,
 P-103
 後藤鋼星 P-17, **P-99**
 後藤孝彦 6

H

Ha Chang-Su P-26
 萩原昭裕 **P-10**, P-19, P-24,
 P-69
 濱島敏之 19
 韓範錫 P-13
 (Han Beom Seok)
 花田貴宣 P-83
 花井幸次 **1**
 原明 33
 原敦子 **P-59**
 原田孝則 **W-2-1**, P-27
 長谷川清彦 14, 40
 長谷川良平 **S-4**, P-24, P-86
 長谷川隆一 P-90
 橋元律子 7
 橋本忠俊 P-58
 秦純子 2, **P-102**
 早川式彦 P-29
 林功 16
 林一彦 P-50
 林真 P-34
 林新茂 **W-2-5**, **36**
 林修次 13, **P-12**
 林裕造 P-36
 日浅義雄 16, 22, 25, 37

樋口敏浩 **W-1-1**
 樋野興夫 **39**
 平位奈美 P-83
 平川公昭 18
 平塚秀明 P-3
 平山文博 P-5
 広瀬雅雄 29, P-9, P-10
 広田豊彦 P-62
 廣内康彦 **W-2-4**, 37, P-15,
 P-16, P-42
 久田茂 P-35, **P-81**
 洪碩敏 P-13
 (Hong Seok Min)
 堀高明 **12**, 13, 20, 41, P-39
 堀口浩資 14, 40, P-1
 堀内敏 P-81
 堀添宏 P-5
 星正治 P-29
 星谷達 37, **P-9**, P-41
 細野素子 P-72, P-88

I

井戸側博一 **18**
 五十嵐功 24
 井口綾子 P-32
 井原真哉 7, P-52, P-56
 飯田麻里 **P-21**
 飯島徹男 **P-43**, P-95
 飯塚和弘 P-35, P-81
 池田理恵 **P-35**, P-81
 池田敬史 P-5
 池上仁 P-83
 池川直 P-102
 池崎信一郎 P-11, P-14, P-18,
 P-26, **P-34**
 今井清 **W-1-4**
 今井俊夫 P-6, **P-20**
 今井田克己 27, 29, P-104

- | | | | |
|-------------------|----------------------------------|-----------------|--|
| 今村淳資 | 18 | 梶村哲世 | P-62 |
| 今沢孝喜 | 9, 34 , P-11, P-14 | 梶野一徳 | 39 |
| 稲田健一 | P-7, P-20, P-33 | 亀井力 | P-32 |
| 井内康輝 | 30 | 神原由季 | W-1-3 |
| 井上知 | 23 | 上村裕洋 | P-5 |
| 井上忠志 | 1 | 神谷研二 | P-29 |
| 井上達 | 34, P-90 | 菅野賢吉 | P-82 |
| 乾公正 | P-23 | 神鳥仁志 | 19 |
| 石田勝彦 | P-83 | 金子英志 | 2, P-102 |
| 石村美祐 | P-45, P-65 | 金子真弓 | 30 |
| 板橋正文 | P-57 | 姜鍾求 | P-75 |
| 板垣慎一 | P-80 | (Kang Jong-Koo) | |
| 伊藤明弘 | 6, 42 | 唐沢啓 | P-84 |
| 伊藤文男 | 23 | 笠原健一郎 | P-1 |
| 伊東一女 | P-56 | 柏木豊子 | P-84 |
| 伊藤清子 | P-81 | 片桐卓 | W-2-2 , P-48, P-49,
P-78, P-79 |
| 伊東信行 | P-70 | 片山淳一 | P-61 |
| 伊藤聖一 | 9, P-100 | 加藤淳彦 | P-28 |
| 伊藤俊明 | P-34 | 加藤浩司 | P-86 |
| 伊東良子 | P-84 | 加藤道幸 | S-2 |
| 岩堀嘉郎 | 12, 41 | 加藤直樹 | 7 |
| 岩倉啓子 | P-40, P-54 | 加藤俊男 | P-86 |
| 岩崎仁 | P-53, P-82, P-98 | 加藤君江 | P-90 |
| 岩崎省吾 | 21 | 加藤正信 | W-1-4 |
| 岩瀬隆之 | P-103 | 勝田修 | P-3 , P-96 |
| 岩田聖 | W-2-4, P-15, P-16,
P-21, P-42 | 勝山清加 | P-38 |
| 岩田光夫 | P-23 | 河部真弓 | P-69, P-70, P-104 |
| 伊澤義弘 | 2, 32, P-102 | 河内護 | P-44 |
| 泉啓介 | P-8, P-18 | 川口博明 | P-55 , P-63, P-64 |
| J | | 川合是彰 | P-4, P-7 |
| 鄭載晃 | P-75 | 河南明孝 | P-40, P-54 |
| (Jeong Jae-Hwang) | | 川森俊人 | 33, P-89 |
| K | | 川村幸子 | P-77 |
| 角将一 | 5 | 川村聡 | W-1-1 |
| 影山明彦 | P-52 | 河村泰仁 | W-1-5, 8 |
| | | 川西徹 | S-1 |
| | | 川島邦夫 | W-1-6 |

- 木川英美 P-94
 菊地泰 39
 金大中 12, 41, **P-13**
 (Kim Dae Joong)
 金亨津 P-11, P-14, P-18,
P-26, P-34
 (Kim Hyoung-Chin)
 金振萬 12, P-13
 (Kim Jin Man)
 木村透 **17**
 木下啓明 **P-60**
 木下道子 P-38
 木下三佳 P-27
 岸和正 P-50
 北堀吉映 16, 22, 25, **37**
 北嶋聰 34
 北嶋修司 **P-74, P-97**
 北村毅 **15, P-43, P-86**
 木谷敏之 P-46, P-92
 北野光昭 P-19, **P-31**
 北浦敬介 P-8, P-18
 北沢利明 P-27
 木崎秀行 3
 小林永策 28, **40, P-22**
 小林奏子 P-32
 小林和雄 P-15, P-16, P-42
 小林潔 P-6, **P-30, P-33,**
 P-51
 小林孝好 P-17, P-99
 小林敏之 39
 小林洋三 **10, 14, P-22**
 小玉拓郎 P-63
 児玉卓也 W-1-5, 8
 児玉幸夫 P-36
 幸下雅俊 P-101
 小久保百合子 P-10, **P-69**
 小西英里 2
 小西登 16, 22, 25, 37
- 小西陽一 10, 11, 14, 28, 40,
 P-22, P-52
 越田光 23
 香田繁 P-75
 河下伸 P-5
 糀谷高敏 P-94
 高屋豪瑩 31
 久保秀治 P-101
 久保宣明 39
 工藤佳代子 P-1
 倉田靖 29
 栗原寬治 **30**
 栗栖和信 6, P-101
 黒川雄二 34, P-90, P-91
 楠岡修 **P-1**
 姜定克 P-101
- L**
 李法二 P-13
 (Lee Beob Yi)
 李建中 P-55, **P-63, P-64**
 (Lee Jian Zhong)
 李俊燮 P-75
 (Lee Joon-Sup)
 李榮純 P-25, P-26
 (Lee Yong-Soon)
 李威 P-31
 (Li Wei)
- M**
 町田一彦 **P-100**
 前田博 P-55
 前川昭彦 15, P-43, P-46,
 P-92, P-93, P-95
 真板敬三 P-23, P-27
 牧野奈津代 38
 牧野俊彦 24
 牧田浩樹 33

真鍋淳	24, P-47	望月理加	32
丸茂秀樹	W-1-4	望月由美子	P-59
丸山博司	P-67, P-68	門馬純子	P-91
正岡良之	6	森文秋	31
増田修治	P-35, P-81	森秀樹	S-5, 33, P-89
増井恒夫	P-6, P-20, P-85	森郁生	W-2-5, 36
増岡桃子	P-67, P-68	森聖	P-72, P-85, P-88
松田博文	22, 25	森口佳之	P-38
松田勉	P-19	森村圭一朗	P-12
松井恵美	37	守田禎一	W-1-5, 8
松井元	P-74, P-97	森山毅	P-74
松木由加	P-15, P-16, P-42	本岡覚	P-20
松本悦嗣	P-47	村井美紀	P-84
松本正博	38	村井隆	P-72, P-85, P-88
松本道男	P-48, P-49, P-78, P-79	村上朋子	P-103
松本智志	P-37	村上善紀	P-76
松尾呼野美	18	村越正典	P-35, P-81
松尾昌季	W-1-1, 1	村岡義博	23
松浦哲郎	P-67, P-68	村田晃子	P-76
松崎勝寛	P-59	務台衛	W-1-3, P-30, P-33, P-51, P-103
Meenakshi Vijayaraghavan	20		
米良幸典	P-32	N	
三上真一	P-15, P-16, P-42	永井博文	P-45, P-65, P-77
三木徳太郎	P-75	永井康雄	P-58
南孝則	P-37	長野嘉介	P-48, P-49, P-78, P-79
三沢保幸	P-28	永田治	35, P-61
三谷弘明	39	永田良一	P-55, P-63, P-64
三谷公互	P-37	永田伴子	W-1-4
三井雅之	28	永谷真理子	P-41
三森国敏	W-1-6, 9, 34, 35, 36, P-61, P-66	内藤一秋	P-82
宮嶋宏彰	P-55	中江大	10, 14, P-22
美谷島克宏	P-92	中川善裕	1
宮田裕人	P-32	中村厚	P-1, P-9
三好文暁	P-37	中村益久	23
溝口靖基	P-9	中西速夫	P-30, P-85
望月治美	P-84	中野実	1

仲野善久 P-59
 中野渡純一 P-20
 中岡政直 W-1-1
 中山裕之 4
 中澤素邦 **P-40**, P-54
 南基煥 **P-25**
 (Nam Ki-Hoan)
 南里博俊 P-44
 奈良間功 **P-67**, P-68
 新納靖規 P-75
 西川秋佳 34, P-11, P-14,
P-18, P-26, P-34,
 P-90
 西川智 P-84
 西村耕一 P-94
 西村進 15, **P-93**
 二反田隆夫 P-64
 新田由美子 **P-29**
 丹羽太貫 P-29
 信岡大介 P-44
 野田圭介 P-48, P-49, P-78,
 P-79
 野口修 10, 11, 28, P-76
 野村護 P-62
 野村達次 P-36
 野々山孝 W-2-5, 36
 布谷鉄夫 3, P-57

O

織田信一郎 **27**
 小笠原裕之 10, 11, **P-76**
 緒方聖也 **P-80**
 小川久美子 P-86
 小木曾正 21
 小倉基裕 P-37
 大原健扶 P-67
 大橋一夫 10
 大橋正美 18

大町勝美 P-63, **P-64**
 大町康 **P-53**, P-98
 大西将美 33, **P-89**
 及川直矢 W-1-3, P-51, **P-103**
 大石裕司 38
 岡島英五郎 16
 岡本清尚 33
 岡庭梓 P-1, P-41
 岡崎啓幸 P-63, P-64
 沖本一夫 P-94
 奥平雅彦 P-48, P-49, P-78,
 P-79
 奥村文和 P-82
 奥野泰由 W-1-1, 1
 小野寺博志 W-1-6, **9**, 34, 35, 36,
 P-61, P-66
 尾上正治 5
 大島洋次郎 W-1-2
 長村義之 P-84
 大谷昌士 P-35
 大谷周造 13
 尾崎清和 P-67, **P-68**
 尾崎圭介 P-87
 尾崎正和 **21**
 尾崎善孝 P-62
 大園誠一郎 16

R

Roh Jung-Koo P-26

S

佐伯和子 P-17
 斉藤明美 35, **P-61**
 斉藤俊樹 P-57
 斉藤義明 W-1-4
 坂牧義之 P-28
 坂爪正志 P-83
 佐久間貞重 P-44

- 佐倉康文 19
櫻 ゆみ P-48, **P-49**, P-78, P-79
- 佐野文子 W-1-3, **P-51**, P-103
佐野真士 27, P-10, P-39, **P-70**
- 笹原健二 15, P-46, P-93, **P-95**
- 佐々木 啓 P-45, P-58, **P-65**, P-77
- 佐々木 巧 P-74
佐竹 茂 P-55
佐藤 敦子 P-81
佐藤 洋 **P-62**
佐藤 亮 **P-37**, P-60
佐藤 伸 7
澤本 修 **P-101**
澤多美和 P-32
瀬畑 信哉 **24**, P-47
関 高樹 P-87
関口 正博 P-45, **P-58**, P-65
関谷 久美子 P-17, P-99
妹尾 英樹 P-48, P-49, P-78, **P-79**
- 仙頭 美和 P-37
柴田 雅朗 21
渋谷 一元 **3**
渋谷 延子 3
七野 裕 27
島田 章則 **P-73**
島田 徹 32
下 武男 **35**, P-61, P-66
下野 和之 P-101
志野 晟生 P-58
篠原 基輝 P-59
篠塚 淳子 4
新屋 希子 P-74, P-97
- 白井 智之 21, 27, 29, P-9, P-10, P-19, P-24, P-30, P-39, P-69, P-70, P-86, P-104
- 白岩 和己 40
白木 克尚 P-92
城田 真理子 **P-17**, P-99
正田 俊之 **P-71**, P-91, P-105
祖父尼 俊雄 P-34
菅野 司 7
杉江 茂幸 **33**, P-89
杉本 次郎 W-1-3, P-51, P-103
須方 督夫 **P-87**
鷲見 信好 P-40, P-54
鈴木 淳也 38
鈴木 謙二 P-43
鈴木 稔 P-35, P-81
鈴木 孝昌 P-34
- T**
- 田川 正志 P-35, P-81
田島 正典 3, P-57
高島 英伍 P-67
高田 幸一 P-71, **P-91**, P-105
高田 信康 **13**
高木 英利 P-76
高木 留美子 P-15, P-16, P-42
高木 司郎 **P-5**
高橋 香奈子 P-81
高橋 正一 15, 35, P-43, P-46, P-61, P-66, P-92, P-93, P-95
高橋 道人 W-1-1, W-1-4, W-1-6, 9, 34, 35, 36, P-11, P-12, P-14, P-18, P-26, P-34, P-61, P-66, P-71, P-90, P-91, P-97, P-105

- 高橋 智 21, 27, P-104
- 高島 紘毅 P-53
- 高島 吉治 10, **P-52**
- 武田 利明 2, 32, P-102
- 竹川 潔 W-1-6, 9, **P-66**
- 武貞 徳子 P-24, P-70
- 武島 幸男 30
- 竹内 正紀 P-5
- 竹内 哲也 P-48, P-49, **P-78**,
P-79
- 玉井 幸子 P-1
- 玉野 静光 **W-2-3**, P-24, P-70,
P-104
- 田村 一利 11, 14, P-1, P-41
- 田中 光 P-10, **P-24**, P-69
- 田中 弘光 **P-23**
- 田中 宏治 P-47
- 田中 雅治 **P-2**
- 田中 悟 P-36
- 田中 卓二 **S-5**, 33, P-11, P-89
- 田中 俊光 P-17, P-99
- 田中 好美 P-50
- 田中丸 善洋 **P-11**, P-14, P-18,
P-26, P-34
- 谷山 哲秀 P-19
- 丹治 邦和 31
- 陶 明 22, 25
(Tao Ming)
- 立松 正衛 P-6, P-7, P-20,
P-30, P-32, P-33,
P-85
- 辰巳 邦彦 P-101
- 田内 清憲 P-76
- 俵谷 武治 P-40, P-54
- 寺西 宗広 **P-47**
- 徳山 佳美 P-87
- 鳥海 互 P-53, **P-82**, P-98
- 戸和 秀一 **P-98**
- 豊田 和弘 P-71, P-91, P-97,
P-105
- 豊國 伸哉 P-18, P-90
- 豊沢 かおる **P-94**
- 土谷 稔 P-3, P-96
- 土屋 毅幸 **W-1-3**, P-51, P-103
- 津田 洋幸 12, 41, P-13, P-31,
P-39
- 辻 孝司 P-56
- 辻本 太一 7
- 辻内 俊文 28, 40, P-22
- 妻谷 憲一 **16**, 22, 25
- 恒成 一郎 **P-44**
- 筒井 美麻 32
- 堤 雅弘 10, 28, 40, P-52
- 津崎 真由美 P-56
- U**
- 内田 和美 **5**
- 内田 浩二 P-18, P-90
- 内本 啓史 P-40, P-54
- 内布 洋一 P-74, P-97
- 上田 誠 P-40, **P-54**
- 上田 忠司 **26**
- 上野 芳夫 35
- 上塚 浩司 4
- 梅村 孝司 P-3, P-73
- 梅村 隆志 **P-90**
- 畝山 智香子 W-1-6, 9, P-71,
P-91, P-105
- 宇野 洋 2, 32, P-102
- 牛尾 秀敏 P-38
- 臼見 憲司 W-1-4
- 内海 博之 P-5
- 宇都宮 忠実 **P-50**
- 宇和川 賢 P-87

W

若林 佐知子 P-41
 涌生 ゆみ P-96
 鱒 渕 英 機 20, P-31
 Ward Jerrold W-2-5
 渡 辺 敦 光 6, 42
 渡 邊 弘 23
 渡 辺 武 志 P-65
 Wijit Kiatipattanasakul 4

Y

藪 内 文 恵 P-56
 矢ヶ崎 修 7, P-52, P-56
 山 田 和 正 6, 42
 山 田 一 孝 P-62
 山 岸 保 彦 P-96
 山 口 格 P-32
 山 口 基 徳 7, P-52, P-56
 山 口 剛 29
 山 口 裕 子 P-1, P-9, P-41
 山 川 誠 己 P-15, P-16, P-42
 山 本 硬 治 P-37, P-60
 山 本 昌 美 P-6, P-7, P-20,
 P-30, P-33
 山 本 慎 二 P-15, P-16, P-42
 山 本 晋 史 20, P-85, P-87
 山 中 義 弘 2, 32, P-102
 山 内 勝 彦 P-48, P-49, P-78,
 P-79
 山 崎 秀 樹 P-65, P-77
 山 崎 将 司 P-77
 山 手 丈 至 3, P-44
 矢 本 敬 24, P-47
 矢 野 圭 一 P-38
 矢 野 善 久 13
 矢 尾 幸 三 P-84
 八十島 昭 P-53, P-82
 安 場 正 子 P-94

安 田 充 也 24
 安 原 加壽雄 W-1-1, W-1-6, 9, 36,
 P-66
 萬 啓 悟 P-38
 吉 田 明 由 P-27
 吉 田 浩 己 P-63, P-64
 吉 田 順 一 14, 40
 吉 田 一 晴 W-1-5, 8
 吉 田 勝 P-40, P-54
 吉 田 緑 15, P-43, P-46,
 P-92, P-93, P-95
 吉 田 敏 則 P-27
 吉 岡 直 記 P-23
 吉 武 彬 P-87
 吉 武 国 徳 18
 義 澤 克 彦 38
 Youssef Emile P-31
 湯 浅 啓 史 P-4, P-6, P-7

第 12 回日本毒性病理学会講演要旨集

平成 7 年 12 月 11 日 印刷

平成 7 年 12 月 11 日 発行

編 集 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

国立衛生試験所

安全性生物試験研究センター

病理部

第 12 回日本毒性病理学会

責任者 高 橋 道 人

印 刷 笹氣出版印刷株式会社

東京都港区芝浦 3-2-29

— MEMO —

— MEMO —

— MEMO —

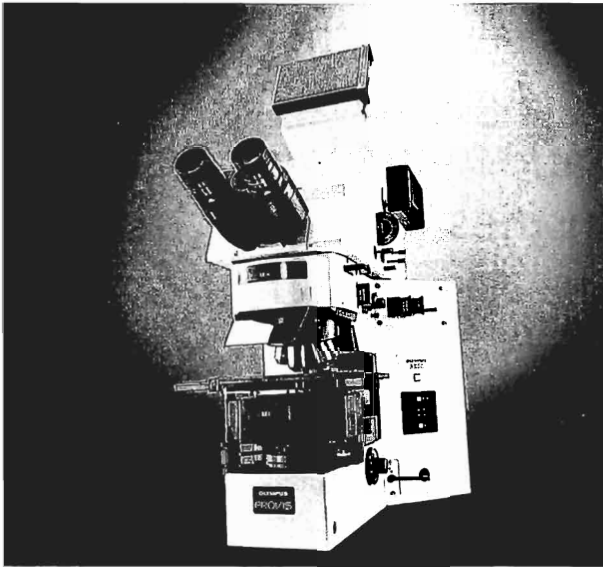
— MEMO —

— MEMO —

OLYMPUS®

最先端の、さらに未来の研究にも 応えるために、いま新登場!

PROV15
AX
AX80/AX70



観察から撮影まで、一貫した自動化を実現した
最高級写真顕微鏡 AX80

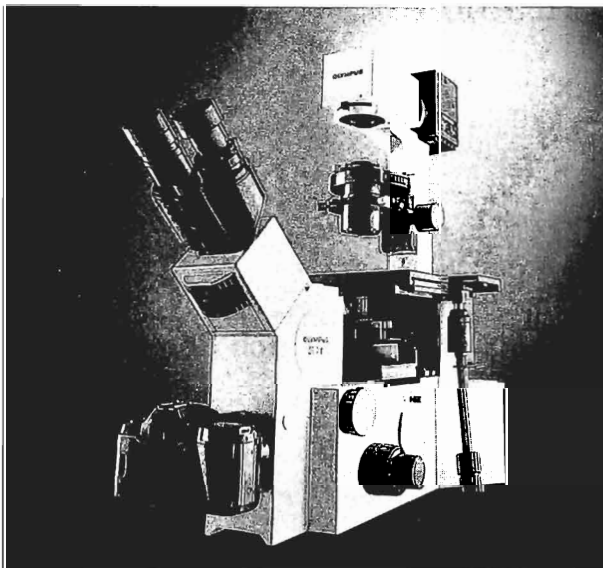
対物レンズ変換、フォーカシング、コンデンサ交換、調光、励起光の切換え等を、すべて電動化。多様な観察法へのスピーディな切換えを可能にしました。さらに、撮影、各種光路への切換え、測光、ズーム変倍なども自動化。すべての操作をマルチコントロールボックスで集中制御できます。

最先端研究ニーズに、
世界最高の光学性能と豊かなシステムで対応
最高級システム研究顕微鏡 AX70

独自のUIS光学系による、高解像度、高コントラストの最高の観察像。研究の広がりに対応して、システムを拡張している鏡基の剛性、照明の多様性。周辺機器の配備や大型標本の観察もラクな操作環境。さらに、U-PHOTOの搭載により撮影の全自動化も可能に。研究の進展を限りなくサポートします。

進化の到達点

倒立型システム顕微鏡
IX
IX70/IX50



世界最高レベルの観察像と卓越した操作環境、そして抜群のスタビリティを実現。生理学から培養分野まで幅広い研究ニーズにお応えできる、倒立型システム顕微鏡の到達点です。

ニーズに応じてシステムが広がる
倒立型研究用顕微鏡 IX70

明視野・位相差・微分干渉・蛍光など、倍率を問わず高解像な「見え」を実現。また、最大4カ所のポートにTVカメラが装着可能。改造によって先進システムへと拡張できる、本格研究用顕微鏡の最高峰です。

卓越した性能と操作性、経済性を誇る
倒立型高級培養顕微鏡 IX50

経済性を誇る、培養顕微鏡のスタンダード。底厚の容器でも、細胞が薄くても厚くても高コントラストな「見え」を実現。スーパー長作動距離位相差コンデンサで、大型容器も立てたまま観察可能です。

オリンパス光学工業株式会社 販売元/ オリンパス販売株式会社

カタログのご請求は、オリンパス販売株式会社 〒101 東京都千代田区神田駿河台3-4(龍名館ビル)TEL03-3251-8971へどうぞ。

Huntingdon Research Centre

Over 40 years serving the
Pharmaceutical, Agrochemical,
Chemical, Food and Biotechnology
Industries

The widest range of Contract Services in:

- Toxicology
- Genetic Toxicology
- Metabolism
- Microbiology
- Pharmacology
- Environmental Studies
- Chemistry

- 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
PO Box 2
Huntingdon
Cambridgeshire
PE18 6ES
England

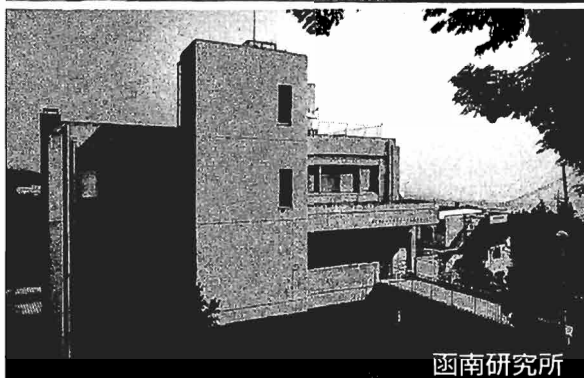
Tel: +44 (01480) 892000

Fax: +44 (01480) 890693

BOZO RESEARCH CENTER INC. 安全性試験 受託機関



御殿場研究所



函南研究所

ITR Laboratories Canada Inc.は、カナダ・モントリオールにボゾリサーチセンターの100%子会社として設立し、サル、イス、ラット試験の受託を行なっています。

一般毒性試験

Infusion Study

特殊薬理試験

一般毒性試験

癌原性試験

生殖・世代試験

刺激性試験

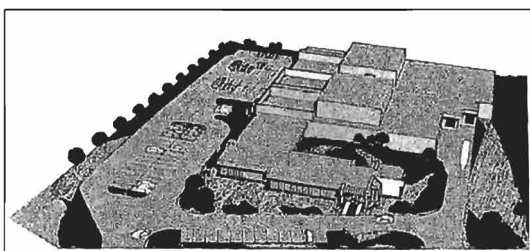
感作性試験

抗原性試験

病理組織標本作成および検索

機器分析

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



ITR研究所

お問い合わせは、本社営業部までどうぞ。



株式会社 **ボゾリサーチセンター**

本社 〒156 東京都世田谷区羽根木1-3-11 ポゾリサーチビル TEL.03-3327-2111代/FAX.03-3327-2115
 東京本部 〒151 東京都渋谷区大山町 36-7 TEL.03-5453-8101代/FAX.03-5453-8109
 大阪支部 〒532 大阪市淀川区宮原5-1-3 新大阪生島ビル TEL. 06-397-2851代/FAX. 06-397-2852
 研究所 御殿場研究所・函南研究所・東京研究所



ITR Laboratories Canada Inc.

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

株式会社 実 医 研

NIPPON EXPERIMENTAL MEDICAL RESEARCH INSTITUTE CO.,LTD.

本社・様名試験所：〒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 群馬県群馬郡様名町大字中里見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



1995年4月竣工新小動物棟

● 受託試験項目 ●

一般毒性試験、生殖・発生毒性試験、がん原性試験、抗原性試験、各種刺激性試験、皮膚感作性試験、光毒性試験、光感作性試験、変異原性試験、一般薬理試験

その他、精巢毒性試験、眼科毒性試験、神経毒性試験、血液・腹膜透析試験、持続注入試験、反復点滴投与試験、感染試験、脳室内投与試験、膝関節腔内投与試験、肝動脈内投与試験、直腸内投与試験、肝中期発癌性試験、毒性学的スクリーニング試験、育毛試験、神経解毒試験、各種病態モデル試験、発がん性の発現機序試験、医用材料および医療用具に関する安全性試験全般

● 試験動物種 ●

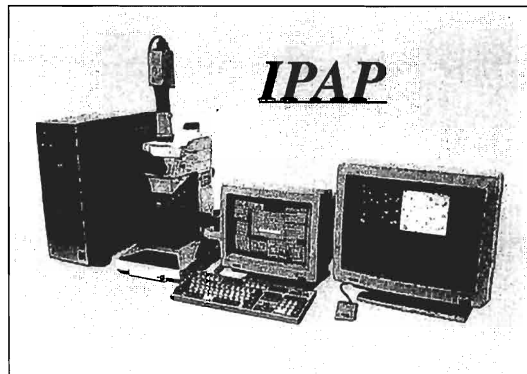
ラット、マウス、イヌ、カンクイザル、アカゲザル、コモンマーモセット、ウサギ、モルモット、ハムスター、ミニブタ、ネコ、フェレット、ニワトリ、他

病理標本画像解析機能がさらに進化 新世代病理研究支援システムIPAP誕生

高精度の画像解析を簡単に

IPAPは病理標本における細胞核や病変部の自動抽出、解析、計測、統計処理を高速かつ手間をかけずに行うことにより腫瘍解析や毒性、薬効、治療効果などの定量評価研究を強力にサポートする新しいカラー画像解析システムです。

- IPAPを使えば、病理標本の解析に余分な手間をかける必要がありません。
- 病理標本の画像解析の進め方を徹底的に見直し、新しいアルゴリズムを創造しました。



特徴

1. 視野を変えても同条件の画像処理結果が得られ、総合的な解析も容易です。
2. 計測したい領域だけを簡単に抽出できます。
3. 腫瘍マーカー陽性率や病変部の占有率などのパラメータが簡単に計測できます。
4. 複数画像の一括処理、複数検査データの並行処理、保存もできます。

病理標本画像解析システム IPAP(アイパップ) Image Processor for Analytical Pathology

今すぐこのページを拡大コピーして、必要事項をご記入のうえ、FAXでお送りください。詳しい資料をお届けします。

貴社名	_____
業種名	_____
部署名	_____
役職名	_____
芳名	_____
ご住所	_____
TEL/	FAX/

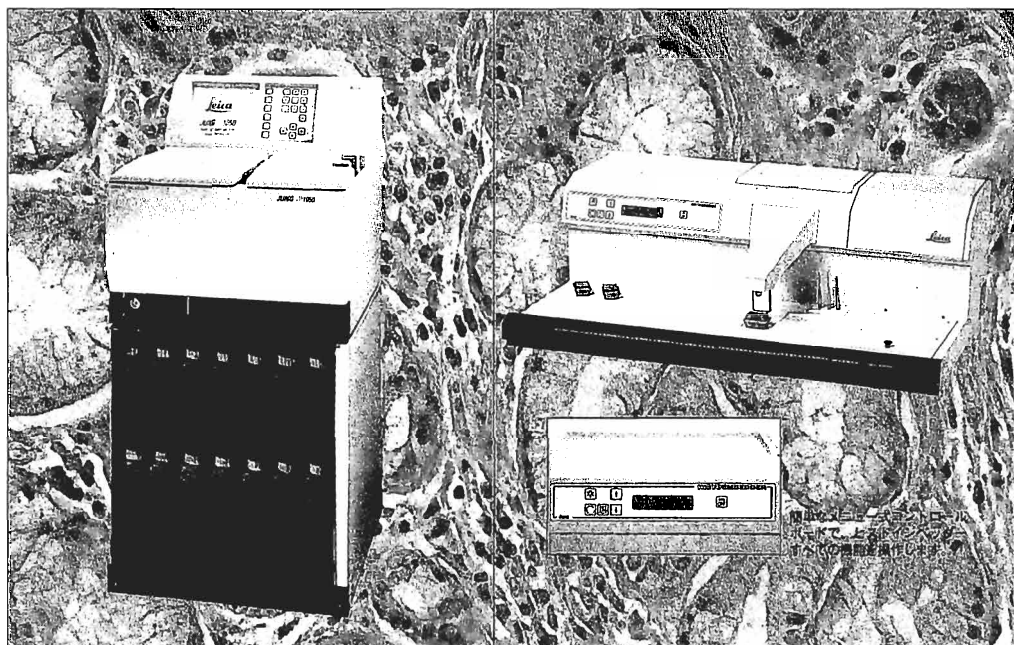
開発

住友化学工業株式会社
住友金属工業株式会社

販売

住化テクノス株式会社 開発部
〒665 兵庫県宝塚市高司4-2-1
TEL.0797-74-2081
FAX.0797-74-2083

Leica



ライカ TP1050

ライカ ヒストインベッター

人にやさしい 高機能です。

革新的でユニークな特徴が、無駄な操作を省き、しかも高品質な処理を可能にします。オペレーターの立場を考慮した柔軟性と安全性、そして標本保護能力や品質の高さ・最新装置・ライカTP1050ティッシュプロセッサには、数々の特長が確かに息づいています。また見やすい液晶画面、記述式ファンクションキー、メニュー式プログラムは、操作の簡便性とプログラムの使いやすさという、通常相容れない特質の両立も実現。次世代の新基準ともなりうる当装置で、研究室に一味違う品質と信頼性を吹き込んで下さい。

新 発 売

完全密閉式ティッシュプロセッサ

ライカ TP1050

資料請求先 TEL.03-3292-9833

コンパクト設計の中に多彩な機能性、徹底したプログラム化を実現します。製品の信頼性と効率性を高めるため、常に品質の改善、開発の努力を続けているライカが、まったく新しい装置・ヒストインベッターを発表しました。当製品は長年にわたる研究の末、ライカが完成させたパラフィン組織包埋センターで、多彩な機能を搭載し、しかも完全にプログラム化されています。また作業する人にやさしい配慮が施されており、より速やかに、かつ効率的にパラフィンブロックを作成することができます。

新 発 売

パラフィン包埋装置

ライカ ヒストインベッター

資料請求先 TEL.03-3292-9833

ライカ株式会社

〒101 東京都千代田区猿樂町2-8-8 猿樂町ビル13F Tel.03-3292-9833 Fax.03-3292-9777 / 大阪支店 Tel.06-345-9771 Fax.06-345-9772
名古屋営業所 Tel.052-222-3939 Fax.052-222-3784 / つくば出張所 Tel.0298-36-7875 Fax.0298-36-7877

大いなるバランス



経口用セフェム系抗生物質製剤

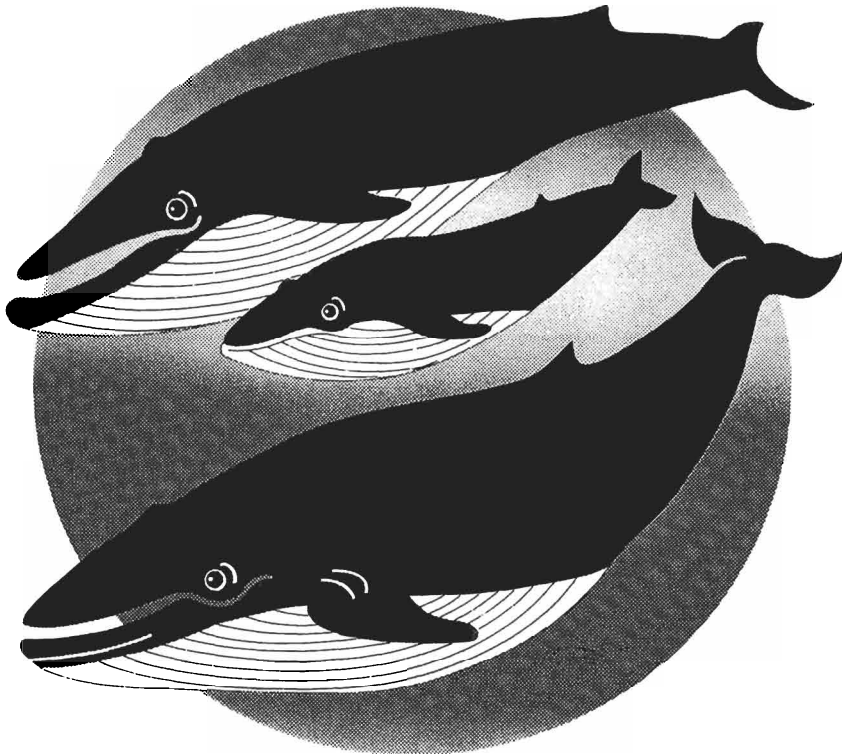
特
要指

メイアクト[®]

MEI ACT[®]錠100・小児用顆粒

日抗基:セフトレン ピボキシル錠/粒(略号:CDTR-PI) 薬価基準収載

パワーとやさしさ



- メイアクトは……
- グラム陽性菌からグラム陰性菌までの(含む嫌気性菌)幅広い抗菌スペクトルを有します。
 - ブドウ球菌属、レンサ球菌属、クレブシエラ属、インフルエンザ菌に加え、バクテロイデス属そして百日咳菌(小児用顆粒のみ適応)にも良好な抗菌力を示します。
 - 各種β-ラクタマーゼに安定です。
 - 錠100は42疾患、15菌種、小児用顆粒は28疾患、16菌種の幅広い適応が認められています。
 - 副作用の主なもの、下痢等の消化器症状及び発疹等のアレルギー症状でした

【使用上の注意】

本剤の使用にあたっては、耐性菌の発現等を防ぐため、原則として感受性を確認し、疾病の治療上必要な最少限の期間の投与にとどめること

- (1) 一般的な注意
ショックがあらわれるおそれがあるので、十分な問診を行うこと
- (2) 禁忌(次の患者には投与しないこと)
本剤の成分によるショックの既往歴のある患者
- (3) 原則禁忌(次の患者には投与しないことを原則とするが、特に必要とする場合には、慎重に投与すること) 本剤の成分又はセフェム系抗生物質に対し過敏症の既往歴のある患者

- (4) 慎重投与(次の患者には慎重に投与すること)
- 1) ペニシリン系抗生物質に対し過敏症の既往歴のある患者
 - 2) 本人又は両親、兄弟に気管支喘息、発疹、蕁麻疹等のアレルギー症状を起しやすいつまひを有する患者
 - 3) 高度の腎障害のある患者〔血中濃度が持続するので、投与の間隔をあけて使用すること。〕
 - 4) 高齢者(「高齢者への投与」の項参照)(錠)
 - 5) 経口摂取の不良な患者又は非経口栄養の患者、全身状態の悪い患者〔ビタミンK欠乏症状がある

らわれることがあるので観察を十分に行うこと)(錠)

※使用上の注意の詳細、および効能・効果、用法・用量等につきましては、添付文書等をご参照下さい。

<資料請求先>



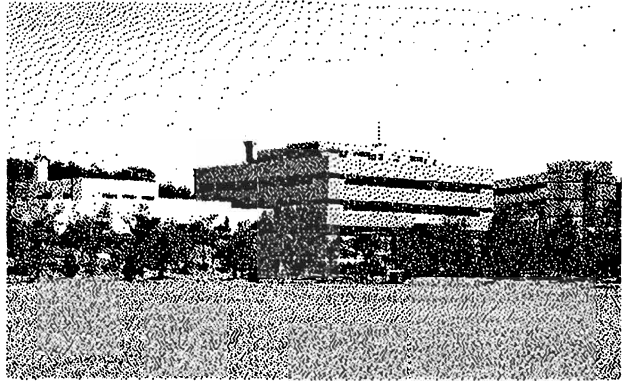
明治製薬株式会社
104 東京都中央区京橋2-4-16

非臨床試験受託センター

医薬、農薬、食品添加品、化粧品 その他

受託試験項目

- 一般毒性
- 生殖毒性
- 局所刺激性
- 抗原性
- 変異原性
- 癌原性
- 魚毒性
- 一般薬理



韓国化学研究所安全性研究センター

TOXICOLOGY RESEARCH CENTER

KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY

P.O.BOX 107, Yusung, Taejon 305-606, Korea

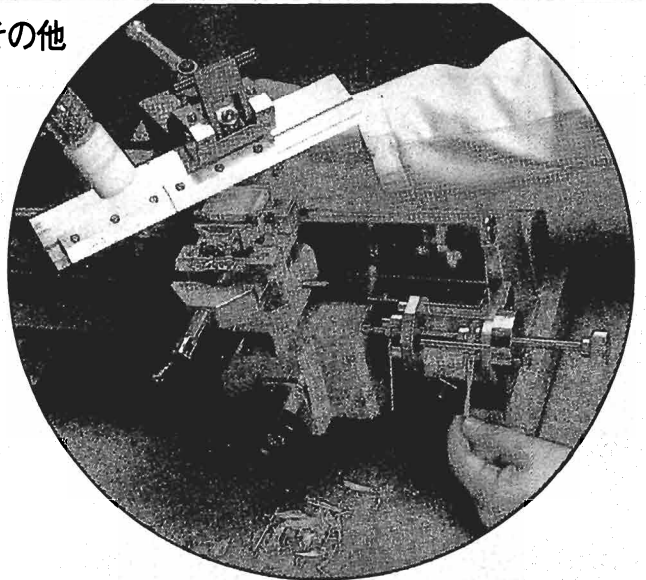
Tel: + 42 (861) 4912 [日本語可] Fax: + 42 (860) 7488

信頼できるパートナーとして安全性試験の受託

医薬・農薬・食品添加物・化粧品 その他

【受託試験項目】

- 一般毒性試験
(単回・反復投与)
- 特殊毒性試験
(生殖・発生、癌原性、局所刺激)
- 病理組織標本の作製・検査
- 血液学・血液生化学的検査
- 機器分析
- その他



 日生研株式会社

〒198 東京都青梅市新町2221-1
TEL. 0428-33-1040 (直)

パナファーム・ラボラトリーズは数々のノウハウとサービスで
基礎研究と製品開発のギャップを埋めるべくチャレンジを続けていきます。

パナファームの研究システム

GLP対応

QAU Quality Assurance Unit
(信頼性保証部門)

生化学研究所

- ・抗原抗体反応を利用した病気の診断法の研究
- ・新しい試験方法の開発

動物測定用試薬事業

- ・免疫化学的手法による各種実験動物専用の測定試薬の開発、製造、販売

代謝薬理研究所

- ・薬の効き方（効果を発揮するメカニズム）の研究
- ・目的以外の効力の調査
- ・体内に入った薬の挙動の追跡研究

安全性研究所

- ・新薬（発売前）の副作用の研究
- ・人で安全に使うための量の研究

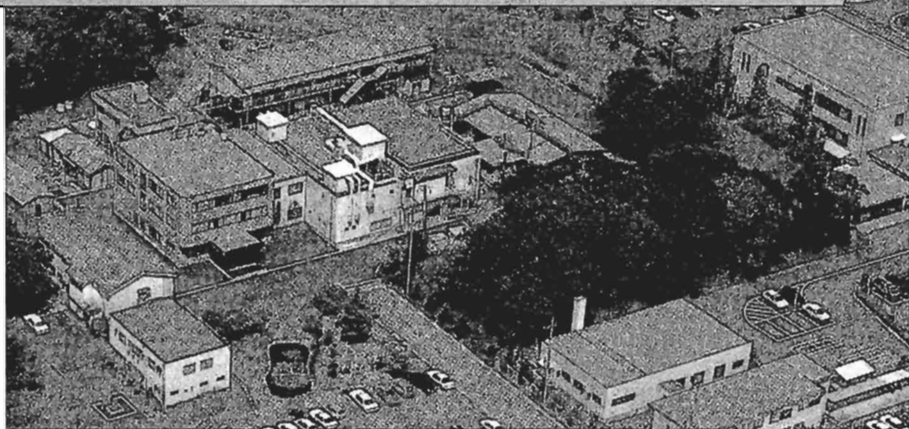
FILL · THE · GAP

株式会社
パナファーム ラボラトリーズ

〒869-04 熊本県宇土市栗崎町1285 TEL. 0964-23-5111(代) FAX. 0964-23-5122

- 安全性研究所 TEL. 0964-23-2299 FAX. 0964-23-2977
- 生化学研究所 TEL. 0964-23-5115 FAX. 0964-23-2978
- 代謝薬理研究所 TEL. 0964-23-5116 FAX. 0964-23-5129

IMAMICHI INSTITUTE FOR ANIMAL REPRODUCTION



安全性試験研究センター

受託業務

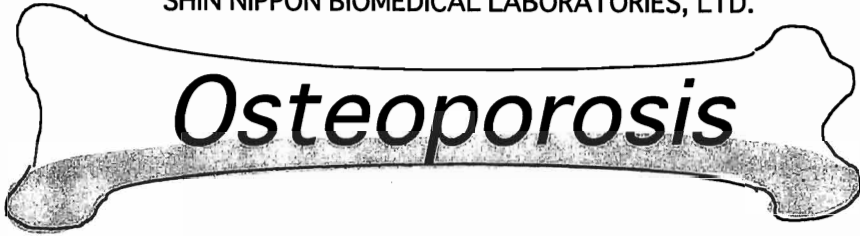
医薬・化粧品・農薬等GLP適合安全性試験
薬理試験、検討試験等

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

SNBL

SHIN NIPPON BIOMEDICAL LABORATORIES, LTD.



Osteoporosis

老齡カニクイザルの骨粗鬆症モデルを用いた薬効薬理試験が実施できます。

骨密度測定 (DXA)

骨吸収, 骨形成マーカーの各検査

Deoxy pyridinoline, Pyridinoline, 骨型Alkaline Phosphatase,

Osteocalcin, 1,25(OH)2D3, Insulin like growth Factor-1, TRAP, PTH等

骨型能計測, 骨強度試験に対応できます。

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番地

Tel 0992-94-2600 Fax 0992-94-3619

骨粗鬆症プロジェクト担当 福崎, 和泉 (詳しくはお気軽にご連絡下さい。)

SLCの実験動物



ハムスター新時代。

SPF
シリアン
ハムスター



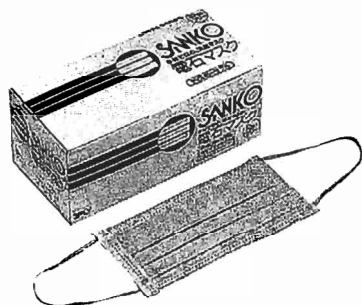
SLC

日本エス エル シー株式会社

〒431-11 静岡県浜松市湖東町3371番地の8 TEL<053>486-3178代
営業専用TEL/関東エリア<053>486-3155代・関西エリア<053>486-3157代

全ての商品の アフターサービスは万全です

品質管理はもとより、独自のコントロール管理システムで全国のお客様と緻密なネットワークを結び、安定供給とともにタイムリーな商品をお届けします。



電石マスク

強力な吸着力で細菌やホコリ等のあらゆるミクロの汚れを素早くキャッチします。



LEXグローブ

伸縮性に優れた天然ゴム製の使い捨て手袋です。

●サイズ/L～S

東洋理工株式会社

〒175 東京都板橋区成増1丁目5番9号

電話 (03) 3930-9133 (代表)

第3回 免疫毒性研究会総会

日時：平成8年9月25日（水）、26日（木）予定

会場：昭和大学 上條講堂

（東急大井町線または池上線 旗の台駅下車 徒歩5分）

主催：免疫毒性研究会

一般演題の他に、特別講演、ワークショップ、ミニシンポジウムを予定しております。

問い合わせ先：帝京大学薬学部環境衛生学教室内

免疫毒性研究会事務局 大沢基保

〒199-01 神奈川県津久井郡相模湖町寸沢嵐1091

TEL 0426-85-3753, 3752 FAX 0426-85-3754

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