

第4回日本毒性病理学会

講演要旨集

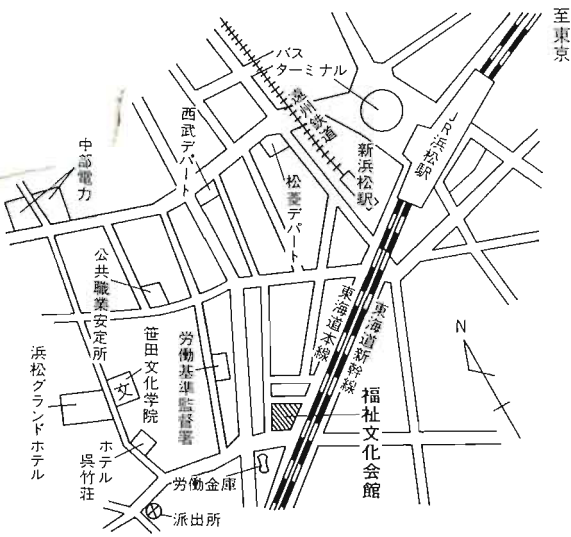


1988年2月5, 6日

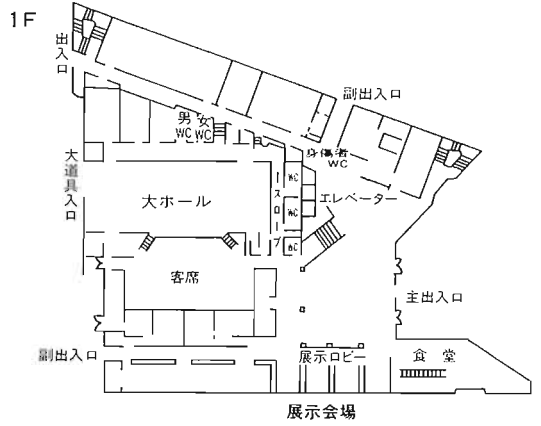
浜松

会場見取図

浜松市福祉文化会館附近見取図



浜松市福祉文化会館：〒432 浜松市成子町136番地の1  
TEL (0534) 52-3131(代)  
(事務局電話受付：内線58)



懇親会場：福祉文化会館2F 大会議室  
2月5日(金) 18:00~20:00

休憩室：大ホールロビー(2F)又は  
2F休憩室

学会事務所：No.21 会議室 (2F)

学会幹事室：No.32 会議室 (3F)

講演及び総会会場：1F大ホール(入口は2F)

示説会場：2F 大会議室

展示会場：1F 展示ロビー

受付：1F ロビー(5日午前) 2F(5日午後、6日)

クローク：No.22 会議室(2F)

昼食用控室：2F 大会議室

第4回 日本毒性病理学会

会長：榎本 眞 (財)食品農医薬品安全性評価センター

副会長：奈良間 功 (株)生物科学技術研究所

副会長：松沼 尚史 三共(株)生物研究所

事務局：〒437-12 静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜582-2

(財)食品農医薬品安全性評価センター

TEL：05385-8-1266 FAX：05385-8-1393

## 第4回日本毒性病理学会

1. 期 日 昭和63年2月5日(金), 6日(土)

2. 会 場 浜松市福祉文化会館 大ホール (示説は大会議室で行います。)

### 3. 日 程

2月5日(金) 9:30~9:40 開会あいさつ(会長)

9:40~10:10 一般演題(3題)

10:10~11:20 シンポジウム I

11:30~12:30 特別講演

13:40~14:00 総会

14:00~15:20 一般演題(8題)

15:35~17:25 一般演題(11題)

2月6日(土) 9:00~10:00 一般演題(6題)

9:15~11:30 示説演題(20題 総合討論10:05~10:40)

10:45~11:55 一般演題(7題)

13:00~14:40 シンポジウム II

14:40~14:45 閉会あいさつ(副会長)

4. お願い ○参加費(会員5,000円, 非会員6,000円・但し大学院生およびそれに準ずる方3,000円)を受付で支払って名札(参加章)をお受け取り下さい。なお、会期中は必ず左胸につけてください。

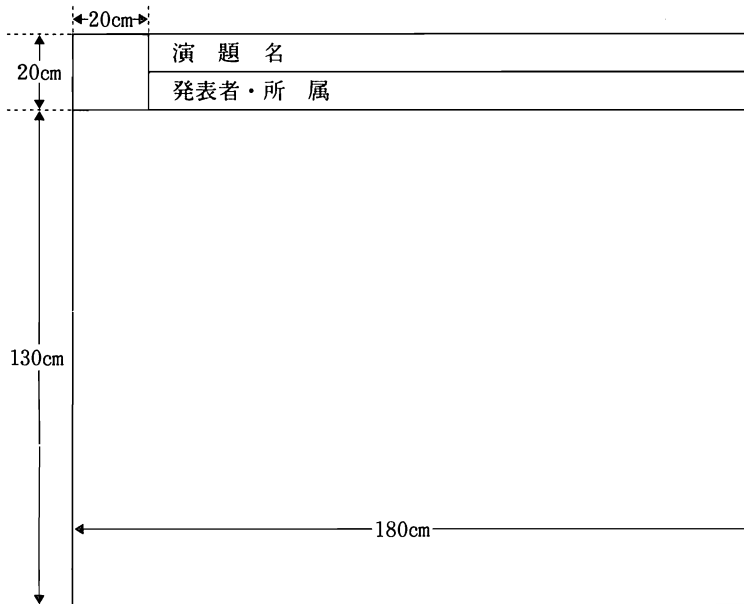
○一般演題の講演時間は1題8分, 討論時間は2分, シンポジウムの講演時間は1題20分です。

○スライドは35mm版に限り, プロジェクターは1台のみ用意します。(特別講演, シンポジウムは2台用意します。)

○懇親会参加希望の方は、受付で5,000円をお支払い下さい。

●示説をされる方に

1. 示説日時：2月6日(土) 午前9時15分～11時30分  
(示説に関する総合討論：午前10時5分～10時40分)
2. パネルの大きさ：縦130cm, 横180cm (表題を含めず)
3. 出題者は、演題名、演者氏名、所属の表題を下記の要領に従って作成し持参して下さい。  
(演題番号は主催者側で用意します。)



4. 会場には示説用として顕微鏡を用意してありますのでご活用下さい。
5. 示説発表物は学会で用意した画鋏を使用し、セロテープ、ノリ等は使用しないで下さい。

# 日 程

一般演題：第1日 2月5日(金) 午前の部

9:40~10:10 座長 伝法公麿 (札幌医大・2病理)

1. ラットにおけるN-Methyl-N-nitrosourea 発癌に対するN-Propyl-N-nitrosoureaの修飾作用  
倉田 靖, 玉野静光, 山田真弓, 増田あつ子, 広瀬雅雄 (名市大・医・一病)
2. MNU, DENおよびDHPN投与ラットにおける腫瘍性病変の発生に対する多種発癌物質の修飾効果  
小木曾正, 今井田克己, 宇和川賢, 務台 衛, 津田洋幸 (名市大・医・一病)
3. ラット肝臓の前癌病変におけるc-*myc*遺伝子産物の発現  
伊藤聖<sup>1,5</sup>, 渡辺知幸<sup>1</sup>, 向谷知世<sup>1</sup>, 奥野泰由<sup>1</sup>, 吉武 彬<sup>1</sup>, 宮本純之<sup>1</sup>, 佐藤清美<sup>2</sup>, 阿部 薫<sup>3</sup>, 矢内原千鶴子<sup>4</sup>, 矢内原昇<sup>5</sup> (<sup>1</sup>住友化学・宝塚総研・安全研, <sup>2</sup>弘前大・医, <sup>3</sup>国立がんセンター, <sup>4</sup>大阪大・医, <sup>5</sup>静岡薬大)

シンポジウム：第1日 2月5日(金)

10:10~11:20 座長 真板敬三 (残留農薬研)  
松沼尚史 (三共(株)生物研)

課題：病変についての診断とその実際

## I. 呼吸器系病変

- S-1 上気道病変 長野嘉介 (日本バイオアッセイ)  
S-2 下気道病変 桑原紀之 (順天堂大・医)  
S-3 ヒトの薬剤障害 横山 武 (自治医大)

11:20~11:30 —— 休 憩 ——

特別講演：第1日 2月5日(金)

11:30~12:30 座長 石川栄世 (東京慈恵医大)

薬物作用機序の解明に対する組織・細胞化学的アプローチ  
渡辺慶一 (東海大・医)

12:30~13:40 —— 昼 食 ——

5日  
午前

13:40~14:00 総 会

一般演題：第1日 2月5日(金) 午後の部

14:00~14:10 座長 西山保一(北里学園)

4. Circadian Rhythm of Liver Parameters in Phenobarbital=treated Rats:3.  
Investigations during 3 days  
アレキサンダー・カスト(日本ベーリンガーインゲルハイム)

14:10~14:40 座長 宮蔦宏彰(武田薬品)

5. 四塩化炭素とアルコールによる肝硬変の短期作成およびその可逆性  
下地尚史, 長谷川良平, 今沢孝喜, 松岡千明, 豊田和弘, 古田京子, 古川文夫, 林 裕造  
(国立衛試)
6. 有機溶媒furfural長期経口投与のラット肝におよぼす影響  
清水昭男<sup>1,2</sup>, 原田昌興<sup>1</sup>, 蟹沢成好<sup>2</sup> (<sup>1</sup>神奈川県がんセ・病理研・病理, <sup>2</sup>横浜市大・医・病理)
7. ハロタンによるラット肝の形態学的変化について  
柿沼千早, 米川仁朗, 松本俊治, 阿部 寛, 桑原紀之, 福田芳郎(順天堂大・医・一病)

14:40~15:20 座長 後藤直彰(東大)

8. ラットTyzzer病におけるジエチルニトロサミン(DEN)処置の影響  
井上 智, 二井愛介, 洗 美薇, 村井洋子, 松沼尚史, 藤原公策(東大)
9. Aclacinomycin A 一回投与後のマウス肝にみられた大腸菌増殖  
井上忠志<sup>1</sup>, 森貞信也<sup>2</sup>, 福井 優<sup>2</sup>, 加藤暉成<sup>1</sup>, 山田宏彦<sup>1</sup>, 宮本純之<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>住友化学・宝塚総研・安全研, <sup>2</sup>住友製薬・研)
10. 薬物投与による血清アルカリホスファターゼ上昇と肝の変化  
小泉治子, 森田晴夫, 須永昌男, 渡辺満利(実中研・前臨床医学研究所)
11. ビーグル犬における貧血と肝細胞壊死  
堺 俊治<sup>1</sup>, 藤本隆平<sup>1</sup>, 吉田 哲<sup>1</sup>, 花田貴宣<sup>1</sup>, 三木壽雄<sup>1</sup>, 野村靖夫<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>山之内製薬(株)安全性研究所, <sup>2</sup>麻布大学獣医病理)

15:20~15:35 —— 休 憩 ——

15:35~16:15 座長 蟹沢成好(横浜市大・医・1病理)

12. マウス肺Clara細胞のbromobenzene障害と再生機序及びSKF525-Aによる障害抑制  
上田忠司, 平井圭一(金沢医大・解剖)
13. ナフトレン投与によるマウス肺細気管支クララ細胞の経時的観察  
原田隆彦<sup>1</sup>, 長根万律子<sup>2</sup>, 桐沢朋子<sup>2</sup>, 鈴木謙二<sup>2</sup>, 佐竹聖人<sup>2</sup>, 上沼幸雄<sup>2</sup>, 畑中 純<sup>2</sup>, 榎本 眞<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>日獣大, <sup>2</sup>日特農, <sup>3</sup>安評センター)
14. N-nitrosobis(2-hydroxypropyl) amine (BHP) 誘発ラット肺病変における glutathione S-transferase placental form (GST-P) と  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase ( $\gamma$ -GT) 活性  
山本一彦, 中島 啓, 榮本弘行, 横瀬喜彦, 小西陽一(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
15. Cylcophosphamide 投与ラットに見られた肺血管障害と腎糸球体障害について  
今井 清, 吉村慎介, 畔上二郎, 斎藤義明, 山口 肇, 関 剛幸, 米屋浩子,  
加藤満利子(食薬安全センター・秦野研)

16:15~16:45 座長 黒川雄二(国立衛試・毒性)

16. アドリアマイシン腎毒性の発現とその進展に関する酵素組織学的研究  
佐藤秀隆, 豊田和弘, 古川文夫, 岡宮英明, 下地尚史, 長谷川良平, 高橋道人, 林 裕造  
(国立衛試・病理)
17. Paraquat による腎障害についての実験的研究  
原田昌興<sup>1</sup>, 清水昭夫<sup>1</sup>, 川村公一<sup>2</sup> (<sup>1</sup>神奈川がんセ・臨床研・病理, <sup>2</sup>秋田大・2病理)
18. p-Dichlorobenzene (p-DCB) 吸入暴露で見られた腎障害について  
梅村隆志, 高田幸一, 小川幸男, 鎌田栄一, 鈴木幸子, 金子豊蔵, 黒川雄二  
(国立衛試・毒性)

16:45~17:25 座長 福島昭治(名市大・医・一病)

19. Uracilのラット膀胱に対する発癌性およびBBN同時投与における発癌修飾増強効果  
奥村正直, 山田靖治, 伊藤正夫(愛知衛研・生物)
20. ODSラットにおける長期生存のためのL-アスコルビン酸必要量の評価とBBN膀胱発癌  
に対する感受性  
森 聖, 外山素子, 町野節子, 牧野 進, 武内康義(シオノギ・油日ラボ)
21. 各種膀胱発癌プロモーター投与によるラットの尿性状および膀胱粘膜上皮のDNA合成  
と形態学的変化  
柴田雅朗, 近藤 光, 香川雅孝, 山口修司, 福島昭治(名市大・医・一病)
22. N-nitrosobis(2-hydroxypropyl) amine (BHP) によるハムスターの肝・膵・肺発癌に  
及ぼすclofibrateの影響  
水元一博, 北沢俊治, 堤 雅弘, 中江 大, 横瀬喜彦, 小西陽一(奈良医大・腫病)

18:00~20:00 懇 親 会 (会場:大会議室)

5  
日  
午後



一般演題：第2日 2月6日(土) 午前の部

9:00～9:30 座長 名倉 宏(名大・医・病態研生体防御)

23. Cyclosporin (CYA) 投与における腸管局所免疫系への影響  
幅 俊人<sup>1</sup>, 林 衆治<sup>1</sup>, 高木 弘<sup>1</sup>, 中村司朗<sup>2</sup>, 名倉 宏<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>名大・医・第2外科, <sup>2</sup>名大・医・病態研生体防御)
24. ラット胃, 小腸癌における Glutathione S-transferase (GST) 各分子種の免疫組織学的検索  
高橋 智, 浅井恵美子, 井上 薫, 中村 厚, 立松正衛(名市大・医・一病)
25. 抗がん性白金錯体の消化管毒性  
井上 知, 伊藤文男, 森山哲郎, 村岡義博(塩野義研・神崎川)

9:30～10:00 座長 宇高奎二(日本ロシュ)

26. F344ラットの精巣間細胞腫の発生・増殖とLH  
茶谷文雄<sup>1</sup>, 野々山孝<sup>1</sup>, 須藤勝一<sup>1</sup>, 宮嶋宏彰<sup>1</sup>, 竹山政美<sup>2</sup>, 森 浩志<sup>3</sup>, 高塚大志郎<sup>4</sup>,  
松本圭史<sup>4</sup> (<sup>1</sup>武田薬品・中研, <sup>2</sup>堺市民病院・泌尿, <sup>3</sup>大阪医大・病理, <sup>4</sup>大阪大・医・病理病態)
27. 高脂肪食および $\beta$ -カロチンのラット前立腺腫瘍性病変に対する修飾作用  
田川義章<sup>1</sup>, 井川悦男<sup>1</sup>, 白井智之<sup>2</sup> (<sup>1</sup>三和化学研究所・安全研, <sup>2</sup>名市大・医・一病)
28. ラット子宮内膜腺癌の発生に関する実験病理学的研究  
永岡隆晴, 小野寺博志, 外館あさひ, 前川昭彦(国立衛試・病理)

10:00～10:45 ——休憩——

10:45～11:15 座長 板倉智敏(北大・獣・比較病理)

29. 2,5-Hexanedione 投与ラットの中樞神経の病理学的研究  
吉村慎介, 斎藤義明, 山口 肇, 今井 清(食薬安全センター・秦野研)
30. 高濃度塩化ナトリウム液投与マウスの脳障害  
武下政一<sup>1</sup>, 土井邦雄<sup>1</sup>, 今泉和則<sup>2</sup>, 光岡知足<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東大・農・実験動物, <sup>2</sup>田辺製薬・安全研)
31. Cataract induced by methylnitrosourea in Fischer female rats  
渡辺敦光, B.Roy, N.Fujimoto, 伊藤明弘(広大原医研癌)

11:15~11:55 座長 白居敏仁(萬有製薬)

32. 高血圧自然発症ラット(SHR)における食塩の臓器障害促進作用  
豊田和弘, 古川文夫, 佐藤秀隆, 岡宮英明, 高橋道人, 林 裕造(国立衛試・病理)
33. BHA投与によるラットチトクロームP-450の変動  
朝元誠人, 伊東信行(名市大・医・1病理)
34. Maitotoxinによるマウスの急性および亜急性中毒症  
寺尾 清<sup>1</sup>, 伊藤恵美子<sup>1</sup>, 五十嵐一衛<sup>2</sup>, 安元 健<sup>3</sup>(<sup>1</sup>千大真核微研, <sup>2</sup>千大薬, <sup>3</sup>東北大農)
35. 病理組織標本での画像解析装置の応用 —心筋形態計測の歩み—  
湯浅啓史, 乾 俊秀, 山村高章, 川合是彰, 岡庭 梓(田辺製薬・安全研)

11:55~13:00 ———昼 食———

示説演題：第2日 2月6日(土)

9:15~11:30 会場：大会議室

(10:05~10:40 総合討論)

司会：高橋道人 (国立衛試・病理)

佐久間貞重(アップジョン総合研)

- P-1 1-Methyl-5-thiotetrazole (MTT) の幼若ラット精巣に及ぼす影響  
高木英利, 原田 寧, 阿部圭作, 猪俣訓一(日本レタリー(株)生研)
- P-2 OK-432局注部位における炎症免疫反応の免疫組織化学的観察  
新美 敦<sup>1</sup>, 篠田鉄郎<sup>1</sup>, 金田敏郎<sup>1</sup>, 名倉 宏<sup>2</sup>(名古屋大・医・口外<sup>1</sup>, 病態研<sup>2</sup>)
- P-3 各種実験動物の消化管における非特異的エステラーゼ活性の局注  
森島英喜, 馬屋原宏, 宮脇宏彰(武田薬品・中研)
- P-4 B6C3F<sub>1</sub> マウスにおける自然発生肝腫瘍についての問題点  
伊藤明弘, 森 雅弘, 青山秀行, 中川義基, 高橋忠照, 香川直樹, 内藤正志, 渡辺敦光  
(広大原医研癌)
- P-5 BOPの投与により発生したハムスターの多発性肝嚢胞  
岡宮英明, 古川文夫, 豊田和弘, 佐藤秀隆, 下地尚史, 長谷川良平, 高橋道人  
(国立衛試・病理)
- P-6 ビーグルにおける膵ランゲルハンス島内エオジン好性細胞について  
田中 薫, 永田貴久, 永田良一, 藤村久子(新日本科学・病理研)
- P-7 粗製トリプシンインヒビターの膵臓に与える影響および種差  
古川文夫, 豊田和弘, 長谷川良平, 佐藤秀隆, 岡宮英明, 下地尚史, 高橋道人  
(国立衛試・病理)
- P-8 薬物投与により腎近位尿管上皮核内に誘発された封入体様好酸性滴状物について  
入村兼司, 中野茂樹(大鵬薬品 安全性研究所)
- P-9 Diethylene glycol によるF344ラット腎毒性の電顕的観察  
北堀吉映, 松木 尚, 日浅義雄(奈良医大・1病理)
- P-10 Nalidixic acid のイヌにおける毒性学的研究  
谷口雄二, 今井俊介, 森本純司, 芳賀敏実, 螺良義彦(奈良医大・2病理)

- P-11 3-Amino-1,2,4-triazoleのイヌに対する亜急性毒性試験  
——肝臓および甲状腺に対する影響——  
高岡雅哉<sup>1</sup>, 矢本 敬<sup>1</sup>, 真鍋 淳<sup>1</sup>, 樽見千利<sup>1</sup>, 宮腰昶宏<sup>1</sup>, 松沼尚史<sup>2</sup>, 増田 裕<sup>1</sup>  
(三共(株)・安全研<sup>1</sup>, 生物研<sup>2</sup>)
- P-12 F344ラットにおけるSafflower yellowの毒性および癌原性試験  
松木 尚, 北堀吉映, 日浅義雄(奈良医大・1病理)
- P-13 実験的大腸癌発生の及ぼす天然ケイ酸アルミニウムの影響  
荒井昌之, 舟橋正範(藤田学園・衛・病理)
- P-14 MALIGNANT MESOTHELIOMA OF THE RIGHT ATRIUM (SO CALLED MESOTHELIOMA OF ATRIOVENTRICULAR NODE) OF AN OLD RAT.  
大石裕司<sup>1</sup>, 奥田 捻<sup>1</sup>, 松本正博<sup>1</sup>, 森井外吉<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>藤沢薬品・病理研究, <sup>2</sup>関西医大・2病理)
- P-15 ビーグル犬の小腸に見られた異所性胃組織について  
岩田 聖<sup>1</sup>, 新井千加子<sup>2</sup>, 小池嘉秀<sup>1</sup>, 廣内康彦<sup>1</sup>, 小林和雄<sup>1</sup>, 野村靖夫<sup>2</sup>, 榎本 眞<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>財安評センター, <sup>2</sup>麻布大・病理1)
- P-16 自然発症糖尿病SDラットの1症例  
田村一利, 星谷 達, 堀口浩資, 藤本利恵, 岡崎修三(ボゾリサーチセンター)
- P-17 若齢雄ラットに見られた下垂体奇形腫の一例  
外館あさひ, 小野寺博志, 永岡隆晴, 前川昭彦(国立衛試・病理)
- P-18 B6C3F<sub>1</sub> マウスにみられた自然発生性卵巣腫瘍について  
小松博道<sup>1</sup>, 福島 直<sup>2</sup>, 杉本哲朗<sup>1</sup>, 土屋陽子<sup>1</sup>, 鈴木繁生<sup>1</sup>, 大石隆夫<sup>2</sup>, 辻紘一郎<sup>1</sup>  
(中外製薬・開発研<sup>1</sup>, 探索研<sup>2</sup>)
- P-19 BDF<sub>1</sub> マウスに発生したMalignant melanoma 1例の病理組織学的観察  
小池嘉秀<sup>1</sup>, 原田隆彦<sup>2</sup>, 岩田 聖<sup>1</sup>, 廣内康彦<sup>1</sup>, 小林和雄<sup>1</sup>, 榎本 眞<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>財安評センター, <sup>2</sup>日獣大・生物)
- P-20 高自然肺転移能を有するラット可移植性骨肉腫  
堤 雅弘, 白岩和己, 田村一利, 丸山博司, 小西陽一(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

13:00～14:40 座長 前川昭彦(国立衛試・病理)  
奈良間功(生技研)

課題：病変についての診断とその実際

## II. 内分泌系病変

ラット・マウスの自然発生腫瘍

S-4 脳下垂体および副腎

三森国敏(残留農研)

S-5 甲状腺, 上皮小体およびラ氏島

萩原昭裕(名市大・医・一病)

薬物誘発性病変例：形態と機能状態

S-6 内分泌系病変：薬物誘発病変の形態と機能 川合是彰(田辺製薬・安全研)

S-7 薬物誘発性内分泌系病変一下垂体前葉部

の形態学的変化と血中ホルモン動態を中心に一

西川 智(協和醸酵・安全研)

——— 閉 会 ———

# 特別講演

特別講演 薬物作用機序の解明に対する組織・細胞化学的アプローチ  
渡辺慶一(東海大・医)

講演当日、会場にて配布致します。

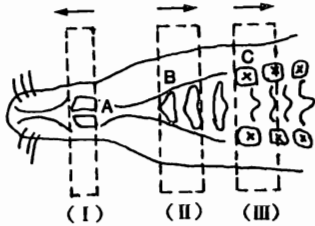
# シンポジウム



鼻腔から咽頭に至る上部気道は肺に至る気道の最初の部分であり、吸気の温湿度調整や吸気中の粉塵、ミスト、ガスの吸着と排除機能によって外気の変化から下部気道を守る役割をはたしている。特に、吸入による毒性試験では鼻腔は気中の化学物質と最初に接触する場であり、その病理学的検査の意義は大きい。今回のセミナーでは、マウスとラットについて、鼻腔を中心とした上部気道の病理学的検査法、正常構造と組織、自然発生病変、および毒性病変を紹介する。

1. 病理学的検査法

- 1) 固定：10%緩衝ホルマリン液（咽頭から注入）
- 2) 脱灰：脱脂操作後、5%胃酸・ホルマリン液にて脱灰。切出し後、再脱灰し、10%緩衝ホルマリン液にて中和。
- 3) 切出し：下図の3レベルを切出す。



A; 切歯, B; 切歯乳頭, C; 白歯  
→; 薄切方向

2. 正常構造と組織



長野嘉介（日本バイオアッセイ研究センター）



D; 鼻甲介, E; 上顎甲介, F, G; 篩骨甲介,  
a; 上顎洞, b; 鼻涙管, c; 鼻咽頭管, d; 切歯,  
e; 鋤鼻器

扁平上皮, 呼吸上皮, 嗅上皮

3. 自然発生病変

- 1) ラット：炎症 ← 好酸性変化 (呼吸上皮, 鼻腺, 嗅上皮)  
石灰沈着  
血栓  
異物貯留
- 2) マウス：炎症  
呼吸上皮化生 (鼻腺, 嗅上皮)  
好酸性変化 (呼吸上皮, 鼻腺, 嗅上皮)

4. 毒性病変

- 1) 非腫瘍性病変
- 2) 腫瘍性病変

桑原紀之，高木由紀，北村成大，福田芳郎（順天堂・医・病理）

ディーゼル排気ガスの長期吸入により生ずるラット肺の増殖性病変は，再生，化生，過形成さらに腫瘍性のものまで多彩である。これら病変はより末梢の細気管支以下の領域に生ずる事が多い。炭粉沈着症と過形成病変，さらに腺腫，癌腫等の腫瘍性病変との関連性等を組織学的に追求した。

〔実験方法，動物〕

実験はディーゼルエンジンそのものにより，小型（LD：1.8ℓ）と大型（HD：11ℓ）の2系に大別し，さらに排気ガスを粒子濃度により4段階に希釈し，清浄空気吸入の対照群を含め1系5群を設定した。動物はSPFのF-344ラット（JCL，5週令）を用い，30ヶ月の長期吸入実験には雄720匹，雌596匹をあて，1日16時間，週6日の間吸入を行った。この間6ヶ月毎，経時的に屠殺剖検したが，死亡，全身衰弱の著しい動物では，そのつど剖検を行った。（総動物数3550匹）

病理標本の作製には，緩衝ホルマリンで固定を行い，定期殺の肺は一定圧のもとでホルマリン注入固定を施し，右肺は水平面で4ヶ所，左肺は矢状面で1ヶ所，気管は上，中，下の3ヶ所を切り出しブロックを作製した。HE染色とEℓ-VG，PAS染色のほか，必要に応じて連続切片や特殊染色と電顕標本の作製を行った。

〔増殖性病変の判定基準〕

本実験において，認められた種々の増殖性病変はすべて上皮性のものからなるが，現実には過形成と腫瘍性病変，さらにその良・悪性の鑑別には困難な事がある。昭和61年環境庁の諮問によりもうけられた「ディーゼル排気ガスによる実験肺がん組織判定小委員会」（会長：北村 旦）の報告を基に以下の判定基準を作製し，適用した。

(a) 過形成 (Hyperplasia)

- ① 局所的な上皮増生巣で明らかな結節を形成しない。
- ② 異型性のない立方，円柱または線毛上皮からなる。
- ③ 肺胞壁を単層に被覆する。
- ④ 特に数個の肺胞腔を全周性に置換し，腺管様構造を呈したものを腺腫性過形成 (Adenomatous hyperplasia) とした。

(b) 腺腫 (Adenoma)

- ① 比較的境界明瞭な結節性病変。
- ② 軽度の異型を示す細胞より成る。
- ③ 肺胞壁での多列性，乳頭状ないし肺胞腔充実性発育を示す。
- ④ 既存肺構造は保たれ，脈管浸潤はなく間質の線維化に乏しい（4mmを超えることはまれ）。

(b) 癌 (Carcinoma)

- ① 結節性病変。
- ② 高度の異型を示す細胞（核縁不整，クロマチン増加，N/C比増大，核分裂）より成る（細胞異型の軽度な部位もあり得る）。
- ③ 肺胞腔内で多層性または充実性発育を示す。
- ④ 既存肺構造破壊や間質の線維化を伴う。
- ⑤ 脈管浸潤，間質浸潤あるいは遠隔転移を伴えば癌とする（病変の大部分が過形成または腺腫であっても，一部が癌の基準を満たせば癌とする）。

〔実験結果〕

原発性上皮性腫瘍には，腺腫，腺癌，腺扁平上皮癌，扁平上皮癌がみられたが，低頻度でLD系，HD系の各群間における発生腫瘍の組織型に特異性はなかった。末梢に生じた腫瘍の一部には中心部に癒痕形成を伴うものを認めた。過形成病変の発生頻度は24ヶ月までにみられた炭粉沈着の増強，細気管支上皮の増生と進展，II型肺胞上皮の腫大増生，胞隔の浮腫と線維化などの所見と同様，LD，HD系とも吸入期間と被験物質濃度の上昇に比例して高かった。さらに高濃度群では病巣が多発し，癒合傾向を呈し腺腫との鑑別に困難なものがあった。

肺腺癌，腺癌，腺扁平上皮癌，  
扁平上皮癌  
(mammary gland, endometrial sarcoma, pheochromoma)

〔まとめ〕

1. 炭粉沈着部位に一致して細気管支上皮の末梢への増生とⅡ型肺胞上皮の腫大と過形成が認められた。
2. 高濃度、長期投与群では巣状の腺腫様過形成が多数認められた。これらの増生の主体はⅡ型肺胞上皮が考えられた。
3. 気管支上皮の扁平上皮化生は認められなかったが、腺腫様過形成巣の一部に扁平上皮化生の出現が認められ、その腫瘍性増殖も見られた。
4. 胸膜下には限局性の線維化巣が認められ、その増大に伴って周囲に扁平上皮化生が見られた。
5. 電顕による観察では、腺癌の殆どがⅡ型肺胞上皮由来が考えられた。
6. 炭粉沈着によって生じるⅡ型肺胞上皮の過形成が、発癌と密接に関連していることが示唆された。  
(この実験は日本自動車研究所が実施した HERP 研究の一環である。)

横山 武・宮城千鶴子・林 幹人

自治医大病理

緒言：各種の毒性物質，例えば抗癌物質，また放射線，過酸素などにより，肺に病変がおこり得る．元來肺は外界に直接接しており，容易に感染がおこり易い．また薬剤投与例では，原疾患による個体の抵抗の減弱も存在する．さらに抗癌物質などは複数の種類が投与されており，ある薬剤の単独の病変を決定することは困難である．薬剤による副作用にはdose-dependentなもの，例えばブズルファン，ブレオマイシンがあり，またidiosyncraticなもの，例えばメソトレキセイト，プロカルバジンなどがある．以上のように，肺の薬剤による障害の検索は困難なことが多い．

一般的病変：薬物による肺の病変は概して間質性肺炎といわれる．すなわち肺胞性肺炎と異なり，病変は肺胞中隔（胞隔）である．胞隔には毛細血管内皮細胞，基底膜，間質の各種の細胞（線維芽細胞，中隔細胞，各種の浸潤細胞），および肺胞上皮細胞（I型およびII型肺胞細胞）が属す．したがって間質性肺炎ではこれらの細胞の変化がみられる．一方肺胞性肺炎は，主として細菌によっておこり，肺胞内への線維素の浸出，および多核白血球の浸出が特徴的で，これらは完全に融解，吸収されるのが普通であるが，ときには残存して器質化することもある．逆に線維素の浸出や器質化は細菌感染を疑わせるものである．

Hanman-Rich 症候群をはじめ，間質性肺炎は，いわゆるdiffuse alveolar damage(DAD)による．これは過酸素，パラコート(PQ)などの動物実験によって証明される．すなわちまず毛細血管内皮細胞の空胞化，剥離がおこり，基底膜の腫脹，そして間質，すなわち胞隔の水腫性肥厚がみられる．さらに炎症性細胞浸潤を伴う．次いで肺胞細胞の変性，壊死が続く．肺胞細胞は，とくにI型肺胞細胞の変性が最初におこり，これは肺胞壁の硝子膜の出現の原因となる．また肺胞導を閉塞して肺胞の虚脱をおこす．II型肺胞細胞の変性は表面活性物質の異常を来し，その結果としても肺胞の虚脱がおこる．毛細血管内皮細胞の変化は数時間で回復する．急性期を過ぎると，胞隔における線維芽細胞の増生，肺胞壁の硝子膜の器質化がおこり，胞隔は肥厚し，肺胞腔は狭くなる．慢性期になると，再生がおこり，II型肺胞細胞の増生が目立つ．この際多少の異型性を伴うこともあり，ま

た腺上皮化生や扁平上皮化生をおこすこともある．II型肺胞細胞はI型肺胞細胞へと分化する．

各論：パラコート(PQ)；この除草剤は専ら自殺の目的で使用される．服毒量は普通数mgから300mg位までである．例外もあるが，多量服毒した例が早期に死亡している．当教室の症例では生存期間は24時間から，最高88日である．極く早期の死亡例では肺の病変は目立たないが，肉眼では高度のうっ血と出血がみられる．多くは副腎皮質の壊死が死因となっている．数日の生存例では，胞隔の水腫性肥厚と，肺胞壁の硝子膜の形成である．硝子膜は肺胞導入口部に多く，そのため肺胞嚢は虚脱におちいつているところもある．10日前後の生存例では胞隔の線維芽細胞の増生によって肥厚してくる．また硝子膜の器質化もおこる．虚脱した肺胞内に線維芽細胞が増生してくる．肺胞の虚脱はII型肺胞細胞の変性による表面活性物質の異常によることも考えられる．15日前後の生存例では肺胞上皮の再生がおこり，ところどころ腺上皮化生や，扁平上皮化生がみとめられるようになる．30日前後の生存例では，これらの線維化は収縮して，残存肺胞腔は過膨脹の状態となる．線維化は胸膜下の肺組織にびまん性におこることもある．線維化は概して下葉に強く，また胸膜下領域が目立つ．特発性間質性肺炎(IIIP)にみられるような細気管支拡張はみとめられない．

ブレオマイシン(BLM)およびペブレオマイシン(PLL)；ヒトのBLMやその誘導体であるPLLの肺病変はすでに出来上がったものが多い．多くの症例では肺胞内の器質化の著明なところと，間質の肥厚が目立つところが混在している．線維化の著しい部分では平滑筋の増生が目立つ．比較的初期の変化をマウスを使って検索してみると，比較的びまん性に胞隔の水腫性肥厚がある．この際硝子膜はあまり目立たない．肺胞内の水腫も散在する．後になると胞隔の線維性肥厚，肺胞腔の虚脱，および肺胞内の線維化，すなわち器質化が入り混ってくる．これらの病変は一葉に強くみられることもある．線維化がびまん性になると残存肺胞は過膨脹となる．PLLの場合も大体同様であるが，比較的軽度で，線維化は胸膜下の領域に強くみられる．イヌでは投与後5年経過しても線維化が残存している．

ブズルファン；ブズルファンなどは単独投与されるこ

はほとんどないので、単独でどのような肺病変がおこるか決定することは困難である。ブズルファンによっておこったと考えられる症例では、びまん性に、また巣状に線維化がみられる。これは胞隔の線維性肥厚、硝子膜の器質化、肺胞腔内への浸出液、肺胞の虚脱および器質化が混在している。同時にⅡ型肺胞細胞の異型を伴った増生が目立つ。このような線維化は胸膜下で目立つところもある。

ブズルファンによる肺蛋白症も報告されている。

エンドキサン；エンドキサンによると考えられる肺病変は、びまん性に胞隔の肥厚がみられ、比較的急性の部では肺胞上皮のびまん性剝離が目立つ。また硝子膜も附着している。慢性になると密な線維化となり、病変の軽い部分では過膨脹を示す。びまん性病変でなく、巣状の線維化巣の散在することもある。これらの病変の周囲の肺胞は過膨脹を示している。

その他；多種類の抗癌物質の投与された症例の中には、軽度であるが、びまん性の胞隔の水腫性、ないし線維性肥厚がみとめられるものがある。肥厚した胞隔内にリンパ球を主として細胞浸潤があり、いわゆる胞隔炎の像を示す。びまん性病変の外に、巣状の線維化病巣の散在しているものもあるが、これらはある単独の薬剤によると決定することは難しい。血液疾患50例を検索し、その中の28例、すなわち56%に多少とも急性ないし慢性の間質性肺炎の所見を得た。

放射線；放射線による肺の病変は、原則として照射部位に局限する。放射線はまず血管内皮細胞をおかす。したがって胞隔に水腫や大食細胞、後では多核白血球の浸潤があり、胞隔壁に硝子膜が形成される。後になると胞隔の線維化がびまん性におこり、この部の肺実質は収縮してくる。組織学的に目立つのは弾性線維のちぢれである。Ⅱ型肺胞細胞は再生時に奇怪な大型細胞を示す。これは放射線による分裂異常と考えられる。急性の病変はステロイド投与によって回復すると考えられた症例もある。

過酸素；急性の場合は、胞隔の水腫性肥厚や硝子膜の出現、また肺胞上皮の剝離がみられる。慢性期では胞隔のびまん性、線維性肥厚がおこる。病変の軽度などところでは、過膨脹を示す。腺上皮化生や扁平上皮化生は目立

たない。

考按；各種薬物による主な肺病変は原則として間質性肺炎である。しかし多くの抗癌物質や、PQなどでは肺胞内器質化がみられる。すなわち病理組織学的には inter-、および intra-alveolar fibrosis である。この肺胞内器質化は硝子膜による肺胞導の閉塞に伴う肺胞の虚脱によるものもあり、肺胞内への浸出液の器質化によることもあると考えられる。肺胞の虚脱はⅡ型肺胞細胞の変性による表面活性物質の異常によることもあるであろう。さらに肺の特殊性として極めて感染をおこし易い臓器でもあり、抗癌物質の投与された症例は原疾患による免疫などの低下も考えられる。したがって細菌感染による肺胞内線維素の器質化のことも多い。ヒトの症例では多くは出来上がった肺線維症であり、これらを鑑別することは難しい。

多種類の抗癌剤の併用は、どれが間質性肺炎を惹起したかを決定するのは困難であるが、多種類併用によって副作用を少なくしていることも否定出来ない。

放射線をはじめ、過酸素、PQ、BLMなどの実験によると、これらはすべて毛細血管内皮細胞の変性、すなわち細胞質内の空胞化、剝離がおこり、基底膜の腫脹、胞隔の水腫がおこり、さらに放射線は別としてⅠ型肺胞細胞の変性、壊死があり、硝子膜が形成される。この所見はいわゆるDADである。したがって間質性肺炎が発生し得るものと考えられる。薬剤によってはⅡ型肺胞細胞をもおかし、表面活性物質の異常をきたすものもあるであろう。硝子膜や表面活性物質の異常による肺胞の虚脱、また細菌の二次感染は間質性肺炎に、肺胞内器質化もおこすと考えられる。

結論；ヒトのパラコート中毒例、ブズルファン、プレオマイシン（ペブレオマイシン）、エンドキサン投与などの症例を検索し、いくつかの実験結果を参照、またヒトの特発性間質性肺炎などの症例と比較検討し、以下の結論を得た。

各種の薬剤、その中でもとくに抗癌物質は一種の diffuse alveolar damage を惹起し、間質性肺炎を来すことがある。この際同時に肺胞内器質化をも伴う。

## 三森 国敏 (残留農薬研)

近年、長期毒性試験の実施数の増加に伴い、ラット・マウスの自然発生腫瘍についての病理学的報告が多くなされ、発現しうる腫瘍の種類やその形態は相当明確となって来ている。また、WHOの International Agency for Research on Cancer (IARC)、米国 National Toxicology Program (NTP) や International Life Sciences Institute (ILSI) 等によるラット・マウスの腫瘍についての最近の出版活動により、それらの分類法および診断基準も統一されて来つつある。しかし、いざ長期投与試験の病理組織学的検査に直面した場合、種々の臓器における増殖性病変の過形成と腫瘍との類症鑑別はいつも頭を悩ますところである。特に内分泌系組織の増殖性病変に関しては、どの程度のものから腫瘍と診断するかに関して一定した見解がなされているものは少ない。その結果として、同一系統の動物を用いたにもかかわらず、各鏡検者の経験や診断基準の相違により、それぞれの長期投与試験の対照群における内分泌系腫瘍の発生頻度に相当の開きが認められる。

本シンポジウムでは、既に報告ないし提案されているラット・マウスの脳下垂体および副腎の増殖性病変についての分類法を検討し、広く受け入れられている分類法および診断基準をもとにして診断した際に生ずる実際上の問題点を取り上げた。また、いくつかの増殖性病変の診断基準について若干の検討を試みた。

脳下垂体

無処置加齢ラット・マウスに比較的頻繁に見られる病変は、前葉の増殖性病変であり、過形成、腺腫、癌に分類する方法が最も一般的である。中間部にも同様の病変（過形成、腺腫、癌）が認められるが、その発生頻度は著しく低い。稀な自然発生腫瘍として後葉の神経膠腫や頭蓋咽頭腫の発生が報告されている。これらの中で常に診断上問題となるのは、前葉の過形成と腺腫との類症鑑別である。過形成は、びまん性と限局性のものに分けられるが、前腫瘍性病変とみなされる限局性過形成を単なる構成細胞の増加を特徴とするびまん性（機能性）過形成から明確に区別すべきである。腺腫は、その構成細胞の種類により形態はやや異なるが、全体として腫瘍細胞は正常細胞より大きく、多形性を伴うことが多い。また、血管腔の拡張を伴う洞様毛細血管の新生および腫瘍細胞の拡大増殖による周囲組織の圧迫が明瞭である。一方、限局性

過形成は、腺腫を構成する腫瘍細胞に類似する細胞の限局性増殖から成るが、拡大増殖を伴わないことが重要な鑑別点とされている。しかし、これらの過形成と腺腫との間には細胞形態学的に明確な区別はなく、拡大増殖による圧迫が明らかでないものも認められることから、どの程度の増殖のものから腺腫とするかが常に問題となる。拡大増殖の一因と考えられる血管拡張が腺腫には見られることから、鑑別点として血管拡張を伴わないことも限局性過形成の診断基準の一つと思われる。増殖巣が小さい場合、増殖細胞に混じて正常細胞（特に好酸性細胞）が散見されることが多いので、これも過形成の一基準と考えることが出来よう。

前葉腺腫と癌との鑑別も困難ことが多い。通常、異常核や巨細胞の出現および有糸分裂の増加は悪性腫瘍の診断基準となる。しかし、脳下垂体腫瘍の場合は、腫瘍細胞が細胞異型および有糸分裂の増加を示しても髄膜を破壊するような浸潤増殖を示すことは極めて稀である。一方、腺腫と診断されるような形態を有する腫瘍が大脳実質内に侵入した例が認められているのも事実である。従って、細胞の異型性および有糸分裂像の増加のみでは癌の診断としては十分ではなく、当面、腫瘍細胞の周辺組織への侵入が認められない限り、悪性腫瘍と診断すべきではなからう。

副腎皮質

ラットにおける皮質の増殖性病変についての分類は文献により様々であり、悪性のものを除き、診断基準は統一されていない。これらの文献における根本的な意見の相違は、皮質の正常細胞に類似する細胞の結節性増殖性病変を腫瘍とみなすか、あるいは過形成とみなすかによる違いに起因していると思われる。この結節性病変は、性腺摘出や繁殖の反復のような慢性副腎皮質刺激により誘発されることが報告されており、副腎全域が腫瘍によって置換される程の明確な増殖以外の病変は過形成性結節とする意見が根強く存在している。一方、小さな結節性病変を構成する細胞と腫瘍を形成するような腺腫のそれとの間には、形態学的差異は認められないことから、これら全てを腺腫と診断する研究者もおり、皮質腫瘍の背景的発生頻度は同系統ラットにおいても報告により著しく開きがある。しかし、他の内分泌系臓器での増殖性病変に用いられているような分類法をこの皮質病変にも適用すべきであ

るという見地から、正常皮質細胞に類似する細胞の拡大増殖を伴わないような小増殖巣を限局性過形成、拡大増殖による周囲の圧迫を伴うものを腺腫、周囲への浸潤増殖ないし転移を示すものを癌と分類する研究機関が増加しているようである。問題となるのは、やはり限局性過形成と腺腫の鑑別であるが、両者を区別する方法は、大きさと周囲組織への圧迫の有無のみであり、当面鏡検者の経験および考え方に依存するものと思われる。

マウスにおける皮質の増殖性病変についての分類もラットと同様統一されていない。その原因としては、マウスでは皮質を構成する細胞の増殖性病変に加えて、被膜直下に存在する紡錘型細胞（被膜下細胞）が加齢に伴い腫瘍に移行する程の増殖性変化を示すことがあげられる。そのため、腫瘍を被膜下原発と皮質原発に分けて分類している研究機関も見られる。しかし、この被膜下細胞は、紡錘型のA型細胞から正常皮質細胞に類似する好酸性ないし空胞状のB型細胞に移行することが示されており、また、性腺摘出マウスにおいてこれらの被膜下細胞の増殖巣がA型、B型ないし両者混合型の腫瘍に進展することが報告されている。このような見地から、マウスの皮質における様々な増殖性変化は一連のものみなされ、増殖程度の軽度のものから被膜下細胞過形成、皮質腺腫および癌と診断している研究機関が多いようである。さらに被膜下細胞を皮質構成細胞に包括し、被膜下細胞過形成を皮質過形成と呼称し、それをA型とB型細胞過形成に分類しているところもある。しかし、被膜下細胞と言う用語を削除してしまうことに関しては、なお異論があり、用語統一にはさらに時間を要するものと思われる。診断上問題となるのは、A型被膜下細胞の増殖にB型細胞の結節性増殖を伴った病変と皮質腺腫との鑑別である。他の内分泌系における良性腫瘍の診断基準と同様、B型細胞巣の拡大増殖を鑑別点としているが、B型空胞状細胞は脂質の蓄積により細胞自体が肥大するため見掛け上拡大増殖を示しているように思われる症例が多い。この種の腫瘍に対する確定診断としては、増殖巣の境界明瞭な結節ないし腫瘤形成の有無を基準の一つに加えるべきであろう。

#### 副腎髄質

ラット・マウスにおける髄質の増殖性病変についての分類法は、

皮質のそれと異なり、比較的統一されている。髄質細胞の増殖性病変の分類としては、カテコールアミンの証明なしに褐色細胞腫と言う用語を使用すべきではないとする意見もあるが、過形成（び漫性、限局性）、良性および悪性褐色細胞腫の用語が最もよく用いられている。稀ではあるが、自然発生腫瘍として神経節神経腫および神経芽細胞腫の報告例が示されている。診断上問題となるのは、他の内分泌系腫瘍と同様、髄質の限局性過形成と良性褐色細胞腫との類症鑑別である。限局性過形成は、隣接する正常髄質細胞と形態的に明らかに区別出来る新生髄質細胞（好塩基性細胞質をもち、核/細胞質比が大）の小集簇巣として観察される病変である。この過形成と良性褐色細胞腫の間には、細胞形態において本質的な差異はないことから、この過形成も褐色細胞腫に包括している論文も見られる。しかし、このような小増殖巣と真の腫瘍とみなされるものとを同一視すべきではないとする意見が強い。良性褐色細胞腫の診断基準として、隣接する髄質ないし皮質への圧排性増殖の有無が最も重要な鑑別点であるが、さらに豊富な洞様毛細血管新生および各細胞索内における細胞数の著しい増加等は確定診断の一助となっている。

その他、褐色細胞腫の良性と悪性との鑑別も問題となることが多い。この髄質腫瘍は、著しい細胞異型を示すことは極めて稀であり、細胞形態からのみ悪性と診断し得ることはない。しかし、良性と診断されるものの中でも副腎全域を置換してしまう程の圧排性増殖のはげしいものもあり、髄質腫瘍がもともと悪性の性格を有するものと考えている研究者もいる。本腫瘍についての生物学的特徴がさらに明確となるまで、当面、悪性の指標とされている被膜の破壊、周囲脂肪織への腫瘍細胞の侵入ないし転移を悪性褐色細胞腫の診断基準として用いるべきと考える。

萩原昭裕（名市大・医・一病）

発癌性試験は、米国ではNational Cancer Institute またはNational Toxicology Program、また、日本でも厚生省の研究班においてF344系ラットおよびB6C3F<sub>1</sub>系マウスを用いて、多数の化学物質の検索が行われており、自然発生腫瘍の頻度に関する背景データも豊富となっている。しかしながらその病理組織学的診断には、各研究者間に若干の差異があると考えられ、病理組織所見の統一が望まれる。

ここでは、F344系ラットおよびB6C3F<sub>1</sub>系マウスの甲状腺、上皮小体およびラ氏島の自然発生過形成および腫瘍について我々の病理組織診断について述べる。

### 1. 甲状腺 (Thyroid)

a) 濾胞細胞過形成 (Follicular cell hyperplasia)  
別名、嚢胞状濾胞 (Cystic follicle) とも言われ、1～数個の拡張した濾胞からなり、隣接の正常な甲状腺組織を圧迫している。濾胞上皮は、一層で立方形を呈し、クロマチンに富み、正常な濾胞細胞とは明瞭に区別される。鑑別診断上問題となる嚢胞 (Cyst) は通常単一の濾胞で、扁平な濾胞上皮からなり過形成のそれと容易に判別し得る。

b) 濾胞腺腫 (Follicular cell adenoma)

腺腫では、濾胞はより大きくなり様々な形態を示し、周囲の正常な組織を圧迫し、立方形ないし円柱状の上皮細胞の密度が増し、核はよりhyperchromaticとなる。腺腫には、Cystic, Papillary, Follicular等の型が見られるが、いずれも被膜を有することは稀である。

c) 濾胞癌 (Follicular cell carcinoma)

癌の診断基準として、被膜、血管、筋肉等への浸潤または遠隔臓器への転移の有無などが指標になる。癌では、壊死や出血を観察することが多い。

d) 旁濾胞細胞過形成 (C-cell hyperplasia)

旁濾胞細胞過形成は、大半の老齢ラットに見られ、Diffuse またはFocal (Nodular) な型がある。H&E 染色標本では淡明な旁濾胞細胞が濾胞上皮と基底膜の間に増加している。Diffuse 型の過形成は正常なものとの鑑別診断に困難を伴うことが多いため、発癌性試験の病理検索では通常、参考所見に留めている。

e) 旁濾胞細胞腺腫 (C-cell adenoma)

旁濾胞細胞腺腫の診断基準には病理学者により差異が見られるが、我々は旁濾胞細胞が結節状に増殖して隣接する正常な濾胞を圧迫し、充血または血管の新生を伴っているものを旁濾胞細胞腺腫と診断している。腫瘍は胞巣状、充実性に増殖する淡明な卵円形細胞より成り、腫瘍組織内に濾胞細胞の残存を認める。

f) 旁濾胞細胞癌 (C-cell carcinoma)

旁濾胞細胞癌の診断基準は、隣接する被膜、血管、筋肉、脂肪組織への浸潤または遠隔臓器への転移の見られることである。核分裂像、細胞異型を認め、腫瘍組織内に壊死や出血をしばしば伴っている。また、腫瘍細胞には紡錘形を呈するものも見られる。

### 2. 上皮小体 (Parathyroid)

a) 過形成 (Hyperplasia)

過形成は、通常両側性に見られ上皮小体の主細胞は全体的に腫大する。一般に、高度な慢性腎症を有する老齢ラットに見られることが多く、マウスでは稀である。

b) 腺腫 (Adenoma)

腺腫は通常小さな単一の結節状を呈し、周囲の正常または過形成の上皮小体を圧迫しており、その境界は明瞭である。腫瘍細胞は明るい空胞状の細胞質を有し、周囲の主細胞よりやや大型で、胞巣状に増殖し、核分裂像や細胞異型を認めることもある。

c) 癌 (Carcinoma)

上皮小体の癌は極めて稀なものであり、文献的に数例の報告を見るにすぎず、F344ラットおよびB6C3F<sub>1</sub>マウスでの記載はない。組織学的には、紡錘状の細胞が胞巣状、結節状に配列し壊死を伴い、核分裂像も見られ、周辺組織への浸潤や遠隔臓器への転移を認める。癌は甲状腺のC-cell carcinomaとの鑑別が困難な場合があり、免疫組織学的な検索が必要であろう。

### 3. ラ氏島 (Pancreatic islets)

a) ラ氏島過形成 (Islet-cell hyperplasia)

過形成は通常、数個ないし多数の腫大し多形性を呈するラ氏島より成る。組織学的には、正常なラ氏島細胞の数が増加している以外は正常なものと同様な形態を示す。

b) ラ氏島腺腫 (Islet-cell adenoma)



腺腫は大きな単一の結節状を呈し、正常な脾臓組織を圧迫して増殖している。間質には血管を認め、線維性の被膜を有していることが多い。腫瘍細胞は、立方ないし多角形を呈し充実胞巣状または索状に配列し、明るい細胞質とクロマチンに富む小さな核を有する。腫瘍細胞の異形性および核分裂像は、一般に少ない。

c)ラ氏島癌( Islet-cell carcinoma )

癌の診断基準は、通常腫瘍細胞の線維性被膜および隣接する脾臓組織や血管への浸潤および遠隔臓器への転移の有無による。

Table 1 および 2 に示す如く、高頻度に観察される腫瘍としてラット雌雄の旁濾胞細胞腺腫および癌、雄のラ氏島腺腫と癌が、またマウスでは濾胞腺腫があげられる。

甲状腺、上皮小体およびラ氏島の腫瘍のうち化学物質の投与により誘発されることの知られているものとしてはラットおよびマウスにおける甲状腺の濾胞腺腫および濾胞癌だけである。甲状腺を標的とする発癌物質としては、抗甲状腺剤、Nitrofurantoin誘導体、ニトロソ化合物等多数のものが知られている。抗甲状腺剤のAmitroleまたはEthylenethioureaを投与すると比較的早期から、コロイドの乏しい立方～円柱状の細胞より成る小濾胞が微慢性に増殖した甲状腺腫( GoiterまたはStruma )が発生し、1年以上の投与で、大多数のラットに濾胞癌が出現する。また、dihydroxy-di-n-propylnitrosamine ( DHPN ), N-methyl-N-nitrosourea ( MNU ) 等のニトロソ化合物を投与すると多発性の濾胞腺腫または濾胞癌が観察される。

Table 1. Tumor incidences of thyroid, parathyroid and pancreatic islets in F344 rats.

Site and Finding	Male					Female					
	NCI	NTP <sup>a</sup>	NTP <sup>b</sup>	NIHS	NCU	NCI	NTP <sup>a</sup>	NTP <sup>b</sup>	NIHS	NCU	
Thyroid	No. examined---	1794	1678	1071	296	297	1754	1704	1076	297	299
Follicular cell adenoma	11(0.6) <sup>c</sup>	15(0.9)	7(0.7)	2(0.7)	3(1.0)	5(0.3)	9(0.5)	10(0.9)	2(0.7)	0	0
Follicular cell carcinoma	19(1.1)	9(0.5)	17(1.6)	3(1.0)	4(1.3)	12(0.7)	6(0.4)	5(0.5)	0	0	0
C-cell adenoma	68(3.8)	95(5.7)	88(8.2)	33(11.5)	45(15.2)	70(4.0)	79(4.6)	74(6.9)	20(6.7)	26(8.7)	2(0.7)
C-cell carcinoma	31(1.7)	58(3.5)	47(4.4)	5(1.7)	5(1.7)	30(1.7)	61(3.6)	33(3.1)	1(0.3)	0	0
Parathyroid	No. examined---	1794	-	-	297	1754	-	-	-	-	299
Adenoma	5(0.3)	-	-	-	1(0.3)	0	-	-	-	1(0.3)	0
Carcinoma	-	-	-	-	0	-	-	-	-	0	0
Pancreatic islets	No. examined---	1794	1667	1086	296	297	1754	1724	1084	297	299
Islet-cell adenoma	62(3.5)	51(3.1)	43(4.0)	25(8.4)	10(3.4)	17(1.0)	14(0.8)	9(0.8)	9(3.0)	1(0.3)	0
Islet-cell carcinoma	7(0.4)	32(1.9)	20(1.8)	1(0.3)	3(1.0)	1(0.1)	4(0.2)	1(0.1)	1(0.3)	0	0

Keys: NCI= National Cancer Institute, NTP= National Toxicology Program, NIHS= National Institute of Hygienic Sciences  
 NCU= Nagoya City University, <sup>a</sup>: Untreated control, <sup>b</sup>: Corn oil gavage control, <sup>c</sup>: Percent of animals with tumors,  
 -: Data were unavailable

Table 2. Tumor incidences of thyroid, parathyroid and pancreatic islets in B6C3F1 mice.

Site and Finding	Male				Female				
	NCI	NTP <sup>a</sup>	NTP <sup>b</sup>	NCU	NCI	NTP <sup>a</sup>	NTP <sup>b</sup>	NCU	
Thyroid	No. examined---	2543	1680	1009	244	2522	1661	1009	246
Follicular cell adenoma	16(0.6) <sup>c</sup>	26(1.5)	42(4.2)	1(0.4)	30(1.2)	36(2.2)	36(3.6)	2(0.8)	0
Follicular cell carcinoma	7(0.3)	2(0.1)	1(0.01)	0	6(0.2)	7(0.4)	5(0.5)	0	0
C-cell adenoma	1(0.03)	-	-	0	0	-	-	0	0
C-cell carcinoma	0	-	-	0	1(0.03)	-	-	0	0
Parathyroid	No. examined---	2543	-	-	244	2522	-	-	244
Adenoma	0	-	-	0	1(0.03)	-	-	0	0
Carcinoma	-	-	-	0	0	-	-	0	0
Pancreatic islets	No. examined---	2543	-	-	244	2522	-	-	244
Islet-cell adenoma	7(0.3)	-	-	0	2(0.1)	-	-	3(1.2)	0
Islet-cell carcinoma	0	-	-	0	2(0.1)	-	-	0	0

Keys: NCI= National Cancer Institute, NTP= National Toxicology Program, NCU= Nagoya City University  
<sup>a</sup>: Untreated control, <sup>b</sup>: Corn oil gavage control, <sup>c</sup>: Percent of animals with tumors, -: Data were unavailable.

○川合是彰（田辺製薬・安全研）

近年内分泌学の発展はめざましく、新たに神経ペプチドや消化管ホルモンが発見されるに至り、神経細胞や消化管のdispersed endocrine cellsを含め内分泌細胞が生体内に広く存在していることが明らかとなった。

内分泌細胞はホルモン分泌の様式でみた場合、血液分泌（hematocrinia）、傍分泌（paracrinia）およびシナプス分泌（synaptocrinia）に分類されており、Staringの古典的概念、すなわち「腺が特有の物質を形成して血中に分泌し、遠隔の場所において特殊な影響を及ぼす」という内分泌の考え方は今や適当でない。

内分泌を細胞レベルで考えた場合、内分泌現象は「細胞の基底側、細胞間隙側ないし間質側への伝達物質の放出」とみなすことができる。この点を勘案すれば、内分泌細胞を観察する場合、分泌の方向すなわち分泌現象における極性を把握することが大変重要な課題となる。

内分泌器官の形態変化のもつ機能的意義を解析する場合、形態と機能の両面からアプローチすることが必須である。ここでは最近の内分泌研究を参照し、ホルモン分泌の極性を理解する上で好都合な甲状腺を例示的に取り上げ、基礎的事項を総論的に述べる。

## I 内分泌系における甲状腺の位置づけ

従来、内分泌系は1)アミン分泌系、2)ペプチド分泌系、3)ステロイド分泌系に分類され、甲状腺はペプチド分泌系に含まれていた。しかし、ペプチドとアミンが同一細胞で分泌されること、また甲状腺ホルモンはエーテル結合でヨードアミノ酸をもつ特異なホルモンであることから、最近では以下のように分類されている。

- 1 ペプチド・アミン分泌系：下垂体、C細胞、消化管ペプチド作動性ニューロン、神経細胞など
- 2 ステロイド分泌系：ステロイド分泌細胞
- 3 ディフェニール・エーテル分泌系：甲状腺

## II 甲状腺の特徴

甲状腺には濾胞上皮細胞とそれに囲まれた濾胞腔

があり、ホルモンを合成し、濾胞腔に貯える外分泌腺としての性格と、ホルモンを血中に放出する内分泌腺としての性格を有し、分泌の極性を理解するのに好都合であり、他の内分泌系細胞の分泌機能と共通する面も多い。

## III 甲状腺ホルモンの合成・分泌とその異常

甲状腺ホルモンの生合成は、①濾胞上皮細胞のヨードの取り込み（active transport）、② $H_2O_2$ およびペルオキシダーゼ存在下でのヨードの酸化ならびにmonoiodotyrosineおよびdiiodotyrosineの生成（ヨードの有機化）、③triiodothyronine（T3）およびthyroxine（T4）への縮合の過程を経て血中に分泌される。

このようなホルモン合成の一連の過程は下垂体の甲状腺刺激ホルモン（thyrotropin: TSH）によって促進される。一方、 $SCN^-$ や $ClO_4^-$ は無機ヨードの取り込みを、抗甲状腺剤、スルホンアミドや大量ヨードはヨードの有機化ならびにT3およびT4の生成を阻害する。

## IV 薬物誘発病変観察の基礎とその問題点

### 1. 甲状腺ホルモン分泌の基礎形態

甲状腺ホルモンの合成・分泌の過程は形態、特に電子顕微鏡観察によってある程度把握できる。

濾胞上皮細胞では粗面小胞体が極めて発達し、ここがホルモン合成の第一ステップとなる。すなわち、ミトコンドリアで作られたエネルギーを利用して粗面小胞体においてthyroglobulin（TG）の前駆物質であるタンパクが合成・貯蔵される。これは大きく発達したゴルジ装置に運ばれて濃縮・糖付加を受けTGとなり分泌顆粒の形態を示す。この分泌顆粒は開口分泌（exocytosis）によって濾胞腔へ放出される（外分泌）。

濾胞腔で貯えられたTGは濾胞上皮細胞にpinocytosisあるいはphagocytosisによって吸収されコロイド小滴が形成される。ちなみに、このTG再吸収の過程はpinocytosisとphagocytosisの両方の意味を含めendocytosisと呼ばれており、TSH刺激によ

て活発となり、増加したコロイド小滴はPAS染色によって光顕的にも確認できる。

再吸収されたコロイド小滴(TG)は次にゴルジ装置で作られた電子密度の高い水解小体(lysosome)と融合し、加水分解を受けてホルモン活性のあるT3、T4となる。これらのホルモンは細胞基底部から血中に放出される(内分泌)。

ここで問題となることは、濾胞上皮細胞中間域において、濾胞腔へ放出される分泌顆粒と再吸収顆粒とを形態的に区別することが困難な点である。そこで、両者を一括してsubapical vesicleないしgranuleと呼んでいる。また加水分解されたホルモンは低分子であるので形態的に観察することはできない。

## 2. Follicular Heterogeneity

コロイドの染色性は部位によって異なり、エオジンやPAS染色では辺縁部濾胞が、T3やT4の免疫染色では中心部濾胞が強く染色される。また濾胞の大きさも辺縁部で大きい。

このことに関連し、小さな濾胞は放射性ヨードの取り込みや放出が早いといわれている。これに対し、大型でPASに濃く染まり偏平な上皮細胞からなる濾胞はcold follicleと呼ばれ、マウスでは加齢によって増加することが知られている。このcold follicleではヨードの有機化やコロイド(TG)の再吸収が阻害されており、TSHに対する感受性は低い。以上のように甲状腺は形態的にも機能的にもheterogenousであるとみなされる。

## 3. EndocytosisのHeterogeneity

甲状腺のheterogeneityをendocytosisの面からみると、TSH投与によるコロイド滴形成は濾胞の大きさをlarge, medium, smallに分けた場合、濾胞が小さいほど細胞当りの小滴形成が多いと言われている。さらに、下垂体からTSHを分泌させる視床下部ホルモン(TRH)を投与した場合コロイド小滴は、用量反応的に増加するが、その出現は同一領域内の濾胞、また同一濾胞内の上皮細胞によっても異なっている。

## 4. 内分泌障害モデルにおける観察

TSH分泌刺激(TRH投与)、ホルモン合成障

害(propylthiouracil: PTU投与)あるいは血中ホルモン過剰(T4投与)の各モデルにおける所見を述べる。

(1) TRH投与: 血中TSHは約30分までに急増し、2時間までには正常化する。血中T3、T4は不変である。コロイド小滴は大型を含め多数見られ、用量反応的に増加する。コロイド小滴の数的消長の時間は血中TSHより長い。粗面小胞体は拡張し、free ribosomeやlysosomeは多い。Subapical vesicleはTRH投与後は少ないが、時間の経過に伴い逆に多くなる。このような所見はホルモンの合成および分泌の亢進した状態を示唆する。

(2) PTU投与: 血中T3、T4は減少し、血中TSHは高値を示す。PTUを極めて短期(2日間)投与した場合、粗面小胞体は拡張し、ゴルジ装置は肥大している。この段階では大型のものは少ないが、コロイド小滴は比較的多く、subapical vesicleも多い。さらにPTUを投与した場合には粗面小胞体はさらに拡張し、ゴルジ装置の肥大やゴルジ層板の拡張が認められる。しかし濾胞腔へのホルモンの放出あるいは血中への分泌と関連するsubapical vesicle、コロイド小滴あるいはlysosomeは明らかに減少している。これらはホルモン合成障害の一面を示すものである。

(3) T4投与: TSH分泌は抑制され、甲状腺は萎縮する。濾胞腔にはコロイドが充満し、上皮は扁平化する。粗面小胞体やゴルジ装置は目立たなくなり、subapical vesicle、コロイド小滴、lysosomeは減少する。このようにT4を投与した場合、ホルモンの合成・分泌は不活発となるが、TRH投与でTSH分泌刺激を加えた場合にはendocytosis像がみられる。

内分泌器官が毒性の標的となることは稀でない。今回、内分泌器官の薬物誘発病変を甲状腺を例示して述べたが、内分泌器官のもつ固有の機能的特性を踏まえて毒性評価に当たることが必要である。

西川 智 協和発酵工業(株) 安全性研究所

毒性試験の病理学的検査において甲状腺、副腎等の内分泌系臓器、あるいは性腺等に薬剤(化合物)誘発に起因した所見に遭遇する事が度々ある。その際、対応する下垂体前葉細胞の形態学的変化は、血中ホルモンの動態と共に重要な観察項目である。仮にその薬剤(化合物)の反復投与により標的臓器のホルモン産生が連続的に阻害された場合、Negative feed back機構により所謂“摘出細胞”といわれる異常分泌亢進に陥った下垂体前葉細胞が観察される事がある。

一方、下垂体の古典的染色法及び電子顕微鏡的観察により、下垂体前葉部構成細胞はACTH (Adenocorticotropin)、TSH (Thyrotropin)、GH (Growth hormone)、PRL (Prolactin)、FSH (Follicle stimulating hormone)、LH (Luteinizing hormone)等を産生する細胞に分類されて来た。

更に、ここ10数年来、電顕と免疫組織化学の併用により各細胞種のホルモン産生が直接証明出来る様になって来て、毒性試験分野でも応用されつつある。

ここでは、下垂体-甲状腺系に焦点をしばり甲状腺に影響を及ぼす幾つかの薬剤をラットに投与した際の下垂体前葉部の形態学的変化と血中ホルモン動態を中心に紹介し、毒性試験における下垂体の非腫瘍性病変観察の一助にした。

## 1) 実験方法

約12週令のWistar系雄ラットに抗甲状腺物質であるSulfadimethoxine (2 g/kg, 経口, 以下ST)、Thiamazole (100 mg/kg, 皮下, 以下TZ)及び乾燥甲状腺粉末Thyradin (400 mg/kg, 経口, 以下TR)を夫々1日1回投与し、投与開始後7、15回投与後に放血屠殺し以下の項目を測定した。尚、ST、TRは共に0.5% aqueous carboxymethyl-cellulose (CMC)液に懸濁し、Control群にはCMC液を経口投与した。又、回復性の検討を実施する為に5週令の同系ラットにSTを15回連続経口投与後、

休薬してから5、10及び15日目に同様の検査を実施した。

- (1) 甲状腺重量
- (2) 血中 Triiodothyronine 値 ( $T_3$ ) 及び Thyroxine 値 ( $T_4$ ) (いずれも radio-immunoassay法)
- (3) 甲状腺、下垂体前葉部の光学顕微鏡的検査
- (4) 甲状腺、下垂体前葉部の電子顕微鏡的検査

## 2) 結果

### (1) 甲状腺重量

ST、TZ両投与群では投与7回で甲状腺重量はControlの約3倍、投与15回では約5倍の値であった。これに反しTR投与群では投与7回、15回共Controlに比し甲状腺重量は有意に低下した。

ST投与群の内、15回投与後15日間休薬した動物では、Controlの約3.5倍の甲状腺重量であった。

### (2) 血中 $T_3$ 、 $T_4$ 値

ST、TZ両投与群の血中 $T_3$ 、 $T_4$ 値は投与7回、15回共Control群に比し有意に低い値を示したが、逆にTR投与群では7回、15回投与共Control群よりも有意差をもって高値を示した。

又、ST投与群で15日間の休薬後の検査では血中 $T_3$ 、 $T_4$ 値共Control群と差は認められなかった。

### (3) 甲状腺の光学顕微鏡的観察

ST、TZ両投与群では投与7回目の検査で、小濾胞は増生し上皮は高円柱状化し、その配列は乱れていた。内腔のコロイドは減少し淡明化状態で間質の血管は増生した所見が認められた。これらの所見は投与15回目の検査では更に増強された。しかしTR投与群では、7回、15回投与共に濾胞上皮は丈が低く扁平化し、内腔のコロイドは充満した像が認められた。又、ST投与群の内、休薬後検査した動物では、濾胞は多量のコロイドを容れ大きく拡張した所見が認められた。

### (4) 甲状腺の電子顕微鏡的観察

ST投与群では7回、15回投与共に内腔にはコロイド

様物質を容れた粗面小胞体の増生、拡張及びmitochondriaの腫大が認められた。microvilliは長く内腔にのび出している所見が認められたがコロイドは殆ど認められなかった。又、分泌顆粒も殆ど認められなかった。

15日間休業後の検査では、内腔はコロイドで満たされ、沢山の分泌顆粒が内腔辺縁に存在し、円形のコロイド再吸収滴も認められた。

#### (5) 下垂体の光学顕微鏡的観察

ST、TZ投与群では投与7回及び15回目の検査でTSH分泌細胞の増加及び腫大が認められ、15回投与後には胞体にeosine染色する空胞を認め、核は細胞の一端に圧排された印環細胞様形態を示したTSH分泌細胞も一部認められた。然しTR投与群ではこの様な所見は認められなかった。

ST投与群で休業後検査した動物ではほとんどControl群と差のないものであったが極一部には腫大したTSH分泌細胞が認められた。

#### (6) 下垂体の電子顕微鏡的観察

ST、TZ投与群では、投与7回目からTSH分泌細胞の粗面小胞体は増加し、それらの内腔は拡張して、その一部には種々の大きさの非常にdensityの高い円形顆粒が認められた(Fig. 1)。Golgi装置は良く発達し、その付近にはlysosome様物質を認め、それらは非常にdensityの高い、あるいは内部がクリアーで周囲がhigh denseな不規則かつ複雑な形態を示した(Fig. 2)。更にmitochondriaの増加と分泌顆粒の減少を認めた。又、一部のTSH分泌細胞では細胞のほぼ中央に着しくのう状に拡張し内容の明るい粗面小胞体を認め、核及び他の小器官は周辺部に圧排された細胞も観察された。15日間休業後検査した例でも、TSH分泌細胞は粗面小胞体の増加、内腔拡張、Golgi装置の発達を認めたが、分泌顆粒は逆に増加していた。

### 3) まとめ

以上のごとく、ラットにST、TZ及びTRを大量に投与すると甲状腺濾胞上皮細胞は形態学的に全く異なった像を呈し、それに合わせて血中 $T_3$ 、 $T_4$ 値も変化が認められた。又、この様な血中ホルモンの動きに伴って下垂体TSH分泌細胞も種々の形態学的変化を示した。これらの結果に併せて血中TSH値の変動、下垂体の免疫染色の結果についても報告する。

先にものべた様に、毒性試験において末梢内分泌系臓器にホルモン合成障害等の障害が認められた時は、下垂体の検査はルーチン的な光学顕微鏡的検査のみならず、電子顕微鏡的検査(もし可能であれば免疫抗体法等の組織化学的検索)あるいは血中ホルモン測定等の機能的検査も併せて実施すればより確実な病理診断が可能になると思われる。

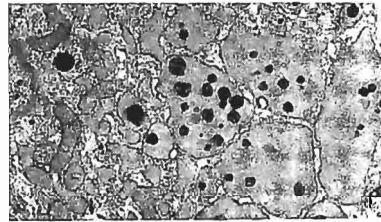


Fig. 1 ×5800

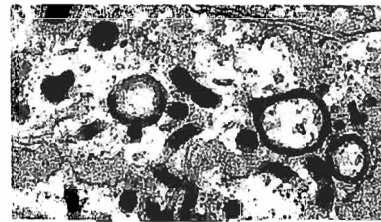


Fig. 2 ×27200

# 一般演題

ラットにおける N-Methyl-N-nitrosourea 発癌に対する  
N-Propyl-N-nitrosoureaの修飾作用

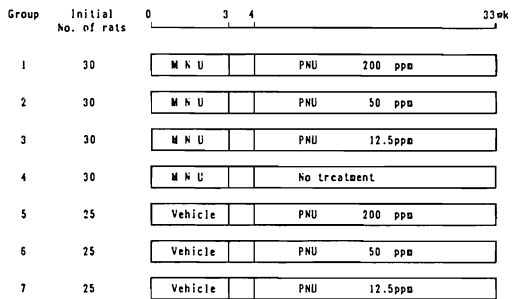
倉田靖, 玉野静光, 山田真弓, 増田あつ子, 広瀬雅雄 (名市大・医・一病)

(はじめに)

N-Methyl-N-nitrosourea (MNU) は、造血器系、消化器系や神経系など多くの臓器に発癌標的性を示すことが知られている。また、N-Propyl-N-nitrosourea(PNU) は、F344ラットに飲料水に混じ長期連続投与すると胸腺リンパ腫および胃、小腸、外耳道腺などに腫瘍が発生する。今回は、F344ラットを用いてMNUの投与後にPNUを長期に投与することによりPNUの発癌修飾作用を検索した。

(方法)

実験は、FIGURE 1に示す如く、6週齢のF344雄ラット(日本チャールス・リバー株) 195匹を7群に分け第1~4群にはMNUをクエン酸緩衝液(pH6.0)に溶解し、動物体重Kg当り20mgの用量にて週2回、3週にわたって腹腔内注射した。1週間の休薬期間後、PNUを1~3群にそれぞれ200、50および12.5ppmの濃度で飲料水に混じ29週間投与した。4群はMNU投与のみ、5~7群はPNUをそれぞれの濃度で単独投与する対照群とした。実験開始後33週で屠殺剖検し、全身諸臓器について病理組織学的に検索した。



Animal: Male 7-week-old, F344 rats  
Treatment: PNU in drinking water  
MNU, 20mg/kg b.w., i.p., twice a week  
Vehicle, Citrate buffer, i.p.

FIGURE 1 Experimental design

(結果)

生存率および体重: 生存率では、1群の200ppm投与群において実験開始後24週以後から死亡動物数が増加し、実験終了時には他の死亡率が30~40%であるのに対して200ppm群は70%と高かった。体重変化においても1群は、4週目より実験終了時まで体重の増加抑制を認めた。

肉眼的病理所見: MNU投与後のPNU群、主に200ppm群に舌、小腸および耳下部皮下に多数の腫瘍が認められた。その他、リンパ節および胸腺の腫大、肺、前胃、大腸、脊髄および腹腔内の腫瘍を対照群を含む各群に観察した。

病理組織学的所見(TABLE 1): 発生が高くしかもPNU投与による用量効果を認めた腫瘍は、舌、前胃の扁平上皮乳頭腫、大腸の腺腫、腹腔の神経鞘腫および外耳道腺の皮脂腺扁平上皮癌であった。その他、胸腺リンパ腫、肺の腺腫、小腸の腺腫、腺癌、末梢神経の神経鞘腫、腹腔の中皮腫および悪性神経鞘腫も各群で高頻度に認められた。

(結語)

MNU投与後PNUを投与すると、PNUはその発癌標的臓器である前胃および外耳道腺腫瘍の発生を促進させた。また、胸腺や小腸腫瘍の発生には影響を与えなかった。また、PNUの標的臓器ではない神経系や大腸における腫瘍の発生を促進したことから、これらの臓器に対してPNUは弱い発癌性ないし発癌促進作用を有することが示唆された。

TABLE 1 INCIDENCES OF TUMORS IN F344 RATS TREATED WITH MNU FOLLOWED BY PNU

Organs and Tumors	Dose (ppm)----- No. of animals---	No. of rats with tumors			
		200 (30)	50 (30)	12.5 (30)	0 (30)
Thymus					
Thymic lymphoma	8	8	10	3	
Spleen					
Hemangioma	3	4	2	0	
Hemangiosarcoma	6	0	1	1	
Lung					
Adenoma	8	2	4	11	
Adenocarcinoma	0	1	0	0	
Tongue					
Squamous cell papilloma	8*	3	2	1	
Squamous cell carcinoma	3	0	0	0	
Forestomach					
Squamous cell papilloma	20*	9	4	6	
Squamous cell carcinoma	3	1	1	0	
Small intestine					
Adenoma	7	0	1	1	
Adenocarcinoma	10	5	7	5	
Large intestine					
Adenoma	6*	2	0	0	
Adenocarcinoma	1	3	1	1	
Brain					
Astrocytoma	1	2	1	0	
Glioma	1	2	0	0	
Meningioma	2	1	0	0	
Meningial sarcoma	0	0	1	0	
Spinal cord					
Ependymoma	0	1	0	0	
Glioma	0	1	0	0	
Meningioma	1	0	0	0	
Peripheral nerve					
Schwannoma	4	7	4	3	
Malign. schwannoma	2	1	3	3	
Abdominal cav.					
Mesothelioma	11	20	10	12	
Schwannoma	6*	4	2	0	
Malign. schwannoma	12	7	4	7	
Zybal's glands					
Sebaceous adenoma	2*	0	0	0	
Seb. sq. cell carcinoma	7*	0	0	0	
Squamous cell carcinoma	2	3	0	0	

\* : p < 0.05

○小木曾 正、今井田 克己、宇和川 賢、務台 衛、津田 洋幸 (名市大・医・一病)

(はじめに)

発癌物質検索の短期化を行う目的で肝や膀胱等における発癌の二段階法を用いた発癌および発癌修飾物質の中期検索法が開発され、多くの物質について検索がなされてきたが、結果の解析を単一臓器についてのみ行うのでは不十分であり、一動物レベルでの広範な臓器についてその作用を追究する必要性が認識されてきた。

今回、我々は、多数の臓器を標的とする異なった3種の発癌物質によるイニシエーション処置を行う多重癌モデルを用い、発癌標的性の明らかな phenobarbital (PB) と dibutyl nitrosamine (DBN) を被験物質として投与し全身諸臓器における腫瘍性病変発現の増幅効果について、病理組織学的な検討を行った。

(実験方法)

動物は、6週令のF344系雄性ラット130匹を用い、1群から3群には、肝発癌物質の Diethylnitrosamine (DEN 100mg/kg bw) を1回腹腔内投与し、2日後に、甲状腺、食道、前胃等に発癌標的性を有する N-methylnitrosourea (MNU 20mg/kg bw) を3日間隔で計4回腹腔内投与、その3日後から、肺、腎臓、膀胱等を発癌標的とする 2,2'-dihydroxy-di-n-propylnitrosamine (DHPN 0.1%) を飲料水にて2週間投与し、多数の臓器におけるイニシエーション処置とした。その後、1群はPBを0.05%の濃度で基礎飼料に混入し、2群はDBNを0.005%の濃度で飲料水に混入して投与した。3群は基礎飼料のみを与え、4群はPBのみ、5群はDBNのみの対照群とした。実験開始18週及び24週経過後、1群から3群は各15匹、4群と5群は各10匹の動物を屠殺し、全身諸臓器の腫瘍性病変の有無を病理組織学的に検索した。

(実験結果)

18週屠殺時の主な腫瘍発生は、肺には腺腫と腺癌がみられ、それぞれ1群、4/15 (27%)・0; 2群、7/15 (47%)・1/15 (7%); 3群、1/15 (7%)・0で、2群の腺腫は、対照の3群に比して有意な増加を示した。甲状腺の腺腫・腺癌は、それぞれ1群、7/15 (47%)・4/15 (27%); 2群、2/15 (13%)・1/15 (7%); 3群、0・1/15 (7%)で、1群のPB投与群の腺腫は、対照群に比して有意な増加をみた。食道には乳頭腫のみみられ、1群、1/15 (7%); 2群、12/15 (80%)で、3群では1例も認めず、2

群のDBN投与群の腺腫は、対照群に比して有意な増加をみた。前胃は、2群のみに乳頭腫の発生をみ、3/15 (20%)であったが、対照群に比して有意差はみられなかった。4群及び5群では、いずれも腫瘍発生は認められなかった。肝臓は、胎盤型 glutathion S-transferase (GST-P) の免疫染色を行い、前癌病変である GST-P陽性細胞巢 (GST-P<sup>+</sup>) を指標とし、単位面積当たりのGST-P<sup>+</sup>の数及び面積の定量的解析を行った。その結果、1群、5.26個/cm<sup>2</sup>・0.29mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>; 2群、0.49・0.02; 3群、0.47・0.05の発生をみ、1群のPB投与群は、GST-P<sup>+</sup>の数及び面積共、対照の3群に比して有意な増加をみた。

24週屠殺時での肺の腺腫と腺癌の発生は、それぞれ1群、5/15 (33%)・2/15 (13%); 2群、6/13 (46%)・3/13 (23%); 3群が、6/14 (43%)・2/14 (14%)にみられた。甲状腺の腺腫・腺癌は、それぞれ1群、12/15 (80%)・8/15 (53%); 2群、0・2/13 (15%); 3群、4/14 (29%)・4/14 (29%)で、1群のPB投与群の腺腫は、対照群に比して有意な増加をみた。食道の乳頭腫・扁平上皮癌は、それぞれ1群、1/15 (7%)・0; 2群、13/13 (100%)・8/13 (62%); 3群、1/15 (7%)・0; 5群、5/10 (50%)・2/10 (20%)で、2群のDBN投与群の乳頭腫及び扁平上皮癌は、対照の3群に比して有意な増加をみ、また、5群のDBN単独投与群に比しても乳頭腫は有意な増加を示した。前胃では2群のみに乳頭腫1/13 (8%)、扁平上皮癌1/13 (8%)みられた。肝のGST-P<sup>+</sup>の数及び面積は、1群、12.68個/cm<sup>2</sup>・1.23mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>; 2群、1.95・0.09; 3群、1.45・0.09; 5群、0.15・0.008であり、1群のPB投与群は、GST-P<sup>+</sup>の数及び面積共、対照の3群に比して有意な増加をみた。他の腫瘍の発生は、18週では、小腸・大腸、24週では、舌・腎臓・小腸・大腸・膀胱の各臓器にみられたが、各群間に差異は認められなかった。

(まとめ)

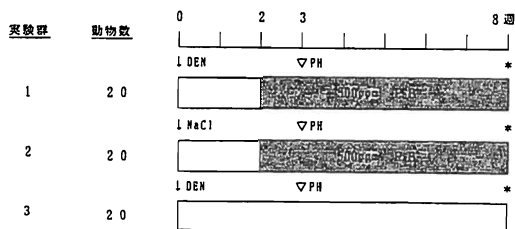
発癌修飾物質として用いたPBは甲状腺の乳頭腫、肝のGST-P<sup>+</sup>、DBNは肺の腺腫、食道の乳頭腫・扁平上皮癌の発生をそれぞれ増加させ、多臓器イニシエーション処置によって発生した発癌高感受性細胞巢は、被験物質の標的臓器において増殖応答を示し、一動物レベルで短期間に種々の臓器に腫瘍性病変の発現を増幅させ得ることが示された。



○伊藤聖一<sup>1,5</sup>, 渡辺知幸<sup>1</sup>, 向谷知世<sup>1</sup>, 奥野泰由<sup>1</sup>, 吉武彬<sup>1</sup>, 宮本純之<sup>1</sup>,  
佐藤清美<sup>2</sup>, 阿部薫<sup>3</sup>, 矢内原千鶴子<sup>4</sup>, 矢内原昇<sup>5</sup> (<sup>1</sup>住友化学・宝塚総研・安全研,  
<sup>2</sup>弘前大・医,<sup>3</sup>国立がんセンター,<sup>4</sup>大阪大・医,<sup>5</sup>静岡薬大)

*c-myc* 遺伝子発現に関する報告の多くは、ヒトの癌組織を対照としたものであり、癌の増殖・浸潤及び分化に關する可能性が示唆されている。また実験肝発癌過程における *c-myc* 遺伝子の発現は、モリス肝癌や 3'-メチル-4-ジメチルアミノベンゼンで誘発した肝癌での増加や、再生肝における増加が報告されている。今回我々は、ラット肝臓における発癌・発癌修飾物質の早期検索法(名市大法)を用いて得られた前癌病変について、*c-myc* 遺伝子産物の局在を抗合成 *c-myc* 蛋白関連ペプチド抗体を用いた免疫組織化学的手法により検討し、従来より前癌病変のマーカーとして有用であると知られている glutathione S-transferase P 型 (GST-P) の局在との比較を行ったので報告する。

方法：6週齢のF344雄ラットを使い、イニシエーターとしてDEN200mg/kgを1回腹腔内投与し、その2週間後より、0.05% Phenobarbital (PB)を基礎飼料に混じて6週間投与した。対照群としてDEN単独投与及び0.05% PB単独投与群を設定した。全群共試験開始3週目に肝の2/3部分切除を行い、8週目に屠殺解剖した。肝臓は10%リン酸緩衝ホルマリン固定後パラフィン包埋し、免疫組織化学的にGST-P及び*c-myc* 遺伝子産物の染色を行った。免疫染色は、抗ラットGST-P抗体及び抗*c-myc* P62抗体(R5452)を用い、ABC法により行った。



DEN : Diethylnitrosamine (東京化成), 200mg/kg体重, 腹腔内注射

PB : Phenobarbital (東京化成), 飼料投与

NaCl : 生理食塩水 (扶桑薬品), 5ml/kg体重, 腹腔内注射

PH : 2/3 肝部分切除

\* : 陽性

結果：GST-P陽性細胞巢 (GST-P<sup>+</sup>, 直径0.2mm以上)を多目的カラー画像処理装置 (VIP-21CH, オリパス, 池上通信機株式会社製)を用いて定量的に測定した結果, DEN+PB投与群では, DENによるイニシエーションのみの場合と比べGST-P<sup>+</sup>の単位面積当りの数及び面積ともに有意な(P<0.01)増加を示した。イニシエーターなしにPBのみを投与した群ではほとんどGST-P<sup>+</sup>は認められなかった。またGST-P<sup>+</sup>までは至らないGST-P陽性Single cellや複数細胞からなるmini-fociの発現も, DEN+PBおよびDEN単独投与群で認められた。なお, GST-P陽性所見は, 細胞質のみでなく核内においても認められた。一方, *c-myc* 遺伝子産物の局在はGST-Pの局在とよく一致して認められた。すなわち, ほとんどすべてのGST-P<sup>+</sup>は*c-myc* 遺伝子産物陽性細胞巢の面積及び数ともに, DEN+PB投与群で, DEN単独投与群と比較して増加しており, またPBのみの投与群では同細胞巢はほとんど見られなかった。これらの前癌病変以外の部分については*c-myc* 遺伝子産物陽性を示す細胞数がGST-Pの場合と比較してやや多く認められた。なお, *c-myc* 遺伝子産物陽性所見は細胞質に局在し, 核内には認められなかった。

考察：ラット肝臓の前癌病変における *c-myc* 遺伝子産物の発現を免疫組織化学的手法を用いて検討し、その局在がGST-P酵素偏奇のそれとよく一致することが確認され、肝前癌病変のマーカーとしての *c-myc* 遺伝子産物の有用性が示唆された。また、今回の実験により名市大法によって作製された前癌病変において、癌遺伝子の発現が起こっていることが明瞭に示されたと言える。

## 3. Investigations during 3 days

Priv.-Doz.Dr.A.Kast (Nippon Boehringer Ingelheim Co.,Ltd., Exp.Path.)

## Abstract

The circadian rhythm of gastric content, body weight (wt.), liver wt., cellular structures (by light- and electron-microscopy), mitotic activity of hepatocytes, liver glycogen content, liver protein and lipids in liver and serum was studied in 180 male Sprague-Dawley rats orally treated at 0830 - 1030 with 50 mg/kg phenobarbital (PB) for 7-days. Thereafter, five PB-treated males and five controls each were studied at 4-hr intervals at 0600, 1000, 1400, 1800, 2200 and 0200 on 3 consecutive days. The lighting schedule in the colony was 12:12 = light:dark (light from 0600 to 1800). - Following the rhythms of gastric emptying, the liver wt. showed a clear circadian rhythm with a peak between 0600 and 1000. The liver wt. was raised in PB-treated rats at all times of the day. The circadian rhythm of cellular structures was closely related to the hepatic glycogen content which showed a clear rhythm with the peak also at 0600, but lowered values in PB-treated rats. The mitotic activity of hepatocytes was significantly increased in PB-treated rats but showed the same circadian rhythm as controls with peaks at 1400. The well-known hypertrophy of the sER in PB-treated rats was still missing at 0600, but fully developed from 1400. PB-treatment increased significantly the liver content of cholesterol, triglycerides and phospholipids. Liver cholesterol showed a clear circadian rhythm with peaks at 1800. No rhythm of liver protein, triglycerides and phospholipids was observed. In serum, levels of cholesterol were significantly elevated, those of triglycerides significantly lowered, while those of phospholipids were not affected by the treatment. The three serum lipids, alkaline phosphatase and beta-lipoprotein exhibited a clear circadian rhythm, while serum glucose and non-esterified fatty acids did not.

## 四塩化炭素とアルコールによる肝硬変の短期作成 およびその可逆性

○下地尚史・長谷川良平・今沢孝喜・松岡千明・豊田和弘・古田京子・古川文夫・林 裕造（国立衛試・病理）

四塩化炭素は肝細胞に小葉中心性の変性壊死を起こすことが知られており、実験的に肝障害を惹起するときなどにしばしば用いられる。またエタノールも長期の適用では肝細胞に小葉中心性の変性や脂肪化、小葉中心性あるいは細胞周囲性の線維化を引き起こすことが知られており、ヒトでは肝硬変の発生への関与が認められている。またヒトにおいては肝硬変と肝癌の発生にはなんらかの因果関係があると考えられている。我々は実験的に肝硬変と肝癌の関連を検索することを目的として、四塩化炭素およびエタノールを用いたラット肝硬変の短期作成を試みている。

### 材料と方法

動物：6週齢のF344雄ラット

処置：・四塩化炭素 オリーブ油を溶媒として0.2ml/kgを週2回胃内に強制投与  
・エタノール 飲料水中に5%の割合で混じて投与  
四塩化炭素およびエタノールで4もしくは8週間処置した後直ちに屠殺した群と、処置終了後休薬期間をおいた回復群とを設けた。

血清生化学的検査：GOT, GPT, AIP, LDH, 総タンパク, A/G比等の項目につき検査した。

形態学的検査：肝の組織変化をH-E染色、アザン染色にて、細胞動態をBrdU染色にて、前癌性病変を冷アセトン固定標本につきGST-P染色にて検査した。また一部の動物については透過型電顕にて観察を行った。

### 結果

四塩化炭素およびエタノールで4週間処置した群においてすでに線維増生が明らかで不明瞭ながらも偽小葉の形成がみられた。8週間処置群ではより高度な線維化と、明らかな偽小葉形成を伴った肝硬変像を呈していた。今回認められた組織所見の主なもの、線維化、肝細胞の壊死、脂肪変性、小胆管の増殖、細胞および核の大小不同などで、これらの病変はその後の休薬により回復した。各処置群で肝機能障害を示唆するGOT、GPTなどの上昇がみられた。4週間処置群ではGST-P陽性果が出現したが、一部の陽性果はH-E染色でもやや異型な細胞より成る再生結節として認められ、GST-P染色が前癌状態も含めた増殖の盛んな細胞集団を検出していることが示唆された。

DNA合成は8週間処置群で最も盛んにみられ、4週間処置

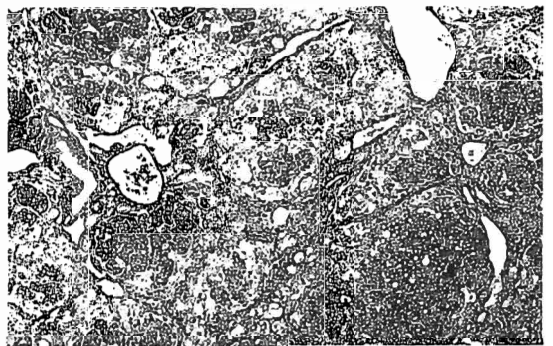
の群では顕著ではなかった。超微形態学的には中心静脈域を中心にDisse腔内および肝細胞間に線維の増生がみられ、伊東細胞が線維化に関与していると思われる像もみられた。

### 考察

四塩化炭素とエタノールの短期間処置により、肝硬変の形成が認められたが、その後の休薬により回復する可逆的なものであることを確認した。今回用いた四塩化炭素は比較的少量であり、このことが肝硬変の早期出現に重要であったと考えられる。

これまで四塩化炭素あるいはエタノールを用いて実験動物の肝に線維化病変あるいは肝硬変の作成を試みた報告はあるが、その多くは作成に長期を要し、今回のような短期間での作成を試みた実験は少ない。またその可逆性について検討を加えたものはほとんどない。四塩化炭素とエタノールの相互作用については、(1)エタノールが四塩化炭素を血中へとけ込み易くする (2)エタノールによりP-450 inductionがおり、この酵素系で代謝される四塩化炭素の代謝物が肝毒性をもつ (3)エタノールが肝細胞の膜の感受性を高めるなどの報告がある。

今回作成した、短期肝硬変モデルは休薬後の回復が速やかであり、肝硬変の状態を維持するにはより長期間肝に持続的な障害を与える必要があると考えられる。今後この肝硬変のモデルを肝発癌実験などに応用する場合、病変が可逆的であり、肝硬変を維持するためにはなんらかの肝障害物質の持続的処置が必要と思われることから、その物質の癌原性や物質間の相互作用などに十分な検討を加える必要があるものと考えられる。



CCl<sub>4</sub>およびEtOHの処置によりみられた肝硬変の組織像

清水 昭男<sup>1)・2)</sup>、原田 昌興<sup>1)</sup>、蟹沢 成好<sup>2)</sup> 1)神奈川がんセ、臨床研 2)横浜市大、病理

演者らは、これまで有機溶媒furfural( $C_4H_3OCHO$ )の長期経口投与により、ラット肝に例外なく肝硬変症類似病変を生じること、furfuralによる肝硬変症生成後には化学的肝発癌刺激に対し感受性の高まっていること等を報告してきた。また、本学会第2回学術集会に於て、furfural単回経口投与により肝に生じる急性変化は、散在性の肝細胞壊死と再生像であり、帯状壊死は見られないことを報告した。

今回我々は、よりヒト肝硬変症に類似したモデルを作成すべく、投与スケジュールに若干の変更を加え、併せてfurfural長期経口投与による実験肝硬変症生成の諸段階を経時的に観察し、ヒト肝硬変症生成過程との異同を検討したので報告する。

#### [材料と方法]

動物：静岡実験動物農業協同組合より購入したWistar/Slc4週齢SPF雄性ラットを、1週間の観察後実験に供した。1群あたり10匹の動物のうち、6匹には以下に示す方法でfurfuralを経口的に投与し、4匹は無処置コントロールとした。動物はいずれもSPF環境で飼育した。

投与方法：試薬特級furfural(和光純薬)をオートクレーブ滅菌したペレット飼料CRF-1(オリエンタル酵母工業)に平均に散布、混和し、1-2日密閉容器に貯蔵して十分浸透させたものを実験飼料として使用した。

投与量：実験第30日までは飼料1kgあたり20mlのfurfuralを添加した飼料を、それ以後は飼料1kgあたり30mlのfurfuralを添加した飼料を用いた。飼料は自由摂取とし、飼料の交換は連日行った。

投与期間：実験開始後15、30、60、90、120、および150日の各時点で各1群すなわち実験飼料を投与した動物6匹、無処置コントロール動物4匹の計10匹をエーテル麻酔下にて脱血屠殺した。

観察：肝重量を測定、10%リン酸緩衝中性ホルマリンにて固定後、各葉より最大割面を含む1片を採取し、通常の過程でパラフィン切片を作成した。標本はH.E.染色及びMasson-trichrome染色にて光顕的に観察した。

#### [結果]

全過程を通じて実験中に死亡した動物は無かった。いずれの群においても、体重は増加を示し、強い抑制は認められなかったが、furfural投与動物は無処置動物に比して体重増加の少ない傾向を示し、60日群を除いては危険率1%もしくは5%で統計学的有意差を認めた。一方、furfural投与動物の肝重量は無処置動物の肝重量より重い傾向を認めたが、統計学的有意差は認められなかった。肝重量/体重比は、全ての群においてfurfural投与動物が無処置動物よりも有意に大であった。

肝の変化は、肉眼的には90日投与群より認められ、尾状葉を主とした肝表面の一部が表面白色の粗大顆粒状外観を呈し、投与期間の増加とともにその程度および範囲が増大する傾向を示した。

病理組織学的には、30日投与群から既に軽度ながら門脈域の線維性拡大と胆管上皮様細胞の増生を認め、同時にpericellular fibrosisも見られたが、これらの変化はいずれも各葉間でその程度が異なり、尾状葉で最も顕著であった。90日投与群以後はこれらの変化がより増大し、porto-portal fibrosisを中心としたbridging fibrosisが出現し、特に変化の著しい部位では、porto-central fibrosisも見られた。いずれの変化も150日投与群でその程度は最も著明となり、尾状葉では明らかな偽小葉形成を伴っていた。他の葉では基本的に同様の変化は見られるものの、偽小葉形成にはいたらなかった。いずれの群においても、zonalもしくはmassiveな肝細胞壊死はみられず、肝実質細胞には若干の腫大およびわずかなsingle cell necrosisが見られるのみであった。

#### [まとめ]

Furfural長期経口投与により肝に生じる変化は、連続的な進行性過程であり、いずれの時期にあっても広範な壊死を伴わない。また肝/体重比の増加に見られるように肝細胞の増生を伴うものと考えられる。これらの点からfurfural実験肝硬変はヒト肝硬変症のモデルとして、特に肝硬変と肝発癌との関係を知るうえで有用であることが示唆された。

○柿沼千早, 米川仁朗, 松本俊治, 阿部 寛, 桑原紀之, 福田芳郎(順天堂大・医・一病)

ハロタンはヒトにおいて稀に激症肝炎を起すことで知られ, 発生機序に関する研究は多い。実験的にハロタン投与で誘発した肝病変の病理組織学的研究はいくつかあり, 石川は激症肝炎類似の病変を作成し報告している(順天堂医学1981, 27 (2) 133-146)。また現在までハロタン投与ラット肝障害についての組織化学的研究は無く, 今回ハロタン投与後の肝病変を,  $\gamma$ -GTP, ケラチンを中心に組織化学的に検討したので報告する。

#### <実験方法>

動物はSD系ラット(雌, 8週齢)を用いた。石川の方法に準じハロタンをオリーブ油に混和し20%(V/V)とし, 経口・皮下2経路に各1ml/200g体重, 計2ml/200g体重を20日間連日投与した。対照群として非投与群を設けた。投与終了後, 翌日, 3日後, 7日後に3匹ずつ解剖し, 血液生化学検査, 肝臓の組織学的検査及び組織化学的検査をした。組織化学的には $\gamma$ -GTP, ケラチン, Epithelial membrane antigen(EMA)を染色し, ケラチンの検討ではポリクロナル及び4種類のモノクロナル(KL-1, PKK-1, 2, 3)の5種類の抗体を使用した。

#### <結果>

##### 1. 血液生化学的所見

翌日解剖群において, GOTの増加とGPTの減少を有意に認めた。回復群に有意な変化は認められなかった。

##### 2. 組織学的所見

翌日解剖群では, 中心静脈周囲にリンパ球を主体とする炎症性細胞浸潤, 出血, 肝細胞の好酸性変性, single cell necrosis, 空胞変性及び類洞拡張を認めた。同様の変化は3日後解剖群にも認めた。また肝細胞の分裂像が, 小葉内に散在して小数認められた。7日後解剖群では炎症は目立たず, 中心静脈周囲の肝細胞の腫脹とグ氏鞘周囲のグリコーゲン蓄積が顕著であった。肝細胞の分裂像は翌日及び3日後解剖群に比し多く見られた。

線維化はいずれの群にも認められなかった。

##### 3. 組織化学的所見

##### 1) $\gamma$ -GTP

対照群及び翌日解剖群では胆管上皮細胞には活性が認められたが小葉内に活性は認められなかった。3日後解剖群では肝細胞の一部にも活性を認めた。7日後解剖群では小葉内に陽性肝細胞が散見された。肝細胞内での $\gamma$ -GTP染色動態は, 主として細胞膜及びその近傍が活性を示し数個の陽性肝細胞が巣を形成するものが多く, やや腫大した肝細胞が活性を示す傾向が見られた。

##### 2) ケラチン及びEMA

対照群において, ポリクロナルでは胆管上皮が強い陽性, 肝細胞が陰性を示し両者は良く区別された。PKK-1, 2, 3では胆管上皮が陽性, 肝細胞が一部弱陽性を示した。翌日解剖群において, モノクロナルケラチン及びEMAで陽性肝細胞が増加し, 中心静脈周囲において組織学的には障害の認められない肝細胞にも活性が見られた。3日後, 7日後解剖群では対照群とほぼ同様の陽性肝細胞数であった。

#### <考察>

ハロタン投与後GPTが減少する点については石川も同様の結果を得ており, 肝細胞の壊死の結果, 血中に逸脱すべきGOT・GPTが減少したためと述べている。

$\gamma$ -GTPは肝病態の診断に重要な1つの指標となっており腫瘍マーカーの1つでもある。また胆管の閉塞で増生した肝内胆管及びその周辺の肝細胞に活性を認めた報告もある。著者等は7日後解剖群において小葉内に散在する $\gamma$ -GTP陽性肝細胞巣を認めた。同時期は小葉内に肝細胞の分裂像が散見され炎症変性後の修復期と思われた。このことは,  $\gamma$ -GTPが肝細胞の再生に何らかの意味をもつことを示唆し, その生物学的意義解明の一助となるかと考え検討を進めた。

ケラチンは, 翌日解剖群において, 中心静脈を中心に組織学的には障害の認められない肝細胞にも陽性が見られ, 3日後, 7日後では対照群と同レベルに戻った。このことは光顕的に障害の認められない肝細胞においてもサイトスケルトンの変化が起こっていることを示唆し, また肝障害を判断する一手法となるかと考えるが, 詳細を理解するにはさらに検討する必要があると思われる。

○井上 智・二井愛介・洗 美穂・村井洋子・松沼尚史・藤原公策 (東大)

Tyzzer病は肝の多発性巣状壊死を特徴とし、肝細胞内偏性寄生菌を原因とするラット・マウスなどの感染症である。原因菌の肝細胞内増殖、壊死病変形成は絶食あるいは低蛋白飼料給与で抑制されるのに対して、肝部分切除あるいはCCl<sub>4</sub>投与によって増強されることが報告されており、菌増殖と肝細胞代謝活性との関連が示唆されている。DEN投与により出現したマウス肝におけるaltered cell fociとneoplastic nodulesに含まれる鉄陰性肝細胞内では菌増殖像がみられないことをさきの本学会で示したが、今回はDEN誘発の変異肝細胞のγ-GTP陽性を確認しつつ、Tyzzer菌増殖像の有無を観察した。

#### [材料と方法]

7週齢F344ラットを4群(A~D)に分け、A、B群にはDEN(100ppm)を飲水投与、C、D群はDEN非投与の対照として、4週間固形飼料(MF、オリエンタル酵母工業)で飼育、体重を測定した。実験開始後4週において、A、C群にはTyzzer菌RT株を $1\sim5\times 10^6$  静脈内接種、4日後に全例の後大静脈から全採血して、血漿GPT、GOT値を測定した。剖検して肝・脾重量を計測、心・肺・肝・脾・腎各組織を中性緩衝ホルマリンで固定、肝・腎組織は冷アセトン固定も行い、パラフィン包埋後2μm切片を作製、HE、PAS、Grocott染色、冷アセトン固定した肝・腎切片はγ-GTP染色を施して観察した。

#### [成績]

DEN投与(A、B)群では、非投与(C、D)群に比べ増体重が小さく、肝重量・肝体重比もより低値を示した。菌接種後4日間は体重、肝重量はほとんど変化しなかったが、剖検時において菌接種群の脾重量および脾体重比は菌非接種群より大きかった。肉眼的に肝壊死病巣はA、C群でのみ観察された。

殺処分時の血中GPT、GOT値は、A群:  $339\pm 192$ K.U. (GPT)、 $1,010\pm 805$ K.U. (GOT)、B

群:  $48\pm 8$ K.U. (GPT)、 $168\pm 27$ K.U. (GOT)  
C群:  $706\pm 119$ K.U. (GPT)、 $2,126\pm 285$ K.U. (GOT)、D群:  $69\pm 21$ K.U. (GPT)、 $196\pm 42$ K.U. (GOT) で、GPT、GOTとも感染(A、C)群は非感染(B、D)群にくらべて著しい高値を示したが、DEN投与のA群では非投与のC群にくらべてより低値を示した。

組織学的にはDEN投与(A、B)群全例でaltered cell fociが多数みられ、clear cell foci 39.1%、eosinophilic foci 28.9%、basophilic foci 3.3%、[clear+eosinophilic] foci 26.0%、[clear+basophilic] foci 2.5%、[eosinophilic+basophilic] foci 0.2%であった。

DEN投与のA群、非投与のC群間ではTyzzer菌による壊死病巣数にほとんど差がなかったが、C群の壊死巣はほぼ円形であったのに対して、A群において壊死病巣とaltered cell fociとの境界部では、不整形病巣が多かった。A、C両群ともに菌は主として壊死病巣周囲の肝細胞内に観察されたが、altered cell foci内の変異細胞、とくに eosinophilic fociで菌増殖像が観察された。肝以外の臓器には著変がなかった。

#### [考察]

DEN4週連続投与ラットでは肝に多数のaltered cell fociが形成されたが、Barbason(1979)の成績と同様、neoplastic noduleはみられなかった。さきにマウスで報告したと同様に、ラットでもaltered cell fociでの菌増殖像は正常肝にくらべて顕著でなく、また、DEN投与群では肝壊死巣進展の指標となるGPT、GOT値が低かったことから、DEN投与ラット肝は菌増殖に好適ではないと考えられた。しかし、ラットではγ-GTP陽性を示したaltered cell fociにおいても菌増殖像が若干みられたことが注目された。

○ 井上忠志<sup>1</sup>, 森貞信也<sup>2</sup>, 福井 優<sup>2</sup>, 加藤暉成<sup>1</sup>, 山田宏彦<sup>1</sup>, 宮本純之<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup>住友化学・宝塚総研・安全研、<sup>2</sup>住友製薬・研)

各種抗生物質投与により腸内細菌が変動することはよく知られている。Aclacinomycin A (ACL) は土壌放線菌 *Streptomyces galilaeus* の培養液より抽出されたアンストラサイクリン系抗腫瘍性抗生物質である。アンストラサイクリン系化合物の毒性については一般的に心臓に対する影響が知られており、ACL についてもハムスターの心臓に対する作用が報告されている。今回、ACL のマウス心臓に対する影響を検索する目的で行った実験中、心臓に及ぼす病理組織学的影響はほとんど認められなかったが、肝臓に腸内細菌の移行によると考えられる細菌増殖巣（肝膿瘍）の発生を観察したので報告する。

#### <実験材料及び方法>

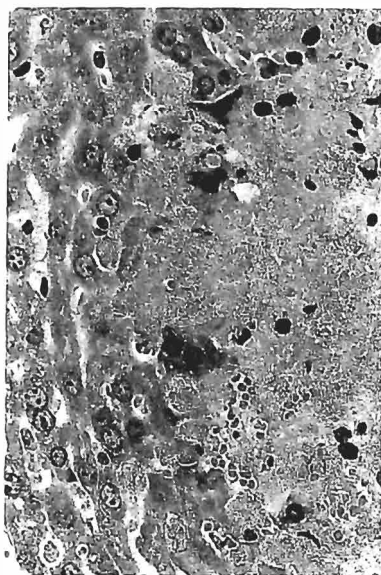
4週令の BDF1 系雄性マウスに ACL の 15, 22.5 および 30mg/kg をそれぞれ一回静脈内投与した。投与後 1, 2, 3, 4, 6 および 8週目に各群 4 匹を屠殺し、肝臓を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定後ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、光学顕微鏡的に観察した。

#### <結果>

ACL の 22.5 および 30mg/kg 群では投与後 1 週目より肉眼的に白色病巣の発生が認められた。光顕的にはこの白色病巣に一致して、肝細胞の壊死および細菌（桿菌）の増殖が認められた。この病巣はマクロファージや好中球の遊出および線維化により修復されたが、比較的大きな病巣ではその修復が遅く、8 週目においても膿瘍の残存がみられた。8 週目までにこれらの変化を認めた動物数は、15mg/kg 群で 2/24 例、22.5mg/kg 群で 17/24 例および 30mg/kg 群で 11/14 例であった。投与後 2 週目の病巣部からの細菌培養により大腸菌が検出された。

#### <考察>

消化管内の細菌が他臓器へ移行する細菌転移は、宿主動物の免疫学的活性や腸内細菌数の大小によって左右される。ACL はグラム陽性菌に対して強い抗菌作用を有し、また骨髄障害作用により白血球減少を起こすことが知られている。そこで、ACL 耐性の大腸菌が免疫力低下状態で肝臓に移行し、肝細胞障害作用を発揮したのと考えられた。なお、大腸菌の移行経路については血流、リンパ流あるいは胆道経路が考えられるが、一部の動物で検索した肺や脾臓に細菌塊がほとんど認められなかったことにより、胆道經由すなわち十二指腸から胆管を經由して上向性に移行したのと考えられた。



○小泉治子・森田晴夫・須永昌男・渡辺満利（実中研・前臨床医学研究所）

目的：プロバネキシン（BR222）は、ブロムヘキシン（BRH）と同様に平滑筋弛緩作用を有し、去痰剤として開発が進められていた薬物である。ビーグルにおける13週間経口投与毒性試験において、投与4週以降に血清アルカリホスファターゼ（ALP）が上昇したが、その他の項目に変動はなく、肝にも組織学的変化はなかった。また、ALPの上昇は投与4週からみられ、投与の継続に伴って増強する傾向がなかった。このような血清ALPは上昇するがその他の項目には変動がなく、また肝にも組織学的変化がほとんどみられないことは、薬物を連続投与したビーグルで時々みられる現象である。薬物投与によるこのようなALPの上昇が、胆汁排泄障害に関連したものと否かを明らかにするために、胆汁量を増加させることが知られているフェノバルビタール（PB）および利胆作用を有するデヒドロコール酸（DHC）をBR222に併用投与し、ALPの上昇および肝組織に及ぼす影響を検索した。

実験方法：動物は12か月齢のオスのビーグル15頭を用い、次のような5群を設けた。I群：BR222（300→1000mg/kg）、II群：BRH（300mg/kg）、III群：BR222+DHC（300→1000mg/kg+30→60mg/kg）、IV群：BR222+PB（300→1000mg/kg+25→50mg/kg）、V群：PB（25→50mg/kg）。投与は9週間行い、各群2頭を投与終了時に剖検し、各群の他の1頭をその後5週間無処置飼育し回復試験例とした。投与前および投与後1週毎に血液生化学的検査を行った。全例について投与前に、また回復試験例については投与終了時に肝生検を行い、投与および回復期間終了時に剖検した。生検および剖検で得た肝について、組織化学染色ならびに光顕および電顕による組織病理学的検査を行った。また、剖検時には肝組織中のALP、 $\gamma$ -GT、LAP、5'-Nなどの酵素活性を測定した。

結果と考察：BR222群、BRH群およびBR222+DHC群ではALPが投与2、3週にわずかに上昇し、4週以降は投与終了時まで中等度に高値であった。PB群では1、2週

に軽度に、3週以降は中等度に上昇した。これらに対し、BR222+PB群では3日後にはALPが中等度に上昇し2週には著しく高値となり、その後上昇は次第に増強した。この群は、4、5週に瀕死となり剖検された。同群では、肝組織中のALP活性が著しく増加していた。また、血清中のGPTが上昇し、肝には胆汁栓がみられ、肝細胞の網状壊死が散見された。胆汁量を増加させるPBの同時投与によってBR222の血清ALPの上昇は増強され、またその上昇もPB単独投与よりも強かったこと、さらには肝に胆汁うっ滞性の障害像がみられたこと、胆汁酸が肝におけるALPの生成を促進させることが知られていることを考え併せ、BR222の投与による血清ALPの上昇は、肝における胆汁量増加によりALPの生成が亢進した結果によるものと考えられる。



# ビーグル犬における貧血と肝細胞壊死

11

○堺 俊治, 藤本隆平, 吉田 哲, 花田貴宣, 三木壽雄, 野村靖夫\*  
(山之内製薬(株)安全性研究所, \*麻布大学獣医病理)

虚血によってもたらされた酸素不足によって肝に小葉中心性の肝細胞壊死が起こることは広く知られており, またこのことは, 肝への血流を一時的に遮断した実験でも証明されている。

化合物の毒性試験において, 各種の臓器組織に各種の変化が観察されるが, 肝における小葉中心性肝細胞壊死もその一つである。その原因として次の三つが考えられる。即ち, (1) 化合物の肝細胞への直接作用, (2) 化合物によって引き起こされた貧血が引き金となって酸素不足を来し, 肝細胞壊死に到る場合, そして(3) 両者が複雑に入り組んだケース, である。(2)あるいは(3)の場合に, 貧血の関与は知られていても, その貧血の程度についてはほとんど判っていないのが実情で, 先に著者らが実施したラットの実験(1987)においては, 小葉中心性肝細胞壊死はヘマトクリット値で見ると, その値が20%以下にならないと認められなかった。しかし, 実験条件が異なるためか, 10%前後の貧血を来しても肝組織には著変がなかったという報告(宮崎ら, 1971)もある。

著者らは, 肝細胞壊死と貧血の関係について研究をすすめているが, 今回はビーグル犬について検討した結果についてその概要を報告する。

## 実験材料および方法

### 1. 実験動物

4頭のビーグル犬(LRE社より購入, 雌, 13-20カ月齢, 体重 9-10Kg)を使用した。飼料は1日300gを与え, 水は自由に摂取させた。

### 2. 採血

体重の1-2%に相当する量を前腕静脈から6週間に亘ってほとんど毎日採取した。

### 3. 検査項目

#### 1) 血液学的検査

抗凝固剤としてEDTA-2Kを用い, 週一回, 次の項目を検査した。

赤血球数, ヘマトクリット値, 網状赤血球数

#### 2) 血漿生化学的検査

抗凝固剤としてヘパリンを用い, 週一回, 次の項目を検査した。

GOT, GPT, アルカリフォスファターゼ(ALP), 尿素窒素, グルコース, 総蛋白, コレステロール, アルブミン

#### 3) 病理検査

4週および6週で各2頭を解剖し, 主要臓器を秤量後, 諸臓器, 組織をリン酸緩衝10%ホルマリン液に固定した。その後, 肝について常法通りにパラフィン切片を作り, HE, PAS, トリクローム染色を施して鏡検した。

## 実験結果

### 1. 血液学的所見

赤血球数およびヘマトクリット値ともに, 最初の1-2週間で激減した(Fig. 1)が, その後は著明な変化がみられなかった。一方, 網状赤血球数が反応性に2週目より増加し, 20-30%に達した。

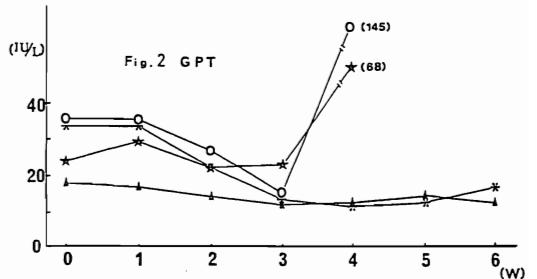
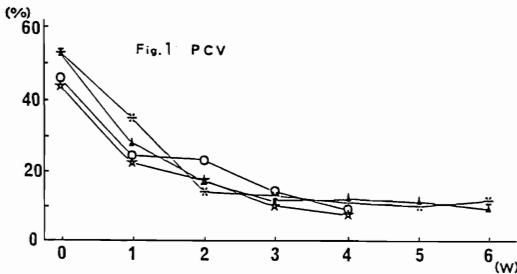
### 2. 血漿生化学的所見

4週目にGOT(1頭), GPT(2頭, Fig. 2), ALP(2頭), 尿素窒素(2頭)が上昇し, 6週目に各1頭でALPと尿素窒素が上昇したが, いずれも軽度な変化であった。コレステロールが1頭で4週まで減少傾向を示したが, 他の動物には変化がなく, アルブミンにも大きな変化がみられなかった。グルコースは, 試験期間を通じて上昇する傾向にあった。

### 3. 肝の病理組織所見

4週で, GPTが増加して解剖した2頭で小葉中心性-中間帯に肝細胞壊死が認められた。内1頭は明瞭な凝固壊死巣が各小葉に見られ, その周辺部に軽度の脂肪沈着が認められた。いずれにも細胞性反応はほとんどなく, 線維の増生も見られないことから比較的新しい変化であり, イヌでも, ヘマトクリット値が20%以下になると肝細胞壊死が認められるが, その出現には約4週間を必要とすることが示唆された。

6週で解剖した動物の1頭は小葉中心性に脂肪沈着があり, また小壊死巣を散見したが, 他の1頭には著変がなかった。



○上田忠司、平井圭一（金沢医大・解剖）

## （目的）

芳香族炭化水素化合物のbromobenzene(BB)は肺の終末細気管支上皮のClara細胞を選択的に障害し、滑面小胞体(SER)の膨化、空胞化を引き起こすことにより壊死させることが見出された(Ueda & Hirai: J. Electr. Microsc. 34: 218, 1985; Forkert et al.: Can. J. Physiol. Pharmacol. 63: 1480, 1985)。今回、cytochrome P-450の阻害剤SKF525-Aを用いて肺に於るBB毒性の作用機序を検索した。さらにBB投与によるClara細胞壊死後の細気管支上皮の再生機序を検索した結果、従来からのClara細胞が線毛細胞の前駆細胞であるという説に対し、反対に線毛細胞がクララ細胞に変化し得ることを明らかにした。

## （方法）

JCL: MCH(ICR)多元交配系SPF雄マウス(6週齢)を用いた。①BB投与群では、トウモロコシ油で希釈したBB(4.85 mmol/kg)を腹腔内1回投与し、6時間～8日後に屠殺した。②SKF-BB群では生理食塩水に溶解したSKF525-Aを25～75mg/kgの割合で1回腹腔内前投与し、2時間後にBBを1回投与、12時間～24時間後に屠殺した。③SKF525-Aを上記の割合で再投与した群をSKF-BB-SKF群とし、その12時間後の変化を観察した。対照として、④無投与群と⑤SKF525-A単独投与群を用いた。肺の固定は、気管より2.5% glutaraldehyde (0.1M リン酸緩衝液、pH 7.4)を注入し、1%四酸化オスミウム(0.1M Veronal 緩衝液、pH 7.4)後固定、0.5%酢酸ウラニルによる3重固定を実施した後、型の如く脱水包埋し、顕微鏡下で観察した。

## （結果）

①BB投与群では12時間後、Clara細胞のSERが膨化、空胞化し、24時間後基底膜より剥離した。一方、線毛細胞は無傷のままであった。②SKF-BB群では、25～50mg/kgのSKF525-Aは12～24時間後のBBによるClara細胞の障害を抑制しなかった。これに対し、SKF525-A 75mg/kg投与12時間後、一部のClara細胞にSERの膨化が認められるもの

ほとんどは正常であった。しかし、24時間後に多くのClara細胞に障害が生じ壊死した。③SKF-BB-SKF群では、SKF525-A 25mg/kgでBB障害の抑制効果はみられず、50mg/kgでは空胞化した細胞はあるものの無傷のClara細胞が混在した。それに対し、75mg/kg再投与群ではClara細胞はほとんど無傷のままで細気管支を構成した。④無投与群は正常形態を示した。⑤SKF525-Aの25～50mg/kg単独投与ではClara細胞に何ら変化が認められなかった。しかし、75mg/kg群ではClara細胞の空胞化がみられた。⑥①のBB投与群の24時間以後を観察すると、Clara細胞の脱落后、無傷で残存した線毛細胞が平坦化し細気管支表面を覆い、線毛を消失した。これらの細胞群は未分化な形態を呈したが、その中に夥しいSERをもつ無線毛細胞が出現し、時に短い線毛や基底小体の遺残とSERとを同時に有することが観察された。この細胞は8日後には明らかにClara細胞となり、正常の細気管支上皮を再生した。

## （考察と結論）

SKF525-Aは肝臓ミクロゾームのcytochrome P-450を非拮抗的に阻害し、BBの肝障害を抑制するという。肺Clara細胞に多くのcytochrome P-450が局在することが報告されており、同様の機序でBBの肺障害が起こることが強く示唆された。又、Clara細胞が線毛細胞から分化再生することが明らかになった。一方、NO<sub>2</sub>による肺障害では線毛細胞が壊死し、Clara細胞から分化再生すると言われている(Evansら: Lab. Invest. 35: 246, 1976)。これらのことから、細気管支上皮では両細胞が相互に移行分化する可能性が示唆された。(科学研究費補助金61270019)

(SKF525-AはSmith Kline & French Laboratories, Philadelphia, PAとスミスライオン・藤沢株式会社、東京から恵与された。)

○原田隆彦<sup>1</sup>・長根万律子<sup>2</sup>・桐沢朋子<sup>2</sup>・畑中純<sup>2</sup>・榎本真<sup>1</sup>(<sup>1</sup>日獣大・<sup>2</sup>日特農・<sup>3</sup>安評センター)

ナフタレン(NP)のマウス肺障害はその標的細胞が細気管支上皮細胞、特にクララ細胞であることが知られている。また細気管支上皮細胞の障害により肺P-450が減少することも知られている。今回NP投与によるマウス細気管支上皮細胞の障害像と肺P-450値の経時変化さらに毒性学的指標として肺重量、肺洗浄液中のLDHおよび細胞数について検索したので報告する。

#### 〔実験方法〕

ICRマウス(雄5~6週令)にNP 2 mmol/kgを腹腔内1回投与後0(対照群)、2、4、6、12、24時間2、7、14日で形態学的検索(光顕、電顕)肺重量測定、肺洗浄液採取に各5匹づつ、さらに投与後0、2、4、6、24時間でP-450測定に各40匹づつ屠殺し各検索用に供した。形態学的検索:光顕用標本は中性緩衝ホルマリン液を、電顕用標本は2.5%グルタルアルデヒド液を麻醉下で気管より注入固定し、常法に従って各々標本を作製した。肺重量:肺の各葉を気管支より離断し重量を測定し体重比重量で示した。

肺洗浄液:麻醉下で生理食塩水を気管から注入して肺洗浄液を採取し、遠沈後上清はLDH活性の測定に、沈査は細胞数測定用に供した。

肺P-450:マイクロゾーム分画を調製しascorbate-PES法で測定した。

#### 〔結果〕

光顕観察:投与後2時間でクララ細胞の腫大が観られ、4時間で腫大、変性、6時間で壊死、およびクララ細胞の剥離が観察された。投与後12時間で剥離が著しく、24時間で腔内にdebrisが多量に認められた。また線毛を持った扁平な細胞の出現が観察された。投与48時間では扁平な細胞の増生が観られた。投与7日以降ではほぼ完全な回復を示した。

電顕観察:投与後2時間でクララ細胞は腫大を呈し滑面小胞体の著明な増生が観られた。またrod状あるいは円形の空胞を形成する細胞が観られた。4時間では滑面小胞体の増生はさらに顕著となり核上部の細胞質を占めていた。一方、空胞も増加、増大の傾向を示した。6時間では空胞化による泡沫状細胞が出現し、腔内にも認められた。これら剥離した細胞は投与後12時間をピークに48時間まで観られた。また滑面小胞体からなる渦巻き状あ

るいはミエリン状の構造物が形成された。投与後12時間では渦巻き状構造の増加、増大に加え、遊離面に線毛を持つ扁平な細胞が出現し、24時間では細気管支内壁を扁平な細胞で構成する部位も認められた。48時間では遊離面にビリーあるいは線毛を持つ立方から円柱状の細胞が観られ、分裂像も散見された。投与後7日以降は対照群との差異は認められなかった。

肺重量:投与後24時間で若干の増加を示した。しかしその他は対照群とほとんど差異を示さなかった。

肺洗浄液:LDH活性は投与後6時間から上昇を示し12時間でピークに達しその後2日まで認められたが7日以降は対照群と差は示さなかった。細胞数は投与後12時間をピークに2日まで増加傾向を示した。

肺P-450:投与後2時間から増加が認められ、4時間では顕著な増加を示した。6時間で増加は軽度なものになり24時間では逆に著しい減少が認められた。

#### 〔考察〕

NP単回投与によるマウス肺の障害が細気管支のクララ細胞で、その微細形態学的初期変化は滑面小胞体の増生であった。また同時にこの変化に対応して肺P-450の増加が顕著に認められ、さらにクララ細胞が変性、脱落するに伴って肺P-450が著しく減少した。このことは肺における薬物代謝の場が主としてクララ細胞にあることを考えると興味ある知見であった。

また肺毒性の指標としての肺重量は肺上皮細胞を障害するBHTやTEP等と異なり明らかな変化は示さなかった。肺洗浄液中のLDH活性は一般に肺障害の指標とされているがNP投与マウスにおいても初期の適応現象時では変化はないが12~24時間では著しい上昇を示し形態学的観察と一致した。また細胞数もLDH活性と同様に障害像の消長に一致する結果を示し、これら肺洗浄液を用いた検索が短期肺毒性スクリーニングでの簡便な方法の一つであることが確認された。

研究協力者:鈴木謙二、佐竹聖人、上沼幸雄

N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine(BHP)誘発ラット肺病変における glutathione S-transferase placental form(GST-P)と  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase( $\gamma$ -GT)活性  
 ○山本一彦、中島 啓、榮本弘行、横瀬喜彦、小西陽一 (奈良医大・がんせ・腫瘍病理)

BHP は、ラットに投与すると高率に肺癌を発生せしめることは知られている。今回、我々は、BHP により誘発された肺病変について GST-P 及び  $\gamma$ -GT 染色を行い、その染色性について検討した。

動物は6週齢 Wistar系雄ラットを用い、次の3群を作製した。第1群は2000ppm BHP 含有飲料水を12週間投与し、直ちに屠殺した群、第2群は2000ppm BHP 含有飲料水を12週間投与し、その後水道水にて12週間飼育した後屠殺した群、第3群は2000ppm BHP 含有飲料水を20週間投与し屠殺した群とした。

誘発された肺病変は、bronchiolo-alveolar hyperplasia(H)、adenoma(A)、adenocarcinoma(AC)、squamous metaplasia(SM)、squamous cell carcinoma(SCC)であった。各病変の発生

頻度と染色性については、それぞれ表1、2に示す。各病変の染色性は、病変全体が染色されるものを陽性(+)、一部のみ染色されたものを一部陽性(±)、全く染色されないものを陰性(-)と判定した。各病変の染色をみると、いずれの群においてもSM、SCCはGST-P 陽性、 $\gamma$ -GT 陰性であった。H、A、ACでは、いずれの群においても大部分のものはGST-P 陰性であった。一方、 $\gamma$ -GT 染色では、H、A、ACの順に $\gamma$ -GT 陽性病変の割合が増加する傾向がみられた。各群の比較では、Hにおいて第3群の $\gamma$ -GT 陽性病変は第1群に比して有意に増加していた。

次に、H、A、ACにおける $\gamma$ -GT 活性をさらに詳細に検索する目的で、各病変に占める $\gamma$ -GT 陽性部分の面積をcolor image analyzer をもちいて測定し、 $\gamma$ -GT %陽性率として表した。その結果(図1)、 $\gamma$ -GT %陽性率は、H、A、においてBHPの投与期間に依存して上昇する傾向がみられた。特に、第3群のHは第1、2群に比して有意に上昇してた。

以上の結果より、GST-PはSCCの指標に、 $\gamma$ -GTはACの指標となることが判明した。又、 $\gamma$ -GT %陽性率の高いHとAはACへと進展する可能性のあることが示唆された。

表1

Incidence of Lung Lesions in Rats Given BHP<sup>0</sup>

Effective Group	number of rats	Incidence of lung lesions (%)				
		Hyperplasia	Adenoma	Squamous metaplasia	Squamous cell carcinoma	
1	13	10(77)	1(8)	0(0)	9(69)	0(0)
2	22	14(64)	4(18)	3(14)	11(50)	5(23)
3	7	6(86)	5(71) <sup>b</sup>	3(43)	6(86)	5(71)

a: Evaluated histologically.  
 b: Significant in comparison with groups 1 and 2, p<0.05.

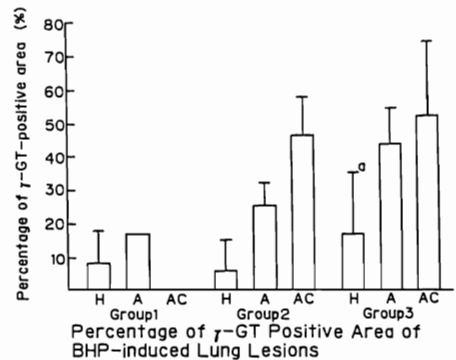
表2

Incidence of GST-P and  $\gamma$ -GT Staining in BHP-induced Lung Lesions

	No. of lesions examined	GST-P activity (%)			$\gamma$ -GT activity (%)		
		-	±	+	-	±	+
<b>Hyperplasia</b>							
G 1	35	27 (77)	6 (17)	2 (6)	23 (66)	10 (28)	2 (6)
G 2	46	42 (91)	4 (9)	0 (0)	33 (72)	6 (13)	7 (15)
G 3	21	20 (95)	1 (5)	0 (0)	8 (38)	6 (29)	7 (33) <sup>a</sup>
<b>Adenoma</b>							
G 1	1	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
G 2	4	3 (75)	0 (0)	1 (25)	2 (50)	0 (0)	2 (50)
G 3	13	12 (92)	1 (8)	0 (0)	2 (15)	4 (31)	7 (54)
<b>Adenocarcinoma</b>							
G 1	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
G 2	3	3 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (33)	0 (0)	2 (67)
G 3	7	4 (57)	2 (29)	1 (14)	1 (14)	2 (29)	4 (57)
<b>Squamous metaplasia</b>							
G 1	10	0 (0)	0 (0)	10 (100)	10 (100)	0 (0)	0 (0)
G 2	13	0 (0)	0 (0)	13 (100)	13 (100)	0 (0)	0 (0)
G 3	15	0 (0)	0 (0)	15 (100)	15 (100)	0 (0)	0 (0)
<b>Squamous cell carcinoma</b>							
G 1	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
G 2	5	0 (0)	0 (0)	5 (100)	5 (100)	0 (0)	0 (0)
G 3	8	0 (0)	0 (0)	8 (100)	8 (100)	0 (0)	0 (0)

a p<0.05 compared with group 1.

図1



a: Statistically significant compared with hyperplasia in group 1 (p<0.01) and in group 2 (p<0.001)

○今井 清、吉村慎介、畔上二郎、斉藤義明

山口 肇、関 剛幸、米屋浩子、加藤満利子 (食薬安全センター・秦野研)

抗癌剤あるいは免疫抑制剤として古くから用いられている cyclophosphamide の毒性として、しばしば血液毒性、膀胱毒性が報告されており、肺に対しても毒性を示すことが明らかにされている。しかしながら、腎特に糸球体に対する毒性については、ほとんど報告がなく、新生仔マウスに投与すると糸球体の発育障害が起こることを示唆する報告が認められるにすぎない。

今回、我々は cyclophosphamide の連続投与により、肺性心を伴った著明な肺の血管障害と、腎糸球体障害が惹起されることを見出したので報告する。

実験には、4週齢でチャールス・リバー社より購入した Sprague-Dawley 系ラットを使用し、全実験期間を通して室温  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 5\%$  に調節されたバリアーシステムの飼育室内で、標準飼育用固形飼料 CE-2(日本クレア) および水道水を自由に摂取させて飼育した。

## (実験 I)

5週齢の雌雄各々1群 20匹からなる群を設け、1群を対照群とし、他の1群には cyclophosphamide (CX) を蒸留水に溶解し、 $5.5 \text{ mg/kg}$  の割合で1日1回3ヵ月間連続腹腔内投与し、残りの1群には  $0.5 \text{ mg/kg}$  を同様に3ヵ月間連続腹腔内投与した。実験期間中雌の  $5.5 \text{ mg/kg}$  投与群の10例、同群の雄7例が死亡したので、生存例のうち各々6例および7例を、また対照群および  $0.5 \text{ mg/kg}$  投与群では各々12例を投与終了時に屠殺剖検し、各群とも残りの例については9週間にわたり薬物の投与を休止して、回復性を検討した。

$0.5 \text{ mg/kg}$  投与群では、投与期間中に死亡した雌10例、雄7例のほか、休薬期間中にも雌2例、雄1例が死亡したが、これらの死亡例いずれにも、貧血、鼻出血、立毛、血便があり、消瘦、体温低下、呼吸速迫が著明となって死亡した。これらの死亡例のうち雌の3例には顔面より胸部にわたる著しい浮腫も認められた。

死亡例の病理学的所見として腎には糸球体メサンギウム領域の著しい肥厚と核の腫大を伴った糸球体上皮細胞の膨化が認められたほか、雄の2例に広範な尿管上皮細胞の萎縮、再生像も観察され、PAP 法による免疫組織

化学では、肥厚したメサンギウム領域に IgM、IgG の沈着が認められた。一方、肺は開胸時の収縮性が著しく低下して斑状ないし点状出血が多数観察され、組織学的には肺胞壁の浮腫性あるいは線維性肥厚があり、肺胞内に風船状に膨化した泡沫状細胞が多数認められ、軽度の肺水腫と限局性の無気肺も観察された。さらに一部の例では肺動脈壁の肥厚、血栓形成を伴った多発性動脈炎ないし動脈周囲炎も認められ、比較的長い経過をとって死亡した例では胸腔内に漿液性あるいは血性の胸水の貯留があり、右心室の著しい求心性肥大も認められた。

$5.5 \text{ mg/kg}$  を3ヵ月間連続投与したのち、屠殺剖検した例においても同様の糸球体病変あるいは肺胞の変化が観察されたが、肺動脈に変化は認められなかった。9週間にわたり休薬を行った例では、全例に右心室の求心性肥大があり、一部の例では腎糸球体メサンギウムの肥厚も観察されたが、その他に著変は認められなかった。

なお、 $0.5 \text{ mg/kg}$  投与群では肺、腎ともに著変は認められなかった。

## (実験 II)

5週齢の雄 34匹を2群に分け、1群を対照群として生理的食塩水を、また他の1群には生理的食塩水に溶解した CX を  $5.5 \text{ mg/kg}$  の割合で、いずれも1日1回連続投与し、投与開始後3日目、7日目、21日目、35日目、44日目、84日目、98日目に、各々群から2~3匹を選出して屠殺剖検し、肺についてはグルタールを肺胞内に注入して固定し、腎についてはグルタールを灌流固定したのち、電顕的に観察した。

その結果、肺では、7日頃から、肺胞II型細胞のミトコンドリアの膨化、水腫様膨化が目立つようになり、肺胞内にも多数の脱落したII型細胞が観察されたほか、肺胞毛細血管あるいは小動脈内にフィブリン血栓も認められた。一方腎では44日目頃から糸球体毛細血管内皮細胞下に不定型あるいは細線維状の物質の沈着が見られはじめ、糸球体毛細血管の狭窄、閉鎖も認められたほか糸球体上皮細胞(たこ足細胞)の膨化、癒合も認められた。

## アドリアマイシン腎毒性の発現とその進展に関する 酵素組織学的研究

○佐藤秀隆・豊田和弘・古川文夫・岡宮英明・下地尚史・長谷川良平・高橋道人・林 裕造 (国立衛試・病理)

アドリアマイシン(ADR)は、白血病, lymphoma, その他の固型腫瘍の治療薬として広く用いられている。その抗腫瘍作用は、DNAにインターカレートして DNA-RNAポリメラーゼ活性を阻害し細胞機能を低下させることによるとされている。副作用としては心臓, 腎臓, 消化管などの障害を引き起こすことが知られている。ADRの腎臓に対する障害はBertazzoliらが報告して以来、その発生機序に興味を持たれているが、発生機序に関してはいまだ不明である。今回、我々はADRの腎毒性、特にその進展に伴って生じる腎臓の酵素の変化について組織化学的に検討した。

### 実験方法

50日齢のSprague-Dawley系雄ラットを日本チャールズリバー社より購入してバリヤースシステムの動物室にて飼育し、飼料は日本チャールズリバー社製の固型飼料CRF-1を用い、飲料水は水道水を与え、実験期間中自由に摂取させた。ADRは、協和発酵工業より購入し、生理食塩水に溶解した後、8mg/kgの用量で尾静脈より一回投与した。投与後、6時間目に2匹、1,2,4,8,16,32日目に各3匹ずつ屠殺した。対照群には生理食塩水を0.6ml投与し、1日及び32日目に各2匹屠殺した。腎臓は四分し、各々10%緩衝ホルマリン、アセトン、1.5%グルタルアルデヒド固定し、残りは凍結切片を作成した。ホルマリン固定したものは、常法どおりパラフィン包埋し、薄切片をH&E, PAS, PAM染色し観察した。また、腎糸球体の陰性荷電の変化を知るためアルシアン青染色(pH2.5), コロイド鉄染色を行った。アセトン固定標本については、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ( $\gamma$ -GTP), アルカリフォスファターゼ(ALP)染色を行った。1.5%グルタルアルデヒド固定標本は常法通り、凍結切片は酸フォスファターゼ反応後常法に従ってエボン樹脂包埋し、超薄切片を電子顕微鏡にて観察した。

### 結果

ADR投与動物は、対照群に比べて著しい体重増加の抑制が認められた。肉眼的に、腎臓は8日目までは著変を認めなかったが、16日目以降腫大して淡褐色を呈し重量も増加した。この時、唾液腺, 膵臓, 皮下に浮腫を認め、腹腔内には透明な腹水が少量存在し、血清は乳び様を呈した。

病理組織学的には、投与後4日目に腎糸球体上皮細胞内にPAS陽性顆粒が認められ、この変化は時間の経過とともに

にその数と大きさが増加した。投与後8日目以降では、糸球体上皮細胞の膨化・剝離、尿管の拡張、尿管上皮細胞の扁平化と細胞内へのPAS陽性顆粒の出現、PAS陽性尿管柱の出現、拡張部の尿管上皮細胞の分裂像などが認められ、さらに、糸球体構造の破壊、ボーマン氏嚢と糸球体血管壁との癒着、ボーマン氏嚢及び尿管基底膜の肥厚、さらに尿管の萎縮へと進行した。しかし、糸球体基底膜の肥厚・剝離はなく、メサンギウム細胞または基質の増加などは実験中を通して認められなかった。糸球体血管壁のアルシアン青およびコロイド鉄染色性の低下は4日目より認められたが、糸球体障害の進展に従って減少した。超微形態学的には、投与4日目より糸球体上皮細胞の足突起の融合がみられ、障害の進展にしたがって小胞体の拡張、電子密度の高い顆粒の増加などが認められた。また酸性フォスファターゼ活性を示す顆粒の増加がみられた。

酵素組織化学的には、近位尿管刷子縁の $\gamma$ -GTP, ALP活性, PAS染色性は、尿管の拡張・萎縮が著明な部位で著しく減少した。また、尿管基底膜側に認められたALP活性は病変部位では消失し、一部の尿管柱にALP活性,  $\gamma$ -GTP活性を認めた。

### 考察

ADR投与による糸球体障害の発生原因としてはBertaniらの糸球体基底膜の陰性荷電物質の減少説やMichelsらのsize selective filterの機能不全説、その他に免疫複合体の関与などが想定されている。ADRを投与した動物の腎糸球体アルシアン青及びコロイド鉄染色性は、糸球体病変の進展に伴って低下を示し、また、同一腎標本内でも糸球体病変の著しい部位ほど著明な減少を認めた。この結果は、陰性荷電物質の減少説を支持するものと考えられる。

ADR投与によって組織化学的に近位尿管刷子縁のALP,  $\gamma$ -GTP活性の減少が、更に尿管柱中にALP,  $\gamma$ -GTP活性が認められた。このことは、近位尿管刷子縁または血清に由来する酵素が尿中へ逸脱していることを示唆していると考えられた。また、拡張部尿管で、ALP活性、Na-K ATPase活性が低下することは他の薬物において既に報告されており、ADR投与でみられたALP,  $\gamma$ -GTP活性の低下は、尿管の拡張に伴う上皮細胞の非特異的な変性の結果であると考えられる。

原田 昌興、清水 昭男（神奈川がんセ・臨床研） 川村 公一（秋田大・2 病理）

速効性bipyrimidium系除草剤として汎用されている農薬paraquatの肺に対する毒性については、多くの研究報告がみられるが、臨床例・剖検例の報告に散見される急性腎不全についての実験的検討は未だ十分に成されていない。我々は、paraquatの毒性についての実験的検討に際して、その腎毒性発生機序に関する興味ある知見を得たので報告する。

#### 〔材料及び方法〕

Sprague-Dawley 系成熟雄ラット（6-8週令、平均体重 240gm）80匹を使用、生理的食塩水に溶解した paraquat (5mg/ml) を 20-40mg/kg 宛尾静脈より1回投与し、対照群には生理的食塩水のみを投与した。投与後 経時的に6時間、12時間、24時間、2日、3日、5日、7日、10日、16日、28日目に、それぞれ 3-5匹ずつエーテル麻酔下にて瀉血屠殺し、光頭的、透過及び走査電頭的に検索した。光頭標本には、型通り10%ホルマリン固定組織を、電頭材料としては腹部大動脈より3%グルタルアルデヒド溶液で灌流固定した腎組織を用いた。

#### 〔結果〕

Paraquat投与後12時間目より、40mg/kg 投与群では、著名な動作緩慢、内眼角部の軽度出血性分泌等がみられ、24時間以後では一部に血尿を認めた。腎は、各群共に混濁腫脹、うっ血を示し、2日目及び3日目群では一部に微小出血斑の点在する例がみられた。

組織学的所見：投与後6時間では光頭的、電頭的に殆ど変化は認められなかったが、12時間以後には近位尿細管上皮の不規則な空胞形成、巨大糸球体の出現、顆粒状変性などが散見された。遠位尿細管には少数の好酸性蛋白円柱を認めた。24時間群では近位尿細管変性はより広範に見られ、糸球体は充血が目立ち、ヘンレ係蹄内腔には変性剝脱上皮が散見され、内腔の拡張傾向が見られた。48時間群では尿細管上皮の空胞状腫大変性が遠位尿細管上皮にも目立ち、内腔の閉塞像も認められた。近位尿細管には蛋白成分の円柱状ないし滴状貯留が見られ、ヘンレ係蹄、集合管は拡張傾向を示した。糸球体の充血、間質毛細血管のうっ血も高度で、Bowmann腔内

にはしばしば蛋白成分の滴状凝固物の貯留、糸球体毛細管係蹄内の微小線維素血栓の形成を示す例がみられた。葉間動脈、弓状動脈などでは、中膜平滑筋細胞の空胞変性、周核空胞形成、核配列の乱れ（立ち上がり）、血管周囲の水腫性変化等が見られた。電頭的には、糸球体上皮細胞表面から、多数の異常な微絨毛の突出が認められた。

Paraquat 20-30 mg/kg投与群では、上記の尿細管変性像は5-7日群では殆ど痕跡を残さず修復されており、一部尿細管に円柱を認める程度に過ぎないが、40 mg/kg投与群では、5-7日目に近位尿細管の腫脹、遠位尿細管の拡張及び上皮壊死剝脱等のいわゆる tubulorrhexis、ヘンレ係蹄以下の尿細管、集合管内の円柱形成など変性像の進行と修復像の混在がみられた。

#### 〔考察〕

本実験において見られた種々の尿細管変性壊死像は、paraquat中毒の臨床報告に見られる急性腎不全状態を反映するものと見なし得る。Fowlerらによるマウスの実験では paraquat 投与による腎の変化は近位尿細管上皮の空胞変性、壊死像が主要所見であると報告されているが、本邦の人体剖検例ではむしろ lower nephron nephrosisの像が主体と報告されており、その障害部位が異なっている。我々の実験では、変性像は主として近位尿細管にみられたが、遠位尿細管にも特徴的空胞変性像のみられたことは、腎におけるparaquat障害の発生機転が必ずしも一様でないことを示唆するものであろう。Paraquat投与後2-3日にみられた腎糸球体の微小血栓については、検索し得た範囲では報告は見あたらないが、Fisherら、Crabtreeらによってparaquat投与後12時間で、著名な血液濃縮のあることが報告されており、その結果生じた腎血流量の減少、血液粘性の変化と糸球体係蹄内皮細胞の不顕性障害が、血栓形成の要因と考えられる。従って本研究によって得られた知見は、paraquatによる急性腎不全状態の発現、腎毒性発生機序には、尿細管上皮に対する障害作用と共に、このような糸球体障害、DIC様病態も関与している可能性を示唆する結果と思われる。

防虫剤・防臭剤として広く一般家庭で用いられている昇華性物質の p-DCB は、これまで肝臓に軽度の毒性変化を起こすことが知られてきたが最近、雄ラットへの腎障害を示唆する報告がなされ注目されている。そこで今回我々は p-DCB 吸入暴露による腎臓及び肝臓の変化を雌雄のラットを用いて検討し、さらにそこで見られた病変の回復性及び低濃度長期暴露による変化について検討を加えたので報告する。

#### 方法及び結果

8週齢雌雄F-344ラットに全身暴露チャンバーを用いて500ppm, 24時間暴露を行い、肝臓、腎臓、脂肪中の p-DCB 濃度、血清及び肝臓の生化学的検査、肝臓及び腎臓の病理組織学的検索を実施した。p-DCB 濃度は、肝臓及び脂肪中では雌が高く、腎臓中では雄が高かった。血清生化学的検査では、雌雄ともBUNの上昇、Total cholesterol (T-CHO) の減少が見られたが雌でみられたBUNの上昇は雄よりやや遅れてみられ、T-CHOの減少も雄に比べて回復が早かった。肝臓の生化学的検査では、雄でGOT, GPTに有意の上昇が認められたが、雌ではGPTにのみ有意な変化が認められた。γ-GTPも雌雄で上昇したが、その変化は雌で顕著であった。病理組織学的には、雄の腎尿管上皮細胞の腫脹、脱落が見られ細胞質内に大小不同、エオジン好染、アザン染色で橙色、PAS染色陰性のいわゆる Eosinophilic body が対照群に比して顕著に認められた。雌ではこれらの変化はいずれも軽度なものであった。そこで雄に見られた病理組織学的変化の回復性を調べる目的で、500ppm及び1000ppmで1, 3, 5, 10日間暴露後、さらに7日間の回復期間後に屠殺剖検して病理組織学的に検索した。その結果、上記の組織学的変化が用量及び暴露期間に相関して認められ、10日間暴露では尿管上皮細胞の壊死も散見された。しかしこれらの変化は7日後には対照群とほぼ同じレベルに回復していた。さらに、長期毒性を知る目的で75, 300, 600 ppmで6h/day, 7days/week, 26

weeks暴露した結果、上記変化のほかに結合織増生を伴った尿管の再生、集合管内石灰沈着、ボウマン嚢上皮細胞過形成、遠位尿管の拡張さらに腎表面の線維化、間質への細胞浸潤が用量相関をもって認められた。

以上のことから p-DCB の吸入暴露で雄ラットの腎臓に様々な可逆性の生化学的及び組織学的変化が現れ、慢性所見としては強い尿管の再生像を示すことが判明した。また、これらの変化には著しい性差があり、それらの差異は臓器中の p-DCB 量、生化学的検査にも反映していた。



○奥村正直, 山田靖治, 伊藤正夫(愛知衛研・生物)

〔はじめに〕

ラットやマウスにおいては、膀胱結石による膀胱腫瘍の発生を示唆する数多くの実験結果が報告されている。

最近、ラットにuracilを投与すると、膀胱内に結石が形成されると同時に乳頭腫症が発生し、しかも、uracilの投与を中止すると形成されていた結石や乳頭腫症は可逆的に消失することが、白井らによって示された。また、昨年の本学会で、田川らはN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosoamine(BBN)でイニシエーションを行なうラット膀胱二段階発癌モデルにおいて、uracil投与により極めて高頻度に乳頭腫や移行上皮癌が発生し、強力なプロモーション作用が発揮されることを発表した。

そこで今回は、uracilのラット膀胱に対する発癌性及びBBNの同時投与による発癌修飾作用について検討した。

〔方法〕

実験には、6週齢のF344雄ラット125匹を供試した。uracilは、粉末飼料にそれぞれ3.1あるいは0.3%の割合で混入し、BBNは0.005%の濃度で飲料水に添加した。

実験群として、uracilとBBNの併用群(第1-3群、各20匹)と、BBN単独群(第4群、20匹)及びuracil単独群(第5-7群、各15匹)の合計7群を設定した。被験物質を36週間連続投与した後、4週間の無処置回復期間をおいた40週目で全例を屠殺剖検し、膀胱、腎盂及び尿管を病理組織学的に検索した。

なお、BBN添加飲料水の投与は夜間のみ行い、その投与量をBBN単独群の摂取量と同一にするために、uracil及びBBN併用群では制限給水を行なった。

〔結果〕

ラットは全例生存し、uracilはほぼ設定どおりの用量比で摂取が行われ、BBNにおいては各群とも概ね同一の摂取量となった。一方、平均体重においては、3%uracil投与の第1及び5群で他の群と比較して有意な抑制を認めた。逆に、膀胱重量では、上記2群において他の群に比べて著しく有意な増加を示した。腎重量においても膀胱と同様な結果であった。

肉眼所見では、3%uracilを投与した第1及び5群の膀胱において壁の肥厚とともに腫瘍の形成が高頻度に認められ、腎は過半数のラットで両側性に水腎症を呈してい

た。第2-4群においては膀胱で低頻度に腫瘍発生を認めたものの、他に著変は認めなかった。

組織学的に、膀胱では表に示すごとく3%uracil投与の第1及び5群において、乳頭腫及び癌ともに他の群に比べて圧倒的な高頻度で発生した。また、癌はすべて移行上皮癌で、BBN単独投与で発生したものと組織形態上の差は認められなかった。しかし、膀胱基底膜10cm当たりの癌の発生個数(No./10cm)及び平均面積(mm<sup>2</sup>)を計測すると、uracilとBBN併用の第1群では1.06, 5.75, uracil単独の第5群で0.64, 3.55と、いずれにおいても第1群で高値を示した。腎盂では、乳頭腫及び癌の発生が第1群で7/20(35%), 5/20(25%) また第5群では1/15(7%), 1/15(7%)であった。尿管には、僅かに第1群で乳頭腫が2/20(10%)発生したのみであった。

〔結論及び考察〕

3%uracilを雄のF344ラットに経口投与すると、膀胱において極めて高頻度に移行上皮癌の発生することが明らかとなった。それと同時にBBNを併用すると発癌性がより増強される結果も示された。一方、3%以下のuracil濃度では、腫瘍の発生率が減少することから、濃度依存性のあることが示唆され、それは腎盂においても同様であると思われた。

今回の実験では、経時的に触診を行ない3%uracil投与群に膀胱結石を認めたことから、結石形成による物理的刺激で膀胱癌の発生する可能性が示された。従って、uracil自体の発癌性の有無を検討することが今後の課題であろう。

表. 膀胱粘膜の病理組織学的変化

群	処置		有効匹数	膀胱粘膜病変 (%)		
	Uracil (%)	BBN (%)		PN過形成 <sup>a</sup>	乳頭腫	癌
1	3	+	20	20(100) <sup>b</sup>	18(90) <sup>c</sup>	18(90) <sup>c</sup>
2	1	+	20	16(80)	4(20)	2(10)
3	0.3	+	20	17(85)	2(10)	2(10)
4	-	+	20	13(65)	4(20)	1(5)
5	3	-	15	14(93) <sup>d</sup>	12(80) <sup>d</sup>	11(73) <sup>d</sup>
6	1	-	15	1(7)	0	0
7	0.3	-	15	0	0	0

a: 乳頭状あるいは結節状過形成  
有意差: p<0.05(b), p<0.001(c) <4群と比較>, p<0.001(d) <7群と比較>

○森 聖, 外山素子, 町野節子, 牧野 進, 武内康義(シオノギ・油日ラボ)

ODS(od/od)ラットはL-アスコルビン酸(ビタミンC)合成能が欠損しており、出血傾向、発育障害や骨異常をもたらす。今回、我々はこのODSラットのもつ生物学的特性を膀胱発癌の立場から解析する事にした。

ラットBBN膀胱発癌においては、比較的長期の飼育期間が必要である。従って、まず通常の動物飼育室の環境下で、長期飼育可能なODSラット用の市販飼料を選択するための実験をし、次にその市販飼料を給餌されたODSラットのBBN膀胱発癌に対する感受性を検討した。

#### 材料および方法

実験1： 6週齢のODS(od/od)系雄性ラット40匹に、MF飼料(オリエンタル酵母、総アスコルビン酸 5mg/100g 含有)あるいはCA-1飼料(日本クレア、総アスコルビン酸 25mg/100g 含有)を給餌し、それぞれに0.05% BBN水溶液を投与した。4週間飼育後、壊血病の発生、肝と血液の総アスコルビン酸濃度および膀胱上皮の変化を検索した。

実験2： ODS(od/od)、そのヘテロタイプ(+/od)およびその正常タイプ(+/)の3遺伝子型のラットをそれぞれ20匹ずつ用いた。6週齢の雄性ラットにCA-1飼料を給餌し、0.05% BBN水溶液を4週間投与した後、32週間休薬した。実験開始36週間後、屠殺し、膀胱癌の発生を病理組織学的に検索した。

#### 成績

実験1： MF飼料を与えられたODSラットの全例に、四肢の関節周囲に出血を伴う壊血病の発生が認められた。CA-1飼料を給餌されたラットには、その発生は認められなかった。MF飼料を給餌されたラットの肝と血液の総アスコルビン酸濃度は、CA-1飼料を給餌されたラットのそれらよりそれぞれ1/2および1/7の低値を示した。BBNを投与されたラットの膀胱上皮には、飼料の差異に関係なく単純性過形成の発生が認

められた。

実験2： 36週間の生存率、体重増加の推移および膀胱重量については、3種の遺伝子型[ODS(od/od)、そのヘテロタイプ(+/od)およびその正常タイプ(+/+)]のラット間で、差は認められなかった。od/odラットには壊血病の発生は見られなかった。実験開始12、24および36週目の尿検査において、od/odラットの尿中の総アスコルビン酸濃度は他の+/odと+/+のラットにおける値より1/3の低値であった。膀胱腫瘍の発生にはいずれの遺伝子型のラット間でも差が認められなかった。

#### 結論

1. ODS(od/od)ラットの雄において、通常の飼育条件下で市販のCA-1飼料の給餌により、36週間の飼育が可能であった。
2. 膀胱発癌物質 BBNに対する膀胱上皮の感受性は、ODS(od/od)ラットと正常なラット間で差はなく、同程度であった。

各種膀胱発癌プロモーター投与によるラットの尿性状および膀胱粘膜上皮のDNA合成と形態学的変化

○柴田雅朗, 近藤 光, 香川雅孝, 山口修司, 福島昭治 (名市大・医・一病)

〈緒言〉

ラット膀胱発癌プロモーターは、酸化防止剤をはじめとする種々の化合物で見出されている。そこで、膀胱に対するプロモーター自身の生物学的特性を追求するためにプロモーターとその類縁化合物をラットに単独投与し、尿および膀胱を生化学的並びに病理形態学的に検索した。

〈実験方法〉

6週齢のF344系雄ラット, 120匹を用い、各群に 2% BHA, 1% BHT, 2% TBHQ, 0.8% ethoxyquin(EQ), 5% L-ascorbic acid(AsA), 5% sodium L-ascorbate (AsA-Na), 0.5% diphenyl(DP), 2% o-phenylphenol (OPP), 2% sodium o-phenylphenate(SOPP)および 3% NaHCO<sub>3</sub>を混餌投与で、また、膀胱発癌物質である EHBN および BBNは 0.025%濃度に飲料水中に混じて投与した。実験開始の 4週後には各群 5匹ずつ屠殺し、bromodeoxyuridine(BrdU)を用いて、膀胱粘膜上皮細胞の DNA合成を測定した。また、屠殺前には尿量、尿中の電解質 (Na, Cl, K, P, Mg)、浸透圧および pHの測定を、更に結晶を中心に沈渣についても検査した。実験開始の 8週後には、EHBNおよび BBNを除く各群 5匹の膀胱について、病理組織学的並びに走査電顕的検索を実施した。

〈結果〉

尿所見(表1)は、AsA-Na, SOPPおよび NaHCO<sub>3</sub>の Na塩化合物投与群で Na<sup>+</sup>および pHの上昇, 浸透圧の低下,

更に、沈渣中の結晶成分の増加を、BHT群で Pと結晶の増加を TBHQ群で K, Pおよび浸透圧の低下, pHの上昇, 結晶の増加を、DP群では p-phenylphenolからなる結晶を無数認めた。OPP群では浸透圧の低下を、発癌物質の EHBNと BBN群では Pの低下を認めた。膀胱粘膜上皮の DNA合成(表1)では、AsA, OPPを除く全ての群で、対照群に比較して、有意な DNA合成の亢進が観察され、特に、SOPP, EHBN, BBN群では高値を示した。膀胱の光顕的検索では、AsA-Na, DP, SOPP, NaHCO<sub>3</sub>, EHBNおよび BBN群で単純性過形成を認めた。走査電顕的には AsA, OPP群を除く全ての投与群で、short, uniform microvilli や ropy~leafy microridges等の所見(図1)が表層細胞に観察された。

〈考察〉

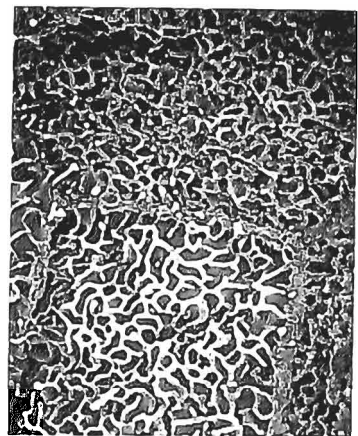
膀胱発癌プロモーターには尿性状の変化をもたらすものと何らの変化もきたさないものがあり、とりわけ Na塩化合物投与では高 Na<sup>+</sup>, アルカリ, 低張および結晶尿を、またDP投与では特有の結晶尿をもたらし、これらの尿性状の変化がプロモーションの発現に関与している可能性が示唆された。今回の実験において、普遍的な事実と考えられる所見は、膀胱発癌プロモーターが、膀胱粘膜上皮の DNA合成を亢進させ、更に増殖性反応を惹起させることである。

図1. AsA-Na群で観察された膀胱表層細胞の ropy~leafy microridges

表1 尿性状と膀胱粘膜上皮のDNA合成

投与物質	プロモーション活性	尿性状				膀胱粘膜上皮のDNA合成 BrdUを取り込める細胞数/個体1,000個
		電解質	pH	浸透圧	結晶	
BHA	+	-	-	-	±~1+	27.5 ± 9.6 **
BHT	+	P ↓	-	-	3+	20.8 ± 3.8 **
TBHQ	+	K ↓, P ↓	↑	↓	2+	48.5 ± 23.0 **
EQ	+	-	-	-	±	16.8 ± 7.0 *
AsA	-	-	↓	-	±	1.0 ± 1.4
SA	+	Na ↑, Cl ↓	↑	↓	3+	5.5 ± 1.9 **
DP	+	-	-	-	3+	5.8 ± 3.1 *
OPP	-	-	-	↓	±~1+	35.2 ± 41.1
SOPP	+	Na ↑	↑	↓	2+	141.6 ± 78.8 *
NaHCO <sub>3</sub>	+	Na ↑	↑	↓	3+	9.0 ± 3.6 *
EHBN	+	P ↓	-	-	±~1+	145.0 ± 31.4 **
BBN	+	P ↓	-	-	±~1+	229.0 ± 19.3 **
Basal diet	-	-	-	-	±~1+	1.3 ± 0.9

↑: 増進, +: 陽性, -: 変化なし, 1: 増加, ↓: 減少, ±: 変動程度, 1+: 軽度, 2+: 中等度, 3+: 高度  
\*: P<0.05, \*\*: P<0.01



水元一博, 北沢俊治, 堤 雅弘, 中江 大, 横瀬喜彦, 小西陽一. (奈良医大, 腫病)

Peroxisome proliferatorは, 変異原性を持たない特異な肝発癌物質とされている。Clofibrateは, 高脂血症治療薬として広く使われている代表的な peroxisome proliferator であり, 鼠歯類やヒトの肝細胞で peroxisome 増加作用が認められている。発癌実験では, clofibrateは, ラット肝に対して, イニシエーション活性とプロモーション活性を有することが既に報告されている。今回我々は, clofibrateの peroxisome 増加作用が極めて弱いとされるハムスターに, 多臓器発癌性を有する BHP を投与し, ハムスターの肝・膵・肺の発癌に及ぼす clofibrate の影響について検索した。

実験プロトコルを fig 1 に示している。動物は, 6 週齢の雄性 syrian golden hamster を用いた。第 1 群から第 3 群は対照群で, 生理食塩水皮下投与後それぞれ基礎食, 0.25%, 0.5% clofibrate 含有食にて飼育した。第 4 群から第 6 群は実験群で, 体重 kg 当たり 500mg の BHP を週 1 回の割合で 5 回投与した後それぞれ基礎食, 0.25%, 0.5% clofibrate 含有食にて飼育した。実験開始後 35 週目に動物を屠殺し組織学的検索を行った。肝における組織学的検索結果を table 1 に示している。対照群では, 腫瘍の発生はみられなかった。個体単位面積当たりの腫瘍 (過形成性結節 + 癌) 発生個数は, 第 4 群から第 6 群でそれぞれ, 0.47, 1.40, 1.03 であり, clofibrate 投与群で有意な ( $p < 0.001$ ) 肝腫瘍発生個数の増加が認められた。膵 (table 2) では, 対照群での腫瘍発生はみられなかった。第 4 群から第 6 群の癌発生頻度はそれぞれ, 47.1%, 18.8%, 5.6% であり, clofibrate 投与群で有意に ( $p < 0.05$ ) 癌の発生が抑制された。肺 (table 3) では, 対照群での腫瘍発生はみられなかった。第 4 群から第 6 群の個体当たり腫瘍 (腺腫 + 癌) 発生個数はそれぞれ, 2.82, 1.63, 1.12 であり, clofibrate 投与群で有意に ( $p < 0.02$ ) 腫瘍の発

生が抑制された。

以上より, clofibrate は肝でのみ腫瘍の発生を促進し, 膵及び肺では腫瘍発生を逆に抑制することが判明した。

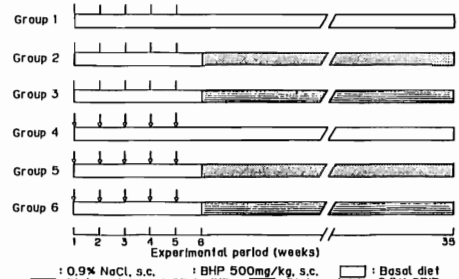


Fig.1. Experimental design for studying the effect of clofibrate on liver, pancreas and lung carcinogenesis in hamsters

Table 1. Incidence and multiplicity of hepatocellular neoplasms and gallbladder lesions in hamsters treated with BHP followed by diets containing 0.25% or 0.5% clofibrate

Group No.	Treatment	Effective No. of hamsters	Incidence of Gross tumor (%)	Incidence of Hyperplastic Carcinoma nodule (%)	Multiplicity of hepatocellular neoplasms (No./cm <sup>2</sup> )	Incidence of hepatocellular neoplasms (%)	Incidence of gallbladder polyp (%)	Incidence (%)
1	Control	21	0	0	0	0	0	0
2	0.25% CPFB	22	0	0	0	0	0	0
3	0.5% CPFB	20	0	0	0	0	0	1 (5)
4	BHP	17	3(17.6)	16(94.1)	0 (0)	0.47±0.26	6(35.3)	3(17.6)
5	BHP + 0.25% CPFB	16	5(31.3)	16(100)	3(18.8)	1.40±0.54 <sup>a</sup>	6(37.5)	1 (6.3)
6	BHP + 0.5% CPFB	17	8(47.1)	17(100)	5(29.4)	1.03±0.32 <sup>a</sup>	7(50)	2(11.8)

<sup>a</sup> Significantly different from group 4,  $p < 0.001$

Table 2. Incidence of pancreatic lesions in hamsters treated with BHP followed by diet containing 0.25% or 0.5% clofibrate

Group No.	Treatment	Effective No. of hamsters	Incidence of gross tumor (%)	Incidence of Carcinoma (%)	Incidence of Atypical hyperplasia (%)	Incidence of Adenoma (%)
1	Control	21	0	0	0	0
2	0.25% CPFB	22	0	0	0	0
3	0.5% CPFB	20	0	0	0	0
4	BHP	17	4(23.5)	8(47.1)	8(47.1)	5(29.4)
5	BHP + 0.25% CPFB	16	3(18.8)	3(18.8)	5(31.3)	4(25.0)
6	BHP + 0.5% CPFB	17	2(11.8)	1 (5.6) <sup>a</sup>	6(33.3)	2(11.1)

<sup>a</sup> Significantly different from group 4,  $p < 0.05$

Table 3. Incidence and multiplicity of lung neoplasms in hamsters treated with BHP followed by diet containing 0.25% or 0.5% clofibrate

Group No.	Treatment	Effective No. of hamsters	Incidence of lung neoplasms (%)		No. of neoplasms /hamsters
			Adenoma	Carcinoma	
1	Control	21	0	0	0
2	0.25% CPFB	22	0	0	0
3	0.5% CPFB	20	0	0	0
4	BHP	17	16(94.1)	3(17.6)	2.82±1.8
5	BHP + 0.25% CPFB	16	10(62.5)	0	1.63±1.54
6	BHP + 0.5% CPFB	17	9(52.9) <sup>a</sup>	2(11.8)	1.12±1.20 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Significantly different from group 4,  $p < 0.05$   
<sup>b</sup> Significantly different from group 4,  $p < 0.02$

BHP clofibrate  
 BHP  
 Cholesterol ↑\*

hepatocytic carcinoma  
 adenoma

幅後人, 林衆治, 高木弘 (名大第二外科) 中村司朗, 名倉宏 (名大病態研生体防御)

<目的>臓器移植においてCiclosporin (CYA) はその有効な免疫抑制効果により広く使用されている。しかし、その免疫抑制効果の作用機序はまだ完全には解明されておらず、また細胞障害についての検討も十分ではない。今回我々は、生体防御の第一線を担う粘膜での局所免疫系に対するCYAの影響を免疫組織化学的に検討したので報告する。

<対象及び方法> Inbred WKA 系雄性 Rat (RT1 A<sup>k</sup>, RTB<sup>k</sup> 静岡実験動物協会) 250 ~ 350 g を用いた。飼育は名古屋大学医学部付属実験動物施設において血清学的にビールスやマイコプラズマ等の感染のない事を確認しつつ厳重な監視下で行った。CYA は 100 mg/kg をオリーブ油にて希釈し、1 回量 1.0 ~ 1.5 ml を 1 日 1 回連続 7 日間ゾンデを用いて経口的に投与した。(CYA 群) 対照として同系 Rat を用い、オリーブ油のみを 1.0 ~ 1.5 ml 1 日 1 回連続 7 日間投与した。(対照群) いずれの場合も投与の際、麻酔薬は一切使用していない。CYA 群は 3 匹、対照群は 2 匹ずつを投与開始後 1, 4, 7 日にエーテル麻酔下に屠殺し、心、肝、脾、胸腺、腎、腸管、腸間膜リンパ節を摘出、直ちに periodatelysine-paraformaldehyde で浸漬固定した。蔗糖加 PBS 緩衝液中で洗浄の後、ドライアイス・エタノールにて OCT compound に急速冷凍包埋した。cryostat を用いて 6 μm の薄切連続切片を作製した。抗血清は W3/25 (CD-4), OX-06 (Ia), OX-08 (CD-8), OX-19 (CD-5) (いずれも Sera Labo 社) を用い Biotin-Strept Avidine Amplifide System 法 (Genzyme 社) にて免疫反応を行い、発色は 3-3 di-amino benzidine (DAB) でを行い、メチルグリーンにて核染色した。

<結果> 小腸絨毛上皮細胞間において W3/25 陽性 T リンパ球はコントロール群及び CYA 投与後 1 日目では全く認められないが、CYA 投与後 4 日目において著明に増加し (23.6%) 7 日目には再び消失した。同様の変動は小腸孤立リンパ節被覆上皮細胞間でも認められ、CYA 投与後 1 日目では上皮細胞数の 11.3% であったものが 4 日目には 28.8% と増加し、7 日目には 11.8% と減少した。また OX-06 陽性 T リンパ球も 4 日目に増加、7 日目に減少した。この間 OX-08,

OX-19 陽性 T リンパ球は被覆上皮細胞間では全く認めないままであったが、絨毛上皮細胞間では 4 日目に増加、7 日目には消失していた。

T リンパ球領域である傍濾胞域においては 1, 4 日目では W3/25, OX-06, OX-08, OX-19 各陽性 T リンパ球の population ratio に変化はなかったがその総数は 7 日目には減少し、特に OX-19 陽性 T リンパ球で減少が著明であった。同様の変化は脾臓や胸腺においても認められ、胸腺で特に顕著であった。胸腺では CYA 投与後 7 日目にリンパ球密度は減少し、OX-19 陽性 T リンパ球は髄質部にわずかに認められるのみであった。

小腸孤立リンパ節における胚中心は CYA 投与後 4 日目までは充分認められたが、7 日目には認められなくなり、濾胞域も狭くなっていった。病理組織学的にはいずれの上皮細胞にも変性壊死像は認めなかった。

<考察> CYA は IL-1, IL-2 の産生抑制により免疫抑制作用を発現し、細胞への直接作用はないとされてきた。しかし今回の我々の検討では胸腺や小腸孤立リンパ節傍濾胞域での細胞密度の減少と OX-19 陽性 T リンパ球の著減が認められ、CYA による細胞障害の可能性が考えられた。しかし胸腺での OX-19 陽性 T リンパ球の減少にもかかわらず、絨毛上皮細胞間及び小腸孤立リンパ節被覆上皮細胞間において一時的に W3/25 陽性 T リンパ球が出現した事は、本来この部位には存在しない細胞である為、その免疫学的意義が注目される。この現象が CYA の直接作用によるものか T リンパ球系の抑制に対する feed-back としての Antigen Presenting cell の rebound であるのかは検討を要する。また CYA は B リンパ球に対して影響を与えないとされてきたが、小腸孤立リンパ節での胚中心の消失は CYA が B リンパ球系に対し障害作用を有している事を示唆している。即ち CYA は全身投与において胸腺での作用を主体に T リンパ球系を抑制するのみならず腸管の局所細胞免疫にも大きな変化をもたらし、かつ T・B リンパ球の migration-pathway にも影響を与えている事が明らかとなった。

○高橋 智, 浅川恵美子, 井上 薫, 中村 厚, 立松正衛 (名市大・医・一病)

近年, Glutathione S-transferase の各分子種は種々の臓器発癌における前癌病変のマーカー酵素として注目されている。今回我々は, ラット実験胃癌および小腸癌においてGST-A, -B, -P の各分子種の局在を腫瘍細胞における形質発現の程度と合わせて検討した。

(方法)

7週令雄のWKY, SD, Lewis, Wistarラットをそれぞれ18匹, F344ラットを33匹の計105匹を用い, 第一群には100mg/lのMNNGを飲料水として30週間投与し, WKY, SD, Lewis, Wistarラットは50週で, F344ラットは70週で屠殺剖検した。剖検で摘出した胃・小腸の標本を作製し, ABC法によるGST-A, -B, -Pの免疫組織化学を行い, 併せてParadoxical Concanavalin A染色による腫瘍細胞の形質発現の検索を行った。

(結果)

正常では幽門粘膜における被覆上皮細胞, 小腸粘膜における絨毛の吸収上皮細胞, 杯細胞のそれぞれ一部にGST-A, -B, -P各分子種の局在を認めたが, 幽門腺細胞, 小腸粘膜における陰窩の吸収上皮細胞には認められなかった(表1)。得られた腫瘍は胃癌が合計29例,

小腸癌が38例で, すべて分化型腺癌であった。腫瘍細胞はその形質発現により胃癌は被覆上皮細胞型, 幽門腺細胞型, 吸収上皮細胞型, 杯細胞型に, 小腸癌は吸収上皮細胞型, 杯細胞型に分類しえた。胃癌・小腸癌にけるGST-A, -B, -P各分子種の局在は被覆上皮細胞型, 吸収上皮細胞型, 杯細胞型のそれぞれ一部に認められたが, 幽門腺細胞型には認められなかった(表2)。これらGST-A, -B, -P各分子種の局在には系統差は認められなかった。

(結論)

ラット実験胃癌および小腸癌におけるGST各分子種の出現についての成果から, 胃・小腸においてはGSTは腫瘍一般のマーカーではなく腫瘍細胞の形質発現に伴う随伴性変化であることが示唆された。

表1. 正常幽門粘膜および小腸粘膜上皮における Glutathione S-transferase (GST) 各分子種の局在

正常細胞	GST		
	A	B	P
<b>幽門粘膜</b>			
被覆上皮細胞	+	+	+
幽門腺細胞	-	-	-
<b>小腸粘膜</b>			
吸収上皮細胞			
絨毛	+	++	+
陰窩	-	-	-
杯細胞	~+	~+	~+

有効匹数 : WKY, SD, Lewis, Wistar, F344 各3匹  
 ++: 強陽性    +: 弱陽性    -: 陰性

表2. MNNG胃癌および小腸癌細胞における Glutathione S-transferase (GST) 各分子種の局在

類度	GST		
	A	B	P
<b>胃癌 (29例)</b>			
被覆上皮細胞型	29	- ~ +	- ~ +
幽門腺細胞型	29	-	-
吸収上皮細胞型	13	- ~ +	- ~ ++
杯細胞型	13	- ~ +	- ~ +
<b>小腸癌 (38例)</b>			
吸収上皮細胞型	38	- ~ +	- ~ ++
杯細胞型	38	- ~ +	- ~ +

有効匹数 81匹  
 ++: 強陽性    +: 弱陽性    -: 陰性

○井上 知, 伊藤文男, 森山哲郎, 村岡義博 (塩野義研・神崎川)

cis-Diamminedichloroplatinum(CDDP)をはじめとする抗がん性白金錯体の主な毒性は、腎、血液、リンパ組織、消化管毒性であり、諸種動物への単回投与で発生する。これらの毒性はそれぞれ投与後の発生時期が異なり、消化管毒性は最も消長の経過が早く、腎毒性は最も遅い。今回は抗がん性白金錯体としてCDDP, diammine[1,1-cyclobutanedicarboxylato(2-)0,0]- (sp4-2)platinum (CBDCA), (glycolato-0,0')diammine platinum(254-S)をとり上げ、消化管毒性、特に小腸毒性の初期病変の定量化を試みるとともに、その病変がどのような回復の経過をとるかを3薬物間で比較した。

全実験を通じて、Jel:SDラット(雌, 11週齢)を用いた。CDDPとCBDCAは生理食塩液, 254-Sは5%キシリトールに溶解し、いずれもi.v.投与した。

#### <実験1>

CDDP 10 mg/kgを単回i.v.投与し、30分, 1, 2, 4, 6, 24, 72時間に屠殺して、十二指腸, 空腸, 回腸を採取した。10%緩衝ホルマリン液で固定後、常法により包埋、薄切、H-E染色を行った。初期障害は、陰窩1つ当りの壊死細胞数を指標にした。

障害は、小腸陰窩の単細胞壊死で始まり、経時的に高度となり、投与6時間で最大となった。小腸各部位での陰窩中の壊死細胞数は回腸>空腸≧十二指腸であった。この初期病変に続いて24時間では陰窩細胞の脱落、陰窩の萎縮・変形、絨毛上皮の壊死が生じ、72時間では絨毛の脱落、上皮の再生、固有層の炎症性細胞浸潤が主病変となった。24時間以降の陰窩壊死細胞を指標とした障害の定量化は、壊死細胞の脱落、陰窩の萎縮・変形が高度なため困難であった。

#### <実験2>

LD<sub>50</sub>約半量即ちCDDP 5 mg/kg, CBDCA 90 mg/kg, 254-S 15 mg/kgを単回i.v.投与し、投与6時間, 1, 3, 5, 7, 10日と経時的に屠殺して回腸を採取した。一部の例は屠殺前30, 60, 90または120分に、metaphase停止剤であるcolchicine 5 mg/kgを生理食塩液に溶解し、単回i.p.投与した。陰窩1つ当りの平均細胞産生率(CCPR)は平均metaphase数から算出し、障害および回復の指標とした。細胞周期時間(Tc)はCCPRから算出した。

投与6時間でCDDP, CBDCA, 254-Sとも組織学的に同質の変化即ち、陰窩細胞の有糸分裂の減少、壊死細胞の増加がみられ、これらはCDDPが最も強く、CBDCAと254-Sは軽度であった。投与1日後の変化は6時間に比べ、CBDCAと254-Sで増強され、CDDPは軽減されていた。投与3日後では、陰窩の単細胞壊死は各投与群とも軽度で、陰窩細胞の再生が目立った。投与5日以降、各投与群とも正常像に回復していた。CCPRは投与6時間で254-S, CDDP, CBDCAの順に低値を示した。投与1日後のCCPRは3検体とも最低値を示し、3日後に最大となった。これらの値には検体間で差がみられなかった。投与5日以降、CCPRは各検体とも対照群の値(平均8.3 cells/h)と大差がなかった。

CDDP, CBDCA, 254-Sによる腸管毒性は、初期病理変化である陰窩細胞の単細胞壊死を指標にすると投与6時間がピークと考えられた。24時間以降に観察される広範な粘膜壊死は、陰窩細胞の壊死に続発する細胞障害の集積像と解される。3検体の投与6時間の組織像から予測されるCCPR値と実測値の間かなりの差がみられた。このことからCBDCAと254-SはCDDPに比べて作用発現が遅く、CDDPとは違った細胞周期に作用することが推察される。さらに初期の変化をbromodeoxyuridineを用いて免疫組織化学的に検討している。

3検体の腸管毒性の強さは投与量比で比較するとCDDP: CBDCA:254-S=1:18:3であった。3検体の抗移植腫瘍効果は腫瘍によって異なるが、ラットWalker256に対するILS<sub>30</sub>を指標にしたときの用量比はCDDP: CBDCA:254-S=1: 6:1であった。この成績と対比したときの腸管毒性の強さはCDDP>CBDCA>254-Sと推定される。

○茶谷 文雄, 野々山 孝, 須藤 勝一, 宮嵩 宏彰(武田薬品・中研), 竹山 政美(堺市民病院・泌尿), 森 浩志(大阪医大・病理), 高塚 大志郎, 松本 圭史(大阪大・医・病理病態)

## 〔緒言〕

化学物質の癌原性試験に頻用されるFischer344ラットは加齢により高率に精巣間細胞腫(間細胞腫)が発生し, 2年齢の発現率は70~100%に達する。間細胞腫を示す動物の精選や前立腺は萎縮している場合が多く, この腫瘍の発生は生殖器官に対する適正な毒性評価の障害になっている。我々はこの腫瘍の発生及び増殖・維持に対するLHの関与をみるために, testosterone (T), estradiol-17 $\beta$  (E)及びLH-RH agonist (LA)を長期間投与して, ホルモンのネガティブフィードバック系あるいはLAの逆説的効果を介した低LH状態を作り出し, 間細胞腫の発生率(実験1), 腫瘍の大きさの推移とその組織像(実験2), 及び腫瘍の男性ホルモン生合成能(実験3)について検討した。

## 〔材料と方法〕

(実験1) 正常な60週齢のF344/Jcl ラットを以下の4群(1群8~9匹)に分け, 88週齢で剖検した。1) Tを1cmの長さで充填したシリコンチューブ2本(数か月間持続的にTを放出する)を背部皮下に埋めこむ群, 2) Eの5mm長の1本を同様の方法で埋めこむ群, 3) LAの徐放製剤(Leuprolideを8%含有し, 4週間以上LAを放出する)の5mg/kgを4週間ごとに皮下投与する群, 4) 空チューブのみを埋めこむ対照群。これらの動物の血中LHをRIAで測定し, 精巣については肉眼的及び組織学的に腫瘍の有無を検索した。また, 42週齢からT(1cm $\times$ 2本)を28週間皮下に埋めこみ, 間細胞腫の過形成に対する影響について検索した。

(実験2) 精巣に顕著な間細胞腫をもつ69週齢のF344/NSIcラットを以下の4群(1群4~5匹)に分け, 4週間後あるいは10週間後に剖検した。1) Tを1cm長で充填したシリコンチューブ2本を背部皮下に埋めこむ群, 2) Tを1)と同様の方法で埋めこみ, 4週間後にそのチューブを抜き去り, 6週間休養する群, 3) LAの徐放製剤の5mg/kgを皮下へ単回投与し, 4週間後に剖検する群, 4) チューブのみを4週間埋めこむ群(対照群)。各動物について, 投与前と投与後あるいは休養後の精巣(腫瘍)の大きさを計測し, その体積の変化を比較した。腫瘍は組織学的にも検索し, 腫瘍に占める大型, 中型及び小型の腫瘍細胞の割合を計測した。

(実験3) 間細胞腫組織及び腫瘍のない精巣組織の10~45mgをホモゲナイズし, 基質として $^3\text{H}$ -progesterone ( $^3\text{H}$ -P)あるいは $^3\text{H}$ - $\Delta^4$ -androstenedione ( $^3\text{H}$ - $\Delta^4$ -AN)を加えてインキュベートした。30分間の反応で産生されたステロイドをペーパークロマトグラフィー法及び再結晶法などで分離後, 各ステロイド分画の放射活性を測定し, 男性ホルモン生合成に関与する酵素活性を比較・検討した。また, 腫瘍中のP, T及び5 $\alpha$ -androgensをRIA法で測定した。

## 〔結果〕

(実験1) T, EおよびLAを60週齢から28週間投与すると, 血中LHレベルは対照群の1/3~1/7に低下し, 腫瘍の発生は全く認められなかった(腫瘍発生率0%)。一方, 対照群では全例に両側性の間細胞腫が発生した(腫瘍発生率100%)。投与群の精巣は萎縮し, 間細胞腫の過形成がみられたが, その数は投与開始時に相当する60週齢の無処置ラット精巣の過形成の数とほぼ等しかった。しかし, Tを42週齢から28週間投与したラットの精巣に過形成はなかった。

(実験2) T及びLAの4週間投与によって, 血中LHは対照群に比べ低値となり, 間細胞腫でほぼ占められた精巣はやや軟化し, その体積は投与前の1/4~1/2に減少した。一方, 対照群の体積の減少は約10%であった。T投与後の精巣体積はその後の6週間の休養で2倍に増加し, 回復傾向を示した。組織学的には対照群の腫瘍にはやや好酸性で豊富な胞体と丸い核を有する大型の細胞や胞体が乏しく車軸様核を有する小型の細胞及び胞体が明るい中型の細胞がみられた。T及びLA投与後の腫瘍では, 対照群と比較して大型の腫瘍細胞は減少し, 中型細胞の増加がみられた。休養後には中型細胞は減少し, 大型細胞が増加した。

(実験3) 成熟ラット精巣におけるT生合成の主経路( $\Delta^4$ -pathway)は,  $\text{P} \xrightarrow{17\text{-OH-P}} \Delta^4\text{-AN} \rightarrow \text{T}$ であるが,  $^3\text{H}$ -Pを基質とした場合の腫瘍における17-OH-P及びTの産生は, 精巣組織のそれぞれ約1/20及び1/60であり, 腫瘍の17 $\alpha$ -hydroxylase活性の著減が示された。 $\Delta^4$ -ANを基質とした場合の腫瘍におけるT産生は精巣組織の約1/2であったが, androstenedione やandosteroneの産生は精巣組織の約10倍であり, 腫瘍における5 $\alpha$ -reductase活性の上昇が示された。一方, 腫瘍中のP量及び5 $\alpha$ -androgens量は精巣組織のそれの約2~3倍であり, T量は約1/10であった。

## 〔考察及び結論〕

T, E及びLAを長期投与して血中LHを低下させると間細胞腫の発生が抑制されることから, この腫瘍発生にはLHが必要と考えられる。また, 顕著な間細胞腫が発生している動物にT及びLAを投与して血中LHを低下させると腫瘍は縮小し, 休養するとLHの増加と腫瘍サイズの増大がみられた。この腫瘍サイズの変化はLHに依存した腫瘍細胞の体積の可逆的な変化によるものと考えられる。間細胞腫を示す多くのラットにみられる精巣や前立腺の萎縮は, 腫瘍組織における17 $\alpha$ -hydroxylase活性の低下及び5 $\alpha$ -reductase活性の上昇などによるT産生の低下に起因すると考えられる。腫瘍の男性ホルモン生合成経路は幼若ラット精巣の経路(5 $\alpha$ -pathway)に似ており, 間細胞腫は腫瘍化によって幼若型の経路をとるものと考えられる。



○田川義章<sup>1</sup>、井川悦男<sup>1</sup>、白井智之<sup>2</sup>（<sup>1</sup>三和化学研究所・安全研、<sup>2</sup>名市大・医・一病）

（はじめに）

腫瘍発生におよぼす栄養要因の重要性は疫学的に種々の臓器について指摘され、実験的にも幅広く研究されている。高脂肪食は乳癌、大腸癌の発生を促進させることが実験的に証明されており、ヒト前立腺癌の発生においても高脂肪食の関与が示唆されている。また、ビタミンAやβ-カロチンは逆に種々の臓器の腫瘍発生を抑制すると報告されている。

そこで前立腺癌発生に対する高脂肪食ならびにβ-カロチンの影響を調べる目的で片山らの幼若ラットに3,2'-ジメチル-4-アミノビフェニル（DMAB）を投与する実験系を用いて発癌2段階法に基づいた前立腺発癌実験を行った。

（実験方法）

動物には3週齢のF344雄ラット149例を用い、第1群から4群の動物、各群26例には、毎週1回、合計3回にわたりコーンオイルに溶解したDMABを150mg/kgの濃度で背部皮下に投与した。第5群から7群には溶剤であるコーンオイルのみを投与した。飼料としては全群実験開始から17週目までは市販のラット固形飼料で飼育し、18週目より各群間のカロリーを一定にするために半合成飼料を与えた。

高脂肪食はコーンオイルを20%の濃度で添加したが、20%のコーンオイルの添加による高カロリーへの片寄りを防ぐためAylsworthらの方法（JNCI, 1984, 72, 637）に準じてカゼインをベースにし、ショ糖でカロリーを調節し、4.5%コーンオイル添加飼料と同じカロリーになるように作製した。β-カロチンは0.01%の濃度で半合成飼料に混じた。第1群にはβ-カロチンを、第2群には高脂肪食を、第3群にはβ-カロチンと高脂肪食の両者を第18週目より60週目まで42週間にわたって与えた。第4群は対照群でコーンオイルを4.5%含有する飼料を与えた。全経過60週で全動物を屠殺剖検し、前立腺を含む全臓器について病理組織学的に検索し、腫瘍の発生頻度を検討した。

（実験結果）

DMABを投与した群では40週目前後から死亡する動物が

増加し、60週目では約半数例が大腸、小腸、包皮腺等の腫瘍発生により死亡した。しかし、各群間に死亡発生の時期や頻度の違いは認められなかった。

--- 前立腺 ---

前立腺での変化は腹葉にのみ認められ、側葉および背葉には病変は発生しなかった。DMAB投与後通常食を与えた4群では1例に、前立腺腹葉に核異型や細胞異型の強い上皮が篩状配列をとり腺房内に増殖している像が観察され、組織学的には腺癌であった。癌と診断したものはその1例のみであり、今回の実験の目的の1つである前立腺癌の高率発生の確認はできなかった。

細胞密度の高まった異型上皮が腺房に沿って増殖する前立腺腹葉のAtypical hyperplasiaはDMAB投与の各群に認められた。この病変は癌への前段階病変と考えられ、その頻度は1群17例中6例 35.3%、2群20例中9例 45.0%、3群23例中7例 30.4%、4群18例中9例 50.0%であった。精囊でも、細胞異型のある上皮が腺房内に増殖しているAtypical hyperplasiaの発生が各群の10~17%に認められたが、各群間に差は無く、β-カロチンおよび高脂肪食の摂取は前立腺および精囊の腫瘍性病変発生に対してなんら影響を及ぼさなかった。

--- その他の臓器 ---

DMAB投与群では前立腺以外にも多くの臓器での腫瘍性病変発生を認めた。

脾臓ではβ-カロチンや高脂肪食摂取の有無に関係なくDMABを投与した動物全例に、異型性のほとんど無い腺房細胞が充実に増殖し周囲の正常組織を圧迫している腺房細胞結節性過形成を認めた。

また結腸を中心とする大腸にも腺腫や腺癌を半数例以上に認め、小腸や包皮腺にも腫瘍が好発した。その他にも乳腺、外耳道腺、皮膚、膀胱などにも腫瘍発生が認められたが、何れの臓器においても各群間で発生頻度の差はみられず、β-カロチンや高脂肪食摂取の影響は認められなかった。

## ラット子宮内膜腺癌の発生に関する 実験病理学的研究

○永岡隆晴, 小野寺博志, 外館あさひ, 前川昭彦 (国立衛試・病理)

子宮内膜腺癌はしばしばみられる女性の生殖器癌で、その発生と内分泌異常との相関が古くより指摘されている。実験的にもマウスにおいてホルモン、特にエストロゲン投与により内膜腺癌を発生させる事が知られている。一方、ラットにおいては子宮内膜腺癌の自然発生は一般にきわめて稀で、またエストロゲンや化学物質投与によってもこれら腫瘍を高率に誘発する事は困難である。今回我々は、ラットにおける子宮内膜腺癌の発生を検討する目的の第一歩として、自然発生内膜腺癌の実験病理学的検討を行い、更にニトロソ尿素による内膜腺癌誘発の可能性を検討した。

### \*自然発生内膜腺癌

我々がこれ迄に使用した4系統のラット (ACI/N, F344/Ducrj, Slc:Wistar および NRC:Donryu) について子宮内膜腺癌の発生頻度を検討したところ、それぞれ 9.1%, 1.0%, 0% 及び 35.4% であり、特に Donryu ラットで高率であった。内膜腺癌が認められた Donryu ラットの平均生存期間は 106週で、このラットの平均生存期間 (101週) よりやや長かった。

内膜腺癌は子宮角部に最も多く発生したが、子宮体部にも多くみられた。腫瘍は肉眼的に多くは白色、凹凸不整の硬い結節としてみられ、時に出血、嚢胞状を呈する所見もあった。多くの場合、漿膜面、周囲組織への浸潤がみられた。組織学的には、好酸性～好塩基性の胞体、大型でクロマチンに富む核を有する立方状および高円柱状の細胞からなる管状腺癌で、高分化型から異型性が高い未分化型までパラエティーに富んでいた。しかし扁平上皮化生を伴う例は少なかった。腺癌のほとんどは筋層内、漿膜面に浸潤し、47% (16/34) に肺等への遠隔転移がみられた。

Donryu ラットにおいて、子宮内膜腺癌と内分泌系臓器の病変 (腫瘍) との関連を検討した結果、本腺癌と合併してみられた内分泌系腫瘍の発生頻度は、下垂体 5.2% (12.1%), 甲状腺 1.0% (3.0%), 副腎 2.1% (4.1%), 乳腺 7.3% (14.8%) および卵巣 0% (0.8%) であり、(カッコ内は子宮腺癌と内分泌系腫瘍の合併する期待値) いずれも期待値より低く、本腺癌と内分泌系腫瘍との相関は認められなかった。

### \*ニトロソ尿素による子宮内膜腺癌の発生

我々のこれまでのニトロソ尿素による発癌実験の結果より、Donryuラット及びF344ラットでニトロソ尿素による内膜腺癌発生への影響を比較検討した。高濃度のMNU,ENU,PNU および BNU を連続経口投与した結果、両系統共に子宮内膜腺癌の発生は稀であった。しかしながら低濃度の ENUを F344 ラットに連続投与した場合、腺腫/腺癌の発生が有意 (対照群 0%, 投与群 10-16%) に増加した。一方、ENU の高濃度を短期間、または PNU の高濃度を一回だけ Donryuラットに投与した実験では内膜腺癌がそれぞれ 15% (平均生存期間: 87週) および 13% (63週) にみられたが、このラットの自然発生内膜癌に比べれば発生時期はやゝ短い発生率はそれほど高くはなかった。なお、この実験では卵巣のセルトリ/顆粒膜細胞腫が多く発生したが内膜腺癌との合併率は 6.1% および 3.9% で、これら腫瘍の合併の各期待値 7.4% および 6.9% を上回らず、両腫瘍の相関も明らかでなかった。

### 考 察:

実験動物における子宮内膜腺癌の自然発生はウサギで多いがラット、マウスでは稀とされている。しかし最近 Han:Wistar や BD II/Hanラット等で子宮内膜腺癌の高い自然発生が報告されている。今回の Donryuラットにおける発生率はこれらに比べれば低いものの、これまでの他の報告に比べればかなり高い。今回検討したこれら4系統以外に、我国で広く使用されている Jcl:Wistar 及び Crj:CD (Sprague-Dawley) ラットの子宮内膜腺癌の発生率はそれぞれ 1%, 0% と報告されており、Donryu ラットは高率に子宮内膜腺癌が発生する系統であると言える。病理組織学的にはヒト体部癌に類似し、一般に遠隔転移の少ないラットの自然発生腫瘍の中では高率の転移を認め、ヒト体部癌のモデルとして利用できる。

Multipotent carcinogen であるニトロソ尿素は高濃度の連続投与では内膜腺癌を誘発できないが、低濃度ないし短期間の投与でそれを誘発できる可能性が示された。

○吉村慎介、斉藤義明、山口 肇、今井 清（食薬安全センター・桑野研）

2,5-Hexanedione (2,5-HD)は、n-hexaneや methyl-n-butylketone などの代謝産物で、これらを吸入すると、体内で形成された 2,5-HD が神経を傷害するといわれている。n-Hexaneは塗料や接着剤の溶媒で、換気の悪い作業場で使用すると大量に吸入され、下肢の痺れや視力の低下、腱反射の消失などの神経症状が現われる。病理形態学的には神経軸索内にニューロフィラメントの蓄積と軸索の著しい腫脹を特徴とする変化が、中枢神経の長い上行路の吻側や長い下行路の尾側および末梢神経に見られることが知られている。今回、ラットを用いて2,5-HDの投与実験を行ったところ、低用量長期間投与例では明らかな神経症状は見られなかったが、脊髄や末梢神経に從來から 2,5-HD の神経病変としてしばしば報告されているニューロフィラメントの蓄積による軸索腫脹など特徴的な変化が認められた。一方、歩行異常を示した高用量の短期間投与例では、軸索の腫脹は明らかでなかったが、視床脳に神経細胞の消失があり、腰髄背索の神経線維の髄鞘層間が開離するなど、この実験の低用量群や今まで報告されてきた 2,5-HD 投与による神経病変とは異なる像が認められたので報告する。

7週齢のSD系雌ラット (Crj:CD) 8匹に、体重100gあたり 0.5mlになるように蒸留水で希釈した 2,5-HD（和光純薬工業）の 300あるいは500 mg/kgを強制経口投与した後、300 mg/kg投与群は第8週に、500 mg/kg投与群は第4週に屠殺した。灌流固定のために、ペントバルビタール麻酔下、大動脈よりヘパリンを添加した燐酸緩衝生理食塩水で軽く血液を洗浄した後、パラホルムアルデヒド・グルタルアルデヒド混合固定液で全身を灌流した。脳はパラフィン切片の LFB-H・E染色を作製して光顕的観察を行った。頸髄、胸髄、腰髄、脊髄神経節、坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経、足底神経、下腿筋、骨間筋、foot pad は、さらにグルタルアルデヒドで固定し、オスミウム酸の後固定の後、エタノール脱水して電顕用に樹脂包埋した。厚切り切片トルイジンブルー染色標本を光顕的に観察した後、一部は超薄切片を作製し電顕的観察を行った。

神経症状としては、500 mg/kg投与群では投与第4週に脚弱が現われて、歩行時に全身が左右に大きく揺れたが、300 mg/kg投与群では第8週の屠殺時においても歩行がやや鈍く感じる程度で、症状は明らかでなかった。

病理学的には、500 mg/kg投与第4週屠殺群では視床脳に海綿状に多数の小空胞が形成され、多くの神経細胞は消失していた。腰髄背索の神経線維の髄鞘の層間や髄鞘と軸索の間は大きく開離しており、神経線維間にも広い間隙が見られた。同様の変化は腰髄の側索や腹索にも軽度ではあるが認められた。頸髄薄束には腰髄のような水腫性の変化はなかったが、扁平な神経線維が多く見られ、球状に変性した髄鞘が白質に点在していた。

300 mg/kg投与第8週屠殺群にも腰髄背索に髄鞘層間に剥離が見られたが変化は軽度で、視床脳には高用量群に見られたような変化はなかった。頸髄薄束には扁平な神経線維と、ニューロフィラメントの蓄積により著しく腫脹した軸索が散在しており、白質の各部位にも軸索の腫脹した神経線維がときおり見られた。いずれの投与群でも、脊髄灰白質や脊髄神経節に変化は認められなかった。

坐骨神経から足底神経にいたる末梢神経の観察では、300 mg/kg投与第8週屠殺群にニューロフィラメントの著しい蓄積による軸索の腫脹がときおり見られたが 500 mg/kg投与第4週屠殺群では変化は軽度であった。両投与群の下腿筋では、筋束内を走行する神経線維に稀にニューロフィラメントの蓄積や軸索の変性があり、運動終板や筋紡錘の神経終末に、稀にニューロフィラメントの軽度な蓄積が見られた。

以上のように、2,5-HDをラットに投与することにより低用量群ではニューロフィラメントの蓄積による軸索腫脹が明らかであった。一方、高用量群でも脊髄や末梢神経にニューロフィラメントの蓄積が稀に見られたが、むしろ視床脳の神経細胞の変性や消失、腰髄背索における髄鞘の変化が特徴的であった。

○武下政一, 土井邦雄, 今泉和則, 光岡知足 (東大・農学部・実験動物, \* 田辺製薬・安全研)

塩類, 糖類あるいはアミノ酸の高濃度液を大量投与された動物に神経症状を伴う急性死が出現することが知られているが, この病態の根底にある病理学的詳細については明かではない。我々は高濃度塩化ナトリウム溶液投与により, マウスの大脳の特定の部位に主座する病変が形成されることを観察した。今回は本病変を効率よく作出するための投与方法, 濃度および投与量決定試験, 初期病変ならびに疾患モデルとしての有用性について検討したので報告する。

### 1. 投与方法, 濃度および投与量決定試験

(材料と方法) 30g前後のddY系雄マウスを1晩絶水・絶食の後, 種々の濃度および量の塩化ナトリウム液を経口, 静脈内あるいは腹腔内に1回投与した。動物は投与14日後に殺処分し, 10%中性ホルマリン液で脳を灌流固定後, 常法により標本を作成した。

(結果と考察) 神経症状および死亡例の発現が経口投与では25%以上の濃度で20ml/kg以上の液量, 静脈内投与では8.5%以上の濃度で30ml/kg以上の液量, 腹腔内投与では8.5%以上の濃度で30ml/kg以上の液量の投与群に認められた。

剖検所見は死亡例では概ね共通しており, 頭蓋内あるいは硬膜出血, 肝臓および肺の充血を主徴とする全身性循環障害が観察されたが, 生存例では少数例の尾端部に壊死が認められた以外には特記すべき異常は認められなかった。生存例の病理組織学的検査では8.5%塩化ナトリウム腹腔内投与30ml/kg群の2/4例および25%塩化ナトリウム経口投与20ml/kg群の3/4例に海馬の錐体細胞の変性・壊死が左右対称に認められた。

以上の結果から, 神経症状の発現と生存率の比率が最も高い8.5%塩化ナトリウム30ml/kgが病変を効率よく作出する条件であると判断された。

### 2. 初期病変の観察

(材料と方法) 一晩絶水・絶食した30g前後のddY系雄マウスに8.5%塩化ナトリウム30ml/kgを腹腔内に1回投与し, 1, 3, 6, 24時間後に殺処分しヘマトクリット, 血清浸透圧および腹水を測定した。3時間後にコロイダルカーボンを左心室から注入し脳の色素の分布を観察した。24時間後殺処分例について脳の

病理組織学的検査および電顕的検査を実施した。対照動物には生理食塩液30ml/kgを1回腹腔内に投与した。

(結果と考察) ヘマトクリットおよび浸透圧は投与1時間後に最高値を示し, ヘマトクリットは6時間後, 血清浸透圧は24時間後に対照のレベルに復した。腹水の増量は1および3時間後に認められた。コロイダルカーボンを注入された動物の脳では基底核へのカーボンの侵入が著しく低下していた。24時間後殺処分例の病理組織学的検査では海馬の錐体細胞の好酸性化および変性が左右対称に観察され, 電顕的観察では変性途上にある錐体細胞のミトコンドリアの腫大・膨化および微小管の拡張と思われる構造物が目だった。

高度のヘマトクリットの増加および病理組織学的変化の分布から, 血液の粘調度が一過性に高まり酸素運搬量の減少のため惹起された脳の乏血状態が推測される。

### 3. モデルとしての有用性

(材料と方法) 8.5%塩化ナトリウムを週2回, 2週間(計4回)腹腔内に投与後2週間無処置飼育したddY系雄マウス(投与開始時30g前後)を使用して受動回避試験, 自発運動量, 回転棒法試験および懸垂法試験を実施した。対照動物には生理食塩液30ml/kgを腹腔内に投与した。受動回避試験にはstep-through式受動回避訓練箱を用い, 明室に置いたマウスが暗室に入った時点で直ちに電気ショックを加え, その24時間後にマウスを明室にいれ, 四肢が暗室に入る迄の時間(反応潜時)を測定した。動物は試験終了後に殺処分し, 脳の病理組織学的検査を実施した。

(結果と考察) 受動回避試験では8.5%塩化ナトリウム投与群の反応潜時は対照群のそれに比して有意に短縮していた。自発運動量, 日週リズム, 回転棒法試験および懸垂法試験には異常は認められなかった。脳の病理組織学的検査では海馬の錐体細胞の変性壊死および脱落が左右対称に認められた。

以上の結果から, 今回の高濃度塩化ナトリウム投与によるマウスの脳障害はヒトの健忘症モデルになると考えられる。

B.Roy, N.Fujimoto, °H.Watanabe, A.Ito. (Res.Inst.Nuc.Med.Biol.Hiroshima Univ.)

【目的】加齢と白内障との関係は人では重要な問題であり古くからその原因究明についての研究が行われて来た、が未だ解決されていない。実験的には紫外線、X線や、種々の化学物質で白内障が生じることが報告されている。我々はmethylnitrosourea (MNU)を静注することにより乳癌が発生することを報告した(伊藤ら, 1987)が、これらの動物に白内障が認められたので今回はその結果を報告する。

【方法】7週令のF344雌ラットを用いた。生理食塩水で溶解したMNUを50mg/kg体重麻酔下で頸静脈より投与群(第2群)、2週間前に卵巣摘出を行ないMNU投与群(第4群)、MNU投与後直ちに17 $\beta$ -estradiol (E2)を2.5mg含有コレステロールベレットを皮下の脂肪組織に移植群(第6群)、MNU投与後prolactin (PRL)分泌下垂体腫瘍(MtT/F84)を皮下脂肪組織に移植群(第7群)、同量のMNUを1週間隔で2回投与群(第3群)、並びにE2単独群(第5群)と、無処置対照群(第1群)の7群を設けた。動物は処理後9週から40週まで観察し屠殺した。

【結果】無処置対照群の第1群並びにE2のみ投与の第5群では36週の観察期間中には白内障は認めなかった。第2群のMNU単独群では20%の動物に白内障が発生し、その出現期間は平均25週であった。MNU2回投与の第3群では33%に、その出現期間は平均30週で、両眼に7%、単眼に27%に認められた。MNU+E2投与の第6群では白内障は32%の動物に、両眼には24%、単眼には8%に出現し、その期間の平均は33週であった。卵巣摘出とMNU処理を行った第4群での白内障の発生率は68%でMNU単独群に比較して有意に発生率は上昇し( $p < 0.01$ )、更に、両眼には59%、単眼に9%認められ、その程度も強まったが、しかし観察期間が平均39週と第2群よりも比較的長かったことによるのかもしれない。一方MNU+PRL群では9-16週ですでに乳癌が発生したために動物を屠殺した。しかしこの期間までには白内障は認められなかった(表1)。

次にこの発生原因を明かにするためにShephadex G200カラム(2.5 x 65 cm)を用いてゲル濾過を行った。正常な水晶体の可溶性蛋白は4つのピークからなるが白内障の可溶性蛋白は始めの高分子のピークと最後のピークの2個の

みで、中のピークが消失した。すなわち水晶体蛋白が凝集を起こし高分子化することが明かとなった。又、正常水晶体をShephadexカラムで分画した第2ピークの水晶体蛋白とMNUをin vitroで混合し37°Cで放置し、その後高速液体クロマトグラフィで分析した。その結果クリスタリン蛋白の凝集が時間経過と共に起こり、MNUの濃度を増すとその量も増加した。

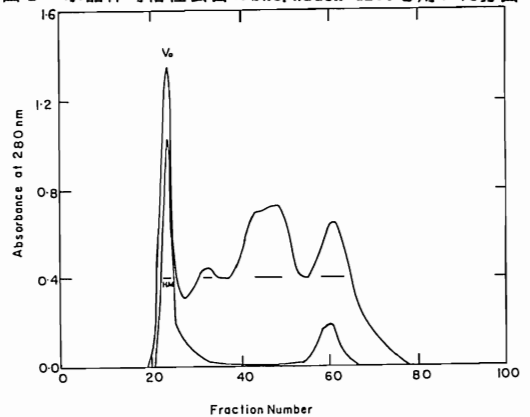
【結論】以上の結果からMNUは腫瘍のみならず白内障をも生じることが明かとなった。即ちMNUはDNAのみならず蛋白とも反応し、特に水晶体に於てはクリスタリン蛋白の凝集を引き起こし、白内障が生じるのではないかと考えた。

表1 白内障の発生頻度

群	処理	動物数	観察期間 (週)	白内障(%)		
				両眼	単眼	合計
1	-	17	36	0	0	0
2	MNU	20	16-36 (25)	nd	nd	4 (20)*
3	MNU (twice)	15	13-36 (30)	1 (7)	4 (27)	5 (33)
4	MNU+ovex	22	35-40 (39)	13 (59)	2 (9)	15 (68)*
5	E <sub>2</sub>	19	36	0	0	0
6	MNU+E <sub>2</sub>	25	17-36 (39)	6 (24)	2 (8)	8 (32)
7	MNU+PRL	20	9-16 (13)	0	0	0

\*統計的有意差  $p < 0.01$

図1 水晶体可溶性蛋白のShephadex G200を用いた分画



## 高血圧自然発症ラット (SHR) における 食塩の臓器障害促進作用

○ 豊田和弘・古川文夫・佐藤秀隆・岡宮英明・高橋道人・林 裕造 (国立衛試・病理)

食塩の過剰摂取と高血圧発症との関係については、疫学的にも臨床的にも数多くの報告がみられる。実験的にも、高血圧自然発症ラット (SHR) に食塩を摂取させると、高血圧症の発生時期が早まり、早期に死に至ること等が知られている。このように食塩が高血圧症における危険因子であることは明白であるが、遺伝的に高血圧発症素因を有する場合、過剰の食塩を摂取すると、いかなる臓器にどのような影響を与えるかについて検討された報告は少ない。

今回我々は、高血圧症の動物モデルである SHR に高食塩食を与え、経時的に病理組織学的検索を行い、病変の発現部位および程度について解析を試みた。

### 実験材料および方法

動物は6週齢の雄の SHR (星野試験動物飼育所、埼玉) を用い、実験群 (23匹) には10%食塩含有固型飼料を、対照群 (15匹) には基礎固型飼料 (オリエンタル MF) を自由に摂取させた。また飲料水として水道水を自由摂取させた。実験期間は20週とし、経時的に体重および血圧 (収縮期血圧) の測定を行った。また10週目と20週目に24時間尿を採取し、尿量および尿蛋白の測定を行った。動物は実験開始時に対照群の5匹、10週目に両群より各3匹を任意に選び中途解剖し、残りは全て20週目に屠殺した。なお、実験期間中に衰弱あるいは死亡した動物については、速やかに解剖を行った。実験期間終了後、動物はエーテル麻酔下にしゃ血、屠殺し、直ちに脳、下垂体、心臓、大動脈、肺、気管、甲状腺、食道、胃、小腸、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、副腎、脾臓、腸間膜、精巣、大腿筋等を摘出し、主な臓器の重量を測定後、10%緩衝ホルマリン液にて固定した。組織標本の作製は常法に従って行い、ヘマトキシリン・エオジン染色のほか、必要に応じてワイゲルトの線維素染色を施し、病理組織学的に検索を行った。

### 結果

実験開始後、6週目頃より食塩投与群では貧血を伴って衰弱あるいは死亡する動物が目立ち、10週目までに6匹、10~20週目の間に9匹が死亡した。また、対照群においては、6週目および9週目に各1匹が死亡し

た。体重については、食塩投与群で対照群に比べ20%程度の増加抑制が認められた。また血圧は、対照群では5週目以後徐々に上昇し、15週目までは200mmHgを越えなかったのに対し、食塩投与群では5週目において既に235mmHgと高く、全期間を通して常に200mmHg以上の高値を示した。24時間尿の検査の結果、10週目では尿量、尿蛋白ともに両群に有意差はみられなかったが、20週目においては食塩投与群で尿量は対照群の約6倍に増加し、尿蛋白は約1/5に低下していた。解剖時の肉眼的所見として、食塩投与群において13週以降に解剖した動物では腸間膜動脈の数珠状の結節形成、腎臓表面の微細顆粒状変化および心臓、副腎が軽度で肥大している所見が多く観察されたが、対照群においては特記すべき所見は認められなかった。病理組織学的検索の結果、食塩投与群において大脳および小脳実質中の小出血巣が5例 (21.7%)、細小動脈硬化性の腎硬化症が2例 (9.3%)、種々の臓器および組織中の細小動脈硬化症が22例 (95.7%) にみられ、また同群の中途死亡例において小葉中心性の肝細胞壊死および変性が認められた。細小動脈の硬化性病変については、特に腎臓、腸間膜、膵臓、精巣、副腎等で発生率が高かった。また、以上に示したような病変は10週目に計画的に解剖した動物よりもそれ以前に死亡した動物で強くみられ、病変の出現時期にかなり個体差のあることが示された。対照群においては、特記すべき所見は認められなかった。

### 考察

SHR に高食塩食を与えると、主に細小動脈の硬化性病変が惹起されること、またそれらの病変の出現部位はヒトの高血圧症の場合とほぼ一致することが確認された。これらの血管系の障害は、急激な血圧の上昇に基づいて起こるものと考えられ、病変の出現時期および動物の死亡時期にバラツキがみられたのは、血圧上昇の時期および程度に個体差があったためと思われる。

○朝元誠人、伊東信行（名市大・医・1病理）

（はじめに）

酸化防止剤であるbutylated hydroxyanisole (BHA)はラットおよびハムスターの前胃にたいして発癌性を有することが知られている。また、BHAは種々の変異原性試験で陰性の結果が得られており、変異原性のない発癌物質のひとつである。一方、肺、肝、乳腺などの臓器に対しては発癌抑制作用を示すが、膀胱においては発癌促進作用を示すなどBHAの発癌過程におよぼす影響は複雑であり臓器によって全く反対の作用をしめす。そこで今回我々は、このようなBHAの発癌過程修飾の機序解明のため、ラットチトクロームP-450の局におよび活性をBHAを投与したラットの肺、肝、腎、前胃、膀胱において検索した。

（実験方法）

6週令雄F344ラットを用い2% BHA含有基礎食を1, 2, 4及び6週間投与し、経時的に対照群と共に屠殺した。肝、腎、肺、前胃、膀胱は凍結切片を用い抗ラットP-450モノクロナール抗体により免疫組織化学的にP-450の局在を検索した。又、対照群とBHA投与群の肝S-9を常法に従い調整し、酵素源とし、Ames法をP-450分子種に対して基質特異性を異にする3-MeO-AAB、Trp P-2、Glu P-1を基質として行い、P-450活性を調べた。さらに、肝ミクロソームを抗原としてenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)を行い、チトクロームP-450各分子種の定量化を試みた。また、肝ミクロソームをSDS-PAGE後、Western blottingを行いP-450の定性化を行った。使用した代表的なモノクロナール抗体を示すと、APH3およびAPH8はP-448のhigh spin type すなわちP450dに対して作られた抗体で、P-450dに強く反応しP-450cとも若干反応する。APL1およびAPL2はP-448のlow spin typeすなわちP-450cに対して作られた抗体で、P-450cと反応し、APL2はP-450d共多少反応する。APF2はP-450aと反応し、APF3, APF5, APF8 はP-450b, eと反応する。また、APF12, APF13 はP-450a, b, e と広く反応する。

（結果および考察）

免疫組織化学によって、肝においては、P-450dとおもに反応するAPH3およびAPH8は正常肝でも中心静脈周囲に染色され、BHA投与により、より染色域の拡大が認められた。APL1はP-450cと反応し、正常肝ではほとんど認められず、BHA投与により門脈域周辺に誘導を認めた。APF2は

P-450aと対応するもので、BHAによっても変化は認められなかった。APF3, 5, 8はP-450b, eと反応するもので、いずれもBHA投与により門脈域周囲に著明な誘導がみられた。APF12, 13はP-450a, b, eと反応するが、BHA投与によって変化は認められなかった。また肝ではBHA投与1週目から6週目まで染色性に差は観察されなかった。

肺においては、APL1, 2で染色した場合のみBHA投与により変化があり、肺胞壁が染色され、P-450cまたはこの抗体と反応するP-450分子種が誘導されることが示された。APF5, 8, 12で正常でも染色されたがBHA投与によっても変化は認めなかった。腎ではAPL1, 2がBHA投与により染色性が増したが、2週目以降は正常と同程度となった。

膀胱および前胃はP-450については正常とBHA投与では変化が認められず、APF8, APF12によって染色された。

次に、正常とBHA投与群のラット肝ミクロソームを用いAmes試験をおこないP-450活性の定量を試みた。基質にはP-450b, eによって活性化される3-MeO-AAB、P-450c, dによって活性化されるTrp P-2、P-450dによって活性化されるGlu P-1を用いた。正常およびBHA処置肝のミクロソームを酵素源として加えたときの1mg蛋白あたりの変異集落数のBHA投与群の正常比を示すと、1週目では3-MeO-AABを基質としたものは、2.03倍、Trp P-2は3.65倍、Glu P-1は4.09倍とP-450活性の上昇を認めた。2週目以降も同様の結果が得られたが、投与期間が長くなるにつれて活性の減少傾向が認められた。

肝ミクロソームを抗原としたELISAの結果は、BHA投与1週目よりAPH3, APH8, APL1, APL2で軽度上昇、APF5, 8, 12で上昇を示し、BHA投与期間が長くなるにつれて吸光度が小さくなる傾向が見られた。すなわち、P-450c, dの軽度上昇、P-450b, eの上昇が認められた。

Western blottingは、抗体にはおもにP-450d、そして若干P-450cに反応するAPH8を用いた。正常及びBHA投与群では分子量からもP-450dに相当するバンドが認められ、やはりBHAの投与期間が長くなるにつれて反応性が弱くなるのが認められた。陽性コントロールとして用いたPCB群ではP-450dに相当するバンドも観察された。

以上よりBHAが発癌抑制作用を示す肝、肺、でP-450の増加がみられ、BHAの作用とP-450の誘導との関連性が推定された。

○寺尾清<sup>1</sup> 伊藤恵美子<sup>1</sup> 五十嵐一衛<sup>2</sup> 安元健<sup>3,1</sup>(<sup>1</sup>千大真核微研、<sup>2</sup>千大薬、<sup>3</sup>東北大農)

maimitoxin (MTX) は1979年、東北大、安元らによつ初めて、タヒチ島の珊瑚礁に生息するサザナミハギの内臓から分離された非蛋白質性の生物トキシンである。その後の研究によりMTXは *Gambierdiscus toxicus* という海棲の植物性プランクトンによって産生され、食物連鎖によって次々に大型の魚介類に蓄積されることが明らかになった。南方の諸島、ことにタヒチ島では有毒化した魚介類の摂食により極めて高頻度に食中毒が発生している。患者は、神経症状、消化器症状、さらに循環器障害などを訴えるが死亡例は少ない。生物活性については、我が国の三変化成生命科学研究の大泉等によって精力的に検索が進められ、平滑筋、横紋筋及び心筋に対し、その収縮を著しく増強すること、ラットの褐色種由来の培養細胞からのCaイオン依存性のノルアドレナリンの分泌を促進し、脳下垂体前葉由来の初期培養細胞に作用して前葉ホルモンを分泌することなどが明らかにされてきた。これらはいずれもCaイオンの細胞膜の透過性こう進と関係している。このようにMTXは薬理学的に詳しく研究されているが病理形態学的検索は殆ど行われていない。今回我々は、マウスを用い実験的MTX中毒症を作り標的臓器に対する形態学的影響を検索した。

材料と方法：4群の3週令のICR雄マウス(日本クレア)の腹腔内へ、*Gambierdiscus toxicus* の培養から分離精製したMTX 50~400ng/kgを1回投与し、30分から24時間後に屠殺した群、50ng/kgを10~30回連続して腹腔内投与した後屠殺した群に分けた。後者では隔日に尾静脈から採血し、末梢血の組成を検索した。屠殺したマウスは心、腺胃、肝、腎、胸腺、脾、パイル板から電顕用標本を採取しパラホルムアルデヒド-グルタルアルデヒド固定後、OsO<sub>4</sub>で二重固定、脱水後、エポキシ樹脂包埋、超薄切片は、酢酸ウラン-クエン酸鉛の二重染色後、日立H700H透過電顕で観察した。残りの内臓はホルマリン固定後光顕標本を作製した。

組織中の総カルシウム測定：前胃組織、心、胸腺は一部形態学的検索用に組織を残し残余は組織をホモジネートとし、0.2N perchloric acidにより溶出した後日立Z-8000原子吸光分析計により総カルシウム量を測定した。

#### 結果と考察

急性期：100mg/kg以上の濃度のMTXによって、数分以内にうずくまり、呼吸困難、チアノーゼが著しくなる。

心に対する影響：30分以内に屠殺したマウスの心尖部の心筋に分布する毛細血管の内皮は著しく膨化し、内腔は完全に閉鎖する。

この時、心筋のカルシウム量の増加は認められない。内腔の閉鎖した毛細血管の分布域の心筋細胞のミトコンドリアは変性崩壊する。消化器に対する影響：4時間以内に腺胃及び十二指腸は著しく拡張し、酸性の低い胃液の貯溜と、粘膜面に多数の斑状の組織欠損がみられる。投与8時間以後には、胸腺の著しいうっ血と浮腫が生じる。組織学的に最初に皮質の、次いで髓質のリンパ球の変性崩壊が生ずる。細網上皮は空胞変性を示すが比較的MTXに対し抵抗性を示す。脾の白色髄及び赤色髄中のリンパ球、パイル板中のリンパ球及び骨髄中の造血細胞も濃縮し、これらを貪食したマクロファージが増加する。

亜急性期：45ng/kgを一日一回計三回以上投与したマウスの大部分の胸腺及び脾は著しく萎縮し、重量は無処置対照群の1/5、及び1/4になる。末梢血中のリンパ球も急激に減少し、血球中の割合も減少し、多形核白血球は相対的に急増する。組織学的に、胸腺には殆どリンパ球を認めず、皮質及び髓質は残存した細網上皮細胞と増殖した線維芽細胞によって占められ、毛細血管の新生も著明である。脾の白色髄は著しく萎縮し、中心動脈のみが存在するもの、中心動脈の外層に僅かにリンパ球が残存しているものが多い。

marginal zone は明かでなく赤色髄では、脾洞壁を形成する細網細胞の細胞質は肥大し、0.3μmの電子密度の高い細顆粒が多数存在しており、脾洞中の赤血球、リンパ球は激滅している。

胃は著しく膨化し、腹腔のほぼ1/3を占め摂取した飼料が充滿している。平滑筋は萎縮し粘膜には多数の出血斑、組織欠損がみられる。心筋には著変は見られない。

以上の結果からMTXのマウスにおける標的臓器は、心、胃、及びリンパ組織でありことにリンパ組織中のリンパ球に対して特異的な作用を有している。Caのリンパ球内への取り込みは増加せず、筋で見られたCaチャンネル増強とは直接的関係は考えられず、そのmode of actionは不明である。



○湯浅 啓史, 乾 俊秀, 山村 高章, 川合 是彰, 岡庭 梓 (田辺製薬・安全研)

画像解析装置は、VTR装置などより取り込んだ画像を色調の濃淡や形状をもとに分類し、必要な目的物の計測を速やかに行なうことができるため金属組織の解析などに多用されてきた。最近になって、RGBの光の三原色を用いてカラー画像を処理できる比較的小型の装置が増加し、X線画像やCT画像などの医用画像の分析にも用いられている。そこで我々は病理組織学の分野で、主観的に取られていた所見のうち画像解析装置を使用して定量的に現わせるものについて種々の検討を行なっている。今回、心臓を対象に検討を行なった。SHRは血圧が上昇するにしがって心臓が肥大し、心臓重量が増大することが知られている。このSHRにACE阻害剤などの降圧剤を投与するとその心臓肥大は抑制され、重量の増加は認められない。このことを重量以外の面から確認する目的で心臓横断面の面積測定ならびに細胞核数の測定を行い、心臓肥大例と降圧剤投与例とを比較した。

【材料および方法】

4週齢の雄のSHRを各群6例の5群にわけ、それぞれ蒸留水[C群]、ACE阻害剤TA-6366の1mg/kg[T.1群]、TA-6366の5mg/kg[T.2群]およびEnalaprilの5mg/kg[T.3群]ならびに交感神経遮断剤Hydralazineの5mg/kg[T.4群]を金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。10週間の投与の後、血圧の測定を行い、放血殺し、心臓を摘出した。摘出した心臓は重量測定後、Lillieの中性緩衝ホルマリン液に48時間浸漬固定し、右図に示すごとく右冠状動脈の走行を参考にして切り出した。常法に従ってパラフィン包埋し、2μmの厚さの切片とし、HE染色を施し、形態測定した。測定は、マクロの画像取

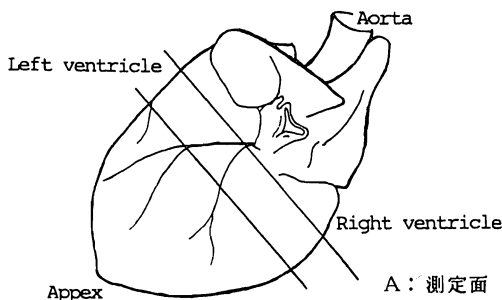
り込みにはB/Wテレビカメラを、組織標本の取り込みには3管式テレビカメラを使用し、画像解析にはニコンルーゼックスIIDを使用した。

【結果】

剖検時の体重、心臓絶対重量および各測定値を下表に示す。体重は各処置群とも明かな差は見られなかったが、血圧は各降圧剤投与群で有意に減少した。また、心臓重量は絶対重量でT.2群が、相対重量ではT.2およびT.3群に低下が見られた。これらの動物の心臓の断面積にはT.2群で明かな減少(p<0.01)が認められた。また、各個体の組織の一部を鏡検し、一定面積あたりの心筋の核数を数視野計測したところ差は見られなかった。上記数値より求めた値(心臓断面積/細胞核の数)はT.2群で有意にC群より減少し、SHRの心臓肥大抑制は細胞数の減少によるものではなく、個々の心筋の肥大が抑制されていることがわかれた。

この結果より、画像解析装置の病理組織学への応用は、面積測定に限らず、種々の面から利用できると考えている。

心臓の切り出し部位



降圧剤の経口投与によるSHRの心臓肥大抑制試験

測定項目	C群	T.1群	T.2群	T.3群	T.4群
体重(g)	324±20	332±20	325±12	342±14	334±13
心臓絶対重量(g)	1.26±0.09	1.27±0.04	1.11±0.06**	1.22±0.07	1.24±0.04
断面積(mm <sup>2</sup> )	67.4±4.5	62.7±3.3	57.9±2.9**	66.1±5.6	68.9±2.3
細胞核数	42±2.6	41±5.7	44±4.3	39±4.1	41±4.8
断面積/核数(mm <sup>2</sup> )	1.64±0.15	1.54±0.23	1.33±0.16*	1.70±0.23	1.72±0.21

Significantly difference from control by Dunnett's Multiple Comparison (\*:p<0.05, \*\*:p<0.01)

# 示 說 演 題

高木英利、原田 寧、阿部圭作、猪俣訓一 (日本レダリー(株)生研)

セフェム系抗生物質のうち、3位の側鎖として methylthiotetrazole(MTT)をもつものの副作用として血液凝固抑制作用、ジスルフィラム様作用などが良く知られているが、近年さらに、幼若動物における精巣毒性が注目されている。しかし、これらの作用が知られているセフェム系抗生物質においても、成獣での精巣毒性は報告されておらず、また、幼若動物での精巣毒性の発現機序も詳しくは知られていない。

今回我々は成獣では精巣毒性が発現していないことに着目して、幼若動物の血液精巣関門(BTB)の成立過程に薬物が何等かの影響を及ぼすものと考え、幼若動物のBTB形成過程およびそれに対するMTTの影響について、精上皮全体の変化も含めて形態学的に検索した。

Crj:CD(SD)ラットの雌雄を交配して得た新生仔を1母体当たり雄8匹となるように調整して飼育した。これらの新生仔に7日齢より以下のような処置を施した。MTT 300または500mg/kgを5%HC0-60に溶解し、幼若ラット背部に連日皮下投与し、経日的に屠殺して検査に供した。また、5%HC0-60を同様に皮下投与して対照とした。投与期間は最長35日間、すなわち6週齢までとした。屠殺は生後2、3、4および6週齢時に行った。各屠殺時に得た精巣は20%中性緩衝ホルマリンまたはツェンカー固定液で固定し、常法によりパラフ

イン切片とし、ヘマトキシリ・エオシン染色を施して鏡検した。さらに、精巣は2.5%グルタルアルデヒドで固定後、オスミウムにより後固定、エボン包埋後、超薄切片を作製、2%酢酸ウラン、0.2%クエン酸鉛で染色した。

対照群の光学顕微鏡観察では第一次精母細胞の出現は生後12日、第二次精母細胞の出現は生後25日ごろであった。セルトリ細胞が基底部に配列するのも生後25日ごろであった。MTT投与群では精細管腔は小さく、精祖細胞は減少し、さらに第一次精母細胞の減少も著しかった。また、変成細胞もみられた。セルトリ細胞については細胞質内に空胞様の変化が観察された。

電子顕微鏡検査において対照群の動物では生後28日ごろまでにセルトリ細胞の整列と細胞間結合が密にみられるようになるが、MTT投与群の動物ではセルトリ細胞整列状態の不良の箇所が認められ、その部位では細胞間隙が大きく解離していた。

さらに、BTB形成状態を明確にするため、精巣輸出管結紮、ランタン、高張液、あるいはフェリチン処理などを行った成績と上記結果を対比し、MTTによるBTB形成阻害と精子形成抑制との関連を、主に形態学的に考察する。

○新美 敦<sup>1</sup>, 篠田鉄郎<sup>1</sup>, 金田敏郎<sup>1</sup>, 名倉 宏<sup>2</sup> (名古屋大・医・口外<sup>1</sup>, 病態研<sup>2</sup>)

## [目的]

免疫応答に対して、生体防御のもう一つの柱である炎症が大きな影響を持つことが明らかにされてきており、局所免疫においても、局所の抗原に起因する炎症が、免疫応答を増幅する事実が知られている。そこで今回、我々は、溶連菌製剤OK-432を抗原として用い、OK-432局注部位ならびにその周囲での浸潤細胞の経時的動態を明かにする目的で、OK-432のラット舌局注後における局所反応を免疫病理組織学的に検索した。

## [材料と方法]

生後6週令のSprague-Dawley(S.D.)雄ラットを用い、舌の半月板前部の筋層内に左右対称に1KE(0.1cc)のOK-432を局注した。OK-432局注後、1時間、3時間、12時間、24時間、3日、7日で各4匹を屠殺し、舌を採取した。対照群としては、生理食塩水0.1ccをOK-432と同様に局注したものをを用いた。採取した組織の一部は直ちにPLP固定、凍結切片を作成し免疫組織化学的に観察するとともに、一部はホルマリン固定、パラフィン包埋し、HE染色後、局注部位周囲(局注部位より0.6mm以内)の好中球および単核球の比率を調べるとともに、単位面積あたりの好中球と単核球の総数を調べた。免疫組織化学的観察には、次の抗血清を用いた。

- OX-6 MHC class (Ia)
- OX-8 suppressor/cytotoxic T marker(CD8)
- OX-19 panT(all thymocyte)(CD5)
- OX-39 IL-2 receptor
- W3/25 helper/inducer T marker(CD4)
- 抗ヒトIL-1
- 抗Su (OK-432に対する抗体)

## [結果]

局注部位周囲の好中球および単核球の比率は24時間後までは同程度であったが、3日後より好中球が減少し、単核球が増加した。単位面積あたりの好中球と単核球の総数は、24時間後までは増加し、7日後には再び減少する傾向がみられた。

局注部位および局注部位周囲の免疫組織化学的観察の結

果は、表1に示した。IL-1は、1時間後、3時間後に局注部位周囲の好中球に観察され、12時間以後は観察されなかった。しかしながら、7日後に再び局注部位周囲に加え、局注部位においても好中球およびマクロファージにIL-1が観察された。OX-8およびOX-19は、ともに12時間後より局注部位周囲に観察されたが、NK細胞の多くを含むと考えられるOX-8陽性OX-19陰性細胞が、OX-19陽性細胞よりも多く観察された。OX-39陽性細胞は、12時間後より局注部位周囲に観察され、3日後より局注部位にも観察された。

表1 局注部位周囲および局注部位の陽性細胞

time	局注部位周囲						局注部位					
	1h	3h	12h	24h	3d	7d	1h	3h	12h	24h	3d	7d
OX-6	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
OX-8	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
OX-19	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
OX-39	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
W3/25	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
抗IL-1+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
抗Su	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

+ ; 陽性 - ; 陰性

## [考察]

炎症におけるIL-1産生は細胞の種類にかかわらず、炎症初期(24時間以内)に炎症局所に浸出する細胞により行われるという報告がある。今回の実験でも1時間後、3時間後に好中球にIL-1が観察され、12時間後よりT細胞、IL-2レセプターが観察されたことより、in vivoの炎症局所においてもIL-1が免疫応答増幅因子として働いている可能性が示唆された。さらに、炎症初期より好中球の浸潤が多くみられたことは、好中球によるIL-1産生の意義を高めていると考えられる。今回の実験では7日後において再びIL-1が観察されたが、従来の報告では炎症の遅延する Freund完全アジュバントを用いても約24時間頃までしかIL-1産生がみられないとされている。このことにより、OK-432が他のアジュバントと異なり、より長期にわたり免疫応答増幅作用を示す起炎物質であることが示唆された。

## 各種実験動物の消化管における非特異的エステラーゼ活性の局在

○森島 英喜, 馬屋原 宏, 官嵐 宏彰 (武田薬品・中研)

各種動物の消化管粘膜上皮には非特異的エステラーゼが分布していることはよく知られている。消化管におけるこれらの非特異的エステラーゼは、経口摂取されたエステル化合物が最初に接する加水分解酵素であり、本酵素活性の局在や強さは経口的に摂取されたエステル化合物の吸収・分解に大きな影響を及ぼすと考えられる。しかし、本酵素活性の各種実験動物の消化管における局在についての詳細な報告はない。そこで本実験ではラット、マウス、ビーグル犬およびカニクイザルの消化管各部における非特異的エステラーゼ活性の局在を酵素組織化学的に検出し、その局在部位および種差について比較検討した。

## 〔材料および方法〕

8~20週齢の雌Jcl:Wistarラット, 8~20週齢の雌Jcl:ICRマウス, 11~12ヶ月齢の雌ビーグル犬および成熟雌カニクイザルを放血屠殺後、胃(腺胃部分あるいは胃底腺部)、十二指腸、小腸上部・中部・下部、盲腸および結腸の7部位を採取し、2%グルタルアルデヒドを用いて0~4℃で2時間固定後、液体窒素で凍結し約10 $\mu$ mの凍結切片を作製した。切片はチオ酢酸法(Crevier and Belanger, 1955)により、0~4℃で3時間反応液に浸漬し、活性の局在およびその強さを光顕的に観察した。得られた反応が非特異的エステラーゼ活性であることを確認するため、対照実験として、コリンエステラーゼ阻害剤である10<sup>-2</sup>Mエゼリンあるいは非特異的エステラーゼ阻害剤である10<sup>-5</sup>M硝酸銀溶液に切片を室温で1時間前処理した後、または切片を熱処理(80℃, 30分)した後、同様に反応させた。また、一部の材料については、固定後約40 $\mu$ mの未凍結切片を作製し0~4℃で1時間反応後1%オスミウム酸で後固定し脱水後エポン包埋、超薄切片を作製し、電顕的に観察した。

## 〔結果および結論〕

腸管における非特異的エステラーゼ活性は、いずれの動物種においてもそれぞれの部位の腸管粘膜上皮細胞に認められ、杯細胞あるいは粘膜固有層に反応はみられなかった。ラット、マウスおよびカニクイザルの腸管粘膜上皮各部位における反応の強さはほぼ同様で、十二指腸≒小腸上部>小腸中部>小腸下部>盲腸≒結腸の順であり、腸管の上部ほど反応が強かった。しかし、カニクイザルではラット、マウスに比べ個体差が大きく、小腸中部・下部でも十二指腸とほとんど変わら

ないほど強い反応を示す例もみられた。一方、ビーグル犬の腸管粘膜上皮における反応は、他の動物種と比較して極めて弱く、腸管の部位による反応の差はほとんどみられなかった。これらの反応は硝酸銀による前処理あるいは熱処理により完全に抑制され、エゼリンによる前処理では影響を受けず、非特異的エステラーゼ活性を示すものと考えられた。また、ラットの十二指腸粘膜上皮細胞における非特異的エステラーゼ活性の電顕的検索では、小胞体および核膜に活性が認められ、細胞膜および微絨毛に活性は認められなかった。

胃においては、マウスの腺胃部粘膜上皮、ビーグル犬およびカニクイザルの胃底腺部粘膜上皮に反応が認められたが、ラットでは反応はみられなかった。マウスの腺胃部の反応およびカニクイザルの胃底腺部の一部の反応は、硝酸銀の前処理により抑制され非特異的エステラーゼ活性であることが示されたが、ビーグル犬の胃底腺部の反応およびカニクイザルの胃底腺部の一部の反応は、硝酸銀の前処理あるいは熱処理によっても抑制されず、非特異的エステラーゼ活性を示すものではないと考えられた。

以上の成績から、消化管粘膜上皮における非特異的エステラーゼ活性は、動物種によりその局在と強さが異なり、また部位によりその強さが異なることが明らかとなり、この差がエステル化合物の消化管からの吸収・分解にみられる動物種差の一因ではないかと考えられる。また、電顕的に非特異的エステラーゼ活性は、小胞体および核膜に局在したことから、経口的に摂取されたエステル化合物は、未分解のまま上皮細胞に入り、小胞体あるいは核膜の非特異的エステラーゼによって加水分解されると考えられる。しかしナフチル酢酸を基質とした場合には、ラットの小腸における非特異的エステラーゼ活性は電顕的に上皮細胞の微絨毛および細胞膜に局在するという報告がある(Yokota, 1974)。このことから、ラットの小腸上皮には、基質を異にする少なくとも2種以上の非特異的エステラーゼ活性が局在すると考えられ、それらの局在を知るとともに、ある種のエステル化合物がどちらの型の分解を受けるのかを知ることが、そのエステル化合物の吸収・分解を知るうえで重要であると考えられる。

伊藤明弘、森 雅弘、青山秀行、中川義基、高橋忠照、香川直樹、内藤正志、渡辺敦光、(広大原医研癌)

近年の発癌研究、特に米国FDAや日本の厚生省を中心とした食品添加物、医薬品の発癌研究においては、ラット、マウスが頻用され、就中マウスではB<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>が多用されている。本系マウスの特徴として父系にC<sub>3</sub>H系マウスを用いるため、肝腫瘍の好発系であることが明かであり、多くの実験において実験成績の解釈に問題点を提起している。今回、当研究室で過去数年間で複数回行ったB<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウスの発癌性試験で異なった頻度の肝腫瘍発生率を得ているので、その成績と要因についての検討を行った。

(方法) 日本チャールス・リバー社のB<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウスを4週令で購入、プラスチック製透明ケージを用い、木くず片を下敷にしてオートクレーブを行ない、1ケージ5-7匹として飼育し、週2回水道水を交換投与した。飼料はオリエンタル製、MF及びチャールス・リバー社製、CRF-1の固形又は粉末を自由摂取させた。飼育温度は25+2°Cで湿度は55+5%とした。動物は毎日観察し、月1回体重測定を行ない、最高110週令まで観察した。

(結果) 1. 肝腫瘍発生における年令因子: 52週令のマウスでは雌雄ともに0%であった。然し、75-94週令では18%以上の上昇を示し、110週令ではその頻度は更に上昇した。2. 実験時期: 1981-82の実験では110週令の観察期間で22%であり、1986-87年の実験では66%と有意差をもって上昇した(表1)。尚、肝腫瘍の分類はaltered foci(AF), adenoma(AD), adenocarcinoma(CA)の3段階とし、AFは非腫瘍病変として計算から除外した。又、ADとCAは一括して腫瘍として扱った。3. 固形食と粉食の差: 1986年にCRF-1の固形食と粉食について同一時期に同一の動物を用いて実験を行った。その結果、固形食では66%、一匹当りの平均腫瘍数は1.32であり、粉食では16%と平均腫瘍数は0.16であった。次にこの両群について平均体重を肝腫瘍発生以前と考えられる82週と実験終了の110週令について測定した。その結果、固形食群では82週令の無肝腫瘍動物と有肝腫瘍動物では各々36.9と33.9gでp<0.05の有意差で有腫瘍動物で低下を示したが、同時期の固形食群では両群の間に差を認めなかった(表2)。又、最後屠殺時では粉、固いずれの群でも体重に差がみられなかった。一方、粉食と固形食間での体重を比較すると全期間を通じて固形食での体重の増加が有意に上昇し、肝腫瘍発生

も有意に上昇した。

(結論) 以上の実験成績より、飼料の形状、即ち固形か粉末かは肝腫瘍発生に重要な因子となるが、肝腫瘍発生前後の体重の変化の影響は明確に示されなかった。飼料中の発癌因子についても現在検討中である。(本研究の一部は厚生省がん特別研究費の援助を受けた)

表1. B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウスの自然発生肝腫瘍における年次、飼料、観察期間の影響

性	年次	飼料		観察期間(週令)			計	
		型	形状	58	75-94	110	(%)	平均腫瘍数
雄	1981	CRF-1	固	-	6/34(18)	5/10(50)	25	0.36
	1985	MF	固	0/10(0)			0	
	1986	CRF-1	固	-	2/3(67)	31/47(66)	66	1.32
	1986	CRF-1	粉	-	2/31(6)	6/19(32)	16	0.16
雌	1981	CRF-1	固	-	0/30(0)	5/19(26)	10	0.10
	1985	MF	固	0/10(0)				
	1986	CRF-1	固	-	1/4(25)	0/46(0)	2	0.02
	1986	CRF-1	粉	-	0/32(0)	1/15(6)	2.1	0.02

表2. マウス肝腫瘍発生における体重の影響(1986年次)

肝腫瘍の有無	有効動物数	平均体重(g)	
		80週	104週
粉	有	8	33.9+2.6 <sup>a</sup>
	無	31	36.9+3.7
固	有	29	46.9+4.6
	無	15	46.7+2.1

a: Significantly smaller than corresponding control by p<0.05.

## BOPの投与により発生したハムスターの 多発性肝嚢胞

○岡宮英明・古川文夫・豊田和弘・佐藤秀隆・下地尚史・長谷川良平・高橋道人 (国立衛試・病理)

N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP)は種々の実験動物に強い癌原性を示すが、その標的臓器は明かな種差が認められ、モルモットでは肝に胆管癌を、ラットでは肺、甲状腺の腫瘍を誘発する。また、ハムスターでは特異的に膵管由来の腫瘍を発生させ、ヒト膵癌の実験モデルとして重要なものとなっている。今回、新生仔に対するBOPの作用を検討する目的で新生仔ハムスターにBOPを投与したところ、著明な多発性肝嚢胞の形成が認められたので報告する。

### 材料及び方法

2匹の妊娠シリアンゴールドデンハムスターから得られた21匹(雄10匹、雌11匹)の新生仔ハムスターを実験に供した。生後2日目に生理食塩水に溶解したBOPを10mg/kgの投与量で腹腔内へ1回投与した。離乳後雌雄を分け、固型飼料(MF, オリエンタル酵母)および水道水を自由に摂取させた。動物は床敷としてソフトチップ(三協ラボ)を用いたプラスチックケージに収容し、温度 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、12時間の照明サイクルの飼育室内で飼育した。動物はBOP投与後、67週目に屠殺剖検した。諸臓器を肉眼的に観察した後摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。通常の方法によりパラフィン切片を作製、H-E染色を施し組織学的検索を行った。

### 結 果

BOP投与により雄4匹、雌6匹が実験早期に死亡したため、これらを除外し、雄6匹、雌5匹を検索対象とした。67週目に雄1匹が死亡し、肉眼所見で肝に多発性嚢胞が認められたため、残りの生存例についても観察を打ち切り67週で屠殺剖検した。その結果、全ての例で肝全葉に大小様々の多数の嚢胞形成が認められ、嚢胞の内容物は粘度の低い淡緑黄色透明な液体であった。膵臓を含めて他の臓器には肉眼的に腫瘍を含む明らかな病変を認めなかった。組織学的に、嚢胞は立方形ないし扁平な上皮細胞により内腔側を被われ、その周囲は薄い線維性結合織より成っていた。一部の嚢胞内腔には、エオジンに好染する均質無構造な物質が見られ、稀に赤血球、白血球あるいは細胞崩壊物も見られた。肝臓ではその他に肝細胞の過形成結節が雄2例に、血管腫が雌雄各2例に、胆管腺腫が雄1例

にみられた。他の臓器では肺の腺腫が雌雄各2例に認められた。一方、BOPの成熟ハムスターにおける発癌の標的臓器である膵臓には腫瘍の発生は全くみられず、また主膵管や膵管の上皮細胞にも変化を認めなかった。

### 考 察

BOPを生後2日目の新生仔ハムスターに投与することにより肝臓に多発性の嚢胞形成がみられたが膵癌の発生はみられなかった。肝嚢胞は組織学的に、胆管由来型、肝細胞由来型、類洞由来型およびこれら3種の混合型に分類されている。今回BOPの新生仔期投与によってハムスターにみられた嚢胞は組織所見からそのほとんどが胆管由来と思われた。

老齢のラット、マウスなどに肝嚢胞が自然発生することは良く知られている。実験的には、BOPの類似物質であるN-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP)を10週齢のddY系マウスに1回腹腔内投与すると、全ての動物に多発性肝嚢胞が発生することを山本らが報告している。また太田らは、N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)をF344, SD, Wistar, B.N., Lewisの5系のラットに飲料水中に混じて60週間投与し、78週目に屠殺観察したところ、B.N.系ラットで孤立性あるいは多発性の肝嚢胞の発生を認めている。BOP, BHP, MNNGはいずれも強い癌原性を有するニトロソ化合物であるが、肝嚢胞を誘発する機序は明らかでない。

癌原性物質を新生仔期に投与することにより、その癌原性が増強されたり、成体に投与した場合と異なった腫瘍が発生することはよく知られている。これは幼弱な動物では代謝機能に成体と差があることや、種々の臓器でDNA合成が盛んであることなどによると考えられている。本試験の結果は、BOPの標的臓器がハムスターの成体と新生仔では異なることを示している。この差異を利用することにより、BOPのハムスター膵臓における発癌機序の解明に重要な手掛かりが得られる可能性がある。

○田中 薫, 永田貴久, 永田良一, 藤村久子(新日本科学 病理研)

ビーグルは、大動物を使用する毒性試験用としては非常に有用な動物であるが、いまだ未知の点もあるのではないと思われる。

我々は、ビーグルの全身臓器をくまなく光学顕微鏡的に検索しているうちに、脾臓のランゲルハンス島(以下「ラ」島と省略)内にエオジンで細胞質が赤染する細胞がかなりの頻度で観察されることに気づいた。

このような細胞についての記載は、調べた限りでは成書には手がかりがなく、又、複数の病理学者(人体及び動物の専門家)に相談してもこの細胞についての心あたりが得られず、従って諸家の御意見をうかがうために、本学会にて提示することに至ったのである。

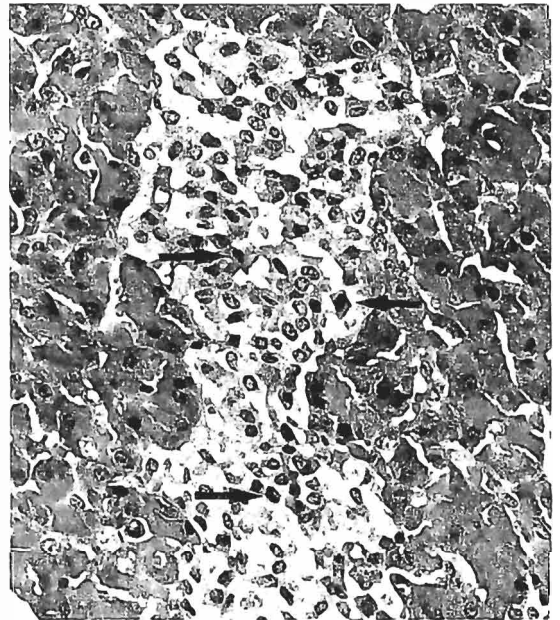
この細胞(以下 Eosinophilic cell と仮称)についての研究はまだ始まったばかりで、十分なデータは得られていないのであるが、大まかな、予備的な印象をのべれば以下のごとくである。即ち、写真の矢印にて示すように、Eosinophilic cell の細胞質はエオジン好性であり、やや細顆粒状を呈するものから均一に染まるものまで種々ある。細胞の大きさは、他の「ラ」島構成細胞とほぼ同じか少し小さい。核も他の「ラ」島構成細胞とほぼ同じかやや小さい。核はクロマチンが一般的には豊富であり、時にはくびれていることもある。核がくびれている時は、核はやや小さく、ヘマトキシリンで濃く染まり、同時に細胞質がエオジンで均一に染まる傾向があるように思える。Eosinophilic cell の「ラ」島内分布は、特にある部分、例えば「ラ」島の辺縁とか中央部というように偏在することはなく、at random に分散する傾向がある。Eosinophilic cell 陽性「ラ」島の分布は、脾組織内で特にかたよってはいなかった。

Eosinophilic cell の陽性率については、

未だ検索した例数が少ないので確定的なことはいえないが、およその数字を示せば、Eosinophilic cell 陽性「ラ」島数/全「ラ」島数は約 63% であった。但しこれはある平面において検索した陽性率であって、立体的に「ラ」島内における Eosinophilic cell 陽性の有無を調べれば、Eosinophilic cell 陽性「ラ」島の陽性率は更に高まるものと思われる。Eosinophilic cell 数/「ラ」島内全構成細胞数は 16% であった。

以上の所見は主に成人ビーグルについてであるが、幼若ビーグルでも Eosinophilic cell は観察された。Eosinophilic cell は、カニタイザル及びラットでは、ごくわずか、もしくはほとんどみとめられなかった。

Eosinophilic cell がどのようなものなのかは、現段階では不明である。まず手はじめとして、種々の染色法による被染色性の検討や電顕的観察等を試みる予定である。本学会にて諸家の御意見をうかがったのちに、できれば免疫染色による検討なども将来的には行いたいと思っている。





## 粗製トリプシンインヒビターの膵臓に与える影響 および種差

○古川文夫, 豊田和弘, 長谷川良平, 佐藤秀隆, 岡宮英明, 下地尚史, 高橋道人 (国立衛生試験所 病理)

Trypsinの酵素活性を阻害する trypsin inhibitor (TI) をラットやニワトリに与えると膵臓の腺房細胞が著しく腫大することが知られている。我々は、ラットにおける粗製TIの用量反応関係を確認するとともに種差を検討する目的でラット、ハムスター、マウスを用いTIの膵臓に与える影響を病理組織学的並びに免疫組織化学的に検討した。

### 実験材料および方法

実験1. 5週齢の雄SDラット10匹を4群に分け粗製TIを、40%, 20%, 10%および0%の割合で粉末飼料に混じり4週間自由に摂取させた。粗製TIは脱脂大豆抽出液を乾燥させたもので、Sigma社製の市販TIの活性の約5分の1に相当する。

実験2. 5週齢の雄SDラット, 雄C57BLマウス, 雄シリアンゴールドンハムスターを各10匹用い、各動物種5匹に10%粗製TI添加飼料を、5匹には粉末飼料を4週間自由に摂取させた。そしてBrdUを腹腔内投与し1時間後屠殺剖検した。膵臓は十二指腸および空腸とともに摘出し、H-E染色およびAzan染色を施し病理組織学的に検索した。さらに抗ヒトglucagon, 抗ヒトinsulin, 抗ヒトsomatostatin, 抗ヒトcholecystokinin (CCK), 抗BrdU抗体を用い、ABC法で免疫組織化学的に染色した。

### 結果、

実験1. 実験開始時のラットの体重は用量に相関して体重増加の抑制が認められた。40%投与群は体重増加抑制が顕著であったため実験2週間目で屠殺した。40, 20, 10%粗製TI含有飼料で飼育したラットでは膵臓の腺房細胞基底部の好塩基性細胞質の減少、線条構造の不明瞭化、暗調細胞数の減少がみられた。Azan染色ではチモージェン顆粒は均一な細顆粒状を示した。この様な変化は各濃度の粗製TI投与群に共通して認められたが用量による差は明確ではなかった。

実験2. マウス、ハムスターにおいては体重の増加抑制がみられた。粗製TIを投与したラットの膵臓の腺房細胞は腫大したが、ハムスター、マウスの膵臓では腺房細胞の腫大は軽度であった。その他、膵における限局性の腺房細胞壊死がラットに1例、ハムスター2例、マウス3例

に認められた。CCK陽性細胞は十二指腸から空腸の粘膜固有層内に存在し、腸管腔に開口するものと開口しないものの2つのタイプが確認できた。このCCK陽性細胞はラットで、ハムスターやマウスに比べてより多く存在した。TIを投与するとラットのCCK陽性細胞は著しく減少するが、ハムスターやマウスにおいては変動はみられなかった。実験1、2ともラットのラ氏島の多くは小型化し、構成細胞数の減少が顕著であった。ラ氏島の内分泌細胞の構成面積比はglucagon, insulin陽性細胞は変わらなかったがsomatostatin陽性細胞の構成面積比は減少していた。一方、マウス、ハムスターではラ氏島の小型化の所見はなく、内分泌細胞比にもほとんど変化を認めなかった。BrdUによる細胞動態の検索では、ラットに10%TIを投与すると小葉間膵管の上皮でやや標識率が高い傾向が認められたが、腺房細胞やラ氏島では著変はみられなかった。

### 考察

TIを投与すると上部小腸内でtrypsinと複合体を形成しtrypsin活性を低下させるためnegative feedback機構が働き、CCKが放出され外分泌機能が亢進状態となり腺房細胞の腫大が起こるものと考えられている。無処置のラットではCCK陽性細胞が数多く、無処置ハムスターやマウスでは数少なかった。TI投与ラットはCCK陽性細胞数の減少がみられた。これはCCKを血中に過剰に放出しCCKの貯留量の著しい溜滞状態となり、検出できなかった可能性も考えられる。今回のTIを投与したラットではラ氏島が小型化し、構成する細胞比はinsulin陽性細胞が主体を成していた。しかし、中型や大型のラ氏島ではglucagon, insulin陽性細胞面積比は変わらないがsomatostatin陽性細胞面積比の低下がみられた。小型ラ氏島は細い膵管から再生したβ細胞からなるラ氏島と考えられる。細胞動態の検索はTI投与によりBrdUの標識細胞は膵管上皮(特に小葉間膵管)に多く認められた。raw soy flourを投与したラットの細胞動態は投与初期に膵管上皮の標識率が高く、それから急速に減少しする報告があり、それと一致する結果である。TIに対するCCK分泌細胞数の分布の違いが腺房細胞の反応において種差を生じた一因であろうと考えられる。

○入村兼司、中野茂樹

(大鷗薬品 安全性研究所)

頻尿改善剤として新規に開発中の化合物、塩酸プロピベリン(P-4と略)はWistar系ラットに13週間経口投与すると、腎近位尿細管上皮核内に封入体様好酸性滴状物の形成を用量依存的に誘発した。

一方、重金属である鉛、ビスマスなどによる中毒時あるいは自然発生的に非ウイルス性核内封入体形成がラット、イヌなどの実験動物の腎尿細管上皮にみられることはよく知られている。しかし、薬物投与によって尿細管上皮核内に誘発された類似病変を報告した例は極めて少ないと思われる。

今回、演者らは極めて稀な変化と思われるP-4による核内封入体様好酸性滴状物形成機序解明の一環として、滴状物の性状、経時的变化およびラット系統差を明らかにする目的で連投試験を実施し、光顕的、電顕的に検索した結果、若干の知見を得たので報告する。

#### 材料・方法

6週齢のJcl:Wistar, Crj:CD(SD)及びF344/Jclの雄ラット各々9匹を用い、注射用蒸留水に溶解したP-4を各系統に200mg/kgの用量で1日1回連続経口投与し、経時的に投与1、3及び5週目に各系統3匹ずつエーテル麻酔下に屠殺、剖検した。両側腎を摘出後、直ちに凍結切片を作製しあるいは20%緩衝ホルマリン、カルノアまたは2.5%グルタルアルデヒド固定を施し、光顕的、電顕的検索に供した。核内滴状物の性状確認の為、通常の組織学的検索法の他に、PAS, Azan, Toluidine blue, Methylgreen pyronin, Sudan III, Feulgen, pepsin消化試験及びElastica Van Giesonを施し検索を行った。

#### 結果

##### 1. 光顕的観察

###### 1) 核内滴状物の経時的变化

総ての系統において同様の結果を得た。すなわち、各系統とも全例において核内滴状物の形成は1週目から認め、核小体より小さく、弱好酸性、均質、類円形でhaloを有する滴状物が通常1個、ほとんどの近位尿細管上皮核内に観察された。3週目以降、滴状物は経時的に大きさと好酸性を増し、5週目では大きさは核小体の数倍に、好酸性は赤血球程度になった(写真1、矢印)。なお、近位尿細管では3週目以降同様の形態的特徴を有する滴状物が細胞質にもみられた。また、近位尿細管以外の腎組織に滴状物はなかった。

###### 2) 核内滴状物の性状

###### 3週目Wistar系ラット腎について特殊染色及び

pepsin消化試験を行った結果、核内滴状物はAzan染色でとう黄色、Elastica Van Gieson染色で黄色、pepsin消化試験で消失したが、Feulgen, PAS, Methylgreen pyronin, Toluidine blue及びSudan IIIでは染まらなかった。なお、細胞質内滴状物も核内と同様の染色態度を示した。

###### 3) 核内滴状物形成の系統差

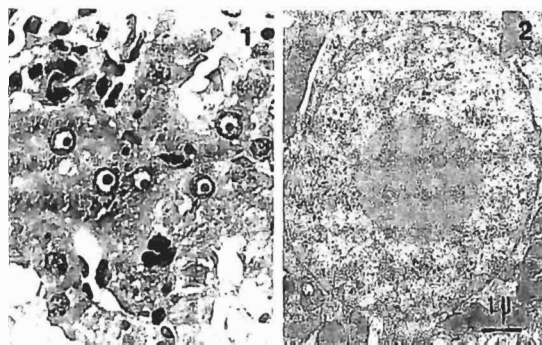
5週目までの核内滴状物の発生状況及び形態学的特徴は総ての系統において同じであった。

##### 2. 電顕的観察

核内滴状物の超微形態学的特徴は全系統において同じであった。すなわち、1週目では核内滴状物は電顕的に核小体と区別可能で、マイクロフィラメント様構造を有する低電子密度の類円形構造物であって、膜はなく周囲との境界はやや不明瞭であった。この構造物は以後経時的に大きさと電子密度を増し、5週目では大きさは核小体の数倍に、電子密度はヘテロクロマチンと同程度になり、マイクロフィラメント様構造はやや不明瞭となった(写真2)。なお、1週目から、細胞質にも核内構造物と同様の構造がみられた。

##### 要約と考察

核内滴状物の形成に系統差はみられず、いずれの系統においても投与1週目までに形成され、以後経時的に大きさと好酸性または電子密度を増していった。特染及びpepsin消化試験の結果より、滴状物に蛋白質成分が含まれている可能性が示唆された。細胞質にも同様の滴状物がみられることより、滴状物の形成は核特有の変化ではないことが示された。



北堀吉映、松木 尚、日浅義雄 (奈良医大1病理)

Diethylene glycol (DEG)は芳香族炭化水素化合物で、抽出剤、各種染料、塗料の溶剤、羊毛、綿などの光沢、仕上げ剤およびラッカー配合剤として広く用いられている。DEG経口投与による毒性試験では腎および肝障害、膀胱結石および腫瘍の発生が報告されているが、いずれの報告もその毒性について詳細なデータはみられない。

今回、DEGの腎に対する毒性について光顕および電顕的に検討したので報告する。

#### 実験材料および方法

##### 1. 試料

Diethylene glycol:  $C_4H_{10}O_3$

純度: 97%以上

関東化学株式会社から購入

##### 2. 実験方法

動物は静岡実験動物から購入した生後7週令のF344ラットを用い、DEGの投与は水道水に5%の濃度で自由摂取させた。

実験はDEG投与後、2、4および6日後に屠殺し、腎は1/2 Karnovsky固定を施し、光顕および電顕的検索を行った。

#### 結 果

##### 1. 光顕的所見

腎の肉眼的観察では実験開始2および4日目ではいずれも明らかな変化はみられず、その後6日目で腎は軽度腫大し、割面では皮質部が白色調を増し、重量の増加を軽度認めた。

光顕的に主なる病変は、近位尿細管の上皮細胞が腫大しその胞体内には空胞形成、PAS陽性あるいは好酸性の顆粒物質の沈着が認められ、さらに核濃縮および細胞の脱落であった。空胞変性は2日目ですでに認められ、比較的微細な小空胞が基底部に位置していた。4日目では、一部に強い空胞変性を伴い、核の濃縮した細胞壊死および上皮の脱落による巣状壊死が近位尿細管を中心に観察された。変性の高度な例では、皮髄境界部に存在する傾向があった。6日目では細胞脱落壊死巣が皮質部全部におよんで観察された。

##### 2. 電顕的所見

同一個体においても種々の程度の組織像が観察され、投与2日目では刷子縁には著変なく、刷子縁直下に多数の小空胞あるいは空胞内に微毛状の構造をもったapical vesicleが多数みられた。ミトコンドリアに変化はみられなかった。基底部は基底膜および基底細胞陥入にも明らかな変化はなかった。投与4日目では、上記の変化に加え細胞小器官の減少を伴った細胞表面の単調、apical vesicleの減少がみられた。ミトコンドリアは基質の電子密度が高くなり、大小の不整が観察された。さらにクリステ内腔は拡大し小体は消失している所もあった。また基底部の細胞膜陥入はほとんどみられなかった。

谷口雄三, 今井俊介, 森本純司, 芳賀敏実, 螺良義彦 (奈良医大・第2病理)

## I. 緒言

Nalidixic acid (NA) はNaphthyridin誘導体でグラム陰性菌に有効な化学療法剤であり、細菌のDNA合成阻害によりbacteriocidalに作用することが知られている。演者らはNAの急性毒性をはじめ亜急性毒性実験より肝臓並びに腎臓への影響については既に報告した。

演者らは、NAのイヌにおける経口投与での毒性実験を行った際に上皮小体に100Åの直径を有する細胞質内フィラメントの増生を主細胞に見出した。今回、その現象について血清生化学的、光学並びに電子顕微鏡的に検討した。

## II. 実験材料及び方法

### 1. 試薬

Nalidixic acidはメディインベックス社製 (Lot No. M7740) を使用した。

### 2. 動物

加商から購入した生後6カ月齢のBeagle、雌雄48例を予備飼育した後実験に供した。

### 3. 投与方法及び期間

NAはゼラチンカプセルに充填したものを1日1回35日間連続強制経口投与した。対照群はゼラチンカプセルのみを上記と同様の条件で投与した。

### 4. 検査項目

#### 1) 一般症状並びに体重、摂餌量、摂水量の測定

一般症状、摂餌量及び摂水量は毎日観察及び測定した。体重は7日間間隔で測定した。

#### 2) 尿検査

実験開始日及び5週間目の計2回実施した。

#### 3) 血清生化学的検査

GOT, GPT, ALP, LDH, LAP, CPK, Creatinin, BUN, T.Bil., T.Cho., TG, PL, Glucose, A/G, T-protein, Na, Cl, IP及びPTHを測定した。

#### 4) 病理学的検査

実験終了後のすべての動物から摘出した臓器は10%ホルマリンまたはKarnovsky固定を施し光学的、電顕的観察に用いた。

## III. 結果

### 1. 一般症状及び体重、摂餌量及び摂水量

一般症状では、雌雄とも特に変化は認められなかった。また体重では雌雄の50mg/kg群で対照群に比し体重増加抑制が認められた。

### 2. 尿検査

尿検査では、特に変化は認められなかった。

### 3. 血清生化学的検査

上記の項目について実施したが、特に対照群との間に変化は認められなかった。

### 4. 光顕的所見

上皮小体では、主細胞は明るい細胞質と丸い平らな核を有して比較的密に配列して観察されるが、特に顕著な変化はみられなかった。

### 5. 電顕的所見

上皮細胞の主細胞では、対照群の核小体は明瞭で、クロマチン量及びその分布ともに明らかな変化はなく、核縁は平滑であった。ゴルジ装置はよく発達し、その周囲には小胞体が多く見られた。雌雄のNA投与群では、核縁の不整形やミトコンドリアの融解及び粗面小胞体のミエリン様構造が観察された。Cisternal systemも広範囲に拡張し、ミクロフィラメントは増生していた。個々のフィラメントは約100Åの単形であった。脂肪滴は軽度の増加を示し、しばしば不定形の脂肪沈着が認められた。

## IV. 考察

フィラメント封入体がいろいろな細胞で見られることはよく知られている。これらは細胞の働き、物質の取り込みや分泌に関連すると言われている。特に腫瘍細胞の機能亢進や低下の際に働くものとされている。しかし、その役割については未詳な点が多い。今回、観察された上皮小体の細胞内フィラメントの増生については特に報告されていない、我々は電顕的観察及びPTHホルモン他各種の生化学的検査を行うことにより、この細胞質内フィラメントの病理学的検討を行った。

○高岡雅哉, 矢本 敬, 真鍋 淳, 樽見千利, 宮腰昶宏, 松沼尚史\*, 増田 裕 (三共(株)・安全研, \*生物研)

## 【目的】

3-Amino-1,2,4-triazole (Amino-triazole) は、甲状腺のヨード有機化ペルオキシダーゼを阻害し、甲状腺ホルモンの合成阻害を起こす化合物としてよく知られている。この化合物の毒性研究は、ラットを中心としたゲツ歯類でおこなわれている。その病変は主に甲状腺に認められ、TSHの二次的な修飾を受けたものとして捕らえられている。また、長期投与では甲状腺と肝臓に対する発癌性が報告されている。しかし、他の実験動物での報告は少ない。

今回、演者らは、Aminotriazoleの毒性についての種差を検討する目的でイヌに2週間強制経口投与し甲状腺および肝臓について検討した。

## 【材料と方法】

当研究所で生産・育成したビーグル犬(11~18ヵ月齢)にAmino-triazole(シグマ社)をゼラチンカプセル(パークデービス社)に充填し、250,500,1000 mg/kg/dayの用量で2週間連続強制経口投与した。投与終了後、動物を放血屠殺して肝臓および甲状腺を採材し、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定後、常法に従って薄切、H-E染色を施して光学顕微鏡的に観察した。また、甲状腺については、PAP法にてサイロキシン抗体(ヒト用:オルソ社)を用いた酵素抗体法を実施した。血液生化学的検査は、投与1週目および2週目に採血し分離した血清についてTransaminase(GOT,GPT), ALP値を測定した。

## 【結果および考察】

病変は肝臓と甲状腺の両方に観察された。肝臓においては、変化が軽度な例で中心静脈およびグ氏鞘周囲の細胞浸潤が、重度な例でこれらに加えて散在性の単一肝細胞壊死が認められた。血液生化学的検査では、肝臓の変化が軽度な個体でALP値の上昇

が、重度な例でさらにGOTおよびGPT値の上昇が観察された。甲状腺については、肝臓に重度な変化が観察された個体のみに、濾胞上皮細胞の腫大および乳頭状増生、コロイドの減少がみられ、酵素抗体法でサイロキシンの染色性の低下が観察された。

これらの変化を総括するとAmino-triazoleに対するイヌの肝臓および甲状腺の反応は、1)肝臓および甲状腺に変化がない例、2)肝臓にのみ変化が生じた例、3)肝臓および甲状腺の両者に変化が認められた例の3タイプに分類された。

以上、本研究によりAminotriazoleの高量をイヌに投与した場合、甲状腺に加え肝臓にも毒性が発現することが明らかとなった。肝臓の変化は、ゲツ歯類では報告されていない病変であり興味深いものであった。また、甲状腺の変化は、ラットで報告されているものと同質の変化であったが、肝臓に障害が発現した個体にのみ検出されたことから、肝臓の障害の程度と関連して発現した可能性があると考えられた。

松木 尚、北堀吉映、日浅義雄 (奈良医大1病理)

Safflower yellowは、ペニバナの花期の管状花から抽出した黄褐色の粉末で、耐熱耐光性であり黄色系の着色料としてすぐれているため、広い範囲の食品に利用されている。キャンディー、ドロップ、クリームスナック菓子などには0.1~0.3%程度のsafflower yellowが添加されている。

この薬物のマウスでの急性毒性は、経口投与でLD<sub>50</sub>=20g/kgと報告されており、この毒性が極めて低いものである。

今回、ラットを用い2年間の長期投与を行いSafflower yellowの毒性を再検討したのでその結果を報告する。

実験材料および方法

1. 試料

Safflower yellow  
 化学式 C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>  
 分子量 450.4  
 化学名 6-glucosidoxoy-2,4,4'5 tetrahydroxy chalkone  
 三栄化学工業会社から購入 (LOT.590110)

2. 動物

日本チャールスリバーから購入した生後4週令のFischer344ラット雌雄各々150匹を1週間の予備飼育の後実験に用いた。

3. 投与方法

Safflower yellowは、日本クレア社で固型飼料(CE-2)として混合したものを使用した。その投与濃度は、急性試験の結果にもとずき雌雄共に高濃度群を5%として以下公比1/2で低濃度群を2.5%と設定した。他の1群は、試料無添加の対照群とした。各濃度群50匹として実験期間は110週間とした。

4. 観察と測定

飼料および水は自由に摂取させ、飼料摂取量と体重は経時的に測定した。実験終了後、麻酔下のもと採血を行い全身諸臓器を観察後、そのすべての臓器をホルマリン固定した。血液及び血清は生化学的、また各臓器は病理組織学的に検索した。

結果

1. 体重および生存率

体重の変化は雌雄共に実験期間を通じ良好であった。生存率は雌雄73~92%でいずれも良好な結果が得られた。

2. 飼料摂取

飼料の摂取量は、体重100g当り1日に換算し、やや雌の方が高い傾向を示したが雌雄共に4~6gの範囲で推移した。

3. 血液および生化学的検査

血液および生化学的検査において、総じて対照群と比べほぼ一定の値であり、雌においてよりその変動は小さいものであった。

4. 病理組織学的検査 (表)

実験群と対照群間でsafflower yellowの投与量に相関した各臓器重量の差は認められず、組織学的検索においてもその毒性および発癌性を示唆させる明らかな変化は認められなかった。

主な臓器に発生した組織変化および腫瘍発生についてその結果を表に総括した。

以上の結果から、Safflower yellowは5%および2.5%、2年間の投与ではF344ラットにおける毒性あるいは発癌性は示さないことが明らかとなった。

表 組織分類

臓器および組織型	雄：担腫瘍動物数 (%)			雌：担腫瘍動物数 (%)		
	高	低	対照	高	低	対照
辜丸：間細胞腫	40(97)	43(97)	35(97)	—	—	—
甲状腺：C-細胞腫	5(15)	5(13)	1(3)	1(2)	0(-)	0(-)
副腎：褐色細胞腫	0(-)	1(2)	4(12)	1(2)	1(3)	0(-)
肝：腫瘍性結節	2(3)	0(-)	2(4)	1(2)	1(2)	1(2)
肺：肺胞上皮腺腫	0(-)	1(2)	0(-)	0(-)	2(4)	0(-)
腎：腺癌	1(2)	0(-)	0(-)	0(-)	0(-)	0(-)

実験的大腸癌発生の及ぼす天然ケイ酸アルミニウムの影響

P-13

○荒井昌之、舟橋正範（藤田学園・衛・病理）

目的：

最近、我国において肺癌、前立腺癌とともに増加傾向にある大腸癌について、発癌の2段階説に準じ、DMH（1・2-Dimethylhydrazine）を起始物質として使用し、その後DC（Sodium-deoxycholate）あるいはアドソルビン（天然ケイ酸アルミニウム）を投与し、その影響を検索することを目的として以下の実験を行った。

材料並びに方法：

DMHはAldrich Chemical Co. Inc.のものを、DCは片山化学、アドソルビンは三共株式会社のものを用いた。

動物は6週令のF344系雄ラット平均体重160g前後を用い5群を作成した

第1群（10匹）：20mg/kgの割にDMHを週1回動物の皮下に注射を行った。この処置を12週間連続で行った後、通常の基礎食で飼育した。

第2群（15匹）：20mg/kgのDMHを週1回12週間投与した後、ラット1匹当たり20mgの割にDCを週3回注腸を実験終了時まで行った。

第3群（10匹）：実験開始より4週間は0.5%アドソルビン含有飼料で飼育し、その後DMHを同様に12週間皮下注射にて投与し、さらにアドソルビン含有飼料で飼育した

第4群（10匹）：実験開始後、12週間は無処置で、その後DCを週3回注腸投与した。

第5群（10匹）：0.5%アドソルビン含有飼料のみで飼育した。

動物は、実験開始後20および35週目に屠殺、肝、腎、脾、肺および胃の変化を肉眼的および組織学的に検索するとともに、小腸（十二指腸を含む）および大腸は、肉眼的に腫瘤の形成の認められないものは、スイスロール様に固定包埋し、腫瘍の形成を見た部は半割し、固定包埋を行った。

切片は、ヘマトキシリン・エオジン染色、PAS染色およびアルシャン・ブルー染色を行い、そ

の変化を組織学的に検索を行った

結果：

体重はほぼ順調に増加したが、DMHを投与した群がDCのみを投与した群に比して体重の増加抑制傾向がみられた。しかし、肝、腎の比体重においては、各群間に著明な差はみられず、また肝腎など主要臓器に著変はみられなかった。

20週目では、第1群は、5匹中十二指腸の部で腺腫1例、大腸部でも腺腫1例を認めた。第2群では、6匹中十二指腸の部で腺腫1例、腺癌1例、大腸部で腺腫2例、腺癌1例を見た。第3群では、5匹中十二指腸の部で腺腫1例、大腸部で腺腫1例を見た。

30週目では、第1群5匹中、十二指腸の部で腺癌5例、大腸部で腺腫4例、腺癌4例、第2群5匹中、十二指腸の部で腺癌5例、大腸部で腺腫5例、腺癌5例、第3群5匹中、十二指腸の部で腺癌3例、大腸部で腺腫1例、腺癌4例を認めた。

DCのみの第4群、アドソルビンのみの第5群には小腸、大腸ともに腫瘍性発育を来した動物はなかった。大腸部に発生した腺癌の組織像は、高分化型から中等度分化型まで種々であったが、促進物質による明かな差はみられなかった。

考察：

今回の実験系では、DMHの投与期間が長くそのため、DCあるいはアドソルビンの投与による明かな腫瘍発生率に著明な差はみられなかったが、DMH単独群に比して、より大きく、また発生個数も多い傾向がみられた。

従来より知られている大腸発癌の促進要因であるDCや高脂肪食などの他に、長期の便秘症も注目されるべきと思われる。

DMH大腸癌の組織発生についてはcarcinoma in adenomaの発生形式がより多く観察されたが、de novoあるいはprogressionによる発生と推測される所見も観察された。

MALIGNANT MESOTHELIOMA OF THE RIGHT ATRIUM (SO CALLED MESOTHELIOMA OF ATRIOVENTRICULAR NODE) OF AN OLD RAT.

°Y.OISHI, M.OKUDA, M.MATSUMOTO and S.MORII\*  
(Dept.Pathol., Fujisawa Pharmaceutical. \* Dept.Pathol., Kansai Med.Univ.)

### INTRODUCTION

Spontaneous primary heart tumor has rarely occurred in rats and man. Few reports have dealt with the tumors of epithelial type or the so called "Mesothelioma of Atrioventricular Node" which occur rarely in man. This study reports the pathological findings and related discussions of spontaneous malignant mesothelioma occurring in the right atrium of a male Sprague-Dawley rat.

### CASE HISTORY

A male rat of Jcl:SD strain, untreated control animal raised as in a carcinogenicity study, died 679 days after birth showing gasping respiration for the last 6 days. On necropsy, the rat was well nourished and weighed 765g. The heart weighed 2890 mg. and had a dark reddish nodular firm mass of 15x9x8mm. located from the right atrium to atrioventricular septum. The mass did not adhere to pericardium or pleura.

### LIGHT MICROSCOPICAL FINDINGS

Heart : The tumor was non-capsulated and replaced the myocardium, and was composed of varying numerous tubular structures. The lining cells in most areas were in a single layer and closely packed, but in a few areas they lay deeply. Mitotic figures were found with moderate numbers. Several portions of the lining cells and tubular lumina were stained with alcian blue. Reticulum fibers were abundant in the tumor stroma and very sharply outlined the outer limits of each tubular structure but did not surround individual cells or cellular borders.

Lungs : The multi-metastatic small foci were detected in the congestive bilateral lobes only on elaborate microscopic observation.

### ELECTRON MICROSCOPICAL FINDINGS

The tumor cells were columnar or cuboidal, and constantly had abundantly but short microvilli projections into the tubular lumen. They were marked by oval nuclei, mostly located near the basal portion, and had round mitochondria, rough endoplasmic reticulum, and a few Golgi bodies. The junctional complexes were found between the adjacent cells and only near the luminal surface. In other portions, the neighboring cells formed narrow slits or small lumina filled with uncountable long slender microvilli, and studded with junctional complexes.

### DISCUSSION

Our findings are consistent with a mesothelial origin tumor. Mucin production and ultrastructural findings strongly suggest mesothelioma of epithelial or adenomatoid type. In man, this type of tumors has been classified as "Mesothelioma of AV-node" or "AV-node Tumor". In every human cases, no distant metastases have been found, but clinically, many of these tumors have caused partial or complete heart block owing to their location. This type of tumor is extremely rare in rats, except in special inbred strain NZR/Gd, as evidenced by only two isolated examples of having been reported.

This tumor, in rats as well as in man, probably derives from embryonic rest of the mesothelial cells entrapped in the atrioventricular septum, often in the AV-node, during development.



○岩田 聖<sup>1</sup>, 新井千加子<sup>2</sup>, 小池嘉秀<sup>1</sup>, 廣内康彦<sup>1</sup>, 小林和雄<sup>1</sup>, 野村靖夫<sup>2</sup>, 榎本 真<sup>1</sup> ((財)安評センター<sup>1</sup>、麻布大・病理<sup>2</sup>)

本来存在しない組織が異常に増殖して生じた腫瘍を過誤腫と呼ぶのに対して、異常な部位に存在しても正常な組織像を示す場合にはそれらの組織は、異所性の組織 (Ectopic tissue) あるいは迷入組織 (Aberrant tissue) と呼ばれる。異所性の組織としては、甲状腺組織が舌や縦隔膜に出現する事、膵臓が胃腸管や胆嚢、腸間膜に出現する事等が良く知られている。しかし、胃粘膜が他臓器に異所性に認められたという報告は極めて稀である。

今回我々は、毒性試験に供されたビーグル犬3例に小腸の異所性胃組織を認めたので、その病理学的検査結果の概要を報告する。

#### (材料と方法)

材料の3症例は、いずれも実験動物として米国から輸入されたビーグル犬で、昭和60年~62年の間に同一動物生産施設より導入された。その後、いずれの動物も7ヶ月齢で通常の飼育環境下において毒性試験に供され、8ヶ月齢で計画屠殺された。1例は雌の対照群に、2例は別の試験の雄の処置群で、小腸の糜爛あるいは潰瘍病変として病理組織学検査が行われた。材料は常法に従い、10%中性緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋しH.E.染色を施した。その他、P.A.S.-Aurantia法, Alcian blue-Tartrazine法, Alcian blue-P.A.S.法, 渡辺氏鍍銀法等の特殊染色を実施し、他の正常なビーグル犬の正常組織とともに固有胃腺構造を観察した。また、一部の例で10%ホルマリン固定材料から電子顕微鏡学的検索を試みた。

#### (結果)

剖検時、病変部は2例が回腸に、1例が空腸に存在しいずれの例も円形ないし不正楕円形で噴火口状の潰瘍~糜爛様の形態を呈していた(写真矢印)。色調の変化はなく、周囲組織と変わらなかった。但し1例で微量ながら茶褐色の粘液が粘膜表層に認められた(写真\*印)。

組織学的に病変部は、空腸あるいは回腸粘膜の中に円盤状を呈して認められ、周囲小腸組織との境界は明らかであった。これらの組織は、基本的に胃底部組織と同様な像を示した。すなわち、表層粘液細胞、主細胞、壁細胞、副細胞、内分泌細胞などの固有胃腺細胞を有する明らかに胃と考えられる組織であった。

しかし、以下の点で正常胃組織とは若干の相違が認められた。1. 胃小窩が比較的深く1つ1つの粘膜ヒダが

細い。2. 全体に胞体がやや萎縮ぎみである。3. 表層粘液細胞は胞体の幅が広く、粘液産生に乏しい。4. いわゆる峽部細胞と呼ばれる分裂の活発な細胞が多い。5. 腺体部では壁細胞の占める割合がやや多い。6. 腺底部では明らかな腺腔を形成する部分が見られ、これらの細胞質では、P.A.S.陽性の顆粒が認められる。その他、粘膜固有層結合組織では正常組織との差は認められなかった。

なお、その他の組織所見としては、処置群に見られた例で被験物質投与によると考えられる胃および小腸の小出血や浮腫が局所的に観察されたが、本病変周囲には認められなかった。

電子顕微鏡学的にも、正常胃組織に見られる固有胃腺細胞の各細胞と同様の特徴をもつ微細構造が観察された。しかし、主細胞と副細胞では分泌顆粒は溶出してしまったためか、いずれの顆粒も電子密度が低く、また細胞間の境界も不明瞭であったため区別が困難であった。また、壁細胞では、管腔に向かう微絨毛が不明瞭であった。

#### (考察)

今回ビーグル犬3例に認められた小腸の異所性組織は、対照群に見られた事や、被験物質投与群に見られた例でも被験物質によると考えられる病変とは連続性がなく、かつ周囲組織との境界は明らかである事から、自然発生的な病変であると考えられた。これらの組織は、光顕的にも電顕的にも、胃底部組織に酷似していた。一部腺底部の腺腔を形成するP.A.S.陽性細胞では、むしろ幽門部の細胞に近い細胞と考えられた。以上の結果と、若齢ビーグル犬に発生した事を考え含め、幽門部に近い胃底部組織が、先天的に迷入して発現した小腸の異所性胃組織であると考えられた。

本研究は一部、(財)環境科学総合研究所(清田久輝所長)の研究費による。研究協力者: 荻原 孝、鈴木康予、赤堀睦美、織部早苗、橋口淳一、三井隆喜



○田村一利、星谷 達、堀口浩資、藤本利恵、岡崎修三 (ボゾリサーチセンター)

(はじめに)

ラットにおける自然発症糖尿病は、BBラット、GKラットおよびBN/Kobラットなどの好発系として維持されているものを除けば、その報告は極めて稀である。今回我々は、毒性試験に供したSDラットに1例の自然発症糖尿病を認めたので報告する。

(材料および方法)

動物は、日本チャールス・リバー株式会社より5週齢で購入したCrj:CD(SD)系雌ラットである。飼育は、バリアシステムの動物室で行い、飼料はCRF-1を、また飲料水は水道水をそれぞれ自由に摂取させた。動物は毒性試験の対照群に供され、6週齢より体重 100g あたり 0.5mlの注射用蒸留水を13週間にわたり連日強制経口投与され、衰弱の強まった23週齢で屠殺された。13および19週齢時に摂水量、尿量の測定とともに尿検査を施行した。屠殺時に採取した血液は、血液生化学的検査試料とし、また組織学的検査試料は、リン酸緩衝10%ホルマリンで固定のうえ、常法に従ってパラフィン包埋のち薄切切片とし、H・E染色、PAS染色、PAM染色、アルデヒドフクシン染色およびオイルレッドO染色を施した。

(結果)

糖尿病を発症したSD系雌ラットの体重は、5週齢では108gで、同時購入の正常ラットの114.2±4.2gと大差はなかったが、加齢と共に増加抑制から減少へと推移した(図1)。しかし、この間の摂餌量は正常ラットより増していた。一方、13および19週齢時では、摂水量および尿量は著増し、尿糖やケトン体の排泄が顕著となった(表1)。血液生化学的検査では、血糖および各種の脂質は著増し(表2)、ALP活性や電解質の変動もみられた。組織学的には、膵臓の膵島数は減少し、個々の膵島ではA細胞に著変はみられなかったが、B細胞の減数や分泌顆粒の減少が著しかった。また、腺房細胞には多数の小脂肪滴が

基底側にみられた。腎臓では、糸球体に著変がなかったが、近位尿管には脂肪沈着が認められ、遠位尿管にはArmani-Ebstein病変が顕著であった。肝臓の細胆管は増生し、さらに多量の脂肪滴をもつ類洞細胞が散見された。肺では、胞体にエオジンやPASに弱染色性の均質無構造物質をもった中型の細胞が、肺胞壁にびまん性に出現していた。その他、骨髄の低形成および卵巣に黄体の増数が認められた。

(まとめ)

- 1) SD系雌ラットに自然発症した糖尿病は、高脂血症を合併した若年性糖尿病であり、B細胞の減数による著しい膵島の萎縮を伴い、インスリン生成の不足に基因するものであった。
- 2) 糖質および脂質代謝異常に伴い、膵臓の外分泌腺、腎臓の尿管等に組織学的変化が認められたが、糖尿病の合併症として重要である細動脈硬化は認められなかった。

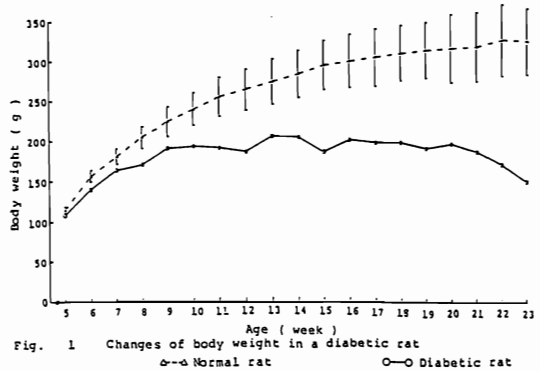


Fig. 1 Changes of body weight in a diabetic rat  
△-△ Normal rat      ○-○ Diabetic rat

Table 1 Water intake and urinary tests at 13 and 19 weeks of age

		Water intake (g/rat/day)	Urine volume (ml/day)	Specific gravity	Sodium (mEq/day)	Potassium (mEq/day)	Chloride (mEq/day)	Ketone body	Glucose
Normal rat	13 weeks	28.6	7.7	1.063	0.91	2.22	1.15	-	-
	19 weeks	25.3	7.6	1.065	1.24	2.49	1.60	-	-
Diabetic rat	13 weeks	220.0	106.4	1.042	0.43	1.37	2.28	++++	++++
	19 weeks	210.0	128.1	1.040	7.49	14.59	28.04	++++	++++

Table 2 Blood chemistry at 23 weeks of age

	Glucose (mg/dl)	Free cholesterol (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)
Normal rat	106.9	13.9	80.1	54.0	160.4
Diabetic rat	868.0	136.0	241.0	1460.0	453.0

## 若齢雄ラットに見られた下垂体奇形腫の一例

P-17

○外館あさひ, 小野寺博志, 永岡隆晴, 前川昭彦 (国立衛試・病理)

下垂体腫瘍はいずれの系統のラットにおいても最も好発する自然発生腫瘍の一つであり、病理組織学的には大部分が下垂体前葉より発生する腺腫ないし腺癌であることが知られている。一方、ヒト及びラットを含むほ乳類では、奇形腫のほとんどは卵巣ないし精巣に発生し、性腺以外の器官での発生は稀である。なかでも下垂体の奇形腫はヒトのみならず実験動物においてもきわめて稀であり、ラット、マウスおよびハムスター等のげっ歯類では現在までこの腫瘍に関する報告がない。今回、我々は若齢雄ラットの下垂体に奇形腫の発生を認め、病理組織学的検討を行ったのでここに報告する。

下垂体奇形腫がみられた動物は NRC:Donryu ラットの雄である。この動物は4週齢で購入後 barrier-system の動物舎で、飼料として CE-2 を、飲料水として水道水を自由に摂取させて飼育していた無処置（癌原性試験の対照群）の動物である。動物は5週齢（37日齢）目に下垂体腫瘍で死亡した。腫瘍組織を含む全臓器は摘出後10%中性緩衝ホルマリンで固定し、ヘマトキシリン-エオジン染色を施し、下垂体腫瘍については連続切片を作製し、H-E 染色に加えてPAS-alcian blue, Azan 及びPTAH 染色を行い病理組織学的に検討した。

肉眼的に下垂体腫瘍は大きな球形、白色の腫瘍(10x11 x9 mm)で、腫瘍による脳底部の圧迫が著明であったが、腫瘍と脳実質は被膜で明瞭に境界されていた。腫瘍の断面は充実性で出血や嚢胞様変化は認められず、肉眼的に他の下垂体腫瘍と区別できなかった。組織学的に腫瘍は三胚葉由来の、分化度の異なる種々の組織、すなわち、神経組織、軟骨、骨、扁平上皮、腺上皮、横紋筋、脂肪組織及び結合組織等により構成されていた。腫瘍中の神経組織には、神経細胞、グリア細胞、神経節細胞及び神経線維が認められ、一部に神経上皮細胞のロゼット様構造(neuroepithelial rosette)が見られ、核分裂像も認められた。軟骨組織は種々の分化を示し、未熟な軟骨組織は未分化な紡錘形の間葉系細胞に囲まれ、分化した軟骨中には骨髄を有する骨の形成も認められた。扁平上皮に類似した組織は柵状に配列する基底細胞に囲まれた空胞状の棘細胞に類似する重層上皮よりなり、一部で明瞭

な角化扁平上皮への分化傾向を示す部分も認められた。腺構造を示す部分では、一ないし数層の線毛を持った円柱ないし立方状の上皮細胞よりなる管状構造が認められ、この上皮細胞は PAS あるいは Alcian-blue 染色に全て陰性であった。これら組織以外に横紋筋、脂肪組織及び結合組織が観察された。他の組織、例えば毛胞、性腺組織、歯、消化管上皮、リンパ組織や肝等は認められなかった。腫瘍は下垂体のほぼ全域を占め、下垂体前葉組織は腫瘍の周辺部に圧排性にわずかに残存していた。

ほ乳類においては、奇形腫は卵巣ないし精巣に発生することが多く、性腺以外からの発生はきわめて稀である。ヒトにおいては性腺以外の奇形腫は仙骨部が多く、頭蓋内の奇形腫は少ない。頭蓋内に発生する奇形腫は若年者に多く、ほとんどが松果体に認められ、稀ではあるが下垂体ないし鞍部に認められる。一方げっ歯類では、ある系統のマウスでは奇形腫が好発するにもかかわらず、性腺以外の奇形腫としてはこれまでマウスの顔面、ラットの腎、副腎及び腹部後壁側に見られたとの報告があるのみで、下垂体から発生した奇形腫の報告はない。実験動物では唯一ウサギで一例の下垂体奇形腫の報告があるにすぎない。

今回観察された下垂体奇形腫は三胚葉由来の種々の組織成分よりなり、組織学的には典型的な奇形腫の像を示していた。これまで報告されたマウスおよびラットの性腺以外の奇形腫の発生は、全て若齢の雄（マウス:10週齢、ラット:5~10週齢）であり、本腫瘍も同様に5週齢の雄に発生しており、若齢動物での発生はヒトの場合と同様であり興味深い。しかしながら今回の症例も含めこれらの奇形腫が全て雄に発生した理由は不明である。

○小松博道 福島 直\* 杉本哲朗 土屋陽子 鈴木繁生

大石隆夫\* 辻 紘一郎 (中外製薬, 開発研・探索研\*)

〔目的〕マウスの卵巣腫瘍の発生は、系統によりその頻度が異なると報告されているが、一般にはヒトと同様、発生頻度は低い。実験に用いたB6C3F<sub>1</sub>も卵巣腫瘍の発生率は低く、2%以下と報告されている。一方、腫瘍の診断に当たってはその分類基準は十分に確立されているとは言えず、診断に迷う場合もある。その理由として、卵巣腫瘍の発生率は低いものの腫瘍の種類は多く、腫瘍の発生母組織を大別しても表層上皮、胚細胞、性腺間質(顆粒層、卵胞膜細胞)または間質と比較の種類が多いこと、また、各卵巣腫瘍とも組織形態にはかなりのバリエーションがあり、類縁腫瘍との鑑別を困難にさせていることなどからである。そこで、今回、演者らは癌原性試験に供したB6C3F<sub>1</sub>マウスでみられた自然発生性卵巣腫瘍について病理組織学的に診断したので報告する。

〔材料および方法〕マウス(Crj:B6C3F<sub>1</sub>)を4週齢で購入し、温度24±2℃、湿度50～60%、換気回数10～15回/時、人工照明14時間(5:00～19:00)のバリアシステムの飼育環境下で、ポリカーボネイト製ケージ(幅143mm、奥行293mm、高さ148mm)内に2匹ずつ収容した。CE-2(日本クレア製)を基本にした滅菌固形飼料と給水瓶による水とを自由に摂取させた。剖検は86週齢の生存例と途中死亡または切迫屠殺例の合計240匹について実施した。得られた卵巣腫瘍は常法に従い、H-Eを始め、AZAN, PAS, 鍍銀染色などを施した。また、一部の例は透過型電顕でも観察した。

〔結果および考察〕剖検では卵巣腫瘍は卵巣の腫大またはMassとして7例に認められたが、これらの中には病理組織学的検査から卵巣への転移と思われるLymphomaが2例みられたため、卵巣腫瘍は240例中5例(発生率2.1%)であった。5例の卵巣腫瘍の内訳は、性腺間質由来と思われるLuteomaが1例、表層上皮由来と思われるCystadenomaが2例、胚細胞由来と思われるTeratomaの2例であった。以下に病理組織学的特徴を記載する。

Luteoma: 増殖組織には好酸性の豊富な細胞質を有する大型で類円形～多角形の細胞が充実性に増殖していた。一部、泡沫状またはスリガラス様細胞質を持つ

細胞集簇も観察された。

Cystadenoma: 線維性間質に好塩基性の島状に増殖した細胞集塊がみられ、その中に腺腔構造が散在性に観察された。腺腔構造の細胞は弱好酸性で細胞質に富み、この上皮細胞の内腔面には好塩基性の突出物もみられた。

Cystadenoma, papillary type: 大小種々のcystがみられ、これらのcystは乳頭状に増殖した組織で、cystの内には血漿様物または赤血球が認められた。この組織の上皮は好酸性の細胞質を有していた。

Teratoma: 大小のcystが散在してみられ、cyst間には大小の好酸性細胞が疎に認められると共に、一部、大型好塩基性細胞(不定形)もみられた。小型のものはグリア細胞に、大型のものは神経細胞に類似していた。

Teratoma, cystic type: 大小種々のcystが認められ、大部分のものは単層上皮で内張りされていたが、重層扁平上皮のものもみられた。部位によっては胃および小腸様組織がみられ、また、脂肪織および線毛を有する上皮様細胞の増生も観察された。

Lymphoma, histiocytic type, metastasis: 増殖した細胞は豊富な好酸性の細胞質を持ち、紡錘形～類円形と多形性を示し、さらに、一部では赤血球を貪食した細胞と多核の巨細胞もみられた。また、超微形態は細胞突起、核の陥凹、ゴルジ・ライソゾームの発達などの特徴を示した。

以上の組織診断は、WHOのマウス編-Pathology of Tumours in Laboratory Animals(1979)に準じて実施したが、この腫瘍分類ではヒトのものに比し、細分されていない。この点については今後の検討課題と思われた。一方、卵巣に転移したLymphomaの形態がGranulosa-cell tumour, Granulosa-theca-cell tumourなどの性腺間質由来の腫瘍に類似しており、診断には苦慮した。したがって、卵巣単独のH-E標本の組織検索だけでは不十分と思われ、特殊染色、電顕的観察ならびに原発臓器の検索などが必要であろう。

○小池嘉秀<sup>1</sup>, 原田隆彦<sup>2</sup>, 岩田 聖<sup>1</sup>, 廣内康彦<sup>1</sup>, 小林和雄<sup>1</sup>, 榎本 眞<sup>1</sup> ((財)安評センター<sup>1</sup> 日獣大・生物<sup>2</sup>)

黒色腫は人あるいは実験動物では犬に多く発生することが知られているが、マウスでは大変稀な腫瘍である。自然発生例としては僅かにC57BL/6Jに発生し、可移植系として維持されているB-16 melanomaや、Cloudman S-91およびHarding-Passeyのmelanomaなどが移植あるいは細胞培養により継代されているのみである。本邦において自然発生の報告には演者らは、まだ接していない。

#### (材料および方法)

今回検索したBDF<sub>1</sub>マウスのmelanomaは、発癌性試験の最低用量での単発例であり、適用された被験物質の影響は全く認められない試験成績を示した。動物は400匹を用い、SPF飼育環境下で飼育され、109週齢で計画解剖に供された。材料は常法に従い10%ホルマリン固定後H.E.染色を施した。その他、過マンガン酸カリ-シュウ酸法および過酢酸法による漂白法、また漂白後H.E.染色およびAzan染色を実施した。皮下の腫瘍と肝は10%ホルマリン材料から電子顕微鏡学的検索も行った。

#### (結果)

黒色の腫瘍は98週齢から左鼠径部皮下にて起こり、解剖時には径3cm程度に達し、皮膚の一部は潰瘍に陥っていた。その他、肝の黒色化、腋窩および鼠径リンパの肥大および黒色化、脾の軽度肥大、大腸の黒色内容物などが観察された。組織学的に黒色腫は、周囲組織との境界明瞭な充実性の腫瘍であった。腫瘍最上部、中央の広い部分は壊死に陥り潰瘍を形成し、壊死部周囲には多数の好中球が浸潤していた。腫瘍上部の周囲組織との境界は表皮と真皮の移行部であり、表皮の基底層に接していた。しかし表皮内への浸潤は観察されなかった。腫瘍の主体は、メラニン色素を豊富に広い細胞質に満たした類円形あるいは多形性を示す細胞が占めていたが、少量の紡錘形細胞も存在していた。類円形の細胞は、索状あるいは一部に胞巣状に配列し、紡錘形の細胞はそれらの間を所々集団を作って存在していた。漂白法を施すことにより黒色の色素は消失した。さらにH.E.染色を施すと、腫瘍細胞は比較的均一な核を有する異形性の乏しい細胞より形成され、核は細胞質の辺縁部に位置し、核分裂像もほとんど観察されなかった。電顕観察において腫瘍細胞は稀にⅢ型を含むが、ほとんどがⅣ型のメラノソームを豊富に持ち、メラノソームの著明な増生により核は辺縁に偏

在し、核膜は切れ込みが著明であった。肝では散発性に類洞内への腫瘍細胞の転移が全葉に認められた。原発部位と同様の類円形、豊富なメラニン色素を持った細胞が単数から数個の単位で栓塞していたが、周囲への圧迫像は観察されなかった。また、クッパー細胞が活性化して色素を取り込む像も観察された。電顕では多くの類洞内にメラノソームを持った細胞がみられた。またクッパー細胞に取り込まれたメラノソームも数多く認められ、明瞭なライソゾーム内にもメラノソームが観察された。リンパ節では辺縁洞をはじめ中間洞、髓洞にび慢性に多くの腫瘍細胞の転移が認められた。転移した細胞は原発部位の細胞とよく類似した類円形を示し、比較的小さな小塊を形成するか単数で存在しており、褐色色素を貪食したマクロファージがリンパ洞内に多く、少数は濾胞内にも観察された。肺では全体に散発的に転移が認められた。転移した細胞は肺胞壁の毛細血管内にほとんどが単数で栓塞しており、細胞は円形あるいは類円形で、黒褐色の比較的均一な顆粒を細胞質内に持っていた。その他肺胞壁に比較的顆粒が粗く、大小不同の黒褐色の色素を少量含んだ細胞が散発的に観察された。脾では白脾髄の周辺部にやや少量の色素顆粒および空胞を持った細胞が観察され色素顆粒を貪食したマクロファージと考えられるものが多かった。

#### (考察)

本腫瘍は、リンパ節、肝、肺および脾において観察された転移像により malignant melanomaと診断れるものであったが、特徴として1) 原発巣では真皮内で主に周囲を圧迫性に増殖を示すこと、2) 転移巣の像では臓器内に大きな結節は作らず、白血病細胞様の浸潤を示すこと、3) メラニン色素を豊富に有すること、4) 核分裂像に乏しく、大小不同性もあまり見られないなどの性質を示した。また組織発生的な検討を合わせて報告する。

本研究は一部、(財)環境科学総合研究所(満田久輝所長)の研究費による。  
研究協力者: 萩原 孝、鈴木康予、赤堀睦美、織部早苗、山本利男、井上博之

○堤 雅弘、白岩和己、田村一利、丸山博司、小西陽一

(奈良医大・がんせ・腫瘍病理)

前回までに、我々はFischer 344系ラット皮下に継代移植することが可能な2個の骨肉腫の固定株を樹立し、それらの類骨形成能に差があることを報告してきた。今回は、これらの骨肉腫継代移植株に高い自然肺転移能を見いだしたので報告する。

用いた骨肉腫は、化学物質長期経口投与による発癌試験中のラットの左足根骨に自然発生した骨肉腫より得られた移植株(J.H.1-OS)と4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4HAQO) 4mgを膝関節内に投与して41週後に発生した骨肉腫より得られた移植株(J.H.2-OS)である。継代移植は、無菌的に腫瘍を摘出しEagle MEM medium中にて2mm角に細切し、移植針にてラット背部皮下の2ヶ所に移植した。

自然発生骨肉腫移植株(J.H.1-OS)は現在第20代まで移植を行っている。また、4-HAQO誘発骨肉腫移植株(J.H.2-OS)は現在第15代まで移植を行っている。各世代毎の移植率、腫瘍容積倍加時間、組織学的特徴はTable 1に示す。J.H.1-OSでは継代を重ねるにつれ増殖能は高くなるが、類骨形成能は低下する。一方、J.H.2-OSでは継代を重ねても類骨形成能は維持されていた。J.H.1-OSにおいて第16,17,18,19,20代皮下移植担癌ラットの肺に腫瘍の転移がみられた(Table 2)。転移巣は皮下腫瘍とほぼ同様の組織所見を示した。即ち、非常に異型の強い未分化な細胞が増殖したanaplasticな腫瘍で類骨形成はほとんど見られなかった。一方、J.H.2-OSにおいて第10,12,14,15代皮下移植担癌ラットの肺に転移が見られた(Table 3)。転移巣には皮下腫瘍とほぼ同様の増殖能、類骨形成が見られた。

以上の結果より、骨肉腫移植株、J.H.1-OSとJ.H.2-OSには自然転移能があることが明らかになり、また、転移巣においても皮下移植腫瘍とほぼ同様の増殖能、類骨形成能が観察された。

Table 1 Observation Period, Transplantability, Doubling Time, and Histological Characterization of Spontaneous Osteosarcoma (J.H.1-OS) and 4-HAQO Induced Osteosarcoma (J.H.2-OS) in Each Generation in Fischer 344 rats.

Generation	Observation period(weeks)	Transplantability (%)	Doubling time(days)	Histological characterization <sup>a</sup>			
				osteoid	collagen	quant cell	
J.H.1-OS	1	6	5/12 (42)	12.3	**	+	**
	2	8	12/16 (75)	5.5	**	+	+
	3	10	14/18 (78)	4.2	+	+	+
	4	7	13/18 (72)	4.2	+	+	±
	5	8	12/12(100)	5.0	+	+	±
	6	8	10/10(100)	3.6	±	+	±
	7	8	10/10(100)	4.0	±	+	±
	8	6	10/10(100)	3.0	±	+	±
	9	6	7/8 (88)	2.4	±	+	+
	10	5	12/12(100)	2.8	±	+	±
	11	6	10/10(100)	4.4	-	+	±
	12	6	10/10(100)	4.0	-	+	**
	13	6	9/10 (90)	3.7	-	+	**
	14	6	8/10 (80)	3.3	-	+	**
	15	8	9/10 (90)	4.2	-	±	**
	16	7	9/10 (90)	3.5	-	±	**
	17	7	4/1 (100)	3.3	-	±	**
J.H.2-OS	1	7	9/12 (75)	6.9	+	±	-
	2	5	10/10(100)	3.3	+	±	+
	3	6	12/12(100)	2.7	+	±	+
	4	5	10/10(100)	3.6	+	±	±
	5	5	8/8(100)	2.5	**	±	±
	6	6	9/10 (90)	3.0	+	±	±
	7	5	9/10 (90)	2.6	**	±	±
	8	5	8/10 (80)	2.5	**	±	±
	9	5	10/10(100)	2.3	+	±	±
	10	6	12/12(100)	3.0	+	±	±
	11	6	9/10 (90)	2.8	+	±	±
	12	5	15/18 (83)	2.8	**	±	±
	13	6	8/10 (80)	3.6	**	±	±
	14	6	5/5(100)	4.0	**	±	±

\*\* : predominantly detected  
+ : detected  
± : rarely detected  
- : not detected

Table 2 Spontaneous metastatic potential of J.H.1-OS

Generation	Observation period(weeks) <sup>a</sup>	SLM <sup>b</sup>		Doubling time(days)
		Rate(X)	Mean±SD(range)	
16	7	1/5( 20)	3.2± 7.2( 0-16)	5.0
17	7	3/5( 60)	8.6±16.5( 0-38)	3.6
18	7	3/5( 60)	1.8± 2.0( 0- 5)	3.6
19	7	3/5( 60)	8.0±15.1( 0-35)	3.8
20	7	5/5(100)	14.2±14.8( 2-36)	3.5

<sup>a</sup> The period from the time transplanted to the time transplanted serially.

<sup>b</sup> Spontaneous lung metastasis.

Table 3 Spontaneous metastatic potential of J.H.2-OS

Generation	Observation period(weeks) <sup>a</sup>	SLM <sup>b</sup>		Doubling time(days)
		Rate(X)	Mean±SD(range)	
10	6	4/9( 44)	1.0±1.4(0- 3)	4.4
12	6	3/5( 60)	1.0±1.2(0- 3)	4.2
14	8	4/5( 80)	2.4±2.1(0- 5)	4.8
	6	2/5( 40)	0.6±0.9(0- 2)	3.9
15	7	5/5(100)	3.4±2.1(1- 6)	3.6
	8	5/5(100)	3.8±2.3(1- 7)	3.4
15	8	4/5( 80)	2.8±2.4(0- 6)	3.9

<sup>a</sup> The period from the time transplanted to the time transplanted serially.

<sup>b</sup> Spontaneous lung metastasis.

# 新加入会員および 賛助会員名簿

正会員 93～97

一般会員 98～100

賛助会員 101～104

## 賛助会員名簿

会 社 名	住 所	連 絡 者 名
旭化成工業株式会社	〒416 静岡県富士市鮫島2-1	大 石 順 一
味の素株式会社	〒210 川崎市川崎区鈴木町1-1	高 崎 豊
アップジョンファーマ シューティカルズ リミテッド	〒370 群馬県高崎市大八木町168	佐久間 貞 重
株式会社池田理化	〒101 千代田区岩本町2-15-12	池 田 千 代
エーザイ株式会社	〒300-26 茨城県筑波郡豊里町東光台5-1-3	中野渡 純 一
エッセクス日本株式会社	〒541 大阪市東区淡路町1-22坂本ビル	白 橋 賢 二
株式会社エルマ	〒101 千代田区岩本町1-5-8	小 沢 正 尚
株式会社大塚製薬工場	〒772 鳴門市撫養町立岩字芥原115	川 口 義 郎
科研製薬株式会社	〒426 静岡県藤枝市源助301	葛 生 幸 男
株式会社環境保健生物研 究センター	〒529-17 滋賀県甲賀郡水口町大字字川字稲場555	安 平 公 夫
キッセイ薬品工業株式会 社	〒399-83 長野県南安曇郡穂高町大字牧2320-1	内 藤 惇
杏林製薬株式会社	〒329-01 栃木県下都賀郡野木町野木字御手洗 2399-1	阿 部 泰 夫
協和醸酵工業株式会社	〒755 山口県宇部市大字藤曲2548	原 卓 司
興和株式会社	〒189 東村山市野口町2-17-43	滝 本 正 美
サクラ精機株式会社	〒103 中央区日本橋本町3-9-1	岩 楯 好 治
三共株式会社	〒437 静岡県袋井市堀越717	松 沼 尚 史
参天製薬株式会社	〒533 大阪市東淀川区下新庄3-9-19	馬 場 俊 夫
サンド薬品研究所	〒401-03 山梨県南都留郡河口湖町河口363	佐 藤 喬 俊
株式会社三和科学研究所	〒486 春日井市下条町1212	小 出 政 光
塩野義製薬株式会社	〒553 大阪市福島区鷺洲5-12-4	前 田 誠 一
株式会社資生堂研究所	〒223 神奈川県横浜市港北区新羽町1050	永 島 信 次
株式会社新日本科学病理 センター	〒103 中央区日本橋兜町20-5兜町八千代ビル	永 田 良 一
新日本実業株式会社	〒177 練馬区谷原3-25-3	佐 藤 憲 雄



会 社 名	住 所	連 絡 者 名
株式会社組織科学研究所	〒198 青梅市黒沢2-984-1	松 尾 貞 美
大正製薬株式会社	〒330 大宮市吉野町1-403	中 根 貞 雄
大鵬製薬工業株式会社	〒771-01 徳島市川内町平石字夷野224-2	入 村 兼 司
株式会社高島商店	〒113 文京区湯島2-22-11	仁 木 平四郎
武田薬品工業株式会社	〒569 大阪府高槻市氷室町6-10-1	事 務 課 長
竹田理化学工業株式会社	〒150 渋谷区恵比寿西2-7-5	猪 俣 孝 二
田辺製薬株式会社	〒532 大阪市淀川区加島3-16-89	伊 藤 博
第一製薬株式会社	〒134 江戸川区北葛西1-16-13	山 田 明 甫
大日本製薬株式会社	〒564 大阪府吹田市江ノ木町33-94	大 西 久美雄
帝国臓器株式会社	〒107 港区赤坂2-5-1	高 橋 良 明
株式会社東京技研サービス	〒183 府中市府中町8043日建ビル	
東洋醸造株式会社	〒410-23 静岡県田方郡大任町三福632-1	山 本 宏
富山化学工業株式会社	〒930 富山市下奥井2-4-1	渡 辺 勲
株式会社夏目製作所	〒113 文京区湯島2-18-6	
日研化学株式会社	〒330 大宮市北袋町1-346	山 田 エ イ
日本医薬品工業株式会社	〒936 富山県滑川市下梅沢205-1	脇 功 巳
日本コカ・コーラ株式会社	〒150 渋谷区渋谷4-6-3	藤 波 博 明
日本シェーリング株式会社	〒532 大阪市淀川区西宮原2-6-64	江 角 吉 造
日本商事株式会社	〒567 茨木市庄2-24-3	辰 巳 熙
日本スクイブ株式会社	〒150 渋谷区渋谷2-12-19 長井インターナショナルビル	池 田 岳 雄
日本チバガイギー株式会社	〒665 宝塚市美幸町10-66	小 林 清 隆
日本特殊農薬製造株式会社	〒191 日野市豊田3-1-1	伊 藤 博 敏
日本バイオリサーチセンター	〒561-62 岐阜県羽島市福寿町間島6-104	和 田 浩

会 社 名	住 所	連 絡 者 名
日本バイオラットラボラトリーズ株式会社	〒105 港区芝大門1-2-6	鈴木 弘 明
日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社	〒666-01 川西市矢間字高田103	大 橋 一 郎
日本ルセル株式会社	〒103 中央区日本橋室町4-5	国 場 節 子
日本レダリー株式会社	〒353 埼玉県志木市柏町1-6-34	猪 俣 訓 一
株式会社野村生物科学研究所	〒247 鎌倉市梶原4-7-1	石 澤 勝 彦
萬有製薬株式会社	〒360-02 埼玉県大里郡妻沼町大字西城810	太 田 雄 康
株式会社パスコサイエンス	〒104 中央区八丁堀2-3-2 小林ビル本館3F	末 松 正 久
フェザー安全剃刀株式会社	〒103 中央区日本橋浜町1-2-2	家 口 健三郎
株式会社福岡研明社	〒812 福岡市東区筥松2-22-23	首 藤 雅 行
藤沢薬品工業株式会社	〒532 大阪市淀川区加島2-1-6	天 正 明
株式会社富士生物科学研究所	〒409-16 山梨県北巨摩郡小淵沢町10221	船 橋 紀 男
富士平工業株式会社	〒113 文京区本郷6-11-6	
藤本製薬株式会社	〒580 大阪府松原市西大塚1-3-40	上 島 育 二
扶桑薬品工業株式会社	〒536 大阪市城東区森之宮2-3-30	長谷川 通 規
ヘキストジャパン株式会社	〒350 埼玉県川越市南台1-3-2	小 林 孝 好
北陸製薬株式会社	〒911 福島県勝山市猪野口37字2-1	下 武 男
株式会社ボゾリサチーセンター	〒156 世田谷区羽根木1-3-11	合 川 孝 幸
マイルス三共株式会社	〒104 中央区銀座1-9-7	梅 田 実
松浪硝子工業株式会社	〒596 大阪府岸和田市下松町165	鈴 木 勇二郎
松吉医科器械株式会社	〒103 中央区日本橋本町4-5	鈴 木 基 一
マルホ株式会社	〒522-02 彦根市高宮町2763	難 波 和 彦
三井製薬工業株式会社	〒297 千葉県茂原市東郷1900-1	横 山 昌 鶴
宮野医療器株式会社	〒650 神戸市中央区楠町5-4-8	

会 社 名	住 所	連 絡 者 名
持田製薬株式会社	〒426 静岡県藤枝市源助342	波 谷 靖 義
株式会社模範薬品研究所	〒114 北区滝野川1-91-6	岸 道 之
株式会社ヤクルト本社	〒186 国立市谷保1796	事 務 局
山之内製薬株式会社	〒174 板橋区小豆沢1-1-8	三 木 壽 雄
吉富製薬株式会社	〒871 福岡県筑上郡吉富町大字小祝955	

# 実績と信頼の

# 日立バイオテクノロジー設備

日立プラント建設は、バイオテクノロジー分野の研究・開発における急速な進展に対応し、豊富な実績と高い信頼性を誇る《日立バイオテクノロジー設備》をお届けします。

医療、医薬品、食品などの分野で最適な無菌環境をつくる《日立バイオクリーンルーム》、高品質の実験動物を安定して生産、飼育する《日立実験動物飼育施設》、動植物の品種改良などに活躍する《日立生物環境試験装置》、微生物の研究に不可欠な《日立バイオハザード対策施設》……。

日立プラント建設は、長年培ってきた空調・空気清浄化技術、コンピュータによる制御技術など、各種ハード、ソフトの総合技術で、皆様のさまざまなご要望に一貫してお応えします。

## 日立バイオテクノロジー設備

- バイオクリーンルーム
- 実験動物飼育施設
- 生物環境試験装置  
(ファイトロン、ズートロン他)
- バイオハザード対策施設
- 超低温冷蔵設備・凍結設備
- 純水・超純水・無菌水製造装置
- ラボラトリオートメーション設備
- その他各種ハード・ソフト技術

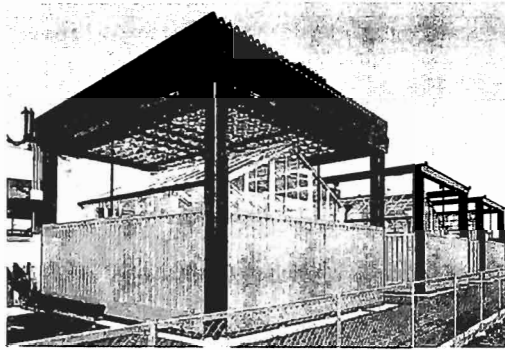
ミクロからマクロまで幅広い分野で活躍する

 **日立プラント建設**

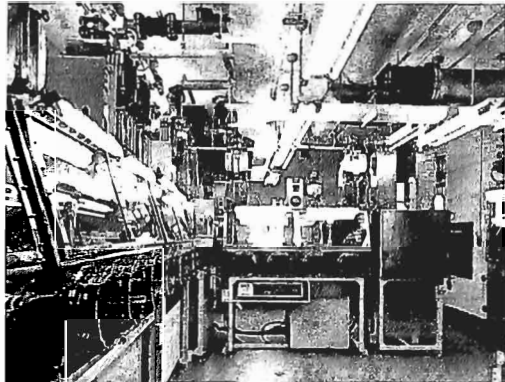
〒101 東京都千代田区内神田1-1-14(日立建機機別館) ☎(03)292-8111(大代)  
●札幌(011)261-0436 ●仙台(022)263-3261 ●東京(03)292-8111 ●名古屋(052)261-9331  
●大阪(06)266-1931 ●広島(082)249-2460 ●福岡(092)751-7952



▲実験動物飼育施設

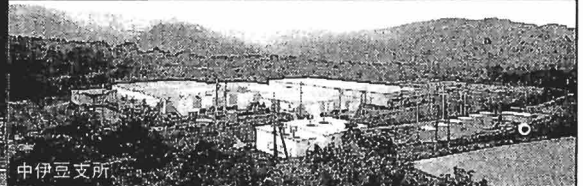
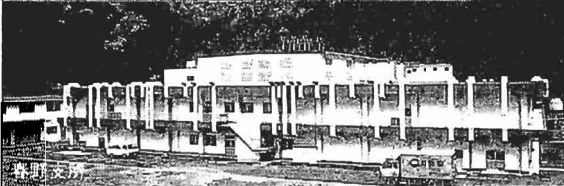


▲生物環境試験装置



▲バイオハザード対策施設

# 静協の 実験動物



## SPF動物

クローズドコロニー

マウス	Slc:ddY Slc:ICR
ラット	Slc:SD Slc:Wistar Slc:Wistar/ST Slc:Wistar-KY HOS <sup>®</sup> :Donryu
モルモット	Slc:Hartley

### 近交系

マウス	BALB/c Cr Slc C57BL/6 Cr Slc C3H/He Slc DBA/2 Cr Slc
B10 コンジェニック	C57BL/10 Sn Slc B10.A/SgSn Slc B10.BR/SgSn Slc B10.D2/hSn Slc
ラット	F344/N Slc WKAH/Hkm Slc
モルモット	Strain 2 Slc Strain 13 Slc

### 交雑群

マウス	SLC-BDF <sub>1</sub> SLC-CDF <sub>1</sub> SLC-B6C3F <sub>1</sub>
-----	--

## ミュータント系

ヌードマウス	BALB/c-nu Slc KSN Slc
--------	--------------------------

## Clean動物

### クローズドコロニー

マウス	Std:ddY
ラット	Std:Wistar Std:Wistar/ST Std:Wistar-KY HOS <sup>®</sup> :Donryu
モルモット	Std:Hartley
ウサギ	Std:NZW Std:JW
ハムスター	Std:Syrian

## Conventional動物

ビーグル犬 国産ビーグル犬  
輸入検疫カニクイザル

## 受託生産動物

マウス	A/J Slc CBA/N Slc C3H/He N Slc MTV <sup>+</sup> PW Slc
-----	---

## 疾患モデル動物

マウス	NZB/N Slc (受託生産) NZW/N Slc ( " ) SLC-NZBWF <sub>1</sub> ( " ) SLC-WBB6F <sub>1</sub> -W/W <sup>v</sup>
ラット	WBN/Kob Slc DA/Slc Gunn rat

## その他

実験動物用床敷・ソフトチップ  
小動物識別染料クイックカラーペイント  
実験動物診断試薬(デンカ生研)

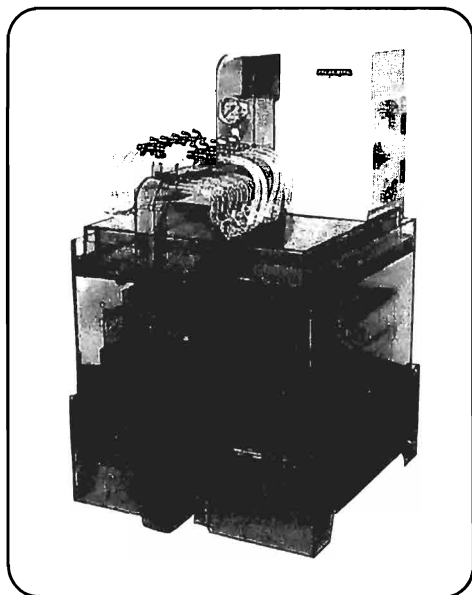
SHIZUOKA LABORATORY ANIMAL CENTER

静岡県実験動物  
農業協同組合

〒435 静岡県浜松市小池町1616番地 TEL<0534>63-5348(代)

# 噴霧感染装置

**PAT. P 昭59-107963**



本装置は、実験動物の病原微生物呼吸器感染実験や微細粒子、農薬等の呼吸器吸入実験等に用いられる呼吸器吸入装置です。従来は、ネブライザーで発生させ上部から導入した煙霧は、装置内で乱気流となって均一に拡散しなかったため、装置内の位置による動物の粒子吸入数のばらつきが大きく、不均一でした。本装置は従来品の欠点を解消し、煙霧が装置内に均一に拡散し、しかも装置の組立から煙霧導入までを短時間で行なうことができる画期的な装置です。

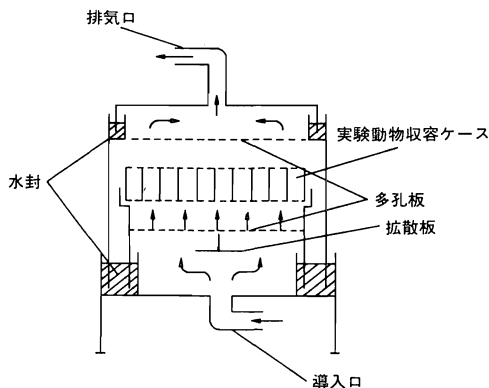
## ●構成

底板の中央にネブライザーよりの煙霧の導入口を設け、煙霧は拡散板に当り分散し、更に多孔板により均一化されて、上部の実験動物収容ケース内を通過します。この煙霧の流れをみだすことなく排気するため、収容ケース上部にも多孔板を設け、排気フィルターユニットへ導入され、ヘパフィルター(99.7%)により煙霧は完全に除去されます。

また、動物の収容ケースは、各室それぞれがスライド蓋構造のため、順次収容する際の作業は容易にできます。

組立時の結合部は総べて水封式のため、短時間で行うことができます。本器の構成材は、透明塩ビを主体としており、内部の観察は容易です。

構成図



## ■ラット、モルモット用

形 式	TSI-RM
外 寸 法	W780×D640×H1,030mm
収 容 部 寸 法	W500×D500×H100mm
区割数(収容匹数)	15(15匹)
1区割寸法	W160×D100×H100mm

## ■マウス用

型 式	TSI-M
区割数(収容匹数)	50 (5匹×50=250匹)
1区割寸法	W50×D100×H100mm
そ の 他	仕様はRM型と同じ



株式会社 池田理化

本社 東京都千代田区岩本町2丁目15番12号 千101 TEL.03(861)6211(大代)

八王子支店 TEL0426(42)0570(代表) 千葉支店 TEL0436(22)3738(代表)

横浜支店 TEL045(303)6621(代表) 筑波支店 TEL0298(24)2681(代表)

平塚支店 TEL0463(21)2974(代表) 三島支店 TEL0559(75)0975(代表)

埼玉支店 TEL0492(45)7831(代表) 藤枝支店 TEL0546(44)5551(代表)

# BOZO RESEARCH CENTER INC.

安全性試験  
受託機関



本社 東京研究所



函南研究所



御殿場研究所



函南研究所

急性毒性試験  
亜急性毒性試験  
慢性毒性試験  
癌原性試験  
生殖試験

眼粘膜刺激試験  
皮膚刺激試験  
皮膚感作試験  
抗原性試験

病理組織標本作製  
電子顕微標本作製  
及び検索

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。ラット、マウス11,000匹、ビーグル犬700頭、ウサギ1,500羽、モルモット350頭収容の設備、最新の機器を備え、経験豊かで優秀なスタッフが精度の高い試験を実施しております。

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 東京都世田谷区羽根木1-3-11 ボゾリサーチビル  
東京研究所 〒156 TEL.03-327-2111(代)/FAX.03-327-2115  
大阪事務所 大阪市淀川区宮原5-1-3 新大阪生島ビル  
〒532 TEL.06-397-2851(代)/FAX.06-397-2852  
御殿場研究所 静岡県御殿場市かまど1284  
〒412 TEL.0550-82-2000(代)/FAX.0550-82-2379  
函南研究所 静岡県田方郡函南町桑原字三本松1308-125  
〒419-01 TEL.05597-8-7851(代)/FAX.05597-8-7898



# VECTASTAIN® ABC 蛍光検出システム

ベクタステインABC-PHYCOERYTHRINキット

Vectastain® ABC-phycoerythrin 標準キットは、今までとは多少タイプの異なる ABC キットです。このキットでは ABC システムの検出を、酵素ではなく蛍光を使って行います。アビジン DH と ビオチン化 R-Phycoerythrin 溶液を混ぜて、複合体を調製します。R-Phycoerythrin は海藻 *Gastroclonium coulteri* から分離したもので、Phycobilli-protein と呼ばれるタンパク質の仲間です。これらのタンパク質はシアノバクテリアや紅藻の集光システムの一部で、ペプチド骨格に共有結合した発色団をかなりの数含んでいます。精製すると Phycobilli-protein は蛍光性を帯び、フルオレセインと比べて 20 倍も蛍光強度が高くなります。蛍光は広範囲の条件下で安定です。ABC キットに R-Phycoerythrin を選んだのは、消衰係数と量子収率 (quantum yield) が高く、吸収および励起プロファイルが有用なためです。広い幅の吸収領域 (450-570 nm) を持ち、574 nm に極大蛍光波長を有します。これらの特性はタンパク質のビオチン化によって影響されません。ABC-Phycoerythrin は標準キットとして販売しています。これには 200ml の working solution を調製するのに十分な量の試薬が含まれています。この検出システムは、いずれのビオチン化二次抗体またはレクチンとも一緒に使用することができます。



メーカー名	カタログ番号	保存方法	品名	包装	価格 (¥)	メーカーコード
VEC	41-7070-00	☉☉	VECTASTAIN® ABC-PHYCOERYTHRIN 標準キット	1キット	42,000	EK-7000
VEC	41-0120-07	☉☉	PHYCOERYTHRIN AVIDIN D	1 ml	26,000	A-2007
VEC	41-8020-20	☉☉	ANTI-MOUSE IgG (H+L), PHYCOERYTHRIN 標識	1 ml	30,000	EI-2000



JANSSEN BIOCHIMICA社の  
高品質IgGサブクラス同定用抗血清を  
お届けします。

大幅値下げ

メーカー名	カタログ番号	保存方法	品名	包装	価格 (¥)	メーカーコード
JAN	90-0835-70	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>1</sub> (Sheep), 沈降用液状	1 ml	29,000	2383570
JAN	90-0836-71	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>2</sub> (Sheep), 沈降用液状	1 ml	34,000	2383770
JAN	90-0837-72	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>3</sub> (Sheep), 沈降用液状	1 ml	25,000	2383772
JAN	90-0838-73	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>4</sub> (Sheep), 沈降用液状	1 ml	29,000	2383873
JAN	90-0839-74	☉	ANTI-HUMAN IgG SET (IgG <sub>1</sub> , IgG <sub>2</sub> , IgG <sub>3</sub> , and IgG <sub>4</sub> ) (Sheep),	1キット	108,000	2383974
JAN	90-0842-77	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>1</sub> , (Rabbit), 抗グロブリンテスト用液状	1 ml	21,000	2384277
JAN	90-0844-79	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>2</sub> , (Rabbit), 抗グロブリンテスト用液状	1 ml	26,000	2384479
JAN	90-0846-81	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>3</sub> , (Rabbit), 抗グロブリンテスト用液状	1 ml	18,000	2384681
JAN	90-0848-83	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>4</sub> , (Rabbit), 抗グロブリンテスト用液状	1 ml	21,000	2384883
JAN	90-0843-78	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>1</sub> , (Sheep), 抗グロブリンテスト用液状	1 ml	21,000	2384378
JAN	90-0845-80	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>2</sub> , (Sheep), 抗グロブリンテスト用液状	1 ml	26,000	2384580
JAN	90-0847-82	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>3</sub> , (Sheep), 抗グロブリンテスト用液状	1 ml	18,000	2384782
JAN	90-0849-84	☉	ANTI-HUMAN IgG <sub>4</sub> , (Sheep), 抗グロブリンテスト用液状	1 ml	21,000	2384984
JAN	90-0850-85	☉	ANTI-HUMAN IgG KIT (IgG <sub>1</sub> , IgG <sub>2</sub> , IgG <sub>3</sub> , and IgG <sub>4</sub> ) (Sheep)	1キット	76,000	2385085
JAN	90-0169-16	☉	ANTI-HUMAN IgG subclass for agglutination (Rabbit)	1キット	77,000	2416916

フナコシのライフサイエンス研究用試薬と機器



フナコシ薬品株式会社

〒101 東京都千代田区神田駿河台2-3

サイエンス事業部 / 研究機材販売部 ☎ 03(293)2352(代表) ・ 学術部 ☎ 03(295)5548(直通)

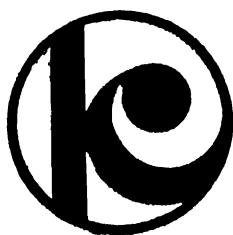


## 医科器械・理化学器械

 株式会社 **フジイカ**

本社 静岡市南八幡町21-5 ☎ <0542> 81-1411 (代)  
浜松 浜松市有玉西町675-146 ☎ <0534> 33-3533 (代)  
沼津 沼津市三枚橋町7-18 ☎ <0559> 63-0461 (代)  
富士 富士市錦町2丁目3352-13 ☎ <0545> 53-1260 (代)

地域医療の向上を使命として  
常に時代の一步先を行く。



# 協和医科器械KK

本社	〒424	清水市草薙1970の1	☎(0543)45-8105(代)
沼津営業所	〒411	駿東郡清水町伏見176-3	☎(0559)72-8590(代)
浜松営業所	〒430	浜松市篠ヶ瀬町364	☎(0534)63-2401(代)
山梨営業所	〒409-38	山梨県中巨摩郡昭和町押越105	☎(0552)75-5799(代)
藤枝出張所	〒425	焼津市大島字中817-1	☎(05462)3-2222(代)

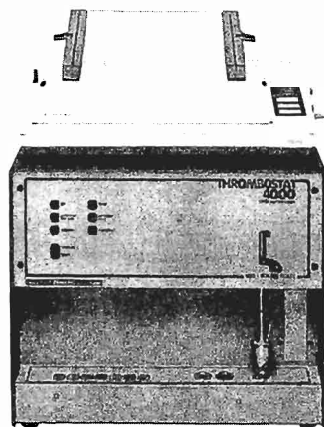
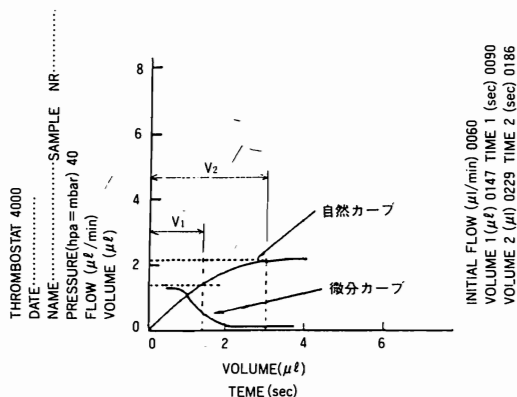
# エルマ 血液凝固測定装置シリーズ

血小板粘着・凝集過程及び  
出血時間測定装置

## THROMBOSTAT-4000

西独VON DER GOLTZ社製

本器は、西ドイツ、ミュンヘン大学のM.A.A.Kratzer博士と比濁法による血小板凝集計の開発者として有名なイギリスのG.V.R.Born博士により新たに考案された装置です。本装置により一次止血に重要な役割を果たす血小板の粘着、凝集及び出血時間(量)がパターン認識でき、併せて血液粘性も、ワンステップで算出します。



## アグリテック TE-500

■血小板凝集能測定装置

## ATP放出量測定装置 TE-500A

- アグリテックTE-500はマイコン及びCRTディスプレイを採用した最新の血小板凝集計です。
- アグリテックTE-500にオプションのTE-500Aを接続しますと、血小板凝集と同時にATP放出測定ができます。

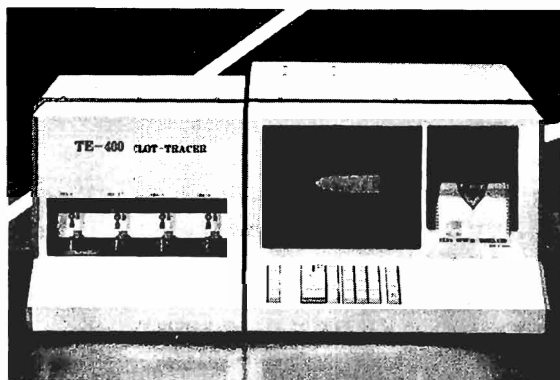


- 最大凝集率とその到達時間はマイコンが自動算出しますので、面倒な計算を行う必要はありません。
- 種々のパターンを4パターンまで常にメモリーしておくことができますので、標準的パターンをメモリーして測定パターンと対比させたり、1患者のパターンをメモリーして経時的治療効果の判定に利用したりすることができます。

## クロット・トレーサー TE-400

■スロンボエラストグラム測定装置

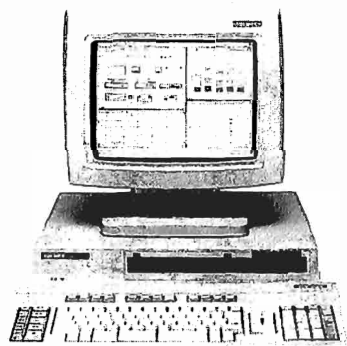
- 測定中はCRTディスプレイ(テレビモニター)が、すべてのチャンネルを監視します。
- r, k, ma, meの各値はマイコンがすべて算出し、レコーダに印



株式会社 エルマ

問い合わせ先	〒101 東京都千代田区岩本町1-5-8	電話(0) 861-8857(直)
本社	〒101 東京都千代田区鍛冶町2-4-5	電話(03) 265-0911(代)
東京支店	〒113 東京都文京区湯島1-5-32	電話(03) 818-6261
大阪営業所	〒530 大阪市北区南森町1-3-9(柏尾ビル内)	電話(06) 364-7981
九州営業所	〒812 福岡市中央区舞鶴3-6-17(舞鶴ビル)	電話(092)715-2626
川口工場	〒333 埼玉県川口市横岸2985	電話(0482)81-1913
北海道エルマ	〒001 札幌市北区北13条西3-16	電話(011)746-1401

XEROX®



## “ドキュメント・プロ”



FUJI XEROX  
**6060 WORKSTATION**  
編集、図形処理、伝達機能を  
備えた、ドキュメントづくりの  
プロフェッショナル。

よりよい文書処理のあり方を追求し、これまでのノウハウ  
をすべて結集したゼロックス6060ワークステーション

最先端の優れたユーザー・インターフェイス、マウスによるスムーズな操作性、縦書き・横書き混在もできる高度な入力・編集機能、文書中でも插ける図形機能、充実のコミュニケーション機能など、数々の機能を満載。

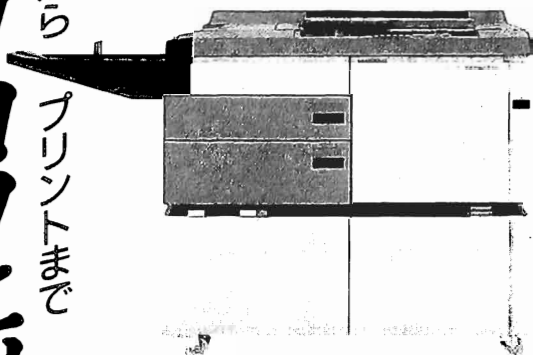
文書作成の効率を飛躍的に高め、最新の情報を盛り込んだ、説得力のある文書を素早く簡単に作成できます。

さらに使いやすく、ハイ・コストパフォーマンスを実現した・・・

【身近なワークステーション、  
ゼロックス6060】

# 2台のプロフェッショナル。

ドキュメントづくりから  
プリントまで



## “プリント・プロ”



FUJI XEROX  
**XEROPRINTER 100**  
世界で初めて印刷機と複写機が1台になった。プリントの  
プロフェッショナル。

新技術を搭載した印刷複写機、ゼロプリンター100

複写する時はもちろん、印刷する場合でも簡単に操作できるので、書類づくりが手軽に効率的に行なえます。

新聞接静電印刷方式の採用により、万年筆、ボールペン、水性ペンなどで書いた原稿も、そのまま印刷できます。しかも、印刷上がりは鮮明です。また、連続して大量に印刷する場合でも、安定した画質が得られます。

自動印刷機能を選択すれば、いままでの印刷機では別々の機械で行っていた製版・定着・印刷を簡単なボタン操作で自動的に処理できます。手間がかからず、作業時間がグンと短縮されます。

簡単操作で気軽に使いこなせる・・・

【ゼロプリンター100】



## 安全性試験受託研究機関

弊社の誠実、正確、信頼性が  
貴社のニーズに的確にお応え致します

— 受託試験業務内容 —

一般毒性試験                      生殖毒性試験

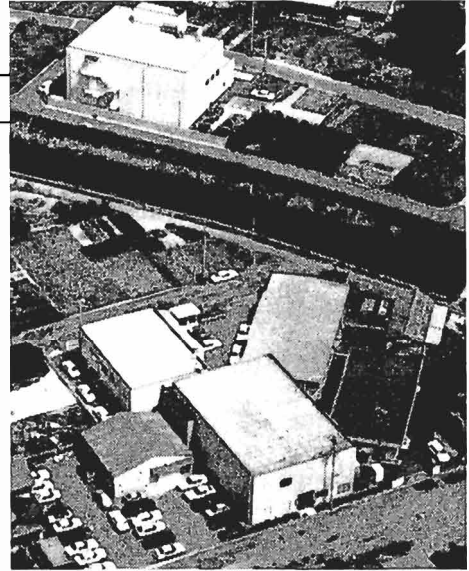
変異原性試験

(哺乳動物培養細胞を用いる染色体異常試験)  
(Ames試験、小核試験)

局所刺激性試験

(皮膚一次刺激性試験、光毒性試験)  
(眼粘膜刺激性試験)

抗原性試験



### 株式会社日本バイオリサーチセンター

本社 〒174                      東京都板橋区小豆沢3丁目6番10号  
TEL. 03-968-1111  
羽島研究所 〒501-62                      岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104  
TEL. 0583-92-6222

# ✖ 世代を超えた新セフェム



#### ■効能・効果

ブドウ球菌属、レンサ球菌属、大腸菌、クレブシエラ属、エンテロバクター属、セラチア属、プロテウス属、インフルエンザ菌、バクテロイデス属のうち本剤感性菌による下記感染症  
◆敗血症 ◆肛門周囲膿瘍 ◆骨髄炎、関節炎、外傷・手術創などの二次感染 ◆咽喉頭炎、急性気管支炎、扁桃炎(扁桃周囲炎、扁桃周囲膿瘍)、慢性気管支炎、気管支拡張症(感染時)、慢性呼吸器疾患の二次感染 ◆腎盂腎炎、膀胱炎 ◆胆のう炎、胆管炎、肝臓炎 ◆腹膜炎(含、骨盤腹膜炎、ダグラス窩膿瘍) ◆骨盤死腔炎、子宮旁結合織炎 ◆髄膜炎

グラム陽性・陰性の好気性菌、そして嫌気性菌に幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌作用を有する。

#### ■特徴

- メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌にも有効
- 広範な抗菌スペクトルと強い殺菌力
- 高い体液・組織内への移行性
- 各科領域感染症にすぐれた臨床効果

※用法・用量、使用上の注意、副作用は添付文書をご参照下さい。

## セフェム系抗生物質製剤 静注用 **コスモン**® 1g, 0.5g, 0.25g

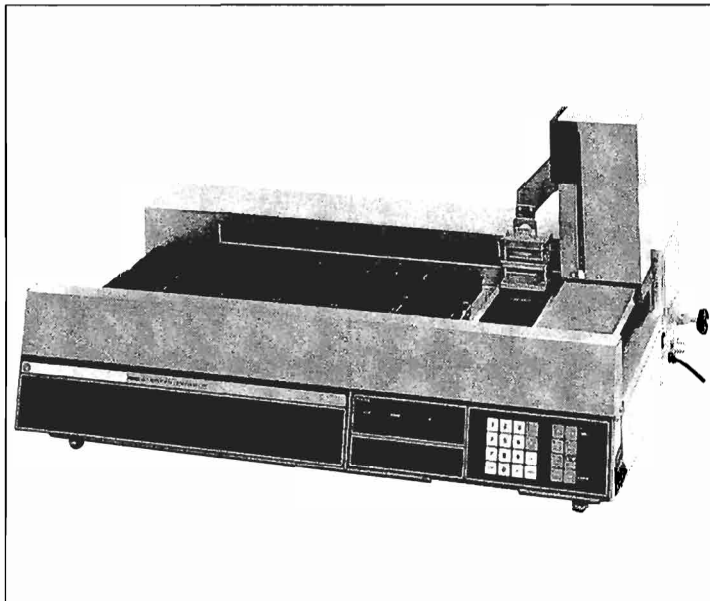
日抗基 注射用セフゾナムナトリウム (略号: CZON) 薬価基準収載

製造  
日本レダリー株式会社  
東京都中央区京橋1丁目10番3号  
(学術情報部)

販売  
武田薬品工業株式会社  
大阪府東区道修町2丁目27番地

昭和62年9月作成

# FISHER 自動染色装置 ステイナー172



## 特 長

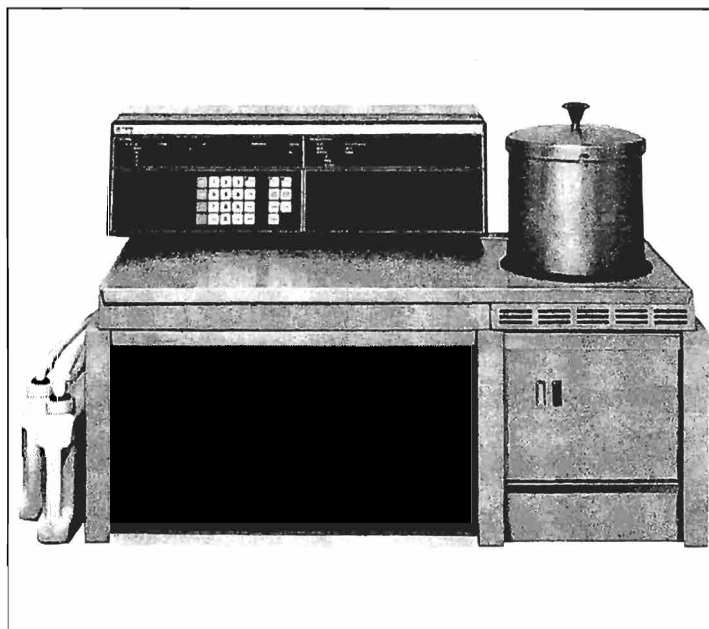
米国Fisherにて自信をもって開発された本装置は、マイクロプロセッサ内蔵の最新型自動染色装置です。病理組織、細胞診染色を任意の条件で3種類まで記憶させることができ、H-E染色、パパンニコロウ染色、特殊染色などを、この一台で染色できます。

18槽薬液は、トレイの上に配置されていて全体を取りはずして、簡単に他の染色に変えることができます。環境汚染防止ドラフトが付いています。

## 仕 様

- 処理工程数：24工程まで任意
- 薬液槽：18槽
- 乾燥槽：70°C
- 可能時間：0.1～99.9分
- 電 源：100V、2.3A
- 寸 法：(L)56×(W)94×(H)43cm
- 重 量：45kg

# FISHER 自動包埋装置 ヒストマティック166MP



## 特 長

ヒストマティック166MPは、従来のクローズドシステムに加えマイクロプロセッサの採用により更に使い易くなりました。

A B 2種類のプログラムをメモリーでき、プログラム変更等もキーボードでディスプレイを見ながら簡単に行えます。動作中でも現在の処理工程を確認することができます。また数々の安全装置を装備しエラー発生時もその内容を表示し、必要であれば専用データプリンターにより、処理内容をプリントアウトし、記録、保存することもできます。

## 仕 様

- 外 形：D50×W90×H66cm
- 重 量：68kg
- 電 源：AC100V 9A
- 処 理 槽：溶媒槽10、パラフィン槽2
- 容 量：各2ℓ
- 可能時間：OFF、10分～8時間
- 処理能力：120カセット(ランダム)

販売元



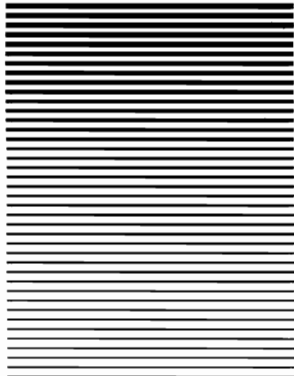
株式会社 **パスコサイエンス**

本 社 〒104 東京都中央区八丁堀2-3-2 小林ビル本館3F  
TEL.03-553-5212(代)  
大阪営業所 〒550 大阪市西区西本町1-10-7 第2新松岡ビル7F  
TEL.06-533-1513(代)

加商は実験動物輸入のパイオニアとして20有余年にわたる豊富な経験と情報を駆使し、ユーザーの御希望に御応えしています。また、400人のスタッフを擁する米国大手受託試験機関I.R.D.C.社の日本総代理店としてハイレベルの各種安全性試験を斡旋し、さらに日本で入手困難な実験用器具等、各種関連商品も取扱っております。

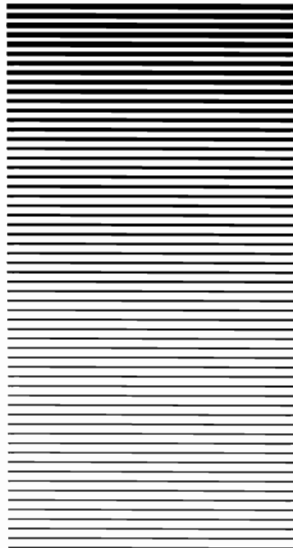
## 実験動物

ビーグル犬  
LRE (U.S.A.)  
国産犬 (日本農産工業産)  
サル  
繁殖カニクイザル(フィリピン)  
野生捕獲検査ザル( // )  
繁殖アカゲザル (中国)  
その他各種  
各種ラット・マウス (U.S.A.)  
ネコ ( // )  
モルモット・マウス (国産)  
ウサギ ( // )  
その他各種特殊動物



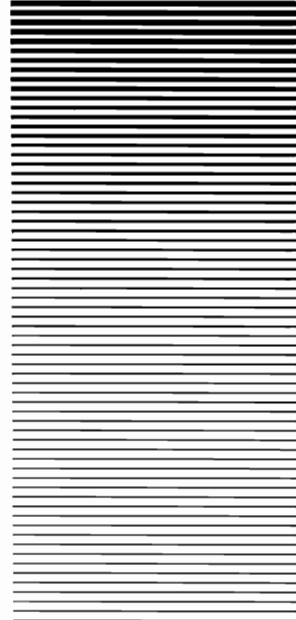
## 受託試験

I.R.D.C.社(U.S.A.)  
一般毒性試験  
特殊毒性試験  
ワイルドライフ社(U.S.A.)  
鳥類及び蜜蜂のLD50、LC50試験  
その他特殊毒性試験  
クレメント社(U.S.A.)  
FDA・EPA登録のコンサルタント



## 実験動物関連商品

ビュリナ社製実験動物用飼料 (U.S.A.)  
実験動物用カプセル ( // )  
実験動物用床敷 ( // )  
入れ墨器 ( // )  
動物保定器 ( // )  
その他各種器具



# 加商

加商株式会社  
物資部 研究・開発課  
東京都中央区日本橋2-14-9  
TEL. (03) 276-7673~7677

御一報下されば担当者が参上、  
御説明申し上げます。



新発売

# Only1

1日1回の持続型



持続型ループ利尿剤

## ⑧ **ダイアート錠**<sup>®</sup>

〔健保適用〕


ダイアート錠は、朝1回服用するだけで  
夕方まで効果が持続する  
ロング・アクティングタイプ  
その上、徐々に効果が発現しますから  
腎に負担がなく、自然な利尿がえられます。


### 特長

- 1日1回で、確実な利尿効果が期待できます。
- 浮腫性疾患の尿量・体重・浮腫・腹囲などを改善します。
- 電解質バランスを崩しにくく、外来の維持療法に適します。
- 浮腫のある慢性疾患に長期投与が可能です。

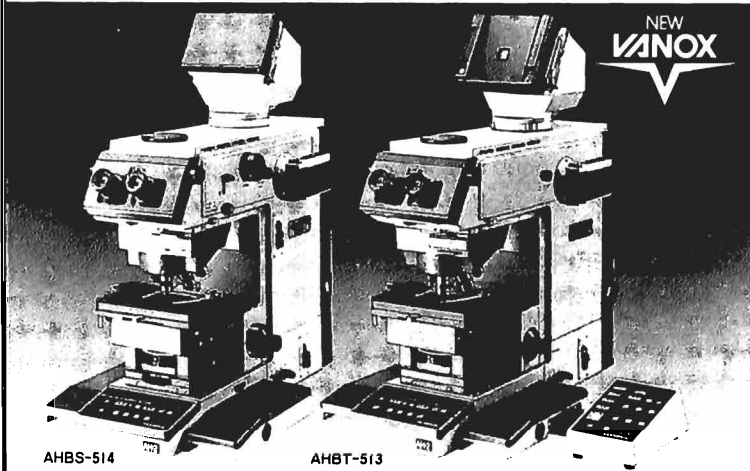
### 効能・効果

心性浮腫(うっ血性心不全)、腎性浮腫、肝性浮腫  
●用法・用量 使用上の注意は製品の添付文書をご参照ください。

製造販売元  株式会社 **三和化学研究所**  
名古屋市東区東外堀町35番地

扱 携  ベーリンガー・マンハイム・ジャパン株式会社  
東京都港区虎ノ門3丁目10番11号

あらゆる研究分野に対応できる多様なシステム。  
観察から撮影まで、可能な限り自動化を実現。



全自動写真撮影装置を内蔵。今までにない多様なシステム性と操作性で画像解析、分光測光などの将来的研究ニーズにも充分対応。電動6ヶ穴レボルバー、1×~100×まで完全ケラー照明、写真撮影レンズ4種類内蔵、フィルム面と同じ像が観察できる一眼レフ式ファインダー、視野数26.5φの超広視野など随所に最先端のメカニズムが生きています。しかも、35mm2台+大版1台+TVカメラ1台計4台を同時装着できる3-WAYカメラ。鮮明な像を観察、確実に記録できます。

AHBS-514

AHBT-513

未知をひらく光学技術

●全自動写真撮影装置内蔵 ●電動6ヶ穴レボルバー ●3-WAYカメラ ●4種類の撮影レンズ内蔵 ●平均測光・スポット測光 ※VANOX-Sは低倍のピント合わせ、カメラ選択、撮影レンズの切換えを自動化(マニュアル操作も可)。VANOX-Tはこれら操作がマニュアルになります。

VANOX-S/VANOX-T

最高級写真顕微鏡システム

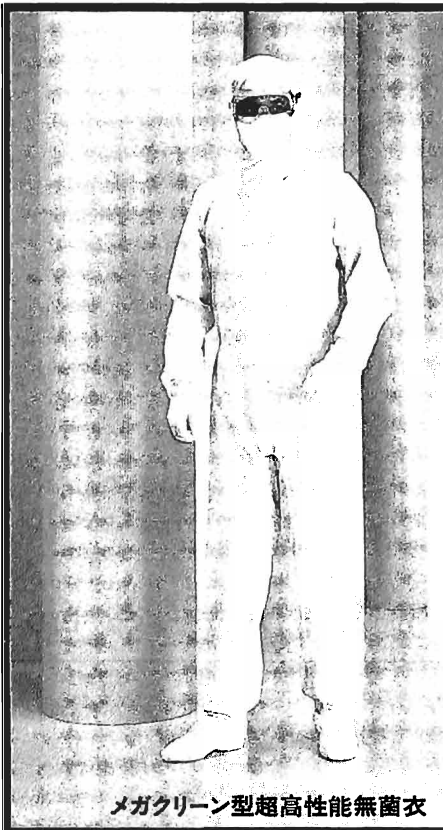
顕微鏡・内視鏡・医療器・カメラ等の光学総合メーカー

**OLYMPUS**

オリンパス光学工業株式会社

販売元/株式会社オリンパス

カタログ・パンフレット等のご請求は 株式会社オリンパス 〒101 東京都千代田区神田駿河台3-4(龍名館ビル) ☎03(251)8981へ



# CLASS 1 無菌衣 CHALLENGE

医薬品業界のトップシェアを  
誇る高品質の無菌衣

資料請求先

東洋リントフリー株式会社

東京 〒168 東京都杉並区和泉3-60-14 TEL 03(323) 1151(代)  
大阪 〒532 大阪市淀川区宮原2-14-8 TEL 06(394) 0731(代)  
九州 〒870 大分市大字荏隈 691-1 TEL 0975(44)6801(代)  
東北 〒990 山形市松波 1-15-26 TEL 0236(32)7521(代)

メガクリーン型超高性能無菌衣



# 実験動物の病理組織標本作製の受託

SOP(標準作業手順書)に基づき、どこよりも迅速、廉価で品質保証が誇りです。

## ■ 受 託 項 目 ■

- ・・病理組織標本の作製・・  
(必要があれば特殊染色および所見、写真撮影も行います。)
- ・・硬組織標本の作製・・
- ・・一般毒性試験・・  
(急性、亜急性、慢性毒性試験)
- ・・特殊毒性試験・・  
(催奇形性、刺激性試験)
- ・・その他・・

試験項目、内容などについては下記にご照会下さい。担当者がご相談、ご説明に伺います。



株式会社 組織科学研究所

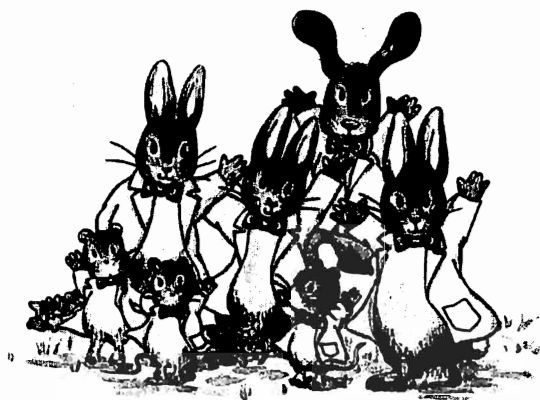
(〒)198 東京都青梅市黒沢2-984  
TEL 0428(74)4741(代)

## 安全性試験

### <受託項目>

- 一般毒性試験
- 生殖毒性試験
- 癌原性試験
- 局所刺激性試験
- 病理組織標本作製
- 他の試験については

直接お問い合わせ下さい The Center of Japan Biological Chemistry Co., LTD.



## 株式会社 日本生物化学センター

本 社 〒531 大阪市大淀区豊崎4丁目12-17  
T E L (06) 373-0208

研究所 〒503-06 岐阜県海津郡海津町福江52  
T E L (05845) 4-5631 (代表) F A X (05845) 4-5104

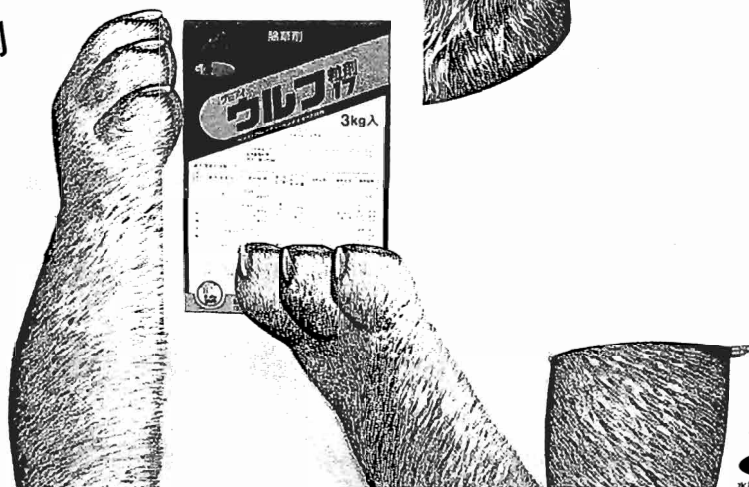


# チカラのウルコ

頑固な雑草に必殺一発パンチ!

63年本格販売

62年の試販結果は  
大好評!!  
話題の低コスト除草  
一発処理除草剤



農協・経済連・全農



クミアイ化学工業株式会社



いきいき標本、つくります。

設計ポリシーは、  
良い標本の作製と検体の保護です。

VIPのマイクロコンピュータ搭載には、検体保護への配慮があります。

● 処理槽の薬液が少ない場合……

自動的に前段階の槽の薬液を満たし、警報を發しますので検体を乾燥から守ります。

● 停電の場合

停電時の処理状況を記憶し、通電後パラフィン温度等の正常化をセルフチェックした後、自動復帰し処理を続行します。

● トラブル発生の場合……

検体処理中のトラブルは全てセルフチェックし、パネル上に表示しますので迅速な対応ができます。

検体量にあわせて  
3機種よりお選び下さい。



● 標準120検体処理

100

● 標準180検体処理

200

● 標準270検体処理

300

床置き型(縦型)と  
卓上型(横型)の2種類  
(VIP300は床置き型)



販売元

三共株式会社

〒104 東京都中央区銀座2-7-12 TEL (03)562-9411



販売元

マイルス・三共株式会社

〒104 東京都中央区銀座1-3-7 TEL (03)367-5511