

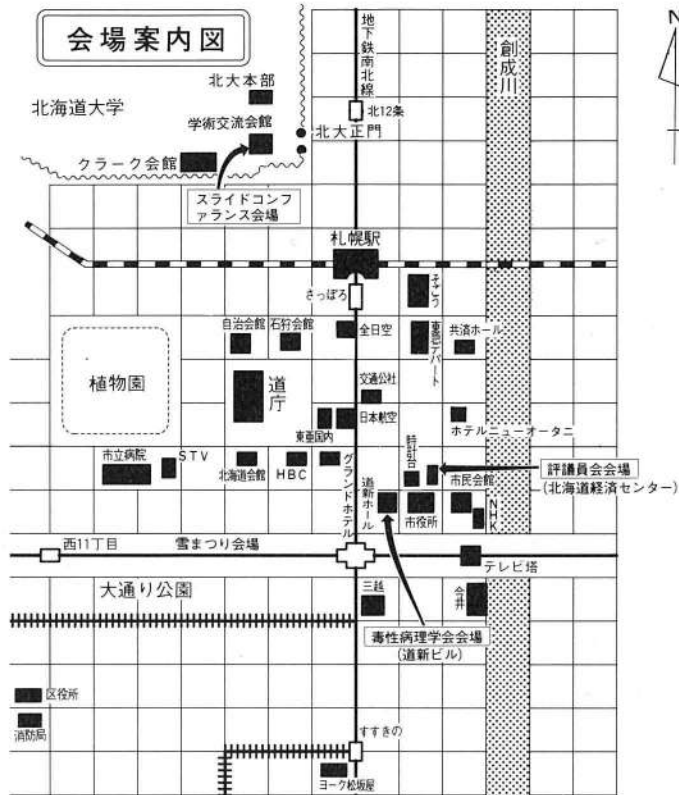
第 6 回日本毒性病理学会

講演要旨集



1990年2月13, 14日

札幌



学会会場：札幌市中央区大通西3丁目6番地 「道新ビル大通館」

TEL 011-221-2422

講演会場：8階道新ホール

示説会場：7階A会議室

- 〈交通案内〉
- ・JR「札幌駅」より徒歩約15分
 - ・地下鉄「大通駅」より徒歩3分

懇親会会場：札幌市東区北6条東9丁目 「サッポロビール園」

TEL 011-742-1531

〈交通案内〉 学会会場より貸切バスにて送迎

評議員会会場：札幌市中央区北1条西2丁目（時計台東となり）

北海道経済センター7階 「ニュー札幌」

TEL 011-221-5359

〈交通案内〉 会場より徒歩3分

スライドコンファランス会場：札幌市北区北8条西5丁目（北大正門入って左方ななめ向い）

「北海道大学学術交流会館」

〈交通案内〉 JR「札幌駅」または地下鉄「北12条駅」より、それぞれ徒歩で約5分

会長 板倉 智敏

事務局 札幌市北区北18条西9丁目

北海道大学獣医学部比較病理学講座

TEL 011-716-2111(内線5191~5194)

FAX 011-717-7569

日 程

第1日 (2月13日)

- 9:25～9:30 開会あいさつ (会長)
9:30～12:00 一般講演 (1～15)
12:00～13:10 昼 食, 評議員会
13:10～13:30 総 会
13:35～14:55 一般講演 (16～23)
15:00～16:15 シンポジウム (S-1～S-3)
16:15～16:30 休 憩
16:30～17:45 シンポジウム (S-4～S-6)
18:00～18:20 懇親会場行バス出発
18:45～21:00 懇親会

第2日 (2月14日)

- 9:10～11:00 一般講演 (24～34)
11:00～11:10 休 憩
11:10～12:10 特別講演
12:10～13:00 昼 食
13:00～14:30 示 説* (P-1～P-32)
14:30～16:50 一般講演 (35～48)
16:50 閉 会

※示説は第2日の11:00～16:00の間展示されていますが, 出題者は
13:00～14:30の間会場にて会員からの質疑に応じます。

参加者へのお願い

参加者の方へ

1. 受付で **参加費 (6,000円)** を納入して参加章を受取り、氏名を記入のうえ会期中は必ず左胸につけて下さい。
2. 受付は学会第1, 2日とも午前8時45分から道新ホールのロビーで行います。
3. 質問, 討論されたい方はあらかじめマイクの前に立ってお待ち下さい。そして座長の指示に従って所属と氏名を述べ発言下さい。

演者の方へ

1. 一般講演の講演時間は8分(7分に予告), 討論時間は2分です。
2. シンポジウムの講演時間は20分, 討論は5分です。
3. プロジェクターは35mm判用を1台用意します。
4. スライドは講演開始20分前までに会場入口のスライド受付に提出して下さい。
5. 次演者の方は次演者席(会場の左端最前列)に着いて下さい。

座長の方へ

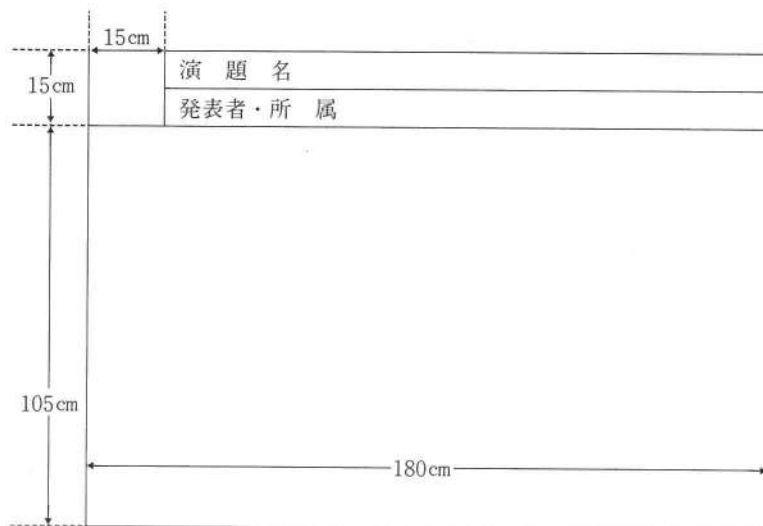
1. 次座長の方は次座長席(会場の右端最前列)にお着き下さい。
2. 持ち時間の範囲で司会下さいますようお願いいたします。

懇親会の案内

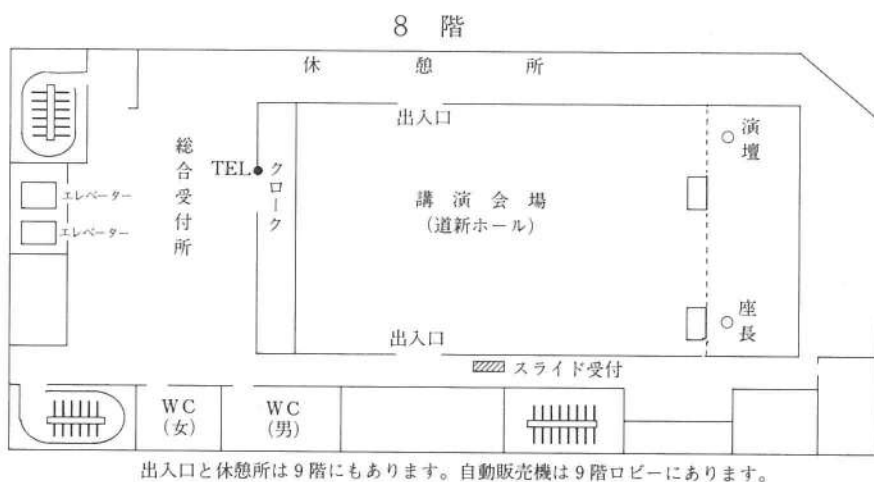
1. 懇親会は学会第1日の18時45分から21時までサッポロビール園(札幌市東区北6条東9丁目)にて開催されます。
2. 懇親会へ出席の方は学会第1日午後5時までに学会会場受付にてお申し込み下さい。
会費は4,000円です(バスによる送迎料を含みます)。
3. 懇親会場へは学会会場前から18時~18時20分までの間に貸切バスが出ますのでご利用下さい。なお, 帰路は市の中心街まで貸切バスを用意します。
4. 懇親会では, バーベキューを中心に北海道特産品を食べ放題, そして各種飲み物を自由に召し上がっていただきます。

示説をされる方へ

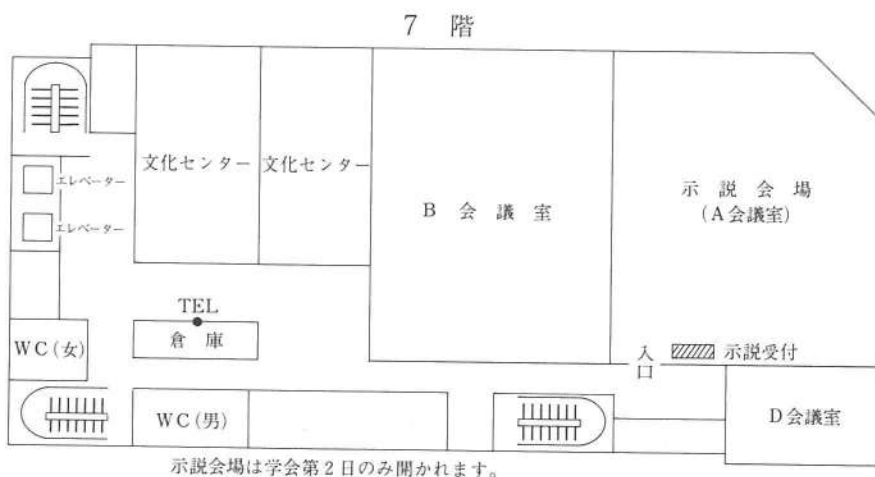
1. 示説の受付は学会第2日の9時30分から示説会場の入口で行っていますので, 当日11時までに受付と展示を済ませて下さい。
2. 示説時間は9時30分~16時00分ですが, 13時00分~14時30分の間出題者は必ず会場に居て参加者からの質疑に応じて下さい。
3. パネルの大きさは縦120cm, 横180cmです。
4. 示説発表物の展示には学会で用意した画鋏などを使用して下さい。
5. 演題名, 演者氏名, 所属の表題を次図の要領に従って作成し持参して下さい(演題番号は主催者で用意します)。



会場内案内図



出入口と休憩所は9階にもあります。自動販売機は9階ロビーにあります。



示説会場は学会第2日のみ開かれます。

特別講演とシンポジウムプログラム

特別講演

第2日 (2月14日) 11:10~12:10

座長: 蟹沢 成好(横浜市大・医)

ラットの肝細胞小増殖巣と肝癌との関連性 1

原田孝則 (残留農薬研)

シンポジウム

第1日 (2月13日) 15:00~17:45

司会: 岡庭 梓(田辺製薬)

板倉 智敏(北大・獣)

実験動物の硬組織の構造と病態

S-1. 骨組織の形態学的動態 3

阿部和厚 (北大・医・第3解剖)

S-2. ラットに自然発生する腎性骨異栄養症の病態 4

飯田晶敏 (大日本製薬・総合研)

S-3. ヒトの骨粗鬆症の病態とそのモデル作成の試み 5

高橋栄明 (新潟大・医・整形外科)

S-4. ラット切歯のエナメル質形成に及ぼす薬剤の影響 6

○阿部敏男, 宮嶌宏彰 (武田薬品・薬安研)

S-5. 薬剤誘発ラット四肢奇形の成立機序 8

○大塩 至¹, 長嶋和朗¹, 萩野利彦², 加藤博之²

(北大・医・¹2病理・²整形外科)

S-6. ラットにおける骨肉腫移植株樹立とその有用性 9

佐藤達資 (弘前大・医療短大)

一般講演プログラム

第 1 日 (2月13日)

9:30~10:00 座長: 藤原公策 (日大・獣)

1. ラット肝の前癌病巣における Tyzzer 病変 11
○ 二井愛介¹, 三木寿雄¹, 後藤直彰² (¹山之内製薬・安全研, ²東大・農)
2. ラット肝の前癌病変発生過程におけるキナクリンの影響 12
○ 吉田順一, 高村直子, 畝山智香子, 古田京子, 豊田和弘, 今井田克己, 林 裕造 (国立衛試・病理)
3. ラット肝発癌における Adriamycin, Actinomycin D, cis-dichlorodiammineplatinum (II) の影響 13
○ 田中卓二, 森下由紀雄, 森 良雄, 岩田 仁, 杉江茂幸, 森 秀樹 (岐阜大・医・1 病理)

10:00~10:30 座長: 津田洋幸 (藤田学園保健衛生大・医)

4. 実験肝硬変症生成諸段階のラット化学肝発癌に及ぼす影響 14
○ 清水昭男¹, 原田昌興¹, 蟹沢成好² (¹神奈川がんセ・臨床研・病理, ²横浜市大・医・1 病理)
5. GST-P 陽性細胞巣を指標とした中期発癌試験法とその長期観察との相関性 15
○ 小木曾正, 長谷川良平, Ricardo Cabral, 立松正衛, 伊東信行 (名市大・医・1 病理)
6. 長期動物試験における心肥大とその合併病変 16
○ 豊田和弘, 高橋道人, 佐藤秀隆, 岡宮英明, 今井田克己, 林 裕造 (国立衛試・病理)

10:30~11:00 座長: 前川昭彦 (国立衛試)

7. ラット腎発癌における糖尿病の影響 17
○ 小西 登¹, 北堀吉映¹, 大嶋正人², 日浅義雄², J.M. Ward³ (奈良医大・¹1 病理, ²2 病理, ³NCI-FCRF)
8. Diethylene glycol の発癌性試験ならびに EHEN 誘発腎発癌への修飾作用の有無について 18
○ 北堀吉映¹, 森本純司², 小西 登¹, 大嶋正人², 日浅義雄² (奈良医大・¹1 病理・²2 病理)
9. BBN によるマウス腎盂発癌におけるウラシルの増強作用 19
○ 村井 隆^{1,2}, 森 聖^{1,2}, 武内康義¹, 大原忠雄¹, 牧野 進¹, 林 幸之¹, 福島昭治² (¹シオノギ製薬・油日ラボ, ²名市大・医・1 病)

11:00~11:30 座長：小西陽一（奈良医大）

10. ハムスター BBN 膀胱発癌におよぼす Uracil の効果 20
○尾崎圭介^{1,2}, Danai Tiwawech¹, 高場克己¹, 宇和川賢^{1,2}, 白井智之¹, 福島昭治¹
(¹名市大・医・1病理, ²住友化学・安全研)
11. ラット膀胱発癌プロモーション作用に対するウラシル膀胱結石増殖刺激の時期による差異 21
○柴田雅朗, 山本 敦, 佐野真士, 箱井加津男, 萩原昭裕, 福島昭治 (名市大・医・1病理)
12. ラットにおける E1020 の膀胱発癌プロモーション作用発現機序の検討 22
○青木豊彦, 中野渡純一, 福田種男, 五十嵐俊二 (エーザイ・安全研)

11:30~12:00 座長：高橋道人（国立衛試）

13. ハムスター短期膀胱発癌モデルにおける Diethylnitrosamine の膀胱イニシエーション活性 23
○天沼利宏, 水元一博, 高島吉治, 下地尚史, 堤 雅弘, 丸山博司, 小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）
14. ハムスター P448 の局在ならびに BOP 誘発膀胱癌における発現 24
○篠田和俊¹, 古川文夫¹, 福原守雄², 佐藤元信¹, 高橋道人¹ (¹国立衛試・病理, ²国立公衛院・衛生薬学)
15. ラット膀胱癌皮下継代移植系の樹立 25
○辻内俊文, 堤 雅弘, 天沼利宏, 田村一利, 白岩和己, 小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

— 昼 食 —

13:35~14:05 座長：榎本 眞（安評センター）

16. 化学発癌剤処置マウスに認められた乳腺腫瘍の組織形態像 26
○宮川義史, 柿本恒知（日本たばこ・安全研）
17. ラット子宮内膜腺癌の発生に関する実験病理学的研究 — 内分泌異常と腺癌の発生との関係 — 27
○永岡隆晴^{1,2}, 小野寺博志¹, 前川昭彦¹ (¹国立衛試・病理, ²吉富製薬・安全研)
18. ラット子宮内膜癌の発生に関する実験病理学的研究 — 卵巣腫瘍と子宮内膜病変との関係 — 28
○小野寺博志, 永岡隆晴, 渋谷 淳, 小笠原裕之, 前川昭彦（国立衛試・病理）

14:05~14:35 座長：宮嶋宏彰（武田薬品）

19. ラットの可移植性悪性線維性組織球腫に由来するクローン細胞の特徴 29
○山手丈至, 東郷正治, 渋谷一元, 伊原三重子, 工藤 悟, 田島正典（日生研）

20. 培養系における線維芽細胞の細胞間マトリックス及び collagenolytic enzymes の産生に与える過酸化脂質の影響 30
 ○ 柿田徳彦, 柳 秀隆, 笹栗靖之, 福田秀一, 森松 稔 (久大・2 病理)
21. 培養ウシ大動脈内皮細胞における DNA 複製に対する過酸化脂質の影響 31
 ○ 福田秀一¹, 笹栗靖之¹, 柳 秀隆¹, 森松 稔¹, 八木國夫² (¹久大・2 病理, ²応用生化学研)

14:35~14:55 座長: 奈良間 巧 (摂南大)

22. DHPN 投与によるラット肺クララ細胞の形態学的変化と GST-Yc の誘導 32
 ○ 立野知世, 乃田 正, 伊藤聖一, 奥野泰由, 松尾昌季, 山田宏彦 (住友化学・安全性研)
23. 肺 Clara 細胞の分布と PCB 投与による反応の動物種差 33
 ○ 今井田克己, 高村直子, 畝山智香子, 吉田順一, 古田京子, 高橋道人, 林 裕造 (国立衛試・病理)

第 2 日 (2月14日)

9:10~9:40 座長: 三森国敏 (残留農薬)

24. 高用量 misonidazole あるいは RK-28 静脈内投与ビーグル犬の神経病理学的研究 34
 ○ 吉村慎介¹, 斉藤義明¹, 山口 肇¹, 青木道子¹, 今井 清¹, 大瀧サチ¹, 加藤宗平², 松本明德³ (¹食薬安全センター・秦野研, ²ポーラ化成工業・新薬研, ³科薬・薬理センター)
25. チオフェン継続投与によるラット小脳虫部病変について 35
 ○ 森 文秋, 吉田泰二, 高屋豪瑩 (弘前大・医・脳研・神経病理)
26. ニトロベンゼンのラット28日間反復投与試験でみられた中枢神経病変について 36
 ○ 外館あさひ, 渋谷 淳, 小野寺博志, 永岡隆晴, 前川昭彦, 林 裕造 (国立衛試・病理)

9:40~10:10 座長: 今井 清 (食薬安全センター)

27. ラット20分間広範囲脳虚血における海馬の組織学的検索 37
 ○ 田中俊光, 稲津水穂, 後藤鋼星, 佐藤良一, 堀米範子, 杉尾和夫, 林 昌亮 (ヘキストジャパン・医薬総合研)
28. マウスを用いた MPTP 脳病変作出の試み 38
 ○ 乾 俊秀, 山村高章, 湯浅啓史, 川合是彰, 岡庭 梓 (田辺製薬・安全研)
29. 2-hydroxymethyl-2-methyl-1,3-propanediol 投与による中枢神経病変の病理組織像ビーグル犬における脊髄病変 39
 ○ 前田 博¹, 尾崎清和¹, 奈良間巧¹, 鈴木義孝² (¹摂南大学, ²岐阜大・農)

10:10~10:40 座長：森 道夫 (札幌医大)

30. Phenobarbital 投与による肝 Finger print の経時的変化に関する検討 40
○豊岡正好, 山本恭之, 中舘 豊, 三浦 稔 (三菱化成・安全性研)
31. 四塩化炭素惹起肝病変の貧血による修飾 41
○堺 俊治¹, 泉澤伸行¹, 井上直美¹, 花田貴宣¹, 三木寿雄¹, 野村靖夫² (¹山之内製薬・安全研, ²麻布大・獣・病理)
32. 四塩化炭素長期吸入暴露によりラット, マウスに観察された肝病変などの比較 42
○片桐 卓, 長野嘉介, 相磯成敏, 山内勝彦, 松本道男, 榎本 眞 (中災防・日本バイオアッセイ研究センター)

10:40~11:00 座長：臼居敏仁 (萬有製薬)

33. 幼雛での牛血清アルブミンによるアフラトキシン排除の試み 43
○平野孝一, 足立数吉 (家畜衛試)
34. 遺伝性肝炎 (LEC) ラット肝の各種肝障害性薬物に対する感受性の検討 44
○上村裕洋, 高橋秀俊, 坂本裕史, 森 道夫 (札幌医大・病理)

— 昼 食 —

14:30~15:00 座長：立松正衛 (名市大・医)

35. ブタ血清投与により発生するラット肝硬変類似病変の検討 45
○奥村正直^{1,2}, 広瀬雅雄², 七野 裕², 星谷 達², 津田洋幸³ (¹愛知衛研・生物, ²名市大・医・1病理, ³藤田学園・医・2病理)
36. APA 系ハムスターにおけるストレプトゾトシンの急性毒性 46
○韓 晋洙¹, 乗松真理¹, 菅原由憲¹, 土井邦雄¹, 光岡知足¹, 志村克己², 赤井弘幸², 田村一利² (¹東大・農, ²ボゾリサーチセンター)
37. 喫煙の経消化管的影響に関する実験病理学的研究 47
○永露博昭^{1,2}, 伊藤隆明², 北村 均², 脇坂美国¹, 蟹沢成好² (¹資生堂研, ²横浜市大・医・1病理)

15:00~15:20 座長：佐久間貞重 (アップジョン)

38. 長期自発運動がラットにおよぼす影響 48
○吉田 緑, 豊原俊治, 田内清憲, 滝沢隆安, 今道友則 (動繁研)
39. Physostigmine, Deflos 投与によるラット下垂体中間部の変化 49
○今井俊夫, 青木豊彦, 細川 暁, 日比野信裕, 福田種男, 岡田雅昭, 中野渡純一, 五十嵐俊二 (エーザイ・安全研)

15:20~15:50 座長:眞板敬三(残留農薬)

40. Harman および Norharman によるラット腎毒性 50
○倉田 靖¹, 小川久美子¹, 田中 光¹, 津田洋幸², 萩原昭裕¹ (1名市大・医・1病理,
2藤田学園・医・2病理)
41. 抗生物質の投与による尿中 NAG 活性の変動と腎の病理学的変化について 51
○川口 隆, 細川 暁, 岡田文弘, 菅沼彰純, 福田種男, 日比野信裕, 富松幹夫, 松
原孝雄, 中野渡純一, 五十嵐俊二(エーザイ・安全研)
42. 培養近位尿細管上皮細胞におけるカドミウム毒性 — 細胞化学的・細胞病理学的研究 —
..... 52
○濱田哲夫¹, 藤原 仁¹, 谷本昭英², 井出良浩², 有吉加代子², 小出 紀² (1産医大・
病院病理部・22病理)

15:50~16:20 座長:土井邦雄(東大・農)

43. 化学物質による精巣障害の病理学的検討(第3報) — 大量ビタミンB₆投与によるラット
精巣障害 — 53
○海道昌宣¹, 井出良浩¹, 小出 紀¹, 森 晃爾², 濱田哲夫³ (1産医大・2病理・2環
境中毒・3病院病理)
44. WBN/Kob ラットにおける精巣の萎縮性病変について 54
○佐藤元信, 古川文夫, 篠田和俊, 岡宮英明, 今沢孝喜, 今井田克己, 高橋道人(国
立衛試, 病理)
45. WBN/Kob ラットにおける自然発症睪炎モデルの病理組織学的検討 55
○古川文夫, 今沢孝喜, 篠田和俊, 佐藤元信, 佐藤秀隆, 高橋道人, 林 裕造(国立
衛試・病理)

16:20~16:50 座長:松沼尚史(三共)

46. 硫酸アトロピン反復投与によるラット膀胱, ハーダー腺, 眼窩外涙腺への影響 — 組織
学的検討 — 56
○田川義章, 朝枝伸幸, 岩井久和, 早坂郁夫(三和化学研・安全研)
47. CRJ: BDF1 マウスの切歯に観察された自然発生性の形成異常及び腫瘍類似病変
..... 57
○相磯成敏, 長野嘉介, 片桐 卓, 山内勝彦, 松本道男, 榎本 真(中災防・日本バ
イオアッセイ研究センター)
48. 老齢ラットの尾椎横突起外側に認められた軟骨組織について 58
○勝田 修¹, 田子 穰¹, 土谷 稔¹, 並木正人², 板倉智敏³ (1三菱化成・安科研,
2三菱化成・総研, 3北大)

示説プログラム

第 2 日 (2月14日)

13:00~14:30

- P-1. ビーグル犬に認められた結節性動脈周囲炎と思われる2症例 59
○紫垣武伸, 一鬼 勉, 児玉龍平 (パナファーム・ラボラトリーズ)
- P-2. 若齢ビーグル犬においてみられた皮脂腺過形成について 60
○岡田雅昭, 早川和宏, 青木豊彦, 日比野信裕, 福田種男, 中野渡純一, 五十嵐俊二
(エーザイ・安全研)
- P-3. ビーグル犬の肝細胞胞体内に認められた好酸性滴状封入体について 61
○井上尚子, 木村 均, 菅沼和子, 和田 浩 (日本バイオリサーチセンター・羽鳥研)
- P-4. 両側視神経障害および多臓器内褐色色素沈着を示したカニクイザルの一例
..... 62
○田中 薫¹, 鳥越徳雄¹, 永田良一², 池田和彦³, 横田真一⁴ (新日本科学・¹病理部・²毒性部, ³東京大学・脳研病理, ⁴鐘淵化学・医薬品事業部)
- P-5. F344 ラットに多発した腔円蓋の嚢胞性拡張病変 63
○大石裕司, 松本正博, 藤平司郎, 中野一雄, 三好幸二, 岩波黄葵, 藤井登志之 (藤
沢薬品・安研病理)
- P-6. 若齢F344 ラットに認められた一側性視神経無形成症の一例 64
○渋谷一元, 山手丈至, 伊原三重子, 工藤 悟, 田島正典 (日生研)
- P-7. F344 ラットの雌に発生した neuroectodermal tumor と考えられる興味ある一例
..... 65
○廣内康彦¹, 長嶋和郎², 岩田 聖¹, 小池嘉秀¹, 小林和雄¹, 榎本 眞¹ (¹安評セン
ター, ²北大・2病理)
- P-8. 骨髓原発と考えられるラット自然発生組織球性肉腫 66
○小笠原裕之, 小野寺博志, 永岡隆晴, 外館あさひ, 渋谷 淳, 前川昭彦 (国立衛試・
病理)
- P-9. NON マウスの自然発生腎病変について 67
○村岡義博¹, 松井信志¹, 原田 稔¹, 牧野 進² (¹塩野義研, ²塩野義・油日ラボ)
- P-10. 培養抹梢血単球によるチェンバースライドを用いた薬物誘発性脂質症の形態学的スク
リーニング法 68
○杉本哲朗¹, 鈴木繁生¹, 竹田泰久², 土屋陽子², 辻紘一郎³ (¹中外製薬・安全研・
²応用研・³CSK 実動研)
- P-11. Fischer344 ラットの肝泡沫細胞に対するコレステロール負荷および diethylhexyl
phthalate 経口投与の影響 69
○松本悦嗣, 矢本 敬, 五十嵐功, 高岡雅哉, 加藤佐和子, 松沼尚史 (三共・安全研)

- P-12. Acid lipase 異常ラット (Wolman 病ラット) の特性 — 血中脂質の変動 — 70
 ○ 岡崎啓幸¹, 尾根田晁¹, 畠中真吾¹, 下園孝治¹, 栗山 勝², 永田良一³, 吉田浩己¹
 (鹿児島大・医・¹1 病理・²3 内科, ³新日本科学・毒性部)
- P-13. 遺伝性肝炎 (LEC) ラットの肝でみられる超微構造的変化 71
 ○ 加我雅代¹, 高橋秀俊^{1,2}, 水無瀬昂², 森 道夫², 竹内雅也¹, 小野江為則¹ (¹札幌総合病理, ²札幌医大・病理)
- P-14. 遺伝性肝炎 (LEC) ラット肝における低用量 diethylnitrosamine の initiation 効果の検討 72
 ○ 高橋秀俊^{1,2}, 榎本克彦¹, 森 道夫¹, 小野江為則² (¹札幌医大・病理, ²札幌総合病理)
- P-15. 3'-Me-DAB 投与無アルブミンラットのアルブミン陽性肝細胞に及ぼす Puromycin Aminonucleoside の影響 73
 ○ 安藤利恵¹, 田中寿子¹, 吉田裕明², 鈴木昭男¹, 長瀬すみ³ (慈恵医大・¹微細形態研・²2 内科, ³佐々木研)
- P-16. 無アルブミンラットの Alb 陽性肝細胞に及ぼす 3'-Me-DAB の影響 74
 ○ 玉井幸子¹, 田中寿子¹, 新谷 稔², 長瀬すみ³, 鈴木昭男¹ (慈恵医大・¹微細形態研・²1 内科, ³佐々木研)
- P-17. 肝発癌物質の中期発癌性試験におけるラット肝 GST-P 陽性細胞の三次元的解析 75
 ○ 加藤俊男¹, 立松正衛¹, 今井田克己², 山田真弓¹, 伊東信行¹ (¹名市大・医・1 病理, ²国立衛試)
- P-18. 実験肝癌にみられた混合型肝癌の免疫組織化学および電子顕微鏡的研究 76
 ○ 小島 隆, 武知雅人 (三菱化成・安全性研)
- P-19. ウレタンの発がんリスクの評価 77
 ○ 有広光司, 武島幸男, 井内康輝, 徳岡昭治 (広島大・医・2 病理)
- P-20. エンドトキシンの一般毒性試験評価に及ぼす影響 (その1) 78
 ○ 高木英利, 原田 寧, 増田達樹, 石嶋隆守, 山下 裕, 村田晃子, 下地尚史, 川久 保安朗, 古川泰雄 (日本レダリー・生研)
- P-21. DMAB 処置ラットに観察された心臓肉腫 79
 ○ 中村 厚, 高橋 智, 岩崎省吾, 白井智之, 伊東信行 (名市大・医・1 病理)
- P-22. Adriamycin および Mitomycin C の膀胱注入によるラット膀胱粘膜上皮の DNA 合成および病理組織学的ならびに走査電顕的变化 80
 ○ 浅川恵美子, 玉野静光, 伊藤初美, 白井智之, 福島昭治 (名市大・医・1 病理)
- P-23. ハロペリドール投与によるラット下垂体前葉プロラクチン細胞の免疫電顕的観察 81
 ○ 築館一男, 須藤 武, 甲斐純子, 福田種男, 見上 孝, 中野渡純一 (エーザイ・安全研)
- P-24. 3-Amino-1, 2, 4-triazole 類似化合物のラットにおける抗甲状腺作用 82
 ○ 高岡雅哉, 宮腰昶宏, 加藤佐和子, 五十嵐功, 松沼尚史 (三共・安全研)

- P-25. コルチコステロイド剤のマウス皮下投与による骨格筋および大動脈への影響 83
 ○ 田中剛太郎, 山口修司, 水本隆章, 大杉芳孝, 入村兼司 (大鵬薬品・安全研)
- P-26. エトキシキン投与によるラット腎石灰化および腎結石の超微形態学的観察ならびに元素分析 84
 ○ 今沢孝喜, 豊田和弘, 佐藤秀隆, 下地尚史, 今井田克己, 高橋道人 (国立衛試・病理)
- P-27. 塩化メチル水銀の慢性毒性・発癌性に対する B6C3F1 マウスの感受性 85
 ○ 三森国敏, 平野雅裕, 上田英夫, 真板敬三, 白須泰彦 (残留農薬研)
- P-28. ラット中枢神経系神経膠細胞腫についての免疫組織学的検討 86
 ○ 渋谷 淳, 小笠原裕之, 小野寺博志, 前川昭彦, 林 裕造 (国立衛試・病理)
- P-29. ラット新生仔腎の各種レクチンおよびコロイド鉄に対する染色性の検討 87
 ○ 佐藤秀隆, 豊田和弘, 古川文夫, 岡宮英明, 今沢孝喜, 高橋道人, 林 裕造 (国立衛試・病理)
- P-30. チメロサル投与によるマウス foot pad の炎症性反応 88
 内田哲也, ○ 内藤誠之郎, 加藤博史, 衛藤光明, 茅野文利 (予研・生物製剤管理)
- P-31. Testicular steroidogenic assessment, Leydig cell morphology and mercury distribution after methylmercury treatment in rats 89
 Chowdhury, A.R. (Natl. Institute of Occupational Health, India)
- P-32. Sprague-Dawley ラットにおける実験的肝癌誘発に影響を及ぼす各種要因に関する研究 90
 ○ 李 榮純, 鄭 滋永, 李 完揆 (ソウル大学・獣医科大学)

特別講演要旨

ラットの肝細胞小増殖巣と肝癌との関連性

原田孝則（残留農薬研）

近年、化学物質による肝発癌機構に関する研究は多分野において精力的に行われ、実験動物領域においてもラットを用いたInitiation/Promotion 発癌モデルによる肝癌発生過程の解析に関する業績は多大なものがある。このラットの発癌モデルでは、代表的イニシエーターとして既知の発癌物質である2-acetylaminofluorene, aflatoxin B₁, benzo(a)pyrene, diethylnitrosamineなどが使用され、プロモーターとしてはphenobarbital あるいは肝部分切除法がよく用いられている。同実験モデルでは、肝癌発生に前駆して種々の酵素変異を伴った肝細胞小増殖巣 altered hepatocellular foci（以下AHF と略す）が出現することが解明され、この結果を基に現在AHF を指標にした発癌物質の短期検索法が広く用いられており、中でも胎盤型 glutathione S-transferase 陽性巣を指標にした検索法が最も良い方法として推奨されている。このAHF は通常のヘマトキシリン・エオジン(HE)染色標本においても観察され、その染色性により一般に好塩基性(basophilic), 好酸性(eosinophilic), 明細胞性(clear cell), 空胞性(vacuolated), 混合型(mixed)の各型に分類される。

AHFは、上記の発癌モデルでは発癌物質の投与量および投与期間に相関してその数および大きさが増加することから前癌病変として一般に考えられている。しかしながら、一方ではAHF を前癌病変とすることに疑問視する向きもある。その根拠として、ラットでは無処置対照動物においてもかなり高い頻度でAHF は出現し、加齢とともにその数および大きさが増加（我々の研究結果では、老齢F344ラットで1個体当たり3000~4000個のAHF が存在）するにもかかわらず肝細胞癌の自然発生率は極めて低いことが挙げられる。この事実を考慮するとAHF が直接腫瘍に移行する前癌病変とは考え難く、むしろAHF の増加は単なる随伴事象とも考えられる。また、Initiation/Promotion 発癌モデルにおいても発癌物質の投与を中止すると多くのAHF は消失することが知られており、このことは大部分のAHF はその時点ではまだ自律性増殖能力を持たないことを示唆しているものと解釈される。従って、現時点ではAHF の生物学的意義についての統一見解はまだ得られておらず、今後の研究、特に情報の不足している長期発癌実験でのAHF の解析が望まれている。

以上の点を考慮して、我々は米国 National Toxicology

Program (NTP) によって行われたF344ラットの2ヵ年発癌性試験の中から8種類の異なった化合物の試験を選び、その肝組織についてHE染色標本を作製し、画像解析装置を用いてAHF の定量解析を行った。なお、化合物は1-amino-2, 4-dibromoanthraquinone (ADBAQ), C.I. Acid Red 114, methyl carbamate, 4-hydroxyacetanilide, epinephrine HCl およびdimethoxane で、前3者は明らかに肝に対する発癌性陽性であり、ADBAQ および C.I. Acid Red 114はgenotoxicityについても陽性であった。後者の3化合物は全て肝発癌性陰性であった。その結果、発癌陽性化合物を投与したラットでは対照群の自然発生AHF とは形態的に異なる特異なAHF が出現し、その数および大きさが投与量あるいは投与期間に相関して増加し、しばしば肝腫瘍への移行像が観察された。同変化はgenotoxicity 陽性の発癌物質を投与したラットにおいてより明確であった。一方、自然発生性AHF は同投与群において全般に増加する傾向にあり、明細胞性AHF が特に顕著であったが、腫瘍への移行像は各型ともにほとんど認められなかった。これらの結果から、肝発癌物質は自然発生性AHF とは異なるある種の特異的AHF を誘発し、それが発展的に腫瘍に移行する可能性が示唆された。しかし、我々の今回の研究結果は、限られた数の化合物の試験成績であり、結論を得るには今後さらに多くの化合物について同様の検索を行う必要がある。

共同研究者:

Dr. R.R. Maronpot (NTP)

Dr. G.A. Boorman (NTP)

Dr. R.W. Morris (Analytical Sci. Inc.)

Dr. K.A. Stitzel (P&G Co.)

(9-S ~ 1-S)

シンボリック要旨

S-1.

骨組織の形態学的動態

阿部和厚 (北大・医・第3解剖)

硬組織である骨は骨芽細胞と破骨細胞の活動により、常にダイナミックに動いている。ここではこれまで私どもがマウスを用いて観察・研究してきた成果を中心に述べる。

1.骨形成細胞と骨吸収細胞：骨芽細胞 osteoblast は間葉細胞に由来し、骨表面に膠原線維が密な類骨 osteoid を形成する。ここに石灰の hydroxyapatite が沈着して骨ができる。この際に、骨芽細胞は骨に埋没して、骨細胞 osteocyte となる。骨形成を休止している骨表面は、扁平な休止骨芽細胞 lining cell により覆われる。骨芽細胞の表面はアルカリ性フォスファターゼ活性を示し、この活性は骨細胞となると消失する。

破骨細胞 osteoclast は骨表面の多核巨細胞であり、骨を溶解・吸収する。破骨細胞は表面がひだ状の波状縁と、それを囲む平滑な明調帯とで骨に接する。胞体はライソゾームに富み、ここに含まれる酸性フォスファターゼは波状縁と骨表面との間に分泌されて骨を溶解する。溶解・分離した石灰と膠原線維は胞体内の空腔へ取り込まれ、消化される。破骨細胞の酸性フォスファターゼは酒石酸で処理しても消失しない。

破骨細胞は骨髄由来の単球-マクロファージ系の細胞が融合してつくられる。私どもは、マウス大腿骨で酒石酸耐性の酸性フォスファターゼ活性を染色し、骨表面の破骨細胞の近くの骨髄にこの酵素反応陽性の単核細胞が多いことを発見した。この単核細胞は、破骨細胞の前駆細胞とも考えられる。破骨細胞の存在部位にこの単核細胞の分化あるいは遊走因子が存在することを示唆する。

2.破骨細胞の活動の跡-骨吸収窩：破骨細胞により溶解・吸収された骨表面の陥凹を、マウス頭頂骨の内側面で走査電子顕微鏡で観察した。マウスは、頭蓋の発育を生後3週で完了し、生後6週で成熟するが、骨吸収面の広さは発育の活発な生後1・2週で大きく、その後、減少し、4週できわめて小さくなった。骨芽細胞の活動が活発なとき、破骨細胞も活発に活動している。一方、成熟期では、骨吸収面の広さは雌では小さいが、雌で

は再び大きくなり、性差を示した。同様の骨吸収面の広さの性差は、大腿骨の骨梁にも存在した。さらに、破骨細胞の数も頭頂骨、大腿骨ともに同様の性差を示した。成熟期では、骨吸収は、全身の骨格系で雌で大きく、雄で小さい性差を示す。性腺除去実験は雌性ホルモンが骨吸収を刺激、雄性ホルモンが抑制していることを示唆した。

骨吸収面の2型：骨吸収面には形態的に2型を区別した。I型は深い陥凹の不規則な集合で、幼若マウスと成熟マウスに観察された。II型は浅くやや細長い陥凹の集合により波状の模様を呈し、成熟マウスでは主としてこの型であった。I型は肥大した破骨細胞によりつくられ、II型は細く突起を出す破骨細胞によりつくられていた。骨吸収面の形態は破骨細胞の活動性、機能活性を反映している。

3.骨化：軟骨性骨化を大腿骨で走査電子顕微鏡で観察した。骨端軟骨は骨側で球状の石灰顆粒を示して石灰化した。軟骨細胞腔が骨髄側へ開放すると、石灰化軟骨が破軟骨細胞 chondroclast により浸食され、その表面に微細な米粒状の石灰顆粒が沈着する骨化を示した。軟骨と骨の石灰化は異なる石灰粒子を示す。

4.骨形成の刺激：エストロゲンは骨形成を促進し、骨芽細胞はこのホルモンのリセプターをもつことが知られている。骨形成刺激に対する骨反応を知るために、エストラジオールを生後4週のマウスに注射し、大腿骨の膝関節側の骨梁部位の反応を走査電子顕微鏡で観察した。エストロゲンの投与後、骨梁は著明に増生し、1~2週で骨髄腔の大部分を密に充滿した。この部につづく皮質骨の内面も平滑なものが細網状となる骨増生を示した。その後、骨梁表面には骨吸収が優位となって骨梁の密度と量は減少し、16週でほとんど正常と同様となった。皮質骨内面も平滑となった。しかし、骨梁のある範囲は正常より大きかった。

S-2. ラットに自然発生する腎性骨異栄養症の病態

飯田晶敏 (大日本製薬 総研)

代謝的な異常により全身性に骨組織が侵される疾患を代謝性骨疾患 (metabolic bone disease) と総称するが、そのうち慢性腎不全に発生する代謝性骨疾患を腎性骨異栄養症 (renal osteodystrophy) という。本症は古くは慢性腎不全患者にしばしば骨病変の合併をみることで知られてきたが、今日では、長期の慢性腎不全に骨病変はほとんど不変的に存在することが明らかとなり、したがってもっとも一般的な代謝性骨疾患の一つとされる。その骨病変は、線維性骨炎を中心とし、骨軟化症、骨硬化症あるいは骨粗鬆症を伴うとされる。本症の成因には多くの因子が関与するが、その中心をなすものは、1) 腎不全→低カルシウム血症→上皮小体ホルモンの分泌亢進 (上皮小体機能亢進症)→線維性骨炎、2) 腎不全→活性型ビタミンDの不足・代謝異常→骨石灰化障害であるとされている。このような腎性骨異栄養症の病態の解釈には、近年の骨代謝に関する内分泌学的研究の進歩、すなわち、カルシウム調節ホルモンであり、骨調節ホルモンである上皮小体ホルモン、カルシトニンおよび活性型ビタミンD (1, 25(OH)₂ビタミンD) の構造と作用の解明が大きく寄与している。

一方、ラットにおいては、とくに加齢とともに数多くの自然発症性疾患・病変がみられるが、そのなかで慢性腎障害はその高い発生率と致死性からもっとも重要性の高い疾患の一つとされ、様々な名称のもとに数多くの報告がある。しかしながら、その慢性腎疾患を基礎として発症・進展する本症のラットにおける報告は、古くはDurand等(1964)あるいはSnell(1967)が慢性腎障害のラットにおける線維性骨炎と上皮小体の機能亢進像の合併を報告しているものの、その系統的な報告は少ない。これはラットでは骨組織や上皮小体は、最近まで病理組織検査の対象となる機会が比較的少なかったこと、あるいは長期の飼育試験や癌原性試験においても各臓器・組織ごとの病変の発生率の比較・検討のみに重点がおかれたことなどがその一因と考えられる。

本報告では老齢ラットに自然発生した腎性骨異栄養症について、その病理形態像を中心に述べる。

材料とした動物は Sprague-Dawley 系ラット 300例 (25ヵ月齢、雌雄各50例; 生涯飼育、雄97、雌103例)、Wistar系ラット100例 (生涯飼育、雌雄各50例)、および Fischer 344 系ラット145例 (生涯飼育、雄72、雌73例) の合計545例から本症と診断された76例である。これら症例から得られた所見は以下の如くであった。

本症の病理形態学的特徴は、線維性骨炎を主体とする骨病変、高度の腎障害、上皮小体の過形成 (hyperplasia、機能亢進像) および全身性の転移性石灰化であった。

1. 骨病変

骨病変は、1) 破骨細胞性の骨吸収、2) 骨吸収領域を中心とした線維組織の増生、3) 骨芽細胞の増生と類骨形成、より成り、この過程をとって進行していた。病変は、皮質骨では骨髓腔側に始まり、しだいに骨組織全層へ及ぶもので、高度の骨病変を示す例ではまれに外骨膜性の骨新生もみられた。

2. 慢性腎障害 (慢性糸球体腎症)

腎臓では、糸球体の硬化性変化、尿管の拡張と上皮の変性変化、および間質性炎が高度にみられ、各系統のラットに共通して自然発生する加齢性の慢性腎疾患の終末像に相当するものであった。

3. 上皮小体の変化

上皮小体は肉眼的にも両側に腫大し、組織学的には主細胞の彌漫性腫大・過形成 (hyperplasia) であったが、なかには結節状の hyperplasia を示す場合もみられた。なお、骨病変のない例においても上皮小体の変化がみられたが、どの程度の hyperplasia で骨病変が出現するかは明らかでなかった。電子顕微鏡的には、上皮小体の主細胞は細胞質の腫大による細胞間隙の狭小化、隣接細胞の形質膜の複雑な嵌合を示し、附着リボゾームの増加、ゴルジ装置の発達、粗面小胞体の増数など機能亢進像を示したが、分泌顆粒については本症例と非本症例の間の差異は明らかでなかった。

4. 転移性石灰化

転移性石灰化は、まったく認められない個体から、全身の臓器・組織に及ぶものまで様々にみられ、その程度は骨病変の進行度に対応していた。その好発臓器・組織は心臓、大動脈・中膜、胃、腎臓、および全身の中小動脈の血管壁であった。

骨組織はカルシウム (Ca) 代謝の中心をなし、多くのCa代謝ホルモンの標的臓器である。骨病変の理解にとって内分泌学・骨代謝学的背景はきわめて重要である。毒性の標的臓器として骨組織を捉えるときにも同様である。このような観点からラットの本症は、骨病変・病態の理解に恰好の材料となろう。

高橋 栄明 (新潟大学医学部整形外科)

ヒトの骨粗鬆症とは同性、同年代の健常人と比べて骨量が病的に減少している病態を言う。この骨量減少を骨減少症 (osteopenia)、そしてそこに脊椎圧迫骨折など力学的に破綻のきた状態を骨粗鬆症 (osteoporosis) と言うが、これは一つの疾患ではなく症候群である。この骨粗鬆症は骨の代謝回転 (turnover) のうち特にリモデリング (remodeling 再造型) の障害と考えられている。

臨床上問題となるのは骨粗鬆症に起因する骨折であり、骨折に基づく疼痛でもある。このような骨粗鬆症を起こす病因は種々あるが、遺伝性、内分泌性、栄養性、骨髄置換性、局所性、薬剤性などの他に、最も問題になるのは退行期骨粗鬆症 (involutional osteoporosis) である。ヒトの生涯で骨量は20~40歳位が最も大きく (最大骨量 peak bone mass)、その後徐々に生理的に減少し、特に女性では閉経期を境にして急速に減少することがある。そのため骨粗鬆症は女性ホルモン減少に影響された場合と老化に影響された場合に大別される (Riggs & Melton)。前者をType I 骨粗鬆症という。51~75歳におこり、女性に多く (閉経後骨粗鬆症)、主に海綿骨に減少がおこり、上皮小体機能は低下するといわれている。後者をType II 骨粗鬆症と言い、70歳以降に起こり女性のみならず男性にも起こる。海綿骨と皮質骨も減少し、上皮小体機能が亢進するといわれている。

リモデリングでの骨の細胞の連鎖は活性化、吸収、逆転、基質形成、石灰化の順序で進行するが、この過程のどこかの障害により、リモデリングの集積である骨量は負のバランスで減少する。

このようないろいろな病因による骨粗鬆症は、リモデリング率によっても分類される。リモデリングが正常に比べて亢進あるいは低下ということが問題になる。すなわち異常なリモデリング率で

骨が喪失して、結果として骨量が減少する際に、形成および吸収が両方とも亢進するような高回転型骨粗鬆症、吸収および形成が両方とも低下する低回転型骨粗鬆症とがある。前者は甲状腺機能亢進症による骨粗鬆症、および上皮小体機能亢進症に起因する骨粗鬆症があり、後者はグルココルチコイド大量投与に起因した骨粗鬆症 (steroid induced osteoporosis) がこれにあたる。このような種々な骨粗鬆症の病態、治療の研究のために動物のモデルの作成が試みられていた。

ヒトの骨粗鬆症の動物モデルとして使われてきたのはブタ、イヌ、ネコ、ラット、マウスなどがあるが、それらがヒトの骨粗鬆症の病態をそのまま再現するものではない。動物モデルに期待される条件は微小外力による易骨折性、リモデリングの存在、食事中的カルシウム量を含む栄養の低下による骨喪失、女性ホルモンの変化に依存する骨喪失、運動負荷に対応する骨構造の変化などである。さらに、このようなモデルは実験の期間が短いことが必要である。それぞれの動物の種による特性と動物のモデルとしての問題点について述べる。

○ 阿部敏男, 宮脇宏彰 (武田薬品・薬剤安全性研究所)

はじめに

歯牙は生体を構成する重要な器官の一つであるが、哺乳類では成長に伴って分化が終了し、肝臓や腎臓のように薬剤の吸収・分布・代謝・排泄などに直接鋭敏に反応しないので毒性的にはあまり重視されてこなかった。しかし、ラットやマウスのようなげっ歯目の切歯は生体内でもっとも旺盛に成長し続ける器官の一つであり、個体の全身状態をretrospectiveに知る上で重要な情報を提供するbiological indicatorである。

今回は、我々の経験例を中心に、切歯に及ぼす薬剤の病理形態学的影響ならびに発生病理に関する考察を報告する。

歯牙は複雑な分化をたどり、他器官にない成長をとげるので、はじめに歯牙の基本構造の概要を述べ、次いで薬剤の影響を受け易いエナメル質について詳述し、最後にラット切歯のエナメル質形成における毒性病理について述べる。

歯牙の基本構造

歯牙は鳥類以外のすべての脊椎動物にみられるが、いずれもエナメル質、象牙質およびセメント質等から構成されている。エナメル質(無機成分95%)は最も石灰化度が高い組織で、外胚葉由来のエナメル芽細胞によって形成される。象牙質(無機成分65%)およびセメント質(無機成分45%)はいずれも中胚葉由来の象牙芽細胞およびセメント芽細胞によって形成され、骨と類似の組成で無機成分を除いては膠原線維を主体とした有機質と水分から構成されている。

ラットやマウスのようなげっ歯目およびウサギのような重歯目の切歯は根尖部にある歯胚の細胞の分裂増殖によって終生成長し続ける。唇側はエナメル芽細胞、舌側はセメント芽細胞がそれぞれ一層に配列されて、切歯の長軸に沿って平行に並び、歯髄腔ではそれを内張りして一層の象牙芽細胞が配列されている。エナメル芽細胞は有機性基質を分泌し、電解質輸送によって、石灰化を行いながらエナメル質を形成し、やがて基質を脱却してエナメル質の成熟を促進する。セメント芽細胞および象牙芽細胞はそれぞれ有機性基質を分泌し、電解質輸送を行って石灰化を促進し、セメント質および象牙質を形成する。これらの芽細胞はいずれも歯質を形成しながらエスカレーター式に切歯端に向かって移動する。萌出した切歯端は噛み合わせによって磨耗し、切歯の長さはほぼ一定

に保たれる。ラットの切歯の成長速度は体重約300gのWistar系雄ラットでは、上顎で約2.3 mm/週、下顎で約4.2 mm/週で、下顎切歯の萌出部は15~20日で全て入れかわる。

エナメル質の形成

エナメル質は以下の各stageを経て形成される(図1)。

1) 細胞増殖期 (stage of cell proliferation)および組織分化期 (stage of histodifferentiation)

根尖部にある歯胚の上皮性細胞が分裂、増殖、分化する時期で、エナメル芽細胞に分化する内エナメル上皮細胞および乳頭層を形成する中間層細胞と外エナメル上皮細胞などがそれぞれ分化出現する。

2) 基質形成期 (stage of matrix formation)

エナメル芽細胞がエナメル基質を形成する時期で、基質はアモロゲンやエナメルリンなどのエナメル蛋白からなり酸不溶性である。この時期にはまだ高度の石灰化はみられない。

3) 成熟期 (stage of maturation)

エナメル基質の形成が終了してから、エナメル芽細胞やエナメル基質の形態と機能が劇的に変化する時期である。これらの変化は、初期(移行期)におけるエナメル芽細胞の形態変化(高円柱状→立方状)にはじまり、乳頭層の形成、エナメル蛋白の脱却とそれに伴う石灰化度の上昇ならびにエナメル質における石灰化の完了、鉄色素の沈着(色素沈着期)、エナメル芽細胞の退縮(退縮期)と続く。成熟期に入ってから後、エナメル芽細胞の退縮がはじまるまでの期間、エナメル芽細胞は細胞質の基質側末端に刷子縁をもつ状態と、もたない状態を交互に3~4回くり返し変化する。これはエナメル質の著しく高度な石灰化のための特殊な石灰化微調節機構と密接に関連した形態変化と考えられている。色素沈着期にはエナメル芽細胞に鉄反応陽性顆粒が出現し、エナメル質表面に移行沈着する。切歯の表面が褐色調を示すのはこの色素による。次いでエナメル芽細胞は次第に退縮し、歯肉上皮に移行する。このようにして形成された切歯は成長し続けるが、やがて萌出し、噛み合わせによって切歯端から磨耗消失する。

エナメル質形成障害の毒性病理

我々は各種の薬剤による毒性試験の際に、ラット切歯に白色変色果が発現することに注目し、これらの変化が肉眼的に

は類似しているにもかかわらず病理組織学的には発現部位および病変が多様であることを経験した。そこでエナメル質形成過程において、最初に病理変化が発現する部位を指標に以下の4種類の病理変化に分類した。

1. 基質形成期エナメル芽細胞の障害

5-fluorouracil誘導体を8週間経口投与すると、エナメル芽細胞は基質形成期の後半から退縮期にかけて多様な変化を示した。ほぼこれらの全域にわたって散在性の配列不整が認められ、色素沈着期の前までは空胞変性、壊死および配列不整に伴う囊胞形成がみられ、色素沈着期がはじまる前から退縮期にかけて萎縮性変化が認められた。一方、エナメル質には顕微X線法で基質形成期の異常を示す石灰化不全線と成熟期の異常を示す石灰化不全帯が認められた。このようなエナメル芽細胞およびエナメル質の変化は基質形成期に障害を受けたエナメル芽細胞が色素沈着期においても修復せずに継続して存在していることを示している。文献的には蛋白合成阻害剤のビューロマイシンや微小管阻害剤のコルヒチン等で同様の変化が報告されている。

2. 移行期エナメル芽細胞の障害

ある種のマクロライド系抗生物質を5週間経口投与するとエナメル芽細胞は移行期から退縮期にかけて種々の病理変化を示した。壊死性変化は移行期にはじまり色素沈着期の前にかけて、空胞変性は移行期の後から色素沈着期にかけて、配列不整は移行期の後から退縮期にかけて、萎縮性変化と乳頭層の結合組織の増生は色素沈着期から退縮期にかけて、それぞれ認められた。エナメル質には石灰化不全帯が認められた。移行期におけるエナメル芽細胞は基質形成期から成熟期への機能変化に対応して、形態的には細胞内小器官の再構成が行われ、短小化する。この時期に同細胞の壊死がみられることは、エナメル芽細胞における成熟期への機能および形態転換の障害を示していると考えられる。

3. 色素沈着期エナメル芽細胞および乳頭層細胞の障害

ある種の抗生物質を5週間経口投与すると、色素沈着期に乳頭層細胞の変性、壊死および乳頭層の構築の乱れがみられ、それらに近接するエナメル芽細胞の萎縮と鉄色素を保有したエナメル芽細胞の乳頭層への陥没が認められた。これらの変化は乳頭層細胞の障害が先行し、次いでエナメル芽細胞の鉄色素分泌障害が生じたことを示している。乳頭層細胞は基底

膜を介して周囲の血管および結合組織に接し、能動的輸送を介してエナメル芽細胞と密接に関係して物質交換を行っていると考えられており、形態的にもエナメル芽細胞の一部は乳頭層細胞内に嵌入している。色素沈着期にこのような乳頭層細胞の変化がみられたことは色素沈着のメカニズムを知る上で興味ある所見と考える。

4. 基質形成期～退縮期のエナメル芽細胞の障害

ある種の糖尿病治療剤を26週間経口投与すると、基質形成期から成熟期を経て退縮期にいたる全域にエナメル芽細胞および乳頭層細胞の巣状の空胞化、壊死および色素分泌障害等が認められた。軟X線撮影では切歯の辺縁は不整で鋸歯状を示していた。これらの変化は投薬中の強度の削瘦と前後して発現しており、強度の栄養不良が全域のエナメル芽細胞の発育障害をもたらしたものと考えられる。

まとめ

ラットの切歯は複雑な構造をもつが、エナメル芽細胞は薬剤の影響を受け易く、その結果エナメル質の形成に変化が生じさまざまな病理変化を招来する。また、一本の切歯でエナメル質形成の全過程の観察が可能であり、薬剤に対して高感受性の細胞およびstageを明らかにし、さらに病変の経過をたどることも可能である。しかし、従来毒性的に充分な検討がなされていないため、歯牙の毒性に関する発生病理は不明点が多い。今後は多くの毒性病理学者の関心が集まることによって、この分野の解明が進むことが期待される。

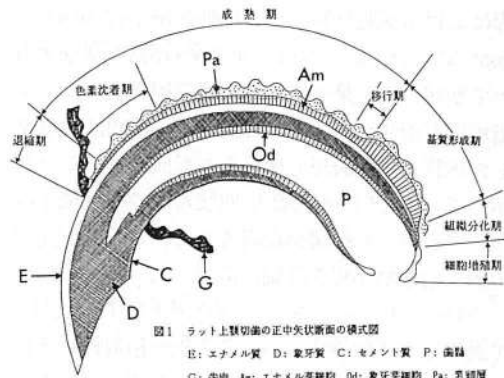


図1 ラット上顎切歯の正中矢状断面の模式図
E: エナメル質 D: 象牙質 C: セメント質 P: 歯髄
G: 歯肉 Am: エナメル芽細胞 Od: 象牙芽細胞 Pa: 乳頭層

○大塩 至、長嶋和郎（北大医2病理）、荻野利彦、加藤博之（北大医整形外科）

指の欠損する奇形は欠指症と呼ばれているが、ヒトの欠指症には多くの異なったタイプが存在し、臨床像の共通性からいくつかの群に分けられている。これら欠指症の代表的なものには、上肢の母指あるいは小指側の縦軸に局限して障害が出現する縦列形成障害、中央の指が欠損する裂手症、それに先天性絞扼輪症候群などがある。催奇形因子が胎児に及んでこれらの奇形を起こしうる胎令の範囲は臨界期と呼ばれる。演者らは妊娠ラットに種々の薬剤を投与してヒトと同様の先天奇形を誘発し、いくつかの奇形の成因あるいは発現様式を検討してきた。その結果、縦列形成障害や裂手症の臨界期が指放線形成前であることを示した（1980 荻野）。また、各奇形の発現頻度と重症度には薬剤の投与時期、種類、量とラットの系統差が影響していることを示した（1988 加藤）。

一方、正常の上肢の発生では、まず肢芽が形成されるが、肢芽は発育し手板を形成する。手板内には指放線が誘導され、指放線は分化し指が形成される。ラット胎仔の手板内の指放線形成過程をみると、指放線は13日目より形成が始まり、15日目にはほぼ完成する。正常手板での指放線形成過程における細胞増殖と細胞移動をBrdU(5-bromodeoxy-2'-uridine)/anti-BrdU免疫酵素抗体法を用いて観察した結果は、指放線部の細胞増殖により指放線が形成されるものではなく、指間部で増殖した細胞が移動凝集し指放線が形成されることを示していた（1988 大塩）。四肢奇形の発現機序については種々の仮説が提唱されているが奇形発現の際の胎生期手板を詳細に検討したものは少ない。

今回は、Myleranをラットの妊娠12日目に投与して誘発される欠指症について手板の指放線形成過程における細胞増殖と細胞遊走をBrdU/anti-BrdU免疫酵素抗体法を用いて観察し、正常手板と比較することにより欠指症の発生機序を検討した。

（方法）まず、Wistar/Gun Ratを用いて妊娠12日目にMyleran(Busulfan)を投与し、以下の実験を行った。実験1では、妊娠12日目より15日目までのいずれかの日の親ラットにBrdUを投与し、

DNA合成細胞核を標識し、30分後に胎仔を摘出した。手板掌面に平行な切片を作成し、抗BrdU抗体を用いて免疫染色を行い各時期における細胞増殖の局在を正常と誘発欠指症と比較した。実験2では、妊娠12日目のMyleran投与前30分にBrdUを親ラットに投与する。Myleranの投与後、12.5日目より14.0日目までの胎仔を摘出し、実験1と同様の染色方法で指放線形成過程における細胞遊走を正常手板と欠指症手板で比較検討した。

（結 果）

実験1. 正常および欠指症とも、胎生12.5日目まで手板間葉組織におけるBrdU陽性細胞はほぼ一様に分布していた。正常では、指放線の形成が認められる胎生13.0日目以降は指間部に多数のBrdU陽性細胞がみられ、指放線部の陽性細胞は少数であった。胎生14.5日目以降は指放線部に接した指間部に局限してBrdU陽性細胞が存在した。欠指症では、手板内の間葉細胞の壊死が上皮に近い部分に多く認められた。BrdU陽性細胞は正常に比較し、手板全体で減少しており、特に上皮細胞内のBrdU陽性細胞の減少が著明であった。一方、指放線形成については正常に比較し指放線形成の遅れがみられ、軸前部の指放線は形成されなかった。

実験2. 正常では、BrdUにより標識された細胞は胎生12.0日目に手板内に一様に分布していたが、指放線の形成が明らかになるにつれて指放線部に集中していた。しかし、欠指症では正常に比較し標識された細胞の指放線への集中が減少していた。

（考 察）

先天性四肢奇形の発生機序は複雑であり、単一の機序では説明できない。しかし、Myleran誘発第2,3指欠指症の手板形成過程を正常と比較した結果、本欠指症の発生には従来より提唱された間葉細胞の壊死および増殖の障害による間葉細胞量の不足とともに間葉細胞の指放線への凝集の障害も関与していることが示唆された。

S-6. ラットにおける骨肉腫移植株樹立とその有用性

佐藤 達 資 (弘前大・医療短大)

はじめに

動物疾患モデルはヒト疾患の研究に有用であり、組織像がヒト疾患の組織像に類似していることが必要である。実験的骨肉腫の原発組織はヒト骨肉腫に類似し、骨・類骨形成能およびアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性を有しているが、第1代ないし数代の皮下移植により骨形成能を消失してしまうといわれている。

今回、骨・類骨形成能とALP活性とを維持しているラット骨肉腫の皮下移植株を樹立した。これらのラット骨肉腫はヒト骨肉腫の化学療法後に認められる硬化像の発現機序の解析モデルとして有用であることを述べる。

材料と方法

1. 原発腫瘍と累代移植操作

ラット骨肉腫の誘発は真鍋の方法に準じ、1例の雄ラット (Fisher F344/Du Crj) に体重1g 当たり $0.5 \sim 1.0 \mu\text{Ci}$ の $^{32}\text{P}\text{-H}_3\text{PO}_4$ を2~3週間に1回の割合で計13回、総量1722 μCi を腹腔内に投与した。最終投与約6ヶ月後、同一ラットに発生した左上腕骨原発腫瘍 (POA) と右大腿骨原発腫瘍 (POB) とを移植原とした。POAおよびPOBの約1mm³ をそれぞれ4例の同系雄ラットの背部皮下に移植しPOA 1, POB 1とした。その後1~3ヶ月毎に4例の雄ラットに移植をくり返した。

2. 骨・類骨形成能の検索

骨形成能は軟X線写真撮影による観察と組織学的にHE染色とコッサ反応とを用いて検索した。

類骨形成能はテクノビット樹脂包埋切片を作製し、類骨組織の同定に利用されているPierce法を用いて検索した。

3. ALP活性の検索

ALP活性は腫瘍組織の凍結切片を作製し、アゾ色素法によるALP染色を行った。さらにPOA 10とPOB 9とのALP活性の局在を電顕的に検索した。

4. 化学療法後の硬化像の検索

皮下移植腫瘍が約4×3×3cm大になった時点でシスプラチン5mg/kgを静脈内に投与し2, 3,

4週間後に軟X線写真撮影を行って腫瘍の硬化像を検索した。

結 果

1. 原発腫瘍

X線写真学的に原発腫瘍 (POA, POB) はそれぞれ同一ラットの左上腕骨と右大腿骨とに骨形成を示す腫瘍陰影を認めた。組織学的にPOAとPOBとは同様の結果を示し、HE染色で網状の骨形成を示す骨肉腫の像であった。コッサ反応では黒色に染色される石灰化骨を認めた。Pierce法では赤色に染色される類骨形成を認めた。ALP染色では腫瘍細胞が強陽性を示した。

2. 移植株の樹立経過

移植第1代のPOA 1およびPOB 1は2週間後には触知可能な腫瘤を形成し1ヶ月後には母指頭大となった。移植率はともに100%であった。2代目以後の移植率はPOA系が50~100%で平均は94.3%であり、POB系が75~100%で平均は97.7%であった。累代数はともに22代で移植期間は3年6ヶ月を経過した。

3. 累代移植と骨・類骨形成能およびALP活性

骨・類骨形成能はPOA 1~POA 22, POB 1~POB 8およびPOB 12~POB 22では原発腫瘍のPOA, POBと同程度であった。POB 9~POB 11では骨・類骨形成は減弱し、fibroblasticな部分が多かった。ALP活性は全ての累代移植腫瘍が原発腫瘍と同程度に強陽性を呈した。ALP活性の電顕的局在は腫瘍細胞の細胞膜に認められた。

4. 化学療法後の硬化像

軟X線写真による化学療法後の検索ではシスプラチンの投与前に比較して2週間後に中等度の硬化像を示した。3, 4週間後には高度の硬化像を呈しヒト骨肉腫の硬化像に類似していた。

化学療法後に出現してくる硬化像には腫瘍細胞の壊死やbone morphogenetic protein (BMP) の関与が考えられる。これらのラット骨肉腫はヒト骨肉腫の化学療法後に認められる硬化像の発現機序の解析に利用可能である。硬化像の発現機序について検索中であり、その結果もあわせて発表する。

一般講演要旨

(1 ~ 48)

○二井愛介¹, 三木寿雄¹, 後藤直彰² (¹山之内製薬・安全研, ²東大・農)

Tyzzer病は肝の多発性巣状壊死を特徴とするラット、マウス、その他多くの動物の感染症である。原因菌である“*Bacillus piliformis*”は肝細胞内偏性寄生性を有し、その増殖および壊死巣形成は絶食あるいは低蛋白食投与によって抑制される一方、肝部分切除あるいはCCl₄投与後の再生肝において増強されるなど、肝細胞代謝の変化に影響されることが示されている。Diethylnitrosamine (DEN)投与によるマウス肝での鉄吸収抵抗性のaltered cell fociあるいはneoplastic nodulesにおいては菌増殖があまりみられないことを第3回の本学会で報告したが、今回はSolt-Farberによる方法で作出したラット肝の酵素変異巣における菌増殖の有無を免疫組織化学的に検索した。

〔方法〕

実験1: 7週齢F344雄ラットを2群に分け、1群は前癌病変を作製する処置群としてDEN 200mg/kg b.w.を腹腔内投与し、その2週間後より0.02% 2-acetylaminofluorene (AAF)を含む粉末飼料を2週間与え、その後基礎飼料に戻した。2群は対照群として、1群のDENの代わりに生理食塩液を投与し、実験期間を通じて基礎飼料を与えた。また両群とも実験開始3週目には2/3肝部分切除(PH)を行なった。PH後2, 7, 14, 21日に、1・2群それぞれ3〜5匹の動物にTyzzer菌ラット由来RT株 $8.8 \times 10^7 \sim 3.8 \times 10^8 / 100g$ b.w.を尾静脈より接種、1〜2日後に殺し、肝を摘出後ホルマリン固定、通常の方法でパラフィン切片作製後、ABC法により前癌病変のマーカーとしての胎盤型glutathione-S-transferase (GST-P)とTyzzer菌の二重染色、グロコット-HE, PAS染色等を施した。

実験2: 実験1における処置群の菌接種(A)、非接種(B)と、対照群の菌接種(C)、非接種(D)の計4群をおき、A, C群にはPH後21日にRT株 $1.5 \times 10^8 / 100g$ b.w.を静注、2日後にB, D群も含めて採血後殺し、肝壊死病変の指標である血漿中GOT, GPT値を測定した。(n=7 [A, C], n=5 [B, D])

〔結果〕

実験1: PH後2日に菌接種した処置群では、対照群とほぼ等しいかそれ以上の大きさの肝壊死巣が数多く形成された。これらの間にGST-P陽性の肝細胞変異巣が少

数観察され、その内部における菌増殖も観察された。PH後7あるいは14日後に菌接種した処置群では、多数のGST-P陽性巣が肝葉全体に散在してみられ(GST-P陰性の変異巣も認められた)、これらの変異巣の間の肝細胞は分断された索状構造を示し、oval cellの増生も著明であった。対照群と同様に形成されたTyzzer菌による壊死巣はGST-P陽性肝変異巣において数多くみられ、GST-P陽性肝細胞内に菌増殖像が観察された。変異巣以外の部分でも同様に壊死巣は観察されたが、PH14日後接種例ではその数は変異巣におけるものよりむしろ少なかった。PH後21日に菌接種した処置群では、肝葉の大部分がGST-P陽性巣で占められ、それら以外の部分は正常肝細胞索構造に近くなり、これら両者の中に壊死巣が観察された。

実験2: 実験1より処置群の肝細胞の大部分がGST-P陽性となることが示されたPH後21日に菌を接種し、血漿中GOT, GPT値を測定して、菌増殖環境の適否を観察した。GOT, GPT値はそれぞれA群: 730 ± 299 , 553 ± 223 , B群: 378 ± 66 , 249 ± 42 , C群: 1764 ± 1609 , 1429 ± 1214 , D群: 75 ± 8 , 47 ± 6 (単位: I. U. / l)を示し、菌非接種のB, D群の比較では、担前癌病変にあるB群の方が有意に高いことが示された。しかしながら、菌接種したA, C群の比較では逆に、担前癌病変にあるA群の方が低い値を示した。

〔考察〕

実験1より、Solt-Farberの方法によって作出したラットのGST-P陽性の肝細胞変異巣においてTyzzer菌の強い増殖像が示され、鉄吸収抵抗性を指標としたマウスでの成績と少し異なるものであった。これは、使用動物の種差、菌株の違い、前癌病変マーカーの感度の違い等が考えられるが、特に前癌病変作製条件の違いが大きく影響していると考えられる。実験2からは、担前癌病変にある動物(B群)では発癌剤を投与していない動物(D群)と較べてGOT, GPTの基準値が高いにもかかわらず、菌接種後の値(A群)は対照群(C群)よりも低く、ラットにおける変異肝細胞でTyzzer菌は増殖可能ではあるが、その増殖環境は正常肝細胞に比して好適ではないことが示唆された。

2. ラット肝の前癌病変発生過程における キナクリンの影響

○吉田順一・高村直子・畝山智香子・古田京子・豊田和弘・今井田克己・林 裕造（国立衛試・病理）

【はじめに】

キナクリンは生体内に取り込まれると肝を始めとする諸臓器に長期間蓄積し、電頭的にミエリン様小体の出現をともなうリソゾームの腫大と増生をもたらす事実から、脂質症を誘発する薬物であることが確認されている。しかし肝細胞内リソゾームの変化あるいは脂質症誘発と肝発癌との関連性は不明である。

今回我々は、脂質症誘発物質であるキナクリンがラット肝発癌過程に影響を与えるか否かを調べる目的で、肝二段階発癌モデルを利用した発癌物質の中期検索法を用い、肝の前癌病変発生に及ぼすキナクリンの影響について検討した。

【材料と方法】

6週齢のF344雄ラット（チャールスリバー社）100匹を1群20匹として5群に分け、1から4群の動物にはdi-ethylnitrosamine (DEN) の200mg/kgを単回腹腔内投与し、5群の動物には生理的食塩水を同様に投与した。DENを投与した2週間後から動物を屠殺する前日までの6週間、1及び5群の動物には500ppm濃度、2群の動物には100ppm濃度、及び3群の動物には20ppm濃度のキナクリンをGRF-1粉末飼料（チャールスリバー社製）に混じて、また4群の動物には対照群として同粉末飼料のみをそれぞれ自由に摂取させた。なお、飲料水は試験期間中自由に摂取させた。キナクリン投与開始の1週間後、エーテル麻酔下にて肝の部分切除（partial hepatectomy: PH）を行った。体重は隔週に1回、また摂餌量はキナクリン投与期間中に2回測定した。

実験開始8週間後、一夜絶食処置を施し、体重を測定したのちエーテル麻酔下で動物を放血屠殺した。肝を摘出し重量を測定したのち、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。固定後、常法により肝の薄切切片を作製し、免疫組織化学的にGST-P染色を施した標本を用い、画像解析装置（TAS PLUS: Leitz社製）にてGST-P陽性細胞巢の肝単位面積あたりの個数及び面積を計測した。

【結果】

キナクリンの100ppm投与群（2群）及び20ppm投与群（3群）は対照群（4群）と同様あるいはそれを上回る

体重推移及び摂餌量を示した。一方、500ppm投与群ではDEN処置（1群）、単独（5群）とも4週目以降の有意な体重増加抑制ならびに6週目の有意な摂餌量減少が認められ（ $p < 0.05$ または $p < 0.01$ ）、その程度は1群でより強いものであった。肝の絶対重量は、対照群に対し3群で有意な増加、また1及び5群で有意な減少を示したが（ $p < 0.05$ または $p < 0.01$ ）、相対重量では差は認められなかった。

肝単位面積あたりのGST-P陽性細胞巢の数はキナクリンの用量に相関して増加し、1及び2群では対照群との間に有意差を認めた（ $p < 0.01$ ）。さらに単位面積あたりのGST-P陽性細胞巢の面積もDEN処置をしたキナクリン投与群で増加傾向を示し、1群では対照群との間に有意差が認められた（ $p < 0.05$ ）。なお、5群ではGST-P陽性細胞巢は認められなかった。

【考察】

キナクリンは抗マラリア剤、消化管内寄生虫駆除剤として用いられたアクリジン誘導体の化合物であり、生化学的にはホスホリパーゼA₂の阻害作用を有し、毒性的には典型的な脂質症誘発作用を示す。しかし、その作用と肝前癌病変の促進作用との関係は不明である。キナクリンは毒性が強く、今回用いた500ppm用量では、DEN処置の有無にかかわらず体重増加抑制が認められ、投与期間が延長するにともないこの傾向が顕著になった。本物質には蓄積性があり、この現象は毒性が加重されたことに加え、摂餌量の減少もその1因と考えられた。今回用いた500ppm用量は体重が顕著に低下したにもかかわらず、GST-P陽性細胞巢の面積及び個数が有意に増加し、また100ppm用量では体重が対照群とほぼ同様であったものの、GST-P陽性細胞巢の数が有意に増加し、面積も増加傾向を示した。キナクリン単独ではGST-P陽性細胞巢が出現せず、DENの前処置により、用量に相関して肝単位面積あたりのGST-P陽性細胞巢の面積及び個数が増加したことから、キナクリンはラット肝発癌過程を促進する作用を有することが明らかとなった。

3. ラット肝発癌における Adriamycin, Actinomycin D, cis-dichlorodiammineplatinum(II) の影響

○ 田中卓二, 森下由紀雄, 森 良雄, 岩田 仁, 杉江茂幸, 森 秀樹 (岐大・医・1病)

Adriamycin (ADC), Actinomycin D (ACT), cis-dichlorodiammineplatinum (II) (CIS) は各種の悪性腫瘍の治療に用いられているが, 今回, 我々は N-2-fluorenylacetamide (FAA), phenobarbital (PB) を用いたラット肝発癌過程における ADC, ACT, CIS の発癌修飾作用を検索した。

<材料と方法>

実験は Fig.1 に示す如く, 6 週齢の雄 ACI/N ラット 115 匹を 15 群に分け第 1—8 群に 0.02% FAA 含有飼料を 13 週投与し, 1 週間の休業後第 2, 4, 6, 8 群に 0.05% PB 含有飼料を 16 週投与した。第 3—8 群には FAA 投与終了後 1, 3, 5 日目に ADR, ACT, CIS をそれぞれ 1, 0.02, 1 mg/kg 体重, 腹腔内投与した。第 9, 11, 13 群は被検物質のみ, 第 10, 12, 14 群は被検物質 + PB, 第 15 群は対照群とした。実験開始後 30 週で屠殺剖検し, 主として肝の病理組織学的検討を行った。

<結果 (Table 1)>

単位面積 (cm^2) 当りの肝前癌性病変 (小増植巣) の頻度は第 2 群で第 1 群より有意に高く, 第 3, 5, 7 群は第 1 群より低く, 第 1, 7 群間には有意差を認めた。第 4, 6 群は第 2 群よりやや高値であった。

第 8 群は第 2 群より有意に低い値を示した。肝腫瘍の発生頻度は第 2 群で第 1 群より有意に高く, 第 3, 5 群は第 1 群よりやや高値を, 第 4, 6, 8 群は第 2 群より低値を示し, 第 2, 8 群間に有意差を認めた。第 7, 9—15 群に腫瘍発生は認めなかった。

<結 語>

以上の結果より, ADR, ACT, CIS はいずれも肝前癌性病変ないし腫瘍発生抑制傾向を示すが, CIS はその作用が ADR, ACT よりも強い事が示された。

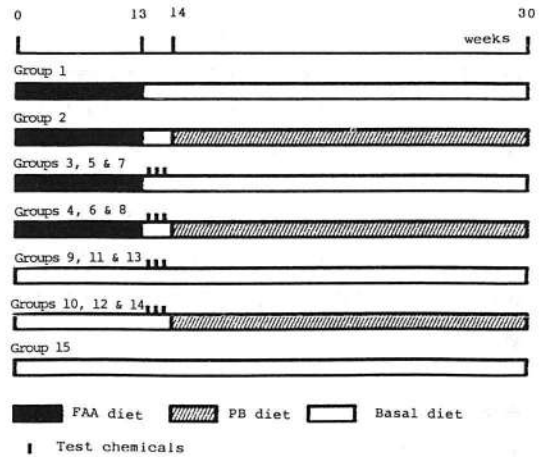


Table 1. Effects of ADR, ACT and CIS on FAA-induced hepatocarcinogenesis

Group no.	Treatment	No. of rats examined	% liver weight	No. of liver cell foci per cm^2	No. of rats with liver tumors (no. of tumors)		
					Total	NN ^a	HCC
1	FAA	10	5.09 ± 0.25 ^{b,c}	10.82 ± 3.32 ^c	2 (2)	2 (2)	0
2	FAA/PB	10	6.92 ± 0.20 ^c	15.12 ± 2.14 ^c	8 (23) ^c	8 (22) ^c	3 (3)
3	FAA/ADR	10	5.18 ± 0.20 ^c	8.47 ± 3.34	4 (5)	4 (5)	0
4	FAA/ADR/PB	10	7.14 ± 0.19 ^c	15.51 ± 4.38	4 (9)	4 (9)	0
5	FAA/ACT	10	5.20 ± 0.10 ^c	4.31 ± 3.70 ^c	3 (3)	3 (3)	0
6	FAA/ACT/PB	10	7.01 ± 0.26 ^c	17.30 ± 9.71	7 (11)	7 (11)	0
7	FAA/CIS	10	5.51 ± 0.18 ^c	4.09 ± 0.19 ^c	0	0	0
8	FAA/CIS/PB	10	7.18 ± 0.18 ^c	3.38 ± 0.46 ^c	2 (5) ^c	2 (5) ^c	0
9	ADR	5	4.84 ± 0.24	0.76 ± 0.57	0	0	0
10	ADR/PB	5	5.52 ± 0.27	0.85 ± 0.82	0	0	0
11	ACT	5	4.64 ± 0.21	0.35 ± 0.66	0	0	0
12	ACT/PB	5	5.52 ± 0.12	0.56 ± 0.32	0	0	0
13	CIS	5	5.30 ± 0.14 ^c	0.41 ± 0.65	0	0	0
14	CIS/PB	5	6.06 ± 0.37	0.72 ± 1.24	0	0	0
15	No treatment	5	4.60 ± 0.33	0	0	0	0

^aNN = neoplastic nodule; HCC = hepatocellular carcinoma.

^bMean ± SD.

^cSignificantly different from appropriate control (P<0.05).

4.

実験肝硬変症生成諸段階のラット化学肝発癌に及ぼす影響

○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、有機溶媒furfuralの長期経口投与によるラット実験肝硬変モデルを用いて、肝硬変症が肝発癌に及ぼす影響を検索してきた。これまで、furfural長期経口投与はラット肝に連続的かつ進行性のヒト乙型肝炎類似病変を生成させること、肝硬変症類似病変生成後には化学肝発癌刺激に対して感受性が増加すること、furfural単独投与では肝癌発生を見ないにもかかわらず、glutathione-S-transferase胎盤型 (GST-P) 陽性細胞巢はfurfuralの投与期間に応じて増加すること、などを明らかにした。また昨年度本学会において、furfuralは 2-acetylaminofluorenによる肝発癌刺激に対してのpromotor作用を有しないことを報告した。これらの結果から、furfural実験肝硬変症生成後の肝発癌刺激に対しての感受性増大は、furfuralの薬剤としての作用ではなく、肝硬変の生成と関連があると推定された。今回、肝硬変生成過程の諸段階が化学肝発癌に対して如何なる影響を与えるかを検索する目的で以下の実験をおこなった。

材料と方法

動物】44匹の4週齢雄Wistar系ラットを2週間の無処置観察後実験に供した。動物はいずれも約22°Cに保たれた清浄飼育室内で高圧滅菌処理プラスチック・ケージにて、12時間-12時間の人工照明下に飼育し、10-15ppm塩素添加水を自由摂取とした。

薬剤】試薬特級furfuralならびにdiethyl nitrosamine (DEN) はいずれも和光純薬より購入した。

実験方法】44匹の実験動物を実験群、対照群各22匹ずつに分割した。実験群には、実験第30日まで飼料1kgあたり20mlのfurfuralを添加した飼料を、以後、飼料1kgあたり30mlのfurfuralを添加した飼料を自由摂取とし、対照群には無添加飼料を自由摂取とした。実験第30, 90, 180日の各時点で実験群それぞれ8, 8, 6匹の動物のfurfural投与を中止し、その2週後に実験群、対照群各々にDEN200mg/kg・BWを腹腔内投与した。DEN投与6ヶ月後にそれぞれの動物をエーテル麻酔下に脱血屠殺、肝臓を採取した。型のごとくホルマリン固定、パラフィン切片を作成し、組織学的観察に供した。

結果ならびに考察

furfural投与30, 90, 180日後DENを投与した各群の実験群および対照群の体重、肝重量、肝/体重比の平均値と標準偏差を表1に示す。90日投与群の肝重量と肝/体重比において危険率5%で、また180日投与群では全ての項目において危険率1%で統計学的有意差を認めた。

肉眼的には、30日および90日投与群においては対照との間に明瞭な差はみられなかった。180日投与群においては、対照群では90日投与群と同様に、褐色、平坦な小病変を散在性に認めるのみであったのに対して、実験群では肝各葉に直径8mm程度までの表面平滑な隆起性病変が散在し、その結果肝表面は凹凸不整となっており、著明な差を認めた。

組織学的にneoplastic noduleを有する個体数は、30日投与群では実験群・対照群各2/8, 1/8、60日投与群では各1/7, 0/8と差を認めなかったのに対し、180日投与群では各5/6, 0/6と実験群では χ^2 検定により危険率1%で有意に高率であった。

今回、furfural実験肝硬変の肝発癌剤に対する感受性の増大は、投与30日および90日では明瞭ではなく、肝硬変がほぼ完成する180日投与後においてのみ見られた。この結果は、肝硬変としての組織学的変化の成立後に初めて化学肝発癌剤に対する感受性の増大が見られることを示唆すると考えられ、肝癌発生母地としての肝硬変症の役割を考える上で興味ある知見と思われた。

表1 体重、肝重量、肝/体重比

		実験群	対照群
30	体重(g)	430.0±15.12	431.8±32.20
	肝重量(g)	14.3±0.73	13.7±1.05
	肝/体重比	3.3±0.21	3.2±0.30
90	体重(g)	437.1±25.82	446.9±20.87
	肝重量(g)	15.5±1.19	14.1±1.00
	肝/体重比	3.5±0.33	3.1±0.09
180	体重(g)	448.2±26.64	519.0±24.01
	肝重量(g)	19.4±1.75	15.8±1.39
	肝/体重比	4.3±0.48	3.0±0.21

5. GST-P陽性細胞巣を指標とした中期発癌試験法とその長期観察との相関性

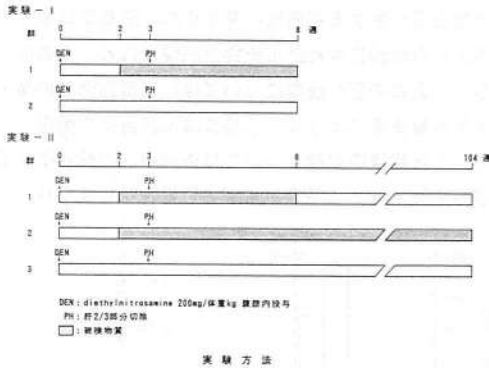
○小木曾 正、長谷川 良平、Ricardo CABRAL、立松 正衛、伊東 信行 (名古屋市・医・1病理)

〈はじめに〉

我々は、発癌物質の検索が2年間の長期を要することから短期化を目的にラット肝の前癌病変である胎盤型 glutathione S-transferase 陽性細胞巣の発生を指標とした発癌・発癌修飾物質の中期発癌試験法を開発し種々の化学物質を検索してきた。今回本法とその長期観察結果が一致するか否かを、肝または肝以外を標的とする発癌物質・発癌促進物質および肝発癌抑制物質を用いて検討した。

〈実験方法〉

動物は、7週令のF344系雄性ラット383匹を用い、105匹を実験-Iの中期発癌試験法に、278匹を実験-IIの長期観察試験に使用した。実験方法は、図の如くである。



被験物質は、実験-I・IIとも肝発癌物質として、1. Ethionine (0.25%) 2. Thioacetamide (0.06%) 3. Phenobarbital (PB) (0.05%) (以上飼料中混入)、肝以外の発癌物質として 4. N-Ethyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (EHBN) (0.025%) 5. N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) (0.005%) (以上飲料水中混入)、発癌促進物質(膀胱)として 6. Sodium L-ascorbate (Na-L-ascorbate) (5.0%)、肝発癌抑制物質として 7. Butylated hydroxyanisole (BHA) (2.0%) 8. *p,p'*-Diaminodiphenylmethane (DDPM) (0.1%) (以上飼料中混入)である。

実験-Iの動物は、実験開始8週経過後屠殺剖検し、肝はGST-P免疫組織化学染色を行い、GST-P陽性細胞巣の単位面積(cm^2)当たりの数と面積を測定し比較検討した。

実験-IIの動物は、実験開始104週経過後屠殺剖検し、各臓器の腫瘍発生について比較検討した。

〈実験結果〉

実験-IにおけるGST-P陽性細胞巣の測定結果と実験-

IIにおける肝細胞癌の発生率は、表の如くである。

表1. 実験-IにおけるGST-P陽性細胞巣測定結果

群	被験物質	有効匹数	GST-P陽性細胞巣	
			数 / cm^2	面積(mm^2) / cm^2
1-1	Ethionine	10	18.55 ± 5.00 †††	1.51 ± 0.53 †††
	Thioacetamide	13	70.81 ± 14.23 †††	21.82 ± 6.64 †††
	PB	11	5.71 ± 3.06 †	0.43 ± 0.24 ††
	EHBN	14	3.43 ± 1.39	0.22 ± 0.11
	MNNG	13	2.17 ± 1.13	0.13 ± 0.07
	Na-L-ascorbate	14	3.35 ± 2.08	0.22 ± 0.18
	BHA	15	1.07 ± 0.51 ††	0.06 ± 0.02 †††
	DDPM	14	2.99 ± 1.51	0.20 ± 0.12
2	非投与	11	2.99 ± 1.16	0.18 ± 0.08

† P<0.05, †† P<0.01, ††† P<0.001

表2. 実験-IIにおける肝細胞癌発生率

群	被験物質	有効匹数	肝細胞癌(%)
1-1	Ethionine	14	7 (50)
	Thioacetamide	14	13 (93) †††
	PB	13	12 (92) †††
	EHBN	15	5 (33)
	MNNG	14	6 (43)
	Na-L-ascorbate	12	6 (50)
	BHA	18	4 (22)
	DDPM	17	3 (18)
2-1	Ethionine	15	15 (100) †††
	Thioacetamide	16	13 (81) †
	PB	17	16 (94) †††
	EHBN	16	1 (6)
	MNNG	18	11 (61)
	Na-L-ascorbate	16	6 (38)
	BHA	15	4 (27)
	DDPM	17	1 (6)
3	非投与	20	7 (35)

† P<0.05, ††† P<0.001

〈まとめ〉

実験-IでのGST-P陽性細胞巣の測定結果と実験-IIでの長期観察における肝細胞癌の発生率の結果は、

1. 肝発癌物質(Ethionine, Thioacetamide, PB)は、GST-P陽性細胞巣あるいは肝細胞癌の発生を著明に促進させた。
2. 肝以外を標的とする発癌物質(EHBN, MNNG)および促進物質(Na-L-ascorbate)は、いずれの試験にも影響を示さなかった。
3. 肝発癌抑制作用のあるBHAは、中期試験ではGST-P陽性細胞巣の発生に著明な抑制を示し、長期観察ではBHA, DDPMに肝細胞癌の発生に抑制傾向を認めた。

以上より、ラット肝の前癌病変であるGST-P陽性細胞巣を指標とする中期発癌性試験の結果は、その長期試験の結果と極めて高い一致率を示すことが明らかとなった。

6. 長期動物試験における心肥大とその合併病変

○ 豊田和弘・高橋道人・佐藤秀隆・岡宮英明・今井田克己・林 裕造 (国立衛試・病理)

長期動物試験における心肥大の意義についての報告はほとんどなく、各種の合併疾患に基因する心肥大を認識しておくことは重要なことと思われる。今回我々は、2年間の癌原性試験の無処置対照群として用いられたラットを対象とし、心肥大がどのような自然発生病変との関連において引き起こされるのかにつき検討を行うと共に、その発症機序について考察を行った。

【実験材料および方法】

動物：2年間の癌原性試験の無処置対照群として使用されたラット、雄200匹(50匹×4試験分)、雌150匹(50匹×3試験分)を検索の対象とした。これらの動物は、いずれも日本チャールスリバー社(神奈川県)より4週齢にて購入したF344/DuCrj系ラット(SPF)であり、各試験共、115~117週齢にて全生存動物を屠殺、剖検した。また、中途死亡例については、1年以上生存したものを対象動物とした。

飼育条件：動物の飼育はバリヤースステムの飼育室にて、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数18回/時(オールフレッシュ)、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行った。動物は透明なポリカーボネート製ケージに4~5匹ずつ収容し、床敷は週2回交換した。

方法：動物を雌雄に分け、それぞれの心重量についてヒストグラムを作成し、心重量が平均より明らかに重いと思われる動物について病理組織学的検索を行い、心重量の増加と種々の合併病変との関係について検索を行った。

【結果】

雌雄ラットの心重量のヒストグラムをFig. 1, 2に示した。これらのヒストグラムをもとに、雄では心重量1.8g以上の動物17匹、雌では心重量1.2g以上の動物7匹について病理組織学的に検索を行った。

その結果、主な所見として、白血病が雄6例、雌1例、乳腺の線維腺腫(巨大腫瘍)が雄2例、雌1例、下垂体腺腫が雄1例、雌3例にみられたほか、雄では腹膜中皮腫、膵島細胞腫、副腎の褐色細胞腫が各2例、甲状腺癌、包皮腺の腺腫、大脳の混合型膠腫、副腎の神経節細胞腫、移行上皮癌による尿路閉塞、横紋筋肉腫(肺転移有り)

が各1例に、また、雌では、脾における髓外造血の亢進が2例、心筋炎、甲状腺のC細胞腺腫、陰核腺の腺腫が各1例に認められた。

またこの他、上記の主な病変の症例を集め、病変の有無と心重量との相関性の有無についても検索を行った。

【考察】

心肥大は、心臓に対する圧負荷あるいは容量負荷等によって生ずるものと考えられる。今回認められた副腎の褐色細胞腫および尿路閉塞については、ヒトの二次性高血圧の原因としてよく知られており、また、下垂体腺腫、膵島細胞腫、甲状腺のC細胞腺腫および腺癌等については内分泌性の高血圧、大脳の混合型膠腫については神経性の高血圧が生ずる可能性が考えられ、圧負荷によって心肥大が引き起こされた可能性が示唆される。その他、白血病、乳腺の巨大腫瘍については、循環血液量の増大による容量負荷によって、心筋炎は心筋自体の障害によって、また腹膜中皮腫については血性腹水の貯留による循環障害によって心肥大が生ずる可能性が考えられる。

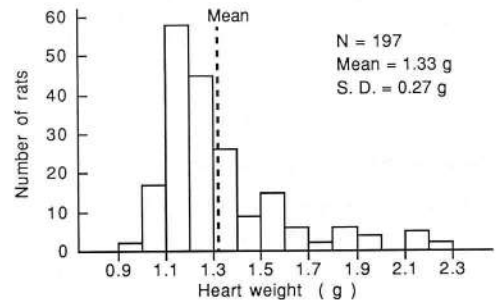


Fig. 1. Histogram of Heart Weight in Male Rats

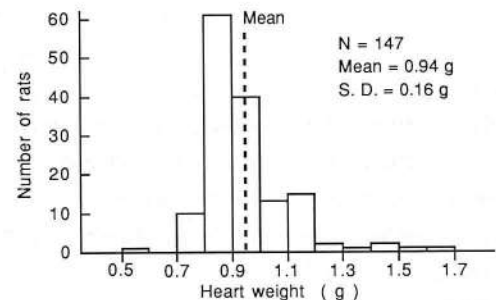


Fig. 2. Histogram of Heart Weight in Female Rats

7. ラット腎発癌における糖尿病の影響

○小西 登¹, 北堀 吉映¹, 大嶋正人², 日浅義雄², J.M.Ward³ (奈医・第1¹, 2病², NCI-FCRF³)

【はじめに】

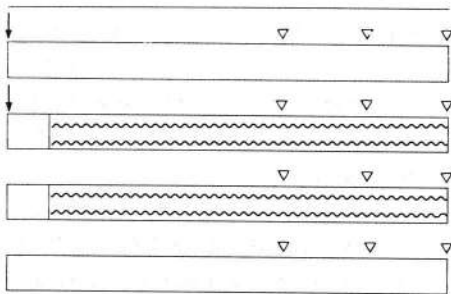
Streptozotocin (STZ)は、実験的糖尿病を誘発するばかりでなく、ラット腎に対し発癌性を有している。

今回、我々はSTZを腎発癌のイニシエーションとして用い、同時にひきおこされた糖尿病状態下におけるBarbital sodium (BBS)のプロモーション効果を検索し、腎発癌過程における糖尿病の修飾作用を検討した。

【実験方法】

動物は6週令のF344系雄ラット150匹を用い、以下の4群に分けた。1群及び2群はリン酸緩衝液(pH 7.4)に溶解したSTZ 50mg/kgを1回腹腔内注射し、3群および4群は同量のリン酸緩衝液のみ注射した。2週間の休薬期間後に2群及び3群は4000 ppmのBBSを粉末基礎食に混入し72週間まで投与した。

0 2 33 52 72



↓ : i.p. injection of STZ (50 mg/kg)

~~~~~: BBS (4000 ppm) in diet

□: Basal diet

▽ : Sacrifice

### 実験計画

実験開始後、33、52週時に各5匹ずつ屠殺解剖し、72週時で残りの全てのラットを屠殺した。肝、腎の臓器重量を測定するとともに腎腫瘍およびその前腫瘍性病変について病理組織学的に検索した。屠殺1時間前に100 mg/kgの5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を腹腔内投与し、ABC法による免疫組織染色でBrdU標識細胞を腎の部位別に計測した。更に、腎腫瘍の組織発

生について検討するため各群、各屠殺時点における5匹ずつのラット腎を用い、50 μm毎の連続切片(step section)を作製した。

### 【結果】

腎病変をdysplastic foci, adenomaとcarcinomaに分類した。各時点における1、2、3群間の腎腫瘍発生頻度に有意差はみとめられなかったが、step sectionによる検索では1個体あたりの腫瘍発生頻度は2、1、3群の順に増加しており、この傾向は実験期間の長期化に伴い明瞭となっていった。72週におけるcarcinomaの発生頻度は1群2/20 (10%)、2群12/24 (50%)、3群0%、4群0%で、adenomaの発生頻度は1群0%、2群9/24 (38%)、3群4/28 (14%)、4群0%であった。また3群のBBS投与群には腎盂移行上皮の過形成および乳頭腫の発成率が有意に増加していた。一方、加齢に伴う腎症は4群とともに3群のBBS投与群において著明に認められた。これらの変化はSTZ投与群である1群、2群で抑制された。BrdUのlabeling indexは皮質並びに髄質の尿細管について検討した結果、3群において最も高く、2群、4群、1群の順であった。これは腎症の程度と良く相関し、腎腫瘍性病変との直接的因果関係は認められなかった。しかしながら、dysplastic fociやadenoma, carcinomaの部位においては周囲正常尿細管に比べ有意に高いlabeling indexを示した。

### 【結語】

BrdUはラット腎症の程度をよく反映し、必ずしも腎腫瘍の発生頻度と相関関係は認められなかった。また腎症はSTZ誘発による糖尿病によって抑制されたと考えられた。更に腎症の程度は腎腫瘍の発生頻度と相関しないことから、腎症による尿細管の過形成性変化は腎腫瘍発生の直接要因とはならないと考えられた。また、STZ並びBBS誘発腎腫瘍は近位尿細管の特にP1あるいはP2 segmentから発生すると推察される組織学的変化が得られた。

○北堀 吉映<sup>1</sup>, 森本純司<sup>2</sup>, 小西 登<sup>1</sup>, 大嶋正人<sup>2</sup>, 日浅義雄<sup>2</sup> (奈良医大・第1病<sup>1</sup>, 2病<sup>2</sup>)

【はじめに】 Diethylene glycol (DEG)のヒトへの毒性については, CalveryとKlumpp (1939)らが72% DEGを含む10% Sulfanilamideの服用で105名の死亡を報告している。その報告によると腎および肝への毒性が明かで, 肉眼的に腎は薄暗く腫大し, 光顕的には尿細管上皮細胞の著しい空胞形成と上皮の脱落, 肝では中心静脈周囲の空胞形成が観察されている。現在なお, DEGは抽出剤, 各種染料, 塗料の溶剤, 羊毛および綿などの光沢仕上げ剤等広く使用されている。

今回, F344ラットを用いてDEGの癌原性試験および腎発癌への修飾作用についての有無を検討したので報告する。

#### 【実験材料および方法】

##### 〈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(神奈川県)から購入し, 1群50匹の雌雄各3群を設け, 6週齢で実験を開始した。

試料: DEGは2.5%, 1.25%および0%の割合で水道水に混じ, 飲料水として自由に摂取させた。純度は97%以上, 関東化学から購入。

実験期間: 検体の投与期間は108週間とし実験を終了した。全ての生存動物は採血後, 屠殺解剖した。全臓器および全ての肉眼的病変部を摘出し, ホルマリンで固定後, 通常の方法で光顕標本を作製し病理学的検索を行った。

##### 〈腎発癌におよぼすDEGの修飾作用〉

動物: 6週齢のWistar雄ラット60匹をSLC(静岡)から購入し, 1群20匹で3群を設け実験を開始した。

Initiator: 0.1% N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine(EHEN)混入食を2週間全ての動物に投与した。

Chemicals: ① 2.5% Diethylene glycol 混入水を30週間投与した。② 1% Trisodium nitrilotriacetate monohydrate(NTA)混入食を30週間投与した。(すでに腎癌promoterとして報告, J.N.C.I 72.483, 1984)

実験方法: 動物は3群に分け, 1群: EHEN + DEG, 2群: EHEN + NTA, 3群: EHEN 単独。実験期間は32週間とした。全ての生存動物は屠殺解剖後, 腎および肝を摘出後病理学的検索を行った。尚, 全ての腎は縦断で1個あたり4切片として標本作製した。

##### 【結果】 〈癌原性試験〉

検体摂取量: 雄および雌共に, DEGの摂取量は体重100g 当りに換算すると検体濃度に比例し摂取量の増加が全期間を通じみられ, 実験開始初期では3群共に摂取量は高く, 14週間目頃からは最終までほぼ一定の値を示した。

生存動物数: 最終時まで生存した動物は, 雄で2.5%群26匹(52%), 1.25%群36匹(72%)および0%群36匹(72%), 雌では2.5%群30匹(60%), 1.25%群32匹(64%)および0%群31匹(62%)であった。

病理組織学的検索: 有効動物は81週以降とし組織検索をおこなった。各臓器とも毒性変化は認められず, 腫瘍発生好発部位は下垂体, 甲状腺, 副腎, 乳腺, 皮膚などが雌雄共通で対照群と実験群との間に有意な差は認められなかった。

##### 〈腎発癌におよぼすDEGの修飾作用〉

腎変化の組織学的分類: 腎腫瘍関連変化は3つに分類した。Simple hyperplasia: 1個の尿細管からなる過形成。Adenomatous hyperplasia: 尿細管からなる過形成が管腔内へ増殖し, しかし, ほぼ糸球体の大きさ。Tumor: さらに大きさは増し皮膜で明瞭に周囲組織と堺され, 圧迫性に増殖。

発生率および発生数: 腫瘍の発生率; EHEN単独群で7/16 (43%), EHEN + DEG 群で13/19 (68%)およびEHEN + NTA 群では14/17 (82%)。Adenomatous hyperplasiaの発生率; EHEN単独群で13/16 (81%), EHEN + DEG群で15/19 (78%)およびEHEN + NTA群では17/17 (100%)。Simple hyperplasiaの発生率; EHEN単独, EHEN + DEG 群およびEHEN + NTA 群ともに100%の発生率であった。

発生数; 腫瘍の発生数はEHEN単独群で7個, 1例当り0.43個。EHEN + DEG群で14個, 1例当り0.73個およびEHEN + NTA群では29個, 1例当り1.70個の発生数であった。Adenomatous hyperplasiaの発生数はEHEN 単独群で22個, EHEN + DEG群で32個およびEHEN + NTA群では72個であった。

【考察】 ① DEGのF344ラットへの癌原性試験の結果, 発癌性は認められなかった。② EHENでinitiateされた腎発癌過程へのDEGのpromotion効果は, 軽度ながらその傾向が認められた。

## 9.

### BBNによるマウス腎盂発癌におけるウラシルの増強作用

○村井 隆<sup>1,2</sup>、森 聖<sup>1,2</sup>、武内康義<sup>1</sup>、大原忠雄<sup>1</sup>、牧野 進<sup>1</sup>、  
林 幸之<sup>1</sup>、福島昭治<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>シオノギ製薬・油日ラボ、<sup>2</sup>名市大・医・一病)

ウラシルはラットへの単独経口投与により、高濃度(3%)では高率に膀胱癌を発生させ、低濃度(0.3%)では膀胱癌を発生させないことが報告されている。また、3%ウラシルをN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)と同時に投与すると、ラットの膀胱癌の発生と進展はともに促進されることが明らかにされている。しかし、マウスの腎盂および膀胱に対してそのような作用が発現するかどうかは不明である。

ところで、我々は、第5回日本毒性病理学会でBBNを投与したNON系マウスにおける腎盂および膀胱発癌について報告した。そこで、この実験系を用いて、ウラシルがBBNによるマウスの腎盂および膀胱発癌に対して増強作用を発揮するかどうかを検討した。

#### 材料および方法

動物は、NON(Nonobese Non-diabetic)系雄性マウスの40匹(シオノギ製薬・油日ラボ)およびCrj:CD-1(ICR)系雄性マウスの40匹(日本チャールス・リバー)を11週齢で用いた。

化合物としてウラシル(和光純薬)およびBBN(東京化成)を用いた。

1群: NON系マウスの20匹に3%ウラシル混合CA-1固形飼料と0.04~0.05%BBN含有飲料水を8週間同時投与した群、

2群: NON系マウス20匹に0.05%BBN含有飲料水のみを8週間投与した群、

3群: ICR系マウスの20匹に3%ウラシル混合CA-1固形飼料と0.04~0.05%BBN含有飲料水を8週間同時投与した群、

4群: ICR系マウスの20匹に0.05%BBN含有飲料水のみを8週間投与した群、

を設定して、実験開始1-8週目まで化合物を投与し、その後20週目まで無処置で飼育した。実験開始20週目に屠殺後、膀胱および腎臓を病理組織学的に検索した。

#### 結 果

1~4群のBBNの摂取量はそれぞれ82、81、

75および71mg/kg/日、ウラシルの摂取量はそれぞれ3.7、0.0、4.1および0.0g/kg/日であった。

腎盂: NON系マウスの1および2群において、癌は1群で20%(4/20)、2群で11%(2/19)に発生した。乳頭状ないし結節状過形成(PN過形成)はそれぞれ65%(13/20)および21%(4/19)に発生した。1群に発生した腎盂癌の4例のうち2例に、肺や肝への転移が認められた。腎盂癌のABC分類(赤座ら、Cancer、1987)に従うと、1群の4例中1例はA(片側性の腎盂癌のみ)、2例はB(片側性の腎盂癌および膀胱癌)、1例はC(両側性の腎盂癌)に分類された。2群の2例はそれぞれAとBに分類された。

ICR系マウスの3と4群において、癌は発生せず、PN過形成が60%(9/15)および6%(1/18)に認められた。

膀胱: NON系マウスにおいて癌は1群で11%(2/19)、2群で47%(9/19)発生し、上皮異形成がそれぞれ26%(5/19)および79%(15/19)、PN過形成が100%(19/19)および95%(18/19)に発生した。2群に発生した膀胱癌の9例中1例に肺への転移が認められた。

ICR系マウスの3と4群において、癌は4群のみに11%(2/18)発生した。上皮異形成はそれぞれ47%(7/15)と17%(3/18)、PN過形成はそれぞれ87%(13/15)と67%(12/18)に観察された。

尚、腎盂、膀胱の結石形成は両系とも全く認められなかった。

#### 結 論

1. NON系マウス腎盂発癌に対して、ウラシルはBBNとの増強作用を発揮した。一方、膀胱発癌に対して、ウラシルは両系ともBBNとの増強作用を示さず、むしろ抑制作用を示した。
2. NON系マウスにおいて、ウラシルとBBNを投与した群に発生した腎盂癌の4例中2例に、肺や肝への転移が認められた。

## 10.

ハムスターBBN 膀胱発癌におよぼすUracilの効果

○尾崎圭介<sup>1,2</sup>, Danai Tiwawech<sup>1</sup>, 高場克己<sup>1</sup>, 宇和川賢<sup>1,2</sup>, 白井智之<sup>1</sup>, 福島昭治<sup>1</sup>( <sup>1</sup>名市大・医・1病理, <sup>2</sup>住友化学・安全研)

(はじめに)

ラットおよびマウスにおいてN-butyl-N-(4-hydroxy-butyl)nitrosamine(BBN)を経口投与すると膀胱粘膜に高率、かつ選択的に膀胱癌が発生する。しかし、ハムスターはBBNに低感受性で膀胱癌の発生は極めて低頻度である。また、Uracilをラット、マウスに3%の濃度で飼料に混じて投与するとUracilそのものから成る可逆性の膀胱結石が高率に形成され、それに伴い膀胱上皮は著明な増殖を示し、いわゆる乳頭腫症の状態を呈する。さらに我々はラットにBBNとUracilを同時投与するとBBNによる膀胱癌の発生と発育がともに促進されることを見出している。そこで、今回、BBNに対して極めて低感受性であるハムスターにUracilを同時投与することによるUracilのBBN膀胱発癌に対する影響を検討したので報告する。

(実験方法)

動物は6週令の雄性Syrian golden hamster 40匹を用い、第1群にはBBNを飲料水中に0.05%の濃度で混じ、さらにUracilを3%で混餌投与した。第2群は0.05%BBNのみを、第3群は3%Uracilのみを与える群とし、52週間それぞれの投与を行った後、動物を屠殺解剖した。膀胱を頭部にて結紮し、10%中性緩衝ホルマリン約0.5mlを注入、固定後8分割し、病理標本作製、膀胱粘膜の病変を組織学的に検索した。

(結果)

出現した膀胱粘膜病変を表1に示す。0.05%BBNおよび3%Uracil同時投与の第1群において単純性過形成が全例に、乳頭状ないし結節状(PN)過形成が17匹中16例(94%)に認められた。また、悪性腫瘍が8例(47%)にみられ、その内訳は移行上皮癌(TCC)が4例(24%)、上皮内癌(CIS)が3例(18%)、血管肉腫が1例(6%)であった。0.05%BBN投与の第2群では、単純性過形成およびPN過形成が全例に出現したが、移行上皮癌が10例中1例(10%)に認められたのみであった。また、3%Uracilのみの第3群においては膀胱粘膜はすべて正常であり、腫瘍性の病変は認められなかった。乳頭腫は各群を通じて1例もみられなかった。さらに、結石形成はいずれの群にも全く認められなかった。

今回発生したハムスター膀胱粘膜病変の組織学的特徴として前癌病変であるPN過形成は結節状が主体であり、癌ではBBN誘発ラット膀胱癌に比較的好くみられる内腔に乳頭状に増殖する、いわゆる乳頭状・非浸潤型とは異なり、発生した5例すべてが、粘膜下組織以上への浸潤を示す非乳頭状・浸潤型の癌であったことがあげられる。

(まとめ)

以上、ハムスターにBBNとUracilを同時投与することによりBBN膀胱癌の発生が促進された。しかも、ラットと異なり膀胱結石の発生はみられず、膀胱発癌の促進に関して他の要因の関与が窺われる。

Table 1 Histological Findings of Hamster Bladder Epithelium (%)

| Group | Treatment             | Effective      |                    |                |           | Malignant tumor |        |                  |       |
|-------|-----------------------|----------------|--------------------|----------------|-----------|-----------------|--------|------------------|-------|
|       |                       | No. of animals | Simple hyperplasia | PN hyperplasia | Papilloma | TCC             | CIS    | Hemangio-sarcoma | Total |
| 1     | 0.05% BBN + 3% Uracil | 17             | 17 (100)           | 16 (94)        | 0         | 4 (24)          | 3 (18) | 1 (6)            | 8(47) |
| 2     | 0.05% BBN             | 10             | 10 (100)           | 10 (100)       | 0         | 1 (10)          | 0      | 0                | 1(10) |
| 3     | 3% Uracil             | 7              | 0                  | 0              | 0         | 0               | 0      | 0                | 0     |

PN, papillary or nodular; TCC, transitional cell carcinoma; CIS, carcinoma in situ.



○ 柴田雅朗, 山本 敦, 佐野真士, 箱井加津男, 萩原昭裕, 福島昭治 (名市大・医・1病理)

<はじめに>

ラット2段階膀胱発癌のプロモーション過程において、ウラシル投与による膀胱結石の物理的増殖刺激はプロモーション作用を増幅することが知られている。そこで、発癌過程における何れの時期に増殖刺激を与えると最も効果的なプロモーション作用の増幅効果が発現するかを検討した。

<実験方法>

6週令のF344ラット135匹を用い、1～9群にはイニシエーターとして0.05% BBNを飲料水にて4週間投与した後、4～7週(1～3群), 8～11週(4～6群), 12～15週(7～9群)の各時期に3%ウラシル含有飼料を投与した。また、ウラシル投与を除く時期に3%NaHCO<sub>3</sub>(1,4,7群), 0.002% EHBN(2,5,8群)および基礎食(3,6,9群)を投与した。なお、10～18群はBBN無処置群で同様の投与を行なった。全経過20週で動物を屠殺剖検し、膀胱を中心に病理組織学的に検索した。さらに、10～18群についてはbromodeoxyuridine (BrdU)を用いて膀胱粘膜上皮のDNA合成を測定し、一部の動物については走査電顕的に膀胱の表層細胞表面の形態学的変化を観察した。

<結果>

膀胱腫瘍の発生頻度 (Table 1)

ウラシルの4～7週投与では、NaHCO<sub>3</sub>群のみに乳頭腫

および癌の有意な発生を観察した。ウラシルの8～11週投与ではNaHCO<sub>3</sub>およびEHBNの群で乳頭腫、癌ともに有意な発生増加が示された。ウラシルの12～15週投与ではNaHCO<sub>3</sub>群の乳頭腫のみに有意な発生増加を認めた。

DNA合成 (Table 2)

BBN無処置のいずれの時期においてもNaHCO<sub>3</sub>およびEHBN投与群で膀胱粘膜上皮のBrdU標識率は軽度上昇を示し、その程度をみると4～7週および8～11週投与群でより高値を示す傾向にあった。

走査電顕的变化

BBN無処置群の各時期において、NaHCO<sub>3</sub>およびEHBN群の膀胱表層細胞表面には増殖性病変を観察したが、各時期における変化の程度には明らかな差異は認められなかった。

<まとめ>

NaHCO<sub>3</sub>群ではウラシルを4～7週あるいは8～11週に投与した場合にプロモーション作用が増幅され、EHBN群では8～11週のウラシル投与が効果的であった。このように、non-genotoxicであるプロモーターとgenotoxicな発癌物質ではウラシル投与時期によりやや異なった反応を示したが、両者の化合物において共通に増幅作用を発現するウラシル投与時期は8～11週であった。

Table 1 BBN無処置群における各時期のラット1匹当りの膀胱腫瘍発生個数

| 処置<br>BBN 化合物        | 各時期の<br>検索匹数 | ウラシル 4-7 週投与 |       | ウラシル 8-11 週投与 |       | ウラシル 12-15週投与 |     |
|----------------------|--------------|--------------|-------|---------------|-------|---------------|-----|
|                      |              | 乳頭腫          | 癌     | 乳頭腫           | 癌     | 乳頭腫           | 癌   |
| + NaHCO <sub>3</sub> | 10           | 3.6*         | 1.1** | 2.8**         | 1.0** | 2.7*          | 0.3 |
| + EHBN               | 10           | 0.1          | 0.2   | 1.3*          | 1.1*  | 0.6           | 0.2 |
| + -                  | 10           | 0.2          | 0     | 0.3           | 0.1   | 0.1           | 0   |

\* : p<0.05; \*\* : p<0.01.

Table 2 BBN無処置群における各時期の膀胱粘膜上皮のDNA合成

| 処置<br>BBN 化合物        | 各時期の<br>検索匹数 | BrdU標識率 (%)  |               |               |
|----------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
|                      |              | ウラシル 4-7 週投与 | ウラシル 8-11 週投与 | ウラシル 12-15週投与 |
| - NaHCO <sub>3</sub> | 5            | 0.16 ± 0.11  | 0.12 ± 0.05   | 0.10 ± 0.07   |
| - EHBN               | 5            | 0.14 ± 0.21  | 0.18 ± 0.04   | 0.08 ± 0.05   |
| - -                  | 5            | 0.06 ± 0.09  | 0.08 ± 0.04   | 0.06 ± 0.13   |

○ 青木 豊彦, 中野渡純一, 福田 種男, 五十嵐俊二 (エーザイ(株)・安全研)

我々は、昨年の本学会においてimidazopyridine系の新規化合物 E1020投与によりラット膀胱でみられた増殖性病変および膀胱発癌プロモーション作用は、大量投与で生じた高度の結晶尿および結石形成による物理的刺激に起因するもので化合物自体に膀胱発癌性あるいは発癌プロモーション作用はないことを報告した。

本実験では、in vivo膀胱中期検査法を用いて、先の結果を追試すると共に、膀胱の病理学的変化および膀胱粘膜上皮の細胞増殖動態の変化を経時的に検討した。

#### <材料と方法>

実験には、雄7週齢のF344ラットを計195匹用いた。0.05% N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) 含有飲料水を4週間投与した後、E1020継続投与群には、5週目から2%の濃度のE1020を混餌投与し、対照群には

基礎食のみを与えた。E1020休業群には、5週から16週間同様に2%のE1020を投与した後、基礎食に戻した。

E1020継続投与群については、投与後0, 2, 8日, 2, 4, 8, 16, 23および32週で、休業群については休業後2, 6日, 2, 4, 7, 16週で各群の5~10例を屠殺剖検し、膀胱について肉眼および病理組織学的に検査した。また、膀胱粘膜上皮の細胞増殖動態を調べるため、Bromodeoxyuridine (BrdU) を屠殺1時間前に腹腔内投与し、BrdUの免疫染色を実施した後、膀胱上皮細胞1000個あたりのBrdU陽性細胞数をカウントシラベリング・インデックス(LI)とした。

#### <結果>

①肉眼所見：膀胱結石は、E1020投与後8日にはじめて出現し、8週目以降、膀胱粘膜肥厚と共に有意に増加し23週以降全例にみられた。膀胱粘膜の肥厚は休業後4週までみられるものの肉眼的な膀胱結石は休業後4週までに完全に消失した。

②組織所見：病理組織学的に腫瘍性病変の出現頻度は、2%E1020投与後、乳頭腫が23週時点で、癌が32週時点で有意に増加しており、一方、膀胱単位基底膜長あたりの病変数は、投与後18週時点で既に膀胱の前癌病変であるPN(結節状/乳頭状)過形成の有意な増加を認めた。休業群では腫瘍性病変の頻度も単位基底膜あたりの病変数も継続投与群と比較して低下し、対照群と差がみられなかった(左図参照)。

③細胞増殖動態：膀胱粘膜上皮細胞のBrdUのLIは、E1020投与群で投与後8週以降から増加がみられた。一方、休業群ではBrdUのLIは休業後急激に減少し、休業後6日では既に対照群のレベルまで低下し差を認めなかった。

#### <考察および結論>

今回の結果から、先に行ったin vivo膀胱中期検査試験を追試し、ラットにおいてE1020による膀胱発癌プロモーション作用を確認した。今回、経時的検討を行うことにより、この膀胱発癌プロモーション作用はE1020の投与期間と膀胱結石形成に密接な相関が認められ、E1020のラットでみられた膀胱発癌プロモーション作用の発現機序は化合物自体によるものではなく、膀胱結石形成による持続的な物理的刺激に起因するものであることが明らかとなった。

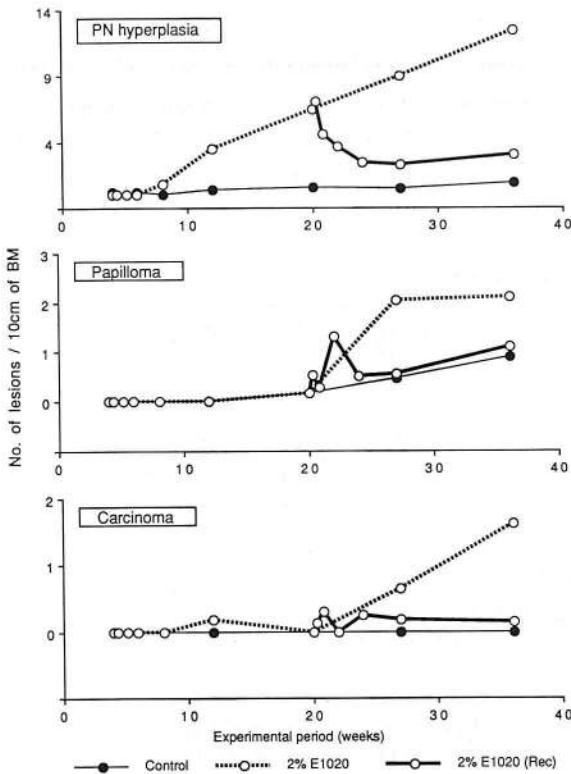


Fig. Sequential Changes of Preneoplastic / Neoplastic Lesions in the Urinary Bladder Treated with E1020



○天沼利宏、水元一博、高島吉治、下地尚史 堤雅弘、丸山博司、小西陽一

(奈良医大・がんセンター・腫瘍病理)

【総括】

DENは肝・上部気道をはじめとして各種臓器において発癌性を有するが、膵発癌性についての報告は種々の投与ルート並びに動物種を用いた多くの発癌性試験においても見られていない。今回の知見は、*in vivo*においてDENは膵に対してイニシエーション作用を持つ事を示唆するものである。

この膵病変を指標とした実験系は、単に膵発癌物質のみならず、広く発癌物質の短期検査法としての有用性が考えられ、今後更に検討していきたい。

我々は、既知の膵発癌物質であるBOPを用いてハムスター短期膵発癌モデルを開発してきた(JNCI.1988;80:1564-1567)。同モデルは、10週間という短期間で高率に膵管癌を発生させる事ができる重要なモデルである。

今回、このモデルがBOP以外の発癌性物質の検索において有用であるか否かについて検討する目的で、膵に対しては標的性を示さないとされるDENを同モデルに適用したので報告する。

【材料と方法】

動物は6週齢の雌性 Syrian-golden 系ハムスター合計102匹を用いた。実験デザインは図1に示す。1群は100 mg/kgのDEN腹腔内注射(DEN<sub>100</sub>)によりイニシエーションした後、50 mg/kgのDEN腹腔内注射(DEN<sub>50</sub>)を3回繰り返した。2群は1群と同様の処置に加えて、4日間コリン欠乏食を投与しつつ、ethionine 500 mg/kg の4日間連日腹腔内注射と、methionine 800 mg/kg の1回腹腔内注射を行う一連の処置(augmentation pressure(Aug))を3回実施した。3、4、5群は各々、生理食塩水、70 mg/kgのBOP皮下注射(BOP<sub>70</sub>)、あるいはDEN<sub>100</sub>にてイニシエーションした後、Augと20 mg/kgのBOP皮下注射(BOP<sub>20</sub>)を3回実施した。

各群とも試験開始10週間後に屠殺し、膵を病理組織学的に検索した。

【結果】

各群の体重および臓器体重比を表1に示す。体重はAugを実施した2から6群において増加が抑制され、膵体重比は腫瘍形成がみられた6群において有意な増加がみられた。

膵におけるHyperplasia、Atypical hyperplasia、および Carcinoma、あるいはこれらをあわせた総病変の頻度とハムスター個体あたりの総病変数を表2に示す。陽性対照となる5群においては対照群の3群に対して各病変の頻度ならびに総病変個数が有意に増加した。DENでイニシエーションした後、AugとBOP<sub>20</sub>を3回実施した4群においては総病変の頻度ならびに個数が対照群である3群に比較して有意に増加した。一方、DENでイニシエーションした後、AugとDEN<sub>50</sub>を3回実施した2群では、Hyperplasiaがわずかにみられたのみで、対照群である1群に比較して有意な変化は認められなかった。

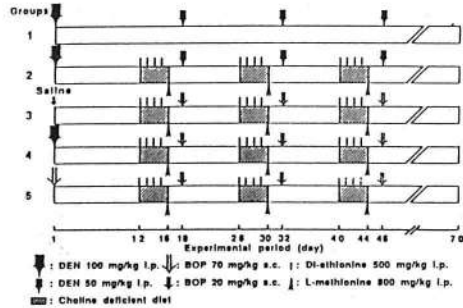


Figure 1. Experimental Protocol

Table 1. Experimental details and body, pancreas and liver weight of hamsters

| Group | Treatment                        | Number of hamsters |           | Body weight <sup>a)</sup> (g) |                        | Relative organ weight <sup>a)</sup> (g/100g b.w.) |                         |
|-------|----------------------------------|--------------------|-----------|-------------------------------|------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------|
|       |                                  | Initial            | Effective | Initial                       | Final                  | Pancreas                                          | Liver                   |
| 1     | DEN(100, 50x3)                   | 20                 | 20        | 96.8±7.9                      | 162±19                 | 0.46±0.07                                         | 4.09±0.23 <sup>b)</sup> |
| 2     | DEN(100, 50x3)<br>+Et+Met+CD     | 21                 | 20        | 97.1±6.4                      | 127±14 <sup>c)</sup>   | 0.49±0.10                                         | 4.44±0.66 <sup>b)</sup> |
| 3     | Saline+BOP(20x3)<br>+Et+Met+CD   | 20                 | 20        | 97.0±7.4                      | 134±16 <sup>c)</sup>   | 0.49±0.07                                         | 3.79±0.26               |
| 4     | DEN(100)+BOP(20x3)<br>+Et+Met+CD | 21                 | 20        | 96.9±7.1                      | 126±13 <sup>c)</sup>   | 0.53±0.09                                         | 4.03±0.35 <sup>d)</sup> |
| 5     | BOP(70, 20x3)<br>+Et+Met+CD      | 20                 | 20        | 96.4±6.4                      | 120±13 <sup>c,e)</sup> | 0.65±0.12 <sup>b,f)</sup>                         | 3.86±0.26               |

a) Data are shown by means ± S.D.  
b) Significantly different from group 3, p<0.001  
c) Significantly different from group 1, p<0.001  
d) Significantly different from group 3, p<0.05  
e) Significantly different from group 3, p<0.01  
f) Significantly different from group 4, p<0.01

Table 2. Incidence and numbers of pancreatic lesions

| Group | Effective number of hamsters | Incidence (%)                          |                        |                        | Mean numbers of pancreatic lesions <sup>a),b)</sup> |
|-------|------------------------------|----------------------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------------------------------|
|       |                              | Total pancreatic lesions <sup>a)</sup> | Hyperplasias           | Atypical hyperplasias  |                                                     |
| 1     | 20                           | 0(0)                                   | 0(0.0)                 | 0(0)                   | 0.00±0.00                                           |
| 2     | 20                           | 4(20.0)                                | 4(20.0)                | 0(0)                   | 0.20±0.40 <sup>c)</sup>                             |
| 3     | 20                           | 5(25.0)                                | 2(10.0)                | 3(15.0)                | 0.35±0.73                                           |
| 4     | 20                           | 13(65.0) <sup>d)</sup>                 | 8(40.0)                | 5(25.0)                | 1.00±0.95 <sup>d)</sup>                             |
| 5     | 19                           | 19(100.0) <sup>e)</sup>                | 16(84.2) <sup>e)</sup> | 17(89.5) <sup>e)</sup> | 7.16±3.76 <sup>f)</sup>                             |

a) Pancreatic lesions are consisting of hyperplasia, atypical hyperplasia and carcinomas  
b) Data are shown by means ± S.D.  
c) Significantly different from group 1, p<0.05  
d) Significantly different from group 3, p<0.05  
e) Significantly different from group 3, p<0.01  
f) Significantly different from group 3, p<0.001

# 14. ハムスターP448の局在ならびに BOP誘発腫瘍における発現

○篠田和俊<sup>1</sup>・古川文夫<sup>1</sup>・福原守雄<sup>2</sup>・佐藤元信<sup>1</sup>・高橋道人<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>国立衛試・病理, <sup>2</sup>国立公衛院・衛生薬学 )

【はじめに】

我々はすでにハムスター肝ミクロゾームより精製した3-methylcholanthrene (3-MC) で誘導される3種のP450分子種の中にアフラトキシンB<sub>1</sub> (AFB)を代謝活性化する分子種を見だし、この分子種 (P448-1) がハムスターに特徴的であり、ラットや他の動物の主要な分子種に比べてAFBに対する活性が極めて高いことを報告した。

今回、免疫組織化学的にP448-1の組織分布や誘導の様式を検討し、併せてN-nitrosobis(2-oxopropyl)-amine (BOP) により誘発される腫瘍での発現について検索を行った。

【材料と方法】

**実験1:** 7週令の雄性シリアンゴールデンハムスター (日本SLC) を用いた。3-MCはオリーブ油に溶解 (1.25% w/v) し、25 mg/kg b.w. の用量で1日1回、4日間連続して腹腔内投与を行った。また、対照動物には無処置動物を用いた。最終投与から3日後にエーテル麻酔下にて瀉血屠殺して主要臓器を摘出し、各臓器におけるP448-1の組織内分布を免疫組織化学的に検索した。

**実験2:** 5週令の雌性シリアンゴールデンハムスター (日本SLC) を用いた。BOPは生理食塩水に溶解 (0.1% w/v) し、10 mg/kg b.w. の用量で週1回、5週間皮下投与を行った。最終投与から30週後にエーテル麻酔下にて瀉血屠殺して腫瘍を摘出し、腫瘍組織におけるP448-1の発現を免疫組織化学的に検索した。

尚、免疫組織化学には3-MCを投与したハムスターの肝ミクロゾームからP448-1を精製し、これをウサギ (雌) に免疫して得たポリクローナル抗体を用いた。組織は10%中性緩衝ホルマリンにて固定後、常法に従いパラフィン切片を作製し、ABC法により免疫組織化学的に染色を行った。

【結果】

## 1) P448-1の組織分布と誘導様式

P448-1陽性細胞は無処置ハムスターでは気管および気管支の上皮細胞 (クララ細胞)、小腸と大腸の粘膜上皮細胞、胆膵共通管および膵管に認められた。また、3-MC投与によってP448-1を誘導したハムスターにおいては陽性細胞は上記の組織の他に肝細胞や精巣上体でも認められた (表1)。

## 2) 腫瘍におけるP448-1の発現

BOPを処置した動物においては、胆膵共通管および膵管のP448-1陽性細胞の染色性が無処置の場合に比して増加した。また、膵腺癌、異型増殖巣はP448-1陽性を示した。一方、腺房細胞や島細胞、さらに随伴病変である嚢胞状増殖巣では陽性細胞を認めなかった。

【考察】

実験で用いたポリクローナル抗体はP448-1のみと反応し、他のP450分子種とは交叉しないことをWestern blot法によって確認している。さらに今回の免疫組織化学の結果はWestern blot法やSandwich ELISA法による種々の臓器でのP448-1の定性/定量結果と一致した。

本検索において膵管やBOPにより誘発された膵腺癌はP448-1陽性を示したのに対し、腺房細胞や嚢胞状増殖巣は陰性であり、BOP誘発のハムスター膵腺癌が膵管由来であることを示唆していた。

以上の結果から、P448-1ポリクローナル抗体を用いた免疫組織化学は、ハムスターの発癌過程を検索する上で有用な手段になり得ると思われる。

表1 Immunohistochemical Findings of Cytochrome P448-1 in Hamsters

| Organs             | Histochemical findings |              |
|--------------------|------------------------|--------------|
|                    | Normal                 | 3-MC treated |
| Lung : bronchioles | +                      | +            |
| alveoli            | -                      | -            |
| Heart              | -                      | -            |
| Salivary gland     | -                      | -            |
| Liver              | -                      | +            |
| Stomach            | -                      | -            |
| Intestine : small  | +                      | +            |
| large              | +                      | +            |
| Pancreas : acinar  | -                      | -            |
| islet              | -                      | -            |
| duct               | +                      | +            |
| Spleen             | -                      | -            |
| Kidney : tubule    | -                      | -            |
| glomerulus         | -                      | -            |
| Urinary bladder    | -                      | -            |
| Prostate           | -                      | -            |
| Testis             | -                      | -            |
| Epididymis         | -                      | - ~ +        |

- : negative, + : positive

○辻内俊文、堤 雅弘、天沼利宏、田村一利、白岩和巳、小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

膵外分泌腺由来の悪性腫瘍は、ヒトの場合には大部分が膵管癌であり、腺房細胞癌は稀である。一方、実験動物では、ハムスターの場合はヒトと同様であるが、ラットの場合には大部分が腺房細胞癌であり、膵管癌は稀である。このように、膵癌の組織型には種により好発するものが大きく異なることが知られている。しかしながら何故に動物種により発生する膵癌組織型が異なるかについては未だ十分には理解されておらず、この点を解明することは、ヒト膵癌の発生要因・発生母地などを研究するうえで重要である。今回我々は、ラットに発生した膵管癌の同系ラット皮下継代移植に成功し、その生物学的特性及び増殖特性についてハムスター膵管癌継代移植系と比較検討したので報告する。

移植に用いたラット膵癌は、newborn Wistar雌ラットに体重kgあたり1gのN-bis-(2-hydroxypropyl)nitrosamine (BHP)を腹腔内に1回投与し、1年後に発生したものである。摘出した腫瘍は酢酸エタノール固定した後、常法に従いパラフィン包埋して連続切片を作製し病理組織学的検索を行った。その結果、HE染色にて腫瘍細胞が乳頭状・腺管状に増生しており膵管癌と考えられた。Table Iに示すように、 $\gamma$ -GTP染色陰性、GST-P染色陽性であり、免疫組織化学的にも膵管由来と考えて矛盾しないものであった。また、Table IIに示すように、ハムスター膵管癌と比較しても大差は見られなかった。

継代移植は、腫瘍を無菌的に摘出した後、Eagle MEM培養液中で約1mm角に細片し、移植針にて同系ラット背部皮下2か所に移植した。移植結果はTable IIIに示すごとくである。継代初代は雌ラットのみを用い移植率100%、腫瘍容積倍加時間は6.26日であった。2代目は雌雄のラットを用いた。移植率は両者とも100%であったが、腫瘍径の増大は雄で雌より著しかった。3代目以降は雄ラットから雄ラットへ雌ラットから雌ラットへ移植し継代を続けた。ラット膵管癌は継代するにつれ間質が増加する傾向を示したが、腺管形成能は保持されていた。また組織化学的にも継代による性

質の変化はみられなかった。

一方、ハムスター膵管癌移植系はN-bis-(2-hydroxypropyl)nitrosamine (BOP)を腹腔内投与して発生させた膵管癌を同系ハムスター皮下に継代移植したもので現在55代である。この腫瘍の増殖に関して性差はみられなかった。

今回の結果より、ラット膵管癌移植系は膵癌研究の有用な実験モデルとなりうると考えられる。

Table I  
Immunohistochemical Characterization of the Normal Pancreas and Pancreatic Duct Carcinoma in Rat

|                 | $\gamma$ -GTP   | GST-P | PTA                         |
|-----------------|-----------------|-------|-----------------------------|
| normal pancreas |                 |       |                             |
| ductal cells    | +(brush border) | ±     | - ~ ± occasionally          |
| acinar cells    | +               | -     | - ~ ± occasionally          |
| islet cells     | -               | -     | -                           |
| duct carcinoma  |                 |       |                             |
| cancer cells    | +(apical)       | +     | - ~ + (apical) occasionally |

Table II  
Immunohistochemical Characterization of the Normal Pancreas and Pancreatic Duct Carcinoma in Hamster

|                 | $\gamma$ -GTP      | GST-P | PTA |
|-----------------|--------------------|-------|-----|
| normal pancreas |                    |       |     |
| ductal cells    | -                  | ±     | +   |
| acinar cells    | +                  | -     | -   |
| islet cells     | -                  | -     | -   |
| duct carcinoma  |                    |       |     |
| cancer cells    | - ~ + occasionally | +     | +   |

Table III  
Observation Period, Transplantability, Doubling Time of Pancreatic Duct Carcinoma in Each Generation

| species | generation | observation period (weeks) | transplantability (%) | doubling time (days) |
|---------|------------|----------------------------|-----------------------|----------------------|
| Rat     | 1st female | 8                          | 3/4 (75)              | 6.3±1.6              |
|         | 2nd male   | 7                          | 18/20 (90)            | 3.0±0.5              |
|         | female     | 7                          | 18/20 (90)            | 3.5±0.6              |
|         | 3rd male   | 8                          | 20/20 (100)           | 6.8±1.3              |
|         | female     | 8                          | 20/20 (100)           | 14.5±6.5             |
|         | 4th male   | 8                          | 14/20 (70)            | 4.1±1.5              |
| female  | 8          | 18/20 (90)                 | 5.9±1.0               |                      |
| 5th     | male       | 8                          | 17/20 (85)            | 8.9±2.0              |
|         | female     | 8                          | 19/20 (95)            | 8.5±1.8              |
| Hamster | 52th male  | 7                          | 10/10 (100)           | 5.2±1.2              |
|         | female     | 7                          | 8/8 (100)             | 4.7±1.0              |

○宮川 義史, 柿本 恒知 (日本たばこ・安全研)

はじめに

マウスの乳腺腫瘍発生には、遺伝因子、ホルモン因子及び乳癌ウイルス(MTV)の存在が複雑に関与しているが、ウイルス誘発癌を含むいわゆる自然発生乳癌と化学発癌物質で誘発した乳癌では発癌過程に相違があると考えられ、組織像にも差異が認められる。化学発癌剤処置を行ったマウスの乳腺に、自然発生あるいは実験発癌においても極めて稀とされているC型腺癌及び混合腺癌(Mixed adenocarcinoma)をはじめ様々なタイプの腫瘍発生を認めたので、組織形態像を中心に報告する。

## 実験材料と方法

7週齢のBALB/c CrSlc, C57BL/6 CrSlc, DBA/2 CrSlc, BDF1 (C57BL/6 CrSlc ♀ × DBA/2 CrSlc ♂), CDF1 (BALB/c CrSlc ♀ × DBA/2 CrSlc ♂)系の雌マウス各120匹を用いた。化学発癌剤処置として、7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 50 µgあるいはN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) 500 µgを背部皮膚に1回塗布した後、動物を二分し、一方(各群30匹)には12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 0.5 µg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乳腺を中心に病理組織学的検索を実施した。

## 結果

DMBA投与群では比較的高率の腫瘍発生を認め、CDF1マウス27%、DBA/2マウス26%、BDF1マウス15%、BALB/cマウス2%、C57BL/6マウス0%の発生率であった(Table 1)。TPA処置によ

る腫瘍発生の促進はみられなかった。MNNG投与群ではいずれの系統とも腫瘍発生率は低く、0~7%の発生率であった。これらの乳腺腫瘍はすべて70週以降に認められた。発生した腫瘍の組織形態像は系統にかなり特徴的であり、CDF1マウスでは、立方上皮でうちばりされ周囲を筋上皮細胞が取り巻く小型の嚢胞状腺管の集合よりなるC型腺癌、及び腺上皮成分と筋上皮細胞と思われる紡錘形細胞両者が増殖する混合腺癌が大多数を占めた。混合腺癌における腺上皮成分は立方上皮あるいは円柱上皮の乳頭状増殖ないしは腺管様増殖が主体で、稀に皮脂腺様構造、骨様組織、粘液腫様組織が腫瘍内に混在して認められた。一方、DBA/2マウスでは、乳頭状増殖を特徴とし、嚢胞構造、髄様構造、腺房構造など多彩な形態像を示すB型腺癌が主体であったが、自然発生例に比較すると筋上皮細胞が目立った。BDF1マウスでは小さな腺房様構造を特徴とするA型腺癌、B型腺癌、C型腺癌及び混合腺癌が同程度に認められた。

## 考察

乳癌低発系と考えられている5系統のマウスにDMBA処置を行い、3系統のマウスに比較的高率の乳腺腫瘍発生を認めた。発生した腫瘍の組織型に系統差がみられ、CDF1マウスではC型腺癌及び混合腺癌が主体をなした。両腫瘍は極めて発生が稀とされている腫瘍で病理発生も明らかにされていない。我々の観察する限り、両腫瘍間には形態学的に移行が認められ、腺上皮成分はおおむね細乳管上皮由来と思われた。B型腺癌と混合腺癌との関連は明かではなかった。

Table 1 Incidence and histological types of mammary tumors in mice treated with chemical carcinogens

| Treatment              | Mouse Strain | Effective no. of mice | No. of mice with mammary tumor (%) | Total no. of mammary tumors | Histological types of mammary tumors |                        |                        |                       |                 |
|------------------------|--------------|-----------------------|------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------|
|                        |              |                       |                                    |                             | Adeno-carcinoma type A               | Adeno-carcinoma type B | Adeno-carcinoma type C | Mixed adeno-carcinoma | Adeno-acanthoma |
| DMBA/TPA<br>or<br>DMBA | C57BL/6      | 58                    | 0 (0)                              | 0                           | 0                                    | 0                      | 0                      | 0                     | 0               |
|                        | BALB/c       | 58                    | 1 (2)                              | 1                           | 0                                    | 0                      | 0                      | 1                     | 0               |
|                        | DBA/2        | 58                    | 15 (26)                            | 17                          | 0                                    | 10                     | 1                      | 4                     | 2               |
|                        | BDF1         | 60                    | 9 (15)                             | 10                          | 2                                    | 2                      | 1                      | 4                     | 1               |
|                        | CDF1         | 60                    | 16 (27)                            | 16                          | 0                                    | 1                      | 8                      | 7                     | 0               |
| MNNG/TPA<br>or<br>MNNG | C57BL/6      | 59                    | 0 (0)                              | 1                           | 1                                    | 0                      | 0                      | 0                     | 0               |
|                        | BALB/c       | 55                    | 1 (2)                              | 0                           | 0                                    | 0                      | 0                      | 0                     | 0               |
|                        | DBA/2        | 58                    | 4 (7)                              | 4                           | 0                                    | 1                      | 0                      | 3                     | 0               |
|                        | BDF1         | 58                    | 1 (2)                              | 1                           | 0                                    | 0                      | 0                      | 1                     | 0               |
|                        | CDF1         | 60                    | 3 (5)                              | 4                           | 0                                    | 0                      | 3                      | 1                     | 0               |

○永岡隆晴<sup>1,2</sup>, 小野寺博志<sup>1</sup>, 前川昭彦<sup>1</sup> (1 国立衛試・病理, 2 吉富製薬・安全研)

我々は第4回日本毒性病理学会で、Donryuラットに子宮内膜腺癌が高率に自然発生し、その発生には内分泌環境の変化が大きく影響している可能性を報告した。今回、我々はDonryuラットにおける子宮内膜癌の発生機序を更に検討する目的で、腺癌嫌疑系のF344ラットを対照として、連続的に性周期の観察を行うとともに、経時的に動物を屠殺し、血中ホルモンの測定および生殖器の組織学的検索を行い興味ある結果を得たので報告する。

#### 方法

Donryuラット53例およびF344ラット47例について生後3ヶ月より15ヶ月まで性周期を連続的に調べた。また、別のDonryuラット59例およびF344ラット55例について、生後6週および6, 8, 10, 12, 15, 18ヶ月の各時点で5-11例ずつを選択し、5日間膣垢を採取の後、エーテル麻酔下で腹部大動脈より採血した。続いて生殖器を採取し、10%ホルマリンで固定した後、定法に従ってHE染色標本を作成し光学顕微鏡で観察した。性ホルモンとしては、 $17\beta$ -estradiol ( $E_2$ )とprogesterone (P)を選び、RIA法で血漿中の値を測定した。

#### 結果

##### 1) 性周期および性ホルモンの検索

Donryuラットでは持続的発情が生後5ヶ月齢で約10%に発現した後、加齢に伴い漸増し、9ヶ月齢以降には80-90%の範囲に達した。これに対してF344ラットでは生後9ヶ月齢より少数例で散発的に持続的発情が観察されたが、加齢とともに増加する傾向はみられなかった。性ホルモンの検索において、Donryuラットでは加齢に伴う $E_2$ およびPの値の低下がみられ、 $E_2$ に比しPの低下の割合がより大きかった。そのため、 $E_2/P$ 値が10ヶ月齢より漸次増加する傾向を示し、12ヶ月齢でのDonryuラットの $E_2/P$ 値はF344ラットに比べ約7倍高かった。

##### 2) 生殖器の重量および組織学的変化

Donryuラットでは、加齢に伴った卵巣重量の減少がみられ、12ヶ月齢以降には6週齢の重量に比し実重量で約1/2、相対重量で約1/4の値を示した。重量減少が認められた卵巣では黄体の欠陥や卵胞のcystをともなう萎縮性変化がみられ、膣では上皮の角化が認められた。これら卵巣や膣上皮の変化の出現は、持続的発情の出現と一致していた。これに対し、F344ラットにおいては、卵巣の実重量は各測定時点でほぼ同等であった。

##### 3) 子宮内膜の経時的変化

Donryuラットにおける子宮内膜の組織学的変化は、持続的発情の発現した時期にほぼ一致して被蓋上皮および内膜腺の一部に出現した。被蓋上皮の組織学的変化は、高円柱状化、細胞異型および上皮内での腺管形成等としてみられ、これらの形態変化は8および10ヶ月齢で程度が増し、12ヶ月齢では上皮が乳頭状を呈するとともに上皮内ないしは上皮直下での小腺管形成が目立つようになり、上皮下の一部では小腺管の充実状の増殖も認められた。15ヶ月齢以降腺癌の発生がみられ、15および18ヶ月齢の各1例で被蓋上皮由来の小腺管より発生したと思われる腺癌が認められた。内膜腺の変化としては、一部の腺で扁平上皮化生様変化がみられ、部分的に腺腔を形成する所見もみられたが明らかな増殖性変化は認められなかった。F344ラットでは、8ヶ月齢で持続的発情を示した1例のみに内膜上皮の軽度の増殖性変化がみられた。

#### 考察

子宮内膜腺癌と内分泌異常との関係は古くから指摘され、その発生にはホルモン特にエストロゲンが重要な役割を果たしているといわれている。Donryuラットでは生後5ヶ月齢より持続的発情に示される内分泌異常が発現し、この時期にほぼ一致して内膜被蓋上皮の高円柱化ないし腺管形成と内膜腺の扁平上皮化生様変化がみられた。これらの変化は、持続的発情の頻度や卵巣の萎縮の程度と相関していること、また子宮内膜の円柱上皮の扁平上皮化生にはエストロゲンの関与が指摘されていること、さらにDonryuラットにおいては $E_2/P$ 値がF344ラットのそれに比べて、12ヶ月齢で約7倍高かったことなどから、ラット子宮内膜癌の発生にはホルモン環境の変化、特に相対的なエストロゲン( $E_2/P$ )の高値がきわめて重要であると考えられる。第4回の本学会で報告した如くDonryuラットの自然発生子宮内膜腺癌は形態学および生物学的特徴がヒトのそれらに類似し、今回の結果が示すようにその発生機序もヒトの内膜癌の場合と類似していることから、Donryuラットはヒトの子宮内膜癌の動物モデルとして有用である事が示された。

## 18. ラット子宮内膜癌の発生に関する実験病理学的研究 — 卵巣腫瘍と子宮内膜病変との相関 —

○ 小野寺博志・永岡隆晴・渋谷淳・小笠原裕之・前川昭彦（国立衛試・病理）

ヒト子宮体部癌発生の high risk 因子として不妊、肥満、糖尿病、高血圧、卵巣機能障害（多嚢胞性卵巣、機能性卵巣腫瘍）や長期間ピル服用等があげられており、腫瘍発生と内分泌異常との関連が古くより指摘されている。実験的にマウスではホルモン、特にエストロゲン投与により子宮内膜腺癌が誘発されることが報告されているが、ラットではホルモンや化学物質などの投与でこの腫瘍を高率に誘発することは困難であるとされている。我々は第4回日本毒性病理学会で Donryu ラットには子宮内膜腺癌が高率に自然発生するが、F344 ラットではその発生はきわめて稀であることを報告した。更に、第48回日本癌学会総会において BOP をラットに経胎盤投与すると、そのF1に卵巣腫瘍（顆粒膜細胞腫／黄体腫）が高率に発生することを報告した。今回、我々はこれら卵巣腫瘍と子宮内膜病変との関係について病理組織学的検索を行い、興味ある知見を得たので報告する。

### 【実験材料・方法】

動物：F344/DuCrj 8～10週齢

検体：N-Nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP)

方法：動物を一晩交配させ、膣スミアで精子を確認した日を妊娠1日目とし、妊娠14、18及び20日目に生理食塩水に溶解した BOP を 10mg/kg B.W. で、合計3回皮下投与した。対照群には同様の方法で生理食塩水のみを投与した。出生した F1 は4週目で離乳させ、その後は無処置で飼育観察した。実験群、対照群の少数例について血漿中の性ホルモン(17 $\beta$ -estradiol [E2] および progesterone [P])を RIA 法により測定した。生後 87～93 週目に全生存動物を屠殺・剖検し、常法にしたがい病理組織学的に検索した。

### 【結果】

卵巣腫瘍の発生率は対照群の 0% に対し、BOP 投与群では 63% と高率であった。肉眼的に卵巣腫瘍は黄色～赤褐色調を呈し、多くは片側性であったが両側性にみられる例もあった。卵巣腫瘍の組織型はすべて顆粒膜細胞腫／黄体腫であった。また卵巣の非腫瘍性病変として卵胞の嚢胞形成や消失、黄体形成不全等の萎縮性変化が多く認められた。それに対し対照群では嚢胞形成が 1 例に認められたのみであった。

実験全期間を通して子宮の腫瘍は対照群の 2 例に内膜

ポリープを認めたのみで、BOP 投与群では内膜癌も含め腫瘍の発生は認められなかった。子宮内膜は対照群で正常の所見を示していたが、BOP 投与群では内膜被覆上皮の高円柱状化、細胞異型が見られ、更に、上皮内あるいは上皮下での腺管形成が見られた。また内臓腺の扁平上皮様化生が多発し、少数例においては内膜過形成と考えられる組織像を示していた。

膣上皮は BOP 投与群で殆どが角化していた。これに対し対照群では少数例で角化を示したが、多くの例では円柱上皮様細胞の出現を認めた。ホルモン測定の結果、E2 および P 値は個体間でバラツキがあるものの、対照群と比べ、卵巣腫瘍のない BOP 投与群ラットで E2 と P 値、特に E2 値が著しく低下していた。これに対し、卵巣腫瘍を有するラットでは対照群より低いものの、卵巣腫瘍のない BOP 投与例に比べ、E2 および P 値が高値を示し、特に E2 で顕著であり、E2/P 比は対照群より高かった。

### 【考察】

今回の実験において BOP 投与群には、子宮内膜腺癌の発生は 1 例も見られなかったが、内膜被覆上皮や子宮腺に形態学的変化がみられ、一部には前癌状態と考えられる内膜過形成の像も認められた。子宮内膜にみられたこれらの病変は子宮内膜腺癌好発系である Donryu ラットの子宮内膜の経時的検索でみられた変化と同様の病変であった（本学会で永岡等が発表）。また BOP 投与群と対照群との膣上皮および卵巣所見の違いは、子宮内膜腺癌を有する Donryu ラットと有さないラットとの違い、あるいは Donryu ラットと F344 ラットとの系統差による違いと同じであった。これらのことは、対照群と比べ BOP 投与群において内分泌環境の変動、特にエストロゲンの高値状態を示唆していると考えられる。ホルモン測定の結果からも卵巣腫瘍を有するラットにおいては相対的なエストロゲン (E2/P) の高値が認められた。BOP 投与群に子宮内膜腺癌の発生が見られなかった理由として、観察期間が短いことや、F344 ラットが子宮内膜腺癌嫌発系であることなどが考えられる。更に長期間観察するか、あるいは好発系ラットを用いることにより子宮内膜腺癌の発生が期待できると思われ、本実験系はヒトにおける卵巣腫瘍と子宮癌発生の関係を検討するための良い実験モデルと考える。



○山手文至, 東郷正治, 渋谷一元, 伊原三重子, 工藤 悟, 田島正典 (日生研)

悪性線維性組織球腫(MFH)は、主に線維芽細胞様細胞及び組織球様細胞から成る腫瘍で、起源細胞は未だ明確に同定されていない。我々は15カ月齢のF344ラットに自然発生したMFHから同種可移植性腫瘍(MFH-MT)を得た。起源腫瘍はstoriform型のMFHと診断されたが、尾根部皮内及び尾静脈内接種により肺に形成されたMFH-MT及びヌードマウスに異種移植されたMFH-MTは多彩な組織像を示した(Jpn.J.Vet.Sci.:587, 1989)。また、MFH-MTに由来する*in vitro*継代細胞(MT-P)には、組織球の性格を有する細胞が含まれることが証明された(Jpn.J.Vet.Sci.:861, 1989)。今回、MFH-MT構成細胞の性質をより明らかにするために、限界希釈法によるクローニングを行い、MT-Pから4つのクローン細胞株(MT-7, MT-8, MT-9, MT-10)を得た。これらクローン細胞の形態学的及び機能的性格について報告する。

### 1. *in vitro*における細胞性質の観察

増殖培地MEMで継代された4クローン細胞株の特徴を形態学的、免疫組織化学的及び機能的に検査した。得られた成績を表に示すが、継代に伴う細胞性質の変化は観察されなかった。

#### 1-1. 形態観察

MT-7: 円形から多角形の細胞形態を示した。電顕的に、多くの細胞質突起と卵円形の核を有し、細胞質には粗面小胞体及び多くのリソソームを容れていた。MT-8: 紡錘形から長楕円形の細胞形態を示した。電顕的には、比較的滑らかな細胞表面を有し、細胞質には無数の遊離リボソーム、グリコーゲン顆粒及び少数のリソソームが観察されたが、細胞質小器官の発達は極めて悪かった。MT-9: 大型円形から多角形の細胞であった。電顕的には、無数の細胞質突起と刻み目の多い分葉核を有し、細胞質に拡張した粗面小胞体、多数のリソソームとミトコンドリアそして細線維束を有し、線維芽細胞の特徴があった。MT-10: 細長い数本の突起を持った星状の細胞から成った。電顕的には、多くの細胞質突起と不規則形核を有する細胞で、細胞質には良く発達した粗面小胞体と多くのリソソームを容れていた。

#### 1-2. 免疫組織化学染色成績

4クローン細胞株はACP, NSE及びMABに対し陽性反応を示した。一方、ALPに対しては、MT-10が陰性で、他の3クローン細胞が陽性反応を示した。

#### 1-3. 機能検査成績

EA及びEACロゼット形成能、EAとラテックス粒子貪食能について調べた。表に示すように各クローン株の陽性率は低く、株

間で著しい違いはなかった。

### 2. クローン細胞誘発腫瘍の観察

各クローン細胞株について*in vitro*継代1, 7及び21代の10<sup>7</sup>個の細胞を同種ラットの背部皮下組織に接種し、形成された腫瘍を組織学的に観察した。MT-7及びMT-10はstoriform型(S)、多形細胞型(P)及び粘液型(M)が混在する組織像を示し、中等度の膠原線維を含んでいた。MT-9は豊富な膠原線維を含んだSの均一の組織像を呈した。MT-8は、束状に配列する紡錘形細胞(紡錘形細胞型(SP))から成り、時にS及びMが混在した。S, P及びMを構成する細胞はACP, NSE及びMABに中等度の陽性反応を示し、組織球の性格を示したが、SPを構成する細胞はこれらに対して陰性であった。SP構成細胞は未分化な細胞と考えられた。また、*in vitro*継代7代の細胞から誘発した腫瘍の組織片を同種ラットに移植し5代まで連続的に継代した腫瘍について、継代に伴う組織像の変化を観察した。MT-7及びMT-10は継代3~4代以降SPが出現し始めた。一方、MT-9は継代5代までSを維持した。MT-8は継代につれSPがより優位となり、紡錘形から卵円形の細胞が血管周囲で増殖し、organoid構造を取る部位が観察され、組織学的にはMFHとは異なる未分化肉腫と診断された。また、MT-8及びMT-10には骨様組織が時に観察された。以上の成績より、MFH-MTには未分化細胞(MT-8)、組織球(MT-7, MT-10)そして線維芽細胞と組織球の双方(MT-9)の性格を持つ細胞が混在することが示された。また、*in vivo*での継代に伴い、MT-7及びMT-10は未分化な細胞へと脱分化する可能性が示唆された。今回の成績より、MFH-MTは多彩な細胞から成ることが示された。

*in vitro*継代クローン細胞の観察

| 株     | 検査した継代数 | 組織化学染色 |     |     |     | 機能検査(%) |     |      |     |
|-------|---------|--------|-----|-----|-----|---------|-----|------|-----|
|       |         | ACP    | NSE | ALP | MAB | EA      | EAC | EA-P | ラ-P |
| MT-7  | 1-4     | 3+     | 3+  | 2+  | 2+  | 7       | 2   | 5    | 8   |
|       | 12      | 3+     | 2+  | 2+  | ND  | ND      | ND  | ND   | ND  |
|       | 16-18   | 3+     | 2+  | 2+  | ND  | 6       | 2   | 13   | 5   |
| MT-8  | 1-4     | 2+     | 2+  | 2+  | 1+  | 23      | 7   | 19   | 3   |
|       | 12      | 2+     | 2+  | 2+  | ND  | ND      | ND  | ND   | ND  |
|       | 16-18   | 2+     | 2+  | 2+  | ND  | 10      | 2   | 11   | 7   |
| MT-9  | 1-4     | 3+     | 2+  | 2+  | 2+  | 8       | 3   | 6    | 3   |
|       | 12      | 3+     | 2+  | 3+  | ND  | ND      | ND  | ND   | ND  |
|       | 16-18   | 3+     | 3+  | 2+  | ND  | 7       | 4   | 3    | 6   |
| MT-10 | 1-4     | 3+     | 2+  | -   | 2+  | 11      | 7   | 15   | 5   |
|       | 12      | 3+     | 3+  | -   | ND  | ND      | ND  | ND   | ND  |
|       | 16-18   | 3+     | 2+  | -   | ND  | 21      | 3   | 5    | 6   |

ACP: 酸ホスファターゼ, NSE: 非特異的エステラーゼ, ALP: アルカリホスファターゼ, MAB: 抗ラット単球/マクロファージモノクローナル抗体, EA及びEAC: ロゼット形成能, EA-P: EAに対する貪食能, ラ-P: ラテックス粒子貪食能, 1+: 軽度, 2+: 中等度, 3+: 重度, -: 陰性, ND: 検査せず。

20. 培養系における線維芽細胞の細胞間マトリックス及び collagenolytic enzymes の産生に与える過酸化脂質の影響

○柿田徳彦, 柳 秀隆, 笹栗靖之, 福田秀一, 森松 稔 (久大二病理)

最近, 血清過酸化脂質が血管壁細胞を障害し, 色々の血管障害を起こす可能性について検討がなされている。我々は, 培養血管細胞系を用いて, 過酸化脂質による細胞障害の検討を行ない, 報告してきた。その結果, 過酸化脂質がきわめて強い細胞毒性を示すことが示唆された。今回我々は, Fibroblastにおける細胞間マトリックスの産生及びcollagenolytic enzymes の産生に対する, 過酸化脂質の影響について検討した。

実験方法: 培養細胞は, 解剖時に採取した人の皮膚組織より分離したFibroblastを用いた。各種濃度の過酸化脂質存在下において, 三時間培養した後, 1mlの血清無添加培養液を用いて三日間培養し, その培養液と細胞を検体として用いた。collagenのtype I・III・IV・V及びfibronectinについては, 市販されているpolyclonal antibodyを用いて, Western blotting法及び間接蛍光抗体法により検討した。collagenolytic enzymeについては, collagenaseについてFITCラベルの活性測定キットを用いて, その活性について検討し, gelatinase及びMMP 3活性については, ゼラチンを含むSDS gel-ページを用いて検討した。過酸化脂質は, linoieic acid hydroperoxideを用いた。

結果: Fibronectin及び各種collagenの産生は, 全体的に低下する傾向を示した。collagenolytic enzymeについては, gelatinase活性は低下する傾向を示したが, collagenaseとMMP 3の産生は, ある濃度において刺激される所見が得られた。高濃度の過酸化脂質存在下においては, 細胞は死壊した。

以上より, 創傷治癒のメカニズムに対して, 過酸化脂質の存在は, 細胞間マトリックスの産生とcollagenolytic enzymeの産生による, 組織再構築のバランスを, 著しく障害することが示唆された。



## 21. 培養ウシ大動脈内皮細胞におけるDNA複製に対する過酸化脂質の影響

○福田秀一, 笹栗靖之, 柳 秀隆, 森松 稔(久大二病理), 八木國夫(応用生化学研究所)

血管壁細胞とくに血管内皮細胞の傷害は動脈硬化の発生, 進展に直接関係していると考えられている。過酸化脂質による傷害の機序は一般に細胞膜への傷害と考えられているが, 細胞増殖が特徴である動脈硬化ではDNAレベルでの傷害の可能性も充分考えられる。そこでDNAレベルでの過酸化脂質の内皮細胞傷害を検討する為に, 培養系におけるadenovirusのDNA複製系を利用して行った。

### 〔材料と方法〕

#### 1. ウシ大動脈内皮細胞

内皮細胞として屠殺材料より分離したウシ大動脈内皮細胞を実験に用いた。

#### 2. linoleic acid hydroperoxide (L.H.O.)

過酸化脂質としてlinoleic acid hydroperoxide (L.H.O.)を使用した。使用に際してはエタノールに2  $\mu\text{M}/\text{ml}$ の濃度に溶解して用いた。コントロールとしてエタノールに溶解したlinoleic acidを用いた。

#### 3. ウィルスDNA合成

内皮細胞をDulbecco's modified eagle medium (DMEM)含10%ウシ胎児血清を用いて培養後, adenovirus type-2感染させた。ウィルスDNAの抽出はHirt's extraction methodによった。ウィルスDNAの合成量はSouthern hybridizationにより比較した。hybridizationはfull lengthのウィルスDNAをNick translation system (NEN, Boston)により $^{32}\text{P}$ でラベルしてプローベとして用いた。

#### 4. ウィルスDNA転写

内皮細胞を培養後adenovirusを感染させた。1時間半の培養後, linoleic acid hydroperoxideを加えcytoplasmic RNAを抽出した。hybridizationはadenovirus DNA polymerase 遺伝子の大半を含むfragmentを分離し, Nick translation system (NEN, Boston)にて $^{32}\text{P}$ でラベルしたものをプローベとして用いた。

#### 5. adenovirus DNA polymeraseの検出

内皮細胞をadenovirus存在下でカバーグラス

上に培養後, 種々の濃度の過酸化脂質を加えインキュベート後, 感染細胞を冷アセトンで固定し, adenovirus DNA polymerase抗血清とともにインキュベート後PBSで洗浄し, fluorescein-isothiocyanate (FITC)でラベルしたヤギ抗ウサギIgG immunoglobulinを用いて蛍光顕微鏡を用いて観察した。

### 〔結果〕

1) 過酸化脂質のadenovirus DNA合成に与える影響として, 感染直後に過酸化脂質を投与した場合, ウィルスDNAの合成は著明に減少した。また感染後16時間後に過酸化脂質を投与した場合, 小型のincomplete DNA fragmentが多量に検出された。

2) 過酸化脂質のadenovirus DNA polymerase 遺伝子転写に与える影響として, 過酸化脂質の存在下でその転写が抑制された。

3) 過酸化脂質のadenovirus DNA polymerase 蛋白合成に与える影響としてDNA polymerase 蛋白の合成が開始される感染後4時間以内に過酸化脂質を投与した場合, DNA polymerase 蛋白の発現は殆ど見られなかった。また感染直後に過酸化脂質を投与した場合, DNA polymerase 蛋白の発現は濃度に依存して減少した。

○立野知世, 乃田 正, 伊藤聖一, 奥野泰由, 松尾昌幸, 山田宏彦 (住友化学・安全性研究所)

DHPN (Di(2-hydroxypropyl)nitrosamine) はラットやマウスの肺に腺腫、腺癌および扁平上皮癌を誘発させること、また、これらの腫瘍の発生母細胞は、電子顕微鏡や免疫組織化学的手法によりクララ細胞または肺胞II型細胞であることが報告されている。

我々はDHPN投与ラットにおける肺腫瘍誘発の初期病変をつかむべく、肺腫瘍を誘発する濃度のDHPNを短期間ラットに投与し、肺における形態変化の観察を光学顕微鏡、透過型および走査型電子顕微鏡を用いて行った。

一方、これまでラットの肝臓、膵臓、小腸、大腸、子宮、膀胱の前癌病変のマーカーとしてGST (Glutathion S-transferase) が有用であることがよく知られており、今回、GSTの分子種のうち、GST-Ya、GST-YcおよびGST-Pについて、DHPN投与した肺における発現様式を免疫組織化学的手法により検討したので併せて報告する。

方法：6週令のF344雄ラットを用い、0.2%DHPNの飲水投与を5週間行った。投与終了後、エーテル麻酔下で開腹し、2.5%グルタルアルデヒドで還流固定および注入固定を行い、透過型および走査型電子顕微鏡用試料を作製した。また、残りの肺を10%中性緩衝ホルマリンで

浸漬固定後パラフィン切片とし、光学顕微鏡観察用にヘマトキシリン・エオジン染色を行った。

一方、ホルマリン浸漬標本から凍結切片を作製し、免疫組織化学的にGST-Ya、GST-Yc、GST-P染色を行った。免疫染色は、それぞれの抗体を用いてABC法により行った。

結果：DHPN投与のラットの肺を光学顕微鏡により観察したところ、終末気管支上皮細胞の肥大が高頻度に認められた。走査型および透過型電子顕微鏡を用いて詳細に観察したところ、終末気管支のクララ細胞の腫大(図1)、核の大型化、ミトコンドリアの肥大および分泌顆粒の減少が観察された。

また、これらの腫大したクララ細胞では、GST-Ycの発現が認められたが、GST-Ya、GST-Pについては陰性の結果が得られた。

考察：肺腫瘍を誘発させるDHPNをラットに短期間投与したところ、発生母細胞の一つであるクララ細胞の腫大が高頻度に認められ、腫大したクララ細胞にGST-Ycの発現が認められた。Benzo(α)pyrene投与7日目のラットの肺においても、クララ細胞の腫大とGST-Ycの発現が伏見らによって(1988年、第47回日本癌学会総会)報告されており、GST-Ycが肺における化学発癌初期病変のマーカーとして有用であることが示唆された。また、これらの肺における変化が、DHPN腫瘍誘発の初期病変であると思われた。

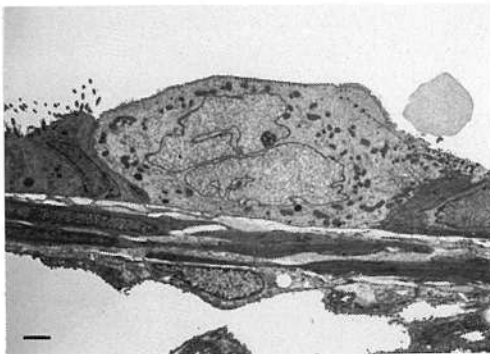


図1. DHPN投与ラットの肺クララ細胞の腫大  
(スケールは2μを示す。)

## 23. 肺Clara細胞の分布とPCB投与による反応の動物種差

○今井田克己・高村直子・畝山智香子・吉田順一・古田京子・高橋道人・林 裕造（国立衛試・病理）

【はじめに】

気管及び気管支上皮を構成する細胞には線毛細胞、杯細胞、基底細胞のほかに、無線毛細胞（non-ciliated cell）いわゆるClara細胞があり、この細胞内にはチトクロームP450関連代謝酵素を含有することが知られており、II型肺上皮細胞とともに肺における薬物の解毒、代謝活性化に重要な役割を果たしていると考えられている。Clara細胞の分布は動物種により異なること、更に、その分布あるいは代謝活性の差が種々の薬物に対する肺毒性や化学発癌物質に対する感受性の動物種差として現われていると考えられている。

従来、Clara細胞の同定には形態学的特徴とくに電顕を用いた超微形態学的手法が主として用いられている。今回、我々はClara細胞に対する抗体を用い、ラット、マウス、ハムスターの気管及び気管支上皮のClara細胞を免疫組織化学的に染色し、その分布の動物種差を検討した。また、Polychlorinated biphenyl (PCB)は種々の臓器の細胞にチトクロームP450関連酵素を誘導することが報告されているが、PCB投与によるClara細胞の反応動態における動物種差についても検索を行った。

【実験材料及び実験方法】

実験にはF344ラット、ICRマウスおよびシリアンゴールデンハムスターの5週齢または6週齢の雄を用いた。

いずれの動物種にもPCBを体重kgあたり500mgのPCB(Aroclor1254)を5mlのコーン油に溶解し、腹腔内投与した。また、対照群にはコーン油のみを投与した。各群とも投与1週後に屠殺剖検し、気管を甲状腺より上部にて切除し、気管を含めて肺を摘出後、気管より10%中性緩衝ホルマリンを注入、固定した。気管、気管支ならびに左右の肺を、H・E標本による病理組織学的検索をするとともにラットのClara-specific-proteinを抗原とする抗Clara細胞抗体を用いて、希釈倍率1000倍で、ABC法による免疫組織化学的検索により、Clara細胞の検討を行った。なお、今回用いたClara細胞の抗体はUniversity of Pittsburghの Dr. Singhから供給されたものである。

【結果】

抗Clara細胞抗体はラットに対するものであったが、マ

ウスおよびハムスターのClara細胞とも反応した。しかし、II型肺上皮細胞を含むほかの細胞とは反応せず、Clara細胞に対する特異性が高いことが確認された。動物種における差について検討してみると、同一の希釈倍率で免疫組織化学的に染色した場合、ラットで最も強く反応し、ついでハムスター、マウスの順であった。陽性細胞の分布を見ると、対照群の気管上部では陽性上皮細胞は認められず、気管支並びに細気管支に多くのClara細胞が認められた。細気管支の上皮細胞の中でClara細胞の占める割合はマウスが最も多く、ついでハムスターであり、ラットでは最も少なかった。

PCB投与群ではいずれの動物種においても同抗体の陽性細胞の増加傾向が認められたが、マウスでは対照動物でも多くの細胞が既に陽性に染色されており、その増加傾向は明瞭でなかった。

【考察】

今回用いた抗体はラットのClara細胞に存在する特有の蛋白質に対する抗体であったが、マウスおよびハムスターのClara細胞とも交差反応し、陽性に染色され、また、線毛気管上皮細胞やClara細胞以外の気管や気管支上皮を構成する細胞、また、I型およびII型肺上皮細胞とは反応せず、Clara細胞に対して特異性の高いものであることが確認された。PCBにより各臓器のチトクロームP450関連酵素の誘導が起こるが、今回の実験でもPCB投与により肺の抗Clara細胞陽性数の増加がみられた。このことは、PCBによるP450関連酵素の誘導とClara細胞の陽性細胞の増加と関連することが示唆された。

II型肺上皮細胞も同様にsurfactant apoprotein(SPA)に対する抗体を用いることによって、免疫組織化学的に同定可能であり、今後、抗Clara細胞抗体と共に抗SAP抗体を用いた免疫組織化学的検索により、Clara細胞やII型肺上皮細胞の分布と種々の化学物質に対する同細胞の反応動態の追求が可能である。さらに、肺の各種病変におけるこれら細胞の変動、特に、肺腫瘍発生の初期過程や腫瘍細胞の発生母地を追求するのに有効な手段となるものと思われる。

○吉村慎介、斉藤義明、山口 肇、青木道子、今井 清、大瀧サチ（食薬安全センター・秦野研）  
加藤宗平（ポーラ化成工業㈱・新薬研究所）、松本明德（㈱科薬・薬理センター）

高用量の 2,5-hexanedione (2,5-HD) をラットに経口投与すると、小脳核や前庭神経核に細胞外水腫が起き、神経線維軸索や神経終末が変性するなど、今までに知られている distal axonopathy とは異なる変化が認められることを、前回の毒性病理学会で報告し、その変化は実験的 thiamine 欠乏症のマウスや、misonidazole 投与ラットに見られる変化に類似することを述べた。今回は、misonidazole および同じ 2-nitroimidazole 誘導体である 1-(4'-hydroxy-2'-butenoxy) methyl-2-nitroimidazole (RK-28) をビーグル犬に静脈内投与し、その神経組織を観察したので報告する。

雌ビーグル犬 20 匹を用い、11匹には misonidazole を 41, 64, 80, 100 mg/kg の用量で、9匹には RK-28 を 80, 100, 120 mg/kg の用量で、1日1回連日静脈内投与した。症状が明らかになったとき、あるいは6週間投与後に麻酔下、大動脈起始部より全身を灌流固定し、脳および脊髄のパラフィン切片 LFB-H・E 染色標本作製したほか、小脳核、前庭神経核、脚内核、薄束核、脊髄、末梢神経、骨格筋を樹脂包埋し、厚切り切片トルイジンブルー染色標本の光顕的観察を行い、一部は電顕的に観察した。

(misonidazole 投与群)

64 mg/kg 以上の投与群では、投与開始後1から2週間に四肢の突っ張りが見られ、やがて背を丸めて起立したり突然後方に倒れるようになりこれに伴って座學も認められた。また倒れたままケージに体を押し付けるようになる例があり、流涎、眼振を伴うことが多かった。

病理学的には、80 mg/kg 投与群の1例の左側視床に明らかな出血巣があった。脚内核付近の灰白質には明らかな水腫が見られ、厚切り切片で水腫液はトルイジンブルーに淡染した。また、脚内核付近の出血は、本例の他

100 mg/kg 投与群の1例にも見られた。64 mg/kg 以上の投与群では小脳核および前庭神経核の多数の細い有髄神経に軸索変性が見られ、軸索が消失して髄鞘が球状に変化した像も多く認められた。電顕的には、変性した軸索は無構造で濃染しているか、変性したミトコンドリアや小胞が貯留していた。まれに腫脹した軸索があり、変性小器官やライソゾームを含んでいた。やや太い有髄神経の髄鞘と軸索間が大きく拡張している像が見られた。これらの神経核は水腫に陥っており、神経細胞周囲および神経線維やグリア細胞突起間に間隙が認められ、樹状突起周囲には変性したミトコンドリアを含む神経終末が見られた。前庭神経核の変化は、小脳核におけるよりも軽度であった。

脊髄および末梢神経には厚切り切片で、ごく少数の変性した軸索が認められたが、投与薬物との関係は明らかではなかった。

64 mg/kg 以上の投与群の小脳皮質では、少数のブルキンエ細胞が変性し、萎縮して濃染あるいは腫脹して淡染していた。分子層には変性したブルキンエ細胞の樹状突起や多数の空胞が見られた。軽度な出血が、80 mg/kg 投与群の2例および 100 mg/kg 投与群の1例の小脳皮質にあった。その他、軽度な出血は 80 mg/kg 投与群の1例の脈絡叢、頸髄灰白質にも見られた。

(RK-28 投与群)

100 mg/kg 投与群の3例のうち1例、120 mg/kg 投与群の3例全例が神経症状を示したが、misonidazole 投与例に比べると軽度で、80 mg/kg 投与群の3例は症状を示さなかった。病理学的には、症状を示した例の小脳核および前庭神経核に misonidazole 投与例と同様の変化が見られたが、脚内核、小脳皮質に変化はなかった。

○森 文秋, 吉田泰二, 高屋豪瑩 (弘前大学・医・脳研・神経病理)

単複素環式5角形化合物であるチオフェンは、有機溶媒あるいは染料としての色素合成溶媒として用いられているが、一方では、チオフェン核を骨格にした誘導体が、消炎鎮痛剤、抗生剤などにも臨床応用されている。

チオフェンをラットに投与すると小脳障害を起こすことは、古くから知られていた。Herndon (1968) はチオフェンにより Wistar rat の小脳果粒細胞が選択的に変性・壊死をおこすこと、さらに、プルキンエ細胞、分子層、血管にはほとんど影響しないことを報告している。我々は、この小脳果粒細胞障害機序を解明する目的で、チオフェンを高血圧自然発症ラット (SHR) に投与し、小脳障害を検討したところ、過去の報告にある投与量より少ない量で、小脳皮質全層を侵し、極めて強い浮腫を伴う境界鮮明な病変を観察した。こうした初期病変の特徴は、血流傷害に基づく可能性を示唆する結果と考えられたので、その光顕的および電顕的所見を中心に報告する。

〔材料と方法〕実験動物として、生後 49 ~ 526 日の高血圧自然発症ラット (SHR) 34 頭を使用した (高屋ら, 1986)。チオフェン 0.1 ml (15例) あるいは 0.15 ml (19例) を連日 24 時間毎に合計 1 ~ 22 回まで後肢皮下に投与した (高屋ら, 1987)。投与開始から 1 時間 ~ 345 日後に灌流固定した。小脳虫部を探索材料とした。

〔結果〕1 回のチオフェン投与では、症状の出現は認めず、連続的に投与することにより食欲不振、緩慢な動作、運動失調および痙攣などをきたし、3 ~ 4 回の投与により意識障害に陥り死亡に至る経過を示した。

0.1 ml あるいは 0.15 ml 投与群のラットで症状を呈した例の小脳病変は、I ~ VI a d までの小葉に広汎な病変が出現していた。但し、0.15 ml 投与群では、傷害の程度がより高度で均一であるのに対し、0.1 ml 投与群では軽度 ~ 高度までさまざまな変化を示した。VI b c ~ X の各小葉では、VIII および IX c が傷害される傾向が強く、病変も I ~ VI a d の各小葉に比べ、限局

性で程度も軽度 ~ 中等度の傷害を示す小葉が多かった。その他の小葉では、病変分布は一定の傾向を示さず、その程度は軽度であった。

小脳病変の組織学的特徴は、果粒細胞層の変性所見に加え、プルキンエ細胞層と分子層にも明瞭な変性と強い浮腫が観察された。この病変は、通常、小葉の腹部および底部が優位に傷害され、小葉の頂部はしばしば傷害から免れていた。病変部と健常部の境界は、明瞭であった。病変が小さく限局する場合には、血管周囲性の広がりを見せることもあった。重篤な意識障害と痙攣を呈した急性例では、小脳の強い浮腫による扁桃ヘルニアが認められた。小脳以外の大脳、脳幹、脊髄では光顕的に血管周囲の軽い浮腫以外ほとんど変化は認められなかった。

投与終了後、9 ~ 40 日生存した例では、小脳病変部に、マクロファージの出現、反応性血管の増生、反応性アストロサイトに著明な GF A 蛋白の発現亢進が認められた。投与終了後 162 ~ 455 日生存した例では、病巣内の浮腫は消失し、グリオーシスを呈していた。これら長期生存例 10 例中 4 例に小嚢胞形成が認められた。以上の時間の経過した例の病変分布も急性期のそれとよく対応していた。

電顕的には、これまで知られている果粒細胞変性所見に加え、今回の実験で投与後一定時間、小脳血管にオスミウム親和性の油状物質の蓄積を認めた。この物質は、内皮細胞の管腔表面、飲み込み小胞、ミトコンドリアの膜周囲、および腫大したアストロサイトの胞体内にも認められた。しかし、最終投与から 24 時間後では、血管内腔の油状物質は消失していた。

〔まとめ〕チオフェン継続投与によるラット小脳病変は、単にチオフェンの小脳果粒細胞に対する選択的毒性のみではなく、血管傷害と中毒性傷害の両者により形成されると考えられた。これらより中毒性実験を施行する上では、薬物と同時に実験動物への配慮が、目的とする実験モデルの確立に重要な役割を果たすと思われる。



## 26. ニトロベンゼンのラット28日間反復投与試験で みられた中枢神経病変について

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

ニトロベンゼンは黄色油状の液体で、アニリン等の染料や香料の原料として、また工業用の溶剤として広く生産、使用されている。この物質は生体に対して強い障害性を有し、血液中でメトヘモグロビンを形成する他、肝臓、腎臓、精巣等の多くの臓器組織に毒性を示す事が知られている。中枢神経系への影響についても、ラットを用いた長期吸入暴露により、行動異常と共に中枢神経系の浮腫性の病変を起こすことが報告されている。今回、我々は既存化学物質の安全性再評価の一環として、ラットを用いての28日間反復投与試験を行った結果、ニトロベンゼンに特徴的な造血器、精巣の病変に加えて、高用量群の雌雄全例において、小脳から橋被蓋にかけての特定の神経核に限局した病変を認め、興味深い知見が得られたので報告する。

### 【方法】

6週齢のF344ラット雌雄各36匹を各群6匹として6群に分け、体重100gあたり0.5mlになるようにオリーブ油に溶解したニトロベンゼン（和光純薬工業）を、125、25、5および0（オリーブ油のみ）mg/kgの用量で、胃ソングを用い、1日1回、28日間反復強制経口投与を行った。最高用量群（125mg/kg）および対照群（0mg/kg）では、投与期間終了後14日間休養させる回復群を設けた。

実験期間中毎日動物の一般状態を観察し、最終投与日および休養14日目に動物を一晚絶食させ、翌日にエーテル麻酔下で腹部大動脈より採血後、屠殺・剖検した。血液学的検査、血液生化学的検査を実施すると共に全臓器組織を10%ホルマリンで固定し、常法に従ってH-E染色標本作製し組織学的に検索した。

### 【結果】

雌雄の125mg/kg群で、ほぼ全例に投与後一時的にチアノーゼおよび自発運動の減少がみられ、投与3週目以後歩行異常等の神経症状が観察された。また、投与3週目より体重増加抑制が著明となり、投与4週目に雌の125mg/kgで1例が死亡した。

25mg/kg以下の群では一般状態に異常は認められなかった。雌雄25mg/kg以上の投与群において、血液学的検査で、ヘマトクリット値、色素量および赤血球数の減少ならびにMCV、白血球数の増加がみられ、血液生化学的検査では主として総コレステロールの増加が認められた。肉眼所見では脾臓の腫大および精巣の萎縮、肝、脾重量

の増加と胸腺ならびに精巣重量の減少が認められ、組織学的には、骨髄の造血亢進および肝、脾における髄外造血亢進と共に精細管の変性が認められた。以上の変化は何れも用量相関を持って認められたが、休養終了時には回復ないし軽減した。

上記造血器、精巣の病変に加え、組織学的検査において中枢神経系の病変が、125mg/kg群の雌雄全例で観察された。その発生部位はいずれも小脳核および橋被蓋の特定の神経核に限局しており、かつ両側に認められた。これらの神経核の変化は海綿状病変を主体とし、病変が強度の部位では周囲の白質組織にも波及しており、周囲白質組織の離解も認められた。神経細胞は比較的保持されていたが、neuronのghostの散在が認められ、神経細胞の変性、脱落が示唆された。病変部位にはmicrogliaの浸潤がみられたが、反応性astrocytosisは認められなかった。また、病変部にはヘモジデリンの沈着および軽度の血管増生が認められた。休養終了時においてもほぼ同様の組織像が認められたが、海綿状態がほとんど認められず反応性のastrocyteの増生を示す症例もみられた。一方、大脳、脊髄および末梢神経にはH-E染色標本による観察では明らかな病変は認められなかった。

25mg/kg以下の群ではこれらの変化は認められなかった。  
【考察】

ニトロベンゼンの28日間経口反復投与により、造血器および精巣を中心とした毒性変化に加え、小脳から橋被蓋の特定の神経核に限局した器質的変化が観察された。本病変のみられた小脳から橋被蓋にかけての神経核は灰白質と白質が交錯しており、H-E染色による検索では一次的な障害の発生が白質組織であるか灰白質であるかを鑑別するのは困難であった。この病変の発生機序としては、脳微小循環レベルでの血行動態の異常や局所でのtoxicな物質の産生、代謝異常等が考えられる。ニトロベンゼンは強力なメトヘモグロビン形成能を有し、強い貧血を引き起こす事が知られているが、今回の実験では貧血性の低酸素症による他臓器への障害は軽微であった。脳病変の局在は、その発生機序とも密接な関連を有すると考えられ、本病変の神経病理学的特徴やその発生機序について今後更に検討を加える予定である。

○田中俊光、稀津水穂、後藤鋼星、佐藤良一、堀米範子、杉尾和夫、林昌亮  
(ヘキストジャパン医薬総合研)

## (緒言)

脳虚血モデルは種々の方法が考案され、その内、広範囲脳虚血モデルとしてPulsinelliが開発した両椎骨動脈を焼灼し更に両総頸動脈血流を一時的に遮断させ脳虚血状態を一過性にラットで起こさせる方法がある。この方法は、第一頸椎内を通過する椎骨動脈を焼灼するため、均一に完全な焼灼を行うのが難しいとされている。このため、杉尾らは直視できる第二頸椎部の椎骨動脈を用いることにより均一に完全な焼灼ができる方法を開発した。

今回、この方法を用いラットで20分間血流を遮断した時の海馬における虚血性変化を検索したので報告する。

## (材料と方法)

今回、10週齢Jcl:Sprague-Dawley系雄ラットを用いた。第二頸椎部の両側椎骨動脈を電気針で焼灼し24時間後、左右総頸動脈をクリップで止め20分間血流を遮断させた。その後クリップを外し再灌流させた。再灌流1、3、7、14日後に剖検し脳を採取した。また、両側椎骨動脈を焼灼しただけの動物を対照とした。剖検はネブタール麻酔後、心臓より1%ヘパリン加生理食塩液、10%燐酸緩衝ホルマリン液灌流固定後、脳を採取し更に同一固定液中に浸漬固定した。その後、病理組織学的検索を行った。また、左右海馬CA1領域1mmあたりの錐体細胞の正常数および壊死数を測定した。

## (結果)

1, 海馬CA1領域では、対照群では変化は認められなかった。再灌流1日後では、錐体細胞の細胞質好塩基性が極く一部にみられたが、ほとんどの細胞で変化は観察されなかった。3日後では一部の錐体細胞で萎縮(細胞質の好酸性化、核の三角形化を伴った神経細胞の虚血性変化の初期像)が観察された。7日後では、このような変化が更に広範囲にわたり強く認められグリア細胞の浸潤が観察された。14日後では

CA1領域全体で虚血性変化が強くみられ、錐体細胞のゴースト化、消失を認め、グリア浸潤が更に増加した。

錐体細胞の正常数は、対照と1、3日後間では有意な差は認められなかったが、7、14日後では有意に減少していた。壊死数は、対照および1日後ではみられず、3、7日後と経時的に増加していた。しかし、14日後では壊死に陥った錐体細胞消失のため減少していた。CA1領域における左右全錐体細胞数(正常、壊死数の合計)は7日後以降減少していた。

2, 海馬CA3領域では、実験期間中、変化はみられなかった。

3, 海馬CA4領域では、対照、1日後に変化は認められなかった。3日後から少数の神経細胞に初期の虚血性変化がみられ、14日後においては少数のゴースト化、軽度のグリア浸潤が観察されたのみであった。

## (まとめ)

Pulsinelliの方法を改良した杉尾らの方法を用いてラットにおいて20分間血流を遮断した時の海馬における再灌流後の虚血性変化を検索した。CA1領域では、再灌流3日後から虚血性変化の初期像がみられ、7日後ではこれらの変化が強くみられ、グリアの浸潤が観察された。14日間経過すると、虚血性変化は更に広範囲におよび、錐体細胞のゴースト化、消失がみられグリアの浸潤も更に強く認められた。錐体細胞の正常数は経時的に減少し、7日後まで壊死数は増加した。壊死細胞を含めた全錐体細胞数は7日後以降減少していた。CA4領域では、再灌流後3日から少数の神経細胞に虚血性変化が観察された。このような変化は、遅発性神経細胞壊死と呼ばれるもので、杉尾らの開発した方法を用いて短時間虚血を起こさせた場合、Pulsinelliの方法と同様に、軽度の一過性虚血後にみられる神経細胞の変化を研究する上で有用なモデルであると考えられる。

○ 乾 俊秀、山村高章、湯浅啓史、川合是彰、岡庭 梓（田辺製薬・安全研）

MPTP(1-メチル-4-フェニル、-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン)は黒質線条体系のドーパミン神経を選択的に障害することから、近年注目されている化学物質である。ヒトおよびサルではMPTP投与により容易にパーキンソン病様の症状ならびに黒質緻密層の神経細胞の脱落がみられるのに対し、げっ歯類では脳病変は起こりにくいとされている。我々は、パーキンソン病モデルとするため、MPTPをマウスに腹腔内投与し黒質病変の作出を試みた。

本実験に先立って行ったMPTPの20mg/kg(体重)1日2回(6時間間隔)4日間の腹腔内投与では、神経症状ならびに脳の組織学的変化は確認し得なかった。いくつかの文献から、この投与条件は黒質および線条体のドーパミンレベルを下げるのに十分と思われたが、改めて動物が耐過し得る限界量を求め、以下の実験のMPTP投与量を設定した。すべての実験はSlc:ddY雌マウスを用いて行った。

MPTPを腹腔内投与した場合、100mg/kg以上の投与量では、ほぼ全例が投与後1~2時間に死亡した。50mg/kg投与では一部死亡例はみられるものの、十分な動物数を用意すれば連続投与しても投与群の維持は可能と判断した。従って、以下1回の投与量は50mg/kgとした。

MPTPは投与容量が10ml/kg(体重)となるよう滅菌生理食塩液で溶解し、50mg/kgの投与量で1日1回および1日2回(6時間間隔)の投与を行った。1日2回投与群は動物の消耗が激しいため4日間の投与の後、全例を組織検索にあてた。1日1回投与群については週5日間の投与・2日間の休薬を繰返し、随時動物を殺処分し組織検索を行った。合わせて50mg/kg1回投与後2、6、24時間の組織検索も実施した。

組織検索：動物をエーテル麻酔し0.1Mカゴシル酸緩衝6%シヨ糖加2%パラホルムアルデヒド溶液で心臓より15分間灌流固定した後、ただちに脳を取り出した。脳は正中矢状断し、1側は0.1Mカゴシル酸緩衝6%シヨ糖溶液で洗浄し、黒質を含む中脳の凍結切片を作製、ATPase活性の組織化学的検出にあてた。1側は4%中性緩衝ホルマリン液で固

定した後パラフィン切片とし、通常の光顕的観察を実施した。

ATPase活性の検出はCa<sup>2+</sup>ATPase:Andoらの方法(1981)、Mg<sup>2+</sup>ATPase(pH8.5):クエン酸鉛法、Mg<sup>2+</sup>ATPase(pH7.2):硝酸鉛法によった。

#### [結果]

投与開始当初、動物は投与後2~3時間、沈静、伏臥を示すのみで特異な神経症状は認められなかった。投与を重ねると投与直後の沈静は徐々に消失し、1日2回投与では4日目、1日1回投与では2週を越える頃より、過剰な運動(常に床敷を蹴り上げる様にして歩行する、他の動物あるいは実験者の手の動きに大きく反応する等)が認められた。この変化は投与後1~2時間に顕著であるが、翌日にも残存していた。

現在、3週間投与までの組織検索を行ったが、神経細胞および神経線維の変性は観察されなかった。唯一の変化としてCa<sup>2+</sup>ATPase活性の低下が疑われる所見が得られた。通常Ca<sup>2+</sup>ATPase活性は黒質で特異的に高く、周囲組織とはっきりとしたコントラストを持っている。MPTPを1日2回4日間投与あるいは1日1回2~3週間投与した個体ではこの濃淡の差が低下しているように思われた。この変化はわずかなもので、必ずしも明確なものではなかったが、同時に反応を行った無処置対照動物よりも強い活性を示す個体はなかった。Mg<sup>2+</sup>ATPase活性については差は気付かなかった。

Ca<sup>2+</sup>が神経の刺激伝達に重要な役割を果たしていることはよく知られている。また、Ca<sup>2+</sup>ATPaseは脳のシナプトゾーム分画に分布することが報告されており、シナプスでの刺激伝達に関与しているものと考えられる。したがって、MPTP投与により黒質のCa<sup>2+</sup>ATPase活性が低下するとすれば興味ある変化といえる。さらに、この変化の裏付けを行いたいと思う。



## ビーグル犬における脊髄病変

○前田 博、尾寄 清和、奈良間 功（摂南大学）、鈴木 義孝（岐阜大・農）

我々は利尿作用とそれに基づく脳圧低下作用を有する2-hydroxymethyl-2-methyl-1,3-propanediolを長期間にわたって静脈内投与するとビーグル犬の大脳の全域に多発性のpale eosinophilic body (PEB)ないしはspheroid が形成され、これらが電顕的にヒトのinfantile neuroaxonal dystrophyの所見によく類似した tubulo-vesicular or tubulo-filamentous profiles, interconnecting membranous structure, mitochondria 並びに glycogen granules 等の集積から構成されることを既に報告した（第29回日本神経病理学会：仙台，1988）。今回は、同時に認められた脊髄病変について、その組織像を中心に報告する。

## 材料および方法

8ないし10カ月例のビーグル犬を雌雄各11頭、合計22頭用いた。このうち雌雄各7頭には上記薬剤の450mg/kg/dayを90日間にわたって静脈内投与し、9頭（雄5頭、雌4頭）を投与終了時に、5頭（雄2頭、雌3頭）をその後の1カ月の休薬に付した後屠殺して検査に供した。投与には20%溶液を用い、22.5 ml/kgの割合で前腕皮静脈からの連日投与とした。また、雌雄各4頭には同一容量の生理食塩液を90日間にわたって同様に静脈内投与し、対照例とした。これら全例の第1頸髄から第6腰髄について、一つおきに各々の脊髄神経が分岐するレベルで根幹部神経を含む切片を作製した。90日間の薬剤投与後ならびに休薬後に屠殺した各1例については、光顕的検査に加えて頸膨大部および腰膨大部の脊髄白質を電顕的に検索した。

## 結果

症状：検体の薬理作用に基づくとと思われる多尿が初回投与から全例に認められれば、投与初期から多くの例が薬液注入中ないし注入終了時にかけて、全身筋肉の攣縮を示した。また投与中期から後期にかけてほぼ全例に四肢の伸展、腰を落として爪先をひきずる異常歩行が加わり、ケージの隅にたたずむ、等の mental depression を示唆する行動にもしばしば遭遇した。休薬により mental depression を示唆する症状は徐々

に軽快したが、爪先をひきずる異常歩行は35日後にも完全には消失しなかった。

組織学的所見：脊髄における組織学的変化は、基本的に白質神経繊維の軸索周囲腔の拡張、髄鞘の崩壊と大食細胞反応、グリア細胞の細胞質膨化、軸索の変性・膨化・消失、灰白質における spheroid 形成等から構成されていた。変性・膨化に陥った軸索の一部は大脳に多発していた pale eosinophilic body あるいは spheroid と同様の染色性を示したが、好塩基性を示すものあるいは顆粒状の形態を呈するものもあり、多数の神経繊維では消失していた。髄鞘の崩壊はHE染色標本上では必ずしも明かではなかったが、拡張した軸索周囲腔内に崩壊した髄鞘片を貪食したと思われる大食細胞が時折認められたことから、その存在が伺われた。大食細胞は多くが変性性であったが、時に小血管周囲に数個が集簇して認められた。変性神経繊維はおおむね散在性で、白質全体にわたって認められ、特定の神経路あるいは神経束には好発しなかった。また、少数例では病変の程度は頸髄でやや軽微であったが、その他の例では頸髄から腰髄の特定のレベルで病変の増強は認められなかった。灰白質における spheroid は大脳に比較して極めて少数であった。なお、検索した限りでは全身の末梢神経には著変を欠いていた。

電顕的所見：光顕的に軸索周囲腔の拡張として認められた神経繊維において、髄鞘はミエリン層板の配列不整から崩壊に至る様々な変性過程にあった。軽度な髄鞘変性を示す神経繊維の軸索は萎縮性で、より高度な髄鞘変性に陥った神経繊維の大部分では軸索は消失していた。

## 考察

大脳病変がPEBあるいはspheroid 形成を主体とした軸索変性であったのに対して、脊髄病変の光顕的な変化としては軸索周囲腔の拡張、髄鞘の崩壊とそれに対する大食細胞反応、等からなる髄鞘の変化が顕著であった。しかし、電顕的検査では変性神経繊維では頻繁に軸索が消失していた。大脳病変と脊髄病変の組織像の違いは、脊髄白質における髄鞘変性と軸索変性の形態発生的関連を示唆していた。

○豊岡正好, 山本恭之, 中舘 豊, 三浦 稔 (三菱化成・安全性研)

〔緒言〕

肝のFinger printは Phenobarbital (PB), PCB, DDT等の薬物代謝酵素を誘導する薬剤の投与時や肝癌, 肝炎時に肝細胞内に出現することが報告されている。本変化は形態的に小胞体と連続した構造が認められていることから, 小胞体増生との関連が示唆されている。しかし, その毒性的意義については細胞の機能的適応なのか限局性細胞質変性なのかは明らかでない。

今回, 我々はその毒性的意義考察の一助とするため, PBを投与したビーグル犬における肝Finger printの経時的变化について, 肝バイオプシー法を用いて検討したので報告する。

〔実験材料および方法〕

1. 試料

Phenobarbital は保栄薬工機製を使用した。

2. 動物

6頭のビーグル犬 (Ridglan Farms Inc.より購入, 雄, 6ヶ月齢) を使用した。

3. 投与方法および期間

ゼラチンカプセルに充填したPBを最初の1週は30mg/kg, 2~8週は50mg/kgを1日1回連日経口投与し, その後9週間休薬させた。

4. 病理検査

投与1, 2, 4, 5, 8週および休薬1, 3, 6週に塩酸ケタミン麻酔下で, 超音波診断装置をガイドとして経皮的に肝バイオプシーを行い, 休薬9週に剖検した。肝組織は常法に従い光顕および電顕的に検査した。

〔結果〕

光顕的には投与期間を通じ肝細胞は腫大し,

細胞質内には好酸性封入体が認められた。

電顕的には投与1週から滑面小胞体は顕著に増生し, 好酸性封入体と一致してFinger printが見られた。

Finger printの形態は投与初期には馬蹄状を呈し, 周囲の網目状に増生した滑面小胞体と連続していた。中期には同心円状の渦巻き構造を呈し, 外層の膜は増生した小胞体と連続していた。これら馬蹄状あるいは渦巻き状のFinger printには中心にミトコンドリア, ベルオキシゾーム, 脂質を巻込む様に入れているものが多数見られた。後期にはより密な同心円状の渦巻き構造を呈し, その周囲の滑面小胞体は消失し, グリコーゲン野に孤立して観察された。また, 同時にライソゾームの増数, 一部分ミエリン様を呈するFinger print, 巨大ミエリン様構造物が観察され, ライソゾームがFinger printの消化に関与していると思われる像も見られた。

これらFinger printは休薬1週で既に消失し, 滑面小胞体の増生は休薬3週で回復した。

その他, 投与8週から休薬1週に肝細胞細胞質内あるいは毛細胆管内に膜様あるいは線維状充実物が見られたが, 詳細は不明であった。

〔まとめ〕

1. Phenobarbitalにより生じた肝のFinger printは増生した小胞体と連続した層板状構造を呈しており, 小胞体増生の延長の変化であることが確認され, 休薬後速やかに消失した。

2. 肝のFinger printの消失過程にはライソゾームの関与が示唆され, 生成から消失までの経時的变化は図1の如く推察された。

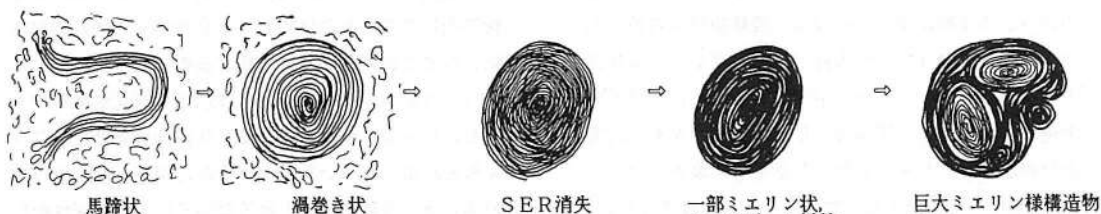


図1. 肝Finger printの経時的变化

# 31. 四塩化炭素惹起肝病変の貧血による修飾

○堀 俊治<sup>1</sup>、泉澤伸行<sup>1</sup>、井上直美<sup>1</sup>、花田貴宣<sup>1</sup>、三木寿雄<sup>1</sup>、野村靖夫<sup>2</sup>  
 ( <sup>1</sup>山之内製薬・安全研、<sup>2</sup>麻布大・獣医病理 )

薬物の毒性試験において貧血が原因と考えられる肝細胞壊死に遭遇することがある。

貧血あるいは虚血によって肝細胞壊死が生ずることは広く知られていることであるが、貧血の程度と肝細胞壊死の関係を論じた実験は少なく、我々のラットを用いた実験をみるくらいである。

我々は、貧血と肝細胞壊死の関係について検討を続けているが、今回は、ラットに肝毒性物質として四塩化炭素を投与しつつ、眼窩静脈叢から持続的に採血して貧血状態にせしめ、四塩化炭素による肝病変が変化し得るか否かを病理組織学的に検索し、貧血との関係を検討したので、その結果を報告する。

## 実験方法

### 1. 実験動物

7週齢の雄性F344ラットに飼料(CRF-1、オリエンタル酵母)と水道水を自由摂取させた。

### 2. 肝毒性物質の投与および貧血の惹起

四塩化炭素(半井化学、オリーブ油と等量混合) 3 ml/kg/日を1週間に2回、2週間、皮下注射した。その内の半数の動物については、エーテル麻酔下に眼窩静脈叢より体重の1~2%に相当する血液をほとんど毎日採取した。

### 3. 検査項目

#### 1) 血液学的検査

赤血球数、ヘマトクリット値

#### 2) 血漿生化学的検査

GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ (ALP)

#### 3) 肝の病理組織学的検査

実験終了後にエーテル麻酔下に屠殺、剖検した。肝は燐酸緩衝10%ホルマリン液に固定後、常法通りにパラフィン切片を作り、HE、PASあるいはコッサ銀染色を、また、凍結切片についてOil red O染色を施し、鏡検した。

## 血漿生化学的検査結果

|              | I         | II         | III         |
|--------------|-----------|------------|-------------|
| GOT (IU/l)   | 91.0±19.7 | 196.5±59.6 | 210.0±117.5 |
| GPT (IU/l)   | 48.8±10.9 | 171.8±54.3 | 142.4± 81.9 |
| ALP (KAU/dl) | 78.8± 2.6 | 84.4±21.9  | 98.1± 10.8  |

I: 対照、II: 四塩化炭素投与、III: 四塩化炭素投与+採血

## 実験結果

### 1. 血液および血漿生化学的所見

血液学的には、四塩化炭素の投与による影響はなかったが、同時に採血した群では強い貧血状態(赤血球数 $3.2 \times 10^6/\text{mm}^3$ 、ヘマトクリット値 21%)となった。血漿生化学的データは、別表に示すように四塩化炭素投与群でGOT、GPTが対照に比して2~3倍の高値となったが、投与と同時に採血しても投与単独群とほとんど同じ値を示した。ALPには、四塩化炭素投与あるいは採血の影響がほとんどなかった。

### 2. 肝の病理組織学的所見

四塩化炭素投与群では、小葉中心部の肝細胞は腫大し、肝細胞の硝子様変性ととともに壊死巣も散見された。壊死した肝細胞にはカルシウムが沈着し、周囲に組織球が浸潤して肉芽腫を形成していた。また、小葉中心性に肝細胞内に脂肪滴が認められ、変化の強い例ではほぼ瀰漫性に認められた。中心静脈周辺あるいは中間帯には balloon cell が散見され、核分裂像も散見された。

一方、四塩化炭素投与と同時に採血した群では、脂肪変性が著明になり、ほとんどの例で肝細胞壊死巣が多数認められ、半数例では四塩化炭素投与単独群にはみられなかった異物性多核巨細胞が壊死部に出現した。

## まとめ

肝毒性物質である四塩化炭素投与と同時に、眼窩静脈叢から採血してラットを貧血状態にせしめると、血漿生化学的検査値に影響はなかったが、巣状の肝細胞壊死がより多くの動物で広い範囲に認められるとともに、四塩化炭素投与単独群にはみられなかった異物性多核巨細胞が出現し、四塩化炭素の投与による肝病変が修飾されることが明かとなった。このことから、薬物の毒性試験で認められる貧血をともなった肝細胞壊死(肝障害)を評価する際には、貧血の関与を考慮に入れる必要があることが強く示唆された。

## 肝の病理組織学的所見

| 群                      | 肝細胞壊死 | 脂肪変性 | 多核巨細胞 |
|------------------------|-------|------|-------|
| 四塩化炭素投与                | +     | +    | -     |
| CCl <sub>4</sub> 投与+採血 | ++    | ++   | +     |

○片桐 卓、長野嘉介、相磯成敏、山内勝彦、松本道男、榎本 眞（中災防、日本バイオアッセイ研究センター）  
ラット、マウスを用い四塩化炭素の全身的な吸入暴露による癌原性試験（104週間）を行なった。その結果の概要については別に報告したが、発癌標的組織の肝に肝細胞性腫瘍、肝硬変、肝線維症の発生の差異等が観察されたので報告する。

<試験方法> F344ラット、BDF1マウス（日本チャールスリバー）雌雄各50匹/群を用いた。暴露条件として125 ppm、25 ppm、5 ppmの3段階の濃度に設定した四塩化炭素含有空気を1日6時間、週5日間送気し、104週間全身暴露した。また暴露群と同じ環境条件で対照群を飼育した。

<結果>

#### 1) 非腫瘍性病変－肝線維症と肝硬変

肝線維症：主として中心静脈間を結合する軽度な間質の増生を示した。なお、線維に沿って、セロイドの沈着、肉芽組織の増生がみられ、小葉中心域周囲には程度の差はあるが肝細胞の水腫様変性や脂肪変性が認められ、また実質内に及ぶ細胆管の増生も観察された。

肝硬変：再生結節は大小不同を示し結節中にグ氏鞘を含む多小葉性の偽小葉も認められた。また大きな結節では細胞配列や個々の細胞の異型性の性状から肝細胞腺腫との鑑別が困難なものもあった。なお、各結節をとりまく線維増生は比較的軽度であり、その一部にセロイドの沈着を認めた。

その他、前腫瘍性病変として好塩基性肝細胞増殖巣の増加が高濃度群の雄に、明細胞性肝細胞増殖巣、好酸性肝細胞増殖巣、好塩基性肝細胞増殖巣それぞれの増加が高濃度群の雌に特にめだって認められた。

ラット及びマウスに観察された肝病変の発生状況は肝細胞腫瘍性病変を含め表1、表2に示した。ラットでは雌雄共、125 ppm群に肝硬変、25 ppm群には肝線維症が大部分の例に観察された。5 ppm及び対照群では両病変共に認められなかった。マウスでは125 ppm群の雌1例を除き全群に肝硬変と肝線維症の形成は観察されなかった。

#### 2) 腫瘍性病変

ラット：125 ppm群の雌雄とも肝細胞癌、肝細胞腺腫の増加がみられ、肝細胞癌は雄では73週、雌では50週から観察された。肝細胞腺腫はすべて肝硬変あるいは肝線維症を伴っており、肝細胞癌の形態は、索状、腺様および充実性の各型を含み、同一結節内に各型が混在する例も多く観察された。

マウス：125 ppm群及び25 ppm群の雌雄とも肝細胞癌、

肝細胞腺腫の増加がみられ、肝細胞癌は125 ppm群は雄45週、雌43週から、25 ppm群では雄64週、雌58週から観察された。肝細胞癌の形態は雌雄間、各濃度間で差は無く、殆どの例は索状構造を示し、少数例に腺様構造も認められた。

肝以外の組織では、ラットの場合、自然発生の慢性腎症が雌雄共25 ppm以上の濃度群で病変の増強が見られ、四塩化炭素吸入暴露の影響が示唆された。マウスでは副腎髄質も四塩化炭素の発癌標的組織となり、雄では25 ppm以上の群、雌では125 ppm群に褐色細胞腫の高率発生が認められた。

<考察と結論>

四塩化炭素の全身性長期吸入暴露（104週）によりラット、マウス共に肝細胞腺腫、肝細胞癌が誘発された。ラットでは殆どの例で肝硬変、少数例では肝線維症を伴っていたが、マウスでは両病変を伴う例は観察されなかった。ラットでは肝硬変と共に肝細胞の変性病変なども生じ肝硬変の維持やその進展に肝障害因子の持続的暴露の必要である事が示唆された（下地ら、第四回本学会発表）。また硬変偽小葉のいわゆる再生結節は構造、細胞両異型を伴い、肝細胞腺腫や肝細胞癌の発生母地となるが、肝細胞腺腫の前段階的变化として指摘される増殖性、過形成性病変と本質的には同じであると考えられる。なおマウスにも四塩化炭素による肝障害性病変は観察されたが線維化を含む修復性にラットとは差異がみられ、肝線維化や肝硬変の形成に至らなかったと考えられる。

表1 肝細胞性腫瘍病変および肝硬変、肝線維症の発生数（ラット・雄雌）

| 有効動物数         | 対照群 |   | 5 ppm |   | 25 ppm |      | 125 ppm |      |
|---------------|-----|---|-------|---|--------|------|---------|------|
|               | 雄   | 雌 | 雄     | 雌 | 雄      | 雌    | 雄       | 雌    |
| 肝細胞癌          | 1   | 0 | 0     | 0 | 0      | 3    | 32      | 15   |
| 肝細胞腺腫         | 0   | 0 | 1     | 0 | 1      | 0    | 21      | 40   |
| 肝硬変           | 0   | 0 | 0     | 0 | 1      | 2    | 48      | 50   |
| (+腫瘍なし)       |     |   |       |   | (1)    |      | (9)     | (6)  |
| (+肝細胞腺腫)      |     |   |       |   |        | (2)  | (8)     | (29) |
| (+肝細胞癌)       |     |   |       |   |        |      | (19)    | (4)  |
| (+肝細胞癌+肝細胞腺腫) |     |   |       |   |        |      | (12)    | (11) |
| 肝線維症          | 0   | 0 | 0     | 0 | 43     | 45   | 2       | 0    |
| (+腫瘍なし)       |     |   |       |   | (42)   | (44) | (1)     |      |
| (+肝細胞腺腫)      |     |   |       |   | (1)    |      |         |      |
| (+肝細胞癌)       |     |   |       |   |        | (1)  | (1)     |      |
| (+肝細胞癌+肝細胞腺腫) |     |   |       |   |        |      |         |      |

表2 肝細胞性腫瘍病変および肝硬変、肝線維症の発生数（マウス・雄雌）

| 有効動物数   | 対照群 |   | 5 ppm |   | 25 ppm |    | 125 ppm |     |
|---------|-----|---|-------|---|--------|----|---------|-----|
|         | 雄   | 雌 | 雄     | 雌 | 雄      | 雌  | 雄       | 雌   |
| 肝細胞癌    | 17  | 2 | 12    | 1 | 44     | 33 | 47      | 48  |
| 肝細胞腺腫   | 9   | 2 | 10    | 8 | 27     | 17 | 16      | 5   |
| 肝硬変     | 0   | 0 | 0     | 0 | 0      | 0  | 0       | 0   |
| 肝線維症    | 0   | 0 | 0     | 0 | 0      | 0  | 0       | 1   |
| (+腫瘍なし) |     |   |       |   |        |    |         | (1) |

○平野孝一、足立数吉（家畜衛試）

## 〔目的〕

アフラトキシンは、強い毒性と発癌性を有するカビ毒である。近年、アフラトキシン汚染飼料・食物の摂取が問題となっている。このアフラトキシンの無毒化は重要な研究課題である。一方、アルブミンにアフラトキシンB<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) が結合することがすでに報告されているが、このアルブミンによるアフラトキシンの排除を動物で応用できないものかという考えにもとずき、飼料を与えないでもよい生後24時間以内の幼雛を用い、AFB<sub>1</sub>による急性毒性に対する牛血清アルブミン (BSA) 投与の影響を、化学的・組織学的に検討した結果について報告する。

## 〔方法と材料〕

生後24時間以内の幼雛（白色レグホン）を用いた。AFB<sub>1</sub>のみ投与群及びAFB<sub>1</sub>-BSA投与群の幼雛には、AFB<sub>1</sub>を体重1kg当り3mg投与した。AFB<sub>1</sub>-BSA投与群には、AFB<sub>1</sub>投与前に0.5mlの10%BSAを経口投与した。対照群には、DMSOを投与した。投与後、6, 24, 48, 72時間目に、心採血によって殺し、イソクエン酸脱水素酵素 (ICDH) の活性および、血漿中のAFB<sub>1</sub>濃度を測定した。肝臓は、病理組織学的観察を行った。

## 〔結果〕

①血漿ICDH活性：肝障害の指標としてのICDH活性は、実験の最後まで、徐々に上昇した。AFB<sub>1</sub>-BSA投与群とAFB<sub>1</sub>のみ投与群の間では、6時間目に差があった。8時間目に、AFB<sub>1</sub>のみ投与群では、有意のICDH活性が検出されたが、AFB<sub>1</sub>-BSA投与群では、検出されなかった。

②血漿AFB<sub>1</sub>濃度：AFB<sub>1</sub>濃度は、酵素免疫測定法によって測定した。6時間目に、AFB<sub>1</sub>のみ投与群およびAFB<sub>1</sub>-BSA投与群とも、既に、その濃度の上昇が認められた。しかし、その後、AFB<sub>1</sub>-BSA投与群では、

AFB<sub>1</sub>濃度の減少が認められたが、AFB<sub>1</sub>のみ投与群では、高い値であった。

③組織学的変化：肝臓の組織学的変化としては、a)細胆管の増生、b)肝小葉辺縁性の肝細胞の空胞形成、c)肝小葉中心領域における肝細胞の壊死、の三点を指標として、検討した。aで示された変化は、AFB<sub>1</sub>のみ投与群で、6時間目に観察されるが、AFB<sub>1</sub>-BSA投与群では、24時間目にならないと観察されない。それ以後は、時間の経過と共に、変化が著しくなった。bで示された変化は、AFB<sub>1</sub>のみ投与群で、6時間目に既に見られ、AFB<sub>1</sub>-BSA投与群では、24時間目でも、観察されなかった。cで示された変化は、AFB<sub>1</sub>のみ投与群で、24時間目に観察された。一方、AFB<sub>1</sub>-BSA投与群では、24時間目に、その様な変化はみられなかった。

## 〔考察〕

化学的・組織学的所見として、AFB<sub>1</sub>-BSA投与群とAFB<sub>1</sub>のみ投与群の間では、明らかに差が認められた。この差異は、BSAの投与によるものであると、解釈された。BSAは、AFB<sub>1</sub>に対し、結合部位を持っており、生後48時間以内の幼雛では、腸管からの免疫グロブリン等の巨大分子を吸収しないことが知られている。そのため、本実験では、投与されたAFB<sub>1</sub>の一部は速やかに前投与されていたBSAと結合し、消化管内において吸収される事なく、排除されるものと考えられた。

AFB<sub>1</sub>のみ投与群とAFB<sub>1</sub>-BSA投与群の化学的・組織学的所見の比較

| 投与後時間               | AFB <sub>1</sub> のみ投与群 |      |      |      | AFB <sub>1</sub> -BSA投与群 |      |      |      |
|---------------------|------------------------|------|------|------|--------------------------|------|------|------|
|                     | 6                      | 24   | 48   | 72   | 6                        | 24   | 48   | 72   |
| ICDH活性              | high                   | high | high | high | low                      | high | high | high |
| AFB <sub>1</sub> 濃度 | high                   | high | high | low  | high                     | high | low  | low  |
| 細胆管増生               | +                      | +    | +    | +    | -                        | +    | +    | +    |
| 空胞形成                | +                      | +    | +    | +    | -                        | -    | +    | +    |
| 壊死                  | -                      | +    | +    | +    | -                        | -    | +    | +    |

### 34. 遺伝性肝炎 (LEC) ラット肝の各種肝障害性薬物に対する感受性の検討

○上村裕洋、高橋秀俊、坂本裕史、森道夫 (札幌医大・病理)

遺伝性肝炎 (LEC) ラットは、肝炎・肝癌の自然発症動物として、近交系で維持されている Long-Evans 系のラットである。LEC ラットは、生後正常に発育するが、16 週前後に黄疸を伴った急激な肝障害を発現し、重篤な場合には短い経過で死に至る。死亡しなかった個体は、黄疸から回復するが、肝細胞障害が終生持続し、生後 1 年以上経過したラットでは高率に肝癌の発生をみる。肝炎の発生機序は不明であるが、他の系統のラットとの交配実験の結果、単一の常染色体劣性遺伝子によって支配されていることが明らかになっている。

肝炎発症前の LEC ラット肝に、既に各種薬物代謝系の酵素偏倚が見いだされており、これが肝炎・肝癌の発生に関与する可能性も示唆されている。今回我々は、LEC ラット肝の薬物代謝に関連した特性を理解するため、癌原性物質を含めた各種肝障害性薬物に対する感受性を、生体内の代謝経路及び肝細胞障害の機序が比較的良好に知られている薬物について、肝炎発症前の LEC ラットを用いて検索した。なお対照として肝炎を発症しない LEA ラットを用いた。

#### 【材料と方法】

動物：生後 8 週齢の LEC ラットを使用した。なおコントロールとして、同週齢の LEA ラットを使用した。

肝障害性薬物： D-galactosamine (200、400、800、および 1600 mg/kgBW)、DEN (25、100 mg/kgBW)、CCl<sub>4</sub> (1、2 ml/kgBW)、および allyl alcohol (1、2 mM/kgBW) を腹腔内に 1 回投与し、24 時間後に採血解剖した。得られた血液から血清を分離し、GOT および GPT を測定した。また摘出した肝は Carnoy 液固定し、常法により HE 染色を行った。

培養肝細胞に対する作用：8 週齢の LEC および Fischer 344 ラット肝から、コラゲナーゼ灌流法によって初代培養肝細胞を得た。24 時間後に、各種の肝細胞障害性薬物を添加して培養を続け、培地中の LDH を測定して肝細胞障害の指標とした。

#### 【結果と考察】

D-galactosamine 投与によって、LEC ラットでは著しく強い肝障害が惹起されたが、肝の薬物代謝系酵素を介して細胞障害性が発現される DEN、CCl<sub>4</sub>、allyl alcohol による肝障害は、LEA ラットより軽度であり、LEC ラット肝の薬物代謝酵素の低下と D-galactosamine に対する特異的に高い感受性が示唆された。また初代培養肝細胞に対する作用でも LEC ラットで D-galactosamine の障害作用が強くと現れ、D-galactosamine は肝細胞に直接作用していることが示唆された。各薬物による肝細胞障害は LEC、LEA ラットのいずれでも雄は雌より高度に現れた。



35.

ブタ血清投与により発生するラット肝硬変類似病変の検討

○奥村正直<sup>1,2</sup>, 広瀬雅雄<sup>2</sup>, 七野 裕<sup>2</sup>, 星谷 達<sup>2</sup>, 津田洋幸<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>愛知衛研・生物, <sup>2</sup>名市大・医・1病理, <sup>3</sup>藤田学園・医・2病理)

(はじめに)

ラット, マウスなどにおける実験的肝線維症あるいは肝硬変を発生させるために, しばしば四塩化炭素ないしアルコールの投与が行われている。昨年の本学会において, われわれはラットにブタ血清を腹腔内投与し肝硬変類似病変を発生させ, それがラット肝による in vivo 発癌物質中期検索法の高感度化に有用となる可能性を報告した。本研究では, 肝線維化を促進し, 肝硬変類似病変を惹起させるブタ血清中の因子を検索する目的で以下の実験を行った。

(材料および方法)

ブタ血清は市販品 (Flow Lab., Lot No.29241023) および自家製 (国内産ブタより作製) を用いた。また非働化したブタ血清を作製するため市販のブタ血清を恒温槽中で56℃30分加熱処理を行った。自家製ブタ血清は新鮮血を採取後遠心分離し, 直ちに濾過滅菌を行った。なお, 陽性対照としての四塩化炭素 (東京化成) は20%の濃度でオリーブ油に溶解した。

動物は6週齢のF344雄性ラット (日本チャールス・リバー) を20匹用い1群4匹からなる5群に分けた。図1に示すごとく, 第1群から第3群にそれぞれの血清をラット1匹当たり0.5mlを腹腔内に週2回8週間にわたり腹腔内投与し, 第4群には四塩化炭素を同様回数胃内投与した。第5群は無処置対照群とした。動物は実験終了後エーテル麻酔下で屠殺剖検し, 肝を中心に病理組織学的に検索した。

(結果)

表1に示すごとく屠殺時の平均体重は, 第1から第3の各群において対照の第5群に比較してわずかに増加する傾向が認められたが, 四塩化炭素を投与した第4群では逆に抑制される結果となった。肝重量は, 第1から第4の各群で第5群に比較して有意な増加が認められ, それは脾でも同様であった。また, 腎においても肝や脾ほど顕著ではないものの同様な傾向がうかがわれた。

肉眼所見において, 第1から第4群の肝および脾において軽度の腫大が認められ, 第4群では肝の辺縁部の表面に若干の凹凸がみられたが, いずれも対照群に比較して顕著な差異ではなかった。

病理組織学的検索では, ブタ血清を投与した第1~第3のすべての群で肝実質内に小葉を分割する結合組織が増生し明瞭な偽小葉を構成していたが, 各群間において線維化の状態に形態的な差異はみられず, 実質細胞の変性壊死像および炎症性細胞反応もほとんど認められなかった。一方, 四塩化炭素を投与した第4群では大小異なる偽小葉の形成がみられ, 結合組織の量はブタ血清投与群より若干増加していると思われた。同時に肝細胞の脂肪変性が小葉全体にびまん性に認められ部位によっては偽小葉内の肝細胞が壊死に陥る像も散見された。なお, 脾および腎においては被験群と対照群とを比較しても著変は認められなかった。また, 対照群においては異常所見は観察されなかった。

(まとめ)

ブタ血清がラット肝に対して肝硬変類似の線維化病変を発生させることが確認された。同時に, 血清中の病変発現因子は, 非働化による加熱の影響を受けないこと, さらには自家製の血清においてもその再現性が確認されたことから肝線維化の起因成分はブタ血清中に普遍的に存在すると考えられた。しかしながら炎症細胞反応を伴わないことや四塩化炭素により発生した肝病変と比較すると線維量と形態像に差異を認めた。今後その発生機序を追求するとともに肝硬変病態モデルとしての有用性についてさらに検討を加える必要がある。

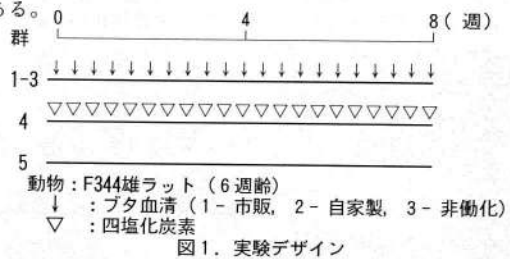


表1. 屠殺時の平均体重および臓器重量(g)

| 群 | 体重     | 肝       | 脾       | 腎 (右) | 腎 (左) |
|---|--------|---------|---------|-------|-------|
| 1 | 280.0  | 8.99*   | 0.75**  | 1.01* | 0.98  |
| 2 | 288.8* | 0.22*** | 0.69**  | 0.95  | 0.96  |
| 3 | 280.8  | 10.04** | 0.66*   | 0.96  | 0.95  |
| 4 | 238.2  | 10.87** | 0.87*** | 0.97  | 1.00  |
| 5 | 257.3  | 6.37    | 0.54    | 0.85  | 0.89  |

有意差: 第5群と比較して\*p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\*p<0.001

○ 韓 晋洙、 乗松真理、 菅原由憲、 土井邦雄、 光岡知足（東大、 農）  
 志村克己、 赤井弘幸、 田村一利（BOZO）

ストレプトゾトシン（SZ）は最初抗癌剤として開発されたが、現在ではもっぱら実験動物における糖尿病誘発剤として利用されている。しかし、ハムスターにおいてはSZの応用例は少なく、毒性や糖尿病誘発量等に関する基礎的検討を行った報告も希である。私達は比較的若い週齢から自然発症性に腎糸球体間質の肥厚傾向を示すAPA系シリアンハムスター（第78回日本病理学会）にSZを投与し、糖尿病性腎症の早期作出を試みるに先立って、今回SZの急性毒性に関する検討を行った。

#### <材料と方法>

3カ月齢のAPA系ハムスター雄、雌各16匹（平均体重；雄126g、雌132g）を各々4群に分けて実験に供した。SZの投与量は予備実験のデータを参考に0mg/kg（C）、20mg/kg（T1）、40mg/kg（T2）、および60mg/kg（T3）とし、腹腔内投与後3日目に剖検した。供試動物については、毎日臨床観察と体重の測定を行い、剖検時には主要臓器重量の測定、尿検査を行うとともに、分離血清を用いた血液生化学的検査、全身臓器の病理組織学的検査およびT2群の肝臓、腎臓、脾臓の電顕的検索を行った。

#### <結果>

死亡率：雄のT3群の1例が投与後3日目の朝、死亡しているのが発見された。

臓器重量：雄と雌のT3群で腎相対重量の増加が、また、脾相対重量の減少が認められた。

尿検査所見：雄のT2、T3群と雌のT3群で高尿糖値が認められた。

血液生化学的所見：血糖値は雄のT2、T3群において有意に上昇し、雌においてもT3群で増加傾向を示した。肝細胞障害の指標であるGOTは雄雌のT3群で増加傾向を示し、GPTは雄T3群で有意な増加を、また雌T3群でも増加傾向を示した。血清脂質に関しては、総コレステロールは雄のT2、T3群で有意に増加し、雌のT3群で増加傾向を示した。リン脂質は雄のT2、

T3群と雌のT3群で増加傾向を示し、トリグリセリドは雄のT2、T3群で有意に増加し、雌のT3群でも増加傾向を示した。一方、腎機能障害の指標に関しては、BUNが雄雌のT3群で増加傾向を示し、クレアチニンは雄のT3群で有意な増加および雌のT3群で増加傾向を示した。電解質（Ca、P、Na、Cl）については、雄のT3群で有意な増加が、また雌のT3群で増加傾向が認められた。

病理組織学的所見：肝臓と腎臓の変化が最も目立ち、前者は雄雌のT2、T3群に、後者は雄雌のT3群にそれぞれ共通して認められた。肝臓では肝細胞質の空胞形成が慢性性に認められ、PAS染色標本ではグリコゲン顆粒の高度の減少もしくは消失が認められた。腎臓では遠位尿細管上皮細胞の壊死・脱落、近位尿細管上皮細胞の慢性性の空胞形成が認められた。一方、脾臓では、雄のT2、T3群および雌のT3群で脾島細胞の空胞形成が散見され、免疫組織学的検索（ABC法）でインシュリン顆粒の脱落、減少が認められた。また、外分泌腺上皮細胞の萎縮および空胞形成も観察された。その他、雄雌のT3群で副腎髄質の毛細血管腔の拡張ならびに脾臓のリンパ濾胞および胸腺皮質のリンパ球の壊死が認められた。

電子顕微鏡学的所見：肝細胞で小胞体の増数、微小空胞の増加、ミトコンドリアのcisternaeの消失およびマトリックスの電子密度の増加、グリコゲン顆粒の変性などが認められた（図1）。また、脾臓においてはβ細胞のインシュリン顆粒の消失が認められた（図2）。  
 <結論>

以上、今回の検索によりAPA系ハムスターにおけるSZの急性毒性の全貌が明らかになるとともに、APA系ハムスターに糖尿病を惹起するには雄動物に40mg/kg、b.w.(i.p.)のSZを投与するのが適当であることが解った。現在、ゴールデンハムスターでも同様の実験を実施中である。

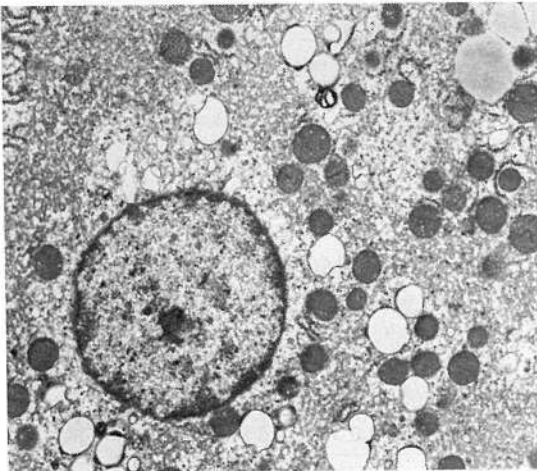


図1. 肝細胞

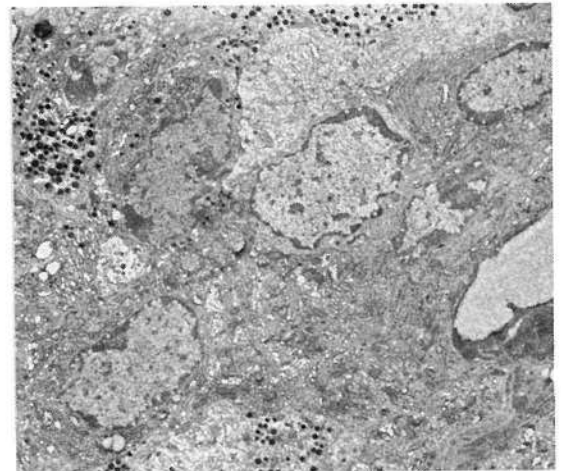


図2. 脾島細胞



○永露博昭<sup>1,2)</sup>, 伊藤隆明<sup>2)</sup>, 北村均<sup>2)</sup>, 脇坂美国<sup>1)</sup>, 蟹沢成好<sup>2)</sup> 1)資生堂研究所, 2)横浜市大・医一病

### I) 目的

多くの環境因子が肺腫瘍発生に関与しているが、特に喫煙に対する社会的問題性は高く、実験的にも経気道性にその気道障害、腫瘍発生促進作用等が認められている。一方、喫煙に際して吸煙による気道上皮への直接作用とは別に、喫煙成分が経消化管性に吸収される経路が存在する。当教室では、肺発癌因子が消化管あるいは他の経路から吸収され、血行性に気道上皮に作用して腫瘍形成に至る機構についての研究成果について報告してきたが、今回はタバコタール経口摂取のマウス肺腫瘍発生に及ぼす影響ならびに主要臓器の病理組織学的変化について検討を行ったので報告する。

### II) 実験材料および方法

動物は6週齢の雄 ddY マウス 170 匹を用い、発癌物質として 4NQO を用いた。投与は森の方法に準じて、実験開始時に 0.24 mg/mouse を 1 回皮下投与した。タバコタールはマイルドセブンより採取したもの（日本たばこ産業株式会社提供）を、0.3% にコーンオイルに溶解し、1日2回週12回、胃ゾンデを用い1回に 30 mg/kg を強制経口投与した。実験デザインを Fig 1 に示した。無処置対照群、溶媒投与群、4NQO 投与群、4NQO+タール投与群およびタール投与群の5群を設けた。肺は2% グルタルアルデヒドを気管より注入固定し、各葉を分離後、実体顕微鏡下にて発生腫瘍数を計数すると共に腫瘍径の計測も行った。腫瘍については、光顕的検索と共に一部はオスミウム酸固定を経て、所定の如く包埋し電顕的検索も行った。他の臓器については光顕的に検索を行った。

### III) 結果

マウス 1 匹あたりの平均タール総摂取量を Table 1 に示した。

26 週、52 週剖検時の肺腫瘍の発生頻度、発生数を Table 2 に示した。26 週剖検群では、無処置対照群に比較してタール投与群で肺腫瘍発生数の増加があり、発生促進傾向を認めたほか、タール群の 1 例では右肺上葉のほぼ全域が腫瘍により置換され、多発腫瘍の融合が示唆された。52 週群の対照群、溶媒群、タール単独群の 3 者間では、タール単独群の平均腫瘍数に増加傾向を認めた。また、4NQO 群と 4NQO+タール群間では、成績には

ほとんど差はなく、今回の実験条件では、タール経口投与が肺腫瘍発生を有意に促進する結果は得られなかった。しかし、多発腫瘍の融合とみられる一葉全域の腫瘍性置換が、4NQO 群の 2 例と、4NQO+タール群の 5 例認められたが、単一腫瘍として計数されている。それぞれほぼ全域が腫瘍により置換されており、多発腫瘍の融合も示唆された。その他の主要臓器の病理組織学的検索結果および肺の電顕検索の結果も含めて報告する。

Fig 1. Experimental Design

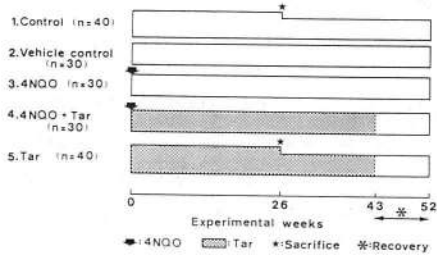


Table 1. Total Dose of Cigarette Tar for 43 weeks ( Mean )

| Group      | Total dose/mouse | Mean/mouse/day |
|------------|------------------|----------------|
| 4NQO + Tar | 813.5 mg         | 2.70 mg        |
| Tar        | 788.0 mg         | 2.52 mg        |

( Sample : MILD SEVEN , tar contents : 14 mg/cigarette. )

Table 2. Incidence of Pulmonary Tumor and Number of Nodules Induced ( Microscopic Results )

| Group      | Exp. weeks | No. of animals | Tumor bearing animals | Total no. of nodules | Mean no. of nodules / mouse |
|------------|------------|----------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|
| Control    | 26         | 10             | 2 ( 20 % )            | 4                    | 0.40                        |
|            | 52         | 26             | 14 ( 54 % )           | 20                   | 0.77                        |
| V. Control | 26         | 25             | 12 ( 48 % )           | 15                   | 0.60                        |
|            | 52         | 21             | 19 ( 90 % )           | 61                   | 2.90                        |
| 4NQO + Tar | 26         | 23             | 21 ( 91 % )           | 61                   | 2.65                        |
|            | 52         | 24             | 15 ( 63 % )           | 25                   | 1.04                        |
| Tar        | 26         | 10             | 3 ( 30 % )            | 13                   | 1.30                        |
|            | 52         | 24             | 15 ( 63 % )           | 25                   | 1.04                        |

○吉田緑、豊原俊治、田内清憲、滝沢隆安、今道友則（動繁研）

実験動物としてのラットは、限られた空間で飼育されているが、本来広い空間を行動範囲として活動する動物である。したがって、実験動物としての飼育方法は、ラット本来の運動量を満足しているとは言い難い。そこでわれわれは、回転ケージを用い、ラットをほぼ一生涯自発運動させることにより、ラットに与える自発運動の影響を検討した。今回は、死亡率および加齢性病変（特に慢性腎症および下垂体前葉腺腫）について、運動群と非運動群（対照群）で比較した。

#### 材料と方法

Wistar-Imanichiラットを、運動群として雄20匹および雌19匹、対照群（非運動群）として雄15匹および雌18匹を供試した。運動群は、産乳後3週齢から円周が1mの回転ケージで飼育した。この回転ケージは、個別ケージと自由に往来でき、動物は自発的に運動できるように設計されている。対照群は、通常の個別ケージで飼育した。これらの動物は、餌および水を自由摂取させ、雄は110週齢まで、雌は114週まで飼育した。

各群のラットについて、飼育期間中の死亡を観察した。途中死亡・切迫殺例および生存例は、病理組織学的に検索し、慢性腎症および下垂体前葉腺腫の発生頻度を求めた。また死因についても病理組織学的に検索した。

#### 結果

実験開始直後から、対照群に比べ、運動群の雌雄ともに有意な体重増加抑制が観察され、終了時まで明らかに低値あるいは低値傾向が観察された。

雄の死亡は、運動群では106週齢まで出現せず、対照群では82週齢から出現した。また雌の死亡は、運動群では82週齢から出現し、対照群で71週齢出現した。雄の最終死亡率は運動群では3/20(15.0%)であり、対照群では9/15(60.0%)であった。また雌の最終死亡率は、運動群では5/19(26.3%)、対照群では8/18(44.4%)であった。

途中死亡・切迫殺例の死因は、対照群の雄9例中3例が脳底部を圧迫する致死的な下垂体前葉腺腫であり、6例が重篤な慢性腎症であった。また対照群の雌8例中4例が致死的な下垂体前葉腺腫が、4例で重篤な慢性腎症が認められた。しかし、運動群の雄では下垂体前葉腺腫

は観察されず、重篤な慢性腎症が1例で認められただけであった。運動群の雌は例数が少ないが、雄と同様の傾向を示した。

主な死因と思われる下垂体前葉腺腫と慢性腎症について、生存例を含めた全例で検索し、その発生頻度を運動群と対照群と比較した。その結果、下垂体前葉腺腫の病変は運動群のほうが雌雄ともに軽度であり、慢性腎症も運動群のほうが雌雄ともに発生頻度が低かった（表1）。

表1

慢性腎症および下垂体前葉腺腫における運動の効果

|         | 雄     |       | 雌    |       |
|---------|-------|-------|------|-------|
|         | 運動群   | 対照群   | 運動群  | 対照群   |
| 下垂体前葉腺腫 | 8/20  | 10/15 | 5/19 | 8/18  |
| 軽度      | 7/8   | 7/10  | 3/5  | 1/8   |
| 高度      | 1/8   | 3/10  | 2/5  | 7/8   |
| 慢性腎症    | 10/20 | 13/15 | 7/19 | 15/18 |
| 軽度      | 5/10  | 1/13  | 4/7  | 2/15  |
| 高度      | 5/10  | 12/13 | 3/7  | 13/15 |

#### 考察

運動群の雌雄ともに、対照群に比べ、体重増加抑制が観察された。したがって長期自発運動により、一生涯にわたり体重増加が抑制されることが明らかになった。

死亡率は、運動群の雄で低下した。これは、下垂体前葉腺腫および慢性腎症を死因とする例が、運動群でほとんどみられなかったことに起因すると思われた。また、下垂体前葉腺腫および慢性腎症が運動群で軽減化したことから、長期自発運動が加齢性病変に影響を及ぼすと推察された。これらの自発運動による加齢性病変の軽減化の原因は、自発運動による代謝の変動等の一次的な影響とも考えられるが、二次的な体重増加抑制による可能性も大きく、今後さらに検討する予定である。

○今井俊夫, 青木豊彦, 細川 暁, 日比野信裕, 福田種男, 岡田雅昭, 中野渡純一, 五十嵐俊二  
(エーザイ㈱・安全研)

## はじめに

ラット下垂体中間部(PI)の腺細胞は, proopiomelanocortin(POMC)を共通の前駆体とする ACTH, MSH, LPH, endorphinなどを分泌し, 食塩水投与, ストレスなどによりそれらの分泌機能が亢進することが知られている。しかし薬物投与によるPIの変化についての報告は極めて少ない。

今回我々は, コリンエステラーゼ(AChE)阻害作用を有するカルバミン酸エステル(physostigmine: PHY)および有機リン化合物(dyflos: DFP)をラットに投与し, PI腺細胞の形態学的変化を検索した。

## 実験材料および方法

**PHY投与群** PHYは physostigmine sulfateを精製水にて0.4%溶液とし, ラット(Slc:SD, 雄)に経口投与した。投与量および投与回数は 12 mg/kg/dayを2日間(11週齢動物使用), および8 mg/kg/dayを4週間(6週齢動物)とした。

**DFP投与群** DFPは diisopropyl fluorophosphateを落花生油にて0.02%溶液とし, 皮下投与した。投与量および投与回数は 1 mg/kgを単回(11週齢動物, 投与2日後屠殺), および 1 mg/kg/weekを4週間(6週齢動物)とした。

投与期間終了後, 屠殺はペントバルビタール麻酔下にて行い, 大動脈より灌流固定後, 諸臓器を摘出した。  
臓器重量: 4週間投与群についてのみ下垂体, 副腎, 甲状腺および脳の重量を測定した。

光顕検索: 4週間投与群についてのみ10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定し, HE染色を施して病理組織学的検索を行った。また Bromodeoxyuridine(BrdU)の腹腔内投与による瞬間標識を行った。

電顕検索: 1%グルタルアルデヒド溶液(pH7.4)にて灌流固定後, 2%グルタルアルデヒド溶液およびオスミウム酸による後固定を行った。酢酸ウラニル鉛混液の電子二重染色を施してPI腺細胞の超微形態像を検索した。

## 実験結果

一般状態: PHYあるいはDFP投与により一過性に全身骨格筋の線維束収縮あるいは流涎を呈する個体がみられ, 4週間投与群のみの対照群と比較して約10%の体重増加抑制が認められた。

臓器重量: DFP投与群において, 下垂体および副腎の絶対・相対重量が有意に増加した。

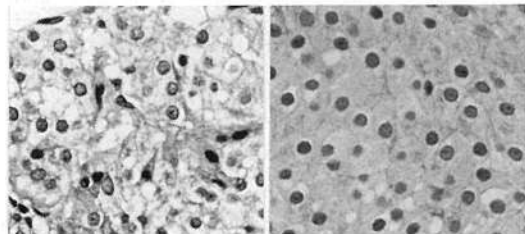
光顕検索: 対照群のPI腺細胞は主として多角形で, 細胞質の明るい細胞とやや暗い細胞を区別することができた(写真1), DFP投与により腺細胞は肥大して円形となり, 細胞質の明るい細胞が主体を占めるようになった(写真2)。またBrdU標識率の増加傾向が認められた。なお前葉, 後葉に変化は認められなかった。

電顕検索: 対照群においては細胞内に多数の分泌顆粒が充満していたが, DFP投与により分泌顆粒が減少した。4週間投与群においては更にゴルジ装置および小胞体の発達がみられた。PHY投与群においても同様の傾向がみられたが, 比較的軽度であった。

## まとめ

これまで, renin-inhibitor である propranolol (Kobayashiら, 1976) や dopamine-antagonist である bromocriptine (Stoeckelら, 1981) により, PI腺細胞の小胞体増生など機能亢進を示す電顕的变化が誘発されることが報告されている。今回の実験により, DFPあるいはPHYは電顕的のみならず光顕的にも明らかなPI腺細胞の肥大を誘発することが明らかとなり, 更にはACTHの標的臓器である副腎にも肥大がみられた。

PIには多数のACh作用性のシナプスが存在し, AChE活性も高いことが知られている(Sarahら, 1983)。今回の実験でAChE阻害剤により他剤にはみられない著明なPIの機能亢進が誘発されたが, その原因としてAChの直接的な関与が示唆された。



(写真1)

(写真2)

○ 倉田 靖<sup>1</sup>、小川久美子<sup>1</sup>、田中 光<sup>1</sup>、津田洋幸<sup>2</sup>、萩原昭裕<sup>1</sup> ( 名市大・医・1病理<sup>1</sup>、藤田学園・医・2病理<sup>2</sup> )  
 <はじめに>

Harmanおよびnorharman は野菜、タバコのタールやtryptophanの加熱分解物中に含まれる物質である。これらの変異原性はそれぞれ単独では陰性であるが、変異原性物質 (Trp-P-1, Trp-P-2) や既知の発癌物質 (benzo [a] pyrene, p-dimethylaminoazobenzene, 2-acetylaminofluorene) の変異原活性を増幅させ、さらに変異原性が陰性の物質 (aniline、o-toluidine) でもnorharman の存在下では陽性を示すことが報告されている。以前、我々はnorharman をラットに投与したところ腎尿管の壊死ならびに炎症性の変化を観察した。今回は、ラットにおけるharmanおよびnorharman の短期間投与による腎毒性について詳細に検討した。

#### <実験方法>

6週齢のF344系雄ラット50匹を5群に分け第1群と2群はharman、第3群と4群はnorharman をそれぞれ1,000および500ppmの濃度で飼料中に混じり投与した。第5群は基礎飼料のみの対照群とした。実験開始の2および4週後に各群の5匹ずつを屠殺し、bromodeoxyuridine (BrdU) を用いた尿管上皮細胞の標識率の測定および病理組織学的検索を行なった。また、各群の屠殺前には血液生化学的検査および実験の1, 3, 5, 7, 14および28日後に4時間の尿を採取し、尿量、比重、電解質、pHの測定および生化学的検査を実施した。

#### <結果>

一般所見：各群の飼料摂取量に差はなかったが、摂水量では1,000ppmのharmanおよびnorharman 投与群において実験の第1週から全終了時まで対照群に比較してほぼ2倍の増加がみられた。体重ではこれらの群に増加抑制が観察された。

尿所見：投与開始後1日で、harmanおよびnorharman を投与した全群に尿量の増加を観察したが、5日目以降の測定では両者の1,000ppm投与群のみにその増加を認め、4週では対

照群で1.5 ± 0.5ml/4hr であるのに対し、harmanは8.2 ± 2.2ml/4hr, norharman では、7.2 ± 2.2ml/4hr と増加し、尿比重も両群で有意に低値を示した。また、生化学的検査ではharmanおよびnorharman の1,000ppm投与群のN-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG)、lactate dehydrogenase (LDH)、尿糖の上昇および電解質 (Na, K 等) の上昇を認めた。

DNA 合成 (table 1.)：第2週ではharmanの1,000ppm投与群に尿管上皮のBrdU標識率の有意な亢進を、norharman にはその傾向を認めた。4週後では両者の1,000ppm投与群に亢進を認めた。

血液生化学的検査：尿素窒素 (BUN)、creatinine (Cr) 等の有意の上昇をharmanおよびnorharman の1,000ppm投与群に認めた。しかし、両者の500ppm群では対照群と差はなかった。

病理組織学的検査：Harmanおよびnorharman の1,000ppm投与群に尿管の変性および再生像と間質の炎症性細胞浸潤、線維化、尿管の拡張と管腔内への好中球等の浸潤などの炎症所見を観察し、4週の屠殺動物では2週に比較して病巣の拡大が認められた。Harmanの1,000ppm群では尿管に結晶がみられ、皮質ではその周辺に巨細胞の出現も伴っていた。しかし、500ppm群では腎に病変を認めなかった。また、その他の臓器にも著変を観察しなかった。

#### <まとめ>

1,000ppmのharmanおよびnorharman 投与は経時的な尿量の増加と尿比重の低下並びに尿生化学的検査のNAG, LDH、尿糖、電解質の上昇と血中のBUN, Cr のなどの増加を惹起した。また、病理組織学的に病変は皮質から髄質全域に及ぶ変性と再生像および炎症像を主体とした変化であり、さらに尿管上皮のDNA 合成の亢進もみられた。しかし、500 ppm 群では、これらの変化を認めず、腎毒性の閾値は500 と1,000 ppm の間にあると考えられた。

Table 1. DNA Synthesis in Renal Cortical Tubules in F344 Rats Fed Harman or Norharman

| Group | Test Chemical | Dose (ppm) | No. of rats | No. of BrdU-labeled cells/mm <sup>2</sup> at week |                        |
|-------|---------------|------------|-------------|---------------------------------------------------|------------------------|
|       |               |            |             | 2                                                 | 4                      |
| 1     | Harman        | 1,000      | 5           | 36.0 ± 8.9 *                                      | 66.4 ± 34.7**          |
| 2     | Harman        | 500        | 5           | 1.6 ± 1.7                                         | 6.0 ± 1.4 <sup>a</sup> |
| 3     | Norharman     | 1,000      | 5           | 20.0 ± 17.1                                       | 49.0 ± 16.2 *          |
| 4     | Norharman     | 500        | 5           | 1.4 ± 1.1                                         | 4.8 ± 1.5 <sup>a</sup> |
| 5     | Control       | -          | 5           | 0.8 ± 1.1                                         | 5.5 ± 1.3 <sup>a</sup> |

\*, \*\* ; p<0.05 or p<0.01, respectively. <sup>a</sup> Numbers of animal were 4.

○川口 隆・細川 暁・岡田文弘・菅沼彰純・福田種男・日比野信裕・富松幹夫・松原 孝雄・

中野渡 純一・五十嵐 俊二（エーザイ・安全研）

尿細管上皮細胞内のライソゾーム酵素であるN-acetyl-Glu  
cosaminidase (NAG) は腎障害、特に尿細管上皮細胞障害  
の重要な指標の一つであると報告されている。アミノグリコ  
シド系抗生物質の腎毒性においては極めて敏感なマーカーエ  
ンザイムであることが知られているが、セファロスポリン系  
抗生物質についての報告は少ない。今回、種々のセファロス  
ポリン系抗生物質及びゲンタマイシンをラットに投与した際、  
尿中NAG活性の変動及び機序について、比較検討したので  
報告する。

#### [材料と方法]

動物は7～8週齢のSD系雄ラットを用いた。

実験1ではセファロスポリン系抗生物質を用い、Cefalo-  
tin (CET)1000mg/kg, Cefaloridine (CER) 500mg/kg (投与  
1週間まで750mg/kg), E1040 300mg/kg および 1000mg/kg  
を連続静脈内投与した。投与期間は7, 14および21日と  
して、各投与終了後に尿検査、血液検査及び病理学的検査を  
行った。実験2ではセファロスポリン系抗生物質としてCef-  
tazidime (CAZ)300mg/kg及び1000mg/kg, アミノグリコシド  
系抗生物質としてGentamicin (GM) 50mg/kg を21日間連続  
の静脈内あるいは筋肉内投与し、投与1, 7, 14, 21日  
に尿検査を実施した。投与終了後、剖検し病理学的検査を行  
った。

#### [結果]

尿中NAG活性は、CET, CERおよびGM投与群で投  
与7日目に有意な増加がみられ、特にCER投与群とGM投  
与群で高値を示した。一方、CAZおよびE1040投与群では  
投与期間に相応して増加が見られた。

病理学的変化について、GM投与群の投与21日目の観察  
では、腎重量の著しい増加とともに尿細管上皮の変性・壊死  
および再生像が著明であった。一方、セファロスポリン系抗  
生物質のCER投与群でもGM投与群と同様に腎重量の著し  
い増加、尿細管上皮の変性・壊死などの腎障害が認められた。

CET, CAZおよびE1040投与群では腎の重量が増加

を示したが、光顕では近位尿細管上皮細胞内の好酸性顆粒の  
増加が認められた。電顕的にも近位尿細管上皮細胞に好酸性  
顆粒に一致すると思われる lysosomal dense body の増加お  
よび増大, Apical vacuoles の増加および拡張が認められた  
が、腎障害を示唆する変化は認められなかった。近位尿細管  
上皮細胞内の好酸性顆粒の増加は投与期間に相関していた。  
なお、E1040に対する抗体を作製し、免疫組織学的検索を実  
施した結果、好酸性顆粒に一致してE1040の存在が確認され  
た。

#### [考察]

腎障害が認められたGMとCERでは他のセファロスポリ  
ン系抗生物質とは異なり、尿中NAG活性が投与7日前後に  
活性ピークがあるものと推察され、病理組織所見より、細胞  
崩壊に伴う酵素の逸脱に起因すると思われた。

一方、CET, CAZおよびE1040においては尿中NAG  
活性の上昇と近位尿細管上皮細胞内の好酸性顆粒の増加とが  
相関していたが、電顕的にlysosomal dense bodyの崩壊像お  
よび他の膜系の変性は認められず、腎障害を示唆する変化は  
認められなかった。特にE1040投与群では腎重量の増加が投  
与回数に比例せず、近位尿細管上皮細胞内の好酸性顆粒の増  
加のみが投与量および投与回数に比例し、好酸性顆粒部位に  
薬物の沈着が確認された。従って、今回の実験で見られた尿  
中NAG活性の軽度の上昇については、腎の障害性変化を示  
唆するものではなく、腎尿細管において再吸収された薬物を  
処理するために誘導されたlysosomeの増加に起因しており、  
いわゆる適応反応と考えられた。

以上より、尿中NAG活性は近位尿細管上皮細胞における  
細胞障害のマーカーだけでなく、尿細管における薬物の再吸  
収の程度を知る上で重要な指標となりうると思われた。

## 42.

培養近位尿細管上皮細胞におけるカドミウム毒性  
—細胞化学的・細胞病理学的研究—

○濱田哲夫・藤原 仁（産医大病理部）、谷本昭英・井出良浩・有吉加代子・小出 紀（同二病理）

カドミウム（Cd）の毒性病理学的研究はその多くが動物投与実験に依ってきたので、腎は全身臓器変化の一つとして研究がなされ、組織学的には多数の報告がある。しかし、その標的細胞の一つである近位尿細管上皮細胞に対するCdの直接作用を検討した報告は少ない。今回、我々は培養イヌ近位尿細管上皮細胞にCd暴露を行い、経時的に細胞変化を観察、Cdの細胞化学的分布と比較検討した。また、細胞内Cdの定量を行い細胞変化・Cd分布と対照した。

## 【材料と方法】

**近位尿細管上皮細胞の分離培養：**ビーグル犬より摘出した腎皮質を細切、コラゲナーゼ・ヒアルロニダーゼ消化後、Richardson et al. の方法に基づき近位尿細管上皮細胞を分離・培養した。培養は10%FBS加Eagle's MEM を用い炭酸ガス培養器で行った。この培養細胞（B131細胞）は酵素細胞学的、免疫細胞学的、電子顕微鏡的検索により近位尿細管上皮細胞由来であることを確認した。

**Cd暴露：**1 mM Cd を含む培養液（Cd medium）で pre-confluent の状態に培養された slide-chamber 上の B131細胞を 15分、30分、60分、90分、120分間培養し、位相差顕微鏡観察、Cd細胞化学、電顕的観察などを行った。

**Cd細胞化学：**Cdに暴露したB131細胞を100%エタノールで脱水固定後、オキシニ飽和エタノールで30分間、アンモニアでpHを8.5に調整した0.2gオキシニ、2mg 氷酢酸、120 ml蒸留水溶液で30分間反応後、水溶性封入剤で封入し、Y-455 filterを用い蛍光顕微鏡で観察した。

**細胞内Cd定量：**12 well-plate上で培養した B131細胞に一定時間Cd暴露後、EDTA-trypsin液で剝離、細胞数を算定後、長音波処理、0.1N HClを加え原子吸光分光法によりCd濃度を算定した。

【結果】B131細胞は、多稜形でシャーレの底面に接着し単層で増殖した。Confluent の状態では、近位尿細管細胞に特徴的とされるdome (hemicyst) 形成が明瞭であった。また細胞膜には alkaline phosphatase が酵素細胞化学的かつ免疫染色にて証明された。さらに、走査電顕にて、細胞表面にmicrovilliが観察された。

以上より、B131細胞を近位尿細管由来上皮細胞と同定した。このB131細胞を Cd mediumに暴露すると30分以内に細胞質に小空胞が形成され、軽度の anisokaryosis、核小体の明瞭化が認められた。60分後にはさらにこれらの変化が著明となり、B131細胞は細胞質に空胞化が目立ち、著明な anisocytosis、核縁の肥厚、核小体の著明化が見られた。またしばしば 2核あるいは 3核を有する巨細胞化が目された。この細胞質空胞は PAS染色、oil red O 染色共に陰性であった。90分以上 Cd mediumに暴露すると、B131細胞は収縮し核は濃染しスライドチャンバーから剝離するものが多くなった。細胞化学的にCdは30分以上の暴露でB131細胞内に黄緑色の蛍光として認められた。30分暴露では細胞質にびまん性、一部顆粒状の黄緑色蛍光として認められた。60分暴露では、細胞質の蛍光が強くなると共に核膜に一致して線状に蛍光がみられ、また核内にも斑状に蛍光がみられた。90分以上の暴露では、収縮した細胞のほぼ全体が強い蛍光を発した。細胞内カドミウム量は、30分以内に増加し 60分から120分の間でほぼ一定量になった。

【考案】Cdの腎に対する急性毒性は、動物投与実験によると、急性尿管壊死として出現する。今回のB131細胞を用いたCd暴露実験はこの尿管上皮細胞の壊死性変化が、Cdの細胞に対する直接作用であることを確認した。すなわち近位尿細管上皮細胞はCdに暴露されると、はじめに細胞質の空胞化ついで核の形態変化が起こり壊死に陥る。この核の変化は、大小不同、核縁の肥厚、核小体の明瞭化、多核化など多彩で興味深い形態異常を示した。さらにCdの細胞化学的証明は、近位尿細管上皮細胞のCdの細胞内取り込みと細胞内分布を明らかにした。この結果、Cdは細胞質に主にびまん性に証明されることから、大部分は cytosolに存在することが示唆された。また、核にも明瞭な蛍光が確認された。この細胞化学的Cd細胞内分布は、subcellular fractionation (K.Waku,1984) によるCd分布とほぼ一致した。

今後、このB131細胞を用いた長時間暴露実験、さらにCdがおよぼす細胞内変化についての研究がCdの毒性発現機序の解明に役立つであろう。



○海道昌宣・井出良浩・小出紀(産医大二病理)、森晃爾(同環境中毒)、濱田哲夫(同病院病理)

【緒言】我々は様々な化学物質による精巣障害を検索し、第5回毒性病理学会にはエチレンオキシドガスによるラット精巣障害について報告したが、最近、大量ビタミンB<sub>6</sub>投与による精巣萎縮を見だし臓器重量の変化、精子数等については報告をしている。

ビタミンB<sub>6</sub>の成人の最小必要量は一日2から4mgである。一方、大量ビタミンB<sub>6</sub>投与はホモシスチン血症、貧血、妊娠中毒、パーキンソン病、経口避妊薬によるうつ症状その他の治療として使用されてきた。1983年にSchaumburgらがビタミンB<sub>6</sub>大量投与によるヒトにおける感覚神経障害を報告した後、いくつかの大量投与による神経毒性の報告がされてきている。今回、精巣の傷害を光学及び電子顕微鏡的に解析し報告する。

【材料と方法】 暴露群、対照群共に約300gのウィスター系雄ラットを用いた。各群それぞれ6匹とし、暴露群にはビタミンB<sub>6</sub>(pyridoxine・HCl)125, 250, 500 1000 mg/Kg を一日一回、週5日腹腔内投与を行った。対照群には同量の生理的食塩水を投与した。2週間及び6週間後、最終投与より約24時間後にジエチルエーテル麻酔下に精巣を摘出し、重量測定後、光学顕微鏡用としてブアン固定、PAS染色を施し、電子顕微鏡用として2.4%グルタル及びオスミウムにて固定し、酢酸ウラン、鉛染色を施して、形態学的検索を行った。

【結果】1000mg群では投与開始後1-3週間後より失調性歩行を呈し3匹は実験期間中に死亡した。500mg, 1000mg群では対照群に比し体重、精巣重量共に有意に減少した。精巣上体重量は全ての投与群で対照群より減少した。

光学顕微鏡的所見：500, 1000mg群全例及び250mg投与群の一部に精細管障害が認められた。1000mg群では2週間後精細管内の生殖細胞の脱落はあまりはつきりしないものの、acrosome phase後半及びmaturation phase前半の成熟精子細胞はすでに大部分変性していた。また、Stage IX, X, XIでも放出されない成熟精子細胞が認められた。一部で変性、多核化したGolgiやcap phaseの精子細胞、壊死変性に陥った精母細胞が散見された。6週間後では生殖細胞の変性脱落は著しく、精祖細胞す

ら消失しセルトリ細胞のみとなった精細管が多数見られ、わずかに残った成熟精子細胞はほとんどが変性し、変性、多核化したGolgiやcap phaseの精子細胞、変性した精母細胞が多数見られた。また生殖細胞の減少の著しい個体でLeydig細胞の増加がみられた。500 mg群も個体及び個々の精細管によって障害の程度に差はあるものの1000mg群と同様の障害がみられ、6週間投与群で、成熟精子細胞の変性、脱落がある一方、Stage IX, X, XIになっても放出されない精子が認められた。250 mg群の6週例では一部に少数の変性した成熟精子細胞が見られたが、125mg群には変化は見出されなかった。

電子顕微鏡的所見：電顕的にはセルトリ細胞の変化に注目した。500及び1000mg群で、セルトリ細胞の障害が認められた。2週間後で、多数のセルトリ細胞の細胞質が萎縮し、電子密度は上昇していた。また、小胞体、一部ミトコンドリアが拡張してきていた。6週間後では、障害は高度で小胞体の拡張の他にミトコンドリアの空胞状変性が目立ち、生殖細胞を取り囲むセルトリ細胞側突起の辺縁は不規則になっていた。細胞質が空胞状に変性腫大したセルトリ細胞が散見され、少数ながら核のクロマチンが変性凝集したセルトリ細胞も見られた。生殖細胞はしばしばセルトリ細胞の側突起なしにお互い直接接触し、変性、多核化した生殖細胞も多数見られ、また多数の変性した生殖細胞が、セルトリ細胞に貪食されていた。

【まとめ】(1)生殖細胞の変性、脱落は、生殖細胞の成熟が進むにつれて高度であり、また2週間投与群より6週間投与群の方が障害は高度であった。光顕的に精子の放出障害も見られたが、この放出障害はセルトリ細胞の機能障害を推定させる。

(2)セルトリ細胞の明かな形態学的変化がビタミンB<sub>6</sub> 500ppm、1000ppm/kg投与群で電顕的に認められた。セルトリ細胞の障害が生殖細胞障害に重要な影響を与えている可能性が示された。

(3)今回大量ビタミンB<sub>6</sub>による明瞭な末梢神経症状が出る量より少ない量で明かな精巣障害が見いだされ、治療による大量ビタミンB<sub>6</sub>投与において神経毒性のみならず精巣毒性も注目する必要がある。

## 44. WBN/Kobラットにおける精巢の萎縮性病変について

○佐藤元信、古川文夫、篠田和俊、岡宮英明、今沢孝喜、今井田克己、高橋道人（国立衛試・病理）

### 【緒言】

WBN/Kobラットは雄において瞬の内・外分泌障害を伴った自然発症糖尿病モデルであり、その他に白内障、腎症、神経症などを併発するが、精巢病変については知られていない。我々は、WBN/Kobラットの精巢において、自然発生の萎縮性病変を見だし、それらが他の動物にみられる加齢性の精巢病変とは異なった病態を示したので、報告する。

### 【実験材料および方法】

実験にはWBN/kobラット雄（日本SLO）を用いた。固型飼料及び水は自由摂取させ、7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50週齢時に各々5匹を体重測定後、エーテル麻酔下にて瀉血屠殺し、精巢を摘出、重量を測定した。

#### 1. 光顕的検索

精巢をブアン液にて固定後、常法に従ってパラフィン切片を作製し、HE染色またはPAS染色を施して以下の項目について病理組織学的検索を行なった。また、一部の動物については屠殺1時間前にBromodeoxyuridine(BrdU)の40 mg/kg b.w.を腹腔内投与し、精巢をユフィックス（サクラ精機）で固定後、パラフィン切片を作製、抗BrdU抗体（DAKO）を用いABC法に従い免疫組織学的に染色、ヘマトキシリンによる核染色も併せて行なった。

#### 検索項目

- 精巢相対重量
- HE染色標本にて、精細管をその萎縮の程度により正常、軽・中等度萎縮、高度萎縮の3つに分類し、それらの割合を算出した。  
軽・中等度萎縮：精上皮の空胞化が見られるが造精細胞は残存している精細管  
高度萎縮：精上皮が主にセルトリ細胞のみから成り、造精細胞はほとんど消失している精細管
- HE染色標本にて、Stage VIIIに相当する正常及び軽・中等度萎縮精細管を選び、それらの短径と精上皮の厚さを計測、更に高度萎縮では精細管の短径を計測した。
- 35週齢のPAS染色標本上にて、上記の如く3つに分類した精細管につき、各々を200倍に拡大して基底膜の厚さを計測し、萎縮程度との関係を調べた。
- BrdU標本にて、Stage VIIIに相当する正常精細管について、BrdU陽性細胞数/セルトリ細胞数の値を算出した。

#### 2. 電顕検索（ランタン・トレーサー法）

35週齢で屠殺した動物の一部の精巢については、細切後にカコジル酸緩衝液（0.1M, pH7.8）で調整した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なった。その後常法に従い切片を作製し、酢酸ウラン-クエン酸鉛の二重染色を施し鏡検した。

### 【結果および考察】

精巢の相対重量は10週齢で0.65%であったが40週齢において0.26%にまで減少した。

10週齢まではほとんどの精細管が正常であったが、週齢が進むにつれて漸次、正常精細管の割合が減少し、50週齢では90%ほどが高度に萎縮していた。

35週齢における精細管の径は、正常と軽・中等度萎縮では差がなかったが、高度萎縮では有意に減少していた。また、精上皮の厚さは、正常と比較して軽・中等度萎縮では有意に減少しており、これは造精細胞数の減少に起因するものであった。

PAS染色標本を用いた精細管基底膜の厚さの計測では、正常が0.85 $\mu$ mであったのに対して、軽・中等度萎縮では1.23 $\mu$ m、高度萎縮では2.50 $\mu$ mと有意に肥厚していた。

Stage VIIIにおけるBrdU陽性細胞数/セルトリ細胞数の値は、加齢により減少傾向を示した。このことより、週齢の進行に伴う細胞分裂能の低下が示唆された。

35週齢動物を用いたランタン・トレーサー法による電顕検索では、高度萎縮精細管においても、セルトリ細胞間に形成されたtight junctionにてランタンの侵入が阻止されており、血液-精巢関門は維持されていることが示唆された。

精細管は上記のような萎縮性変化を示したが、ライディヒ細胞には著変を認めなかった。

これまでにラット、マウス、ネコ等で精巢の自然発生病変が報告されており、それらは主に老齢動物を対象としたものである。しかし、今回の検索により、WBN/Kobラットでは若年齢より既に、造精細胞の減少による精巢萎縮が始まることが示された。この病変は造精細胞自身の異常によるものなのか、あるいは他の要因（セルトリ細胞の機能低下、ホルモン異常等）が関連しているのか、今後の検討が必要である。



## 45. WBN/Kobラットにおける自然発症膵炎モデルの病理組織学的検討

○古川文夫・今沢孝喜・篠田和俊・佐藤元信・佐藤秀隆・高橋道人・林 裕造（国立衛試・病理）

WBN/Kobラットはスイス・バーゼル老人研究所と西ドイツ・ボン大学において50年間にわたって近交系繁殖の行われてきたWistar系由来のinbredラットである。雄において初期には膵の外分泌障害を伴い加齢とともに糖尿、高血糖がみられ、また白内障、腎症、神経症などの糖尿病の合併症を引き起こすことが知られ、これまでの糖尿病モデルとは性質の異なる新しい自然発症糖尿病モデルといわれている。

このラットの膵炎発症の発生機序を解明する目的で初期の膵外分泌および内分泌組織を病理組織学的に検討し、またbromodeoxyuridine(BrdU)による外分泌腺の再生能を検討した。

### 【実験材料および方法】

雄WBN/Kobラット(日本SLC)を用い、5、10、20、30週齢に各時期5匹ずつを経時的に屠殺・解剖した。また、屠殺前にはBrdU(シグマ)を腹腔内に投与した。膵は10%および原液のユフィクス(サクラ精機)で固定後、常法によりパラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し病理組織学的に検討した。BrdUの免疫染色は抗BrdU抗体(DAKO)を用いてstrept AB Kit(DAKO)で染色し検討を行った。

### 【結果および考察】

肉眼的には5、10週齢のラットの膵で著変を認めなかったが、20週齢以降のラットでは脾葉に褐色調の斑点が多数血管に沿って認められ、同時に脾葉全体に顕著な萎縮が認められた。

病理組織学的には、膵外分泌腺は10週齢から小葉間に軽度の浮腫や出血、炎症性細胞の浸潤、線維増生が認められた。20週齢では全例に高度の浮腫、出血、炎症性細胞の浸潤、線維増生と線維組織内へのヘモジデリン沈着が認められ、一段と外分泌組織の荒廃が進行した像を示した。しかし、30週齢の時点になると浮腫、出血および炎症性細胞の浸潤、線維増生等はむしろ軽減し、ヘモジデリン沈着と脂肪置換が目立つようになり、膵炎の終息を思わせる像を示した。

腺房細胞には10と20週齢において好塩基性部分(エルガストプラズム)の空胞化がみられたほか、一部の小葉

では胞体が扁平化し、腺管様構造を示した。30週齢では腺房細胞の変化は更に高度となった。

内分泌組織であるラ氏島は5週齢で $\alpha$ 細胞(ラ氏島辺縁部の細胞)の一部が索状構造を示し、20週齢では $\beta$ 細胞の腫大と小空胞変性が認められた。20週齢では図1に示すようにラ氏島周辺部の出血と、その後線維芽細胞の増生が渦巻状にラ氏島を取り囲み、ラ氏島内にも線維増生が及んでいた。ラ氏島数は週齢が進むに連れて減少し、30週齢ではほとんどのラ氏島は線維増生により細分割され本来のラ氏島の形態は認められなかった。

BrdUの取り込みを指標として膵組織における各種細胞の増生あるいは再生について検討した結果、外分泌組織では変性を示す時期においても腺房細胞の陽性率は低く、肉芽組織の線維細胞に高率な取り込みが認められた。このことは、このラットにおける腺房細胞の再生能が非常に低いことを示唆するものと考えられた。

### 【結語】

雄WBN/Kobラットは5週齢からラ氏島に変化をきたし、20週齢から高度の線維化をとまなう慢性膵炎像が認められた。この初期病変はラ氏島周囲の出血であり、その後炎症反応、線維化、ヘモジデリン沈着から脂肪置換へと進行した。それにとまなないラ氏島数は減少し $\alpha$ 、 $\beta$ 細胞の変性も認められた。

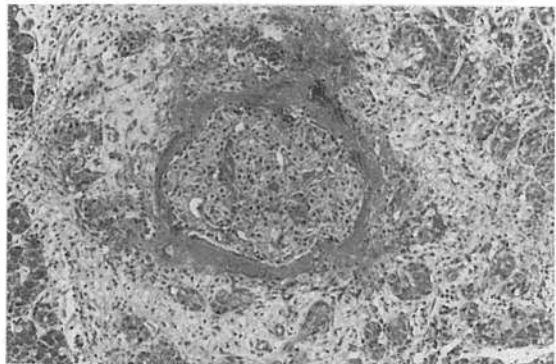


図1 ラ氏島周辺部の出血

○田川義章、朝枝伸幸、岩井久和、早坂郁夫 (験 三和化学研究所・安全研)

#### (緒言)

代表的な抗ムスカリン薬であるアトロピンの種々の臓器に対する薬理作用について多くの報告がなされているが、反復投与した際の毒性変化についての報告は少ない。今回、硫酸アトロピンをラットに反復経口投与したところ、病理組織学的に特徴的な変化が認められたので報告する。

#### (実験方法)

動物は雌雄の7週齢 Slc:SDラット 合計50例を用いた。硫酸アトロピンを 20, 100, 500mg/kg/day (10ml/kg) の割合で4週間反復強制経口投与し、対照群には蒸留水を投与した。500mg/kg投与群には雌雄各10例を、その他の群には雌雄各5例を配した。500mg/kg投与群の半数については、投与2週間で途中屠殺し、その他の例については最終投与翌日に屠殺、剖検した。全身諸臓器を肉眼的に観察した後、眼窩外涙腺は重量を測定し、膀胱は内腔に中性緩衝ホルマリンを注入した。膀胱、ハーダー腺および眼窩外涙腺については病理組織学的に検索した。

#### (結果)

投与期間中に薬物投与に起因する死亡は認められなかった。

膀胱は肉眼的に、尿貯留による膀胱膨満と壁の肥厚が500mg/kg投与群で2週、4週投与群ともに認められた。組織学的には、筋層の平滑筋の肥大および粘膜下層の結合繊維の増加が、100mg/kg以上の投与群の多数で認められさらに粘膜上皮の単純性過形成および粘膜下層における炎症性細胞浸潤が、500mg/kg 4週投与群の雌1例に認められた。

ハーダー腺は肉眼的に、暗褐色化が硫酸アトロピン4週投与群で散見された。組織学的に、ポルフィリンと考えられる褐色顆粒や分泌物の腺腔内への貯留が、硫酸アトロピン投与群のほとんどの例にみられ、腺腔の軽度な拡張が用量依存的に認められた。腺上皮細胞の変性が、100mg/kg 投与群の雌および500mg/kg 4週投与群の雌各1例に認められ、炎症性細胞浸潤も散見された。

眼窩外涙腺では、絶対重量の減少が雄の全ての投与群

および雌の100mg/kg以上の投与群で認められ、体重比重量の減少が雄の500mg/kg投与群および雌の100mg/kg以上の投与群でみられた。組織学的には腺上皮細胞の萎縮が用量依存的にみられ、100mg/kg以上の投与群では雌雄ほとんどの例に観察された。

#### (考察)

膀胱は、副交感神経支配除去によりその膨満を来すと報告されており、また、尿貯留によって膨満した膀胱において、膀胱壁の平滑筋の肥大が報告されている。このことから、本試験で認められた膀胱壁の肥厚は、抗ムスカリン作用による尿貯留によって二次的に引き起こされた可能性が考えられる。

ハーダー腺は、その腺腔内に褐色のポルフィリンおよび脂質などの分泌物を含有し、主としてコリン作動性神経によって支配されている。ラットにアセチルコリンを投与すると著しい流涙が惹起され、さらに、この流涙がアトロピンにより阻害されることが報告されている。これらの事実から、本試験でみられたハーダー腺腔内の分泌物の貯留は、抗ムスカリン作用による分泌物の排出障害に起因すると考えられる。また、腺腔の拡張は、分泌物が腺腔内に長期間貯留することにより、腺房が物理的に圧迫され、誘発されたと考えられる。

涙腺からの分泌は、コリン作動薬によって引き起こされ、この分泌がアトロピンによって阻害されることが報告されている。このことは、本試験でみられた眼窩外涙腺の萎縮も、抗ムスカリン作用によって誘発された可能性を示唆している。しかし、その機序はハーダー腺の変化とは異なり、分泌物の排出抑制というより、むしろ分泌物の合成阻害が引き起こされ、その結果として腺上皮の萎縮がもたらされた可能性が示唆される。

#### (まとめ)

硫酸アトロピンの反復投与によってラット膀胱、ハーダー腺、眼窩外涙腺に抗ムスカリン作用に起因すると推測される組織学的変化が認められた。

○相磯 成敏、長野 嘉介、片桐 卓、山内 勝彦、松本 道男、榎本 真(中災防、日本バイオアッセイ研究センター)

マウスの歯の自然発生病変に関する報告は極めて稀であるが、我々は生後2年を経過したCRJ:BDF1マウスの切歯に多発する自然発生病変を観察したので報告する。

#### 1 動物、飼育条件

生後4週齢で日本チャールス・リバーより購入、癌原性試験の無処置対照群として生後110週齢まで飼育したBDF1マウス雌雄各150例(3試験)について検索した。動物は当センター、バリア施設内でステンレス金網ケージによる単飼、固形飼料(CRF-1)、市水(濾過、紫外線照射)を自由摂取させた。

#### 2 標本作製、検索

死亡・屠殺動物の上顎を10%中性磷酸緩衝ホルマリンで固定、脱灰後(5%蟻酸ホルマリン)、切歯の後端、切歯乳頭、第一臼歯の前端の3箇所で見出し、常法に従いH.E.染色、鏡検を行なった。

#### 3 結果

1)組織所見：組織学的検索で切歯・歯根部の象牙質の増生、歯髓腔の狭小化、エナメル質・象牙質の歯髓方向への陥入像等の形成異常が観察された。さらに象牙質の増生が一層著しく、複雑に入組んだ塊状を呈し周囲上顎骨の破壊をきたす腫瘍類似の病変も認められた。腫瘍類似病変には好塩基性の象牙芽細胞の増殖も目立つが、細胞異形は比較的軽度であった。形成異常を示す病変はその程度により軽度、中程度、重度に分類した。これらの病変で軽度～中程度の場合は主に切歯の後端、切歯乳頭の位置で切出した標本に見られ、重度および腫瘍に類似したものは病変が第一臼歯の前端の位置で切出した標本にまで及んでいた。また多くは一对の上顎切歯で病相を左右異にした。

2)発生時期、発生率：形成異常病変は、雄では生後61週齢以降かなり高率に発見され、加齢による死亡動物の増加とともに発見例数及び程度が増加した。雌では生後85週齢以降に約30%の発生率を示し、その程度は加齢と共に強くなった。腫瘍類似病変は生後85週齢以降で雄の少数例に認められた。これらの病変は予備試験(3ヶ月以下)で使用した動物には観察されなかった。110週齢までの総発生率は形成異常病変：雄83%(125/150)、雌31%(47/150)、腫瘍類似病変：雄3%(4/150)、雌0/150であり、雄の発生率が雌に比べて顕著に高かった。

#### 4 まとめ、考察

今回報告した病変は要約すると以下の特徴をもつ。

1. 老齢CRJ:BDF1マウスの切歯に自然発生する。
2. 顕著な性差がある。雄>雌
3. 肉眼観察では発見し難い。
4. 病変の主体は象牙質の増生と歯根部背側でのエナメル質・象牙質の歯髓方向への陥入像である。
5. 進行したものは周辺組織への圧迫、破壊を示し、腫瘍に類似するが細胞の異型性は軽く、転移を見ない。

マウスの歯牙病変(腫瘍を含む)に関する報告は極めて少なく、しかも下顎に関するものが多い。当施設では下顎の組織学的検査をルーチンとしない為、上顎のみ組織学的検索を行なったが、下顎にも同様の所見を見出す可能性もある。

なお、組織学的検査に助言を戴いた徳島大学、歯学部東 富雄教授並びに東京医科歯科大学、口腔病理学教室 山本 肇教授、清野 和夫講師に感謝する。

| 解剖時期<br>(週齢) | 検索動物数 |     | 形成異常病変    |     |    |          |     |    | 腫瘍類似病変 |   |
|--------------|-------|-----|-----------|-----|----|----------|-----|----|--------|---|
|              |       |     | 雄         |     |    | 雌        |     |    | 雄      | 雌 |
|              |       |     | 軽度        | 中程度 | 重度 | 軽度       | 中程度 | 重度 |        |   |
| ～ 12週齢       |       |     |           |     |    |          |     |    |        |   |
| ～ 48         | 2     |     | 1         |     |    |          |     |    |        |   |
| ～ 60         |       |     |           |     |    |          |     |    |        |   |
| ～ 72         | 6     | 4   | 4         | 1   | 1  |          |     |    |        |   |
| ～ 84         | 7     | 10  | 2         | 1   |    |          |     |    |        |   |
| ～ 96         | 11    | 18  | 2         | 1   | 3  | 3        |     |    | 1      |   |
| ～ 108        | 16    | 28  | 6         | 7   | 1  | 7        | 2   |    | 1      |   |
| ～ 110        | 108   | 90  | 41        | 38  | 16 | 29       | 5   | 1  | 1      | 2 |
| 計(%)         | 150   | 150 | 125 (83%) |     |    | 47 (31%) |     |    | 4 (3%) | 0 |

○勝田 修<sup>1</sup>・田子 穰<sup>1</sup>・土谷 稔<sup>1</sup>・並木 正人<sup>2</sup>・板倉 智敏<sup>3</sup> ( <sup>1</sup>三菱化成安科研・<sup>2</sup>三菱化成総研・<sup>3</sup>北大)

ラットの加齢に伴って発現する病変の中で多発する変化としては、心筋の線維化、腎症、肝臓の細胞増殖巣あるいは精巢の間細胞腫等がよく知られている。骨の加齢性変化としては骨硬化症等が報告されているが、他には十分な検索がなされておらず、特に大腿骨・胸骨以外の骨変化についての検討はほとんどなされていない。

今回演者らは発癌性試験に用いた雄ラットの大多数例で尾椎外側に軟骨組織の形成を認め、病理学的に検討したのでその詳細について報告する。また尾椎の加齢性変化についても併せて報告する。

〔材料および方法〕 検査に供した動物は24か月発癌性試験に用いられたF344/DuCrj (F344)ラットの雄190例、雌191例で、計画屠殺時の週齢は109週齢であった。このほか57、18および9週齢のCrj:CD(SD)ラットの雄57例、雌37例についても同様に検査した。

尾椎を含む全身臓器を10%リン酸緩衝中性ホルマリン液で固定し、第2～4尾椎は10%ギ酸ホルマリン液で脱灰ののち通常の病理標本作製を行った。

〔肉眼所見〕 F344ラットのうち雄の179/190例(94.2%)、雌の19/191例(9.9%)で発現頻度に群差なく、第2および3尾椎横突起の外側に1～7mm大の半球状から半紡錘形の白色硬固な腫瘤が一側あるいは両側性に認められ、特に第3尾椎部で顕著であった。これらは外観からでは全く判らず、剖検時に初めて気付くものであった。腫瘤が形成されている部位は解剖学的には尾骨筋終止部と尾筋膜の附着部を共有しており、正常では筋膜組織の合流のため白色感が増して認められる所であった。腫瘤の断面は白色から灰白色で透明感があり軟骨様を呈していた。軽度の変化は57週齢のSDラットの雄の4/37例(10.8%)でも認められたが、同一週齢の雌およびそれより若齢のラットでは全く認められなかった。

〔組織所見〕 腫瘤は尾椎横突起の外側に結合組織の結節性増殖像として認められ、109週齢の雄では178/179例とほぼ全例でその中心部に軟骨組織が形成されていた(図1)。これらは均質な膠原線維間に軟骨細胞が散在性に認められるものから、トルイジン青染色でメタクロマジーを示す軟骨基質が明らかに増生しているものまで様々であった。腫瘤の周辺部は肉芽様を呈しており、線維芽細胞や膠原線維が密に増殖し小血管も形成されていた。また時に出血、線維素の析出あ

るいは細胞浸潤等の炎症性変化が認められた。腫瘤に近接する尾骨筋では筋線維はしばしば萎縮し筋鞘核が反応性に増数しており、次第に増殖した結合組織で置換されていた。病変の進行につれて尾筋膜および横突起は腫瘤と癒合し、外骨膜から腫瘤に向かって骨膜組織の架橋像が認められた。

109週齢の雄以外の動物で肉眼的に腫瘤の認められたものでは軟骨形成のみられることは少なく、結合組織の増殖に留まる例が多かった。

上述の変化のほかに尾椎で加齢に伴って増加する変化として、椎骨各所での外骨膜増生と石灰沈着による皮質骨骨縁の不整化、椎体線維輪部の増生、骨端軟骨の変性、尾筋膜あるいは筋周囲膜の肥厚および尾動脈内膜の肥厚が認められた。

〔考察およびまとめ〕 上記の結果から、尾椎横突起外側における軟骨形成は、加齢に伴って増殖した結合組織の軟骨化生と思われた。ラットでは胴長とほぼ同じ長さの尻尾を支えるため尾根部の筋肉が良く発達しており、それらの附着部にはかなりの負荷が予想され、物理的な刺激で容易に軟骨化生が起こることが推測された。雌では軟骨形成は雄に比較するとはるかに少なく、他の加齢性変化と同じく明らかな性差があるものと思われた。

このほか椎骨の加齢性変化として外骨膜の増生や椎体線維輪部の増生が認められたが、これらは尾椎における変化であり、今後は尾椎以外の各部位における椎骨の変化についても検討を加えたい。

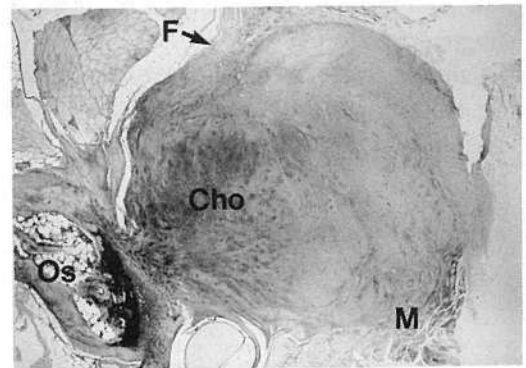


図1. 尾椎横突起外側における軟骨形成(Cho)を示す。

Os: 横突起, F: 尾筋膜, M: 尾骨筋。

PAS-アルシアン青染色。

# 示 説 要 旨

(P-1 ~ P-32)



## P-1. ビーグル犬に認められた結節性動脈周囲炎と思われる2症例

○紫垣武伸、一鬼 勉、見玉龍平 (バナファーム・ラボラトリーズ)

結節性動脈周囲炎は、中型あるいは小型の筋性動脈にみられ、フィブリノイド壊死、新旧病変の混在等を特徴とするが、イヌにおいてみられる事は希である。今回、毒性試験に供されたビーグル犬2例に結節性動脈周囲炎と思われる変化を認めたので、その病理学的特徴を報告する。

### 症例Ⅰ

7カ月齢、ビーグル犬、雌。剖検時に左右心外膜面に散在性の灰白色腫瘍および腹腔内側の横隔膜に付着した単発性の灰白色腫瘍として認められた。心臓の腫瘍は、周囲組織との境界は明瞭で、表面に軽度の出血を伴い、横隔膜の腫瘍は20×10mmの充実性のものであった。組織学的には、心臓の右冠状動脈において血管内腔から内膜への好中球主体の細胞浸潤、内皮細胞の剥離、内弾性板の破壊、中膜のフィブリノイド壊死、外膜から血管周囲にかけて好中球を主体とした細胞浸潤が血管全周性にみられ、浸潤は一部心筋の組織にも及んでいた。浸潤細胞の中にはリンパ球、形質細胞、組織球および線維芽細胞も少数みられた。横隔膜の動脈にも冠状動脈とほぼ同様の変化が認められた。また、剖検時には変化がみられなかった腎臓の葉間動脈において、内皮細胞の腫大、内膜への好中球およびリンパ球浸潤、中膜のフィブリノイド壊死、外膜から血管周囲にかけて好中球、組織球、リンパ球および形質細胞の浸潤が血管周囲の一部に認められたが、フィブリノイド壊死、細胞浸潤は冠状動脈における変化より軽度なものであった。

### 症例Ⅱ

19カ月齢、ビーグル犬、雌。剖検においては何ら変化は認められなかった。組織学的検査で、腎臓の小葉間動脈に内腔の狭窄、内膜の肥厚、中膜から外膜にかけての線維芽細胞の浸潤、外膜から血管周囲部にかけて組織球および形質細胞の浸潤がみられた。また、胸腺の小動脈に内皮細胞の腫大、中膜の一部にフィブリノイド壊死、血管周囲部に形質細胞の浸潤が認められた。

### 総括

### 症例Ⅰ

本症例は、フィブリノイド壊死を含む血管全層に炎症がみられた事、好中球主体の浸潤がみられた事、また臨床症状として白血球数の増加および体重減少がみられた事などから結節性動脈周囲炎と考えられた。ヒトにおいて、結節性動脈周囲炎は、全身の中型ないし小型の筋性動脈に多発する系統的疾患である。Arkinの病期分類(Am.J.Pathol.1930,6:401~431)によるとこの疾患は変性期、急性炎症期、肉芽期および治癒・瘢痕期よりなる。今回、本症例の右冠状動脈および横隔膜の動脈にみられた中膜の著名なフィブリノイド壊死および内弾性板の破壊は、Arkinによる分類の「急性炎症期」に相当する変化、また腎臓の葉間動脈にみられた内皮細胞の腫大および中膜の軽度のフィブリノイド壊死は「変性期」ないし「急性炎症期」に相当するものと思われた。

### 症例Ⅱ

臨床症状は認められなかったものの、腎臓の小葉間動脈に認められた内膜の肥厚、中膜から外膜にかけての線維芽細胞の浸潤、血管周囲部の組織球および形質細胞の浸潤は、Arkinによる分類の「肉芽期」の変化に近く、また胸腺にみられた内皮細胞の腫大、中膜のフィブリノイド壊死、血管周囲部の形質細胞の浸潤は、Arkinによる分類の「変性期」、「急性炎症期」および「肉芽期」に相当する変化が混在したものと考えられ、症例Ⅰと同様に結節性動脈周囲炎と推察された。



○岡田雅昭, 早川和宏, 青木豊彦, 日比野信裕, 福田 種男, 中野渡純一, 五十嵐俊二 (エーザイ(株)・安全研)

犬の皮脂腺における腫瘍は比較的ありふれた腫瘍であるといわれている。しかし、著者らがこの数年について検索したかぎりでは僅かに二報しか報告されていない (Goldschmit, Gaag)。

最近著者らは、当研究所では今までに経験のない極めて珍しいと思われる皮脂腺の過形成に遭遇したのでここに報告する。

#### [材料および方法]

動物：ビーグル犬 ある薬物の亜急性毒性試験における中間用量群の1例で、雌である。吉城ファーム (岐阜県吉城郡) 生産で、剖検時わずかに11ヶ月であった。一般状態において投与開始後1週間に薬物性的変化が投与各群に認められたが、その後は対照群を含めビーグル犬でよくみられる軟便や嘔吐が散発的に認められただけで、特に異常は認められなかった。

剖検時、本例において諸臓器組織に肉眼的に特に異常は認められなかった。また、病理組織学的にも皮膚以外には異常は認められなかった。

標本：腹部乳房付近の皮膚で、10%中性緩衝ホルマリンにて固定後、常法に従いパラフィン包埋とし、切片を作製した。

染色：H・E, P A S, コロイド鉄, Alcian blue (pH2.5), を実施し、また凍結切片を作製し脂肪染色を実施した。さらに免疫組織化学的にケラチン, ビメンチン, デスミン, ラミニン, コラーゲンtypeIV およびS100蛋白の証明も試み、なお、戻し電顕による検索も行った。

#### [結果]

増生細胞は真皮内において毛包に近接して小葉単位に結節性に増生し、好酸性に染まる豊富な細胞質を持ち、一部に空胞の存在を認める。核はまるく核小体は明瞭で、核質は淡明である。このような細胞が蜂の巣のように集積して増生している。増生巣の中心部においてP A S陽性の微細な顆粒が散見される。また Alcian blue染色およびコロイド鉄染色においては増生巣の最外層の細胞間マトリックスが陽性を示すとともに、胞体内にも陽性を示す微細な顆粒が認められた。なお、空胞は脂肪染色陽性であった。

戻し電顕による検索では、細胞質内に大小不同の空胞の存在が認められた。なお、免疫組織学的検索では犬に対する cross reaction があるかどうか全く不明であるため、その検査結果は参考データとしたい。

以上の結果より、本病変は皮脂腺の過形成と診断した。

Goldschmidt によれば、220例の皮脂腺腫の発生日部位は眼瞼が最も多く45.4%で次いで頭頸部25.4%、前肢10.9%、後肢7.8%、腹部3.2%ならびに胸部7.3%と報告している。

また Gaag は外耳炎との関連で皮脂腺の腫瘍について述べている。それによると外耳炎は角化亢進と皮脂腺および耳道腺の過形成、線維化、ならびに形質細胞、リンパ球、大食細胞の浸潤により特徴づけられるとし、外耳炎と診断された58例の平均年齢は6.58才であったと報告している。さらに外耳炎は長毛種で垂れ下がった耳を持った品種の犬に多いと報告している。

これらの報告に比べると、我々の症例は年齢が11ヶ月齢と極めて若く、また発生日部位が腹部にあることなどより、稀有な症例であると考えられる。

#### [まとめ]

今回、11ヶ月という極めて若いビーグル犬雌の腹部皮膚に発生した皮脂腺の過形成について報告した。

P-3. ビーグル犬の肝細胞胞体内に認められた好酸性滴状封入体について

○井上尚子、木村 均、菅沼和子、和田 浩（日本バイオリサーチセンター羽島研究所）

<はじめに>

約7ヶ月齢のビーグル犬の肝臓において、小葉中心性の肝細胞内に好酸性の滴状封入体が観察された。ビーグル犬は、毒性試験に多く用いられている動物種にもかかわらず、十分な組織学的検討がなされていない点も多いと思われ、薬物等により誘発される巨大糸粒体を含む肝細胞封入体等についての報告も少ない。

今回、演者らはこの症例の肝臓について、滴状封入体の性状および組織学的由来を明らかにする目的で、光顕的、電顕的に検索した結果、若干の知見を得たので報告する。

<材料および方法>

材料の雌のビーグル犬は、動物生産施設において生産され、一般状態、体重測定、寄生虫検査、細菌・ウイルス疫学検査、眼検査および予防接種（4種混合、2種混合、バルボ）を受け、生後約5ヶ月齢にて当試験施設に導入された。その後5週間の予備飼育期間を経て毒性試験に供され、約7ヶ月齢で計画屠殺された。試験群は薬物の影響を受けていない無処置対照群であった。予備飼育を含めた試験期間中に一般状態、体重、摂餌量、摂水量の測定、生理検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、腎機能検査、心電図検査等を行った。放血致死後剖検され、肝臓は常法に従い10%中性緩衝ホルマリンで固定後、各葉についてパラフィン包埋のち薄切、H.E.染色を施した。その他、PAS反応、Toluidine blue染色、Azan Mallory染色、Masson trichrome染色、Luxol fast blue(LFB)染色、Phloxine tartrazine染色、PTAH染色等の特殊染色を実施し、封入体の染色性の検討および正常肝組織との比較検討を行った。また、10%中性緩衝ホルマリン固定材料の一部をエボン包埋後、超薄切片を作製し、ウラニール・鉛二重染色を施し透過型電子顕微鏡による観察を行った。

<結果>

1. 臨床所見

生産施設における諸検査に異常を認めていない。また、試験期間中の一般状態、各測定および検査値

にも異常は認められなかった。

2. 剖検所見

剖検前の体重は8.2kgで外表所見に異常なし、肝臓の重量は158.8gで他の臓器ともに異常な所見を認めなかった。

3. 病理組織学的検査所見

光顕所見：肝臓のH.E.染色標本では、胞体内に好酸性滴状封入体を持つ肝細胞が小葉中心性に認められ、封入体の大きさは肝細胞核と同大あるいはそれ以下であり、1つの胞体内に1ないし数個みられた。封入体を有する肝細胞は明澄化を示すものが多く観察された。そのほかに異常と考えられる所見は認められなかった。各特殊染色の結果を表に示す。

| 染色法                   | 染色性    |
|-----------------------|--------|
| PAS反応                 | 陰性     |
| Toluidine blue染色      | 青      |
| Azan Mallory染色        | 淡赤～赤～橙 |
| Masson trichrome染色    | 淡赤～赤   |
| LFB染色                 | 青      |
| Phloxine tartrazine染色 | 赤～橙    |
| PTAH染色                | 淡青～深青  |

電顕所見：封入体は単位二重膜で被包されており、内部は比較的電子密度が高く、均質無構造状～顆粒状を示し、一部の封入体中には単位二重膜に沿うように二重膜様の構造物が観察された。また、封入体は近接肝細胞内の糸粒体と類似性を示した。

<考察>

ビーグル犬の肝においては低頻度ながら自然発生のPAS陽性の胞体内封入体が報告されている。しかし、今回観察された胞体内好酸性滴状封入体はPAS陰性であり、糸粒体起源が強く示唆され、巨大糸粒体由来と考えられた。巨大糸粒体は種々の疾患において報告されているが、本例のごとく生化学的および病理組織学的にも本変化以外に著変を認めていない無処置例に出現したことは希であり、その病理発生の検討が必要と考える。

P-4.

両側視神経障害および多臓器内褐色色素沈着を示したカニクイザルの一例

○田中 薫、鳥越徳雄、永田良一\*（新日本科学 病理部、毒性部\*）、池田和彦（東京大学 脳研病理）、横田真一（鐘淵化学工業 医薬品事業部）

一般毒性試験において使用される大動物としては、従来ビーグルが主であったが、近年サルが漸次使われる機会が増えてきた。

当研究所では、カニクイザルを使用した毒性試験が数多く施行されてきたが、最近、偶発的で非常に稀なものと思われる病変（両側視神経障害&多臓器内褐色色素沈着）を示したカニクイザルを一匹経験したので報告する。

当該カニクイザルは、フィリピン原産でCharles River Primates社から購入した。推定年齢は、歯による判定で5才前後であった。このカニクイザルは、諸検査（一般状態、眼科学的検査、体重、摂餌量、臨床検査）で異常は認められなかった。剖検は、ペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死後施行した。諸器官の重量は、正常範囲内であり、剖検時の肉眼観察では、特に異常所見は観察されなかった。光学顕微鏡検査によって本症例に特有な変化として、両側視神経障害と多臓器内褐色色素沈着が認められた。

両側視神経障害：一側の視神経は殆ど荒廃と云いうる程の激しい変性像で、クリューバー・バレラ染色にてミエリンはごくわずかしか残存しておらず、間質成分たる血管や線維及びグリア系の細胞が顕著に認められた（図1）。但し、一般的な意味での炎症像は見られなかった。障害部位は、強膜篩板より脳側で認められたが、大腦底部の視神経路及び網膜には異常所見は観察されなかった。

他側の視神経には、同様の変化が一部に軽度ではあるが認められ、初期像と考えた。

多臓器内褐色色素沈着：沈着が認められた部位は、中枢神経内神経細胞〔大腦、小腦のプルキニエ細胞及び齒状核（図2）、脊髄〕及び神経膠細胞、脈絡叢上皮、肝臓、心臓、甲状腺、上皮小体であった。なお、これらの器官において、細胞の障害像は認められなかった。腎臓、脾臓、リンパ節、骨髄、腸でも褐色色素が見られたものの、色調から、通常のカニクイザルに見られるもので、問題にしている色素とは別物と判断した。

この褐色色素は、ヘマトキシリン・エオジン染色で通常見られるリポフスチンよりも赤みが強かった。自家蛍光及び脂肪染色は弱陽性であった。この色素の性質については、更に特殊染色や電子顕微鏡的検査を行って検索する予定である。また、文献的考察もあわせて報告したい。

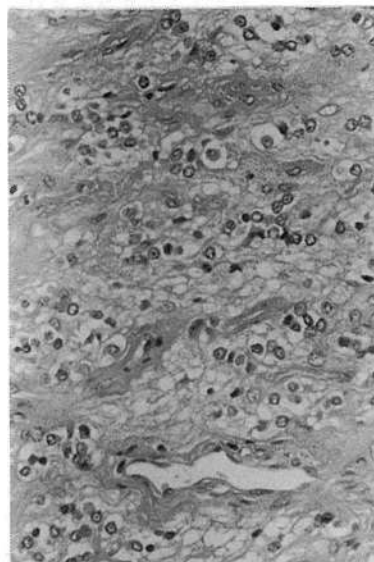


図 1

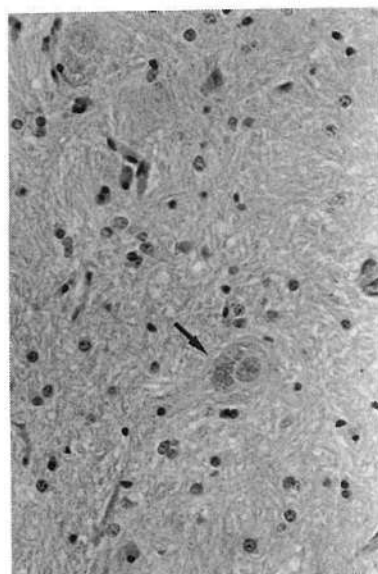


図 2

## 〔緒言〕

ラットの自然発生病変は広範囲に研究され数多く報告されているが、膣の病変に関するものは殆ど見られない。今回我々は、膣円蓋(Vaginal fornix)の嚢胞性拡張を主とする特異的病変をF344ラットに多数認め病理学的に検索したので報告する。

## 〔材料と方法〕

動物は、医薬品の癌原性試験に供されたCrj:F344/Du(Fischer)の雌ラット250匹である。飼育は、SPFバリアーシステム内で1ケージ当たり4匹収容し上水道と粉末飼料(CA-1)を自由摂取させた。109週齢で血液学的検査を実施後計画屠殺し、42以上の諸臓器を病理組織学的に検査した。なお109週齢での生存率は84.4%で、被験物質による癌原性は全く認められなかった。

## 〔結果〕

剖検で対照群の16例を含む50例(20%)の子宮頸部のやや背側部すなわち骨盤腔内に1個あるいは左右に2個の結節性病変が観察された。大きさは、2x2x2mmから10x10x10mmで、白色～黄緑色～緑色を呈し、表面は比較的平滑であった。これらは92週齢以降のラットにみられ、週齢を増すとともに増加したが、群間の発生頻度に用量相関はなく、被験物質の影響は認められなかった。

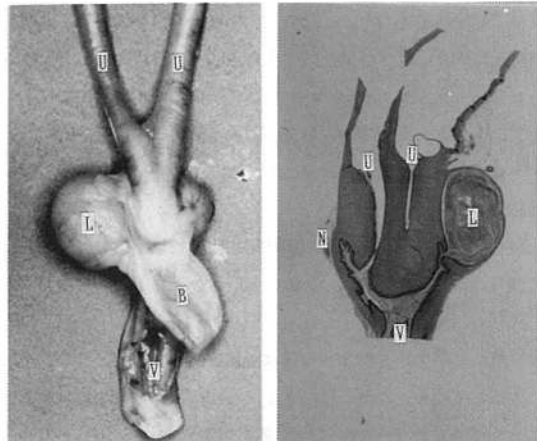
病理組織学的には、この結節性病変は膣円蓋の内容物を満たした嚢胞性拡張であった。いずれも膣上皮と同様の重層上皮で覆われ、不完全ながらもそれぞれの性周期に対応した性状を示したが、膣自体の性周期よりやや遅れた像を呈するものが多かった。内容物の大部分は、通常の膣スメア一像を想起させる淡明な剥離上皮・角質・好中球を種々の割合で混在したものであった。しかし少数例では、角質以外の他の要素は全く見られないものや、好中球を主とするものが見られ、あたかも類表皮嚢胞あるいは膿瘍の像を呈していた。一部では、被毛の断片の混在したものや、両側性に病変を有する例では、左右の内容物が異なる例も見られた。これらの病変は、ごく狭い開口部を介してその内容物を子宮腔部に排出していた。更に、上皮の角化傾向の強いものでは隣接子宮口上皮に角質肥厚および異常角化を示す例も認められた。

この病変を有するラットの血液学的検査では、単核球性白血病を併発した11例を除き、特徴的所見は得られず、臨床的にも12例に膣口よりの出血あるいは褐色液の流出が認められたが、いずれも子宮の内膜間質ポリープを併発する例で、本病変に特異的なものではなかった。また、本試験ではF344ラットで通常報告されている自然発生病変および腫瘍が多数見られたが、この病変との関連性は明かではなかった。なお、卵巣は黄体や卵胞の数はやや少ないものの、ほぼ正常であった。

## 〔考察〕

ラットの膣円蓋は、膣腔に突出した子宮頸を囲むように膣腔が陥入したもので、深いものは背側の左右に位置する。その上皮は膣と同じ重層上皮からなり、同様に性周期に反応する。本病変の内容物に好中球を主体とするものが散見されたが、角質・脱落上皮が混在すること、好中球の全く見られないものの存在や、血液検査あるいは他臓器の病理学的検査結果から、感染に起因した膿瘍ではなく、むしろ、性周期に対応した好中球が膣蓋腔内に貯留したものと考えられた。また、この病変は、92週齢までは全く認められなかったことや、ほぼ同一条件で飼育し59週齢で屠殺した120例のF344ラットにも認められなかったことから加齢性病変と考えられた。一般にラットの子宮頸部は加齢と共に線維性に肥厚し、Wolfe(1942)によれば膣は加齢と共にコラーゲンが増加する。従って、本病変は、加齢による子宮頸の肥厚をはじめとする何等かの原因で生じた膣円蓋の開口部の狭窄、あるいは排出量を上回る円蓋の過剰な角質・脱落上皮の産生・好中球の浸潤に基づく変化であろうと考えられた。

F344ラットは広く毒性試験あるいは癌原性試験に用いられ、その自然発生病変の報告も非常に多い。しかし、我々の検索した範囲では、膣円蓋のこの病変に関する報告はまったく見あたらない。その原因として、飼育環境やブリーダーの差も考えられるが、本病変が骨盤腔内に位置するため、剖検時に恥骨結合を切開し左右に充分広げ骨盤腔内の結合織を取り除き、子宮頸部の背側面まで詳細に観察しなければ発見できない点にあるのではないかと想像される。



〔肉眼像〕

〔組織像〕

L:病変、 U:子宮、 V:膣、 B:膀胱、 N:正常円蓋

○渋谷一元, 山手丈至, 伊原三重子, 工藤 悟, 田島正典 (日生研)

医薬品の安全性評価において眼科学的検査は重要な検査項目の1つである。供試前の眼科学的検査によって眼科学的異常を示す動物を事前に試験系から除外しておくことは、安全性試験の精度を上げるために重要である。若齢の実験動物における自然発生性の眼科学的異常に関する報告は、先天的な眼科学的異常を示す疾患モデル動物に関する報告を除けば非常に少ない。我々は、さきに若齢のSlc:Wistarラットに観察された非定型的な一側性視神経無形成症について報告した(Vet. Pathol.: 26, 1989)。今回我々は、6週齢のFischer 344/DuCrj (F344) 雌ラット1匹に一側性視神経無形成症を経験したので、その眼科学的所見及び視神経路の病理学的所見を報告する。

#### 【材料及び方法】

症例は、安全性試験に使用するため日本チャールス・リバー株式会社から5週齢で購入したF344ラットのうちの雌の一匹である。動物は、当所のバリアー・システム下の動物室で飼育し、入荷後1週間の馴化期間中に眼科学的検査を実施した。眼科学的検査は、外観を肉眼的に観察し、前眼部をWelch Allyn社製検眼鏡で観察した。散瞳剤を点眼し、散瞳させた後、検眼鏡及びKowa社製RC-2型眼底カメラで中間透光体及び眼底部を観察した。眼科学的検査後、剖検し、眼球はブアン液で、視神経、脳及び頭蓋骨を10%中性緩衝ホルマリンで固定した。眼球、視神経、脳ならびに脱灰後に頭蓋骨から切り出した眼窩部及び視神経管部をパラフィン包埋後、間断連続切片を作成し、Hematoxylin and Eosin (HE)染色、Bodian染色、Klüver-Barrera (KB)法及びPTAH染色を施した。一部のパラフィン切片について、免疫組織化学的にグリア線維性酸性蛋白(GFAP)、神経特異的エノラーゼ(NSE)及びミエリン・ベースック蛋白(MBP)をPAP法によって染色した。HE標本において、網膜各層の厚さを光顕的にマイクロメーターを用いて計測した。

#### 【結果】

眼科学的検査より、左側眼球眼底部は褐色暗調で、視神経乳頭及び網膜中心動脈の欠損が観察された。その他の眼科学的異常は認められなかった。

剖検において、左側の視神経は眼球後極から視交叉まで完全に欠損していた。これに付随して、右側の視索の縮小が全域にわたり認められた。摘出した眼球は、左右とも同じ大きさであった。その他の諸臓器に肉眼的異常は認められなかった。

組織学的に、視神経欠損側眼球では視神経乳頭及び網膜中心血管系の無形成、網膜の低形成、異形成及びロゼット形成、毛様体の異形成、ならびに虹彩色素上皮の一部過形成が観察された。硝子体内には、遊離した小血管が観察され、軽度の出血を伴っていた。視神経欠損側の網膜は、全層が低形成を示した。特に、外側網状層、内顆粒層、内網状層及び神経細胞層は重度の低形成を示し、神経線維層は菲薄で、ほとんど形成されていなかった。抗NSE抗体の免疫組織化学的染色によって、神経線維層において明らかな神経線維は観察されなかった。視神経欠損側の網膜全層に対するこれら内層の比は、正常側及び正常対照の値に比べ明らかに低下していた。神経細胞層における神経細胞は、減数し、配列が疎であった。

視神経管は、両側とも同じ大きさに開存していたが、視神経欠損側の視神経管内及び眼窩内には、視神経線維束は観察されなかった。

対側の視交叉及び視索の著明な低形成が観察された。これらの部位に炎症性の細胞浸潤はなかった。Bodian染色によって、低形成部の神経線維の太さに変化は認められず、KB染色及び抗MBP抗体の免疫組織化学的染色によって、その部位の神経線維に脱髄像は観察されなかった。また、抗GFAP抗体の免疫組織化学的染色によって、その部位にグリア線維の増殖も認められなかった。

対側の外側膝状体及び上丘においても、低形成が観察された。これらの神経核では、その領域の縮小に伴って神経細胞の配列が不規則であった。これら神経核に分布する神経線維は、正常側に比べ明らかに減少し、神経線維束の配列が不規則となっていた。

#### 【考察】

F344ラットにおける一側性視神経無形成症の眼球及び視神経路の病理組織学的特徴を述べた。本症例は、視神経乳頭及び網膜中心血管系を欠いていたが、網膜神経細胞層に散在性ではあるが神経細胞が存在していたため、真の視神経無形成症の定義には合致しない。従って、非定型的な一側性視神経無形成症と診断した。



○廣内康彦<sup>1</sup>, 長嶋和郎<sup>2</sup>, 岩田 聖<sup>1</sup>, 小池嘉秀<sup>1</sup>, 小林和雄<sup>1</sup>, 榎本 眞<sup>1</sup> (<sup>1</sup>安評センター, <sup>2</sup>北大・2病)

実験動物における脳腫瘍の自然発生は極めて稀で報告例も少ない。F344系ラットでの発生率は、雌より雄に多く組織学的には星膠細胞由来の腫瘍が多くを占める。今回我々は長期毒性試験に供したF344ラットの雌の大脳後中央寄りに未分化な形態を示す診断困難な腫瘍の発生を認めたので、その病理形態学的特徴を報告する。

#### (症例と検査方法)

動物は、日本チャールズリバー株式会社より5週齢で購入、6週齢で通常の飼育環境下で毒性試験に共し89週齢で死亡解剖した。

肉眼所見では、脳に軽度の腫脹を認めるのみで他の臓器に病変は観察されなかった。正中線にそった剖面観察では5×6mmのほぼ楕円形の境界明瞭な灰白色結節を認めた。

材料は常法に従い、10%中性緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋しH.E、PAS、ボディアン、クリューバ・バレラ染色等および免疫染色：即ちABC、PAP法によるNSE、GFA、EMA、S-100、MBP染色を行い顕微鏡観察した。

#### (組織学的所見)

大脳後中央を占め後葉側に発生した結節性の腫瘍で、腫瘍細胞は、一部浸潤性増殖を示すが大部分は圧排性発育を示し、前方は大脳横裂に面し、正常部組織とは明瞭に区分されている。側脳室の拡張、小脳の圧迫性萎縮を伴っていた。松果体は、肉眼所見で正常であった。

腫瘍細胞は比較的大型でやや疎な発育を示す領域と、小型で密な発育を示す領域とで構成されており、前者の領域では腫瘍細胞は大小さまざまな類円形、紡錘形および多核巨細胞などより成り、多彩性を示す。核は比較的明るく封入体を伴う珍奇な形態像を示すものも一部に見られた。細胞質はきわめて豊富なエオジン好性の胞体を持つものが多く一部に線維芽細胞様の像を呈するものも見られた。細胞配列は一般に不規則であるが、壊死巣を中心とする偽柵状配列も観察された。細胞突起の血管周囲への指向性は乏しく、真性ロゼットおよび偽ロゼット形成の明確なもの認められない。

小型で細胞密度の高い領域は細胞質が乏しく、大部分はクロマチンに富む核を持つ。大小様々な壊死巣周囲に偽柵状配列を示す部もあるが典型例は少ない。血管周囲

に集積する部も殆どが細胞突起の発育を欠き、偽ロゼット形成も認められない。いずれの領域にも核分裂像は多数ではないが、認められた。血管は豊富であるが内皮細胞に明瞭な反応性増殖は認められなかった。その他、血栓形成及び出血巣は観察されなかった。

正常組織と腫瘍細胞の境界に接して存在する多核巨細胞はPAS染色で陽性を示した。

#### (免疫組織化学的検索の結果)

NSE；一部陽性を示したが大部分は陰性であった。

GFA；腫瘍周囲のreactive astrocytesが強く陽性を示した。腫瘍内で一部陽性を示すが、腫瘍内に取り込まれた既存のastrocytesと考えられた。

EMA；陰性。

S-100；大型で疎の領域で一部陽性、小型で密な領域は散在性に陽性。

MBP；PAS陽性の多核巨細胞に一致して陽性を呈した。

#### (考察と結論)

組織発生の分化上の特徴を指標に、悪性度も考慮し検討した結果、脊髄中心管構造を模倣する真性ロゼットおよび偽ロゼット形成を特徴とするependymoma, medulloblastoma, 蜂窩状構造および石灰沈着等が特徴のoligodendroglioma、核配列などに特徴を示すschwannoma, whorled cell arrangementなどを示すmeningiomaのいずれにも相当しないと考えられた。また、松果体は肉眼的に正常を示し、本症例と相関はなかった。

未分化な母細胞原発、あるいは高度な退形成腫瘍とされるglioblastomaに似る点もあるが、浸潤性発育像は本症例では殆ど示さない。従って、組織形態および免疫染色等より未分化glia系の細胞の腫瘍(primitive glioma)に相当するが、細胞分化の方向が必ずしも明確でないこと、また、線維肉腫様の混在のあることから、primitive neuroectodermal tumor with glial differentiationと診断した。

研究協力者：山川誠己、萩原 孝

## P-8. 骨髄原発と考えられるラット自然発生組織球性肉腫

○小笠原裕之, 小野寺博志, 永岡隆晴, 外館あさひ, 渋谷 淳, 前川昭彦 (国立衛試・病理)

近年ラットにおいて一つの独立疾患として組織球性肉腫という概念が提唱されている。現在この腫瘍の原発部位は主として肝あるいは皮下と考えられている。我々は以前 Donryuラットの自然発生腫瘍について報告した。このラットは、他系統例えば F344ラットなどと比較して腫瘍の臓器分布・発生率がかなり異なっており、その中に少数例ながら組織球性肉腫が認められた。

今回我々は、Donryuラットの組織球性肉腫についてその頻度、発生部位および病理組織学的特徴を F344ラットのそれと比較検討した。

### 【実験材料および方法】

当所で自然発生腫瘍の検索を目的として用いた雌雄各100匹の Donryuラットおよび最近終了した5つの癌原性試験の対照群として用いた雌雄各250匹の F344/DuCrjラットについて検索した。動物はバリアーシステム内で110~120週まで飼育した。死亡または屠殺・剖検した動物について全臓器を中性緩衝ホルマリンで固定後、常法に従って組織標本を作製し検索した。

### 【実験結果】

Donryuラット(有効動物数 雄95、雌96)においては雄5例(5.3%)、雌4例(4.2%)に組織球性肉腫の発生をみた。これに対し F344ラット(有効動物数 雄244、雌243)では、雄3例(1.2%)、雌1例(0.4%)と少なく、腫瘍発生率に系統差が認められた。

これら組織球性肉腫のみられたラットでは貧血が強く、剖検所見として肝、脾やリンパ節の腫大が見られたことにより全て白血病と診断された。組織学的に骨髄は全例において空胞状あるいはスリガラス状の豊富な胞体を有する類円形または多角形の組織球性細胞で置換されていた(写真1)。肝においては腫瘍細胞が類洞内にびまん性に浸潤する像(写真2)や小さな肉芽様結節あるいは大きな腫瘍結節を形成する所見もみられた。腫瘍が結節状に増殖した部分では、腫瘍細胞は時に紡錘型を呈し、中心部に壊死、それを囲むように腫瘍細胞の偽柵状配列などの所見もみられ、時に Langhans 型巨細胞の出現を認めた。多くの場合腫瘍細胞は中等度の異型性を示し、また分裂像も多く見られた。時に腫瘍細胞内に赤血球や色素などの貪食像が認められた。脾あるいはリンパ節におい

ても同様の腫瘍細胞がびまん性あるいは結節状に増殖して認められ、まれに肺血管内に腫瘍細胞の栓塞がみられた。Donryuラットと F344ラットでは腫瘍の組織学的所見に差異はみられなかった。また、これら腫瘍性病変以外に Donryu, F344ラットともに少数例ながら骨髄内に組織球性細胞の過形成がみられ、組織学的には組織球性細胞の限局性増殖として認められた。

### 【考察】

これまでラットにおける組織球性肉腫の自然発生は主として SD、Wistar あるいは BDII ラットにみられ、原発部位は肝あるいは皮下とされており、骨髄原発の組織球性肉腫については報告がない。

今回みられた組織球性肉腫は、組織学的に軟部織に発生する悪性線維性組織球腫と類似していたが、Storiform pattern を欠き、巨細胞も Touton 型巨細胞ではなく、Langhans 型巨細胞であるなど、典型的な悪性線維性組織球腫の組織像とは異なっていた。

今回検索した組織球性肉腫と診断した全症例において骨髄に病変がみられた。また、他臓器には何ら病変がみられず、骨髄のみに前癌病変と考えられる組織球性細胞の限局性過形成を示す症例もあった。以上のことはこの腫瘍は骨髄が原発である可能性を示唆していると思われる。しかし、肝や皮下あるいは骨髄を含む造血器系からの系統的発生の可能性も否定できない。今後さらに詳細な検討が必要である。

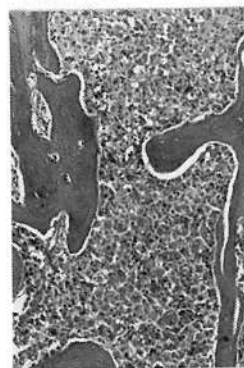


写真1

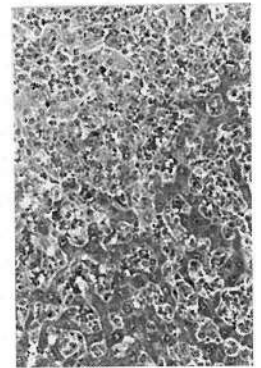


写真2



村岡義博, 松井信志, 原田 稔, \*牧野 進(塩野義研, \*塩野義油日ラボ)

Nonobese-nondiabetic (NON)マウスは, non-obese-diabetic (NOD)マウスと同じく, 牧野らが非近交系ICRマウスより近交系として確立した系統である。遺伝的には両系は互に独立した系統と考えられている。NONマウスの性格付けの一環として, 腎糸球体病変を中心に2, 3の検討を行った。

1. 標準環境下で飼育されたNONマウス183匹(雄84匹, 雌99匹; 8-62週齢)の肝, 腎, 膵, 脾, 頸下腺, 肺等について, H-E及びPAS染色により組織学的に検索した。特徴的な変化は, 腎糸球体毛細血管内にみられたエオジン淡染, PAS陽性の塞栓様構造物形成であり, 13週齢以上で発生し, 雄30%, 雌36%の発生率であった。雌においてのみ腎近位尿管直部の拡張とその部位の上皮細胞質内に大小のヒアリン滴出現が36%の頻度でみられた。他に血管周囲を主とするリンパ球の集合が腎(雄47%, 雌44%), 肝(雄16%, 雌21%), 膵外分泌腺(雄9%, 雌12%), 肺(雄2%, 雌3%)にみられた。右腎盂の拡張は雄18%, 雌7%であった。糸球体以外の病変の発生頻度及び腎重量には, 塞栓様物質保有例と非保有例の間に差がなかった。

2. 塞栓様物質の染色特性を調べたところ, PAS陽性は, アミラーゼ消化試験に抵抗性を示し, ペプシン消化により陰性となった。ズダンⅢ, ズダン黒Bに強陽性を示し, 脂質抽出処理により陰性となった。コンゴアレッド, ワイゲルト(線維素染色), PTAHの各染色は陰性であった。IgMは強陽性で, IgG, C<sub>3</sub>は弱陽性, フィブリノーゲンは陰性であった。

3. 電顕的に, 塞栓様物質は中等度電子密度の微細粒子(径300 nmまで)からなり, その内部は均質で脂質様であった。この物質は糸球体血管腔を押し上げて詰まっていた, 部分的に積層状に配列しているところもあった。同じ形状の物質は血管腔内のほか, 糸球体内皮側あるいはメサンギウム領域内にも認められた。アミロイドやフィブリン構造はみられなかった。

4. 末梢血中の血小板数, 血漿中フィブリノー

ゲン, 血清中及び尿中フィブリノーゲン分解物, 血漿中尿素窒素, クレアチニン, グルコース, コレステロール値には塞栓様物質保有例と非保有例との間に差はなかった。また, 尿糖はどの例にもみられなかった。

5. 6週齢(塞栓未発生週齢)の雌NONマウスを1群10匹ずつよりなるI-VI群に分け, 4ヵ月間にわたって以下の処置をした。I群; 無処置対照, II群; 去勢, III群; 片腎摘出, IV群; 去勢+testosterone propionate(TP, 20 mg/kg, 週3回), V群; 去勢+estradiol 17-β(400 μg/kg, 週3回), VI群; 制限食(I群の70%摂取)。処置期間終了周辺で臨床検査及び腎の病理検査を行った。VI群で塞栓は形成されず, I-V群での発生率は, 雌50-80%(雄50-60%)であった。他の特徴である雌における近位尿管直部の拡張は, VI及びIV群ではみられず, II, III, V群では40-90%であった。腎血管周囲のリンパ球集合には処置間の差はなかった。

以上の如く, NONマウスの諸器官を調べたところ, 13週以上で腎糸球体糸球体内にPAS陽性の脂質様物質沈着を特徴とする腎病変が認められた。この病変は制限食により完全に抑制され, 発現要因の一つに食餌性要因の関与が示唆された。他の特徴である雌における近位尿管直部の拡張は, 制限食あるいはTP投与により完全に抑制され, 食餌性要因のほか男性ホルモンの関与が考えられた。

## P-10.

培養末梢血単球によるチェンバースライドを用いた

薬物誘発性脂質症の形態学的スクリーニング法

○杉本 哲朗<sup>1)</sup>、鈴木 繁生<sup>1)</sup>、竹田 泰久<sup>2)</sup>、土屋 陽子<sup>2)</sup>、辻 紘一郎<sup>3)</sup>

(中外製薬備安全研<sup>1)</sup>・応用研<sup>2)</sup>、CSK実動研<sup>3)</sup>)

種々の cationic amphiphilic drug によって脂質-薬物複合体がライソゾーム内に蓄積する脂質症が誘発されることが知られている。そのスクリーニング法の一つとして、ラットの培養腹腔マクロファージに薬物を暴露し、遠心法により細胞をペレット状にした後、電顕的に観察する方法が報告されている。今回、採取の容易な末梢血単球を培養細胞として、さらにスライドガラス上にチェンバーを備えた培養器具を利用することで、簡便な形態学的スクリーニング法を検討した。

ラット末梢血をヘパリン採血し、Nycodenz Monocytes (Density:1.068 g/ml, Nyegaard & Co. AS)による比重遠心法で単球層を採取した。次いで、RPMI 1640で洗浄後ティシュー・カルチャーチェンバースライド (4槽、Lab Tek) に  $10^6$  /  $0.5$  ml / 槽の細胞を  $CO_2$  インキュベーター内で3時間培養し、非付着性の細胞を除去して実験に供した。

脂質症を誘発することが知られている 4,4'-Diethylethoxy-hexestrol を、チェンバースライドの4槽にそれぞれ、0、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  および  $10^{-6}$  M の濃度で暴露し、24時間培養した。

培養後、チェンバーをはずしてスライドガラ

スの状態にして、光顕および電顕用の標本作製した。光顕的観察には、カルシウム・ホルマリン固定を行った後、Bakerの方法に従ってリン脂質染色を施した。電顕的観察には、2.5%グルタルアルデヒドおよび1%オスミウム酸固定後、エタノール上昇系列にて脱水し、倒立法によりエポキシ樹脂包埋し、酢酸ウラン・クエン酸鉛重染色を施した。

$10^{-5}$  M の暴露条件で、光顕的にはリン脂質染色により濃青色に染まる陽性顆粒が細胞質内に多数観察され、それに対応して電顕的には層板状を呈したミエリン様小体の形成が確認された。 $10^{-6}$  M ではそれらの出現は非常に軽度であった。 $10^{-4}$  M では、細胞は死滅した。

本法はマクロファージ化する性質を有する培養末梢血単球を用いることから、細胞の採取が容易で種々の動物種での検討ができる。また、チェンバースライドを利用することによって、①煩雑な操作を行うことなく標本作製が可能である、②容易な光顕観察の結果を踏まえた後、さらに電顕的に確認する段階的な対応ができる、③同一スライド上で薬物濃度などの比較観察が行える、などの利点を有し、スクリーニング法として有用性を発揮するものと思われる。

P-11. Fischer344ラットの肝泡沫細胞に対するコレステロール負荷およびdiethylhexyl phthalate経口投与の影響

○松本悦嗣 矢本 敬 五十嵐功 高岡雅哉 加藤佐和子 松沼尚史 [三共(株)安全性研究所]

[目的]

Fischer344(F344)ラットの肝臓に泡沫細胞(Fig. 1, 2)が観察され、加齢に伴ってその出現頻度が増加する。この泡沫細胞の形態学的特徴と血中脂質との関連を明らかにする目的で経飼的なコレステロールの負荷あるいは脂質低下剤投与の影響を検索した。

[材料および方法]

自家生産のF344ラット(雌:6週齢)を用い、無処置対照群、1%コレステロール添加粉末飼料給与群、diethylhexyl phthalate(DEHP)20 mg/kg/day経口投与群の3群を設定し、3箇月間および6箇月間投与を行った。血液生化学的検査を行い、常法に従って作製した肝臓のヘマトキシリン・エオジン染色標本について、泡沫細胞の出現頻度を鏡検し、また、画像処理装置を用いて、泡沫細胞の面積を計測した。

[結果および考察]

コレステロール負荷群で総コレステロール、トリグリセリドおよびβ-リボ蛋白の値が高値を、DEHP経口投与群でトリグリセリドとβ-リボ蛋白が低値を示した。

コレステロール負荷群ではグリソン鞘に検出される泡沫細胞の数および面積が減少し、類洞内には検出されなかった。DEHPを6箇月間投与した群では、泡沫細胞の数および面積の増加がグリソン鞘と類洞内の両方で認められた。

泡沫細胞の数と大きさは、血清中のトリグリセリドおよびβ-リボ蛋白の値が高いと減少し、低いと増加していた。したがって、F344ラットの肝臓に検出される泡沫細胞の増減には脂質代謝が関与している可能性がある。ただし、渋谷ら(1989)の報告ではラットの肺に認められる泡沫細胞は、血清のβ-リボ蛋白値が高いと増加していて、本実験結果とは一致しない。そこで、毒性病理学的な視点から肝臓の泡沫細胞と脂質代謝の関連についてさらに詳細な検討を行う。

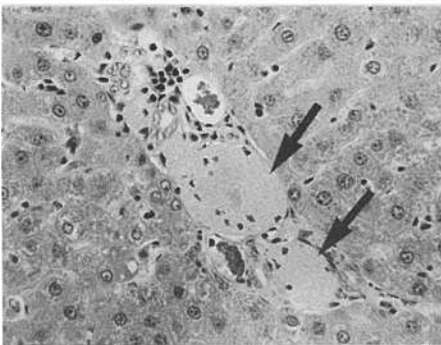


Fig. 1 肝臓に認められた泡沫細胞

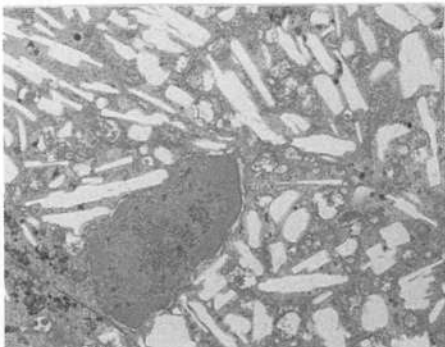
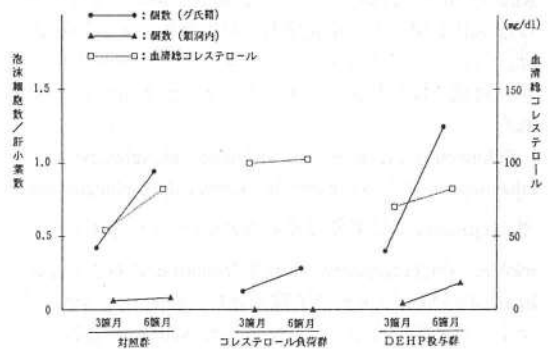


Fig. 2 Fig. 1の電顕像



F344ラットの肝泡沫細胞出現頻度に対する血清総コレステロール値の影響

## P-12.

### Acid lipase 異常ラット (Wolman病ラット) の特性—血中脂質の変動—

○岡崎啓幸, 尾根田暁, 畠中真吾, 下園孝治, 栗山 勝\*, 吉田浩己  
(鹿児島大学 医学部一病理, \*三内), 永田良一 (新日本科学 毒性部)

ライソゾーム酵素の一つであるacid lipaseの先天性欠損により, コレステロールエステルが蓄積する疾患には, ほとんど一歳未満で死亡する予後不良のWolman病と高リポ蛋白血症と若年性動脈硬化症が特徴的なコレステロールエステル蓄積症がある. われわれは, Acid lipase 欠損ラットを発見し, 維持している. 今回はこのラットの特性とコレステロール食の影響, 特に, 血中脂肪の変動について報告する.

1981年肝脾腫を呈した一匹の雄Donryuラットが吉田により発見され, 多くの交配の結果, 同疾患ラットを生産する一対の親ラットが同定された. この疾患ラットは, 離乳時すでに体重が小さく, また, 臆開口も著しく遅延し, 生後12~15週で死亡する. 雄雌とも繁殖能力がないため, ヘテロで継代維持されてきた. ヘテロラットでのbrother-sister交配試験の結果, この疾患は常染色体劣性遺伝であった. 肝臓及び脾臓は著明に重量が増し, 組織学的には肝細胞は空胞化し, 肝臓のKupffer細胞, 脾臓, リンパ節, 腸管の細網内皮系細胞は泡沫状を呈した. 生化学的には疾患ラットの肝臓では, 特にトリグリセライドとコレステロールエステルが, 脾臓ではコレステロールエステルが多量に認められた.

Sphingomyelin, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine等のphospholipids, neutral glycosphingolipidsやgangliosides量に異常は認められなかった. [<sup>14</sup>C]-triolein, [<sup>14</sup>C]-cholesteryl oleate等のsubstrateに対するacid lipaseの活性は肝臓及び脾臓で著しく低下し, ヘテロラットでは中間値を示した.  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galacto-

sidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase,  $\alpha$ -fucosidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -glucuronidase等の他のライソゾームのhydrolaseの活性の低下は認められなかった.

これらの結果より, このラットはライソゾームのacid lipase活性低下によりコレステロールエステル及びトリグリセライドの蓄積が引き起こされたものと考えられる. 肝細胞の脂肪変性は経時的に高度となり, 肝細胞の壊死を伴い, 血中のGOT, GPT, LDHも著明に上昇する. ゆえに肝機能不全が直接の死因と考えられる. 血中の総コレステロール量も幼若時に既に高いラットが多いが, 死亡時までには明瞭なる動脈硬化症は認められなかった. しかし, acid lipase活性の低下は動脈硬化促進因子と考えられているので, このラットは動脈硬化発症の素因を十分持ち合わせており, 動脈硬化発症因子の検定用ラットになる可能性が高い. この検定用ラット作製の手始めとして, 現在コレステロール食で飼育中であり, その結果も併せて報告する.

## P-13. 遺伝性肝炎 (LEC) ラットの肝でみられる超微構造的変化

○加我雅代<sup>1)</sup>、高橋秀俊<sup>1,2)</sup>、水無瀬昂<sup>1,2)</sup>、森道夫<sup>1,2)</sup>、竹内雅也<sup>1)</sup>、小野江為則<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>札幌総合病理、<sup>2)</sup>札幌医大・病理)

遺伝性肝炎 (LEC) ラットは、単一の常染色体劣性遺伝子により支配された肝炎を発症する疾患モデル動物として樹立され、近交系で維持されている Long-Evans 系のラットである。生後正常に発育するが、16 週齢前後に黄疸を伴った急激な肝障害を発現し、重篤な場合には短い経過で死に至る。死亡しなかった個体では、黄疸は回復するが肝細胞壊死が終生持続し、生後 1 年以上経過した LEC ラットでは高率に肝癌の発生をみる。

肝炎の本態や肝炎発生を支配する遺伝子の役割は未だ解明されていない。また電顕的には virus 粒子の存在は否定されているが、肝細胞壊死の特徴や肝炎発症前の肝細胞の超微構造的変化についての報告にも乏しい。今回われわれは、LEC ラットの肝細胞の特徴を理解するために、肝炎発症前から経時的に肝組織を光顕的・電顕的に精査し、超微構造的変化を検索したので報告する。

### 【材料と方法】

実験に使用した動物はいずれも、札幌医大実験動物施設の SPF 環境で維持・繁殖されている。肝炎発症前の LEC ラットでは離乳直後の生後 4 週齢から経時的に検索を行った。またコントロールとして、LEC ラットと同時に分離されたが肝炎を発症しない系統である LEA ラットを使用した。

ラットはエーテル麻酔下で開腹し、肝門脈から 2.5% glutaraldehyde を灌流し肝を固定した。固定した肝は 0.1M cacodylate buffer (7% sucrose, pH 7.4, 4°C) に浸漬し、一部は光顕用に 10% ホルマリンで再固定し、パラフィン包埋後 HE 染色を行った。電顕用には、2% OsO<sub>4</sub> で後固定したのち、常法により脱水

・包埋し、超薄切片を作製し、鉛ウランニル二重染色を行った。

### 【結果】

#### 1. 肝炎発症前

生後 6 週齢までは光顕的に著変は認められなかった。電顕的には、核内のヘテロクロマチンが軽度の分散性を示していた。

肝炎発症直前の 8 から 12 週齢頃には、光顕的にはごく僅かの肝細胞壊死と核分裂像、大型核などがみられた。電顕的には核ヘテロクロマチンの減少と明瞭な核小体、細胞質では滑面小胞体の増加を認めた。

#### 2. 肝炎発症後

光顕的には、急性肝炎時の LEC ラット肝では、肝細胞は散在性に好酸性壊死に陥り、類洞内には肝細胞に由来する好酸体が認められた。壊死に陥っていない肝細胞でも、核と細胞質の腫大が認められた。類洞には胆汁や赤血球を貪食した Kupffer 細胞が認められたが、炎症細胞浸潤は軽度であった。

電顕的には、肝細胞核の著明な腫大が認められ、核膜の不規則な陥入と核質にクロマチンの凝集がみられた。細胞質には変形した多数のミトコンドリアやライソソームがみられ、滑面小胞体が増加している肝細胞も散見された。また肝細胞間の毛細胆管の拡張が顕著であった。

### 【まとめと考察】

電顕的な検索により、LEC ラットでは、肝炎発症後にみられる肝細胞壊死に随伴した変化の他に、肝炎発症前からの変化として、核クロマチンの分散異常と滑面小胞体の増加が認められた。これらの所見は、肝炎発症後に出現する大型肝細胞との関連性が考えられた。

P-14. 遺伝性肝炎 (LEC) ラット肝における低用量 diethylnitrosamine の initiation 効果の検討

○高橋秀俊<sup>1,2</sup>、榎本克彦<sup>1</sup>、森道夫<sup>1</sup>、小野江為則<sup>2</sup> (1札幌医大・病理、2札幌総合病理)

LEC ラットは、肝炎・肝癌自然発症動物として近年開発された疾患モデル動物である。生後正常に発育するが、16 週齢頃に黄疸を伴った急激な肝障害を発現し、重篤な場合には短い経過で死に至る。死亡しなかった個体は黄疸から回復するが、肝細胞障害は終生持続する。肝炎発症後 LEC ラットの肝には、placental glutathione S-transferase (GST-P) 陽性巣が出現する。GST-P 陽性細胞巣の数と大きさは加齢とともに増加し、長期生存例では肝癌の発生が高率にみられる。

今回われわれは、LEC ラットにおける肝癌の発生機序を理解するために、低用量の diethylnitrosamine (DEN) を用いた Solt-Farber 法変法によって initiated cell の出現を検索したところ、多数の GST-P 陽性の前癌病変が誘導されたので報告する。

【材料と方法】

生後 8 週齢の雌雄の LEC および LEA ラットを使用した。腹腔内に 10 mg/kgBW の DEN を 1 回投与した、2 週後に 0.02% acetylaminofluorene (AAF) 食を開始し、AAF 食 4 日目に部分肝切除 (PH) を行い、3 日間の AAF 食の後、普通食にもどし、PH 後 2 週目に肝臓を検索した (DEN+(AAF+PH)群)。対照群として、AAF+PH 群、DEN 単独群、AAF 単

独群、PH 単独群を設定した。肝組織をアセトン固定し、パラフィン切片を HE 染色及び ABC 法により GST-P 染色を行った。画像解析装置により GST-P 陽性細胞巣の数と大きさを測定した。

【結果】

DEN+(AAF+PH)群の LEC ラットでは、LEA ラットの 10 倍以上の多数の GST-P 陽性巣が誘導された。AAF+PH 群の LEC ラットは、GST-P 陽性細胞巣は LEA ラットより多数誘導され、また AAF 単独群では LEC ラットのように少数の GST-P 陽性細胞巣が誘導された。DEN 単独群、PH 単独群には GST-P 陽性巣はみられなかった。

【考察】

LEC ラットは DEN による initiation に対して高い感受性を有していることが明らかとなった。従って環境中の微量な癌原物質によっても initiation を受け得ることが示唆された。initiation を受けた肝細胞は、肝炎発症後の持続する増殖刺激による promotion 効果を受けて肝癌に進行すると考えられる。LEC ラットはこのように initiation を受け易いことから、LEC ラットを用いた肝発癌物質の短期検索が可能であると考えられる。

## P-15.

3'-Me-DAB 投与無アルブミンラットのアルブミン陽性肝細胞に及ぼす  
Puromycin Aminonucleoside の影響

○安藤利恵<sup>1</sup>、田中寿子<sup>1</sup>、吉田裕明<sup>2</sup>、鈴木昭男<sup>1</sup>、長瀬すみ<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 慈恵医大：微細形態研、<sup>2</sup> 同第2内科、<sup>3</sup> 佐々木研)

Sprague-Dawley (SD) ラットから分離確立された無アルブミンラット (NAR) の肝臓ではアルブミン陽性細胞 (Alb + hepatocyte) は、わずかにしか見られない。この Alb + hepatocyte は加齢や 3'-methyl-4-dimethyl-aminoazobenzene (3'-Me-DAB), 2-acetylaminofluorene (2-AAF) のような肝臓発癌剤等によってその数が増加することが報告されている。

今回アルブミンの代謝に異常をきたした時、このような Alb + hepatocyte がどのように反応するかを調べるため、腎障害を引き起こすことが知られている puromycin aminonucleoside (PAN) の投与および 5/6 nephrectomy (5/6Nx) を行い、アルブミン排泄促進状態での肝細胞のアルブミン産生状態を形態学的に検索した。

### <材料および方法>

動物は 9 ~ 11 週齢の雌 NAR 39 匹を 2 群に分け、一方には 0.06% 3'-Me-DAB 混入飼料を、他方には基礎食 (CE-2) を 20 および 30 週与えた。20 週目に各々 5/6Nx, PAN 投与を行った。5/6Nx は血管結紮法により行い、PAN は 15mg/100gb. w. を単回静脈内投与した。5/6Nx 処置 4 週間後および PAN 投与 2 週間後に屠殺し、血清アルブミン、尿アルブミン、肝の Alb + hepatocyte の動向を調べた。さらに、3'-Me-DAB を 30 週投与した NAR と対照動物に PAN を投与し、尿蛋白量がピークに近くなる 8 日目に屠殺し、同様の検索を行った。

血清および尿アルブミン量の測定は single radial immunodiffusion 法により、また、肝臓でのアルブミンの証明は PAP 法を用い、10×10 倍視野 (肝細胞約 1000 個) 中の Alb + hepatocyte 数をカウントした。

### <結果>

NAR では血清アルブミンは極めて少なかった。しかし、3'-Me-DAB 投与群では対照群に比べやや高い血清アルブミンが検出された。一方、尿アルブミンは両群ともに検出されなかった。肝での Alb + hepatocyte は 20 週目で対照群が 1 視野に対し 8 個程度、3'-Me-DAB 投与群において約 60 個、また、30 週目では対照群で約 20 個、3'-Me-DAB 投与群で 100 個以上の Alb + hepatocyte がみられた。これに対し、PAN を投与し 2 週間後に検索した場合、Alb + hepatocyte は PAN の

み投与した対照群では無処置対照群と差はみられなかったが、DAB+PAN 投与群ではいずれの対照と比べても Alb + hepatocyte が著しく増加していた。また、この時点での血清アルブミンは PAN 投与前より PAN のみの投与群、DAB+PAN 投与群ともに減少していた。尿アルブミンは PAN のみの投与群では増加したが、DAB+PAN 投与群では検出されなかった。さらに、30 週目に PAN を投与し、1 週間後に検索した場合にも PAN のみの投与群では Alb + hepatocyte の数は対照群とほとんど差がないのに対し、DAB+PAN 投与群では著しい増加が認められた。この時点では、PAN のみの投与群、DAB+PAN 投与群ともに尿アルブミンは増加していた。

これらの Alb + hepatocyte の変動が PAN によるものなのか、あるいは、蛋白喪失によるものなのかを確認するため 5/6Nx を行ったところ、5/6Nx のみを行った群および DAB+5/6Nx の群ともに尿蛋白の増加が認められたが、Alb + hepatocyte に関しては対照群と比べると対照とほぼ同数か、その数が減少しているものが多かった。このことから肝での Alb + hepatocyte の増加は蛋白喪失とは関連がないと考えられる。また、PAN 単独投与では肝の Alb + hepatocyte にほとんど影響を与えていないことから、DAB と PAN の相乗作用あるいは相加作用により Alb + hepatocyte の増加が強められていると考えられた。



P-16.

無アルブミンラットの Alb 陽性肝細胞に及ぼす 3'-Me-DAB の影響

玉井幸子<sup>1</sup>, 田中寿子<sup>1</sup>, 新谷稔<sup>2</sup>, 長瀬すみ<sup>3</sup>, 鈴木昭男<sup>1</sup> (慈恵医大・微細形態研<sup>1</sup>, 第一内科<sup>2</sup>, 佐々木研<sup>3</sup>)

長瀬らにより Sprague Dawley rat より分離確立された無アルブミンラット (NAR) の肝臓には、アルブミンに対する抗体と反応する肝細胞 (Alb+cell) が極めて少数存在し、加齢とともにその数が増加する。また 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene (3'-Me-DAB) 或いは 2-acetylaminofluorene (2-AAF) などの肝臓発癌剤投与によってもその数が増加することが報告されている。雄 NAR と比較して発癌率が低い雌 NAR に長期間 3'-Me-DAB を投与し、Alb+cell 数の変動を経時的に検索し報告してきたが、今回休業による変化も加えて検討を行った。さらに前癌病変と考えられる glutathion S-transferase placental form 陽性細胞集 (GST-P+cell 集) と Alb+cell との関連も検討した。

〈材料および方法〉

9-11 週令の雌 NAR (佐々木研究所) 150 匹を用い 80 匹は 0.06% 3'-Me-DAB 混合飼料を 40 週間投与後 12 週間休業し、残り 70 匹は対照群として基礎飼料 (CE-2) のみを与えた。この実験の一部について、経時的な肝臓組織変化について次のような検索を行った。すなわち両群とも実験開始後 20, 30, 40 および投与中止 12 週後に屠殺剖検し、肝臓を 10% ホルマリンで固定後パラフィンに包埋し連続切片を作製した。これらの切片には HE 染色および次のような免疫組織化学染色を施した。Anti-rat albumin rabbit IgG を用いて albumin の局在を PAP 法で検出し、一定面積 (肝細胞約 1,000 個) 内の Alb+cell の数を測定した。また抗 glutathion S-transferase placental form (GST-P) 抗体 (弘前大・佐藤清美教授より供与) を用いて ABC 法で GST-P を検出した。

〈結果〉

Alb+cell 数は、3'-Me-DAB 投与群では 20, 30, 40 週屠殺例および休業例のいずれも対照群と比較してその数が急激に増加していた。Alb+cell の多くは小葉構造と関連なく散在性に分布していたが、3'-Me-DAB 投与群では投与期間 30 週以上の例に数個以上の Alb+cell が集簇する Alb+cell 集も散見された。加齢に伴い対照群においても Alb+cell 数は増加を示したが、投与群では投与期間の延長に伴って Alb+cell が著増

しさらに Alb+cell 集簇集の増加傾向もみられた。

対照群において肝臓腫瘍の発生は認められなかったが、投与群では 20 週屠殺例の約 15% (2/12), 30 週屠殺例の 50% (3/6), 40 週屠殺例 (7/7) および休業例 (5/5) の 100% に肝臓腫瘍が観察された。発癌例の癌化した部分には殆ど Alb+cell は認められなかった。投与群の発癌例非癌部の Alb+cell の分布と非発癌例の Alb+cell の分布を比較すると、非発癌例では発癌例の数倍の Alb+cell が認められ、投与期間の延長に伴ってその数が増加していた (Fig.1)。一方 Alb+cell と前癌病変との関連を検討するために、連続切片を用いて Alb+cell と GST-P+cell 集の抗体反応部位を比較したが、GST-P+cell 集内には殆ど Alb+cell は認められなかった。すなわち発癌例では非癌部の前癌病変も増加するために Alb+cell の比率が減少した可能性が考えられた。

40 週間投与後 12 週間の休業を実施したが、Alb+cell の増数は不可逆的であり、発癌例の非癌部の Alb+cell 数は著しい増加を示した。一方、発癌剤投与中止後酵素マーカーの発現が低下し酵素表現型が正常化する傾向があることが報告されているが、本実験においても GST-P+cell 集は休業により減少を示し、Alb+cell 数の増加傾向とは逆の結果が得られた。

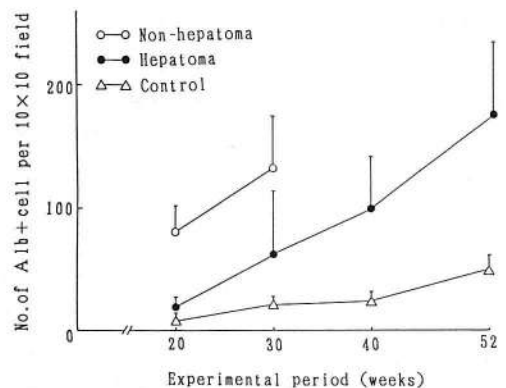


Fig.1 Increase of the number of albumin positive cells in NAR induced by 3'-Me-DAB

P-17.

肝発癌物質の中期発癌性試験における

ラット肝GST-P陽性細胞の三次元的解析

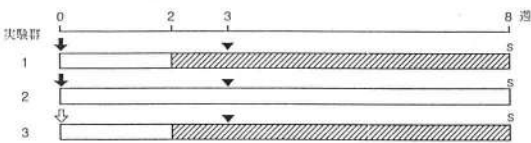
○加藤俊男<sup>1</sup>, 立松正衛<sup>1</sup>, 今井田克己<sup>2</sup>, 山田真弓<sup>1</sup>, 伊東信行<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>名古屋市・医・1 病理, <sup>2</sup>国立衛試 )

<はじめに>

ステレオロジーの発達により、glutathione S-transferase placental form (GST-P)陽性細胞の二次元計測値から、三次元解析が可能となってきた。三次元解析の換算式は、計測する細胞がそれぞれ独立し、その形状が球型である前提で組み立てられている。そこで今回、肝発癌物質の中期発癌性試験において、GST-P 陽性巣 (foci)の二次元的定量と三次元的定量を比較し、さらに、foci に至る最も早期の変化である GST-P陽性single cellの指標としての有効性を、コンピューター画像解析により検討した。

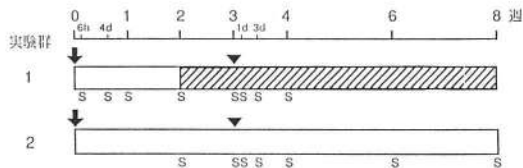
<実験方法>

実験Ⅰは、6週齢のF344雄ラット240匹を、実験Ⅱは、6週齢のF344雄ラット50匹を使用し、以下に示す8週間の中期発癌性試験を行った。



- 実験動物 : F344 雄ラット (6週齢)  
 ↓ : DEN (diethylnitrosamine) 200 mg/kg 腹腔内注射 (i.p.)  
 ↓ : 生理食塩水 4 ml/kg 腹腔内注射 (i.p.)  
 ▭ : 2/3 肝部分切除 (PH)  
 ▭ : 基礎飼料  
 ▨ : 被験物質
- |                                              |        |
|----------------------------------------------|--------|
| EHEN (N-ethyl-N-(4-hydroxyethyl)nitrosamine) | 0.05%  |
| DBN (diethylnitrosamine)                     | 0.1%   |
| PCB (polychlorinated biphenyl)               | 0.1%   |
| PB (phenobarbital)                           | 0.05%  |
| Aldrin                                       | 0.005% |
| BHA (butylated hydroxyanisole)               | 2.0%   |
| BBN (N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine)  | 0.2%   |
- S : 屠殺

実験Ⅰ



- 実験動物 : F344 雄ラット (6週齢)  
 ↓ : DEN (diethylnitrosamine) 200 mg/kg i.p.  
 ↓ : 2/3 肝部分切除 (PH)  
 ▨ : 被験物質  
 0.02% 2-AAF (2-acetylaminofluorene)  
 ▭ : 基礎飼料  
 S : 屠殺

実験Ⅱ

被験物質として、実験Ⅰでは 0.05% EHEN, 0.1% PCB, 0.05% PB, 0.005% Aldrin, 2.0% BHA, 0.2% BBN を、実験Ⅱでは 0.02% 2-AAF を混餌投与した。

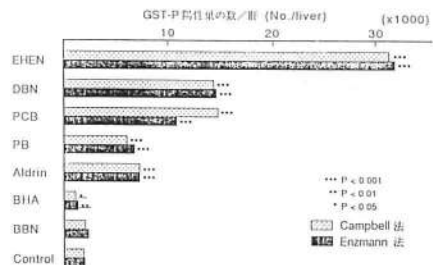
DEN イニシエーション後、実験Ⅰは 8週で、実験Ⅱは

6時間、4日、1, 2, 3, 4, 6, 8週で動物を屠殺し、肝切片の GST-P 免疫染色を行い、GST-P 陽性細胞 1個を single cell および、直径 20 μm 以上のものを foci としてコンピューター画像解析により計測した。

<実験結果>

実験Ⅰ:

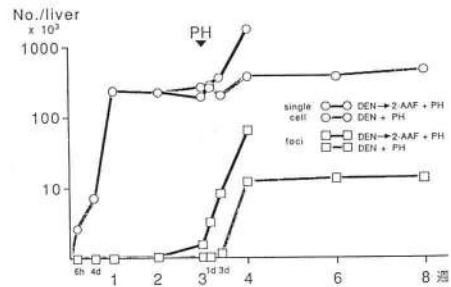
中期発癌性試験における GST-P陽性巣 (foci) の、三次元換算による個数を以下のグラフに示した。有意差検定において二次元計測と一致した結果が得られた。



三次元換算による肝 GST-P陽性巣の数

実験Ⅱ:

肝臓当たりの GST-P陽性 single cellと foci の個数を以下のグラフに示した。single cell は1週以降、foci は 4週以降、ほぼ一定値を示した。



三次元計測による GST-P陽性 single cell と foci の個数/肝 (No./liver)

<まとめ>

中期発癌性試験の foci 定量の有意差検定は、二次元計測で可能なことが明らかとなった。また、肝発癌初期に出現する GST-P陽性 single cellのほとんどは、三次元解析により、その後出現してくる GST-P陽性 foci に直接移行せず一部の single cellが foci を形成すると考えられ、single cell を指標として用いるには難点のあることが示唆された。

○ 小島 隆・武知 雅人

(三菱化成・安全性研)

ラットの混合型肝癌の発生はアゾ色素などで誘発されることがよく知られている。組織発生に関しては、肝細胞系および胆管系細胞の衝突や多潜能の未熟細胞の関与などの諸説があるが、現在なおはっきりしていない。そして腺管部の電顕的検討は数多く行われているが、免疫組織化学的検討は余り行われていない。今回、我々はDEN誘発で発生した混合型肝癌の特に腺管部について免疫組織化学および電子顕微鏡的に検索したので報告する。

## 〔材料および方法〕

動物は6週令のSD系雄性ラットに100PPMのdiethylnitrosamine (DEN) を9週間飲水投与後引き続いて0.05%のphenobarbital (PB) を8週間飲水投与後に屠殺し実験に供した。肝臓は中性ホルマリン液固定後、パラフィン切片を作製し、H.E.染色、alucian blue-PAS染色を実施した。免疫組織化学的検索は抗胎盤型ALP抗体、抗胎盤型GST抗体、抗CEA抗体および抗小腸型ALP抗体で実施した。電子顕微鏡的検索はホルマリン固定後の材料を一部オスミウム固定し、通常の脱水包埋をおこない、超薄切片作製後、酢酸ウラン・クエン酸鉛染色し電顕観察をおこなった。

## 〔結果〕

索状肝癌に接続して腺管構造をとる部分がみられた。その腺管上皮は単層および多層立方上皮で、管腔面にalucian blue-PAS 両陽性顆粒が認められた。エオジン淡染で大きな胞体をもつ細胞もみられ未熟な腺管を形成していた。また、腺管部と肝癌との移行像的な部分もみられた。

免疫組織化学的には立方上皮では主に細胞表面部に抗胎盤型ALP抗体、抗胎盤型GST抗体および抗CEA抗体が陽性、抗小腸型ALP抗体は陰性であった。なお、未熟な腺管を形成している上皮および索状肝癌細胞はいずれの抗体にも陰性であった。

電子顕微鏡的には立方上皮には光顕のalucian blue-PAS両陽性顆粒に一致して高電子密度の分泌顆粒がみられ、細胞表

面にはbrush border型の微絨毛が認められた。また細胞質内小器官は中等度の発達がみられた。エオジン淡染細胞と思われる細胞には核の著しくくびれ、細胞表面部の微絨毛、核周囲に多数の中間径フィラメント様物質および複雑な細胞膜陥入がみられたが、分泌顆粒は認められなかった。そして細胞質内小器官は乏しく未熟な細胞と思われた。

## 〔考察およびまとめ〕

以上の結果より今回のDEN誘発でみられた混合型肝癌の腺管上皮の特徴は分泌顆粒をもつ腸管上皮様の細胞と未熟な上皮細胞が混在していることであった。そして腺管部に形質発現の異常として胎芽-胎児性癌表現形質(胎盤型ALP、胎盤型GST)の発現および異所的粘液癌表現形質(CEA)の発現する特徴があった。これらの組織像および酵素偏倚より今回のDEN誘発でみられた混合型肝癌の腺管部は癌細胞の脱分化および異分化を示唆するものと考えられた。

## P-19. ウレタンの発がんリスクの評価

○有広光司、武島幸男、井内康輝、徳岡昭治（広島大・医・2病理）

### はじめに

ウレタン ethyl carbamate は、組成式:  $\text{NH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ 、分子量: 89.1の化学物質で、エタノールと尿素の反応などにより生成される。従来から、実験動物の催眠剤、麻酔補助剤あるいは非水溶性薬剤の溶解補助剤などとして使用されてきたが、Nettelshipら(1943)の報告以来、動物実験ではリンパ腫や白血病、肺腫瘍、肝腫瘍の発生が相次いで報告され、その発がん性が明らかにされている。最近、カナダにおいて、種々の醸造酒中に微量なウレタンが含有されていることが指摘されたことから、ヒトへの暴露量を規制するための根拠となり得るウレタンの低用量での発がん性試験が望まれるに至った。そこでB6C3F<sub>1</sub>マウスを用い、低用量のウレタンの長期経口投与実験を行ない、これらのマウスに発生した腫瘍のうち肺腫瘍を指標とした発がんリスクの評価は既に発表した(第48回日本癌学会総会)、その他に肝の血管性腫瘍も多発したことから、その腫瘍発生率からも各種の数学的モデルを用いて virtually safe dose (V.S.D.) を求め、肺腫瘍のそれとの比較、検討を試みた。

### 結果と考案

有効動物については、実験開始後23週目に最も早期に肺腫瘍が発生したことより、23週以降の斃死例及び実験終了時の屠殺例とした。有効動物数は、600ppm群(1日摂取量102mg/kg) 44匹、60ppm群(同10mg/kg) 50匹、6ppm群(同1.0mg/kg) 50匹、3ppm群(同0.58mg/kg) 48匹、0.6ppm群(同0.095 mg/kg) 49匹、対照群 49匹であった。各群における発生腫瘍とその有効動物に対する比率をTable 1に示す。このうち肺腫瘍及び肝血管性腫瘍について logistic、probit、Weibullの各数学的モデルを用いて算定したV.S.D. 及びそのモデルの適合性の指標となる p-value 及び Chi-square value をTable 2に示す。

最も統計学的適合性に優れているモデルは肺腫瘍では logistic model、肝腫瘍では Weibull modelであったが、それぞれから求めた V.S.D. はほぼ近似した値となった。これらの所見は、ウレタンの発がん性の標的臓器となった肺、肝ではそれぞれその発がん機構が異なる可能性があるが、標的臓器によって最適な数学的モデルを選択すれば一定の V.S.D.を得られる可能性があることを示唆し、今後の発がん物質の動物実験の低用量外挿に際して有用な知見であると考えられる。

Table 1 Incidence of mice with histological types of tumors and other lesion

| Sites       | Histological types of tumors   | No. and incidence (%) of mice with tumors in: |          |          |          |           |           |
|-------------|--------------------------------|-----------------------------------------------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
|             |                                | Urethane dose (ppm) of:                       |          |          |          |           |           |
|             |                                | 0                                             | 0.6      | 3        | 6        | 60        | 600       |
| Lung        | Bronchiolo-alveolar adenoma    | 9 (18.4)                                      | 4 (8.2)  | 7 (14.6) | 8 (16.0) | 34 (68.0) | 42 (95.5) |
|             | Adenocarcinoma                 | 0                                             | 0        | 0        | 0        | 0         | 6 (13.6)  |
| Liver       | Foci of cellular alteration    | 1 (2.0)                                       | 5 (10.2) | 3 (6.3)  | 1 (2)    | 5 (10)    | 0         |
|             | Hepatocellular adenoma         | 8 (16.3)                                      | 2 (4.1)  | 8 (16.7) | 4 (8)    | 9 (18)    | 0         |
|             | Hepatocellular carcinoma       | 0                                             | 2 (4.1)  | 1 (2.1)  | 0        | 2 (4)     | 0         |
|             | Peliosis                       | 0                                             | 0        | 0        | 0        | 7 (14)    | 4 (9.1)   |
|             | Hemangioma                     | 0                                             | 0        | 0        | 0        | 2 (4)     | 20 (45.5) |
|             | Angiosarcoma                   | 0                                             | 0        | 0        | 2 (4)    | 2 (4)     | 11 (25)   |
|             | Lymphoma                       | 0                                             | 0        | 1 (2.1)  | 0        | 0         | 1 (2.3)   |
| Soft tissue | Malignant fibrous histiocytoma | 1 (2)                                         | 0        | 0        | 0        | 0         | 0         |
| Spleen      | Hemangioma                     | 0                                             | 1 (2)    | 0        | 1 (2)    | 2 (4)     | 0         |
|             | Papilloma                      | 1 (2)                                         | 0        | 0        | 0        | 0         | 0         |
| Stomach     | Squamous cell carcinoma        | 0                                             | 0        | 0        | 0        | 1 (2)     | 0         |
|             | Hemangioma                     | 0                                             | 0        | 0        | 0        | 1 (2)     | 0         |
| Pancreas    | Steatocystoma multiplex        | 0                                             | 1 (2)    | 0        | 0        | 0         | 0         |
| Skin        | Hemangioma                     | 0                                             | 0        | 0        | 0        | 0         | 4 (9.1)   |
| Heart       | Hemangioma                     | 0                                             | 0        | 0        | 0        | 0         | 4 (9.1)   |

Table 2. Estimated Virtually Safe Doses (VSDs) for lung tumor and hepatic vascular tumor in B6C3F<sub>1</sub> mice at risk level of 10<sup>-6</sup>

| Sites | VSD                                            |                                                |                                                 |
|-------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
|       | mg/kg body wt/ day                             |                                                |                                                 |
|       | Logistic model                                 | Probit model                                   | Weibull model                                   |
| Lung  | 0.18 x 10 <sup>-3</sup><br>(0.33)*<br>(3.46)** | 0.92 x 10 <sup>-2</sup><br>(0.29)*<br>(3.71)** | 0.84 x 10 <sup>-2</sup><br>(0.023)*<br>(9.54)** |
| Liver | 0.36 x 10 <sup>-3</sup><br>(0.20)*<br>(6.03)** | 0.19 x 10 <sup>-1</sup><br>(0.07)*<br>(8.69)** | 0.72 x 10 <sup>-4</sup><br>(0.39)*<br>(4.14)**  |

\* (p-value)

\*\* (Chi-square value)

### 実験材料及び方法

4週齢のB6C3F<sub>1</sub>雄マウス 300匹(日本チャールス・

リバー社より購入、平均体重 22.8g)を2週間基礎食(CRF-1、日本チャールス・リバー社製)で飼育した後、無作為に50匹ずつ6群に分け、それぞれを600、60、6、3、0.6 ppmの各濃度でウレタンを混入した蒸留水を飲料水として自由に経口摂取させる実験群とし、残る1群は蒸留水を飲料水とする対照群とした。これらを70週間飼育した後屠殺し、病理組織学的検索に供した。

○高木英利、原田 寧、増田達樹、石嶋隆守、山下 裕、村田晃子、下地尚史、川久保安朗、古川泰雄  
日本レグリー(株)生研

エンドトキシン(以下ETX)は、グラム陰性桿菌の細胞壁由来のリポポリサッカライドである。その生体への作用は多彩であり、標的臓器組織に直接的或は、ケミカルメディエータ等を介して二次的に作用を及ぼす。臨床の場では、抗生物質の汎用や手術時等のショックとETXの関連が推察されており、動物モデルを用いて、その本態を明らかにすべく多くの検討がされてきた。

しかし、これらの関連について系統的に検討を加えた報告は少なく、又、新薬開発時の一般毒性学的観点からsystemicな毒性を検討したものも少ない。

今回我々はETXについてラットを用いて単回投与毒性試験、反復投与毒性試験等を行ない、その毒性学的プロフィールを明らかにすると共に、ANIT( $\alpha$ -naphthyl-isothiocyanate)、及びGalN(D-galactosamine)による肝障害モデルについて、ETXがこれらの毒性を修飾するか否かも検討した。

#### [試験方法]

Crj:CD(SD)ラット、雄、6~10週齢のものを本試験に用いた。動物は、恒温恒湿の無窓動物室で飼育し、照明12時間/日、飼料は日本クレア社製放射線滅菌固型飼料、水はフィルター除菌上水道水を与えた。ETXは、Salmonella typhimurium由来のものを生理食塩液に懸濁して用いた。

単回投与試験は概略の致死量を求める試験及び経時の変化を把握する試験を行った。前者は、ETXの0.1、0.3、1.0、5.0mg/kgを静脈内投与して投与後24時間の致死量を求めた。後者については、ETXによる毒性変化について確実に且つ経時的に知るために、致死量を超える10mg/kgを単回投与し、0.5、1、2、4、6時間後に動物を屠殺して血液学的及び病理学的検査を行った。

反復投与試験は、ETXの0.1、0.3、1.0 mg/kgを5日間連続して静脈内に投与して、一般状態の変化、血液学的及び血液生化学的検査、剖検及び光顕・電顕による検査、組織化学的検査を行った。

肝障害モデルに対するETXの影響については、ANIT(50及び150mg/kg)或はGalN(60、200、600

mg/kg)の単回投与3日後に、ETXの各0.1 mg/kg及び0.01、0.1 mg/kgを投与、24時間後に動物を屠殺して、一般状態の変化、血液学的・血液生化学的検査、剖検及び光学的に組織学的検査を行った。

#### [試験成績]

ETXの単回投与による、概略の致死量は3.0mg/kgであり、5.0mg/kgでは確実に動物が死亡することがわかった。単回投与経時的試験では、投与0.5時間後から胃腸管粘膜の出血、肝細胞好酸性顆粒出現が組織的に観察され、2時間後から網内系細胞の活性化や肝細胞壊死・血栓形成、リンパ組織の減少など多くの組織で変化がみられ、血液学的にも白血球の初期の減少とその後の回復傾向や著しい血小板の減少が認められた。

反復投与試験では、1.0mg/kgで死亡が認められ、組織学的には、心、肺、肝、腎、精巣、精巣上体、胸腺などのリンパ組織、骨髄、眼球等で変化がみられた。全般に網内系の活性化が非常に明らかであったが、肝や腎等に高度の障害はみられなかった。反復投与により新たにみられた所見は、精巣の腫大と眼球内の出血であった。血液学的にはWBCの増加傾向、RBCや血小板数の減少が、血液生化学的にはGPTの低下が認められた。

ANITとETX併用試験では、ANIT単独で心、肺、肝、腎、リンパ組織等に剖検で変化がみられたが、特にETXの投与により肝への影響は増強されているものと考えられる。血液生化学検査においてもTBIL、ALP、GOT、GPT等のパラメータのETX併用による上昇が認められた。

GalNとの併用試験においても、剖検でGalN単独ではほぼ肝の変化がみられるのみであったが、ETXの併用により肝ばかりでなく、腎の腫大や胃粘膜の出血が新たにみられるようになった。血液生化学検査においてもGOT、GPT、UN、ALPなどの上昇が併用により認められている。

以上の成績に、電顕の検索を含む組織学検査成績、或はCC1<sub>4</sub>とETX併用等の成績を加え、ETXの一般毒性試験での挙動を考察する。

○中村 厚、高橋 智、岩崎省吾、白井智之、伊東信行（名市大・医・1病理）

## &lt;はじめに&gt;

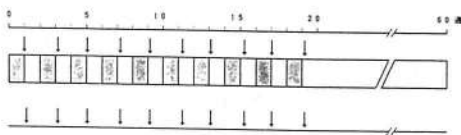
ラットの心臓腫瘍には fibroma, Anitshchow-cell sarcoma, myxoma が報告されているが、その頻度はきわめて低い。Alisonらは約8万匹のF344ラットを検索し、schwannomaを主とした心臓腫瘍の頻度は0.1%であったと報告している。

今回、我々は多臓器発癌物質で芳香族アミンの3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl(DMAB)を投与したラット前立腺癌実験系で、WistarおよびSprague-Dawley系ラットに各2例の肉眼的に観察し得る心臓腫瘍の発生をみたので報告する。

## &lt;材料および方法&gt;

ラットは6週齢雄のF344/DuCrj, ACI/N, Crj:Wistar, Crj:CD(SD) および LEW/Crj(Lewis) の5系統、200匹を用い、各系統ともそれぞれ2群に分けた。1群では0.75ppm Ethinyl estradiol(EE)含有飼料1週間→基礎飼料1週間のサイクルを10回繰り返し、毎回基礎飼料に戻した2日後にコーンオイルに溶解したDMABを50mg/kg b.w. 背部皮下に投与した。2群は継続して基礎飼料で飼育し、1群と同時期にDMAB 50mg/kg b.w.を皮下投与した。10回のDMAB投与後は基礎飼料のみで、実験終了時まで飼育した。

肉眼的に異常の観察された心臓は常法に従い、10%緩衝ホルマリンで固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を製し、組織学的検索を実施すると共に、ケラチン、ビメンチン、アクチン、S-100蛋白、 $\alpha 1$ -アンチトリプシンについて、ABC法を用いて免疫組織化学的に検索した。



□ : Ethinyl estradiol (EE, 0.75 ppm)  
↓ : DMAB (50 mg/kg 体重、皮下投与)  
■ : 系統別 F344, ACI, Wistar, SD, LEWラット

## 実験デザイン

## &lt;結果&gt;

心臓腫瘍はWistarおよびSD系ラットで以下の各2例に認められたが、EE投与には関係なかった。

| Case No. | 系統     | 生存期間  | 腫瘍部位    |
|----------|--------|-------|---------|
| 1        | Wistar | 4 6 週 | 左心耳     |
| 2        | Wistar | 4 7 週 | 右心室     |
| 3        | SD     | 4 9 週 | 右心室     |
| 4        | SD     | 5 2 週 | 左心耳、左心室 |

## 剖検所見

腫瘍は白色の結節病変として右室壁および心耳を中心に観察された。特にcase 1では20x15mmの巨大な腫瘍が左心耳にみられた。case 2では心嚢水および胸水の貯留も認められた。

## 病理組織学的所見

心内膜下に沿って広がる部位では2~数層の病巣を形成し、心筋層内に帯状に浸潤発育しており、腫瘍細胞は円形~卵円形のクロマチンに富んだ核と好塩基性胞体からなる紡錘形ないし多角形を呈した。大きな腫瘍性増殖を示している部位では、主として卵円形の核と好塩基性胞体からなる紡錘形細胞が交錯して束状に配列し、心筋間への浸潤性増殖もきわめて高度であった。核分裂像も多く、異常分裂像も認められた。腫瘍細胞は一部では柵状配列を呈し、嚢胞状病変あるいは壊死も観察された。しかし、血管形成、明らかな渦巻状配列あるいは筋原性を示唆する好酸性の胞体は観察されなかった。さらに、明らかな貪食作用を示す腫瘍細胞も認められなかった。case 4での左室壁の腫瘍は心内膜下だけに存在し、心内膜からの発生が示唆された。免疫組織化学では4例とも同じような結果を呈した。ケラチンと $\alpha 1$ -アンチトリプシンは完全に陰性であった。しかし、ビメンチンは約50%の細胞が陽性で、アクチンは弱陽性~陽性で、特に心内膜下の部分で強く認められた。S-100蛋白は20%前後に弱陽性を認めた。

## &lt;まとめ&gt;

本腫瘍は紡錘形細胞を主体とした腫瘍細胞が錯綜する束状配列を示し、Alisonらが報告したendocardial schwannomaの組織像に類似しており、なおかつ免疫組織学的にS-100蛋白が陽性であることから、これらの心臓腫瘍はschwann細胞由来の悪性腫瘍と推察された。



P-22.

AdriamycinおよびMitomycin C の膀胱注入によるラット膀胱粘膜上皮の DNA合成および病理組織学的ならびに走査電顕的变化

○ 浅川恵美子、玉野静光、伊藤初美、白井智之、福島昭治 (名市大・医・1病理)

<はじめに>

抗癌剤であるAdriamycinおよびMitomycin C は種々の癌の治療に用いられ、膀胱癌に対しては、経尿道的な膀胱注入が行なわれている。また、これらの抗癌剤の膀胱注入はラット膀胱の二段階発癌において、促進作用を発揮することが知られている。そこで、これらの抗癌剤そのものによるラット膀胱粘膜上皮に対する影響を追究するため、DNA 合成ならびにその形態学的変化について検討した。

<実験方法>

6週齢のF344系雌ラット28匹を用い、各群を7匹とし、4群に分けた。第1～3群にはAdriamycin (1mg/ml)、Mitomycin C (0.5mg/ml) および溶媒対照群として生理食塩水をそれぞれ実験開始時より週1回の割合で計4回、カテーテルを用いて経尿道的に膀胱注入 (0.3ml) した。また、第4群は無処置対照群とした。実験開始後4週目に全動物を屠殺剖検し、bromodeoxyuridine (BrdU) を用いた膀胱粘膜上皮細胞の DNA合成の測定と病理組織学的ならびに走査電顕的検索を行なった。

<結果>

体重: AdriamycinおよびMitomycin C 投与群では溶媒対照群あるいは無処置対照群と比較して、4週の時点で有意な体重増加抑制が認められた。

DNA 合成 (Table 1) : AdriamycinおよびMitomycin C 投与群において、溶媒対照群および無処置対照群と比較して、膀胱粘膜上皮におけるBrdU標識細胞の有意な増加を観察した。また、溶媒対照群においても、無処置対照群と比較して、DNA合成の軽度な上昇をみたが、統計学的な有意差は認められなかった。

病理組織学的観察 (Table 1) : 無処置対照群を除く全ての群で単純性過形成を観察し、Adriamycin投与群では無処置対照群と比較してその発生は有意であった。また、AdriamycinおよびMitomycin C 投与群における膀胱粘膜上皮細胞は大型化し、核はクロマチンに富み、核型不整もしくは観察された。また、細胞質の空洞化がみられた。これらの変化は溶媒対照群および無処置対照群には全く認められなかった。

走査電顕的観察 (Table 1) : 単純性過形成の発生を観察した全ての群で、膀胱の表層細胞の表面にPleomorphic microvilli, Short, uniform microvilli, Ropy or leafy microridges を観察し、特にAdriamycinおよびMitomycin C 投与群においてはその病巣数は顕著な増加を示した。

<まとめ>

AdriamycinおよびMitomycin C の膀胱注入は膀胱粘膜上皮の DNA合成を明らかに亢進させ、さらに過形成病変をもたらした。これらの膀胱粘膜上皮の増殖性変化がラット膀胱発癌に対して促進作用を惹起させるものと考えられた。

Table 1. DNA Synthesis and Morphological Changes of Rat Bladder Epithelium

| Treatment        | No. of rats | Labeling index (%)          | Simple hyperplasia (%) | No. of focal SEM lesions with † |                           |                           |
|------------------|-------------|-----------------------------|------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                  |             |                             |                        | Pleomorphic microvilli          | Short, uniform microvilli | Ropy or leafy microridges |
| Adriamycin       | 5           | 4.07 ± 0.99 <sup>b, d</sup> | 4 (80) <sup>a</sup>    | 36.5 ± 12.0                     | 58.0 ± 5.7                | 212.0 ± 73.5              |
| Mitomycin C      | 5           | 1.88 ± 0.74 <sup>b, c</sup> | 3 (60)                 | 15.5 ± 3.5                      | 32.5 ± 7.8                | 64.5 ± 6.4                |
| Saline (Vehicle) | 5           | 0.46 ± 0.81                 | 3 (60)                 | 3.5 ± 0.7                       | 5.5 ± 2.1                 | 13.0 ± 5.7                |
| Untreated        | 5           | 0.04 ± 0.05                 | 0                      | 0                               | 0                         | 0                         |

†: Numbers of rats examined were two in each group; Mean and SD for the average numbers of focal lesions present in one-half of each bladder.

a, b: P<0.05, 0.01 as compared to untreated control value, respectively.  
c, d: P<0.05, 0.01 as compared to vehicle control value, respectively.



## ハロペリドール投与によるラット下垂体前葉 プロラクチン細胞の免疫電顯的觀察

○築館一男・須藤 武・甲斐純子・福田種男・見上 孝・中野渡純一（エーザイ・安全研）

ドーパミンが下垂体のプロラクチン（PRL）産生細胞に直接作用し、PRL分泌を抑制することはよく知られている。したがって、ドーパミン受容体を遮断する薬剤は血中PRL値を上昇させ、長期投与した際には乳腺の増生性病変を引き起こすものと考えられている。しかしながら、ドーパミン受容体遮断薬を投与した際の下垂体の形態的・機能的变化についてはほとんど報告されていない。今回、我々は典型的なドーパミン受容体遮断薬であるハロペリドールをラットに投与し、下垂体のPRL産生細胞について免疫電顯的に觀察し、その形態的变化と機能についての考察をくわえた。

### 材料と方法

動物：Slc：SD系雌性ラット（7週齢）

薬物：ハロペリドールを0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、10 mg/kg/day 投与した。

実験群：A群—単回投与30分後に剖検

B群—単回投与24時間後に剖検

C群—7回連続投与24時間後に剖検

D群—28回連続投与24時間後に剖検

対照群—0.5%メチルセルロース水溶液を

28回連続投与24時間後に剖検

対照群を含む上記5群について、血中および下垂体中のPRLレベルをRIA法にて測定した。また、下垂体については、抗プロラクチン抗体を用いて免疫電顯的に觀察した。

### 結果および考察

#### 1. 血中および下垂体中プロラクチン

ラットにハロペリドール10 mg/kgを単回投与した際の血中PRL値は、投与30分後に対照群に比べ約500倍に上昇し、24時間後においても約200倍の血中PRL値であった。一方、7回および28回連続投与の最終投与24時間後においては、血中PRL値は正常動物のそれとほぼ同レベルであった。下垂体中のPRL濃度は、単回投与30分後では対照群の約1/2、単回投与24時間後では約1/5に減少していた。しかしながら、7回および28回投与24時間後においては対照群とほぼ同レベルであった。血中プロラクチンレベルが、1週間

以上の連続投与で対照群とほぼ同レベルに回復していたのは、ドーパミン受容体遮断剤を連続投与することにより、下垂体PRL産生細胞のドーパミン受容体が増え、ドーパミンに対するSupersensitivityが生じているためと考えられている。また、下垂体中のPRL濃度は、ハロペリドール単回投与群では血中に放出されたPRLの累積量に反比例するように減少するが、連続投与により回復することが明かとなった。このことは、ハロペリドールの初回投与時には下垂体のPRLがほとんどde novo合成されることなく放出されるが、連続投与した際にはPRLの合成活性が賦活化しているものと考えられる。

#### 2. 下垂体の免疫電顯的觀察

正常雄ラットの下垂体前葉PRL細胞は、分泌顆粒の形態から次の3型に分類されている。I型細胞は約100nmのほぼ均一の大きさの球形顆粒を含んだ細胞で、II型細胞は150-250nmの大きさの球形顆粒を持った細胞である。III型細胞は大型不規則形の顆粒（250-500nm）を含む細胞である。対照群動物の下垂体前葉PRL陽性細胞は、III型細胞がもっとも多く、次にII型細胞が認められ、I型細胞はもっとも少なかった。ハロペリドール単回投与30分後においては、対照群動物と比べ形態的差異を認めることはできなかった。単回24時間後においては、II・III型細胞のPRL陽性顆粒が明らかに減少しており、I型細胞には変化を認めなかった。7回以上の連続投与群では、対照群同様III型細胞がもっとも多くPRL陽性顆粒も増加していた。特徴としては、特にIII型細胞にwhorling粗面小胞体が多く、明瞭な限界膜を欠いたamorphousな顆粒にPRL陽性のコロイド粒子が認められた。

以上の結果から、ラットにドーパミン受容体遮断剤であるハロペリドールを投与した際、①単回投与では下垂体前葉のII・III型PRL細胞からPRLが大量に血中に放出されるが、PRLのde novo合成はほとんどなく、②連続投与した際には、PRL細胞はPRL合成が賦活化しており、ドーパミンに対しSupersensitivityになっているものと考えられる。

P-24. 3-Amino-1,2,4-triazole 類似化合物のラットにおける抗甲状腺作用

○高岡雅哉, 宮腰利宏, 加藤佐和子, 五十嵐 功, 松沼尚史 [三共(株)・安全性研究所]

[目的]

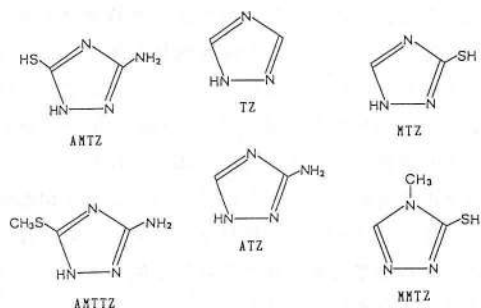
3-Amino-1,2,4-triazole (ATZ) は甲状腺ペルオキシダーゼ阻害作用により甲状腺毒性を発現する。このATZと類似した構造を有する化合物の甲状腺ペルオキシダーゼ活性阻害作用および甲状腺腫大作用を構造相関的に比較した。

[材料と方法]

1. 供試動物: 当研究所および日本チャールス・リバーで生産した F344 ラット雄 10 週齢を使用した。
2. 使用化合物, 溶剤および試薬: 使用した化合物の化学構造を下図に示す。

ペルオキシダーゼ阻害および甲状腺腫大作用がある既知化合物として 3-amino-1,2,4-triazole (ATZ), その基本骨格である 1,2,4-triazole (TZ), 以下 TZ を基本として, 5 位にメルカプト基をもつ 3-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole (AMTZ), 5 位のメルカプト基がメチル化された 3-amino-5-methylthio-1,2,4-triazole (AMTTZ), 3 位がメルカプト基である 3-mercapto-1,2,4-triazole (MTZ), 3 位がメルカプト基で 4 位がメチル化された 3-mercapto-4-methyl-1,2,4-triazole (MMTZ) の 6 化合物 (Aldrich) を用いた。

また, *in vitro* 試験の溶剤は蒸留水またはアセトン (和光純薬工業) を, 水素供与体として guaiacol (東京化成) を使用した。*in vivo* の溶剤は dimethyl sulfoxide (DMSO, 和光純薬工業) を使用した。T4 染色にはヒトサイロキシシン (オーソ) を用いた。



使用した化合物

実験 1. *In vitro* におけるラット甲状腺ペルオキシダーゼ (Thyroid peroxidase :TPO) 活性阻害作用の比較: 各化合物の TPO 活性阻害作用を guaiacol を水素供与体として測定した。

実験 2. 各化合物をラットに一回経口投与した場合の TPO 活性阻害作用の比較: ラットに 1.5 mmol/kg の用量で投与し, 投与 3, 6, 24 時間後に甲状腺を採材し TPO 活性値をタンパク (mg) 当りに換算し比較した。

実験 3. 各化合物をラットに連続経口投与した場合の TPO 活性値および甲状腺腫大作用の比較: 各化合物を 1.5 mmol/kg の用量で 7 日間投与し, 甲状腺を採材し重量を測定後 TPO 活性値の測定および病理組織学的検査を実施した。

[結果および考察]

実験 1, 2 および 3 の結果をまとめて下表に示す。

*In vitro* では, ATZ, AMTZ, MTZ, MMTZ に甲状腺ペルオキシダーゼ活性阻害作用が観察され, *in vivo* でも甲状腺ペルオキシダーゼ活性を阻害した。また, 連続投与によって甲状腺腫大が観察され, 病理組織学的にも甲状腺の機能低下および甲状腺刺激ホルモンの分泌亢進を示唆する所見が認められた。

したがって, AMTZ, MTZ, MMTZ には ATZ と同じような抗甲状腺作用があると判断した。

これらの結果と化合物の構造を比較検討すると, 甲状腺腫大の発現には 1,2,4-triazole の 3 位にアミノ基あるいはメルカプト基が必要で, 3 位がアミノ基である場合は 5 位の置換基によって甲状腺への作用が軽減することが明らかとなった。

まとめ

| 化合物名  | 置換基             |                 |                  | <i>In Vitro</i><br>Peroxidase 活性<br>阻害作用 | <i>In Vivo</i><br>Peroxidase 活性<br>阻害作用 |      |      | 病理検査<br>(甲状腺機能低下)<br>T4 染色 |
|-------|-----------------|-----------------|------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|------|------|----------------------------|
|       | 3位              | 4位              | 5位               |                                          | 経口投与                                    | 連続投与 | 連続投与 |                            |
| TZ    | -               | -               | -                | ×                                        | ×                                       | ×    | ×    |                            |
| ATZ   | NH <sub>2</sub> | -               | -                | ○                                        | ○                                       | ○    | ○    |                            |
| AMTZ  | NH <sub>2</sub> | -               | SH               | ○                                        | ○                                       | ○    | ○    |                            |
| AMTTZ | NH <sub>2</sub> | -               | SCH <sub>3</sub> | ×                                        | ×                                       | ×    | ×    |                            |
| MTZ   | SH              | -               | -                | ●                                        | ●                                       | ●    | ●    |                            |
| MMTZ  | SH              | CH <sub>3</sub> | -                | △                                        | △                                       | ●    | ●    |                            |

X: 作用なし, △: 極く軽度, ○: 軽度, ●: 中等度, ●: 重症

○田中剛太郎 山口修司 水本隆章 大杉芳孝 入村兼司 (大鵬薬品工業(株) 安全研 病理)

## I 序論

コルチステロイド剤によるヒトでの骨格筋、リンパ系組織および副腎等に対する萎縮性変化あるいは電解質代謝の異常等の副作用はよく知られ、その発生機序に関しては多数の報告がなされている。今回演者らはマウス皮下にコルチステロイド剤を単回大量投与することにより生じる毒性変化を病理組織学および電顕的に検討した。その結果、文献の比較において反復投与とは異なる骨格筋の毒性発現過程が認められ、また報告例に乏しいと思われる大動脈に変性壊死が認められた。

## II 材料および方法

(病理組織学的検査)

5週齢のCD-1マウス(ICR, 雄:日本チャールズリバー)計20匹を用い、各群5匹の計4群を設定した(表1)。飼料は固形飼料CE-2(日本クレア(株))を使用し、飼料と水は自由摂取させた。コルチステロイド剤として、プレドニゾロンは日本ユクラフ、酢酸メチルプレドニゾロンは日本アップジョン、酢酸ヒドロコルチゾン(和光純薬(株))より入手した。

単回皮下投与後、6週間観察し、エーテル麻酔下で放血殺後解剖に供した。全身を10%緩衝ホルマリンで固定後、図1に示す部位6か所の骨格筋と、大動脈起始部および大動脈弓を採取し鏡検材料とした。標本作製は常法に従って、パラフィン切片としH.E.染色を施した。

表1

| 群                 | 投与量(mg/kgBW) | 匹数 |
|-------------------|--------------|----|
| 溶媒対照群             | 0            | 5  |
| プレドニゾロン群          | 1395         | 5  |
| 酢酸メチル<br>プレドニゾロン群 | 2000         | 5  |
| 酢酸ヒドロ<br>コルチゾン群   | 2000         | 5  |

溶媒はCMC・Na懸濁液を使用

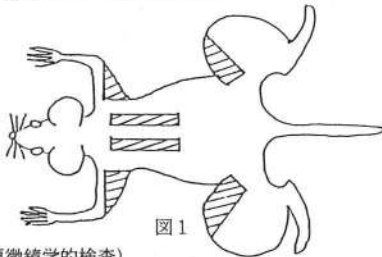


図1

(電子顕微鏡学的検査)

5週齢のCD-1マウス(ICR, 雄:日本チャールズリバー)計8匹を用い、単回皮下投与後21日間の観察期間中、7日目ごとに各2匹ずつを解剖した。薬物は酢酸ヒドロコルチゾン:2000mg/kgを用いた。固定はグルタル、パラホルムアルデヒド混液の還流固定で行い、病理組織学的

検査と同部位(図1)の骨格筋と、大動脈弓を採取し電顕材料とした。標本作製は常法にしたがって、四酸化オスミウムによる二重固定を行い、染色は酢酸ウラニルおよび酢酸鉛の重染色を行った。

## III 結果

(病理組織学的検査)

## 1) 骨格筋

各薬物投与群とも筋線維核の中心性移動、筋線維の横紋消失、萎縮あるいは融解壊死等の変化が認められた。これらの変化は慢性に認められるものでなく、単線維性かつ多発性に認められる変化であった。

## 2) 大動脈起始部および大動脈弓

酢酸メチルプレドニゾロンおよび酢酸ヒドロコルチゾン群のみに大動脈壁のフィブリノイド壊死が認められた。

(電子顕微鏡学的検査)

## 1) 骨格筋

投与7日後では筋線維のグリコーゲン顆粒の増加、ミトコンドリアの軽度腫大、空胞形成が認められた。投与14日後では筋膜下ミトコンドリアの増加、ミトコンドリアクリステの消失、ミエリン様構造物の増加、筋小胞体の拡張が認められた。投与21日後ではこれらの変化に加え局所的に筋フィラメントの不明瞭化、横行小管の明瞭化および空胞化が認められた。

## 2) 大動脈弓

投与7日後では特記すべき変化は認められなかった。投与14日後では中膜平滑筋細胞の細胞質内に多胞小体様空胞が観察され、ミトコンドリアの変性が軽度で認められた。投与21日後ではミトコンドリアクリステの消失、ミエリン様構造物の増加、滑面小胞体槽の拡張等の変化が認められた。

## IV 考察

コルチステロイド剤は、反復投与では骨格筋の筋フィラメントに変性を引き起こすが、ミトコンドリアの変性、筋小胞体の拡張等の変化は局所的かつ遅発性の変化であることが報告されている。本試験での単回大量投与では、ミトコンドリアおよび筋小胞体の変化は早期かつ広範囲に認められるが、筋フィラメントは比較的保持されていることから、両者の毒性発現過程に相違が認められた。

大動脈弓で認められた変化の発生機序は不明であるが、筋線維と同様の変化であるミトコンドリアの変性が認められ、その変化過程も類似していることから、大動脈の変化の発生機序はタンパク代謝の異常等、骨格筋と共通した要因が関係しているように思われる。

## P-26. エトキシキン投与によるラット腎石灰化および腎結石の超微形態学的観察ならびに元素分析

○今沢孝喜・豊田和弘・佐藤秀隆・下地尚史・今井田克己・高橋道人 (国立衛試・病理)

### 【はじめに】

腎石灰沈着および腎結石は毒性試験においてもときどき見られる病変であるが、その発生要因については不明なことが多い。

エトキシキン (EQ) は抗酸化剤としてゴムの変質防止あるいは飼料添加物として用いられている。ラットにEQを投与すると、腎に障害を示すが、ラットの二段階胃発癌モデルを用いた実験では強度の腎乳頭部壊死とともに腎の石灰沈着ならびに腎結石のみられることを既に報告した (第46回日本癌学会総会 1987.9.9)。

今回、EQにより誘発される腎石灰沈着と腎結石について、エネルギー分散型X線分析装置 (SEM-EDX) を用いて検索し、これらの種類、形成状態、さらに細胞表面の変化を観察した。また、N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) あるいは塩化ナトリウムによる前処置の腎結石の形成促進作用についても検討した。

### 【実験材料と方法】

動物は7週齢のWistar系雄ラット52匹を用い、4群に分け、第1群 (16匹) と第2群 (16匹) には、それぞれMNNG (100mg/l) 含有飲料水および塩化ナトリウム (10%) 含有固型飼料を8週間前投与した。第3群 (10匹) と第4群 (10匹) には前処置を加えなかった。前処置終了後、第1、第2および第3群には1%EQ混合粉末飼料を32週間投与した。第4群にはCRF-1固型飼料を実験終了時まで与え、コントロール群とした。実験開始後8、9、14、20および38週目に強制排尿時のpHを計測した。40週で全生存動物をエーテル麻酔下で屠殺剖検し、腎臓を10%ホルマリン液にて固定した。その後、縦断面において腎盂を中心に石灰沈着および結石の存在を実体顕微鏡で確認した。走査電顕による観察は各群2匹ずつ計8匹の腎について行った。

### 【結果】

実験終了時の生存動物における腎石灰化あるいは結石の発生率は第1から3群のいずれにも80%以上の高頻度でみられたが、第4群のコントロールでは1例もみられなかった。実験開始後8、9、14、20および38週間目の尿のpH値は6.5前後であり、ほとんど差がみられなかった。

SEM-EDXによる形態観察では、小石灰片および結石が腎杯および腎盂の細胞表面に付着しており、細胞表面の微

絨毛の消失あるいは陥凹などの超微形態学的変化も認められた。また、EQのみ投与した群よりもMNNGあるいは塩化ナトリウムを前処置した群の方が小石灰片の数も多く、結石形成もより明瞭であった。

元素分析により腎結石の成分はリン(P)とカルシウム(Ca)がほとんどで、マグネシウム(Mg)、ナトリウム(Na)、塩素(Cl)、硫黄(S)等は微量で腎結石はいずれもリン酸石灰石であることが推定された (Fig.1)。

### 【考察】

今回EQ投与によりみられた腎石灰化及び腎結石の基礎病変として、腎乳頭壊死があり、それに対する生体反応として石灰化が生じたものと考えられる。

ラットに自然発生的にみられた膀胱結石の分析結果を昨年報告したが、MgおよびPの含量が多い傾向にあった。今回の腎結石はMgをほとんど含まず、Caのピークが非常に高く、自然発生の膀胱結石とはその構成元素が明らかに異なっていた。EQ投与群では尿中Ca、Mgは減少し、Pは増加している (J Toxicol Pathol 1:185~191, 1988) が、結石成分は自然発生的にみられたものと異なり、リン酸石灰石であり、また実験期間中の尿pHに変化が認められず、EQによる結石形成の機序に関してはさらに検討の必要がある。

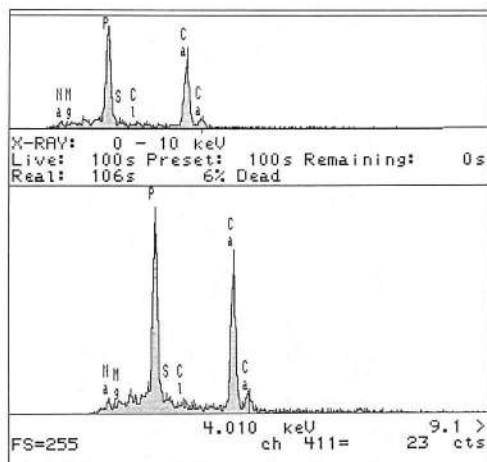


Fig.1 第1群のMNNG+EQ投与の腎結石の元素分析の結果である。尚、上段は元素分析能力全域でのスペクトルを、下段は一部を拡大した図である。

○三森国敏, 平野雅裕, 上田英夫, 真板敬三, 白須泰彦 (残留農薬研)

## 〔緒言〕

化学物質の慢性毒性や発癌性を検索するために、マウスではICR, BALB/C, C57BLやB6C3F1などの種々な系統が用いられている。これらのうち、ICR系マウスは化学物質の安全性評価のための長期試験に古くから用いられている。一方、米国国立癌研究所 (NCI) とNational Toxicology Program (NTP) は、B6C3F1マウスは、その寿命が他に比べ長く、リンパ腫や血管系腫瘍の自然発生頻度が比較的低いことから、B6C3F1マウスが長期毒性・発癌性試験に最も適していると結論し、この系統を用いての長期試験の実施を推奨している。これらの系統間において化学物質の毒性発現に本質的な差異はないと考えられるが、それらの感受性の強さには系統差のあることが一般に知られている。このため、目的とする毒性変化がどの系統により鋭敏に発現されるかを検討することも重要である。

演者らは、塩化メチル水銀 (MMC) の慢性毒性および発癌性を検索するためラットとマウスを用いた長期毒性実験を実施してきた。これらの実験により、MMC を15ないし10 ppm含有する飼料を78週間以上投与された ICR系雄マウスでは、腎上皮性腫瘍が誘発されることが確認された。さらに、この腎腫瘍誘発にはテストステロンが重要な役割を果たしていることがその後の実験で明確となった。しかし、これらの実験成績は ICR系マウスを用いたものであり、B6C3F1マウスが MMCの慢性毒性や発癌性に対して ICR系マウスより感受性が高いか否かは不明である。今回、MMC の慢性毒性・発癌性についての ICRとB6C3F1との系統差を検討するため、すでに実施された ICR系マウスの実験と同一の投与量でB6C3F1マウスを用いた2年間の混餌投与実験を行った。

## 〔材料と方法〕

4週齢のB6C3F1マウス雌雄各240匹を日本チャールスリバー社より購入し、1群60匹の雌雄4群を設け、5週齢時に実験を開始した。MMC (純度99.3%) を10, 2, 0.4および0 ppm含有する飼料をマウスに104週間自由摂取させた。投与期間中の死亡・切迫殺動物および投与104週後の生存動物全例を剖検し、全臓器・組織を病理組織学的に検査した。

## 〔結果〕

10 ppm群では、後肢マヒを特徴とする神経症状が雄で59週以後33例、雌で80週以後3例認められた。雄では、60週以後、著しい死亡率の増加および体重増加抑制が観察された。神経症状発現例においては中毒性中枢神経障害 (大脳皮質および尾状核神経細胞壊死) と末梢感覚神経障害 (脊髄神経背根から末梢神経幹にわたる有髄神経線維変性と背根神経節神経細胞壊死) が認められた。その他、10 ppm群では慢性腎障害 (雌雄)、精巣萎縮と腺胃潰瘍 (雄) の発生頻度が対照群に比し有意に増加した。増殖性病変では、腎の近位尿管由来の腺腫/癌 (16/60) と尿管上皮過形成 (14/6) が10 ppm群の雄において有意に増加した。近位尿管上皮の変性・再生と間質線維化を特徴とする慢性腎障害は、雄の2 ppm群においても発生頻度において有意に増加した。

## 〔まとめ〕

下表に示したように、ICR系マウスの実験では、10 ppm群において腎の増殖性病変 (雄)、慢性腎障害 (雌雄) や精巣萎縮が発生頻度において有意に増加したが、神経症状、死亡率や体重には何ら影響はみられなかった。

以上の結果から、MMC の腎毒性や腎発癌に対する感受性についてはB6C3F1と ICR系マウスとの間に明確な系統差はないが、神経障害に対してはB6C3F1マウスのほうが ICR系マウスより感受性が高いことが示唆された。

Table Comparison of toxicity of MMC in B6C3F1 and ICR mice

| Findings                           | Dose group (ppm)    |    |         |    |                  |    |         |    |
|------------------------------------|---------------------|----|---------|----|------------------|----|---------|----|
|                                    | B6C3F1 <sup>a</sup> |    |         |    | ICR <sup>b</sup> |    |         |    |
|                                    | males               |    | females |    | males            |    | females |    |
| 2                                  | 10                  | 2  | 10      | 2  | 10               | 2  | 10      |    |
| Incidence of neurologic signs      | -                   | +  | -       | +  | -                | -  | -       | -  |
| Mortality                          | -                   | +  | -       | -  | -                | -  | -       | -  |
| Body weight                        | -                   | +  | -       | +  | -                | -  | -       | -  |
| Food consumption                   | -                   | +  | -       | -  | -                | -  | -       | -  |
| Incidence of histological findings |                     |    |         |    |                  |    |         |    |
| No. of mice examined               | 60                  | 60 | 60      | 60 | 58               | 59 | 60      | 60 |
| Peripheral sensory neuropathy      | 0                   | 45 | 0       | 4  | 0                | 0  | 0       | 0  |
| Cerebral neuronal necrosis         | 0                   | 16 | 0       | 2  | 0                | 0  | 0       | 0  |
| Cerebellar neuronal necrosis       | 0                   | 27 | 0       | 3  | 0                | 0  | 0       | 0  |
| Chronic nephropathy                | 27                  | 59 | 3       | 56 | 17               | 47 | 12      | 26 |
| Testicular tubular atrophy         | 2                   | 54 | NE      | NE | 5                | 11 | NE      | NE |
| Glandular stomach ulcer            | 0                   | 7  | 1       | 0  | 0                | 0  | 0       | 0  |
| Renal tubular hyperplasia          | 0                   | 14 | 0       | 0  | 1                | 13 | 0       | 0  |
| Renal adenoma                      | 1                   | 5  | 0       | 1  | 0                | 3  | 0       | 0  |
| Renal carcinoma                    | 0                   | 13 | 0       | 0  | 0                | 10 | 0       | 0  |

a: Results of the present study in B6C3F1 mice.

b: Results of the previous study in ICR mice.

+: Increase; -: Decrease; NE: Not examined; -: No significant change.

## P-28. ラット中枢神経系神経膠細胞腫についての免疫組織学的検討

○ 渋谷 淳・小笠原裕之・小野寺博志・前川昭彦・林 裕造 (国立衛試・病理)

ラット中枢神経系神経膠細胞腫についての免疫組織学的研究の報告は少ない。今回、我々はラット神経膠細胞腫22例について、GFAP, S-100, Vimentin, Cytokeratin の免疫染色を行い、それらの染色性について、ヒト対照例2例と比較し、その診断マーカーとしての有用性について検討を行ったので報告する。

### 【材料及び方法】

F344/DuCrj ラット18匹及び Donryu ラット1匹にみられた自然発生神経膠細胞腫4例、MNU もしくは ENU 誘発神経膠細胞腫18例のホルマリン固定・パラフィン包埋材料について、GFAP, Vimentin, Cytokeratin の3種類の間径フィラメントおよび、S-100 蛋白の局在を、ABC法にて免疫組織化学的に検索した。用いた抗体は、抗 GFAP 抗体(\*リコーナル、Bio-Science Products)、抗 Vimentin 抗体(モノクローナル、Transformation Res. Inc.)、抗 Cytokeratin 抗体(PKK-1、モノクローナル、Labsystems)と、抗 S-100 抗体 (\*リコーナル、アドバンス)であり、いずれもヒトとラットで交差性が知られている。ヒト対照例として、それぞれ星状膠細胞腫 (grade III)、乏突起膠細胞腫と診断された症例、各1例の手術材料を用いた。

### 【結果】

自然発生例、化学物質誘発例共に、GFAP, S-100 蛋白の発現が主体であり、混合型膠細胞腫に陽性例を多く認める傾向にあった。しかし、ヒト星状膠細胞腫症例でみられる様なビマン性に殆ど全ての細胞が強陽性を示す染色所見とは異なり、ラット各症例に於けるそれらの蛋白の発現は、腫瘍内に弱陽性細胞が散在しているか、或は、それらの小集簇巣として認められるかのいずれかであり、共に同一腫瘍内で重複して発現する傾向があった(表1, 2, 3)。ヒト星状膠細胞腫のマーカーである GFAP は、検索した5例の星状膠細胞腫のうち1例が弱陽性であったのみで、逆に乏突起膠細胞腫のうち、4例の microtumor を除いた2例に陽性像を認めた。また、ヒト星状膠細胞腫は Vimentin 弱陽性であったが、ラットでは全症例共陰性であった。Cytokeratin に関しては、化学物質で誘発された混合型膠細胞腫の9例中3例に弱陽性像を認め、それは GFAP の発現のみられた腫瘍細胞と一致していた。

### 【まとめ】

ラット神経膠細胞腫で、ヒトと同様の免疫染色傾向が得られなかったことから、ヒトで用いられている脳腫瘍マーカーは、ラットでは診断上有用性に欠けると考えられた。ラットに於いても、反応性の星状膠細胞増生では GFAP が強陽性を示したが、星状膠細胞腫で、ヒト対照例と同様の免疫染色傾向が得られなかったことは、腫瘍化により発現すべき蛋白が発現しないのか、或いは異常蛋白が発現している可能性がある。乏突起膠細胞腫及び混合型膠細胞腫で、星状膠細胞のマーカーである GFAP の発現が散在性ではあるが認められたことは、ラット神経膠細胞腫では混合型膠細胞腫が多く発生することと併せて、膠細胞腫瘍の分化が不完全であることを窺わせる。

表1 ヒト対照例各1例における免疫染色性

| 診断名     | GFAP | S-100 | Vimentin | Cytokeratin |
|---------|------|-------|----------|-------------|
| 星状膠細胞腫  | +++  | ++    | +        | +           |
| 乏突起膠細胞腫 | -    | +     | -        | -           |

表2 自然発生神経膠細胞腫での各免疫染色に対する陽性所見を示した例数

| 診断名     | GFAP | S-100 | Vimentin | Cytokeratin |
|---------|------|-------|----------|-------------|
| 星状膠細胞腫  | 0/2  | 1/2   | 0/2      | 0/2         |
| 混合型膠細胞腫 | 1/1  | 1/1   | 0/1      | 0/1         |
| 膠芽細胞腫   | 0/1  | 1/1   | 0/1      | 0/1         |

表3 MNU もしくは ENU 誘発神経膠細胞腫での各免疫染色に対する陽性所見を示した例数

| 診断名      | GFAP | S-100 | Vimentin | Cytokeratin |
|----------|------|-------|----------|-------------|
| 星状膠細胞腫   | 1/3  | 1/3   | 0/3      | 0/3         |
| 乏突起膠細胞腫* | 2/6  | 2/6   | 0/6      | 0/6         |
| 混合型膠細胞腫  | 7/9  | 8/9   | 0/9      | 3/9         |

\* 陰性例4例は、microtumorであった。



## P-29. ラット新生仔腎の各種レクチンおよびコロイド鉄に対する染色性の検討

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

細胞や組織に存在している複合糖質は、発生過程での細胞認識に重要な役割を果たし、また分化や加齢あるいは腫瘍化に際して変化することが知られている。これらを組織学的に検出するには従来、糖鎖やカルボキシル基等の酸性基に基づく方法、例えばアルシアン青やコロイド鉄等が用いられてきたが、特定の糖構造を検出するには酵素による消化等の方法によらねばならなかった。近年、特定の糖構造と特異的に結合するレクチンが、特定の機能を有する細胞を識別しようとする際に極めて有用であり、方法も簡便で特異性が高いと報告されている。

腎臓は、さまざまな複合糖質に富んでおり、レクチン染色は腎各部位を識別するのに有用であるとされている。今回、ラット腎臓の成熟過程における種々のレクチンおよびコロイド鉄に対する染色性を成熟ラットのそれと比較検討した。

### 【実験方法】

F344ラット(日本チャールスリバー社)をバリヤースシステムの動物室にて飼育・交配した。生後1, 2, 4, 6, 10日および5週目に2~5匹を屠殺、腎臓を摘出し10%緩衝ホルマリンにて固定し、常法に従いパラフィン包埋後、薄片片にHE, PAS, レクチン並びにコロイド鉄染色を行った。使用したレクチンはDBA, PNA, RCA-1, SBA, WGAの5種類である。

### 【結果及び考察】

生後1~4日の腎最外層には未熟な細胞群と共にS字

体(S-shaped body)が認められ、糸球体形成が続いていることが窺われた。一方、皮髄境界部は極めて疎で、尿細管の発達も未熟であった。6日目以降では皮質外層に未熟な細胞群もS字体も認められず、新たな糸球体形成は認めない。PAS染色標本の観察によると皮質最内層の糸球体は形態的に成熟しており、糸球体係蹄はコロイド鉄陰性に染まるが、外層の糸球体ほど係蹄の形成も不明瞭で、コロイド鉄陰性と未熟であった。一方、近位尿細管はPAS陽性であるが、この時期では近位尿細管直部を形態的に識別できなかった。

表1に成熟ラット腎各部位の、表2に新生仔腎での各種レクチンに対する染色態度を示した。近位尿細管の各種レクチンに対する染色性は、成熟ラットに比べて低下しており、生後10日目においても分化・成熟が完全に終了していないことが窺われた。一方、遠位尿細管は4日以降成熟ラットと染色性に差を認めなかったが、成熟途中である2日目以前では、被膜直下のY字分岐部までの集合管が各種レクチンに陽性に染色された。

皮質最外層に見られた未熟な細胞群やS字体は、いずれのレクチンでも染色されなかった。発生途中または未熟な糸球体係蹄は、RCA-1, WGAに対し陰性であるのに反し、未熟な糸球体の上皮細胞表層はRCA-1, WGAに陽性であった。一方、成熟ラットでは糸球体係蹄のみにこれらが認められ、上皮細胞にみられなかったことから、シアル酸やガラクトース残基は上皮細胞の形態の変化および成熟にともなって移動し、基底膜側に偏在するようになることが示唆された。

表1 成熟ラット腎各部位のレクチンに対する染色性

|        | DBA | PNA | RCAI | SBA | WGA  |
|--------|-----|-----|------|-----|------|
| 糸球体係蹄  | -   | -   | +    | -   | ++   |
| 上皮細胞   | -   | -   | -    | -   | -    |
| ボウマン嚢  | -   | -   | -    | -   | -    |
| 近位尿細管  | +++ | +   | ++   | +   | +~++ |
| ヘンレ(細) | -   | +   | ++   | -   | ++   |
| ヘンレ(太) | -   | +   | ++   | ++  | ++   |
| 遠位尿細管  | ++  | +++ | ++   | -   | +++  |
| 集合管    | +++ | +++ | ++   | +++ | +++  |

+ : 弱陽性, ++ : 陽性, +++ : 強陽性

表2 新生仔ラット腎のレクチンに対する染色性

|        | DBA | PNA | RCAI | SBA | WGA |
|--------|-----|-----|------|-----|-----|
| 糸球体係蹄  | -   | -   | -    | -   | -   |
| 上皮細胞   | -   | -   | +    | -   | ++  |
| ボウマン嚢  | -   | -   | -    | -   | +   |
| 近位尿細管  | -   | -   | ++   | -   | -   |
| ヘンレ(細) | -   | -   | ++   | -   | ++  |
| ヘンレ(太) | -   | +   | ++   | -   | ++  |
| 遠位尿細管  | ++  | ++  | ++   | -   | +++ |
| 集合管    | +++ | ++  | ++   | +++ | +++ |



**P-30.**

チメロサル投与によるマウス foot pad の炎症性反応

内田哲也, ○内藤誠之郎, 加藤博史, 衛藤光明, 茅野文利 (国立予研, 生物製剤)

(目的)

チメロサルはワクチンの保存料として広く用いられているが, 近年, ワクチン接種による過敏症反応にチメロサルが関与することを示唆する報告が少なくない。それらの報告は, チメロサルそのものがアレルゲンとして働くことを示しており, チメロサルに対する生体の免疫応答によるものであると考えられている。

本研究では, 無感作マウスにチメロサルを投与した時の注射局所における反応について検討を行ったので報告する。

(方法)

Balb/c マウス (8 週齢, 雌, 5 匹/実験群) の左下肢足蹠に, PBS で希釈されたチメロサル溶液 (0.1 ~ 0.01%) を 50  $\mu$ l 注射 (対照として, 右下肢足蹠に PBS のみ 50  $\mu$ l 注射) し, 1, 2, 3, 6, 24 時間後にノギスを用いて足蹠の厚さを測定した。同時に各時間における注射局所の組織切片を作製して組織像を観察した。

(結果)

図-1 に示すように, 各濃度のチメロサルの注射によって一様に注射後 1 時間をピークとする腫張が観察された。この腫張はチメロサルの濃度に依存的であった。また, 表-1 に示すように, 組織所見からも上のデータと関連して好中球の浸潤と浮腫が観察された。

(考察)

トキソイドワクチンに対する局所あるいは全身性の反応は, 通常, トキソイドのコンポーネントに起因するものであることが多いが, アジュバントとして用いられるアルミニウムや, 保存料として用いられているチメロサルが過敏症反応を起こす可能性を示唆する報告も少なくない。

チメロサルは現在, 保存料としてワクチン, 点眼液, コンタクトレンズ保存液等に添加されており, それらを通じて感作されることによる, いわゆる医原性の過敏症反応の原因になることは既に知られているが, 本研究では, チメロサルに感作されていないマウスに投与することによっても, 局所に好中球の浸潤を伴う腫張が起きることがわかった。こ

のことは, ワクチン接種後に起きる副反応について考えるうえで, 保存料としてのチメロサルの使用を再検討すべきもう一つの根拠となり得ると考えられる。

図-1. チメロサル投与マウスの footpad swelling

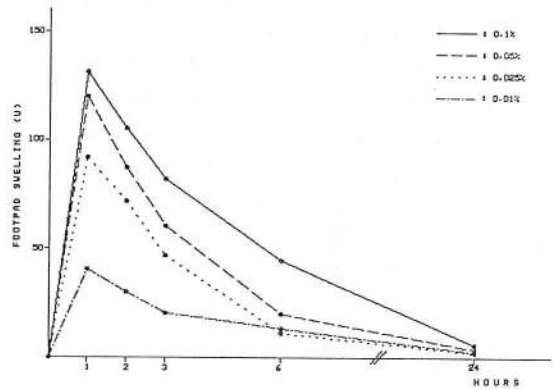


表-1. チメロサル投与マウス footpad の組織所見

| MOUSE # | FOOTPAD | 1. |    | 2. |    | 3. |    | 4. |    | 5. |    |
|---------|---------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
|         |         | R  | L  | R  | L  | R  | L  | R  | L  | R  | L  |
| 30 min  | PMN     | -  | +  | -  | +  | -  | -  | -  | +  | -  | -  |
|         | Edema   | -  | +  | -  | +  | -  | -  | -  | +  | -  | +  |
| 1 h     | PMN     | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ |
|         | Edema   | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ | -  | +  |
| 2 h     | PMN     | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ |
|         | Edema   | -  | +  | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ |
| 3 h     | PMN     | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ | -  | ++ |
|         | Edema   | -  | +  | -  | +  | -  | +  | -  | +  | -  | -  |
| 6 h     | PMN     | -  | +  | -  | +  | -  | +  | -  | +  | -  | ++ |
|         | Edema   | -  | +  | -  | -  | -  | +  | -  | -  | -  | -  |
| 24 h    | PMN     | -  | +  | -  | ++ | -  | +  | -  | +  | -  | +  |
|         | Edema   | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  |

\* R: PBS L: 0.1% thimerosal in PBS  
 \*\* -: negative +: mild ++: moderate

## TESTICULAR STEROIDOGENIC ASSESSMENT, LEYDIG CELL MORPHOLOGY AND MERCURY DISTRIBUTION AFTER METHYLMERCURY TREATMENT IN RATS

A. Roy Chowdhury

National Institute of Occupational Health, Ahmedabad, India

**INTRODUCTION:** Epidemiological data elicited systemic disorders of methyl mercury ( $\text{CH}_3\text{HgCl}$ ) exposure. Potential effect of  $\text{CH}_3\text{HgCl}$  on spermatogenesis has been established. Present investigations were undertaken to ascertain whether the spermatogenic inhibition was parallel with Leydig cell (LC) impairment after  $\text{CH}_3\text{HgCl}$  treatment.

**MATERIALS AND METHODS:** Sixty five male rats (age  $30 \pm 2$  days, weighing  $70 \pm 5\text{g}$ ) were used. Animals were administered 0 (Group I, Control,  $n = 25$ ),  $5\mu\text{g}$  (Group II,  $n = 20$ ) or  $10\mu\text{g}$  (Group III,  $n = 20$ )  $\text{CH}_3\text{HgCl}/\text{Kg}$  (i.p) daily for 15, 30, 60 and 90 days. serum from all groups was stored at  $-20^\circ\text{C}$  for testosterone (T) determination by RIA. Histology and morphometry of LC were analysed at 1000 X.  $3\beta$  hydroxy- $\Delta^5$ -steroid dehydrogenase ( $3\beta$ -HSD) activity was localized in fresh  $12\mu\text{m}$  cryostatic sections ( $-20^\circ\text{C}$ ) of testis using dehydroepiandrosterone as substrate (pH 7.5). Mercury distribution was studied by autometallography and the mercury grains were scanned at 1600 X.

**CONCLUSIONS:** 1. Disintegration of LC was noted in Group III after 30 days of  $\text{CH}_3\text{HgCl}$  treatment.

2. decline in LC population, inhibition of  $3\beta$ -HSD activity, significant diminution in serum T levels and gradual accumulation of mercury indicated steroidogenic impairment after  $\text{CH}_3\text{HgCl}$  treatment over a period of 90 days.

○李 栄純、鄭 滋永、李 完揆（ソウル大学・獣医科大学）

【目的】

ラットにおいて化学的に誘発される肝癌の研究は、その組織学的パターンと発生様態がヒトの肝癌と類似することから最近、注目されている。本研究では、ラットを用いて化学的に誘発される肝癌の作出に影響を及ぼす各種要因を検討し、肝癌モデルラットの最適の条件を確立するのをその目的とした。

【材料と方法】

実験動物は、肝癌誘発率の年齢差を調べるために雄性 Sprague-Dawley ラットの6週齢(実験Ⅰ)、16週齢(実験Ⅱ) および55週齢(実験Ⅲ)を用いた。実験ⅠとⅡは4つの Groupに、実験Ⅲは3つの Groupに分けられ、各実験群には実験開始日に Initiator として Diethylnitrosamine(DENA)を1回腹腔内注射(200mg/kg, B.W.)し、肝癌を誘発させた。実験ⅠとⅡの Group 3, 4 および実験Ⅲの Group 2, 3 にはその2週間後から6週間 Promotor として 2-Acethylaminofluorene(2-AAF)を 0.02%飼料にまぜ給食させた。また、実験ⅠとⅡの Group 2, 4 および実験Ⅲの Group3 には実験開始3週間後に 2/3部分的肝切除術を行なった。以上の各実験 Groupは45週間の飼育期間後に屠殺、剖検し、発生した肝癌の肉眼的および組織学的観察を行なった。また、肝癌の数と面積を画像分析装置を用いて定量的に分析し、統計学的に有意性を検定した。

【結果と考察】

平均体重と一日飼料摂取量は実験開始の40週後からその減少が顕著であった。この原因は肝癌と癌性病変の発育による障害と考えられる。肝癌の誘発物質であるDENAのみ投与した実験群で前癌性病変は45週後からも観察された。これから一度誘発された前癌性病変は自然治癒されずに残存し、その後 Promotor の体内進入によって癌化が促進されることが確認された。肝癌と癌性病変の発生程度をInitiation, Promotion および部分的肝切除術を行なった処置群で比較して見ると、55週齢が58%の低い発生率を示したのに対し、6週齢では100%の高い発生率を示した。肝癌および癌性病変の数と面積の結果をTable 1 に示した。また、肝の全体に対する癌と癌性病変の面積を%として Fig. 1 に示した。本実験で誘発された肝癌の組織学的形態は、肝細胞癌腫、胆管癌、胆管細胞癌および血管腫の4つに分類された。特に肝細胞癌腫では Pseudoadenoma type が、胆管癌では Cystic typeが顕著であった。肺臓への肝癌の転移が見られ、これは肝癌の血管腫と胆管細胞癌腫および悪性程度に関連していた。

Table 1. Liver/Body Weight Ratio, Number and Total Area of Neoplastic Lesions

| Group | Liver/Body Weight (%) |                |                 | No. of Neoplastic Lesions / Liver(m <sup>2</sup> ) |               |                 | Total Area of Neoplastic Lesions(mm <sup>2</sup> ) / Liver(mm <sup>2</sup> ) |               |                   |
|-------|-----------------------|----------------|-----------------|----------------------------------------------------|---------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------------------|
|       | EⅠ                    | EⅡ             | EⅢ              | EⅠ                                                 | EⅡ            | EⅢ              | EⅠ                                                                           | EⅡ            | EⅢ                |
| 1     | 3.08<br>±0.3          | 2.33**<br>±0.1 | 2.60***<br>±0.3 | 22.3<br>±3.75                                      | 22.6<br>±3.51 | 18.6<br>±2.57   | 0.61<br>±0.13                                                                | 0.59<br>±0.14 | 0.88****<br>±0.17 |
| 2     | 3.75<br>±0.4          | 2.33**<br>±0.1 | .               | 45.5**<br>±8.52                                    | 27.4<br>±5.59 | .               | 4.14**<br>±0.8                                                               | 0.69<br>±0.17 | .                 |
| 3     | 3.38<br>±0.3          | 3.13*<br>±0.2  | 2.60 **<br>±0.1 | 55.7<br>±9.31                                      | 54.8<br>±9.77 | 32.7**<br>±8.12 | 6.76**<br>±1.2                                                               | 2.46<br>±0.9  | 0.90<br>±0.1      |
| 4     | 6.11*<br>±0.3         | 3.56**<br>±0.5 | 3.12**<br>±0.8  | 23.3**<br>±1.37                                    | 50.9<br>±9.46 | 32.4<br>±5.67   | 18.71**<br>±1.9                                                              | 5.06<br>±1.2  | 6.89****<br>±0.8  |

Each values are mean ± S.D.  
 N.E.: Not Examined  
 EⅠ: Experiment I, EⅡ: Experiment II, EⅢ: Experiment III.  
 \*: Significantly different(P<0.001) from group I.  
 \*\*: Significantly different(P<0.001) from other two group.  
 \*\*\*: Significantly different(P<0.01) from group I.  
 \*\*\*\*: Significantly different(P<0.01) from group II.

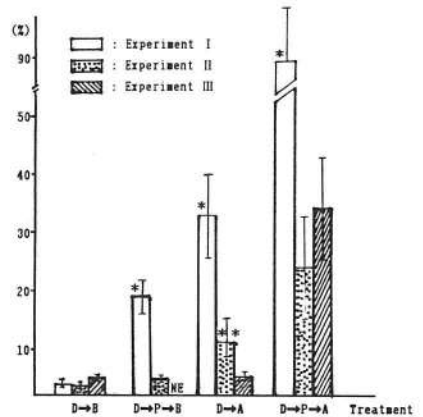
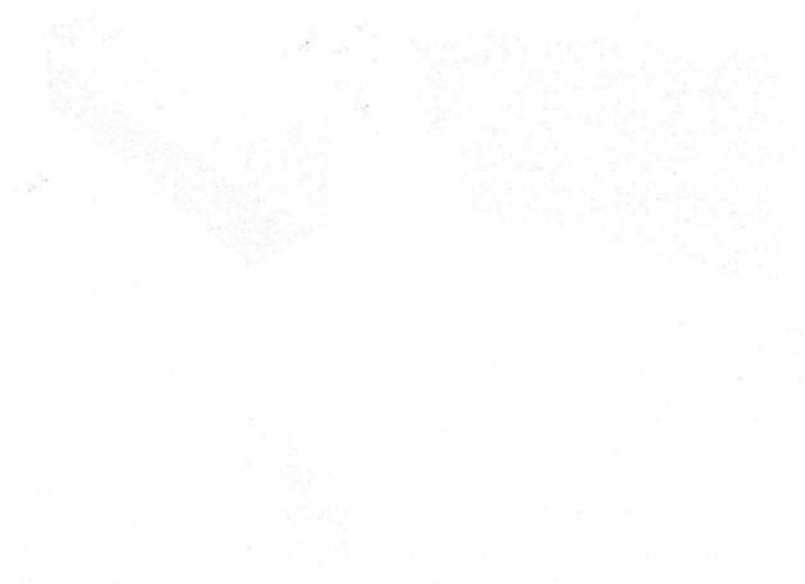
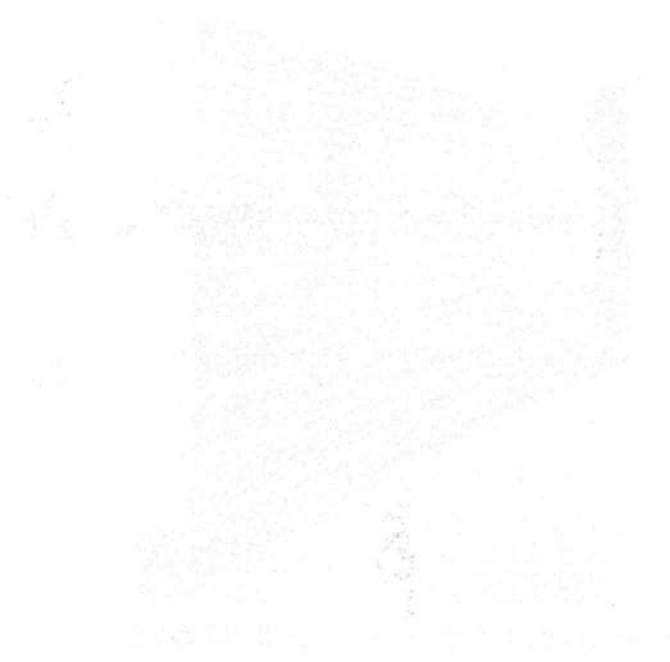


Fig.1. Neoplastic and Hepatoma Area / Total Liver Ratio

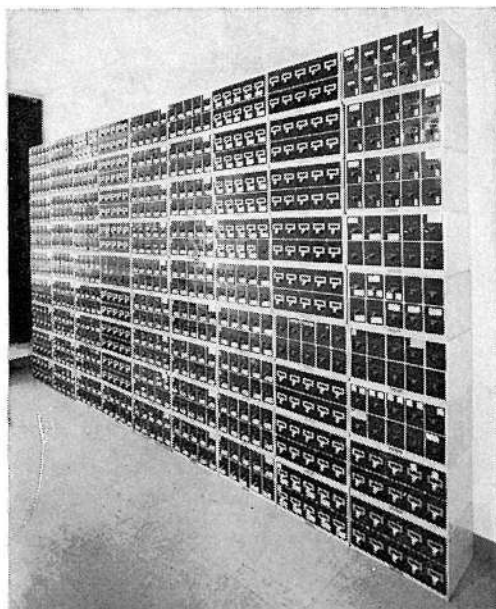
\*: Significantly different(P<0.001) from group II&III.  
 \*\*: Significantly different(P<0.001) from group III

1. 中 國 郵 政 局 之 設 立 及 其 發 展

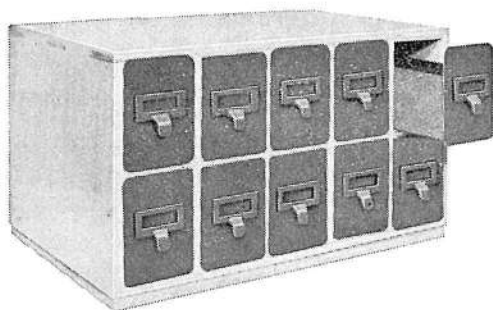


1. 中 國 郵 政 局 之 設 立 及 其 發 展

T-80 オブジェクト整理箱 (P.T)

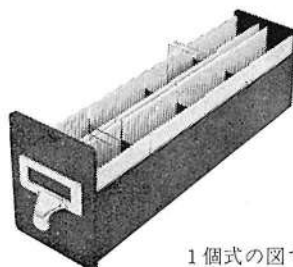


見事に整理されたオブジェクト整理箱貯蔵の倉庫

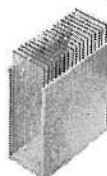


外 寸 法  
材 質  
オブジェクト  
長

巾410×横275×高さ235cm  
木材, スチロール, メラミン, ニス塗装  
格納枚数 3,000枚  
保存に小ぜまで多量格納ができる。  
1個の引出に 300枚納められ、引出  
10個に 3,000枚を納められます。  
一つの箱を数段積重ねる事も出来ま  
す。又スチール棚を利用すれば尚安  
全です。此の整理箱は外面は木製で  
ニス塗装で、引出は黒色スチロール  
と樹脂10個利用してあります。中枠  
を利用する事により枚数は変わります。



1個式の図ですが、此の内側は4  
間に仕切っているのです。此の内の  
スチロール製のオブジェクト切仕枠  
を入れる事が出来ます。1個引出に136  
枚を納めるのです。



中枠は黄色スチロール製でU字形で少  
々の開ばねにし、オブジェクト硝子を押  
へ、立横しても内側Vの筋がある為安定  
する納める数1個17枚であります。

株式会社

高島商店

東京都文京区湯島 2丁目22-11

電話 東京 (834) 1 8 8 1 (代)



# 臨床検査にマツナミ 顕微鏡用カバーガラス・スライドガラス



**松浪硝子工業株式会社**

本社：〒596 大阪府岸和田市下松町165  
TEL. (0724)22-4545 FAX. (0724)36-2265  
東京営業所：〒113 東京都文京区湯島3-20-7  
エミナンス湯島 1階  
TEL. (03)833-9006 FAX. (03)833-9008

# Nikon

Through the Humanware

# FX MICROPHOT



ニコンの新しい提案。  
ヒューマンウェアをテーマに

## Microphot-FXA

### 操作部に自動化を推進、 機能性を飛躍的に向上させた 超高級万能顕微鏡。

ヒューマンウェアをベースに設計された超高級万能顕微鏡、Microphot-FXAがいま誕生します。観察像から目を離さずに様々な操作が片手で行なえるなど機能性を大幅に発展させると同時に、電動レボルバー・電動コンデンサ・リモートスイッチなど自動化を大胆に導入。FXAには、顕微鏡自らが観察する人に寄り添う感覚に満ちあふれています。人の目や手の延長となって、研究者の意思通りに自在に動く顕微鏡——まさに「人間のための道具」、ヒューマンウェアと命名するにふさわしい、新時代の超高級万能顕微鏡がここに生まれました。急激に高まってきた写真撮影に対する要請に応じて、カメラ3台装着・スケール長など撮影情報の写し込み・3Way 100%光活用といった多彩なスペックも搭載。簡単な操作で高品質な写真が撮れるFXAは、顕微鏡の可能性を大きく拡大。光学顕微鏡のまったく新しいトレンドを築いて行きます。



#### 株式会社 ニコン

本社・光機営業部顕微鏡課・100東京都千代田区丸の内3-2-3(富士ビル) (03) 216-1024

大阪営業所・542大阪府中央区南船場2-11-20(興国ビル) (06) 251-7023(代表) ●カタログをお送りいたします。ご希望の方は誌名と製品名をご明記のうえ本社顕微鏡課までどうぞ。

#### Nikon 顕微鏡特約店

|                |                               |                |             |                          |                |
|----------------|-------------------------------|----------------|-------------|--------------------------|----------------|
| 北海道ニコン機器販売株式会社 | 001・札幌市北区北11条西4-1-40          | (011) 746-9381 | 株式会社 京都コーガク | 606・京都市左京区田中西橋ノ口町80      | (075) 781-1170 |
| 株式会社 アオバサイエンス  | 980・仙台市太白区富沢1-5-30            | (022) 243-1888 | 株式会社 コーガク   | 581・大阪府豊中市名神口3-8-2       | (06) 333-3191  |
| 株式会社 三啓        | 113・東京都文京区湯島3-20-12(ツナシマ第2ビル) | (03) 834-7331  | 株式会社 権原商会   | 730・広島市中区大手町3-6-1        | (082) 244-2703 |
| オサワ科学株式会社      | 460・名古屋市中区錦3-9-22             | (052) 951-5331 | 株式会社 大熊商会   | 813・福岡市東区多の津1-1-5(流通団地内) | (092) 611-1111 |



# 各種顕微鏡に簡単に装着。 多様な顕微定量測光のニーズに高精度で応えます。

オリンパス顕微定量測光装置OSP-1は、BH2やIMT2、PMG3などの顕微鏡と組み合わせ、蛍光量や透過率、反射率、偏光度など種々の顕微定量測光を行うことができます。専用鏡基を必要としない経済性とコンパクト設計、システム性、操作性を追求したハイコストパフォーマンス機です。



## OSP-1 顕微定量測光装置

—— 応用分野 ——

### ■ 蛍光測光 ■

落射蛍光顕微鏡と組み合わせ、細胞内の微量化学物質（DNA、RNA、蛋白質など）を蛍光強度から測定します。癌細胞の同定や子後の判断、魚の3倍体の研究などに応用されます。

### ■ 透過率、反射率の測定 ■

一般染色標本やフィルタの透過率、金属標本の反射率の測定を行うことができます。

### ■ 偏光度の測定 ■

偏光顕微鏡と組み合わせて、標本の偏光度の測定を行うことができます。

写真は落射蛍光顕微鏡BHS-RFKとの組み合わせです（蛍光測光）。

顕微鏡・内視鏡・医療器・カメラ等の光学総合メーカー

オリンパス光学工業株式会社 **OLYMPUS** 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 千101東京都千代田区神田駿河台3-4(龍名館ビル) ☎03(251)8981へ

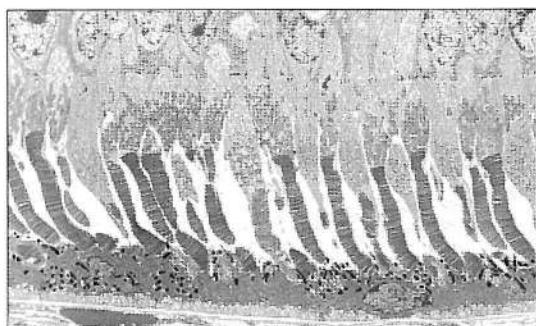
技術の日立

HITACHI

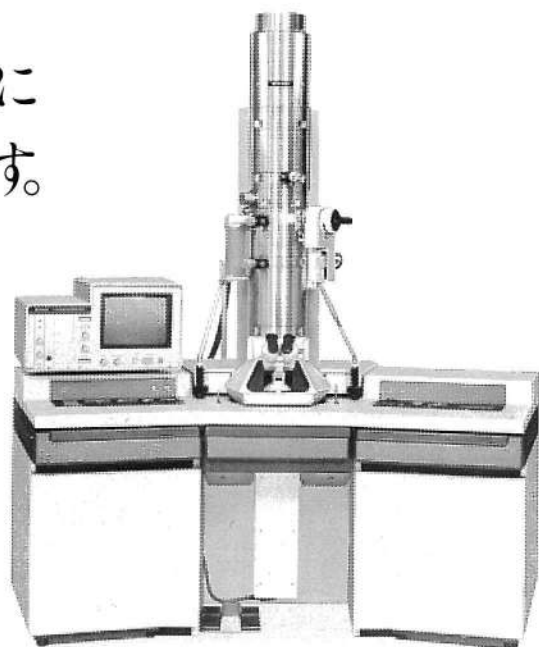
# BIO-TEM

ミクロの生態に照準を合わせた  
新しい電子顕微鏡、Bio-TEM。新登場。  
試料ダメージを減らした、より自然な観察  
高分解能・高コントラストによる、  
鮮明な画像。  
バイオテクノロジーのR&Dに  
飛躍的な成果をもたらします。

- 視野回転機構により、撮影視野の構図が自由に選べます。
- 観察室内倍率表示などにより、観察・撮影の操作が容易にできます。
- TVによりTEM像観察が可能です。(MICRO-VISION)
- 保証分解能/TEM:0.204 $\eta$ m、SEM:3 $\eta$ m(2 $\eta$ m:LaB6)、STEM:1.5 $\eta$ m(1 $\eta$ m:LaB6)



ナキウサギの網膜  
試料御提供：東京大学医学研究所 廣澤一成教授



H-7000形  
日立電子顕微鏡

日製産業株式会社 本社 千105 東京都港区西新橋1-24-14 電話/東京(03)504-7211  
事業所 電話/札幌(011)221-7241・仙台(0222)64-2211・水戸(0292)32-0112・筑波(0296)23-7391・横浜(045)671-5421・新潟(0252)41-3011  
北陸(0764)24-3386・豊田(0565)28-5179・名古屋(052)583-5841・京都(075)241-1591・大阪(06)366-2551・四国(0878)62-3391・岡山(0864)  
25-1316・広島(082)221-4514・九州(092)721-3501・沖縄(0988)78-1311  
株式会社 日立製作所 計測器事業部/千100 東京都千代田区丸の内一丁目5番1号(新丸ビル) 電話/東京(03)212-1111<大代>

# 高度に自在な新世代電子顕微鏡 BIOsysTEM JEM-1200EX II

最近のバイオテクノロジーの発達は目覚ましく、医学・生物学・薬学・農学など幅広い分野に応用され、驚異的な成果をあげています。しかも、未来へ向けてたゆまない発展が期待されています。この発展の中での高性能電子顕微鏡の役割は、バイオテクノロジーの基礎研究、応用技術の確立やバイオ商品開発を支えるための装置として、多方面にわたって利用されています。

BIOsysTEM JEM-1200EX II は、ますます拡大するバイオテクノロジーの広範なニーズに応えるために登場した、多機能で、操作性に富んだ高度に自在な新世代の電子顕微鏡です。

- 低い電子線照射量でEM像のTV観察ができるTVカメラシステム。
- 高解像力で広視野の撮影が自動でできる自動モニターシステム。
- 急速凍結した無固定、無染色生体試料の観察ができるクライオトランスファーホルダー。



本社・昭島製作所 〒196 東京都昭島市武蔵野 3-1-2 ☎(0425)43-1111  
 東京支店 〒100 東京都千代田区丸の内3-3-1・新東京ビル ☎(03)284-1433  
 札幌(011)726-9680 ・仙台(022)222-3324 ・筑波(0298)24-1286 ・横浜(045)474-2181  
 名古屋(052)581-1406 ・大阪(06)304-3941 ・広島(082)261-3790 ・高松(0878)21-8487  
 福岡(092)411-2381

# FUJI LIFE SCIENCE INC.

厚生省・農林水産省・FDA・EPA・OECD  
 ガイドラインと GLP に準拠した各種安全性試験の受託

## FLSの先進領域

### ◆ビーグル犬による各種試験

(幼若犬から老齢犬まで常備)  
 急性、亜急性、慢性毒性試験  
 心、肝、腎、視・聴覚器試験  
 バイオアベイラビリティー試験

### ◆病理組織学標本作製と所見

(光顕・電顕)

### ◆薬物代謝試験

### ◆吸入試験

ラット、マウス、ビーグル犬等による  
 急性、亜急性、慢性毒性試験 他

### ◆癌原性・世代・生涯試験

ラット、マウスによる長期毒性試験

### ◆変異原性試験

### ◆微生物検索試験

モデルエコシステムによる環境影響評価

## 株式会社 富士生物科学研究所

〒409-16 山梨県北巨摩郡小淵沢町10221番地  
 TEL: 0551(36)2455(代) FAX: 0551(36)3895

# Experimental Animals



## 取 扱 品 目

- SPF 動物  
マウス・ラット・ウサギ
- クリーン動物  
マウス・ラット・ウサギ・モルモット
- 輸入動物  
ビーグル犬・霊長類・ウサギ  
モルモット(ヘーゼルトン U.S.A.)
- その他実験動物
- 獣血液・血清・臓器
- 床 敷
- 飼 料
- 飼育器具

Hazleton. R.P,Inc.総代理店

Japan Laboratory Animals, Inc.

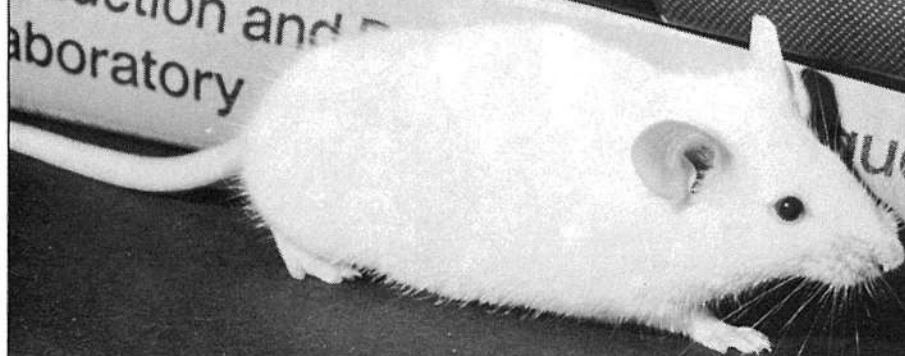
株式会社 日本医科学動物資材研究所

〒176 東京都練馬区春日町6丁目10番40号

TEL (03)990-3303 FAX (03)998-2243

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

Production and  
Laboratory



LEA &  
FEBIGER

●クローズドコロニー マウス・ラット

Jcl : ICR  
Jcl : SD  
Jcl : Wistar

●MCH マウス・ラット

Jcl : MCH (ICR)  
Jcl : MCH (Wistar)

●ミュータント マウス・ラット(ヌード)

BALB/cA Jcl-nu  
Jcl : AF-nu  
F344/N Jcl<sub>nu</sub>

●無菌 マウス・ラット

IQI/Jic[Gf]  
WA/Jic[Gf]

●その他

C57BL/6J-dy Jic(筋ジストロフィー)  
NOD/shi Jic(やせ型糖尿病)  
ODS/shi Jcl-od/od (Vit. C合成能欠如)  
スunks (Jic : SUN系)

●Jマウス 近交系

(国内生産)

C3H/HeJ Jcl<sup>MTV-</sup>  
C57BL/6J Jcl  
BALB/cBy Jcl  
DBA/2J Jcl  
CBA/J Jcl  
その他 JAX 輸入マウス

●近交系 マウス・ラット

C3H/HeN Jcl<sup>MTV+</sup>  
C57BL/6N Jcl  
BALB/cA Jcl  
DBA/2N Jcl  
F344/Jcl  
ACI/N Jcl

●その他(中動物)

ビーグルイヌ・サル類  
ミニプタG  
ネコ(IFFA CREDO産)

◇実験動物用飼料

一般動物用飼料  
家畜・家禽試験用飼料  
放射線減菌飼料  
特殊実験用配合飼料

◇器具・機材・装置

各種飼育ケージ  
各種飼育ラック  
その他関連装置


◇実験動物に関する受託業務

微生物・遺伝検査  
飼料の分析・無菌検査  
動物の受託生産  
動物施設の受託管理

◇コンサルタント及び

情報サービス  
施設の設計・プランニング  
各種データ・情報サービス

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 TEL03(791)0151(代)  
大阪営業所 大阪市西区京町堀1-13-2 藤原ビル 〒550 TEL06(441)0755(代)  
札幌出張所 札幌市西区八軒9条西10-4-24 〒063 TEL011(631)2725  
仙台出張所 仙台市宮城野区銀杏町14-12 〒983 TEL022(295)9731



# ハイ! ニーズ

needs



## 実験動物総合受託事業

- 飼育管理
- 動物実験
- 検査・検疫
- 系統維持
- 環境管理
- 機械・設備管理
- 事務・運営管理
- 消毒業務
- イベント
- 技術者教育
- コンサルタント
- 開発・計画

こんな時に  
お役に立ちます

.....

1. 自社施設の飼育動物と設備の一括管理を任せたい。
2. 即戦力として飼育管理・動物実験の技術者がほしい。
3. 数時間勤務・祝祭日・年末年始・休日だけの勤務、忙しい時だけの技術者がほしい。
4. 自社職員を教育・研修に出したい。
5. 実験動物関連の情報を知りたい。
6. 自社でセミナー・研修会等を開催したい。



技術とコミュニケーションを大切に

株式会社 アニマルケア

本社 〒164

西日本営業所 〒543

九州営業所 〒811-11

東京都中野区中野3-47-11

TEL03-384-9013 FAX03-384-9150

大阪府大阪市天王寺区悲田院町8-26

天王寺センターハイツ903

TEL・FAX06-772-6076

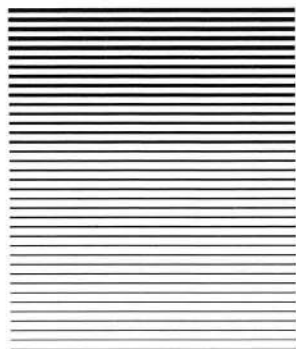
福岡県福岡市早良区内野1298-5

TEL092-804-0039 FAX092-804-4351

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。

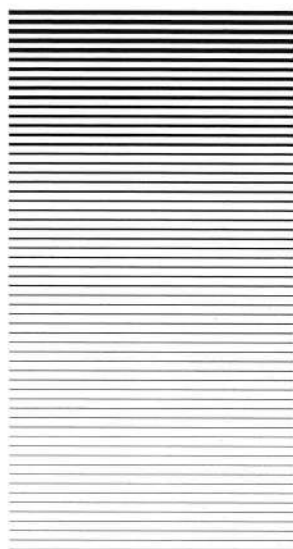
## 実験動物

ビーグル犬  
HAZLETON-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)  
野生捕獲検査ザル( // )  
繁殖アカゲザル (中国)  
その他各種  
各種ラット・マウス (U.S.A.)  
ネコ ( // )  
モルモット・マウス (国産)  
ウサギ ( // )  
その他各種特殊動物



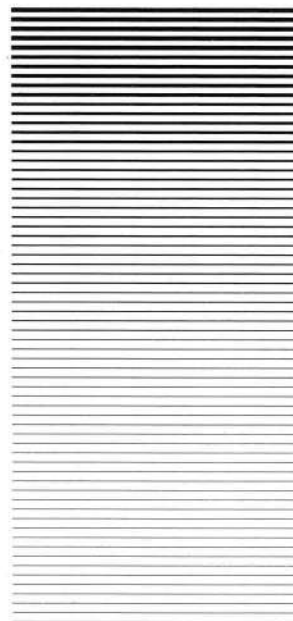
## 受託試験

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



## 実験動物関連商品

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



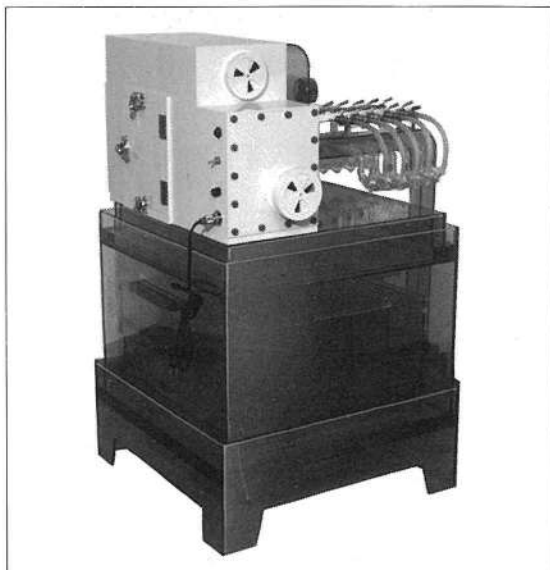
# 加商

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

御一報下されば担当者が参上、  
御説明申し上げます。



# 噴霧感染装置 実願昭59-107963号



●ラット、モルモット用/TSI-RM型 ●マウス用/TSI-M型

本装置は、実験動物の病原微生物呼吸器感染実験や微細粒子、農薬等の呼吸器吸入実験等に用いられる呼吸器吸入装置です。従来は、ネブライザーで発生させた煙霧を装置の上部から導入しましたが、煙霧は装置内で乱気流となって均一に拡散しなかったため、装置内の位置による動物の粒子吸入数のばらつきが大きく、煙霧の拡散の不均一が顕著でした。本装置は従来品の欠点を解消し、煙霧が装置内に均一に拡散し、しかも装置の組立から煙霧導入までを短時間で行なうことができる画期的な装置です。

## ■特長

- 小型だから場所をとりません
- 組立て式だから洗浄、収納が容易です
- 安全で操作が簡単です

**IKD 株式会社 池田理化**

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

八王子 TEL.0426(42)0570(代表) 筑波 TEL.0298(24)2681(代表)  
三島 TEL.0559(75)0975(代表) 埼玉 TEL.0492(45)7831(代表)  
平塚 TEL.0463(21)2974(代表) 横浜 TEL.045(303)6621(代表)  
千葉 TEL.0436(22)3738(代表) 藤枝 TEL.0546(44)5551(代表)



## ■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  
**Leclerio** 日本レグラー株式会社  
東京都中央区京橋一丁目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**  
大阪市中央区道修町二丁目3番6号

## ■効能・効果

ブドウ球菌属、レンサ球菌属、ペプトストレプトコッカス属、ペプトコッカス属、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、骨盤腹膜炎、ダグラス窩膿瘍) ◆子宮付属器炎、子宮内感染、骨盤死腔炎、子宮旁結合織炎、バルトリン腺炎 ◆髄膜炎

——セフェム系抗生物質製剤——  
**コスモン<sup>®</sup> 静注用**  
1g, 0.5g, 0.25g

**Cosmosin<sup>®</sup>**

日抗基 注射用セフゾナムナトリウム (略号:OZON) 薬価基準収載

# 北緯 43°

## 広がる信頼

創立20周年

安全性試験受託機関

# 化安研

所長 新保 幸太郎



株式  
会社

化合物安全性研究所

〒001 札幌市北区北30条西11丁目

☎(011)757-4039 〈担当〉 釜田 悟

# 実験動物 SLCの



### SPF動物

●クローズドコロニー●

マウス S/c:ddY  
S/c:ICR

ラット S/c:SD  
S/c:Wistar  
S/c:Wistar/ST  
HOS<sup>®</sup>:Donryu

モルモット S/c:Hartley

ウサギ S/c:NZW

●近交系●

マウス BALB/c Cr S/c  
C57BL/6 Cr S/c  
C3H/He S/c  
DBA/2 Cr S/c

B10 C57BL/10 Sn S/c  
コンジュク B10.A/SgSn S/c  
B10.BR/SgSn S/c  
B10.D2/nSn S/c

ラット F344/N S/c  
WKAH/Hkm S/c

モルモット Strain 2 S/c  
Strain 13 S/c

●交雑群●

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

●ミュータント系●

ヌードマウス BALB/c-nu S/c  
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<sup>®</sup>: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 S/c  
AKR/N S/c  
CBA/N S/c  
C3H/He N S/c MTV<sup>®</sup>  
C3H/He J S/c MTV<sup>®</sup>  
PW S/c

### 疾患モデル動物

マウス SLC-NZBWF<sub>1</sub>  
SLC-WBB6F<sub>1</sub>-W/WV  
MRL/MpJ-lpr/lpr

ラット WBN/Kob S/c  
DA/S/c  
Gunn rat S/c

### 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)

 **SLC**  
日本エスエルシー株式会社

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

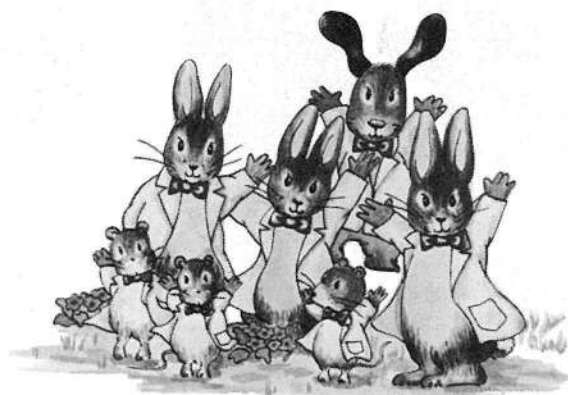


# 安全性試験のパイオニア

＜受託項目＞

一般毒性試験 変異原性試験  
生殖・発生毒性試験 局所刺激性試験  
癌原性試験 一般薬理試験  
抗原性試験 病理組織標本作製

他の試験については  
直接お問い合わせ下さい



The Center of Japan Biological Chemistry Co., LTD.

## 株式会社 日本生物化学センター

本社 〒531 大阪市北区豊崎4丁目12-17  
TEL (06) 373-0208

研究所 〒503-06 岐阜県海津郡海津町福江52  
TEL (05845) 4-5631 (代表) FAX (05845) 4-5104



# Keep Human & Nature



## 生技研

Hamamatsu Seigiken Research

安全性試験受託施設

株式会社生物科学技術研究所

研究所/静岡県浜松市葵町95-10 ☎0534(37)5348代

中伊豆分室/静岡県田方郡中伊豆町榎場804-56 ☎05588(3)2326代



## 受託研究機関



— オンラインシステムによるデータ収集 —

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・抗原性試験・薬理試験

### 株式会社日本バイオリサーチセンター

羽島研究所 〒501-62 岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地  
TEL. 0583-92-6222

# New Drug Development Research Center, INC.



恵庭研究所

## 受託試験の内容

- ◆安全性試験
- ◆薬理試験
- ◆吸収・分布・代謝・排泄試験
- ◆生物学的同等性試験
- ◆コンサルタント業務
- ◆論文投稿

## MR 新薬開発研究所

本社 岩見沢研究所 / 北海道岩見沢市上幌向町559-13  
☎ (0126) 26-3611(代表)

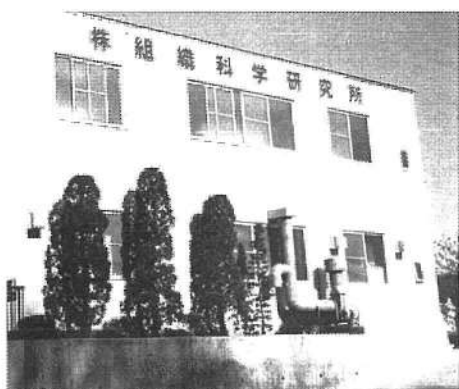
恵庭研究所 / 北海道恵庭市戸磯421-1  
☎ (0123) 34-0111(代表)

東京支店 / 東京都新宿区西新宿3-9-3第3梅村ビル4F  
☎ (03) 374-5407(代表)

# 安全性試験受託

## ■ 受託項目 ■

- 病理組織標本の作製  
及び検査  
(特殊染色、免疫染色)  
(病理所見、写真撮影)
- 電子顕微鏡的検索
- 硬組織標本の作製
- 変異原性試験
- その他



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



株式会社 **組織科学研究所**

〒198 東京都青梅市黒沢 2-984

TEL : 0428(74)4741

FAX : 0428(74)4505



新日本科学



SHIN NIPPON BIOMEDICAL LABORATORIES, LTD.

### 当社の特色

創業以来30年余りにわたって培われた技術と経験に基づき、各分野毎の専門スタッフが前臨床試験を実施致します。

国内最大規模を誇る大動物実験施設(ビーグル及びサル)での試験結果は委託者に定評があり、また、諸外国における試験価格に競合するものと考えます。

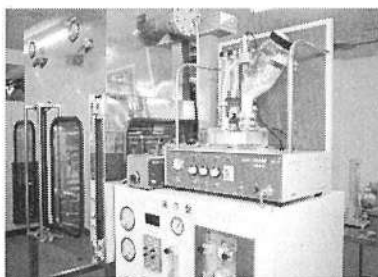
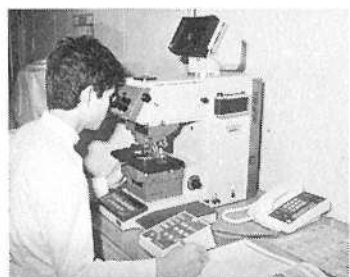
一般毒性試験

吸入毒性試験

生殖試験

変異原性試験

薬効薬理試験他




## 株式会社 新日本科学

本社・研究所: 〒891-13 鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦2438番地  
電話0992-94-2600(代表) ファクシミリ0992-94-3619

東京支社: 〒103 東京都中央区日本橋兜町20-5 兜町八千代ビル2階  
電話03-663-5028(代表) ファクシミリ03-663-5026





**S A P P O R O**  
**G E N E R A L**  
**P A T H O L O G Y**  
**L A B O R A T O R Y**  
Co., Ltd.

組織標本作製

病理組織学検査

薬理試験

【特殊染色】

アルシアンブルー・PAS染色、ギッター染色、  
PTAH染色、アザン染色、フォンタナマッソン染色、  
グリメリウス染色、ベルリンブルー染色、  
コンゴーレッド染色、オルセイン染色、  
アルデヒドフクシン染色、コッサ染色、他。

【酵素抗体法】

CEA、NSE、MT-1、MB-1、S-100、AFP、  
Keratin、Myoglobin、Desmin、他。

**(株)札幌総合病理研究所**

〒064 札幌市中央区南12条西18丁目3-17

Tel 011-563-6215

所長 小野江為則

研究部長 竹内 雅也



# 第6回日本毒性病理学会

## 講演要旨集



1990年2月13, 14日

札幌

