

第9回日本毒性病理学会

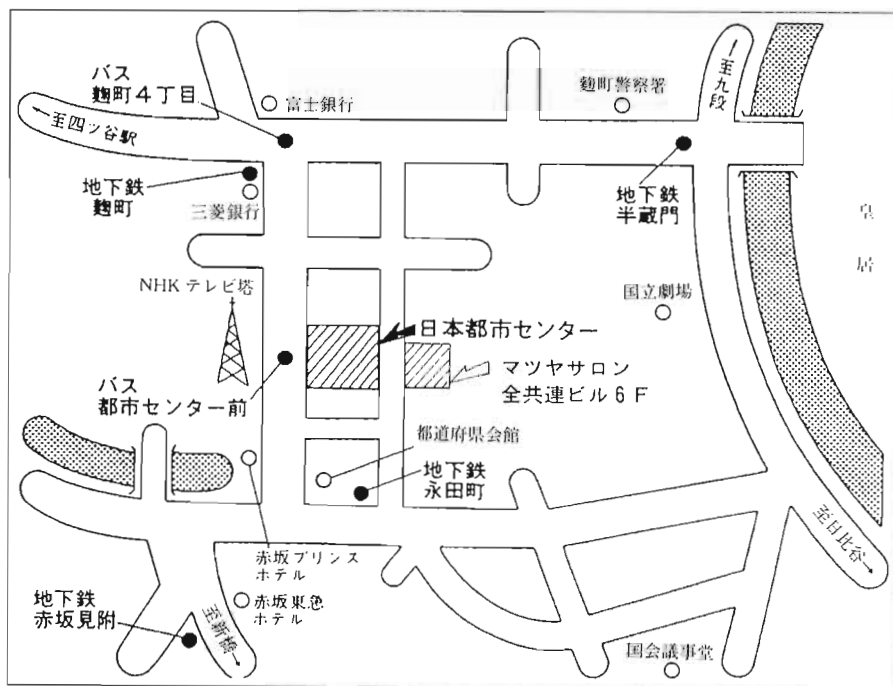
講演要旨集



1993年1月21,22日

東京

会場ご案内



交通のご案内

- 地下鉄・有楽町線「麹町駅」または「永田町駅」下車徒歩約3分
- 地下鉄・丸の内線または銀座線「赤坂見附駅」下車徒歩約6分
- 地下鉄・半蔵門線「永田町駅」下車徒歩約5分
- JR（中央線）「四ツ谷駅（麹町口）」下車徒歩約15分
- 都バス（橋63 新橋→大久保）「平河町二丁目（都市センター前）」下車
- 都バス（銀71 新橋→銀座）「麹町四丁目」下車徒歩約3分
- タクシー 四ツ谷駅より約5分、東京駅または新橋駅より約15分

学会会場：「日本都市センター」

東京都千代田区平河町2-4-1

TEL 03-3265-8211

講演会場：大ホール（3、4階）

示説会場：第1講堂（1階）

スライドコンファランス会場：「日本都市センター」大ホール（3、4階）

懇親会会場：「マツヤサロン」

東京都千代田区平河町2-7-9 全共連ビル6階

TEL 03-3265-3301

評議員会会場：「日本都市センター」地下洋食堂

第9回日本毒性病理学会

1. 期 日 1993年1月21日(木), 22日(金)
2. 会 場 日本都市センター
3. 会 長 土井 邦雄 (東京大学農学部)
4. プログラム委員会
委員 長 榎本 真 (安評センター)
委 員 堤 雅弘 (奈良医大)
奈良間 功 (摂南大)
真板 敬三 (残農研)
前川 昭彦 (佐々木研)
松沼 尚史 (三共・安全研)
(50音順)
5. 日 程
第1日 1月21日(木)
8:55-9:00 開会挨拶
9:00-11:00 一般講演 (1~12)
11:00-12:00 特別講演
12:00-13:00 昼食・評議員会
13:00-14:00 示 説* (P-1~P-35)
14:00-17:30 一般講演 (13~33)
18:00-20:00 懇親会
第2日 1月22日(金)
9:00-11:30 一般講演 (34~48)
11:30-12:00 招待講演
12:00-12:10 総 会
12:10-13:00 昼 食
13:00-14:00 示 説* (P-36~P-69)
14:00-15:30 一般講演 (49~57)
15:30-17:45 シンポジウム (S-1~S-4)
17:45-17:50 閉会挨拶
*示説 展示 10:00-17:00 質疑応答 13:00-14:00
6. 事務局 東京都文京区弥生1-1-1
東京大学農学部
実験動物学教室 板垣 慎一
TEL 03-3812-2111 (内線 5037, 5038)
FAX 03-5800-6926

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	一般講演
1	東京	西山保一(北里学園)	1985, 3, 25	2	0	0
2	東京	藤原公策(東大)	1986, 2, 7~8	1	5	29
3	名古屋	伊東信行(名市大)	1987, 2, 6~7	1	8	47
4	浜松	榎本真(安評セ)	1988, 2, 5~6	1	7	55
5	横浜	蟹澤成好(横市大)	1989, 1, 27~28	1	6	53
6	札幌	板倉智敏(北大)	1990, 2, 13~14	1	6	80
7	東京	林裕造(国立衛試)	1991, 1, 17~18	1	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	
9	東京	土井邦雄(東大)	1993, 1, 21~22	2 (含招待講演)	4	126

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, 2日とも午前8時30分から都市センターホール1階ロビーにて行います。
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。

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. プロジェクターは35mm判用を1台用意します。
3. 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20枚以内をお願いします。
4. 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。
5. 講演時間は厳守して下さい。

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

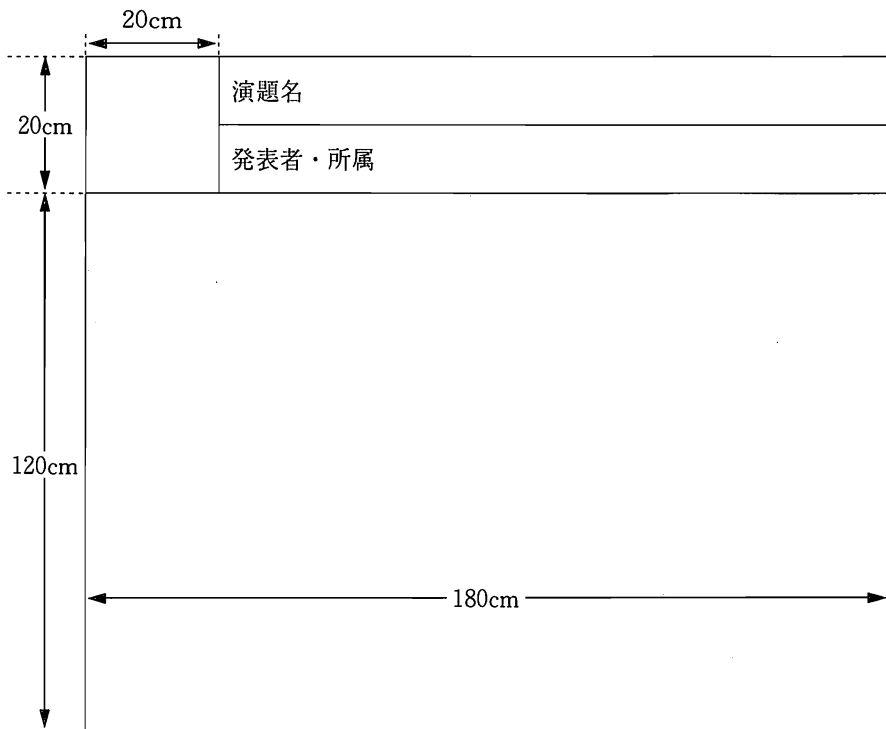
1. 総会は学会第2日の12時00分より大ホールにて行います。
2. 評議員会は学会第1日の12時より都市センター地下洋食堂にて行います。

懇親会のご案内

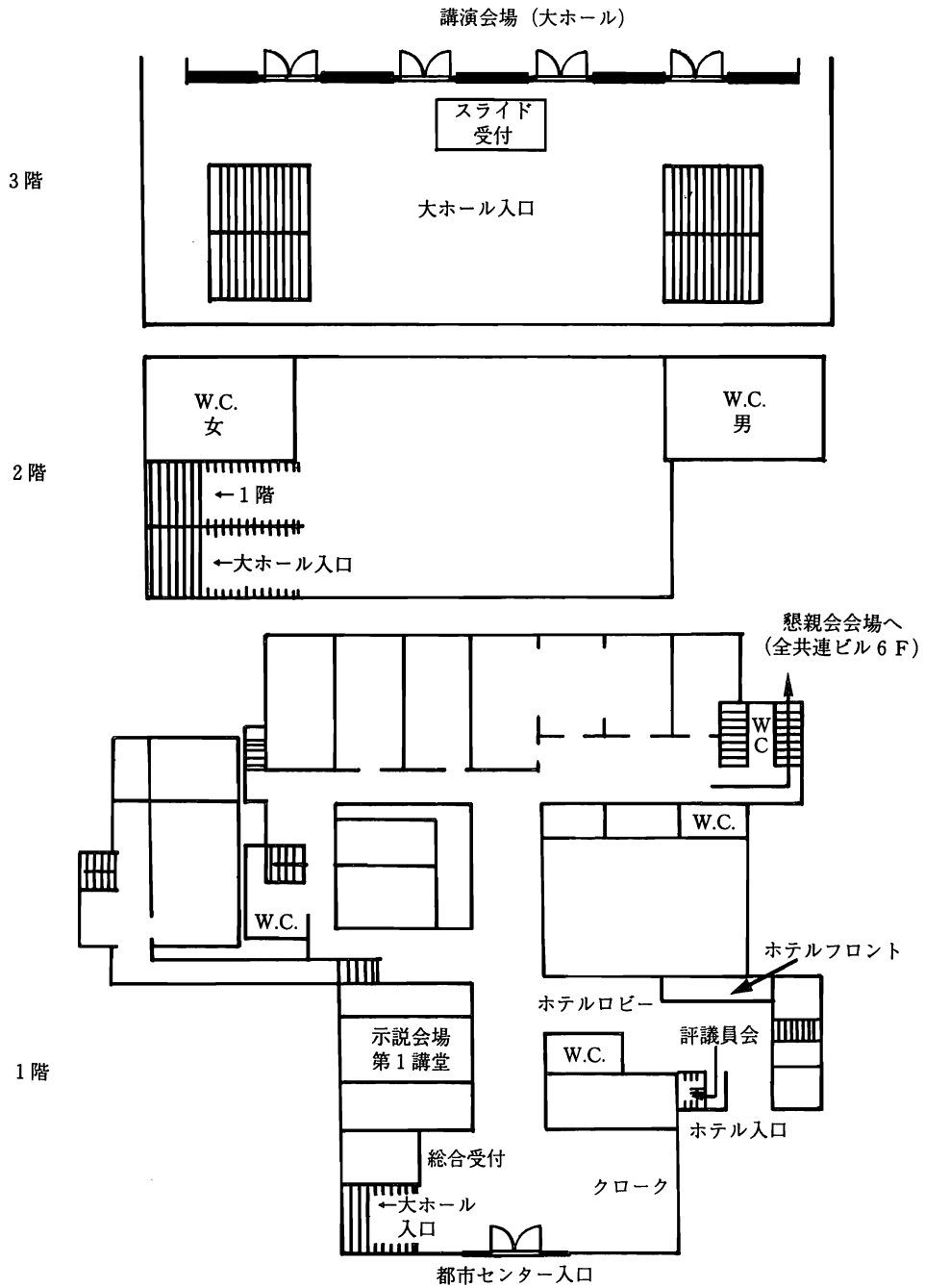
1. 懇親会は学会第1日の18時から20時まで全共連ビル(都市センター向い)の6階マツヤサロンにて開催します。
2. 懇親会へ出席の方は学会第1日17時までに学会会場受付にてお申し込み下さい。
会費は6,000円です。
3. 学会会場のクロークは18時で閉鎖しますので、以降は懇親会会場のクロークをご利用下さい。

示説をされる方へ

1. 示説の受付は9時30分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、10～17時ですが、13時～14時の間発表者は必ず会場に居て参加者からの質疑に応じて下さい。
3. パネルの大きさは縦140cm、横180cmです（下図参照）。
4. 展示には学会で用意した画鋏などを使用して下さい。
5. 演題名、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）。



会場内案内図



特別講演，招待講演とシンポジウムプログラム

特別講演

- 第1日（1月21日） 11：00～12：00 座長：榎本 眞（安評セ）
毒性試験ガイドラインの国際調整と近代化に必要な研究課題 1
林 裕造（国立衛試・病理）

招待講演

- 第2日（1月22日） 11：30～12：00 座長：藤原 公策（日大・農獣医）
韓国における毒性病理学 3
李 栄純（ソウル大）

シンポジウム

- 第2日（1月22日） 15：30～17：45 司会：前川 昭彦（佐々木研・病理）
真板 敬三（残農研）
- 雄性生殖器毒性
- S-1. 哺乳動物の精子発生に関する最近の知見 5
○林 良博・九郎丸正道（東大・農）
- S-2. 実験動物の雄性生殖器とくに精巣にみられた自然発生病変 6
○宮 眞宏彰，林 新茂（武田薬品・薬安研）
- S-3. 精巣毒性の発現機序 7
高橋道人（国立衛試・病理）
- S-4. 精巣毒性の検出法 8
岡宮英明（山之内製薬・安全研）

一般講演プログラム

第 1 日 (1月21日)

- 9 : 00 ~ 9 : 20** 座長：藤田常夫 (小野薬品・福井安全研)
1. SHR 心筋における oxygen radical 防禦能異常 9
○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)
 2. 高血圧自然発症ラット (SHRs) の動脈病変の発生に及ぼす持続性カルシウム拮抗剤の
影響 10
○泉澤信行, 渡部浩治, 岡宮英明, 花田貴宣, 三木寿雄 (山之内製薬・安全研)
- 9 : 20 ~ 9 : 50** 座長：今井 清 (食薬安全セ・秦野研)
3. テオフィリン投与 Fischer 344ラットの動脈病変の病理組織学的研究 11
○鳥海 互, 時任康弘, 大町 康, 久保田美穂, 北村和之, 八十島昭, 岩崎 仁 (田辺
製薬・薬物代謝研)
 4. B6C3F₁担乳癌マウスの心臓に自然発生する血管内皮細胞増生
—第2報：誘発性病変との比較— 12
○岩田 聖, 三上真一, 志賀敦史, 山川誠己, 広内康彦, 小林和雄, 榎本 眞 (安評セ・
病理)
 5. Phenobarbital 投与によるラット肝臓内 Glucose-6-phosphatase の変動 13
○田村一利¹, 五藤裕子¹, 市川裕子¹, 津田裕一¹, 合川孝幸¹, 今井敬子¹, 佐々木博之²,
田中寿子² (¹ボゾリサーチ, ²慈恵医大・医科研・微細形態)
- 9 : 50 ~ 10 : 30** 座長：津田洋幸 (保衛大・医・2 病理)
6. クエン酸カリウムによる EHEN 腎発癌の修飾作用, 特にその抑制効果について
..... 14
○小西 登, 林 功, 中岡伸悟, 松本恭一, 西井清治, 北堀吉映, 日浅義雄 (奈良医大・
2 病理)
 7. リン酸塩による腎毒性と EHEN 腎発癌の修飾作用 15
○林 功, 小西 登, 中岡伸悟, 松本恭一, 西井清治, 北堀吉映, 日浅義雄 (奈良医大・
2 病理)
 8. 臭素酸カリウムのラット腎発癌機構における細胞増殖の役割 16
○梅村隆志, 佐井君江, 高木篤也, 長谷川隆一, 黒川雄二 (国立衛試・毒性)
 9. SD/cShi ラットにおける BBN 腎盂癌の発生とその投与期間による差異 17
○松田 勉¹, 森 聖², 村井 隆¹, 山本晋史¹, 武内康義², 牧野 進², 林 幸之², 福
島昭治¹ (¹大阪市大・医・1 病理, ²塩野義製薬・油日ラボ)

10:30~11:00 座長：**渡辺満利**（持田製薬・安全研）

10. マレイン酸投与によるラット腎障害の発症と組織過酸化の関与について 18
○山田久陽¹, 杉浦正幸¹, 村上美穂子¹, 中川慎也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)
11. 脱水ラットにおける腎乳頭部病変発生に関わる内因の検討 19
○松崎勝寛, 仲野善久, 篠原基輝, 原 敦子（日本ケミファ・研）
12. 亜鉛欠乏・カドミウム長期負荷によるラット腎臓および骨に及ぼす影響 20
○田中雅弘, 柳 雅史, 杉本次郎, 代田欣二, 宇根有美, 野村靖夫, 政岡俊夫, 赤堀文昭（麻布大・獣医）

————— 昼 食 —————

14:00~14:30 座長：**渡辺敦光**（広島大・原医研・癌）

13. ラット顎下腺の死後変化と Na, K-ATPase 活性について 21
○伊藤隆康, 安藤孝夫, 城塚康毅, 宮寛宏彰（武田薬品・薬安研）
14. 若齢 B6C3F1マウスの前胃に観察された潰瘍および扁平上皮増生について 22
○廣内康彦, 萩原 孝, 杉浦ひろ子, 磯部香里, 各務 進, 山本利男, 井上博之, 榎本真（安評セ）
15. ラット残胃病変における腸型アルカリフォスファターゼの免疫組織化学 23
○今井俊夫¹, 岩田 仁², 山本昌美², 小川久美子³, 立松正衛^{1,2} (¹愛知がんセ・研・1病理, ²同・超微, ³名古屋市大・医・1病理)

14:30~15:00 座長：**原田孝則**（残農研）

16. MNU 飲水投与によるマウス腺胃癌の細胞分化 24
○岩田 仁¹, 山本昌美¹, 今井俊夫², 湯浅啓史², 深見博子¹, 立松正衛^{1,2} (¹愛知がんセ・研・超微, ²同・1病理)
17. オクタ酸クラス発癌プロモーターのマウス消化管上皮細胞に対する増殖効果 25
○湯浅啓史^{1,3}, 山本昌美², 岩田 仁², 今井俊夫¹, 藤木博太⁴, 立松正衛^{1,2} (¹愛知がんセ・研・1病理, ²同・超微, ³田辺製薬・安全研, ⁴国立がんセ・研・がん予防)
18. 水道水混入物質 MX のラット胃粘膜細胞増殖活性および脂質過酸化に及ぼす影響 26
○三井雅之¹, 西川秋佳¹, 古川文夫¹, 榎並倫宣¹, 長谷川亨², 木苗直秀³, 高橋道人¹
(¹国立衛試・病理, ²佐賀医大・地域保健, ³静岡県大・食品栄養)

15:00~15:40 座長：**立松正衛**（愛知がんセ・研・1病理）

19. イヌ胃粘膜に対する食塩の影響 27
○三沢保幸, 海野正子, 伊藤恒夫, 田村博志, 鈴木繁生, 二木力夫（中外製薬・安全研）

20. ラットにおける MNNG の消化器発癌に対するストレスの影響 28
 ○北澤利明¹, 原田孝則¹, 木下三佳¹, 吉田敏則¹, 真板敬三¹, 長谷川亨², 清水義治³
 (¹残農研, ²佐賀医大, ³埼玉医大)
21. 瀉下薬によるラット大腸の粘膜上皮増殖亢進と血管透過性亢進およびプロスタグランジ
 ンとの関係 29
 ○豊田和弘, 畝山智香子, 林 修次, 古田京子, 松井 元, 川西 徹, 高橋道人 (国立
 衛試・病理)
22. キメラマウス大腸発癌過程の系統特異抗体による検索 30
 ○山本昌美¹, 岩田 仁¹, 湯浅啓史², 深見博子¹, 日下部守昭³, 坂倉照好³, 立松正衛
^{1,2} (¹愛知がんセ・研・超微, ²同・1 病理, ³理研・筑波セ・真核生物)
- 15:40~16:10 座長:松沼尚史 (三共・安全研)**
23. 生体内埋植物質に対する組織反応の病理学的研究
 第2報 ウレタンとシリコンに対する組織反応の比較 31
 ○永田伴子, 斉藤義明, 川島二三江, 丸茂秀樹, 山口 肇, 吉村慎介, 今井 清 (食薬
 安全セ・秦野研)
24. 増殖細胞核抗原 (PCNA) 免疫染色における染色性の復活 32
 ○古川文夫, 鈴木順子, 今沢孝喜, 三井雅之, 西川秋佳, 高橋道人 (国立衛試・病理)
25. 制限給餌下の SD 系ラットにおける体重と臓器重量 33
 ○井手幸晴, 内本啓史, 河南明孝, 吉田 陽, 田村博信, 鷺見信好 (日本新薬・安全研)
- 16:10~16:40 座長:長野嘉介 (日本バイオアッセイ研究セ)**
26. 犬の鼻腔構造及び鼻粘膜における毒性評価 II 34
 ○渡邊 厚, 白岩和己, 佐藤則博, 小川慎一, 三浦昌己, 甲斐清徳, 一條和幸, 渋谷千
 征 (旭化成工業・病理)
27. Pathological Study of the Effects of Verapamil on the Pulmonary Lesions Induced by
 Bleomycin in Rats. 35
 Jong Koo Kang¹, Dae Joong Kim², Yong Soon Lee³ and Joon Sup Lee³ (¹Dept. of Vet.
 Histol., College of Agr., Chungbuk Natl. Univ., Cheongju, ²Dep. of Pathol., Natl. Inst.
 Safety Res., Seoul, ³College of Vet. Med., Seoul Natl. Univ., Suwan, KOREA)
28. プレオマイシン誘発によるハムスターのびまん性肺胞障害に対する抗酸化剤の抑制効果
 36
 ○榎並倫宣¹, 西川秋佳¹, 古川文夫¹, 三井雅之¹, 吉村博之¹, 福島昭治², 高橋道人¹
 (¹国立衛試・病理, ²大阪市大・医・1 病理)
- 16:40~17:10 座長:今井田克己 (名市大・医・1 病理)**
29. Antioxidant Biofactor (AOB) による農薬パラコート急性中毒の予防および解毒
 37
 平井圭一, 王 国英 (金沢医大・解剖 I)

30. 1, 4-Dioxane の13週間経口投与によるラット及びマウスの呼吸器への影響 38
 ○妹尾英樹, 櫻 ゆみ, 片桐 卓, 相磯成敏, 長野嘉介, 山内勝彦, 松本道男, 榎本真 (バイオアッセイ研究セ)
31. ウレタン投与によるマウス肺腫瘍の生物学的特性—Argyrophil nucleolar organizer regions (AgNORs) を用いた増殖能の評価 39
 ○金子真弓, 栗原寛治, 有広光司, 武島幸男, 井内康輝 (広島大・医・2病理)

17:10~17:30 座長: **飯田昌敏** (大日本製薬・総合研)

32. 脂質過酸化生成物 *trans*-4-hydroxy-2-nonenal のラットにおける急性毒性 40
 ○西川秋佳¹, Fung-Lung Chung², 古川文夫¹, 今沢孝喜¹, 榎並倫宣¹, 三井雅之¹, 高橋道人¹ (¹国立衛試・病理, ²American Health Foundation)
33. カドミウム投与による歯牙組織の壊死 (卵巣摘出ラットを用いた13週間静脈内投与試験より) 41
 ○勝田 修^{1,2}, 平塚秀明¹, 松本順子¹, 土谷 稔¹, 梅村孝司² (¹三菱化成・安科研, ²鳥取大学)

第 2 日 (1月22日)

9:00~9:30 座長: **三森国敏** (国立衛試・病理)

34. 実験的チオフェン投与に対する SHR と WKY の易損性の比較 42
 ○森 文秋, 高屋豪瑩, 吉田泰二, 中村清純 (弘前大・脳研・神経病理)
35. 幼若ラットの N-methyl-N-nitrosourea (MNU) 経口投与による神経腫瘍誘発に及ぼす成長ホルモンの影響 43
 ○渡辺敦光, 藤本成明, 岡本太郎, 伊藤明弘 (広島大・原医研・癌)
36. ENU の経胎盤投与によるラット悪性神経鞘腫の免疫組織学的特徴およびその増殖動態 44
 ○北浦敬介, 渋谷 淳, 小野寺博志, 安原加壽雄, 阿瀬善也, 三森国敏, 高橋道人 (国立衛試・病理)

9:30~10:10 座長: **花田貴宣** (山之内製薬・安全研)

37. ラット甲状腺二段階発癌モデルにおける thiourea と sulfadimethoxine の複合作用 45
 小野寺博志¹, 阿瀬善也¹, 北浦敬介¹, 安原加壽雄¹, 高橋正一², 三森国敏¹, 林 裕造¹, 高橋道人¹ (¹国立衛試・病理, ²佐々木研・病理)
38. ラット甲状腺腫瘍の女性ホルモンによるプロモーション効果 46
 ○岡本太郎, 伊藤明弘, 渡辺敦光, 藤本成明 (広島大・原医研・癌)
39. ハロペリドールを投与した雌イヌにおける乳腺および子宮の組織学的変化と性周期の関係について 47
 ○内海博之, 香武哲也, 富高裕二, 奥田教隆, 奥村克彦, 中村忠男 (吉富製薬・安全研)

40. 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Ⅲ. 投与開始月齢の子宮内膜癌の発生に及ぼす影響 48
 ○吉田明由, 原田孝則, 真板敬三 (残農研)

10:10~10:40 座長: **長谷川良平** (名市大・医・1病理)

41. コハク酸のNa塩によるラット膀胱発癌プロモーションと細胞増殖 49
 ○大年辰幸, 村井 隆, 高田信康, 岩田裕之, 董 逸敏, 福島昭治 (大阪市大・医・1病理)
42. ラット及びマウス膀胱癌における浸潤度判定のためのAgNORsとPCNAの有用性 50
 ○岩田裕之, 大年辰幸, 高田信康, 村井 隆, 山口修司, 福島昭治 (大阪市大・医・1病理)
43. Uracil誘発の膀胱上皮過形成病変に対する抗成長因子の影響 51
 ○柴田雅朗^{1,2}, 白井智之¹, 高橋 智¹, 矢田英昭¹, 内藤初美¹, 伊東信行¹ (¹名市大・医・1病理, ²大阪市大・医・1病理)

10:40~11:00 座長: **奈良間功** (摂南大)

44. Heterotopic bladder における膀胱上皮再生過程について 52
 ○山本晋史, 岩田裕之, 董 逸敏, 大年辰幸, 宇和川賢, 福島昭治 (大阪市大・医・1病理)
45. カニクイザルの腎盂および膀胱の移行上皮における好酸性細胞質内封入体の超微形態および出現頻度 53
 ○佐竹 茂, 千草 豊, 宗岡 篤信, 李 建中, 岩重記洋, 下村俊郎, 吉永さと子, 永田貴久, 永田良一 (新日本科学・病理)

11:00~11:30 座長: **傅田阿由美** (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

46. Effects of Various Concentrations of Iron on the Induction of Preneoplastic Liver Foci and Their Evolution into Persistent Nodules with or without Phenobarbital (PB) Exposure in Rats 54
 Qing TANG, Ayumi DENDA, Takehiro ENDOH, Toshifumi TSUJIUCHI, Masahiro TSUTSUMI, Dai NAKAE, Yoichi KONISHI (Dep. Oncol. Pathol. Cancer Center, Nara Med. Univ.)
47. 2級アミン bis (2-hydroxypropyl) amine (BHPA), diethanolamine (DELA), 2,6-dimethylmorpholine (DMM) の生体内ニトロソ化によるラット肝イニシエーション活性の検索 55
 ○小林永策¹, 山本一彦², 堤 雅弘¹, 堀口浩資¹, 天沼利宏¹, 野口 修¹, 小西陽一¹
 (¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理, ²高知医大・口外)
48. ヌクレオシド投与による放射線誘発肝腫瘍の影響 56
 ○伊藤明弘¹, 渡辺敦光¹, 横山弘臣², 加納誠一朗², 栗栖和信², 郡 英明² (¹広島大・原医研・癌, ²大塚製薬工場)

14：00～14：30 座長：梅村孝司（鳥取大・農）

49. コリン欠乏アミノ酸（CDAA）食によるラット肝発癌に対する脂溶性ビタミンC誘導体の抑制効果 57
 ○水本靖士, 中江 大, 吉治仁志, 堀口浩資, 白岩和己, 遠藤武弘, 小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）
50. コリン欠乏アミノ酸（CDAA）食により誘発されるラット肝発癌及び肝硬変の acetylsalicylic acid（ASA）による抑制 58
 ○遠藤武弘, 傳田阿由美, 湯 晴, 堀口浩資, 田村一利, 水本靖士, 吉治仁志, 中江 大, 小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）
51. Clofibrate 投与によるラットの肝細胞動態 59
 ○田中浩二¹, Smith PF², Keenan KP², 松本浩良¹, 白居敏仁¹, 土井邦雄³（¹萬有・開発研, ²Merck Research Labs., ³東大・農・実験動物）

14：30～15：00 座長：小泉治子（前臨床医学研）

52. ラット肝前癌病変の進展とギャップ結合蛋白局在の推移 60
 ○津田洋幸¹, 松本和幸¹, 伊藤充哉¹, 長尾静子², 廣野 巖¹（¹保衛大・医・2病理, ²同・総医研・実験動物セ）
53. 薬剤誘発性マウス肝芽腫の病理学的研究 61
 ○小島 隆^{1,2}, 澤田典均², 務臺衛¹, 鐘雲², 小山田正人², 森 道夫²（¹三菱化成, ²札幌医大）
54. 3-hydroxy-4-pyrone 誘発マウス慢性肝炎の病理学的検討—新生期胸腺摘除マウスにおける肝炎発現の検討— 62
 ○北村和之¹, 鳥海 互¹, 岩崎 仁¹, 吉川博康², 吉川 堯², 岡庭 梓¹（¹田辺製薬・薬物代謝研, ²北里大・獣医・病理）

15：00～15：30 座長：藤井登志之（藤沢薬品・安全研）

55. 魚類における発癌臓器の種差 63
 木村郁夫（愛知がんセ・研ウイルス）
56. 5-Azacytidine 長期投与マウスの家系にみられた無/小眼症 64
 ○中山裕之¹, 石野知子², 石野史敏², 後藤直彰¹（¹東大・獣医病理, ²東工大・遺伝子施設）
57. カニクイザルにみられた両側性真性半陰陽 65
 ○林 新茂, 堀之内彰, 野々山孝, 宮嶋宏彰（武田薬品・薬安研）

示説プログラム

第 1 日 (1月21日)

- P-1. フリーラジカルの関与した鉄-アスコルビン酸慢性潰瘍モデルの病理組織学的検討
..... 67
○米良幸典¹, 山口 格¹, 新井金保¹, 会田浩幸¹, 米田智幸¹, 松田和夫¹, 立松正衛²
(¹ゼリア新薬工業・中研, ²愛知がんセ・研・1 病理)
- P-2. フェノール系化合物および亜硝酸誘発ラット前胃病変に対するアスコルビン酸ナトリウムの効果
..... 68
○加藤俊男, 広瀬雅雄, 河部真弓, 浅川恵美子, 崔 林, 伊東信行 (名市大・医・1 病理)
- P-3. 発癌性抗酸化剤による胃粘膜初期病変の超微形態の観察
..... 69
星谷 達^{1,2}, 岡崎修三^{1,2}, 中村 厚^{1,2}, 小川久美子², 広瀬雅雄² (¹ボゾリサーチ, ²名市大・医・1 病)
- P-4. The Modifying Effects of Dimethyl Itaconate and Sodium Chloride on the Forestomach and Glandular Stomach Carcinogenesis in Rats Treated with MNNG.
..... 70
Dae Joong Kim¹, Beom Seok Han¹, Byongwoo Ahn¹, Kook Kyung Lee¹, Jin Seok Kang, Aree Moom¹, Chang Ok Kim¹, Kwang Sik Choi¹, Ja June Jang² (¹Dept. of Pathol., Natl. Inst. Safety Res., Seoul, ²Dept. of Anat. Pathol., Korea Cancer Ctr. Hosp.)
- P-5. Azoxymethane (AOM) 誘発ラット腸管発癌における phenyl isothiocyanate (PITC), phenethyl isothiocyanate (PEITC) の修飾作用
..... 71
杉江茂幸, 奥村 中, 森下由起雄, 吉見直己, 田中卓二, 森 秀樹 (岐阜大・医・病理)
- P-6. Azaserine による無アルブミン血症ラット (NAR) における膵腺房細胞癌の発生
..... 72
○堀口浩資¹, 堤 雅弘¹, 北澤俊治², 天沼利宏¹, 田村一利¹, 白岩和己¹, 中江 大¹, 高橋正一³, 長瀬すみ⁴, 小西陽一¹ (¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理, ²旭川医大・3 内, ³佐々木研・病理, ⁴佐々木研・化学)
- P-7. ハムスター膵管癌培養細胞系の確立と遺伝子の変化の検出
..... 73
○野口 修¹, 堤 雅弘¹, 森 俊雄², 堀口浩資¹, 吉田順一¹, 高島吉治¹, 小西陽一¹
(¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理, ²奈良医大・R I)
- P-8. ユリ科食用植物に含まれる有機イオウ化合物の肝発癌修飾作用: 中期発癌性試験法 (ラット肝癌モデル) による検索結果
..... 74
○高田信康¹, 鰐淵英機¹, 大年辰幸¹, 岩田裕之¹, 長谷川亨², 中江 大³, 福島昭治¹
(¹大阪市大・医・1 病理, ²佐賀医大・地域保健, ³奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

- P-9. 非変異原性発癌物質の肝中期発癌検索法による検討 75
 ○萩原昭裕, 長谷川良平, 小木曾正, 佐野真士, 吉田康則, 伊東信行 (名市大・医・1 病理)
- P-10. 長期飼育雄 B6C3F₁マウスにみられた赤血球増多と肝細胞腫瘍および血中エリスロポエチンの関連 76
 ○堀之内彰, 林 新茂, 野々山孝, 宮嶋宏彰 (武田薬品・薬安研)
- P-11. LEC ラット肝の発癌物質感受性と肝内銅蓄積との関連 77
 佐脇正邦, 服部敦夫, 都築直人, 榎本克彦, 森 道夫 (札幌医大・2 病理)
- P-12. Biphagic Modifying Effects of Indole-3-Carbinol on Diethylnitrosamine-induced Preneoplastic Glutathione S-transferase Placental Form Positive Foci in Liver of Sprague-Dawley Rats. 78
 Boem Seok Han¹, Dae Joong Kim¹, Kook Kyung Lee¹, Byeongwoo Ahn¹, Hun Taek Kim¹, Jong Hee Bae¹, Ja June Jang², Joon Sup Lee³, Ung, Bok Bak³ (¹Dept. of Pathol., Natl. Inst. Safety Res., Seoul,²Dept. of Anat. Pathol., Korea Cancer Center Hosp.,³College of Vet. Med., Seoul Natl. Univ., Suwon, Korea)
- P-13. WY-14, 643のラット肝発癌過程における GST-P 陽性細胞発現の経時的变化 79
 ○務台 衛, 小林 潔, 藤田重晴, 佐野文子, 土屋毅幸, 大堀裕司, 杉本次郎 (三菱化成・安全研)
- P-14. Sterigmatocystin 投与によるメダカ肝に見られた腫瘍について 80
 ○原田隆彦¹, 岡崎直子¹, 神谷新司¹, 畑中 純¹, 浜崎 徹², 榎本 眞³ (¹日獣畜大・獣, ²鳥取大・農, ³安評セ)
- P-15. タンニン酸単回投与によるラット肝細胞及び腎尿管上皮細胞の超微形態学的変化 81
 ○今沢孝喜, 北浦敬介, 三森国敏, 古川文夫, 西川秋佳, 高橋道人, 林 裕造 (国立衛試・病理)
- P-16. F344ラット肝臓に対する clofibric acid の作用—若齢および老齢ラットの感受性の比較— 82
 ○矢本 敬^{1,2}, 大橋芳彦¹, 佐藤里子¹, 松本悦嗣¹, 高岡雅哉¹, 寺西宗広¹, 五十嵐功¹, 真鍋 淳¹, 松沼尚史¹, 牧田登之² (¹三共・安全研, ²山口大・農)
- P-17. アドリアマイシン誘導体による肝毒性の検討 83
 ○川畑好之康, 柏原純一, 園田崇倫, 若松智恵美, 坪田裕子, 野原正志, 安藤信明, 岩井正和 (ミドリ十字・安全研)
- P-18. ガラクトサミン単回投与によるラット肝障害の病理組織学的検討 84
 ○原 敦子, 仲野善久, 篠原基輝, 松崎勝寛 (日本ケミファ・研)
- P-19. アセトアミノフェンによる微細形態学的変化 in vitro (単離肝細胞系) および in vivo における比較 85
 ○藤村久子¹, 相内聖峰¹, 佐々木博之², 鈴木昭男² (¹実医研・病理, ²慈恵医大・微細研)

- P-45. Ethane-1, 2-dimethanesulfonate によるラット精巣の Leydig 細胞の障害と生殖器及び内分泌系への影響について111
 ○松井 元¹, 豊田和弘¹, 林 修次¹, 畝山智香子¹, 川西 徹¹, 福原 潔², 宮田直樹², 高橋道人¹ (¹国立衛試・病理, ²有機化学)
- P-46. ラット前立腺における Testosterone および Estrogen の協調作用に関する免疫組織学的検討112
 ○稲田理恵¹, 村越正典¹, 田川正志¹, 莊子正博¹, 久田 茂¹, 堀内 敏¹, 鈴木 稔¹, 渡辺慶一² (¹帝国臓器製薬・安全研, ²東海大・医・病理)
- P-47. 各種性ホルモンのラット前立腺上皮に対する増殖作用113
 ○二口 充, 白井智之, 小川久美子, 岩崎省吾, 森 敏男, 伊東信行 (名市大・医・1 病理)
- P-48. SD 系雌ラットの卵巣に自然発生した卵黄嚢腫の 1 例114
 ○五藤裕子, 合川孝幸, 中村 厚, 星谷 達, 玉井幸子, 永谷真理子, 岡崎修三, 西村信雄, 田村一利 (ボゾリサーチ)
- P-49. Donryu ラットにおける子宮内膜腺癌の発生に及ぼす分娩の影響115
 ○竹川 潔¹, 永岡隆晴¹, 竹内正紀¹, 前川昭彦² (¹吉富製薬・安全研, ²佐々木研・病理)
- P-50. プロラクチノーマ, 乳癌および副腎の peliosis を併発したラットの莢膜顆粒膜細胞腫の 1 例116
 ○中澤素邦, 俵谷武治, 吉田 勝, 内本啓史, 河南明孝, 吉田 陽, 鷲見信好 (日本新薬・安全研)
- P-51. DMBA による乳癌誘発へのエストロゲンの影響117
 ○岡崎啓幸^{1,2}, 大井恭代¹, 李 健中^{1,2}, 尾根田暁^{1,2}, 永田良一^{1,2}, 吉田浩己¹ (¹鹿大・1 病理, ²新日本科学)
- P-52. ラットで認められた自然発生性筋ジストロフィーの 1 例118
 ○荻原定彦¹, 海老澤真¹, 三輪 整¹, 塩谷 茂¹, 藤原公策² (¹味の素・中研, ²日大・農獣医)
- P-53. ラット骨格筋の再生過程にみられる細胞増殖動態119
 ○稲垣 覚¹, 田中浩二¹, 大森礼子¹, 落合謙介¹, 松本浩良¹, 白居敏仁¹, 土井邦雄² (¹萬有・開発研, ²東大・農・実験動物)
- P-54. YM175 投与ラットにおける薬物の骨組織内局在と骨組織変化120
 ○中野健二, 岡宮英明, 藤本隆平, 赤石肇子, 石田勝彦, 小野美穂子, 葛西久芳, 宍戸隆男, 花田貴宣 (山之内製薬・安全研)
- P-55. Compound48/80 を単回皮下投与したビーグル犬の皮膚紅斑に関する病理学的研究: Age 差について121
 ○安藤孝夫, 土井孝良, 城塚康毅, 橋本直美, 宮脇宏彰 (武田薬品・薬安研)
- P-56. ヘアレス犬における遅延型過敏症122
 ○木村 透¹, 宮沢真紀¹, 大島誠之助¹, 土井邦雄² (¹農産工・中研, ²東大・農)
- P-57. マウスに認められた Anaplastic Squamous Cell Carcinoma123
 ○小林 潔, 後藤和広, 土屋毅幸, 杉本次郎, 佐野文子, 豊岡正好, 武知雅人 (三菱化成・総研・病理)

P-58. ラット耳介の肥厚について-II	124
○木村 均, 外山勝己, 伊藤一彦, 吉島賢一, 和田 浩, 岡田雅昭 (NBR)	
P-59. 網膜異常犬における眼科学のおよび病理組織学的所見	125
○森田晴夫, 下村和裕, 森田 大, 須永昌男, 小泉治子 (前臨床医学研)	
P-60. カニクイザルの同一眼球からの光顕, 電顕 (透過および走査型) 用試料作製法	126
○宗岡篤信, 岩重記洋, 下村俊郎, 柿崎ひろみ, 千早 豊, 岡崎啓幸, 永田良一 (新日本科学・病理)	
P-61. 過度の照明によるラットのハーダー腺の病理学的変化	127
○栗栖和信, 岩崎健太郎 (大塚製薬工場・鳴門研)	
P-62. 実験動物に観察された異所性組織の2例	128
○小倉基裕, 佐藤 亮, 仙頭美和 (大塚製薬・徳島研)	
P-63. F344ラットの下顎腺に認められた加齢性変化を伴った異所性の胸腺	129
○山川誠己, 三上真一, 志賀敦史, 岩田 聖, 廣内康彦, 小林和雄, 榎本 眞 (安評セ)	
P-64. ムコ多糖症VI型 (Arylsulfatase B deficient) ラットの酵素学のおよび電子顕微鏡学的特徴について	130
○吉田 緑 ¹ , 立花資和 ¹ , 高橋正一 ² , 長瀬すみ ² (¹ 動繁研, ² 佐々木研)	
P-65. 4-methoxyphenol および4-methylcatechol のラットに対する発癌性	131
○浅川恵美子, 玉野静光, 加藤俊男, 広瀬雅雄, 増井恒夫, 伊東信行 (名市大・医・1 病理)	
P-66. Tragacanth Gum のB6C3F ₁ マウスにおける発癌性試験	132
○武貞徳子 ¹ , 荻原昭裕 ¹ , 玉野静光 ¹ , 柴田雅朗 ^{1,2} , 白井智之 ¹ , 伊東信行 (¹ 名市大・医・1 病理, ² 大阪市大・医・1 病理)	
P-67. 多臓器中期発癌性試験法による発癌性評価と長期観察結果との比較	133
○田中 光, 今井田克己, 長谷川良平, 増井恒夫, 赤木圭介, 伊東信行 (名市大・医・1 病理)	
P-68. 食用赤色106号のラットにおける癌原性試験	134
○北堀吉映, 小西 登, 林 功, 日浅義雄 (奈良医大・2 病理)	
P-69. 安全性試験コンピュータシステムにおける病理学的システム	135
○坂牧義之 ¹ , 杉本哲朗 ¹ , 小松博道 ¹ , 鈴木繁生 ¹ , 渡部一人 ¹ , 藤原宏幸 ² , 二木力夫 ¹ (¹ 中外製薬・安全研, ¹ 三井造船システム技研)	

座 長 一 覧

第 1 日 午 前	
9 : 00 ~ 9 : 20	藤 田 常 夫 (小野薬品・福井安全研)
9 : 20 ~ 9 : 50	今 井 清 (食薬安全セ・秦野研)
9 : 50 ~ 10 : 30	津 田 洋 幸 (保衛大・医・2 病理)
10 : 30 ~ 11 : 00	渡 辺 満 利 (持田製薬・安全研)
11 : 00 ~ 12 : 00	榎 本 真 (安評セ)
第 1 日 午 後	
14 : 00 ~ 14 : 30	渡 辺 敦 光 (広島大・原医研・癌)
14 : 30 ~ 15 : 00	原 田 孝 則 (残農研)
15 : 00 ~ 15 : 40	立 松 正 衛 (愛知がんセ・研・1 病理)
15 : 40 ~ 16 : 10	松 沼 尚 史 (三共・安全研)
16 : 10 ~ 16 : 40	長 野 嘉 介 (日本バイオアッセイ研究セ)
16 : 40 ~ 17 : 10	今井田 克 己 (名市大・医・1 病理)
17 : 10 ~ 17 : 30	飯 田 昌 敏 (大日本製薬・総合研)
第 2 日 午 前	
9 : 00 ~ 9 : 30	三 森 国 敏 (国立衛試・病理)
9 : 30 ~ 10 : 10	花 田 貴 宣 (山之内製薬・安全研)
10 : 10 ~ 10 : 40	長谷川 良 平 (名市大・医・1 病理)
10 : 40 ~ 11 : 00	奈良間 功 (摂南大)
11 : 00 ~ 11 : 30	傳 田 阿由美 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
11 : 30 ~ 12 : 00	藤 原 公 策 (日大・農獣医)
第 2 日 午 後	
14 : 00 ~ 14 : 30	梅 村 孝 司 (鳥取大・農)
14 : 30 ~ 15 : 00	小 泉 治 子 (前臨床医学研)
15 : 00 ~ 15 : 30	藤 井 登志之 (藤沢薬品・安全研)
15 : 30 ~ 17 : 45	前 川 昭 彦 (佐々木研・病理)
	真 板 敬 三 (残農研)

特別講演要旨

毒性試験ガイドラインの国際調整と近代化に必要な研究課題

林 裕造・国立衛生試験所

創業の推進はわが国の重要施策に数えられているが、本来的には、21世紀を迎えつつある全人類の健康を確保するための国際的な共通課題でもある。現在、ICHを中心に進められている毒性試験ガイドラインの調整と改善に関する専門家会合はその一環の動きとして受け止められる。毒性病理研究者は仕事の性格上、これら国際動向における中核的役割を課せられることになるが、問題への具体的な対応に当たり、ガイドラインの調整と改善の意義を理解する必要がある。

1. なぜ、いまガイドラインの国際調整なのか？

国際調整の目的は、各国で実施された試験の相互受け入れを促進するためであると言われている。しかし、実際的にはこのような経済的目的の他に、下記の科学的理由を挙げることが出来る。

1) 各国における毒性試験の技術的レベルが、過去4半世紀の間に飛躍的に向上した結果、試験データの相互受け入れに際して、基本的な障害はないと予想されること。

2) 新しい関連科学／技術の導入による毒性試験の改善／近代化が各国の研究機関において無統制に進められ、その結果、試験法がますます多様化する傾向にあり、現状のまま推移すると国際調整の機会を失する可能性があること。

2. 国際調整の手順

1) 短期的解決が可能な問題点

2) 中期的解決が可能な問題点

3) 長期的対応を必要とする問題点

3. 毒性試験の改善 / 近代化への課題

1) 動物からヒトへ

2) ヒトから動物へ

3) In vitroから in vivoへ

4) In vitroからヒトへ

註 ICH : International Conference for Harmonization for
Registration of pharmaceuticals in Human Use

招待講演要旨

韓国における毒性病理学

李 榮純 (ソウル大学)

韓国では、医学、歯学および獣医学のどの分野においても、毒性病理学を独立した講座として設置している大学はない。また、これまで医学部および獣医学部の病理学の主流はいわゆる診断病理学であったが、近年の免疫学、分子生物学等の著しい発展を反映して、最近では実験病理学を指向する若い研究者が増加しつつあり、そうした流れの中で毒性病理学への関心も高まりつつある。若い世代の研究者達の旺盛な知識欲と応用能力には目をみはるものがある。

韓国で病理学の教育と研究を行なっている機関としては、国立および私立の医科大学が31校（病理学担当の専任講師以上の教官数112名）および獣医科大学が10校（病理学担当の専任講師以上の教官数12名）あり、その他、国立保健安全研究院（日本の国立衛生試験所安全性センターに相当する）、原子力病院、家畜衛生研究所等に20名程度の病理学専門の研究者が勤めている。一方、企業の研究所はいずれも創立後歴史も浅く、つい最近までは病理部門に人材と設備を積極的に投資しようとする動きは少なかった。

ところが、韓国も1987年7月になってようやく物質特許制度を導入し、それが契機となって医薬品を主体とする新規物質の開発の重要性が一般に認識されるようになった。また、それに先立って、1986年8月にはKGLPが公布され、保社部による査察制度が実施されている。加えて、韓国の”Top 5”財閥をはじめ大企業では、現在、生命科学関係の研究所の設立がひとつのブームとなっており、その一翼を担う者として毒性病理学研究者への期待が高まってきている。しかし、現状では毒性病理学の専門家は数少なく、この分野の後継者の育成が急務となっている。

上述したように、韓国における毒性病理学はまだその緒についたばかりだが、この分野への期待は大きく、社会的基盤も徐々に整いつつあり、少なくとも10年後には毒性病理学会の設立・開催に漕ぎ付けたいと考えている。そのためにも、日本をはじめ世界各国の同様の研究者とのより一層の交流を期待している。

シンポジウム要旨

(S-1 ~S-4)

哺乳動物の精子発生に関する最近の知見

林 良博・九郎丸正道（東大・農・獣医解剖）

精子発生は、精細管という単純な管状の上皮において、幹細胞である精祖細胞から高度に分化した精子が形成される過程である。

この過程において、細胞の有糸分裂、減数分裂および劇的形態変化のすべてが観察されるため、細胞生物学研究者にとって極めて魅力的な研究の場が提供されている。しかしながら、精子発生の適切な*in vitro*系が確立されていないため、特にセルトリ細胞と精細胞が密接な相互関係をもつ哺乳動物の精子発生の機構については解析が遅れている。一方、近年の分子生物学の目ざましい発展は、精細胞の各ステージまたはセルトリ細胞に特異的に発現するmRNAや蛋白の解析を容易にしており、特にプロトオンコジーンや各種の成長因子について多くの知見が蓄積されつつある。たとえば、上皮成長因子（EGF）や神経成長因子（NGF）は、精子形成の周期性の維持に重要な役割をはたしていることが推測されている。また、当研究室において現在集中的な研究を進めているアクチビンとその結合蛋白であるホリスタチンの両者も、精細胞の細胞質と核にそれぞれ局在することが明らかとなり、精細胞の分化になんらかの役割をはたしている可能性が示唆されている。さらに、種々の熱ショック蛋白質（HSP）やDNA結合蛋白であるHMG box familyの精細胞における発現と局在が明らかになったことは、精子形成の制御に関して遺伝子レベルからの解析に新しい道を切り開くものと考えられる。

一方、ラット、マウス等の実験動物において、精子発生障害または不全を示すミュータントが多発することがよく知られている。このことは、多くの遺伝子が精子発生に関与していることを示唆すると同時に、これらのミュータントを用いた精子形成機構解析の研究を可能にするものである。このような遺伝的精子形成異常モデル動物を用いた当研究室の研究についても併せて紹介する。

宮嶋 宏彰, 林 新茂 (武田薬品・薬安研)

〔はじめに〕 雄の生殖器には生殖細胞を生産する精巣と生殖細胞を体外へ運搬する精巣上体、精管および尿道があり、副生殖器として精囊、前立腺および尿道球腺などがある。他にげっ歯類では副生殖器に精囊に接着している凝固腺がある。交尾器としては陰茎がある。

これらの諸臓器のうち、もっともしばしば、自然発生病変が発現するのは精巣であり、その他の臓器の病変は稀である。

今回は精巣を中心に毒性試験に繁用されているマウス、ラット、ビーグル犬およびカニクイザルの雄性生殖器にみられた自然発生病変について我々の経験を紹介する。

〔奇形〕 半陰陽はしばしばラットで報告されているが、ビーグル犬やカニクイザルではほとんどない。我々は15ヶ月齢のビーグル犬に雄性仮性半陰陽を、3年5ヶ月齢のカニクイザルに真性半陰陽の発現をみた。いずれも外性器の形状から雌と考えられていた。

〔非腫瘍性病変〕 しばしば認められるのは精上皮または精細管の萎縮でマウス、ラット、ビーグル犬及びカニクイザルのいずれの動物にも多発する。その際、精細管内に多核巨細胞形成を伴ったり、石灰化を伴うことがある。間細胞の過形成は老齢ラットで頻発し、マウスにも認められる。動脈炎は稀にラットで認められる。その他、間質の炎症性細胞浸潤、色素沈着、結合組織の増生などがカニクイザルで認められることがある。精子肉芽腫はイヌで認められることが多い。

前立腺では炎症性細胞浸潤がイヌやラットで多発し、その他、上皮の過形成や萎縮がラットで認められる。

〔腫瘍性病変〕 間細胞腫はラットでもっとも多く、F344ではほぼ100%に発現する。次いでマウスに認められる。その他、中皮腫、精巣網腺腫、血管腫及び単核細胞白血病などがラットで認められる。

高橋 道人 (国立衛試 病理)

精巢毒性を示す化学物質はその作用機序から、次のように大別することができる。

(1) 直接精細胞の分裂を抑制する物質：精祖細胞、精母細胞での蛋白合成を阻害することにより精子形成機能を抑制する。例として各種抗癌剤がある。アルキル化剤やその他、紡錘体形成阻害、RNA合成阻害、蛋白合成阻害等を有する薬物は、細胞分裂を抑制し、精祖細胞、精母細胞の段階で分裂の停止を起こす。

(2) ホルモンを介して間接的に精子形成機能を阻害する物質：視床下部-下垂体系のホルモン調節が精子形成に強く関与している。視床下部からの放出ホルモンは、下垂体における卵胞刺激ホルモン(FSH)や黄体化ホルモン(LH)の分泌を刺激し、FSHは、精子細胞から精子への成熟に関与しているセルトリ細胞の発育を刺激する。また、LHはライディッヒ細胞に働いて精子形成に必要なテストステロンの産生を促進する。プロラクチンも精子形成に影響を与える。従ってこれらのホルモン系に影響を与える物質は精巣での精子形成を阻害することになる。次のような作用物質が挙げられる。

①抗アンドロゲン作用物質：アンドロゲンの産生には影響を与えず、標的組織でのアンドロゲンの働きを阻害する。

②テストステロン合成阻害物質：ライディッヒ細胞の代謝機能あるいはステロイド合成を障害する薬物はテストステロンや他のアンドロゲン合成を抑制する。

③性腺刺激ホルモン抑制物質：視床下部あるいは下垂体ホルモンの放出に影響を与える物質で、例えばアンドロゲンは性腺刺激ホルモンの分泌を抑制する。エストロゲン、プロゲステロンも精子形成抑制を示す。

④プロラクチン刺激物質：ドーパミンは下垂体からのプロラクチン分泌を抑制することが知られており、ドーパミン阻害剤の大量投与は高プロラクチン血症と共に、テストステロンの低下と精巣の萎縮を起す。また、前立腺、精囊の萎縮がみられる。

(3) 精子形成が完了してから精子に障害を与える物質：精巣で形成された精子が輸精管内で化学物質の影響を受け、殺精子作用、精子うっ滞、受精能障害を起すことがある。

(4) 循環障害を介して実質に障害を起こす物質：精巣は相対的に血管分布に乏しく、血管への障害は広範な細胞壊死を引き起こす。例としてカドミウムがある。精細管が完全な壊死に陥り、ライディッヒ細胞も変性する。一方、部分的に全く正常な精細管が残存することもある。

(5) その他の機序：亜鉛あるいはビタミンAの欠乏など、栄養障害による精巣への影響が知られている。毒性試験で精巣萎縮が体重抑制と同時に生じている場合は注意が必要である。

岡宮 英明 (山之内製薬 安全研)

精巢は精細胞, セルトリ細胞, ライディッヒ細胞等が密接に関連しあった臓器であり, 毒性発現としての標的細胞の認識を非常に難しいものとしている。更に薬物によって生ずる精巢の組織学的変化, 特に連続投与試験でみられる精巢障害の組織像は比較的類似性が強く, 通常のHE染色標本において, 薬物による標的細胞を明確にすることは困難であることが多い。毒性試験で雄性生殖器への影響がみられた場合, その化合物がどこに作用するのか? 損傷が可逆性かどうか? という点を明らかにすることが重要である。

雄性不妊の原因としては, 精巢機能への影響, 内分泌調節への影響, 副生殖器への影響, リビドーへの影響等が想定され, 次のような検査法がある。

機能検査法

1)授精能試験: 通常の雄投与 Seg 1試験あるいは連続交配試験を行なう。遺伝毒性試験の情報も有効である。

臨床的検査法

1)精巢における指標: FSHあるいは LHへの反応性の検討。ステロイドあるいは特異蛋白(inhibin, ABP, transferrin)の測定。

2)精巢上体における指標: 精巢上体管各部位での精液検査, 分泌能測定。

3)精液検査: 精子数, 精子の形態の観察あるいは運動能の検査。

病理学的検査法

1)肉眼所見及び臓器重量: 精巢, 副生殖器, 内分泌臓器について行なう。

2)組織学的評価: 凍結切片の脂肪染色, 灌流固定, 樹脂包埋切片等による検査が有効である。組織化学的手法による酵素染色等も利用できる。

3)電顕検査: 固定液の浸透圧によるartifactに注意する。初期変化の解析に有効である。また, 精子の形態観察に走査電顕が有効である。

定量的検査法

1)細胞数の計測: 精上皮サイクルの各ステージの細胞数を計測することにより特定の細胞への影響を明らかにすることができる。

2)細胞動態の検査: ^3H -Thymidine, BrdUの利用あるいはステージ別の精細管の割合から各ステージの持続時間を比較することができる。

In vitro検査法

1)In vitro授精能試験: In vitroで正常卵子に対する授精能を検査する。

2)培養細胞による試験: Sertoli cell, Leydig cell, germ cell, peritubular cell等の初代培養細胞を単独あるいは組み合わせて使用する。

3)分離精細管による検査: ステージに特異的な障害作用の解析に有効である。

目的に応じてこれらの検査を実施し, 更に, 薬物の組織内分布及び代謝, 用量反応相関あるいは種差等の情報を加味することにより適切な評価が可能になるものと考えられる。

一般講演要旨

(1 ~ 57)

○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)が、健常動物に比べて薬物による心筋障害を来し易い原因には、フリーラジカルによる脂質過酸化の受け易さが重要であることを前回報告した。そこで、SHR心筋脆弱性と O_2^- との関係を明らかにすることを目的に、doxorubicin(DOX)誘発心筋障害時のsuperoxide dismutase(SOD)活性の変動を検討し、 O_2^- の心筋内局在を形態学的に検索した。

〔方法〕雄の成熟SHR(16ないし24週齢)と同週齢WKYを用い、無処置群と処置群を設けた。処置群には、DOX 20 mg/kgを1回尾静脈内に投与し、1日および4日後に安楽死させて心臓を採取した。心筋ホモジネートよりミトコンドリア分画と可溶性分画を分離し、Oyanaguiの亜硝酸法でSOD活性を定量した。組織学的検査のため、ペントバルビタール麻酔下に開腹し、腹部大動脈より0.05% nitroblue tetrazolium・Krebs-Henseleit buffer(pH 7.5)をMochida等の方法により灌流した後、心臓を採取し、10%中性ホルマリン液に固定した。常法に従って、パラフィン標本作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色またはケルンエヒトロート染色を行って顕微鏡で観察した。

〔結果〕無処置対照群SHRのミトコンドリア分画の総SOD活性および可溶性分画におけるCu,Zn-SOD活性はWKYより低値を示した。DOX投与4日後、WKYではミトコンドリア分画と可溶性分画のSOD活性はいずれも増加傾向がみられたが、SHRでは増加傾向は認められずWKYより低値であった。DOX障害時の組織学的検査では、SHRでは、投与1日後にごく少数の細胞にホルマザンの形成が認められ、心筋細胞は淡青色を呈していた。障害の最も強い4日後には、心室や中隔の中層から心内膜側の多数の心筋細胞内に濃青色、顆粒状または短桿状のホルマザン形成が認められた。これらの細胞は心尖部ではより多く認められた。WKYラットでは、DOX投与4日後においてもホルマザンの形成はごく軽度であった。

〔結論〕SHRでは、心筋内SOD活性が低値であることから、 O_2^- 消去を含めたラジカル防禦能低下が心筋障害易発症性の背景の1つにあることを示唆している。また、in vivo心筋細胞内における O_2^- 検出にnitroblue tetrazoliumが有用であることが確かめられた。

○泉澤信行, 渡部浩治, 岡宮英明, 花田貴宣, 三木寿雄(山之内製薬, 安全研)

本態性高血圧症のモデル動物である高血圧自然発症ラット (SHRs) は, 老齢ラットでしばしば認められる polyarteritis 等の動脈病変を 腸間膜, 睪臓, 腎臓, 精巣の動脈において高頻度に発症することが知られている。この動脈病変の病理発生には血圧の果たす役割が重要視されていることから, 今回我々は新規に合成された持続性カルシウム拮抗剤, Barnidipine hydrochloride を SHRs に 12 及び 18 ヶ月間混餌投与し, 血圧及び動脈病変の発生に対する影響を検討した。

【方法】雄 SHRs (SHR/Crj) を無作為に 2 群に割付け 対照群には被験物質無添加の, 投与群には Barnidipine hydrochloride を 0.075% の割合で混合した粉末飼料を 12 及び 18 ヶ月まで自由に摂取させた。体重及び摂餌量から算出した被験物質の摂取量は 44.0 mg/kg/day であった。血圧は, 投与 6 ヶ月及び投与 12 ヶ月に非観血的に測定した。投与 12 ヶ月に各群 10 匹, 投与 18 ヶ月に残りの動物をエーテル麻酔下に放血屠殺し, 精巣, 精巣上体, 腎臓及び腸間膜から常法に従いパラフィン切片を作製した。

【結果】1. 血圧: 投与 6 ヶ月で対照群 168.3 mmHg に対して投与群 132.8 mmHg, 投与 12 ヶ月でも対照群 169.1 mmHg に対して投与群 124.0 mmHg と, いずれも投与群で有意な血圧の下降が認められた。
2. 肉眼所見: 対照群の 29 例中 16 例に睪臓に隣接した部分の腸間膜動脈根部の結節状の肥厚が認められた。投与群で同様の変化が認められたのは, 30 例中わずかに 1 例のみであった。

Concentration (%)	0	0.075	3. 組織所見: 組織学的には, 1) 精巣, 精巣上体及び腎臓間質の小さいし細動脈あるいは腸間膜動脈根部における中膜平滑筋層の壊死, 中膜から外膜及び外膜周囲に著しい細胞浸潤を伴う polyarteris, 2) 腸間膜動脈根部における石灰沈着を伴う中膜の肥厚及び平滑筋細胞を主体とした内膜肥厚からなる arteriosclerosis 並びに 3) 精巣上体及び腎臓間質の小さいし細動脈における intimal thickening が認められた。これらの動脈病変の発生頻度は, 対照群で 29 例中 23 例であったのに対し, 投与群では 30 例中わずかに 5 例で投与による顕著な減少傾向が認められた。
Number of Animals Examined	29	30	
Testis /Polyarteritis	23	5	
Epididymis/Polyarteritis	8	3	
/Intimal thickening	1	0	
Mesentery /Polyarteritis	13	0	
/Arteriosclerosis	16	0	
Kidney /Polyarteritis	7	0	
/Intimal thickening	6	0	

【結論】持続性カルシウム拮抗剤の混餌投与は, SHRs の血圧を有意に下降させるとともに, SHRs の腸間膜, 腎臓, 精巣及び精巣上体における動脈病変の発生頻度を顕著に低下させた。このことから SHRs の動脈病変の病理発生には血圧が大きく関与していることが示唆された。

○鳥海 互、時任 康弘、大町 康、久保田 美穂、
北村和之、八十島 昭、岩崎 仁（田辺製薬・薬物代謝研）

気管支喘息の対症療法に用いられているテオフィリンについては、Fischer 344 系ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験で腸間膜および脾臓における動脈周囲炎の発現が報告されている（Collins ら、1988）。今回、我々はこの動脈病変の病理発生過程を明らかにする目的で、Fischer 344 系ラットにテオフィリンを投与し全身諸臓器の血管病変の発現を経時的に観察したので報告する。

【材料および方法】

実験には 7 週齢の Fischer 344 系雄ラット 45 匹を使用し、うち 30 匹にテオフィリンを 4000 ppm の濃度で混じたラット用粉末飼料を、15 匹には薬物非添加の粉末飼料を給餌した。試験開始の 4、8 および 13 週後に投与群 10 匹、対照群 5 匹をエーテル麻酔下で安楽殺し、常法に従い全身諸臓器の病理組織学的検査を実施した。

【結果】

テオフィリン投与群の腎臓では、投与開始後 4 週以降に腎動脈分枝～葉間動脈の中膜平滑筋層における出血（4 週 2 例、8 週 5 例、13 週 2 例）が、13 週間投与群の 1 例で動脈周囲の炎症細胞浸潤を伴う高度の壊死性動脈炎が認められた。腎臓以外では 8 および 13 週間投与群の各 1 例で腸間膜、脾臓あるいは心臓における壊死性動脈炎もしくは動脈周囲の炎症細胞浸潤が観察された。いずれの病変部においても動脈内皮細胞に光顕的に明らかな変化は認められなかったが、13 週間投与群の中で高度の壊死性腸間膜動脈炎を呈した 1 例では内皮下への著明な血漿成分および炎症細胞の浸潤が認められた。

【考察】

テオフィリン投与ラットでは腎臓において最も早期且つ高頻度に動脈病変が認められ、腎臓の動脈系もテオフィリンの毒性学的な標的組織の一つであると考えられた。そして、腎臓で認められた動脈壁の出血性変化は投与開始後 8 週以降に出現した壊死性動脈炎、あるいは Collins らが報告した動脈周囲炎の初期病変に相当するものと考えられるが、その病理組織像が dopamine agonist あるいは PDE III 阻害薬投与動物で報告されている動脈病変のものに類似していることから、今回認められた一連の動脈病変は薬物投与による動脈平滑筋細胞内 cAMP レベルの上昇に関連するものであると推察された。

○岩田 聖、三上真一、志賀敦史、山川誠己、広内康彦、小林和雄、榎本 眞（安評センター）

B6C3F₁担乳癌マウスの心臓に自然発生する血管内皮細胞増生については第7回本学会で報告した。その後症例を重ね、その発生機序について現在検討中である。一方、1,3-ButadienやCaptafolなどで誘発される心臓の血管肉腫の前腫瘍性病変としても血管内皮細胞増生の報告がある。我々もある発癌試験に心臓の血管肉腫が誘発され、前腫瘍性病変として血管内皮細胞増生を観察する機会を得た。そこで、B6C3F₁担乳癌雌マウスの心臓に自然発生する血管内皮細胞増生と比較検討したのでたので報告する。

[材料と方法]

自然発生例： B6C3F₁マウスを用いて当センターで実施された長期毒性試験（雌3, 910例）に観察された心臓の血管内皮細胞増生12例。86週齢から109週齢のいずれも担乳癌雌マウスで 6例が対照群に、6例が投薬群に属した。誘発性病変： B6C3F₁マウスを用いて当センターで実施されたある発癌試験で心臓に血管肉腫が誘発され、その最高薬量群に観察された心臓の血管内皮細胞増生13例（雄5例／雌8例）。いずれの材料も常法に従い10%中性緩衝ホルマリ固定、パラフィン包埋し HE染色を施し観察した。さらにVimentin, FactorVIII, CD31, PCNA抗体を用いた免疫組織化学的検索や UEA-1, WGA, ConAの各レクチンを用いた染色を施した。また、一部の例で10%中性緩衝ホルマリ固定材料から電子顕微鏡学的検索を試みた。

[結果]

— 自然発生例 —： 発生は 0.31%(12/3, 910) と比較的まれであったが、担乳癌マウス中では33.3%(12/36)と高率に観察された。一般血液学検査で、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数および血小板数は低値を示し、異型赤血球が 3例に観察された。心臓重量は明らかな増加を示し、共通の肉眼所見として心臓の肥大、腹部皮下の塊、胸水貯留、脾臓肥大などが観察された。組織学的には、心臓中のび漫性的変化として心筋細胞を取り囲むように内皮細胞が一層性の増生を示し、核は丸みを帯びやや大きく、一部に血管腔の拡張が見られた。心臓以外にも血管内皮細胞の増数や核の肥大、血管腔の拡張が脾臓の脾洞(9/12例)、腎臓の輸出入動脈付近の血管(8/12例)、肝臓の類洞(4/12例)にも観察された。免疫組織化学的にはVimentin, WGA, ConAに強い陽性を示したほかFactorVIII, CD31でも一部が陽性を示した。しかし、PCNA や UEA-1 には陰性を示した。電子顕微鏡学的にも血管腔の形成、細胞表面の微絨毛様突起、接着装置、辺縁ひだや細胞質内フィラメントなどが観察された。

— 誘発性病変 —： 発生は雄10%(5/50)雌14%(7/50)であった。同試験で心臓の血管肉腫が誘発されたほか悪性リンパ腫、肺病／細気管支腺腫（腺癌）、ハーダー腺腺腫（腺癌）、卵巣腺腫などの腫瘍も誘発された。一般血液学検査、心臓重量や肉眼所見の共通所見として特記すべき所見はなかった。組織学的には、局所性あるいは多局所性に内皮細胞が一層性の増生を示した。自然発生例の血管内皮細胞増生にくらべ核が淡明で胞体に空胞をもつ細胞も観察された。免疫組織化学的にはPCNAで陽性を示す点、FactorVIIIが全例陰性であった点が自然発生例の血管内皮細胞増生例との相違点であった。心臓以外の臓器に血管内皮細胞の変化は認められなかった。電子顕微鏡学的には自然発生例と同様に血管内皮細胞の特徴をもった細胞であったが、核では切れ込みが多く明らかにヘテロクロマチンが少なかった。また、隣接する細胞同志がpill upする傾向も多く観察された。

[考察および結論]

B6C3F₁マウス12例に自然発生した心臓の血管内皮細胞増生は、比較的まれな症例であるが、いずれも担乳癌マウスに発生し乳癌との関連が示唆された。心臓に誘発される血管肉腫の前腫瘍性病変としての血管内皮細胞増生にくらべ、病変分布がび慢性である事、多発性に脾臓、腎臓、肝臓にも同様な病変が観察される事、核の異型はなくヘテロクロマチンも多い事、PCNAには反応を示さない事などの組織形態学な違いが認められた。また、一般血液検査で貧血傾向にある事、心臓重量の増加や共通の肉眼所見がある事なども相違した。以上のことと担乳癌マウスの心臓に血管肉腫の発生はないことを考え含めB6C3F₁マウスに自然発生する心臓の血管内皮細胞増生は前腫瘍性病変ではないと考えた。

研究協力者： 萩原 孝、加藤睦美、杉浦ひろ子、山本郁夫、磯部香里、鈴木良子

5

田村一利¹、五藤裕子¹、市川裕子¹、津田裕一¹、合川孝幸¹、
今井敬子¹、佐々木博之²、田中寿子²

(1: ポゾリサーチ、2: 慈恵医大・医科研・微細形態)

[はじめに]

医薬あるいは農薬等の化学物質を生体に与えることにより、いわゆる薬物代謝酵素の誘導がしばしば惹起される。生体異物代謝の第一段階は、Cytochrome P-450(P-450) 依存のモノオキシゲナーゼによるものであり、肝臓では小胞体に局在し薬物代謝酵素の誘導により滑面小胞体の増生と共に増加することが知られている。このように、薬物代謝酵素誘導時の P-450と形態学的変化に関する報告は多数あるものの、小胞体のマーカー酵素である Glucose-6-phosphatase (G-6-Pase)の変動に関する報告は少ない。今回、我々は薬物代謝酵素を誘導する Phenobarbital(PB)をラットに投与しG-6-Paseの変動について形態学および生化学的に検討したので報告する。

[材料および方法]

7週齢のSD系雌ラットに体重kgあたり 100mgのPBを1日1回、1、4、7および21日間腹腔内投与した。対照群には生理食塩水を同様に投与した。動物は、約16時間の絶食後エーテル麻酔下で脱血屠殺した。肝臓重量を測定後直ちにミクロゾーム画分を調製し P-450量およびG-6-Pase活性を測定した。また、一部の肝臓組織を用いて形態学および組織化学的検索を行った。

[結果]

形態学的には、PB投与群では肝臓重量の増加と比例し、滑面小胞体の増生を示す肝細胞肥大が小葉中心性にみられた。

組織化学的には、対照群においては P-450の陽性反応は認められなかったが、G-6-Paseは小葉全域で強い陽性反応を示した。これに対して、PB投与群では P-450の陽性反応は肥大した肝細胞に一致し小葉中心性に認められたが、これとは逆にG-6-Paseは小葉中心帯において反応の低下ないし消失がみられた。

生化学的には、PB投与群において投与21日まで肝ミクロゾーム中の P-450量は漸増したが、G-6-Pase活性は漸減した。

[総括]

100mg/kg/dayのPBをラットの腹腔内に連日投与することにより以下の知見を得た。

1. PB投与により、小葉中心帯の肥大肝細胞に増生した滑面小胞体では、組織化学的に P-450の反応は増強し、逆にG-6-Paseの反応は減弱ないし消失していた。
2. 肝ミクロゾーム中におけるG-6-Pase活性は、PB反復投与により持続的低下を示した。

クエン酸カリウムによるEHEN腎発癌の修飾作用、特にその抑制効果について

○小西登、林功、中岡伸悟、松本恭一、西井清治、北堀吉映、日浅義雄 (奈良医大・2病理)

(はじめに) 腎の石灰沈着とこれによって生じるnephropathyが腎発癌過程において修飾作用を有することは、リン酸二カリウムを用いた実験で前回報告した。尿細管アシドーシスを補正するために行われているアルカリ療法をこの実験系に用い、慢性腎症と腎発癌修飾作用の関係を検討した。

(実験方法) 動物は Wistar rat 雄 6週令、120匹を用い、1週間の予備飼育後、各群20匹ずつ計7群とした。Initiatorとして1000ppm N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine (EHEN) を2週間投与し、その後10% Potassium dibasic phosphate (PDP) あるいは5% Potassium citrate (PC)を以下の如く20週まで投与した。なお、全例第3週目にて左腎摘出を施行した。

Group 1.	1000ppm EHEN	+	10%PDP		
Group 2.			10%PDP		
Group 3.	1000ppm EHEN	+	10%PDP	+	5%PC
Group 4.			10%PDP	+	5%PC
Group 5.	1000ppm EHEN				
Group 6.	Control				

20週における屠殺時には、採尿を行った後、BrdU を100mg/kg body weight で腹腔内投与、1時間後にエーテル麻酔下で採血、屠殺後腎重量を測定し、BrdU 用には70%エタノール固定、組織検索用として10%中性ホルマリンで固定した。腎の腫瘍性病変としてSimple hyperplasia、Adenomatous hyperplasia 及び Renal cell tumor と分類し、その発生頻度を調べるとともに、nephropathy や石灰沈着の程度も比較検討した。BrdU-labeling index は前述の病変を除く、腎皮質尿細管上皮の陽性細胞を 1mm^2 について測定した。又 nephropathy の要因として $\alpha 2\text{u-globulin}$ を用いた免疫組織学的検討も加えた。

(結果) 今回用いた PDP の濃度は、前回に比べ倍量としたが、5%PDP に比べ nephropathy や石灰沈着の程度はより著しく、Adenomatous hyperplasia では2倍、Renal cell tumor では6倍の発生頻度を示した。Group3、4 の 5%PC 併用群においては血中カルシウムが改善傾向を示すと共に、組織学的にも石灰沈着の程度が軽減していた。又 Group3では Adenomatous hyperplasia の発生頻度の低下と Renal cell tumor の有意の抑制が認められた。 $\alpha 2\text{u-globulin}$ はリン酸塩による nephropathy には関与を示さなかった。

(まとめ) 5%PCによる腎腫瘍発生の抑制効果は、BrdU-labeling index、nephropathy 及び腎の石灰沈着と相関関係を示し、石灰沈着によって引き起こされる腎症という修飾因子が、腎腫瘍発生において重要な因子であると考えられた。

7 リン酸塩による腎毒性とEHEN腎発癌の修飾作用

○林功、小西登、中岡伸悟、松本恭一、西井清治、北堀吉映、日浅義雄 (奈良医大・2病理)

(はじめに) 実験基礎食中に含有される塩類の中でも、リン酸二カリウムが腎発癌に修飾作用を有することを前回報告したが、今回はリン酸ナトリウム及びリン酸カルシウムについて同様の方法で、その発癌修飾作用の有無を検討した。

(実験方法) Wistarラット雄6週令、160匹を1週間の予備飼育の後、各群20匹ずつ以下の8群に分け実験を行なった。

Group 1. EHEN + 10%PDP(Potassium dibasic phosphate)

Group 2. 10%PDP

Group 3. EHEN + 10%SP(Sodium phosphate)

Group 4. 10%SP

Group 5. EHEN + 10%CP(Calcium phosphate)

Group 6. 10%CP

Group 7. EHEN

Group 8. Control

EHEN (N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine) は 1000ppm の割合で粉末基礎食 (オリエンタルM) に混入し、2週間投与後、上記の如く PDP、SP、CP を各々10%の割合で基礎食に混合し、20週まで投与した。又全例第3週目に片側腎摘出を施行した。

20週で採尿を行なうとともに16時間の絶食の後、エ-テル麻酔のもとに採血・屠殺後腎を摘出し重量測定後10%中性ホルマリンで固定し組織検索した。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 の有無との相関を検索した。

(結果) 体重の抑制傾向は、すべての被検物質投与群に認められたが、腎体重比はPDP及びSP投与群において増加を示した。PDPとSP投与は、nephropathy、腎の石灰沈着が強く、前者は Adenomatous hyperplasia 及び Renal cell tumor の有意の増加を認め、後者も同様の傾向を示した。これらの腫瘍性病変は非腫瘍部の尿管上皮の BrdU-labeling index と相関していた。しかしながら、CP は血中・尿中の電解質変動、nephropathy や石灰沈着も乏しく、腎の腫瘍性病変をも増加させなかった。

(まとめ) PDPやSPによる腎発癌修飾作用は、腎の石灰沈着や nephropathy の程度とよく相関し、BrdU-labeling index とも相関することから、EHEN によって initiate された尿管上皮がその再生過程で発癌修飾に寄与するものと考えられた。CPは腸管からの吸収不良ないし血中での解離が生じないことから、腎への直接作用がなかったものと推察された。

○梅村隆志, 佐井君江, 高木篤也, 長谷川隆一, 黒川雄二
(国立衛試・毒性)

酸化剤(食品添加物)として知られる臭素酸カリウム($KBrO_3$)は2年間の飲水投与により雌雄のラットに腎細胞腫瘍を引き起こすが、その短期投与では、Azan染色強陽性、PAS染色陰性顆粒の尿細管細胞質内への沈着を特徴とした腎障害が雄ラットにおいて認められる。この事は、 $KBrO_3$ 投与により雄ラットに特有な尿中主要蛋白(α_{2u} -globulin)が腎尿細管細胞質内に沈着している可能性を示唆している。 α_{2u} -globulin沈着を引き起こすその他の物質の多くが雄ラット腎尿細管に細胞増殖を誘導し、結果的に雄ラットに腎細胞腫瘍を誘発する事から、今回、 $KBrO_3$ 、さらに腎二段階発癌モデルにおいて $KBrO_3$ とは対照的にプロモーター作用が認められない臭化カリウム(KBr)およびもう一つの BrO_3 塩である臭素酸ナトリウム($NaBrO_3$)をラットに飲水投与し、 α_{2u} -globulinの沈着およびBrdUの取り込み率による細胞増殖の有無を検索した。

材料と方法: 雌雄5週令のF344ラット各群5匹に $KBrO_3$ 、 KBr (雄のみ)および $NaBrO_3$ (雄のみ)をそれぞれ500、1750および500 ppmの濃度で飲水投与し、投与2週目に動物を解剖し、腎臓を摘出、ホルマリン固定後、常法に従いパラフィン切片を作製し、その連続切片に抗 α_{2u} -globulin抗体(住友化学より提供)を用いた免疫組織染色およびAzan染色を施した。また、同様の条件で2、4および8週間飲水投与を実施し、解剖2日前より2回/日さらに解剖1時間前にBrdUを腹腔内投与し、解剖後腎臓を摘出、冷アセトン固定後、常法に従いパラフィン切片を作製し、 γ -GT酵素-BrdU免疫組織二重染色を実施した。それぞれの対照群には蒸留水を投与した。

結果と考察: α_{2u} -globulinの沈着は雄の対照群および KBr 投与群にもわずかに散見されたが、 $KBrO_3$ および $NaBrO_3$ 投与群では顕著に認められた。一方、雌の対照群および $KBrO_3$ 投与群には認められなかった。Azan染色強陽性顆粒を含む尿細管の出現率を比較した結果、雄の $KBrO_3$ および $NaBrO_3$ 投与群で対照群に比して有意の高い値となった。BrdU取り込み率は、雄の $KBrO_3$ および $NaBrO_3$ 投与群の2、4および8週目の近位曲尿細管および8週目の近位直尿細管で有意の高い値を示した。一方、 KBr 投与群および雌の $KBrO_3$ 投与群の近位尿細管および全ての投与群の遠位尿細管では変化は認められなかった。以上の結果より、 $KBrO_3$ および $NaBrO_3$ 投与により雄ラット腎尿細管に α_{2u} -globulinの沈着を引き起こし、その結果として細胞増殖が誘導される事が示唆された。 $KBrO_3$ の腎発癌機構には活性酸素によるDNAの酸化的障害の関与が考えられている事から、この持続的な細胞増殖はその発癌過程で付加的に作用していると思われる。

○松田 勉¹、森 聖²、村井 隆¹、山本晋史¹、武内康義²、牧野 進²、林 幸之²、福島昭治¹
 (¹大阪市大・医・1病理、²塩野義製薬・油日ラボ)

水腎症を自然発症するSD/cShiラットに、膀胱発癌物質であるN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)を投与すると腎盂癌が発生する。そこで今回はBBNの投与期間の違いによる腎盂癌発生頻度の差異を検討した。

[方法] 9週齢のSD/cShiラットの雄を74匹用いた。第1群(10匹)は対照群とし、第2群(12匹)には0.05%BBN水溶液を4週間投与、第3群(13匹)には0.05%BBN水溶液を8週間投与、第4群(13匹)には0.05%BBN水溶液を12週間投与、第5群(13匹)には0.05%BBN水溶液を16週間投与、第6群(13匹)には0.05%BBN水溶液を20週間投与した。実験開始20週後にラットを屠殺し、腎ならびに膀胱を病理組織学的に検索した。

[結果] BBN摂取量：各群におけるBBN平均摂取量を表1に示す。第5群と第6群の間では差はないが、BBN投与期間が長くなるに従って、BBN摂取量は減少する傾向にあった。

表1. 各群におけるBBN摂取量(mg/kg/日)

	第2群	第3群	第4群	第5群	第6群
BBN摂取量	62.63	60.65	53.03	49.06	49.10

腎盂癌、膀胱癌、水腎症の発生：表2に結果を示す、第1群、第2群ではともに癌の発生はみられなかったが、第3群以降では表2に示すような腎盂癌ならびに膀胱癌の発生がみられた。水腎症は各群において表に示す如く高率に発生していた。

表2. 各群における腎盂および膀胱癌ならびに水腎症の発生率

群(匹数)	第1群(10)		第2群(12)		第3群(13)		第4群(13)		第5群(13)		第6群(13)													
	右	左	右	左	右	左	右	左	右	左	右	左												
腎盂癌発生率(%)	0	0	0	0	0	8	0	8	15	8	38	61	15	15	46	76	38	8	54	100				
水腎症発生率(%)	20	10	60	90	30	0	50	80	23	8	54	85	15	15	62	92	15	8	54	77	15	15	70	100
膀胱癌発生率(%)	0		0		46		62		92		100													

[結論] 腎盂癌は、BBNの12週間投与で急激に発生し、以後投与期間の延長に比例して癌の発生率の増加がみられた。水腎症は各群に高率に発生していた。また、膀胱癌もBBN投与期間に相関して発生した。

マレイン酸投与によるラット腎障害の 発症と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・中川慎也・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、前回及び前々回の本学会において塩化第二水銀あるいはグリセロール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、同様な方法でヒトのFanconi症候群と類似した病態を惹起することが報告されているマレイン酸(MA)を用いて、その腎障害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匹使用した。1群(control)には生理食塩液、2及び3群にはMA 100及び200mg/kgを各々腹腔内投与し、投与3、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のスカルベンジャー酵素であるGSH-Px及びそれに密接な関連を持つと考えられる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、MA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。MA投与24時間後に屠殺し上記と同様に評価した。

【結果】 MA 100mg/kg投与の組織変化として、投与3時間後より近位尿細管曲部において軽度な刷子縁膜あるいは上皮の脱落及び壊死が継続して観察され、48時間後には再生性変化の出現に至った。電顕では3時間後の近位尿細管上皮のapical membrane側に空胞形成、ミトコンドリアの腫大などが認められた。一方、200mg/kg投与では投与3時間後より刷子縁膜下にエオジンに淡染するlight zoneが観察され、電顕では100mg/kgと同様な局在を示す多数の空胞形成、ミトコンドリアの腫大などが顕著であった。その他、同部位の尿細管上皮の脱落などが観察された。6時間後では曲部の刷子縁膜欠損、上皮の脱落及び壊死が観察され、12ないし24時間後がこれら変化のピークであった。尿生化学分析では特に200mg/kg投与において蛋白、グルコース及び酵素尿が認められ、血液生化学分析において尿素窒素及びクレアチニンの増加などの機能障害も確認された。腎組織内MDAは上記の明確な障害の発症が認められたにも関わらず顕著な変化はなく、腎組織内GSHはいずれも投与初期に低下が認められた。また、DPPDの前処置においてもMA惹起腎障害に何ら影響を与えなかった。

【まとめ】 MA投与により、ラットにおいてヒトのFanconi症候群と類似した尿細管再吸収不全を特徴とする腎障害が惹起され、腎組織内GSHの低下が腎障害発症に関与する結果を得た。しかしながら、腎組織内MDAに変化はなく、また、抗酸化剤前処置による影響もみられなかったことから、本モデルにおける組織過酸化の関与はほとんどないものと推察された。

脱水ラットにおける腎乳頭部病変発生に関わる内因の検討

○松崎勝寛・仲野善久・篠原基輝・原 敦子（日本ケミファ㈱研究所）

【はじめに】脱水ラットを用いた化学物質誘発による腎乳頭壊死の増強効果の検討において、対照とした無誘発処理の脱水ラットにおいても腎乳頭部の間質浮腫、間質細胞変性及び乳頭部の均質無構造化（壊死）など、乳頭部病変がみられることに気付いた。脱水ラットは給水を停止して作製しただけのことであるから、この病変の発生には脱水により変動する内因子の関与が考えられる。腎乳頭部病変の内因解明を目的として、脱水ラットにおける形態変化の臓器相関について検討したので報告する。

【材料及び方法】5週齢のSD系ラット雄20匹を10匹ずつ2群に分け、1群は給水を停止した脱水群とし、残りは対照群として普通に飼育した。給水停止後一般状態（症状、体重及び摂餌量）を毎日チェックした。給水停止後4及び8日目に脱水群及び対照群の各々5匹ずつをエーテル麻酔下で放血屠殺し、全ての器官・組織を肉眼的に観察して20%中性緩衝ホルマリソで固定した。主要な器官については重量を測定した。固定した器官・組織について型のごとくパラフィン切片-H&E染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。また、屠殺時腹大静脈より採血し、血清中コルチコステロン濃度（RIA法）を測定した。

【結果】一般状態：脱水群では給水停止後1日目から元気消失、自発運動の低下、体重及び摂餌量の減少が認められ、その程度は漸次増強した。剖検：4及び8日目の脱水群では削瘦や体脂肪の減少、脳、副腎及び精巣を除く諸器官の小型化が認められたが、8日目の変化の程度は強かった。器官重量：脱水群の副腎重量は4日目では対照群よりも高値を示し、8日目でも対照群とほぼ同等の値であった。その他の器官はいずれも重量を減じたが、胸腺、脾臓及び肝臓の減少の程度は大であった。病理組織学的検査：4日目の脱水群では下垂体前葉における淡染性の細胞質を有する大型細胞の増生、胸腺皮質におけるマクロファージによる退化リンパ球貪食像の増加とリンパ球の減少、肝細胞の好酸性小型化、副腎皮質束状帯細胞の増生と脂質滴増加及び髓質の淡明化細胞の増加、腎乳頭部間質の浮腫と間質細胞変性がみられた。8日目にはいずれの変化も増強し、加えて腸間膜リンパ節におけるマクロファージの増加、肝細胞の単細胞壊死の増加、副腎皮質の単細胞壊死及び腎では髓質内帯のうっ血及び乳頭部の無構造化がみられた。血中コルチコステロン濃度 (ng/ml)：脱水群では、4日目に 421 ± 56 と対照群の 194 ± 86 よりも高値を認めたが、8日目には 305 ± 160 と対照群の 411 ± 47 よりも低い値を示した。

【まとめ】脱水ラットにおける第一義的な形態変化はストレスによる下垂体-副腎系の変化であると考えられる。今回の胸腺皮質の萎縮性変化がグルココルチコイドによる変化とよく類似していることもそれを支持している。従って、脱水ラットにおける腎乳頭部変化の内因として、ストレスによる副腎皮質ホルモンの増加が最も重要であると推察された。

○田中雅弘、柳雅史、杉本次郎、代田欣二、宇根有美、
野村靖夫、政岡俊夫、赤堀文昭（麻布大・獣医）

カドミウムの大量投与により高度の腎障害が生じる事はよく知られているが、少量のカドミウム投与での腎臓の形態学的変化については定説がない。またカドミウム中毒にもとづく腎障害と腎性骨軟化症との関連についても議論が多いところである。一方カドミウムと亜鉛の相互作用に関する報告は多いが、亜鉛欠乏状態の動物にカドミウムを負荷した際の諸臓器の形態学的変化についてはほとんど検討されていない。我々はすでに亜鉛欠乏・カドミウム負荷により肝臓の伊東細胞周囲にコラーゲン線維が増生することを報告してきた（第111, 113回日本獣医学会）。今回は腎臓および骨の形態学的変化について検討したので報告する。

【材料および方法】

実験には3週齢のSD系雄ラットを用いた。飼料として亜鉛(Zn)含有量が0あるいは30ppmの精製飼料にカドミウム(Cd)を0, 0.5, 100 ppm 添加した計6種類の飼料を用いた。亜鉛欠乏群として(Zn 0, Cd 0)群、(Zn 0, Cd 0.5)群、(Zn 0, Cd 100)群の3群、亜鉛適量群として(Zn 30, Cd 0)群、(Zn 30, Cd 0.5)群、(Zn 30, Cd 100)群の3群を設け、別に市販の普通飼料を与えた対照群を設けた。実験期間は5ヵ月間とし、毎月当該動物を剖検し、腎臓および骨（大腿骨、胸骨）について病理組織学的に検索した。大腿骨については固定後、超軟X線発生装置（SOFTX）で撮影し、大腿骨の長さ、骨皮質の厚さを測定した。

【結果】

1. 腎臓の変化

亜鉛欠乏・カドミウム100ppm負荷(Zn 0, Cd 100)ラットで以下の所見が認められた。光顕所見：実験開始2ヵ月後より近位尿細管上皮に空胞変性、核の大型化がみられ、このような細胞ではしばしば明瞭な核小体を認めた。まれに細胞質が濃縮した壊死細胞も認められた。実験開始4ヵ月以降では尿細管の変化はさらに強くなり、核濃縮、核崩壊、細胞質の好酸性萎縮、再生像、小空胞の増加なども認められた。糸球体には特記すべき変化は認められなかった。電顕所見：近位尿細管の細胞質には様々の大きさの空胞が認められ、空胞内にはミエリン様構造物が散見された。核は不整形を示すものが多く、しばしば明瞭な核小体を持っていた。ミトコンドリアは大小不同が目立ち、配列もやや乱れていた。

2. 骨の変化

(Zn 0, Cd 100)群の大腿骨軟X線写真では骨長の短縮および骨皮質の明らかな菲薄化が認められた。組織学的検査においても骨皮質の菲薄化、骨梁の萎縮が認められたが、明確な骨軟化所見は得られなかった。

【考察】

亜鉛欠乏状態でカドミウム100ppmを5ヵ月間負荷したラットの腎臓では、2ヵ月以降から尿細管上皮に空胞変性を始め様々な変化が認められ、実験期間の延長にともない尿細管の変化は強くなった。これらの腎病変は亜鉛適量群では観察されず、亜鉛欠乏状態ではカドミウムの腎臓に対する作用が増強される事が示唆された。しかし、骨に認められた萎縮性変化は成長期における高度の栄養障害により骨成長がおかされたことに起因するものと考えられ、5ヵ月間の亜鉛欠乏・カドミウム負荷ではイタイイタイ病の本態とされている腎性骨軟化症に類似する病変を認めることは出来なかった。

○伊藤隆康, 安藤孝夫, 城塚康毅, 宮瀧宏彰 (武田薬品・薬安研)

〔目的〕

我々はラット腎臓における死後変化について病理学および組織化学的検討を行ってきた^{1, 2)}。その結果、室温における腎臓の初期の死後変化(細胞質空胞化, 核濃縮)はNa, K-ATPase 活性の強い遠位尿管およびヘンレ上行脚太い部の上皮細胞でより強かつ早く出現することが明らかとなった。この結果から、初期の死後変化はライソゾーム酵素による自己融解によるものではなく、細胞内ATP の減少が原因と考えられた。今回、ラット顎下腺における死後変化について検討したので報告する。

〔材料および方法〕

雄の8週齢Jcl:Wistarラット(体重:230 ~ 230g)を用いた。動物はエーテル麻酔死させ、室温(23±3℃)に0、1、5、10、15および20時間放置した後、顎下腺を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、型の如くパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(H・E)染色を行い、鏡検した。

死後0時間のラットの顎下腺を2%パラホルムアルデヒド液と0.25%グルタルアルデヒド液の混液で4℃、1時間固定後、10~15μmの凍結切片(光顕用)および40μmのマイクロスライサーを用いた未凍結切片を作製し、Na, K-ATPase (K-NPPase)活性をMayahara et al. の方法³⁾に従って酵素組織化学的ならびに電顕細胞化学的に検出した。

〔成績〕

1. 病理組織学的所見

線条部導管上皮では、死後1時間より細胞質基底側における空胞化およびごく軽度の核濃縮が認められた。5時間後には空胞化は細胞質全体に拡がり、核濃縮はやや高度となり核崩壊も散見され、死後10時間以降これらの変化は最強となった。一方、腺房上皮では死後10時間までほとんど変化はみられず、15時間以降で軽度の核濃縮が認められたにすぎなかった。

2. 顎下腺におけるNa, K-ATPase 活性の局在

線条部導管上皮の基底側に強い活性が認められ、電顕的には基底陥入膜に沿って酵素活性を示す反応産物の沈着がみられた。腺房細胞には活性はほとんど認められなかった。

〔結論〕

室温におけるラット顎下腺の死後変化とNa, K-ATPase 活性の関連について検討したところ、本酵素活性の強い細胞ほど空胞化、核濃縮等の死後変化が早く出現し速やかに進行することが示され、腎臓における死後変化と同様の結果が得られた。

〔文献〕

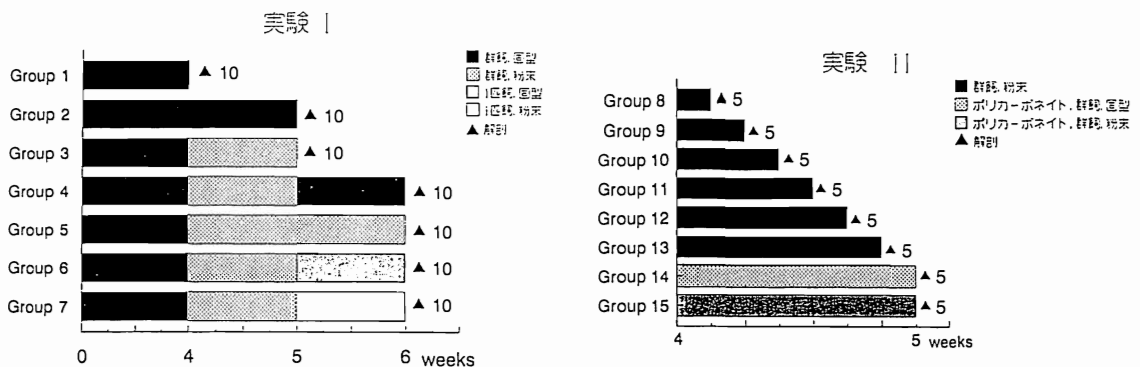
1. Ito, T. et al. (1991): Acta Histochem. Cytochem., 24; 135-151.
2. Ito, T. et al. (1991): Acta Histochem. Cytochem., 24; 153-166.
3. Mayahara, H. et al. (1980): Histochemistry, 67; 125-138.

○腹内康彦、萩原 孝、杉浦ひろ子、磯部香里、各務 進、山本利男、井上博之、榎本 眞
(安評センター)

B6C3F1マウスの前胃に観察される潰瘍および扁平上皮増生は加齢に伴って発生頻度が増加し、発生原因はストレス、栄養、ウイルス等が考えられている。若齢マウスの前胃における報告例はきわめて稀であるが、今回、4週齢の雄性マウスを用い飼育条件による発生部位、形状および発生数の変動や経時的变化を検索した。

〔実験方法〕

動物は4週齢の雄性B6C3F1マウス（日本S L C）100匹を用いた。これらの動物は室温22～24度、湿度50～60%の条件下のバリアシステム内で飼育された。ケージは金属製の床網目状を使用した。またポリカーボネート使用群では床敷を使用した。飼料は固型飼料（NMF）および粉末飼料（NIH）を使用し、水は水道水を自由に摂取させた。実験Ⅰでは、固型または粉末飼料および群飼または単飼での発生数の比較検討を行った。実験Ⅱでは発生時期を経時的に観察した。また、飼育ケージの種類による発生数の比較も試みた。胃は23Gの注射針で腺胃部より固定液を注入後、剖検剔出した。固定後、実体顕微鏡下で前胃を観察、標本作製後に光顕および電顕的に観察した。



〔結果〕

実体顕微鏡下の病変を結節、潰瘍、浮腫に分類した。1および2群では変化なし、3群では80%に結節が見られた。群飼でしかも固型飼料飼育の4群では20%に、粉末飼料飼育の5群では80%に結節が見られた。単飼の6および7群では、結節が60%ずつに見られた。しかし、結節の総数は6群で8個に対して7群では12個と多く、浮腫は6群に多く見られた。なお、浮腫と判定された変化は、光顕的には角化亢進であり、結節は扁平上皮の肥厚によるものであった。潰瘍は上記結節例のほとんどに併発していた。結節発生の経時的な検討（実験Ⅱ）の結果、2および3日目に各1例見られ、4日目には多発する例も観察された。なおこれらの病変の発生部位は前胃の大弯側でそのほとんどは縦方向の配列を示した。

〔考察と結論〕

上記の結果はB6C3F1マウスの前胃が外因に対する感受性の高いことを示す。実体顕微鏡下の所見は通常の肉眼観察では把握の困難な場合もあるが、組織学的所見として重要である。本研究により若齢B6C3F1においても飼育条件、飼料の種類などによって前胃の潰瘍形成、扁平上皮の角化亢進が多発する可能性のあることを認めしたが、これには飼育環境を若齢時に変えることが大きな誘因になると考えられた。

○今井俊夫¹, 岩田 仁², 山本昌美², 小川久美子³, 立松正衛^{1, 2}
 (¹愛知がんセ・研・1病理, ²同・超微, ³名市大・医・1病理)

〔はじめに〕

ラット残胃に発生する増殖性病変は、胃型および腸型細胞より構成されている。腸型アルカリフォスファターゼ (I-AP) がいかなる分化形質の細胞に出現するかを検索する目的で、ラット残胃病変を粘液組織化学および免疫組織化学的に検討した。

〔実験材料および方法〕

Wistar系雄ラット80例を使用した。全ての動物につき胃部分切除およびBillroth II法 (B II法) 再建術々後、24、36、54週で屠殺。胃吻合部につき4%パラホルムアルデヒドにて固定後、常法に従ってパラフィン切片を作製し、粘液組織化学的、免疫組織化学的に以下の染色を施した。

粘液組織化学: AB-PAS、Paradoxical Concanavalin A (Con A: III型粘液; 幽門腺細胞粘液)、Galactose Oxidase-Schiff (GOS; 胃被覆上皮細胞粘液)、Sialidase-GOS (S-GOS; 杯細胞粘液)

免疫組織化学 (ABC法): I-AP、Pepsinogen 1 (Pg1)

抗ラットI-AP抗体は、精製ラット小腸I-APをウサギに免疫して作製した。

〔結果〕

残胃吻合部に発生した増殖性病変は、過形成 (H)、腺腫様過形成 (AH) および腺癌 (AC) であった。各々の発生頻度を表に示す。腺癌は粘液腺癌であり、全てGOS 陰性、S-GOS 陽性の腸型形質を呈した。腺腫様過形成は、胃型 (GOS陽性、S-GOS 陰性の被覆上皮細胞型とIII型粘液陽性、Pg 1 陽性の幽門腺細胞型) と腸型 (GOS陰性、S-GOS 陽性の杯細胞型と不完全な小皮縁を持つ吸収上皮細胞型) 細胞より構成されていた。I-APは、腺癌および腺腫様過形成の吸収上皮細胞型細胞に選択的に出現していた。

残胃吻合部における増殖性病変の発現頻度

		有効匹数	H	AH	AC
B II	24 週	13	13(100)	9(69)	1(8)
	36 週	13	11(85)	9(69)	1(8)
	54 週	54	52(96)	38(70)	2(4)

(): 発現率(%)

〔結論〕

I-APは、腸型細胞の吸収上皮細胞型の優れた指標となり得ることが明らかとなった。

○岩田 仁¹, 山本昌美¹, 今井俊夫², 湯浅啓史², 深見博子¹, 立松正衛^{1, 2}
 (¹愛知がんセ・研・超微, ²同・1病理)

〔目的〕粘液組織化学ならびに免疫組織化学的に、ラットおよびヒト胃癌は胃型および腸型癌細胞より構成されている事を我々は明らかにしてきた。一方、実験発癌において困難とされてきたマウス腺胃癌の誘発は、N-methyl-N-nitrosourea (MNU) の飲水投与により可能なことを見出した。今回、MNU誘発マウス腺胃癌がいかなる細胞分化を示すか検討した。

〔材料および方法〕6週齢雄C3H系マウス3群に分け、120ppmまたは60ppm MNU含有飲料水を30週間自由摂取させ、非投与を対照とした。実験開始後30, 42および54週で動物を屠殺し、腺胃のパラフィンブロックを作製した。粘液組織化学としてCon A パラドックス (Ⅲ型粘液: 幽門腺細胞粘液)、Galactose oxidase-Schiff (GOS) (胃被覆上皮細胞粘液)、Sialidase-GOS (杯細胞型粘液) を、免疫組織化学としてPepsinogen 1 (Pg 1) を行い癌細胞の分化形質の検索を行った。

〔結果〕明らかな腸上皮化生は何れの群にも認められなかった。腺腫様過形成が、30週においていずれの群にも認められた。腺胃癌は、30週: 120ppm; 2/17, 60ppm ; 1/11, 42週: 120ppm; 11/20, 60ppm; 2/17, 54週: 120ppm; 1/3, 60ppm 1/11の頻度で発生し、用量に相関して腺癌が発生した。形成された腺癌の組織型は分化型腺癌、低分化型腺癌ならびに印環細胞癌であり、それぞれ9, 5 および4例であった。

腺癌を構成する癌細胞は分化型腺癌、低分化型腺癌ならびに印環細胞癌ともにGOS 陽性粘液を含む被覆上皮細胞型癌細胞と Con Aパラドックス染色によるⅢ型粘液ならびにPg 1陽性の幽門腺細胞型癌細胞より構成されていた。GOS 陰性・S-GOS陽性の杯細胞型癌細胞や不完全な小皮縁を持つ腸吸収上皮細胞はほとんど認められなかった。

〔考案〕MNU飲水投与によりヒト胃癌に類似した分化型腺癌、低分化型腺癌ならびに印環細胞癌が形成された。検索した期間においてマウス胃粘膜に腸上皮化生の発生は認められず、胃癌の前癌変化として腸上皮化生の関与は低いと考えられた。癌細胞分化の観点よりはマウス腺胃癌は胃型癌細胞が主体で構成されラット胃癌と類似していたが、組織像が多彩でよりヒト胃癌に類似していると考えられた。今後標本数を増加させ腸上皮化生ならびに腸型胃癌細胞を検出し細胞分化に基づいた組織発生の検索を進める予定である。

○湯浅啓史^{1, 3}, 山本昌美², 岩田 仁², 今井俊夫¹, 藤木博太⁴, 立松正衛^{1, 2} (愛知がんセ・研・1病理, ²同・超微, ³田辺製薬・安全研, ⁴国立がんセ・研・がん予防)

我々は昨年度の本学会で、ラットを用いてオカダ酸クラス化合物であるオカダ酸、カリキュリンA、タウトマイシンの消化管上皮に対する細胞増殖効果について報告した。今回はオカダ酸の35位メチル化合物であるディノフィシストキシン-1を加え、マウス消化管における用量相関と細胞増殖ならびにその経時変化について検索したので報告する。

〔材料および方法〕6週齢のCD-1 (ICR) マウスを用いた。用量相関を調べる実験では、オカダ酸、カリキュリンAおよびディノフィシストキシン-1の2あるいは0.2ml/animalとなるようコーンオイルに溶解して投与した。投与17時間後に75 mg/kgのBrdUを腹腔内に投与し、その1時間後に屠殺した。経時的観察はディノフィシストキシン-1の10 μ gを同様に投与し、6時間後から6時間おきに36時間まで経時的に屠殺し、消化管、皮膚、肝臓および腎臓における標識細胞数を計測した。各実験の対照群には各化合物の媒体として用いたコーンオイルを投与し、1時間のBrdU標識を行った動物の各臓器を用いた。

〔結果〕小腸および大腸においてはいずれの化合物ともに用量相関的に標識細胞数が増加した。また、食道および胃ではタウトマイシンおよびディノフィシストキシン-1で用量相関的な増加がみられたが、オカダ酸およびカリキュリンAでは明らかな変化はみられなかった。経時的に細胞増殖を観察した実験では、おもに18時間後に消化管各部で標識細胞数が増加したが、その後減少し、36時間後にかけて再び標識細胞数が増加する傾向がみられた。

臓器名	対照群	投与後の時間					
		6	12	18	24	30	36
近位食道	4.0 ± 1.7	10.8** ± 3.7	16.9 ± 13.6	20.5*** ± 4.4	9.0** ± 2.8	11.0 ± 5.6	21.5*** ± 4.4
前胃	2.0 ± 0.9	3.8* ± 1.1	17.8** ± 7.4	24.6* ± 14.0	17.3* ± 7.5	15.4** ± 5.5	11.9*** ± 2.3
空腸	11.3 ± 1.9	19.2*** ± 2.6	20.4*** ± 2.6	21.4*** ± 2.6	25.5*** ± 5.8	21.0*** ± 2.8	19.4*** ± 3.0
近位結腸	1.2 ± 0.8	5.7** ± 2.4	9.7** ± 3.0	8.8** ± 3.7	10.1*** ± 1.5	6.9*** ± 1.3	8.0*** ± 1.4

〔考察〕オカダ酸クラス化合物はマウスにおいても消化管上皮の細胞増殖を促進した。しかし、促進の程度には差があり、部位特異性があることが示唆された。

○三井雅之¹、西川秋佳¹、古川文夫¹、榎並倫宣¹、長谷川亨²、
木苗直秀³、高橋道人¹（¹国立衛試・病理、²佐賀医大・地域保健、
³静岡県大・食品栄養）

【はじめに】塩素処理に伴い水道水中の有機化合物から生成する 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) は、変異原性を有することが指摘されており、ヒト発癌のリスクファクターとしての可能性が示唆されている。今回、MXの経口投与による胃粘膜細胞増殖活性と脂質過酸化への影響をラットを用いて検討したので報告する。

【材料および方法】5週齢Wistar系雄ラットを用い、5週間にわたり飲料水中にMXを100、50、25、12.5および6.25ppmの濃度に混合して投与した。投与4週目に代謝ケージにて24時間尿を採取し、実験終了時の剖検1時間前にBrdUを40mg/kg腹腔内投与した。剖検時、胃・十二指腸を含む主要臓器をホルマリン固定後、常法に従ってパラフィン包埋し、H-E染色標本にて病理組織学的に検索した。得られた尿については、thiobarbituric acid (TBA)法により脂質過酸化を測定した。また胃粘膜については、モノクローナル抗体を用いて、BrdUの免疫組織化学染色を施し、上皮細胞1000個当りの陽性細胞数を計測した。

【結果】尿量は対照群に比し、25ppm群までは用量相関的に増加し、25ppm群では有意であった。また、尿中MDA排泄量も尿量と同様の変動を示し、25および12.5ppm群において対照群に比し有意に増加した。一方、50および100ppm群では著明な尿量の減少があり、用量に相関した尿中MDA量の変動は認められなかった。病理組織学的検索において、胃のびらんが100ppm群の2例、12.5ppm群の1例に観察され、腎近位尿細管の腫脹が50および100ppm群においてみられた。胃底部粘膜上皮におけるBrdU陽性細胞数は、25ppm群までは用量に相関した増加を示し、25ppm群で有意であった。

【考察】MXは、変異原性および遺伝毒性を有することがすでに報告されており、胃粘膜上皮に対する細胞増殖活性亢進作用も指摘されている。本実験の成績においても、腎毒性が疑われる高用量群を除き、胃粘膜上皮の細胞増殖活性がMXの低用量から中用量群において用量依存性に亢進しており、また細胞増殖活性の変動と相関して、低用量から中用量にかけて胃発がんプロモーター活性との関連性が指摘されている脂質過酸化の亢進が認められたことから、MXは胃発癌においてプロモーター的に作用する可能性が示唆された。

○三沢保幸、海野正子、伊藤恒夫、田村博志、鈴木繁生、二木力夫
(中外製薬・安全性研究所)

薬物による胃腸障害作用の研究の一環として、今回は人の胃癌発生に及ぼす因子の1つとして疫学的に示唆されている食塩をイヌに過剰投与し、胃粘膜に対する影響を胃内視鏡ならびに病理学的に検討したので報告する。

[材料および方法]ビーグル雌成犬を用い、単回投与群(食塩8gおよび12g)、連続投与群(食塩5gを8回、47回、49回、183回または食塩2.5gを93回)および無処置群を設定した。食塩は、1/2オンスのゼラチンカプセルに充填し、給餌前に強制経口投与した。内視鏡検査はサイアミラールナトリウム麻酔下において単回投与群では食塩投与直後から実施し、連続投与群では経日的に実施した。投与期間終了後に剖検を行い、胃を10%中性緩衝ホルマリン固定後、パラフィン包埋標本作製し、常法に従いH・E染色、PAS染色、HID-AB染色などを施し病理組織学的に観察した。さらに、細胞増殖動態を把握する目的で剖検1時間前にBromodeoxyuridine(BrdU, 10mg/kg)を橈側皮静脈より注入し、免疫組織学的染色によりBrdU捕捉細胞を観察した。

[結果]単回投与群では、内視鏡検査により投与から約20分後に胃体部(主に前壁)から胃前庭部および胃角部に粘膜の発赤、出血、糜爛が観察された。連続投与群では、単回投与に比べて広範に発赤、出血、陥凹した糜爛が観察され、剖検時にも内視鏡観察結果と同様な変化が認められた。組織学的検査では、粘膜上皮の変性、壊死、糜爛、増殖帯上皮の顕著な過形成、胃底腺および幽門腺の減少または消失、腺腔の嚢胞状拡張、リンパ組織の発達などがみられた。これらの変化は、胃体部から幽門領域にみられ、特に腺境界部から幽門前庭部大弯側に強く発現、分布する傾向を示した。粘膜深部まで増生した増殖帯上皮は明調な細胞質を持ち、核は円形から楕円形で大型化し、核膜および核小体は明瞭となり、核分裂像も多数認められた。無処置例は粘膜上皮のみアルシアンブルーに陽性、また胃小窩から腺頸部の上皮はHIDに陽性であるのに対し、食塩投与例では粘膜深部の増生細胞はアルシアンブルーに弱陽性で、他の染色に陰性であった。BrdU捕捉細胞は、無処置例に比較し、食塩投与例で、粘膜固有層の頸部から深部にかけて多数観察された。

[まとめ]以上の所見は度重なる食塩投与により引き起こされた上皮の剥離、糜爛に対する粘膜の反応性、再生性変化と考えられ、食塩は過剰投与により胃粘膜に対し強い障害性を示すことが明かとなった。さらに食塩投与による表層粘液層の変化も合わせて胃発癌の観点から考察を加える。

ラットにおけるMNNGの消化器発癌に対するストレスの影響

○北澤利明¹, 原田孝則¹, 木下三佳¹, 吉田敏則¹, 真板敬三¹,
長谷川亨², 清水義治³ (¹ 残農研, ² 佐賀医科大, ³ 埼玉医科大)

近年, 社会が複雑化するに伴い人類は様々なストレスを受け, それが健康に悪影響を及ぼすことはよく知られている。しかし, 現代社会においてヒトが受けるストレスは多種・多様で個々の疾病との因果関係についてはまだ十分解明されるに至っていない。今回演者らは, ストレスの影響を受けやすい消化器系に主眼を置き, ラットのMNNG発癌モデルを用い消化器発癌に対するストレスの影響について実験病理学的に検討した。

〔材料と方法〕Wistar系(Cri:Wistar)ラットの雄性動物145匹を7週齢で実験に供した。イニシエーション期間中は下記のように2群に分け, I群には通常の水と基礎飼料を与え, II群にはMNNG飲料水(100mg/l)を高食塩食(10%)と共に与えた。イニシエーションの期間は7週間とし, 1週間の回復期間後にA~F群の6群に再配分した。試験の第8週後から40週までをプロモーション期間とし, 同期中にコミュニケーションボックスを用いて, ラットに物理的あるいは心理的ストレスを負荷した。

Initiation period

Promotion period

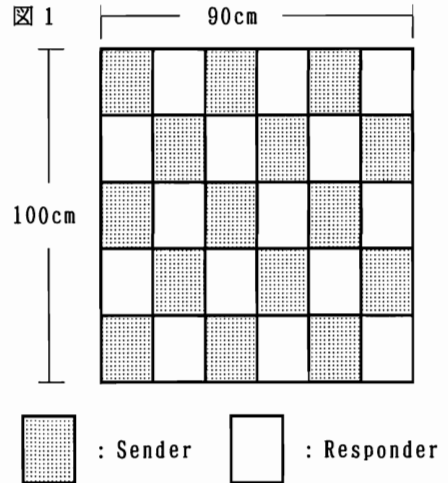
I群 (55匹) : 無処置	A群 (25匹) : 無処置
	B群 (15匹) : 電撃ストレス (Sender)
	C群 (15匹) : 心理的情動ストレス (Responder)
II群 (90匹) : MNNG+食塩	無処置
	D群 (25匹) : 無処置
	E群 (30匹) : 電撃ストレス (Sender)
	F群 (30匹) : 心理的情動ストレス (Responder)

0

7 8

40 週

コミュニケーションボックスは, 縦100cm, 横90cmの床と高さ18cmの側壁からなり, 内部は透明プラスチック板により30区画に仕切られ(1区画20×15×18cm), 床には通電可能なステンレス製グリッド(直径5mm)が14mm間隔で設置されている。これらの箱の半数には1区画おきに電撃グリッド上にプラスチック板を置き, グリッドからの電気ショックが加わらないようにした。電気ショックを直接受ける動物をSenderとし, 電気ショックを受けないがSenderからの心理的な情動ストレス負荷を受ける動物をResponderとした(図1)。このコミュニケーションボックスを暗箱内に設置し, 警告音を10秒間与えた後に, 電気ショック(DC 350V, 2.0mA)を10秒間負荷すると同時に光を暗箱内で点灯させた。これらのストレス負荷は2分間に1回の頻度で与え, 1日2時間, 週5日間行った。試験期間中あるいは終了後に尿中の過酸化脂質とカテコールアミンの測定, 血液・生化学的検査, 剖検, 臓器重量測定および病理組織学的検査を実施した。



〔結果および考察〕イニシエーション期間中に第II群においてMNNG+高食塩食投与に起因すると思われる死亡動物が5例発生した。プロモーション16週時に消化管に発生した腫瘍が原因で死亡する動物が出現し, それ以降徐々に死亡動物が増加した。消化管腫瘍は胃および小腸に認められ, 特に前胃と十二指腸に好発した。しかし, 腺胃腫瘍の発生は小数例にのみ認められた。これら腫瘍の総発生頻度では群間に有意差はなかったが, その発生時期はストレス負荷群においてより早く特に心理的情動ストレス負荷群において顕著であった。また, 十二指腸に認められた腫瘍の動物1個体当りの平均発生個数も心理的情動ストレス負荷群において多い傾向にあった。以上の結果から, ストレスはMNNGの消化器発癌に対し促進効果を有する可能性が示唆され, その効果は物理的ストレスよりも心理的ストレスの方がより顕著であった。

瀉下薬によるラット大腸の粘膜上皮増殖亢進と 血管透過性亢進およびプロスタグランジンとの関係

○ 豊田和弘・畝山智香子・林 修次・古田京子・松井 元
川西 徹・高橋道人 (国立衛試・病理)

我々は、先に瀉下薬である danthron が大腸発癌プロモーション作用を有すること、またその過程にプロスタグランジン (PG) および大腸粘膜上皮の増殖亢進が密接に関与していることを示した。細胞増殖の亢進および PG の増加は、いずれも種々の炎症性の変化においても認められる現象であることから、今回、皮内血管透過性測定法を応用して大腸における炎症 (血管透過性の亢進) の定量的検索を行い、炎症と細胞増殖の亢進および PG との関連性、更に細胞増殖の亢進と PG との関連性について検討した。

【実験材料および方法】 6週齢の雄 F344 ラットを用い、0.2% danthron 含有食投与群、0.05% sennoside A 含有食投与群、0.075% bisacodyl 含有食投与群、15% sodium carboxymethylcellulose (CMC-Na) 含有食投与群、および対照群として基礎食のみ投与する群を設けた。投与開始後 1、3、6、12 週目にそれぞれ各群 5 匹に BrdU を腹腔内投与し、2 時間後に屠殺、剖検して、小腸および大腸について HE 組織標本による病理組織学的検索および BrdU の取り込み率を指標とした細胞増殖動態の検索を行った。また、血管透過性の検索として、danthron 投与群と対照群について、投与開始後 1、3、6、12 週目に各 5 匹に fluoresceine 標識ウシ血清アルブミン (F-BSA) を静注 (40 mg/ラット) し、30 分後に麻酔下で生理食塩水を生体灌流して、30 分間に大腸組織中に漏出した F-BSA の蛍光強度を測定した。その他、投与開始後 1 週目に各群 5 匹について 24 時間蓄尿中の PGE₂ の尿中主代謝物 (PGE-MUM) 量を RIA 法により測定した。

【結果および考察】 danthron 投与群の盲腸、結腸・直腸部の近位部、中間部、遠位部では、投与開始後 1、3、6、12 週目のいずれにおいても、対照群に比べて BrdU 取り込み率の増加が顕著に認められた。sennoside A および bisacodyl 投与群においても、1 週目において既に BrdU 取り込み率の増加が認められたが、CMC-Na 投与群では明かな増加は認められなかった。また、danthron 投与群では対照群に比べ、投与開始後 1 週目より、盲腸と結腸・直腸部の近位部において血管透過性が亢進する傾向が認められた。投与 1 週目における尿中の PGE-MUM 量は、対照群に比べ、danthron 投与群では増加傾向が、CMC-Na 投与群では減少傾向が認められたが、いずれも統計学的有意差はなく、また、sennoside A および bisacodyl 投与群においては、ほとんど差はみられなかった。

以上の結果、大腸粘膜上皮の細胞増殖亢進の認められる部位と血管透過性亢進の認められる部位とは必ずしも一致していなかった。また、大腸粘膜上皮の細胞増殖亢進や血管透過性亢進は投与開始後 1 週目において既に認められたが、この時点では PGE-MUM 量の有意な増加は認められず、今回の検索においては、炎症と細胞増殖亢進および PG との間に明かな関連性は認められなかった。

○山本昌美¹, 岩田 仁¹, 湯浅 啓史², 深見博子¹, 日下部守昭³, 坂倉照好³, 立松正衛^{1,2} (¹愛知がんセ・研・超微, ²同・1病理, ³理研・筑波セ・真核生物)

〔目的〕クローナルであると考えられている発癌過程を病理組織学的に把握する目的で、キメラマウス(C3H↔BALB/c)に1,2-dimethylhydrazine (DMH)を投与し大腸癌を誘発し、C3Hに対する系統特異抗体を用いた免疫組織化学的検索を行った。

〔材料および方法〕C3HとBALB/cの初期胚を用いて集合法により作製した7週齢のキメラマウスにDMH 20mg/kg b.w.を週一回20週投与(s.c.)し、実験開始後20および35週で屠殺した。小腸・大腸組織を0.5%パラホルムアルデヒド+マイクロウエーブ照射により前固定したのち、アルコールにより後固定を行いポリエステルワックスに包埋した。切片を抗C3H 系統特異モノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に染色しC3H由来細胞の分布を検討した。

〔結果〕小腸・大腸ともに陰窩上皮細胞は陰窩単位で単クローン性に組織が構築され、小腸絨毛は複数陰窩上皮由来の多クローン性の細胞構成を示した。20週における腺腫の一匹あたりの発生率はキメラ: 2.6, C3H: 2.9, BALB/c: 2.3で各系統とも腺腫発生率に有意な差は認められなかった。キメラマウスにおけるC3HならびにBALB/c由来の腺腫の発生個数は20週において、それぞれ7個と6個で、35週における腺癌ではC3H由来10個、BALB/c由来11個であった。腺腫、腺癌ともそれぞれの系統におけるDMH大腸発癌率に類似した発生を示し、腺腫・腺癌は何れかの細胞由来を示す単クローン性増殖が主体であった。一方、発生した腫瘍が偶然近接し、両者由来の腫瘍細胞が併存していた腺腫(20週)と腺癌(35週)がそれぞれ1個見出された。

〔結論〕大腸腫瘍は単クローン性増殖により発生し一部は進展の過程で融合し結果的に多クローン性腫瘍が形成される可能性が示された。



C3H抗原陽性腺腫



C3H抗原陰性腺腫

○永田伴子、斉藤義明、川島二三江、丸茂秀樹、山口 肇、吉村慎介、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、埋植局所に悪性組織球腫などの腫瘍が発生することが知られている。昨年度の本学会において、ポリウレタンシート (PU) を皮下に埋植し、その周囲組織の反応の細胞動態を中心に観察し、埋植後早期の被膜形成に関連する活発な細胞増殖が一旦低下した後、12週目頃から再び、シートに接する面にみられる組織球様細胞などに活発な細胞増殖が観察されることを報告した。今回は、この細胞増殖能と発癌性との関係を明らかにするために、高い発癌性をもつPUとこれに比べ発癌性の低いシリコンシート (SI) をラットの背部皮下に埋植し、経時的な埋植部位周囲の組織変化を免疫組織化学あるいは電顕オートラジオグラフィーを用い、観察した。

【材料と方法】

5週齢の F-344 ラットの背部皮下にPUあるいはSI (1 x 1 cm) を埋植し、埋植後1、3、7日目、2、4、8、12、26週目に各6匹を用い、3匹には屠殺1時間前に Bromodeoxyuridine (BrdU: 40 mg/kg) を腹腔内投与し、1匹は対照として同量のリン酸緩衝液を投与した。動物はネブタール麻酔下に放血屠殺し、埋植材料周囲の組織を10%緩衝ホルマリンで固定、パラフィン包埋しHE染色標本を作製した。抗 BrdU 抗体 (Amersham)、抗 Proliferating cell nuclear antigen 抗体 (PCNA, DAKO) を用い、免疫染色標本を作製した。さらに2匹には、屠殺30分前に ³H-Thymidine (18.5 MBq/rat, iv) を投与した後、グルタルアルデヒド混合液で灌流固定し、電顕オートラジオグラフィーを作製した。

【結果および考察】

いずれの時期にも PCNA 染色陽性細胞は BrdU、³H-Thymidine を取り込んだ細胞に比べ多かった。

埋植1日目には、PU、SI埋植群ともに埋植片周囲の皮下織に浮腫、好中球、リンパ球、組織球などの細胞浸潤が観察された。BrdU、PCNA 染色標本では血管内皮細胞、組織球等に反応がみられた。3日目には両埋植群ともに浮腫は軽減する傾向にあったが、線維芽細胞が認められ、BrdU、PCNA 陽性細胞数は増多した。埋植7日目になると埋植片周囲に線維芽細胞のルーズな配列と埋植片に接して組織球の配列が観察され、BrdU、PCNA 染色陽性細胞数は著増した。2から4週目になるとPU、SI埋植群ともに線維性被膜の形成は明瞭となり、被膜での BrdU、PCNA 陽性細胞数は7日目に比較して漸次減少した。埋植後8から26週目には被膜を構成する細胞数は減少したが、PU、SI埋植群ともに埋植片に接する部位に比較的大型な組織球様細胞の集簇が観察され、これらの多くは BrdU、PCNA 染色に陽性であり、電顕では細胞突起、細胞内顆粒が豊富であった。

これらのことから、埋植局所においてPUはSIに比較すると明らかに高い発癌性を示すにもかかわらず少なくとも埋植後26週目までの埋植早期には、PUとSIに対する組織反応に差が認められないことが明らかになった。

○古川文夫、鈴木順子、今沢孝喜、三井雅之、西川秋佳、
高橋道人（国立衛試・病理）

【はじめに】

細胞増殖活性を検索する免疫組織化学的方法として、近年、増殖細胞核抗原(PCNA)染色が広く用いられている。しかし、PCNA法は10%ホルマリン固定液にて長時間浸漬された組織では染色性の低下が著しいことが知られている。

本研究はPCNA免疫染色を実施するにあたり、長期ホルマリン固定液保存標本について、染色性を復活させることを目的としておこなった。

【実験材料および方法】

癌原性試験終了から11年間、8年間および2年間、10%中性緩衝ホルマリン溶液にて保存した無処置F344雄ラット（約110週齢）の肝組織を無作為に各2例ずつ検索対象とし、通常の方法にて薄切切片を作製した。次いで、抗原復活溶液（バイオジェネックス，USA）の希釈液150mlに浸漬してマイクロウェーブを0分、1分、3分、5分、7分、10分間照射するか、また同量の1%硫酸亜鉛溶液に浸漬してマイクロウェーブを1分、3分、5分、7分、10分、15分間照射した。或は同量の蒸留水に浸漬してマイクロウェーブ3分、5分、7分間処理を行った。マイクロウェーブは家庭用の電子レンジを用いて高出力（500 W）で照射した。染色はDAKO社の抗PCNA抗体を使用し、ストレプトABコンプレックス法にて行った。

【結果】

11年および8年間の保存組織では、抗原復活溶液、硫酸亜鉛溶液および蒸留水に浸漬してマイクロウェーブを処理してもPCNA陽性細胞は認めなかった。

一方、2年間の保存組織では抗原復活溶液に浸漬してマイクロウェーブ3分と10分間処理で弱い染色性がみられ、5分と7分間の処理では評価に耐え得る染色性が得られた。同一組織は硫酸亜鉛溶液に浸漬した場合、マイクロウェーブ3分、5分、7分、10分間処理と強く染色され、蒸留水に浸漬してマイクロウェーブ5分と7分間処理で強く染色された。

【考察】

PCNAはホルマリン溶液で48時間以上固定すると抗原性が失活するとされている。今回使用した組織は10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定し、切り出し時に固定液を入れ換え、臓器の乾燥を防ぐために密封容器で保管したものであることから、2年間のホルマリン溶液保存標本でも通常の保管方法であれば抗原復活溶液、硫酸亜鉛溶液または蒸留水内でマイクロウェーブを処理することにより、PCNA免疫染色が可能であると考えられた。抗原復活溶液、硫酸亜鉛溶液、蒸留水のPCNAの染色性を比較すると、硫酸亜鉛溶液>蒸留水>抗原復活溶液の順で強く染色された。

【まとめ】

2年以内のホルマリン溶液保存標本のPCNA免疫染色は、染色性および廃液の処理等を考慮すると、蒸留水に浸漬してマイクロウェーブ5分間処理する方法が推奨される。

○井手幸晴、内本啓史、河南明孝、吉田陽、田村博信
鷺見信好（日本新薬(株)・安全研）

毒性試験では、病理学検査の一つとして臓器重量測定を実施している。薬物の作用は、臓器だけでなく体重にも影響を与えることがあるので、臓器重量のデータ評価を行う時、臓器重量の変化が体重変化による二次的なものか薬物の直接作用によるものかを区別することが重要である。そこで今回、制限給餌により体重増加抑制を起こさせた動物を用い、体重と臓器重量との関係について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4週齢で購入したSlc:SD系雄ラットを8週齢で使用した。動物の群構成は①対照群（日本クレア製固型飼料CE-2を自由摂取；約25g/日）②同固型飼料7個（約22g）/日給餌群③同6個（約19g）/日給餌群④同5個（約16g）/日給餌群とした。動物数は各群10匹、計40匹、制限給餌期間は1カ月とした。給水はいずれも水道水を自由摂取させた。体重は全動物に対して、摂餌量は対照群の動物に対してのみ各々週2回測定した。解剖は全動物をエーテル麻酔下で放血屠殺して死体重測定後、肝臓、甲状腺、唾液腺、胸腺、心臓、肺、脾臓、腎臓、副腎、睪臓、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、脳および下垂体の湿重量を測定した。体重、死体重および臓器重量については多重比較検定を行い、さらに死体重と臓器重量との相関性について検討した。

（結果および考察）

体重推移：有意な増加抑制が、22g群では制限給餌開始後10日目より、19g群で7日目よりいずれも終了時まで認められた。16g群では3日目に有意な減少がみられ、以後体重の増加はごくわずかでほぼ一定の値が終了時まで認められた。

臓器重量：絶対重量の有意な減少が、肝臓、心臓、肺、脾臓および精嚢ですべての制限給餌群に、唾液腺、胸腺、腎臓および前立腺で19gおよび16g群に、睪臓、精巣上体、脳および下垂体で16g群に認められた。甲状腺、副腎および精巣ではいずれの群にも有意な変化はみられなかった。

体重と臓器重量との相関性：肝臓、心臓、腎臓、肺、脾臓、前立腺、精嚢で高い相関性が認められた。甲状腺、副腎、精巣では相関性はみられなかった。

近年、吉村らは、著書「毒性・薬効データの統計解析」（サイエンティスト社、1987）において、体重と臓器重量との相関性を考慮した決定樹を発表している。今回得られたデータを吉村らの方法で解析した結果についても報告する。

犬の鼻腔構造及び鼻粘膜における毒性評価Ⅱ

26

○渡邊 厚、白岩和己、佐藤則博、小川慎一、三浦昌己、甲斐清徳、
一條和幸、渋谷千征（旭化成工業㈱・病理）

【はじめに】

我々は、前回の本学会において、ビーグル犬の鼻腔における解剖学的構造並びに組織学的形態を明確にし、鼻粘膜毒性評価を行う検査部位として歯を基準に、5つの検査部位を設定した。今回我々は、その検査部位を構成する上皮の分布及び比率を計測し、数値化することにより、その組織学的特性をより明確にした。また、既にラット、マウス等で鼻粘膜刺激性が証明されている化学物質を投与することにより、その毒性が、設定した5つの検査部位で反映されるかを検討したので報告する。

【材料と方法】

実験Ⅰ：各鼻粘膜上皮の分布及び比率の計測には、12ヶ月齢のビーグル犬雄5頭を用い、下図に示す5つの部位を切り出し、常法に従いH.E.標本を作製した。計測には、各鼻粘膜ごとの輪郭を描画装置でトレースした後、オリンパス・OZを用いて2次元解析を行った。

実験Ⅱ：既知化学物質投与による障害部位の検査には、12ヶ月齢の雌ビーグル犬4頭を用い、1%硫酸亜鉛、6%酢酸及び1%塩化ベンザルニウムを犬用に改良した1回1ml噴出する噴霧器を用いて、左側鼻腔内に2回1日間投与し、実験Ⅰと同一部位にて常法に従いH.E.染色標本を作製し、病理組織学的に検討を行った。なお、他の1頭は無処置とした。

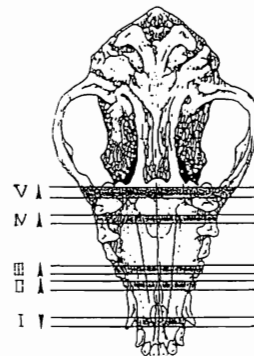
【結果】

I, 検査部位における各鼻粘膜上皮の分布及び比率

レベル	扁平上皮	移行部上皮	呼吸部上皮	嗅上皮
I	19.93 ± 4.45	80.07 ± 4.51	—	—
II	—	15.73 ± 1.48	84.23 ± 1.48	—
III	—	—	100	—
IV	—	—	86.13 ± 7.81	13.87 ± 7.81
V	—	—	36.46 ± 6.56	63.54 ± 6.56

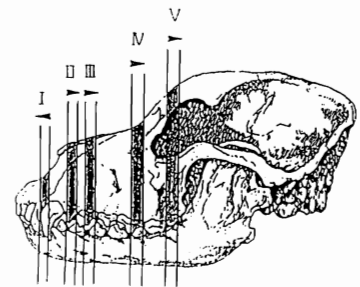
% ± S.D.

切り出し部位



II, 化学物質投与における病理組織学的変化

レベル	上皮	6% 酢酸	1% 硫酸亜鉛	1% 塩化ベンザルニウム
I	扁平上皮	≡	—	—
	移行部上皮	≡	—	—
II	移行部上皮	≡	—	—
	呼吸部上皮	≡	—	+
III	呼吸部上皮	+	±	+
IV	呼吸部上皮	—	—	—
	嗅上皮	—	+	—
V	呼吸部上皮	—	—	—
	嗅上皮	—	≡	—



【まとめ】

5つの検査部位を2次元解析により、各検査部位の構成上皮の比率を数値化した結果、鼻腔内における各上皮の分布がより明確になった。また、既知化学物質の投与により、ラット、マウスで報告されているそれぞれの化合物が有する特有な障害像及び障害部位を、イヌの5カ所の検査部位で実証できることが確認できた。

以上のことからビーグル犬を用いた鼻粘膜毒性試験において、5カ所の検査部位はその毒性評価を行う上で適切な部位であると考えられる。

Jong Koo KANG¹, Dae Joong KIM², Young Soon LEE³ and Joon Sup LEE³
(¹Dept. of Vet. Histol., College of Agri., Chungbuk Nat'l. Univ.,
Cheongju; ²Dept. of Pathol., Nat'l. Inst. Safety Res., Seoul; ³College
of Vet. Med., Seoul Nat'l. Univ., Suwon, Korea.)

The purpose of this study was to investigate the modifying effects of verapamil (a calcium antagonist) and to clarify the cellular events in bronchoalveolar lavage (BAL) on the bleomycin-induced pulmonary lesions in rats. A total of 132 Sprague-Dawley male rats were divided into two Experimental Protocols (Exp. I and II). The rats of Exp. I and II were divided into 3 groups : control, bleomycin alone (BLM), and bleomycin and verapamil combination (BLM+VERA) group, and/or verapamil and bleomycin combination (VERA+BLM) group for Exp. II. The rats of 2 test groups (BLM and BLM+VERA) in Exp. I and another 2 test groups (BLM and VERA+BLM) in Exp. II were given a single intratracheal dose of bleomycin (1.5 mg/rat), and the rats of 2 control groups in Exp. I and II were given sterile saline (0.2 ml/rat). The rats of group 3 (BLM+VERA) in Exp. I were daily intraperitoneally injected with verapamil (15 mg/kg/day) for 7 or 14 days after BLM treatment. The rats of group 3 (VERA+BLM) in Exp. II were also daily i.p. injected with verapamil (15 mg/kg/day) from 4 days prior to bleomycin treatment continued until sacrifice. And animals of Exp. I were sacrificed at day 7, 14 after BLM treatment while the rats of Exp. II were sequentially sacrificed at day 1, 2, 3, 5, 7, and 10 after BLM treatment. In Exp. I, excised lung tissues were examined histopathologically and electron microscopically. In Exp. II, bronchoalveolar lavage (BAL) was analyzed using cell culture techniques.

The quantitative lung inflammatory area scores (%) of the rat consecutively daily injected with verapamil after BLM dose were significantly decreased at each period ($p < 0.05$). Verapamil mildly reduced the cellularity in the fibrotic tissues using the histopathological evaluation.

The differential cell counts revealed that the predominant cell type in (BAL) of BLM-treated animals was neutrophils in the initial stage. However, lymphocytes were the predominant cell type in the final stage, and followed by macrophages at day 7. New lymphocytes from the blood were recruited into lungs of BLM-treated rats. Superoxide anion (O_2^-) production in the neutrophils was inhibited by verapamil while those production in the cells was stimulated by bleomycin. Bleomycin caused to reduce the viability of peritoneal exudate macrophages and also to decrease Fc receptor-mediated phagocytosis and rosette formation dose- and time-dependently.

The values of lipid peroxidation in the liver of rats pretreated with verapamil were significantly reduced at day 10 after bleomycin treatment. Pretreatment of verapamil moderately reduced the cellularity (fibroblasts, alveolar type 2 cells, and lymphocytes) in the fibrotic tissues and the cellular infiltration including neutrophils and lymphocytes.

Therefore verapamil may act as an inhibitor in the lung inflammatory reaction, and this compound could mildly decrease the pulmonary lesions induced by bleomycin in rats.

○榎並倫宣¹、西川秋佳¹、古川文夫¹、三井雅之¹、吉村博之¹、福島昭治²
高橋道人¹ (¹国立衛試・病理、²大阪市大・医・一病理)

【はじめに】

糖ペプチド抗腫瘍抗生物質であるブレオマイシン(BLM)は、副作用として急性期にはびまん性肺胞障害を、慢性期には間質性肺炎/肺線維症を起すことが知られている。今回我々は、ハムスターにBLMを経気管的に投与したのちに抗酸化剤 butylated hydroxyanisole(BHA)および butylated hydroxytoluene(BHT)を与え、肺毒性に対する抑制効果を検討した。

【材料及び方法】

動物は6週齢の雄シリアンゴールドンハムスター90匹を用いた。BLM投与群(各群20匹)はネプタールによる軽麻酔下でBLM溶液(1mg/ml)を0.5ml/100g体重の用量で経気管投与した。投与翌日から各群に1%BHA混餌食(BLM/BHA群)、1%BHT混餌食(BLM/BHT群)または基礎食(BLM/基礎食群)を与え32日間飼育した。また、溶媒対照群(各群10匹)には生理食塩水を投与し、その後はBLM投与群と同様の処置を行った(BHA群、BHT群及び基礎食群)。実験終了時に肺を摘出し、重量測定後にユフィックスを30cm水柱の圧力で注入しさらに同固定液中で固定した。死亡および衰弱による屠殺動物は、肺を摘出、重量測定の後、ユフィックスをシリンジで注入固定した。肺の各葉から組織片を2片ずつ切り出し、常法によってパラフィンに包埋した後、H-E染色標本により組織学的に検索した。

【結果】

BLMを投与した3群では、投与翌日から体重が減少し始め、BLM/BHAならびにBLM/BHT群では投与後1週間、BLM/基礎食群では投与後2週間まで減少し続けた。その後体重は増加し、実験終了時では3群ともほぼ同じ値となったが、いずれの溶媒対照群と比べても低値であった。

死亡動物はBLM投与群で投与後7日目からみられ始めた。死亡動物数はBLM/BHA群、BLM/BHT群ならびにBLM/基礎食群でそれぞれ9/20例、17/20例および17/20例で、BLM/BHA群において明らかな死亡率の改善がみられた。また、BLM/BHA群では、BLM/BHT群やBLM/基礎食群に比べて死亡時期が遅くなる傾向が認められた。

BLM/基礎食群における死亡動物の肺の病理組織所見は、投与後7~10日では血管周囲の浮腫、うっ血ならびに肺胞腔への出血と血漿成分の滲出が強度にみられ、出血を伴う肺水腫の像を呈した。これ以降では、炎症性細胞浸潤、肺胞マクロファージの集簇、肺胞壁の肥厚、気管支上皮の増生が観察された。これに対し、BLM/BHA群では投与後7~10日での水腫性変化の軽減がみられ、既に気管支上皮の増生も認められた。BLM/BHT群ではBLM/基礎食群との明らかな差は認められなかった。

【考察とまとめ】

BLMによる肺毒性は、BLMがFe(II)と酸素の存在下で活性酸素を産生し、血管内皮細胞の膜脂質過酸化をひきおこすことによる細胞障害から始まるとされている。今回の実験では、BLM投与後にBHAを投与したハムスターでBLM単独投与群と比較して死亡率の著明な改善、死亡時期の遅延、死亡動物における肺の組織変化の軽減がみられたが、これはBLM投与による酸化的ストレスが抗酸化剤であるBHAによって抑制されたためと考えられ、BHAはハムスターにおけるBLMの肺障害に対し抑制的に作用することが明らかとなった。

平井圭一、王 国英（金沢医大解剖Ⅰ）

誤飲された除草剤パラコート(PQ)は肺、腎等を強く障害する。死亡率は極めて高く、未だに効果的な治療法はない。従来、PQは肝マイクロゾーム画分（小胞体）薬物代謝酵素系の NADPH-cytochrome P-450 reductase によってラジカル化し、活性酸素を生成して膜脂質を過酸化することが細胞死の原因とされていた。しかし我々は、cytochrome P-450 がむしろ逆に PQ の解毒系として機能していることを明らかにし、PQ 中毒の真の原因はミトコンドリア外膜に局在する NADH-paraquat reductase の作用でスーパーオキシドが生成しミトコンドリアを破壊するためであることを証明した（Hiraiら、Toxicology 72 : 1-16, 1992）。従って PQ 中毒の予防及至は解毒法として、1) 薬物代謝酵素系を活性化する、2) ミトコンドリア表面に於けるスーパーオキシド生成を阻害する、3) ミトコンドリア表面で生成したスーパーオキシドを速やかに除去する、等が考えられる。

1) として、雄 ICR マウス腹腔内に phenobarbital (100 mg/kg/day) を 2 日間投与し 24 時間後に PQ (50 mg/kg) を注射したところ、1 週間後、45% の生存率が 60% に上昇した ($LD_{50}=45$ mg)。一方、 Co^{+2} イオンの前投与または SKF 525-A の同時投与では生存率は各々 0%、5% に下降した。

2) については不明である。

3) について、Antioxidant Biofactor (AOB : 株式会社エイオーエイ・ジャパン、神戸) の効果を検討した。AOB は胚芽米、小麦及び小麦胚芽、米糠、胡麻、鳩麦、茶葉、大豆、柚子汁、麴からなる抗酸化食品で種々の antioxidants を含むとされている。雄 ICR マウスの PQ (80 mg/kg) 単独注射群の生存率は 0% であったが、AOB を蒸留水に溶き、強制経口投与 (10 g/kg/day) を PQ 注射 30 分後から 6 日間行なった治療群の生存率は 20% であった。さらに PQ 注射前 2 日間の AOB 前投与を追加した予防群では、生存率は 60% に急上昇した。

(考察) Phenobarbital はマイクロゾーム薬物代謝酵素系の合成を促進することで PQ 中毒の予防効果を発揮したと思われる。さらに最近我々は、培養肺細胞に於ても PQ 添加でミトコンドリアが選択的に破壊されることを見出しており (Wang ら、J. Electron Microsc. 41 : 181-184, 1992)、PQ の標的はミトコンドリアであることは確実であろう。従って AOB は、生体に於ても細胞内ミトコンドリアで直接 PQ 毒性を緩和する成分を含むと結論される。以上の結果から AOB による PQ 中毒に対する予防効果に加え、治療効果も期待される。

○妹尾英樹、櫻ゆみ、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介、山内勝彦、松本道男、榎本眞 (バイオアッセイ研究センター)

1,4-Dioxaneは長期間経口投与によりラットに鼻腔の扁平上皮癌及び鼻腔神経上皮腫を発生させることが知られている。今回は、Dioxaneの13週間経口投与によるラットとマウスの呼吸器への影響について報告する。

(材料と方法)

6週齢のF344ラット及びBDF₁マウス(いずれも日本チャールズリバー社)を1群につき雌雄各10匹ずつ使用し、Dioxaneを25000, 10000, 4000, 1600, 640及び0ppmの割合で脱イオン水に混じり飲料水として13週間自由に摂取させた。投与終了後、生存した全例を剖検し全臓器を摘出して10%緩衝ホルマリン固定し、常法に従って光顕標本作製した。なお鼻腔は脱灰後、切歯の後端、切歯乳頭、第一臼歯の前端の3レベルで切り出しを行った。

(結果) 表1及び表2に、変化のみられた投与群の結果をまとめた。

ラット:鼻腔の嗅上皮(支持細胞)と呼吸上皮、気管上皮及び気管支上皮に核の巨大化が観察された。(表1)

マウス:鼻腔の嗅上皮(支持細胞)と呼吸上皮に核の巨大化とエオジン好性変化が観察され、さらに嗅神経線維束に空胞化が出現した。また、気管上皮および気管支上皮に核の巨大化が観察された。(表2)

(まとめ)

Dioxaneの13週間経口投与によりラットとマウスの呼吸器粘膜に特徴的な変化が観察された。しかし、その変化の部位は長期間経口投与試験で報告された腫瘍の発生組織とはかならずしも同一ではなかった。

(表1) 1,4-Dioxaneの13週間経口投与による呼吸器の変化(ラット)

Group (ppm)	Male			Female			
	4000	10000	25000	1600	4000	10000	25000
NASAL CAVITY							
Nuclear enlargement:olfactory epithelium	9	10	9		6	10	10
Nuclear enlargement:respiratory epithelium	2	5	1		3	3	7
Eosinophilic change:olfactory epithelium			6		1	6	6
Eosinophilic change:respiratory epithelium			5	1	1	5	9
Vacuolic change:olfactory nerve			9			2	8
TRACHEA							
Nuclear enlargement:epithelium	7	9	9	2	9	10	10
LUNG/BRONCHUS							
Nuclear enlargement:bronchial epithelium	9	9	9	10	10	10	10

(表2) 1,4-Dioxaneの13週間経口投与による呼吸器の変化(マウス)

Group (ppm)	Male				Female			
	1600	4000	10000	25000	1600	4000	10000	25000
NASAL CAVITY								
Nuclear enlargement:olfactory epithelium		10	9	10		9	10	9
Nuclear enlargement:respiratory epithelium	9	10	9	10	5	10	10	9
TRACHEA								
Nuclear enlargement:epithelium		10	10	10		9	10	10
LUNG/BRONCHUS								
Nuclear enlargement:bronchial epithelium			1	2		1	1	6

○金子真弓、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 演者らは既に、既知の発癌剤であるウレタンについてその発癌リスクの評価を行い、第8回本学会（1992年、奈良）で報告した。さらにB6C3F₁マウスに誘発される肺腫瘍については、投与期間によって、その発生率及び組織像に差異があり、これが発癌リスクの評価に少なからず影響することも報告した（第5回日本癌学会総会、1992年）。こうした報告のなかでは、異なるウレタンの投与期間あるいは投与方法で誘発された肺腫瘍が、同様の生物学的特性をもつとして評価してきたが、誘発方法が異なる場合、生じた肺腫瘍の増殖能や悪性度に差異があることも充分予想される。こうした観点から本研究では、ribosomal RNAをコードするDNAループに一致し細胞増殖能の評価に有用とされるArgyrophil nucleolar organizer regions (AgNORs)の観察を行い、投与期間や肺腫瘍の所見との相関を探ることを試みた。

方法 B6C3F₁雄マウス（6週齢）を用い、一群を30匹とする各群に対して、6、60、120 ppmのウレタン混入蒸留水をそれぞれ、35週間及び70週間経口投与し屠殺した。加えて35週投与後70週まで蒸留水で飼育後屠殺する群と無処置対称群として、35及び70週間蒸留水を投与する群を設けた。各群の有効動物数と肺腫瘍の発生率は表1に示す。尚、過形成は、前腫瘍性病変として十分な所見を備えており、検討対象に加えた。これらの発生腫瘍全てのホルマリン固定、パラフィン包埋材料の薄切標本に対して、AgNORs染色を施した。染色法は、Plotonらの"one step method"を用い、陽性顆粒の数は400倍視野で100個の腫瘍細胞についてその数を数え、その平均を求めた。また腫瘍の大きさは、同一標本上の最大径を顕微鏡下にocular micrometerを用いて計測した。

結果と考察 対称群には肺腫瘍の発生はごく僅かであったので、これを除く各群に生じた肺腫瘍（過形成を含む）の大きさを0.4mm以下、0.7mm以下とそれ以上の3群に分け、AgNORs数と対比させると表2の如くなる。腫瘍の平均の大きさは、同一投与期間で比べると用量相関性に大きくなることがわかった。AgNORs数は、35週投与群では腫瘍の大きさと良く関連したが、70週投与群では腫瘍の大きさに相関はなく、かつ同じ大きさの腫瘍でも60ppm群に比べ120ppm群の方がAgNORs数が小さかった。35週投与70週屠殺群では70週投与群と同様のAgNORs数を示し、60ppm群に比べ120ppm群が低値を示す傾向も類似していた。

以上の所見は、ウレタン投与によって誘発される腫瘍について、その大きさは投与早期に規定されること、また70週生存例で見ると、早期の高濃度ウレタン投与は肺腫瘍の増殖能に負の要因となることを示唆した。

Table 1. Incidence of Mice with Lung Lesions

Urethane dose(ppm) in:		No. of effective mice	No. and incidence (%) of mice with tumors in:		
Duration(wks) of:			Histological types of tumors		
0-35	36-70		Hyp*	Ad**	Ca***
0	—	25	0	0	0
0	0	24	0	1	0
6	—	30	1 (3)	0	0
60	—	29	2 (7)	3 (10)	0
120	—	28	3 (11)	13 (46)	0
6	0	26	1 (4)	4 (15)	0
60	0	22	2 (9)	6 (27)	0
120	0	25	10 (40)	19 (76)	1 (4)
6	6	15	0	1 (7)	0
60	60	24	7 (29)	12 (50)	1 (4)
120	120	25	5 (20)	17 (68)	0

* Hyp: Alveolar / bronchiolar hyperplasia
 ** Ad : Alveolar / bronchiolar adenoma
 *** Ca : Alveolar / bronchiolar carcinoma

Table 2. AgNORs in Lung Lesions with Correlation to Dose and Duration

Urethane dose(ppm) in:		Average AgNORs(No. of lesions) in:			
Duration(weeks) of:		Lesions with size(mm):			Total
0-35	36-70	≤0.4	0.4<, ≤0.7	0.7<	
6	—	2.22 (1)	— (0)	— (0)	2.22 (1)
60	—	2.4 (2)	2.68 (3)	— (0)	2.54 (5)
120	—	2.43 (3)	2.66 (8)	3.62 (1)	2.87 (12)
6	0	2.41 (1)	2.66 (3)	2.28 (2)	2.49 (6)
60	0	2.38 (1)	— (0)	2.32 (4)	2.33 (5)
120	0	1.73 (4)	1.85 (16)	1.88 (30)	1.85 (50)
6	6	— (0)	— (0)	— (0)	— (0)
60	60	2.61 (2)	2.48 (11)	2.52 (13)	2.51 (26)
120	120	1.93 (7)	1.9 (13)	2.04 (43)	2 (63)

○西川秋佳¹、Fung-Lung Chung²、古川文夫¹、今沢孝喜¹、
榎並倫宣¹、三井雅之¹、高橋道人¹
(¹国立衛試・病理、²American Health Foundation)

【はじめに】

脂質過酸化の最終産物の1つであるtrans-4-hydroxy-2-nonenal(HNE)は、*in vitro*の実験系において、蛋白質やDNA等の生体内高分子との強い親和性を有し、細胞の変性を引き起こし、またその再生機転を傷害することが知られている。HNEは、脂質過酸化の過程で生体内に内因性に生成するほか、食用油等に少量含まれているが、経口摂取による急性毒性試験はこれまで為されていない。

【実験材料及び方法】

HNEは、Esterbauerらの方法により合成し、高速液体クロマトグラフィー等で純度が99%以上であることを確認した。7週齢のF344雄ラットを一晩絶食後、各5匹に0.5mlのコーン油に溶解したHNEをそれぞれ1000,300,100,30,10mg/kgの用量で強制経口投与し、対照群にはコーン油のみを投与した。投与後12時間は1時間間隔で動物を注意深く観察し、死亡確認後直ちに剖検した。以後、連日14日間に亘って観察を継続し、体重は3~4日毎に測定した。実験終了時、剖検の上、主要臓器について常法によりホルマリン固定H-E染色標本を作製し、病理組織学的に検索した。

【結果】

最高用量(1000mg/kg)投与群において顕著な自発運動の低下がみられ、その内の2匹が投与6時間及び8時間後に死亡したが、その他の動物は全群実験終了時まで全例生存した。体重増加は、中用量群(100mg/kg)が対照群と同様の推移を示したが、高用量の2群では抑制傾向を、低用量の2群ではむしろ促進傾向を示した。死亡動物では、組織学的に高度の急性尿細管壊死が観察されたが、肝の変化は軽度であった。死亡例におけるその他の組織変化として、心内膜及び胸腺に出血がみられ、肺、脾、精巣及び脳にかなり強いうっ血が観察された。一方、生存例ではHNEの用量に相関した肝の変性所見が小葉中心性からびまん性に観察されたが、全例において腎の変化は顕著でなかった。

【考察とまとめ】

以上の成績から、HNEはラットにおいて、HNEと同様に食品に含まれるアルデヒドの1つであるtrans-2-heptenalとほぼ同程度の急性毒性を示すことが判明した。HNEは内因性にも産生されるため、生体内にはglutathioneを主体とする十分な防御機構が存在するものと思われるが、防御機能を越える用量では肝及び腎を標的とする急性毒性変化が生ずることが示唆された。HNEはそのエポキシドである2,3-epoxy-4-hydroxynonanalとともに変異原性が指摘されており、いわゆる自然発生腫瘍の発生機序に関与する可能性が考えられ、類似の脂質過酸化生成物であるmalondialdehydeと同様に興味深い生体内物質と思われる。

カドミウム投与による歯牙組織の壊死
(卵巣摘出ラットを用いた13週間静脈内投与試験より)

33

○勝田 修^{1,2}・平塚秀明¹・松本順子¹・土谷 稔¹・梅村孝司² (¹三菱化成安科研, ²鳥取大学)

カドミウム (Cd) 暴露によって肝臓、腎臓、骨あるいは精巣等に障害が起こることは疫学および実験的によく知られている。しかしCd中毒による歯牙組織の病理学的検索はほとんどなされていない。演者らは第113回日本獣医学会病理分科会(1992)において、卵巣摘出ラットにCdを13週間静脈内投与し、腎症および骨症が惹起されることを報告した。今回はそれら動物の歯牙の変化について報告する。

材料および方法： 卵巣摘出ラット54匹を3群に分け、7週齢時から生理食塩水に溶解したCdCl₂を1回/日、週5回、0、1.0および2.0mg/kgの用量で尾静脈より投与し、4、8、13週目に各群6匹を屠殺した。切歯と臼歯は10%リン酸緩衝中性ホルマリン固定の後 EDTA4Na で脱灰し、通常のパラフィン包埋、HE染色標本とした。一部の動物については Villanueva 染色を施した後、樹脂包埋し、非脱灰研磨標本を作製した。

結果： 肉眼的に、2.0mg/kg群では8週頃から両顎切歯の白色化が観察されはじめ、13週目では同群の全例、1.0mg/kg群の1例で認められた。組織検査の結果、切歯の白色化は、正常ラットでエナメル質上層に認められる Prussian青陽性の色素沈着層が消失したことによる変化と判明した。HE標本ではこのほか成熟期のエナメル芽細胞や乳頭層の変性・壊死が認められ、エナメル上皮層はしばしば破壊・消失して一層の扁平上皮におおわれていた。歯髓腔では象牙芽細胞の壊死による同細胞層の崩壊と共に歯髓のうっ血・水腫さらには硝子化や石灰沈着が認められた(図1)。多くの動物で象牙質は菲薄化し、一部には象牙細管の破壊も認められた。また切歯の磨耗面では壊死歯髓が露出していた。これら切歯の変化は萌出部に近づくにつれて重篤になり、反対に根尖部は健全に保たれていた。以上の変化は4週目からすでに認められ、8週、13週と増悪しており、2.0mg/kg群でより顕著であった。臼歯は実験期間中肉眼的にはほぼ正常であったが、組織検査では切歯と同様、象牙芽細胞を始めとする歯髓の壊死が8週以降で認められ、2.0 mg/kg群で顕著であった。

考察およびまとめ： Bawden & Hammarström (1975) は、RIAによる検索でCdは肝臓、腎臓以外では歯牙に多く分布し、とりわけエナメル上皮や象牙芽細胞に特異的に沈着すると報告している。今回の組織検査で認められたエナメル芽細胞や象牙芽細胞の変性・壊死は、彼らの報告を裏付けるものと思われる。しかし、根尖部よりも萌出部に近い末梢で著しい変化が認められ、かつ歯髓にも壊死等の循環障害性変化が及んでいたことから、精巣の出血性変化と同様に、Cdの投与によって歯牙組織でも循環障害による変化が惹起されるものと思われる。

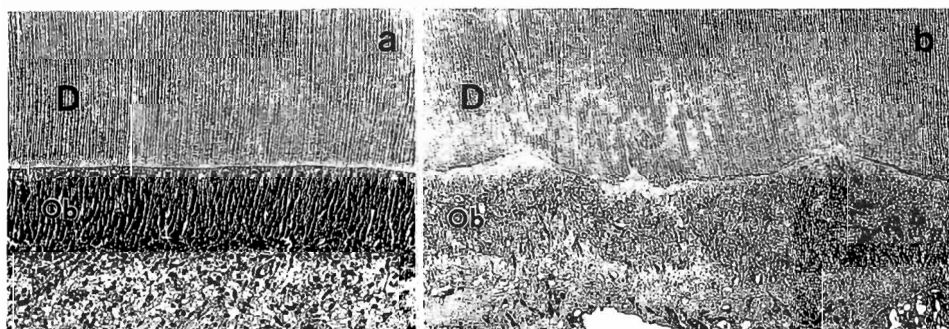


図1.
カドミウム投与による歯髓の壊死
a ; 対照
b ; 2.0 mg/kg投与 (D) 象牙質 (Ob) 象牙芽細胞 ×100, HE染色

○森 文秋, 高屋豪瑩, 吉田泰二, 中村清純(弘前大・脳研・神経病理)

水俣病発生地域では, 高血圧症患者が多かった。実験的に塩化メチル水銀を投与したSHRは, WKYより死亡率が高く, 肝臓, 腎臓, 脳の組織内水銀濃度が高い(Tamashiro, 1986)。メチル水銀投与ラットと同様の小脳顆粒細胞変性が, 含硫黄有機溶媒の一種であるチオフェンをラットに投与すると惹起され, また, 肝障害が発生している。今回, SHRとWKYに対して, チオフェンによる中枢神経病変形成過程の病理像の相違について検討を加えた。

SHRおよびWKY, 雌, 150日齢を用いた。90日齢時に血圧を測定し, 投与開始1日または1週間前に, ペントバルビタール(20-30 mg/kg)麻酔下で, ABRを測定(投与前ABR値)した。チオフェン0.15 mlを1日1回, 5ないし6回, 後肢筋肉内に投与して, 症状, 体重変化を記録し, 投与終了後, 経時的に, 再度ABR測定後, 直ちに経心的に灌流固定した。肝臓, 腎臓, 脾臓, 心臓, 肺, 小脳および下丘について病理組織像の検索を行った。病変の顕著だった小脳と肝臓については電顕的検索も併せて行った。

1. 症状: SHR, WKYともに, チオフェン投与後に一連の立毛, 自発運動の低下, 尿中ケトン体, 蛋白の出現などがみられたが, 自発運動の低下については, SHRの方が顕著であった。SHRでは, 投与1日前ペントバルビタール麻酔施行ラットで自発運動の低下が顕著にみられた。

2. 体重減少: SHRでは, WKYに比べ, 体重減少率が10%を越える例が多く, ペントバルビタール麻酔を1日前に行った実験群では, 体重減少が1週間前に施した群よりも激しかった。WKYでは, ペントバルビタール麻酔時期による影響はみられなかった。

3. ABR変化: SHRでは, 振幅低下ないし潜時延長が多くみられた。WKYは, 殆ど振幅低下のみで潜時延長はなかった。両系統ともにペントバルビタール麻酔の時期による差異はみられなかった。

4. 病理組織像:

1) 両系統に, 小胞体の増生を伴う肝細胞変性, 小脳変性および下丘変性がみられたが, その頻度および病変の程度はSHRにより強かった。SHRでは1日前ペントバルビタール麻酔施行例は, 1週間前施行例より病変程度が強かったが, WKY例はペントバルビタール麻酔時期による病変の相違はなかった。

2) 1日前ペントバルビタール麻酔施行例のWKYで, 変性の強い顆粒細胞層内の血管内腔にオスミウム好性の均一物質が観察された。SHRでは, 均一物質を見つけることはできなかった。しかし, WKYに比べ, SHRの方で, 血管内皮細胞の変化(Bleb formation)や血管周囲の浮腫が目立った。

実験的チオフェン中毒症でも, SHRの方がWKYより, 実験的メチル水銀中毒症と同じ様に易損性が高く, ペントバルビタール麻酔の影響が大きかった。小脳病変形成は肝臓病変の既存状態に関連する病変と考えられ, WKYの小脳で出現していた血管内均一物質が, 細胞膜障害性病変の形成に深く関与しているものと思われる。本研究の結果は, 各種毒物の毒性を検索する際にSHRが有用な実験動物である可能性を示した。

○渡辺敦光、藤本成明、岡本太郎、伊藤明弘（広大原医研癌）

目的：F344ラットにMNUを飲料水として投与する事により胃癌が高率に生じる事が報告されてきた。一方成長ホルモン（GH）は成長や代謝に関与しているホルモンであり、我々はF344系ラットの下垂体腫瘍からGHのみを分泌する移植可能な株を分離した。そこで今回はこのMNUの系を用いてGHの腫瘍発生に及ぼす影響を検討した。

材料と方法：4週齢の雄F344:Jcrを6群に分け、3群にはMNUを100ppmを飲料水として4か月間投与した。MNU投与後MF餌投与群（第1群）、MNU終了後1週間低ヨード餌と蒸留水投与し、¹³¹Iヨード100 μ Cu/100g体重を与え放射線甲状腺摘出を行った群（第2群）並びに第3群にはGHを分泌する下垂体腫瘍MtT/sの10⁶個の細胞の移植を行った。残りの3群はMNU無処置群で、放射線甲状腺摘出のみ群（第4群）、MtT/s移植のみ群（第5群）、並びに無処置群（第6群）とした。基本的にはMF餌で飼育した。動物は下肢の麻痺もしくは瀕死の状態で屠殺した。実験終了はMNU投与後25週であった。

結果：第2群並びに第4群は体重や臓器重量が減少し、一方第3群や第5群ではGHの影響で体重や臓器重量が増大した。MNU投与群では癌が発生した。全腫瘍の発生率は第1群で29/31(94%)、第2群では27/32(84%)、第3群では31/32(97%)であった。その腫瘍の発生は胃癌のみならず中枢神経腫瘍（大部分neurinoma）が認められた。神経腫瘍はそれぞれの群で45%、32%、32%であった。胃癌は第1群42%、第2群44%、第3群53%であった。胸腺リンパ腫は第1群32%、第2群16%、第3群19%であった。肉腫がそれぞれの群で10%、6%、22%と発生した。その他の腫瘍として甲状腺、前立腺、腎臓、肺、下垂体や膀胱に認められた。3群の間にはいずれの腫瘍に於いても発生率には差は認められなかった。1匹当たりの3個の腫瘍を持つ動物数は第3群で第2群に比して増大した(p<0.01)。更に集積腫瘍発生率では胃癌は第3群で他の2群に比して早期から認められた。脊髄腫瘍は第3群、第1群と続き第2群では発現時期が後期にずれて出現した。一方胸腺リンパ腫では第1群が早期から、第3群、第2群と続いた。又、第4-6群では腫瘍は認められなかった。

結論：本実験でGHは胃や神経腫瘍の発生頻度は変化させないが早期から腫瘍を発生させる事、一方甲状腺摘出でGH量が減少すると報告されているため、GH量の減少が腫瘍の発生の時期を遅らせた事から、GHが神経腫瘍発生や胃癌の促進作用をすると考えられた。しかしながら胸腺リンパ腫ではその効果が無い事から、GHはすべての腫瘍発生の促進作用を行わないと考えられた。

○北浦敬介、渋谷 淳、小野寺博志、安原加壽雄、阿瀬善也、
三森国敏、高橋道人（国立衛試・病理）

【はじめに】ラット神経鞘腫の診断確定には特異的な診断指標がないことから、腫瘍の発現部位、形態学的特徴および基底膜やS-100蛋白の存在等から総合的に診断されていることが多い。しかし、この腫瘍の生物学的特徴については不明な点が多く、特に、中間径フィラメントやS-100蛋白が腫瘍発生のいずれの時期より発現し、また、いずれの時期から細胞増殖活性が高まるかについては明らかでない。ENUの経胎盤投与によりラットに神経鞘腫を実験的に誘発できることから、我々はこのモデルを用いて誘発された腫瘍の増殖動態ならびに腫瘍細胞内中間径フィラメントやS-100蛋白の免疫組織学的特徴について検討した。

【材料および方法】動物はF344/DuCrjラットを用い、妊娠17日目にENU50mg/kgを1回腹腔内投与し、その後、生まれた雄の仔動物について、生後5、10、15、20および25週に屠殺した。屠殺に先立って5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)を含有する浸透圧ポンプを1週間腹腔内に埋没した。対照群は未処置の母動物から生まれた雄の仔を生後5、10および25週に屠殺した。屠殺前にENU処置群と同様にBrdU埋没処置を行った。ENU処置群および対照群の動物から三叉神経、三叉神経節、腕神経叢、坐骨神経を採取し、メタノール・カルノア液で固定後、パラフィン包埋切片を作製した。これらについて、H-E染色を施し、さらに、BrdU、中間径フィラメント、S-100蛋白に対する抗体を用いて、ABC法により免疫組織化学的に検索した。

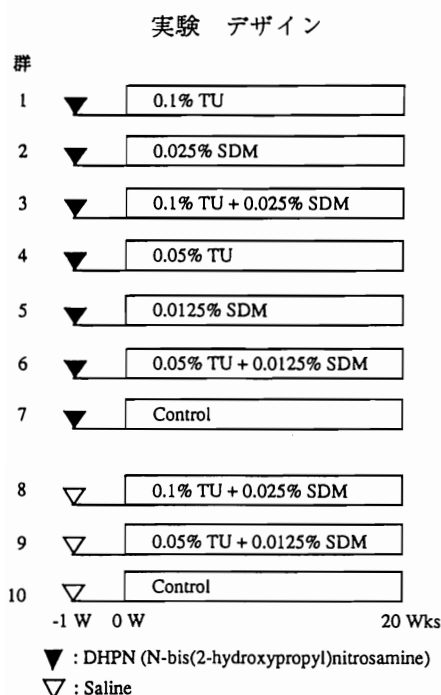
【結果および考察】ENU経胎盤投与による神経鞘腫は三叉神経に好発した。生後5週より腫瘍初期像と思われる病変が認められ、中枢・末梢接合部近傍の末梢有髄神経束に沿う、核のみからなり胞体がほとんどない未分化な細胞の限界不明瞭な増殖巣として認められた。生後10週以後では、中枢・末梢神経接合部近傍から神経線維の間を縫うように腫瘍細胞は増殖しており、三叉神経節からさらに遠位神経幹にまで浸潤した。さらに進展した大きな腫瘍では偽嚢胞の形成を伴い、神経外膜を破壊し周囲組織への浸潤性増殖も認められた。腫瘍細胞のほとんどは未分化型であったが、一部ではコラーゲンの産生を伴い胞体が少し豊かな分化型細胞からなる病巣として認められた。BrdUの標識による細胞増殖活性の検索では、胞体がほとんどない未分化な細胞は増殖活性が高く、一方、コラーゲン産生のみられる分化型細胞では増殖活性が低かった。S-100蛋白の発現については、腫瘍の初期段階から、周囲組織への浸潤増殖を示す腫瘍にいたるまで分化型細胞病巣を含めS100-蛋白の発現は認められなかった。

【結論】ENU経胎盤投与により誘発されたラット悪性神経鞘腫は、腫瘍発生初期よりS-100蛋白の発現を示さず、増殖活性の高い未分化な細胞の浸潤増殖を特徴とするものであり、未分化なタイプの悪性神経鞘腫と考えられた。また、S-100蛋白の発現は一部にみられた分化型腫瘍細胞においてさえも認められなかったことから、S-100蛋白の発現が神経鞘腫の確定診断に必ずしも有用でないことが示唆された。

○小野寺博志¹、阿瀬善也¹、北浦敬介¹、安原加壽雄¹、
高橋正一²、三森国敏¹、林 裕造¹、高橋道人¹
(¹ 国立衛試・病理、² 佐々木研・病理)

【はじめに】甲状腺二段階発がんモデルを用いて peroxidase 阻害剤で同様の抗甲状腺作用を持つ thiourea (TU) と sulfadimethoxine (SDM) のプロモーター作用としての加算あるいは相乗作用、またその用量相関性について検索した。

【材料・方法】動物は6週齢の雄F344/DuCrjラットを用い実験デザインに示すように



1~7群にはインジェクション処置としてDHPNを150mg/100g 体重を1回皮下投与、8~10群には同様の方法で生理食塩水を投与し、その1週間後よりTU, SDMそれぞれの濃度で単独あるいは複合で蒸留水に溶解し飲料水として自由に摂取させた。実験は20週で終了し甲状腺重量の測定および病理組織学的検索に加え、甲状腺の単位面積に占める増殖性病変を計測した。また解剖時に採血し甲状腺ホルモンを測定した。

【結果】甲状腺腫瘍の発生は1~6群で認められ、複合投与群がTU, SDM単独投与群と比べ高い発生率を示し、複合投与群では高濃度の方が高く、3群では100%であった。DHPNのみを投与した7群とTU, SDMのみの8, 9群では腫瘍の発生は認められなかった。一匹当りの増殖性病変個数はTUおよびSDM単独投与群に比べ複合投与群が相乗的に増加し、特に過形成ではその傾向が顕著であった。甲状腺重量は実重量・相対重量

とも単独投与群は濃度に依存した重量増加を認めたが、複合投与群では加算以上の増加傾向がみられ、特に濃度の高い3群で著明であった。甲状腺の単位面積あたりに占める過形成および腫瘍性病変の割合も単独投与群に比べ複合投与群で増加した。最終屠殺時における血清中のT₃値は複合投与の6群で低値を示し、T₄値でも1群と3、6群の複合投与で低値を示した。

【まとめ】同じ作用機構を有する抗甲状腺作用物質の単独あるいは複合投与による作用を甲状腺二段階発がんモデルを用いて検討した。その結果、複合投与群において単独投与群に比べ抗甲状腺作用および腫瘍プロモーター作用の増強が認められた。

○岡本太郎、伊藤明弘、渡辺敦光、藤本成明
(広島大学原医研・癌)

著者らは従来の研究から甲状腺腫の発生と進展に性ホルモンの関与を示唆し、その効果は、1)エストロゲンによる甲状腺上皮細胞内受容体を介する上皮細胞増殖、2)エストロゲンの下垂体細胞、特にTSH細胞の増殖による血中TSHの上昇の二つの経路による甲状腺の腫瘍化と悪性を説明した。今回は、上記の現象をより詳細に観察するために、経時的に動物を屠殺し内分泌学的所見と病理学的所見を検討した。

「目的」本研究では去勢雄F344ラットを用いてmethylnitrosurea(MNU)とiodine deficient diet(IDD)の併用投与により誘導される甲状腺腫瘍発生過程で更にエストロゲン(E2)の持続投与を行い、経時的に腫瘍発生を観察した。

「材料と方法」実験動物は雄性F344ラットを用い、5週齢で去勢を行い、8週齢で40mg/kgのMNUを一回静注した。なお、全ての実験群はMNU投与後35週間IDD投与を受けた後に屠殺解剖した。又、E2はコレステロールベレットとして背部皮下に埋没投与した。

「結果」全ての実験群共にIDDの投与を受けたので全て過形成をしめした。これにMNUを投与した実験群では更に全ての症例で腺腫及び腺癌の進展が見られた。一方、E2又はTを投与した実験群では、非投与群に比べ甲状腺重量の増大が見られ、又、腺腫や腺癌の多発性も増大した。特にE2はこの腺腫形成能の増大に効果が著しかった。E2投与群では実験開始後4週目で過形成から腺腫への転換が観察された。誘発された腺腫(腺癌)は主としてtrabecular typeを示し、一部にpapillary typeも認められた。

Medullary typeは稀であった。BudR摂取率を腫瘍部、過形成部、正常部と比較すると有意の差を示して腫瘍部で摂取率の高値が認められた。甲状腺腫でのE2受容体はE2投与により上昇し、正常又は過形成に比べ腫瘍部で高値を示した。次に下垂体の変化を観察すると、E2投与により下垂体は腫大したが、TSH陽性細胞数は正常下垂体に比べ相対的に減少した。これに反し、血中TSHは上昇した。その結果、E2による下垂体の過形成でTSHの分泌こう進と同時に持続的分泌過多があったと考えられた。

「結論」IDDとMNUによるラット甲状腺腫瘍の発現に対し、E2は明らかにプロモーション効果を示したが、その作用は下垂体と甲状腺の両作用を介したものであることが明かとなった。

○内海博之, 香武哲也, 富高裕二, 奥田教隆, 奥村克彦, 中村忠男
(吉富製薬 安全性研究所)

[緒言]

演者らは第8回日本毒性病理学会において、抗精神病薬のハロペリドールをイヌの各性周期に投与し、乳腺の形態学的変化と性ホルモンとの関係について検討し、乳腺の形態学的変化の違いは薬物投与による血清中プロラクチン濃度の増加と各性周期における血清中プロゲステロン濃度の差が関与していることを示した。今回、演者らはさらに発情後期のイヌにハロペリドールを長期間投与し、乳腺の過形成から退縮の過程と性ホルモンの関係ならびに子宮の変化と性周期の関係についても検討したので報告する。

[材料および方法]

LRE-Hazleton供給の雌ビーグル犬(9~19ヵ月齢, 体重:9~12kg)を用い, 以下の実験を行った。

実験Ⅰ: ハロペリドールの3mg/kgを発情後期(初回発情出血停止から8日~10日)の2例に5週間, 1例に8週間経口投与し, 経時的に血清中プロラクチンとプロゲステロン濃度の測定ならびに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。

実験Ⅱ: ハロペリドールを未成熟期(初回発情出血前), 発情後期(初回発情出血停止から8~10日後)および無発情期(初回発情出血停止から105~128日後)各期の2例に3mg/kg, 1例に9mg/kgをそれぞれ5週間経口投与し, 投与期間終了後, 子宮の病理組織学的検査を行った。

[結果および考察]

実験Ⅰ

発情後期にはハロペリドールの投与開始時から血清中プロゲステロン濃度が高く, 3週目まで比較的高値を維持するが, 4~5週目から減少し, 8週間投与例ではほとんど認められなくなった。これらの変化は無処置イヌの性周期における血清中プロゲステロンの濃度推移とほぼ同様であった。一方, 血清中プロラクチン濃度は, ハロペリドールの投与により1週目から増加し, 8週目まで継続して投与前値より高値を示した。

乳房の肉眼的観察ではいずれも投与開始2~3週目に乳房の肥大と乳汁の分泌が認められ, 4~5週目で乳房は最大となった。しかし, それ以降投与を続けても6週目から乳房は徐々に縮小し, 8週間投与例では痕跡程度となった。組織学的には5週間例で著しい乳腺胞の過形成(妊娠様)が認められ, 8週間投与例では乳腺の退縮と腺腔の拡張が認められた。

実験Ⅱ

未成熟期および無発情期のハロペリドール3mg/kg投与例では子宮に組織学的変化は認められなかったが, 9mg/kg投与例では, 軽度な子宮の萎縮がみられた。これに対して発情後期の3および9mg/kg投与例では子宮腺の萎縮と単層円柱上皮の肥厚および淡明化がみられた。この単層円柱上皮はoil red O染色に陽性であり, 透過型電子顕微鏡において脂肪滴様物質が確認された。

以上の結果より, 乳腺の過形成は性周期による血清中プロゲステロン濃度の高値とハロペリドール投与による血清中プロラクチン濃度の高値によるものであり, 乳腺の退縮はプロゲステロン濃度の減少とプロラクチン濃度の持続的な高値によるものと考えられた。また, 子宮についてはハロペリドールを発情後期に投与した場合と, 未成熟期や無発情期に投与した場合とは明らかに形態学的に違いがみられた。これらの変化については薬物投与や性周期との関連性について現在検討中である。

○ 吉田 明由, 原田 孝則, 真板 敬三 (残農研)

〔目的〕 ヒトや実験動物における子宮内膜癌の発生は、自然発生例あるいは薬物誘発例ともに概ね老齢期以降に限られる。ヒトでは、その主因として内膜癌の発生母地となる内膜過形成が閉経期以降の内分泌環境のアンバランスによって頻出することが挙げられているが、ラットやマウスにおいても老齢期の子宮内膜に増殖性変化が観察されることは同様である。今回我々は、老齢動物の子宮内膜腺上皮に対する化学物質の発癌効果とその発癌過程を観察することを目的として試験を実施した。

〔方法〕 ICR 系雌マウス(Crj:CD-1)の若齢動物(1カ月齢, I群), 卵巣嚢胞の初発期にあたる成熟動物(6カ月齢, Ⅲ群)および子宮内膜腺の嚢胞状過形成が出現する初老動物(12カ月齢, V群)にエチレンチオウレア(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, 6カ月間投与し, その後3カ月間の無処置期間を設けた。対照群(Ⅱ, ⅣおよびⅥ群)の動物には蒸留水を投与した。これらの動物の子宮を BrdU 標識法を含む病理組織学的検査に用いた。

〔結果〕 各群で観察された主な子宮内膜病変の発生頻度を以下に示す。

所 見	投与開始月齢 1		6		12		
	試験群	I	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	V	Ⅵ
検査動物数(計画殺動物数)	20(12)	10(10)		20(16)	10(10)	20(10)	10(9)
内膜腺異形性過形成	7(6) ^a	0(0)		12(9) ^a	0(0)	7(5) ^a	0(0)
内膜癌(浸潤癌のみ)	1(1)	0(0)		8(7) ^{a,b}	0(0)	4(3)	0(0)
内膜腺嚢胞状過形成	6(3)	1(1)		7(6)	3(3)	9(5)	7(7)
内膜増殖症	3(3)	1(1)		2(1)	1(1)	5(3)	2(2)
内膜間質ポリープ	5(3)	0(0)		13(13) ^{a,b}	1(1)	10(6)	2(2)

統計学的解析は総発生頻度について実施。
a: 同月齢の対照群との比較で有意差を示す($p \leq 0.05$).
b: I群との比較で有意差を示す($p \leq 0.05$).

内膜癌の前駆病変と考えられる内膜腺異形性過形成の発生頻度には、投与開始月齢の違いによる明らかな差はなかったが、内膜癌の発生頻度はⅢ群がI群より統計学的に有意に高く、V群がこれに続いた。またⅢ群では内膜間質ポリープの発生頻度もI群より明らかに高かった。内膜癌の発生母地の検索では、数例に内膜間質ポリープ内で腺上皮の結節状増殖(腺腫様過形成)を認めたが、老齢性内膜病変である腺嚢胞状過形成、内膜増殖症あるいは内膜間質ポリープ内の腺上皮より、浸潤性内膜癌の発生は見られなかった。BrdU標識抗体による検索では、いずれの投与開始月齢の動物においても内膜癌の標識率は正常内膜腺や異形性過形成を示す腺上皮より明らかに高く、性周期の影響も希薄であった。なお、I~Ⅲ群の動物の子宮には間葉系腫瘍の発生は認められなかった。

〔結論〕 エチレンチオウレアと亜硝酸ナトリウムの同時経口投与方法によるマウス子宮内膜への発癌効果は、生殖器に加齢性病変が出現しはじめる時期の動物にもっとも有効であったが、老齢性の内膜増殖病変と内膜癌との関連性は認められなかった。

○大年辰幸, 村井 隆, 高田信康, 岩田裕之, 董 逸敏, 福島昭治(大阪市大・医・1病理)

[目的]

ラット膀胱発癌においてNa塩のプロモーション作用が知られている。今回、有機酸であるコハク酸のNa塩, コハク酸-Na, コハク酸二Naによる発癌プロモーション作用の有無を検討するとともに, プロモーション作用と細胞増殖の関連を追究した。

[方法]

実験 1 膀胱発癌プロモーション作用の検索: 6週齢のF344/DuCrj系ラットの雄88匹を用いた。0.05%BBN飲料水を4週間投与後, 第1群には5%コハク酸含有食, 第2群には5%コハク酸-Na含有食, 第3群には5%コハク酸二Na含有食, 第4群には基礎食をそれぞれ32週間投与し, 全経過36週にてラットを屠殺し, 膀胱を病理組織学的に検索した。またBBN無処置で被験物質のみを投与した群(第5~7群)も設けた。さらに尿pHと尿中電解質濃度を測定した。

実験 2 膀胱上皮の増殖とODC活性の検索: 6週齢のF344/DuCrj系ラットの雄60匹を用いた。第1群には5%コハク酸含有食, 第2群には5%コハク酸-Na含有食, 第3群には5%コハク酸二Na含有食, 第4群には基礎食をそれぞれ8週間投与し, 膀胱を病理組織学的, 免疫組織学的, 走査電顕的および生化学的に検索した。また尿pHと尿中電解質濃度を測定した。

[結果]

実験 1: 膀胱腫瘍の発生頻度, 単位基底膜当りの発生個数では第4群に比較して第2群と第3群は有意に増加していた。イメージアナライザーによる腫瘍面積の測定では, 第4群に比較して第2群と第3群は有意に増加し, さらに第3群は第2群より有意に増加していた。尿pHは第2群と第3群はほぼ同一であったが, 尿中Naイオン濃度は各群においてNa摂取に相関して上昇していた。

実験 2: 第2群と第3群では膀胱上皮の過形成を認め, 膀胱上皮のBrdU標識率は第4群に比較し, 第2群と第3群では増加を示し, 特に第3群では有意な増加を認めた。走査電顕的にもpleomorphic microvilliやshort, uniform microvilliなど過形成に出現する所見を認めた。なおODC活性については検索中である。

[結論]

ラットBBN膀胱発癌においてコハク酸のNa塩にプロモーション作用が認められた。しかもプロモーション作用の強度は, Na塩による膀胱上皮細胞の増殖能と相関し, かつ同一の尿pH条件においてNa摂取にも相関していることが明らかとなった。

○岩田裕之, 大年辰幸, 高田信康, 村井隆, 山口修司, 福島昭治(大阪市大・医・1 病理)

[目的]

近年、癌組織における悪性度の指標として、細胞増殖能との関連性からAgNORs、PCNA、BrdUなどの各種特殊染色が利用されており、その有用性が指摘されている。今回私達はAgNORsとPCNAが浸潤性膀胱癌の浸潤能の指標と成りうるのか、否かの検討を行った。

[方法]

検索材料は膀胱発癌物質であるBBN及びEHBNにより得られた浸潤性ラット膀胱癌8例(移行上皮癌)と、浸潤性マウス膀胱癌19例(移行上皮癌9例、扁平上皮癌10例)を用いた。移行上皮癌のいずれの症例も組織学的異型度2である。腫瘍の表層部と壁内浸潤先進部の2カ所におけるAgNORsのdot数、および不整なdotの出現率を計測した。また、ラット膀胱癌に対してPCNAとAgNORsの二重染色を行い、PCNA陽性細胞と陰性細胞におけるAgNORsのdot数、ならびに不整なdotの出現率を比較、検討した。

[結果]

AgNORsのdot数はラット膀胱癌では浸潤先進部1.93、表層部1.82と浸潤部にやや多い傾向にあり、マウス移行上皮癌でも浸潤部1.92、表層部1.86と同様の結果であった。しかしマウス扁平上皮癌では浸潤部1.90、表層部1.96であり場所によるdot数の差異は確認されなかった。不整なdotの出現率はラット膀胱癌浸潤部14.4%、表層部5.6%、マウス移行上皮癌浸潤部13.8%、表層部7.7%、マウス扁平上皮癌浸潤部14.4%、表層部7.6%と、浸潤部において不整なdotをもつ細胞が有意に多くみられた。次にPCNA陽性、陰性細胞とAgNORsのdot数を比較すると、PCNA陽性細胞ではdot数は2.11、陰性細胞では1.77とPCNA陽性細胞に多く認められた。さらに不整なdotはPCNA陽性細胞に29%、陰性細胞に4.5%とPCNA陽性細胞に高い出現率が認められた。

[結論]

腫瘍表層部と壁内浸潤先進部を比較すると、AgNORsのdot数に差異は見られなかったが不整なdotの数が浸潤部に多く認められた。またPCNA陽性細胞におけるdotはPCNA陰性細胞のそれと比較すると数も多く、不整な形態をもつものが多く認められた。以上より、AgNORsとPCNAは腫瘍細胞の増殖、浸潤度判定に有用であり、特にAgNORsのdotの形態が浸潤能をより鋭敏に反映していた。

○柴田雅朗^{1,2}、白井智之¹、高橋智¹、矢田英昭¹、内藤初美¹、伊東信行¹ (¹名市大・医・1病理、²大阪市大・医・1病理)

【はじめに】Uracilは、ラットやマウスに対して、極く短期間の投与で結石を生じさせ、膀胱上皮の過形成病変である乳頭腫症をもたらす。更に、長期投与ではラット、マウスに膀胱癌を発生させる。Uracilの発癌機構として、その結石の物理的刺激が挙げられるが、それには成長因子などの関与が考えられる。そこで、Uracil発癌の機構解明のため、成長因子抑制剤のSuramin (EGFをはじめとする種々成長因子阻害剤) およびProtamine (PDGF, bFGFの阻害剤) を用いて、Uracil誘発の初期膀胱上皮過形成病変に対する影響をみた。

【方法】6週齢のF344系雄ラット40匹を用い、各群5匹よりなる8群を設けた。1～4群は実験開始の1週前に両側の唾液腺摘出(Sx) (1, 3群) ないしはそのシャム手術を行ない(2, 4群)、その1週後より2週間、1および2群には基礎食のみを、3および4群には3% Uracil を混餌投与した。5および6群はSx後、6日目に50および25mg/kg 体重のSuramin を1回 i.v. し、その翌日より3% Uracil を2週間混餌投与した。7および8群はシャム手術後6日目より120mg/kg体重のProtamine (7群) ないしは10 μ g/kg体重のEGF (8群) をそれぞれ連日2週間(14回) i.p. するとともに3% Uracil を混餌投与した。実験開始の2週後に全動物を屠殺剖検し、発生した膀胱病変について病理組織学的に検査し、BrdUを用いて膀胱上皮のDNA合成を測定した。また、尿中のEGF濃度についても測定した。

【結果】膀胱上皮の過形成病変の発生は、Sx + Uracil + Suramin の50および25mg/kgの両群で、Uracil単独群と比較して、有意な抑制が観察された。一方、Protamine およびEGF投与はUracil誘発の過形成病変に対して何らの影響も示さなかった。膀胱上皮のBrdU標識率では50mg/kgのSuramin投与群で、Uracil単独群およびSx +Uracil群と比較して、有意な低下が観察されたが、25mg/kgのSuraminでは有意な差異は示されなかった。また、尿中EGF濃度は50mg/kg および25mg/kgのSuramin投与で有意な減少を認めた。

【結論】Suramin投与によりUracil誘発の膀胱上皮過形成病変の発生が有意に抑制され、特に50mg/kgでは膀胱上皮のDNA合成が著しく低下し、更に尿中EGF濃度の顕著な減少が認められた。これらの結果より、Uracil結石による物理的な粘膜増殖性刺激作用にはEGF等の成長因子が関与する可能性が強く示唆された。

○山本晋史,岩田裕之,董逸敏,大年辰幸,宇和川賢,福島昭治(大阪市大・医・1病理)

[目的]

ラット膀胱を他のラットの殿部に移植するいわゆるheterotopic bladder (HTB) は膀胱発癌モデルの1つとして現在、広く用いられている。今回我々はHTBを作製し、ラットを経時的に屠殺することによって、移行上皮における再生過程の推移を形態学的に検討した。さらに上皮再生能力についてPCNA、BrdUなどの免疫組織学的染色を行い、上皮細胞増殖能の経時的变化を追究した。あわせて、HTB作製前にcyclophosphamideを投与し、固有膀胱における膀胱炎がHTBのそれと、どのように異なるかを検索した。

[方法]

実験は6週齢のF344ラット雄32匹を用い、2群に分けた。第1群の動物には実験開始と同時に cyclophosphamide、20mg/kg、b.w.を腹腔内投与した。その2日後に第2群のラット膀胱を摘出し、第1群のラット殿部筋肉内に移植し、HTBの作製を行った。またHTB作製より週1回HTB内にリザーバーを介して生食を注入した。HTB作成4日、1週、2週、4週後4匹ずつ屠殺し、HTBとラットの固有膀胱を採取した。両者の膀胱の形態学的変化を病理組織学的に観察するとともに、PCNA、BrdUの免疫組織染色を行い、グループ間での標識率の違いについて検討を加えた。

[結果]

病理組織学的に、移植4日目の上皮細胞は殆ど脱落しており、僅かに残存した上皮細胞には変性・壊死を認め、粘膜下層には炎症細胞が著明に浸潤していた。移植1週後では脱落した上皮に替わって再生上皮が僅かながら確認できた。移植2週後では再生上皮細胞は膀胱の殆どの部位を被覆し、単純性過形成の像を示し、さらに4週後では単純性過形成とともにより高度な増殖像である乳頭状過形成を全例に認めた。炎症細胞浸潤はどの時期の膀胱にもみとめられたものの、その程度は経時的に減少していた。BrdU標識率は移植1週後が 0.23%, 2週後 0.69%, 4週後 0.90% と経時的に増加する傾向を示し、PCNA標識率も同様に4週後で最も高値を示した。固有の膀胱に関しては膀胱粘膜は保たれ、軽度の単純性過形成の出現がみられ、炎症もHTBに比し軽度であった。

[結論]

HTB作成後、上皮細胞の脱落・変性・壊死・再生が急速に始まり、移植2週後には膀胱は再生上皮で殆ど被覆されていた。またその再生能力は移植直後より次第に増加し、ほぼ4週で粘膜の過形成性病変が最も高度になった。さらに、固有膀胱にも薬剤性膀胱炎がみられたが、その発生は軽度であった。

カニクイザルの腎盂および膀胱の移行上皮における好酸性細胞質内封入体の超微形態および出現頻度

○佐竹 茂, 千早 豊, 宗岡篤信, 李 建中, 岩重記洋, 下村俊郎,
吉永さと子, 永田貴久, 永田良一 (新日本科学. 病理)

腎盂, 尿管および膀胱の移行上皮における好酸性細胞質内封入体は, アカゲザルおよびカニクイザルで報告されている. これらの封入体は, 移行上皮表層の細胞に好発し, 電顕的にtonofilamentに類似するフィラメントから構成されており, 封入体の形成は角化細胞のケラチン形成に類似しているとの報告がある. 今回, カニクイザルの腎盂 195例および膀胱 209例について検索し, 移行上皮における好酸性細胞質内封入体の出現率の検討および電子顕微鏡的観察を行った.

検索に用いたカニクイザルは, 安全性試験の対照群として用いられたもので, 東南アジアが原産地である. 年齢は歯の観察による推定で3~8歳であった. 腎臓および膀胱は解剖と同時に切り出され, 速やかに10%中性緩衝ホルマリン液にて固定後, 常法に従い脱水, パラフィン包埋, 薄切後HE染色を施し組織学的検査に用いた. 3例の腎盂については1.5%グルタールアルデヒドおよび1.0%オスミウム酸固定ののち, 脱水, エポキシ樹脂包埋, 超薄後, 酢酸ウラニルおよびクエン酸鉛の二重染色を施し, 電子顕微鏡的観察を行った.

光顕的に好酸性細胞質内封入体は, 直径が2~5 μ mの円形~卵円形を呈し, 結晶性で, 細胞1個に対し1個, まれに2~3個観察された. 腎盂および膀胱とも移行上皮表層の細胞に特に高頻度に認められ, 核に近接して位置する傾向がみられた. 出現の程度は, 表層の細胞10個中1個のみに認められる程度のものから, 表層から深層までほぼ全ての細胞にみられるものまで, さまざまであった. 電顕的に, 封入体は膜構造を示さないフィラメントの塊として観察された. 同一断面において, 封入体を構成するフィラメントの横断面と縦断面がみられ, 毛糸の毬を連想させる像を呈した. フィラメントの直径は12~17nmであった. また, 封入体の中に細胞質成分を巻き込んでいる像がしばしば観察された. これらの所見は, すでに報告されている所見と一致していた. 出現率は, 腎盂において雄105例中99例(94.3%), 雌90例中86例(95.6%), 膀胱においては雄108例中100例(92.6%), 雌101例中97例(96.0%)の移行上皮に認められた. 雄雌の腎盂では195例中185例(94.9%), 膀胱では209例中197例(94.6%)に認められ, 高い出現率を示した. 出現頻度および程度に雌雄差は認められなかった. また, 封入体の出現密度および大きさは, 同一個体の腎盂と膀胱において相関する傾向を示した.

Qing TANG, Ayumi DENDA, Takehiro ENDOH, Toshifumi TSUJIUCHI, Masahiro TSUTSUMI, Dai NAKAE, Yoichi KONISHI(Dep.Oncol.Pathol.Cancer Center, Nara Med. Univ.)

Iron is assumed to have a critical role in the production of activated oxygen species which has been postulated to be involved in the carcinogenesis mechanisms. In the present study, we examined the effects of various concentrations of iron on the induction of preneoplastic foci and evolution of the foci into persistent nodules in rat liver with or without PB exposure in rat liver.

[Materials and methods]: Six weeks old F344 male rats were used for all the experiments. Diets containing various concentrations of iron were prepared by mixing various amounts of ferric citrate with an iron deficient (<5ppm) corn starch- and kasein-based semisynthetic diet (Oriental Yeast Co. Ltd.),. In experiment I, animals were initiated by a single i.p.injection of N-nitrosodiethylamine (DEN) at a dose of 200mg/kg BW. After a 2 week-recovery period, the rats were divided into 8 groups. G1 was given 5000 ppm high iron diet, G2, iron deficient diet, G3, 180ppm normal iron diet, G4, Oriental MF diet for 12 weeks. G 5 to 8 were given the same diets as G 1 to 4 but with 0.05% PB. All rats were sacrificed 14 weeks after the beginning of the experiment. Number and area of r-glutamyl transpeptidase (GGT)-positive liver foci and lipid peroxidation of the liver were analyzed. In experiment II, preneoplastic liver foci were induced by DEN initiation and selection by Cayama-Faber procedure. One week after the selection, all rats were divided into 8 groups. G 1 to 4 were given either high iron, iron deficient, normal iron and Oriental MF diets, G5 to 8 the same diets as G1 to 4 but with 0.05% PB for 9 weeks. All rats were sacrificed 14 weeks after the beginning of the experiment. The number, size and area of persistent nodules which were homogeneously staining with GGT were measured.

[Results]: Iron deficient diet without PB but not with PB significantly decreased the number but not size of GGT-positive liver foci, and number, size and area of persistent nodules compared with normal iron diet. High iron diet either with or without PB exerted no significant effects on the induction of GGT-positive foci and persistent nodules

[Conclusions]: These results suggested an involvement of iron in DEN-hepatocarcinogenesis without PB exposure.

Effects of iron on the evolution of persistent nodules into hepatocellular carcinomas are now under investigation, and the results would also be included.

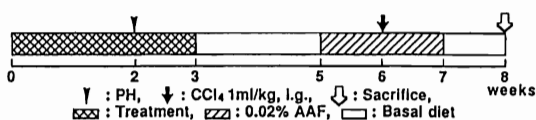
2級アミンbis(2-hydroxypropyl)amine(BHPA), diethanolamine(DELA), 2,6-dimethylmorpholine(DMM)の生体内ニトロソ化によるラット肝イニシエーション活性の検索

○小林永策¹⁾, 山本一彦²⁾, 堤雅弘¹⁾, 堀口浩資¹⁾, 天沼利宏¹⁾, 野口修¹⁾, 小西陽一¹⁾ (1)奈良医大・がんセ・腫瘍病理、2)高知医大・口外)

生体内において2級アミンとNaNO₂(亜硝酸塩)が胃液により発癌物質であるニトロサミンに合成されることは知られており、これはヒトの重要な発癌要因の一つと考えられている。一方、2級アミンであるBHPA, DELA, DMMは化粧品等に広く用いられている物質であるが、これらの物質が体内でニトロソ化され、発癌に関与する危険性についての検索は充分になされていない。そこで今回我々は、BHPA, DELA, DMMとNaNO₂を同時に投与し、体内で合成されるニトロソ化合物のラット肝イニシエーション活性についてGGT陽性巣の発生を指標に検索した。

〔材料および方法〕6週齢のWistarラット雄計121匹を用いた。実験プロトコルをFig.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0.3%NaNO₂を投与した群、第3群は1%BHPAを投与した群、第4群は1%DELAを投与し実験開始1週間後0.5%DELAに変え投与した群、第5群は0.25%DMMを投与した群、第6群は1%BHPAと0.3%NaNO₂を同時に投与した群、第7群は第4群と同じくDELAを投与したのと同時にNaNO₂を投与した群、第8群は0.25%DMMと0.3%NaNO₂を投与した群とし、第9群以降は各々の2級アミンのニトロソ体であるnitrosobis(2-hydroxypropyl)amine(BHP)を100ppm投与した第9群、nitrosodiethanolamine(NDELA)を100ppm投与した第10群、nitroso-2,6-dimethylmorpholine(NDMM)を100ppm投与した第11群とした。この処置を3週間続けて途中2週間目に部分肝切除術を施した。投与終了2週間後よりFarberらのselection操作を行った。動物は実験開始7週後にエーテル麻酔下で放血屠殺し、肝についてGGT陽性染色を行い陽性増殖巣を計測した。

〔結果および考察〕ラット肝臓におけるGGT陽性巣数をTable.1に示す。1cm²および1cm³当りのGGT陽性巣の発生数は、2級アミンとNaNO₂を同時投与した第6~8群では、先駆物質のみを投与した第2~5群よりも多く、また第6,7群では各々のニトロソ体であるBHP, NDELAを100ppm投与した群と同程度のGGT陽性巣の発生がみられた。また第2~5群は無処置対照群に比べ有意な差はみられなかった。以上の結果より、BHPA, DMM, DELAはNaNO₂と同時に投与すると生体内ニトロソ化によりラット肝にイニシエーション活性を有することが示唆された。



Treatment ; Group 1 : No Treatment
 Group 2 : 0.3% NaNO₂ (in drinking water)
 Group 3 : 1% BHPA (in diet)
 Group 4 : 1% — 0.5% DELA (in diet)
 Group 5 : 0.25% DMM (in diet)
 Group 6 : 1% BHPA + 0.3% NaNO₂ (in diet, in drinking water)
 Group 7 : 1% — 0.5% DELA + 0.3% NaNO₂ (in diet, in drinking water)
 Group 8 : 0.25% DMM + 0.3% NaNO₂ (in diet, in drinking water)
 Group 9 : 100ppm BHP (in drinking water)
 Group 10 : 100ppm NDELA (in drinking water)
 Group 11 : 100ppm NDMM (in drinking water)

Fig. 1 : Experimental Protocol

Table 1. Number of GGT-positive foci in the rat liver

Group	Treatment	Effective No. of rats	No. of foci		Percent area occupied by foci (%)
			(1 cm ²)	(1 cm ³)	
1	No Treatment	11	0.6±0.5	8.5±6.5	0.2±0.3
2	0.3% NaNO ₂	6	0.6±0.7	6.0±7.8	0.3±0.4
3	1% BHPA	9	0.7±0.7	11.1±10.0	0.1±0.2
4	1% — 0.5% DELA	2	0.5±0.4	7.9±5.5	0.1±0.1
5	0.25% DMM	8	0.8±0.6	10.7±8.9	0.2±0.2
6	1% BHPA+0.3%NaNO ₂	10	8.5±6.3	80.4±32.8	6.2±8.4
7	1% — 0.5%DELA+0.3%NaNO ₂	5	2.6±0.9	32.9±8.3	0.8±0.5
8	0.25%DMM+0.3%NaNO ₂	10	31.8±7.8	358.9±105.7	14.7±9.2
9	100ppm BHP	10	10.0±4.8	129.0±54.4	3.8±3.8
10	100ppm NDELA	10	4.3±2.0	61.3±27.5	0.9±0.5
11	100ppm NDMM	9	48.2±9.5	514.5±149.6	26.9±9.5

○伊藤明弘、渡辺敦光（広大原医研癌部門）

横山弘臣、加納誠一郎、栗栖和信、郡英明（大塚製薬工場）

目的：

B6C3F1マウスに ^{252}Cf 中性子を全身に照射する事で雄に肝腫瘍が好発する事を我々は報告した。この肝腫瘍の発生は食餌制限や味噌投与で減少する事を見出した。一方核酸は人工栄養として注目をされている。そこで今回は放射線障害に及ぼすヌクレオシドの影響を検討した。

材料：

雄B6C3F1マウスを4群に分けアミノ酸組成の明かなAIN-76 B配合精製餌にヌクレオシド無添加餌（0%群）、0.5%添加餌（0.5%群）、2.5%添加餌（2.5%群）、並びに対照餌MF（MF群）を放射線照射1週間前より投与し、6週齢で ^{252}Cf を2Gy1回全身照射を行った。動物は照射後も引き続き各々の餌で飼育し、照射後13ヶ月で屠殺した。

結果：

有効動物はMF群31匹、0%群31匹、0.5%群27匹、2.5%群26匹であった。各群間での摂取量には差はなかった。屠殺時の体重はMF群33g、0%群31g、0.5%群32g、2.5%群31gと各群の間には差を認めなかった。

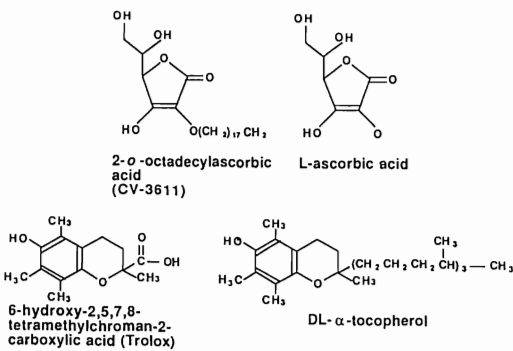
全腫瘍の発生率はMF群では61%、0%群では39%、0.5%群では30%、2.5%群では41%であった。0.5%群ではMF群に比して有意に減少した。重複腫瘍は各群で10-16%に見られた。しかし肝腫瘍の発生頻度はMF群42%、0%群13%、0.5%群7%、並びに2.5%群12%であり、MF群ではヌクレオシド餌並びに無添加餌群に比して有意に増大した。肝腫瘍の大きさ、1匹当たりの肝腫瘍の発生数は発生率と同様であった。ハーダ腺腫瘍は各群では4-15%に見られた。肺、腺胃、副腎、甲状腺、皮膚、前立腺、結腸に腫瘍が、又、胸腺腫等が生じた。しかしいずれの群間には発生率の差は認められなかった。

まとめ：

以上の結果は精製餌はMF餌に比して肝腫瘍誘発を減少させる効果を有し、特に0.5%ヌクレオシド添加で著明であった。又、MF餌に肝腫瘍誘発を促進する物質が混入されている可能性を示唆している。

○水本靖士, 中江大, 吉治仁志, 堀口浩資, 白岩和己, 遠藤武弘,
小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

我々は、これまでにCDAA食を用いたラット肝発癌モデルを開発し、その発癌過程における酸化性ストレスの関与を報告してきた。本実験は、生体における内因性抗酸化機構の重要な要素として知られているビタミンCの脂溶性誘導体であるCV3611のこの発癌系に対する影響についてL-アスコルビン酸(LAA), DL- α -トコフェロール(VE), トロロックス(TRLX,水溶性ビタミンE 誘導体) と対比し, CDAA食による酵素変異前癌病変の発生個数と大きさ, DNA中の8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8OHdG)の生成量, 膜脂質過酸化の誘発量を指標に検索したものである。動物は, Fischer344系雄ラット6週齢を用い, 各群5匹の計18群とした。各ビタミン誘導体の化学式は, 図に示す。実験期間は, 12週とした。各ビタミン誘導体は, CDAA食または対照のコリン添加アミノ酸(CSAA)食に混じて投与し, 低・中・高濃度として, それぞれ0.01・0.05・0.10%を設定した。第1群はCDAA食単独投与群, 第2・4・5・7・8・10・11・13群はCDAA食にそれぞれCV3611・LAA・VE・TRLXを低・中・高濃度で添加した食餌を投与した群, 第14群はCSAA食の単独投与群, 第15・16・17・18群はCDAA食にそれぞれCV3611・LAA・VE・TRLXを高濃度で添加した食餌を投与した群とした。実験結果は, 表にまとめて示す。CV3611は, 前癌病変の数・大きさ・8OHdG生成量・膜脂質過酸化誘発量のいずれにおいても, 投与用量に依存して抑制効果を示した。LAAは, 膜脂質過酸化の誘発に対しては投与用量に依存した抑制効果を示したが, 8OHdGの生成量と前癌病変の数については高濃度のみ, 病変の大きさについては中・高濃度のみにて弱い抑制効果を示すにとどまった。VEは, 膜脂質過酸化誘発に対しては投与用量に依存した抑制効果を示したが, 病変の発生個数については抑制効果を示さず, その大きさについて全濃度で, 8OHdG生成量については中・高濃度で弱い抑制効果を示すにとどまった。Trlxは, 病変の発生個数を高濃度で, 大きさを全濃度で弱い抑制効果を示し, 8OHdG生成量と膜脂質過酸化誘発量について中・高濃度で抑制効果を示した。以上の結果より, 外因性に投与したCV3611は, LAA・VE・TRLXに比し, CDAA食によるラット肝発癌に対して強い抑制効果を示し, その効果は酸化性ストレスに対する防御作用に基いて発現するものであることが判明した。



Chemical Structures of CV-3611, L-Ascorbic Acid, Trolox and DL- α -Tocopherol

Chemical	Summary of Results			
	GGT positive lesion	Oxidative DNA damage (8OHdG)	Lipid peroxidation	
	Number	Size		
CV3611	0.01%			
	0.05%			
	0.10%			
L-ascorbic acid	0.01%	~	~	
	0.05%	~	~	
	0.10%			
DL- α -tocopherol	0.01%	~	~	
	0.05%	~		
	0.10%	~		
Trolox	0.01%	~	~	~
	0.05%	~		
	0.10%			

コリン欠乏アミノ酸（C D A A）食により誘発されるラット肝発癌及び肝硬変のacetylsalicylic acid（A S A）による抑制

○遠藤武弘，傳田阿由美，湯晴，堀口浩資，田村一利，水本靖士，吉治仁志，中江大，小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

（目的）C D A A食によるラット肝発癌機構には内因性に産生される活性酸素が関与すると推測されている。我々はこれまでにC D A A食によるラット肝前癌性病変の誘発が種々の抗酸化剤により抑制される事を報告してきた。今回は、アラキドン酸代謝阻害剤であるA S Aを用い、C D A A食によるラット肝発癌機構に対するアラキドン酸代謝の関与について検索した。

（材料および方法）7週齢のF 3 4 4系雄ラットを全実験に用いた。〔実験1〕以下の6群を作成した。第1群はC D A A食単独投与群、第2、3群は各々0. 1%及び0. 2% A S A含有C D A A食投与群、第4群はコリン添加アミノ酸（C S A A）食単独投与群、第5、6群は各々0. 1%及び0. 2% A S A含有C S A A食投与群とした。各食餌は12又は30週間投与し、 γ -glutamyltranspeptidase（G G T）陽性F o c i及びN o d u l eの数と大きさを検索すると共に肝の脂質過酸化についても検索した。

〔実験2〕以下の11群を作成した。第1群はC D A A食単独投与群、第2～5群は、各々0. 1%、0. 2%、0. 4%及び0. 8% A S A含有C D A A食を投与した群、第6群はC S A A食単独投与群、第7～10群は、各々0. 1%、0. 2%、0. 4%及び0. 8% A S A含有C S A A食を投与した群、第11群はオリエンタルMF食投与群とした。各食餌は1週又は30週間投与しG G T陽性F o c i及びN o d u l eの数と大きさを検索すると共にbromodeoxyuridine(B U d R)の取り込みにより肝細胞増殖についても検索した。

（結果）実験1の結果、0. 2% A S Aは、C D A A食によるG G T陽性F o c iとN o d u l eの誘発を抑制するのみならず肝硬変の誘発も抑制した。また0. 1%及び0. 2% A S Aはいずれも肝の脂質過酸化を抑制した。実験2の結果、A S AはC D A A食投与1週間後に誘発される肝細胞増殖を用量依存性に抑制せしめた。30週間目の結果は現在検索中である。

（結語）以上の結果より、C D A A食によるラット肝発癌及び肝硬変誘発機構へのアラキドン酸代謝の関与が示唆された。

○田中浩二¹、Smith PF²、Keenan KP²、松本浩良¹、臼居敏仁¹、土井邦雄³
(1: 萬有 開発研 2: Merck Research Labs. 3: 東大 実験動物)

【はじめに】 ラットの肝にペロキシゾーム増生作用を持つ化合物 (ペロキシゾーム増生剤) の一つである clofibrate は、*in vitro* 試験において変異原性がみられないにもかかわらずラットの肝腫瘍を誘発することが知られており、その発生機序の一因としてペロキシゾーム(PX)の増加に伴って生じる細胞内酸化的ストレスが考えられている。一方、細胞増生と腫瘍発生との関連が注目されており、ペロキシゾーム増生剤が有する肝細胞増生作用が肝腫瘍発生に関与している可能性を示唆している。今回、Bromodeoxyuridine (BrdU) を用いてラットの増生肝細胞を標識することにより clofibrate投与による肝細胞動態を検索し、Hartig (1982)らによる clofibrate の長期投与試験におけるラットの肝腫瘍発生率との関連を検討した。

【材料および方法】 Hartig らの方法に従い、動物を Sprague-Dawley 系ラットとし、clofibrate を 0, 1, 500, 4, 500 および 9, 000 ppm の用量で混餌投与した。ただし試験開始時期は、生後の肝細胞増生率が安定する 11 週齢とした。これら動物を各用量群に雌雄各 12 例ずつ使用し、うち 6 例を投与 1 週間後、残りの 6 例を投与 13 週間後に Ketamine/Celactal 麻酔下で放血殺した。剖検に先立ち心血液を採取し、aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) ならびに alkaline phosphatase (ALP) を測定した。肝臓は重量を記録した後、10% 中性緩衝ホルマリン液に固定し、パラフィン標本作製した。また 13 週間の投与群からは肝の PXを定量化するために左葉の一部を 3% グルタルアルデヒド液に固定し、電子顕微鏡用試料とした。なお増生肝細胞を標識するために BrdU を 5% の濃度で 0.5N NaHCO₃ に溶解し、浸透圧ミニポンプ (Alzet, 2ML1) を用いて一週間にわたり持続投与した。これらポンプは、剖検の一週間前に Ketamine/Celactal 麻酔下で動物の胸背部皮下に埋め込んだ。

【成績および考察】 肝重量は投与 1 および 13 週目ともに用量依存的に増加した。投与 13 週目のPXの定量的検索ではやはり用量に依存した増加がみられ、特に雄で強い傾向を示した。血清 AST, ALT および ALP には特に大きな変動はみられず、また組織学的にも肝障害を示唆する所見は認められなかった。このことは、今回観察された肝細胞増生が修復性のものではないことを裏付けた。BrdU で標識された増生肝細胞は、投与一週目では用量に相関して急激に増加したが、13 週目では逆に用量に相関して減少した。これらより高用量の clofibrate をラットに投与した場合、投与初期には肝細胞増生作用を示すが、投与を持続することにより逆に肝細胞増生抑制作用を示すものと思われた。この作用は雌で顕著にみられ、雌における肝腫瘍発生頻度が高いことから、肝腫瘍発生に何らかの形で関与していると考えられた。

【参考文献】 Hartig, F. et al. (1982). Study of liver enzymes: peroxisome proliferation and tumor rates in rats at the end of carcinogenicity studies with bezafibrate and clofibrate. *Ann. New York Acad. Sci.* 386, 464-467.

○¹ 津田洋幸,¹松本和幸,¹伊藤充哉,²長尾静子,¹廣野 巖(¹藤田保健衛生大・医・2病理、²同・総医研・実験動物センター)

【目的】 細胞間結合装置のひとつであるギャップ結合装置(gap junction)は、ヒトおよびラットの肝腫瘍性病変部において発現が減少することが知られている。本研究では、ラットの肝におけるギャップ結合装置であるConnexin 32の蛋白(Cx32)の局在について、実験1では細胞増殖との関連、および実験2では前癌病変の悪性化過程における局在の推移との関連について追究した。

【材料と方法】 実験開始時7週齢のF344雄ラットを用いた。

《実験1》予め外科的に2/3部分肝切除(PH)を行い、3、6、12、18、24、30、36、48、60時間(h)後に各時3匹ずつ屠殺した。対照群は開腹のみの処置をした。全動物に対し屠殺1時間前にBrdUを120mg/kg腹腔内投与し、S期細胞の瞬間標識を行った。

《実験2》発癌物質としてN-ethyl-N-hydro-xyethylnitrosamine(EHEN)を飲料水中0.1%の濃度にて4週間投与後20~40週後に屠殺し、発生した肝の前癌病変である小増殖巣と過形成結節、肝細胞癌さらにヌードラットへの移植肝細胞癌を材料とした。

採取した肝は、液体窒素により-130℃に冷却したイソペンタンにて瞬間凍結し、薄切片をアセトン固定後、Cx32およびBrdUの免疫染色をおこなった。Cx32は病変部の肝細胞1000個以上について数を測定し、細胞10個当たりの数を、BrdUは同一病変部における細胞核のラベル率(LI)をそれぞれ算出した。

【結果】《実験1》Cx32は肝細胞膜上に隣接する細胞と共有して点在し、対照群において数は 35.2 ± 6.3 個/10細胞、LIは $1.2 \pm 1.2\%$ に対して、3h、 22.4 ± 3.8 個、 $1.3 \pm 1.1\%$ ；6h、 20.0 ± 3.7 個、 $1.4 \pm 1.2\%$ ；12h、 13.4 ± 2.7 個、 $2.0 \pm 1.5\%$ ；18h、 6.0 ± 4.5 個、 $10.0 \pm 2.4\%$ ；24h、 2.4 ± 2.5 個、 $26.7 \pm 3.5\%$ ；30h、 2.5 ± 2.5 個、 $25.1 \pm 3.2\%$ ；36h、 2.6 ± 3.1 個、 $15.1 \pm 3.4\%$ ；48h、 4.6 ± 3.1 個、 $13.4 \pm 3.3\%$ ；60h、 8.1 ± 5.4 個、 $10.2 \pm 2.5\%$ であり、細胞増殖のS期~G₂期に正常値の7%前後まで減少を示した(P<0.001)。

《実験2》40週齢の対照無処置ラット肝のCx32数は 38.4 ± 5.1 個に対し、小増殖巣 8.7 ± 5.1 個(対照の77%減)、過形成結節、 2.2 ± 1.5 個(94%減)、肝細胞癌、 0.3 ± 0.4 個(99%減)、移植肝細胞癌、 0.0 ± 0.0 (100%減)(いずれもP<0.001)であった。

【考察と結論】 Cx32の蛋白発現は、PH直後から急激に減少し、DNA合成の極期であるS期と、G₂期にほぼ最小値となりその後緩やかな回復がみられた。すなわち増殖能の旺盛な細胞ではCx32を介する細胞相互の情報や物質の連絡が減少、消失することが示唆された。またCx32が肝腫瘍病変の進展とともに進行的に減少を示したことは、前癌病巣細胞が増殖能の増大と相関して周囲組織環境から離脱し、独立性を獲得することが、進展と癌化、さらに臨床的悪性形質顕在化要因として極めて重要であることが明らかとなった。

○小島隆^{1) 2)}・澤田典均²⁾・務臺衛¹⁾・鐘雲²⁾・小山田正人²⁾・森道夫²⁾ (三菱化成¹⁾、札幌医大²⁾)

マウスの肝芽腫は、老齢時にみられる稀な肝腫瘍であるが、最近、薬剤誘発によっても誘発されることが知られるようになってきた。しかし、未だこの肝芽腫の生物学的特徴は充分解析されておらず、特に組織発生についてはわかっていない。そこで我々は肝癌好発系であるB6C3F1マウスの雄を用いて、diethylnitrosamine(DEN)によるイニシエーションとphenobarbitai(PB)によるプロモーションを加えて肝芽腫を作製し、病理組織学的に検索すると共に、免疫組織学的に中間径フィラメント、肝細胞の産生する血漿蛋白、ギャップジャンクション蛋白などの発現を指標に、その組織発生について検討を試みた。

<方法> 動物は、8週令の雄 B6C3F1 マウス82匹を用い、基礎食を与えた対照群、0.05% PB混餌食を与えたPB群、100mg/kgの DENを腹腔内単回投与後、基礎食を与えたDEN 群、DEN 投与2週間後からPB混餌食を与えたDEN+PB群の4群に分け、開始52週間後に各群の10匹、60週間後にDEN 群およびDEN+PB群の21匹を、エーテル麻酔下に放血致死させ剖検した。また、60週間飼育動物については屠殺1時間前に、100mg/kgのBrdUを腹腔内に投与した。肝臓および肺は、ホルマリン固定後、常法通りパラフィン切片を作製し、H. E. 染色を施した。免疫組織化学は、パラフィン切片では抗ケラチン、抗ビメンチン、抗マウス α -フェトプロテイン、抗マウスアルブミン、抗BrdU抗体を用いて、各々ABC法で実施した。凍結切片では細胞接着装置の有無について、デスモゾームは抗desmoplakin I/II、タイトジャンクションは、抗7H6 (札幌医大製)、ギャップジャンクションは、抗CX-32, 26, 43 (札幌医大製)を用いて、各々間接蛍光抗体法により実施した。60週間飼育動物の肝にみられた肝芽腫結節の一部を、電子顕微鏡的検索に供するとともに、移植材料として培養液中で細切して、ヌードマウスの鼠径部皮下に移植した。移植4週間後、形成された腫瘍について組織学的な検討を行った。

<結果> 肝芽腫は、DEN+PB群のPB開始52週間後に1/10例、60週間後の8/21例に認められた。一方、肝細胞癌は、各々6/10例、11/21例であった。対照群、DEN 単独およびPB単独群では、肝芽腫の発生は認められなかった。肝芽腫は組織学的に、肝細胞癌と明らかに区別され、小型の好塩基性細胞の充実性増殖からなっていた。免疫組織化学的に、ビメンチン、 α -フェトプロテインおよびアルブミンは陰性、ケラチンは陽性で、ケラチンフィラメントは電顕的にも核周囲に豊富に認められた。細胞接着装置は、電顕的には小型のデスモゾーム様構造が散見されたのみであったが、蛍光抗体法では、デスモブラキンが細胞膜に沿って認められ、タイトジャンクションも、全ての腫瘍細胞間に微小なdotとして認められた。ギャップジャンクションは、正常マウスの肝細胞にみられるCX-32と26が共に認められず、胆管上皮細胞やoval cellに発現すると言われていたCX-43が認められた。一方肝細胞癌では、CX-32, 26, 43がいずれも陰性であった。また腫瘍細胞中のBrdUは、約30%に陽性を示し、肝細胞癌の約5%に比して有意に高率であった。ヌードマウスに形成された腫瘍は、大部分で肝の腫瘍と同様な小型の好塩基性の腫瘍細胞の充実性の増殖を示したが、一部に肝に認められなかった腺管様構造が認められた。ケラチンによる免疫組織化学では、腺管様細胞および充実性の腫瘍細胞の一部に陽性所見が認められた。

以上の結果よりマウス肝芽腫は、DEN/PBにより高率に誘発されることが明らかになった。免疫組織化学および移植所見からは、このようにして誘導されたマウス肝芽腫は、胆管上皮に由来する可能性が示唆された。

○北村和之¹⁾、鳥海 互¹⁾、岩崎 仁¹⁾、吉川博康²⁾、吉川 堯²⁾、
岡庭 梓 (¹⁾田辺製薬・薬物代謝研、²⁾北里大・獣医・病理)

【はじめに】

化学物質投与による実験的肝障害は多種多様であるが、その発現に免疫学的機序が介在する炎症性性格の強いモデルの報告は少ない。我々は、カテコールメチルトランスフェラーゼ阻害剤である3-hydroxy-4-pyrone (Py) をマウスに長期間投与すると慢性活動性肝炎が惹起され、本肝炎の発現には遺伝的に免疫機能を異にするマウス系統間で差が見られることを報告してきた(第113および114回日本獣医学会)。今回、サプレッサー機能を選択的に低下させるとされている新生期胸腺摘除を施したマウスにおける本肝炎の発現の様相を病理学的に検討した。

【材料および方法】

出生日を0日として生後2から3日に外科的に胸腺を摘除(新生期胸腺摘除;NTx)したBALB/c系雌性マウス10匹および新生期に偽手術を施した同系の雌性マウス20匹をいずれも6~8週齢で実験に用いた。正常マウスおよびNTxマウス各々10匹に、Pyを粉末飼料に混合(0.5%wt/wt)して自由摂取させた(各々Py群、NTxPy群)。正常マウスの残り10匹は通常の粉末飼料を給餌し対照群とした。Py投与開始から6週および12週後に各群ともに各々半数の動物を安楽死させ、血液生化学的検査および病理組織学的検査を行った。

【結果】

6週後のPy群の血清GPT活性値は対照群の4.7倍に上昇し、組織学的に小葉中心帯肝細胞は細胞質のスリガラス様変化を伴って腫大し、核および核小体も肥大性であった。門脈域ではリンパ球系細胞を主体とする炎症細胞浸潤および線維増生による拡大、小葉辺縁帯肝細胞のpiecemeal necrosisといった慢性肝炎像が観察された。一方、NTxPy群のGPT活性値は対照群の6.4倍に上昇し、Py群と同一性状の病変が観察された。肝炎の程度はPy群より幾分高度であり、Py群では認められなかった小葉内線維性中隔形成が全例に観察された。12週後ではPy群、NTxPy群ともに上述の慢性肝炎病態はより高度となり、Py群は6週後のNTxPy群にほぼ匹敵する変化を示し、NTxPy群ではPy群と比較して明らかに重篤な慢性肝炎像を呈していた。

【考察】

Py投与により惹起されるマウス慢性肝炎は、サプレッサー機能を選択的に低下させるとされているNTxを施すことにより増強されることが明らかとなった。このことは本肝炎の病理発生における免疫学的機序の関与をより強く支持するとともに、本マウス肝炎が自己免疫性肝炎の性格を備えることを示唆するものと考えられる。

魚類における発癌臓器の種差

木村 郁夫 (愛知がんセンター 研究所ウイルス)

カレイ、タラ、ナマズ、ニベなど自然界魚類の肝癌、皮膚乳頭腫、黒色腫等は水圏環境の発癌物質による汚染指標として、また、メダカなど小型魚類を用いた化学発癌は発癌性検定をより経済的に実施するための基礎資料を得ることをも目的として研究されてきた。今回は、発癌物質の種類や投与方法が相違しても、特定種の魚類に誘発される腫瘍の型は"種 (Species)"によりほぼ一定で、魚種が異なれば同一物質の投与によっても異なった型の腫瘍が発生すること、そして、肝癌・胃腺腫等消化器系腫瘍はニジマス、アマゴに、黒色腫や神経系の腫瘍はプラティとソードテールの種間雑種、ニシキゴイ、ニベなどに発生しやすい、また、メダカには極めて多くの型の腫瘍が発生することを述べる。

(材料と方法) 用いた魚種は、ニジマス(醒井系、岐阜系)、アマゴ(岐阜系、長野系)、メダカ(H04C, HB32CとそのF1)、プラティ(SD, Sp)、ソードテール(グリーン)、プラティとソードテールの種間一代雑種、ニシキゴイ(赤色、白色)、ニベ、ゴンズイ、キンギョ(ワキン、コメット)の10種。発癌物質はMNNG, NP(ニフルビール)、DENA, MNU, DMBA, MAM, Afs(アフラトキシンで汚染したピーナッツ)の7種であった。発癌物質は水溶液としてその中に稚魚、若魚、もしくは胚を一定時間浸潤する方法(環境水による暴露)、消化管内への強制投与、胚表面(濾紙法)または皮膚局所への塗布、経飼等の方法で投与した。

(結果) 下記の腫瘍が種特異的に高率に発生した。

ニジマス: DENAの胚への環境水暴露とAfsの経飼投与(肝のみ検索)で肝癌、DMBAの皮膚塗布と胚表面への塗布で肝癌および胃・腸・鰾の腺腫、MNNGの胃内強制投与とMNNG, MNU, NP, MAMの胚への環境水暴露で上記に加え、腎芽腫。胚に投与したとき皮膚色素細胞過形成

アマゴ: Afsの経飼投与で肝癌、MNNG, NPの胚への環境水暴露で肝癌、胃の腺腫

メダカ: MNNG, NPの胚、稚魚、成魚への環境水暴露で肝癌、肝血管周皮腫、腎腺腫/腺癌、鰾腫瘍(上皮腫、血管腫、芽腫)、黒色腫など46種類の腫瘍

プラティ: MNNGの稚魚への環境水暴露で鰾腫瘍、皮膚乳頭腫、色素細胞過形成

ソードテール: MNNGの稚魚への環境水暴露で鰾腫瘍、皮膚乳頭腫

プラティとソードテールの種間雑種: MNNGの稚魚への環境水暴露で黒色腫、末梢神経腫瘍、鰾腫瘍

ニシキゴイ: 5、6ヶ月令の若魚へのMNNG, MNU, NP, MAMの環境水暴露で投与後12週までに多病巣性皮膚色素細胞過形成、18ヶ月-38ヶ月後に鼻腔神経上皮腫、網膜芽細胞腫、神経鞘腫、神経線維腫、精上皮腫

ニベ: 若魚へのNP, MNNGの環境水暴露で色素細胞腫瘍(黒色腫、虹胞腫)

ゴンズイ: NPの環境水暴露で皮膚色素細胞過形成、良性黒色腫

キンギョ: MNNG, NPの環境水暴露で皮膚乳頭腫と多型腺腫

○中山裕之、石野知子¹⁾、石野史敏¹⁾、後藤直彰（東大獣医病理、¹⁾ 東工大遺伝子施設）

5-Azacytidine(Az)はDNAのmethylationを阻害する薬剤で、妊娠マウスに投与すると新生仔に主に脳の異常を生じることが報告されている。今回、BALB/cおよびC57BL/6マウスの家系をAz加飲料水で飼育したところ、無眼または小眼のマウスが生まれたので、これについて報告する。

〔材料と方法〕 8週齢のBALB/cマウスを交配し、妊娠13.5日目よりAzを飲水(10 μ g/ml)投与した。C57BL/6マウスは交配前よりAz投与(10g μ /ml)を開始し、4週齢で交配した。以下、両系統とも同一家系内で交配を行った。これらの子孫は全て上記のAz加水で飼育された。異常の生じたマウスについて、剖検後臓器をホルマリン固定し、パラフィン切片を作製、光学顕微鏡で観察した。

〔結果〕 BALB/c マウスではF1に異常は見られなかったが、F1 どちらの交配で得られたF2、27匹（雄18、雌9）のうち雄2匹に右眼の欠損がみられた。左眼は正常であった。その他、成長不良、尾の湾曲が5匹に認められた。C57BL/6マウスでは別々の個体を用いた2回の交配で得られたF1、9匹（雄2、雌7）のうち雌2匹の右眼が著しく萎縮していた。左眼は正常であった。小眼症を示した雌を含むF1 どちらを兄妹交配して得られたF2、17匹のうち9匹は生後すぐに死亡した。その他のF1、F2は正常であった。

組織学的検査の結果、BALB/cマウスの右眼部に眼球は認められず、ハーダー腺、涙腺組織のみが認められた。C57BL/6マウスの右眼球は左に比べて約1/3で、各組織成分は形成されているものの、発達は未熟で、その割合、構造は全く不規則であった。いずれのマウスでも左眼は組織学的に正常であった。

〔考察〕 現在までマウスの遺伝的無／小眼症が報告されているが、薬物投与によるこのような例はない。本研究ではAz投与と無／小眼症との関係が示唆された。AzはDNAのmethylationを阻害する物質で、催奇形性をもつことが知られており、特に神経系の変化の報告が多い。今後はマウスの系統、Azの投与経路、量、時期等について検討し、この無／小眼症の発生率を向上させ、疾患モデルとしての確立を指向していきたい。

カニクイザルにみられた両側性真性半陰陽

○林 新茂、堀之内 彰、野々山 孝、宮嶋宏彰（武田薬品・薬安研）

【はじめに】 真性半陰陽(True Hermaphroditism)は、1個体に卵巢と精巢の両組織が共存する先天性奇形で、その生殖腺組織の組み合わせにより、(1)一側が卵巢で他側が精巢であるもの(Lateral T.H.)、(2)一側が卵巢および精巢の各組織からなり(しばしば両生殖腺の結合したovotestis)、他側は卵巢あるいは精巢のいずれかの組織からなるもの(Unilateral T.H.)、(3)両側とも卵巢および精巢の両組織、あるいは ovotestis であるもの(Bilateral T.H.)、(3)'また、亜型として一側は ovotestis であるが、他側の生殖腺は欠如するものに分けられる。このような真性半陰陽はヒト、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、モルモット、イヌおよびブタでは知られているが、カニクイザルでの報告はない。われわれは、毒性試験の対照群に用いた雌カニクイザルに外部生殖器は正常であるが、組織学的に真性半陰陽を認めたので報告する。

【動物】 フィリピンで人工繁殖された3.5年齢の「雌」カニクイザル(*Macaca fascicularis*)で、剖検時の体重は2.9kgであった。

【一般検査】 試験期間中に性周期に伴う外部生殖器からの出血が3日間観察されたが、その他の異常所見はなかった。ルチーンの血液・尿・血液生化学的検査および骨髄検査では異常はみられなかった。血液塗抹の観察で、正常雌の好中球の核にみられる“drumstick”が観察された。

【剖検および組織学的所見】 肉眼観察では、生殖器を含む諸臓器に異常はみられなかった。組織学的には、生殖腺の矢状断面に白膜に囲まれた卵巢組織と精巢組織が結合した ovotestis が観察された。これらの組織像は、左右両側の生殖腺に同様にみられた。右側生殖腺では、連続切片から判断された精巢組織と卵巢組織の面積比は約1:2、左側生殖腺では同1:4であり、いずれも卵巢組織が主体であった。Ovotestis の卵巢組織と精巢組織の境界部には結合組織が介在していた。卵巢組織では一次卵胞、二次卵胞およびグラフ卵胞が左右の生殖腺に観察された。左側の生殖腺には発達した黄体および白体がみられた。一方、いずれの生殖腺の精巢組織も精細管の発達が悪く、精祖細胞、精母細胞、精娘細胞、精子細胞あるいは精子はみられず、Sertoli 細胞のみがみられた。また、卵巢組織の反対極に精巢網が観察された。子宮および膣には組織学的な異常はみられなかった。

【まとめ】 本症例は外形的には正常な雌であったが、両側の生殖腺がともに ovotestis の真性半陰陽であり、カニクイザルでは初めての報告である。

示說要旨

(P-1 ~ P-69)

フリーラジカルの関与した鉄-アスコルビン酸慢性潰瘍モデルの 病理組織学的検討

○米良幸典、山口 格、新井金保、会田浩幸、米田智幸、松田和夫、立松正衛¹⁾
(ゼリア新薬工業・中研、¹⁾愛知がんセ・研・1 病理)

【目的】 近年、内藤らにより Free Radical 産生系である鉄-アスコルビン酸 (Fe-AsA) をラット胃壁に局注する事により、Free Radicalの関与した新規な慢性潰瘍モデルを作製できる可能性が報告されている。本モデルは消化管粘膜障害発生と Free Radical の関連性を解明するのに有用なモデルであると考えられることから、今回われわれは本モデルの経日的な病理組織学的変化を観察し、さらに、従来の慢性潰瘍モデルである酢酸潰瘍との組織像の比較を実施した。

【材料・方法】 体重約 200g のSD系雄性ラットをネブタール麻酔下で開腹し、胃を露出させ、腺胃部前壁漿膜下にマイクロシリンジを用いて 0.4M Fe-AsA 30 μ lを局注した。潰瘍作製後 4, 7, 14, 21 および 28 日に動物を放血致死させ、胃を摘出し、10% 緩衝ホルマリン溶液で固定した後、常法に従って組織切片を作製し、光顕にて観察した。酢酸潰瘍は、上記と同様の方法で 20% 酢酸 50 μ l を局注することにより作製した。

【成績】 Fe-AsA 潰瘍および酢酸潰瘍ともに、処置後4日で広範な全層におよぶ胃粘膜壊死による肝臓への穿通性の潰瘍が観察された。Fe-AsA 潰瘍では、潰瘍辺縁部の残存粘膜筋板に沿って鉄の沈着が広範囲に認められ、その領域に残存している粘膜上皮の下層の細胞においては変性あるいは壊死を示し、これらの上層の細胞は再生像および上皮の扁平化を示していた。この鉄の沈着は粘膜下織および漿膜側の血管壁および内皮にも認められ、これらの血管では明確な充・うっ血を呈し、一部では出血、血栓及び内弾性板の断裂像もみられた。この粘膜筋板周囲の鉄の沈着および筋板に沿った腺細胞の変性像は潰瘍作製28日後でも認められた。また、肉芽組織の形成は Fe-AsA 潰瘍は酢酸潰瘍に比較し軽度で、酢酸潰瘍では肝臓漿膜面および胃の漿膜側よりの線維芽細胞の増殖がみられるのに対し、Fe-AsA 潰瘍では胃の漿膜側よりの線維芽細胞増生はほとんどみとめられなかった。さらに、平滑筋層の障害(空胞化および核萎縮)も著しいものであった。

【まとめ】 以上のごとく、Fe-AsA 潰瘍モデルでは、持続的な鉄の沈着と一致した粘膜筋板近隣の上皮細胞の変性、血管障害および胃漿膜面よりの肉芽形成不全がみとめられ、Free Radical 生成との関連性が注目された。さらに、われわれは本病態における胃粘膜上皮細胞の修復過程を細胞分化の観点より、Pepsinogen 1 の免疫染色や粘液組織化学的に Galactose Oxidase-Schiff、Paradoxical Concanavalline A の染色を行い、検討する予定である。

○加藤俊男, 広瀬雅雄, 河部真弓, 浅川恵美子, 崔 林, 伊東信行
(名市大・医・1病理)

【はじめに】

多くのフェノール系化合物は、亜硝酸を同時投与することにより、ラット前胃上皮における過形成病変が、単独で投与した場合と比較して、著しく増加することが知られており、更に腺胃や食道上皮の細胞増殖作用を増強させる場合もあることが認められている。そこで今回は、亜硝酸の同時投与により、強度の前胃粘膜増殖作用を示した5種類のフェノール系化合物を用い、アスコルビン酸ナトリウム (NaAsA) および亜硝酸をそれぞれ、あるいは同時に短期間投与することによって、胃および食道に対し、いかなる効果を示すか比較検討した。

【実験方法】

F344系雄ラット (6週齢) を各群5匹ずつ用い、5種類のフェノール系化合物として、Catechol(0.8%), Hydroquinone(0.8%), TBHQ(1%), Gallic acid(2%), Pyrogallol(2%) を混餌投与した。群構成は、各フェノール系化合物と亜硝酸(0.3% 飲料水)、NaAsA(1%混餌) の同時投与群、各フェノール系化合物と亜硝酸の同時投与群、各フェノール系化合物と NaAsA の同時投与群、亜硝酸と NaAsA のみの同時投与群、および各フェノール系化合物、亜硝酸、NaAsA それぞれの単独投与群、さらに基礎食のみの対照群を設けた。屠殺は全群4週で行い、前胃、腺胃および食道上皮粘膜の厚さを計測し、亜硝酸、NaAsA の同時投与による効果を比較検討した。

【結果】

前胃中間部の粘膜の厚さは、各フェノール系化合物と亜硝酸の同時投与群において、フェノール系化合物単独投与群と比較して、何れも有意な増加が見られた。更に、NaAsA を同時投与することにより、各フェノール系化合物と亜硝酸同時投与群と比較して、何れの群においても粘膜の厚さは有意に増加した。亜硝酸と NaAsA の同時投与群でも、それぞれの単独投与群と比べ、粘膜の厚さは著しく増加した。一方、フェノール系化合物と NaAsA の同時投与群では、著明な変化は見られなかった。腺胃および食道では著変は見られなかった。

【結論】

NaAsA は、亜硝酸とフェノール系化合物の同時投与によりラット前胃過形成病変の発生を増強させ、また NaAsA は、亜硝酸存在下で強い前胃細胞増殖を誘発することが明らかとなった。

以上より、NaAsA は、フェノール系化合物と亜硝酸によるラット前胃発癌を増強させ、更に、NaAsA も亜硝酸存在下において、前胃に対し発癌性を有することが示された。

星谷 達¹⁾²⁾、岡崎修三¹⁾²⁾、中村 厚¹⁾²⁾、小川久美子²⁾、広瀬雅雄²⁾
 (¹⁾ボゾリサーチ、²⁾名市大・1病)

【目的】

いくつかのフェノール系抗酸化剤はラットの胃粘膜に対して発癌性を有することが知られている。しかし、これらの抗酸化剤投与により発生する胃粘膜上皮細胞の初期病変についての超微形態的变化の報告は少ない。そこで今回、前胃に発癌性を有する Butylated hydroxyanisole (BHA) Caffeic acid, 4-Methoxyphenol および 腺胃に発癌性を有する Catechol を投与して発生した胃粘膜の初期変化について経時的に超微形態的な観察を行ったので報告する。

【方法】

動物は6週齢のF344系雄ラット75匹を用い、5群に分けた。各抗酸化剤は混餌により投与し、第1～3群は各々2% BHA、2% Caffeic acid、2% 4-Methoxyphenol、第4群は0.8% Catechol、第5群は基礎食のみの対照とした。実験開始24, 48, 72 および 168時間後に各群3匹ずつ屠殺し、前胃および腺胃粘膜を光顕的あるいは電顕的に観察した。

【結果】

前胃では、光顕的に48時間後まで、いずれの群にも明らかな変化はみられなかったが、72時間以降4-Methoxyphenol 群に変性・壊死および炎症性細胞の浸潤が観察された。また、過形成が168時間後 Caffeic acid、BHA および 4-Methoxyphenol 群で観察された。電顕による観察では、Caffeic acid 群で24時間 (Fig.1) 以降、4-Methoxyphenol 群で48時間以降、BHA 群で72時間以降に基底細胞の細胞質に Free ribosome (polysome) の増加、核に Heterochromatin の減少と Euchromatin の増加および核小体の大型化と Segregation、さらに細胞質の Matrix density の減少が観察された。また、Catechol 群においても電顕的には同様な変化が48時間以降観察されたが、光顕的には過形成性の変化は明らかでなかった。

【まとめ】

各種の発癌性抗酸化剤投与による前胃粘膜細胞の初期病変として、光顕的な変性・壊死等の細胞障害が出現する以前に、細胞増殖に関連する変化が細胞内小器官に既に認められた。従って、電顕的にもこれらの抗酸化剤は前胃粘膜に対し一次的に細胞増殖を発生させることが確認された。



Fig.1 Electron microscopical observation of forestomach basal cell in rats treated with 2% caffeic acid for 24hr. (Mag. X7000)

The Modifying Effects of Dimethyl Itaconate and Sodium Chloride on the Forestomach and Glandular Stomach Carcinogenesis in Rats Treated with MNNG

Dae Joong KIM, Beom Seok HAN, Byongwoo AHN, Kook Kyung LEE, Jin Seok KANG, Aree MOOM, Chang Ok KIM, Kwang Sik CHOI, and Ja June JANG* (Dept. of Pathol., Natl. Inst. Safety Res., Seoul 122-020, Korea, *Dept. of Anat. Pathol., Korea Cancer Ctr. Hosp., Seoul 139-240, Korea)

The modifying effects of dimethyl itaconate (DMI), which is known as a quinone reductase inducer (QRI) and sodium chloride (NaCl) on the forestomach and glandular stomach carcinogenesis in rats initiated by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) were examined. A total of 180 male Wistar rats were given twice i.g. injection of MNNG (200 mg/kg b.w.) for two weeks, were given diets containing 10% NaCl for experiment I or were injected by gavage saturated NaCl (1ml/rat) soln. twice a week for experiment II for 3 week. And then animals were placed on drinking water containing 0.1 or 0.2% DMI for 16 weeks until the end of experiment. All rats were sacrificed at week 20. The forestomach was fixed in 10% neutral phosphate buffered formaline for histology and the pyloric gland was fixed in sublimated formalin for immunohistochemistry of pepsinogen 1 altered pyloric gland (PAPG). The incidence of PAPG in the groups treated with DMI was not altered in both experiments I and II. The preneoplastic and neoplastic lesions of the forestomach treated with MNNG plus NaCl followed by DMI treatment were significantly increased in both experiments compared with those of MNNG alone group by cumulative Chi-square test. In experiment I, additional treatment with 0.2% DMI caused a significant enhancement of the relative incidences of papilloma (5.6 vs 47%) and squamous cell carcinoma (5.6 vs 35.5%), as well as forestomach hyperplasia. In experiment II, however, DMI did not exert any modifying effects on the forestomach carcinogenesis in rats. Considering that the only difference between the two experiment protocols lies in the dose level and route of NaCl treatment, our findings indicate that the possible synergistic effect of DMI on the forestomach carcinogenesis by MNNG is necessarily correlated with the dose level of NaCl. Therefore, the presence of an excess intake of NaCl is important for the promoting potential of DMI on the forestomach carcinogenesis.

杉江茂幸、奥村 中、森下由起雄、吉見直己、田中卓二、森 秀樹（岐阜大、医、病理）
【はじめに】

phenyl isothiocyanate(PITC)及びphenethyl isothiocyanate(PEITC)はbenzyl isothiocyanate(BITC)やsinigrinを始めとするglucosinolate系物質のひとつであるが、これらの物質は十字花科等の植物に含まれ、日常よく食卓にのぼり摂取されている物質である。これらの物質はイニシエーション期の投与で乳腺、肺等の発癌を抑制することが報告されている。また、 α -hydroxylationの活性化や7-methylguanine、 0^6 -methylguanineレベルの測定結果からPITC、PEITCはBITC等の他のglucosinolate系物質に比し癌化学予防物質として有望であるという報告もなされている。一方、大腸、肝発癌で抑制作用を見いだしたBITCはNNK誘発呼吸器発癌では抑制効果を示さなかったと言う報告もあり、臓器特異性を示す可能性も示唆されている。今回、azoxymethane(AOM)誘発腸管発癌モデルを用いて、PITC、PEITCをイニシエーション期に投与し、その腸管発癌における修飾作用を検討した。

【方法】

5週齢雌F344ラットを用い、第1群は6週齢よりAOM 15mg/kg体重を週1回、計2回皮下投与し、実験期間中食餌として基礎食CE-2を与えた。第2、3群は5週齢よりPITC 400ppm混餌食、PEITC 400ppm混餌食を各々を与え、投与1週間後よりAOMを第1群同様に投与し、AOM最終投与1週間後迄実験食を投与、以後基礎食を実験終了まで与えた。第4、5群には生食水をvehicle treatmentとして投与し、5週齢より3週間PITC 400ppm混餌食、PEITC 400ppm混餌食を各々を与えた。第6群にも同様にvehicle treatmentを行い、実験終了まで基礎食を投与した。実験期間は1年間とし、実験終了後全例屠殺剖検した。

【結果・考案】

体重、肝重量はAOM単独投与群(328.6 \pm 45.0 g, 11.5 \pm 2.2 g)、AOM+PITC投与群(311.4 \pm 28.5 g, 12.4 \pm 1.7 g)、AOM+PEITC投与群(322.4 \pm 34.0 g, 12.0 \pm 3.7 g)、PITC単独投与群(340.4 \pm 55.8g, 13.2 \pm 2.6g)、PEITC単独投与群(333.2 \pm 53.1g, 12.4 \pm 2.4g)、コントロール群(316.5 \pm 29.1 g, 12.9 \pm 2.3 g)と有意差は認めなかった。腫瘍発生動物数はAOM単独投与群(小腸 22%、盲腸 11%、大腸 52%、全腸管 74%)、AOM+PITC投与群(11%, 0%, 78%, 78%)、AOM+PEITC投与群(38%, 13%, 69%, 81%)、平均腫瘍個数はAOM単独投与群(小腸 0.22 \pm 0.42、盲腸 0.11 \pm 0.31、大腸 0.74 \pm 0.84、全腸管 1.07 \pm 0.86)、AOM+PITC投与群(0.17 \pm 0.50, 0, 1.28 \pm 1.10, 1.44 \pm 1.17)、AOM+PEITC投与群(0.38 \pm 0.60, 0.13 \pm 0.33, 1.31 \pm 1.31, 1.81 \pm 1.70)となり各々、各群間に有意差は認めなかった。

以上の結果よりPITC、PEITCはAOM誘発腸管発癌に於てblocking agentとして抑制効果を示さず、むしろ促進する傾向が得られた。このような結果はglucosinolate系物質の発癌抑制作用の多用性を示すものと考えられる。

Azaserineによる無アルブミン血症ラット (NAR) における

膵腺房細胞癌の発生

○堀口浩資¹⁾, 堤雅弘¹⁾, 北澤俊治²⁾, 天沼利宏¹⁾, 田村一利¹⁾, 白岩和己¹⁾, 中江大¹⁾, 高橋正一³⁾, 長瀬すみ⁴⁾, 小西陽一¹⁾ (¹⁾ 奈良医大・がんセ・腫瘍病理, ²⁾ 旭川医大・3内, ³⁾ 佐々木研・病理, ⁴⁾ 佐々木研・化学)

P - 6

無アルブミン血症ラット (NAR) はSprague-Dawley (SD) ラットから確立された。このNARにおいては、BHDNを用いた膀胱癌・MNNGを用いた胃癌・DMNを用いた腎癌・Azoxy methaneを用いた腸管癌・ENUを用いた脳腫瘍の発癌実験系で腫瘍の発生頻度がSDラットよりも高いことが知られている。そこで今回我々は、ラットの膵腺房細胞癌を誘発させる物質としてよく知られているAzaserineをNARに投与し、膵腺房細胞癌の発生について検討した。

[材料および方法] 動物は2週齢のNARを用いた。実験プロトコルをFig.1に示す。第1,3,5群は対照群で生理食塩水を週1回の割合で計5回腹腔内投与した雌雄NAR群、第2,4,6群は体重kg当り30mgのAzaserineを週1回の割合で計5回腹腔内投与した雌雄NAR群とした。第1,2群は投与開始後17週、第3,4群は投与開始後29週、第5,6群は投与開始後57週にそれぞれエーテル麻酔下で放血屠殺し、膵臓を摘出・重量測定し組織病理学的検索を行った。

[結果および考察] 有効匹数・体重および膵重量をTable.1に示す。Azaserine投与群と対照群との間で有効匹数・体重・膵重量に差はみられなかった。膵病変の出現をTable.2に示す。Acidophilicな病変に関して、対照群ではほとんどみられなかった。膵腺房細胞癌は、Azaserine投与群で29週までみられず、57週の第6群で雌88%雄83%にみられた。1匹当りの総病変数は対照群に比べAzaserine投与群で多く、雌におけるものに比べ雄に多くみられた。Basophilic な病変に関してはFociのみがみられた。出現頻度および1匹当りの総病変数はAzaserine投与群で対照群に比べ多くみられた。以上の結果より、NARにおいてもAzaserineは膵に発癌性を有することが示唆された。

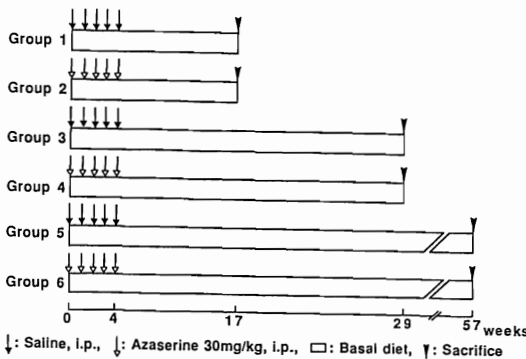


Fig. 1 Experimental Protocol for Studying Azaserine-induced Carcinogenesis in NAR

Table 1. Effective Number, Body and Relative Pancreas Weights of NAR Initiated by Azaserine

Group	Sex	Effective No. of NAR	Final Body weight (g, Mean±SD)	Relative pancreas weight (g/100g, B.W., Mean±SD)
1	M	7	418±49	0.22±0.01
	F	7	260±32	0.28±0.02
2	M	6	353±31	0.28±0.03
	F	6	260±25	0.27±0.03
3	M	6	507±50	0.21±0.02
	F	6	302±9	0.28±0.01
4	M	6	493±40	0.26±0.03
	F	5	291±33	0.29±0.04
5	M	10	584±49	0.19±0.03
	F	10	344±51	0.29±0.06
6	M	5	565±117	0.33±0.06
	F	16	307±54	0.40±0.11

Table 2. Incidence and Mean Numbers of Pancreatic Acinar Cell Lesions in NAR Initiated by Azaserine

Effective No. of NAR	Sex	Acidophilic phenotype					Basophilic phenotype		
		Incidence of pancreatic acinar cell lesions					Mean number of lesions	Incidence of pancreatic acinar cell lesions	Mean number of lesions
		Foci	Nodule	Adenoma	Carcinoma	Total lesions ^{a)}			
G1 M 7	0(0) ^{b)}	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0	0	0(0)	0
F 7	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0	0	0(0)	0
G2 M 6	6(100)	0(0)	0(0)	0(0)	6(100)	0	6.3±2.6	5(83)	1.3±0.9
F 6	5(83)	1(17)	0(0)	0(0)	5(83)	0	3.0±1.5	4(67)	2.0±1.7
G3 M 6	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0	0	5(83)	1.0±0.6
F 6	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0	0	3(50)	0.5±0.5
G4 M 6	6(100)	3(50)	0(0)	0(0)	6(100)	0	15.2±7.0	6(100)	4.8±1.7
F 5	5(100)	3(60)	0(0)	0(0)	5(100)	0	11.0±6.0	5(100)	4.0±1.7
G5 M 10	3(30)	0(0)	0(0)	0(0)	3(30)	0	0.3±0.5	3(30)	0.6±1.0
F 10	3(30)	0(0)	0(0)	0(0)	3(30)	0	0.5±0.9	1(10)	0.1±0.3
G6 M 6	6(100)	6(100)	3(50)	5(83)	6(100)	2.8±1.7	38.0±10.0	6(100)	8.3±3.6
F 16	16(100)	15(94)	7(44)	14(88)	16(100)	1.0±1.1	16.5±9.5	16(100)	4.9±3.0

a) Total lesions include foci, nodule, adenoma and carcinoma.
b) Numbers in parenthesis is % of positive animals.

P-7

○野口修¹⁾, 堤雅弘¹⁾, 森俊雄²⁾, 堀口浩資¹⁾, 吉田順一¹⁾,
高島吉治¹⁾, 小西陽一¹⁾

(¹⁾ 奈良医大・がんセ・腫瘍病理, (²⁾ 奈良医大・R I)

ハムスターにニトロソ化合物を投与して発生する膵管癌は、ヒト膵癌の大部分を占める膵管腺癌に類似した組織像を示し、また遺伝子の変異の点でもヒト膵癌で高率にみられる Ki-ras 遺伝子の変異が高率にみられており、ヒト膵癌の有用な動物モデルであるといえる。しかしながらハムスター膵癌の培養細胞系については、今まであまり報告はなされていない。

今回我々はBHP (N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine) を用いて誘発したハムスター膵管癌皮下移植株より3系統の培養細胞系を確立し、さらにこれらの遺伝子の変化をPCR-SSCP (Polymerase chain reaction - single strand conformation polymorphism) 法を用いて検索したのでここに報告する。

[材料および方法]

ハムスターの背部皮下に継代移植している癌組織を培養細胞用に処置した。

癌組織は細切し、培養液 (DMEM+10%FBS) 中で細胞を増殖させた。癌細胞とともに増殖してきた線維芽細胞は物理的に除去を繰り返して癌細胞のみを単離した。得られた癌細胞はディッシュに低濃度 (300-500 cells/10cm dish) で植え、生じたコロニーをクローニングシリンダーでつり上げるという操作を計2回行い、クローニングした。

[結果]

その結果、3種のクローン (HPD-1NR, 2NR, 3NR) が確立された。これらのクローンはいずれも培養液中で重層化し上皮様結合性がみられた、また、ハムスターの皮下に 10^6 cells で投与した場合に造腫瘍能を持つことが確認されている。

また、これらのクローンについてその遺伝子変化を PCR-SSCP 法を用いて検索した結果、Ki-ras exon 1 に全例で遺伝子変化を示唆する変異バンドが観察された。その他の遺伝子については現在検索中である。

○高田信康¹、鰐淵英機¹、大年辰幸¹、岩田裕之¹、長谷川亨²、中江 大³、
福島昭治¹（¹大阪市大・医・1病理、²佐賀医大・地域保健、³奈良医大・
がんセ・腫瘍病理）

食餌を介して摂取する多数の化学物質のうち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、それに含まれる5種類の化学物質の肝発癌修飾作用の検索結果を第8回本学会において発表した。

今回新たに5種類の被検物質を選び出し、それらが肝癌の発生をどのように修飾するかを、ラット肝の中期発癌性試験法を用いて検討した。

[方法] 動物は6週齢のF344/DuCrj雄性ラット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 trisulfide (DAT、150mg/kg bw)、第2、8群にはallyl methyl trisulfide (AMT、100mg/kg bw)、第3、9群にはmethyl propyl disulfide (MPD、100mg/kg bw)、第4、10群にはpropylene sulfide (PS、50mg/kg bw)、第5、11群には dimethyl disulfide (DMD、50mg/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週終了後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)陽性細胞巢の出現を免疫組織学的に検索した。さらに発癌修飾に及ぼす活性酸素の役割解明のため、肝における過酸化脂質と8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dG)の測定を行った。

[結果] 有効動物数は、第1、3、6群がそれぞれ15匹、第2、4、5群はそれぞれ14匹、第7、8、10、11、12群はそれぞれ9匹、第9群は10匹であった。屠殺時の体重は第1群が232±14g、第4群が245±12gと対照群に比して、有意な低下がみられた。

DEN投与群の肝におけるGST-P陽性細胞巢の発生個数(/cm²)および面積(mm²/cm²)は第1群では 6.62±1.89、5.77±3.12、第2群では8.24±2.71、5.85±1.48とDEN単独投与の第6群(対照群、4.79±1.61、3.56±1.61)に比して有意な増加を認めた。また第3群では2.91±1.52、2.09±1.06、第4群では2.45±1.32、1.98±0.68と対照群に比して有意な低下を示した。その他、第5群では4.09±1.81、3.50±1.57であり、対照群と比して有意差はみられなかった。

DEN非投与群ではGST-P陽性細胞巢はみられなかった。

またDEN投与群において、肝の過酸化脂質および8-OH-dGの生成を認めたが、GST-P陽性細胞巢の発生増加ないし減少との間に相関は認められなかった。

[結論] DATおよびAMTは肝癌の発生を促進し、逆にMPDとPSは抑制作用を有することが強く示唆された。

○萩原昭裕、長谷川良平、小木曾正、佐野真士、吉田康則、伊東信行
(名市大・医・1病理)

【はじめに】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74の非変異原性物質の結果について報告する。

【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。

【結果】本検索法において非変異原性の肝発癌物質では27例中23例(85%)と極めて高率に検出することが可能であった。検出し得なかった4物質は、いずれもペルオキシゾーム増生物質、すなわちclofibrate, di(2-ethylhexyl)phthalate, di(2-ethylhexyl)adipateおよびtrichloroacetic acidであった。肝以外を標的とする非変異原性発癌物質では12例中2例(17%)と低率ではあるが検出可能なものがみられた(alachlorおよびdiethylstilbestrol)。なお、発癌性の不確かなもの、あるいは無いと報告されているものではそれぞれ0/4(0%)、1/32(3%)に陽性結果を認めている。

【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週の検索法において、非変異原性の肝発癌物質の多くが陽性の結果を示した。すなわち、in vitro の変異原性試験にて検出不能な非変異原性の発癌物質ないし発癌促進物質を高率に検出し得ること、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 74 Nongenotoxic Chemicals in the Medium-Term Liver Bioassay

Test chemical group	Positive Rates (%)
Hepatocarcinogen	23/27 (85)
Non-hepatocarcinogen	2/12 (17)
Equivocal carcinogenicity	0/4 (0)
Non-carcinogen	1/32 (3)
Total	26/74 (35)

長期飼育雄 B6C3F₁ マウスにみられた赤血球増多と肝細胞腫瘍および血中エリスロポエチンの関連

○堀之内 彰、林 新茂、野々山 孝、宮嶋宏彰（武田薬品・薬安研）

【はじめに】 がん原性試験に繁用されるB6C3F₁マウスの雄には、自然発生性に肝細胞腫瘍が多発することが知られている。今回、2～2.5年間無処理で飼育後、剖検した雄マウスのうち、非担腫瘍15例(1群)、担肝細胞腺腫6例(2群)および担肝細胞癌10例(3群)の計31例について血液学的検査を行い、合わせて肝臓、骨髄および脾臓の組織学的検査を実施し、赤血球の産生を促進するエリスロポエチン(EPO)の血漿中濃度を測定し、腫瘍の悪性度と末梢血中の赤血球数の相関性について比較検討した。

【成績】 担肝細胞腫瘍動物(2群+3群)は、1群に比べて赤血球数(RBC)、ヘマトクリット値(Hct)、ヘモグロビン量(Hb)および血漿中平均EPO濃度は有意な高値を示し、平均赤血球容積(MCV)および平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)は有意な低値を示した。平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数および白血球数には差がなかった。2群および3群の脾臓は、1群に比べて肉眼的に腫大し、巨核球および赤芽球の増殖を伴う赤脾髄領域の拡大が観察された。また、骨髄でも同様に、巨核球および赤芽球の増殖がみられた。一方、2群と3群の比較では、2群に比べて3群でMCVの低値およびEPO濃度の高値がみられた。以上述べた脾臓および骨髄の組織学的変化は、末梢血中の赤血球数あるいは血漿中EPO濃度とよく相関し、また、肝細胞腫瘍の悪性度が高いほど顕著である傾向がみられた。

【まとめ】 以上の成績から、担肝細胞腫瘍雄 B6C3F₁ マウスにみられる赤血球数の増加は、小球性低色素性赤血球が血漿中のEPO濃度に依存して骨髄あるいは脾臓で増殖し、その程度は肝細胞腫瘍の悪性度に比例して増加することが示唆された。

Group		RBC ($\times 10^4 / \mu l$)	Hct (%)	Hb (g%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	EPO (mU/ml)
1	Mean	859	36	12.5	42	14.6	25.5
	S.D.	44	4	0.6	3	0.6	4.5
2 + 3	Mean	1167*	43*	14.9*	37*	12.9*	34.7*
	S.D.	230	8	2.5	4	0.9	10.3

*: Significant different from Group 1, $p < 0.01$

佐脇正邦,服部敦夫,都築直人,榎本克彦,森道夫(札幌医大第二病理)

緒言: 我々はこれまで、8週齢のLECラット肝は肝発癌物質であるdiethylnitrosamine(DEN)に対して高いinitiation感受性を示すこと、従ってLECラットにみられる自然発生肝癌の成因には発癌物質に対するLECラット肝の高感受性が関与している可能性があることを報告してきた。最近、LECラットの肝炎は、肝細胞内への銅の異常蓄積が原因であることが示され、この過剰な銅の蓄積が肝炎の発症と遺伝的に連鎖していることが明らかにされた。

今回我々は、LECラットの肝発癌物質(DEN)に対する感受性と肝細胞内への銅の蓄積が関連しているのかどうかを明らかにするため、F1戻し交配実験を用いてこれを検討した。

材料と方法: 8週齢のLEC×LEAのF1戻し交配雄ラットにDEN(20mg/kg)を腹腔内投与し、Solt-Farber変法で肝前癌細胞巣を誘発し、GST-P陽性細胞巣の数と、肝組織中の銅含量との関連を調べた。また、DENを投与せずにacetylaminofluorene(AAF)と部分肝切除を施した群についても同様の検索を行った。0.01mm²以上の大きさのGST-P陽性巣を数え、切片1cm²当たりの陽性巣数として計測した。肝組織中銅含量は、原子吸光法によって測定した。また、ホルマリン固定した肝組織片をTimmの硫化銀法変法を用いて銅染色し、肝銅含量と比較した。

結果: F1 backcrossラットは、原子吸光法による肝銅含量の測定によって、銅陽性と陰性の群にほぼ1:1に分離した。Timmの硫化銀法変法による銅の染色性は、原子吸光法による肝銅含量の測定結果とほぼ一致した。GST-P陽性細胞巣の数について、各群の間には差はみられなかった。また、群内のGST-P陽性細胞巣数については、多いものと少ないものと明瞭に分かれず、連続的な分布を示した。AAFと部分肝切除のみを行った群でも同様だった。このことから、銅の蓄積と誘導されたGST-P陽性細胞巣の数との間には直接的な関連はないことが示された。

考察: F1 backcrossラットにおけるDEN感受性は銅の蓄積と直接関連していないことが示された。また、DEN高感受性と低感受性ラットが1:1に分離しないことから、LECラットのDEN高感受性については、1つの遺伝子に支配されているのではなく、複数の遺伝的要因が関与している可能性があると考えられる。一方、このようなDEN感受性モードが劣性形質ではない可能性も考えられる。

現在、LEA及びFischerラットを用いたF1についての検索を進めている。

Biphagic Modifying Effects of Indole-3-carbinol on
Diethylnitrosamine-induced Preneoplastic Glutathione
S-transferase Placental Form Positive Foci in Liver
of Sprague-Dawley Rats

Boem Seok HAN, Dae Joong KIM, Kook Kyung LEE,
Byeongwoo AHN, Hun Taek KIM, Jong Hee BAE¹, Ja June
Jang², Joon Sup LEE³ and Ung Bok BAK³ (Dept. of
Pathol., Natl. Inst. Safety Res., Seoul 122-020;
²Dept. of Anatomic. Pathol., Korea Cancer Center
Hospital, Seoul 139-240; ³College of Vet. Med., Seoul
Natl. Univ., Suwon 441-744, Korea)

The biphasic modifying effects of indole-3-carbinol (I3C), a naturally occurring constituent of edible cruciferous vegetables, on the development of GST-P positive liver cell foci were investigated by using the medium-term liver bioassay system. A total of 80 male Sprague-Dawley rats were divided into 5 groups. Animals were given a single intraperitoneal injection of 200 mg/kg diethylnitrosamine (DEN) dissolved in 0.9% sodium chloride solution for groups of 1, 2 and 3 or a single intraperitoneal injection of 0.9% sodium chloride solution for group of 4 and 5. Group 1 was given the diet of 0.25% I3C for 2 weeks prior to DEN initiation and then basal diet for 8 weeks. Group 2 was given basal diet for 4 weeks prior to and after DEN initiation and then the diet of 0.25% I3C for 6 weeks. The rats of group 3 were placed on basal diet during the experiment. Animals of groups of 4 and 5 were treated with the same manner as groups of 1 and 2, respectively, except for the injection with 0.9% sodium chloride instead of DEN solution. The numbers of GST-P positive liver cell foci in the treatment with 0.25% I3C prior to initiation with DEN resulted in a significant decrease compared with that of DEN alone group ($p < 0.05$). However, the data for area were not significant. On the other hand, indole-3-carbinol administered after DEN treatment showed significant increase in both numbers and areas of GST-P positive liver cell foci ($p < 0.05$). The results clearly demonstrated that I3C exerts a promoting potential on the postinitiation process as well as an inhibitory potential on the preinitiation process in the medium-term liver bioassay.

○ 務台 衛, 小林 潔, 藤田重晴, 佐野文子, 土屋毅幸, 大堀裕司,
杉本次郎 (三菱化成・安全性研)

[4-Chloro-6-(2,3-xylylidino)-2-pyrimidinylthio] acetic acid (WY-14,643) は, ラットおよびマウスに対し強い肝発癌性と肝ペルオキシゾーム増殖作用をもつ非遺伝子障害性発癌物質である. 今回, WY-14,643の肝発癌過程におけるGST-P陽性細胞の発現の特徴を経時的に検索すると共に, 肝発癌性と肝ペルオキシゾーム増殖作用を有するクロフィブレートおよびDi(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) と比較検討した.

実験 I

【方法】 6週齢のF344雄ラット120匹を用い, 対照群, WY-14,643 100あるいは1000ppm, クロフィブレート 5000ppmおよびDEHP 12500ppm投与群の5群を設け, 13週間にわたり混餌投与した. 動物は2, 4, 8および13週時に屠殺し, 肝臓について病理学的に検討するとともに, 4週屠殺時の各群の肝臓について, ペルオキシゾーム増殖の指標酵素であるFAOS, CATなどを生化学的に定量した.

【結果】 WY-14,643投与群では, 2週屠殺動物においてGST-P陽性の単細胞が多数認められた. このGST-P陽性単細胞は2週以降経時的に減少したが, かわりにGST-P陽性巣(細胞3個以上)が経時的に増加した. これに対し, 対照群, クロフィブレートおよびDEHP投与群では, GST-P陽性細胞はわずかしか観察されなかった. また, HE染色における検索では, いずれの群にも変異増殖巣の有意な発生増加は認められなかった. また, 肝臓におけるペルオキシゾーム増殖の指標酵素の活性は, 各投与群において対照群に比べ有意に上昇していたが, 薬剤あるいは用量でその程度に相違は見られなかった.

実験 II

【方法】 6週齢F344雄ラット48匹を用い, 対照群およびWY-14,643 100ppm投与群を設け, 52週間にわたり混餌投与した. 動物は26および52週時に屠殺し, 肝臓について病理学的に検討した.

【結果】 WY-14,643投与群では, GST-P陽性細胞巣は26および52週時ともに対照群に比べ, 有意に増加した. HE染色における検索では, WY-14,643投与群の52週屠殺動物において変異増殖巣の発現頻度が, 対照群に比べ有意に高く, また, 肝細胞腺腫・癌が9/12例に見られた. これらの腫瘍性病変ではGST-Pの発現は認められなかった.

まとめ

クロフィブレートなどの肝ペルオキシゾーム増殖剤は, 肝前癌病変におけるGST-Pの発現を陽性から陰性へと変化させることが知られている. 今回の検討では, クロフィブレートおよびDEHPと同等のペルオキシゾーム増殖活性をもつWY-14,643において, 投与初期からGST-P陽性細胞が観察され, また, 陽性細胞巣は経時的に増加した. このことより, 肝ペルオキシゾーム増殖剤において, ペルオキシゾーム増殖作用の強さとGST-P発現抑制の間には単純な相関関係が成り立たないことが示唆された. また, GST-P陰性の腫瘍性病変の周囲にGST-P陽性細胞巣が観察されたことから, WY-14,643のラット肝発癌過程において, 前癌病変と腫瘍性病変のGST-Pの発現パターンは必ずしも同一でないと考えられた.

〇原田隆彦¹ 岡崎直子¹ 神谷新司¹ 畑中 純¹ 浜崎 徹² 榎本 真³
(¹日獣畜大、獣 ²鳥取大、農 ³安評センター)

近年、メダカを用いた発癌実験が数多くなされ、この種の実験動物としてメダカの有用性が評価されている。

我々も種々の化学物質をメダカに用い、数種の既知発癌物質に対して高い感受性を示すことを観察している。今回ラット、マウスの肝などで発癌性を示すマイコトキシンの一つ、Sterigmatocystin(S T G) をメダカに用いて実験を行った。S T Gはメダカ肝に対し高い発癌性を示すことはすでに報告しているが、本実験では経時的な観察と共に興味ある肉腫様病変を含む肝腫瘍が認められたので報告する。

[材料と方法]

生後約5ヶ月令のヒメダカにS T Gを5 ppm 含む餌を6週間投与し、その後正常餌で12週間計18週間飼育し、肝癌形成過程における病理組織学的変化の観察を行った。

[結果]

投与開始2週で肝細胞核の大小不同が見られ、4週ですでに線維が出現し、それ以降ほとんどの個体で量的差異はあるが線維増生傾向が見られ、著明な線維増生が10週以降の個体で高率に認められた。一方、塩基好性細胞増生巣、過形成結節、索状肝細胞癌など一連の病理組織変化が見られ、さらにこれらに伴って顕著な胆管細胞増生や腺腫も認められた。また実験終了時において紡錘型細胞が著明に増生し、一見肉腫様病変を示す肝細胞癌も観察された。肉腫様細胞の電顕像は紡錘形の核内に明瞭な核小体を持ち、間質にはコラーゲンの増生が認められた。

その他の初期変化は投与開始5週で胆管の増生、6週では Spongiosis Hepatis (S H) が出現し、それ以降実験終了時の18週まで大小種々の大きさのS H形成が観察された。

[考察]

同じマイコトキシンであるアフラトキシンB₁ (A F B₁) もメダカ肝で高い発癌性を示すことが知られているが、S T GはA F B₁に比べ、メダカに対して毒性が強く、肝癌形成は顕著な線維増生を伴うことが特徴である。メダカを用いた発癌実験でラットなどで観られる一連の発癌過程が観察されたことは比較病理学上重要であろう。さらに今回紡錘細胞癌の病変が観られたことは興味深い。ヒトで肉腫様肝細胞癌像を示す例は最近増加を示している。その原因としては制癌剤ワンショット療法・肝動脈塞栓療法などの積極療法による修飾がその一因と考えられている。メダカで観察された紡錘細胞型の出現は今後、肝細胞癌の多様な形態像の発現機序の解明に有用と思われる。

○今沢孝喜、北浦敬介、三森国敏、古川文夫、西川秋佳、高橋道人、林 裕造（国立衛試・病理）

【はじめに】

タンニン酸は多くの植物に含有し、食品添加物、医薬品原料、除蛋白剤等として広く用いられている。しかし、この物質はヒトや牧畜に対し肝細胞壊死を誘発することが知られている。また、ラットに長期大量投与することによって、肝硬変や肝癌が発生することも指摘されている。一方、タンニン酸の癌原性試験によれば、癌原性を認めず肝への影響は全くみられていない。また、癌の発生を抑制するとの報告もある。

今回我々は、ラットにタンニン酸を単回皮下投与し、標的細胞である肝細胞を中心に、初期における核内の超微形態学的な急性毒性変化を経時的に検索した。

【材料及び方法】

動物はF344雄ラットを用い、加水分解型タンニン700mg/kgを皮下投与した。投与後2時間～24時間に亘って、経時的に屠殺・剖検し、肝及び腎を摘出した。各臓器は中性緩衝ホルマリン液で固定後、パラフィン切片を作製し、病理組織学的に検索した。また、各臓器の一部は2.5%グルタルアルデヒド液で固定し、エポン包埋後、超薄切片を作製し、超微形態学的に検索した。

【結果】

タンニン酸投与により肝細胞及び近位尿細管上皮細胞において、核クロマチン顆粒の強い凝集、核小体の濃縮等の変性が観察された。また、核小体分離が一部の細胞で観察されたが、不完全な分離であった。核の変性は投与2時間後からみられ、時間の経過とともに強くなり、24時間後でも強い変性像が観察された。

【考察とまとめ】

タンニン酸投与により観察された顕著な超微形態学的変化は、クロマチンの変性及び核小体の濃縮あるいは不完全な分離であった。DNA障害を引き起こすアフラトキシンの様な発癌物質は、標的細胞に核小体の構成成分である顆粒部と繊維部の分離を特徴とする超微構造変化を起こす事実が多数報告されているが、タンニン酸で誘発された変化とは形態学的に異なるものと考えられた。また、アフラトキシン及び抗癌剤等で誘発される核小体分離は24時間後では殆ど消失するが、今回の実験ではタンニン酸投与24時間後でも強い核の変性が観察され、この点においても相違がみられた。

一方、タンニン酸によって誘発された核及び核小体の変化は、タンニン酸自身のタンパク固定作用、重金属との複合物としてのリボ核タンパクの形成、あるいはDNAに対する化学的な作用によると考えられており、形態的にアフラトキシンあるいは抗癌剤等とは異なった超微構造変化を引き起こすものと思われた。

○矢本 敬^{1,2}, 大橋芳彦¹, 佐藤里子¹, 松本悦嗣¹, 高岡雅哉¹,
寺西宗広¹, 五十嵐功¹, 真鍋 淳¹, 松沼尚史¹, 牧田登之²
(1: 三共(株)・安全研, 2: 山口大・農)

脂質低下剤の clofibrate やプラスチック可塑剤の diethylhexyl phthalate をラットに投与するとペルオキシゾームの増生を伴い肝細胞が肥大する。しかし、加齢に伴う clofibrate に対するラットの感受性は変化する (第7回毒性病理学会)。今回加齢に伴うラットの感受性の変化をより詳細に検討する目的で clofibric acid を F344ラットに14日間連続経餌投与し、若齢ラットと老齢ラットの感受性を比較した。

【材料および方法】

日本チャールス・リバー生産の雄 F344ラット (F344/DuCrj: 8, 52, および 117週齢) を用いた。各週齢 5匹のラットに clofibric acid を粉末飼料に混合して14日間経餌投与した。対照群には粉末飼料のみを与えた。投与終了後、動物をエーテル麻酔下で開腹して大動脈より採血、放血致死させ肝臓を摘出した。肝臓は重量を測定した後、一部を電子顕微鏡学的検査に、残りを薬物代謝酵素活性、およびペルオキシゾーム β -酸化活性の測定に供した。ただし、剖検時に脾腫および肝臓の退色等の変化が認められた個体は評価から除外した。

【結果】

薬剤平均摂取量は全週齢とも約 200 mg/kg であった。8, 52週齢の投与群では肝重量の有意な増加、血清総コレステロール、トリグリセリド値の有意な減少、肝臓中 propoxy-coumarin depropylase 活性、ラウリン酸 ω -水酸化活性、および palmitoyl CoA 酸化活性の上昇が認められた。肝臓中 cytochrome P-450 含量の増加は 8週齢ラットのみで認められた。117週齢投与群ではラウリン酸 ω -水酸化活性、および palmitoyl CoA 酸化活性の上昇のみが認められた。電子顕微鏡学的検査では 8, 52週齢の投与群で肝細胞の滑面小胞体 (SER) とペルオキシゾームの増生が認められた。しかし、117週齢の投与群ではペルオキシゾームがごく軽度に増生したのみで SER の増生は認められなかった。以上のことから、老齢 F344ラットでは cytochrome P-450 IVA1 活性の低下に伴い clofibric acid の SER、およびペルオキシゾーム増生作用が減弱することが明らかとなった。

【考察】

Clofibrate 等のペルオキシゾーム増生剤をラットに投与すると cytochrome P-450 IVA1 が誘導され脂肪酸の ω -、(ω -1)-水酸化が亢進する。ここで生じた水酸化物の酸化物 (ジカルボン酸) はミトコンドリアの β -酸化機構では酸化されず、これを処理するためにペルオキシゾーム β -酸化酵素群が誘導されると考えられている。老齢ラットに clofibric acid を投与してもペルオキシゾームの増生が顕著でなかった原因として、本剤投与による肝臓中 cytochrome P-450 IVA1 の誘導が加齢に伴い減弱し、その結果ジカルボン酸産生が低下、次いでペルオキシゾーム増生反応が減弱したものとする。

○川畑好之康, 柏原純一, 園田崇倫, 若松智恵美, 坪田裕子, 野原正志, 安藤信明
 岩井正和 (株)ミドリ十字 安全研)

〔はじめに〕

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、ADMとは異なる毒性スペクトラムを示すことを第8回大会において報告した。即ち、心臓・腎臓等多くの器官に対する毒性は、複合体とすることにより軽減する反面、新たに肝毒性が出現することを報告した。今回肝毒性の動態をさらに詳細に検討する目的で、ADM-OXDおよびADM同量投与時の毒性比較および肝臓への分布比較を試み、あわせてグルタチオン枯渇剤等各種薬剤の肝毒性発現に及ぼす影響についても検討した。

〔材料と方法〕

実験には5週齢のWistar系雄性ラットを用いた。同量投与における毒性比較においては、ADM-OXDまたはADMをADM換算量としていずれも45 mg/kg静脈内投与した後、8時間、1日、2日、3日および4日に肝機能検査、肝臓ホモジネート中の過酸化脂質(LPO)量、還元型グルタチオン(GSH)量の測定および形態検索を実施した。

ADM-OXD 45 mg/kgを投与後、6時間毎にGSH枯渇剤であるジエチルマレイン酸(DEM) 500 mg/kgの経口投与を繰り返す、2日後に採血し、肝毒性への影響を肝機能酵素の上昇を指標に検討した。

肝臓への分布比較は、ADM-OXDまたはADMを30 mg/kg投与後1時間、4時間、8時間、1日、2日、3日および7日に肝臓を摘出し、薄切切片を作製、暗視野蛍光顕微鏡下でADMの自家蛍光を利用して、薬剤の局在を観察した。また高速液体クロマトグラフで肝臓中ADM含量を測定した。

〔結果〕

血清GPT活性はADM-OXD群において経時的に上昇し、投与後2～3日にピークに達した。ADM投与においては投与後2日に全例死亡したが、投与後8時間及び1日においてGPT活性の上昇は殆どみられなかった。また肝臓ホモジネート中LPOはADM-OXD群で投与翌日より上昇したのに対して、ADM群では投与後8時間のみ上昇した。形態変化としては、ADM群で特記すべき肝臓の形態変化がなかったのに対して、ADM-OXD群においては、投与翌日には肝細胞は腫脹・硝子様に変性し、硝子滴沈着や単細胞壊死が目立つようになり、2日以降は小葉中心性に変性・壊死が出現した。また投与後3日以降は線維増生もみられた。上述したADM-OXD大量投与による肝毒性は、DEMの間歇投与により、肝臓GSHの枯渇に相応して増強された。即ちDEM処理によりADM-OXD投与後2日のトランスアミナーゼ活性は、ADM-OXD単独投与と比較して顕著に上昇し、かつ肝臓ホモジネート中LPOも同様により上昇した。

蛍光顕微鏡による観察においては、ADM-OXD投与動物の肝臓の類洞壁細胞に強い蛍光が認められるとともに実質細胞の核にも蛍光が認められた。蛍光の強度は投与当日よりもむしろ投与翌日以降の方が強く、投与後7日においても類洞壁細胞には明らかな蛍光が認められた。一方ADM投与動物の肝臓においては、投与当日にのみ比較的弱い蛍光が、類洞壁細胞あるいは実質細胞の核に認められたが、投与後8時間には弱くなる傾向がみられた。

〔結論〕

ADM-OXD大量単回投与により誘発された肝毒性は、ADM-OXDに特異的であり、ADM大量投与では出現しなかった。この肝毒性は、ADM-OXD投与後の肝臓への特異的な分布即ち類洞壁細胞における長時間にわたる滞留性由来するものと考えられ、肝実質細胞に対する障害における肝類洞壁細胞の関与が窺われた。また実質細胞障害の発現の一因に脂質過酸化が寄与しているものと思われた。

○原 敦子・仲野善久・篠原基輝・松崎勝寛（日本ケミファ(株)研究所）

【はじめに】ガラクトサミン(GalN)投与により、ラットの肝に障害が発生することはよく知られた事実である。肝障害の発生には、GalNによる直接障害と内因性エンドトキシンを介した障害の二つの機序があげられている。さらに、GalNによる慢性的な肝障害（線維化）の発生には、間欠的あるいは頻回の長期投与による障害の誘発とそれに対する修復反応の繰り返しが必要とされている。今回GalN単回投与による肝障害の経時的な検討において、投与72時間で線維化が起こっていることを見出した。そこで、GalN単回投与による肝細胞障害及び修復反応の経時的な推移と線維化の関連性について検討した。

【材料及び方法】10週齢のSD系ラット(Conventional)雄30匹(体重320~350g)を、対照群に10匹、GalN投与群に15匹配分した。GalNは生理食塩液に溶解し、4N-NaOHにてpH7に中和して800mg/kgの用量を皮下投与した。投与後6, 24及び72時間に各5匹の肝臓を摘出し、重量を測定した後、20%中性緩衝ホルマリンで固定した。パラフィン切片標本を作製し、H-E染色、May-Giemsa染色、Luna染色、Azan染色、鍍銀染色を施して組織観察を行った。対照群にはGalNの溶媒である生理食塩液を皮下投与し、24及び72時間後の肝臓について同様に観察した。

【結果】**投与後6時間**：肉眼的に異常は認められなかったが、組織学的には肝細胞に散発的な変性・凝固壊死（好酸体出現）、軽度の腫大がみられた。肝細胞索間では、Kupffer細胞腫大及び組織球やリンパ球の浸潤がみられ、グリソン鞘(GS)でも組織球及びリンパ球浸潤がみられた。**投与後24時間**：肝重量及び肉眼的検査で著変は認められなかったが、組織学的には肝細胞の変性・壊死は増強し、肝細胞の障害部位及びGS周囲では組織球及びリンパ球浸潤に加え、好酸球や好中球の浸潤も認められるようになった。肝小葉周辺帯ではoval cell様細胞の増生と胆管様配列がみられ、GS領域は拡大していた。**投与後72時間**：肝重量は有意に減少し、肉眼的に黄色調を呈する萎縮が認められた。組織学的には胆管上皮及び細胆管の増生及び組織球や好酸球浸潤を主体とし、コラーゲン線維の発達を伴うGS領域の拡大が顕著であった。同時に肝小葉内における肝細胞脱落部では銀好性の細線維の形成が著しく、組織球を包囲するような線維網工が形成されていた。

【まとめ】GalN単回投与による肝細胞障害に続いて、投与後72時間に線維化が起こることを見出した。肝細胞障害部位では早期から組織球やリンパ球浸潤が認められ、遅れて好酸球の浸潤等も認められた。この経時的な浸潤細胞の組成変化はGalNによる直接障害と続発するエンドトキシン血症による障害に対応した二相性の変化と考えられた。一方、組織球の浸潤・集簇は持続し、組織球と好銀線維の密な関係を示唆する線維網工の形成が多々観察されていることから、組織球が線維の形成伸展に重要な役割を担っていることが推察された。GalN単回投与により線維化へ発展する肝障害が得られたことから、この系を用いることにより肝細胞障害と線維化発生のメカニズムを解明することができると考えられた。

○藤村久子¹, 相内聖峰¹, 佐々木博之², 鈴木昭男²
(¹実医研・病理, ²慈恵医大・微細研)

解熱鎮痛薬として使用されているアセトアミノフェン(AA)はまれに肝障害を起こすことがあり, 高用量の動物実験では肝細胞壊死をまねくことが知られている. その毒性発現機構については, ラットやマウスの in vivo または in vitro の実験において, AAがチトクロームP450で活性化された結果生じる代謝物N-acetyl-p-benzo quinone imine(NAPQI)あるいは, 二次的に生じた活性酸素によってミトコンドリアなどが傷害されることに起因すると考えられている. 我々はこれまでAAによる単離肝細胞の微細形態学的変化に関して, 細胞表面上のblebの形成, ミトコンドリアの変形あるいは大型化, 粗面小胞体からのリボゾームの脱落, 細胞内小器官の配列の乱れなどが特徴的変化であることを報告した (Fig.1, 第48回電顕学会, 1992年). これらの変化が in vivo におけるAAの作用と関連性があるかどうかを調べるために, AAを投与したラットの肝臓を透過電顕によって観察し, 先の結果と比較検討したので報告する.

【材料および方法】 動物は前回の報告と同様にフェノバルビタール (80mg/Kg/day) を3日間腹腔内投与したSD系ラット (雄, 230-250g) を用いた. 50°Cの生食に溶かしたアセトアミノフェンをラット腹腔内に単回投与し (750mg/Kg), 24時間後に肝臓を2%グルタルアルデヒド溶液で灌流固定し, 常法に従って電顕用試料とした.

【結果および考察】 肝細胞全般に滑面小胞体の著しい増生がみられ, チトクロームP-450の誘導が示唆された. AA投与群では小葉中心部の肝細胞に空胞が認められ, 三日月状あるいはドーナツ状に変形したミトコンドリアとその近隣にリボゾームが脱落した粗面小胞体がみられた (Fig.2). また, 小葉中間部から周辺部の広範囲の肝細胞にミトコンドリアの大型化とクリステの崩壊がみられたが, 後者はミトコンドリアの傷害に起因する二次的な変化であると考えられた. このような細胞では粗面小胞体の分節化がみられた.

上述の結果より, in vivo においてもAA投与によってミトコンドリアおよび粗面小胞体の傷害がみられ, 単離肝細胞系における微細形態学的変化との類似性が示唆された.

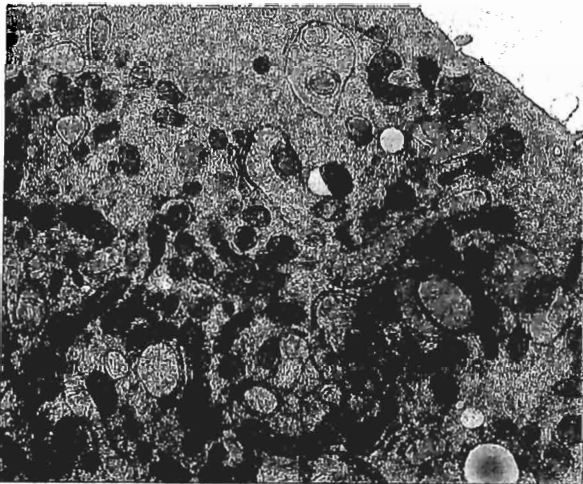


Fig.1

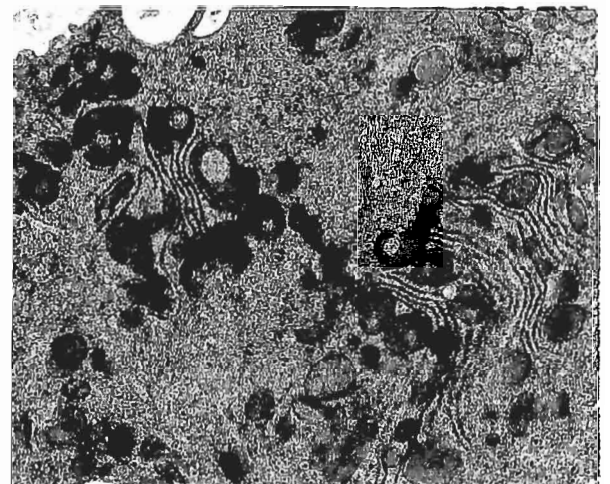


Fig.2

スナネズミ肝初代培養細胞における四塩化炭素の
肝脂質に対する影響

山口 格, ○筒井茂樹, 水谷孔治, 吉野幹子, 大村美麻, 竹内哲也,
藤井久子, 藤原公策 (日大農獣医, 第2病理)

【目的】 スナネズミ (*Meriones unguiculatus*) は四塩化炭素 (CCl_4) の肝毒性に対し高感受性を示すことが知られている。われわれは、さきにスナネズミ初代培養肝細胞において CCl_4 添加後、細胞内酵素の逸脱とともに脂肪滴の沈着が顕著に認められたことを報告し、さらに、 CCl_4 投与スナネズミの肝臓では小葉周辺肝細胞の急性脂肪変性が観察され、絶食により顕著になることを報告した。今回は、スナネズミ肝細胞内脂質代謝系に対する CCl_4 の影響を知るため、初代培養系肝細胞内脂質量を測定するとともに、ラジカル消去あるいは抗酸化剤として N,N'-diphenyl-p-phenyldiamine (DPPD) 及び α -tocopherol acid succinate (V.E) を前処置、また、P-450 活性を増加するために phenobarbital (PB) あるいは抑制するために SKF 525A およびクロラムフェニコール (CPC) を CCl_4 添加前に処置して、脂質の変動を観察した。

【材料・方法】 9~12 週齢の雄スナネズミからコラゲナーゼ灌流法により細胞を分離し、10%ブタ血清を加えた William's E 培地で 24~48 時間培養後、各濃度の CCl_4 を添加し、6 時間後または 24 時間後に細胞内酵素 (LDH) の培養上清への逸脱、細胞内脂質含量 (トリグリセライド (TG), 総コレステロール (T-Chol), リン脂質 (PL)) を測定した。また、DPPD および V.E の処理は CCl_4 添加前 3 時間より行い、PB, SKF 525A および CPC の処理は CCl_4 添加前 24 時間実施した。

【成績】 0.2mM 以上の CCl_4 添加後 24 時間では、LDH の逸脱がみられ、0.5mM 以上では顕著であった。また、0.2mM 以上で細胞内の TG 及び T-Chol の顕著な増加が観察され、PL 含量も増加傾向を示した。10 μ M DPPD で前処置した場合には、 CCl_4 による LDH の逸脱及び細胞内脂質含量の増加抑制は顕著であったが、0.2mM V.E では抑制は軽度であった。 CCl_4 添加前に 0.1mM PB を 24 時間処置した場合に、 CCl_4 による細胞内 TG 及び T-Chol の増加は観察されず、壊死性変化が顕著であった。また、10 μ M SKF 525A 前処置では、TG および T-Chol の増加抑制は軽度であった。100 μ M CPC 前処置においては、TG の増加抑制は軽度であったが、T-Chol は顕著に抑制され、対照群と比較して低い値を示した。

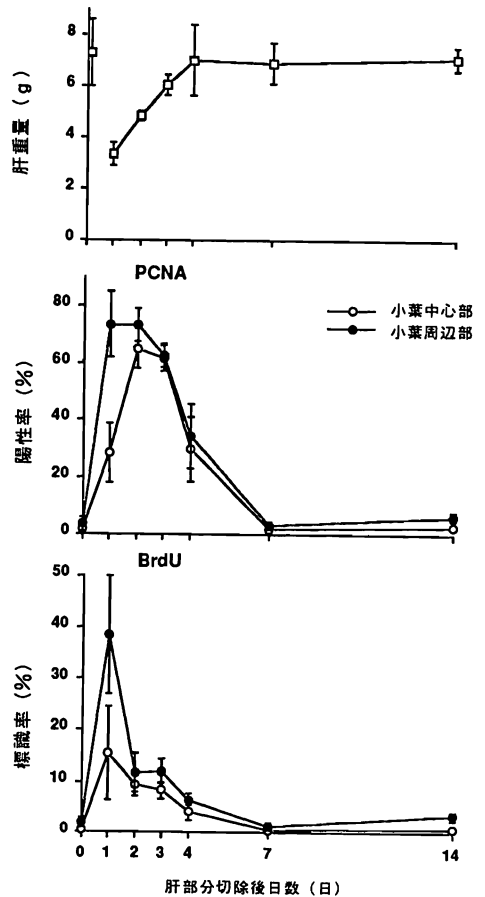
【まとめ】 スナネズミの初代肝培養細胞系において、 CCl_4 添加により細胞内酵素の逸脱とともに顕著な細胞内脂質の増加が観察された。これらの変化は DPPD 前処理により顕著に抑制され、 CCl_4 添加によるラジカルの生成と関与すると考えられた。しかし、PB の前処理によっては、 CCl_4 添加による脂質の増加は観察されず、SKF 525A あるいは CPC の前処置によっては脂質の増加が抑制されなかった。以上のことから、スナネズミにおける CCl_4 肝毒性発現には、肝細胞内の脂質代謝の阻害効果が大きいことが示唆された。また、 CCl_4 添加による脂質の増加には、PB によって誘導される P-450 活性は、直接関与しない可能性も考えられた。

○福田種男, 木村正美, 青木豊彦, 山津清實 (エーザイ安全研・病理)

昨年の本学会において我々は、D-Galactosamine によるラット肝障害モデルの肝修復過程において PCNA と BrdU の動態が良く相関する事を報告した。今回は薬物障害に起因しない肝細胞再生過程における両者の動態を比較検討するために、ラットに肝部分切除術を行い検討したので報告する。

【材料および方法】12週齢のSD系雌ラットを用い、2/3 肝部分切除術後、1、2、3、4、7および14日に屠殺、剖検した。各剖検1時間前にBrdUを 100mg/kg (B.W.) の割合で腹腔内投与した。肝臓を摘出し、重量測定後、10%中性緩衝ホルマリン液にて一晚固定し、常法に準じてパラフィン包埋し、連続切片を作製した。PCNAおよびBrdUの免疫組織化学はDAKO社のLSAB kitを使用し、抗体は抗BrdU (DAKO社 Mouse-IgG)、抗PCNA (DAKO社 Mouse-IgG) を使用した。標本は多目的画像解析装置(日本アビオニクス社製)を用いてPCNA/BrdU それぞれの反応陽性細胞数を同一部位で小葉中心部と小葉周辺部に分けて計測した。

【結果および考察】①肝部分切除後の残存肝重量は4日まで顕著な増加を続け、4日以降はプラトーに達した。②肝部分切除後の再生肝細胞におけるPCNAの動態は、小葉周辺部において、切除後24時間で既に70%以上の陽性率を示し、小葉中心部は周辺部より少し遅れて陽性率の上昇がみられた。③BrdUの動態については、切除後24時間で肝小葉周辺部の再生肝細胞核が約40%の標識率を示し、2日後には約10%に急激に減少した。これに対し、肝小葉中心部では切除後24時間で最大値を示したものの、標識率は15%と小葉周辺部に比べ著しく低値であった。以上、肝部分切除術による再生時ではPCNA/BrdUの動態に相関がみられた。先に実施したD-Galactosamine 投与による肝障害モデルでもPCNAとBrdUの動態に相関がみられた事から、PCNAは部分切除での肝細胞再生時と薬物障害後の再生時何れにおいても、肝細胞再生過程の解析や毒性病理領域での細胞増殖動態を把握する上で、有用なマーカーと成り得る事が示唆された。



2/3肝部分切除後の肝重量および肝細胞におけるPCNA陽性率、BrdU標識率の経時的変化

○佐藤秀隆, 服部秀樹, 勝田真一, 倉迫純, 藤原美保, 杉本茂, 内部博泰
(日本食品分析センター・安全性)

【はじめに】

フラン類には遺伝子毒性物質や発がん物質が含まれている。我々は、91年の本学会で furan, 2-methylfuran(2MF), 3-methylfuran(3MF)の毒性と臓器特異性について報告した。今回は、2,5-dimethylfuran(DMF)の雄マウスにおける毒性の臓器特異性、用量依存性およびそれらの経時的変化について検討した。

【実験方法】

7週齢のICR系雄マウスを各群14匹使用し、オリブ油に溶解した2,5-dimethylfuran(DMF)を500, 300, 200あるいは100 mg/kgの用量で腹腔内に一回投与した。投与後、1, 2, 3, 7, 14, 21, 28日目に各2匹ずつ屠殺・剖検した。肺, 肝臓, 腎臓, 副腎, 心臓, 脾臓, 膵臓, 胸腺, 精巣 および消化管の一部をホルマリン固定し、常法によりパラフィン包埋、薄切片にH&E染色を施し病理組織学的に検討した。

【結果】

DMFの標的臓器は主として肺であり、高濃度では肝臓も障害された。また、500 mg/kg投与群では2~3日後に約半数が死亡した。

肺障害は最初、末梢気管支上皮細胞の空胞変性と肺胞壁中への多数の好中球の遊走として認められた。その後、末梢気管支周囲の炎症が著明となり、肺胞上皮の腫大・変性がみられた。1週以降、末梢気管支周囲の炎症はいまだ著明であったが、末梢気管支上皮の再生像が認められるようになり、炎症が軽減すると共に末梢気管支上皮の再生が著明となった。この様な変化は500~200 mg/kg群では同様の推移を示したが、毒性の程度は異なっており、500mg/kgでは辺縁部の肺胞に漏出液がみられたが、200mg/kgでは肺の変化は軽度であり、肺胞上皮の変性・腫大は明かではなかった。

500mg/kg投与群の肝臓では、1~3日後にグ氏鞘周囲の肝細胞が微細顆粒状になり、中心

静脈域では、細胞質が淡明化して変性壊死するものが認められた。この様な変化は1週以降の剖検例ではみられなかった。300および200 mg/kg投与群では変性・壊死はみられなかった。

胸腺では、リンパ球の核濃縮が著明で萎縮が認められたが、1週後に変化はなかった。

100mg/kg投与群では肺にのみ軽度な毒性がみられ、1日後に末梢気管支上皮の腫大、淡明化が、その後上皮の一部に変性・壊死を認められたが、その他の部位に変化を認めなかった。

【考察】

DMFの標的臓器は主として肺であり、高濃度では肝細胞もわずかに障害された。肺障害は気管支上皮の変性・壊死、気管支周囲組織の炎症反応としてみられ、また肺胞上皮にも腫大、変性がみられ、肺胞中隔には白血球が多数認められた。

前回報告したように、3MFの標的臓器は肺の末梢気管支上皮であり、肺胞上皮に毒性は示さない。Furan, 2MFも肺では末梢気管支上皮の変性壊死と周囲の炎症を引き起こしたが、肺胞壁への好中球の著明な遊走や肺胞上皮の腫大・変性は認められなかった。一方、肝臓や腎臓には強い毒性を示した。

以上のように毒性の発現臓器及びその程度は物質により異なっていた。しかし、同じように肺毒性を示しても、3MFは末梢気管支上皮にとどまるのに対して、furan, 2MF, DMFでは末梢気管支周囲でも炎症反応がみられ、DMFは肺胞上皮にも毒性を示した。この原因としては、3MFの代謝物は反応性が高いため細胞内で反応して更に変化して毒性を有しない物質に成るのに対し、furan, 2MF, DMFの代謝物は安定なため周囲組織にまで影響を及ぼすためと考えられる。また、標的組織が異なるのは、薬物代謝酵素の局在や種類および量等の差異による可能性が考えられる。

MNURにより誘発されたハムスターの肺病変および肺胞上皮の細胞増殖活性

○安原加壽雄、吉村博之、北浦敬介、小野寺博志、三森国敏、高橋道人、林 裕造 (国立衛試・病理)

【はじめに】 ヒトの慢性びまん性間質性肺炎には肺癌を合併することが報告されているが、その発生機序については不明な点が多い。我々は、第51回日本癌学会で、ハムスターに N-nitroso-N-methylurethane (MNUR) を投与し間質性肺炎を実験的に誘発させ得ることを報告した。今回はその誘発された肺の毒性病変および増殖性病変における肺胞上皮の増殖活性を検討した。

【材料および方法】 動物は6週齢の雌シリアンハムスター各群15匹を用い4群に分け、0.5%エタノール添加蒸留水に溶解したMNURを一匹当たり0.2および0.4mgを1週間に1回計5回(1群、2群)、また0.4mgを2週間に1回計5回(3群)背部皮下に投与した。対照群(4群)には溶媒のみを同様に投与した。MNUR投与後、動物の一部を2および4ヶ月目に、全ての動物を6ヶ月目に屠殺剖検し、肺を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、パラフィン切片を作製した。これらについてH-E染色のほか、マッソントリクローム染色および細胞増殖活性を調べるために増殖細胞核抗原(PCNA)の免疫染色や核小体形成体(NOR)のための銀染色を行った。

【結果】 病理組織学的には、第1および3群において、2ヶ月目に炎症性変化が軽度で認められ、6ヶ月目では腺腫が散在性に認められた。第2群では、2ヶ月目に6例中5例に肺胞壁の肥厚を伴う炎症性変化が認められ、限局性の膠原線維増生もみられた。このような部位では肥大した肺胞上皮の増生が随伴して認められた。また5例中2例においては限局性の炎症反応が著しく、大型異型核を有する巨細胞が肺胞壁に散発的に認められた。4ヶ月目では散在性の炎症反応に加え、限局性の肺胞上皮過形成が認められた。6ヶ月目ではさらに腺腫が散在性に認められた。第2群のPCNA陽性数(100細胞中)による細胞増殖活性の検索では、2ヶ月目の膠原線維増生部での肥大肺胞上皮;約5.5、4ヶ月目の過形成部;約11.0、6ヶ月目の腺腫部;約25.2であり、2ヶ月目の肥大肺胞上皮の増殖活性に比べて腺腫部で著しく増加した。2ヶ月目に認められた大型異型巨細胞では2匹共いずれも9であった。細胞核1個当りのAgNORs数は2ヶ月目の肥大肺胞上皮;約2.4、4ヶ月目の過形成部;約2.5、6ヶ月目の腺腫部;約2.5であった。また、大型異型核巨細胞では大小様々な不定形のAgNORsが数個から十数個まで多数認められた。

【まとめ】 大型異型核を有する巨細胞のPCNA陽性数は腺腫のそれに比し低く、細胞増殖活性は極めて低いものと考えられた。PCNA陽性細胞数は膠原線維増生部に随伴してみられた肥大肺胞上皮、過形成、腺腫の順に増加したが、この肥大肺胞上皮および過形成の前腫瘍性病変としての意義については明らかに出来なかった。

○ 路 進¹ 今井 繁¹ 石原浪砂¹ 前川昭彦¹ 前島一仁² 鈴木忠男²
石西 伸³ (佐々木研¹ 自動車研² 中村学園大学³)

メタノールエンジン排気ガス(メタノール85%、ガソリン15%)の健康への影響を検討する目的で、前回の高濃度排気ガス28日間吸入毒性に引続き、今回は排気ガス吸入後の病変の回復ならびに12週間吸入による病変について、呼吸器系を中心に病理組織学的に検討した。

<実験材料及び方法>

1) 7日間反復吸入毒性(回復)試験 : 10週齢雄F344ラットを曝露群と対照群(各群24匹)の2群に分け、曝露群には前回28日間吸入毒性試験での高濃度群に相当する希釈排気ガスを8時間/日、7日間連続曝露し、曝露終了直後及び曝露後1,4及び12週目に各6匹ずつを屠殺、剖検した。曝露ガス中の主要成分は CO 98 ppm, NO_x 52 ppm, NO₂ 12 ppm, HCHO 5.8 ppmであった。

2) 12週間吸入毒性実験 : 前回の試験における中濃度を最高濃度とした3濃度の希釈排気ガス群及び対照群の計4群を設定。8時間/日、6日間/週曝露し、曝露4,8及び12週目に各6匹ずつを屠殺、剖検した。高濃度群における曝露ガス中の成分は CO 90 ppm, NO_x 23 ppm, NO₂ 1.1 ppm, HCHO 2.3 ppmで、中及び低濃度群のガスはHCHOでそれぞれ 0.6及び0.1 ppmであった。

<実験結果>

1) 7日間反復毒性(回復)試験 : 曝露直後群には全例に鼻腔の鼻及び上顎甲介を覆う呼吸粘膜上皮にびらん、粘膜下細胞浸潤及び扁平上皮化生が認められ、1週間回復群にはまだわずかながら扁平上皮化生が認められたが、4週間後にはほぼ正常に復した。また前回同様、嗅上皮には何ら病変は見られなかった。一方、肺には曝露直後群の全例に気管支粘膜上皮細胞の線毛減少や終末細気管支のクララ細胞減少などが見られたが、1週間回復群にはこれらの病変は認められなかった。

2) 12週間吸入毒性試験 : 高濃度群では曝露4週目で鼻腔の呼吸粘膜上皮に軽度ながら扁平上皮化生が見られ、その程度は曝露期間の延長とともに増強傾向が認められたが、中濃度以下の群では曝露12週目においても何ら病変を認めなかった。肺については、何れの時期においても排気ガス吸入に起因すると思われる明瞭な毒性所見は見られなかった。

<考 察>

1)回復試験では、前回と同様曝露終了直後には全例に鼻腔の呼吸粘膜上皮に扁平上皮化生が見られたが、回復期間を経ることにより病変は消失し、これらの病変が可逆性であることが示された。

2)12週間吸入毒性試験では、曝露4週目の鼻腔粘膜の変化は先の試験での中濃度群のそれとほぼ同じであったが、病変の程度は曝露期間の延長とともに増強した。今回の曝露ガスは前回のそれに比べホルムアルデヒドを除く他の成分に多少の違いがあるにもかかわらず、病変の種類および程度はほぼ同じであったことより、鼻腔の病変は主として排気ガス中のホルムアルデヒドに起因し、他のガス成分の病変修飾はほとんどないものと考えられた。

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。

○下地尚史,藤井久子,小笠原裕之,村田晃子,高木英利(日本レダリー・生物研)

正常な赤血球は中央部の陥凹した円盤上の形態を呈し、生体内で状況に応じて変形する能力を持つ。赤血球の異型化は内因性または外因性の様々な原因によって生ずるが、これらの異型赤血球は正常の赤血球と同様に体内を循環し、最終的には正常な形態に復帰するかまたは脾臓のマクロフェージ等に貪食され処理されるものと考えられる。今回我々は、生体内において発生した異型赤血球の毒性学的な意義を明らかにすることを目的として、ラットの血液を用いて赤血球の異型化を惹起し、その異型赤血球の形態学的観察を行うと共に、これら異型赤血球の変形能について検討を行なった。また、実際の酸素交換の場である肺における異型赤血球の各血管における分布を検索した。

【材料および方法】

〈形態学的観察および変形能の検索〉

6~10週齢のSDラットの血液を採取し抗凝固処理を施した後、浸透圧やpH等を変化させることにより、異型赤血球を作製した。その後これらの赤血球について、塗抹標本ならびに走査電子顕微鏡用標本を作製し、形態学的観察を実施した。さらに異型赤血球の変形能をメンブレンフィルターの通過速度を指標として検討した。

〈肺血管内における分布〉

6~10週齢のSDラットを用いた。血液の浸透圧またはpHを変化させることで赤血球の異型化を惹起した。その後経時的に屠殺し肺を摘出して、異型赤血球の血管による分布の違いを肺胞毛細血管とそれ以外の動・静脈を比較して組織学的に検索した。

【結果および考察】

浸透圧またはpHの変化により誘発された異型赤血球は、形態的には膜に突起を持ち球形化して、正常の赤血球に比べて最大径が小さくなる傾向がみられた。これらの異型赤血球は正常の赤血球に比べてメンブレンフィルターの通過速度も遅延する傾向があり、変形能の低下が示唆された。異型赤血球の肺内血管における分布を組織学的に検索した結果、異型赤血球は主として小動・静脈以上の血管内には認められたが、毛細血管内にはほとんどみられなかった。以上より、今回の実験で検索を行なった異型赤血球は、変形能が低下し、そのために肺胞毛細血管内の循環に支障を来し、酸素交換を十分に行ない得ないことが示唆された。

○林 修次, 今井田克己¹, 豊田和弘, 畝山智香子, 三森国敏,
高橋道人, 林 裕造 (国立衛試・病理, ¹名市大・医・1病理)

【はじめに】モノクロタリン(MC)は熱帯地方産のマメ科 *Crotalaria spectabilis* の種子から抽出されるピロリチジンアルカロイドで、単回皮下投与するとラット及びイヌに肺高血圧症を伴う間質性肺炎を誘発し、短期間で致死させる。一方、マウスはMCに対する感受性が低いとされるが、近年、飲料水混入による連続投与で間質の線維化を伴う肺障害の発生が報告されている。今回我々は、ヒト肺線維症の実験モデルとして有用なものが少ないことから、マウスにMCを間歇的に反復皮下投与する方法により肺線維症モデルの作成を試みた。

【実験方法】動物は6週齢のICR雄マウス70匹を用い、200mg/kg MC投与群(1群)、100mg/kg MC投与群(2群)及び対照群(3群)を設け、各群30、30及び10匹を用いた。投与は実験開始時より週1回、計15回背部皮下に行った。実験は18週で終了し、全生存動物を屠殺・剖検し、肺、肝臓及び腎臓を採取し、重量測定後に10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。常法に従いパラフィン包埋して薄切片を作製し、ヘマトキシリン&エオジン染色を施し病理組織学的に検索した。なお、必要に応じてアザン染色及びエラスチカ・ワン・ギーソン染色を行なった。また、各群の代表例の左肺の組織中におけるヒドロキシプロリン(HP)量の測定を行った。

【結果】1群では6週目より体重の増加抑制がみられ、12週以降体重が減少し、死亡(8匹)、瀕死例(14匹)が観察された。2群でも9週目より3群に比べ軽度な体重の増加抑制が認められ、死亡(4匹)、瀕死例(1匹)が観察された。実験終了時の平均体重は、1群及び2群では3群に比較して有意に低値を示し、肺の絶対/相対重量は、1群及び2群では3群に比較して、ともに有意な増加を示した。肉眼的に早期死亡例の肺は全体的に水腫状を呈し、生存例では肺がやや硬化し、表面に境界不明瞭な白色の巣状病変が認められた。病変の程度は用量に相関し、1群は2群に比べより顕著であった。組織学的に肺病変は同一個体においても葉もしくは部位による相違がみられ、早期死亡例では肺胞水腫が主体となり、比較的長期間生存した例では肺胞壁の肥厚、間質の水腫、血管周囲ないし肺胞壁への炎症細胞浸潤、肺胞内への線維素の析出及び線維化が巣状に観察された。また、特殊染色により間質及び肺胞壁における膠原線維の増生が確認され、2群でも軽度ながら同様の変化が認められた。肺組織中のHP量については、MCを投与した1群及び2群で3群に比較し有意に高値を示した。

【結論】今回観察されたMC誘発肺病変は、急性のびまん性肺胞障害にはじまり、肺胞壁の肥厚及び間質の水腫性変化を経て、広汎な肺実質の線維化に移行するものと考えられ、本実験系は投与濃度ならびに投与回数に検討を要するものの肺線維症の有用なモデルとなる可能性がある。

○高橋明美 板倉智敏 (北大・獣医・比較病理)

アクリルアミドは、ヒトや実験動物において“dying back neuropathy”あるいは“distal axonopathy”と呼ばれる変化を末梢神経系および中枢神経系に惹起する neurotoxin である。これによる病変は神経線維の遠位部におけるニューロフィラント (NF) の蓄積を特徴としている。今回我々は、正常なニホンウズラと全身性振戦症状を示し、病理学的には神経線維内のNF欠損に起因する軸索径の低発育を基本病変とする神経疾患ミュータント系ウズラ<以下Quv系と略>にアクリルアミドを長期間投与して神経症状を発現させ、病理学的に検索した。

〔材料と方法〕10～16週齢の正常ウズラ11羽 (雄5羽, 雌6羽) とQuv系ウズラ9羽 (雄3羽, 雌6羽) を用いた。これらのうち、正常ウズラ8羽 (雄4羽, 雌4羽) とQuv系ウズラ6羽 (雄2羽, 雌4羽) に、アクリルアミドを100mg/kg 1日おきに腹腔内投与した。対照としては、正常ウズラ3羽 (雄1羽, 雌2羽) とQuv系ウズラ3羽 (雄1羽, 雌2羽) に生理食塩水を投与した。投与期間中は毎日体重測定、平面での歩行試験を行い、中等度～重度の神経症状を発現した動物を、ペントバルビタール麻酔下で、左心室よりパラホルム・グルタルアルデヒド混合固定液を注入し灌流固定した。この後、脳、脊髄を取り出し、顕微鏡的および電顕的に検索した。

〔結果〕

神経症状：正常ウズラでは、5～6回投与後に歩行嫌悪や犬座様姿勢などの初期症状がみられ、10回投与以降にはすべてのウズラに歩行異常が発現し、これらの一部は横臥して歩行不能になった。Quv系ウズラでは、初期症状が前者より早期にみられたが、その後の症状の進行および程度は正常ウズラにおけるとほぼ同様であった。

顕微鏡所見：正常ウズラでは、脊髄側索から延髄、小脳脚を経て小脳髄質に至る脊髄小脳路と脊髄腹索の下行路に軸索の腫大・変性が認められた。病変は、神経路近位側では軸索腫大を主とし、遠位側に向かうに従い軸索の変性・消失、グリオーシスが強くなっていた。視葉の optic tractにも軸索腫大がみられた。また、一部のウズラでは、中脳 Nucl. mesencephali lateralis や間脳 Nucl. ovoidalis に spheroid の形成が認められた。Quv系ウズラでは小脳脚、小脳髄質の神経線維に軽度の軸索腫大が認められた以外に著変はみられなかった。

電顕所見：正常ウズラに顕微鏡でみられた軸索腫大は、NFの蓄積として観察され、著しく拡張した軸索内に変性・崩壊した細胞内小器官が充満している像も散見された。小脳ではミトコンドリア、滑面小胞体の増加も伴われていた。Quv系ウズラでは、小脳の神経線維にマイクロチューブル、滑面小胞体、ミトコンドリアの蓄積が認められたが、脊髄には変化はみられなかった。

〔まとめ〕正常ウズラにおいては、径が太く長い神経路に、軸索内NFの蓄積とこれに続く変性が認められたが、Quv系ウズラでは、脊髄小脳路の遠位端である小脳の神経線維にマイクロチューブルなどの蓄積がみられたのみであった。アクリルアミドは軸索輸送障害に起因して“distal axonopathy”を惹起すると考えられているが、その長期投与による病理組織変化は、正常ウズラよりもNFが欠損しているQuv系ウズラの方が少ないことが確認された。

○大町 康、久保田美穂、八十島 昭、岩崎 仁、高島紘毅、谷 茂¹、川崎浩遠¹、清水 隆¹（田辺製薬・薬物代謝研、¹東京女子医大・脳神経センター）

マイクロスフェアや凝血塊などを用いた脳梗塞や脳血栓症モデルがあるが、人工産物を用いる点でヒトの臨床病態に必ずしも近いとは言い難い。ところでphenytoin (PHT)液は血管内皮障害性を有していると考えられているが、我々はこの点に着目し、PHTをラットの内頸動脈に注入することにより高率に多発性脳血栓病態を惹起することに成功し、第33回日本神経学会で報告した。今回は本モデルの病態形成過程ならびに最近作出した亜急性モデルについて病理学的に検索したので報告する。

【材料と方法】実験には体重400g前後のSD系雄ラット28匹を用い、1群:NaOH(pH10.8)投与群(n=7)、2群:PHT 3.75mg投与群(n=8)および3群:PHT 1.25mg投与群(n=13)の3群に分けた。1群にはNaOH(pH10.8)150 μ l/headを、2、3群には2倍希釈のアレピアチン注射液® (PHT 250mg/5ml含有、大日本製薬、pH10.8)150または50 μ l/headを左側内頸動脈に投与した。1、2群は投与後5分および1時間に、3群は1週間後に経心的墨汁灌流を行い、脳梗塞巣の染色を行った。また瀕死例は呼吸停止直後、同様に対比染色を行った。摘出した脳は10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、光顕検索用とした。固定後頭頂部からの肉眼写真を撮影し、画像解析装置(NIKON LUZEX 2)で梗塞巣および大脳の見かけの表面積を測定した。また電顕的検索には、PHT投与後5分および瀕死期にグルタル・アルデヒドで灌流固定した各2例を用いた。

【結果】1群では死亡例はなく、光顕および電顕的観察で変化は観察されなかった。2群では広範な脳梗塞巣が認められ、PHT投与後1時間までの平均生存時間は41.6分であった。脳は著しく腫大しており、梗塞巣は大脳左半球あるいは一部右半球にまでおよび、見かけの梗塞巣表面積(mean \pm S. E.)は51.8 \pm 23.4 mm²であった。光顕的には、左側大脳皮質を中心に、末梢毛細血管内にPAS陽性均一無構造の血栓が多発し、細動脈や毛細血管の血管壁あるいは血管外へのPAS陽性血漿成分の浸潤や漏出が認められた。また神経細胞の萎縮や実質内の空胞形成が認められた。

電顕的にはPHT投与5分後で既に、細動脈および毛細血管の内皮細胞の剝離・崩壊と血小板、フィブリンからなる血栓が形成され、1時間後では殆どの毛細血管腔内は血栓で閉塞されていた。これら血栓は露出した基底膜に直に接触し、多くの血小板は脱顆粒の像を呈していた。また血管周囲は高度の浮腫像を呈しており、実質においてはグリア突起の膨化、髄鞘内膨化(intramyelinic swelling)が顕著で、グリア突起や軸索内のミトコンドリアの腫大・膨化も観察された。またシナプス構造は殆ど認められなかった。

3群では死亡例は2例で、投与後1週間の時点で肉眼的には梗塞巣は認められなかったものの、光顕的に、海馬および視床背側部にグリア集簇巣が11例中5例において認められた。

【考察】PHT 3.75mg/head投与により多発性脳血栓病態が誘発され、その形成機序はまずPHT投与による血管内皮細胞の損傷、剝離に始まり、主に末梢血管に血栓が形成された結果、梗塞に陥り、それに伴い浮腫を呈するものと考えられた。本モデルは本質的に内皮細胞損傷により惹起される多発性脳血栓症という点で、ヒトの多発性脳梗塞や多発性脳血栓症の有用なモデルであると考えられる。またPHT 1.25mg/head投与例においては脳梗塞病態を示し且つ長期生存しうる点でよりヒトの病態に近いモデルになり得るのではないかと考えられた。これについては現在検討を進めている最中である。

○藤原利久, 西田敦之, 西村友成, 浅田有規, 川合是彰 (田辺製薬・安全研)

Concanavalin A (Con A)は細胞表面の糖残基, 主にマンノースの特殊な配列を識別して結合するレクチンの一種であり, 胎生期処置によってウサギ (Desesso, 1979) およびマウス (Hayasaka et al, 1979) に外脳症を誘発することが報告されている. しかし, ラットで Con A 投与の影響を詳細に検討した報告は少ない. そこで今回, ラットの神経管形成期に Con A を経胎盤的に投与し, 神経管形成におよぼす影響を病理学的に検討したので報告する.

【材料および方法】

妊娠 7.5~10.0日のSlc:SD系ラット30匹を用いた. 動物を1群5匹の6群に分け, 妊娠 7.5, 8.0, 8.5, 9.0および10.0日に Con A を投与する5群と, 生理食塩水のみを妊娠 8.5日に投与する対照群を設けた. Con A の投与量は, 予備試験で形態異常が高率にみられた 20mg/kgとし, 生理食塩水で溶解後, 投与液量 2ml/kgで投与した. 投与は午前9時あるいは午後3時に尾静脈から単回投与した. 剖検は全例, 妊娠 11.0日に行った. 子宮摘出後, 着床数の算定, 胚の生死判定および外形観察を行い, ザンボニー固定液あるいは2.5%グルタルアルデヒド-2%パラホルムアルデヒド液にて浸漬固定した. ザンボニー固定材料からパラフィン標本および凍結標本を作製し, HE染色, ビオチン標識 Con A および抗 Con A 抗体を用いた酵素抗体法を施し, 光顕的に観察した. また, 電子顕微鏡による観察も行った.

【結果】

Con A を妊娠 8.0および 8.5日に投与した群では胚の神経管閉鎖不全, 脳胞の低形成および体軸の回転異常が約30%の胚で認められた. これに対し, 7.5, 9.0および10.0日の投与では約4.5%と発現率が低かった. また, 9.0および10.0日投与では胚の死亡率が高かった(約40%). 神経管閉鎖不全を示した胚では, 終脳部で神経管が開存していた. 組織学的には, 神経管を形成する細胞群の部分的な核濃縮などの細胞障害がみられ, また, 神経管の管腔側における Con A の結合が顕著であった.

【考察】

ラットの神経管形成期に Con A を経胎盤的に投与した結果, マウスやウサギと同様に神経管閉鎖不全が誘発され, また, 脳胞の低形成も観察された. これらの異常は妊娠 8.0~8.5日に投与した場合に最も高率に起きることが確認された. 病理学的観察結果から, 神経管閉鎖不全や終脳の低形成には, 神経管を形成する細胞の細胞障害や Con A の結合による細胞表面糖蛋白の役割の障害が関連しているものと考えられた.

○田中雅治,板垣伊織,成田牧子,下内孝司(小野薬品工業,福井安全研)

脊索腫は胎児期の脊索遺残組織に由来する稀な腫瘍とされ,ヒトではその約50%が仙骨,尾骨部に発生するといわれている.ラットにおいてもその発生は稀であり,NTPで実施された300以上の毒性/癌原性試験に用いられた115000匹のF344ラットのうちわずか56例(0.05%)にその発生をみるにすぎない.今回,我々はF344ラットの仙尾部において,脊索腫と考えられる間葉系腫瘍の1例を経験し,その病理組織学的検索において興味ある知見を得たので報告する.

【症例及び検索方法】

動物は癌原性試験のモニタリングに供されたF344/DuCrjラットの雄1例である.本例は著しい体重減少,自発運動減少等の臨床症状を呈し,97週齢に切迫屠殺された.剖検時において腫瘍は,仙尾部の左後腹膜に出血を伴ったφ20mm大の腫瘤として認められ,膀胱及び大腸を圧迫していた.腫瘍の断面は白色,一部暗赤色を呈し,粘液腫様であった.脊椎との境界は不明瞭であった.その他の臓器では,精巣に腫瘍性病変がみられた以外に著変はなかった.腫瘍は10%緩衝ホルマリン固定,脱灰後,パラフィン包埋した.病理組織学的検索はH-E染色標本にて行なった.また,特殊染色としてPAS染色,Alcian blue染色を行ない,さらに,S-100蛋白の免疫組織学的染色(ABC法)を実施した.

【組織学的所見】

腫瘍は脊椎と連続して観察され,線維性結合組織で隔された分葉状構造を呈していた.多くの腫瘍細胞は脊索腫に特徴的な担空胞細胞の形態を呈していた.すなわち,円形の核,空胞状に抜けたような細胞質を有し,粘液状基質の中に胞巣状,索状に増殖していた.その他,腫瘍組織内には骨および軟骨の形成が認められた.形成された骨,軟骨に腫瘍性変化はみられず,成熟した正常の組織像を示した.また,壊死巣周囲にはPseudopalisading像がみられ,担空胞細胞からの移行像が観察された.細胞分裂像は散見される程度であった.周囲神経,筋組織への浸潤は認められたが,肺などへの遠隔転移はみられず,剖検時に認められた精巣の腫瘍も間細胞腫と診断され本腫瘍とは無関係であった.尚,腫瘍細胞はPAS,S-100蛋白に陽性であり,粘液状基質はAlcian blue陽性であった.

【結論】

以上の結果,本腫瘍はその発生部位が仙尾部であることや病理組織所見より脊索腫と診断された.さらに本症例では骨,軟骨形成や腫瘍細胞のPseudopalisading形成といった特徴を有するタイプの脊索腫であった.

○岩坂俊基, 柿本恒知, 宮川義史 (日本たばこ・安全研)

・緒言

ラットにおいて松果体由来の腫瘍は発生が極めて稀で、Fischer系及びWistar系ラットで数例の報告があるに過ぎない。今回、我々はSD系雌ラットに松果体由来と考えられる腫瘍を認めたので、その組織学的、免疫組織化学的及び超微形態学的特徴を報告する。

・症例及び検索方法

動物は100週齢で解剖した無処置・長期飼育中のSD (Crj:CD) 系の雌ラットの一例で、若干の体重減少を除いて、顕著な臨床症状を認めなかった。剖検時に、本腫瘍は大脳後頭葉および小脳前葉間の直径10mmの白色調の結節状軟腫瘤塊として観察され、腫瘤塊によって大脳及び小脳実質は圧迫されていた。なお剖面において、周囲脳組織との境界は明瞭であった。

全身臓器及び腫瘍組織は10%中性緩衝ホルマリンで固定後、常法に従いパラフィン切片を作製し、H&E染色を施し病理組織学的検索を行った。特殊染色としてPAS染色、アザン染色、PTAH染色及び鍍銀染色を、免疫組織化学的検索として、S-100蛋白、ニューロン特異エノラーゼ (NSE)、セロトニン及び α_1 -アンチキモトリプシンをABC法を用いて実施した。また、もどし電顕による超微形態学的観察も実施した。

・結果

組織学的所見では、本腫瘍は中脳の上丘の背側部かつ大脳後頭葉の尾側大脳半球の間、つまり松果体の位置する所を中心に結節状の腫瘤塊として観察され、この結節状腫瘤塊のため周囲の脳組織は圧迫されていたが、境界は明瞭であった。腫瘍を構成する細胞は多形性に富み、クロマチンが粗造な類円形から卵円形の核をもち、好酸性の胞体をもつ比較的大型の多角形の細胞が主体であった。一部では大型の多角形の核をもつ巨細胞様の像を示したり、細胞境界が不明瞭な小型細胞の充実性の増殖を示す領域が認められた。これらの細胞が充実性に増殖し血管に富んだ結合組織で小葉構造に仕切られ、正常の松果体組織に類似した像を示す領域も認められた。また、好酸性の液状物の周囲に偽ロゼット様の配列を示す像や、腫瘍の辺縁部では石灰沈着が散見された。

免疫組織化学的検索では、NSEに陽性及びセロトニンに一部陽性、S-100蛋白、 α_1 -アンチキモトリプシンに陰性を示した。超微形態学的観察では、細胞質内に異質なミトコンドリアを多数認め、リボゾーム及びゴルジ装置の他、分泌顆粒と思われる直径約100nmの顆粒を少数認めた。

・考察

ラットの松果体は発生学的に第三脳室背側壁が膨隆して生じた内分泌器官で、神経細胞由来と考えられる松果体細胞の他、神経膠細胞、神経線維及び血管等より成る。また、松果体細胞はトリプトファンよりセロトニンを経てメラトニンを分泌する。本腫瘍は一部では正常の松果体に類似する特徴的な小葉構造をとり、免疫組織化学的に神経細胞に特異的といわれるNSEに陽性を示し、メラトニンの前駆物質のセロトニンに一部陽性を示した。また、超微形態学的に腫瘍細胞に分泌顆粒を認めた。これらの所見より本腫瘍を松果体細胞腫と診断した。

合成サケカルシトニン投与による ラット下垂体中葉の変化に関する検討

○堀内 敏, 莊子正博, 磯部充威, 小川哲郎, 村越正典, 佐藤敦子, 稲田理恵, 田川正志,
久田 茂, 鈴木 稔 (帝国臓器製薬、安全研)

ラット下垂体中葉は、メラニン細胞刺激ホルモン(MSH)、ACTH、 β -endorphinなどのproopiomelanocortinを前駆体とするペプチドホルモンを産生することが知られており、前葉のプロラクチン(PRL)細胞と同様にドーパミンD-2受容体を介して抑制的に支配されていると言われるが、不明な点も多い。本学会においてもコリンエステラーゼ阻害薬を投与したラットで中葉細胞の肥大が報告されている(第6回及び第7回、今井俊夫他)。今回、合成サケカルシトニン(sCT)投与によりラットで認められた中葉の変化について報告する。

【材料と方法】

6週齢の雌雄SDラットに、sCTを0.75, 7.5, 30, 120 IU/kgの用量で、最長52週にわたって皮下投与した。2, 4, 13及び52週後に動物を屠殺し、下垂体を病理組織学的及び免疫組織学的に検索した。また、sCT 120 IU/kgを4, 13又は52週間投与したCD及びB6C3F₁マウス、Goldenハムスターの下垂体についても病理組織学的に検討した。

【結果と考察】

ラットでは、sCT 7.5 IU/kg以上で用量に依存した体重増加抑制を認めた。下垂体重量は13週目までは対照群と投与群で有意差がなかったが、52週目では高用量群で増加した。顕微鏡所見では、sCT投与によりラット下垂体中葉細胞はび漫性に肥大し、細胞内に核に接する好酸性の小体が認められた。H・E切片を用いた組織学的計測の結果、雄ラットで7.5 IU/kg以上、雌ラットで30 IU/kg以上で用量に依存した中葉細胞面積の増加を認めた。顕微鏡所見では細胞の肥大の他に、核周囲に電子密度の高い分泌顆粒を伴ったゴルジ野の著しい発達、周囲のミトコンドリアの増加及び粗面小胞体の増生を多くの細胞で認めた。 α -MSH、 β -MSH、 β -endorphin及びACTHの免疫組織学的染色の結果では、すべての中葉細胞が陽性であり、対照群と投与群で差がなかった。また、前葉のPRL細胞の増加及び血液中PRL濃度の上昇は認められなかった。一方、マウス及びハムスターではsCTを投与しても中葉細胞の肥大は認められなかった。

今回の結果より、sCT投与によるラット中葉細胞の肥大は、ドーパミン拮抗薬などで報告されている変化と類似しており、中葉細胞機能の亢進によると考えられた。現在のところ、その作用機序は明らかでないが、前葉のPRL細胞に対する作用に差が見られることよりドーパミン拮抗薬とは異なっている可能性が考えられた。

○杉本哲朗、伊東房美、常深邦彦、鈴木繁生、二木力夫
(中外製薬・安全性研究所)

マウスに自然発生する下垂体の中間部腫瘍は、前葉腫瘍が比較的頻繁にみられるのに対し、極めて稀であるとされている。Pathology of Tumours in Laboratory Animals. Vol.2-Tumours of the Mouse (IARC, 1979)によれば中間部腫瘍の自然発生についての報告はない。最近、本学会において、ICR系(下垂体中間部癌、第4回、三森)、C57BL/6系およびB6C3F₁系(下垂体中葉腫瘍、第5回、大石ほか)の各雌マウス1例の報告がなされているが、発生頻度の著しく低い稀な腫瘍であるので、本腫瘍の背景データの蓄積を目的として、われわれの経験した下垂体中間部腺腫の症例についてその病理形態像を報告する。

〔材料および方法〕症例は、86週齢のCrj:B6C3F₁系の雄マウスで、癌原性試験に供された対照群の計画殺例1例である。マウスは4週齢で購入し、温度24±2℃、湿度50～60%、換気回数10～15回/時、人工照明14時間(5:00～19:00)のバリアシステムの飼育環境下で、飼料(CE-2、日本クレア)と水を自由に摂取させた。下垂体を含む諸臓器・組織を20%中性緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋切片を作製し、HE染色を施した。下垂体に関しては、PAS、鍍銀、アザン染色などに加え、抗adrenocorticotrophic hormone (ACTH)、抗melanocyte stimulating hormone (MSH) - α 、- β および- γ_3 、抗endorphin - β を用いてABC法にて免疫組織化学染色を行った。

〔結果および考察〕肉眼的には、下垂体に異常変化は検出されなかった。病理組織学的に、腫瘍は中間部に位置し、索状構造を呈し、後葉を圧排性に結節性増殖していた。正常中間部との境界は不鮮明で被膜の形成はみられず、いわゆるcavernous congestionなどの血管洞の拡張も認められなかった。腫瘍細胞は、円型の核と豊富な細胞質をもつ色素嫌性の正常中間部細胞に比して、より大型で紡錘～円柱状の好塩基性の細胞から成っていた。核は淡明でクロマチンに乏しく、しばしば明瞭な核仁を保有し、稀に核分裂像が認められた。大型核をもった異型性を有する細胞も散見され、中間部腺腫と診断された。腫瘍細胞の細胞質には明るい輪状構造、いわゆるGolgi-ringがときおり存在し、また、PAS染色では弱陽性、アザン染色では濃青色を呈する腫瘍細胞が一部に認められた。さらに、免疫組織化学染色では、腫瘍細胞はproopiomelanocortinを共通の前駆体とするACTH、MSH- α 、- β 、およびendorphin- β のいずれも陽性所見を示し、しばしば正常中間部細胞よりも強い陽性像が認められた。MSH- γ_3 は正常中間部および腫瘍ともに陰性であった。従って、本症例に観察された中間部腺腫は、内分泌ホルモン産生機能を維持しているものと考えられた。中間部腺腫からのホルモンの過剰分泌による副腎皮質の過形成などの他臓器への影響は認められなかった。

○阿瀬善也, 北浦敬介, 小野寺博志, 渋谷 淳, 三森国敏, 高橋道人
(国立衛試・病理部)

【はじめに】 甲状腺ホルモン合成阻害剤をラットに投与すると、血中の T_3 , T_4 が減少し、その結果として下垂体からの TSH の分泌亢進による濾胞上皮の増殖性病変が誘発される。これらの増殖性病変は過形成、腺腫、腺癌に分類されることが多いが、各病変の病理発生および生物学的特性については十分に明らかにされているとは言えない。今回、我々は二段階発癌モデルで誘発されたラット甲状腺における種々の増殖性病変の形態学的特徴と細胞増殖活性の関係について検討した。

【材料と方法】 6週齢の雄 F344ラットを使用し、1, 2群(各 20匹)には 2800mg/kg の N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) を 1回皮下投与し、1週後より 1群(DHPN/SDM群)には甲状腺ホルモン合成阻害剤である 0.5%の sulfadimetoxine (SDM) を、2群(DHPN/DW群)には水道水のみを 19週間飲水投与した。3群(SDM群)、4群(DW群)は各 10匹とし、生理食塩水を 1回皮下投与し、1週後より 1, 2群と同様の処置を施した。実験は 20週で終了し、bromodeoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与後屠殺し、甲状腺の HE染色および BrdU免疫染色標本を作製し観察した。

【結果】 DHPN/SDM群や SDM群では濾胞のびまん性肥大が認められたが、DHPN群や DW群では著変は認められなかった。更に、DHPN/SDM群では濾胞細胞過形成、濾胞細胞腺腫および濾胞細胞腺癌が高頻度に認められた。濾胞細胞過形成は濾胞上皮細胞の肥大/立方化と嚢胞状に拡張した濾胞腔内へのヒダ状突出を特徴とする限局性病変であったが、BrdU標識細胞はほとんどみられなかった。濾胞細胞腺腫では濾胞上皮細胞の密度が増加し、卵円形の核と好塩基性の胞体からなる細胞の小濾胞状またはシート状増殖を主体としていた。一部では濾胞上皮細胞の塊状増殖巣がみられ、それらの細胞では核の大型化とクロマチンの淡明化が認められた。濾胞細胞腺腫では BrdU標識細胞がまったくみられないもの、一部に集簇的にみられるもの、少数かつ散在性にみられるものが認められた。特に、核の大型化とクロマチンの淡明化が著明な細胞が BrdUに標識される傾向が認められた。濾胞細胞腺癌は小濾胞状あるいは充実性増殖を特徴とし、限局性病巣と浸潤性病巣に分けられた。充実性増殖が著明な部では核の大型化とクロマチンの淡明化が著明な腫瘍細胞から構成されていた。濾胞細胞腺癌では限局性および浸潤性増殖巣ともに多くの細胞が BrdUに標識された。

【まとめ】 げっ歯類の悪性甲状腺腫瘍の診断には周囲組織への浸潤性増殖や遠隔転移の存在が重要な基準とされているが、今回の成績によれば濾胞細胞腺腫と診断される例においても濾胞細胞腺癌に類似した細胞形態および高い増殖活性を有する細胞が存在することが示され、良悪性の診断には細胞増殖活性等の新たなパラメーターの必要性が示唆された。

○今井 繁、路 進、高野智司、石原浪砂、北村毅、飯島徹男、高橋正一、前川昭彦（佐々木研・病理）

N-アルキルニトロソ尿素はラットに長期間経口投与した場合、その発癌標的臓器はアルキル基の違いやラット系統により異なることが知られている。今回我々は発癌標的臓器と毒性との関連を検討する目的で、F344およびDonryuラットを用い、メチル（MNU）およびエチルニトロソ尿素（ENU）の28日間反復投与毒性を実施し、発癌標的臓器との関連を検討した。

<実験方法>

6週齢雌雄F344およびDonryuラット（各群雌雄各6匹）を用い、MNUは15,20および30mg/kgを、ENUは40および60mg/kgをそれぞれ胃ゾンデを用いて28日間連続強制経口投与した。体重測定、血液学および血液生化学的検査、病理学的検査に加え、BrdUによる細胞増殖動態を検討した。

<実験結果>

F344、Donryuラット共、MNUおよびENU投与各群で、用量相関を伴って体重増加抑制、赤血球、白血球やヘモグロビンの低下がみられた。尚、F344ではMNU高用量群の雌雄、またDonryuではENU高用量群雄の全例が実験期間中に死亡した。生化学検査でも投与各群で幾つかのパラメーターに変動が見られたが、なかでも総蛋白、アルブミンの低下が共通してみられた。これらの所見に化合物や系統による本質的な差はみられなかった。臓器重量では胸腺、肝、脾および精巣の減少が、また剖検所見では、胸腺、脾、リンパ節や精巣の萎縮、骨髓低形成および消化管出血が両系統のMNUおよびENU投与群にみられた。組織学的検査では、精巣精細管の変性、前胃の潰瘍、過角化や過形成、腺胃粘膜の萎縮、びらん、小腸および大腸粘膜の萎縮、胸腺、脾やリンパ節の萎縮、骨髓の造血障害、肝の中心変性や限局性壊死、小脳（大脳）の小出血巣などが認められたが、系統、化合物による病変の本質的な違いは認められなかった。BrdUによる細胞増殖動態では、投与各群で前胃粘膜における増殖亢進、腺胃粘膜における増殖帯の拡がりなどが目立った。

<考 察>

長期経口投与によるMNUの主たる発癌標的臓器は、F344では中枢神経系をはじめ、口腔・食道・前胃や腺胃など、Donryuでは末梢神経系や前胃など、またENUのそれはF344では小腸をはじめ、骨髓、外耳や乳腺など、Donryuでは骨髓の他、小腸、乳腺などである。今回の28日間反復投与による毒性病変は、主として造血臓器、消化管や精巣にみられ、それらはニトロソ尿素のアルキル化剤としての作用に起因するものと考えられた。MNUとENUでそれら病変の強さに多少の違いはあるものの、毒性標的臓器や病変の種類に本質的な違いは認められず、また系統による差もみられなかった。これらの結果より、短期投与による毒性と発癌標的臓器との間にははっきりとした関連は無いと結論された。唯一、MNUあるいはENU投与群で大脳皮質下、脳室上衣下や末梢神経に極く僅かながら細胞増殖の増加が見られたことは、ニトロソ尿素と神経系との親和性を示唆する所見と考えられる。

○鈴木雅実, 萬啓悟*, 堤紀美子, 三好昌夫, 肥後伸一郎, 田村博志,
鈴木繁生, 二木力夫 (中外製薬・安全研, *CSKリサーチ)

核酸を構成するプリン塩基の一つであるアデニンは腎毒性を有し、ラットへの長期間混餌投与により、2,8-ジハイドロキシアデニン結晶が尿細管や間質に沈着し、慢性腎不全を惹起させることが知られている。先に我々は、短期間の強制経口投与によっても腎障害は容易に誘発され、さらに休薬後もその障害は継続することを報告した(第19回日本毒科学会学術年会)。今回は、腎臓の病理像の詳細と特徴を報告する。

【材料および方法】4週齢のSD系ラットの雄に、アデニンの450 mg/kgを2週間経口反復投与し、投与終了時、休薬2,4,6,9,12週に血清生化学、尿検査を実施した後、剖検した。剖検時に腎臓を採取し、重量を測定した後、20%中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従って各種染色標本を作製して組織学的に検索した。

【結果および考察】肉眼的には、腎臓の著しい腫大を伴う白色化が投与終了時にみられ、この変化は休薬に伴い回復傾向を示したものの休薬12週まで観察された。なお、血清生化学検査においては、投与終了時にBUN, 血清クレアチニンが著しい高値を示し、その後、休薬4週まで回復傾向を示したものの実験期間を通じて高値のまま推移した。

組織学的には、投与終了時において、近位および遠位尿細管への結晶沈着が多数認められ、結晶の多くは基底膜で囲まれた尿細管内で上皮細胞に包まれて存在したが、ときに、基底膜を断裂させている像も観察された。尿細管では結晶沈着による変形、上皮細胞の変性、炎症性細胞の浸潤とともに、好塩基性の細胞質と大型の核を有する上皮が密に配列し、細胞分裂像も頻繁に認められた。免疫組織化学的に、多数の上皮の核が proliferating cell nuclear antigen(PCNA)陽性を示し、上皮の変性とともに活発な再生が確認された。尿細管周囲の間質では、炎症性細胞の浸潤と線維芽細胞の増生が認められた。

休薬4週には、尿細管の萎縮を伴う広範な線維化巣が皮質から髓質にかけてくさび状に認められ、結晶の多くは巨細胞を伴って間質に観察された。この時期では、塩基性を呈する尿細管上皮はほとんど認められず、PCNA陽性細胞も対照群と同程度であったことより、生化学パラメータの推移とあわせ、結晶沈着に伴う障害からの修復過程はほぼ終了しているものと判断された。休薬4週以降、病理像は比較的安定し広範な線維化巣が継続的に観察されたが、休薬6週より糸球体の腫大が散在性に認められ、これら糸球体の多くでは、上皮細胞胞体内に protein reabsorption droplet と考えられるPAS陽性の沈着物が認められた。また、同時期より尿中アルブミン排泄量の増加が認められた。

以上、アデニンの2週間経口投与により、結晶沈着と尿細管、間質の炎症性変化を主徴とする、いわゆる tubulo-interstitial nephritis が惹起され、その後、休薬期には、広範な線維化巣が形成され、長期経過とともに renal mass の減少に起因した overload nephropathy に移行するものと考えられた。

○松本 順子¹, 勝田 修^{1, 2}, 平塚 秀明¹, 土谷 稔¹, 梅村 孝司² (¹三菱化成安科研, ²鳥取大学)
実験的カドミウム(Cd)腎症については今まで多くの研究がなされており, 本腎症の特徴として近位尿細管の選択的な障害が知られている。我々は, 卵巣摘出ラットにCdの13週間静脈内投与を行うことで腎病変を作出した(第113回日本獣医学会口演)。今回はこの腎病変を電子顕微鏡学的に検索したのでその結果を報告する。

[材料および方法] Crj:CD(SD)系雌ラット54匹を用い, 両側卵巣を摘出後3群に分け, 7週齢時から生理食塩水に溶解したCdCl₂, 0, 1.0 および2.0mg/ml/kg を尾静脈より5回/週, 13週間投与した。投与開始4, 8 および13週後に各群6匹ずつを屠殺剖検した。同時に各群2匹の腎皮質より組織片を採取し, 電顕材料とした。

[結果] Cd投与による変化は主に近位尿細管曲部において発現していた。2.0mg/kg群では投与後4週で近位尿細管上皮細胞の細胞質内全体で滑面小胞体(SER)が網目状に増殖, 拡張しており, 時に同心円状の層状構造を形成した増殖像も認められた。過度に拡張したSERは大小様々な空胞を胞体内に形成していた。このような細胞の中にはミトコンドリアのクリスタが拡張し, 胞体全体が膨化した変性細胞も認められた。この変性細胞とは別に, 細胞全体が凝縮し電子密度の増した壊死細胞が8週頃から散見された。これらの変性・壊死細胞では, 隣接する上皮細胞との間に細胞間隙の拡大による接着性の低下が見られた。

微絨毛直下では尿管上皮の再吸収像である頂部空胞(AV)の増加が4週以降8週まで認められた。また高電子密度の顆粒状, 線維状あるいはミエリン様の構造物を入れた二次ライソゾーム(S-LY)の増加が8週より認められた。

これらの変化に加えて8週以降の尿管では再生性変化が顕著に認められた。再生上皮細胞は脱落に向かって変性細胞の基底側から起こり, 不整形の核と大型の核小体を有し, 細胞質内小器官および微絨毛の発達は悪かった。またこの頃から尿管基底膜の肥厚や間質における線維芽細胞の増加もしばしば認められた。13週では上皮細胞の壊死・脱落そして再生の過程が優位に発現し, SERの増殖や空胞変性, AVの増加は4週ほど顕著ではなかった。

1.0mg/kg群では, 2.0mg/kg群と同様な変化が8週から徐々に発現しており, 13週では2.0mg/kg群と同程度の変化として認められた。

[考察およびまとめ] 今回認められた腎尿管における変化は, Cd腎症として今まで報告されている変化と概ね一致するものであり, 高用量(2.0mg/kg)のCdを静脈内投与することによって, 短期間で明らかな腎尿管の変化として認められた。低用量(1.0mg/kg)群では高用量群に追随する形で, 8週から同様な変化が観察されるようになった。高用量群と低用量群の病変発現時期の差を考えると, 高用量群では早期に尿管上皮内のCd含量が細胞の適応範囲を越えたため, 4週から高度な障害像が現れ, 低用量群では徐々にCdが蓄積し, 最終的に高用量群と同じレベルになった結果, 13週では高用量群と同程度の変化として発現したものと推察される。

黒澤努、岡本宗裕、岳秉飛（阪大医・動験）、辰巳治之、
佐藤松治（札医大）、小倉松治、浅野敏彦、（予研・獣医）

〔はじめに〕 近年動物愛護思想の普及により毒性試験においても使用実験動物数の減少（Reduction）を求める声が高まっている。科学者にはこうした要望に答えるための努力を払う必要があることはいうまでもない。われわれはこの努力の一貫として、従来、実験動物学の分野で疾患モデルとして開発された実験動物系統を、毒性試験用高感受性実験動物として用いることを提案したい。このため数種の系統についてその基礎的な検討を開始した。

今回はネフローゼを自然に発症するマウス、ICGN系統をnephrogenicな毒性試験を行い得る候補と考えその病態解析を行ったので報告する。

〔材料と方法〕 使用した実験動物は予研獣医科学部ICR系統内で発見され、近交化途上にあるF9以降の成熟ICGNマウスとその親コロニーのICR系統成熟マウスである。尿は無麻酔下でマウス腹部を圧迫して採取し、血液は尾部血管よりヘパリナイズしたガラス管を用いて採取した。採取した尿、血漿は蛋白濃度を測定したのち、LaemmliのSPS-PAGEを用いて電気泳動した。腎臓はマウスをエーテル麻酔後、3%グルタルアルデヒド溶液で灌流ないし10%中性緩衝ホルマリン液で浸漬固定した。電顕用試料は1%オスミウム液で後固定したのちエポン包埋し、光顕用試料はパラフィン包埋した。パラフィン切片はH. E, Azan染色を行い観察した。電顕用試料はウラン鉛染色し、観察した。

〔結果〕 ICR, ICGNとも尿中に蛋白が検出された。ICRではMUPが主体であったが、ICGNではアルブミンを主とする血漿蛋白と同様の分画が主体であった。ICGNではこの尿中アルブミンは生後十数日で画一の上昇し、その後これが持続した。成熟ICGNマウス腎臓は肉眼的には表面に細顆粒状の凹凸を認め、やや萎縮していた。光顕観察では糸球体の変性が著しく、尿細管は高度に拡張し、尿円柱形成が認められた。尿細管上皮は著しく変性しており、基底膜の肥厚が顕著であった。間質には結合織の増生も見られ、また動脈周囲にはモノクレア細胞浸潤が観察された。これらの形態学的変化はいずれも散在性に見られた。電顕的には基底膜の肥厚が著明であった。これら形態学的な所見は腎炎が経日的に進行していくことを示唆していた。

〔考察〕 ネフローゼ自然発症ICGNマウスは、病状の進行が画一的でありNephrogenicな毒性試験高感受性実験動物系統として使用できる可能性があるものと思われる。

○志賀敦史、三上真一、山川誠己、岩田聖、広内康彦、小林和雄、榎本真（安評センター）

＜ 緒 言 ＞毒性試験に一般的に用いられている実験動物である、マウス、ラット および イヌにおいては特定の臓器に石灰沈着が高率に自然発生することが知られている。マウスでは視床の血管壁に観察され、ラットでは腎臓皮髄境界部の尿細管腔内か間質かその沈着部位は定かではない。この両者については研究が多くなされ、病理発生については、マウスでは加齢性、ラットではエストロジェン依存性などの因子の関連が指摘されている。

ビーグル犬では胃の胃底腺部と腎臓髄質の乳頭部に石灰沈着が自然発生する。これらについての詳細な記載は見あたらない。後者については、尿細管腔内に起こるとされているが、その部位は乳頭部で、研究者によっては集合管内であるとしている。しかし、腎乳頭部では、毛細血管とヘンレ係蹄細脚が密に混在し、光顕的には免疫組織学的手法を用いなければ、両者を区別することは困難である。また、その発生に性差は認められない。今回、我々はビーグル犬の腎乳頭部における所謂石灰沈着について検索し、その沈着部位を明らかにすると共に、他の自然発生性に沈着した石灰と、種々の特殊染色を用いてその染色態度を比較したので、その概要を報告する。

＜材料と方法＞検索した腎組織は重急性毒性試験に対照群として用いた、9ヵ月齢の雌雄両性のビーグル犬より採取した。10%中性緩衝ホルマリン液固定、パラフィン包埋し、HE染色連続切片を作製した他、カルシウムを証明するための組織化学的検索および石灰沈着部位同定のための免疫組織学的検索を行った。更に、腎組織の一部を電顕用に固定し、エボンとアラルダイトの混合物に包埋したのから超薄切片を作製し、石灰沈着部位の微細構造について調べた。

＜ 結 果 ＞石灰は全て抗ブタ ビメンチン抗体陽性の細胞が内張りする管腔内に存在し、抗ヒト ケラチン抗体陽性の細胞が内張りする管腔内には存在しなかった。ビーグル犬の腎乳頭部の石灰は他動物のそれと、種々の特殊染色に対して染色態度は殆ど変わらなかったが、von Kossa法に対して染色性が弱く、PTAH染色で、石灰の周囲が紫色に染まる点が異なっていた。電顕的に石灰はマクロファージと思われる細胞に取り込まれていた。

＜ 考 察 ・ 結 論 ＞以上の結果、1)石灰がHE染色切片上で赤血球と混在する（血尿はない）、2)連続切片ではその沈着部位が、明瞭な血管と連続する、3)石灰に対して周囲に細胞性反応が必ず認められる、4)抗ブタ ビメンチン抗体陽性の細胞が内張りする管腔内に全ての石灰が存在する、5)抗ヒト ケラチン抗体陽性の細胞が内張りする管腔内に石灰は存在しない、6)電顕的に、石灰の存在する内腔を内張りする細胞が血管内皮細胞の特徴を有する などの点が明らかとなった。したがって、イヌの腎乳頭部における自然発生性の石灰沈着は毛細血管内であることが裏付けられた。腎乳頭部の微小循環に関しては、尿濃縮のための対向流系の存在で解剖・生理学的に特殊な領域に当り、その血圧も時に0になることから、血管内皮細胞の機能障害が起こり易いと想定される。本石灰含有物質も血管内皮ないしマクロファージのライソゾーム中に取り込まれた像として観察されたが、その病理発生の詳細については不明である。

研究協力者 : 萩原 孝

○村井 隆¹、高田信康¹、松田 勉¹、鶴淵英機¹、森 聖²、福島昭治¹
(¹大阪市大・医・1病理、²塩野義製薬・油日ラボ)

第8回日本毒性病理学会で水腎症自然発生NON系マウスにおけるN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine(BBN)によるマウス腎盂癌に対してフェナセチンにより誘発された腎病変が発生リスクを増強させることを報告した。今回は、フェナセチンが誘発する腎の病変を経時的に検索した。

〔方法〕 7週齢のNON/Shiマウス(塩野義製薬油日ラボ)の雄65匹を用いた。2%の割合でフェナセチンを混ぜたCA-1固形飼料を実験開始時から8週間投与し、その後12週間休薬した。実験期間は合計20週とした。対照群にはCA-1固形飼料を0から8週目まで自由摂取させた。フェナセチン投与群では2、4、6、8、9、10、12、16および20週目に各5-6匹づつ、対照群は0、4および8週目に各4-5匹づつ、動物を屠殺し、腎、特に腎盂病変を病理組織学的に検索した。

〔結果〕 腎盂病変として上皮の単純性過形成、上皮の空胞変性、乳頭部の変性・壊死および水腎症が観察された。しかし、腎盂粘膜の前癌病変である乳頭状および結節状過形成は観察されなかった。

単純性過形成はフェナセチン投与群で乳頭部以外の腎盂粘膜上皮に観察された。フェナセチン投与群では実験開始2、4、6および8週目までそれぞれ、6/6、3/6、2/6および3/5に観察された。また、発生率に左右差はなかった。対照群では病変は観察されなかった。

上皮の空胞変性はフェナセチン投与群で乳頭部被覆上皮と腎盂腎杯部に観察された。フェナセチン投与群では乳頭部被覆上皮においては実験開始2、4、6、8、9および10週目でそれぞれ、3/6、5/6、2/6、5/5、4/6および2/6に観察された。腎盂腎杯部においてはフェナセチン投与2、4、6および8週目でそれぞれ、4/6、6/6、5/6および5/5に観察された。また、これらの発生率に左右差はなかった。対照群では病変は観察されなかった。

乳頭先端部の変性・壊死はフェナセチン投与開始2、4、6、8、9、10、12および16週目にそれぞれ3/6、6/6、6/6、5/5、6/6、5/6、2/6および1/5に観察され、特にフェナセチン投与期間中は高度な病変が多く観察された。また、壊死が存在した乳頭先端部の脱落による変形とその修復に伴う線維化が実験開始12、16および20週目にそれぞれ3/6、2/5および5/5に認められた。なお、左右腎で病変の発生率に差はなかった。対照群では病変は観察されなかった。

水腎症はフェナセチン処置群および対照群で観察された。フェナセチン処置群では2から20週目まで屠殺した全例に水腎症が観察された。特に高度な水腎症は実験開始2、4、6、8および16週目までにそれぞれ1/6、1/6、1/6、2/5および2/5に観察された。対照群では水腎症が0、4および8週目でそれぞれ5/5、1/4および2/4に観察された。しかし、これらの病変は左右腎とも程度は弱かった。このようにフェナセチン投与群の方がより高度な水腎症を発症することがわかった。また、フェナセチン投与群、対照群ともに右腎の方が水腎症の発生率が高くなる傾向がみられた。

〔結論〕

1. フェナセチンはNONマウス腎盂の上皮の単純性過形成、空胞変性、乳頭部の変性・壊死および高度な水腎症を誘発した。
2. 単純性過形成および空胞変性はフェナセチン投与終了後、比較的早い時期に消失する可逆性変化であった。
3. 乳頭先端部の変性・壊死はフェナセチン投与終了後徐々に消失し、腎乳頭の変形と線維化がもたらされた。
4. 水腎症の程度はフェナセチン投与終了後、徐々に軽減した。

Indomethacin 投与ラットの腎乳頭壊死と間質細胞変化の関連について

○斉藤義明¹⁾、佐々木正成¹⁾、永田伴子¹⁾、河 昶守²⁾、今井 清¹⁾

(¹食品薬品安全センター・秦野研、²韓国化学研究所・安全研)

Indomethacin をラットに投与することにより、腎乳頭先端部に壊死が引き起こされるが、これはプロスタグランジン合成阻害による循環障害が主な原因であると考えられている。一方、乳頭部に壊死性変化が起こらないような少量投与でも、間質細胞に変化がみられることも知られているが、この間質細胞の変化と腎乳頭壊死との関係についての報告は少ない。今回われわれは、Indomethacin 投与による腎乳頭の微細形態学的変化を経時的に観察したので報告する。

【材料および方法】

6週齢のSD系雌ラット12匹を用い、3匹を対照群、9匹を投与群とした。Indomethacin(SIGMA社)は、1% CMCに懸濁し50 mg/kgの単回強制経口投与を行った。投与3、6、24時間後にそれぞれ3匹ずつパラホルムアルデヒドおよびグルタルアルデヒドの混合固定液で全身灌流固定をしたのち、腎乳頭部を樹脂包埋して、乳頭先端部および外側部について光顕ならびに電顕的観察を行った。

【結果および考察】

乳頭先端部では、投与後3時間で毛細血管内皮細胞のミトコンドリアの膨化、空胞形成などの乏血性変化および血小板の付着があり、間質細胞は核のクロマチン凝集がみられた。これらの変化は投与後6時間でさらに著明になったほか、間質細胞の細胞質内には微小空胞の増加が認められた。投与後24時間では、乳頭先端部の広い範囲で壊死性変化が観察され、その近傍の毛細血管内皮細胞は完全に剥離し、残存する基底膜に多数の血小板が付着していた。また、間質は著しい浮腫を呈し、変性した間質細胞あるいは変性した間質細胞の一部と考えられる顆粒状物質が散見されたほか、限界膜に欠く脂質様構造を呈する小顆粒の集簇もみられた。

一方乳頭の外側部では、全投与期間を通じて毛細血管の変化はほとんど観察されなかったが、間質細胞では核のクロマチン凝集、細胞質内の微小空胞の増加が時間の経過とともに著明となった。さらに6時間以降では、小胞体様の膜状構造物あるいは高電子密度の脂質様顆粒を含む核膜周囲腔の拡張がみられた。

これらのことから、Indomethacin 投与による間質細胞の変化は循環障害による二次的変化のほか、薬物の直接作用による可能性も示唆された。間質細胞の微細形態変化とプロスタグランジン合成機構との関連についても検討中であるので、合わせて報告する予定である。

○青木豊彦¹, 今井俊夫¹, 奥村佳世¹, 中野渡純一¹, 本岡覚¹, 山津清實¹, 今沢孝喜², 高橋道人² (¹エーザイ・安全研, ²国立衛試・病理)

【はじめに】 げっ歯類を用いた反復投与毒性試験において、膀胱粘膜をはじめとする尿路系粘膜の増殖性病変は稀に認められる病変である。これらの増殖性病変が長期の癌原性試験を実施した場合、腫瘍性病変に進展するか否かの予測、さらには毒性試験結果のヒトに対するrisk assessmentのために、その毒性発現機序の解明はきわめて重要である。今回我々は、代表的な炭酸脱水素酵素阻害剤（以下、CA阻害剤と略す）であるacetazolamide（以下、ACZと略す）をラットおよびマウスに投与した場合の泌尿器系に及ぼす影響について経時的に検索し、その毒性発現機序を検討したので報告する。

【材料と方法】動物は7週齢の雌F344ラットおよび雌B6C3F1マウスをそれぞれ50匹用いた。各30匹の動物に、ラットでは0.35%、マウスでは0.025%のACZを混餌により26週間投与した。残りの20匹には対照として基礎飼料を与えた。動物は投与後4、13および26週で尿検査を実施した後、各群の10匹（対照群は投与後4、13週で各5匹）について屠殺剖検し、腎臓および膀胱について光顕による病理組織学的検査を実施した。また、剖検時にACZ投与群で認められた膀胱結石については、エネルギー分散型X線分析装置付走査電子顕微鏡（SEM-EDX）による元素分析を行なった。

【結果および考察】①一般状態：ラットにおいては、実験期間中の途中死亡や一般状態に変化は認められなかったものの、投与群では投与初期から体重増加抑制と摂水量の増加がみられた。マウスにおいては、投与2週および6週に計3匹に途中死亡が認められ、体重減少あるいは増加抑制と摂水量の増加がみられた。②尿検査：ラットおよびマウスとも尿pHの上昇が認められ、ラットではさらに尿量増加、尿比重と浸透圧の低下およびリン酸塩結晶の増加が実験期間を通して認められた。③剖検時肉眼所見：ラットでは、13週屠殺群の少数例に膀胱壁肥厚、膀胱結石と腎盂拡張がみられたのに対し、マウスでは、膀胱壁肥厚と腎盂拡張が投与4週から、膀胱結石が13週からみられ、それらの頻度は増加し、26週屠殺群の少数例には腎盂結石の形成も認められた。④病理組織学的所見：ラットでは膀胱粘膜の単純性過形成が投与4週から出現したが頻度および程度とも弱く、結節性過形成は膀胱結石のみられた1例のみであった。腎臓においては、投与群で皮髄境界部の石灰沈着の増加と腎盂粘膜過形成が軽度に認められた。一方、マウスでは、炎症を伴った膀胱粘膜のビラン、単純性過形成および結節性過形成が投与4週から出現し経時的に程度が増強した。腎臓においては、4週から水腎症が、13週から腎盂炎および腎盂粘膜過形成がみられ、経時的に増強した。⑤膀胱結石元素分析：ACZ投与により膀胱内腔に形成された膀胱結石は、ラットおよびマウスのいずれにおいてもP, Mg, KおよびCaが構成無機成分であった。

以上の結果から、ACZ投与による膀胱粘膜過形成は、ACZの薬理作用であるCA阻害に伴って起こるアルカリ尿と尿中への電解質排泄の亢進およびリン酸塩結晶の増加といった尿性状の変化によるもので、リン酸塩結晶の凝結物と類推される結石形成による物理的刺激が増殖性変化を加速し、さらには腎臓病変の発生を引き起こすものと考えられた。

○倉田 靖¹、J. M. Ward²
(¹ 名市大・医・1病理、² NCI, Frederick, MD, U.S.A.)

【目的】バルビツール系睡眠鎮静薬のsodium barbital (NaBB) はラットに経口投与すると腎毒性を示すことが知られている。また、NaBBは腎尿細管上皮細胞の増殖を亢進させ、二段階発癌説に基づく研究において腎発癌プロモーション作用を示し、単独で長期経口投与を行なうと低率ながら腎腫瘍を発生させる。今回は非遺伝子毒性物質であるNaBBの単独投与により発生する腎腫瘍の組織発生およびその特性について検討した。

【方法】動物はF344/NCr雄ラットを用い実験は7週齢より500ppmのNaBBを飲料水にて100週間投与のもの、1,000ppmを12週齢より44週間混餌投与のもの、および4,000ppmを8週齢より98週間混餌投与のものであった。病理組織学的に腎病変を異形成尿細管(dysplastic tubules, DT)、腎腺腫および腎細胞癌に大別し、DTをさらに上皮細胞の異型度より1から3に分けた。一層の好塩基性異形成尿細管上皮細胞よりなるものをDTのgrade 1 (G1) とし、上皮細胞の多層化が見られるものをG2、尿細管内が異形成上皮細胞の増殖により管腔の狭小化をみるが、周囲組織への圧排像を認めないものをG3とした。また、腎病変について連続切片を作製し H&E染色および免疫組織化学的にvimentin, lysozymeおよび胎盤型glutathione S-transferase (GST-P) 染色を行なった。

【結果】組織学的に腎腫瘍の20例全例が好塩基性を示しその70%は充実性であった。その他は嚢胞性、管状および乳頭状であった。細胞質は好塩基性で空胞化もしばしば認められた。腫瘍細胞の核は円形ないし楕円形でクロマチンは瀰漫性に分布し核仁も目立っていた。免疫組織化学的に腫瘍はvimentinに陽性反応を示し特に細胞の基底側に強い発現が見られた。Lysozymeは正常近位尿細管に陽性反応が見られたのに対し腫瘍では陰性であった。GST-Pは一定の傾向を示さなかった。連続切片よりDTのG1は近位尿細管のP1あるいはP2 segmentから発生していた。また、腎腺腫の連続切片ではその末端でG3と考えられる病変が出現しそれがG2およびG1に移行していた。

【結論】本検索においてNaBBによる腎腫瘍はF344ラットに稀に見られる自然発生の腎腫瘍と同様に好塩基性で充実性を示し、免疫組織化学的に腫瘍の酵素および蛋白の表現に変異を観察した。連続切片の結果よりNaBBによる腎腫瘍の発生はDTから進展したものと考えられその発生部位は近位尿細管のP1あるいはP2 segmentであった。以上のことからNaBBの腎腫瘍発生はNaBBがこれら特定の表現系を有する自然発生のDTを促進することにより腫瘍を発生させたと考えられた。また、ラットにおける自然発生のDTおよび腎腫瘍は稀なことからNaBBの直接の作用によりこれらを発生に導いた可能性も考えられた。

○佐藤元信、古川文夫、西川秋佳、今沢孝喜、篠田和俊、
吉村博之、高橋道人（国立衛試 病理）

【はじめに】

抗腫瘍剤cyclophosphamideは、副作用として精子形成障害を引き起こすことが知られており、ラットやマウスに対する反復投与においても、脾臓や骨髄の萎縮に加えて、精子形成障害を生ずることが報告されている。Cyclophosphamideはまた、糖尿病マウス（NODマウス）において、その発症を促進することが指摘されている。本実験は、自然発症糖尿病モデルとして利用されており、若齢より膵臓の炎症性病変及び精巣の萎縮性病変を発生するWBN/Kobラットを用いて、これら諸病変の発生機序を解明するため、cyclophosphamideの修飾効果を検討した。

【実験材料及び方法】

実験には、5週齢のWBN/Kob雄ラット60匹を用い、各群20匹とし3群に分けた。第1群、第2群にはそれぞれ2.5mg/kg/day、1.25mg/kg/dayのcyclophosphamideを飲料水に混じて投与し、第3群は無処置対照群とした。投与は20週で終了し、体重測定後にグルコテックスを用いて血糖値を測定した後に放血屠殺した。剖検の上、精巣ならびに膵臓を摘出し、精巣重量を測定した後に精巣についてはブアン液にて、膵臓については10%ホルマリン液にて固定し、常法に従いHE染色標本を作製し、病理組織学的に検索した。

【結果】

最終体重(g)においては、第1群 346 ± 59 、第2群 390 ± 17 、第3群 398 ± 21 と2.5mg/kgのcyclophosphamide投与群では低値を示した。血糖値(mg/dl)は、第1群 115 ± 33 、第2群 143 ± 22 、第3群 124 ± 16 であり、群間で差異を認めなかった。精巣重量については、絶対重量、相対重量ともに群間で差はなかった。

病理組織学的検索において、各群何れにも精巣の萎縮性病変が観察されたが、萎縮の程度により正常または軽度萎縮精巣、中等度萎縮精巣、高度萎縮精巣の3つに分類して検索したところ、第3群と比較し第1群において高度萎縮精巣の発生頻度が高かった。膵臓についての病理組織学的検索において、各群で膵外分泌腺の浮腫・出血・ヘモジデリン沈着・炎症性細胞浸潤・線維化等の変化がみられ、これらの病変について群間で顕著な程度の差は認められなかった。

【考察とまとめ】

WBN/Kobラットは自然発生糖尿病動物であるが、糖尿病発症に到る関連病変と考えられる膵炎の発生ならびに血糖値の上昇に関して、明らかなcyclophosphamideの影響は認められなかった。しかし、精巣の萎縮性病変については、高度萎縮精巣の発生率が上昇し、cyclophosphamideによる促進効果が示唆された。WBN/Kobラットにおける精巣萎縮の発生機序は、現在まで解明されていないが、本実験結果は機序解明の一助になり得る可能性がある。

○松井 元¹、豊田和弘¹、林 修次¹、畝山智香子¹、川西 徹¹、
福原 潔²、宮田直樹²、高橋道人¹（国立衛試・¹病理、²有機化学）

【はじめに】Ethane-1,2-dimethanesulfonate (EDS) は精巣のLeydig細胞を特異的に障害する代表的な物質である。Leydig細胞を選択的に障害することにより、Leydig細胞のテストステロン合成低下をきたし、生殖器に性ホルモンを介した影響を及ぼす。このため本物質はLeydig細胞の機能、テストステロンの作用等の研究にしばしば用いられている。精巣毒性の基礎的検索として、EDSによるLeydig細胞障害時の毒性変化を精巣、副生殖腺及び内分泌系について経時的に検討した。

【方法】EDSをC.M.Jacksonら(1984)の方法に従って合成し、10週齢の雄性Sprague-Dawley系ラットに100mg/2ml/kgを単回腹腔内投与した。投与後24時間目ならびに3、7、14及び28日目に屠殺、剖検し、精巣、副生殖腺、下垂体及び副腎の重量を測定した。各々の臓器を10%中性緩衝ホルマリンを用いて固定した後、常法に従いパラフィン包埋し、H・E染色及びPAS染色を行い、また精巣についてはメタクリレート樹脂包埋標本も作製し、観察した。この他、メタカン固定材料を用いて細胞増殖動態検索のためのBrdU染色及び細胞骨格であるチューブリンの免疫染色も実施して検討した。

【結果】精巣及び前立腺・精囊・凝固腺の重量は投与後3日目より14日目にかけて減少し、28日目には回復傾向を示した。これに対して精巣上体の重量は投与後3日目に増加し、7日目から14日目にかけて減少し、28日目に回復傾向を認めた。下垂体及び副腎の重量には明瞭な変動を認めなかった。形態学的には、投与後24時間目より精巣のLeydig細胞の萎縮が認められ、精巣上体では一部の精巣上体管に上皮の変性・壊死、増生がみられた。投与後3日目にはLeydig細胞は完全に消失し、精巣上体では精巣上体管内に多数の炎症性細胞が認められた。一部の精巣上体管が崩壊し、精子が精巣上体管外に貯留するものもあった。投与後7日目では、精巣の精上皮の消失がみられ始め、精巣上体では精巣上体管内の精子は減少し、脱落した精上皮を多数認めるものもあった。投与後14日目も精巣及び精巣上体の障害像は依然観察された。前立腺・精囊・凝固腺は萎縮が著明であったが、明瞭な組織障害像は観察されなかった。また、下垂体及び副腎についても明瞭な組織変化は認められなかった。この他BrdU及びチューブリンについての検索結果についても報告する。

【考察】EDS投与により生じた精細管の変化はLeydig細胞消失後より発生し、また前立腺・精囊・凝固腺の萎縮もLeydig細胞の変化の推移と一致した。このため、これらの変化はLeydig細胞の障害による、いわゆる性ホルモンを介した二次的なものと考えられたが、内分泌系の変化は形態学的には明確でなかった。精巣上体の変化については投与後早期より観察されたことから、EDSの直接的な作用の可能性が示唆された。

ラット前立腺におけるTestosterone および Estrogenの協調作用に関する免疫組織学的検討

P-46

○稲田理恵、村越正典、田川正志、莊子正博、久田茂、堀内敏、鈴木稔、渡辺慶一*
帝国臓器製薬・安全研 *東海大・医・病理

【目的】 androgen および estrogenの同時投与でイヌ前立腺過形成(glandular hyperplasia)が容易に作成されることからヒトの前立腺肥大症の発生モデルとして注目されている。先に、本モデルを用いて新規の anti-androgen 剤 TZP-4238 の作用機序についてはすでに報告した。今回は、取り扱いが容易なラットを用いて同様に androgen と estrogen の同時投与で前立腺過形成モデルを作成し、主として免疫組織化学的に解析を試みた。

【材料と方法】 雄 Wistar ラット (200~250g) を以下の実験群に分けた。

(1) 正常無処置群 (2) 去勢後2日群 (3) 去勢2日後 testosterone (1mg/head) 6週間連日皮下投与群
(4) 去勢2日後 testosterone (1mg/head) +17 β -estradiol (E₂, 0.01mg/head) 6週間連日皮下投与群
解剖前にBrdU瞬間標識 (1 hr) を行い、前立腺腹葉を摘出、重量測定後、以下の固定液で処置し各種の免疫染色を施した。

- (A) 中性緩衝ホルマリン固定後のパラフィン切片を用いてBrdU染色
- (B) 4%PLP固定後の凍結切片を用いて過酸化脂質の還元酵素である glutathione-peroxidase (GSH-PO) 染色
- (C) 未固定の凍結切片を用いて androgen receptor (AR) 染色

【結果】 前立腺腹葉重量は、(4)群で有意に増加し、組織学的には glandular hyperplasia を呈した(Figs.1,2)。更に、腺上皮におけるBrdU陽性細胞率も有意に増加した。(1)群ではGSH-POは、腺上皮細胞内の cytosol にび漫性に局在したが、(2)群ではほとんど消失した。一方、(3)および(4)群では肥厚した腺上皮細胞内にGSH-POが明瞭に観察され、免疫電顕的には、(4)群で顆粒様構造内GSH-POの増量を特徴的に認めた。ARは、(1)群では腺上皮細胞の核に認めたが(2)群ではほとんど消失した。一方、(3)および(4)群では、腺上皮細胞の核にARが明瞭に認められた。

【考察】 testosteroneとE₂の協調作用で前立腺上皮細胞の増殖が誘発された結果、BrdU標識率の増加を認めたと解釈された。前立腺上皮細胞内のGSH-POは、去勢後速やかに消失し、その状態に testosterone を投与すると染色性が回復されること、およびARの発現状態と極めて密接に関連していたことから、前立腺上皮細胞内のGSH-POは testosterone-dependent と考えられた。また、testosterone + E₂で特徴的に観察された顆粒様構造内のGSH-POは活発な膜代謝に伴い発生した脂質過酸化物の lysosome 内 degradation process と推測された。



1. control

2. testosterone + E₂

【参考文献】 1.Murakoshi M et al. Acta Pathol Jpn 40:871-879,1990.
2.Murakoshi M et al. Acta Pathol Jpn 42:151-157,1992.

○二口 充, 白井智之, 小川久美子, 岩崎省吾, 森 敏男, 伊東信行
(名市大・医・一病理)

我々はtestosterone propionate (TP) がDMBAラット前立腺発癌を強力に促進することを報告した。今回5 α -dehydrotestosterone(DHT)、17 β -estradiol(E2)、ethinyl estradiol (EE)を様々な組合せで投与し各種性ホルモンのラット前立腺上皮に対する作用を検討した。

【方法】6週齢 F344 ラット75匹を15群に分けTP, DHT, E2, EEを各々シリコンチューブに封入し、TP, TP+E2, TP+EE, DHT, DHT+E2, DHT+EE, E2, EE の組合せでそれぞれ皮下に埋植した。4週間後全例屠殺し前立腺、下垂体、副腎を摘出、下垂体、副腎、前立腺は腹葉、背葉、側葉、前葉、精嚢のそれぞれの重量を測定し、加えて性ホルモンの血中濃度を測定した。病理組織学的に検討するとともに各葉のBrdU標識率を追究した。

【結果】前立腺上皮過形成は TP, TP+EE, TP+E2 群で腹葉、背葉のみに観察され、TP単独群ではみられなかった。下表に示すようにBrdU標識率は TP, TP+EE, TP+E2 群で腹葉、背葉、側葉で上昇し、その値はTP単独投与よりTP+EE で高かった。DHT+EE, DHT+E2 群では腹葉に軽度上皮過形成が観察されたがBrdU標識率は変化がみられなかった。EE, E2 単独投与群は上皮は萎縮し、BrdU標識率の値も低かった。

【考察】ホルモンに対する上皮の反応は各葉ごとに異なり、前立腺上皮の増殖はおもに腹葉で観察された。また、in vivo では DHTはTPとは作用が異なることが示され、さらにestrogen も前立腺の発育と分化に関わっていることが示唆された。

表 前立腺各葉のBrdU標識率

処置	BrdU標識率 ^a			
	腹葉	側葉	背葉	凝固腺
TP	0.42*	3.06*	3.53*	1.98
TP + E2	0.55*	2.28*	4.26*	2.23
TP + EE	0.71*	2.65*	4.69*	2.81*
DHT	0.12	1.73	2.45	0.88
DHT + E2	0.13	1.11	4.05	1.52
DHT + EE	0.15	0.84	3.07	0.96
E2	0.0	2.95*	1.34	0.71
EE	0.0	0.21*	0.45*	0.14*
control	0.12	1.20	2.17	1.41

a; 各群5匹の平均値

* P<0.05

○五藤裕子、合川孝幸、中村厚、星谷達、玉井幸子、永谷真理子
岡崎修三、西村信雄、田村一利 (ボゾリサーチ)

ラットにおける自然発生卵巢腫瘍として顆粒膜細胞腫、夾膜細胞腫などが知られているがその発生はいずれも低く、特に自然発生卵黄囊腫(Yolk sack tumor)は極めて稀な腫瘍とされている。今回、我々は、SD系雌ラットに卵黄囊腫と思われる症例を認めたので報告する。

本症例は、当研究所にて無処置飼育された58週齢のSD系雌ラットである。剖検時に軽度の腹部膨満が認められたのみで、生前一般状態には異常は観察されなかった。解剖所見では、淡黄色透明腹水が約35ml貯留し、左右卵巢が腫瘤により膨大していた。両腫瘍ともに表面は平滑で黄白色緊張しており、左側は径約40mm、右側は径約15mmであった。腫瘤は漿膜様組織で包まれ子宮とは明瞭に識別された。腹腔内には径約1~5mmの黄白色小結節が腸間膜や臓器組織の漿膜面に散在していたが、胸腔および頭蓋内に異常は認められなかった。

組織学的には、左右卵巢部の腫瘤はいずれも同様の組織像を呈していた。すなわち、腫瘍は大別して2種の腫瘍細胞より構成されていた。1つは、多角形の大型細胞で Bizarreな核には核小体が目立ち、弱好酸性胞体はPAS陽性滴状物を含んでいた。これらの細胞は主として、腫瘍塊の辺縁領域に索状および巣状に増殖してみられ、その周囲に豊富なPAS陽性の均質無構造な基質を伴っていた。他の1つは、核/細胞質比の高い立方あるいは扁平な比較的小型の細胞で、大型腫瘍細胞にみられたPAS陽性の滴状物はなく、索状、囊胞状、管状および乳頭状に増殖していた。索状および囊胞状増殖領域では粘液様の豊富な基質がみられたが、その他の領域の間質には少量の緻密な結合組織がみられたのみであり、腫瘍細胞は密に増殖していた。また、左側の卵巢部腫瘤では、線維性に肥厚した漿膜様組織の外側にも前述の大型腫瘍細胞が認められた。腹膜に散在する転移巣においても卵巢部の腫瘍と同一の組織像が認められたが、漿膜への浸潤性増殖はみられなかった。また血行性あるいはリンパ行性の転移を示すような変化は観察されなかった。

以上の肉眼的および病理組織学的所見から本症例を卵黄囊腫と診断し、更に詳細な検討を行っている。

○竹川潔¹, 永岡隆晴¹, 竹内正紀¹, 前川昭彦²
(¹吉富製薬・安全研, ²佐々木研・病理)

〔緒言〕 未経産婦または不妊の女性に比べて経産婦では、子宮内膜癌発生のリスクが低いとの報告がある。しかし、実験動物については分娩と子宮内膜腺癌との関連についての報告はほとんどない。そこで、今回我々は、子宮内膜腺癌好発系のDonryuラットを用いて、分娩と子宮内膜腺癌発生との関係を検討した。

〔方法〕 10週齢の雌性NRC:Donryuラットを同系ラットの雄と交配させ、分娩後4週間出生児を哺育させた。これらの生殖活動を1回行った37匹を分娩群とし、他に同週齢で生殖活動を行わなかった100匹を非分娩群とした。全動物について体重測定および陰垢標本による性周期の観察を経時的に行い、120週齢時に全生存例について、血中estradiol-17 β (E₂) およびprogesterone (P) の測定を行うとともに、卵巣、子宮および主要臓器の重量を測定した。また、死亡例を含む全ての動物の生殖器系および主要臓器について組織学的検査を実施した。

〔結果〕 体重には両群間に差は認められなかったが、非分娩群では分娩群に比べ皮下腫瘍が約50週齢という早期より高率に発生し、約70週齢時から生存率が低下した。組織学的検査では、非分娩群および分娩群ともに子宮内膜腺癌の発生率は約22%、内膜過形成の頻度は約40%であり、両群間に差は認められなかったが、陰上皮の円柱上皮化の発生頻度が分娩群で低かった。また、皮下腫瘍の多くは乳腺線維腺腫であった。その他、主要臓器の組織学的検査では群間に差はみられなかった。副腎、下垂体および生殖器の臓器重量には両群間で差が認められず、性周期の観察においても、両群で連続発情を示す動物が33週齢より次第に増加したが、群間に差は認められなかった。また、性ホルモン測定においてもE₂, PおよびE₂/P比ともに両群間に有意な差は検出されなかった。

〔考察〕 上記の結果から、1回の分娩ではDonryuラットの子宮内膜腺癌の発生に影響を及ぼさないことが明らかになった。しかし、性周期、ならびに120週齢時の血中estrogenおよびprogesterone値には差がなかったものの、非分娩群に比べて分娩群で乳腺腫瘍の発生が遅く、陰上皮の円柱上皮化の頻度が低かったことから、分娩により何らかの内分泌環境の差が引き起こされていた可能性が推察された。ヒトにおいて、出産による子宮内膜癌のリスク低下は出産時の年齢や分娩回数により左右されるとの報告があることから、今後は分娩の時期または回数を考慮した実験を行うことにより子宮内膜腺癌の発生に及ぼす分娩の影響を精査していきたいと考えている。

プロラクチノーマ、乳癌および副腎の peliosis を併発した
ラットの莢膜顆粒膜細胞腫の1例

○中澤素邦、俵谷武治、吉田勝、内本啓史、河南明孝、吉田陽、鷲見信好
(日本新薬(株)・安全研)

ラットの卵巢腫瘍は自然発生腫瘍の中では発現頻度の低いものとされているが、その中で莢膜顆粒膜細胞腫は比較的発現頻度が高い。演者らは、卵巢の両側にそれぞれ良性の莢膜顆粒膜細胞腫および悪性顆粒膜細胞腫が自然発生的にみられた124週齢の老齢雌ラットの1例に遭遇した。莢膜顆粒膜細胞腫は、ヒトを含めてラット、マウスなどで子宮の肥厚が併発しエストロゲン活性が示唆される場合が多い。今回の症例では子宮の肥厚は認められなかったものの、エストロゲンとの関連性が知られている副腎皮質の peliosis ならびに下垂体のプロラクチノーマや乳癌が併発しており、その腫瘍発生にエストロゲンおよびプロラクチンのホルモンの関与が示唆された為、その詳細を報告する。

【材料および方法】

動物は通常のバリアシステム下にて自由摂水、摂餌の条件で飼育された無処置のSD系雌ラットの1例である。94週齢より下腹部に鶏卵大腫瘤が触知され、その後腫瘤は大きくなり手拳大に成長し、消瘦、眼瞼周囲に血様赤色物が付着し一般状態の悪化が認められた。その為、124週齢で放血殺処分し剖検に供した。組織学検査は、卵巢、下垂体および乳腺腫瘍を含む全身諸臓器を採取し、10%中性緩衝ホルマリンに固定した後、常法に従いパラフィン包埋、HE染色を施し顕微鏡下にて観察した。また、必要に応じて渡辺の鍍銀染色、PAS染色を施した。また、下垂体については組織学的に腺腫が認められた為、抗ラットプロラクチンおよび抗ラットLHによる免疫染色も実施した。

【結果および考察】

卵巢の腫瘍は、両側とも塊状に増殖しており、周囲組織との境界は明瞭であった。一方の卵巢の良性莢膜顆粒膜細胞腫は、小さな管状構造物の集塊とその周囲を線維芽細胞様の細胞が取り囲む2層構造で、管状構造物の中に卵胞に近似した形態も認められた。また、周囲の線維芽細胞様細胞の集塊は、鍍銀染色によって好銀線維が個々の細胞を取り囲み、卵胞の莢膜細胞の特徴が認められた。もう片方の悪性顆粒膜細胞腫は、卵円形ないし馬蹄形の核を有し好酸性中等量の細胞質から成る悪性腫瘍で、Call-Exner構造が認められた他、活発な細胞分裂、出血、壊死や肺、脾臓および腎臓に転移巣が認められ悪性傾向を示した。下垂体では、核の肥大化した色素嫌性細胞から成る腺腫が観察され、免疫組織学的に抗ラットプロラクチン抗体に陽性所見を示した。また、乳腺では乳癌が広範囲に観察された。その他、副腎皮質では類洞の著しい拡張病巣 (peliosis) も観察された。莢膜顆粒膜細胞腫は、ヒトを含めてラット、マウスで子宮壁の肥厚などが同時に見られエストロゲン活性が示唆される場合が多い。今回の症例では、子宮壁の肥厚は認められなかったが、その病理発生にエストロゲンの関与が知られている副腎皮質の peliosis に加えて、下垂体および乳腺にそれぞれプロラクチノーマおよび乳癌が併発していた。プロラクチノーマと乳癌の関連性やラットのエストロゲン投与によるプロラクチノーマの誘発は文献的にも多数報告されている。

従って、今回認められた3種の腫瘍発生にエストロゲンおよびプロラクチンのホルモンの関与が示唆される。

岡崎啓幸^{1,2}, 大井恭代¹, 李健中^{1,2}, 尾根田暁^{1,2}, 永田良一^{1,2}, 吉田浩己¹ (1: 鹿大1 病理, 2: 新日本科学)

7, 12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) 誘発ラット乳癌モデルを用いて estrogen の乳腺の発育と発癌感受性への影響を検討した。

<方法>近交系 Sprague-Dawley 雌ラットを使用した。生後 36 日に卵巣摘除を行なった後、5 群 (Group I, II, III, IV, V) に分け、それぞれ 0, 1, 10, 100, 1000 μg の 17β -estradiol を生後 36 日から 250 日まで 2 日毎に筋肉内投与した。生後 50 日には全群のラットに 20mg の DMBA を経口投与した。生後 135 日に各群を更に 2 亜群に分け (a, b), b 群には生後 135 日から 250 日まで 2 日毎に 4mg の progesterone を追加投与した。これらのラットを 1 週間に 1 回触診し乳腺腫瘍の有無を検索した。生後 250 日に乳腺と腫瘍を採取し、10% 緩衝ホルマリンにて固定し、組織学的検索を行なった。また、発癌刺激時 (DMBA 投与時) の乳腺の形態と増殖期の乳腺細胞数を調べるために各群生後 50 日のラットに 20mg/kg の 5-bromodeoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与し、1 時間後に各群の鼠径部乳腺組織を採取した。右鼠径部乳腺は 10% 緩衝ホルマリンで固定し、alum carmine で染色後、ceder 油に置いて terminal ducts (TD), terminal end buds (TEB), alveolar buds (AB), lobules (L) 等の形態状態を実体顕微鏡にて観察した。さらにパラフィン切片を作成し、HE 染色にて光顕の観察を行なった。左鼠径部乳腺は 70% エタノール固定後、anti-BrdU 抗体を用い、ABC 法にて免疫染色を行ない、BrdU 陽性細胞数を調べた。

<結果> 1. 10 μg 17β -estradiol と 4mg progesterone の投与を受けた Group IIIb には乳頭管状腺癌が 100 μg 17β -estradiol のみの投与を受けた Group IVa には分泌微小乳癌が高頻度に認められた。2. DMBA 投与時 (生後 50 日), Group III のラット乳腺では多数の BrdU 陽性細胞を有する terminal ducts と terminal end buds が、Group IV ラット乳腺では Lobules が他の群に比し有意に発達していた。

<考察> estrogen と progesterone が存在する無処置の生後 50 日令の雌ラットに DMBA を投与すると生後 78-109 日までに全てのラットに乳癌が発生するが、今回の実験では生後 36 日に卵巣摘除後 0, 1, 10, 100, 1000 μg の 17β -estradiol を投与されたラットに同様に生後 50 日に DMBA を経口投与したにも関わらず、生後 135 日になっても触知し得る乳癌は認めなかった。しかし、生後 135 日に各群の 1 つの亜群に progesterone を生後 135 日から 250 日まで追加投与した結果、10 μg 17β -estradiol 投与群のみには 4mg の progesterone の投与で触知し得る乳癌の発生を認めた。これらの結果により卵巣摘除すなわち estrogen のない状態もしくは逆に大量の estrogen が存在している状態 (1000 μg 投与群) の乳腺では乳癌が誘発されず、発癌刺激に対する乳腺の感受性が低いことを示した。また、10 μg の 17β -estradiol 投与下の乳腺には progesterone により増殖が促進する乳癌細胞が誘発され得ることを明らかにした。一方、100 μg の 17β -estradiol 投与群には生後 250 日に組織学的に乳腺を検索した結果、secretory type の微小乳癌が認められ、progesterone を追加投与した場合には (b 亜群) 消失していた事より 100 μg の 17β -estradiol 投与下では progesterone により増殖が抑制される乳癌が発生する事を示した。分裂期の細胞が化学発癌刺激に対して感受性が高いことが知られている。今回酵素抗体法を用いた検索では、乳癌の発生が高率に認められた III 群では増殖期の細胞である BrdU 陽性細胞が多数存在する terminal ducts と terminal end buds が発達し、IV 群では lobules が著明に形成していることが明らかになり、誘発乳癌は各々これらの部位により発生した可能性が示唆された。

これらの実験結果は estrogen のみの存在下でも乳癌が発生し得ること、誘発乳癌は estrogen のレベルにより生物学的、形態学的特徴に違いがあることを明らかにし、人でも同様のホルモン環境であると考えられる青春前期や肥満した婦人では閉経後も乳癌の発生に関わる重大な期間であることを示唆した。

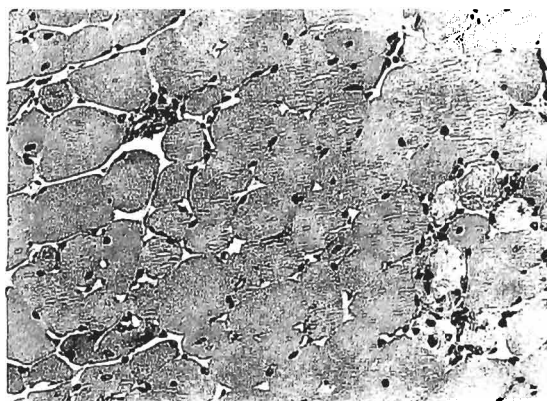
○萩原 定彦¹⁾・海老澤 真¹⁾・三輪 整¹⁾・塩谷 茂¹⁾・藤原 公策²⁾
(味の素・中研¹⁾, 日大・農獣医²⁾)

SD系雄ラットの1例に筋ジストロフィーの自然発生例を認めた。

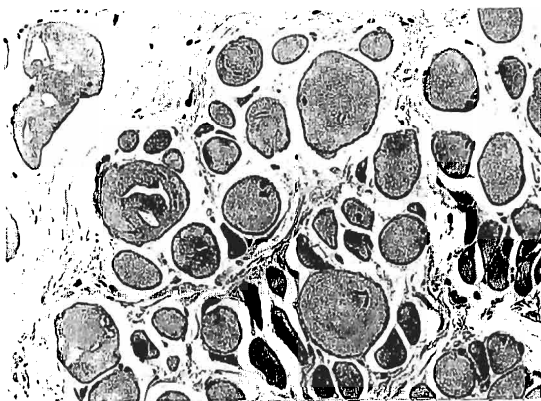
動物は、日本チャールス・リバー(株)日野飼育センターから5週齢で購入したSD系雄ラット(Crj:CD)で、6日間の検疫・馴化の後、日本薬局方生理食塩液を1回尾静脈内投与され、7日後に通常の臨床・病理検査が実施された。

特に異常な症状は認められなかったが、対照群の平均値に比べてやや低い体重を示し、血中GOT, GPT, LDH, CPKが、対照群平均値に比して、それぞれ、約14, 11, 15, 12倍の高値を示した。剖検では特に異常は認められなかったが、組織学的には、採材した大腿二頭筋に限局性壊死が散在、一部筋線維の萎縮、筋線維の大小不同、滴状空胞、筋核の中央移動などが認められ、間質に単核細胞浸潤も認められた。眼球、頸部リンパ節、食道・気管、精巣上体、前立腺、膀胱、胸骨などの周囲骨格筋にも同様の病変が観察された。また、心筋には変性壊死が認められ、限局性単核細胞浸潤を伴っていた。主要臓器には特に異常は認められなかった。

この例は若齢ラットに認められた筋ジストロフィーの初期病変と考えられたが、ラットでは、筋ジストロフィーの自然発生は報告されていないので興味深いと考え、報告する。



大腿二頭筋



眼球周囲骨格筋

○稲垣覚¹、田中浩二¹、大森礼子¹、落合謙介¹、松本浩良¹、臼居敏仁¹、
土井邦雄² (1: 萬有 開発研 2: 東大 実験動物)

【はじめに】骨格筋組織は筋線維、結合組織、血管および神経より構成されている。骨格筋線維は、形態的および機能的にも高度に分化した組織であるにもかかわらず強い再生力を有する。これら再生骨格筋組織の観察にあたり通常のヘマトキシリン・エオジン(HE)染色標本では、必ずしも全過程を明確に把握することは困難である。近年 Bromodeoxyuridine(BrdU)が種々の組織の細胞動態を検索するために汎用されている。今回ラットの下腿部の筋を機械的に傷害し、BrdU を用いて細胞分裂下にある再生筋線維を標識することで骨格筋の再生様式を形態学的により詳細に検索することを試みた。

【材料および方法】Crj:CD(SD)系 24 週齢雌ラットを 10 例用いた。Ketamine/Celactal で麻酔後、ラットの下腿三頭筋をワイヤーで機械的に挫減させた。BrdU を 0.5N NaHCO₃ に 3% の濃度で溶解し、浸透圧ミニポンプ (Alzet 2ML1) を用いて処置後 1 週間にわたり持続的に投与した。これらミニポンプは背部皮下に埋め込んだ。処置 2, 5, 7, 14 および 56 日後に、動物を 2 例ずつ CO₂ 麻酔下に放血致死させ傷害部の筋を採取した。これらの筋を 10% 中性緩衝ホルマリン液に固定し、常法に準じてパラフィン包埋、連続切片を作製し、HE 染色あるいは BrdU 免疫染色を施した。

【結果】傷害後 2 日目の筋組織はその大部分が凝固壊死に陥り、筋形質は均質無構造の断片組織により置換されていた。これら壊死線維内に、少数の大喰細胞が浸潤し壊死組織を喰食していた。また個々の壊死線維を取り囲むように少数の紡錘型細胞が配列していたが、その胞体は不明瞭であった。これら大喰細胞ならびに紡錘型細胞は BrdU に陽性を示した。5 日目では、壊死線維群は多数の円形細胞により浸潤されており、個々の線維内にみられる大喰細胞もその数を増し、壊死細胞の除去が活発に行なわれていることが示唆された。壊死線維周囲に配列した紡錘型細胞もその数を増すとともに大型化し、豊富な強塩基性の胞体が互いに連続することにより、壊死線維を完全に取り囲んで“筒”を形成していた。また、機械的挫減により筋線維が断裂した部位は、円形細胞と毛細血管を主体とする肉芽組織が発達しており、それらの細胞群に混じって、生存筋線維より発芽した多数の再生筋線維が平行していた。これら発芽再生線維は骨格筋発生分化過程にみられる myotome に類似していた。7 日目では、これら再生線維群が各々その径を増し、細線維もより明瞭となった。しかし染色性は正常の筋形質に比べて弱く、HE 染色標本でも容易に正常線維と識別できた。14 日目の観察では、再生筋線維はさらに径を増し、一部では正常の筋線維とほぼ同程度にまで成長していた。多くの発芽再生線維は肉芽組織内から対側の正常筋組織に向かって成長していたが、癒痕形成が著しい部位では、再生線維の伸長が妨げられ線維末端部に多数の核が配列する“Budding Bulb”様の像がみられた。56 日目では、再生線維は HE 染色標本下にはほぼ正常線維と同様の形態を示した。しかしながらそれらの核は未だ筋形質内に散在し、正常筋線維にみられる辺縁核と対照的であった。これらの核は BrdU に陽性を示しており、処置後 1 週間 (BrdU 標識期間) 内に増殖再生した線維であることを裏付けていた。

○中野健二, 岡宮英明, 藤本隆平, 赤石肇子, 石田勝彦, 小野美穂子,
葛西久芳, 宍戸隆男, 花田貴宣(山之内製薬, 安全研)

骨粗鬆症治療薬として開発中のYM175はbisphosphonatesの一化合物である。成長期にあるラット、ビーグル犬に長期投与すると、破骨細胞性骨吸収の抑制作用に基づくと考えられる一次海綿骨の増生がみられるが、そのメカニズムについては充分解明されていない。今回YM175をラットに単回静脈内投与した後、経時的に屠殺してマイクロオートラジオグラフィーと骨標識蛍光像を観察し、骨組織細胞動態と薬物局在との関連性について検討した結果、興味ある知見が得られたので報告する。

【材料および方法】10週齢のF344ラットの雄20匹を用い、10匹にYM175(cold-YM175)を0.3mg/kg単回静脈内投与し、残りの10匹にはcold-YM175および³H-YM175(hot-YM175)を混合して、0.3mg/kg=37MBqの用量で単回静脈内投与した。cold-YM175投与例については薬物と同時にテトラサイクリンを、屠殺1時間前にカルセインを皮下投与して骨の二重標識をした。対照として骨標識物質だけを投与したラットを用いた。YM175投与動物は投与5分(hotのみ)、30分、4、24時間、3、7日後にエーテル麻酔下で放血屠殺し、大腿骨を採取した。採取した大腿骨はホルマリンあるいは70%エタノール固定を施し、非脱灰GMA樹脂切片とEDTA脱灰パラフィン切片を作製して、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、画像解析およびマイクロオートラジオグラフィーによって検査した。

【結果】マイクロオートラジオグラフィーによる薬物の局在をみると、投与5分後から骨端軟骨の石灰化層、海綿骨表層、皮質骨の内骨膜と外骨膜表層および皮質骨内髄腔の骨表層等に銀粒子が認められた。銀粒子は類骨層の存在しない骨表層より類骨層の存在する骨表層(類骨層直下)に多く集積していた。投与24時間以降では銀粒子が層をなして骨表層より骨深部に認められ、骨形成に伴って深部に移動していた。骨端軟骨の非石灰化軟骨および類骨には銀粒子は認められなかった。これら薬物の局在はテトラサイクリンの分布と非常に良く一致していた。軟骨細胞、骨芽細胞、骨細胞、骨髄細胞等の細胞成分に銀粒子は認められなかったが、投与24時間以降で破骨細胞、大型破骨細胞および変性破骨細胞の一部に銀粒子が認められた。なお、脱灰した切片では全ての部位において銀粒子は認められなかった。組織学的には、4時間まで著変は認められなかった。投与24時間以降時間の経過と共に大型破骨細胞の出現、破骨細胞数の増加が認められた。3日以降では変性破骨細胞の出現、形成期骨芽細胞の減少、セメントラインの肥厚および石灰化軟骨を含んだ海綿骨の増生等が認められた。7日後の蛍光顕微鏡観察では一次および二次海綿骨において二重標識幅と類骨層が減少していた。

【まとめ】³H-YM175は石灰化した軟骨および骨表層に局在し、骨形成に伴って骨深部へ移動することから、テトラサイクリンとほぼ一致した骨組織内分布を示すと考えられた。破骨細胞が骨組織より³H-YM175を吸収した結果、破骨細胞性骨吸収が抑制され、石灰化軟骨を多く含んだ一次海綿骨の増生が起きたものと考えられた。さらに、骨芽細胞の機能にも影響を及ぼし、二重標識幅の減少をもたらしたものと思われた。従って、YM175は軟骨内骨化以降のモデリングに直接影響を及ぼすことが示唆された。

○安藤孝夫，土井孝良，城塚康毅，橋本直美，宮嶋宏彰(武田薬品・薬安研)

[はじめに]

抗生物質あるいは抗菌剤のビーグル犬における毒性試験において、一過性の皮膚の紅斑が発現することがある。この皮膚紅斑は成熟ビーグル犬にみられるが、幼若ビーグル犬にはみられない。また、皮膚紅斑はラットおよびマウスの毒性試験ではみられず、ビーグル犬特異的と考えられる。本実験では、肥満細胞から非特異的にヒスタミンを放出することが知られているCompound 48/80を用いて、ビーグル犬における皮膚反応のage差について検討した。

[材料および方法]

5および10週齢の幼若ビーグル犬および6ヵ月齢以上の成熟ビーグル犬各2例を用いた。Compound 48/80の0.003 ~1000 $\mu\text{g/ml}$ の各0.1mlを腹部に皮内投与し、5, 10, 15, 20, 25, 30および40分間投与部位における皮膚紅斑の有無を観察した。その後、チオペンタールまたはケタラール麻酔下で、皮膚を採取した。光顕用としては10%中性緩衝ホルマリン液に固定、パラフィン切片を作製し、H・E染色、トルイジンブルー染色およびヒスタミンの免疫組織化学的染色(ABC法)を行った。電顕用としては2%グルタルアルデヒド、1%パラホルムアルデヒド液で2時間固定、1%オスミウム酸液で2時間後固定し、型の如くエポン包埋し、超薄切片を作製し、酢酸ウラン・クエン酸鉛染色または一部の切片はヒスタミンの免疫電顕染色(ABC法、DAB反応)を行った。

[結果]

Compound 48/80を皮内投与した成犬では、皮内反応紅斑は1 $\mu\text{g/ml}$ 以上で陽性、0.1および0.3 $\mu\text{g/ml}$ 以下では陰性であった。この反応は、投与後10~15分で最も強く、以後減弱した。紅斑のみられた皮膚における、肥満細胞の光顕および電顕的観察では、分泌顆粒の開口型並びに空洞型の著明な分泌像(脱顆粒)がみられた。生理食塩液を投与した対照皮膚では、紅斑も肥満細胞の脱顆粒もみられなかった。肥満細胞の顆粒内には、免疫組織化学および免疫電顕的にヒスタミンの存在が確認されたことから、皮膚紅斑は肥満細胞から分泌されたヒスタミンによると考えられた。

Compound 48/80の0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 $\mu\text{g/ml}$ を5および10週齢の幼若犬に成犬と同様に投与した結果、10週齢のビーグル犬では30 $\mu\text{g/ml}$ で陽性、10 $\mu\text{g/ml}$ で弱陽性、1 $\mu\text{g/ml}$ 以下では陰性であり、陽性部位では肥満細胞の脱顆粒像が確認された。これらの皮膚反応は成犬と比較するとより高濃度で陽性となっており、10週齢のビーグル犬の方が本剤に対し低感受性と考えられた。5週齢のビーグル犬では、いずれの濃度の溶液においても皮膚の紅斑および肥満細胞の脱顆粒像はみられなかった。しかしながら、5週齢のビーグル犬皮膚の肥満細胞においても顆粒内にヒスタミンが存在することが免疫組織化学および免疫電顕的に確認された。

[結論]

以上の成績から、Compound 48/80を皮内投与したビーグル犬の皮膚紅斑は肥満細胞からの脱顆粒に伴うヒスタミンの放出によると考えられ、その反応性にはage差がみられ、age差は肥満細胞の感受性の差によることが示唆された。これらの成績は、抗生物質のビーグル犬毒性試験における皮膚紅斑のage差に類似するものと考えられる。

○木村 透、宮沢真紀、大島誠之助、土井邦雄¹（農産工・中研、¹東大・農）

〔緒言〕我々はメキシカンヘアレスドッグを導入し、ビーグル犬との交配からヘアレス犬F1を作出した。さらに、オスのヘアレス犬をメスのビーグル犬に戻し交配することを繰り返しヘアレス犬のコロニーを確立した。現在までに、ヘアレス犬の特徴として、無毛の皮膚性状および紫外線照射に対する皮膚の反応を明らかにした。ヘアレス犬は、免疫機能に何らかの異常があることも指摘されている実験用動物である。今回、我々は本犬の細胞性免疫機能を知るためにdinitrochlorobenzene (DNCB) 誘発性の遅延型過敏症(DTH)を調べ、被毛を有するビーグル犬との比較検討を行った。

〔材料と方法〕試験犬として、ヘアレス犬F1（4歳）およびビーグル犬（5-6歳）を2頭ずつ用いた。

試験方法は、Maximization法を応用した。頸部背側皮膚に次の3種類の試料を0.1 mlずつ皮内注射し、感作を施した。1.蒸留水とFreund's complete adjuvant (FCA)の1:1懸濁液、2.0.1%DNCB溶液、3.蒸留水:FCA:0.2%DNCB = 1:9:10懸濁液。感作後21日目に側腹部にDNCBを浸潤させたパッチ板を貼付し、DTH反応を誘発させた。DNCB濃度は、0.01、0.05、0.1、0.5および1.0%の5段階とした。パッチ板の貼付を解除して、24時間後および48時間後に判定を下した。

〔成績〕

DTH反応成績：DNCB感作のビーグル犬は、強い陽性反応を呈した。24時間後にすべての試験部位で陽性を示し、48時間後では反応はさらに一層顕著となった。パッチ試験部位は、紅斑炎症および浮腫を来した。反応の強さは塗布したDNCB濃度に依存していた。ヘアレス犬の皮膚反応は弱く、1頭は最高濃度である1.0%DNCBではじめて陽性となり、もう1頭も0.01%DNCBでは陰性であった。また、0.01-0.1%のDNCB塗布により皮膚に色素沈着を生じた。

病理組織検査成績：病変の強さは、塗布したDNCB濃度に依存しており、その組織変化はビーグル犬でより顕著であった。ビーグル犬では、0.01%DNCB塗布部位より、表皮の肥厚、空胞化および萎縮が見られ、病変の激しい部位では痂皮形成も観察された。真皮では、リンパ球を主体とした細胞浸潤、血管拡張および血管周囲炎が認められた。ヘアレス犬の組織変化は0.1%DNCB塗布部位から明確となり、色素沈着部位ではメラニン顆粒およびメラノサイトの滴落も見られた。

〔考察〕ビーグル犬はDNCBにより誘発されるDTHに対し、ヒトやモルモットに比して遜色のない反応性を示すことがわかった。一方、ヘアレス犬はその反応が弱く、T細胞系の免疫機能に何らかの異常があることが証明された。以上の成績から、ヘアレス犬は皮膚免疫異常を調べるうえで有用な実験用イヌであることが示唆された。

○小林 潔, 後藤和広, 土屋毅幸, 杉本次郎, 佐野文子, 豊岡正好, 武知雅人
(三菱化成総研・病理)

マウスの自然発生性皮膚腫瘍は非常に稀である。我々は、99 週令の B6C3F1 雄マウスに、皮膚由来と考えられる扁平上皮癌の発生を見たので、その特徴を報告する。

腫瘍は大腿部内側皮下に径約 2 cm の結節として認められ、一部は潰瘍化していた。剖面は灰白色と暗赤色のモザイク状を呈していた。腋窩部皮下と腹腔内のリンパ節に、それぞれ径約 1cm、3mm の白色結節が認められたが、その後の検索でいずれも転移巣であると推察された。

組織学的検索では、紡錘形の腫瘍細胞の束が互いに交錯する、あたかも肉腫様の増殖パターンが認められたが、その中に表皮様の分化を示す細胞集団が散見され(Fig. 1)、時に明らかな角化像も観察された。腫瘍細胞の核は中等度のクロマチンと、数個の明瞭な核小体を有し、核分裂像が頻繁に認められた。腫瘍細胞の境界は不明瞭であった。

抗ケラチン抗体を用いた免疫組織学的検索では、前述の表皮様の分化を示す細胞集団が強陽性を示し、紡錘形細胞の細胞質にも弱い陽性反応が認められた(Fig. 2)。なお、デスミン、ビメンチン、ミオグロビンに対する抗体には、いずれも陰性であった。

ホルマリン固定材料を用いた電顕的検索では、細胞間にデスモゾームの存在が確認された(Fig. 3, 矢頭)。細胞質には豊富な free ribosome、粗面小胞体が観察され、それらの間には tonofilament と考えられる微細線維が認められた。

これらの所見より、本腫瘍は皮膚由来の Anaplastic Squamous Cell Carcinoma であると考えられた。このマウスは 6 週令時より 93 週にわたり Phenobarbital(PB) 500 ppm を混餌投与されていたが、同群の他個体にこの腫瘍の発生は認められず、PB によるマウス皮膚腫瘍誘発の報告も無いことから、本症例は自然発生であると考えられた。また、1986 年 Werwick らが紫外線照射により C3H/HeNCr マウスに誘発し、Spindle Cell Squamous Carcinoma と報告したものに相当すると思われる。

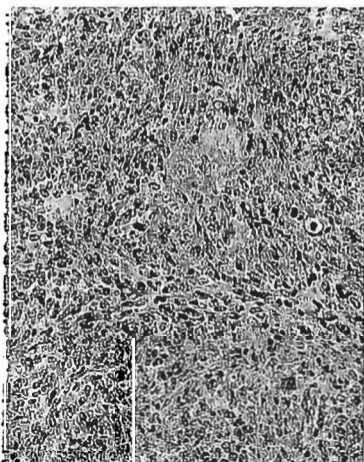


Fig. 1

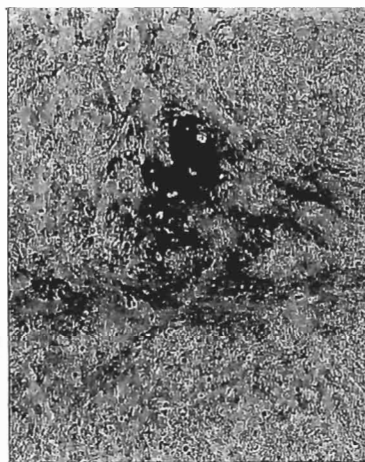


Fig. 2

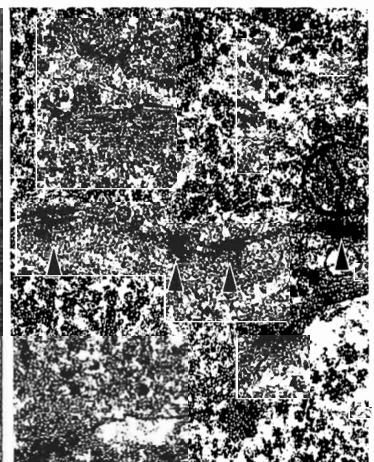


Fig. 3

○木村 均、外山勝己、伊藤一彦、吉島賢一、和田 浩、岡田雅昭 (NBR)

1. 緒言

昨年の本学会において我々は長期毒性試験に発生したラット耳介の肥厚について、その発生状況、生物学的検査データおよび病理発生等について報告した。今回、この病変について組織化学的に追加検討を加えたのでその結果をここに報告する。

2. 材料および方法

動物は、日本チャールス・リバー（株）において種親として飼育されていたCrj: CD (SD) ラットのうち、耳介の肥厚を呈した26週齢の雄3例、23.5週齢の雄3例および24.5週齢の雌2例であった。これらのラットは耳介の肥厚以外には特に異常は認められていなかった。なお、23.5週齢の右耳介のみの肥厚を示した2例を除いて他の例は全例左右耳介の肥厚が認められた。

摘出・採取した耳介は、10%中性緩衝ホルマリンに固定後、常法に従いパラフィン包埋切片を作製した。その後、ヘマトキシリン・エオジン (H・E) 染色、Alcian blue 染色 (pH2.5)、orcein染色およびMallory染色を実施して病理組織学的検索に供した。

3. 結果

検索した全例において、基本的に昨年報告した症例とほぼ同様な特徴を有していた。すなわち、軟骨の変形、骨化、骨化部分での骨髄形成、二層の軟骨組織で挟まれる部位における脂肪組織、軟骨形成、線維性結合組織と褐色色素の沈着である。しかしながら、今回の症例ではほぼ半数例において旺盛な血管新生を伴った線維性結合組織の顕著な増生が認められ、活発な軟骨過形成も認められた。この線維性結合組織はMallory染色では緑青色を呈し、Alcian blue染色では陽性を示した。また、orcein染色によりorcein陽性の非常に多数の微細顆粒が認められた。さらに過形成を呈す軟骨もorcein陽性であった。また、骨化生がより一層著明な例、fibrous adipose tissueが優勢な例、ならびに一部にfocal chondrolysisと思われる像を示す例もみられた。したがって、今回の検索では前回の報告にも引用したChiu, Tが指摘したような病理発生の可能性がより一層強く窺われた。しかしながらこの原因についてはやはり不明であった。

なお、現在免疫組織化学的検索について検討中である。

○森田晴夫、下村和裕、森田大、須永昌男、小泉治子（前臨床医学研）

薬物によって惹起される毒性病変を理解するために、我々は生前の諸検査と剖検後の病理組織学的な所見との関連を検討してきている。今回、眼底に異常がみられるビーグル犬に遭遇し、眼科学的な諸検査および病理組織学的検査を実施し、興味ある知見が得られたので報告する。

<材料および方法>

眼科学的検査および病理学的検査：メス1頭（12ヵ月齢）に以下の眼科学的検査を実施した。

①フルオレセイン染色による角膜の観察、②ローズベンガル染色による結膜の観察、③虹彩の対光反射の観察、④シルマー試験紙による涙液分泌量の測定、⑤眼圧測定、⑥レフラクトメーター検査、⑦網膜電図(ERG)の観察、⑧スペキュラーマイクロスコープによる角膜内皮の観察・撮影、⑨スリットランプによる前眼部および中間透光体の観察、⑩通常眼底の観察・撮影、⑪蛍光眼底の観察・撮影、⑫無赤光線による眼底の観察・撮影。

諸検査終了後、動物を全身麻酔下で放血致死させ、肉眼的観察後に下記の組織を採取し、常法に従ってパラフィン包埋後H-E染色標本を作製し、光顕的に観察した。

(1)眼球、(2)視神経、視交叉、視索、外側膝状体および後頭葉視中枢。

< 結果および考察 >

一般状態の観察では視覚系の異常を示唆するような変化はみられなかった。網膜電図検査では両眼にa波およびb波の振幅低下がみられた。通常眼底検査（両眼）では、網膜の全域にわたって巣状の色素変化部および反射性亢進部が散見され、無赤光線による眼底検査でも、不正反射部がみられた。また、蛍光眼底検査では、巣状の過蛍光部および低蛍光部がみられた。

病理学的検査では、視神経ならびに視交叉より上位の中樞神経系に肉眼的および組織学的な異常はみられなかった。しかし、両側の眼球には肉眼的にも組織学的にも Tapetal zoneと Atapetal zoneの両域に巣状の病変部が散在していた。すなわち、組織学的には、網膜の巣状病変部に内・外顆粒層細胞の変性および脱落、色素細胞層と外顆粒層との間に色素顆粒の異常な蓄積、色素細胞の腫脹、神経細胞層に色素顆粒の蓄積、神経線維層に硝子様物質の沈着、網膜の小血管周囲に形質細胞の浸潤、神経節細胞の変性、Tapetal cellの萎縮などがみられた。

今回みられた眼底の変化は、眼科学的検査および病理組織学的検査所見から網膜症によるものと考えられた。ウイルスによるこれと類似した変化がイヌで報告されている¹⁾が、これらの例では中枢神経系にも変化がみられている点で、今回の症例とは異なっている。また、イヌの眼底には先天的に多くのバリエーションがみられる²⁾ことが指摘されているが、今回の症例は諸検査の結果から考えて、明らかに異常と思われた。

<参考文献>

- 1) Parry, H. B. (1954). Br. J. Ophthalmol., 38, 295.
- 2) Heywood, R. & Wells, G. A. (1970). Vet. Rec., 87, 178.

カニクイザルの同一眼球からの光顕，電顕（透過および走査型）用試料作製法

○宗岡 篤信，岩重 記洋，下村 俊郎，柿崎 ひろみ，
千早 豊，岡崎 啓幸，永田 良一（新日本科学・病理）

〔緒言〕

近年安全性試験でサルが使用される機会が多くなってきており，また，ある種の抗生物質では眼に関する詳細な検討が必要となってきた。眼に対し，各種の機能検査と共に病理学的検査においても光学顕微鏡に加え透過型(TEM)および走査型電子顕微鏡(SEM)を用いた微細構造の観察が必要とされる。従来，眼球は網膜の剥離などartifactの影響を受けやすく，標本作製には難しい点が多い。カニクイザルの一個の眼球から光顕用標本のほか，TEMおよびSEM用の標本作製を同時に試み，いずれにおいても良好な観察結果が得られたのでこれらの作製法について報告する。

〔実験方法〕

インドネシア産雄性カニクイザルを用いた。麻酔(ペントバルビタール Na, 64.8mg/kg, i.v.)直後より0.1Mリン酸緩衝液を角膜に噴射し表面の洗浄と乾燥防止を行った。次いで，前眼房へ0.1Mリン酸緩衝3%グルタルアルデヒド(GA)固定液5mlを27G注射針で緩徐に注入した。網膜の固定は網膜の剥離を防ぐために，硝子体腔に1%パラホルムアルデヒドと3%グルタルアルデヒドの混合固定液5mlを22G注射針で注入した。注入後GA固定液に眼球全体を浸漬し，1時間後に水平にレーザーを用いて二分割し視神経と黄斑が残る側を光顕用試料とし，片側を電顕用試料とした。光顕用は混合固定液中でover nightし，その後切り出し，パラフィン包埋HE染色標本作製した。電顕用はTEM用とSEM用に細切し，さらにGA固定液で1時間固定し，6%サッカロースを含む0.1Mリン酸緩衝液にて一晚洗浄した。次いで0.1Mリン酸緩衝1%OsO₄固定液で2時間，後固定した。TEM用はエタノール系列にて脱水，Quetol 812で包埋し，超薄切片を作製後，酢酸ウラニル・クエン酸鉛で電子染色し，透過電子顕微鏡(JEM-1200EX)を用いて観察した。SEM用はエタノール系列にて脱水，置換剤として酢酸イソアミルを使用し臨界点乾燥後，金蒸着を施して走査電子顕微鏡(JSM-5200)を用いて観察した。

〔結果および総括〕

光顕用パラフィン切片において，網膜の剥離は見られず，視神経，脈絡膜，毛様体，水晶体，虹彩，角膜ともに良好な全眼球標本が得られた。TEM観察では，角膜上皮，内皮ともに細胞の膨化や萎縮は認められず，角膜上皮の乾燥などのartifactも認められなかった。また，網膜色素上皮の剥離も見られず，虹彩，毛様体，網膜，脈絡膜も良好な像を示した。SEM観察では，角膜上皮表面の涙液もほとんど除去され，最上皮の微絨毛が明瞭に観察された。また，角膜内皮および虹彩，毛様体の表面構造も正常に保たれていた。

角膜表面の十分な洗浄，前眼房および硝子体腔へそれぞれの固定液を注入することにより同一眼球から光顕，TEMおよびSEM観察に十分耐え得る良好な標本が得られることが可能となった。

○ 栗栖和信, 岩崎健太郎 (大塚製薬工場・鳴門研)

ハーダー腺は、ラット、マウス、ウサギ、ハムスター、モルモット等の実験動物に存在する腺組織であり、医薬品の毒性試験においては検索対象とされる器官のひとつであるが、その毒性変化に関する報告は極めて少ない。演者らは特にげっ歯類に存在するハーダー腺のポルフィリンに着目し、過度の照明に対する影響について検討したので報告する。

材料および方法：Wistar系雄ラット(4週齢)を飼育室環境に2週間馴化後、白色蛍光灯(ナショナル, 40W FLR 40S・W/M-X)により、ケージ内の照度約2500luxで1日12時間ずつ、1, 2, 4または8日間反復照射した。ハーダー腺および眼球は、照射翌日にエーテル麻酔下で心臓より還流固定後採取し、HE染色により組織学的に観察した。

結果：照射1日後では、ハーダー腺およびその周囲組織の水腫、好中球およびマクロファージの浸潤と腺上皮の大型空胞を伴う顕著な壊死性変化が認められた。2日後では上記の変化に加えて、腺腔の拡張と上皮の再生性変化みられ、4日後では水腫および壊死性変化は軽減し、線維芽細胞の増生および腺上皮の再生性変化に加えて、一部で扁平上皮化生およびリンパ球浸潤がみられた。8日後では腺腔内に退廃物を入れるものの、腺上皮の増生が明らかであり、壊死および細胞浸潤はさらに軽減していた。以上のハーダー腺の変化は、眼球近位に顕著であり遠位では軽減もしくは認められず、また照射期間の延長によっても拡大する傾向はなかった。涙腺および眼球強膜の変化は認められなかった。一方、網膜は照射1日後より、杆・錘状体層の軽微な顆粒状化あるいは粗鬆化と外顆粒層細胞の核濃縮がみられ、2日後ではこれらの変化は明らかに増強し、一部で色素上皮の壊死、脱落を伴っていた。更に照射期間の延長により杆・錘状体層および外顆粒層の萎縮へと進展した。眼球では上記の網膜以外の変化は認められなかった。

考察およびまとめ：過度の照明による網膜変性・萎縮については既によく知られているが、演者らは本実験によりハーダー腺にも水腫および炎症性細胞浸潤を伴う高度な壊死性変化を引き起こすことを明らかにした。その要因として、げっ歯類の特性であるハーダー腺におけるポルフィリンの存在が考えられる。すなわちポルフィリンは、ヒトのポルフィリン症で知られているように重篤な組織障害を引き起こす光毒性物質であり、機序として生体内で長波長紫外線との反応により励起されたポルフィリンがラジカルを産生し、細胞を障害すると考えられている。本実験でみられたラットのハーダー腺の障害についても同様の機序が推察され、アルビノラットでは過剰な光線は容易に網膜を透過してハーダー腺に到達し、光化学反応を惹起するものと思われる。以上の変化は、ハーダー腺にポルフィリンを有する動物に特有の変化と考えられるが、過度の照明により容易にかつ短期間に組織障害を惹起し得ることから、ポルフィリンによる光毒性の障害像を検討するための動物モデルとしての可能性が示唆された。

○小倉 基裕・佐藤 亮・仙頭 美和 (大塚製薬 徳島研究所)

〔はじめに〕

カニクイザルの脾臓内の異所性脾臓およびラットの胃底腺内の異所性脾臓の各1例に遭遇したので、症例を報告する。

〔症例〕

症例 1. 雄カニクイザル、推定年齢3-6歳、日本SLC (株) 中伊豆支所より購入、コンベンショナル飼育、4週間反復経口毒性試験に供された対照群の1例である。臨床的異常は見られなかった。

症例 2. 雄Sprague-Dawley (SD) 系ラット、8週齢、SPF、日本チャールズ・リバー (株) より購入、2週間反復経口毒性試験に供された対照群の1例である。臨床的異常は見られなかった。

〔剖検および組織学的所見〕

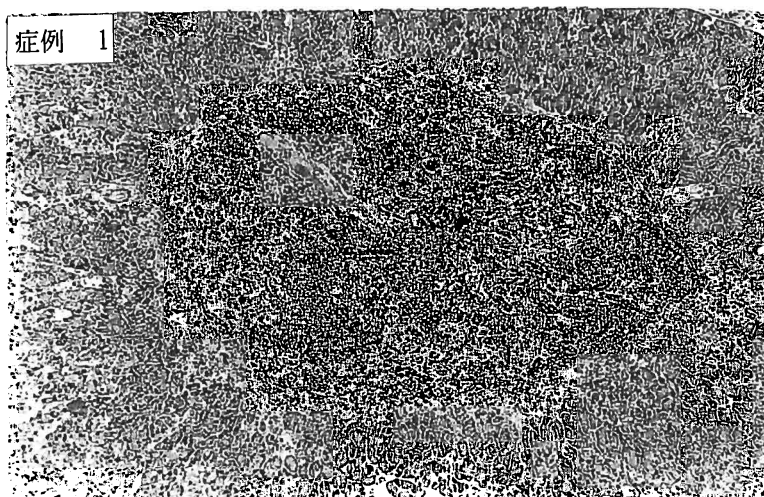
剖検時、肉眼的に異常は認められなかった。

組織学的には、症例 1. では脾尾部の脾臓実質内に埋没するように比較的良く発育した脾臓組織が観察され、小さな白脾髄、その周囲に赤脾髄の形成および脾柱が見られ、さらにその周囲の脾実質とは細かい結合組織により境界されていた。

症例 2. では、胃底腺組織内に、細胞質の基底側が好塩基性で先端側にチモーゲン顆粒と思われる脾腺房細胞が、数個集団として或いは単一の脾腺房細胞が散在して観察され、周囲組織には何ら反応は見られなかった。

〔考察〕

異所性脾については、ヒヒ、オマキザルおよびヒマラヤ兎等で、少数ながら文献的にも報告がなされている。また異所性脾についてもネコ、犬、猿、兎、馬等で文献的に報告され、その場所も十二指腸に多く観察されるとされている。今回の例の様な症例は比較的稀であると思われる。



○山川誠己、三上真一、志賀敦史、岩田 聖、廣内康彦、小林和雄、榎本 眞（安評センター）

実験動物において胸腺組織が甲状腺内にしばしば迷入することは一般に知られている。今回我々は、長期毒性試験に供されたF344/DuCrjラットの下顎腺に胸腺組織を認めたので報告する。

〔症例〕

動物は長期毒性試験に供されたF344/DuCrjラットの雄の薬物投与群の1例で、体重の減少および一般状態の悪化により108週齢に切迫屠殺されたものである。剖検では胃と肝臓との癒着、腎臓の表面粗造化、精巣の白色斑点および下垂体の肥大等が観察され、下顎腺には特に異常は認められなかった。組織学的にはそれぞれ胃潰瘍による肝臓との癒着、慢性腎症、精巣の間細胞腫および下垂体腺腫であった。

〔結果〕

組織所見：HE染色では下顎腺組織の間質結合織内に紡錘形ないしは類円形の核をもつ細胞集簇として認められ、それらは結合織によりさらに小集簇に区画されている。細胞の増殖形態は充実性にみられる部位と腺管様構造を形成する部位とに分けられるが、一部で混在する部分も認められた。腺管様構造の中にはPAS陽性物質を認めるものもあった。個々の細胞形態は、ほとんどが細胞質に乏しい小型の細胞であり、それに比較して大型の淡明な核を持つ細胞質に富んだやや大型の細胞も認められる。また、この組織は多数のリンパ球浸潤を伴っており、正常な神経組織も混在していた。PAS染色ではHE染色でみられた腺管様構造には明らかな基底膜は認められなかった。免疫組織学的検索では、この組織の主体をなす細胞はサイトケラチン（低分子）が弱陽性で、NSEおよびS100蛋白は混在する神経組織を除いて陰性であり、ビメンチンは陰性であった。また、細胞分裂能を示すPCNAについても陰性であった。

〔考察〕

本症例の組織学的特徴として、多数のリンパ球浸潤を伴っていること、組織を構成する細胞が紡錘形ないしは類円形の核を持った小型の細胞と、それより淡明な核を持つやや大型の細胞からなり、増殖形態が腺管様構造あるいは充実性であることであり、腺管様構造には明らかな基底膜は観察されず、管腔にはPAS陽性物質を認めるものもあった。免疫染色の結果では、サイトケラチン陽性、ビメンチン、NSEおよびS100は陰性で間葉系あるいは神経系は否定され、上皮性の組織であることが考えられた。また、PCNAについては陰性で非増殖性の組織であることがうかがわれた。以上の所見を参考に類似病変および同一個体の他臓器について検索したところ、萎縮した胸腺において同様の形態および染色結果が得られ、下顎腺に認められた加齢性変化を伴った異所性の胸腺と診断した。

研究協力者：萩原 孝，加藤睦美，杉浦ひろ子，山本 郁夫，磯部香里，鈴木良子

○吉田 緑¹、立花 資和¹、高橋 正一²、長瀬 すみ² (¹動繁研、²佐々木研)

〔はじめに〕 我々は前回の本学会において、ラットに出現したムコ多糖症について報告した。今回は、そのムコ多糖症ラットについて、欠損する分解酵素を決定することにより亜型の同定を行った。さらに、ヒトの電子顕微鏡による病理学的な検討を追加した。また、ヒトのムコ多糖症との類似性について報告する。

〔亜型の同定〕 ムコ多糖症の亜型を同定するためには、欠損する分解酵素を決定する必要がある。このムコ多糖症は、尿中に多量のデルマトン硫酸が排泄されていたので(前回の本学会で発表)、デルマトン硫酸を分解する酵素の活性値を測定した(表1参照)。その結果、異常個体では肝臓のarylsulfatase B(ASB)の活性値が正常個体の5%以下の値を示した。よって、このラットは arylsulfatase B が欠損するムコ多糖症すなわち、ムコ多糖VI型(Maroteaux-Lamy syndrome)であると診断した。

TABLE 1 LYSOSOMAL ENZYME ACTIVITIES IN LIVER(nmol/h/mg prot.)

	Affected	Normal
Arylsulfatase A	232 ± 13	253 ± 25
Arylsulfatase B	19 ± 2	375 ± 37
α-Galactosidase	376 ± 64	338 ± 39
β-Galactosidase	1669 ± 32	1170 ± 145
β-Glucuronidase	1605 ± 109	1127 ± 93
β-Hexosaminidase	1333 ± 101	544 ± 32
α-Mannosidase	18.9 ± 2.4	8.5 ± 1.1
β-Mannosidase	193 ± 33	79 ± 16

〔電顕観察およびヒトとの類似性〕 ムコ多糖症は、骨格系の異常を来し、神経系を除く各臓器の結合織あるいはマクロファージ系の細胞にムコ多糖(PAS陰性、コロイド鉄陽性)が蓄積することを特徴とする。H-E染色標本では、ムコ多糖の蓄積は空胞化として観察されるが、今回この空胞化が認められた組織を電子顕微鏡的に検査した。その結果、ヒトでの報告と同様、ライソソームの空胞化が観察された(写真参照:肝臓)。また、光学顕微鏡的には明かにならなかったが、電子顕微鏡学的観察により、大動脈の内皮細胞、角膜上皮のライソソーム内にも空胞化が認められた。神経系の異常は、電子顕微鏡学的にも認められなかった。

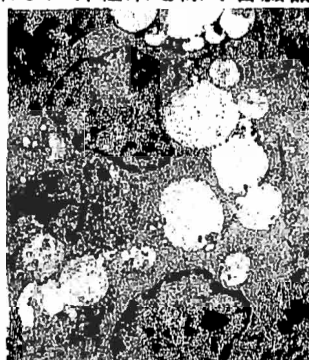


表2に示すように、このムコ多糖症VI型ラット(MPR)は、疾患モデルとしてヒトのムコ多糖症VI型に極めて類似している。

ムコ多糖症は未だ治療法の確立されていない遺伝病であるが、このムコ多糖症VI型ラットの開発は近年注目されつつある遺伝子治療などの実験治療に有用であると思われる。また、このラットは欠損酵素が同定されたことにより、ムコ多糖を含めた複合糖質の研究にも役立つと思われる。

TABLE 2 GENERAL FEATURES IN MAN AND RATS

Parameter	Human	Rats
Skeletal abnormalities	+	+
Corneal clouding	+	Not apparant
Mental retardation	-	-
Inheritance	Autosomal single recessive gene	Autosomal single recessive gene
Urinary GAG	Dermatan sulfate	Dermatan sulfate
Deficiency of enzyme	Arylsulfatase B	Arylsulfatase B
Metachromatic granules in leukocyte	+	+
Visceral storage of GAG	+	+

○浅川恵美子、玉野静光、加藤俊男、広瀬雅雄、増井恒夫、伊東信行
(名市大・医・1病理)

【はじめに】4-methoxyphenol (4-MP) および4-methylcatechol (4-MC)はすでに発癌性の知られているBHAあるいはcatecholに類似したフェノール系化合物で、短期実験により4-MPはラットの前胃、4-MCは前胃および腺胃粘膜に対し、細胞障害とともに強い細胞増殖作用を示すことがすでに報告されている。今回、これらの化合物を用いて、ラットに対する発癌性の有無を検討した。

【実験方法】6週齢のF344系ラット(日本チャールス・リバー株)を雌雄各群30匹の計180匹用いた。4-MP(和光純薬工業株)および4-MC(東京化成工業株)はそれぞれ2%の濃度で粉末基礎飼料MF(オリエンタル酵母株)に混じて104週間投与した。なお、対照群は基礎飼料のみとした。104週経過後、全生存動物を屠殺剖検し、病理組織学的に検索した。

【結果】生存率は4-MPおよび4-MC投与群の雄で、体重は4-MPおよび4-MC投与群の雌雄で低下し、肝臓および腎臓の相対重量は4-MPおよび4-MC投与群の雌雄で高値を示した。4-MP投与群では前胃粘膜に異型過形成を雌10/30(33%)、雄8/30(27%)、乳頭腫を雌7/30(23%)、雄17/30(57%)、扁平上皮癌を雌4/30(13%)、雄23/30(77%)に認め、発生した扁平上皮癌は低分化なものが比較的多かった。腫瘍性以外の変化として潰瘍を高率に認めた。4-MC投与群では前胃の乳頭腫が雌28/30(93%)、雄25/30(83%)に、扁平上皮癌は雌12/30(40%)、雄17/30(57%)に発生し、腺胃粘膜において粘膜下過形成は雌28/30(93%)、雄27/30(90%)、腺腫は雌雄とも30/30(100%)、腺癌は雌14/30(47%)、雄17/30(57%)に発生した。腫瘍性以外の変化では潰瘍を前胃および腺胃粘膜に観察した。また4-MPおよび4-MCはともに前胃および腺胃以外の臓器に腫瘍の増加を認めなかった。

【まとめ】4-MPはラット前胃に対し、また4-MCは前胃および腺胃に対し選択的に強い発癌性を示すことが見出され、この発癌機序には標的臓器の組織障害性が重要である事実も明らかとなった。

化合物	性	匹数	前胃		腺胃	
			乳頭腫	扁平上皮癌	腺腫	腺癌
4-MP	雄	30	17(57)**	23(77)**	2(7)	0
	雌	30	7(23)**	4(13)	0	0
4-MC	雄	30	25(83)**	17(57)**	30(100)**	17(57)**
	雌	30	28(93)**	12(40)**	30(100)**	14(47)**
対照	雄	30	1(3)	0	0	0
	雌	30	0	0	0	0

** : $P < 0.01$ significantly different from control group.

○武貞徳子¹、萩原昭裕¹、玉野静光¹、柴田雅朗^{1,2}、白井智之¹
伊東信行¹ (¹ 名市大・医・1 病理、² 大阪市大・医・1 病理)

【はじめに】

化粧品や食品添加物として広く用いられている Tragacanth Gum は、中近東その他の半砂漠地帯に自生する低木 Astragalus gummiferからの抽出物で、D-galacturonic acid, D-galactose, D-xylose, L-arabinoseより成る複合多糖類である。Tragacanth Gum は、変異原性を示さず、毒性もないとされているが、その発癌性については報告されていない。今回、Tragacanth Gumをマウスに2年間混餌投与し発癌性の有無を検討したので報告する。

【実験方法】

6週齢のB6C3F₁系マウス(日本チャールス・リバー株)を雌雄各150匹の計300匹用いた。各群50匹とし、Tragacanth Gumを5.0, 1.25, および0%の濃度で粉末飼料MF(オリエンタル酵母株)に混じり、96週間投与した。その後10週間休薬期間を設け、106週経過後に全生存動物を屠殺し、各種血液、生化学的検査および病理組織学的検査を実施した。

【結果】

試験期間中、被験物質投与に起因すると考えられる症状の発現および死亡例は観察されなかった。試験終了時における生存率は、5.0%群の雄では76%、雌72%、1.25%群の雄80%、雌66%および対照群の雄72%、雌70%であった。また、5.0%および1.25%群の雌では対照群と比較し、それぞれ11週目または16週目から試験終了時まで体重増加抑制を観察したが、雄では差異を認めなかった。尿、血液、および血液生化学的検査ならびに臓器重量においても、被験物質投与に起因すると考えられる変化は全く観察されなかった。病理組織学的検査では、前胃の重層扁平上皮過形成および乳頭腫を、5.0%群では、雄50例中2例(4%)、雌5例(10%)、1.25%群では雄10例(20%)、雌5例(10%)および対照群では、雄4例(8%)雌5例(10%)に認めたが、対照群との間に差異のないことより自然発生病変と考えられた。その他の臓器における腫瘍性病変の発生頻度においても、投与各群と対照群間に差異を認めなかった。

【まとめ】

Tragacanth Gumは、B6C3F₁マウスの雌雄に対していずれの臓器にも発癌性を示さないことを明らかにした。

○田中 光、今井田克己、長谷川良平、増井恒夫、赤木圭介、伊東信行
(名市大・医・1病理)

【目的】我々は、標的臓器の異なる5種類の発癌物質を前処置する多臓器中期発癌性試験法を開発してきた。今回、本試験法の有用性と妥当性を明らかにするため、4種の既知化合物を用いて本試験法の結果と長期観察のそれとを比較検討した。

【方法】6週齢のF344系雄ラット255匹を用い、複数の臓器に発癌好発状態を作製する目的で、実験開始後4週間に、DEN(100mg/kg, i.p., 開始時1回), MNU(20mg/kg, i.p., 4回/第1,2週), BBN(0.05%, 飲料水, 第1,2週), DMH(40mg/kg, s.c., 4回/第3,4週), DHPN(0.1%, 飲料水, 第3,4週)を投与した(DMBDD処置)。5週目からは肝発癌物質の2-AAF(0.01%)およびethionine(0.25%)、および酸化防止剤のBHA(2%)とcatechol(0.8%)をそれぞれ混餌投与した。また、DMBDD処置のみの対照群を設定した。一部の動物は28週経過時に屠殺し、残りの動物は投与を中止または継続する群に分けて長期飼育後、屠殺剖検し、病理組織学的に検索した。

【結果】多臓器中期発癌性試験(28週屠殺)の結果、およびその後投与を中止または継続して長期観察した場合の病理組織所見のまとめを下表に示した。検索したいずれの被験物質においても、多臓器中期発癌性試験の結果と長期観察における腫瘍発現には、非常に高い相関性が認められた。

【結論】多臓器中期発癌性試験法により、比較的短期間に検出された被験物質に特有の臓器発癌結果と長期観察により認められたそれとの一致が確認され、全身諸臓器を対象とする発癌性試験法としての本試験法の有用性と妥当性が明らかとなった。さらに、発癌抑制作用の検出法としても有用であることがわかった。

被験物質	多臓器中期発癌性試験 (28週)	多臓器中期発癌性試験の長期観察	
		投与中止(基礎食)	投与継続
2-AAF	甲状腺: 腺腫 ↓ 肝臓: 小増殖巣、腫瘍性結節 ↑ 膀胱: PN過形成 ↑	腺腫 ↓ 癌 ↑ 乳頭腫 ↑	腺腫 ↓ 癌 ↑ 乳頭腫 ↑
Ethionine	甲状腺: 過形成、腺腫 ↓ 肝臓: 小増殖巣 ↑	腺腫 ↓ 癌 ↑	腺腫 ↓ 癌 ↑
BHA	甲状腺: 過形成、腺腫 ↓ 前胃: 過形成、乳頭腫、癌 ↑ 肝臓: = 膀胱: PN過形成、乳頭腫、癌 ↑	腺腫 ↓ 癌 ↑ 腫瘍性結節、癌 ↓ 乳頭腫、癌 ↑	腺腫 ↓ 癌 ↑ 腫瘍性結節、癌 ↓ 乳頭腫、癌 ↑
Catechol	甲状腺: 過形成、腺腫 ↓ 前胃: 過形成、乳頭腫 ↑ 腺胃: 過形成、腺腫 ↑ 肝臓: =	腺腫 ↓ = 腺腫、腺癌 ↑ 腫瘍性結節、癌 ↓	腺腫 ↓ 乳頭腫、癌 ↑ 腺腫 ↑ 腫瘍性結節、癌 ↓

↑: 増加, ↑: 増加傾向, ↓: 減少, ↓: 減少傾向, =: 変化無し

北堀吉映、小西 登、林 功、日浅 義雄（奈良医大・二病理）

（はじめに）

食用赤色106号は、Emmerichらによって合成されたキサンチン色素で、わが国においては昭和32年着色色素として指定認可された。本品は熱、光に安定で、腸管からの吸収が悪くそのままの形で糞中に排泄されるとされている。現在、多くは農水産加工品、菓子などに広く用いられている。近年、食品添加物などの安全性が社会問題となっており、再検討が要望されている。今回、ラットを用いた長期投与を行い、癌原性の有無について検討した。

（材料と方法）

1. 検体：食用赤色106号(Acid Red No. 106)は、ダイワ化成販売株式会社から9-(2'-sulfonium-4'-sulfophenyl)-6-diethylamino-3-(N,N-diethylimino)-3-isoxanthen-sodium ($C_{27}H_{29}N_2NaO_7S_2$)を85%以上含有物を入手した。
2. 実験動物：使用動物は日本チャールズリバー株式会社から購入した4週齢のF344/DuCrjラット雌雄各々160匹づつで、雌雄150匹を実験に提供した。
3. 投与方法および観察期間：本品は飼料（ラボMRストック）に添加し投与した。投与濃度は高濃度群：5%、低濃度群：2.5%の実験群と対照群の3群を雌雄ともに作製した。実験期間は2年間で観察は毎日行った。2年間の飼育観察の後、生存するすべての動物から採血後屠殺し臓器重量を測定し、病理組織学的検索に供した。

（結果）

1. 体重変化：雌雄ともに全期間を通じ対照群と検体投与群との間には明らかな差はみられなかった。
2. 検体および飲水摂取量：飼料の摂取変動は雌の高濃度群で約10%の摂取量増加がみられたが他の群では明らかな差は見られなかった。飲水量の変動は飼料の変化と同様に高濃度群でやや増加傾向がみられたが、低濃度群では対照群と比べ大差はなかった。
3. 血液および生化学検査：検体投与群の雌雄ともにGPT、LDH、CPK等の一部に統計学的に差をみとめたが、屠殺時の週齢を考慮し、また投与濃度に依存した変化ではなかった。
4. 病理組織学的所見：多くにみられた腫瘍は、雄では精巢の間細胞腫、下垂体腺腫、甲状腺C-細胞腺腫、副腎褐色細胞腫および単核球性白血病で、雌ではそれ以外に乳腺の線維腺腫が比較的多く、各群にわたり発生した。

（考察）

本実験は、食品添加物として使用されている赤色106号(Acid red)について、ラットを用いた2年間におよぶ長期投与を行い、その癌原性の有無について病理学的に検討した。その結果、検体を投与した群ならびに対照群との間に明らかに有意と思われた腫瘍、過形成の発生は認められず、本検体はラットに対し癌原性は認められないものと判定した。

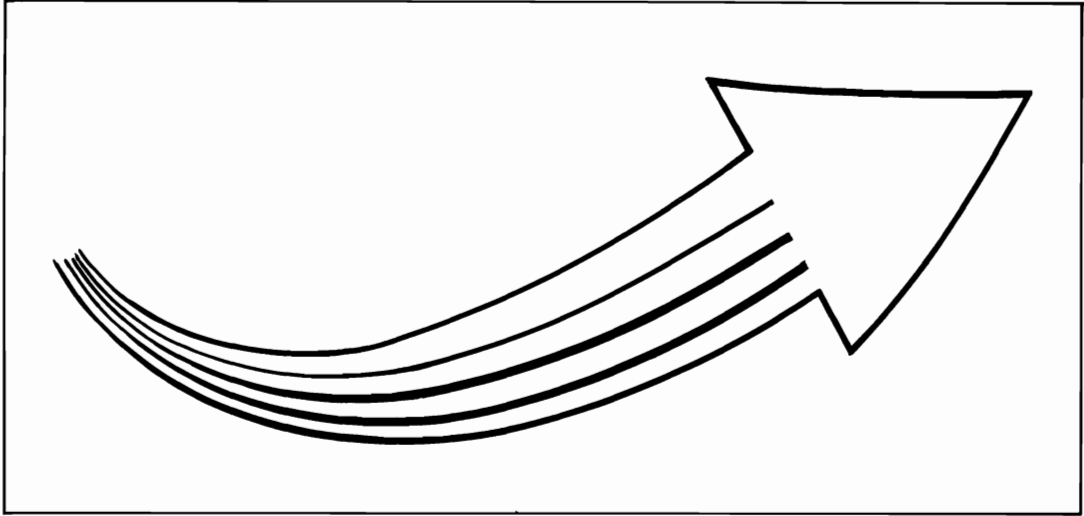
○坂牧義之¹、杉本哲朗¹、小松博道¹、鈴木繁生¹、渡部一人¹、藤原宏幸²、
二木力夫¹（¹中外製薬・安全性研究所、²三井造船システム技研）

医薬品を始めとする化学物質の安全性試験においては、GLP規制によりデータの質と完全性を保証することが厳しく求められており、多くの施設においてコンピュータシステムを利用したデータの管理が進められている。当社においてもGLPに準拠した三井造船システム技研のMiTOXシステム（中外仕様：C-Tox）を導入し、現在までに約7年間の安全性研究業務に関するデータを蓄積している。今回はC-Toxについて特に病理学的検査の支援システムに焦点をあてて報告する。病理学的検査システムは剖検以降の病理標本作製を含めた病理学的検査に関わるデータ収集から報告までを一貫して支援するものであり、単回および反復投与試験システムなどの一部として機能している。本システムの最大のメリットは組織学的検査において、初期鏡検から調整を経て最終確定までのデータをいずれもダイレクト入力できることであり、全てのデータは即時ホストコンピュータに転送され一元管理するよう設計されている。以下に基本構成を示す。

1. 病理学的検査は作業毎にアクセスチェックが行われ、剖検所見、組織所見の入力や病理用語辞書の更新などは有資格者（病理担当者）のみが実施できる。
2. 剖検、組織所見は、臓器、組織毎にコード化し一元辞書としている。組織所見は、非腫瘍と腫瘍性病変に分けている。
3. 所見に加え補足情報としてフリータームのQualifier入力ができる。
4. 試験毎に予想される所見およびQualifierをあらかじめ登録して所見メニュー画面を簡素化することによって誤入力を排除し、鏡検中に追加すべき所見、Qualifierがみられた場合は、随時、追加入力できる。
5. 所見入力は臓器単位に動物毎に行う。なお所見の有無およびグレードはskip入力が可能で、後日詳細な検討の上、入力することが可能である。
6. 病理担当責任者が確定を宣言するまでは、病理担当者による所見、Qualifierの追加、変更および削除などの調整機能を使え、途中経過は全て記録される。確定以降は試験責任者のみがデータ修正を行うことができ、履歴が記録される。
7. 帳票出力では必要に応じて臓器、所見の出力順を任意に設定できる。

本システムの導入により、データ記載や集計の必要がなくなり、大幅な業務の省力化が実現され、データの信頼性が向上した。また、鏡検中に所見、グレードを即座に決定できない場合を想定したskip入力や調整機能は、実際の鏡検で利用価値が高く、病理担当者間の意見交換や議論の機会を多くする波及効果も生まれた。本来、記述データである病理学的検査結果をコンピュータ処理するにあたり、システムの使い易さとともに、病変像を的確に表現した所見に変換する病理的センスを高めることが非常に重要であると思われる。

組織標本作製、組織検査から最終報告書まで 一よきパートナー、サイエンティフィックテクニシャンを目指して一



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もお引き受けいたします。

サンプル、標本、報告書の受発送は

航空便で当日着きます。

宅配便で九州・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



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

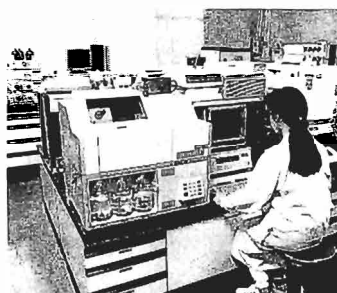
お問い合わせ先

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)
大阪支社/東京病理センター

試験から届出まで 生体から生態まで

技術と総合力で 未来へ貢献する 安全性試験受託機関

安科研




当社鹿島研究所はFDA/厚生省およびEPA/農水省の両方のJOINT INSPECTIONを受けた我国で初の受託機関です。

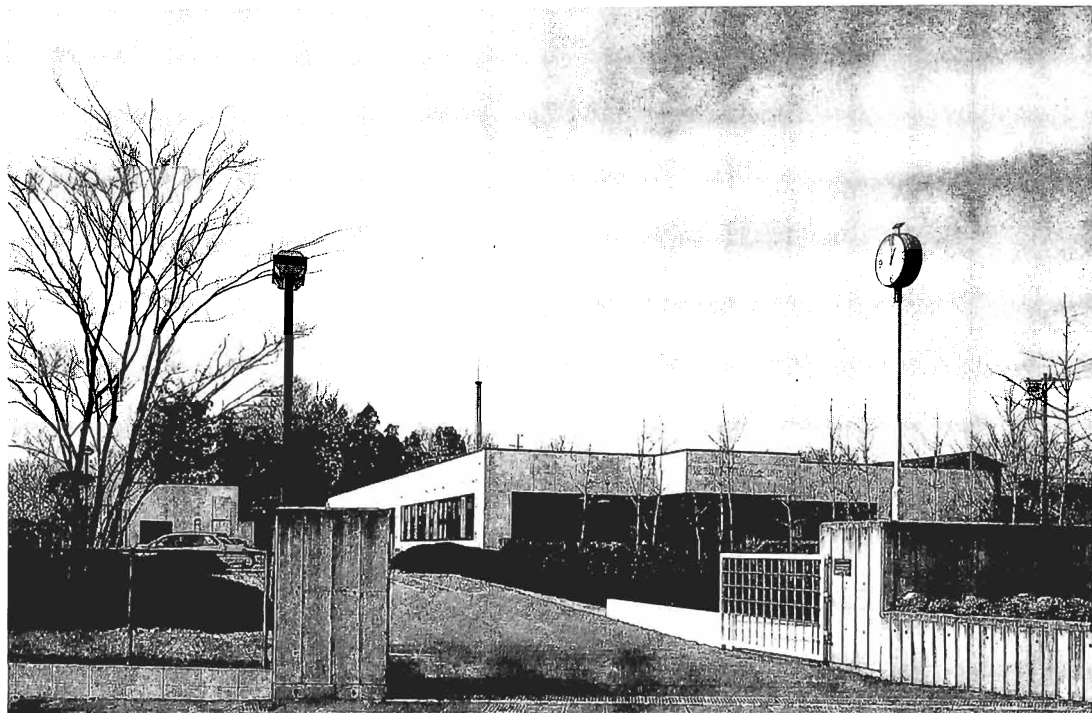
【業務内容】

- 一般毒性試験(単回～反復～癌原性)
- 特殊毒性試験(刺激～感作～抗原性)
- 生殖毒性試験(Seg I、II、III～2世代)
- 薬理・代謝・吸入
- 生態毒性・環境中一運命予測
- RDS・代替法 他新技術
- 安衛法・化審法 他海外登録業務

●安全性試験に関することは何でも御相談下さい。

 株式会社 三菱化成安全科学研究所

本社 〒105 東京都港区芝二丁目1番30号 TEL.(03)3454-7571(代)
鹿島研究所 〒314-02 茨城県鹿島郡波崎町砂山14番地 TEL.(0479)46-2871(代)
横浜研究所 〒227 横浜市緑区鴨志田町1000番地 TEL.(045)963-3541(代)



- 安全性・薬理試験受託
- 安全性試験
- 薬理試験
- 臨床試験移行へのコンサルタント
- 医薬品開発のデザイン

薬効研

前臨床から臨床へ移行・医薬品開発のコンサルタントとして、終戦直後から東邦大学薬理学教室に蓄積された技術を基盤に昭和48年設立、昭和62年現地の新研究所に移転した。

平成3年新体制のもと組織と設備に一層の充実をはかり世界的レベルの受託機関として貢献すべく新しいスタートを踏み出した。

株式会社 薬効開発研究会

本 部 / 〒108 東京都港区高輪3丁目11番地25号

MG高輪ビル

TEL. 03-3447-6751

FAX. 03-3447-7027

研究所 / 〒355 埼玉県東松山市大字東平656-1

TEL. 0493-24-5120

FAX. 0493-24-5429

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1-1-11
興和芝公園ビル 5階 (〒105)

Tel: 03(3436)4446

Fax: 03(3436)5826

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

Tel: + 44 (480) - 890431

Fax: + 44 (480) - 890693



THE CENTRE OF EXCELLENCE

財団法人 **畜産生物科学安全研究所**

- 動物用医薬品・飼料添加物等の各種試験受託機関
- 食品衛生法指定検査機関

〈試験項目〉

- 家畜、家禽による薬剤残留試験、吸排分布試験、安全性試験
- 各種毒性試験
- 寄生虫、原虫に対する薬剤効果試験
- イヌ、ネコによる各種試験
- 畜産物の薬物残留検査

理事長 山本 格也

神奈川県相模原市橋本台三丁目7番11号
電話 0427-62-2775・2755 FAX 0427-62-7979

PATHOLOGY

〈病理受託〉

■ 人体病理

組織診断報告書作成 (認定病理医)
細胞診断報告書作成 (認定指導医)
細胞検査報告書作成 (認定細胞検査士)
電子顕微鏡所見報告書作成 (電顕病理学者)

■ 実験病理

病理組織学的所見報告書作成 (病理学者)
電子顕微鏡所見報告書作成 (電顕病理学者)

■ 病理組織標本作製

光学顕微鏡用標本作製
(H.E.染色標本) (各種特殊染色標本)
(各種免疫染色標本) (凍結切片標本)
電顕用標本作製及び写真撮影
(走査型) (透過型)



PATHOLOGICAL-
STUDY SECTION

LABORIC SERVICE CO., LTD.

1-12-4 NISHIMIKUNI YODOGAWA-KU,
OSAKA 〒532, TEL.06(350)2812

ラボリックサービス株式会社

病理部 〒532 大阪市淀川区西三国1-12-4
TEL.06(350)2812 FAX.06(350)2814

浜松研究所



受託試験項目

- 単回投与試験 (急性毒性試験)
- 反復投与試験 (亜急性・慢性毒性試験)
- 生殖・発生毒性試験 (催奇形性試験, 後世代試験)
- 癌原性試験 ■ 抗原性試験
- 光毒性及び光感作性試験
- 刺激性試験 ■ 発熱性物質試験
- 生体内運命試験

試験受託に関する問い合わせ先

〒日本セイギケン総合研究所 企画管理部
 〒433 静岡県浜松市葵町95-10
 TEL.053-437-5348(代) FAX.053-436-4320

安全性試験受託施設



株式会社 日本セイギケン総合研究所 (略称・セイギケン)
 研究所/静岡県浜松市葵町95-10 ☎(053)437-5348(代) FAX(053)436-4320
 中伊豆支所/静岡県田方郡中伊豆町筏場804-56 ☎(0558)83-2326(代) FAX(0558)83-2479

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

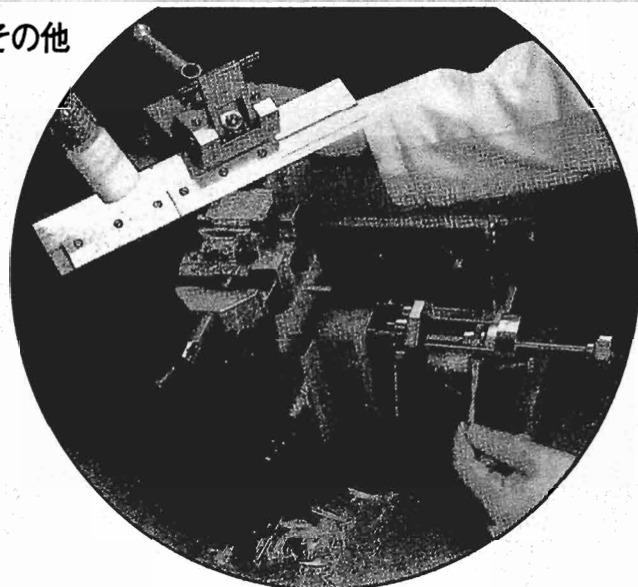
〒001 札幌市北区北30条西11丁目
☎011(757)4039 (担当: 岡 強)

信頼できるパートナーとして安全性試験の受託

医薬・農業・食品添加物・化粧品 その他

【受託試験項目】

- 一般毒性試験
(単回・反復投与)
- 特殊毒性試験
(生殖・発生、癌原性、局所刺激)
- 病理組織標本の作製・検査
- 血液学・血液生化学的検査
- 機器分析
- その他



 **日生研株式会社**

〒198 東京都青梅市新町2221-1
TEL. 0428-31-5135 (代)

9203



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



FILL · THE · GAP

株式会社
パナファーム ラボラトリーズ

〒869-04 熊本県宇土市栗崎町1285 TEL.0964-23-5111(代) FAX.0964-23-5122

- 安全性研究所 TEL.0964-23-2299 FAX.0964-23-2977
- 生化学研究所 TEL.0964-23-5115 FAX.0964-23-2978
- 代謝薬理研究所 TEL.0964-23-5116 FAX.0964-23-5129
- 大阪連絡事務所 TEL.0727-52-6220 FAX.0727-52-6228

New Drug Development Research Center, INC.

信頼される受託研究機関として

- 一般毒性試験 生殖・発生毒性試験 局所刺激性試験 抗原性試験
依存性試験 がん原性試験
- 一般薬理試験 薬効薬理試験 薬物動態試験
- 生物学的同等性試験（動物及び健常人、採血から定量、評価まで）安定性試験
- その他 論文投稿 開発コンサルタント業務など

（試験のお問い合わせは研究企画事業本部または京都事務所までお願い致します。）

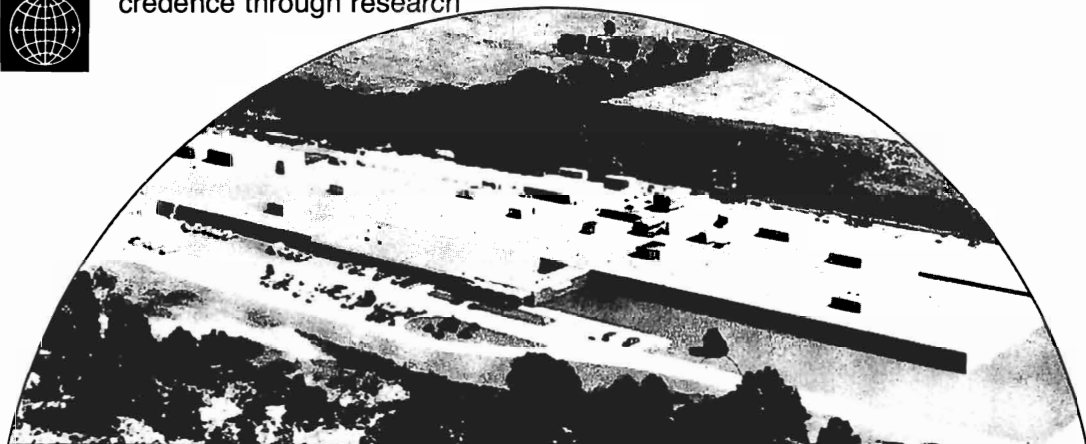
MR 株式会社 新薬開発研究所

中央研究所 / 〒061-14 北海道恵庭市戸磯452-1
 岩見沢研究所 / 〒069-03 北海道岩見沢市上幌向町559-13
 研究企画事業本部 / 〒160 東京都新宿区西新宿3-9-3 第3梅村ビル
 京都事務所 / 〒601-13 京都市伏見区醍醐僧尊坊町1-47

TEL(0123)34-0111(代) FAX(0123)34-1950
 TEL(0126)26-3611(代) FAX(0126)26-4207
 TEL(03)3374-5407(代) FAX(03)3374-5745
 TEL(075)573-7213(代) FAX(075)571-2974



"credence through research"



IRDC

総合受託研究所

International Research and Development Corporation (Mattawan, Michigan, U.S.A.) は化学物質の安全性評価試験を行なう完全独立総合受託研究所です。

IRDCは400人の研究員と110acreの敷地に45,100m²の施設を擁し、厳密・公正な評価研究を遂行して、医薬・農薬・化学薬品・食品・化粧品その他の工業界および公共諸機関の依頼に応じてきました。

IRDCのスタッフはかつて欧米の関係機関で重要な地位にあり、多くの国々・国際機関と密接な関係をもっていた科学者です。

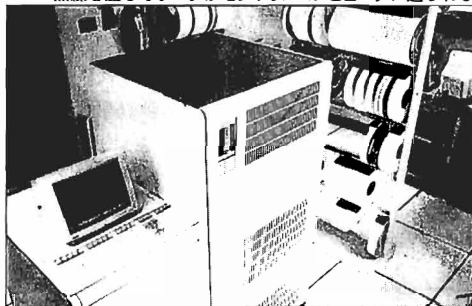
- 一般毒性試験
- 吸入毒性試験
- 生殖・世代試験
- 発癌性試験
- データ統計処理・レポート
- Quality Assurance



音声により病理所見が入力される



無線を通じてデータがセントラルコンピュータに送られる



セントラルコンピュータ

IRDC日本総代理店

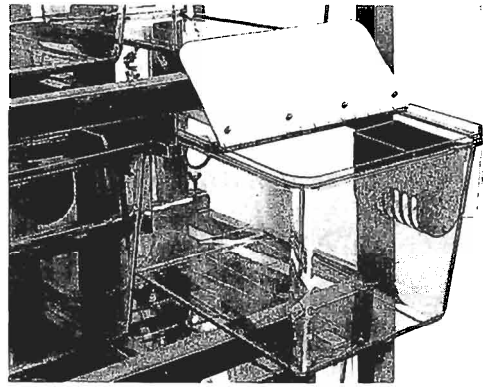
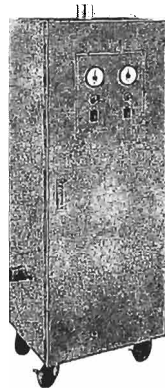
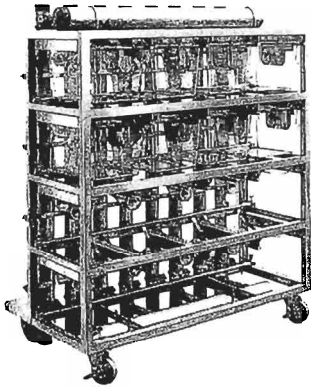
KASHO 加商株式会社

ライフサイエンスグループ

〒103 東京都中央区日本橋2-14-9 ☎(03)3276-7673・7674

ニュー アイソレーター

強制給排気有蓋気密方式、自動給水器付



特長 クロスコンタミの防御、労働力の節約、空調エネルギーの激減、人、及び動物のアレルギーを無くし、床敷の交換回数を減らしますので、必要経費を大巾に下げます。

給排気を制御しますので、温湿度、室内細菌等の管理は無くなります。

異種の動物を同室内で飼育できます。

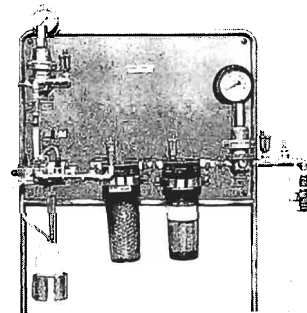
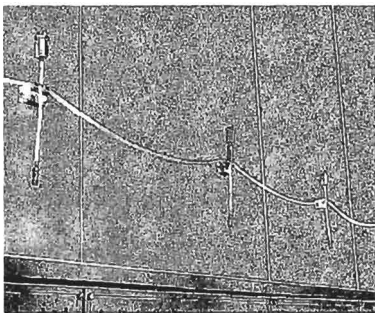
自動給水簡易蓋止め等、取り扱い易く、作業ミスをカバーできます。

給排気管はゴム栓止めなので洗浄、掃除が容易で死角が少なく、オートクレイブもできます。空調施設(5台以上)設計・製作致します。

透明チューブ方法の自動給水室内配管

チューブの内径に水が充満しますので完全消毒が出来ます。

塩素を含まない無菌水を供給出来ます。



特長 死水が無い。取付け易い(配管工不要)、耐震性大、低価、使い捨て可能、高圧滅菌可能。

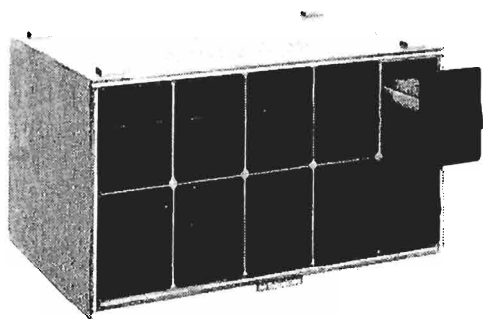
製造・販売

有限会社 仁木商事
ウォーターリングシステム社

〒113 東京都文京区湯島2丁目22番13号
電話 (03)3836-0718 番

〒113 東京都文京区湯島2丁目22番11号
電話 (03)3834-1881(代表)

オブジェクト整理箱



セット図
T-80型

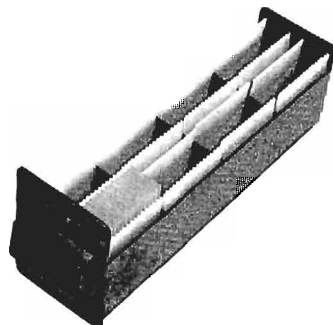
外寸法 巾410×横275×高さ235

外木製引出スチロール

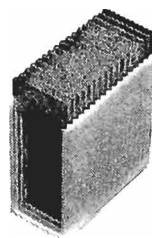
格納中枠無しで3000枚

中枠使用すると1360枚

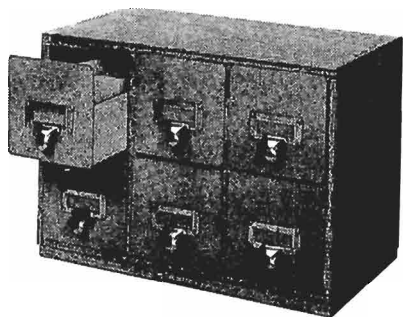
此の様な便利な整理箱で有ります



引出の図



硝子ケース中枠

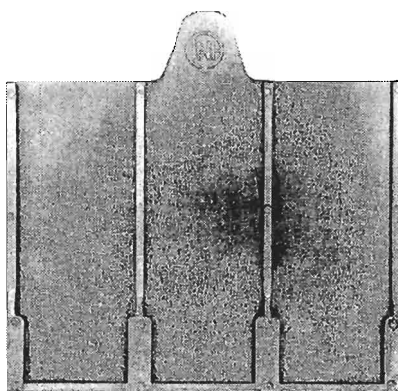


セット図
T-79型

外寸法 巾345×横195×高さ195

外木箱引出ポリエチレン樹脂

格納1620枚



ポリプロン製硝子

差込ケース三枚用で

白色で透明が出きます



株式会社
高島商店

東京都文京区湯島2丁目22番11号

電話 東京 (3834) 1881 代表

Charles River



充実した設備から、確かな品質を日本全国へ。
私たちは、チャールス・リバーです。

The International Standard

Cri: CD(SD), Crj: Wistar	C3H/HeNCrj, BALB/cAnNCrj, DBA/1JNCrj
Cri: CD-1(ICR), Crj: Hartley	C57BL/6NCrj, DBA/2NCrj, CBA/JNCrj
F344/DuCrj(Fischer), SHR/NCrj	Crj: BDF ₁ , Crj: CDF ₁ , Crj: CBF ₁
WKY/NCrj(Wistar Kyoto)	Cri: B6C3F ₁ , Crj: NZBWF ₁
LEW/Crj(Wistar Lewis)	Crj: CD-1(ICR) ^{nu/nu} , BALB/cAnNCrj ^{nu/nu}
Crj: Donryu, BN/RijCrj	MRL/MpJUmCrj ^{-lpr/lpr}

■マウス・ラット・ハムスター用飼料(CRF-1)

■実験動物用床敷

■動物実験機器(ケージ、ラック、給水器、給餌器) (ホワイフレック、サンフレック、ベータチップ)

■輸入動物(各種ラット、マウス、イヌ、サル、ミニブタ等)



日本チャールス・リバー株式会社

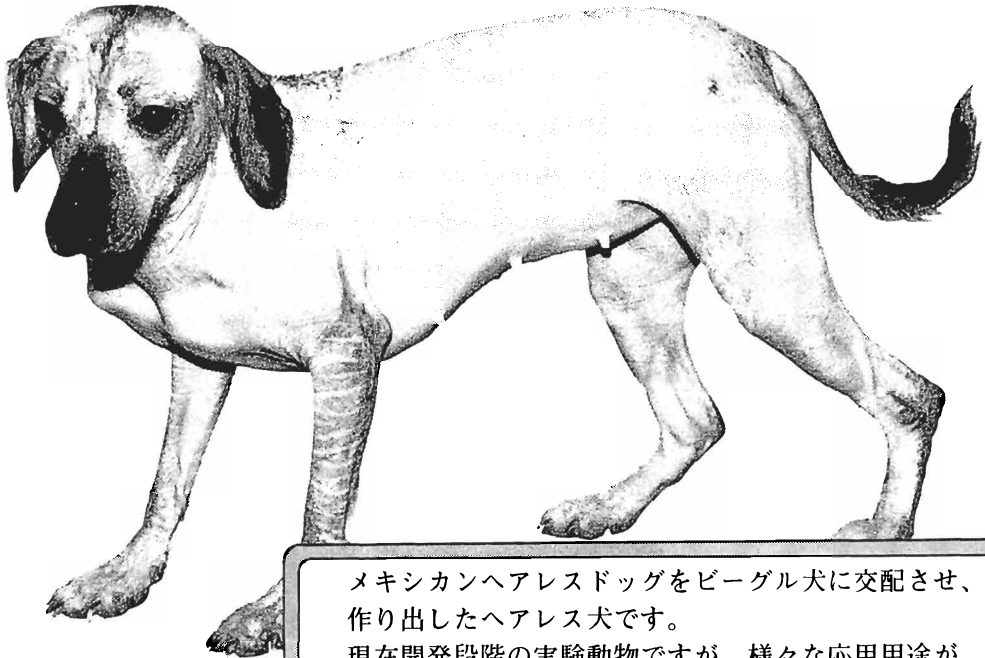
本社	〒222 横浜市港北区新横浜3-19-5(新横浜第2センタービル)	☎045(474)9330
東京営業所	〒222 横浜市港北区新横浜3-19-5(新横浜第2センタービル)	☎045(474)9340
大阪営業所	〒550 大阪市西区西本町1-11-9(スギノビル)	☎06(543)3901
つくば営業所	〒300-26 茨城県つくば市東光台2-23(ニューハイツ東光台A-102)	☎0298(47)3525
厚木飼育センター	〒243-02 神奈川県厚木市下古沢795	☎0462(47)8331
日野飼育センター	〒529-16 滋賀県蒲生郡日野町下駒月735	☎0748(53)1281

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

お問い合わせ、ご注文は受注センター(☎045(474)9350 FAX045(474)9351)で承ります。

ノーサンヘアレス犬

(メキシカンヘアレスドッグ由来)



メキシカンヘアレスドッグをビーグル犬に交配させ、作り出したヘアレス犬です。現在開発段階の実験動物ですが、様々な応用用途が期待されています。

■用途開発

- 皮膚毒性試験分野
- 皮膚科学領域での応用
- 皮膚免疫異常の研究
- 化粧品(UVケア商品)開発

ラボ用飼料

ノーサンラボシリーズ

“食”の基盤を支える総合食品企業——日本農産工業がお届けするノーサンラボシリーズ。健康で豊かな未来へ向けて、21世紀のバイオメディカルリサーチの一翼を担います。

- ラボ用飼料(マウス・ラット用、ウサギ・モルモット用、イヌ・ネコ用、サル用)
- 精製飼料
- 実験動物(ノーサン・ビーグル犬)
- 実験動物用器材
- 受託試験

★お問い合わせ先：特品部 〒220 横浜市西区北幸1-11-20 相鉄KSビル ☎(045)323-3271

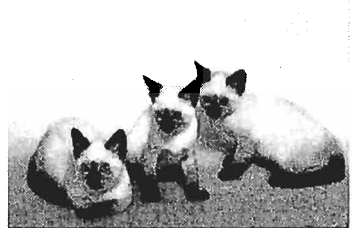
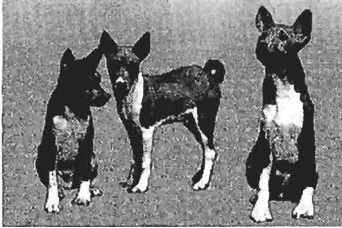
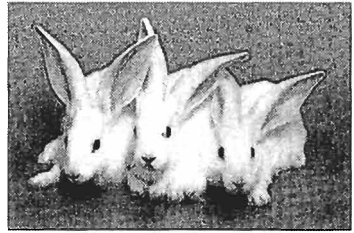


日本農産工業

本社 〒220 横浜市西区北幸1-11-20 ☎(045)323-3200
中央研究所 〒273 船橋市日の出2-20-4 ☎(0474)33-7671
筑波試験場 〒300-33 つくば市大字田倉5246 ☎(0298)47-3944

技術と心

Technological Innovations with Heart is Our Strength



株式会社

CSK リサーチパーク

本社	〒392	長野県諏訪市豊田 6 5 9 8	TEL.0266(53)2448	FAX.0266(53)1949
東京 ブランチ	〒171	東京都豊島区高田 3-4 1-8	TEL.03(3987)7122	FAX.03(3987)5290
御殿場 ブランチ	〒412	静岡県御殿場市駒門 1-1 3 5	TEL.0550(87)5463	FAX.0550(87)3621
伊那 ブランチ	〒399-46	長野県上伊那郡箕輪町中箕輪南原14016	TEL.0265(79)0709	FAX.0265(79)6693
東京 オフィス	〒171	東京都豊島区高田 3-4 1-8	TEL.03(3983)8605	FAX.03(3983)7858

BIORESEARCH

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



BIOCHEMICALS

- 生化学試薬
- 免疫試薬(抗ヒト血清) ○ヒト血液タンパク



- 酸素計 ○エキス、ペプトン
- インゴールド社製pH電極、菌濃度計
- 各種ファーメンター

- 微量過酸化水素分析計
- 鮮度測定器



BIOPROCESS

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



GIBCO



オリエンタル酵母工業株式会社

バイオ関連事業部

〒103 東京都中央区日本橋小伝馬町10番11号

いのち
**生命をはぐくみ、
暮らしをささえる。**

私たちは、安全に厳しい目を注ぎ、
地球規模で、食糧の安定確保と
環境保全に貢献していきます。



日本農薬株式会社
東京都中央区日本橋1丁目2番5号
TEL 03-3274-3377

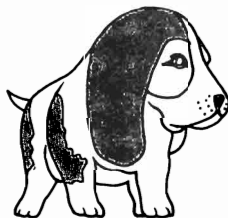
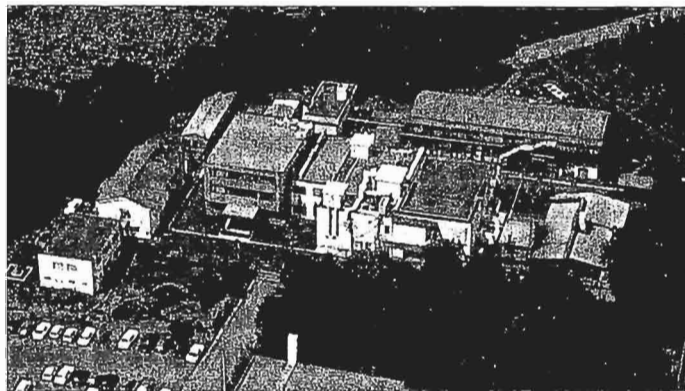
IMAMICHI INSTITUTE FOR ANIMAL REPRODUCTION

あなたの実験に
お使いください。

Wistar-Imamichi Rat

NCSマウス・病態モデル

ビーグル・ミニブタ



ビーグル犬



NCSマウス

安全性試験研究センター

- 医薬／農薬GLP適合安全性試験
- 薬理試験

財団法人 **動物繁殖研究所**

〒300-01 茨城県新治郡出島村深谷1103
☎0298-97-0631 FAX0298-97-1158

実験動物 SLCの



Quality Research

●クローズドコロニー●

マウス Slc:ddY
Slc:ICR
ラット HOS®:Donryu
モルモット Slc:Hartley

●近交系●

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

●交雑群●

マウス Slc:BDF1
Slc:CDF1
Slc:B6C3F1

●ミュータント系●

ヌードマウス BALB/c-nu Slc
KSN ヌードマウス

from

受託生産動物

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

疾患モデル動物

マウス Slc:NZBWF1
Slc:WBB6F1-W/WV
MRL/MpJ-lpr/lpr
ラット DA/Slc

SLC

日本エス エル シー株式会社

〒431-11 静岡県浜松市湖東町3371番地の8 TEL<053>486-3178代
営業専用TEL/関東エリア<053>486-3155代・関西エリア<053>486-3157代

Quality Animals

噴水式自動飼育架台(万能型)



巾1.38m × 奥0.48m × 高1.762m 高1.900m
(自走車を含む)



噴水ノズルが自走車と共に左右に移動しながら、各棚段を噴射洗滌します。汚物は後部に流して下水処理するか、アミで固形物だけ取り出す事も可能です。

噴水ノズルの先端にはエッチ付平面ヘラが装着されていますから、乾いた固形物でも処理可能です。噴水時間約30秒、30ℓ(1日1~8回)です。室内飲料水用配管は水道直接ステン管(3分)です。詳細はカタログを御覧下さい。

天井又は壁、下水用配管 → 電磁弁 → 自走車 → 噴水管 → 棚段洗滌 → 下水溜タンク(50ℓ)(アミ取付可能)キャスター付固形汚物は下水溜タンクでネットを使って取り出す事も出来ます。→ ゴムホース → 室内下水管(25mm) → 建物内下水管 → 外へ排出されます。

- ほぼ100%省力が出来ます。
- ウサギ三段で175cmの高さが可能です。
- 雑音機械が全く有りません。
- 尿石が付着しません。
- 汚物は完全に流れます。
- 水道、電気料は500円以内です。
- ポリシートを使いますから、本体は光沢を失いません。

製造・販売

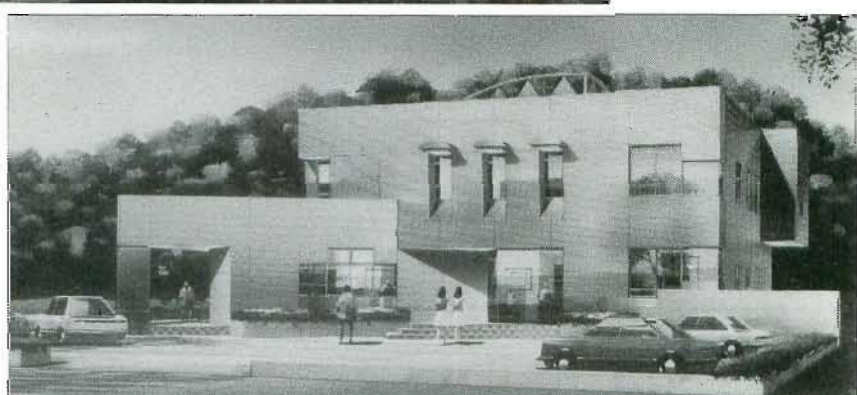
(有) 仁木商事

〒113 東京都文京区湯島2丁目22番11号
☎ (03)3834-1881(代)・3836-0718

医薬・農薬・食品・化粧品等 化学物質の安全性評価・一般薬理試験



榛名試験所全景



高崎病理センター

- 病理組織標本作製
- 病理組織診断
- 電子顕微鏡標本作製・微細形態学的診断

株式会社

実医研

<p>本社 〒104 東京都中央区八丁堀3-13-8 トリヤビル6F TEL.03-3206-7610(代表) FAX.03-3206-7681</p> <p>大阪営業所 〒532 大阪市淀川区中島3-5-2 新居第10ビル803号室 TEL. 06-307-4791 FAX. 06-307-4790</p>	<p>榛名試験所 〒377-09 群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸字花立3303-58 TEL.0279-69-2216 FAX.0279-69-2851</p> <p>高崎病理センター 〒370-33 群馬県群馬郡榛名町大字中里見字根岸416 TEL.0273-74-4951 FAX.0273-74-4957</p>
---	---