

# 第7回日本毒性病理学会

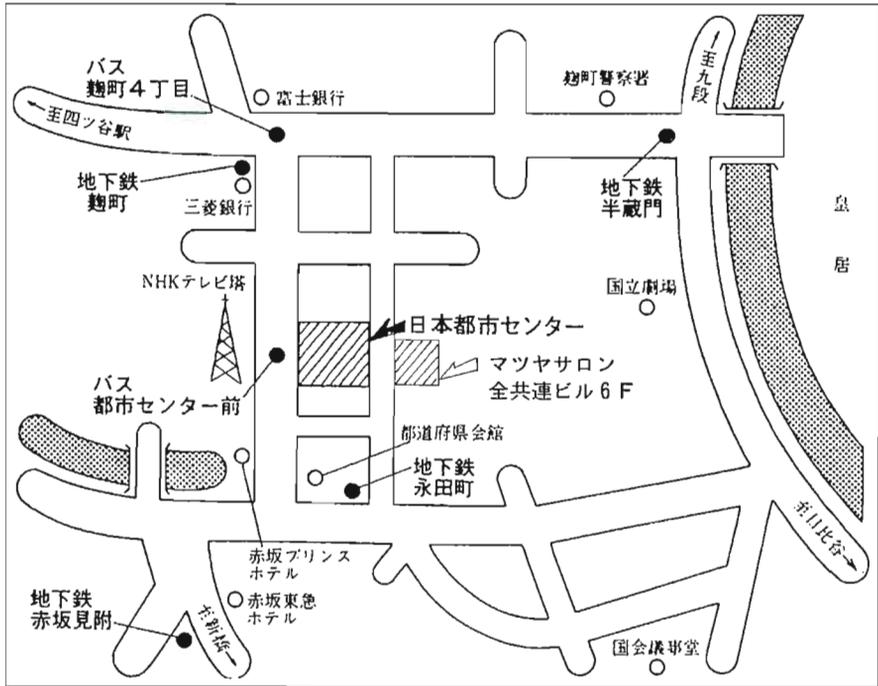
## 講演要旨集



1991年1月17,18日

東京

## 会場ご案内



### 交通のご案内

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

学会会場：「日本都市センター」

東京都千代田区平河町2-4-1

TEL 03-3265-8211

講演会場：大ホール(3, 4階)

示説会場：第13, 14, 15会議室(1階)

スライドコンファランス会場：「日本都市センター」大ホール(3, 4階)

懇親会会場：「マツヤサロン」

東京都千代田区平河町2-7-9 全共連ビル6階

TEL 03-3265-3301

評議員会会場：「日本都市センター」第8会議室(1階)

## 第7回 日本毒性病理学会

1. 期 日 1991年1月17日(木), 18日(金)

2. 会 場 日本都市センター

3. 会 長 林 裕造(国立衛生試験所・病理部)

4. 日 程 **第1日 1月17日(木)**

9:25~9:30	開会あいさつ(会長)	
9:30~10:30	一般講演	(1~6)
10:30~11:45	ミニシンポジウム(I)	(7~10)
11:45~13:10	昼食・評議員会	
13:10~13:30	総 会	
13:35~15:15	ミニシンポジウム(II)	(11~16)
15:15~15:30	休 憩	
15:30~17:20	一般講演	(17~27)
18:00~20:00	懇 親 会	

**第2日 1月18日(金)**

9:10~9:40	一般講演	(28~30)
9:40~11:05	ミニシンポジウム(III)	(31~35)
11:05~12:10	特別講演	
12:10~13:10	昼 食	
13:10~14:30	示説発表*	(47~73)
14:30~15:55	ミニシンポジウム(IV)	(36~40)
15:55~16:05	休 憩	
16:05~17:05	一般講演	(41~46)
17:05~17:10	閉会あいさつ(副会長)	

\*示説は第2日の11:00から16:00までの間展示し、  
13:10~14:30の間会場にて質疑応答を行います。

5. 事務局 東京都世田谷区上用賀1-18-1  
国立衛生試験所・病理部  
TEL 03-3700-1141(内線423)

## 毒性病理学会のあゆみ

回	開催地	会 長 (所 属)	会 期	特 別 講 演	シンポ ジウム	一 般 演 題
1	東 京	西山保一 (北里学園)	1985, 3, 25	2	0	0
2	東 京	藤原公策 (東 大)	1986, 2, 7 ~ 8	1	5	29
3	名 古 屋	伊東信行 (名市大)	1987, 2, 6 ~ 7	1	8	47
4	浜 松	榎本 真 (安評セ)	1988, 2, 5 ~ 6	1	7	55
5	横 浜	蟹澤成好 (横市大)	1989, 1, 27 ~ 28	1	6	53
6	札 幌	板倉智敏 (北 大)	1990, 2, 13 ~ 14	1	6	80
7	東 京	林 裕造 (国立衛試)	1991, 1, 17 ~ 18	1	ミニシンポジウム 20 一 般 演 題 53	

## 参加者へのお願い

### 参加者の方へ

1. 受付で**参加費(6,000円)**を納入して参加章を受取り、氏名・所属を記入のうえ会期中は必ず左胸につけて下さい。
2. 受付は学会第1,2日とも午前8時45分から都市センターホール1階ロビーにて行います。
3. 質問・討論される方は、座長の指示に従って所属と氏名を述べ発言して下さい。
4. 交見室を示説会場の隣(第16会議室)に設け、ディスカッション顕微鏡を準備しますのでご利用下さい。

### 演者の方へ

1. 一般講演の講演時間は8分(7分に予告)、討論時間は2分です。
2. ミニシンポジウムの講演時間は12分(11分に予告)、討論は3分です。
3. プロジェクターは35mm判用を1台用意します。
4. スライドは講演開始20分前までに会場入口のスライド受付に提出して下さい。  
なお、スライドは一般講演・ミニシンポジウムとも20枚以内をお願いします。
5. 次演者の方は次演者席(会場の左端最前列)にお着き下さい。

### 座長の方へ

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

### 総会および評議員会のご案内

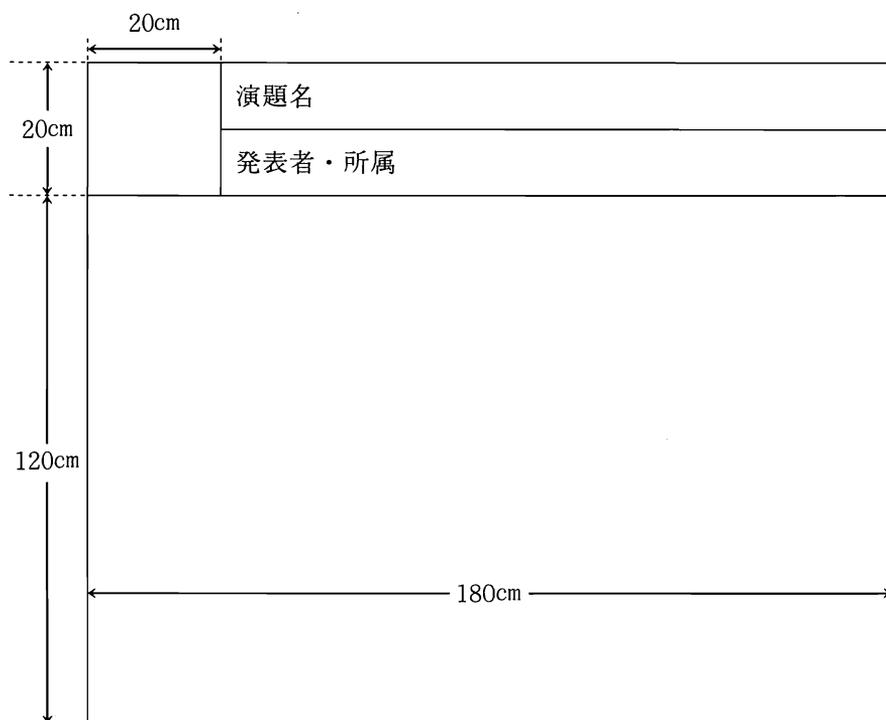
1. 総会は学会第1日の13時10分より大ホールにて行います。
2. 評議員会は学会第1日の12時より1階の第8会議室にて行います。

### 懇親会のご案内

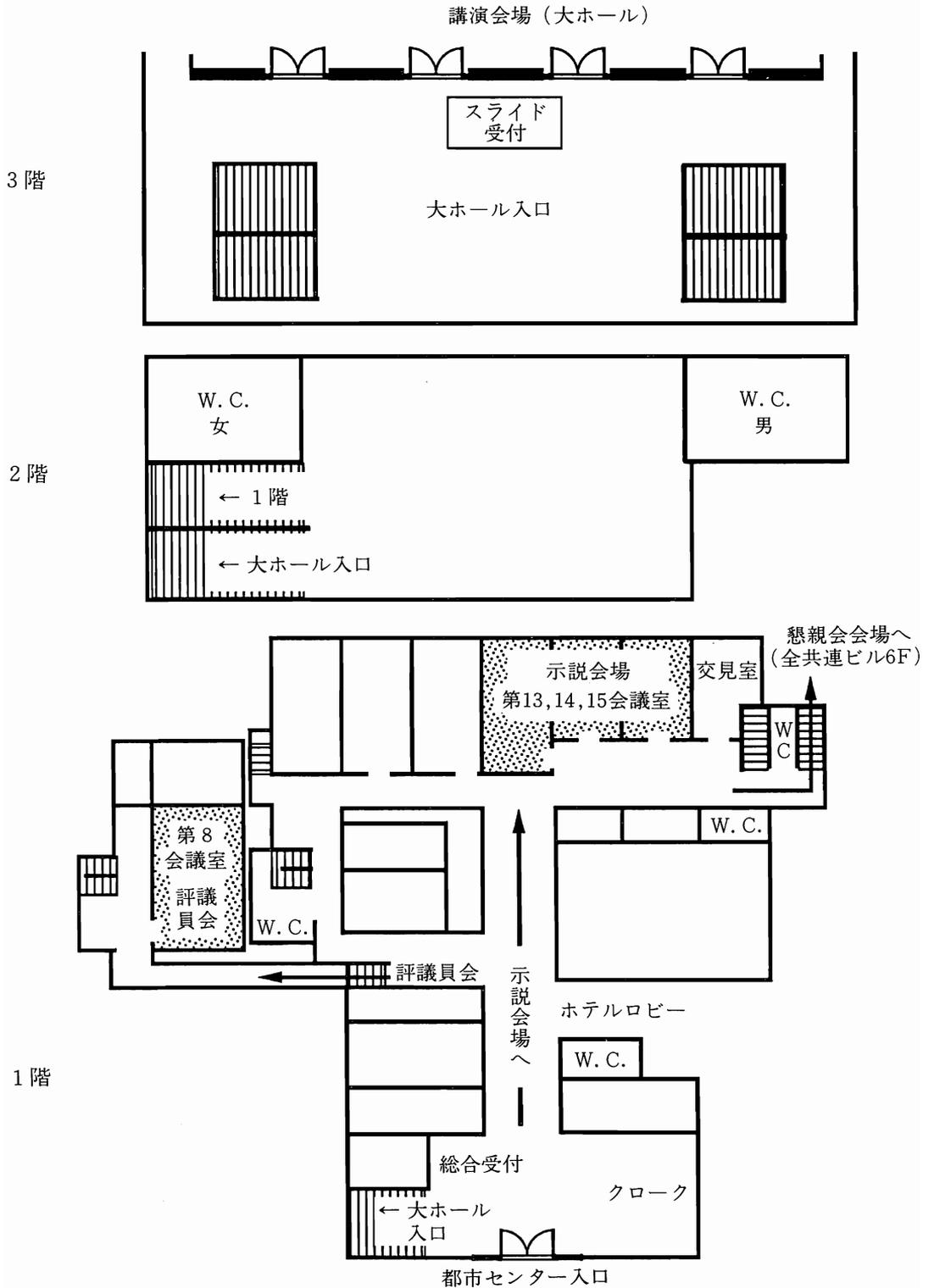
1. 懇親会は学会第1日の18時から20時まで全共連ビル(都市センター向い)の6階マツヤサロンにて開催します。
2. 懇親会へ出席の方は学会第1日17時までに学会会場受付にてお申し込み下さい。  
**会費は5,000円**です。
3. 学会会場のクロークは18時で閉鎖しますので、以降は懇親会会場のクロークをご利用下さい。

### 示説をされる方へ

1. 示説の受付は学会第2日の10時より示説会場入口にて行いますので、当日11時までに受付と展示を済ませて下さい。
2. 展示時間は、11～16時ですが、13時10分～14時30分の間発表者は必ず会場に居て参加者からの質疑に応じて下さい。
3. パネルの大きさは縦140cm 横180cmです（下図参照）。
4. 展示には学会で用意した画鋏などを使用して下さい。
5. 演題名、発表者氏名、所属の表題を下図の要領に従って作成し、持参・展示して下さい（演題番号は主催者で用意します）。



# 会場案内図



# プログラム

## 第1日 1月17日(木)

9:25~9:30 開会あいさつ 会長:林 裕造(国立衛試・病理)

9:30~10:00 座長:真板敬三(残農研)

1. Bisphosphonate 投与ラットの骨組織に対する病理学的検討 ..... 3  
○藤本隆平, 石川敦子, 坂爪正志, 田畑 肇, 岡崎 篤, 堺 俊治, 三木寿雄  
(山之内製薬・安全研)
2. 雌マウスの加齢病変に対するプシラミンの影響 ..... 4  
○高瀬謙二, 岡原明彦, 福本 充, 谷岡秀敏, 須田 浩(参天製薬・安全研)
3. Crj:BDF1 マウスの長期飼育実験で観察された自然発生腫瘍について ..... 5  
○山内勝彦<sup>1</sup>, 片桐 卓<sup>1</sup>, 相磯成敏<sup>1</sup>, 長野嘉介<sup>1</sup>, 松本道男<sup>2</sup>, 榎本 眞<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>バイオアッセイ, <sup>2</sup>順天堂大・長岡病院)

10:00~10:30 座長:土井邦雄(東大・農)

4. ビーグル犬の腎尿細管上皮内に観察された好酸体  
(Eosinophilic body 様封入体) ..... 6  
○小池嘉秀, 小林和雄, 廣内康彦, 岩田 聖, 山川誠己, 榎本 眞(安評セ・病理)
5. 毒性試験における飢餓の影響  
一特にラットにおける病理組織学的検索結果について一 ..... 7  
○佐藤裕和, 工藤由美子, 畔柳 努, 畑 幸美, 中川一平, 都留清志, 前田明利  
(杏林製薬・中央研)
6. 実験小動物にみられた消化管拡張と呼吸器障害 ..... 8  
○林 新茂, 堀之内 彰, 永井博文, 福田 良, 今井良悦, 野々山 孝  
(武田薬品・薬安研)

### ミニシンポジウム (I) 神経病変の組織診断についての問題点

10:30~11:45 座長:三森 国敏(残農研)

奈良間 功(摂南大)

7. ラットの自然発生性顆粒細胞腫の由来についての組織学的検討 ..... 9  
 ○吉田敏則, 三森国敏, 真板敬三, 白須泰彦 (残農研)
8. 2-Hydroxymethyl-2-methyl-1,3-propanediol  
 投与による中枢神経病変の病理組織像 ..... 10  
 ○前田 博, 尾寄清和, 堀切和哉, 栗尾和佐子, 奈良間 功 (摂南大)
9. Thiophene 投与ラットにおける小脳顆粒細胞変性と他臓器の病変の推移 ..... 11  
 ○森 文秋<sup>1</sup>, 高屋豪瑩<sup>1</sup>, 玉山公基<sup>1</sup>, 中村清純<sup>1</sup>, 滝澤行雄<sup>2</sup>  
 ( <sup>1</sup>弘前大・医・脳研, <sup>2</sup>秋田大・医・公衛)
10. ラットグリオーマを認識するモノクローナル抗体の作製とその特性 ..... 12  
 ○渋谷 淳<sup>1</sup>, 今沢孝喜<sup>1</sup>, 小野寺博志<sup>1</sup>, 松島裕子<sup>1</sup>, 吉田順一<sup>1</sup>, 前川昭彦<sup>1</sup>,  
 林 裕造<sup>1</sup>, 新井克彦<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>国立衛試・病理, <sup>2</sup>東京農工大・農)

— 昼 食 —

13:10~13:30

総 会

ミニシンポジウム (II) 発癌修飾因子の評価

13:35~15:15 座長: 福島 昭治 (大阪市大・医・1病理)

今井田克己 (国立衛試・病理)

11. 胃癌誘発に及ぼすプロラクチンの影響 ..... 13  
 ○渡辺敦光, 藤本成明, 石本達郎, 高橋忠照, 中川義基, 伊藤明弘  
 (広島大・原医研・癌)
12. 膀胱発癌プロモーターにより誘発した膀胱および前胃粘膜上皮の過形成病変に対する  
 インドメサシンおよびアスコルビン酸の抑制ないしは増幅効果 ..... 14  
 ○柴田雅朗<sup>1</sup>, 星谷 達<sup>1</sup>, 倉田 靖<sup>1</sup>, 広瀬雅雄<sup>1</sup>, 福島昭治<sup>2</sup>  
 ( <sup>1</sup>名市大・医・1病理, <sup>2</sup>大阪市大・医・1病理)
13. Diethylnitrosamine による initiation と phenobarbital による promotion による  
 ラット肝前癌病変の発生に対する食餌性鉄欠乏の抑制効果 ..... 15  
 ○中江 大, 衣笠哲雄, 吉治仁志, 白岩和己, 丸山博司, 傳田阿由美, 小西陽一  
 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

14. 天然系抗酸化物質による食品加熱分解産物 2-Amino-3-methyl-imidazo(4,5-f)quinoline (IQ) の肝発癌イニシエーション作用に対する抑制効果 ..... 16  
 ○津田洋幸, 松本和幸 (保衛大・医・2病理)
15. DENのラット肝発癌プログレッションに及ぼす影響 ..... 17  
 ○朝元誠人, 小木曾 正, 萩原昭裕, 立松正衛, 伊東信行 (名市大・医・1病理)
16. 喫煙ハムスターの呼吸器系組織における Diethylnitrosamine の発癌性に対するケルセチン投与の効果 .....18  
 ○原田孝則, 榎本秋子, 真板敬三, 白須泰彦 (残農研)

— 休 憩 —

15 : 30~16 : 10 座長：寺尾 清 (千葉大・真核微研セ)

17. DHPNの投与方法による発癌標的臓器の変動 .....19  
 ○小川久美子, 長谷川良平, 高橋 智, 玉野静光, 伊東信行 (名市大・医・1病理)
18. 低用量発癌物質 (Diethylnitrosamine, N-methyl-N-nitrosamine および N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine) の複合投与による肺発癌イニシエーションにおける加算的・相乗的効果の検討 .....20  
 ○天沼利宏, 白岩和己, 高島吉治, 田村一利, 堤 雅弘, 丸山博司, 小西陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
19. 4-Nitroquinoline 1-oxide 誘発ラット舌発癌過程における核小体形成体数の変化 .....21  
 ○田中卓二, 杉江茂幸, 吉見直己, 小島敏弘, 奥村 中, 森 秀樹 (岐阜大・医・病理)
20. Estrogen および MNU によるラット子宮内膜腺癌誘発の試み .....22  
 ○永岡隆晴<sup>1,2</sup>, 小野寺博志<sup>1</sup>, 前川昭彦<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup>国立衛試・病理, <sup>2</sup>吉富製薬・安全研)

16 : 10~16 : 40 座長：津田洋幸 (保衛大・医・2病理)

21. MNNG/TPA 処置マウスの皮膚に認められた骨原性腫瘍 (Osteoma cutis, Osteosarcoma) .....23  
 ○宮川義史, 佐藤精一, 柿本恒知, 岩波俊基, 滝沢春雄 (日本たばこ・安全研)

22. Methylene chloride の吸入によるラット肝病変と組織化学的検索 .....24  
○伊藤金次<sup>1</sup>, 山田尚士<sup>1</sup>, 伊藤敦子<sup>2</sup> (東邦大・医・<sup>1</sup>病理, <sup>2</sup>法医学)

23. LEC ラットの肝障害発現に対する化学物質長期投与の効果 ..... 25  
○泉 啓介<sup>1</sup>, 上原久典<sup>1</sup>, 大塚 久<sup>1</sup>, 松本耕三<sup>2</sup>  
(徳島大・医・<sup>1</sup>2 病理, <sup>2</sup>動物実験)

16:40~17:00 座長:花田貴宣 (山之内製薬・安全研)

24. フィゾスチグミン投与によるラット下垂体の病理組織学的変化  
ー ドパミン拮抗薬との比較検討ー .....26  
○今井俊夫, 平松浩二, 青木豊彦, 日比野信裕, 福田種男, 本岡 覚, 中野渡純一,  
山津清實 (エーザイ・安全研)

25. コリンエステラーゼ阻害剤の長期連続投与によるラット下垂体前葉への影響.....27  
○小笠原裕之, 佐藤秀隆, 畝山智香子, 矢沢りり, 古田京子, 今井田克己, 林 裕造  
(国立衛試・病理)

17:00~17:20 座長:立松正衛 (愛知がんセ・超微)

26. 毒性試験のための病理コンピュータシステム .....28  
○大石裕司<sup>1</sup>, 小林一博<sup>1</sup>, 林 貢平<sup>2</sup>, 古本久修<sup>3</sup>, 岡村宣和<sup>4</sup>  
(藤沢薬品・<sup>1</sup>安全研, <sup>2</sup>技情室, <sup>3</sup>富士ファコム制御, <sup>4</sup>富士通)

27. ラット肝 GST-P 陽性細胞進展の三次元的解析 .....29  
○加藤俊男, 立松正衛, 岩崎省吾, 小川久美子, 伊東信行  
(名市大・医・1 病理)

18:00~20:00 懇 親 会

第2日 1月18日(金)

9:10~9:40 座長:森 秀樹(岐阜大・医・1病理)

28. アラビアゴムの非経口投与によるラット諸臓器の変化 .....31  
○田中丸善洋, 茶谷文雄, 浜島敏之, 佐々木 啓(武田薬品・薬安研)
29. 2-Amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeAαC)により発生し...  
ラット唾液腺および脾臓の萎縮 .....32  
○玉野静光<sup>1</sup>, 広瀬雅雄<sup>1</sup>, 白井智之<sup>1</sup>, 福島昭治<sup>2</sup>, 伊東信行  
(<sup>1</sup>名市大・医・1病理, <sup>2</sup>大阪市大・医・1病理)
30. 重曹のデオキシコール酸惹起性家兎胃粘膜傷害に及ぼす影響 .....33  
○内田俊之<sup>1</sup>, 三橋武弘<sup>1</sup>, 櫻井幹己<sup>1</sup>, 荒川哲男<sup>2</sup>, 小林絢三<sup>2</sup>  
(大阪市大・医・<sup>1</sup>2病理, <sup>2</sup>3内)

ミニシンポジウム(Ⅲ) 化学物質による肝障害発現の諸要因

9:40~11:05 座長:榎本 眞(安評セ)

松沼尚史(三共・安全研)

31. 新規化合物により惹起された緑色肝 .....34  
○松本正博<sup>1</sup>, 義澤克彦<sup>1</sup>, 中野一雄<sup>1</sup>, 大石裕司<sup>1</sup>, 藤平司郎<sup>1</sup>, 藤井登志之<sup>1</sup>,  
谷本純一<sup>2</sup>, 藤井恒雄<sup>2</sup>, 宮尾泰寛<sup>3</sup>  
(藤沢薬品・安全研・<sup>1</sup>病理, <sup>2</sup>一般毒性, <sup>3</sup>開発研・代謝)
32. F344 ラット肝臓に対する Clofibrate の作用  
一若齢および老齢ラットにおける感受性の比較一 .....35  
○矢本 敬, 佐藤里子, 大橋芳彦, 宮腰昶宏, 松沼尚史(三共・安全研)
33. ブタ血清投与により発生するラット肝硬変類似病変の検討  
(第2報 発現因子の分子量について) .....36  
○奥村正直<sup>1,2</sup>, 柴田雅朗<sup>2</sup>, 白井智之<sup>2</sup>, 津田洋幸<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>愛知衛研・生物, <sup>2</sup>名市大・医・1病理, <sup>3</sup>保衛大・医・2病理)
34. スナネズミ(*Meriones unguiculatus*)肝細胞初代培養に対する CCl<sub>4</sub> の毒性効果 .....37  
○山口 格, 黒木克史, 高橋章典, 藤原公策(日大・農獣)

35. アセトアミノフェン肝毒性の免疫毒性学的検討 .....38  
 ○築館一男<sup>1</sup>, 飯島恵美<sup>1</sup>, 見上 孝<sup>1</sup>, 山津清實<sup>1</sup>, 名倉 宏<sup>2</sup>  
 (<sup>1</sup>エーザイ・安全研, <sup>2</sup>東北大・医)

11:05~12:10

特別講演

- 形に表現された細胞の機能 山科正平 (北里大・医・解剖) ..... 1  
 座長: 林 裕造 (国立衛試・病理)

— 昼 食 —

13:10~14:30

示説発表

47. Praziquantel の F344 ラットにおける急性毒性 .....51  
 ○佐野真士, 金 大中, 白井智之, 高橋 智, 伊東信行 (名市大・医・1病理)
48. Tragacanth gum の B6C3F<sub>1</sub> マウスにおける経口毒性試験 ..... 52  
 ○田中 光, 萩原昭裕, 箱井加津男, 長谷川良平, 伊東信行  
 (名市大・医・1病理)
49. Furan, 2-methylfuran および 3-methylfuran の毒性について .....53  
 ○佐藤秀隆, 小笠原裕之, 古田京子, 林 修次, 今井田克己, 林 裕造  
 (国立衛試・病理)
50. p-Phenetidine の28日間反復投与毒性試験 ..... 54  
 ○佐藤元信, 古川文夫, 吉村博之, 豊田和弘, 高村直子, 高橋道人  
 (国立衛試・病理)
51. m-Nitroaniline の F344 ラットに対する毒性について .....55  
 ○吉田順一, 小野寺博志, 松島裕子, 渋谷 淳, 前川昭彦, 林 裕造  
 (国立衛試・病理)
52. F344 ラットを用いた Diheptyl phthalate (DHP)  
 の28日間反復投与毒性試験について ..... 56  
 ○松島裕子, 前川昭彦, 篠田和俊, 小野寺博志, 吉田順一, 渋谷 淳, 林 裕造  
 (国立衛試・病理)

53. チメロサル投与によるラット皮内血管透過性の昂進	57
○内藤誠之郎, 内田哲也, 加藤博史, 衛藤光明, 茅野文利 (国立予研・生物製剤)	
54. 5-FU のラット消化管への影響 (第1報)	58
○田中剛太郎, 入村兼司 (大鵬薬品・安全研・病理)	
55. エンドトキシンの一般毒性試験評価に及ぼす影響 (その2)	59
○野口 修, 村田晃子, 石井 香, 原田 寧, 石嶋隆守, 高木英利 (日本レダリー・生物研)	
56. 食用赤色104号(フロキシシ)の慢性投与によるマウス自然発生肝病変の予防効果	60
○高橋忠照, 渡辺敦光, 伊藤明弘, 藤本成明 (広島大・原医研・がん)	
57. 天然ビタミンEおよび合成ビタミンEのマウス、ラットにおける長期投与試験	61
○新田由美子, 神谷研二, 鍵本 修, 貞本誠治, 丹羽太貫, 横路謙次郎 (広島大・原医研・病理)	
58. WBN/Kob ラットの自然発症肺炎におよぼすインドメタシンの影響	62
○古川文夫, 今沢孝喜, 篠田和俊, 佐藤元信, 高橋道人, 林 裕造 (国立衛試・病理)	
59. キナクリンによるラットおよびハムスターの肝、腎におけるミエリン様小体と酸性 フォスファターゼの電顕的局在	63
○今沢孝喜, 古川文夫, 篠田和俊, 今井田克己, 高橋道人, 林 裕造 (国立衛試・病理)	
60. 食餌性高 $\beta$ リポ蛋白血症ラットにおける泡沫化単球の肺胞内への移行の増強	64
○渋谷一元, 斉藤敏樹, 三内貞子, 山手丈至, 田島正典 (日生研)	
61. ビーグル犬の眼底像と組織学的所見との関連性	65
○森田晴夫, 須永昌男, 下村和裕, 小泉治子 (実中研・前臨床研)	
62. 多重イニシエーションによる標的臓器における細胞増殖	66
○小木曾 正, 高場克己, 立松正衛, Ricardo Cabral, 伊東信行 (名市大・医・1 病理)	

63. 医用材料の埋植試験による組織検索の評価的意義	67
— 組織炎症反応と細胞毒性との相関 —	
○ 豊田和弘 <sup>1</sup> , 高橋道人 <sup>1</sup> , 阿瀬善也 <sup>1</sup> , 五十嵐良明 <sup>2</sup> , 土屋利江 <sup>2</sup> , 中村晃忠 <sup>2</sup> (国立衛試・ <sup>1</sup> 病理, <sup>2</sup> 療品)	
64. 長期体内留置異物による発癌性	68
○ 畠中真吾, 尾根田 暁, 岡崎啓幸, 吉田浩己, 井坂英彦 (鹿児島大・1 病理)	
65. Wistar 系雌ラットに認められた松果体細胞腫の一例	69
○ 山本 修 <sup>1</sup> , 吉田敏則 <sup>2</sup> , 三森国敏 <sup>2</sup> , 真板敬三 <sup>2</sup> , 白須泰彦 <sup>2</sup> (1日産化学, 2残農研)	
66. 三叉神経原発と考えられるラット悪性神経鞘腫様腫瘍について	70
○ 吉田 緑 (動繁研)	
67. F344 ラットに認められた自然発生 paraganglioma の1例	71
○ 阿瀬善也, 豊田和弘, 渋谷 淳, 今沢孝喜, 高橋道人 (国立衛試・病理)	
68. 中枢神経細胞を血管が貫通?	72
○ 田中 薫 <sup>1</sup> , 當内 景 <sup>1</sup> , 千早 豊 <sup>1</sup> , 永田良一 <sup>2</sup> (新日本科学・ <sup>1</sup> 病理, <sup>2</sup> 安全研)	
69. Fischer 344 ラットの眼内に自然発生した無色素性黒色腫の1例	73
○ 沖本一夫, 岡崎欣正, 前田敏宏, 安場正子, 飯田晶敏, 大西久美雄 (大日本製薬・総研)	
70. 精巢 Leydig cell tumor あるいは皮膚の squamous cell carcinoma を重複した 老齢ビーグル犬の甲状腺 follicular cell carcinoma の2例について	74
○ 山口 肇, 齊藤義明, 畔上二郎, 永田伴子, 吉村慎介, 大瀧サチ, 今井 清 (食薬安全セ・秦野研)	
71. 子宮内膜症と顆粒膜細胞腫が併発したカニクイザルの1例	75
○ 寺西宗広, 五十嵐 功, 高岡雅哉, 柳井徳磨, 松沼尚史 (三共・安全研)	
72. F344 ラットの自然発生子宮平滑筋肉腫に由来する可移植性腫瘍の形態学的特徴	76
○ 山手丈至, 渋谷一元, 吉田 賢, 伊原三重子, 工藤 悟, 田島正典 (日生研)	

73. B6C3F<sub>1</sub>雌マウスの心筋間に自然発生した心血管内皮細胞増生 .....77  
○岩田 聖, 山川誠己, 小池嘉秀, 廣内康彦, 小林和雄, 榎本 眞(安評セ・病理)

#### ミニシンポジウム (IV)

##### 器官病変の発生における活性酸素、脂質過酸化および各種ラジカルの関与

14:30~15:55 座長:小西陽一(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)

平井圭一(金沢医大・解剖)

36. パラコートはミトコンドリア外 NADH 依存性に  
フリーラジカルを生成しミトコンドリアを障害する .....39  
○平井圭一(金沢医大・解剖)
37. 喫煙曝露によるハムスターの気管・気管支および肺の初期変化と過酸化脂質量 .....40  
○吉村博之, 篠田和俊, 岡宮英明, 古川文夫, 今井田克己, 高橋道人  
(国立衛試・病理)
38. ラット肝におけるコリン欠乏アミノ酸食による  
発癌過程における酸化性ストレスの関与 .....41  
○吉治仁志, 中江 大, 衣笠哲雄, 白岩和己, 丸山博司, 傳田阿由美, 小西陽一  
(奈良医大・がんセ・腫瘍病理)
39. マンガン過剰投与によるラット肝病変について .....42  
○伊藤敦子<sup>1</sup>, 竹下智子<sup>1</sup>, 伊藤金次<sup>2</sup>(東邦大・医・<sup>1</sup>法医, <sup>2</sup>二病理)
40. 塩化第二水銀によるラット腎障害の発症に関する組織過酸化の関与について .....43  
○山田久陽<sup>1</sup>, 杉浦正幸<sup>1</sup>, 村上美穂子<sup>1</sup>, 大島 隆<sup>1</sup>, 中根貞雄<sup>1</sup>, 山田高路<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>大正製薬・総合研, <sup>2</sup>愛知医大・法医)

— 休 憩 —

16:05~16:45 座長:白井智之(名市大・医・1病理)

41. NON 系マウスにおける N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine  
による腎盂および膀胱癌発生に対する性および加齢の影響 .....44  
○村井 隆<sup>1,2</sup>, 森 聖<sup>1,2</sup>, 細野素子<sup>1</sup>, 武内康義<sup>1</sup>, 大原忠雄<sup>1</sup>, 牧野 進<sup>1</sup>,  
林 幸之<sup>1</sup>, 福島昭治<sup>2</sup>(<sup>1</sup>シオノギ・油日ラボ, <sup>2</sup>名市大・医・1病理)

42. ラット BBN 膀胱発癌に対する combination chemotherapy における  
doxorubicin と THP-adriamycin の抑制効果ならびに毒性の比較検討 ..... 45  
○林 美樹, 大園誠一郎, 山口尚子, 常深邦彦, 田畑尚一, 植村天受, 平尾佳彦,  
岡島英五郎 (奈良医大・泌)
43. ウラシル短期投与によるラットおよびマウスの膀胱における細胞増殖 .....46  
○河部真弓<sup>1</sup>, 浅川恵美子<sup>1</sup>, 朝元誠人<sup>1</sup>, 加藤俊男<sup>1</sup>, 福島昭治<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>名市大・医・1病理, <sup>2</sup>大阪市大・医・1病理)
44. カドミウム投与によるラット腎近位尿細管病変〔I〕  
Apoptosis と再生上皮の形態学的観察 .....47  
○谷本昭英<sup>1</sup>, 岩井重寿<sup>1</sup>, 濱田哲夫<sup>2</sup>, 小出 紀<sup>1</sup>  
(産医大・医・<sup>1</sup>病理, <sup>2</sup>病院病理)
- 16:45~17:05 座長:今井 清 (食薬安全セ・病理)**
45. ACUTE HEPATOTOXICITY OF T-2 TOXIN IN MICE .....48  
○M. A. QUIROGA<sup>1</sup>, C. DOI<sup>1</sup>, J. S. HAN<sup>1</sup>, H. AKAI<sup>2</sup>, K. TAMURA<sup>2</sup> and K. DOI<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>TOKYO UNIV., <sup>2</sup>BOZO)
46. 放線菌 Nocardia トキシンの実験的中毒症 ..... 49  
○寺尾 清, 伊藤恵美子, 桜田美佐子, 矢沢勝清, 三上 襄  
(千葉大・真核微研セ)
- 17:05~17:10 閉会あいさつ 副会長:高橋道人 (国立衛試・病理)**

## 座 長 一 覧

<b>第 1 日 午 前</b>	
9 : 30 ~ 10 : 00	真板 敬三 (残農研)
10 : 00 ~ 10 : 30	土井 邦雄 (東大・農)
10 : 30 ~ 11 : 45	三森 国敏 (残農研) 奈良間 功 (摂南大)
<b>第 1 日 午 後</b>	
13 : 35 ~ 15 : 15	福島 昭治 (大阪市大・医・1病理) 今井田克己 (国立衛試・病理)
15 : 30 ~ 16 : 10	寺尾 清 (千葉大・真核微研セ)
16 : 10 ~ 16 : 40	津田 洋幸 (保衛大・医・2病理)
16 : 40 ~ 17 : 00	花田 貴宣 (山之内製薬・安全研)
17 : 00 ~ 17 : 20	立松 正衛 (愛知がんセ・超微)
<b>第 2 日 午 前</b>	
9 : 10 ~ 9 : 40	森 秀樹 (岐阜大・医・1病理)
9 : 40 ~ 11 : 05	榎本 眞 (安評セ) 松沼 尚史 (三共・安全研)
11 : 05 ~ 12 : 10	林 裕造 (国立衛試・病理)
<b>第 2 日 午 後</b>	
14 : 30 ~ 15 : 55	小西 陽一 (奈良医大・がんセ・腫瘍病理) 平井 圭一 (金沢医大・解剖)
16 : 05 ~ 16 : 45	白井 智之 (名市大・医・1病理)
16 : 45 ~ 17 : 05	今井 清 (食薬安全セ・病理)

# 特 別 講 演

# 形に表現された細胞の機能

山科正平（北里大学解剖）

細胞の機能とは分裂、物質の取り込みと合成・放出、運動の三者に大きくまとめることができる。その内の分泌現象を例に、正常な分泌機能を発現するために細胞はどのように特異な形態を作り上げ、又かかる形態がどの様に維持されているのかという問題について、組織レベルでは腺管構造における個々の細胞の形状、細胞レベルでは腺細胞の中でのゴルジ装置の位置と形状に焦点をあてて考察したい。

外分泌腺では細胞が腺管構造を形成しているが、こうした細胞ではオルガネラの配置に一定の方向性がある（細胞の極性）と共に、その細胞膜は物質の局在や形態上も局所的に分化を遂げていることに大きな特徴がある。もし酵素処理により腺管構造を分解して単離腺房細胞を得てその形態と分泌特性の相関を見るなら、細胞の極性も膜の局所分化もともに大きく乱れ、また分泌機能も大幅に低下していることがわかる。細胞の極性と細胞膜の局所分化の存在が正常な分泌機能の発現のための前提条件であり、また外分泌腺細胞は腺管構造というオルガニゼーションのなかで正常な機能の発現が行なわれることが明かで、外分泌腺細胞の特異な形態にはその機能が如実に表現されているといえよう。

腺管構造は重層していた細胞が次第に単層に配列する事により発生して来るが、この経過は個々の細胞に膜の局所分化が生まれ、同時に未分化なゴルジ装置が次第に発達してきて核上部に定置するようになり細胞の極性が発生する経過と等値にみなし得るもので、組織構築の発生においてゴルジ装置の定置が重要な問題であるとの認識に到達する。次に細胞の極性と膜の局所分化の維持機構における細胞骨格の作用を見るため抗微小管剤を作用させると、抗微小管剤はゴルジ装置を寸断、分散させてそれにより極性の崩壊がおき結果的に分泌能に影響が生じることがわかる。つまり微小管は細胞極性を維持させることによりを開口分泌を保証していることになる。

細胞の極性が変化する色々な条件下におけるゴルジ装置の3次元構造をコンピュータグラフィックスにより解析した。正常な状態の耳下腺腺房細胞では一つながりのゴルジ装置が常に核上部に位置していることが確認された。有糸分裂の経過では細胞の極性が変化するが、ゴルジ装置も寸断化し細胞内の各所に分散してしまう。またERからゴルジへの物質輸送を停止させるとゴルジはやはり未分化な状態に戻り、流入の回復により急速に大型化してくる経過がみてとれる。こうした一連の観察よりゴルジ装置にはそれが持つ基本的な形があり、通常目にする形態はその基本形が機能状態により修飾されたものと理解することができる。

第 1 日

一 般 講 演

お よ び

ミニシンポジウム

## 1.

# Bisphosphonate投与ラットの骨組織に対する病理学的検討

○藤本隆平、石川敦子、坂爪正志、田畑肇、岡崎篤、堺俊治、三木寿雄  
山之内製薬（株）安全性研究所

一般にbisphosphonatesは骨組織内に局在して破骨細胞性骨吸収を阻害すると考えられているが、詳細な薬理作用については未だ不明な点も多い。また、本薬剤投与により形成された骨の性状についての情報は少ない。そこで今回、我々はbisphosphonateの1化合物をラットに投与して骨組織を病理学的に検索したので報告する。

## 材料及び方法

蒸留水に溶解したbisphosphonateを種々の濃度でF344ラット（投与開始時6週齢）に自由摂取させた。13週間投与終了後、骨組織を採材し脱灰標本を作製して光学顕微鏡下で観察した。なお、脛骨を用いて、重量、カルシウム(Ca)、リン(P)、ハイドロキシプロリン(Hyp)量を測定した。

## 結果

大腿骨では、用量依存性に骨幹端骨梁の増加が認められた。また、投与群全群で骨幹端が延長し骨髓腔が狭小化していた。高用量群では、骨端軟骨直下の新しい骨梁は豊富な軟骨基質と外側の薄い骨基質で形成されていた。骨幹に向かうにつれ、骨梁は一部リモデリングされて骨基質の占める割合が高くなった。高投与量群の古い骨梁表面およびリモデリング部位では、肥厚あるいは幾重にも重なったセメント線様構造物が形成されていた。投与群の破骨細胞は用量依存性に増数し、核の増数も伴っていた。また、変性破骨細胞も散見された。

脛骨を用いた検索では用量依存性に重量、Ca、Hyp、P量が増加した。Ca/Pのモル比は、各投与群共に約1.6で対照群と差がなかった。Ca/骨重量比およびCa/Hyp比は投与量に依存して減少することはなかった。

## 考察

今回用いたbisphosphonateでは、成長期のラットに投与すると骨梁増加が認められることがわかった。文献的には、一部のbisphosphonatesを大量投与することにより石灰化障害、あるいは骨吸収抑制と併せて骨形成も抑制されると報告されているが、今回使用した薬剤では致死量に近い量を投与しても明らかな石灰化障害、骨形成障害を示さず、正常に近い組成の骨基質が形成されることがわかった。

## 2.

# 雌マウスの加齢病変に対するプシラミンの影響

○高瀬謙二、岡原明彦、福本 充、谷岡秀敏、須田 浩（参天製薬、安全研）

老齡雌マウスの加齢病変として、非腫瘍性病変である骨の Fibro-osseous lesion (FOL) および子宮の cystic endometrial hyperplasia (CEH) がよく知られている。Cysteine の近縁化合物で抗リウマチ剤であるプシラミンの癌原性試験において、両加齢変化が高用量群で抑制されていたので紹介する。

### 実験方法

CrJ: B6C3F<sub>1</sub> マウス 5 週齢の雌雄を用い、各 5 群を設け 1 群 80 匹を使用した。動物は温度 23 ± 1 °C、湿度 55 ± 5 %、換気回数 19 回/hr、明暗サイクル 12 時間に設定されたバリヤーステムの飼育室で 1 ケージに 3 匹づつ収容して飼育した。プシラミンは粉末飼料 (CE-2、日本クレア) に各用量 (80、200、600、2000 mg/kg) になるように調整し 18 週間温餌投与し、1 ヶ月の休業後剖検し主要臓器の病理検査を行った。

### 結 果

骨：胸骨、腰椎、大腿骨について検索した。雌で初期の FOL が胸骨および腰椎で高頻度に見られ、胸骨でより頻度が高かった。大腿骨では少数例に見られたにすぎなかった。胸骨および腰椎の病変は殆どの場合、軟骨側から骨髄腔側に波及し、正常骨髄とは一般に骨梁で隔たれており、その中には破骨細胞、骨芽細胞、線維芽細胞、骨梁形成がみられ血管が発達していた。また、それに伴って既存骨が菲薄化していた。この菲薄化は腰椎の脊椎側で顕著であった。プシラミンの 600 および 2000 mg/kg 群では FOL が対照群と比較して軽減されていた雄の対照群ではいずれの骨にも本変化は全く認められなかった。

子宮：CEH が各群の多数例に見られた。膈の組織学的特徴により性周期を分類したところ、いずれの群においても半数以上で発情期の組織像を示した。一般に子宮内膜は膈の性周期像に応じた組織像を示したが、cyst の上皮は性周期に対応した変化を示さなかった。発情期像を示す子宮では固有層結合組織の硝子化を示すものがあり不規則発情あるいは持続発情を伺わせた。プシラミンの 600 および 2000 mg/kg 群では cyst 形成が抑制されており、その結果、子宮全体の大きさが対照群の

ものと比較して小さかった。しかし、発情期の膈粘膜の角化の状態および厚さには対照群とプシラミン投与群で差はなかった。

卵巣：各群で萎縮がみられたが群間に明らかな差異はなかった。卵巣の cyst 発症例数は対照群でやや多かったが、個別にみて CEH との関連性は乏しかった。

腎臓：対照群で極く軽度な尿管の巢状萎縮、尿管柱、乳頭の石灰沈着等が少数例に見られたが高用量群ではそれらの変化がやや増強していた。

その他、肝臓、上皮小体を含め他の臓器には群間に差のあるような病変は認められなかった。

血液生化学的検査：ALP 活性が雄に比べて雌で著しい高値を示し骨の加齢変化を反映していた。プシラミンの 600、2000 mg/kg 群では FOL の抑制にともなって ALP 活性の上昇が抑制されていた。無機リンが雌雄ともに高用量群で対照群より僅かに上昇していた。

### 考 察

CEH は卵巣の萎縮に伴うホルモンバランスの変化によるものとされている。FOL についても病理発生は不明であるが、マウスにエストロジェンを投与すると FOL と類似した変化が発症することから、両加齢病変の発症に性ホルモンの関与が強く伺われる。プシラミンの薬理作用には性ホルモン系への影響を示唆するものは見出されていないが、プシラミンのラットでの慢性毒性試験において比較的低下量で精巣の間細胞腫の発現が増強して認められていることを考え合わせると、プシラミンが性ホルモン系に何等かの影響を及ぼしている可能性が推測される。FOL に類似したラットの腎性骨異常栄養症は、血清無機リンの上昇を伴うラット慢性腎症に起因した疾患とされている。本試験では高用量で腎の加齢変化がやや増強されていたが FOL は軽減されていた。このことからマウス FOL の発症機序は少なくともラットの腎性骨異常栄養症の場合とは異なるものと思われる。

### 3. Crj:BDF1 マウスの長期飼育実験で観察された自然発生腫瘍について。

\*山内勝彦、\*片桐 卓、\*相磯成敏、\*長野嘉介、\*\*松本道男、\*榎本 眞  
(\* バイオアッセイ研究センター \*\* 順天堂 長岡病院)

化学物質の安全性評価にあたって、毒性試験や発癌試験など長期の飼育観察をする機会が多くなった。この場合、動物の加齢に伴う変化、特に自然発生腫瘍が常に問題となっている。特にマウスでは系統の種類も多いことから、その自然発生腫瘍の特徴による使用動物の選択が必要となる。

#### 実験方法

今回、Crj:BDF1を使用した3種類の癌原性試験の対照群に用いた雌雄各150匹のマウスに観察された自然発生腫瘍について報告する。動物は Charles River, Japan, Inc. より4週齢で受入れ、バリアーシステム内で110週齢まで個別飼育した。死亡または屠殺した動物については、全臓器を中性緩衝ホルマリンで固定後、常法に従って組織標本を作成し、光顕観察した。

#### 成績及び考察

腫瘍の発生数は雄については150匹中129匹(86%)であり、雌では150匹中125匹(83.3%)で腫瘍発生率には雄雌差はなかった。臓器別での腫瘍発生は、多いほうから雄では肝61.3%、肺26.7%、造血網内系(リンパ節、脾)24.7%、副腎6.7%、ハーダー腺6.7%であった。雌では、造血網内系(リンパ節、脾)が一番多く、39.3%であり、子宮に30.7%、下垂体に17.3%、肝に10.7%、肺に9.3%で、雌雄による性差が多少見られた。

さらに、各腫瘍の組織学的所見では、雄では肝の肝細胞癌32.7%、肝細胞腺腫25.3%、肺の細気管支/肺胞上皮癌20.0%、リンパ節の悪性リンパ腫10.7%、脾の悪性リンパ腫7.3%、ハーダー腺の腺腫6.7%が主なものであった。雌でリンパ節の悪性リンパ腫27.3%、子宮の肉腫(組織球性)25.3%、下垂体の腫瘍17.3%、脾の悪性リンパ腫8.7%、卵巣嚢胞腺腫7.3%、肝細胞腺腫6.0%、肺の細気管支/肺胞上皮腺腫、同癌は共に4.7%で臓器別の発生状況と同様に多少の性差が見られた。

BDF1マウスの自然発生腫瘍をB<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウスのそれと比較すると、臓器別の腫瘍発生は雄では共に多いほうから、肝、肺、造血網内系と一致した。しかし雌のBDF1マウスでは子宮と下垂体の腫瘍が造血網内系に次いで発生率が高く、造血網内系、肺、肝の順に高い発生率を示したB<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウスとは異なっていた。悪性リンパ腫はB<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>の悪性リンパ腫と同型と考えられる。従来BDF1は肝および肺の腫瘍は少ないと云われてきたが(西部1984、その他)、雄についてはB<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>と同様高率に発生した。

#### 結 論

BDF1マウス雌雄について自然発生腫瘍の検索をした結果、悪性リンパ腫、肝の肝細胞腫瘍、肺の細気管支/肺胞上皮腫瘍の発生が高率に見られた。しかし雌については子宮の組織球性肉腫と脳下垂体腫瘍の発生が目立った。

#### 4. ビーグル犬の腎尿細管上皮内に観察された好酸体 (Eosinophilic Body様封入体)

○小池嘉秀, 小林和雄, 廣内康彦, 岩田 聖, 山川誠己, 榎本 眞 ((財)安評センター, 病理) 腎におけるEosinophilic Body(以下EB)は、ラットの雄の近位尿細管曲部(P<sub>2</sub>)上皮内に大小不同性で不整形の弱好酸性沈着物として、高率に自然発生する。肝で生成された $\alpha_2$ U-グロブリンの腎細胞内への蓄積を示すもので、自然発生のみでなく揮発性炭化水素であるガソリン誘導体などにより誘発されることが注目されている。今回、我々は毒性試験に使用されたビーグル犬の腎においても、ラットのEBと形態学的に類似した尿細管上皮内の沈着物を認め、その本態の検討を試みた。

【材料と方法】 動物は毒性試験に用いたビーグル犬のうち、対照群の雄76, 雌78頭を用いた。7ヶ月から32ヶ月齢で解剖された動物の腎は、ホルマリソ固定、パラフィン包埋後、H-E染色を施した。一部の例の腎については、各種特殊染色、および透過型電子顕微鏡による検索を実施した。一方、尿蛋白量および血清中のBUN, 総蛋白量, アルブミン量などを測定した。

【結果および考察】 ビーグル犬のEB様封入体は、発生率において雄に多く、明らかな雌雄差が認められた。加齢による発生率の増加は示さなかったが、程度の増した例の比率は高い週齢で増加した。

H-E染色では、好酸性に染まる封入体は形態的に以下の2種類見られた。1つは、いわゆるラットのEBに類似した封入体で、核と同等大乃至以上の大きさで、境界明瞭な類円形から不整形の、弱好酸性を示す微細顆粒の集塊を呈する。他は、前者より好酸性がやや強く、小型で境界が不明瞭である。これらの封入体は、皮質の中間層から深層に位置する近位尿細管直部(P<sub>3</sub>)に出現し、両者は互いに近接して認められた。また、これらの封入体を持った尿細管上皮は、いずれも細胞質の腫大および好酸性化を示した。尿円柱との関連については明らかではなかった。PAS, オイルレッドO, ステインブランクB, グラム, 線維素, ConA<sup>H</sup>ラビックス染色の結果では両封入体とも陰性であった。マッソトリウム染色では赤紫色に、アザン染色では灰青色に両封入体とも染色され、AFOG染色では大型のEB様封入体は灰青色、小型のものは赤紫色に染まった。ラットのEBとはPAS, 脂肪, 線維素等の各染色結果について一致していた。

透過電子顕微鏡による観察では、境界明瞭なEB様封入体は細胞質の一部を占める大型で類円形の構造物として認められた。境界部分は明瞭な一層の限界膜で境されており、膜の表面は多くは平滑であるが、突起を有する部分も見られた。小体内には低電子密度の微細顆粒が密に集まり、変性したミトコンドリアおよび滑面小胞体等が散見された。境界の不明瞭な好酸性封入体は、核の近傍に均質な低電子密度物質の集塊として存在し、限界膜は認められなかった。封入体内の一部には滑面小胞体様の膜構造が目立った。

また、尿検査における尿中蛋白量は雄のEB様封入体陽性例と陰性例について比較した結果、陽性例の方に高い傾向を示した。雌雄間の比較においては、雄の方が雌に比較して明らかに高い尿蛋白量を示した。血清生化学検査では、BUN, 総蛋白量, アルブミン量について、雄の陽性例と陰性例間の比較成績では、特に陽性例に高い傾向は見られなかった。

【結論】 ビーグル犬の雄に自然発生する近位尿細管上皮内の好酸体は、再吸収された蛋白様の物質を含む細胞質内の無構造物である。各種の染色結果、および発生率に明らかな雌雄差が見られる点でラットEBと一致していた。しかし出現部位は、犬では近位尿細管の直部(P<sub>3</sub>)、ラットは曲部(P<sub>2</sub>)であった。高齢の犬においては腎疾患が高率に発生し、加齢と共に進行することが知られており、本病態はそれらの初期像である可能性が示唆された。

研究協力者：萩原 孝, 大場康子, 加藤睦美, 織部早苗, 橋口淳一, 村越令子, 渡 修明, 井上博之

## 5.

### 毒性試験における飢餓の影響

— 特にラットにおける病理組織学的検索結果について —

○佐藤 裕和、工藤 由美子、畔柳 努、畑 幸美、中川 一平、  
都留 清志、前田 明利 (杏林製薬(株) 中央研)

【 はじめに 】

各種毒性試験において、しばしば摂餌量の著しい減少を認めることがある。これが被験物質の薬理作用によるものか、あるいは薬物の大量投与に起因した一種のストレスによるものかの判断は非常に困難なところである。

また、摂餌量の減少に伴う慢性的な低栄養状態下では、被験物質が本来有するかもしれない薬理、あるいは毒性作用の発現にも大きな影響が及ぶことが予想され、さらに、低栄養状態がもたらす諸臓器の変化によって毒性作用の評価が左右されることも考えられる。

以上のような観点に立ち、いわゆる飢餓状態がラットの諸臓器に及ぼす影響について、組織学および電子顕微鏡的な検索を行ったので報告する

【 方法 】

Wistar系雄性ラットを用い、対照群、3日間絶食群、14日間制限給餌(対照群の1/2量)群、および28日間制限給餌(対照群の2/3量)群を設けた。

実験期間終了後、エーテル麻酔下にて全例を放血屠殺して剖検し、全身諸臓器について肉眼的に観察を行った後、常法に従って組織学的に観察した。また、各群の数例について肝臓(外側左葉)の一部を採取し、透過型電子顕微鏡にて検索を行った。

【 結果およびまとめ 】

肉眼的には、肝臓の縮小、小腸の脆弱化が絶食群の半数以上、および制限給餌各群のほぼ全例に認められた。組織学的には、肝実質細胞の萎縮が対照群を除く実験各群のほぼ全例に認められ、また、一部の個体には肝細胞内脂肪滴の出現が、主にグリッソン氏鞘周辺領域に散見された。消化管においては、自己融解像が著明で、特に3日間絶食群に強く出現する傾向が認められた。さらに、甲状腺の萎縮像が少数例ではあるが、2/3制限給餌群に認められた。

一方、電顕的には、肝臓のグリコーゲン顆粒の減少もしくは消失、滑面小胞体の増生傾向、ミトコンドリアの軽～中等度の腫大等が対照群を除く実験各群に認められ、さらに、全体的に細胞内小器官の密度が増加した状態、すなわち細胞質の萎縮傾向がみられた。

本発表では、以上の各所見の成因、および毒性評価に対する影響について若干の考察を加える。

## 6.

### 実験小動物にみられた消化管拡張と呼吸器障害

○林 新茂、堀之内彰、永井博文、福田 良、今井良悦、野々山孝（武田薬品・薬安研）

〔はじめに〕ラットおよびマウスの長期試験で途中剖検した動物に、ガスの貯留による消化管の著しい拡張（鼓腸）が認められたのでその原因について呼吸器との関連を病理学的に検索した。

〔方法〕検索した動物は過去5年間に癌原性試験に供試した動物のうちF344ラット雄6例、雌5例、Wistarラット雄1例、B6C3F<sub>1</sub>マウス雄2例の計14例（56週齢～110週齢）である。動物はいずれもクリーンブース内に設置した金属製ケージで個別に飼育し、基礎飼料と水を自由に摂取させた。これらの動物は剖検時、頭部を中心に全身を軟X線撮影し、上部気道および消化管を含む40ヵ所以上の諸臓器について病理組織学的検査を実施した。

〔結果〕動物は体重の減少、呼吸促迫ないし困難および腹部膨満などを示し、1～2週間の経過で死亡あるいは瀕死状態に陥り途中剖検された。剖検では胃、小腸および盲腸を含む大腸に含気性の著明な拡張がみられたが、これらの消化管には出血、炎症性的変化はなかった。また、消化管内に内容物はほとんどみられず、貯留したガスに異常臭は認められなかった。

消化管の拡張以外の剖検所見は個体によりさまざまで、顔面の変形を伴う頬部ないし下顎腫瘍、頸部腫瘍、上腕腫瘍、胸壁腫瘍あるいは胸腔内腫瘍など致死性の腫瘍性病変が7例にみられた。しかし、他の7例では消化管の拡張以外に肉眼的変化はなかった。そのうちラット4例、マウス2例の鼻部に軟X線検査で限局性の軟X線不透過部あるいは軟組織陰影がみられ、鼻部の剖面には鼻腔内あるいは鼻咽頭管内腫瘍などが認められた。軟X線検査で異常のみられなかった残りのラット1例の鼻部剖面には分泌物がみられた。

剖検時に高度な拡張を示した胃、十二指腸、空回腸、盲腸および結腸では、組織学的に粘膜上皮の菲薄化がみられた。肉眼的に頬部、下顎、頸部、上腕、胸壁あるいは胸腔内にみられた腫瘍は組織学的にはChondrosarcoma, Osteosarcoma, Fibromaなどであった。また、軟X線検査で鼻腔あるいは鼻咽頭管内に認められた腫瘍は Squamous cell carcinoma, Chondroma, Odontomaであった。鼻部剖面に異物がみられた例には滲出性炎が認められた。

〔考察〕以上の成績から、長期飼育ラットおよびマウスにみられた含気性の消化管拡張は、上部気道ならびにその周辺に発生した腫瘍や炎症性の分泌物塊による気道の狭窄に起因した変化であった。すなわち、気道の狭窄による呼吸困難を示した動物は強制呼吸に伴って空気を嚥下し、消化管の運動性低下ならびに暖気不能により著しい鼓腸を招来するものと推定される。したがって、長期飼育動物の剖検時に消化管の拡張だけがみられ、その死因が不明な例については通常の病理検査に加えて鼻部を中心とした上部気道の精査が必須であり、また、軟X線撮影検査も有用である。

○吉田敏則, 三森国敏, 真板敬三, 白須泰彦 (残農研)

ラットの顆粒細胞腫 (GCT) は好発部位が舌等の軟部組織である他の動物のGCTと異なり, そのほとんどが脳髄膜部に発生する。由来については光顕的にGCTと髄膜内皮性髄膜腫 (MM) との混合型 (MIX) が自然発生すること, そしてGCTの腫瘍細胞の電顕的・免疫組織学的特徴が髄膜のクモ膜細胞のそれと非常に類似することから, ラットの脳にみられるGCTはクモ膜細胞由来である可能性が示唆されている (Mitsumoriら: Vet. Pathol. 24, 50-58, 356-359, 1987)。しかしこれらの報告では, MIX, および発生が非常に稀なMMについての詳細な電顕的観察は実施されておらず, GCTの電顕的特徴とMIXやMMのそれとの形態学的類似性については更に検討すべき点であった。今回, 演者らはWistar系ラットに自然発生したGCT, MIXおよびMMについて電顕的観察を実施し, GCTの細胞起源についてさらに検討を行なったので報告する。

#### 材料と方法

材料は残農研にて実施されたWistar系ラット (Jcl: Wistar) を用いた2年 (8試験) および2.5年 (2試験) 間の長期毒性試験 (雌雄各2448匹) において, GCTあるいは髄膜腫と診断された40例を用いた。これらを光顕的に再分類し, 7例について電顕的観察を実施した (4例はホルマリン固定材料からの観察)。

#### 結果

腫瘍は脳髄膜に限局して, あるいは髄膜に関連して脳実質内に膨張性に発育し, 周囲組織との境界は明瞭であった。発生部位は大脳, 小脳および脳幹の順に多く, 大きさは1mm以下のものから10mmに至るものまで様々であった。腫瘍は各個体に1個のみ認められた。髄膜腫瘍は光顕的にGCT 28例, MM 3例およびMIX 9例に分けられた。GCTは好酸性, PAS反応陽性 (ジアスターゼ抵抗性) の顆粒を豊富に持つ, 大型円形あるいは紡錘形細胞の充実性増殖からなり, 一部の腫瘍では腫瘍細胞と周囲クモ膜細胞との移行がみられた。MMは好酸性の豊富な細胞質を持つ上皮様の

細胞が渦巻き状にあるいは小葉構築をとり増殖していた。MIXはGCTとMMの両構成細胞からなり, MMの上皮様細胞に好酸性顆粒が散在する移行型も観察された。

電顕的観察はGCT 2例, MIX 3例およびMM 2例について実施した。GCTはライソゾーム由来とみられる限界膜を有するdense bodiesを豊富に持つ細胞と, 明瞭なIFを持つ細胞からなっていた。前者は多形性のdense bodiesの他に, multivesicular bodiesや種々の大きさの空胞が細胞質を充満し, 少量のIFを除き, 細胞内小器官は非常に少なかった。後者はIFが主要な細胞構成要素で, 前細胞に比しやや豊富なミトコンドリア, 粗面小胞体のみならず, 少数のdense bodiesも共存していた。MIXも同様の2種の細胞から構成されていたが, dense bodiesの数は相対的に少なく, 両細胞ともIFがより著明であった。いずれの細胞ともミトコンドリア, 粗面小胞体, 自由リボソームおよびゴルジ装置が豊富に認められた。MMの腫瘍細胞の細胞質内には, GCTおよびMIXに比しやや少ないIF, 少量のライソゾームおよびMIXの細胞に類似した他の細胞内小器官を含んでいた。いずれの腫瘍とも個々の細胞は密に配列し, MIXで, さらにMMで細胞質突起の嵌合が顕著で, 細胞間には種々の接着装置が多数観察された。また, 毛細血管周囲のbasal lamina (BL) は多層性で, 周囲腫瘍細胞間に連続し, MIXの1例で細胞間のBLは特に顕著であった。

#### 考察

以上の成績より, GCT, MIXおよびMMは細胞質内dense bodiesの存在を除き, その電顕的所見は非常に類似しており, GCTがMMと同様, 髄膜のクモ膜細胞に由来することが強く示唆された。しかし, 認められた髄膜腫瘍のほとんどがGCTであることから, MMからMIXを経てGCTに移行する可能性は少なく, ほとんどのものは腫瘍発生の初期段階から細胞質内にdense bodiesが蓄積するものと推察された。

8. 2-hydroxymethyl-2-methyl-1,3-propanediol投与による中枢神経病変の  
病理組織像

○前田 博、尾寄清和、堀切和哉、栗尾和佐子、奈良間 功（摂南大）

目的：2-hydroxymethyl-2-methyl-1,3-propanediolの静脈内投与はビーグル犬の脊髄白質に髄鞘の崩壊を主体とする病変を形成する。本薬物は犬脳においては、ほぼ全域の灰白質直下の白質および分子層にスフェロイドを形成することから脊髄の髄鞘崩壊が軸索変性に対する二次的变化であろうと考察した。今回は、脊髄病変の初期変化をとらえる目的で経時的観察を行ったので電頭的所見を中心に報告する。

材料および方法：22ないし31カ月令の雌のビーグル犬12頭に上記薬剤の4500mg/kg/dayを5、15、30、60、75および90日間にわたって静脈内投与した後、屠殺剖検して検査に供した。投与には20%溶液を用い、22.5ml/kgの割合で前腕皮静脈から連日投与した。全例の第1頸髄から第1仙髄までを一つおきに根幹部神経を含む部位で切り出し切片を作製した。光頭的検査に加え全例の腰膨大部の脊髄白質を電頭的に検索した。

結果：組織学的所見：脊髄病変は極く軽度ながら15日の投与例から認められ、投与日数の増加に伴って増強された。投与初期には軸索膨化や軸索内の空胞形成が主体で、軸索周囲腔の拡張や髄鞘の崩壊を欠いていた。膨化した軸索の周辺部には膜様構造が頻繁に認められた。投与期間の延長に伴い淡明で崩壊した膨化軸索の割合が増加し、軸索周囲腔の拡張も目立った。グリア細胞の細胞質膨化、灰白質のspheroid形成も投与初期より認められた。これらの組織学的変化は脊髄の全長にわたって認められ、特定のレベルでの増強あるいは特定の神経路に好発する傾向は認められなかった。

電頭的所見：光頭的な軸索膨化に対応する軸索内における様々な構造物の集積が頻繁に認められた。膨化した軸索内の集積物としては層板状膜様構造が最も頻繁に認められた。集積が軽度な軸索では膜様構造は軸索周辺部でゴルジ層板様に配列するか、axoplasmを蜂巢状に区切って認められた。集積が更に高度な軸索では同心円状に配列した密な渦巻状構造が多数形成され時折中心部にaxoplasmが島状に取り残されていた。膜の集積が高度な軸索では、neuro-filamentやミトコンドリア、vesicular structure等の小器官が集積していることもあった。これら層板状膜様構造の集積を全く伴わずにtubulo-vesicular structureやミトコンドリア、小胞体、リボゾームなどの細胞内小器官の集積を伴う軸索も稀に認められた。また長期投与で頻繁に認められる萎縮性の軸索や髄鞘変性を伴った軸索の消失も認められた。

まとめと考察：1.本薬剤投与による脊髄病変は90日間投与例では髄鞘変性を主体としていたが、これらに先立って軸索変性が起こることが明らかであった。

2.本薬剤によって誘発される脊髄病変はその分布状態からキノホルムを代表とする薬物によって誘発されるdistal axonopathyとは異っていた。

3.軸索変性の主体は層板状膜様構造の集積と思われた。今後この層板構造集積の発生機序について明らかにする必要がある。

○森 文秋、高屋豪瑩、玉山公基、中村清純（弘前大・医・脳研・神経病理）、  
滝澤行雄（秋田大・医・公衆衛生）

顆粒細胞型小脳変性症のモデルは、メチル水銀やthiopheneをラットに投与することにより作製することができる。その際、小脳以外では、メチル水銀で腎に、thiopheneで肝に主とした病変を認める。第77回日本病理学会において、共同演者の高屋は、thiophene投与後長期生存したラットでは、小脳虫部病変以外に肝萎縮のあることを報告した。また、これまで我々は、thiophene或はその代謝産物が小脳顆粒層の血管内に一過性に多量に存在するとき、血管の内皮を傷害して小脳皮質を中心とする血流障害性病変を惹起する中で、小脳顆粒細胞の変性を来し、そして、このことは、thiopheneの継続投与によつてのみ小脳病変が作製できることを報告した。

そこで、今回は、小脳病変が完成するまでの形成過程にみられる他臓器に病変推移を認めることについて、高血圧自然発症ラットを用い、次のような実験を行った。1～6回のthiophene投与後1時間の肝臓、腎臓ならびに小脳虫部を中心に病理組織学的検索を行った。その際、臨床症状、尿検査、血圧測定、聴性脳幹反応(ABR)の諸検査と肝臓、腎臓、大脳、小脳についてthiopheneの定量を行った。

【臨床症状】thiophene投与開始後1日目から、体重減少、沈澱、眼瞼周囲出血、4日目以降後肢の後又、ひきずり、躯幹振動、失禁、ふらつき歩行、後方転倒、痙攣、カンガルー様跳躍がみられた。

【尿検査】thiophene投与開始後1日目から、尿中にケトン体と蛋白を認めたが、4～5日目になるとケトン体は依然として高値であったが蛋白量は減少していた。

【血圧測定】thiophene投与により血圧は一過性に低下するが、その後、次の投与時までには、元の値に回復または上昇した。これは、thiophene4回以上投与後は上昇するか変動はみられなかった。

【ABR】thiophene投与開始後1日目から、ABRの異常所見、即ち3、4波の低下を認めたが、1～2回投与で終了した例では、正常に戻ったが、一方、3～4回投与した例では、異常なままであった。

【thiopheneの定量】thiophene4回投与後7時間のthiophene濃度については、小脳の方が、大脳よりも概ね高かった。また、thiophene4回投与7時間後のthiophene濃度は、小脳と肝臓及び腎臓の比の差が大きい例では、血圧が低い傾向を示した。

肝臓、腎臓、小脳の病変について下の表にまとめた。中心静脈の近縁の肝細胞に再生力が消失し、小葉辺縁の肝細胞の再生状態の速度と背後にある腎上皮の脂肪変性との関係において小脳虫部顆粒細胞層にthiopheneは変性をもたらす。肝細胞壊死が小脳顆粒細胞変性より先行して起こる現象を説明するには、thiopheneという有機溶媒の肝臓内での薬物代謝系や中枢神経系における血液脳関門の役割を考えることが大切であることを示している。このことは、神経系以外の内部臓器相互間の病的変化の推移が如何に神経系病変に影響を与えるかを考える上で大切である。

病変	投与回数				
	1	2	3	4	6
肝臓					
肝細胞脂肪変性	-	±	+	+	#
小葉中心性肝細胞壊死*	-	+	±	±	±
小葉中心性細胞浸潤	-	+	#	+	+
赤血球貪食Kupffer細胞	-	+	+	+	+
肝細胞核分裂*	-	-	#	+	+
小葉中心性線維化	-	-	-	+	+
腎臓					
尿管管上皮脂肪変性	-	±	±	+	+
小脳					
顆粒細胞変性	-	-	±	+	#

○渋谷 淳・今沢 孝喜・小野寺 博志・松島 裕子・吉田 順一・前川 昭彦・  
林 裕造 (国立衛試・病理) ・新井 克彦 (東京農工大・農)

【緒言】前回の本学会で、我々は、ラットグリオーマでは GFAP などの発現が不完全であり、ヒトで用いられる脳腫瘍マーカーは、ラットでは診断上有用ではないことを指摘した。最近、我々はラット新生仔脳の間径フィラメント (IF) 粗精製標品を抗原として得たモノクローナル抗体 (Mab) の中に、グリオーマに反応する Mab (58A) を見いだした。今回、Mab (58A) の認識するポリペプチドの生化学的特性と、この抗体の正常組織及びグリオーマでの免疫染色傾向の検討を行なったので報告する。

【方法】Mab の作製とその生化学的特性の検討：ラット新生仔脳組織を用い、IF 精製の常法に従って標品を調製し、それを免疫用抗原として Mab を作製した。上記 IF 粗精製標品に対して ELISA 陽性を示した 30 クローンについて、ラットグリオーマ組織を用いた免疫組織化学的なスクリーニングを行なった。その結果得られた陽性クローン (58A) の培養上清について、市販の抗 GFAP 抗体 (polyclonal)、抗 Vimentin 抗体 (polyclonal) を対照として、新生仔及び 8 週齢での脳 IF 粗精製標品に対する Western blotting を行なった。

免疫組織化学的検討：クローン (58A) の培養上清を用い、ENU で誘発した 5 例のグリオーマの他、胎仔 (胎齢 14.75 日から出生直前まで)、新生仔及び成熟ラット (3-4 週齢) の主要臓器について、PAP 法による免疫組織化学的な検索を行なった。

【結果】クローン (58A) の培養上清による新生仔脳 IF 標品に対する Western blotting では、50-55 Kd の 2 本のポリペプチドを認識したが、8 週齢の IF 標品中では、60Kd のポリペプチド 1 本のみを認識し、新生仔のものと分子量的に異なっていた。これらのバンドは GFAP, Vimentin, Neurofilament とは分子量的に異なり、市販の GFAP, Vimentin に対する抗体とも反応しなかった。免疫組織化学的検索の結果、グリオーマでは腫瘍性 Astrocyte と反応性グリアに特異的な他、腫瘍性 Oligodendrocyte にも散在性の陽性像を認めた。成熟ラットの中樞神経系では上皮細胞と大部分の Neuron に陽性を示したが、Astrocyte には散在性の陽性像を認めるのみで、他は陰性であった。末梢神経系では神経節細胞と神経軸索に陽性を示したが、Schwann cell には陰性であった。その他、下垂体神経葉、網膜、骨格筋、血管内皮、間葉系細胞に陽性を示した。胎仔及び新生仔の中樞神経系では移動を終えた Neuron に陽性傾向があり、Germinal matrix は陰性であった。新生仔では成熟ラットで見られた陽性像の他に未分化間葉系細胞、軟骨前組織、血管平滑筋に、胎仔では、これらに加え消化管平滑筋も陽性を示し、眼杯、嗅粘膜、耳胞などの感覚器原基は、新生仔よりも胎仔の方に強い陽性像を認めた。

【考察】ラット新生仔脳 IF 粗精製標品を抗原として、ラットグリオーマの診断に有用と考えられるモノクローナル抗体が得られた。免疫組織化学的な結果からは、この Mab (58A) は GFAP, Vimentin, Neurofilament, Desmin などの IF に広く交差する抗体であることが示唆されたが、イムノプロットの結果から IF に共通に分布するエピトープを認識している可能性は低い。また、新生仔と 8 週齢で認識するポリペプチドに分子量的な差異が認められた。以上の点を考慮すると、この Mab は、ある IF の特殊なタイプ、もしくは IF-associated protein を認識している可能性が考えられる。

渡辺敦光、藤本成明、石本達郎、高橋忠照、中川義基、伊藤明弘（広大原医研癌部門）  
研究の背景と意義：胃腫瘍発癌修飾因子としての性差があり、性ホルモンと胃腫瘍との関係は古くから研究されている。しかしその他のホルモンの修飾作用については明かでない。そこで今回はClifton等の系を用いプロラクチン(PRL)値を高め、MNNG誘発胃癌に対する修飾作用を検討した。

材料と方法：動物は両性の5週令のF344ラットを使用した。シリコンチューブ（ダウコーニング社製）1cm中にエストロン（シグマ）を入れ両端をシールし、トロカール針の中にエストロンチューブを挿入し、これに雌の下垂体を更に入れ、雄ラットの脾臓の中に移植した。移植1ヶ月後よりMNNGを100mg/lの濃度で飲料水として4カ月間与え、投与開始後12ヶ月で採血し剖検した。全く同様の処理を行ったグループを別に設け同一動物を用いて血清中のPRL値を経時的に測定した。ラジオイムノアッセイ法によりPRL、成長ホルモン（GH）を測定した。体重、臓器重量、並びに肉眼的に病変を検べ、更に病理学的検索を行った。下垂体並びに脾臓は同じ切片上でそれぞれPRL、GH、甲状腺刺激ホルモン（TSH）の免疫組織化学を行った。画像解析（オリンパスCIA-102）を用い、脾臓中に占める下垂体の面積並びに胃粘膜の丈並びに面積を測定した。

結果：下垂体移植群での胃腫瘍は8/31(26%)でMNNG単独での3/23(13%)に比べやや胃腫瘍が増加の傾向を示したが統計的に有意差は示されなかった。又、胃腫瘍とPRL値との間には相関は認められなかった。更に、幽門腺の丈や同部の面積とPRL値との間にも相関は認められなかった。移植群、非移植群のGH値は正常値を示したが、下垂体移植群でPRL値は高値を示した。この量は、脾臓中に占める下垂体の面積と良い相関を示した( $R=0.86$ )。又、これら移植部位でのPRL、GH、TSH産生細胞を検べると、in situの下垂体は3つのホルモンを産生しているが移植下垂体ではTSH産生細胞は認められず、GHが少数の細胞に染色されPRL産生細胞が大部分であった。経時的にPRL値の変化を調べると、移植後1カ月に数倍に上昇し、6カ月を過ぎる頃から急激に増加した。

考察：この方法は血中GH値やTSH値を増加させずPRL値のみを増加させる事が可能であった。エストロンは下垂体に作用し、PRLを産生するが、エストロンは門脈を通り肝臓で分解されるため血中では女性ホルモンの量は正常値を示すことが知られており、純粋にPRL値の上昇を保つことが出来るため、このホルモンの種々の臓器での影響を検討するには良い方法であろうと思われる。PRLの産生は移植1カ月から上昇を開始し、6カ月を過ぎる頃から更に急激に増加する。すなわち本実験では、MNNG投与終了時からPRLの上昇が見られ、PRLの胃腫瘍に対する効果を調べるには適当であったと考えられる。本実験結果では下垂体移植群と非移植群の間に差が見られなかったことよりPRLは胃腫瘍の発生に何等の影響もないこと結論された。

結論：MNNG投与ラットを用いて、これらエストロンと下垂体併用脾内移植により血中PRL値の上昇を認めたと胃癌の発生率には統計的には有意な差が認められなかった。又、PRL値と幽門腺の丈の間にも相関は認められなかったことからPRLは胃腫瘍発生に無関係であることを示した。

12. 膀胱発癌プロモーターにより誘発した膀胱および前胃粘膜上皮の過形成病変に対するインドメサシンおよびアスコルビン酸の抑制ないしは増幅効果

○柴田 雅朗<sup>1</sup>, 星谷 達<sup>1</sup>, 倉田 靖<sup>1</sup>, 広瀬 雅雄<sup>1</sup>, 福島 昭治<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> 名市大・医・1 病理, <sup>2</sup> 阪市大・医・1 病理)

【緒言】

膀胱発癌プロモーターを単独で短期間投与すると膀胱上皮に過形成病変が出現し、その組織中におけるプロスタグランジンE<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) やアスコルビン酸 (AsA)が増加することが知られている。この事実より、膀胱上皮の細胞増殖には PGE<sub>2</sub> や AsAが重要な役割を担っていることが示唆された。そこで、膀胱発癌プロモーターと AsAないしはPGE<sub>2</sub>の合成阻害剤であるインドメサシン (IM) との複合投与が、膀胱上皮の細胞増殖に対していかなる影響を及ぼすかを病理組織学的に追究した。また、前胃粘膜上皮についても併せて検討した。

【方法】

6週齢のF344系雄ラット65匹を用い、1群5匹として、2% BHA, 5%アスコルビン酸 Na (AsA-Na)ないしは5%クエン酸Na (Cit-Na), 0.5%ジフェニール (DP) 等の発癌プロモーターと20ppm IMまたは5% AsAとの複合投与群、更に各々の単独群および対照群を設けた。実験開始の8週経過後に全動物を屠殺剖検し、膀胱および前胃粘膜上皮についてBrdUを用いたDNA 合成の測定および病理組織学的検索を行った。更に、IMとの複合投与群については血漿PGE<sub>2</sub>量を測定した。屠殺前には種々の尿分析も実施した。

【結果】

(a) 膀胱粘膜上皮の細胞増殖 : BHA 群, AsA-Na群, DP群では、対照群に比較して、有意なDNA 合成の上昇が観察されたが、これらとIMとの複合投与ではDNA 合成の亢進は抑制された。組織学的には、発癌プロモーターにより誘発された単純性過形成はDPを除く各群でIM投与により軽減化される傾向にあった。一方、AsA はCit-Naとの複合投与において、Cit-Na群におけるDNA 合成の亢進並びに細胞増殖に対して、強い増幅効果をもたらした。しかしながら、DP+AsA群ではむしろ抑制傾向を示した。(b) 前胃粘膜上皮の細胞増殖 : BHA を投与した各群に前胃過形成病変を認めたが、BHA 群と比較して、BHA+AsA 群ではDNA 合成の亢進はより顕著であり、過形成病変の程度も高度であった。(c) 血漿PGE<sub>2</sub>量 : いずれのプロモーター投与群においても、対照群と比較して、血漿PGE<sub>2</sub>は増加傾向を示し、IMとの複合投与では減少傾向を示した。(d) 尿分析 : IMあるいはAsA の複合投与は各種プロモーター投与により惹起された特徴的な尿性状に変化を及ぼさなかった。

【結論】

膀胱上皮の細胞増殖に対して、IMは抑制効果を発揮し、これに対しAsA はNa塩タイプのプロモーターとの複合時には強い増幅作用を示した。更に、AsA はBHA 誘発の前胃過形成に対しても、その病変の程度を著しく増強させた。

13. Diethylnitrosamineによるinitiationとphenobarbitalによるpromotionによるラット肝前癌病変の発生に対する食餌性鉄欠乏の抑制効果

○中江大, 衣笠哲雄, 吉治仁志, 白岩和己, 丸山博司,

傳田阿由美, 小西陽一 (奈良医大・がんセンター・腫瘍病理)

ラット肝化学発癌機構における酸化性ストレスの関与について検索する目的で, ラットにdiethylnitrosamine (DEN)によるinitiationとphenobarbital (PB)によるpromotionを施行し, 肝における $\gamma$ -glutamyltransferase (GGT)陽性小増殖巣の発生に対する食餌性鉄欠乏の効果について実験を行った。

4週齢のFischer 344系雄ラット68匹を用い, 下の表に示す如く8群を設定した。第1-4群は鉄含量5 ppm以下の鉄欠乏(ID)食を投与し, 第5-8群は180 ppmの鉄を含む鉄添加(IS)食を12週投与した。DENは200 mg/kg体重を実験開始後4週にラットの腹腔内へ投与し, PBは実験開始後6週から12週まで0.05%の濃度で食餌中に混入した。各群の有効匹数及びDEN・PBの投与の組合せは, 表に示した。実験開始後12週にラットを屠殺し, 肝におけるGGT陽性巣の数と面積について, 定量的に検索した。実験結果は, 表に示した。各群間の最終体重と肝重量に差は認めず, また, ここでは示さなかったが, 実験期間を通じて, 各群間の体重増加と平均摂食量にも差はなかった。第1群のラット肝におけるGGT陽性巣の1 cm<sup>2</sup>当りの数は6.3個, 占有面積百分率は0.42%であり, 第5群の14.2個, 1.00%に比べ, それぞれ有意に低値を示したが, 第2,6群のGGT陽性巣の数と面積の間には, 有意な差を認めなかった。また, 第5群のGGT陽性巣の数と面積は, 第6群のそれらに比べ, 有意に高値を示したが, 第1,2群のGGT陽性巣の数と面積の間には, 有意な差を認めなかった。

以上の結果より, 食餌性鉄欠乏は, DENによりinitiateされた肝細胞群のPBによるpromotionを抑制した。また, PBによるpromotion効果は, 鉄欠乏ラットにおいては充分でなかった。従って, PBのpromotionによる細胞増殖に鉄が必要とされ, その機構に酸化性ストレスの関与する可能性が示唆された。

Experimental details and quantitative data regarding the influence of dietary iron deficiency on the induction of GGT-positive hepatocyte foci in the livers of rats initiated by DEN and promoted by PB

Group	Diet	DEN	PB	Effective Number of Rats	Final Body Weight (g)	Liver Weight (g/100g Body Weight)	GGT-Positive Hepatocytes Foci		
							Number/cm <sup>2</sup>	Occupied Area (%)	Size (Mean Area; mm <sup>2</sup> x10 <sup>2</sup> )
1	ID	+	+	9	272±11 <sup>a</sup>	6.70±0.37	6.3±3.6 <sup>b</sup>	0.42±0.22 <sup>b</sup>	7.0±0.9
2	ID	+	-	9	276±10	5.77±0.23	3.4±2.2	0.25±0.16	7.4±0.8
3	ID	-	+	9	294±14	7.03±0.33	0.7±0.5	0.04±0.03	8.8±3.3
4	ID	-	-	9	289±29	6.02±0.36	0.4±0.2	0.05±0.02	5.8±1.5
5	IS	+	+	8	269±13	7.26±0.36	14.2±4.4 <sup>c</sup>	1.00±0.37 <sup>c</sup>	7.0±1.1
6	IS	+	-	8	284±14	6.55±0.56	5.9±2.6	0.44±0.20	7.4±0.7
7	IS	-	+	8	299±11	8.24±0.67	0.5±0.2	0.04±0.02	6.8±0.8
8	IS	-	-	8	296±15	6.99±0.75	0.4±0.3	0.04±0.04	5.7±1.5

<sup>a</sup>Results are means ± standard deviations.

<sup>b</sup>Significantly lower than Group 5 value (p<0.05).

<sup>c</sup>Significantly higher than Group 6 value (p<0.05).

14. 天然系抗酸化物質による食品加熱分解産物2-amino-3-methyl-imidazo(4,5-f)quinoline(IQ)の肝発癌イニシエーション作用に対する抑制効果

○津田洋幸, 松本和幸 (保健衛生大・医・2病理)

目的: 抗酸化物質には、ラットの肝発癌イニシエーション処置後に投与した場合に、前癌病変の増殖または癌への進展に対して抑制効果を示すもののあることが知られ、発癌の抑制要因として注目されている。本研究では、主に植物性食品に含まれる7種の天然系抗酸化物質について、発癌性食品加熱分解産物 2-amino-3-methyl-imidazo(4,5-f)quinoline (IQ)と同時期に投与した場合の肝発癌のイニシエーション作用に対する抑制効果の有無をラット肝の前癌病変の発生を指標とした二段階モデルを用いて検索した。

方法: 5週齢雄F344ラット130匹を用いた。第1群は検索物質として $\beta$ -carotene(0.02%),  $\alpha$ -tocopherol(1.5%), glutathione(5.0%), vanillin(1.0%), quercetin(1.0%), ellagic acid(1.0%)をそれぞれ基礎飼料中に混合して予め8日間、diallyl sulfide は200mg/kgを同期間に3回腹腔内に投与した。検索物質投与開始7日目に、2/3部分肝切除後を行いその12時間後にIQ(100mg/kg)の胃内一回投与による肝発癌のイニシエーション処置を行った。実験開始第4週よりプロモーション(P)処置として、既知のプロモーターであるphenobarbital(0.05%, 基礎飼料中)と第5週におけるD-galactosamine(300mg/kg)の腹腔内投与を行った(各15匹)。第2群は対照群で、検索物質は投与せずIQによるイニシエーション処置→P処置を行った(15匹)。第3群は検索物質→P処置、第4群はP処置のみとした(各5匹)。動物は全経過11週にて屠殺した。結果は、肝細胞5個以上のglutathione S-transferase placental form(GST-P)陽性巣(免疫染色)の切片上の個数と面積値を測定し、第1群と第2群の値を比較(Student's t-test)することにより判定した。

結果: GST-P陽性巣の個数では、第1群のうち $\beta$ -carotene( $7.99 \pm 3.14$ 個/cm<sup>2</sup>),  $\alpha$ -tocopherol( $8.21 \pm 4.42$ ), glutathione( $9.71 \pm 3.55$ ), diallyl sulfide( $10.37 \pm 3.57$ ), vanillin( $10.57 \pm 3.82$ ), quercetin( $11.18 \pm 2.20$ )において、対照群の第2群( $14.54 \pm 4.04$ 個/cm<sup>2</sup>)に対して有意(P<0.02)の減少が示された。面積値では、第1群の $\beta$ -carotene( $74 \times 10^3 \mu\text{m}^2/\text{cm}^2$ )は第2群の( $107 \times 10^3$ )に対し、有意(P<0.05)の減少を示した。

考察と結論: 被験体の抗酸化物質のうち $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -tocopherol, glutathione, diallyl sulfide, vanillin および quercetin は、IQによってイニシエーションされる肝細胞の数を減少させることにより前癌病変の発生を抑制する作用のあることが示唆された。これらの物質は何れも植物中に広く存在し、とくに抑制作用が他より顕著な $\beta$ -carotene と  $\alpha$ -tocopherolはビタミン(類)として日常摂取されており食品中の発癌抑制要因として注目される。抑制機序として、IQの代謝活性化に対する修飾作用あるいは肝細胞のDNA-IQ付加体形成に対する関与が想定され今後の検討が必要と考える。

## 15.

## DENのラット肝発癌プログレッションに及ぼす影響

○朝元誠人、小木曾正、萩原昭裕、立松正衛、伊東信行（名市大・医・1病理）

## 【はじめに】

ラットに肝発癌物質を投与すると、病理組織学的に小増殖巣、過形成結節、さらには肝細胞癌へと多段階の進展が認められる。模式的には、発癌物質に暴露された標的細胞の遺伝子が修飾され、細胞増殖によりイニシエーション細胞となり、プロモーターにより過形成巣、過形成結節と進展し、さらにプログレッション過程において肝細胞癌になると考えることができる。また、プロモーションは主にepigeneticalな分化の異常によると考えられるのに対し、プログレッションは主にイニシエーションと同じく突然変異がきっかけになると考えられる。最近のめざましい分子生物学の発展によりヒト大腸癌などでは数種類の遺伝子異常と癌への進展が具体的に論じられる様になりつつある。そこでラット肝発癌過程でのプログレッション機構を解明するための実験系を確立したので報告する。

## 【実験方法】

動物は7週令のF344系雄性ラット100匹を用いた。動物を50匹ずつ2群に分け、第1群はイニシエーターとしてDiethylnitrosamine (DEN) 200mg/kgを腹腔内投与し、実験開始2週目より22週目まで0.05% phenobarbitalを混餌投与し、実験開始3週目に3分の2肝部分切除を行なった。第2群は肝部分切除を行なったのみである。そして、両群にプログレッション因子として実験開始26週目にDENを0, 10, 25, 50, 100 mg/kgの濃度で腹腔内投与しその後実験開始50週まで観察し屠殺解剖した。

## 【結果】

第1群のイニシエーションを行なった群において、2回目のDEN濃度が0の群では肝過形成結節から肝細胞癌への進展は認められなかったが、DEN投与群においてはその濃度にほぼ比例して癌への進展がみられた（表1）。第2群では、肝過形成結節および癌の発生は認められなかった。

## 【まとめ】

DENが用量相関性に肝過形成結節から肝癌に進展させる事が明らかになった。今後、この実験系において、種々の癌遺伝子異常、DNA量などの検索を進めることによりプログレッション機構の解明が期待される。

表1 DENによる肝過形成結節から肝細胞癌への進展

DEN (mg/kg)	検索匹数	過形成結節 (匹)	肝細胞癌 (匹)
0	9	5	0
10	9	7	3
25	9	5	1
50	9	7	4 <sup>a</sup>
100	6	5	3 <sup>b</sup>

a: p<0.05, b: p<0.02

○原田孝則, 榎本秋子, 真板敬三, 白須泰彦 (残留農薬研)

ケルセチンは、ルチンと共に自然界の植物中に広く存在するフラボノイドの一種であるが、強い突然変異原性を示すことから、近年その発癌性の有無について精力的に調査が進められた。しかし、ラットあるいはハムスター等を用いた長期発癌性試験の結果はほとんど陰性であり、ケルセチンには発癌性はないものと一般に理解されるに至っている。一方、最近の研究によりケルセチンには 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetateあるいは teleocidin等の発癌プロモーターの作用を抑制することが解明され、その効果が注目されている。この観点より、演者らは喫煙ハムスターの呼吸器系組織における diethylnitrosamine (DEN)の発癌性に対するケルセチン投与の効果を検討した。

## [材料と方法]

雄のゴールデンハムスターを用い、以下の5群を設け8週齢で実験を開始した。

群	匹数	処置
I	30	無処置
II	30	シャム+DEN
III	30	喫煙+DEN
IV	30	喫煙+DEN +ケルセチン(0.1%)
V	30	喫煙+DEN +ケルセチン(1%)

試験期間は78週間で、その間動物の臨床観察、体重および摂餌量の測定を実施した。DENの投与(皮下)は試験開始後毎週1回12週間連続して行った。たばこ煙暴露はHamburg II型喫煙装置を用い、1日2回、毎週5日間行った。ケルセチンの投与は混餌投与方法を用い、IV群には0.1%、V群には1%の濃度でそれぞれ基礎飼料中に混入し試験期間中毎日投与した。試験終了時には各群の生存動物全例を剖検し、病理組織学的に検査した。また

途中死亡動物についてもその都度検査した。

## [結果と考察]

死亡率では、喫煙対照群(III群)に比べケルセチン投与群(IV、V群)の値は低い傾向にあり、試験後半には有意差も認められた。また、担呼吸器系腫瘍動物の平均寿命もケルセチン投与群においてより長く、ケルセチン投与による延命効果が認められた。

病理組織学的検査ではDEN投与に起因すると考えられる種々の腫瘍性病変が鼻腔、喉頭、気管、肺および肝臓に認められ、特に上部気道に好発した。これら腫瘍の種類および組織型など質的には群間の差異はなかったが、喉頭および気管腫瘍の発生時期は喫煙対照群に比べケルセチン投与群において有意に遅延あるいは遅延傾向を示し、この傾向は特に1%投与群においてより顕著であった。この結果から、ケルセチンは呼吸器系組織におけるDENの発癌性に対するたばこ煙のプロモーション作用を抑制する効果を有する可能性が示唆された。非腫瘍性病変では、舌、咽頭を含む口腔粘膜にDEN投与に起因すると考えられる角化異常、びらん、上皮過形成など白板症関連病変が観察された。この口腔病変の発生頻度は、喫煙対照群に比べケルセチン投与群において有意に減少あるいは減少傾向を示したが、明白な用量相関性は認められなかった。その他、鼻腔の炎症および上皮過形成、喉頭粘膜の扁平上皮化生、肥厚および上皮過形成、肺のマクロファージ集簇巣の増加、肋軟骨の過形成などたばこ煙暴露あるいはDEN投与に関連づけられる病変が各群に認められたが、その発生頻度において群間に差はなく、ケルセチン投与の影響は認められなかった。

○小川久美子, 長谷川良平, 高橋 智, 玉野静光, 伊東信行(名市大・医・1病理)

2, 2'-dihydroxy-di-n-propylnitrosamine(DHPN)はラット肺および甲状腺に発癌性を有することが知られている。今回は、このDHPNの発癌標的性に対する投与方法の影響を検索した。

【実験方法】6週齢雄F344ラットを用い、1群10ないし11匹とした。DHPNは500および1000mg/kgの用量で1回または3日間隔で2回腹腔内ないし皮下注射した群と0.1%および0.2%の濃度で飲料水に混じて1週間自由に摂取させた群を設けた。DHPN投与後は無処置で飼育し、実験開始より36週にて屠殺剖検した。肺は気管より10%緩衝ホルマリンを注入し固定後、左肺より2標本、右肺より4標本、各葉の最大断面を採取した。甲状腺は、上皮小体を含む横断面で気管と共に切り出した。その他主要臓器を含め、組織学的に観察した。

【結果】DHPNの総投与量はいずれの投与方法においても投与濃度によく相関し、また500mg/kgの2回投与、1000mg/kgの1回投与および0.1%飲料水を1週間自由摂取させた群で、それぞれ118, 112, 113 mg/kgとほぼ同じであった。肺腫瘍の発生は、0.2%飲料水投与群で10匹中8匹(80%)、平均で0.51個/cm<sup>2</sup>と最も高値を示し、1000mg/kgの2回皮下投与群がこれに続いた。腹腔内投与群でも比較的高率に肺腫瘍が発生したが、腺癌の発生は、1000mg/kgの2回皮下投与群で最も高く、また扁平上皮癌は同群でのみ認められた。一方、甲状腺腫瘍の発生率はいずれの投与方法においても肺腫瘍に比較し低かった。0.2%飲料水投与群と1000mg/kg 2回腹腔内投与群で約40%と最も高い発生率を示した。その他の臓器では、1000mg/kg 1回腹腔内投与群に腎盂移行上皮癌が1例みられた。

【結論】DHPNの発癌標的性は投与方法によって変動し、飲料水に混じて投与した場合は肺および甲状腺に、腹腔内投与では比較的甲状腺に、皮下投与では主に肺に標的性を現わし扁平上皮癌の発生が比較的高いことが示された。

Table 1. Tumor induction in rats given DHPN by various methods

Group / Treatment	No. of rats	DHPN Intake (mg/rat)	Lung				Thyroid	
			Adeno- noma	Carci- noma	Tumor		Ado- noma	Carci- noma
					Incidence	No./cm <sup>2</sup>		
ip	500 x1	10	56	0	0	0 (0)	0	0
	500 x2	11	118	1	1	1 (9)	0.04	0
	1000 x1	10	112	2	0	2 (20)	0.09	0
	1000 x2	11	236	3	1	3 (27)	0.14	3
sc	500 x1	11	56	0	0	0 (0)	0	0
	500 x2	10	118	1	0	1 (10)	0.03	1
	1000 x1	9	112	0	0	0 (0)	0	0
	1000 x2	11	236	7 **	4	8 (74) **	0.47	1
Drinking	0.1%	10	113	3	0	3 (30)	0.12	0
	0.2%	10	184	8 ***	2	8 (80) ***	0.51	2
Control	10	0	0	0	0 (0)	0	0	

vs control: \*\*; P<0.01 \*\*\*; P<0.001

低用量発癌物質 (Diethylnitrosamine, N-Methyl-N-nitro-samine およびN-Nitrosobis(2-oxopropyl)amine) の複合投与による膵発癌イニシエーションにおける加算的・相乗の効果の検討

○ 天沼利宏, 白岩和己, 高島吉治, 田村一利, 堤雅弘, 丸山博司, 小西陽一  
(奈良医大・がんセンター・腫瘍病理)

我々ヒトは環境中に微量ながら存在する複数の発癌物質・発癌修飾物質の作用を受けており、これがヒトの発癌の一要因として重要と考えられている。従って、実験動物における低濃度の複数発癌物質による複合発癌の研究は、ヒトの発癌に因与する要因の検索とリスク評価において重要性を増してきている。既に肝・膀胱等の臓器発癌における低濃度複数発癌物質による複合効果が示されてきているが、膵については未だ研究がなされていない。我々はハムスターに10週間で高率に膵管上皮由来の膵癌を発生させる中期発癌モデルを開発・報告してきた (J. Natl. Cancer Inst. 1988, Vol. 80, p1564-67)。今回、このモデルを用いて、膵に作用を持つとされる N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP)、Diethylnitrosamine (DEN) および N-methyl-N-nitrosourea (MNU) の膵発癌イニシエーションにおける低濃度での複合効果について検討した。

【結果および考察】

膵病変の出現を表1に示す。BOP20mg/kgの処置を行った第2群では、異型性のある過形成、癌、およびこれに過形成を加えた総膵病変の出現頻度・平均数は、第1群に対して有意に増加した。しかし、MNU・DENの単独処置ではいずれの膵病変にも有意な増加を認めなかった。これらを同時複合投与した第5群は、各膵病変の頻度・平均数は第1群に対して有意に増加したが、第2群のそれとは同等であり、加算・相乗の効果はなかった。隔日複合投与した第6群では、病変の頻度は第5群同様であり、平均病変数は第2から4群のそれを加算した値に相当したが、第2群との間に有為差はなかった。肝・肺・腎では、70mg/kgのBOP処置を行った第7群で胆管腫瘍が有意に発生した他は、有意な変化は見られなかった。

以上から、本実験条件下においてBOP・MNU・DENの複合投与は膵発癌イニシエーションに明かな加算・相乗的作用を示さないと考えられた。

【材料および方法】

6週齢の雌シリアンハムスター計116匹を用い、図1に示す如く7群に分けた。実験開始時にイニシエーション処置として、第1群は生理食塩水(対照群)、第2群は20mg/kg(s.c.)のBOP、第3群は10mg/kg(i.p.)のMNU、第4群は20mg/kgのDEN(i.p.)、第5群はこれらBOP/MNU/DENを同時に、第6群はこれらを一日おきに、そして第7群は70mg/kgのBOP(陽性対照群)を、それぞれ投与した。第2, 3, 4群の発癌物質投与量は、通常の発癌実験で用いられる量の1/3から1/5に設定した。この処置の11日後より、既報のごとくコリン欠乏食投与下に500mg/kg/dayのDL-Ethionineを4日間腹腔内注射し、基礎食に戻すと同時に800mg/kgのL-Methionineを腹腔内注射し、さらにその2日後に20mg/kgのBOPを皮下に注射する一連の操作(Augmentation pressure)を、図1に示すごとく計3回処置した。実験開始10週後、エーテル麻酔下に放血屠殺し、膵、肝、肺、腎を摘出・重量測定した。肝は主要3葉から・肺は各葉から・腎は左右各々から、最大剖面を得るようにスライスを切り出し、膵は gastric/splenic/duodenalの各葉をそのまま、1%に酢酸を含有する95%エタノール中で2時間固定後、100%エタノール中で一晩固定した。その後、常法に従ってパラフィン包埋・薄切し、H&E染色を施し、顕微鏡下に観察した。各群間の統計学的有意差を、病変の頻度についてはchi-square testを、平均病変数については Student's t-testを用いて各々検討した。

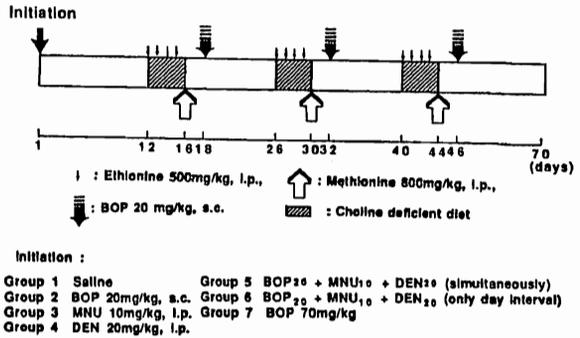


Figure 1. Experimental Protocol

Table 1. Incidence and mean numbers of pancreatic duct lesions in female hamsters initiated by BOP, MNU and DEN followed by three repeated augmentation pressurers

Group	Initiation	Effective number of hamsters	Incidence of pancreatic duct lesions			Mean number of lesions		
			Hyperplasia	Atypical hyperplasia	Carcinoma	Total lesions	Carcinoma	Total lesions
1	Saline	16	3(19) <sup>a)</sup>	0(0)	3(19)	5(31)	0.3±0.6	0.4±0.7
2	BOP <sub>20</sub>	15	8(53)	9(60)**	10(67)*	15(100)**	1.9±1.9	4.0±2.3***
3	MNU <sub>10</sub>	15	3(20)	3(20)	1(7)	6(40)	0.1±0.2	0.5±0.8
4	DEN <sub>20</sub>	15	5(33)	2(13)	4(27)	8(53)	0.3±0.4	0.8±0.9
5	BOP <sub>20</sub> ·MNU <sub>10</sub> + DEN <sub>20</sub> (Simultaneously)	20	16(80)**	8(40)*	13(65)**	18(90)**	1.7±1.8**	3.8±3.0***
6	BOP <sub>20</sub> ·MNU <sub>10</sub> + DEN <sub>20</sub> (One day interval)	20	14(70)**	11(55)**	15(75)**	17(85)**	2.5±1.9***	5.4±4.0***
7	BOP <sub>70</sub>	14	13(93)**	11(79)**	14(100)**	14(100)**	3.0±1.8***	7.1±2.7***

a) Numbers in parenthesis is % of positive animals.  
 \*, \*\* and \*\*\*: Significantly different from group 1 at p<0.05 (\*), p<0.01 (\*\*), and p<0.001 (\*\*\*)

19. 4-Nitroquinoline 1-oxide 誘発ラット舌発癌過程における核小体形成体数の変化

○田中卓二、杉江茂幸、吉見直己、小島敏弘、奥村 中、森 秀樹（岐大・医・病理）

核小体には RNA polymerase I により転写される rRNA 遺伝子 (rDNA) が存在する大きな DNA ループが含まれ、この DNA ループは核小体形成体 (nucleolar organizer region: NOR) と呼ばれている。一般に静止期の細胞の核小体には fibrillar center とその周囲に dense fibrillar component があり、これらに近接して酸性リン酸化タンパクが認められる。これらのタンパクは好銀、非ヒストン酸性タンパクで、銀染色により染色され、核小体形成体関連タンパク (AgNOR) と呼ばれている。近年、核小体形成体の染色法が改良され、組織切片に応用可能となり、AgNOR 数が細胞増殖能を反映することから各種臓器における腫瘍の良・悪性の判定に利用されるようになった。我々はこれまで動物発癌モデルによる発癌過程とその経時的な AgNOR 数の変化をラット肝、膀胱発癌モデルで報告し、前癌病変、腫瘍と異型度が強くなるに従い AgNOR 数が増加することを明らかにした。今回は 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) 誘発ラット舌発癌モデルで AgNOR 数の経時的変化を観察し、また画像解析による検討を加えたので報告する。

【材料と方法】 6週齢雄 A C I / N ラット (平均 120 g 体重)、27匹を用い、22匹に 10 ppm 4-NQO 溶液を 36週間投与し 12週、20週、28週で各々4匹ずつ、36週で10匹屠殺・剖検した。別に、無処置対照群として5匹のラットを実験開始後36週で屠殺・剖検した。剖検後、舌は10%中性緩衝ホルマリンで固定しパラフィン包埋後、2枚の連続切片 (厚さ 2  $\mu$ m) を作製し、それぞれヘマトキシリン・エオジン染色、AgNOR染色 (銀コロイド染色) を施した。得られた舌病変のうち、過形成20例、異形成20例、乳頭腫6例、扁平上皮癌4例について、また無処置群ラットの舌、4-NQO 処置群ラット舌の非病変部位について AgNOR 数を測定した。測定は各病変の450倍白黒写真を撮り、その写真上で各例200個の細胞について行なった。AgNOR 数、総面積の画像解析は光学顕微鏡 (オリンパス BH-2、対物レンズ DRY x 100) の三眼部にモノクロ CCD カメラ (浜松ホトニクス C 3057) を接続した画像解析装置 S P I C C A II (日本アビオニクス) を介して TV スクリーンに映しだされる入力画像で核、AgNOR の二値化を行い測定した。統計学的有意差検定は Student's t-test を用いて行なった。

【結果】 AgNOR は細胞核内に黒色ドットとして明瞭に染色され、細胞1個あたりの平均個数は正常扁平上皮で  $1.52 \pm 0.03$ 、4-NQO 処置非病変部で  $1.58 \pm 0.04$ 、過形成で  $1.84 \pm 0.15$ 、異形成で  $2.32 \pm 0.12$ 、乳頭腫で  $2.23 \pm 0.10$ 、扁平上皮癌で  $3.06 \pm 0.26$  であった。統計学的有意差検定では異形成・乳頭腫間で有意差を認めないものの、他の病変間では有意差 ( $P < 0.01$ ) が認められた。画像解析による AgNOR 数・総面積の測定でも概ね同様の結果を得、異型度が増すにつれて増加し、また、そのばらつきも大きくなり、分布パターンも明らかに異なった。一方、個々の AgNOR の面積は異型度が増すにつれて小さくなる傾向が認められた。

【結論】 これまでの肝・膀胱発癌過程における結果と同様に 4-NQO 誘発舌発癌でも発癌過程とともに経時的な AgNOR 数・面積の変化がみられ、AgNOR 数・面積の測定は腫瘍の良・悪性の判定のみならず、境界病変の細胞増殖能の評価にも応用可能と考えられた。また、これらの画像解析によるより客観的な評価も可能である事が示唆された。

EstrogenおよびMNUによる  
ラット子宮内膜腺癌誘発の試み

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

我々は本学会でDonryuラットに子宮内膜腺癌が高率に自然発生し、その成立に内分泌異常が深く関与していることを報告した。今回は子宮内膜腺癌をさらに高率かつ早期に発生させる目的で、estrogenとN-methyl-N-nitrosourea(MNU)を用いてDonryuラットの子宮内膜腺癌の誘発を行ったので報告する。

雌性Donryuラット91匹および腺癌遺伝系のF344ラット87匹を各々1群あたり20-24匹よりなる4群に分けた。第1群は無処置対照群とし、第2群では3カ月齢よりestradiol dipropionate(ED)の100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ を週1回の割合で計4回皮下投与し(ED群)、第3群には4ヶ月齢から腫瘍の検査で発情前期ないしは発情期にあたる動物にMNUの20mg/kgを1週あたり1回、計4回腹腔内投与した(MNU群)。第4群では3ヶ月齢よりEDの100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ を、また4ヶ月齢からMNUの20mg/kgをそれぞれ週1回の割合で計4回、第2および第3群と同様の方法で投与した(ED+MNU群)。これらの動物については投与開始後、性周期を連続的に調べた。15ヶ月齢で全生存例を屠殺・剖検し、腫瘍あるいは生殖器を採取したのち組織学的検査を行った。また、各群5-6例を選び、性ホルモンのestradiol-17 $\beta$ とprogesteroneの血漿中の値をRIA法で測定した。

両系ラットともに、MNUおよびMNU+ED群で悪性繊維性組織球腫あるいは乳腺や腫の腫瘍によって死亡する例が多くみられた。特にDonryuラットのED+MNU群では15ヶ月齢での生存率が34.8%と低値を示した。子宮内膜の増殖病変については、DonryuラットではED+MNU群で、腺癌および腺腫の発生率が対照群の各4.3%および13.0%に対して、19.0%および19.0%と増加傾向を示し、ED群およびMNU群では過形成の増加傾向が認められた。F344ラットでは、MNU群およびED+MNU群で過形成が明らかな増加を示した。これらの病変を子宮以外の腫瘍による死亡例を除き、およそ15ヶ月齢まで生存した動物について比較すると、DonryuラットのED+MNU群では腺癌と腺腫がそれぞれ40.0%と30.0%の出現率を示し、対照群に比し高値が認められた。しかし、最終解剖時に検索した性ホルモン値では、DonryuラットのED群でestrogen:progesterone(E/P)が高値を示したのみで、腺癌発生率が高かったED+MNU群では対照群と同等であった。また、生存例の卵巣重量および卵巣と腫上皮の組織所見とED+MNU群の腺癌の発生との関連性も認められなかった。一方、各投与群で投与直後より開始した性周期の検索において、ED群とED+MNU群では持続的発情がDonryuおよびF344ラットともに、ED投与1ヶ月後に83-100%の範囲で出現した。投与2ヶ月後でF344ラットでは、ほとんどが正常の性周期に復したが、Donryuラットでは投与2カ月後(生後5ヶ月)より投与4ヶ月後(生後7ヶ月)まで持続的発情頻度が60%以上の値を示し、その程度は対照群または背景データに比し投与2ヶ月後で4-5倍、投与3-4ヶ月後で約2倍であった。

以上の結果より、DonryuラットへのEDとMNUの複合投与により、子宮内膜腺癌が誘発される可能性が示された。これは本ラットにおいてはED投与によって持続的発情が早期に発現したことに加え、MNU単独群での内膜過形成の頻度の増加から推測されるMNUの子宮内膜上皮の増殖促進作用が、このホルモン環境下でより増強されたためと考えられる。

## 21. MNNG/TPA処置マウスの皮膚に認められた骨原性腫瘍 (Osteoma cutis, Osteosarcoma)

○宮川義史, 佐藤精一, 柿本恒知, 岩坂俊基, 滝沢春雄 (日本たばこ・安全研)

### ・緒言

皮膚原発の骨原性腫瘍はヒトにおいて稀な疾患であり、病理発生も明らかにされていない。実験動物においてもその発生は極めて稀で、わずかにネコで数例の報告があるのみである。我々は、皮膚2段階発癌モデルで特定の発癌剤処置を行ったマウスの皮膚に骨原性腫瘍の発生を認めたので報告する。

### ・実験材料と方法

第5回本学会で報告した材料の再評価を行った。7週齢のBALB/c, C57BL/6, DBA/2, BDF1, CDF1マウス各120匹を用い、イニシエーション処置として、7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 50 $\mu$ gあるいはN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) 500 $\mu$ gを背部皮膚に1回塗布した後、動物を二分し、一方(各群30匹)には12-0-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 0.5 $\mu$ gを週3回、残りの半数には溶媒のみを2年間にわたり塗布した。実験開始108週後に全生存動物を剖検し、死亡例も含め全例について皮膚を中心に病理組織学的検索を実施した。

### ・結果

MNNG/TPA群でCDF1を除く4系統で背部皮膚に骨原性腫瘍の発生を認め、その発生率は7~20%であった。DMBA/TPA群およびイニシエーションのみの処置群では1例の発生も認めなかった。発生した腫瘍は光顕下で初めて確認される小型のものから、直径2~3cmの白色盤状硬結節として認められるものまで様々な大きさで、大型のものでは局所の皮膚が隆起し、しばしば潰瘍形成を伴っていた。組織学的に、腫瘍は真皮および皮下織に単発あるいは多発して認められ、大多数はヒトおよびネコで報告されているOsteoma cutisと同一の病理組織像を示した。すなわち、よく成熟した緻密骨あるいは海綿骨の増殖より成っており、骨組織中には骨細胞がみられ層板構造も明らかで、血管を入れたハヴァース管も認められた。骨芽細胞は場所によっては認められたが、破骨細胞は極めて少数しか認められなかった。稀に表皮を突き破って増殖するなどexpansiveな増殖が認められたが、骨組織を形成する細胞に異型像は認められず良性病変と考えられた。BALB/cマウスの1例にOsteosarcomaが認められ、類骨の形成並びに異型性の強い骨芽細胞様細胞の増殖が認められた。腫瘍の他、MNNG/TPA群では真皮から皮下織にかけて未分化な間葉系細胞の瀰漫性あるいは巣状増殖がしばしば認められた。

### ・考察

Osteoma cutisは既存病変を伴わず、一次的な病変であることが診断上の決め手となっている。本実験の症例には既存病変が認められないことから、上記所見についてOsteoma cutisと診断した。ヒトではOsteoma cutisに関し、真の腫瘍か否かの議論が一部でなされているが、本実験では、特定の発癌剤処置群にのみ本病変が認められたこと、および同一の処置群に明らかな悪性の骨腫瘍が認められたことより腫瘍性の病変ないしは腫瘍発現に関連した病変と考えられた。病理発生学的には未分化な間葉系細胞の増殖像所見が注目され、MNNGによりイニシエートされた多分化能を持つ間葉系細胞が、TPAの分化修飾、癌化促進作用等を受け、骨原性腫瘍発生へと導かれたものと推測された。

伊藤金次, 山田尚士,<sup>1)</sup> 伊藤敦子<sup>2)</sup> <sup>1)</sup> 東邦大病理, <sup>2)</sup> 同 法医学

【目的】Methylene chloride (MC) は塗装関係の溶媒や衣類の染み抜き、冷媒等に多用される有機溶媒であるが、近年、肝障害や発癌性を指摘され注目されている。本物質は、クロロホルムや四塩化炭素と化学構造は類似するものの、肝に対する反応性はやや異なるとされている。我々はMCを短期間暴露した肝の動態を5-bromodeoxy-uridine (BrdUrd)によるDNA合成とFlow cytometry (FC)を使用し、cell cycleの解析し、さらに解毒酵素ないしは、前癌病変のマーカーと考えられているGlutathion S-transferase (GST)の局在を免疫組織化学的検索と電顕的観察からMCの肝に対する反応性を検討した。

【方法】Wistar系雄性ラットを暴露チャンバー内に入れ、MCを1000 ppm 2時間吸入後例、2時間吸入週2週間及び3週間例について検討した。最終暴露終了後、各臓器内のMC量をガスクロマトグラフィーにて絶対検量線法にて測定した。更に光顕的観察と電顕的検索を行った。FCの解析はパラフィン切片および無包埋組織を用いてPropidium iodide使用し、FACS (Becton Dickinson社)を用いて測定した。BrdUrd及びGST-P及びYbYbの局在はABC法による免疫組織化学にて観察した。

【結果、及び結語】MC濃度は血液中 $21.90 \pm 3.73 \mu\text{g/g}$  脳  $7.22 \pm 3.19 \mu\text{g/g}$ 、脂肪組織 $24.09 \pm 2.68 \mu\text{g/g}$ 、心  $4.63 \pm 1.07 \mu\text{g/g}$ 、腎 $8.36 \pm 1 \mu\text{g/g}$ 、肺 $4.05 \pm 1.68 \mu\text{g/g}$ で、肝の集積は $3.78 \pm 1 \mu\text{g/g}$ と低い値を示した。光顕所見は、肝細胞の腫大、類洞の狭窄、空胞変性や小滴性脂肪変性が認められたがその変化は軽微であり、肝細胞壊死も殆ど認めなかった。しかし多数の核分裂像が認められた。電顕的にはelectron lucent fat dropletの増加やミトコンドリアの腫大しや変形 (irregularly, ring-profiled, longitudinally shaped) やmicrobodyの増加が見られた。BrdUrdの取り込みは対照例と比較し、2週、及び3週例で有意( $P < 0.001$ )に増加を示した。FCの測定ではコントロール群、 $G_0 + G_1$ 期 45% , S期 7%、 $G_2$ M期 48% , Me暴露群では、 $G_0 + G_1$ 期 44% , S期 14%、 $G_2$ M期 43%で、S期の割合が上昇し、S期への集積が認められた。コントロール群のGST-P-YbYb (Yb)の肝細胞での陽性は殆ど認められなかった。Pは胆管上皮 (C) に陽性を示したが、肝細胞では陰性であった。MC群では、Ybは主として中心静脈域に放射状陽性が出現した。Pはcontrol群と実験群に共にCにのみ陽性を示した。以上のことからMCの短期暴露でも早期からDNA合成の増加を示すことが判明した、しかしGSTの染色所見から肝細胞の脱分化まだ起こしてないことが示唆された。

## 23. LECラットの肝障害発現に対する化学物質長期投与の効果

○泉 啓介, 上原久典, 大塚 久, 松本耕三 (徳大・医・2病理, 動物実験)

持続性に肝細胞障害を有し、後に肝細胞癌が発生するLECラットの肝細胞壊死の原因として何らかの代謝障害の存在が疑われているが、まだわかっていない。LECラットにおける薬剤を含む化学物質の長期投与による肝発癌に対する効果の検討を進めているが、あるものはその投与により黄疸発生を促進し早期に死亡に至り、あるものはその発生を抑制することがわかったので報告する。

### [材料と方法]

実験 1: 雌雄LECラット (計207匹) をそれぞれ6群に分け、6週令より以下のような処置を続け、投与開始後30週まで観察した。なお投与量は文献的記載およびF344ラットでの経験から決定した。Group 1: D-galactosamine hydrochloride (GAL), 300mg/kg を週1回皮下注射; Group 2: 0.9% NaCl を週1回皮下注射; Group 3: 0.3% dipyrone (DP) を連続経口投与 (飲料水); Group 4: 0.05% phenobarbital (PB) 経口投与 (飲料水); Group 5: 0.3% clofibrate (CF) を経口投与 (混餌); Group 6: 無処置。途中死亡動物の肝等を組織学的に検索した。

実験 2: 13週令および24週令の雄性LECラット (計7匹) をそれぞれ2群に分け、実験 1の1, 2群と同じ処置を5週間行い、最終投与の1週後に屠殺、肝を組織学的に検索した。

### [結果]

実験 1: Fig. 1に生存曲線を示す。0.05% PBの投与開始後、雌では6週より、雄では8週より高度の黄疸を起こし死亡し始める。続いて雌では8-11週よりその他の各群において、雄では12週より0.3% CF投与による死亡が起こった。しかし、20週以降の死亡はわずかである。各群の生存率と黄疸発生率は、雄: Group 1, 21/21(100%) / 2/21(10%); Group 2, 17/19(89%) / 15/19(79%); Group 3, 17/19(89%) / 6/19(32%); Group 4, 7/19(37%) / 14/19(74%); Group 5, 4/19(21%) / 16/19(84%); Group 6, 15/20(75%) / 11/20(55%); 雌: Group 1, 10/15(67%) / 11/15(73%); Group 2, 9/15(60%) / 10/15(67%); Group 3, 10/15(67%) / 11/15(73%); Group 4, 4/15(27%) / 12/15(80%); Group 5, 4/15(27%) / 12/15(80%); Group 6, 10/15(67%) / 11/15(73%) であった。雌雄とも0.05% PB, 0.3% CFによる死亡率が最も高い。逆に雄のみであるが、300mg/kg GALによる死亡はなく、黄疸発生率も10%と有意に低い。0.3% DPによる黄疸発生率も低い。いずれの群の途中死亡動物の肝も高度の肝細胞変性、壊死を示していた。実験 2: 動物数が少ないが、13週令、24週令ラットともに300mg/kg GAL投与群と0.9% NaCl投与群との間に明かな組織学的差違は見られない。

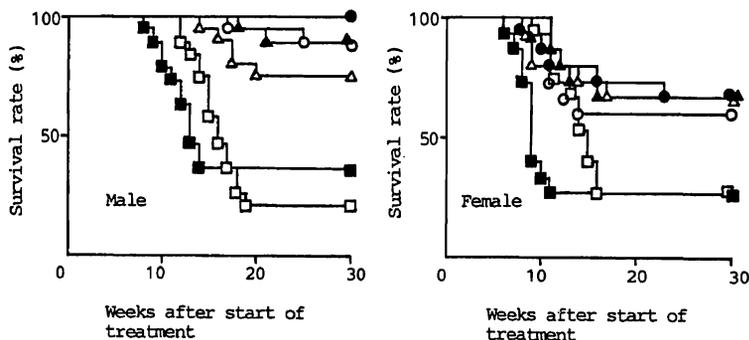


Fig. 1. Survival rates of male and female rats in each group  
 ●●, GAL, 300mg/kg; ○○, 0.9% NaCl; ▲▲, 0.3% DP; ■■, 0.05% PB;  
 □□, 0.3% CF; △△, untreated

### [考察]

LECラットは他の系統のラットに比べてPB, CFによる肝障害が強く現れること、特に実験開始後6-19週 (生後12-25週) において強くその時期を過ぎるとほとんど死亡に至らないことが明らかになった。その原因としてはこの系で指摘されているP450等の減少による薬物代謝の障害が考えられる。GAL投与によって雄の黄疸発現が抑制されたが、その機構に関しては細胞回転等についてさらに検討中である。

○今井俊夫、平松浩二、青木豊彦、日比野信裕、福田種男、本岡覚、中野渡純一、山津清實  
(エーザイ・安全研)

## はじめに

我々は昨年の本学会において、コリンエステラーゼ阻害薬であるフィゾスチグミンあるいはイソフルオロフェートにより、ラット下垂体中間部におけるメラニン細胞刺激ホルモン(MSH)産生細胞の肥大が誘発されることを報告した。しかしながら中間部MSH産生細胞は、前葉のプロラクチン(PRL)産生細胞とともに、主にドパミンD<sub>2</sub>受容体を介する抑制性調節を受け、ハロペリドールなどドパミン拮抗薬により、フィゾスチグミンなどと同様の組織学的変化が誘発されることが報告されている(1,2)。今回の実験では、ラット下垂体のMSH産生細胞あるいはPRL産生細胞における組織学的変化について、フィゾスチグミンとハロペリドールを用いて比較検討した。

## 実験材料および方法

6週齢のSD雄ラット40匹を4群に分けて実験に供した。1群には溶媒対照群として0.5%メチルセルロース水溶液を強制経口投与した。2、3群にはフィゾスチグミン4、8mg/kgを、4群にはハロペリドール10mg/kgを1日1回強制経口投与した。各群とも投与開始4週間後にペントバルビタールナトリウム麻酔下にて剖検し、下垂体を病理組織学および免疫組織学的に検索した。

## 実験結果

前葉における変化はハロペリドールを投与した4群においてのみ認められた。顕微鏡的には明らかな染色性を示さない小型円形細胞の増加がみられ、抗PRL抗体による免疫染色標本では、陽性細胞が比較的大型の陰性細胞をとり囲むように著しく増加している像がみられた。一方中間部における変化はフィゾスチグミンあるいはハロペリドールを投与した2~4群において認められた。顕微鏡的に細胞は肥大し、細胞内には好酸性あるいは一部好塩基性の小体が核に隣接して認められた。電顕的には、膜に囲まれた電子密度の高い顆粒を伴う多数のゴルジ装置、発達した粗面小胞体など細胞内小器官の変化がみられ、特に大型細胞の核周辺には、著しく発達したゴルジ野とそれを取り巻くミトコンドリアが認められた。中間部MSH産生細胞には多数の神経終末が接着してみられ、終末内部にはミトコンドリアおよびシナプス小胞が認められたが、それらの構造に特に薬物投与に起因する変化は認められなかった。

## まとめ

ハロペリドール投与による組織学的変化は、MSH産生細胞およびPRL産生細胞にみられたが、フィゾスチグミン投与ではMSH産生細胞にのみ認められた。アセチルコリン作動薬のMSH産生細胞に対する選択的な変化の発現機序を明らかにする為、今後、ラット下垂体中間部における神経支配の検討を進める予定である。

(1) Saland, L.C.: Cell Tissue Res 194, 115 (1978)

(2) Chronwall, B.M. et al.: Endocrinology 120, 1201 (1987)

## 25. コリンエステラーゼ阻害剤の長期連続投与によるラット下垂体前葉への影響

○ 小笠原裕之・佐藤秀隆・畝山智香子・矢沢り  
古田京子・今井田克己・林 裕造（国立衛試・病理）

ラット下垂体後葉・中葉および前葉におけるアセチルコリン（ACh）の存在が近年明らかになり、下垂体前葉では、副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）産生細胞が主な合成・放出部位とされている。下垂体前葉でのAChの役割については、*in vitro*の研究で、AChが成長ホルモン（GH）およびプロラクチン（PRL）の放出を刺激するという知見や、逆に合成副腎皮質ステロイドの存在下において、放出を抑制するという知見もあり、まだ不明な点が多い。AChの分解酵素であるコリンエステラーゼを不可逆的に阻害するDiisopropyl fluorophosphate（DFP）を短期間投与すると、下垂体中葉が腫大すると報告されているが、前葉に対する影響は知られていない。今回、DFPを長期間投与した場合のラット下垂体前葉およびACTHの標的器官である副腎に対する影響を、SDおよびF344の2系統のラットを用いて検討した。

### 【実験材料および方法】

動物は、7週齢のF344およびSD系雄ラットを用いた。両系統とも、それぞれ5匹ずつにオリブ油に溶解したDFPを1mg/kg/5日、20週間皮下投与した。溶媒対照群として同数の動物を設けた。21週目に屠殺・剖検し、下垂体および副腎を重量測定後ホルマリン固定し、下垂体は矢状断にて切り出し、両臓器ともパラフィン包埋した。下垂体は連続切片を作製し、正中線付近の切片を選び、HE染色による光顕的観察を行った。また、前・中・後葉の面積および前葉好酸性細胞の面積を画像解析装置（OLYMPUS）により測定した。

### 【結果および考察】

一般状態の変化としては、投与期間中に軽度の流涎が認められたのみであった。体重の推移は、両系統ともに対照群と比較してDFP投与群に増加抑制傾向が認められた。投与群の下垂体重量は、F344系では絶対・相対重量ともに、SD系では相対重量にのみ、対照群と比較して有意な低下を認めた。副腎重量には両系統とも差はみられなかった。

病理組織学的には、下垂体後葉および中葉に明らかな変化はなかったものの、前葉に萎縮が認められ、それは主に好酸性細胞の萎縮によるものであった。この傾向はSDよりもF344系に強くみられた。画像解析の結果、前葉の面積は、対照群と比較し投与群でF344系が31.5%、SD系が23.2%減少し、好酸性細胞の面積は、F344系が33.0%、SD系が18.1%減少した。副腎では、F344投与群の皮質束状帯細胞に小空胞形成と軽度な腫大が認められたのみであった。

今回の実験において、DFP投与による下垂体前葉への影響は、SD系よりF344系に強く現れ、系統差がみられた。今回認められた好酸性細胞の萎縮の機序は明らかではないが、DFP投与に伴うACh動態の変化、視床下部からの放出抑制ホルモンを介する影響およびその他のホルモン環境の変化などの可能性が考えられた。

## 毒性試験のための病理コンピュータシステム

○大石裕司, 小林一博 (藤沢薬品安研) 林貢平 (同技情室) 古本久修 (富士ファコム制御) 岡村宣和 (富士通)

今日あらゆる場面でのコンピュータ化が急速に展開している。新薬や化学物質の毒性試験に於いても例外ではなく多くの研究機関で必須となりつつあるが、数値以外の曖昧な所見データを簡便且つ正確に入力し処理し得るシステムは少ない。

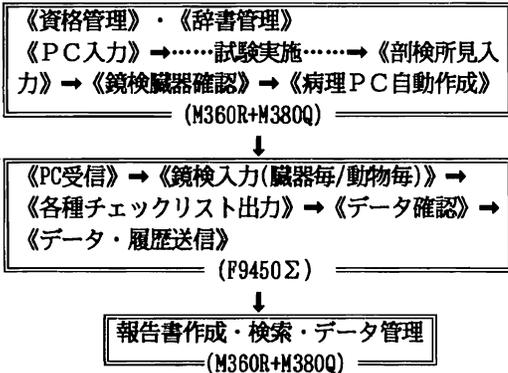
我々は、GLP準拠の藤沢薬品安全性試験管理システム = FTS (Fujisawa Toxicity study management System) を独自に開発し運用してきた。FTSでは各サブシステムで必要とする詳細な試験計画(PC)をホストコンピュータに一括登録し、それに基づいて全ての作業を行なう。病理システムはFTSの1サブシステムで、病理所見を筆記せずに鏡検者自ら直接入力するシステムである。ほぼ2年間の実用経験で充分満足できるシステムであると思われるので報告する。

### 【システム構成】

ホストコンピュータ：FACOM M360R+M380Q

病理システム端末：FACOM F9450Σ

### 【処理の流れ】



病理システムでは当初のPCに加え、収集された動物の屠殺・剖検情報が自動的に病理PCに反映される。従って、当初指定されていなかった中間用量の死亡動物や剖検で異常の見られた臓器などは洩れ落ちることなく病理検査対象として病理システムに送信される。逆に、検査対象動物あるいは臓器の変更が必要な場合は試験計画サブシステムにアクセスし試験毎に設定された有資格者により変更され、再受信となる。

病理所見入力も同様に資格チェックがされ、その入力方法は臓器毎と動物毎に行なう方法に大きく分かれるが、任意に選択できる。臓器単位入力では同時に5臓器まで入力可能であり、1枚のスライドに複数臓器が載っている場合にも対応できる。いずれの入力

画面でも、剖検で所見の見られた臓器には赤マークが、臓器重量がバックグラウンドデータの範囲外の臓器には“+”あるいは“-”が表示される。

各所見は米国NCTRのTDMSとほぼ同じく“部位”+“所見”+“修飾語”という形に分解し、それぞれを臓器ごとに画面表示される辞書から選択して複数個自由に組み合わせ所見を完成させる方式をとっている。部位・所見は臓器に対してツリー構造で分類表示され、しかも各画面で用語の表示順も容易に指定できる為、入力でほとんど迷うことなく用語が選択できる。なお辞書はデータ管理サブシステム下で一括管理し更新時に病理システムに転送する。一旦作成した所見は臓器毎の既存所見として登録され同一所見を入力する場合は、それらを選択する。病変の程度は‘±’~‘卅’で表示し必要ならば70文字以内のフリータームでコメントの付加も可能である。何れの画面に於いても、1タッチで日本語⇄英語の変換表示が可能である。一方、チェックリストは何時でも種々の帳票が日本語⇄英語で出力でき途中経過を知る事ができる。また、万一のハードウェアトラブル対策として鏡検データをフロッピーディスクに任意にバックアップできる。鏡検終了として確認を宣言すると、未入力や論理的に矛盾のあるデータをチェックし指摘する機能も有している。

確認後、鏡検データはホストコンピュータに一括送信され、報告書サブシステム下で各種報告書用の帳票を出力する。以上の機能はカーソルキー、ファンクションキーまたはテンキーボードのみで操作でき、しかも画面上にファンクションガイドも表示される為、わずかな導入教育で容易に操作可能である。

以上、本システムの基本設計思想は、

- ④ GLPを完全に満足させるダイレクト入力システム、
- ⑤ 完全なデータ保護、
- ③ 操作ミスに対するチェック機能、
- ① 従来の鏡検作業の効率化、であった。

④に対しては、試験識別から端末IDに至る生データとしての条件を全て満たしており、①~⑤においても充分満足できるものとして完成できた。

さらに、本システムの導入後の利点として、以下のものが上げられる。

- ① 集計・転記ミスが無くなった。
- ② 所見用紙の作成・記載が必要無くなった。
- ③ 所見用語の統一化がはかれた。
- ④ 所見のバックグラウンドデータの蓄積が自動化された。
- ⑤ 病理検査以外の各種検査結果を画面上で検索できる。

## 27. ラット肝 GST-P陽性細胞進展の三次元的解析

○加藤俊男, 立松正衛, 岩崎省吾, 小川久美子, 伊東信行(名市大・医・1病理)

### 【はじめに】

ラット肝発癌過程の初期より出現する glutathione S-transferase placental form (GST-P) 陽性 single cellは、その一部が GST-P陽性巣 (foci) へ移行し、多くは single cellのまま止まることを明らかにしてきた。そこで今回、single cell が種々の形態を示す foci へどのように連続するのか、さらに既存の肝小葉とどのような相関性をもって发育進展するのかを、ステレオロジーに基づいたコンピューター画像解析により検討した。

### 【実験方法】

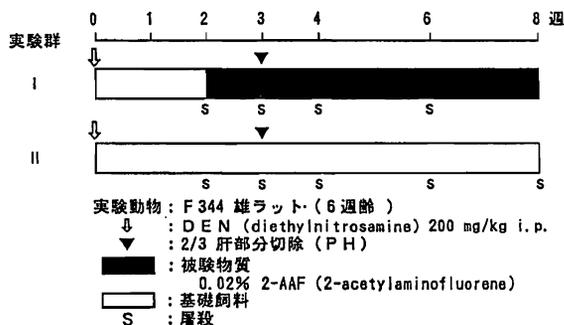
6週齢のF344雄ラット50匹を用い、DEN (diethylnitrosamine) 200mg/kgを腹腔内注射 (i.p.) し、2週後より0.02% 2-AAF (2-acetylaminofluorene) を6週間混餌投与し、実験開始3週後に肝部分切除 (PH)を行った。DEN イニシエーション後 2, 4, 6, 8週で動物を屠殺し、肝臓の GST-P免疫染色を行い、400-600枚の連続切片を作製し、コンピューター画像解析装置を用い、三次元再構築により検討した。

### 【実験結果】

GST-P 陽性 single cellは、肝小葉内において場所に偏りなく random に出現した。single cellの一部は球型または卵型の foci へと進展した。その形状で次第に foci は大型化し、さらに foci が近接している場合、发育に伴い互いに融合し合いあたかも分岐したような複雑な形態を示した。こうした融合は、fociが小葉大に達するまでは、主に同一小葉内で進行した。

### 【考察】

GST-P 陽性巣は、肝小葉内で数個が融合増殖して1個の複雑な形態の foci を形成し、その发育は既存の小葉構造に規制される傾向が認められた。このことから切片上の foci の数は必ずしも実際の肝臓内の foci の数を反映しないことが示唆された。従って、fociの数=inductionの強さと単純には言えず、preneoplastic foci形成の程度で発癌性の強さを類推する場合数のみならず面積、体積などを合わせた総合判断が必要になった。



実験デザイン



第 2 日

一 般 講 演

および

ミニシンポジウム

○田中丸善洋、茶谷文雄、浜島敏之、佐々木啓（武田薬品・薬剤安全性研究所）

〔はじめに〕アラビアゴム(GA)は毒性がないことから、薬剤の毒性試験において経口用懸濁剤として常用されているが、急性あるいは亜急性毒性試験においては非経口投与することがある。また、GAの非経口投与による病理組織学的変化は腎臓について報告されている。今回、我々は肝臓および脾臓に顕著な変化を認めたので、その変化の用量相関性、投与経路差および回復性などについての検討結果を報告する。

〔材料と方法〕GA液の500mg/kg/日を7週齢の雌Jcl:Wistarラットに4日間腹腔内、静脈内、皮下および経口投与(IP, IV, SC, PO)し、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節および小腸パイエル氏板の変化を病理組織学的に検索した。また、10~1000mg/kg/日の4日間IP後の肝臓および脾臓の変化、1000mg/kgの2週間IP後の上記臓器の変化ならびに1000mg/kgの4日間IP後30日および60日間休薬した場合の肝臓および脾臓の回復性についても検討した。なお、肝臓、腎臓、脾臓および胸腺重量の測定ならびに血液検査も実施した。

〔結果〕肉眼的には4日間投与のIPおよびIV群の500mg/kg以上で重量増加を伴う肝臓の軽度腫大および褪色、脾臓の腫大がみられた。顕微鏡的にはSudanⅢおよびPAS染色陰性を示す空胞がび慢性に肝細胞、類洞壁細胞および脾臓の細網細胞にみられ、電顕的には空胞内に低電子密度の不定型物が多数認められた。この空胞は、肝臓では50mg/kg以上で、また、脾臓では500mg/kg以上で用量相関性に認められ、投与経路別にはSC<IP=IVの順で強く発現したがPOでは変化はなかった。2週間投与では肝細胞および脾臓の細網細胞の空胞は風船様となり、腎臓のメサンギウム細胞の空胞化および尿管上皮細胞の硝子滴沈着を認めた他、腸間膜リンパ節や小腸パイエル氏板にも少数の泡沫細胞がみられた。30日および60日間の休薬では肝小葉周辺部肝細胞および脾臓に回復性がみられた。なお、血液生化学的には血漿コレステロールの高値、ならびに総タンパク、トリグリセライド、アルブミンおよびA/G比の低値が認められ、休薬によりトリグリセライドの低値を除き回復性が認められた。

〔考察〕GAの非経口投与で肝臓および脾臓に用量に相関した空胞化がみられたが、肝細胞の方が脾臓の細網細胞よりも空胞化しやすく、両細胞へのGAの取り込み様式の差違が示唆された。空胞はGAあるいはその代謝物の蓄積によるものと推察した。肝小葉中心部肝細胞の空胞は休薬60日後も残存しており、肝細胞内GAの緩徐な代謝・排泄が示唆された。GA投与後の血液生化学的变化はGAの肝細胞内蓄積による肝機能低下に起因すると考えられた。これらの成績は、非経口的に投与されたGAは主要臓器である肝臓に変化を惹起することを示しており、非経口用懸濁剤としてGAを用いる場合は毒性評価にその影響を考慮する必要があると思われる。

29. 2-Amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeA $\alpha$ C)により  
発生したラット唾液腺および膵臓の萎縮

○玉野静光<sup>1</sup>、広瀬雅雄<sup>1</sup>、白井智之<sup>1</sup>、福島昭治<sup>2</sup>、伊東信行<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>名市大・医・1病理、<sup>2</sup>阪市大・医・1病理)

【はじめに】 MeA $\alpha$ Cは大豆グロブリンの過熱分解産物中に見出されたヘテロイクリックアミンで、肉の焼け焦げおよびタバコ煙にも含まれている。強力な変異原性を有し、CDF<sub>1</sub>マウスに肝癌および褐色脂肪組織の血管肉腫を発生させる。今回、MeA $\alpha$ CがF344ラットの唾液腺および膵臓に萎縮を発生させることを見出したので報告する。

【方法】 6週齢のF344ラット雄の40匹を1群各々20匹に分け、MeA $\alpha$ Cを飼料中濃度400および800 ppmで投与し、400 ppm群は52週後、800 ppm群は26週後に屠殺剖検した。なお、それぞれに無処置対照群を設けた。尿、血液、血清生化学的検査を実施し、唾液腺と膵臓ならびに尿と血清中のアミラーゼ活性を測定した。さらに全臓器を病理組織学的に検索した。

【結果】 体重は用量に相関した増加の抑制が見られ、800 ppm群では12週より、400 ppm群では30週より減少した。死亡例は800 ppm群では19週から、400 ppm群では48週から認められ、屠殺時の生存率はそれぞれ25% (5/20) と75% (15/20)であった。摂水量は800 ppm群では10週より、400 ppm群では28週より増加し始め、一般状態の変化として自発運動の低下、羸瘦を認めた。尿検査では、著明な尿量の増加、比重の低下、蛋白の増加およびpHの低下を認め、800 ppm群では、さらに尿沈渣に赤血球、尿細管上皮およびデンプン顆粒が観察された。血清生化学検査では、BUN、総コレステロールの著明な上昇が見られたほか、GOT、GPT、総ビリルビンの上昇、Al-pおよびアルブミンの減少が観察された。アミラーゼ活性は、唾液腺ならびに血清と尿では上昇したが、膵臓では低下していた。肉眼的に唾液腺は特に顎下腺および舌下腺が小型化し、膵臓は不透明ゼリー状の斑点を認めた。病理組織学的に、唾液腺では主として介在部の著明な萎縮と結合組織の増加を認め、腺房細胞は萎縮を示すものと肥大を示すものが混在していた。一方、膵臓では腺房細胞の萎縮と線維化を観察した。これらの変化は800 ppm群において強く現われた。さらに400 ppm群では膵腺房細胞の腺腫を1例、過形成結節を13例に認めた。なお肝臓には過形成(腫瘍性)結節や過形成巣が観察され、腎臓に慢性腎症の発生が見られた。

【考察】 MeA $\alpha$ Cの投与により唾液腺特に顎下腺および舌下腺に著明な萎縮を認めた。しかし、組織中および血清中のアミラーゼ活性はむしろ上昇していた。このことは腺房細胞の萎縮に伴う一部の腺房細胞の代償性肥大による機能亢進の結果と考えられた。一方、膵臓では腺房細胞の萎縮と腫瘍発生との関連が強く示唆された。

○内田俊之<sup>1</sup>、三橋武弘<sup>1</sup>、櫻井幹己<sup>1</sup>、荒川哲男<sup>2</sup>、小林絢三<sup>2</sup> (大阪市大・医・<sup>1</sup>2病理, <sup>2</sup>3内)

胃炎の発症メカニズムのひとつとして、胆汁酸の胃内への逆流による胃粘膜傷害が挙げられている。その胆汁酸には1次胆汁酸と2次胆汁酸があり、2次胆汁酸の方が細胞毒性は強いと推定されている。しかし、2次胆汁酸は中性ないしアルカリ性液で溶解されるため、胃内の酸性状況下ではその毒性が低下することも想定されている。そこで胃内pHの変化が、2次胆汁酸の胃粘膜傷害の程度に及ぼす影響について家兔胃粘膜を用いて検討を加えたので報告する。

(方法) 家兔胃内にカテーテルを挿入し、1)10%重曹・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL、2)蒸留水・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL、3)10%重曹・10mL+対照水・50mL(デオキシコール酸溶解液)のいずれかを毎日1回ずつ投与し、屠殺後標本作成し、各々について肉眼的および組織学的に比較検討した。なお、重曹投与による家兔胃内pHの変化についても検討を加えた。

(結果) 5%重曹・20mL(重曹・1g)および10%重曹・20mL(重曹・2g)を投与した家兔胃内pHは無処置群のそれに比して著明なpHの上昇を認めた。10%重曹・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL投与の家兔胃内pHにおいても蒸留水・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL投与のそれに比し著明な上昇を認めた。10%重曹・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL投与群ではその多くが投与4日前後で下痢をともなって死亡したが、蒸留水・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL投与群では、7日ないし10日間生存した。また、10%重曹・10mL+対照水・50mL投与群では全例生存した。家兔胃粘膜の肉眼的観察による検討において、10%重曹・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL投与群および蒸留水・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL投与群では、ともに胃粘膜すう壁の消失と胃小区構造の不明瞭化が認められた。10%重曹・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL投与群は衰弱のため投与開始3日後に屠殺したが、上記所見に加え胃粘膜の発赤が著明であった。光学顕微鏡による検討では、10%重曹・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL投与群および蒸留水・10mL+20mMデオキシコール酸・50mL投与群では、ともに胃粘膜表層上皮の変性・脱落が著明なびらん性病変が大弯側に認められた。

(結論) デオキシコール酸による胃粘膜傷害は、重曹の存在下においてより強く発現するものと思われた。

## 新規化合物により惹起された緑色肝

○松本正博、義澤克彦、中野一雄、大石裕司、藤平司郎、藤井登志之（藤沢薬品・安全研・病理）、  
谷本純一、藤井恒雄（同・安全研・一般毒性）、宮尾泰寛（同・開発研・代謝）

毒性試験において肝機能障害はしばしば観察される毒性変化であり、肝臓は、ある化合物の毒性を判断する上で重要な臓器の一つとされている。薬物による肝機能障害は、主に、その薬物の化学的性質によるものが大半を占める。今回、我々は、消化器領域の治療薬として、新しく合成された化合物の毒性試験において、機能障害（低下）を伴い、肉眼的に緑色を呈する肝臓に遭遇し、その発生機序について検討を加えたので、その概要を報告する。

### 【方法】

使用動物：ビーグル犬（♂3、♀5）  
投与経路・投与量：経口・320mg/kg（原末）  
群構成：2週間投与群（♂1、♀2）、4週間投与群（♂1、♀2）、4週間投与・4週間休薬群（♂1、♀2）  
検査項目：一般状態、体重、摂餌量、血液化学的検査、肝機能検査（BSP検査）、剖検、病理組織学的検査、電子顕微鏡検査。  
なお、病理組織学的検査においては、通常ホルマリン固定・パラフィン包埋標本に加え、凍結標本も用いた。

### 【結果】

一般状態、体重、摂餌量には著変は認められなかった。

投与期間中、血液化学的検査において、投与開始後9日以降、血清中AL-P、およびGPT活性の上昇と血清中T.Chol.およびT.Bil.量の増加がほぼ全例に認められ、血清中AL-P活性の上昇が最も著しい例においては、投与開始後28日に3900mU/mlに達した。また、肝機能の指標としての血清中BSP残存率も投与開始後12日より著しい上昇を示した。

4週間の休薬により、T.Chol.およびT.Bil.量は投与前値に復したが、AL-P、およびGPT活性、およびBSP残存率は減少傾向を示すにとどまった。

剖検では、休薬群を含め、すべての動物で肝臓が緑色を呈していた。その他の臓器には著変を認めなかった。

病理組織学的には、肝細胞間での顆粒状～杆状の緑色色素の沈着が全例に、肝細胞の軽度の肥大が少数例に認められるのみであった。

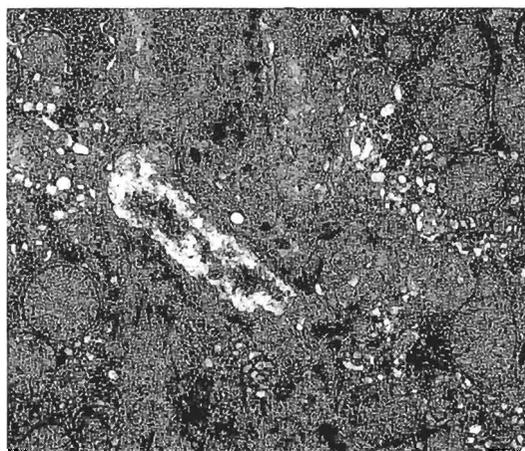
電子顕微鏡的には、ミトコンドリアの膨化・変形、ライソゾームの増加、毛細胆管の拡張および管腔内無構造物質の蓄積（写真）、伊東細胞の肥大・増生が観察された。

### 【考察】

血液化学的検査および肝機能検査より、胆汁うっ滞性の肝機能障害が示唆された。しかしながら、病理組織学的には、胆汁のうっ滞像は確認されず、肝細胞間に顆粒状～杆状の緑色色素沈着が認められるのみであり、その色素は胆汁染色陰性であった。電顕観察によって認められた毛細胆管内の無構造物質は、その電子密度、微細形態より胆汁とは異なり、組織学的に肝細胞間に認められた緑色色素に相当するものと考えられた。よって、血液化学的検査・肝機能検査により示唆された肝機能障害は、胆汁のうっ滞によるものではなく、組織学的に確認された緑色色素の毛細胆管への蓄積による、毛細胆管の不完全閉塞という物理的要因によって引き起こされたものと考えられた。

現在、検索中であるが、毛細胆管内に認められた緑色色素は、水にほとんど溶けず、クロロホルム・メタノールに易溶性であり、本化合物が代謝される過程で、原体より溶解性の低い代謝物が生成され毛細胆管内に蓄積したものと推測される。

一方、文献的には、エチニール基（ $-C\equiv CH$ ）を有する化合物は、肝細胞P450で代謝される過程で、エチニール基がポルフィリン環と結合し、その結合物が緑色を呈することが知られている。本化合物もエチニール基を有しており、同様の経路により緑色を呈したとも考えられるが、詳細については今後の検索を待たねばならない。



○矢本 敬, 佐藤里子, 大橋芳彦, 宮腰昶宏, 松沼尚史 (三共・安全性研究所)

ペルオキシゾーム増生作用を有する化合物に対する動物の感受性には種差や系統差があると報告されている。しかし、加齢に伴う感受性の変動に関しては報告が少ない。そこで安全性試験の動物実験における加齢の要因を考察するモデルのひとつとして clofibrate を経餌投与し若齢ラットおよび老齢ラットの感受性を比較した。

(材料および方法)

1群 5匹の雄 F344ラット (若齢: 8週齢, 老齢: 83週齢) に clofibrate (東京化成) を粉末飼料に混合して 14日間経餌投与した。対照群には粉末飼料を与えた。投与終了後、動物をエーテル麻酔下で開腹して大動脈より採血, 放血致死させ肝臓を摘出した。肝臓は重量を測定した後, 一部を電顕的検査, 残りを薬物代謝酵素活性およびカタラーゼ活性の測定に用いた。

(結果および考察)

薬剤平均摂取量は老齢ラット群のほうが若齢ラット群より高い値を示した。若齢ラットの投与群では肝重量の有意な増加と血清総コレステロール, トリグリセリド値の有意な減少, 薬物代謝酵素活性の有意な上昇が認められた。老齢ラットではこれらの検査項目に clofibrateの投与に起因した明らかな変化は認められなかった。

電顕的検査では若齢ラットの投与群で肝細胞の滑面小胞体 (SER) とペルオキシゾームの増生が認められた (Fig.1, 2)。しかし, 老齢ラットの投与群では SERやペルオキシゾームの明らかな増生は認められなかった (Fig.3, 4)。

したがって, 老齢ラットでは clofibrateのペルオキシゾーム増生作用が発現しないことが明らかとなった。この結果は clofibrateに対する雄 F344ラットの感受性が加齢に伴って変動することを示唆している。

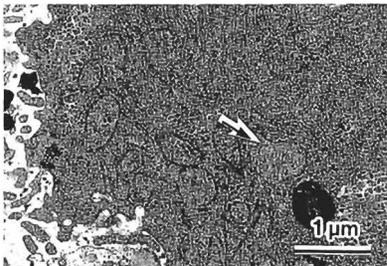


Fig.1 若齢ラット 対照群

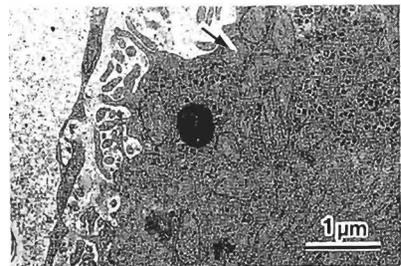


Fig.3 老齢ラット 対照群

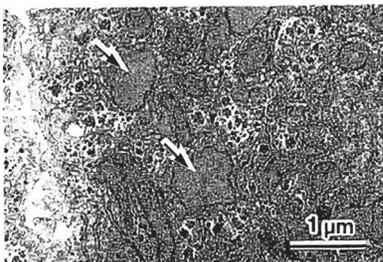


Fig.2 若齢ラット 投与群

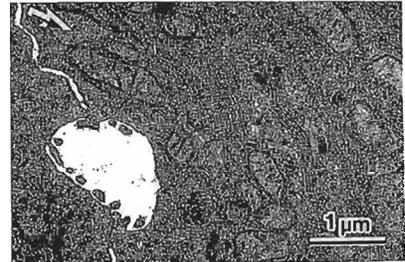


Fig.4 老齢ラット 投与群

### 33. ブタ血清投与により発生するラット肝硬変類似病変の検討 (第2報 発現因子の分子量について)

○奥村正直<sup>1,2</sup>、柴田雅朗<sup>2</sup>、白井智之<sup>2</sup>、津田洋幸<sup>3</sup>

(1 愛知衛研・生物, 2 名古屋市大・医・1 病理, 3 藤田学園・医・2 病理)

#### 【はじめに】

ブタ血清をラット腹腔内に反復投与すると肝硬変類似病変が発生するが、昨年の本学会において、その発現因子は56°C30分間の加熱によっても活性低下を来さないこと、さらに、肝線維化にみられる線維の構成成分は主としてタイプⅢコラーゲンであることを報告した。本実験では、ブタ血清を分子量により分画し線維化発現因子の特定を試みた。

#### 【材料および方法】

ブタ血清 (Flow Lab., U.S.A.) は、簡易限外濾過キット (Centriflo: Amicon) を用いて分子量を①25,000以上, ②25,000以下の2段階に分画した。それぞれの血清分画は、試料成分の濃度を一定に保つため原液量と同量になるまで生理食塩水で希釈して用いた。

動物は、6週令のP344雄性ラット (日本チャールス・リバー) 16匹を用い、1群4匹からなる4群に分け、ブタ血清の分子量の大きい順に第1群 (25,000以上)、第2群 (25,000以下) とし、第3群は陽性対照群として無処理ブタ血清および第4群は陰性対照群として生理食塩水を、それぞれラット1匹あたり0.5mlを週2回8週間にわたって腹腔内投与した。ラットは実験終了後エーテル麻酔下で屠殺剖検し、肝を中心に病理組織学的に検索した。

#### 【結果】

屠殺時の平均体重は、いずれの群間においてもほぼ一定で有意差は認められず、肝、腎あるいは脾等の主要臓器重量においても同様であった。

肉眼所見では、分子量25,000以下のブタ血清分画を投与した第2群と無処置ブタ血清を投与した第3群のラット肝においてやや弾性硬であったが、他の臓器には著変を認めなかった。また、第1および4群においては諸臓器に著変は見出されなかった。

病理組織学的に、第2および3群の全てのラットにおいて、肝実質内を中心静脈間、門脈域間あるいは両者間に架橋し、小葉を細分割する比較的幅の狭い結合組織の増生が肝全体にみられ、そのため多数の偽小葉の形成が認められたが、実質細胞の変性壊死像および炎症性細胞反応はほとんど認められなかった。第2、3群間の組織学的な差異は観察されなかった。他の臓器では線維化の発生は全く認められなかった。また、他の群においては肝およびその他の臓器にも著変は見出されなかった。

#### 【結論】

ブタ血清がラット肝に対し選択的に線維化病変を発生させる因子は、分子量が約25,000以下の血清分画中に存在することが明かとなった。今後、その分画中の構成成分の解析についてさらに検討を加える予定である。

○山口 格, 黒木 克史, 高橋 章典, 藤原 公策 (日大・農獣医)

齧歯類における carbon tetrachloride ( $\text{CCl}_4$ ) の肝毒性効果は各動物種により異なり (Gomez et al.: 1975), 特にスナネズミ (*Meriones unguiculatus*) は感受性が非常に高いことが報告されている (Can & Mehendale: 1990). 今回われわれは,  $\text{CCl}_4$  のスナネズミに対する肝毒性効果をさらに明確にするため, スナネズミ肝細胞初代培養の  $\text{CCl}_4$  処置による形態学的変化について観察した.

9~12 週齢のスナネズミ (TUM 系雄; 体重 60~70g) をネンブタール麻酔下で開腹, コラゲナーゼ灌流および低速遠心法で肝細胞を分離した. コラーゲンコートした 3.5 cm ディッシュに  $7.5 \times 10^5$  個の分離肝細胞をまき, 10% 牛胎仔血清あるいは 10% ブタ血清加 William's medium E (WE) 培地 (インスリン  $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ , デキサメタゾン  $4 \text{ng}/\text{ml}$ , カナマイシン  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  を含む) で  $37^\circ\text{C}$ ,  $5\% \text{CO}_2$  存在下で培養, 24 時間後に種々の濃度の  $\text{CCl}_4$  を添加した WE 培地 (血清を含まない) に交換, 培養を続けた. 3, 6, 24 時間後に培養上清中に逸脱した GOT 及び GPT 活性を測定するとともに, 培養細胞について細胞化学的検索, 位相差顕微鏡・電子顕微鏡的観察を行った.

GOT 及び GPT の逸脱は,  $0.05 \text{mM}$  以上の  $\text{CCl}_4$  添加により, 6 時間後から観察された. 位相差顕微鏡像では,  $\text{CCl}_4$   $0.5 \text{mM}$  以上で添加後 3 時間から肝細胞細胞質内に小胞が観察され, 6 時間後にはその数が増加した. なお, これらの小胞は Sudan black B 陽性の顆粒を含んでいた. 24 時間後には小胞はさらに増加し, 細胞小器官の腫大または萎縮が観察され, 細胞の壊死・剥離も多く観察された. 電顕観察では, 3 時間後からコレステロール結晶と推定される electron lucid な小体が肝細胞細胞質内, 特に滑面小胞体部に散見され, 以後, 経時的にその数及び大きさが増加した. 添加後 6 時間では, この変化に加えて拡張した粗面小胞体腔内に燐脂質様物が出現し, 一部リボゾームの脱落, ミトコンドリアの腫大・変性, グリコーゲン顆粒の減少, 核の変形及びクロマチンの凝集が認められた.  $\text{CCl}_4$  添加後 24 時間では粗面小胞体の消失, 滑面小胞体の凝集, ミトコンドリアの崩壊及びグリコーゲン顆粒の消失などが観察された.

以上のように, スナネズミ肝細胞初代培養では,  $\text{CCl}_4$  添加によりコレステロール結晶と推定される小体が他の形態学的変化に先んじて出現することが示され,  $\text{CCl}_4$  による著明な肝細胞毒性の発現は脂質代謝障害に関連することが示唆され, 脂質代謝障害と肝毒性発現との関連を追究するために肝初代培養系が有用であることも示唆された.

## 35. アセトアミノフェン肝毒性の 免疫毒性学的検討

築館一男・飯島恵美・見上孝・山津清實・名倉宏（エーザイ・安研・東北大・医）

肝のチトクロームP-450により代謝活性化を受けて肝障害を引き起こす典型的な薬剤としてアセトアミノフェンが知られている。すなわち、アセトアミノフェンが肝で代謝されて生成する親電子性の代謝物が肝細胞の高分子と共有結合することにより、肝細胞壊死が惹起されると考えられている。しかし、最近アセトアミノフェン肝毒性には壊死巣に集簇するマクロファージの積極的な役割も報告されており、免疫系の関与が示唆されている。我々はアセトアミノフェン肝毒性について免疫毒性学的観点から、壊死巣に浸潤・集簇する細胞の性格を明らかにするとともに肝細胞の組織適合抗原の発現状況について継続的に検索し、免疫担当細胞の関与を強く示唆する知見が得られたので報告する。

〔実験材料および方法〕 動物：Slc：SD雄ラット（6週齢） 薬物：アセトアミノフェンを0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、1000mg/kg/day 経口投与した。実験群：A群—単回投与6時間後に剖検，B群—単回投与24時間後に剖検，C群—単回投与48時間後に剖検，D群—単回投与72時間後に剖検，E群—3日間連続投与，F群—7日間連続投与，対照群—媒体のみを7日間連続投与，これら7群について血中GPT，GOTを測定し，肝のHE染色およびCD-，CD4，CD8，OX-33（B細胞），MHCclass1，Iaの免疫染色を行った。

### 〔結果および考察〕

I. 血中GPT，GOTの変動：単回投与6時間後ではGPTの軽度上昇，24および48時間後にはGPT，GOTとも著しい上昇が認められ，72時間後にはかなり回復傾向がみられた。一方，連続投与群においては，GPT，GOTの上昇はむしろ単回投与群に比べ軽度であり，投与を重ねることに軽減する傾向が認められた。

II. 肝の組織所見および免疫組織化学的所見：単回投与の6時間においては，肝の単細胞壊死あるいは変性が僅かに散在性に認められ，クッパー星細胞は軽度腫大し一部Ia陽性所見を呈した。24時間後には，小葉中心性肝細胞の変性・壊死が葉全体に広範に認められMHCclass1陽性を呈した。壊死巣には軽度ながら単核細胞および好中球の浸潤が認められ，IaとCD8陽性の細胞が混在していた。48時間後では，24時間後と比較し肝細胞壊死巣がやや縮小し単核細胞の浸潤が多く認められ，免疫染色の態度は同様であった。72時間後においては，壊死巣に単核細胞の集簇が著しく肉芽腫様の組織像を呈し，これら集簇した細胞は主にIaあるいはCD8陽性細胞から成っていた。3日間連続投与群においては，単回投与48時間後と類似した小葉中心性肝細胞の変性・壊死と単核細胞浸潤が認められ，免疫染色においても変性した肝細胞はMHCclass1陽性で浸潤細胞はIaあるいはCD8陽性細胞から成っていた。7日間連続投与群においては，壊死巣は3日間連続投与群に比べ縮小しており血中GPT活性と一致した所見が得られた。単核細胞の浸潤は3日間に比べやや多く，IaとCD8陽性細胞が混在していた。

以上の結果から，アセトアミノフェン肝毒性にはIa陽性の活性化マクロファージとキラーT細胞の関与が強く示唆された。

36. パラコートはミトコンドリア外NADH依存性にフリーラジカルを生成しミトコンドリアを障害する

平井圭一（金沢医大解剖）

パラコート（PQ）は肺その他の臓器障害を引き起こすことがよく知られており、その機構は、マイクロゾーム画分（小胞体）で NADPH-cytochrome c reductaseの働きによる酸化還元サイクルを通じて毒性の高い $O_2$ フリーラジカルを生成し、膜脂質の過酸化を引き起こすためと信じられている。しかし一方で、*in vivo*の結果は必ずしも一致しておらず、しかもcytochrome P-450は関与しないとされ、形態的にもPQ投与による小胞体の変化が認められていない。このあたりの曖昧さが翻ってPQ中毒の解毒機構の解明を困難にしているのかもしれない。

我々はPQ投与ラットの肺細胞、肝細胞で形態的にミトコンドリア（Mt）が選択的に障害されることを報告した。そこで、今回PQの障害機構を再検討するためにマイクロゾームの混入の極めて少ないラット肝Mtを分離しPQの影響を検索した。十分にMtをstarvationした後（約2.4%の破壊像を含む）、37℃でPQ（3mM）を添加したが $O_2$ 吸収は起こらず、形態の破壊もほとんど見られなかった（5.9%）。NADHを単独添加しても $O_2$ 吸収は起こらず、形態も破壊されなかったが、94%のMtはcondensed conformationを呈した（controlでは2.6%）。次にPQをNADHとともに添加すると、明瞭な $O_2$ 吸収が起こり20分後Mtは膨化し破壊された（24.5%）。この反応はNADHの代わりにグルタミン酸、リンゴ酸を添加しても効果がなく、rotenoneで抑制されず、また、Mtフラグメントを用いた場合でもrotenone、Inhibitor-1、cibacronはPQ-NADH呼吸を抑制せず、従ってadriamycin毒性でみられるような電子伝達系complex Iの関与は否定的である。コハク酸を基質とするcomplex IIも無関係であった。

このPQ-NADHによるMt呼吸でPQラジカルの生成が確認され、これに続くMt破壊はp-benzoquinoneによって抑制されフリーラジカル生成と関係があることが示唆された。しかしL-ascorbic acidは抑制せず、このことはMtの $O_2$ ストレスに対しascorbic acidが効果がないという報告と一致する。PQ投与Mtにおけるフリーラジカル生成系の詳細は不明である。Mtは、外部のNADH単独では $O_2$ 呼吸をしないがcondensed conformationを呈するようになること、PQが共存すると $O_2$ 吸収が起こること、などから未知の反応系の存在が示唆される。

○吉村博之・篠田和俊・岡宮英明・古川文夫・今井田克己・高橋道人（国立衛試・病理）

喫煙が肺がん発生の重要な環境要因の一つであることは数々の疫学的調査により、認められているが、動物実験によってこの事実を証明した報告は少ない。国際的に、動物実験での喫煙曝露方法は、Hamburg II型吸入喫煙曝露装置を用いて行われている傾向にある。この装置の使用により、喫煙曝露条件を一定とすることができ、実験データの解析・評価が容易になるという利点がある。我々は、このHamburg II型装置を使用し、diethylnitrosamine(DEN)でイニシエーション処理をしたハムスターの気道発がん実験モデルにおいて、プロモーション時期に喫煙曝露を行うと、DEN単独投与群に比べて、喉頭・気管上皮の乳頭腫および過形成の発生が有意に増加し、喫煙がハムスターの気道腫瘍発生に対して明かなプロモーター作用を示すことを報告した(第49回日本癌学会総会)。

今回は、喫煙のプロモーター作用のメカニズムを解析する一環として、Hamburg II型装置を用いて喫煙吸入曝露を行い、気管・気管支および肺の喫煙による初期変化を組織学的に検討すると共に、肺および血清の過酸化脂質量の変動を検討した。

〔実験方法〕実験動物：4週齢の雄 Syrian golden hamster を用い、喫煙曝露の1,2,4,8,12週目に経時的に屠殺・解剖し、以下の項目について検索を行った。

組織学的検索：肺は解剖時、左葉に10%中性緩衝ホルマリンを注入固定後、ヘマトキシリン-エオジン染色を実施した。さらに、すべてのハムスターに対して5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)処置し、免疫組織化学的に染色を施し、BrdU陽性細胞数を数え、細胞増殖活性について検討を行った。

過酸化脂質の測定：肺は右葉4葉を対象とし、摘出後、0.25M ショ糖溶液にて洗浄し、急速凍結後、-20℃で保存、TBA(thiobarbiturate)法にて malonaldehyde(MDA)量を過酸化脂質量の指標とした。また、血清過酸化脂質は八木法に準じた過酸化脂質量定量試薬(デタミナー-LPOキット;協和メデックス社)を用いて lipid peroxide(LPO)を測定した。

〔結果〕喫煙曝露により体重には差はみられなかった。肺胸膜面の変化として、タバコ煙吸入に伴う炭粉沈着は12週間曝露例でも見られなかった。一方、病理組織学的には、肺胸腔内に粉塵粒子を一部に貪食した大型細胞の集簇、いわゆる“smoke cells”が、喫煙8および12週曝露例に認められた。しかし、肺胞上皮にはその部分も含め増殖性病変は認められなかった。また、喫煙群の肺では対照群に比べ強い気管支炎、気管支周囲炎がみられる傾向にあった。気道上皮においては、喉頭上皮も含め増殖性の変化はみられなかった。BrdU免疫組織化学的検索では、喉頭・気管・気管支および肺胞上皮において陽性細胞数の増加は認められなかった。

他方、過酸化脂質量には喫煙曝露により変動がみられ、肺MDA量は、喫煙期間の延長に伴い増加する傾向にあり、対照群との比較でも同様に増加傾向がみられた。血清LPO量においても、対照群との比較で増加傾向がみられた。このような喫煙曝露による過酸化脂質量の変動は、喫煙の発がんのプロモーションを考える上で興味ある所見と考えられた。

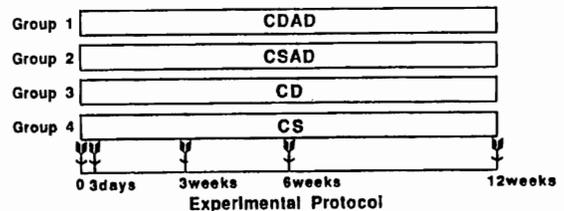
38. ラット肝におけるコリン欠乏アミノ酸食による発癌過程に対する酸化性ストレスの関与

○吉治仁志, 中江大, 衣笠哲雄, 白岩和巳, 丸山博司,

傳田阿由美, 小西陽一(奈良医大・がんセンター・腫瘍病理)

コリン欠乏(CD)食によるラットにおける肝癌発生はよく知られているが, その発生機序についての統一的理解はない。今回我々は, CD食と同一のアミノ酸により構成した無蛋白のcholine deficient L-amino acid defined(CDAD)食を用い, ラットに投与したところ, 通常のCD食よりも, 肝に対し, より強いイニシエーション活性を示すことを見出したので報告する。〈動物と方法〉動物は, Fischer344系雄ラット4週齢100匹を4群にわけて用いた。実験プロトコルを図に示す。即ち, 第1群はCDAD食, 第2群はcholine supplemented L-amino acid defined(CSAD)食, 第3群はCD食, 第4群はCholine supplemented(CS)食を各々12週投与し, 図に示す時点で経時的に屠殺し, 肝の組織学的検索及び血清生化学的検索を行い, 12週後の肝については, GGT及びGST-P染色を行い, 組織化学的に検索すると共に, 酸化性ストレスによるDNA障害の指標である, 8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)の肝DNAにおける生成量を測定した。〈結果〉

各群の体重, 肝体量比及び8-OHdG生成量を表1に示す。CDAD群においては, CD群に比べ, 体重増加の抑制と肝体重比の増加が見られた。また, 8-OHdG生成量はCDAD群とCD群において増加していたが, 前者の生成量は後者のそれより有意に高値を示した。ラット肝に対するイニシエーション活性をGGT及びGST-P陽性病変の数と面積を指標として検索した結果を表2に示す。即ち, CDAD群においては, CD群に比してより強いイニシエーション活性が見られ, CDAD群においては12週の投与にて過形成結節の発生を見た。〈まとめ〉CDAD食及びCD食共にラット肝に対してイニシエーション活性を示したが, その活性はCDAD食においてより強いことが判明した。また, CDAD食とCD食のラット肝発癌過程に酸化性ストレスが関与している可能性が示唆された。



Final Body and Liver Weights and the Levels of 8-OHdG in Liver DNA of Rats at the End of the Experiment

Group	Diet	Effective Number of Rats	Final Body Weight (g)	Final Liver Weight (g/100g body weight)	Number of 8-OHdG per 10 <sup>5</sup> Deoxyguanosines
1	CDAD	5	319±9 <sup>a)</sup>	5.04±0.55	6.766±1.305
2	CSAD	5	412±39 <sup>b)</sup>	3.10±0.22 <sup>b)</sup>	1.836±0.183 <sup>b)</sup>
3	CD	5	360±8 <sup>b)</sup>	4.33±0.52	3.112±0.739 <sup>b)</sup>
4	CS	5	408±23 <sup>c)</sup>	3.16±0.27 <sup>c)</sup>	1.339±0.357 <sup>c)</sup>

a) Results are the means ± the standard deviations of the determinations.  
 b) p<0.05 versus Group 1.  
 c) p<0.05 versus Group 3, p>0.05 versus Group 2.

Numbers, Areas and Sizes of GGT - and GSTP - Positive Lesions in the Livers of Male Fischer 344 Rats at the End of the Experiment

Group	Diet	GGT-Positive Lesion			GSTP-Positive Lesions		
		Number of Lesions per Square cm	% Area Occupied by Lesions	Size of Lesions (Mean Area; mm <sup>2</sup> )	Number of Lesions per Square cm	% Area Occupied by Lesions	Size of Lesions (Mean Area; mm <sup>2</sup> )
1	CDAD	7.57±1.35 <sup>a)</sup>	10.66±1.86	1.42±0.23	8.32±1.02	11.89±3.03	1.43±0.33
2	CSAD	0 <sup>b)</sup>	0 <sup>b)</sup>	—	0 <sup>b)</sup>	0 <sup>b)</sup>	—
3	CD	1.63±1.08 <sup>b)</sup>	0.30±0.26 <sup>b)</sup>	0.19±0.08 <sup>b)</sup>	1.75±1.03 <sup>b)</sup>	0.59±0.40 <sup>b)</sup>	0.33±0.06 <sup>b)</sup>
4	CS	0 <sup>c)</sup>	0 <sup>c)</sup>	—	0 <sup>c)</sup>	0 <sup>c)</sup>	—

a) Results are the means ± the standard deviations on the determinations on five individual rats.  
 b) p<0.05 versus Group 1.  
 c) p<0.05 versus Group 3.

伊藤 敦子、竹下智子（東邦大医・法医） 伊藤 金次（同・二病理）

マンガン（Mn）は生体の必須微量金属であり、通常生体内では強力な恒常性を保つ機構を有するが、その過剰摂取により種々の障害を引き起こすことが知られている。Mn中毒に関しては、とくにパーキンソン症候群に関連した神経学的所見についての報告が多くみられるが、他臓器の影響に関する研究は比較的少ない。近年、重金属の生体影響として生体内脂質過酸化の可能性が示唆されているが、毒性発現との関連性に関しては現在のところ明確であるとはいえない。今回、Mn過剰投与による肝障害発現機構に過酸化脂質とグルタチオン代謝が関与しているかを検討した。

<実験方法> Wistar系雄ラットに塩化Mnを10mgMn/kg濃度で隔日1回宛計10回腹腔内投与した群を亜急性投与群とし、以下の実験を行った。

1) 血液生化学的検査 2) 肝組織中Mn、Fe、Zn量の測定 3) 肝組織中グルタチオン（GSH）量の測定 4) 肝臓組織中過酸化脂質量（LPO）、スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）活性、グルタチオンペルオキシターゼ（GSH-Px）活性の測定 5) 組織学的観察。

この亜急性群で発現した肝障害の発現機序を解明するために、塩化Mn1回投与の実験群を別に作製し、投与後8、16、48時間経過後に屠殺して同様の測定を行った。

<実験成績> 亜急性投与群； 実験群の大半にGOT、GPT、総cholesterolの上昇ならびに血清鉄の減少が認められた。肝内Mn量は高値を示し、取り込み量に比例してZn量の増加、Fe量の減少が認められた。肝内GSH量には有意の変動は見られなかった。肝組織中LPO値は著しく減少し、同時にSOD活性の低下が認められた。

GSH-Px活性の変動はみられなかった。顕微鏡下での観察では、肝細胞の空胞変性、好酸性変化および細胞壊死がrapaportの第1ゾーンを中心にみられ、このような部分での電顕的観察では、粗面小胞体やミトコンドリアの水腫性変化が見られた。

1回投与群における経時的変動； 投与8時間後には肝のLPOの増加、GSHの低下が認められた。16時間経過後ではGSHの減少は継続し、GSH-Pxの増加とLPOの一時的な減少がみられたが、48時間後にLPO値は再び増加を示した。

<考察> 亜急性群では、血清Feの減少、肝内Fe量の減少がみられ、MnがFeの吸収を抑制する可能性が観察された。肝組織中LPOは低値を示し、同時にSOD活性の低下が認められたが、1回投与群の肝では、LPO値の増加、GSHの減少が認められており、Mn摂取の初期の段階で脂質過酸化が起こることが示唆された。その後の肝障害進展の過程に於て、過剰のMnによるFeの吸収障害が起こり、内在性のFeが減少したためにLPOが著明に減少したものと考えた。Mn中毒時の肝障害の発現機構に活性酸素とグルタチオンが関与することが示唆される結果であった。

## 40. 塩化第二水銀によるラット腎障害の発症に関する組織過酸化の関与について

○山田久陽・杉浦正幸・村上美穂子・大島 隆・中根貞雄（大正製薬・総合研）  
山田高路（愛知医大・法医）

【はじめに】 過酸化脂質はタンパクを変性させ、生体膜の組成を変え、生体膜の機能を障害する。また、lysosome顆粒に対し膜透過性の変化、崩壊を起こし、種々の加水分解酵素を漏出させ細胞壊死を生ずる。従って、過酸化脂質の生成は細胞の機能低下、壊死をもたらす種々の疾患との関連性が知られている。今回、我々は腎障害の発症に組織の過酸化が関与するか否かについて塩化第二水銀(MC)投与による腎障害モデルを用い、組織内過酸化脂質の変動と組織変化ならびに生化学分析値の変動について検討した。

【実験方法】 7週齢の雄性Wistar系ラットを1群6匹使用し、1群(control)には生理食塩液、2及び3群にはMC 2及び4 mg/kgを各々皮下投与し、投与6、12、24及び48時間後に経時的に屠殺した。屠殺後、腎臓を摘出し、左腎については皮質において脂質過酸化の指標であるMalondialdehyde(MDA)、MDAの消去系酵素であるGSH-Px及び低分子化合物であるGSHの定量、右腎は病理組織学的検査に使用した。また、各群の屠殺前に血液を採取し、投与24及び48時間後には尿を採取し、生化学的検査を実施した。

【結果】 膜脂質過酸化の指標であるMDAは投与6ないし12時間後に増加もしくは増加傾向が認められた。一方、過酸化脂質消去系のパラメーターであるGSHでは2 mg/kgで顕著な増加が持続してみられたが、4 mg/kgでは48時間後にのみ軽度な増加が認められた。GSH-Pxは2 mg/kgで投与24時間後に軽度な増加がみられたが、4 mg/kgでは24時間以降、顕著な減少が認められ、これら消去系のパラメーターはMDAと関連した変動を示さなかった。組織学的には2 mg/kgで投与6時間後では近位尿細管刷子縁膜(BB)の一部欠損、12時間後には近位尿細管上皮の軽度な壊死、24時間後には皮髄境界部の近位尿細管直部に広範囲な壊死が観察され、48時間後には同部位の壊死と円柱、間質の細胞浸潤、尿細管上皮の好塩基性が認められた。4 mg/kgでは6時間後に近位尿細管上皮の軽度な壊死、BBの一部欠損、12時間後には近位尿細管直部ならびに曲部に広範囲な壊死が観察され、24時間以降は壊死が皮質のほぼ全領域に達し、48時間には広範囲な壊死の他に円柱、石灰沈着等が観察されるに至った。なお、4 mg/kgでは投与48時間後に無尿となり重篤な不可逆性の障害が生じたものと推察された。腎障害の指標とされる尿中酵素活性(NAG、LDH、 $\gamma$ -GTP、LAP、ALP)は、腎組織内MDAの変化が認められた時間にほぼ一致して、投与24時間後に顕著な増加がみられ、48時間後には軽減がみられる変動を示した。BUN及びクレアチニンは投与用量に依存して顕著な増加が認められた。

【まとめ】 MC投与により投与初期に腎組織内MDAの増加がみられた。また、このMDAの増加と腎組織変化ならびに尿中酵素活性の増加時期とは比較的一致していることから、組織変化発症初期に組織に過酸化が生じ障害に関与していることが推察された。今後、ラジカルスカベンジャー等を用いて、MCによる腎障害の発症に及ぼす影響について検討することで、さらに組織過酸化の障害への関与について明白にしてゆきたいと考えている。

#### 41. NON系マウスにおけるN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine による腎盂および膀胱癌発生に対する性および加齢の影響

○村井 隆<sup>1, 2</sup>、森 聖<sup>1, 2</sup>、細野素子<sup>1</sup>、武内康義<sup>1</sup>、大原忠雄<sup>1</sup>、牧野 進<sup>1</sup>、  
林 幸之<sup>1</sup>、福島昭治<sup>2</sup> (<sup>1</sup> シオノギ・油日ラボ、<sup>2</sup> 名市大・一病)

我々は、第5回日本毒性病理学会で水腎症が30%前後自然発生するNON系雄マウスに N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)を投与すると、転移形成能をもつ腎盂癌が発生することを報告した。今回は、NON系マウスにおけるBBNによる腎盂および膀胱癌の発生が、性および加齢による影響を受けるかどうかを検討した。

[ 材料および方法 ] 動物は6、15および45週齢のNON系マウス(油日ラボラトリーズ)の雄と雌をそれぞれ80と76、13と16および30と50匹用いた。これらのマウスに0.05%BBN水溶液を12週間投与後、13週間休薬した。実験開始後25週目に屠殺し、腎および膀胱を病理組織学的に検索した。

[ 成績 ] BBN摂取量： 雄では6、15および45週齢でそれぞれ51、49および52mg/kg/日であり、週齢間の差はみられなかった。一方、雌では6、15および45週齢でそれぞれ42、34および51mg/kg/日であり、6および15週齢においては雄よりも低く、45週齢では雄と同程度であった。

腎盂癌： 雄での発生率は6、15および45週齢でそれぞれ19/80(24%)、5/13(38%)および10/27(37%)であり、その平均発生時期は実験開始後20、19および12週目となり加齢により短縮された。そのうち転移を有する癌の発生率は4/19(21%)、0/5(0%)および4/10(40%)であった。転移巣は主に肺および肝に形成された。雌での発生率は6、15および45週齢でそれぞれ6/76(8%)、1/16(6%)および14/48(29%)であった。その平均発生時期は実験開始後23、25および18週目となり、雄と同様に加齢により短縮された。そのうち転移をもつ癌の発生率は1/6(17%)、0/1(0%)および1/14(7%)であり、それぞれ雄よりも低い発生率であった。転移は主に肺および肝に認められた。

膀胱癌： 雄での発生率は6、15および45週齢でそれぞれ73/80(91%)、12/13(92%)および17/27(63%)であり、その平均発生時期は実験開始後22、21および21週目といずれもほぼ同じであった。そのうち転移をもつ癌の発生率は8/73(11%)、2/12(17%)および2/17(12%)であった。転移は主に肺および腹腔内臓器にみられた。雌での発生率は6、15および45週齢でそれぞれ68/76(89%)、15/16(94%)および43/48(90%)であった。その平均発生時期は実験開始後23、22および19週目となり、雄とは異なり加齢により短縮された。そのうち転移の発生率は6/68(9%)、1/15(7%)および3/43(7%)であり、雄よりも低い発生率であった。転移は雄と同様の臓器に認められた。

[ 結論 ]

1. 腎盂癌の発生率は雄では雌に比し高い傾向があり、転移は雄の老齢マウスに比較的多く発生した。また、腎盂癌の平均発生時期は雌雄とも加齢により短縮された。
2. 膀胱癌の発生率は6および15週齢では雌雄間で同様であったが、45週齢では雄でのみ低下した。その発生時期は雌で加齢により短縮された。転移の発生率は、雄では雌に比しわずかに高い傾向を示したが、加齢による影響はみられなかった。

## 42. ラットBBN膀胱発癌に対するcombination chemotherapy におけるDoxorubicinとTHP-adriamycinの抑制効果ならびに 毒性の比較検討

林 美樹, 大園誠一郎, 山口尚子, 常深邦彦, 田畑尚一, 植村天受, 平尾佳彦, 岡島英五郎(奈良医大・泌) 進行性膀胱癌に対する化学療法の治療成績は、Cisplatin(CDDP)を中心としたcombination chemotherapyの導入により著しく向上した。しかし一方では、化学療法剤の重篤な副作用がしばしば問題となり、化学療法における支持療法の検討や副作用の軽減を目的とした各薬剤の誘導体の開発に力が注がれている。(2"R)-4-O-tetra-hydropyranyladriamycin(THP)は梅沢らによって開発されたanthracycline系の新しい抗癌剤で、Doxorubicin(DXR)と同等またはそれ以上の抗腫瘍効果を有するとともにDXRにみられる心毒性が少ないことが実験的に認められている。われわれは、ラットBBN膀胱発癌のモデルを用いて、現在世界的に広く進行性膀胱癌に対して施行されているcombination chemotherapyのregimenであるCAP療法 (Cyclophosphamide [CPM] +DXR+CDDP)の腫瘍発育に対する抑制効果ならびに毒性に関して過去に報告した。

〔目的〕今回は、このCAP療法におけるDXRをTHPに変更したregimen (CTP療法)のラットBBN膀胱発癌に対する影響ならびに毒性について検索し、combination chemotherapyにおけるTHPの有用性につき実験的に検討した。

〔方法〕10週齢のF344雄ラット151匹を用い、BBNは0.05% BBNを飲料水にて投与した。CAP(またはCTP)療法は、day 1にCPM 10mg/kgおよびDXR 2mg/kg (またはTHP 3mg/kg) を、day 2にCDDP 2mg/kgを各々生食水に溶解して腹腔内注射し、BBN投与終了3週後より3週間隔で計3回施行した。実験群は、1群：BBN12週投与のみ、2群：BBN12週投与後CAP療法、3群：BBN12週投与後CTP療法、4群：CAP療法のみ、5群：CTP療法のみ、6群：生食腹腔内注射のみ、7群：無処置対照群とし、全動物は24週で屠殺し、膀胱ならびに主要臓器を摘出して病理組織学的に検索した。

〔結果〕膀胱腫瘍の発生頻度は、1群：29/30、2群 16/18、3群 25/29で、各群間に差がなかった。また、他の群に腫瘍の発生はみられなかった。そこで1～3群間における平均腫瘍数を比較すると、1群：4.43±3.08、2群：3.67±2.35、3群：2.07±0.75で、3群が1,2群に比較して有意に少なかった(1群 vs 3群:<0.01, 2群 vs 3群：p<0.05)。毒性については、腎においては、CAP,CTP両群ともにproliferation of renal tubulesとgiant cellの出現がみられた。また、CAP群に心のfibrosisが若干みられたがCTP群ではみられなかった。CAP,CTP群の全例に睪丸の萎縮がみられた。

〔結語〕CTP療法は、CAP療法に比して強い腫瘍発育抑制効果がみられ、また毒性については病理組織学的に腎における変化がもっとも重篤と考えられた。以上より、CTP療法の進行性膀胱癌に対する有用性が示唆された。

43. ウラシル短期投与によるラットおよびマウスの膀胱における細胞増殖

○河部真弓<sup>1</sup>、浅川恵美子<sup>1</sup>、朝元誠人<sup>1</sup>、加藤俊男<sup>1</sup>、福島昭治<sup>2</sup>  
 ( <sup>1</sup> 名市大・医・1病理、<sup>2</sup> 阪市大・医・1病理)

【はじめに】ウラシルをラットに投与すると、短期間で膀胱結石が発生し、膀胱粘膜上皮に対するその物理的刺激は細胞増殖を促進させ、長期投与により膀胱癌が発生する。また、マウスにおいても長期投与すると膀胱粘膜に対し、細胞増殖をもたらすとともに膀胱癌が誘発される。そこで今回は、ラットおよびマウスにウラシルを短期間投与した時の膀胱粘膜上皮細胞の増殖変化を比較検討した。

【実験方法】6週令のF344ラットおよびB6C3F<sub>1</sub>マウスを各々20匹(雄10匹、雌10匹)を用い、ラットには3%、マウスには2.5%のウラシル含有飼料を8週間投与した。また、それぞれの無処置対照群を設け、全経過8週間で動物を屠殺剖検し、膀胱結石の有無と病理組織学的検索、さらにbromodeoxyuridine (BrdU) を用いた膀胱粘膜上皮のDNA合成の測定を行った。

【結果】ラットでは、雌雄ともウラシルを投与した動物の全例に膀胱結石が認められ、病理組織学的にも粘膜の単純性過形成もしくは乳頭腫症が観察された。しかし、マウスでは、雄の1例のみに膀胱結石が観察され、病理組織学的には、単純性過形成が認められたのみであった。膀胱粘膜上皮のBrdU標識率は、ラットのウラシル投与群で雌雄とも有意な増加を認めたが、マウスでは対照群との間に有意差は観察されなかった。

【まとめ】ラットではウラシルを8週間投与することにより、膀胱結石が発生し、膀胱粘膜上皮に対し増殖刺激をもたらした。しかし、マウスではラットと異なり、8週という短期間では膀胱結石の発生は認められなかった。

群	ウラシル	動物数	結石	単純性過形成	乳頭腫症	BrdU標識率
(ラット)						
雄	3%	5	5(100)**	0	5(100)**	11.42**
	—	5	0	0	0	0.10
雌	3%	5	5(100)**	1(20)	4(80)**	6.94**
	—	5	0	0	0	0.08
(マウス)						
雄	2.5%	5	1(20)	1(20)	0	1.04
	—	5	0	0	0	0.02
雌	2.5%	5	0	0	0	0.36
	—	5	0	0	0	0.02

\*\*、P<0.01.

#### 44.

#### カドミウム投与によるラット腎近位尿細管病変 [ I ] Apoptosis と再生上皮の形態学的観察

○谷本昭英<sup>1)</sup> 岩井重寿<sup>1)</sup> 濱田哲夫<sup>2)</sup> 小出 紀<sup>1)</sup>  
1) 産医大二病理 2) 同病院病理

##### 【目的】

従来、カドミウム(Cd)による腎病変は尿細管壊死であるといわれているが、形態学的に充分な検索はほとんどなされていない。我々はCdの投与経路、量、期間を検討し、今回は皮下注 8週間投与時におけるラット腎の形態学的変化を観察し、病変の性質、分布を検討した。

##### 【材料と方法】

10週令のSDラットに0.6mg Cd/kg/Day 皮下注を8週間おこなった。光顕的観察にはH&E染色、PAS染色(ブアン固定)PTAH染色(ホルマリン固定)を用いた。再生上皮の検索には解剖30分前にBrdU標識(40mg/kg 静注)を行い、ブアン固定パラフィン切片で免疫組織化学(ABC method)とPAS染色の重染色を施した。また通常の電顕に加えて Pre-embedding methodによるBrdUの免疫電顕を行った。

##### 【結果】

腎重量、肉眼所見ならびに糸球体に著変は認めなかった。光学顕微鏡的観察：1)外帯外層に帯状にみられる変化は近位尿細管上皮に一致しており、胞体が濃縮して好酸性の増強した細胞(変性細胞)と核小体の明瞭な大型核と明るい胞体を有する細胞(再生細胞)を認めた。2)変性細胞は散在性に存在し基底膜上に、あるいは管腔内に剝離した状態でみられ、尿細管の全周にわたる壊死は認めなかった。同細胞の核は濃縮し、胞体の好酸性の増加を伴って細胞は収縮し、円形化していた。3)この尿細管では核分裂像が目立ち、ほとんどが再生細胞で占められていた。核には免疫組織化学的にBrdUが陽性であり再生上皮と判定した。電子顕微鏡的観察：1)電顕的には病変は近位尿細管のおもにS3に認められた。2)基底膜上に存在するelectron denseな細胞は収縮し、細胞内小器官は密在するがミトコンドリアなどの膜系はよく保たれていた。クロマチンは辺縁に不規則に凝集するが核膜もよく保たれていた。これらの細胞はWyllieらの言う Apoptosisと考えられたが、Apoptotic sac は乏しく明かなものは認めなかった。3)管腔内に剝離している細胞は、electron denseで小胞体の拡張や自己貪食胞が目立ったが膜系はよく保たれていた。4)再生細胞は細胞内小器官に乏しくミトコンドリアは不規則で疎な分布を示した。これらの細胞には結合装置はほとんど認められなかった。核には免疫電顕によりBrdUの取り込みが確認され、電顕的な再生上皮の判定を支持していた。5)また再生上皮が Apoptosisになったと思われる細胞もみられた。

##### 【考察】

1)Cd中毒において障害される近位尿細管はS3に主で、細胞の脱落だけではなく同時に再生が活発におこなわれ、またこの再生上皮が障害を受けるという複雑な過程が考えられた。2)細胞の障害像は、大部分がWyllieらの言うApoptosisの像に一致した。3)尿細管上皮内にはいわゆる Apoptotic sacは乏しく、Apoptotic cellが管腔内に容易に剝離することが示唆された。4)管腔内に剝離したApoptotic cellは典型的な像に加えて膜系の拡張などの形態的修飾を受けることが示唆された。

## 45. ACUTE HEPATOTOXICITY OF T-2 TOXIN IN MICE

○M.A.QUIROGA, C.DOI, J.S.HAN, H.AKAI<sup>1</sup>, K.TAMURA<sup>1</sup> and K.DOI  
(TOKYO UNIV., <sup>1</sup>BOZO)

*Introduction:* T-2 toxin is a member of the trichothecene mycotoxins produced by *Fusarium* species. This toxin has a radiomimetic effect, and therefore the organs containing a large number of actively dividing cells have been a main concern of toxicologic pathologists. This paper deals with acute hepatotoxicity of a single sublethal dose of T-2 toxin in mice.

*Materials and methods:* Fifty-six 5-week-old male ICR:CD-1 mice were used. After overnight-fasting, 28 mice were injected p.o. with 10 mg/kg b.w. of T-2 toxin (Lot 117F4078, Sigma) in 20% ethanol in PBS (T-group). The remaining 28 mice were given 20% ethanol in PBS in the same way (C-group). Thereafter they were fed MF pellets and water *ad libitum*. Seven mice of each group were killed by exsanguination under ether anesthesia 8, 16, 24 and 48 hours after injection (8, 16, 24 and 48 HAI), respectively.

Blood chemical and histopathological examinations were carried out on each mouse.

*Results and discussion:* In the T-group, many parameters exhibited clear changes from 8 to 24 HAI. For example, depression of body weight gain, decrease in relative liver weight, increase in GOP and GPT activities, and decrease in serum lipid, glucose and protein concentrations were observed. On the other hand, serum ALP activity and total bilirubin concentration showed no significant changes. The values of these parameters approached to those of the C-group 48 HAI.

Histopathologic changes of the liver were characterized by increase in density and acidophilic stainability of hepatocyte cytoplasm probably due to loss of basophilic material and glycogen granules. Solitary and small focal necrosis of hepatocytes were also observed. Such changes of hepatocytes appeared in all areas of the hepatic lobule 8 HAI and became more severe 16 HAI. The changes became to be located in the peripheral zone of the hepatic lobule 24 HAI, and the liver showed almost similar picture to that in the C-group 48 HAI.

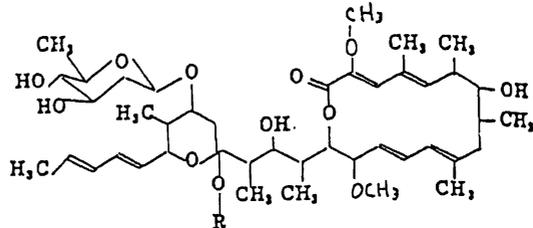
Thus the sublethal dose of T-2 toxin induced clear hepatocytic change but not biliary one in mice. The change might reach its maximum degree of severity around 16 HAI, and it showed the tendency to recover 48 HAI. Electron microscopic examination is now in progress.

○寺尾 清、伊藤 恵美子、桜田 美佐子、矢沢 勝清、三上 襄(千大真核微研セ)

80才の男性の皮膚病巣から分離した放線菌 *Nocardia otitidiscaviarum* の産生するトキシン、HS-6の雄ICRマウスに対する急性毒性を光顕的ならびに電顕的に検索した。

HS-6の構造は図1の様で水溶性であり、その純品を生理的食塩水に溶解し、腹腔内に投与、経時的に屠殺し、主要内臓をフォルマリン固定し、光顕用HE、PAS染色を行い、臓器により鍍銀、脂肪染色、Azan Mallory、鉄コロイド染色を行った。また電顕用に、心筋、肝、脾、腎、小腸、胃、耳下腺の一部組織をパラフォルムアルデヒド-グルタル溶液に固定し、OsO<sub>4</sub>の後固定を行った後、エタノール系列により脱水、エボン包埋後薄切標本をつくり、ウラニール、鉛二重染色を行い、日立H700H透過型電顕によって観察した。

図 1



2 mg/kg以上の濃度では、全ての動物は2時間以内に死亡した。1 mg/kg以下の濃度では24時間以上の生存が認められた。標的臓器は、心、肝、脾、腎、小腸、胃など多彩であり、投与後6時間以上経過した例では肝の高度の脂肪化と脾実質細胞の変性壊死が最も著しかった。心筋は多数の単細胞壊死が左右両室ならびに中隔にみられ、腎の尿細管主部の壊死も全例にみられた。

超微形態学的に最も特徴のある形態変化は、脾、肝、小腸、胃、耳下腺などの実質細胞中の無数の autophagosome の存在であった。いずれも RER の領域に局在し、1 mg/kg 投与の場合には投与後20分以内に出現し始め、2時間後から急増し、6時間目には全ての腺細胞切面の約30~40%を占め、一部融合して不規則な巨大な autophagosome となる。形質細胞と、胃、小腸の平滑筋にも出現する。

病原となった *N. otitidiscaviarum* を接種したマウスには、各種臓器に多数の肉芽腫がみられたが、中毒性の変化はみられなかった。

現在までのところ *Nocardia* が外毒素を産生するという報告はない。本例は第一例目であり、この外毒素は、特に RER を標的とする事が示唆された。

# 示 說

## 47. (示)

## PraziquantelのF344ラットにおける急性毒性

○佐野真士、金大中、白井智之、高橋 智、伊東信行  
(名市大、医、1病理)

## &lt;はじめに&gt;

Praziquantel, 2-Cyclohexylcarbonyl-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4H-pyrazino[2,1-a]isoquinolin-4-one, は住血吸虫、特に肝吸虫の駆虫薬として広く用いられている。現在までのところ変異原性と発癌性について陽性の報告はない。また、1,000mg/kgの4週間の連続投与においてもラットに明らかな毒性は認められていない。今回、我々はF344ラットにおける毒性試験の一環としてPraziquantelの急性毒性試験を行なった。

## &lt;方法&gt;

6週齢のF344系ラット雄26匹を5群に分け実験に用いた。Praziquantelをそれぞれ3,000、1,000、300、100および0 mg/kgの濃度でコーン油に溶解し、実験開始時に体重kgあたり5mlの量を1回強制経口投与した。投与後4日目に屠殺剖検を行ない、血清中の総タンパク、アルブミン、GOT、GPT、ALP、GGT、ZTTについて生化学的検査を行なうと共に肝臓と腎臓について病理組織学的な検索を行なった。

## &lt;結果&gt;

肝臓の相対重量において、Praziquantelの3,000 および1,000mg/kg投与群でコントロールと比較して有意な増加 ( $p<0.001$ )を認め、用量相関性も示された。更に、絶対重量においても3,000mg/kg投与群で増加傾向がみられた。生化学的検査では、3,000mg/kg投与群でGPT、GGTの有意な上昇 ( $p<0.05$ )が観察され、GOTも有意差はないものの上昇を示した。病理組織学的にはPraziquantelの3,000mg/kg投与群で小葉中心性に肝細胞の腫大が認められた。しかし、明らかな肝細胞壊死巣は観察されなかった。なお、腎臓には何らの著変も認められなかった。

## &lt;結論&gt;

以上の生化学的および病理組織学的結果より、3,000mg/kgのPraziquantelはラット肝臓に対して弱い毒性があるものの、1,000mg/kg以上の長期投与が可能と考えられた。

Dose (mg/Kg)	Final b.w. (g)	Liver weight		Biochemical findings		
		(g)	% of b.w.	GOT (IU/1)	GPT (IU/1)	GGT (IU/1)
3,000	106.7±4.4	7.27±0.82	6.82±0.75 <sup>a</sup>	199.3±151.0	139.3±89.7 <sup>b</sup>	4.3±2.9 <sup>b</sup>
1,000	109.8±3.3	5.54±0.33	5.05±0.17 <sup>a</sup>	78.6±10.2	40.6±4.5	0.4±0.5
300	108.9±2.6	4.97±0.40	4.56±0.29	86.6±8.3	45.0±2.6	0.4±0.5
100	112.5±4.4	5.06±0.32	4.50±0.24	81.8±6.2	41.4±3.0	0.2±0.4
0	110.0±2.8	4.98±0.26	4.51±0.15	80.6±13.2	43.2±5.2	0.2±0.4

a : Significantly different from control value at  $p<0.001$

b : Significantly different from control value at  $p<0.05$

#### 48.(示) Tragacanth GumのB6C3F<sub>1</sub>マウスにおける経口毒性試験

○田中 光、萩原昭裕、箱井加津男、長谷川良平、伊東信行  
(名市大・医・1病理)

##### 【はじめに】

化粧品や食品添加物として広く用いられている Tragacanth Gum は、中近東その他の半砂漠地帯に自生する低木 Astragalus gummiferからの抽出物で、D-galacturonic acid, D-galactose, D-xylose, L-arabinoseより成る複合多糖類である。今回、マウスに対する毒性を知る目的でその経口毒性試験を実施した。

##### 【実験方法】

実験Ⅰ：6週齢のB6C3F<sub>1</sub>系マウス（日本チャールス・リバー㈱）を雌雄各50匹の計100匹用いた。各群10匹とし、Tragacanth Gumを5.0, 2.5, 1.25, 0.625 および 0%の濃度で粉末基礎飼料MF（オリエンタル酵母㈱）に混じ、13週間投与した。13週経過後に全生存動物を屠殺し、各種血液、生化学的検査および病理学的検査を実施した。

実験Ⅱ：6週齢のB6C3F<sub>1</sub>系雄マウスを50匹用いた。第1群は5.0% Tragacanth Gumを24週間投与し、その後24週間基礎食を投与した。第2群は5.0% Tragacanth Gumのみ、第3群は基礎食のみの連続投与群とした。24週経過後に2, 3群の各々10匹、48週経過後に1～3群の各10匹を屠殺し、前胃について病理組織学的に検索した。

##### 【結果】

実験Ⅰ：最高濃度の5.0%群の雌雄においても、生存率、体重、尿検査、血液学的検査および臓器重量では著変を認めなかった。5.0%および2.5%群の雌雄および1.25%群の雌で血清γ-GTPの上昇を認めたが、他の肝機能検査に異常を認めず、また、肝臓重量の増加を認めないことからその意義は不明であった。病理組織学的には前胃において、重層扁平上皮の過形成を雄の5.0%群で10例中4例（40%）、2.5%群では1例（10%）、1.25%群では1例（10%）および0.625%群では1例（10%）に認めたが、雌では観察されなかった。

実験Ⅱ：前胃における重層扁平上皮の過形成は、第2群の24週時屠殺動物の10例中2例（20%）に認められたが、48週時屠殺動物では全く観察されなかった。

##### 【まとめ】

Tragacanth Gumの13週間経口投与により発現した前胃の過形成病変は、長期投与では全く観察されなかったことより、この変化は一過性のものと考えられた。現在、雌雄とも5.0%および1.25%の投与濃度を用いて発癌性試験を実施中である。

## 49. (示) furan, 2-methylfuran および 3-methylfuran の毒性について

○佐藤秀隆, 小笠原裕之, 古田京子, 林修次, 今井田克己, 林裕造 (国立衛試・病理)

フラン類は食品や飲料中に広く存在し、これらの香気成分として重要である。これらは主として炭水化物の分解により生成されるもので、食品中の量はさほど多いものではないが、遺伝子毒性を有する物質も含まれることから、その毒性について検討しておくことは重要である。今回我々は母化合物であるfuranおよびメチル体である2-methylfuran(2MF), 3-methylfuran(3MF)の毒性発現について経時的な検討を行なった。

### 【実験方法】

**実験1**：7週齢のddY系マウス雌雄を各群12匹使用し、オリーブ油に溶解したfuran, 2MFまたは3MFを150mg/kgの用量で腹腔内に一回投与した。投与後、6, 12時間および1, 2, 3, 7日目に各2匹ずつ屠殺・剖検した。肺, 肝臓, 腎臓, 副腎, 心臓, 脾臓, 膵臓, 胸腺, 精巣および消化管の一部をホルマリン固定し、常法によりパラフィン包埋、薄切片にH & E染色を施し観察した。

**実験2**：同様の実験をfuran, 2MFについてラット(F344)およびシリアンハムスター雌雄を用いて300mg/kgの用量で行ない3日目まで観察した。

### 【結果・考察】

**実験1**：furanまたは2MF投与動物では、投与直後より自発運動の低下, 立毛などが認められた。肉眼的に胸腺, 脾臓は萎縮し、肝臓は脆弱でやや腫大し、腎臓は腫大し淡褐色を呈した。

病理組織学的には、furan投与群雄マウスにおいて12時間目より肝臓で小葉中心性の変性壊死が、肺では12~24時間目より末梢気管支上皮細胞の壊死・剝離が、腎臓では12~24時間目より尿細管上皮細胞に空胞化と壊死がみら

れた。その他、胸腺や脾臓の萎縮、精巣では合胞体形成などが認められた。これらの病変および随伴する炎症反応は7日目までには沈静化し、肝臓, 腎臓では再生がみられたが、肺では末梢気管支周囲に線維の増生を認めた。雌では肺および肝臓の病変のみが認められ、雄に比較して変化は軽度であった。

2MF投与群では、12時間目より尿細管上皮細胞の空胞化が著明で、壊死と尿円柱の形成が、肝臓では門脈域の変性および壊死がみられた。肺ではfuranと同様に末梢気管支上皮細胞の壊死・剝離が認められた。その他、胸腺, 脾臓の萎縮、精巣では合胞体形成などが認められた。2日目には尿細管上皮の広範な壊死・脱落がみられ、3日目には全例死亡した。雌では肺, 肝臓および胸腺の病変のみで、雄に比較して変化は軽度であり死亡例はなかった。

3MFでは12時間目より末梢気管支上皮細胞の壊死・剝離がみられたのみで、7日後にはほぼ修復されており、死亡は認めなかった。

**実験2**：furanはラット, ハムスターにおいて肝臓で小葉中心性の変性壊死を引き起こしたが、他の臓器には著明な毒性を示さなかった。2MFはラットにおいては肝臓の小葉中心性の変性壊死と末梢気管支上皮の壊死・剝離を引き起こし、3日目までに全例が死亡した。ハムスターでは肝臓の病変のみで3日目までに死亡は認められなかった。

furanの毒性はメチル基の有無およびその位置によって、また動物種や性によって標的臓器とその強さが異なることが判明した。その原因は明らかではないが、薬物代謝酵素の局在や種類と量の差異による可能性が考えられ、今後の検討課題である。

## 50.(示)

## p-phenetidine の28日間反復投与毒性試験

○佐藤元信・古川文夫・吉村博之・豊田和弘・高村直子・高橋道人（国立衛試 病理）

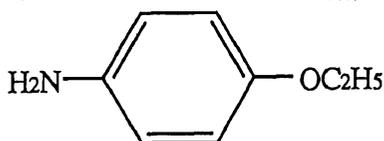
【緒言】 p-phenetidine (p-ethoxyaniline ;  $C_8H_{11}NO$ ) は分子量 137.18 の透明液状の芳香族系有機化合物であり、トリフェニルエタン系酸性染料の中間体や医薬品フェナセチン合成の原料として用いられている。ラットの急性毒性試験では、経口投与による  $LD_{50}$  が 580mg/kg と報告されている。今回、p-phenetidine の毒性を把握する目的で雌雄の F344 ラットを用いた化審法の28日間反復投与試験を実施した。

【材料と方法】 p-phenetidine（川崎化学工業）をオリーブ油に懸濁して濃度調整した。動物は6週齢 F344 ラット雌雄各30匹（日本チャールス・リバー）を各群5匹として6群に分けた。群構成は 160, 40, 10 および 0mg/kgBW の投与群並びに 160 および 0mg/kgBW の14日間回復群とした。動物には1日1回検体を28日間連続強制経口投与した。定期的に体重を測定し、尿検査も行った。29日目にエーテル麻酔下で腹部大動脈より採血し屠殺剖検した。血清生化学および血液学的検査、ならびにメトヘモグロビン測定を行った。主要臓器は重量測定後に10%中性緩衝ホルマリン液で固定、パラフィン包埋して薄切片を作製、HE染色を施し病理組織学的に検索した。

【結果】 顕著な脾腫が雌雄の中用量以上の投与群において認められ、高用量群ではその重量が対照群の3倍近くにまで達した。組織学的には高度な髄外造血の亢進およびヘモジデリン沈着が観察された。血液学的にも、赤血球数の減少ならびに網状赤血球数の上昇（高用量群では対照群の10倍以上にまで増加）が雌雄の中用量以上の投与群で示された。メトヘモグロビンが高用量群雌雄で2%以上の含有率として計測され、メトヘモグロビン血症の発症が認められた。また、尿検査においてウロビリノーゲンの増加が雌雄とも中用量以上の投与群で示された。なお、これらの変化は休薬により回復または回復傾向を示した。

【考察】 本試験において雌雄の最高用量群においてメトヘモグロビン（ヘモグロビンのヘム鉄が3価に酸化）血症が発症した。一般にアニリンはメトヘモグロビン血症を引き起こすことが知られており、p-phenetidine の単回経口投与でもその発症が報告されている。Fe<sup>3+</sup>ヘモグロビン赤血球は脾臓において処理されるために脾臓のヘモジデリン沈着が高度となり、赤血球処理による赤血球数減少に対する反応として脾臓の髄外造血や血中網状赤血球数の増加が生じたものと考えられる。尿中ウロビリノーゲンの増加はヘモグロビン分解量の上昇に起因すると思われる。

本研究において、最低用量群では著変は認められず、p-phenetidine の NOEL は 10mg/kgBW と考えられた。



p-phenetidine の化学構造

○吉田順一・小野寺博志・松島裕子・渋谷 淳・前川昭彦・林 裕造（国立衛試・病理）

【緒言】m-Nitroaniline(m-NA)は芳香族ニトロ化合物に属し、染料の原料等として広く使用されているが、本化合物の毒性に関する情報はほとんどない。今回、m-NAの毒性評価の一環として、F344雌雄ラットを用い28日間反復投与試験を実施した。

【材料と方法】6週齢のF344ラット雌雄各30匹を対照群と高用量群は1群10匹、低用量群と中用量群は1群5匹として4群に分け、オリーブ油で懸濁させたm-NAの0,15,50及び170mg/kgを胃ゾンデを用い、1日1回で28日間連続強制経口投与した。なお、対照群及び高用量群の各半数は回復群として投与後14日間休薬させた。実験期間中、動物の症状観察、体重及び摂餌量の測定を行い、最終投与の翌日及び休薬14日目にエーナル麻酔下で大動脈から採血し、動物を屠殺・剖検した。主要臓器の重量測定後、全摘出臓器・組織を10%ホルマリン液で固定し、通常の方法によりパラフィン包埋して薄切切片を作製し、H・E等で染色し、病理組織学的検索を行った。屠殺時に採取した血液を用いて血液学的検査及び生化学的検査を行い、尿検査は投薬及び休薬期間に各1回実施した。

【結果】雌雄とも死亡例はなかったが、中用量以上の群で体重増加抑制があり、雌雄高用量群では投与後にマロニが観察された。雌雄とも赤血球数及びヘモグロビン量の減少が低用量群から、またMCVの上昇及び赤芽球の増加が中用量群から用量相関性をもってみられ、高用量群では網状赤血球数及びヘモグロビン含有率の増加が観察された。その他、アルブミン及び総蛋白量の用量相関的な増加が雌雄低用量群から、また尿検査ではウロビリノーゲンの増加が雌雄中用量群から認められた。肝及び脾重量の用量に相関した増加が低用量群から、また精巣重量の低下及び腎重量の増加が高用量群でみられた。組織学的検査では脾のうっ血、髄外造血及びヘモグロビン沈着、精細管の萎縮及び精細胞の脱落・変性が中用量以上の群で、肝の髄外造血及びクッパー細胞のヘモグロビン沈着、骨髄の造血亢進、腎の尿細管上皮内の色素沈着が高用量群で認められた。これらの変化は休薬群では軽減し、回復傾向が示された。

【考察】m-NA投与群では赤血球数の減少、MCVの増加、脾及び肝のヘモグロビン沈着、尿中ウロビリノーゲン量の増加など赤血球崩壊を示唆する所見が得られ、ヘモグロビンが検出されたことから、m-NAのヘモグロビンへの結合がその原因と考えられた。一方、網状赤血球及び赤芽球数の増加、骨髄の造血亢進像並びに脾及び肝の髄外造血像は、溶血に対する代償性変化であり、m-NAの造血系に対する障害作用ではないと考えられた。今回の実験でm-NAの精巣毒性が確認されたが、m-NAは精巣毒性が報告されているm-dinitrobenzene(m-DNB)の代謝産物であり、同様の機序が想定された。

【結語】m-NAは28日間反復経口投与によりF344雌雄ラットに対してヘモグロビン血症及びそれに伴う溶血を惹起させ、また精巣毒性も示すことが明らかとなった。

52.(示) F344ラットを用いたDiheptyl phthalate  
(DHP)の28日間反復投与毒性試験について

○松島裕子、前川昭彦、篠田和俊、小野寺博志、吉田順一、  
渋谷 淳、林 裕造(国立衛試・病理)

【緒言】 DHPはフタル酸エステル的一种で塩化ビニル樹脂一次可塑剤として種々の分野で使用されているが、DEHP(di-2-ethylhexyl phthalate)にくらべてその毒性データはほとんどない。今回我々は、DHPの毒性を評価する一環として、ラットを用いて28日間反復投与試験を行なった。

【方法】 6週齢のF344/DuCrjラット雌雄各30匹を各群雌雄各5匹よりなる6群に分け、オリーブ油に溶解したDHPを0, 0.2, 1および5g/kgの用量で1日1回、28日間反復強制経口投与した。0および5g/kg投与群に関しては、投与後2週間休薬の回復群を設けた。実験中に尿を採取し、屠殺時には血液を採血し、尿検査および血液学的、血液生化学的検査を行い、一部の動物については血清および尿中のZn量を測定した。主要臓器は解剖時に臓器重量を測定し、その他の臓器・組織についても10%中性ホルマリンで固定し、病理組織学的に検索した。

【結果および考察】 雌雄全群とも実験終了時まで全例生存したが、雌雄5g/kg投与群において体重増加抑制がみられた。雌雄全群の何れにおいても投与期間を通じて行動異常等の症状はみられなかった。血液生化学的検査では、雌雄5g/kg投与群で蛋白、GOT、GPT、ALPやLDHの増加、尿検査では用量相関性をもって尿量増加がみられた。また雄5g/kg投与群で血中及び尿中のZn量が増加した。臓器重量では雌雄投与群において用量相関性を伴い肝腎の重量増加がみられ、雄5g/kg投与群においては逆に精巣の重量減少がみられた。

組織学的には、雄投与群の肝において肝細胞の腫大および中心静脈周囲での類壊死および壊死が見られたが、雌においてはこのような所見はなく、肝病変には性差がみられた。腎は雄5g/kg投与群で好酸体の減少がみられた他は特に腎障害を示唆する所見は見られなかった。精巣は5g/kg投与群において精細管が著しく萎縮し、セルトリ細胞および一部精祖細胞を残すのみで、精母細胞、精娘細胞および精子はまったくみとめられなかった。巨細胞の出現はほとんどみられなかった。また精細管基底膜の肥厚や間細胞のびまん性過形成が認められた。5g/kg回復群においては、依然精細管の著しい萎縮がみられるものの、一部の精細管で精祖～精母細胞が出現し回復傾向にあることが示唆された。

以上の結果から、DHPの毒性の作用機序はDEHPで報告されてきた毒性に類似していると考えられた。

### 53.(示) チメロサール投与によるラット皮内血管透過性の昂進

○内藤誠之郎、内田哲也、加藤博史、衛藤光明、茅野文利（国立予研、生物製剤）

（目的）： 昨年の本学会で我々は、マウスの足蹠にチメロサールを注射することによって注射局所に白血球の浸潤を伴う腫脹が生じること、さらにそれは無感作のマウスにおいて観察されることからいわゆる過敏症反応とは異なったメカニズムによるものであること、などを報告し、ワクチンに含まれるチメロサールが、ワクチン接種時に注射局所に生じる副反応の増悪因子となる可能性を示した。

本研究では、無感作のラットにチメロサール溶液を皮内接種することによって注射局所に血管透過性の昂進が生じることを見いだしたので報告する。

（材料および方法）： 無感作SDラット（8週齢、雌）の背中皮内に、PBSで希釈した濃度の異なるチメロサール溶液100 $\mu$ lを注射し、一定時間経過後、尾静脈よりエヴァンスブルー溶液（0.5% in PBS）1mlを注射した。チメロサール溶液注射局所における青色斑の出現を血管透過性昂進の指標とした。対照としては、PBSのみを100 $\mu$ l皮内注射した。

（結果）： 1) 0.1%チメロサール溶液の皮内注射による注射局所の血管透過性の昂進は、注射後5分でピークに達し、以後6時間以上持続した。また、この時PBSのみを皮内注射した箇所には血管透過性の昂進はみられなかった。 2) 0.0025%から0.05%までチメロサール溶液の濃度を変えて注射したところ、濃度0.005%以上で有意な血管透過性の昂進がみられた。

（考察）： チメロサールの皮内注射によって有意な血管透過性の昂進が起こることがラットにおいて示された。この血管透過性の昂進のピークはチメロサール皮内注射後5分であり、一方、我々が昨年の本学会で報告した、チメロサールの注射によって生ずる局所の腫脹のピークは注射後1時間であった。チメロサール注射局所に生じた血管透過性の昂進が、続いて生じる注射局所の腫脹になんらかの影響をもたらしていることが考えられる。

○ 田中剛太郎、入村兼司(大鵬薬品工業(株) 安全性研 病理)

はじめに

フッ化ピリミジン系制癌剤で惹起されるヒトでの副作用は主に骨髄抑制、脱毛、色素沈着ならびに下痢等が知られているが、これらの副作用の発生機序に関する報告は極めて少ない。私達はこの下痢に着目し、先に行なった小腸および大腸の毒性比較実験(未発表)では、形態学的変化は小腸、特に十二指腸で著明であり、下痢便を呈した動物では微絨毛の不整・脱落が認められた。今回私達はその発生機序解明の一環として下痢時の形態学的変化を透過電顕を用いて経時的に観察した。その結果、形態学的には投与6日後から変化が認められ、下痢の有無によって粘膜上皮細胞の形態に差が認められた。

材料と方法

試験系：5週齢の雄性SD系ラット(日本チャールス・リバー)を用い、固形飼料C E - 2(日本クレア)と水を自由摂取させた。

検体：5-FU(協和発酵)をCMC・Naを用いて懸濁化し、10日間の反復強制経口投与を行った。

経時的に動物を屠殺し、全個体についてKarnovsky固定液にて灌流固定を実施した。固定後、十二指腸を採取し、常法に従ってSpurr樹脂に包埋後、超薄切片を作製し電顕的に上部粘膜上皮細胞の観察を行った。群構成をTable 1に示す。

Table 1 群構成

群	対照群	5-FU群
投与量(mg/kg)	0	100
屠殺例数		
Day 3	2	3
Day 6	2	3
Day 9	2	3

Day：投薬開始後日数

結果

主な症状および観察結果をTable 2に示す。

下痢はDay 6に屠殺した動物の3例中2例のみ認められた。Day 3では脱毛が認められたが、粘膜上皮細胞では電顕的には特記すべき変化は認められなかった。電顕的に形態変化が認められたのはDay 6以降であった。症状で下痢を示した動物では、電顕的には微絨毛の不整・短小・脱落および不整核が認められた。Day 9に屠殺した動物では、下痢を示唆する症状は認められず、電顕的には粘膜上皮細胞の細胞質内にライソゾーム様物質の増加が認められた。微絨毛および核には特記すべき変化は認められなかった。

Table 2

Day	主な症状	電顕所見 (十二指腸粘膜上皮細胞)
3	脱毛	特記すべき変化なし
6	下痢	微絨毛の不整・短小・脱落、不整核
9	脱毛、消瘦	ライソーム様物質の増加

まとめ

5-FU100mg/kgを反復強制経口投与し、経時的に観察したところ、Day 6より形態学的変化が認められたが、それらの変化は下痢の有無によって異なっていた。すなわち下痢を示した動物では微絨毛および核に変化が認められたが、下痢を示さなかった動物では、ライソゾーム様物質の増加が認められた。本実験では下痢動物で十二指腸粘膜上皮細胞の微絨毛に再現性のある変化が認められたことから下痢と微絨毛の関連が示唆された。

## 55. (示) エンドトキシンの一般毒性試験評価に及ぼす影響 (その2)

○野口修 村田晃子 石井香 原田寧 石嶋隆守 高木英利 (日本レダリー生物研)

動物にある種の抗生物質を与えた場合、腸内細菌叢に変動が起こり、エンドトキシン (ETx) の産生が活発になることがある。抗生物質についての安全性評価を行なう場合には、腸内細菌叢の変動による内因性 ETx の関与を常に考慮に入れておかなければならない。このような安全性評価に与える ETx の影響をその血中への侵入経路、即ち腸管バリアの関与という観点から明らかにする目的で以下の実験を行なった。

なお、通常の腸管では、腸管粘膜上皮などの構造的バリアばかりでなく、粘液や胆汁酸の存在、GALT (腸管関連リンパ組織) 等の腸管バリアも想定されており、これらにより ETx の侵入は大部分が防御されていると考えられる。

### 実験(1): ガラクトサミン (GalN) とその肝毒性における ETx の影響

ラクツロースのラットへの反復経口投与により腸管内細菌叢のグラム陰性菌を減少させた後に、GalN を単回腹腔内投与して、その肝毒性の変動を観察した。

### 実験(2): 腸管バリアの免疫学的破綻による ETx の影響の変化

シクロフォスファミドのラットへの単回腹腔内投与によりリンパ系組織を荒廃させるとともに腸管粘膜の IgA 陽性細胞を減少させ、腸管バリアの免疫学的破綻を図った。その後に GalN を単回腹腔内投与してその肝毒性の変動を観察した。

### 実験(3): 腸管バリアの構造的破綻による ETx の影響の変化

リシノール酸のラットへの単回経口投与により腸管粘膜上皮細胞の変性を誘発させて、腸管バリアの構造的破綻を図った。その後に GalN を単回腹腔内投与してその肝毒性の変動を観察した。

実験(1)の結果、ラクツロースを前投与した動物での GalN の肝毒性は、GalN 単独投与に比較して極めて弱いことが判明した。GalN の肝毒性のかかなりの部分に内因性 ETx が関連していると考えられる。また、実験(2)、(3)のいずれにおいても、GalN の肝毒性は増強されることが確認された。このことは ETx が腸管バリアの免疫学的破綻、および構造的破綻によって血中へより多く移行したということを示していると考えられる。

今回の結果より、抗生物質のように腸内細菌叢の変動を引き起こす薬物の場合だけでなく、免疫抑制作用のある薬物や消化管障害のある薬物の安全性評価においても、ETx の影響を大いに考慮すべきであることが示唆された。

56.(示) 食用赤色104号(フロキシソ)の慢性投与によるマウス自然発生肝病変の  
予防効果

○高橋忠照、渡邊敦光、伊藤明弘、藤本成明(広島大学・原医研・癌)

フロキシソは現在本邦で容認されている24種類の食用色素の一つであり、主として菓子、農水産加工品、医薬品、化学品などの着色料として用いられている。性状は赤-褐色の粉末で無臭、化学的には酸に不安定であるが、アルカリには安定である。本研究ではフロキシソでの慢性毒性特にその発がん性について検討した。

実験材料と方法：検体のフロキシソは分子量830でイソキサントン二ナトリウムを含有する。これを粉末としてCRF-1(オリエンタルKK)飼料と混合して、固形化した。混合濃度は亜慢性実験では0, 0.1, 0.4, 1.6%とし、慢性実験では0, 0.1, 0.4%とした。動物：雌雄両性の6週令のB<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウス(日本チャールス・リバー社)を用いた。亜慢性研究では0, 0.1, 0.4, 1.6%を雌雄両性で各群8匹として12週間投与し、屠殺解剖した。

慢性毒性研究：0, 0.1, 0.4%のフロキシソを雌雄両性マウスを用いて各群50-60匹として最高90週間投与し、屠殺解剖した。なお、フロキシソ含有飼料と水道水は自由摂取とした。

結果と考察：1. 亜慢性研究：雌雄の対照群、実験群ともいずれのマウスも100%生存した。体重変化は実験開始時、雄は平均26g、雌は平均21gであり、終了時各々37gと33gであり実験群間で差異を認めなかった。又、いずれの臓器にも肉眼、病理組織検査の結果、病的所見を認めなかった。従って、1.6%以下ではフロキシソの毒性は認められなかった。2. 慢性研究：生存率は良好で、検体投与64週の時点で85-98%の生存率を示した。体重変化は開始時雄、雌それぞれ平均24gと19gであった。両性とも検体投与群で実験開始後12カ月目でピークに達したが、0.1及び0.4%検体投与群が対照群より有意に体重の増加が認められた。発現腫瘍は、肝腫瘍、リンパ腫、腸腫瘍など計13の臓器に腫瘍性変化を認め、雄では肝腫瘍が最高の発現率を示して67.3%、次いで肺の腺腫10.9%、リンパ腫9.7%、肝の変異巣9.7%、肝の血管腫7.9%などであり、雌では肝腫瘍の11.5%を最高として、リンパ腫7.6%、肺腺腫7.6%、肝の血管腫3.2%、卵巣腫瘍2.5%の順であった。肝では変異巣(altered foci)と血管腫の発生が0.4%群で対照群に比べ5%以下の危険率で有意差を示して低下した。その他の病変は検体投与群と対照群の間で差を示さなかった。以上によりフロキシソはメスの体重を増加させ、肝の良性病変の発生を低下させた。

## 57. (示) 天然ビタミン E および合成ビタミン E のマウス、ラットにおける長期投与試験

新田由美子、神谷研二、鍵本 修、貞本誠治、丹羽太貴、横路謙次郎 (広島大学原医研・病理)

### 1. マウス自然発生肝癌と N-nitrosodiethylamine (DEN) 誘発癌に対する天然ビタミンE 経口投与の影響

【方法】 (C57BL/6N×C3H/He)F<sub>1</sub> 雄マウスを用いた。1) 対照群 (普通餌)、2) 5%E-mix80 (天然トコフェロール混合物) 含有餌投与群、3) 0.01% DEN 投与、普通餌群、4) 0.01% DEN 投与、5%E-mix80 含有餌投与群、の 4 群を設定して 2 年間に亘る投与実験を行った。【結果】自然発生肝癌が 5%E-mix80 含有餌投与群 (72.0%) で、対照群 (26.0%) に比べ 2.76 倍と高頻度を示した。DEN 誘発肝癌に対する E-mix80 投与の影響は明らかでなかった。DEN 誘発肺癌 (84.0%) は E-mix80 投与により抑制され (16.0%)、対照群 (19.6%) の頻度にまで下がった。DEN 誘発前胃扁平上皮癌に対する E-mix80 投与の影響は認められなかったが、DEN 誘発食道癌は E-mix80 投与群に発生がなかった (DEN 投与群 6/50 例)。

### 2. 天然ビタミン E および合成ビタミン E のマウス或いはラットに対する長期皮下注射投与による fibrosarcoma 誘発効果

【方法】実験 I (C57BL/6N×C3H/He) F<sub>1</sub> 雌マウスを用い、E-mix80 単独、植物油単独および E-mix80 と植物油との混合物を週 / 回計 52 回皮下注射した。また NFS/N 雌、雄マウスに、E-mix80 と植物油との混合物を同様のスケジュールで皮下注射した。実験 II NFS/N 雌、雄マウスを用い、d, l- $\alpha$ -tocopherol acetate (d, l- $\alpha$ -TA) 単独、植物油単独および両者の混合物を週 / 回計 52 回皮下注射した。実験 III Fischer 344 ラット雄に対し、d, l- $\alpha$ -TA を用いた同様の注射投与実験を行った。形成された腫瘍は光顕および電顕レベルで形態観察を行う一方、in vivo での可移植性を観察し、さらに DNA を抽出して c-myc 遺伝子の増幅の有無を調べた。【結果】 (C57BL/6N×C3H/He) F<sub>1</sub> 雌 (60.0%)、NFS/N 雌 (100%)、雄 (75.0%) の頻度で E-mix80 と大豆油との混合物注射部位に fibrosarcoma の形成があった。このうち、3/7 例に c-myc の増幅を検出した。(C57BL/6N×C3H/He) F<sub>1</sub> では E-mix80 とごま油 (40.0%)、オリーブ油 (30.0%) との混合物でも fibrosarcoma が形成された。NFS/N マウスにおいて d, l- $\alpha$ -TA 単独、あるいは植物油 (大豆油、ヤシ油) との混合物を皮下注射することにより、注射部位に fibrosarcoma が形成されたが、いずれも低頻度であった。F344 ラットにおいて、d, l- $\alpha$ -TA 単独皮下注射により 14/17 例に fibrosarcoma が形成された。d, l- $\alpha$ -TA と大豆油との混合物 (10/15 例)、ヤシ油との混合物 (4/18 例) 注射でも fibrosarcoma 形成があったが、その頻度は d, l- $\alpha$ -TA 単独注射群で最も高かった。これらの腫瘍は、検索した 23 例の全てが同系ラットに可移植性であった。

3. まとめ 天然ビタミン E である E-mix80 は少なくとも 2 種の腫瘍、すなわちマウス肝癌とマウス・ラットの fibrosarcoma に対し、プロモーター作用を示した。一方、合成ビタミン E である d, l- $\alpha$ -TA は、ラットにおいて fibrosarcoma のイニシエーターとして作用した。なお、E-mix80 は DEN 誘発マウス肺癌に著明な抑制効果を示した。

## 58. (示) WBN/Kobラットの自然発症膵炎におよぼすインドメタシンの影響

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

昨年度、本学会においてWBN/Kobラットにおける膵炎の初期病変を報告した。この変化は外分泌腺におけるラ氏島周囲の出血、炎症細胞の浸潤、線維の増生、ヘモジデリン沈着、内分泌組織におけるラ氏島の $\beta$ 細胞の肥大、 $\alpha$ 細胞の空胞化、線維組織による孤立化を特徴とするものであった。この病変は雄に特異的でありエストロジェン投与により膵炎の発症が抑制される。今回、このラットに抗炎症作用のあるインドメタシンを与え自然発症膵炎におよぼす影響を検討した。

### 【実験材料および方法】

5週齢の雄WBN/Kobラット(日本SLC)50匹を用い、インドメタシン(IM)を1週間後から第1群(20匹)は20 ppm、第2群(20匹)は10 ppmを飲料水に混じり自由に与えた。また、第3群(10匹)は水道水を自由に与えた。実験は投与開始から20週間で終了し、屠殺剖検した。屠殺時には血糖を腋窩静脈血にてグルコスティックス(マイルス三共)にて、尿酸は24時間の蓄尿でテストテープ(シオノギ)にて測定した。膵はユフィクス(サクラ精機)にて固定後、膵の重さを測定、常法によりパラフィン包埋しヘマトキシリン・エオジンおよびアザン染色を施し病理組織学的に検討した。また画像解析装置(TAS plus)を用いてアザン染色標本にて膵全体の総面積における膠原線維組織占有面積比率を計測し算出した。

### 【結果】

体重は投与開始からほぼ対照群と同様に推移し、20週の屠殺時には第1群は439g、第2群は427g、第3群は415gとIMの濃度に比例して増加がみられた。膵重量は第1群は $1.66 \pm 0.17$ g、第2群は $1.42 \pm 0.16$ g、第3群は $1.11 \pm 0.10$ gとIMの濃度に比例して増加し、第3群に比し第1群、第2群では有意に膵重量の増加がみられた( $p < 0.01$ )。また比重量においても同様の結果がみられた。血糖値は各群間に差はなく、尿酸においても陽性例はみられなかった。画像解析装置を用いた膵の総面積当りの膠原線維の占有面積を計測した結果、第1群で $5.39 \pm 2.82$ (%)、第2群は $12.98 \pm 8.69$ (%)、第3群は $29.94 \pm 13.89$ (%)であり、第3群に比して第1群と第2群は有意に膠原線維の減少がみられた( $p < 0.001$ )。病理組織学的には第3群では強度の脂肪浸潤、膠原線維の浸潤とヘモジデリンの沈着、ラ氏島数の減少を伴う慢性膵炎の像を示した。それに対して第1群と第2群では慢性膵炎の程度は軽度で外分泌腺およびラ氏島の保存が比較的良好であった。

### 【結論】

WBN/Kobラットにインドメタシンを経口的に投与すると、外分泌組織およびラ氏島は比較的良好に保たれた。また脂肪浸潤の程度も軽減し、膠原線維の占める割合も少なく、自然発症の膵炎は抑制された。

## 59. (示)

キナクリンによるラットおよびハムスターの肝、腎における  
ミエリン様小体と酸性フォスファターゼの電顕的局在

○今沢孝喜・古川文夫・篠田和俊・今井田克己・高橋道人・林 裕造（国立衛試・病理）

【緒言】キナクリンは合成抗マラリア剤、消化管内寄生虫駆除剤として用いられたアクリジン系の化合物である。この薬物は肝、脾、肺、副腎、腎、膵等に強い親和性を持ち、ラットに投与すると腸管から速やかに吸収され、これら諸器官に長期間蓄積し、細胞内にライソゾームの腫大増生と多数のミエリン様小体が出現することから、リン脂質症を誘発させるモデルとされている。

今回、肝および腎においてリン脂質症に関与するライソゾームおよびその指標となる酵素である酸性フォスファターゼ（ACP）について超微形態学的な検索を行った。ラットについては肝二段階発癌モデルを用い、キナクリンによる細胞内リン脂質蓄積と肝発癌過程の促進性に関する検討を行った。

【実験材料および方法】実験Ⅰ：5週齢の雄F344ラット66匹を用い、3群に分け、第1群と第2群にはdiethylnitrosamine（DEN）200mg/kgを単回腹腔内投与し、第3群にはDENの媒体である生食を同様に投与した。第2群および第3群のDENあるいは生食投与の2週間後から実験終了までの6週間500ppm濃度にキナクリンをCRF-1粉末飼料に混じて、また第1群の動物には対照群として同粉末飼料のみをそれぞれ自由に摂取させた。実験開始後3週間目に、全動物の肝2/3部分切除を行った。

実験Ⅱ：5週齢の雌シリアンゴールデンハムスター124匹を用い、300ppm濃度にキナクリンをMF粉末飼料に混じて15週間自由に摂取させた群と無処置の対照群の二つの群を設けた。実験終了後、実験ⅠおよびⅡの各群から2匹ずつの肝および腎を摘出し、常法に従いエポキシ樹脂包埋した。

【結果】実験Ⅰ：キナクリンを投与した第2群および第3群の肝細胞および小葉間胆管細胞はライソゾームの腫大増生ならびに多量のミエリン様小体の出現が観察された。ACP活性は、肝細胞内ではライソゾームの増生に伴って明らかな増加が見られたが、小葉間胆管細胞ではほとんど検出されなかった。腎では、第2群と第3群の糸球体足細胞および遠位尿細管上皮細胞にミエリン様小体とライソゾームの増生が観察された。第1群のDENのみ投与したラットではミエリン様小体は全く観察されなかった。

実験Ⅱ：キナクリンを投与したハムスターの肝では肝細胞にミエリン様小体はわずかに観察され、ACP活性は対照群の動物に較べて増加していた。腎では尿細管上皮細胞にミエリン様小体の増生とACP活性の増加が観察された。

【結語】ラットにキナクリンを投与すると肝および腎にミエリン様小体の増生とACP活性の増加がみられ、リン脂質症が誘発された。ハムスター腎においてはラットと同程度にミエリン様小体の増生がみられたが、肝においてわずかに観察されたのにすぎず、肝のリン脂質症発現は軽度であった。

## 60. (示) 食餌性高 $\beta$ リポ蛋白血症ラットにおける泡沫化単球の肺胞内への移行の増強

○渋谷一元, 斎藤敏樹, 三内貞子, 山手丈至, 田島正典 (日生研)

ラットの肺に泡沫細胞が自然発生することが知られている。我々はこれまでこれら自然発生肺泡沫細胞 (PFCs) の発生率及び程度が加齢に伴って増加し, 血中脂質濃度に相関すること (Jpn J Vet Sci 48, 1986), 加齢及びコレステロール投与により誘導された高 $\beta$ リポ蛋白血症を示すラットにPFCsが高率に出現すること (Jpn J Vet Sci 51, 1989), 及び食餌性高 $\beta$ リポ蛋白血症ラットにおいてPFCsの発生が血液単球 (BMs) の泡沫化と密接に関連すること (第107, 108回日本獣医学会) を報告してきた。今回は, ラテックス粒子の静脈内注入によりBMsを標識することを試み, 高 $\beta$ リポ蛋白血症下における標識細胞の肺胞内への移行及びPFCs発生との関連性を検索した。

### 〔材料と方法〕

F344ラットに高 $\beta$ リポ蛋白血症飼料 (5%コレステロール, 2%コール酸含有) を4週間給与し, 高 $\beta$ リポ蛋白血症ラットを作出した。対照群には, 基礎飼料を同様に給与した。FITC標識ラテックス粒子 ( $\phi$  0.720  $\mu$ m) (日本合成ゴム株式会社より供与) を0.02% 加えた滅菌リン酸緩衝液 (PBS) 1mlを尾静脈より毎秒0.05 mlの速度で注入した。注入後1, 2, 4, 及び8日に, 各群4匹のラットから採血し, 血漿脂質濃度, 血清リポ蛋白電気泳動法による $\beta$ リポ蛋白の割合, 白血球数及び単球百分比を測定した。血液の一部から単核白血球層を分離し, チャンバースライド内で1時間培養後, 浮遊細胞を除去したものをBMs付着標本とした。採血後, 肺を摘出し, 左葉気管支を結紮した後, 冷Hanks平衡塩類溶液 (HBSS) で気管支肺洗浄を実施した。洗浄細胞をチャンバースライド内で1時間培養後, 浮遊細胞を除去したものを肺胞マクロファージ (AMs)付着標本とした。左葉は分離して10% 中性緩衝ホルマリンで固定し, 組織標本を作製した。

### 〔結果〕

高 $\beta$ リポ蛋白血症飼料給与群 (HB群) の総コレステロール, リン脂質及び $\beta$ リポ蛋白分画は, 4週間の飼料給与後の実験期間を通じて対照群に比べ著明に増加しており, 高 $\beta$ リポ蛋白血症が誘発されていることが確認された。HB群の白血球数, 単球百分比, BMs中の泡沫化単球 (FMs)出現率及びAMs中のPFCs出現率も, 実験期間を通じて対照群に比べ増加していた。標識BMsの出現率は, 対照及びHB群において注入後2日に最高値となり, 以後減少傾向を示した。注入後の全ての検索時において, HB群の標識BMsの出現率は対照群に比べ高かった。標識BMs中のFMsの割合はHB群において著明に高く, 注入後期間の延長に伴って増加した。HB群の標識AMs出現率は, 注入後1及び2日において対照群とほぼ同様であったが, 注入後4及び8日において対照群に比べ明らかに高かった。HB群の標識AMs中のPFCsの割合は, 注入後の全ての検索時において対照群に比べ著明に高く, 期間の延長に伴って増加した。HB群の標識FMs及び標識PFCsの出現率の増加はよく相関していた。HB群の左葉におけるPFCsの発生率及びその程度は, 実験期間を通じて対照群に比べ高かった。

### 〔考察〕

今回の実験結果から, 高 $\beta$ リポ蛋白血症ラットにおいて血中の過剰な脂質 ( $\beta$ リポ蛋白) を摂取し, 泡沫化したBMsの肺胞内への移行が増強されることが示唆され, このことはPFCsの発生機序において重要な所見と考えられた。

## 61.(示)

### ビーグル犬の眼底像と組織学的所見との関連性

○森田晴夫, 須永昌男, 下村和裕, 小泉治子 (実中研・前臨床研)

一般毒性試験における眼科学的検査の1つとして眼底観察が行われているが、剖検終了後に実施される病理組織学的検査所見との関連性について十分に検討されていない。1つの理由としては、医薬品の安全性試験の一環として行われている非臨床試験では、眼底の病変があまり多く発症しないこと、また発症した場合でも、その後に開発が中止され公表されないことなどが考えられ、既知の症例数は実際にはそれほど多くはないものと思われる。今回、眼科学的検査における基礎データを得る目的で、自然発症例およびジチゾン投与例について、眼底像の所見と病理組織学的検査所見との関連性を検索したので報告する。

#### <材料および方法>

動物： 自然発症例(3頭);オスまたはメス, 7~8ヵ月齢。 ジチゾン誘発例(1頭);オス, ジチゾン 20 mg/kg (iv)を単回投与後120日間観察, 開始時8ヵ月齢。

眼科学的検査： 散瞳剤(トリップ, 錠剤)点眼後、眼底カメラ (RC-2型, Kowa社)およびスリットランプ (SL-2型, Kowa社)を用いて、定期的に観察した。

病理組織学的検査： 動物を全身麻酔下で放血致死させ、眼球を摘出した。眼球は3%グルタルアルデヒドと2.5%ホルマリンの混合液を用いて固定し、パラフィン包埋後H-E染色標本作製し、光顕的に観察した。

#### <結果>

症例1： 外見所見としては、被毛は通常三色であったが、鼻端色素沈着は乏しかった。眼底は左右両側性に全体が赤色調を呈したが、わずかな色素沈着を認めた。Tapetal zoneは欠如し、通常の反射性はみられなかった。組織学的には、虹彩および脈絡膜等の色素沈着が少なく、Tapetal cell layerは欠如していた。

症例2： 外見所見には異常はなかった。眼底は両側性に全体が黒色調を呈した。また、Tapetal zoneは欠如し、通常の反射性はみられなかった。組織学的には、虹彩および脈絡膜等の色素沈着は正常範囲内であったが、Tapetal cell layerは欠如していた。

症例3： 外見所見には異常はなかった。片側の眼底には、Tapetal cellと思われる多数の光輝性点状物が Tapetal zoneと Atapetal zoneの両域にわたって散在していた。組織学的には、Tapetal cell layerを含む網膜に特別な変化はみられなかった。

症例4(誘発例)： 外見所見には異常はなかった。眼底検査では、Tapetal zoneにおける色素沈着の異常増加と Atapetal zoneにおける色素の脱落を特徴とした変化が両側性にみられた。組織学的には、網膜全域に内・外顆粒層細胞の変性および脱落の他に、大小の異常な色素顆粒が色素細胞層と外顆粒層との間に蓄積していた。しかし、Tapetal cell layerには明らかな変化はなかった。

<まとめ> 今回の観察により以下のことが明らかになった。

1. 眼底に反射性がなく全域が均一に見えるのは、Tapetal cell layerを欠いていること。
2. 眼底の全域が赤色調を呈するのは、色素沈着が乏しいか、または欠如している場合であるが、黒色調を呈するのは必ずしも色素沈着の増加を意味しないこと。
3. Tapetal cellと思われる光輝性点状物は、今回の観察では組織学的に一致するものがなく、さらに検討が必要なこと。
4. ジチゾン投与後の眼底にみられた色素沈着の異常は、主として組織学的検査でみられた大小の色素顆粒の分布との関連が示唆されること。

## 62.(示) 多重イニシエーションによる標的臓器における細胞増殖

○小木曾 正、高場 克己、立松 正衛、Ricardo Cabral、伊東 信行（名市大・医・1 病理）  
【はじめに】

我々は、数種類のイニシエーターをラットに短期間に投与した後、被験物質を投与して、その発癌作用や発癌修飾作用を、比較的短期間で多数の臓器について検討する多臓器発癌モデルを開発してきた。そして、5種類のイニシエーターの組合せによる、28週間のモデルが有用であることを明かにしてきた。そこで今回、このモデルでの各イニシエーターの臓器標的性を、イニシエーション期間における細胞増殖面より検討した。

### 【材料および実験方法】

実験には6週齢のF344雄ラットを用いた。第1群(G1)は、試験開始時に diethyl-nitrosamine(DEN, 100mg/kg, ip)を1回投与した後、最初の2週間に N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine(BBN: 0.05%飲料水)と同時に N-methyl-N-nitrosourea(MNU: 20mg/kg, ip)を4回投与し、次の2週間は、2,2'-dihydroxy-di-propylnitrosamine(DHPN: 0.05%飲料水)と同時に 1,2-dimethylhydrazine(DMH: 40mg/kg, sc)4回投与の合計5種類のイニシエーターの多重投与群とした。第2群から6群(G2~6)は、DEN, BBN, MNU, DHPNおよびDMHのそれぞれ単独投与群、第7群(G7)は無処置対照群とした。動物は2週目(G1, 2, 3, 4, 7)と4週目(G1, 5, 6, 7群)に各群5例ずつ屠殺解剖した。全てのラットについて、屠殺1時間前に bromodeoxyuridine(BrdU: 100mg/kg, ip)の投与を行い、全身諸臓器にBrdU免疫染色を施し、Labeling Index(LI)の測定を行った。

### 【結果と考察】

膀胱では、LIの増加が対照群と比較して多重およびBBN単独投与群(G1, 3)で有意に認められた。複合投与群においてBBNによる膀胱上皮増殖に対する他のイニシエーターの影響は認められず、膀胱はBBNにより選択的に細胞増殖されるものと考えられた。

肝臓ではDEN単独投与群(G2)、甲状腺ではDHPN単独投与群(G5)、大腸ではDMH単独投与群(G6)で、対照群に比較して、各々LIが増加した。また、多重投与群では、それぞれのイニシエーターの標的臓器の細胞増殖の亢進が認められたが、各単独投与群と比べ抑制傾向を示した。従って、これらの臓器において、各イニシエーターの標的臓器における細胞増殖は、他のイニシエーターによりいくらかの影響を受けるものと考えられた。

肺では、LIの増加が多重投与群および各イニシエーター単独投与群にみられ、イニシエーターとその臓器標的性の関係は明かではなかった。

以上、多臓器発癌モデルのイニシエーション期間終了時において、膀胱、肝臓、甲状腺および大腸では各イニシエーターの臓器標的性と細胞増殖との関連が認められたが、肺では明瞭ではなかった。従って、イニシエーターの多重投与における各々の臓器標的性の検討には細胞増殖面のみならず、前癌病変などの定量的検討も必要と考えられた。

### 63. (示) 医用材料の埋植試験による組織検索の評価的意義

－ 組織炎症反応と細胞毒性との相関 －

- 豊田和弘<sup>1</sup>・高橋道人<sup>1</sup>・阿瀬善也<sup>1</sup>・五十嵐良明<sup>2</sup>  
土屋利江<sup>2</sup>・中村晃忠<sup>2</sup> (国立衛試：<sup>1</sup>病理・<sup>2</sup>療品)

医用材料の前臨床試験としての毒性評価法の確立を目的としてウサギ筋肉内短期埋植試験を行い、生体組織反応と *in vitro* の細胞毒性試験結果との相関性について検索を行った。モデル試料として、組織障害の報告が比較的多い天然ゴム製品を選び、医用材料の毒性評価法としての生体組織検索の意義を検討した。

【実験材料および方法】 試料：市販の手術用ゴム手袋 17 種類。

ウサギ筋肉内短期埋植試験：動物は 13～16 週齢の雄の白色ウサギを用いた。筋肉内への埋植方法は日本薬局方の「輸液用プラスチック容器試験法」における「移植試験」に準じ、10×1mm の大きさに細切した試料を 15 ゲージの注射針内に挿入し、スタイルットを用いて動物の脊柱旁筋肉内に埋植した。埋植後 7 日目に動物を麻酔下で瀉血、屠殺し、試料埋植部位の筋組織を試料と共に摘出して 10% ホルマリン液にて固定した。固定後、試料の横断面が出るように組織を皮膚表面と水平方向に切り出し、通常の方法によりパラフィン包埋後、HE 組織標本作製した。病理組織学的検索は、試料の種類および細胞毒性等の情報を知らされない状況で無作為的に行い、試料埋植によると思われる種々の組織所見を基に組織反応指標を設定し、各試料について検索を行った。

細胞毒性試験：チャイニーズハムスター肺線維芽細胞由来の V79 細胞に、種々の濃度に段階希釈した試料抽出液（試料 1 g より抽出）を加えて 7 日間培養し、細胞のコロニー形成率を 50% に阻害する抽出液濃度（IC<sub>50</sub>）を算定した。

この IC<sub>50</sub> を細胞毒性の指標とし、上記の組織反応指標の検索結果との相関性を調べた。

【結果および考察】 病理組織学的検索の結果、試料周囲の組織は種々の程度の炎症性の変化を呈しており、認められた所見を基に、以下の 12 項目を組織反応の指標とした；

- ① 変性/壊死筋線維細胞
- ② 出血
- ③ 浮腫
- ④ 血管新生
- ⑤ 線維芽細胞
- ⑥ 偽好酸球
- ⑦ マクロファージ
- ⑧ 巨細胞
- ⑨ リンパ球
- ⑩ 形質細胞
- ⑪ 炎症細胞の周辺部筋線維間への浸潤
- ⑫ 炎症領域の幅。

個々の組織反応指標の検索結果と IC<sub>50</sub> との相関性を調べた結果、「変性/壊死筋線維細胞」「炎症細胞の周辺部筋線維間への浸潤」「炎症領域の幅」との相関性が良く、これらの指標はいずれも試料埋植による炎症反応の大きさを反映するものと考えられた。中でも「炎症領域の幅」は炎症領域の大きさを定量的に示した指標であり、更に客観性、相関性共に優れ、簡便であることから、筋肉内埋植試験における組織障害性評価の最もよい指標であると思われた。現在、この「炎症領域の幅」について、試料中の化合物含量との相関性、また、試料の材質及び埋植期間の違い等による影響を検討中であり、組織反応の指標としての有用性を確認中である。

○畠中真吾・尾根田暁・岡崎啓幸・吉田浩己・井坂英彦(鹿大I病理)

医用材料として多方面に用いられている物質が長期間体内に保持された場合の発癌性についての研究はこれまでも行なわれているが、今だに十分な解析はなされていない。今回、我々はシリコンゴム(信越ポリマー)、セルロース(旭化成、ペリーゼTS-507)、ポリ塩化ビニル(積水科学エスメディカ)、ジルコニア(品川耐火煉瓦)、そしてアロンアルファ(東亜化学)の5種類の材料について検索を行ない、腫瘍発生をみたのでその結果を報告する。

実験には6週齢のFisherラットの雌を用い、前述の5種類の材料をそれぞれ12匹のラットの皮下組織に挿入した。そのうちシリコンゴム、セルロース、ポリ塩化ビニルについては1×2cmのシート状とし、腹部(左右2ヶ所)と背部(1ヶ所)に、ジルコニアについては直径4cmの円盤状のものを腹部に挿入した。アロンアルファについては胸部(左右2ヶ所)、腹部(左右2ヶ所)、背部(1ヶ所)の計5ヶ所に注入し、2年間の観察を行なった。

観察中、挿入物が早期に脱出したもの、及び腫瘍との関係なしに早期に死亡したものを除き肉眼的及び組織学的観察を行った。その結果、シリコンゴム、ポリ塩化ビニルを挿入した群ではいずれも72.7%のラットに、セルロースでは75.0%に、アロンアルファでは90.1%に、そしてジルコニアでは100%のラットに腫瘍が発生した。そのうち皮下腫瘍はシリコンゴム、ポリ塩化ビニル、ジルコニア、アロンアルファ挿入部位のそれぞれ9.1%、18.2%、100%、14.5%に認められ、セルロースを挿入したものには認められなかった。これらの腫瘍はいずれも挿入した異物の部位に一致してしており、この腫瘍発生にはこれらの物質が直接関与していると考えられた。組織学的にはfibroblast様、histiocyte様の細胞、あるいは巨細胞から成るmalignant fibrous histiocytomaの像をとっていた。皮下腫瘍以外に発生した腫瘍形成性病変では、組織学的には、乳腺症が最も多く、それ以外には白血病、乳癌、子宮癌が認められたが、それらの発生率には注目すべき規則性は見いだされなかった。

今後異物の物理的形状の変化と発生率の変化の関係等も検討中である。

○山本 修 (日産化学)、吉田 敏則・三森 国敏・真板 敬三・白須 泰彦 (残農研)

ラットの頭蓋腔内における自然発生腫瘍は、下垂体前葉腫瘍を除きその発生頻度は低い。それらの中でも松果体腫瘍は極めて稀であり、文献上での発生頻度は0.02~0.44%と報告されている。ヒトにおける松果体腫瘍は、その形態像から胚細胞腫、奇形腫、松果体細胞腫、松果体芽細胞腫、神経節神経腫等に分類されている。ラットで報告されている松果体腫瘍の多くは、その組織学的形態像から実質細胞由来と思われるが、それらの腫瘍について電子顕微鏡的観察を詳細に行った報告は少ない。今回我々は、Wistar系雌ラット一例に松果体細胞腫の発生を認めたので、その組織学的及び電子顕微鏡的特徴を報告する。

#### 【症例及び検索方法】

動物は長期毒性試験に供され、88週齢に切迫殺処分されたWistar系雌ラットで、臨床症状としては著しい体重減少及び赤色眼脂が認められた。剖検時において本腫瘍は、大脳後頭葉から小脳前葉表層部における出血を伴った直径8mmの半透明ゼリー様腫瘤として認められ、断面では脳組織との境界は明瞭であった。他の臓器に、腫瘍性病変は認められなかった。腫瘍は、10%中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン切片について、H-E染色、特殊染色(鍍銀、アザン、PAS)及びS-100蛋白の免疫組織化学的染色(ABC法)を施し、鏡検した。また、腫瘍の一部はグルタルアルデヒド及びオスミウム酸で二重固定し、透過型電子顕微鏡観察に供した。

#### 【組織学的所見】

腫瘍は、線維性被膜にほぼ覆われた血管に富む大きな結節性増殖巣として観察され、それにより大脳及び小脳実質は圧迫萎縮に陥っていた。しかし、脳実質への明らかな浸潤性増殖像は認められなかった。腫瘍は、著しい血管拡張を伴う、明調大型細胞の充実性増殖からなり、腫瘍細胞は血管周囲に密に配列し、内分泌腺組織にみられるような、索状構造ないし小葉構造が頻繁に認められた。

明調大型細胞は、豊富なエオジン淡染性細胞質、大型の円形~卵円形の淡明核及び1~数個の明瞭な核小体を有していた。その他、明調大型細胞の間には多角形の暗調小型細胞が散見され、この細胞はエオジン強染性細胞質とクロマチンに富む不整形の核を有していた。核分裂像は明調細胞に散見され、一部において腫瘍細胞は多形性を示し、巨細胞も観察された。間質にはヒトの松果体にみられる砂粒に類似する石灰沈着も散見された。S-100蛋白陽性細胞は腫瘍組織内には認められなかった。

#### 【電子顕微鏡所見】

腫瘍細胞は、核及び細胞質の電子密度により明調細胞及び暗調細胞の二型に区別された。明調細胞は、腫瘍の主体を占め、クロマチンに乏しく核の陥入が明瞭に認められた。細胞質はミトコンドリア及びポリリボソームに富んでいたが、その他の細胞小器官は未発達であった。暗調細胞は、核及び細胞質とも不整形で、細い細胞質突起を細胞間に伸ばしていた。これらの細胞は密に配列し、細胞間には接着装置が観察された。腫瘍細胞の細胞質には、分泌顆粒と思われる直径約80~140nmの有芯小胞が少数認められた。

#### 【考察】

ラットの松果体は脳の正中背側面に大脳及び小脳に接して存在する内分泌器官であり、不規則に索状配列する松果体細胞(主細胞)、グリア細胞、神経線維及び血管網から構成されている。主要構成細胞である松果体細胞はメラトニンを分泌する。本腫瘍の発生部位は松果体の解剖学的位置にほぼ一致し、組織学的にも松果体の正常構造に類似する内分泌腺構造が明瞭であった。また、電子顕微鏡的にも腫瘍細胞の形態像は内分泌腺細胞のそれに類似しており、特に有芯小胞はメラトニン分泌顆粒に酷似していた。以上の所見から本腫瘍は松果体の実質細胞に由来するものと考えられ、松果体細胞腫と診断された。

吉田 緑 (動繁研)

ラットにおける末梢神経系の腫瘍は、ethylnitrosourea等の発癌剤により誘発されることが知られている。自然発生例は老齢の動物で報告されているが、その頻度は低く、しかも、頭蓋腔内の発生例はまれである。今回われわれは、比較的若い28週齢のラットにおいて頭蓋腔内に発生した神経鞘腫様の腫瘍に遭遇した。その肉眼的、組織学的、免疫組織学および電子顕微鏡的特徴について報告する。

動物は当研究所で飼育していた28週齢の雄Slc:Wistarラットで、急激な体重減少と鎮静状態により切迫殺したものである。肉眼的に腫瘍は、頭蓋腔底部に直径約1cmの灰白色軟腫瘤として観察された。下垂体および三叉神経は腫瘤に巻き込まれて不明であった。腫瘤に接した脳底部は圧迫され陥凹していたが、脳との境界は明瞭であった。なお、腫瘍その他の臓器に異常は認められなかった。

組織学的に、腫瘍は被包化されてなく細胞が密に増殖していた。増殖部では、淡酸好性の細胞質で卵円形の核を有する紡錘形の細胞がシート状に配列して認められた。細胞間の境界は不明瞭であり、柵状配列は認められなかった。異型性は認められなかったがかなり多くの核分裂像が観察された。腫瘍の末端部では、腫瘍細胞が神経線維に沿って増殖していた。さらに頭蓋骨の脱灰標本において、腫瘍細胞が三叉神経節まで浸潤性に増殖する像が認められた。この腫瘍細胞は、PAS反応陰性であり、S-100蛋白、GFAPおよびvimentinに対していずれも陰性であった。また、間質は乏しく、細胞間に少量の膠原線維が認められた。電子顕微鏡的に、腫瘍細胞は紡錘型で豊富な長いcell processを持ち、cell junctionが細胞間に散在性に観察された。これらのcell processの一部は、間質の膠原線維を取り囲むような配列を示した。また、ごくわずかながら腫瘍細胞あるいはcell processの周囲に、断片的な基底膜様の物質が観察された。

悪性神経鞘腫は様々な組織像を示すことから、H-E染色像だけでは診断が難しいとされている。S-100蛋白は、神経鞘腫の診断として有用なマーカーであるが、ヒトの悪性腫瘍の場合、陰性を示す例も報告されている。今回の症例においてもS-100蛋白が陰性であった一因として、悪性度が高かったことが考えられる。電子顕微鏡像では、豊富なcell processおよび断片的ではあるが基底膜様の物質など、シュワン細胞に類似する構造が観察された。さらに、光顕で腫瘍細胞が三叉神経の神経線維に沿った増殖像が認められたことは、この腫瘍が三叉神経原発性の神経鞘腫である可能性を示唆していると思われた。よって今回の症例を、頭蓋腔内に発生した三叉神経原発性の悪性神経鞘腫様腫瘍と診断した。

## 67.(示) F344ラットにみられた自然発生 Paraganglioma の1例

○ 阿瀬善也・豊田和弘・渋谷 淳・今沢孝喜・高橋道人 (国立衛試：病理)

ラットの Paraganglioma は極めて稀とされるが、NCI/NTP の200物質の癌原性試験において、約6万匹のうち17例(約0.028%)にその発生がみられたと報告されている。我々はF344ラットを用いた癌原性試験において、Paraganglioma と考えられる1例を認め、その病理組織学的検索をする機会を得たので報告する。

### 〔症例及び検索方法〕

癌原性試験は F344/DuCrjラット 300匹(雌雄各150匹)を用いて実施された。症例は5週齢より、62ppmの 5-fluorouracil を飲水に混じり104週間投与され、8週間の休薬後、計画屠殺・剖検された雄の1例である。

全身臓器及び腫瘍組織は10%緩衝ホルマリンにて固定し、常法に従いパラフィン包埋、薄切後、H・E染色を施し病理組織学的に検索した。また、特殊染色としてS-100 蛋白染色、グリメリウス染色、PAS 染色、鍍銀染色を実施したほか、もどし電顕観察を行なった。

### 〔病理所見〕

肉眼的に、本腫瘍は左側後腹膜にあり、腹腔内に硬い球形の腫瘤として認められ、直径20mmで薄い被膜に覆われていた。断面は暗赤色調を呈し充実性であった。組織学的には、腫瘍は胞巣構造が明瞭で、僅かな毛細血管性の間質を伴っていた。大部分の細胞は、胞体は明るく比較的豊富で、多角形ないし紡錘形を呈し、細胞境界は不明瞭であった。核は円形ないし卵円形で、クロマチンは疎であった。また、胞巣内には、やや小型でクロマチンの豊富な紡錘形の核と、好酸性の胞体を有する細胞が混在していた。細胞分裂像は散在性に認められたが、周囲組織への浸潤及び遠隔転移は認められなかった。また、S-100 蛋白染色は陰性であった。

### 〔結論〕

以上の結果より、本腫瘍は、発生部位が傍大動脈後腹膜であること、及び病理組織所見より aortico-sympathetic paraganglioma と診断した。NCI/NTP の報告では12/17例(71%)が後腹膜に発生したと報告されている。

図1：腫瘍は明瞭な胞巣構造を呈し、僅かな毛細血管性の間質を伴っている。(H・E染色 x132)

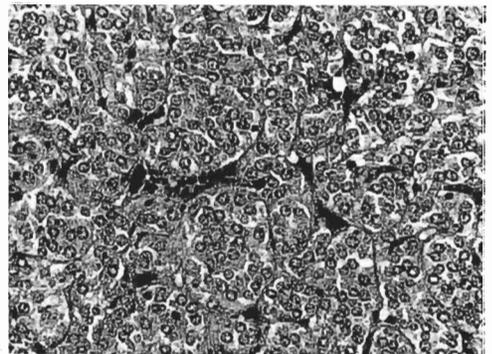


図1

## 68. (示) 中枢神経細胞を血管が貫通？

○田中薫， 當内景， 千早豊， 永田良一\*（新日本科学・病理， \*安全研）

中枢神経細胞と毛細血管は密接して存在しているが，一般に神経細胞を血管が貫通するような現象は知られていないし，また，このような現象があったとしても，その意味付けについては当惑してしまうであろう。

1990年初頭，毛細血管が神経細胞を貫通する事があるとの報告があったが (Kepes, J J, Bridge J A, and Flasschoen J: Penetration of neuronal perikarya by capillaries in chronic limbic encephalitis. J Neuropathol Exp Neurol, Vol 49, No.1, January: 64-70, 1990), この場合は，脳炎という病的状態下で観察されるものであった。

最近，我々は，脊髄内の神経細胞の胞体内に毛細血管の断面像が認められる組織像に遭遇した（図1）。毛細血管であることは，内腔に赤血球が見えること，壁を構成する内皮細胞に核が見えることから間違いないであろう。

当該動物は，月齢10ヶ月の雄の一般毒性試験に使用されたビーグルで，一般状態に著変はなく，また，病理組織学的に全身臓器に特記すべき所見は認められなかった。なお，当該組織像は被験物質とは関係ない偶発的所見であった。

問題は，血管の断面像の周囲に胞体が連続して見えるとき，はたして，血管がその細胞を貫通していると結論できるのか否かよくわからないということである。特に，神経細胞を血管が貫通するという現象が正常状態でおこるということは常識的には信じ難いことであり，多くの病理学者から，他の可能性を指摘された。すなわち，毛細血管が，同部でヘアピンカーブのごとく屈曲し，（もっともこれ自体も異様な現象であるが），切れ方によって図1のごとく見えたのではないかということであった。これについては，いろいろな模式図を書いて，切れ方でこのように見えることがありうるのか検討したのであるが，少なくとも我々にとっては，切れ方で説明するのは不自然に思えた。なお，同部をもどし電顕にて観察したところ，血管と神経細胞の胞体の間に有髄線維が観察された。

本所見は一枚のスライドガラス上で全く偶然に観察されたものであり，その動物の脊髄を数ヶ所追加切り出ししても本所見は観察されなかった。従って，連続切片，特殊染色，免疫染色，等の検索は不可能であった。このため，一枚の標本からある結論を断定することには無理があるろう。そもそも形態学は，*suggestion* しかいえない学問である以上，一般常識とはかけ離れた現象を述べることには慎重にならざるをえない。識者の意見を拝聴できれば幸いである。

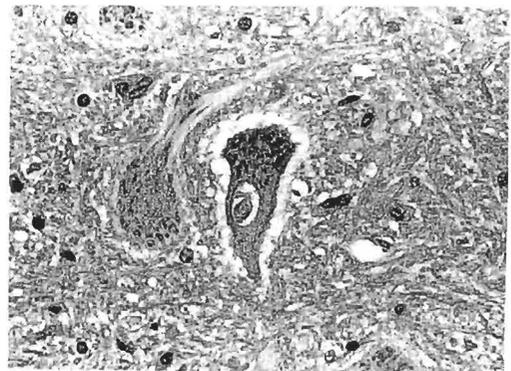


図1

## 69. (示)

### Fischer 344ラットの眼内に自然発生した無色素性黒色腫の1例

○沖本一夫, 岡崎欣正, 前田敏宏, 安場正子, 飯田晶敏, 大西久美雄 (大日本製菓, 総研)

実験動物や家畜の眼内に発生する腫瘍の報告は少ないが, その中では脈絡膜, 毛様体あるいは虹彩に発生する, いわゆるぶどう膜黒色腫が比較的多くを占めるとされている。ラットにおいても眼内の自然発生性腫瘍はまれで, 最近ではわずかに Heywood (1975) と Magnussonら(1978)の黒色腫の報告があるのみである。今回, 我々は Fischer344 (F344)ラットの雌の虹彩に無色素性黒色腫と考えられる1例を認めたので, その病理形態学的特徴を報告する。

#### 〔材料及び方法〕

動物は日本チャールス・リバー飼より4週齢で購入し, バリア・システム環境下, 市販の固型飼料を自由に摂取させて生涯飼育した雄72, 雌73匹の F344 ラットのうちの雌1例である。本例は一般状態の悪化により158週齢の時点でベントバルビタール麻酔下, 放血殺し, 剖検された。眼球はホルムアルデヒド・グルタルアルデヒド液に, その他の全身の臓器は10%中性緩衝ホルマリン液にそれぞれ固定し, 常法によりパラフィン包埋・薄切し, H. E.染色を施して病理組織学的検査を行った。さらに眼球については PAS, アザンおよび鍍銀染色に加えて SAB (Streptavidin-Biotin)法による S-100蛋白, グリア線維性酸性蛋白 (GFAP), および抗ニューロン特異エノラーゼ (NSE) 染色を施して光顕的に観察した。また, パラフィン包埋材料から電子顕微鏡用試料を作製して電顕的に観察した。

#### 〔結果〕

剖検により下腹部皮下および頸部に皮下腫瘍, 下垂体に暗赤色腫瘍および肺に暗赤色巣がみられたが, 眼球およびその周囲組織には肉眼的に異常は認められなかった。

組織学的に, 腫瘍組織は一側の眼球の虹彩に認められ, 周囲を圧迫することなく前眼房部に腫瘤塊を形成していた。腫瘍細胞は核小体の目立たない大きな楕円形の核をもつ細胞質の乏しい紡錘形細胞よりなり, 血管の周囲に不規則に配列していた。細胞境界は不明瞭で, 細網線維をわずかに認めた。膠原線維はみられなかった。有糸分裂像はまれに認められた。腫瘍組織の辺縁部(毛様体部)ではリンパ球, 好中球およびマクロファージなどの炎症性細胞浸潤が顕著であった。免疫組織化学的には S-100蛋白で腫瘍細胞の核と細胞質が陽性, NSE で細胞質と一部の核が陽性を示したが, GFAPでは陰性であった。電顕的には腫瘍細胞の細胞質にプレメラノゾーム様物が認められた。

その他, 本例には乳腺の腺癌とその肺への転移, 乳腺の線維腺腫, 下垂体腺腫, 慢性腎症および心筋線維化がみられた。

#### 〔まとめ〕

本腫瘍は虹彩が発生部位であること, 腫瘍細胞は紡錘形細胞が主体であること, 免疫組織化学的に S-100蛋白, NSE で陽性を示すこと, 電顕的にプレメラノゾーム様物を認めたことから無色素性黒色腫と診断した。

70.(示) 精巢 Leydig cell tumor あるいは皮膚の squamous cell carcinoma を重複した  
老齢ビーグル犬の甲状腺 follicular cell carcinoma の2例について

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

当研究所において長期間飼育したビーグル犬のうち2症例について報告する。

[症例1：雄、13才]

剖検的には、右側眼窩の下部から鼻腔、頭蓋底にかけて化膿巣が形成されており、その部位の皮膚および口蓋に潰瘍の形成があった。下顎リンパ節は著しく腫脹していた。その他の所見として、右側甲状腺の肥大、心臓の右房室弁に黄白色で透明感のある結節の形成、骨髄の造血亢進、副腎皮質の肥大、腎臓に小嚢胞および白色結節の形成などがあった。組織学的には、上顎を中心に広がる化膿巣内に異型重層扁平上皮の増殖があり、多数の有糸分裂像が認められた。同じ異型重層扁平上皮からなる転移巣が下顎リンパ節の他、肺、腎臓、甲状腺にもみられたことから、この変化を squamous cell carcinoma と診断した。また、甲状腺には follicular cell carcinoma が、精巣には Leydig cell tumor が、副腎には cortical cell hyperplasia が認められた。心臓にみられた結節は、右房室弁の myxomatous transformation と考えられた。

[症例2：雄、13才]

剖検的には左右の甲状腺は著しく肥大しており、断面では淡褐色から灰色の大小の結節が集簇性に認められた。同様の結節は肺、心臓、腎臓、副腎にも認められた。その他、前立腺の肥大、椎間軟骨の隆起などがみられた。組織学的に、甲状腺には小型円形核細胞の著しい充実性増殖があり、ごく少数の濾胞を認めた。有糸分裂像は多くはないが、血管腔内に同じ細胞の小塊が認められたほか、肺、心臓、腎臓、副腎にも転移巣があり、これらの所見から甲状腺の病変は follicular cell carcinoma と診断した。精巣には、細胞質が豊富で好酸性の顆粒状を呈する細胞よりなる Leydig cell tumor があり、前立腺には腺上皮の hyperplasia がみられた。

[まとめ]

10年間以上飼育した雄ビーグル犬に発生した甲状腺の follicular cell carcinoma 2症例について報告した。一般にイヌにおいては造血系あるいはリンパ系腫瘍の発生率が最も高く、次いで皮膚、口腔、消化管、乳腺、呼吸器、骨組織に比較的高い頻度で腫瘍が発生することが明らかにされている。ビーグル犬の自然発生腫瘍の発生率は他の系統に比較すると低いと考えられているが、Hayes らは、甲状腺腫瘍の発生に関しては high risk の系統であると報告している。彼らは、種々の系統のイヌの甲状腺腫瘍 144例のうち45例に他の臓器にも原発腫瘍をもつことを明らかにしており(多重癌)、特にビーグル犬においては perianal gland adenoma と corneal fibroma との重複1例、sebaceous adenomaと胃の leiomyomaとの重複1例、sebaceous adenoma と perianal gland adenoma との重複1例を報告している。今回提示した2例はいずれも甲状腺 follicular cell carcinoma に精巣の Leydig cell tumor を合併しており、発生病理上極めて興味深い症例と考えられる。

## 71. (示) 子宮内膜症と顆粒膜細胞腫が併発したカニクイザルの1例

○寺西宗広, 五十嵐功, 高岡雅哉, 柳井徳磨, 松沼尚史 (三共・安全性研究所)

老齢のカニクイザルにおける腫瘍などの背景病変に関する報告は少ない。8産目まで繁殖用として飼育した推定19歳の老齢カニクイザルにおいて子宮内膜症と卵巣顆粒膜細胞腫の併発を認めたので報告する。

### 〔材料と方法〕

動物：雌カニクイザル, 推定19歳。野生捕獲サル。

経過：1974年にインドネシアより輸入し、検疫後繁殖に用いた。1975年に初産、1985年の8産目を最後に退役させた。1989年7月中旬より摂餌低下がみられ、8月中旬には食欲廃絶状態に陥った。以後、治療として人為的な栄養補給等を継続して行った。9月中旬、腹部上部に硬結を触知した。10月初旬予後不良と判断し、安楽死させた。

病理学的検査：麻酔下で頸動脈から放血致死させた後剖検した。採材した臓器は常法に従いパラフィン包埋し病理組織標本を作製した。

### 〔結果〕

解剖所見：血様腹水が250ml貯溜していた。消化管壁および腸間膜のほぼ全域が肥厚・硬化していた。特に空腸から回腸の腸間膜附着部付近で顕著であった。右卵巣は軽度に腫大(φ15mm)し、子宮腔部付近に腫瘤(φ30mm)を認めた。

組織所見：右卵巣では、類円形核を有し、円形～多角形の卵胞顆粒膜細胞に類似した細胞が濾胞状～充実性に増殖し、多くのCall-Exner体を認めた。子宮腔部付近の腫瘤は頸管粘膜の増生であった。子宮体筋層には平滑筋細胞の結節性増殖および子宮内膜に類似の腺管と間質を島状に認めた。子宮漿膜を始め、胃・腸壁漿膜、腸間膜などに子宮内膜類似の腺管とその周囲を囲む類円形あるいは紡錘形細胞の集塊が散見され、一部の腺腔内に赤血球・剥脱上皮を容れていた。

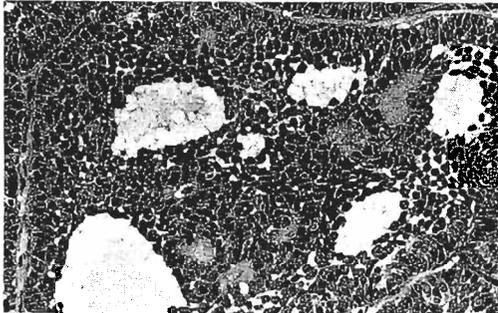
### 〔考察〕

右卵巣の病変を顆粒膜細胞腫、子宮および腹腔内病変を平滑筋腫および子宮内膜症(内性および外性)と診断した。

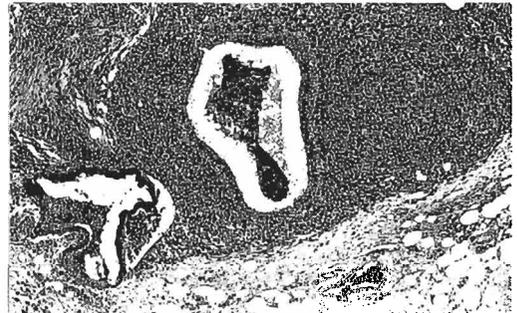
卵巣の顆粒膜細胞腫は閉経前後の婦人に多いとされる。カニクイザルでは長期に飼育することが少ないためか、1例の報告があるのみである(1990, 榊原)。

子宮内膜症は性成熟期の婦人に好発する。サルでは自然発生性あるいは実験的病変として報告があるが、カニクイザルでは少ない。

異所性子宮内膜は卵巣ホルモン依存性で、性周期に伴う脱落・再生により病巣を拡大するといわれる。その際の出血などにより血様腹水が貯溜したものと推察される。ヒトでは卵巣腫瘍が子宮内膜症を増悪させ、ときに悪性転化させることが報告されている。本例の場合にも顆粒膜細胞腫が子宮内膜症を増悪させた可能性がある。



右卵巣の顆粒膜細胞腫



腸間膜の子宮内膜症病変

## 72. (示) F344ラットの自然発生子宮平滑筋肉腫に由来する可移植性腫瘍の形態学的特徴

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

我々は癌原性試験に繁用されるF344ラットの自然発生腫瘍に由来する可移植性腫瘍の確立を試み、その移植株を用いて腫瘍細胞の特性並びに腫瘍随伴病変について研究を進めている。今回子宮に自然発生した平滑筋肉腫に由来する可移植性腫瘍(LMS-Y)の確立に成功した。LMS-Yを形態学的に検索した成績を報告する。

起源腫瘍: 腫瘍は生涯飼育試験に供した25ヵ月齢F344雌ラットの右子宮角に発生した。結節は子宮外膜に突出し正常部位の子宮と細い茎でつながっており、直径は1cmであった。組織学的に腫瘍は束状に配列するエオジン好性の豊富な細胞質を持った紡錘形から卵円形細胞から成った。腫瘍細胞にはPTAH染色により青色に染まる縦紋(longitudinal striation)が認められ、かつ免疫組織化学的染色によりデスミンに中等度の陽性反応を示した。これらの所見から起源腫瘍は平滑筋に由来する腫瘍と考えられた。その他、起源腫瘍を有するラットは単核細胞白血病(MCL)を併発しており、肝及び脾は著しく腫大していた。

移植継代腫瘍: 腫瘍から細切した径2mmの組織片を15~30週齢の同種ラットの背部皮下組織にトロカール針を用い、13代まで連続移植した。雌では100%の移植率を示したが、雄では移植が成立しなかった。移植1~5代の継代腫瘍には、MCL細胞が混在し、担腫瘍個体にはMCL細胞の浸潤による肝腫及び脾腫が観察された。これは、起源腫瘍にMCL細胞が混入していたことが原因と考えられた。組織学的に観察したところ、MCL細胞は腫瘍の辺縁で増殖していたことから、MCL細胞を移植腫瘍から除くために結節の中心部を移植に用いることにした。その結果、6代以降の継代腫瘍には平滑筋細胞のみが増殖し、MCLの腫瘍細胞は消失した。6代以降のLMS-Yを用いて移植腫瘍の特性を検索した。LMS-Yは増殖が極めて遅く約2cmの結節に成長するのに12週を要した。移植後24週時の腫瘍の直径は約6cmで、22週以降死亡あるいは切迫殺した担腫瘍個体における腫瘍の平均重量は167gであった。腫瘍は限界明瞭で分葉構造を有し、淡赤色調であった。組織学的には、起源腫瘍に類似したが、移植腫瘍にはクロマチンに富む円形核を有する卵円形細胞の密な配列から成る部位や、細胞成分に乏しくmyxomatousな領域が混在し、さらに細胞質に空胞を形成する腫瘍細胞がしばしば観察された。ジアスターゼによって消化されるPAS陽性のグリコーゲン顆粒が腫瘍細胞の細胞質にあった。嗜銀線維は個々の腫瘍細胞を取り囲み、僅かの量の膠原線維が腫瘍細胞間に存在した。腫瘍細胞はデスミンに強陽性、ミオシンに弱陽性であり、酵素組織化学的には、非特異的エステラーゼに強染し、酸ホスファターゼ及びアルカリホスファターゼに対しては弱陽性か陰性であった。

性ホルモンの影響: 12匹の20週齢の成熟した雌を4匹ずつ3群(A, B, C)に分けた。B及びC群には、ビーナッツオイルにそれぞれ17 $\beta$ -estradiolあるいはprogesteronの12.5mg/mlを懸濁し、移植1週後に皮下に、移植5週後に腹腔内に各ラットに1回、1mlづつ投与した。対照群(A)には、同様の方法でビーナッツオイルを投与した。観察は15週間行った。B群は体重の低下が著明であり、観察の途中に2匹が死亡した。観察期間終了時のA, B及びC群の腫瘍の平均重量はそれぞれ38.4, 1.6及び6.4gであった。組織学的には、A群に比較しB群の腫瘍を構成する腫瘍細胞は丸みを帯び束状配列が不明瞭となり、縦紋は認められず、デスミンに対し陰性であった。また、細胞間には豊富な膠原線維が存在した。さらに、A群に比較し、異染性を示す肥脾細胞がB群の腫瘍組織中に頻りに観察された。C群の組織像はA群のそれとほぼ一致した。

F344ラットの子宮に自然発生する平滑筋に由来する腫瘍の発生率は0.1~0.6%で、極めて稀である。その移植腫瘍を確立し、詳細な形態像について研究した報告は少ない。今回の研究により、LMS-Yは多彩な組織像を呈する腫瘍であること、また腫瘍の増殖は性ホルモンの影響を受けることが示された。

### 73. (示) B6C3F<sub>1</sub>雌マウスの心筋間に自然発生した心血管内皮細胞増生

○岩田 聖、山川誠己、小池嘉秀、廣内康彦、小林和雄、榎本 眞 (財)安評センター、病理)

B6C3F<sub>1</sub>マウスの血管内皮細胞の自然発生腫瘍としては、脾臓、肝臓、骨髄、皮下組織などに単発あるいは多発することが知られている。なお、心臓に観察される血管内皮細胞の増殖性変化として、化学物質で誘発される血管肉腫や初期病変としての血管内皮細胞増生の報告がある。今回我々は、毒性試験に供されたB6C3F<sub>1</sub>マウス7例に自然発生し、心肥大も伴った心臓の血管内皮細胞増生病変を観察したので報告する。

#### [症例]

B6C3F<sub>1</sub> (C57BL/6CrSlc x C3H/HeSlc) マウスを用いて当センターで実施された慢性毒性試験あるいは発癌性試験18試験(雄:3,820頭 雌:4,020頭)中に認められた心臓の血管内皮細胞増生7例で、81週齢から104週齢に計画屠殺あるいは切迫屠殺された。7例中3例は対照群として、また他の4例はいずれも混餌投与低薬量群に属した。

#### [結果]

心臓の血管内皮細胞の増生はいずれも雌マウスに認められ、その発生率は0.17% (7/4,020)であった。4例について行った一般血液検査の結果、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数および血小板数は全例低値を示し、異型赤血球が3例に観察された。また、心臓重量は全例、背景データ値に比べ明らかな増加を示した。肉眼所見としては、心臓の肥大が認められたほか腹部皮下の塊、胸水貯留、脾臓肥大、胸腺の萎縮が共通所見として観察された。

組織学的には、心臓中のび漫性的変化として心筋細胞を取り囲むように内皮細胞が一層性の増生を示し、核は丸みを帯びやや大きく、一部に血管腔の形成が見られた。また、筋間結合織内の小血管の内皮細胞の核も丸みを帯びやや大きい。しかし、これらの血管内皮細胞には明らかな細胞異型はなく多層化も認められないことから腫瘍性変化とは考えられなかった。心筋細胞にはいずれも局所性に肥大、筋原線維の配列異常、空胞化、好酸性化、収縮帯出現などが観察された。心臓以外にも血管内皮細胞の増数や核の肥大、血管腔の拡張が肝臓の類洞(3/7例)、脾臓の脾洞(6/7例)、腎臓の輸出入動脈付近(6/7例)にも観察された。これらの血管内皮細胞は、第Ⅷ因子関連抗原を用いた免疫染色には陰性を示したが、レクチン染色では、Con-A、RCA-1に弱陽性、またWGAに強陽性を示した。血管内皮細胞の変化以外に共通する組織所見としては、乳腺のB型腺癌が全例に観察された他、脾臓や骨髄の造血亢進が7例中6例に観察された。その他の所見は、各例に散発性に発生した自然発生病変であった。

電子顕微鏡学的にも血管腔の形成が認められ、細胞表面の微絨毛様突起、接着装置、辺縁ひだや細胞質内フィラメントなどを示す点から増数した細胞は明らかに血管内皮細胞と考えられた。核は不整形に肥大し時として切れ込みも認められた。人や他動物に見られる Weibel-Palade body は認められなかった。

#### [考察および結論]

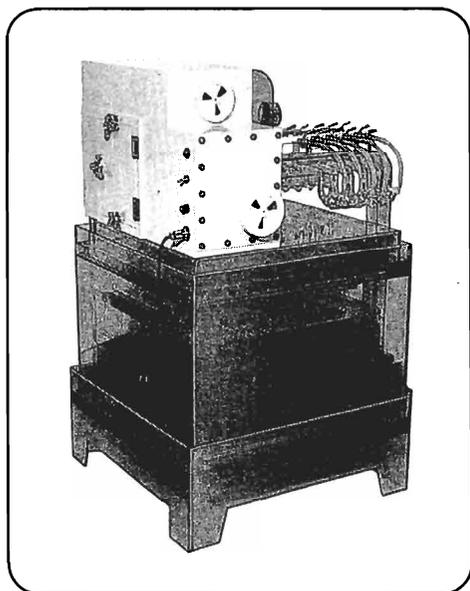
B6C3F<sub>1</sub>マウス7例に認められた心臓の血管内皮細胞増生は、レクチン染色や電子顕微鏡学的に血管内皮細胞であることが確認された。これらの変化は、多発性に肝臓、脾臓や腎臓にも認められ、血管内皮細胞の系統的な増殖性変化であると考えられる。また、全例にB型乳腺腺癌が観察されたこと、山手ら(1988)が報告したB6C3F<sub>1</sub>マウスの多発型血管内皮細胞腫瘍例と同様にヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数や血小板数の低下および異型赤血球が認められたことは大変興味深い。

研究協力者: 萩原 孝、大場康子、加藤睦美、織部早苗

— MEMO —

# 噴霧感染装置

PAT. P 昭59-107963

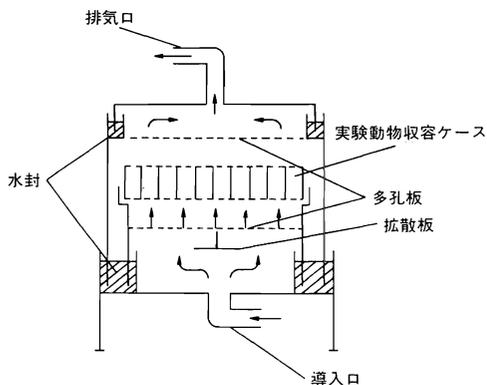


本装置は、実験動物の病原微生物呼吸器感染実験や微細粒子、農薬等の呼吸器吸入実験等に用いられる呼吸器吸入装置です。従来は、ネブライザーで発生させ上部から導入した煙霧は、装置内で乱気流となつて均一に拡散しなかつたため、装置内の位置による動物の粒子吸入数のばらつきが大きく、不均一でした。本装置は従来品の欠点を解消し、煙霧が装置内に均一に拡散し、しかも装置の組立から煙霧導入までを短時間でこなうことができる画期的な装置です。

## ●構成

底板の中央にネブライザーよりの煙霧の導入口を設け、煙霧は拡散板に当り分散し、更に多孔板により均一化されて、上部の実験動物収容ケース内を通過します。この煙霧の流れをみだすことなく排気するため、収容ケース上部にも多孔板を設け、排気フィルターユニットへ導入され、HEPAフィルター(99.7%)により煙霧は完全に除去されます。また、動物の収容ケースは、各室それぞれがスライド蓋構造のため、順次収容する際の作業は容易にできます。組立時の結合部は総べて水封式のため、短時間で行うことができます。本器の構成材は、透明塩ビを主体としており、内部の観察は容易です。

構成図



## ■ラット、モルモット用

形 式	TSI-RM
外 寸 法	W780×D640×H1,030mm
収 容 部 寸 法	W500×D500×H100mm
区割数(収容匹数)	15(15匹)
1 区 割 寸 法	W160×D100×H100mm

## ■マウス用

型 式	TSI-M
区割数(収容匹数)	50 (5匹×50=250匹)
1 区 割 寸 法	W50×D100×H100mm
そ の 他	仕様はRM型と同じ



株式会社 池田理化

本社 東京都千代田区岩本町2丁目15番12号 〒101 TEL.03(861)6211(大代)

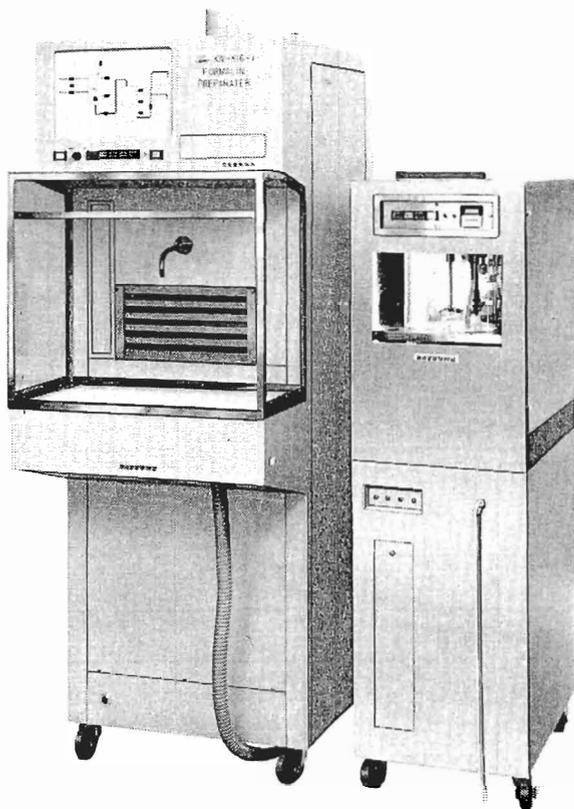
八王子支店 TEL.0426(42)0570(代表)	千葉支店 TEL.0436(22)3738(代表)
横浜支店 TEL.045(303)6621(代表)	筑波支店 TEL.0298(24)2681(代表)
平塚支店 TEL.0463(21)2974(代表)	三島支店 TEL.0559(75)0975(代表)
埼玉支店 TEL.0492(45)7831(代表)	藤枝支店 TEL.0546(44)5551(代表)
鶴見支店 TEL.045(501)5881(代表)	

KN-816

# 中性緩衝ホルマリン調合器

Formalin Preparator

- ★ ホルマリン固定液作成時の労力と臭いから解放！
- ★ ホルマリン原液，中性緩衝液，水を規定の割合で自動的に調合します。
- ★ 中性緩衝液は原末を投入するだけで攪拌溶解させます。



- ◎それぞれ50ℓの調合タンクと貯蔵タンクを持ち，残量が少なくなると自動的に次の50ℓを作成します。
- ◎固定液の排出は上下2箇所からできます。上部蛇口はフートスイッチの操作による小容量用です。両手が使えます。下部はバケツ等への大容量用です。押しボタンで操作します。
- ◎排気ファンを内蔵していますから，臭気をスムーズに排気します。
- ◎調合工程及び固定液の残量は，パネル上にランプで表示されます。

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般



株式会社

夏目製作所

〒113 東京都文京区湯島2丁目18番6号  
電話 03(3813) 3 2 5.1 (代表)  
FAX 03(3815) 2 0 0 2

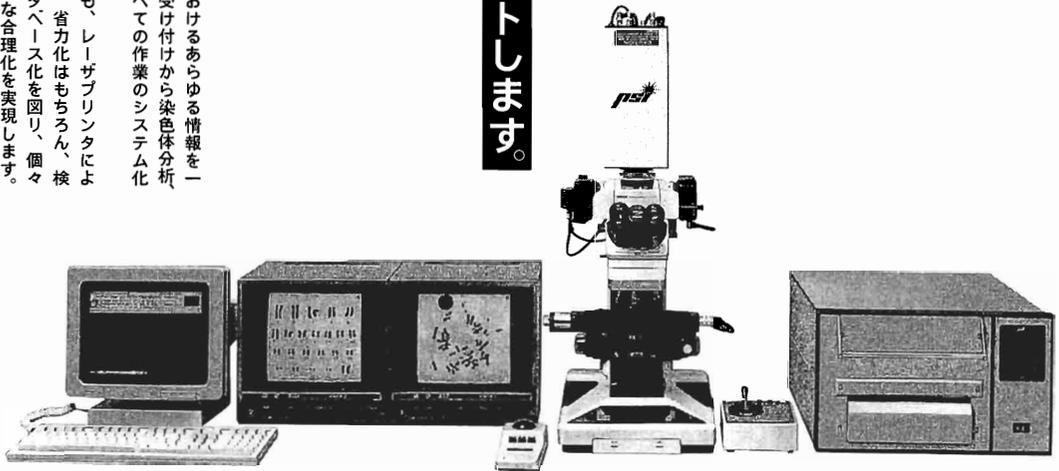
# Nikon

## 染色体検査を

まるごとサポートします。

ニコン臨床検査用染色体ラボシステムは、検査におけるあらゆる情報を一元的に管理するラボマネージャーを中心に検体の受け付けから染色体分析データベースの構築まで染色体臨床検査に伴うすべての作業のシステム化を図りました。

染色体分析に最適な高画質染色体像をモニタ上でも、レーザープリンタによるハードコピー上でも再現。また、作業の一般化、省力化はもちろん、検査結果の作成、管理、保存を効率よく実行、データベース化を図り、個々の作業から染色体ラボ全体の運営、管理までの大幅な合理化を実現します。

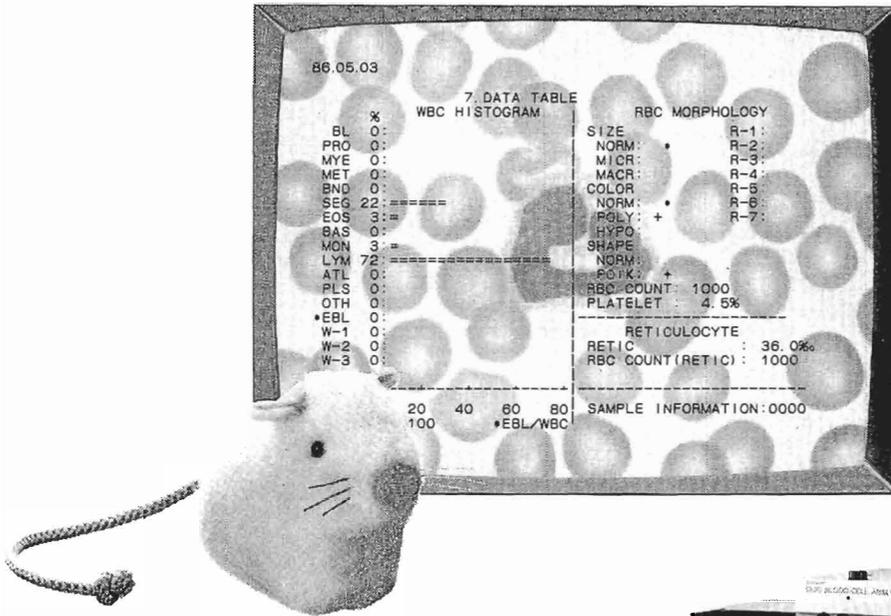


臨床検査用染色体ラボシステム

株式会社 **ニコン** 光機営業部 顕微鏡課

本 社 100東京都千代田区丸の内3-2-3(富士ビル)電話03(216)1036(ダイレクトイン)

# 実験動物の血液像検査自動化に 強制乾燥、二重染色の日立。



ラット、マウス、イヌ、サルの血液像検査を  
高速全自動分類できます。

日立は、高い評価を得ているヒト血液像分類の画像処理技術  
を応用し、実験動物用アルゴリズムを開発しました。塗抹後の  
血球萎縮がない強制乾燥方式、染色性にすぐれた二重染  
色法、異常血球も高精度に検出し改良も容易な多段階識別  
論理など、日立独自の確かな技術と、高速全自動処理機能で、  
安全性試験・薬理研究の効率を大きく向上させます。

- 白血球分類標本と網赤血球計数標本を、300検体まで同時  
架設可能。白血球分類・赤血球形態分析と網赤血球計数を自  
動的に切り換えながら最大120検体/時で全自動処理できます。
- 強制乾燥、二重染色法の採用により、標本をそのまま保存で  
きます。また、特異細胞の位置情報をフロッピーディスクに長期  
間記憶させ、顕微鏡下に再現でき、GLPの目的に合致します。



# 8200

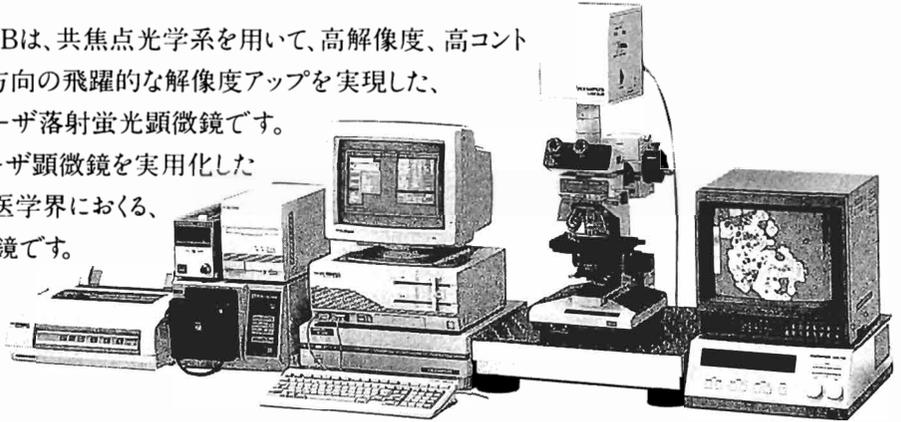
## 日立血液像自動分類装置

**日製産業株式会社** 本社 / 〒105 東京都港区西新橋一丁目24番14号 電話/東京(03)504-7211(ダイヤルイン)  
事業所 電話/札幌(011)221-7241・仙台(022)264-2211・筑波(0298)23-7391・北関東(048)653-2341・千葉(0472)47-4151・  
西関東(0426)43-0080・横浜(045)671-5421・新潟(025)241-3011・北陸(0764)24-3386・豊田(0565)28-5191・名古屋(052)  
583-5841・京都(075)241-1591・大阪(06)366-2551・岡山(0864)25-1316・広島(082)221-4514・四国(0878)62-3391・  
九州(092)721-3501・沖縄(0988)78-1311  
**株式会社 日立製作所** 計測器事業部/〒100 東京都千代田区丸の内一丁目5番1号(新丸ビル) 電話/東京(03)212-1111(大代)

OLYMPUS

# 従来の光学顕微鏡の限界を超える まったく新しい生物顕微鏡LSM-GB。

オリンパスLSM-GBは、共焦点光学系を用いて、高解像度、高コントラスト、そして光軸方向の飛躍的な解像度アップを実現した、共焦点走査型レーザ落射蛍光顕微鏡です。  
世界で最初にレーザ顕微鏡を実用化した  
オリンパスが生物医学界におくる、  
まったく新しい顕微鏡です。



オリンパス光学工業(株) 総代理店

## 株式会社 イワケン

本社 〒113 東京都文京区本郷3-6-4 ☎03-813-2231(大代表) FAX03-813-2298

横浜営業所	〒220 横浜市西区浅間町4-349-3	☎045-311-6121(代)
国分寺営業所	〒185 国分寺市南町3-1-9	☎0423-25-6301(代)
埼玉営業所	〒330 大宮市土手町3-19	☎0486-44-2220(代)
千葉営業所	〒281 千葉市黒砂台1-24-1	☎0472-48-2411(代)
静岡営業所	〒420 静岡市川辺1-3-7	☎0542-54-2521(代)
名古屋営業所	〒456 名古屋市熱田区池内町2-11	☎052-882-7731(代)
伊那駐在事務所	〒399-45 上伊那郡南箕輪村8296-3	☎02657-6-2128



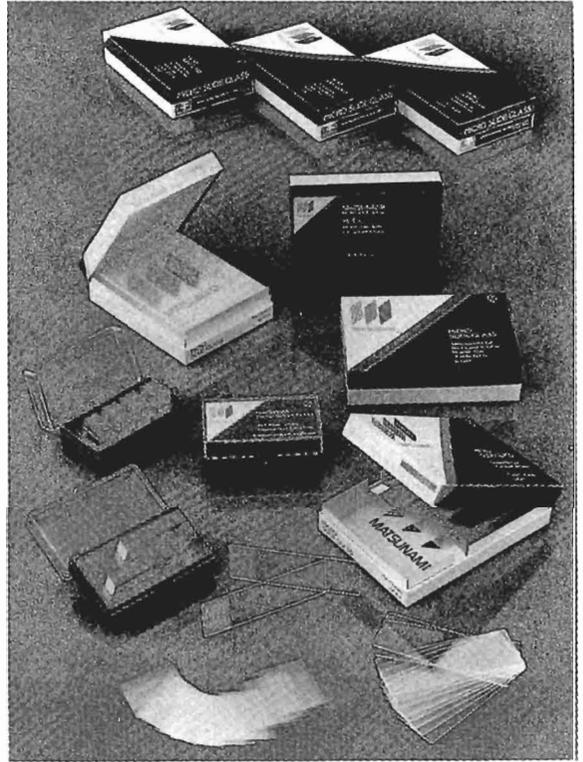
MATSUNAMI

### 臨床検査に マツナミ

### 顕微鏡用 カバーガラス スライドグラス

## 松浪硝子工業株式会社

本社：〒596 大阪府岸和田市下松町165  
 TEL. (0724)22-4545 FAX. (0724)36-2265  
 東京営業所：〒113 東京都文京区湯島3-20-7  
 エミナンス湯島 1階  
 TEL. (03)833-9006 FAX. (03)833-9008



# 受託サービス



**抗体作製**  
[モノクロー・ポリクロー]

**抗体標識・分画精製**

**腹水採取**

Cell  
Biology

**ペプチド  
カスタム合成**

生理活性ペプチド  
生理活性脂質・リン脂質

Protein  
Chemistry

**DNA  
ライブラリー作製  
カスタム合成**

制限酵素・ベクター

Molecular  
Biology

**iw/ii 岩井化学薬品株式会社**

本社 東京都中央区日本橋本町3-2-10  
千103 TEL. 03-279-6363 FAX. 03-270-2425  
筑波 TEL. 0298-51-0321 FAX. 0298-55-6901  
多摩 TEL. 0425-72-5421 FAX. 0425-72-5462  
三島 TEL. 0559-76-3081 FAX. 0559-76-3082



注目の酵素抗体法に、  
注目の凍結組織切片作製装置。  
術中迅速診断はもちろん、  
特に酵素抗体法での凍結組織切片作製に…。

- 均一な切片を容易に得ることができます。
- 作業スペースは十分。作業が容易です。
- 面出しは簡単。最小2ミクロンまでの薄切が可能、連続切片作製も容易です。
- 水溶性の専用包埋剤O.C.T. コンパウンドの使用で、組織成分に影響を与えずにスムーズに薄切できます。
- 安定した薄切を行なうための付属品が充実。“クリオモールド凍結法”“冷却板凍結法”を使い分けてきます。



凍結組織切片作製装置

**ティッシュ・テック  
マイクローム・クリオスタット**

医療用具許可番号：東用輸第101号

- 寸法……………67.3(幅)×67.3(奥行)×121.9(高さ)cm
- 重量……………約100kg
- 電源…AC100V50Hz(消費電流 6.2A)/AC100V60Hz(消費電流 7.5A)

**マイルス・三共株式会社**  
東京都中央区銀座1丁目9番7号

お問い合わせコーナー  
**0120-123119**  
※図に示すお問い合せはフリーダイヤルへ(土日祝日、平日9:00~17:00)

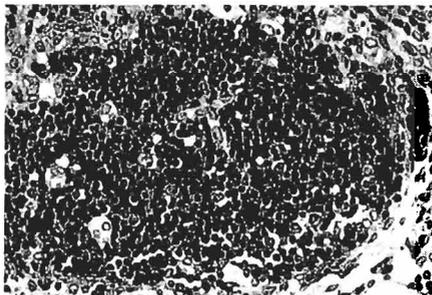
ホルマリンの不快臭を抑えた固定液

# マイルドホルム 20N

病理組織固定用

- 高級ワインエキス添加、20%中性緩衝ホルマリン液
- 酵素抗体法のための組織固定に最適
- ホルマリン臭を大幅に抑えている
- 自己融解のすすんだ組織でもワイン臭が打ち消されない
- 組織への浸透、固定力は20%中性緩衝ホルマリン液より優れている

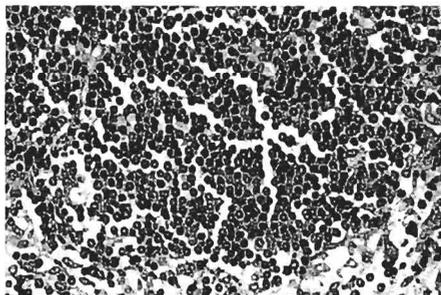
■マイルドホルム20N固定



ヒトリンパ組織(LCA)

×400

■20%ホルマリン液固定



ヒトリンパ組織(LCA)

×400

[写真提供先：大阪厚生年金病院病理検査科]

《関連商品》 10% 中性緩衝ホルマリン液  
15% 中性緩衝ホルマリン液  
20% 中性緩衝ホルマリン液

\*資料ご請求下さい。



和光純薬工業株式会社

本 社 大阪市中央区道修町三丁目1番2号  
〒541 電話 大阪(06)203-3741(大代表)  
東京支店 東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号  
〒103 電話 東京(03)270-8571(大代表)  
出張所 福岡・広島・名古屋・横浜・大宮・筑波・仙台・札幌

遺伝的統御に徹する  
微生物統御に徹する  
環境統御に徹する  
栄養統御に徹する

roduction and  
laboratory



●クローズドコロニー マウス・ラット

Jcl : ICR  
Jcl : SD  
Jcl : Wistar

●MCH マウス・ラット

Jcl : MCH (ICR)  
Jcl : MCH (Wistar)

●ミュータント マウス・ラット(ヌード)

BALB/cA Jcl-nu  
Jcl : AF-nu  
F344/N Jcl-rnu

●無菌 マウス・ラット

IQ1/Jic[Gf]  
WA/Jic[Gf]

●その他

C57BL/6J-dy Jic(筋ジストロフィー)  
NOD/Shi Jic(やせ型糖尿病)  
ODS/Shi Jcl-od/od(Vit. C合成能欠如)  
スunks(Jic : SUN系)

●Jマウス 近交系

(国内生産)

C3H/HeJ Jcl<sup>MTV-</sup>  
C57BL/6J Jcl  
BALB/cByJ Jcl  
DBA/2J Jcl  
CBA/J Jcl  
その他 JAX 輸入マウス

●近交系 マウス・ラット

C3H/HeN Jcl<sup>MTV+</sup>  
C57BL/6N Jcl  
BALB/cA Jcl  
DBA/2N Jcl  
F344/Jcl  
ACI/N Jcl

●その他(中動物)

ビーグルイヌ・サル類  
ミニブタG  
ネコ(IFFA CREDO産)

◇実験動物用飼料

一般動物用飼料  
家畜・家禽試験用飼料  
放射線滅菌飼料  
特殊実験用配合飼料

◇器具・機材・装置

各種飼育ケージ  
各種飼育ラック  
その他関連装置

◇実験動物に関する受託業務

微生物・遺伝検査  
飼料の分析・無菌検査  
動物の受託生産  
動物施設の受託管理

◇コンサルタント及び

情報サービス  
施設の設計・プランニング  
各種データ・情報サービス

ひとつの生命から未来を見つめる



日本クレア株式会社

本社・東京営業所 東京都目黒区青葉台2-20-14第2いなりビル 〒153 TEL03(791)0151(代)  
大阪営業所 大阪市西区京町堀1-13-2 藤原ビル 〒550 TEL06(441)0755(代)  
札幌出張所 札幌市西区八軒9条西10-4-24 〒063 TEL011(631)2725  
仙台出張所 仙台市宮城野区銀杏町14-12 〒983 TEL022(295)9731

# 実験動物 SLCの



## SPF動物

- クローズドコロニー●
  - マウス Slc:ddY  
Slc:ICR
  - ラット Slc:SD  
Slc:Wistar  
Slc:Wistar/ST  
HOS<sup>®</sup>:Donryu
  - モルモット Slc:Hartley
  - ウサギ Slc:NZW
- 近交系●
  - マウス BALB/c Cr Slc  
C57BL/6 Cr Slc  
C3H/He Slc  
DBA/2 Cr Slc
  - B10 C57BL/10 Sn Slc
  - コンジェニック B10.A/SgSn Slc  
B10.BR/SgSn Slc  
B10.D2/nSn Slc
  - ラット F344/N Slc  
WKAH/Hkm Slc
  - モルモット Strain 2 Slc  
Strain 13 Slc

## ●交雑群●

マウス Slc:BDF<sub>1</sub>  
Slc:CDF<sub>1</sub>  
Slc:B6C3F<sub>1</sub>

●ミュータント系●  
ヌードマウス BALB/c-nu Slc  
KSN ヌードマウス

## Clean動物

- クローズドコロニー●
  - マウス Std:ddY
  - ラット Std:Wistar  
Std:Wistar/ST  
HOS<sup>®</sup>:Donryu
  - モルモット Std:Hartley
  - ウサギ Std:NZW
  - ハムスター Std:Syrian

## Conventional動物

ビーグル犬 東洋ビーグル  
輸入検疫済カニクイザル  
輸入繁殖カニクイザル

## 受託生産動物

マウス A/J Slc  
AKR/N Slc  
CBA/N Slc  
C3H/He N Slc MTV<sup>+</sup>  
C3H/He J Slc MTV<sup>-</sup>  
PW Slc

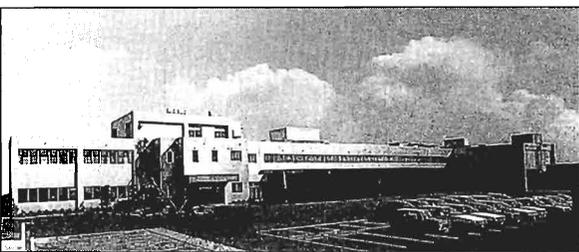
## 疾患モデル動物

マウス Slc:NZBWF<sub>1</sub>  
Slc:WBB6F<sub>1</sub>-W/W<sup>v</sup>  
MRL/MpJ-lpr/lpr

ラット WBN/Kob Slc  
DA/Slc  
Gunn rat Slc

## その他

実験動物用床敷・ソフトチップ  
小動物識別染料クイックカラーペイント  
実験動物診断EIA試薬(デンカ生研)



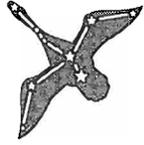
# SLC

日本エスエルシー株式会社

〒431-11 静岡県浜松市湖東町3371番地の8 ☎<0534>86-3178(代)



## 効能・効果 追加承認



### ■効能・効果

ブドウ球菌属、レンサ球菌属、ヘプトストレプトコッカス属、ヘプトコッカス属、大腸菌、シトロバクター属、クレブシエラ属、エンテロバクター属、セラチア属、プロテウス属、インフルエンザ菌、バクテロイデス属のうち本剤感性菌による下記感染症

◆敗血症◆肛門周囲膿瘍◆骨髄炎、関節炎、外傷・手術創などの二次感染  
◆咽喉頭炎、急性気管支炎、扁桃炎(扁桃周囲炎、扁桃周囲膿瘍)、慢性気管支炎、気管支拡張症(感染時)、慢性呼吸器疾患の二次感染◆腎盂腎炎、膀胱炎◆胆のう炎、胆管炎、肝臓痛◆腹膜炎(含、骨盤腹膜炎、ダグラス窩膿瘍)◆子宮付属器炎、子宮内感染、骨盤死腔炎、子宮旁結合織炎、バルトリン腺炎◆髄膜炎◆角膜炎◆眼窩感染◆全眼球炎◆中耳炎◆副鼻窦

☐ 1990年8月、追加承認された効能・効果

### ■用法・用量

通常、成人にはセフゾナムナトリウムとして1日1~2g(力価)を2回に分けて静脈内に注射する。通常、小児にはセフゾナムナトリウムとして1日40~80mg(力価)/kgを3~4回に分けて静脈内に注射する。なお、年齢、症状に応じ適宜増減するが、難治性又は重症感染症には、成人では1日量を4g(力価)まで増量し2~4回に分けて注射し、小児では1日量を200mg(力価)/kgまで増量し3~4回に分けて注射する。静脈内投与に際しては、日本薬局方「注射用蒸留水」、日本薬局方「生理食塩液」又は日本薬局方「ブドウ糖注射液」に溶解して緩徐に注射する。点滴静注に際しては、補液に加えて30分~2時間で注射する。

※ 使用上の注意については、添付文書をご参照ください。

製造  
**Lederle**  
日本レダリー株式会社  
東京都中央区京橋一丁目10番3号  
(資料請求先・学術情報部)

販売  
**武田薬品工業株式会社**  
大塚市中央区道徳町二丁目3番6号

セフェム系抗生物質製剤

Ⓜ  
Ⓜ  
**コスモン**® 静注用  
1g, 0.5g, 0.25g

**Cosmosin**®

日抗基 注射用セフゾナムナトリウム (略号:CZON) 薬価基準収載

# ハイ! ニーズ

needs



## 実験動物総合受託事業

- 飼育管理
- 動物実験
- 検査・検疫
- 系統維持
- 環境管理
- 機械・設備管理
- 事務・運営管理
- 消毒業務
- イベント
- 技術者教育
- コンサルタント
- 開発・計画

こんな時に  
お役に立ちます

.....

1. 自社施設の飼育動物と設備の一括管理を任せたい。
2. 即戦力として飼育管理・動物実験の技術者がほしい。
3. 数時間勤務・祝祭日・年末年始・休日だけの勤務、忙しい時だけの技術者がほしい。
4. 自社職員を教育・研修に出したい。
5. 実験動物関連の情報を知りたい。
6. 自社でセミナー・研修会等を開催したい。

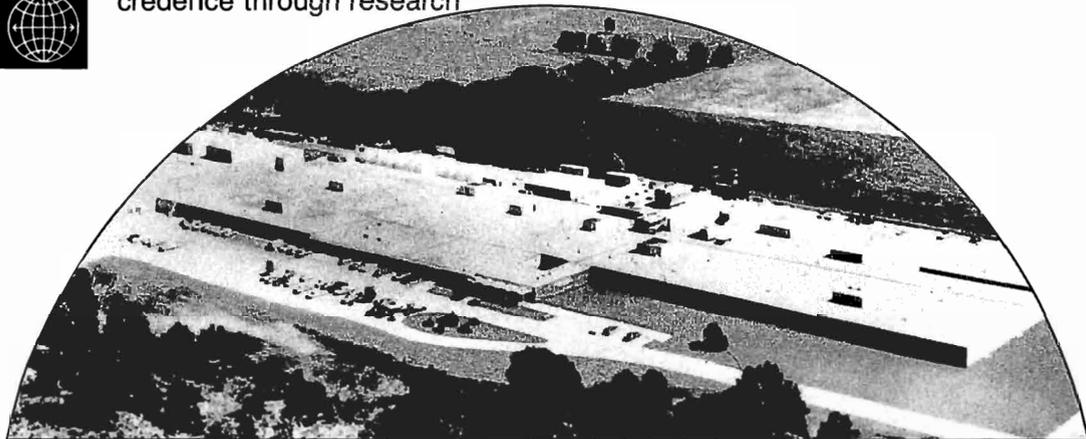


技術とコミュニケーションを大切に  
株式会社 アニマルケア

本社 〒164 東京都中野区中野3-47-11  
TEL03-384-9013 FAX03-384-9150  
西日本営業所 〒543 大阪府大阪市天王寺区悲田院町8-26  
天王寺センターハイツ903  
TEL・FAX06-772-6076  
九州営業所 〒811-11 福岡県福岡市早良区内野1298-5  
TEL092-804-0039 FAX092-804-4351



"credence through research"



# IRDC

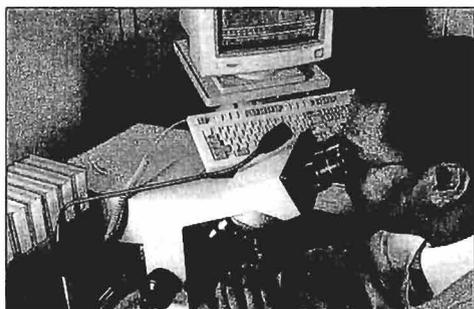
## 総合受託研究所

International Research and Development Corporation (Mattawan, Michigan, U.S.A.) は化学物質の安全性評価試験を行なう完全独立総合受託研究所です。

IRDCは400人の研究員と110acreの敷地に45,100m<sup>2</sup>の施設を擁し、厳密・公正な評価研究を遂行して、医薬・農薬・化学薬品・食品・化粧品その他の工業界および公共諸機関の依頼に応じてきました。

IRDCのスタッフはかつて欧米の関係機関で重要な地位にあり、多くの国々・国際機関と密接な関係をもっていた科学者です。

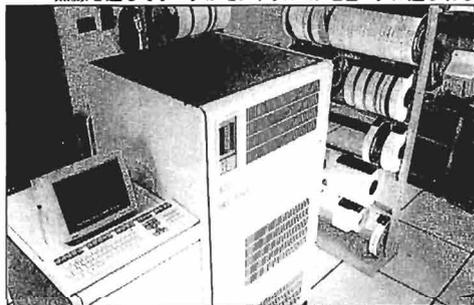
- 一般毒性試験
- 吸入毒性試験
- 生殖・世代試験
- 発癌性試験
- データ統計処理・レポート
- Quality Assurance



音声により病理所見が入力される



無線を通じてデータがセントラルコンピュータに送られる



セントラルコンピュータ

IRDC日本総代理店

**KASHO**

**加商株式会社** 物資部

〒103 東京都中央区日本橋2-14-9 ☎(03)276-7673・7674

CLEMENT

# RISK assessment

Clement Associates Incorporated

The leading American and international firm specializing in the assessment of risk from hazardous substances that may affect human health and the environment.

農薬登録/再登録サポート

医薬品開発および申請サポート

アスベスト管理方針

種々取締法に対するサポート

有害廃棄物管理

大気汚染問題

環境対策調査

リスクアセスメント  
ソフトウェア

**KASHO**

**加商株式会社** 物資部

〒103 東京都中央区日本橋2-14-9 ☎(03)276-7673・7674

S A P P O R O

G E N E R A L

P A T H O L O G Y

L A B O R A T O R Y

Co., Ltd.

【特殊染色】

アルシアンブルー・PAS染色、ギッター染色、PTAH染色、アザン染色、フォンタナマッソン染色、グリメリウス染色、ベルリンブルー染色、コンゴレッド染色、オルセイン染色、アルデヒドフクシン染色、コッサ染色、他。

組織標本作製

病理組織学検査

【酵素抗体法】

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

薬理試験

(株)札幌総合病理研究所

〒064 札幌市中央区南12条西18丁目3-17

Tel 011-563-6215

所 長 小野江為則

研究部長 竹内 雅也



**SHIN NIPPON BIOMEDICAL LABORATORIES, LTD.**

## Quality and Good Technology

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

### 受託試験項目

#### 特殊毒性試験

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

#### 特殊投与経路による試験

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

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

#### 特殊薬理試験

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

#### コンサルタント

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

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

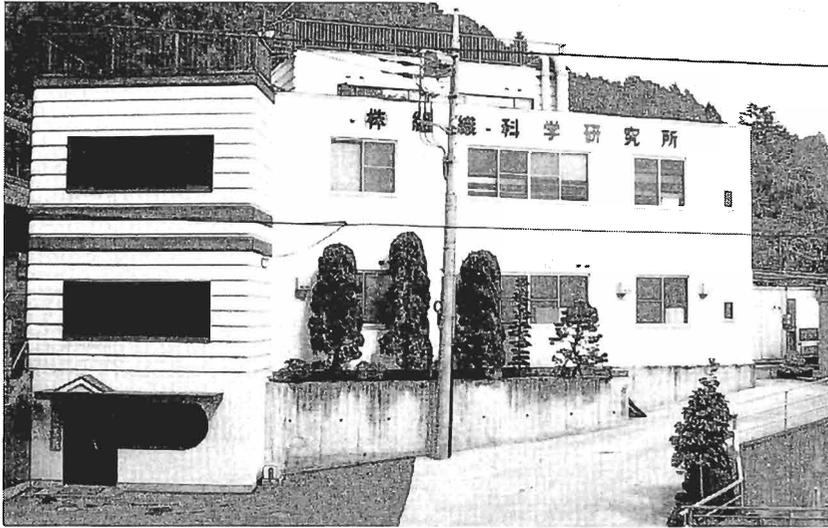
# 株式会社 新日本科学

### お問い合わせ先

本社：〒891-13 鹿児島郡吉田町宮之浦2438 ☎ 0992-94-2600  
統括本部：〒890 鹿児島市鴨池町1876番地の3 ☎ 0992-58-7788  
東京支社：〒103 東京都中央区日本橋兜町20-5兜町八千代ビル ☎ 03-663-5028  
大阪支社：〒532 大阪市淀川区西中島5-6-13御幸ビル ☎ 06-390-5768

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

# 安全性試験受託



## ■ 受託項目 ■

- 病理組織標本の作製  
及び検査  
(特殊染色、免疫染色)  
(病理所見、写真撮影)
- 変異原性試験
- 電子顕微鏡的検索
- 硬組織標本の作製
- その他

試験項目、内容などについては下記にご照会下さい。

担当者がご相談、ご説明に伺います。



株式会社 **組織科学研究所**

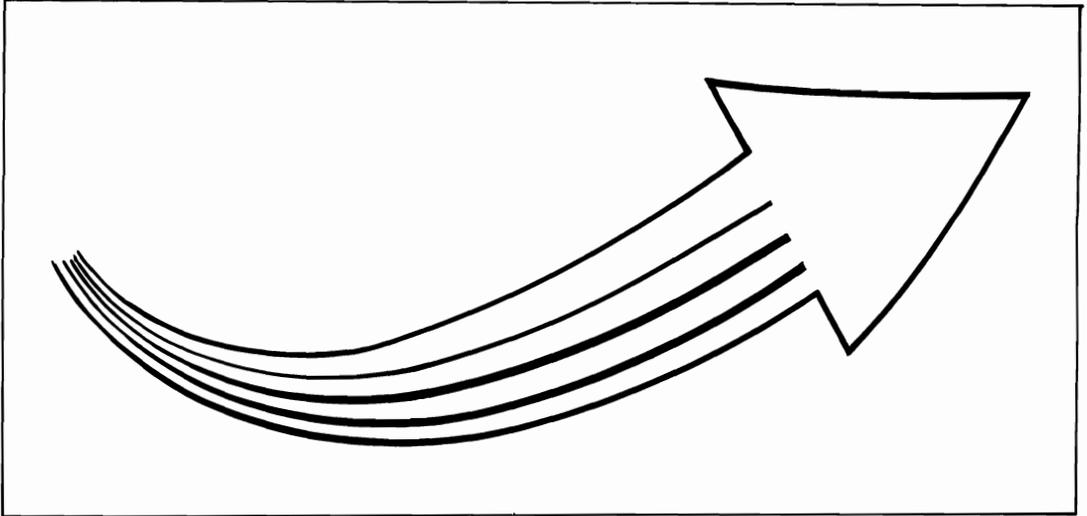
〒198 東京都青梅市黒沢2-984

TEL : 0428 (74) 4741

FAX : 0428 (74) 4505

# 組織標本作製、組織検査から最終報告書まで

—よきパートナー、サイエンティフィックテクニシャンを目指して—



## 受託業務

### 組織標本作製

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

### 組織学的検査

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

### 安全性研究コンサルタント

- ・研究企画から最終報告書まで

秘密は完全に守ります

迅速、廉価です

このような時に御用命下さい

- ・標本作製、組織学的検査を一括委託したいとき
- ・実験が立て込んで期限に間に合わないとき
- ・病理要員が急に不足したとき
- ・安全性研究以外で病理設備・要員のいない研究室

※切り出し、包埋、薄切、染色、検査のどの段階からもお引き受けいたします。

### サンプル、標本、報告書の受発送は

航空便で当日着きます。

宅配便で九州・関西地区は翌日、関東地区は翌々日に着きます。

※輸送中に固定液の組織へのほど良い浸透が行えます。

大分空港から車で10分（打ち合わせに便利）



株式会社 **バイオ病理研究所**

〒873-05 大分県東国東郡国東町小原1200-2

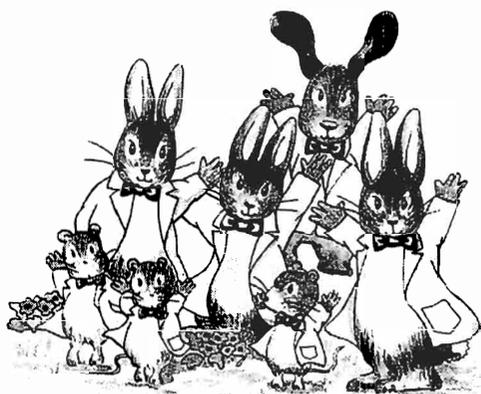
TEL 0978-72-0454 FAX 0978-72-2320

# 安全性試験のパイオニア

## < 受託項目 >

一般毒性試験 変異原性試験  
生殖・発生毒性試験 局所刺激性試験  
癌原性試験 一般薬理試験  
抗原性試験 病理組織標本作製

他の試験については  
直接お問い合わせ下さい



JBC, Inc.

株式会社 日本生物化学センター

本社 〒531 大阪市北区豊崎4丁目12-17 TEL(06)373-0208  
研究所 〒503-06 岐阜県海津郡海津町福江52 TEL(05845)4-5631 FAX(05845)4-5104  
東京事務所 〒170 東京都豊島区東池袋1丁目20-2 TEL(03)590-1021



# FUJI LIFE SCIENCE INC.

厚生省・農林水産省・通商産業省・FDA・EPA・  
OECD…等のガイドラインとGLPに準拠した  
各種安全性試験の受託

◆一般毒性試験、癌原性試験  
◆生殖・発生毒性試験、世代試験  
◆変異原性試験  
◆生物学的同等性試験

◆抗原性試験、局所刺激性試験、  
依存性試験  
◆一般薬理試験、薬効薬理試験

## ◇ビーグル試験

ビーグルは繁殖・育成から試験まで一環して実施しております。  
幼若犬、老齢犬を用いる各種試験、繁殖技術を生かした試験、生殖障害試験、  
薬効評価試験など豊かな経験を活かして対応・受託しておりますのでお問い合わせ下さい。

株式会社 富士生物科学研究所

〒409-16 山梨県北巨摩郡小淵沢町10221番地  
TEL:0551(36)2455(代) FAX:0551(36)3895

## 第7回 日本毒性病理学会 講演要旨集

第7回 日本毒性病理学会

—国立衛生試験所・平成3年1月17・18日—

- 編集  
代表者 林 裕 造
- 発行 第7回 日本毒性病理学会事務局  
国立衛生試験所病理部内  
〒158 東京都世田谷区上用賀1-18-1  
TEL 03-3700-1141 内線423
- 印刷 ナショナル印刷株式会社  
〒166 東京都杉並区和田1-14-3  
TEL 03-3383-6221(代)  
FAX 03-3380-8287

平成2年12月1日 発行

# マイコン制御で細胞やクローンを 精密捕捉、自動移植。



IMT-2+TS-008組合わせ例

## **TRANCELL** TS-008 細胞自動移植装置

TRANCELLは、源容器(ペトリ皿等)から、受容器(タイタートレー等)へ、単一の生物体(細胞、血球、リンパ球、酵母、卵等)を捕捉し、自動移植することを目的とした、他に類を見ない革新的な装置です。TRANCELLは、倒立位相差顕微鏡に設置され、精密なロボット

アーム、電動XYステージ、ジョイスティック付キーボード、及び駆動制御用マイクロプロセッサユニットより構成されています。

### 〈特長〉

- 細胞やクローンの精密捕捉と自動移植
- ペリテイエ効果による捕捉原理(特許)※
- 滅菌又は非滅菌下での運転
- マイコン制御による簡易オペレーション
- 捕捉のコツを把握すれば、継続して移植が可能
- 殆どどの倒立位相差顕微鏡に適用

顕微鏡・内視鏡・医療機・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