

第 8 回日本毒性病理学会

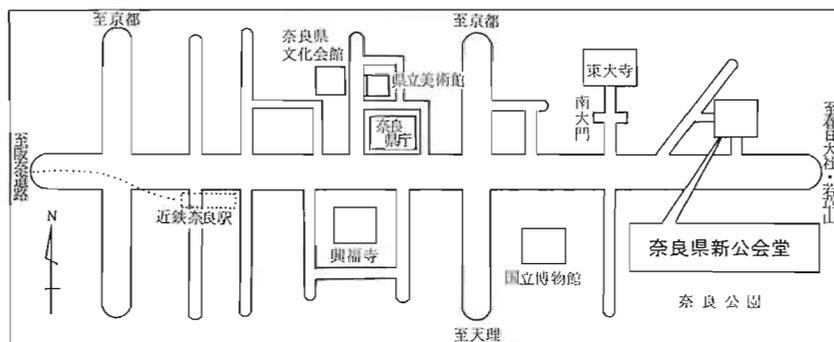
講演要旨集



1992年 1 月23, 24日

奈 良

会場ご案内



●交通のご案内

- 近鉄（奈良線・京都線）「奈良駅」下車 東へ徒歩15分
- JR（関西本線・奈良線）「奈良駅」から奈良交通バス（市内循環）「大仏前」下車 東へ徒歩2分

学会会場：「奈良県新公会堂」

奈良市春日野町101番地

TEL. 0742-27-2630

FAX. 0742-27-2634

講演会場：能楽ホール

示説会場：1階会議室

スライドコンファランス会場：

2階レセプションホール

昼食・懇親会会場：2階レセプションホール

評議員会会場：2階会議室3・4

第8回 日本毒性病理学会

1. 期 日 1992年1月23日(木), 24日(金)
2. 会 場 奈良県新公会堂
3. 会 長 小西 陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
4. 日 程 第1日 1月23日 (木)

8:45 ~	受付開始	
9:15 ~ 9:20	開会あいさつ	
9:20 ~ 10:50	一般講演 (I)	(1 ~ 9)
10:50 ~ 11:50	ミニシンポジウム (I)	(10 ~ 13)
11:50 ~ 13:00	昼食・評議員会	
13:00 ~ 13:20	総会	
13:20 ~ 14:35	ミニシンポジウム (II)	(14 ~ 18)
14:35 ~ 15:45	一般講演 (II)	(19 ~ 25)
15:45 ~ 16:00	休憩	
16:00 ~ 16:50	一般講演 (III)	(26 ~ 30)
16:50 ~ 17:30	ワークショップ	(31 ~ 32)
18:00 ~ 20:00	懇親会	

第2日 1月24日 (金)

9:00 ~	受付開始	
9:30 ~ 10:10	一般講演 (IV)	(33 ~ 36)
10:10 ~ 10:55	ミニシンポジウム (III)	(37 ~ 39)
10:55 ~ 12:00	特別講演	
12:00 ~ 13:00	昼食	
13:00 ~ 14:00	示説総合討論 (I, II, III)	(40 ~ 77)
14:00 ~ 15:15	ミニシンポジウム (IV)	(78 ~ 82)
15:15 ~ 15:45	一般講演 (V)	(83 ~ 85)
15:45 ~ 16:00	休憩	
16:00 ~ 16:50	一般講演 (VI)	(86 ~ 90)
16:50 ~ 16:55	閉会あいさつ	

* 示説は第1日の10:00から第2日の14:00までの間展示し、
第2日13:00~14:00に会場にて総合討論を行います。

5. 事務局 奈良県橿原市四条町840
奈良県立医科大学附属がんセンター
腫瘍病理
TEL. 07442-2-3051 (内3276)
FAX. 07442-5-7308

毒性病理学会のあゆみ

回	開催地	会長(所属)	会期	特別講演	シンポジウム	一般演題
1	東京	西山保一(北里学園)	1985, 3, 25	2	0	0
2	東京	藤原公策(東大)	1986, 2, 7~8	1	5	29
3	名古屋	伊東信行(名市大)	1987, 2, 6~7	1	8	47
4	浜松	榎本 眞(安評セ)	1988, 2, 5~6	1	7	55
5	横浜	蟹澤成好(横市大)	1989, 1, 27~28	1	6	53
6	札幌	板倉智敏(北大)	1990, 2, 13~14	1	6	80
7	東京	林 裕造(国立衛試)	1991, 1, 17~18	1	ミニシンポジウム 20	一般演題 53
8	奈良	小西陽一(奈良医大)	1992, 1, 23~24	1	ミニシンポジウム 17 ワークショップ 2	一般演題 71

参加者へのお願い

参加者の方へ

1. 受付で**参加費(7,000円)**を納入して参加章を受取り、氏名・所属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日は午前8時45分から、第2日は午前9時から奈良県立新公会堂1階にて行います。
3. 質問・討論される方は、座長の指示に従って所属と氏名を述べ発言して下さい。
4. 会場付近は昼食のできるレストラン等はほとんどありません。当日の朝、受付でお弁当券を発売いたします。昼食会場としてレセプションホールをご利用下さい。

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. ワーク・ショップの講演時間は10分(9分に予告)、討論時間は2演題終了後に20分とします。
3. ミニシンポジウムの講演時間は12分(11分に予告)、討論は3分です。
4. プロジェクターは35mm判用を1台用意します。
5. 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。
なお、スライドは一般講演・ワークショップ・ミニシンポジウムとも20枚以内をお願いします。
6. 次演者の方は次演者席(会場の左端最前列)にお着き下さい。
7. 舞台は土足厳禁です。演者は舞台上る際、据え付けのスリッパに履きかえて下さい。

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. 持ち時間の範囲内で司会をお願いいたします。

総会および評議員会のご案内

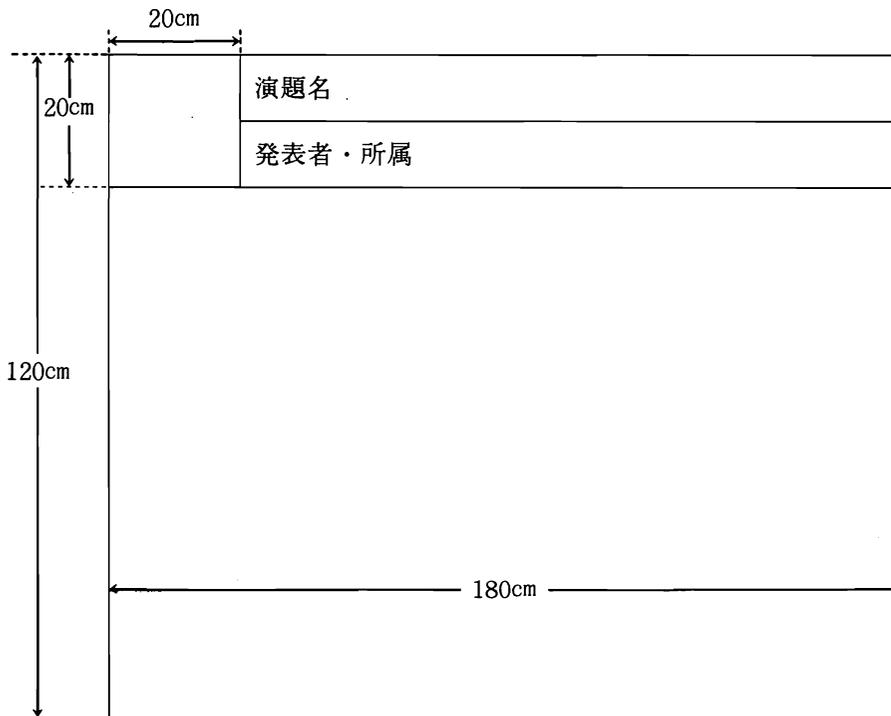
1. 総会は学会第1日の13時00分より能楽ホールにて行います。
2. 評議員会は学会第1日の11時50分より2階会議室3・4にて行います。

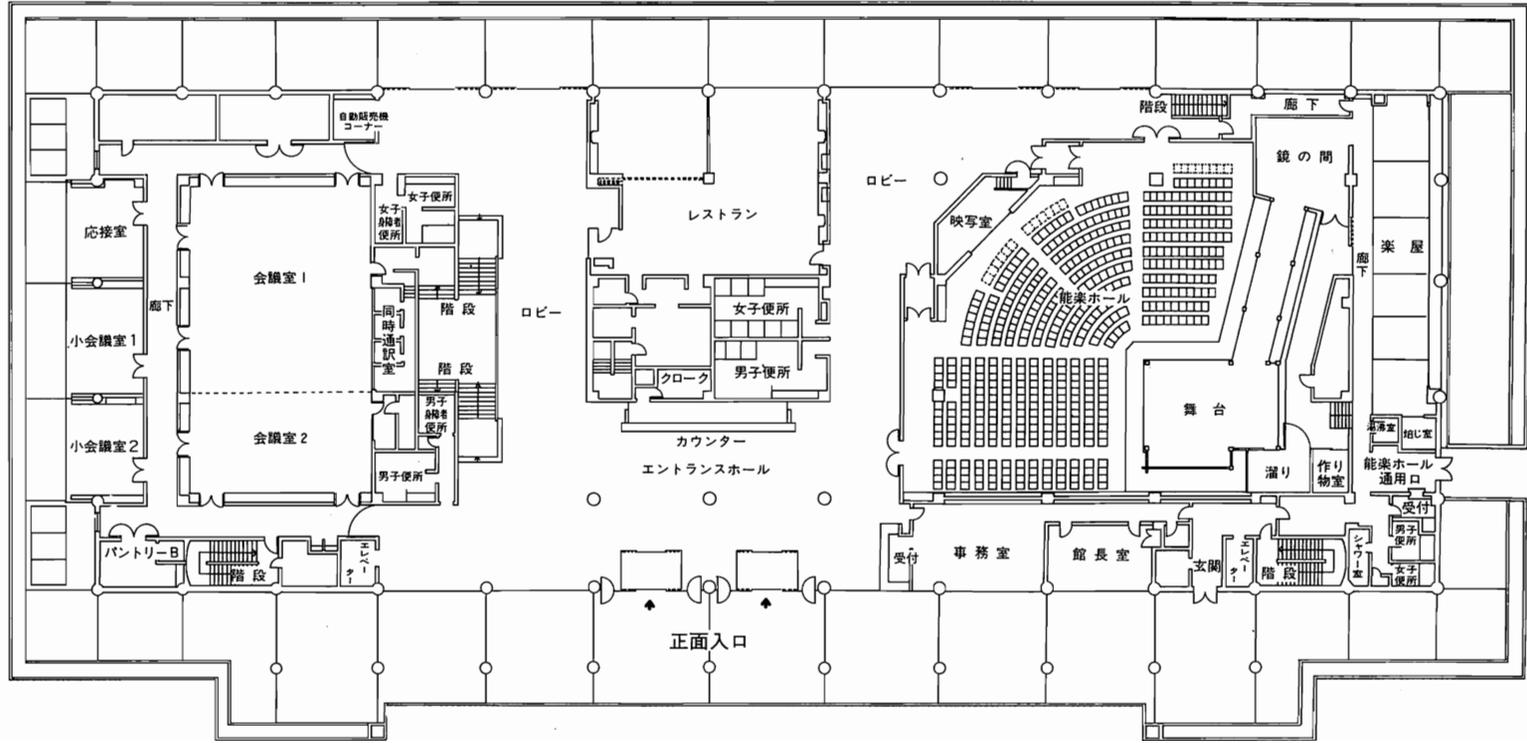
懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第1日の18時から20時まで奈良県新公会堂2階レセプションホールにて開催します。
2. 懇親会へ出席の方は学会第1日正午までに学会会場受付にてお申し込み下さい。
会費は5,000円です。

示説される方へ

1. 示説の受付は学会第1日の9時より示説会場入口にて行いますので、当日10時までに受付と展示を済ませて下さい。
2. 展示時間は、学会第1日の10時～第2日の14時までとします。第2日の13～14時は示説I、II、IIIの各セッション毎に各自の示説展示前において総合討論を行います。総合討論は要旨発表2分、質疑応答および討論2分としますので、発表者をご準備下さい。
3. パネルの大きさは縦120cm、横180cmです（下図参照）。
4. 展示には学会で用意した画紙などを使用して下さい。
5. 演題名、発表者氏名、所属の表題を下図の要領に従って作成し、持参・展示して下さい（演題番号は主催者で用意します）。





第8回 日本毒性病理学会 プログラム

第1日 1月23日(木)

9:15~9:20 開会あいさつ 会長:小西陽一(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

9:20~9:50 座長:渡辺敦光(広島大・原医研)

1. NARラットでの胃発癌物質に対する

ペプシノーゲン変異幽門腺(PAPG)の態度 3

○浅川恵美子¹, 小川久美子¹, 玉野静光¹, 小木曾正¹, 白井智之¹, 立松正衛²

伊東信行¹(¹名市大・1病理, ²愛知がんセ・超微)

2. オカダ酸クラス発癌プロモーターの消化管上皮細胞に対する増殖効果 4

○湯浅啓史, 山本昌美, 立松正衛(愛知がんセ・研・超微)

3. 1-Hydroxyanthraquinoneによるラット大腸の組織形態及び細胞動態の変化 5

○森 良雄, 田中卓二, 吉見直己, 杉江茂幸, 森秀樹(岐大・医・病理)

9:50~10:20 座長:長谷川良平(名市大・医・1病理)

4. Studies on the Medium-term Carcinogenicity

Bioassay Using D-Galactosamine 6

○Lee Yong-Soon, Kim Hyung-chin(ソウル大・獣医)

5. 環境化学物質ラット肝発癌イニシエーション作用の解析 7

○津田洋幸, 松本和幸, 伊藤充哉(保衛大・医・2病理)

6. ラット肝中期発癌試験法による MeA α C, PhIP の用量相関性 8

○森 敏男, 高橋 智, 長谷川良平, 萩原昭裕, 小川久美子, 伊東信行

(名市大・医・第1病理)

10:20~10:50 座長:荒井昌之(保衛大・衛・病理)

7. ラットの二段階発がんモデルにおける 6 MP の

発癌プロモーション作用について 9

○松島裕子¹, 小野寺博志¹, 渋谷 淳¹, 吉田順一¹, 北浦敬介¹, 三森国敏¹,

高橋道人¹, 前川昭彦²(¹国立衛試・病理, ²佐々木研・病理)

8. マウスの肝臓各葉における自然発生肝細胞腫瘍の発生頻度比較10
 ○吉田敏則, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)
9. 生涯飼育F344ラットにおける肝細胞小増殖巣および
 肝細胞腫瘍の自然発生率11
 ○原田孝則, 海老野耕一, 真板敬三 (残農研)

ミニシンポジウム (I) 細胞増殖マーカーと腫瘍関連遺伝子

10:50~11:50 座長: 白井智之 (名市大・医・1病理)

堤 雅弘 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

10. 可移植性ラット悪性骨軟部腫瘍における transin mRNA の発現12
 ○朴木寛弥¹, 堤 雅弘², 辻内俊文², 堀口浩資², 白岩和巳², 小西陽一²
 (¹奈良医大・整外, ²同・がんセ・腫瘍病理)
11. ラット諸臓器における細胞増殖マーカーとしてのPCNAの有用性の検討
 ~ホルマリン固定, パラフィン包埋切片での免疫組織化学的基礎検討~13
 ○福田種男¹, 木村正美², 青木豊彦¹, 山津清實¹
 (¹エーザイ・安全研, ²カワシマ商事)
12. ラット下垂体前葉における細胞増殖の動態
 -性周期, 雌雄差および各細胞の同定-14
 ○大石裕司¹, 奥田 稔², 高橋秀樹², 小柳津竜樹², 泉野良夫², 螺良愛郎²,
 森井外吉² (¹藤沢薬品・安研, ²関西医大2病)
13. HAQO投与ラットの膵腺房細胞核における
 経時的AgNORの局在に関する電顕的検討15
 ○今沢孝喜, 渋谷 淳, 古川文夫, 林 修次, 川西 徹, 三森国敏,
 高橋道人 (国立衛試・病理)

11:50~13:00

—— 昼食・評議員会 ——

13:00~13:20

—— 総 会 ——

ミニシンポジウム (II) 新しい疾患モデル

13:20~14:35 座長: 田中 寿子 (慈恵医大・医科研・微細形態)

傳田阿由美 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

14. キメラマウスにおける系統特異抗体による組織構築の解析16
 ○山本昌美, 湯浅啓史, 立松正衛 (愛知がんセ・超微)
15. チオフェンによる聴性脳幹反応異常と下丘変性病変17
 ○森 文秋, 高屋豪瑩, 吉田泰二, 玉山公基, 中村清純
 (弘前大・脳研・神経病理)
16. 3-Acetylpyridine 誘発オリープ小脳路障害ラット18
 ○小口 敦¹, 山村高章¹, 木下 潔², 藤塚達也², 乾 俊秀¹, 今泉和則¹,
 湯浅啓史¹, 川合是彰¹, 岡庭 梓¹ (¹田辺製薬・安全研, ²同・生物研)
17. SHR 肥大心における doxorubicin 誘発心筋障害時の細胞膜透過性亢進19
 ○鳥井幹則¹, 村岡義博¹, 伊藤浩行² (¹塩野義研, ²近大・医・1 病理)
18. ハムスターにおける Azaserine による膵管病変の発生20
 ○堀口浩資, 堤 雅弘, 天沼利宏, 辻内俊文, 田村一利, 高島吉治,
 長谷川清彦, 吉田順一, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

一般講演 (II)

14:35~15:15 座長: 渡辺満利 (持田製薬・安全研)

19. BOP 投与によるハムスター膵および肝の急性変化21
 ○古川文夫, 今井田克己, 西川秋佳, 佐藤元信, 吉村博之, 三井雅之,
 高橋道人 (国立衛試・病理)
20. エストロジェン投与マウスの肝類洞内 MPS 系細胞の動態
 —免疫組織化学と画像解析装置を用いた定量化—22
 ○井上 知, 松井信志, 渡辺 弘, 村岡義博 (塩野義研)
21. 食用クチナシ黄色色素 (リケカラー Y G) の慢性毒性実験中にみられた
 C57BL/6N マウスの肝炎について23
 ○伊藤明弘, 渡辺敦光, 高橋忠照, 藤本成明, 井内康輝
 (広島大・原医研・癌)
22. 鶏幼雛でのアルブミン及び吸着剤によるアフラトキシン排除の試み24

○平野孝一¹, 足立吉数² (¹農水産省・家畜衛試, ²同・食総研)

15:15~15:45 座長:奥野泰由 (住友化学・生科研)

23. 塩化カドミウム反復投与による Wistar および Fischer ラットの
Pancreatic hepatocyte の発生25

○小西 登¹, 北堀吉映¹, 大嶋正人¹, 日浅義雄¹, JM, Ward²
(¹奈良医大・二病, ²NCI-FCRDC, USA)

24. 下痢性貝毒の比較毒性26

○寺尾 清, 伊藤恵美子, 大楠美佐子 (千葉大・真核微研)

25. 制癌剤の高分子化による毒性発現の多様性
—アドリマイシンを用いた検討—27

○川畑好之康, 安藤信明, 園田崇倫, 若松智恵美, 野原正志,
入江弘之, 小柴 博, 岩井正和 (ミドリ十字・安全研)

15:45~16:00 — 休 憩 —

一 般 講 演 (III)

16:00~16:20 座長:佐久間貞重 (大阪府大・獣医・病理)

26. YM175 を投与したビーグル犬における骨の新生28

○二井愛介, 藤本隆平, 成田 幸, 岡宮英明, 花田貴宣, 三木寿雄
(山之内製薬・安全研)

27. SD 系ラットの周産期における胎児・出生児の化骨29

○井手幸晴, 近藤純一, 二宮博徳, 鷲見信好 (日本新薬・安全研)

16:20~16:50 座長:前川昭彦 (佐々木研・病理)

28. Freund's complete adjuvant の末梢神経系に及ぼす影響30

○早川和宏^{1,2}, 塩野谷 博¹, 日比野信裕¹, 大川三治¹, 福田種男¹,
本岡 覚¹, 中野渡純一¹, 山津清實¹, 祖父江 元²
(¹エーザイ・安全研, ²愛知医大・4内)

29. X線によりラットに誘発された動脈炎の修飾要因31

○渡辺敦光, 高橋忠照, 岡本太郎, 伊藤明弘 (広島大・原医研・癌)

30. 脾摘出の貧血に及ぼす影響32

○永井博文, 安原吉高, 田中丸善洋, 伊藤隆康, 安藤奈緒子,
茶谷文雄, 佐々木啓 (武田薬品・薬安研)

16:50~17:30 座長:宇高奎二 (日本ロシュ)

林 裕造 (国立衛試)

ワークショップ 新しい情報処理システムの確立をめざして

31. 日米両国間でネットワーク化された安全性試験システムの一例33

○松井 一, 三井隆喜, 三浦浩二, 樋口 守, JELund
(アップジョン・筑波総合研)

32. パソコンネットワークを利用した毒性病理コンピュータシステムの開発34

○下地尚史, 牧之瀬俊彦, 野口 修, 米倉清美, 滝沢達也, 村田晃子,
砂越雄二, 高木英利 (日本レダリー・生物研)

特別発言:病理用語の標準化に関する国際的現況

○三森国敏 (国立衛試・病理)

18:00~20:00

—— 懇 親 会 ——

第2日 1月24日(金)

一般講演(Ⅲ)

9:30~10:10 座長:福島昭治(大阪市大・医・1病理)

33. Potassium phosphate dibasic (PPD), Potassium aluminium sulfate (APS) による腎発癌過程における修飾作用35
○林 功, 小西 登, 中岡伸悟, 大嶋正人, 日浅義雄
(奈良医大・2病理)
34. フェナセチン誘発病的状態の腎盂癌発生リスクの増強36
○村井 隆^{1,2}, 森 聖², 細野素子², 武内康義², 大原忠雄², 牧野 進²,
林 幸之², 福島昭治¹ (¹大阪市大・医・1病理, ²シオノギ・油日ラボ)
35. BOP経胎盤投与により誘発されるラット雌性生殖器腫瘍の系統差37
○小野寺博志¹, 松島裕子¹, 北浦敬介¹, 渋谷 淳¹, 三森国敏¹,
高橋道人¹, 路 進², 前川昭彦² (¹国立衛試・病理, ²佐々木研・病理)
36. Ethylenethiourea と亜硝酸ナトリウムの同時経口投与による
マウス発癌性試験 II. 子宮発癌過程の病理学的検討38
○吉田明由, 原田孝則, 真板敬三(残農研)

ミニシンポジウム(Ⅲ) 天然化学物質の発癌修飾作用

10:10~10:55 座長:高橋道人(国立衛試・病理)

広瀬雅雄(名市大・医・1病理)

37. 多臓器発がんモデルを用いた天然物質の発癌修飾作用の検討39
○小木曾正, 白井智之, 増井恒夫, 伊東信行(名市大・医・1病理)
38. ラット肝中期発癌試験法におけるカビ毒 trichothecene 類の
aflatoxin B₁ 肝発癌性に及ぼす効果40
○関島 勝^{1,2}, 長谷川良平¹, 加藤俊男¹, 河部真弓¹, 上野芳夫²,
伊東信行¹ (¹名市大・医・1病理, ²東理大・薬・毒微)

39. ユリ科食用植物に含まれる有機イオウ化合物の発癌修飾作用についての
中期発癌試験法（ラット肝癌モデル）による検索41

○高田信康¹, 大年辰幸¹, 村井 隆¹, 加藤俊男², 福島昭治¹
(¹大阪市大・医・1病理, ²名市大・医・1病理)

- 10:55~12:00 特別講演 座長:小西陽一(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

Biochemical Mechanisms of Toxic Cell Injury

John L. Farber. M.D.

(Thomas Jefferson University, Philadelphia, PA, USA)

- 12:00~13:00 — 昼 食 —

- 13:00~14:00 — 示 説 総 合 討 論 —

示説1 コメンテータ:立松正衛(愛知がんセ・超微形態)

40. Azoxymethaneのハムスターにおける腫瘍発生について43

○阿瀬善也, 豊田和弘, 佐藤元信, 吉村博之, 川西 徹, 高橋道人
(国立衛試・病理)

41. 亜硝酸とフェノール系化合物の同時投与による
ラット前胃増殖性病変の増強作用44

○河部真弓, 広瀬雅雄, 加藤俊男, 吉田康則, 佐野真士, 伊東信行
(名市大・医・1病理)

42. Enhancing effects of catechol and its isomers on
N-methyl-N-amyl-nitrosoamine-induced esophageal
carcinogenesis in rats45

○P. Boonyaphiphat¹, S. Takahashi¹, M-A. Shibata², H. Yada¹,
M. Hirose¹ and N. Ito¹ (¹名市大・医・1病理, ²大阪市大・医・1病理)

43. ハムスターBOP投与による胆管の増殖性病変に対する
プロゲステロンの促進効果46

○佐藤元信, 古川文夫, 豊田和弘, 三井雅之, 佐藤秀隆,
西川秋佳, 高橋道人(国立衛試・病理)

44. ラットの舌に認められた自然発生性顆粒細胞腫の1例	47
○松本順子, 勝田 修, 土谷 稔 (三菱化成・安科研)	
45. カニクイザルにみられた小腸壁の肥厚について	48
○森田晴夫, 須永昌男, 下村和裕, 小泉治子 (前臨床医学研)	
46. 3-methylcholanthreneは肝小葉中心部に, β -naphthoflavoneは小葉辺縁部にチトクロームP-450IA1を誘導する	49
○真鍋 淳, 高岡雅哉, 矢本 敬, 五十嵐功, 大橋芳彦, 松沼尚史 (三共・安全研)	
47. 四塩化炭素投与スナネズミ (<i>Meriones Unguiculatus</i>) における脂肪肝の生成と絶食の効果	50
○山口 格, 長谷川和成, 筒井秀樹, 大村美麻, 竹内哲也, 水谷孔治, 吉野幹子, 藤原公策 (日大・農獣医)	
48. 肝中期発癌検索法を用いた198化学物質の発癌性の検討	51
○萩原昭裕, 増井恒夫, 田中 光, 長谷川良平, 伊東信行 (名市大・医・1病理)	
49. Dicofolのマウス肝腫瘍発生に及ぼす影響について —腫瘍発生の経時的観察, 二段階発癌実験および酵素誘導能の検索—	52
○佐藤秀隆, 畝山智香子, 豊田和弘, 小笠原裕之, 今井田克己, 高橋直人, 林 裕造 (国立衛試・病理)	
50. DHPNによるラット甲状腺発癌系を用いたスピロラクトンとフェノバルビタールの甲状腺発癌プロモーション作用の検索	53
○務台 衛, 杉本次郎, 藤田重晴, 井上芳己, 小島 隆 (三菱化成・安全研)	
51. ラットの下垂体前葉腺癌について	54
○細川 暁, 福田種男, 今井俊夫, 園田二郎, 青木豊彦, 川口 隆, 早川和宏, 本岡 覚, 中野渡純一 (エーザイ・安全研)	
52. DDPM投与ラットにおける甲状腺, 下垂体の経時的変化の検討	55
○小島 隆, 児玉和茂, 望月 淳, 神原由季, 伊藤博子, 務台 衛 (三菱化成・安全研)	

示説2 コメントータ：板倉智敏（北大・獣医・比較病理）

53. カニクイザルにおける線維腫症の1例56
○柳井徳磨¹, 松本悦嗣¹, 寺西宗広¹, 高岡雅哉¹, 真鍋 淳¹,
松沼尚史¹, 後藤直彰² (¹三共・安全研, ²東大・獣医病理)
54. アテロコラーゲンミニペレットのサル皮下組織における
消失過程の検討57
○藤本かおり, 乃田 正, 中野 実, 井上 薫 (住友化学・生物環境科学研)
55. 生体内埋植物質に対する組織反応の病理学的研究58
○斉藤義明, 畔上二郎, 吉村慎介, 永田伴子, 山口 肇, 今井 清
(食薬安全セ・秦野研)
56. 体内留置異物誘発腫瘍および初期変化の形態学的特徴59
○島中真吾¹, 尾根田暁^{1,2}, 岡崎啓幸^{1,2}, 永田良一², 井坂英彦¹,
吉田宏己¹ (¹鹿児島大医・1病, ²新日本科学)
57. 長期毒性試験に発生したラット耳介の肥厚について60
○木村 均, 田中尚子, 外山勝己, 岡田雅昭
(NBR)
58. バベシア症治療薬ガナゼックの犬への副作用の実験的解析
1) ガナゼック副作用用量投与犬の病理学的検索61
○内田和幸, 幸 優理, 大塚宏光, 山口良二, 立山 晋 (宮大)
59. Fischer 344 ラットの心臓に自然発生した線維性増殖性病変62
○岡崎欣正, 沖本一夫, 安場正子, 飯田晶敏, 大西久美雄
(大日本製薬・開発研)
60. 食塩負荷 SHRSP における血管病変と ACE 阻害剤 imidapril の作用63
○藤原利久, 湯浅啓史, 乾 俊秀, 山村高章, 小口 敦, 小林欣滋,
川合是彰, 岡庭 梓 (田辺製薬・安全研)
61. マウス悪性リンパ腫のパラフィン包埋標本での免疫組織学的手法の有用性64
○北浦敬介, 渋谷 淳, 小野寺博志, 松島裕子, 三森国敏, 高橋道人
(国立衛試・病理)

62. 前肢麻痺を示したラットの脊髄星細胞腫の1例65
○河南明孝, 吉田 勝, 井手幸晴, 俵谷武治, 中沢素邦, 内本啓史, 鷺見信好(日本新薬・安全研)	
63. カナマイシン投与ビーグルの聴覚器のSEM観察66
○山村高章, 久世 博, 乾 俊秀, 湯浅啓史, 小口 敦, 小林欣滋, 藤原利久, 川合是彰, 堀 正樹, 岡庭 梓(田辺製薬・安全研)	
64. F344ラット子宮腫瘍に由来する可移植性腫瘍の特徴67
○寺西宗広 ¹ , 柳井徳鷹 ¹ , 五十嵐功 ¹ , 松沼尚史 ¹ , 後藤直彰 ² (¹ 三共・安全研, ² 東大・獣医・病理)	
示説3 コメントータ: 宮脇宏彰(武田薬品・中央研)	
65. PAF吸入暴露によるモルモット下気道粘膜の形態変化68
○仲野善久, 原 敦子, 松崎勝寛(日本ケミファ・研)	
66. メタノールエンジン排気ガス吸入によるラット呼吸器系の形態学的変化69
○路 進 ¹ , 前川昭彦 ¹ , 前島一仁 ² , 鈴木忠男 ² , 石西 伸 ² (¹ 佐々木研, ² 自動車研)	
67. 肺線維症モデル確立のためのN-nitroso-N-methylurethane投与による 予備的検討70
○吉村博之, 吉田順一, 今沢孝喜, 古川文夫, 三森国敏, 今井田克己 林 裕造(国立衛試・病理)	
68. 犬の鼻腔構造及び鼻粘膜における毒性評価71
○渡邊 厚, 白岩和己, 佐藤則博, 小川慎一, 三浦昌己, 矢野讓次, 小林洋四郎, 浜川博司(東洋醸造・病理)	
69. ラットに出現したムコ多糖症について72
○吉田 緑, 野口純子, 筏井 洋(動繁研)	
70. 1年間反復投与毒性試験に用いられたSD系ラット(Crj:CD)の 自然発生腫瘍73
○中村 厚, 川合孝幸, 藤本利恵, 星谷 達, 玉井幸子, 永谷真理子, 安藤利恵, 堀口浩資, 工藤佳代子, 五藤裕子, 田村一利(ボゾリサーチ)	

71. 新規合成化合物により全身諸組織に認められた空胞変性74
 ○田中雅弘, 大久保正人, 秋葉知英, 浅沼章宗, 横尾信夫, 古賀照二
 (興和・東京研)
72. 1, 1-Bis (t-butylperoxy) 3, 3, 5-trimethylcyclohexane の
 マウスにおける13週間亜慢性毒性試験75
 ○三井雅之, 古川文夫, 篠田和俊, 佐藤元信, 榎並倫宣,
 川西 徹, 高橋道人 (国立衛試・病理)
73. ラット慢性腎症の病理組織学的解析—硝子滴変性について—76
 ○海平充代, 宇和川賢, 齊藤幸一, 中山厚美, 奥野泰由
 (住友化学・生物環境科学研)
74. ストレプトゾトシン投与片腎摘出マウスの腎のレクチン組織化学的検索77
 ○板垣慎一, Jose I. AGUIRRE, 久米英介, 土井邦雄 (東大・農)
75. ビーグル犬における糸球体脂質症78
 ○五藤裕子, 中村 厚, 星谷 達, 藤本利恵, 合川孝幸, 永谷真理子,
 玉井幸子, 工藤佳代子, 安藤利恵, 田村一利 (ボゾリサーチ)
76. フィチン酸 (天然食品添加物) 継続投与による腎盂乳頭腫の発生79
 ○北堀吉映, 林 功, 小西 登, 日浅義雄 (奈良医大・2病)
77. アスコルビン酸ナトリウムによるラット膀胱上皮細胞の増殖反応80
 ○大年辰幸, 村井 隆, 高田信康, 柴田雅朗, 岩田裕之, 福島昭治
 (大阪市大・医・1病理)

ミニシンポジウム (IV) 活性酸素の関与する細胞障害と発癌

14:00~15:15 座長: 黒川雄二 (国立衛試・毒性)
 中江 大 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

78. 鉄ニトリロトリアセテート投与により生じる酸化的ストレスに及ぼす
 グルタチオン及びシステインの影響81
 ○梅村隆志, 佐井君恵, 高木篤也, 長谷川隆一, 黒川雄二
 (国立衛試・毒性)

79. グリセロールによるラット腎障害の発症に関する組織過酸化の関与
について82
 ○山田久陽¹, 杉浦正幸¹, 村上美穂子¹, 大津結実子¹, 大島 隆¹,
 中根貞雄¹, 山田高路² (¹大正製薬・総合研, ²愛知医大・法医)
80. Hydroquinoneの腎に対する発癌性：脂質過酸化 $\alpha_2\text{U}$ グロブリンの関与
についての解析83
 ○田中 光, 広瀬雅雄, 二口 充, 赤木圭介, 佐野真士, 伊東信行
 (名市大・医・1病理)
81. ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸(CDAA)食による肝前癌病変の
発生に対する食餌性鉄欠乏の抑制効果84
 ○水本靖士, 中江 大, 吉治仁志, 堀口浩資, 白岩和己, 小西陽一
 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
82. EFFECTS OF INHIBITORS OF ARACHIDONIC ACID METABOLISM ON THE
EVOLUTION OF PRENEOPLASTIC FOCI INTO NODULES AND CARCINOMAS
IN RAT LIVER85
 ○Qing TANG, Ayumi DENDA, Toshifumi TSUJIUCHI,
 Masahiro TSUTSUMI, Toshihiro AMANUMA, Yoshiaki MURATA
 and Yoichi KONISHI
 (Dep. Oncol. Pathol., Cancer Center, Nara Med. Univ.)

一般講演 (V)

15:15~15:45 座長：今井田克己 (名市大・医・1病理)

83. キナクリンのマウス肺腫瘍発生におよぼす影響86
 ○林 修次, 小笠原裕之, 古田京子, 畝山智香子, 佐藤秀隆,
 今沢孝喜, 今井田克己, 林 裕造 (国立衛試・病理)
84. ウレタンの中期投与による発がんリスクの評価87
 ○栗原寛治, 有広光司, 武島幸男, 井内康輝 (広島大・医・2病理)
85. 発がん修飾物質検索のためのラット多臓器発がんモデルの開発88
 ○玉野静光¹, 白井智之¹, 福島昭治², 二口 充¹, 浅川恵美子²,
 伊東信行¹ (¹名市大・医・1病理, ²大阪市大・医・1病理)

15:45~16:00

— 休 憩 —

一 般 講 演 (VI)

16:00~16:30 座長：土井邦雄（東大・農・実験動物）

86. 化学物質による精巣障害の病理学的検討（第6報）
—大量ビタミンB₆投与によるラット精子の変化……………89
○井出良浩，海道昌宣，小出 紀（産業医大・2病）
87. Diheptyl phthalateのラットにおける精巣毒性と
ペルオキシゾーム増生作用について……………90
○豊田和弘，今沢孝喜，阿瀬善也，篠田和俊，小笠原裕之，西川秋佳，
高橋道人（国立衛試・病理）
88. 雌ラット腎臓における α 2U-globulinの免疫組織化学的研究……………91
○城塚康毅，橋本直美，山本正樹，安藤孝夫（武田薬品・薬安研）

16:30~16:50 座長：日浅義雄（奈良医大・2病理）

89. ラットの自然発生下垂体前葉および中間部腺腫のホルモン産生に関する
免疫組織化学的検討……………92
○小笠原裕之，今井田克己，林 修次，古田京子，畝山智香子，
三森国敏，高橋道人（国立衛試・病理）
90. ハロペリドール投与による雌イヌの乳房の組織変化と
性周期の関係について……………93
○内海博之，富高裕二，奥田教隆，奥村克彦，中村忠男，丸山 裕
（吉富製薬・安全研）

17:25~17:30 閉会あいさつ 会長：小西陽一

座 長 一 覧

第 1 日 午 前	
9：20～9：50 9：50～10：20 10：20～10：50 10：50～11：50	渡辺 敦光（広島大・原医研） 長谷川良平（名市大・医・1病理） 荒井 昌之（保衛大・衛・病理） 白井 智之（名市大・医・1病理） 堤 雅弘（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）
第 1 日 午 後	
13：20～14：35 14：35～15：15 15：15～15：45 16：00～16：20 16：20～16：50 16：50～17：20	田中 寿子（慈恵医大・形態） 傳田阿由美（奈良医大・がんセ・腫瘍病理） 渡辺 満利（持田製薬・安全研） 奥野 泰由（住友化学・生科研） 佐久間貞重（大阪府大・獣医・病理） 前川 昭彦（佐々木研・病理） 宇高 奎二（日本ロシユ） 林 裕造（国立衛試）
第 2 日 午 前	
9：30～10：10 10：10～10：55 10：55～12：00	福島 昭治（大阪市大・医・1病理） 高橋 道人（国立衛試・病理） 広瀬 雅雄（名市大・医・1病理） 小西 陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）
第 2 日 午 後	
13：00～14：00 14：00～15：15 15：15～15：45 16：00～16：30 16：30～16：50	立松 正衛（愛知がんセ・超微形態） 板倉 智敏（北大・獣医・比較病理） 宮蔭 宏彰（武田薬品・中央研） 黒川 雄二（国立衛試・毒性） 中江 大（奈良医大・がんセ・腫瘍病理） 今井田克己（名市大・医・1病理） 土井 邦雄（東大・農・実験動物） 日浅 義雄（奈良医大・2病理）

特 別 講 演

第 1 日

一 般 講 演

ミニシンポジウム

および

ワークショップ

1. NARラットでの胃発癌物質に対するペプシノーゲン変異幽門腺 (PAPG) の態度

○浅川恵美子¹、小川久美子¹、玉野静光¹、小木曾正¹、白井智之、¹立松正衛²、伊東信行¹ (¹名市大・医・1病理、²愛知がんセ・超微)

【はじめに】SDラットのミュータントである無アルブミンラット (NAR) は胃発癌高感受性として知られている。今回、NAR とSDラットを用いて、前胃、腺胃腫瘍の発生および早期発癌過程において免疫組織学的に検出されるペプシノーゲン変異幽門腺 (PAPG) の形成を比較検討した。

【実験方法】6週齢の NARおよびSDラット雄 280匹を各群 15~30匹とし、7群に分けた。両系統ともMNNG (80mg/kg) を1回胃内投与後、2週目より20週目までの18週間、被験物質としてI群：1%Clofibrate (CF)、II群：0.8%Catechol (CC)、III群：0.3% Sodium cholate (NaC) を混餌投与した。IV群はMNNG処置のみ、V~VII群はMNNG無処置で被験物質のみの対照群とした。全群を20週で屠殺した。そして、さらにII、III、IV群の一部の動物は、21週目より基礎食にして60週で屠殺した。

【結果】20週屠殺時では、前胃扁平上皮癌はII群 (MNNG-CC) で、NAR は7/11 (64%) 例、SDは3/16 (19%) 例とNAR の方が高率に発生し、腺胃腺癌はII群 (MNNG-CC) のNAR 2/11 (18%) 例のみ認めた。またPAPGの形成はII群 (MNNG-CC) およびIII群 (MNNG-NaC) でIV群 (MNNG-基礎食) と比較してNAR、SDともに有意に出現し、NAR とSDではNAR の方が促進していた。60週屠殺時でも、前胃扁平上皮癌はII群 (MNNG-CC) で、NAR は7/8 (88%) 例、SDは12/18 (67%) 例とNAR の方が高率に発生し、腺胃腺癌はII群 (MNNG-CC) ではNAR 3/8 (38%) 例に認めた。

【まとめ】NAR はSDに比して前胃および腺胃発癌に高感受性であり、PAPGの形成も腺胃発癌と相関性をもって高度であることが示された。

処置 (20週屠殺)	匹数	前胃		腺胃		PAPG形成 (No./cm)
		乳頭腫	扁平上皮癌	腺腫様過形成	腺癌	
NAR						
MNNG-CF	11	5 (45)	0	0	0	4.34 ^a
MNNG-CC	11	3 (27)	7 (64) ^a	10 (91) ^{a, d}	2 (18)	6.13 ^{b, d}
MNNG-NaC	13	4 (31)	1 (8)	0	0	5.57 ^{b, d}
MNNG	11	3 (27)	2 (18)	0	0	3.09 ^b
SD						
MNNG-CF	14	5 (36)	1 (7)	0	0	2.58
MNNG-CC	16	5 (31)	3 (19)	7 (44) ^d	0	3.65 ^d
MNNG-NaC	15	1 (7)	0	0	0	3.10 ^d
MNNG	16	3 (19)	0	0	0	2.05

a, b: P<0.05, 0.01 significantly different from same treatment group of SD.
c, d: P<0.05, 0.01 significantly different from MNNG group of same strain.

2. オカダ酸クラス発癌プロモーターの消化管上皮細胞に対する増殖効果

○湯浅啓史, 山本昌美, 立松正衛 (愛知がんセ・研・超微)

〔目的〕皮膚発癌プロモーターの研究は12-0-テトラデカノイルホルポール-13-アセテート(TPA)を中心に進められ, 多くのTPA タイプの皮膚発癌プロモーターが見出されてきた. 一方, パリトキシシンやオカダ酸等のTPA タイプとは異なる機構で発癌を促進するnon-TPA タイププロモーターも明らかにされてきた. オカダ酸は胃粘膜のODC 活性を誘導し皮膚以外の臓器にもプロモーション作用を示す事が示唆された. そこで今回はオカダ酸が結合する同じレセプターに結合するオカダ酸クラス発癌プロモーターであるオカダ酸, カリキュリンA, タウトマイシンのラット消化管上皮細胞に対する細胞増殖効果の用量相関ならびに, 消化管における臓器特異性を検討した.

〔材料および方法〕8週齢雄SDラットを用い, 1群:オカダ酸を50, 10, 1 μ g/ラット, 2群:カリキュリンAを50, 10, 1 μ g/ラット, 3群:タウトマイシンを300, 50 μ g/ラット, で一回経口投与を行い4群は対照群とした. 投与17時間後にBrdUによる標識を行い, その1時間後に屠殺し前胃, 腺胃, 小腸, 大腸の上皮細胞に対するオカダ酸クラス発癌プロモーターの細胞増殖効果を検討した.

〔結果〕

群	検索物質 (μ g)	動物数	標識率			
			前胃	胃底腺	幽門腺	大腸(遠位)
1	オカダ酸					
	50	5	39.2 \pm 11.3**	6.5 \pm 1.4**	8.5 \pm 1.3***	21.1 \pm 1.2***
	10	5	17.7 \pm 3.7**	4.7 \pm 0.8**	5.4 \pm 0.9**	18.6 \pm 3.9**
	1	4	12.3 \pm 2.4*	3.9 \pm 1.0*	3.4 \pm 3.1	12.4 \pm 3.2
2	カリキュリンA					
	50	3	26.5 \pm 1.1***	3.6 \pm 1.7	4.8 \pm 0.1**	13.7 \pm 4.1
	10	4	6.7 \pm 3.1	2.0 \pm 0.4	3.7 \pm 0.8	9.8 \pm 3.5
	1	4	10.7 \pm 2.6	1.8 \pm 0.3	2.9 \pm 0.6	10.1 \pm 2.4
3	タウトマイシン					
	300	5	18.8 \pm 5.4*	8.4 \pm 2.8*	7.9 \pm 0.4***	8.6 \pm 0.83
	50	4	11.0 \pm 3.3	4.6 \pm 0.7*	3.9 \pm 0.4*	8.6 \pm 0.7
4	対照					
	0	3	8.7 \pm 0.8	2.5 \pm 0.8	3.1 \pm 0.4	8.7 \pm 1.4

* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001

〔まとめ〕オカダ酸は検索したいずれの消化管上皮に対しても用量相関をもって細胞増殖効果を示したが, カリキュリンAは胃底腺, 大腸, タウトマイシンは大腸に対しその効果が認められなかった. これらの結果はオカダ酸クラス発癌プロモーターは消化管発癌に対し異なるプロモーター効果を示すことが示唆された.

3.

1-Hydroxyanthraquinoneによるラット大腸の組織形態及び細胞動態の変化

森 良雄、田中卓二、吉見直己、杉江茂幸、森 秀樹（岐大・医・病理）

Anthraquinone類は食物の着色料、医薬品や化粧品、衣類の染料などの目的で広く用いられている。先にanthraquinone類の一つであり、下剤などとして用いられてきたdanthronの造腫瘍効果を報告したが、天然性の1-hydroxyanthraquinone (1-HA) についても肝細胞初代培養/DNA修復試験による遺伝毒性の他、長期投与試験によって大腸を中心とする発癌性を示した。今回、1-HAの発癌のメカニズム解明のための一助として1-HA投与ラット大腸に於ける組織変化とともにODC活性と5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 標識率の変化を経時的に検索した。

【材料と方法】 6週齢雄ACI/Nラット（体重80~120g）37匹を2群に分け、処置群18匹には、1-HA（東京化成、東京）を1%で基礎食に混じて実験期間（12ヶ月）中投与した。無処置対照19匹には基礎食のみ投与した。実験期間は12ヶ月とし、両群ともに実験開始後4、8、12ヶ月時に5~7匹を屠殺し検索に供した。屠殺1時間前にBrdU/5-fluoro-2'-deoxyuridine（Amersham, UK）を5ml/kg体重（15mg/kg体重）腹腔内投与し、大腸を摘出し長軸に沿って切り開き、氷冷した生理的食塩水で洗浄して腸内容を取り除き、盲腸、上部結腸および下部結腸から、それぞれ腸管軸に沿って5×25mmの矩型の組織を切り出した。残る腸管組織の粘膜を速やかにマイクロームの替え刃にて粘膜組織塊を擦り採り、粘膜組織塊はアルミホイルに包みドライアイスにて速やかに凍結保存（-70℃）し、各群4匹ないし5匹の検体のRusselとSynderの方法に従いODC活性測定を行った。組織片は中性緩衝ホルマリンで固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色と細胞増殖検出キット（Amersham, UK）を用いたBrdU免疫染色を行い、形態学的観察の後BrdU標識率を求めた。検索陰窩は全長に亘って標本上に現れ、基底部が粘膜筋板に接している陰窩を選び、全長をマイクロメーターを用いて測定し、各陰窩とも核が2/3以上標本上に現れている陰窩細胞を選び、標識細胞の基底部からの位置と陰窩片側（半陰窩）の細胞数を記録した。BrdU標識率は、陰窩全体とLipkinらの方法による5分画の標識率を集計した。

【結果】 第1群の12ヶ月時前胃に乳頭腫と乳頭状過形成を半数に認めたものの、第1群、第2群いずれも腸管には腫瘍性ないし前癌性病変を認めなかった。非腫瘍性病変としてメラノースと考えられる変化と強度の炎症像の指標となる陰窩膿瘍を第1群に認め、経過とともに増加していた。陰窩長と半陰窩細胞数はいずれの部位時期に於いても第2群に対し第1群で増加していた。第1群の経時変化は4ヶ月から8ヶ月にかけては目立たなかったが、12ヶ月時は8ヶ月時より上昇していた。下部結腸の4、8ヶ月時を除き盲腸、上部結腸および下部結腸で、陰窩全体のBrdU標識率に関して第1群は第2群と比べ高く、また各分画の標識率も高値を示す傾向があり、第1群は第2群に対して増殖帯の上方への偏位を示していた。ODC活性に関して第1群は第2群よりいずれの部位、時点でも高く、経時的には低下の後上昇する二相性の変化を示した。

【結論】 1-HAは大腸粘膜の陰窩長、半陰窩細胞数を増加させ、BrdU標識率を増加させ増殖帯を上方へ拡大させ、またODC活性を上昇させていた。これらの変化は経時的には12ヶ月時に一層の上昇を示しており発癌につながる変化が示唆された。

4.

Studies on the Medium-term Carcinogenicity
Bioassay Using D-Galactosamine

Lee, Yong-Soon, Kim Hyung-chin(College of Vet. Med., S.N.U
Korea)

This study was performed for developing a new medium-term carcinogenicity bioassay using D-galactosamine(DGA) as a non-surgical method without Partial hepatectomy(experiment 1), and validating its ability to detect carcinogens(experiment 2). Enhancing effect of DGA, given twice during the promotion procedure by 2-acetyaminofluorene, was compared along with partial hepatectomy(PH) in F344 male rats initiated by diethylnitrosamine, using preneoplastic glutathion S-transferase placental form positive(GST-P) hepatocyte foci as an end point marker lesions.

Assays of the hepatocarcinogenic potential of several different chemicals(phenobarbital, 3-methylcholanthrene, n-ethyl-n'-nitro-n-nitrosoguanidine, 3,3'-diaminobenzidine) were also carried out using the medium-term bioassay without PH. The number and area of GST-P+ foci per cm^2 were larger in the bioassay using DGA than that using PH. Phenobarbital and 3-methylcholanthrene gave positive results. Therefore the results suggest that the medium-term carcinogenicity bioassay using DGA is as sensitive as that using PH in detecting not only hepatocarcinogens but non-hepatocarcinogens.

5. 環境化学物質のラット肝発癌イニシエーション作用の解析

○津田洋幸, 松本和幸, 伊藤充哉 (藤田保健衛生大・医・2病理)

【目的】: 化学物質による発癌過程はイニシエーションとプロモーションの二つの段階からなり、発癌物質は程度の差はあるが両者を有することが知られている。本実験では、イニシエーションの段階に被験物質を投与した後に一定のプロモーション処置によって前癌病変の増殖を促進させる実験モデルを用い、阿片加熱分解産物(Opium pyrolysate, OP)および生活環境物質である殺虫剤、防霉材等の農薬の発癌イニシエーション作用を検索し、さらに本モデルのスクリーニング法としての実際的な有用性について検討した。

【方法】: 5週齢雄P344ラットを用いた。実験開始時に全動物に2/3部分肝切除を施行し12時間後に第1群は被験物質としてOP, 60mg/kg; DDT, 50mg/kg; Deltamethrin, 12mg/kg; Permethrin, 100mg/kg; Prochloraz, 160mg/kg; Folpet, 5g/kg; Hexachlorobenzene(HCB), 5g/kg を、OPはDMSOに溶解しi.p.、他はcorn oilに溶解しi.g.にて1回投与した。第3週よりプロモーション処置として、肝発癌プロモーターのコール酸(0.15%, 基礎飼料中)と第4週末における四塩化炭素(1.0ml/kg)の投与を行い全経過12週にて屠殺した(各15匹)。第2群は対照群で、被験物質溶媒のDMSOまたはcorn oilを投与後プロモーション処置を行った(各15匹)。第3群は被験物質のみを投与しプロモーション処置を行わない群(各5匹)とした。結果は、ラット肝前癌病巣の指標酵素である glutathione S-transferase placental form(GST-P)の免疫染色(ABC法)による陽性細胞巣(細胞3個以上)について、標本上の個数(個/cm²)と面積(μm²/cm²)を計測算出し、第1, 2群間の有意差の検定(Student's t-test)を行い判定した。

【結果】: 第1群のGST-P陽性巣の個数において、OPは 3.84 ± 1.84 (n=4); DDTは 1.20 ± 0.70 (n=14); HCBは 0.91 ± 0.65 (n=10)であり、第2群の対照値、DMSO, 0.52 ± 0.49 (n=10)またはcorn oil, 0.72 ± 0.41 (n=15)と比べOPとDDTに有意(P<0.05)の増加、HCBには増加傾向が認められた。面積値では全物質とも有意の増加はなかった。

【考察と結論】: OPとDDTには明らかなラット肝発癌イニシエーション作用が見出され、HCBにも弱いとその作用が存在する可能性が示された。OPは変異原物質であることが既に報告され、とくに中東、西アジア諸国の吸引常習者における舌、食道等の上部消化管癌の発生との関連が指摘されている。しかし長期発癌実験を実施するには、OPの供試が量的に不可能であるため実施されていない。本実験でイニシエーションによるGST-P値が既知の発癌物質DDTの4倍以上の値を示したことからOPは発癌物質であることが示唆された。DDTとHCBを除く他の農薬ではイニシエーション作用は見出されなかったことから、それ自体でラットにおいて肝発癌性を示す可能性は低いと考えられ、報告にみる発癌実験の結果とよく一致した。従って本法は、発癌試験の実施にあたり被験物質の入手が量的に困難である場合に、ラット肝に対するイニシエーション作用の有無により発癌への関与を明らかにし得る検索法として有用と考えられる。

6. ラット肝中期発癌試験法によるMeA α C, PhIPの用量相関性

○森 敏男、高橋 智、長谷川良平、萩原昭裕、小川久美子、伊東信行
(名古屋市大・医・1病理)

【はじめに】

2-amino-3-methyl-9H-pyrido [2,3-b] indole (MeA α C) および 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP) は、肉や魚などの焼け焦げ中に含まれるヘテロイクリックアミンで、強い変異原性とともにラットやマウスで発癌性が報告されている。今回、ラット肝発癌過程の初期より出現するGST-P陽性細胞巢を指標とした中期発癌試験法によりMeA α CおよびPhIPの用量相関性について検討した。

【実験方法】

6週齢F344雄性ラット156匹を3群に分け、第1群はdiethylnitrosamine (DEN) 200mg/kg腹腔内投与2週間後より各4用量のMeA α C (800, 400, 200, 100ppm) およびPhIP (400, 200, 100, 50ppm) を混餌投与した。第2群はDEN投与を行ない基礎飼料を与え、第3群はMeA α C (800ppm) あるいはPhIP (400ppm) 混餌投与の対照群とした。全群第3週に2/3部分肝切除術を行ない、8週にて屠殺剖検して肝GST-P陽性細胞巢の数と面積を定量的に測定した。また各群5匹の肝を凍結して保存しGST-P陽性細胞巢測定後その平均値に最も近い1例についてDNAを抽出し、MeA α C投与群はbutanol抽出法、PhIP投与群はadduct増感法による³²P-ホストテン法を用いてDNA付加体を解析した。

【結果】

肝GST-P陽性細胞巢の数 (No./cm²) は第1群のMeA α C (800, 400, 200, 100ppm) 投与により39.7, 23.5, 15.8, 11.0と対照群 (8.7) に比べ有意に増加し用量相関性も明瞭にみられた。PhIP (400, 200, 100, 50ppm) 投与では10.2, 8.3, 6.9, 5.5と用量相関性はみられたが、低用量では有意に低値を示した。面積 (mm²/cm²) もほぼ同様の結果であった。MeA α Cに特異的と思われるDNA付加体のspotは4つ観察され、総付加体量 (adducts/10⁷ nucleotides) は、各濃度群で4.94, 1.65, 1.99, 0.70であった。一方PhIPではspotは3つ観察され、総付加体量は各濃度群で0.55, 0.27, 0.12, 0.08と用量相関性がみられた。GST-P陽性細胞巢のみられなかった第3群のMeA α CおよびPhIP投与群でもDNA付加体形成 (4.30, 0.64) が観察された。

【考察】

MeA α Cは肝発癌を促進し、その用量相関性は明かであったが、PhIPではその作用は特にみられず、これらの物質の肝発癌性とよく一致していた。第3群にもDNA付加体は出現し、また、その付加体量とGST-P陽性細胞巢の発生とは必ずしも相関しなかったことから、DNA付加体の解析は個体や臓器の物質への曝露量評価に有用であることが確認された。

7. ラットの二段階発がんモデルにおける6MPの発癌プロモーション作用について

○¹松島裕子、¹小野寺博志、¹渋谷 淳、¹吉田順一、¹北浦敬介、¹三森国敏、¹高橋道人、²前川昭彦（¹国立衛試・病理、²佐々木研・病理）

【はじめに】

6-Mercaptopurine (6-MP) は核酸のプリン代謝阻害作用を有する抗腫瘍薬の一つである。近年、6-MPを使用した患者の中から急性白血病が発生したとの報告があり、臨床的に本薬剤と造血器系腫瘍発生との関連が疑われている。我々は先に、F344ラットを用いて6-MPの癌原性試験を実施した。その結果、雌の高用量群で甲状腺のC細胞腫瘍、副腎褐色細胞腫、子宮腺癌や神経膠腫の発生増加ないし増加傾向が認められたが、雌雄共に白血病の増加はみられなかった。今回は、これらの臓器を含む諸臓器発癌における6-MPのプロモーション作用を検討した。

【材料および方法】

6週齢のF344/DuCrjラット雌120匹を4群に分けた。試験群はイニシエーション処置としてN-ethyl-N-nitrosourea (ENU) 400ppmを飲料水に溶解し4週間自由摂取させた後、2%オリーブ油添加CRF1粉末飼料に6-MP 50ppmを混合し、35週間自由摂取させた(ENU/6-MP群 40匹)。その他の群として、ENU処置のみの群(ENU群 30匹)、6-MP混餌投与のみの群(6-MP群 30匹)、無処置対照群(Cont群 20匹)を設けた。体重、摂水量および摂餌量は毎週測定し、衰

弱あるいは死亡動物はただちに解剖した。試験39週目に、全生存動物を屠殺・剖検し試験を終了した。脳、脾、肝および腎については臓器重量を測定し、それらの臓器に加え、腫瘍性病変および他臓器は10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定、HE染色標本を作製し病理組織学的に検索した。

【結果および考察】

Cont群に比しENU/6-MPおよびENU群では試験13週目頃より著明な体重増加抑制がみられた。6-MP群およびCont群は試験終了時まで全例生存したが、ENU/6-MPやENU群では、試験14週目より乳腺腫瘍による衰弱のための切迫屠殺例が出現し、最終生存率はCont群に比し有意に減少した。ENU/6-MPおよびENU群には乳腺腫瘍をはじめ小腸腺癌、腎芽腫、肺腺腫、甲状腺C細胞腺腫および大脳膠腫等の高率な発生がみられた。又、少数例ながら白血病の発生も認められた。しかし、ENU/6-MP群とENU群との間にこれらいずれの腫瘍あるいは過形成の発生頻度にも有意差は認められなかった。

以上の結果より、本実験条件下では6-MPは造血臓器を含む諸臓器の発癌にプロモーション作用を示さないものと結論された。

8. マウスの肝臓各葉における自然発生肝細胞腫瘍の発生頻度比較

○吉田敏則, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)

マウスはラットと共に農薬・医薬の長期発癌性試験に通常用いられる動物種であるが, 化学物質の発癌機構・過程に関する研究は主にラットにおいて進められており, 前癌病変の解析を含めマウスにおける情報は比較的乏しい。その理由の一つとしてマウスでは肝腫瘍の自然発生率がラットに比べ高いことが挙げられるが, 逆にこの高い発生率は自然発生肝腫瘍の発現過程を検索する上に好都合である。演者らは, マウスの肝腫瘍に関する基礎的データを集積する目的で, マウスにおける自然発生肝腫瘍および肝細胞小増殖巣の発生状況の調査・研究に着手した。今回は, 主として肉眼の病理観察結果に基づいた肝臓各葉における肝細胞腫瘍の発生頻度について報告する。

【材料および方法】検索動物は, 当研究所にて1979年から1990年にかけて実施された農薬の慢性毒性/発癌性試験(78週間試験10本, 104週間試験10本)に使用された雌雄のICR系(Crj: CD-1)マウスの対照動物である。これらの動物から試験開始後52週, 78週あるいは104週後に計画殺された雄782匹, 雌837匹を選び, 剖検記録に基づき肝臓各葉(左葉, 中葉, 右葉, 尾状葉)に認められた腫瘍の数および大きさを調べ, 各計画殺時ごとに集計した。なお, 今回は組織学的に肝細胞由来の腫瘍であることが確認された腫瘍のみを検索した。

【結果と考察】表1に示す如く, 肝腫瘍の自然発生率は明らかに雄で高く, 雄では78週後にプラトーに達し(43%), 104週後の発生率(40%)と差がなかった。雌では78週後の発生率は2%にすぎず, 104週後においても8%であった。この結果を考慮すると, 78週間の発癌性試験は雄では十分であるが, 雌では不十分とも考えられる。一方, 担腫瘍動物における各葉の腫瘍発生比率は雄では左葉43%, 中葉35%, 右葉28%, 尾状葉12%であり, 雌では左葉28%, 中葉38%, 右葉38%, 尾状葉7%であった。腫瘍発生個数の比較では, 雄では左葉, 中葉, 右葉, 尾状葉の順に高く, 雌では中葉あるいは右葉において高い傾向にあった(図1)。これらの結果は概ね各葉の容積比率(左葉33%, 中葉34%, 右葉24%, 尾状葉7%)と一致するものであるが, 雄では左葉の, 雌では右葉の発癌ポテンシャルが容積の割に高い傾向があることが示唆された。なお, 腫瘍の大きさに関しては葉間に特に差はなかった。

Table 1. Lobe differences in incidence of spontaneous liver tumors in CD-1 mice at interim and terminal sacrifices.

Sex	Weeks on study	No. of mice examined	No. of mice with tumors(%)	Incidence(relative %) in each lobe			
				Left	Median	Right	Caudate
M	52	164	20(12)	7(35)	6(30)	6(30)	2(10)
	78	361	157(43)	64(41)	60(38)	46(29)	25(16)
	104	257	103(40)	50(49)	32(31)	27(26)	7(7)
	Total	782	280(36)	121(43)	98(35)	79(28)	34(12)
F	52	167	0	0	0	0	0
	78	404	9(2)	3(33)	5(56)	2(22)	0
	104	266	20(8)	5(25)	6(30)	9(45)	2(10)
	Total	837	29(3)	8(28)	11(38)	11(38)	2(7)

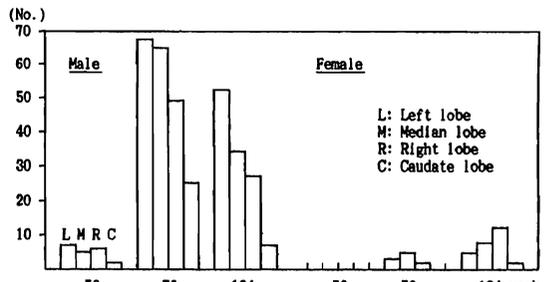


Figure 1. Comparison of number of tumor masses in different lobes of CD-1 mice at interim and terminal sacrifices.

9. 生涯飼育F344 ラットにおける肝細胞小増殖巣および肝細胞腫瘍の自然発生率

○原田孝則, 海老野耕一, 真板敬三 (残農研)

演者は、第6回本学会(札幌)においてF344 ラットでは肝細胞小増殖巣(AHF)の発現頻度は極めて高いにもかかわらず肝細胞腫瘍の自然発生率は非常に低いことを報告した。そ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、AHFの増加は発癌過程における単なる随伴事象あるいは加齢性変化である可能性も示唆された。しかしながら、上記の結果は2カ年発癌性試験から得られたものであり、寿命の長いF344 ラットにおける自然発生肝細胞腫瘍とAHFとの関係についてより明確にするためには2カ年以上の長期間飼育された動物でのデータが必要と考えられる。そこで演者らは当研究所にて生涯飼育されたF344 ラットの肝組織についてAHFと肝細胞腫瘍に主眼を置いて病理組織学的検索を実施したのでその結果を報告する。

【材料と方法】検索動物は雌雄各125匹のF344/DuCrj ラットで、4週齢で入荷後に当研究所のバリアーシステム(温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気15回/時間)の動物室で生涯飼育された。飼料はオリエンタル酵母工業株式会社製の固型飼料MFで、水と共に自由に摂取させた。飼育期間は全動物が死亡あるいは切迫殺されるまで継続し、雄では生後162週時に雌では167週時に終了した。これらの動物は全て剖検し、肉眼所見を記録した後に諸臓器・組織を採取し10%中性緩衝ホルマリン液にて固定・保存した。各組織は常法に従いパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し鏡検した。また、必要に応じ特殊染色を施し検索した。

【結果と考察】本試験での生存率は104週齢時で雄82%、雌74%であったが、その後漸次低下し130週齢時で雄34%、雌38%、3年後の156週齢時では雄1%、雌7%であった。これらの動物の平均寿命は雄121週、雌120週で、最長寿命は雄162週、雌167週であった。なお、主な死因は雌雄とも白血病あるいは下垂体腫瘍であった。肝組織の病理組織学的検査では、下表に示す如く雌雄とも代表的な好塩基性および好酸性AHFの発生頻度が加齢と共に増加し、形態的にもその数および大きさを増した。しかしながら、これらのAHFが腫瘍へ移行したと思われる形態像はほとんど認められなかった。一方、肝細胞腫瘍の発生は雄では117週齢以降、雌では144週齢以降に認められ、総発生頻度は雄で6.4%、雌で1.6%であった。このうち肝細胞癌の発生頻度は雄2.4%、雌0%であった。以上の様に生涯飼育ラットにおいてもAHFの高出現率にもかかわらず肝細胞腫瘍の発生は極めて低率であったことから、自然発生AHFの大部分は腫瘍に移行することなく生涯を終えるものと推察される。

Incidences of AHF and hepatocellular tumors in F344 rats fed a basal diet for lifetime

Sex	Age (weeks)	No. of rats examined	AHF ^a (%)					Hepatocellular tumors ^b (%)		
			B	E	C	V	M	A	C	A/C
M	46-104	23	15(65)	7(30)	1(4)	1(4)	7(30)	0(0)	0(0)	0(0)
	105-130	60	44(73)	45(75)**	7(12)	6(10)	13(22)	4(6.7)	1(1.7)	4(6.7)
	131-162	42	29(69)	33(79)**	0(0)	1(2)	6(14)	3(7.1)	2(4.8)	4(9.5)
	Total	125	88(70)	84(67)	8(6)	8(6)	26(21)	7(5.6)	3(2.4)	8(6.4)
F	51-104	32	13(41)	5(16)	2(6)	1(3)	2(6)	0(0)	0(0)	0(0)
	105-130	45	31(69)*	13(29)	2(4)	1(2)	10(22)	0(0)	0(0)	0(0)
	131-167	48	36(75)**	17(35)*	1(2)	2(4)	5(10)	2(4.2)	0(0)	2(4.2)
	Total	125	80(64)	35(28)	5(4)	4(3)	17(14)	2(1.6)	0(0)	2(1.6)

a : B, basophilic; E, eosinophilic; C, clear cell; V, vacuolated; M, mixed.

b : A, adenoma; C, carcinoma; A/C, combined A or C.

*, **: Significantly different from the values at the first age period up to 104 weeks at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

10.

可移植性ラット悪性骨軟部腫瘍におけるtransin mRNAの発現

○ 朴木寛弥, 堤雅弘*, 辻内俊文*, 堀口浩資*, 白岩和己*, 小西陽一*
 (奈良医大・整外, *同・がんセ・腫瘍病理)

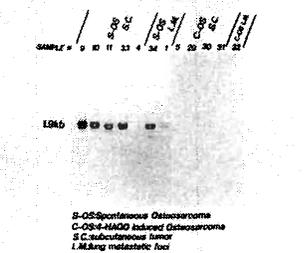
【目的】近年、癌の浸潤・転移に細胞外基質分解性酵素の関与が示唆されている。Transinは、laminin, fibronectin, proteoglycan, collagen等のextracellular matrixを基質とするMetalloproteinaseのひとつで、Matrisianらによってrat fibroblastをある種のoncogeneなどでtransformした際に発現される腫瘍関連遺伝子として発見された。さらに、悪性腫瘍や転移能の高い腫瘍では、良性腫瘍あるいは低転移性の腫瘍に比しその発現が顕著となることが示されている。最近では、その発現調節にTRE(TPA responsive element)を介したc-fos, c-jun geneの関与が示唆されている。今回は、ラット自然発生骨肉腫(S-OS)、ラット4-HAQO誘発骨肉腫(C-OS)、およびそれらの高転移株であるS-SLM, C-SLM, ラット4-HAQO誘発悪性線維性組織球腫(MFH)、ラットおよびハムスターBOP誘発膵管腺癌、ラットDEN誘発肝細胞癌、ラット正常肝組織についてnorthern blot法によりtransin, c-fosおよびc-jun mRNAの発現について検索した。

【方法】各腫瘍組織よりLiCl-Urea法にて抽出したtotal RNA 20μgを1% agarose gel中で電気泳動後、nylon membraneにtransferし、³²Pでラベルした1.7kb rat transin cDNAをprobeとしてhybridizationをおこなった。各membraneに対しc-fosおよびc-jun cDNAをreprobeしこれらの発現についても検索した。さらに、各腫瘍組織よりphenol抽出したDNAについて、southern blot解析をおこなった。

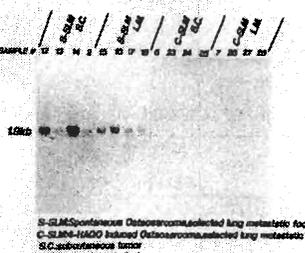
【結果】自然発生骨肉腫S-OS, S-SLM および4-HAQO誘発MFHでtransin mRNAの発現を認めたが、4-HAQO誘発骨肉腫C-OS, C-SLM, BOP誘発膵管腺癌、DEN 誘発肝細胞および正常肝組織ではその発現はみられなかった。S-OSとその高転移株であるS-SLM のtransin mRNAの発現量に有意な差はみられなかった。また、各々の皮下腫瘍と肺転移巣のtransin mRNAを比較すると皮下腫瘍で肺転移巣を上回る発現量を示していた。Southern blot法では、transin gene のamplificationやrearrangementは認めなかった。transinとc-fosおよびc-jun gene の発現は一致する傾向にあり、transin geneの転写活性化のひとつのpathwayとして、TREを介したFos/Junの関与が示唆された。

【考察】近年、転移に関して接着因子や各種蛋白分解酵素の関与が示唆されている。浸潤や転移は、親腫瘍に存在する元来浸潤・転移能を備えたクローンによるとする説や、一過性の形質発現によるものとする考えなどが示されているが、多段階を経て完成する腫瘍の浸潤や転移とtransin の関与は、各々の腫瘍系により、また腫瘍の進展過程の段階により異なることが考えられる。

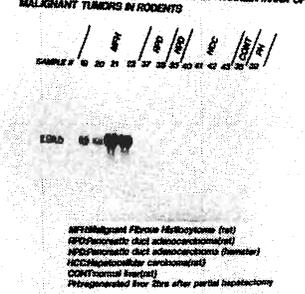
NORTHERN HYBRIDIZATION ANALYSIS OF TRANSIN mRNA OF TRANSPLANTABLE OSTEOSARCOMA IN RATS



NORTHERN HYBRIDIZATION ANALYSIS OF TRANSIN mRNA OF TRANSPLANTABLE OSTEOSARCOMA IN RATS



NORTHERN HYBRIDIZATION ANALYSIS OF TRANSIN mRNA OF MALIGNANT TUMORS IN RODENTS



11. ラット諸臓器における細胞増殖マーカーとしてのPCNAの有用性の検討
 ～ホルマリン固定、パラフィン包埋切片での免疫組織化学的基礎検討～

○福田種男¹⁾, 木村正美²⁾, 青木豊彦¹⁾, 山津清實¹⁾ (¹⁾エーザイ安全研²⁾カシマ商事)

現在まで種々の組織における増殖形態の解明やその細胞増殖動態を把握する方法には³H-ThymidineやBromodeoxyuridine(BrdU) が用いられて来たが、最近、ホルマリン固定、パラフィン切片で証明可能なProliferating Cell Nuclear Antigen(PCNA)がモノクローナル抗体として市販され、既に臨床材料を用いてその有用性が明らかになりつつある。そこで今回、PCNAの毒性病理学領域における細胞増殖マーカーとしての有用性をラットを用いて免疫組織化学的にBrdUと比較検討した。

【材料および方法】13週齢の雌雄SD系ラットにBrdU(Sigma)を100mg/kg(B.W)の割合で腹腔内注射し、1時間後に剖検、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。1日固定後、常法に準じてアルコール脱水・パラフィン包埋した。PCNAおよびBrdUの免疫組織化学的手法はDAKO社のLSAB TM kitを使用した。一次抗体反応はいずれも室温で1時間とし、抗体は抗BrdU(DAKO社 Mouse-IgG)、抗PCNA(DAKO社 Mouse-IgG およびCOULTER社 Mouse-IgM)を使用した。それぞれの陽性細胞数の測定は連続切片の同一部位で多目的画像解析装置SPICCA-ACE(日本アビオニクス社製)にて行った。

【結果および考察】ラットの肝臓および腎臓皮質における単位面積(1mm²)当たりのPCNAとBrdUの陽性細胞数およびBrdU/PCNA比率を表1に、胃および十二指腸粘膜における単位長さ(1mm)当たりの数および比率を表2に示した。肝臓においてはBrdUが小葉中心部に比べ周辺部でやや高値を示したのに対し、PCNAでは部位による差は殆ど認められなかった。胃においては前胃基底層と胃底腺の頸部増殖帯部がほぼ同じ比率を示し、それより高い比率で幽門部および十二指腸粘膜で観察された。PCNAはいずれの組織においてもBrdUより遙かに多数の細胞核に陽性を示した。BrdU/PCNA比率は組織の細胞増殖の活発な部位で明らかな高値を示した。尚、抗PCNAのマーカーによる染色性の差は今回見られなかった。従って、この細胞回転のパターンの違いを十分に評価しておけばPCNA単独でも実験動物において細胞増殖を検索する上で、極めて有用なマーカーに成り得ると考えられる。

表1. 単位面積(1mm²)当りの陽性細胞数 (σN=5)

臓器 (部位)	PCNA	BrdU	BrdU/PCNA 比率
肝臓 小葉中心部	72.7 ± 40.8 ^{a)}	3.5 ± 2.0	0.05
小葉周辺部	86.9 ± 9.2	7.1 ± 2.4	0.08
腎臓 皮質外層	33.7 ± 12.0	9.8 ± 4.9	0.29

表2. 単位長さ(1mm) 当りの陽性細胞数 (σN=5)

臓器 (部位)	PCNA	BrdU	BrdU/PCNA 比率
胃 前胃	144.7 ± 25.8 ^{a)}	48.4 ± 4.7	0.33
胃底腺部	225.5 ± 17.9	78.9 ± 22.2	0.35
幽門部	230.4 ± 45.1	114.3 ± 22.7	0.50
十二指腸	425.5 ± 126.1	234.2 ± 109.3	0.55

a) : Mean ± S.D.

12. ラット下垂体前葉における細胞増殖の動態 — 性周期、雌雄差および各細胞の同定 —

○大石裕司(藤沢薬品安研), 奥田稔, 高橋秀樹, 小柳津竜樹, 泉野良夫, 蝶良愛郎, 森井外吉(関西医大2病)

【緒言】

下垂体前葉細胞の分裂は、実験的に性腺摘出・エストロゲン投与・dopamin receptor agonist/antagonist投与等によって変動することが知られているが、通常の生理的環境下でも著しく増減していることはあまり知られていない。しかし、毒性研究においてもこの動態を把握することが必須である。我々は、ラット下垂体前葉にみられる細胞増殖について、雌では性周期、雄では日内変動をそれぞれ検討し、加えてその増殖細胞に関して、免疫組織化学的な分類を試みた。

【材料と方法】

点灯AM7:00・消灯PM9:00の人工照明下で飼育された健康な10週齢のJcl:SDラット90匹を用いた。雌はいずれも実験前2週間の腔スミア観察で4日性周期のラットのみを用いた。

実験 I 各群10匹を選択し、下記のタイミングで断頭屠殺。各屠殺1時間前にBrdU(5-Bromo-2'-Deoxyuridine, 50mg/kg, ip)を投与。

♀	P群	: Proestrus の PM 2:00
	E群	: Estrus の AM 2:00
	E群	: Estrus の PM 2:00
	LE群	: Metestrus の AM 2:00
	M群	: Metestrus の PM 2:00
	D群	: Diestrus の PM 2:00
♂	MD群	: PM 2:00
	MN群	: AM 2:00

実験 II Metestrusの雌(CF群)および雄(CM群)各5匹にBrdU(100mg/kg)を充填した浸透圧ポンプ(ALZA社, ALZET®No2001)を腹腔内に埋め込み、8日間BrdUの連続標識を試みた。

断頭放血直後、摘出した下垂体を、6時間ブアン固定後、パラフィン包埋連続切片として、下記の単あるいは2重免疫組織染色をABC法にて施した。

実験 I 群:	PCNA (Proliferating Nuclear Antigen) 単染色
	BrdU 単染色
	BrdU と ACTH, LH, FSH, TSH, GH または PRL の 2 重染色
	実験 II 群: BrdU 単染色

各免疫染色結果については、それぞれの切片について40倍対物レンズの6視野にみられる全陽性細胞数を数え、1mm²あたりの陽性細胞数を算出した。また、分裂細胞数(Mitosis)はPCNA染色標本の全前葉部で数え、画像解析装置(コン社, LUZEX 3®)によりその面積を求め、1mm²あたりの分裂細胞数を算出した。

【結果】

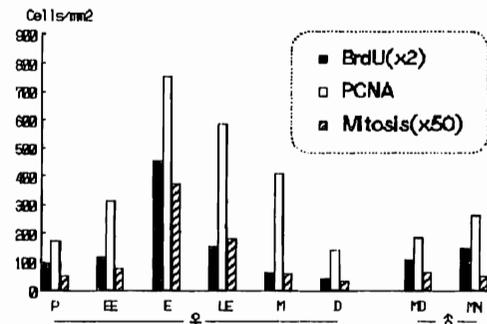
実験 I 性周期での増殖細胞数の比較では、いずれのパラメータにおいてもE群が極めて高く、逆にD群が低い山型の曲線が得られた。E群/D群のそれぞれの細胞数はPCNA陽性: 750±28 vs 140±7個/mm²、BrdU陽性: 227±11 vs 21±0.5個/mm²、分裂細胞: 7±1.0 vs 0.7±0.2個/mm²で、その変動差は5~10倍にも達した。雄では、日内変動がみられ、MN群でPCNA、BrdU陽性細胞が有意に増加した。これら増殖細胞に関するBrdUと6種の下垂体ホルモンの2重染色の結果は、雌でBrdU陽性細胞の平均内訳は、PRL細胞: 61%、GH細胞: 14%、INC(被検全ホルモンの免疫反応陰性細胞): 18%で、残りの7%がPSH/TSH/ACTH/LH細胞のいずれかであった。各性周期の比較では、GH細胞がE群10%に対し、M群20%と有意な変動が認められた以外、比率で差は認められなかった。一方、雄の平均内訳では、PRL細胞: 38%、GH細胞: 28%、INC: 26%と雌に比べGH細胞、INCが多く、逆にPRL細胞が少なかった。また、その日内での変動は認められなかった。

実験 II BrdUを8日間連続標識した雌雄の比較では、BrdU陽性細胞数CF群: 1699±88個/mm²、CM群: 878±67個/mm²と、雌にほぼ2倍多く観察され、著しい性差があることが判明した。

【結論】

- 雌ラット下垂体前葉の増殖細胞は、性周期に依存して発情期に多く発情間期に少ない。
- 雄でも、増殖細胞数に日内変動が認められ、夜に多い傾向が認められる。
- 増殖細胞のホルモン免疫染色所見では、雌雄ともにPRL細胞が最も多く、次にGH細胞が多い。
- 前葉細胞の生活環には雌雄で顕著な差があり、雌は雄より細胞周期が短いことが示唆された。

Analysis of Proliferating Cells of Pars Distalis



13. HAQO投与ラットの膵腺房細胞核における経時的 AgNORの局在に関する電顕的検討

○ 今沢 孝喜, 渋谷 淳, 古川 文夫, 林 修次, 川西 徹
三森 国敏, 高橋 道人 (国立衛試・病理)

【はじめに】Nucleolar Organizer Regions (NORs)は、核小体にあるrRNAのクラスターであり、そこでは染色体より大きなDNAループが伸びだしている。核分裂中のrDNAは核小体の線維成分の周囲および線維中心部の位置に局在し、その周辺に存在する蛋白は、好銀性を示すことからAgNOR蛋白と呼ばれている。Plotonらによって改良されたAgNOR染色は転写活性あるいは転写ポテンシャルのマーカーとして考えられ、現在細胞増殖活性の有用な検索法として用いられている。しかし、AgNOR蛋白の超微形態像ならびにその局在については明らかではない。一方、発癌物質に曝露された細胞の急性期の核内変化として、Nucleolar Segregation (核小体分離)が知られており、これは発癌物質によるDNA付加体形成、すなわちDNA傷害の存在を反映している。

今回我々は、ラットに4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide (HAQO)単回投与で誘発される膵腺房細胞のDNA傷害の急性期におけるAgNORの経時的超微形態学的変化を核小体分離の変化と対比、検討したので報告する。

【実験材料および方法】動物は6週齢の雄Sprague-Dawleyラットを用い、HAQO(10mg/kg)を尾静脈より単回投与した。また、無処置対照群を設けた。投与2~8時間後、1~38日後に、屠殺・解剖し、膵臓を中性緩衝ホルマリン液にて固定し、そのパラフィン切片について、one-step silver 染色法で鍍銀を行った。その切片をエボン包埋して超薄切片を作製し鉛染色のみを施して電顕的に観察した。また、核小体分離の観察のため膵組織の一部を2.5%グルタルアルデヒド液で固定し、常法に従い電顕標本を作製した。

【結果】HAQO投与2~8時間の間にAgNOR陽性部位に認められた特徴的な変化は、核小体の線維と顆粒成分の分離にもなった核小体周囲における micro-spherules の出現と線維成分の凝集であった。1~4日後では、核小体分離はほとんど認められないが、AgNOR陽性線維成分の凝集が認められた。38日後では、無処置の核小体で観察されたAgNOR陽性像とほぼ同様で、正常なnucleonema 構造が観察された。

【考察】SDラットにHAQOを単回投与することによって、AgNOR陽性部位の初期変化として、micro-spherulesの出現および線維成分の凝集が認められた。ある発癌物質を作用させた場合、最初に形成されるDNA付加体量は時間の経過とともに急速に減衰してゆくことが知られている。今回、HAQO投与により核小体分離とともにAgNOR陽性線維成分の凝集が生じたことから、発癌物質により誘発される急性期のAgNORの変化がDNA傷害にもなって生じることが強く示唆された。

○小口 敦 山村高章 木下 潔* 藤塚達也* 乾 俊秀 今泉和則 湯浅啓史
川合是彰 岡庭 梓 (田辺製薬・安全研 *生物研)

【緒言】 Niacinamideの代謝拮抗薬である3-Acetylpyridine (3-AP) はミトコンドリア内呼吸鎖での水素伝達を阻害することにより中枢神経細胞を傷害し、後軀に運動異常を発現させる。我々は3-APを投与したラットの中枢病変の分布や程度は投与量と密接に関係し、一定用量では病変が延髄下オリブ核および小脳に限局したことから、この病態がヒトの脊髄小脳変性症モデルになることを明らかにしてきた(第110および111回 日本獣医学会)。今回、3-AP投与ラットの失調性歩行を定量化するために強制歩行実験を行い、中枢病変との関連を検討した。

【材料および方法】 8週齢のslc:Wistar系雄ラット(体重190~230g)を用い、3-APを30, 40, 50および60mg/kgの用量で腹腔内に単回投与した。投与後15分から42日まで経時的に殺処分して中枢神経系を光顕的、電顕的および免疫組織化学的に観察した。

強制歩行による失調性歩行パターンの定量化はDenkの方法にしたがって行なった。すなわち、3-AP投与後1, 2, 3, 5, 7, 9, 15および22日に後肢足趾に墨汁を塗ったラットの尾根部にクリップ状電極を装着し、1回通電(20mA, 0.2sec)して幅約25cm、長さ約200cmの記録紙上を駆け抜けさせた。記録紙中央120cm間の歩行速度を計測し、後肢足跡から歩長、歩幅、歩角および進行角を測定し、歩行の異常を定量化した。

【結果】 光顕的に神経細胞傷害は延髄の下オリブ核、舌下神経核、疑核および橋の顔面神経核で観察され、障害部位は投与量に相関して拡大していた。しかし、40mg/kgを投与したラットでは病変は下オリブ核に限局し、神経細胞は経時的に急性腫脹、萎縮および脱落を示した。小脳では下オリブ核神経細胞の変化に続いて登上線維の変性、プルキンエ細胞樹状突起内の小胞体の拡張、神経細管密度の減少などが観察された。

運動機能検査では、3-AP投与ラットは無処置ラットと比較して歩行速度は明らかに低下し、歩長、歩幅および歩角は短縮した。このような歩行異常は投与後7日まで漸次強くなる傾向にあったが、それ以後はほぼ一定していた。

【考察】 3-APの40mg/kg用量をラットに投与すると下オリブ核の神経細胞が変性し、この病変が登上線維を介して小脳まで波及していることが明らかとなった。3-AP投与ラットの行動異常を定量的に検討したところ、明らかに運動失調性歩行が確認され、失調性歩行の程度は中枢病変の進展と一致していた。以上の所見から、3-AP投与ラットに発現した病態がヒトの小脳・脳幹型脊髄小脳変性症モデルとして有益であると結論された。

17. SHR肥大心におけるdoxorubicin誘発心筋障害時の細胞膜透過性亢進

○鳥井幹則¹、村岡義博¹、伊藤浩行² (1塩野義研、2近畿大・医・1病理)

〔緒言〕SHR(高血圧自然発症ラット)は薬物心毒性に対して感受性が高いことから、健常動物で検出し難い薬物の心毒性検出に有用であることが知られている。そこで、SHR肥大心における障害易発性の発生病理を明らかにする試みの一つとして、doxorubicin(DOX)心毒性を細胞膜障害性に焦点をあて検討した。

〔方法〕16週齢雄SHRと正常血圧WKYラットにDOXの20 mg/kgを1回静脈内投与した。対照群には生理食塩液を投与した。1および4日後、ネンプタル麻酔下にhorseradish peroxidase(HRP, type II Sigma) 100 mg/kg 静注10分後、大動脈より逆行性にヘパリン添加Krebs-Henseleit液に続いてKarnovsky液で心臓を灌流固定した。Yunge等の方法に従って、心臓中央部横断面の薄切切片を作成し、1%DABと10分間反応させて顕微鏡で観察した。また、一部は電顕標本を作成して観察した。同時に、DOXを投与したsubgroupの心筋を0.1M KCl-50 mM Tris HCl bufferでホモジネート後10,000 Xg 10分間遠心分離し、その上清を用いて過酸化脂質(TBA-RS)をAlbroの方法で定量した。

〔結果〕生食液投与群やDOX投与WKYでは、投与1あるいは4日後でも、心筋細胞にHRPはほとんど認められなかった。これに対して、DOX投与SHRでは投与1日後に、HRPが心筋細胞内にはいったことを示す褐色に着色された心筋細胞のfocusが乳頭筋と心内膜下の一部に認められた。4日後には、褐色心筋細胞は左心室の広範囲に認められた。このHRP陽性細胞には筋原線維が明らかに識別された。さらに、介在板が褐色を呈する心筋細胞も見られた。電顕では、投与1および4日後に、SHRではオスミウム好性、顆粒状のHRP反応物が筋小胞体に検出され、高度障害細胞では、myofilamentに沿って多量のHRP反応物が認められた。一方、WKYでは、心筋細胞間隙に多量の反応物が存在していたが細胞内にはほとんど認められなかった。TBA-RSは、SHRでは投与1、4日後ともに対照群に比べて有意に高値を示した。また、WKYと比較しても1日後には有意に高かった。

〔結論〕SHRでは、DOX障害早期に脂質過酸化に起因した細胞膜透過性亢進が起こり、SHR肥大心の脆弱性の原因の一つにフリーラジカルによる脂質過酸化を受けやすいことが示唆される。

○堀口浩資, 堤雅弘, 天沼利宏, 辻内俊文, 田村一利, 高島吉治,
長谷川清彦, 吉田順一, 小西陽一(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

外分泌腺由来の膵悪性腫瘍の組織型は大別すると、腺房細胞への分化を示す腺房細胞癌と膵管上皮細胞への分化を示す膵管癌とがあるが、これらの癌の組織発生は未だ明確にされていない。一方、膵癌の組織型は動物種により発生頻度が大きく異なり、ラットでは腺房細胞癌が、ヒト・ハムスターでは膵管癌が多くみられる。しかし、未だに何故このような種差が生じるのかは明らかにされていない。今回、我々はラットの膵腺房細胞癌を誘発させる発癌物質としてよく知られている4-HAQO, DMAB, Azaserineをハムスターに投与し、ハムスターにおける膵癌イニシエーション効果について検討した。

〔材料および方法〕6週齢のシリアンハムスター計75匹を用いた。実験プロトコルを図1に示す。実験開始時にイニシエーション処置として第1群は無処置対照群、第2群は120mg/kgのAzaserineを腹腔内投与した群、第3群は15mg/kgの4-HAQOを静脈内投与した群、第4群は200mg/kgのDMABを皮下投与した群、第5群は70mg/kgのBOPを皮下投与した陽性対照群とした。この処置の11日後よりコリン欠乏食下に500mg/kgのDL-Ethionineを連日4日間腹腔内投与し、基礎食に戻すと同時に800mg/kgのL-Methionineを1回腹腔内投与し、さらにその2日後に20mg/kgのBOPを1回皮下投与する一連の操作(Augmentation pressure)を計3回行った。実験開始10週後、エーテル麻酔下に放血屠殺し、膵臓を摘出・重量測定した。膵臓はgastric/splenic/duodenalの各葉を1%酢酸を含有する95%エタノール中で2時間固定後、100%エタノール中で1晩固定した。その後、常法に従ってパラフィン包埋・薄切し、H&E染色を施し、組織病理学的検索を行った。

〔結果および考察〕有効匹数・体重および膵重量については、いずれの投与群においても著変はみられなかった。膵病変の出現を表1に示す。無処置対照群では膵癌の発生はみられないが、Azaserine 120mg/kgの処置を行った第2群では明かな膵癌が2例にみられ、異型性のある過形成、癌およびこれに過形成を加えた総膵病変の出現頻度・平均数は第1群に対して有意に増加した。しかし、4-HAQO 15mg/kgの処置した第3群では過形成が第1群に対して有意に減少し、DMAB 200mg/kgの処置した第4群では異型性のある過形成が第1群に対して有意に増加したが、これらの群では癌の発生が無く、イニシエーション活性は明らかではなかった。尚、腺房細胞性の腫瘍はいずれの群にもみられなかった。以上から、本実験条件下においてAzaserineは膵臓にもイニシエーション活性を有していると考えられた。

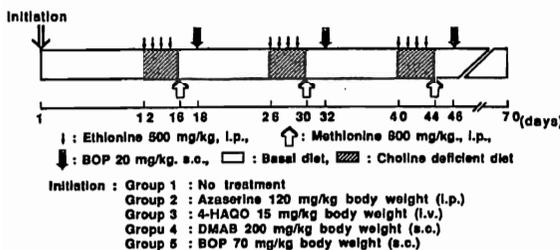


Figure 1. Experimental Protocol

Table 1. Incidence and Mean Numbers of Pancreatic Duct Lesions in Female Hamsters Initiated by Azaserine, 4-HAQO, DMAB, BOP Followed by Three Times Repeated Augmentation Pressure Cycle

Group	Initiation	Effective number of hamsters	Incidence of pancreatic duct lesions			Mean number of lesions		
			Hyperplasia	Atypical hyperplasia	Carcinoma	Total lesions ^{a)}	Carcinoma	Total lesions ^{b)}
1	No treatment	12	4(33) ^{b)}	0(0)	0(0)	4(33)	0	0.5±0.8
2	Azaserine 120mg/kg	15	11(73)**	5(33)**	2(13)**	18(60)**	0.1±0.3	2.3±1.6**
3	4-HAQO 15mg/kg	15	2(13)**	0(0)	0(0)	2(13)**	0	0.1±0.3
4	DMAB 200mg/kg	14	4(28)	2(14)**	0(0)	6(43)	0	0.4±0.8
5	BOP 70mg/kg	14	13(93)**	7(50)**	6(36)**	13(93)**	0.5±0.7*	6.1±4.2**

a) Total lesions include hyperplasia, atypical hyperplasia and carcinoma.
b) Numbers in parenthesis is % of positive animals.

*Significantly different at *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 from group 1.

19. BOP投与によるハムスター膵および肝の急性変化

○古川文夫、今井田克己、西川秋佳、佐藤元信、吉村博之、
三井雅之、高橋道人（国立衛試・病理）

【はじめに】

N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP)はハムスターにおいて主に膵の導管系に標的性を示し、異形成病変を経て腺癌に至ると考えられ、発癌までには約10週を要する。しかし、BOP投与による急性変化の詳細な検討はなされていない。

今回はBOP投与における急性期の膵および肝の病理組織学的検索を行い、bromodeoxyuridine (BrdU)免疫染色、proliferating cell nuclear antigen (PCNA)免疫染色、nucleolar organizer region 銀(AgNOR)染色による細胞増殖活性の検討を行った。

【実験材料および方法】

実験はシリアンゴールデンハムスターを用い、100mg/kg BOPを背部皮下に1回投与し、24時間後にBrdUをMini-osmotic pumpに挿填し、外科的に腹腔内に留置して連続標識をした。その他に溶媒対照群を設け同様の処置を行った。実験はBOP投与後7日目に屠殺剖検してHE染色、BrdU免疫染色、PCNA免疫染色、AgNOR染色を行い膵および肝臓を中心に検索を行った。

【結果】

BOP投与群において肉眼的な著変はみられなかったが、病理組織学的には膵管上皮の過形成が観察され、その周囲は浮腫および炎症性細胞浸潤を伴っていた。膵管上皮過形成の基底側の細胞はBrdU染色およびPCNA染色で陽性像を示した。AgNOR染色では対照群の膵管上皮細胞のAgNORは約2~3個で顆粒状を呈し、一方、過形成の上皮細胞は約5~8個で更に細かい顆粒であった。肝臓はBOP投与により実質の広範な変性壊死を来し、残存する肝細胞の肥大が認められた。肝内胆管の増生は高度で、一部で上皮の過形成を示し、その胆管周囲は炎症性の細胞浸潤が認められた。BrdUおよびPCNAの検索では多くの胆管上皮の過形成が陽性を示したのに対し、陽性の肝細胞は散見されるのみであった。過形成胆管における上皮細胞のAgNORは膵管と同様に細かい顆粒状を示した。

【考察】

ハムスターにBOPを投与すると膵管および肝内胆管は過形成を示した。それら上皮のAgNORは細かい顆粒状を示したが、膵癌および異形成病変に出現するようなbizarreなAgNORは認められず、腫瘍性病変におけるAgNORの形態とは明らかに異なるものであった。肝臓の細胞増殖活性はBrdUおよびPCNAの検索によると胆管上皮細胞で高く、肝細胞は低いことが明らかとなり、ハムスターの肝における再生パターンは肝内胆管が先行して増生する事が示された。

以上の結果、BOPの急性変化は膵臓よりも肝臓に強く傷害性を示す事が明らかとなった。

20.

エストロゲン投与マウスの肝類洞内MPS系細胞の動態 —免疫組織化学と画像解析装置を用いた定量化—

○井上 知、松井 信志、渡辺 弘、村岡 義博（塩野義研）

（緒言）

合成エストロジェンを長期連用したヒトでまれに肝障害（類洞の拡張、類洞内細胞の増加および肝細胞の過形成）が起こることが報告されており、これらの変化はマウスとラットを用いた実験においても報告されている。また、エストロジェンはマウスにおいてMPS系を刺激し、増殖活性を上昇させることはよく知られている。肝臓内のMPS系の主なものはKupffer細胞であるが、エストロゲン投与によるKupffer細胞の動態を免疫組織化学的に解析したものは少ない。そこで我々は、合成エストロゲン投与によって類洞内に増加する細胞を免疫組織化学的に同定し、画像解析装置を用いてその細胞動態を定量化する目的で実験を行った。

（材料と方法）

AKR系雄性マウス(AKR/N Slc)8週齢に合成エストロゲンであるmestranol 30 mg/kgをゴマ油に懸濁し、6日間経口投与を行った。投与1, 3, 5および7日目にエーテル麻酔下で屠殺し実験に用いた。投与初日に屠殺したものを無処置対照群とした。肝臓、脾臓および回腸を採取し肝臓と脾臓の重量を測定した後、10 %中性緩衝ホルマリン液で固定した。また、肝臓と脾臓の新鮮凍結切片を作製し、抗マクロファージ(F4/80)、抗I-A^k、抗Lyt-1、抗Lyt-2および抗L3T4の各種モノクローナル抗体を用いたABC法で染色した。PCNA陽性細胞の検出には、パラフィン切片を作製し抗PCNAモノクローナル抗体を用いたABC法で染色した。さらに免疫組織化学染色を行った切片を用いて画像解析装置(SPICA-ACE、日本アビオニクス社)によって陽性細胞の定量化を行った。

（結果と考察）

肝臓重量は経時的に増加し、投与5日目に最大(1.3倍)になった。脾臓重量は投与3日目に最大(2倍)となり、以降減少し7日目では無処置対照群と差がみられなかった。

組織学的には、肝臓では類洞細胞の有糸分裂像が投与1日目から出現し、それに伴った細胞増加が3日以降みられ、7日目に最大となっていた。その他、軽度な類洞の拡張が3日目から、肝細胞の有糸分裂像が5日目からみられた。脾臓では、赤脾髄での細胞増加が投与1日目からみられ、3日目から5日目にかけて最大となり、7日目では対照群よりわずかに多い程度であった。

肝臓の免疫組織学的検索において、類洞内に増加している細胞はF4/80陽性のものが大部分を占め、Lyt-1、Lyt-2、L3T4に陽性を示す細胞はほとんどみられなかった。これらのことから、T細胞系よりもMPS系(特にKupffer細胞)の増加が示唆された。F4/80陽性細胞数を形態計測した結果、投与初日の値に対して、3日目で2.6倍、5日目で5倍、7日目で5.3倍になっていた。また、PCNA陽性細胞数は投与初日の値に対して、1日目で12倍、3日目で30倍、5日目で34倍、7日目で18倍になっていた。このことより、mestranol投与によりKupffer細胞の類洞内増殖が示唆され、S期のピークは投与5日目であることがわかった。

21. 食用クチナシ黄色色素(リケカラーYG)の慢性毒性実験中にみられたC57BL/6Nマウスの肝炎について

○伊藤明弘、渡辺敦光、高橋忠照、藤本成明、井内康輝¹⁾

広島大学原医研癌・医学部病理¹⁾

クチナシ黄色色素リケカラーYG(YG)は天然の黄色色素で、主に中華めんの着色剤として、そのほかに衣料の着色や種々の薬剤としても用いられている。このYGの慢性毒性実験をC57BL/6Nマウスを用いて行っている実験群の中に複数例の肝炎が発症したので、今回はこの肝炎の病変を中心に報告したい。

(実験方法と材料)動物：生後6週令のC57BL/6N(日本チャールス・リバー社)の雌雄両性マウスを用いて、以下の実験を設定した。基本食：MF(オリエンタル製固形飼料)を自由摂取として投与した。検体として用いたYGは飲料水に溶かして経口投与とした。実験群は0%、0.2%、0.8%の3濃度を設定し、雌雄各々150匹のマウスを1群50匹として6群に分ち、現在薬剤投与後1年9か月以上観察している。

(結果)初発は生後三ヶ月例を第1例として多くの症例は一年以降に集中しての発症が見られ、生後1年9か月の現在迄に対照群14%、0.2%群に23%、0.8%群に32%と雌雄差は見られず、又、どの実験群にも共通して肝疾患を中心とする系統的致死性疾患の発現がみられた。これら肝疾患を示すマウスの多くは頸部を中心に脱毛と湿疹を発症し、肝腫大、黄疸、腹水の貯留、肝出血、脾腫大、腎硬化症、リンパ節腫大、貧血などを示し、血清生化学的検査ではLDH値の上昇、GOT、GPT値の上昇などが特徴的であった。肝：びまん性腫大を示し、一部巣状壊死、結節などもみるが表面は平滑、ミクロでは肝細胞は核の腫大や多核化、核分裂像、肝細胞の壊死などが広範囲にみられ、活性期肝炎の像を示した。一方、多くの部分では肝小葉内に小型円形細胞の浸潤、アミロイド様物質沈着がびまん性にみられ器質化の傾向を示した。腎：肉眼的に黄白色化し、ミクロでは糸球体の硝子様変性と器質化、間質での肝と同様の円形細胞の浸潤、アミロイド様変性などによる線維化も巣状にみられた。脾：腫大するものが多く、小型円形細胞浸潤が強く、口胞構造の不鮮明化、融合が見られ、逆に肝と同様間質部の線維化などが顕著であった。リンパ節：稀に腫大を示し、脾と同様リンパ濾胞の構造は細胞浸潤により不鮮明となり、巨細胞の出現と間質での物質沈着による器質化などが見られる。

(結論)本研究で見られた一連の感染症は各実験群にはほぼ均等にみられ、C57BL/6Nマウスでの系特異的に見られる疾患であり、今回の研究ではその発現が主として肝炎を中心としている点が特徴的であると考えられる。

22.

鶏幼雛でのアルブミン及び吸着剤による アフラトキシン排除の試み

○平野孝一¹、足立吉数²（¹農水省家畜衛試、²農水省食総研）

〔目的〕 アフラトキシンは、強い肝毒性と発癌性を有するカビ毒であり、この無毒化は重要な研究課題である。第6回本学会において、我々は牛血清アルブミン（BSA）を用いたアフラトキシン排除の試みについて報告を行った。一方、実際の応用例としてケイ酸アルミニウム・活性炭等の吸着剤の使用が検討されてきている。今回、我々は吸着剤投与によるアフラトキシンの急性毒性に対する影響をBSAと比較検討した。同時に、アフラトキシンの標的臓器である肝臓におけるアフラトキシンの動態について検索を行った。

〔方法と材料〕 孵化後24時間以内の幼雛（デカルブ）を用いた。アフラトキシンB₁（AFB₁）は体重1kg当り3mg投与した。AFB₁-BSA投与群には、AFB₁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及び72時間目に、心採血によって殺し、血漿中のイソクエン酸脱水素酵素（ICDH）の活性および、血漿中及び肝臓中のAFB₁濃度を測定した。肝臓は、病理組織学的観察を行った。吸着剤にはケイ酸アルミニウム（AS）を用い、AFB₁-AS投与群にはBSAの場合と同様に経口投与した。投与後、6及び24時間目に殺し、検索を行った。BSAとAFB₁の結合はpHの影響を受けるとされている。そこで投与するBSA水溶液のpHを変化させ、その影響を検討した。用いたpHは6.0、8.4、9.0である。上述と同様に検索を行った。

〔結果と考察〕

I. BSA投与実験群 ①ICDH活性：AFB₁単独投与群では24時間目に対照群に比べ有意に上昇し、その後も他の群に比べた高い値を維持した。AFB₁-BSA投与群では対照群に比べその値は低かった。②血漿AFB₁濃度：AFB₁単独投与群ではAFB₁-BSA投与群に比べ有意に高かった。AFB₁-BSA投与群では48時間目以降では血漿中からAFB₁は検出できなかった。③肝臓AFB₁濃度：AFB₁を投与した群では、その濃度は6時間目においては血漿中より高い値を示したが、その後急速に低下し、24時間目には血漿中より低くなり、48時間目には検出不能となった。肝臓においてもAFB₁単独投与群の方が高い値を示した。④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)b)の出現時期・出現頻度の面で単独投与群の方が強い傾向がみられた。

II. AS投与実験群 ICDH活性、血漿中AFB₁濃度及び肝臓中AFB₁濃度、いずれもAFB₁単独投与群に比べて、AFB₁-AS投与群の方がその活性ならび濃度ともに低い傾向にあったが、実験Iのように有意な差はなかった。また、組織学的変化においては24時間目で病変が形成され、AFB₁単独投与群での変化が強く現れる傾向がみられた。

III. pHの影響検討 ICDH活性、血漿中AFB₁濃度、肝臓中AFB₁濃度及び組織学的変化についてpHの差による影響は有意に観察されなかった。

〔まとめ〕 今回の実験の結果、実際に応用が試みられている吸着剤でもBSAと同様アフラトキシンの吸収が阻害されていることが示唆された。これまで、BSAとアフラトキシンとの相互作用が詳細に研究されてきた。それらの知識に基づき、BSAによるアフラトキシンの吸収阻害を検討する上で、この幼雛モデルは有用であると考えられる。しかし、in vitroにおけるpH依存性のBSAとAFB₁との結合を投与実験では確認することはできなかった。

23. 塩化カドミウム反復投与による Wistarおよび Fischerラットの Pancreatic hepatocyteの発生

小西登¹, 北堀吉映¹, 大嶋正人¹, 日浅義雄¹, JM, Ward²
(奈良医大・二病¹, NCI-FCRDC², USA)

(はじめに)

分化した細胞が他の分化した細胞へ変化する transdifferentiationあるいは化生は、膵において肝細胞化 (Pancreatic hepatocyte 又は hepatization) として知られている。自然発生的にも稀に認められることがあるが、methionine又は copper欠乏食あるいは 2,6-dichloro-p-phenylenediamineの長期投与、ある種の発癌物質 (N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine, N-methyl-N-nitrosoguanidine) などで見出されている。今回我々は塩化カドミウム (以下, CdCl₂) の反復皮下投与で高率に Pancreatic hepatocyte (以下, PH) を誘発したので、組織学的及び免疫組織学的検索を加えて報告する。

(実験動物及び方法)

実験動物は Wistar (WF/NCr),

Fischer (F344/NCr) とともに 4週令の雄ラットを各群30匹ずつ計 150匹用いた。CdCl ₂ は生理食塩水に溶解し、ラットの背部皮下に表の如く投与した。皮下注射は週 1回で 18週間連続投与し、実験期間は 110週とした。組織学的検索：膵の萎縮、線維化及び炎症の 3項目について各々 Grade 1 (軽度),	Rat Strain	CdCl ₂ (μmol/kg)		
		Initial	Weekly	Total
Group 1 (6)	Wistar (F344)	30	30	540
Group 2 (7)	Wistar (F344)	20	20	360
Group 3 (8)	Wistar (F344)	10	10	180
Group 4 (9)	Wistar (F344)	3	30	513
Group 5(10)	Wistar (F344)	0	0	0

Grade 2 (中等度), Grade 3 (高度) と分類した。特染として PAS染色をはじめ 鉄, メラミン等について検討した。免疫組織学的にはラットアルブミン, gap junctionに対する抗体 (Connexin 32) 等を用い、その存在を検討した。

(結果)

PHは20週目より認められ、Wistarラットにより高率であった。出現頻度はGroup 1 (70.0%), Group 2 (92.9%), Group 3 (78.6%), Group 4 (85.0%), Group 5 (3.6%), Group 6 (0%), Group 7 (35.7%), Group 8 (10.0%), Group 9 (50.0%), Group 10 (0%) であった。膵の萎縮と線維化はある程度 PHの出現頻度と相関関係にあり、特に膵萎縮は有意の相関を示した。炎症との相関は見出されなかった。組織学的に PHはラングランズ島近傍に認められ、PAS染色陽性で鉄やメラニンに対する染色は陰性であった。PH及び肝細胞は、アルブミン染色陽性であり、また gap junctionに対する抗体 Connexin 32を用いた検索でも同様の染色性を示した。

(まとめ)

CdCl₂の反復皮下投与でラットに高頻度の PH誘発がみられ、これらの頻度に容量相関と種差が認められた。また PHは免疫組織学的検討においても肝細胞と同様の染色性を示した。

○寺尾 清、伊藤 恵美子、大楠 美佐子（千葉大真核微研）

下病性貝毒(DSP)は、有毒プランクトン *Dinophysis fortii* の産生する数種の毒により汚染された魚介類の摂食によって生ずる食中毒で、1976年、日本の東北地方で流行した際、東北大安元らによって発見された。DSPは、現在北欧、南フランス、スペイン、カナダ、南米、オーストラリアなど世界中に広く分布することが知られている。主な症状は、烈しい下痢、嘔吐、腹痛などの消化器症状で、致死率は低い。DSP毒には、オカダ酸(OA)とその誘導体であるDinophysistoxin-1 (DTX-1)、およびDinophysistoxin-3 (DTX-3)、ペクテノトキシン-1 (PTX-1)、ペクテノトキシン-2 (PTX-2)、エソトキシン(YTX)などがあり、原因魚介類もしくは、*D. fortii* から分離精製されている。これらの海産毒は、マウス、ラットなどに特徴ある病変を誘発させることが報告されているが、これらのトキシンの間の比較毒性は、未だ解明されていない。今回我々は、これらのうち、OA、DTX-1、DTX-3、PTX-1、およびPTX-2のマウスもしくはラットに対する比較毒性を検討した。

OA、DTX-1、ならびにDTX-3はいずれも経口投与5分後には、小腸吸収上皮のゴルジ装置の槽の異常拡張、細胞質内の無数の小胞の出現があり、20分後には、一部の微絨毛の脱落消失、底部のオルガネラの消失、30分後には、固有層からの遊離と固有層の毛細血管の透過性が増し、固有層中に浸出液が大量に貯留する。陰窩細胞は、形態学的に殆ど変化はみられない。絨毛上皮は2時間後には再生の開始がみられる。筋層並びに、自律神経系(Meissner及びAuerbach神経叢)は2時間迄は異常がみられないが、3時間後から平滑筋の核周辺部の筋線維の消失、変性が生じ、6時間後には吸収上皮がほぼ回復し終わったのに拘らず、平滑筋の変性は最高に達し、神経も膨化する。腹腔内投与では、OAとDTX-1は、経口投与とほぼ同様であるが、DTX-3ではごく軽度の変性が、絨毛上皮にみられただけであった。肝細胞の変性壊死は、DTX-3によって最も著しかったが、OA、DTX-1では軽度であった。

PTX-1およびPTX-2の腹腔内投与によって、著しい腔水症の発現がみられた。小腸上皮には、超微形態レベルにおいても著変がなかったが、固有層の毛細血管の透過性は著しく増加し、絨毛の膨化を来した。肝の中間帯から門脈周辺域の肝細胞中には、著しい空胞変性がみられ、この空胞中には多量の赤血球、線維素の析出が認められた。著しい場合には、細胞質中の空胞によって圧迫されたオルガネラが、一側に集まる像が多く、遂には壊死に陥る細胞も多かった。経口投与によっては、著しい変化はみられなかった。

OAとDTX-1は、Protein Phosphataseを阻害することが知られている。このため、OAとDTX-1のレセプターを有すると考えられる絨毛上皮に働いて、壊死を生ぜしめるが、DTX-3は、分子中のパルミチン酸の存在が、OAあるいはDTX-1の作用とは異なった結果を来したと考えられる。

PTX-1とPTX-2は、毛細血管の透過性の増加と密接な関係があると考えられる。

25.

制癌剤の高分子化による毒性発現の多様性

—アドリアマイシンを用いた検討—

○川畑好之康、安藤 信明、園田 崇倫、若松智恵美、野原 正志、
入江 弘之、小柴 博、若井 正和 (獨ミドリ十字 安全研)

〔はじめに〕

制癌剤を高分子化合物との複合体とし、その治療係数（毒性量と効果量の比）を改善しようとする試みは近年活発に行われている。アドリアマイシン（ADM）と酸化デキストラン（OXD）との複合体ADM-OXDは腫瘍組織への分布を高め、かつ心毒性等の副作用を軽減する目的で開発された化合物である。今回、我々はADM-OXDの全身毒性を把握し、ADMのそれと比較検討する目的で28日間反復投与による毒性試験を実施した。またADM-OXDの肝臓に及ぼす影響を生化学的および病理形態的に検討した。

〔方法〕

試験1. 28日間反復投与毒性試験

5週齢のWistar系雌雄ラットにADM-OXDをADM換算量として2.0, 0.7, 0.2 および0.07mg/kgを1日1回28日間にわたり静脈内投与した。比較対照薬剤としてADM (0.7 および0.07mg/kg)、陰性対照薬剤として生理食塩液を使用した。動物数は1群雌雄各10匹とした。投与終了時または終了後に各種臨床検査を実施するとともに諸器官・組織のH.E.染色による病理組織学的検索を実施した。

試験2. 単回大量投与後の肝臓に及ぼす影響

5週齢のWistar系雄性ラットにADM-OXDまたはADMを単回大量投与した後、経日的に肝機能検査および肝臓の形態検査を実施した。さらに肝臓ホモジネートを調製し、過酸化脂質量および還元型グルタチオン量を測定した。

〔結果〕

試験1

制癌剤過量投与時に一般的に認められる形態変化が比較対照のADM0.7 mg/kg群に出現した。即ちリンパ系器官（脾臓、リンパ節、胸腺）は萎縮、骨髄は低形成を呈し、消化管（胃）は腺萎縮や出血が認められた。また同群ではADMに特徴的な変化が心臓（心筋変性）および腎臓（尿細管拡張、蛋白円柱、硝子滴変性等）に出現した。一方、ADM-OXD2.0 mg/kg群の形態変化については、リンパ・造血器系はADM群と同様な変化が出現したが、消化管や心臓・腎臓の変化は殆ど認められなかった。また上記ADM群と同一用量であるADM-OXD0.7 mg/kg群においては、上記諸器官に形態変化はなかった。なおADM-OXD2.0 mg/kg群の肝臓において肝細胞の腫大、単細胞壊死、脂肪変性等が認められ、血清肝機能酵素活性の軽度な上昇も認められた。

試験2

ADM-OXD群では投与翌日より血清トランスアミナーゼ活性の上昇が認められ、投与後3日にピークに達し、4日目には回復傾向を示した。形態変化としては、トランスアミナーゼの変化に相応して、投与翌日より肝細胞は腫大・硝子様に変性し、単細胞壊死も散見され、投与後3日には概ね小葉中心性に変性・壊死像を呈するようになり、4日目には線維化が目立つ例もあった。また肝臓ホモジネート中過酸化脂質量および還元型グルタチオン量は投与翌日から3日にかけて明らかな上昇が認められた。一方ADM群においては、投与翌日に過酸化脂質量および還元型グルタチオン量が軽度の上昇したのみで、形態的な変化は認められなかった。

〔結論〕

高分子化制癌剤であるADM-OXDは、ADMと比較して、心毒性、腎毒性、リンパ系毒性等殆どの器官に対する毒性を明らかに軽減した。反面ADM-OXD過量投与により肝毒性が出現したが、この毒性発現の要因として肝臓における脂質過酸化の亢進が示唆された。

26.

Y M 1 7 5 を投与したビーグル犬における骨の新生

○二井愛介, 藤本隆平, 成田 幸, 岡宮英明, 花田貴宣, 三木寿雄
(山之内製薬, 安全研)

骨粗鬆症治療薬として開発中の Y M 1 7 5 は bisphosphonate の一化合物で, 骨組織内に局在して破骨細胞性骨吸収を阻害する作用を持つと考えられている. 本剤をイヌに投与した際, 非常に興味深い所見を得たので報告する.

【材料と方法】

Y M 1 7 5 を骨端閉鎖した雌雄のビーグル犬 (13 ~ 14 ヶ月齢) に, 0, 0.3, 1, 3, 10 mg/kg の用量で 13 週間強制経口投与し, 投与終了後骨組織を採材して脱灰標本を作製した. 標本は光学顕微鏡および偏光顕微鏡にて肋骨, 胸骨および上腕骨を観察した.

【結果】

膜内骨化機序による骨梁の新生が 10 mg/kg 群の肋骨, 胸骨および上腕骨において認められた. 個体により新生骨梁の周囲に間葉系組織を多く伴っているものと, ほとんど観察されないものが認められた. 間葉系組織の豊富な例では, 多数の骨芽細胞が層板構造の明らかでない未熟な新生骨梁 (woven bone) を圍繞し盛んな骨形成像を示したが, 破骨細胞は概して少数であった. また, その周囲には線維芽細胞様の未分化間葉系細胞を主体として, 線維成分, 毛細血管等が認められた. 新生骨梁は既存の骨梁の間に増加していたが, 既存骨に付着, 融合しての新生像も多く認められた. 一方, 間葉系組織の少ない例では, 新生骨梁は完全な層板構造を示さないものの比較的成熟した形態を示し, 骨梁周囲の骨芽細胞は少なかった. 上腕骨における骨新生は, もともと骨端軟骨板が存在していたと考えられる部位に先行しておこる傾向が観察された.

軟骨内骨化の機序による変化として, Y M 1 7 5 投与全群において肋骨の軟骨接合部の一次海綿骨領域の増幅が用量依存的に認められた. 高用量群ほど軟骨基質とその周囲をとりまく骨基質からなる骨梁の幅は広く, 髓腔は逆に狭小化した.

偏光顕微鏡による観察では, 骨化の機序に関わらずこれら新生骨の層板構造は未熟ではあるが, 成熟した層板構造に近づきつつある像として観察された.

【考察】

Y M 1 7 5 投与により, 成熟犬において膜内骨化, 軟骨内骨化の両機序による骨新生が認められた. 肋軟骨接合部における変化は, 前回の本学会で発表したラットを用いての試験と同様の変化で骨吸収抑制作用に基づく変化と考えられ, 一部の bisphosphonate で報告されているような石灰化障害や骨形成障害はないものと思われた. また, 膜内骨化機序による骨梁の新生は, 致死量に近い用量のみで認められた所見であり, その原因は明らかではないが, 本薬を大量投与した際に未分化間葉系組織を誘導する作用があることも考えられ (単回経口投与でも同様の所見が得られている), 非常に興味深いものと思われた.

○井手幸晴、近藤純一、二宮博徳、鷲見信好（日本新薬(株)・安全研）

催奇形性試験において、使用動物の正常な化骨過程を把握しておくことは重要である。ラット胎児・出生児の化骨については、Wistar系 (Strong, '25 星野, '67)、Long-Evans系 (Walker & Wirtschaffter, '57 Wright et al., '58) およびSD系 (Fritz et al., '70) で報告されているがその数は少ない。またFritz et al.のSD系ラットでは、中軸性骨格および指趾骨の一部について詳細に記述されているが、その他の骨格成分については十分な記載がない。そこで今回、SD系ラットの周産期における胎児・出生児の化骨過程をより明確にし、併せて系統差についても文献的に検討したので報告する。

(材料および方法)

日本エスエルシーより10週齢で購入したSlc:SD系雌雄ラットを使用した。交配は12週齢で終夜同居させて行い、膈腔の形成および膈脂膏中に精子の認められたものを交尾成立とみなし、その日を妊娠0日とした。動物は固型飼料（日本クレア製、CE-2）および水道水を自由摂取させた。交尾確認後18、19、20、21、22、23および24日目に、胎児は帝王切開により摘出し、出生児は弁当箱型ケージより取り出して採取した。各日齢10母獣より得られた胎児・出生児の匹数は各々150、145、139、145、141、140および128である。すべての胎児・出生児について川村らの方法でアリザリンレッドS染色骨格透明標本を作製し、実体顕微鏡にて骨格検査を実施した。

(結果および考察)

椎体：頸椎体は20日齢でSDおよびLong-Evans系にみられるが、Wistar系には認められない。胸椎体は各系統で18日齢にみられるが、SDおよびLong-Evans系は中部より、Wistar系は下部より化骨が始まる。**胸骨核**：各系統で19日齢にみられるが、化骨順位はSD系で1、3、4、2、6、5、Long-Evans系は1=2、3=4=6、5である。**中手骨**：各系統で18日齢より認められ、SDおよびWistar系では第3、2=4、5、1中手骨の順に化骨する。**指骨**：各系統で末節骨、基節骨、中節骨の順に化骨するが、個々の指骨の化骨順位には系統差が認められる。**足根骨**：踵骨および距骨は、Wistar系で24日齢より同時に認められるが、SD系では各々21日齢および24日齢よりみられる。**中足骨**：各系統で18-19日齢よりみられるが、化骨順位はSD系で第3=4、2、5、1中足骨の順、Wistar系では第3、2=4、5、1中足骨の順である。**趾骨**：各系統で末節骨、基節骨、中節骨の順に化骨するが、指骨同様個々の趾骨の化骨順位には系統差がみられる。SD系の中手（足）骨および指趾骨の化骨順位は、中手骨、中足骨、末節骨（指）、末節骨（趾）、基節骨（指）、基節骨（趾）、中節骨（指）、中節骨（趾）の順であり、指骨が趾骨より早く化骨すること、第3、4指趾の化骨が最も早いことが他系統と異なる特徴である。

同系統のラットでも化骨過程に違いが生じることがある。これは胎齢の算定方法、飼育方法、検査方法などが実験者により異なっていることが原因と考えられる。より統一された条件下で実験することが望ましい。

28. Freund's complete adjuvantの末梢神経系に及ぼす影響

○早川和宏^{1,2}、塩野谷 博¹、日比野信裕¹、大川三治¹、福田種男¹、本岡 覚¹、
中野渡純一¹、山津清實¹、祖父江 元³ (¹ エーザイ・安全研、² 愛知医大・³ 4 内)

薬物中毒において免疫機能が変化した場合、末梢神経にどのような影響を及ぼすか検討した報告は少ない。今回我々は、それらの関連性を検索する一環として、免疫反応を非特異的に高めることが知られている Freund's complete adjuvant(FCA)をラットおよびイヌに投与し、病理組織学的に観察した結果、イヌの神経節に若干の変化が認められたので報告する。

【実験材料および方法】

8週齢のLewis雄ラットおよび8か月齢の雌ビーグル犬を用いた。各動物につき、生理食塩液投与群、FCA投与群の2群を設け、3匹/群で実施した。ラットには、FCA(Difco):生理食塩液を1:1の割合でエマルジョンを作製し、エーテル麻酔下で左右足蹠および腰部皮下3箇所にて0.1ml/siteずつ投与した(total 0.5ml/head)。その後、同検体を2週毎に腰部皮下のみに投与し(total 0.5ml/head)、4回投与後2週に剖検した。イヌには、同検体を無麻酔下で腰部皮下にラットと同様に投与した。ただし、3回目の投与は投与局所が化膿した為、イヌのみ投与を中止した。生食投与群には、生理食塩液を同様に投与した。剖検は各群ともペントバルビタール麻酔下で実施し、開胸後心臓からの全身灌流を実施した。固定液は、10%中性緩衝ホルマリン液を用い、一部の例については、2%グルタルアルデヒド・2%パラホルムアルデヒド液を用いた。交感神経前頭神経節、星状神経節、三叉半月神経節、三叉上顎、下顎、眼神経、坐骨神経および各レベルの背根神経節、背根、腹根神経、Segmental nerveを採取し、パラフィン切片を作製し、H-E、KB染色を実施後、光顕的に観察した。また、前頭神経節、三叉半月神経節、背根神経節の一部については、エボン切片を作製し、光顕ならびに電顕的に観察した。

【結果】

光顕的には、ラットでは、いずれの群でも変化は認められなかった。イヌでは、生食投与群では変化はなかったが、FCA投与群の交感前頭神経節、星状神経節、三叉半月神経節、背根神経節において、リンパ球を主体とした細胞浸潤が、血管周囲もしくは神経内膜にて観察された(表1)。その病変はいずれも軽度であり、神経節以外の部位には認められなかった。背根神経節の病変分布については、病変好発部位に関する一定の傾向はみられなかった。電顕的には、イヌFCA投与群の半月神経節で細胞浸潤がみられた他には、変化は認められなかった。

【考察および結論】

今回、非特異的な免疫増強作用を有するFCA投与により、イヌでは、神経線維の障害がなくとも、末梢神経の神経節に細胞浸潤をおこしうることが明らかとなった。この事は、イヌの末梢神経病変を観察する上で注目すべき点と考える。一方、ラットでは病変が生じず、ウサギでは文献的に、2から6回投与で細胞浸潤を伴わない脱髄をおこすと言われていることから、FCA投与による病変には明らかな種差があると考えられた。

表1 FCA投与によるイヌの神経病変(細胞浸潤)

動物番号	交感神経節			背根神経節						
	前頭	星状	三叉半月	L1	L2	L3	L4	L5	L6	S3
F0643	±	±	±	-	±	-	-	-	-	±
F1527	±	±	±	±	-	±	±	-	-	-
F1546	±	±	-	-	-	-	-	±	±	-

- : 病変なし ± : 軽度 (一切片に1~3箇所)の病変が存在)

三叉上顎、下顎、眼神経、背根神経節(C3, T2, S1, S2)、背根、腹根神経、Segmental nerve、坐骨神経には病変なし

29. X線によりラットに誘発された動脈炎の修飾要因

渡辺敦光、高橋忠照、岡本太郎、伊藤明弘（広大原医研癌）

治療のため高線量の放射線被曝を受けることにより照射部位の動脈に障害が生じることが古くから知られている。我々はラットの胃部に10Gy以上のX線照射を行うと照射部位の中動脈に動脈炎が生じることを報告した。そこで今回はX線照射後に食塩、エタノール、並びに味噌を与え動脈炎に対する影響を検討した。

材料と方法：5週齢の雄CD(SD):Crjラットの胃部にX線を10Gyを3日間隔で2回照射し、その後X線単独群、10%食塩餌、1%食塩餌、10%乾燥赤味噌餌、並びに10%エタノールを飲料水に加えて投与した。対照群として上記の餌並びに基本餌としてのMF餌（オリエンタル酵母）投与群、エタノール投与群、合計10群を設けた。更に、20Gy1回照射し、X線単独群、X線と10%食塩餌、X線と10%エタノール群並びに対照群を各々設け6群とした。動物は52週目までに屠殺し、胃を取り出し、開き、中性フォルマリン液で固定後、3 μ の切片を作りHE染色後一部は画像解析装置を用いて、中動脈の壁の厚さを測定した。

結果：X線単独群の胃の中動脈の動脈炎の発生率は5/18(28%)で、10%の食塩餌投与で19/19(100%)と増強された($p < 0.05$)。10%の食塩餌のみ投与群でも2/21(10%)に動脈炎が認められた。又、X線+1%食塩餌群やX線+味噌餌群では動脈炎の発生は各々4/31(13%)、6/28(21%)でX線単独群と比較し有意差は認められなかった。一方、10%エタノール投与群では20例中全く動脈炎は認められなかった。中動脈の内膜と中膜の厚さは10%食塩餌単独群でも増加した(MF餌単独群に比較して $p < 0.05$)。X線と10%食塩群ではMFのみ群の4倍の厚さを呈した($p < 0.01$)。しかし、その他の群ではMF単独群と統計的な有意差は認められなかった。外膜の厚さはX線照射群が非照射群に比して有意に増加したが、X線とエタノール群では厚さの増加は認めなかった。しかしX線と10%食塩群ではMF単独群と比較し、約13倍の外膜の厚さを呈した。

次に20Gy1回照射を行った場合13/15(87%)胃部の中動脈に動脈炎が出現し、X線と10%食塩餌群では19/19(100%)に、又、X線と10%エタノール群では29/32(91%)に動脈炎が出現した。しかし、X線照射を行わなかった対照群すなわち10%食塩のみ群、10%エタノール群やMF単独群では動脈炎は出現しなかった。

結論：10Gyx2の分割照射で胃部の動脈炎は10%食塩餌で増悪され、エタノール投与で軽減した。内膜は食塩で、外膜は照射で変化し、両者の共同作用で増悪されたと考えられる。1%食塩餌や10%味噌餌ではその効果は認められなかった。線量を増し20Gy1回では食塩やエタノールの修飾要因の作用は顕著に認められなかった。

30.

脾摘出の貧血に及ぼす影響

○永井博文, 安原吉高, 田中丸善洋, 伊藤隆康,
安藤奈緒子, 茶谷文雄, 佐々木啓 (武田薬品)

貧血動物の脾臓には髓外造血の増加がみられるが、その生理学的意義については十分な検討がなされていない。今回、脾摘出(脾摘)ラットを用いて、脾臓の有無が瀉血による貧血からの回復に及ぼす影響を検討した。

〔方法〕6週齢の雌性F344/Jc1ラット(体重約80 g)を用い、脾臓を摘出した翌日、尾を切断し、断端を生理的食塩水に浸し約1 ml(全血の約20%)瀉血した。瀉血直後、瀉血3、5および8日後にそれぞれ5例について腹大動脈より採血・剖検し、常法に従い血液学的検査、臓器重量測定および組織学的検査を実施した。対照には同数例の偽手術動物を用い脾摘例と同様に瀉血し検索に供した。

〔成績〕偽手術群では赤血球数、ヘマトクリット値(Ht)およびヘモグロビン濃度(Hb)が瀉血3日後には瀉血直後に比べ10~20%減少したが瀉血5日後にはほぼ瀉血直後値に回復した。網状赤血球数および血小板数は瀉血3~5日後には瀉血直後の約4倍および1.5倍まで増加したが8日後にはほぼ回復した。脾重量は瀉血3日後には瀉血直後に比べて約20%増加したが8日後にはほぼ回復した。組織学的には、脾臓では瀉血3日後には赤芽球および未分化な赤芽球系細胞の著しい増生が、瀉血5日後には赤芽球の中等度の増生がみられたが瀉血8日後には髓外造血巣はほとんど認められなかった。骨髓では瀉血3日後には赤芽球の中等度の過形成および未分化な赤芽球系細胞の軽度の過形成が、瀉血5日後には赤芽球の軽度の過形成がみられたが瀉血8日後には瀉血直後とほぼ同様の造血像を示した。肝臓では瀉血3~5日後に数個の赤芽球よりなる造血巣が散見された。

脾摘群では赤血球数、HtおよびHbが脾摘翌日には偽手術群に比べて約7%減少したが瀉血後はいずれの検査値も偽手術群と同様に推移し、瀉血5日後にはほぼ瀉血直後値に回復した。また、血小板数は瀉血3~8日後で偽手術動物に比べて20~30%増加した。その他の血液学的検査値および組織学的所見は偽手術群と同様であり脾摘による影響はみられなかった。

〔結論〕脾臓における髓外造血の増加は、骨髓に比べその組織学的観察が容易なことから、貧血という全身状態を組織学的に検出する有用な情報源である。今回の検討では瀉血による貧血に際して脾臓では著しい髓外造血が生じ、その推移は貧血の状態を的確に表現していたが脾摘は貧血からの回復にほとんど影響を与えなかった。すなわち、脾臓における髓外造血は貧血からの回復にほとんど寄与しないことが示された。

31. 日米両国間でネットワーク化された安全性試験システムの一例

○松井 一、三井隆喜、三浦浩二、樋口守、J.E.Lund (アップジョン筑波総合研究所)

安全性試験は、前臨床段階の研究開発における律速段階と呼ばれ、医薬品業界の競争が激化している今日、より効率的な研究が求められている。また、GLP規制によるデータ処理の正確さも同時に求められている。こうした安全性試験に対する要求を満たすために、多くの企業では安全性試験のコンピュータ化が、10年来進められてきた。当社においても、より効率的な安全性試験を目的として第2世代のシステム導入を計画し、日本をはじめ欧米の市販されている安全性試験システムの調査を行い、もっとも当社のニーズに合うものとして、ミニコンピュータ上で稼働する米国XYBION社のXyblon Path/Tox System (以下XPTS)を導入し、運用を開始した。今回は、XPTSの概要を、特に病理学的検査に関連する機能に焦点を当てて報告する。

当社では、VAX6000モデル210をホスト・コンピュータとして用い、端末として漢字端末VT382を利用してXPTSを運用している。日本で市販されている多くのシステムとの相違点は、端末側にサテライト・コンピュータとしてパーソナル・コンピュータを用いずに、データを直接ホスト・コンピュータに入力する点あげられる。XPTSは、安全性試験のデータの発生する実験室毎(動物室、解剖室、等)にモジュール化されており、全部で12種類のモジュールからなる。XPTSの大きな特徴として、英語以外に独、仏、伊、と蘭語の中の1カ国語の計2カ国語を同時に利用することができる。演者らは、日本語フロントエンド・プロセッサの導入やメニュー/メッセージの日本語化等のカスタマイズにより、日・英2カ国語で利用を行っている。メニューやメッセージの言語の選択はユーザ別によって定義されているが、帳表などの出力はユーザが出力の度に選択できるようになっている。また、XPTSは、米国Upjohn本社において、すでに1986年より稼働しており、両システムは通信回線を通じて接続され、データの相互利用が可能となっている。

1. Nモジュール

解剖室で実施される最終体重測定、臓器重量測定および剖検所見の入出力に使用するモジュールである。臓器重量測定では、プロトコルで規定した臓器が画面に表示され、測定は表示順あるいは任意に実施することが可能であり、さらに固定後の測定が可能など、その設定には柔軟性がある。剖検所見では、変化が認められた臓器に対し、その所見を入力する。肉眼所見は臓器毎に辞書化され、該当する所見、修飾子を選択することにより入力される。また新たな所見、修飾子は追加が可能で、これらデータは当該試験内で適用可能である。さらにコメントあるいは解剖メモとして所見の追加も任意にできる。

2. Pモジュール

本モジュールは光顕所見の入出力に使用する。所見は、肉眼所見同様に各臓器に対し腫瘍性および非腫瘍性変化として各々辞書化がされ、さらに予め設定された病変の程度あるいは分布に関するデータ等を選択・入力する。当該臓器の肉眼所見は、画面に表示されており、鏡検実施に際し参考となる。辞書に登録されていない所見に対しては、入力時に追加登録することができる。また臓器あるいは所見に対するコメント入力も可能である。その他、本モジュールの特徴としてキーバットに数多くのコマンドが設定されており、例えば死亡動物に対する死亡情報、プロトコル情報の表示などがキー一つで実行させることができる。さらに編集機能として所見の削除、所見の合併、臓器の追加・削除あるいは所見配列の変更などができる。鏡検作業の終了をシステムに宣言する以前の所見の追加・変更は、修正履歴が残らずに行えるが、鏡検作業が全て終了しサインオフを行なった後は、すべての入力作業に修正履歴が伴う。

両モジュールの臓器、所見等の辞書も二カ国語で設定することが可能であり、特に臓器名の日本語表示は、臓器重量測定を行う実験補助者にとって、不可欠な機能である。また、帳表出力は両モジュールとも個体別、群別等の各種帳表が設定されているほか、ユーザが自由に定義した帳表出力も可能である。

本システム導入により、データの記載は省力化され、また集計・転記ミスなど人為的な障害の排除、記録用紙類の軽減化、鏡検作業中に他のデータが容易に検索できるなど安全性試験遂行上多くの利点が得られている。さらに、NおよびPモジュールで使用する辞書は、本社と同一で、これにより所見の統一化が図られ、また相互利用の上からも効率化が図られている。

32. パソコンネットワークを利用した毒性病理コンピュータシステムの開発

○下地尚史、牧之瀬俊彦、野口修、米倉清美、滝沢達也、村田晃子、砂越雄二、高木英利(日本レグリー・生物研)

現況

医薬品、農薬あるいは環境化学物質等の安全性試験を実施する研究機関においては、近年コンピュータシステムの導入ならびに構築が盛んである。これらは主に

1. 試験データの収集
2. 試験データの解析
3. 試験データの印刷（報告書に添付する表類等）

の目的で用いられている。こうしたシステムは、汎用機やミニコンをホスト・コンピュータとして用いパソコン等をその端末機とする比較的規模の大きなものか、パソコン単独で使う小規模なものかほとんどであり、多大な経費や開発・導入期間を必要としたり、現場の要求とかげ離れたものであったり、あるいはデータの共有性に欠けていたりする場合が多かった。我々は上記の問題点を解消するものとしてパソコンLAN (Local Area Network) を利用した毒性病理コンピュータシステムを開発した。

開発コンセプト

本システムの開発のコンセプトは

1. ネットワークを利用したデータ（辞書を含む）の一元管理
2. 現場の要求に柔軟に 대응できる操作性・融通性

この2つを両立させることである。また開発に際しては、本システムを一つのサブシステムとした安全性試験システムへの発展も考慮した。

本システムの特長

1. 組織所見のリアルタイム入力に耐え得る操作環境ならびに操作性を備える。
2. データは市販のデータベースソフト(dBASE)と互換性がある。
3. 市販の表計算ソフトを利用することにより、帳票の品質は極めて高く、かつ様々な要求に応え得る柔軟性を獲得した。
4. パソコンによるシステムであるため、ハードウェアのコストパフォーマンスが極めて高い。
5. さらにまず現場の要求に応えたサブシステムを作り、その後個々のサブシステム間でデータのやり取りをすと云う方法をとるため、最終的にシステムが安全性全体に拡大しても、個々の操作性を損なう恐れはない。

本システムの開発期間は基本設計も含め、約4ヶ月であった。ホストコンピュータを使ったシステムに比べ、経費、開発期間とも大幅な削減が実現した。今日コンピュータの世界で話題となっているDown Sizingの実現例として、本システムは今後の安全性システムの1つの方向を示すものとする。

第 2 日

一 般 講 演

お よ び

ミニシンポジウム

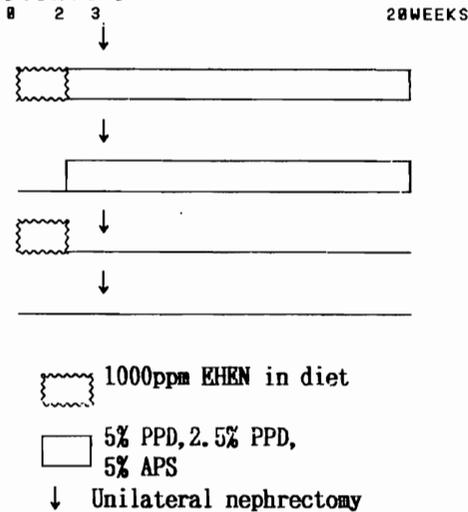
33.

Potassium phosphate dibasic(PPD), Potassium aluminium sulfate(APS)による腎発癌過程における修飾作用

○林功、小西登、中岡伸悟、大嶋正人、日浅義雄 奈良医大・二病

【はじめに】 実験動物の基礎食中に含まれる多くの塩類中、腎障害をひきおこすPPD、APSを過剰に投与し、その発癌修飾作用の有無を検討した

【実験方法】



動物は雄 Wistar rat 6週令、160匹を S L C から購入し、1週間の基礎食飼育観察の後、20匹ずつの8群に分け実験を開始した。

Group I	EHEN + 5%PPD
Group II	5%PPD
Group III	EHEN + 2.5%PPD
Group IV	2.5%PPD
Group V	EHEN + 5%APS
Group VI	5%APS
Group VII	EHEN
Group VIII	Control

上図の如く、EHEN2週投与群と非投与群のそれぞれに各々PPD、APSを投与し、20週で16時間の絶食の後、エーテル麻酔のもとに採血・屠殺後腎を摘出し重量測定後10%中性ホルマリオンで固定し組織検索に使用した。腎の腫瘍性病変を Simple hyperplasia、Adenomatous hyperplasia及びRenal cell tumorとし、その発生頻度を検討するとともに、Nephropathyの程度とMineralizationの有無との相関を調べた。全例第3週目にて片側腎摘出を施行した。

【結果】 Group IにおけるSimple hyperplasia、Adenomatous hyperplasia及びRenal cell tumorはGroup VIIに比して増加傾向を示した。しかしながら、Group VはGroup VIIとその各々の病変において有意の差は認められなかった。又、PPDはNephropathyの程度が強く、Mineralizationを伴っていたが、APSは軽度であった。

【まとめ、考察】 EHENによってInitiateされた腎発癌過程でPPDはEnhancing effectが認められたが、APSには認められなかった。又、Simple hyperplasiaに関してはPPD及びAPS単独投与群においても多く認められ、これらはNephropathyによって引きおこされたRegenerative tubuleが混在しているものと考えられた。

○村井 隆^{1,2}、森 聖²、細野素子²、武内康義²、大原忠雄²、牧野 進²、
林 幸之²、福島昭治¹

(¹大阪市大・医・1病理、²シオノギ・油日ラボ)

我々は、第5回日本毒性病理学会で水腎症が30%前後自然発生するNON系雄マウスに N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)を投与すると、転移形成能をもつ腎盂癌が発生することを報告した。今回は、フェナセチンにより誘発された腎の病的状態がNON系マウスにおけるBBNによる腎盂癌の発生に如何に影響を及ぼすかをDS系マウスのそれを比較対照として検討した。

[方法] 動物は8週齢のNON系およびDS系マウスの雄をそれぞれ33および40匹用いた。21匹のNON系および25匹のDS系マウスからなるフェナセチン前処置群には、1.5%の割合でフェナセチンを混ぜたCA-1固形飼料を16週間投与し、引き続いて0.05%BBN水溶液を4週間投与した後、13週間休業した。残りのマウス(NON系12匹、DS系15匹)は対照群とし、フェナセチン前処置群と同時期にBBNのみを投与した。実験開始33週後にマウスを屠殺し、腎および膀胱を病理組織学的に検索した。

[結果] 有効動物数： フェナセチン前処置群のNON系およびDS系マウスではそれぞれ18および22匹(BBN投与終了前に死亡したそれぞれ3匹を除く)、これらの対照群でそれぞれ12および15匹であった。

フェナセチン摂取量： NON系およびDS系マウスでそれぞれ1.8および1.65g/kg/日であり、NON系マウスで有意に摂取量が増加した。

BBN摂取量： フェナセチン前処置群におけるNON系およびDS系マウスでそれぞれ136および125mg/kg/日であり、対照群のNON系およびDS系マウスではそれぞれ67および62mg/kg/日であるのに対し、両系ともフェナセチン前処置群で摂取量が有意に増加した。

腎盂癌： フェナセチン前処置群におけるNON系およびDS系マウスでの発生率はそれぞれ8/18(44%)および2/22(9%)であった。そのうち転移を有する癌の発生率はそれぞれ4/8(50%)および0/2(0%)で、転移巣は主に肺および肝に認められた。これに対し、対照群のNON系およびDS系マウスでの発生率はそれぞれ1/12(8%)および0/15(0%)であり、NON系マウスのそれでは肝、リンパ節に転移をともなっていた。

腎病変： 腎乳頭の変性ならびに線維化および尿細管の拡張がフェナセチン前処置群のNON系マウスにのみ7/18(39%)に観察された。また、水腎症がフェナセチン前処置群におけるNON系およびDS系マウスにともに100%に発生した。しかし、NON系マウスにおける水腎症に比較して、DS系マウスでのその程度は全体的に軽度であった。対照群のNON系マウスでの水腎症の発生率は4/12(33%)であり、また、軽度ながらDS系マウスにも水腎症が2/15(13%)にみられた。

膀胱癌： フェナセチン前処置群におけるNON系およびDS系マウスでの発生率はそれぞれ0/18(0%)および1/22(5%)で、転移は認められなかった。対照群のNON系およびDS系マウスでの発生率はそれぞれ0/12(0%)および2/15(13%)であり、転移は認められなかった。

[結論] フェナセチンにより誘発された腎病変がBBNによるマウス腎盂癌発生リスクを増強したことが示された。また、NON系マウスではDS系マウスに比してフェナセチンによる腎病変の程度が強く、このことが両系マウス間での腎盂癌の発生リスクに差を生じたものと考えられた。

35.

BOP経胎盤投与により誘発されるラット雌性生殖器腫瘍の系統差

- 小野寺博志¹、松島裕子¹、北浦敬介¹、渋谷 淳¹、
三森国敏¹、高橋道人¹、路 進²、前川昭彦²
(¹国立衛試・病理、²佐々木研・病理)

【はじめに】

我々は第6回本学会において、N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP)をF344ラットに経胎盤投与することにより、そのF1に卵巣腫瘍が高率に発生すると共に、これらラットにおいては、卵巣腫瘍と子宮病変との関連を示唆する所見がみられたことを報告した。今回は自然発生子宮腺癌好発系であるDonryuおよび嫌発系のF344両系統ラットを用い、BOP経胎盤投与により誘発される生殖器腫瘍を中心に比較検討を行なった。

【材料・方法】

動物：8～11週齢雌雄 F344/DuCrj(日本チャールズ・リバー)、NRC:Donryu(日本ラット)

発がん物質：N-Nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP)

方法：雌雄動物を一晩同居交配させ、翌朝膣ヌメーを採取し精子または膣⁷ラウを確認した動物を妊娠1日目として実験に供した。妊娠14、18および20日目に生理食塩水に溶解したBOPを10mg/kg B.W 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与えた。出生したF1動物は4週目で離乳させ、生後各13、26、39、52および65週目にそれぞれ雌雄各5匹ずつ経時的に屠殺剖検し、また生後78週目に全生存動物を屠殺・剖検し、常法に従いH-E標本を作製し病理組織学的に検索した。

【結果・考察】

今回の実験で対照群を含む動物に多くの腫瘍発生を認めた。しかしBOP投与に起因したと思われる主な腫瘍は前同様、卵巣腫瘍(顆粒膜細胞腫/黄体腫)であった。

F344ラットにおいては最終屠殺時で約60%に卵巣腫瘍が認められ、この発生率は前回の実験結果とほぼ同様であった。経時的には52週目に1例の発生が認められたのみであった。これに対し、Donryuラットでは卵巣腫瘍は80%以上の動物に認められ、経時的にも52週目ですでに半数近くが、65週目には5/5例が腫瘍を有していた。両系統共にBOP投与群で卵巣腫瘍を有しない動物の卵巣はすべて萎縮あるいは嚢胞形成を呈していた。子宮の腫瘍はF344で20%に認められたのに対し、Donryuラットでは35%とや、高率であった。その他、両系統ラットで下垂体腺腫/過形成が多く認められた。雄性ラットにおいてはいずれの系においてもBOPに起因すると思われる生殖器系の腫瘍性病変の発生は認められなかった。

以上、BOP経胎盤投与によりいずれの系統においても高率に卵巣腫瘍の発生がみられたが、Donryuラットでや、早期に、かつ高率に発生する傾向が認められた。子宮腫瘍、特に子宮腺癌の発生もDonryuラットでや、高率に認められた。

これらの結果は、両系統ラットにおける内分泌環境の相違を反映しているものと考えられる。

36.

Ethylenethioureaと亜硝酸ナトリウムの同時経口投与によるマウス発癌性試験

II. 子宮発癌過程の病理学的検討

○ 吉田 明由, 原田 孝則, 真板 敬三 (残農研)

野菜や果物などの殺菌剤として広汎に使用されている ethylenebisdithiocarbamate 系殺菌剤の分解・代謝物として生成される Ethylenethiourea (ETU) は、強い酸性条件下で亜硝酸と反応し、N-nitroso ETU を形成する。我々は先に、マウスの胃内で合成されたN-nitroso ETU が、マウスのリンパ組織、肺、前胃、ハーダー腺に発癌性を示すとともに、化学物質の経口投与方法では極めて発現しにくい子宮癌を誘発させることを報告した。今回我々は、追加試験として子宮癌の発現過程を経時的に観察したので報告する。

供試動物には 5週齢のICR 系雌マウス(Crj:CD-1)を用いた。これらの動物に ETU (100 mg/kg)と亜硝酸ナトリウム (70 mg/kg) の混合液を、胃ゾンデを用いて、毎週 1回、26週間経口投与した。ETU と亜硝酸ナトリウム溶液は投与直前に調製した。対照群の動物には蒸留水を投与した。投与開始後 4、13、26および39週時に、5ないし10匹を計画殺し、これらの計画殺動物と試験途中の死亡・切迫殺動物の子宮を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、病理組織学的に検査した。一部の組織は BrdU 標識抗体を用いた免疫組織化学的検査に用いた(実施中)。

処置動物の子宮に認めた病理学的所見の概要を表1にまとめた。その他の成績として、処置群の動物では試験10週頃から胸腺型リンパ腫に起因する死亡・切迫殺動物が頻出し、これらの動物の剖検では、肺腫瘍(初発20週)と前胃乳頭腫(同26週)も高率に観察された。胸腺型リンパ腫による死亡・切迫殺動物は試験35週頃から減少し、かわって乳腺腫瘍(初発15週)が頻出した。

表1. 子宮における主な病理学的所見

試験週	試験群	検査動物数	肉眼的所見		子宮内膜の組織学的所見				
			赤色斑点	腫瘤	正常範囲	軽度過形成	高度過形成	腺腫様過形成	癌
0-4	対照群	5	0	0	5	0	0	0	0
	処置群	5	0	0	5	0	0	0	0
5-13	対照群	5	0	0	5	0	0	0	0
	処置群	6	0	0	6	0	0	0	0
14-26	対照群	7	0	0	7	0	0	0	0
	処置群	13	2	0	11	1	1	0	0
27-39	対照群	5	0	0	5	0	0	0	0
	処置群	26	8	9	10	6	3	3	4
40-43	対照群	0	-	-	-	-	-	-	-
	処置群	8	1	6	0	0	1	5	2

37. 多臓器発がんモデルを用いた天然物質の発癌修飾作用の検討

○小木曾 正、白井 智之、増井 恒夫、伊東 信行（名市大・医・1病理）

【はじめに】

臓器標的性の異なる5種類の発癌物質を前処置した多臓器発癌モデルを用い、ニンニクの主成分である diallyl sulfide (DS), diallyl disulfide (DDS)の発癌修飾作用を検討した。

【実験方法】

動物は、6週齢のF344系雄性ラット80匹を用い、5群に分けた。1～3群には、多臓器に発癌イニシエーション(DMBDD処置)を行なう目的で、実験開始時に DENを 100 mg/kg体重で1回腹腔内投与し、続く2週間内に MNUを 20 mg/kg 体重で4回腹腔内投与し、この間は、0.05% BBN を飲料水投与した。3週目からは DMHを 40 mg/kg 体重で4回皮下投与し、同時に 0.1% DHPNを2週間飲料水投与した。5週目からは、被験物質として、1群は DS(200 mg/kg 体重)、2群は DDS(50 mg/kg 体重)を週3回胃内投与で2週間行なった。3群は、1, 2群の DMBDD処置のみの対照群、4, 5群は、それぞれ1, 2群の DMBDD無処置対照群とした。動物は、全経過28週で屠殺剖検し、全身諸臓器を病理組織学的または免疫組織学的に検索した。

【結果】

肝における単位面積当りの GST-P陽性細胞巢の数および面積は、3群でそれぞれ 6.88 個/cm², 0.62mm²/cm² であったのに対し、DSを投与した1群では 15.28, 2.05と有意に増加していた。DDSを投与した2群では 7.18, 0.62 で3群との差はみられなかった。大腸では、3群で腺腫6例(30%), 腺癌8例(40%)の発生に対し1群でそれぞれ1例(5%), 7例(37%)、2群で1例(5%), 3例(16%)にみられ、累積カイ二乗検定により2群に大腸腫瘍発生の有意な抑制がみられた。腎では、3群で変異尿細管7例(35%), 腺腫4例(20%), 腺癌1例(5%)に対し、1群で7例(37%), 4例(21%), 0例、2群で変異尿細管4例(21%)のみで腺腫、腺癌の発生がみられず、2群に有意な腫瘍発生の減少が認められた。甲状腺においては、3群で過形成のみみられた(3例 15%)のに対し、1群で過形成7例(37%), 腺腫2例(11%)腺癌1例(5%)、2群で1例(5%), 1例(5%), 0例の発生で、1群に有意な腫瘍発生の増加がみられた。その他、肺、小腸、膀胱、鼻腔等にも多数の腫瘍性病変が各群で観察されたが、これらの臓器では DS と DDSによる明らかな発癌修飾作用はみられなかった。

【まとめ】

ニンニク中に存在し、化学構造の類似する2種類のアリル化合物の発癌修飾作用をラット多臓器発癌モデルを用いて検討した結果、diallyl sulfide による肝および甲状腺発癌で促進効果がみられた。しかし、逆に diallyl disulfideでは大腸および腎発癌において抑制効果が認められた。

以上の成果から、アリル化合物の発癌修飾作用の解析には、十分な検索が必要であることが多臓器発癌モデルによって明らかにされた。

38. ラット肝中期発癌試験法における抗毒 trichothecene類の aflatoxin B₁肝発癌性に及ぼす効果

○関島勝^{1,2}, 長谷川良平¹, 加藤俊男¹, 河部真弓¹, 上野芳夫², 伊東信行¹

(¹名市大・医・1 病理, ²東理大・薬・毒微)

【はじめに】

Fusarium属が産生する trichothecene類マイコトキシンには、T-2 toxin (T-2), nivalenol (NIV), deoxynivalenol (DON) 等が知られている。これらマイコトキシンの小麦, 大麦, 燕麦への汚染が、中国, インド等では未だ高濃度で認められ、我国でも輸入食品中の汚染が心配される。しかし、これら trichothecene類のげっ歯類による長期発癌性試験からは、ヒトへのリスクは明確にされていない。一方、Aspergillus flavus が産生する aflatoxin B₁ (AFB₁) は、ヒト肝発癌のリスク因子の一つとして考えられている。そこで、マイコトキシンの複合汚染のヒトへのリスクを予測する一つの試みとして、AFB₁の肝発癌性に trichothecene類の低用量暴露が及ぼす影響を、ラット肝中期発癌試験法にて検討したので報告する。

【実験方法】

動物は6週齢のF344系雄ラット 155匹を用い、大きく2つの実験群に分けた。第1実験群は、T-2およびNIVの肝発癌性を調べるために、diethylnitrosamine (DEN) 200mg/kgを腹腔内投与しその後2週より8週まで2, 5 ppm T-2及び6ppm NIVを混餌投与し、実験開始3週目に3分の2肝部分切除を行った。第2実験群は、AFB₁とNIVとの複合作用を調べるために、2週目にAFB₁0.5mg/kgを腹腔内に投与し6ppm NIVを6週間混餌投与して、実験開始3週目に3分の2肝部分切除を行った。実験開始8週で全ての動物を屠殺し、肝臓の胎盤型 glutathione S-transferase (GST-P) 免疫染色を施し、GST-P陽性巣を定量的に解析した。

【結果】

第1実験群のT-2 (2, 5ppm), NIV (6ppm) には、GST-P陽性巣の数 (No./cm²), 面積 (mm²/cm²) の有意な増加は認められなかった。DENイニシエーション後 AFB₁を投与した群においては、対照群 5.6±2.3 (No./cm²), 0.49±0.32 (mm²/cm²) に対して GST-P陽性巣が 12.6±6.5 (No./cm²), 1.26±0.5 (mm²/cm²) と有意 (p<0.01) な増加が認められた。さらにNIV (6ppm) を6週間混餌投与した群では、GST-P陽性巣が AFB₁単独投与群に対して16.2±5.5 (No./cm²), 1.80±0.64 (mm²/cm²) と有意 (p<0.05) に増加した。

【まとめ】

ラット肝中期発癌試験法において、T-2, NIVの肝発癌性を示唆する所見はなかった。しかしNIVは、AFB₁と組み合わせて投与することにより陽性の結果を示した。今後、他のマイコトキシンについても肝発癌に対する複合作用についてさらに検索する予定である。

39. ユリ科食用植物に含まれる有機イオウ化合物の発癌修飾作用についての中期発癌試験法（ラット肝癌モデル）による検索

○高田信康¹、大年辰幸¹、村井 隆¹、加藤俊男²、福島昭治¹

（¹大阪市大・医・1病理、²名市大・医・1病理）

化学発癌過程はイニシエーション、プロモーションならびにプログレッションと少なくとも3段階に大別される。そのうち、プロモーション、プログレッション作用の発現にあたっては化学物質の長期間にわたる暴露が必要であり、この過程をコントロールすることにより癌の発生とその顕在化を促進ないし抑制することが可能である。したがってこの過程に作用する発癌物質、発癌プロモーターやインヒビターなどを環境から検出することは癌の一次予防上極めて重要である。

そこで我々は生活環境中に多数存在する化学物質の中でも特にユリ科食用植物であるニンニクやタマネギに含まれる有機イオウ化合物に注目し、それらが癌の発生にどのように関与し、その発育と進展を修飾するかを、ラット肝の中期発癌モデルを用いて検討した。

【方法】動物は6週齢のF344/DuCrjラットの雄150匹を用い、それらを12群に分けた。第1～6群には実験開始時にdiethylnitrosamine(DEN、200mg/kg、bw)を、また7～12群には溶媒である生食(4ml/kg、bw)をそれぞれ1回腹腔内投与し、その2週後より6週間にわたって、第1、7群にはdiallyl sulfide(DAS、100mg/kg、bw)、第2、8群にはdiallyl disulfide(DDS、25mg/kg、bw)、第3、9群にはallyl methyl sulfide(AMS、150mg/kg、bw)、第4、10群にはdipropyl sulfide(DPS、150mg/kg、bw)、第5、11群にはdipropyl disulfide(DPD、150mg/kg、bw)を週5回胃内投与した。、第6、12群には被験物質の溶媒であるcorn oil(1ml/kg、bw)を胃内投与し、対照群とした。また全てのラットに対して実験開始より3週目に²/₃肝部分切除を行った。実験開始後8週にてラットを屠殺剖検し、肝の前癌病変の指標であるglutathione S-transferase 胎盤型(GST-P)の出現を免疫組織学的に検索した。

【結果】有効動物数は、第1～6群はそれぞれ14匹、第7群は9匹、第8～11群はそれぞれ10匹、第12群は9匹であった。屠殺時の体重は第1群から12群にかけて、それぞれ304±13g、293±14g、298±21g、298±13g、273±23g、305±14g、312±16g、302±19g、298±6g、316±19g、296±25g、314±15gであった。

肝におけるGST-P陽性細胞巢（直径0.2mm以上）の発生個数(/cm²)および面積(mm²/cm²)は第1群では6.58±2.12、5.24±1.69、第3群では6.14±1.71、5.55±1.78、第4群では8.45±2.52、8.80±2.85とDEN単独投与の第6群(4.69±1.61、3.77±1.61)に比べ有意な増加を認めた。その他、第2、5群ではそれぞれ4.39±1.81、3.32±1.70、及び5.53±1.39、4.33±1.98であり、対照群と比較して有意な修飾作用はみられなかった。

【結論】DAS、AMS、DPSはGST-P陽性細胞巢の発生を増強させ、肝癌の発生を強くプロモーションさせることが強く示唆された。しかし、DDSとDPDには肝発癌修飾作用はみられなかった。

40.(示) Azoxymethane のハムスターにおける腫瘍発生について

○ 阿瀬善也、豊田和弘、佐藤元信、吉村博之、川西 徹、高橋道人 (国立衛試・病理)

【はじめに】

Azoxymethane (AOM) はラットの大腸に腺腫や腺癌を高率に発生させるほか、十二指腸、空腸上部の腺癌、外耳腫瘍、肝の血管腫および腎腫瘍を発生させる。一方、マウスでは大腸以外の臓器に腫瘍を発生しないことが報告されている。現在のところ AOM をハムスターに投与した報告はほとんどなく、今回、我々は AOM のハムスターにおける標的臓器と発生する腫瘍について検討したので報告する。

【材料と方法】

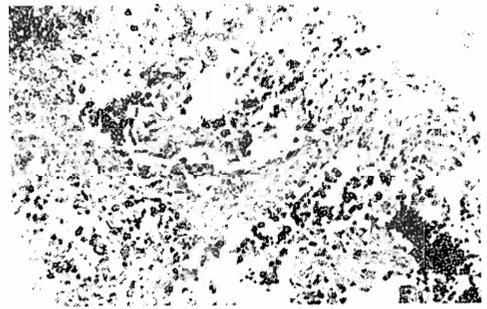
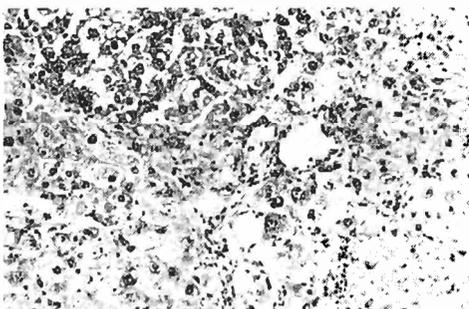
動物は 5 週齢の雄 Syrian golden hamster を用い、実験 0 日目及び 7 日目に AOM を 7.5, 15, 30mg/kg の用量で各群 8~9 匹の動物に皮下投与した。実験は 42 週目で生存動物を屠殺・剖検し、終了した。30mg/kg 投与群のほとんどの動物が実験早期に死亡したため、実験 24 週以上生存した瀕死および死亡例を含む 7.5mg/kg 投与群 8 例、15mg/kg 投与群 9 例、30mg/kg 投与群 1 例について主な臓器・組織を 10% 緩衝ホルマリンで固定後、HE 染色標本を製作し、病理組織学的に検索した。

【結果】

肉眼的には肝臓に多発性結節、腫瘤、血腫等の病変が認められたが、その他の臓器・組織に著明な病変は認められなかった。組織学的には肝臓の腺腫が 7.5mg/kg 投与群 4 例、15mg/kg 投与群 4 例、血管腫が 7.5mg/kg 投与群 2 例、15mg/kg 投与群 4 例、血管肉腫が 7.5mg/kg 投与群 1 例、15mg/kg 投与群 1 例に認められた。30mg/kg 投与群では腫瘍性病変は認められなかった。非腫瘍性病変としては肝臓の肝細胞変異増殖巣、megalocytosis、再生性結節、血管内皮過形成、peliosis、胆管過形成、嚢胞、胆嚢上皮過形成が認められた。

【結論】

AOM の同族体である 1,2-dimethylhydrazine·2HCl (DMH) をハムスターに投与した場合、大腸癌の発生が認められている。しかし、同じ同族体である methylazoxymethanol acetate (MAM) をハムスターに投与した場合、十二指腸癌、胆嚢癌の発生は認められているが、大腸癌の発生は認められていない。今回、AOM 投与により高頻度な肝腫瘍の発生を認めたが、大腸およびその他の消化管での腫瘍発生は認められず、AOM のハムスターにおける主な標的臓器は肝臓と考えられた。



41.(示) 亜硝酸とフェノール系化合物の同時投与によるラット前胃増殖性病変の増強作用

○河部真弓、広瀬雅雄、加藤俊男、吉田康則、佐野真士、伊東信行
(名市大・医・1病理)

【はじめに】フェノール系化合物であるCatecholおよび3-Methoxycatechol を亜硝酸と同時投与すると、ラット前胃における過形成病変の発生がその単独群と比較して有意に増加することが報告されている。そこで今回は24種類のフェノール系化合物と亜硝酸を短期間同時投与した時の前胃粘膜上皮の増殖変化について検討した。

【実験方法】6週令のF344系雄ラット 250匹を用い、下段に示した24種類のフェノール系化合物を各々の濃度で飼料中に混じ、それらと 0.3%亜硝酸を飲料水にて同時投与する群、各々のフェノール系化合物および亜硝酸の単独投与群、さらに基礎食群の各群 5 匹を設け、全経過 4 週間で屠殺剖検し、前胃について病理組織学的に検索した。

【結果】体重では、フェノール系化合物と亜硝酸との同時投与群のうちDL-Dopa を除く全ての群で各々の単独群と比較して有意な体重増加抑制が認められた。病理組織学的に前胃粘膜の高さを測定し各々の単独群と比較した結果、TBHQ, Catechol, Gallic acid, 1,2,4-Benzenetriol, DL-Dopa, Hydroquinone, Pyrogallorでは亜硝酸との同時投与で強い過形成病変の増強が見られた。一方、Phenol, Resorcinolではそのような作用はなく、逆にCaffeic acidでは抑制された。他の化合物では強さに差はあるものの増強作用が認められた。

【まとめ】多くのフェノール系化合物は亜硝酸を同時に投与することによりラット前胃に細胞増殖作用を発生させた。以上の結果から、これらフェノール系化合物の亜硝酸存在下における前胃に対する発癌性が示唆された。

【実験に用いたフェノール系化合物とその濃度】

Phenol	2.0%	Caffeic acid	2.0%
Resorcinol	2.0%	1,2,4-Benzenetriol	2.0%
BHT	0.7%	Ferulic acid	2.0%
TBHQ	2.0%	DL-Dopa	2.0%
p-Methoxyphenol	2.0%	Hydroquinone	2.0%
Sesamol	2.0%	Vanillic acid	2.0%
Catechol	0.8%	Vanillin	2.0%
4-Methylcatechol	2.0%	Pyrogallor	2.0%
3-Methylcatechol	2.0%	Guaiacol	2.0%
Gallic acid	2.0%	p-Methylphenol	2.0%
4-t-Butylcatechol	2.0%	Eugenol	2.0%
Protocatecuic acid	2.0%	Hickory-smoke concentrates	2.0 %

42.(示) Enhancing effects of catechol and its isomers on *N*-methyl-*N*-amyl-nitrosamine-induced esophageal carcinogenesis in rats.

P. Boonyaphiphat, S. Takahashi, M-A. Shibata¹,
H. Yada, M. Hirose and N. Ito (1st Dept. Pathol.,
Nagoya City Univ. Med. School,¹1st. Dept. Pathol.,
Osaka City Univ. Med. School)

Introduction Catechol (CC) and its isomers resorcinol (RC) and hydroquinone (HQ) are present in our environment as contaminants in cigarette smoke, certain foods and industrial chemicals. This study was conducted to investigate effects of these phenolic compounds on the upper digestive and respiratory tracts of rats pretreated with *N*-methyl-*N*-amyl-nitrosamine (MNAN).

Materials and Methods A total of 115 six-wk-old male F344 rats were used. Groups of 15 rats were given 25 mg/kg bw MNAN (i.p., x3) and then received a 0.8% supplement of CC, RC or HQ in the diet or basal diet alone until week 52, when they were killed. Additional groups of 15 or 10 rats were similarly given test compounds or basal diet alone without MNAN initiation.

Results Preneoplastic or neoplastic lesions were observed in the tongue, esophagus, nasal cavity and lungs of rats pretreated with MNAN. Incidences or numbers per rat of esophageal carcinomas in rats given CC (64.3%, 1.1 ± 1.0 , $P < 0.001$), RC (58.8%, 0.7 ± 0.6 , $P < 0.01$) or HQ (33.3%, 0.3 ± 0.5 , $P < 0.05$) were significantly higher than the MNAN alone values (0.0%, 0.0). The incidences of tongue papillomas in rats treated with CC (57.1%, $P < 0.02$) or RC (50%, $P < 0.01$) were also significantly higher than that of the controls (9.1%). In contrast, CC inhibited development of lung preneoplasias. No significant differences were found for the incidence of nasal cavity tumors in the various MNAN-treated groups.

Discussion The present results demonstrated that CC and its isomers clearly promote rat esophageal and tongue carcinogenesis but inhibit lung carcinogenesis after MNAN pretreatment. CC has been already shown to promote rat forestomach and glandular stomach carcinogenesis. Thus, it is possible that these phenolic compounds play a role in the human upper digestive tract carcinogenesis associated with cigarette smoke. The present results also showed these phenolic compounds to exert different modifying effects depending on the organ.

43.(示)

ハムスターBOP投与による胆管の 増殖性病変に対するプロゲステロンの促進効果

○佐藤元信、古川文夫、豊田和弘、三井雅之、佐藤秀隆、
西川秋佳、高橋道人（国立衛試・病理）

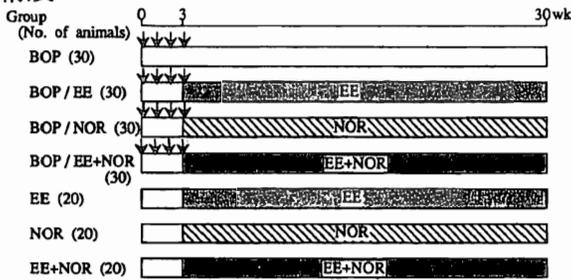
【はじめに】

プロゲステロンとエストロゲンの合剤である経口避妊薬はハムスター膵腫瘍発生に対しプロモーション作用を有すると報告されている。また、エストロゲンはハムスターに腎腫瘍を誘発する他にも、肝臓等に対してその腫瘍発生促進作用が知られている。今回、ハムスターBOP(N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine)誘発肝増殖性病変に対するプロゲステロン、エストロゲンおよびその合剤の影響を検討した。

【材料と方法】

動物：5週齢雌シリアンゴールデンハムスター

群構成：



ψ: BOP 10mg/kg bw sc
 ■: Ethinylestradiol (EE) 1ppm in diet
 ▨: Levonorgestrel (NOR) 10ppm in diet
 ■: 1ppm EE + 10ppm NOR in diet

【結果・考察】

体重：BOP群の208.7±19.2gと比較してBOP/EE群で242.1±21.9gと有意に増加した。

肝重量：絶対重量については、BOP群の8.00±1.2gと比較してBOP/EE群で10.07±1.7g、
BOP/EE+NOR群で9.98±2.2gと有意に増加した。

相対重量については、BOP群の3.9±0.5%に対してBOP/EE群で4.2±0.7%と有意に増加した。

増殖性病変の発生率：

胆管増生：BOP群の16匹(61.5%)に対して、BOP/NOR群で24匹(88.9%)、BOP/EE+NOR群で26匹(96.3%)と有意に増加した。

胆管異形成病変（高円柱状の上皮からなり、Goblet cell metaplasiaを伴った変化）：
BOP群の7匹(26.9%)と比較して、BOP/EE+NOR群で18匹(66.7%)と有意に増加した。

胆管腺腫：群間で有意差は認められなかった。

肝細胞変異増殖巣：BOP群の12匹(46.2%)に対して、BOP/EE+NOR群で18匹(66.7%)と増加傾向が認められた。

肝細胞腺腫：群間で有意差は認められなかった。

以上の結果より、BOP誘発肝増殖性病変に対して、EEは影響を与えなかったが、NORおよびその合剤は促進的に作用し、プロゲステロンの肝増殖性病変、特に胆管の増殖性病変に対する促進作用が示唆された。

検索臓器：肝臓

検索項目：

体重・肝重量の測定、
胆管増生・胆管異形成病変・
胆管腺腫、肝細胞変異増殖巣・
肝細胞腺腫の発生率

44.(示)

ラットの舌に認められた自然発生性顆粒細胞腫の1例

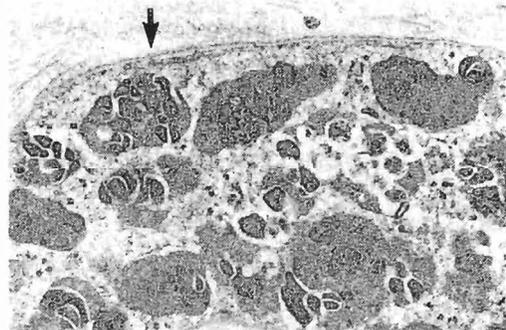
○松本 順子・勝田 修・土谷 稔 (三菱化成安科研)

ラットにおける顆粒細胞腫(GCT)は、脳髄膜でしばしば認められる腫瘍であり、その発生起源については、電顕的所見や免疫組織化学的所見からシュワン細胞やクモ膜細胞が考えられている。ヒトのGCTは舌や軟部組織に好発し、髄膜での発生は極めて稀である。しかしラットでは逆に舌でのGCTの報告はなされていない。今回我々は、F344ラットの舌に発生したGCTを病理組織学的ならびに電子顕微鏡学的に検索し興味ある知見を得たので報告する。

材料および方法：動物は癌原性試験の対照群に供された109週齢のF344/DuCrjラットの雄の1例である。舌は10%中性緩衝ホルマリン液で固定した後、パラフィン包埋による薄切片を作製し、H.E.染色、PAS染色、ジアスターゼ消化PAS染色、アザン染色、トルイジン青染色ならびにS-100蛋白、デスミン抗体を用いた免疫組織化学的染色を行った。また、ホルマリン固定材料を用いた戻し電顕による検索も行った。

結果：肉眼的に腫瘍は舌根部に形成され、周囲との境界は不明瞭であった。組織学的には腫瘍細胞の増殖形態は一樣でなく、錯綜する紡錘形細胞と豊富な膠原線維から成る線維腫様の部位、疎な線維成分から成る硝子様基質の間に紡錘形細胞がまばらに分布している部位、円形の細胞がシート状に集簇している部位が認められた。いずれの細胞も細胞質内に弱好酸性の顆粒を有しており、これらの顆粒はPAS陽性、ジアスターゼ消化後のPAS染色にも陽性であった。トルイジン青染色では、顆粒は異染性を示さなかった。核は小型でクロマチンに富むものから楕円形でクロマチンに乏しいものまで種々の形態を示し、有糸分裂像は稀であった。アザン染色では、個々の腫瘍細胞を取り囲んで様々な量の膠原線維が観察された。免疫染色の結果、腫瘍細胞はS-100蛋白に陽性、デスミンに陰性であった。また比較のためにラットの髄膜に発生したGCTに対しても免疫染色を行ったが、S-100蛋白、デスミンともに陰性であった。電子顕微鏡学的には、いずれの部位の腫瘍細胞も、電子密度の高い顆粒状物および層状物から成るライソゾームを多数有していた(写真)。また胞体内に細線維構造の見られるもの、細胞の外周に基底膜(写真;矢印)を有するものも散見された。腫瘍細胞間には膠原線維が発達し、個々の細胞を分離していた。

考察：今回認められた舌のGCTはラットの髄膜で発生するGCTと異なり、形態的に豊富な膠原線維を特徴としていた。また髄膜のGCTはほとんどS-100蛋白に陰性であると報告されているが、本GCTでは強い陽性反応が見られた。電顕的にも細胞周囲の基底膜や胞体内の細線維構造、細胞間の発達した膠原線維が観察され、シュワン細胞由来を示唆するものであった。先のラットの髄膜におけるGCTと髄膜腫との比較研究(第7回本学会)で、ラットの髄膜GCTはクモ膜細胞由来であることを強く示唆する結果が報告されている。今回の検索により、ラットの舌に発生するGCTと髄膜に発生するGCTでは、形態的に同様な胞体内顆粒を形成していても、その発生起源は異なるのではないかと推測された。



47.(示) 四塩化炭素投与スナネズミ(Meriones unguiculatus)における脂肪肝の生成と絶食の効果

○山口 格, 長谷川和成, 筒井秀樹, 大村美麻, 竹内哲也, 水谷孔治, 吉野幹子, 藤原公策(日大・農獣医)

細胞障害性肝毒性物質として知られる四塩化炭素(CCl_4)は、小葉中心性の壊死とともに著明な脂肪肝を発生させる。スナネズミ(Meriones unguiculatus)は CCl_4 の肝毒性に高感受性を示しながら、小葉中心性の壊死像はラットに比較して著明でなく、脂肪蓄積も認められない(de perez et al.1988)。われわれはさき、スナネズミ肝細胞初代培養において、肝細胞内にコレステロールと中性脂肪の蓄積が認められることを報告したが、今回、スナネズミ腹腔内に CCl_4 50 μ g/kgを腹腔内に単回投与すると肝に脂肪が蓄積すること、絶食動物では CCl_4 の効果が増幅されることを見出した。

コンベンショナル環境下で飼育したスナネズミ(雄, TUM系, 体重70~100g)にオリーブ油(1ml/100g B.W.)に溶解した CCl_4 を腹腔内投与し、対照群にはオリーブ油を1ml/100g B.W.投与した。絶食群は投与16時間前から水道水のみ自由摂取させ、他は市販の固形飼料及び水道水を自由摂取させた。投与後、エーテル麻酔下で放血致死させ、肝を摘出して病理組織学的に観察した。一部の例については、血液化学的検査を行い、肝脂質含量の測定を行った。

非絶食動物では、投与後3時間から肝細胞内グリコーゲンが減少し、投与後6時間にはGlisson鞘周囲肝細胞の壊死が発現し、zone I 肝細胞内に小脂肪滴が認められ、zone III肝細胞細胞質の淡明化、腫大も観察された。投与後24時間では、ほぼ正常に近い組織像を呈してグリコーゲン沈着が認められた。一部の例ではzone I 肝細胞内に大型脂肪滴が認められた。

絶食動物においては、投与後1時間からGlisson鞘周囲及びzone I 肝細胞内に小脂肪滴が認められた。投与後3時間では、脂肪蓄積領域が増大し、一部のGlisson鞘周囲及びzone I 肝細胞の腫脹、淡明化及び核の萎縮が認められた。投与後6時間後には脂肪滴の大型化及びzone I 肝細胞の壊死が観察され、24時間後では慢性に大型脂肪滴が発現し、強度の脂肪肝を呈していた。しかし、いずれの時期においても小葉中心性の細胞壊死像は認められなかった。血液化学的検査では投与後3時間から、GOT, GPT及びALPの著明な上昇とともに総コレステロールの低下が認められた。投与後3時間から、肝組織中トリグリセライドの著明な増加が認められ、総コレステロールの増加も観察された。 CCl_4 対照群では、24時間後に軽度の脂肪浸潤がzone I に認められたのみであった。

以上のように、スナネズミに CCl_4 を単回腹腔内投与することにより脂肪肝が誘発され、絶食動物に投与した場合に特に顕著であったことから、薬物性の脂肪肝発生には動物の摂食状態が重要であることが示唆された。また、スナネズミではラットと異なり、小葉中心性の肝細胞壊死は認められず、病変はzone I の肝細胞のみに発現しており、ラットにおける CCl_4 による肝毒性発現とは機序が異なる可能性が示唆された。

48.(示) 肝中期発癌検索法を用いた198 化学物質の発癌性の検討

○萩原昭裕、増井恒夫、田中光、長谷川良平、伊東信行
(名市大・医・1 病理)

【はじめに】我々は環境中に存在する化学物質の肝発癌ならびに、発癌修飾作用をラット肝の前癌病変である胎盤型glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞巢の発生を指標として8 週間で判定できるin vivo 中期発癌検索法を開発してきた。今回は、現在までに検索した198 の化学物質について総括すると共に、2 年間の発癌試験との相関性についても検討した。

【実験方法】6 週齢のF344ラット雄を用い、実験開始時にdiethylnitrosamine (DEN) (200mg/kg bw) を1 回腹腔内投与し、2 週経過後より被験物質を6 週間投与した。また、第3 週に2/3 部分肝切除術を施行した。動物は全経過8 週で屠殺し肝臓を冷アセトン固定した後、GST-P の免疫組織化学的染色を行い陽性細胞巢について定量的解析を行った。さらに6 種の化学物質について8 週以降基礎食にて104 週まで観察した群を設け、長期観察結果との比較検討を行った。

【結果】肝発癌物質では変異原性を示すもので24/25 (96%)、変異原性のないもので20/22 (91%)と極めて高率に検出することができ、肝以外を標的とする発癌物質では8/34 (24%) と低率ではあるが検出可能なものがみられた。一方、非発癌物質では0/37 (0%)と偽陽性を呈するものは全く認められなかった。また長期観察における肝細胞癌の発生率と8 週時点でのGST-P 陽性細胞巢の発生数との間には極めて高い相関性が認められた。

【まとめ】ラット肝の前癌病変であるGST-P 陽性細胞巢を指標とし、その定量的解析に基づく8 週の検索法は高感度に肝発癌物質を検出することができ長期試験との相関も高いこと、さらに発癌物質の多くが肝臓を標的とする事実から本法は極めて有用な中期発癌検索法であることが示された。

Summary of Positive Rates (%) for the Different Categories of 198 Compounds

Test compound	Mutagenicity			Total
	+	-	Unknown	
Hepatocarcinogen	24/25 (96)	20/22 (91)	0/ 0	44/47 (94)
Non-hepatocarcinogen	7/21 (33)	1/10 (10)	0/ 3 (0)	8/34 (24)
Non-carcinogen	0/ 6 (0)	0/27 (0)	0/ 4 (0)	0/37 (0)
Unknown	2/10 (20)	13/39 (33)	9/31 (29)	24/80 (30)

49.(示) Dicofolの Maus 肝腫瘍発生に及ぼす影響について

—腫瘍発生の経時的観察，二段階発癌実験および酵素誘導能の検索—

○ 佐藤秀隆，畝山智香子，豊田和弘，小笠原裕之，今井田克己，高橋道人，林 裕造
(国立衛試・病理)

【はじめに】

有機塩素系殺虫剤の1,1-ビス-(p-クロロフェニル)-2,2,2-トリクロロエタノール (dicofol) は、B6C3F1雄マウスにおいて肝腫瘍の発生を用量相関性をもって増加させる。今回我々は、dicofolがB6C3F1マウス肝腫瘍発生を増加させるメカニズムを明らかにする目的で、1) 肝腫瘍が発生する推移、2) イニシエーション、プロモーション活性、3) 肝臓中の薬物代謝酵素の変動の3点について検討を加えた。

【実験方法】

○実験1：7週齢雄のB6C3F1マウス80匹を各40匹の2群に分けた。Dicofolを500または0ppmの割合で混入した粉末飼料を各群の動物に自由に摂取させ、10週毎に80週まで各群5匹屠殺して肝の腫瘍性病変を病理組織学的に検索した。

○実験2：7週齢雄のB6C3F1マウス120匹に生理食塩水に溶解したDENを100mg/kgの割合で腹腔内に投与した後、各群20匹の6群に分けた。2週後よりDicofolを500, 300, 200, 100, 50または0ppmの割合で混入した粉末飼料を動物に18週間自由に摂取させた。実験終了時に全生存動物を屠殺・剖検し、肝の腫瘍性病変を病理組織学的に検索した。

○実験3：7週齢雄のB6C3F1マウス60匹を各群20匹の3群に分けた。オリーブ油に溶解したdicofolを300または200mg/kgあるいは生理食塩水に溶解したDENを100mg/kgの割合で腹腔内に投与した。2週後よりフェノバルビタール(PB)を500ppmに溶解した飲料水を18週間自由に摂取させた。実験終了時に全生存動物を屠殺・剖検し、肝の腫瘍性病変を病理組織学的に検索した。

○実験4：7週齢雄のB6C3F1マウス60匹を各群10匹の6群に分けた。Dicofolを粉末飼料に500, 300, 200, 100, 50または0ppmの割合で混入し、各群の動物に自由に摂取させた。1, 5, 10週に動物を屠殺して肝臓を採取し、Arylhydr

o carbon hydroxylase (AHH) 活性と Aniline hydroxylase (AH) 活性を測定した。

【結果】

実験1：肝の結節性小増殖巣は、どの群でも60週目に初めて20%(1/5)の頻度で認められ、投与群では70週目では60%(3/5)、80週目では100%(5/5)に認められたのに対し、対照群ではいずれの週においても20%(1/5)であった。

実験2：Dicofolを混餌投与したところ、腫瘍性病変は500ppm群で20%(4/20)、300ppm群では5%(1/20)に認められたが、その他の投与群では認められず、DENのみの群で5%(1/20)にみられた。

実験3：Dicofolをイニシエーターとして用いた群では腫瘍性病変は認められなかった。DEN/PB群では36.8%(7/19)に腫瘍性病変が認められた。

実験4：肝臓中のAHH活性はdicofolの投与量に依存して増加が認められたが、週齢の経過にしたがって対照群と50または100ppm群では差がなくなった。一方、AH活性には投与初期にやや用量依存性の増加が認められたが、10週目には対照群より高いがどの投与群間にも有意差はなかった。

【結論】

- 1) Dicofol投与によっても肝腫瘍発生の時期は早くならないが、腫瘍発生率は高くなった。
- 2) Dicofolはイニシエーション活性は有しないがプロモーション活性を示した。
- 3) DicofolにはPB同様肝臓中の薬物代謝酵素を高める作用があり、それには用量相関性がみられた。

以上のことより、dicofolはフェノバルビタールと同様、肝腫瘍発生に対するプロモーターと結論され、その用量—腫瘍発生関係はAH活性の用量—酵素活性関係と類似し、両者のなんらかの関連が示唆された。

50.(示)

DHPNによるラット甲状腺発癌系を用いたスピロノラクトンとフェノバルビタールの甲状腺発癌プロモーション作用の検索

○ 務台 衛, 杉本次郎, 藤田重晴, 井上芳巳, 小島 隆 (三菱化成・安全性研)

抗アルドステロン性利尿降圧剤であるスピロノラクトン(Spironolactone, SPL)と鎮静剤であるフェノバルビタール(Phenobarbital Na, PB)は、ともにラットの甲状腺に対し発癌プロモーション作用をもつ。この発現機序は、肝臓におけるサイロキシン(T_4)の代謝亢進に対応したTSHの分泌によるろ胞上皮増殖作用に基づく、と考えられている。この両者の甲状腺発癌プロモーション作用を、2,2'-dihydroxy-di-n-propylnitrosamine(DHPN)によるラット甲状腺発癌系を用いて検討した。

【方法】 動物は、6週齢F344雄ラット66匹を用いた。イニシエーション処置として、DHPNの1000ppm水溶液を7日間飲水投与した。続いて、SPL 400,2000ppmあるいはPB 500ppm含有飼料を11週間投与した。対照群としてDHPN処置のみ、SPL 2000ppmあるいはPB 500ppmのみの群を設けた。実験第12週終了後、全動物を屠殺し、主要臓器を病理学的に検索するとともに、血清中の T_3 、 T_4 およびTSHを定量した。

【結果】 DHPN処置の有無にかかわらず、SPLおよびPB投与群で甲状腺ろ胞上皮の腫大が認められた。甲状腺の腫瘍性病変をDHPN処置群間で比較すると、のう胞状過形成の発生頻度/程度は、DHPN処置のみの群に比べ、DHPN-SPLあるいはDHPN-PB群で有意な増加/増大が認められ、DHPN-SPL群間では用量依存的であった。一方、腺腫/腺癌の発生頻度は、DHPN-SPL 2000ppm群では有意な増加が認められたが、同400ppm群では同程度、DHPN-PB群では増加傾向が認められたのみであった。また、DHPN処置なしの場合、SPL 2000ppmのみの群で1例に腺腫が認められたのみであった。血清中のホルモン定量では、DHPN処置のみの群に比べ、DHPN-SPLあるいはDHPN-PB群で T_4 、DHPN-SPL 2000ppm群とDHPN-PB群で T_3 が上昇していたが、TSHはDHPN-PB群で低下し、DHPN-SPL群では変動は認められなかった。SPLおよびPBのみの群でも同様の傾向が認められた。

【まとめ】 DHPNによるイニシエーション処置と前癌病変(のう胞状過形成)を含めた腫瘍性病変の発生頻度を指標にすることにより、12週間の実験期間でSPLおよびPBの甲状腺発癌プロモーション作用の検索が可能であることが示された。また、SPL投与群において腫瘍性病変の発生に用量依存性が認められたように、本試験系は甲状腺発癌プロモーション作用強度の検討に有用と考えられた。

甲状腺の病理組織学的変化

	動物数	ろ胞上皮腫大		のう胞状過形成		腺腫	腺癌	腺腫および腺癌
		+	++	+	++			
DHPN - NONE	15	0	0	6	0	6	3	8
DHPN - SPL 400ppm	14	13	0 ***	8	2 *	8	1	8
DHPN - SPL 2000ppm	15	0	15 ***	0	15 ***	14 **	8	15 **
DHPN - PB 500ppm	15	0	15 ***	10	4 ***	9	5	12
NONE - SPL 2000ppm	3	0	3 ***	0	0	1	0	1
NONE - PB 500ppm	3	0	3 ***	0	0	0	0	0

DHPN処置のみの群に対する有意差 (Armitageの χ^2 検定による) :

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

51.(示)

ラットの下垂体前葉腺癌について

○細川 暁、福田種男、今井俊夫、園田二朗、青木豊彦、川口 隆、
早川和宏、本岡 覚、中野渡純一（エーザイ 安全研）

ラットの下垂体腫瘍は自然発生腫瘍のなかでも一般的に認められる腫瘍であり、その大部分が前葉から発生する。組織学的には殆どが前葉腺腫であり、脳あるいは髄膜への浸潤増殖を示す前葉腺癌の発生は希であるとされている。今回ラットの下垂体腫瘍について検索し、骨および骨髄など脳以外の組織へ浸潤増殖を示す前葉腺癌の高率な発生が認められたので、その詳細について報告する。

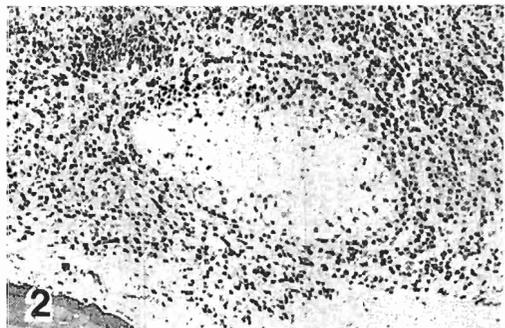
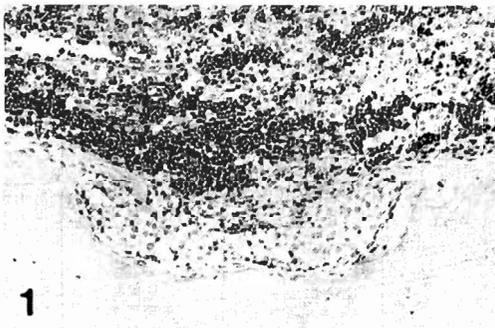
【材料および方法】

癌原性試験の対照群に用いられたFischer344ラット（雄；91例，雌；93例）を用いた。ラットは通常のバリアシステム下で飼育し、飲水および飼料を自由に摂取させた。110週齢まで飼育観察後屠殺剖検し、下垂体はトルコ鞍と共に摘出し10%中性緩衝ホルマリンで固定した。EDTAによる脱灰後トルコ鞍と共に切り出しを行い、常法に従いパラフィン包埋、H-E染色を実施し観察した。前葉腫瘍の診断に際しては、拡大増殖を示すが髄膜の破壊を示さないものを腺腫、髄膜を破壊し周囲組織へ浸潤増殖を示すものを腺癌と診断した。

【結果および考察】

下垂体前葉腺癌は雄の5例（5.5%）および雌の7例（7.5%）に認められ、これまで報告されている腺癌の発生率に比較し高率な発生を示した。これら腺癌の多くは腹側、即ちトルコ鞍へ向かって浸潤増殖を示し、骨組織を破壊し浸潤増殖を示すもの（写真1）、あるいは骨の栄養孔に沿って浸潤増殖を示し骨髄に達するものであった。また、横方向へ浸潤を示すものも多く、周囲血管あるいは神経組織に浸潤するもの（写真2）が認められた。背側、即ち脳実質へ浸潤増殖を示す癌は今回の検索では全く認められなかった。なお、このような髄膜を破壊し浸潤増殖を示す腺癌と拡大増殖を示すが髄膜を破壊しない腺腫との間には明らかな細胞形態学的な相違はなかった。

以上、周囲組織への浸潤増殖の有無を腺癌の診断基準とした場合、下垂体前葉腺癌は比較的高率に発生し、その殆どは脳以外の周囲組織、即ち骨、骨髄、血管、神経組織等へ浸潤増殖を示す事が明らかとなった。従って長期毒性試験などにおける下垂体の正確な病理評価には、トルコ鞍など周囲組織を含めた観察が必要と考えられる。



52.(示) DDPM投与ラットにおける甲状腺、下垂体の経時的変化の検討

○ 小島隆, 児玉和茂, 望月淳, 神原由季, 伊藤博子, 務台衛 (三菱化成・安全性研)

DDPM(4,4'-Diaminodiphenylmethane)は、エポキシ樹脂硬化剤として使用され、ラットの甲状腺発癌のプロモーターとして知られている。その作用機序は、TSHの分泌亢進によるものと考えられているが、経時的な甲状腺、下垂体の形態変化の詳細な報告は少ない。今回、DDPMを連続投与した場合のラットの甲状腺、下垂体の変化を経時的および回復性という面から検討したので報告する。

【実験材料および方法】

動物は、6週齢のF344雄ラットを用いた。DDPMは、1000ppmの用量で混餌投与とした。DDPM投与1, 3日, 1, 4, 8, 12, 16, 20週目および12週間投与後休薬1, 2, 4, 8, 12週目に屠殺剖検した。甲状腺、下垂体は、10%中性緩衝ホルマリン液に24時間固定後、パラフィン切片を作製し、甲状腺については、H.E.染色、PAS染色、マツトリクロム染色、抗ラットT細胞抗体染色、下垂体についてはH.E.染色、抗ラットTSH抗体染色を施した。また、甲状腺の一部は2.5%グルタルアル固定後、常法通り超薄切片を作製し電子顕微鏡下で観察した。

【結果】

甲状腺においては、光顕的には、投与3日目よりろ胞上皮の高円柱化、ろ胞腔の狭小化コロイドの減少がみられた。ろ胞腔は、投与1週目に最小となり、投与2週目からは、ろ胞腔は拡張し始め、周囲組織にTリンパ球浸潤および線維化がみられ、投与4週目以降は明らかな被膜形成が認められた。投与12週以降は、大部分のろ胞はコロイドの充満した大ろ胞として認められ、その一部に好塩基性細胞による嚢胞状過形成がみられた。休薬後1週目以降は、ろ胞上皮の萎縮がみられ、ろ胞は小ろ胞化し、間質は著しい水腫状を呈していた。嚢胞状過形成については、休薬4週目にも継続して認められた。このような休薬後でみられた組織像は、投与20週目の一部の例にも認められた。電顕的には高円柱化したろ胞上皮内には、粗面小胞体の増生および拡張、ミトコンドリア、コロイド滴の増加、微絨毛の多数突出がみられそのろ胞周囲に血管内皮細胞の著しい腫大も認められた。萎縮したろ胞上皮では細胞内小器官は乏しかった。下垂体においては、光顕的に投与4週目から腫大したTSH細胞がみられ、投与期間の延長とともにその数は増加した。休薬後は数の減少はみられるものの4週目にも認められた。現在、休薬8, 12週目の形態検査、血清中T₁, T₄, TSH測定等を実施中である。

【まとめ】

今回の実験によりDDPM投与による甲状腺の腫大の経時的変化が明らかにできた。甲状腺の腫大は、初期は過形成型甲状腺炎像を、その後はこう様甲状腺腫像(colloid goiter)を経て、腺腫様甲状腺腫像(adenomatous goiter)を呈し、ヒトで言われている過形成性甲状腺腫の生成過程に類似していた。休薬後は、大部分のろ胞上皮は機能低下像を呈したが、嚢胞状過形成は4週後まで継続して認められた。

53.(示)

カニクイザルにおける線維腫症の1例

○柳井徳磨，松本悦嗣，寺西宗広，高岡雅哉，真鍋淳，松沼尚史，後藤直彰¹

(三共・安全研，東大・獣医病理¹)

雌カニクイザル1例の腹腔に線維腫症を認めたので，症例報告する。

症例：

米国より輸入された4歳の雌カニクイザル *Macaca fascicularis*。解剖にて腹腔内腫瘍を発見した。それ以前に臨床的異常はみられなかった。

剖検および組織学的所見：

剖検では大網，腸間膜に大豆～ウズラ卵大の灰白色腫瘍が多数認められ，一部は肝臓の表面（臓側面）に及んでいた。腹腔以外に異常は認められなかった。

組織学的には，腫瘍は限界不明瞭な線維芽細胞の結合織性増殖から成っていた（図1，2）。マッソントリクローム染色では，細胞間に鮮やかな青に染まる膠原線維が緩やかにうねり交錯していた。腫瘍の中心部では，線維芽細胞の密度は低く，形は細くて長い紡錘形で著明な膠原線維の産生を示した。辺縁部では，中心部に比べ，線維芽細胞は密度がやや高くなり，核は大型卵円形で軽度の異型を示した。全体に細胞分裂像は乏しかった。腸管周囲では平滑筋層への侵襲性浸潤が著明であった。また肝臓表面に認められた腫瘍は，腸間膜や大網と同様な線維芽細胞の増殖巣で，被膜下実質への浸潤が認められた。

本例は膠原線維の産生を伴う線維芽細胞の浸潤性増殖であることから，線維腫症と診断した。カニクイザルでは，米国において数例報告されているが，国内では本例が最初のものであろう。

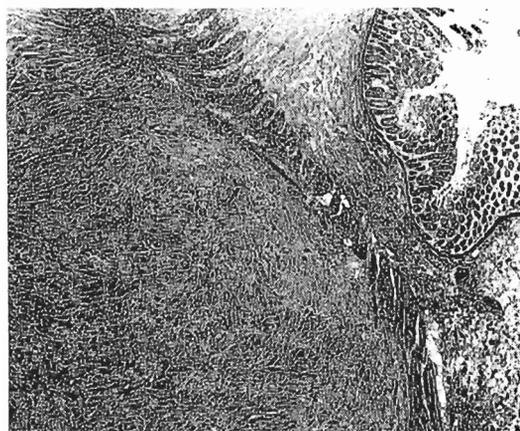


図1. 大腸周囲の腫瘍

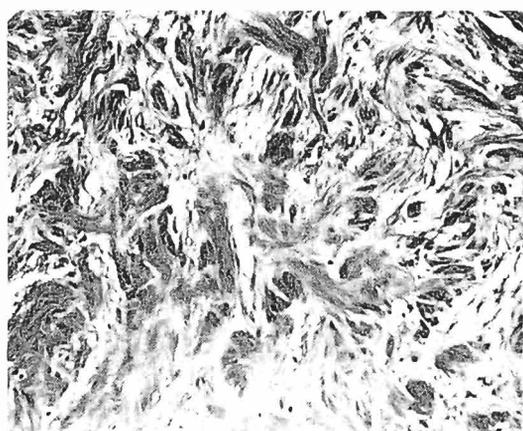


図2. 図1の拡大像

54.(示) アテロコラーゲンミニペレットのサル皮下組織における消失過程の検討

○藤本かおり、乃田正、中野実、井上薫

(住友化学、生物環境科学研究所)

アテロコラーゲンミニペレットは牛真皮コラーゲンをペプシンで可溶化し、精製して得られたものを径1mm、長さ1cm程度の円柱状に成形、乾燥したもので、医薬品をそのアテロコラーゲンマトリックス内に混入させることにより生体内で徐々に放出させる目的で開発されたコラーゲン固形製剤(住友製薬、高研)である。

【目的】

皮下注入用インプラントや創傷被覆材などに幅広く応用されているゲル状、あるいは不織布のコラーゲンとは異なり、アテロコラーゲンミニペレットに関する報告はないため、生体内での吸収過程を検討した。

【方法】

雌雄アカゲザル(40~44カ月令)各3例を使用した。背部皮下にペレット注入部位が解るよう週1回ずつ計26週間注入した。27週間後に動物を屠殺し、投与部位の皮膚を反転し、観察した。周囲皮下組織とともにペレットを採取し、光学顕微鏡用には10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、型のごとく脱水、パラフィン包埋し、薄切後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。電子顕微鏡観察用には2%グルタルアルデヒド溶液(pH7.2)、1%オスミウム酸による2重固定後、脱水、エポキシ樹脂に包埋、薄切し、酢酸ウラニル・クエン酸鉛で電子染色を施した。

【結果】

剖検ではペレットは個体差はあるものの埋入後6~11週間で不明瞭になり、18週間から認められなくなる傾向にあった。光学顕微鏡観察では埋入後1~4週間でペレット内に多形性の細胞が侵入し、また毛細血管の侵入を認めた。ペレット周囲にはごく軽度な細胞反応、結合組織の増生を認めたが4週間程度で消失した。電子顕微鏡観察ではペレット内に線維芽細胞、マクロファージの侵入を認めた。侵入細胞は突起を伸ばし、複雑に入り込み、中にはその突起でペレットを包み込んでいる像も認められた。3週間以上埋入していたペレット内部では侵入線維芽細胞の隣接領域に通常の生体内で認める周期性を持つコラーゲン線維束を認め、線維芽細胞、コラーゲン線維共に経時的に増加した。

【結語】

アテロコラーゲンミニペレットは生体内で線維芽細胞、マクロファージによる分解、吸収および宿主コラーゲンによる置き換えが生じる。最終的にはペレットは収縮し、消失する。

55.(示)

生体内埋植物質に対する組織反応の病理学的研究

○斉藤義明、畔上二郎、吉村慎介、永田伴子、山口 肇、今井 清
(食品薬品安全センター・秦野研)

実験的に医用材料等の高分子物質を長期間にわたり生体内に埋植すると、埋植局所に腫瘍が発生することが明らかにされている。今回、発癌性が明らかにされているポリウレタンシートを用いて、埋植部位周囲組織の初期変化を酵素組織化学的、免疫組織化学的あるいはオートラジオグラフィー等の手法を用いて経時的に検討したので報告する。

【材料および方法】

実験1：5週齢の F-344ラット 12 匹の背部皮下にポリウレタンシート (1 x 1 cm) を埋植した。埋植後 2、6、13週目にそれぞれ4匹ずつ全身を灌流固定し、埋植材料周囲の組織について H・E染色標本を作製して光学顕微鏡的観察を行うとともに、埋植局所に増殖してくる細胞の同定を目的として、電子顕微鏡を用いた酵素細胞化学的手法、特に 2-naphthyl thio acetate (NTA) を基質とするエステラーゼ活性の検出を試みた。

実験2：5週齢の F-344ラット 24 匹の背部皮下にポリウレタンシート (1 x 1 cm) を埋植し、埋植後 2、4、8、12週目に埋植周囲組織の細胞動態を調べるため、3匹については屠殺 30 分前に bromodeoxyuridine (BrdU:40 mg/kg, ip) の投与を行い、埋植周囲組織に BrdU 免疫染色を施した。他の3匹は屠殺 30 分前に ³H-thymidine (9.25 MBq, 18.5 MBq, 37 MBq/rat, iv) の投与を行い、全身灌流固定をしたのち埋植周囲組織の光顕オートラジオグラフィー標本を作製した。

【結果および考察】

埋植後2週目では被膜の形成は乏しく、エステラーゼ活性陽性細胞は観察されなかった。6ないし13週目になると、通常の組織球に混在して、エステラーゼ活性陽性の明らかに組織球由来と考えられる異型細胞が認められた。さらに13週目では、被膜の一部に異型細胞増殖巣が認められるようになった。

一方、埋植後2週目で被膜外側の血管周囲、被膜内の一部に BrdU および銀粒子陽性細胞、即ち DNA 合成期の細胞が認められた。4週目では埋植周囲組織に BrdU および Thymidine を取り込む細胞はほとんど観察されず、8週目ではシートに接する面やシートの断端付近でわずかに見られるようになった。さらに12週目になると、シートの断端付近の被膜内に DNA 合成期の細胞が多数観察された。このことから埋植初期では、被膜形成や血管新生にともなう活発な細胞増殖が行われ、4週目頃には被膜の完成とともに細胞増殖は一旦減少するが、8～12週目になるとシートに接する面で再び活発な細胞増殖が起こり、これらが異物発癌と何らかの関連をもつものと推察された。

なお、電顕オートラジオグラフィーによる詳細な観察についても報告する予定である。

56.(示)

体内留置異物誘発腫瘍および初期変化の形態学的特徴

○島中真吾¹・尾根田暁^{1,2}・岡崎啓幸^{1,2}・永田良一²・井坂英彦¹
吉田浩己¹ (1:鹿大1病理, 2:新日本科学)

我々を取り巻く生活環境中に存し、体内に侵入して種々の生体反応を惹起する異物による発癌性についてはこれまでもさまざまな実験、研究がなされてきた。医学の著しい進歩により、今後、更に多種多様な物質が医用材料として用いられ、長期間体内に留置される医療処置が行なわれることが予想される。したがってこの異物発癌の研究はますます重要と考えられる。我々はその手始めとしてシリコンゴム、セルロース、ポリ塩化ビニル、ジルコニア、シアノアクリレートについてF-344ラットを用いて長期体内留置実験を行ない、そのうちセルロースを除く4種類の材料で腫瘍発生をみた。今回誘発された腫瘍の形態学的検索結果と、発癌の発生機序を検討するためにポリ塩化ビニル留置片周囲組織を経時的に精査を行なったのでその結果を報告する。

発生した腫瘍は肉眼的には比較的境界明瞭で、一部は被膜様構造を有し、断面は充実性、分様状ないし多結節性で、腫瘍発生後、長期間経過したものは中心部に壊死傾向が認められた。組織学的には紡錘形の線維芽細胞、類円形或いは多角形で比較的豊富で淡明な細胞質を有する組織球様細胞や異型巨細胞など多彩な細胞により構成され、部位により細胞の割合とその配列パターンは多様で紡錘形の細胞が放射状並び花むしろ様の配列をとるものが主体を占めたが、特定の配列をとらず、不規則に配列するもの、或いは拡張した血管に富むものも散見され、周囲筋層、或いは皮下組織への腫瘍細胞の浸潤性増殖が認められた。免疫組織化学的には抗ラットmacrophage抗体(ED2)陽性細胞のmacrophage様の性質をもつ細胞の存在が確認された。これらの細胞のうち腫瘍周辺部及び壊死組織に一致して見られたものはその密度、及び形態から反応性に出現したものと考えられたが、充実した部位でも認められた組織球様細胞は本来の腫瘍成分と思われた。一部の腫瘍細胞は抗 muscle actin抗体に陽性で電顕的には胞体にmyofilamentが認められ、myofibroblast様形態を示した。電顕的には①粗面小胞体、ゴルジ装置などの細胞小器官の発達によって特徴づけられる線維芽細胞の形態を有する細胞、②細胞質内に多数のライソゾームを有し、組織球への分化を示している細胞、③両者の中間的形態を有する細胞、④いずれへも分化を示さない未分化な細胞の4種類の細胞が腫瘍の構成細胞として認められた。同系ラットへ移植した腫瘍は、肺への転移を示したので悪性腫瘍と考えられた。以上の所見から異物留置部に発生した腫瘍は、malignant fibrous histiocytomaと考えられた。現在までの経時的観察結果では留置片周囲組織には特に13週以後において紡錘形ないし多角形の幼若細胞の持続的存続が特異的で、この細胞が腫瘍発生に重要な関わりを有すると推察された。現在、経時的に採取した組織を同系ラットに移植し、生物学的特性について検索中であるのであわせて報告する予定である。

57.(示)

長期毒性試験に発生したラット耳介の肥厚について

○木村 均、田中尚子、外山勝己、岡田雅昭 (NBR)

1. 緒言

最近ラットの1年間の反復投与毒性試験において、耳介の炎症症状を示さず、耳根部を中心に肥厚をきたす症例を数試験にわたって経験した。今までこのような症例を経験したことがないため、その発生状況、生物学的検査データ、病理学的検査について調査を行い、あわせてその病理発生についても若干の考察をおこなったのでここに報告する。

2. 材料および調査方法

当試験施設において、過去1年以内に最終剖検が実施された1年間の反復投与毒性試験4試験(総動物数732匹)について調査し、その内容は、一般状態、体重、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、病理学的検査について、耳介の肥厚を示した例を個別に調査し、また該当個体の同一群内での他の個体との差異についても調査を行った。

3. 結果

調査した4試験中の発生率、性別、分布を次表に示す。

総動物数	系統	発生匹数	発生率(%)	性別		分布	
				♂	♀	対照群	被験物質投与群(出現群数/構成群数)
120	Crj:CD(SD)	5	4.17	5	0	3	2(2/3)
200	Crj:CD(SD)	7	3.50	7	0	2	5(3/4)
172	Crj:CD(SD)	2	1.16	1	1	0	2(2/3)
240	Jcl:Wistar	2	0.83	2	0	0	2(2/3)
計 492	Crj:CD(SD)	14	2.85	13	1	5	9

肉眼的に認められた変化は、左右一側あるいは両側の耳根部を中心に硬く肥厚を示し、一般状態ではその発生以前に炎症などの症状は認められなかった。そのほか、体重、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査には所属する群において他の個体とのあいだに差異は認められなかった。病理組織学的検査では、肥厚を示した例はすべて骨髄形成を伴う耳介軟骨の骨化生であった。

4. 考察

骨髄形成を伴う耳介軟骨の骨化生についてはWistarラットでの発生(Waalkes et al. 1987)が報告されているが、個体識別に使用された金属製のEar tagに起因するものであり、高率に炎症を伴うことが報告されている。当試験施設では個体識別として染毛法とともに耳パンチによる個体識別方法を採用しているが、耳パンチを施行していない例での発生がみられること、また一般状態および病理組織学的に炎症症状および炎症所見を伴わないことから、個体識別法との関連は否定されよう。

現在、他の発生要因についても検討中である。

58.(示) バベシア症治療薬ガナゼックの犬への副作用の実験的解析

1) ガナゼック副作用用量投与犬の病理学的検索

山口良二、幸 優理、大塚宏光、○内田和幸、立山 晉(宮大)

【はじめに】

Babesia, sppは原虫で、各種哺乳類に寄生し貧血を主徴とする疾病をおこす。治療薬としては通常、Diamidine類が有効で日本では通常ガナゼック(Ganaseg) [4,4'-Diaminodinodibenzamidine Diacture, 日本スクイブ社]が広く用いられている。改良によって安全性は高くなっているが犬で日常の治療に使う(3mg/kg、3日)には副作用も強く本剤による完全治癒は困難とされる。血糖値・血圧低下、各臓器の脂肪変性を示す牛への副作用とは異なり、犬では小脳を中心とした出血による中枢神経障害である。ガナゼック投与による脳内出血発生の報告はあるが、詳細な病理学的検索や発生過程に関してはあまり検討されていない。そこで今回は基礎的観察として犬に副作用用量を投与し、発症犬の臨床・病理学的に検討した。

【材料と方法】

臨床及び血液学的に異常のない体重9-12kgの雑種犬10頭を使用し、1日1回のドッグフード給与、自由飲水とした。ガナゼックを6頭に10mg/kg、1頭に5mg/kg、1頭に50mg/kg、2頭に無接種対照、それぞれ症状発現まで1日1回大腿部筋注射し臨床症状、一般血液検査、血清の生化学的検査、脳脊髄液検査を行った。横臥・昏睡時にペントバルビタール麻酔下で放血安楽死させた。剖検後常法に従い組織学的に検索し必要に応じて特染し観察した。

【結果】

10mg/kg投与例では臨床症状として食欲不振(6/6)、元気消失(6/6)、嘔吐(6/6)、下痢(2/6)、後肢のふらつき(6/6)、平衡異常(6/6)、起立不能(6/6)、固縮及び痙攣(3/6)、眼球振盪(1/6)、昏睡(3/6)が観察された。剖検所見では全例の脳内に著明な出血がみられ、部位は延髄(4/6)、橋(1/6)、小脳(6/6)、中脳(3/6)、間脳(1/6)、大脳(1/6)であった。症状発現までの日数は2-4日、5mg/kgと50mg/kg投与例ではそれぞれ5日と2日で、濃度依存の臨床と病理学的変化を示した。剖検でみられた病変部位の主な変化は組織学的には出血性変化で、出血、好中球性の血管炎、海綿状変化を主とする水腫性・壊死性の変化がみられた。剖検でみられなかった部位にも小さな変化が観察された。海綿状変化を示した部位はLFB染色で脱髄が観察された。多くの場合は白質内神経核であった。神経症状が主症状でそれに先立ち嘔吐が全例にみられた。

【考察】

ガナゼック投与による副作用が実験的に再現された。日常用量よりわずかに高い投与量でも発症した。病変は小脳以外に脳幹部にも見られ、肉眼で観察されなかった部位にも組織学的に病巣が観察された。副作用の神経症状は小脳及び脳幹部に見られた出血性変化と関連性があると思われた。出血部位は主に白質神経核で脳内特異性が見られたが、病理発生については今後ガナゼックの血中、組織動態の検索を含め解析する。

○岡崎欣正, 沖本一夫, 安場正子, 飯田晶敏, 大西久美雄 (大日本製薬㈱・開発研)

緒言 : ラットの心臓には, ある種の発癌剤投与によって腫瘍性あるいは非腫瘍性の増殖性病変の発生することが知られているが, 自然発生のもは非常に稀である。また, それら自然発生例では類似の病変に対して様々な診断名が用いられており, 系統的な分類はなされていない。今回演者らは, 日本チャールズリバー㈱より4週齢で購入し, 70℃システム環境下で生涯飼育した雄72匹と雌73匹の Fischer 344ラットのうち5匹の心臓に自然発生性の線維性増殖性病変を認めたので, その病理学的特徴について報告する。

症例 No. 1~3 : 119~151週齢で死亡あるいは殺処分された3例(雄1例, 雌2例)である。病変は, 肉眼的に左心室心筋内の灰白色充実性の結節として認められ, いずれも類似の組織像を示した。増殖細胞は小型長円ないし楕円形の核を有する紡錘形細胞で, 胞体に乏しい線維状の細胞質を核の両端から伸ばしていた。細胞間は一般に疎で, 細胞配列に明瞭な規則性はなかった。病巣と周囲の正常心筋との境界は比較的明瞭であったが, 病巣は被膜を持たず, 病巣の一部には周囲へ浸潤性に増殖する像もみられた。7µm染色で, 間質に比較的豊富な膠原線維の存在が証明されたが, 鍍銀染色およびPAS染色には陰性であった。S-100蛋白に対する免疫組織化学的染色は陰性であった。電顕的に, 増殖細胞は比較的発達した粗面小胞体を有する線維芽細胞様の像を示した。

症例 No. 4 : 148週齢で殺処分された雌であり, 病変は右心房外膜下に認められた。増殖細胞はやや大型の卵円形核と, 境界不明瞭な線維状の細胞質を有していた。細胞は, 表層部では外膜に対してほぼ平行に配列していたが, 深部では, 細胞配列に明瞭な規則性はみられなかった。7µm染色で少量の膠原線維, 鍍銀染色で比較的豊富なレクリン線維がみられた。S-100蛋白は陰性であった。電顕的に, 増殖細胞は非常に良く発達した粗面小胞体を有し, 線維芽細胞の active phase に相当する細胞であることが考えられた。

症例 No. 5 : 141週齢で死亡した雄であり, 病変は, 肉眼的にまだら模様を呈する大型の心耳結節として認められた。心耳は増殖細胞でほとんど置換され, 正常の筋細胞は島状に残存するのみであった。病巣は, 比較的大型の核を持つ多形性の細胞と小型紡錘形の核を持つ細線維状の細胞で構成されていた。これらの細胞が大動脈および肺動脈壁へ浸潤する像もみられた。鍍銀染色では, 増殖細胞間に比較的明瞭なレクリン線維がみられた。

まとめ : No. 1~3と同様の病変を, Robertson らは schwannoma, Antoni type B としたが, 今回の症例は, 増殖細胞が形態的, 組織化学的に線維芽細胞の性格を有することから, 山手らが報告した fibroma と一致するものと思われた。No. 4 は, 心外膜下に発生した fibromatous proliferation であるが, 増殖細胞は活動型の線維芽細胞の像を示した。この症例は, No. 1~3 のような fibroma の初期段階に相当するものかもしれない。No. 5 は, 肉腫様の性格を有することがうかがわれたが, 細胞の性質をより明らかにするために, 現在さらに検討を加えている。

60.(示)

食塩負荷SHRSPにおける血管病変とACE阻害剤imidaprilの作用

○藤原利久、湯浅啓史、乾俊秀、山村高章、小口敦、小林欣滋、川合是彰、岡庭梓（田辺製薬・安全研）

「目的」

脳卒中易発性自然発症高血圧ラット(SHRSP)に低タンパク質飼料を与え、飲料水として1%食塩水を与えると、早期から脳卒中が発症し、血管病変を併発することが知られている。特に、腎臓の血管病変は最も早期に起こり、4週間の食塩水負荷によりほとんどの例で血管の壊死性増殖性病変、糸球体の硬化ならびに尿細管の変性がみられる。この動物にアンジオテンシンⅡ変換酵素阻害剤(ACE阻害剤)であるimidaprilを連続投与し、脳卒中の発症と血管病変の発生に及ぼす影響を検討した。

「方法」

11週齢から5週間にわたって1%食塩水を与え、フナバシ-SPで飼育した食塩負荷SHRSP(SL群)と食塩水を与えないで水道水を飲水としたSHRSP(NS群)を比較した。さらに、食塩を負荷すると同時にimidaprilの1および2 mg/kg/dayを与え、T1およびT2群を設けた。SL群およびNS群には蒸留水のみを1日1回強制経口与した。投与終了時に動物を屠殺し、脳、心臓、肺、腎臓、肝臓および副腎の重量を測定した。さらに、脳、心臓および腎臓については10%中性緩衝ホルマリン液で固定の後、組織学的に検査した。

「結果」

投与終了時の各群の動物の血圧は、NS群、SL群、T1群およびT2群で、各々 245.3 ± 12.8 、 244.4 ± 4.8 、 272.7 ± 7.4 および 253.3 ± 1.6 (mmHg、平均±標準偏差)で、imidapril投与による影響はみられなかった。しかし、臓器重量測定の結果では、SL群ではNS群に比べて心臓および腎臓の顕著な重量増加を示し、食塩負荷の影響が認められた。これに対し、T1群およびT2群では食塩負荷による心臓および腎臓の重量の増加が軽減された。組織学的には、SL群の全例で腎臓の壊死性血管炎、糸球体硬化および尿細管の変性が観察されたが、NS群では病変の程度および頻度は軽度であった。さらに、T2群ではこれらの病変はなく、T1群では少数例に観察されたのに過ぎなかった。脳では肉眼的に各群に異常は認められなかったが、組織検査ではSL群で50%の動物に小出血巣が認められ、その他の群では小出血巣は観察することができなかった。脳底動脈の内腔/直径比および心臓の冠動脈では各群に差はみられなかった。

「考察」

高蛋白飼料を与えたSHRSPの飲水に食塩を負荷することで脳卒中の発症が早くなり、さらに腎臓では血管病変の発生が著明になった。しかし、ACE阻害剤imidaprilを食塩負荷と同時に投与することにより血圧上昇は強く抑制されなかったにもかかわらず、脳卒中の発症および腎臓の血管病変は明らかに抑制された。従って、SHRSPの腎病変は血管病変が先行して発生することから、ACE阻害剤は降圧作用以外にもSHRSPの血管病変発生に対するなんらかの作用があることが示唆された。

63.(示)

カナマイシン投与ビーグルの聴覚器のSEM観察

○山村 高章, 久世 博, 乾 俊秀, 湯浅 啓史, 小口 敦, 小林 欣滋, 藤原 利久,
川合 是彰, 堀 正樹, 岡庭 梓 (田辺製薬・安全研)

毒性試験において聴覚器毒性を把握することは重要で、従来モルモット、ラットおよびウサギを用いた聴覚器毒性試験が広く行なわれている。しかし、毒性試験に汎用されるイヌを用いた報告は少ない。そこで、我々はカナマイシンをビーグルに投与した聴覚器障害モデルを作出し、聴性脳幹反応 (Auditory Brainstem Response、以下ABRと略す) と臨床病理および病理組織学的変化の特徴を報告した(第5回本学会、J. Toxicol Pathol 2 : 1989)。今回、ABRで異常がみられた個体の内耳の走査型電子顕微鏡(SEM)による観察を行なったので、その概要を報告する。

方法：4ヶ月齢のビーグル(雄3例、雌3例)を雌雄各1例の3群に分け、1群は無処置対照群、残りの2群はカナマイシン(明治製薬、以下KMと略す)投与群とした。KMの投与量は250mg/kgおよび500mg/kgとし、ビーグルの背部皮下に1日1回週5回の投与を3~6週間行なった。KM投与開始後、週2回ABRを記録した。ABRに変化のみられた時点で投与を中止し、ペントバルビタール麻酔下で放血致死させた後に剖検した。左右の蝸牛を摘出し、直ちに2.5%グルタルアルデヒド・2%パラホルムアルデヒド液で浸漬固定し、1%オスミウム溶液による後固定を行った。コルチ器はアルコール脱水、酢酸イソアミル置換を経て、液化炭酸ガスによる臨界点乾燥を行い、金パラジウムを用いたイオンスパッターによる金属被着を行い、走査型電子顕微鏡(JSM5400、JEOL)で観察した。

結果：500mg/kg投与群では投与12ないしは13回(総投与量6,000mg/kgないしは6,500mg/kg)でABRの異常がみられ、I波およびII波の波高は軽度(13回投与例)あるいは中等度(12回投与例)に低下し、潜時は延長していた。SEM観察では、軽度低下例のコルチ器外有毛細胞の聴毛は比較的良く保たれていたが、中等度低下例のコルチ器外有毛細胞の聴毛では第1列の消失および第2列・第3列の変形ないしは消失がみられた。250mg/kg投与群では投与19回ないしは28回(総投与量4,750ないしは7,000mg/kg)でABRの異常がみられ、I波およびII波の波高の軽度低下(28回投与例)あるいは波形の平坦化(19回投与例)および潜時の延長が記録された。この軽度低下例ではコルチ器外有毛細胞の聴毛は比較的良く保たれていたが、波形の平坦化例ではコルチ器外有毛細胞の聴毛は消失あるいは変形していた。

結論：KM投与ビーグルにおける外有毛細胞の聴毛の変化は第1列に始まり、ABRの変化の程度に対応して外有毛細胞の全層に及ぶことが確認された。また、ビーグルを用いた聴覚器毒性試験におけるSEM観察の有用性が示唆された。

64.(示)

F344ラット子宮腫瘍に由来する可移植性腫瘍の特徴

○寺西宗広，柳井徳磨，五十嵐功，松沼尚史，後藤直彰¹（三共・安全研，東大・獣医病理¹）

(目的)

ラット子宮腫瘍由来の可移植性腫瘍の報告は少ない。F344ラットに自然発生した子宮内膜肉腫4例および子宮内膜腺癌1例を同種同系ラットに移植することにより，各々に由来する移植腫瘍系を得た。これらの形態学的特徴について報告する。

(方法)

移植に用いた腫瘍はF344ラットに原発した子宮腫瘍5例（剖検時86，92，93，101，110週齢）である。

これらの原発腫瘍を2mm立方状に細切した後，その組織片を移植針により同系成熟ラットの背部皮下に移植した。原発腫瘍，移植部位および主要器官を肉眼観察し，10%中性緩衝ホルマリン液で固定後，常法に従いパラフィン包埋・薄切し病理組織学的に検査した。

(結果および考察)

原発腫瘍： 5例の内訳は子宮内膜肉腫4例および子宮内膜腺癌1例である。

子宮内膜肉腫と診断した4例いずれも共通の組織学的特徴を示した。すなわち，出血，壊死および囊胞が散見され，子宮内膜間質ポリープの増殖細胞に類似した類円形あるいは紡錘形細胞が不規則かつ密に増殖し，多数の核分裂像および高度の細胞異型が認められた。

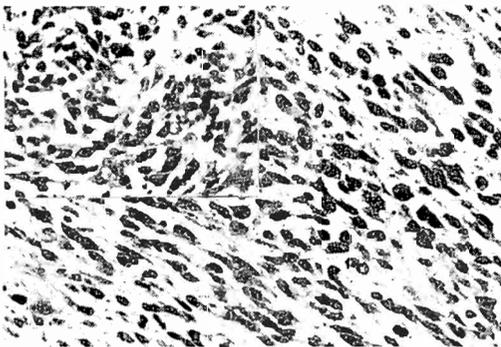
子宮内膜腺癌と診断した1例では子宮内膜腺上皮に類似した異型性の強い細胞が腺腔を形成していた。周囲の線維性間質に腫瘍細胞の浸潤が著明であり，肺への転移が認められた。

移植腫瘍： 皮下に移植した腫瘍（肉腫由来はRUT318，RUT524，RUT531，RUT928，腺癌由来はRUT705と命名）はいずれも各世代で100%生着，良好な増殖を示し球状腫瘤を形成した。腫瘤の増大の推移は各移植腫瘍とも世代間での大きな差異がなく，径は移植後2週間で10~20mm，32~47日で50~60mmであった。腫瘤が大きくなるにつれ，動物の一般状態は悪化，瀕死状態に陥った。継代を重ねて，肉腫は8~27代，腺癌は32代に至っている。

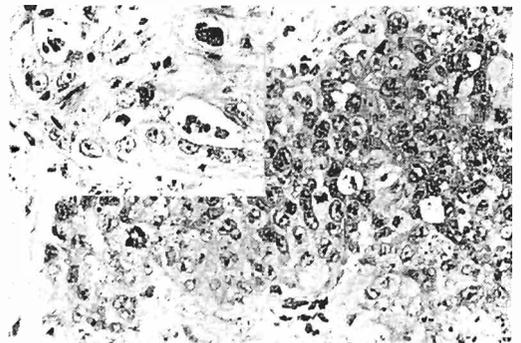
肉腫由来移植腫瘍では剖面が海綿状を呈して赤褐色液を大量に含有し，腺癌由来移植腫瘍では剖面中央部の壊死が顕著であった。

肉腫由来移植腫瘍は4系統とも原発腫瘍の組織学的特徴を保持していた。腺癌由来移植腫瘍は，移植部位で原発腫瘍にみられた腺腔形成が明瞭でなく，腫瘍細胞が充実シート状に配列し，死亡時には肺に転移が認められた。

これら5系統の移植腫瘍はいずれも維持が容易な安定した移植系であることから，子宮由来腫瘍細胞の生物学的特性を調べるうえで有用である。



RUT318第20代（左上：原発腫瘍）x300



RUT705第24代（左上：原発腫瘍）x300

65.(示)

PAF 吸入暴露によるモルモット下気道粘膜の形態変化

○仲野善久・原 敦子・松崎勝寛（日本ケミファ(株)研究所）

【緒言】血小板活性化因子（以下、PAFと略）は、生体内において種々の細胞から産生され、多彩な生理活性を有する物質である。その一つに好酸球遊走作用があることから、アレルギー疾患、殊に喘息の発症との関わりにおいてPAFの役割りが注目されている。実験的には、PAFを単回吸入暴露したモルモットでは、肺胞洗滌液中の好酸球増加や気管支周囲組織の好酸球浸潤が認められ、気道抵抗が増大して喘息様反応が誘発されたとの報告がある。しかし、この適用経路での気道粘膜における形態変化の有無は不明である。

PAFの吸入暴露が気道に及ぼす影響の理解は、気道疾患の発症機序の解明や治療薬の創製を目的としたPAF関連物質の薬効や毒性の評価に重要である。

今回、モルモットを用い、PAFの単回及び反復吸入暴露による下気道粘膜の形態変化について経時的な検討を行ったので報告する。

【材料及び方法】5～6週齢のHartley系雄モルモット60匹を、20匹ずつPAF単回吸入暴露群、PAF反復吸入暴露群及び対照群の3群に分けた。PAF（nova biochemical社製）は、0.25% BSA - salineで溶解した1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のPAF水液とし、3ml / 動物をネブライザーを用いてエアゾル化し、動物を収容した吸入箱に10分間送気して吸入暴露した。PAF反復吸入暴露群では、これを3日間隔で3回繰り返した。また、対照群にはPAF水液の溶媒の同量を同様にエアゾル化し、3日間隔で3回繰り返し吸入させた。

最終送気終了後6、24、48、72時間放置した後、各群5匹ずつペントバルビタールNa麻酔下パラホルムアルデヒド-グルタルアルデヒド混合液で灌流固定し、気管及び肺を摘出した。型の如くパラフィン切片標本を作製し、H-E、PAS、Lunaの各染色を施して鏡検した。また、好酸球浸潤の程度を定量化すべく、Luna染色標本を用い、葉気管支から細気管枝までを内径を基準として任意に大中小の3つに分け、それぞれの粘膜と粘膜下組織（粘膜固有層から外膜まで）における好酸球数を計測し、単位面積（ mm^2 ）当りの平均浸潤好酸球数を算出した。

【結果】PAF単回吸入暴露群：PAF吸入暴露により、下気道の粘膜内及び粘膜下組織内に好酸球浸潤が認められた。好酸球浸潤は粘膜下組織で顕著であったが、粘膜内では基底側に集中していた。経時的には6、24時間の好酸球浸潤は高度で、48時間以降半減したが、72時間後でも対照群より高いレベルを維持していた。しかし、粘膜上皮の形態に明らかな変化は認められなかった。

PAF反復吸入暴露群：単回吸入暴露群に比較して好酸球浸潤の程度が増強することはなかったが、48時間以降組織からの好酸球の消失は遅延し、72時間後でも半減することはなかった。一方、好酸球の集簇した粘膜内において、基底側に空胞を有する上皮細胞群がみられ、これらの細胞間の接着は不十分で離開していた。この変化は6時間後から出現し、細気管支粘膜で顕著であった。また、気管支内腔には変性剝離した上皮細胞と好酸球の集塊もみられた。

【まとめ】PAFの反復吸入暴露により、気道粘膜上皮の形態変化が誘発されることを確認した。これは好酸球を介した間接作用と考えられる。PAFによるこの変化は気道のアレルギー疾患の素因として位置付けられるものかも知れない。

現在、超微形態学的検査が進行中である。

66.(示) メタノールエンジン排気ガス吸入によるラット呼吸器系の形態学的変化

路 進、前川昭彦（佐々木研）前島一仁、鈴木忠男、石西伸（自動車研）

近年メタノールの自動車用燃料としての利用が注目されてきている。メタノール自動車の排ガスは、ガソリンやディーゼル排気に比べ、窒素酸化物や粒子状物質が少ないが、何らかの理由により触媒が十分に機能しない時には、未燃メタノールやアルデヒド、ことにホルムアルデヒドの排出が増加する事が指摘されている。今回メタノールエンジン排ガスの健康影響を検討する目的の一環として、触媒を外したM85（メタノール：85%、ガソリン：15%）エンジンからの極めて高濃度の排ガスをラットに28日間連続曝露して、病理組織学的に検索した。

実験材料及び方法：

3濃度の排ガス吸入群及び対照群の計4群を設定。高濃度群における排ガス中の成分は、CO 94ppm, NOx 53ppm, NO2 11ppm, HCHO 7ppm、中及び低濃度群のガスは公比 3.3で希釈。動物は10週齢F344ラット各群24匹を用い、8時間/日、7日/週の条件で連続曝露し、7、14、21及び28日目に各群6匹ずつを屠殺・剖検し、呼吸器系を中心に病理組織学的検索を行った。

実験結果及び考察：

高濃度群においては、既に曝露7日目で鼻腔及び肺に病変が認められた。鼻腔では鼻甲介及び上顎甲介を覆う呼吸上皮の扁平上皮化生、粘膜下細胞浸潤がみられ、その程度は曝露日数の増加と共に僅かに増強し、28日目には鼻中隔を覆う呼吸上皮の扁平上皮化生も認められた。中濃度群では28日曝露で鼻及び上顎甲介を覆う呼吸上皮の軽度肥厚がみられたが、低濃度群ではいずれの観察期間においても、排ガス曝露に起因すると考えられる明瞭な毒性所見はみられなかった。また、嗅上皮にはいずれの濃度群においても著変を認めなかった。肺では7日間曝露で、終末細気管支上皮のクララ細胞の減少、気管支上皮の繊毛減少等が見られたが、曝露日数の経過による病変の増強ははっきりしなかった。呼吸器系以外の諸臓器においては曝露に起因する病変は認められなかった。

以上、メタノール排ガス28日間吸入曝露によるラット呼吸器系の病変発見には明瞭な用量相関が認められた。この実験における曝露ガスは、ホルムアルデヒド、一酸化炭素、窒素酸化物や未燃メタノール等を含んでいる。今回みられた呼吸器系の病変は主として排ガス中のホルムアルデヒドに起因すると推定されるが、その他の成分による病変の修飾の可能性も否定出来ない。しかし排ガス中の濃度からみて、未燃メタノールの影響はないと考えられる。

本研究は、（財）石油産業活性化センターが資源エネルギー庁の委託により行った「自動車用メタノール燃料の利用に関するフィージビリティ調査」の一環として実施されたものである。

67.(示) 肺線維症モデル確立のためのN-nitroso-N-methylurethane投与による予備的検討

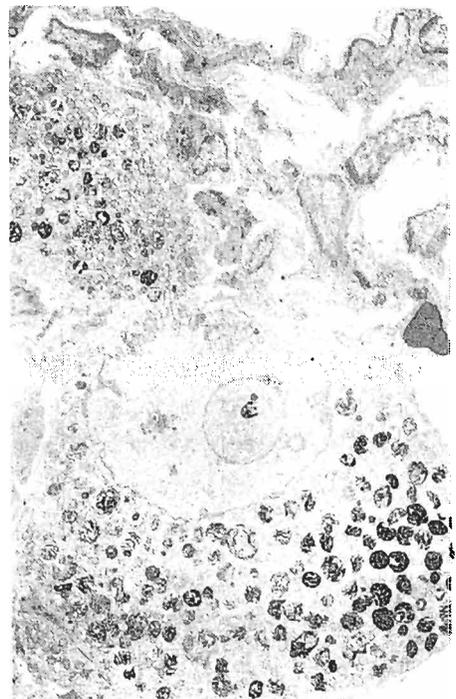
○吉村博之、吉田順一、今沢孝喜、古川文夫、三森国敏、
今井田克己、林 裕造 (国立衛試・病理)

【はじめに】 慢性び慢性間質性肺炎は高頻度に肺癌を合併することが疫学的に報告されている。しかし、現在までに肺線維症の有効な実験モデルはない。そこで、適切な肺線維症動物モデルの作製を目的として、ハムスターにび慢性間質性肺炎を誘発する事が知られている N-nitroso-N-methylurethane (MNUR) を用い、肺線維症の実験モデルの作製についての予備的検討を行った。

【材料および方法】 動物は6週齢の雌シリアンハムスターを用い、MNUR 0.2, 0.4, 0.8, 1.0 mg/個体を0.5%エタノール添加注射用蒸留水に溶解し、各3匹に週1回、皮下投与し、病理組織学的検索および一部は電顕的観察を実施した。

【結果】 0.8および1.0mg投与群では初回投与により体重減少が見られ、2回の投与により全例死亡した。病理組織学的には、気管支腔および肺胞腔に泡沫細胞の増加や上皮の脱落によると思われる大型の核を有する細胞の出現、末梢気道上皮および肺胞上皮の腫大/膨化、気管支周囲および間質への炎症性細胞浸潤、血管周囲の浮腫などを主体とした強い急性の間質性肺炎像が認められた。0.2および0.4mg投与群では、投与期間中の著しい体重増加抑制が見られたが、5回投与においても1ヵ月後まで生存した。投与終了時の病変は、0.8および1.0mg投与群とほぼ同様の変化が認められたが、いずれも比較的軽度であった。投与1ヵ月後では、肺胞腔に泡沫細胞の集簇や炎症性細胞浸潤がみられ、肺胞上皮は立方状にやや腫大していた。更に、肺胞壁及び肺胞中隔はび慢性に肥厚傾向を示し、局所的に明らかな線維化像を示した。電顕的観察では、腫大した肺胞上皮はⅡ型上皮由来であり、空胞変性や壊死性変化を示す脱落したⅡ型上皮や、lamella bodyが変性した大型の細胞なども見られた。

【まとめ】 MNUR反復投与により、び慢性間質性肺炎から肺線維化に至る様々な炎症性病変が発現することが確認された。現在、これらの所見をもとに投与量、投与期間を検討し線維化を伴う慢性び慢性間質性肺炎のモデルの作製を検索している。



68.(示) 犬の鼻腔構造及び鼻粘膜における毒性評価

○渡邊 厚、白岩和己、佐藤則博、小川慎一、三浦昌己、矢野謙次、
小林洋四郎、浜川博司(東洋醸造 病理)

はじめに

近年、経鼻剤の医薬品開発が進むなか、毒性評価を行う上で鼻腔の組織構造に関心が高まってきている。現在、ラット、マウスを用いた鼻腔の病理組織学的評価方法は確立されつつあるが、犬を用いた鼻腔の病理組織学的評価方法はこれまで報告が少なく、未だ確立されていない状況である。

今回我々は、毒性試験における評価方法の確立のために、犬の鼻腔の解剖学的構造並びに組織学的形態を明確にし、病理組織学的検索部位について検討を行ったので報告する。

材料及び方法

動物は20ヶ月齢のビーグル犬雌雄各2頭、計4頭を用いた。鼻腔は頭部を剥皮し、眼球、脳、下顎を取り除き摘出した。その後、外鼻孔及び咽頭鼻部より鼻腔内の空気を排出しながら10%中性緩衝ホルマリンを注入した後、同液にて浸漬固定した。脱灰は5%燐酸ホルマリンを用い、常法に従いパラフィンブロックを作製した。標本は約600 μ m間隔で10 μ mの亜連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(H.E)染色を施し光学顕微鏡下で観察した。

結果

犬の鼻は鼻中隔により左右の鼻腔に分けられ、鼻腔は鼻甲介部と鼻道部からなっていた。さらに鼻甲介部は背鼻甲介、腹鼻甲介及び篩骨迷路により構成されていた。また気道部は背鼻道、中鼻道腹鼻道及び総鼻道から構成されていた。

背鼻甲介は犬歯のやや前方より始まり、それは後方に向い柵状に延び篩板に終わっていた。腹鼻甲介は翼状ひだより始まり、その終止部は第3前臼歯後端であった。またその分岐は犬歯頂部から始まり、その数を増しながら、第2前臼歯頂部で最

大となっていた。篩骨迷路は第2前臼歯頂部より分岐をもって出現し篩板に終わっていた。その分岐は第2後臼歯部で最大となっていた。

鼻腔を覆う上皮は、前方より重層扁平上皮、移行部上皮、呼吸部上皮さらに嗅上皮へと移行していた。呼吸部上皮は犬歯やや前方の腹鼻甲介腹側基部から出現し、その上皮の領域は後方に広がり第2前臼歯部で全鼻腔面を覆っていた。さらに嗅上皮は第3前臼歯部の背鼻甲介背鼻道側から始まり、その上皮の領域は後方に広がり、第2後臼歯部で最大となっていた。しかし、全粘膜が嗅上皮で覆われることはなく、呼吸部上皮も一部存在していた。

まとめ

医薬品の経鼻剤開発における前臨床試験ではヒトへの臨床投与方法を考慮する必要がある。しかしラットでは、ヒトでの主な臨床投与方法である噴霧投与は難しく、鼻腔内滴下による試験が一般に実施されている。このことは噴霧投与剤の正しい毒性を反映しない可能性がある。また、鼻粘膜の組織障害性を評価する上で、鼻腔を構成する上皮の変化と、その病変の広がり把握することは重要である。そのためには、鼻腔の解剖学的構造と、その組織学的形態を明確に判断できる部位の標本作製しなければならない。

今回我々は、噴霧投与が可能であるビーグル犬を用いて、毒性評価を行う上で必要な鼻腔の解剖学的構造並びに組織学的形態を明らかにした。その結果、鼻粘膜障害に対する評価方法として、障害の範囲並びに組織の種類を把握するために、5カ所の鼻腔の組織標本の作製が必要であり、その切り出し部位の指標としては、歯の位置を基準にして標本作製することが望ましいと考えた。

69.(示) ラットに出現したムコ多糖症 について

○ 吉田 緑、野口純子、筏井 洋 (動繁研)

ムコ多糖症は、ライソソーム内の分解酵素欠損により細胞質内に異常物質が蓄積する先天性代謝異常の一つである。ヒトで欠損酵素の種類により少なくとも10の亜型に分類されている。いくつかの亜型では幼児期までに死の転帰をとることが多いが、本症の治療法は未だ確立されていない。実験動物のムコ多糖症は、マウス、イヌおよびネコで報告されている。当研究所で継代・維持しているIsh系のラットに、体型が小型で病理学的に全身の諸臓器に空胞化を認めるMutantが出現した。今回は、本異常がムコ多糖症であることを診断するために、基礎的な検討として病理検査、尿検査および遺伝様式を実施したので報告する。

異常個体は出生時には正常個体と区別がつかず、約3週齢より体型の小型化、頭部および鼻梁の短小などの異常が発現した。体長、尾長、頭蓋骨の長さはいずれも正常より短小であったが、頭蓋骨の幅は、正常より大きかった。骨の数には異常を認めなかった。また、本異常ラットは同腹正常個体より短命で6ヶ月齢ごろより死亡する動物が多かった。

16週齢から25週齢の異常個体を9例、同腹の正常個体を7例について病理検査を実施した。病理肉眼的には、肋骨がオール型を示し気管が扁平であった。肝臓および脾臓の腫大はなく、そのほかの臓器についても、特に異常を認めなかった。

病理組織学的には、パラフィン包埋切片において、神経系を除く全身の各臓器の間葉系の細胞に空胞化が観察された。空胞化の程度は組織によって異なっており、子宮の内膜、心臓の弁膜、大動脈の中膜では空胞化が著しかった。軟骨は基質の厚さを増しており、軟骨細胞では大きさの不均一および増数が認められた。骨組織の異常は認められなかった。これらの空胞は、PAS陰性、コロイド鉄陽性、Alcian Blue陽性を示した。

病理所見より、本異常がムコ多糖症である可能性が示唆されたので、尿のスポットテストおよびセルロースアセテート膜電気泳動による分画を行った。異常個体は、尿のスポットテストで陽性を示した。電気泳動では、デルマトン硫酸の近くに大部分のスポットが認められたが、明確な分類はできなかった。

遺伝様式の解析の結果、本異常は常染色体上の単一劣性遺伝子により支配されていることが明かとなった。

上記の結果より、本異常は先天的なムコ多糖であると診断した。このMutantの確立は治療を含む臨床面およびグリコサミノグリカンの研究面から意義あるものと考えた。さらに、本異常の亜型の同定について、今後検索する予定である。

70.(示) 1年間反復投与毒性試験に用いられたSD系ラット(Crj:CD)の自然発生腫瘍

○中村厚、合川孝幸、藤本利恵、星谷達、玉井幸子、永谷真理子、安藤利恵、堀口浩資、工藤佳代子、五藤裕子、田村一利(ボゾリサーチ)

近年、1年間の反復投与毒性試験が実施される機会も多くなり、出現した腫瘍性病変の評価が重要となる場合がある。しかし、1年間の試験に関しては2年間の試験ほど自然発生腫瘍に関する報告は少ない。そこで、当機関で実施された1年間の反復投与毒性試験において観察された前癌病変を含めた自然発生腫瘍について報告する。

対象動物は、当機関で1986～1990年に剖検された1年間の反復投与毒性試験(12試験)の対照群に用いられたCrj:CD(SD)系ラット雄329匹、雌334匹で、57～70週齢まで観察した。

観察された自然発生腫瘍は下表に示した通りで、下垂体、副腎および肝臓では前癌病変と考えられる変化が多くみられ、さらに下垂体では腺腫が雌雄とも約20%観察された。乳腺では雌に、甲状腺では雄に腫瘍性変化が比較的多く認められた。その他の腫瘍性変化は散発的なものであった。

	Male	Female
Cerebrum: astrocytoma	0	1(0.3%)
Pituitary: focal hyperplasia	81(24.6%)	79(23.7%)
adenoma	65(19.8%)	67(20.1%)
adenocarcinoma	0	1(0.3%)
Thyroid: follicular cell hyperplasia	2(0.6%)	0
follicular cell adenoma	3(0.9%)	0
C-cell hyperplasia	9(2.7%)	8(2.4%)
C-cell adenoma	3(0.9%)	0
Adrenal: foci of cellular alteration	47(14.3%)	34(10.2%)
cortical adenoma	2(0.6%)	0
medullary hyperplasia	5(1.5%)	3(0.9%)
pheochromocytoma	3(0.9%)	2(0.6%)
Pancreas: islet cell hyperplasia	1(0.3%)	0
Spleen: histiocytoma	1(0.3%)	0
Thymus: thymoma	1(0.3%)	0
thymic lymphoma	0	1(0.3%)
Lung: adenoma	1(0.3%)	0
Stomach: papilloma	0	1(0.3%)
Liver: altered cell foci	39(11.9%)	14(4.2%)
neoplastic nodule	2(0.6%)	0
Pancreas: acidophilic foci	8(2.4%)	3(0.9%)
acinar cell adenoma	1(0.3%)	0
Kidney: nephroblastoma	0	2(0.6%)
renal cell carcinoma	1(0.3%)	0
renal liposarcoma	0	1(0.3%)
Skin: keratoacanthoma	6(1.8%)	0
Subcutis: lipoma	0	1(0.3%)
fibroma	1(0.3%)	0
Testis: interstitial cell hyperplasia	5(1.5%)	-
interstitial cell tumor	1(0.3%)	-
Uterus: endometrial stromal polyp	-	4(1.2%)
squamous cell papilloma	-	1(0.3%)
Vagina: leiomyosarcoma	-	1(0.3%)
Mammary gland: focal hyperplasia	0	5(1.5%)
adenoma	0	2(0.6%)
fibroadenoma	1(0.3%)	13(3.9%)
adenocarcinoma	0	6(1.8%)
Thoracic cavity: lipoma	1(0.3%)	0
Abdominal cavity: leiomyosarcoma	1(0.3%)	0
Leukemia	4(1.2%)	0

71.(示) 新規合成化合物により全身諸臓器に認められた空胞変性

○田中雅弘、大久保正人、秋葉知英、浅沼章宗、横尾信夫、古賀照二（興和、東京研究所）

我々はこれまで、キモトリプシン阻害作用を持つ新規合成化合物(FK-401)をイヌに投与すると、脈絡膜壁紙が褪色すること(Anim. Eye Res. 9, 1990)およびこの褪色変化に化合物構造中のアルコール性水酸基と3級アミンが関連すること(Anim. Eye Res. 10, 1991)を報告してきた。今回は、FK-401の1ヵ月間投与によりイヌおよびラットの全身諸臓器に著しい空胞変性を認めたので、その病理形態学的特徴について報告する。

【材料および方法】

動物として、7ヵ月齢のイヌ（ビーグル）雌雄各6頭と、Slc:SD系ラット雌雄各20匹を用いた。イヌには600mg/kg/day、ラットには6000mg/kg/dayのFK-401を1ヵ月間連続強制経口投与した。最終投与の翌日に剖検し、主要臓器を摘出秤量した。摘出した臓器は中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン標本を作製した。一部の組織についてはパラフィンブロックより、戻し電顕標本を作製した。また血液学的、血液化学的検査を併せて実施した。

【結果】

(1) 組織学的所見：イヌでは諸臓器の上皮細胞（気管支、気管支腺、前立腺、尿道、精巣上体、精巣、肝臓、胆のう、腎臓、食道、胃、甲状腺、上皮小体、顎下腺）、平滑筋細胞（消化管壁、尿管壁、毛様体、虹彩）および網内系細胞（胸腺、リンパ節、脾臓、肺）に空胞変性が見られ、特に気管支腺、食道腺、顎下腺導管の各上皮細胞および尿管壁平滑筋で顕著であった。一方、ラットでは上記の組織以外に脳脈絡叢上皮細胞にも高度な空胞変性が認められた。精巣では小動脈壁平滑筋の空胞変性による二次的な変化と思われる精細管の壊死像が観察された。大動脈の電顕的検索では空胞内に構造物を示唆する所見は認められなかったが、核近傍に空胞変化の初期像と思われる変化が認められた。

(2) 血液学的、血液化学的所見：ラット、イヌとも貧血傾向の他、総蛋白質量、アルブミン量の減少が認められた。

【まとめ】

蛋白分解酵素阻害作用を持つ新規合成化合物をイヌおよびラットに1ヵ月間投与したところ、いずれも全身諸臓器の上皮細胞、平滑筋細胞および網内系細胞に著しい空胞変性が認められた。しかしながら標的臓器および空胞変性の程度には若干種差が認められた。Levineらは3級アミンを含む多くの化合物で諸臓器の空胞化が認められる事を報告しており、FK-401も構造中に3級アミンを持つことから、今回認められた空胞変性の一部はLevineらの報告と同様な機序により生じた可能性が示唆された。この様な全身諸臓器の空胞変性の毒性学的意義については明らかではなく、空胞化が持続した場合の二次的な変化や標的臓器を共通する薬剤との併用による影響については今後の検討が必要と考えられた。

72.(示) 1,1-Bis(t-butylperoxy)3,3,5-trimethylcyclohexaneの Maus における
1 3 週間亜慢性毒性試験

○三井雅之、古川文夫、篠田和俊、佐藤元信、榎並倫宣、
川西 徹、高橋道人 (国立衛試・病理)

【はじめに】1,1-Bis(t-butylperoxy)3,3,5-trimethylcyclohexane (TMCH) は不飽和ポリエステル樹脂の加熱硬化用触媒、天然ゴムや合成ゴムなどの架橋剤、スチレン等の重合触媒として工業用に使用されているフリーラジカル触媒であるが、その毒性、変異原性および癌原性については明らかにされていない。今回、癌原性試験予備試験として Maus における亜慢性毒性試験を実施した。

【材料および方法】動物はB6C3F1系 Maus 雌雄各 50 匹を用い、各群に雌雄各 10 匹ずつ割り付けた。投与は混餌投与とし、TMCH の 4、2、1 および 0.5% 混合飼料並びに基礎飼料群 (対照群) を設け、1 3 週間にわたり自由に摂取させた。体重および摂餌量は週 1 回測定し、投与 1 3 週後に採血・剖検を行い、血液学および病理学的検査を実施した。

【結果】投与期間中の雌雄各群の平均 TMCH 摂取量は右表のとおりである。

群	体重当りの TMCH 平均摂取量	
	雄	雌
4 % TMCH	6.0	6.5
2 % TMCH	3.2	3.1
1 % TMCH	1.5	1.7
0.5% TMCH	0.8	1.0

単位: g/kg/day

投与期間中に 4 % 投与群において雌雄とも各 8 例の死亡を認めた。

体重は、雌雄とも各 TMCH 投与群で用量相関的に低下し、投与 1 2 週後の値では 1 % 以上の投与群で対照群の値の 90 % 以下であった。

摂餌量は、対照群に比べ各 TMCH 投与群とも低値を示した。

血液学的検査では、2 % 投与群で赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量およびその他の赤血球恒数の有意な低下または低下傾向がみられ、低色素性貧血の状態であると判断され、4 % 投与群ではより強い傾向がみられた。

臓器重量では TMCH 各投与群の雌雄で脾重量の減少、肝重量の増加が用量相関的にみられた。

病理組織学的検査では雌雄とも 1 % 投与群より肝の瀰漫性または小葉中心性の肝細胞腫大が、また 2 % 投与群より骨髓の造血細胞減少が認められた。その他、雌雄に共通して、唾液腺および脾の腺房細胞の萎縮、脾の萎縮が 1 または 2 % 投与群より観察された。一方、死亡例においても肝および骨髓等にはほぼ同様の所見が認められた。

【まとめ】TMCH の毒性標的臓器は肝、骨髓細胞等と推察されたが、TMCH 混合飼料忌避による低栄養の関与も否定できなかった。本試験における体重推移および毒性所見の出現状況より癌原性試験の投与量としては、体重増加抑制が 10 % 未満であり、また実質臓器毒性の認められなかった 0.5 % が最高用量として妥当と判断し、現在癌原性試験を実施中である。

73.(示) ラット慢性腎症の病理組織学的解析 - 硝子滴変性について -

○海平充代、宇和川賢、斉藤幸一、中山厚美、奥野泰由
(住友化学、生物環境科学研究所)

【緒言】ラットの慢性腎症は加齢と共に進行し、老令ラットの主要死因の一つとなっている。組織学的には糸球体の変性、尿細管の硝子円柱、萎縮を主体とする病変である。また、本症の発生した腎臓の尿細管には、硝子円柱を伴ったいわゆる“硝子滴変性”が認められる。一方、雄ラットには、雌ラットでは認められない、硝子滴(hyaline dropletおよびeosinophilic body)が生理的に認められ、雄ラットに特有の $\alpha 2u$ -グロブリンの沈着と考えられている。今回、慢性腎症に発生した“硝子滴変性”と雄ラットに生理的に見られる硝子滴について、病理組織学的に比較検討した。

【方法】動物はSDラット(日本SLC株)の雄の3か月令、8か月令、12か月令、各5匹を使用し、腎臓について光学顕微鏡検査(HE、PAS、鉄、シュモール染色、抗 $\alpha 2u$ -グロブリン抗体、抗アルブミン抗体免疫染色)および電子顕微鏡検査を行った。

【結果】慢性腎症の発生を示唆する所見として、糸球体の変性、尿細管管腔内の硝子円柱形成、尿細管上皮の変性・再生、尿細管上皮細胞の褐色色素沈着、皮質の単核細胞浸潤が8か月令より認められ、12か月令において増加傾向が認められた。

1) 若令ラットの硝子滴：近位尿細管上皮細胞の硝子滴(hyaline droplet, eosinophilic body)は、3か月令より認められ、加齢に伴ってわずかに減少傾向が認められた。これらの硝子滴は抗 $\alpha 2u$ -グロブリン抗体による免疫染色では陽性を呈した。電子顕微鏡検査では、尿細管上皮細胞内に多角形の結晶を有するライソゾームが認められ、これは、電子密度の高い結晶を中心に、電子密度のやや高い均一な無構造域を有し、一層の膜に被われていた。

2) 慢性腎症の“硝子滴変性”：12か月令では硝子円柱を形成した尿細管の上皮細胞内に硝子滴を多量に含む“硝子滴変性”が認められた。この“硝子滴変性”は抗アルブミン免疫染色で弱陽性であったが、抗 $\alpha 2u$ -グロブリン免疫染色では陰性であった。電子顕微鏡検査では、尿細管上皮内に類円形の一層の膜に被われた高電子密度の均一無構造および空胞を有するライソゾームが認められた。

【まとめ】

1) 若令雄ラットの尿細管の硝子滴には、小型のhyaline dropletと大型のeosinophilic bodyが認められたが、両者はともに、抗 $\alpha 2u$ -グロブリン抗体陽性であり、同一物質と考えられた。また、これらは加齢とともに減少した。

2) 慢性腎症に伴い尿細管の“硝子滴変性”が発生したが、“硝子滴変性”は抗アルブミン抗体に弱陽性、抗 $\alpha 2u$ -グロブリン抗体に陰性を呈し、アルブミン等のタンパク質の再吸収小滴によると考えられ、若令ラットの硝子滴と慢性腎症に伴い発生する尿細管の“硝子滴変性”は区別すべきものであった。

74.(示) ストレプトゾトシン投与片腎摘出マウスの腎のレクチン組織化学的検索

○板垣慎一、Jose I. AGUIRRE、久米英介、土井邦雄（東大・農）

我々は片腎を摘出したマウスにストレプトゾトシン（SZ）を投与することによって糖尿病性腎症の早期誘発に成功し、第38回日本実験動物学会において本マウスの腎臓の病理組織学的・電顕的検索結果を報告した。今回は、さらに本モデルの組織化学的特徴を把握する目的で、同一材料を用いて、レクチン組織化学的検索を実施した。

〔材料と方法〕8週齢の ICR:CD-1 雄マウスを以下の4群に分け、SZ最終投与12週後に剖検した。A群：無処置対照、B群：SZ（50mg/kg/day X 5days, i.p.）投与、C群：左側腎摘出およびD群：左側腎摘出後SZ投与。腎臓を中性緩衝ホルマリンもしくは4%パラホルムアルデヒド固定後、パラフィン切片とし、以下の10種のレクチンを用いて染色した：BPA, Con A, DBA, GS-I, GS-II, MPA, PNA, SBA, UEA-I および WGA。

〔結果と考察〕組織学的には、既報の通り、D群では糸球体メサンジウムの肥厚（一部は硬化性病変）および遠位尿細管・集合管の拡張を示し、B群でも同様の变化を呈したが、軽度であった。また、AおよびC群では多くのボウマン嚢壁が立方もしくは低円柱上皮からなっていたのに対し、BおよびD群では、このような像はまれにしか認められなかった。電顕的にはD群で糸球体のポドサイトの足突起の融合、毛細血管基底膜の肥厚等が観察された。

レクチン組織化学的には、ネフロン各構成部位が特徴的に様々なレクチンに対して結合性を示し、C群はA群とほぼ同様の染色性を示したが、BおよびD群は、A群と異なる染色性を呈した。A群では、遠位尿細管と集合管においてDBA, UEA-I 以外の8レクチンに軽度から中等度の陽性を示したが、B群では、遠位尿細管の BPA, Con A, PNA の染色性と集合管の BPA, GS-I, PNA, WGA の染色性が増し、D群では極めて強くなった（図1）。これは、高血糖症によっておこる尿細管での再吸収の異常が、片腎摘出によってその性質を変えずに増強されたことを示唆する所見かも知れない。この他、AおよびC群で見られたボウマン嚢を構成する上皮細胞の染色性は、近位尿細管のそれと同様であり、BおよびD群のボウマン嚢壁は異なる染色性を示した。一方、糸球体では群間に顕著なレクチン染色性の差は認められなかった。

以上、今回の検索で糖尿病性腎症マウスの腎のレクチン組織化学的特徴が明かにされた。

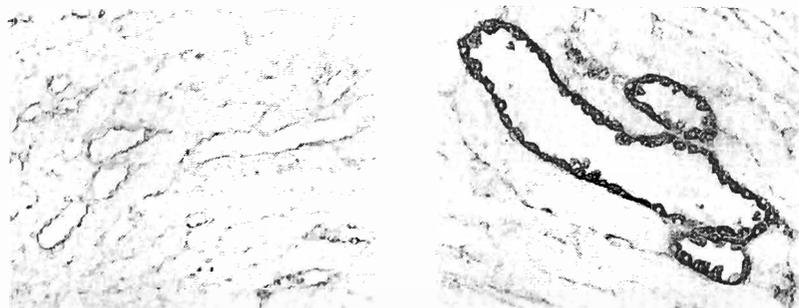


図1. 腎髄質集合管のGS-I染色像、左：A群、右：D群

75.(示)

ビーグル犬における糸球体脂質症

○五藤裕子、中村厚、星谷達、藤本利恵、合川孝幸、永谷真理子、
玉井幸子、工藤佳代子、安藤利恵、田村一利（ボソリサーチ）

今日、医薬品等の安全性試験評価の一手段として各種の実験動物を用いた毒性試験が盛んに行われている。しかしながら、一試験に用いられる動物数には限りがあるため、被験物質の安全性をより正確に判断する上で、これらの実験動物の背景病変を整理する必要性が高まっている。今回、我々は毒性試験に頻繁に用いられているビーグル犬を対象にして、腎臓の病変である糸球体脂質症に関して検討を行ったので報告する。

自然発生性疾患として我々がよく遭遇する糸球体脂質症はラット、ハムスターなどの報告は少ない。糸球体脂質症は、糸球体病変を進行させる初期の要因であると推測されている。人においては、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、高脂血症などの疾患を背景にして、糸球体に類似病変が見られると論じられているが、今だ不明な点が多い。

動物は当社の毒性試験に供されたビーグル犬、雄雌各383頭（7か月－1年9か月齢）を用いた。検索は、顕微鏡下で罹患糸球体をカウントすることにより行い、また、一部の動物については脂肪染色等の特殊染色に加え、電子顕微鏡による微細形態学の観察もあわせて行った。

その結果、糸球体脂質症の発生頻度は59/766頭(7.7%)であった。これを雌雄別にみると雄では、34/383頭(8.9%)、雌では、25/383頭(6.5%)であり、明らかな性差は見られなかった。また、罹患糸球体の出現部位としては、腎皮質の被膜側に好発する傾向がみられた。その他、生産所別および動物入荷ロット別に検討を加えたが、いずれも明らかな差は認められなかった。本学会では、さらに動物数を増した上で血液生化学的データとの関連性についても報告する。

主要生産所2社における糸球体脂質症の発生頻度

	雄 (%)	雌 (%)
A社	7.0(15/215)	7.0(15/215)
B社	11.3(19/168)	6.0(10/168)
TOTAL	8.9(34/383)	6.5(25/383)

76.(示) フィチン酸(天然食品添加物)継続投与による腎盂乳頭腫の発生

° 北堀吉映、林 功、小西 登、日浅義雄 (奈良医大・二病理)

【はじめに】

フィチン酸(天然)は豆、穀類中に結合塩の形で多量に存在し、金属封鎖作用、pH緩衝作用、発酵助成作用などの有益性を有し、毒性も低いことから、缶詰をはじめとする食品の添加物として広く使用されている。しかし、長期投与した際の癌原性の有無についての報告はなされていない。今回、ラットを用いた癌原性試験を行ったので、その結果を報告する。

【材料と方法】

動物：4週齢のF344ラット雌雄各180匹を日本チャールスリバー社(神奈川)から購入し、1群60匹の各3群を設け、6週齢で実験を開始した。

試料：フィチン酸は亜急性毒性試験の結果に基づいて、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。使用した天然フィチン酸の純度は48~52%で第一製薬株式会社から入手した。

実験：検体の投与期間は2年間であるが、2.5%雌群で生存率が50%近くに達したため100週目で剖検した。

【結果】

検体摂取量：検体を含有した摂水量は全期間の平均でみると、対照群と比較し雄の2.5%群で約23%、1.25%群で約18%、雌の2.5%群で約26%、1.25%群で約20%の減少を認めた。

体重：雌雄ともに検体投与群に増加抑制が全期間を通じ観察され、いずれも濃度に依存したものであった。

尿検査：エームス尿検査試験紙を用いた潜血反応で検体投与の雌雄群で陽性例が多くみられ、他のウロビリノーゲン、ケトン体、ビリルビン、糖、pHには通常の変動内であった。

病理組織学的所見：有効動物は83週以降とし組織検索を行った。検体投与によると思われる毒性変化は、腎乳頭部の壊死ならびに石灰化が雌雄ともにみられ、雌群においては濃度依存性に発生した。また、検体投与群のみに腎盂移行上皮の乳頭腫が雄2.5%群で3例、雌2.5%群4例、1.25%群3例に発生した。他に腫瘍の発生は下垂体、甲状腺、精巣、副腎、乳腺、皮膚などでみられたが対照群と比較し明らかな差は観察されなかった。

【考察】

フィチン酸は、BHA、BHTなどの合成抗酸化剤に発癌性の疑いが問題となりそれに代わる天然抗酸化剤として多用されつつあるものの1つである。今回、ラットを用いた長期投与で腎盂の移行上皮の過形成ならびに乳頭腫が発生したことは、自然発生で極めてまれ腫瘍であることから、フィチン酸投与の可能性を強く示唆される結果であった。

79. グリセロールによるラット腎障害の発症に関する組織過酸化の関与について

○山田久陽・杉浦正幸・村上美穂子・大津結実子・大島 隆・

中根貞雄（大正製薬・総合研）・山田高路（愛知医大・法医）

我々は各種薬毒物による中毒性腎障害の発症において、毒性発現の重要なメカニズムの1つとされる組織過酸化の関与を検討してきており、前回の第7回日本毒性病理学会において塩化第二水銀による急性腎障害の発症に組織過酸化が関与している結果を報告した。今回、同様な方法でグリセロール（GL）投与により惹起された腎障害の発症に組織過酸化が関与しているかどうかを検討した。

【実験方法】 7週齢の雄性Wistar系ラットを1群6匹使用し、1群(control)には生理食塩液、2及び3群にはGL 2.5及び5.0ml/kgを各々皮下投与し、投与6、12、24及び48時間後に経時的に屠殺した。屠殺後、腎臓を摘出し、左腎については皮質において脂質過酸化の指標であるMalondialdehyde(MDA)、MDAの消去系酵素であるGSH-Px及び低分子化合物であるGSHの定量、右腎は病理組織学的検査に使用した。また、各群の屠殺前に血液を採取し、投与24及び48時間後には尿を採取し、生化学的検査を実施した。さらに抗酸化剤 N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD) の影響を検討するために、GLの単回投与13及び1時間前に各々600mg/kgを腹腔内に前処置した。GL投与24時間後に屠殺し上記と同様に評価した。

【結果】 膜脂質過酸化の指標であるMDAは2.5及び5.0ml/kg投与により、各々24及び12時間後より増加を示した。MDAの消去系酵素であるGSH-Pxは5.0ml/kg投与により12時間後をのぞき低下が認められた。GSHではMDAの増加が認められる以前に既に低下が認められ、2.5及び5.0ml/kgとも投与6時間後では低下していたが、MDAの増加にしたがって以後増加する傾向が認められた。組織学的には2.5ml/kg投与において投与6時間後で近位尿細管曲部にエオジン好性顆粒の沈着、12時間後には顆粒の沈着は軽減したが、同時に尿細管上皮の軽度な壊死が観察され、24時間後では壊死は明確となった。5.0ml/kg投与では本質的な組織変化は2.5ml/kgと変わりなく、投与6時間後では近位尿細管曲部にエオジン好性顆粒の顕著な沈着、上皮内に空胞形成及び一部に結晶性の内容物を有するエオジン好性円柱が認められ、12時間後には2.5ml/kgと同様に顆粒の沈着は軽減したが、上皮の壊死及び円柱が観察され、24及び48時間後にはこの壊死ならびに円柱は顕著となった。尿中酵素活性の測定では特にlysosome酵素であるNAGにおいて投与24時間後に顕著な増加がみられた。一方、抗酸化剤であるDPPDの前処置により腎組織内MDA、BUN及びクレアチニンの増加抑制、組織障害発症の軽減が認められた。

【まとめ】 GL投与により投与12時間以降に腎組織内MDAの増加がみられた。また、このMDAの増加と腎組織変化ならびに尿中酵素活性の増加時期とは比較的一致していることから、組織変化、特に壊死の発症に組織過酸化が関与していることが推察された。抗酸化剤により、これら変化の発症軽減が認められたことからGLによる腎障害の発症に組織過酸化が重大な関与をしているものと推察された。

80. Hydroquinoneの腎に対する発癌性：脂質過酸化と α_{2u} グロブリンの関与についての解析

○田中 光、広瀬雅雄、二口 充、赤木圭介、佐野真士、伊東信行
(名市大・医・1病理)

【はじめに】

フェノール系化合物である Hydroquinone は、タバコの煙中や植物を始めとして我々の環境中に広く分布している。今回、Hydroquinone のラットに対する発癌性を検討するとともに、その発癌機序として脂質過酸化と α_{2u} グロブリンの関与についても検索した。

【実験方法】

実験Ⅰ：各群30匹の6週齢F344系ラット（日本チャールス・リバー株）雌雄に、Hydroquinone を0.8%の濃度で粉末基礎飼料MF（オリエンタル酵母株）に混じ、104週間投与した。また、対照群は基礎食のみの投与とした。104週経過後に動物を屠殺剖検し、全臓器を病理組織学的に検索した。

実験Ⅱ：各群15匹の6週齢F344系雄ラットに、Hydroquinone 300mg/kg bw および陽性対照として臭素酸カリ(KBrO₃) 400mg/kg bw をそれぞれ1回、胃内投与した。無処置の対照群も同時に設け、投与開始 3, 6, 12, 24 および48時間後に各群3匹ずつ屠殺し、腎臓の過酸化脂質をTBA法で測定した。

実験Ⅲ：各群12匹の6週齢F344系雄ラットに、2% Hydroquinone を14日間、混餌投与した。無処置の対照群も同時に設定し、投与開始 3, 7 および14日後に各群4匹ずつ屠殺し、免疫組織学的染色により腎臓の α_{2u} グロブリンおよびBrdU陽性細胞の個数を測定した。

【結果】

実験Ⅰ：腎臓の尿細管上皮過形成が雄で30例中30例（100%）、雌で30例中2例（7%）に認められた。また、腺腫が雄の30例中14例（47%）に認められた。これら雄に認められた病変は、いずれも統計学的に有意な増加であった。

実験Ⅱ：Hydroquinone投与では、いずれの屠殺時期においてもTBARSは対照群との間に差異はみられなかった。一方、陽性対照であるKBrO₃投与では、48時間後に対照群の2倍強に増加した。

実験Ⅲ：Hydroquinone投与で、 α_{2u} グロブリン陽性細胞数はいずれの屠殺時期においても対照群より少なかった。一方、BrdU陽性細胞数には対照群との差はみられなかった。

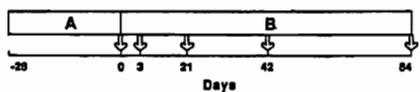
【まとめ】

Hydroquinoneはラット雄の腎臓に対して発癌性を示したが、脂質過酸化の亢進および α_{2u} グロブリンの増加はみられなかった。従って、Hydroquinoneの発癌機序としてラジカルや α_{2u} グロブリン以外の要因を考慮する必要がある。

○水本靖士, 中江大, 吉治仁志, 堀口浩資, 白岩和己, 小西陽一

(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

我々は、最近、食餌性コリン欠乏によるラット肝発癌モデルとして、GDAA食投与モデルを開発し、肝前癌病変の発生過程における8-hydroxydeoxyguanosine (8OHdG) として検出される酸化性DNA 障害の生成について報告した。今回は、このモデルを用いて、オキシラジカル生成系の重要な触媒である鉄を食餌性に欠乏せしめることによる発癌修飾作用について、酵素変異肝前癌病変の発生と肝DNA における8OHdG 生成、並びに肝脂質過酸化反応(LP)誘発を指標に検索した。実験は、各群40匹の4週齢のFischer 344系雄ラットの8群を用いて行った。実験プロトコルを図に示す。実験期間は、Period A 28日間、Period B 84日間の計 112日間とした。第1群は、Period Aにコリン添加アミノ酸(CSAA)食、Period BにCDAA食を投与した群とした。第2, 3, 4 群は第1群と同様の飼料を投与し、各々、全期間、Period B, Period Aにおいて飼料中の鉄を5 ppm以下に欠乏せしめた群とした。また、第5, 6, 7, 8 群は、各々、第1, 2, 3, 4群の対照群とした。ラットは、図の矢印の時点で、各群5匹を屠殺し、肝を摘出し、8OHdG 生成量とLP誘発量を測定した。さらに、実験終了時の肝は、GGT およびGSTP陽性病変の定量的解析を行った。実験結果は、表に示す。実験終了時において、第1~4群のラット肝にGGT およびGSTP陽性の前癌病変が発生し、第2~4群における病変の数は、各々、第1群に対して有意な抑制がみられた。また、第2, 3群のGGT 陽性病変の平均直径は、各々、第1群に対して有意に低値を示した。第1~4群の肝DNA において、8OHdG が経時的に生成され、第2~4群では全期間を通じて、各々、第1群に対して有意に低値を示した。なお、第5~8群の肝DNA において、有意な8OHdG 生成は、みられなかった。また、肝LP誘発量は、8OHdG 生成量の場合と同様の結果を得た。以上の結果より、食餌性鉄欠乏は、ラットにおけるCDAA食による肝前癌病変の発生を抑制し、この抑制作用は、オキシラジカル生成系における触媒鉄の枯渇に基づくものであることが示された。



Group	Choline and Iron Status in L-Amino Acid Defined Diet			
	Period A		Period B	
	Choline	Iron	Choline	Iron
1	+	+	-	+
2	+	-	-	-
3	+	+	-	-
4	+	-	-	+
5	+	+	+	+
6	+	-	+	-
7	+	+	+	-
8	+	+	+	+

Experimental Protocol

Role of Iron for the Inductions of Enzyme Altered Lesions, Oxidative DNA Damage and Lipid Peroxidation by the CDAA Diet in the Liver of Rats

Group	Final Body Weight (g)	Final Liver Weight (g/body-weight)	GGT-Positive Lesions		GSTP-Positive Lesions		Oxidative DNA Damage (8OHdG, 10 ⁴ /g)	Lipid Peroxidation (TBA-Positive Substances, nmol/100 μg wet liver)
			Number of Lesions per Squarescm	Size of Lesions (Mean Diameter, mm)	Number of Lesions per Squarescm	Size of Lesions (Mean Diameter, mm)		
1	272±9 ^(a,b)	4.95±0.31 ^(b)	7.57±1.35	1.83±0.10	6.32±1.02	1.98±0.33	17.76±2.25 ^(b)	10.45±0.84 ^(b)
2	281±7 ^(c)	3.70±0.25 ^(c,d)	3.36±1.01 ^(f)	1.53±0.16 ^(d,e)	4.03±1.39 ^(f)	1.43±0.28	6.85±0.52 ^(c,d,e)	4.73±0.19 ^(c,d,e)
3	276±7 ^(g)	3.84±0.15 ^(d)	3.30±1.40 ^(f)	1.55±0.15 ^(d)	4.38±1.45 ^(f)	1.48±0.38	6.92±0.91 ^(c,d,e)	5.55±0.22 ^(c,d,e)
4	282±8 ^(g)	3.77±0.28 ^(d)	4.58±1.07 ^(f)	1.85±0.15	4.95±1.00 ^(f)	1.73±0.18	12.19±1.36 ^(c,d,e)	8.36±0.25 ^(c,d,e)
5	372±39	3.13±0.20	0	—	0	—	1.34±0.17	0.45±0.12
6	360±12	2.98±0.10	0	—	0	—	1.42±0.14	0.43±0.08
7	368±22	3.02±0.10	0	—	0	—	1.25±0.09	0.43±0.14
8	369±21	3.00±0.12	0	—	0	—	1.36±0.08	0.44±0.10

a) Results are the means ± the standard deviations of the determinations on five rats.
 b) p<0.01 versus Group 1.
 c) p<0.001 versus Group 1.
 d) p<0.001 versus Group 2.
 e) p<0.001 versus Group 3.
 f) p<0.05 versus Group 1.
 g) p<0.05 versus Group 4.
 h) p<0.05 versus Group 3.
 i) p<0.05 versus Group 2.

82. EFFECTS OF INHIBITORS OF ARACHIDONIC ACID METABOLISM ON THE EVOLUTION OF PRENEOPLASTIC FOCI INTO NODULES AND CARCINOMAS IN RAT LIVER

Qing TANG, Ayumi DENDA, Toshifumi TSUJIUCHI, Masahiro TSUTSUMI, Toshihiro AMANUMA and Yoichi KONISHI (Dept. Oncol. Pathol., Cancer Center, Nara Med. Univ.)

Previously, we have reported that inhibitors of arachidonic acid (AA) metabolism can inhibit the promotive induction of preneoplastic foci by phenobarbital (PB) in rat liver, suggesting an involvement of AA metabolism in the promotion mechanism of PB. In the present study, in order to further confirm the possible involvement of AA metabolism in the promotion mechanism of PB, effects of the inhibitors of AA metabolism on the evolution of preneoplastic foci into nodules and hepatocellular carcinomas with or without PB were examined in F344 male rat liver.

Inhibitors used were p-Bromophenacyl bromide (BPB); an inhibitor of phospholipase A₂, Aspirin (ASA); an inhibitor of cyclooxygenase and Quercetin; an inhibitor of lipooxygenase. All rats were initiated with N-nitrosodiethylamine (DEN) (200mg/Kg.B.W. i. p.), followed by selection by Solt-Farber procedure and then divided into Experiment (Exp.) I and II. In Exp. I, 1 week after the selection, rats were given diet containing 0.05% PB plus either 0.75, 1.0 or 1.5% levels of inhibitors (BPB, ASA) (G1), 0.05% PB alone (G2), either 0.75, 1.0 or 1.5% levels of inhibitors alone (BPB, ASA) (G3) and basal diet (G4) for 9 weeks. In Exp. II, 3 weeks after the selection, rats were given diet containing 0.05% PB plus either 0.75 or 1.5% levels of inhibitors (BPB, ASA, Quercetin) (G1), 0.05% PB alone (G2), either 0.75 or 1.5% levels of inhibitors alone (BPB, ASA, Quercetin) (G3) and basal diet (G4) for 29 weeks. In Exp. I, the number and size of persistent and remodeling nodules and number of hyperplastic nodules were examined by -glutamyltranspeptidase (GGT)- and H.E.-staining. In Exp. II, incidence and number of hepatocellular carcinomas were examined.

In Exp. I, 0.75 and 1.5% BPB and 0.75 and 1.0% ASA with or without PB significantly decreased the number of persistent nodules and hyperplastic nodules but increased the number of remodeling nodules. In Exp. II, 0.75% ASA with or without PB significantly decreased the number of hepatocellular carcinomas per a rat but not the incidence. On the contrary 0.75% BPB and 1.5% Quercetin with PB but not without PB significantly decreased the number of hepatocellular carcinomas per a rat.

These results indicated an inhibitory effects of inhibitors of AA metabolism on the evolution of preneoplastic foci into nodules and hepatocellular carcinomas, further confirming a possible involvement of AA metabolism in the promotion mechanism of PB. Moreover, an involvement of AA metabolism in the evolution of preneoplastic foci into nodules and carcinomas without PB was also suggested.

○林 修次, 小笠原 裕之, 古田 京子, 畝山 智香子, 佐藤 秀隆,
今沢 孝喜, 今井田 克己, 林 裕造 (国立衛試・病理)

【はじめに】キナクリン (QC) は合成抗マラリア剤として用いられたアクリジン系化合物である。この物質は、肝臓をはじめ脾臓、腎臓、肺等の諸臓器に強い親和性を有し、細胞内特にライソソーム内に蓄積し、リン脂質症を誘発する。また、肝二段階発癌モデルを用いた発癌物質の中期検索法により、QCにはラットの肝発癌過程を促進することが確認されている。そこで今回我々は、マウス 4-Nitroquinoline-1-oxide(4NQO)肺腫瘍モデルを用いてQCの肺の腫瘍発生におよぼす影響について検討した。

【実験方法】動物は6週齢ICR雄マウス50匹を用い、4NQO→QC群：20匹、QC群：10匹および4NQO群：20匹の3群に分けた。4NQO→QC群は実験開始時に4NQOを15mg/kg皮下投与し、その1週間後よりQCを500ppmの濃度で13週まで、それ以降25週まで250ppmの濃度で混餌投与した (QCによる毒性のため投与設定濃度を変更)。QC群は4NQO→QC群と同様にQCのみ混餌投与し、4NQO群は実験開始時に4NQOのみを皮下投与した。実験終了時に全生存動物を屠殺・剖検し、肺を含む主要臓器を採取し、重量測定後に10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。肉眼的に肺の小結節数を検索後、常法に従ってパラフィン包埋して薄切片を作製、HE染色を施し病理組織学的に検索した。

【結果】4NQO→QC群およびQC群では4NQO群に比べ、QC投与開始後より平均体重の増加抑制がみられた。また、4NQO→QC群では4NQO群に比較して脾臓の絶対重量の有意な増加 ($p<0.01$)、さらに、肝臓、腎臓および脾臓の相対重量の有意な増加 ($p<0.01$ または $p<0.001$) がみられた。一方、肺では全ての群間において絶対/相対重量ともに有意な差は認められなかった。肉眼的に、肺の小結節の発生頻度および1個体当りの発生個数は、4NQO→QC群(65%, 2.0 ± 1.9 個)と4NQO群(76%, 3.1 ± 3.4 個)との間に、有意な差はなかった。組織学的にも肺胞上皮の過形成、肺腺腫および肺腺癌の発生頻度ならびに発生個数はこの両群間に有意な差は認められなかった。

【結論】1) 4NQOの投与に関わらずQCを投与した群において、平均体重の増加抑制がみられ、肝臓、腎臓、脾臓等の相対重量の増加が認められた。2) 肺腫瘍の発生率および発生個数は、プロモーション時期におけるQCの投与により変化しなかった。

以上のことから、QCは今回用いた投与濃度では、マウス4NQO肺腫瘍モデルにおいて肺発癌プロモーション作用がないことが明かとなった。

84. ウレタンの中期投与による発がんリスクの評価

○栗原寛治、有広光司、武島幸男、井内康輝（広島大・医・2病理）

はじめに

演者らは、以前B6C3F₁マウスを用いて低用量ウレタンの70週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肺腫瘍及び肝血管性腫瘍の腫瘍発生率から各種の数学的モデルを用いて virtually safe dose (V.S.D.) を求め、両者を比較、検討し、本学会(1990年、札幌)において発表した¹⁾。

その際、長期飼育による対照群での自然発生腫瘍の評価や投与期間の長短によるV.S.D.の変動などを今後の検討課題として指摘した。そこで今回は投与期間を35週に短縮して低用量のウレタンの経口投与実験を行ない、肺病変と肝血管性病変の発生率からV.S.D.を求め、前回実験の長期投与群でのV.S.D.との比較、検討を試みた。

実験材料及び方法

4週齢のB6C3F₁雄マウス 150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30匹ずつ5群に分け、それぞれを600、120、60、6ppm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。600ppm投与群には7週間のみ投与し、それ以後には蒸留水を摂取させた。これらを35週間飼育した後屠殺し、病理組織学的検索に供した。

結果と考案

有効動物数は、600ppm群(1日摂取量120mg/kg/day、総摂取量160mg)27匹、120ppm群(同26mg/kg/day、同210mg)28匹、60ppm群(同13mg/kg/day、同100mg)29匹、6ppm群(同1.3mg/kg/day、同10mg)30匹、対照群25匹であった。各群において発生した肺病変及び肝血管性病変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、肺病変及び肝血管性病変についてlogit、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。前回の実験で求めたV.S.D.は肺腫瘍では、logit、

Table 1. Incidence of Mice with Lung Lesions and Liver Lesions

Sites	Histological types of tumors and tumor-related lesions *	No. and incidence (%) of mice with tumors in:				
		Urethane dose (ppm) of:				
		0	6	60	120	600 (7wks)
Lung	Alveolar hyperplasia *	0	1 (3)	2 (7)	3 (11)	8 (30)
	Alveolar / bronchiolar adenoma	0	0	3 (10)	13 (46)	14 (52)
	Alveolar / bronchiolar carcinoma	0	0	0	0	0
Liver	Peliosis*	0	0	1 (3)	3 (11)	14 (52)
	Hemanglioma	0	0	0	0	3 (11)
	Angiosarcoma	0	0	0	0	0

probit、Weibullの各数学的モデルにおいてそれぞれ 1.8×10^{-4} 、 9.2×10^{-3} 、 8.4×10^{-8} であり、今回算出したV.S.D.はこれらに比較すると 10^3 ないし 10^7 倍高い数値であった。この様にウレタンの投与期間によって、また対照群での腫瘍の自然発生率によってV.S.D.は大きく異なり、妥当性のある投与期間の設定が重要であることがわかった。また、肺病変では過形成、肝病変ではpeliosisも対象病変としたが、過形成-腺腫-腺癌あるいはpeliosis-血管腫-血管肉腫というsequenceの存在を仮定すると、これらの非腫瘍性病変もV.S.D.の評価の際に対象病変とすることも可能であろう。

文献

1. Inai, K., Arihiro, K., Takeshima, Y., et al. Quantitative risk assessment of carcinogenicity of urethane (ethyl carbamate) of the basis of long term oral administration to B6C3F₁ mice. Jpn. J. Cancer Res. 82: 380-385, 1991.

Table 2. Estimated Virtually Safe Doses (V.S.D.s) for Lung Lesions and Liver Lesions in B6C3F₁ Mice at the Level of 10^{-6}

Tumor Sites	Mathematical models		
	Logit model	Probit model	Weibull model
Lung adenoma			
V.S.D.*	2.2×10^{-1}	1.5	1.2×10^{-1}
p-value	0.94	0.99	0.91
Chi-square value	4.93	5.86	0.01
Lung lesions			
V.S.D.*	1.4×10^{-1}	1.3	4.9×10^{-2}
p-value	0.35	0.35	0.36
Chi-square value	0.84	0.84	0.83
Liver lesions			
V.S.D.*	8.4×10^{-3}	1.0×10^{-1}	7.4×10^{-3}
p-value	0.79	0.85	0.78
Chi-square value	0.06	0.03	0.07

*mg/kg body wt/day

85. 発がん修飾物質検索のためのラット多臓器発がんモデルの開発

○玉野静光¹、白井智之¹、福島昭治²、二口 充¹、浅川恵美子¹、
伊東信行¹ (¹名市大・医・1 病理、²大阪市大・医・1 病理)

【目的】医薬、農業その他の生活関連物質の安全性、特に発癌性を確認するためには、多大の時間、労力および経費を必要とする。そこで、少ない個体数で迅速に化合物の発癌性を容易に把握し、かつ、化学物質のもつ多様な発癌修飾作用を個体レベルで検索が可能な中期発癌試験法の開発を試みた。

【方法】6週齢のF344雄ラット約1,000匹を用い、複数の臓器に発癌標的性をもつ発癌物質DEN(100 mg/kg, i.p., 1回)、MNU(20 mg/kg, i.p., 4回/2週間)、DHPN(0.1%飲料水、2週間)を4週間以内に順次投与(DMD処置)後、被験物質を16週間投与するDMD法と、DMD処置に加えてBBN(0.05%飲料水、2週間)およびDMH(40 mg/kg, s.c., 4回/2週間)を投与した後に、被験物質を24週間投与するDMDBD法を用い、全経過20週または28週後に屠殺剖検し、全身諸臓器における前腫瘍性および腫瘍性病変発生の増強あるいは抑制を病理組織学的、免疫組織化学的手法を用いて、発生頻度または定量的解析により検討した。被験物質として2-AAF, 3'-Me-DAB, phenobarbital, clofibrateなどの肝臓を標的とする発癌物質や、BBN, captan, daminozaideなど肝臓を標的としない発癌物質、さらにその他の化合物としてNa-ascorbateなど合計24化学物質を用いた。

【結果】表1および2に結果を示した。投与した被験物質は既知の標的臓器に対し、発癌増強作用を示したのみならず、それ以外の臓器にも発癌の増強や逆に抑制といった多様な発癌修飾作用を示した。

【結論】多重癌モデルは一個体レベルで全身諸臓器を対象として、比較的短期に化合物の発癌増強作用を検出することができ、中期発癌法として有用であることが明らかとなった。

表2. DMDBD法の結果

検索物質	発癌性	Ames試験	調査出現の修飾された臓器								判定	
			肝	肺	甲状腺	食道	前胃	腸胃	大腸	腎		膀胱
BHA	+	-	↓	-	↓	-	↑	-	-	-	↑	+
BHA + NaNO ₂	+	-	↓	↓	↓	-	↑	-	-	-	↑	+
CC	+	-	↓	-	↓	-	↑	↑	-	-	-	+
CC + NaNO ₂	+	-	↓	-	↓	↑	↑	↑	-	-	-	+
3-MeO-CC	?	-	↓	↓	-	↑	↑	↑	-	-	-	+
3-MeO-CC + NaNO ₂	?	-	↓	↓	↓	↑	↑	↑	-	-	-	+
NaNO ₂	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clofibrate	+	-	↓*	-	↓	-	-	-	-	-	↑	+
DS	?	-	↑	-	↑	-	-	-	-	-	-	+
DDS	?	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	↓	+

↑, 中等度促進; ↓, 軽度促進; -, 不変
 ↓, 中等度抑制; ↓, 軽度抑制
 +, 陽性; -, 陰性; ?, 未評価; *, GST-P陰性細胞数の増加

表1. DMD法の結果

検索物質	発癌性	Ames試験	調査出現の修飾された臓器								判定	
			肝	肺	甲状腺	食道	前胃	腸胃	腎	膀胱		
2-AAF	+	+	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3'-Me-DAB	+	+	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	+
DDPM	+	+	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	+
PB	+	+	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Ethionine	+	-	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Clofibrate	+	-	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	+
BBN	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	↑	+
DBN	+	+	-	-	↑	-	-	-	-	↑	-	+
MNU	+	+	-	-	-	↑	-	-	-	-	-	+
3-MC	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
DMBA	+	+	-	-	-	-	-	-	-	↑	-	+
Captan	+	+	-	-	-	-	-	-	-	↑	-	+
BHA	+	-	↓	-	-	-	-	-	-	↑	-	+
Catechol	+	-	↓	-	-	-	-	-	-	↑	-	+
Propionib	+	-	-	-	-	↑	-	-	-	-	-	+
Folpet	+	?	-	↑	↑	-	↑	-	-	-	-	+
Na-Ascorbate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Daminozide	-	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Phosmet	?	?	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Coproctadum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

↑, 高度促進; ↑, 中等度促進; ↓, 軽度促進; -, 不変
 ↓, 中等度抑制; ↓, 軽度抑制
 +, 陽性; -, 陰性; ?, 未評価; *, GST-P陰性細胞数の増加

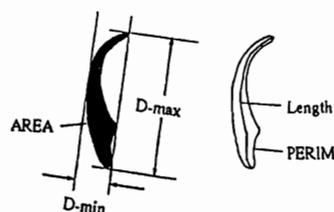
86. 化学物質による精巣障害の病理学的検討（第6報）

---大量ビタミンB₆投与によるラット精子の変化---

○井出良浩、海道昌宣、小出紀（産業医大二病理）

〔はじめに〕 1983年、大量のビタミンB₆（以下B₆）投与を受けた人の感覚神経障害が報告され、その副作用が問題となっている。我々は第79回日本病理学会でB₆によるラット精巣の生殖細胞の障害、及び精子の核の形態変化について報告した。今回は、B₆による生殖細胞の障害程度と惹起限界量の判定に資することを目的として、精子の数、運動の他、核の変形について形態計測を行った。

〔材料、方法〕 1) 12週齢のwister系雄ラットを用い、投与群として各6匹にB₆の63, 125, 250, 500mg/kg/dayを週6回、6週間腹腔内投与し、対照群の6匹には同量の生理的食塩水を投与した。2) 精管より取り出した精子により運動率を判定し、精子数測定には精巣上体を用いた。3) 精巣上体より取り出した精子を塗抹、95%アルコール固定、ヘマトキシリン染色の後、画像解析装置（IBAS, ZEISS）により、精子核の形態について右図の如き5個のパラメータを中心に12個のパラメータを設定し、ラット1匹当たり約100個の精子について各パラメータを計測した。それぞれ平均値（M）、標準偏差（SD）を求め、Mの偏移、 $M \pm 2SD$ から外れる割合について、T-検定により有意差を評価するとともに、複数のパラメータの組み合わせも加えて、形態変化の傾向を検討した。4) 同塗抹標本を用いて尾部分離率の測定を行った。



〔結果〕 1) 精巣重量は500mg群でのみ著明な減少を示したが、精巣上体重量は投与群一般で減少傾向を認め、125mg群から有意差が検出された。他の臓器では有意差は認められなかった。3) 精子数は63mg群では全て正常範囲にあったが、125mg群では2匹で明らかな低下を示し、125mg群以上で有意差を認めた。2) 運動率の低下は63mg群2匹、125mg群3匹に見られたが、有意差は125mg群以上で検出された。3) 精子核のパラメータ値はいずれも減少傾向を示し、125mg群以上で有意差が見られた。4) 尾部分離率は投与濃度とともに増加し、250mg群から有意差を認めた。

〔まとめ〕 1) 多くの測定項目で有意差は125mg群から確認され、6週間のB₆投与による精子の異常は、63~125mg/kg/dayの投与量で発生すると考えられる。2) 投与濃度増加に伴い、精子核の形態に関する各パラメータ値が減少を示したことより、B₆投与による精子核変形の傾向として小型化、形態の単純化、直線化（彎曲の減少）、短縮等が挙げられる。3) 各測定項目を個別に検討すると、障害の強い250mg群では精子数、運動率、尾部分離率および核変形は全て異常値であったが、尾部分離率以外の項目が統計的に有意差を示した125mg群では、これらの項目の一部が異常を示すに留まった。精子数、運動率、尾部分離率のいずれかが異常を示さない例でも、核変形が検出される場合があることから、比較的軽度の精巣障害を判定する場合、画像解析による精子核の変化の観察が有用であると考えられる。

87. Diheptyl phthalate のラットにおける精巣毒性と

ペルオキシソーム増生作用について

○ 豊田和弘・今沢孝喜・阿瀬善也・篠田和俊・小笠原裕之
西川秋佳・高橋道人（国立衛試・病理）

Diheptyl phthalate (DHP) は、フタル酸エステル的一种で塩化ビニル樹脂の可塑剤として広く用いられている。フタル酸エステルの生体への影響については、di(2-ethyl-hexyl)phthalate (DEHP) についての検索が最も良くなされており、ラット、マウス等に対して、肝ペルオキシソーム増生作用、肝発癌作用、精巣毒性作用および血中脂質低下作用等を有することが知られている。しかし、DHPについては、これらの作用についての詳細な検索の報告はない。今回、ラットを用いて、DHP短期間投与による精巣毒性作用およびペルオキシソーム増生作用について経時的に検索を行なった。

【実験材料および方法】 5週齢の雄 F344/DuCrj 系ラットを用い、DHP含有飼料投与群（9匹）と基礎飼料投与群（対照群、6匹）を設けた。DHPの投与は10%の用量で開始したが、摂餌の忌避傾向が認められたため、2日目より5%に変更した。投与開始後、3、7、14日目にDHP投与群各3匹、対照群各2匹を麻酔下に屠殺、剖検し、肝、腎、精巣および精巣上体を摘出した。それぞれの組織について、HE組織標本による病理組織学的検索、およびBrdUの取り込みを指標とした細胞増殖動態の検索を行なった。その他、精巣については透過型電子顕微鏡を用いて、ランタンをトレーサーとした血液・精巣関門の障害の有無についての検索を行なった。

【結果および考察】 精巣毒性について：DHP投与群では、投与開始後、3、7、14日目共に、精巣の絶対重量および相対重量の減少が認められた。組織学的検索の結果、精巣は萎縮し、3日目では精細管基底部にセルトリ細胞と少数の精祖細胞がみられ、管腔には変性、脱落した精母細胞がみられるのみであった。7日目ではセルトリ細胞がほとんどで、精祖細胞はごくわずかに散見されるのみであった。また、管腔は大きく拡張し、少数の脱落細胞が認められた。14日目では精祖細胞と一部の精母細胞の再生増殖が認められた。精細管内のBrdU取り込み細胞は、DHP投与群では、3、7、14日目共に基底部に散見されたが、対照群においてはあまり認められなかった。ランタンをトレーサーとした検索の結果、3日目において既に血液・精巣関門が破綻していることが確認され、DHPによる精巣毒性はセルトリ細胞の障害による可能性が示唆された。

ペルオキシソーム増生作用について：DHP投与群では、投与開始後、7、14日目において肝の絶対重量および相対重量の増加がみられ、組織学的検索の結果、肝細胞の腫大と細胞質内に充満する微細な好酸性顆粒を認めた。これらの所見は、他のペルオキシソーム増生剤において認められる所見と一致しており、DHPにもペルオキシソーム増生作用があることが示唆された。以上の検索の他、酵素組織化学的染色、および透過型電子顕微鏡を用いた超微形態学的観察によるペルオキシソームの検索結果についても報告する。

○城塚康毅 橋本直美 山本正樹 安藤孝夫 (武田薬品・薬剤安全性研究所)

[目的]

ラットの毒性試験において雄ラット腎臓の近位尿細管上皮に硝子滴の増加がしばしば認められ、 $\alpha 2u$ -globulinに起因すると考えられている。 $\alpha 2u$ -globulinは雄特異的蛋白と考えられており、雄ラットでは主として肝臓で産生されることが報告されている。一方、雌ラット腎臓では尿細管上皮に硝子滴はみられず、 $\alpha 2u$ -globulinは存在しないと報告されている。しかし、雌尿中にも存在するという報告があることから、雌ラット腎臓に $\alpha 2u$ -globulinが存在する可能性が考えられた。そこで、今回は雌ラット腎臓における $\alpha 2u$ -globulinの存在について免疫組織化学的、免疫電子顕微鏡的および免疫学的に検討した。

[材料及び方法]

抗体は雄ラットの尿からカラムクロマトグラフィー法を用いて精製した $\alpha 2u$ -globulinとFCA (Freund complete adjuvant)をウサギに2週間に1回、合計4回皮内投与して得られたウサギ抗ラット $\alpha 2u$ -globulin抗体を用いた。用いた抗体の抗体価はELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)法により測定したところ2.4 ~5.6 mg/mlであった。

①免疫組織化学的検討：Jcl/F344成熟ラットを放血致死させ、腎臓、肝臓および顎下腺を摘出し、ホルマリン固定してパラフィン切片を作製した。 $\alpha 2u$ -globulinはABC法を用いて免疫組織化学的染色を行い、光顕的に観察した。②免疫電子顕微鏡的検討：雌雄ラット腎臓をエポキシ樹脂包埋し、超薄した後、400倍希釈抗体で1時間処置し、ヤギ抗ウサギIgG抗体標識金コロイドで染色して透過型電子顕微鏡で観察した。③免疫学的検討：抗原の交差性はオクタロニー法を用いて検討した。雌雄ラットの腎臓、肝臓、顎下腺、尿および血漿は抗血清と反応させ、その沈降線を観察した。

[結果]

①免疫組織化学的検討：1)腎臓；雄ラットでは免疫組織化学的染色を行った結果、 $\alpha 2u$ -globulinは近位尿細管上皮にみられる硝子滴に局在していた。雌ラットでは硝子滴はみられないが、LMBBF (Lee's methylene bluebasic fucsin)染色陽性の小顆粒が近位尿細管上皮にみられ、それらは $\alpha 2u$ -globulin免疫染色陽性であった。 $\alpha 2u$ -globulinの免疫組織化学的反応は一次抗体で反応させなかった場合、 $\alpha 2u$ -globulinで吸収した抗体あるいは正常ウサギ血清を用いた場合でも陰性であり、抗体の特異性が認められた。2)肝臓；雄では小葉中心性に $\alpha 2u$ -globulin免疫染色陽性の肝細胞がみられたが、雌では陽性の肝細胞はみられず、 $\alpha 2u$ -globulinの局在に雌雄差がみられた。3)顎下腺；雌雄で導管上皮が $\alpha 2u$ -globulin免疫染色陽性であったが、腺細胞は陰性であった。②免疫電子顕微鏡的検討：雌雄腎臓において $\alpha 2u$ -globulinの存在を示す金粒子が近位尿細管上皮のライソゾーム中にみられたが、好酸性小体中にはみられなかった。③免疫学的検討：雄では沈降線は、抗血清と腎臓、肝臓、顎下腺、尿および血漿の間にみられた。雌では沈降線は抗血清と腎臓、顎下腺および尿の間にみられたが、肝臓及び血漿の間にはみられなかった。したがって、雌ラットにおいても雄ラット由来の $\alpha 2u$ -globulinと免疫学的に交差性のある蛋白が存在するものと考えられた。

以上の結果から、雌ラットの尿中および顎下腺には $\alpha 2u$ -globulinあるいは同じ抗原性を有する類似蛋白が存在し、雌ラット腎臓では硝子滴は存在しないが、 $\alpha 2u$ -globulinを含む小顆粒 (ライソゾーム) が存在することが明らかになった。

ラットの自然発生性下垂体前葉および中間部腺腫の
ホルモン産生に関する免疫組織化学的検討

小笠原裕之、今井田克己、林 修次、古田京子、畝山智香子、
三森国敏、高橋道人 (国立衛試・病理)

〔はじめに〕

ラット下垂体前葉の自然発生腫瘍には、プロラクチン産生腺腫が最も多いが、複数のホルモンを産生する多ホルモン産生腺腫の存在も報告されている。一方、中間部腫瘍に関してホルモン産生を検索した例は今までにない。今回、F344ラットの自然発生下垂体前葉および中間部腺腫のホルモン産生に関する細胞生物学的特徴を明らかにする目的で、下垂体腺腫を免疫組織学的に検索した。

〔材料および方法〕

対象は、2年間のがん原性試験の無処置対照群、雄50例、雌50例を用いた。ホルマリン固定の下垂体について常法に従いパラフィン薄切片を作製し、病理組織学的に腺腫の有無・組織型を検索、以下のホルモンの腫瘍内局在についてABC法にて免疫組織化学的検索を行なった。

ポリクローナル抗体：プロラクチン(PRL)、成長ホルモン(GH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、黄体刺激ホルモン(LH)、メラニン細胞刺激ホルモン(α -MSH)、(全て群馬大学・内分泌研究所より供与)

〔結果〕

下垂体前葉または中間部の腺腫と診断された27/100例のうち直径5mm以上は8例、5mm以下が19例、また、黒赤～褐色腫瘍が23例、充実性黄白色腫瘍が4例であった。組織型は、前葉腺腫が雄5/50例(10%)、雌20/50例(40%)、中間部腺腫が雄0/50例(0%)、雌2/50例(4%)であった。前葉腺腫は、シート状配列を示し、多くの症例で血管拡張を伴っていた。腫瘍細胞の胞体は多くが微細顆粒状で、色素嫌性のものは少なく弱い好酸性、好塩基性または両染色性であった。中間部腺腫は、2例とも胞巣状配列を示し、胞体は微細顆粒状で弱好塩基性または両染色性であった。

免疫組織化学的検索の結果、前葉腺腫のうちPRL陽性72%、PRL/GH陽性16%、PRL/TSH陽性4%および陰性8%、中間部腺腫は2例とも α -MSH/ACTH陽性であり、他のホルモンは陰性であった。腫瘍細胞の各種抗体に対する反応性は、正常細胞より弱い傾向があった。PRL/GH陽性の腺腫について同一切片にて二重染色を行なった結果、同一細胞に両ホルモンのco-expressionを認めた。一方、他試験で認められた中間部腺腫1例についても検索したが、腫瘍組織は α -MSH/ACTH陰性であった。

〔考察〕

今回、PRLを含む多ホルモン産生腺腫が数例認められ、二重染色により同一細胞内に異なるホルモンの産生を認めた。多ホルモンの生合成の細胞内局在を明らかにするためにはさらに免疫電顕による検索が必要である。また、いずれの抗体にも陽性を示さない腺腫を2例認めたが、これら null cell adenoma の細胞生物学的意義は今後の検討課題である。中間部腺腫の発生率は、NTPの背景データによると極めてまれ(0.1~0.2%)である。今回の結果から、中間部腺腫にはホルモン産生能があるものとなないものがあることが明らかになったが、今後さらに症例を集めホルモン産生に関して検索する必要がある。

90. ハロペリドール投与による雌イヌの乳房の組織変化と性周期の関係について

○内海 博之, 富高 裕二, 奥田 教隆, 奥村 克彦, 中村 忠男,
丸山 裕 (吉富製薬 安全性研究所)

[はじめに]

ハロペリドールなどの向精神薬を雌のマウスやラットに大量投与すると、ドーパミン受容体遮断作用に基づく性腺刺激ホルモンの分泌抑制やプロラクチンの放出により、子宮の萎縮や乳房の肥大など、一連の異常を雌性生殖器にきたすことが知られている。一方、イヌでは同じ薬物を同じ投与量投与しても、雌性生殖器の形態学的変化は個体により様々で、特に乳房の変化については、肥大し乳汁を分泌するものから全く発達しないものまで認められている。今回演者らは、このような組織変化の原因が、薬物投与を開始する時期の動物の性周期のステージに基づくものと考え、抗精神病薬のハロペリドールを異なる性周期ごとに投与し、乳腺の形態学的変化の違いと性ホルモンの関連について検討した。

[材料および方法]

動物はLRE-Hazleton供給の雌ビーグル犬8匹(9~19ヶ月齢)を用いた。実験群は投与開始時期により、I群-未成熟期(初回発情出血前)、II群-発情後期(初回発情出血停止から8~10日後)、III群-無発情期(初回発情出血停止から105~128日後)の3群に分け、それぞれの動物(各群2例)にハロペリドールの3mg/kgを1日1回連続経口投与した。投与期間は5週間とし、継時的な血清中性ホルモンの測定(プロラクチン、プロゲステロン)と乳房の肉眼的観察を行い、投与期間終了後、乳腺の病理組織学的検査を行った。また、無処置動物(2例)について血清中性ホルモンの測定を行った。

[結果および考察]

1. 性ホルモンの測定

プロラクチンはI、II、III群のいずれの実験群においても、投与前に比べ投与1~5週目に高値を示した。プロゲステロンはIとIII群では投与前および投与期間を通じて低値を示し、II群は投与前より高値を示した。また、無処置動物では、性周期に関係なくプロラクチンは一定して低く、発情期から発情後期にかけてプロゲステロンは高値を示した。

2. 乳房の肉眼的観察および乳腺の病理組織学的検査

I群では投与期間を通じて、乳房の発達および乳汁分泌はみられず、組織学的にも乳管および乳腺の形成は認められなかった。II群では投与開始2、3週目より乳房の肥大と乳汁の分泌がみられ、組織学的には著しい乳腺胞の過形成(妊娠様)が認められた。III群では乳房の発達はみられなかったが、投与開始2週目より乳汁分泌が認められた。組織学的には乳管の拡張と退縮した乳腺が認められた。

以上の結果より、ハロペリドール投与による雌イヌの乳腺の形態学的変化には、投与開始時の動物の性周期のステージ、特にそれに伴う性ホルモンの環境が大きく関与することが示唆された。



SHIN NIPPON BIOMEDICAL LABORATORIES, LTD.

Quality and Good Technology

医薬・動物用医薬・医療材料・農薬・化学物質・化粧品・食品添加物等の各省庁GLPに適合した安全性試験・安衛法及び化審法に基づく変異原性試験を実施します。最終報告書は邦文・欧文（海外申請用）のいずれでも対応します。ビーグル・サルは常時予備飼育しており、随時試験が実施できます。

受託試験項目

特殊毒性試験

- ・サルを用いた生殖毒性試験
- ・ビーグル・ラットの吸入毒性試験
- ・ビーグル・サルの肝生検による肝毒性試験
- ・吸入麻酔薬に関する試験
- ・骨髄毒性試験
- ・老齢ビーグルを用いた試験
- ・幼若ビーグルを用いた試験

特殊投与経路による試験

- ・カテーテルによる心冠状動脈内投与試験
- ・肝動脈内投与試験
- ・骨内埋没手術
- ・人工関節置換手術
- ・膀胱内投与試験
- ・腔内・直腸内投与試験
- ・無麻酔下長時間反復静脈内投与試験
- ・無麻酔下気管内投与試験
- ・脳室内投与試験
- ・関節内投与試験
- ・血液人工透析試験

各種実験動物を用いた単回・反復毒性試験

- ラット・ウサギを用いた生殖・発生毒性試験
- 眼・粘膜・皮膚・血管刺激性試験
- ラット・マウスを用いた癌原性試験
- 抗原性試験
- 変異原性試験
- 感作性試験
- 一般薬理試験
- Bioavailabilityに関する試験

特殊薬理試験

- ・不随意運動に関する中枢薬理試験
- ・サルを用いた子宮収縮・流産誘発試験
- ・サルを用いた依存性試験

コンサルタント

- ・ビーグル・サル等のバックグランドデータに関する相談
- ・ビーグル・サルを用いた一般毒性試験、吸入試験に関する研究・企画の相談
- ・生殖毒性に関する研究・企画の相談
- ・腫瘍病理診断の相談(米国NTP関係病理研究所と提携)
- ・毒性病理学研究者の米国派遣に関する留学案内

In order that human beings and animals may live in good health and further vitality

株式会社 新日本科学

お問い合わせ先

本社：〒891-13 鹿児島郡吉田町宮之浦2438 ☎ 0992-94-2600
統括本部：〒890 鹿児島市鴨池町1876番地の3 ☎ 0992-58-7788
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 ☎ 03-663-5028
大阪支社：〒532 大阪市淀川区西中島5-6-13御幸ビル ☎ 06-390-5768

東京事務所/宮崎支社/アメリカ支社(ワシントンDC)/イギリス支社(ロンドン)/インドネシア支社(ジャカルタ)

ハイ! ニーズ

needs



実験動物総合受託事業

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する



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

TEL03-3384-9013 FAX03-3384-9150

大阪府大阪市天王寺区悲田院町8-26

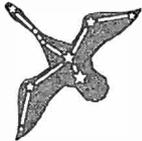
天王寺センターハイイツ901

TEL・FAX06-772-6070

福岡県福岡市早良区内野1298-5

TEL092-804-0039 FAX092-804-4351

効能・効果 追加承認



■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性菌による下記感染症

- ◆敗血症 ◆肛門周囲膿瘍 ◆骨髄炎、関節炎、外傷・手術創などの二次感染
- ◆咽喉頭炎、急性気管支炎、扁桃炎(扁桃周囲炎、扁桃周囲膿瘍)、慢性気管支炎、気管支拡張症(感染時)、慢性呼吸器疾患の二次感染 ◆腎盂腎炎、膀胱炎 ◆胆のう炎、胆管炎、肝膿瘍 ◆腹膜炎(含、骨盤腹膜炎、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 ◆角膜潰瘍、眼窩感染、全眼球炎 ◆中耳炎、副鼻腔炎

□ 1990年8月、追加承認された効能・効果

■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時間て注射する。

※ 使用上の注意については、添付文書をご参照ください。

製造
Lederle
日本レダリー株式会社
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
大阪府中央区道修町二丁目3番6号

セフェム系抗生物質製剤

静注用
コスモン[®]
1g, 0.5g, 0.25g

Cosmosin[®]

日抗基 注射用セフゾナムナトリウム (略号:CZON) 薬価基準収載

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.

【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。

。組織標本作製

病理組織学検査

【酵素抗体法】

CEA、NSE、MT-1、MB-1、S-100、AFP、Keratin、Myoglobin、Desmin、他。

薬理試験

(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

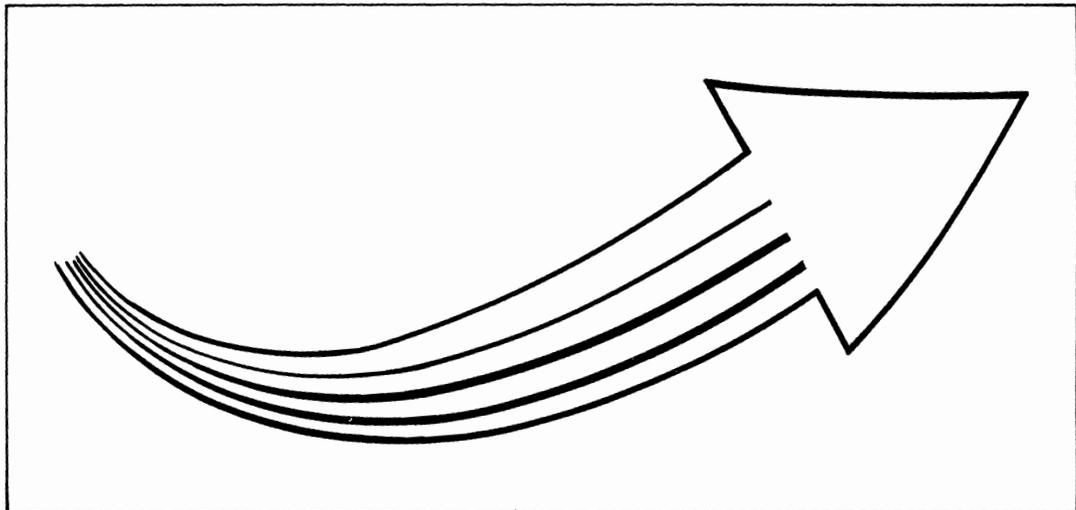
Tel 011-563-6215

所 長 小野江為則

研究部長 竹内 雅也

組織標本作製、組織検査から最終報告書まで

—よきパートナー、サイエンティフィックテクニシャンを目指して—



受託業務

組織標本作製

- ・ヘマトキシリン・エオジン重染色標本作製
- ・特殊染色標本作製
- ・酵素抗体法標本作製
- ・その他

組織学的検査

- ・GLPに則った病理組織学的検査
- ・開発スクリーニングにおける病理組織学的検討
- ・作用メカニズム、作用部位等の基礎検討における組織学的検討
- ・病態動物における組織学的検討
- ・その他

安全性研究コンサルタント

- ・研究企画から最終報告書まで

秘密は完全に守ります

迅速、廉価です

このような時に御用命下さい

- ・標本作製、組織学的検査を一括委託したいとき
 - ・実験が立て込んで期限に間に合わないとき
 - ・病理要員が急に不足したとき
 - ・安全性研究以外で病理設備・要員のいない研究室
- ※切り出し、包埋、薄切、染色、検査のどの段階からお引き受けいたします。

サンプル、標本、報告書の受発送は

航空便で当日着きます。

宅配便で九州・関西地区は翌日、関東地区は翌々日に着きます。

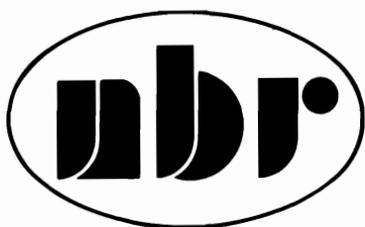
※輸送中に固定液の組織へのほど良い浸透が行えます。

大分空港から車で10分 (打ち合わせに便利)



株式会社 **バイオ病理研究所**

〒873-05 大分県東国東郡国東町小原1200-2
TEL 0978-72-0454 FAX 0978-72-2320



受託研究施設



有効性(薬理)試験から安全性試験まで医薬品開発に信頼性のある情報・報告をお届けします。

- **薬理試験** 薬効薬理試験(中枢神経系, 呼吸・循環器系, 消化器系, その他)
一般薬理試験(一般薬理試験ガイドラインAおよびB項目)
- **安全性試験** 一般毒性試験, 生殖試験, 変異原性試験, 抗原性試験, 刺激性試験

株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所

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

北緯 43°

安全性試験 受託いたします
薬理試験

化学物質の進展とともに

安全性を追究して20余年

益々研究を重ねます

 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)

Handbook of Toxicologic Pathology

毒性病理学便覧

Ed. by **W.M. HASCHEK**, Univ. of Illinois at Urbana-Champaign, **C.G. ROUSSEAU**, Univ. of Saskatchewan, Sashatoon, Canada.

毒性病理学・病理評価・形態評価・毒性の生化学・細胞での毒性発現の生化学的機序・発ガン性・リスクアセスメント・規制、等の記述の他、各化合物を系統別にカバーし、その毒性発現機序・障害像・毒性評価を簡潔に纏めている。

病理学、衛生学、製薬・農薬分野の安全性研究業務に携わる方必携の書。

c. 1127pp, over 450 ills, 2000 ref, 8 1/2"x11", #12-330220-x, ¥36,750.-

Pathology of the Fischer Rat

: Reference/Atlas

フィッシャーラット毒性病理診断アトラス

G.A. BOORMAN, et al. (ed.)

★鮮明な症例写真が多数掲載され、かつ、適切に挿入されている。

★病理学事項の記載の他に、Fisher系ラットの解剖、正常組織、生理と機能が簡潔明瞭に述べられており、標本を鏡検する為の最低限の知識が容易に把握できる。

★既存の薬物で誘発される病変とその組織像について解説した、Toxicologic Lesionsの項。

★病理組織標本鏡検時に必備。

581pp, A4変型, ¥26,250.-

Handbook of In Vivo Toxicity

: Principles, procedures and practices

In Vivo 毒性試験ハンドブック

Daniel R. Krewski, **Harold C. Grice**, **Diyglas L. Arnild**, (Ed.)

実験の計画から結果の総合評価に至る毒性試験の全過程と、GLP規制、試験法ガイドラインの各項目とその背景となる科学的根拠について、毒性試験についてその意義・理論・実感を熟考しつくした研究者が、日頃求めているながら、類書では十分な情報が得られない事項を詳細にまとめた名著。

663pp, B5判, ¥22,050.-

Handbook of Pesticide Toxicology

農薬毒性便覧：農薬毒性の基礎と臨床，全3巻

W.J. Hayes, Jr., **E.R. Laws, Jr.**

投与量と毒性、代謝、診断と処置、予防、家畜・野生動物・ヒトへの影響等、農薬の毒科学を扱う第1巻の他、第2・3巻では、250種超の殺虫剤、除草剤、殺菌剤を11分類し、そのグループの毒物学的特徴を記述するとともに、それぞれの化合物に就いてその、同定、特性、使用法、実験動物に於ける毒性、人体に対する有害影響、中毒症例とその治療法等に就いて最新のデータを提供している。

1560pp, A4変型, セット価 ¥73,500.-

記載の価格は、'91年11月現在のものです(税別)。

A N N O U N C I N G F R O M



Academic Press

Harcourt Brace Jovanovich, Inc.

株式会社 HBJ

〒102 東京都千代田区一番町22-1 一番町セントラルビル Tel. 03-3234-3911(代) Fax. 03-3265-7186

第 8 回 日本毒性病理学会 講演要旨集

第 8 回 日本毒性病理学会

— 奈良県立医大・平成 4 年 1 月 23・24 日 —

● 編集 小 西 陽 一
代表者

● 発行 第 8 回日本毒性病理学会事務局
〒634 奈良県橿原市四条町840
奈良県立医大附属がんセンター腫瘍病理内
TEL. 07442-2-3051 (内3276)

● 印刷 ナショナル印刷株式会社
〒166 東京都杉並区和田 1 - 14 - 3
TEL. 03-3383-6221(代)
FAX. 03-3380-8287

平成 3 年 12 月 20 日

HRC

HUNTINGDON RESEARCH CENTRE

30 years serving the Pharmaceutical, Agrochemical,
Chemical, Food and Biotechnology Industries

The widest range of Contract Services in:

- Toxicology
- Metabolism
- Pharmacology
- Chemistry
- Genetic Toxicology
- Microbiology
- Environmental Studies

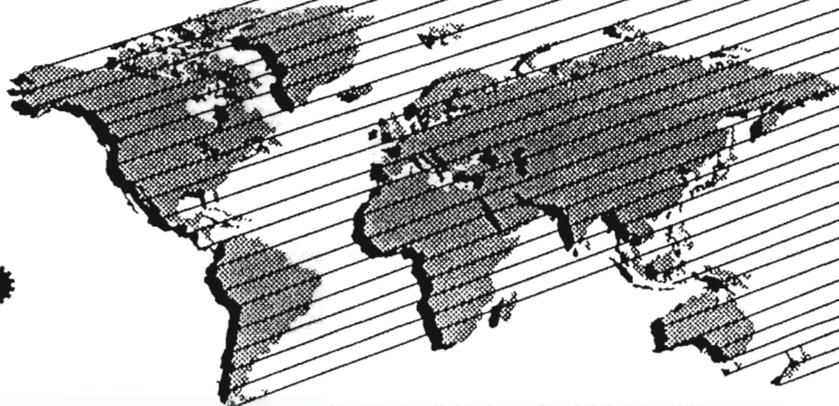
– Service and Quality –

ハンティンドン リサーチ センター
日本連絡事務所
東京都港区芝公園 1-6-8
泉芝公園ビル 8F (〒105)

Tel: (03) 436-4446
Fax: (03) 436-5826

Huntingdon Research Centre Ltd.,
Huntingdon,
Cambridgeshire,
PE18 6ES,
England.

Tel: + 44 (480) - 890431
Fax: + 44 (480) - 890693



THE CENTRE OF EXCELLENCE