

第17回日本毒性病理学会

講演要旨集



2001年1月25～26日

淡路

第17回日本毒性病理学会

1. 期 日 2001年1月25日(木)、26日(金)

2. 会 場 淡路夢舞台国際会議場

3. 会 長 奈良間功(摂南大学・薬・安全研)

4. 副 会 長 川合是彰(田辺製薬)

野々山孝(武田薬品)

5. プログラム委員会

委 員 長 福島昭治(大阪市大・都市環境病理)

委 員 泉 啓介(徳島大・医・第2病理)

大石裕司(藤沢薬品)

奥野泰由(住友化学)

堤 雅弘(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

(50音順)

6. 日 程

第1日 1月25日(木)

口演会場(メインホール)		ポスター会場(ホテル・国際会議場連絡通路)	
8:30	総合受付開始	8:30~12:00	ポスター受付・展示
9:25~9:30	開会挨拶		
9:30~10:50	口演(1~8)		
11:00~11:55	教育講演		
12:00~13:00	評議員会(レプションホールB)	13:10~14:40	ポスター質疑(P-1-1~59)
14:50~15:50	口演(9~14)		
15:55~17:55	シンポジウム1		

※懇親会(ウェスティンホテル淡路「ステラ」) 18:30~20:30

第2日 1月26日(金)

口演会場(メインホール)		ポスター会場(ホテル・国際会議場連絡通路)	
8:30	総合受付開始		
9:00~10:00	口演(15~20)		
		10:05~11:35	ポスター質疑(P-2-1~67)
11:40~12:00	IATP	12:00~16:00	ポスター撤去
12:50~13:20	総会		
13:25~15:55	シンポジウム2		
16:00~16:10	表彰式および閉会式		

7. 事務局

(会期前)

〒573-0101 枚方市長尾峠町 45-1
 摂南大学薬学部薬物安全科学研究所
 電話: 072-866-3162
 ファックス: 072-867-2370
 e-mail: jstp2001@pharm.setsunan.ac.jp

(会期中)

〒656-2301 兵庫県津名郡東浦町夢舞台1
 兵庫県立淡路夢舞台国際会議場
 電話: 0799-74-1022 (ダイヤル)
 0799-74-1000 (代表)
 ファックス: 0799-74-1001

参加者へのお願い

参加者の方へ

1. 総合受付は学会両日午前8時30分から国際会議場 2F 受付にて行います。
2. **事前登録者**:総合受付で「郵便払込票兼受領証」を提示し、参加章を受け取り、氏名・所属を確認の上、会期中は必ず身につけて下さい。
3. **当日参加者**:総合受付で参加費(10,000円)を納入して参加章を受け取り、氏名・所属を記入の上、会期中は必ず身につけて下さい。
4. 質問・討論される方は、マイクの前に並んだうえ座長の指示に従って所属と氏名を述べてから発言して下さい。

演者の方へ

1. 講演時間は7分(6分に予告)、討論時間は3分です。
2. プロジェクターは35mm版用を1台用意します。
3. スライドは口演開始30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にお着き下さい。
5. 講演時間は厳守して下さい。
6. スライドの送りは演者で行って下さい。焦点合わせは係員が行いますが、お気に召さない場合は手元のスイッチをご利用下さい。

座長の方へ

1. 口演担当の座長の方は、ご担当30分前までにスライド受付にお越し下さい。
2. 次座長の方は次座長席にお着き下さい。
3. 示説担当の座長の方は質疑応答開始前までに示説受付へお越し下さい。

総会及び評議員会のご案内

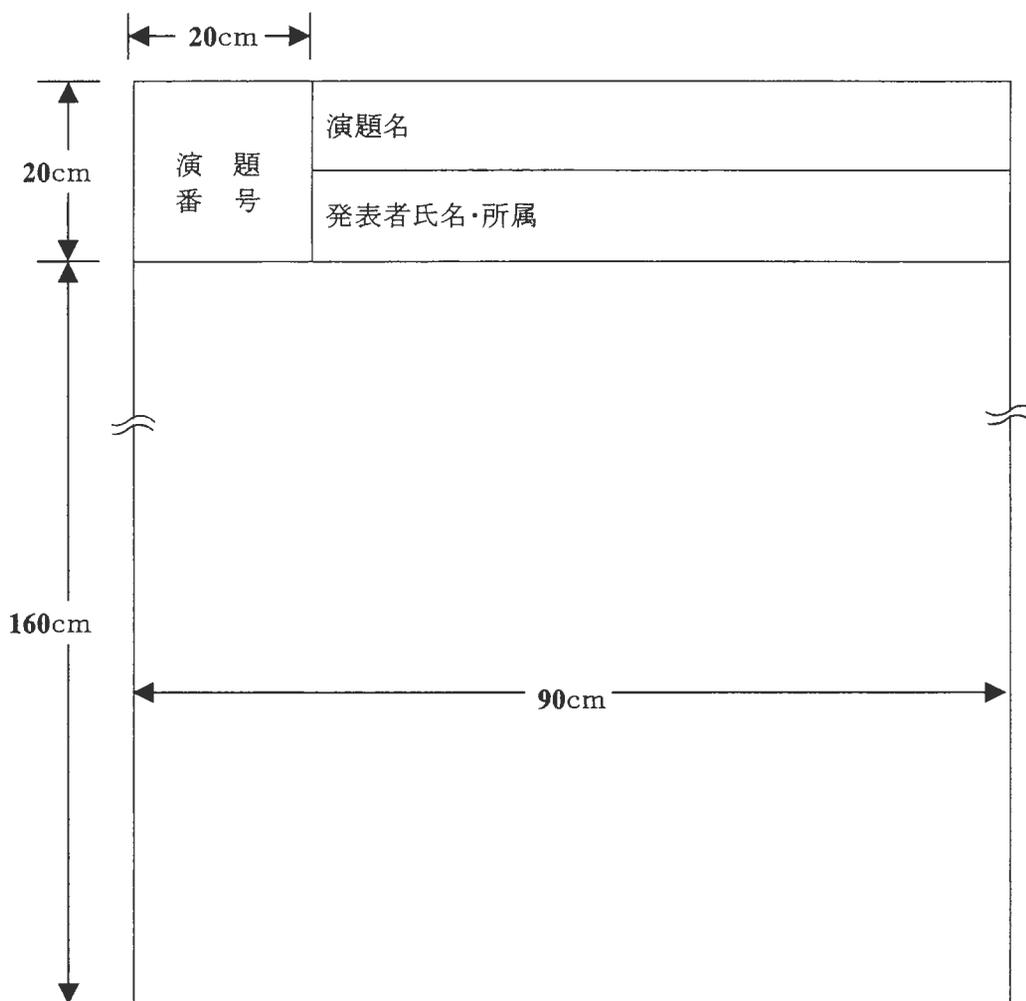
1. 評議員会は学会第1日目の12時00分より国際会議場 2Fレセプションホール Bにて行います(要:昼食代1,000円)。
2. 総会は学会第2日目の12時50分より国際会議場 2Fメインホールにて行います。

懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第1日目の18時30分から20時30分までウェスティンホテル淡路・1階「ステラ」にて開催します。
2. 懇親会費8,000円:若干名についてのみ総合受付にて受け付けます。
3. 事前登録者は、総合受付で学会・懇親会参加章をお受け取り下さい。

ポスター発表をされる方へ

1. 学会第1日目12時00分までに受付と展示を済ませて下さい。
2. 展示時間は学会第1日目8時30分から学会第2日目12時00分までです。ポスターの討論時間は、第1日目13時10分から14時40分、第2日目10時05分から11時35分です。各演者の方は、座長の指示に従って発表・討論をお願いします(発表1分、質疑4分以内)。その他の時間は座長なしの自由討論といたしますので必ずパネルの前に待機して下さい。
3. パネルの大きさは縦180cm、横90cmです(下図参照)。
4. 展示には学会で用意した画紙を使用して下さい。
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、展示して下さい(演題番号は、主催者側で用意します)。
6. ポスターは第2日目12時00分から16時00の間に撤去して下さい。



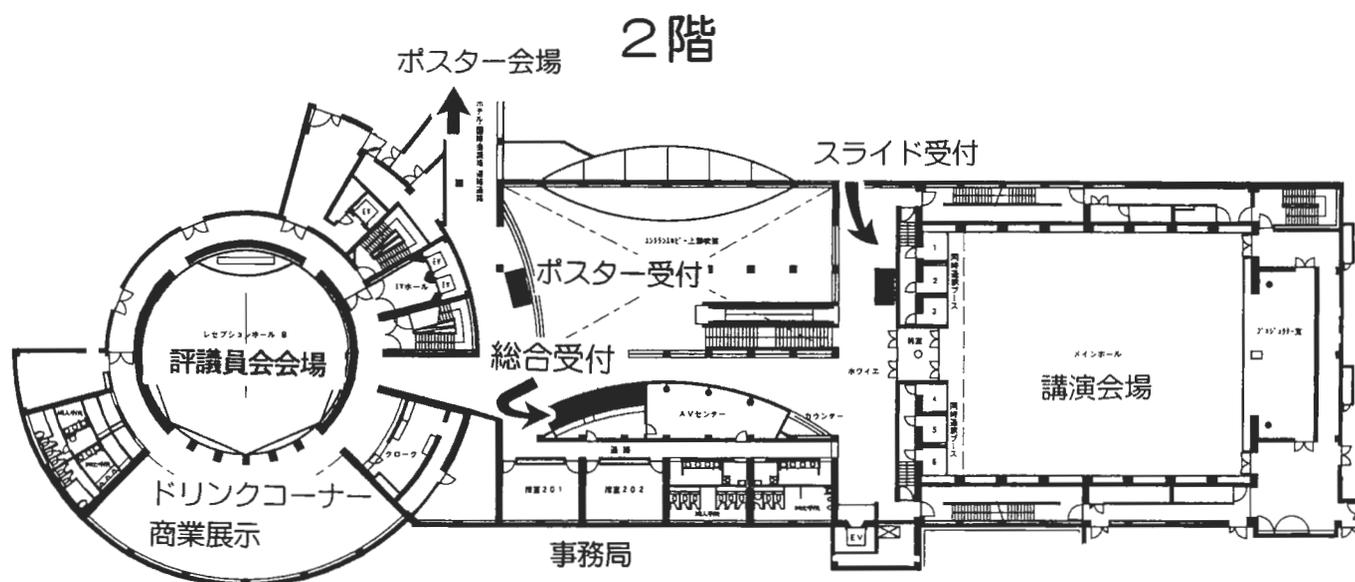
会場案内図

淡路夢舞台国際会議場 (2F)

〒656-2301 兵庫県津名郡東浦町夢舞台1

Tel:0799-74-1022

Fax:0799-74-1001



総合受付:2F 中央

口演, 教育講演, IATP, 総会, シンポジウム:2F メインホール

スライド受付:2F メインホール手前ホワイエ

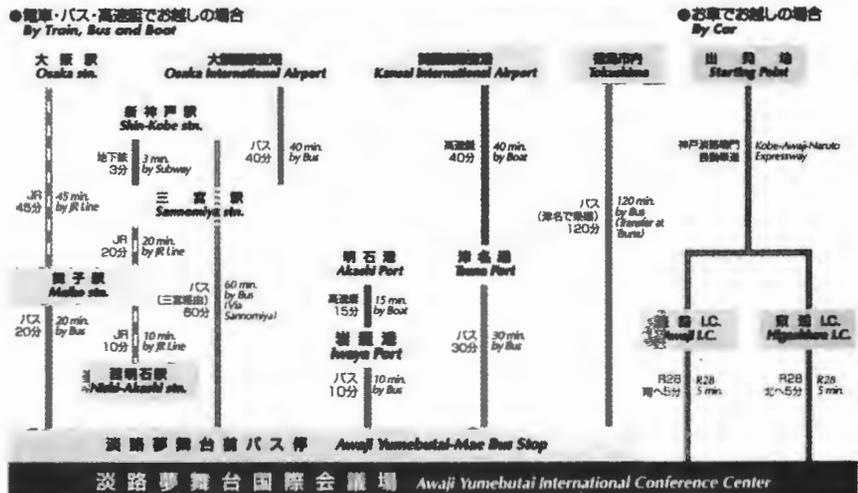
ポスター会場:2F ホテル国際会議場連絡通路

ポスター受付:2F エントランスロビー横

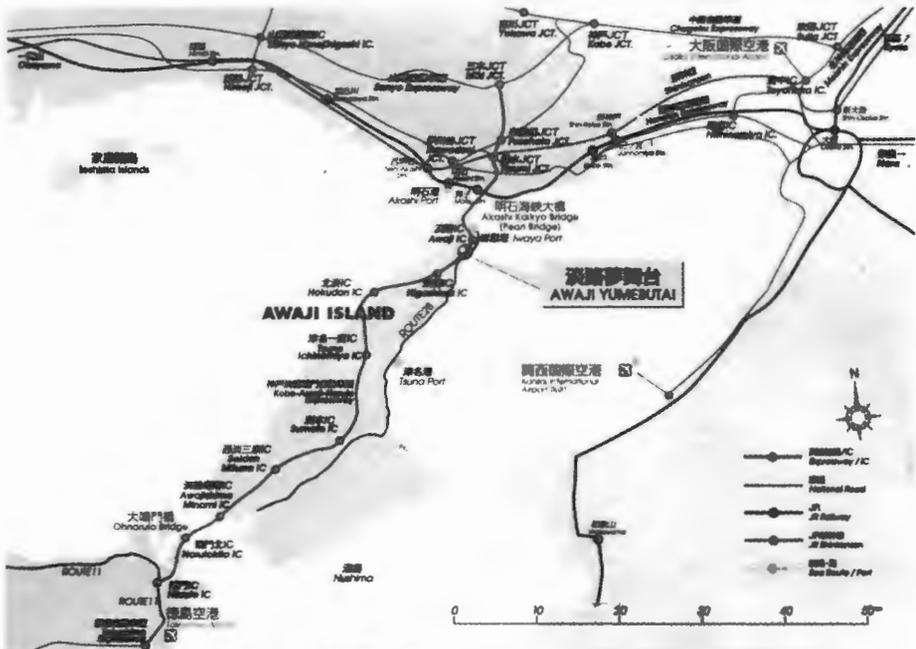
事務局:2F 201, 202号室

交通案内図

兵庫県立 淡路夢舞台国際会議場へのアクセス Access to Awaji Yumebutai International Conference Center



お車で (By Car)
 ●大阪市内から80分 60 min. from Osaka ●神戸市内から30分 30 min. from Kobe ●徳島市内から90分 90 min. from Tokushima
 ●関西国際空港から120分 120 min. from Kansai International Airport



兵庫県立 淡路夢舞台国際会議場
Awaji Yumebutai International Conference Center
 〒656-2301 兵庫県淡路市東淡路1番地
1 Yumebutai Higashikura-cho, Yuna-gun, Hyogo
 TEL.0799-74-1020 FAX.0799-74-1021
<http://www.yumebutai.co.jp> Sept 2000

各地から淡路夢舞台国際会議場へのアクセス

2000/9/20

舞子	⇒バス =20分、¥500円 (7:30~20:30運行、30分おき *20:55, 21:25, 21:55, 22:25, 22:55発は岩屋港止、*21:00, 21:30発は大磯港止) ⇒			淡路夢舞台
三宮	⇒JR =20分、¥290円 (6:01~24:28運行、5~10分おき) ⇒	舞子	舞子からは上記 ⇒	淡路夢舞台
	⇒バス =三宮発50分(新神戸発:60分)、¥900円(新神戸発・三宮発とも) (7:20~18:20運行、1時間おき *19:20, 20:20発は大磯港止) ⇒			
	⇒お車 =阪神高速神戸線、第2神明、神戸淡路鳴門道経由:30分、30km、¥3,300円(¥500+¥200+¥2600) ⇒			
大阪	⇒JR =45分、¥780円 (5:28~24:02運行、10~15分おき) ⇒	舞子	舞子からは上記 ⇒	淡路夢舞台
	⇒お車 =阪神高速神戸線(東+西地区)、第2神明、神戸淡路鳴門道経由:60分、60km、¥4,000円(¥700+¥500+¥200+¥2600) ⇒			
明石	⇒JR =5分、¥160円 (5:00~24:11運行、5分おき) ⇒	舞子	舞子からは上記 ⇒	淡路夢舞台
明石港	⇒高速艇 =15分、¥410円 (4:05~21:30運行、20~30分おき) ⇒	岩屋港	⇒バス =10分、¥250円 (6:30~21:50運行、30~40分おき) ⇒	
関西国際空港	⇒バス =70分、¥1,800円 (6:30~23:30運行、20~30分おき) ⇒	三宮	三宮からは上記 ⇒	淡路夢舞台
	⇒JR =60分、¥1,160円 (7:22~22:32運行、30~40分おき) ⇒	大阪	大阪からは上記 ⇒ (*開空-舞子間(JR)=110分、¥2,100円)	
	⇒高速艇 =40分、¥2,500円 (7:43~21:09運行、2時間おき) ⇒	津名港	⇒バス =30分、¥740円 (6:12~19:12運行、1時間おき) ⇒	
	⇒お車 =開空連絡橋、阪神高速(湾岸+神戸西地区)、第2神明、神戸淡路鳴門道経由:90分、100km、¥6,230円(¥1730(往復)+¥1700+¥200+¥2600) ⇒			
大阪国際空港	⇒バス =40分、¥1,020円 (7:45~21:10運行、15~20分おき) ⇒	三宮	三宮からは上記 ⇒	淡路夢舞台
	⇒バス =30分、¥620円 (7:50~21:25運行、15~20分おき) ⇒	大阪	大阪からは上記 ⇒	
	⇒お車 =中国道、山陽道、神戸淡路鳴門道経由:60分、75km、¥4,350円 ⇒			
徳島駅	⇒バス =90分、¥1,950円 (6:30~20:10運行、1~1.5時間おき) ⇒	津名港	⇒バス =30分、¥740円 (6:12~19:12運行、1時間おき) ⇒	淡路夢舞台
	⇒お車 =神戸淡路鳴門道経由:70分、85km、¥3,150円 ⇒			

(*記載は、交通手段、所要時間、運賃(料金)、運行時間帯・頻度の順)

*JR舞子駅から高速舞子バス停まで乗り換え(徒歩)5分
*淡路夢舞台前バス停から淡路夢舞台国際会議場まで徒歩3分

タクシー料金

	時間	料金(1台:概算)	
神戸三宮から	30分	¥18,000円	明石海峡大橋往復通行料等を含む
舞子から	20分	¥13,500円	明石海峡大橋往復通行料等を含む
明石から	30分	¥16,200円	明石海峡大橋往復通行料等を含む
岩屋港から	10分	¥1,500円	
大磯港から	5分	¥700円	
津名港から	30分	¥6,000円	
関西国際空港	90分	¥42,000円	明石海峡大橋往復通行料等を含む
大阪国際空港	60分	¥30,000円	明石海峡大橋往復通行料等を含む
徳島駅から	70分	¥30,000円	大鳴門橋往復通行料等を含む

高速舞子~淡路夢舞台 高速バス時刻表(平日)

TIME TABLE FROM MAIKO STATION TO YUMEBUTAI BUS STOP

高速バスのりばのご案内 [高速舞子]

JR舞子駅 電報掛橋 山陽電鉄 舞子公園駅

淡路島行き高速バスターミナルビル(5階) 明石海峡大橋渡り場バス停
1番のりば (淡路ポート経由 淡路夢舞台行)
2番のりば (大磯港経由 淡路夢舞台行・舞子・津名港)

所要時間
船印 淡路ポート経由 25分
大印 大磯港経由 21分
船印 舞子・津名港(経費別) 16分

運賃 FARE ¥500

種別(のりば)	MAIKO		YUMEBUTAI		
	高速舞子	淡路夢舞台	淡路夢舞台	高速舞子	
大(2)	7:30	7:51	津	6:44	7:00
大(1)	7:30	7:55	津	7:19	7:35
津(2)	7:40	7:56	大	7:53	8:15
津(1)	7:55	8:20	岩	8:10	8:35
津(2)	8:10	8:26	津	8:14	8:30
大(2)	8:30	8:51	大	8:23	8:45
大(1)	8:50	9:15	岩	8:35	9:00
津(2)	9:10	9:26	大	8:53	9:15
大(1)	9:15	9:40	津	9:04	9:20
大(1)	9:35	10:00	大	9:23	9:45
津(2)	9:45	10:01	岩	9:35	10:00
大(2)	10:00	10:21	津	10:04	10:20
大(1)	10:15	10:40	岩	10:10	10:35
大(2)	10:30	10:51	大	10:23	10:45
津(2)	10:45	11:01	大	10:53	11:15
大(1)	10:55	11:20	岩	11:10	11:35
大(2)	11:00	11:21	大	11:23	11:45
大(2)	11:30	11:51	大	11:54	12:15
大(1)	11:55	12:20	津	12:04	12:20
大(2)	12:00	12:21	岩	12:05	12:30
大(2)	12:30	12:51	大	12:23	12:45
津(2)	12:45	13:01	大	12:54	13:15
大(2)	13:00	13:21	津	13:04	13:20
大(1)	13:25	13:50	岩	13:05	13:30
大(2)	13:30	13:51	大	13:23	13:45
津(2)	13:45	14:01	大	13:54	14:15
大(2)	14:00	14:21	大	14:23	14:45
大(1)	14:25	14:50	津	14:34	14:50
大(2)	14:30	14:51	岩	14:35	15:00
大(2)	15:00	15:21	大	14:54	15:15
大(1)	15:25	15:50	大	15:23	15:45
大(2)	15:30	15:51	岩	15:35	16:00
津(2)	15:45	16:01	津	15:49	16:05
大(2)	16:00	16:21	大	15:53	16:15
大(2)	16:30	16:51	大	16:23	16:45
津(2)	16:45	17:01	岩	16:35	17:00
大(1)	16:55	17:20	大	16:53	17:15
大(2)	17:00	17:21	岩	17:05	17:30
大(1)	17:25	17:50	大	17:23	17:45
大(1)	18:25	18:50	岩	17:35	18:00
大(2)	18:30	18:51	津	17:44	18:00
津(2)	18:45	19:01	大	18:23	18:45
大(2)	19:00	19:21	岩	18:35	19:00
大(1)	19:25	19:50	津	18:44	19:00
大(2)	19:30	19:51	大	18:53	19:15
津(2)	19:45	20:01	大	19:23	19:45
大(1)	20:25	20:50	岩	19:35	20:00
津(2)	20:25	20:41	津	19:44	20:00
大(2)	20:30	20:51	大	19:53	20:15
			岩	20:35	21:00
			大	20:53	21:15
			岩	21:05	21:30

お問い合わせ先
西日本JRバス 06-6302-8681 神尾バス 0792-23-1344
本四備前バス 078-393-0111 山陽バス 078-782-6528
淡路交通 0799-22-3121

新神戸・三宮～淡路夢舞台 高速バス時刻表 (平日・土日祝共通)

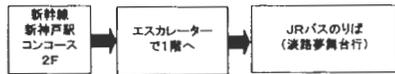
TIME TABLE FROM SHINKOBE STATION TO (VIA SANNOMIYA STATION YUMEBUTAI BUS STOP)

乗車券の発売

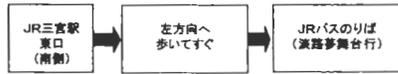
<発売開始> ご乗車日の1ヶ月1日前から発売します。空席がある場合、車内でも乗車券を発売いたします。

<発売場所> 全国のJR駅(みどりの窓口)、JRバス大駅、Tis(旅行センター)、JTB、日本旅行など主な旅行会社

高速バスのりばのご案内 [新幹線 新神戸駅]



高速バスのりばのご案内 [JR三宮駅]



お問い合わせ先

西日本JRバス TEL 06-6302-8681
WEST JAPAN RAILWAY CO.
本四海峡バス TEL 078-393-0111
HONSHIKAIKYOBUS CO.

運賃 FARE ONE WAY ¥900

[新神戸～淡路夢舞台 60分]

SHINKOBE STATION-YUMEBUTAI BUS STOP 60min.

[三宮～淡路夢舞台 50分]

SANNOMIYA STATION-YUMEBUTAI BUS STOP 50min.

SHINKOBE STATION BUS STOP	SANNOMIYA STATION BUS STOP	YUMEBUTAI BUS STOP	YUMEBUTAI BUS STOP	SANNOMIYA STATION BUS STOP	SHINKOBE STATION BUS STOP
DEP.	DEP.	ARR.	DEP.	ARR.	ARR.
07:20	07:30	08:19	08:23	09:12	09:19
08:20	08:30	09:19	09:23	10:12	10:19
09:20	09:30	10:21	10:23	11:12	11:19
10:20	10:30	11:21	11:23	12:12	12:19
11:20	11:30	12:21	13:23	14:12	14:19
13:20	13:30	14:21	15:23	16:12	16:19
15:20	15:30	16:21	16:23	17:12	17:19
16:20	16:30	17:21	17:23	18:12	18:19
17:20	17:30	18:19	18:23	19:12	19:19
18:20	18:30	19:21	19:23	20:12	20:19

関西国際空港～津名港～淡路夢舞台 高速艇&路線バス時刻表 (津名港でお乗り換え)

TIME TABLE FROM KANSAI AIRPORT TO (VIA TSUNA PORT) YUMEBUTAI BUS STOP

高速艇 SHIP

[関西国際空港・ポートターミナル～津名港 41分] 片道 ¥2500 / 往復 ¥4770

KIX-TSUNA PORT 41 min. FARE ONE WAY ¥2500 / R/T ¥4770

※ 高速艇の乗船運賃には、関西国際空港内連絡バス運賃が含まれています。

※ 関西国際空港内連絡バス <旅客ターミナル1F①②のりば → ポートターミナル> 所要時間 5分

(AIRPORT TERMINAL 1F TRACK NO.①② → PORT TERMINAL) > 5min.

路線バス BUS

[津名港～淡路夢舞台 31分]

¥740

TSUNA PORT-YUMEBUTAI BUS STOP 31min.

FARE ONE WAY ¥740

お問合せ先

<高速艇>

SHIP

淡路エアポートライン (津名港) TEL 0799-62-4155

AWAJI AIRPORT LINE FAX 0799-62-4551

<バス>

BUS

淡路交通

TEL 0799-22-3121

AWAJIKOTSU CO.

FAX 0799-22-3125

SHIP TRANSFER BUS				BUS TRANSFER SHIP			
関空	津名港	津名港	淡路	淡路	津名港	津名港	関空
高速艇	高速艇	バス停	夢舞台	夢舞台	バス停	高速艇	高速艇
(発)	(着)	(発)	(着)	(発)	(着)	(発)	(着)
KIX. PORTTERMINAL	TSUNA PORT	TSUNA BUS STOP	YUMEBUTAI BUS STOP	YUMEBUTAI BUS STOP	TSUNA BUS STOP	TSUNA PORT	KIX. PORTTERMINAL
DEP.	ARR.	DEP.	ARR.	DEP.	ARR.	DEP.	ARR.
07:43	08:24	08:27	08:59	07:56	08:28	08:47	09:29
		08:32	09:04	09:28	10:02	10:35	11:17
09:40	10:21	10:45	11:19	11:28	12:02	12:27	13:09
11:25	12:06	12:32	13:04	13:28	14:02	14:17	14:59
13:20	14:01	14:13	14:45	15:27	15:59	16:05	16:47
15:10	15:51	16:10	16:44	17:08	17:42	18:10	18:52
16:57	17:38	17:44	18:17	18:08	18:42	20:10	20:52
		休日 HOLIDAY	(17:42 18:14)				
19:00	19:41	20:10	20:44				
21:09	21:50	21:52	22:26				

淡路夢舞台「レストラン&ショップ」営業時間及び主なメニュー

店舗名	営業時間及び定休日	主なメニュー
ナルト 鳴門千鳥 (おみやげショップ)	10:00~18:30 第2木曜日(3月~10月) 第1・第2木曜(11月~2月)	淡路夢舞台オリジナルグッズ、淡路のタマネギを使ったスープやドレッシング、鳴門わかめ、お香、花の香水など淡路のお土産物が充実。
リストランテ ナーノ (イタリア料理)	11:00~15:30 (ラストオーダー14:30) 17:30~22:00 (ラストオーダー21:00) 第2木曜日	ランチタイム ランチセットメニュー1,500円~ ディナータイム ディナーセットメニュー3,500円~
オールド・ホンコンアジ・ユマ・タイテン 老香港酒家淡路夢舞台店 (中華料理)	11:30~15:00 (ラストオーダー14:30) 17:00~21:30 (ラストオーダー20:30) 毎週木曜日	ランチタイム ランチセットメニュー1,000円~ ディナータイム ディナーセットメニュー6,000円~(料金はご予算に応じます)
アコヤアジ・ユマ・タイテン あこや亭淡路夢舞台店 (和風レストラン)	11:00~15:00 (ラストオーダー15:00) 17:00~20:00 (ラストオーダー20:00) 第2木曜日	ランチタイム ランチセットメニュー900円~ ディナータイム ディナーセットメニュー2,000円~
トム・スタジオ TOM'S STUDIO (花・ハーブとオーガニックカフェ)	10:00~18:00 第2木曜日	南仏プロヴァンスの花市場から、花とハーブの香りを淡路島の潮風に乗せてお届けします。オーガニックカフェでは、100%有機栽培の商品提供を目指しています。
カイセンチュウ・ウヰ・スィ・メテン KAISEN厨房 あびす亭夢店 (海鮮料理)	11:00~15:00 (ラストオーダー14:30) 17:00~21:30 (ラストオーダー21:00) 毎週木曜日	ランチタイム ランチセットメニュー1,300円~ ディナータイム ディナーセットメニュー1,800円~
シュウカサイアジ・ユマ・タイテン 収穫祭淡路夢舞台店 (ビアレストラン)	11:00~21:00 (ラストオーダー20:30) 毎週木曜日	ランチタイム ランチセットメニュー850円~ ディナータイム アラカルトメニュー580円~

ウェスティンホテル淡路

特別ご優待のお知らせ

ウェスティンホテル淡路 ファンダイニング「コッコラーレ」では国際会議場ご利用のお客様に限り以下のご優待をさせていただきます。(土、日、祝日、特別イベントの期間におきましては、多少のお待ち時間や、御予約をお受けできない場合がございますのでご了承下さいませ。)

 **Coccolare**
コッコラーレ

この機会にぜひご利用下さいますようお願い申し上げます。

*期間 ~3月末日迄 4月以降はお問合せ下さいませ。

*他の時間帯におきましてもご要望などございましたら一度ご相談くださいませ。

☆buffetコーナー

Luncheon Buffet Coccolare

ランチオンbuffet コッコラーレ

11:30-14:30

Dinner Buffet Coccolare

ディナーbuffet コッコラーレ

17:30-21:30

 **CONDI**
PASTRY SHOP

コンファレンス利用者特別設定料金

大人 Adult ¥2,000 (税込)

小人 Child ¥1,000 (税込)

下記通常料金より10%OFF (税別)

大人 Adult ¥3,500

小人 Child ¥1,750 (小学4~6年生)

¥1,200 (小学1~3年生)

シルバー Silver ¥2,800 (65歳以上)

 **はなの**
JAPANESE RESTAURANT

☆アラカルトセット 以下のメニューにコーヒー又は紅茶付で1,500円(税込)

11:30~14:30

コッコラーレ特製どんぶり: Special Bowl "The Coccolare"

オリジナルオニオンカレー: Original Onion Curry (Specify Beef or Shrimps)

明石タコとジャコのピラフ 生姜風味: Octopus and "JAKO" Pilaff

ホテル特製ミックスサンドイッチ: Mixed Sandwich

ロースハムとグリエールチーズのホットサンドイッチ: Hot sandwich with Ham and Gruyere Cheese

ニンニク、赤唐辛子、オリーブオイルのスパゲッティ: Spaghetti Peperoncini

ポローニャ風ミートソーススパゲッティ: Spaghetti Bolognese

アンチョビー、ハム、トマト、玉子のピッツァ: Anchovy, Tomato, Ham and Egg Pizza

 **CENTELLINO**
PASTRY SHOP

 **WESTIN**
KIDS

 **Coccolare**
コッコラーレ

御予約、お問合せは 0799-74-1120 まで。
事前に本件ご優待の旨、お申し出下さい。
必要に応じて、オリジナル優待券の作成も承ります。

656-2301 兵庫県津名郡東浦町夢舞台2番地

2 Yumebutai, Higashiura-cho, Tsuna-gun, Hyogo 656-2301 Japan TEL:0799-74-1111 FAX:0799-74-1100

ウェスティンホテル淡路 リゾート&コンファレンス 〒656-2301 兵庫県津名郡東浦町夢舞台2番地 TEL.0799-74-1111(代表) FAX.0799-74-1100 <http://www.westin-awaji.com>

 **RISTORO**
SPA&FITNESS
リストーロ

第7回日本毒性病理専門家認定試験における
「ミクロ試験問題の解説」開催案内
(日本毒性病理学会主催)

去る9月2日(土)に実施された標記試験のうち、ミクロ試験として出題された問題について、カラースライドを用いてその病変についての解説を行います。

日時：2001年1月24日(水) 午前 10:30～11:50

会場：淡路夢舞台国際会議場2Fメインホール

解説：福島 昭治(試験委員長)

会費：無料(参加自由)

*尚、同ホールでは午後13:00～17:00、森秀樹 岐阜大学教授のお世話で

第14回スライドコンファランスが開催されます。

日本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・ ワークショップ・ その他	一般演題
1	東 京	西山 保一 (北里学園)	1985. 3. 25	2	0	0
2	東 京	藤原 公策 (東 大)	1986. 2. 7~8	1	5	29
3	名古屋	伊東 信行 (名市大)	1987. 2. 6~7	1	8	47
4	浜 松	榎本 眞 (安評セ)	1988. 2. 5~6	1	7	55
5	横 浜	蟹澤 成好 (横浜市大)	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	20	53
8	奈 良	小西 陽一 (奈良医大)	1992. 1. 23~24	1	19	71
9	東 京	土井 邦雄 (東 大)	1993. 1. 21~22	2	4	126
10	広 島	伊藤 明弘 (広島大)	1994. 1. 27~29	1	18	136
11	大 阪	佐久間 貞重 (大阪府大)	1995. 1. 26~27	2	10	151
12	東 京	高橋 道人 (国立衛試)	1996. 1. 24~25	0	16	147
13	鳥 取	梅村 孝司 (鳥取大)	1997. 1. 23~24	1	11	151
14	東 京	前川 昭彦 (佐々木研)	1998. 2. 3~4	1	9	143
15	水 戸	真板 敬三 (残農研)	1999. 1. 28~29	0	7	142
16	岐 阜	森 秀樹 (岐阜大)	2000. 1. 26~27	1	12	125
17	淡 路	奈良間 功 (摂南大)	2001. 1. 25~26	1	10	146

司会・座長一覧

教育講演	1月25日 (11:00~11:55)	奈良間 功	(摂南大・薬・安全研)
IATP	1月26日 (11:40~12:00)	高橋 道人	(ピアレビューセンター)
シンポジウム 1	1月25日 (15:55~17:55)	前川 昭彦	(佐々木研)
		奥野 泰由	(住友化学)
シンポジウム 2	1月26日 (13:25~15:55)	福島 昭治	(大阪市大・都市環境病理)
		大石 裕司	(藤沢)
口演発表	1月25日 (9:30~10:50)		
	1~2	土井 邦雄	(東大・獣医病理)
	3~5	津田 洋幸	(国立がんセ・化学療法)
	6~8	三森 国敏	(農工大・家畜病理)
	1月25日 (14:50~15:50)		
	9~11	広瀬 雅雄	(国立衛研・病理)
	12~14	泉 啓介	(徳島大・医・第2病理)
	1月26日 (9:00~10:00)		
	15~16	吉田 緑	(佐々木研)
	17~18	土谷 稔	(三菱安科研)
	19~20	野々山 孝	(武田)
ポスター発表	1月25日 (13:10~14:40)		
	P-1-1~5	伊藤 明弘	(広島大・原医研・予防腫瘍)
	P-1-6~11	吉見 直己	(岐阜大・医・第1病理)
	P-1-12~16	立松 正衛	(愛知がんセ・病理)
	P-1-17~21	原田 孝則	(残農研)
	P-1-22~26	西川 秋佳	(国立衛研・病理)
	P-1-27~31	中江 大	(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
	P-1-32~36	田中 卓二	(金沢医大・第1病理)
	P-1-37~41	今井田 克己	(名市大・医・第1病理)
	P-1-42~46	渋谷 淳	(国立衛研・病理)
	P-1-47~50	小川 久美子	(名市大・医・第1病理)
	P-1-51~54	渡辺 敦光	(広島大・原医研・環境変異)
	P-1-55~59	和久井 信	(麻布大・獣医・比較毒性)
	1月26日 (10:05~11:35)		
	P-2-1~5	布谷 鉄夫	(日生研)
	P-2-6~10	川合 是彰	(田辺)
	P-2-11~15	岡宮 英明	(山之内)
	P-2-16~20	真鍋 淳	(三共)
	P-2-21~25	永井 博文	(武田)
	P-2-26~30	杉本 哲郎	(中外)
	P-2-31~35	吉村 慎介	(食薬セ)
	P-2-36~40	真板 敬三	(残農研)
	P-2-41~45	松沼 尚史	(三共)
	P-2-46~50	白岩 和巳	(旭化成)
	P-2-51~55	中山 裕之	(東大・獣医病理)
	P-2-56~60	山崎 寛治	(化評研)
	P-2-61~64	佐々木 啓	(武田)
	P-2-65~67	柳井 徳磨	(岐阜大・農・家畜病理)

教育講演

- 第1日(1月25日) 11:00~11:55 司会 奈良間 功 (摂南大・薬・安全研)
多段階発癌と遺伝子変化 2
小西 陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

IATP

- 第2日(1月26日) 11:40~12:00 司会 高橋 道人 (ピアレビューセンター)
International Recognition and Accreditation of Toxicologic Pathologists, A New Approach 4
Leander Tryphonas¹, Michael Iatropoulos², Jerry Frantz³, Chirukandath Gopinath³, Nobuyuki Ito³
(¹President, ²Secretary-Treasurer, ³Regional Directors of IATP, Nepean, Ontario, Canada)

シンポジウム 1

中枢神経系の毒性病理学の課題

- 第1日(1月25日) 15:55~17:55 座長 前川 昭彦 (佐々木研)
奥野 泰由 (住友化学)
- S-1-1. ヒトの薬物性中枢神経病変の発生機序について 6
桶田 理喜 (東京医歯大難治研・神経病理)
- S-1-2. 水俣病の中枢神経病変 7
衛藤 光明 (国立水俣病総合研)
- S-1-3. 実験的薬物性中枢神経病変 8
○今井 清, 吉村 慎介 (食品薬品安全センター)
- S-1-4. アニリンの大量投与で誘発される脊髄病変 9
岡崎 欣正 (三菱化学安科研)

シンポジウム 2

21世紀の毒性病理学

- 第2日(1月26日) 13:25~15:55 座長 福島 昭治 (大阪市大・都市環境病理)
大石 裕司 (藤沢)
- S-2-1. 毒性研究におけるトキシコゲノミクス10
堀井 郁夫 (日本ロシユ・前臨床科学研)
- S-2-2. 体内時計機構と Chronopharmacokinetics11
野口 英世 (京都薬大・院)
- S-2-3. 治験における副作用について:毒性データとの関連性調査12
菊地 康基 (国際医薬品臨床開発研)
- S-2-4. アポトーシスとネクローシス13
○白井 智之, 今井田 克己, 朝元 誠人 (名市大・医・第1病理)
- S-2-5. 細胞周期制御機構の異常と発癌14
○堤 雅弘, 辻内 俊文 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

口演プログラム

○:発表者

第1日目 1月25日(木) 午前

座長 土井 邦雄 (東大・獣医病理) 9:30~9:50

1. ラット甲状腺二段階発癌モデルにおける**糖酸**のイニシエーション期投与の影響16
○田村 啓¹, 三森 国敏^{1,3}, 小野寺 博志¹, 那須 昌弘², 高木 久宜¹, 安原 加壽雄¹,
上田 誠¹, 鈴木 勝士⁴, 広瀬 雅雄¹
(¹国立衛研・病理, ²パナファーム, ³農工大・家畜病理, ⁴日獣大・獣医生理)
2. 卵巣摘出ラットにおける甲状腺発癌に対する Estradiol benzoate ないし内分泌攪乱物質の修飾作用16
○高木 久宜¹, 三森 国敏^{1,2}, 小野寺 博志¹, 森安 眞津子³, 那須 昌弘³, 安原 加壽雄¹,
田村 啓¹, 広瀬 雅雄¹ (¹国立衛研・病理, ²農工大・家畜病理, ³パナファーム)

座長 津田 洋幸 (国立がんセ・化学療法) 9:50~10:20

3. アルコール摂取のラット肝発がんに及ぼす影響17
○鰐淵 英機, 魏 民, 岩井 秀司, Rezaul Karim, 森村 圭一朗, 福島 昭治
(大阪市大・都市環境病理)
4. 雌雄 Fischer344 系ラットにおけるコリン欠乏およびコリン添加アミノ酸食による毒性および発癌性17
○中江 大, 安藤 信明, 岸田 秀樹, 楠岡 修, 赤井 弘幸, 田村 一利, 笛木 修, 小西 陽一
(奈良医大がんセ・腫瘍病理)
5. コリン欠乏アミノ酸食によるラット内因性肝発癌に対して銅キレート剤および食餌性銅欠乏の及ぼす影響18
○岸田 秀樹, 中江 大, 楠岡 修, 傳田 阿由美, 榎並 倫宣, 佐藤 洋, 天沼 利宏, 小西 陽一
(奈良医大がんセ・腫瘍病理)

座長 三森 国敏 (農工大・家畜病理) 10:20~10:50

6. ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットの経胎盤発がん感受性18
○鳥山-馬場 弘靖¹, 山本 扶美¹, 外岩戸 尚美^{1,2}, 津田 洋幸¹
(¹国立がんセ・化学療法, ²名市大・医・第1病理)
7. ヒトプロト型 c-H-ras transgenic(Hras128)ラットにおける乳癌非標的発がん物質による乳腺発がん19
○大西 隆仁, 韓 範錫, 津田 洋幸 (国立がんセ・化学療法)
8. ヒト正常型 c-Ha-ras トランスジェニックラットの乳腺発がん高感受性についての解析19
○松岡 洋一郎¹, 鳥山-馬場 弘靖¹, 深町 勝巳¹, 津田 洋幸¹, 川口 博明², 吉田 浩己²
(¹国立がんセ・化学療法, ²鹿大・医・病理1)

第1日目 1月25日(木) 午後

座長 広瀬 雅雄 (国立衛研・病理) 14:50~15:20

9. ゲニステインおよびノニルフェノールによるエストロゲン応答性ラット下垂体腫瘍増殖作用20
○藤本 成明, 丸山 聡, 浅野 耕助, 伊藤 明弘, 殷 宏 (広島大・原医研・予防腫瘍)
10. ヒトc-Ha-ras 遺伝子導入ラット(Hras128)のDMBA誘発乳腺がんのゲニステインによる抑制効果20
○韓 範錫, 高須賀 信夫, 国元 武彦, 高橋 徹行, 津田 洋幸 (国立がんセ・化学療法)
11. Poly(ADP-ribose) polymerase(Parp)ノックアウトマウスのBHPに対する発癌感受性の亢進21
○堤 雅弘, 辻内 俊文, 楠岡 修, 三井 雅之, 高島 吉治, 白岩 和巳, 小西 陽一
(奈良医大がんセ・腫瘍病理)

座長 泉 啓介 (徳島大・医・第2病理) 15:20~15:50

12. 4-NQO 誘発ラット舌病変における cyclooxygenase(COX)-2 蛋白質の発現と選択的阻害剤 nimesulide(NIM)の発癌抑制効果21
○塩谷 洋史¹, 傳田 阿由美², 山本 一彦¹, 北山 若紫², 遠藤 武弘¹, 堤 雅弘², 杉村 正仁¹, 小西 陽一² (奈良医大・¹口腔外科, ²腫瘍病理)
13. ラットの発育期子宮内膜におけるエストロゲンレセプターの発現および細胞増殖活性に与える新生仔期オクチルフェノール大量曝露の影響について22
○吉田 緑¹, 竹中 亜希子¹, 勝田 真一², 下元 貴澄¹, 安藤 進¹, 高橋 正一¹, 前川 昭彦¹ (¹佐々木研・病理, ²日本食品分析)
14. DMBA 誘発ラット乳腺発癌に於ける Co-PCB126 胎生期曝露の発癌修飾作用22
○武藤 朋子¹, 和久井 信¹, 鷹橋 幸弘², 政岡 俊夫¹, 羽野 寛², 古里 征国³ (¹麻布大・獣・比較毒性, ²慈恵医大・病理, ³杏林大・医・病理)

第2日目 1月26日(金) 午前

座長 吉田 緑 (佐々木研) 9:00~9:20

15. メタカーン固定材料を用いた遺伝子産物の定量的発現解析及び遺伝子配列解析について23
○渋谷 淳¹, 阿部 直子², 畝山 智香子¹, 中川 恵子¹, 榊富 直哉¹, 仁保 直子¹, 高橋 則行¹, 小林 恒雄¹, 広瀬 雅雄¹ (¹国立衛研・病理, ²旭テクノグラス)
16. エストラジオール周産期曝露による新生仔視床下部における遺伝子発現の変化及び性成熟後の内分泌関連器官への影響について23
○榊富 直哉¹, 渋谷 淳¹, 畝山 智香子¹, 中川 恵子¹, 阿部 直子², 仁保 直子¹, 高橋 則行¹, 小林 恒雄¹, 広瀬 雅雄¹ (¹国立衛研・病理, ²旭テクノグラス)

座長 土谷 稔 (三菱安科研) 9:20~9:40

17. 抗アンドロゲン剤Chlormadinone acetate(CMA)の雌ビーグレイヌを用いた4年間皮下移植試験における病理組織学的検討24
○村越 正典, 池田 理恵, 田川 正志, 福井 規雄, 岩坂 利夫, 江口 勝也, 飯塚 和弘, 中山 隆治 (帝国臓器・安全研)
18. T-2toxin 投与妊娠マウスの胎仔にみられたアポトーシス病変24
○石上 紀明, 鈴木 和彦, 片山 圭一, 中山 裕之, 土井 邦雄 (東大・獣医病理)

座長 野々山 孝 (武田) 9:40~10:00

19. Brain Natriuretic Peptideによるラット心毒性の評価25
○宮田 裕人, 佐藤 元信, 八木 健一, 大野 理絵, 白根 里加, 木村 正明 (大正・安全研)
20. 老齡ミニラットにおける自然発生乳腺腫瘍の特徴25
○渋谷 一元, 杉本 加代子, 唐沢 茂, 水谷 誠, 平井 卓哉, 布谷 鉄夫 (日生研)

ポスタープログラム

○:発表者

*:発表者が34歳未満

第1日目 1月25日(木) 13:10~14:40

ポスター【発癌】 座長 伊藤 明弘 (広島大・原医研・予防腫瘍) 13:10~13:40

- *P-1-1. p53 ノックアウトマウスの AMN 誘発食道癌の高感受性28
○白井 紀充^{1,2,3}, 塚本 徹哉¹, 山本 昌美¹, 飯高 健^{1,2,3}, 酒井 洋樹^{1,2}, 立松 正衛¹
(¹愛知がんセ・腫瘍病理, ²岐阜大・農・家畜病理, ³ファイザー・中央研)
- *P-1-2. p53 knockout mouse における大腸 aberrant crypt foci と腫瘍の発生頻度の非相関28
○塚本 徹哉¹, 山本 昌美¹, 酒井 洋樹^{1,2}, 田中 晴就¹, 白井 紀充^{1,2}, 小林 潔^{1,3},
立松 正衛¹ (¹愛知がんセ・腫瘍病理, ²岐阜大・農・家畜病理, ³三菱東京・安全研)
- P-1-3. Taxifolin, resviratrol の azoxymethane(AOM)誘発大腸 aberrant crypt foci(ACF)発生における修飾作用29
○杉江 茂幸^{1,2}, 川端 邦宏², 牛田 淳², Pham Quang Vinh², 森 秀樹²
(岐阜大・医・¹動物実験, ²病理)
- *P-1-4. ラット大腸癌前癌病変の形態学的特徴及び分子生物学的特徴29
○山田 泰広, 吉見 直己, 広瀬 善信, 杉江 茂幸, 森 秀樹 (岐阜大・医・第1 病理)
- P-1-5. 胃部 X 線照射したスナネズミには腸上皮化生は発生しない30
○渡辺 敦光, 陸 恵梅, 白木 克尚, 石村 美祐, 小原 正之, 上坂 敏弘, 加藤 修
(広島大・原医研・環境変異)

ポスター【発癌】 座長 吉見 直己 (岐阜大・医・第1 病理) 13:10~13:40

- *P-1-6. Helicobacter pylori(Hp)感染スナネズミ胃粘膜に生じる腫瘍様病変とその Hp 除菌による変化30
○田中 晴就¹, 野崎 浩二^{1,2}, 塚本 徹哉¹, 今井 俊夫³, 立松 正衛¹
(¹愛知がんセ・腫瘍病理, ²東大・消化管外, ³エーザイ・安全研)
- *P-1-7. Catechol 及び BHA のカニューレを用いた経十二指腸投与によるラット前胃及び腺胃の増殖活性への影響31
○中村 英明¹, 西川 秋佳¹, 古川 文夫¹, 豊田 和弘², 宮内 慎¹, 孫 和永¹, 山岸 恵¹,
江下 希美³, 広瀬 雅雄¹ (¹国立衛研・病理, ²日本たばこ, ³ボゾリサーチ)
- *P-1-8. 老化促進モデルマウス(SAM)P3 における N-methyl-N-nitrosourea 誘発胃発癌31
○山本 昌美¹, 塚本 徹哉¹, 細川 昌則², 飯高 健^{1,3}, 湯浅 啓史^{1,4}, 立松 正衛¹
(¹愛知がんセ・腫瘍病理, ²京大・再生医研・再生制御, ³ファイザー・中央研, ⁴田辺・安全研)
- *P-1-9. 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)誘発性ラット赤白血病の病理形態学的検討32
○涌生 ゆみ, 勝田 修, 田子 穰, 水野 文夫, 関島 勝, 土谷 稔 (三菱化学安科研)
- *P-1-10. 新生仔期 DMBA 単回投与による雌 Sprague-Dowley ラット背部における悪性線維性組織球腫の誘発32
○田口 周平, 船戸 護, 二之宮 謙次郎, 義岡 孝子, 小玉 拓郎, 吉田 浩己
(鹿大・医・第1 病理)
- *P-1-11. 1,4-ジオキサンを経口と吸入を組み合わせた長期投与(複数媒体投与)により F344 ラットに観察された
鼻腔病変33
○妹尾 英樹, 竹内 哲也, 梅田 ゆみ, 片桐 卓, 相磯 成敏, 長野 嘉介
(日本バイオアッセイ)

ポスター【発癌 (Tgマウス)】 座長 立松 正衛 (愛知がんセ・病理) 13:10~13:40

- *P-1-12. WS ラットを用いた肝癌自然転移モデルにおける N-nitrosomorpholine の投与量と投与期間および
投与開始週齢の検討33
○村井 隆¹, 森 聖², 福島 昭治² (¹塩野義・油日ラボ, ²大阪市大・医・第1 病理)
- P-1-13. Cyclophosphamide の間欠投与により rasH2 マウスにみられた膀胱腫瘍発生の性差に関する検討34
○久田 茂¹, 谷藤 久人¹, 柴田 誠司¹, 永嶋 雅子¹, 飯塚 和弘¹, 増田 修治¹, 飯田 祝子¹,
白居 敏仁² (¹帝国臓器・安全研, ²実中研)

- *P-1-14. CB6F1-TgrasH2 マウスの前胃粘膜における正常時および Butylated hydroxyanisole 投与時の細胞増殖動態に関する検討34
 ○坂入 鉄也, 小林 潔, 後藤 和広, 岡田 味世子, 杉本 次郎, 佐野 文子, 務台 衛
 (三菱東京・安全研)
- *P-1-15. CB6F1-TgrasH2 マウスの Butylated hydroxyanisole に対する前胃発がん感受性35
 ○後藤 和広, 小林 潔, 坂入 鉄也, 杉本 次郎, 佐野 文子, 諸橋 鉄男, 務台 衛
 (三菱東京・安全研)
- *P-1-16. CB6F1-rasH2トランスジェニックマウスを用いたchloroformの26週間短期発がん性試験35
 ○瀬畑 信哉, 前嶋 孝典, 緒方 聖也, 渡辺 真弓, 牧野 俊彦, 田中 宏治, 真鍋 淳,
 高岡 雅哉 (三共・安全研)

ポスター【発癌(Tgマウス)】 座長 原田 孝則(残農研) 13:10~13:40

- *P-1-17. CB6F1-Tg-rasH2 マウスを用いた Metaproterenol sulfate の26週間がん原性試験36
 ○菅野 宏¹, 田中丸 善洋¹, 石村 美祐¹, 神鳥 仁志¹, 山崎秀樹¹, 三谷 政義¹, 永藪 徳久¹,
 佐倉 康文², 佐々木 啓¹ (武田¹・薬物機能2研, ²薬物機能1研)
- *P-1-18. CB6F1-Tg-rasH2 マウスを用いた reserpine の26週間がん原性試験36
 ○樫本 佳典, 佐藤 洋, 矢部 光一, 藤井 文隆, 甲斐 清徳, 神藤 敏正,
 梶村 哲世, 古濱 和久 (第一・安全研)
- *P-1-19. CB6F1-Tg-rasH2 マウスを用いた chlorpromazine の26週間がん原性試験37
 ○坪田 健次郎, 松本 正博, 義澤 克彦, 仲辻 俊二, 藤平 司郎, 大石 裕司
 (藤沢・安全研)
- P-1-20. CB6F1-rasH2トランスジェニックマウスを用いた短期発がん性試験の実験施設間の比較37
 ○高岡 雅哉¹, 今井 俊夫², 鳥井 幹則³, 佐藤 洋⁴, 豊沢 かおる⁵, 田中丸 善洋⁶, 足立 民子⁷,
 久田 茂⁸, 上田 誠⁹, 小笠原 裕之¹⁰, 松本 正博¹¹, 小林 潔¹², 務台 衛¹², 臼居 敏仁¹³
 (¹三共・安全研, ²エーザイ・安全研, ³塩野義・新薬研, ⁴第一・安全研, ⁵大日本・安全研,
⁶武田・機能2研, ⁷田辺・安全研, ⁸帝国臓器・安全研, ⁹日本新薬・安全研, ¹⁰日本ワイスレダリー・
 医薬研, ¹¹藤沢・安全研, ¹²三菱東京・安全研, ¹³実中研)
- P-1-21. 26週間がん原性試験に用いたCB6F1-TgrasH2 マウスでみられた自然発生病変38
 ○佐野 文子, 後藤 和広, 小林 潔, 土屋 毅幸, 日下部 愛泉, 坂入 鉄也, 岡田 味世子,
 杉本 次郎, 務台 衛 (三菱東京・安全研)

ポスター【発癌修飾(肝)】 座長 西川 秋佳(国立衛研・病理) 13:40~14:10

- *P-1-22. 有機ヒ素化合物のラット肝発癌修飾作用38
 ○西川 隆之, 鰐淵 英機, 小川 元女, 木下 アンナ, 須方 督夫, 福島 昭治
 (大阪市大・都市環境病理)
- *P-1-23. Comparison of the oxidative changes in rat liver induced by low and high doses of phenobarbital39
 ○木下 アンナ, 鰐淵 英機, 西川 隆之, 清家 則孝, 北野 光昭, 福島 昭治
 (大阪市大・都市環境病理)
- *P-1-24. Peroxisome proliferator 特異的にラット肝臓で発現する iNOS-immunoreactive80 kDa peptide について39
 ○小林 恒雄, 渋谷 淳, 高橋 則行, 畝山 智香子, 榎富 直哉, 仁保 直子, 広瀬 雅雄
 (国立衛研・病理)
- *P-1-25. ラットを用いた環境発癌物質 DDT の低濃度域における肝発癌性の検討40
 ○須方 督夫^{1,2}, 尾崎 圭介^{1,2}, 宇和川 賢^{1,2}, 串田 昌彦^{1,2}, 小川 元女², 西川 隆之²,
 鰐淵 英機², 奥野 泰由¹, 福島 昭治² (¹住友化学・生科研, ²大阪市大・都市環境病理)
- *P-1-26. ラットにおけるジエチルニトロサミンおよびコリン欠乏アミノ酸食による肝発癌に対して
 ノビレチンの及ぼす影響40
 ○楠岡 修¹, 中江 大¹, 岸田 秀樹¹, 大東 肇², 矢野 昌充³, 西野 輔翼⁴, 村上 明⁵,
 小清水 弘一⁵, 辻内 俊文¹, 小西 陽一¹ (¹奈良医大・がんセ・腫瘍病理, ²京大・農学研,
³農水省・果樹, ⁴京都府医大・生化学, ⁵近畿大・生物理工)

ポスター【発癌修飾(肝・腎)】 座長 中江 大 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理) 13:40~14:10

- *P-1-27. 四塩化炭素誘発肝炎の MeIQx 肝発癌性の増強41
 ○加国 雅和, 岩井 秀司, Rezaul Karim, 魏 民, 森村 圭一朗, 鱒淵 英機, 福島 昭治
 (大阪市大・都市環境病理)
- *P-1-28. ラット肝発癌における腫瘍顕在化に対する Transforming growth factor- α (TGF- α)発現の影響41
 ○北野 光昭^{1,2}, 和田 重太郎², 有木 豊², 日高 隆義², 鱒淵 英機¹,
 森村 圭一朗¹, 福島 昭治¹ (¹大阪市大・都市環境病理, ²鐘淵化学・高砂研)
- *P-1-29. ラット内因性および外因性肝発癌系により誘発された肝細胞癌における TGF- β シグナル
 伝達経路異常の検索42
 ○佐々木 康孝, 辻内 俊文, 堤 雅弘, 白岩 和巳, 三井 雅之, 高島 吉治, 赤井 弘幸,
 丸山 博司, 小西 陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
- *P-1-30. 新規遺伝性腎癌ラット(Nihonラット)の病理組織学的検討42
 ○河内 眞美¹, 沖本 一夫¹, 木川 英美¹, 豊沢 かおる¹, 糞谷 高敏¹, 黒木 宏二¹, 田中 浩二¹,
 松岡 信男¹, 樋野 興夫² (¹大日本・開発研, ²癌研・実験病理)
- P-1-31. 新規遺伝性腎癌ラット(Nihonラット)の経胎盤 ENU 投与による腎腫瘍促進に関する検討43
 ○沖本 一夫¹, 木川 英美¹, 河内 眞美¹, 豊沢 かおる¹, 糞谷 高敏¹, 黒木 宏二¹, 田中 浩二¹,
 松岡 信男¹, 樋野 興夫² (¹大日本・開発研, ²癌研・実験病理)

ポスター【発癌修飾】 座長 田中 卓二 (金沢医大・第1病理) 13:40~14:10

- *P-1-32. Lack of Modifying Effects of Fernane-Type Triterpenoids Isolated from a *Euphorbia* Genus on Rat Liver
 Carcinogenesis43
 ○Rezaul Karim¹, 岩井 秀司¹, 森村 圭一朗¹, 鱒淵 英機¹, 福島 昭治¹, 田中 麗子²,
 松永 春洋², 吉武 彬²
 (¹大阪市大・都市環境病理, ²大阪薬大・医薬品化学)
- *P-1-33. PhIP 誘発ラット大腸および乳腺腫瘍発生に対する caffeine の臓器特異性修飾作用の機構44
 ○竹下 文隆, 小川 久美子, 今井田 克己, 朝元 誠人, 加藤 浩司, 高橋 智, 白井 智之
 (名市大・医・第1病理)
- *P-1-34. イソフラボンを豊富に含む大豆胚芽熱水抽出物の多臓器発がん修飾効果44
 ○葛谷 和也, 朝元 誠人, 二口 充, 今井田 克己, 杉浦 諭, 小川 久美子, 白井 智之
 (名市大・医・第1病理)
- *P-1-35. マウス膀胱発癌における KRN7000((2S,3S,4R)-1-O-(α -D-galactopyranosyl)-2-(N-hexacosanoylamino)-
 1,3,4-octadecatrienol)の抑制作用についての検討45
 ○三橋 誠¹, 榊田 周佳¹, 土井 賢一郎¹, 沈 鈞¹, 鱒淵 英機¹, 福島 昭治¹, 垣添 忠生²
 (¹大阪市大・医・第1病理, ²国立がんセ・中央病)
- *P-1-36. 非分解カラギナンの 1, 2-dimethylhydrazine(DMH)誘発ラット大腸発癌に対する発癌修飾作用について45
 ○宮下 嘉代子^{1,2}, 萩原 昭裕¹, 玉野 静光¹, 中西 巧^{1,2}, 佐野 真士¹, 浅井 以和夫³,
 中村 幹雄³, 今井田 克己², 白井 智之²
 (¹大雄会医科研, ²名市大・医・第1病理, ³三栄源エフ・エフ・アイ)

ポスター【発癌修飾】 座長 今井田 克己 (名市大・医・第1病理) 13:40~14:10

- *P-1-37. *Sno* 遺伝子ヘテロノックアウトマウスの *N, N*-dibutylnitrosamine(DBN)に対する発癌感受性の検索46
 ○森村 圭一朗¹, 加国 雅和¹, 星 学¹, 金子 雅宏¹, 石井 俊輔², 福島 昭治¹
 (¹大阪市大・都市環境病理, ²理研・分子遺伝)
- *P-1-38. 内分泌攪乱化学物質の発癌修飾作用:ラット多臓器発癌モデルによる検討46
 ○清家 則孝, 鱒淵 英機, 三橋 誠, 小川 元女, 市原 敏夫, 福島 昭治
 (大阪市大・都市環境病理)
- *P-1-39. オクチルフェノールの DMBA による乳癌誘発への影響47
 ○川口 博明, 早田 正和, 堀 隆夫, 吉田 浩己 (鹿大・医・第1病理)

- *P-1-53. イニシエーション活性検索法における標的臓器の異なる化学物質間のイニシエーション活性の加算効果の検討54
 ○酒井 洋樹^{1,2}, 平田 暁大¹, 稲上 敦士¹, 山本 昌美², 塚本 徹哉², 柳井 徳磨¹, 柵木 利昭¹, 立松 正衛² (¹岐阜大・農・家畜病理, ²愛知がんセ・腫瘍病理)
- *P-1-54. K6/ODCトランスジェニックマウスにおける dimethylarsinic acid(DMA)の皮膚発癌プロモーション54
 ○森川 剛志, 鱒淵 英機, 森村 圭一朗, 小川 元女, 福島 昭治 (大阪市大・都市環境病理)

ポスター【イニシエーション・プロモーション】 座長 和久井 信 (麻布大・獣医・比較毒性) 14:10~14:40

- *P-1-55. ラット肝中期発がん試験法でのプロモーション過程に発現が変動する遺伝子の解析について55
 ○高橋 則行, 渋谷 淳, 小林 恒雄, 畝山 智香子, 西川 秋佳, 樹富 直哉, 仁保 直子, 広瀬 雅雄 (国立衛研・病理)
- *P-1-56. 遺伝毒性発癌物質および非遺伝毒性発癌物質誘発ラット前胃腫瘍における遺伝子変異55
 ○金子 雅宏, 森村 圭一朗, 西川 隆之, 小川 元女, 鱒淵 英機, 福島 昭治 (大阪市大・都市環境病理)
- *P-1-57. Ethylnitrosourea (ENU)により rasH2 マウスに誘発された腫瘍の導入遺伝子の過剰発現56
 ○豊沢 かおる¹, 三森 国敏^{2,3}, 安原 加壽雄², 糀谷 高敏¹, 松岡 信男¹, 広瀬 雅雄² (¹大日本・開発研, ²国立衛研・病理, ³農工大・家畜病理)
- *P-1-58. Probasin 遺伝子プロモーター/SV40T 抗原発現遺伝子導入ラットにおける前立腺癌の経時的検討56
 ○曹 永晩^{1,2}, 高橋 智^{1,2}, 外岩戸 尚美^{1,2}, 鈴木 周五^{1,2}, 今井田 克己^{1,2}, 朝元 誠人^{1,2}, 白井 智之^{1,2} (¹名市大・医・第1病理, ²CREST)
- *P-1-59. Probasin プロモーター制御下 SV40T 抗原遺伝子導入ラットの前立腺癌および舌味蕾由来神経芽細胞腫発生に対する遺伝的背景の影響57
 ○外岩戸 尚美, 朝元 誠人, 高橋 智, 曹 永晩, 白井 智之 (名市大・医・第1病理, CREST)

第2日目 1月26日(金) 10:05~11:35

ポスター【飼料、他】 座長 布谷 鉄夫 (日生研) 10:05~10:35

- *P-2-1. Crj:CD(SD)IGSラット長期飼育に及ぼす飼料中タンパク量の影響57
 ○若林 佐知子, 中村 厚, 工藤 佳代子, 枝元 洋, 永谷 真理子, 池崎 信一郎, 玉井 幸子, 鶴亀 真依子, 岡崎 修三, 田村 一利 (ボンリサーチ)
- *P-2-2. ラットおよびマウスを用いた肥満モデルの作製58
 ○木川 英美, 草柳 亜希子, 沖本 一夫, 河内 眞美, 豊沢 かおる, 糀谷 高敏, 黒木 宏二, 田中 浩二, 松岡 信男 (大日本・開発研)
- *P-2-3. ACI/N 系統に出現した淡毛色ラットの組織学的検討58
 ○並木 千晶¹, 浜田 修一^{1,2}, 橋本 敦¹, 山崎 賢一², 中西 聡², 北田 一博², 芹川 忠夫² (¹エスエス・中央研, ²京大・動物施設)
- *P-2-4. ビーグル犬を用いた毒性試験における病理組織学的背景データについて59
 ○長谷川 和成, 安井 雄三, 木原 亨, 細井 理代, 宮島 留美子, 山川 誠己, 岩田 聖, 榎本 眞 (安評センター)
- *P-2-5. F344 ラットの正常肝細胞 PCNA に関する背景値:加齢および性差について59
 ○木原 亨, 磯部 香里, 長谷川 和成, 安井 雄三, 細井 理代, 宮島 留美子, 山川 誠己, 岩田 聖, 榎本 眞 (安評センター)

ポスター【精巢、他】 座長 川合 是彰 (田辺) 10:05~10:35

- *P-2-6. 各種抗癌剤誘発マウス切歯毒性の形態学的分類60
 ○佐藤 洋, 上杉 康夫, 川畑 貴美, 森 和彦, 藤井 文隆, 榎本 佳典, 梶村 哲世, 古濱 和久 (第一・安全研)

- *P-2-7. Dibutyltin dichloride(DBTC)誘発 LEW ラット肺線維化病変の検討—WBN/Kob ラット自然発生肺炎との比較……60
○宮内 慎, 桑山 知登世, 柿沼 千早, 阿部 寛 (順天大・医・病理第1)
- P-2-8. 遺伝子組換えヒト塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF)投与後の創傷治癒過程におけるFGF受容体の発現とbFGFの局在に関する免疫組織学的検討 ……61
○中野 好子¹, 杉本 肇^{1,2}, 角田 聡^{1,2}, 中村 俊之¹, 有可 正¹, 西野 輔翼²
(¹科研, ²京都府医大・生化)
- P-2-9. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin への経胎盤および授乳による曝露の仔ラットの甲状腺機能への影響 ……61
○西村 典子¹, 宮原 裕一^{1,3}, 佐藤 巳喜夫^{1,4}, 遠山 千春^{1,3}, 米元 純三^{2,3}
(国立環境研¹・環境健康, ²地域環境, ³科技団・CREST, ⁴筑波大・医)
- *P-2-10. パラクミルフェノールの新生児ラットにおける雌性生殖器に対する影響 ……62
○池崎 信一郎¹, 西村 信雄¹, 池谷 政道¹, 梅村 建夫¹, 工藤 佳代子¹, 中村 厚¹, 田村 一利¹, 須永 昌男², 鎌田 栄一³
(¹ボゾリサーチ, ²化合物安全研, ³国立衛研・総合評価)

ポスター【精巣】 座長 岡宮 英明 (山之内) 10:05~10:35

- *P-2-11. 幼若ラットの精巣の発達についての形態学的検索 ……62
○桑原 真紀, 吉田 敏則, 竹内 幸子, 榎本 秋子, 中島 信明, 真板 敬三, 原田 孝則 (残農研)
- *P-2-12. 制限給餌におけるラット雄性生殖器への影響—週齢差について— ……63
○木ノ本 寿子¹, 小川 秀治¹, 澤多 美和¹, 井口 綾子¹, 山口 格², 鷲塚 昌隆¹, 小俣 武志¹, 西 直樹¹, 米良 幸典¹, 栗本 忠¹ (¹ゼリア新薬・開発研, ²創薬研)
- *P-2-13. L-システインによるラットの精子肉芽腫に関する検討(3)—細胞増殖およびアポトーシスとの関連— ……63
○澤本 修^{1,2}, 萩原 里香¹, 栗栖 和信¹, 桑村 充², 山手 丈至², 小谷 猛夫²
(¹大塚製薬工場・鳴門研, ²大阪府大・獣医病理)
- *P-2-14. Methylmethane sulphonate(MMS)のラット精子形成に及ぼす影響 ……64
○北村 毅, 窪田 典, 林 守道, 長澤 達也, 黒田 淳二, 栗山 和也, 横井 亮平, 小沢 重成, 柴田 信男 (キッセイ・安全研)
- *P-2-15. ビスフェノール A の妊娠期・授乳期曝露による児の雄性生殖器への影響 ……64
○吉野 裕子^{1,2}, 河部 真弓¹, 市原 敏夫^{1,2}, 宮下 嘉代子^{1,2}, 佐野 真士¹, 萩原 昭裕¹, 今井田 克己², 白井 智之² (¹大雄会医科研, ²名市大・医・第1病理)

ポスター【肺】 座長 真鍋 淳 (三共) 10:05~10:35

- *P-2-16. クロロホルムの経口と吸入を組み合わせた長期投与(複数媒体投与)によりF344ラットに観察された鼻腔病変 ……65
○梅田 ゆみ, 竹内 哲也, 妹尾 英樹, 片桐 卓, 相磯 成敏, 長野 嘉介
(日本バイオアッセイ)
- *P-2-17. 2, 2, 2-Trifluoroethanolによるβ2-ミクログロブリン立体構造変化と試験管内アミロイド線維形成 ……65
○山口 格^{1,2}, 山口 幸也¹, 高橋 直生², 長谷川 一浩², 内木 宏延²
(¹ゼリア新薬・創薬研, ²福井医大・第2病理)
- *P-2-18. ラット胎仔初代培養肺スフェロイド培養評価系の検討 ……66
○猪又 晃, 井上 智彰, 堀井 郁夫 (日本ロシュ・前臨床)
- *P-2-19. ラットのアラビアゴム気管内投与における肺泡沫細胞の組織学的検討 ……66
○平川 芽衣子, 下元 貴澄, 佐藤 亮, 松本 智志, 北浦 敬介, 山本 硬治, 南 孝則
(大塚・徳島研)
- *P-2-20. モノクロタリン誘発マウス肺傷害モデルに対する小柴胡湯とIFN-αの修飾作用の検討 ……67
○仁保 直子¹, 渋谷 淳¹, 畝山 智香子¹, 榎富 直哉¹, 中川 恵子¹, 高橋 則行¹, 小林 恒雄¹, 関田 節子², 広瀬 雅雄¹ (国立衛研¹・病理, ²国立衛研・生薬)

ポスター【骨・関節】 座長 永井 博文 (武田) 10:35~11:05

- P-2-21. Dihalopropane の毒性とメタロチオネイン(MT)合成の誘導 ……67
○伊藤 敦子¹, 林 美千子¹, 伊藤 金次² (東邦大・医¹・法医, ²第2病理)

- *P-2-22. ChM1Lタンパク質の局在に関する免疫組織学的検討68
 ○佐藤 秀行, 山名 慶, 和田 仁, 清木 護, 浅野 哲 (帝人・医薬開発研)
- *P-2-23. Fenoldopam 投与による壊死性動脈炎における iNOS, bFGF および TGF- β 1 蛋白発現の経時的推移68
 ○池上 仁¹, 須田 美穂子¹, 泉澤 信行¹, 白木 克尚¹, 岡宮 英明¹, 中山 裕之², 土井 邦雄²
 (1山之内, 2東大・獣医病理)
- *P-2-24. ラットアジュバント関節炎モデルにおける骨破壊の病理組織学的検索69
 ○篠原 基輝, 原 敦子, 江幡 幸子, 松浦 正男, 篠原 従子, 平山 由美, 高橋 俊弘,
 西岡 浩一郎 (日本ケミファ)
- P-2-25. ラットにおける乳酸鉄の2または4週間反復経口投与時の骨毒性の定量的検討69
 ○松嶋 周一^{1,2}, 鳥井 幹則¹, 尾崎 清和², 奈良間 功²
 (1塩野義・新薬研, 2摂南大・薬・安全研)

ポスター【骨・皮膚】 座長 杉本 哲郎 (中外) 10:35~11:05

- P-2-26. ビタミンD誘導体によるラット副腎髄質増殖病変と血中カルシウムの関係70
 ○伊藤 恒夫¹, 加藤 淳彦¹, 三沢 保幸¹, 岡崎 修三², 星谷 達², 山口 裕子², 鈴木 雅実¹,
 二木 力夫³, 杉本 哲郎¹ (1中外・安全研, 2ボソリサーチ, 3SLA研)
- *P-2-27. クロルプロマジンのラット雌性生殖器に対する影響と、内分泌変化を介した骨への作用70
 ○宮田 かおり, 国松 武史, 西本 佳弘, 坂東 清子, 木村 重紀, 井上 忠志, 紙田 祐介,
 奥野 泰由, 関 高樹 (住友化学・生科研)
- *P-2-28. HgCl₂ 投与に関するBrown Norway ラットの病理組織学的研究71
 ○金林 智倫^{1,2}, 鈴木 和彦¹, 中山 裕之¹, 土井 邦雄¹ (1東大・獣医病理, 2バイオ病理)
- *P-2-29. UVB 照射に対するWBN/ILA-Htラットの皮膚反応71
 ○黒木 宏二¹, 中山 裕之², 土井 邦雄² (1大日本・開発研, 2東大・獣医病理)
- *P-2-30. Contact dermatitis in BALB/c mice repeatedly elicited with picryl-chloride72
 ○鄭 智尹, 鄭 光一, 中山 裕之, 土井 邦雄 (東大・獣医病理)

ポスター【骨髄・神経】 座長 吉村 慎介 (食薬セ) 10:35~11:05

- *P-2-31. チタン酸カリウムウイスカ気管内注入によるPMN骨髄滞留時間の変化72
 ○大神 明¹, 森本 泰夫² (産医大・1産生研・労衛工, 2呼吸病態)
- *P-2-32. 大豆インフラボンアグリコン抽出物(AglyMax)のマウス脾コロニー法による造血細胞増強効果73
 ○殷 宏¹, 伊藤 明弘¹, 潘 偉軍², 武部 実²
 (1広島大・原医研・環境生物, 2ニチモウ)
- *P-2-33. ラットにおける長時間低血糖の末梢神経病変発現に及ぼす影響73
 ○下内 孝司, 田中 雅治, 織田 信一郎, 阿瀬 善也 (小野・福井研)
- *P-2-34. Acrylamideおよび3,3'-iminodipropionitrileの神経毒性の免疫組織化学を用いた検討74
 ○串田 昌彦, 吉岡 孝文, 辻 良三, 小林 久美子, 須方 督夫, 尾崎 圭介, 宇和川 賢,
 関 高樹, 奥野 泰由 (住友化学・生科研)
- *P-2-35. 病理画像解析装置を利用した末梢神経毒性の評価法に関する研究74
 ○林 修次^{1,2}, 鈴木 智¹, 箱井 加津男^{1,2}, 山口 修司¹, 入村 兼司¹, 鱈淵 英機², 福島 昭治²
 (1大鵬・安全研, 2大阪市大・医・第1病理)

ポスター【肝毒性1】 座長 真板 敬三 (残農研) 10:35~11:05

- P-2-36. T-2トキシン投与によるマウス肝臓P450発現の変化75
 ○武藤 幸子¹, 谷 吉朗², 中山 裕之¹, 土井 邦雄¹ (1東大・獣医病理, 2三共・安全研)
- *P-2-37. 化学物質の反復投与により肝細胞は抵抗性を獲得する?75
 ○田中 宏治, 匂坂 秀樹, 渡辺 稔之, 水出 美里, 大橋 芳彦, 高岡 雅哉, 真鍋 淳
 (三共・安全研)
- *P-2-38. Di(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP)を投与したカニクイザルにおける肝臓の変化76
 ○佐竹 茂, 杭瀬 綾子, 福田 綾子, 前田 博, 宮脇 宏彰 (新日本科学)

*P-2-39. 化合物投与により誘発されるラット肝薬物代謝酵素の mRNA 発現とその病理形態変化76
○田中英樹, 内海博之, 山本敏誠, 池田五子, 高木司郎, 永岡隆晴, 川畑好之康,
花田秀一 (ウェルファイド・安全研)

*P-2-40. Protein phosphatase 1/2A 阻害物質 Microcystin-LR(MCLR)誘発性肝毒性における Kupffer 細胞の関与77
○吉田敏則¹, 武田眞記夫¹, 真板敬三¹, 原田孝則¹, 上野芳夫²
(¹残農研, ²東京理科大・栃木臨床病理研)

ポスター【肝毒性 2】 座長 松沼尚史 (三共) 10:35~11:05

*P-2-41. チオアセトアミド誘発肝障害ラットにおける肝星細胞の免疫組織化学的解析77
○井手美佳, 山手丈至, 中西雅子, 町田優子, 澤本修, 桑村充, 小谷猛夫
(大阪府大・獣医病理)

*P-2-42. *In situ* RT-PCR 法を用いたラット肝線維症モデルにおける HGF mRNA 発現細胞の検出78
○秦純子, 池田悦子, 伊藤ゆかり, 清木護, 浅野哲 (帝人・医薬開発研)

*P-2-43. 好酸球増多症を自然発症する SD ラット(mes)にみられた肝線維症の病理学的検討78
○林守道¹, 武藤信一¹, 窪田典¹, 長澤達也¹, 北村毅¹, 黒田淳二¹, 柴田信男¹,
松本清司² (¹キッセイ・安全研, ²信州大・医・動物実験)

*P-2-44. Nitrofurazone のラット肝細胞に対する増殖作用79
○伊藤今日子¹, 山田喜春¹, 石田勝彦¹, 竹内文乃¹, 藤本隆平¹, 二井愛介¹, 岡宮英明¹,
土井邦雄² (¹山之内・安全研, ²東大・獣医病理)

*P-2-45. サイトスピン標本を用いたラット肝臓の細胞動態解析—肝細胞核数と BrdU 標識率—79
○藤井悦子¹, 三沢保幸¹, 森敏男², 唐沢弥生¹, 鈴木雅実¹, 杉本哲朗¹
(¹中外・安全研, ²CSK)

ポスター【腎毒性】 座長 白石和己 (旭化成) 11:05~11:35

*P-2-46. 4-nonylphenol および methoxychlor のラット 28 日間反復経口投与による $\alpha 2u$ -globulin の肝での発現
及び腎蓄積量の解析80
○畝山智香子¹, 渋谷淳¹, 中川恵子¹, 武吉正博², 榎富直哉¹, 仁保直子¹,
高橋則行¹, 小林恒雄¹, 岡崎修三³, 一鬼勉⁴, 広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理, ²化評研, ³ボゾリサーチ, ⁴パナファーム)

P-2-47. ラット片腎摘出抗 Thy-1 腎炎の糸球体硬化進展における上皮細胞障害の関与80
○仲辻俊二¹, 佐野孝一¹, 坪田健次郎¹, 中野恵子², 仲里祥子², 富田雅之²,
大石裕司¹, 清水不二雄³ (¹藤沢・安全研, ²薬理研, ³新潟大・医・腎研究)

P-2-48. オキシニン酸によるラット尿酸腎症への尿アルカリ化剤(CG-120)の影響81
○原敦子, 江幡幸子, 篠原基輝, 入谷勝義, 菌部弘聡, 桧山昭夫, 小林正, 木幡信彦
(日本ケミファ)

P-2-49. ゲンタマイシン誘発腎毒性に対する七物降下湯の抑制効果81
○今沢孝喜¹, 小野寺博志¹, 小野景義², 樋口行人³, 池田尚子⁴, 西川秋佳¹,
佐竹元吉², 広瀬雅雄¹ (国立衛研・¹病理, ²生薬, ³東亜大, ⁴昭和女子大)

*P-2-50. ラットのシスプラチン誘発腎障害に対するタウリンの軽減効果82
○佐藤伸¹, 藤崎正明², 斎藤健³, 細川敏幸⁴, 山手丈至⁵ (¹函館短大・食物栄養, 北大・院・
²地球環境科学・環境情報医学, ³環境医学, ⁴北大・高等教育, ⁵大阪府大・獣医病理)

ポスター【自然発生】 座長 中山裕之 (東大・獣医病理) 11:05~11:35

P-2-51. 雌性 B6C3F1 マウスの自然発生骨線維化病変 fibro-osseous lesion—卵巣摘出マウスとの比較82
○飯田晶敏, 笹山尚充, 村松浩二, 佐藤紀子, 河田昭彦, 内山長久 (日本エスエルシー)

*P-2-52. ラット乳腺腫瘍(fibroadenoma)における形態、血中ホルモンおよびプロラクチンレセプター(PRL-R)mRNAs
の関連について—非腫瘍部乳腺との比較—83
○岩坂俊基^{1,2}, 梅村しのぶ¹, 美谷島克宏², 正田俊之², 高橋明美², 柿本恒知^{1,2},
小泉治子², 宮川義史², 長村義之¹ (¹東海大・医・病態診断, ²日本たばこ・安全研)

P-2-53. F344 ラットの耳介に自然発生した無色素性黒色腫の継代移植試験	83
○中島 信明, 桑原 真紀, 真板 敬三, 原田 孝則 (残農研)	
*P-2-54. カニクイサルにみられた両側性腎細胞腫瘍	84
○山口 裕子, 堀口 浩資, 玉井 幸子, 安藤 利恵, 笠原 健一郎, 佐藤 順子, 星谷 達, 岡庭 梓 (ボゾリサーチ)	
*P-2-55. ミニラットの腎尿細管における Karyocytomegaly の自然発生	84
○杉本 加代子, 渋谷 一元, 唐沢 茂, 水谷 誠, 平井 卓哉, 布谷 鉄夫 (日生研)	
ポスター【自然発生】 座長 山崎 寛治 (化評研) 11:05~11:35	
*P-2-56. コモンマーモセット (<i>Callithrix jacchus</i>) にみられた筋肉病変	85
○土居 卓也, 倉田 祥正, 河裾 健志, 勝田 修, 土谷 稔 (三菱化学安科研)	
*P-2-57. <i>Tcrb, p53</i> ノックアウトマウスに自然発生した大腸増殖性病変	85
○角 将一, 船橋英行, 内田 和美, 岩田 眞, 永田 百合子, 安藤 稔, 尾上 正治, 諸富 正己 (ヤクルト中研)	
*P-2-58. CB6F1-TgrasH2 マウスにおける骨格筋の筋症の病理組織学的検討	86
○土屋 毅幸 ¹ , 小林 潔 ¹ , 後藤 和広 ¹ , 杉本 次郎 ¹ , 佐野 文子 ¹ , 臼居 敏仁 ² , 諸橋 鉄務台 衛 ¹ (¹ 三菱東京・安全研, ² 実中研)	
*P-2-59. 若齢ラットに自然発生した唾液腺腫瘍 7 例の病理組織学的検討	86
○萩原 里香, 澤本 修, 栗栖 和信 (大塚製薬工場, 鳴門研)	
*P-2-60. Wistar Hannover GALAS ラットの肺に認められた異所性腺組織を伴う先天性嚢胞性病変	87
○竹内 幸子, 吉田 敏則, 桑原 真紀, 榎本 秋子, 中島 信明, 真板 敬三, 原田 孝則 (残農研)	
ポスター【自然発生】 座長 佐々木 啓 (武田) 11:05~11:35	
P-2-61. F344 ラットの子宮に認められた脱落膜反応	87
○北澤 利明, 北條 仁, 竹内 幸子, 吉田 敏則, 桑原 真紀, 中島 信明, 真板 敬三, 原田 孝則 (残農研)	
*P-2-62. IGSラットにみられた自然発生粘液型脂肪肉腫の一例	88
○鈴木 智, 林 修次, 箱井 加津男, 山口 修司, 入村 兼司 (大鵬・安全研)	
*P-2-63. SD IGS ラットの精巣における奇形腫と胎児癌の合併例:2 例についての症例報告	88
○佐脇 正邦, 篠田 和俊, 寶珠山 五月, 加藤 文恵, 山崎 寛治 (化評研)	
*P-2-64. 雌性 Donryu ラットにみられた皮脂腺上皮化生を伴う乳腺線維腺腫の 1 例	89
○下元 貴澄 ^{1,2} , 吉田 緑 ¹ , 竹中 亜希子 ¹ , 安藤 進 ¹ , 高橋 正一 ¹ , 前川 昭彦 ¹ (¹ 佐々木研・病理, ² 大塚・徳島研)	
ポスター【自然発生】 座長 柳井 徳麿 (岐阜大・農・家畜病理) 11:05~11:35	
P-2-65. F344 ラットに自然発症した眼窩内横紋筋肉腫の 1 例	89
○高須 伸夫, 松井 信志, 松嶋 周一, 岡田 学, 花房 友行, 丸山 敏之, 鳥井 幹則 (塩野義・新薬研)	
P-2-66. IGS ラット 3 例に認められた菌原性のう胞を伴うエナメル質形成不全症	90
○勝田 修, 山下 弘太郎, 友成 由紀, 河野 友紀子, 土居卓也, 岡崎 欣正, 涌生 ゆみ, 土谷 稔 (三菱化学安科研)	
P-2-67. SD ラットに認められた自然発症性の骨髓芽球性白血病の 1 例	90
○下 武男, 片山 淳一, 斉藤 明美, 高原 栄二, 永田 治 (北陸製薬)	

教育講演要旨

多段階発癌と遺伝子変化

小西 陽一

(奈良医大がんセンター・腫瘍病理)

多段階発癌と遺伝子変化

奈良医大がんセンター腫瘍病理 小西 陽一

がんの発生と進展の過程には、多段階的に遺伝子異常の生じることは知られている。動物実験系を用いた発癌の分子機構の解析は、発癌に対する系統差を用いた発癌感受性に関与する遺伝子の検索、発癌物質を選択することにより標的臓器に特異的な遺伝子異常を検出し得ること、更に、異常な遺伝子を標的としたがんの発生と進展を阻止または遅延せしめる物質を検出し得ることなど、ヒト症例を用いた解析では為しえない有用な情報を得ることが可能である。今回、ラット肺癌と肝癌およびハムスター膵管癌発生系における、前癌病変より浸潤癌への段階的な病変の進展過程における遺伝子異常の検索結果を報告する。

ラットに N-nitrosobis(2-hydroxypropyl) amine (BHP) を投与し、経時的に肺病変の発生を検索すると、肺胞上皮過形成、腺腫を経て腺癌が、また、扁平上皮化生、扁平上皮癌が発生する。K-ras 遺伝子変異は肺胞上皮過形成より検出され、遺伝子異常のパターンは全例コドン 12 の GGT から GAT への点突然変異であった。β-カテニン遺伝子変異は、腺腫より検出された。肺癌においては、Ha-ras、p53 遺伝子異常はみられなかった。血管内皮増殖因子(VEGF)、midkine、cyclooxygenase(COX)-2 遺伝子発現は、大部分の肺胞上皮過形成ではみられないが、病変の進展につれて過剰発現がみられた。また、COX-2 阻害剤と抗生物質により慢性炎症を抑制すると肺発癌が抑制されることをみいだした。ラットにコリン欠乏食又は diethylnitrosamine (DEN) を投与すると、肝発癌に関与する遺伝子異常の頻度は低率であるが、内因性肝発癌では c-myc のメチル化の異常、外因性肝発癌では b-カテニン遺伝子異常の重要性が見出された。

ハムスターに N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP) を投与し、経時的に膵管病変の発生を検索すると、膵管上皮過形成、異型過形成、膵管内癌を経て、浸潤癌が発生する。さらに、浸潤癌より膵癌移植系と転移能の異なる培養細胞系を樹立した。これらの系により膵管癌の発生、増殖および進展の過程を段階的に検索することが可能となった。K-ras 遺伝子異常は、膵管上皮過形成より検出され、遺伝子異常のパターンは全例コドン 12 の GGT から GAT への点突然変異であった。p53 遺伝子異常は移植系、培養細胞系でのみみられた。浸潤癌においては、テロメラーゼや matrix metalloproteinase (MMP)-2 の活性化、midkine の過剰発現がみられ、転移能を有する細胞株では nm23/NDP kinase の過剰発現がみられた。この系においては、β-カテニン遺伝子異常はみいだされなかった。また、MMPs 阻害剤の投与により、前癌病変より浸潤癌への進展が抑制されることをみいだした。

以上の結果より、ラットの肺と肝癌及びハムスターの膵癌は、多段階の病理学的変化を経て発生し、その各段階における特異的遺伝子の関与が示唆され、これら難治癌制御に有益な情報を供給し得ることが示された。

I A T P

International Recognition and Accreditation of
Toxicologic Pathologists, A New Approach

INTERNATIONAL RECOGNITION AND ACCREDITATION OF TOXICOLOGIC PATHOLOGISTS, A NEW APPROACH

LEANDER TRYPHONAS¹, MICHAEL IATROPOULOS², JERRY FRANTZ³,
CHIRUKANDATH GOPINATH³, and NOBUYUKI ITO³. President¹, Secretary-Treasurer², and
Regional Directors³ of IATP, Nepean, Ontario, CANADA.

A review of the Educational Standards presently used to train toxicologic pathologists worldwide revealed the existence of a wide variation in the educational background of practicing toxicologic pathologists. This was attributed mainly to an apparent lack of focused training in toxicologic pathology. After careful consideration, IFSTP recognized that there is a pressing need to (a) define minimal educational standards for toxicologic pathologists, (b) establish criteria for measuring performance, and (c) promote appropriate continuing education. To measure performance, the IFSTP decided unanimously to institute a mechanism by which to recognize and accredit toxicologic pathologists internationally, starting the year 2000. To implement this decision, IFSTP created the International Academy of Toxicologic Pathology (IATP).

IATP has the following objectives: (a) accreditation will be accomplished by the peer-review process and (b) education, training, and experience will be used as criteria for evaluation. IATP is governed by a Board of Directors - the President, the Secretary-Treasurer, and three Regional Directors representing Europe, Japan, and North America. Evaluation of the candidates is the responsibility of the Accreditation Committee (AC), an independent, democratically elected body whose decisions are communicated to the IATP Board of Directors for implementation. AC consists of nine members, three from each of the three geographic regions. The accreditation criteria by which candidates are evaluated take into consideration education and training, professional experience, scientific judgment, recognition, continued practice in specialty, and continuing education. Successful candidates become Fellows of IATP.

The benefits of IATP Fellowship include international recognition and accreditation as an expert based on national qualifications; accreditation extended to toxicologic pathologists with DDS, DVM, MD, and PhD, or equivalent degrees; award of diploma/certificate signed by an international committee; recognition by regulatory agencies, academia, scientific research companies, and learned societies worldwide; continuing education through sponsoring or co-sponsoring of appropriate international symposia, conferences, and workshops; and access to a website for information distribution, updating, and exchange within the three geographic regions.

Those interested in obtaining international recognition and accreditation by becoming an IATP Fellow may request pertinent information and an application form by contacting the office of IATP. Dr. Leander Tryphonas, President, IATP, 31 Welkin Crescent, Nepean, Ontario, K2E 5M4 CANADA. TEL/FAX/VOICE: 613-225-0855. E-mail: ifstp@aol.com

シンポジウム要旨

(S-1-1~S-2-5)

桶田 理喜 (東京医科歯科大学難治疾患研究所、神経病理学)

私の病理学的関心事は、色々の神経疾患に於ける”脳病変発生部位選択性の機序”の問題ですが、薬物性脳病変もその一つとして検索して来ました。薬物による脳病変の発生機序の解明においても、「何故病変が脳の中の特定の部位に選択的に生じるのか」と言う問題を避けて通れませんが、実はこの問題自体がその発生機序と極めて密接に関連している事をこれまでの経験から実感しています。薬物による脳病変の発生機序の解明には、以下の点を考慮する必要があります。

1. 薬物ないしその代謝産物が直接に脳の細胞・組織を傷害する場合：
 - a. 脳のどの部位のどの細胞がどのように侵されているか(血管も含めた周囲組織との立体的位置関係も重要)
 - b. これらの物質の脳の細胞・組織への到達性
 - c. そこに到達したこれらの物質の排除のされ易さ
 - d. これらの物質に対する細胞の感受性と細胞傷害の生化学的機序
 - e. 細胞・組織傷害に対する組織反応
2. 薬物ないしその代謝産物が間接的に脳を傷害する場合：
 - a. 心血管系或いは呼吸器系の異常を介して、 b. 電解質異常や栄養障害或いは肝臓・腎臓等の機能異常を介して

私がこれまでに遭遇したヒトや動物の薬物性脳傷害の中で特に、広範な大脳白質病変を生じる抗癌剤5フルロウラシル誘導体の毒性、これと類似した病変を来す他の疾患との発生機序の相違、放射線照射や抗癌剤投与によるとされている橋底部多巣性壊死、電解質異常によるとされている central pontine and/or extrapontine myelinolysisの機序、ラット小脳の顆粒細胞に選択的にアポトーシスを生じる抗アレルギー剤の代謝産物の作用機序等の検索結果を供覧すると共にこれを通して、脳の各々の領域に内在する血管や神経線維連絡を含めた組織構築の特徴が各々の発生機序に密接に関わっている事を強調したいと思います。

衛藤 光明 (国立水俣病総合研究センター)

水俣病は我が国の代表的な公害被害の例であり、1956年に水俣湾周辺に、1965年には新潟県の阿賀野川流域にも発生したメチル水銀中毒である。発生当初は水俣奇病と言われており、熊本大学医学部水俣病研究班が1959年に既に有機水銀説を提示したにもかかわらず、水俣病の原因物質をメチル水銀中毒であるとの政府統一見解がなされたのは1968年であった。これによると、水俣病は、メチル水銀化合物による中毒性の中樞神経疾患であり、水俣市のチッソ(株)および阿賀野川上流の昭和電工(株)のアセトアルデヒド製造工程で副生されたメチル水銀化合物が工場排水と共に排出され、環境を汚染し、食物連鎖を通じて魚介類にメチル水銀化合物が濃縮され、これらの魚介類を地域住民が多食する事により生じたものであるとされていた。しかし、最近の西村 肇らの研究によると、1932年～1951年まで水銀触媒の活性維持に使う助触媒として使用していた二酸化マンガンを、1951年以降硫化第二鉄に変え、反応母液中で還元された第一鉄イオンを硝酸で酸化する法に切り替えたことによって、プロセス中に生成されるメチル水銀量が急増し、さらに、海水が混入した工場用水を使用したために塩化メチル水銀の形で蒸発器から清溜塔へ移行して排出される結果を招いたとの報告があり、メチル水銀が大量、鰓や消化管から直接魚介類に摂取されて体内蓄積したことが判明した。この直後から患者が発生している。

水俣病の中樞神経病変は、その臨床症状と良く相関しており、求心性視野狭窄は鳥距野前位部の神経細胞の脱落・減数、難聴(後迷路障害)は横側頭回の病変、小脳性失調症は小脳顆粒細胞の脱落減数に由来する。また、中心前回、中心後回の病変はそれぞれ運動障害及び感覚障害に関係している。脊髄には、重症患者の中心前回の神経細胞傷害に由来する下行路である錐体路の二次性病変の他、慢性例における脊髄後根神経の病変に由来する上行路である後索(Goll索)の二次性病変が見られるが、メチル水銀の直接傷害は認められていない。

武内らは、ヒト大脳病変の選択的傷害の発生機序に関して、麻酔事故による急性の心停止、呼吸停止後数ヶ月生存して死亡した剖検例と、その病変局在の類似性を指摘した。C.M.Shawは深い脳溝の周囲に病変が強い事に注目していた。それらの示唆を踏まえて、シルビュウス溝及び鳥距溝をもつコモン・マーモセットを用いて中毒実験を行った結果、白質の浮腫による皮質の圧迫で循環障害を招来し、メチル水銀の毒性影響を受けやすい環境が形成されていることを証明したので報告する。また、小脳病変のプルキンエ細胞直下から始まる顆粒細胞脱落の発生機序に関しては尚未解決であるので今後の研究を待ちたい。

今井 清、吉村慎介（食品薬品安全センター）

神経系組織は、呼吸、血液循環など生命維持のための基本的な機能のみならず、運動機能、精神活動などの調節中枢としてきわめて重要な組織であることから、我が国において過去に経験した水俣病、スモンなどの化学物質による中毒例が物語っているように、化学物質の神経系組織に対する毒性は非常に悲惨な結果を招くことが多い。神経系組織、特に中枢神経系に分布している神経細胞は、小領域ごとに形態学的にも機能的にも著しい相違を示しているが、これらの小領域を相互に連絡する神経伝導路の存在により、調和のとれた神経機能が営まれている。従って、理論的には神経系組織で観察された病理形態学的変化の種類、分布を詳細に検討することにより、神経機能に及ぼす影響を類推することは可能であると考えられる。これまでに、有機水銀、鉛等の重金属、アジ化化合物、シアン化合物、クロロフェンタミン、イソニアジド等の医薬品、グルタミン酸等の生理活性物質など多くの化学物質によって中枢神経系に障害が現れることが明らかにされている。中枢神経系における病理形態学的反応は、比較的単純であり、出血あるいは浮腫性変化、神経細胞・神経突起の変性、壊死、髄鞘の解離・拡張による海綿状変性、髄鞘球形成、貪食細胞の浸潤、グリア細胞の反応性増殖などが主な変化であるが、その作用機序および障害される部位は、多様性に富んでおり、他の臓器障害に比較すると神経毒性の理解および評価がより困難となっている。今回、末梢神経障害物質と考えられている化学物質の大量投与により中枢神経に壊死性変化が惹起されるいくつかの例を紹介し、その作用機序についても若干の考察を加えたい。

2,5-hexanedione (2,5-HD) は n-hexane あるいは methyl-n-butylkeone などの代謝産物で distal axonopathy を惹起する代表的な化学物質であるが、ラットに明らかな末梢神経障害を投与量 (300 mg/kg) のほぼ倍量 (700 mg/kg) の連続経口投与により、小脳核から前庭神経核にかけて空胞形成が認められ、電顕観察では、比較的太い有髄線維の軸索周囲腔あるいは神経細胞周囲腔の拡張であることが明らかにされた。一方、放射線増感剤として開発された misonidazole を 80 mg/kg 以上の大量を連続静脈内投与すると、脚内核付近の灰白質の出血・水腫、小脳核および前庭神経核における軸索変性、神経細胞、神経線維あるいはグリア細胞周囲腔の拡張、小脳プルキンエ細胞の変性、分子層の空胞化が観察された。さらに、distal axonopathy を惹起する代表的な化学物質の1つである acrylamide (ACR) の大量連続経口投与によってもラットの小脳プルキンエ細胞の変性、分子層の空胞化がみとめられたが、2,5-HD, Misonidazole, ACR いずれも細胞の解糖作用を抑制することが明らかにされている。

一方、スモンの原因物質であるキノホルム投与により、イヌにおいてもヒト同様に頸髄薄束あるいは腰髄外側皮質脊髄路などに軸索変性が起きるが、大量連続投与すると梨状葉および嗅索の広範囲の軟化、アンモン角錐体細胞の消失が観察された。梨状葉の神経細胞あるいはアンモン角錐体細胞の壊死・消失は、トリメチルスズ (TMT) の単回投与でも観察されていたが、アンモン角錐体細胞の消失は、脳血流量の減少などによる乏血性変化と考えられており、さらに TMT による神経毒性の発現機序として、excitotoxic mechanism,

活性酸素の関与、protein C kinase の活性化などが考えられており、両化学物質による神経毒性発現に共通の機序が関与している可能性も考えられる。

従って、これまで個別におこなわれていた様々な化学物質の中枢神経系への影響を、総合的・系統的に見直すことも今後の課題として重要ではないかと思われる。

岡崎欣正（株三菱化学安科研）

アニリンは染料、ゴム製品、農・医薬品、火薬などの化学工業製品の原料や検査用試薬として広く利用されており、国内生産量 17 万 t を越える化学物質である。アニリンは強力なメトヘモグロビン（Met-Hb）生成能を持つことから、これまでは主にその血液毒性が注目されてきた。ヒトのアニリン中毒例では頭痛、眩暈、見当識障害、運動失調、脱力あるいは手足のしびれ感などの症状が報告されている。しかし、これらの症状は Met-Hb 生成と慢性的な貧血に起因した変化としてまとめられているにすぎず、中毒量のアニリンが神経系に対してどのような影響を及ぼすのかについては十分に検討されていない。我々は大量のアニリンをラットに単回投与することで、下記のような特徴の神経毒性が誘発されることを確認した。

1. 投与時のラットの週齢によって神経毒性の発現に感受性の違いがあった。すなわち 4 週齢のラットに投与した場合には神経毒性が誘発されるが、7 および 10 週齢のラットに投与しても神経毒性は発現しなかった。
2. 中毒性神経症状の特徴は麻痺性歩行あるいは後肢麻痺で、病理組織学的には主として脊髄の白質における海綿状変化であった。この病変は髄鞘の解離によって生じたものであった。
3. 麻痺性歩行あるいは後肢麻痺は一過性の症状で、時間の経過とともに漸次回復した。
4. 脊髄白質の海綿状変化は上行性神経路に一致して発現し、時間の経過とともに白質全域に拡大した。また、症状の回復時期に一致してマクロファージの病巣内浸潤、星状膠細胞の肥大とともに良好な髄鞘再生がみられた。
5. 海綿状変化の発現に先立って、脊髄白質の希突起膠細胞で細胞質内の membranous aggregates の出現と抗トランスフェリン抗体に対する免疫組織化学的な反応性の低下があった。

本講演では機能・行動検査の結果をあわせて、病変の組織像および分布と症状との関連を中心にアニリン誘発神経毒性を紹介する。また、アニリンと類似の構造を持つ化学物質で誘発される神経毒性、およびアニリンと類似の神経病変を形成する化学物質などについても紹介する。

創薬における Genomics を基とした Molecular targeting により、新薬の開発研究に大きな転換期が来ようとし、医薬品の副作用・毒作用についても遺伝子発現の観点から毒作用の発現を捉える必要が生じてきている。毒作用を考慮する上では、薬効に基づく遺伝子発現を標的にする一方、薬効の延長上にない毒性の Target がある事も考慮しなければならない。いずれにしても毒作用発現そのものが Gene expression に大きく関与している事は事実である。

近年では Molecular targeting がなされた後、Combinatorial chemistry の導入により、短期間で多くのスクリーニングすべき化合物が合成できるようになり、少量で多種類の化合物について毒性を調べる必要性が出てきた。それを High Throughput Toxicology とも呼んでいる。それに対応する為にも Toxicogenomics 面での毒作用評価がクローズアップされて来ている。更に、Toxicogenomics は、創薬面での必要性のみでなく副作用・毒作用の作用機序を考究する上で重要であり、臨床開発・市販前後の副作用情報との関わりなど広範囲な有用性も期待される。

「生体に対する毒作用が関連遺伝子の異なる遺伝子発現の変化によるものである」という概念から (1) その遺伝子変化を検知する事は、それから続発する毒作用の早期予測・警告につながる。(2) 遺伝子発現解析の簡便化・自動化の導入は、毒作用機序解明のために細胞の分子レベルでの働きの総合的・複合的検索を可能にする。

毒作用関連遺伝子には、その機能グループとして、Stress response, Cell proliferation, Apoptosis, DNA damage, Inflammation, Oxidative stress, Drug metabolism, Transporter などが挙げられそれぞれの遺伝子が特定化されたマウス、ラット、イヌ、サル、ヒトなどの Gene chip として検索のツールになる。In vitro, in vivo による化合物の暴露による遺伝子発現の Up/down regulation 指標と既知化合物データベースとの対比により毒作用を明確にして行くのであるが Validation を含めて次の点が基本となる。(1) 既知の毒性物質の遺伝子発現プロファイルのデータベース作成には、一般的・古典的毒性試験法下で Toxicogenomics の手法を用いる。(2) 新規化合物での遺伝子発現と診断的に顕著な特徴プロファイル・毒性学的マーカーを比較する事は、その化合物の毒作用発現の可能性について早期に特定化でき、また、その毒作用発現機序解明の手掛かりとなる。

今回、肝毒性を示す既知の化合物の例について紹介すると共に Toxicogenomics の問題点・今度の展開について解説する。

野口英世（京都薬大院）

生物には約 24 時間で周期を刻む内因性のリズムが存在し、薬の薬効や毒作用の強さは投与する時刻によって異なるとされている。時間薬理学 *chronopharmacology* の研究は 1960 年代後半から始められ、生体時計の解剖学的位置や、その機構を解明する生理学的研究が進められてきた。その後、ショウジョウバエから時間遺伝子の *period (per)* が単離され、1980 年にはクローニングされて塩基配列が決定された。哺乳類ではハムスターのリズム突然変異遺伝子の *tau* が発見され、そのヘテロ接合体は 22 時間、ホモ接合体は 20 時間の周期を有することが明らかにされた。

日周リズムは代謝、生理、摂食、睡眠など生命現象を支配する多くの要因に認められ、およそ 20? 28 時間の周期を示すが、マウスでは約 23 時間、ヒトでは約 25 時間と動物種によって異なり、物理的時間である 24 時間ともずれているので、生物は明暗周期など外界の変化を利用して毎日の体内時計を調節している。外界からの光刺激は網膜神経節細胞から視床下部に投射する経路によって視交叉上核に伝達され、睡眠と覚醒の日内リズムを 24 時間に調節して昼夜の明暗サイクルに同調させ、夜間には松果体からメラトニンが分泌されて睡眠が誘発される。

薬物反応性の日周リズムにはフェノバルビタールの静穏作用やニコチンなどによるラットの死亡率の報告などがある。マウスやラットの様な夜行性動物は早朝から明期の摂餌量が少なく、胃内容排出速度 *gastric empty time* が速くなるので薬物を明期に経口投与すると吸収が速くなり、薬物の最高血中濃度が高くなる。また、薬物によっては肝での初回通過効果を受ける割合が減少する。ラットでは肝ミクロゾームの薬物代謝酵素活性に日内変動が認められ、ヘキソバルビタールの水酸化活性は午後 2 時が高く、午後 10 時に低く、対応するヘキソバルビタール麻酔時間は午後 2 時が最も短く、午後 10 時に長くなるとされている。

一般にヒトでの薬物動態試験は午前中に投与された薬剤の血漿中濃度が測定され、そのデータに基づいて薬剤の用法用量が設定されるが、経口剤では投薬時刻によって最高血漿中濃度や平均持続時間が異なるので、医薬品の副作用を避けながら最大の治療効果を得るためには時間薬物動態学 *chronopharmacokinetics* の知識が必要となる。さらに、最近、制癌剤の抗腫瘍効果や毒性に日周リズムが認められる様になり、がん患者での時間薬物治療学 *chronopharmacotherapy* の比較試験も行われて臨床の場で利用されている。また、体内時計の変調による睡眠相後退症候群では睡眠相の慢性的な遅延を正常化する治療も行われている。本論では時間薬物動態学データを中心に薬物治療における体内時計の働きについて考察する。

菊池 康基 (株)国際医薬品臨床開発研究所

新薬の治験中に発生する副作用が、果たして動物の毒性試験によって予測可能かどうかについては、これまでも種々論議されてきた。しかし、これを論証するデータは意外に乏しい。この問題を検討するため、製薬協医薬品評価委員会ではプロジェクトチームを編成し、アンケート調査を実施した(製薬協 医薬品評価委 基礎研 資料 61, Oct. 1993)。

調査対象は、1983年4月以降に治験に入り、1992年3月までの間に開発中止あるいは中断した治験薬のうち、臨床における安全性が問題となった事例について、非臨床データの提供を求めた。基礎研究部会加盟会社中64社より150事例の「コード形式」回答票と23事例の「文書型」回答が寄せられた。

臨床副作用と毒性データとの関連性を調査できたのは64化合物における91所見であり、決して多いとはいえないが、結論的にまとめると以下のごとくであった。

動物試験から予見される臨床副作用：①口渇、縮腫など自律神経系に対する作用、②胃腸管の障害、③血圧、心拍数への影響、④注射部位の損傷。

動物試験から予見しがたい臨床副作用：①頭痛、悪心、食欲不振、胸部圧迫感などの自覚症状、②薬疹などのアレルギー症状、③白血球、リンパ系の障害、④血中トランスアミナーゼの上昇などの肝機能障害。

以上の調査資料について、具体的な内容をお示しし参考に供したい。

次いで、最近の資料として、臨床第I相試験は何処まで安全なのか、臨床試験受託事業協会(臨試協)が実施した調査データ(Dec. 1999)をお示しする。臨試協加盟18施設で1993年1月から1998年9月にかけて実施された臨床第I相試験(生物学的同等性試験を含む)で発現した重篤な有害事象について調査した。計3,166試験、被験者総数47,935名中、投与薬剤との関連が否定できない重篤な有害事象を発現した被験者は5名、発現率は0.01%であった。有害事象は、ショック、アレルギー、低血圧、急性肝炎等で、いずれも回復し、後遺症などは認められなかった。第I相試験は安全な試験であるといえよう。

白井智之、今井田克己、朝元誠人（名市大・医・第一病）

アポトーシス (Apoptosis) は 1972 年 Kerr らが従来の壊死とは異なる細胞死として提案した細胞死の一形態である。1980 前半から急速にアポトーシスの研究が進み、そのメカニズムの解明は飛躍的に進展している。アポトーシスは動物個体発生、分化、臓器・組織の形態と機能維持また老化といった個体の一生にわたる基本的な生命現象に深く関与していることが判明してきた。癌をはじめ種々の疾患に関わることなどが次々と明らかにされている。また生体細胞が何らかの原因で突然変異や障害を受けた場合、生体にとって有害であると認識された細胞は積極的にアポトーシスの機構によって排除され、アポトーシスは生体防御の役割を果たしている。したがって、アポトーシスは“細胞の死”を意味するが、それは多細胞生物の“生”を維持するための巧妙な仕組みでもある。アポトーシスは“細胞の自爆死”とも表現されるように、ゲノム DNA のヌクレオソーム単位で生ずる断片化を伴って極めて短時間で細胞が死滅する過程で、細胞核を中心に起きる一連の形態変化を特徴とする。

毒性病理学の点からも種々の化学物質の毒性による組織障害、発がん過程における細胞死を評価する指標の一つとして、アポトーシスは重要なものになっている。しかし“アポトーシス”の判定には問題点も少なくない。アポトーシスは DNA の断片化、クロマチンの凝集、細胞の縮小を特徴としており、組織学的には核の小片の集まった小体として認められ、細胞間に挟まれるように存在する。アガロースゲル上では特有のはしご状の泳動パターン、つまり DNA ラダーが形成されるが、これは *in vivo* からの組織では難しい。また DNA の断片化を利用して切断した DNA の 3'-OH 末端に deoxynucleotide を付加する反応を利用した Terminal deoxynucleotidyl-mediated dUTP-nick end labeling 法 (TUNEL 法) が開発された。容易に反応をパラフィン切片上で行えるようになったが、その特異性には疑問を投げかける研究者も多い、

一方ネクローシスは外的素因によって細胞膜破壊により細胞死を招くとされているが、TUNEL 陽性細胞を見いだすこともあり、アポトーシスとネクローシスの境界には不鮮明な部分もある。

本シンポジウムでは形態からみたアポトーシスについての問題点に触れてみたい。

堤 雅弘、辻内俊文（奈良医大がんセンター腫瘍病理）

細胞の増殖停止状態から増殖の開始、細胞回転から増殖停止への進行は、特定のシグナルにもとづいて、細胞内で一定の反応が逐次的に生じ進行する。この反応は多岐にわたる遺伝子の複雑な関与によるもので、詳細な全貌の解明は、まだ為されていないが、近年の分子生物学の目覚ましい進展とともに解明されつつある。

細胞が増殖を開始したり継続するためには、そのためのシグナルが必要であり、増殖を誘導あるいは継続するときに働く遺伝子群は、発現が誘導されたり、遺伝子産物が活性化状態になるような変異を受けると、細胞は増殖制御機構を逸脱し、無制限に増殖するようになる。このような遺伝子のなかに癌遺伝子とよばれるものが多数存在する。一方、増殖抑制的に作用する、あるいは増殖停止状態を維持するために働く遺伝子群は、それが欠失したり、遺伝子産物の機能が喪失するような変異を受けると、細胞は抑制機構より開放され増殖へと向かうことになる。このような遺伝子には癌抑制遺伝子といわれるものが含まれている。

癌は、複数の遺伝子異常が蓄積して発生し進展することが明かになりつつあり、実際、多くの臓器の種々の癌で、多くの遺伝子異常がみいだされており、その中には細胞周期の制御に働く遺伝子群も含まれている。しかし、これらの遺伝子群は互いに関連しており、遺伝子発現異常がみられたことが発癌の要因であるか結果であるのかを見極めることは重要である。発癌実験系は、ヒト癌を用いた研究では解析が困難な、遺伝子異常の蓄積の乏しい発癌早期の病変を解析できること、前癌病変より癌の発生および進展を段階的に検索しうることより、癌の発生と進展に関わる重要な遺伝子異常を解明しうる利点を有している。また、化学物質を用いて細胞周期を阻害することにより発癌過程がどのように修飾されるのかを検索することも可能である。今回のシンポジウムにおいては、以上のような観点より、細胞周期の制御機構について総説し、癌でみいだされている細胞周期に関与する遺伝子群について、ヒトおよび動物発癌系における異常の特徴、および細胞周期を阻害する薬物による発癌過程の修飾について述べる。

口 演 要 旨

(1 ~ 20)

○田村 啓¹、三森国敏^{1,3}、小野寺博志¹、那須昌弘²、高木久宜¹、安原加壽雄¹、上田 誠¹、鈴木勝士⁴、広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理、²パナファーム・ラボラトリーズ、³東京農工大・家畜病理、⁴日獣大・獣医生理)

【緒言】麴酸 (Kojic acid:KA) はメラニン合成阻害作用を有し、食品添加物に利用されている。我々は先に KA がヨードの取り込みと有機化阻害作用により甲状腺ホルモン合成を阻害し、それによる甲状腺一下垂体系の初タイプフィードバックを介した TSH 刺激によって甲状腺増殖性病変が誘発されることを明らかにした。一方、KA は Ames 試験や染色体異常試験等の *in vitro* 変異原性試験で幾つかの陽性結果を示し、さらにマウスの長期投与では甲状腺腫瘍の誘発が報告されており、甲状腺腫瘍誘発における KA の遺伝毒性の関与が懸念される。今回、ラット甲状腺二段階発癌モデルを用いて KA をイニシエーション期に投与し甲状腺腫瘍誘発に与える影響を検討した。【方法】1 群あたり 20 匹の雄 F344 ラットを用いて 1 群は 8 週間無処置飼育後、0.1% Sulfadimethoxine (SDM) を飲水投与し、2 群は 700mg/kg 体重の Diisopropanolnitrosamine (DHPN) を 2 週間隔で 4 回皮下投与後、0.1% SDM を飲水投与した。3 群は 2% KA 含有飼料を自由摂取、4 群は 2% KA 含有飼料を 8 週間自由摂取後、基礎飼料にきりかえて自由摂取させた。5~7 群には DHPN 処置の代わりに、それぞれ 0.02%、0.2% ならびに 2% の KA 含有飼料を 8 週間自由摂取させた後、基礎飼料にきりかえて 0.1% SDM を飲水投与した。実験開始から 31 週間後に各群の生存動物の半数を剖検、残り半数は投与を中止し無処置で 13 週間飼育後、全生存動物を剖検して検索した。【結果】DHPN+SDM 群では休業群も含め、濾胞上皮限局性過形成、腺腫、癌が高率かつ多数認められた。0.02% KA+SDM, 0.2% KA+SDM, ならびに 2% KA+SDM 群では、それぞれ 1/10 例、2/10 例および 4/10 例に、SDM 単独群では 2/10 例に限局性過形成が観察されたが、群間に発生率と平均発生個数の統計学的差異は認められず、それぞれの休業群でも発生率と発生個数に顕著な増加はみられなかった。2% KA 群では限局性過形成が 6/9 例に、その休業群では 5/8 例に認められ、さらに 1/8 例に腺腫が認められたが、発生個数に顕著な増加はみられなかった。2% KA の 8 週間投与群では増殖性病変の誘発はみられなかった。【結論】以上の成績から KA が甲状腺濾胞上皮に対しイニシエーション作用を有する可能性は殆どなく、本物質がホルモンを介した非遺伝毒性メカニズムによって甲状腺腫瘍を誘発する甲状腺発がんプロモーターであることが明らかとなった。

2 卵巣摘出ラットにおける甲状腺発癌に対する Estradiol benzoate ないし内分泌攪乱物質の修飾作用

○高木久宜¹、三森国敏^{1,2}、小野寺博志¹、森安眞津子³、那須昌弘³、安原加壽雄¹、田村 啓¹、広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理、²東京農工大・家畜病理、³パナファーム・ラボラトリーズ)

【目的】伊藤らは MNU でイニシエーションを行い、低ヨード食でラットに EE を与えると甲状腺発癌を促進することを報告している。我々も、卵巣摘出ラットに Diisopropanolnitrosamine (DHPN) でイニシエーションを行い、その後抗甲状腺剤である Sulfadimethoxine (SDM) を 8 週間飲水投与したラットに Estradiol benzoate (EB) を 25 週間皮下埋植することにより甲状腺発癌促進作用がみられることを報告した (第 59 回癌学会)。そこで今回、SDM の投与期間をさらに延長したモデルを用い、EB および他の内分泌攪乱化学物質である Methoxychlor (MXC) および Bisphenol A (BPA) の甲状腺発癌に対する修飾作用を検討した。

【方法】4 週齢雌 F344 ラットの卵巣を除去し、1 週間後に 2000mg/kg DHPN を単回皮下投与した。その 1 週間後より各群 30 匹の基礎食 (BD) 群、0.5mg EB 皮下埋植群、1000ppm MXC 混餌群、10000ppm BPA 混餌群を設け、20 週間投与した。さらに、各群の半数のラットには 200ppm SDM を 20 週間併用飲水投与した。

【結果】全投与群で、それぞれの BD 群に比し有意な体重増加抑制が認められた。EB 単独、MXC 単独、EB+SDM、MXC+SDM 群で、それぞれの BD 群に比し甲状腺相対重量が有意に増加した。病理組織学的検索では、EB+SDM 群において過形成、腺腫、癌が発生したが、他の群にはなんら増殖性病変の発生は認められなかった。

【結論】EB のような強いエストロゲン作用を持つ物質では、SDM による血清 TSH の増加に起因する甲状腺への持続的増殖刺激が加わることにより甲状腺増殖性病変の発生が増強されるものと考えられた。一方、MXC および BPA のような弱いエストロゲン作用を有する物質では、そのような作用がないことが示唆された。

○鰐淵英機、魏 民、岩井秀司、レザウル カリム、森村圭一朗、福島昭治
(大阪市大・院・医・都市環境病理)

【目的】アルコール摂取は肝障害を引き起こし、また、アルコール多飲者には肝癌発生率が高いことが明らかにされている。一方、禁酒により肝発癌が促進されたという報告もある。今回、我々は、アルコール摂取及びその中断が、肝発癌にどのような影響を及ぼすかをラット肝中期発癌モデルを用いて検討した。【方法】6週齢の雄性F344ラット56匹を5群に分け、実験開始時に DEN 200mg/kg b.w.を腹腔内投与し、3週間後に2/3肝部分切除を行った。実験開始2週後からG1は5%アルコール食、G2はコントロール食にて6週間、G3は5%アルコール食を6週間投与後、コントロール食を4週間、G4は5%アルコール食にて10週間、G5はコントロール食にて10週間飼育した。実験開始後8週(G1,2)と12週(G3-5)にラットを屠殺し、肝前癌病変の指標であるGST-P陽性細胞巢の発生および細胞増殖能の指標であるPCNA陽性率を免疫組織化学的に解析した。また、肝ODC活性、血清IGF-1濃度も測定した。【結果】肝単位面積あたりのGST-P陽性細胞巢の個数および面積はG1(7.78±3.50、0.69±0.33)でG2(6.27±1.81、0.56±0.24)に比し増加傾向を示した。また、G4(8.29±3.06、0.90±0.39)はG5(3.82±1.51、0.59±0.39)に比し有意に増加し、G3(5.72±1.63、0.64±0.25)はG4に比し、有意に減少していた。肝ODC活性(pmol/hr/mg protein)はGST-P陽性細胞巢の結果を反映し、G1:50.8±32.2、G2:37.1±22.7、G3:101.7±37.1、G4:120.2±37.3、G5:81.8±16.5であった。血清IGF-1値はアルコール投与(G1:2.88±1.19、G4:2.64±0.78)で対照群(G2:3.70±1.31、G5:3.22±1.41)に比し減少し、アルコール中止(G3:3.27±1.16)により改善がみられた。また、GST-P陽性細胞巢内のPCNA標識率(%)はアルコール投与(G1:14.5±5.9、G4:18.6±2.8)により対照群(G2:6.7±4.1、G5:9.9±4.0)に対して増加し、中断(G3:9.5±2.6)により改善した。【結論】アルコール投与でラット肝発癌は促進され、その中断により改善が認められた。

○中江 大、安藤信明、岸田 秀樹、楠岡 修、赤井弘幸、田村一利、笛木 修、小西陽一
(奈良医大・腫瘍病理)

「目的」ラットにおける食餌性コリン欠乏は、発癌物質を投与することなく、肝細胞癌を発生せしめるが、肝以外の臓器における器質的病変としては出血性膵炎や腎障害等の報告があるのみである。我々の開発したコリン欠乏アミノ酸(CDAA)食は、従来の半精製コリン欠乏食の蛋白質成分を純アミノ酸で置換し、コリンの含有量をより低減せしめた半合成食で、Fischer 344系雄性ラットにおいて、脂肪肝・肝細胞のアポトーシスと増殖・肝硬変の誘発を背景として肝細胞癌を誘発する。以上の如きCDAA食による変化は、半精製コリン欠乏食に比し、より強く、またより早い経過をもって発現する。さらに、半精製コリン欠乏食に抵抗性である雌性ラットも、CDAA食には感受性を示す。しかしながら、CDAA食の長期投与による雌における肝発癌性および雌雄両性の肝以外の諸臓器における変化の詳細は、いまだ明らかとされていない。以上より、本研究は、CDAA食の長期投与が雌雄のFischer 344系ラットの全身諸臓器に及ぼす影響について、組織学的に検索した。

「方法」動物は雌雄Fischer 344系ラットを用い、第1(20匹)・第2(20匹)・第3(40匹)群は雄、第4(20匹)・第5(20匹)・第6(40匹)群は雌ラットに、各々CDAA・CSAA・CRF-1食を投与した群とした。実験期間は2年とし、期間中の斃死例・切迫屠殺例および実験終了時生存例について解剖し、全臓器を組織学的に検索した。

「結果」肝細胞癌は、雌雄共にCDAA食投与群である第1(95%)・4(30%)群にのみ発生した。また、第1-3群において精巣間細胞腫発生頻度は、5・80・92.5%で、下垂体腺腫発生頻度は10・45・30%であり、いずれもCDAA食にて減少した。さらに、雌雄の膵腺房細胞過形成と前胃扁平上皮過形成および甲状腺C細胞過形成、ならびに雌の乳腺線維腺腫の発生頻度は、CDAAまたはCSAA食の投与により増加した。

「結論」以上の結果より、ラットにおいて、CDAA食は雌雄両性に肝発癌性を示すと共に、CDAAまたはCSAA食は種々の病変の自然発生を修飾することが判明した。

5 コリン欠乏アミノ酸食によるラット内因性肝発癌に対して銅キレート剤および食餌性銅欠乏の及ぼす影響

○岸田秀樹, 中江 大, 楠岡 修, 傳田阿由美, 榎並倫宣, 佐藤 洋, 天沼利宏, 小西陽一
(奈良医大・腫瘍病理)

「目的」銅は、Wilson病をはじめとする種々の肝疾患の機構に関与すると指摘されている。トリエンチンは、臨床的に使用されている銅キレート剤で、LECラットの肝発癌を著明に抑制することが報告されている。コリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食は、酸化性ストレスの関与する内因性の機構により、ラットにおいて肝発癌を惹起せしめる。我々は、以前に活性酸素生成の触媒である鉄の食餌性欠乏が、CDAA食によるラット内因性肝発癌を抑制することを報告した。本研究は、同様に活性酸素生成の触媒である銅に着目し、本発癌系に対してトリエンチンの投与と食餌性銅欠乏の及ぼす影響について検索した。

「方法」実験はFischer 344系雄性ラット (6週齢) を用い、CDAA食または対照のコリン添加アミノ酸 (CSAA) 食を単独または、トリエンチンを250・500・750・1500・3000 ppmの濃度で飲水に混じて投与した。さらに、銅欠乏CDAA・CSAA食を作製し、投与した。実験期間は16週とし、ラットは屠殺時に肝を摘出し、GST-P陽性病変の数と大きさを定量した。

「結果」1 cm³当たりのGST-P陽性病変の数は、CDAA食単独投与群、CDAA食と同時にトリエンチンを250・500・750・1500・3000 ppm投与した群、銅欠乏CDAA食投与群にて、それぞれ0.61・0.58・0.71・0.53・1.37・1.07・0.78とトリエンチン1500 ppm投与群にて有意に増加した。GST-P陽性病変の大きさは、CDAA食単独投与群、CDAA食と同時にトリエンチンを250・500・750・1500・3000 ppm投与した群、銅欠乏CDAA食投与群にて、それぞれ0.98・0.96・0.80・0.59・1.25・1.32・2.88と、銅欠乏CDAA食投与群にて有意に増大した。CSAA食単独投与群、CSAA食と同時にトリエンチン3000ppmを投与した群、銅欠乏CSAA食投与群では、GST-P陽性病変の発生を認めなかった。

「結論」以上の結果より、トリエンチンの投与あるいは食餌性欠乏による銅の低下は、ラット内因性肝発癌を増強することが判明した。

6 ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットの経胎盤発がん感受性

○鳥山-馬場弘靖¹⁾、山本扶美¹⁾、外岩戸尚美¹⁾²⁾、津田洋幸¹⁾
(¹⁾国立がんセンター・研・化療、²⁾名市大・医・第一病理)

ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットは乳腺・食道・膀胱および皮膚において顕著な発がん高感受性を示し短期にがんの発生に至ることを報告してきた。このラットの発がん実験では導入した遺伝子が全身で発現しているにもかかわらず全ての臓器で感受性の亢進が認められる訳ではないことも分かってきた。本研究ではN-ethyl-N-nitrosourea (ENU)の経胎盤投与によるヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットの発がん感受性を検討することを目的とした。【方法】雄のTgと交配した妊娠20日目の雌にENU 80mg/kgを静脈内投与して、腎芽腫と神経系腫瘍ならびに他の臓器について発がん感受性を観察した。【結果】ENU投与後に生まれた雌のTgとWildラットはそれぞれ10匹、15匹であり数には大差は認められなかったが、雄では、Tgは3匹出生したのみで、Wildの12匹より少なかった。乳腺、腎臓、神経系および皮下に発生した全ての腫瘍の合計腫瘍発生率は、雄Tgでは全ての個体に腫瘍の発生をみたが、Wildでは4/12匹(33.3%)であった。しかし、Tgラットの個体数が少なく統計的な有意差は認められなかった(P=0.0769)。一方雌では、総腫瘍発生率はTgで9/10匹(90%)、Wildでは7/15(46.6%)であり有意差(P<0.05)が認められた。腎芽腫のみで見ると、雄のTgでは全ての個体に見られたのに対し、Wild雄ラットでは1/12匹(8.3%)で、雄のTgに有意に(P<0.01)多く腎芽腫の発生が認められた。雌ではTgで4/10匹(40%)、Wild 2/15匹(13.3%)で有意差は認められなかった。【まとめ】ヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックラットにENUを経胎盤的に投与すると雄のTgで腎芽腫の発生が有意に増加したが、ENUの毒性による出産個体数の減少が認められた。一方、雌では出生数に差は無く、Tg雌ラットにおける総腫瘍発生率は乳腺がんの増加によるものであった。

○大西隆仁、韓範錫、津田洋幸（国立がんセンター研究所・化学療法部）

【目的】我々の作製したヒトプロト型 c-H-ras transgenic (Hras128) ラットは乳腺を標的とする発がん物質にきわめて感受性が高く、8 - 10 週ではほぼ全例に乳腺がんが多発する。本研究ではこの動物の発がん物質の早期検索法への応用の可否を検索する目的で、乳腺を標的としないニトロサミンである 2,2'-dihydroxy-di-*n*-propyl nitrosamine (DHPN) と polycyclic aromatic hydrocarbone (PAH) である 3-methylchoranthrene (3-MC), benzo(a)pyrene(B(a)P), anthracene(Ant)と pyrene(Pyr)の Hras128 (Tg)ラット (メス) の乳腺発がん作用を検討した。

【実験方法】1) 6 週齢の Tg と Wild ラットに 0.1% DHPN を 2 週間飲水投与し以降自由飲水を行い 40 週目に屠殺した。2) 6 週齢の ラットに各 PAH 200mg/kg を 1/week x 3 回、経口投与し 12 週目(3-MC は 10 週目)に屠殺した。

【結果】 乳腺腫瘍の発生は DHPN 投与群では、Tg ラットで 7/10 (70%)、 Wild ラットで 1/24 (4%)、腫瘍数/ラットは Tg で 1.90 ± 0.74 個、 Wild では 0 個であり、Tg の方が Wild より有意($p < 0.001$)の増加を示した。3-MC 投与群では、Tg で 7/7 (100%)、14.6 個、 Wild で 2/7 (29%)、0.29 個であり、B(a)P 投与群では、8/8 (100%)、6.88 個、Ant 投与群では 4/7 (57%)、0.86 個、Pyr 投与群では 3/7 (43%)、0.57 個であった。Wild では B(a)P、Ant と Pyr 投与群では乳腺腫瘍は認めなかった。Tg rat において乳腺腫瘍の発生頻度と個数ともに、Wild ラットに対し有意に増加していた。

【まとめ】 今まで乳腺を標的と言われていた発がん物質でも、Hras128 ラットの乳腺に対しては発がん作用を認めた。さらにいままで非発がん物質とされてきた Ant や Pyr は弱いながらも発がん物質である可能性が示唆された。以上から、この Tg ラットにおいて乳腺腫瘍の発生を指標として、発がん物質の早期検索法に応用できる可能性がある。

○松岡洋一郎、鳥山—馬場弘靖、深町勝巳、津田洋幸（国立がんセ研・化学療法部）、川口博明、吉田浩己（鹿大医・病理1）

【目的】 当研究部で樹立したヒト正常型 c-Ha-ras トランスジェニック (Tg) ラットは種々の発がん物質の投与で高頻度に乳腺がんを発生する。【方法と結果】 生後 49 日令の野生型 SD 系および Tg ラットに 7,12-dimethylbenz[α]anthracene を胃内 1 回投与 (25mg/Kg) すると、雌では投与後 12 週で Tg ラットの 100%に、野生型ラットの 60%に、雄では投与後 20 週で Tg ラットの 60%に、野生型ラットの 20%に腺癌の発生を認めた。生後 49 日令ラット (雌雄) の第 4, 5 乳腺の全埋標本を作製し、Terminal Endbud(TE)の総数を計測した結果、雌の Tg、野生型ラット (n=2) ではそれぞれ平均 54.9 個、42.0 個、雄の Tg、野生型ラット (n=5) ではそれぞれ平均 27.0 ± 18.0 個、 0.6 ± 1.3 個で、Tg ラットの乳腺では雌雄とも野生型より TE の数が多い傾向を示した (雄では有意差あり)。雌の Tg、野生型ラットの TE における MAP キナーゼの活性化状態を抗リン酸化 MAP キナーゼ抗体を用いた免疫染色法で比較したところ、前者で活性型 MAP キナーゼの上昇傾向が認められた。【結論】 c-Ha-ras Tg ラットは化学発がん物質による乳腺発がんに高感受性である。その 1 つの原因として、Tg ラットの TE における上皮細胞の増殖停止が野生型ラットに比較して遅延しているためと考えられる。Tg ラットの TE では Ras の下流に位置する MAP キナーゼの活性上昇が認められることより、Ras 情報伝達系の活性化が Tg ラットの乳腺上皮の増殖停止遅延に寄与していると思われる。

9 ゲニスタインおよびノニルフェノールによるエストロゲン応答性ラット下垂体腫瘍増殖作用

○藤本成明、丸山聡、浅野耕助、伊藤明弘、殷宏（広島大・原医研・予防腫瘍研究分野）

本研究では、食品中内分泌かく乱物質等の発がん修飾作用を検討する目的で、エストロゲン応答性増殖をするラット下垂体細胞をモデルにして、ノニルフェノール(NP)、ゲニスタイン(GNS)、ビスフェノール A(BPA)のエストロゲン活性が腫瘍増殖に与える作用を、*in vitro* と *in vivo* で比較検討した。【材料と方法】 1. 細胞：我々が樹立したラットの下垂体腫瘍細胞 MtT/E-2 を用いた。増殖アッセイは、フェノールレッド不含の DEM/F12 培地 + 活性炭処理 2%HS + 8% FBS 中で、改良 MTT により行った。また、(ERE)₃-SV40-luc の導入により ERE 依存性転写活性化能を測定した。2. 動物：4 週令の雌 F344 を Charles River Japan から購入し、去勢後、MtT/E-2 を 3x10⁵/部位で移植し、GNS および NP の 25、250ppm を経口投与した。3. RT-PCR：組織から全 RNA をアイソゲン試薬で抽出し、エストロゲン受容体および下垂体腫瘍遺伝子(PTTG)の mRNA を RT-PCR により測定した。【結果】 1. MtT/E-2 による細胞増殖試験の結果、GNS は 10⁻⁸M で有意な増殖促進活性がみられたのに対し、BPA は 10⁻⁶M、NP は 10⁻⁵M で有意な促進をみた。また、ERE 転写活性化能も増殖アッセイ結果とよく一致した。2. 移植実験の結果、群間で体重、下垂体重量、子宮重量に差は無かったが、下垂体腫瘍生着期間は GNS250ppm 群でのみ有意に短縮した。3. 下垂体腫瘍細胞のエストロゲン受容体 mRNA は、100%α型(β型は検出限界以下)であった。また、NP および GNS は、PTTG の発現量を変化させなかった。【考察】下垂体腫瘍株 MtT/E-2 は、非常に高感度にエストロゲンにตอบสนองし、内分泌かく乱物質の作用のよいアッセイ系である。今回の結果は、GNS の 250ppm 経口投与が *in vivo* でエストロゲン応答性の腫瘍増殖作用を発揮しうることを示唆した。

10 Inhibitory effect of genistein on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced mammary tumor development in human c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats

BEOM SEOK HAN, NOBUO TAKASUKA, TAKEHIKO KUNIMOTO, TETSUYUKI TAKAHASHI, and HIROYUKI TSUDA (Exp. Path. & Chemoth. Div., Natl. Cancer Center Res. Inst.)

The modifying effects of genistein, a flavonoid component of soybean, on the post-initiation stage of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) induced mammary carcinogenesis were studied in rats. Male and female c-Ha-ras proto-oncogene transgenic and non-transgenic rats were given one dose of DMBA (25 mg/kg body weight) by gavage at 50 days of age. They then received diets containing genistein at doses of 25 ppm or 250 ppm for 12 weeks for females or for 20 weeks for males, with sacrificed at the end of weeks 12 or 20. In transgenic rats, the incidence and multiplicity of mammary gland adenocarcinomas were significantly decreased by 250 ppm genistein (46 % and 0.73±0.27) as compared to the DMBA alone group (92% and 3.91±0.76) (P<0.05 or P<0.01, respectively). In non-transgenic rats, the mammary tumor incidence with 250 ppm genistein(0%) was also significantly decreased as compared to the DMBA alone value (67%,P<0.01). Incidences of adenoma and adenocarcinomas in the 250 ppm genistein group (0%) were also significantly decreased as compared to DMBA alone group (44% and 33%, P<0.05). Furthermore, multiplicity of skin tumors assessed by a test using coefficients for linear contrast demonstrated significant reduction in male transgenic rats given the flavonoid (P<0.001). No effects on body and organ (liver, kidney, ovary and uterus) weight were observed in the genistein fed groups. These results indicate that genistein has the potential for chemoprevention of mammary tumors in c-Ha-ras proto-oncogene transgenic and non-transgenic rats.

堤 雅弘、辻内俊文、楠岡修、三井雅之、高島吉治、白岩和巳、小西陽一（奈良医大、がんセンター、腫瘍病理）

Poly(ADP-ribose)化反応は、DNA修復やNADプールの枯渇を介する細胞死の誘導過程で重要とされ、発癌機構への関与が注目されている。従来のParp阻害剤を用いた発癌感受性への影響を調べる系では、阻害剤のParpに対する特異性の問題から発癌に対する関与について一定した見解は得られていなかった。今回、Parpの発癌機構への関与を明かにする目的でParpノックアウト(Parp-/-)マウスを用いた実験を行った。

動物はICR/129Svの遺伝的背景を有する雄性Parp-/-マウスを用いた。なお、マウスは国立がんセンター研究所生化学部、益谷美都子博士、中釜斉博士より供給を受けた。発癌物質として、N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP)を用い、0、250および500ppmの濃度で飲料水に混じり20週間投与した後、屠殺、剖検し、脳、甲状腺、肺、肝、腎、脾、膵、精巣、膀胱、消化管、皮膚、骨髄を病理組織学的に検索した。

その結果、動物の最終体重は、Parp-/-マウスと野生型マウスとの間で有意差はみられなかった。250および500ppmのBHPを投与したParp-/-マウスにおいては、それぞれの用量を投与した野生型マウスと比較して、肝の血管腫および肺腺腫の発生が有意に増加した。さらに、Parp-/-マウスにおいては肝に血管肉腫の発生もみられた。BHPの標的臓器以外の臓器においては、腫瘍の発生はみられなかった。

以上の結果より、BHPによる肝および肺発癌に対する感受性が、Parp-/-マウスにおいて亢進していることが示され、Parpの発癌への関与を強く示唆する知見を得た。また、この動物は、BHPのようなニトロソ化合物に対して野生型動物に比し発癌感受性が亢進していることより、環境中の発癌物質を検索するための有用な代替実験系となり得ることが示唆された。

4-NQO誘発ラット舌病変におけるcyclooxygenase(COX)-2蛋白質の発現と選択的阻害剤nimesulide(NIM)の発癌抑制効果

○塩谷洋史¹、傳田阿由美²、山本一彦¹、北山若紫²、遠藤武弘¹、堤雅弘²、杉村正仁¹、小西陽一²
(奈良医大・口腔外科¹、腫瘍病理²)

(目的) Cyclooxygenase(COX)は、アラキドン酸からプロスタグランジン、トロンボキサン、プロスタサイクリンなどのプロスタノイドが合成される際の律速酵素である。COXには、構成的に発現し生理的機能に関与する COX-1と誘導型で炎症や細胞増殖に関与するCOX-2の二つのisozymeがある。COX-2は、大腸癌をはじめ、種々の癌でその発現が亢進し、発癌への関与が指摘されている。最近更に、ヒトの舌癌を含む頭頸部癌でも、COX-2の発現が亢進していることが報告された(G.Chan et al. Cancer Res., 59,991,1999)。しかし、舌病変の詳細な検討はなされておらず、また、舌発癌への関与についても不明である。今回、舌癌へのCOX-2の関与機構を検索する目的で、4-nitroquinoline 1-oxide(4-NQO)によるラット舌発癌系を用い、舌病変でのCOX-2蛋白質の発現をwestern blotting(WB)と免疫組織化学(IH)にて検索すると共に、COX-2阻害剤nimesulide(NIM)による発癌抑制効果について検索した。

(方法) 全実験に6週齢F344雄性ラットを用いた。10ppm 4-NQO含有飲料水24週投与により発生した舌病変をCOX-2のWBとIHに共した。NIMの効果は、25-35ppm 4-NQO含有飲料水を12週投与後150、300および600ppm NIM含有飲料水を14週投与し、舌病変を病理組織学的に検索した。

(結果) WBにてCOX-2蛋白質は、剥離した正常舌上皮では軽度の発現を見たが、扁平上皮癌(SCC)では約6倍の発現亢進を示した。またIHにてCOX-2蛋白質は、正常舌上皮では基底細胞層でやや減弱した。

(考察) 4-NQOによるラット舌発癌モデルにて、COX-2蛋白質は、dysplasiaおよびSCCでその発現が亢進する事が示され、また、選択的COX-2阻害剤NIMがSCCの発生に対し、用量依存性の抑制効果を有することが判明した。これらの事より、4-NQOによるラット舌発癌モデルにて、COX-2がdysplasiaからSCCへの進展に関与していることが示唆された。

吉田 緑¹、竹中亜希子¹、勝田真一²、下元貴澄¹、安藤 進¹、高橋正一¹、前川昭彦¹
 (¹佐々木研・病理、²日本食品分析センター)

エストロゲン様作用を有する *p-tert-octylphenol*(OP)の新生仔期大量曝露は、ラットを *estrogenization* し、雌性生殖器に不可逆的な変化をもたらす(Katsuda et al.,2000)。これらの動物では無処置動物に比べ、子宮腺の低形成が顕著で、早期より被覆上皮の過形成が観察された事から、OP は視床下部・下垂体・性腺系の内分泌的制御機構だけでなく、直接子宮に作用して、その発育分化に影響を及ぼす可能性が考えられた。今回、OP の新生仔期曝露が子宮の発育分化に与える影響について、エストロゲンレセプター発現と細胞増殖活性の有無を中心として経時的に検討した。

[材料および方法]生後1日齢より15日齢まで隔日に100mg/kgのOPを雌Crj:Donryuラットに皮下投与し、生後6日齢から11週齢まで経時的に剖検した。各週齢の子宮について、エストロゲンレセプター(ER)およびproliferating cell nuclear antigen(PCNA)の免疫組織化学染色を行い、同週齢の無処置対照群と比較した。

[結果および考察]対照群では、ERは6日齢より間質細胞に明らかに発現しており、14日齢からは上皮でも軽度ながら認められるようになり、特に被覆上皮から間質へ陥入し始める子宮腺起始部で陽性細胞が多く観察された。21日齢では被覆上皮より腺上皮に多く発現が認められたが、28日齢では上皮での発現が低下した。OP群では、間質のER発現はいずれの日齢でも対照群と同様であったが、被覆上皮では10日齢より既に僅かながら発現していた。また対照群と異なり、14日齢で間質への上皮の陥入は殆ど認められず、ER陽性細胞の増加も観察されなかった。21日齢では、ER陽性細胞は被覆および腺上皮ともに対照群と比較し明らかに多かったが、上皮の陥入部分では観察されなかった。28日齢は対照群とほぼ同様であった。一方、PCNA陽性細胞は、両群ともに14日齢より上皮および間質で観察された。対照群では28日齢まで被覆上皮の陽性細胞は腺上皮より軽度であったのに対し、OP群では被覆上皮においても陽性細胞が明らかであった。これらの形態学的変化および生後28日齢までラットでは卵巣からのエストロゲン分泌が殆ど存在しないことから、OP新生仔期大量曝露は生後初期より子宮内膜の発育に直接的な影響、すなわち上皮のERの発現に影響を与えた結果、それに続く細胞増殖活性を増加させている可能性が考えられた。

○武藤朋子¹、和久井信¹、鷹橋幸弘²、政岡俊夫¹、羽野寛²、古里征国³、
 (¹麻布大・獣・比較毒性、²慈恵医大・病理、³杏林大・医・病理)

[目的] Coplanar-polychlorinated biphenyls(Co-PCBs)は、煙突の煤煙や固定廃棄物・土壤中に高濃度に分布し、また、他のダイオキシン類に比べその濃縮蓄積性は高い。さらに胎盤・授乳を経由して移行する為、次世代への影響が示唆されている。そこで、Co-PCB胎生期曝露が7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 誘発乳腺発癌へ如何なる影響を及ぼすかについて検討した。

[方法] SD(slc)ラット妊娠10-16日目までCo-PCB126を0.25ug(投与1群) or 2.5ng(投与2群)/kg/day経口投与、また対照群を設定した。その後、生後50日目のF1雌にDMBAを20mg単回経口投与、その17週後まで実験病理学的に検討した。

[結果] DMBA投与後17週での投与群の乳腺腫瘍発生率は、対照群と比べ高い傾向を示したが有意差は認められなかった。乳腺腫瘍の経日的累積発生度の検討から、投与群では対照群と比べ腫瘍発生時期の遅延と延長が認められた。投与群の腫瘍では、高い発育進展度(腫瘍の重量・体積の経日的増加傾向)や、高いPCNA Indexを示し、さらに、浸潤度も亢進していた。また、腫瘍のDNA Ploidyの検討では、投与群でAneuploidを示す腫瘍が増加していた。BLISS (Bacus Lab. Inc.)を用いた形態計測で、投与群で高いNuclear Gradeが認められた。全Parametersは、投与1群の方が2群に比べ高値を示した。

[総括] 胎生期Co-PCB曝露次世代に於ける、DMBA誘発ラット乳腺発癌では、乳腺腫瘍の発生時期の遅延と延長、さらに乳腺腫瘍の悪性度の亢進を示した。

○渋谷淳¹, 阿部直子², 畝山智香子¹, 中川恵子¹, 榎富直哉¹, 仁保直子¹, 高橋則行¹, 小林恒雄¹, 広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理, ²旭テクノグラス・ライフサイエンスセンター)

【はじめに】我々は既に、パラフィン包埋しても微量組織からRNA及び蛋白質の発現解析が可能な組織固定液として、メタカーンが最適であることを見出ししている。今回は、この固定法を用いて実際に microdissection した特定の細胞領域での定量的な mRNA 発現解析と genomic DNA の配列解析に関する検討を行ったので報告する。【方法】mRNA の定量解析法として、高感度 plate hybridization を利用した competitive RT-PCR 法を開発した。具体的には、ビオチン標識プライマーにより標的遺伝子と competitor を PCR 増幅し、capture 配列を固定化した microtiter plate 上で hybridize 後、トラップされた各々の標識ビオチンを酵素抗体法で測定して、既知量の competitor の PCR 産物量に応じた標的遺伝子のコピー数を求めた。genomic DNA の解析は、ラット肝組織切片の単位体積当たりの DNA 収量、増幅可能な遺伝子の長さを検討し、1 度の PCR による direct sequencing が可能かどうかの検討を行った。更に、ラット小脳プルキンエ細胞を用い、nested PCR による genomic DNA の PCR 増幅が可能な最小細胞数を求めた。【結果】新生ラットのパラフィン包埋した脳から microdissect された性的二型核より 200ng 以上の total RNA が抽出でき、それより 4-5 種類の mRNA の定量的発現解析が可能であった。そのなかで GABA transporter type 1 の発現に雌雄差を認め、ethinylestradiol (EE) の周産期曝露により、雌で用量依存性の発現低下が確認された。次に、ラット肝臓での genomic DNA の収量は 419 ± 269 ng/mm³ であり、ホルマリン固定材料に比べ極めて高い抽出率を示した。その DNA を鋳型とした $\alpha 2u$ -globulin DNA の PCR により、4 kb 程度のサイズまでの PCR 増幅と PCR 産物の direct sequencing が可能であった。Nested PCR 法により 600 bp サイズの DNA fragment を増幅できる最小細胞数は 8 個であった。【まとめ】メタカーン固定・パラフィン包埋材料は、蛋白質、mRNA の定量的発現解析に生材料に準じた解析能力を有し、遺伝子変異解析にもホルマリン固定材料を凌駕する適用性を示した。また、その優れた免疫染色性を考慮すると、特定の phenotype を有する細胞集団での解析に優れた威力を発揮するものと期待される。

○榎富直哉¹, 渋谷淳¹, 畝山智香子¹, 中川恵子¹, 阿部直子², 仁保直子¹, 高橋則行¹, 小林恒雄¹, 広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理, ²旭テクノグラス・ライフサイエンスセンター)

【目的】内分泌攪乱物質の周産期曝露による性成熟後の生殖障害等の内分泌影響の評価系を確立するために、エストロゲン作用の陽性対照である ethinylestradiol (EE) を妊娠ラットに投与し、新生仔の脳の性分化が完了する時期での視床下部における遺伝子発現解析と性成熟後の内分泌関連器官の病理組織学的検索を行った。【方法】Crj:CD(SD)IGS ラットに妊娠 15 日から出産後 9 日まで EE を 0.02, 0.1 及び 0.5 ppm の用量で混餌投与した。出生後 9 日の新生仔の脳をメタカーン固定・パラフィン包埋して作製された切片から視床下部の性的二型核を含む領域を採取し、estrogen response element を持ち且つ新生仔の視床下部で発現が確認された 3 つの遺伝子 [GABA transporter type 1 (GAT-1), bcl-xL, glial fibrillary acidic protein (GFAP)] の発現量を解析した。加えて、11 週齢時に内分泌関連器官を病理組織学的に検索した。【結果】対照群における GAT-1 発現量には性差が認められ、雄は雌の約 5 倍の値を示した。bcl-xL および GFAP については明確な性差は認められなかった。EE 周産期曝露により雄では 0.5 ppm 群、雌では 0.02 ppm 群より GAT-1 発現量の低下が認められ、加えて雄の 0.5 ppm 群のみで GFAP の増加が認められた。bcl-xL には雄雌とも EE の影響は認められなかった。性成熟後には、下垂体重量の増加および卵巣重量の低下が雌の 0.5 ppm 群で認められ、組織検査では多卵胞性卵巣、子宮内膜の過形成/扁平上皮化生が 0.1 ppm 群より、前立腺 (dorso-lateral) の軽度萎縮、副腎皮質束状帯細胞の肥大 (雌雄)、乳腺の小葉過形成 (雌雄) が 0.5 ppm 群で認められた。現在 in life parameter の取得も含めた本試験 (用量: 0.01, 0.1, 0.5 ppm) を終了し解析中であるが、雄では GAT-1 は 0.01 ppm 群より低下、bcl-xL および GFAP は最高用量でも影響なしという結果が得られている。【考察】新生仔の視床下部では、神経細胞特異的な GAT-1 の発現量は低用量より低下したが、細胞種を問わず存在する bcl-xL あるいはアストロサイト由来の GFAP には顕著な変化は認められなかった。GAT-1 の低下は神経細胞の機能もしくは数の低下を意味する可能性が考えられ、GAT-1 は内分泌攪乱物質の周産期曝露による視床下部性分化および性成熟後の生殖能への影響を予測できる指標となる可能性が示唆された。

○村越正典、池田理恵、田川正志、福井規雄、岩坂利夫、江口勝也、飯塚和弘、中山隆治
(帝国臓器製薬株式会社 安全性研究部)

抗アンドロゲン剤 CMA は、前立腺肥大症および前立腺癌の治療薬として広く臨床の場で使用されている。一方、CMA は合成プロゲステロン剤でありその優れた発情抑制作用でイヌおよびネコの発情抑制剤として一定の評価を得ている。今回は、CMA 含有インプラント剤の4年間の皮下移植後の諸臓器を対象に病理組織学的検査を実施した。

【材料と方法】15匹の雌ビーグル犬(1-2年齢)を対照群(5匹)とCMA皮下移植群(10mg/kg; 10匹)に分けた。CMAの皮下移植は4年間(2年毎に再移植)とし、対照群にはCMAを含まないものを同様に皮下移植した。解剖時摘出した諸臓器は、10%緩衝ホルマリン液にて固定しパラフィン包埋し、パラフィン切片作製後、HE染色を施し鏡検した。下垂体は、パラフィン切片上でACTHおよびLHを用いた免疫染色を実施した。

【結果および考察】CMA皮下移植群には発情徴候が全く認められなかった。また、体重および他の一般状態観察でも特筆すべき異常は観察されなかった。剖検では、主要臓器に異常は認められなかったが子宮の肥大を観察した。病理組織学的検査では、肥厚した子宮内膜で子宮腺の拡張と増殖を伴うのう胞性過形成を認めたが、子宮内膜炎、子宮筋炎および子宮蓄膿症の発生はなかった。また、卵巣では黄体を認めなかった。主要組織には異常を認めず、乳腺および胆嚢の変化は対照群でも同様に観察された。下垂体のACTHおよびLH陽性細胞数は、対照群で 90.3 ± 6.0 および 139.3 ± 10.3 でありCMA皮下移植群で 88.5 ± 3.9 および 140.5 ± 8.2 であった。以上より、子宮での変化は発情抑制に起因した変化(排卵抑制、卵巣での黄体欠如)と考えられた。また、下垂体LH細胞数には著変を認めなかったことからCMA10mg/kgは排卵抑制の最小用量とも推察された。

T-2 toxin 投与妊娠マウスの胎仔にみられた アポトーシス病変

○石上紀明、鈴木和彦、片山圭一、中山裕之、土井邦雄
(東大・獣医病理)

Fusarium 属の真菌により産生される T-2 toxin は、リンパ系および造血系組織に強い細胞毒性(アポトーシス)を示すことが知られている。我々は第14および16回本学会で、T-2 toxin 投与妊娠マウスの病変が神経芽細胞や軟骨性原基等のアポトーシスに起因することを明らかにした。今回は、T-2 toxin 投与妊娠マウスの胎仔の病変発現のメカニズムについて検索した。

(方法)妊娠13.5日目のICRマウスT-2 toxinを経口投与した。投与0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 24, 48時間後にエーテル麻酔下でと殺して胎仔を摘出し、病理組織学的検索、断片化DNAの検出(TUNEL法)、電子顕微鏡学的観察、さらにアポトーシス関連細胞表面抗原(FAS)およびproto-oncogene(FAS, p53, c-fos, c-jun, c-myc)のmRNAsをRT-PCR法で検索した。また、T-2 toxin誘導アポトーシスへの蛋白質合成の関連の有無をcycloheximideを腹腔内投与して確認し、さらに、妊娠17.5日目に胎仔を摘出して骨格標本作製し、骨格観察も行った。

(結果)T-2 toxin投与12時間後に、様々な器官でアポトーシスがわずかに認められ、24時間後にピークに達し、さらに骨格奇形(肋骨湾曲、肩甲骨短縮)も認められた。肋骨湾曲発現部位にはアポトーシスはみられなかった。T-2 toxin投与群のFASおよびc-junのmRNAsは4~12時間後にかけて上昇した。cycloheximide投与群ではアポトーシスの発現および骨格奇形はほとんど認められなかった。組織学的に肋骨では湾曲発現領域にアポトーシスはみられなかった。

(まとめ)T-2 toxin誘発マウス胎仔細胞アポトーシスにはFASおよびc-junの関与が疑われたが、骨格奇形の誘発にはアポトーシスの関与は示唆されなかった。

○宮田裕人, 佐藤元信, 八木健一, 大野理絵, 白根里加, 木村正明 (大正製薬㈱・安全研)

【目的】 Brain Natriuretic Peptide (BNP) は、1988年に単離・同定された循環ペプチドで心臓において合成・分泌されることから Atrial Natriuretic Peptide (ANP) とともに心臓ホルモンの一つとして知られている。この BNP は、ヒトの臨床領域では心不全時にその血中濃度が上昇することから診断的指標として注目されている。ラットにおいては心障害誘発性モデルや SHR で血中濃度の上昇が報告されている。しかしそれら報告の多くは ANP を主体としており、特に薬物誘発性心障害時における BNP の変化について病理組織学的観点からの解析は殆どなされていない。今回我々は毒性試験における心毒性評価を目的として、薬物投与下ラットの BNP の変化について免疫組織化学ならびに血液化学的に検討した。

【材料と方法】 9週齢の雄性 CD(SD)IGS 系ラット 110 例を使用した。投与薬物としてはアドレナリン作動薬で心筋梗塞様変化の発現が知られている Isoproterenol (ISO ; 2mg/kg, i.v.) および三環系抗うつ薬で心電図への影響が認められる Desipramine (DES ; 45mg/kg, i.p.) を選択し、各々をラットに単回投与した。各群 5 例にて投与 1, 4, 8, 24, 48 および 96 時間後断頭処置による採血を行なった後、心臓を摘出し Bouin 液にて固定、常法に従ってパラフィン切片を作製後 HE 染色または抗 BNP 抗体を用いた免疫組織化学的染色を施し顕微鏡下で観察した。血中の BNP 濃度は RIA 法により測定した。

【結果と考察】 ISO 投与群では 4 時間以降で心筋の変性・壊死を伴う変化が観察されたが、DES 投与群では全経過時間において器質的变化は認められなかった。BNP 陽性心筋線維は対照群で心耳および心房側で多数現われ、この BNP 陽性細胞の領域は ISO 投与群で投与後 8 時間以降、DES 投与群で投与後 1 時間に増大した。血中の BNP 濃度も投与によりそれぞれ高値を示していた。本検討では作用プロファイルの異なる化合物投与と共に BNP の変動を捉えることができた。BNP は心臓のみにほぼ特異的に存在することから、毒性試験において心臓への影響を評価する上の有用な指標になると考えられた。

○渋谷一元, 杉本加代子, 唐沢 茂, 水谷 誠, 平井卓哉, 布谷鉄夫 (日生研)

ミニラット (Nts:Mini rat) は Wistar 系ラットにラット成長ホルモン (GH) 遺伝子に対するアンチセンス DNA を導入して作出したトランスジェニック動物で、下垂体での GH 分泌が抑制されるため体格が小さく、体重が Wistar 系ラットの 1/2 から 2/3 程度に抑えられる。我々はミニラットの背景病変を検索する目的で週齢の異なる動物の病理学的検査を進めている。今回、老齢ミニラットの雌に発生する乳腺腫瘍が、他の系統の雌ラットにおける自然発生乳腺腫瘍の組織型と異なることを見出したのでその概要を報告する。

【材料と方法】 10~30ヶ月齢の雌のミニラット 24 匹に発生した乳腺腫瘍の 10% 中性緩衝ホルマリン固定材料を用いた。これら材料から HE 染色標本を作製し、病理組織学的に観察した。加えて、免疫組織化学的に PCNA、エストロゲンリセプター (ER)、プロゲステロンリセプター (PGR)、プロラクチンリセプター (PLR) および成長ホルモンリセプター (GHR) の発現について検索した。

【成績】 ミニラットの乳腺腫瘍は、病理組織学的に腺腫 2 匹 (8.3%)、腺癌 14 匹 (58.3%)、線維腺腫 7 匹 (29.2%)、線維腫 1 匹 (4.2%) に分類された。これらの乳腺腫瘍の組織型の種類はラットにおける自然発生乳腺腫瘍のものとは差異はなかった。しかしながら、ミニラットの乳腺腫瘍に占める腺癌の割合は、起源動物である Wistar ラットならびに ACI/N、Donryu、F344、Osborne-Mendel および Sprague-Dawley (SD) ラットの自然発生乳腺腫瘍に関するこれまでの報告における腺癌の割合に比較して明らかに高く、SD ラットにおける DMBA 誘発乳腺腫瘍の腺癌の割合に近かった。ミニラットの腺癌 14 匹の組織型は、papillary 型が 7 匹、tubular 型が 3 匹、cribriform 型が 3 匹、comedo 型が 1 匹であった。これらのうち、tubular 型の 1 匹にリンパ節転移が、cribriform 型の 1 匹に肺転移が観察された。現在、PCNA、ER、PGR、PLR および GHR の発現について検討中である。

【考察】 これまでの結果から、ミニラットに自然発生する乳腺腫瘍は他の系統のラットの自然発生乳腺腫瘍と異なり組織型のなかで腺癌の割合が高く、発がん物質誘発性の乳腺腫瘍における腺癌の割合に類似していることが示された。

示 説 要 旨

(P-1-1 ~ P-2-67)

P-1-1 p53 ノックアウトマウスの AMN 誘発食道癌の高感受性

○白井 紀充^{1,2,3}、塚本 徹哉¹、山本 昌美¹、飯高 健^{1,2,3}、酒井 洋樹^{1,2}、立松 正衛¹
(¹愛知がんセ・研・腫瘍病理、²岐阜大学・農・家畜病理、³ファイザー製薬・中央研)

【目的】近年、医薬品の癌原性検出のモデルとして p53 knockout (KO) マウスの有用性が検討されている。今回、p53KO マウスにおいて N-amyl-N-methylnitrosamine (AMN) による食道癌誘発に対する感受性を検討した。

【材料と方法】6 週齢の雄 p53 (-/-)、p53 (+/-)、p53 (+/+) に 5ppm AMN を 8 週間飲水投与し、実験開始 15 週および 25 週で屠殺した。

【結果と考察】15 週後では扁平上皮癌が p53 (-/-) 群 10/12 (83.3%)、(+/-) 群 1/15 (6.7%) で認められ、(-/-) で有意 (P<0.001) に発生頻度が高かった。(+/+) 群には扁平上皮癌の発生はみられなかった。25 週では、p53 (+/-) 群 7/16 (43.8%)、(+/-) 群 1/13 (7.7%) に扁平上皮癌を認め、(+/-) で有意 (P<0.05) に高率であった。p53 (-/-) および p53 (+/-) では p53 (+/+) に比べて高頻度で食道癌が認められ、p53KO マウスは短期間での AMN による食道癌誘発の検索に有効と考えられた。

P-1-2 p53 knockout mouse における大腸 aberrant crypt foci と腫瘍の発生頻度の非相関

○塚本徹哉¹、山本昌美¹、酒井洋樹^{1,2}、田中晴就¹、白井紀充^{1,2}、小林 潔^{1,3}、立松正衛¹
¹愛知がんセ・研・腫瘍病理、²岐大・農・家畜病理、³三菱東京製薬・安全性研

【目的】Aberrant crypt foci (ACF) は大腸前癌病変と考えられている。ACF と発癌の関係を明らかにするため、BALB/c、C3H、C57BL6/N (B6/N)、p53 knockout mouse [wild type (+/+), hetero (+/-) および null (-/-)] を用い、1,2-dimethylhydrazine (DMH) による、ACF、腺腫、癌の発生率を検討した。【方法】上記系統 0、1、3、6 週齢雄マウスに DMH を週 1 回、20mg/kg 体重にて 5 回皮下投与後、ACF 発生数の検索を行った。また同様に 7 週齢雄マウスに 20 回 DMH を投与し、腫瘍発生頻度を検討した。【結果】1 個体あたりの大腸腫瘍の発生数は、上記系統でそれぞれ、0.5±0.5、1.2±0.8、0±0、0.1±0.1、0.2±0.4、3.8±1.8 であった。3 週齢投与開始群の ACF の発生数は、35.0±16.7、26.1±7.2、0.8±1.8、0±0、1.1±1.4、0.9±1.1 であった。ACF の発生率からみると、DMH に対して、BALB/c と C3H が高感受性、B6/N、p53 (+/+), (+/-)、p53 (-/-) は、低感受性であった。大腸腫瘍発生率からみると、p53 (-/-) が高感受性、BALB/c と C3H が中等度感受性、B6/N と p53 (+/+), (+/-) が低感受性であった。また、投与開始週齢が若いほど、ACF の構成腺管数が大きい傾向が認められた。【結論】p53 の不活化により造腫瘍性は亢進するが、ACF の発生には寄与せず、ACF が必ずしも大腸発がんの指標とはならない系統の存在が示された。

P- 1- 3 Taxifolin, resviratrol の azoxymethane (AOM) 誘発大腸 aberrant crypt foci (ACF) 発生における修飾作用

杉江茂幸^{1, 2}、川端邦宏²、牛田 淳²、Pham Quang Vinh²、森 秀樹²
(岐阜大・医・¹動物実験施設、²病理)

【緒言】 ノゲシ (マリアアザミ、オオアザミ、*Silybum marianum*) の種子は、欧米で古来より肝臓病に対する治療薬として使われてきた。そこから得られる肝庇護剤として silymarin が知られている。その中の主成分には silibinin が良く知られているが、taxifolin は、silymarin に含まれる 1 成分で、強い抗酸化作用が報告されている。一方、resviratrol は、赤ワイン中に含まれるフラボノイドとして癌の科学予防物質として注目される物質で、抗酸化作用、COX-2 inhibitor としての作用が報告されている。今回、これらの物質の AOM 誘発大腸 ACF 発生への修飾作用を検討したので報告する。

【方法】 51 匹の雄 F344 ラットを 6 群に分け、第 1~3 群各 10 匹、第 4~6 群各 7 匹とし、5 週齢より第 2、4 群に 200 ppm taxifolin 含有食、第 3、5 群に 200 ppm resviratrol 含有食、第 1、6 群には基礎食を与え、6 週齢より第 1~3 群に 15 mg/kg 体重の AOM を、第 4~第 6 群には生食水を週 1 回計 3 回、皮下内投与した。AOM 最終投与 4 週間後、全匹屠殺、剖検し、ACF の計測と病理組織学的診断を行った。

【結果・考案】 Taxifolin, resviratrol 投与群では体重減少を認めた。ACF については、減少傾向が認められたが、有為差は認められなかった。今回の結果からは、taxifolin, resviratrol に確たる大腸発癌の予防物質としての可能性は見出せなかったが、至適濃度の検討、腫瘍発生迄の実験による検討、他臓器での検討など、さらなる検討が必要と考えられる。

P- 1- 4 ラット大腸癌前癌病変の形態学的特徴及び分子生物学的特徴

○山田泰広、吉見直己、広瀬善信、杉江茂幸、森 秀樹 (岐阜大学医学部第一病理学講座)

【目的】 Aberrant crypt foci (ACF) は、carcinogen 投与後早期の大腸粘膜に、メチレンブルー染色にて観察されうる病変であり、一般に大腸癌前癌病変として認識されている。しかしながら同時に ACF を前癌病変とすることに対する疑問も生じている。我々は大腸癌前癌病変の性質を検討するために、形態学的検索と共に分子生物学的検索を行った。【方法】 6 週齢雄 F344 ラットにアゾキシメタン (AOM) を皮下投与 (15 mg/kg 体重、週 1 回、計 3 回) し、5 週、10 週、20 週後に屠殺した。大腸を摘出後、直ちにホルマリン固定 (24 時間) を行った。粘膜は水平にパラフィンに包埋後、連続切片を作製し、通常の HE 染色と同時に組織化学的、免疫組織化学的に検索を行った。増殖能の変化は AgNOR 染色を用いて検索した。また微小病変に対して、laser capture microdissection (LCM) システムを使用し DNA を抽出後、PCR-SSCP 法にて β -catenin 遺伝子変異を検索した。【結果】 切片上には、2 種類の組織学的に区別されうる異型腺管集団を認めた。一つは粘膜表面が ACF の形態を示す (HACAs; histologically altered crypts with ACF appearance) のに対して、他方は ACF の形態を示さなかった (HACNs; histologically altered crypts with normal-like appearance)。HACNs は時間と共にそのサイズが増加した。HACNs における組織学的異型度は HACAs より強く、さらには HACNs では経時的にその異型度の増強が認められた。HACNs における細胞増殖能は HACAs より有意に上昇していた。 β -catenin 遺伝子変異は HACNs において 10/15 (67%) に認められたのに対して、HACAs では 3/15 (20%) であった。核もしくは細胞質への β -catenin 蛋白の蓄積は、大部分の HACNs において観察されたものの、HACAs では明らかな蓄積は認められなかった。【結論】 AOM 投与後早期のラット大腸粘膜内には ACF 以外の形態を有する異型腺管集団が存在し、それらは直接の大腸癌前癌病変であることが強く示唆された。

P-1-5 胃部 X 線照射したスナネズミには腸上皮化生は発生しない

陸恵梅、白木克尚、石村美祐、小原正之、上坂敏弘、加藤修、○渡辺敦光（広大・原医研・環境変異）

目的：スナネズミはヒトの *Helicobacter pylori* が感染出来る動物である。この感染により腸上皮化生から胃の腫瘍が生じる事が知られている。そこで今回はスナネズミをラットと同様 X 線照射を行い胃の腸上皮化生誘発について検討した。

方法：動物は 5 週齢雄雌セアック吉富スナネズミを使用した。10Gy の X 線を 3 日間隔で 2 回合計 20Gy を胃部に局所照射した。照射後 24 週と 60 週で動物を屠殺し、胃を取り出し、中性ホルマリンで固定した。腸上皮化生のマーカーである Alkaline phosphatase は naphthol-AS-MX-phosphate-fast blue RR で染色し観察した。病理標本を作成し、HE 染色並びに alcian-blue-periodic acid-Schiff reaction (AB-PAS) 染色により胃粘膜の病理検査を行った。

結果：24 週に屠殺した雌は非照射群と比較すると有意に体重が減少した。雄照射群の心臓重量は非照射群に比べて有意に減少したが、相対重量ではすべての臓器で雌雄共に差を認めなかった。X 線照射群雄 11 匹、雌 10 匹に並びに非照射群では腸上皮化生が認められなかった。60 週に屠殺した群では雌雄何れも非照射群と体重、臓器重量並びに相対重量には差を認めなかった。X 線照射を行った雄 12 匹中 1 匹にパネート細胞を持たない腸型腺窩が、又、雌 13 匹中 1 例に胃腺管中に杯細胞を持つ化生が生じたにすぎなかった。良性の Polyp も雌雄 1 例ずつ、幽門部の糜爛が雌の照射群で 10 例 (77%)、繊維化は雌雄何れの実験群でも 42%~50% の動物に生じた。又胃底腺に石灰化が 50%~83% に生じたが何れの場合も統計的有意差は認められなかった。雄で脂肪肝が X 線照射群で 58%、非照射群で 83% に、雌では X 線照射群で 15% に、非照射群で 17% に生じたが統計的な差は認められなかった。又腎臓の局所的再生が認められたが、軽度であった。雌の X 線群の 1 例に肝腫瘍並びに卵巣腫瘍が認められたが、他の動物では腫瘍は認められなかった。

結論：以上よりスナネズミは X 線照射で腸上皮化生はほとんど誘発されなかったので、スナネズミの胃の *Helicobacter pylori* 感染と X 線に対する感受性が異なるものと思われた。

P-1-6

Helicobacter pylori (Hp) 感染スナネズミ胃粘膜に生じる腫瘍様病変とその Hp 除菌による変化

○田中晴就¹⁾、野崎浩二^{1,2)}、塚本徹哉¹⁾、今井俊夫³⁾、立松正衛¹⁾

(¹⁾ 愛知がんセ・研・腫瘍病理、²⁾ 東大・消化管外、³⁾ エーザイ・安全研)

我々は Hp 感染スナネズミ腺胃発癌モデルを作成し、Hp 感染による胃発癌の促進作用及びその除菌による抑制効果について明らかにしてきた。また、Hp 感染スナネズミにおいて生じる腸上皮化生と腺胃癌との間には時系列的関連が認められず、正常腺管の腸型化と癌細胞の腸型化の独立性を示す良好なモデルとなる。我々は Hp 感染期間の異なる群を作成し、腸上皮化生および粘膜下増殖巣の経時的変化につき検討した。さらに感染中期および後期における除菌群を作成しそれによる変化につき検討した。

Hp 感染により生じる腸上皮化生および粘膜下増殖巣は経時的に胃型から胃腸混合型を経て腸型へと変化した。粘膜下増殖巣は経時に進展して漿膜下まで異所性増殖を示し、それらの一部は多量の粘液を産生した。これらの増殖巣は Hp 除菌によって減少した。Hp 単独感染による発癌作用は認めず、Hp 単独感染により生じる腫瘍様病変は除菌により可逆的に消失する良性病変であった。発癌における Hp 感染の役割はプロモーター作用が中心であると考えられた。

P-1-7 Catechol 及び BHA のカニューレを用いた経十二指腸投与によるラット前胃及び
腺胃の増殖活性への影響

○中村英明¹、西川秋佳¹、古川文夫¹、豊田和弘²、宮内 慎¹、孫 和永¹、山岸 恵¹
江下希美³、広瀬雅雄¹ (¹国立衛研・病理、²日本たばこ、³ボゾリサーチ)

【目的】ラットでは Catechol が腺胃、BHA が前胃において増殖活性を増加させるが、その機序はまだわからない部分が多い。今回我々は、Catechol 及び BHA が直接胃に働きかけて増殖活性を増加させるのか、それとも血流を介して影響を与えるのかを確かめるため、上記の物質を経十二指腸投与により 1 週間反復投与し、胃に対する影響を調べた。【材料及び方法】10 週齢の F344/DuCrj ラットを各群 6 匹ずつ 6 群に配した。1~3 群には前胃からカニューレを挿入し、十二指腸にカニューレの先端を留置する手術を施した。その 9 日後から 1 及び 2 群にそれぞれ 50mg/kg の Catechol と 1000mg/kg の BHA をカニューレから 1 週間反復投与した。3 群には BHA の媒体であるコーン油を投与した。4 及び 5 群はそれぞれ 50mg/kg の Catechol と 1000mg/kg の BHA を 1 週間反復強制経口投与し、6 群にはコーン油を投与した。実験終了後、全生存動物について剖検し、胃の病理組織学的観察と PCNA 陽性細胞の検索を行った。【結果及び考察】Catechol を投与した 1 及び 4 群は病理組織学的に変化はみられず、また、PCNA 陽性細胞数は対処群と比較して差はみられなかった。BHA を投与した 2 及び 5 群は前胃において粘膜上皮の過形成がみられ、また、PCNA 陽性細胞数は 2 及び 5 群で対照群と比較して増加していた。以上の結果から BHA の胃に対する作用は、血流中の BHA の影響によるものも含まれる可能性が示唆された。

P-1-8 老化促進モデルマウス(SAM)P3におけるN-methyl-N-nitrosourea誘発胃発癌

○山本昌美¹、塚本徹哉¹、細川昌則²、飯高 健^{1,3}、湯浅啓史^{1,4}、立松正衛¹
(¹愛知がんセ・研・腫瘍病理、²京大・再生医科学研・再生制御、³ファイザー製薬・中央研、⁴田辺製薬・安全研)

【目的】SAM系統は、AKR/J系統を起源とする老化促進モデルマウス(senescence-accelerated mouse: SAM)と呼ばれる一群の関連近交系マウスである。老化関連病態の発症と進行の促進を示し、老年性モデル動物として使用されている。今回、我々は、その系統の一つであるSAMP3のN-methyl-N-nitrosourea(MNU)による胃発癌感受性を検討した。

【方法】<実験1> 7週令SAMP3マウスの雄および雌にMNU120 ppmを、18週間連続投与した。<実験2> 7週令SAMP3雄および雌にMNU120ppm (1群) または60ppm (2群) を、10週間隔週飲水投与、あるいは30ppmを10週間隔週飲水投与し (3群)、実験開始後50週で屠殺した。胃を酢酸エタノール、他臓器を10%中性ホルマリン固定し、病理組織学的に検索をした。

【結果】<実験1> 投与期間中から胸腺腫による死亡例が認められ、実験開始後25週で生存率は0%となった。<実験2> 50週での胃における腺腫、腺癌発生率はそれぞれ、雄においては1群8/8 (100%)、5/8 (62.5%)、2群13/15 (86.7%)、5/15 (33.3%)、3群9/13 (69.2%)、2/13 (15.4%)、雌では、1群5/6 (83.3%)、2/6 (33.3%)、2群7/10 (70.0%)、2/10 (20.0%)、3群2/6 (33.3%)、1/6 (16.7%) であった。認められた腫瘍はすべて高分化型であった。

【考察】SAMP3はMNUによる胸腺腫発生率が他系統(BALB/c,C3H,C57BL/6N,ICR,CBA,DBA)にくらべて、高いことが明らかとなった。また胃発癌感受性にたいしても他系統よりも高い腫瘍発生率を示し、MNUに対しての感受性が高いことが示された。

○涌生ゆみ, 勝田 修, 田子 穰, 水野文夫, 関島 勝, 土谷 稔 (三菱化学安科研)

DMBA は化学発癌物質としてよく知られている。また赤白血病はラットに自然発生することはほとんどなく、ニコチンや DMBA などにより誘発される。今回我々は、杉山ら (Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 74-81, 1966) の方法に基づいて DMBA による赤白血病誘発実験を行った。誘発された白血病のほとんどが赤白血病であったが、腫瘍細胞の形態と臓器への浸潤程度に若干多様性がみられたので報告する。【材料および方法】Long Evans ラットを用い、3.5 週齢時から 2 週間間隔で DMBA を 4 回、1 セット 27, 23, 23, 27mg/kg (雌雄各 124 例) あるいは 31, 27, 27, 31mg/kg (雌雄各 28 例) の用量で尾静脈内投与し、投与開始から 26 週間観察した。剖検後各臓器をホルマリン固定し、HE 染色標本を作製した。代表例についてヘモグロビンおよびリゾチームに対する免疫染色を行った。【結果】赤白血病の発現状況に、DMBA 投与量の違いによる差はなかった。投与開始第 8 週より赤白血病による死亡がみられ、26 週までにほとんどの例が死亡するか瀕死期解剖された。それらの多くが剖検時に肝臓および脾臓の腫大を伴っていた。組織学的検査の結果、赤白血病は腫瘍細胞の分化度および肝臓への浸潤程度の違いにより、2 つのタイプに分けられた。タイプ 1: 明瞭な核小体を有する大きな類円形核および好塩基性の強い細胞質からなる極めて未熟な腫瘍細胞が主体であった。初期には肝臓の類洞内にびまん性に浸潤し、進行すると肝臓全体を腫瘍細胞で置換するほどの増殖がみられた。ヘモグロビン陽性の赤血球への分化を示すコロニーが様々な割合でみられたが、リゾチームにはほとんど陰性であった。このタイプは、投与開始第 17 週以内に死亡・瀕死期解剖した動物に多かった。タイプ 2: 比較的小型の赤芽球様の腫瘍細胞が、肝臓の類洞内にびまん性にあるいは門脈域を中心としてみられた。結節性増生を示す例もあった。グリソン鞘内に顆粒球の増殖をともなう例も多かった。ヘモグロビン陽性細胞が広い領域にみられ、赤血球への明らかな分化がみられた。顆粒球はリゾチーム陽性であった。このタイプは、投与開始後 17 週以降に死亡・瀕死期解剖した動物に多くみられた。【まとめ】経過の早さおよび腫瘍細胞の分化度から、急性型 (タイプ 1) と慢性型 (タイプ 2) に大別された。

新生仔期 DMBA 単回投与による雌 Sprague-Dowley ラット背部における悪性線維性組織球腫の誘発

○田口 周平, 船戸 護, 二之宮 謙次郎, 義岡 孝子, 小玉 拓郎, 吉田 浩己

(鹿児島大・医・第一病理)

(目的) 新生仔期の雌 rat 背部へ 7,12-Dimethyl-benz(a)anthracene (DMBA) を皮下投与することにより高頻度に悪性線維性組織球腫が誘発されたので報告する。

(方法) DMBA 0 μ g (I 群)、1 μ g (II 群)、10 μ g (III 群)、100 μ g (IV 群)、500 μ g (V 群) をゴマ油 0.05ml に溶解し、生後 24 時間以内に近交系 Sprague-Dowley 雌ラット背部に皮下投与し、さらに各群とも生後 50 日目に DMBA 10mg 溶解液を 1 回経口投与し、背部腫瘍の発生について観察した。観察は生後 250 日目まで行った。

(結果) I、II、III、IV、V 群の背部腫瘍発生頻度は、生後 100 日で 0、0、5.3、6.2、72.2% であり、生後 250 日では 0、0、8.3、42.9、100% であった。腫瘍細胞は、Vimentin 陽性、Cytokeratin (AE1/AE3) 陰性、ED 1 部分陽性、ED 2 部分陽性、CD68 部分陽性、S-100 陰性、desmin 部分陽性、 α SMA 陰性で、核多形性に富み、細長い紡錘形ないし膨らんだ細胞質を有する細胞の高密度な部分、myxoid な部分、軟骨化生を示す部分等、多彩な像を示す悪性線維性組織球腫であった。

(考察) 成熟ラット軟部組織への DMBA 局所注射により悪性線維性組織球腫が発生することは知られていた (1985, Sakamoto, 1993, Alexander ら) が、今回の実験より、新生仔期ラットへの DMBA のより少ない量、単回投与で、より早く確実に悪性線維性組織球腫が生じることが明らかとなった。

P- 1-11

1,4-ジオキサンの経口と吸入を組み合わせた長期投与(複数媒体投与)により F344 ラットに観察された鼻腔病変

○ 妹尾英樹、竹内哲也、梅田ゆみ、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介(日本バイオアッセイ研究センター)

1,4-ジオキサンは水環境・大気環境にわたる汚染を示しており、生体は経口と吸入の複数の経路からの暴露を受ける可能性がある。この1,4-ジオキサンの飲水と吸入を組み合わせた長期投与(複数媒体投与)でみられた鼻腔の病理組織学的変化について報告する。

【方法】6週齢のF344/DuCrj(Fisher)ラットの雄を用いて1,4-ジオキサンの104週間の投与を行った。群構成は8群(各群50匹)とし、①飲水投与も吸入暴露も行わない「対照群」、②飲水投与のみを行う「飲水投与群」(飲水1000ppm投与群)、③吸入暴露のみを行う「吸入暴露群」3群(吸入暴露50, 250, 1250ppm群)、④吸入暴露に加えて飲水投与を行う「複数媒体投与群」3群(吸入暴露50, 250, 1250ppm+飲水投与1000ppm群)を設定した。飲水投与は自由給水とし、吸入暴露は1日6時間、週5日、全身吸入暴露とした。

【結果・まとめ】《腫瘍性病変》吸入暴露群の鼻腔に扁平上皮癌、複数媒体投与群の鼻腔に扁平上皮癌と腺癌が発生した。扁平上皮癌の発生は両群に差を認めなかったが、腺癌は複数媒体投与群にのみ発生したことから、複数媒体投与によって鼻腔の異なった組織からの腫瘍発生がみられ、腫瘍の種類が増える可能性が示唆された。《非腫瘍性病変》鼻腔にみられた非腫瘍性病変は次のように分類することができた。①吸入暴露群と複数媒体投与群を比較して病変の増強があるもの(吸入暴露に飲水投与を加えることで吸入暴露でみられた病変が増強するもの):扁平上皮過形成、鼻腺の増殖、固有層の水腫様変性と硬化及び篩骨甲介の骨過形成、②吸入暴露群と複数媒体投与群を比較して病変の増強がないもの(吸入暴露に飲水投与を加えても吸入暴露でみられた病変の増強がないもの):呼吸上皮の扁平上皮化生、炎症及び解離と嗅上皮の炎症及び萎縮、ならびに篩骨甲介の癒着、①と②は飲水投与では病変の発生がみられなかった。③飲水投与群でも病変がみられ、吸入暴露群と複数媒体投与群を比較しても病変の増強がないもの(吸入暴露のみの群と飲水投与のみの群でも病変がみられたが、吸入暴露に飲水投与を加えても病変の増強がないもの):呼吸上皮と嗅上皮の核増大。本試験では、1,4-ジオキサンの長期投与で鼻腔の扁平上皮癌と腺癌の発生がみられ、その前腫瘍性変化と考えられる扁平上皮過形成と鼻腺の増殖は、いずれも吸入暴露に飲水投与が加わることで病変の増強がみられた。本研究は環境庁の委託により実施した。

P- 1-12

WSラットを用いた肝癌自然転移モデルにおけるN-nitrosomorpholineの投与量と投与期間および投与開始週齢の検討

○村井 隆¹、森 聖²、福島昭治²

(¹塩野義製薬・油日ラボ、²大阪市大・医・1病理)

WSラット雄にN-nitrosomorpholine(NNM)を200ppmの濃度で8週間飲料水投与し、12週間休薬すると実験20週目までに高率に肺転移する肝癌が発生することを見出した。今回、転移好発モデル確立を目的にNNMの投与濃度、投与期間および投与開始週齢が肝癌および肺転移の発生に及ぼす影響を調べた。

【方法】NNMをWSラット雄の6週齢に120、160および200ppm、8週齢に240および280ppmをそれぞれ4、6および8週間、各群18匹のラットに飲料水投与し、実験開始から20週目に屠殺した。

【結果】最も低い平均体重と生存率および最も重い平均肝重量を示した用量はNNMの4、6、8週投与群のいずれも200ppmであり、それぞれ、409gと94%および16.8g、355gと78%および34.9g、334gと22%および55.1gであった。200ppm投与群について肺転移発生率を調べたところ、4、6、8週投与群でそれぞれ、18、94、100%であった。

【結語】6週齢のWSラット雄に200ppm濃度のNNMを6あるいは8週間飲料水投与することにより効率よく肺転移を誘発できることがわかった。

P- 1-13 Cyclophosphamide の間欠投与により rasH2 マウスにみられた膀胱腫瘍発生の性差に関する検討

○久田 茂, 谷藤久人, 柴田誠司, 永嶋雅子, 飯塚和宏, 増田修治, 飯田祝子 (帝国臓器安全研), 臼居敏仁 (実中研)

我々は ILSI-HESI の短期がん原性試験法に関する共同研究の一環として, rasH2 マウスに cyclophosphamide (CP) を 0, 50, 100 および 150mg/kg の用量で週 1 回の頻度で 26 週間強制経口投与し, 雌の 50mg/kg 以上で移行上皮乳頭腫および癌が雌に特異的に発生したことを示した. この実験では, 切歯の毒性が CP 投与群の雄に強く発現して摂餌困難となり一般状態が悪化した. CP はその活性代謝物が薬効および毒性を示すので, 雄の CP 投与群では一般状態の悪化に伴い肝機能が低下し, 尿中の CP 代謝物濃度が低下したことにより膀胱腫瘍が発生しなかった可能性が考えられた. そこで, CP による切歯毒性が発生しない 5 週間投与時における膀胱の変化を rasH2 マウスおよび non-Tg マウスの雌雄間で比較した.

【方法】各群 5 匹の雌雄の rasH2 マウスおよび non-Tg マウスに 0, 50 および 150mg/kg の用量の CP を週 1 回の頻度で 5 週間強制経口投与し, 最終投与の翌日に屠殺して膀胱の HE 染色標本を作製し光学顕微鏡により観察した.

【結果】CP の 5 週間投与後に切歯毒性は発生せず, non-Tg マウスの 150mg/kg で体重増加が軽度抑制されたが, 性差は認められなかった. 膀胱重量は CP 投与群がわずかに増加する傾向を示した. 一方, 病理組織検査では, 移行上皮の乳頭状過形成が雌の rasH2 マウスのみ発生し, 雄の rasH2 マウスおよび雌雄の non-Tg マウスには発生が認められなかった. 移行上皮の単純過形成は rasH2 マウスおよび non-Tg マウスの両者に発生したが, 雌でより顕著に認められた.

【結論】以上の結果から, CP の 26 週間間欠投与により rasH2 マウスにみられた膀胱移行上皮の腫瘍発生における顕著な性差は, 切歯毒性などの二次的な要因における性差によるものではなく, 5 週間投与後に既に乳頭状過形成の発生における明白な性差として認められる本質的なものと考えられた.

P- 1-14 CB6F1-TgrasH2マウスの前胃粘膜における正常時およびButylated hydroxyanisole投与時の細胞増殖動態に関する検討

○坂入鉄也, 小林 潔, 後藤和広, 岡田味世子, 杉本次郎, 佐野文子, 務台 衛 (三菱東京製薬・医薬総合研・安全性研)

【緒言】ヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子導入マウス (CB6F1-TgrasH2マウス, 以下rasH2マウス) は, がん原性試験代替モデルとしての検討が進められており, その前胃は種々の発がん物質に対し高い感受性を有することが知られている. 我々は, 前胃を標的とする非変異原性発がん物質である Butylated hydroxyanisole (BHA) の26週間投与により, rasH2マウスの前胃粘膜に高度の過形成が生じることを確認している (後藤ら, 本学会). 本研究では, rasH2マウスと非遺伝子導入 (Non-Tg) マウスにおける, 前胃発がんに対する感受性の相違に関する基礎的な検討として, 本動物の正常時およびBHA投与時の前胃粘膜の細胞増殖動態を解析したので報告する. 【材料と方法】 (実験1) 8週齢のrasH2およびNon-Tg雄マウスについて, BrdUを瞬間または1, 3および7日間持続標識した後, 前胃を採取し, 抗BrdU染色を実施した. (実験2) 8週齢のrasH2およびNon-Tg雄マウスに, BHAを10000ppmの用量で7日間混餌投与した. BrdU瞬間標識後, 前胃を採取し, HE染色および抗BrdU染色を実施した. 【結果】 (実験1) rasH2マウスとNon-Tgマウスとの間で, 前胃粘膜の細胞増殖動態に差は認められず, いずれも, BrdU標識7日で前胃粘膜のほぼ全層が標識された. (実験2) rasH2, Non-Tgマウスともに, 前胃粘膜上皮細胞の軽度の肥大および空胞化が認められたが, 両者間で病変の程度に差はみられなかった. 一方, BrdU標識率に関しては, rasH2マウスはNon-Tgマウスと比較して明らかに高値を示した. 【考察】無処置のrasH2マウスの前胃粘膜は, Non-Tgマウスと同様の細胞増殖動態を示した. 一方, rasH2マウスの前胃粘膜は, BHAによる増殖刺激に対して高い感受性を示した. これらの結果から, rasH2およびNon-TgマウスにおけるBHAによる前胃増殖性病変誘発に対する感受性の差には, 前胃への増殖刺激に対する反応性の違いが関与している可能性が示唆された.

○後藤 和広, 小林 潔, 坂入 鉄也, 杉本 次郎, 佐野 文子, 諸橋 鉄男, 務台 衛
(三菱東京製薬・医薬総合研・安全性研)

マウスを用いたがん原性試験の代替法として, ヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子を導入したCB6F1-TgrasH2マウス (rasH2マウス) を用いた短期がん原性試験の有用性の検討が, 各方面で行われている. 今回, 我々は非変異原性物質であり, 前胃発がん物質として知られているButylated hydroxyanisole (BHA) について, rasH2マウスおよび非遺伝子導入マウス (Non-Tgマウス) を用いた26週間がん原性試験を実施し, rasH2マウスのBHAに対する発がん感受性について検討した.

【材料および方法】 8週齢のrasH2マウスおよび同腹子のNon-Tgマウスをそれぞれ雌雄各45匹 (15匹/群) を用い, BHAを混餌法により, 0, 5000, 10000ppmの用量で26週間投与した. 投与期間中, 1回/週の頻度で体重, 摂餌量測定を行い, 投与終了後, 全動物を屠殺し, 臓器重量測定, 病理検査を実施した.

【結果】 投与期間中, 投薬に起因する死亡はみられなかった. rasH2およびNon-Tgマウスともに, BHA群で体重増加抑制が認められた. 剖検時にNon-Tgマウスでは投薬に起因する変化はみられなかったが, rasH2マウスの10000ppm群の雌雄では前胃の結節状病変が認められた. 前胃の組織学的検査では, いずれの群にも腫瘍性変化は認められなかったが, 前腫瘍性病変である過形成が, rasH2およびNon-Tgマウスの10000ppm群の雌雄にみられた. 本病変は, rasH2マウスでは雌雄の全例にみられ, 多数に過形成による扁平上皮層の著しい肥厚が広範囲にみられた. 一方, Non-Tgマウスでは15例中3ないしは4例の発現であり, ほとんどが巣状病変で, 過形成による扁平上皮層の肥厚も軽度であった.

【まとめ】 BHAは, rasH2マウスおよびNon-Tgマウスの前胃粘膜に過形成を誘発した. しかし, rasH2マウスとNon-Tgマウスの間には過形成の発現に明らかな差があり, rasH2マウスはNon-Tgマウスに比べて, BHAによる前胃増殖性病変誘発作用に高い感受性を示した. また, 我々は, rasH2マウスのBHA短期間投与による前胃粘膜の細胞増殖活性が, Non-Tgマウスに比べて, 高いことを確認している (坂入ら, 本学会). 以上のように, rasH2マウスが, BHAの前胃に対する増殖作用に対して高感受性を示す背景には, ヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子の導入が関与しているものと推察される.

○瀬畑信哉, 前嶋孝典, 緒方聖也, 渡辺真弓, 牧野俊彦, 田中宏治, 真鍋 淳, 高岡雅哉 (三共・安全研)

[緒言]げっ歯類発癌物質である chloroform は, 長期がん原性試験においてマウスに肝細胞癌, ラットに腎腫瘍を誘発することが知られている. 今回, 長期がん原性試験の代替法として ILSI-HESI 国際共同研究で検討が進められている, ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入した CB6F1-rasH2 トランスジェニック (Tg) マウスを用いて, chloroform の 26 週間がん原性試験を実施した.

[材料および方法]8 週齢の Tg マウスおよび野生型である CB6F1-NonTg rasH2 (Non-Tg)マウス雌雄各 15 例/群を用いた. 投与用量は, 用量設定試験結果より, 雄 0, 28, 90, 140 mg/kg, 雌 0, 24, 90, 240 mg/kg とし, Tg マウスに 26 週間反復経口投与した (5 日/週). Non-Tg マウスは対照群および最高量の 2 群を設定した. Tg マウスの陽性対照群には, N-methyl-N-nitrosourea (MNU) を 75 mg/kg 単回腹腔内投与した. また, Tg マウス, Non-Tg マウス雌雄各 5 例/群の 13 週間投与群を設定し, 肝臓および腎臓における BrdU labeling index を算出した. 動物は投与終了後剖検し, 病理学的検査を実施した.

[結果] Tg および Non-Tg マウスの chloroform 投与群に有意に増加した腫瘍性病変は認められなかった. しかし, 雌 Tg マウスの 240 mg/kg 投与群において, 肝臓の好塩基性細胞巢の発生頻度が増加した. Tg マウスの 90 mg/kg 以上の投与群, Non-Tg マウスの雄 140 mg/kg 群および雌 240 mg/kg 群の肝臓で肝細胞の空胞化および腫大が観察された. また, 気管支上皮の変性が Non-Tg マウスの雄 140 mg/kg 群および雌 240 mg/kg 群に観察された. 肝臓および腎臓の BrdU labeling index は, Tg マウスおよび Non-Tg マウスともに, 雄 140 mg/kg 群および雌 90, 240 mg/kg 群で増加した. Tg マウスの MNU 投与群は, 試験途中で雌雄全例が死亡あるいは状態悪化により安楽死した. その原因は悪性リンパ腫あるいは血管肉腫などの腫瘍性病変であった.

[結論]Chloroform の 26 週間短期発がん性試験を実施した結果, chloroform は CB6F1-rasH2 マウスに対して催腫瘍性を有しないと判断した.

○菅野 宏、田中丸 善洋、石村 美祐、神鳥 仁志、山崎 秀樹、三谷、政義、永薮 徳久、
佐倉 康文¹、佐々木 啓（武田薬品 薬物機能二研、薬物機能一研¹）

【目的】ICH-4 において、従来のマウスを用いた 2 年間のがん原性試験の代替として、より簡便な試験で評価してもよいことが合意され、代替試験法として、1)トランスジェニックマウスを用いる方法、2)ラットを用いるイニシエーション・プロモーション試験法、3)マウスの新生仔を用いる方法の 3 試験が選ばれた。そのうち、我々はトランスジェニックマウスの有用性を検討するために、Tg-rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験を実施した。

【方法】Metaproterenol sulfate の 0, 500, 1000 及び 1500 mg/kg/日を 26 週間混餌経口投与した Tg-rasH2 マウス(Tg)、各群雌雄各 15 例、計 120 例について、また、Metaproterenol sulfate の 0, 1500 mg/kg/日を 26 週間混餌経口投与した nonTg-rasH2 マウス(nonTg)、各群雌雄各 15 例、計 60 例について、一般状態観察、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査及び遺伝子学的検査を実施した。

【結果】Tg では、血液学的検査において、1000 mg/kg 以上の雄で血小板数の減少、1500 mg/kg 群の雄で網状赤血球数の減少がみられた。病理組織学的検査では、投薬各群の雌雄で鼻腔の呼吸粘膜上皮細胞に好酸性小体の増加がみられた。nonTg では、血液生化学的検査において、1500 mg/kg 群の雄でグルコースの低値、器官重量測定では 1500 mg/kg 群の雌雄で肝重量の低値、雄で心臓重量の高値、雌で卵巣重量の高値がみられた。病理組織学的検査では、投薬群の雌雄で鼻腔の呼吸粘膜上皮細胞に好酸性小体の増加がみられた。腫瘍性病変に関しては、Tg の 1500 mg/kg 群の雄で肝細胞腺腫が 4/15 例(26.67%)みられたが、統計学的有意差はなく、また同群で肝細胞腺腫の前がん病変と考えられている肝細胞小増殖巣の増加もみられなかったことから、本試験でみられた肝細胞腺腫は自然発生性の変化と判断した。

【結論】今回の報告は、同週齢の Tg は肝細胞腺腫の発生頻度が低いとするこれまでの報告に対して、必ずしも Tg は肝細胞腺腫が嫌発性ではないことを示し、今後の Tg を用いた毒性試験における肝細胞腺腫の発生に関して、重要な背景データになると思われる。なお、遺伝子検査については現在精査中である。

○榎本 佳典、佐藤 洋、矢部 光一、藤井 文隆、甲斐 清徳、神藤 敏正、梶村 哲世、古濱 和久
(第一製薬・安全研)

【緒言】マウスがん原性試験代替法の一つとして、ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウス (CB6F1-Tg-ras H2 mice) を用いた ILSI-HESI 国際共同研究が進められている。その一環として、我々は non-genotoxic carcinogen である reserpine のがん原性試験を実施したので報告する。

【方法】雌雄各群 15 匹の Tg-rasH2 (Tg) マウスに reserpine を 0、2.5、5 および 10 ppm の用量で、ワイルドタイプ CB6F1 (non-Tg) マウスに 0 および 10 ppm の用量で、8 週齢から 26 週間混餌投与した。陽性対照群として雌雄各 15 匹の Tg マウスに N-methyl-N-nitrosourea (MNU) の 75 mg/kg を単回腹腔内投与した。なお、reserpine の投与量 (濃度) は National Toxicology Program (NTP) で実施された長期がん原性試験に用いられた用量と同じである。

【結果および結論】Reserpine 投与では Tg および non-Tg の全ての用量群 (特に雄) で体重増加抑制傾向が見られたが、投薬に起因すると思われる途中死亡動物は認められなかった。病理組織学的検査では対照群を含む Tg マウスに肺の腺腫/腺癌、脾の血管肉腫、および前胃の乳頭腫が散発的に観察されたが、いずれも自然発生的腫瘍と判断された。Reserpine は NTP で実施された長期がん原性試験で、B6C3F₁ マウスに乳腺および精囊腫瘍を、F344 ラットに副腎髄質腫瘍を誘発したことから、non-genotoxic rodent (putative no human) carcinogen とされているが、Tg-ras H2 マウスを用いた短期がん原性試験では発がん性を示さなかった。一方、MNU 投与群では 11 週より死亡例が認められ、組織学的検査では、悪性リンパ腫、および前胃の乳頭腫/扁平上皮癌が高頻度に観察された。

○坪田健次郎, 松本正博, 義澤克彦, 仲辻俊二, 藤平司郎, 大石裕司 (藤沢薬品・安全研)

Kenjiro TSUBOTA, Masahiro MATSUMOTO, Katsuhiko YOSHIZAWA, Shunji NAKATSUJI, Shiro FUJIHIRA, Yuji OISHI (Dept of Pathol., Toxicol. Res. Lab., Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.)

[目的] がん原性試験の短期代替法の 1 つとして, ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスである CB6F1-Tg-rasH2 (Tg) マウスを用いたがん原性試験法の検討が ILSI-HESI 国際共同研究として進められている。我々はその一環として, ラットに対する非変異原性の発癌物質で, ヒトに対しては非発癌物質である chlorpromazine (CPZ) の 26 週間がん原性試験を行ったので, その成績を報告する。

[方法] 一群雌雄各 15 例の 7 週齢 Tg マウスに, CPZ の 0.05, 0.1 および 0.2% 添加飼料を 26 週間与えた。Tg マウスに N-methyl-N-nitrosourea (MNU) 75 mg/kg を単回腹腔内投与し, 13 週間観察した陽性対照群を設けた。また non-Tg マウスに CPZ 0.2% 添加飼料を 26 週間与え, 病理組織学的検査を実施した。さらに一部の腫瘍性病変についてヒト c-Ha-ras の点突然変異を検索した。

[結果] MNU 投与群では摂餌量減少を伴う体重増加抑制がみられ, 雄 1 例, 雌 3 例が途中死亡し, 病理検査では悪性リンパ腫, 胃および皮膚の扁平上皮乳頭腫が高頻度に認められた。Tg, non-Tg いずれも CPZ 投与群で摂餌量減少を伴う体重増加抑制が認められ, Tg 群の雄 2 例, 雌 2 例が途中死亡した。病理検査では Tg および non-Tg マウスに悪性リンパ腫, 脾臓の血管肉腫, 細気管支上皮/肺胞上皮腺腫/癌, 胃扁平上皮癌, 皮膚の扁平上皮乳頭腫などがみられたが, いずれも発生率および発生部位において, CPZ 投与群と対照群の間に明らかな差は認められなかった。なお非腫瘍性病変として, Tg および non-Tg マウスの CPZ 投与群で肝重量増加を伴う小葉中心性の肝細胞肥大/脂肪化が観察された。以上, rasH2 マウスの試験において CPZ のがん原性は陰性であった。c-Ha-ras の点突然変異の検索では, codon12 の変異が悪性リンパ腫 (GGC→GAC), 皮膚扁平上皮癌 (GGC→GTC), codon61 の変異が肺細気管支上皮肺胞上皮癌 (CAG→CTG) でみられた。

○高岡雅哉¹⁾, 今井俊夫²⁾, 鳥井幹則³⁾, 佐藤洋⁴⁾, 豊沢かおる⁵⁾, 田中丸善洋⁶⁾, 足立民子⁷⁾

久田茂⁸⁾, 上田誠⁹⁾, 小笠原裕之¹⁰⁾, 松本正博¹¹⁾, 小林潔¹²⁾, 務台衛¹²⁾, 白居敏仁¹³⁾

1), 三共・安全研; 2), エーザイ・安全研; 3), 塩野義製薬・新薬研; 4), 第一製薬・安全研; 5), 大日本製薬・安全研

6), 武田薬品・機能二研; 7), 田辺製薬・安全研; 8), 帝国臓器・安全研; 9), 日本新薬・安全研

10), 日本ワイズレダリー・医薬研; 11), 藤沢薬品・安全研; 12), 三菱東京製薬・安全研; 13), 実中研

[緒言] ILSI-HESI 国際共同研究の一環として, ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入した CB6F1-Tg rasH2 (Tg) マウスを用いた短期発がん性試験の有用性が検討されている。今回, 参加機関 12 社で実施した試験の対照群の結果をまとめ, Tg マウスの背景病変を整理した。同時に N-methyl-N-nitrosourea (MNU) を投与した陽性対照群の試験結果を用いて, 死亡率, 死因, および腫瘍発生頻度などの MNU に対する応答性についても実験施設間の比較をおこなった。

[材料および方法] 実験動物中央研究所より購入した Tg マウスおよび野生型である Non-Tg マウスを用いた。共通プロトコール (雌雄各群: 15 例) により実施された 26 週間反復投与 (強制経口あるいは混餌) 試験に用いた Tg マウスの対照群および MNU 投与群, Non-Tg マウスの対照群の病理組織学的検査結果をまとめた。MNU は 75 mg/kg の用量で単回腹腔内投与した。

[結果および考察] Tg マウスの試験期間中の平均生存率は, 雄 97.2%, 雌 96.1% であり, 背景病変として観察された腫瘍性病変は, 肺の腺腫が雄 7.2%, 雌 8.4%, 脾臓の血管肉腫が雄 6.1%, 雌 5.1% であった。また, 過形成性病変も副腎被膜下紡錘細胞過形成が, 雄 37.2%, 雌 73.6%, 子宮の嚢胞状内膜過形成が 37.6% 観察され, それらの発生頻度は non-Tg のそれと類似した。MNU 投与群では, 死亡率が 0-100% (平均; 雄 41.8%, 雌 42.4%) であり, その死因となる病変は, 悪性リンパ腫が, 雄 86.0%, 雌 82.0%, 前胃の扁平上皮癌が, 雄 7.6%, 雌 13.0% であった。各実験施設間の死亡率に差は認められたが, 発生した主な腫瘍性病変は, 前胃の乳頭腫が, 雄 89.6%, 雌 90.9%, 悪性リンパ腫が, 雄 76.2%, 雌 75.2% であり, 実験施設間の腫瘍性病変の発生率はほぼ類似した。Tg マウスは, 26 週間の反復投与試験では死亡率は低く, 腫瘍発生頻度も低いことが明らかとなった。また, 陽性対照として用いた MNU に対する応答性も実験施設間による大差は認められなかった。したがって, 2 年間の発がん性試験の代替試験として, 本動物を用いた短期発がん性試験の有用性が示唆された。

○ 佐野文子, 後藤和広, 小林 潔, 土屋毅幸, 日下部愛泉, 坂入鉄也, 岡田味世子, 杉本次郎, 務台 衛
(三菱東京製薬・医薬総合研・安全性研)

ヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子を導入したCB6F1-TgrasH2マウス(rasH2マウス)を用いた26週間がん原性試験の背景データを収集する目的で, 同試験の対照群として供されたrasH2マウスおよび同腹子の非遺伝子導入マウス(Non-Tgマウス)の病理検査結果をまとめたので報告する。

【材料および方法】 当施設で実施したrasH2マウスを用いた26週間がん原性試験の3試験分について, 対照群の病理組織変化を集計した。いずれの試験でも, 7週齢の雌雄のrasH2マウスおよびNon-Tgマウスを実験動物中央研究所より購入し, 1週間の検疫・馴化後, 試験に供した。各試験では, rasH2マウスの対照群およびNon-Tgマウスの対照群ともに, 15匹/群(5匹/ケージ)で26週間飼育し, 34週齢にて剖検し, 全身の主要器官・組織について病理組織検査を実施した。

【結果】 試験期間中, rasH2マウスで雄の3例が瀕死期殺され, 雌の1例が死亡した。雄2例の瀕死期殺動物の衰弱原因は, それぞれ胸膜炎, 鼻腔の膿瘍と考えられた。計画殺動物の組織検査では, 前腫瘍性/腫瘍性変化として, rasH2マウスで, 肺の細気管支・肺胞上皮過形成, 細気管支・肺胞腺腫および腺癌, 脾臓の血管肉腫, 皮膚の乳頭腫, ハーダー腺の腺腫, 前胃, 腺胃, 空腸および回腸の粘膜過形成, 十二指腸腺の過形成ならびに肝臓の好塩基性細胞巣および空胞化細胞巣がみられた。Non-Tgマウスでは, 肺の細気管支・肺胞腺腫および前胃の粘膜過形成がみられた。また, 非腫瘍性変化として, rasH2マウスで骨格筋(大腿筋, 舌など)の筋症(土屋ら, 本学会)および胸腺の被膜外リンパ球が, 両マウスに共通して胃および下顎腺の白血球浸潤, 副腎の被膜下細胞過形成ならびに子宮の嚢胞状内膜過形成が高頻度に認められた。

【まとめ】 34週齢のrasH2マウスでは, Non-Tgマウスに比べて前腫瘍性/腫瘍性変化が多器官・組織にわたり認められた。また, rasH2マウスに特異的と考えられる非腫瘍性変化(骨格筋の筋症, 胸腺の被膜外リンパ球)がみられた。

有機ヒ素化合物のラット肝発癌修飾作用

○ 西川隆之, 鰐渕英機, 小川元女, 木下アンナ, 須方督夫, 福島昭治
大阪市大・院・医・都市環境病理

【目的】無機ヒ素のほ乳類での主な代謝産物であるメチルアルシン酸(DMA)がラットにおいて膀胱, 肝, 腎, 甲状腺に発癌促進作用を示すとともに, 膀胱に発癌性を有することを明らかにしてきた。また, DMAに関連する有機ヒ素化合物であるモノメチルアルソン酸(MMA), トリメチルアルシンオキサイド(TMAO)にも膀胱発癌促進作用があることも報告してきた。今回MMA, DMA, TMAOによる肝発癌修飾作用をラット肝中期発癌試験法(伊東法)を用いて検討した。

【方法】10週齢の雄性F344ラットを用いてDEN200 mg/kg腹腔内投与し, 2週目よりMMA, DMA, TMAOをそれぞれ100ppmの用量で飲水投与し, 3週目に2/3肝部分切除術を施行した。8週目に肝を摘出し前癌病変の指標であるGST-P陽性細胞巣, 酸化ストレスの指標である8-OHdGを検索した。

【結果および結論】GST-P陽性細胞巣はDMAともにMMA, TMAOにおいても対照群に比較して有意に増加がみられた。8-OHdGは対照群と比較し, 有意ではないものの増加傾向を示した。以上3種の有機ヒ素化合物はラット肝発癌促進作用を示すことが明らかとなった。

Comparison of the oxidative changes in rat liver induced by low and high doses of phenobarbital.

Kinoshita Anna, Wanibuchi Hideki, Nishikawa Takayuki, Seike Noritaka, Kitano Mitsuaki, Fukushima Shoji,
Department of Pathology, Osaka City University Medical School

There have been reported about the Hormesis phenomena produced by phenobarbital application at a low dose after the initiation of liver carcinogenesis with DEN, while its higher doses were shown to exhibit promotional activity. The mechanisms of PB promotional as well as its inhibition activity remain unclear. In the present study male 6-week-old F344 rats were given PB at doses of 2, 4, 15, 60 and 500 ppm in a powder diet for 8 days. Hydroxyl radical and 8-OHdG levels were highly elevated in the rat liver after treatment at a dose and 500 ppm. Unexpectedly, an increase of hydroxyl radicals was also observed at a dose of 2 ppm, which was possibly due to the enhanced CYP2C11, CYP3A2 and NADPH-P450 reductase activities. Elevation of P450 and NADPH-P450-reductase activities, but not CYP2B1/2 and CYP3A2 protein and 8-OHdG levels might explain in part inhibition effects of a low dose PB administration on rat liver carcinogenesis.

Peroxisome proliferator 特異的にラット肝臓で発現する
iNOS-immunoreactive 80 kDa peptide について

○小林恒雄, 渋谷淳, 高橋則行, 畝山智香子, 梶富直哉, 仁保直子, 広瀬雅雄
(国立衛研・病理)

[目的] 非遺伝子傷害性発がん物質の *in vivo* 短期発がん性指標を探索する目的で, peroxisome proliferator である di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) を 2% 混餌投与したラットの肝臓で各種機能分子の発現を Western blotting (WB) により解析したところ, inducible-NOS (iNOS) の C 末端に対する抗体に immunoreactive な本来の分子量 (130kDa)とは異なるポリペプチド性シグナル (80kDa) を検出したので, その発現特性等について検討を行った。[方法] 5 週齢の SD:IGS 雄性ラットに, 非遺伝子傷害性肝発がん物質として 2% DEHP, 2% di(2-ethylhexyl)adipate, 0.6% dehydroepiandrosterone, 0.5% clofibrate, 2.5ppm ethinylestradiol, 0.25% DL-ethionine, 600ppm phenobarbital, 600ppm thioacetamide, 非発がん性肝毒性物質として, 1% acetoaminophen, 0.1 % α -naphthyl isothiocyanate をそれぞれ 1, 3, 7, 28 日間混餌投与した。また, 遺伝子傷害性肝発がん物質として 10ppm diethylnitrosoamine (飲水), 300ppm Me-IQx (混餌), 200ppm 2-AAF (混餌)をそれぞれ 3 日間投与した。iNOS 発現の陽性対照としては, lipopolysaccharide (LPS) を 10 mg/ kg 腹腔内投与し 4, 8 時間経過したラット肝臓を用いた。[結果] DEHP 投与によって, iNOS 抗体に immunoreactive な 80kDa シグナルが投与後 1 日目より投与期間を通じて (28 日間) 恒常的に強く発現していた。DEHP 投与 3 日目の肝組織でのこのシグナルの局在を, 免疫組織化学的に検索したところ, 肝細胞の細胞質に細顆粒状の陽性を示した。また DEHP 投与 3 日目でのこのシグナルの臓器分布を検索した結果, 肝臓に強く発現した他, 腎臓, 脾臓で約 90kDa の弱いシグナルを認めた。この 80kDa シグナルは他の各種 peroxisome proliferator 投与例の肝臓でも同様に確認されたが thioacetamide でも 90 kDa のシグナルを検出した。一方, その他の投与群では, このシグナルは認めなかった。また LPS 投与によりラット肝臓に 130 kDa の iNOS 本来のシグナルが検出され, 更に iNOS の C 末端領域に相当する cDNA probe を用いた肝臓の Northern blotting(NB)で, LPS により iNOS の転写産物 (4.4kb) を検出したが, DEHP 投与ではいかなるシグナルも検出されなかった。[結論] peroxisome proliferator 特異的に iNOS 抗体に反応する 80 kDa のシグナルは, その発現特性からペルオキシゾーム増殖過程に関与するタンパク質であることが示唆された。また, NB 解析により DEHP 特異的な mRNA が検出されないことから, 目的とする遺伝子産物が iNOS の spliced variant である可能性は低いと考えられた。

○須方督夫^{1,2}、尾崎圭介^{1,2}、宇和川賢^{1,2}、串田昌彦^{1,2}、小川元女²、西川隆之²、
 鰐淵英機²、奥野泰由¹、福島昭治² (1 住友化学・生科研、2 大阪市大・院医・都市環境病理)

(目的) 有機塩素系殺虫剤である DDT は現在では既に使用が禁じられているが、その難分解性ゆえ今なお環境中に微量に残留している。一方、非遺伝毒性肝発癌物質である Phenobarbital (PB) は非常に低濃度域でラット肝前癌マーカーである GST-P 陽性細胞巢の発現を抑制する事が報告されている (Kitano, M., et al. *Carcinogenesis*, 19(8), 1475-1480, 1998)。そこで今回、我々は DDT の低濃度域における肝発癌性をラットを用いて検討した。(方法) ① 21 日齢雄 F344 ラットに DDT を 0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 20, 100, 500 ppm の各濃度で 16 週間混餌投与し、肝臓における GST-P 陽性細胞巢の検索、肝薬物代謝酵素 CYP2B1, CYP3A2 の各蛋白質量の測定、酸化的ストレスによる DNA 傷害の一つ、8OHdG の修復酵素 OGG1 の mRNA 量の測定を行った。② 更に低濃度域の検討を目的として、①と同様の系を用い DDT を 0, 0.005, 0.01, 0.1, 0.2, 0.5 ppm の各濃度で混餌投与し、GST-P 陽性細胞巢, CYP2B1, CYP3A2, OGG1 の検索のほか、CYP3A2 の発現を制御する数種類の遺伝子の発現量の検討を行った。(結果) GST-P 陽性細胞巢の単位面積あたりの個数は低濃度域では U 字型曲線を示し、特に 0.005 ppm で対照群に比較し有意な減少を示した。一方、5.0 ppm 以上では有意な増加を示した。CYP2B1, CYP3A2 の発現量はそれぞれ 0.5 ppm と 5 ppm 以上では用量相関的な増加を示したのに対し、CYP3A2 は 0.1 ppm 以下で U 字型曲線を示し、特に 0.01 ppm では対照群に比較し有意な減少を示した。OGG1 mRNA は 5 ppm 以下では用量相関的な増加を示したが、20 ppm 以上では 5 ppm 群に比較し発現量の抑制傾向を示した。更に CYP3A2 の発現を抑制する IL-1 β 及び TNF- α の各レプター mRNA 量は、低濃度域における CYP3A2 の発現パターンと相関性を示した。(結論) DDT は低濃度域では GST-P 陽性細胞巢の発生を抑制 (hormesis 現象) し、発癌に対する実質的な閾値の存在が強く示唆された。また低濃度域での CYP3A2 の発現抑制は IL-1 β もしくは TNF- α により誘発された可能性が示唆された。更に CYP3A2 の発現抑制が認められた濃度で IL-1 β により転写活性化される iNOS の増加が認められ、GST-P 陽性細胞巢の抑制は IL-1 β の発癌抑制作用に基づく可能性が考えられた。

○楠岡 修, 中江 大¹, 岸田秀樹¹, 大東 肇², 矢野昌充³, 西野輔翼⁴, 村上 明⁵, 小清水弘一⁵,
 辻内俊文¹, 小西陽一¹ (1 奈良医大・腫瘍病理, 2 京大農学研究科, 3 農水省・果樹試験場,
 4 京都府立医大・生化学, 5 近畿大・生物理工)

[目的] 温州蜜柑に含まれるポリメトキシフラボノイドであるノビレチンは、*in vitro*において、種々の癌細胞の増殖を抑制し、HL-60細胞の分化を誘導する。さらに、ノビレチンは、ラットに投与すると、エタノールによる急性胃粘膜障害の発生や、アゾキシメタンによる大腸 aberrant crypt foci の誘発を抑制することが報告されている。したがって、ノビレチンは、癌に対する化学予防候補物質として有望であるものと期待されているが、肝発癌に及ぼす影響については報告がない。本研究は、ノビレチンの肝発癌に及ぼす影響を検索する目的で、ジエチルニトロサミン (DEN) による外因性とコリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食による内因性のラット肝発癌系を用いて実験を行った。[方法] 動物は、Fischer 344 系雄性ラット (6 週齢) 40 匹を用いた。実験は、DEN による外因系と、CDAA 食による内因系にて行った。外因系は、ラットに、DEN を 100 mg/kg 体重にて週 1 回計 3 回腹腔内投与した後、5 週にて部分肝切除を施行し、14 週に屠殺した。ノビレチンは 0・0.01・0.02・0.05% の用量で 4 週より 10 週間投与した。内因系は、ラットに、CDAA 食を単独又は先と同じ用量にて飼料に混じたノビレチンと共に 16 週間投与した。ラットは屠殺時に肝を摘出し、GST-P 陽性前癌病変の数と大きさを定量した。[結果] 外因系において、GST-P 陽性前癌病変の大きさは、ノビレチンの 0・0.01・0.02・0.05% 投与群にて、それぞれ、0.015・0.013・0.007・0.007 mm³ と用量依存性に縮小し、0.02 および 0.05% 投与群にて統計学的有意差を認めた。単位体積あたりの個数は、群間で差を認めなかった。内因系において、GST-P 陽性前癌病変の大きさは群間で差を認めなかったが、単位体積あたりの個数は、0.88・1.14・1.16・1.82/cm³ であり、0.05% 投与群にて有意に増加した。[結論] 以上の結果より、ノビレチンは、外因系肝発癌を抑制する一方、内因系肝発癌を促進し、両者に対して異なる影響を及ぼすことが判明した。したがって、ノビレチンの化学予防物質としての有用性については、さらに詳細に検索する必要があることが示唆された。

P- 1-27 四塩化炭素誘発肝炎のMeIQx肝発癌性の増強

○加国 雅和、岩井 秀司、レザウル カリム、魏 民、森村 圭一朗、鰐淵 英機、福島 昭治
(大阪市大・院・医・都市環境病理)

【目的】現在ヒト慢性肝炎と肝発癌の間には強い関連が認められている。本実験では四塩化炭素 (CCl₄) 誘発ラット肝炎モデルを用いて、MeIQxの低用量肝発癌性に対する肝炎の増強作用を検討した。【方法】21日齢の雄性F344ラット350匹をCCl₄投与群と非投与群とに分け、投与群にはCCl₄を0.125 ml/kg (実験開始～10週) および0.25 ml/kg (10～20週) の用量でそれぞれ週2回の頻度で皮下投与した。また全群にそれぞれ0、0.001、0.01、0.1、1、10および100 ppm の用量にてMeIQxを混餌投与した。ラットは22週目に屠殺し、肝臓における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検索した。【結果及び結論】CCl₄投与群ではMeIQx 10 ppm以上の処置により0 ppm投与群に比較して有意なGST-P陽性細胞層数の増加が認められたが、非投与群ではMeIQx 100 ppm処置群にのみ有意な増加が認められた。これらよりCCl₄投与による肝炎状態ではMeIQxの肝発癌性が増強されることが明らかとなった。

P- 1-28 ラット肝発癌における腫瘍顕在化に対するTransforming growth factor-alpha (TGF- α) 発現の影響

○北野光昭^{1,2}、和田重太郎²、有木 豊²、日高隆義²、鰐淵英機¹、森村圭一朗¹、
福島昭治¹ (¹大阪市大・院・医・都市環境病理, ²鐘淵化学・高砂研)

【目的】中期肝発癌性試験法において前癌病変の指標とされているglutathione S-transferase胎盤型 (GST-P) 陽性細胞巢のうちTGF- α にも陽性を示す細胞巢が存在する事が報告されていることから、GST-P陽性細胞巢の腫瘍への進展過程に対するTGF- α の影響を検討した。

【方法】8週齢の雄性F344ラット100匹を使用した。ラットは2群に分け、中期肝発癌性試験法のプロトコルに従って以下の処置をした。試験開始時にdiethylnitrosamine (DEN)を200mg/kg体重で腹腔内投与した。第2週目より第1群にのみPhenobarbital sodium salt (PB)を500ppm濃度で混餌投与した。さらに第3週初めに2/3部分肝切除術を施行した。ラットは試験開始後4、8、16、32、48週に屠殺し(各時点10匹/群)、肝臓の連続切片を用いてGST-P、TGF- α の免疫組織化学染色およびHE染色を施した。各陽性細胞巢の数および面積を画像解析装置により計測すると共にHE染色による腫瘍の病理組織学的診断を実施した。

【結果】32、48週で肝細胞腫瘍が観察されたが、そのほぼ全てがTGF- α 陽性であった。TGF- α 陽性細胞巢は4週から観察され、その全てがGST-Pに陽性であった。TGF- α 陽性細胞巢の数は32、48週においてもそれほど増加しないが、その面積は32、48週で明らかに増加した。その傾向はPB投与群で顕著であり、GST-P陽性細胞巢の面積と同程度まで増加した。またGST-P陽性細胞巢の数に対するTGF- α 陽性細胞巢の数の割合が、PB非投与群では8週以降減少していくのに対し、PB投与群では48週目まで維持されていた。

【結論】肝細胞腫瘍の進展にはTGF- α の発現および発現の維持が深く関与していること、特にそれとPBによるプロモーション作用との関連が明らかとなった。またGST-P陽性細胞巢のうちTGF- α にも陽性のものが肝細胞腫瘍へと進展する可能性が強く示唆された。

P- 1-29 ラット内因性および外因性肝発癌系により誘発された肝細胞癌におけるTGF-βシグナル伝達経路異常の検索

○佐々木 康孝、辻内 俊文、堤 雅弘、白岩 和巳、三井 雅之、高島 吉治、赤井 弘幸、丸山 博司、小西 陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

サイトカインの一種であるtransforming growth factor-β (TGF-β) の機能は多彩で、一般に上皮性細胞に対しては細胞増殖の抑制作用を示すことが知られている。近年、TGF-β シグナル伝達経路の異常が種々のヒト悪性腫瘍においてされ、TGF-β による細胞増殖抑制作用からの回避が、細胞の癌化や進展に深く関与することが示唆されている。我々は、ラット内因性および外因性肝発癌系におけるTGF-β シグナル伝達経路異常の関与を明らかにする目的でリン欠乏アミノ酸 (CDAA) 食およびN-nitrosodiethylamine(DEN) にて誘発した肝細胞癌におけるTGF-βR II、Smad およびSmad4遺伝子変異について検索した。【材料と方法】動物は6週齢の雄性F344ラットを用い、内因性肝発癌してCDAA食を80週間投与して得られた肝細胞癌12例を、外因性肝発癌系としてDENにて誘発した肝細胞癌11例いた。各々の凍結組織よりRNAを抽出し、RT-PCR-restriction-SSCP法によりTGF-βR II、Smad2、およびSmad4遺伝子点突然変異について検索した。またTGF-βR IIのmRNA発現をRT-PCR法により半定量的に検索した。【結果と考察】CDAA食およびDENで誘発したいずれの肝細胞癌においてもTGF-βR II 遺伝子およびSmad4遺伝子に点突然変異はられなかったが、CDAA食で誘発した肝細胞癌12例中2例(16.6%)にSmad2遺伝子におけるコドン30 (GGT→GGC (Gly)) およびコドン118 (TCT→GCT (Ser to Ala)) の点突然変異が検出された。また、DENで誘発した肝細胞癌全TGF-βR IIの発現異常は検出されなかったが、CDAA食で誘発した肝細胞癌12例中2例(16.6%)にTGF-βR IIの発現異常認められた。以上の結果より、ラットにおける内因性肝発癌機構へのTGF-β シグナル伝達経路の異常の関与が示されたが、外因性肝発癌機構への関与は乏しいことが判明した。

P- 1-30 新規遺伝性腎癌ラット (Nihonラット) の病理組織学的検討

○河内 眞美¹、沖本 一夫¹、木川 英美¹、豊村 かおる¹、靴谷 高敏¹、黒木 宏二¹、田中 浩二¹、松岡 信男¹、樋野 興夫²
(¹大日本製薬㈱・開発研、²癌研・実験病理部)

【緒言】遺伝性腎癌ラットであるEkerラットは、1954年ノルウェーのEkerによって見出され、樋野らによって原因遺伝子(*Tsc2*)が単離・同定された。我々は前回の「第16回日本毒性病理学会」で若齢SDラットの腎尿細管上皮由来の増殖性病変を報告した。その後、同一の繁殖場から多発性シストを確認した雌1例(P)を得て正常な雄SD系ラットと交配し、F0動物を得た。このF0動物を10週齢の時点で開腹手術により多発性シストを確認し、兄妹交配を続け、F3の動物を得ている。現在までに得られた結果から、Nihonラットにおける腎腫瘍の発生はメンデルの法則に従い、単一遺伝子による常染色体優性の遺伝形式をとると考えられる。また、Nihonラット同士(ヘテロ接合体)の交配において、胎生期12日前後に24.5%の致死がみられ、これはホモ接合体が致死になったものと考えられた。キャリアーの雌Nihonラット(P)の遺伝的解析では、ヒトの腎癌を合併する結節性硬化症の原因遺伝子である*Tsc1*および*Tsc2*遺伝子、von Hippel-Lindau病の原因遺伝子である*VHL*遺伝子、ならびに癌遺伝子である*c-Met*遺伝子のgermline mutationの有無についてSouthern blot, Northern blotおよびPCR-SSCPレベルで実施したが、現在までのところいずれも変化を認めていない。以上のことから我々の発見したSDラットは新規の遺伝性腎癌ラットであり、Nihonラットと命名し、「第59回日本癌学会総会」に報告した。本報告では、Nihonラットの詳細な病理組織像について報告する。

【材料および方法】キャリアーの雄Nihonラットと正常な雌SDラットを交配し[♂(RC/+) \times ♀(+/+)], それぞれ0日齢, 1, 2, 3, 4, 6および8週齢のF1を剖検した。動物数はそれぞれ, 16, 14, 11, 13, 17, 17および31匹, 合計119匹の腎臓を矢状面で切り出し、定法に従いHE染色標本を作製して、病理組織学的検査を実施した。

【結果およびまとめ】2週齢より空胞化した変異尿細管がみられ、4週齢ではclear cellおよびacidophilic cellの過形成病変となり、8週齢ではこれらの変化に加えて、cystadenomaやacidophilic cell adenomaと診断される腺腫の形成がみられた。肉眼的に多発性シストの形成は6週齢からみられたが、6および8週齢でシストの認められない例にも過形成腺管が存在する例もあった。以上の組織像はbasophilic cellあるいはchromophobic cellからなる近位尿細管由来と考えられるEkerラットとは異なると考えられた。また、Nihonラットでは2週齢という早期に変異尿細管を認め、過形成、腺腫、腺癌へと多段階的な発癌過程を示すことが明らかとなった。現在、特殊染色および電顕等による発生由来の検討を進めている。

P- 1-31 新規遺伝性腎癌ラット (Nihon ラット) の経胎盤 ENU 投与による腎腫瘍促進に関する検討

○沖本一夫¹, 木川英美¹, 河内眞美¹, 豊沢かおる¹, 糀谷高敏¹, 黒木宏二¹, 田中浩二¹, 樋野興夫²
(¹大日本製薬(株)・開発研, ²癌研・実験病理部)

【緒言】 *N*-Ethyl-*N*-nitrosourea (ENU) の経胎盤投与により, ラットに Wilms' tumor (nephroblastoma) が発生することはよく知られている. 我々の発見した新規の遺伝性腎癌ラット (“Nihon” ラット) に関する研究の一環として, ENU 投与による腫瘍促進作用の検討を実施したので, その結果について報告する.

【材料および方法】 キャリアーの雄 “Nihon” ラットと正常な雌 SD ラットを交配[♂ (RC/+) × ♀ (+/+)]し, 妊娠 15 日に ENU 80mg/kg を腹腔内投与した. 0 日齢, 1, 2, 3, 4, 6 および 8 週齢の F1 を剖検し, その腎臓 (左右) を矢状面で切り出し, 定法に従い HE 染色標本を作製して, 病理組織学的検査を実施した. 動物数はそれぞれの週齢で 16, 14, 12, 23, 21, 12 および 25 匹, 計 123 匹である. 比較対照の無処置 F1 の病理組織像については本学会で河内らが「新規遺伝性腎癌ラット (Nihon ラット) の病理組織学的検討」で報告する.

【結果およびまとめ】 1 週齢より, 単発性に空胞化した変異尿管がみられ, 3 週齢では clear cell および acidophilic cell の過形成病変が, 6~8 週齢ではこれらの変化に加えて, cystadenoma や acidophilic cell adenoma と診断される腺腫が認められた. 0 日齢を除く腎腫瘍性病変の発生例数は 60/107 (56.1%) となった. 無処置の F1 と比較したところ, 若干の腎腫瘍促進作用しか認められなかった. また, 3~8 週齢で腎芽腫あるいはその前駆病変が少数例にみられた. Eker ラットでは通常 2 ヶ月以降で認められる成人型の腎細胞腫が, ENU 投与により生後 1 週という早期からみられることが報告されている. また, Wilms' tumor の発生は 17 週まで認められていない. 我々の “Nihon” ラットはその表現型において Eker ラットとは異なることを報告したが (第 59 回日本癌学会総会), 今回, 興味あることに ENU 投与による腎腫瘍促進に関しても “Nihon” ラットと Eker ラットの相違が認められた.

P- 1-32 Lack of Modifying Effects of Fernane-Type Triterpenoids Isolated from a *Euphorbia* Genus on Rat Liver Carcinogenesis

Rezaul Karim¹, Iwai Shuji¹, Morimura Keiichirou¹, Wanibuchi Hideki¹, Tanaka Reiko², Matsunaga Shunyo², Yoshitake Akira² and Fukushima Shoji¹

¹Dept. of Path. Osaka City Univ. Med. Sch. ²Osaka Univ. of Pharm. Science.

It has been reported that triterpenoids isolated from a *Euphorbia* genus & their derivatives have tumor inhibitory effects and also inhibit topoisomerase II *in vitro*. In this study we investigated the modifying effects of triterpenoids, EC-2 & EC-4 isolated from *Euphorbia* genus in the Ito rat liver medium-term bioassay system. F344 male, 6-week-old rats were given a single dose of DEN (200mg/kg b.w.) i.p. and subjected to 2/3 partial hepatectomy at 3rd week. The compounds were administered 5 times/week by i.g. at a dose of 1mg/kg b.w. at 2-8 weeks. The numbers and areas per cm² of induced glutathione S-transferase placental form positive foci and 2-deoxybromouridine labelling indices in the liver as a marker of preneoplastic lesion were not found to be significant changed among the groups. So our results indicate that EC-2 and EC-4 have no modifying effects on rat hepatocarcinogenesis.

○竹下文隆、小川久美子、今井田克己、朝元誠人、加藤浩司、高橋智、白井智之
(名市大・医・1病理)

【緒言】加熱食品分解産物ヘテロサイクリックアミンの1つであるPhIPは、雌性ラットに対しては大腸と乳腺に発がん性を示す。我々は雌性ラットにcaffeineをPhIPと同時に投与すると大腸発がんは促進され、反対に乳腺発がんは抑制されることを見いだした。今回その機序の解明を目的とし、肝臓、大腸および乳腺におけるcaffeine同時投与によるPhIP-DNA付加体形成量およびPhIP活性化代謝酵素の誘導の変化について検討した。

【方法と材料】F344ラット6週齢雌に、300 ppm PhIP混餌食および0.1% caffeine含有水もしくはその一方を4週間持続投与し、屠殺後肝臓、大腸、乳腺を摘出した。各臓器についてアセトン固定標本と凍結検体を採取し、免疫組織化学染色によりPhIP-DNA付加体形成細胞数を計測した。またRNAを抽出し、定量的RT-PCR法にてCYP1A2およびN-acetyltransferase 1 (NAT1)の発現量を解析した。

【結果】大腸粘膜上皮細胞における付加体形成は、caffeine同時投与群(58.6%)でPhIP単独投与群(35.4%)に比べ有意に増加していた。一方乳腺ではPhIP投与により腺房細胞(59.7%)および腺管細胞(69.4%)ともに高率に形成されているものの、caffeine投与による変化は見られなかった(55.5%、65.6%)。また、非標的臓器である肝臓ではクッパー細胞や内皮細胞には高率に認められたが、肝細胞に付加体形成はほとんど無く、caffeine投与による変化も認めなかった。CYP1A2のmRNA発現量は、大腸、乳腺ともいずれの群でも検出限界以下であり、肝臓では対照群と比較してPhIP単独投与群で1.5倍、caffeine単独で1.6倍に増加したが、同時投与で2.2倍に増加した。一方NAT1は大腸および乳腺にも発現は見られたが同時投与による変化は認められず、肝臓ではPhIP単独投与群では対照群より有意に増加し(2.3倍)、caffeineの同時投与により有意に減少し対照群のレベルに戻っていた。

【結論】雌性ラットへのPhIPとcaffeineの同時投与によりPhIP-DNA付加体形成は大腸粘膜では有意に増加した。CYP1A2およびNAT1のmRNA発現量は肝臓では変化した。標的臓器における変化は見られなかった。各臓器に対する発がん修飾作用の差異を説明するには、他の酵素誘導を含めさらなる検討が必要と考えられる。

○葛谷和也、朝元誠人、二口 充、今井田克己、杉浦 諭、小川久美子、白井智之
(名市大・医・1病)

【目的】さまざまな疫学的調査により癌の発生と食事との関連性が指摘されており、中でも日本人が多量に摂取している大豆類は化学予防に有用であると期待されている。今回、我々はイソフラボンが豊富に含まれる大豆胚芽熱水抽出物の発がん修飾作用を多臓器中期発がん試験法を用いて検討したので報告する。

【方法】動物は6週齢のF344ラットを使用した。まず、イニシエーターとして実験開始後4週間にN-diethylnitrosamine (DEN, i.p.), N-methyl-N-nitrosourea (MNU, i.p.), N, N'-dimethylhydrazine (DMH, s.c.), N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN, in drinking water) 及びDihydroxy-di-N-propylnitrosamine(DHPN, in drinking water)をそれぞれに記載の方法で投与を行った(DMBDDモデル)。約1週間の休薬後、大豆胚芽熱水抽出物(フジッコ(株)より供与)をそれぞれ0.25、0.1、0.025%の濃度で混餌投与した。実験開始28週後に屠殺し、大腸を含む主要臓器を病理組織学的検索に供した。

【結果】実験期間中に明らかな毒性症状は観察されず、最終体重及び臓器重量についてもイソフラボン投与による影響は見られなかった。大腸の前癌病変とされているAberrant crypt foci (ACF)の発生数(No./rat)は各群間に有意な差は認められず、また肉眼的観察による大腸腫瘍の発生頻度についても差はなかった。その他諸臓器の詳細な病理組織学的検索は現在実施中である。

○三橋 誠¹、梶田周佳¹、土井賢一郎¹、沈 鈞¹、鰐淵英機¹、福島昭治¹、垣添忠生²
 (¹大阪市大・医・1病理、²国立がんセ・中央病)

【目的】現在、ヒトの表在性膀胱癌、特に上皮内癌に対してBCGによる膀胱内注入療法が抗腫瘍効果においても再発予防効果においても有効であることが示されている。しかし副作用として著明な膀胱刺激症状や発熱、全身倦怠感等がある。KRN7000はNatural Killer T cellを活性化し抗腫瘍効果を示すことが報告されている。そこでBCGにかわるものとして、KRN7000((2S,3S,4R)-1-O-(α -D-galactopyranosyl)-2-(N-hexacosanoylamino)-1,3,4-octadecatrienol)の膀胱内注入法によるマウス膀胱発癌に対する抑制作用の有無を検討した。

【方法】6週齢の雌性のC57/B6マウスを用いた。全ての群に発癌イニシエーション処置として1-8週にN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamineを投与した。その後、KRN7000を週1回で計16回、生理的食塩水1mlに混じて投与した。第1群(15匹)には体重1kgにつき10 μ g、第2群(15匹)には体重1kgにつき0.1 μ gを各膀胱内に注入した。第3群(15匹)には生理的食塩水のみを膀胱内注入し、第4群(10匹)は対照群として処置を行わなかった。実験開始後26週目に屠殺し、膀胱、肝臓、腎臓を病理学的に検索した。

【結果】対照群と比較し、KRN7000膀胱内注入処置群では膀胱に発生したcarcinoma、dysplasia共にその発生頻度に有意差を認めなかった。

【考察】今回の実験ではKRN7000の膀胱内注入処理でマウス膀胱発癌の抑制作用を認めることは出来なかった。観察期間の長短やKRN7000の至適投与経路、dendritic cellの分布等についての今後の検討、さらには動物種を変えての実験が必要と思われる。

○宮下嘉代子^{1,2}、萩原昭裕¹、玉野静光¹、中西 巧^{1,2}、佐野真士¹、浅井以和夫³、中村幹雄³、
 今井田克己²、白井智之² (¹大雄会医科研、²名市大・医・1病理、³三栄源エフ・エフ・アイ(株))

【目的】非分解カラギナンは、紅藻類より抽出される直鎖ガラクトン硫酸塩であり、天然の食品添加物としてアイスクリーム、ゼリーなどに広く使用されている。今回、ラットにおけるDMH誘発大腸発癌に対する非分解カラギナンの発癌修飾作用の有無について検討した。

【方法】6週齢F344系ラット雄の18匹より成る群にDMHを20mg/kgの用量で週1回、計4回皮下投与した。4週間後より非分解カラギナンを0(対照)、1.25、2.5および5.0%またはCholic acid(陽性対照)を0.2%の飼料中濃度で32週間混餌投与した。36週経過後に剖検し、大腸の詳細な肉眼的検査を実施し、その後病理組織学的に検査し、腫瘍性病変をend-point markerとして発癌促進作用の有無を評価した。DMH無処置群では、6匹から成る群に非分解カラギナンを0および5.0%の飼料中濃度で同様に混餌投与し、大腸ACFの発生頻度を検討した。

【結果】カラギナン投与各群における臨床症状に異常は認められず、体重推移にも統計学的な有意差は認められなかった。肉眼所見では、DMH単独群の大腸腫瘍の発生頻度と比較してDMH+カラギナン群において有意な差を認めなかった。病理組織学的検査では、DMH単独群における大腸腫瘍発生頻度(33%)と比較してカラギナン1.25および2.5%群で有意な差は認められず、カラギナン5.0%群でも44%と増加傾向を示したが、有意な差ではなかった。また、カラギナンの1.25、2.5および5.0%群の平均腫瘍発生個数は0.2、0.4および0.6と少なく、対照群(0.3)と比較して統計学的に差異はなかった。DMH無処置カラギナン群における大腸ACFの発生頻度は0.3であり、DMH無処置対照群の0.2と同等であった。

【結論】DMH誘発大腸発癌において、非分解カラギナンは大腸腫瘍の発生頻度および発生個数で統計学的に有意な増加を認めなかったことより、発癌促進作用は無いものと考えられた。

P- 1-37

Sno 遺伝子ヘテロノックアウトマウスの *N, N*-dibutyl nitrosamine (DBN) に対する発癌感受性の検索

○森村圭一郎¹、加国雅和¹、星学¹、金子雅宏¹、石井俊輔²、福島昭治¹ (¹大阪市大・院・医・都市環境病理、²理化学研究所・分子遺伝)

【目的】*Sno* 遺伝子は *Ski* 遺伝子の関連遺伝産物であり、N-CoR、SMRT などの転写仲介因子とコリプレッサー複合体を形成し転写制御にかかわる。また、*Sno* 遺伝子ヘテロノックアウトマウスでは T リンパ腫が発症しやすく、*Ski/Sno* 遺伝子は細胞・組織によっては癌抑制遺伝子として機能することが知られている。今回我々は新しい高発癌感受性モデルの確立を目的として、マウスの食道、膀胱に発癌性が証明されている *N, N*-dibutyl nitrosamine (DBN) に対する *Sno* 遺伝子ヘテロノックアウトマウスの発癌感受性の検索を行った。

【方法】8~9 週令の *Sno* 遺伝子ヘテロノックアウトマウス雄性 15 匹、雌性 15 匹、またそれに対するワイルドタイプマウス雄性 15 匹、雌性 12 匹に対し DBN を 0.05% の濃度で飲料水投与し、実験開始後 24 週目にエーテル麻酔下に屠殺、食道および膀胱における腫瘍の発生を病理学的に検索した。なお、無処置対照群を各群 2~5 匹ずつ用いた。

【結果】食道腫瘍の発生率は雄ヘテロ、80%；雄ワイルド、64%；雌ヘテロ、93%；雌ワイルド、89% であり雌雄ともにヘテロノックアウトマウス群に高い傾向を示したが有意差は認めなかった。発生した腫瘍の 7~27% に扁平上皮癌が認められた。CIS を含む膀胱癌の発生率は雄ヘテロ、40%；雄ワイルド、21%；雌ヘテロ、7%；雌ワイルド、33% であり、同様に各群間で有意な差は認めなかった。リンパ腫は認めなかった。

【結論】*Sno* 遺伝子ヘテロノックアウトマウスは DBN に対し、ワイルドタイプマウスに比べ高い発癌感受性を示さなかった。今後、このマウスの他臓器における発癌感受性の検討を行う予定である。

P- 1-38

内分泌攪乱化学物質の発癌修飾作用：ラット多臓器発癌モデルによる検討

○清家則孝、鰐淵英機、三橋誠、小川元女、市原敏夫、福島昭治
(大阪市大・院・医・都市環境病理)

目的：ラット多臓器発癌モデルを用いて、内分泌攪乱作用を有すると疑われているノニルフェノールと大豆のイソフラボンでエストロゲン作用が指摘されているゲニステインの発癌修飾作用を検討した。方法：6 週齢の F344 雄ラット 124 匹を 8 群に分け、第 1~第 5 群に DMBDD 処置を行い、イニシエーションとした。1 週間の休薬後、ノニルフェノールを第 1 群と第 2 群にそれぞれ 250、25ppm の濃度で、第 3 群と第 4 群にはゲニステインを 250、25ppm でそれぞれ混餌投与した。実験開始後 33 週でエーテル麻酔下に屠殺し病理学的に検索した。結果：DMBDD 処置のノニルフェノール、ゲニステイン投与群において肺の腺腫と癌の発生率の合計が対照群に対して有意に増加していた。大腸でも DMBDD 処置のノニルフェノール、ゲニステイン投与群で腺腫や腺癌が対照群に比して増加する傾向がみられ、細胞増殖の指標である大腸 BrdU 標識率では有意な増加を認めた。肝臓の腫瘍では発生頻度に肉眼的には有意差は認められなかった。しかしノニルフェノールの高濃度、低濃度投与群、ゲニステインの高濃度投与群において、肝癌の前癌病変である肝 GST-P 陽性細胞巣が単位面積当たりの個数と面積で対照群に対して有意に減少していた。結論：ノニルフェノールおよびゲニステインはともに肺発癌を促進することが明らかとなった。

○川口博明、早田正和、堀 隆夫、吉田浩己（鹿児島大学医学部第一病理）

【目的】

オクチルフェノールの乳癌発生への影響を検討するために新生仔期にオクチルフェノールを1回投与した雌ラットにおける7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)による乳癌誘発と、雄ラットにおけるDMBAによる乳癌の誘発について検索した。

【材料と方法】

実験1: 生後24時間以内の雌SDラットへ4-n-octylphenol (n-OP, 0.1, 1, 10, 100, 1000, 10000 μ g/body)を皮下投与し、生後50日目にDMBA (10 mg)を経口投与し、触診による乳癌発生の長期観察を行った。

実験2: 雄SDラットへ10 mgのDMBAを3回(生後28, 42, 56日目)経口投与し、生後70日目よりn-OP (10, 100, 1000 ppm)を混餌により投与し、触診による乳癌発生の長期観察を行った。

【結果】

実験1

- ・n-OP, 10000 μ g 投与群では、ラットは全例24時間以内に死亡した。
- ・1000 μ g 以下のn-OPを投与した全ての群のラットには正常な性周期が、卵巣には黄体形成がみられた。
- ・n-OP投与群における乳癌の発生頻度、発生個数、潜伏期間では新生仔期無処置群に比し、有意な変化はみられなかった。

実験2

- ・生後100日目の乳癌の発生頻度は、0, 10, 100, 1000 ppm n-OP投与群でそれぞれ15.4, 38.5, 20.0, 42.9%であったが有意差はなかった。

【まとめ】

オクチルフェノールは新生仔期1回投与では大量に投与された場合でも性周期の障害やDMBA誘発乳癌の発生には影響を示さないが、混餌による大量の長期暴露についてはDMBAの頻回投与による乳癌の誘発への影響は今回の実験ではまだ不明である。

堀口浩資, 佐藤洋, 田村一利, 楠岡修, 赤井弘幸, 村田奈保, 辻内俊文, 堤雅弘, 小西陽一
(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

近年、炎症の発癌促進機構が注目されているが、慢性膵炎の膵管癌の関与についての基礎的研究は少ない。今回、膵炎の発症に重要とされるplasminogen activator (PA)の阻害剤であるtranexamic acid (TA)と、種々の臓器の炎症メディエーターとして注目されている一酸化窒素(NO)ラジカルの合成酵素である誘導型NOS (iNOS)の阻害剤であるphenyl N-tert-butyl nitone (PBN)を用いて、N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP)によるハムスター膵発癌修飾効果を検索した。BOP投与後、ハムスター短期膵癌発生系に従い、augmentation pressureを2回施行した。前癌病変が発生する実験開始50日目より被験物質を投与した。第1群は基礎食投与群、第2群はPBNを0.05%の濃度で飲水に混じて投与した群、第3群はTAを0.1%の濃度で混餌投与した群とした。動物は実験開始88日目に剖検した。膵の病理組織学的検索をした結果、第3群において膵癌の発生頻度及びハムスター1個体当たりの膵癌発生数が第1群に比して有意に減少し、膵管病変周囲における炎症性反応の減弱がみられた。第2群においては、膵癌の発生は第1群に比し、有意差はみられず、炎症反応の抑制もみられなかった。以上の結果より、膵癌の発生にPAが関与すること、また、PAの阻害及び膵炎の制御による膵癌の化学予防の可能性が示唆された。

○古川文夫, 西川秋佳, 孫 和永, 宮内 慎, 中村英明, 広瀬雅雄 (国立医薬品食品衛生研究所・病理部)

【はじめに】 がんの一次予防に資する化学予防物質の検出が精力的に検討されているが、取り分け膀胱癌のモデルにおいては実験が長期間を要することが問題となる。そこで、今回、がん予防物質に検出の有用なハムスター *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) 膀胱がん中期検索モデルの開発を目的とし、膀胱腫瘍の発生率を保ちつつ、イニシエーションの投与期間を短縮する検討を行った。

【実験材料および方法】 6週齢の雄シリアンハムスターに 10 mg/kg 体重の BOP を 1 週間に 4 回に投与した。第 1 群は BOP 投与開始から 4 週間後、第 2 群は 8 週間後、第 3 群は 12 週間後に各群 15 匹を経時的に屠殺・剖検し、BOP の標的臓器である膀胱を中心に、肺、肝臓、胆嚢、腎臓を含めて病理組織学的に検索した。

【結果】 肉眼的に第 1 から 3 群では膀胱に明らかな腫瘍は認められなかった。しかし、病理組織学的には第 1 群で主膀胱上皮の立方化および軽度の配列の乱れが多数認められた。膀胱癌および異形成病変の発生率は第 2 群で各 13.0% および 60.0%、3 群で各 26.6% および 53.3%、多発性は第 2 群で 0.13 ± 0.35 個 および 0.73 ± 0.70 個、第 3 群で 0.26 ± 0.45 個 および 0.86 ± 1.06 個認められた。膀胱癌は胆膀胱共通管の分枝に分化型の腺管腺癌が発生した。異形成病変は細胞異型、構造異型を示す異型腺管からなり、胆膀胱共通管の分枝および小葉間膀胱管に認められた。一方、肝臓、胆嚢および腎臓には腫瘍性病変は認められなかったが、肺には 3 群のみに腫瘍性病変が数例認められた。

【まとめ】 ハムスターへの BOP 投与による 12 週間の実験では、膀胱癌および異形成病変が 8 週から発生し、肺の腫瘍性病変は 12 週に認められた。このモデルでは従来に比し、イニシエーション期間を 1/3、実験期間を約 1/4 に短縮した、腫瘍の発生率も約 50% 近いことから、膀胱がんに対する化学予防物質および促進物質の検索に有用と考えられる。

○小野寺 博志¹、三森 国敏^{1,2}、高木 久宜¹、田村 啓¹、安原 加壽雄¹、上田 誠¹、広瀬 雅雄¹
(¹国立衛研・病理、²東京農工大・家畜病理)

【目的】 我々は p53 欠損 CBA マウス [p53(+/-)CBA] に ENU を単回腹腔内投与すると高率に子宮腫瘍が誘発され、その後 ethinylestradiol (EE) を与えると子宮腫瘍の発生頻度が増加することを既に報告した。誘発された子宮腫瘍はほとんどが子宮内膜肉腫であり、内膜腺由来の増殖性病変としては異型性過形成と少数例の腺癌が認められたのみであった。一方、対照として用いた同腹仔の wild マウス [p53(+/+)CBA] では p53(+/-)CBA に比べ内膜肉腫の発生はなく、内膜腺の過形成が認められたのみであった。そこで今回、ENU で処置した p53(+/+)CBA マウスにおける EE 長期投与における子宮発癌への影響を検討し、同様の処置をした p53(+/-)CBA マウスと比較検討した。

【方法】 実験は p53(+/-)CBA 雌マウスに *N*-ethyl-*N*-nitrosourea (ENU) 120mg/kg を単回腹腔内投与しその一週間後より ethinylestradiol (EE) を 0 あるいは 2.5ppm の濃度で基礎飼料に混じり 26 週間自由に与えた。一方、p53(+/+)CBA 雌マウスでは p53(+/-)CBA 雌マウスと同様の処置を施し 50 週間飼育観察した。

【結果】 p53(+/-)CBA マウスでは ENU 単独で子宮内膜の増殖性病変が 60% 以上に発生したが、EE を投与する事により内膜肉腫が 80% と増加した。p53(+/+)CBA マウスの ENU 単独投与では 50 週間観察しても内膜肉腫は誘発されず僅かに間質の過形成が認められたのみであった。しかし、EE を投与することにより内膜肉腫が 30%、内膜腺上皮由来の癌が 90% 以上に認められた。

【まとめ】 p53(+/-)CBA マウスと同系統の wild マウスでは、同様の処置をしたにも関わらず、誘発された子宮腫瘍の組織型が異なることが明らかとなった。その原因については実験期間の違いのみでは説明出来ず、今後詳細な検討が必要である。

○上田 誠¹、三森国敏^{1,2}、小野寺博志¹、高木久宜¹、安原加壽雄¹、瀧澤 保¹、広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理、²東京農工大・家畜病理)

(はじめに) 近年、エストロゲン様作用を有する内分泌攪乱化学物質(EDCs)による生体への影響が社会問題化しており、これら物質の発癌性への影響が懸念されている。我々は *p53* ノックアウト CBA 系マウスに N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) を単回投与し、短期間で高率に子宮内膜肉腫が誘発されることを観察し、この誘発子宮腫瘍に対して強いエストロゲン作用を有する ethinylestradiol (EE) がその増殖を促進する一方、弱いエストロゲン様作用をもつ EDCs はなんら修飾作用を示さないことを報告した。又、我々はヒトプロト型 *c-Ha-ras* 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (*rasH2* マウス) に同様に ENU を単回投与し、子宮上皮性腫瘍や前胃腫瘍、肺腫瘍を誘発させることを見出している。そこで今回このモデルを用いて弱いエストロゲン作用を有する nonylphenol (NP) ないし EE についてその標的臓器での発癌修飾作用を検討した。

(方法) 6週齢の雌 *rasH2* マウス(Tg) およびその wild type 動物(non-Tg) (いずれも実験動物中央研究所より購入) に対して 120mg/kg の ENU を単回腹腔内投与し、その 1 週間後より NP (250ppm)、EE (投与 4 週目まで 5ppm、以降 2.5ppm) あるいは対照として基礎食を 26 週間それぞれ混餌投与した(対照群; N=15、その他; N=20)。投与期間終了後、子宮を含む全身諸臓器の組織標本を作製し、病理組織学的に検索した。

(結果) Tg 群においては、子宮では異型性過形成ないし腺癌が対照群 33% および NP 投与群 35% に発生したが、EE 投与群では認められなかった。また肺の腫瘍性病変は EE 投与群でその発生が抑制される傾向が認められた(腺腫/癌の発生頻度; 対照群 53%、NP 投与群 65%、EE 投与群 15%)。non-Tg 群においては子宮で内膜基質の好酸性化や子宮腺の嚢胞状拡張等の病変が EE 投与群で見られたのみであった。

(まとめ) ENU 誘発子宮発癌 *rasH2* マウスモデルにおいては、NP は子宮上皮性腫瘍に対してなんら修飾作用を示さなかったが、EE は子宮および肺の上皮性腫瘍の発生に対して抑制作用をもつ可能性が示唆された。

○瀧澤 保¹、三森国敏^{1,2}、田村 啓¹、安原加壽雄¹、小野寺博志¹、高木久宜¹、上田 誠¹、広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理、²東京農工大・家畜病理)

【目的】 *t*-butylhydroquinone (TBHQ) の発癌性は、従来のラットやマウスを用いた長期投与試験では陰性であるが、ラットでは亜硝酸との短期間の併用投与により前胃に過形成が誘発され、亜硝酸との相互作用による発癌性が懸念される。我々は、短期発癌試験のモデル動物として前胃発癌に感受性が高いとされているヒトプロト型 *c-Ha-ras* 遺伝子を導入した CB6F1 トランスジェニックマウス (*rasH2* マウス) を用いて、TBHQ と亜硝酸との併用投与により腺胃/前胃境界部に扁平上皮の過形成が高頻度誘発されることを報告した(第 27 回 日本トキシコロジー学会)。今回は、ethylnitrosourea (ENU) 処置後に TBHQ を単回投与あるいは亜硝酸と併用投与し、ENU による前胃粘膜の増殖性病変に対する修飾作用を検討した。

【方法】 雄性 *rasH2* マウスに ENU を 60 mg/kg 単回腹腔内投与 1 週後から、0.5% の TBHQ 混合飼料あるいは 0.2% 亜硝酸添加水を各々単独で、また両化合物を併用で 20 週間自由に摂取させた。対照群の動物には ENU 処置 1 週後から、基礎飼料および無添加水を同一期間自由摂取させた。実験終了後、全生存例を剖検し、病理組織学的に検索した。

【結果】 対照群を含む各群で、前胃扁平上皮の過形成、乳頭腫あるいは癌が発生した。しかし、これらの増殖性病変の発生頻度およびその発生個数に関しては、対照群と各単独群および併用群との間に統計学的差異は認められず、TBHQ 単独群と併用群との間にも差は認められなかった。PCNA 陽性率に関しても、TBHQ 単独群と併用群との間に明らかな差は認められなかった。

【結論】 今回の実験条件下では、TBHQ と亜硝酸を併用しても前胃の発癌を促進しないことが示唆された。

○安原加壽雄¹, 三森国敏^{1,2}, 糀谷高敏¹, 小野寺博志¹, 高木久宜¹, 瀧澤 保¹, 林 裕造³, 広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理, ²東京農工大・家畜病理, ³北里大学,)

【目的】たばこ煙中には約 50 種類の発癌物質が含まれていると言われていたが、実際には約 4000 種類以上の化学物質が含まれており、これらの物質と肺発癌との関連性については明確にされていない。Cinnamaldehyde(CNMA)は食品添加物として広く用いられているが、また、たばこ煙中にも含まれる化学物質の一つである。この物質は Rec-assay や in vitro の染色体異常試験で陽性を示し、肺発癌への影響が懸念される。今回、短期発癌試験系の動物モデルとして肺発癌に対し感受性が高いとされているヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入した CB6F1 トランスジェニックマウス (rasH2 マウス) を用い、たばこ煙に含まれる発癌物質の一つである 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone(NNK)により誘発された肺腫瘍に対する CNMA の修飾作用を検討した。【方法】8 週齢の雌雄の rasH2 マウスおよび同腹仔の非遺伝子導入 CB6F1 マウス (Non-Tg マウス) 各 40 匹をそれぞれ 2 群に分け、一方に NNK 3mg/マウスを週 1 回、2 週間腹腔内に投与し、他方には溶媒の生理食塩水を同様に投与した。NNK 最終投与 1 週にこれらの動物をそれぞれ更に 2 群に分け、一方に 5000ppm の CNMA 混餌飼料 (NNK+CNMA, CNMA alone), 他方に基礎飼料 (NNK alone, Cont.) を 26 週間自由に摂取させた。実験終了時、全生存動物の気管および肺を病理組織学的に検索した。【結果】雌雄の rasH2 および Non-Tg マウスともに NNK, CNMA alone および NNK+CNMA 群で体重増加抑制が認められ、組織学的に NNK alone および NNK+CNMA 群で主に腺腫あるいは過形成、また、数例に腺癌が観察された。なお、雄においては NNK+CNMA 群で NNK alone 群に比し腺腫の発生率では rasH2 マウスで有意な減少、Non-Tg マウスでは減少傾向、また、肺腫瘍の占有面積では Non-Tg マウスで有意な減少、rasH2 マウスでは減少傾向、更に、腺腫の発生個数では rasH2 および Non-Tg マウスともに減少傾向がみられた。【まとめ】我々は既に urethane(UR) を単回投与後 CNMA を 26 週間混餌投与する実験を行い、CNMA が肺腫瘍に対し何等修飾作用を示さなかったことを報告した(第 16 回本学会)。今回の実験では NNK+CNMA 群で総体的に減少傾向がみられた。以上の成績より、CNMA は肺発癌を促進せず、かえって抑制作用を示す可能性が示唆された。

○北山若紫、傳田阿由美、吉田順一、小笠原裕之、佐々木康孝、堤雅弘、小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

(目的) COX-2は、ヒト及び実験的大腸癌でその発現が亢進し、発癌への関与が指摘されている。ヒトでは更に、肺及び食道癌でのCOX-2発現の亢進が報告されているが、これら発癌へのCOX-2の関与に関する実験的研究は乏しい。今回我々はラット肺及び食道発癌機構へのCOX-2の関与を検索する目的で、N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine(BHP)による肺及び食道発癌モデルを用いて、腫瘍組織におけるCOX-2蛋白質の発現をWestern blotting(WB)及び免疫組織化学(IH)にて検索し、更に選択的COX-2阻害剤NIMによる発癌修飾効果を検索した。

(方法) 6週齢のWistar系雄ラットに2000ppmBHP含有飲料水を12週間投与し、その後、第1群は基礎食、2~4群は各々200、400、800ppmNIMを8週間混餌投与し、肺及び食道の腫瘍性病変について組織学的及びIHにて検索した。更に、正常上皮及び摘出腫瘍より膜画分を抽出してWBに供した。

(結果) 肺では、COX-2蛋白質は、WBにて正常肺胞上皮では軽度の発現が見られ、プールした肺腺腫、腺癌では約2.5倍の発現亢進を示した。IHでは、肺胞上皮過形成病変の11%、腺腫及び腺癌では100%がCOX-2蛋白質陽性を示し、扁平上皮癌の50%が弱陽性を示した。非病変部では、気管支上皮のクララ細胞及び気管支平滑筋が陽性を示した。一方食道では、WBにて正常食道上皮においては、軽度の発現が見られ、食道腫瘍では約2.8倍の亢進を示した。IHでは、食道上皮過形成及び乳頭腫では、各々53%、42%の病変で基底層のみに発現を示し、各々32%、58%の病変で上皮層にも発現を示したが、扁平上皮癌では、70%の病変で上皮層での発現が見られ、上皮層での発現が増加する傾向を示した。非病変部では、基底細胞で散在生に軽度の発現を示した。また、NIMは肺の過形成、腺腫、腺癌の発生頻度、発生個数、及び食道の過形成、乳頭腫、扁平上皮癌の発生頻度、発生個数には有意な修飾効果を示さなかった。

(考察) BHPによるラット肺腺腫及び腺癌、食道乳頭腫及び扁平上皮癌は、COX-2蛋白質を発現する事が示されたが、NIMはいずれの発癌に対しても、明らかな修飾効果を示さなかった。

○坂東良美, 南 孝則, 金田信也, 泉 啓介 (徳島大・医・二病理)

【目的】 Long-Evans Cinnamon (LEC) ラットは免疫異常を有することが知られている。我々はLECラットが*N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) およびazoxymethane (AOM) に対する大腸発がん高感受性であることを見いだした。その原因を大腸炎による発がんの観点から検索する。

【方法】

実験1: 11-70週齢雄LECラット (計160匹) の自然発生盲腸潰瘍の頻度を10週毎に調べた。実験2: 18週齢雄LECおよびF344ラット結腸上皮のBrdU標識率を検索した。実験3: 雄LECおよびF344ラット結腸粘膜のcyclooxygenase-2 (COX-2) の発現をwestern blotting, 免疫組織化学法で調べた。実験4: 8, 18, 38週齢雄LECおよびF344ラットの十二指腸, 結腸粘膜の銅濃度を原子吸光法で検索した。

【結果】

実験1: 盲腸潰瘍の頻度は全週齢を通じて18-24%であり, 同時期に飼育したF344ラットには盲腸潰瘍は見られなかった。盲腸潰瘍が見られない場合でもLECラットの方が大腸の炎症細胞浸潤が高度であった。実験2: 遠位結腸でもLECラットの方がBrdU標識率は高い場合があり, 細胞増殖は亢進していた。実験3: western blottingでは結腸粘膜のCOX-2発現に差はなかった。免疫組織化学的にはLECラットの方が粘膜固有層のCOX-2陽性細胞が増加していた。実験4: 黄疸期である18週齢LECラット結腸粘膜の銅濃度はF344ラットの1.5倍に上昇したが, 他の時期には差がなかった。

【考察】

無処置LECラットの結腸粘膜にはCOX-2陽性細胞の増加, BrdU標識率の増加が認められ, LECラットの大腸発がん高感受性の原因の一つとして盲腸潰瘍とそれに伴う大腸炎による細胞増殖亢進が考えられた。

○山岸 恵, 西川秋佳, 孫 和永, 岡崎和志, 今沢孝喜, 古川文夫, 広瀬雅雄 (国立医衛研・病理)

【目的】水道水の塩素処理の過程で有機酸との反応で生成する難揮発性の 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5*H*)-furanone (MX)は、細菌や哺乳類由来細胞に対して強い変異原性を示し、ラットにおける長期飲水投与試験で甲状腺、肝臓などに発がん性を示すことが報告されている。今回は、雄性ラット甲状腺二段階発がんモデルを用いて MX のプロモーション作用を検討すると共に、エストロジェンを介した MX の甲状腺発がんプロモーション作用の可能性を検討する目的で卵巣摘除雌性ラットを用いた実験を行った。【方法】 実験1: 生後5週令の雄性 F344 ラットに甲状腺発がんのイニシエーションとして *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN)を単回皮下投与(2800 mg/kg bw)し、1週間後から MX 及び陽性対照として sulfadimethoxine (SDM)をそれぞれ 30 ppm、1000 ppm の濃度で 12 週間飲水投与した。他に DHPN 単独投与群、MX 又は SDM の飲水投与のみの群と無処置群を設け、計6群とした。実験2: 生後5週令の卵巣摘除雌性ラットに DHPN を単回皮下投与(2400 mg/kg bw)し、1週間後から MX 及び SDM を実験1と同様に投与した。他に β -estradiol benzoate (EB) を皮下埋植する群と DHPN 単独投与群、無処置群を設け、計5群とした。両実験とも期間終了後、屠殺剖検し、甲状腺、下垂体、肝臓などの臓器重量を測定し、病理組織学的検索を実施した。【結果】 実験1: SDM 投与により体重の増加抑制が見られた。DHPN+SDM 群と SDM 群で甲状腺比重量の有意な増加が見られたが、MX 投与による影響はなかった。下垂体重量も同様な結果であった。実験2: SDM 及び EB 投与により体重の増加抑制が見られた。SDM 群で甲状腺比重量の、EB 群で下垂体比重量の有意な増加が見られたが、MX 投与による影響はなかった。両実験とも、病理組織学的に、DHPN+SDM 群の甲状腺に限局性過形成、腺腫および腺癌が認められたが他の群には認められなかった。【結語】雄性ラット及び卵巣摘除雌性ラットにおける甲状腺二段階発がんモデルにおいて MX のプロモーション期投与による明らかな促進作用は認められなかった。

○岡崎和志¹、西川秋佳¹、池田尚子^{1,2}、孫 和永¹、中村英明¹、山岸恵¹、広瀬雅雄¹
 (¹国立医衛研・病理、²昭和女子大)

【目的】過剰の大豆含有飼料の摂取は、ヨード欠乏と相乗的に作用してラット甲状腺濾胞上皮の肥大、過形成を経て腫瘍を誘発すること及び *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) 誘発による甲状腺発がんを促進することを報告してきた。今回、脱脂大豆単独投与の影響をラット二段階甲状腺発がんモデルを用いて検討した。

【方法】6週齢の雌雄各40匹のF344ラットを4群(雌雄各10匹/群)に分け、2800 mg/kg 体重のDHPNを1回皮下投与した。1週間後より、脱脂大豆をそれぞれ0.8、4及び20%の濃度で混餌投与した。なお、対照群には基礎食AIN93Gのみを与えた。実験開始から12週間後に屠殺・剖検し、甲状腺について重量測定及び病理組織学的検査を行い更には血清中ホルモン濃度の測定(T3、T4及びTSH)を行った。

【結果】器官重量では、20%投与群の雄で甲状腺相対重量の有意な増加がみられた。血清中ホルモン濃度の測定では、4及び20%投与群の雄と20%投与群の雌にTSHの増加傾向がみられた。病理組織学的検査では、4及び20%投与群の雄に軽度な濾胞上皮細胞の肥大及び不整とコロイドの染色性の増加がみられた。

【結論】大豆過剰摂取単独での甲状腺への影響は、ヨード欠乏下に比べてごく軽度であることが示された。

Synergistic effects of caffeine with iodine deficiency on the development of thyroid proliferative lesions in rats

Hwa-Young Son, Akiyoshi Nishikawa, Megumi Yamagishi, Kazushi Okazaki, Takayoshi Imazawa, Fumio Furukawa, and Masao Hirose
 Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci.

Caffeine is known to cause acute or chronic changes in growth hormone (GH), thyroxine (T_4) and thyroid stimulating hormone (TSH). Meanwhile, it has been suggested that coffee consumption may play a protective role against development of benign or malignant thyroid neoplasms. Previously, we reported that high soybean diet enhanced rat thyroid lesion development under low iodine diet. In the present experiment, the combined effect of caffeine with iodine deficiency on thyroid proliferative lesions was examined in rats. Male F344 rats were divided into 4 groups, and respectively received a basal diet containing 1500 ppm caffeine + iodine deficiency (ID), 1500 ppm caffeine or ID or a basal diet alone for 5 weeks. The thyroid, pituitary and liver were weighed and histopathological observation was performed. For the analysis of thyroid follicular cell proliferation, sections were immunohistochemically stained with the anti-proliferating cell nuclear antigen (PCNA) antibody PC-10. The numbers of PCNA-positive nuclei (PCNA-labeling indices) in 1000 cells in follicular epithelium were counted and expressed as percentage values. Blood was collected from the abdominal aorta under ether anesthesia for hormone assays. Relative thyroid weights were increased by the ID diet (10.7 ± 0.9) as compared to control value (7.5 ± 0.6), which was significantly ($p < 0.01$) increased by caffeine (16.5 ± 1.1). Caffeine alone (8.4 ± 0.9) rather increased thyroid weight, but not significantly. Liver weight was significantly ($p < 0.01$) decreased by caffeine and ID diet as compared to control, ID or caffeine treatment groups. Pituitary weights were not changed by caffeine or ID treatment. Histopathologically, diffuse hypertrophy/hyperplasia of thyroid follicles were observed in the ID-treated groups, the severity being enhanced by caffeine. However, there was no difference in PCNA-labeling indices between groups. The results thus suggest that caffeine may synergistically promote thyroid carcinogenesis with iodine deficiency. Hormone analysis now under way may confirm the results in the present study.

P-1-51 短期ラット二段階鼻腔発癌モデル確立のためのイニシエーターの検討

○梶谷高敏¹, 三森国敏^{1,2}, 安原加壽雄¹, 小野寺博志¹, 高木久宜¹, 田村啓¹, 広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理, ²東京農工大・家畜病理)

【目的】我々は、*N*-bis(hydroxypropyl)nitrosamine(DHPN)(2400 mg/kg, 単回皮下投与)をイニシエーターとしたラット二段階鼻腔発癌モデルを用いた 52 週間投与実験で、動物に鎮静剤として用いられる xylazine の主代謝物である 2,6-dimethylaniline(DMA)に鼻腔腫瘍プロモーション作用があることを既に報告した。今回、鼻腔プロモーション作用をさらに短期間で検出可能なラット二段階鼻腔発癌モデルを確立するため、種々のイニシエーターを用いて以下の実験を行った。【材料および方法】ラットに鼻腔腫瘍を誘発することが報告されている DHPN 1500 mg/kg, *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) 30 mg/kg あるいは *N*-nitrosopiperidine (NPIP) 30 mg/kg を雄 F344 ラットに週 1 回の頻度で計 3 回皮下投与し、最終投与後 1 週目より、3000 ppm の DMA 添加飼料を 26 週間与えた。対照群として、イニシエーション処置を行わずに、DMA を与える DMA 単独群と基礎飼料を与える無処置群を設けた。鼻腔は中性緩衝ホルマリンで固定後、5%ギ酸で脱灰し、6 横断面の HE 染色標本を作製して、病理組織学的に検索した。【結果】組織学的検索では、DHPN+DMA, BOP+DMA および NPIP+DMA 群のすべての群に鼻腔上皮の過形成(単純、乳頭状、腺様あるいは基底細胞)が認められ、腫瘍(扁平上皮乳頭腫、扁平上皮癌、腺腫、ポウマン腺癌あるいは未分化癌)も誘発された。各群における腫瘍の発生率はそれぞれ 7/15, 9/15 および 7/15 であった。一方、DHPN, BOP および NPIP 単独群にも鼻腔上皮の過形成が認められたが、腫瘍は DHPN および NPIP 単独群にみられたのみで、その発生率も 2/15 と低かった。DMA 単独群および無処置群には鼻腔上皮の過形成および腫瘍は認められなかった。DHPN+DMA および NPIP+DMA 群の腫瘍発生数は DMA 単独群に比して有意に高く、BOP+DMA 群の腫瘍発生数は DMA 単独群あるいは BOP 単独群に比して有意に高かった。【結論】DHPN, BOP および NPIP を反復投与することによりいずれも、26 週間のプロモーター投与においても鼻腔腫瘍を誘発し、これらの物質の反復投与が短期ラット二段階鼻腔発癌モデルのイニシエーターとして有用であることが示唆された。

P-1-52 ラット肝イニシエーション活性中期検索法における変異肝細胞巢の分類

○小川秀治, 木ノ本寿子, 澤多美和, 井口綾子, 山口 格¹, 鷺塚昌隆, 小俣武志, 西 直樹, 米良幸典, 栗本 忠
(ゼリア新薬・中研・開発研, ¹創薬研)

【目的】我々は以前の本学会において、ラット肝 GST-P 陽性細胞巢を指標とするイニシエーション活性中期検索法(5 週間)において種々の発癌物質により GST-P 陽性細胞巢が誘導され、これらは長期飼育により肝に腫瘍を発生することを報告した。今回、イニシエーション活性中期検索法において発現した変異肝細胞巢の組織学的分類を実施し、腫瘍発生との関連について考察した。

【方法】10 週齢の F344 雄ラットを用い、肝部分切除 12 時間後に被験物質(肝標的性発癌物質; DEN, 非肝標的性発癌物質; BHPN, 3-MC, B[a]P, DMH, BBN, DMBA, MNU, MNNG)を 1 回腹腔内あるいは胃内投与し、2 週間後に 2-AAF を 150 ppm の用量で 2 週間混餌投与した。実験開始 3 週にて CCl₄ (0.8 mL/kg) 1 回胃内投与も併せて行った。実験開始 5 週後に剖検し、肝臓の組織学的検索ならびに免疫組織化学による GST-P の染色を実施した。なお、変異肝細胞巢の分類は好塩基性、好酸性、明細胞性、空胞性、混合型の 5 タイプに分けて行なった。

【結果】GST-P 陽性細胞巢の数 (No./cm²) は各々、DEN (91.3±24.4), BHPN (46.6±27.4), 3-MC (24.8±7.5), B[a]P (28.7±9.9), DMH (60.3±10.3), BBN (5.3±2.1), DMBA (72.6±28.6), MNU (32.8±17.6), MNNG (9.4±5.1) であり、これらの中で DEN および DMH 投与群では、他の投与群と比べ、好塩基性細胞巢の割合が高かった。また、他の種類の細胞巢には顕著な差異は認められなかった。

【結論】好塩基性細胞巢の占める割合の高かった GST-P 陽性細胞巢好発の被験物質投与群では、イニシエーション活性中期検索処置後の長期飼育飼育において、高率に肝腫瘍が認められることから、好塩基性細胞巢は他のタイプの変異肝細胞巢に比べて腫瘍化との関連性が高い前癌病変である可能性が示唆された。

P- 1-53

イニシエーション活性検索法における標的臓器の異なる化学物質間の イニシエーション活性の加算効果の検討

○酒井洋樹^{1,2}, 平田暁大¹, 稲上敦士¹, 山本昌美², 塚本徹哉², 柳井徳磨¹, 柵木利昭¹, 立松正衛²
(¹岐阜大学・農・家畜病理, ²愛知がんセ・研・腫瘍病理)

我々は、過去にラット肝イニシエーション活性検索法において、化学物質投与の際、少量分割投与を行うと加算効果によって、大量単回投与に匹敵するイニシエーション活性が検出できることを明らかにした。今回は、イニシエーション活性検出期間に標的臓器の異なる2種類の化学物質を投与し、イニシエーション活性の加算効果を検討した。

【材料と方法】動物は7週令、雄、F344ラットを用いた。ラットは、2/3肝部分切除(PH)を施した後、化学物質の種類および投与時間によって、4群に分けた。Group A: PH12時間後に1,2-dimethylhydrazine (DMH) 1mg/kgをi.g., 30時間後にN-bis(2-hydroxypropyl)-nitrosamine (DHPN)10mg/kgをi.g. Group B: 12時間後にDMH1mg/kgをi.g., 30時間後に生食をi.g. Group C: 12時間後に生食をi.g.の後、30時間後にDHPN 10mg/kgをi.g. Group D: コントロール群として12, 30時間後に生食をi.g.した。各群は、PH後2週目より0.015%2-acetylaminofluorene加飼料を2週間給餌し、その間3週目に1ml/kgで四塩化炭素をi.g.し、5週目に屠殺。肝臓のGST-P陽性巣の数および面積を各群間で比較した。【結果】各群の単位面積あたりに誘導されたGST-P陽性巣の数および面積は、Group A:[数(/cm²±SD), 面積(mm²/cm²±SD)], 10.9±1.0, 21.8±5.4, Group B:4.8±1.9, 15.3±9.0, Group C:2.7±1.2, 9.7±2.2, Group D:0.5±0.3, 4.2±2.3で、数および面積においてGroup A (DMH→DHPN) は、Group B (DMH→生食) およびGroup C (生食→DHPN) に対して有意に高値を示した。【考察】標的臓器の異なる化学物質間においてもイニシエーション活性の加算効果が認められた。通常、生体は多くの化学物質に暴露されており、イニシエーションは様々な化学物質で引き起こされ、加算されることが示唆された。

P- 1-54

K6/ ODCトランスジェニックマウスにおけるdimethylarsinic acid(DMA)の皮膚発癌 プロモーション

森川剛志, 鰐淵英機, 森村圭一朗, 小川元女, 福島昭治 (大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理)

【目的】The keratin (K6)/ ornithine decarboxylase (ODC)トランスジェニックマウスを用いてdimethylarsinic acid(DMA)の皮膚発癌プロモーション作用を検索した。

【方法】10~14週齢雌性K6/ ODCトランスジェニックマウス85匹およびその野生型であるC57BL/ 6Jマウス85匹を用い、各々10群に分けた。第1~5群には7,12-Dimethylbenz[α]anthracene(DMBA) 50μgを1回皮膚塗布し、皮膚発癌に対するイニシエーション処置とした。一方、第6~10群ではコントロールとして溶媒であるアセトン200μlを投与した。1週間の休薬後、プロモーションとしてDMA 3.6mgを週2回皮膚投与18週間行った(第2, 7群)。またDMA 200ppm飲料水投与する群(第1, 6群)、TPA(12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate) 5μgを週2回皮膚投与する群(第3, 8群)、vehicleを皮膚投与する群(第4, 9群)、無処置群(第5, 10群)を設けた。皮膚腫瘍発生は毎週チェックし実験開始後20週後にエーテル麻酔下にて屠殺剖検し、皮膚腫瘍の組織学的検索をした。

【結果】皮膚腫瘍発生率および平均腫瘍個数の経時変化は、第2群(DMBA→DMA)と第3群(DMBA→TPA)ではその他の群に比較して皮膚腫瘍が早期から発生し、かつ有意に増加した。

【考察】DMAはK6/ ODCトランスジェニックマウスの皮膚発癌にTPAと同様プロモーション作用があることが示された。

○高橋則行, 渋谷淳, 小林恒雄, 畝山智香子, 西川秋佳, 榎富直哉, 仁保直子, 広瀬雅雄 (国立衛研・病理)

【はじめに】肝中期発がん試験法におけるイニシエーション処置後のプロモーション時期特異的に発現する遺伝子を探索する目的で、プロモーターとしてphenobarbital(PB)を投与した初期から恒常的に発現している遺伝子の同定をSubtractive PCR法とNorthern blot-screening法を組み合わせで行なったので報告する。

【方法】diethylnitrosoamineによるイニシエーション後に肝部分切除のみを施したラットと、さらにプロモーターとして600ppmのPBを実験開始後2週間目から10日間飲水投与したラット肝臓の間でcDNA subtractionを行ない、PB投与初期に発現が増加する遺伝子として78クローンを得た。塩基配列解析の結果、その内訳は機能既知の39遺伝子、登録されているが機能未知の9遺伝子(EST配列を含む)、新規19遺伝子の計67遺伝子であった。次にこれらの遺伝子について、同様のモデルを用いてPBおよびethinylestradiol(EE)をプロモーション時期に投与し、8週を経過したラット肝組織でNorthern blottingによる1次スクリーニングを行なった。このモデルにおけるプロモーション作用の陰性対照としてbutylated hydroxytoluene(BHT)投与による変動も検索した。次に2次スクリーニングとして、イニシエーション後PB投与64週での肝腫瘍を用いたNorthern blottingを行なった。

【結果および考察】得られた遺伝子のうちNorthern blottingによる解析が可能であったものは23遺伝子であった。1次スクリーニングの結果、PBおよびEE投与により発現増加した遺伝子が21種得られたが、その多くはBHT投与によっても増加を示した。そのうち、BHT投与で強い増加を示さなかった遺伝子の2次スクリーニングにより、肝腫瘍で発現の増加した6種類の遺伝子を得た。その内訳は腫瘍で発現の増加することが既に報告されているABC half transporter, laminin receptor, γ -actin遺伝子の他、脂質のtransporterであるapolipoprotein A4, tumor suppressor DOC-1に類似した遺伝子および新規の1遺伝子であった。これらについて更に特性解析が必要であるが、肝中期発がん試験法において短期発がん性指標として有用である可能性が示唆された。

遺伝毒性発癌物質および非遺伝毒性発癌物質誘発 ラット前胃腫瘍における遺伝子変異

○金子雅宏, 森村圭一朗, 西川隆之, 小川元女, 鰐淵英機, 福島昭治
大阪市大・院・医・都市環境病理

【目的】遺伝毒性発癌物質であるN-methyl-N'-nitrosoguanidine(MNNG)、N-methylnitrosourethane(MNUR)と、非遺伝毒性発癌物質であるButylated hydroxyanisole(BHA)、Caffeic acid(CA)により誘発されたラット前胃腫瘍における遺伝子変異を検索した。【方法】F344系雄ラット6週齢を用い、2%BHA混餌投与群20匹(G1)、2%CA混餌投与群20匹(G2)、対照群16匹(G3)を104週間飼育した。MNNG 20mg/kg b.w. 1回/週、強制胃内投与群40匹(G4)を32週、およびMNUR 20ppm飲水投与群20匹(G5)と対照群16匹(G6)を48週間飼育した。屠殺後、腫瘍病変の病理学的検索、p53免疫組織学的検索、PCR-SSCP法にてp53、H-rasの遺伝子変異を検索した。【結果】対照群を除く全群に前胃腫瘍を認めた。そのうちわけは扁平上皮癌がG1に11%、G2に33%、G4に67%、G5であり、他はすべて乳頭腫であった。p53に関し、免疫組織学的検索ではG2、4および5の全例に陽性像を認めたが、G1はほとんど認めなかった。またG4、5は浸潤部に特に強い発現を認めた。PCR-SSCP法ではp53の遺伝子変異はG1、G2で0%、G4で13%、G5で16%であった。H-rasの遺伝子変異はG1で0%、G2で6%、G4で20%、G5で28%であった。【結論】遺伝毒性物質誘発前胃腫瘍に低頻度であるがp53とH-rasの遺伝子変異を認めたが、遺伝毒性物質誘発前胃腫瘍にはこれらの変異はほとんどみられなかった。従って、腫瘍発生における遺伝子異常の出現に関し、両者で異なることが明らかになった。

○豊沢かおる¹, 三森匡敏^{2,3}, 安原加壽雄², 糺谷高敏¹, 松岡信男¹, 広瀬雅雄²
 (1大日本製薬(株)・開発研, 2国立衛研・病理, 3東京農工大・家畜病理)

【緒言】マウス癌原性試験代替法において遺伝子改変動物を用いた短期発癌試験モデルの一つとしてヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (rasH2 マウス) が挙げられる。遺伝毒性発癌物質である ENU による rasH2 マウスの誘発腫瘍では、前胃で約 30%、皮膚では約 50% に導入遺伝子変異が確認されている (第 58 回 日本癌学会発表) が、誘発腫瘍のすべてに必ずしも変異が認められるわけではなく、rasH2 マウスの発癌機序に関しては今だ不明な点が多い。今回、我々は導入遺伝子の発癌への関与をさらに検索するため、その mRNA 発現量を測定した。

【材料および方法】9 週齢の rasH2 雌マウスに 30, 60 あるいは 120mg/kg の ENU を単回腹腔内投与し、その 1 週間後に Estradiol benzoate 0.5mg/動物を背部皮下に埋入あるいは無処置で飼育し 21 週後に剖検した。剖検時に肺 (6 例)、胃 (4 例) および皮膚 (6 例) 腫瘍の半分を採取し、直ちに液体窒素中で凍結保存した。対照としては無処置の rasH2 マウスの正常な肝臓 11 例を用いた。RNA 抽出後、Reverse transcription-polymerase chain reaction を行い、SYBR Green を用いて ABI PRISMTM 7700 Sequence Detector によりヒト c-Ha-ras の mRNA 量をリアルタイムに検出した。また、腫瘍の半分および肝臓は常法に従い、病理組織学標本を作製し鏡検した。

【結果】組織学的検査の結果、肺の腫瘍は肺腺癌 (全 6 例)、胃は扁平上皮癌 (全 4 例)、皮膚は扁平上皮癌 (4 例) および扁平上皮乳頭腫 (2 例) であった。これらの腫瘍の導入遺伝子 mRNA 量はいずれも対照より高く、平均して正常肝臓の 4 倍であった。組織別に見ると、肺腺癌で 3.5 倍、皮膚扁平上皮癌で 4 倍、胃扁平上皮癌で 4.5 倍、皮膚扁平上皮乳頭腫で 5.6 倍であった。

【まとめ】ENU による rasH2 マウスの誘発腫瘍では、全例で導入遺伝子の mRNA 発現量が正常肝臓より増加したことから、その腫瘍誘発メカニズムとして、導入遺伝子変異に関係なく、導入遺伝子自身の発現の増加に起因する、細胞増殖活性の上昇がこれらの腫瘍発生に関与している可能性が示唆された。

○曹 永晩^{1,2}, 高橋 智^{1,2}, 外岩戸尚美^{1,2}, 鈴木周五^{1,2}, 今井田克己^{1,2}, 朝元誠人^{1,2}, 白井智之^{1,2}
 (1名市大・医・一病理, 2CREST)

【目的】我々は前立腺癌好発系を確立する目的でラット前立腺特異的に発現する probasin 遺伝子のプロモーターに SV40T 抗原遺伝子を結合させた構築遺伝子を導入したトランスジェニック (Tg) ラットを作製し、比較的短期間に前立腺癌が発生することを報告してきた。今回はこの Tg ラット前立腺における腫瘍性病変の経時的变化及び発がん物質の投与による前立腺癌の phenotype の変化を検討した。

【方法】雄 Tg ラットを 15 週齢から 45 週齢まで 5 週おきに経時的に屠殺し、病理組織学的に前立腺病変を検討した。また同時に 14 週齢から 2 cm シリコンチューブ内に充填したテストステロン (TP) 40 mg を皮下移植したラットについても 40, 45 週齢に屠殺し、同様に検討を行った。さらに前立腺発がん物質である PhIP, DMAB, MNU を 10 週齢の Tg ラットに投与し、前立腺癌のプログレッションについて検討した。

【結果と考察】15 週齢で前立腺のほぼ全葉に分化型腺癌の発生が観察され、30 週齢では前立腺の全域が腺癌に置換されていた。15 週齢では浸潤癌は前葉基部でのみ観察されたが 40 週齢時ではほぼ全葉で浸潤癌が認められた。45 週齢まで観察しても前立腺分化型腺癌の遠隔転移はテストステロン投与の有無に関わらず認められなかった。他の組織型として悪性小細胞性腫瘍が散在性に観察された。発がん物質の投与群にリンパ節転移と思われる病巣が多数認められたが現在病理組織学的に検討中である。以上よりこの Tg ラットは比較的早期の前立腺発がん過程の解析に有用なモデルであることが確認された。

○外岩戸 尚美、朝元 誠人、高橋 智、曹 永晩、白井 智之（名市大・医・1病理、CREST）

（目的）我々は、ラット前立腺に特異的に発現するとされるProbasin遺伝子のプロモーター下にSV40 T抗原遺伝子を発現させ、前立腺癌Tgラットモデルを確立した。前回の本学会では、このラットに発生する前立腺癌と舌味蕾由来の神経芽細胞腫について報告した。今回これらの病変の発生に対する遺伝的背景の影響を検索する目的で、SD由来のトランスジェニックラットと他系統のラットとを掛け合わせて得られたF1を用いて、腫瘍の発生を比較、検討した。

（方法）F1の動物はSD由来のTgラットの雄と、F344, ACI, Wistarラットの雌を掛け合わせて得た。実験には各系統のF1の雄を用い、15週齢で屠殺、剖検し、病理組織学的に検索した。

（結果および考察）前立腺組織では、WistarとのF1で明らかに癌への進展の遅延が認められた。しかし、系統間には血中テストステロンレベル、導入遺伝子、Probasin遺伝子、アンドロゲン受容体遺伝子の発現レベルには明らかな相関は認められなかった。舌味蕾では、F344, WistarとのF1ラットにおいては腫瘍が100%認められたが、ACIとのF1では、6例中4例で腫瘍細胞の増殖巣は確認できなかった。しかし、SV40 Tagの免疫染色により強陽性を示す細胞が、正常味蕾中に観察された。以上より、Probasin-SV40Tagトランスジェニックラットに発生する前立腺癌、舌味蕾由来神経芽細胞腫の発生、進展には遺伝的背景が影響することが明らかとなり、前立腺癌と舌味蕾由来神経芽細胞腫ではその発生、進展を抑制する系が異なることより、別々の遺伝子が影響を与えたことが示唆された。このトランスジェニック動物はそれらの遺伝子を検索する有用なモデルとなると考えられる。

○若林佐知子、中村厚、工藤佳代子、枝元洋、永谷真理子、池崎信一郎、玉井幸子、鶴亀真依子、岡崎修三、田村一利（ボソリサーチセンター）

【緒言】 Crj:CD(SD)IGS（以下 IGS）ラットは、世界的に均一な動物を提供することを目的として最近開発された動物であり、広く毒性試験に使用されるようになってきた。現在まで短・中期飼育データは相当量に及んでいる一方、長期飼育データは未だ十分とはいえない。我々は、長期飼育 IGS ラットの背景データの収集を目的とし2年間低蛋白飼料による飼育実験を行い、その結果を第16回の本総会にて報告した。今回は、背景データに及ぼす飼料の影響、特にタンパク含量の差異による変動を検索する目的で、前実験寄りも高いタンパク含量の市販飼料をIGSラットに2年間与え、比較したので報告する。

【材料及び方法】 前回及び今回ともに餌以外は同条件で実験を行った。4週齢の雌雄IGSラット(日本チャールズリバー)を購入し、SPF環境下で金属製網ケージに入れ単独飼育した。実験群は、タンパク含量23%のCRF-1(オリエンタル酵母)を与えた群(以下CRF-1群)及び同18%のCR-LPF(日本クレア)を与えた群(以下LPF群)とし、動物数はそれぞれ雌雄各75匹及び100匹とした。実験期間は、2週間の馴化期間後の6週齢から110週齢までの104週間とした。

【結果】 体重増加率は、全実験期間を通じてCRF-1群に比べLPF群で有意な低値を示した。実験期間終了時の生存率は、CRF-1群では雄：29.3%、雌：38.7%であったのに対して、CR-LPF群では雄：53%、雌：49%であり、CR-LPF群の生存率はCRF-1群よりも高値となった。剖検時に推定した死亡/瀕死原因のうち最も高頻度なものは、CRF-1群及びLPF群ともに下垂体腫瘍であり、その頻度はそれぞれ雄では47.2%及び31.9%、雌では69.6%及び86.3%であった。その他、実験期間終了剖検時に特に注目された病変は、下垂体結節、皮膚/皮下結節、脾結節及び腎臓の顆粒状変化を伴った大型化であった。

以上、タンパク含量の異なった飼料を104週間にわたり雌雄IGSラットに与えた結果、タンパク含量の少ない餌の群において、体重増加が抑えられると同時に死亡率が低下する傾向にあることが判明した。本総会では、組織学的変化の結果を併せて報告する。

ラットおよびマウスを用いた肥満モデルの作製

○木川英美, 草柳亜希子, 沖本一夫, 河内眞美, 豊沢かおる, 糀谷高敏, 黒木宏二, 田中浩二, 松岡信男
(大日本製薬(株)・開発研)

【緒言】肥満は糖尿病, 高脂血症, 高血圧, 動脈硬化症といった生活習慣病の主要な危険因子であり, 遺伝性肥満動物 (yellow A^{y/a} マウス, *ob/ob* マウス, Zucker ラット等) を用いた肥満の発症・進展機構の解明や有用な治療薬の開発が行なわれている。今回, ラットおよびマウスに高脂肪食を与え肥満モデルの作製を試みたので, その結果を報告する。

【材料および方法】Crj:CD (SD) IGS ラット, Crj:CD1 (ICR) マウスおよび C57BL/6NCrj マウスにそれぞれ基礎飼料 (粗脂肪: 4.80%), 24%脂肪含有食, 30%脂肪含有食を 4, 8 および 13 週間 (マウスのみ) 自由摂取させた。検査項目として体重, 摂餌量 (ラットのみ), 血液化学的検査, インスリンおよびレプチンの測定, 器官重量, 白色脂肪織 (精巢上体周囲, 腸間膜, 後腹膜, ソケイ部) および背部褐色脂肪織重量の測定ならびに病理組織学的検査を行った。

【結果およびまとめ】下表に示す変動が認められた。ラット, マウスとも高脂肪食を 4 週間摂取させることにより肥満動物が作製された。現在, 病理組織学的検査およびマウスを用いた耐糖能試験を実施中であり, その結果も合わせて報告する。

	Crj:CD (SD) IGS ラット				Crj:CD1 (ICR) マウス						C57BL/6NCrj マウス					
	24%脂肪含有食		30%脂肪含有食		24%脂肪含有食			30%脂肪含有食			24%脂肪含有食			30%脂肪含有食		
	4w	8w	4w	8w	4w	8w	13w	4w	8w	13w	4w	8w	13w	4w	8w	13w
体重	↑↑	↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
摂餌量	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	測定せず*											
尿中尿素	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	-	↓↓	↓↓	↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓	↓↓
グルコース	-	-	-	-	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑	↑↑	↑↑
インスリン	-	↑↑	↑↑	-	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
レプチン	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑	↑	↑↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑↑	↑	↑	↑↑
肝臓重量	↑↑	↑	↑↑	↑↑	↑	↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	-	-	↑↑	↑	↑↑	↑
白色脂肪織重量 (%) ¹⁾	141	190	210	215	210	217	184	313	259	154	263	327	371	292	341	257

1)基礎飼料群を 100%とした

ACI/N系統に出現した淡毛色ラットの組織学的検討

○並木千晶¹, 浜田修一^{1,2}, 橋本 敦¹, 山崎賢一², 中西 聡², 北田一博², 芹川忠夫²
(¹エスエス製薬(株)・中央研究所, ²京都大院(医)・動物施設)

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設で維持されている ACI/N 系統に Beige 様淡毛色を有する個体が発見された。この淡毛色は単純な劣性メンデル遺伝を示し, 淡毛色個体では雌雄ともに止血時間の延長が認められた。淡毛色と止血時間の延長を示すラットとしては beige 遺伝子 (*bg*) による DA/Ham-*bg*, red-eyed dilution 遺伝子 (*r*) による FH/Ham, TM/Kyo が知られている。しかし, 前者では肥満細胞や色素上皮細胞中に特有の巨大顆粒が認められ, 後者では巨大顆粒は認められない。今回我々は ACI/N 系統に出現した Beige 様淡毛色個体 (仮に ACI/N-*bg* とする) と親系統である ACI/N の組織学的検査を行い, 巨大顆粒の有無および病理組織学的な特徴について検討した。

組織学的には Beige 特有の巨大顆粒が各種臓器に認められ, 特に腎臓の近位尿細管, 顎下腺の線状部上皮細胞, 眼球の毛様体, 気管および消化管粘膜の球状白血球, 好酸球, 肥満細胞等に顕著に認められた。巨大顆粒の性状は各臓器で多様であり, 顎下腺の線状部上皮細胞, 球状白血球および好酸球では好酸性, 肝細胞, 副腎皮質細胞では黄~褐色, 眼球の毛様体では黒~褐色, 腎臓の近位尿細管では好酸性あるいは黄~褐色であった。これらの変化は親系統である ACI/N には認められず, DA/Ham-*bg* における病理組織学的検査 (Ozaki, K. *et al*, 1994) にほぼ一致した。

Ozaki, K. *et al*, Chediak-Higashi Syndrome in Rats: Light and Electron Microscopical Characterization of Abnormal Granules in Beige Rats. *J. Comp. Path.* 110, 369-379, 1994

P-2-4 ビーグル犬を用いた毒性試験における病理組織学的背景データについて

○長谷川和成, 安井雄三, 木原 亨, 細井理代, 宮島留美子, 山川誠己, 岩田 聖, 榎本 眞
(安評センター)

【はじめに】過去に毒性試験に用いられるビーグル犬の病理組織学的背景病変については幾つかの報告があり、我々も報告してきたが、今回新たに当センターで過去 10 年間に実施された毒性試験におけるビーグル犬の背景病変について検索および集計を行ったので報告する。

【材料・方法】当センターにおいて 1990～1999 年間に実施された Covance Research Product-MI 社産のビーグル犬 (30～91 週齢) を用いた毒性試験において対照群に使用された雄 (219 匹), 雌 (224 匹) について検索した。採取した器官・組織は 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従い組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジンで染色後病理組織学的検索を実施した。

【結果・まとめ】検索の結果、病変が最も高頻度に観察された臓器は雌雄ともに腎臓であり、雄で 98.11% (208/212), 雌で 97.69% (212/217) であった。続いて、雄では肺、肝臓、胸腺、副腎、雌では肝臓、肺、脾臓、舌下腺の順であった。また、病変の発生頻度別にみると、雌雄ともに腎乳頭部の鉍質沈着が最も高く (雄: 89.15%, 雌: 85.25%), 続いて雄では、肝臓の小肉芽腫、腎臓の胎児型糸球体、副腎の空胞変性、舌下腺のリンパ球浸潤、雌では、肝臓の小肉芽腫、脾臓の色素沈着、脊髄の髄膜への鉍質沈着、肺の小肉芽腫の順であった。なお、いずれの病変の発生頻度にも明らかな性差は認められなかった。毒性評価上注意を要する病変としては、胸腺の萎縮あるいは前立腺の未成熟などが挙げられた。

これらのデータと過去に報告したデータとの比較や死亡例の紹介を含め報告する予定である。

(研究協力者: 北島省吾, 大石さやか)

P-2-5 F344 ラットの正常肝細胞 PCNA に関する背景値: 加齢および性差について

○木原 亨, 磯部香里, 長谷川和成, 安井雄三, 細井理代, 宮島留美子, 山川誠己, 岩田 聖, 榎本 眞 (安評センター)

【はじめに】毒性評価において、肝臓は最も重要な組織のひとつであり、中でも発癌へもつながりうる増殖性変化には特に注意が必要である。この毒性評価に先立って、あらかじめ生理的な肝細胞増殖活性を把握することは、より正確な増殖性病変の評価を行う上で有用であろう。しかし、毒性試験に用いる実験動物について、肝細胞増殖活性の背景値をあつかった報告は少ない。現在、我々はラットの生涯にわたる肝細胞の PCNA についての背景値を集計している。今回は、3 週齢から 109 週齢までの雌雄の F344 ラットについて報告する。

【材料と方法】当センターで実施した毒性試験の対照群に使用した各週齢について雌雄それぞれ 5 例の F344/DuCrj ラットの肝臓を用い、肝重量および PCNA 標識率等を検索した。

【結果】PCNA 標識率は 3 週齢から 7 週齢に激減し、以後 109 週齢まで、概ね加齢に伴って低下する傾向を示したが、①3 週齢では 7 週齢に比べ、雌雄とも明らかな高値を示した。②7 週齢では雌に比べ、雄で 2.70 倍の高値を示し、性差が認められた。③57 週齢の雄では若干ながら一過性の増加傾向が認められた。④ PCNA 標識率の標準偏差は 3 週齢が最も高く、加齢に従って減少する傾向を示した。⑤肝相対重量と PCNA 標識率は概ね、正の相関を示した。

【まとめ】PCNA 標識率は、離乳直後は極めて高く、ばらつきも大きく、7 週齢では性差も認められたことから、肝二段階発癌試験など特に肝細胞の増殖活性に注目する試験では、試験開始時の週齢および性が結果に影響を及ぼす可能性が示唆された。加齢動物では比較的、S 期と考えられる陽性細胞が主であったのに対し、若齢動物ほど G₁、G₂ 期と考えられる陽性細胞の割合が多く、データのばらつきの原因となった。従って、若齢動物を用いる場合、計測の対象とするステージに注意が必要であると思われた。現在、新生児なども含めて検討対象を増やすとともに、細胞増殖に影響する諸因子についてもさらに検討中である。

○佐藤 洋, 上杉 康夫, 川畑 貴美, 森 和彦, 藤井 文隆, 榎本 佳典, 梶村 哲世, 古濱 和久 (第一製薬・安全研)

〔緒言〕各種抗癌剤投与により誘発されるマウス上顎切歯異常の形態学的相違を明らかにする目的で、8種類の抗癌剤をBALB/cマウスに静脈内単回投与し、組織学的に検討した。また、その組織傷害像の特徴から切歯傷害を分類した。

〔方法〕5-fluorouracil (5-FU), adriamycin (ADR), mitomycin C (MMC), vinblastine sulfate (VCR), taxotere (TXR), camptothecin (CPT-11), DX-8951f, および cisplatin (CDDP) の LD₁₀ 用量を 8週齢雄 BALB/cマウスに静脈内単回投与し、試験 3, 5, 10, 15および 60日目に各 7匹のマウスを屠殺して、上顎切歯を形態学的に観察した。

〔結果およびまとめ〕5-FUにより誘発された切歯の形態的变化は、niche 様の象牙質形成異常を特徴とし、60日目には回復していた。また、投与初期に一過性に未熟象牙芽細胞を傷害するものと考えられた (Transient dentine injury type)。ADRまたはMMC投与では、歯根部の構造異常を伴う重度の象牙芽細胞傷害が認められ、形態的に回復は見られなかった (Persistence root injury type)。一方、VCR あるいは TXRでは、投与後初期にエナメル芽細胞の変性、エナメル分泌異常、象牙芽細胞の配列異常あるいは異常象牙質形成を示し、投与初期に成熟および未成熟な切歯構成細胞を広範に傷害したが、後期には影響しなかった (Diffuse dental injury type)。CPT-11, DX-8951f, あるいは CDDP投与では、投与 3日目に、歯根部エナメル器細胞のごく軽微な脱落が観察されたのみで、いずれの観察時点においても、その他の切歯構成細胞・成分に明らかな形態的異常は認められなかった (Non-toxic type)。

以上、8種の抗癌剤により誘発される切歯毒性を形態的に分類した結果、大きく4タイプに分類された。これら切歯傷害の形態的相違は個々の抗癌剤における薬物力学的特性に依存するものと推察された。

○宮内 慎, 桑山知登世, 柿沼千早, 阿部 寛 (順大・医・病理学第一)

〔目的〕我々はヒト慢性腭炎の治療指針の探索を目的とし、実験動物の腭線維化病巣を検索している。前学会では、ヒト腭線維化巣にはI型コラーゲンが広範囲に存在するが、腭炎モデル WBN/Kob ラットの線維化巣にはI型コラーゲンが乏しく、このことが同ラットの線維化退縮の一原因であることを報告した。近年ラットにおいて、dibutyltin dichloride (DBTC) がI型コラーゲンの発現を伴う腭炎を誘発することが報告された。そこで今回、このモデル (DBTC 誘発腭炎モデル) の病変を WBN/Kob ラットの病変と比較し、線維化病変の消長を検索した。〔方法〕DBTC (8mg/kg) 静脈内投与後 1, 2, 4, 8 週の LEW ラットならびに生後 2, 4, 8 ヶ月齢の WBN/Kob ラットの腭臓を、病理組織学的および免疫組織学的 (I型およびIII型コラーゲン、 α -平滑筋アクチン、他) に検索した。〔結果〕DBTC 投与後 1 週では、腺房や腭管の著しい拡張、腺房細胞の萎縮・壊死、腭管増生がみられた。炎症は腭管周囲を主体とし、小葉間および小葉内に広がっていた。投与後 2 週においても、小葉間および小葉内に炎症がみられ、比較的太い腭管周囲に限局して線維化がみられた。腭管周囲の線維化は投与後 4 週以降にも確認され、退縮する傾向はみられなかった。免疫組織学的には、投与後 α -平滑筋アクチン陽性細胞が腭管周囲に投与後 2 週をピークとして一過性に出現した。腭管周囲の線維化巣にはI型コラーゲンが認められた。〔考察〕DBTC 誘発腭炎モデルも WBN/Kob ラットと同様に筋線維芽細胞と思われる α -平滑筋アクチン陽性細胞の出現が線維化に先立ち認められ、同細胞の線維化への関与が示唆された。WBN/Kob ラットの線維化は 4 カ月齢を境に形成され、その後の退縮が顕著であるのに対し、DBTC 誘発腭炎モデルの線維化には退縮傾向がなかった。この原因には線維化を構成するコラーゲンの組成が関与するものと思われた。

○中野好子¹, 杉本 肇^{1,2}, 角田 聡^{1,2}, 中村俊之¹, 有可 正¹, 西野輔翼² (1科研製薬(株), 2京都府立医大・生化)

【目的】遺伝子組換えヒト塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) は、難治性皮膚潰瘍に対し、血管新生、肉芽形成及び再上皮化を促進することにより高い治療効果を示すことが確認されている。今回、創傷局所に対するbFGFの作用部位を明らかにするため、bFGFをマウスの背部皮下及び皮膚全層切除創に投与した際の、皮膚の創傷治癒に関与する細胞のFGF受容体 (FGFR) の発現推移と投与したFGFリガンドの局在について、免疫組織化学的に検索した。

【方法】6週齢ICR系マウス雌の背部皮下及び金属製パンチで作製した全層切除創にbFGFを400 μ g/siteの用量で単回及び隔日3回投与した。投与1日目及び7日目に投与局所の皮膚組織を採取し、4 $^{\circ}$ C Methacarn液で24時間固定後、常法に従いパラフィン包埋4 μ m切片を作製しStreptavidin-biotin法によりFGFR-1, 2, 3, 4とbFGFの免疫染色を行った。

【結果】皮下投与群ではFGFRは1日目及び7日目の投与局所皮下の線維芽細胞様細胞や膠原線維に見られた。特に7日目では、bFGF投与により著しく増殖した皮下の線維芽細胞様細胞や新生した毛細血管周囲の血管内皮細胞及び増殖した膠原線維に広く発現していた。全層切除創投与群では投与1日目の創縁で再生する表皮細胞と線維芽細胞様細胞のほかに、真皮の線維芽細胞様細胞及び毛包、皮下の血管内皮、脂肪組織の間葉系細胞の一部と遊走した線維芽細胞様細胞及び膠原線維にFGFRの発現が見られた。投与7日目では、痂皮下で再生する表皮細胞や線維芽細胞様細胞及び膠原線維の一部に発現していた。一方、bFGFの局在はFGFRの発現部位と一致していたが、特に全層切除創の周辺組織から痂皮下にかけて遊走した未分化間葉系細胞で顕著であった。

【結論】FGFRは皮膚の創傷治癒に関与する細胞に広く発現することが明らかとなった。また創傷局所にbFGFを投与すると、FGFRを発現している細胞のほとんどすべてにbFGFの局在が認められた。以上から、bFGFは皮膚創傷治癒の標的細胞に発現しているhigh affinity siteであるFGFRに結合して創傷治癒促進作用を示すものと推察された。一方で、bFGFは皮下の膠原線維にも局在が認められたことから、細胞外のlow affinity siteであるプロテオグリカンと結合したbFGFあるいは内因性のbFGFも認識している可能性が示唆された。

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin への経胎盤および授乳による曝露の 仔ラットの甲状腺機能への影響

○西村典子¹, 宮原裕一^{1,3}, 佐藤巳喜夫^{1,4}, 遠山千春^{1,3}, 米元純三^{2,3}

(国立環境研・¹環境健康部、²地域環境、³科技団・CREST、⁴筑波大・医)

【目的】2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) は肝UDP-glucuronosyl-transferaseを誘導してthyroxine (T4) のグルクロン酸抱合を促進することにより、血中T4レベルを低下させることが報告されている。胎仔期および授乳期のラットは成熟期に比べてTCDDに対する感受性が高いことが知られている。そこで、本実験では妊娠ラットへの低用量TCDD曝露が仔の甲状腺機能へおよぼす影響を検討した。【実験方法】妊娠15日目のHoltzmanラットに、0、200、800 ng/kg BWのTCDDを一回経口投与した。生後21日齢および49日齢の仔を解剖し、血液、甲状腺、下垂体および肝臓を採取した。血清中T4、triiodothyronine (T3)をRIA法で、thyroid stimulating hormone (TSH)量はELISA法で測定した。UDP-glucuronosyltransferase-1 (UGT-1)とcytochrome P4501A1 (CYP1A1) mRNAの発現をRT-PCR法で解析した。T4、TSHおよびPCNAの組織内局在性を免疫酵素抗体法により観察した。血清、脂肪組織および肝臓のTCDD濃度はGC-MSにより測定した。【結果】血清T4濃度は生後21日齢の200および800 ng/kg投与群ラットにおいて対照群に比べて有意な低下が認められたが、生後49日齢ラットでは対照群のレベルに回復していた。血清T3濃度は21日齢800 ng/kg投与群ラットで対照群に比べて有意な増加が認められた。血清TSHは生後21日齢ラットの800 ng/kg投与群で有意に上昇した。生後21日齢、200および800 ng/kg投与群でUGT-1の有意な上昇が認められたが、49日齢では対照群のレベルであった。血清および臓器中のTCDD濃度は生後21日目で最高値を示したが、49日齢では顕著に減少した。組織病理所見で生後49日齢800 ng/kg投与群で甲状腺過形成が観察され、PCNA陽性甲状腺濾胞細胞数の著しい増加が認められた。【まとめ】妊娠期における低濃度TCDD単回曝露が仔ラットの血清T4レベルの低下および血清TSHの上昇を引き起こし、その後に甲状腺濾胞細胞の肥大と過形成を起こすことが明らかとなった。このことは肝に蓄積されたTCDDによる肝UGT-1の誘導とそれによるT4の排泄促進によるものと考えられた。

○池崎信一郎¹、西村信雄¹、池谷政道¹、梅村建夫¹、工藤佳代子¹、中村厚¹、田村一利¹、須永昌男²、鎌田栄一³（¹ボソリサーチセンター、²化合物安全性研究所、³国立衛研・総合評価研究室）

【はじめに】バラクミルフェノール〔p-(α , α -ジメチルベンジル)フェノール、以下 PCP と略す〕は、一般に界面活性剤及び防腐防カビ剤として使用されているものの、毒性に関する知見はマウスにおける LD₅₀ が 2400mg/kg であること以外に明らかにされていない。また、PCP の化学構造式が内分泌攪乱化学物質として注目されているビスフェノール A と類似していることから、毒性に関する情報を明らかにすることが急務と考えられる。そこで、我々は PCP の新生児ラットに対する反復経口投与による毒性及びその回復性について検討した。

【材料及び方法】Sprague-Dawley 系の生後 4 日齢の新生児ラット雌雄各 48 匹を 4 群に分け、0 (オリーブ油)、30、100 及び 300mg/kg の PCP (サンテクノケミカル株式会社) を生後 4 日齢から離乳時までの 18 日間にわたって反復経口投与した。また、各群とも半数例 (1 群雌雄各 6 匹) について 9 週間休業する回復群を設けた。投与又は休業終了後、全身諸臓器について病理組織学的に検討するとともに、雌性生殖器への影響をより明らかにする目的で、下垂体のプロラクチン、FSH 及び LH について免疫組織学的に検討した。

【結果及びまとめ】300mg/kg 投与群では、投与終了後、卵巣の重量減少を伴った閉鎖卵胞数の増加がみられ、下垂体での FSH 陽性細胞の減少がみられた。休業終了後、閉鎖卵胞数の増加がみられると共に、さらに黄体数の減少及び卵胞嚢胞がみられ、子宮では内膜上皮細胞の肥大及び腔粘膜上皮の肥厚がみられた。その他、300mg/kg 投与群では集合管の嚢胞性拡張などの腎障害がみられた。PCP の 5 週齢ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験では影響を及ぼさない¹⁾ が、新生児に投与することによって、雌性生殖器に対し障害を惹起することが明らかになった。

1) 株式会社化合物安全性研究所、p-(α , α -ジメチルベンジル)フェノールのラットにおける 28 日間反復経口毒性試験、SR-9893.

○桑原真紀、吉田敏則、竹内幸子、榎本秋子、中島信明、真板敬三、原田孝則 (残農研)

【はじめに】幼若動物の精巣に対する化学物質の毒性を評価する上で、正常な精巣の発達を詳細に把握することは、被験物質投与のタイミング、投与期間などを設定する上で重要である。我々は今回、出生直後から生後 3 週までの幼若動物の精巣と精巣上体の発達過程を形態学的に検索したので報告する。

【材料と方法】Sprague-Dawley 系ラット (Crj:CD(SD)IGS) の妊娠動物を妊娠 2 週で購入し、分娩させた。Pnd1, 4, 7, 10, 17, 21 (分娩日を pnd0 とした) に 6 匹ずつを剖検して精巣および精巣上体の重量を測定した後、FSA 固定液で固定した。精巣と精巣上体はパラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。なお、pnd4 に間引きを行い、各腹の仔動物数を 8 例に揃えた。

【結果】pnd1: セルトリ細胞間には間隙が見られ、丈が短い細胞が多く存在した。生殖細胞はセルトリ細胞層の内腔に位置していた。Pnd4: セルトリ細胞はより丈が高くなり、配列も密となった。生殖細胞の一部は基底側に位置し、分裂像を示した。Pnd7: セルトリ細胞層はさらに丈を伸ばし、ほとんど隙間のない上皮様を呈した。生殖細胞のほとんどは基底部に位置し、分裂を開始していた。Pnd14: 淡明な核を有する生殖細胞 (精粗細胞) はすべてが基底部に存在し、セルトリ細胞の細胞質に覆われていた。セルトリ細胞層の内腔に核クロマチンの明瞭な精母細胞が観察される精細管が見られ始めた。Pnd21: ほぼすべての精細管で精子細胞が観察され、最も進んだステージではザイゴテン期精母細胞が観察された。

P-2-12 制限給餌におけるラット雄性生殖器への影響（週齢差について）

○木ノ本寿子, 小川秀治, 澤多美和, 井口綾子, 山口 格¹, 鷲塚昌隆, 小俣武志, 西 直樹, 米良幸典, 栗本 忠
(ゼリア新薬・中研・開発研, ¹創薬研)

【目的】我々は昨年の本学会（第16回）において、制限給餌により体重を抑制した若齢（6週齢）雄ラットを用いて体重低下が雄性生殖器におよぼす影響について報告した。今回は成熟（23週齢）雄ラットを用いて同様に検索し制限給餌による雄性生殖器への影響の週齢による比較検討を行った。

【方法】23週齢のCrj:CD(SD)IGS雄ラットに4週間、制限給餌〔対照群（自由摂取）、55%制限群〕を行った後、生殖器重量測定および精巣の病理組織学的検査を実施した。精巣のステージ鑑別ではステージII～III、V、VIIおよびXIIについて検索した。

【結果】体重推移は対照群に比して55%制限群（以下制限群）で体重減少（20%低値）を示した。器官重量では精巣上体、精囊および前立腺の絶対重量の有意な減少、相対重量において精巣および精巣上体の有意な増加、精囊および前立腺の有意な減少が認められた。また精巣の病理組織学的所見として、制限群の成熟ラットにステージVIIのパキテン期精母細胞の変性、ステージIX以降に精子遺残が認められた。ステージ鑑別では制限群のステージVIIおよびXIIで精上皮細胞数の減少傾向が認められたが有意な差ではなかった。一方、若齢ラットにおいて体重推移は対照群に比して制限群で体重増加抑制（32%低値）を示した。器官重量では成熟ラットとほぼ同様の傾向であった。精巣のステージ鑑別においてステージII～IIIおよびVIIでは有意な精上皮細胞数の減少が、その他のステージについても減少傾向が認められた。

【結論】以上の結果より、制限給餌による雄性生殖器への影響にはラットの週齢による差異が見られ、成熟動物に比べて若齢動物で変化が強く発現することが確認された。これらのことから体重低下に伴う雄性生殖器の変化を評価するにあたっては動物の週齢差を十分に考慮して行う必要性が示唆された。

P-2-13 L-システインによるラットの精子肉芽腫に関する検討(3)

—細胞増殖およびアポトーシスとの関連—

○澤本 修^{1,2}, 萩原里香¹, 栗栖和信¹, 桑村 充², 山手丈至², 小谷猛夫²
(¹大塚製薬工場・鳴門研, ²大阪府立大学・獣医病理)

L-システインは、生体内に存在するアミノ酸の一つであり、食品添加物や医薬品としても広く用いられている。我々は第13および14回本学会に於いて、L-システインの投与により精巣上体に精子肉芽腫が誘発され、また性成熟期では性成熟後よりも精子肉芽腫が高率に発現すること、その要因の1つとしてL-システインの過剰投与による精巣上体管の限局性の発育障害が示唆されることを報告した。今回、我々はL-システインによる精巣上体管の発育への影響を調べるため、BrdUによる細胞増殖活性およびTUNEL法によるアポトーシスについて検討したので報告する。

【材料および方法】6週齢のSD系ラットにL-システイン1000mg/kg（5%水溶液）を1, 2, 3および4週間腹腔内投与した。対照として各投与期間に対応した無処置群を設けた（各群6匹）。剖検の2時間前にBrdUを腹腔内投与し、精巣上体、精巣および前立腺について観察した。また、右精巣上体尾部の近位部の単位面積当たりのBrdUおよびTUNEL陽性率を計測した。

【結果および考察】精巣および前立腺では著変は認められなかった。精巣上体では、1週間群から間質の水腫、精巣上体管の小型化および拡張がみられはじめ、2週間群から精子肉芽腫が観察された。L-システイン投与によりみられた小型精巣上体管では、BrdU陽性率は対照群または変化のみられなかった精巣上体管と差はなかったが、TUNEL陽性率は高値を示した。一方、拡張した精巣上体管では、BrdU陽性率は極めて高値を示し、TUNEL陽性率は低値をであった。以上のことから、精巣上体管の限局性小型化がアポトーシスに関与していることが示唆され、拡張した精巣上体管は内圧の上昇によると思われる。したがって、L-システインによる精子肉芽腫は、精巣上体管の限局性小型化により、内圧が上昇した結果と考えられた。

○北村 毅, 窪田 典, 林 守道, 長澤達也, 黒田淳二, 栗山和也, 横井亮平, 小沢重成, 柴田信男
(キッセイ薬品 安全研)

はじめに：抗がん剤として使用されているアルキルスルホン酸エステル類には、精子形成に対し障害作用を有することが知られており、アルキル鎖の構造の差により精巣あるいは精巣上体での標的細胞がそれぞれ異なっているとされているが、詳細な検討はまだなされていない。今回、我々はメチル化剤である Methylmethane sulphonate (MMS) のラットでの精子形成に対する影響を病理組織学的に検討したのでここに報告する。

方法：動物は7~8週齢のCrj:CD(SD)系雄ラット120匹を、対照群を含む4群(30匹/群)に分け、蒸留水に溶解したMMS 20, 30および40 mg/kgを5日間強制経口投与した。対照群には蒸留水のみを同様に投与した。各群5匹ずつを投与終了翌日(D1), 1(W1), 2, 3, 4および5週間後にそれぞれ剖検した。精巣重量を測定し、体重比重量を算出した。精巣は常法に従いパラフィン包埋薄切切片を作製して、ヘマトキシリン・エオジン染色, PAS染色, TUNEL染色, 抗PCNA染色を施し、鏡検した。D1およびW1の対照群およびMMS 40 mg/kg群についてステージ計測(ステージII-III, V, VII, X II)を行った。また、精巣の一部について電子顕微鏡的検査を実施した。

結果：精巣は肉眼的に異常は認められなかったが、40 mg/kg群においてD1剖検例で実重量の減少が、W1剖検例では実および体重比重量の減少がみられた。病理組織学的には、40 mg/kg群においてD1の精細管上皮(精母細胞あるいは精祖細胞)の単細胞壊死、ステージ区の精子細胞の停滞が観察された。D1では単細胞壊死が数ステージで散見されたが、W1ではステージX IVの減数分裂期精母細胞で多数認められた。単細胞壊死した細胞はTUNEL染色で陽性を示した。また、ステージ計測では、D1においてステージVの精祖細胞(タイプB)および円形精子細胞数が有意に減少した。

結語：MMSによる精巣精細管上皮における標的細胞は、分裂期精祖細胞、精母細胞およびステップ19の精子細胞と推察された。

○吉野裕子^{1, 2}, 河部真弓¹, 市原敏夫^{1, 2}, 宮下嘉代子^{1, 2}, 佐野真士¹, 萩原昭裕¹, 今井田克巳², 白井智之²
(¹大雄会医科研, ²名市大・医・1病理)

【目的】内分泌かく乱作用が疑われているビスフェノールAの雄性生殖器の形態発生および分化・機能に対する影響を見るために、妊娠および授乳期間に母獣動物に曝露することにより検討した。

【方法】11週齢F344ラットを交配させ、母獣動物の妊娠0日から離乳までの期間ビスフェノールAを0, 7.5および120 mg/kg/dayの投与量で毎日強制経口投与した。自然分娩により得られたF1雄動物を離乳後2日、7日および10週に屠殺剖検し、生殖器系の器官重量測定および離乳後10週には精子検査を実施した。

【結果】妊娠および授乳期間中の母獣動物の体重および飼料摂取量に有意な差は認められなかった。F1雄動物の体重変化で有意な差は認められなかったが、離乳後10週の7.5 mg/kg投与群で前立腺背側葉の相対重量が有意な高値を示した。また精子検査においては精子数、精子運動率および形態異常のいずれにおいても有意な差は認められなかった。

【結論】妊娠および授乳期間中にビスフェノールAを7.5および120 mg/kg投与しても母獣動物の分娩状況に影響は見られず、また得られたF1雄動物の生殖器系の形態および機能に影響はないことが示された。

○梅田ゆみ、竹内哲也、妹尾英樹、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介(日本バイオアッセイ研究センター)

クロロホルムは水環境・大気環境にわたる汚染を示しており、生体は経口と吸入の複数の経路からの暴露を受ける可能性がある。このクロロホルムの飲水と吸入を組み合わせた長期投与(複数媒体投与)でみられた鼻腔の病理組織学的変化について報告する。

【方法】6週齢の F344/DuCrj (Fisher) ラットの雄を用いてクロロホルムの 104 週間の投与を行った。群構成は 8 群(各群 50 匹)とし、①飲水投与も吸入暴露も行わない「対照群」、②飲水投与のみを行う「飲水投与群」(飲水 1000ppm 投与群)、③吸入暴露のみを行う「吸入暴露群」3 群(吸入暴露 25, 50, 100ppm 群)、④吸入暴露に加えて飲水投与を行う「複数媒体投与群」3 群(吸入暴露 25, 50, 100ppm+飲水投与 1000ppm 群)を設定した。飲水投与は自由給水とし、吸入暴露は 1 日 6 時間、週 5 日、全身吸入暴露とした。

【結果・まとめ】クロロホルムの投与による鼻腔の腫瘍性病変は認められなかった。鼻腔にみられた非腫瘍性病変はいずれも、吸入暴露群と飲水投与群のそれぞれに発生の増加がみられ、吸入暴露群に強くみられる傾向があった。これらの非腫瘍性病変は次のように分類することができた。①飲水投与群と吸入暴露群に比較して複数媒体投与群で病変の増強があるもの(吸入暴露に飲水投与を加えることで病変が増強するもの): 嗅上皮の萎縮、嗅腺の減少、並びに篩骨甲介の骨の肥厚、萎縮及び癒着、②複数媒体投与群で病変の増強がないもの(吸入暴露に飲水投与を加えても吸入暴露のみの病変とほぼ同程度のもの): 固有層の硬化、嗅上皮の呼吸上皮化生及び滲出、③複数媒体投与群で吸入暴露群より病変が減弱したもの(吸入暴露に飲水投与を加えることで病変はむしろ減弱したもの): 嗅上皮の炎症。

クロロホルムの投与により鼻腔にみられた非腫瘍性病変は、吸入暴露と飲水投与のそれぞれの影響を受け、吸入暴露の影響がより強い傾向にあった。複数媒体投与により増強または減弱した病変がみられたが、吸入暴露のみの影響と比べて程度の違いは僅かであり、多くは吸入暴露による影響に依存しているものと思われた。

本実験は環境庁の委託により実施した。

○山口 格^{1,2}, 山口幸也¹, 高橋直生², 長谷川一浩², 内木宏延²
(¹ゼリア新薬・中研・創薬研, ²福井医大・2病)

【目的】我々は試験管内 $\beta 2$ -ミクログロブリン ($\beta 2$ -m) の試験管内アミロイド線維伸長反応系を開発した。この反応は酸性 (pH 5.0 以下) のみで起こり、この環境下では $\beta 2$ -m の立体構造の一部が変化していることを示した。しかし、生体内ではこのような酸性環境はほとんど生じないため、中性生体環境下での $\beta 2$ -m の立体構造変化とアミロイド形成がおり得ることを確認する必要がある。今回、我々は中性反応液中に 2, 2, 2-trifluoroethanol (TFE) を添加し、 $\beta 2$ -m のアミロイド線維形成能と立体構造の変化を観察した。

【方法】 $\beta 2$ -m アミロイド線維伸長反応液 (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ シード $\beta 2$ -m アミロイド線維, 50 μM リコンビナントヒト $\beta 2$ -m, 50 mMPB, pH 7.5, 100 mMNaCl) に TFE を終濃度 10~25% になるように添加し、37°C でインキュベートした。アミロイド線維量はチオフラビン T (ThT) 蛍光法 (励起波長 455 nm, 蛍光波長 485 nm) にて測定し、同時に電子顕微鏡により線維の伸長の程度を観察した。さらに、各 TFE 濃度における CD スペクトルの測定を行い、 $\beta 2$ -m の立体構造の変化を観察した。

【結果および考察】pH 7.5 の反応液中では、ThT 蛍光の増加はほとんど観察されず、 $\beta 2$ -m アミロイド線維伸長はほとんど認められなかった。これに TFE の 10~25% 添加により用量依存的な ThT 蛍光の増加が観察され、電子顕微鏡でアミロイド線維の伸長が観察された。遠紫外領域の CD スペクトルの測定により、TFE 存在下では $\beta 2$ -m のスペクトルは顕著に変化し、二次構造の変化が示された。以上のことから、 $\beta 2$ -m は中性環境下においても、TFE 存在下で立体構造の変化とともにアミロイド線維の形成能を獲得することが確認された。したがって、 $\beta 2$ -m は、生体においても特殊な病態環境下で立体構造の変化が惹起された場合にはアミロイドを形成し得ることが示唆された。

○ 猪又 晃、井上 智彰、堀井 郁夫 (日本ロシユ研究所・前臨床科学研究部)

【緒言】我々は、本学会 16 回大会においてラット胎仔初代培養肺細胞を用いたスフェロイド培養系、および肺スフェロイドにおける bleomycin (BLM) 処理により誘発された病理組織学的変化について報告した。今回我々は、BLM、および BLM に比べ肺毒性が弱いことで知られる pepleomycin (PEP) を用い、肺スフェロイドにおいて両化合物により誘発された病理組織学的変化の比較、並びに肺スフェロイドの形成過程における構成細胞について免疫組織化学的に検索したので報告する。

【方法】胎生 19 日齢 (臍栓確認日: 0 日) の SD ラット胎仔から肺を摘出し、酵素処理により単離細胞分散液を調製した。細胞分散液を Poly-HEMA コートプレートに分注し、37°C、5 %CO₂ 条件下にてロータリーシェイカー上で培養を開始した。培養開始後 7 日目に培養液中に 0, 10, 100 μg/ml の濃度になるように BLM または PEP を添加し、48 時間後、各々の肺スフェロイドの HE 染色標本作製し、病理組織学的変化の比較を行なった。また、培養開始後 3, 7 および 28 日目の薬剤未処理肺スフェロイドの組織標本作製し、HE 染色、および気管支線毛上皮細胞のマーカーの一つである抗 beta-tubulin 抗体、抗 PCNA 抗体を用いた免疫組織化学的染色を行なった。

【結果】回転培養開始後 3 日目より単離肺細胞が凝集塊を形成し、7 日目に表面上皮様細胞が配列し、内部に上皮様細胞で覆われた管腔を有するスフェロイドが形成された。培養開始後 7 日目の肺スフェロイドに BLM または PEP 処理を行なった結果、用量相関的に上皮様細胞の変性、壊死、間質の浮腫および管腔の拡張を主とした組織学的変化が認められたが、これらの変化は BLM に比べ PEP の方がやや軽微であった。また、薬剤未処理の肺スフェロイドにおける免疫組織化学的検索の結果、スフェロイド表層および管腔を形成している上皮様細胞の多くが beta-tubulin 陽性であった。また、beta-tubulin 陽性細胞の中には線毛をもつものや PCNA 陽性反応を示す細胞が散見された。

【結論】ラット胎仔初代培養肺細胞を用いたスフェロイド培養系における病理組織学的変化は、in vivo でのラットに対する BLM および PEP の肺毒性作用を反映していると考えられた。また、肺スフェロイドの形成過程において単離上皮様細胞は肺スフェロイド表面または内部に再配列し、気管支線毛上皮細胞へ分化することが示唆された。

○ 平川芽衣子、下元貴澄、佐藤亮、松本智志、北浦敬介、山本硬治、南 孝則 (大塚製薬 徳島研)

【目的】経口投与毒性試験で用いられる媒体のアラビアゴム水溶液を、ラットの気管内に投与した際に肺に出現する泡沫細胞を自然発生の泡沫細胞およびキナクリン経口投与によるリン脂質症で出現する泡沫細胞と形態学的に比較検討した。

【材料と方法】11週齢のSD系雄ラット15匹を5匹からなる3群に分け、1群を無処置対照群とした。2群にはペントバルビタール麻酔下にて0.2または0.1mL/kgの5%アラビアゴム水溶液をマウス用ステンレスゾンデを用い2~5日間気管内に投与した。3群には75mg/kgのキナクリンを10日間経口投与した。投与期間終了後あるいは死亡例は発見後速やかに剖検を行い肉眼的に肺を観察した。全例の肺左葉はパラフィン切片作製後のHE染色を施し、右中葉は凍結切片を作製後脂質染色(オイルレッドO染色, ズダンブラックB染色)を施した。各群2例の右後葉については電子顕微鏡検査を行った。

【結果】5例中1例ではあるがアラビアゴム気管内投与により泡沫細胞が誘発された。無処置対照群では泡沫細胞の小集簇数個のみで、その分布は局所性であった。無処置対照群に出現した泡沫細胞に比べ、アラビアゴム投与群の1例およびキナクリン投与群の泡沫細胞はより大型で瀰漫性にみられた。またアラビアゴム気管内投与により気管支肺炎がみられたが、キナクリン投与群にはみられなかった。脂質染色の染色態度はいずれの群の泡沫細胞も同じであった。電子顕微鏡検査ではアラビアゴム群の1例に巻き方の疎なミエリン様構造物を多数有する泡沫細胞がみられたが、自然発生性のものとの区別は不明であった。キナクリン投与群の泡沫細胞には巻き方の密なミエリン様構造物が多数みられた。

【考察】無処置対照群の泡沫細胞とアラビアゴム誘発泡沫細胞およびキナクリン誘発泡沫細胞とは、その大きさならびに分布に違いがみられた。気管支肺炎の有無は、肺内に吸引された外来性異物であるアラビアゴム誘発の泡沫細胞とリン脂質症で出現する泡沫細胞とを区別する指標になるものと思われた。

○ 仁保直子¹、渋谷淳¹、畝山智香子¹、榎富直哉¹、中川恵子¹、高橋則行¹、小林恒雄¹、関田節子²、広瀬雅雄¹
(¹国立衛研・病理、²国立衛研・生薬)

【目的】近年、慢性肝炎における肝機能改善を目的とした小柴胡湯の投与により、約2.5万人に1人の頻度で間質性肺炎の発症することが報告されており、特にインターフェロン (IFN) との併用によりそのリスクが高まることが指摘されている。そこで今回我々は、モノクロタリン (MCT) 誘発マウス肺傷害モデルに対する小柴胡湯投与の影響とIFN- α 併用投与の影響について検索した。【方法及び結果】実験1：5週齢の雄性ICRマウスにMCTを150mg/kgの割合で週1回、計5回皮下投与し、臨床使用量に相当する0.1%ないし2.0%の小柴胡湯をMCT投与開始日から11週、あるいは投与終了後1週目より6週間混餌投与した。その結果、MCT投与によりII型肺胞上皮細胞の減少、残存上皮細胞の巨核化、肺胞壁の線維索性肥厚、肺胞腔内への線維素の析出、肺胞腔内へのマクロファージの浸潤・集簇、血管周囲炎・血管炎などの変化が認められ、MCT投与開始日から小柴胡湯を投与した群で、MCT単独群と比較して肺傷害の各病理所見の有意な増強を認めた。しかしMCTの溶媒を同様に投与後小柴胡湯を6週間投与した群では肺傷害作用を認めなかった。また、これらの動物の肺でのTh1/Th2細胞サイトカイン、TNFシグナリング、炎症性サイトカイン、MCP-1などのmRNAシグナルをマウスMiltiplex mRNA検出キットないしはRT-PCRにより検索したところ、MCT単独または小柴胡湯併用でのTh1/Th2細胞サイトカインの発現、TNFシグナリングへの影響は認められなかった。一方、小柴胡湯の有無にかかわらず、MCTによる肺傷害の強い例で炎症性サイトカインのIL-6及びMCP-1の発現増加を認めた。実験2：MCT投与終了後小柴胡湯を2.0%の濃度で6週間混餌投与中に 2.5×10^4 unitsのIFN- α の筋肉内投与を隔日で行い、肺傷害に対するIFN- α の増強作用の有無を検討した。その結果、IFN- α 投与例ではMCT投与により誘発された肺傷害部位に一致して強いリンパ球浸潤が認められたが小柴胡湯による増強作用はみられなかった。【まとめ】今回の検索では、小柴胡湯単独による肺傷害誘発作用及びIFN- α との併用による増強作用は認められなかった。一方、MCTと同時に小柴胡湯を投与するとMCT誘発肺傷害が増強された。MCTによる肺傷害の強い例で発現の増強するサイトカインを認めたが小柴胡湯投与による修飾作用は明らかではなかった。

○ 伊藤敦子¹、林美千子¹、伊藤金次²
(¹東邦大・医・法医、²同・第2病理)

GSHは薬物の代謝中間体をGSH抱合体に変換して無毒化する重要な役割を演じているが、dihaloalkane類に対してはその発癌性や変異原性誘発の引き金となることが近年明らかにされつつある。一方、MTの役割として重金属毒性軽減作用が最もよく知られているが、加えてアルキル化剤の毒性軽減、フリーラジカルによる障害防御などの知見が報告されている。我々は第16回本学会でdihalopropaneの毒性とその発現機構にGSHが関与することについて報告したが、今回、MT合成誘導の様相、ならびに毒性発現への関与性について検討した。

【方法】1,2-dibromopropane (DBP)、1,2-dichloropropane (DCP)、1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP)を各々ラットに腹腔内投与し、肝、腎におけるMT合成の誘導能をノーザンブロットング法、酵素免疫組織学法により観察し、GSHレベルの変動との関連を観察した。また、比較対象としてmono-bromopropane投与群を作成し、同様の検索を行った。

【結果及び考察】各投与群とも投与5時間後に肝・腎内GSH濃度は最低値を示し、組織内GSTの局在性の減少が観察された。抱合反応の受けやすさはDBCP>DBP>DCPであり毒性発現の強さと一致していた。肝、腎内MT(I, II)-mRNAは各投与群で発現の増強が観察され、MTの染色性は強陽性を示した。MT誘導合成は特にDBP, DCP群で著しく、GSH抱合反応=毒性発現に対して反比例の関係にありMTの非常時防衛物質としての役割が示唆された。しかし、毒性発現が顕著に見られたDBCP群でもMTが誘導されたこと、加えて、組織障害が観察されなかったmono-bromopropane群ではGSHレベルの減少もMTの誘導も観察されなかったことから考察すると、dihalopropaneのようにGSH抱合体によって毒性が発現する場合はMTは悪役として作用することも考えられた。

○佐藤秀行、山名 慶、和田 仁、清木 護、浅野 哲(帝人(株)医薬開発研)

【目的】Chondromodulin-I (ChM-I) は、培養軟骨細胞のDNA合成促進活性を指標にしてウシ胎仔骨端軟骨から精製された121アミノ酸からなる糖タンパク質であり、軟骨細胞の増殖・分化を促進する一方で、血管新生を抑制することが明らかにされている。我々はESTデータベースを利用してChM-Iと相同性を有する新規遺伝子ChM1Lをクローニングし、RT-PCRを用いた各組織における ChM1L mRNAの発現分布の解析を実施した。その結果、軟骨を含む組織であるwhole ribで発現が認められた。今回我々は、ChM1Lタンパク質の軟骨組織における局在を検出する目的で肋軟骨標本を用いた免疫組織学的検討を実施したので報告する。

【材料および方法】10週齢のC57BL/6マウスを解剖後速やかに肋軟骨を採取し、ブアン液、ホルマリン、streck®、パラホルムアルデヒドの4種の固定液で固定しパラフィン切片を作製した。それら4種の標本に対して、ChM1Lポリペプチドをウサギに免疫して得たポリクローナル抗体を用いて免疫染色を実施した。

【結果および考察】ブアン固定を実施した標本では軟骨およびその周辺領域において発色は認められなかった。ホルマリン固定を実施した標本では全体的に弱い発色が認められたが、その発色像は10%ウサギ血清を用いて染色した標本の染色像と類似しており、抗体の非特異的吸着による発色が疑われた。streck®固定およびパラホルムアルデヒド固定を実施した標本では、軟骨細胞周囲を覆う線維芽細胞様の形態を示す扁平な細胞群(肋軟骨周囲細胞)において最も早く染色されたが軟骨細胞は染色されず、ChM1Lが特異的に染色された像と考えられた。一方、ChM-Iは軟骨細胞および軟骨細胞外マトリックスに存在することが明らかとなっている。したがってChM1LとChM-Iは軟骨組織において異なる部位に存在していることが明らかとなった。今後はChM1Lの詳細な局在および病態への関与について検討していく予定である。

○池上仁、須田美穂子、泉澤信行、白木克尚、岡宮英明、中山裕之¹⁾、土井邦雄¹⁾
(山之内製薬,¹⁾東京大学農学部獣医病理学教室)

【緒言】Inducible type の Nitric oxide synthase(iNOS)は、マクロファージ等、様々な種類の細胞で見られ、炎症時にみられる Nitric oxide(NO)産生において主要な役割を果たすことが知られている。Transforming growth factor- β 1(TGF- β 1)および basic Fibroblast growth factor(bFGF)は、種々の系で実験的に iNOS 発現を抑制する可能性が示唆されている。今回、Fenoldopam 投与による壊死性動脈炎において、これらの発現の経時的推移について免疫組織化学的に検討した。

【材料と方法】Fenoldopam を F344 ラットに 6mg/kg/hr の投与速度で 24 時間静脈内持続投与し、投与直後および 1, 3, 5 および 8 日後に屠殺した(F 処置群)。また別の動物には、Fenoldopam を同様の方法で投与後、翌日から Theophylline を反復経口投与し、投与 3, 5 および 8 日に屠殺した(F+T 処置群)。脾臓および腸間膜のパラフィン包埋切片および凍結切片を作製し、iNOS, bFGF, TGF- β 1, ED-1, CD-3 および CD-20 の各抗体を用いて免疫組織染色を実施した。

【結果】F 処置群では投与 3 日後をピークに炎症性変化は収束したが、F+T 処置群では投与 8 日でも一部の病変部で顕著な炎症性変化がみられた。iNOS はいずれの処置群でも一部の ED-1 陽性細胞で検出され、特に、F+T 処置群の投与 5 および 8 日でより多く検出された。bFGF は F 処置群の投与直後、投与 1 および 3 日後、および F+T 処置群の投与 3 日で、多くの ED-1 陽性細胞および線維芽細胞で検出されたが、いずれの処置群でもその後明らかに減少した。TGF- β 1 は F 処置群の投与後 3 日、および F+T 処置群の投与 3, 5 および 8 日に少数の ED-1 陽性細胞でみられた。今回の実験系では、iNOS と bFGF は発現ピークに時間差があり、bFGF は iNOS を抑制する可能性が示唆された。しかし、TGF- β 1 は少数の ED-1 陽性細胞でのみ認められ、iNOS 発現との間に何らかの関係を示唆するような結果は得られなかった。

○篠原基輝, 原敦子, 江幡幸子, 松浦正男, 篠原従子, 平山由美, 高橋俊弘, 西岡浩一郎
(日本ケミファ(株)・研究所)

【はじめに】アジュバント関節炎は、菌体または菌体成分を足蹠に単回注射することにより発症する関節周囲の慢性増殖性滑膜炎を特徴とし、その組織所見の類似性からヒトの慢性関節リウマチ (rheumatoid arthritis:RA) の疾患モデルとして広く用いられている。本モデルの関節破壊は RA と同様、増殖した滑膜細胞より形成されたパンヌスの骨端軟骨部あるいは bare area からの浸入により発症すると考えられており、評価には通常非投与側の足蹠を用いる。今回、演者らは、アジュバント関節炎モデルにおける骨破壊について、通常用いられる足蹠とともに膝関節 (大腿骨遠位端) について病理組織学的な検討・比較を行った。

【方法】CD(SD)IGS 系雄ラット (8 週齢) の右後肢に Adjuvant (*M. butyricum*) を 0.5mg/foot 皮内投与し、3 週間飼育した。その後、非投与側の足蹠および大腿骨遠位端について SOFTEX による軟エックス線撮影・評価および病理組織学的検索を行った。

【結果および考察】Adjuvant 接種後 10 日目より非投与側足蹠に発赤腫脹がみられ、解剖時には腫脹は四肢の関節にまで及んでおり歩行困難 (後肢麻痺) を示す動物も認められた。軟エックス線写真においては足蹠、膝関節ともに全例で重度の骨吸収、骨びらん及び骨膜新形成像が認められた。病理組織学的には、足蹠ではパンヌスの増生・関節腔内への侵入、骨端軟骨の破壊および bare area からの骨吸収とともに骨髓腔においても破骨細胞増加及び海綿骨の減少、骨髓の線維化さらには海綿骨新生が認められた。これに対し、大腿骨遠位端では滑膜由来のパンヌスの増生・侵食は弱く、むしろ骨髓における線維増生、海綿骨新生及び皮質骨の吸収・新生が優位に認められ、骨髓細胞及び骨髓の間質細胞由来の骨吸収・破壊が考えられた。これらの結果から本モデルの関節炎の病態には部位による差違があり、足蹠ではより重度の骨・関節破壊が発症することが判明した。

○松嶋周一^{1,2)}, 鳥井幹則¹⁾, 尾崎清和²⁾, 奈良間功²⁾

(1 塩野義製薬・新薬研, 2 摂南大・薬・安全研)

【緒言】食品添加物の乳酸鉄を 8 または 13 週間に亘って大量に混餌経口投与したところ、体重の減少とともに、8 週間投与で著しい骨量の減少と類骨の増加を認めた。また、投与群で osteocalcin の増加と PTH の減少を特徴とする特異な骨代謝を示した。乳酸鉄による骨吸収は投与初期に亢進すると考えられることから、乳酸鉄の 2 または 4 週間投与群を設け乳酸鉄による骨吸収の機序の解明を試みた。

【試験材料及び方法】5%乳酸鉄を各 10 例に 2 または 4 週間混餌投与した。また、各投与群に対して各 10 例からなる pair-fed 群を設けて対照とした。脛骨の非脱灰骨標本を作製し、Goldner's Masson trichrome 染色、酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色、トリジンブルー染色及び鉄染色を施した。骨の定量的検索は脛骨の二次海綿骨領域を測定し、尿検査及び血液生化学検査も併せて実施した。

【結果】血液生化学検査：2 週間投与では、osteocalcin 及び ALP はそれぞれ 53% 及び 67% 増加、PTH は 28% 減少した。4 週間投与では、osteocalcin 及び ALP はそれぞれ 59% 及び 28% 増加、PTH は 55% 減少した。尿検査：2 週間投与では、ヒソリリン;PYR 及びデヒソリリン;D-PYR はそれぞれ 38% 及び 107% 増加、4 週間投与では PYR 及び D-PYR はそれぞれ 39% 及び 111% 増加した。骨形態計測：2 週間投与では破骨細胞数、破骨細胞面及び骨芽細胞面はそれぞれ 27%、107% 及び 115% 増加、骨量及び骨梁数はそれぞれ 43% 及び 24% 減少、4 週間投与では破骨細胞数、破骨細胞面及び骨芽細胞面はそれぞれ 41%、60% 及び 157% 増加、骨量及び骨梁数はそれぞれ 51% 及び 35% 減少した。

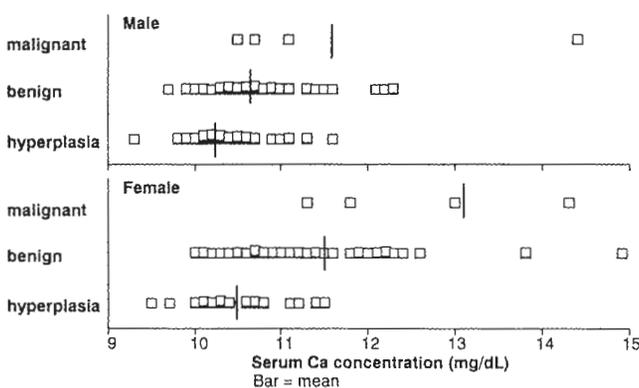
【考察】乳酸鉄による破骨細胞の活性化は 2 週間投与時に最も亢進し、骨芽細胞の活性化は投与期間の延長に伴い上昇した。骨量及び骨梁数は減少し、海綿骨構造は粗鬆化を呈した。乳酸鉄は骨吸収と骨形成を共に亢進させるが、骨形成を上回る骨吸収の亢進のため、ネットの骨量は減少して粗鬆化を呈したと考えられ、骨粗鬆症モデルラットと類似する骨形態であった。しかし、乳酸鉄投与では骨形成マーカー (osteocalcin, ALP) の上昇に伴い血中 PTH 分泌は抑制され、骨粗鬆症モデルラットと異なる骨代謝を示した。

○伊藤恒夫、加藤淳彦、三沢保幸、岡崎修三*、星谷達*、山口裕子*、鈴木雅実、二木力夫**、杉本哲朗
(中外製薬・安全研、*ボゾリサーチ、**SLA研)

ラットの副腎髄質には加齢に伴って過形成や褐色細胞腫が自然発生する。血中カルシウム (Ca) の持続的な増加が起きると、ラット副腎髄質腫瘍が誘発されることが、ポリオール類や酢酸レチノールで報告されている。ビタミンD誘導体は、その薬理作用により血中Caを増加させる代表的な薬剤の一つであり、7日間の高Ca血症持続条件下で副腎髄質細胞の増殖活性が亢進していることを既に報告した(第14回本学会)。今回、24カ月間投与試験における副腎髄質増殖病変の発現状況と血中Caとの関係を解析した。

6週齢のF344/Du Crj系ラットの雌雄1群各50匹を用い、活性型ビタミンD₃誘導体(Maxacalcitol)白色ワセリン軟膏を対照(基剤)、0.03、0.1および0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ の用量で1日1回24カ月間経皮投与した。血清Ca濃度は最終投与の24時間後に測定した。

対照群では、過形成が雄34/50、雌28/50例に、褐色細胞腫が雄6/50、雌1/50例に発生し、被膜外への浸潤増殖を診断基準とした悪性褐色細胞腫は認められず、血中Caは雄 10.1 ± 0.3 、雌 $10.2 \pm 0.4 \text{mg}/\text{dL}$ であった。0.1および0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群の血中Caは雌雄ともに用量依存的に有意に増加し、悪性褐色細胞腫は0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群の雌雄各6/50例に認められた。右図に示したように、投与群計画殺例における副腎髄質増殖病変の発現状況と血中Caは、密接に関係し、血中Caの増加に伴って副腎髄質増殖病変は増加し、腫瘍と診断される例数が高まった。しかし、良性和悪性の移行に関して血中Caの境界点は明確にできなかった。さらに、核/細胞質比、多形性・異型性、細胞分裂、出血、壊死、腫瘍の大きさなどの腫瘍の悪性度に関わる形態学的指標と血中Caとの関係についても併せて報告する。



○宮田かおり、国松武史、西本佳弘、坂東清子、木村重紀、井上忠志、紙田祐介、奥野泰由、関高樹 (住友化学・生科研)

ドーパミンレセプター2ブロッカーであるクロルプロマジンはヒト、サルを始め、種々の哺乳類で脳下垂体からのプロラクチン(PRL)産生放出を促進させ、このPRLはげっ歯類において卵巣黄体へ刺激ホルモンとして作用し、黄体の維持と新たな卵胞の発育抑制を惹起させる。我々は以前、クロルプロマジンのラットへの慢性曝露により、卵巣の機能不全を介した、ヒトの閉経期骨粗鬆症類似の海綿骨減少が惹起されることを報告している。今回、1あるいは2週間という比較的短期間投与における生殖器および骨への影響を検討したので報告する。

[材料および方法]塩酸クロルプロマジン 25mg/kgをSD系雌ラット(13週齢)に1あるいは2週間経口投与した。対照群には0.5%メチルセルロースを同様に投与した。投与終了時にエーテル麻酔下で採血致死させた後、卵巣、子宮、膣、乳腺、下垂体、大腿骨および胸骨を摘出し、H-E染色標本作製、光学顕微鏡による観察を実施した。また大腿骨において、pQCT骨密度測定装置を用いて骨端軟骨板から3mmおよび10mmの位置で骨密度を測定した。

[結果]1週間投与群では、卵巣で黄体大型化、黄体数減少および間質腺増加、子宮で内膜および筋層の軽度な萎縮、膣で偽妊娠時と同様の粘液円柱上皮化が、乳腺で腺房増生が認められた。一方、2週間投与群では、子宮の萎縮は認められず、膣の粘液円柱上皮化の発現頻度が低下した。しかしながら卵巣の変化は1週間投与群と同程度であり、乳腺では腺房増生に加え、分泌物の増加が認められた。さらに大腿骨で骨髄への脂肪浸潤の増加が少数例で認められた。骨密度には1および2週間投与群ともに対照群との間に、有意な変動を認めなかった。

[考察]本剤の長期曝露(6カ月間投与)では、PRLの高値、エストラジオールの低値および骨代謝パラメーターであるオステオカルシンおよびデオキシピリジノリンの変動に加え、卵巣、子宮、膣に同様の変化を認め、大腿骨ではさらに骨髄脂肪浸潤の増加と骨梁減少、海綿骨骨密度の低値を認めている。本報告ではこの長期曝露試験と合わせて、結果を比較および考察する。

○金林智倫^{1,2}、鈴木和彦¹、中山裕之¹、土井邦雄¹ [1 東大・獣医病理、2 (株)バイオ病理研究所]

Brown Norway(BN)ラットに、塩化第二水銀(HgCl₂)を投与すると、自己抗体の産生および腸管(盲腸)粘膜下織の血管炎・血管壊死、糸球体腎炎、間質性肺炎など多彩な臓器障害を引き起こすことが報告されている。本研究では、BN ラットに HgCl₂ を単回投与後、全身諸臓器を採取し病理組織学的に検索を行った。

【方法】雄 8 週齢の BN ラットに HgCl₂ 1mg/kg および 2mg/kg を皮下投与し、投与直後(0 日)、1, 3 および 5 日後にそれぞれ剖検した。

【結果】胃および腸管では、粘膜固有層に好酸球等の炎症細胞の浸潤がび漫性に認められ、粘膜下織の小血管周囲にも軽度ながら同様の変化が認められたが、Control 群を含め群間に差は認められなかった。腎臓では投与 1 日目に尿細管上皮の壊死・脱落および糸球体メサングウム細胞の増数が認められ、2mg/kg 群で傷害の程度は大きかった。3 日目以降には投与群のすべての個体で尿細管の再生が認められた。肺では、Control 群を含め肺胞壁および小血管周囲に好酸球、リンパ球等の炎症細胞の浸潤が認められ、2mg/kg 群では肺胞壁の肥厚も認められた。その他の器官については、特記すべき病理組織学的所見は認められなかった。

【考察】BN ラットは、腸管(主に盲腸)の粘膜下織の血管炎が顕著に認められると報告されているが、本実験では血管炎および血管壊死等の顕著な組織所見は得られなかった。今後はより高用量での単回投与および複数回投与を考慮した検索を行う予定である。

○黒木宏二、中山裕之¹、土井邦雄¹

(大日本製薬・開発研、¹東大・獣医病理)

UVB は紫外線による皮膚傷害の最大の原因であり、sunburn cells の出現を伴うサンバーン反応(日焼け)を誘発する。WBN/ILA-*Ht* ラット(HtRs)は、Wistar 由来の貧毛を特徴とするラットで、貧毛形質は常染色体性優性遺伝子(*Ht*)に支配されている。HtRs は生涯を通じて、頭部、背部および四肢に乏しいうぶ毛を有しており、他のヘアレスないし貧毛形質を有する系統の多くが同時に dermal cysts, wrinkles 等の皮膚異常を伴うのとは異なり、毛包の低形成を除けば皮膚の組織学的性状は Wistar ラットと同様である。今回は、HtRs の UVB 照射に対する基本的な皮膚反応を調べた。

HtRs の背部皮膚に UVB (10kJ/m²) を照射後、3、6、12、24 および 48 時間目の皮膚の病理組織学的変化を調べた。また、*in situ* DNA end labeling (TUNEL)法による断片化 DNA の検出と PCNA 抗体を用いた細胞増殖の動態の検索を行った。

UVB 照射後 3 時間目から様々な程度の表皮細胞の退行性変化(細胞内および細胞外浮腫)が主として有棘層に認められた。12 時間目には核濃縮あるいは核崩壊と好酸性の細胞質によって特徴づけられる sunburn cells が主として基底層に多数認められた。sunburn cells は 24 時間目には主に有棘層と顆粒層に認められ、表皮の肥厚の見られた 48 時間目にはほとんど消失していた。こうした sunburn cells は、核が TUNEL 法で陽性に染まり、電顕観察で核のクロマチン顆粒の凝集や核膜に沿った margination 等が認められたことから、アポトーシス細胞であると判断された。真皮では、12 および 24 時間目に真皮上層部に主座する炎症細胞浸潤および浮腫が認められた。

UVB 照射に対する HtRs の背部皮膚の反応は、ラットではメラノサイトが欠如しているためサンターン反応が見られないことを除いて、ヒトのそれに類似していた。さらに、その反応は実験用ヘアレス犬を含むその他のヘアレス動物に比べて感受性が高かった。以上のことから、HtRs は UVB 照射に対する皮膚反応の基礎的研究に有用な動物であると考えられた。

○JI YOUN JUNG, KWANG IL JEONG, HIROYUKI NAKAYAMA AND KUNIO DOI

Department of Veterinary Pathology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

Allergic contact dermatitis is one of the important and common occupational health problems. We experimentally induced contact dermatitis in BALB/c female mice by picryl chloride (PCL) and investigated histological and immunohistochemical responses up to 48 hours after the 1st and 4th challenge. At 4, 11, 18 and 25 days after the sensitization with 150 μ l of 5% PCL to abdominal skin, BALB/c female mice were applied with 20 μ l of 1% PCL to the left ear skin. In addition, ear thickness and serum IgE level were measured up to 48 hours after each application. Repeated application of PCL agent to the same skin site resulted in a shift in the time course of hypersensitivity responses from a delayed-type hypersensitivity (DTH) to an immediate-type response (ITR). Mast cells were identified by light microscopy following with Toluidine blue staining as well as electron microscopy. The ear swelling, the numbers of mast cells, CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells, H-2K^d MHC class I⁺ cells and I-A^d/I-E^d MHC class II⁺ cells increased, and the level of serum IgE elevated in accordance with the increasing time of PCL application. Degranulation of mast cells was enhanced in accordance with the increasing time of PCL application, which may be related with the elevation of serum IgE level. Furthermore, CD4⁺ and CD8⁺ T cells mediated contact hypersensitivity in this model system.

○大神 明、森本泰夫*

(産業医大、産生研、労衛工、呼吸病態*)

【目的】石綿の代替物質として使用されているチタン酸カリウムウイスカ(PT1)の生体影響を評価するために、50mgのPT1をウサギに単回気管内注入し、末梢血中のBrdU陽性PMNモニタリングによる、PT1の骨髄(好中球系細胞)への影響について検討した。

【研究方法】5プロモ2デオキシウリジン(BrdU:100mg/kg)をウサギに静注し、24時間後に50mg/2.5mlのチタン酸カリウムウイスカを気管支鏡下に気管内注入し、経時的(注入後0、6、12、24、48、72、96、120、144、168時間の各点)に末梢血採血を行い、総白血球数とBrdU陽性PMN(PMN^{BrdU})数を測定した。対照群として生食とシリカ粒子をそれぞれ同様に気管内注入し比較検討を行った。

【結果】肺組織は、びまん性肺炎の像を呈し、肺胞腔内にPT1を食食した肺胞マクロファージ、好中球の集簇を認め、その周囲の肺胞壁に炎症細胞の浸潤と肥厚性変化が認められた。シリカ粒子注入群と比較して、炎症部位での線維増生は顕著ではなかった。PT1の気管内注入により、対照群と比較して末梢血桿状核球の増加が見られ、また、末梢血中のPMN^{BrdU}数の増加が見られた。末梢血中のPMN^{BrdU}数より推算された骨髄でのPMN滞留時間は、生食対照群に比べシリカ粒子注入群と同様に短縮していた。急性期ではPT1はシリカ粒子と同様な生体影響があることが示唆された。

P-2-32 大豆イソフラボンアグリコン抽出物 (AglyMax) のマウス脾コロニー法による造血細胞増強効果

殷 宏¹⁾、伊藤明弘¹⁾、潘 偉軍²⁾、武部 実²⁾ (¹⁾ 広島大学原爆放射能医学研究所・環境生物部門、²⁾ ニチモウ株式会社)

〔目的〕大豆イソフラボンには弱い女性ホルモン様作用があり、更年期女性での骨粗鬆症を抑えることが報告されている。さらにエストロゲンは骨髄や脾臓で T 細胞の増殖を促進し、その作用が骨粗鬆症を抑える働きに関係しているとの報告もある。しかしながら、大豆イソフラボンでの造血幹細胞への作用は不明である。イソフラボンはアグリコン化した型で体内吸収されることからイソフラボンアグリコンの機能性が注目されるので、本研究では、Till・McCulloch らの放射線照射マウス脾コロニー法を用いて、イソフラボンアグリコン (AglyMax) の造血幹細胞に与える影響について検討した。

〔方法〕6週令の雌性 ICR/JCL マウスを 1 群 5 匹ずつを用いて、これらを A) 非照射対照、B) 照射対照、C) AglyMax の 3 群に分けて、AglyMax はイソフラボンアグリコンとして 30mg/KgBW を普通食に混ぜ合わせ、3 週間にわたって飼育した。また、Donor 群マウスに 2Gy の ⁶⁰Co ガンマー線全身照射を行った。4 週間目に Donor 群マウスの骨髄細胞を無菌的に採集し、 5×10^4 /マウスとして、8Gy の ⁶⁰Co ガンマー線全身照射した B)、C) 群マウスの尾静脈より移入した。骨髄細胞移植後 7 日目に全マウスを屠殺し、脾の重量、脾コロニー形成数を実体顕微鏡下で算定した。また、脾臓の病理組織標本を作成し、H.E 染色、鉄染色、抗 CD-45 モノクローナル抗体 (医学生物研究所) で染色した。

〔結果〕脾重量は非照射対照群では、 $5.30 \pm 0.29\text{g}$ (10g 体重当たり) であったのに比べ、照射脾では 0.85 ± 0.19 、AglyMax 投与群では 2.01 ± 0.67 であり、照射群間では AglyMax の脾重量の増加を認めた ($p < 0.01$)。脾コロニー形成数では、照射対照群では 1.6 ± 1.1 個であるのに対し、AglyMax では 18.6 ± 2.7 であり、有意に増加を認めた ($p < 0.001$)。病理組織では、脾内リンパ細胞の大きさ、細胞数とも非照射対照群に比べ明らかに低形成性であり、細胞増殖の活性化は低値を示した。これに反し、赤脾髄では鉄染色に強い陽性反応を示す赤芽球系細胞叢、多核巨細胞及び CD-45 陽性反応を示すリンパ芽球細胞の巣状増殖が見られた。

〔考察〕以上の結果より、イソフラボンアグリコン (AglyMax) が骨髄幹細胞の T 細胞や赤芽球系細胞に対し強い増殖活性を示したことはダイゼインなどのイソフラボンアグリコンのエストロゲン様作用が直接骨髄芽球細胞に働いて増殖活性を示した可能性と同時に新規な増殖因子が働いた可能性も示唆された。

P-2-33 ラットにおける長期間低血糖の末梢神経病変発現に及ぼす影響

○下内孝司・田中雅治・織田信一郎・阿瀬善也 (小野薬品・福井総合研)

〔目的〕インスリンを長期間投与した STZ 誘発糖尿病ラットおよび正常ラットの末梢神経を形態学的に観察し、末梢神経病変の発現に及ぼす血糖値の影響について検討した。

〔方法〕7 週齢の SD 系雄性ラット 20 匹を以下の 4 群に分け 10 カ月間飼育した。すなわち、無処置対照群 (Normal 群)、STZ 50mg/kg の単回投与による STZ 誘発糖尿病群 (DM 群)、STZ 誘発糖尿病動物に 1 日 1 回インスリンを皮下投与し血糖値を維持したインスリン治療群 (治療群)、正常動物に 1 日 1 回インスリンを皮下投与し低血糖状態としたインスリン誘発低血糖群 (低血糖群) である。これらの動物について、実験期間中、経時的に血糖値を測定した。実験終了後、2.5% グルタルアルデヒド液で灌流固定し、腓腹神経を採材して 1% オスミウム酸にて後固定した。その後、一部はときほぐし標本を作製して形態学的に観察し、残りをエポキシ樹脂に包埋後、横断面のトルイジン青染色標本を作製して形態計測を実施した。

〔結果〕実験期間中の血糖値は、DM 群で顕著な高血糖を示し、低血糖群では Normal 群と比較して低血糖状態にあった。また、治療群では糖尿病による高血糖は改善されていた。しかし、個体別に解析すると低血糖群、治療群ともに血糖値の大きな変動を繰り返す個体が多く認められた。形態学的には、DM 群では Normal 群に比較して waller type degeneration (Normal 群:0.9%, DM 群:3.4%) や paranodal demyelination (Normal 群:1.3%, DM 群:5.3%) といった神経線維の変性像が多く観察された。低血糖群 (waller type degeneration:4.7%, paranodal demyelination:6.2%) やインスリン治療群 (waller type degeneration:4.9%, paranodal demyelination:4.8%) においてもこれらの変化は高頻度に認められた。また、形態計測では、DM 群で有髄神経の萎縮 (有髄神経面積, Normal 群: $44.27\mu\text{m}^2$, DM 群: $37.04\mu\text{m}^2$) が認められ、低血糖群では、有髄神経の萎縮 (有髄神経面積: $32.86\mu\text{m}^2$) に加えて軸索の萎縮 (軸索面積, Normal 群: $13.21\mu\text{m}^2$, 低血糖群: $10.01\mu\text{m}^2$) が認められた。

〔まとめ〕以上の結果より、末梢神経病変の発現には、高血糖状態が持続することだけではなく、長期間にわたり低血糖状態が維持されること、さらには血糖値の変動が大きく関与していることが示唆された。

○串田昌彦／吉岡孝文／須方督夫／尾崎圭介／辻良三／小林久美子／宇和川賢／関高樹／奥野泰由
(住友化学・生科研)

【目的】 acrylamide (ACR) および 3,3'-iminodipropionitrile (IDPN) はそれぞれ近位および遠位神経軸索変性を示す神経毒物質として知られている。我々は、神経行動毒性研究会の共同研究として実施したラットの28日間反復投与試験において、ACRによる末梢神経の神経線維変性とプルキンエ細胞壊死、および IDPN による脳幹および脊髄の軸索膨化などを観察した。今回、同組織標本を用いて、両化合物の中脳神経組織への影響を神経細胞および反応性グリアの構成蛋白(neurofilament, microtubule-associate protein(MAP), glial fibrillary acidic protein(GFAP))の免疫組織化学的検索により検討した。

【材料および方法】 5週齢の Crj:CD(SD)雄性ラットを ACR 30 mg/kg, IDPN 100 mg/kg, 対照の3群に分け、28日間反復経口投与した。主群(10%中性緩衝ホルマリン液浸漬固定、各群5例)および衛星群(10%中性緩衝ホルマリン液灌流固定、各群2例)を用いた。組織はパラフィン包埋後、薄切切片を作成し、GFAP、200kDa neurofilament(NF-H)、MAP1b の免疫組織化学的染色を実施し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色あるいは鍍銀染色での変化と比較検討した。検索は前脳3レベル、中脳、橋、延髄、小脳および脊髄(腰髄)で実施した。

【結果】 ACR 投与:HE 染色では小脳のプルキンエ細胞の散発的な壊死が観察されたが、NF-H および MAP1b 免疫組織化学ではプルキンエ細胞の変化は認められず、GFAP 免疫組織反応の増加も観察されなかった。新たな所見として、中脳上丘において軸索膨化を示唆する NF-H 免疫組織反応が観察され、同部位にアストログリアの反応を示す GFAP 免疫組織反応の増強が認められた。IDPN 投与:中脳、橋、延髄および脊髄で NF-H 免疫組織反応を示す軸索膨化が観察され、鍍銀染色による所見とよく一致した。膨化を示す軸索では一部 MAP1b 免疫組織反応の重複も認められた。軸索膨化の認められたいずれの部位においても、明らかな GFAP 免疫組織反応は観察されなかった。

【考察】 アストログリアの反応は、中枢神経系の組織傷害の有用な標識と考えられている。ACR 投与群の小脳プルキンエ細胞壊死に対しては GFAP の免疫組織反応の明かな増強は認められず、この壊死は ACR の反復投与の後期に発現した、比較的新しい変化と考えられた。また、軸索膨化を伴う神経線維の変性については、その発現部位におけるアストログリアの反応性が ACR と IDPN とでは異なっていた。このアストログリアの反応性の違いは、両化合物による神経線維変性の発現機序あるいは標的部位における障害の程度が異なることを示唆するものと考えられた。

○林修次^{1,2}、鈴木智¹、箱井加津男^{1,2}、山口修司¹、入村兼司¹、鰐淵英機²、福島昭治²
(¹大鵬薬品工業・安全研、²大阪市大・医・1病理)

【はじめに】神経毒性試験は1995年 OECD でガイドラインに取り入れられ、近年、国内でもガイドライン化に向けて様々な評価法の検討が進められている。今回、我々はラットに既知の神経細胞体障害物質であるアドリアマイシンを単回投与し作製した末梢神経障害モデルを用いて、自動抽出が可能な病理画像解析システム (IPAP) を利用した末梢神経障害評価法の有用性について検討した。【材料と方法】6週齢の Crj:CD(SD) IGS 雄ラットにアドリアマイシン 0, 8 および 10mg/kg を単回静脈内投与し、経時的に各群5例をエーテル深麻酔下で放血致死させ、脳、脊髄、坐骨神経を採取した。脳、脊髄および坐骨神経については10%緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従ってパラフィンブロック、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本を作製し、病理組織学的検査を実施した。また、坐骨神経の近位部および遠位部について、2.5%グルタルアルデヒドで前固定、1%四酸化オスmiumで後固定後、常法に従ってエポキシ樹脂ブロック、パラフェニレンジアミン染色による厚切り標本を作製し、IPAP を使用して坐骨神経横断面の単位面積当たりの有髄神経数、有髄神経線維の総断面積、軸索の平均断面積、髄鞘に対する軸索の面積比、髄鞘および軸索の周囲長、軸索の半径、髄鞘の厚さ、髄鞘および軸索の円形率を計測した。【結果】HE 染色標本の観察より、アドリアマイシン投与群では脊髄背根神経節における神経細胞の変性・壊死および軸索変性が観察された。IPAP による坐骨神経の横断面における種々の指標の計測より、対照群に比較してアドリアマイシン投与群では単位面積当たりの有髄神経線維数の減少、有髄神経線維の総断面積の減少および軸索の円形率の低下などが観察された。【まとめ】IPAP で計測した種々の指標を対照群と比較することにより、有髄神経を中心とした末梢神経障害の病態を客観的に迅速且つ正確に把握することが可能であると考えられた。

○武藤幸子¹⁾、谷吉朗²⁾、中山裕之¹⁾、土井邦雄¹⁾

(1) 東大・獣医病理、2) 三共・安全性研究所)

Fusarium 属の真菌により産生される T-2 トキシンはリンパ系及び造血器系組織に加え、肝臓にも細胞毒性を示すことが知られている。

我々は、第 16 回本学会において四塩化炭素 (CCl₄) 誘発マウス肝臓壊死巣の発現が、T-2 を 1 日前に投与することにより抑制され、T-2 を 1 日後に投与することにより回復が遅延する事を報告した。今回は、CCl₄ の主要な代謝酵素である CYP2E1 の動態を中心に、T-2 投与に起因するチトクローム P450 の変化について検討したので報告する。

(材料と方法) 5 週齢の ICR 雄マウスに T-2(4,8mg/kg) 及び 20% アルコール(溶媒対照)を経口投与し、投与後 3,6,12,24,36,48 時間後に肝臓を採材して、-80°C で凍結保存後、ミクロゾームを調整し、総 P450 含量の測定及び CYP2E1, CYP3A2 に対するウエスタンブロットを行った。また、HE 染色標本による病理組織学的検討、connexin26,32 及び CYP2E1, CYP3A2 に対する抗体を用いた免疫染色を行った。(結果と考察) 総 P450 含量は全群とも投与 3 時間後にピークを示し、その後減少したが、T-2 投与群では対照群に比べ、投与 3 時間後では増加傾向を示したが、投与 24 時間後には軽度の、また、36 時間後には明らかな減少傾向を示した。HE 染色標本による病理組織学的検討では、投与 3~6 時間後に軽度の肝細胞の腫大が認められた。ウエスタンブロットでは、CYP2E1 の発現量が投与 3 時間後に全群ともにピークを示し、その後減少した。T-2 投与群では対照群に比べ、投与 3 時間後では増加傾向を示したが 24~48 時間後には逆に対照群に比べて減少傾向を示した。又、CYP3A2 の発現量には明らかな差は認められなかった。connexin26,32 及び CYP2E1, CYP3A2 に対する免疫染色では、T-2 投与に起因する明らかな変化は認められなかった。以上の結果から、T-2 投与 24 時間後 (CCl₄ 投与時点) には、CYP2E1 の発現抑制および総 P450 含量の減少が生じている可能性が示唆され、本変化が、T-2 を 1 日前投与することによって CCl₄ 誘発マウス肝臓壊死巣の発現が抑制される機序に関わっているものと考えられた。

○田中宏治、匂坂秀樹、渡辺稔之、水出美里、大橋芳彦、高岡雅哉、真鍋淳(三共・安全研)

【目的】 化学物質の安全性試験において、投与初期に惹起された障害が投与を継続するうちに修復され、反復投与終了後に障害が検出されないことがある。これは、標的器官がその化学物質の毒性に対して何らかの抵抗性を獲得したことを示している。しかし、このような抵抗性獲得メカニズムに関する報告は少ない。本試験では、毒性用量のプロモベンゼン(BB)の投与を継続することにより肝細胞が BB の毒性に対して抵抗性を獲得するかを検討した。

【方法】 実験 1: 雄の F344 ラットに 150 mg/kg の BB を単回腹腔内投与し、24 時間後尾静脈から採血し測定した血清アミノトランスフェラーゼ(AST)値により動物を 2 群(AST が高値[100 U/L 以上]を示した I 群、および変化しなかった II 群)に分けた。さらに BB(150 mg/kg)を 8 日間投与し続け、その間経時的に AST を測定した。また、肝臓を採材し、病理組織学的検査、薬物代謝酵素測定を行った。実験 2: 実験 1 と同様の方法で動物を 2 群に分けた後、さらに BB(150 mg/kg)を 7 日間投与した。8 日目にこれらの動物に倍量の BB(300 mg/kg)を投与し、24 時間後に剖検し、AST の測定、肝臓の病理組織学的検査を実施した。なお、実験 1 および 2 とも、BB の代わりに溶媒のみを投与する対照群を設定した。

【結果および考察】 実験 1: BB の単回投与により初期障害(AST の高値)がみられた I 群に、投与を継続した結果、障害が検出されなくなった。すなわち、I 群では BB に対する抵抗性が獲得されたと考えられた。これらの動物では活性代謝物の生成に関与する P450 の減少や、活性代謝物の解毒に関与する GST の誘導がみられたことから、I 群での BB に対する肝細胞の抵抗性獲得には、BB の代謝解毒に関わる代謝酵素の変化が関与していることが示唆された。実験 2: 実験 1 で代謝酵素が変化し耐性を獲得したと判断された実験条件下に 300 mg/kg の BB を投与したところ、I および II 両群で AST の上昇が明らかに抑制され、両群での抵抗性の獲得が確認された。しかし、その抑制(耐性獲得)の程度は I 群 < II 群であった。一方、代謝酵素活性の変化は両群で同様であり、実験 2 における I 群および II 群における抵抗性獲得の程度の差を代謝酵素の変化の程度のみでは説明できなかった。今回認められた抵抗性獲得には代謝酵素以外の要因も関与している可能性がある。

○佐竹 茂, 杭瀬綾子, 福田綾子, 前田 博, 宮脇宏彰 (新日本科学)

<はじめに>本実験は、ラットにおいてペルオキシゾーム増加を引き起こすことが報告されている Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) をカニクイザルに投与し、カニクイザルの肝臓におけるペルオキシゾーム増加の有無と形態変化を検索する目的で行った。

<材料と方法>中国産の3-7オのカニクイザル雌雄4匹に、DEHPを1000mg/kg/day(雌2例)および2500mg/kg/day(雌雄各1例)の用量で28日間毎日、経鼻カテーテルを用いて胃内に経口投与した。28日間の投与終了翌日に全例を剖検し、肝臓を採取した。肝臓の各葉を常法に従い10%中性緩衝ホルマリン液に固定、H.E.染色標本について鏡検した。また、剖検時に、肝臓の左葉から組織を採取し、2.5%グルタルアルデヒドおよび1%オスミウム酸の二重固定後、常法に従い透過型電子顕微鏡検査を行った。

<結果>病理組織学的検査:4例中3例で肝細胞の好酸性化がみられた。肝細胞の好酸性化は、3例ともに小葉周辺帯でより顕著であった。また、2例では小葉中間帯の肝細胞の空胞化を伴っていた。

電子顕微鏡検査:4例中3例で、肝細胞のミトコンドリアの腫大およびクリステの異常がみられた。即ち、腫大したミトコンドリアの短径は、正常のミトコンドリアの2倍程度であり、管状を示すクリステまたは長軸に沿って層板状に配列するクリステが散見された。4例中2例で、肝細胞のペルオキシゾームの軽微な増加がみられた。4例中3例で肝細胞のグリコーゲン顆粒の減少がみられた。ミトコンドリアに認められた腫大およびクリステの変化は、3例中2例では小葉周辺帯の肝細胞のみに、他の1例では小葉周辺帯および中心帯の両方の肝細胞にみられ、概して小葉周辺帯の肝細胞を中心に認められた。ペルオキシゾームの増加は、1例では小葉周辺帯の肝細胞に、他の1例では小葉中心帯の肝細胞に認められ、小葉内の分布に特に一定の傾向はみられなかった。グリコーゲン顆粒の減少の程度は、3例ともに小葉中心帯と周辺帯の肝細胞の間で差は認められなかった。

<まとめ>電子顕微鏡検査結果から、DEHPの大量経口投与により、カニクイザルの肝細胞において、ミトコンドリアの腫大、クリステの管状変化および層板状配列、ペルオキシゾームの増加、およびグリコーゲン顆粒の減少が誘発されることが確認された。光学顕微鏡によるH.E.染色標本の検査では、小葉周辺帯を中心とした肝細胞の好酸性化がみられた。ペルオキシゾームの増加は軽微または認められない動物もいたため、病理組織学的検査でみられた小葉周辺帯を中心とする肝細胞の好酸性化には、ペルオキシゾームの増加よりむしろ、ミトコンドリアの腫大およびグリコーゲン顆粒の減少が大きく関与していると考えられた。

○田中英樹, 内海博之, 山本敏誠, 池田五子, 高木司郎, 永岡隆晴, 川畑好之康, 花田秀一
(ウェルファイド(株)・安全研)

【目的】各種化合物投与によるラット cytochrome P450 (CYP) の誘導について、RT-PCR 法を用いて mRNA の発現を検出するとともに、この時のラット肝組織の病理形態変化を検索した。

【材料と方法】5週齢の雄 IGS ラット (各群 5 例) に、肝薬物代謝酵素の誘導剤として知られる Phenobarbital (PB) 80mg/kg、Dexamethasone (Dex) 50mg/kg、3-Methylcholanthrene (3-MC) 54mg/kg ならびに溶媒対照 (コーン油) を、各々 3 日間、腹腔内投与した。最終投与の 24 時間後、チオシアネート・フェノール・クロロフォルム法 (ISOGEN, ニッポンジーン) により、肝臓から total RNA を抽出し、各分子種 (CYP1A1、1A2、2B1/2、2C11、2E1、3A1 および 3A2) の mRNA 発現を、定量的 RT-PCR (Competitive RT-PCR Set, TaKaRa) により解析した。肝臓の病理形態変化については、10%中性緩衝ホルマリン固定後、常法によりパラフィン切片を作製し、H.E および免疫染色 (抗 CYP1A1 および 3A1、ケミコン) を行い鏡検した。

【結果と考察】PB 投与群では 3A1 (対照群と比べて 21 倍) および 2B1/2 (8.9 倍) に mRNA の発現増加を認めた。Dex 投与群では 3A1 (13 倍)、2B1/2 (4.7 倍) および 2E1 (2.5 倍) で、3-MC 投与群では 1A1 (128 倍以上) および 1A2 (20 倍) で mRNA の発現増加を認めた。これらの検査結果は、文献で報告されている各種誘導剤投与でのラット肝ミクロソーム蛋白の発現とほぼ同じ傾向を示した。病理形態学的には、PB 投与群で小葉中心性の肝細胞肥大を、Dex および 3-MC 投与群で肝細胞の明細胞化を認めた。免疫組織化学的には、3A1 陽性所見が PB 投与群で中心性に、Dex 投与群で瀰漫性に増強を呈し、1A1 陽性所見は 3-MC 投与群のみで中心性に出現した。これら蛋白レベルの変動と mRNA の発現はほぼ一致する傾向を示した。

○吉田敏則, 武田眞記夫, 真板敬三, 原田孝則, 上野芳夫¹(¹残農研, ¹東京理科大・栃木臨床病理研)

【緒言】 アオコにより産生される MCLR は肝細胞の protein phosphatase 1/2A 活性を阻害することにより急性肝毒性(出血, 壊死, アポトーシス)を引き起こす。一般に急性肝毒性には Kupffer 細胞の活性化(サイトカインの分泌など)が関与するが, MCLR 誘発性肝毒性についてそれを詳細に検索した報告はない。今回, MCLR をマウスに投与し, Kupffer 細胞が分泌するとされる代表的なサイトカインである TNF- α の発現を検索するとともに, Kupffer 細胞阻害剤である gadolinium chloride (GdCl₃) の前投与の影響を検討した。

【方法】 実験 1: マウスに MCLR を ip(60 mg/kg)し, 投与 24 時間以内の数ポイントで屠殺した。肝臓を採取し, パラフィン切片を用いて壊死巣(HE 染色)およびアポトーシス(TUNEL 染色)を観察した。肝臓から抽出した total RNA を用いて real time PCR (ABI PRISM 7700)により TNF- α および GAPDH の mRNA を定量化し, TNF- α :GAPDH mRNA の比を求めた。凍結切片を用いて抗 TNF- α 抗体による免疫染色を行ない, 陽性細胞をカウントした。実験 2: GdCl₃(2 mg/匹)を MCLR 投与 24 時間前に iv した。その後, MCLR (60 μ g/kg) を ip して 24 時間後に剖検した。採取した肝臓のパラフィン切片を用いて壊死巣(HE 染色)およびアポトーシス(TUNEL 染色)を定量化した。

【結果】 実験 1: 投与 7 時間では出血が, その後は壊死・アポトーシスが観察された。TNF- α :GAPDH mRNA 比は投与 7 時間で 1.5 倍, 投与 17 時間で 3.3 倍に増加した。抗 TNF- α 抗体陽性の非実質細胞は投与 7 時間で 2.9 倍, 投与 17 時間で 4.4 倍に増加し, 特に壊死巣で頻繁に観察された。実験 2: GdCl₃ 投与により類洞内の TUNEL 陽性細胞が対照群の約 5 倍に増加し, Kupffer 細胞の阻害が示唆された。GdCl₃ 前投与により壊死巣は MCLR 単独投与群の 1/10 以下に, 肝細胞のアポトーシスは 3/10 程度に減少した。

【考察】 以上の結果, MCLR 投与による肝毒性には Kupffer 細胞の活性化が関与し, Kupffer 細胞(浸潤マクロファージを含む)が分泌する TNF- α が壊死・アポトーシスの発生に一部関連していることが示唆された

○井手美佳, 山手丈至, 中西雅子, 町田優子, 澤本修, 桑村充, 小谷猛夫(大阪府大・獣医病理)

【目的】 肝線維化において, 肝星細胞(HSC)は種々の細胞骨格を発現し, 筋線維芽細胞へ形質転換することにより線維化の進展に深く関与することが示されている。今回肝毒性のあるチオアセトアミド(TAA)投与により誘発した慢性および急性の肝障害ラットモデルにおいて, HSC の細胞骨格の変化を免疫組織化学的に解析した。

【材料と方法】 慢性モデル: 6 週齢 F 344 雄ラット腹腔内に TAA (100 mg/kg B.W.) を週 2 回, 1, 3, 5, 7, 10, 15 週間投与後, 肝を採材した。急性モデル: 6 週齢 F 344 雄ラット腹腔内に TAA(300 mg/kg B.W.) を単回投与後, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 日に肝を採材した。両モデルにおいて各時点で 3 匹を検査し, 同量の生理食塩水を投与したものを対照群とした。免疫組織化学的に, Desmin (D), Vimentin (V), Glial fibrillary acidic protein (GFAP), α -smooth muscle actin (SMA) 発現を観察し, 無作為に選んだ中心静脈周囲の 5 視野について陽性細胞数をカウントした。

【成績】 慢性モデル: 徐々に線維化が進行し, 投与後 7 週以降小結節性の肝硬変像を呈した。D, V, GFAP および SMA 陽性細胞数は投与後 1 週より増数し始め, 3 週でピークとなり, 5 週では低下した。しかし投与後 7 週以降, D および SMA 陽性細胞数は再度増加したが, V と GFAP 陽性細胞数は対照群と同程度まで減少した。急性モデル: D, V および SMA 陽性細胞数は, 投与後 1 日より増加し始め, 肝細胞傷害が最も顕著となる 3 日にピークとなり, その後傷害が回復するにつれて減少した。GFAP 陽性細胞数は投与後 1 日に一過性に増加した。最も高発現した細胞骨格は, 慢性モデルでは D 次いで SMA であり, 急性モデルでは V 次いで D であった。

【まとめ】 線維化過程において HSC は種々の細胞骨格を現し, その発現程度が変化すること, そして発現する細胞骨格は急性と慢性モデルにおいて異なることが示唆された。現在, さらに超微構造について解析を行っている。

○秦 純子, 池田悦子, 伊藤ゆかり, 清木 護, 浅野 哲 (帝人(株)医薬開発研)

【目的】肝細胞増殖因子(HGF)は肝細胞障害時に肝細胞の再生を促す因子として知られており, ヒトの肝線維症では, *In situ* hybridization(ISH)法により, 内皮細胞, クッパー細胞および伊東細胞と考えられる紡錘形細胞に human HGF mRNA の発現が報告されている。そこで, 今回我々は, ジメチルニトロソアミン(DMN)誘発ラット肝線維症モデルの肝臓組織における rat HGF mRNA の局在を *In situ* RT-PCR 法により明らかにし, 病態との関連を検討した。

【方法および結果】6週齢のSD系雄性ラット(10匹)に, DMN(10 μ L/kg)を週3回腹腔内投与し, 肝線維症を誘発させた。尚, 対照群として生理食塩水投与群(5匹)を設けた。DMN投与開始4週後より, 死亡例(5例)が認められ, DMN投与開始5週間後に, 対照群およびDMN投与群の肝臓(各群5匹)を摘出した。摘出した肝臓は Streck® 固定し, 線維化の程度をアザン染色, 免疫染色により検討するとともに, rat HGF mRNA の局在を, *In situ* RT-PCR 法により検討した。その結果, アザン染色標本による線維化領域(青色染色領域)計測では, DMN投与群の線維化領域が対照群の約16倍に増加していた。また, 免疫組織学的検討では, α -SMA, Collagen (I, III, IV)染色陽性細胞がDMN投与群の線維化領域に一致して認められた。同肝臓組織標本による *In situ* RT-PCR による rat HGF mRNA 発現の検討では, 対照群, DMN投与群共に, rat HGF mRNA を発現していると考えられる染色陽性細胞が血管周囲および胆管周囲に認められた。さらに, 点在するクッパー細胞もしくは伊東細胞と考えられる類円形細胞に陽性像が認められた。これに対し, DMN投与群では肝細胞索を取り囲む線維化巣において, 紡錘形に変化した筋線維芽細胞に陽性像が広範囲に認められた。これらの rat HGF mRNA を発現細胞は, アザン染色における線維化領域ならびに免疫染色における α -SMA, Collagen (I, III, IV)染色陽性細胞に一致して認められた。

【結論】*In situ* RT-PCR 法を用いることにより, 正常肝では, 点在するクッパー細胞もしくは伊東細胞と考えられる細胞に HGF mRNA が発現していることが明確となった。また, 肝線維症では, HGF mRNA を発現している細胞が紡錘形に変化し, 筋線維芽細胞と考えられる細胞での発現が顕著に認められた。よって, 伊東細胞が筋線維芽細胞化しても, HGF を発現していることが確認され, 重篤な肝線維症においても肝細胞の再生を促す能力がより発現されることが示唆された。

○林守道¹, 武藤信一¹, 窪田典¹, 長澤達也¹, 北村毅¹, 黒田淳二¹, 柴田信男¹, 松本清司² (¹キッセイ薬品・安全研, ²信州大・医・動物実験施設)

【目的】我々は好酸球増多症を自然発症する mes ラットが胃腸炎, 腸間膜リンパ節炎, 大動脈炎および肝線維症を併発することを報告した(第47回実験動物学会)。今回, mes ラットにみられた肝線維症の発現機序を検討したので報告する。

【方法】8, 14 および 25 週齢の雌雄各 4~6 例について, HE 染色標本による病理組織学的検索を行った。肝臓については, 抗 α -smooth muscle actin 抗体(SMA)による免疫組織化学的染色および電子顕微鏡的検査も実施した。また, 屠殺時に腹大動脈より採血し, 血液学的および血液生化学的検査を行った。

【結果】肝臓では, 14 週齢の雌 2/5 例および 25 週齢の雌 3/4 例において中心静脈周囲に軽度な線維の増生がみられ, 14 および 25 週齢の各 1 例は各々の中心静脈をつなぐ偽小葉を形成していた。しかし, 中心静脈周囲に肝細胞の変性・壊死および好酸球浸潤は認められず, 生化学パラメータ(AST, ALT, ALP, LDH)にも変動はみられなかった。免疫組織化学的染色では, 雌雄ともに中心静脈周囲の SMA 陽性細胞が週齢に伴い増加する傾向を示し, 特に雌における陽性細胞は 8 週齢時から大きく不整なものが目立った。電顕的には, この SMA 陽性細胞は筋線維芽細胞と考えられた。その他, 8 週齢時より胃腸炎, 腸間膜リンパ節炎および大動脈炎が観察され, 特に雌でより強く認められる傾向にあった。

【まとめ】mes ラットに認められた肝線維症は, その病理組織学的特徴から, ヒトの好酸球増多症でみられる胆汁性肝硬変と異なり, 慢性的なうっ血により緩徐に中心静脈周囲の線維が増生したものと推察された。また, その発現に関与する筋線維芽細胞は, 光顕的に線維の増生がみられるよりもかなり早期から増加していた。肝線維症の発現と肝臓以外の病変との関連性ならびに肝線維症を含む病変のすべてが雌で強く観察されたことについては現在検討中である。

○伊藤今日子¹, 山田喜春¹, 石田勝彦¹, 竹内文乃¹, 藤本隆平¹, 二井愛介¹, 岡宮英明¹, 土井邦雄²

(¹山之内製薬・安全研, ²東大・獣医病理)

【目的】ニトロフラゾン(NF)は古くから抗生物質として使用され、その精巢毒性がよく知られているが、その他の臓器に対する作用はほとんど調べられていない。今回、NFのラット肝臓に及ぼす影響を検討した。

【方法】雄の10~11週齢F344ラットにNFを20~80 mg/kgの用量で単回あるいは1日1回最長7日間反復経口投与し、最終投与の24時間後に解剖して肝臓の病理組織学的検査を行った。解剖の1時間前にBrdUを50 mg/kgの用量で腹腔内投与、抗BrdU免疫染色を行い肝細胞約3000~4000個あたりのBrdU陽性率を求めた。またNFを1, 2あるいは3回投与後24時間採血し、血漿生化学検査を行うとともに、単回投与の血漿中未変化体濃度を測定した。

【結果】いずれの投与期間でも組織学的にNFによる肝障害は認められず、生化学検査を行った3回までの投与後も肝酵素の上昇はみられなかった。しかし、肝細胞のBrdU陽性率および有糸分裂像の増加が認められ、この作用には用量依存性がみられた。単回投与の場合、BrdU陽性率は投与後24時間に上昇し、その後減少に転じ3日後には対照群と同程度であった。一方、反復投与した際は2回投与後24時間に最高値を示し、その後は投与継続に関わらず減少し、5回投与以降は対照群と同程度であった。肝重量は単回あるいは複数回投与後軽度増加し、3回投与以降は一定であった。なお、血漿中薬物濃度のピークは投与後1時間であった。

【まとめ】肝細胞はNFにより障害を受けることなく、投与後比較的速やかに増殖し、更にその増殖は投与を継続してもある時点で停止した。NFによる肝細胞増殖は、肝切除や肝細胞壊死後にみられる代償性の細胞増殖とは異なる、直接的な増殖作用である可能性が示唆された。

○藤井悦子、三沢保幸、森敏男^{*}、唐澤弥生、鈴木雅実、杉本哲朗
(中外製薬・安全研、^{*}CSKリサーチパーク)

ラットの肝臓では通常2核以上の肝細胞が一定の割合で存在する。この割合は部分肝切除や肝障害物質の曝露により変動することが知られており、各核数の肝細胞の割合を把握することは肝毒性を評価する上で有用な情報と考えられる。しかし、通常の薄切標本では肝細胞当たりの正確な核数を把握することが不可能である。そこで今回、サイトスピン標本を用い、細胞当たりの核数評価とBrdU標識を組み合わせた解析を試みるとともに、背景データ採取のために正常動物の細胞動態を観察した。

Slc:SD雌ラット(投与開始時6週齢、n=7)の腹腔内にBrdUを充填したミニ浸透圧ポンプ(Alzet2002型)を埋め込み、BrdUを0.12mg/時間にて4週間連続標識した。剖検時に肝臓を摘出し、外側左葉のコラゲナーゼ灌流により肝細胞を分離した後、サイトスピン標本を作製し、カルノア液にて固定した。内側葉は10%中性緩衝ホルマリン液にて24時間固定し、パラフィン包埋後薄切標本を作製した。それぞれの標本にマウス抗BrdUモノクローナル抗体(Amersham社)を用いた免疫組織化学的染色を施した。

サイトスピン標本では個々の肝細胞が分離しており、細胞当たりの核数が明瞭かつ容易に観察された。同標本上では1核細胞が56.7±3.0%、2核細胞が43.2±2.9%と、1および2核細胞が主要構成細胞であり、3核以上の細胞は0.1±0.2%と極めて少数であった。BrdU標識率では1核細胞の47.1±9.7%が陽性を示した。2核細胞のBrdU標識態度は2核陽性細胞(WP)、2核陰性細胞(WN)、陽性核と陰性核とが混在する細胞(PN)の3パターンが認められ、その割合はWPが20.5±4.1%、WNが79.4±3.9%であり、PNは0.1±0.2%と極めて少数であった。なお、サイトスピン標本と薄切標本とでBrdU標識率を比較したところ、サイトスピン標本29.8±5.0%、薄切標本29.7±6.8%と、両標本間で標識率は良く一致していた。

以上、サイトスピン標本を用いた解析は肝細胞当たりの核数を正確に観察でき、またBrdUを用いた評価への応用が可能であることから、細胞動態的側面からの肝毒性評価に有用な手法と考えられた。なお、2核細胞の成り立ちについては核のみが分裂し、細胞質が分裂しないとする説(分裂説)と、2つの細胞が融合するとする説(融合説)が提唱されている。今回の検索では2核細胞の大多数が2核陽性あるいは2核陰性で、陽性・陰性核が混在するものは極めて少ないことから、正常動物の2核細胞は分裂説に基づいて形成されるものと推察された。

畝山智香子¹、渋谷淳¹、中川恵子¹、武吉正博²、榎富直哉¹、仁保直子¹、高橋則行¹、小林恒雄¹、岡崎修三³、一鬼勉⁴、広瀬雅雄¹ (1国立衛研・病理、2化評研、3(株)ポゾリサーチセンター、4(株)パナファーム・ラボラトリーズ)

【目的】内分泌かく乱化学物質(EDCs)のin vivoスクリーニング試験に応用可能な新規パラメータを導入する目的で、Enhanced OECD TG407ガイドラインに基づいて4-nonylphenol(4-NP)およびmethoxychlor(MXC)のラット28日間反復経口投与毒性試験を行い、雄特異的に発現する蛋白質 α 2u-globulinの肝・腎における発現を検索した。【方法】7週齢のCrj:CD(SD)IGS雌雄ラットに、4-NP 0、10、50、250 mg/kg、MXC 0、20、100、500 mg/kgを28日間反復強制経口投与した。雄は28回投与の翌日に剖検、雌は28回投与の翌日から4日の間で発情休止期に相当する日に剖検を行い、各群5匹の肝及び腎皮質の一部を採取し液体窒素で急速に凍結し後破碎し、蛋白質はTCA沈殿後SDS bufferで可溶化してWestern blottingによる検出を行い、RNAはRNA-STATによりtotal RNAを抽出してNorthern blottingにより解析した。 α 2u-globulinは雄特異的に発現する蛋白質とされるが、今回雌の腎臓でもわずかながら検出されたことから、解析の対象に雌の腎臓を加えた。【結果】4-NP投与では雄肝及び雌雄腎の蛋白質発現量、雄肝mRNA発現量に投与に依存した変化は認められなかった。MXC投与では雄の腎及び肝蛋白質量、雄肝mRNA量に投与に依存した減少が認められ、肝では蛋白質量、mRNA量ともに中用量から強い抑制を認め、腎蛋白質量の抑制は高用量群で有意であった。また雌腎蛋白質量には変化はなかった。【考察】MXCには雄の α 2u-globulin発現を非常に強く抑制する作用が認められたが、4-NPでは全く α 2u-globulinの変動は見られなかった。MXCによる発現抑制作用は去勢による抑制効果と同等であり、本試験の他のパラメータでのホルモン影響を示唆する作用の強度と一致しないため、MXCのエストロゲン作用による抑制効果とは断定できなかった。4-NPでの発現抑制作用が見られなかったことを併せて考慮すると、 α 2u-globulinの肝発現量及び肝・腎蛋白質量はEDCsによるエストロゲン作用のスクリーニングパラメータとして用いるにはさらに検討が必要である。

○仲辻俊二¹、佐野孝一¹、坪田健次郎¹、中野恵子²、仲里祥子²、富田雅之²、大石裕司¹、清水不二雄³(¹藤沢薬品・安全研、²薬理研、³新潟大・医・腎研究) Shunji NAKATSUJI¹, Koichi SANO¹, Kenjiro TSUBOTA¹, Keiko NAKANO², Shoko NAKAZATO², Masayuki TOMITA², Yuji OISHI¹, Fujio SHIMIZU³ (¹Toxicol.Res.Lab.,²Med.Biol.Res.Lab.,Fujisawa Pharmaceutical Co.Ltd.,³Inst.Nephrol.,Niigata Univ. Sch.Med.)

【目的】近年、片腎摘出後のラットに抗 Thy-1 抗体を単回投与すると不可逆性の糸球体硬化病変に陥ることが報告されておりヒトの慢性糸球体腎炎のモデルとして用いられている。本モデルでは持続的な蛋白尿を伴う進行性腎障害が惹起されるがその進展機構の詳細は不明である。今回、我々は本モデルの病変形成における糸球体上皮細胞の関与について検討した。【方法】8週齢の雌性 Wistar 系ラットの片腎摘出後に抗 Thy-1 抗体(OX-7, 1 mg/kg)を1回静脈内投与して、抗体投与後1日、1, 2, 4, 6 および 8 週目にそれぞれ尿および血液採取後に屠殺した。蛋白尿、BUN およびクレアチニンを測定し、腎臓は常法に従ってパラフィン切片を作製しHE および PAS 染色に加え、desmin, α -smooth muscle actin, vimentin の免疫組織化学的検索を行い、糸球体構成細胞の細胞骨格の変化について観察した。また、一部の腎では電顕観察を実施した。片腎摘出のみを行った対照群のほか、糸球体上皮細胞障害を示す puromycin aminonucleoside(PAN)腎症(150 mg/kg、腹腔内投与)についても同様に検査した。【結果】片腎摘出抗 Thy-1 腎炎では、蛋白尿は抗体投与後1日で上昇し1週目でピークに達した後減少したが4週以降再び上昇し高値を示した。組織学的にはメサンギウム融解に続いて1週目で著明なメサンギウム細胞の増殖がみられ、その後メサンギウム細胞は減少したが8週目では基質蓄積が明らかとなり糸球体硬化と尿細管間質病変が観察された。糸球体上皮細胞での desmin の発現は2週目より明らかになり、4週目で強く発現し8週目まで持続した。 α -smooth muscle actin は1週目に増殖したメサンギウム細胞で強くみられ4週以降はしだいに減少したが、vimentin は観察期間を通じて発現程度に差はなかった。電顕では抗体投与2週目より糸球体上皮細胞の足突起の癒合や2次ライソゾームなどが認められた。一方、PAN 腎症では投与後1週目で高度の蛋白尿がみられ、この時期に一致して糸球体上皮細胞障害および desmin の発現がピークを示した。【まとめ】片腎摘出抗 Thy-1 腎炎モデルではメサンギウム障害に引き続いて惹起される糸球体上皮細胞の障害が病変進行に関係していることが示唆された。また、糸球体での desmin の発現は蛋白尿と同様に糸球体上皮細胞障害の感度のよい指標となることが確認された。

P-2-48 オキシニン酸によるラット尿酸腎症への尿アルカリ化剤 (CG-120) の影響

○原敦子、江幡幸子、入谷勝義、菌部弘聡、桧山昭夫、小林正、篠原基輝、木幡信彦
(日本ケミファ(株)・研究所)

プリン代謝の終産物は、ウリカーゼをもたないヒトを含む一部の霊長類では尿酸であるが、ウリカーゼをもつ他種では水溶性のアラントインである。ウリカーゼノックアウトマウスは高尿酸血症により4週齢までに半数以上が死亡する(1994年)。また、ラットにウリカーゼ阻害剤；オキシニン酸と尿酸を投与して作製する腎症は1960年代から報告されている。本モデルは尿細管に尿酸が析出して尿路が閉塞して発症する腎障害である。本腎症に対する尿アルカリ化剤(以下CG-120, クエン酸Na:クエン酸K:クエン酸 = 2:2:1)の影響を検討した。

【方法】Wistar系雄ラット(6週齢)に2%オキシニン酸および3%尿酸を3週間混餌投与した群と、さらに負荷1週目よりCG-120を飲水投与して比較検討した。体重、摂餌量、摂水量の測定、尿(尿量、pH、尿酸)、血液(クレアチニン、尿酸、クエン酸)検査、腎組織中尿酸量測定、剖検、病理組織学的検査を実施した。

【結果および考察】オキシニン酸および尿酸の負荷により体重増加抑制、摂水量および尿量の増加がみられ、腎組織中尿酸量は1週目をピークに減少した。また、血中尿酸値は無処置群の7倍以上の高値で推移した。腎断面は黄白色の尿酸が髄質内帯から髄質外帯にわたり放射状に蓄積した。尿細管内に析出した尿酸により上皮は変性脱落し、尿細管は拡張し、炎症細胞浸潤および間質のtophi(痛風結節)形成がみられた。経時的に傷害部位は線維組織と肉芽組織に替わった。一方、CG-120投与群では前述と同様の尿酸による傷害性変化は認められるものの、負荷処置群に比べ尿pHが上昇し、髄質内帯の尿酸蓄積が減少し、腎組織中尿酸量は減少した。これらの結果よりCG-120は尿アルカリ化により尿細管内の尿酸溶解度を高めて尿酸析出および沈着を妨げることが示唆された。

P-2-49 ゲンタマイシン誘発腎毒性に対する七物降下湯の抑制効果

○今沢孝喜¹、小野寺博志¹、小野景義²、樋口行人³、池田尚子⁴、西川秋佳¹、佐竹元吉²、広瀬雅雄¹
(国立医衛研・¹病理、²生薬、³東亜大、⁴昭和女子大)

【はじめに】七物降下湯(七物)は四物湯をベースに考案された生薬で血圧の降下安定を目的に使用されている。慢性高血圧患者や腎炎あるいは腎硬化症に起因する高血圧を下降、安定させ、腎臓の機能を回復し、蛋白尿を抑えるなどの効果があるとされている。しかし、これまで病理形態学的に実験を行った報告はほとんどない。そこで、ゲンタマイシン(GM)をラットに投与し、GMによる腎毒性に対する七物の効果を検討した。【実験材料および方法】動物は雄ウイスターラット50匹を4群に配した。第1群は10週齢よりGM(30mg/kg)を腹腔内に7日間連続投与した。第2群はGM投与5週間前より2%に溶解した七物を、GM投与期間も含め実験終了時まで飲料水として自由摂取させた。第3群はGM最終投与直後から2%七物を実験終了時まで自由摂取させた。第4群は無処置対照群とした。動物はGM最終投与の翌日に第3群を除いた各群で5匹、さらにGM最終投与から8週目に、各群5~10匹屠殺・解剖した。腎臓を中性緩衝ホルマリンで固定後、常法に従い、病理組織標本作製した。また、一部の腎皮質についてグルタルアルデヒドで固定後、常法に従い、電顕標本作製した。【結果】GM最終投与直後の第1および第2群で光顕的に近位尿細管上皮細胞の強い壊死や尿細管の拡張および糸球体の腫大が認められた。電顕的には近位尿細管上皮細胞のライソゾーム内にミエリン小体が多数存在し、刷子縁の配列の乱れや脱落がみられ、糸球体では足突起の融合が観察された。これらの変化は第1と第2群の間で差がなかった。GM最終投与8週目では光顕的に全群で顕著な変化は認められなかった。しかし、電顕的には第1群の近位尿細管上皮細胞のライソゾーム内にミエリン小体がわずかに存在し、刷子縁の配列の乱れや糸球体の足突起の融合およびメサングウム基質の増加が観察された。第2群には顕著な変化はほとんどみられなかった。第3群は尿細管の変化はほとんどみられなかったが、糸球体で足突起の融合や内皮細胞のarcade formationが観察された。【結論】GM投与直後では七物は腎毒性に対し効果を示さなかったが、8週間の回復期間において、毒性の回復を促進する効果が認められ、特に七物をGM投与前から与えることにより効果が大きくなることが判明した。

P-2-50 ラットのシスプラチン誘発腎障害に対するタウリンの軽減効果

○佐藤 伸 (函館短大・食物栄養)、蔵崎正明 (北大院・地球環境科学・環境情報医学)、
斎藤 健 (北大院・医・環境医学)、細川敏幸 (北大・高等教育)、山手丈至 (大阪府大獣医病理)

【はじめに】抗癌剤であるシスプラチン(CDDP)は、副作用として腎障害を惹起することが知られている。一方、タウリンは、抗酸化作用をもつアミノ酸であり、その投与により糖尿病性腎障害や動脈硬化症の病変を軽減することが報告されている。しかし、抗癌剤誘発腎障害に対するタウリンの効果に関する知見は少ない。そこで、本研究では、シスプラチン誘発腎障害ラットに対してタウリンを与え、形成される腎間質線維化及び浸潤マクロファージに及ぼすタウリンの影響を検討した。

【方法】F344/DuCrj 雄ラット(6週齢)に、5週間にわたり生理食塩水あるいはCDDPを1週間に1回腹腔内投与した。この間、1%タウリン水溶液あるいは水道水を飲水として与えた。すなわち、A群(対照群):生理食塩水+水道水、B群:CDDP(3mg/kg)+水道水、C群:CDDP(3mg/kg)+1%タウリン水溶液、を設定した。なお、1%タウリン水溶液はCDDP投与開始時から屠殺時まで与えた。CDDPの最終投与後2、4及び6週に、各群3ないし4例を検査した。得られた血漿中のBUN及びクレアチニンを測定した。腎は10%中性緩衝ホルマリンで固定し、HE染色の他に、アザン染色を施し線維化率を求めた。また、ED1(ラット浸潤マクロファージ)に対する免疫染色を施した。

【結果及び考察】BUN及びクレアチニン値は、CDDP投与群(B、C群)ではいずれの検査週においても対照群(A群)に比べて増加したが、タウリンを与えたC群のこれら検査値は与えないB群に比べて減少する傾向があった。組織学的に、CDDPを投与したB及びC群で腎間質線維化が形成されたが、C群の線維化率は、いずれの検査週においてもB群のそれに比べて有意に減少していた。また、B群に比べ、ED1陽性浸潤マクロファージ数もC群で有意に減少していた。以上の結果から、タウリンは、CDDP誘発腎障害時の浸潤マクロファージ数と線維化の程度を減少させることが示された。タウリンは腎障害を軽減する効果があることが示唆された。

P-2-51 雌性 B6C3F1 マウスの自然発生骨線維化病変 fibro-osseous lesion — 卵巣摘出マウスとの比較

○飯田晶敏、笹山尚充、村松浩二、佐藤紀子、河田昭彦、内山長久(日本エスエルシー株)

雌性 B6C3F1 マウスに自然発生の骨線維化病変 fibro-osseous lesion(FOL)が高率に発生することはよく知られている。本症例では卵巣嚢胞と子宮内膜増生が合併することから、骨病変の発生にエストロジェンを含む性ホルモンの関与が推測されている。本研究では、長期飼育した B6C3F1 マウス(非卵摘)における FOL の発生状況を調べ、同時に卵巣摘出(卵摘)マウスを用いて、FOL に対する卵摘の影響を検討した。

【材料と方法】非卵摘動物は10—82週齢の間で、卵摘動物(10週齢で卵摘)は12—46週齢の間で経時的に安楽死せしめ、胸骨、大腿骨、脛骨、卵巣および子宮を採取し病理組織学的に検査した。子宮は重量を測定した。また、非卵摘動物の赤血球数、白血球数および血中アルカリフォスファターゼを測定した。

【結果】組織学的に、FOLは胸骨では骨幹端部・骨端軟骨に隣接した領域に、また、脛骨および大腿骨では骨幹端部に限局してみられた。骨病変は骨吸収巣と増殖性の線維性結合組織より成り、進展した例では類骨の形成がみられた。本病変は非卵摘動物では46週齢で9例中7例、56週齢で20例中10例、82週齢で78例中67例にみられた。一方、卵摘動物では46週齢で15例中4例にみられた。FOLは卵摘、非卵摘動物とも32週齢以前ではみられなかった。

子宮では、非卵摘動物に子宮内膜増生が23週齢より出現し、重量の増加を示した。一方、卵摘動物では子宮内膜増生はみられず、萎縮性変化がみられた。非卵摘動物の卵巣では、46週齢以上で萎縮性変化がみられ、82週齢では卵巣嚢胞が12例にみられた。

赤血球数、白血球数および血中アルカリフォスファターゼについては、非卵摘動物のFOLと非FOL例間に差異はみられなかった。

【結論】非卵摘動物のFOLは46週齢よりみられ、加齢とともに高い発生率を示したが、卵摘動物では低い発生率を示した。また、非卵摘動物では子宮内膜増生が骨病変に先行して23週齢より出現し、56週齢以上では非FOL例を含む全例にみられた。

○岩坂俊基^{1,2}、梅村しのぶ¹、美谷島克宏²、正田俊之²、高橋明美²、柿本恒知^{1,2}、小泉治子²、宮川義史²、長村義之¹ (1 東海大・医・病態診断系病理、² 日本たばこ・安全研)

緒言： ラット乳腺腫瘍の一つである fibroadenoma は下垂体腫瘍(プロラクチン(PRL)産生腫瘍)との関連が深いことが報告されている。今回我々は fibroadenoma を認めたラットを用い、その組織像と血中ホルモン値(エストラジオール; E2, PRL, プロゲステロン; P)との関連および乳腺の腫瘍部及び非腫瘍部における PRL-R mRNAs(long, short form)の発現を検討した。

材料及び方法： 動物は乳腺の fibroadenoma を認めた 100 週齢の Wistar (Slc: Wistar; SPF)系雌リタイヤラットを 10 例用いた。全例について血中ホルモン(E2, PRL, P)を測定すると共に、腫瘍部および非腫瘍部の乳腺を採取し、形態学的検索を実施した。さらに RNA を抽出し、PRL-R(long, short form)の mRNA の発現を RT-PCR 法で検索した。

結果： [血中ホルモン値] E2: 全ての例で検出限界以下(10 pg/mL)の値であった。PRL: 全ての例で高値(66.5-1026.0 ng/mL)を示し、授乳期の値(200-400 ng/mL)を越える例も多く認められた。P: 3.1-110.0 ng/mL と大きな変動を示した。[血中ホルモン値と fibroadenoma] PRL 濃度が高いもの(155.0-1026.0 ng/mL)は、腺房が比較的発達し乳汁分泌は盛んで管腔に蛋白様物の貯留を認めた。一方、PRL 濃度がやや低い値(66.5, 80.0 ng/mL)を示す 2 例では、線維成分の方が優位で上皮成分の乏しい duct よりなっていた。[腫瘍および非腫瘍部乳腺における PRL-R mRNAs] 全ての乳腺腫瘍部での PRL-R mRNAs の発現は long form のみが優位であった。非腫瘍部では、short form も long form と共に認められた。

まとめ： 血中 PRL 濃度と fibroadenoma の上皮成分の発達に正の相関がある可能性が考えられた。また、非腫瘍部で long, short form 両者の発現が認められた PRL-R mRNA は、腫瘍部では long form のみ優位に発現を示し、腫瘍部乳腺における発現形質が非腫瘍部乳腺と異なる可能性を示唆した。

○中島信明、桑原真紀、真板敬三、原田孝則 (残農研)

【はじめに】 F344ラットの耳介に自然発生する無色素性黒色腫は、組織像が神経鞘腫に類似し、腫瘍細胞の細胞質内にメラノソームを持つという特徴を有する。しかし、本腫瘍はメラノソーム保有神経鞘腫であるという可能性も残されており、また、その悪性度についても明らかではない。我々は、これらの不明部分を探るために、本腫瘍の同系ラットでの継代移植試験を実施したので報告する。

【材料と方法】 継代移植の親腫瘍として、異なる老齢F344ラットに発生した3つの耳介腫瘍(腫瘍A, B, C)を用いた。継代移植時には、1世代前の移植ラット1匹に定着成長した腫瘍から組織を採取して組織培養液中で細切し、次の世代で用いるF344ラット(1~10匹)の皮下ないし腹腔内に注射筒で注入した。移植を受けるラットの性や週齢は定めなかった。最終的に、腫瘍AおよびBは第18代、腫瘍Cは第12代まで継代した。各継代ラットの剖検時に、成長した腫瘍組織を採取して組織学的に検査した。

【結果・考察】 3系統の継代腫瘍において、移植組織はほぼ100%定着した。継代数が少ない時期には、移植片が大きく成長するまでに長期間かかり、成長後の腫瘍は硬く実質性であったが、肺への転移が比較的高い頻度で観察された。しかし、継代が進むと、移植後短期間のうちに腫瘍が軟弱な壊死組織で満たされるという性質を示すようになり、転移はほとんど認められなくなった。組織像は、継代が進むにつれて、親腫瘍の①細胞密度の疎な神経鞘腫様構造から、②紡錘形細胞の密な配列、③淡明類円形中型細胞のシート状配列、④類円形小型細胞の密なシート状配列、⑤細胞境界が比較的明瞭で多形性を示す類円形小型細胞の密なシート状配列へと変化して行った。②③④は混在して認められることもあった。これらの像は、変異によって生じたより悪性度が高く成長の早い細胞が、悪性度の低い細胞を淘汰して行く過程を示していた。本腫瘍は転移を示すことから本質的に悪性であると考えられた。継代が進行すると腫瘍細胞は円形化を示すため、黒色腫という診断は妥当であるかもしれない。

○山口裕子、堀口浩資、玉井幸子、安藤利恵、笠原健一郎、佐藤順子、星谷 達、岡庭 梓
(株式会社 ポゾリサーチセンター)

近年、実験動物としてのサルの需要が高まると共に、サルの背景病変の整理が急がれている。特に腫瘍性病変の報告は少ない。腎腫瘍に関する報告は、人以外の霊長類では報告が非常に少なく、その殆どが10歳を越えたサルである。今回我々は、無処置で飼育していた5歳、雌カクイサルの両側腎に多発性腫瘍を認めたので報告する。本例は、中華人民共和国からの輸入時にすでに妊娠しており、当研究所で約1ヶ月の飼育期間後無事出産し、さらに剖検まで約11ヶ月を経過した個体である。臨床的には、剖検1ヶ月前に白血球の上昇($193 \times 10^3/\mu\text{L}$)を認めた以外には、一般状態、体重及び他の検査値に特記すべき変化はなかった。

(肉眼的所見)

左右腎臓は軽度～中等度に腫大(右:16.4g、左:56.0g)し、大小様々な嚢胞(1~40mm大)及び灰白色実質性結節(8~20mm大)が散見された。右腎臓は、軽度に腫大していたものの、1mm大の嚢胞が数個認められるだけであった。その他、肝臓の腫大及び表面粗造化、脾臓の腫大、心臓の心尖部に白色斑が認められた。なお、腹水の貯留や付属リンパ節の腫大はみられなかった。

(組織学所見)

腫瘍は皮質及び髄質外帯に位置し、正常組織との境界は明瞭であり、一部ではよく発達した線維性被膜で囲まれていた。腫瘍細胞は、正常尿細管上皮細胞より大きい立方～円柱状で、胞体は淡明又は好酸性を呈していた。淡明な胞体内には多くの大型空胞が出現し、その空胞内に時折好酸性の顆粒が認められた。また、腫瘍細胞の核は、円型～楕円型で、クロマチンに乏しく核小体は明瞭であった。核異型は、大型の空胞を有する淡明な腫瘍細胞により強くみられ、殆どは腺管状増殖を示していた。また、多数の腫瘍塊の殆どはこの淡明な腫瘍細胞でしめられていたが、大型の腫瘍塊では好酸性の腫瘍細胞も混在し、腺管状増殖以外に乳頭状、嚢胞状増殖が混在してみられた。また、出血、壊死及び核分裂像は殆ど認められず、間質成分及び血管新生は乏しかった。

今回の検索では血管浸襲及び付属リンパ節や他臓器に転移がないことから、両側性の発生と考えられた。

○杉本加代子、渋谷一元、唐沢 茂、水谷 誠、平井卓哉、布谷鉄夫(日生研)

ミニラット(Nts:Mini rat)はWistar系ラットにラット成長ホルモン遺伝子に対するantisense DNAを導入して作出したトランスジェニック動物であり、従来のWistar系ラットに比べ体格が小さく、体重が1/2から2/3程度に抑えられる。我々は、ミニラットの腎尿細管に異型巨大核を伴う肥大した細胞(karyocytomegaly、以下KCM)が自然発生することを見いだした。そこで今回、ミニラットの尿細管上皮細胞におけるKCMの発生時期、発生頻度および細胞増殖活性等について検索したのでその概要を報告する。

【材料と方法】5、10、20および55週齢のミニラット雌雄それぞれ7~19匹ならびに同週齢のWistarラット(Jcl:Wistar)雌雄それぞれ5~7匹を剖検後、腎臓のHE、PAS、シュモールおよびベルリンブルー染色標本を作製し組織学的に検索するとともに、PCNA免疫染色を行い、近位尿細管上皮細胞のPCNA陽性率を求めた。

【成績】腎尿細管のKCMは5および10週齢のミニラットおよび全てのWistarラットには認められなかった。KCMは皮質から髄質外帯外層の近位尿細管上皮細胞に発生していた。20週齢時では、KCMは正常核の2~6倍程度に肥大した核を示し散在性に出現していた。55週齢時では、KCMは正常核の10倍程に達する異型性を伴う核を示し出現の程度が増加していた。KCMの細胞質も正常な近位尿細管上皮細胞に比べ肥大していた。KCMの発生頻度は、20週齢時で雄が100%(6/6)、雌が50%(3/6)であり、55週齢時には雌雄とも100%(雄19/19、雌11/11)であった。5、10および20週齢時の正常近位尿細管上皮細胞におけるPCNA陽性率は、それぞれミニラットの雄が31.3、19.7および12.0%、雌が29.4、13.7および13.2%、Wistarラットの雄が16.7、9.3および6.0%、雌が13.2、10.9および3.9%であり、いずれの週齢においてもミニラットの陽性率がWistarラットに比較して高値を示した。20および55週齢時のミニラットにおけるKCMのPCNA陽性率は、それぞれ雄が54.4および59.0%、雌が50.8および50.5%であり、正常近位尿細管上皮細胞核のPCNA陽性率に比べ明らかに高値を示した。

【まとめ】ミニラットの近位尿細管に発生するKCMは、加齢に伴い発生頻度ならびに程度が増加したことからこのラットに特有の加齢性病変のひとつと考えられ、その病理発生には近位尿細管における細胞の増殖活性の亢進が関与するものと推察された。今後、細胞周期の調節に関わる因子について検討する予定である。

〇土居卓也, 倉田祥正, 河裾健志, 勝目 修, 土谷 稔 (三菱化学安科研)

マーモセツトの筋肉組織についての情報は少ない。今回、我々は健康なマーモセツトの筋肉組織について検査を行ったところ、主として大腿二頭筋に筋肉病変が認められた。同時に行った組織化学的検査の結果もあわせて報告する。

過去に試験で使用されたのち1年以上無処置で飼育されていた56~93カ月齢の9例(雄2例, 雌7例)のコモンマーモセツト(μJHfjI' ^UWwi g)を用いた。いずれも臨床症状は認められず栄養状態は良好であった。麻酔下で安楽死させたのち剖検を行い、舌、横隔膜、大腿二頭筋および排腹筋を採材、液体窒素で凍結、保存した。クリオスタットを用いて薄切し、HE染色標本を作製した。大腿二頭筋および排腹筋については2000本の筋線維をカウントし、異常筋線維(中心核を有する筋線維, 小径化した筋線維)の割合を算出した。組織化学的検査として、大腿二頭筋についてゴモリのトリクローム、NADH TR、PAS反応を施し鏡検した。

剖検では、いずれの筋肉にも変化は認められなかった。組織検査において、個体により程度の差はあるものの、雌全例の大腿二頭筋に中心核を有する筋線維および小径化した筋線維が目立って出現していた。炎症性細胞浸潤や結合組織の増生はみられなかった。筋線維をカウントした結果、これらの例では異常筋線維が4~18% (一般に正常状態では3%以下といわれている)を占めていた。雌3例では排腹筋においても同様の変化がみられたが異常筋線維の占める割合はいずれも同一個体の大腿二頭筋と比較して低かった。舌および横隔膜では異常筋線維がわずかにみられるにすぎなかった。組織化学的に、大腿二頭筋ではNADH TRに対し部分的に低活性を示す「虫食い像」がみられる筋線維が認められた。この所見は雌全例の他、HE染色では異常筋線維が3%以下であった雄1例にもみられた。

臨床的に異常が見られないマーモセツトにおいても軽度の筋肉病変が認められた。この変化の意義などについては今後の検討が必要と思われる。

〇角将一、船橋英行、内田和美、岩田 展、永田百合子、安藤 稔、尾上正治、諸富正己
(ヤクルト中研)

[はじめに] 潰瘍性大腸炎(UC)は炎症性腸疾患(IBD)の一つに分類され、罹病期間の延長と共に大腸癌の合併が指摘されている。UCに伴う大腸癌では癌抑制遺伝子p53の異常や変異p53蛋白の過剰発現が高率に出現することが報告されている。我々は、IBDモデル動物の一つであるTcrb1マウスに、p53遺伝子を欠損したTr;33Γマウスを交配して作出したTcrb1 Tr; 53fマウスにおいて大腸腫瘍が自然発生することを見出し、その病理組織学的検査により若干の知見を得たので報告する。

[方法] 米国・マサチューセツ工科大学より供与された先trb, p53ノックアウトマウスから、C57BL/6J JclマウスをバックグラウンドにしたCongenic系統をdirect backcross法により作出した。N7ないしN8世代由来の雄性Tcrb1: Tr; 53fマウスの2か月齢(9匹)と4か月齢(16匹)を実験に使用した。

[結果] 大腸腫瘍はすべてのマウスに発生し、腫瘍数は経時的に増加する傾向がみられた(2か月齢: 5.8±4.27個、4か月齢: 10.5±3.43個)。これらの大腸腫瘍は組織学的にHyperplasia(HP)、Low grade dysplasia(LGD)、High grade dysplasia(HGD)およびInvasive carcinoma(Adenocarcinoma: IC)に分類された。各病変の発生頻度は2か月齢ではHP 55.6%、LGD 66.7%、HGD 66.7%およびIC 55.6%、一方4か月齢ではHP 81.3%、LGD、HGDおよびICでは100%であった。個体一匹あたりの各病変数は、2か月齢ではHP 1.6±1.8個、LGD 2.3±2.5個、HGD 1.3±1.4個およびIC 0.6±0.5個、一方、4か月齢ではHP 2.3±1.9個、LGD 2.6±1.5個、HGD 3.8±2.4個およびIC 1.8±1.1個であり、HGDとICの個体あたりの病変数は加齢に伴い統計学的に有意に増加した(HGD: P<0.05、IC: P<0.01)。

[考察] 以上の結果、Tcrb Tr; 53fマウスは比較的早期に高率に大腸癌を発生することから、有用な大腸癌モデルになりうると考えられた。さらに時間の経過とともに悪性度が高くなることから、colitis-dysplasia-carcinoma sequenceを解析するためのモデルとしても役立つことが期待された。

○土屋 毅幸¹, 小林 潔¹, 後藤 和広¹, 杉本 次郎¹, 佐野 文子¹, 臼居 敏仁², 諸橋 鉄男¹, 務台 衛¹
(¹三菱東京製薬・医薬総合研・安全性研, ²実験動物中央研究所)

【緒言】我々は、ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウス(rasH2 マウス)において、骨格筋の筋症を見出したので、その発現状況および病理組織学的特徴について報告する。

【材料と方法】検索対象とした動物は、34 週齢の無処置動物で rasH2 マウスと非遺伝子導入マウス(Non-Tg マウス)の雌雄各 44~50 例、および 10 週齢の無処置動物の雄各 3 例である。一部の動物について、飼育期間中(20 週齢時)に傾斜板法による筋力比較を行った(雌雄とも n=5)。剖検後に大腿筋を含む全身の器官・組織を採材し、常法に従い、HE 染色標本作製し顕微鏡観察した。大腿筋は、34 週齢の一部の動物についてアザン染色標本も作製し観察した。

【結果】一般状態観察において、rasH2 マウスおよび Non-Tg マウスには運動機能に関する異常は認められなかった。傾斜板法による筋力比較において、両マウス間で筋力の差は認められなかった。顕微鏡観察において 34 週齢の rasH2 マウスの大腿筋には、ほぼ全例に横紋の消失あるいは硝子化、壊死、筋貪食、筋線維の大小不同、中心核および再生線維が認められた。アザン染色では、筋線維間に比較的繊細な膠原線維の増加が認められた。これらの病変は、筋線維束毎に発現しておらず、びまん性あるいは散在性に認められた。末梢神経には顕微鏡的に異常は認められなかった。10 週齢の rasH2 マウスにおいても大腿筋に、びまん性の筋線維の大小不同、限局的な横紋の消失あるいは硝子化、再生線維が認められた。一方、Non-Tg マウスでは、これらの筋病変は全く観察されなかった。

【まとめ】rasH2 マウスにみられた筋病変は、神経症状や神経組織の組織形態の異常を伴わないこと、および炎症性的変化を伴わないことから、筋原性の病変と考えられた。本変化は、Non-Tg マウスではみられないことから、c-Ha-ras 遺伝子の導入が筋病変の病理発生に関与していると推察された。

○萩原里香, 澤本 修, 栗栖和信 (大塚製薬工場, 鳴門研)

実験動物における自然発生の唾液腺腫瘍は少なく、特に若齢動物での発生は稀で報告も少ない。今回、弊社の 22 週齢の Long Evans ラットおよび他機関より供与された 9~27 週齢の若齢ラットに自然発生した唾液腺腫瘍計 7 例について顕微鏡的、免疫組織化学および電顕検索を実施し比較検討した。

【材料と方法】弊社の 22 週齢 Long-Evans 系ラットおよび供与された若齢ラット (Wistar10, 14, 15, 18W および SD14, 27W) の唾液腺腫瘍については HE 標本に加え、うち 5 例についてサイトケラチン、ビメンチン、 α SMA による免疫染色を行い、6 例について電顕検索を行った。

【結果および考察】腫瘍は断面にて 7 例中 5 例で腫瘍内部に液状物の貯留を認め、ほか 2 例は充実性であった。組織学的に腫瘍は主にクロマチンに乏しい大型の核を有する未分化細胞が肉腫様、胞巣状に増殖しており、その中に管腔および導管様構造が種々の割合で混在していた。免疫組織学的にサイトケラチンは導管様構造部で陽性、一部肉腫様部にも陽性を示した。ビメンチンおよび α SMA には陰性であった。一方腫瘍に隣接あるいは巻き込まれた正常な唾液腺の導管はサイトケラチンに陽性を示し、また筋上皮細胞は α SMA に特異的に陽性を示した。電顕では腫瘍細胞間にデスモゾーム、基板構造や microvilli が観察されたが筋フィラメントなどは観察されなかった。以上の結果から、今回の 7 症例はいずれも低分化上皮性腫瘍であり、adenocarcinoma と考えられた。由来については腫瘍に隣接した正常唾液腺導管との移行像が観察された例もみられたが筋上皮由来を示唆する腫瘍細胞は確認されなかった。また本 7 症例は肉眼的に内部に液状物が貯留していた点、また組織学的に未分化細胞の肉腫様増殖と導管様構造から成る点で類似していた。唾液腺腫瘍に関する報告は非常に少ないが、これらの所見は若齢ラットにおける自然発生唾液腺腫瘍の特徴的な組織像と考えられる。

○竹内幸子、吉田敏則、桑原真紀、榎本秋子、中島信明、真板敬三、原田孝則（残農研）

【はじめに】 ラットの肺における嚢胞性病変としては、単純性嚢胞や表皮様嚢胞が稀に自然発生することが知られているが、先天性嚢胞性病変についての詳細な症例報告はほとんどない。今回、我々は Wistar Hannover GALAS ラットの雄 1 例の肺に先天性と思われる嚢胞性病変を認めたので報告する。

【症例】 本症例はある毒性試験の投与 1 週間後に計画殺（11 週齢）されたものである。剖検時に右後葉相当部に径 2 cm 大の嚢胞状腫瘤が認められた。嚢胞は横隔膜より腹腔内に突出しており、気管支との交通を欠いていた。組織学的には、炎症性細胞浸潤を伴う多胞性の嚢胞性病変が右後葉全域に認められ、嚢胞内には粘液、赤血球、好中球、マクロファージなどが充満していた。嚢胞は、多列線毛上皮や立方上皮など呼吸器系上皮由来と考えられる細胞で内張りされており、間質の一部には好酸性顆粒を有する腺房様構造と導管が認められ、それに隣接してやや大型淡明の細胞巣が観察された。

【結果・考察】 PAS 染色の結果、嚢胞を内張りする上皮の一部に杯細胞が観察された。マッソン・トリクローム染色では、間質に膠原線維の明らかな増生を認めた。間質の紡錘系細胞の多くは Vimentin 陽性、Desmin 弱陽性、 α -Smooth muscle actin 陽性を示し、筋線維芽細胞である可能性が示唆された。本症例のような肺の嚢胞性病変は今までに実験動物では報告されておらず、ヒトの肺分画症あるいは気管支嚢胞に類似した 1 例と考えられた。先天性病変である肺分画症および気管支嚢胞は、どちらも前腸に由来する副肺芽から発生するとの説がある。間質の一部で認めた腺房様構造の好酸性顆粒は Launoy 染色で陽性を示し、チモーゲン顆粒であることが確認された。また、大型淡明の細胞巣は Insulin 陽性で、ラ氏島であることが示唆された。したがって、本症例の嚢胞性病変には異所性の膵組織が混在することが判明した。また、肺分画症および気管支嚢胞では、異所性膵組織を伴う場合もあると報告されていることから、今回の症例はそれらに含まれる先天性嚢胞性病変と推察した。

○北澤利明、北條仁、竹内幸子、吉田敏則、桑原真紀、中島信明、真板敬三、原田孝則（残農研）

【緒言】 長期毒性試験においてラットの子宮には脱落膜反応あるいは脱落膜腫と呼ばれる脱落膜細胞の過形成性病変の発生がみられるが、通常これらの病変は鏡検時に偶然発見される程度の小型で限局したものが多く、かつその発生頻度もかなり低い。そのため、このような自然発生性の脱落膜細胞の性状について検討を加えた報告はほとんどない。今回、我々は Fischer 系雌ラットの子宮にみられた大型の脱落膜反応を病理組織学的に検討し、さらに正常妊娠子宮の脱落膜細胞との比較も行った。

【症例】 本症例はある長期毒性試験における 104 週後の最終計画殺動物の 1 例にみられた。剖検時に右子宮角内腔に 2×2×3.5 cm の白色腫瘤を認めた。組織学的観察では、腫瘤の基部に子宮内膜間質細胞が密に増殖し、子宮内膜ポリープと思われる領域が認められたが、腫瘤の上部には上皮様の細胞が増殖する領域が観察された。この上皮様の細胞は大型の円形核と両染色ないし淡明な好塩基性細胞質を有する大型細胞でシート状に密に増殖していたが、一部この上皮様細胞が巣状に増殖し血管形成が豊富な領域も認められた。PAS 染色では上皮様細胞間に細い PAS 陽性線維がみられ、と銀染色でも細胞間に細い好銀性線維が認められた。免疫染色では、デスミンおよび α 平滑筋アクチンに対して比較的大型の細胞が陽性を示したが、ケラチン染色は陰性であった。もどし電顕観察では、大小の細胞質突起が観察され、特に細胞が密に増殖している部では相互の細胞質突起が密に接し、Gap junction 様の細胞接装置ならびに基底膜様の構造も観察された。

【考察】 以上のことから、腫瘤の上部にみられた上皮様細胞の増殖巣は脱落膜反応であると診断された。今回の脱落膜細胞と正常の妊娠子宮の脱落膜細胞を比較した結果、本例の細胞は正常妊娠子宮の Antimesometrial region を構成する細胞に似ていると思われた。

○鈴木 智, 林 修次, 箱井 加津男, 山口 修司, 入村 兼司
(大鵬薬品工業・安全研)

【はじめに】今回我々は、ラットにおいて、多形型あるいは高分化型の組織像を伴わない粘液型のみから構成される脂肪肉腫の 1 症例に遭遇したので、本腫瘍の病理学的特徴について報告する。【材料および方法】症例は、26 週間反復投与毒性試験の溶媒対照群(回復群)に供せられた 41 週齢 Crj:CD(SD)IGS 雄ラットの 1 例で、11 週齢から 16 週齢まで左側頸部皮下に小結節がみられ、その後触知できなくなり、回復期間中の 36 週齢時に再び同部位に腫瘤が認められ、以後腫瘤は剖検時まで経日的に大きさを増した。剖検時摘出した腫瘤について、組織学的、免疫組織化学的および超微形態学的検査を行った。【結果】剖検では、腫瘤は 55×50×40mm 大で、弾力性を有し、周囲組織とは境界明瞭で、被膜様構造がみられた。剖面はほぼ全域が淡桃色で透明感を有する粘液腫状で、小赤色点を認めた。組織学的には、豊富な粘液基質と毛細血管網からなる間質中に腫瘍細胞が散在性に分布する像が腫瘤のほぼ全域でみられた。腫瘍細胞は、類円形、楕円形および紡錘形を呈し、細胞質にはオイルレッド-O 陽性の単胞性あるいは多胞性の空胞が認められ、時に印環様・蜘蛛の巣様細胞として観察された。また、有糸分裂像、二核および多核の細胞が散見された。腫瘍細胞は、稀に周囲組織に浸潤増殖していた。なお、被膜様構造の一部は腫瘤周囲の筋膜により構成されていた。免疫組織化学的に、腫瘍細胞は S-100 蛋白とビメンチンに陽性、サイトケラチンには陰性であった。超微形態学的に、腫瘍細胞は、細胞質内に限界膜を有さない単在性大型または多数の小型脂肪滴を有し、少数のミトコンドリアも観察された。細胞周囲には不完全な基底膜様構造が認められた。【結論】本症例は、白色脂肪細胞の特徴を示す腫瘍細胞が腫瘤のほぼ全域で豊富な粘液基質中に分布し浸潤像を示すことなどから、WHO のヒト脂肪肉腫分類によれば、粘液型脂肪肉腫に一致していた。一方、げっ歯類では、粘液型脂肪肉腫は、WHO のげっ歯類脂肪肉腫分類では記載されておらず、また、文献的にも我々の検索範囲内では報告例がないことから、本症例は極めて希少な症例と考えられた。

○佐脇正邦、篠田和俊、實珠山五月、加藤文恵、山崎寛治 ((財)化評研)

胚細胞由来の精巣腫瘍はラットでは非常に希である。我々は 8 週齢、10 週齢の 2 例の Crj: CD \otimes (SD) IGS (SD IGS) ラットの精巣において自然発生奇形腫及び胎児癌を見出した。いずれの例においても、両側精巣は萎縮し、片側のみに肉眼的に確認できる腫瘍塊がみられた。光学顕微鏡的検査において、腫瘍塊は多くのタイプの分化した細胞及び様々な成熟段階の組織、すなわち、神経組織、角化扁平上皮、立方上皮、線毛上皮、粘液を含む細胞によって裏打ちされた管腔構造、横紋筋、脂肪組織、疎性結合組織などからなるさまざまな種類の分化した細胞や組織がみられた。この他にも、軟骨、骨、唾液腺やアポクリン腺に類似した腺状構造などがみられた。また、出血も所々にみられた。本腫瘍中で多くの部分を占めていたのは神経系に類似した組織であった。Neuroepithelial rosette も頻繁に観察された。また、脊索腫様の構造も認められた。これらの特徴から、我々は本腫瘍を奇形腫と診断した。

また、本腫瘍内には、異型性が強く、豊富な細胞質を持ち、分裂像が頻繁にみられる細胞が乳頭状あるいは腺管状に増殖し、明らかに前者と異なる population からなる構造を示す巣状病変がみられた。これらは、大きいもので直径 3 mm、小さいもので精細管と同等の大きさのものまであり、腫瘤内に播種性に存在していた。大きな巣状病変中には、発達中の卵黄嚢や、embryonic disk に類似した構造を示している部分が存在していた。これらの所見から、我々は、腫瘤中にみられた本巣状病変を胎児癌と診断した。

さらに、腫瘍塊のみられなかった側の精巣には、精細管内に限局して、奇形腫あるいは胎児癌からなる複数の細胞巣がみられた。残存した組織の精細管は萎縮し、胚細胞はみられなかった。一部の精細管において、胎児癌組織から扁平上皮様の構造へ移行する像がみられた。本所見から、胚細胞腫瘍の早期発生段階において胎児癌が奇形腫へ分化する可能性があることが示唆された。

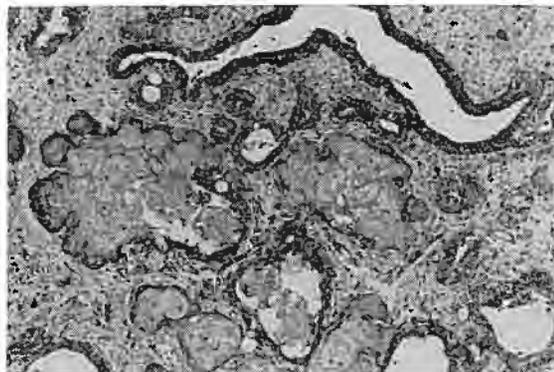
○下元貴澄^{1,2}, 吉田 緑¹, 竹中亜希子¹, 安藤 進¹, 高橋正一¹, 前川昭彦¹
 (¹佐々木研・病理, ²大塚製薬株式会社・徳島研)

ラット乳腺における線維腺腫は最も一般的な良性腫瘍の一つである。今回我々は、Donryu ラットにおいて著明な皮脂腺上皮への化生を伴う乳腺線維腺腫の1例を経験したので、その病理組織学的特徴について報告する。

症例は10週齢時に *N*-propyl-*N*-nitrosourea (PNU) 200mg/kg を単回経口投与された雌性 Donryu ラット 39 匹中の1例で、67週齢時に切迫屠殺された。

肉眼的には巨大な皮下腫瘤として認められた。病理組織学的に、乳腺由来を思わせる管腔構造を示す上皮性成分とそれを取り巻く豊富な線維性結合組織成分が混在して増殖していた。上皮性成分は単層もしくは数層よりなる腺上皮細胞と筋上皮細胞で構成され、2つのタイプの腺上皮細胞間には移行がみられた。何れの腺上皮細胞においても異型性は乏しく、核分裂像もほとんど認められなかった。本症例の特徴像として、重層化した上皮細胞には皮脂腺様の組織像が多く認められ、微細な空胞を胞体に貯えた細胞が胞巣を形成し、扁平な細胞がそれを囲んでいた(写真)。皮脂腺様構造を示す部分においても細胞の異型性は乏しく、核分裂像はほとんど認められなかった。乳腺以外の病変としては肺の巨大膿瘍、子宮膣腫および著明な髄外造血を伴う脾腫がみられた。

本症例は、線維腺腫の上皮性成分が広範囲にわたり皮脂腺上皮への化生を起こした非常にめずらしい症例であると考えられた。このような皮脂腺上皮化生を伴う線維腺腫は、PNU を単回経口投与された他の例には認められておらず、PNU 単回経口投与による影響の可能性は低いと考えられた。



○高須伸夫, 松井信志, 松嶋周一, 岡田 学, 花房友行, 丸山敏之, 鳥井幹則
 (塩野義製薬・新薬研)

【緒言】 長期飼育した無処置雌性 F344 ラットにおいて、自然発症の眼窩内横紋筋肉腫を認めたので、その病理組織学的特徴について報告する。

【材料と方法】 本例は、65週齢で右眼球突出と下眼瞼の腫大を認め、以降体重減少と活動性低下が進行したため67週齢で切迫殺し、剖検に供した。肉眼的に眼窩内に10×20×10 mm の灰白色腫瘤を認め、腫瘤はハーダー腺と明瞭に区別できた。その他、精巣の間細胞腫が認められた。採取した腫瘤は10%中性緩衝ホルマリン液に固定後パラフィン包埋し、H&E, PAS, alcian blue-PAS, PTAH, Masson's trichrome の各染色を施し鏡検するとともに、desmin, vimentin, keratin, myoglobin, sarcomeric actin, S-100 に対するポリクローナル抗体を用いて免疫組織化学的検索を行なった。また、ホルマリン固定標本の一部を用いて戻し電顕を実施した。

【結果および結論】 腫瘤を構成する細胞は紡錘形から多型を呈し、弱好酸性の細胞質とクロマチンに富む大型の異型核を有し、稀に多核細胞も認められた。これらの異型細胞が胞巣状またはシート状に密に増殖し、眼窩内から周囲筋組織および眼窩周囲骨への浸潤が認められた。間質は粘液様あるいは嚢胞状を呈し、alcian blue-PAS で淡青色に染色される粘液物質を貯留していた。腫瘍細胞の細胞質内には PAS 陽性微細顆粒も認められ、PTAH 染色で濃青色を呈する細胞が観察されたが、明らかな横紋構造は証明できなかった。免疫組織化学的に、腫瘍細胞は、desmin, sarcomeric actin, myoglobin, keratin に陽性を示し、S-100, vimentin に陰性であった。電顕観察において、腫瘍細胞に primitive な Z バンド様構造を有するフィラメント束が確認された。細胞質内には多数の遊離リボソームを認めたが、グリコーゲン顆粒に乏しく、メラノソームや高電子密度顆粒は認められなかった。細胞間にはデスマゾーム様構造がしばしば観察された。本症例は、免疫組織化学および電顕所見から横紋筋肉腫と診断した。ラットにおける眼窩内横紋筋肉腫の報告はこれまで無く、ヒト小児領域で好発するとされる眼窩内横紋筋肉腫とその肉眼および光顕所見が類似する稀な症例と考えられる。

P-2-66 IGS ラット 3 例に認められた歯原性のう胞を伴うエナメル質形成不全症

○勝田 修・山下弘太郎・友成由紀・河野友紀子・土居卓也・岡崎欣正・涌生ゆみ・土谷 稔(三菱化学安科研)

遺伝性エナメル質形成不全症はヒトでは稀な先天異常であり、歯以外の組織には全く異常が認められない。また歯根部に形成される歯原性のう胞は、歯牙付属器の上皮成分に由来し、種々の原因によって発現する。ラットでは、SHR-SP 系でエナメル質形成不全症のミュータントが報告されているが、他の系統ではその報告はなく、自然発生性の歯原性のう胞についてもほとんど知られていない。最近私達は若齢 IGS ラットに歯原性のう胞を伴ったエナメル質形成不全症を認めた。今回はそれらの病理像について報告する。

【材料と方法】2000年3月から約2カ月間に4あるいは4.5週齢で購入した Crj:CD(SD)IGS ラット、雄587例、雌591例のうち、両顎切歯の白色化が認められた雌3例の切歯および臼歯を検査に供した。両顎を10%リン酸緩衝中性ホルマリン液で固定後正中断し、右側上下の切歯と臼歯は10%ギ酸ホルマリン液で脱灰の後縦断面からパラフィン包埋ブロックを作製し、左側上顎切歯と臼歯は樹脂包埋の後非脱灰研磨標本を作製した。【検査結果】これら3例についてはいずれも入荷時あるいは馴化期間中に両顎切歯の白色化に気づき、試験から除外した。肉眼的に切歯は光沢を欠き全長に亘って白墨のような独特の色調を呈していたが、大きさは正常動物のものと差がなく、口腔内や骨格にも異常はみられなかった。病理組織検査では、3例とも歯牙発生部やや末梢でエナメル上皮の配列が乱れ始め、それに連続して切歯唇側で歯根部のほぼ全長に亘る単房性あるいは多房性のう胞が、両顎ともに形成されていた。のう胞壁はエナメル上皮由来と思われる一層の扁平上皮細胞で裏打ちされていた。のう胞の外側にはしばしばエナメル乳頭様組織の島状あるいはリボン状異形成巣が認められた。エナメル腔内には小柱構造を保持したエナメル基質が萌出部近くまで残存していた。同様のエナメル基質はすべての臼歯でも認められた。研磨標本では切歯歯根部のエナメル質は幅が不均一で、臼歯のエナメル質は菲薄化し随所で欠損していた。3例とも切歯や臼歯の歯髓組織には異常は認められなかった。また歯牙以外の骨を含む主要器官・組織にも異常は認められなかった。【診断と考察】今回検索した3例はすべての切歯、臼歯でエナメル質に形成異常があり、切歯歯根にはエナメル上皮由来のう胞が形成されていた。よって歯原性のう胞を伴ったエナメル質形成不全症と診断できる。これらの動物はいずれも雌であり、しかも短期間に複数発現したことから、遺伝性の疾患であることが強く示唆される。

P-2-67 SD ラットに認められた自然発生性の骨髓芽球性白血病の1例

○下武男、片山淳一、斉藤明美、高原栄二、永田治
(北陸製薬(株)、研究開発本部)

【はじめに】一般的に、SD ラットの自然発生性の造血器腫瘍は赤芽球性白血病、顆粒球性白血病(または骨髓性白血病)あるいはLGL白血病などに分類されているが、それらの文献報告は極めて少ない。これらの中でも、顆粒球性白血病の亜系と考えられる骨髓芽球性白血病に関する詳細な症例報告は見当たらない。そこで今回、当施設で遭遇した自然発生性のSD ラットの骨髓芽球性白血病の1例について病理学的に検索したので、報告する。

【材料および方法】本症例は、13週間投与毒性試験の対照群に供され投与9週目(14週齢)に瀕死屠殺された雄のSD (Crj:CD) ラットの1例である。剖検前に血液学的検査を行い、次いで全解剖した。諸臓器は10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、常法に従いH-E染色標本を作製し、病理組織学的に検索した。さらに、肝臓及び脾臓について免疫組織染色(PCNA、リゾチーム、ED-1、OX-7、OX-8、OX-12、ヘモグロビン)を実施した。

【結果】解剖の1週間より右後肢の麻痺、体重減少及び貧血症状が認められた。血液学的所見ではRBC・Hb・Htの低値とWBCの高値がみられた。血液塗抹像では大型の円形ないし類円形核と顆粒をほとんど含まない淡青色の乏しい細胞質を持つ腫瘍細胞がみられた。剖検では肝・脾腫及び右大腿近位部の腫脹と出血が認められた。病理組織学的に、骨髓(大腿骨、胸骨)は、著明な核分裂を示す上述の腫瘍細胞でほぼ置換されており、骨組織や周囲の骨格筋、脂肪組織への浸潤が認められた。脾臓では赤脾髄が腫瘍細胞で置換され、リンパ濾胞の大部分は消失していた。肝臓では小葉構造が腫瘍細胞のびまん性浸潤により破壊され、残存する肝細胞は変性・壊死像を呈していた。その他、リンパ節、腎臓及び肺にも転移が認められた。免疫組織所見では腫瘍細胞はリゾチームおよびPCNA抗体に対して陽性反応を示したが、その他のマーカーに対しては陰性であった。

【まとめ】以上、腫瘍細胞が骨髓を原発とする未分化な芽球様細胞で、リゾチーム陽性反応を示す点を考慮し、骨髓芽球性白血病と診断した。

飯田祝子 P-1-13
 飯田晶敏 P-2-51
 飯高 健 P-1-1, P-1-8
 飯塚和弘 17, P-1-13
 池田悦子 P-2-42
 池田五子 P-2-39
 池田尚子 P-1-49, P-2-49
 池田理恵 17
 池上 仁 P-2-23
 池谷政道 P-2-10
 池崎信一郎 P-2-1, P-2-10
 今井田克己 S-2-4, P-1-33
 P-1-34, P-1-36
 P-1-58, P-2-15
 今井 清 S-1-3
 今井俊夫 P-1-6, P-1-20
 今沢孝喜 P-1-48, P-1-50
 P-2-49
 稲上敦士 P-1-53
 猪又 晃 P-2-18
 井上忠志 P-2-27
 井上智彰 P-2-18
 入村兼司 P-2-35, P-2-62
 入谷勝義 P-2-48
 石田勝彦 P-2-44
 石上紀明 18
 石井俊輔 P-1-37
 石村美祐 P-1-5, P-1-17
 磯部香里 P-2-5
 Nobuyuki Ito IATP
 伊藤明弘 9, P-2-32
 伊藤敦子 P-2-21
 伊藤金次 P-2-21
 伊藤今日子 P-2-44
 伊藤恒夫 P-2-26
 伊藤ゆかり P-2-42
 岩井秀司 3, P-1-27
 P-1-32
 岩坂利夫 17
 岩坂俊基 P-2-52
 岩田 聖 P-2-4, P-2-5
 岩田 眞 P-2-57
 泉 啓介 P-1-47
 泉澤信行 P-2-23

J

鄭 光一 P-2-30
 鄭 智尹 P-2-30

K

角 将一 P-2-57
 甲斐清徳 P-1-18
 梶村哲世 P-1-18, P-2-6
 柿本恒知 P-2-52
 柿沼千早 P-2-7
 垣添忠生 P-1-35
 加国雅和 P-1-27, P-1-37
 鎌田栄一 P-2-10
 紙田祐介 P-2-27
 金林智倫 P-2-28
 神鳥仁志 P-1-17
 金田信也 P-1-47
 金子雅宏 P-1-37, P-1-56
 菅野 宏 P-1-17
 唐沢 茂 20, P-2-55
 唐沢弥生 P-2-45
 Rezaul Karim 3, P-1-27
 P-1-32
 笠原健一郎 P-2-54
 榎本佳典 P-1-18, P-2-6
 片桐 卓 P-1-11, P-2-16
 片山圭一 18
 片山淳一 P-2-67
 加藤淳彦 P-2-26
 加藤文恵 P-2-63
 加藤浩司 P-1-33
 加藤 修 P-1-5
 勝田 修 P-1-9, P-2-56
 P-2-66
 勝田真一 13
 川端邦宏 P-1-3
 川畑貴美 P-2-6
 川畑好之康 P-2-39
 河部真弓 P-2-15
 川口博明 8, P-1-39
 河野友紀子 P-2-66
 河裾健志 P-2-56
 河田昭彦 P-2-51
 木原亨 P-2-4, P-2-5
 木川英美 P-1-30, P-1-31
 P-2-2
 菊地康基 S-2-3
 木村重紀 P-2-27
 木村正明 19
 木ノ本寿子 P-1-52, P-2-12
 木下アンナ P-1-22, P-1-23
 岸田秀樹 4, 5, P-1-26
 北田一博 P-2-3
 北村 毅 P-2-14, P-2-43
 北野光昭 P-1-23, P-1-28

北浦敬介 P-2-19
 北山若紫 12, P-1-46
 北澤利明 P-2-61
 清水 護 P-2-22, P-2-42
 小林 潔 P-1-2, P-1-14
 P-1-15, P-1-20
 P-1-21, P-2-58
 小林久美子 P-2-34
 小林 正 P-2-48
 小林恒雄 15, 16, P-1-24
 P-1-55, P-2-20
 P-2-46
 小玉拓郎 P-1-10
 小泉治子 P-2-52
 小西陽一 教育講演, 4, 5
 11, 12, P-1-26
 P-1-29, P-1-40
 P-1-46
 河内眞美 P-1-30, P-1-31
 P-2-2
 小清水弘一 P-1-26
 小谷猛夫 P-2-13, P-2-41
 糀谷高敏 P-1-30, P-1-31
 P-1-45, P-1-51
 P-1-57, P-2-2
 木幡信彦 P-2-48
 窪田 典 P-2-14, P-2-43
 工藤佳代子 P-2-1, P-2-10
 杭瀬綾子 P-2-38
 国松武史 P-2-27
 国元武彦 10
 蔵崎正明 P-2-50
 倉田祥正 P-2-56
 栗本 忠 P-1-52, P-2-12
 栗栖和信 P-2-13, P-2-59
 栗山和也 P-2-14
 桑原真紀 P-2-11
 黒田淳二 P-2-14, P-2-43
 黒木宏二 P-1-30, P-1-31
 P-2-2, P-2-29
 日下部愛泉 P-1-21
 草柳亜希子 P-2-2
 串田昌彦 P-1-25, P-2-34
 楠岡 修 4, 5, 11
 P-1-26, P-1-40
 P-2-53, P-2-60
 P-2-61
 桑村 充 P-2-13, P-2-41
 桑山知登世 P-2-7
 葛谷和也 P-1-34

	L	
陸 恵梅	P-1-5	
	M	
町田優子	P-2-41	
前田 博	P-2-38	
前嶋孝典	P-1-16	
前川昭彦	13, P-2-64	
真板敬三	P-2-11, P-2-40 P-2-53, P-2-60 P-2-61	
牧野俊彦	P-1-16	
真鍋 淳	P-1-16, P-2-37	
丸山博司	P-1-29	
丸山 聡	9	
丸山敏之	P-2-65	
政岡俊夫	14	
柵木利昭	P-1-53	
榊田周佳	P-1-35	
増田修治	P-1-13	
榊富直哉	15, 16, P-1-24 P-1-55, P-2-20 P-2-46	
松井信志	P-2-65	
松本清司	P-2-43	
松本正博	P-1-19, P-1-20	
松本智志	P-2-19	
松永春洋	P-1-32	
松岡信男	P-1-57, P-1-30 P-1-31, P-2-2	
松岡洋一郎	8	
松嶋周一	P-2-25, P-2-65	
松浦正男	P-2-24	
米良幸典	P-1-52, P-2-12	
南 孝則	P-1-47, P-2-19	
三沢保幸	P-2-26, P-2-45	
三谷政義	P-1-17	
三橋 誠	P-1-35, P-1-38	
三井雅之	11, P-1-29	
三森国敏	1, 2, P-1-42 P-1-43, P-1-44 P-1-45, P-1-51 P-1-57	
宮原裕一	P-2-9	
宮嵩宏彰	P-2-38	
美谷島克宏	P-2-52	
宮島留美子	P-2-4, P-2-5	
宮川義史	P-2-52	
宮下嘉代子	P-1-36, P-2-15	

宮田裕人	19	
宮田かおり	P-2-27	
宮内 慎	P-1-7, P-1-41 P-2-7 P-2-37	
水山美里	P-1-9	
水野文夫	20, P-2-55	
水谷 誠	P-1-3, P-1-4	
森 秀樹	P-2-6	
森 和彦	P-1-54	
森川剛志	P-2-31	
森本泰夫	3, P-1-27	
森村圭一朗	P-1-28, P-1-32 P-1-37, P-1-54 P-1-56	
森 聖	P-1-12	
森 敏男	P-2-45	
森安眞津子	2	
諸橋鉄男	P-1-15, P-2-58	
諸富正己	P-2-57	
村井 隆	P-1-12	
村上 明	P-1-26	
村越正典	17	
村松浩二	P-2-51	
村田奈保	P-1-40	
務台 衛	P-1-14, P-1-15 P-1-20, P-1-21 P-2-58	
武藤信一	P-2-43	
武藤朋子	14	
武藤幸子	P-2-36	
	N	
長野嘉介	P-1-11, P-2-16	
永岡隆晴	P-2-39	
長澤達也	P-2-14, P-2-43	
永嶋雅子	P-1-13	
永谷真理子	P-2-1	
永田 治	P-2-67	
永田百合子	P-2-57	
永藪徳久	P-1-17	
内木宏延	P-2-17	
中江 大	4, 5, P-1-26	
中川恵子	15, 16, P-2-20 P-2-46	
中村 厚	P-2-1, P-2-10	
中村英明	P-1-7, P-1-41 P-1-49	
中村幹雄	P-1-36	
中村俊之	P-2-8	
中西雅子	P-2-41	

中西 聡	P-2-3	
中西 巧	P-1-36	
中野恵子	P-2-47	
中野好子	P-2-8	
中島信明	P-2-11, P-2-53 P-2-60, P-2-61	
仲辻俊二	P-1-19, P-2-47	
中山裕之	18, P-2-23 P-2-28, P-2-29 P-2-30, P-2-36	
中山隆治	17	
仲里祥子	P-2-47	
並木千晶	P-2-3	
奈良間功	P-2-25	
那須昌弘	1, 2	
仁保直子	15, 16, P-1-24 P-1-55, P-2-20 P-2-46	
二井愛介	P-2-44	
二木力夫	P-2-26	
二之宮謙次郎	P-1-10	
西 直樹	P-1-52, P-2-12	
西川秋佳	P-1-7, P-1-41 P-1-48, P-1-49 P-1-50, P-1-55 P-2-49	
西川隆之	P-1-22, P-1-23 P-1-25, P-1-56	
西本佳弘	P-2-27	
西村典子	P-2-9	
西村信雄	P-2-10	
西野輔翼	P-1 26, P-2-8	
西岡浩一郎	P-2-24	
野口英世	S-2-2	
野崎浩二	P-1-6	
布谷鉄夫	20, P-2-55	
	O	
小笠原裕之	P-1-20, P-1-46	
緒方聖也	P-1-16	
小川久美子	P-1-33, P-1-34	
小川元女	P-1-22, P-1-25 P-1-38, P-1-54 P-1-56	
小川秀治	P-1-52, P-2-12	
小原正之	P-1-5	
大橋芳彦	P-2-37	
岡田 学	P-2-65	
岡田味世子	P-1-14, P-1-21	
岡宮英明	P-2-23, P-2-44	
岡庭 梓	P-2-54	

岡崎和志 P-1-48, P-1-49
P-1-50
岡崎修三 P-2-1, P-2-26
P-2-46
岡崎欣正 S-1-4, P-2-66
桶田理喜 S-1-1
沖本一夫 P-1-30, P-1-31
P-2-2
奥野泰由 P-1-25, P-2-27
P-2-34
小俣武志 P-1-52, P-2-12
小野景義 P-2-49
小野寺博志 1, 2, P-1-42
P-1-43, P-1-44
P-1-45, P-1-51
P-2-49
尾上正治 P-2-57
大神 明 P-2-31
大東 肇 P-1-26
大石裕司 P-1-19, P-2-47
大西隆仁 7
大野理絵 19
織田信一郎 P-2-33
長村義之 P-2-52
尾崎圭介 P-1-25, P-2-34
尾崎清和 P-2-25
小沢重成 P-2-14

P

潘 偉軍 P-2-32

S

匂坂秀樹 P-2-37
斎藤 健 P-2-50
斎藤明美 P-2-67
酒井洋樹 P-1-1, P-1-2
P-1-53
坂入鉄也 P-1-14, P-1-15
P-1-21
佐倉康文 P-1-17
佐野文子 P-1-14, P-1-15
P-1-21, P-2-58
佐野孝一 P-2-47
佐野真士 P-1-36, P-2-15
佐々木啓 P-1-17
佐々木康孝 P-1-29, P-1-46
笹山尚充 P-2-51
佐竹元吉 P-2-49
佐竹 茂 P-2-38

佐藤秀行 P-2-22
佐藤 洋 5, P-1-18
P-1-20, P-1-40
P-2-6
佐藤順子 P-2-54
佐藤 亮 P-2-19
佐藤巳喜夫 P-2-9
佐藤元信 19
佐藤紀子 P-2-51
佐藤 伸 P-2-50
佐脇正邦 P-2-63
澤本 修 P-2-13, P-2-41
P-2-59
澤多美和 P-1-52, P-2-12
瀬畑信哉 P-1-16
清家則孝 P-1-23, P-1-38
妹尾英樹 P-1-11, P-2-16
関 高樹 P-2-27, P-2-34
関島 勝 P-1-9
関田節子 P-2-20
芹川忠夫 P-2-3
沈 鈞 P-1-35
柴田信男 P-2-14, P-2-43
柴田誠司 P-1-13
渋谷 淳 15, 16, P-1-24
P-1-55, P-2-20
P-2-46
渋谷一元 20, P-2-55
清水不二雄 P-2-47
下武男 P-2-67
下元貴澄 13, P-2-19
P-2-64
下内孝司 P-2-33
神藤敏正 P-1-18
篠田和俊 P-2-63
篠原基輝 P-2-24, P-2-48
P-2-24
篠原従子 12
塩谷洋史 P-1-1, P-1-2
白井紀充 S-2-4, P-1-33
白井智之 P-1-34, P-1-36
P-1-58, P-1-59
P-2-15
白岩和巳 11, P-1-29
白木克尚 P-1-5, P-2-23
白根里加 19
正出俊之 P-2-52
孫 和永 P-1-7, P-1-41
P-1-48, P-1-49
P-1-50
蘭部弘聡 P-2-48
早田正和 P-1-39
須田美穂子 P-2-23

杉江茂幸 P-1-3, P-1-4
杉木 肇 P-2-8
杉木次郎 P-1-14, P-1-15
P-1-21, P-2-58
20, P-2-55
杉本加代子 12
杉村正仁 P-2-26, P-2-45
杉本哲朗 P-1-34
杉浦 諭 P-1-22, P-1-25
須方督夫 P-2-34
P-2-10
須永昌男 1
鈴木勝士 18, P-2-28
鈴木和彦 P-2-26, P-2-45
鈴木雅実 P-2-35, P-2-62
鈴木 智 P-1-58
鈴木周五

T

田川正志 17
田子 穰 P-1-9
田口周平 P-1-10
高木久宜 1, 2, P-1-42
P-1-43, P-1-44
P-1-45, P-1-51
P-2-39
高木司郎 P-2-67
高原栄二 P-2-52
高橋明美 13, P-2-64
高橋正一 P-2-17
高橋直生 15, 16, P-1-24
高橋則行 P-1-55, P-2-20
P-2-46
高橋 智 P-1-33, P-1-58
P-1-59
高橋徹行 10
高橋俊弘 P-2-24
鷹橋幸弘 14
高岡雅哉 P-1-16, P-1-20
P-2-37
高島吉治 11, P-1-29
高須伸夫 P-2-65
高須賀信夫 10
武部 実 P-2-32
武田真記夫 P-2-40
竹中亚希子 13, P-2-64
竹下文隆 P-1-33
竹内文乃 P-2-44
竹内幸子 P-2-11, P-2-60
P-2-61
竹内哲也 P-1-11, P-2-16
武吉正博 P-2-46

瀧澤 保 P-1-43, P-1-44
 P-1-45
 玉井幸子 P-2-1, P-2-54
 玉野静光 P-1-36
 田村一利 4, P-1-40
 P-2-1, P-2-10
 田村 啓 1, 2, P-1-42
 P-1-44, P-1-51
 田中晴就 P-1-2, P-1-6
 田中英樹 P-2-39
 田中宏治 P-1-16
 田中浩二 P-1-30, P-1-31
 P-2-2
 田中宏治 P-2-37
 田中丸善洋 P-1-17, P-1-20
 田中雅治 P-2-33
 田中麗子 P-1-32
 谷 吉朗 P-2-36
 谷藤久人 P-1-13
 立松正衛 P-1-1, P-1-2
 P-1-6, P-1-8
 P-1-53
 富田雅之 P-2-47
 友成由紀 P-2-66
 鳥井幹則 P-1-20, P-2-25
 P-2-65
 烏山一馬場弘靖 6, 8
 遠山千春 P-2-9
 豊田和弘 P-1-7
 豊沢かおる P-1-20, P-1-30
 P-1-31, P-1-57
 P-2-2
 Leander Tryphonas 1ATP
 坪田健次郎 P-1-19, P-2-47
 土谷 稔 P-1-9, P-2-56
 P-2-66
 土屋毅幸 P-1-21, P-2-58
 津田洋幸 6, 7, 8, 10
 辻 良三 P-2-34
 辻内俊文 S-2-5, 11
 P-1-26, P-1-29
 P-1-40
 塚本徹哉 P-1-1, P-1-2
 P-1-6
 P-1-8, P-1-53
 角田 聡 P-2-8
 鶴亀真依子 P-2-1
 堤 雅弘 S-2-5, 11, 12
 P-1-29, P-1-40
 P-1-46

内田和美 P-2-57
 内山長久 P-2-51
 上田 誠 1, P-1-20
 P-1-42, P-1-43
 P-1-44
 上野芳夫 P-2-40
 上坂敏弘 P-1-5
 上杉康夫 P-2-6
 梅田ゆみ P-1-11, P-2-16
 梅村建夫 P-2-10
 梅村しのぶ P-2-52
 畷山智香子 15, 16, P-1-24
 P-1-55, P-2-20
P-2-46
 牛田 淳 P-1-3
 白居敏仁 P-1-13, P-1-20
 P-2-58
 内海博之 P-2-39
 宇和川賢 P-1-25, P-2-34

Pham Quang Vinh P-1-3

和田 仁 P-2-22
 和田重太郎 P-1-28
 若林佐知子 P-2-1
 涌生ゆみ P-1-9, P-2-66
 14
 和久井信 3, P-1-22
 鵜渕英機 P-1-23, P-1-25
 P-1-27, P-1-28
 P-1-32, P-1-35
 P-1-38, P-1-54
 P-1-56, P-2-35
 鷺塚昌隆 P-1-52, P-2-12
 渡辺敦光 P-1-5
 渡辺真弓 P-1-16
 渡辺稔之 P-2-37
 魏 民 3, P-1-27

矢部光一 P-1-18
 八木健一 19

U

V

W

Y

山田喜春 P-2-44
 山田泰広 P-1-4
 山岸 恵 P-1-7, P-1-48
 P-1-49, P-1-50
 山口 格 P-1-52, P-2-12
P-2-17
 山口修司 P-2-35, P-2-62
 山口幸也 P-2-17
 山口裕子 P-2-26, P-2-54
 山川誠己 P-2-4, P-2-5
 山本扶美 6
 山本一彦 12
 山本硬治 P-2-19
 山本昌美 P-1-1, P-1-2
P-1-8, P-1-53
 山本敏誠 P-2-39
 山名 慶 P-2-22
 山崎秀樹 P-1-17
 山崎寛治 P-2-63
 山崎賢一 P-2-3
 山下弘太郎 P-2-66
 山手丈至 P-2-13, P-2-41
 P-2-50
 柳井徳磨 P-1-53
 矢野昌充 P-1-26
 安原加壽雄 1, 2, P-1-42
 P-1-43, P-1-44
P-1-45, P-1-51
P-1-57
 安井雄三 P-2-4, P-2-5
 股 宏 9, P-2-32
 横井亮平 P-2-14
 米元純三 P-2-9
 吉田浩己 8, P-1-10
 P-1-39
 吉田順一 P-1-46
 吉田 緑 13, P-2-64
 吉田敏則 P-2-11, P-2-40
 P-2-60, P-2-61
 吉見直己 P-1-4
 吉村愼介 S-1-3
 吉野裕子 P-2-15
 吉岡孝文 P-2-34
 義岡孝子 P-1-10
 吉武 彬 P-1-32
 義澤克彦 P-1-19
 湯浅啓史 P-1-8

第17回日本毒性病理学会 協賛法人・会社ご芳名

助成金

三栄源食品化学研究振興財団 兵庫県国際交流協会

寄付金

旭化成工業
アマジェン
ウエルファイド
エーザイ
大塚製薬
大塚製薬工場
小野薬品工業
環境バイリス研究所
協和醗酵工業
杏林製薬
グラクソ・ウエルカム
興和
サクラ精機
佐々木研究所
三共
三協ラボサービス

残留農薬研究所
三和化学研究所
塩野義製薬
新日本科学
住友化学工業
第一製薬
大正製薬
大日本製薬
大鵬薬品工業
大雄会医科学研究所
武田薬品工業
田辺製薬
中外製薬
帝国臓器製薬
帝人
ナカライテスク

日研化学
日本シェーリング
日本新薬
日本たばこ産業
日本ベーリンガーインゲルハイム
日本ワイスレダリー
バイエル薬品
ファイザー製薬
藤沢薬品工業
マルピーライフテック
三菱化学安全科学研究所
三菱東京製薬
明治製菓
八洲薬品
山之内製薬

広告・展示

エイチ・アンド・ティー
オリンパス光学工業
北山ラベス
三協ラボサービス
残留農薬研究所

大雄会医科学研究所
ダコ・ジャパン
日本エスエルシー
日本生物科学研究所
日本バイオリサーチセンター

バイオ病理研究所
ボゾリサーチセンター
マルピーライフテック

ドリンク

大塚製薬工場

サントリー

ニチレイ

(50音順)

第 17 回日本毒性病理学会講演要旨集

平成 12 年 12 月 20 日 印刷

平成 12 年 12 月 25 日 発行

編 集 大阪府枚方市長尾峠町 45-1
摂南大学薬学部 薬物安全科学研究所
第 17 回日本毒性病理学会

責任者 奈良間 功

印 刷 株式会社 セイエイ印刷
大阪府大阪市城東区蒲生 2-10-33



CTBRはクオリティー（品質）・リスポンシブネス（迅速）・イノベーション（革新）をモットーとして皆様のニーズにお応えいたします。

CTBR - 信頼と貢献に基づいた相互関係の発展をめざして...

CTBRは、過去15年間に亘り、日本の医療業界の皆様とお仕事をしてまいりました。今日、日本はCTBRにとって、米国に次いで世界第二の市場になっています。CTBRでは、研究者、技術者、管理部門スタッフ等、従業員総数900人以上により、年間850件以上のGLP前臨床試験を手掛け、報告書オンタイム提出成績98%を誇っています。1984年に日本と取引を始めて以来、私どもの皆様に対するコミットメントは今も変わりません - 最高レベルのサービスを提供し、皆様の新薬開発の成功に貢献していくことを目指しています。

病理学試験 - CTBRの経験と専門分野



- ・ 獣医病理学者：12人（内ACVP認定7人）
- ・ 病理科学技術者：160人
- ・ GLP準拠病理学評価：年間550件以上
- ・ パラフィン包埋組織標本の作成及び評価：年間650,000個以上
- ・ 特殊骨関連試験用標本作成：年間12,500個以上
- ・ 特殊病理学分野の専門責任者による特別指導
- ・ 特殊病理学部門に於ける経験と背景データ
 - 骨関連疾病：骨粗鬆症、関節炎等
 - 生体材料の組織標本作成・評価
 - 骨強度測定
 - 癌原性試験
 - 電子顕微鏡検査
 - イメージング（画像）：DXA、pQCTデンシトメトリー等
 - 免疫組織化学
 - 静注部位の病理学
 - 雄生殖能検査（MRA）
 - 神経病理学的検査
 - 骨形態計測
 - 呼吸器病理学
 - 獣医臨床病理学
- ・ 受託病理検査、及び *in vivo* 試験

ご連絡はCTBR総代理店、豊田通商まで。



豊田通商株式会社 東京本社
物資部 ライフサイエンスグループ
試験サービスチーム
〒103-8655 東京都中央区日本橋2-1-9
電話: 03-3242-8158
Fax: 03-3242-8498



87 Senneville Road, Senneville, Quebec, Canada, H9X 3R3
Tel: (514) 630-8200 Fax: (514) 630-8230
E-mail: japanmarketing@ctbr.com Web site: www.ctbr.com



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, 代謝系, 炎症・免疫・アレルギー系, 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
がん原性試験, 精子検査, 分析, その他

株式会社日本バイオリサーチセンター

〒501-6251 岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地 TEL 058-392-6222(代)
FAX 058-392-2432

BOZO GROUP

安全性試験 受託機関



御殿場研究所



函南研究所

一般毒性試験・Infusion Study
薬物動態試験・特殊薬理試験



ITR研究所

一般毒性試験・癌原性試験・生殖試験・刺激性試験・感作性試験・抗原性試験
病理組織標本作成および検索・機器分析・トキシコキネティクス

東京本部, 大阪支部営業部までお問い合わせ下さい。



株式会社 **ボゾリサーチセンター**



ITR Laboratories Canada Inc.

本 社 東京都世田谷区羽根木1-3-11 ボゾリサーチビル
〒156-0042 TEL.03-3327-2111(代)/FAX.03-3327-2115
東京本部 東京都渋谷区大山町36-7
〒151-0065 TEL.03-5453-8101(代)/FAX.03-5453-8109
大阪支部 大阪市淀川区宮原5-1-3 新大阪生島ビル
〒532-0003 TEL. 06-397-2851(代)/FAX. 06-397-2852
研 究 所 御殿場研究所・函南研究所・東京研究所

19601 boul. Clark Graham, Baie d'Urfe (Montreal), Quebec, Canada H9X 3T1
Tel:(514)457-7400 Fax:(514)457-7303



CTBRはクオリティー（品質）・リスポンシブネス（迅速）・イノベーション（革新）をモットーとして皆様のニーズにお応えいたします。

CTBR - 信頼と貢献に基づいた相互関係の発展をめざして...

CTBRは、過去15年間に亘り、日本の医療業界の皆様とお仕事をしてまいりました。今日、日本はCTBRにとって、米国に次いで世界第二の市場になっています。CTBRでは、研究者、技術者、管理部門スタッフ等、従業員総数900人以上により、年間850件以上のGLP前臨床試験を手掛け、報告書オンタイム提出成績98%を誇っています。1984年に日本と取引を始めて以来、私どもの皆様に対するコミットメントは今も変わりません - 最高レベルのサービスを提供し、皆様の新薬開発の成功に貢献していくことを目指しています。

病理学試験 - CTBRの経験と専門分野



- ・ 獣医病理学者：12人（内ACVP認定7人）
- ・ 病理科学技術者：160人
- ・ GLP準拠病理学評価：年間550件以上
- ・ パラフィン包埋組織標本の作成及び評価：年間650,000個以上
- ・ 特殊骨関連試験用標本作成：年間12,500個以上
- ・ 特殊病理学分野の専門責任者による特別指導
- ・ 特殊病理学部門に於ける経験と背景データ
 - 骨関連疾病：骨粗鬆症、関節炎等
 - 生体材料の組織標本作成・評価
 - 骨強度測定
 - 癌原性試験
 - 電子顕微鏡検査
 - イメージング（画像）：DXA、pQCTデンシトメトリー等
 - 免疫組織化学
 - 静注部位の病理学
 - 雄生殖能検査（MRA）
 - 神経病理学的検査
 - 骨形態計測
 - 呼吸器病理学
 - 獣医臨床病理学
- ・ 受託病理検査、及び *in vivo* 試験

ご連絡はCTBR総代理店、豊田通商まで。



豊田通商株式会社 東京本社
物資部 ライフサイエンスグループ
試験サービスチーム
〒103-8655 東京都中央区日本橋2-1-9
電話: 03-3242-8158
Fax: 03-3242-8498



87 Senneville Road, Senneville, Quebec, Canada, H9X 3R3
Tel: (514) 630-8200 Fax: (514) 630-8230
E-mail: japanmarketing@ctbr.com Web site: www.ctbr.com

組織標本作製、組織検査から最終報告書まで



■よきパートナー！サイエンティフィックテクニシャンを目指して■

受託業務

組織標本作製

- ヘマトキシリン・エオジン重染色標本作製
- 特殊染色標本作製
- 免疫染色標本作製
- 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・四国・関西・中部地区は翌日、関東以北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。



株式会社

バイオ病理研究所

〒873-0511

大分県東国東郡国東町小原1200-2

TEL (0978) 72-0454

FAX (0978) 72-2320

E-Mail: biopathology@muj.biglobe.ne.jp

大分空港から車で10分
(打ち合わせに便利)

長年の信頼と実績

—SPFウサギ種の充実—



本社：伊那研究所(伊那センター)(春近センター)・筑輪生産場・伊那生産場・吉城ファーム・本郷ファーム

■動物生産部門

SPFウサギ	Healthyウサギ
Kbl:JW (日本白色種)	Kbs:JW (日本白色種)
Kbl:NZW (ネウジランド種)	Kbs:NZW (ネウジランド種)
Kbl:Dutch (ダッチ種)	有色、小型
WHHL (Watanabe heritable hyper lipidemid)	

●実験用イヌ

○ビーグル犬 (Toyo Beagle)

○Kbl:HBD

モンゲレル 体重10kg~20kg

医学・薬学の実験を目的に生産された犬

■受託サービス部門

●実験動物に関連した広範囲での業務を代行します。

対象動物：ウサギ・モルモット・ラット・マウス

○Non-GLP試験

○実験動物飼育

○WHHLウサギでの試験

○特殊動物生産

●ポリクローナル抗体作製

動物抗血清の生産代行します。

対象動物：ウサギ・モルモット・ラット・マウス

●モノクローナル抗体作製 (マウス腹水採取)

マウスの腹水採取の生産代行します。

●抗体精製・細胞培養

●発熱・無菌試験 日本薬局法に準じて実施いたします。

●実験動物検査代行

北山ラベス株式会社

〒396-0021 長野県伊那市大字伊那3052番地1
TEL.0265-78-8115 FAX.0265-78-8885



実験動物のことなら

当社にお任せください



- | | |
|---------------------------|----------------------|
| ① 実験動物の販売 | ⑥ Tg動物の委託飼育および繁殖 |
| ② 実験動物の飼育および管理(長期または短期) | ⑦ 実験動物のクリーンアップ(SPF化) |
| ③ 実験動物関連商品の販売 | ⑧ 実験動物の輸送 |
| ④ 実験動物飼育室等のクリーンアップ | ⑨ 検査・研究用獣血液の販売 |
| ⑤ 実験動物の委託飼育(SPF動物とCONV動物) | |



三協ラボサービス株式会社

■本 社

〒132-0023 東京都江戸川区西一之江2丁目13番16号
TEL:03 (3656) 5559 FAX:03 (3656) 5599
E-mail:skl-honsya@mta.biglobe.ne.jp

■北郷営業所

〒939-8213 富山市黒瀬115
TEL:076 (425) 8021 FAX:076 (491) 1107
E-mail:skl-hokuriku@msa.biglobe.ne.jp

■札幌営業所

〒004-0802 札幌市清田区里塚2条4丁目9番12号
TEL:011 (881) 9131 FAX:011 (883) 1176
E-mail:skl-sapporo@muf.biglobe.ne.jp

■つくばラボ

〒300-2656 茨城県つくば市真淵940-1
TEL:0298 (38) 1227 FAX:0298 (38) 1269
E-mail:skl-tsukuba@muj.biglobe.ne.jp

財団法人 残留農薬研究所

農薬、医薬品、一般化学物質



各種安全性試験の受託およびコンサルタント

【適合 GLP】

農薬取締法 薬事法 化審法 安衛法 OECD EPA

【受託試験項目】

- 急性毒性試験 ○局所刺激性試験 ○一般毒性試験 ○発癌性試験 ○生殖毒性試験
- 変異原性試験 ○薬理試験 ○薬物動態試験 ○毒性・発癌性に関する各種メカニズム試験
- 内分泌障害物質に関する各種評価試験 ○代謝運命試験 ○物理化学的特性試験
- 作物・土壌残留性試験 など

創業 1970 年以來の信頼と豊富な実績

試験に関するお問い合わせは、東京事務所の業務部あるいは試験企画部までお気軽にお電話下さい。なお、コンサルタント業務も行っております。試験のデザインの立案、翻訳、試験結果の評価など、試験全般に関するご相談にも広く対応致します。

東京事務所 〒187-0011

東京都小平市鈴木町 2 丁目 772 番地

TEL: 042-382-2121 FAX: 042-383-7640

E-mail: shiga@viola.ocn.ne.jp

残留農薬研究所 〒303-0043

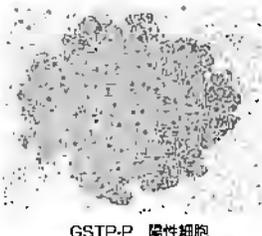
茨城県水海道市内守谷町 4321 番地

TEL: 0297-27-4506 FAX: 0297-27-1225

大雄会医科学研究所は

化学物質の発がん性の有無を短期的に推測することが可能な**中期発癌性試験**を開発確立した研究所です。

そのユニークな方法と膨大な過去の成果から国際的に高い信頼と評価を得ており新規化学物質の開発を推進する上で重要なデータを提供することができます。



GSTP-P 陽性細胞

【受託試験の内容】

食品添加物、医薬品、農薬などの化学物質について、マウスまたはラットを用いて下記の試験をGLP対応により実施いたします。

- 1 中期発癌性試験
(肝、膀胱、胃、腎臓、肺、甲状腺、鼻腔、皮膚等)
- 2 中期多臓器発癌性試験
- 3 発がん性試験
- 4 一般毒性試験(単回および反復投与毒性試験)
- 5 病理組織標本の作製及び検査
- 6 独自開発の癌転移モデルによる試験
このモデルを活用して転移抑制剤の開発に有用なデータを提供することが可能です。



新研究所

DIMS

株式会社 大雄会医科学研究所

〒491-0113 愛知県一宮市浅井町西浅井郷裏64番地

PHONE 0586-51-1201(代) FAX 0586-51-5634

E-mail: dims@imart.or.jp

URL: <http://www.imart.or.jp/~dims/>

信頼できるパートナーとして安全性試験の受託

医薬・農薬・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 (お問い合わせ下さい)



日生研株式会社

〒198-0024 東京都青梅市新町9-2221-1
TEL: 0428-33-1040 FAX: 0428-33-1080

SLCの実験動物

SPF動物

●クローズドコロニー

- マウス S/c: ddY
S/c: ICR
- ラット S/c: SD
S/c: Wistar
S/c: Wistar/ST
HOS*: Donryu
- モルモット S/c: Hartley
- ウサギ S/c: NZW
S/c: JW/CSK
- ハムスター S/c: Syrian
- 近交系
- マウス BALB/c Cr S/c
C57BL/6 Cr S/c
* C57BL/6J
C3H/He S/c
DBA/2 Cr S/c
NZW/N S/c
* A/J
AKR/N S/c
CBA/N S/c
C3H/He N S/c MTV*
* C3H/He J MTV*

- B10 C57BL/10 Sn S/c
コンジェニック B10.A/SgSn S/c
B10.BR/SgSn S/c
B10.D2/nSn S/c
B10.QBR/Sx S/c
B10.S/Sg S/c
- ラット F344/N S/c
WKAH/Hkm S/c
BN/SsN S/c
LEW/SsN S/c
ACI/N S/c
- モルモット Strain 2/S/c
Strain 13/S/c
- スナネズミ MON/Jms/Gbs S/c
- 交雑群
- マウス S/c: BDF₁
S/c: CDF₁
S/c: B6C3F₁
- ミュータント系
- ヌードマウス BALB/c S/c-nu
KSN/S/c
Lasat/S/c

Clean動物

- クローズドコロニー
- マウス Std: ddY
- ラット Std: Wistar
Std: Wistar/ST
HOS*: Donryu
- モルモット Std: Hartley
- ウサギ Std: NZW
Std: JW/CSK
- ハムスター Std: Syrian

Conventional動物

- ビーグル犬 ノーサンビーグル
カニクイザル } 繁殖生産ザル(奄美)
アカゲザル }



疾患モデル動物

- マウス NZB/N S/c (自己免疫疾患)
* MRL/MpJ-lpr (自己免疫疾患)
* MRL/MpTn-gld (自己免疫疾患)
* C57BL/6J-lpr (自己免疫疾患)
* C3H/HeJ-lpr (自己免疫疾患)
* C3H/HeJ-gld (自己免疫疾患)
* BXSB/MpJ-Yaa (自己免疫疾患)
CBA/N-PK-J^{91c} (自己免疫疾患)
(低活性・貧血)
S/c: (NZW x BxSB) F₁ (心筋梗塞)
S/c: NZBWF₁ (自己免疫疾患)
S/c: WBB6F₁-W/W^y (肥満・糖尿病・貧血)
S/c: WBB6F₁-SI/SI^{91c} (肥満・糖尿病・貧血)
NC/Ngaマウス (皮膚炎)
AKITAマウス (糖尿病)
☆HR-1 (ヘアレスマウス)
- ラット WBN/Kob S/c (高血糖好発)
DA/S/c (コラーゲン誘導関節炎)
HWY/S/c (ヘアレスラット)
S/c: WsRc-Ws/Ws (貧血・肥満・糖尿病・腎臓機能低下)
DA/S/c-bg/bg (NK細胞機能低下)
S/c: Zucker-fa/fa (肥満)
☆DIS/Eis-DIR/Eis (食塩感受性高血圧症)
☆EHBR/Eis (高ビリルビン血症)
- ハム ☆SHR-SHRSP-WKY (高血圧)
- マスター APA S/c (腎糸球体脂質沈着症)
トミ W-Y-Z系 (胃腸・前立腺炎)

その他

- 実験動物用床敷・ソフトチップ(木)・ペパークリーン(紙)
小動物識別染料クイックカラーペイント
実験動物診断EIA試薬(デンカ生研)
ラット静注用保定器

*印は受託生産動物、☆印は仕入販売動物です。



SLC

日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 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)
九州エリア(0942)41-1656(代)



社命は獣医診療への貢献。

信頼の情報をマルピー・ライフテックから。

マルピー・ライフテック株式会社は、小動物に関する臨床病理検査の業務を通して、先生方によりスムーズな日常診療を行っていただけるよう、的確な情報提供を行い学術的にサポートさせていただきます。

取扱検査項目

ウイルス検査
血液型検査
病理組織検査
免疫血清学検査
血液生化学検査
など…

 **マルピー・ライフテック株式会社**
〒563 大阪府池田市伏尾町103
TEL.0727-53-0335 FAX.0727-54-2208

J. G. L. J. van