

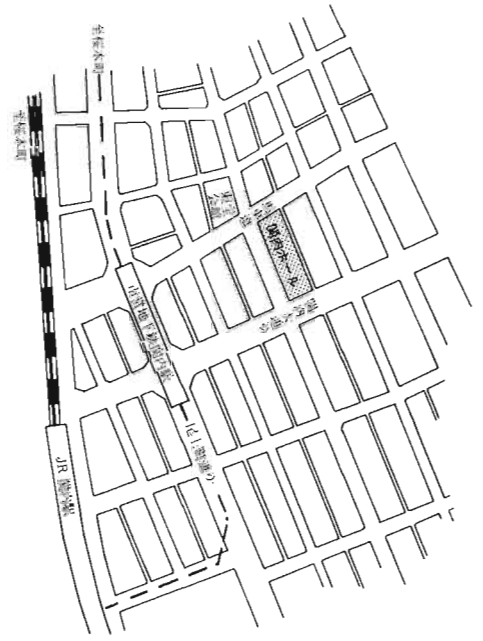
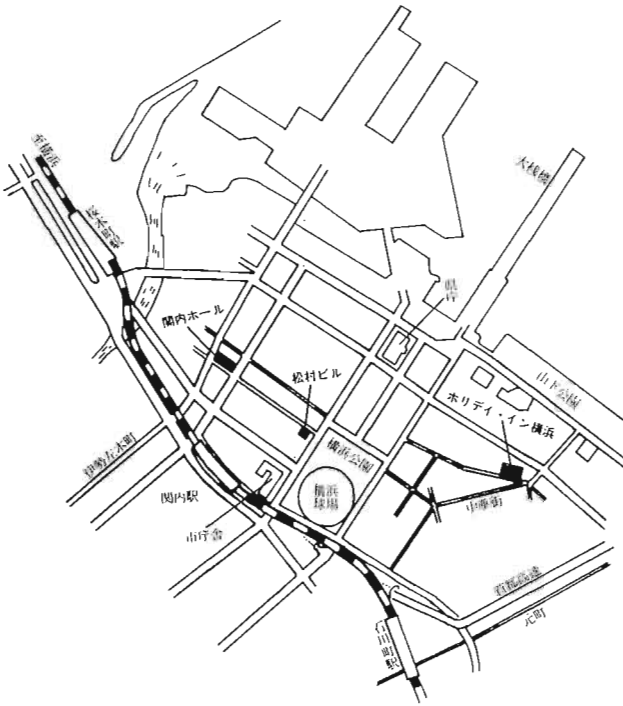
第 5 回日本毒性病理学会

講演要旨集



1989年1月27, 28日

横 浜



会 場：横浜市市民文化会館（関内ホール）

〒231 横浜市中区住吉町 4-42-1

Phone (045) 662-1221

大ホール（2・3F） □ 演

小ホール（B1F） 示説総合討論

青少年育成センター研修室（B2F）示説会場

懇親会場：ホリデイ・イン横浜

〒231 横浜市中区山下町 77

Phone (045) 681-3311

評議員会会場：松村ビル 4F 403号会議室

〒231 横浜市中区住吉町 1-13

Phone (045) 671-3686

第 5 回 日本毒性病理学会 会 長：蟹沢 成好 横浜市立大学医学部病理学第 1 講座

事務局：〒236 横浜市金沢区福浦 3-9

横浜市立大学医学部第 1 病理

TEL：045-787-2583

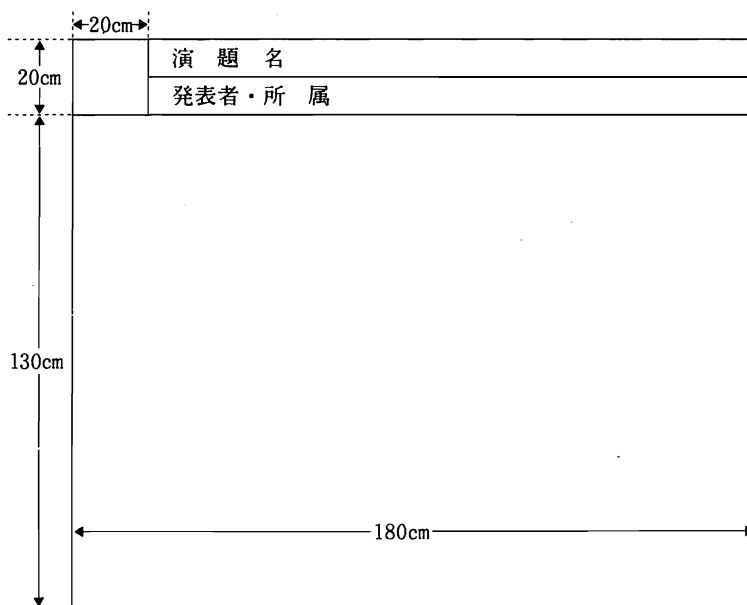
第 5 回 日 本 毒 性 病 理 学 会

1. 期 日 1989年 1月27日(金)・28日(土)
2. 会 場 横浜市市民文化会館(関内ホール)
3. 日 程 1月27日(金) 9:25~9:30 開会あいさつ(会長)
9:30~11:05 一般演題(9題)
11:20~12:20 特別講演
13:20~13:40 総 会(大ホール)
13:40~15:35 一般演題(11題)
15:45~16:30 示説質疑応答(15題)
16:35~17:25 示説総合討論
18:00~20:00 会員懇親会(ホリデイ・イン横浜)
1月28日(土) 9:15~10:50 一般演題(9題)
11:00~12:00 一般演題(6題)
12:15~13:00 評議員会(松村ビル4F会議室)
13:20~13:50 一般演題(3題)
14:00~15:20 シンポジウム(3題)
15:20~15:30 前半総合討論
15:45~17:05 シンポジウム(3題)
17:05~17:15 後半総合討論
17:15 閉会あいさつ(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7分, 討論時間は3分, シンポジウムの講演時間は1題20分, 討論時間は5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：1月27日（金）午後1時20分～4時30分
午後3時45分～4時30分の間は演者は必ず会場にて質疑に応じて下さい。
（示説に関する総合討論：午後4時35分～5時25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. 示説発表物は学会で用意した画鋏等を使用して下さい。

日 程

一般演題：第1日 1月27日（金） 午前の部

9：30～10：00 座長 北村 均（横浜市大・医・1病）

1. 無処置成熟ハムスター肺の大型神経上皮小体に関する形態学的観察
○小川毅彦¹、伊藤隆明¹、永露博昭^{1,2}、北村 均¹、蟹沢成好¹（¹横浜市大・医・1病、²資生堂研究所）
2. ビーグルの萎縮性膀胱に見られた nesidioblastosis 様病変
○廣内康彦、井上博之、岩田 聖、小池嘉秀、小林和雄、榎本 眞（財）安評センター）
3. 加齢によるハムスター膀胱ラ氏島の各種内分泌細胞の変化
○古川文夫、高橋道人、豊田和弘、今井田克己、岡宮英明、篠田和俊、林 裕造（国立衛試・病理）

10：00～10：30 座長 高橋道人（国立衛試・病理）

4. エチオニン投与後のハムスター膀胱における肝細胞の出現
○北澤俊治、水元一博、堤 雅弘、高島吉治、白岩和己、小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）
5. MNNG および BHA によるラット前胃粘膜増殖巣における細胞動態の解析
○小川久美子、立松正衛、伊藤初美、長谷川良平、伊東信行（名市大・医・1病）
6. Genotoxic および non-genotoxic な発癌物質によるラット前胃の増殖性病変における可逆性について
○山本 敦、広瀬雅雄、香川雅孝、増田あつ子、白井智之、伊東信行（名市大・医・1病）

10：30～11：05 座長 森 秀樹（岐阜大・医・1病）

7. *N*-Methyl-*N*-nitrosourea (MNU) によるハムスター上部消化管腫瘍の短期誘発モデル開発の試み
○丹羽憲司、田中卓二、森 秀樹（岐阜大・医・1病）
8. 多臓器発癌モデルによる発癌物質中期検索法の開発
○山口修司、長谷川良平、津田洋幸、宇和川賢、福島昭治、伊東信行（名市大・医・1病）
9. Pepsinogen isoenzyme 1 変異幽門腺 (PAPG) を指標とした胃発癌物質中期検索法による12化学物質についての検討
○尾崎圭介、立松正衛、萩原昭裕、浅川恵美子、伊東信行（名市大・医・1病）

11：05～11：20 ———— 休 憩 ————

特別講演

11:20~12:20 座長 榎本 眞(財)安評センター)

毒性発現とチトクローム P-450

渡辺民朗(東北大・抗研)

12:20~13:20 ——— 昼 食 ———

13:20~13:40

総 会

一般演題：第1日 1月27日(金) 午後の部

13:40~14:00 座長 渡辺満利(持田製薬・安全研)

10. 輸液の急性毒性における注入速度, 浸透圧及び LD₅₀ 値について
○後藤干城, 倉橋陽子, 三井雅之, 谷川広行, 川島正次(森下製薬・薬理研)
11. 肝毒性物質反復投与ラットの全身性病態
土井邦雄¹, ○町田一彦¹, 倉部繁雄², 稲垣昌宏², 島津紀子^{2,1}(東大・農, ²田辺生物研)

14:00~14:10 座長 井上 達(横浜市大・医・1病)

12. ACUTE EFFECT OF ⁶⁰Co GAMMA-RAY ON SOD AND CATALASE ACTIVITY IN C₃H/HeN (NORMAL) AND C₃H/C₅₇B (ACATALASEMIC) MICE
N. BASARAN, M. NAITO, M. TAKAHASHI, Y. NAKAGAWA, H. WATANABE, A. ITO (Dept Cancer Res, RINMB, Hiroshima Univ)

14:10~14:40 座長 宮脇宏彰(武田薬品・中研)

13. フッ化水素酸による化学熱傷と臓器傷害—第1報 肺多発性血栓の発生について—
○松元 茂, 小出 紀(産業医大・2病)
14. パラコート実験肺線維症における肺胞中隔細胞の動態, 及びⅢ型コラーゲン産生に関する研究
○横瀬智之, 飯島達夫, 小形岳三郎(筑波大・病理)
15. Beagle 犬における β-cyclodextrin による腎毒性の検討
○田畑尚一¹, 大園誠一郎¹, 平尾佳彦¹, 岡島英五郎¹, 松木 尚², 北堀吉映², 日浅義雄³
(¹奈良医大・泌, ²1病, ³2病)

14:40~15:10 座長 原田昌興(神奈川がんセンター・臨床研)

16. hCG によるラット精巣の限局性壊死
○茶谷文雄, 宮脇宏彰(武田薬品・中研)

17. 酸化エチレンガスによるラット精巣毒性—第1報 生殖細胞傷害度の半定量的解析—

○海道昌宣¹, 濱田哲夫², 小出 紀¹(¹産業医大・2病, ²病院病理)

18. 精巣毒性の解析における病理学的手法の検討

—BrdU 免疫組織化学およびランタン・トレーサー法の有用性—

○篠田和俊, 岡宮英明, 今沢孝喜, 下地尚史, 古川文夫, 今井田克己, 高橋道人(国立衛試・病理)

15:10~15:35 座長 今井 清(食薬安全センター・秦野研)

19. ラットの長期動物試験における白内障の発生について

○豊田和弘, 古川文夫, 岡宮英明, 児玉幸夫, 堀内茂友, 高橋道人(国立衛試・病理)

20. カナマイシン投与によるイヌの聴覚障害

○久世 博, 和田 功, 今泉和則, 堀 正樹, 岡庭 梓(田辺製薬・安全研)

示 説

15:45~16:30 質疑応答 (B2F青少年育成センター研修室)

16:35~17:25 総合討論 (B1F小ホール)

座長 板倉智敏(北大・獣・比較病理)

伊藤明弘(広大・原医研・癌部門)

21. B6C3F1 マウスの精巣上体における Leydig 細胞腫

三森国敏¹, F. A. Talley², M. R. Elwell²(¹残留農薬研, ²U. S. National Toxicology Program)

22. マウス・ラットの自然発生下垂体中葉腫瘍

○大石裕司¹, 藤平司郎¹, 松本正博¹, 森井外吉²(¹藤沢薬品・安全研病理, ²関西医大・2病)

23. 若齢ラットにみられた髄膜腫の1例

○田中俊光, 後藤綱星, 佐藤良一, 稲津水穂, 小林孝好(ヘキストジャパン医薬総合研)

24. いわゆる Gonadal stromal tumor と思われるラット精巣腫瘍の2例

○永岡隆晴, 小野寺博志, 外館あさひ, 前川昭彦, 林 裕造(国立衛試・病理)

25. F344/DuCrj ラットにおける自然発生腫瘍—年代及びロットの違いによる腫瘍発生の変動—

○外館あさひ, 小野寺博志, 永岡隆晴, 前川昭彦, 林 裕造(国立衛試・病理)

26. ラット胃に発生した線毛細胞性嚢胞の2症例

○岡宮英明, 古川文夫, 今沢孝喜, 下地尚史, 篠田和俊, 豊田和弘, 高橋道人(国立衛試・病理)

27. カニクイザルにおける Thymic cyst の光顕, 電顕的観察

○李 建中¹, 藤村久子², 相内聖峰², 田中 薫², 永田貴久¹, 永田良一¹, 河野猪三郎¹(¹新日本科学・毒性部, ²病理部)

28. ヌードラット (NIH : rnu) への各種培養腫瘍細胞の移植及びシスプラチンの影響
荒井昌之¹, 舟橋正範¹, 長尾静子², 高橋久英² (¹藤田学園・衛・病理, ²実験動物)
29. 分析型走査電子顕微鏡を用いたラット膀胱結石の表面構造の観察およびその構成元素の分析
○今沢孝喜, 岡宮英明, 篠田和俊, 小野寺博志, 今井田克己, 高橋道人, 林 裕造 (国立衛試・病理)
30. Black thyroid および全身性黒色素沈着症 8 例の色素沈着機序の検討
○北村 創¹, 北村 均², 蟹沢成好² (¹横浜南共済病院・病理, ²横浜市大・医・1病)
31. 3,2'-Dimethyl-4-aminobiphenyl のラット皮下投与による腭腫瘍の発生
○中村 厚, 白井智之, 朝元誠人, 萩原昭裕, 伊東信行 (名市大・医・1病)
32. マウスにおける N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine による腎盂癌の誘発
○村井 隆^{1,2}, 森 聖^{1,2}, 外山素子¹, 武内康義¹, 大原忠雄¹, 牧野 進¹, 福島昭治²
(¹シオノギ・油日ラボ, ²名市大・1病)
33. 1-(2-hydroxyethyl)-1-nitrosourea ラット発癌における臓器標的性の検討
○高橋 智, 加藤俊男, 田中 光, 広瀬雅雄, 福島昭治 (名市大・医・1病)
34. ビーグルの副甲状腺内に観察される, クロマチンに富んだ核をもつ細胞集団
○田中 薫¹, 永田貴久², 永田良一², 河野猪三郎², 相内聖峰¹, 藤村久子¹ (¹新日本科学・病理部, ²毒性部)
35. ラットの下垂体腫瘍: 若齢 SD ラット下垂体前葉に認められる限局性微小増殖性病変
○吉田 哲, 藤本隆平, 宍戸隆男, 堺 俊治, 花田貴宣, 三木寿雄 (山之内製薬(株)安全研)

会 員 懇 親 会

18 : 00 ~ 20 : 00

(ホリデイ・イン横浜)

一般演題：第2日 1月28日(土) 午前の部

9:15~9:45 座長 津田洋幸(名市大・医・1病)

36. 有機溶媒 furfural のラット肝発癌における promotor 効果について
清水昭男^{1,2}, 原田昌興¹, 蟹沢成好²(¹神奈川がんセ・臨床研, ²横浜市大・医・1病)
37. 実験的ラット肝発癌における肝線維症の増強効果について
○和田重次, 奥村正直, 務台 衛, 小木曾 正, Danai TIWAWECH, 津田洋幸(名市大・医・1病)
38. 実験的肝線維化: hydroxyproline 量のラット肝の各葉における差に関する検討
○下地尚史, 高橋智香子, 古田京子, 今井田克己, 高橋道人, 林 裕造(国立衛試・病理)

9:45~10:15 座長 長瀬すみ(佐々木研)

39. 雌無アルブミンラット肝のアルブミン陽性細胞に及ぼす 3'-Me-DAB の影響
田中寿子¹, 永森静志², 清水恵一郎², 長瀬すみ³, 鈴木照男¹(¹慈恵医大・微細形態研, ²1内, ³佐々木研)
40. コリン欠乏食による肝障害ラットにおける acetaminophen の肝に対する initiation 活性
○高島吉治, 丸山博司, 中江 大, 北澤俊治, 傳田阿由美, 小西陽一(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
41. Methylnitrosourea 及び低ヨード食によるラット甲状腺腫瘍誘発におよぼす低ヨード食開始時の影響
○森 雅弘, 内藤正志, 伊藤明弘(広大・原医研・癌部門)

10:15~10:50 座長 立松正衛(名市大・医・1病)

42. フェニルブタゾンの腎・甲状腺発癌に対するプロモーション作用
○小野寺博志, 永岡隆晴, 外館あさひ, 前川昭彦, 林 裕造(国立衛試・病理)
43. In vivo 膀胱癌原性中期検索試験による E1020の膀胱発癌プロモーション作用の検討
○青木豊彦, 早川和宏, 細川 暁, 中野渡純一, 五十嵐俊二(エーザイ(株)・安全研)
44. 膀胱発癌プロモーターによるラット膀胱粘膜上皮の DNA 合成および生化学的ならびに形態学的変化の経時的追究
○柴田雅朗, 倉田 靖, 玉野静光, 山田真弓, 福島昭治(名市大・医・1病)

10:50~11:00 ——— 休 憩 ———

11:00~11:30 座長 名倉 宏(名古屋大・病態研)

45. 皮膚2段階発癌系によるマウス mast cell tumor の誘発とその病理発生
宮川義史(日本たばこ・安全研)
46. N-Nitrosobis (2-hydroxypropyl) amine (BHP) によるラット肺腺癌発生過程における γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) 発現の推移と安定化
○中島 啓, 山本一彦, 榮本弘行, 高島吉治, 丸山博司, 小西陽一(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

47. DEN によりイニシエーションされたラット肝における *c-myc* 遺伝子産物発現に対する clofibrate の抑制効果

○伊藤聖一¹, 吉岡 薫¹, 立野知世¹, 渡辺知幸¹, 奥野泰由¹, 吉武 彬¹, 宮本純之¹, 阿部 薫²
矢内原昇³ (¹住友化学・安全研, ²国立がんセ, ³静岡県大・薬)

11:30~12:00 座長 木村郁夫(愛知がんセ・ウィルス研)

48. マウスの MFH 様皮下腫瘍にみられた好酸性粗大顆粒保有細胞の形態学的特徴

○高橋公正, 真板敬三, 白須泰彦(残留農薬研)

49. 自然発生大腸癌家系 WF ラット — ウィルス様粒子について

宮本 誠(阪大・医・病理)

50. B6C3F₁ マウスに認められた卵黄嚢腫瘍の 1 例

○勝田 修, 田子 穰, 山岸保彦, 土谷 稔(三菱化成安全研)

12:00~13:20 ——— 昼 食 ———

12:15~13:00 評議員会(松村ビル 4F 403号会議室)

一般演題: 第 2 日 1 月 28 日 (土) 午後の部

13:20~13:50 座長 三森国敏(残留農薬研)

51. 高用量 2,5-hexanedione 投与ラットの脳の電顕的観察

○吉村慎介, 斉藤義明, 山口 肇, 今井 清(食薬安全セ・秦野研)

52. メラニン親和性を有する薬物 terodilin hydrochloride の網膜毒性の検討

— クロロキン網膜症との関連からの考察 —

○柴田信男, 百瀬泰紀, 内藤 惇(キッセイ薬品・第二研)

53. CI-934 のマウス光毒性における組織学的変化

○関口正保, 和賀井信彦, 赤羽浩一, 采 孟, 小河秀正, 長田恭明(第一製薬・中研)

シンポジウム

14 : 00~17 : 15

毒性病変の超微形態－光顕像との接点を求めて

司会 鈴木昭男（慈恵医大・医科研・微細形態）

森 道夫（札幌医大・2病）

14 : 00~15 : 20

- 1) 細胞の真の姿を求めて－試料作製法による組織像の変化

市川 厚（横浜市大・医・解剖）

- 2) 肝病変：酵素誘導の超微形態

小川勝洋，高橋達郎，村岡俊二（旭川医大・1病）

- 3) フリーラジカルによる肝障害

寺尾 清（千葉大・真核微研セ）

15 : 20~15 : 30

総合討論

15 : 30~15 : 45 ——— 休 憩 ———

15 : 45~17 : 05

- 4) 腎毒性と近位尿管上皮細胞における滑面小胞体の塊状増生

鈴木昭男¹，小幡 徹²，田中寿子¹（¹慈恵医大・医科研・微細形態，²同・生化）

- 5) 肺胞障害

小形岳三郎（筑波大・基礎・病理）

- 6) 心筋毒性

大坪浩一郎（都老人研・臨床病理）

17 : 05~17 : 15

総合討論

————— 閉 会 —————

特別講演

渡辺民朗 (東北大・抗研)

生体内の内因性物質としては認められない多くの化学物質が広く地球上に散布され、同定されるようになってきている。それらは程度の差こそあれ、生体になんらの作用をもたらすようで、われわれはこれらの物質を生体異物と呼んでいる。

生体異物による毒性発現の生体側の要因として、生体内の標的的部位におけるその活性型代謝物の濃度とその毒物に対する細胞の感受性が重要であり、さらに、局所における毒物の濃度は生体における吸収、分布、代謝、結合、排泄などの多くの生体内挙動により調節されていることは明らかである。そこで、主として代謝の面から毒性発現の機構について述べたいと思う。

これら異物の生体への作用機構を考えると、二つに大きくわけられる。一つは生体異物が生体構成成分と相互作用を持ち、イオン結合、水素結合などの弱い結合を行い、可逆的な毒作用を示す一過性の毒性発現である。しかし、作用量が多ければ種々の毒作用を示すようになる。他方、多くの生体異物は化学的に安定であり、*in vitro*の生理的条件下では、生体内高分子との結合は殆んどらない。しかし、生体内に摂取されると代謝され、極性化され、反応性に富む不安定な化合物に変換し、これらは生体内高分子であるDNA、RNA、たんぱくと容易に共有結合を起こすようになる。この共有結合は強固であり、結合した高分子化合物の性質を不可逆的に変換し、その結果として発癌、突然変異、細胞壊死などの多彩な重篤な毒作用を示すものと考えられる。

これら代謝的活性化をもたらす反応に関与する酵素系として、いわゆる薬物代謝酵素系がある。これら極性化の第一段階の酸化酵素はチトクロームP-450 (P-450) に依存するモノオキシゲナーゼであり、狭義の薬物代謝酵素と呼ばれ、肝細胞では小胞体に局在している。極性に富む水酸化体はさらに薬物代謝の第二段階としての抱合体形成反応などを受け、不活性な化合物に変換される。この第二相の反応に関与する酵素は多く同定されていて、グルタチオン、硫酸、グルクロン酸、N-アセチル、アシルCoAのトランスフェラーゼの外に、エポキシドヒドロラーゼ、トランスメチラーゼ、エステラーゼなどが知られている。一方、第一相の酸化反応によりヒドロキシラジカルなどの活性酵素の生成も起こり、高分子物質への直接作用も考えられる。しかし、肝以外の、たとえば、肺における薬物代謝酵素系をみると、P-450系は認められるが、P-450分子の分布が異なり、第二相の酵素の量は非常に少なく、臓器特異性があり、活性型化合物の分布に関しても肝とは異なる調節を受けているようである。

モノオキシゲナーゼの多様な性質をもたらす一つの要因として、P-450の分子多様性がある。P-450はモノオキシゲナーゼの基質特異性を決定する因子であると共に、基質などの誘導物質により明らかな酵素誘導が起こることも知られている。そこで、P-450の分子種によりその基質特異性が決定されることから、個々の毒物の生体内発現には標的組織における特定のP-450量の分布が重要な因子になってくる。

実験動物、とくにマウスの自然発生癌と化学物質により誘導される癌の発生の頻度において、系統差を示すような遺伝的統御があることが知られている。特に、ベンツピレンやメチルコラントレンのような癌原芳香族炭化水素によるマウスの皮膚癌、皮下肉腫の発生には系統差が明白であり、この差異は特定のP-450遺伝子の発現が関与し、この遺伝子の特定部位に結合すると考えられるリセプター-の関与が重要であると考えられる

ようになってきた。しかし、芳香族炭化水素による皮膚癌の発生に抵抗性を示すようなマウスの系統においては、これら発癌剤の投与された部位とは離れて、遠隔部位に標的組織を定め、白血病、リンパ腫の発症が認められるようである。これらのことは、発癌における標的組織を決定する因子として、生物個体における遺伝的統御と共に、発癌剤の侵入径路に当たる組織の代謝能が重要であると考えられる。

そこで本講演では下記の主題について話しを進めたいと思う。

1. 毒性発現に関与する酵素系
2. P-450 遺伝子とその分子多様性
3. 毒性、発癌性の発現に関与する P-450 分子
4. P-450 発現の種差、系統差、性差、臓器差
5. P-450 発現の遺伝的調節と毒性物質への感受性
6. P-450 遺伝子の発現と臨床医学への関与

シンポジウム

病像を正しく把握するためには、正常な細胞や組織の形態と存在様式を知っていることが必要なことは言うまでもない。このため光学顕微鏡による古典的な組織学の時代から電子顕微鏡による微細形態学の今日まで、細胞や組織が生きている時の状態をいかに忠実に再現し、可視化するか、という命題のために多大の努力が払われてきた。今日我々が持ち合わせている組織標本作製法のうちで、すでに19世紀に考案され開発されたものは多い。また、組織像の基本的な情報についても、その多くのもが1900年代初頭までにすでに得られたと言っても過言ではない。最近注目を浴びている凍結技法にしても、このアイデアをはじめて実行に移したのは Richard Altmann で、1890年のことである。

1950年代に入って電子顕微鏡が組織学的検索に用いられるようになって、その高分解能のゆえに高い倍率での微細形態分析が可能になり、細部にわたっての細胞の構造、形態の保存の良否が一層重要視されるようになった。一方、細胞の機能と構造の相関をより良く理解するためには細胞の構成成分の化学的性質を知る必要があり、1930年代に入ってから組織化学的分析が盛んに行われるようになった。しかし、組織化学的分析法は糖質、脂質、蛋白などの存在を知るための種々の染色法にしる、酵素組織化学にしる、あるいはまた免疫組織化学にしても、物質の存在あるいは局在を知ることを一義的に考え、形態の保存には必ずしも十分な注意が払われていたとは言えない一面があった。

ここでは、演者がこれまで行なってきた電子顕微鏡的研究を通じて経験した試料作製法の違いによってどのように形態の保存が異なって見えるか、得られた像の解釈についてどんな配慮が必要かなど、いくつかの具体的な例を挙げて、演者の見解を述べてみたい。

観察対象は主としてラット、マウス、スナネズミなど齧歯目の脾外分泌細胞、唾液腺腺房細胞、肝実質細胞、腎組織、肺組織などで、通常の化学固定法で処理したものと急速凍結置換固定法で処理した試料の組織像を比較検討した。また、これら試料の一部について糖質組織化学、オートラジオグラフィ、免疫組織化学を行なって、良好な結果が得られる固定、脱水、包埋などの条件についても検討した。

◎ 通常最も多く用いられている化学固定法における問題点:

- 1) 固定液の選択: アルデヒド系試薬と四酸化オスミウムとの固定効果についてはいまだ賛言を要しないが、アルデヒド単独固定の場合(例えば、組織化学とくに免疫組織化学などではしばしば用いられる)生体膜とくに細胞内膜系の固定が悪く、ネガティブ像を呈するため、反応産物の存在部位を見誤ることがある。また、いわゆるミエリン像が出来やすい。
- 2) 固定液の浸透圧: 組織浸透圧とつねに同じにすることが必ず好結果を生むとは限らない。例えば、粘液細胞の分泌顆粒のように容易に水分を吸収して膨化するものでは、よほど高張にしないと微細形態は保存されない。一方、等張あるいはやや低張な固定液ではいわゆる“明調細胞”と“暗調細胞”を生じやすい。
- 3) 浸漬固定と灌流固定(点滴法): 腎尿管管主部の管腔が生理的条件下で閉じているか、開いているか、通常の浸漬固定試料では閉じて見え、灌流固定試料では開いて見えるのはよく知られた事実である。また、上皮組織にしばしば見られる“暗調細胞”は灌流固定試料では見えにくい。
- 4) 化学固定法一般の利点と欠点:
〔利点〕 取り扱い易さ、経済性に優れている。
〔欠点〕 形態と構成物質の保存の点で、構成物質の抽出あるいは膨化による細胞の変形、細胞内膜構造の拡張、断裂、空胞化などが起き易い。

◎ 物理固定法としての凍結技法:

- 1) 氷晶防止剤を用いない凍結法: 取り扱い易さ、迅速性、物質の保存、経済性の点で優れているが、前処置としての化学固定の欠点、氷晶形成による構造破壊がひどく、微細形態レベルの分析には適さない。最近無固定、急速凍結試料を薄切し、低温ステージに載せ(クライオトランスファー)そのまま電子鏡検する方法が試みられているが、まだ実用化の段階には至っていない。
- 2) 氷晶防止剤を用いる凍結法: 物質の保存、氷晶形成による構造破壊が少ない点で優れているが、前

処置としての化学固定による微細形態の変化、操作性にやや難点があり、凍結超薄切片法やフリーズ・レプリカ法など適用範囲が限られる。

- 3) 急速凍結法：生の組織を麻酔下に切り出し、数ミリ秒の速さで固定するので、氷晶形成による細胞の構造破壊を最小限に抑えることができ、細胞が生きていた時の形態と構成成分をほぼそのまま保存することができる。また、動的变化の瞬間像を捉えることもでき、現在考えられる最も理想的な固定法であるが、良い固定が得られる範囲が極めて狭いこと、高価な装置を必要とすること、操作が難しく、経費がかかるなどの難点がある。

- ◎ 樹脂包埋法：セロイジンやパラフィンに比べ組織の変形や収縮が少ないが、操作性、経済性にやや難点があること、樹脂によっては酸性糖蛋白が膨化したり (Lowicryl K4M)、重合熱によって蛋白の変性を来すなどの難点がある。これは免疫組織化学の包埋後染色法で問題になる。

上述したような試料作製法に関する問題点をふまえ

て、微細形態レベルで最終像を解釈する場合、考慮すべき点 — 虚像か実像か — として次のようなことが考えられる。

- 1) いわゆる“暗調細胞”は実在するか。
- 2) いわゆる細胞間指状突起とはなにか。
- 3) 上皮細胞管腔側表面にしばしば出現するアポクリン様突起の意味。
- 4) アポクリン分泌の必然性。
- 5) 細胞質基質の不均質性について。
- 6) 細胞質基質の空胞化について。
- 7) いわゆる“ミエリン像”について。
- 8) 粗面小胞体の拡張、収縮は同小器官の活性を反映するものか。
- 9) ゴルジ装置の基本構造。
- 10) GERL, trans-Golgi network の実在性について。
- 11) 生体膜の膜融合のメカニズム。
- 12) 高分子物質の放出 (分泌) のメカニズム。
- 13) 細胞膜の断裂、細胞体の欠損を伴ない、かつ修復可能な細胞損傷ということはあるか。
- 14) 免疫組織化学におけるいくつかの問題点。

小川勝洋、高橋達郎、村岡俊二（旭川医大・第一病理）

肝臓は機能的要請に応じて、細胞の肥大や数の増加により、しばしばその体積を増す。この場合、肝細胞の小器官は、体積または数の増加を示すとともに、小器官に含まれる酵素活性の上昇が見られることが多い。このような例として、胎児が出生後ただちに母体から独立して栄養摂取を行い、独自の代謝を開始する過程や、再生増殖に際して静止期にあった肝細胞がいっせいに増殖の準備を開始する過程、さらに薬物によって解毒代謝が亢進して適応する過程などがあげられる。これらの場合はいずれも急速な酵素誘導がみられるが、それらについての超微形態変化を概説する。

1. 周産期の肝細胞の超微構造変化

周産期には肝細胞に急速な酵素誘導がみられ、血糖値の維持に参与する glucose-6-phosphatase、蛋白代謝に関係する tryptophan pyrrolase、ornithine carbamoyl transferase、ビリルビンの排泄に参与する glucuronyl transferase、androgenの活性化に参与する testosterone hydroxylaseの活性上昇などが起る。一方、胎生期に強く発現していた γ -glutamyl transpeptidaseの活性は急速に低下し、また胎生期の主な血清蛋白である α -fetoproteinの産生はalbuminへと変換される。光頭的には胎生末期の肝細胞は細胞質に多量のglycogenを含みPAS強陽性を示す。出生後は急速にglycogenが減少するが、細胞質の塩基好性が増し、細胞質は大きさを増す。組織化学的にはRERにglucose-6-phosphatase活性がみられるようになり、mitochondriaに局在するornithine carbamoyl transferase活性が増加する。電頭的に胎児肝細胞は細胞質にglycogen顆粒が充満しており、RER、mitochondriaなどの小器官に乏しいが、出生後はglycogen顆粒の減少と、層状に配列するRERおよびmitochondriaなどの増加がみられ、毛細胆管周囲にはライソゾームが集簇するようになる。また細胞間連絡路の役割を持つgap junction

の数も急速に増加する。

2. 再生にともなう肝細胞の超微形態変化
再生のモデルとしてよく用いられるラットの2/3部分肝切除法では、術後間もなく門脈血流を介して増殖signalが肝細胞に作用し、肝細胞は増殖のための準備を開始する。最も早期に起る変化はc-fos、c-myc癌遺伝子の活性化で、続いてポリアミン合成に参与する ornithine decarboxylase活性の上昇、RNA合成酵素、nucleotide合成酵素、DNA合成酵素の上昇などが起ってくる。光頭的には術後早期にRERの集簇であるbasophilic clumpsの消失、glycogenの減少、脂肪滴の増加、細胞質空胞の形成などがみられる。超微構造的にはRERの分散化、SERの増加、mitochondriaの腫大、細胞間隙の拡張、微絨毛の増加、細胞膜の陥入による空胞形成などがみられる。続いてRNA、DNAの合成が高まると細胞質の塩基好性が増し、核小体が明瞭化し、電頭的には遊離リボソームが増加する。細胞分裂後の肝細胞は小器官に乏しく、新生児期の肝細胞に類似するが、この時期には一過性に酵素の幼若型偏倚がみられる。

3. 薬物による酵素誘導と超微形態変化

a) 小胞体

体内に取り込まれた薬物は、解毒代謝を経て体外に排泄されるが、その過程はcytochrome P450を主体とするmixed function monooxygenaseにより酸化または水酸化反応を受けるPhase Iと、それらがglucuronic acidやglutathione抱合を受けて無毒化され体外に排泄される形になるPhase IIに大別される。P450には30-200の分子種が存在すると考えられており、大きく数種類のfamilyに分けられるが、それらの中には、薬物の投与により速やかに誘導されるものがある。p450を初めphase I及びphase IIの各酵素の誘導は、transcriptionの段階で調節されていることが明らかにされており、誘導にともなってそれぞれのmRNAの合成が高まる。酵素誘導の分子機構は未だ十

分解していないが、3-methylcholanthreneで誘発されるp450の分子種の誘導は、細胞内に存在するAh receptorと3-methylcholanthreneの複合体がp450遺伝子の1200-1500bp上流に結合することによりtranscriptionの活性化が起り、P450 mRNAが増加という機序で起ることが示されている。細胞質で合成されたP450は小胞体膜に組み込まれ、ここで酵素機能を発揮するが、その結果生ずる薬物の中間代謝物はしばしば細胞にとって障害性に働くため、薬物によって誘発される小器官の形態変化は、酵素誘導によるものと、細胞障害の双方の結果の積算である場合が多い。酵素誘導能の強いphenobarbitalの投与ではまずRERの増加が見られ、層状に配列するRERが細胞質に充満する。P450の誘導が頂点に近づくとRER膜からribosomeの脱落がみられ、その部分から網目状に密に集簇するSERの増加が起る。その周辺のRERは管状を呈するが、SERはRERにおき変わるように増加して細胞質の大部分を占めるようになり、他の小器官は疎らになる。このような状態では、光顕的に細胞質は腫大化してeosinに淡染するため、ground glass像を呈する。このようなSERの増加によるground glass像は、phenobarbital以外の種々の薬物によっても起るが、誘導される酵素の種類や活性は必ずしも一定ではない。例えば、phenobarbitalにより誘導された小胞体酵素の活性が投与中は持続的に上昇するのに対して、3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzeneの投与では一時的に増加するが間もなく低下し、形態的にはSERがhypertrophicであるにもかかわらず、機能的にはhypoactiveである。また、化学発癌剤により誘発される肝増生結節細胞でも、しばしばSERが増加してground glass像を呈するものがあるが、この場合にはepoxide hydrolase、glucuronyl transferaseなどのPhase II酵素の活性が高いにもかかわらず、P450活性は著しく低下している。

b) ペルオキシソーム

肝細胞のペルオキシソームは一層の膜に包まれた0.5 μ mの小器官で、内部にcatalase、uric acid oxidase、D-amino acid oxidaseなどの酵素を含み、uric acid oxidaseはしばしば結晶構造を示す。ペルオキシソーム膜はSERから作られ、これに細胞質で合成された酵素蛋白が取り込まれて完成する。ペルオキシソームの生理的機能の一つは細胞内低分子の解毒で、ペルオキシソーム膜は透過性が高いため低分子を容易に取り込み、phenol、formic acid、formaldehyde、alcoholなどはcatalaseによりH₂O₂を利用して酸化される。また、catalaseはH₂O₂をH₂OとO₂に分解して過剰のH₂O₂の蓄積を抑制する作用も持つ。ペルオキシソームのもう一つの機能は脂肪酸からacetyl CoAへの分解で、これにより産生されたacetyl CoAは、mitochondriaに輸送されてTCA cycleに利用される。高脂血症治療薬であるethyl chlorphenoxxy isobutylate(CPIB)は著明な肝種大を誘発するが、その原因はペルオキシソームの増加による。この場合、catalase活性の上昇とともに肝細胞は著しく腫大し、ペルオキシダーゼ反応により細胞質は顆粒状に強染される。CPIBにより誘発されたペルオキシソームは正常に比べて大型であるが、uric acid oxidase活性は低い。

c) ライソゾーム

ライソゾームは種々の水解酵素を含む小器官で、薬物により酵素活性の上昇をみることがある。ビタミンA、endotoxinなどはライソゾーム膜を不安定化し、酵素の遊離を起り易くする。またglucagonは肝細胞の貪食機能を亢進させるため、ライソゾーム酵素の遊離を促進し、その結果酵素活性が増加する。endotoxinを投与後、肝細胞とKupffer細胞を分離して、それぞれのライソゾーム酵素を測定すると、Kupffer細胞の酵素活性が肝細胞のそれに先行して上昇する。

寺尾 清 (千大, 真核微研セ)

生体に摂取された化学物質は、体内に吸収された後に肝、腎あるいは肺などで代謝されその構造が著しく修飾されたり分解されて体外に排せつされる。この際、これらの臓器の種々の細胞に存在している細胞器官がその第一次の化学反応の場となり化学物質と生体構成物との相互反応が生ずる。この相互反応を化学物質の側からみると 1. 分子のままでの反応 2. なんらかのイオンに変換してからの反応と 3. フリーラジカルに変わってからの反応がある。前二者の反応に関しては、前世紀からの数多くの研究がありその生体に及ぼす影響が毒性病理学的にも充分捉えられている。しかし、フリーラジカル反応の生体に及ぼす影響については、1940年代から注目されてはきたが本格的に取り上げられてきたのは1960年 Butler の四塩化炭素中毒の解析が最初である。そしてまた、その後の毒性病理学的解明も余り著しくない。これは *in vivo*でのフリーラジカルの検出が今日でも極めて難しいことに起因している。それは、

1. フリーラジカルの半減期は一般に極めて短く、発生する量が極微量であること。
2. 生体中には、ビタミンE、Cを初めとして、多くの天然の抗酸化物、SSまたはSH基を持った蛋白、更に核酸などが大量に存在し、フリーラジカルが発生するや否や直ちにそれと結合し捕捉してしまうこと。
3. 形態異常というのは生体に生じた代謝異常が次々に他の代謝経路に影響を与え、これらが次第に生体構成物としての高次構造に異常を与えたものをみているわけであるから、投与した物質の直接作用が例え、分子そのもの、或はイオンまたはラジカルであっても、我々が観察する形態異常は皆同じである可能性も高い。

また、生体に生じた病理形態が果して本当にフリーラジカルに起因したか否かの判定も極めて難しい。それは、一般に発生したフリーラジカルは、次から

次へと連鎖的に反応し新たなラジカルを誘導していき、数多くの反応の結果が初めて終末的な病変へと発展していくため、最初のフリーラジカルによる組織障害を形態学的に捉えることがほとんど不可能なためである。またイオン反応の結果生じた組織障害との差は少なくとも形態学的には全く認められない。

さらにまた、薬物代謝のメカニズムは、最近の Cytochrome-P-450 系を初めとした輝かしい研究の進歩にも拘らず、その複雑な機構、フリーラジカルとのかかわり合いなどに関して不明な点が多く残されている。

こういったいわば三重苦の重荷を負いながら、遅々として進まないのが、フリーラジカルによる組織障害解析の現状である。

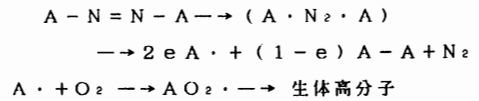
今回我々は、もっとも古典的なフリーラジカル障害である四塩化炭素による肝障害と、我々が開発した生体内変換によらないフリーラジカル AAPH による肝障害を比較しながら、光顕像と電顕像を対比して話を進めたい。

四塩化炭素投与動物の肝に著しい肝細胞の壊死が生ずることは、既に前世紀からよく知られていた。肝小葉の中心静脈周辺部に存在する肝細胞が選択的に壊死に陥るため、中心性壊死 central necrosis として知られている。いま、四塩化炭素をマウスに投与した後発生してくる形態学的変化を経時的に追ってみよう。

光顕的に最も初期から明らかな病理像は、中心帯の肝細胞からのグリコーゲンの消失と肝細胞の脂肪化である。0.02 ml / マウスの四塩化炭素をICR雄マウスに腹腔内投与すると、2時間後には肝細胞の細胞質からすべてのグリコーゲン顆粒が消失し、その場所からごく少量の脂肪滴が肝細胞中出现する。時間の経過と共に脂肪滴の大きさは増し、融合して8時間後には中心帯の大部分の肝細胞の細胞質は、脂肪によって占められてしまう。これらの脂肪滴に接するようにミトコンドリアが位置するこ

とが多い。脂肪代謝にミトコンドリアがなんらかの作用を持っていることが考えられる。次に目だつのが、粗面小胞体からのリボゾームの解離と、膜成分の断裂である。膜から解離したリボゾームは遊離の形で細胞質に存在するが、電子密度は減じ、光顕標本においても、著しく塩基性を失って桃色に染まってくる。これらの脂肪化した肝細胞に外接して膨化し、染色性の低下した肝細胞が散在する。超微形態的には、小胞体が著しく拡張し、細胞質中にほとんど細胞器官がみられない。四塩化炭素による肝障害のもっともいちじるしい特徴は、肝細胞の粗面小胞体からのリボゾームの解離と膜成分の断裂である。これは遂には肝細胞の壊死に連なっている。肉眼或は光顕レベルでの特徴は、中心性壊死—即ち肝小葉内での個々の肝細胞の分布位置によって、反応が著しく異なっていることである。なぜこの様な反応の差が起こってくるのかについて、昔から多くの説が提出されてきたが、現在のところ、薬物代謝酵素系の、肝内の分布と関係つけて考えられている。すなわち Cytochrome P 450 系の酵素群は、肝小葉内の中心帯の肝細胞に多いため、肝に摂取された四塩化炭素はここで活性化を受け、ラジカルを発生しそれがその周囲の生体高分子と結合し細胞を死へと導くというわけである。ラジカル発生の際に細胞障害が生ずるといふ考えは、ラジカルが極めて強い反応性を有することと考え合わせて納得のいくものである。

生体内転換を受けないでラジカルを発生する物質の生体障害は、四塩化炭素のそれとは明らかに異なるはずである。我々は東大工学部二木教授との共同によってこの様な物質を調べた。工業的に用いられる 2,2'-Azobis(2-Amidinopropane)dihydrochloride (AAPH) は、水溶性の物質で低温においても、温度だけに依存してラジカルを発生する。



もし血中に AAPH が入れば、循環血中で体温により徐々に A・ラジカルが発生し、その場その場で組織を攻撃し障害を与えるわけである。

結果は、四塩化炭素の場合とは極めて異なっていた。

1. 四塩化炭素には濃度依存性があるが AAPH は、all or none で、ある「しきい値」から突然動物が死ぬ。
2. 四塩化炭素の標的は肝でしかも中心性壊死であるが、AAPH は、殆ど全ての臓器の毛細血管内皮が傷害される。肝にも類洞壁の内皮細胞の変性、肝の脂肪化、ミトコンドリアの変性が肝小葉内の位置に関係なく生ずる。直接死因は、心、腎の重篤な傷害による。

以上のような所見がみられ、体内を循環しつつ発生したラジカルが、もっとも近くの生体構成物である血管内皮に作用して形態学的な傷害を生じたと考えられた。

ラジカルの直接的な傷害は、AAPH の場合、細胞膜であり、透過性の異常がいろいろな二次的傷害を引き起こしたことを示唆している。同じ様なラジカルによる組織傷害も四塩化炭素と AAPH で、その発生のメカニズムの差を反映して、見かけ上、大きく異なっている。このことは、我々が形態異常を指標として、化学—生体相互作用をみているかぎり常に当面する問題である。

腎毒性と近位尿管上皮細胞における 滑面小胞体の塊状増生

鈴木昭男*, 小幡 徹**, 田中寿子*(慈恵医大医学研究所, *: 微細形態研究部 **: 同、生化学研究部)

腎臓に対する薬剤或いは化学物質の毒性に関する微細形態学的な研究は、肝臓の場合に較べて比較的少ない。また従来の研究の多くは光顕的にも明らかな変化を来すような物質と投与条件によるもので、光顕的に殆ど不明な変化や電顕的にも軽微な変化に就いては、人工像との鑑別の問題もあり、あまり詳細な追求は行なわれていない様に思われる。

演者らは、毒性の既知及び未知な種々な物質による腎の傷害(injury)の電顕的研究の際に、ラットやマウスなどの腎の近位尿管上皮細胞(PTC)の細胞質中に屢々滑面小胞体の特徴ある塊状の増生(MC)が起こることに注目して来た。この構造は、滑面小胞が連続して出来た直径約3-9 μ m程度の特徴的な毛糸玉様の限局性集塊で、屢々周囲の粗面小胞体との間に連続移行像が認められる。また、この集塊を取り巻くようにしてペルオキシゾームが多数見出されることがある。HE染色標本の光顕観察では、このような腎に著明あるいは特徴的な所見は殆どなく、あってもPTCに軽度の腫大が時々認められる程度に過ぎない。

この構造に関する記載は1960年以降になって次第に増加し、ラット、ウサギ、マウス等の動物を用いた実験的な薬物性腎傷害の電顕的な研究報告の中に散見される様になったが、数も少なく纏まった研究も殆ど行なわれていなかった。Suzuki & Mostofi はグリセリンによるラットの実験的な急性尿管壊死の電顕的研究において、PTCにこの構造が高率に発現することに注目し、Membranous Conglomerations(MC)の名称でその詳細像を報告するとともに、この構造の発現を細胞傷害物質に対するPTCの反応とみなし、肝細胞における薬物代謝酵素誘導に関連した滑面小胞体の増生と比較して考察した(Suzuki, T. & Mostofi, F.K.: Lab. Invest. 15:1225-47, 1966)。その後に行なわれた種々な薬物や化学物質、例えば、フェナセチン(Thorhorst et al '67), 昇汞(Holgersen等'69), メチル水銀(Fowler '72)やジメチル

ニトロザミン(Hard 等 '84)等の投与によるMC発現についての研究でも同様な内容の考察が行なわれている。

近年、Dees 等('82)によってフェノバルビタールやダイオキシンを投与したウサギの腎のPTCに、蛍光抗体法によってP-450が検出されたことや、Endou('83)によって3,4-benzpyreneを腹腔内投与したウサギのPTCとくにS2分節のマイクロソーム分画のP-450が2倍に増加する事が報告されているが、これらの報告はPTCにおけるMCの発現が肝臓におけるP-450の誘導と同じ意味の変化である可能性を示唆している様に思われる。

しかしながら、一方ではPatrizi & Middelkamp('67)の様に、無処置の雄および雌ラットの腎臓のPTCにMCに一致する構造の発現を記載した報告もあり、事実、演者等も種々な薬物投与実験に際し、時に正常対照例として用いた動物においてMCの発現を経験している。MCがこうした無処置の動物の腎にも少数例ながら時折り見出される事実をどう解釈するかは、腎毒性病理学的な見地から極めて重要な問題となる。本講演では、幾つかの薬物や毒性物質を投与した動物の腎のPTCにおけるMC発現例について、その特徴的な微細構造を紹介すると共に、この構造発現の意義に関して我々が抱いている疑問点や問題点について述べてみたい。

小形 岳三郎 (筑波大・基礎医学系病理)

はじめに

肺は気道並びに血管の両経路を介して、吸気や血液が含まれる種々の毒性物質に暴露される。その毒性の発現部位は気管支より細気管支に至る気道上皮、肺動静脈の血管、及び肺胞道以下の肺胞領域の3つに大別できる。本報告では、薬剤性肺障害において最も多い肺胞領域の病変に焦点を絞る。

肺胞壁は、上皮細胞、内皮細胞、筋線維芽細胞と僅かな結合組織マトリックスより成る極めて薄い組織である。扁平なI型上皮細胞と毛細血管内皮細胞が隣接し、肺胞壁は可能な限りガス交換に適合する構造をとっている。従って、その構築上の特徴から、肺胞壁では経気道性、血行性のいずれの場合でも毒物の影響が全体に波及し易い。また、肺胞壁は毛細血管に富むため、何らかの障害を受けると炎症反応がより強く現われ、水腫、滲出、炎症細胞の遊走が顕著で、その結果としての肺胞壁の2次的な炎症による障害像も加味される。

障害に対する肺胞の修復過程に関しては、分裂能を有するII型上皮細胞と筋線維芽細胞が関与する。この修復過程では、I型上皮細胞の脱落に対して、上皮の予備細胞であるII型上皮細胞が増殖・分化し、急速な上皮の修復を見る。一方、筋線維芽細胞は比較的障害を直接受けにくく、高度の肺胞障害が一旦起こると増殖して肺胞壁の修復にあずかるが、その修復過程は障害の治癒というよりもむしろ、線維化の進展により新たな病態へと発展させるものである。

以上のような主として肺胞の構築上の特徴によって、肺胞領域の障害像は、障害の原因を問わず、比較的共通した病理形態像を来す。このような非特異的急性肺障害像は、病理学的に瀰漫性肺胞障害 (diffuse alveolar damage; DAD) と総称される。このDADは、水腫、滲出、硝子膜形成を特徴とする滲出期と、間質を主体とする線維化が進行する増殖期とに分けられる。強い肺胞障害では、障害後1週以内に滲出期極期が見られ、その後次第に増殖期へと移行する。ここでの硝子膜形成は肺胞上皮障害の有効な証拠となる。その理由として、肺胞上皮細胞の細胞間結合機構は、毛細血管内皮細胞のそれと比して著しく緻密で、上皮細胞障害のない限り、高分子の肺胞内滲出は起こらず、線維素と細胞崩壊物から成る硝子膜は形成されないことが挙げられる。それでは、全ての肺胞障害は上皮障害から始まるのであろうか。DADの原因としては、1)ウイルス感染、2)毒性の強い吸入物、3)経口又は注射投与で肺毒性を来す薬物や毒物、4)ショック、5)放射線照

射、などが挙げられる。よくヒト肺疾患で遭遇する滲出期のDADは、種々の原因で生ずるいわゆる呼吸窮迫症候群 (RDS) の肺病変であり、増殖期のDADは、bleomycin肺線維症と放射線肺炎後の肺線維症の際に見られる。これらの原因の中には、肺胞上皮細胞を標的とする障害もあるが、明らかに内皮細胞を標的とするものもあり、その際生ずる上皮細胞障害はむしろ2次的変化と解釈されている。つまり、肺胞障害には内皮障害を起因とするものも含まれている。

上皮細胞と内皮細胞とどちらが障害の標的細胞であるかを知ることは、或る物質の肺毒性の機序を考える上では不可欠である。障害の標的細胞を明らかにして初めて、その後に生ずる2次的変化の過程が解明される。しかし、一般に、DAD初期の細胞障害は光顕レベルでは判定出来ず、電顕的観察に依らざるを得ないので、肺胞障害を来す物質で未だ標的細胞について未解決のものが多い。肺胞障害の場合、何故内皮障害が上皮障害に進展し易いのか、内皮のみの障害が存在しないのか、内皮が標的細胞である場合と上皮が標的細胞である場合で障害の程度、経過、肺線維化などに差があるかなど、多くの問題が残されている。これらの問題を解決する糸口として、代表的な上皮障害と内皮障害を提示して考察したい。

上皮細胞障害

上皮障害の代表例としてラットのバラコート肺障害の経時的変化について示す。バラコート投与後の最初の電顕的变化は、肺胞上皮細胞の水腫性腫大で、既に投与後8時間には観察される。24時間後には、I型肺胞上皮細胞の肺胞内への剝離脱落が見られるが、その際に内皮細胞には形態学的変化を認めない。投与後3日より肺胞上皮脱落が広範になると同時に、マクロファージを主体とする滲出細胞が肺胞内に経時的に増加し、7日目にその極に達する。一方、バラコート投与後7日目より肺胞内への線維芽細胞の遊走・増殖が始まり、その後肺胞壁から肺胞腔にかけての高度の線維化が進行する。一方、剝離脱落した肺胞表面には投与後5日目より再生上皮が現われ、7日目には立方状の再生上皮が著しく増生し、その後、これらは扁平化してI型上皮細胞へと分化する。II型肺胞上皮細胞由来の再生上皮細胞の移動は、残存する上皮基底膜に沿って起こるので、上皮細胞の基底膜の消失部では上皮の完全な再生はない。

以上の如く、バラコート肺では上皮細胞の変性・壊死・脱

落に続いて、2次的にマクロファージの滲出と線維芽細胞の遊走・増殖が起こる。この際見られる滲出マクロファージは小胞体に富み、活性化しているものと考えられ、フィブロンectinやAMDGFなどの液性因子を介して、線維芽細胞の遊走・増殖に関与しているものと推察される。一方、線維芽細胞の肺胞内遊走は、上皮基底膜の消失部位に一致して観察され、線維芽細胞の遊走には基底膜の崩壊も重要な要素であると考えられる。このような部位では、肺胞と肺胞壁との境界が不明瞭となり、その部への線維芽細胞の遊走と増殖により肺胞の再構築が起こる。しかし、以上の肺胞上皮障害に基づく一連の反応は、非特異的で、その程度はむしろ毒性物質の毒性度とその量に左右されている。

内皮細胞障害

肺胞毛細管内皮障害の代表例としモノクロタリン肺障害の経時的変化を示す。モノクロタリン皮下投与後3日目に典型的に内皮細胞に多数のプレブ形成がみられ、また血管透過性の亢進により内皮下に著しい浮腫が認められる。その後内皮細胞は淡明化し、投与後1週では水腫性に膨化する。投与後3週に内皮細胞の壊死・脱落が起こり、投与後3から5週にかけて、壊死部では血小板の集積・凝集とともにフィブリンが析出して血栓が形成される。これと同時に肺胞上皮障害が出現し、I型上皮細胞の水腫性腫大、壊死、剝離が進行するとともに、その部に一致して硝子膜形成が見られる。かかる上皮細胞の変性壊死部は高度の内皮障害部位に一致してみられる。投与後4週では、肺胞壁の間質性線維化も観察されるようになる。また、この時期にはII型上皮細胞の腫大並びに増生も見られる。この腫大したII型細胞に層状小体の著増が見られるが、これも一種の障害像と考えられる。

以上、モノクロタリン肺障害では、まず内皮細胞障害に基づく高度の間質浮腫が生じ、その後に肺胞壁の間質性線維化が進行する型をとる。モノクロタリン動物実験では、招来する肺高血圧症のため比較的短時間で動物が死亡するため、上皮障害後の肺胞内線維化の過程を観察することは出来ないが、同じく内皮を標的とするbutylated hydroxytoluene (BHT)による肺障害で見られる線維化の場合は、肺胞内線維化が加味されている。

内皮障害の強い部位に一致して上皮障害が現われることも興味深い現象である。内皮細胞障害後に生ずる上皮障害の発

生機序としては、2つの可能性がある。1つは、血中の毒性物質が内皮、上皮の両者に働く可能性である。その際、その毒性が内皮に対してより強く現われるため、内皮細胞障害が先行すると推測される。もう1つは、内皮細胞障害によって肺組織の抗酸化酵素(SOD、catalaseなど)活性の低下を来し、最終的に空気中の活性酸素に対する防禦機構に破綻を来して、活性酸素による上皮障害を2次的に起こすとの考え方である。この2次的反応と考える証拠として、モノクロタリン投与後に抗酸化酵素活性を測定すると、早期よりこれら酵素の活性低下が見られ、更に投与後4週に過酸化脂質の急激な増加に一致して上皮細胞障害が顕著に観察されることがあげられる。

まとめ

肺胞障害では、上皮細胞障害と内皮細胞障害とで多少その病像に差が見られる。上皮障害の場合は、それに対する滲出・増殖反応が急速に進展し、肺胞壁の崩壊も強く、肺胞壁から肺胞腔への線維化が高度である。一方、内皮障害の場合は、滲出・増殖反応の場の主体が間質にあり、最終的には間質性線維化の像をとる。しかし、一旦上皮障害が生ずれば、1次的上皮障害の場合と同様な経過に発展すると考えられる。

また、上皮障害の場合は、酸素中毒やバラコート中毒の如く、活性酸素による細胞障害が強く、急性の経過をとる。一方、内皮障害の場合は、DAD発症までの潜伏期があり、これは2次的な上皮障害の発現までに期間があることを意味している。

1. はじめに—心筋病変を起こす化合物とくに医薬品と天然物質

心筋に形態学的な病変を起こす毒物は心筋を標的とする研究が少ないこともあってそれほど多くはない。また心筋のみに作用する薬品はさらに少ない。文献上心毒性に関しては1年に約100件ほどあるが、最も多く(約1/3)、かつ詳細に報告されているのは、doxorubicin(Adriamycin)を主とするAnthracyclin系の抗生物質、抗腫瘍剤である(表1)。

表1 心障害を起こす物質

A. Adriamycinと関連物質 (anthracycline化合物)
Adriamycin(doxorubicin), aclacinomycin, aclarubicin, ajmaline, anthrapyrazole, daunomycin, daunorubicin, 4-methoxydaunorubicin, 4'-deoxydoxorubicin, 4'-epidoxorubicin, epirubicin, idarubicin
B. 医薬品 (抗癌剤、局所麻酔剤、抗腫瘍剤など)
bisantrone, bupivacaine, catecholamine, chloroquine, cyclophosphamide, digitalis, digoxin, domperidone, 5-fluorouracil, isoprenaline, lidocaine, mitomycin C, quinine, thioridazine, ouabain, vincristine
C. その他 (天然化合物など)
antimony, cadmium, calcium, chaetochromin, trichothecenes (deoxy-nivalenol, T-2 toxin), phospholipase A2, xanthoascidin

今回はAdriamycinによる心筋病変と、私どもが行った2種のマイコトキシン(真菌による二次的産生物、カビ毒)による実験の結果を提示する。

2. Adriamycinによる心筋障害

Adriamycinによる心筋障害はすでに1970年代から多数報告され、ウサギ、ハムスター、ラットを用いた実験によって病理発生も研究されている。ここでは、培養心筋細胞の超微変化を東京都老人医療センター 井出宏先生のご好意により、供覧する(図1)。

3. マイコトキシンによる心筋障害

これもかなり稀で、ここに示す Chaetochromin A と Xanthoascidin の他には T-2 toxin と deoxynivalenol の報告がある。

1) Xanthoascidin

このトキシンは *Aspergillus candidus* によって産生される。このかびを寄生させた米をマウスに与えると、高濃度(30-50%)の時は比較的短時間のうちに肝障害を、低濃度(10%)の時は亜急性経過の後に心筋変性を起こす。

単離精製したトキシンの皮下注射によるマウスのLD50値は約20mg/kgである。しかし初期(1週以内)の肝障害による死亡と、後期(3-4週後)の心不全による死亡の2群があり、個体差もかなり大きく、実験により死亡率の変動も大きかった。

光顕、及び電顕による心筋の変化は1週後には明らかとなる(図2)。電顕ではすでに3日目にミトコンドリアの変化が認められた。

2) Chaetochromin A

このカビ毒は *Chaetomium gracile* などの *Chaetomium* 属のカビによって産生される。*Chaetomium* 属は多種の真菌を含み、その各々がしばしば多種類のマイコトキシンを産生する。Chaetochromin A は経口あるいは皮下注射によっても、かび米の摂取によっても、肝障害と造血障害を起こす。同時に心筋に対しても変性、壊死を生ずる。やはり遅効性であり、2週以後の斃死例は心不全によると考えられる。電顕では4日目以降、光顕では1週以降に病変として認められる(図3)。3週では巣状の壊死心筋の石灰化に続く異肉肉芽腫として残り、次第に消失する(図4)。

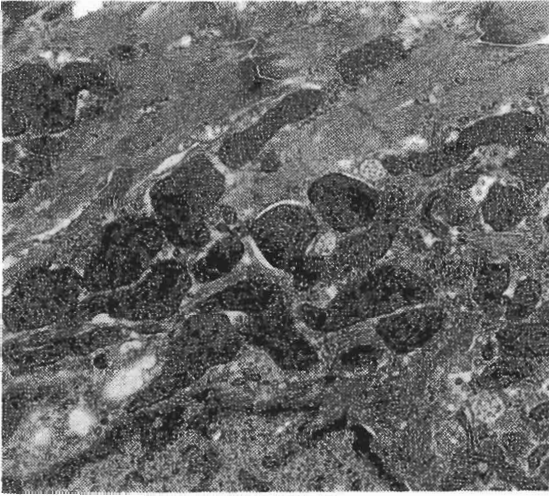


図1。ラット心筋細胞培養に $0.3\mu\text{g/ml}$ の Adriamycin を加え、48時間後固定。細胞の収縮性はほとんど失われ、一部は変性、壊死に陥っている。この細胞ではミトコンドリアの腫大、濃縮、部分的に筋原線維の横紋消失、streamingを認める。

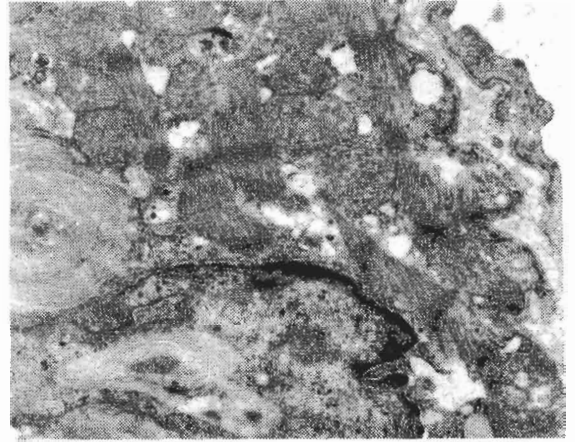


図2。マウスに 20mg/kg の xanthoascins を皮下投与し、7日目に屠殺。細胞質内、核内に多数のミエリン体を見る。これは心筋に限らず、肺、腎などにも見られた。変性の割に横紋の保存がよい。

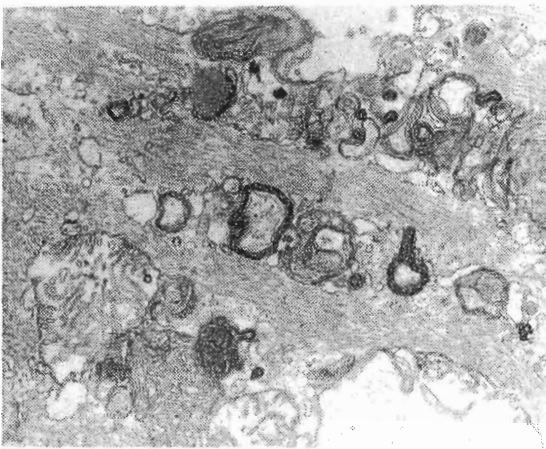


図3。 140mg/kg の Chaetochromin A を皮下注射したマウスの投与後7日目の心筋電顕像。筋原線維の萎縮、離間と横紋の消失があり、ミトコンドリアは腫大、あるいはミエリン体を形成している。



図4。同様の処置後21日目屠殺。実験群の心（左）は拡張し、肉芽腫が散在する。右は対照。

第 1 日

一般演題

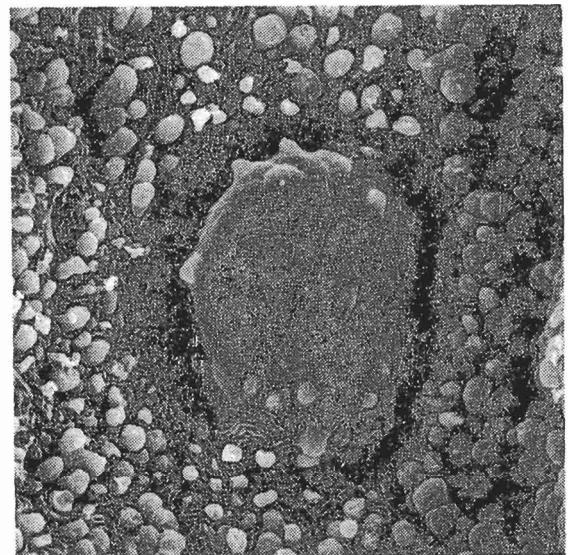
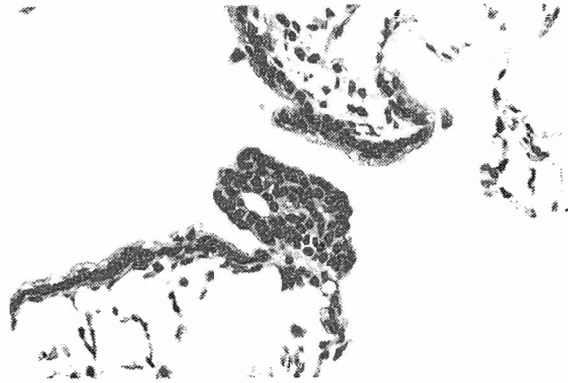
○小川毅彦、伊藤隆明、永露博昭*、北村 均、蟹沢成好（横浜市立大・医・第一病、*資生堂研究所）

肺における神経内分泌細胞は気管支及び細気管支上皮内に単一に存在する一方、神経上皮小体（Neuro-epithelial Bodies, NEB）と呼ばれる集合体を作っている。NEBは主として細気管支分岐部に存在し、数個ないし10数個の構成細胞から成る。NEBの肺における役割は未だ不明であるが、形態学的に他のいくつかの感受容体に類似していること、末梢神経線維がNEB内に入りこんでいること、及びその解剖学的な配置等の理由から、末梢気道における感受容体及び内分泌小器官としての機能が推論されている。また一方で、カルチノイド、肺小細胞癌等の肺内分秘腫瘍の母細胞である可能性が論じられている。NEBの肺内における存在は極めて疎らであり、加齢と共にその数が減少するとの報告がある。一般には胎児、新生児の肺を用いた観察が多く行われており、高齢動物におけるNEBの検索成績は少ない。我々は、先に別の実験において、無処置50週齢SDラットの細気管支上皮内に、剖面で30~50個の構成細胞から成る大型のNEBが同一個体に複数存在するのを認めている。このことは肺内分秘腫瘍発生実験等を評価する上でも重要な知見と考えられるので、今回我々は、NEBが比較的豊富に存在すると言われているハムスター（50週齢、雄、19匹）の肺を用いて、大型NEBの存在の有無を探ることを主目的に光顕並びに電顕的に観察を行った成績につき報告する。

検索方法： 肺は左葉をTEMならびにSEM用の観察に供するため、経気管支的に2.5%グルタルアルデヒドの注入固定と四酸化オスミウムによる後固定を行い、型どうり試料作成した。右葉並びに心臓葉は光顕用に10%中性ホルマリンで固定し、各葉の最大剖面が出るように2分割して、パラフィン包埋した。各ブロックを4μm厚で100枚連続切片を作り、4枚ごとにH.E.染色して観察した。必要に応じて、カルシトニン、CGRPの免疫組織化学染色を行った。

検索結果： 今回の検索では、光顕切片剖面において30個以上の構成細胞から成るNEBを大型NEB (large NEB, LNEB)として数えた。19匹中14匹にLNEBを認め、1匹当りの平均LNEB数は 2.26 ± 1.77 個、最大のもは、剖面で75個の細胞から構成されていた。またTEMによる観察

からLNEB内にも末梢神経線維が進入分布している所見が認められた。その他のTEM, SEMによる観察結果もNEBに関する過去の報告と一致するものであり、LNEBに特有の構造は認めなかった。これらの観察結果は、おそらくLNEBがNEB同様の生理的機能（詳細は不明であるが）を果たしていることを示唆するものと考えられた。しかしながら、今回観察されたLNEBの形成については幼若動物では観察の報告がないことより考えて、加齢に伴う生理的増生の可能性の他、何等かの内的・外的環境刺激により生じた過形成集の可能性が考慮されるが現状では不明であり、今後の検討が必要である。



○廣内康彦, 井上博之, 岩田 聖, 小池嘉秀, 小林和雄, 榎本 眞 [(財)安評センター]

膵管上皮細胞や腺房細胞および膵島細胞は相互に移行する潜在能をもつと考えられている(Laguesse, 1896)。膵管上皮由来の島細胞を造る細胞nesidioblastの増生は、膵島芽細胞症nesidioblastosisと呼ばれる(Laidlaw, 1938, 加地利雄ら, 1984)。

われわれは共通の毒性試験に供したビーグル犬の雄に実質の単なる萎縮や炎症性変化とは異なり、膵の広範囲にnesidioblastosis様の一見、反応的な病変を伴う興味深い2症例(A, B)を観察した。その1例(A)は対照例であることから自然発生病変と考えられる。その組織学的検討結果と、成因に関する考察について報告する。

症例:

動物は実験用として米国より輸入されたビーグルで生後4~5ヶ月齢で購入、16日間の検収後に通常の飼育環境下において毒性試験に供し、1ヶ月後のほぼ6ヶ月齢に計画屠殺した。

臨床観察所見ではA, B例も含みほとんど全例(28)に数回の嘔吐が見られた。またB例だけに流涎が観察された。体重は両例ともそれぞれの群平均を下回ったが体重増加量は平均値を超え、飼料摂取量, 飼料効率, 飲水量にも異常はなかった。

血液学検査の結果は正常であった。血液の生化学検査も特に異常はないが、血糖値はA, 80(群平均値 84 ± 7 mg/dl), B, 76(群平均値 86 ± 9 mg/dl)であった。その他A, B例に共通して増加を示した検査成績として、LDH, Ca, CPKとアルブミンの $\alpha-1$ 分画があげられる。尿の生化学検査では異常を示さなかった。

組織標本:

膵組織は常法に従い10%ホルマリン液で固定後採取された。パラフィン包埋後、薄切し、HE染色を施した。その他粘液液染色, PAS染色, Fe染色, 銀染色, ABC及びPAP法による免疫染色;即ちinsulin, glucagon, somatostatin, PP, GRP, gaslorin, ACTH, calcitonin, VIP, S100 P, keratin, cytokeratin染色などを行い、顕微鏡観察した。肉眼及び組織学的所見と考察:

この年齢のビーグルの膵重量は14g前後であるが、Aは11.1g、Bは8.4gで、全体に小さく、軽い硬化を示し

た。組織像の特徴は、1.膵の全体的な小葉構造は維持されるが、本来の外分泌腺は細葉状に散見される。2.他の部位には腺房中心細胞, 介在細胞, 小葉内小腺管細胞の不規則な増生と境界不鮮明に増殖する島細胞群が認められる。3.またチモーゲン顆粒の減少や核崩壊を伴う腺房細胞が介在し、腺房中心細胞との移行を示した。後者には空胞化もみられた。4.介在細胞は核も大きく、核分裂を示すものもある。cytokeratin(+). 5.小葉間膵管は高円柱上皮で形成される。PAS(-), mucin(-)。6.小葉内小腺管は腔が狭く、拡張は認められない。7.炎症細胞の出現、線維形成はほとんどない。8.島細胞群はPAP法でinsulin(+)細胞は70%、glucagon(+)細胞は15%、somatostatin(+)細胞は15%程度の割合を示した。ACTHとgaslorinはいずれも(-)であった。なお膵以外には両例共に異常所見は観察されなかった。

本例は犬の膵の一部や腸管膜移行部などにみられるnesidioblastosis(Ilawkinsら, 1987)と異なり、広汎にわたる病像を示し、しかも若年齢齢に発生した点が注目される。膵外分泌細胞のapoptosis様変化を伴い、島細胞をはじめ腺房中心細胞, 介在細胞, 小腺管の発生が誘導された変化でnesidioblastosisの像に相当する。

成因として膵管閉塞や循環障害, 炎症, 代謝障害, 発生不全などがあげられるが、血管病変や炎症像, 代謝の異常を裏付ける所見に乏しい。膵管閉塞と関連し島細胞などの発育異常を示したものと考えられ、遺伝因子の関与も推察される。

まとめ:

若年齢のビーグル雄2例に膵萎縮を伴って広汎なnesidioblastosis様病変が発生した。島細胞はinsulin, somatostatin, glucagonの陽性細胞(PAP法)よりなる。成因としては発育異常性のもので、小葉内腺管の狭窄が発生機転に関与していることが示唆された。

研究協力者: 橋口淳一, 岡村孝之, 黒野安彦, 萩原孝, 鈴木康彦, 加藤睦美, 織部早苗。

加齢によるハムスター膵ラ氏島の 各種内分泌細胞の変化

○ 古川文夫・高橋道人・豊田和弘・今井田克己・岡宮英明・篠田和俊・林 裕造（国立衛試・病理）

ハムスター膵のランゲルハンス氏島（ラ氏島）には glucagon を分泌する A 細胞、insulin を分泌する B 細胞、somatostatin を分泌する D 細胞があるが、その他に pancreatic polypeptide 細胞が膵頭部および十二指腸葉に存在することを免疫組織化学的に証明し、一昨年の本学会において報告した。

今回はハムスターのラ氏島に関する基礎的データをを得ることを目的として、加齢に伴うラ氏島内の glucagon、insulin、somatostatin 分泌細胞の占有比率を画像解析装置にて計測し検討を行った。

実験材料および方法

9 週齢、雌シリアンゴールドハムスター 30 匹を用い、屠殺までの間、基礎固型飼料および水道水にて通常飼育した。ハムスターは 9～29 週齢まで 4 週毎に体重測定した後、各 5 匹をエーテル麻酔下に屠殺・解剖し、直ちに膵を摘出して、10% 中性緩衝ホルマリン液にて 48 時間固定した。その後、胃葉・脾葉・十二指腸葉・頭部の 4 葉に分けて切り出し、アルコール系列にて脱水後パラフィン包埋し、3 μ m にて連続切片を作製、H E 染色並びに免疫組織化学的染色を施して検索を行った。

glucagon、insulin、somatostatin の免疫組織化学的染色は ABC 法にて行い、それぞれの陽性細胞のラ氏島内における分布を検索するとともに、その面積比率を算出した。面積比率の計測は免疫染色した標本を脾葉と胃葉に分けて各葉 20 個（合計 40 個）のラ氏島について行い、縦 250 μ m、横 290 μ m 以下のラ氏島の総面積（T）と各内分泌陽性細胞面積（P）を画像解析装置（TAS plus）で計測し、T/P を算出した。

実験結果

ハムスター膵のラ氏島では、一般的に glucagon 陽性細胞はラ氏島の周辺部に三日月形でやや背の低い細胞が環状に 1～3 層の細胞層として存在するが、約 17 週齢以降からその glucagon の層は部分的に消失したり、また一部が多層化する傾向が認められた。insulin 陽性細胞は楕円形で、ラ氏島の中心部に円形および楕円形の集簇をなすが、約 21 週齢以降では、その集簇は不規則な形を示し

た。somatostatin 陽性細胞はやや小型で扁平であり、三角形から三日月形の背の低い細胞であった。ラ氏島内では insulin 陽性細胞群の周囲を取り囲むように存在していたが、9～13 週齢ではラ氏島周縁やや内側に馬蹄形に配列し、21～29 週齢ではラ氏島周縁を環状に取り囲むように認められた。

ラ氏島内の各内分泌陽性細胞面積の比率は胃葉と脾葉を合わせると、glucagon 陽性細胞では 9 週齢において $9.7 \pm 8.0\%$ であるのに対し、21 週齢では $14.9 \pm 9.6\%$ 、25 週齢では $18.8 \pm 10.4\%$ 、29 週齢では $16.9 \pm 11.9\%$ といずれも有意に増加した ($p < 0.01$)。insulin 陽性細胞においては 9 週齢で $36.5 \pm 11.5\%$ であるのに対し、13、17、21、25、29 週齢では有意な増加を示した ($p < 0.01$)。また somatostatin 陽性細胞においては 9 週齢で $5.1 \pm 3.9\%$ 、13 週齢から 19 週齢までは増加傾向を示し、25 週齢では $6.5 \pm 4.1\%$ と有意に増加 ($p < 0.01$)、29 週齢では $3.8 \pm 2.9\%$ と有意に低下した ($p < 0.01$)。

考察

膵ラ氏島の内分泌細胞の分布は動物種により異なり、大きく、ウマ・サル等にみられるタイプと、ヒト・ウサギ・ラット等にみられるタイプの二つに分けられる。今回の検索においてはハムスターのラ氏島の A 細胞は辺縁部に環状に認められ、B 細胞は中心部に、また、A、B 細胞の間に D 細胞が位置していた。これはヒト・ウサギ・ラット等にみられるタイプに属する。成熟ハムスターのラ氏島の内分泌細胞 A : B : D の比率は 20 : 70 : 10 の割合であったが、これは Orci によって報告されたヒト成人における A : B : D の比率 (30 : 60 : 10) とよく類似していた。

今回の実験において加齢によりラ氏島内の glucagon 陽性細胞および insulin 陽性細胞の面積比率は有意な増加を示し、その増加程度は glucagon の方が大きかった。その他 somatostatin 陽性細胞の面積比率においても増加傾向が認められた。これらの所見は加齢とともに膵のラ氏島における insulin 分泌の割合が抑制傾向にあることを示唆するものと思われる。

○北澤俊治, 水元一博, 堤 雅弘, 高島吉治, 白岩和巳, 小西陽一 (奈良医大・がんせ・腫病)

ハムスターにおけるethionine 投与による膵炎後や、ラットにおける銅欠乏食投与による膵萎縮後に銅を補充して誘発される膵再生などに伴い、膵に多数の肝細胞が出現してくることが報告されている。また、その後の検索で、この膵臓肝細胞は、肝臓の正常肝細胞と形態的・機能的に同一の細胞であることが示されている。今回我々は、ethionine 投与後のハムスター膵における肝細胞の出現が、発癌物質によって抑制されることを見出し、また、出現した膵臓肝細胞と肝の正常肝細胞との同一性について病理組織学的に検討したので報告する。

実験プロトコルをFigure 1. に示している。実験は、6週齢、体重約100gの雌性Syrian golden hamsterを用いた。Group 1 は、実験第1日目に生理食塩水を皮下投与し、その後10日間基礎食にて飼育した後、無蛋白食に変更し、4日間DL-ethionine 500mg/kg を腹腔内投与して5日目に基礎食に戻すとともにL-methionine 800mg/kg を腹腔内投与する処置を2週間毎に2回行った群とした。Group 2 は、Group 1 の2回のDL-ethionine, L-methionineによる処置の後N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP)を各々20mg/kgづつ皮下投与した群、Group 3, 4と5 は、実験第1日目にBOP を各々30mg/kg, 70mg/kg, 100mg/kg皮下投与し、それ以後はGroup 2 と同じ処置を行った群、Group 6 は、BOP のみを総量110mg/kg皮下投与した群とした。実験開始後70日目に動物を屠殺し、組織学的検索を行った。実験結果をTable 1. に示している。膵臓肝細胞の出現頻度は、Group 1 が100% (11/11), Group 2が40%(4/10), Group 3が40%(4/10), Group 4が25% (5/20), Group 5が8.3%(1/12),

Group 6 が10%(2/20) であった。Group 1 において100%にみられた膵臓肝細胞は、BOP の投与量を増すにつれてその出現頻度が減少した。膵臓肝細胞の特殊および免疫組織化学染色では、PAS 染色陽性 (diastase消化にて陰性化)、insulin染色陰性、 γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) 染色陰性で、ハムスターの肝の正常肝細胞と一致する染色所見であり、両者の同一性が示唆された。また、胆色素染色にて膵臓肝細胞集団の中に、毛細胆管様に胆色素の染色像が散見され、膵臓肝細胞において胆色素が生成されていることが判明した。

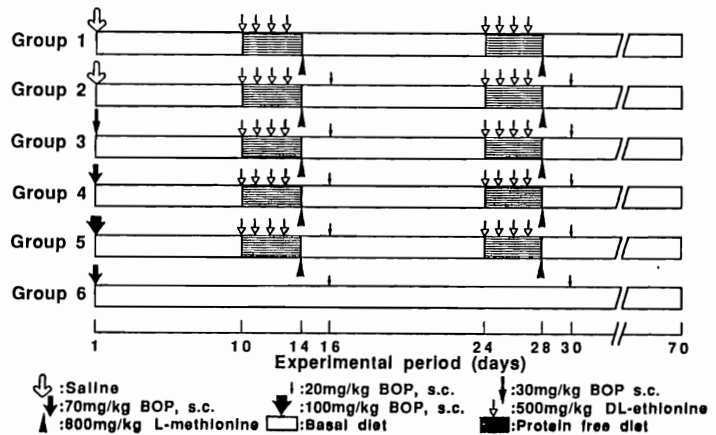


Figure 1. Experimental protocol for the production of pancreatic hepatocytes in hamsters treated with BOP, Ethionine, Methionine and Protein-free diet

Table 1. Incidence of Pancreatic Hepatocytes, Pancreatic Adenocarcinoma and Cholangial tumor in Hamsters Treated with BOP, Ethionine, Methionine and Protein-free Diet

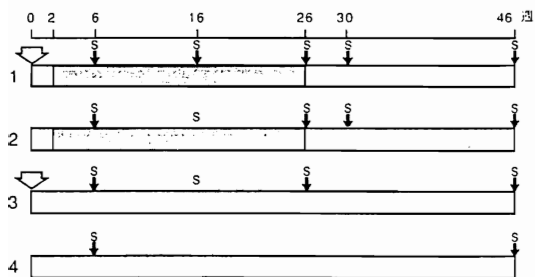
Group No.	No. of hamsters	B.W. (g±SD)		Incidence of pancreatic hepatocyte (%)	Incidence of tumor (%)	
		Initial	Final		pancreatic adenocarcinoma	cholangial tumor
1	11	98±6	164±19	11(100)	0 (0)	0 (0)
2	10	98±7	157±14	4(40.0)	0 (0)	0 (0)
3	10	98±8	167±16	4(40.0)	0 (0)	0 (0)
4	20	98±6	159±15	5(25.0)	2(10.0)	4(20.0)
5	12	98±7	139±10	1 (8.3)	1 (8.3)	8(66.7)
6	20	98±9	171±15	2(10.0)	0 (0)	0 (0)

○小川久美子、立松正衛、伊藤初美、長谷川良平、伊東信行（名市大・医・一病）

前胃発癌過程に出現する可逆性及び不可逆性粘膜病変の細胞動態は詳細には解明されていない。そこで我々は genotoxic な N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) と non-genotoxic な butylated hydroxyanisol (BHA) による前胃上皮増殖性病変の画像解析による定量的変化を基として、bromodeoxyuridine (BrdU) 連続標識による病変の細胞動態を検索し、合わせて細胞骨格変化をケラチンの免疫組織化学より検討した。

〔実験方法〕

6週令のF344系雄ラット192匹を以下の4群に分けた。第1群には160mg/kg bwのMNNG1回胃内投与後2週より26週まで、2% BHA含有飼料を与え、第2群にはBHAのみ1群と同様に与え、第3群にはMNNGのみ1群と同様に投与し、第4群は無処置群とした。各群原則として6, 16, 26, 30及び46週でBrdUの腹腔内投与による瞬間標識及び、ミニ浸透圧ポンプによる1, 3, 7日間連続標識後、屠殺し前胃のパラフィン切片を作成した。病変の定量的検索には、イメージアナライザーを用いて、単位粘膜あたりの軽度及び高度扁平上皮過形成、基底細胞過形成、乳頭腫、扁平上皮癌の面積を計測した。細胞増殖の解析には抗BrdU抗体を用い、細胞骨格の変化はケラチンを指標としてポリクローナル抗体(全ケラチン)及びモノクローナル抗体(KL-1, PKK-1)による免疫組織化学的検索もあわせて行った。



動物：F344 ラット 6週令 雄 計192匹

◁：MNNG 160mg/kg bw i.g.

↓：BrdU (瞬間標識 連続標識(ミニポンプ) 1, 3, 7日間)

□：2% BHA 混餌投与

S：屠殺

実験デザイン

〔結果〕

MNNG→BHA群ではBHA投与中止後、高度扁平上皮過形成は著明な減少を示し基底細胞過形成も減少傾向を示したが、16週より出現した乳頭腫及び扁平上皮癌はBHA投与中止後も増加傾向がみられた。BHA単独投与群では高度扁平上皮過形成はBHA投与中止後4週間で消失し、基底細胞過形成も投与中止後減少を示したが、乳頭腫、扁平上皮癌は認められなかった。MNNG単独投与群では軽度扁平上皮過形成と乳頭腫がわずかにみられ46週で扁平上皮癌が1例認められた。BrdU標識率は、扁平上皮過形成では3日間で70-100%であるのに対して、基底細胞過形成では7日間でも15%以下であり、この標識率は群及び実験期間による差異は認められなかった。またMNNG→BHA群では周囲に比して標識率の極めて高い部位が散見され、そうした高標識巣はMNNG単独投与群にもわずかに認められた。一方、ケラチンによる免疫組織染色では過形成部位を含め基底細胞から扁平上皮細胞の全層が全ケラチン抗体により染色され、モノクローナル抗体のうち抗56KDケラチンのKL-1では基底細胞を除く扁平上皮細胞が染色され、抗40, 45, 52, 5KDケラチンのPKK-1では扁平上皮のうち、より角化傾向の強い上層の細胞が染色された。

〔結論〕

乳頭腫、扁平上皮癌は不可逆性病変であったが、扁平上皮過形成及び基底細胞過形成は、MNNG→BHA群、BHA単独投与群においてBHA投与中止後、ともに可逆性変化を示した。可逆性病変を構成する細胞の寿命は、BrdU連続標識率より扁平上皮過形成は3～6日で基底細胞過形成は50日以上と推定され、細胞動態は明らかに異なっており、その差が可逆化の速度を規定していることが示された。ケラチンの免疫組織染色パターンからも、この2つは細胞骨格の異なる細胞集団から形成されている事が明らかになった。

genotoxic および non genotoxic な発癌物質によるラット前胃の増殖性病変における可逆性について

○山本 敦, 広瀬雅雄, 香川雅孝, 増田あつ子, 白井智之, 伊東信行 (名市大・医・一病)

non-genotoxic な発癌物質であるBHA を、ラットやハムスターに投与すると早期から前胃に強い過形成が発生するが、これは投与中止により衰退してゆく可逆性の変化であることが明らかにされている。しかしさらに長期にわたって投与を続けると癌が発生する。一方genotoxic な発癌物質であるMNNGでは、1回の胃内投与だけで前胃に過形成や癌が発生し、従ってこの過形成は非可逆性と考えられており、non-genotoxic とgenotoxic の間には全く異なった発癌機構の存在することが推測される。今回、他のnon-genotoxic および、genotoxic な前胃発癌物質を投与して可逆性、非可逆性の普遍性について病理組織学的に検討を行った。

〔実験方法〕

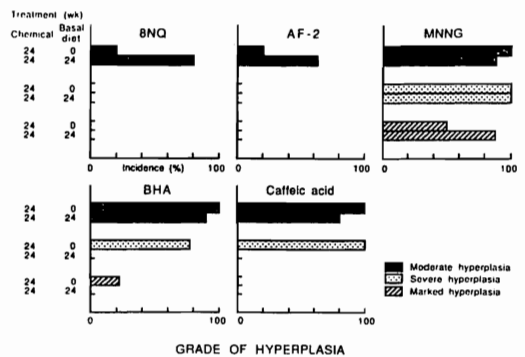
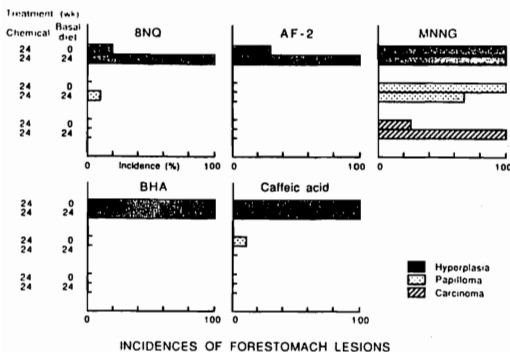
各群10~11匹の6週令F344雄ラットに、genotoxicな前胃発癌物質として0.1% 8-nitroquinoline (8NQ), 0.2% AF-2の混餌投与あるいはMNNG (20 mg/kg bw)の週1回胃内投与、またnon-genotoxic な前胃発癌物質として2% BHAあるいは2% caffeic acid の混餌投与を行い直ちに屠殺した群、および24週投与後基礎食のみでさらに24週間飼育し屠殺した群(回復群)を設け、対照群には24および48週基礎食のみを与えた。屠殺1時間前に前胃上皮の細胞増殖態度を知る目的で、25mgのBrdUを腹腔内に投与し、前胃を中心に病理組織学的検討し前胃の病変はhyperplasia, papilloma (PAP) およびsquamous cell carcinoma (SCC) に分類し、hyperplasia をさらにその程度によりmoderate (Moll), severe (Sell), marked (MklI) に3段階の分類した。

〔結果〕

前胃病変の発生率は(左図)、genotoxic な8NQとAF-2では24週投与群に比べ回復群で hyperplasiaが増加し、MNNGでは回復群で明らかに SCCが増加した。それに対し non-genotoxic なBHA とcaffeic acidでは、両群ともに全例にhyperplasia が認められたが、その程度は右図に示した様に回復群では24週投与群に比べて極く軽度で、Mollや Sellは1例も見られなかった。細胞標識率は対照群に比べていずれの物質においても上方へ向かうhyperplasiaでは著明に増加し、一方下方へ向かうbasal cell hyperplasia では、対照よりもかえって低下しているのが確認された。

〔結論〕

genotoxic な発癌物質によるラット前胃のhyperplasia は非可逆性であったが、BHA や caffeic acidなどnon-genotoxic な発癌物質による前胃病変は投与中止により消退する可逆性の変化であり、従ってnon-genotoxic な発癌物質による前胃発癌には長期にわたる持続的な増殖刺激が必要であることが明らかとなった。また、genotoxic あるいはnon-genotoxic な発癌物質により発生した下方へ向かうbasal cell perplasiaにおける標識率は、発癌物質投与中、あるいは投与中止後も対照以下であり、上方へ向かうhyperplasia に比較して、極めて増殖刺激に対する反応性に乏しい病変であることが明らかとなった。



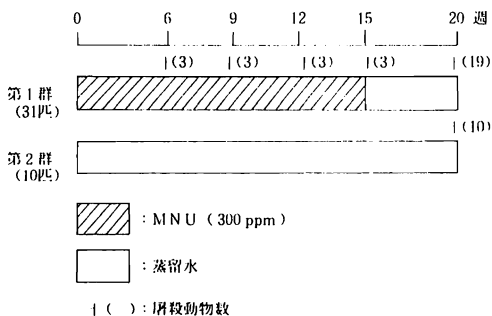
<はじめに>

MNUは直接作用型発癌剤の1つであり、ラットなどの中枢神経、腸管、腎、胃、皮膚等に腫瘍誘発することが報告されている。また、MNUは投与方法や種差・系統差に依り、腫瘍発生臓器が異なることが知られている。今回、我々はMNUをハムスターに経口投与し、短期間に誘発された胃・十二指腸の上皮性及び非上皮性腫瘍及び前癌性病変を、経時的観察を含めて病理組織学的検索を行ったので報告する。

<材料と方法>

総数41匹の6週齢雄シリアン・ゴールデン・ハムスターを用いた。実験プロトコルを図に示す。第1群(31匹)には、300 ppm MNU(半井化学, 京都)を15週間飲用水として自由摂取させ、さらに5週間蒸留水で維持した。実験開始後6, 9, 12, 15週に3匹ずつ、また、残りの動物(19匹)は、実験終了時(20週)に屠殺・剖検した。また、第2群(10匹)は無処置対照群とし、実験終了時に屠殺・剖検した。各群とも、剖検時には、胃幽門部を中心に、前胃から十二指腸を、肉眼的に注意深く観察し、腫瘍性変化の疑われる部位はすべて切り出し、10%ホルマリンで固定後、通常の方法で包埋、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理組織学的に検討した。

図 実験プロトコル



<結果>

1) 経時的变化

前胃では、6週で扁平上皮の過形成性変化が見られた(1/3)。9週(2/3)、12週(3/3)では、この変化がより著明となったが腫瘍発生は見られなかった。15週では乳頭腫(3/3)及び扁平上皮癌(1/3)が認められた。

腺胃では、12週で未熟間葉系細胞の小増殖巣が平滑筋層内に認められ(1/3)、15週でその頻度が増加した(2/3)。また、腺癌は15週で屠殺した動物に認められた(2/3)。

十二指腸では、12週で未熟間葉系細胞の小増殖巣が見られ(1/3)、15週でその頻度が増加した(2/3)。腺癌は15週で屠殺した動物に認められた(2/3)。

2) 実験終了時の変化

腫瘍性及び前癌性変化は第1群の動物にのみ認められた。

前胃では、19匹中全例に乳頭腫が認められ(19/19,100%)、内12匹には扁平上皮癌を伴っていた(12/19,63%)。

腺胃では、19匹中13匹に未熟間葉系細胞の小増殖巣が見られ(13/19,68%)、また、7匹に間葉系肉腫を認めた(7/19,37%)。腺癌は3匹に認められた(3/19,16%)。

十二指腸では、19匹中10匹に未熟間葉系細胞の小増殖巣が見られ(10/19,53%)、1匹に間葉系肉腫を認めた(1/19,5%)。また、3匹に異型性増殖性腸炎が見られ(3/19,16%)、11匹に腺癌が認められた(11/19,58%)。

尚、第2群の動物には病理組織学的に変化は認められなかった。

<考察及び結語>

今回の研究では、MNUの経口投与により比較的短期間に前胃の扁平上皮癌とともに、高頻度の腺胃の間葉系肉腫の発生を認めた。加えて、経時的観察により上皮性及び非上皮性の前癌性病変が発生することが認められた。

今回の実験モデルはハムスターを用いた上部消化管の上皮性腫瘍及び非上皮性腫瘍の組織発生の研究に有用であるものと考えられた。

○山口 修司、長谷川 良平、津田 洋幸、宇和川 賢、福島 昭治、伊東 信行 (名市大・医・一病)

〈はじめに〉多数の臓器を標的とする3種の発癌物質によるイニシエーション処置後、被検物質を投与し、各種臓器に対する発癌性の有無を判定する新しい中期検査法の開発を目的に、既知の発癌物質を被検物質として与え、全身諸臓器の腫瘍性病変の発生を病理組織学的に検討し、その有用性を追求した。

〈実験方法〉動物は、6週齢のF344系雄性ラット179匹を用い、処置群には肝発癌物質のdiethylnitrosamine (DEN, 100 mg/kg, bw) を1回腹腔内投与、2日後に、食道、前胃、甲状腺等に発癌性を有するN-methyl-N-nitrosourea (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、腎等を発癌標的とする2,2'-dihydroxy di-n-propyl-nitrosamine (DHPN, 0.1%) を飲料水にて2週間投与した。その後、被検物質として、1群:2-acetylaminofluorene (AAF, 0.01%, 混餌)、2群:3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene (3'-Me-DAB, 0.06%, 混餌)、3群:benzo(a)pyrene (B(a)P, 0.02%, 混餌)、4群:N-butyl N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN, 0.1%, 飲水)、5群:3-methylcholanthrene (3-MC, 0.02%, 混餌)、6群:N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.005%, 飲水)、7群:7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA, 0.01%, 混餌)、8群:catechol (CC, 0.8%, 混餌)をそれぞれ各群15-16匹に16週間投与した。また対照群としてイ

ニシエーションのみの群(9群 15匹)および被検物質のみの群(10-17群 各5匹)を設けた。生存動物は実験20週経過後屠殺し、全身諸臓器の腫瘍性病変を病理組織学的に検索した。

〈実験結果〉各投与群において認められた腫瘍性病変の頻度をTableに示す。4群では膀胱のPN過形成・乳頭腫・移行上皮癌、6群で食道の上皮過形成、7群で前胃の上皮過形成、8群で前胃の上皮過形成・乳頭腫および腺胃の粘膜上皮の粘膜下への増生の頻度がそれぞれ対照の9群に対し有意な増加を示した。また肺胞上皮過形成の単位面積当たりの個数が3、5、6群において9群に対し有意に増加した。肝臓では胎盤型glutathione S-transferase (GST-P)陽性細胞巢を指標とした定量的解析を行った。単位面積当たりのGST-P陽性細胞巢面積は、1、2、5および8群で対照の9群に対し有意に上昇した。その他鼻腔・甲状腺・副腎・腎臓・膀胱・小腸・大腸に腫瘍性病変を認めたがいずれも対照群との間に有意差はみられなかった。

〈結論〉多臓器にイニシエーション処置を行う本検査法において各被検物質の標的臓器における腫瘍性病変発生が増幅がみられ、20週の比較的短期間に異なった臓器に対する発癌性の有無判定を可能にしうることが示唆された。

Table Incidence of lesions in rats treated with DEN, MNU and DHPN followed by test compounds

GROUP	1	2	3	4	5	6	7	8	9
TEST COMPOUNDS	AAF	3'-Me-DAB	B(a)P	BBN	3-MC	MNNG	DMBA	CC	BASAL DIET
No. of ANIMAL	16	16	16	16	15	15	15	15	15
ESOPHAGUS									
Hyperplasia	0	0	0	0	1(7)	5(33)*	0	0	0
FORESTOMACH									
Hyperplasia	0	1(6)	0	0	1(7)	2(13)	4(27)*	13(87)***	1(7)
Papilloma	0	0	0	1(6)	1(7)	0	3(20)	5(33)*	0
Carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	1(7)	0
GLANDULAR STOMACH									
Submucosal growth	0	0	0	0	0	0	0	9(60)***	0
Atypical hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	2(13)	0
LUNG									
Hyperplasia	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)
Adenoma	6(38)	2(13)	2(13)	2(13)	7(47)	3(20)	2(13)	2(13)	2(13)
URINARY BLADDER									
PN hyperplasia	2(13)	0	0	16(100)***	0	1(7)	0	0	0
Papilloma	0	0	0	15(94)***	0	0	0	0	0
TCC	0	0	0	10(65)***	0	0	0	0	0
LUNG									
No. of Hyperplasia (No./cm ²)	8.8 ± 3.6	8.4 ± 2.5	12.6*** ± 3.8	8.8 ± 2.6	11.9* ± 4.0	10.1** ± 1.9	9.7 ± 3.6	8.1 ± 2.5	8.2 ± 1.9
LIVER									
GST-P ⁺ AREA (mm ² /cm ²)	85.42*** ± 8.49	84.87*** ± 11.00	0.03 ± 0.03	0.40 ± 1.07	0.18*** ± 0.10	0.03 ± 0.03	0.12* ± 0.10	0.02 ± 0.03	0.05 ± 0.05

Significantly different from control (group 9) at ***P<0.001, **P<0.01 and *P<0.05. ():%

○尾崎圭介, 立松 正衛, 萩原 昭裕, 浅川 恵美子, 伊東 信行 (名市大・医一病)

(はじめに)

肝および膀胱においては発癌の二段階説に基づき、前癌病変を指標とした発癌物質および発癌プロモーターの中期検索法が確立され現在までに多くの物質について検索が行われてきた。胃についてはこれまで前癌病変の適当な指標がなく、発癌物質の検索には長期の観察が必要とされてきた。

正常ラットの腺胃幽門腺にはPepsinogen isoenzyme (Pg) 1,3,4 の3種類が生化学的に証明されており、胃発癌物質であるMNNGを投与すると幽門腺粘膜では投与1週間で生化学的検索によりPgIの低下が認められる。このPgIの変化は病理組織学的変化に先行して出現し癌に至るまで認められることより前癌病変から癌に至る発癌過程の追究に優れた指標酵素であると考えられている。そこで、PgIの抗体を用いてABC法による免疫組織学的検索を行ったところ、生化学的データに一致し病理組織学的変化に先行したPAPGの出現が観察された。ラットMNNG胃癌発生過程において免疫組織学的に検出されるPAPGは形態的に最も早期に検出可能な前癌病変であることが明らかとなり、PAPGを指標とした胃発癌物質と胃発癌プロモーターの16週間中期検索法が確立された。そこで今回は本検索法の有用性を評価する目的で既知の胃発癌物質と胃発癌プロモーターおよび胃を標的としない発癌物質とプロモーター計12種類の化学物質を投与しそれぞれの物質のPAPG形成に対する効果を検討した。

(実験方法)

動物は6週令のWKY雄性ラット195匹を用い全動物にイニシエーターとしてN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG, 160mg/kg bw)を一回経口投与し2週間後から以下12種類の化学物質の投与を開始した。即ち、胃発癌物質として0.005% MNNG, 0.005% N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(ENNG), 0.04% N-nitroso-N-methylurea(MNU), 1mg2/week/rat 4-nitroquinoline 1-oxide(4-NQO), 0.8% Catechol, 胃発癌プロモーターとして0.25% sodium taurocholate (Na-TC), 胃を標的としない発癌物質として0.1% dihydroxy-di-n-propylnitrosamine(DHPN), 0.01% 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene(DMBA), 0.05% phenobarbital(PB), 0.06% 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene(3' Me-DAB), 0.05% N butyl-N-(4-hydroxy-

butyl)nitrosamine(BBN), また胃を標的としないプロモーターとして5.0% sodium ascorbate (Na-ascorbate)を用いた。さらにPAPGの形成を促進する目的でMNNG投与後4,6,8,10週後に飽和食塩水1mlを各動物に経口投与し実験開始16週で屠殺解剖した。胃はSublimale-formaldehyde固定後パラフィン包埋し、PgI免疫染色を行った。

(実験結果)

胃発癌物質および胃発癌プロモーター投与群においては、MNNG一回投与の対照群に比較しPAPGの形成を有意に促進した。即ち、幽門腺粘膜単位長 (cm) あたりのPAPGの数はMNNG (7.04±1.61), ENNG(6.48±1.62), MNU(7.01±2.42), catechol(3.69±0.70), Na-TC(4.09±1.34), (以上p<0.001)、4-NQO(3.41±1.13, p<0.05)で対照群(2.57±0.53)に比して有意な増加を認めた。しかし、胃を標的としない発癌物質およびプロモーターの群では対照群との間に有意差は認められなかった。

Numbers of Pg 1 Altered Pyloric Glands in Pyloric Mucosa

Treatment	No. of animals	No. of PAPG/pyloric mucosa (cm)	
		Mean	SD
Gastric carcinogen			
MNNG	14	7.04 ***	1.61
ENNG	12	6.48 ***	1.62
MNU	12	7.01 ***	2.42
4-NQO	13	3.41 *	1.13
Catechol	14	3.69 ***	0.70
Gastric promoter			
Na-TC	14	4.09 ***	1.34
Non-gastric carcinogen			
DHPN	14	1.92	1.03
DMBA	13	1.96	1.22
Phenobarbital	10	1.98	0.95
3'-Me-DAB	15	2.86	0.58
BBN	14	2.85	0.99
Non-gastric promoter			
Na-Ascorbate	10	3.02	1.83
Control	15	2.57	0.53

*** Significantly different from control at P < 0.001

* Significantly different from control at P < 0.05

(まとめ)

胃の前癌病変の指標と考えられるPAPGの形成を指標とした本法により胃発癌物質および胃発癌プロモーターは有意にその形成を促進した。また、胃を標的としない発癌物質およびプロモーターでは対照群との間に有意な差を示さなかった。

以上よりPAPGを指標とした16週間の本検索法は胃発癌物質およびプロモーターの検出に極めて有用な方法であると考えられた。

○後藤干城、倉橋陽子、三井雅之、谷川広行、川島正次（森下製薬、薬理研）

【目的】

一般に輸液の毒性は低く、致死量を求めるためには大量かつ急速な注入が必要であり、輸液の組成とともにその注入速度が致死量決定の大きな要因になると考えられる。しかし、どのような注入速度を用いるべきかについての検討はこれまであまりなされていない。今回我々は、濃度の異なる糖輸液をラット及びウサギに投与し、注入速度並びに浸透圧と致死量との関係を検討したので報告する。

【方法】

実験にはリンゲル液にブドウ糖を15、22.5及び31.3%濃度に溶解した3種の糖輸液を使用した。各輸液の浸透圧比はそれぞれ4.5、6.9及び10.3であった。

まず、6週齢のCrj:CD系雄ラット及び11~20週齢のKBL:JW系雄ウサギを使用し、自動輸液ポンプを用いて各輸液を種々の速度（ラット：0.3~80ml/kg/min、ウサギ：0.125~13ml/kg/min）で死亡するまで静脈内に持続注入して致死量（呼吸停止量及び心停止量）を求め、病理学的検査を行った。

次に、各輸液について6週齢のCrj:CD系雌雄ラット及び13週齢のKBL:JW系雌雄ウサギを用い、各群6匹、4~5群構成で急性毒性試験を実施し、LD₅₀値を求めた。なお、輸液の注入速度は先の実験から得られた至適速度（ラット：10ml/kg/min、ウサギ：4ml/kg/min）を用いた。

【結果】

①注入速度が低速になるに従って急激な致死量の上昇が認められ、その変化は浸透圧の低い輸液ほど大であった。②各輸液とも比較的一定した致死量を示す注入速度領域が認められ、各輸液に共通したその領域はラットでは10~20ml/kg/min、ウサギでは1~4ml/kg/minであった。③どの注入速度においても浸透圧の高い輸液ほど致死量は低下しており、浸透圧と致死量との間に負の相関が認められた（ $r=-0.95$ ）。

④注入速度の違いにより病理学的所見に差が認められ、主たる死因はラット及びウサギともに低速度注入例では頭蓋内出血、高速度注入例では肺水腫と推察された。

⑤両動物において浸透圧と呼吸停止量あるいは浸透圧とLD₅₀値との間に直線関係がみられ、一次回帰式で表すことができた。⑥それらの直線は動物間並びに呼吸停止量とLD₅₀値との間でほぼ平行であった。⑦これらの式のうち、浸透圧とLD₅₀値との回帰式に他の輸液の浸透圧値をあてはめたところ、得られたLD₅₀の計算値は糖輸液のみならずアミノ酸輸液についても文献値によく近似した。

【結論】

輸液の急性毒性試験において、致死量を決定する大きな要因は注入速度と浸透圧と考えられ、注入速度が一定であれば概略のLD₅₀値は輸液の浸透圧より把握できるものと推察された。

土井邦雄¹、○町田一彦¹、倉部繁雄²、稲垣昌宏²、島津紀子²（¹東大農、²田辺生物研）

肝毒性を示す化合物は今日までに数多く報告されている。これらの化合物で処置した動物を肝疾患のモデルとして利用する際には、肝病変の背後にある全身性病態を十分に把握しておく必要がある。この点に着目して、我々はZimmerman(1978)の分類による3種類の代表的な肝毒性物質、direct hepatotoxin, Carbon tetrachloride (CTC), indirect cytotoxic hepatotoxin, Galactosamine (GALN)あるいはindirect cholestatic hepatotoxin, α -Naphthylisothiocyanate (ANIT)を反復投与したラットを、臨床病理学的及び病理学的に検索した。概要については第29回実験動物談話会で紹介したが、今回はその詳細をCTC投与動物を中心に報告する。

<材料と方法>

動物：5週齢のSD系雄ラット、135匹。

検体と投与量・経路：投与量の設定にあたっては、予備実験成績および文献記載のデータを参考にした。

CTC (2ml/オリーブ油2ml/kg/回、po)

GALN (400mg/生理食塩水10ml/kg/回、ip)

ANIT (50mg/オリーブ油4ml/kg/回、po)

処置：週に2回、4、8、12週間投与後2日目、及び8週間投与後4週間の休薬期間を経過した時点で殺処分。対照として、溶媒のみを同様に投与した動物を使用。

観察：臨床病理学的および病理学的検査。

<結果と考察>

CTC投与群：血液学的検査では、赤血球数、血色素濃度及びヘマトクリット値には特記すべき変動は認められなかったが、網状赤血球と白血球の増数、血小板減少およびプロトロンビン時間の延長傾向がみられた。また、末梢血の塗抹標本で、ヘモジデリン顆粒を持った単球および標的赤血球の増数が認められ、後者は障害肝から血中に逸脱した[free radical]の赤血球膜に対する障害作用を示唆する所見として興味深い。血液生化学的検査では、トランスアミナーゼ等の肝実質障害の指標となる酵素活性値の上昇に加え、胆汁排泄障害の存在を示す変化（ビリルビンと総コレステロールの増量、ALP活性値の上昇）が観察された。

一方、病理学的には、肝臓で壊死後性線維化と小葉の改築（偽小葉形成）がみられた。肝小葉の改築に伴って、前述の胆汁排泄障害が誘起され、また、門脈圧が亢進し

て門脈前領域の循環障害（脾臓のうっ血と脾臓の間質水腫）が招来された。この他、小腸上部と胸管との間に介在するリンパ管系の間所である脾十二指腸リンパ節に局限して、顕著な洞内出血、ヘモジデリン沈着、単核細胞による赤血球とヘモジデリンの貪食、皮質リンパ球の減少などの変化が観察された。当該リンパ節の変化は、一方で、右心房及び肺動脈腔にみられたヘモジデリン貪食単球の出現、並びに前述の血液塗抹所見と関連している可能性も考えられる。さらに、ヒトの慢性CTC中毒症例でも報告されているように、CTCおよびその代謝産物の排泄過程で惹起されたと考えられる腎糸球体の巣状硬化と尿管の退行性変化が注目された。

上述した臨床病理学的及び病理学的変化は、4週間の休薬期間を経過した動物では一般に著しく軽減もしくは消失していた。

GALN投与群：臨床病理学的検査では、血清中の血糖、総コレステロールおよび蛋白質の軽度の減少がみられた以外には、特記すべき変化は認められなかった。また、病理学的変化は肝臓に局限しており、肝実質の変化（肝細胞の細胞質の緻密化、孤立性もしくは小葉状の好酸性壊死）と胆管増生に伴う細網線維増生がみられたが、偽小葉の形成は不明瞭であった。こうした変化も、休薬群においてはほぼ完全に消失していた。

ANIT投与群：臨床病理学的には、貧血と赤血球の形態異常（萎縮、コンペイ糖様形態、標的赤血球）が目立った他、CTC投与群のそれと同様な血液生化学的変化が観察された。病理学的には、肝臓で実質障害（肝細胞の巣状壊死と細胞質の緻密化）及び胆管増生に伴う膠原線維の増生がみられ、一部に偽小葉の形成が認められた。このほか、脾臓で赤芽球およびヘモジデリン貪食細胞の増数が、また、脾臓で外分泌腺上皮細胞の酵素原顆粒の減少が認められた。これらの諸変化は、休薬群においては著しく軽減もしくは消失していた。

<まとめ>

3種類の肝毒性物質（CTC、GALN、ANIT）を反復投与したラットでは、それぞれに特徴的な肝病変が惹起されたが、同時に、全身性病態（臨床病理学的変化および臓器病変の拡がり等）にも明らかな違いがみられた。

ACUTE EFFECT OF ^{60}Co GAMMA-RAY ON SOD AND CATALASE ACTIVITY IN $\text{C}_3\text{H}/\text{HeN}$ (NORMAL) AND $\text{C}_3\text{H}/\text{C}_8^{\text{b}}$ (ACATALASEMIC) MICE

N. BASARAN, M. NAITO, M. TAKAHASHI, Y. NAKAGAWA, H. WATANABE, A. ITO
(Dept Cancer Res, RINMB, Hiroshima Univ)

INTRODUCTION: Superoxide dismutase (SOD) and catalase are known to play an important role to scavenge superoxide anion, O_2 and H_2O_2 to protect cells and tissues from oxidative damage. Present study reports the acute effect of ^{60}Co gamma-ray (8 Gy) on the activity of SOD and catalase and DNA synthesis in normal $\text{C}_3\text{H}/\text{HeN}$ and acatalasemic $\text{C}_3\text{H}/\text{C}_8^{\text{b}}$ mice (acatalasemia is a rare congenital abnormality, the most characteristic property of it is the lack of catalase enzyme in their blood and in many other organs).

MATERIALS AND METHODS: Six-week-old male mice of $\text{C}_3\text{H}/\text{HeN}$ and $\text{C}_3\text{H}/\text{C}_8^{\text{b}}$ strains exposed to (8 Gy) ^{60}Co gamma-ray were sacrificed at 1, 2, 4, 6, 24, and 48 hrs after the irradiation. For the isolation of SOD, chloroform-ethanol extraction method was used. SOD activity in liver, red blood cell (RBC) and serum was measured by Oyanagui's nitrite method and catalase activity was observed by Nakahara's method in the present study. Liver, spleen and duodenum of mice in each treatment category were picked up for histological and immuno-histochemical observations for bromodeoxyuridine (BrdUrd) labelling.

RESULTS: In both strains of mice, the SOD activity of liver decreased 1 hr after the irradiation, then it returned to the control value and started to decrease again 6 hrs after the irradiation. The SOD activity of RBC did not change until 24 hrs, and it started to decrease after that time in both strains of mice. In the serum slight fluctuation of the SOD activity was observed at 1 hr after irradiation both in $\text{C}_3\text{H}/\text{HeN}$ and $\text{C}_3\text{H}/\text{C}_8^{\text{b}}$ mice. The change of catalase activity in RBC in these strains of mice first decreased a little and came back to the control value. In the liver gradual decrease of catalase activity in $\text{C}_3\text{H}/\text{HeN}$ mice was observed. $\text{C}_3\text{H}/\text{C}_8^{\text{b}}$ mice showed the similar pattern. Histological study of the liver, spleen and duodenum in both groups of mice showed that there are no change in the liver cells, but labelling of liver cells with BrdUrd started to decrease 2 hrs after the irradiation and continued to decrease even after 48 hrs. In the spleen we could observe many dead cells from 2 hrs to 6 hrs after the irradiation. DNA synthesis of the spleen decreased 2 hrs later. In the duodenum dead cells were observed after 2 hrs but at 48 hrs the DNA synthesis increased compared to the control value.

CONCLUSION: 1. After 8 Gy of ^{60}Co gamma-ray irradiation, the change of superoxide dismutase activity in $\text{C}_3\text{H}/\text{HeN}$ (normal) and $\text{C}_3\text{H}/\text{C}_8^{\text{b}}$ (acatalasemic) mice was similar in the liver, RBC and serum. 2. The catalase activity in both liver and RBC was very low in $\text{C}_3\text{H}/\text{C}_8^{\text{b}}$ mice compared to $\text{C}_3\text{H}/\text{HeN}$ mice. The changing pattern of enzyme activity was, however, similar in both strains of mice after the irradiation. 3. There was no strain difference in the histological and immuno-histochemical findings of liver, spleen and duodenum after the irradiation.

近年の使用量増大に伴い、フッ化水素酸(HF)皮膚接触事故の危険性が指摘されている。HFは強度の侵蝕性を有するため、皮膚に付着することにより容易に深部組織に達し、高濃度のHFにおいては、小範囲、短時間の付着であっても、局所的傷害にとどまらず、致命的になることが強調されている。本研究は、HFの皮膚塗布に起因する臓器傷害を、病理組織学的に検索し、死因に関する考察を行うことを目的とする。

〔材料ならびに方法〕6週令のd.d.Y雄マウスを用い、脱毛剤により左大腿外側皮膚を脱毛し、5.5%HF20 μ lを塗布した。経気道性吸入を防ぐため、作業はドラフト内で気流が尾側に向かう位置で行った。塗布した面積及び時間により、A群(1cm²、1分)、B群(2cm²、1分)、C群(1cm²、5分)、D群(2cm²、5分)の4群に分け、塗布後は水洗し、A、B、C群は2、6、24、72時間後に、D群は2、6時間後に各5匹を屠殺して、以下の検索を行った。(1)病理組織学的検索：心、肺、肝、腎、脾、胸腺を、ホルマリン固定、パラフィン包埋後3 μ mに薄切、染色(ヘマトキシリン・エオジン、燐タングステン酸ヘマトキシリン、Azan-Mallory法、過沃素酸Schiff法)を行い、鏡検した。(2)血中Ca値、赤血球数、血小板数、凝固時間、Fibrinogen and fibrin degradation products(FDP)および臓器内フッ素イオン含量(肺、肝、腎)測定：臓器内フッ素イオンはアザリンコンプレクソン比色法によりフッ化物含量として測定したが、肺、腎は全臓器を必要とするため、(1)とは別のマウスを使用した。

〔結果〕(1)症状ならびに致命程度：4群とも塗布直後より左後下肢の麻痺が出現し、活動性は低下した。1時間後には、あえぎ様の呼吸困難が出現したが、D群では特に顕著であった。6時間後にも呼吸困難は認められたが、A、B、C群には活動性の回復したマウスもみられた。24時間生存したマウスは、すべて活動性を回復した。各群30匹のマウスで実験を開始したが、実験中に死亡したマウスは2時間以内にC群3匹、D群4匹(C3、D4：以下類記)、2~6時間にA1、B5、C9、D8、6~24時間にB3、C5、D8、24~48時間にB1であった。

(2)病理組織学的所見：4群すべてにおいて、2時間の肺にはうっ血の他、細気管支周囲肺動脈および胞隔毛細血管内に、血小板と線維素の混在する血栓が多発したが、肺水腫は明かではなかった。右肺の最大断面における血栓数を算定し、200倍1視野あたりの血栓数を算術平均により算出すると、A、B、

C、D群それぞれに0.3、0.5、0.7、3.4となったが、対照群マウスに血栓は認められなかった。6時間の肺でもほぼ同頻度に血栓がみられたが、一部に血栓の認められないマウスも存在した。24時間群では血栓は1匹のみにみられ、72時間では全くみられなかった。心、肝、腎ではうっ血の他著変を認めなかったが、胸腺では24時間、72時間群に急性退縮の像を認めた。

(3)諸定量および血球数値：血中Ca値は2時間群で低下しており、特にD群では対照群の20~25%に低下していたが、6時間群では90%程度にまで回復していた。臓器内フッ素含量の定量は、現在一部肺についてしか実施していないが、D群の2時間群では4~7倍の増量が認められた。赤血球数ならびに血小板数には著変を認めなかった。

〔考察〕フッ化水素酸の皮膚接触事故例あるいは剃毛皮膚塗布実験等による死因については、ガス化したHFの経気道性吸入による肺水腫を原因とするもの、HFが皮膚を侵蝕して血中に入り、F⁻イオンがCa⁺⁺イオンと強い結合性を有するために血中のCa⁺⁺イオンを消費して低Ca血症を来すためとするもの、あるいは低Ca血症による心筋障害を原因とするもの、皮膚より吸収されたHFが、血行性に全身に分布するため生じた肺水腫、肝、腎障害等全身多臓器障害によるものなどがみられる。今回の実験では2時間群で低Ca血症を認めたが心筋に有意の変性所見は認めず、肝、腎等にも著変を認めなかった。肺では重量増加は著明ではなく、組織学的にも肺水腫は明かではなかったが、多発性血栓が認められた。その数はA、B、C、D群と漸増しており、特に屠殺例以外の全マウスが24時間以内に死亡したD群では多数の肺内血栓がみられた。このことは胸腺の急性退縮像とあわせて、肺内多発性血栓症に伴う呼吸不全、ショックが主な死因になっていることを示唆している。血栓形成の機序としては塗布局所で形成された血栓の塞栓、血液凝固因子の変化、肺内血管内皮傷害などが考えられるが、局所の血栓形成は証明されず、発生の時間的關係からも塞栓の可能性は少なく、血小板・赤血球数に変動はなく、(凝固時間、FDP等は未実施)、肺のフッ化物含量の上昇と合わせて、HFによる肺内血管内皮傷害の可能性が強いと考える。肺血栓数からみると、傷害程度はHFの皮膚への接触時間と接触面積の両者に関連するが、致死率からみると面積より時間の要素が大きく影響するように思われた。

O 横瀬 智之、飯島 達夫、小形 岳三郎 (筑波大病理)

ヒトの肺線維症の発症及び進展に関する要因の解析のため動物実験モデルに除草剤のバラコートが多用され、肺線維症に至る過程が形態学的、生化学的に検討されている。その線維化形成に直接関与する線維芽細胞の由来については、古くは単球が組織球様細胞を経て線維芽細胞に変化すると言われていたが、近年は肺胞壁に存在する肺胞中隔細胞がその主体を占めていると考えられている。しかし、まだ十分にはその細胞の機能については解明されたとは言い難い。また、コラーゲン産生に関しては、肺胞洗浄液を用いた生化学的解析、ないしは、whole lungでの定量的解析が主体で、形態像を合わせた解析の報告は少ない。我々は、ラットを用いバラコート肺線維症を作成し、経時的变化に伴う肺胞中隔細胞の変化とコラーゲン産生の関連の検討を行なった。

(方法)

6週齢雌Sprague-Dawleyラット85匹をバラコート投与群64匹と生理食塩水投与コントロール群21匹に分け、バラコート20mg/kg隔日2回、腹腔内投与を行ない、2回目投与後3日目から2週間、経過観察を行なった。屠殺は開腹後脱血しつつ、PLD固定液で腹大静脈より逆行性両肺灌流を行ない、片肺をグルタルで再固定し、他肺を一部緩衝ホルマリン固定、残りを凍結標本とした。

光顕的観察は、H-E、マッソン・トリクローム、ピクトリアブルー・ソングーソン染色標本で行なった。電顕的観察はルチンの超薄切片作成後、明石SEM2000で行なった。コラーゲン産生の有無は、抗タイプⅢコラーゲン及びプロコラーゲン抗体を用い免疫酵素抗体法(ABC法)にて検出した。

(結果)

A. 肺胞中隔細胞の動態

コントロール肺において、肺胞中隔細胞は、肺胞壁、細気管支周囲などに存在し、肺胞面に對し平行に紡錘状形態をとって散在していた。電顕的には、細胞質内に脂肪顆粒を持ち、小数の小胞体を持つ以外は細胞内小器官に乏しかった。バラコート投与後3日目、病巣部の浮腫性肺胞間質に、明瞭な核

小体と、平滑な辺縁の類円形核を持つ細胞が増加してきた。病巣辺縁の肺胞間質には、電顕的に脂肪顆粒の減少と、小型のミトコンドリアの増加を示す肺胞中隔細胞がみられた。バラコート投与後5日目、肺胞基底膜破綻部より肺胞腔内に流入し、肺胞腔を埋める紡錘形細胞集団がみられた。電顕的にこの細胞群は、明瞭な核小体と淡いクロマチン構造を示し、また細胞質には粗面小胞体とミトコンドリアの増加がみられた。また部位により、この紡錘形細胞周囲にコラーゲン線維の形成がみられた。7日目以降、紡錘形細胞は、長紡錘状となり、ゴルジ装置と粗面小胞体の発達が著しく、成熟した線維芽細胞の形態を示した。

B. タイプⅢコラーゲンの産生

3日目には、細胞浸潤部に不規則な網目状のタイプⅢコラーゲンの陽性像がみられた。6日目ごろより、肺胞腔内の浸潤細胞間に、小型網状結節状のタイプⅢコラーゲンがみられた。また、この時期のタイプⅢプロコラーゲンの免疫電顕的観察では、細胞膜縁近傍の粗面小胞体に一致した陽性像がみられた。10日目には、タイプⅢコラーゲンは、肺胞腔を比較的規則的な配列で充填していた。

(結論)

今回のバラコート実験肺線維症での肺胞中隔細胞の動態とタイプⅢコラーゲンの産生に関する検討を行なった。

バラコート投与後出現した肺胞内紡錘状細胞は、経時的に成熟型線維芽細胞に分化し、線維形成能を示した。一方肺胞中隔細胞は、病巣周辺で徐々にその特徴である脂肪顆粒を減じ、小型のミトコンドリアの増加を示し、肺胞内紡錘状細胞に類似した形態を示した。

タイプⅢコラーゲン産生は、6日目より明らかに紡錘形細胞内及びその周囲にみられ、紡錘形細胞は機能的にも線維産生細胞であることがわかった。

以上より、肺胞中隔細胞の機能は未だ十分には解明されていないが、機能的に線維芽細胞に分化し線維産生能を有する間質細胞である事が強く示唆された。

○田畑尚一¹⁾、大園誠一郎¹⁾、平尾佳彦¹⁾、岡島英五郎¹⁾、松木尚²⁾、北堀吉映²⁾、日浅義雄²⁾、(奈良医大・泌¹⁾、1病²⁾、2病¹⁾)

(緒言)

Carcinogenesisの研究には、ヒトに類似した動物実験モデルの作成が重要である。われわれは、過去において、マウス、ラット、イヌを用いた bladder carcinogenesisの研究を進めるなかから、イヌがヒト膀胱癌にもっとも類似したモデルであることを報告した。

一方、renal carcinogenesisにおいては、ラットに β -cyclodextrin(β -C)を投与することにより nephrosis が発生し、さらに N-ethyl-N-hydroxyethyl-nitrosamine のラット腎発癌過程で、 β -C が promoter 作用を有することを報告した。しかし、renal carcinogenesisにおいても、中動物のイヌで腎癌モデルが作成できれば、その発癌過程において臨床と同様の検討が可能となり、また腎癌の自然史の解明に有用と考えられる。

そこで今回われわれは、イヌを用いてまず β -C の腎毒性を検討したので報告する。

(目的)

Beagle 犬を用いて β -C のイヌ腎に対する毒性を病理組織学的並びに組織化学的に検討し、イヌにおける腎癌発生の研究の基礎資料とすることを目的とした。

(実験材料と方法)

1. 実験動物

体重7.2~8.4kg (平均7.7kg) の雌性 beagle 犬5匹を用いた。

2. 化学物質

β -cyclodextrin(Nakarai chemicals, Ltd., Kyoto, Japan)を生理食塩水に、0.45g/20mlにて溶解し、連日皮下注射した。

3. 投与方法

動物を β -C 0.9g/kg投与群(Group I) 2匹、 β -C 0.45g/kg投与群(Group II) 2匹、

control群(Group III) 1匹に分け、Group

IとIIの各2匹における β -C投与期間をそれぞれ7日および10日とした。各々 β -C最終投与日の翌日に屠殺した。

4. 血液および生化学的検査

β -C投与前および後に採血し、一般検血ならびに生化学的検査に供した。

5. 組織化学的検査

腎の一部を、H.E.染色にて病理組織学的に検索するとともに、succinic dehydrogenase、glucose-6-phosphatase、 β -glucuronidase、acid phosphatase、alkaline phosphataseの特殊染色を行い、組織化学的に検索を行った。

(結果および結論)

1. β -C 0.9g/kg投与群および0.45g/kg長期(10日間)投与群は衰弱が著明で、BUN、Crの上昇を認め β -Cの腎毒性が示唆された。

2. 病理組織学的には、 β -C投与群において、近位尿細管上皮細胞の空胞変性、壊死、再生等が認められた。

3. 組織化学的には succinic dehydrogenase、glucose-6-phosphatase、 β -glucuronidaseおよびalkaline phosphataseの活性低下を認め、 β -Cの腎毒性が示唆された。

4. イヌに β -Cを投与した結果、ラットと同様、近位尿細管上皮細胞の空胞変性に代表される腎毒性が認められ、nephrosisのモデルとなり得ることが示唆された。

5. このモデルを renal carcinogenesisに応用させるためには β -C 0.45g/kg、7日間連続皮下投与が至適用量と考えられる。

〔緒言〕

hCG (human chorionic gonadotropin) は性腺機能不全治療剤などとして 300~10000 IU/man の用量で臨床的に広く用いられている。今回、我々は hCG を Fischer344 ラットに投与すると精巣尾部に限局した精細管壊死が生じることを見出し、その変化のラット系統差、用量相関、週齢差、病理組織学的な経時変化ならびに壊死に至る機序について検討したので報告する。

〔材料と方法〕

〔系統差と用量相関性〕 11週齢の F344/Jcl, F344/DuCrj, Jcl:SD, Jcl:Wistar, Jcl:WKY, Lewis/Jcl 及び (F344/Jcl × Jcl:Wistar)F1 の各系統の雄ラットに、hCG (Gonatotropin®) の 20, 200, 2000 または 20000 IU/kg (各群 3~5 匹) を生理食塩液に溶解して単回皮下投与し、1 週間後に両側精巣を摘出し、重量測定後、10%ホルマリンで固定したのち H-E 染色標本について、精巣の変化を病理組織学的に検索した。

〔週齢差〕 5, 8 及び 11 週齢の F344/Jcl ラットに hCG の 20, 200 または 2000 IU/kg (各群 5 匹) を単回皮下投与し、1 週間後の精巣の変化を検索した。

〔経時変化〕 11 週齢 F344/Jcl ラットに hCG の 2000 IU/kg を単回皮下投与し、1, 2, 4 日後及び 1, 2, 4 週間後に各群 3~5 匹の精巣を検鏡して、変化の推移を調べた。

〔壊死の機序〕 11 週齢 F344/Jcl ラットに hCG の 2000 IU/kg を皮下投与する 1, 0.5 時間前、または 0, 1, 2, 4, 6 時間後に cyclooxygenase inhibitor である indomethacin (IN) の 5 mg/kg を 5% アラビアゴム液に懸濁して単回経口投与し、2 日後の精巣について IN の壊死抑制効果を検索した。

〔結果〕

hCG 投与による壊死は精巣表面を蛇行上行する動脈に近い精巣尾部 (図 A) に限局してみられた。壊死の程度は精巣縦断面に占める壊死巣の面積に応じて、軽度 (約 10 本の精細管断面の壊死)、中等度、重度 (約 100 本の壊死) とした。

〔系統差〕 F344/Jcl ラットでは hCG 2000 IU/kg で重度、200 IU で軽度、F344/DuCrj ラットでは 2000 IU で軽度の精巣壊死がみられたが、いずれも 20 IU では異常はなかった。hCG 2000 IU では、SD ラットでごく軽度の壊死がみられたが、Wistar, WKY 及び Lewis ラットでは異常はなかった。20000 IU では Wistar ラットで軽度壊死がみられ、F344 と Wistar の F1 ラットでは両系統の中間であった。以上、hCG による精巣壊死の感受性は F344/Jcl > F344/DuCrj > F1 > SD > Wistar ≈ WKY ≈ Lewis ラットであり、F344/Jcl と F344/DuCrj ラット間には約 10 倍の、また、F344/Jcl と Jcl:Wistar 間には約 100 倍の差がみられた。この序列は hCG 投与による精巣重量減少の順序にほぼ対応していた。

〔週齢差〕 11 週齢時の hCG 2000 IU/kg 投与では重度の壊死がみられたが、5 及び 8 週齢時投与では壊死は認められなかった。



精巣縦断面

〔経時変化〕 hCG 投与 1~2 日後には精巣尾部の精上皮は壊死に陥り、間質には壊死細胞とともに炎症性細胞浸潤がみられ、壊死巣周囲 (図 B) の精細管内には多数の多核巨細胞が認められた。1~4 週間後には壊死巣周囲の精細管の萎縮とともに多核巨細胞は減少し壊死巣内部の間質細胞も再生したが、Sertoli 細胞や精上皮細胞の壊死は残存していた。精巣の頭部や体部など (図 C) にはいずれも異常はみられず、正常部と壊死部との境界は比較的明瞭であった。

〔壊死の機序〕 hCG 投与の 0.5 時間前から 2 時間後に IN を単回投与すると壊死の発生は抑制されたが、1 時間前及び 4~6 時間後の IN 投与では抑制されなかった。

〔考察とまとめ〕

hCG 投与による精巣の限局性壊死の発現には顕著な系統差があり、F344 ラットが高感受性であった。しかし、若齢では抵抗性があり、約 10 週齢頃から感受性になると考えられる。臨床用量の hCG を用いたラットの試験は数多く実施されているが、精巣壊死の報告がないのは、低感受性の系統 (例えば Wistar ラット) や若齢ラットを用いたためではないかと思われる。なお、Jcl:R6C3F1 マウスでは 20000 IU/kg を皮下投与しても精巣壊死は発現しない。ヒトでも壊死の報告はなく、ラット特有の現象である可能性が高い。また、今回はヒトの胎盤性性腺刺激ホルモンを用いてラットの精巣壊死を誘発したが、LH-RH をラットに単回皮下投与しても同様の変化が発現することから、ラット精巣壊死は内因性の下垂体性性腺刺激ホルモンでも誘発されると考えられる。

hCG 投与 1 日後で壊死が認められるが、hCG 投与 2 時間後までの indomethacin 投与で抑制され、4 時間後では抑制されないことから、壊死を惹起する最初の変化は hCG 投与後 4 時間以内に生じること、更に、この変化に PG が関与することが推測された。hCG 投与で急性的なラット精巣血流の脈動性の消失、間質液の増量及び精巣内 PG の増加が報告され、また、in vitro で hCG を添加すると Leydig cell が PG を分泌することも報告されていることから、今回の精巣壊死も Leydig cell 由来の PG に起因する可能性がある。hCG 投与 1~2 日後の壊死巣周辺の炎症性細胞浸潤と精細管内の多核巨細胞の出現、投与 1 週以後の間質細胞の再生などから、精細管及び間質の壊死は精巣の部分的な梗塞に起因した一過性の虚血によるものと推察される。しかし、壊死に至る部分の Leydig cell のみか hCG の刺激で PG を局所的に分泌し血管が攣縮するのか、あるいは浸潤性に Leydig cell が PG を分泌し尾部に至る血管のみが攣縮して限局的に虚血を招来したのかは不明である。血管内皮自身も PG を分泌するとされているが それに対する hCG の作用は明らかではない。

以上、hCG によるラット精巣の限局性壊死の機序は次のように推察している。hCG 投与 → Leydig cell または血管内皮の刺激 → PG 分泌 → 血管攣縮 → 虚血 → 壊死。

○海道昌宣（産医大二病理）、濱田哲夫（産医大病院病理）、小出紀（産医大二病理）

【緒言】酸化エチレン（EO）はさまざまな産業化学物質の前駆物質として使用されると共に医療分野では滅菌剤として広範に使用されてきている。最近その神経毒性が人や動物で報告されてきているが、精巣毒性についての報告はごくわずかに記載されているのみである。今回13週間までの吸入による慢性暴露にて著しい精巣傷害を認めたので、その傷害程度を組織切片より半定量化、解析し報告する。

【材料と方法】 暴露群、対照群共に150-250gのウィスター系雄ラットを用い暴露チャンパー内で一週間予備飼育した後、暴露群にはEO 500ppm一日6時間、隔日、2週間・4週間・6週間・13週間吸入暴露を行った。最終暴露40時間後にジエチルエーテル麻酔下に解剖し、精巣重量測定後、ブアン固定、PAS染色を施し、暴露期間2週間・4週間より各6匹、6週間・13週間より各8匹、各々の期間の対照群より2匹ずつ計8匹の精巣に付き組織学的検索を行った。各ラットより長経と短経の比が2以下になるように切られた精細管を無作為に50個選び、Stageを決定し、存在する生殖細胞を分別した後、対照群におけるそれぞれの成熟段階の生殖細胞層と比較した。A型精祖細胞は元来数が少なく、その残存度の判定が困難なため、B型精祖細胞以降の生殖細胞について残存度及び変性細胞の割合を半定量的に求めた。残存度は対照との比較により90%以上：5、70-90%：4、50-70%：3、30-50%：2、10-30%：1、10%以下：0と6段階評価した。変性細胞出現率については形態学的に異常な細胞が50%以上出現したものを(+++)、10-50%を(++)、10%以下に出現したものを(+)とし異常細胞を認めなかったものを(-)とした。ただしその傷害程度が境界領域にある場合は、傷害の軽い段階に判定した。

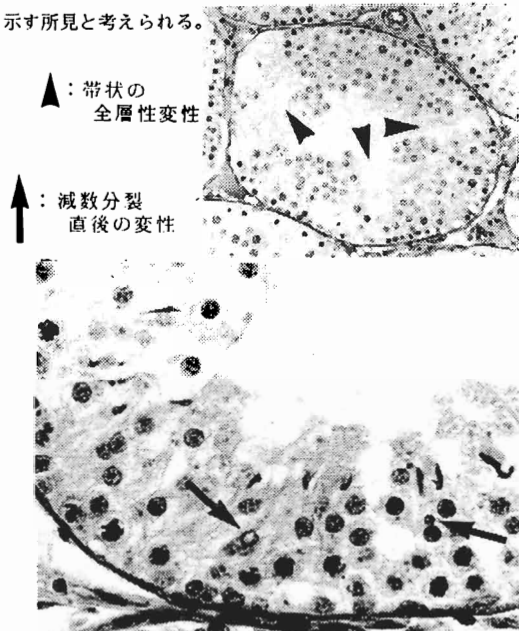
【結果】 精巣の重量は対照群に対し2週、4週、6週、13週と暴露期間が長くなるにつれて+4.3%、-18.2%、-46.1%、-53.9%と減少した。組織学的に得た生殖細胞の残存率も2週、4週、6週、13週でそれぞれ98.7%、91.5%、55.6%、35.3%であった。

生殖細胞の成熟過程からみた変性、脱落には3つの様式が認められた(図)。(1)全層性の生殖細胞の変性、脱落：精祖細胞から成熟した精子細胞まで全層にわたり変性、脱落するもので、Stage XIV-VIに強い傾向がみられ、Stage IX-XIIIでは軽かった。全層性にわたる変性、脱落はしばしば帯状に認められた。(2)精子細胞の最終段階の成熟障害：Acrosomal Phaseの精子細胞以後成熟が進むにつれて変性、脱落が高度になっていく。(3)減数分裂直後の変性：Stage I-IIIのGolgi

Phaseの精子細胞に強くみられる変性で核の空胞変性、大型核、微小核(Micro-nucleus)、多核細胞などが散在性に見られた。この変化は対照群でも見られ、2週間暴露では対照と著差を認めないが暴露期間が長くなるにつれて高度になった。

生殖細胞の変性脱落は暴露期間が長くなるにつれて高度になるが、13週間暴露では半数近くの精細管で、ほとんど生殖細胞がみられないほど傷害が高度であったものの、Stageの判定ができた精細管では6週間暴露よりも明らかに傷害が軽度であり、精祖細胞残存度の上昇を認めた。またSertoli細胞に接してbundleを形成した精子細胞が変性している像も散見された。

【考察】(1)の帯状の変性脱落及びSertoli細胞に接してbundleを形成した精子細胞が巣状にまとまって変性していた像等Sertoli細胞の機能失調に起因すると推定される所見をみると、(2)の成熟障害もSertoli細胞の機能失調に関連することが示唆された。(3)の減数分裂直後の変性はその核の形態から染色体異常を伴っていることが考えられ、催奇形性の問題などをはらんでいるものと思われる。13週暴露で高度の傷害を示した精細管と、傷害程度が6週暴露よりも軽度で、精祖細胞の残存度の高い精細管が、相半ばして見られたこと、さらに後者では少数ながらほとんど形態学的に変性の見いだせない成熟精子細胞が認められたことは、再生が起こってきたことを示す所見と考えられる。



精巣毒性の解析における病理学的手法の検討

— BrdU 免疫組織化学およびランタン・トレーサー法の有用性 —

○篠田和俊・岡宮英明・今沢孝喜・下地尚史・古川文夫・今井田克己・高橋道人(国立衛術・病理)

精巣毒性の病理学的検査は、精巣の臓器としての特性から、通常の光顕あるいは電顕検査では病変を的確に把握したり、障害機序を推定するには不十分であることが少なくない。従って、簡便で、かつ有用な病理学的検査手法の検討が必要であると考えられる。今回、我々はセルトリ細胞に対する障害性が知られている1,3-dinitrobenzene(1,3-DNB)による精巣毒性をモデルとして、通常の光顕、電顕検査と併せて、BrdUを用いた免疫組織化学ならびに電顕ランタン・トレーサー法による検査を行ない、その有用性について検討したので報告する。

実験材料と方法: 実験には9週齢のSprague-Dawley系雄ラットを用いた。1,3-DNB(Sigma社製)はオリーブ油に溶解(0.5% w/v)し、25mg/kg h.w.の用量で単回強制胃内投与を行った。対照として無処置群を設けた。投与後8,12,24,48,96時間目に各々3-8匹をエーテル麻酔下にて放血屠殺後、精巣を摘出し以下の組織検査に用いた。

光顕検査: 精巣をブァン液にて固定し、HEならびにPAS染色を施し病理組織学的に検査した。また、一部の動物は屠殺1時間前にBrdUを40mg/kgの用量で腹腔内に投与し、精巣摘出後、一方を70%アルコール、他方を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、細胞増殖検出キット(Amersham社製)を用いて免疫組織化学的に染色し、ヘマトキシリンによる核染を行った。

電顕検査: 精巣を燐酸緩衝液(0.1M, pH 7.3)にて調製した2.5%グルタルアルデヒド溶液により注入固定し、細切後、同液にて2時間浸漬固定し、オスミウム酸による後固定を行った。常法に従い切片を作成し、酢酸ウラン・クエン酸鉛の二重染色を施し鏡検した。また、一部の精巣は注入固定することなく細切し、カコジル酸緩衝液(0.1M, pH 7.8)で調製した1.0%硝酸ランタンを含む2.0%グルタルアルデヒド溶液にて5時間固定後、同濃度の硝酸ランタンを含むオスミウム酸で後固定を行い同様の方法にて鏡検した。

結果: 通常の光顕検査では1,3-DNB投与8時間後においては著変を認めなかったが、12時間後では、ほぼStage IX-XIIに相当する精細管において厚糸期の精母細胞が好酸性を増し、セルトリ細胞の胞体が一部不明瞭であった。24時間後においては、核膜をもたず染色体様の構造をもつ、精母細胞由来と思われる合胞体(Giant Cell)が

認められた。更に48時間および96時間後では、前者とは異なり核膜が明瞭な核を数個有する合胞体がみられ、一部の精細管(ほぼStage IX-XIV-Iに相当)においては、精上皮中層の細胞が消失していた。セルトリ細胞は胞体が著しく不明瞭であった。一方、投与後いずれの時期においても、精祖細胞ならびに合糸期までの精母細胞には著変を認めなかった。

BrdUの免疫組織化学では、アルコール固定標本がホルマリン固定標本よりも良好な染色性を示し、また、精細管のStageの違いにより陽性細胞の出現に明瞭な差を認めた。BrdU投与1時間後の陽性細胞はすべて精祖細胞であった。1,3-DNB投与群ではいずれの時期においてもその分布および標識率ともに無処置群と差を認めなかった。

電顕検査では、1,3-DNB投与8時間後では一部の精細管においてセルトリ細胞に軽度の空胞形成が散見されたが、他の造精細胞にはほとんど変化を認めなかった。また、投与24時間後ではセルトリ細胞は著しく凝縮し、各細胞内小器官の変性が顕著であった。

ランタン・トレーサー法による検査では、微細構造の保持は良好であり、加ランタンの固定効果に及ばず影響はなかった。ランタンの細胞間隙への侵入は、1,3-DNB投与8時間後では精祖細胞の直上のtight junctionにおいて阻止され傍腔区画には認められなかったが、24時間後にはランタンはセルトリ細胞の変性部位を通じて精子細胞周囲にまで侵入していた。

考察: BrdUを用いた免疫組織化学は、細胞増殖を検出する手法で、発癌研究では前癌病変のDNA合成の検討などに汎用されている。今回、我々は、本法を用いて、造精細胞の増殖に対する1,3-DNBの影響を検討し、精祖細胞のDNA合成には影響のないことを示した。また、ランタン・トレーサー法を用いた検査から、1,3-DNBにより、セルトリ細胞の重要な機能の一つである血液-精巣関門の破綻が生ずることを示した。

BrdUを用いた免疫組織化学による検査は、ある種の抗癌剤のようなDNA合成に影響を与える薬物の精巣毒性の検出により有用であると思われ、さらには精上皮の細胞動態の検査への応用も期待される。また、ランタン・トレーサー法は、セルトリ細胞に対する障害性を検出する際に有用であると思われる。

ラットの長期動物試験における白内障の発生について

○ 豊田和弘・古川文夫・岡宮英明・児玉幸夫・堀内茂友・高橋道人（国立衛試・病理）

白内障の発生と紫外線との関係については、疫学的に環境中の紫外線照射量の多い地方で白内障の発生率が高いとの報告がいくつかみられ、実験的にも *in vitro* で紫外線照射によりレンズ蛋白が変性すること、また *in vivo* でウサギの眼に紫外線を照射すると白内障が発生すること等が報告されている。動物施設において、人工照明としてよく用いられている蛍光灯の光線中にも紫外線が含まれており、長期動物試験において蛍光灯照明が白内障の発生に影響を与える可能性が考えられる。

そこで、当所センター内動物室で2年間の癌原性試験に使用されたラットについて、白内障の発生と蛍光灯照明との関係を検討した。

【実験材料および方法】

白内障の検索は、コハク酸1ナトリウムの癌原性試験において、試験終了時まで生存した動物について行なった。

〈コハク酸1ナトリウムの癌原性試験〉

動物：5週齢のF344ラット雌雄各150匹を日本チャールスリバー社（神奈川）より購入し、1群50匹の雌雄各3群を設け、6週齢にて実験を開始した。

検体投与：コハク酸1ナトリウムは2%、1%、0%の割合でイオン交換水に混じ、飲料水として自由に摂取させた。

実験期間：検体の投与期間は104週間とし、その後、休養期間として2週間飼育し、計106週にて実験を終了した。

飼育条件：動物の飼育は、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数18/時（オールフレッシュ）、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件に管理されたバリアシステムの飼育室にて行なった。動物は、ステンレス金網製の蓋をした透明なプラスチック製ケージに4匹ずつ収容し、床敷はソフトチップ（三協ラボ社製）を用いた。ケージを収容する架台は、ハンガー式の縦5列、横3列のものを1群につき1架台、計6架台を用いた。

〈白内障の検索〉

試験終了時に生存動物の眼球の混濁の程度を肉眼的に

観察し、またそれぞれのケージの蓋の上および床敷の上における照度を測定して、白内障の発生率と照度との相関性について検索した。

試験期間終了後、動物はエーテル麻酔下に瀉血、屠殺し、直ちに左右の眼球を摘出して、Davidson液にて固定した。組織標本の作製は常法に従って行い、HE標本を作製して水晶体を病理組織学的に検索した。

【結果および考察】

照度測定の結果、各架台の位置毎に照明の当り具合が異なり測定値に多少違いがみられたが、明らかに架台の上段ほど照度が高いことが確認された。

肉眼的に白内障の発生率を検索した結果、全体で190例中42例（22.1%）に白内障が認められたが、コハク酸1ナトリウムの投与によると思われる各群間の発生率の違いは認められなかった。白内障の発生率は、架台の上段で飼育された動物ほど高く、また雌よりも雄の方が高かった。その他、右眼と左眼における白内障の発生率に差は認められなかった。

肉眼的に眼球の混濁を認めた動物の水晶体では、病理組織学的に水晶体上皮における上皮細胞の多層増殖、皮質における水晶体線維の膨化、断裂、空胞形成、液化、また有核細胞の前後極方向への移動等の変化が認められた。

今回の検索結果より、蛍光灯照明により白内障の発生が促進されることが明らかとなった。動物室の照明による障害としては、従来より眼球網膜の変性が引き起こされることも知られており、長期動物試験における照明のあり方については、再度検討を要するものと思われる。

【まとめ】

- 1) 蛍光灯照明の照度と白内障の発生率との間には明らかに正の相関があり、蛍光灯照明により白内障の発生が促進されることが明らかとなった。
- 2) 蛍光灯照明による白内障の発生には雌雄差が認められ、雄の方が白内障を起こし易いものと思われる。
- 3) 右眼と左眼における白内障の発生率には、差は認められなかった。

○久世 博・和田 功・今泉 和則・堀 正樹・岡庭 梓 (田辺製薬・安全研)

アミノ配糖体系の抗生物質は人や動物において聴覚障害を起こすことが知られている。今回、我々はカナマイシン(以下KMと略す)をイヌに投与し、聴覚障害を惹起させ、聴性脳幹反応(Auditory Brainstem response、以下ABRと略す)検査、血液生化学検査および病理学検査を基に、その病変の進行過程を検索したので報告する。

方法：4ヵ月齢のビーグル(雄4,雌1)にKMを125～500mg/kgの投与量で1日1回、週5回、3～14週間にわたり皮下投与した。

KM投与後、経目的にABRを記録し、血液を採取した。

ABRに変化のみられた時点で投与を中止し、1～8週の回復期間を置き、回復の有無をみた後、剖検した。イヌにヘッドホンを装着し、音刺激装置より発生させたクリック音をヘッドホンを通じてイヌに送り、これに反応して生じるABRを記録した。電極として、頭頂部にプラス電極を、被検耳の耳下にマイナス電極を、そして対側の耳にアースを装着した。今回用いた記録条件は、バンドパスフィルターを50～3000Hz、刺激回数を1000回、刺激頻度を20Hzとし、刺激周波数を8、4、2、1および0.5kHz、刺激音圧を0から80dBHLとした。

成績：KMの投与量、投与回数および各種検査結果を表1に示した。No. 1の動物では13回投与後にABRのすべての波は消失し、8日間の回復期間をおいたが、回復はみられなかった。この動物では、剖検前の血液生化学検査でGOT、GPT、BUN、LDH、CPK、CRNおよびIPの上昇がみられ、剖検所見では腎の退色を認めた。

No. 2の動物では、血液検査を頻繁に実施し、聴覚障害がおきる時期に血液検査で異常が捉えられないかを検討した。その結果、聴覚障害(ABRにおけるI波、II波の波高の低下)の発生する直前にGOT、LDH、CPKおよびBUNの上昇が認められたが、いずれも一過性のものであった。また、剖検所見では、腎の退色を観察した。No. 3では18回投与後から右耳のみにおいて、波高の低下および潜時の延長がみられた。左耳については20回投与後から電位の低下および潜時の延長を認めた。26回の投与を行い、12日間の回復期間を設けたが、休業期間中も電位の低下および潜時の延長は続き最終的には、左右のABRは完全に消失した。この例の剖検所見では、腎の軽度の退色を認めた。また、No. 4および5ではLDHおよびCPKの一過性の上昇がABRの変化に先だって認めら

れた。一方、これらの例では腎に異常はみられなかった。なお、No. 2で行った聴器の病理組織検査では左右の蝸牛のコルチ器の有毛細胞は消失し、この変化に加えて支持細胞の変性崩壊像もみられた。

考察：今回、KMをイヌに125～500mg/kgの投与量で投与することにより、0.5から8kHzの範囲において聴覚障害を認めた。KMの聴覚毒性に関しては、マウス、ラットあるいはモルモット等で調べられているが、聴覚障害の発現しやすいモルモットでは今回とほぼ同程度の投与量で聴覚障害が起きている。従って、今回の成績から、イヌとモルモットを比較した時、KMに関しては、殆どその感受性に差はないものと思われる。中井はモルモットにKMを200mg/kgの投与量で連日皮下投与して、投与18日以降にABRの急速な振幅の減少を報告している。そして、ある投与量まではほぼ正常聴力を示すが、一定量を超過すると急速に、蝸牛障害をおこすことが推定されるとしている。今回のイヌの結果でも、ABRについてはほぼ同様の成績が得られた。500mg/kgの投与量では13ないし14回の投与で障害を認め、250mg/kgの投与量では26回を過ぎて急速に聴覚障害が進行した。一方、125mg/kgの投与量では48ないし71回で聴覚障害が現われた。このことから、KMの聴覚障害には用量相関性があり、イヌにおいて、総投与量では、6500mg/kg前後で聴覚障害が現れるものと考えられた。また、ABRの変化に先立ち、血液生化学検査においてもなんらかの変化を認めていることから、これらの検査は聴覚障害検索の重要な指標となりうると思われる。

表1 カナマイシンを皮下投与したイヌの各種検査成績

動物 番号	投与量 (mg/kg)	投与 回数	ABR	血液生化学検査						腎尿管上皮 の変性壊死	
				GOT	GPT	BUN	LDH	CPK	CRN		IP
1	500	13	◎	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	◎
2	500	14	◎	↑	*	↑	↑	↑	*	*	-
3	250	26	◎	*	*	↑	*	↑	*	*	○
4	125	48	◎	*	*	*	↑	↑	*	*	*
5	125	71	◎	*	*	*	↑	↑	*	*	*

変化なし * 上昇 ↑
 中等度の変化 ○ 検査せず -
 高度の変化 ◎

第 1 日

示 説 演 題

三森国敏 (残留農薬研), F.A. Talley, M.R. Elwell (U.S. National Toxicology Program).

マウスの精巣上体における自然発生腫瘍は極めて稀であり、文献的には神経鞘腫、未分化肉腫、脂肪腫および血管肉腫の発生が報告されている。マウスの精巣においては、Leydig細胞腫(間細胞腫)が自然発生することが知られているが、マウスの精巣上体にこの種の腫瘍が発生したという報告はない。今回、我々はB6C3F1マウスの精巣上体にLeydig細胞腫に酷似する腫瘍を認めたので、その病理形態学的特徴を報告する。

精巣上体の間細胞腫は、米国 National Cancer InstituteおよびNational Toxicology Program における2年間慢性毒性・発癌性試験に使用された46,752例のB6C3F1雄マウス中6例に認められた。6例中5例は、表1に示すように、5種類の化学物質の長期試験における投与群に発生した。しかし、これらの試験においては、生殖系腫瘍は誘発されなかったことから、認められた精巣上体腫瘍は自然発生性のものとみなされた。6例中5例の動物は2年目に最終殺処分され、残る1例は92週齢で切迫殺の転帰をとった。肉眼的には、3例の腫瘍は精巣上体の片側性白色結節(1~4mm)として観察された。6例の動物の精巣には、腫瘍性病変は全く観察されなかった。

組織学的には、これらの腫瘍は、精巣上体間質における腫瘍細胞の結節性ないしびまん性増殖を特徴とするものであった。殆どの腫瘍細胞は、多数の空胞を細胞質に含む大型細胞(空胞細胞)ないし好酸性細胞質を有する大型細胞(好酸性細胞)であった。これらの細胞以外に、好塩基性細胞質を持つ小型細胞

(好塩基性細胞)およびリポフスチンと思われる黄褐色色素を有する細胞(色素沈着細胞)も頻度は少なかったが認められた。6例の腫瘍は、好塩基性細胞と好酸性細胞より構成されるものから全ての細胞型より構成されるものまで様々であった。好酸性細胞および空胞細胞の形態は、ラットやマウスの精巣間細胞腫に見られる腫瘍細胞に酷似していた。腫瘍細胞による精巣上体被膜を破壊するような増殖や精巣ないしその他の組織への転移は、これらの腫瘍には認められなかった。

電子顕微鏡的には、光顕下で認められた好酸性細胞と空胞細胞は大型の円形ないし楕円形の淡明核を有し、細胞質内には小管状クリステを有する豊富なミトコンドリアが観察された。これらの腫瘍細胞の細胞膜には、デスマゾームが頻りに認められた。空胞細胞においては、さらに細胞質内に多数の脂肪滴が見られた。

ラットおよびマウスの精巣間細胞腫についての電子顕微鏡を用いた形態学的研究は既にいくつか報告されている。その形態学的特徴としては、腫瘍細胞内における多数の脂肪滴の出現、豊富な粗面小胞体、小管状クリステを有する豊富なミトコンドリアおよびデスマゾームがあげられている。今回の観察で得られた組織学および電子顕微鏡的所見は、既に報告されている精巣間細胞腫のそれらに酷似するものであり、認められた6例の精巣上体腫瘍の発生母地は精巣間細胞腫のそれと同一であることが示唆された。

Table 1. Treatment, age at death, and tumor cell type in mice with epididymal interstitial cell tumors.

Animal Number	Chemical Studies	Experimental Group	Age at Death (wk)	Tumor Cell Types*
1	Nalidixic acid	Treated	92	E, V, P
2	Chlorpheniramine maleate	Treated	113	B, E, V, P
3	3-amino 9-ethylcarbazole	Treated	101	B, E, V, P
4	Ziram	Treated	110	B, E
5	Malonaldehyde, sodium	Control	110	B, E, V
6	Glycidol	Treated	114	B, E, V

* E = eosinophilic cell; V = vacuolated cell; P = pigmented cell; B = basophilic cell.

○大石裕司, 藤平司郎, 松本正博, 森井外吉* (藤沢薬品・安研病理, 関西医大・2病*)

マウス・ラットの下垂体腫瘍は, その大部分が前葉にみられ数多くの研究者により, 詳しく報告されている。一方, 中葉の腫瘍に関する報告は極めて少なく, また, 内分泌学的側面からの研究も殆ど報告されていない。

今回, 我々は老齢のマウスおよびラットに計5例の自然発生下垂体中葉腫瘍を認めたので, その病理組織学および免疫組織学的観察結果を報告する。

(材料および方法)

症例は, 医薬品の発癌性試験に供された対照群のCrj:C57BL/6 (Case 1), Crj:B₆C₃F₁ (Case 2)系のそれぞれ1例の雌マウスおよびJcl:SD系の雄ラット3例 (Case 3-5)である。飼育環境は通常のバリアーシステムで飼料 (CA-1) と上水道水を共に自由摂取させた。マウスは101~107週齢, ラットは98~113週齢で屠殺し, 諸臓器・組織を10%中性緩衝ホルマリン固定, パラフィン包埋し, HE染色を施し観察した。また, 下垂体に関してはACTH, α -MSH, β -MSH, γ -MSHおよび β -エンドルフィンを用いて免疫組織学的に染色し, より詳細な観察を加えた。

(結果)

1) 肉眼的所見

マウス・ラットのいずれの例においても, 通常の下垂体前葉腫瘍にみられるように腫大あるいは暗赤色を呈していたのみで, 下垂体中葉腫瘍としての特異な変化は認められなかった。

2) 病理組織学的所見

Case 1: 腫瘍細胞は, 正常中葉細胞に似た淡染色性の明るい細胞質を有しているが, やや大型化していた。結節状に増生した腫瘍は中央部に前葉由来の腫瘍と同様に血管洞の拡張がみられ, 周囲の前葉を圧迫し, 一部後葉に浸潤していた。

Case 2: 腫瘍は, より大型の紡錘~円柱状の細胞から成り, 索状構造を呈し, 前葉および後葉の両方向に圧迫増生していた。また, 腫瘍内には, 少数の核分裂像も散見された。

Case 3: 腫瘍細胞は正常中葉細胞に比べやや好酸性を増し, 一部では大型の異型性を有する細胞も散見された。また, 嚢胞状の血管洞の拡張も認められ, 前葉に浸潤増生していた。

Case 4: 下垂体のほぼ2/3を占める大きな腫瘍は, 正常中葉細胞によく似た細胞と大型の空胞を持つ細胞から成り, 中央部に繊毛上皮から成る嚢胞や一部に甲状腺様のコロイドを満

たした嚢胞構造も認められた。

Case 5: 腫瘍はCase 3と同様のやや好酸性の細胞質を有する細胞から成り, 一部にCase 4に見られた空胞細胞巣と嚢胞構造も認められた。また, 腫瘍内には核分裂像も少数みられ, 前葉に浸潤増生していた。なお, この例では前葉に小さな腺腫も随伴していた。

3) 免疫組織学的所見

マウス・ラットのいずれの中葉腫瘍においても, 中葉細胞を特徴づけるACTH, α -MSH, β -MSH, γ -MSHおよび β -エンドルフィンの陽性~弱陽性所見が認められたが, 正常中葉細胞に比べその染色性はやや弱いものであった。一方, Case 4, 5にみられた空胞細胞は, いずれの抗体によっても染色されなかった。

(まとめ/考察)

マウス・ラットの下垂体中葉腫瘍は正常中葉細胞に似た細胞から成るが, 一部では好酸性を増すかあるいは大型化し, 少数の核分裂像もみられた。腫瘍の多くは前葉や後葉を圧迫もしくは浸潤性に増生していた。なお, Berkvensら(1980)はラットの中葉腫瘍の特徴として血管洞周囲に淡明化層を形成するとしているが, 我々の観察ではいずれの例においてもそれは認められなかった。

これらの中葉腫瘍に関しての免疫組織学的報告は少なく, ラットにおいてMcCombら(1984)がACTHおよび α -MSHの陽性所見を認めているにすぎない。今回, ラットだけでなくマウスにおいても正常中葉細胞と同様に腫瘍細胞にPOMC(proopiomelanocortin)を前駆体とするACTH, α -MSH, β -MSH, γ -MSHおよび β -エンドルフィンが弱いながらも染色される事を明らかになった。従って, これら中葉腫瘍細胞は正常中葉細胞とはほぼ同じ内分泌機能を維持していることが示唆された。しかし, Capenら(1967)がイヌで報告しているような中葉腫瘍からのACTHの過剰分泌による副腎皮質の過形成などの他臓器への影響は我々の観察例ではみられなかった。

○山中俊光、後藤鋼星、佐藤良一、稲津水穂、小林孝好（ヘキストジャパン医薬総合研究所）

（緒言）

ラットにみられる脳腫瘍は、長期飼育、慢性毒性試験等において、Wistar系、Sprague-Dawley系ラットをはじめとして多くの系統でその自然発生が報告されているが、発生頻度は低いものである^{1,2)}。Wistar系ラットにおいては、髄膜腫、膠細胞腫、神経鞘腫の発生例がみられ、髄膜腫については、Granular cell tumor等の詳細な報告がある^{3,4)}。これらの報告例はいずれも12ヶ月以上の老齢動物であり、若齢ラットの報告はみられない。

今回、我々は、10週齢の若齢Jcl:Wistar系雄ラットの1例に自然発生した髄膜腫を認め病理組織学的に検索したので報告する。

（材料と方法）

今回検索した動物は、10週齢 Jcl:Wistar系雄ラットで、亜急性毒性試験に供した被験薬物中間用量投与群の1例である。ラットは、5週齢で購入し、試験期間終了時までバリアシステムの動物室において飲水および飼料を自由に摂取させ飼育し、10週齢時に計画屠殺した。

屠殺後、全臓器は10%ホルマリン液で固定した。固定後、採取した脳は、常法に従いヘマトキシリン-エオジン染色、PAS反応、鍍銀染色標本を作製し観察した。また、10%ホルマリン液で固定された脳の一部分をオスミウム酸で後固定し、エタノール脱水後、電子顕微鏡用樹脂に包埋、超薄切片を作製し腫瘍部の電子顕微鏡学的検索を行なった。さらに、パラフィン切片より、Vimentin, Glial Fibrillary Acidic Protein(GFAP), Neurofilament(NF), S-100 蛋白質(S-100), Von Willebrand Factor (F-VIII)の局在を免疫組織化学的に検索した。

（結果）

この動物の一般状態には、試験期間終了時まで神経学的な変化は観察されなかった。

腫瘍塊は、大脳縦裂脳梁上部の軟膜部に前額断面で直径約1mm大の腫瘍塊として認められた。

光顕的には、腫瘍細胞には大きな類円形の淡明な核を有した明るい細胞質の大型細胞とクロマチンに富み楕円形の核を有し均一なエオジン好性の細胞質を有するやや小型の紡錘形細胞の2型が観察された。これらの細胞の一部には空胞がみられた。いずれの腫瘍細胞においても

細胞質にはエオジン好性およびPAS陽性の顆粒は認められず、また核分裂像もみられなかった。この他、やや発達した毛細血管が観察され、この周囲にのみ微細な好銀線維の走行がみられた。これらの腫瘍細胞は塊として認められ、大脳への浸潤増殖像は観察されなかった。

電子顕微鏡学検索では、腫瘍細胞の細胞質同士が互いに入り組んでみられ、Desmosomeが多く観察された。大型腫瘍細胞の細胞質には小器官が少なく、光顕上空胞がみられた部位には脂質がみられ、やや小型の腫瘍細胞の細胞質には豊富な小器官が認められた。また一部の腫瘍細胞の細胞質内に少量の細線維の走行がみられた。腫瘍内に基底膜の存在は観察されなかった。

腫瘍細胞の免疫組織化学的検索では、Vimentin, GFAP, NF, S-100, F-VIIIの局在は認められなかった。

（考察）

今回、10週齢の若齢Jcl:Wistar系雄ラットに認められた脳腫瘍は、軟膜相当部に発生し、大小2型に区別される腫瘍細胞の形態および豊富なDesmosome、さらに免疫組織化学的検索によるGFAP, NF, S-100, F-VIIIの局在が認められなかったことより、本腫瘍は膠腫、神経細胞腫、神経鞘腫、血管芽腫ではなく髄膜腫と診断した。

（文献）

- 1) Keinke G, et al: The incidence of naturally occurring primary brain tumors in the laboratory rat. *J. Comp. Path.* 95:175-192 1985
- 2) Maekawa A, et al: Spontaneous tumors of the nervous system and associated organs and/or tissues in rats. *Gann* 75:784-791 1984
- 3) Hollander C.F, et al: Granular cell tumors of the central nervous system of rats. *Arch. Path. Lab. Med.* 100:445-447 1976
- 4) Mitsumori K, et al: Spontaneous tumors of the meninges in rat. *Vet. Path.* 24:50-58 1987

○ 永岡隆晴、小野寺博志、外館あさひ、前川昭彦、林裕造(国立衛試・病理)

F344ラットなど一部の系統のラット精巣において、間細胞腫が高率に発生する事は良く知られているが、それ以外の腫瘍の発生は極めて稀である。今回我々は、無処置F344及びWistarラットの各一例に、間細胞腫に合併して発生したGonadal stromal tumorと思われる精巣腫瘍を経験したので報告する。

症例 1: 113 週齢 F344/DuCrj ラット。剖検時の精巣は両側とも腫大し(右 5.5 g, 左 3.9 g)、剖面は黄色ないし黄褐色の小葉構造を示していた。組織学的には右精巣の精巣網側近くに、周囲を典型的な間細胞腫の細胞で囲まれ、間細胞腫とは明らかに形態の異なる 5x5 mm の小結節として認められた。同結節と周囲間細胞腫との境界は比較的明瞭であったが、被膜の形成は認められなかった。結節内には、エオジンに富む細胞質と円形でややクロマチンに富み、1-2 個の明瞭な核小体を伴う核を持つ立方状の細胞が腺管構造を形成していたが(写真 1)、一部では腺管構造が不明瞭で、び慢性に増殖する部分もみられた。腺腔は比較的小さく、嚢胞形成はみられず、また所々その内腔にエオジンに好染する硝子物をいれていた。何れの部分でも腫瘍細胞はほぼ同様の形態を示していたが、一部に空胞状に見える豊富な胞体を有する細胞が混在してみられた。腫瘍組織中には核分裂像が稀に散見された。これら腫瘍を構成する細胞は PAS あるいは Alcian blue 染色で陰性であった。尚、連続切片での検索の結果、本病変と精巣網との直接の連絡はみられなかった。左精巣は典型的な間細胞腫であった。この症例では、精巣腫瘍の他に白血病、肺腺腫及び副腎褐色細胞腫が認められた。

症例 2: 103 週齢 Slc: Wistar ラット。肉眼的に右精巣の腫大(3.7g)と左精巣の萎縮(0.9g)がみられた。組織学的には右精巣に周囲を典型的な間細胞腫で囲まれた、11x16mm の結節が認められた。同結節は右精巣の大部分を占め、周囲を圧迫する所見がみられたが、被膜の形成は認められなかった。腫瘍細胞はエオジンに淡染し、一部に空胞状に見える胞体、ややクロマチンに乏しい円形ないし楕円形の核を有する立方ないし円柱状の細胞で、索状に配列していたが真の腺管形成は認められなかった。小血管を取り囲む形の偽柵状配

列が特徴的であったが(写真 2)、偽柵状配列が不明瞭な部分も認められた。核分裂像は比較的よく散見された。尚、本症例では他に、白血病および包皮腺腫瘍が認められた。

考察

症例 1: 精巣において腺腔形成を示す病変の発生は極めて稀である。ラットにおいては間細胞腫内に腺様構造がみられる場合があり、この細胞起源としてセルトリ細胞が考えられることはすでに報告した(Toxicol. Pathol., 15:439, 1987)。本例でみられた腺様構造は、先の報告の見られた病変に一部類似するものの、細胞や腺管の形態、PAS 染色の態度より見て異なる所見も多く、本病変がより腫瘍性の性格を有するものとする。腫瘍細胞が一方で腺様構造をとり、また一方でび慢性に増殖し、かつ間細胞腫の細胞に類似の形態を示す部分もみられることから、セルトリ/ライディッヒ細胞腫の可能性が考えられる。

症例 2: 症例 1 とは異なり本症例においては真の管腔形成はみられず、この所見からは症例 1 との類似性に乏しい。しかし、本症例の特徴的な所見である腫瘍細胞の偽柵状配列からは、Boormanら(ILSI Monogr. Genital System pp. 195-199, 1987)の述べているセルトリ細胞腫と同一の所見と思われる。

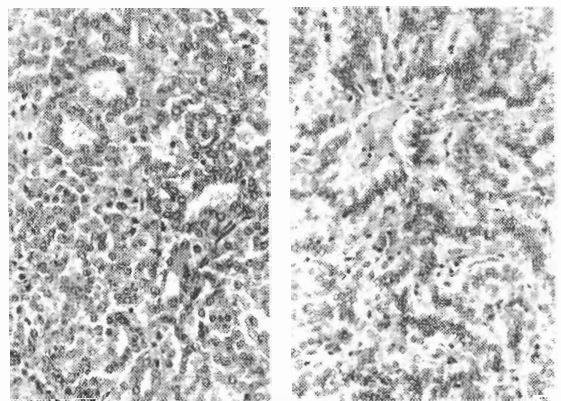


写真 1

写真 2

○岡宮英明・古川文夫・今沢孝喜・下地尚史・藤田和俊・豊田和弘・高橋道人（国立衛試・病理）

胃粘膜における線毛細胞からなる嚢胞の形成は、ヒトにおいては様々な病態の症例で報告されているが、ラットの胃ではこの様な所見の報告はこれまで知られていない。演者らは N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)をイニシエーターとしたラット胃癌モデルの2実験において、胃に線毛を有する細胞からなる嚢胞（線毛細胞性嚢胞）を認めたので報告する。

材料および方法

症例1：Wistar ラット，雄（屠殺時46週齢）

MNNGを100ppmの濃度で飲水中に、同時に食塩(NaCl)を10%の濃度で飼料中に混じり 8週間自由に摂取させ、その後 Ethoxyquinを1%の濃度で飼料中に混じり、32週間摂取させた17匹中の1例。

症例2：Wistar ラット，雄（屠殺時96週齢）

MNNGを100ppmの濃度で飲水中に混じり 8週間与えた後、10%の濃度で NaClを混じった飼料を82週間自由に摂取させた30匹中の1例。

組織標本の作製：胃は摘出後、10%ホルマリンを約8ml注入し、しばらく固定した後、大穹に沿って切開し、濾紙に張りつけて更に固定した。前壁部、小穹部および後壁部に分け、各々の部位を前胃と腺胃を含むよう短冊状に4～5切片に細分し、パラフィン包埋切片を作製、HE染色を施して組織学的に検索した。

電顕標本の作製：線毛細胞の認められたパラフィン切片から樹脂包埋ブロック、超薄切片を作製し、酢酸ウラン・クエン酸鉛の2重染色を施して電顕観察を行った。

結 果

組織所見

症例1：線毛細胞性嚢胞は小穹部の幽門腺部に認められた。粘膜下織に種々の大きさの小嚢胞が形成され、これらの嚢胞内面を覆う1層の上皮の一部に線毛を有する細胞が認められた。その他の所見として、幽門腺粘膜に軽度の異型腺(dysplastic gland)が観察された。

症例2：前壁の固有層と粘膜下織および後壁の固有層に線毛細胞性嚢胞がみられ、いずれも前胃の嚢状縁に近接した部位に存在していた。前壁の固有層に形成され

た小嚢胞は、約1/2が線毛を有する細胞で覆われ、非線毛細胞部には軽度の扁平上皮化生が認められた。粘膜下織の病変は単発性のやや大きな嚢胞で、内面を覆う細胞の約1/3に線毛がみられた。後壁では小さな線毛細胞性嚢胞が固有層にみられた。その他の所見としては、胃底腺部に粘膜下腺腫様過形成が、また、嚢状縁に重層扁平上皮の過形成がみられた。

認められた線毛細胞はいずれも立方～円柱状を呈し、一部の細胞は胞体内に空胞がみられた。また、稀にアポクリン様の分泌細胞が混在していた。症例1では線毛細胞は単層であると思われたが、症例2では線毛細胞の基底側に小型細胞が層状にみられ、多列あるいは重層の配列をしていると思われた。

電顕観察では、両症例の細胞とも基底小体および微小管と思われる構造が認められ、線毛であることが確認された。

考察およびまとめ

Rubioら(1986)は、日本人の慢性消化性潰瘍、限局性の異形成および粘膜内癌137症例の組織について詳細に検討し、48例(35%)の幽門腺に線毛細胞を有する嚢胞あるいは拡張した腺がみられたと報告している。そして、線毛細胞の出現はこのような病態における粘液の貯留に伴った適応性的変化ではないかと考察し、線毛上皮化生と診断している。ラットについては、加齢に伴う自然発生病変としても、また、MNNG投与による胃癌モデルを含む様々な誘発病変においても、このような線毛上皮の出現はこれまで知られていない。しかし、今回、ヒトで報告されたものと類似した線毛細胞の嚢胞が、低頻度ではあるがラットの胃に出現することが確認された。

2例のラットでみられた線毛細胞性嚢胞は、発生部位が特定しておらず、また、他の病変との関連性も明らかではなく、その形成要因については不明である。MNNG処置に関連して発生した病変であることが示唆されるが、組織所見からは明かな腫瘍性的変化とは思われず、粘膜障害およびその修復に関連した化生性的変化であると考えられた。

○李建中, 藤村久子*, 相内聖峰*, 田中薫*, 永田貴久, 永田良一, 河野猪三郎 (新日本科学 毒性病部, *病理部)

実験動物の組織学的検索で胸腺に見られる Thymic cyst (以下cystと記す)は、しばしば遭遇する所見である。人におけるcystは成人、若しくは小児の病的状態で発現することが知られており、その内腔には無構造蛋白質様物質が存在し、cyst壁は胸腺由来の立方上皮、円柱上皮等の上皮細胞から成り、電顕的にcholesterol 顆粒が腔内に突出する症例が報告されている。ラットの場合、加齢に伴い発現し、上皮細胞に境されたcystの内腔に好酸性物質が含まれ、雄に比し、雌に発現率が高いことが報告されている。

今回毒性試験に供したカンクイザルの 286例 (雄性 159例, 雌性 127例) 中の23例 (雄18例, 雌5例) にcyst形成が認められ、その光顕、電顕的観察を行った結果を報告する。

材料と方法

カンクイザルはいずれもインドネシアで捕獲された後、米国にて検査された推定年齢3~6歳で、一定条件下で飼育、毒性試験に供された。常法により剖検後、10%4H性ホルマリン固定、パラフィン包埋、H・E染色、あるいは一部にGiemsa, Azan, PAS 染色を併せて実施した後、検査した。

電顕用材料は光顕用に固定された胸腺組織から切り出し、0.1Mリン酸緩衝液で洗浄後、1.5%グルタルアルデヒド-0.1Mリン酸緩衝液で再固定し、1%オスミウム酸-0.1Mリン酸緩衝液で後固定した。通常の脱水包埋を行い、超薄切片作製後、酢酸ウラン-クエン酸鉛二重染色を施し、透過電顕 (JEM 1200EX・日本電子) で観察した。

結果

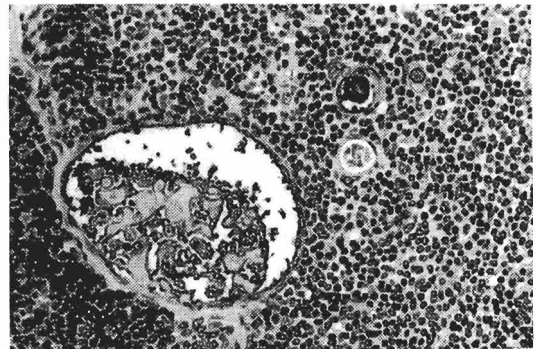
カンクイザルに見られたcystの発現は胸腺の退縮に関連して見られるが、退縮の程度とcystの発現数とは必ずしも一致しなかった。

組織学的にcystは髄質域、皮質と髄質の境界域に大小不同の様々な形状を持って見られ、大きいcyst内腔には好酸性均質性顆粒状物が多く含まれており、また、好塩基性雲絮状のものもあり、中には変性したハッサル小体、マクロファージを含むものも観察された。好酸性顆粒はPAS陽性であり、小さなcystには明らかにハッサル小体が膨化し、cystを形成している像も認められた。Cyst内張りの細胞はクロマチンが極めて疎な長円形、紡錘形の核を有する上皮性細胞より成り、大きなcystでは壁外側に線維増生が認められ、さらに、その周囲には胸腺細胞を囲み網目状に線維が増生していた。他方、cystを形成しない変性したハッサル小体が集まり、強く好酸性化した部も認められた。

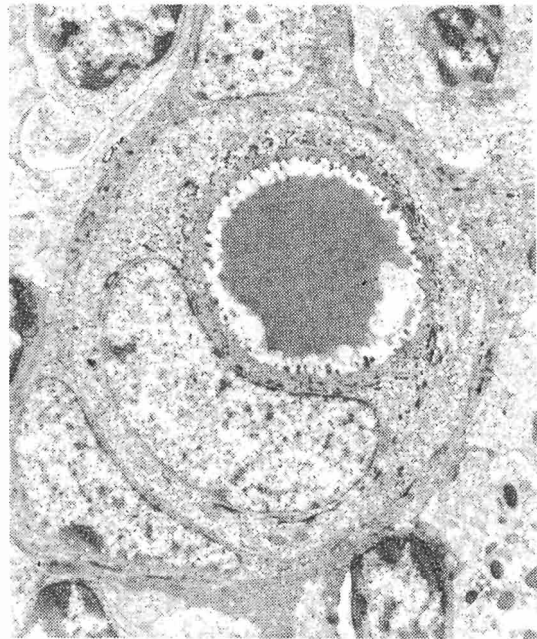
電顕的観察ではcyst壁は1~2層の扁平な上皮細胞からなり、場

所によってはその下層に膠原線維の束が不規則に走行していた。上皮性細胞でcystを形成する細胞は微絨毛様突起を有する特徴を持ち、それらの細胞間はデスマゾームで連結していた。上皮性細胞の細胞質には膠原線維が多数認められているほか、やや拡張した粗面小胞体と遊離リボゾームが散在した。また、膜で覆われた中程度の電子密度をもつ分泌顆粒が少数認められた。Cystの内容物は主に中電子密度の均質な物質であるが、線維状あるいは膜性の物質も含まれていた。

カンクイザルの胸腺に見られたcystの発現は自然発生病変であり、cyst形成例には、退縮を随伴する頻度が高かった。



光顕像



電顕像

荒井昌之¹、舟橋正範¹、長尾静子²、高橋久英² (藤田学園・衛・病理¹、実動²)

はじめに:

1953年英国 Rowell research Institute の outbred rat colony中より偶然発見された先天性無胸腺ラットは、常染色体単一劣性遺伝をする事が知られている。

このヌードラットもヌードマウスと同様に同種及び異種動物由来の組織あるいは腫瘍を比較的容易に移植することが可能とされている。

今回、このラットをもちいて継代培養しているヒト及びハムスター由来の腫瘍細胞株をその背部数カ所に皮下接種し、その増殖型について観察するとともに、シスプラチンによる影響を検索した。方法ならびに材料

ヌードラット (NHL:nu) は1984年愛知ガンセンターより入手、藤田学園実験動物センターにて兄妹交配により維持育成しているものうちより、4-6週令を使用した。動物は、室温 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、照明12時間明暗、オールフレッシュエア12回/時のconventionalな環境下で、基礎飼料(オリエンタルMF)および水を自由に摂取させた。培養腫瘍細胞株は、10%FCS加RPMIあるいはEagle MEMで維持した以下の7種類である。EMO(ヒト子宮体部癌)、ACL(ヒト肺腺癌)、SCL(ヒト肺小細胞癌)、Hela(ヒト子宮頸部癌)、Lawson(ヒト肺小細胞癌)、Luci-10(ヒト肺腺表皮癌)およびTNS-23(ハムスター肝細胞癌)。移植は各腫瘍細胞をMediumに浮遊させ、 5×10^6 細胞の割にヌードラット各3匹の背部4カ所(L:左背部、R:右背部、N:正中上部、T:正中下部)にツベルクリン注射器を用いて接種した。接種後は5日毎に腫瘍の大きさを測定した。さらに同一動物の背部3カ所(L, R, M)にそれぞれSCL, Lawson, Luci-10を接種し、推定腫瘍重量が300mgに達した12日より5日間シスプラチン(日本化薬)1.0mg/kg BWを腹腔内に投与し3-5日毎に腫瘍の大きさを計測した。

結果

EMOは接種後、5日目より測定可能となり以後急激に発育した。接種部位ではTだけが増殖の抑制傾向がみられた。ACL, TNS-23およびSCL, LawsonはいずれもEMOとほぼ同様の発育増殖がみられた。しかし、Hela, Luci-10の増殖は緩やかで、しかもばらつきがみられた。

発生した腫瘍の組織像はほぼ原腫瘍を想定する形態を示した。担癌ヌードラットの生存日数は、発育の急激なEMO, ACL, SCLでは20-30日と短期間であったが、発育の緩やかなHela, Luci-10では60日前後と延長した。

シスプラチン投与を行なうと、LawsonおよびLuci-10が生着した腫瘍部では14日目で相対的平均腫瘍重量はそれぞれ2.7%及び24.5%まで縮小した。しかしSCL接種腫瘍部では45.6%であり、やや縮小傾向は乏しかった。

考察

ヌードラットはヌードマウスに比して大型であり移植面積も大きく、同一個体に対し複数の移植を行なってもよく耐えることのできる動物であり、増殖した腫瘍のサイズもヌードマウスよりはるかに大きく、今後発癌研究のほか、いろいろな分野で利用されることと思考する。

本実験系において腫瘍細胞の増殖は左右背部、正中上部に接種したものがより著明であった。

シスプラチンを用いた同一動物に生着した3種類の腫瘍発育抑制効果について、シスプラチン投与後14日目で腫瘍抑制率は、Lawson:97.3%、Luci-10:75.5%と抑制効果がみられたが、SCLでは54.4%と腫瘍抑制率58%以下で明かな抑制効果が得られなかった。すなわち、同一個体において、移植された複数の腫瘍細胞の抗腫瘍効果あるいは感受性についての比較検索が可能であることが推測された。

今後さらに移植細胞数や抗腫瘍剤の投与方法などを変えてさらに追求を行なう予定である。

分析型走査電子顕微鏡を用いたラット膀胱結石の表面構造の観察およびその構成元素の分析

○今沢孝喜・岡宮英明・篠田和俊・小野寺博志・今井田克己・高橋道人・林 裕造 (国立衛試・病理)

エネルギー分散型X線分析装置(EDX)付走査電子顕微鏡(SEM)は、試料表面の超微形態学的観察と同時に、試料の構成元素の定性、半定量および定量分析を行うことが可能な装置である。このSEM-EDXによる生体試料の観察および分析は、例えば、組織あるいは細胞内の無機物質の局在性、特に金属イオンを含む生体内異物の検索と同定に有効と考えられる。今回、最近7年間に我々の病理部において偶発的に認められたラット膀胱結石の走査電顕による表面構造の観察と同時に元素の定性分析を試み、その結果を蛍光X線分析による測定結果と比較した。

実験材料および方法: 最近7年間に実施された長期動物試験において偶発的に認められたラット膀胱結石5症例について検索を行った。試料の作成は、SEM用試料支持台にニールエナメルあるいはカーボンペーストで結石を固定し、その表面を真空蒸着装置により炭素蒸着後、観察および分析を行った。なお、元素分析は同一部位について3ないし5回繰り返して行い、再現性を確認した。

蛍光X線分析による元素の定性試験は日本食品分析センターに依頼して行った。

結果: Fig.1,2 は膀胱結石のEDXによる元素分析の結果で、代表例の2例を示した。最左端のスペクトルは分析結果とは直接関係のない0ストロープピークである。

Fig.1 は症例3の Donryu ラット雄(77週齢)に多発性にみられたもので、大きさ4mmから15mmの球形のもの数個、表面は白色で顆粒状を呈した結石であった。分析結果は、リン(P)およびマグネシウム(Mg)の高いスペクトルがみられ、他にカリウム(K)とカルシウム(Ca)が検出され、これらのピーク比は他の3例とよく近似し、リン酸アンモニウムマグネシウムを主成分とする結石と考えられた。Fig.2 は症例5の F344 ラット雄(42週齢)に単発性にみられたもので、30 x 19 x 15mmの楕円体、表面は白色でやや脆くチョコレート様を呈した結石であった。他の4例と異なり、PとCaの高いスペクトルがみられ、Mgのピークは低かった。その他、少量のKおよびナトリウム(Na)が検出され、リン酸カルシウムを主成分とする結石と考えられた。

Table 1 は蛍光X線分析の結果である。EDXによる分析結果と一致してP、Mg、KおよびCaが検出され、Caの量は症例によって差がみられた。

考察: 5例のラット膀胱結石についてSEM-EDXによる元素分析を試みた。その結果、これらの結石はP、Mg、K、Caが構成無機成分であることが判明し、蛍光X線分析の結果と一致した。また、SEMによる観察では、表面構造は症例によって様々であり、結石形成状況の多様性を示すものと思われた。

このようにSEM-EDXを用いることにより、表面構造の微細観察と同時に、その構成元素の分析が可能であり、SEM-EDXを病理学分野に取り入れることにより、有効な検索法となると考えられた。

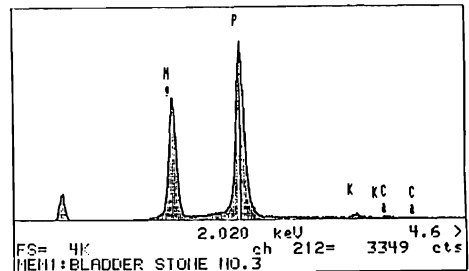


Fig.1

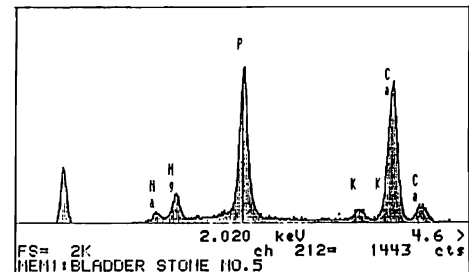


Fig.2

Table 1 Results of Qualitative X-ray Fluorescence Analysis of Rat Bladder Stones

Element Sample No.	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca
1	-	+++	-	-	+++	-	-	++	+++
2	-	+++	-	-	+++	-	-	++	++
3	-	+++	-	-	+++	-	-	++	+
4	-	+++	-	-	+++	-	-	++	++
5	-	+++	-	-	+++	-	-	++	+++

+++ : > 1%, ++ : 0.01-1%, + : < 0.01%, - : Not detected

○北村 剛 (横浜南共済病院病理)、北村 均・蟹沢成好 (横浜市大第 1 病理)

1976年Atwoodらがヒトの黒色甲状腺(black thyroid)の 1 症例を報告して以来、症例や動物実験の報告が散見され、塩酸ミノサイクリン(ミノマイシン)投与との関係が明かとなっている。しかし、その沈着機序については今なお議論の多いところであり、臨床的には皮膚の色素沈着が問題となっているが、甲状腺機能との関連性については不明である。今回われわれは、黒色甲状腺(black thyroid) 5例と、甲状腺のみならず頭蓋骨内面、肋軟骨、大動脈内膜等にも黒色素沈着を来した 3例を経験したので、甲状腺及び甲状腺以外の部位の色素沈着の機序についても考察を加え報告する。

症例: 表 1 に示す。上段case 1 から 5 は black thyroid の 5 例で、下段case 1 から 3 は全身性に色素沈着を来した 3 例である。2例を除き pseudomonas aeruginosa に対して 3.8g から 500g 以上の塩酸ミノサイクリンが使われており、投与期間は 20 日から 1 年に渡っている。いずれも皮膚の色素沈着や臨床的な甲状腺低下症を認めず、剖検にて初めて色素沈着が見出されている。甲状腺の色調は黒褐色から灰黒色を示し、重量は 6.5g から 21g (平均 15g) で一般に萎縮性である。濾胞のコロイドは減少し、濾胞上皮は、濾胞内への脱落が目だった。沈着色素は顆粒状黒褐色で、主として濾胞上皮の胞体にびまん性に沈着していた。

組織化学: 沈着色素の性状を調べる目的でホルマリン固定、パラフィン切片にて種々の組織化学染色を行い、表 2 の結果を得た。症例により染色程度に若干の差異が見られたが、いずれもリボフスチン染色である Schmorl 反応及びメラニン染色が陽性であり、沈着色素あるいはその周囲に酸性ムコ多糖類が見られた。

電顕所見: 沈着色素が酸性ムコ多糖類体と考えられる無構造物質と共存して二次ライソゾーム内に見られた。

考察: 実験的に塩酸ミノサイクリンにヨードと過酸化水素を反応させると黒色素沈着が生ずることが知られており、沈着色素の一部はミノサイクリンそのものであると考えられる。しかし組織化学的に色素はメラニンおよびリボフスチンの性格を有し、薬物の作用により組織において色素顆粒が新たに作られた可能性が高い。ミノサイクリンが superoxide dismutase 阻害作用を有することが知られており、特にチロシンの豊富な甲状腺におい

ては、チロシンの酸化が生じ、DOPA を経てメラニンが形成されたことが推定される。甲状腺以外の沈着部位はいずれも嫌気性代謝の優位な組織であり、そこでは酸性ムコ多糖類が豊富に存在する。チロシンは TCA 回路を経て代謝され、嫌気性代謝の優位な組織ではチロシンの代謝が遅く、甲状腺と同様にミノサイクリンの superoxide dismutase 阻害作用によりチロシンの酸化以下の過程が生じたものと考えられる。特に大動脈粥状硬化巣周囲は過酸化脂質が豊富で、色素沈着の強い部位と一致する。

結語: 黒色素沈着症は塩酸ミノサイクリンの superoxide dismutase 阻害作用を基盤とし、チロシンの酸化によるメラニン形成を主体としたものである。

表 1

CLINICAL FEATURES AND TOTAL DOSAGE OF MINOCYCLINE HYDROCHLORIDE IN FIVE CASES OF BLACK THYROID AND THREE CASES WITH GENERALIZED BLACK PIGMENTATION

Case	Age Sex	Basic disease	Cause of death	Bacteria	Amount & Duration of Minocycline
1.	59/F	lung tbc.	resp. failure	not exam	unknown
2.	40/M	bronchiectas.	pneumonia	Pseud.	3.8 g 20 D
3.	64/F	ovarian ca.	pneumonia	Pseud.	47.6 23B
4.	72/F	panbronchiol.	pneumonia	Pseud.	74.2 37I
5.	76/F	erythroleuk.	pneumonia	Pseud.	31.7 15B

1.	49/M	syphilis	brain infarct		148.4 63 M
2.	76/F	bronchiectas.	pneumonia	Pseud.	55.6 263 D
3.	75/F	bronchiectas.	pneumonia	Pseud.	500 42 M

tbc.: tuberculosis, ca.: cancer, Pseud.: Pseudomonas aeruginosa

表 2

STAIN CHARACTERISTICS OF THE PIGMENTS

Stains	Results	Character of pigments
Hematoxyline-Eosin	gray-brown black	
Kardasewitsch	not altered	formalin pigment (-)
Schmorl	blue	lipofuscin (+)
Masson	black	melanin (+)
Bleaching	disappeared	melanin confirmed
PAS	purple red (+)	neutral MPS (+)
Alician blue	negative	mucin (-)
Aldehyde fuchsin	purple	acid MPS (+)
Berlin blue	(-) - (+)	iron (-) - (+)
Kossa	(-) - (+)	calcium (-) - (+)

○ 中村 厚, 白井智之, 朝元誠人, 萩原昭裕, 伊東信行 (名古屋市・医一病)

実験動物における腺腫瘍のうち腺房由来のものは 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4-HAQO) や azaserine によって誘発されることはよく知られている。芳香族アミンである 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMA B) は結腸、小腸、膀胱、外耳道腺、包皮腺および皮下組織など多臓器に発癌性を示すが、今までに腺腫瘍の発生は報告されていない。最近、我々は DMA B を用いたラット前立腺癌誘発を目的とした実験において、腺房由来の腫瘍の発生を観察した。今回は 2 つの実験において認められた腺腫瘍について報告する。

<材料と方法>

動物は雄の F344 ラット (日本チャールス・リバー) を用い、DMA B は投与液量が 1ml/kg となるようにコーンオイルに溶解し、各実験とも動物の背部皮下に投与した。

実験 1

3 週齢のラットに毎週 1 回、合計 3 回にわたり DMA B 150mg/kg を皮下投与し、実験 18 週からは 4 群にわけ、第 1 群では 20% コーンオイルを、第 2 群では 0.01% β -カロチンを、第 3 群では 20% コーンオイル + 0.01% β -カロチンを、第 4 群 (対照群) では 4.5% コーンオイルをそれぞれ半合成飼料に添加した飼料で実験終了時まで飼育した。

実験 2

6 週齢の動物を 3 群にわけ、3 週間 0.75ppm Ethinyl estradiol 含有飼料 - 2 週間基礎飼料 (オリエンタル酵母: MF) のサイクルを第 1 群では 10 回、第 2 群では 5 回、第 3 群では 3 回繰り返した。毎回基礎飼料に戻した 2 日後に DMA B を第 1 群には 50mg/kg、第 2 群には 100mg/kg、第 3 群には 167 mg/kg 皮下投与した。投与は第 1 群では 10 回、第 2 群では 5 回、第 3 群では 3 回行ない、各群とも DMA B の総投与量が約 500mg/kg/rat となるようにした。

実験 1 および 2 において動物は実験 60 週で屠殺・剖検し、腺臓は他の臓器・組織とともに 10% 中性緩衝ホルマリンに固定した。その後、常法に従いパラフィン包埋、H E 染色標本を作製し、鏡検した。腺臓の増殖性病変は小増殖巣 (foci)、結節 (nodule)、腺腫 (adenoma) および上皮内癌

(carcinoma in situ) の 4 種類に分類した。小増殖巣は病変部が直径 1mm 以下、結節は直径 1~3mm、腺腫は直径 3mm 以上および上皮内癌は細胞および核異型のみられるものとした。

実験 3

9 週齢のラットに DMA B 200mg/kg を 1 回皮下投与し、投与後 24、72 および 168 時間に各 2 匹ずつの動物を屠殺・剖検し、腺臓を病理組織学的に検索した。

<結果>

実験 1 においては、腺臓の腺房細胞の小増殖巣および結節が第 2 群の 1 例を省いて全例に、腺腫は第 1~4 群で 4 例 (22%)、3 例 (19%)、10 例 (53%) および 8 例 (47%) に観察された。上皮内癌は各群を通して 4 例に観察された。各群における増殖性病変の出現に差は認められなかった。

実験 2 においては腺房細胞の小増殖巣の出現には各投与量間 (第 1~3 群) に差は認められなかったが、結節以上の病変は第 2 群と第 3 群の 1 回の投与量が多い群で増加し、結節の出現頻度は第 2 および 3 群で有意に増加した。

組織学的には小増殖巣は好塩基性あるいは好酸性の腺房細胞から構成される 2 種類が認められ、結節あるいは腺腫は好酸性腺房細胞より構成されていた。癌は全て中分化あるいは低分化型上皮内癌であった。

実験 3 においては、DMA B 投与後 24 時間では腺臓において組織学的な変化は観察されなかったが、72 時間後には腺房細胞の変性・壊死が脂肪壊死を伴って観察された。投与後 168 時間ではこれらの変化に回復傾向が認められた。

<結論>

DMA B によって誘発される腺腫瘍は腺房細胞由来であり、4-HAQO や azaserine によるものと同じであった。DMA B の投与濃度が高い場合に腫瘍発生が高く、腺房細胞の変性・壊死が腫瘍発生に大きくかかわっていることが示唆された。

○村井 隆^{1,2}、森 聖^{1,2}、外山素子¹、武内康義¹、大原忠雄¹、牧野 進¹、
福島昭治² (¹ シオノギ・油日ラボ、² 名市大・一病)

我々は、第46回日本癌学会総会において水腎症(SD-C系)ラットにN-butyl-N-(4-hydroxy-butyl)nitrosamine (BBN)を飲水投与すると高率に腎盂腫瘍が誘発されることを報告した。しかし、その転移は全く認められなかった。一般に実験的尿路上皮癌の悪性度はラットよりもマウスの方が高いといわれているが、マウスでは、転移能を有する腎盂癌を発生させたという報告はなされていない。

そこで、水腎症が30%前後自然発生するNON系マウスを用いて、転移能をもつ腎盂癌の早期誘発を試みた。対照群として水腎症が自然発生しないDS系およびB6C3F₁系マウスを用いた。

材料および方法

実験1：動物はNON系、DS系(油日ラボラトリー)およびB6C3F₁系(日本チャールス・リバー)の6週齢の雄マウスのそれぞれを23、17および19匹用いた。これらのマウスに0.05%BBN水溶液を12週間投与後、8週間休薬した。実験開始20週後に屠殺し、腎および膀胱を採取した。

実験2：6週齢のNON系雄性マウス18匹に0.05%BBN水溶液を4週間投与後、32週間休薬した。また、対照群(15匹)には水道水のみを飲水させた。実験開始36週後に屠殺し、腎および膀胱を採取した。

これらの腎および膀胱を病理組織学的に検査し、腎盂癌と膀胱癌の発生を検討した。

成績 (表1)

実験1：NON系マウスにのみ腎盂癌は観察され、その発生率は23例中8例(35%)であった。平均発生期間は14.5週であり、さらに腎盂癌の8例のうち1例は肺に転移をともなっていた。DSとB6C3F₁系マウスでは腎盂癌は観察されなかった。また、膀胱癌の発生率と平均発生期間はNON、

DSおよびB6C3F₁系マウスでそれぞれ、22例中19例(86%)と19.0週、17例中16例(94%)と18.9週、および19例中18例(95%)と19.5週であった。なお、水腎症の発生率はNON、DSおよびB6C3F₁系マウスでそれぞれ、23例中19例(83%)、17例中13例(76%)および19例中12例(63%)であった。

実験2：腎盂癌と膀胱癌は、NON系マウスのBBN投与群でのみ観察された。腎盂癌の発生率と平均発生期間は18例中5例(28%)と21.2週であった。腎盂癌の5例のうち3例(60%)に肺や局所リンパ節への転移や腹腔内播種を認めた。また、膀胱癌の発生率と平均発生期間は15例中3例(20%)と35.6週であった。なお、水腎症の発生率はBBN投与群で18例中3例(17%)であり、対照群で14例中2例(14%)であった。

結論

1. BBN投与によりNON系マウスにのみ腎盂癌を誘発できた。
2. その腎盂癌の平均発生時期は膀胱癌のそれよりも早期であった。
3. 転移性腎盂癌を誘発するにはBBN投与期間が短く、休薬期間が長い方が良いことが明らかにされた。

表1. 腎盂癌と膀胱癌の発生率と平均発生時期

実験系	観察期間	腎盂癌	膀胱癌
1	NON	12/8 ^a 35%, 14.5週	86%, 19.0週
	DS	12/8 0%	94%, 18.9週
	B6C3F ₁	12/8 0%	95%, 19.5週
2	NON	4/32 28%, 21.2週	20%, 35.6週
		0/36 0%	0%

a: BBN投与期間/休薬期間(週)

○高橋 智, 加藤 俊男, 田中 光, 広瀬 雅雄, 福島 昭治(名市大・医一病)

(はじめに)

1-(2-hydroxyethyl)-1-nitrosourea (HENU) はニトロソ化合物の中でもかなり発癌性の強い物質である。この化合物はラットに飲水投与,あるいは強制胃内投与することにより多臓器にわたって発癌性を発揮することが報告されている。今回我々はHENU強制胃内投与によるラット発癌の再現性について検討した。

(方法)

6週令雄のF344ラット52匹を用い, それらを3群に分けた。第1群には20mg/kg b.w.のHENUを週2回強制胃内投与し, 18週間にわたって計36回投与を行った。第2群には10mg/kg b.w.のHENUを第1群と同様の期間投与し, 第3群には溶媒であるcitrate bufferのみの投与を行った。HENU投与群の全例が死亡した時点で第3群の全例を屠殺剖検し, 全身諸臓器を病理組織学的に検索した。

(結果)

体重変化は3週目より第1群, 第2群とも第3群に比して有意に減少傾向を示した。最初の死亡例は第1群では14週目, 第2群では17週目でみられ, 死亡原因はともに胸腺悪性リンパ腫であった。平均生存期間はそれぞれ22.4週, 27.4週であった。第3群では全経過を通じて途中死亡例は認められず, 41週にて全例を屠殺した (TABLE 1)。

病理組織学的に検索してみると第1群, 第2群とも胸腺悪性リンパ腫が比較的高頻度にみられ, それぞれ22例中15例 (68.2%), 20例中15例 (75.0%)の発生であった (TABLE 2)。この胸腺悪性リンパ腫は肝, 脾, リンパ節などに転移を認め, 第1群では肝転移3例, 脾転移7例, リンパ節転移6例, 第2群では肝転移6例, 脾転移12例, 肺転移2例, 腎転移1例, リンパ節転移10例であった。他の腫瘍性病変としては, 第1, 2群に胸腺の悪性線維性組織球腫, 前胃で扁平上皮癌, 神経

線維腫, 小腸で腺癌, 肺腺癌, 甲状腺癌腫, 白血病, 胸腔内で悪性中皮腫, 悪性神経鞘腫, 腹腔内で悪性神経鞘腫, 平滑筋腫, 乳腺線維肉腫, 線維腫などが散見された。

(結語)

Lijinskyらの報告ではF344ラットにHENUを強制胃内投与すると, 高濃度群, 低濃度群でそれぞれ胸腺15%, 0%, 前胃50%, 25%, 腺胃15%, 10%, 小腸10%, 15%, 大腸20%, 15%, 肺65%, 55%, 甲状腺25%, 25%, 造血系30%, 15%, 骨15%, 10%の腫瘍発生がみられている。HENU全投与量は, 彼らの報告では高濃度群:350mg, 低濃度群:168mgであるのに対し, 今回の実験では高濃度群:167mg, 低濃度群:89mgであった。HENU全投与量がほぼ同じである前者の低濃度群と今回の高濃度群を比較すると, 胸腺腫瘍の発生頻度に著明な差がみられ, 他臓器の腫瘍発生においても, その分布に差を認めた。

以上, HENUはラットに対して強力な発癌性を発揮することが確認されたが, その標的性の再現性は認められず, 現在その差異について検討中である。

TABLE 1. Survival of Rats Given HENU

compound and dose	No. of survivors at week					
	0	10	20	30	40	50
HENU						
20mg/kg b.w.	22	22	10	2	0	
10mg/kg b.w.	20	20	17	6	1	0
citrate buffer	10	10	10	10	10	0

TABLE 2. Histological findings

Treatment	Effective No. of rats	No. of animals with tumors							
		Thymus		Fore-stomach	Small intestine	Lung	Thyroid gland	Hematopoietic system	Others
		lymphoma	MFH						
HENU									
20mg/kg b.w.	22	15	0	1	1	1	1	0	5
10mg/kg b.w.	20	15	1	1	3	1	0	1	3
citrate buffer	10	0	0	0	0	0	0	0	0

○田中薫，永田貴久*，永田良一*，河野猪三郎*，相内聖峰，藤村久子（新日本科学・病理部，毒性部*）

毒性試験にビーグルが使用されることは比較的多いことと思われるが、H.E.染色が施された組織切片を光学顕微鏡にて検索しているうちに、副甲状腺内に独特な構造を示す細胞集団が時々観察されることに気づいた。

すなわち、写真に示すごとく、多数の細胞が集団をなしている。核はクロマチンに濃く染まり、重なってみえることもある。時々核は楕円形を示す傾向があり、また、核が集団で流れるようなパターンを示すこともある。この細胞集団内で個々の細胞境界は不明確であり、胞体はH.E.染色にて淡いエオジン好性を示す。

この細胞集団の出現率は、現時点で得られている数値を示せば、成犬ビーグルの雄で35例中8例、雌で36例中9例、幼若ビーグルでは雄で22例中6例、雌で20例中4例であった。但し、この数値は、出現細胞の数の程度は無視し、少しでも認められたものを陽性と判定して得られたものである。

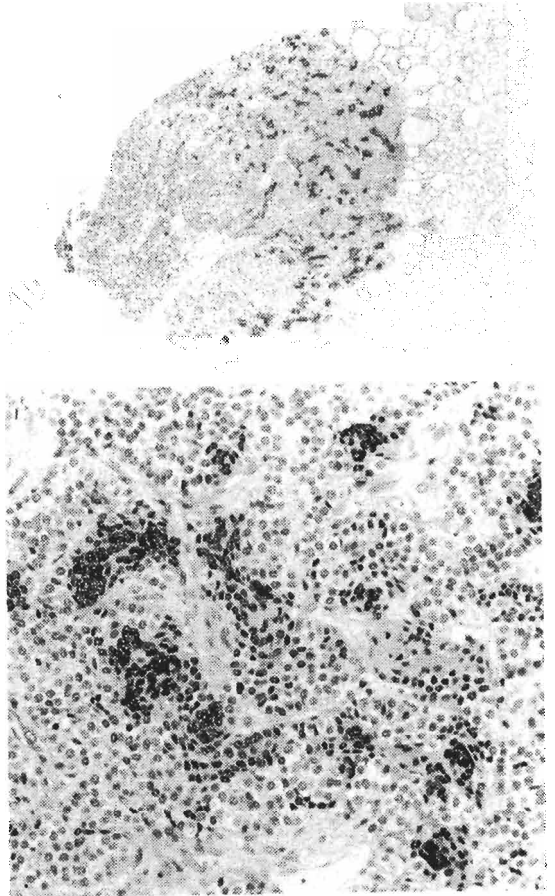
本細胞集団は、死亡例に特に多く認められるという傾向はなかった。同一切片上にて二個副甲状腺が見られた時に、一方の副甲状腺には多数本細胞集団が観察されたにもかかわらず、もう一方の副甲状腺には全く見られなかった場合があるので、一般的な常識から考えれば、全身的な要因によって本細胞集団が発生する可能性は少ないであろう。元来、甲状腺は圧迫等によるアーティファクトの出現しやすい臓器であるが、本細胞集団が認められる副甲状腺の周囲を囲む甲状腺組織が全くアーティファクトを示さない場合もあったので、少なくとも圧迫等の物理的要因によるアーティファクトとは考えづらい。

本細胞集団は、副甲状腺の周辺部分に比較的多く認められる場合がある。普通は、

写真に示すようにバラバラに出現するのであるが、稀にそれら集団が互いに融合し、網目状に分布する場合もあった。

本細胞集団は、主にビーグルの副甲状腺に観察されたのであるが、稀に、似た構造が、ラットやサル等でも見られた。また、ごく稀ではあるが、類似の組織像が、下垂体に認められたこともあった。

本細胞集団については、複数の病理学者にコンサルトしたのであるが、今のところ手がかりは得られていない。まず、種々の染色を試み、また、電顕的観察も行いたいと思っている。学会場にて、何らかの御意見を御教示いただければ幸いである。



○吉田 哲、藤木隆平、穴戸隆男、堀 俊治、花田貴宣、三木寿雄（山之内製薬（株）安全性研究所）

SDラットの下垂体前葉には生後1年を過ぎる頃から hyperplasiaが見られ、さらに年齢とともに adenomaが増殖することが知られている。

演者らは、ラットの下垂体前葉に自然発生する adenomaの初期病変について病理学的に検討している。今回は、若齢SDラットの下垂体前葉について連続切片標本を作製し、増殖性病変の有無について観察したので、その概要を報告する。

【実験材料および方法】

1. 実験動物および飼育条件

日本チャールス・リバー・欄より雄雄Crj:CD (SD)ラットを6週齢で購入した。動物は、湿度 23 ± 2 ℃、相対湿度 55 ± 10 %、換気回数約10回/時間、照明時間12時間(7:00~19:00)に設定したバリアー飼育室内でステンレス製網ハンガーケージに各2匹収容した。高圧滅菌した市販の固形飼料(CRF-1)と紫外線滅菌した上水道水を自由に摂取させた。

2. 実験方法

動物は、生後11、16、20および24週齢で雌雄各20例ずつ、ペントバルビタール腹腔内投与による麻酔後、放血して屠殺解剖した。下垂体は頭蓋骨につけたまま燐酸緩衝10%ホルマリンで固定後分離し、常法に従ってパラフィンに包埋した。前葉を中心に200~300枚/動物の連続切片(厚さ約5 μ)を作り、5枚毎にHE染色して鏡検した。

【実験結果】

いずれの例にも肉眼的には異常が見られなかった。

下垂体の連続切片を顕微鏡的に精査すると、hyperplasiaおよびadenomaに先行すると考えられる初期病変が認められた。それら病変はほぼ均一の細胞集団から構成されていた。病変のサイズと構成細胞によってこれらを以下のように分類した。

病巣のサイズによる分類

Focal lesion: 長径が0.1 mm(あるいは細胞数10個以上の集団)から0.3 mm未満の病巣。

Hyperplastic nodule: 長径が0.3 mm以上2.0 mm未満の病巣。

構成細胞の特徴による分類

1型: 細胞の大きさは約15 μ で、正常大から正常の3倍大程度までの核が混在している。大型の核小体を1ないし数個有しており、大型核ではクロマチン結節が目立つものがある。細胞質には大小の空胞(PAS陰性)が認められ、細胞の境界は不鮮明である。

2型: 細胞の大きさは約20 μ で、正常の2倍以上の大型核が主体である。核小体は1個で極めて大きく、クロマチン結節は目立たない。細胞質には明瞭な周核明庭がみられ、胞体の辺縁は好塩基性に染色される。境界は比較的明瞭である。

3型: 細胞の大きさは約10 μ で、核は卵円形ではほぼ正常大。核小体は小型で目立たない。細胞質は極めて乏しく、HE染色では裸核のように見える。

下垂体前葉に認められた増殖性病変を以上の基準により分類すると、11週齢では雄1例に1型の focal lesion がみられた。16週齢では増殖性病変を示すものは1例もなかった。20週齢では、雄3例に1型の focal lesion、雌1例に2型の focal lesion が観察された。24週齢では、雄1例に1型の hyperplastic nodule(長径0.5 mm)、雄1例に3型の hyperplastic nodule(長径0.6 mm)がみられ、雄2例に1型の focal lesion もみられた。

【結論】

SDラットでは、生後10週を過ぎると下垂体前葉に増殖性病変が出現することが示唆された。

第 2 日

一般演題

清水 昭男^{1)・2)}、原田 昌興¹⁾、蟹沢 成好²⁾¹⁾、神奈川がんせ、臨床研 2)横浜市大、病理

我々はこれまで、有機溶媒furfural経口投与がラット肝に及ぼす影響を、肝発癌との関連を中心として検索し、次の結果を得た。すなわち、①furfural長期経口投与はラット肝にヒト乙型肝炎症類似病変を生成させる。この過程は連続的かつ進行性のものであり、腫瘍性変化ではない。②ラット肝にヒト乙型肝炎症類似病変が生成した後は、化学肝発癌刺激に対し有意に感受性が増加する。③furfural単独投与のみによっては長期観察後もラット肝に明らかな肝癌の発生を見ないにもかかわらず、前癌病変とされるglutathione-S-transferase胎盤型(GST-P)陽性細胞巢は個数、面積ともfurfuralの投与期間に応じて増加する。

furfuralは以上のごとく、興味深い現象をラットに生じさせるが、肝発癌に及ぼす影響については未だ不明な点が多く、各種検索は課題となっている。今回はラット肝発癌のinitiatorとして2-acetylaminofluoren(2-AAF)を用い、initiation後にfurfuralを経口投与し、そのpromotor作用を検討したので報告する。

材料と方法

動物：44匹の4週齢雄Wistar系ラットを1週間の無処置観察後実験に供した。動物はいずれも約22-24°Cの空調飼育室でlaminar flow chamber内にて飼育した。薬剤：試薬特級furfuralは和光純薬より、2-AAFは東京化成工業より購入した。

実験方法：44匹中、32匹の実験動物に、initiatorとして0.03% 2-AAF添加固形飼料を3週投与、1週休止を1周期として3周期投与した。その間12匹には無添加飼料を投与した。第1周期の投与期間中に、2-AAF投与動物の内、10匹が急性肝障害のため死亡した。3周期の2-AAF投与終了後、1週の休止期間をはさんで、2-AAF投与群の生存した22匹の動物を各11匹の2亜群に分割し、1群には飼料1kgに20mlのfurfuralを添加した飼料を、5日間投与2日間休止を1周期として16周期投与した。2-AAF非投与動物12匹の内8匹にも同様の期間・方法でfurfural含有飼料を投与した。4匹には無処置対照群として全期間にわたり無添加飼料を投与した。furfural投与終了後28週、即ち実験開

始56週後に全動物をエーテル麻酔下に開腹、腹部大動脈より脱血屠殺した。肝を10%中性緩衝ホルマリンにて固定、各葉より最大剖面を含む一片を採取し、型のごとくパラフィン包埋、4μmの切片を作成した。観察はH.E.染色およびMasson-trichrome染色により光顕的に行った。

結果および考察

2-AAFを投与した動物には、いずれも高頻度に肝腫瘍の発生を認めた。Table 1にNeoplastic noduleおよび肝細胞癌の各群における発生個体数を示す。Furfural投与群と非投与群の間には、腫瘍発生個体数に統計学的有意差は見られなかった。また両群間には肝重量の差も見られず、担腫瘍動物1匹当りの腫瘍数についても有意な差は無かった。我々は先に、furfural実験肝硬変症の成立過程においては、肝細胞の増生が見られることを明らかにしている。肝細胞の増生は肝腫瘍発生に対して促進的に働くことはよく知られており、今回の結果をもってfurfuralにpromotor作用はないと直ちに断定はできないが、今回の実験系における限り、promotor作用は認められなかった。現在、弘前大学、佐藤清美教授より供与をうけた抗GST-P抗体を用いて、前癌病変と考えられるGST-P陽性細胞巢の検索をおこなっている。また、今回はinitiatorとして用いた2-AAFの作用が強力すぎたとも考えられるため、実験系の再検討の必要もあると考えている。

Table 1. Number of tumor bearing animals

Group	Neoplastic nodule	hepatocellular carcinoma
2-AAF+furfural	11/11	10/11
2-AAF only	10/11	10/11
Furfural only	0/8	0/8
Control	0/4	0/4

○和田重次、奥村正直、務台 衛、小木曾 正、Danai TIWAVECH、津田洋幸(名市大・医・一病)

はじめに

肝硬変・肝線維症等の病的状態での肝発癌作用に対する影響を検索する目的で、豚血清 (swine serum, SS) を腹腔内投与することにより、ラット肝に肝硬変様病変を発生させ胆汁酸のdeoxycholic acid(DCA) と phenobarbital(PB) の作用に対する増強効果の有無について検討した。

実験方法；

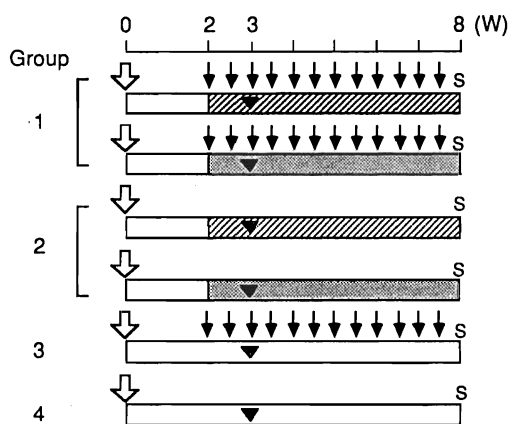
6週令のF344雄性ラット60匹を用い、第1~4群には肝発癌物質のdiethylnitrosamine(DEN) 200 mg/kg b.w.を1回腹腔内投与し、2週間後から第1群では0.1%DCA、または0.05% PBを基礎飼料に混合して、実験終了までの6週間投与し、同時にこの期間にSSを0.5ml/ratを週2回の用量で12回腹腔内投与をおこなった。第2群は同容量のDCAとPBを投与しSS投与しない対照群とし、第3群はSSのみ、第4群は基礎飼料のみを投与した。全群DEN投与後3週目に2/3肝部分切除をおこなった(Fig.1)。動物は8週で屠殺剖検し、肝臓の前癌病変であるglutathione S-transferase placental form(GST-P)の免疫染色(ABC法)をおこない、陽性巣の数と面積の定量計測を行った。

実験結果；

体重はDEN→PB+SS投与群でDEN単独投与群と比較して、体重の増加抑制がみられた(P<0.05)。肝重量はDEN→SS投与群を除いて、各投与群ともにDEN単独投与群と比較して有意な増加を認めた(P<0.001)。DCAまたはPBとSSの投与群では、portal-portal fibrosisをみるbridgingが、DEN→DCA+SS投与群で高度に、DEN→PB+SS投与群とDEN→SS投与群に中程度に認められた。GST-P陽性細胞巣の定量値は第1群のDEN→DCA+SS群の面積において、DEN→PB+SS群の数においてそれぞれSS非投与の第2群と比較して有意の増加を示した(P<0.001、P<0.05)。さらに、第3群のDEN→SS群では第4群のDENのみの単独群と比べて、数、面積とも増加傾向が見られた。また、第1、第2群のすべての群において、第4群のDEN単独群と比べて数、面積とも有意の増加が見られた(P<0.01~0.001)(Table 1)。
考察と結論；

ヒトにおいて、肝硬変症は高頻度に肝癌を合併するこ

とが知られている。肝線維症または肝硬変と肝癌発生の関連の実験的な解析は、動物に肝硬変モデルを作成することが容易でないため十分になされていなかった。本実験において、豚血清の投与によりラットに発生させた肝硬変類似の病変が、DCAやPBの作用を明らかに増強させることが示された。即ち、肝硬変様病態は発癌プロモーターであるDCAやPBに対し、高感受性を示すことが見出された。また、本法は化学物質の中期検索法の高感度化に有用と考えられる。



- Animal : F344 male rats, 6 week-old (Total : 60)
 ↓ : Diethylnitrosamine (DEN) ; 200 mg/kg, i.p.
 ▼ : Partial hepatectomy (PH)
 ▨ : Deoxycholic acid (DCA), 0.1% in diet
 ▩ : Phenobarbital (PB), 0.05% in diet
 ↓ : Swine serum 0.5 ml / rat, i.p.
 S : Sacrifice

Fig. 1. EXPERIMENTAL SCHEDULE

Table 1. Number and total area of GST-P-positive foci in liver of rats

Group	Treatment	No.	No./cm ²	Area (mm ² /cm ²)	P-P bridging fibrosis
1	DEN→DCA+SS	7	14.99 ± 4.31 ^{a)}	0.76 ± 0.15 ^{a)}	+
	DEN→PB+SS	9	17.37 ± 2.47 ^{a)}	0.80 ± 0.17 ^{a)}	±
2	DEN→DCA	9	12.41 ± 2.97 ^{a)}	0.41 ± 0.11	-
	DEN→PB	10	14.02 ± 2.61 ^{a)}	0.72 ± 0.16 ^{a)}	-
3	DEN→SS	7	10.10 ± 5.09	1.05 ± 0.94	±
4	DEN	10	8.27 ± 3.85	0.47 ± 0.21	-

Significantly different from corresponding groups without SS at (*) P < 0.05, (***) P < 0.001.

a) Significantly different from DEN along group.

実験的肝線維化：Hydroxyproline量のラット肝の各葉における差に関する検討

○下地尚史・高橋智香子・古田京子・今井田克己・高橋道人・林 裕造（国立衛試・病理）

生体内組織のコラーゲンの定量は一般にhydroxyproline(HIP)の定量で代用される場合が多い。従ってHIPは線維化病変の定量的な指標として汎用されている。我々は前年度の本学会において四塩化炭素(CCl₄)とエタノール(EtOH)の併用によるラットの肝線維化モデルを報告したが、今回同モデルの肝HIP量を測定し、肝の線維化を定量的に検索した。肝臓は肉眼的に複数の葉からなり、ラット等のげっ歯類においては一般に外側左葉、内側左葉、方形葉、右葉および尾状葉に分けられる。これらの各葉毎の形態的あるいは機能的な差異について明らかにした報告は少ないが、例えば肝部分切除後の再生は、主に右葉から起こり尾状葉では大きな形態変化はないという例で示されるように、各葉における機能の違いを窺わせる現象はしばしば経験するところである。従って我々は今回特に各肝葉間の違いに注目してHIPの定量をはじめとする各種検索を行い、更に2/3肝部分切除(partial hepatectomy, PH)の影響についても検討した。

材料と方法

動物：6週齢のF344雄ラットを用いた。

肝線維化誘導：ラットの肝に線維化病変を作成するため次の処置を行った。

CCl₄：0.2 ml/kg B.W. をオリーブ油に10%の割合で溶解し、週2回7週間、計14回、胃ゾンデにて強制経口投与した。

EtOH：飲料水中に5%の割合で混合し、CCl₄の投与開始1日前から終了時まで継続して投与した。

動物は処置終了後3、10および25日目に、エーテル麻酔下にて採血し、屠殺した。一部の動物には屠殺の1時間前に40 mg/kgのBrdUを腹腔内投与した。

肝部分切除：上記処置終了の3日後に実施し（外側左葉、内側左葉および方形葉を切除）、その後2および7日目に、エーテル麻酔下にて採血し、屠殺した。屠殺の1時間前に40 mg/kgのBrdUを腹腔内投与した。

肝葉の分類：肝を外側左葉、中葉（内側左葉+方形葉）、右葉および尾状葉の4葉に分けて検索を行った。

HIPの定量：肝線維化の指標として、肝組織内のHIP量をProckopらの方法に従って測定した。

形態学的検索：肝については病理組織学的、あるいは抗

BrdU抗体を用いて免疫組織化学的に観察を行った。

その他：血清生化学的に、血清中のGOT,GPT,T-bil.等の項目について測定を行った。また、肝に関しては含有蛋白量についての測定も行った。

結果

HIPの定量結果を下表に示す。無処置の若年ラットでは肝の湿重量当りのHIP量は微量で、しかも肝葉間での差をほとんど認めなかった。これに対しCCl₄とEtOHの処置終了後3日目の動物では湿重量当りのHIP量は著しい増加が認められた。また同群では湿重量当りのHIP量に肝葉間の差が認められ、外側左葉および中葉で右葉に比して有意な高値を示し、尾状葉においても右葉に比べ高い傾向がみられた。処置終了後のHIP量は経時的に減少していく傾向がみられた。処置後にPHを施し、その後再生した肝の右葉では術後2日目、7日目の肝湿重量当りのHIP量が術していない動物に比べて有意に低値であった。

肝 hydroxyproline (HIP) の定量 (HIP/liver wet weight, mg/g)

葉	G1 (3)		G2 (3)		G3 (3)		G4 (3)		G5 (3)		G6 (3)	
	Untreated control	CCl ₄ +EtOH, 7w. recovery, 3d.	CCl ₄ +EtOH, 7w. recovery, 10d.	CCl ₄ +EtOH, 7w. recovery, 25d.	CCl ₄ +EtOH, 7w. recovery, 26d.	CCl ₄ +EtOH, 7w. recovery, 26d.	PH, recovery, 2d.	PH, recovery, 7d.	PH, recovery, 2d.	PH, recovery, 7d.	PH, recovery, 2d.	PH, recovery, 7d.
外側左葉	0.116 ± 0.013	0.678* ± 0.077	0.547 ± 0.077	0.525* ± 0.045	—	—	—	—	—	—	—	—
中葉	0.128 ± 0.036	0.646* ± 0.036	0.501* ± 0.016	0.500** ± 0.017	—	—	—	—	—	—	—	—
右葉	0.118 ± 0.010	0.468 ± 0.059	0.419 ± 0.038	0.381 ± 0.034	0.313 ± 0.035	0.275 ± 0.060	—	—	—	—	—	—
尾状葉	0.140 ± 0.016	0.621 ± 0.097	0.518 ± 0.064	0.502** ± 0.025	0.426* ± 0.040	0.597** ± 0.059	—	—	—	—	—	—

*: p<0.05, **: p<0.01, significantly different from the value of right lobe
PH: 2/3 partial hepatectomy

CCl₄とEtOHの処置終了後3日目の動物の肝は、病理組織学的に、高度の線維化と一部に偽小葉の形成をともなった肝硬変様の像を呈した。このような、形態学的に強い線維化がみられた例では、HIP量も著しく高値を示した。

まとめ

- CCl₄とEtOHによる肝線維化の程度はHIP量、組織像とも右葉で軽度であり、葉間に差があることが明らかとなった。
- CCl₄とEtOHの処置中止により、HIP量は減少し、組織学的にも線維化は軽減する傾向がみられた。
- CCl₄とEtOHの処置後にPHを施した場合、再生肝では線維の減少がみられたが、これは肝細胞の増殖による相対的な減少と考えられた。

田中寿子[△]、永森静志^{△△}、清水恵一郎^{△△}、長瀬すみ^{△△△}、鈴木照男[△]

慈恵医大： 微細形態研[△]、同第一内科^{△△}、佐々木研^{△△△}

長瀬らにより確立された無アルブミンラット(NAR)の肝臓には、極めて少数のアルブミン陽性肝細胞(Alb+cell)が散見され、加齢と共にその数が増加する。更に3'-methyl-4-dimethyl-aminoazobenzene(3'-Me-DAB)或は2-acetylaminofluorene(2-AAF)のような肝臓発癌剤によってもその数が増すことが報告されている。我々はNARを用いた再生肝や肝硬変の実験によりAlb+cellが単細胞性或は巣状に増加することを報告してきた。雄NARでは雄Sprague-Dauleyラットに比べ発癌率が低いことが報告されているが(田川ら)、雄に比べ更に低感受性の雌に長期間3'-Me-DABを投与し、Alb+cellの増加状態を免疫組織化学的に調べ、更にそのalbumin mRNAをin situ hybridizationにより検索した。

材料及び方法：8週令のメスNAR 28匹を2群に分け一方に0.06% 3'-Me-DAB混入飼料を、他方を対照群としてCE-2を与え、36週間飼育した。その間に7、11、17、20、23、26、36実験週に各2匹ずつ屠殺し、肝臓をホルマリンに固定し、パラフィンに包埋した。一部のラットでは肝臓を4% paraformaldehyde(PFA)で灌流固定し、パラフィンに包埋し、in situ hybridizationに用いた。albuminの証明にはPAP法を用いた。PFA灌流固定試料は脱パラフィン後、0.2N塩酸処理、proteinase k(30 µg/ml)消化、次いでpre-hybridization(37°C, 60min), hybridization(37°C overnight)を行った。Dr. Sargent, T. D. がクロニングしたprealbumin cDNAを国立癌センター生化学部より供与され、この試験を行った。hybridizationにはSP6システムにより³⁵S或はbiotinを標識したribo-probeを用いた。

結果：投与例14例中肝癌の発生は3例のみであり、肺癌が1例、大腸癌が1例認められた。対照群には腫瘍の発生はなく、Alb+cellは10×10倍視野(肝細胞約1000個)中平均5個程

度であった。一方3'-Me-DAB投与例ではその数は増加していたが、肝癌の発生した肝と肝癌の発生しなかった肝では、その数に著しい差が認められた。即ち肝癌例の非癌部では10-20個/視野であるのに対し、肝癌が発生していない肝では50-90個/視野のAlb+cellが散見された。また肝癌癌巣内にAlb+cellよりなる癌結節があり、AFPの産生も認められ、肝癌の多中心性発生を示唆する所見と推察された。

Alb+cellにおけるalbumin mRNAを検索するために、連続切片を用いて両者の検出を試みた。in situ hybridizationの反応陽性対照としてSDラット肝を同様処理で観察したが、Albumin mRNAは肝全般にわたり検出された。しかしその分布は一様でなく、小葉周辺域に多く、小葉中心域に少なかった。一方NAR肝では特異性が高いantisense RNA probeを使用したにも関わらず、³⁵S標識、biotin標識probeともに殆ど反応は認められなかった。3'-Me-DABを投与し、Alb+cellの増加が著しい肝に於て極めて少数の反応陽性細胞が観察されたが、連続切片のAlb+cellの分布とは殆ど一致せず、Alb+cell内のAlbumin mRNAを検出することは出来なかった。このことはNARのAlb+cellのalbumin mRNAが極めて少なく、この細胞のalbumin合成、分泌過程が正常肝細胞と異なることを示唆していた。

○高島吉治, 丸山博司, 中江 大, 北澤俊治, 傅田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫病)

解熱鎮痛剤として広く用いられているAcetaminophen (APAP)は、肝細胞壊死を誘発する用量で、マウスにおいて肝発癌性が示唆されている。今回、我々はラットにコリン欠乏食 (CD食) を前投与することにより脂肪肝を発生せしめ、この時期にAPAPを投与し、肝のγ-glutamyl-transpeptidase (GGT) 及びglutathione S-transferase placental form (GST-P) 陽性病変を定量的に解析したので報告する。

動物は、6週齢雄F344ラット 228匹を用い、Fig. 1に示す如く、10群を作製した。即ち、第1から5群まではコリン補充食 (CS食)、第6から10群まではCD食を各々4週間投与後、第1群と6群は対照群として溶媒のみを実験群として、APAPを体重kg当り第3群と8群には0.5g、第4群と9群には1.0g、第5群と10群には1.5gを各々強制経口投与した。陽性対照として第2群と第7群に体重kg当り20mgのDENを腹腔内投与した。全動物について投与4時間目に部分肝切除を行い、その2週間後にCayamaらのSelectionを行って実験開始後9週にて屠殺・剖検した。屠殺時に採血して血清生化学的検査を行い、肝についてはエタノール酢酸固定後GGT及びGST-P染色によりその陽性巣と結節を定量的に解析した。また一部の動物ではBrdU染色により、結節の細胞動態を観察した。

その結果、CD食投与群にはCS食投与群に比べて有意な体重増加抑制が、また血清ではGOT, GPT, γ-GTPの有意な上昇とTotal Proteinの有意な低下がみられた。

肝のGGT及びGST-P陽性病変の検索結果をTable 1.及びTable 2.に示す。両病変とも同様の結果で、CD食投与群に高い傾向があった。特にDENを投与した第7群では第2群、第6群と比べて、数、面積ともに増加、増大した。APAP投与群では、第1群と比べて第4群と5群のGGT陽性病変のMean Volumeと% Volumeのみが、また第4群のGST-P陽性病変の数のみが有意に高い傾向があったが、CD食の後にAPAPを投与した群ではGGT, GST-P両陽性病変共に第6群と比べて有意差がなかった。また、結節の肝細胞についてのBrdU labeling indexはGST-P陽性結節において陰性結節より高い傾向を示したが、CD食の後にAPAPを投与した群と第6群 (CD食対照群) の結節では有意差を認めなかった。

以上の結果より、CD食による脂肪肝の存在は、DENの

initiation活性を増強したが、肝壊死を誘発する用量のAPAPの肝initiation活性には有意な増強効果を示さなかったと考えられた。

Fig. 1 Experimental Design for Male F344 Rats Administered APAP after Short Term Feeding of CD

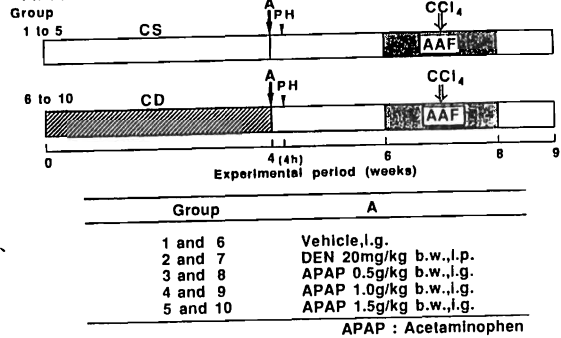


Table 1. GST-P Positive Liver Lesions in F344 Rats after Single Administration of Acetaminophen Following Feeding of Choline-deficient Diet^a

Group	Treatment ^b	No. of rats examined	GST-P positive lesions ^c			
			No./cm ²	No./cm ³	Mean volume of lesion (mm ³)	% volume
1	CS+vehicle	14	4.3 ± 3.6	63.5 ± 52.3	0.17 ± 0.18	1.0 ± 0.9
2	CS+DEN	13	25.5 ± 9.9 ^d	404.9 ± 189.8 ^d	0.15 ± 0.10	5.2 ± 3.3 ^d
3	CS+low APAP	22	5.1 ± 2.0	79.6 ± 38.9	0.11 ± 0.06	0.8 ± 0.4
4	CS+middle APAP	16	8.3 ± 4.3	131.0 ± 78.0 ^d	0.14 ± 0.07	1.8 ± 1.2
5	CS+high APAP	14	5.5 ± 3.0	85.8 ± 72.5	0.19 ± 0.15	1.1 ± 0.7
6	CD+vehicle	7	7.1 ± 2.0	93.1 ± 36.4	0.41 ± 0.19 ^e	3.6 ± 1.7 ^e
7	CD+DEN	7	104.4 ± 31.3 ^{a, f, g}	1582.8 ± 661.3 ^{a, f, g}	0.23 ± 0.16	27.2 ± 4.3 ^{a, f, g}
8	CD+low APAP	11	10.6 ± 4.6 ^g	126.4 ± 57.8 ^g	0.44 ± 0.15 ^g	5.3 ± 2.2 ^g
9	CD+middle APAP	12	11.7 ± 5.8	151.1 ± 79.5	0.49 ± 0.43 ^g	5.9 ± 3.7 ^g
10	CD+high APAP	8	5.7 ± 1.1	72.7 ± 12.8	0.48 ± 0.37 ^g	3.3 ± 1.9

a. Values are mean ± S.D.
 b. CD: 4 weeks-feeding, APAP: low 0.5g/kg, middle=1.0g/kg and high=1.5g/kg, i.g.
 c. Including GST-P positive foci and nodules except solitary positive hepatocytes.
 d. Significantly different from Group 1 at p<0.02.
 e. Significantly different from Group 6 at p<0.05.
 f. Significantly different from Group 2 at p<0.001.
 g. Significantly different from each control groups (CS) at p<0.05.

Table 2. GGT Positive Liver Lesions in F344 Rats after Single Administration of Acetaminophen Following Feeding of Choline-deficient Diet^a

Group	Treatment ^b	No. of rats examined	GGT positive lesions ^c			
			No./cm ²	No./cm ³	Mean volume of lesion (mm ³)	% volume
1	CS+vehicle	14	1.3 ± 1.4	30.3 ± 38.0	0.07 ± 0.12	0.2 ± 0.2
2	CS+DEN	13	13.2 ± 6.5 ^d	279.1 ± 129.6 ^d	0.06 ± 0.04	1.7 ± 1.1 ^d
3	CS+low APAP	22	0.8 ± 0.9	18.0 ± 21.9	0.15 ± 0.22	0.2 ± 0.2
4	CS+middle APAP	16	1.5 ± 0.7	24.3 ± 18.9	0.39 ± 0.56 ^d	0.6 ± 0.8 ^d
5	CS+high APAP	14	2.6 ± 2.2	37.0 ± 28.9	0.21 ± 0.15 ^d	0.8 ± 0.9 ^d
6	CD+vehicle	7	5.1 ± 2.9 ^e	59.6 ± 44.6	0.59 ± 0.47 ^e	2.8 ± 1.7 ^e
7	CD+DEN	7	73.4 ± 20.8 ^{a, f, g}	1322.9 ± 353.5 ^{a, f, g}	0.11 ± 0.01 ^h	14.5 ± 4.1 ^{a, f, g}
8	CD+low APAP	11	6.1 ± 4.3 ^g	85.5 ± 71.9 ^g	0.93 ± 1.30	2.6 ± 1.7 ^g
9	CD+middle APAP	12	4.0 ± 2.4 ^g	52.3 ± 45.4	1.02 ± 1.03	2.6 ± 1.8 ^g
10	CD+high APAP	8	2.6 ± 0.4	31.6 ± 10.5	0.64 ± 0.55 ^g	1.7 ± 1.3

a. Values are mean ± S.D.
 b. CD: 4 weeks-feeding, APAP: low 0.5g/kg, middle=1.0g/kg and high=1.5g/kg, i.g.
 c. Including GGT positive foci and nodules.
 d. Significantly different from Group 1 at p<0.05.
 e. Significantly different from Group 6 at p<0.05.
 f. Significantly different from Group 2 at p<0.05.
 g. Significantly different from each control groups (CS) at p<0.02.

○ 森 雅弘, 内藤正志, 伊藤明弘 (広島大学原医研癌部門)

N-methyl-N'-nitrosourea (MNU) は、DNA に 10 種類以上の異なるメチル塩基を作り、この DNA の変化が point mutation として固定され腫瘍発生の initiation となると推察されている。我々は、1 回の MNU 投与及び低ヨード食持続投与により発生する甲状腺腫瘍に関して、低ヨード食投与開始時期を変えることにより腫瘍発生頻度、組織型を検索し initiation の修飾について考察したので報告する。

(方法)

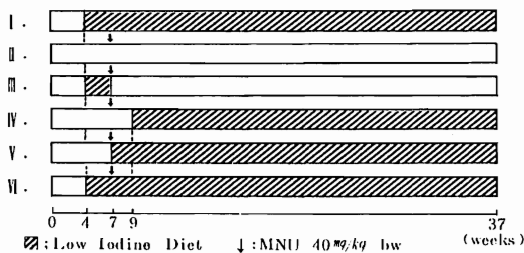
実験 1. 当研究室で系統維持を行なっている Long-Evans 系ラットの雄 15~20 匹を各群に用い、低ヨード食 (ヨード含有量 5 ppm 以下) の投与時期を変えた群を作成した。各群は図に示した。I 群を除き、MNU (40 mg/kg 体重) は生後 50 日目に頸部静脈より生食に溶解直後に 1 回静注した。各動物は、MNU 投与後 30 週にて屠殺し甲状腺を中心に発生腫瘍を検索した。

実験 2. 上記とは別の雄 Long-Evans 系ラットを用い、生後 28 日目より低ヨード食とし、経時的に採血し free T₃, free T₄, TSH を測定した。また、一部は甲状腺重量及び BrdU の取り込みを調べ、低ヨード食の投与時期とこれらの parameters の関係を調べた。

(結果)

実験 1. 低ヨード食 control 群 (I 群) では adenoma 1 例 (5.6%) のみ発生し、II 群の MNU 単独投与群及び III 群では甲状腺腫瘍の発生は見られなかった。IV 群及び V 群では、adenoma が高率に発生し、IV 群では adenoma 14/14 (100%), carcinoma 1/14 (7.1%), V 群では adenoma 13/17 (76.5%), carcinoma 0% であった。VI 群では adenoma 25/25 (100%) の発生とともに carcinoma 11/25 (44%) と IV, V 群に比べ高率 (p<0.05) に発生し、甲状腺重量の増加も高度 (p<0.05) であった。

Experimental design



実験 2. 低ヨード食開始後、2~3 週に free T₄ は急激に低下し正常値の $\frac{1}{20}$ 以下になったが、free T₃ はやや変動し正常値の $\frac{1}{2}$ 程度に維持された。TSH、甲状腺重量は低ヨード食開始後 3 週目では著変なく、その後 12 週目まで高度に増加した。BrdU は、3 週目で取り込みがやや増加し、8 週目で取り込みの増加が見られ、12 週目では取り込みがほとんど見られなくなった。

(考察)

この実験では、低ヨード食開始後 3 週目頃より、free T₄ の低下とともに TSH の上昇及び DNA 合成の増加が観察された。したがって、II 群では MNU 投与時より TSH 及び DNA 合成の上昇が、IV, V 群では MNU 投与後それぞれ 5 週間、3 週間の期間において TSH 及び DNA 合成の上昇がおこったと考えられる。

II 群で adenoma の発生に加えて carcinoma の発生が増加したのは、MNU による DNA の変化の修復が十分でない時期に甲状腺細胞の分裂が起り、多くの DNA 上のエラーが固定され、低ヨード食で promotion を受けると carcinoma まで誘発されたと考えられる。II 群 V 群では、II 群と比較して MNU による DNA の adduct がより修復を受け結果的に甲状腺細胞中の DNA 上のエラーが少ない為、低ヨード食による promotion を受けてもほとんどの腫瘍は adenoma であったと思われる。

42 フェニルブタゾンの腎・甲状腺発癌に対するプロモーション作用

○小野寺博志・永岡隆晴・外館あさひ・前川昭彦・林裕造（国立衛試・病理）

フェニルブタゾンは非ステロイド系の抗炎症剤で、消炎、鎮痛、解熱、尿酸排泄作用を有することから、臨床的に広く用いられているが、フェニルブタゾンを長期間にわたり大量に投与された患者に白血病が発生する危険性があることが以前より指摘されている。しかし現在までのデータからはフェニルブタゾンと白血病との因果関係ははっきりしていない。最近我々は、フェニルブタゾンの2年間経口投与によるラット癌原性試験の結果、フェニルブタゾンの癌原性は認められず、またアルキルニトロソ尿素(ENU, PNU)による白血病発生に対するフェニルブタゾンのプロモーション作用も見られなかった事を報告したが、軽度ながら腎および甲状腺の腫瘍発生にプロモーション作用が見られた (Maekawa et al. JNCI, 79:577, 1987)。そこで我々はフェニルブタゾンの白血病および他臓器へのプロモーション作用を、再度検討する目的で、より広い多臓器イニシエーターとして知られるMNUおよびENUをイニシエーターとして用い、二段階発癌実験によるフェニルブタゾンのプロモーション作用を検討したので報告する。

実験材料：

動物：雌性 NRC:Donryu rat 120 匹（日本ラット）

基礎飼料：CE-2（日本クレア）

検体：フェニルブタゾン(PB)（日本川か）

N-Methyl-N-nitrosourea (MNU)（半井化学）

N-Ethyl-N-nitrosourea (ENU)（半井化学）

方法：

生後8週齢のラット50匹にMNUは20mg/kgを週2回4週間にわたり合計8回腹腔内投与し、またENUは飲料水に400ppmの濃度に溶解し、同じく50匹のラットに4週間自由に摂取させた。5週目より各イニシエーター処理をした半数の動物に0.25%PB混入飼料を24週間投与した。対照群としては20匹のラットに0.25%PB混入飼料のみを5週目より投与した。全群共実験開始28週目に屠殺剖検し実験を終了した。

結果及び考察：

MNU投与群では神経系をはじめとして、腎、消化管や乳腺に腫瘍が発生し、ENU投与群では造血器、腎、消化管、乳腺等に腫瘍の発生が認められた。それに対し、PBのみを投与した対照群では腫瘍の発生は見られなかった。組織学的には、神経系腫瘍は神経鞘腫、造血器のそれは白血病、消化管腫瘍は乳頭腫/扁平上皮癌、または腺腫/腺癌、腎の腫瘍は腎芽腫、乳腺では腺腫/腺癌が主であった。

また、非腫瘍性病変としては、少数例ながらPB投与群に消化管潰瘍が散見されたが、腎、肝や造血器には明瞭な毒性所見は見られなかった。白血病をはじめこれら全ての腫瘍に対するPBのプロモーション作用は全く認められなかった。これら諸臓器の腫瘍に加え、MNUおよびENU両投与群共に、腎の尿細管上皮過形成や甲状腺の濾胞状嚢腫/過形成などの増殖性病変がみられ、PB投与によりこれら病変の発生が促進された。今回の実験において、ENUによる白血病発生に対するPBのプロモーション作用は全く認められず、一方、腎および甲状腺においてはPB投与により腎細胞腫瘍あるいは甲状腺濾胞性腫瘍の前癌病変ともいえる病変の発生が促進された事は前回の実験結果と良く一致した。なお前回の実験ではENUまたはPNU投与群に卵巣腫瘍が好発したが、今回の実験では、この腫瘍の発生は殆ど見られなかった。この理由は不明であるが、前回の実験と今回の実験におけるフェニルブタゾン投与期間（実験期間）の違い、あるいは用いたニトロソ尿素の活性の違い等が考えられる。

まとめ：

フェニルブタゾンはニトロソ尿素によるラット白血病発生に対し、なんらプロモーション作用を示さなかった。腎および甲状腺に対し僅かながらプロモーターとして作用することが再確認された。

In vivo膀胱癌原性中期検索試験によるE1020の膀胱発癌プロモーション作用の検討

青木 豊彦、早川 和宏、細川 暁、中野渡 純一、五十嵐 俊二（エーザイ（株）・安全研）

現在、開発中のE1020は、phosphodiesterase阻害作用機序にし、強力な心筋収縮力増強作用と血管拡張作用を有するimidazopyridine系の新規化合物である。

このE1020の毒性試験をラットで実施した結果、13週間経口投与による亜急性毒性試験において、1000mg/kg以上の投与群で検体の析出に起因すると思われる結晶尿がみられた。また、4週間静脈内投与による亜急性毒性試験においては、5mg/kg以上の投与群で結晶尿、1mg/kg以上で病理組織学的に膀胱粘膜上皮の過形成がみられた。この膀胱にみられた変化が結晶尿による物理的な刺激によるものなのか、あるいは、E1020自体が膀胱に対し発癌性や発癌プロモーション作用を持つからなのかを明らかにするため、ラットを用いた in vivo膀胱癌原性中期検索試験を実施し、発現機序を検討した。

<材料と方法>

実験Ⅰ：実験には、雄 7週齢F344ラットを各群20～25匹用いた。0.05%のN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) 含有飲料水を4週間投与した後、E1020投与群には、5週目から32週間、0.02、0.2および2%の濃度のE1020を混餌投与し、各群5匹は、16週間E1020を投与した後、基礎食に戻し実験終了まで休養させた。nonBBN群は、BBN処置を実施せず、2%のE1020のみを投与し、休養個体も同様に設定した。対照群には、BBN処置後、基礎飼料を実験終了まで与えた。動物は全経過36週で屠殺剖検し、膀胱および腎について病理組織学的に検査し、膀胱については形態計測も実施した。

実験Ⅱ：動物は、6週齢の雄F344ラットを各群それぞれ10例ずつ計90匹使用した。E1020の溶解性はpHに依存することから、1% NH₄Clを飲水投与、3% NaHCO₃を混餌投与し、実験的なアシドーシスあるいはアルカローシス状態での影響を検索した。群構成は E1020単独投与群(1,2群)、E1020 + NaHCO₃同時投与群(3,4群)、E1020 + NH₄Cl同時投与群(5,6群)、NaHCO₃単独投与群(7群)、NH₄Cl単独投与群(8群)および対照群(9群)とした。なお、E1020は0.2および2%の2用量を混餌投与した。1,2,4週目と、経時的に尿検査を行い、全経過4週で屠殺剖検した後、腎および膀胱について病理組織学的に検査した。さらに、屠殺前にBromodeoxyuridine (BrdU)を投与し、膀胱粘膜の細胞増殖動態についても検討を加えた。

<結果および考察>

実験Ⅰ：0.2%以上のE1020投与群で結晶尿がみられた。また、BBN処置の有無に関わらず、2%投与群では尿pHの低下、尿量増加、高度の結晶尿と膀胱結石、腎障害などの変化がみられた。BBN処置を行った群の膀胱では、癌の発生頻度は0.02、0.2%と用量に相関して高くなり、2%投与群では、PN過形成および癌の発生頻度と単位基底膜長あたりのPN過形成、乳頭腫および癌の個数がBBN処置のみの対照群に比較し有意に増加した。休養個体では、増殖病変の出現頻度には各群間で有意な差はみられなかったが、2%投与群の癌の形態計測値のみが有意な高値を示した。一方、nonBBN群では、膀胱のPN過形成が25%の個体に認められたものの、休養することによって回復したことから、2%のE1020は、膀胱発癌に対して明かなプロモーション作用を示したが、膀胱結石形成が重要な要因になっているものと考えられた。

実験Ⅱ：尿pHは、NaHCO₃投与によりアルカリ側 (pH 8.5前後)に傾き、リン酸塩結晶の著しい増加とE1020結晶形成が促進されると共に、2% E1020同時投与群では微小結石が散見された。また、NH₄Clを投与することにより、尿pHは酸性側 (pH 5.5前後)に移行すると共に、E1020投与による尿中の結晶形成は著明に抑制された。一方、BrdUのLabelling index(LI)を指標とした膀胱粘膜上皮の増殖動態では、E1020単独群では、2%投与群でLIの上昇傾向がみられた。3%のNaHCO₃投与は単独でもLIを上昇させたが、2% E1020を同時投与することによって著しく促進し、NaHCO₃とE1020同時投与時の高度結晶尿と膀胱粘膜増殖に相関関係がみられた。一方、NH₄ClとE1020の同時投与群のLIは、対照群の値に比較して特に変化はみられず、NH₄Cl投与により結晶尿の形成が抑制された結果、膀胱粘膜の増殖が抑制されたものと考えられた。

<結論>

先に実施したラットの亜急性毒性試験の膀胱における増殖性変化と、膀胱癌原性 in vivo 中期検索試験でみられたE1020の膀胱発癌プロモーション作用は、E1020の大量投与により生じた高度の結晶尿あるいは膀胱結石に伴う物理的な刺激に起因する可能性が強く示唆され、化合物自体の膀胱発癌あるいは発癌プロモーション作用はないものと考えられた。

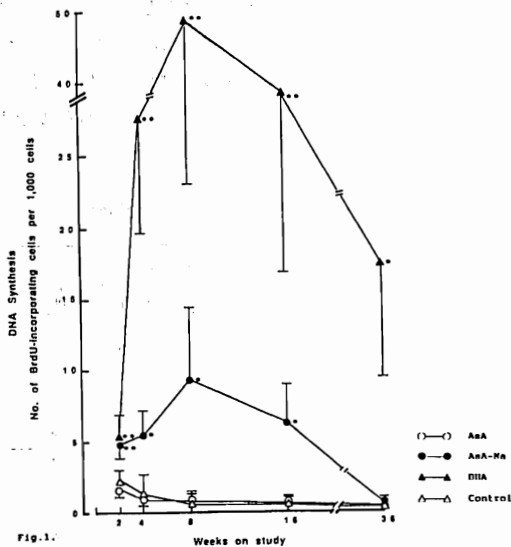
○ 柴田雅朗, 倉田 靖, 玉野静光, 山田真弓, 福島昭治 (名市大・医一病)

<緒言>

膀胱発癌プロモーターである sodium L-ascorbate (AsA-Na) はそれ自身で膀胱粘膜上皮のDNA合成亢進や形態学的変化をもたらすが、プロモーション作用のないL-ascorbic acid (AsA) にはそれらの作用は全く認められない。この差異はAsA-Naがもたらす高Na⁺尿とアルカリ尿とから説明されている。そこで、膀胱に対するこれら化合物の生物学的特性を更に明らかにするために経時的に尿および膀胱を生化学的並びに病理形態学的に追究した。また、同じくプロモーターであるbutylated hydroxyanisole (BHA) についても比較検討した。

<実験方法>

6週齢のF344系雄ラット240匹を用い、1群を60匹とし、各群に5% AsA, 5% AsA-Na, 2% BHA および基礎食のみを投与した。実験開始の2, 4, 8, 16, 24および36週後に、各群10匹ずつ屠殺し、bromodeoxyuridine (BrdU)を用いた膀胱粘膜上皮細胞のDNA合成(24週を除く)測定および病理組織学的並びに走査電顕的観察を行った。また、各屠殺前には尿量、電解質、浸透圧およびpHの測定を、更に沈渣についても検査した。また、16週時には膀胱組織中のプロスタグランジンE₂ (PGE₂)、サイクリックAMP (c-AMP) およびアスコルビン酸濃度を測定した。



* Significantly different from control at P<0.05.
** Significantly different from control at P<0.01.

<結果>

尿所見 pHはAsA群で減少を示したが、AsA-Na群では一貫して有意な上昇を示した。Na⁺濃度はAsA-Na群で有意な増加を実験期間を通して認めた。更に、AsA-Na群で尿量の増加および浸透圧の低下を一貫して認め、BHA群では散発的に観察された。

DNA合成 (Fig. 1) AsA-Na群では2週より有意なDNA合成の亢進を認め、4週でピークに達し、以後低下を示し、36週では対照群とほぼ同程度の値を示した。一方、AsA群ではいかなる時期においても全く対照群との差はなかった。BHA群ではAsA-Na群と同様の推移を示したが、その値ははるかに高値を示し、36週においてもなお有意な上昇が認められた。

病理形態学的観察 AsA-Na群で単純性過形成が8週時に観察されたが、16週ではその頻度と程度は減少し、それ以降は正常像を示した。BHA群では36週にのみ軽度な単純性過形成の発生をみた。走査電顕的には、AsA-Na群の8~24週で表層細胞にPleomorphic microvilli等の所見を認めた。BHA群では4~36週までこれらの変化が観察された。なお、AsA群では膀胱粘膜上皮にいかなる変化も認められなかった。

膀胱組織中の生化学的検査 AsA-NaおよびBHA投与群で膀胱組織中のPGE₂、c-AMPおよびアスコルビン酸の有意な増加ないしはその傾向が示された (Table 1)。

<考察> AsAとAsA-Naの膀胱に対する作用に関するその差異は尿性状の違いの他に、膀胱組織中のPGE₂、c-AMP、アスコルビン酸量の増加という新たな生物学的特性の相違が引き出された。また、BHAにおいても膀胱上皮に同様の生化学的反応や増殖性変化が惹起された事実をふまえると、膀胱組織中のこれらの反応がプロモーション過程において何らかの役割を担っているものと考えられた。

Table 1. Contents of PGE₂, Cyclic AMP and Ascorbic Acid in Homogenized Bladder Tissues of Rats Treated with Test Chemicals

Test chemical	No. of rats	PGE ₂ (pmol/mg bladder)	Cyclic AMP (pmol/mg bladder)	Ascorbic acid (μg/mg bladder)
AsA	5	9.83 ± 9.75	0.80 ± 0.02	8.8 ± 1.5
AsA-Na	5	14.82 ± 7.41*	0.92 ± 0.05*	11.5 ± 1.7*
BHA	5	14.52 ± 7.70*	0.93 ± 0.27	11.2 ± 0.8*
Control	5	2.46 ± 0.99	0.82 ± 0.03	8.5 ± 1.7

* Significantly different from control at P<0.05.

宮川義史 (日本たばこ・安研)

はじめに

マウスにおける皮膚原発の Mast cell tumor の自然発生は極めて稀であり、その報告も少ない。一方、実験的には、頁岩油、タール等の連続塗布、3-methylcholanthrene、7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)の塗布による誘発が報告されているが、いずれも少数例あるいは低頻度の発生である。マウスの皮膚発癌感受性の系統差の研究過程で、DBA/2系マウスに高率の Mast cell tumorの誘発を認めたので、その形態像を中心に報告し、病理発生について考察を行う。

実験材料と方法

7週齢の BALB/c, C57BL/6, DBA/2, BDF1(C57BL/6 × DBA/2), CDF1(BALB/c × DBA/2)マウス 120匹を用いた。イニシエーション処置として DMBA 50 μ g あるいは、N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)500 μ g を背部皮膚に一回塗布した後、動物を二分し、一方(各群 30匹)にはプロモーターとして TPA 0.5 μ g を週3回、残りの半数には溶媒のみを2年間にわたり塗布した。実験開始 108週後に全生存動物を屠殺剖検し、死亡例も含め全例について皮膚を中心に病理組織学的検査を実施した。一部の例については、電顕的検査もあわせて実施した。

結果

MNNG/TPA群では C57BL/6を除くマウス各系統で 10%以上の Mast cell tumorの発生を認め、特に DBA/2 マウスでは27%と高率の発生であった。DMBA/TPA群では C57BL/6マウスに2例、BDF1マウスに4例の発生をみたのみであった(Table 1)。一方、イニシエーション処置のみの群では、いずれの系統とも Mast cell tumor の発生を認めなかった。発生した Mast cell tumorの大多数は光顕下で始めて確認される2mm以下の腫瘍で、被膜を持たないが周囲との限界明瞭な細胞の充実性増殖結節として真皮から皮下織にかけて単発あるいは多発して認められた。腫瘍は正常な肥満細胞よりやや小型の限界明瞭な立方形ないしは多形細胞の敷石状配列からなり、間質には極めて繊細な結合織が、reticulum networkを形成して認められた。腫瘍細胞は異形性に乏

しく細胞分裂も稀で、トリジンブルー染色によりメタクロマジーを示す顆粒の存在が明らかであった。電顕的に細胞質内顆粒は正常細胞に比べ大きさ、数ともに小さく電子密度並びに形にばらつきが認められた。誘発された Mast cell tumorのほとんどは良性のものであったが、DBA/2マウスの2例に Malignant mast cell tumorが認められた。

腫瘍の他、真皮内における肥満細胞の浸潤、集簇像 diffuse dermal mast cell infiltration(DDMI)がしばしば観察された。DDMIは乳頭腫あるいは表皮過形成部に接して認められることが多かったが、これらと関係なく見られることもあった。Mast cell tumorが認められた全例の皮膚でDDMIの共存が認められた。

考察

MNNG/TPA、DBA/2 マウスの組み合わせで27%の動物に Mast cell tumorの誘発が認められ、これは過去の報告に比べはるかに高率の発生率であった。肥満細胞は腫瘍細胞の増殖の阻止、特に腫瘍がある程度の大きさまで成長するのを阻止する働きがあるとの報告があり、実験的皮膚発癌で認められるDDMIについても生体防御反応としての解釈が多い。しかし、今回誘発された Mast cell tumorには常にDDMIが共存して認められること、DDMIは骨髄等からの細胞流入によるものではなく、皮膚局所における肥満細胞の持続的増殖に基づくという実験的事実より、Mast cell tumorの前癌性病変としてのDDMIの可能性が示唆された。

Table 1. Histopathology of Treated Skins and Tumor Incidences

Treatment	Mouse strain	Effective no. of mice	No. of mice with no. of mast cell tumor (%)	Total no. of mast cell tumors	No. of mice with DDMI*
MNNG/TPA	C57BL/6	29	0 (0)	0	0
	BALB/c	28	3 (11)	3	5
	DBA/2	30	8 (27)	19	12
	BDF1	28	6 (22)	7	14
	CDF1	30	3 (10)	4	8
DMBA/TPA	C57BL/6	29	2 (7)	2	2
	BALB/c	29	0 (0)	0	4
	DBA/2	30	0 (0)	0	3
	BDF1	30	4 (13)	4	4
	CDF1	30	0 (0)	0	3

*DDMI; Diffuse Dermal Mast cell Infiltration

○中島 啓, 山本一彦, 榮本弘行, 高島吉治, 丸山博司, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍)

我々は、前回BHPによるラット肺腺癌発生過程における γ -GTの発現を酵素組織化学的に検索し、腺腫、腺癌は高率に γ -GT陽性を示すこと、および細気管支肺胞過形成(過形成)には γ -GT陽性のものと陰性のものが存在することを示した。今回は早期病変である過形成の大きさや個数の経時的推移を追究するとともに、Bromodeoxyuridine(BrdU)、およびBHPの代謝活性化に關与するPhenobarbital-inducible cytochrome P-450(P-450_{PB})の免疫組織化学的検索も行った。

実験I: 動物は、Wistar系雄ラット54匹を用い、以下の4群を作製した。第1群は対照群で、水道水を投与し24週で屠殺した群、第2群は2000ppmBHP含有飲料水を12週投与し屠殺した群、第3群は2000ppmBHP含有飲料水を12週投与し、その後水道水に替えてさらに12週飼育し、実験開始後24週にて屠殺した群、第4群は2000ppmBHP含有飲料水を20週連続投与して屠殺した群とした。各群に出現した過形成をその長径によりS, MおよびLの3段階に分け、大きさによるその出現頻度と、 γ -GT陽性過形成の出現頻度を検索した(図1)。第1群には肺病巣は出現しなかった。BHPを12週投与した第2群の過形成の出現頻度はSにもっとも多く、BHPを12週投与後さらに12週の休薬期間をおいた第3群ではそのピークがMにみられた。すなわち過形成はBHP投与中止後も消褪することなく発育、増大することが判明した。

実験II: Wistar系雄ラット84匹を2群にわけ、第1群は対照群で、水道水を投与した群、第2群は2000ppmBHP含有飲料水を8週投与し、その後水道水を20週投与した群とした。これら2群の動物を28週まで4週ごとに屠殺した。この実験群の動物に対しては屠殺の2時間前に体重kgあたり20mgのBrdUを1回腹腔内投与し、また、半数のラットに対しては体重kgあたり100mgのphenobarbitalを1日1回、屠殺前3日間腹腔内投与した。免疫組織化学的に、BrdUのlabeling index(LI)およびP-450_{PB}を検索した。第1群の動物には肺病巣は出現しなかった。第2群における動物1匹あたりの各病巣の数の推移を図2に示す。 γ -GT陰性および陽性過形成は12週以後に出現し、20週では1匹当り16個とピークに達し、その後減少傾向がみられた。 γ -GT陽性過形成は陰性のものより少なく、16週以後1匹当り約4個でプラトーに達する。その後、28週では腺腫、腺癌の増加をみるとともに γ -GT陽性過形成の数の減少傾向がみられた。第1群の正常肺胞上皮細胞および第2群の各病巣におけるBrdUのLIを表1に示す。腺腫および腺癌のLIは過形成のそれより有意に高値を示

した。また、 γ -GT陽性過形成のLIは γ -GT陰性過形成におけるそれより有意に高値を示した。第1群の動物の正常肺におけるP-450_{PB}の局在は、細気管支上皮のClara細胞と肺胞上皮細胞にみられた。また、すべての過形成、腺腫、腺癌においてはP-450_{PB}は陰性で、 γ -GT陽性または陰性との関連もみられなかった。さらに、phenobarbital前処置によってもこれらの病巣におけるP-450_{PB}の誘導はみられなかった。

以上の結果より、細気管支肺胞領域に出現する過形成のうち、 γ -GT陽性のものはその形態発現が安定し、 γ -GT陰性過形成より強い増殖能を有し、腺癌発生に關与する早期の病変であることが示唆された。

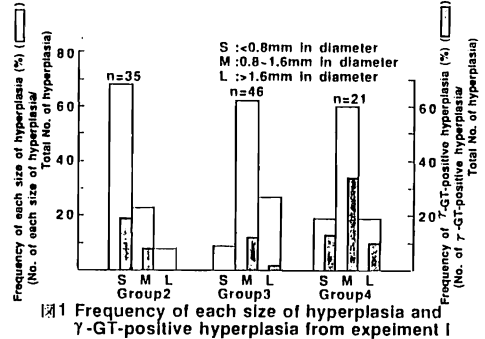


図1 Frequency of each size of hyperplasia and γ -GT-positive hyperplasia from experiment I

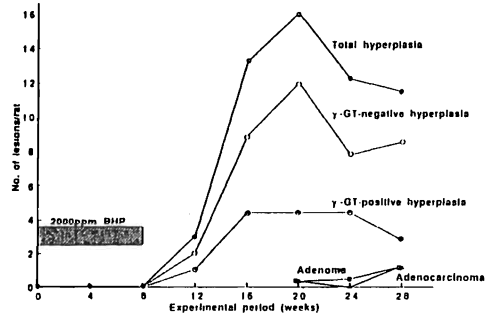


図2 Appearance of a total, γ -GT-negative and -positive hyperplasias, adenomas and adenocarcinomas as a function of times after BHP administration in rat lung from experiment II

表1 Labeling Indices of BHP-induced lung lesions from experiment II

	Labeling indices (%)		
	total	γ -GT staining	
		-	+
Normal alveolar epithelium	1.69±0.09 ^a (10)	—	—
Hyperplasia	1.43±2.18 (45)	0.96±0.80 (36)	3.32±4.01 ^c (9)
Adenoma	4.81±2.56 ^b (5)	2.54 (1)	5.23±2.81 (4)
Adenocarcinoma	4.26±2.14 ^b (5)	ND ^d	4.26±2.14 (5)

a: Mean±SD, (number of lesions examined).
b: p<0.01 compared with normal epithelium and hyperplasia.
c: p<0.01 compared with γ -GT-negative hyperplasia.
d: No lesion was detected.

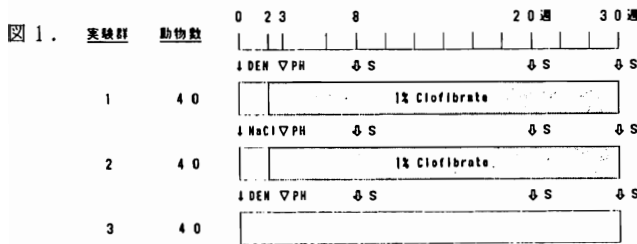
○伊藤聖一¹, 吉岡薫¹, 立野知世¹, 渡辺知幸¹, 奥野泰由¹, 吉武彬¹, 宮本純之¹, 阿部薫², 矢内原昇³ (¹住友化学・安全研, ²国立がんセンター, ³静岡県大・薬)

我々は、昨年の本学会においてラット肝臓を用いた発癌・発癌修飾物質の早期検索法（名市大法）で Phenobarbital を用いて得られた前癌病変について、c-myc遺伝子産物の発現がGlutathione S transferase胎盤型（GST-P）の局在とよく一致して認められることを報告した。今回、我々はr-glutamyltranspeptidase（r-GTP）やGST-P等の陽性マーカーの発現しない前癌病変を誘発することが報告されているClofibrateを用いて得られた前癌病変について、c-myc遺伝子産物の発現を免疫組織化学的手法により検討し、GST-Pの局在との比較を行ったので報告する。さらに肝臓中のc-myc遺伝子産物につきRadioimmunoassay（RIA）法を用い定量を行ったのでその結果も合わせて報告する。

方法：6週令のF344雄ラットを用い、イニシエーターとしてDEN200mg/kgを1回腹腔内投与し、その2週後より、1% Clofibrateを基礎飼料に混じて30週間投与した。対照群としてDEN単独投与群および1% Clofibrate単独投与群を設定した。全群共、実験開始後3週目に肝の2/3部分肝切除術を行い、実験開始後8週、20週および30週目に屠殺剖検した

（図1）。肝臓は10%リン酸緩衝ホルマリン固定後バラフィン包埋し、免疫組織化学的にc-myc遺伝子産物およびGST-P染色を行った。免疫染色は抗c-myc P62抗体（R5432）、および抗ラットGST-P抗体を用いてABC法により行い、各陽性細胞巣につき単位面積あたりの数と面積を定量的に測定した。また、肝臓の一部については抽出後凍結処理を行った後、RIAによるc-myc遺伝子産物の定量を行った。

結果：GST-P陽性細胞巣の数および面積は実験開始後8、20、30週いずれの週においてもDEN単独投与群に比べDEN→Clofibrate群で有意な減少がみられた。一方c-myc遺伝子産物においては、DEN単独投与群ではGST-P陽性細胞巣の局在とよく一致して、陽性所見がみられたが、DEN→Clofibrate群ではc-myc遺伝子産物陽性細胞巣はほとんど認められなかった。Clofibrate単独群では、いずれの週においても、GST-Pおよびc-myc遺伝子産物陽性細胞巣は全く認められなかった。また、RIAによるc-myc遺伝子産物定量の結果においても、DEN単独投与群に比べ、DEN→Clofibrate群は有意な減少が認められた。



考察：DENにより誘発されるGST-Pおよびc-myc遺伝子産物陽性細胞巣はClofibrateの投与により、減少することが観察され、GST-Pとc-myc遺伝子産物の発現の相関性が確認された。また、c-myc遺伝子産物のRIAによる定量の結果は、免疫組織学的手法による結果とよく一致した。

DEN： Diethylnitrosamine（東京化成），200mg/kg体重，腹腔内注射
 Clofibrate： 2-(p-Chlorophenoxy) isobutyric Acid Ethyl Ester（東京化成），混餌投与
 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
 S： 屠殺

○ 高橋公正, 真板敬三, 白須泰彦 (残留農薬研)

マウスの皮下に発生する MFH様腫瘍において, エオジン好酸粗大顆粒を胞体にもつ細胞, 仮称eosinophilic globule (EG) 細胞がしばしば認められる。今回, EG細胞の形態学的特徴を明らかにするとともに, これらの細胞が出現していた腫瘍の組織学的特徴についても検索した。

〔材料および方法〕

ICR 系雌雄マウスを用いて実施した6つの長期毒性試験において認められた皮膚および皮下腫瘍の組織標本を検索し, EG細胞の出現の有無を調べた(下表参照)。その結果, 紡錘形細胞肉腫, 多形細胞肉腫ないし悪性血管内皮腫と診断された27例(雄6例, 雌21例)にEG細胞の出現を認めた。これらの症例について, 組織学的に再検索を行うとともに, そのうち4例について電顕的検索を実施した。

No. of mice examined	Male		Female	
	C 490	T 1530	C 490	T 1529
Epithelial origin:				
Papilloma	5	3	0	5
Keratoacanthoma	0	1	1	5
Mammary adenoma	2	0	6	5
Mammary adenocarcinoma	0	3	28	70
Squamous cell carcinoma	2	5	4	8
Non-epithelial origin:				
Fibroma	0	1	1	2
Lipoma	0	1	0	1
Hemangioendothelioma	2	4	3	3
Malignant hemangioendothelioma	3	4	2	7
Malignant hemangiopericytoma	2(1)	4	2	4
Spindle cell sarcoma	14	30(2)	8(4)	19(11)
Pleomorphic cell sarcoma	6	11(3)	4(2)	7(4)
Malignant mastocytoma	0	0	1	1
Malignant histiocytomae	0	0	1	1
Malignant neurofibroma	0	0	0	1

C: Control group, T: Treated group

(): The number of tumors with EG cell appearance

〔成績〕

これらの腫瘍はfibroblast like cellが主体をなし, その他に少数のhistiocyte like cellおよびundifferentiated cellから構成されていた。増殖様式はstoriform, pleomorphic, fascicular, myxoidおよびhemangiopericytoma-likeの5つが認められた。これらは WeissおよびEnzinger (1978年) が報告したヒトの MFHの像に類似していた。遠隔臓器への転移が認められた6例中2例には, 転移巣内においてもEG細胞が認められた。またmyxoid領域とcompact領域(storiform, pleomorphic, fascicularおよびhemangiopericytoma-like 領域を含む)との間で, 単位面積当たり(/mm²)のEG細胞の出現頻度について有意差検定を実施したところ, 両者間に差はなかった。

EG細胞は多様な形態をとり, しばしば多核細胞もみられた。顆粒はdiastase抵抗性 PAS陽性で, PTAIIで褐色に染まり, metachromasia および自家蛍光は陰性であった。電顕的観察では, 細胞表面には多数の突起がみられ, 細胞質内にはglycogenと大小の顆粒が認められた。顆粒は径約 2.5μm で, 電子密度の均一な中心部とvesicular membranous materialsが集合した周辺部から構成されていた。まれに粗面小胞体が良く発達し, 線維芽細胞に類似したEG細胞も認められた。

〔結論〕

- EG細胞はその顆粒の特異的な形態および組織化学的性状から, 他の炎症細胞(globule leukocyte, 肥肝細胞, 赤血球貪食細胞, 顆粒白血球, 形質細胞)とは異なる。
- EG細胞は形態学的に妊娠子宮の脱膜膜にみられるgranulated metrial gland (GMG) 細胞と類似する。
- EG細胞は腫瘍細胞の一変異像の可能性が高い。

宮 本 誠 (阪大医, 病理)

我々が当教室で飼育しているWF系ラットは高率に上行結腸に分化型腺癌を発生する。時には生まれた一腹全例が生後2月以内に雌雄ともに大腸癌の発生を認めその一部の雌雄に胃癌が随伴病変としてみられた。しかもそのうち約40%が自然消退する事が知られている。

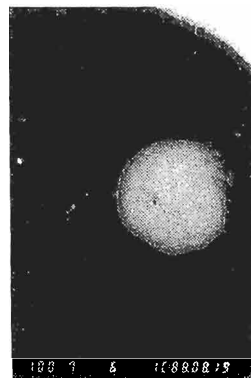
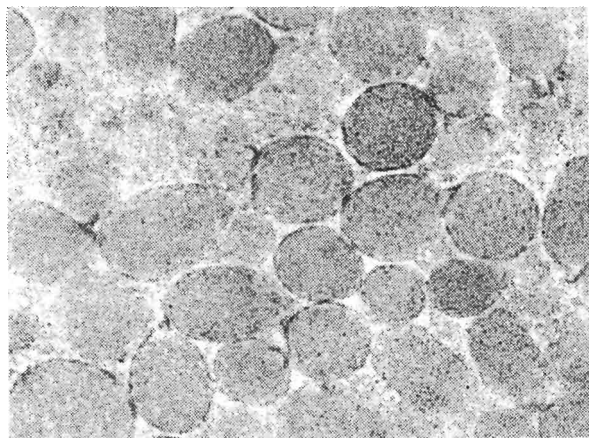
一方、この大腸癌を移植された宿主ラットには高率に大腸癌がおなじ上行結腸に誘発され、時には胃幽門部にも分化型腺癌が誘発される。さらに、雌では子宮体部腺癌もあたらしく誘発される。このラットの飼育は三つのことになった場所で行われており、癌はそのうちの二カ所(地上一階)で発生するが他の一カ所(地上二階)では全く発生を見ない。しかし地上二階で育った腹も、一旦、地上一階に移し飼育すると、移動してから約2カ月後には大腸癌を発生する。

以上の所見よりWF系ラットの持つ内在性因子としてウイルスの存在が疑われた。そこで担癌ラット血清0.3-0.5 mlをACI, LE, Wistar/Shiの新生児腹腔内に投与した後2カ月目に剖検した。三系列とも高率に大腸癌が発生し、特にACIラットでは胃癌の発生も見られた。そこで担癌ラット血清を30,000回転して得られた沈澱物を電子顕微鏡学的に検索した所、150-200 nmの円形または卵円形で、表面には無数のspikeを持つウイルス様粒子を多量に認めた。

現時点では大腸癌の原因にはウイルスの存在は不可欠ではあるが、さらに飼育環境も重大な関係を持つと考え、検討中である。

参考文献

- 1) Makoto Miyamoto et al
Pathology of the autochthonous carcinoma in glandular stomach of WF rat strain
Med J Osaka Univ 38 (in print) 1988
- 2) Makoto Miyamoto et al
Morphology on spontaneous regression of the autochthonous colon carcinoma in WF-Osaka rat strain
Med J Osaka Univ 38 (in print) 1988
- 3) Kazunori Saeki et al
Spontaneous colon cancer and its spontaneous regression in highly inbred Wistar-Furth rats: Genetic analysis
Med J Osaka Univ 38 (in print) 1988
- 4) 宮本 誠 他
WF-Osaka 大腸癌担癌ラット血清で誘発されたACIラット大腸癌 医学のあゆみ (in print) 1988
- 5) Makoto Miyamoto et al
A study on colon cancer-prone rats of WF-Osaka strain
Med J Osaka Univ 37: 1-12 1987



Figs: Electron microscopy of virus like particles by TEM and negative staining x 100,000

○勝田 修, 田子 穰, 山岸保彦, 土谷 稔 (三菱化成安全科学研究所)

卵黄嚢腫瘍は胚細胞由来の腫瘍であり、比較的稀ではあるがヒトではよく知られた腫瘍である。ラット、マウス等のげっ歯類では実験的に卵黄嚢腫瘍を作出する事ができるが、自然発生性の本腫瘍についての報告は非常に稀である。今回我々はB6C3F₁マウスに卵巣原発の卵黄嚢腫瘍を認めたので、その病理像の概要を報告する。

〔材料および方法〕 症例はB6C3F₁:Crjの雌マウスで、癌原性試験の低用量群に用いられた動物50例中の1例である。実験に際し動物を4週齢で購入後、Barrier-Systemの環境下で、CRF-1(オリエンタル酵母工業)と被験物質を混合した粉末飼料および殺菌水道水を自由に摂取させて飼育した。なお各用量群とも被験物質の影響は全く認められなかった。本例は、75週齢時に腹部の著しい膨満と衰弱のため切迫屠殺された。腫瘍塊を含む全臓器を10%リン酸緩衝中性ホルマリン液で固定し、常法に従って病理組織学的に検索した。また腫瘍組織については抗マウスα-fetoprotein(AFP)血清(Bio Genex Lab. U.S.A.)を用いた酵素抗体法を実施した。さらにホルマリン固定材料からのもとし電顕による検索も行った。

〔剖検所見〕 剖検時、腹腔内には血様腹水とともに様々な大きさの腫瘍塊が認められた。とりわけ右腎門部に形成された腫瘍は直径5cm大と最大で、副腎を包含して増殖し、腎臓も一部が巻き込まれており、さらに肝臓の外側右葉と線維性に癒着していた。腫瘍の表面は平滑で、赤褐色、暗赤色あるいは灰白色の斑状巣が混在して認められた。剖面では壊死性、融解性的変化が強く、深い皺襞の形成を認め、内部には多量の滲出液を含んでいた。また右卵巣に相当する部分は直径2cm大の腫瘍になり、表面剖面とも褐色調を呈していた。その他にも腹腔内臓器の漿膜面および腹壁に0.5cm程度の小結節が多発していた。

〔組織所見〕 腎門部の腫瘍および卵巣の腫瘍とも菲薄な線維性の結合組織で被われ、ほぼ同様な組織像を呈していた。この腫瘍では、好酸性に染まる豊富な硝子様の基質が特徴的で、PAS染色で強陽性を示した。腫瘍細胞はこの基質内にあたかも包埋されたような形で認められた。大部分の腫瘍細胞は比較的小型で均一な類円形を呈し、クロマチンに富む円形から卵円形の核を有していた。これらの小型細胞は数個が集まって巣状、リボン状あるいは小腺房状に

配列していた。また多角形あるいは不規則な形のトロホブラスト様巨細胞が散在性に認められた。この巨細胞の核は大型で楕円形あるいは奇異な形を呈し、核内では数個の核小体が明瞭であった。腫瘍細胞の細胞質は両染色で顆粒状もしくは小空胞状を呈していた。印環細胞に似た大型空胞を有する細胞も認められた。また細胞質内に好酸性の封入体を有する細胞も認められ、これは細胞外の基質と同様、PAS染色で陽性を示した。有糸分裂像は稀にしか認められなかった。一部の腫瘍は被膜を破って隣接組織へ浸潤、増殖しており、時として血管に栓塞していた。また肝臓、脾臓、横隔膜、腸間膜等の漿膜面および対側の卵巣嚢における移植性転移と肺への遠隔転移が認められた。免疫組織化学的染色では巨細胞を含む多くの細胞でAFP陽性を示したが、基質と一部の細胞は染色されなかった。

〔電顕所見〕 高電子密度を有する基質は均質無構造であったが、部分的には繊細な層状構造も認められた。腫瘍細胞には比較的平滑な細胞膜および発達した微絨毛が認められ、細胞隣接面には少数のデスモゾームが観察された。細胞質内ではよく発達した粗面小胞体がしばしば拡張しており(図-1)、腔内には細胞外の基質とよく似た構造物を容れていた。また、大きさ120-180nmのA型ウイルス様粒子が、主に拡張した小胞体腔内でしばしば認められた。

今回の症例は、豊富な基質とその中に包埋された様な腫瘍細胞を特徴としており、マウスで数件報告されている悪性の卵黄嚢腫瘍(yolk sac carcinoma)と診断された。

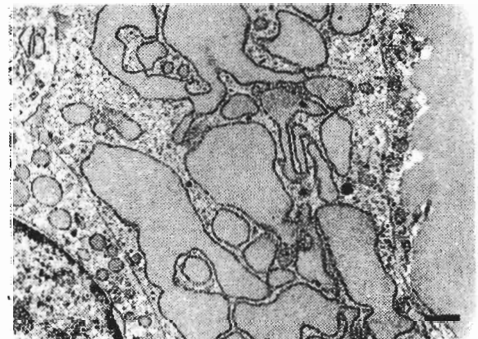


図-1 拡張した粗面小胞体を示す。

Bar=1μm

○吉村 慎介、斉藤 義明、山口 肇、今井 清（食薬安全センター・秦野研）

2,5-Hexanedione (2,5-HD)は、n-hexaneなどの代謝産物で、これらを大量に吸入すると体内で形成された2,5-HDにより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、神経線維の遠位側に見られることが知られている。我々は、高用量の2,5-HDをラットに連日経口投与したところ、組織学的に小脳核、前庭神経核および視床に空胞形成や水腫性の変化など、今までの報告とは異なる所見を認めため、第4回日本毒性病理学会で発表し、また同学会誌に投稿した。今回は、これらの変化の詳細を明らかにするために、高用量の2,5-HDを投与したラットの小脳核、前庭神経核および視床を電顕的に観察したのでその結果を報告する。

7週齢のSD系雌ラット (Crj:CD) 20匹を3群に分け、体重 100 gあたり0.5 mlになるように蒸留水で希釈した2,5-HD (和光純薬工業)を、8匹には 500 mg/kg、6匹には 700 mg/kgの用量で、1日1回、1週間に6日、胃管を用いて強制経口投与した。残りの6匹は対照群として蒸留水を投与した。2から6週間投与後、500 mg/kg投与群の2例は放血屠殺して脳を浸漬固定し、残りの生存した例は、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磷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。視床、小脳核および前庭神経核を含む組織を切出し、オスミウム後固定の後、エタノール脱水して電顕用に樹脂包理した。厚切り切片のトルイジンブルー染色標本を光顕的に観察した後、超薄切片を作製して電顕的に観察した。

投与開始後の体重は、500 mg/kg 投与群では増加の抑制が明らかで、700 mg/kg 投与群では体重は投与前よりも減少した。700 mg/kg 投与群では投与第2あるいは3週に、500 mg/kg 投与群では投与第3週に歩行の異常が現れ、さらに投与を続けると歩行不能に陥る例も見られた。700 mg/kg 投与群の1例は投与第4週に死亡した。

死亡例の脳のパラフィン切片の光顕的観察では、小脳核に空胞形成があり、視床に水腫と出血が見られた。浸漬固定した例のパラフィン切片でも小脳核に空胞形成が見られ、視床に水腫があった。

灌流固定した例の樹脂包埋厚切り切片の光顕的観察では、小脳核および前庭神経核に大型の空胞が多数形成され、内部に軸索が含まれていた。また、神経細胞周囲にやや濃染する多数の顆粒の認められる例があった。神経核およびその周囲には多数の髓球が見られた。血管の周囲腔はやや拡張しており、それぞれの投与群の各1例に血管周囲腔および実質内への出血があった。視床でも血管周囲腔の軽度な拡張が見られ、実質内に少数の空胞があった。700 mg/kg 投与群の1例では血管周囲腔への出血が見られた。

電顕的には、神経核内を走行する神経線維の軸索と髄鞘の間の軸索周囲腔が大きく拡張し、空胞状を呈する像が見られた。このような軸索周囲腔の拡張した部位の軸索に明らかな変化はなかったが、より細い有髄神経や無髄神経に軸索変性が見られ、軸索は無構造となり濃染していた。神経細胞周囲や突起間の細胞間隙はやや広く水腫性で、神経終末が神経細胞から遊離している像も多く見られた。神経細胞周囲に付着している神経終末には変性して膨化したミトコンドリアや、崩壊した多くの小器官を含む終末、著しく腫脹した終末などがときおり見られた。投与期間のやや長い例では少数のニューロフィラメントが蓄積し、腫脹した終末が多く見られた。基底膜で囲まれた血管周囲腔が拡張し、腔内出血している例があったが、血管内皮に明らかな変化はなかった。視床では astrocyte がやや膨化して細胞質は淡明となり、少量のグリコーゲン顆粒を含んでいたほか、少数の神経線維に軸索周囲腔の拡張や軸索変性が見られ、血管周囲腔に軽度な拡張が見られた。

小脳核や前庭神経核は平衡覚や運動の制御にとって重要な部位であることから、高用量投与による神経症状はこの部位の変化による可能性が考えられた。

○柴田 信男, 百瀬 泰紀, 内藤 惇 (キッセイ薬品・第二研)

緒言：クロロキン網膜症の発生以来，メラニン親和性を有する薬物の眼に対する影響については特別な関心が払われて来ている。しかしながら，メラニン親和性を有する薬物は数多くあるにもかかわらず，実際に眼毒性を発現する薬物は極めてまれであることも事実である。

今回，我々はメラニン親和性を有する薬物 Terodilin hydrochloride (TD) の網膜への影響についてビーグル犬を用いて検討した。同時に，陽性対照としてクロロキンの投与も行ない，得られた結果に多少の文献的考察を加えた。

方法：雄ビーグル犬8頭を用いた。4および3頭には，各々TD 25mg/kg およびクロロキン10mg/kgを，残る4頭には対照群として媒体のみを，いずれも3ヶ月間経口投与した。各群1例については1ヶ月間の回復性の検討も行った。

投薬期間および回復期間終了時に全例の眼球を採取し，常法に従い光顕ならびに電顕的観察を実施した。

結果：TD投与群には，色素上皮を含む網膜各層に何らの形態的異常を認めなかった。

クロロキン投与群では色素上皮を含む網膜各層の細胞に多量のMembranous cytoplasmic body (MCB)を認めた。特に視神経細胞に著明に認められ，光顕では，しばしば腫大した泡沫細胞が観察された。色素上皮細胞に多少認められたMCBの出現にはメラニン小体の多寡との関連はみられなかった。クロロキン投与の回復試験例には，程度は軽減されたものの依然同様な変化が観察された。

考察および結論：TDはイヌの網膜に対し何らの障害作用を持たないことが推察され

た。

クロロキンの網膜障害作用については，ヒトおよび各種の実験動物で報告されており，今回我々の得た成績もそれらの報告と一致する。注目すべきは，実験動物での多くの報告において，早期から視神経細胞等に高度な変性が認められるにもかかわらず，メラニン親和性の観点から注目される色素上皮細胞および近傍の杆錐体層等にはほとんど変化がみられないことである。

一方で，クロロキン等の化学構造上，親水性の部分と疎水性の部分の両方の性質を有する陽イオン性の一連の薬物(amphiphilic cationic drug)は，脂質症を誘発することが知られており，薬物により障害対象臓器・組織は異なるが，中枢神経系を含む全身の諸臓器・組織にライソゾームよりなるMCBを形成することが報告されている。クロロキン投与により網膜に出現するMCBについても酸フォスファターゼ活性が確認されており，ライソゾーム由来であることが示唆されている。

以上より，多くの場合薬物のメラニン親和性自体は網膜症の発現と直接的な関連がなく，従来メラニン親和性の観点から網膜症誘発が疑われていたクロロキンについては，同剤の有する脂質症誘発能が主要に関わっているのではないかと推察した。

○岡口 正保、和賀井 信彦、赤羽 浩一、采 孟、小河 秀正、長田 恭明（第一製薬・中央研究所）

薬剤を服用後に光線を受けることによって光線過敏症を生じる場合がある。しかし実験動物を用いた光毒性の検討はこれまでに少なく特に組織学的な解析はほとんど報告されていない。最近、和賀井らはマウスに長波長紫外線（UVA）を照射する実験系を確立し、光毒性反応を検出している。キノロン系合成抗菌剤であるナリジクス酸およびエノキサシンはまれに光線過敏症を誘発することが知られている。そこでキノロン誘導体のうち下記の条件により最も強く光毒性反応を生じたCI 934を用いて光毒性病変の病理組織学的特徴を経時的に検討した。

【材料と方法】

動物：実験にはBALB/c系雄マウス6週齢を用いた。

検体：CI 934 投与経路：静脈内投与

UVA照射：東芝製FL20SBLB ブラックライトを用いてUVAを4時間照射した（和賀井らの方法による）。

標本作製：各動物は屠殺時に耳介、背部皮膚、腹部皮膚を10%燐酸緩衝ホルマリンに、眼球をDavidson溶液にそれぞれ採材し、固定後常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色を施し光顕的に観察した。

CI 934の30mg/kgを投与し、直ちにUVAを4時間照射した。以後0、6、24、48時間および4日後に経時的に3匹ずつ屠殺して病変の推移を検討した。また、CI 934投与あるいはUVA照射の単独群および無処置対照群と比較した。

【結果】

（肉眼的所見）CI 934 + UVA照射例ではUVA照射終了直後より耳介の紅斑が見られ、48時間後では耳介の浮腫が現れ一部の例では顔面の浮腫が見られた。耳介の浮腫は4日後に強まっていた。なおCI 934投与例、UVA照射例、無処置対照例には変化は認められなかった。

（組織学的所見）

眼球：CI 934 + UVA例ではUVA照射終了直後より網膜の桿錐体層の微細空胞化がみられ、24時間後には桿錐体層の微細顆粒状化、外顆粒層の波状化がみられた。48時間後にはさらに外顆粒層核の変性・崩壊、外網状層の中の減少、色素上皮細胞の空胞変性が見られ、4日後にはこれらの変化がさらに強まっていた。CI 934投与例、UVA照射例、無処置対照例には変化は認められなかった。

背部皮膚：CI 934 + UVA例ではUVA照射終了直後より真

皮結合組織の核の濃縮が軽度に見られ、さらに6時間後には表皮細胞の変性・壊死、真皮および皮下織に軽度な毛細血管の拡張・充血と多形核白血球の浸潤がみられた。24時間後にはさらに皮下織毛細血管の拡張・充血、皮下織の水腫がみられた。48時間後にはこれらの変化が増強してみられ、4日後には表皮細胞の再生像を認めた。なおCI 934投与例、UVA照射例、無処置対照例には変化は認められなかった。

耳介：CI 934 + UVA例ではUVA照射終了直後には変化が見られなかったが6時間後には結合組織内に軽度な毛細血管の拡張・充血と多形核白血球の浸潤がみられた。24時間後にはさらに軽度の水腫が見られた。48時間後では表皮細胞の変性、壊死が軽度に見られ炎症性細胞浸潤、毛細血管の拡張・充血、水腫が強まってみられた。4日後ではさらに筋線維の変性、壊死が軽度に見られた。なおCI 934投与例、UVA照射例、無処置対照例には変化は認められなかった。

腹部皮膚：いずれの群においても変化は認められなかった。

【結論と考察】

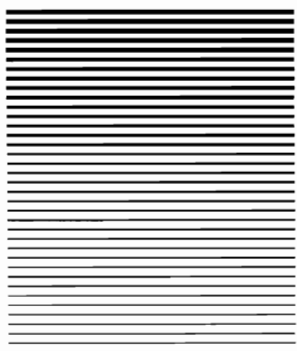
キノロン誘導体であるCI 934をマウスに静脈内投与しUVA照射すると光毒性反応が発現し、その形態的变化は網膜変性、背部皮膚と耳介の壊死、水腫、炎症性変化であった。網膜における変化は、光受容細胞である桿錐体層、外顆粒層であり薬物の分布が光受容細胞のUVA照射による感受性を高めたことが示唆された。背部皮膚での初期変化は真皮結合組織の核の変性であり血管分布と皮膚表面からの深さを考慮すると薬物とUVAとの相互作用がこの部位で最も強く発現しているものと考えられた。また48時間後より表皮、真皮の強い変性、壊死が進行したが炎症性病変による循環障害が関与している可能性が推察された。

MEMO

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。

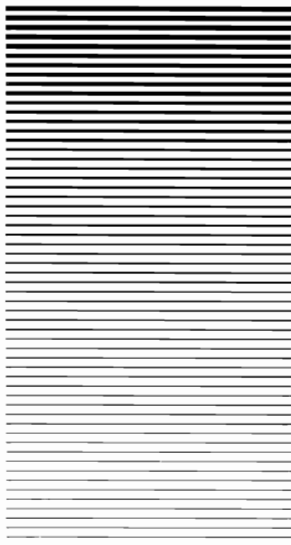
実験動物

ビーグル犬
LRE (U.S.A.)
国産犬
大型ハウンド犬 (U.S.A.)
サル
繁殖カニクイザル(フィリピン)
野生捕獲検疫ザル(//)
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



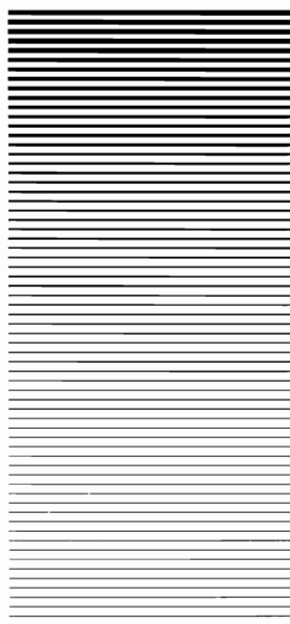
受託試験

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

ピ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

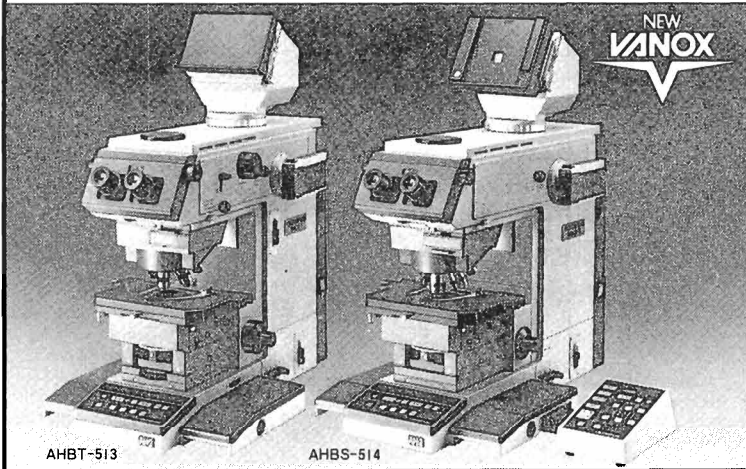


加商

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。

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。

●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。

未知をひらく光学技術

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

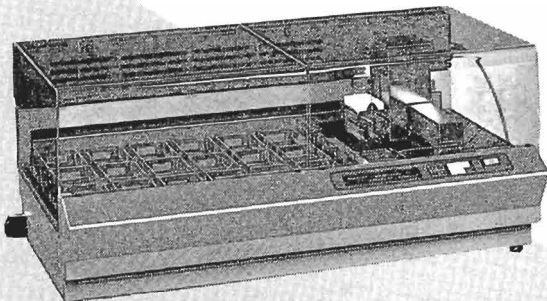
カタログ・パンフレット等のご請求は 株式会社オリンパス 〒101東京都千代田区神田駿河台3-4(龍名館ビル) ☎03(251)8981へ



明日のライフサイエンスをめざす
サクラ精機株式会社

染色の流

独自の移槽方式とマイコン制御により、
 高品質の染色が効率よく行える、DRS-60。
 いま、染色装置はいちだんと進化しました。



サクラ 自動染色装置 DRS-60

■DRS-60の主な特長

- 染色カゴをX(左右)、Y(前後)、Z(上下)の3方向に移槽する独自の方式を採用。目的槽へ斜めに移槽することも可能で、染色中の乾燥を最少限に防止します。
- 染色状態は、一目瞭然です。
- マイコン制御により、操作は簡単。広範囲の処理条件の設定もできます。
- シンプルな角型のため、スペースを有効に使えます。
- セルフチェック機能により、いつもベストな状態で使えます。
- 薬液や水の消費量を最少限にする工夫がなされています。
- 便利な乾燥槽を備えています。
- 振盪数の設定は、0~99秒の間で任意に設定できます。
- 分割トレーを採用しているため、染色方法の変更にも容易に対応できます。

発売 **サクラ精機株式会社**
 製造 **株式会社千代田製作所**

お問い合わせは—サクラ精機(株) 本社 〒103 東京都中央区日本橋本町3-1-9 ☎(03)270-1666
 本郷(03)814-2811 ・ 横浜(045)311-7971 ・ 札幌(011)222-5831 ・ 仙台(022)263-5131
 名古屋(052)932-0485 ・ 大阪(06)341-3788 ・ 中四国(0862)23-0324 ・ 福岡(092)441-7340



遺传的統御に徹する
微生物統御に徹する
環境統御に徹する
栄養統御に徹する

B S 動物

マウス Jel: ICR
ラット Jel: SD
ラット Jel: Wistar

無菌動物

マウス Jel: ICR[GN]
ラット Jel: SD[GN]
ラット Jel: Wistar[GN]

ミュータント

ヌードマウス BALB/cA Jel-nu
ヌードマウス C3H/HeN Jic-nu
ヌードマウス C57BL/6N Jic-nu
ヌードマウス NFS/N Jic-nu
ヌードマウス Jic:Lasat
ヌードラット Jic:rnu
筋ジストロフィ マウス Jic:C57BL/6J-dy

近交系

マウス C3H/HeN Jel-MTV
マウス C57BL/6N Jel
マウス BALB/cA Jel
マウス DBA/2N Jel
マウス F344/Jel
マウス A/HeN Jic
マウス AKR/N Jic
マウス CBA/N Jic
マウス CL/Fr Jic
マウス DBA/1 Jic
マウス KK/Jic
マウス NC/Jic
マウス NZB/Jic
マウス NZW/Jic

その他

ビーグル(イヌ)、サル類
ミニプタG 他

CLEA固型飼料・粉末飼料
特殊実験用飼料・R1減菌
飼料各種

実験動物飼育器具・機材
実験用設備・装置及び関連
商品各種

動物血液・血清・動物臓器
検疫・検査・試験・調査

実験動物施設設計・プラン
ニング・コンサルテーション
施工・監督

実験動物飼育コンサルタント
輸出入業務

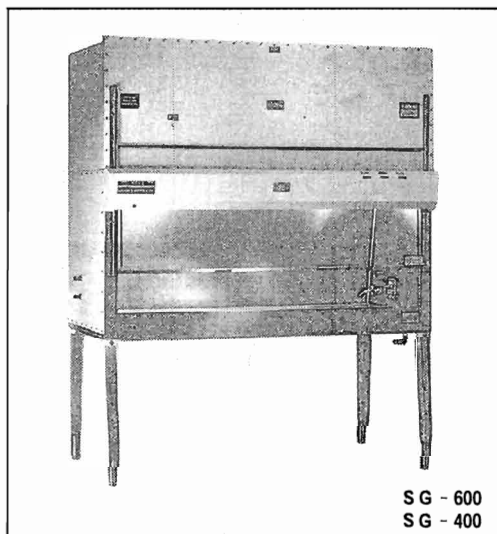
ひとつの生命から未来を見つめる



日本クレア株式会社

本社・東京営業所 東京都目黒区青葉台2-20-14第2いなりビル〒153 T E L 03(791)0151(代)
大阪営業所 大阪市西区京町堀1-13-2 藤原ビル〒550 T E L 06(441)0755(代)
札幌出張所 札幌市西区八軒9条西10-4-24 〒063 T E L 011(631)2725

米国ベーカー社製



SG - 600
SG - 400

輸入元



グンゼ産業理化学機器部



日本総発売元

岡崎産業株式会社

OKAZAKI

本社・工場 埼玉県草加市両新田西町405 ☎(0489)25-1521(代)
東京営業所 東京都中央区八丁堀4-4-3 ☎(03)552-4565(代)

ステリルガード

安全キャビネット クラスⅡタイプA
クラスⅡタイプB3

■特徴

- 高風速のリターンスロット
- 陰圧エアで包囲された安全性
- ゾーン別気流
- 研究者、実験試料及び環境の保護
- NSF規準 #49適合

米国ベーカー社製バイオカード(安全キャビネット
クラスⅡタイプA) B40-112, B60-112も発売いた
しております。

*詳しい仕様、お問合せ、カタログのご請求は、下記まで

リコーOA 機器
NEC ネットワークシステム
CANON NAVIシステム
システムファニチャー
OA サプライ・事務用品

CAMPUS の情報処理は

 株式
会社 **ミナト事務器**

〒232 横浜市南区中里1丁目9番27号
PHONE. 045 (713) 1201(代) FAX. 045 (742) 2094

Tokyo Press Co., Ltd.

電算写植機による和文・欧文・製版

大学・研究所・学会等学術文献印刷
株式会社 **東京プレス**

〒174 本社・工場 東京都板橋区桜川2-27-12 ☎03-932-9291(代表)
27-12 Sakuragawa 2-chome, Itabashi-ku, Tokyo 174 Japan

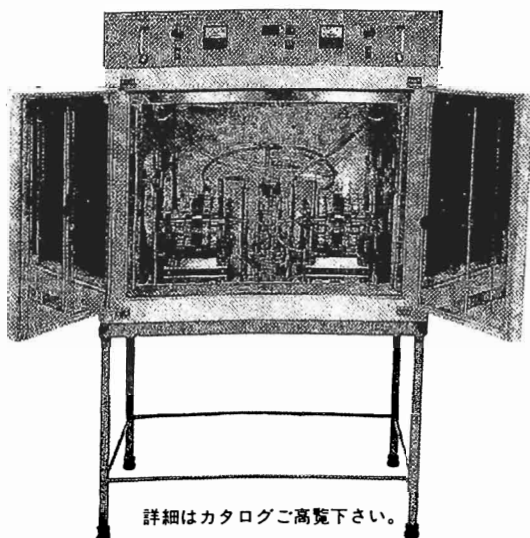
RKJ回転式胎仔培養装置 (PAT.P)

Cat. No.10-0310

用途

発生生物学の実験
哺乳類胎仔の代謝経路の実験
薬物の胎仔に対する毒性実験

広口短型培養瓶12本を装填する回転ドラム2セットを恒温器の中に組み込み、酸素と炭酸ガスの混合ガスを培養瓶中に直接連続送入してpHコントロールし長期間胎仔の培養ができる画期的な装置です。



詳細はカタログをご覧下さい。

RKJ

池本理化工業株式会社

東京都文京区本郷3-25-11 TEL (03)811-4181(大代表)
〒113 FAXTEL03(814)1960Pana7500TELEX272-2647R.K.I

実験動物 SLCの



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
HOS[®]:Donryu

モルモット Slc:Hartley
ウサギ Slc:NZW

●近交系●

マウス BALB/c Cr Slc
C57BL/6 Cr Slc
C3H/He Slc
DBA/2 Cr Slc
B10 C57BL/10 Sn Slc
コンジェック B10.A/SgSn Slc
B10.BR/SgSn Slc
B10.D2/nSn 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-BDF₁
SLC-CDF₁
SLC-B6C3F₁

●ミュータント系●

ヌードマウス BALB/c-nu Slc
KSN ヌードマウス

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
HOS[®]:Donryu

モルモット Std:Hartley
ウサギ Std:NZW
ハムスター Std:Syrian

Conventional動物

ビーグル犬 東洋ビーグル
輸入検査済カニクイザル
輸入繁殖カニクイザル

受託生産動物

マウス A/J Slc
AKR/N Slc
CBA/N Slc
C3H/He N Slc MTV⁺
C3H/He J Slc MTV⁻
PW Slc

疾患モデル動物

マウス SLC-NZBWF₁
SLC-WBB6F₁-W/W^v
MRL/MpJ-lpr/lpr
ラット WBN/Kob Slc
DA/Slc
Gunn rat Slc

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EIA試薬(デンカ生研)

ISLC

日本エスエルシー株式会社

〒431-11 静岡県浜松市湖東町3371 番地の8 ☎<0534>86-3178(代)



BIORESEARCH

- 変異原性試験用試薬類
- 実験動物用飼料 ○受託試験
- 実験動物 ○実験動物施設管理
- 実験動物用器具・器材・測定器



BIOCHEMICALS

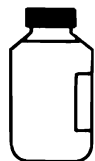
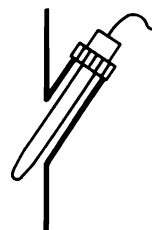
- 生化学試薬
- 免疫試薬(抗ヒト血清) ○ヒト血液タンパク



- 酸素計、炭酸ガス計 ○発酵自動制御システム
- インゴールド社製pH電極、菌濃度計
- 各種ファーメンター

BIOINSTRUMENTS

- 微量過酸化水素分析計
- 鮮度測定器



- 一般血清 ○特殊血清 ○粉末培地(液体培地)
- グロースファクター ○植物組織用培地
- 平衡塩類溶液(粉末乾燥品・液体)

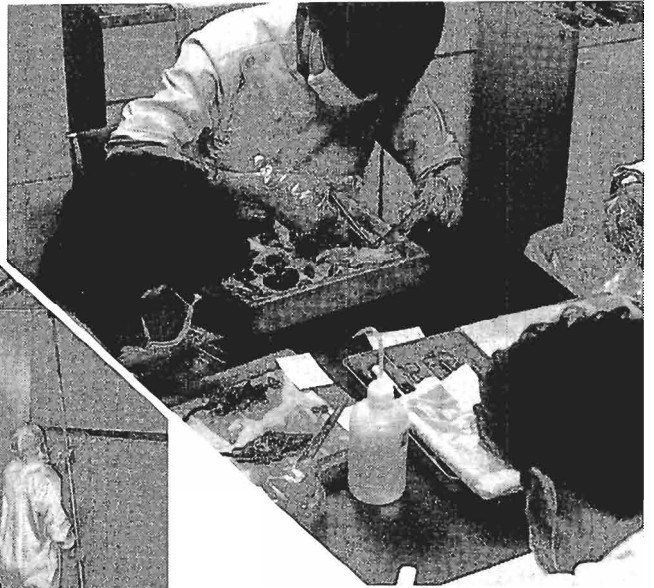
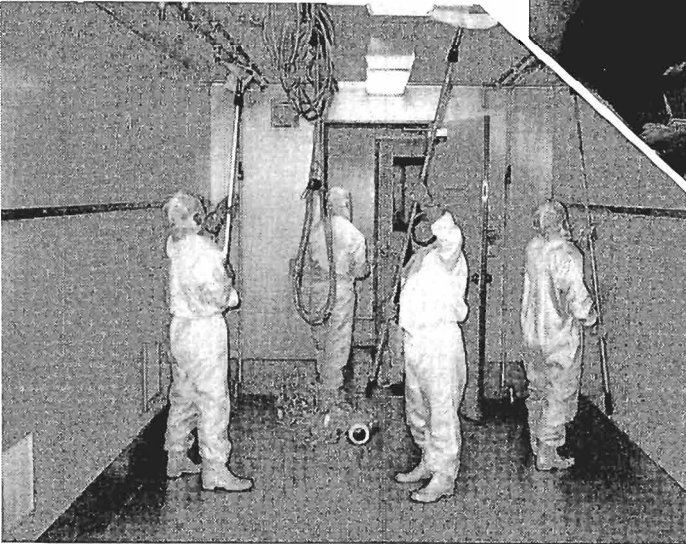
GIBCO

オリエンタル酵母工業株式会社
バイオ関連事業部

〒103 東京都中央区日本橋小伝馬町10-11
(03)663-8218

横浜営業所 〒220 横浜市西区岡野2-16-5
(045)311-7912

動物飼育の若人集団!!



施設滅菌のラボス

■ 実験動物飼育管理

飼育業務
動物実験
環境整備
廃棄物処理
器具類保守管理
管理業務

■ 動物実験施設の消毒・殺菌業務

■ 実験動物管理のインフォメーション・サービス

■ 設備管理

■ 物品販売

■ その他の各種実験動物

飼料、器具類、各種洗淨剤、消毒剤



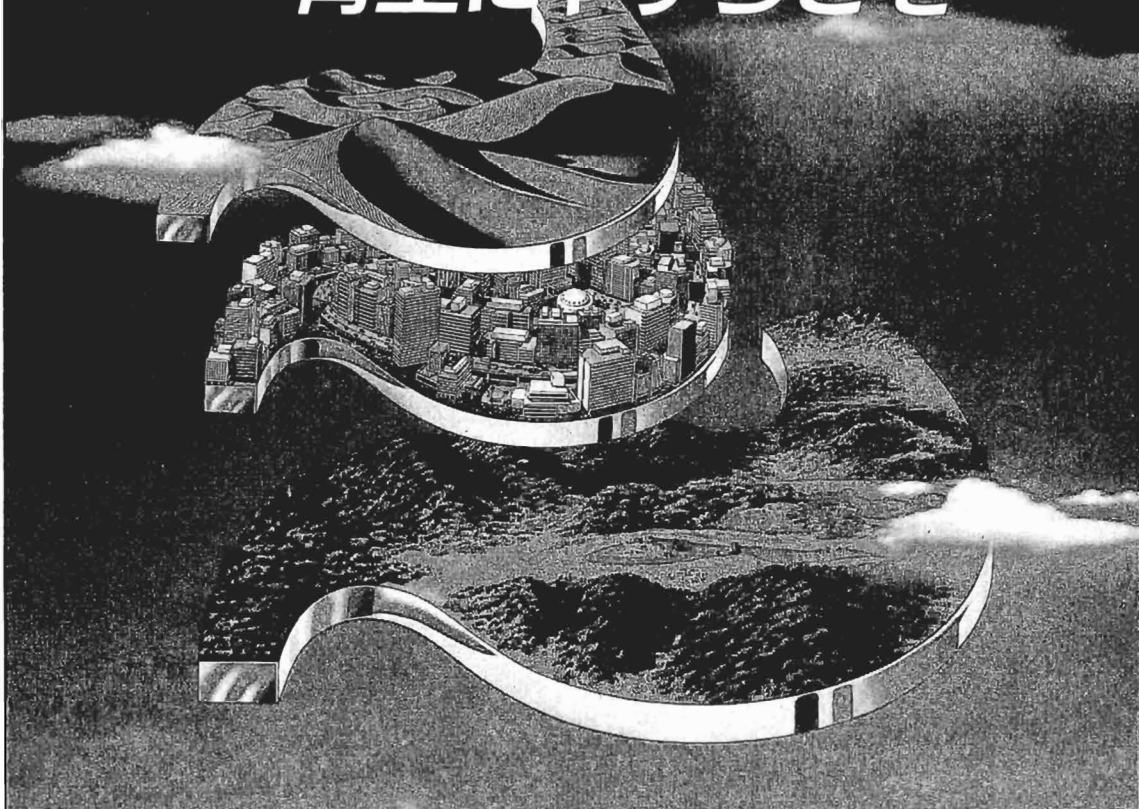
ラボス株式会社

本社 東京都渋谷区恵比寿南1-1-1 ☎ 03-792-1601(代)

大阪支店 大阪府吹田市南金田2-12-1 ☎ 06-380-2141(代)

胃炎…

胃壁にやすらぎを…



胃炎・潰瘍治療剤

マーズレン[®]-S 顆粒

MARZULENE-S GRANULES

健保適用

●効能・効果 下記疾患における自覚症状及び他覚所見の改善
胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍

- 成分：1g中 水溶性アズレン………3mg
L-グルタミン………990mg
- 用法・用量：通常成人1.5～2.0gを3～4回に分
割経口投与する。
なお、年齢、症状により適宜増
減する。

※詳しくは製品添付文書をご参照ください。

●使用上の注意

- 副作用：1) 消化器系 ときに悪心、嘔吐、
便秘、下痢、腹痛、膨満感、ま
れに嘔気、胃部不快感等があら
われることがある。
- 2) その他 ときに顔面紅潮があら
われることがある。

資料請求先

発売元



ゼリア新薬工業株式会社

東京都中央区日本橋小舟町10-11

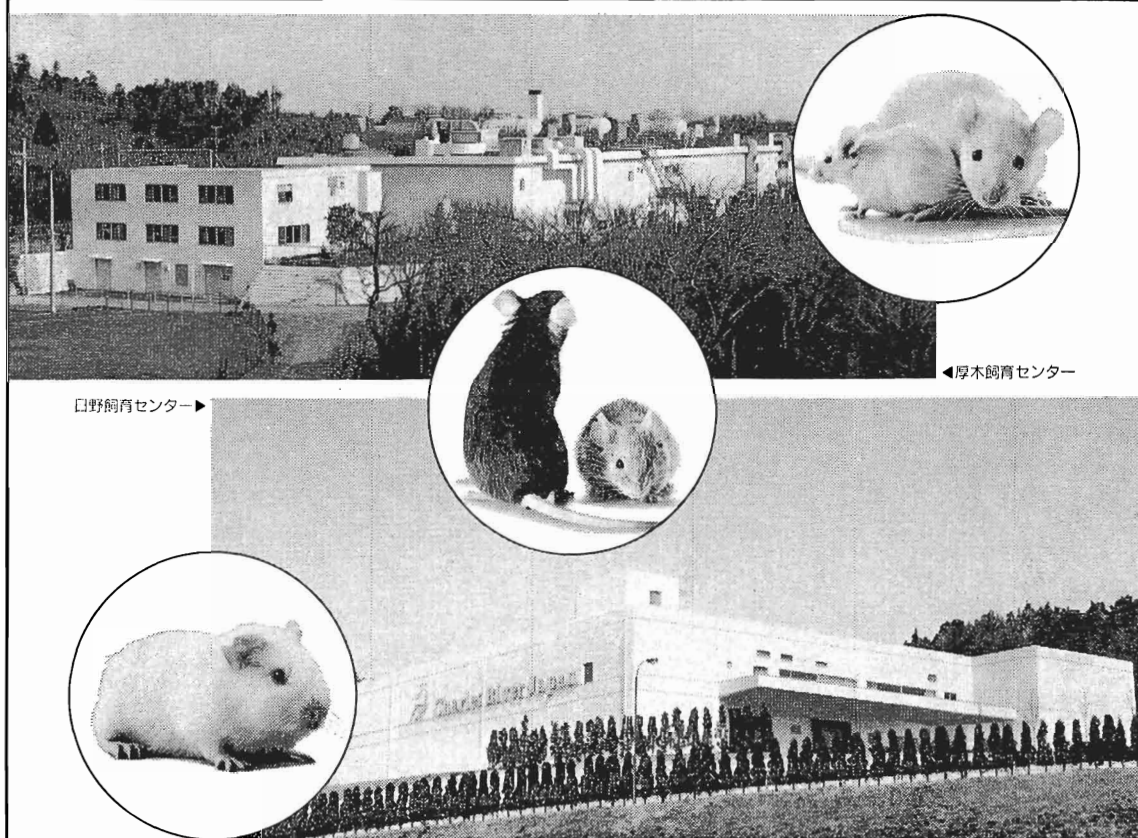
製造元



寿製薬株式会社

長野県埴科郡坂城町6351

Charles River



日野飼育センター→

←厚木飼育センター

—— 充実した設備から、日本全国へ確かな品質を ——
 創業いらいの高品質維持と安全性の高い設備で、これからもお応えします。

The International Standard

Crj: CD (SD), Crj: Wistar	C3H/HeNCrj, BALB/cAnNCrj,
Crj: CD-1 (ICR), Crj: Hartley	C57BL/6NCrj, DBA/2NCrj, CBA/JNCrj
F344/DuCrj (Fischer), SHR/NCrj,	Crj: BDF ₁ , Crj: CDF ₁ ,
WKY/NCrj (Wistar Kyoto),	Crj: B6C3F ₁ , Crj: NZBWF ₁ ,
LEW/Crj (Wistar Lewis)	Crj: CD-1 (ICR)-nu

- マウス・ラット・ハムスター用飼料 (CRF-1)
- 実験動物用床敷
- 動物実験機器 (ケージ、ラック、給水器、給餌器)
- (ホワイトフレック、サンフレック、ベータチップ)
- 輸入動物 (各種ラット、マウス、サル等)

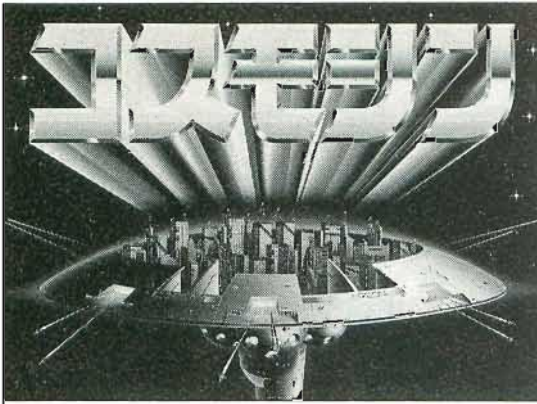


日本チャールスリバー株式会社

本社・厚木飼育センター	〒243-02 神奈川県厚木市下古沢795	☎0462(47)8331
日野飼育センター	〒529-16 滋賀県蒲生郡日野町下駒月735	☎07485(3)1281
東京営業所	〒103 東京都中央区日本橋本町4-6-3(日本橋東誠ビル)	☎03(270)6991
大阪営業所	〒550 大阪市西区立売堀1-11-7(永和産業ビル)	☎06(543)3901

◎弊社の正式英名称は **Charles River Japan, Inc.** です。


動物についてのお問合せ、ご注文は受注センター(☎0462(47)8331)で承ります。




■用法・用量

通常、成人にはセフゾナムナトリウムとして1日1~2g(力価)を2回に分けて静脈内に注射する。通常、小児にはセフゾナムナトリウムとして1日40~80mg(力価)/kgを3~4回に分けて静脈内に注射する。なお、年齢、症状に応じ適宜増減するが、難治性又は重症感染症には、成人では1日量を4g(力価)まで増量し2~4回に分けて注射し、小児では1日量を200mg(力価)/kgまで増量し3~4回に分けて注射する。静脈内投与に際しては、日本薬局方「注射用蒸留水」、日本薬局方「生理食塩液」又は日本薬局方「ブドウ糖注射液」に溶解して緩徐に注射する。点滴静注に際しては、補液に加えて30分~2時間で注射する。

※使用上の注意については、添付文書をご参照下さい。

製造
 日本レグラー株式会社
 東京都中央区京橋1丁目10番3号
 (資料請求先・学術情報部)

販売
 武田薬品工業株式会社
 大塚市東区道修町2丁目27番地

効能・効果 追加承認



■効能・効果

ブドウ球菌属、レンサ球菌属、ヘプトストレプトコッカス属、ヘプトコッカス属、大腸菌、シトロバクター属、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、肝膿瘍 ◆腹膜炎(含、骨盤膿膜炎、クラス窩膿瘍) ◆子宮付属器炎、子宮内感染、骨盤死腔炎、子宮旁結合織炎、バルトリン肺炎 ◆髄膜炎

S.63.5月31日付で、追加承認された効能・効果

セフェム系抗生物質製剤

静注用
コスモン[®]
 1g, 0.5g, 0.25g
Cosmosin[®]

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

昭和63年6月作成

nbr

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

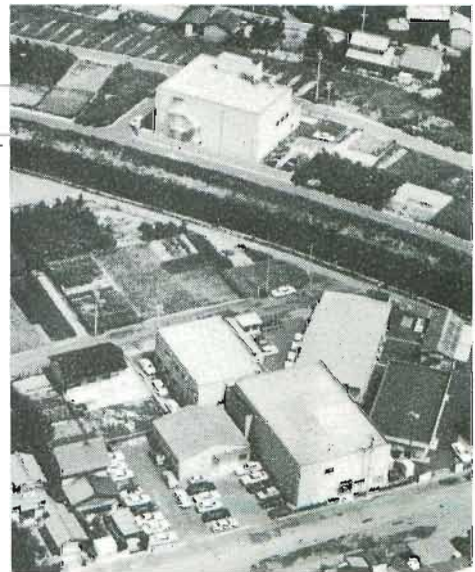
変異原性試験

(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

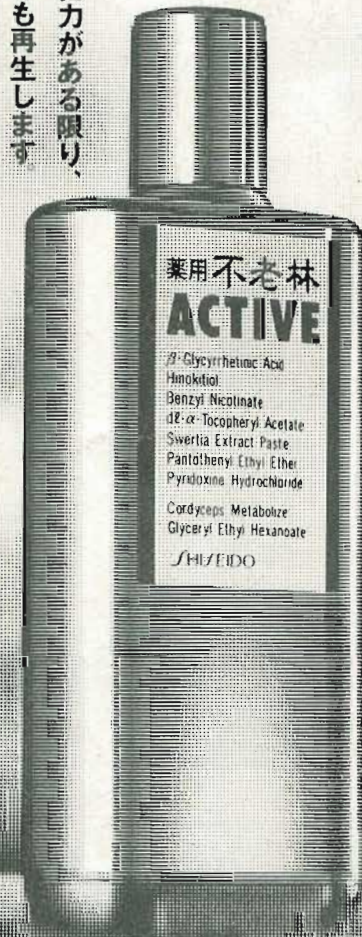


株式会社日本バイオリサーチセンター
 羽島研究所

〒501-62 岐阜県羽島市福寿町間島6-104
 TEL (0583) 92-6222(代)
 FAX (0583) 92-1284

SHISEIDO

運命をひらく、新育毛料



毛母細胞に力がある限り、
髪は抜けても再生します

ここに着目した不老林アクティブは、

4つのアクティブエフェクトと、

アクティブキヤリアの新薬用育毛料。

発毛を促すとともに、髪の成長サイクルを活性化させる

新しい処方の方の育毛料です。

毛母細胞に。

SHISEIDOの、新しい答えです。

4つのアクティブエフェクトが効く

薬用不老林
アクティブ

(医薬部外品) 5,000円・1,300円 新発売

冬虫夏草抽出液(保湿剤)配合