

毒性病理研究会

第2回 学術集会

講演要旨集

1986年2月7,8日 東京

第2回毒性病理研究会—学術集会

1. 期 日 昭和61年2月7日(金), 8日(土)
2. 会 場 国立公衆衛生院講堂 (東京都港区白金台4-6-1)
3. 日 程

2月7日(金) 9:25~9:30 開会あいさつ (会長)

9:30~12:35 一般演題

13:40~14:00 総会

14:00~14:50 特別講演

15:00~17:30 シンポジウム

17:40~19:30 懇親会

2月8日 午前9:30~12:45 一般演題

12:45~12:50 閉会あいさつ (副会長)

4. お 願 い ☐ 参加費を予納した方は受付で名札 (参加章) を受取り, 会期中は必ず左胸につけてください。予納しなかった方は参加費 (6,000 円) を受付で支払って名札を受取ってください。
☐ 一般演題の講演時間は1題10分, 討論時間は約3分で, 時間の配分は座長にお任せ致しますので指示に従ってください
☐ スライドは35mm版に限り, プロジェクターは各2台用意します。

5. 会場への交通案内

- (1) 国電・山の手線 目黒駅から:

都バス -大井競馬場ゆき, 永代橋ゆき, 東京駅南口ゆき: 約5分-日吉坂上下車。

-日本橋三越ゆき: 約5分-医科研西門下車。

- (2) 国電・山の手線または京浜東北線 品川駅から:

都バス -目黒駅ゆき: 約12分-日吉坂上下車。

- (3) 地下鉄・日比谷線広尾駅から:

都バス -目黒駅ゆき: 約10分-医科研西門下車。

プログラム

特 別 講 演 (第 1 日 : 2 月 7 日 14 : 00~14 : 50)

司会 : 西山保一 (北里大・医)

Education, Continuing Education and Issues in Toxicologic Pathology

Dr. Michael Iatropoulos

(Medical Research Division American Cyanamid Co.)

シンポジウム (第 1 日 : 2 月 7 日 15 : 00~17 : 30)

A. 毒性変化と電子顕微鏡 [15 : 00~16 : 30] 司会 : 田島正典 (日生研)・後藤直彰 (山口大・農)

S 1. 毒性試験における肝の電顕検査

.....渡辺満利 (実験動物中央研)

S 2. 抗生物質による腎障害の形態学的特徴を例として

矢本敬・松沼尚史 (三共・安全研)

S 3. 神経吉村慎介・今井清 (食品薬品安全センター泰野研)

B. 毒性変化と酵素組織化学 [16 : 30~17 : 30] 司会 : 板倉智敏 (鳥取大・農)・土井邦雄 (東大・農)

S 4. 肝臓.....二木力夫・杉本哲朗 (中外製薬・開発研)

S 5. 腎臓.....安藤孝夫・宮嶋宏彰 (武田薬品・中研)

(時間は講演 20 分, 討論 10 に配分してありますが進行は司会者にお任せ致します)

一 般 演 題 第1日:2月7日(金)

[1~3] 9:30~10:10 座長:土井邦雄(東大・農)

1. F 344/slc ラットにおける石灰沈着について
今井俊介, 森本純司, 清塚康彦, 螺良義彦(奈良医大・2病理)
2. マウスにおけるメチルナフタレンによる肺の毒性について
小西陽一, 江見葉子, 村田芳明, 伝田阿由美, 白岩和巳(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
3. Paraquat の毒性作用: mitochondria (Ca^{++} -ATPase 活性の阻害
平井圭一, 藤本 和*, 伊野木清三, 上田忠司, 小川和朗*(金沢医大・解剖, *京都大・
医・解剖)

[3~5] 10:10~10:50 座長:岡庭 梓(田辺製薬・安全研)

4. F 344 ラットにおける食道拡張症
真板敬三, 平野雅裕, 原田孝則, 白須泰彦(残留農薬研)
5. 食塩長期投与によるラット胃粘膜の病理組織学的変化
長谷川良平, 古川文夫, 豊田和弘, 佐藤秀隆, 高橋道人(国立衛試・病理)
6. 下痢性貝毒による実験的中毒症の病理形態
寺尾 清¹⁾ 伊藤 恵美子¹⁾ 安元 健²⁾ (¹⁾千葉大活性研, ²⁾東北大・農)

[7~9] 10:50~11:30 座長:後藤直彰(山口大・農)

7. 完全静脈栄養法によるラットのメチオニン欠乏時の病理学的変化
栗栖和信, 川口義郎, 長根芳文, 長沢孝二郎, 川島裕造(大塚製薬・研究開発)

8. 有機溶媒 furfural 単回経口投与のラット肝に及ぼす影響
清水昭男・蟹沢成好（横浜大・医・病理）
9. ブタ血清反復投与マウス胆管病変の α -naphthyl isothiocyanate (ANIT) 処置による増強
中山裕之¹⁾・土井邦雄・本庄和人・前田尚久・土居千代・光岡知足・藤原公策¹⁾（東大農・実験動物, ¹⁾家畜病理）

[10～12] 11:30～12:10 座長：宮嶌宏彰（武田薬品・安全研）

10. ラット腎及び膀胱への $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 及び H_3NTA による影響
北堀吉映, 日浅義雄, (奈良医大・1 病理)
11. N-methylni trosourea 誘発の奇形性水小頭症ラット前頭葉の電頭的観察
相内聖峰, 小林賢一, 佐久間貞重（アップジョン・総合研）
12. 有機水銀投与ラットにおける聴覚障害—病理変化と聴性誘発電位—
阿部敏男, 山本正樹, 森島英喜, 花安百合子, 千葉祐広, 宮嶌宏彰
（武田薬品・中研）

[13～14] 12:10～12:35 座長：真板敬三（残留農薬研）

13. ラットの Galactose 白内障の形態発生について
和田 功, 福島登美子, 湊 良雄, 武下政一, 岡庭 梓（田辺製薬・安全研）
14. イヌにおけるジंकピリチオン誘発網膜症について
乾 俊秀, 久世 博, 高田 博, 堀 正樹, 岡庭 梓（田辺製薬・安全研）

一般演題 第2日目：2月8日(土)

[15～17] 9：30～10：10 座長：榎本 真（安評センター）

15. 老齢 F 344 ラットの自然発生腫瘍

花田貴宣，堺 俊治，岡宮英明，三木寿雄（山之内製薬，安全研）

16. ラットにおける N-nitroso-bis(2-hydroxypropyl)amine (BHP)

関連物質の腹腔内 1 回投与による発癌性の比較検討

横瀬喜彦，牧野剛緒，伝田阿由美，高橋精一，小西陽一（奈良医大・がんセ・腫瘍病理）

17. N-ethyl-N-nitrosourea 新生仔期 1 回投与により誘発される腫瘍の動物種差及び系統差について

内藤正志，伊藤明弘（広大・原医研・癌）

[18～20] 10：10～10：50 座長：小西陽一（奈良医大）

18. ハムスターにおけるタバコ煙の 24 カ月慢性吸入毒性・発癌性に対するビタミン C 投与の効果

原田孝則，北澤利明，榎本秋子，真板敬三，白須泰彦（残留農薬研）

19. ラット前胃腫瘍の形態学的研究

玉野静光，福島昭治，増井恒夫，柴田雅朗，伊藤信行（名市大・医・一病）

20. 市販 BHA (2-t-BHA, 3-t-BHA の混合物)，2-t-BHA, 3-t-BHA および BHT 投与によるハムスター前胃初期病変の比較

宮田幸忠，広瀬雅雄，増田あつ子，小木曾正，伊藤信行（名市大・医・病）

[21~22] 10:50~11:15 座長：林 裕造（国立衛試）

21. ラット肝発癌過程における胎盤型 glutathione S-transferase (GST-P) と γ -glutamyl transferase (γ -GT) の指標酵素としての検討

立松正衛, 米良幸典, 倉田靖, 山下隆生, 津田洋幸 (名市大・医・一病)

22. マウス肝芽細胞腫の形態学的特徴と α -fetoprotein およびケラチンの検索

野々山 孝, G. Reznik¹⁾, T. J. Bucci¹⁾, F. Fullerton²⁾, J. M. Ward³⁾

(武田薬品・中研, ¹⁾PAI/NCTR, ²⁾NCTR/FDA, ³⁾NCI/NIH)

[23~25] 11:15~11:55 座長：蟹沢成好（横浜市大・医）

23. EHEN ラット腎腫瘍性病変部の glutathione S-transferase の各分子種, glucose-6-phosphate dehydrogenase および γ -glutamyl transpeptidase の各酵素表現型の組織化学的観察

井上忠志, 津田洋幸, 朝元誠人, 白井智之, 立松正衛 (名市大・医・一病)

24. ウラシル投与によるラット膀胱結石と可逆性膀胱乳頭腫症の発生

田川義章, 白井智之, 福島昭治, 広瀬清信, 伊藤信行 (名市大・医・一病)

25. 膀胱発癌過程における間質の形態学的変化

荒井昌之, 日比野勤 (藤田学園大・衛生・病理)

[26~29] 11:55~12:45 座長：伊東信行（名古屋市大・医）

26. ニトロソ尿素によるラット卵巣セルトリ細胞腫の発生

前川昭彦, 小野寺博志, 谷川廣行, 菅野純 (国立衛試・病理)

27. X線, MNU 及び性ホルモンのラット乳腺腫瘍発生への効果。特に組織学的特徴について

伊藤明弘, 内藤正志, 渡辺敦光 (廣大・原医研)

28. カニクイザルの肺転移を伴う乳腺部基底細胞癌

中島信明, 真板敬三, 白須泰彦 (残留農薬研)

29. ラットにおける Diphenyl 発癌性試験中にみられた骨肉腫の移植について

白岩和巳¹, 堤 雅弘¹, 宮内義純^b, 三井宜夫², 田村一利¹, 玉井幸子, 小西陽一¹ (奈良医大・¹がんセ・腫瘍病理, ²整外)

渡辺満利（実中研・前臨床研）

電顕が細胞の微細構造の研究に用いられ、1945年にPorterらがendoplasmic reticulumを観察し命名してから今年でちょうど40年になる。その間の電顕ならびにその応用技術の発達急速であり、透過型をはじめ走査型、超高圧電顕、X線微小分析、フリーズレプリカ法、凍結乾燥法、組織化学、オートラジオグラフィ、画像解析法などが開発されてきた。現在ではこのような電顕技術が薬物の毒性研究にも盛んに用いられているが、ここでは広く利用されている透過型電顕に限って話を進めたい。

毒性発現機序の研究において電顕は有力な武器であり、電顕所見が肝の毒性発現機序解明の糸口となったものも多い。しかし、薬物による肝の微細構造の変化はさまざまなものが報告されており、それらの変化が小器官のいかなる機能状態を反映しているのか明らかなでないものも少なくない。日常の電顕検査においてもそのような像に遭遇することが多い。一般毒性試験においては、標的臓器が判明していない時点で肝の電顕検査を行わなければならないことが多く、その結果、肝の微細構造に変化が観察されるケースとして以下のような場合がみられる。

1. 肝機能検査・光顕所見のうえで肝障害が認められる場合。
2. 肝以外が毒性の標的臓器であり、二次的に肝の変化が生じている場合。
3. 肝の微細構造の変化が薬物の代謝・排泄に関連した適応性変化である場合。
4. 肝の微細構造に変化がみられるが、それに関連すると思われる変化が他臓器などに認められない場合。

このようなケースのうち1および2については、変化の意味するところは明瞭である。3と4の場合を毒性変化とするかどうかについては難しい問題であるが、3については変化の発現機序を解釈するのは容易である。最も

しばしば遭遇し困るのが4の場合である。これを毒性変化と解釈するかどうかは別として、多くの場合、このような変化の発現機序を明らかにするための研究を進めて行けないのが現状であろう。このような時、類似変化の報告例と対比させ、その変化の意義を類推しなければならないことが多い。そこで、薬物に起因した肝細胞小器官の形態的变化についてわれわれが経験した例および報告例の中からいくつかを紹介し、毒性試験において肝の微細構造変化を解釈するうえでの参考としたい。なお薬物起因性の肝細胞小器官の変化の代表的なものとして以下の変化が観察されている。

薬物に起因した肝細胞小器官の変化

a. 細胞膜

vacuolar invagination, microvilliのbleb形成, microvilli消失。

b. 核および核小体

perichromatin granuleの増加, pseudo-inclusions, 核小体の解離 (segregation), 核小体の断裂 (fragmentation)。

c. 小胞体

拡張および空胞形成 (vesiculation), 粗面小胞体のリボゾームの離脱, 減少, 滑面小胞体の増生, membrane whorls。

d. ミトコンドリア

増加, 減少, 膨化 (swelling), 肥大 (hypertrophy, megamitochondria), crystalloid inclusions (paracrystalline material), Ca沈着。

e. マイクロボディー

増加, 減少, matrical tubules, matrical plates, crystalloid。

f. ライソゾーム

pericanalicular dense bodyの増加, myeloid bodies, focal cytoplasmic degradation (FCD)。

g. ゴルジ装置

増生, cisternaeおよびvesicleの拡張。

○ 矢本 敬，松沼尚史（三共・安全研）

新規化学物質のヒトに対する安全性を評価するための情報を得る目的で、実験動物に多量かつ繰り返し投与して、その発現した毒性変化を解析する毒性試験が行われる。被験化学物質の代謝あるいは排泄の経路と関連して、肝臓や腎臓は毒性発現の標的臓器になる場合が多い。投与量依存性をひとつの指標として、被験化合物に起因した変化を抽出するのであるが、解析および評価上問題となるのは、機能異常と形態異常の関連およびその回復性である。形態学的な変化については、正常構造からの逸脱を病理学的手法に基づいて評価を行う。この場合、変化の閾値を求め安全性に関する境界量を推測する時に、初期変化を把握する手段の精度が問題となる。光学顕微鏡観察により、この初期変化を半定量的に提示することが難しい場合がある。このような場合の形態変化を、経過を追跡しながら評価する時に電子顕微鏡が有力な道具となる。ここでは、抗生物質による腎臓の障害をモデルとして電子顕微鏡の有用性およびその限界について考える。

7週齢のラット（F344，雄）にゲンタミン（Schering Co U.S.A.）を90mg/kg/day および45mg/kg/day 皮下投与した。投与日数は、0，1，2，4，7，10日間で、それぞれの投与日数別に各々2匹を用いた。軽麻酔下で放血致死させ、ただちに腎臓を摘出し、常法に従って浸漬固定して標本を作製した。透過型電子顕微鏡（JEM-100CXII）を用いて近位尿細管上皮細胞を観察し、一定倍率の写真を撮影して、二次水解小体の数および面積を測定した（ディジタイザー，武藤工業）。その結果、二次水解小体は、投与後24時間で既にその数が増加していた。投与日数が増えるに伴い、二次水解小体は数と大きさを増した。これらの変化には、経過時間および投与量に依存する傾向が明らかであった。

以上は、モデル実験による毒性発現の標的臓器における変化の経時的な追跡例である。機能異常あるいは光学顕微鏡的な変化が把握できない段階で二次水解小体の増加という形態変化を電子顕微鏡はとらえることが可能であり、かつ、時間の経過と共に不可逆の変化に進行し光学顕微鏡で明確に検出記述できるようになる過程を示すことができた。

電子顕微鏡を用いて毒性変化を解析する場合の利点は、ここで示した腎臓のモデルで明らかに、毒性発現の初期変化とその経過を把握できるということである。電子顕微鏡を用いて明らかにした情報と、機能異常を検出するための生化学的な指標および光学顕微鏡の変化とを合わせ考えることによって、毒性発現機序あるいは不可逆な形態変化に進行する過程を総合的に評価することが可能となるであろう。しかし、当然のことではあるが電子顕微鏡では極めて限られた範囲に関する情報の提示しかできないということを常に念頭において、日常の毒性試験では、まず光学顕微鏡による標的臓器の特定が重要であると考ええる。

○吉村慎介・今井 清（食品薬品安全センター・秦野研）

毒性試験に電顕がよく利用され、より詳細な変化が観察されるようになってきているが光顕と異なり、多数の標本を作製するのは困難であり、観察できる面積も光顕とは比べものにならないほど少ない。また、観察するのに多くの時間を要する。そこで電顕の観察は、光顕ではとらえにくい軽微な変化、あるいはより詳細な変化を明らかにしたい時に有効な手段である。また artifact の出やすい組織あるいは組織片が小さく通常の方法による光顕での観察が容易でない組織には電顕を利用すべきである。

神経組織は比較的 artifact の生じやすい組織であるが、中枢神経ことに脳神経に見られる病変は注意深く観察すれば通常的光顕でも認識することが可能であり、しかも脳神経系では病変の局在を明確にしておく必要がある。この点に関しては電顕はむしろ不向きであると考えられる。一方、末梢神経においては良好な光顕標本を作製するのが容易でなく、また artifact との鑑別が困難で、しかも得られる材料は非常に少量であることから光顕的に判定し得る所見は著しく限定されるので、電顕の利用価値が極めて高い組織の一つと考えられる。

演者は、厚生省特定疾患スモン調査研究班での研究、あるいは一般毒性試験において神経組織を電顕的に観察する機会を得たので、そのときに用いた方法およびいくつかの薬物による毒性変化を紹介するとともに2-3の問題点を提起したい。

神経組織の観察、特に電顕による観察を行うには、より artifact の少ない標本を得るため、灌流固定が必要である。通常、神経組織の固定には大動脈起始部にカニューレを挿入して、全身を灌流する方法がとられている。灌流は固定液の入った容器を高く持ち上げて落差を利用するか、あるいは送液ポンプを用いるが、ポンプの場合は脈流が発生するため、これを消去する装置が必要であると思われる。固定液を灌流する前に、ヘパリンを加えた緩衝生理食塩水で血液の洗浄を行うと、より確実に固定が行える。固定液は0.1 M リン酸緩衝した4%パラホルムアルデヒドと、2.5%グルタルアルデヒドの等量混合液を用いた。灌流固定により、artifact はかなり

改善されたが、中枢では髄鞘のミエリン層間の剥離が生じた。

脊髄はラットでは横断する方向に切り出し、そのままフラット型のポリエチンカプセルに包埋したが、イヌでは横断スライスを3つに分割した後、包埋した。変化が明らかな時は厚切りトルイジンブルー染色標本で光顕的に充分変化がとらえられ、その中から必要な部分をトリミングし超薄切片を作製した。キノホルムを投与したイヌの場合、脊髄では後半身よりの知覚神経線維が上行するGoll索に変性が見られることが多く、遠位部の頸髄により強く現れた。一方、運動神経では、腰髄に強い変化が見られた。

神経細胞における変化は、キノホルム投与例では明らかではなかったが、ラットにおける薬物誘発性リン脂質症の際に脊髄神経節や、腸管のAuerbach神経叢の神経細胞に細胞質内封入体が多数形成され、小脳のプルキンエ細胞にも少数が認められた。

末梢神経でも坐骨神経から足底神経に至るまで、厚切りトルイジンブルー染色標本でかなりよく変化をとらえることができ、特にエタノールで分別すると神経線維間の膠原線維が脱色され、髄鞘が濃く染まって観察しやすい。しかし、軸索内の構造や無髄神経線維の変化を見るには超薄切し、電顕的に観察しなければならない。さらに末梢の神経終末になると厚切り切片では充分には観察できず、そのうえ神経終末を探りあて標本にするのは容易ではない。効率よく電顕観察を行うためにいくつかの方法を試みた。

運動神経が筋に付着する部位は運動終板と呼ばれるが、厚切り切片でその部位を捜し出すのは容易でない。そこで灌流固定後、時計ビンセットで筋をはぐし、十から十数本の筋線維の束にして、アセチルコリンエステラーゼの酵素組織化学的染色をごく短時間行くと、運動終板のある部位が染め出される。反応陽性部位は1本の筋線維に1個、隣り合う筋線維にも並んで見られるので、この部位をトリミングして包埋すると、かなり効率よく運動終板を観察することができた。

知覚神経の終末として、例えば筋紡錘は太い筋肉

では分布密度が低く、多数の厚切り切片を作製して
探し出さねばならない。しかし、細い筋ではかなり
検出しやすく、中足骨に付着するように位置する骨
間筋の標本をつくることにより、筋紡錘を標本にで
きる確率は増した。皮膚に分布する終末はいくつか
あるが、メルケル細胞およびそれに付着する神経軸
索を観察するには、イヌでは実体顕微鏡で毛盤を捜
し、その部位を標本にすることで確実に見出せた。
しかし、ラットでは毛盤は小さく、実体顕微鏡下で
は見出せなかった。イヌの毛包の外根鞘周囲にある
柵状神経終末は、厚切り切片では白く抜けて見える
ので、その部位を超薄切した。

以上、演者の行った方法、経験した所を述べた。
通常の毒性試験の解剖時に同時に電顕用に広い範囲
の神経組織を採取するのは困難で、特に神経症状の
認められる様な場合には別に電顕用の動物を用意す
るのが望ましいと思われる。採材部位については、
末梢神経はどれほど遠位まで観察する必要があるか
一概に言及することはできないが、少なくとも坐骨
神経だけというより、脛骨神経や筋間を走行する神
経線維などの観察も必要と思われる。

肝細胞は、その有する複雑豊富な機能を反映して、組織化学的に追求される酵素は多種にわたり、また、各種酵素は小葉内に規則性をもって分布していることが知られている。病変肝では、このような規則性は乱れ、酵素反応の増強、減弱、局在の変化、反応産物の形状変化が生じる。一般的には、肝小葉内の壊死部は酵素活性が消失し、細胞浸潤巣の周辺の肝細胞および変性ことに脂肪変性におちいった細胞では酵素活性は減弱するとされている。

通常、肝臓の毒性変化を検討する際の酵素組織化学の応用としては、概ね二つに整理することができると思われる。

第一に、各細胞内小器官における指標酵素の局在性変化を明らかにして、一般の形態学でみられる病態を小器官レベルでの病的変化として認識する場合があげられる。検索の目的に応じて、対象となる酵素を選択することになるが、一般に、膜系酵素である adenosine triphosphatase, alkaline phosphatase, 5'-nucleotidase, ゴルジ装置やライソゾームに関与する acid phosphatase, esterase, β -glucuronidase, ミトコンドリアにおける脱水素酵素 succinate dehydrogenase, 小胞体に関与する glucose-6-phosphatase, ペルオキシゾームに関与する catalase, peroxidase などが比較的頻繁に用いられていると思われる。過去、このような観点から、代表的な肝障害物質である四塩化炭素、D-ガラクトサミン、エチオニン、チオアセタミド、クロフィブレートなどについて広範な研究がなされている。病的状態に至るまでの観察、特に初期変化の機能面での把握において、酵素組織化学のもつ有用性は言うに及ばず、例えば、四塩化炭素では小胞体の変化と相まって glucose-6-phosphatase の減少が早期より起こることが実証されている。前二者の肝障害物質を中心に、先人の追試の範囲内に過ぎないが、我々の知見をまじえて、主要な各指標酵素の変化を整理してみたい。

第二に、細胞の代謝機能の変化を追求する場合が考えられ、glucose-6-phosphate dehydrogenase, leucine aminopeptidase, phosphorylase などが加わる。しかし、肝癌研究における γ -glutamyltranspeptidase による形質偏倚の検出などは特異な例で、代謝機能の変化を追求できる酵素は、従来の酵素活性の証明に基づいた手法では必ずしも多くない。この方面の研究では、酵素蛋白の局在を証明する免疫組織化学的な方法が応用されつつあり、特に、肝ミクロソームでの薬物の代謝的活性化による脂質過酸化の亢進が肝毒性の原因の一つとして重要視されてきている中で、グルタチオン代謝に関しても関連酵素の組織化学的なアプローチが可能になってきている。

脂質過酸化を誘起する薬物として小葉中心性の壊死および脂肪化をきたす四塩化炭素はよく知られ、ミクロソームの電子伝達系でフリーラジカルであるトリクロルメチルが生成され、これが prooxidant として働き、膜リン脂質の多不飽和脂肪酸が過酸化を受けるとされているが、これら脂質過酸化に対してグルタチオン関連酵素のなかでも特に還元型グルタチオン (GSH) を酸化型グルタチオン (GSSG) に変換する glutathione peroxidase は防御因子として重要な役割を果たしていると考えられている。最近、東海大学医学部・渡辺慶一教授のもとで、四塩化炭素投与ラットについて、glutathione peroxidase の肝小葉内および肝細胞内分布が検討され、脂肪肝発生、強化における脂質過酸化の意義究明が試みられているので紹介してみたい。また、我々も脂質過酸化を誘起するとされているアセトアミノフェンについて、グルタチオン関連酵素の免疫組織化学的な観察を進めているので、その成績もあわせて報告する。

安藤孝夫, 宮嶋宏彰 (武田薬品・中研)

1. 始めに

毒性試験における酵素組織化学的検査の目的は、各種臓器における酵素活性を組織化学的に検出し、その染色性の強さおよび局在について毒性との関係を比較検討することにある。

諸種薬剤の毒性試験において、腎臓は最も毒性が起りやすい臓器のひとつである。その原因は、腎臓が各種薬剤における主要な代謝排泄経路の1つであること、循環血液量が極めて豊富なこと、物質あるいは電解質の吸収排泄に関連して薬剤が腎実質内あるいは尿細管の管腔内に蓄積しやすいこと、尿濃縮能に関連して薬剤濃度が高まることなどが考えられ、腎毒性発現は腎臓の機能と構造に密接に関与している。腎臓は形態学的には皮質と髄質に分けられ、糸球体、尿細管、間質組織から構成されている。尿細管はさらに、近位尿細管(曲部と直部; S_1 , S_2 と S_3)、ヘンレ係蹄(細い部と太い部)、遠位尿細管、および集合管から構成され、吸収排泄あるいは尿濃縮機構に対応したそれぞれの特徴的な細胞構造を備えている。たとえば、同じ尿細管上皮でも近位尿細管ではライソゾームとミトコンドリアが豊富であり、ヘンレ係蹄の太い部と遠位尿細管では基底陥入膜とミトコンドリアが豊富でライソゾームが少なく、それぞれ多様な細胞内小器官分布を示している。従って腎臓の酵素組織化学検査に際しては以上の尿細管あるいは上皮細胞の特徴を十分に把握した上で評価することが重要である。

2. 腎臓における酵素組織化学

現在では、腎臓に関する多くの酵素について組織化学的検出方法が確立されている。本報告では、ライソゾームの標的酵素として酸性ホスファターゼ(Acid phosphatase, ACP)、刷子縁の標的酵素としてアルカリホスファターゼ(Alkaline phosphatase, ALP)、ミトコンドリアの標的酵素としてコハク酸脱水素酵素(Succinate dehydrogenase, SDH)、基底陥入膜の標的酵素としてK依存性ウバイン感受性P-ニトロフェニルホスファターゼ(K-dependent, ouabain-sensitive P-nitrophenyl phosphatase, K-NPPase) およびその他の酵素について概略を述べる。

ACP活性は近位尿細管上皮で強く、光顕的には顆粒状であるが、電顕的には活性はライソゾーム内部に認められる。近位尿細管は糸球体の位置から S_1 , S_2 (曲部), S_3 (直部)の3部位に分類され、ラットでは上皮細胞内のライソゾームの数は部位によって異なり $S_1 > S_2 > S_3$ で、ACP活性の強さ $S_1 > S_2 > S_3$ とよく対応している。セファロリジンなどセファロ系抗生物質は主として近位尿細管の曲部上皮のACP活性を増加させるがこれは薬剤が上皮細胞内に入り、ライソゾームに取り込まれてヘテロライソゾームを形成することによると考えられる。また、ゲンタマイシンやカナマイシンのようなマクロライド系抗生物質を投与すると、近位尿細管の曲部上皮内にACP活性が増加する。これは、細胞内に取込まれた抗生物質が細胞質内の膜障害をおこし、障害された膜が、ライソゾーム内に取り込まれて、光顕的には好塩基性顆粒の沈着として認められ、電顕的にはミエリン像を示すライソゾームの増加として認められる。

ALP活性は尿細管の中では近位尿細管の刷子縁に認められる。電顕的には活性は刷子縁の微絨毛表面に認められる。近位尿細管以外の尿細管にはALP活性が認められないことから、近位尿細管の標的酵素としてしばしば用いられている。薬剤が血中から糸球体を通して尿中に排泄される場合、近位尿細管上皮の刷子縁は薬剤と直接的に接触し、影響をうける。水銀、ウラニウムおよびカドミウムなどの重金属を投与したり、実験的虚血においてもALP活性の低下が認められるが、これらの変化は、いずれも刷子縁が障害を受けて剥離・消失した結果と考えられる。

SDH活性は近位および遠位尿細管上皮およびヘンレ係蹄上行脚太い部上皮に強い活性が認められる。これらの尿細管はいずれもミトコンドリアが豊富で好氣的である。SDH活性の低下は尿細管上皮の変性・壊死に際して認められるが、このような場合、ミトコンドリアの呼吸障害あるいは酸化的リン酸化阻害があるものと考えられる。一般に、病変が巣状に発現するとSDH活性も巣状に消失し、正常部位との境界は明瞭となる。

K-NPPase活性は遠位尿細管上皮およびヘンレ係蹄

上行脚太い部上皮に強く認められる。電顕的には活性は、基底陥入膜の細胞質側に認められる。このK-NPPase活性は反応液からKを除くと消失し、Na, K-アデノシントリホスファターゼ(Na, K-adenosine-triphosphatase, Na, K-ATPase)の特異的阻害剤であるウワバインによって抑制される。従って、K-NPPase活性はNa, K-ATPase反応系のK依存性の部分であることが明らかにされている。クロールサイアザイドおよびフロセマイドのような利尿剤や葉酸を投与した腎ではK-NPPase活性の低下が認められるが、本酵素活性の低下は基底陥入膜に障害が生じた結果と考えられる。現在のところ組織化学的に遠位尿細管およびヘンレ上行脚太い部上皮に特異性の高い酵素活性の検出法は少ないが、K-NPPaseはこれら尿細管上皮に最も特異性の高い酵素の1つと考えられる。

その他、小胞体の標的酵素としてグルコース6ホスファターゼ(Glucose-6-phosphatase, G6Pase), ゴルジ装置の標的酵素としてチアミンピロホスファターゼ(Thiamine pyrophosphatase, TPPase)およびマイクロボディの標的酵素としてカタラーゼ(Catalase, Ca)があり、それぞれの目的に応じた酵素活性について組織化学的に検索することが必要である。以上の概要を下表に要約した。

表1 ラットの腎臓における酵素活性の強さと局在

酵 素	尿細管の部位 標的小器管	近位	遠位	ヘンレ	集合管
		尿細管	尿細管	太い部	(皮質)
A C P	ライソゾーム	+	±	±	±
A L P	刷 子 縁	+	—	—	—
S D H	ミトコンドリア	+	+	+	+
K-NPPase	基底陥入膜	±	+	+	+

3.実験的閉塞腎とK-NPPase活性の酵素組織化学

ビタミンB₁₂類似化合物である葉酸の大量単回投与によって閉塞腎が誘発される。葉酸の250mg/5ml 3%重炭酸水素ナトリウム/kgを8~10週齢の雄Wistarラットの腹腔内に単回投与し、3, 24, 72および144時間後に腹大動脈から採血し、腎臓を採取した。剖検では腎臓の腫大・褐色、重量の増加が投与3時間後から

認められ72時間後で最高となり、146時間後ではほぼ正常に回復した。腎臓の断面では髓質外帯内層を中心として橙色の沈着物が投与3時間目より明瞭に認められた。沈着物は葉酸の色調と類似しており、葉酸、その代謝物または両者の混在と考えられた。腎臓における3時間後の未固定凍結切片の無染色標本や通常のHE標本の観察では、髓質外帯内層のヘンレ係蹄上行脚の太い部に橙色結晶の著しい沈着が認められ、髓質外帯内層および皮質の遠位尿細管に軽度から中等度の沈着が認められた。乳頭部では24時間後から淡黄色の結晶が認められたが、これは尿細管の上部で沈着した結晶が溶解あるいは崩壊して乳頭部へ移動した結果と考えられた。いずれの部位においても72時間では結晶は著しく減少し、144時間では消失した。血液尿素窒素(Blood urea nitrogen, BUN)は経時的に増加し、72時間後を最高として下降し、144時間後ではほぼ正常に回復した。これらの変化は尿細管内結晶の出現やその程度とよく対応し、尿細管閉塞による尿素排泄の阻害に由来すると考えられた。

以上の葉酸大量投与による腎尿細管の変化をK-NPPase活性を指標として酵素組織学的に観察した。投与3時間後では、K-NPPase活性の軽微な低下がみられ、24時間後では広範囲にわたって著しい低下が認められた。72時間以降では腎尿細管の全域にわたって経時的にK-NPPase活性の回復がみられ、基底陥入膜や尿細管上皮の強い再生が認められた。また、K-NPPaseを生化学的に定量したところ酵素組織化学的变化とほぼ同様な経時変化が得られた。しかし、生化学的検索では変化した尿細管の部位を特定することはできない。

酵素組織化学的検査はin situにおける酵素活性の変化を知ることによって、毒性変化を機能の面から解析できる点で重要であると考ええる。



今井俊介, 森本純司, 清塚康彦, 堀良義彦 (奈良医大・2病理)

マウス, ラット等の実験動物の臓器に自然発生した石灰沈着についてはEaton, 吉田らの報告があるが, その報告例はわずかである。特に石灰沈着は病的変化の強いあらわれと考えられることより, 体系だった研究は必要と思われる。

今回, 我々はF344/S1c ラットを用いて塩化ナトリウムと塩化カリウムの2年間にわたる慢性毒性試験を行なった。その際, 各臓器にみられた石灰沈着の発生頻度および, 発生部位につき観察し, 病理学的検討を行なったのでここに報告する。

動物は静岡実験動物農協より生後4週齢のF344/S1c ラットの雄300匹を購入し実験に供した。飼育は当大学の空調動物室で行ない, 飼料と水道水を自由に摂取させた。

投与は飼料混入によった。オリエンタル酵母 K.K の MF 粉末飼料を基礎飼料として, 表に示した如く実験群を構成して2年間の毒性実験を開始した。

動物はすべて屠殺後剖検し, 臓器はすべて20%ホルマリンで固定した。通常の如く, パラフィン切片を作製し, ヘマトキシリン-エオジン染色 (H・E 染色), コッサ染色を施した。

各臓器に観察された石灰沈着の発生頻度および発生部位については表に示した。まず1群の対照群から6群のKCl + NaCl 相乗群までいずれの群においても, 石灰沈着の発生頻度, 部位においても差はみられず, 特に飼料混入による影響はみられない。臓器別では, 精巣, 肺臓, 腎臓, 心臓, 脳, および動脈の順に石灰沈着は多くみられた。特に精巣と肺臓は高頻度である。組織学的には精巣では大部分精細管上皮内である。肺臓では太い肺動脈壁での限局した石灰沈着が30%以上であった。また, 肺胞内での骨形成 (ossification), さらに肺胞壁にそって線状に沈着したいわゆる病変の程度が高度な例も6%認められた。この際には, 肺動脈にも広範囲に石灰沈着がみられた。石灰沈着は, H・E 染色では暗赤色顆粒状であり, Kossa 反応では黒く染った場合に陽性と断定した。腎臓では, 腎動脈壁および尿細管上皮に著しく広範囲に石灰沈着がみられた。心臓でも同じく病巣は広範囲であり, 心筋組織および動脈壁にみられた。脳ではすべて毛細血管か脈絡膜であった。大動脈では中膜に石灰沈着がみられた。今回

検索したラットにおいては, 甲状腺, 骨に臓器への石灰化を起こすような所見は観察されなかった。また, 上皮小体においては過形成を認めたものの, 発生頻度も低く, 特に明らかな石灰沈着との相関はみられなかった。

石灰変性は壊死巣, 酸欠乏状態さらに動脈硬化時の代謝の低下した組織に認められるが, 病理発生的にはいずれも局所性あるいは, 全身性のアルカローシスになった場合, カルシウムが溶けない為発生するものと考えられている。起生する要因としては, 妊娠, 出産, 栄養, 年齢等程々の条件が関与している。しかし, 真の発生成因については不明点が多い。いずれにしても, 石灰沈着は何らかの強い組織の病的変化のあらわれと考えられる。本実験においては, 結果に示したように, 石灰沈着の発生率とその臓器分布において, 対照群と実験群との間では有意な差はみられず, 本実験にみられた石灰沈着は自然発生と考えられる。実験動物における石灰沈着の自然発生についての系統だった報告例は少ない。Eaton らはC3H系マウスについて, また最近吉田らもC3H系マウスにおいて, 肺臓が最も石灰沈着が多い臓器であること, また老齢経産マウスほど高率であると報告している。ラットでは, 経産ラットで腎臓, 心臓, 動脈壁の石灰沈着について報告されている。本実験にみられた石灰沈着の起こりやすい臓器およびその分布の結果は, ほぼ文献に報告されている結果と一致するものである。ただ今回の結果より石灰沈着の大部分のラットは2年時の屠殺時のラットであった点, 雄であった点を考えると加齢による老化の影響が石灰沈着の要因として考えられる。しかし雌を含めたより詳細な研究が必要と思われる。

Carcified lesions in the organs of F344/S1c rats fed KCl and/or NaCl

Lesions in	Group KCl NaCl No. of rats	I Control	II 0.25%	III 1%	IV 4%	V 4%	VI 2%
		50	50	50	50	50	50
Lung: alveolar wall	1	6	7	1	0	3	
artery	16	15	16	15	18	14	
Heart: myocardium	2	2	4	0	0	2	
artery	2	4	4	0	1	2	
Kidney: tubule	3	5	6	1	3	3	
artery	3	5	6	1	3	3	
Testis: tubule	23	27	13	18	20	18	
artery	1	1	0	0	0	0	
Brain: capillary	0	0	0	0	2	6	
choroid plexus	1	2	3	0	2	6	
Artery: tunica media	0	1	1	1	0	0	

○ 小西陽一, 江見葉子, 村田芳明, 伝田阿由美, 白岩和巳 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

メチルナフタレンは、合成繊維の染色の時に染浴に添加するキャリアーとして広く用いられている物質である。メチルナフタレンは、 α と β -isomerの混合体として使用されているが α -isomerである1-メチルナフタレンは灯用石油による煤煙の一成分であることも判明している。本実験の目的は、雌マウスの皮膚にメチルナフタレンを塗布しその毒性について検索することにある。その結果、高率に内因性脂質性肺炎の発生をみたので報告する。

材 料 と 方 法

動物は、体重20g前後の $B_6C_3F_1$ 雌マウスを用いた。メチルナフタレンは、実験-Iではアセトン1mlに対して5.97mgの混合液を、実験-IIでは11.88mgの混合液を作製しバリカンにて剃毛したマウスの背部皮膚に週2回の割合で局所塗布を行った。実験期間中は、週1回の割合で体重を測定し、屠殺はエーテル麻酔下で行ない全臓器について病理組織学的に検索した。

実験-Iでは、第1群は対照群でアセトンのみを塗布した群、第2と3群はそれぞれマウスの体重kg当たり59.7mgと118.8mgのメチルナフタレンを塗布した群とした。マウスは61週と105週で屠殺した。実験-IIでは、第1群は対照群でアセトンのみを塗布した群、第2と3群はそれぞれマウスの体重kg当たり118.8mgと237.6mgのメチルナフタレンを塗布した群とした。マウスは経時的に実験開始後5, 10, 20, 30, 40と50週に屠殺した。

屠殺時には、マウスの全臓器を中性ホルマリンに固定し、組織学的検索のための資料とした。電顕的観察のための肺は、実験-IIの30週にて屠殺した動物より採取し、グルタル・アルデハイドで前固定を行い、その後オスミウム酸にて後固定を施した。資料は脱水ののち、エポキシ樹脂に包埋して超薄切片を作製し酢酸ウラニル飽和50%アルコール溶液及びレイノルド鉛染色液による二重染色を施し、日立HA12透過型電顕にて観察した。

生化学的検索は、実験-IIの50週で屠殺したマウスの肺を用いて行った。肺より F_{0LCH} らの方法で総脂質を抽出し、中性脂肪とリン脂質について薄層クロマトグラフィーで分析した。

結 果

脂質性肺炎の発生頻度とその様式

実験-Iにおける脂質性肺炎の発生頻度は、実験開始後61週にて第1群では0/14匹(0%)、第2群では3/11匹(27%)、第3群では31/32匹(97%)であった。実験開始後105週での頻度は、第1群は0/22匹(0%)、第2群は16/16匹(100%)で第3群のマウスは全て61週にて屠殺した。脂質性肺炎の発生様式を実験-IIより検索すると、脂質性肺炎は第1群ではいずれの時期に屠殺したマウスの肺にはみられず、第2群では20週にて6/16匹(60%)で、30週以降では100%に発生し、第3群では5週にて2/5匹(40%)、20週以降では100%であった。脂質性肺炎が100%発生に要するメチルナフタレンの量と期間は、第2群ではマウス体重kg当たり7128mgで30週を要し、第3群では9504mgで20週を要した。

病理学的所見

脂質性肺炎は、肉眼的に限局した灰白色の多発性結節として認められた。組織学的には、肺胞腔内に多数の泡沫様細胞が蓄積され、この細胞の崩壊によるコレステリン結晶の析出がみられた。時には巨細胞の形成もみられた。これらの病変に近接して、代償性と考えられる局所的肺胞拡張の像がみられた。電顕的には、肺胞I型細胞は損傷されず、II型細胞の増殖が著しく、腫大した細胞質内にはラメラ封入体が大型化し、増数していた。又、崩壊しつつある細胞からはラメラ封入体の肺胞腔への放出も見られた。

生化学的所見

中性脂質とリン脂質の分析よりメチルナフタレンを塗布したマウスの肺では、トリグリセライドとコレステロールとの上昇がみられ、コレステロールエステルの出現がみられた。又、レシチンの上昇も認められた。

結 語

以上の結果より $B_6C_3F_1$ 系雌マウスにおけるメチルナフタレンの毒性は、この薬剤を皮膚へ塗布することにより脂質性肺炎として把握された。

平井圭一, 藤本和*, 伊野木清三, 上田忠司, 小川和朗* (金沢医大・解剖, *京大・医・解剖)

〔目的〕

除草剤 Paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridylum; PQ) は肺及び他の臓器に重篤な急性傷害を与え死に至らしめる。PQの毒性作用機構については, PQ free radicals の生成とこれに続く superoxides や hydroxy radicals の発生が生体内脂質の過酸化を引き起こすためと信じられている。しかし superoxide dismutase (SOD) や catalase の投与が実験動物や培養細胞の PQ 毒性を何ら防ぎ得ず, *in vitro* の小胞体脂質の過酸化反応をこれらの scavenger が抑制しないこと, $\text{OH}\cdot$ の scavenger である dimethylthiourea はむしろ PQ 毒性を増大すること等が報告されており, 活性 O_2 説のみでは PQ の毒性作用を説明できない。我々は PQ がラット肺胞 II 型細胞や肝細胞を壊死させること, その初期に mitochondria (Mt) が特異的に破壊されることを見出した。本研究は, PQ の標的が Mt であり, 特に Mt の Ca^{++} -ATPase 活性を直接阻害する可能性を報告する。

〔方法〕

肺の形態変化: SD ラットの雄成獣の尾静脈から 40 mg/kg の PQ (2 Cl 塩; ICI PLC, England の提供) を 1 回投与し, 時間を追って肺を glutaraldehyde (GA)- OsO_4 -U acetate で 3 重固定し, 超微形態の変化を電顕観察した。

肝の形態変化: Wistar ラットに 100 mg/kg PQ を 1 回腹腔内投与し, 肝細胞の超微形態の変化を電顕観察した。

電顕組織化学的 Ca^{++} -ATPase 活性の検出: Paraformaldehyde-GA で短時間固定した肝及び心筋切片について Ca^{++} -ATPase 活性 (10 mM CaCl_2 , 3 mM ATP, 2 mM Pb-citrate, pH 9.4) を検出した。

分離 Mt の Ca^{++} -ATPase, Mg^{++} -ATPase 活性の検出: Wistar ラット心筋から Mt を分離し, Ca^{++} イオンの取り込み, ATP の分解を電顕法, DCPC 法, リンモリブデン法で検出した。

〔結果〕

肺上皮の傷害: PQ 投与 6 時間後に肺胞 II 型細胞の Mt の膨化, Mt 顆粒の消失がみられ, 時間と共に傷害は増強した。18 時間後に胞体は壊死脱落した。

24 時間目頃には I 型細胞及び他の間質系細胞の変性が観察された。

肝細胞の傷害: PQ 投与 6 時間後に中心性に肝細胞 Mt の変性が観察され, 傷害された Mt の電顕組織化学的な Ca^{++} -ATPase 活性が低下した。形質膜 Ca^{++} -ATPase 活性は残存した。

正常心筋及び肝の電顕組織化学的 Ca^{++} -ATPase 活性: 10 mM CaCl_2 で Mt に強い Ca^{++} -ATPase 活性が検出され, 同時に筋原線維, 筋形質膜にも活性がみられた。10 mM PQ の添加で Mt の活性のみが特異的に阻害された。肝細胞でも同様であった。SOD の添加は PQ の作用に影響しなかった。

分離心筋 Mt の ATPase 活性と Ca^{++} イオンの取り込み: 分離 Mt の Ca^{++} -ATPase 活性は pH 9 10 mM CaCl_2 で最大活性を示し, 1 mM PQ で強く阻害された。Oligomycin は影響しなかった。 Mg^{++} -ATPase 活性は pH 9 0.1 mM MgCl_2 で最大活性を示し, oligomycin で阻害されたが, PQ は何ら影響しなかった。Mt 内への Ca^{++} イオンの取り込みは 1 mM PQ で強く抑制された。いったん Mt 内に取り込まれた Ca^{++} イオンは A 23187, cAMP で再び Mt 外へ放出されたが, PQ は影響しなかった。

〔考察・結論〕

最近 PQ が Mt の酸化的りん酸化反応を抑制し, NADH 脱水素酵素活性に影響を与えるとする報告がみられており, 本研究からも PQ が直接 Mt に作用することが示された。 Ca^{++} -ATPase 活性の阻害のみで細胞死に至るとは考えにくい, 実験結果は F_0F_1 に対する毒性を示唆しており, Mt 機能の全体的な障害が引き起こされることが考えられ, PQ 毒性作用の重要な機構の可能性が推定される。(科学研究費 59370037 の助成による。)

1978年から1983年にF344ラットを用いて2年間の慢性・発癌性試験を12種類実施したところ、胃の噴門痙攣を伴う食道拡張症が対照群を含む全用量群に発生した。今回は本疾患の症状、剖検・組織所見を述べるとともに、発生時期と動物のロット間における発生頻度の差について報告する。動物は4週齢で購入し、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、照明14時間に調節されたバリアー内で、金網床ケージに5匹飼育とし、粉末飼料による経餌投与を実施した。水は給水ビンで与えた。症状は鼻端部湿潤、鼻をクスクスいわせる“鼻風邪”様症状で始まり、くしゃみと異常呼吸音を呈した。5・6週間後には大きなくしゃみとともに軟泥状の食塊を鼻より噴出し、ケージおよび動物室の床を汚した。この頃より動物は被毛粗造、口～頸部汚濁、赤色眼脂付着、下腹部膨満を呈し体重減少が顕著になるが、食欲はむしろ亢進し屋間でも餌函に取り付いているのがみられた。胃ゾンデを挿入すると噴門部でとどまり、その後の侵入は完全に阻止された。罹病動物と2週間同居させた若齢動物では肺炎をもたらす病原体の感染は証明されなかった。剖検では食道が著しく拡張し、内部に軟泥状の粉末飼料が充満していた。また、肺には大小の無気肺巣が認められた。組織学的には化膿性炎症が肺、中耳および鼻腔に観察されたが、末梢神経および中枢神経には本疾患の症状に一致した病変はなかった。雌ラットでの発生は雄ラットに比し高かった。本疾患の発生率は、今回検索した12の慢性毒性試験のそれぞれで異なっていた。最大例では対照群の雌ラットの23/50例が本疾患で斃死した。本疾患の大部分は70週齢以降の動物

に発生した。

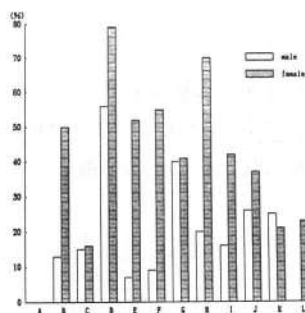
Number of esophagectasis in each lot of animals*

Lot No.	Birth month	Incidence**	
		Male	Female
A	7/'78	0/17	0/25
B	10/'78	2/16	6/12
C	1/'79	2/13	3/19
D	8/'79	9/16	23/29
E	3/'80	1/15	11/21
F	4/'80	1/11	12/22
G	5/'80	6/15	7/17
H	9/'80	2/10	14/20
I	3/'81	3/19	5/12
J	5/'81	5/19	7/19
K	8/'81	1/4	3/14
L	10/'81	0/15	2/13

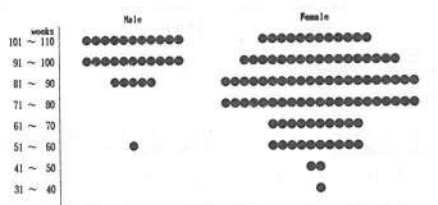
*; fifty animals of both sexes allotted to each lot at initiation of the study

**; (animals with esophagectasis)/(animals found dead or killed in extremis during the study)

Percent incidence of esophagectasis



Age distribution of esophagectasis



○長谷川良平, 古川文夫, 豊田和弘, 佐藤秀隆, 高橋道人 (国立衛試・病理)

疫学的研究により多量の食塩摂取による胃癌の発生促進が指摘されていたが、最近、実験的に高濃度の食塩が2段階胃癌のイニシエーションとプロモーションの両段階において増幅もしくは促進的に作用することが明らかにされた。今回は、食塩の長期投与及び1回経口投与によるラット胃粘膜の変化を病理組織学的検索を中心に種々の方法で検討した。

〈実験方法〉

7週齢のWistar系雄ラットを用い、食塩(NaCl)を10%の割合で飼料に混合し固形飼料として自由に摂取させた。投与開始後5, 10, 20, 及び30週に5ないし10匹ずつを屠殺し、食道より10%緩衝ホルマリン、冷アセトン、又は2%グルタルアルデヒドを注入して胃を固定した。胃は、前胃を含め、前壁、後壁、小彎側から十二指腸にかけて長軸方向に沿って約10切片を切出しパラフィン包埋標本作製した。グルタルで固定した標本は、腺胃の胃体部と幽門腺部より走査型、透過型標本及び同時にパラフィン包埋標本作製した。パラフィン包埋標本は、通常の病理組織学的検索のほか、各種粘液染色、パロディシカル・コンカナバリンA(ConA)染色及びペプシノーゲンアイソザイム1(Pg1)の免疫組織化学を施行した。一部の動物には、屠殺1時間前に $100\mu\text{Ci/g}$ の ^3H -チミジンを腹腔内に投与し胃粘膜の標識率を検索した。

また、5週齢F-344系雄ラットを用い、飽和食塩水を1回経口投与して、胃粘膜におけるオルニチン脱炭酸酵素(ODC)の活性とDNA合成の変動について検討した。

〈結果〉

全経過を通して胃内粘液の増量がみられた。組織学的には5週においてすでに限局性のびらんと腺窩上皮の増生が腺胃にび慢性に認められ、特に前胃との境界に沿って著明であった。粘液染色で、胃底腺領域にび慢性に酸性粘液の増加が見られ、ConA染色により副細胞の増生と胃底腺細胞の萎縮が顕著であった。このことはPg1染色により一層明らかであった。このような変化は、全経過を通して大差は見られなかったが、びらんを伴う腺窩上皮の増殖は、食塩の投与期間が長いほ

ど増幅される傾向にあった。

^3H -チミジンによる標識率は、腺胃全体に上昇し、正常の1.4~6.7倍に達していた。胃底腺領域では増殖帯の増大と下方への移動が明らかであった。走査型電顕では胃底腺・幽門腺領域を問わず表層の被覆細胞の萎縮や離脱がび慢性に認められたが、粘膜固有層が露出するような著しい変化は見られなかった。透過型電顕では、被覆細胞に多数の空胞やライソゾームの増大化、ミトコンドリアの腫大が認められ、生理的な上皮の脱落到比して食塩では変性・壊死が促進されていた。

ODCの活性はMNNGの1回経口投与で上昇するが、1回の飽和食塩水投与によっても3~16時間で上昇を示し、早期に正常値に復帰した。同時に測定したDNA合成も食塩投与によって増加した。2.5%の食塩水1mlを経口投与すると、最表層のPAS陽性粘液層は融解し被覆上皮が露出することが認められた。

〈考察〉

食塩による胃の傷害は腺胃全域に認められたが、他の粘膜傷害物質と同様に前胃との境界で顕著であった。胃底腺領域では、胃底腺の萎縮、副細胞及び増殖帯の増大、腺窩上皮の増生がび慢性に認められ、幽門腺領域での変化に比し著明であった。しかし走査電顕像やODC活性、DNA合成の所見は、腺胃全域に同程度の傷害が及んでいたことを示しており、病理組織学的変化が幽門腺より胃底腺領域で著明であったのは、両領域間の組織学的特性の違いによるものと考えられる。

寺尾 清、伊藤恵美子（千葉大活性研） 安元 健（東北大農学部）

下痢性貝毒症は1979年東北大安元らによって報告され、ムラサキイガイを始めとした多くの種類の二枚貝の摂食によって生ずる下痢症であって、我国を始め地中海沿岸諸国などに広く発生している。その臨床症状は、下痢、吐き

気、腹痛、おう吐、脱力感などを主なものとしている。1980年安元らはこの中毒症の原因毒素は、ムラサキイガイの餌となっている植物性プランクトン *Dinophysis fortii* が産生することを明らかにした。さらに毒化ムラサキイガイの中腸腺から、原因物質としてはポリエーテル脂肪酸誘導体である *Dinophysis toxin* 群3成分（DTX-1 オカダ酸 DTX-3）とポリエーテルラクトンである *Pectenotoxin* 群2成分（PTX-1、PTX-2）が分離精製されている。今回われわれは、これら毒素のうちDTX-1とPTX-1のマウスに対する影響を検索した。

材料と方法

トキシン：DTX-1、およびPTX-1は毒化ムラサキイガイの中腸腺から安元の方法によって分離、精製された。

実験動物：C3Hマウス、およびICRマウスの授乳マウス（平均体重9.5g）

実験方法：実験1、授乳マウス計60匹に、生理食塩水中に溶解したDTX-1を腹くう内投与により、500、400、300、200、100および50 μ g/kgを注射し、5分～6時間の間に経時的に屠殺した。なお、生理食塩水0.1mlを腹くう内に注射した10匹を対照群とした。

実験2、授乳マウス計30匹に生理食塩水に溶解したPTX-1を同様腹くう内投与により1000、700、500 μ g/kgを注射し、実験1と同様経時的に屠殺した。

形態学的検索：頸椎捻転により屠殺した動物は、直ちに解剖し、全内臓器を中性ホルマリンに固定し、主要臓器のパラフィン切片を作り、HE、PAS、azan-Mallory染色を行った。又、小腸、肝、胃などから小片を採取し2%バ

ホルムアルデヒド-グルタルアルデヒド、1%OsO₄で二重固定し、エポキシ樹脂包埋後酢酸ウランクエン酸鉛で染色し、日立H700Hで検索した。

結果

第1実験（DTX-1投与実験） 投与群の小腸上皮の超微形態変化は3期に分けることができる。第1期（じゅう毛固有層内血管の透過性増大期） 第2期（吸収上皮細胞の変性、壊死期） 第3期（じゅう毛表面からの細胞群の剝離、びらん、潰瘍形成期）である。このうち500～300 μ g/kg投与群では第1期が投与5分以内に、第2期は30分、第3期は1時間以内に全例に出現した。200～100 μ g/kgでは第1期が1時間、第2期が3時間、第3期が6時間以内に出現した。50 μ g/kg群では第1、2期が軽度に出現するだけで、第3期はみられなかった。

第2実験（PTX-1投与実験） 1000 μ g/kg投与後2時間以内に60%のマウスは死亡した。剖検により肝の軽い腫張と赤色変化がみられた。組織学的に肝を除いた諸臓器には著変はみられなかった。肝の被膜下の肝細胞および小葉末しょう部の肝細胞には著しい空胞変性があり、所によって空胞内に赤血球と線維素が充満していた。電顕的にこれらの空胞はDisseくうならびに類洞と交通し、類洞壁を形成する内皮細胞の透過性の異常なこう進のために、類洞内の血液成分が肝細胞内へ流入したことを示唆している。空胞内壁の酸性ムコ多糖類の存在も、空胞がDisseくうを形成する肝細胞膜の反転を裏付ける所見である。

従来、下痢性貝毒の名のもとに一括して考えられた病変も、その毒性成分であるポリエーテル脂肪酸と、ポリエーテルラクトンで各々異った病理組織像を示すことが明らかになった。

○栗栖和信、川口義郎、長根芳文、長沢孝二郎、川島裕造（大塚製薬工場 研究開発部）

アミノ酸は栄養上極めて重要な物質であるが、単一のアミノ酸欠乏による影響については、動物実験において純粋な欠乏飼料をつくるのが困難であることから、その影響を明確にすることが極めてむずかしいとされており、形態面からの報告についても断片的である。一方、近年完全静脈栄養法(TPN法)の進歩により、栄養輸液のみで生体の維持向上に必要な栄養素の補給が可能となっている。

演者らは、含硫アミノ酸欠乏時の影響を検討する一環として、メチオニンを除いたアミノ酸輸液を唯一の窒素源としたTPN法により検討したので報告する。

材料と方法

動物はウイスター系ラット(6週齢、雄)を、投与輸液はVuj-N型処方からメチオニンを除いたアミノ酸輸液を含むTPN液(Met-Free)を用い、市販のVuj-N型処方のアミノ酸輸液から成るTPN液(対照輸液)と比較検討した。グルコース、電解質、ビタミン量は、両TPN液とも同一となるようにした。投与は頸静脈より左前大静脈起始部にカテーテルを留置し、マイクロチューブポンプで持続投与した。投与カロリー量は250 Cal/kg/dayとした。投与期間は、4、7、14日とし、1週間の回復試験として、7、14日の投与終了時に対照輸液に切り換えた。動物は投与および回復試験終了時に剖検し、組織学的検査、血液検査等について実施した。

結果と考察

対照輸液群に比べMet-Free群では、体重が減少し窒素出入納も負で推移したが、死亡はみられなかった。血清生化学的検査では、アルブミン、血糖、脂質の減少が特徴的であった。これらの変化はいずれも回復試験により回復した。

Met-Free群の特徴的な組織学的変化は、肝臓および脾臓に認められた。すなわち肝臓では肝細胞の淡明化、腫大、脂肪化、核および核小体の腫大であり、脾臓では腺房細胞の萎縮と核小体の腫大であった。肝細胞のグリコーゲンの蓄積による淡明化、腫大は4日後で最も著明であり、7日後では軽減、14日後ではほとんど認められなかった。脂肪化は、4日後では小脂肪滴が軽度かつびまん性に認められ、7日後では脂肪滴が大型化、増数し、びまん性ないし小葉中心性に認められ、14日後では更に高度となり小葉中心性に認められた。核小体の腫大は、4日後では軽度であり、7、14日後では核の腫大を伴ってより高度となった。一方、脾臓の腺房細胞は、4、7日後ではチモール顆粒の減少を伴う軽度な萎縮と核小体の腫大が認められ、14日後では若干高度となった。回復試験では、7日投与の場合肝細胞の軽度な脂肪化がみられたのみであり、14日投与では脂肪化の明らかな軽減は認められないが、核および核小体の腫大は回復傾向を示した。脾臓の腺房細胞は、回復試験によりいずれも回復した。

本実験でみられた肝臓および脾臓の変化は、アミノ酸利用の低下に帰せられよう。すなわち、脂肪肝は利用されるアミノ酸量に対する相対的なカロリーの過剰、また肝細胞からの脂質の搬出の低下により発現したものと考えられた。また、核小体の腫大は、他の必須アミノ酸欠乏でもみられていることから必ずしも明らかではないが、rRNA前駆体のメチル化の低下とも考えられている。メチオニン欠乏による脾臓の変化は、我々の知る限りでは報告されていない。しかしアミノ酸利用の低下により影響を受け易いことは充分推察される。また核小体の腫大も肝臓と同様のメカニズムによるものと考えられた。

清水 昭 男・蟹 沢 成 好 (横浜市大・医・病理)

我々は先の第4回癌学会総会に於いて、furfural長期経口投与によるラット実験肝硬変症の生成(中原ら、1941年、Gann)を追試、報告した。生成した肝硬変においては帯状の壊死は前景に無く、その生成過程はヒト肝硬変に類似したものと考えられた。

今回我々は、furfural実験肝硬変の基礎病変を探る目的で、furfural単回経口投与の肝に及ぼす形態学的変化を経時的に観察したので報告する。

材料と方法: 6週例雄ウイスター系ラット36匹を実験に供した。うち4匹を実験開始時に対照として脱血屠殺した。ラット32匹に、蒸留水により100倍希釈したfurfural(和光純薬、試薬特級)を50 mg/Kg体重、金属性経口胃ゾンデを用いて強制的に経口投与し、投与後6, 12, 48時間後に、各8匹ずつを脱血屠殺した。屠殺後肝重量を測定、ブアン液にて固定した後、各葉より最大断面を含む1片を採取しパラフィン切片を作成した。切片はH.E.染色、及びアザン・マロリー染色にて光顕的に観察した。また屠殺時に外側左葉の一部を電顕用として採取し、グルタル固定、オスミウム酸後固定後、エポン・アラルダイト樹脂に包埋した。超薄切片はクエン酸鉛、酢酸ウランの二重染色にて観察した。

結果: いずれの群に於いても肉眼的に肝および全身諸臓器に著変は見られなかった。

光顕的には投与各群で散在性に、好酸性肝細胞変性、壊死からCouncilman小体形成に至る、単細胞性の変性・壊死像が認められ(写真1)同時に同じく散在性の核分裂像の増加が見られた(写真2)。両者共にその数は投与後6時間群で最も多く、12、24時間でやや減少し、48時間群では著明に減少していた。各群における無作為に抽出した強拡大20視野に見られた両者の1個体当たりの平均数を図1に示す。

これら好酸性変性・壊死像は各葉均等に分布し葉間による差は見られず、また各葉においても小葉中心部、周辺部、中間帯にほぼ同様の頻度で見られ、局在は認められなかった。

投与後24、48時間群に於いては上記に加えて、分裂後の像と思われる小型でやや核の腫大した肝細胞

や2核肝細胞も散在性に見られた。

いずれの群にも線維化は無かった。

考案: Furfural (C_4H_3OCHO) は淡黄色、揮発性の有機溶媒で、工業的な使用の他、日本酒などに含まれている。長期投与によりラットに肝硬変を生じることが知られ、我々も報告したが、その急性経口投与が肝にいかなる変化を生じるかについてはその報告は少ない。

今回furfural単回経口投与において見られた特徴的变化は散在性の肝細胞壊死と再生像であり、これは四塩化炭素による帯状の壊死とは対照的であった。最も壊死の頻度が高いのは、投与後6時間と比較的早期であり、以後時間の経過と共に再生が進行すると考えられたが、このことはfurfuralの代謝の速さを示唆すると思われ、約2時間とされる生物学的半減期の短かさとも一致する所見であった。furfural投与により各種の肝酵素系の増減をきたすことが報告されているが、標的細胞内小器官については未だ明かでは無い。電顕的検索を現在進めており、その結果も合わせ報告する予定である。

写真1
H.E.染色、
50倍

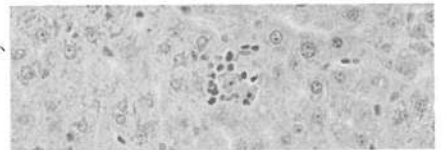


写真2
H.E.染色、
50倍

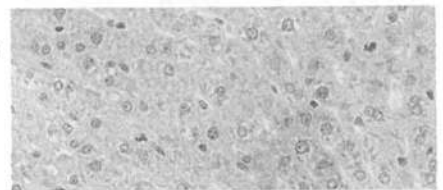
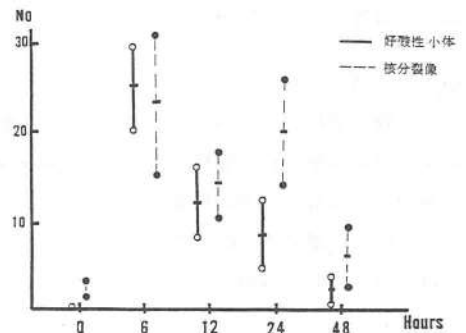


図1



○中山裕之¹⁾・土井邦雄・本庄和人・前田尚久・土居千代・光岡知足・
藤原公策¹⁾(東大農・実験動物, ¹⁾家畜病理)

臓器毒性を評価する場合、一般には正常動物が使用されるが、当該臓器の既存の病態が化学物質の処置によりどのように修飾されるかを調べる必要も生ずる。今回はそのモデルとして、異種動物血清投与による胆管病変が胆管障害剤である α -naphthyl isothiocyanate (ANIT) 処置によってどのように修飾されるかを検討した。

〔材料・方法〕4週齢雄 ddY マウス (21~22g) 60匹を4群に分け、正常ブタ血清 0.1 ml を週2回4週腹腔内投与 (SS群)、ANIT 30 mg/kg を週2回4週経口投与 (A群)、またはブタ血清とANITの両方を投与 (SS+A群) した。残りの一群は無処置対照 (C群) とした。投与終了後2日にマウスを屠殺して、体重、肝・脾重量を測定した。血清については総コレステロール値を測定し、肝を光顕および電顕で観察した。

〔成績〕屠殺時の肝・体重比はSS+A群で他群よりやや増加しており、脾・体重比はSS群とSS+A群ではC群の2倍であった。血清総コレステロール値は各群で差がなかった。

SS群の光顕観察 (図1) では、軽度～中程度の胆管上皮過形成がみられ、上皮細胞内に滴状または針状の好酸性物質が充満し、一部では管腔内にもみられた。電顕 (図2) では、均一物質を容れて著しく拡張したRER

がこの物質に相当していた。胆管周囲結合組織は増生し好酸球やプラズマ細胞の浸潤がみられた。このような胆管の病変は大口径胆管でより強かった。肝実質には変化はなかった。

A群 (図3) では、胆管上皮の軽度過形成部がみられ、大口径胆管のごく一部でSS群と同様の上皮細胞内好酸性滴状物がみられた。胆管周囲結合組織は増生し、リンパ球・プラズマ細胞などの浸潤がみられた。電顕では胆管上皮細胞に著変はみられなかった。肝実質には巣状の凝固壊死が散見された。

SS+A群 (図4) では、SS群とほぼ同様の病変が観察されたが、その程度はSS群より強く、とくに胆管周囲結合組織の増生はSS群、A群のそれより顕著であった。肝実質にはA群でみられた壊死巣が散見された。

〔考察〕ブタ血清反復投与による胆管病変はANITの併用によって増強された。この胆管病変は増生した周囲結合組織への好酸球浸潤によって特徴づけられることから、アレルギー性の組織破壊が考えられ、これがANIT投与によりさらに進行するものと思われた。上皮細胞の好酸性滴状物質はANIT単独投与のマウスにもみられることから、胆管障害の結果生じた二次的变化であると考えられた。

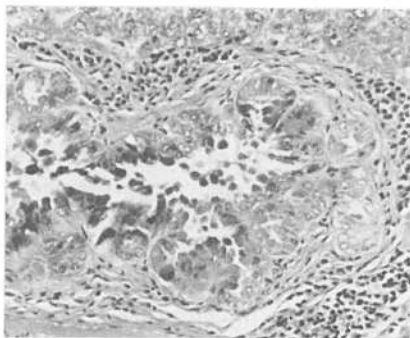


図 1

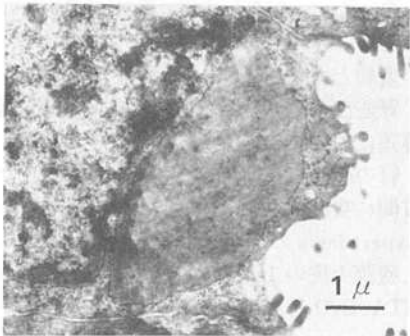


図 2

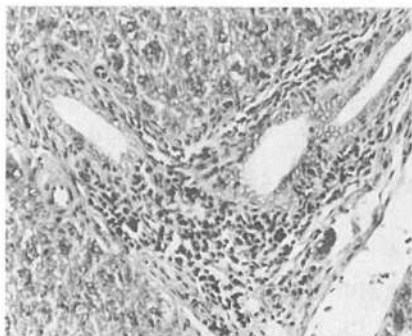


図 3

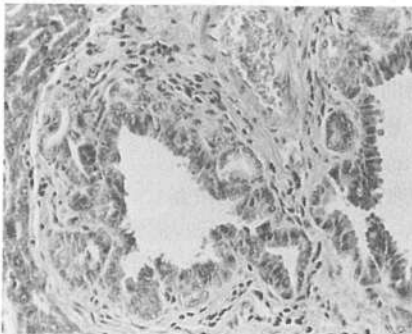


図 4

膀胱発癌 promoter である ascorbate, saccharin, o-phenylphenol 等はそれ単独よりも sodium 塩の方がより顕著に促進効果を示し, 膀胱発癌 promoter は sodium 塩であることが重要な要素であることを示唆させる報告がなされている。

我々は既に $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ が膀胱並びに腎の発癌に promotion 作用を有することを報告している。

今回, NTA の sodium 塩並びに酸が腎並びに膀胱に及ぼす影響について実験を行ったので報告する。

実験材料及び方法

1. 試料

$\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$: Trisodium nitrilotriacetate monohydrate.

H_3NTA : Nitrilotriacetic acid.

いずれも半井化学 K.K. から購入した。

2. 実験方法

動物は静岡実験動物から購入した雄 Wistar 系 ラット 36 匹を用い, $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 並びに H_3NTA を各々 2%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0.125% 及び 0% 含有食を各群 3 匹ずつ 9 週間の投与を行った。飼育期間中は体重, 実験食及び飲料水の消費量を測定した。

3. 尿検査

尿 pH 及び尿沈渣は 3, 6 及び 9 週時のほぼ一定時間に排泄直後尿から検査した。更に 9 週時は尿中 Na, K, Cl, Ca, P, Mg 及び Zn を 24 時間蓄尿から定量を行った。

4. 生化学的検査

全ての動物の血清中 TP, A/G, BUN, 尿酸, クレアチニン, Na, K, Cl, Ca, P, Mg 及び Zn を検査した。

5. Autoradiography

[methyl- ^3H] thymidine を体重 g 当り $1\mu\text{Ci}$ を腹腔内投与し, 2 時間後屠殺し固定包埋後サクラ NR-M2 乳剤で 3 週間の感光後膀胱上皮について 5000 個以上を count し labeling index を求めた。

6. 腎並びに膀胱の病理組織学的検査

腎は左右各々 4 分割し Karnovsky 固定, 冷アセトン固定, 更にグルタル固定を行った。同様に膀胱も Karnovsky 並びにグルタル固定を行った。光顕的検査のための標本は通常 H・E 染色で, 更に腎切片は GGT 染色も行った。

実験結果

1. 飼料並びに飲料水の摂取状況

$\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$, H_3NTA 共に 2% 投与群で飼料摂取抑制がみられ同様に体重抑制も認められた。飲料水の摂取は $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ の 2% 投与群で体重 100g 当り 18.0 ml/日の摂取で対照群と比較し約 2.5 倍量の摂取を認めた。他の群については対照群と比べ大差は示さなかった。

2. 尿検査

尿 pH 値については $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ の 2% 及び 1% 投与群で 6 週目より明らかな上昇が認められ 9 週時では各々 8.0 ± 0.2 及び 7.2 ± 0.2 (対照群: 6.4 ± 0.3) であった。 H_3NTA を投与した群は各濃度共に対照群と比べやや低値或いは同様な値を全期間を通じ示した。尿中電解質の変動は, $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 並びに H_3NTA 共に Ca, Cl に投与濃度に比例し低下を示し, 逆に Zn の著明な増加が認められた。尿中 Na の排泄増加は $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 投与群のみ投与濃度に比例していた。

3. Autoradiography

$\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 投与での膀胱上皮の labeling index は 1% ~ 0.25% 投与群で増加し各々 0.23, 0.10, 及び 0.15 (対照群: 0.03) であった。 H_3NTA 投与群では 2% 投与群のみ増加し 0.24 (対照群: 0.04) であった。

4. 腎並びに膀胱の病理組織学的所見

腎に及ぼす両者の変化は主に近位尿細管上皮細胞の空胞化で高濃度の一部に空胞化を伴った hyperplasia がみられ hyperplasia は simple hyperplasia 及び adenomatous hyperplasia に分類した。出現頻度は $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 投与群で simple hyperplasia が 2%, 1% 及び 0.5% 投与で各々 3/3, 3/3 及び 1/3 にみられ adenomatous hyperplasia は 2% 投与のみに 2/3 に認められた。 H_3NTA 投与でも同様に simple hyperplasia は 2%, 1% 及び 0.5% に出現し各々 3/3, 3/3 及び 1/3 であった。adenomatous hyperplasia は 2% 投与群のみで 3/3 にみられた。

要約と考察

腎並びに膀胱に及ぼす NTA の sodium 塩及び酸の影響差について検討した。

腎の組織変化は空胞変性を中心とした変化で両物質間に空胞化, simple hyperplasia 及び adenomatous hyperplasia の出現頻度に差は認められなかった。しかし膀胱上皮の labeling index 及び尿中 pH 上昇には $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ と H_3NTA の間に明らかな差が認められた。

°相内聖峰，小林賢一，佐久間貞重（アップジョン・総合研）

核酸合成阻害剤であるN-methylnitrosourea (MNU) 誘発の奇形性水小頭症ラットは脳神経細胞の発達異常（第16回日本実験動物学会，1981，第98回日本獣医学会，1984）のみならず，脈絡叢，上衣，クモ膜等の脳脊髄液循環系にも異常をきたすことは既に報告した（第97回日本獣医学会，1984）。今回は前頭葉大脳皮質について電顕的に観察し，併せて抗GFAP蛋白および抗S-100蛋白抗体による免疫組織化学的検索を行ったので，その結果を報告する。

＜材料と方法＞

5mg/kgのMNUをWistar系妊娠13日目のラットに単回腹腔内投与して得た水小頭症F13週齢および12週齢雄ラットを検索材料とした。3%グルタルアルデヒド-2.5%パラホルムアルデヒドにより灌流固定後採取した前頭葉大脳皮質を電顕観察用に，また，免疫組織化学的検索には12週齢のホルマリン固定した同組織のパラフィン切片または凍結切片を用いGlial fibrillary acidic protein (GFAP, rabbit anti-human GFAP, Ortho社)とS-100 protein (rabbit anti-human S-100 protein, DAKO社)について検討した。

＜結果＞

3週齢の前頭葉大脳皮質では既に神経細胞数の減少および配列異常が認められた。神経細胞はクロマチンの減少した核および細胞質内小器官に乏しい細胞質から成っていた。Neuropileには淡明な基質を有する神経突起が散見された。12週齢では，神経細胞および神経線維の著しい減少・配列異常とともに，GFAPまたはS-100蛋白陽性を示す多くのグリア系細胞が認められた。多くの神経細胞には核内クロマチンが不規則に分布していた。細胞内小器官は比較的良く発達していたが，細胞質内にはしばしば短管状を呈した粗面小胞体が認められた。Neuropileでは神経突起の配列が単純化，且つ，疎となり，突起内には多くの腫大・濃縮したミトコンドリア，不完全なシナプス小胞，電子密度の高い物質を

るいは淡明化した基質が存在した。多くの神経突起の空隙には星状膠細胞が介在していたが，乏突起膠細胞と思われる細胞もしばしば存在した。

これらの結果は，不完全な神経組織の構築を示す奇形性水小頭症ラットにおいて，脳における他の炎症・変性疾病と同様にグリア系細胞の関与が大きいことを示唆していると考えられた。

° 阿部敏男, 山本正樹, 森島英喜, 花安百合子, 千葉祐広, 宮嶋宏彰 (武田薬品・中研)

目 的

聴覚障害モデルとしては通常ある種の抗生物質などの化合物を投与したモルモットがよく用いられる。病理学的には大脳や蝸牛などの感覚細胞に変化がみられ、中枢性や内耳性の障害が発現する。このような病変発現部位と聴覚機能との関連を検索することは聴覚伝導系を知る上できわめて重要であるが、実験動物を用いたこの種の報告は殆んど無い。そこで今回は、各種毒性試験に汎用されているラットを用いて、有機水銀投与時における聴覚障害について、関連諸臓器の病理組織学的検索と無麻酔・無拘束時の聴性誘発電位の測定を行い、障害部位の特定と両者の関連について検討した。

方 法

Jcl:Wistarラット(雄:330~420g)を用い、塩化メチル水銀(MMC)2mg/kg/dayを15日間連日腹腔内へ投与した。これらの動物には投薬開始約1週間前に、頭頂部下縁にネジ電極を埋め込み固定し、この電極を介して、無麻酔・無拘束状態下における聴性皮質誘発電位(cortical evoked potential:CEP)及び聴性脳幹反応(auditory brain stem response:ABR;CM, $P_1 \sim P_4$)を導出記録した。測定時には、動物に刺激音として持続0.1m secのクリック音(90dB peSPL)を与え、導出電位はシグナルプロセッサにて、CEPは100回、ABRは150回同期加算し記録した。誘発電位の測定は投薬期間中は1週毎に計2回、投薬期間終了後は同様に計3回実施した。休薬21日後に動物を剖検し、大脳、小脳、台形体、脊髓及び蝸牛を10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、パラフィン包埋後薄切し、H・E、Bodian及びKlüver-Barreraの各染色を行い鏡検した。対側の蝸牛については、走査電子顕微鏡観察のために上記固定後、更に2.5%グルタルアルデヒド及び1%オスミウム酸で固定し、型の如く標本作製し、金蒸着の後に検索した。

結 果

MMC投与ラット12例中7例には休薬7~10日より運動失調、後肢交叉等の水銀中毒ラットに特徴的の症状が認められた。病理組織学的検査では、中毒症状のラットにおいて大脳の聴覚領野を含む皮質第Ⅱ層~Ⅲ層

に神経細胞の萎縮、神経周囲腔の拡大及び軽度な海綿状態が認められた。小脳では皮質顆粒細胞の核濃縮、壊死及び脱落がみられたが、プルキンエ細胞にはとくに変化は認められなかった。台形体の蝸牛神経背側核及び腹側核には変化が認められず、蝸牛においても基定回転から頂回転に至るラセン器の内・外有毛細胞並びにラセン神経節に異常は認められなかった。脊髓にはとくに変化はなかった。中毒症状を示さない動物では、大脳に上記同様の変化がみられたが、小脳を含む他の部位に異常は認められなかった。

聴性誘発電位測定では、中毒症状のラットにおいてCEPの N_1 波潜時の延長及び $P_1 \sim N_1$ 振幅の低下傾向が認められ、大脳皮質聴覚領野の障害が示唆された。一方、ABRの変化では P_2 波潜時の延長及び $P_1 \sim P_2$ 間隔の延長が認められたが、蝸牛有毛細胞に由来するCM波に異常の無いことから、蝸牛神経(ラセン神経節)から蝸牛神経核に至る経路の障害が示唆された。中毒症状を示さない動物ではCEPの N_1 潜時の延長傾向が認められた。

考 察

各種の実験動物に有機水銀を投与すると大脳及び小脳の皮質に病理変化が発現することが知られている。今回の実験でも同様の変化が認められ、大脳皮質の変化が早期に出現する傾向にあった。大脳皮質の障害は同部位に由来するCEPにも明確に捉えられ、両者は良く対応していた。モルモットでは蝸牛外有毛細胞の変性及び蝸牛神経突起の障害が報告されているが、ラットの内耳に同様の変化は捉えられなかった。これは、動物種によって感受性に差があるためか、投薬期間が短かったことに起因すると考えられるが、ABRに変化がみられていることから、内耳についてはさらに詳細な検索が必要と考えられる。以上、MMC中毒ラットの聴覚毒性では大脳皮質聴覚野及び蝸牛神経から同神経核に至る経路の障害の関与が示唆された。又、今回実施した病理検索法と聴性誘発電位測定法の併用は実験動物での聴覚毒性試験に有用な方法と考えられる。

○和田 功, 福島登美子, 湊 良雄, 武下政一, 岡庭 梓 (田辺製薬 安全研)

ラットにGalactose投与による実験的白内障を作成し, 経時的に肉眼および病理組織学的観察を行った。

Slc-Wistar系雄ラット(体重50~80g)60匹を使用し, 50%Galactose混飼群および対照としてGalactoseを添加しない普通粉末飼料(CRF-1)給与群を設けた。水晶体の観察はMYDRIN®-Pで散瞳後, 検眼鏡(ナイツBX-13)で行い, 水晶体の撮影には眼底カメラ(KOWA, RC-2)を用いた。動物は投与開始後3, 7, 14, 21, 38および162日目に各群5匹ずつ殺処分した。両側眼球は摘出後Davidson液(エタノール 300 ml, 酢酸 100 ml, 10%中性緩衝ホルマリン液 200 ml, 蒸留水 300 ml)に2週間浸漬固定後, 常法に従ってパラフィン包埋し, 水晶体の前後極方向に切片を作成して, HE染色を施して鏡検した。必要に応じて過ヨウ素酸シッフ法, MASSON染色GOMORI変法およびアザン染色を施して鏡検した。水晶体の検眼鏡的および病理組織学的所見の推移は以下の通りである。

3日後: 検眼鏡的に赤道部に沿って暗褐色の構造物が認められた。組織学的に赤道部浅層皮質では線維の膨化および空胞化ならびに線維間に小空隙が認められたが, 赤道部の表層に位置する核帯の線維は正常像を呈していた。さらに前面および後面の浅層皮質では線維の膨化が認められたが, 後面ではその程度は軽度であった。

7日後: 検眼鏡的に赤道部から前極方向にかけて褐色のレース状構造物の増幅が認められた。組織学的に赤道部浅層皮質は変性した線維細胞, 微細顆粒および空隙で占められたが, 表層部に位置する核帯の線維は正常像を呈していた。前面では上皮の配列は不規則で, 深層に向って限局的に多層化し, これらの上皮細胞内には小空胞が認められた。前面の浅層皮質では線維の膨化は著しくなり, この様な膨化した線維が癒合し, 塊状を呈していた。後面浅層皮質では線維の膨化が目立ち, 小空隙が後極付近にまで達していた。

14日後: 検眼鏡的に褐色構造物は不明瞭となり,

やや混濁を呈していた。組織学的に前面では上皮が多層化した部位が多く認められた。赤道部では表層部に位置する核帯の線維の膨化が認められ, 後極方向に向って核帯の線維がわずかに増殖していた。浅層皮質は全域に亘って顆粒状に崩壊し, 空隙が目立った。皮質深層および水晶体核の線維は正常像を呈していた。

21日後: 検眼鏡的に褐色の構造物は消失し, 水晶体中央部は白濁し, 周辺部はやや混濁していた。組織学的に前面の上皮の多層化がほぼ全域に亘って認められた。赤道部では核帯の線維の膨化および後極方向への線維の増殖が顕著に認められた。全域の浅層皮質では線維の顆粒状崩壊に加えて, 液化巣が認められた。全域の深層皮質では著しく膨化した線維内に種々の大きさの顆粒が充満し始めた。水晶体核においては皮質深層と同様の病変が認められた。

38日後: 検眼鏡的に水晶体は全域に亘って白濁した。組織学的に後面浅層皮質は赤道部核帯と連なる増殖した線維で占められていた。その他の浅層皮質では液化巣が広範囲に亘って認められた。

162日後: 検眼鏡的に水晶体は全域に亘ってスリガラス様を呈した。前面では被膜の高度の肥厚ならびに限局性の膨隆が認められた。上皮細胞は一層となり, 一部で消失が認められた。前面浅層皮質では赤道部の核帯と連絡する線維の変性・壊死が認められた。後面浅層皮質では被膜に接して認められる扁平な線維細胞を残して, 線維の殆んどが変性・壊死あるいは顆粒状化していた。全域の皮質深層は液化巣と化していた。この液化巣は水晶体核にまで達していた。

○乾 俊秀、久世 博、高田 博、堀 正樹、岡庭 梓（田辺製薬・安全性研究所）

ジंकピリチオン(ZPT)投与によりイヌ、ネコ等に網膜病変が発現することはよく知られている。我々はビーグル犬を用いた薬物の毒性試験を日常業務としており、種々の眼検査を実施しているが、いまだに眼に特異的に病変をおこす薬物に遭遇したことはない。近年、薬物の安全性を評価する上で感覚器毒性が重視されてきていることもあり、ビーグル犬のZPT誘発眼病変をモデルとして、種々の眼検査手技の検討を行った。現在までZPT眼毒性に関して、眼底所見あるいは眼球の病理検査所見の報告は見られるものの、電気生理学的検査から視神経および脳の病理学的検索まで加えた総合的な報告は見られないので、その概要を報告する。

方法：8～9カ月齢の雌雄ビーグル犬を使用し、ZPT 50%溶液を40mg/kg/dayの投与量で週3回(3日間連続投与、4日間休業)の割合で3ないし9回経口投与した。投与と平行して、体重、摂餌量、行動等の一般状態の観察のほか、眼検査として前眼部検査(対光反射を含む)、眼底カメラによる通常ならびに蛍光眼底検査、眼圧測定、網膜電図(ERG)および視覚誘発電位(VEP)の電気生理学的検査を実施した。剖検は、3回投与後2および21日、6回投与後2日、9回投与後7、15および21日に、バントバルビタール麻酔下で頭部を10%中性ホルマリン液で灌流固定した後実施し、眼球、視神経、脳を中心とした全身諸臓器の光顕的検索ならびに網膜、視神経の電顕的検索を行った。

VEPの異常発現は日数を要したため、少数の動物に10ないし20mg/kg/day(週3～4回投与)の投与量で2カ月程度の経口投与を行ない、VEPおよびERGの異常を確認した後剖検した。

結果：網膜病変の発現までに要した投与量および病変の程度には個体差が大きかったが、概ね次の様に要約された。

眼底検査により、変化の速い例では3回投与で、網膜下に点状出血および液様物の貯留が認められた。この様な例では蛍光色素を静脈内投与し観察すると、血管外への蛍光色素の漏出および色素滞留時間の延長が見られた。さらに投与を続行すると網膜は剝離し、瞳孔径も広がった。病変の高度な例では、網膜は完全に剝離し、光りを当てても瞳孔は開いたままで、歩行時に物にぶつかるなどの異常が見られた。また、眼底の異常が気づかれるのとほぼ同時期に眼圧の低下が認められた。

投与量を下げて長期投与した例では、網膜剝離等の高度な変化に至らずに、軽度な点状出血、浮腫などが場所を移動して消長を繰り返した。その後、眼底の反射光が減弱して黒っぽくなり、脈絡膜壁紙の障害が窺われた。

投与量に関連なく、網膜が剝離したような例でも、投与を中止すると1～2週間で網膜下の出血および浮腫が消失し、同様

の眼底の反射光が減弱した状態を示した。

ERGの波高の低下は、眼圧の低下に続いて比較的早期より認められた。また、眼底の異常が検眼鏡で確認し得なくとも、ERGの異常を示す例が見られた。ERG各波の潜時延長は、高度な網膜病変を持つ例においても、最後まで認められなかった。VEPの変化は、ERGの異常と同時期あるいは3週間程度経過してから認められた。VEPの異常もERGと同様で波高の低下のみで潜時延長は認められなかった。

剖検時の肉眼的検査では、視神経乳頭の上方、網膜の中央部に類円形の白濁、浮腫部が見られた。組織学的検索において、投与と初期の変化は脈絡膜壁紙に限定され、壁紙の走行の乱れおよび壁紙細胞の膨化、色素上皮細胞の空胞形成といった変性性の変化であった。さらに病変が進むと、壁紙細胞の壊死・脱落とともに著しい好中球浸潤を示し、網膜にも桿錐状体層および一部外顆粒層の前壊が見られた。また、桿錐状体層への著しい炎症細胞浸潤および滲出液の貯留により、網膜はしばしば同部位で剝離を示した。しかし、この様に高度な病変の認められた例においても、脈絡膜壁紙を欠く部位の眼球内膜にはほとんど異常は認められなかった。

投与終了後2週間以上経過した例および低投与量で長期間投与した例では、脈絡膜壁紙の存在したと思われる部位で、壁紙および網膜の桿錐状体層、外顆粒層が消失し、残存した網膜の内層と脈絡膜血管板が疎な結合組織により直接連絡していた。眼底の光反射減少は、こういった状態に陥った部位に見られるものと思われた。この様な部位では網膜内層の神経細胞も減少していると思われた。

9回以上の投与で、経過が1カ月程度に及ぶ例では、視神経および視索の神経線維変性が認められた。これはVEPの異常発現と時期的にほぼ一致するものであった。病変は、軸索の変性・脱落および髄鞘の肥厚・断裂で、視神経乳頭から外側膝状体に至るまで認められた。外側膝状体の神経細胞には異常は認められず、網膜神経節細胞層から出た神経線維が次の接合をするまでの変化と思われた。また、網膜に病変の見られない例でも、軽度ながら明らかに視神経の変性が認められた。

以上の組織変化の推移から、眼球内膜の病変は特異的に障害された脈絡膜壁紙の病変より波及したものと考えられ、壁紙の発達部位にほぼ限局されていた。ERGおよびVEPの変化が潜時の延長ではなく振幅の減少であるのも、網膜および視神経の変化が限局性のものであることの現れであると思われた。しかし一方、剖検時に網膜および脈絡膜に組織学的異常が認められない例においても、軽度ながら視神経の変性が認められた。このような例では、脈絡膜壁紙の高度な病変から二次的に網膜の神経細胞が障害されたとは考え難いと思われた。

○花田貴宣, 堺 俊治, 岡宮英明, 三木寿雄 (山之内製薬, 安全性研究所)

我々は長期毒性試験のベースラインデータを得る目的で, 長期飼育したF344ラットについて病理学的検索を実施中である。今回は肉眼所見記録の明らかな雄 149 例, 雌 139例を組織学的に検査し, 観察された自然発生腫瘍の主な種類と経時的発生頻度について報告する。

<<< 材料と方法 >>>

ラット(F344/Du Crj)を5週令で購入し, 温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 湿度 $55 \pm 10\%$ (換気回数 約16回/hr), 室内灯の照明は8:00 から21:00 までの13 時間のバリエーションシステムの飼育環境のもとで金属性ケージ内に2匹ずつ収容した。放射線滅菌された固形飼料(CRF-1, 日本チャールス・リバー株式会社)を自由に与え, 紫外線滅菌装置を通過した上水道水を自動給水装置より自由に摂取させた。

2回の予定解剖として112週令と135週令の生存例及び途中死亡例と瀕死期屠殺例の全てのラットについて解剖し, 病理組織学的に検査した。

<<< 結果 >>>

担癌動物は雄147例(98.7%), 雌117例(84.2%)であった。

< 皮膚及び乳腺 > 雌では雄に比較して自然発生皮膚腫瘍は少ないようであった。皮下織では Fibroma, Lipoma及び組織球形腫瘍が目立った。乳腺の腫瘍は 71週令から Fibroadenomaが多く発生した。Adenocarcinoma は113週令以降にみられた。

< 造血器系 > F344ラットに多く発生するといわれる造血器腫瘍が発生した。Lymphoma/Leukemiaとしてまとめた白血病性腫瘍の中には, Mononuclear cell leukemia, Lymphatic leukemia, Myeloid leukemia 及び Malignant lymphoma 等が含まれている。早いものでは, 71 週令からその発生がみられた。

< 運動器系 > 下顎骨と椎骨にOsteosarcoma, 大腿部には分類不能な肉腫(Synovial cell sarcoma?)が発生し骨組織の破壊を伴っていた。

< 呼吸器系 > 肺の原発腫瘍の発生率は低かったが, 112週令以降に Alveolar/bronchiolar carcinoma がみられた。また原発巣の不明な Chordoma の肺転移を4例でみた。

< 消化器系 > 肝以外の腫瘍は少なかった。肝では98 週令以降に Neoplastic nodule 及び, Hepatocellular carcinoma が認められ, しかも雄に多い傾向を示した。

< 泌尿器系 > 泌尿器の腫瘍は少なかった。腎盂原発と考えられた Transitional cell carcinoma の1例では脾, 肝, 及び肺への広範な転移を示した。その他, 135 週令にはNephroblastomaと, 腎の間質にほぼ瀰漫性に拡がる Lipomatous tumor がそれぞれ1例みられた。膀胱の上皮系腫瘍は認められなかったが, 稀に膀胱壁のLeiomyosarcoma がみられた。

< 生殖器系 > 精巣の Interstitial cell tumor は最も発生率の高い腫瘍であり, 早いもので73週令, また135 週令には100% の発生率を示した。これら腫瘍の中には, Seminoma 乃至 Rete testisを想起させる像もみられた。雌では 83 週令からEndometrial stromal tumor が比較的多くみられた。低頻度ながら Adenoma, Leiomyoma, Leiomyosarcoma, 及びEndometrial stromal sarcoma 等がみられた。卵巣にはGranulosa cell tumor, Granulosa-theca cell tumor, Serosal adenoma 等がみられた。また, 雌の1例では, 卵巣由来と考えられるGranulosa cell tumorと思われる腫瘍が, 腹腔内でも特に卵巣周辺部を中心として浸潤性の腫瘍塊を形成しており, 肺と右心室内に転移果がみられた。Preputial/clitoral gland adenoma は雌雄にほぼ 同数みられた。

< 内分泌系 > 内分泌腫瘍の中では下垂体前葉腫瘍が最も発生頻度が高く, 77週令以降にみられ, 次いで副腎髄質腫瘍, 甲状腺C細胞腫, そして膵ラ氏島腫瘍等が漸次増加する傾向を示した。加えて, 低頻度ながら, 副腎のGanglioneuroma, 甲状腺濾胞上皮腫瘍などがみられた。

< 中枢神経系 > 発生率は低いが, Glioma, Neuroblastoma, 及び Granular cell tumor がみられた。

< その他 > 雄では腹腔内に拡がるMesothelioma が比較的多くみられた。また雄の1例では, 原発巣の不明な頸部の悪性腫瘍がみられ Ganglion cell 由来が疑われた。縦隔部には, Osteosarcoma及び, Hemangiosarcoma 等がみられた。

近年, 肺癌は増加の傾向を示し, 中でも非喫煙者に多い末梢型腺癌発生の要因に関する研究の必要性は提唱されている。BHPはbis及びtris(2-hydroxypropyl) amineより人工的に生成されるもので, ラットの肺に高率に腺癌を発生せしめる。bis及びtris(2-hydroxypropyl) amineは, ゴム, 洗剤, 写真乳剤及び化粧品等の製造過程で広く使用されている。BHPはラットの生体内でN-nitrosomethyl(2-hydroxypropyl) amine (MHP), N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP), N-nitroso(2-hydroxypropyl)(2-oxopropyl) amine (HPOP), 及びN-nitroso-2, 6-dimethylmorpholine (NDMM)に代謝されることは知られている。今回, 我々は主として肺を中心にBHP及びその関連物質の発癌性について比較検討したので報告する。

動物は6週令のWistar系雄ラットを用い, それぞれの物質に対し, 1群のラットの匹数は, 10~12匹とした。投与量は体重kg当り, BHPでは1000及び3000mg, MHPでは44.6及び89.2mg, BOPでは53.4及び106.8mg, HPOPでは212.1及び424mg, NDMMでは110.4, 220.8及び441.6mgとした。各物質は生理食塩水に溶解せしめ, ラットの腹腔内へ1回投与した。対照群には生理食塩水のみを投与した。動物は処置後55週目に屠殺解剖し, Hematoxylin-Eosin染色標本にて腫瘍発生を検索した。肺については, 肺全体を5mm巾に切り出し, それぞれについて標本作製をして検索した。

最終動物匹数は, 各群とも6~12匹であった。最終体重は各群とも対照群に比べ有意に減少しており, 中でもHPOPの低及び高濃度投与群はBHPの低及び高濃度投与群に比べ, 各々有意な減少を示していた。肺重量では, NDMMの低濃度投与群を除いて, 各群とも対照群に比べ有意に増加していたが, 各物質間で比較してみると差は認めなかった。

肺での腫瘍発生頻度は, 対照群では0%であった。各物質投与群での頻度はBHP, MHP, BOP, HPOPそれぞれの低及び高濃度投与群において6/10(60%), 9/10(90%); 2/9(22%), 6/9(67%); 1/10(10%), 10/10(100%); 5/10(50%), 3/6(50%)であった。NDMMでは低, 中及び高濃度投与群

において0/12(0%), 1/11(9%), 4/9(44%)の頻度であった。細気管枝-肺泡領域では腺腫と主に腺癌の発生がみられた。腺癌はBHP, MHP, BOP, HPOPそれぞれの低及び高濃度投与群において4/10(40%), 7/10(70%); 0/9(0%), 4/9(44%); 1/10(10%), 10/10(100%); 5/10(50%), 3/6(50%)の頻度で発生した。NDMMの低, 中及び高濃度投与群ではそれぞれ0/12(0%), 2/11(18%), 2/9(22%)の頻度で発生した。腺癌についてはBHP, MHP, BOP, HPOPそれぞれの低及び高濃度投与群において3/10(30%), 8/10(80%); 1/9(11%), 3/9(30%); 0/0(0%), 0/0(0%); 2/10(20%), 2/6(33%)の頻度で発生した。NDMMでは高濃度投与群においてのみ1/9(11%)の頻度で認められた。腺扁平上皮癌はBHPの低及び高濃度投与群とMHP及びNDMMの高濃度投与群とHPOPの低濃度投与群に発生がみられ, その頻度はそれぞれ1/10(10%), 4/10(40%); 1/9(11%); 1/9(11%); 1/10(10%)であった。扁平上皮癌はMHP低濃度投与群とHPOP低濃度投与群にて発生がみられ, その頻度は1/9(11%), 1/10(10%)であった。

肺以外の臓器では甲状腺に腫瘍の発生がみられた。BHP, MHP, BOP, HPOPそれぞれの低及び高濃度投与群における発生頻度は7/10(70%), 10/10(100%); 3/9(30%), 6/9(67%); 3/10(30%), 6/10(60%); 8/10(80%), 5/6(83%)であった。NDMMの低, 中及び高濃度投与群においてはそれぞれ1/12(8%), 1/11(9%), 1/9(11%)の頻度で腫瘍発生がみられた。

以上の結果より, BHP及びその関連物はラットの腹腔内へ1回投与することにより, 投与濃度に依存した腫瘍発生を起こし, 又, いずれも肺を第1に, 次いで甲状腺を標的とすることが判明した。

内藤正志, ○伊藤明弘 (広大 原医研 癌)

〔はじめに〕

ニトロソウレア系の発癌剤である N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) は新生仔期のラットに 1 回投与することにより, 高率に神経系の腫瘍が誘発されることが知られている。一方 ENU を新生仔期のマウス及び Mongolian gerbil (ジャービル) に投与した時は標的臓器が異なり, より多彩な腫瘍が誘発される。今回これら ENU 誘発腫瘍の動物の種差及び系統差による発生頻度, 組織型の差について報告する。

〔実験方法〕

Wistar/Furth (WF) 系, Long-Evans (LE) 系, 及び Fischer (F344) 系の各ラット, A/He 系マウス及び非近交系のジャービルの各新生仔に, 40 mg/kg 体重の ENU を背部皮下に 1 回のみ投与し, ラットは 6 カ月間, マウス及びジャービルは 1 年間観察し, 10%ホルマリンで灌流固定後, 全身解剖を行い, 腫瘍発生部位及び主要臓器の組織学的検索を行った。

〔結 果〕

①ラットにおける腫瘍発生: ラットにおいては, 神経系の腫瘍が多発し, その頻度は各系において 97%以上であった。中枢神経系の腫瘍は各系のラットで同様に高率で, 脳腫瘍は 82%以上であった。脳腫瘍の組織型は oligodendroglioma が主体で, mixed glioma, 及び anaplastic glioma も認められた。末梢神経系の腫瘍発生頻度は系統差が認められ, LE 系は高感受性 (89%), WF 及び F344 系ラットは低感受性 (22%と 21%) であった。これらの腫瘍の組織型はほぼ全例 anaplastic schwannoma であった。次に発生頻度が高いのは腎腫瘍で, その発生頻度は 0%~16% であった。組織型は mesenchymal tumor が多く, nephroblastoma が少数認められた。

②A/He マウスにおける腫瘍発生: ENU 投与により高頻度に発生したのは肺腫瘍であった。その頻度は 82.6%以上で, 全肺野に多発し, 1 個体あたり 8 個以上の腫瘍が認められた。

組織型は全例 alveologenic adenoma であったが 1 例は胸腔内転移を認めた。悪性リンパ腫が約 20%の動物に認められたが, これらの多くは胸腺原発である thymic lymphoma であった。神経系の腫瘍発生は低頻度 (約 10%) で, 組織型は中枢神経系では oligodendroglioma 末梢神経系は anaplastic schwannoma の像を示した。他に雄マウスでは肝腫瘍が約 50%の動物に認められ, その組織像は hyperplastic nodule であった。

③ジャービルにおける腫瘍発生: ジャービルにおいても神経系腫瘍が発生したが, これらは主に中枢神経系の腫瘍で組織型は oligodendroglioma の像を示し, 発生頻度は 31% であった。皮ふの黒色の腫瘍が四肢, 口周囲に認められ, その発生頻度は 22%, 組織型は melanoma であった。下顎の腫瘍も 6%の動物に認められたが, その組織像は ameloblastoma であった。腎腫瘍が 6%の動物で認められたが, その組織像は hemangioma であった。

〔結 語〕

Ultimate carcinogen であり, 酵素系を必要とせず全身の DNA と結合し発癌性を示すと考えられる ENU を, 新生仔期に 1 回投与した時, 腫瘍発生の頻度には系統差があり, 標的臓器には種差が認められた。発癌実験に際し, 動物種差, 系統差の選択が重要であることを示すと同時に, この差の原因を究明することが発癌機序の解明の手掛りになると考えられる。

○原田孝則・北澤利明・榎本秋子・真板敬三・白須泰彦（残留農薬研）

雄のゴールデンハムスターに1日2回、30本分のタバコ煙をHamburg II型 Smoking Machineを用い104週間（24カ月）にわたり暴露すると共に、ビタミンCを1%の割合で混餌投与し、タバコ煙の慢性吸入毒性・発癌性に対するビタミンC投与の効果を調査した。

喫煙群において、食餌効率の低下を伴う体重増加抑制が認められたが、ビタミンC投与の効果はなかった。死亡率には喫煙の影響は特に認められなかったが、ビタミンC投与群の死亡率はその他の群に比べ低い傾向を示した。病理組織学的には、タバコ煙暴露に起因する種々の病変が喫煙群の呼吸器系組織に認められ、特に上部気道（鼻腔、喉頭）に好発した。鼻腔では鼻炎、呼吸部粘膜の扁平上皮化生および上皮過形成、喉頭では喉頭炎、粘膜の肥厚、扁平上皮化生、角化亢進および上皮過形成、肺ではマクロファージの増加および細気管支上皮の腺様過形成が高頻度に観察された。腫瘍性病変では、鼻腔および喉頭に喫煙により生じたと考えられる腫瘍の発生が認められ、担喉頭動脈動

物数が喫煙群において有意に増加した。しかし、認められた腫瘍の大部分は良性腫瘍（ポリープ、乳頭腫）であり、癌の発現は3～7%の低率であった。一方、ビタミンC投与群では、鼻腔粘膜の炎症および上皮過形成、肺泡マクロファージの増加および細気管支上皮の腺様過形成の発生頻度が有意に抑制された。

以上の様に、タバコ煙をハムスターに24カ月にわたる長期間暴露した結果、鼻腔、喉頭および肺に喫煙に起因する種々の非腫瘍性病変が惹起されることが判明した。特に、喉頭では上皮過形成に加えポリープおよび乳頭腫などの腫瘍性病変が好発し、担喉頭動脈動物の発生頻度は23～33%に達した。しかし、癌の発現は3～7%の低率であった。一方、ビタミンCは喫煙に起因する鼻腔の炎症および上皮過形成、肺泡マクロファージの増加および細気管支上皮の腺様過形成に対し抑制効果を示すことが示唆された。しかし、腫瘍性病変の発現に対しては抑制効果は得られなかった。

○玉野静光, 福島昭治, 増井恒夫, 柴田雅朗, 伊東信行 (名市大・医・一病)

前胃の自然発生腫瘍はラット、マウス等では極めて稀であるが、化学物質による前胃腫瘍誘発の報告は多い。そこで今回、前胃に発癌性を示す代表的な化学発癌物質であるMNNG, MNU および4-NQO による前胃細胞のほか、我々が最近酸化防止剤のBHA により誘発したラット前胃腫瘍の形態学的特徴を比較検討した。

ラット前胃の腫瘍をTable 1 に示した方法で誘発した。すなわち、BHA ではF344ラットを用いて、2%濃度の固型飼料を104週間与え、112週まで観察した。MNNGでは、Wistar系またはF344系ラットにそれぞれ250 または150mg/kg b.w. を1回、強制経口投与し、52週間観察した。MNU では、F344系ラットに20mg/kg b.w.を週2回、4週間腹腔内投与し、以後36週まで観察した。4-NQO では、20% エタノール水溶液で0.1%とし、その1mlを週1回、20週間Wistar系ラットに強制経口投与し、以後40週まで観察した。

齧歯類の胃は食道から引き続く前胃部と十二指腸に続く腺胃部とが、前胃粘膜の隆起によって形成された境界縁limiting ridgeで明瞭に区分されている。前胃粘膜は口腔や食道と同一の組織構造を示し、上皮は軽度に変化している。2% BHA投与でみられた前胃腫瘍の発生部位は、噴門部に近いlimiting ridge近縁が大多数で、無茎の疣状、カリフラワー状あるいは絨毛状を呈したポリープ状腫瘍が大半を占めるが、癌性潰瘍の形成を伴った例も時に認められる。更に、前胃全体が腫瘍性に肥厚している例や瀰漫性に大小のポリープ状腫瘍を認めることもある。MNNG投与の前胃腫瘍は瀰漫性で特に好発部位は無く、大小様々の大きさで、有茎、無茎の乳頭状あるいはカリフラワー状の灰白色ポリープとして成育している。MNU や4-NQO 投与で発生した腫瘍はMNNG投与の場合と類似していた。

組織学的観察の結果、前胃の上皮性腫瘍として乳頭腫と扁平上皮癌を、非上皮性腫瘍として平滑筋肉腫を認め、その頻度をTable 2 に示した。全ての化学物質で高頻度に乳頭腫が発生し、

BHA, MNNG およびMNU 投与で扁平上皮癌が誘発された。また、MNNG投与の1例に平滑筋肉腫を観察した。いずれの化学物質投与で観察された腫瘍も、組織学的形態はほぼ類似していた。すなわち、乳頭腫では著明な角化を伴った棘細胞層の乳頭状増殖と基底細胞層の増殖を認め、扁平上皮癌では核異型と分裂像を伴い、粘膜筋板を越えて漿膜まで浸潤増殖し、癌真珠の形成を認める高分化型扁平上皮癌の形態を示していた。また、癌細胞が角化を形成せず、一定の構造を作ることなく、瀰漫性に増殖した未分化型の扁平上皮癌も認められた。更にBHA 投与で誘発された腫瘍では、腫瘍の一部において扁平上皮の粘膜下から筋層への陥入がしばしば観察された。この他、いずれの化学物質投与によっても、扁平上皮の上皮過形成が認められた。

さらに、BHA のラット前胃癌発生について用量依存性の有無を検討した結果、腫瘍の発生に明らかな用量効果が観察されるとともに、上皮の過形成、乳頭腫を経て扁平上皮癌が発生する過程が確認された。

Table 1 Materials and methods

Expt.	Test chem.	Dose level	Administration		Observation period(wks)
			Rout	Duration	
1	BHA	2%	in diet	104 wks	112
2	MNNG	250mg/kg	i g	single	52
3	MNNG	150mg/kg	i g	single	52
4	MNU	20mg/kg	i p	twice a week for 4 wks	36
5	4-NQO	0.1%, 1ml/rat	i g	once a week for 20 wks	40

Table 2 Neoplastic lesions in forestomach

Expt.	Effective No. of rats	No. of forestomach lesions(%)		
		Papilloma	SCC	Leiomyosarcoma
1	52 F344	52(100)	18(34.6) ^a	0
2	22 Wistar	13(59.0)	2(9.0)	1(4.5)
3	18 F344	10(55.6)	2(11.1)	0
4	34 F344	20(58.8)	3(8.8)	0
5	18 Wistar	14(77.8)	0	0

^aMetastasis to the regional lymph node(2 rats).

○宮田幸忠, 広瀬雅雄, 増田あつ子, 小木曾正, 伊東信行 (名市大・医・一病)

目的: 抗酸化剤であるbutylated hydroxy-anisole (BHA) は2-*tert*-isomer (2-t-BHA) と3-*tert*-isomer (3-BHA) の混合物であり、ラット、ハムスターの前胃に発癌性を示すことが知られている。本実験では2-t-BHA, 3-t-BHAおよび市販のcrude BHAをハムスターに投与し、前胃に対する作用の比較検討を行うとともに、前胃に発生した初期病変を詳細に検討した。またラット、マウス前胃に発癌性を示さないbutylated hydroxytoluene (BHT)のハムスター前胃に対する作用とも比較検討した。

実験方法: 7週令雄Syrian Golden ハムスターにcrude BHA (和光純薬; 98%以上3-t-BHA, 1%以下2-t-BHAを含む)、2-t-BHA (住友化学; 純度>99.9%)、3-t-BHA (住友化学; 純度>99.9%)、およびBHT (和光純薬; 純度>98%)をそれぞれ1%の濃度でオリエンタルMF粉末基礎飼料に混じて投与した。投与後1, 3, 7, 14, 21, 28日目に各群3匹ずつ0.1mCi/100g bwの³H-thymidineを腹腔内投与し、投与後1時間で屠殺剖検し、前胃を組織学的ならびにオートラジオグラムを用いて検討した。前胃の病変の解析にはオリンパス池上通信社製のcolor video image processorを用いた。

結果: 肉眼的に2-t-BHA および3-t-BHA 群には厚い苔状の物質の付着をともなった前胃粘膜の肥厚が1週目以降、crude BHA 群では3日目以降に小弯側、食道付近の腺胃境界部を中心として認められたが、その変化は3-t-BHA, crude BHA 群の方が2-t-BHA 群よりはるかに著しく、BHT 群ではこの様な変化は全く認められなかった。組織学的に前胃に発生した変化をhyperplasiaとpapillomatous lesion (PL) に分類し、hyperplasiaを上皮の厚さによりさらにmild hyperplasia (MiH, <0.1mm), moderate hyperplasia (MoH, 0.1~0.5mm), severe hyperplasia (SeH, >0.5mm)に分類すると、2-t-BHA 群ではMiHが1, 3, 7, 14, 28日目それぞれ0.75, 0.26, 1.02, 1.53, 1.08, 1.95cm/10cm

基底膜、MoHが0.01, 0, 1.12, 0.56, 0.17, 0.44cmでSeHが4週目に初めて0.16cmの範囲に認められたのに対し、3-t-BHA 群ではMiHが0.82, 0.67, 5.25, 3.40, 1.31, 1.32cm、MoHが0, 0, 1.58, 2.44, 3.44, 3.63cm、SeHが0, 0, 0.30, 1.95, 2.79, 3.55、PLが3, 4週目にそれぞれ0.22, 0.31cm、crude BHA 群ではMiHが0, 0.28, 1.14, 3.15, 3.12, 2.91、SeHが0, 0, 0.08, 3.97, 1.66, 5.10、PLが4週目0.14と、3-t-BHA およびcrude BHAが2-t-BHAよりはるかに強い変化を示した。なお対照群はMiHが0.12, 0.56, 0.15, 0.13, 0.12, 0.03でMoHが0, 0, 0.06, 0.07, 0.03, 0.03であり、BHT 群ではMiHが対照群よりやや高値を示すのみであった。hyperplasiaには著しい角化と、角化物内、粘膜内、粘膜下に著しい好中球を主体とした炎症性細胞浸潤がみられ、初期には上皮の脱落も多く観察された。オートラジオグラムを用いた前胃基底細胞核の標識率は2-t-BHAでは1, 3, 7, 14, 21, 28日目それぞれ13, 16, 25, 23, 20, 18であるのに対し、3-t-BHAでは16, 21, 34, 22, 22, 29、crude BHAでは18, 24, 29, 31, 20, 27で対照群では13, 22, 19, 14, 17, 15、BHT群では7日目以降17, 15, 19, 14で3-t-BHA, crude BHAで高く、2-t-BHAがやや低く、BHTでは対照群レベルで組織像を裏付ける結果が得られた。

結論

1. BHAをハムスターに投与すると極めて早期から炎症反応や上皮の障害をともなったhyperplasiaが出現する。
2. BHA投与早期からみられる炎症反応や上皮の障害はhyperplasiaやPLの発生に関与している可能性が強い。
3. BHAによる前胃腫瘍の発生は2-t-BHAによるものではなくむしろ3-t-BHAによるものと考えられる。
4. BHTはハムスター前胃に対し発癌作用を示さないと考えられる。

○立松正衛, 米良幸典, 倉田靖, 山下隆生, 津田洋幸 (名市大・医・一病)

我々の環境中には極めて多くの肝に癌原性を示す物質が認められている。これらの物質の毒性を含めた癌原性の検索には肝の発癌過程を正しく把握する必要がある、肝の前癌病変の陽性マーカーとして γ -glutamyl transferase (γ -GT), epoxide hydrolase (EH) が、また陰性マーカーとしてglucose-6-phosphatase (G-6-Pase) やnucleotide polyphosphatase (ATPase) が広く用いられてきた。一方、これらのマーカーは、種々の化学物質の投与により正常肝細胞でも誘導されたり活性が低下するため、正確なマーカーとして必ずしも機能しない場合があり、より正確なマーカーが求められていた。我々はGlutathione S-transferaseの胎盤型(GST-P)が新しいマーカーとなり得る事を見出したので、その有用性の検索のため、肝発癌過程において γ -GT陽性巣とGST-P陽性巣を組織化学的および免疫組織化学的に比較検討を行った。

方法：フィッシャー系雄ラット(7週令)230匹に、Diethylnitrosamine (DEN)200mg/kgをi.p.し、2週後に0.02% N-2-Fluorenylaceta-mide (2-FAA) (1群), 0.05% Phenobarbital (PB) (2群), 2.0% Butylated hydroxyanisole (BHA) (3群), 0.5% Butylated hydroxytoluene (BHT) (4群)を6週間投与し、コントロール(5群)には基礎食のみ投与した。発癌過程を促進するため、すべての動物に第3週で肝部分切除を行った。観察は50週まで行い、動物を4, 6, 8, 12, 20, 35 および50週で屠殺し、肝を摘出して病理組織学的に検索した。冷アセトン固定を行った組織の3連続切片を作成し、それぞれHE染色、 γ -GT組織化学染色、およびGST-P免疫組織化学染色を行い、肝変化を画像解析装置を用いて定量的に解析した。

結果：GST-Pおよび γ -GT陽性巣の肝切片1cm当りの面積は4, 6, 8, 12 および50週の順で1群は15.5:11.1, 60.4:52.5, 63.4:50.1, 67.6:43.7, 90.6:40.0、2群は0.32:0.16, 0.53:0.38, 0.81:0.39, 0.80:0.41 および

22.5:14.6、3群は0.02:ND, 0.10:ND, 0.11:ND, 0.16:0.09 および2.2:1.0でBHA投与中は γ -GTが門脈周囲の肝細胞に誘導され、増殖巣の決定ができなかった(ND)。4群は0.36:ND, 0.41:ND, 0.38:ND, 0.48:0.18および15.9:6.0でBHT投与中も γ -GTが正常肝細胞に誘導され、増殖巣の決定ができなかった。5群は0.21:0.09, 0.30:0.08, 0.27:0.12, 0.29:0.13 および10.2:3.8であった。肝細胞癌が1群:35週で5例(50.0%), 50週で12例(92.3%)、2群:50週で4例(21.1%)、5群:30週で1例(6.7%)認められたが、3および4群では癌の発生が認められなかった。連続切片でのGST-Pおよび γ -GTの増殖巣の一致率では、GST-Pおよび γ -GTともに陽性を示すものが各群ともに90~94%, GST-P陽性、 γ -GT陰性のものが10~6%でGST-P陰性、 γ -GT陽性のものは1%以下であった。肝細胞癌では索状高分化型肝細胞癌18例(69.2%), 索状中分化型1例(33.3%)および腺様性肝細胞癌3例(75.0%)が両者とも陽性であり、索状高分化型8例(30.8%), 索状中分化型2例(66.7%), 腺様性肝細胞癌1例(25.0%)および充実性肝細胞癌2例(100%)がGST-Pのみ陽性であり、 γ -GTのみ陽性の肝細胞癌は認められなかった。

以上の結果、(1)各群ともすべての段階で γ -GT染色と比べGST-P免疫染色がより明瞭に増殖巣を識別できる。(2)肝細胞癌においてもGST-Pは陰性化しない。(3) γ -GTは抗酸化剤(BHA, BHT)により増殖巣以外の肝細胞においても著明に誘導されるが、GST-Pでは増殖巣以外の肝細胞においても誘導されるがその程度は弱く増殖巣との識別は容易にできる。(4)2-FAA, PBはコントロールと比較し有意の差でGST-P陽性巣の形成を促進し、BHAは形成を抑制し、その程度は肝細胞癌形成と関連した。

これらの事実はGST-Pが γ -GTにかわり得るすぐれた新しい肝癌発生過程の指標酵素である事を示唆していると考ええる。

野々山 孝 (武田薬品 中研), G. Reznik (PAI/NCTR), T. J. Bucci (PAI/NCTR),
F. Fullerton (NCTR/FDA), J. M. Ward (NCI/NIH)

〔緒 言〕

肝芽細胞腫 (HB) は、自然発生腫瘍として、また ENU や DDT などの化学物質の投与によりある種のマウスに発現する。我々は、先に、扁平上皮への分化を示すマウス HB の 1 例を報告したが、その他には 1973 年に Turusov らの報告があるのみで、その Origin をはじめ、不明な点が多い。診断学的にも、poorly differentiated cholangio carcinoma, cholangioma あるいは an unusual tumor などの名称が用いられ、議論の多い腫瘍の 1 つである。本報告では、2-acetylaminofluorene (2-AAF) の発癌試験において発現した HB を光顕ならびに電顕的に観察し、その形態的特徴を明らかにするとともに、腫瘍細胞における α -fetoprotein (AFP) およびケラチンの存在を免疫組織化学的に検索した。

〔材料と方法〕

動物は、米国国立毒性研究所 (NCTR) で実施された 2-AAF と飼料および系統との発癌における相互関係を研究するために実施された 2 年間の発癌試験に用いられた B6C3F1 および BALB/c マウスのうち HB の認められた 22 例を用いた。

いずれの例もまず HE 切片を作製し検鏡した。また、電顕的観察のため、上記 22 例のうち 10 例のホルマリン固定の肝臓を細切し、オスミウム酸で再固定後エポン包埋し、二重染色を施し、検鏡した。また、腫瘍細胞における AFP およびケラチン検出のため 16 例のホルマリン固定パラフィン包埋切片を、ウサギ抗マウス AFP 抗体およびウサギ抗ヒト表皮角質層ケラチン抗体を用い、ABC 法により染色した。

〔結果および結論〕

腫瘍は HE 標本では、非腫瘍性の圧迫された肝組織と明らかに区別され、数種のタイプの細胞から構成され、しばしば大嚢胞や拡張した血管を伴っていた。主たる腫瘍細胞は、卵円形の大きな核と塩基性のわずかな細胞質を有し、島状に集簇していた。別のタイプは、やや豊富な好酸性細胞質と不整な核をもつ紡錘形の細胞で、ロゼットあるいはリボン状に

配列していた。これら腫瘍細胞の集簇した中央部には血管が認められた。細胞分裂像は個体差があったが、比較的多くみられた。この他に、多くの例で、空胞化した細胞質と卵円形の核を有する多角形の細胞と上述の紡錘形の細胞からなる網工状の区域が認められ、髄外造血像も散見された。

22 例中 8 例に扁平上皮への分化が、他の 2 例に骨組織を伴った腫瘍性結合組織がみられた。また、HB の肺への転移が 2 例に認められた。

電顕的観察では、最も多くみられた腫瘍細胞における細胞内小器官の発達には乏しく、糖原顆粒および滑面小胞体はほとんどみられなかったが、遊離リボゾームは豊富であった。細胞は、互に密接し、毛細胆管、tight junction、デスモゾーム様構造が散見された。まれに、細胞質内にベルオキシゾーム様小体がみられた。光顕でみられた紡錘形の細胞には、束状あるいは封入体状に配列した中間径線維が認められた。また、これらの細胞群に隣接ないし混在して、極めて異型な核と乏しい細胞内小器官と多量の細線維をもつ腫瘍細胞もみられ、周囲には膠原線維が認められた。網工形成を示す細胞は、上述のいずれかの細胞と類似した微細形態を示し、加えて拡張した細胞間隙および類洞構造が認められた。

免疫組織化学的検索では、AFP は検索した 16 例いずれも陰性であった。一方、ケラチンは、扁平上皮への分化を示した 2 例を含め 16 例中 7 例に陽性細胞が認められた。扁平上皮への分化を示さない例では、ケラチン陽性細胞はしばしば塊状あるいは腺様構造を示した。

以上の成績から、マウス HB は bipotential (上皮性細胞および間葉性細胞の両方に分化する能力をもつ) な肝芽細胞から生じ、これら両者の種々の分化度を示す腫瘍細胞から構成されることが示唆された。

HB 細胞は、いずれも AFP 陰性であったが、これは、微細形態が示す様に、マウス HB 細胞が、ヒトのそれに比べ、より幼若であることが一因であると考えられる。

○井上忠志, 津田洋幸, 朝元誠人, 白井智之, 立松正衛 (名市大・医・一病)

化学発癌物質による腎上皮性腫瘍の組織発生と前癌病変の指標となる酵素偏倚巢の追求は、腎発癌および修飾物質の短期スクリーニング法の開発やヒトの腎癌の早期診断のうえで重要な課題である。酵素組織化学的な γ -glutamyl-transpeptidase や alkaline phosphatase 等の活性に表現形質の特徴の報告をみるが、これらはいずれも陰性マーカーであることから前癌病変部の指標としては必ずしも有用ではなかった。

そこで本実験では、解毒の第2相に関与する glutathione S-transferase の各分子種および糖一脂肪代謝に重要な役割を果たす glucose-6-phosphate dehydrogenase の局在を、免疫組織化学的に検索し、前癌病変部に対する指標としての有用性および組織発生について追求した。

方法：6週令のF344系雄ラット、25匹を用い、N-ethyl-N-hydroxyethyl nitrosamine (EHEN) を0.1%の濃度で飲料水に添加して2週間投与し、その後水道水に戻して29週後に屠殺した。腎臓は冷アセトンにて固定後パラフィン包埋し、連続切片を用いて Toluidine blue (TB)、Periodic-acid-schiff (PAS) 染色、酵素組織化学的な γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT), alkaline phosphatase (ALP) 染色、および免疫組織化学的な glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH)、glutathione S-transferase (GST) のA, B, C, D, Pの各染色を行うと共に必要に応じ、PASとGSTあるいはG6PDHとの2重染色を行い、同一病変部での種々の酵素表現型の特性と相互の関連について観察した。

結果：正常尿細管では、GST-Aは遠位の、GST-Bは近位の、GST-CおよびDは集合管の、GST-P近位および遠位の、そしてG6PDHは遠位のそれぞれの胞体に、また γ -GTは近位の刷子縁に限局して高濃度に分布した。初期の前癌病変である変異尿細管では、GST-A, C, DおよびG6PDHが陽性を示し、このうちGST-Aが最も明

瞭に染色された。一方、GST-Bおよび γ -GTは減少あるいは陰性を示した。この変異尿細管では、PASとの2重染色により刷子縁の染色性の減少・消失等の正常よりの移行像が観察された。腺腫では、腫瘍の増殖が進展し周囲組織を圧迫するに従ってGST-Aの結合は弱くなり、GST-B, C, Pもほとんど陰性を示す一方、G6PDHは陽性を示すものが多く観察された。そして腺癌では、G6PDHが陽性を示すものがみられたが、それ以外は全て陰性であった。

考察と要約：変異尿細管では、GST-A, C, DおよびG6PDHが陽性を示し、このうちGST-Aが最も明瞭であった。この変異尿細管はPASとの2重染色により、組織発生的に近位尿細管由来であることが示された。腺腫では、酵素表現型の不安定性が観察されたが、G6PDHは陽性を示すものが多くみられた。また腺癌では、G6PDH以外は全て陰性を示した。

以上より、近位尿細管からの移行を示す変異尿細管ではGST-Aが、腎腺腫および腺癌ではG6PDHがそれぞれ指標酵素として有用であり、腎においても肝と同様に pentose-phosphate pathway の重要性が明らかにされた。

○田川義章, 白井智之, 福島昭治, 広瀬清信, 伊東信行 (名市大・医・一病)

ラットやマウスの膀胱粘膜上皮は物理的刺激によって容易に増殖性変化を起こすことが知られている。特に結石形成性物質の投与による膀胱腫瘍では、原因がその物質自身の発癌性なのか、結石形成の結果なのか常に問題となる。本研究では、結石により発生する膀胱粘膜腫瘍の生物学的特性の一端の解明のため、uracilの投与による膀胱結石の形成と膀胱乳頭腫症の発生およびそれらの可逆性を病理学的に検討した。

方法：動物は6週令F344雄ラット30匹を用い、飼料にuracilを3%と1%の各濃度で混入した。1群の15匹には3%uracil含有食を、2群の15匹には1%uracil含有食を最長30週間与えた。1群の一部のラットは16週目よりuracilを含まない基礎食で飼育した。各群15週目と30週目で屠殺し、結石の有無と膀胱粘膜病変を検索した。

結果：3%uracil投与群では15週および30週ともに全例の膀胱内に黄白色の無数の結石が充満し、膀胱の拡張および両側尿管の肥厚と内腔の拡張を認め、種々の程度の水腎症を合併していた。拡張した尿管内にも少数の小結石が観察された。赤外線吸収度分析から結石はuracil自体であることが判明した。膀胱壁は全体にわたる粘膜の不規則な肥厚を示し、特に膀胱頂部付近で著明であった。組織学的には膀胱壁全体におよぶ粘膜の著明な乳頭状増殖を示し、乳頭腫症と呼ぶべき状態であった。膀胱粘膜は6～8層の細胞層から成り、細い毛細血管とわずかな線維性結合織からなる間質を伴って不規則な乳頭状配列をとり、樹枝状の分岐や乳頭状突起の相互の橋形成も多くみられた。構成細胞は正常移行上皮よりも胞体がやや大きく、核もやや大型で円形ないし卵円形を示し、大小不同性や異型性は無く、ほぼ均一な形態像を示した。乳頭腫症上皮の最表層は一層の扁平な細胞で覆われ、正常移行上皮に類似する分化傾向を示した。粘膜の基底部では細胞分裂像が散見され、上皮細胞の増殖亢進状態を示唆した。粘膜下層はやや肥厚し浮腫状であり、小円形細胞浸潤が散見さ

れた。3%uracil 30週投与群では膀胱壁を貫通して袋状の粘膜増生があり、結石による膀胱憩室形成と考えられた。また5例中1例に細胞異型性が高度で、細胞分裂像も多く、移行上皮癌と診断しうる乳頭状腫瘍が認められた。尿管上皮もuracil投与により種々の乳頭状発育を示し、概ね乳頭状過形成であったが、膀胱付近部では増殖はより強く、突起の2次分岐のある乳頭腫もみられた。3%uracil 30週投与群では尿管上皮の異型性を1例に認めた。膀胱粘膜上皮の走査電顕像では、直走あるいは曲走する粘膜隆起が相互に融合し、毛細血管網様であった。表層細胞は不規則な多角型の敷石状配列をとり、細胞表面には無数のshort uniform microvilliやropy rounded microridgesが観察され、pleomorphic microvilliも少なからず認められた。透過電顕像では表層細胞表面には大小様々なmicrovilliがあり、胞体内にtonofillaments, mitochondriasやribosomesが豊富にあり、fuciform vesicleの減少を認めた。中間細胞には小さいrounded vesiclesや豊富なmitochondriasやribosomesおよびtonofillamentsがみられた。

3%uracil 15週投与後、基礎食で15週間飼育した群では5例中1例にわずかな小結石を認めたのみで、乳頭腫症は5例全例に全く認められず、軽度の単純性過形成あるいは乳頭状結節状過形成をみたに過ぎなかった。なお、1例に孤立性の小乳頭腫を1個認めた。1%uracil投与群では30週目の10例中1例の小結石形成と過形成以外には膀胱粘膜の増殖性変化を認めなかった。

要約と考察：uracilの投与によって発生したラット膀胱乳頭腫は形成された結石の物理的刺激の結果と考えられ、その大半は結石の消失とともに可逆性に消失し、結石による移行上皮の乳頭腫は可逆性であることが示された。しかし長期間のuracil投与で癌の発生をみたことは、結石自体の発癌性を示唆している。

荒井昌之，日比野勤（藤田学園・衛・病理）

実験的膀胱腫瘍の発生過程における組織学的検査は種々行われているが，そのほとんどが移行上皮細胞の変化に関するもので，間質組織との関連性において腫瘍発生経過を検索した報告は乏しい。ゆえに，我々は膀胱腫瘍の比較的早い時期における間質組織の推移を観察し，早期診断の指標となり得る変化を検索することを目的として，以下の実験を行った。

実験方法並びに材料

6週令のFischer344系雄ラット（日本チャールズ・リバー社）100匹を使用し，以下の2群を作成した。第1群は70匹を用い，N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine（BBN）（東京化成）を0.05%の割合で飲料水に混じ，13週間投与し，以後通常飲料水で飼育した。第2群は30匹で，通常飲料水のみを投与した対照群とした。いずれの群も，オリエンタルMF固型飼料を自由に摂取させた。動物は実験開始より2，4，5，6，7，8，10，12，26，52週目の各時期に，実験群は5匹，対照群は3匹を屠殺し，膀胱を中心に主要臓器の腫瘍性病変について検索を行った。

光顕的には膀胱移行上皮基底膜周辺の毛細血管の増生数および粘膜下組織について観察を行った。さらに，電顕的観察では膀胱基底膜周辺の毛細血管内皮細胞，線維芽細胞および膠原線維などについて検索を行った。

結果

実験期間中，動物の体重増加は対照の第2群に比し第1群で軽度の抑制傾向がみられたが，肝，腎の重量およびその体重比には著明な差は認められず，また主要臓器には腫瘍性病変の見られた動物はなかった。

肉眼的に膀胱腫瘍が見られたのは，BBN

投与12週目以降のラットで，経時的に腫瘍は大きくなりBBN投与を中止しても，52週目では膀胱内腔のほぼ全体を占める腫瘍の発生が認められた。

光顕的に，BBN投与4週目では移行上皮の単純性過形成が見られ，この時期より対照群に比して毛細血管の増加が見られ，6週目には上皮の乳頭状および結節状過形成が見られ，多数の毛細血管は多層化した粘膜内に侵入し，12週以降では，毛細血管は乳頭状の腫瘍内で樹枝状に枝別れしたものが多数認められた。

電顕的には，BBN投与4週目より移行上皮の基底膜に軽度の屈曲（鋸歯状変化）とその周辺の毛細血管の内皮細胞には開窓現象（fenestration）が見られ，6週以降ではそれらの変化はさらに著明となり，また内皮細胞基底膜における多層化も見られた。

線維細胞もBBN投与期間が延長すると，膠原線維とともに増加傾向がみられた。52週目の膀胱腫瘍の下方への発育部では基底膜の断裂や，そこから基底細胞の一部突出が見られ，その下方では線維細胞がそれらを取り巻いて発育している部も見られた。

考察

膀胱腫瘍発生過程において，特徴ある早期の変化として最表層細胞の表面に不整の小絨毛様突起の存在が注目されているが，まだ小絨毛様突起の見られない早期において移行上皮の基底膜に鋸歯状変化と毛細血管の開窓現象が認められたことは，腫瘍発生の電顕的な早期変化の一つとして指標となり得る変化と考えられる。また，尿中BBN代謝産物は表層細胞のみならず，より深部の間質組織にも影響を与えることが推測された。

○前川昭彦、小野寺博志、谷川廣行、菅野純 国立衛試・病理

卵巢腫瘍は特にその複雑な組織発生のため、良好動物モデルの確立が望まれているが、今日までひと卵巢腫瘍のモデルとしての実験的ラット卵巢腫瘍の研究は少ない。今回我々はN-ニトロソ尿素によりラットで高率に卵巢セルトリ細胞腫の発生をみたので報告する。

〈実験材料・方法〉

ラット： 10週齢雌性Donryuラット（日本ラット）

飼料： CE-2（日本クレア）

発癌物質： N-エチル-N- ニトロソ尿素（ENU）

N-プロピル-N- ニトロソ尿素（PNU）

実験方法： 実験Ⅰ：400ppmのENU水溶液を40匹のラットに飲料水として15ml/rat/dayを4週間投与。

実験Ⅱ：オリーブ油に溶解したPNUを80匹のラットに胃ゾンデで200mg/Kg1回経口投与。投与後、実験Ⅰ、Ⅱ共に動物を2群に分け、一方は0.25%フェニルブタゾン添加飼料を2年間投与し、他方は基本飼料で飼育した。これら実験群以外に100匹を無処置対照群として用いた。各群とも実験開始後110週まで経過観察し後全生存動物を屠殺、実験を終了した。

〈実験結果及び考察〉

実験Ⅰ、Ⅱ共に卵巢腫瘍の高率な発生をみたが、フェニルブタゾン投与と卵巢腫瘍との関係は認められなかったため、両実験群ともそれぞれ1つの群としてまとめて集計した。卵巢腫瘍の発生率は実験群Ⅰ：48.5%(16/33)、実験群Ⅱ：51.3%(39/76)であり、両実験群の間に差異は認められなかった。これに対し無処置対照群の発生率は2.1%(2/96)であった。卵巢腫瘍を持った動物の平均生存日数は、実験群Ⅰ：52.7(46-74)週、実験群Ⅱ：78.6(61-109)週、対照群：109.5(109-110)週であった。これら卵巢腫瘍に加え、両実験群には子宮、下垂体、乳腺や消化管の腫瘍及び白血病等が多く発生した。

卵巢腫瘍の多くは片側性で、肉眼的には球形、卵円形あるいは不規則な形を呈し、大きさもさまざまで、断面は充実状を呈したが時に嚢胞や出血が見られた。組織学的にはこれら卵巢腫瘍の多くはセルトリ細胞腫あるいはセルトリ細胞腫と顆粒膜細胞腫の合併した腫瘍であった。これに対し無処置対照群のそれは全て顆粒膜細胞腫であった。典型的なセルトリ細胞腫では、

エオジンに淡染する、しばしば空胞状の豊富な胞体及び卵円形の核を有する背の高い細胞の管状構造よりなり、これら腺管は薄い線維性結合織で囲まれ、全体として睪丸の精細管に類似する構造を呈していた。この腺管の形や大きさは腫瘍により異なり、時に細胞内あるいは管腔内にエオジン及びPASに好染する硝子体を認めた。核分裂像は一般に少なかった。顆粒膜細胞腫と合併した症例においては、1つの腫瘍結節内に典型的なセルトリ細胞腫から顆粒膜細胞腫に特徴的な像までが混在してみられ、時としてセルトリ細胞腫、顆粒膜細胞腫あるいは両者の合併を区別する事が困難な例もみられた。

一般にラットに於ては卵巢腫瘍の自然発生は稀で、かつ組織学的にはそれらの多くは顆粒膜あるいは顆粒膜-莖膜細胞腫であり、両実験群に見られた卵巢腫瘍の大部分は検体投与に起因するものと考えられる。セルトリ細胞腫と顆粒膜細胞腫の混在はマウスの症例においても認められており、今回見られた両成分の混在例は、これらが共に生殖索由来の腫瘍であり、発癌剤の投与により成熟したラット卵巢中に存在する未分化細胞が両方向へ同時に分化した事を示している。

N-ニトロソ尿素は、multipotential carcinogenとして知られているが、卵巢腫瘍の発生に関してはこれまで報告がなかった。しかし極く、最近ENUによるセルトリ細胞腫の報告がなされ、今回の我々の報告と併せ、これらENUやPNUはラットに卵巢腫瘍を誘発させる事は確実であると思われる。これまでにこれらニトロソ尿素による卵巢腫瘍の誘発が報告されなかった理由の一つとして、従来の実験がきわめて高用量を用いてなされた事が考えられる。

今回見られた卵巢腫瘍の内分泌学的性格は未だ不明であり、現在検討中であるが、これらの実験系はひと卵巢セルトリ細胞腫のモデルとして極めて有用であると考えられる。

○伊藤明弘, 内藤正志, 渡辺敦光(広大 原医研 癌)

目的: 実験的乳腺腫瘍, 特にラット乳腺は放射線, 各種化学発癌物質, 性ホルモンを用いて多くの研究がなされている。X線に関しては全身及び部分照射が可能で、乳線組織が内分泌環境の変化に応じて様々の様相を呈し、発癌処置に対応する状態を変え得ること、誘発腫瘍が外部より容易に融知可能であり経時点観察、腫瘍径の計測などに適しており数値化が可能で、などが挙げられる。

本報告ではX線全身照射, N-methylnitrosourea (MNU) 及び性ホルモン (estrogen 又は testosterone) 投与を行って誘発したラット乳腺腫瘍について主に形態学的特性について宿主内分泌環境と関連して述べる。

方法と結果: 生後7週令のF344及びW/Fuラットを用いた。2 GyのX線全身照射, MNU 40 mg/kg 1回静脈注射及び2.5~5.0 mgの17 β -estradiol (E2) 又は testosterone (T) を含有した cholesterol pellet を皮下に埋没投与し、3カ月に1回新しく交換した。観察期間は3~9カ月であった。

1. X線全身照射: 2 GyのX線全身1回照射ではF344で4%, W/Fuで13%と低率を示した。誘発乳癌は tubulo-papillary carcinoma で、比較的腫瘍細胞に富み、転移形成は示さなかった。又、X線単独、E2との併用ラットに特徴的に発生する fibroadenoma が挙げられる。本腫瘍はラット自然発生腫瘍が fibroadenoma であり、腺癌が稀であることより、X線照射は fibroadenoma 発生の増強効果も考えられる。この腫瘍組織内に散在性に adenomatous lesion が出現する。この変化は大別して一層の腺上皮より成るもの、多層化したものが認められる。後者はE2の併用に一致して認められる組織であり、E2により adenomatous な増殖が、X線により fibromatous な増殖が起ることが示唆された。

2. MNU 静脈内投与: 40 mg/kg 体重の MNU 生後55日令の雌ラットに1回投与、3カ月後より1~2ケの乳癌発生を認めた。更にMNU

とE2 或いはTの併用により発癌率はやゝ増加している(現在実験中)。誘発乳癌組織はMNU単独ではX線と同様 tubulo-papillary 型、MNUとTの併用でもMNUと同型を示し、MNUとE2では次のE2単独で述べる compact tubular carcinoma が発現した。

3. E2の慢性投与: 本処置群ではその単独、X線、MNUとの併用にかかわらずF344ラットでは100%, W/Fuラットでは50%以上に下垂体腫瘍 (hemorrhagic prolactinoma) が発現した。E2単独による乳癌発生率はF344では0%, W/Fuでは55%であり、X線との併用ではF344で18%, W/Fuで75%と増加した。誘発腫瘍は両系とも同型の compact tubular carcinoma であり、E2の慢性投与による形態学的特徴と考えられた。

結 論

1. 生後約50日令の雌雄F344及びW/Fuラットを用いて2 GyのX線全身照射, 40 mg/kg 体重のMNU 1回静注、及びE2又はTの単独又はX線或いはMNUとの併用での投与を行った。誘発乳癌の組織型はX線、MNU単独投与では主として tubulo-papillary carcinoma, E2の単独、他発癌物質との併用では compact tubular carcinoma であった。又、X線照射ラットではE2の有無にかかわらず fibroadenoma が多発した。この結果はX線の自然発生腫瘍の増強効果と考えられた。

○中島信明, 真板敬三, 白須泰彦 (残留農薬研)

サルにおいて皮膚の表皮に由来する腫瘍の報告は数例についてなされているが、演者等の知る限りではカニクイザル (*Macaca irus*) における同腫瘍の報告例はない。

今回演者等は、13才 (推定年齢: 以下同) の雌のカニクイザルに肺への転移を伴う基底細胞癌の発生を経験したので、その病理学的検査結果について報告する。

本症例はマレーシア原産で、実験動物輸入業者を経由して他の22頭の動物と共に繁殖用として導入したものであり、導入時5才であった。導入後は温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、照明14時間/日、換気12回/時間 (オール・フレッシュ・エアー方式) に設定した動物室内のケージ (W600×D600×H700mm) に収容し、日本クレア製飼料CMK-1、リンゴおよびレモンを一定量ずつ毎日給与した。水は水道水を自由に摂取させた。本動物は導入後5年4ヶ月の間に4度の出産と哺育を経験した。

腫瘍は、導入後7年8ヶ月目に左乳頭上部に位置する2個の鶏卵大皮下硬結部として発見された。動物は腫瘍発見時頃より食欲不振に陥り、体重が漸次減少して健康時の約1/2にまで低下し、腫瘍発見後5ヶ月目に衰弱・死亡した。この間呼吸器症状等の特別な症状は観察されなかったが、腫瘍は次第に増大・膨隆し、表面は高度な出血、潰瘍形成および化膿を示した。

剖検時、乳腺部腫瘍は $9 \times 5 \times 3\text{ cm}$ の大きさを呈し、高度の潰瘍形成のために内部が露出していた。腫瘍の断面は多結節性で硬く、実質部は灰白色を呈した。乳腺に付属するリンパ節に変化はみられなかった。その他の剖検所見としては、肺の全葉に灰白色の大小硬

腫瘍が多発し、肺実質の大部分を置換しているのを認めた。これらの腫瘍は数ヵ所で胸壁と癒着していた。また、肝の方形葉に直径7mmの暗調色結節を認めた。

組織学的に、乳腺部腫瘍組織はクロマチンに富んだ円形あるいは楕円形の核を持ち細胞質に乏しいほぼ均一な上皮性細胞から成っており、表層部は索状あるいは小葉構造、深部は細胞が充実に配列する構造を示した。表層部には、好酸性の細胞質に富んだ有棘細胞類似の細胞から成る索状構造も認められた。一方、肺の腫瘍組織を構成する細胞は乳腺部腫瘍を構成する細胞と比較して大型で、核はクロマチンに乏しく豊富な好酸性の細胞質を有しており、有棘細胞に類似した細胞が大勢を占めていた。また肺では、細胞の大小不同あるいはbizarreな大型細胞の出現等異型性を示す傾向が強かった。有糸分裂は両腫瘍に頻りに観察された。以上の所見から、本症例の腫瘍を「肺転移を伴う皮膚基底細胞癌」と診断した。

剖検時肝に認められた結節は、組織学的には厚い結合織で包まれたのう胞であり、腫瘍の転移巣ではなかった。

○白岩和巳¹, 堤雅弘¹, 宮内義純², 三井宜夫², 田村一利¹, 玉井幸子¹, 小西陽一¹ (奈良医大・¹がんセ・腫瘍病理, ²整形外科)

今回我々は, Diphenyl を経口投与し, その発癌性試験期間中に観察された自然発生と考えられる骨肉腫を見出し, 手術的に腫瘍を摘出して, 同系ラットの背部皮下への移植に成功し, その継代を行なっている, その詳細について報告する。

原発腫瘍は Fischer 344/NSlc 系 生後約 35 週令の雄ラットの左足関節を中心に発生した。担腫瘍ラットの体重は, 1.5 カ月間で約 80 g 低下し, 腫瘍は漸次増大して, 生後約 41 週令の時点で 40×35×30 mm の大きさに達した。軟 X 線撮影にて, 著明な骨破壊と骨形成像を認め, 骨肉腫と診断し, 下腿切断を施行した。X 線上, 肺等の他臓器への転移は認められなかった。腫瘍組織は, 肉眼的には, 中心部に出血を伴った黄褐色の部と, その周囲の硬い骨性の部を有し, 周辺部はやや軟かく, 水分に富んだ灰黄白色の部よりなっていた (図 1)。



図 1

組織学的には, 中心部は, 出血・壊死を呈し, その周囲に, 腫瘍性類骨および骨形成がみられ (図 2),

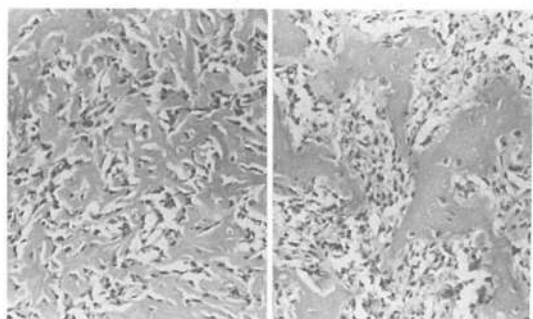


図 2

これらに接して異型性を伴った腫瘍細胞が存在し,

核分裂像や多核巨細胞の出現および腫瘍性軟骨の形成も認められた (図 3)。

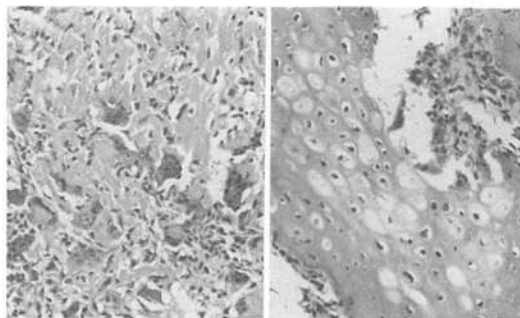


図 3

移植には, 6 週令の同系雄ラットを用いた。腫瘍組織を無菌的に 1 mm 角に細切し, 骨を形成しているかたい組織片数個を選んで, 移植針にて, 背部皮下に移植した。移植は現在第 5 代継代中である。第 4 代までの volume-doubling time および移植率は, それぞれ移植第 1 代 12.3 日, 41.7%, 第 2 代 5.6 日, 75%, 第 3 代 4.2 日, 77.8%, 第 4 代 4.2 日, 75% であった。継代腫瘍の組織像は, いずれも原発腫瘍と同様の組織像を示し, 他臓器への転移は認められていない。なお原発腫瘍をもっていたラットは現在, 生後約 81 週令で生存中である。

新発売



日本が生んだ

更に進歩したH₂ブロッカー



1日40mg・持続性

- ① 1日わずか40mgで、確実な臨床効果を示します。
- ② 20mg1錠で12時間以上、持続的で強力な胃酸分泌抑制作用を発揮します。
- ③ 自覚症状を速やかに改善するとともに、各種消化性潰瘍に対し85%以上の治癒率を示します。
- ④ 安全域(LD₅₀/ED₅₀)が極めて広いうえ、抗男性ホルモン作用、薬物代謝酵素阻害作用などは認められていません。
- ⑤ 胃粘膜保護作用を示します。
- ⑥ 副作用は2.5%と少なく、いずれも軽度でした。



薬価収載

新H₂受容体拮抗剤

ガスター[®]

錠 20mg
散 10%
注射用 20mg

(ファモチジン製剤) Gaster[®]

山之内製薬

幅広い効能・効果

錠・散 胃潰瘍、十二指腸潰瘍、吻合部潰瘍、上部消化管出血(消化性潰瘍、急性ストレス潰瘍、出血性胃炎による)、逆流性食道炎、Zollinger-Ellison症候群。

注射用 上部消化管出血(消化性潰瘍、急性ストレス潰瘍、出血性胃炎による)、Zollinger-Ellison症候群。

用法・用量

錠・散 通常成人にはファモチジンとして1回20mgを1日2回(朝食後、夕食後または就寝前)経口投与する。

注射用 通常成人にはファモチジンとして1回20mgを日局生理食塩液または日局ブドウ糖注射液20mlにて溶解し、1日2回(12時間毎)緩徐に静脈内投与する。または輸液に混合して点滴静注する。 ※いずれも詳細は添付の説明書をご参照ください。



明日のライフサイエンスをめざす
サクラ精機株式会社



**コンパクトながら最大120カセットまでの
一括大量処理を実現。**

- 検体は密閉されたひとつの槽で行われます。
- マイクロコンピュータ制御により、広範囲な処理条件の設定が可能です。
- パラフィンの浸透を最上にする条件を備えています。
- 種々の安全装置が検体を保護します。
- 環境を汚染することはありません。
- タイプは床置き型と卓上型の2種類あります。

サクラ密閉式自動固定包埋装置



**先端エレクトロニクス技術が
包埋・染色作業の流れを変えた。**



**最大160匹(マウス胎児)の骨格染色標本を
短時間に大量作成できます。**

- 密閉式液交換型処理方式のため、信頼性・安全性に優れています。
- マイクロコンピュータ制御により、広範囲な対応ができます。
- 薬液の処理液量は少なく済みます。
- 自動洗浄回路を備えており、いつもクリーンな状態でお使いいただけます。
- より良い染色性が得られます。

サクラ動物胎児骨格染色装置

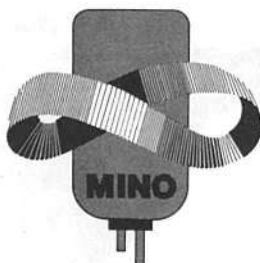
発売 **サクラ精機株式会社** お問い合わせは—サクラ精機 本社 〒103 東京都中央区日本橋本町3-9-1 ☎(03)270-1666
製造 **株式会社 千代田製作所** 大阪(06)341-3788・福岡(092)441-7343・名古屋(052)932-0485・仙台(0222)63-5131
中四国(0862)23-0324・札幌(011)222-5831

効 能 ・ 効 果 拡 大

Minomycin®

クラミジア感染症にも

ミノマイシン



点 滴 静 注 用

ミノマイシン®

(指) (要指)

薬価基準収載

(注射用塩酸ミノサイクリン)

■点滴静注用ミノマイシンの効能・効果

有効菌種

- アシネトバクター (Acinetobacter)、シュードモナス・セバシア (Pseudomonas cepacia)、シュードモナス・マルトフィリア (Pseudomonas maltophilia)、シュードモナス・フルオレッセンス (Pseudomonas fluorescens)、フラボバクテリウム (Flavobacterium)、クラミジア属

- 他の抗生剤に耐性で本剤に感性の次の菌種

黄色ブドウ球菌、溶血性連鎖球菌、肺炎球菌、大腸菌、クレブシエラ、エンテロバクター、緑膿菌、モラー・アクセンフェルド菌、インフルエンザ菌

適応症

- ◇敗血症、菌血症、◇痛、蜂窩織炎、膿瘍、扁桃炎 ◇気管支炎、気管支拡張症の感染時、肺炎、原発性非定型肺炎、オウム病 ◇腹膜炎 ◇腎盂腎炎、膀胱炎

■用法・用量

点滴静脈内注射は、経口投与不能の患者及び救急の場合に行い、経口投与が可能になれば経口用剤にきりかえる。

通常成人には、初回塩酸ミノサイクリン 100～200mg (力価)、以後12時間ないし24時間ごとに100mg (力価)を補液に溶かして点滴静脈内注射する。

〈注射液調製法〉

本剤1バイアル〔塩酸ミノサイクリン100mg (力価)〕に注射用蒸留水 (日局) 5 mlを加えて溶解する。注射前にこの溶液を100mlないし500mlの5%ブドウ糖液 (日局)、生理食塩液 (日局)、リンゲル液 (日局)、果糖注射液 (日局)、15%マンニトール液、アミノ酸注射液等の補液のいずれかで希釈する。調製した注射液は4時間以内に使用し終えること。

〈注射方法〉

本剤の点滴静脈内注射の速度は、1分間に20mlをこえないようにする。

※ 使用上の注意は製品添付文書をご参照ください。



輸入

日本レダリー株式会社

東京都中央区京橋1丁目10番3号



販売

武田薬品工業株式会社

大阪市東区道修町2丁目27番地

Charles River

世界で数々の業績を生んだ、 チャールズ・リバーの実験動物。

Charles Riverの実験動物は、世界で最も多くの科学者に使われています。その実験結果は科学の進歩に貢献しているばかりでなく、有効性や安全性の評価基準に、各国の企業や政府機関で最も広く採用されています。



日本チャールズ・リバー株式会社

本社・厚木飼育センター 〒243-02 神奈川県厚木市下古沢795番地 ☎0462(47)8331
日野飼育センター 〒529-16 滋賀県蒲生郡日野町下駒月735番地 ☎07485(3)1281
大阪出張所 〒550 大阪市西区立売堀1-11-7(永和産業ビル) ☎06(543)3901

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

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

米国フィッシャー社製 ヒストマティックシリーズ

自動包埋装置 ヒストマティック モデル266MP



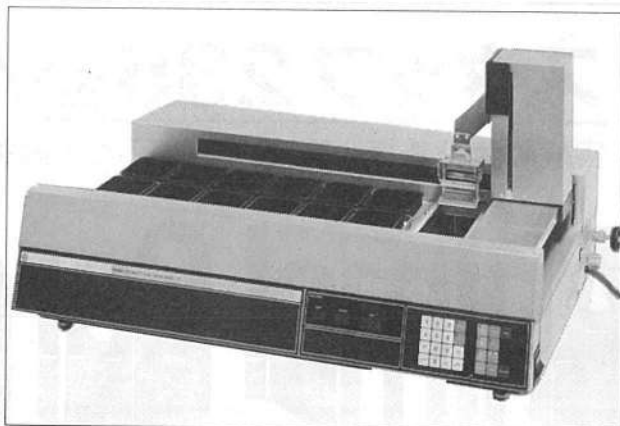
【特 徴】

- マイクロプロセッサコントロールの採用により、プログラムが簡単に組め、更に付随操作も、より簡易化されました。
- 処理槽が4リッターになり、大量かつ大きな組織の処理ができるようになりました。最大296カセット(Histo Prepカセット)処理できます。
- 従来のクローズドシステムに加え、新機構フィルターシステムの採用により、検体と作業の安全化を追求しました。
- 最終工程終了時にプロセスデータがプリントアウトされますので、処理工程が確認できるようになりました。(オプション)

自動染色装置 ヒストマティック スтейナー モデル172

【特 徴】

- マイクロプロセッサにより、18種類の薬液槽、水槽、ドライヤーの中から、24工程まで、任意にプログラムできます。
- 電子メモリーにより3種類の染色プログラムを記憶させておくことができます。
- 染色進行状態がデジタル表示されますので、残り時間等、一目でわかります。
- プログラムは正面にあるキーボードで、ディスプレイをみながら染色順序、時間、水洗、乾燥等を簡単に入力できます。
- 水洗システムは、オーバーフロー式と、循環式の2通りの使用ができます。



関連製品として……

- 自動包埋装置
ヒストマティックモデル166MP
- 固定・包埋用 カラーカセット
ヒストプレップ
- パラフィン溶融器
- フローテーションバス(湯浴式)
- スライドウォーマー(加熱板式)

総発売元



株式会社 パスコ サイエンス

本社 〒104 東京都中央区八丁堀2-3-2 小林ビル本館3F TEL. 03-553-521290
大阪営業所 〒550 大阪市西区西本町1-10-7 第2新松岡ビル7F TEL. 06-533-151390
札幌営業所 〒060 札幌市中央区北1条西3-3-31 古久根ビル603 TEL. 011-231-0095
千原営業所 〒812 福岡市博多区博多駅東2-4-30 いわきビル405号 TEL. 092-471-5900
沖縄営業所 〒900 那覇市若狭2-3-11 森岡ビル7F TEL. 0988-67-4808

犬の皮膚科臨床に…



動物用
医薬品

皮膚疾患治療・
皮毛洗浄剤

セリーン[®] グリーン

セリーングリーンは鱗屑形成の低下、除去に効果がある二硫化セレンを含有する薬用シャンプーです。

皮毛洗浄にもご使用ください。

※効能・効果、用法・用量および使用上の注意は製品の添付文書を
ごらんください。



大日本製薬株式会社
〒541 大阪市東区道修町3-25 電話 (06) 203-5318

提携



ダイナボット株式会社
医薬品事業部本社 大阪市東区北久太郎町4-68

スタッフ235名!!の役割は…

実験動物受託総管理（飼育管理・動物実験・繁殖・施設管理他）

Animal Care



アニマル ケア グループは
豊富な経験と技術をもった
社員の総力を結集し、さま
ざまな実験動物ニーズに応
え、皆様方のお役に立つこ
とを願っております。



株式会社 アニマル ケア

東京都中野区中野3-47-11 ☎03 (384) 9013

株式会社 関西アニマル ケア

大阪市摂津市鳥飼本町5-3-4 ☎0726 (54) 9861

我々は、10余年の受託実績と設立主体である静岡協の30数年間にわたる実験動物の生産管理に関する技術的蓄積を背景に、科学的に解析された精度の高い安全性試験を追求し続けています。

受託試験項目

- 一般毒性試験 ●生殖試験 ●繁殖試験 ●発癌性試験
- サルを用いた毒性試験 ●仔イヌを用いた毒性試験
- 試験のお問い合わせは研究所・企画管理部までお願いします。



●中伊豆分室/イヌを用いた毒性試験の専用施設として、昭和60年3月に開設

生技研

Hamamatsu Seigiken Research



株式会社 生物科学技術研究所

研 究 所/静岡県浜松市葵町95-10
TEL 0534-37-5348(代)

中伊豆分室/静岡県田方郡中伊豆町筏場804-56
TEL 05588-3-2326(代)

信頼にたる研究報告…

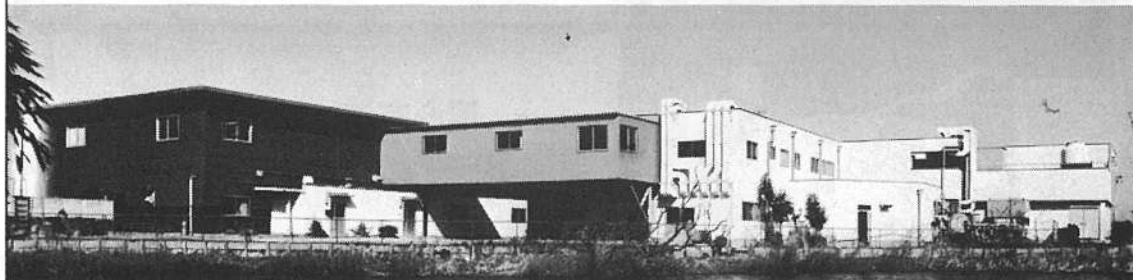
これがスタッフの誇りです

〈受託項目〉

一般毒性試験
発癌性試験
遺伝毒性試験

生殖試験
世代試験
抗原性試験

局所刺激性試験
一般薬理試験
病理組織標本作成



株式会社 日本生物化学センター

本 社 大阪市大淀区豊崎4丁目12-17
TEL. 06 (373) 0 2 0 8
研究所 岐阜県海津郡海津町福江
TEL. 05845 (4) 5631 (代)

船橋農場の実験動物と固型飼料

実験動物

マウス

Fub: ddY

Fub: C3H/He (Outbred)

Fub: C57BL/6 (Outbred)

モルモット

Fub: Hartley

Fub: JY-1

Fub: I3

Fub: 2

ウサギ

Fub: JW

日本白色種

VX₂, VX₇ 担癌ウサギ

固型飼料

マウス・ラット・ハムスター用

SHR-SP ラット用

モルモット・ウサギ用

モルモット用

ウサギ用

ニワトリ各 Stage 用

各飼料に放射線照射が出来ます。

(1, 1.5, 2, ~ 5 Mrad)

イヌ用 (EP, 固型)

ネコ用 (EP, 固型)

サル用 (EP, 固型)

草食動物用

薬物添加, 特殊, 精製各飼料の調製を致します。

※御一報いただき次第試供品及びカタログお送り申し上げます。



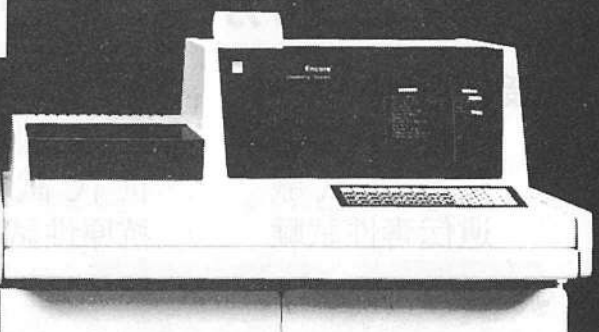
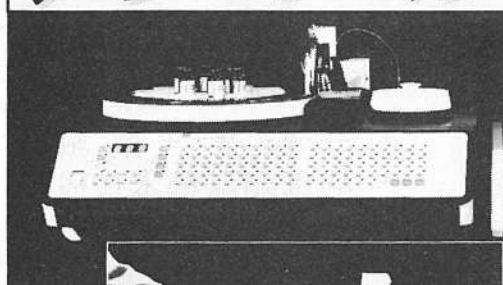
株式会社 船橋農場

本社 〒273 千葉県船橋市上山町2-465 電話0474(38)4161(代)
京都営業所 〒607 京都市山科区御陵鴨戸町46-6 電話075(581)6431
仙台営業所 〒980 仙台市八幡5-1-16 電話0222(22)7208

セントリフィケム

アンコール

超微量血清、安全性試験に対応する 最新鋭自動化学分析装置



遠心方法はマルチ機能

生化学、特殊蛋白、血中薬物濃度、蛍光、凝固因子測定
ルーチン検査、緊急検査に対応する最新鋭機

“アンコール”は動物実験のデータ取りに最も適した自動化学分析装置です。サンプル量はわずかに3μlから、しかも実験動物に従って、測定メソッドを自由にプログラム化することが出来ます。又、血清の反応曲線をTVモニターに同時に映し出すことが出来ます。ルーチン検査と研究用に最適な機種であり、多くの施設で利用いただいております。



長瀬産業株式会社医療システム部

東京都中央区日本橋小舟町5-1
☎ 665-3174 (ダイヤルイン)

『健やかな幸せ』へのお手伝い。

一八九九年 タカチアスターゼ発売から



三共は、世界的科学者 高峰譲吉博士が発見した消化剤タカチアスターゼを発売してスタートしました。以来86年、ビタミン、抗生物質、抗がん剤などの医薬品をはじめ、農薬、化粧品、食品の開発、販売を通じて、皆様の健康と幸せづくりに全力を注いで来ました。これからも来るべき新世紀へ向って力強い歩みを続けて参ります。



三共株式会社

本社／東京都中央区銀座2の7の12
TEL 03-562-0411 〒104

あらゆる研究分野に対応できる多様なシステム。
観察から撮影まで、可能な限り自動化を実現。



NEW
VANOX

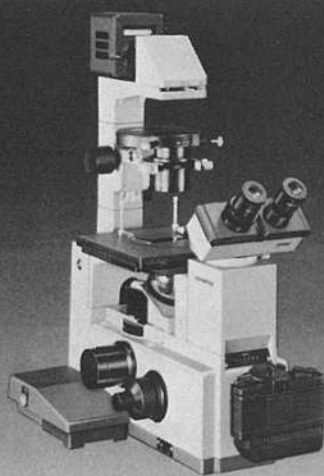
VANOX-S/VANOX-T

最高級写真顕微鏡システム

全自動写真撮影装置を内蔵。今までにない多様なシステム性と操作性で画像解析、分光測光などの将来的研究ニーズにも充分対応。電動6ヶ穴レボルバー、1×~100×まで完全ケーラー照明、写真撮影レンズ4種類内蔵、フィルム面と同じ像が観察できる一眼レフ式ファインダー、視野数26.5φの超広視野など随所に最先端のメカニズムが生きています。しかも、35mm2台+大版1台+TVカメラ1台計4台を同時装着できる3-WAYカメラ。鮮明な像を観察、確実に記録できます。

〈仕様〉●超広視野接眼(視野数26.5φ)●鏡筒長さ常装付●6ヶ穴電動レボルバー●右下共軸ハンドル大型ステージ●各種フィルター内蔵●撮影レンズ4種類内蔵●全自動写真撮影装置内蔵●35mmハーフサイズ撮影、スケール写し込み可(オプション)

バイオテクノロジーをはじめ、
最先端の研究分野に対応する倒立型システム顕微鏡。



IMT-2 series

倒立型システム顕微鏡

5種の検鏡法を同時に取り付けられる、倒立型システム顕微鏡です。明視野検鏡をはじめ、位相差、蛍光、ノマルスキー、そして簡易偏光。いずれの検鏡法もワンタッチで切換えが可能です。また、両端支持構造による固定式ステージは安定性に優れ、マニピュレーション等の微細なテクニックを駆使できます。IMT-2は、今までにない新しいシステムをもって、先進の研究分野に大きく貢献いたします。

〈仕様〉●12V・50W高輝度ハロゲンランプ、位相制御調光方式、バーグラフ式Vメーター表示付●ステージ最大ストロークX方向110mm×Y方向76mm●位相差、落射蛍光、微分干渉用各対物レンズ●コンデンサー(LWCD、ULWCD)

顕微鏡・内視鏡・医療器・カメラ等の光学総合メーカー

オリンパス光学工業株式会社

OLYMPUS

販売元/株式会社オリンパス

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

オリンパス光学工業株式会社総代理店

岩崎顕微鏡株式会社

〒113 東京都文京区本郷3-6-4 ☎03(813)2231(大代)
国分寺 ☎0423(25)6301代 名古屋 ☎052(914)3741代
横浜 ☎045(453)2051代 千葉 ☎0472(55)6551代
埼玉 ☎0486(44)2220代 静岡 ☎0542(54)2521代



■最新刊

カラーアトラス

実験動物組織学

編集：名古屋市立大学教授 伊東 信行

B 5 判 280頁 総アート上製本 定価30,000円

§ 我国初の実験動物正常組織カラーアトス

§ マウス、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、ビーグルの組織像の相互比較

§ 発癌・慢性毒性研究に必要とされる全臓器を収録

実験動物感染病学

編集：東京大学教授 藤原 公策

B 5 判 400頁 上製本クロス装幀定価18,000円

§ 細菌病，マイコプラズマ病，真菌病，ウイルス病(腫瘍を含む)，寄生虫病

について原因，疫学，症状，病変，診断，治療，予防を詳解

§ 「実験小動物の感染症」(1977年版)を一新し，食肉類，霊長類を含む最新知見

■好評既刊

癌細胞の 分化誘導と制癌

編集：埼玉がんセンター

穂積 本男

東京大学医学部

高久 史麿

B5判 280頁 上製本 クロス 定価14,000円

実験動物の病理組織

—その検査法と観察の要点—

編集：榎本 真

林 裕造

田中 寿子

B5判 670頁 上製本 クロス 定価19,000円

安全性評価における

動物種差と外挿

Principle of Animal Extrapolation (JOHNWILEY 刊)

監訳：放射線医学総合研究所

松岡 理／小林定喜

B 5 判 481頁 上製本 クロス装幀

定価 23,000円

疫学・臨床医学における

患者対照研究

CASE-CONTROL STUDIES (Oxford University press 刊)

監訳：放射線影響研究所

重松 逸郎

A 5 判 変形 上製本 320頁

定価 7,800円(〒300)

医薬品開発のための

ファーマコキネティックス実験法

東京大学 薬学部 花野 学

編集：東邦大学 薬学部 梅村甲子郎

東京大学 薬学部 伊賀 立二

B 5 判 上製本 605頁 定価22,000円

会場付近食事処

