

広瀬雅雄：非遺伝子傷害性肝発がん物質を長期間投与したラット肝臓での発現変動遺伝子のプロファイリング、文部科学省特定領域研究「発がんと防御」「個体レベル」若手ワークショップ、蓼科、2004年1月

Shibutani, M., Lee, K.Y., Takagi, H., Kato, N., Takigami, S. and Hirose, M.: Methacarn, a versatile fixation tool for quantitative mRNA expression analysis in microdissected paraffin-embedded tissues using real-time RT-PCR and microarray systems. IFSTP-JSTP Joint Meeting, February, Kobe, 2004

渋谷 淳、李 京烈、高木広憲、加藤奈津美、藤田春香、瀧上 周、広瀬雅雄：メタカーン固定法を利用したパラフィン包埋組織でのリアルタイム RT-PCR とマイクロアレイによる定量的遺伝子発現解析、第

137回日本獣医学会学術集会、藤沢、2004年4月

渋谷 淳、李 京烈、井上 薫、黒岩敬子、広瀬雅雄：メタカーン固定パラフィン包埋組織の固定・脱水及び保存条件の検討、第21回日本毒性病理学会、2005年1月

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許所得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

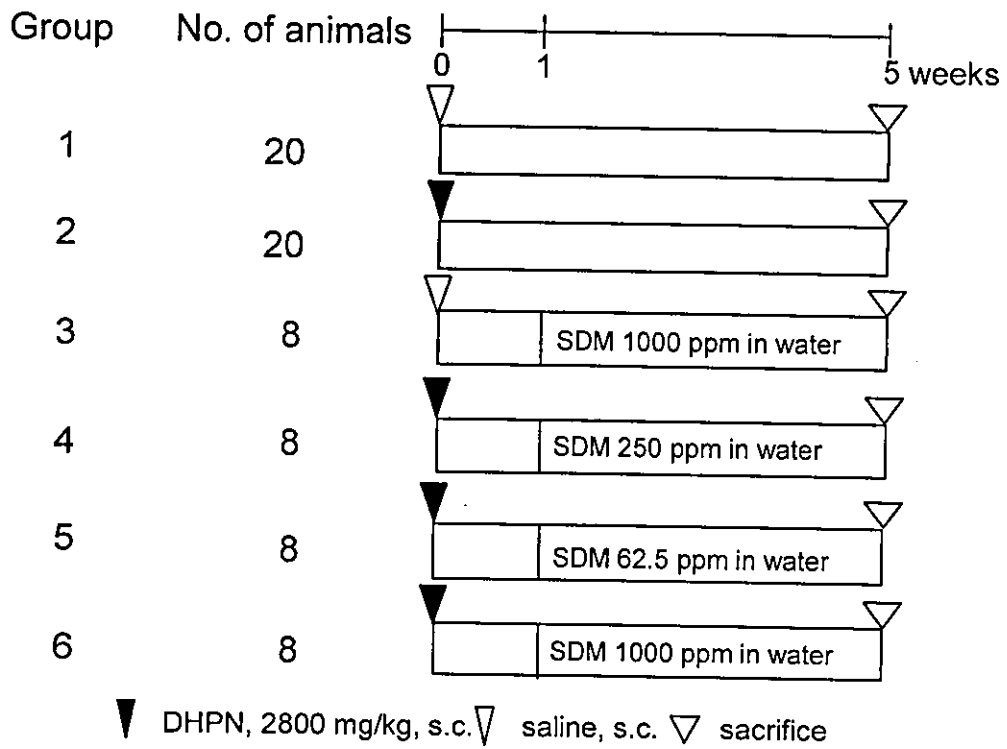


Fig. 1 Experimental design of the SDM-induced thyroid carcinogenicity in the two-stage model using DHPN as an initiator.

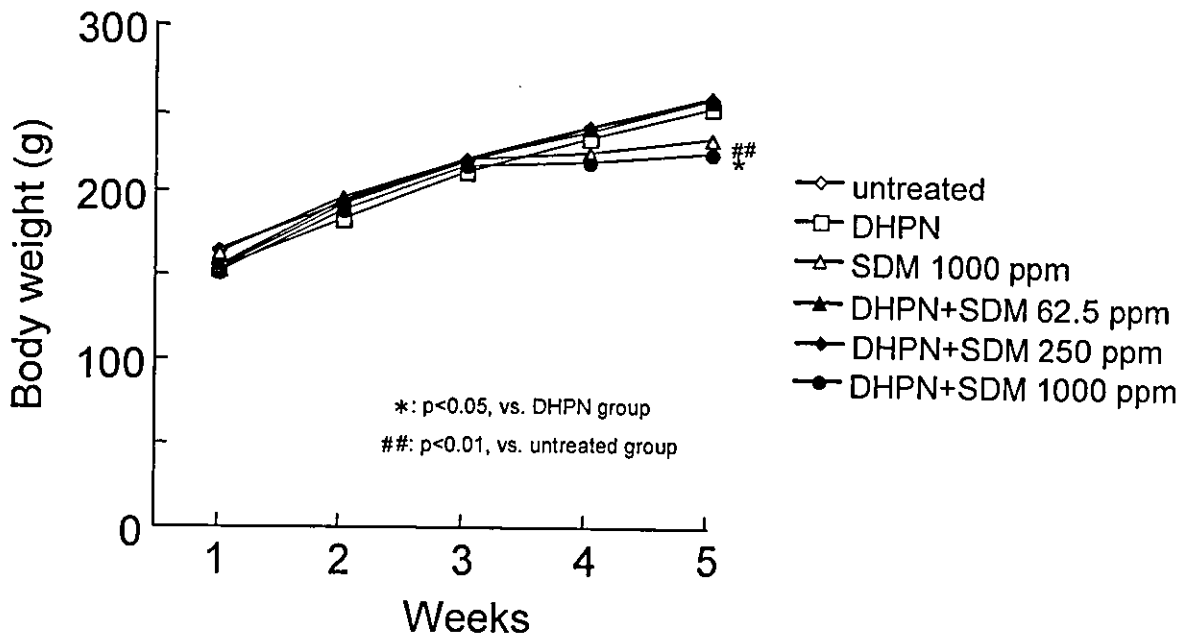


Fig. 2 Growth curve of male F344 rats treated with SDM in the two-stage thyroid carcinogenesis model using DHPN as an initiator.

Table 1.

Final body, absolute and relative thyroid weights of male F344 rats after 4-week SDM-treatment in the two-stage thyroid carcinogenesis model using DHPN as an initiator.

	Group					
	Untreated	DHPN	SDM 1000 ppm	DHPN+SDM (ppm)		
				62.5	250	1000
Final body weight (g)	253.1 ± 16.6 ^a	246.7 ± 16.2	228.7 ± 8.7 ^{##}	250.9 ± 6.6	253.3 ± 13.7	230.6 ± 5.8*
Thyroid weight						
Absolute (mg)	9.6 ± 2.2	9.9 ± 2.5	67.6 ± 9.5 ^{##}	12.3 ± 1.1	28.4 ± 4.7 ^{**}	61.7 ± 3.3 ^{**}
Relative (mg/100g b.w.)	3.8 ± 1.0	4.0 ± 1.0	29.6 ± 4.1 ^{##}	4.9 ± 0.5	11.2 ± 1.5 ^{**}	26.8 ± 1.3 ^{**}

^aMean ±SD

^{##}: Significantly different from the untreated group (P < 0.01).

^{*},^{**}: Significantly different from the DHPN group (P < 0.05 and 0.01, respectively).

Table 2.

Incidence of histopathological lesions in the thyroid of male F344 rats treated with SDM for 4 weeks after initiation with DHPN.

	Control	DHPN	SDM 1000 ppm	DHPN+SDM (ppm)		
				62.5	250	1000
No. of animals examined	4	4	8	8	8	8
Diffuse follicular cell hyperplasia (±/+/++/+++) ^a	0	0	8(0/0/8/0) ^{#,*}	0	8(0/6/2/0) ^{#,*}	8(0/0/5/3) ^{#,*}
Focal follicular cell hyperplasia (±/+/++/+++) ^b	0	0	0	0	8(1/2/4/1) ^{#,*}	8(0/0/3/5) ^{#,*}

^a Grade of the lesion: ±, minimal; +, slight; ++, moderate; +++, severe.

^b Grade of the lesion was classified as the total number of lesions/section: ±, = 2 foci; +, 3-5 foci; ++, 6-14 foci; +++, = 15 foci.

[#]: Significantly different from the controls (P < 0.01).

^{*}: Significantly different from the DHPN group (P < 0.01).

Table 3.

Functional analysis of genes up- or down-regulated specifically in the DHPN+1000 ppm SDM group.

Gene function	= 2-fold, p<0.05 (66 genes)	= 0.5-fold, p<0.05 (68 genes)
Biological process	47.0%	35.3%
Cellular process	10	8
Development	2	5
Reguration of biological process	4	2
Physiological process	15	9
Cellular component	22.7%	19.1%
Cell	12	8
Extracellular	3	5
Molecular function	50.0%	26.5%
Antioxidant activity	2	0
Catalytic activity	10	4
Transporter activity	2	1
Binding	12	8
Transcription regulator activity	3	1
Motor activity	1	0
Signal transducer activity	3	4
Enzyme regulator activity	1	0

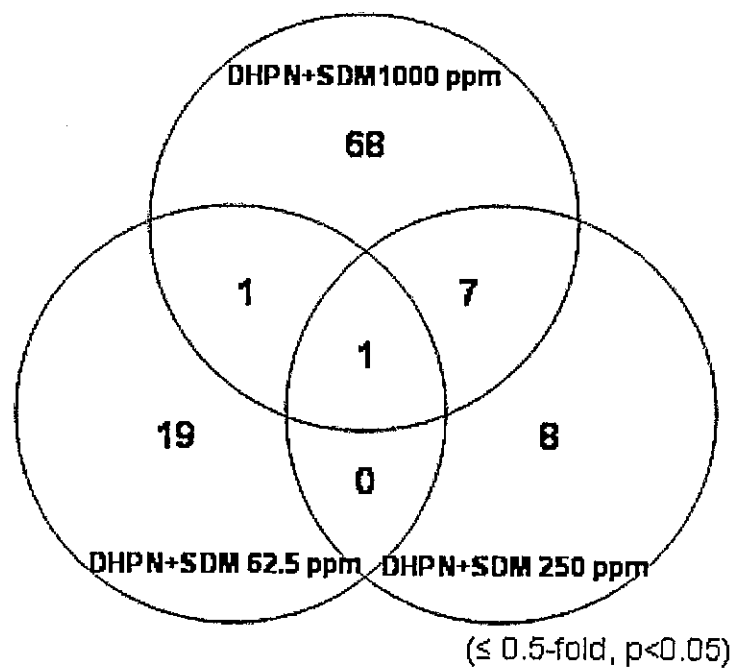
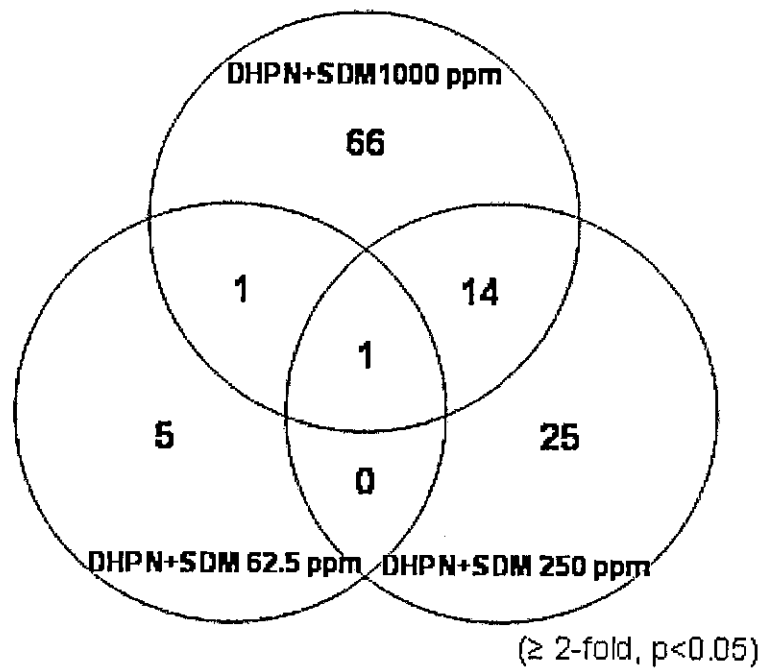


Fig. 3. Number of genes up- or down-regulated in the thyroid specifically in response to the SDM-treatment for 4 weeks after initiation with DHPN.

Table 4.

List of genes showing dose-related up-regulation by SDM in the two-stage thyroid carcinogenesis model (≥ 2 -fold, $p < 0.05$).

Accession No.	Gene symbol	Gene title	DHPN+SDM (ppm)		
			62.5	250	1000
from 62.5 ppm (1 gene)					
AA819913		EST	2.2*	2.2	2.1
from 250 ppm (14 genes)					
NM_022513.1		dopa/tyrosine sulfotransferase (LOC64305)	0.7	2.0	2.0
AI576190		EST	1.2	2.1	2.2
NM_134331.1	Epha7	Eph receptor A7	1.2	2.0	2.1
AI579823		EST	1.1	3.1	2.7
AI071227		EST	0.6	2.2	2.2
AW528001		Similar to abnormal spindle	0.7	2.4	2.1
NM_053749.1	Aurkb	Aurora kinase B	0.7	2.5	2.3
BE116384		EST	0.8	2.4	2.2
AI317842		similar to kinesin family member 22, pseudo	0.8	2.4	2.2
AI229404		EST	0.7	2.7	2.4
W253880	Kifc1	Kinesin family member C1	0.9	2.6	2.2
NM_012707.1	Gcg	Glucagon	0.7	2.7	2.8
X64589.1	Ccnb1	Cyclin B1	0.7	2.8	2.6
AA96415		EST	0.8	3.0	2.3

*: x fold, vs DHPN group.

Table 5.

List of genes showing dose-related down-regulation by SDM in the two-stage thyroid carcinogenesis model (≤ 0.5 -fold, $p < 0.05$)

Accession No.	Gene symbol	Gene title	DHPN+SDM (ppm)		
			62.5	250	1000
from 62.5 ppm (1 gene)					
NM_130421.1	Lcp2	lymphocyte cytosolic protein 2 (SH2 domain-containing leukocyte protein of 76 kD)	0.4*	0.4	0.5
----- from 250 ppm (7 genes)					
NM_017058.1	Vdr	vitamin D receptor	0.6	0.5	0.4
NM_012827.1	Bmp4	bone morphogenic protein 4	0.9	0.5	0.4
AI100827		EST			
BG663483	Pcdha	protocadherin alpha subunit	0.7	0.5	0.4
BF284692		EST	1.0	0.4	0.4
AW532697		EST	0.7	0.5	0.4
BF418132		EST	1.0	0.5	0.4

*: x fold, vs DHPN group.

Table 6.

Number of up- or down-regulated genes only by SDM at 62.5 ppm and 250 ppm, respectively after initiation with DHPN.

Group	= 2-fold, $p < 0.05$	= 0.5-fold, $p < 0.05$
DHPN+SDM 62.5 ppm	5	19
DHPN+SDM 250 ppm	25	8

厚生科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）

分担研究報告書（平成 16 年度）

畜水産食品中の残留動物用医薬品の安全性に関する研究

—動物用医薬品の発がん過程における酸化ストレスの関与—

分担研究者 梅村隆志 国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官

研究要旨

動物用医薬品のフルメキンは *in vitro* 変異原性は陰性ながら、マウスの肝臓に発がん性を有することが知られている。今回、安全性再評価の一環として、その発がん機構への酸化ストレスの関与の可能性ならびに *in vivo* 変異原性の有無を検索する目的で、フルメキンを 13 週間、0.4% の濃度で雌雄の *gpt delta* マウスに混餌投与した。その結果、肝 DNA 中の 8-oxodeoxyguanosine (8-oxodG) レベルおよびレポーター遺伝子の変異頻度は雌雄共に対照群との間に差は認められなかった。今回の実験条件下では、フルメキンの肝発がん機序に酸化ストレスの関与の可能性ならびに肝に対する変異誘発作用は明らかとはならなかった。

A. 研究目的

キノロン系抗菌剤のフルメキンは動物用医薬品として使用されている。*in vitro* の変異原性は陰性ながら、その長期投与によりマウス肝臓に発がん性を有していることが知られている。近年、肝発がんプロモーション作用に加えて、イニシエーション作用の可能性も報告され、またコメットアッセイ陽性の結果も報告された。さらに、フルメキンを投与した肝臓におけるマイクロアレイ解析の結果は、その発がん機序に酸化ストレスの関与の可能性を示唆するものであった。本研究目的は、フルメキンの肝発がん機序に酸化 DNA 損傷の関与の可能性を探り、さらに近年開発されたレポーター遺伝子導入マウスを用いた、*in vivo* 変原性アッセイを実施することにより、従来、非変異原性発がん物質として分類されていた当該動物用医薬品の発がん機序を明らかにし、その安全性再評価における重要なデータを提供することにある。

B. 研究方法

従来から使用されていた *gpt delta* マウスはその背景系統が肝発がん嫌発系の C57/BL/6 であったことから、今回は肝発がん好発系の C3H/He 系統マウスとの交配より得られた B6C3F1 系統の *gpt delta* マウスを実験に供した。雌雄 8 週令のマウスそれぞれ各群 5 匹に、フルメキン 0、0.4 % の濃度に混じた飼料を 13 週間自由に摂取させた。エーテル麻酔下で動物を解剖し、肝重量測定後、液体窒素により凍結保存した。肝臓の一部から DNA を抽出し、HPLC-ECD 法により酸化 DNA 損傷の指標である 8-oxodeoxyguanosine (8-oxodG) レベルを測定した。また、同様に DNA を抽出し、λ フェージにパッケージング後、Cre 組み換え酵素発現大腸菌ならびに P2 溶原大腸菌にそれぞれ感染させ、導入遺伝子の *gpt* ならびに *red/gam* 遺伝子の変異頻度を検索した。

（倫理面への配慮）

動物実験については、国立医薬品食品衛生研究所実験動物取り扱い指針に基づ

いて実施された。

C. 研究結果

雌雄共にフルメキン投与群で有意な体重減少が認められ、雄では肝比重量、雌では肝重量および比重量の有意の増加が観察された (Table 1)。肝 DNA 中の 8-oxodG レベルは雌雄共に対照群と投与群の間で差は認められなかった (Table 2)。*in vivo* mutation assay の結果、*gpt* 遺伝子突然変異頻度、*red/gam* 遺伝子突然変異 (Sp-) 頻度ともに、雌雄の投与群で対照群に比べて有意の増加は観察されなかった (Table 2)。

D. 考察

肝重量が雌雄共に増加しており、本実験条件下においてフルメキンがマウス肝臓に何らかの影響を及ぼしていることが確認された。しかし、肝 DNA 中の 8-oxodG レベルを測定した結果、雌雄ともに対照群との間に差は認められず、以前報告された 8-oxodG 抗体を用いた免疫染色の結果と一致しなかった。その実験では ICR 系マウスが用いられており、今回用いた B6C3F1 マウスとの系統差が起因している可能性はあるものの、免疫染色は 8-oxodG の量的解析より、その標的細胞の解析に適していることから、0.4 % フルメキンを 13 週間混餌投与しても、マウス肝 DNA に酸化的損傷を生じ得ないことが強く示唆された。一方、本マウスに導入された *gpt* 遺伝子を λ EG10 ファージとして回収し、大腸菌に感染させ、変異 *gpt* 遺伝子が導入された大腸菌のみが 6-thioguanine (6-TG) 添加培地上で発育できる性質を利用して、フルメキンによる *gpt* 遺伝子変異誘発の有無を検討した。*gpt* 遺伝子は 496 塩基対の比較的短い遺伝子で、その変異は主に点突然変異であ

ると考えられているが、今回の結果から、フルメキン投与による *gpt* 遺伝子への変異誘発は認められず、本実験条件下において肝細胞 DNA 中のその他の遺伝子に対する点突然変異誘発の可能性は低いと考えられた。また、 λ ファージに感染しても溶菌しない P2 溶原大腸菌に *gpt* 遺伝子導入に用いた λ EG10 を感染させ、 λ EG10 遺伝子上にある *red/gam* 両遺伝子に変異が生じると (すなわち欠失変異が生じると)、P2 溶原大腸菌においてもプラーク形成が認められること (Spi-) を利用して、フルメキン投与による *red/gam* 遺伝子の欠失変異誘発の有無を検討したところ、同様に対象群との間に差は認められず、その他の遺伝子に対しても欠失変異を誘発している可能性は低いと考えられた。従って、今回の実験条件下においてフルメキンは、雌雄マウスの肝臓 DNA に酸化的損傷を引き起こさず、また、遺伝子点突然変異、欠失変異のいずれも誘発しない可能性が示された。フルメキン投与マウス肝臓を用いた網羅的遺伝子解析の結果は、その発がん過程に酸化的ストレスの関与を示唆するものであった。今回用いた用量は発がん実験の 78 週間に比べて 13 週間と短く、この時点では、酸化的ストレスの結果としての酸化的 DNA 損傷、さらにはそれに続く遺伝子変異が生じていない可能性は考えられる。しかし、マウスを用いた発がんモデルにおいて、その過程を多段階に捉えてイニシエーション期を定義すると、今回の実験結果は、フルメキンのイニシエーション作用はもしあるとしても極めて弱いものであることを示唆している。

E. 結論

フルメキンを 0.4% の濃度の混じた飼

料を 13 週間、雌雄の *gpt delta* マウスに与え、肝 DNA 中の 8-oxodG レベル、*gpt* 遺伝子ならびに *red/gam* 遺伝子の突然変異誘発の頻度を検索したところ、いずれも有意の変化は観察されず、フルメキンはマウス肝発がん過程において、プロモーターとして関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Umemura, T., Kitamura, Y., Kanki, K., Maruyama, S., Okazaki, K., Imazawa, T., Nishimura, T., Hasegawa, R., Nishikawa, A. and Hirose, M.: Dose-related changes of oxidative stress and cell proliferation in kidneys of male and female F344 rats exposed to potassium bromate (KBrO₃). *Cancer Sci.*, 95, 393-398, 2004.

Kanki, K., Nishikawa, A., Masumura, K., Umemura, T., Imazawa, T., Kitamura, Y., Nohmi, T. and Hirose, M.: In vivo mutational analysis of liver DNA in *gpt delta* transgenic rats treated with the hepatocarcinogens N-nitrosopyrrolidine, 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, and di(2-ethylhexyl)phthalate. *Mol. Carcinog.*, 42, 9-17, 2005.

2. 学会発表

梅村隆志、北村泰樹、神吉けい太、今沢孝喜、児玉幸夫、伊東健、山本雅之、西川秋佳、広瀬雅雄：Nrf2 欠損マウスの肝発がん物質ペンタクロロフェノールに対

する感受性、第 31 回日本トキシコロジー学会、大阪、2004 年 7 月

梅村隆志、西川秋佳、神吉けい太、石井雄二、今沢孝喜、広瀬雅雄：ペンタクロロフェノールのジエチルニトロサミン誘発マウス肝および胆管発がん促進作用に対する緑茶の予防効果、第 63 回日本癌学会、福岡、2004 年 9 月

梅村隆志、石井雄二、西川秋佳、児玉幸夫、神吉けい太、黒岩有一、伊東健、山本雅之、広瀬雅雄：老齢 Nrf2 欠損マウスにおける自然発生腫瘍性病変、第 21 回日本毒性病理学会、浜松、2005 年 1 月

Umemura, T., Hasegawa, R., Kanki, K., Kitamura, Y., Nishikawa, A. and Hirose, M.: Green Tea infusion prevents dual promoting effects of pentachlorophenol, an environmental pollutant, on hepato- and cholangio-carcinogenesis of mice induced by diethylnitrosamine. Society of Toxicology, 44th Annual Meeting, New Orleans, March, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Table 1.

Body, liver and relative liver weights of *gpt* delta mice given flumequine

Sex	Treatment	BW (g)	Liver (g)	Liver/BW (%)
Male	Cont	36.3 ± 1.0	1.65 ± 0.19	4.56 ± 0.62
	Flumequine	31.4 ± 1.5 **	1.67 ± 0.06	5.31 ± 0.24*
Female	Cont	25.7 ± 1.9	1.10 ± 0.04	4.28 ± 0.25
	Flumequine	23.3 ± 0.8 *	1.26 ± 0.09**	5.42 ± 0.37**

*, **: p<0.05, 0.01 vs. Cont

Table 2.

Changes of 8-oxodG levels in liver DNA and, *gpt* and Sp⁻ mutation frequencies in livers of *gpt* delta mice given flumequine

Sex	Treatment	8-oxodG (/10 ⁵ dG)	<i>gpt</i> mutation frequency (x10 ⁵)	Sp ⁻ mutation frequency (x10 ⁵)
Male	Cont	0.28 ± 0.11	0.80 ± 0.44	0.40 ± 0.14
	Flumequine	0.19 ± 0.07	1.01 ± 0.52	0.38 ± 0.31
Female	Cont	0.16 ± 0.04	0.46 ± 0.28	0.33 ± 0.11
	Flumequine	0.19 ± 0.04	0.65 ± 0.25	0.48 ± 0.36

厚生科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）
分担研究報告書（平成 16 年度）

畜水産食品中の残留動物用医薬品の安全性に関する研究

—牛脊柱からの背根神経節の除去に関する研究—

分担研究者 九郎丸 正道 東京大学 教授

研究要旨

新たに特定危険部位に指定された牛の脊髄（背根）神経節について、その除去がと畜場において可能かどうかを検討した。現在、平均して全背根神経節の約 80%の除去がと畜場で可能となっているが、100%の除去は現時点の技術では困難であるといわざるを得ない。と畜場での背根神経節の完全除去を達成するためには、今後さらなる技術の改良が必要である。

研究協力者 木村政治 東京大学

A. 研究目的

厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会伝達性海綿状脳症対策部会において、2003 年 11 月、従来の脳、眼、脊髄、回腸遠位部に加えて、脊髄（背根）神経節が特定危険部位に指定された。それゆえ我が国では食用に供する牛は、と畜場で脊髄吸引除去後、背割りして背根神経節を含む脊柱全体を取り外して廃棄することによって、背根神経節も食肉から取り除かれることになった。ところが脊柱の廃棄に要する経費は膨大であり、また背根神経節を除いた脊柱自体には感染源としての危険性はなく、従来牛エキスやゼラチン等の原材料として食品や化粧品等に利用されてきた経緯がある。もし、と畜場において背根神経節を脊柱から完全に分離する手法が確立できれば、経済的にも資源の活用という点からも、その効果は大きい。本研究では、そのための基礎データを蓄積することを目的として、と畜場において脊髄を取り除いた後に脊柱に残る、硬膜とそこに付随している脊髄神経を、背根神経節ができるだ

け脊柱に残らないように引き剥がしたものをを用いて、まず背根神経節を形態計測学的に解析し、続いて背根神経節がどの程度硬膜に付随しているか、すなわち脊柱から背根神経節がどの程度除去されているかを調べた。

B. 研究方法

1. 牛の背根神経節の形態学的解析

と畜場で脊髄を取り除いた後に脊柱に残る硬膜は、背割りによって左右に二分割されているので、そこから伸びる脊髄神経は、脊髄の各分節につき 1 本である。これらをナイフで切断しながら、硬膜が脊柱から引き剥がされる。このとき背根神経節より末梢側で切断し、背根神経節が硬膜に付随してくるようにするが、背根神経節は周囲の脂肪組織の中に埋もれて位置の確認が難しい場合があり、切断部位が背根神経節より中枢側になれば背根神経節は脊柱に残る。こうして得られた硬膜とその周辺を試料として、背根神経節の数及び重量、神経根の数、硬膜から背根神経節までの背根の長さを測定した。牛の背根神経節についてのこうした

情報については、これまで詳しい報告はなされていない。

引き剥がされた硬膜周辺からピンセットを用いて脂肪を除去すると背根神経節が現れる(図1, 2)。これら多数の試料のうち、第1頸神経から第5仙骨神経までの脊髄神経について、背根神経節が比較的良好に硬膜に付随しているもの20点(試料番号1018-aから1207-a)を選び、各背根神経節の個数及び重量、神経根(背根と腹根)の本数、および硬膜から背根神経節までの背根の長さを調べて表1にまとめた。背根神経節が複数に分かれている場合は、その合計の重量を背根神経節の重量とした。背根と腹根は多くの根系からなるが、根系が連続したひとまとまり(ひとたば)として硬膜を貫く箇所数を神経根の本数とした。背根神経節が複数あって、あるいは背根が複数あって、硬膜から背根神経節までの背根の長さがそれぞれ異なる場合は、最も短いものを採用した。

また、頸神経、胸神経、腰神経、及び仙骨神経の各神経節の組織を光学顕微鏡で確認した。各背根神経節は、10%ホルマリン溶液による室温下24時間の浸漬固定に続いてパラフィンに包埋した。これを用いて4 µm厚のパラフィン切片を製作し、HE染色を施した。

なお、すべての試料は(株)南大阪食肉市場から得たものである。

2. 牛の脊柱からの背根神経節の除去

脊柱から除去すべき背根神経節は牛1頭あたり、頸椎部8対16個、胸椎部13対26個、腰椎部6対12個、及び仙骨部5対10個の計32対64個(背割り後の枝肉[半頭分]では32個)であり、尾骨部はこれに含まれていない。ここでは、1. と由来の同じ試料において、第1頸神経

から第5仙骨神経までの脊髄神経の背根神経節が、どの程度脊柱から除去されているかを調べた。

1. と同じ由来の試料を用い、硬膜周辺から脂肪を取り除いて、付随している背根神経節を明らかにし、頸椎部、胸椎部、腰椎部、および仙骨部に関して、脊柱からどの程度除去されているか(除去率)を算出した。算出に用いた牛硬膜は2003年7月から2005年1月までの計1155検体である。算出方法は、背根神経節の全体が付随しているものを1とし、背根神経節の大部分が付随しているものを2/3、背根神経節の半分程度が付随しているものを1/2、背根神経節の一部が付随しているものを1/3、背根神経節が全く付随していないものを0として合計し、C1からS5までの背根神経節の数32(枝肉当たり:半頭分)に対する割合を求めた。背根神経節の大きさの判定は、目視によるから必ずしも厳密なものではなく、また、背根神経節の大きさの約1/3個分が除去率の百分率の1%分に相当する。したがって除去率は小数点以下の数値に意味がないと考えられることから、有効数字は1の位までとした。

(倫理面への配慮)

本研究は動物実験ではなく、と畜場の協力を得て、作業過程で除去された牛の硬膜を研究材料として使用していることから、倫理面への配慮は特に必要としないと考える。

C. 研究結果 および D. 考察

1. 牛の背根神経節の形態学的解析

背根神経節の形態計測の結果は表1に示した。なお表1において、S1からS8は第1頸神経から第8頸神経を表し、T1からT13は第1胸神経から第13胸神経を、L1からL6は第1腰神経から第6腰

神経を、S1 から S5 は第 1 仙骨神経から第 5 仙骨神経を表す。背根神経節の数については、1 個のときは空欄とし、複数あるときに、その数を記した。

背根神経節の重さの数値は、0.01 g の何倍かを表し（例えば 27 なら 0.27 g を表す）、背根神経節までの背根の長さは、mm を単位とした。また、×印は不明あるいは測定不能を表す。

背根神経節の個数は各脊髄神経に概ね 1 個であったが、腰神経、仙骨神経では複数ある場合も散見され、頸神経、胸神経でもまれに複数認められた。背根神経節は、複数あっても、硬膜を脊柱から引き剥がすときに、1 つが硬膜に付随し、ほか脊柱に残った場合に、誤って 1 つと数えられている可能性も否定できない。

背根神経節の重量は C7 と L6 を双峰としてその前後で目立って大きく、仙骨部の下位では小さかった。本研究では背根神経節の体積及び密度は測定していないが、印象として、大きい背根神経節ほど重かったので、背根神経節の密度は脊髄神経によって差が大きいとは考えにくい。このことは背根神経節の断面の組織像（図 3 から 6）の様子がどれも、多くの神経細胞体と神経線維及び結合組織で満たされている点で似通っていることから伺える。図 3 から 6 は第 3 頸神経、第 7 胸神経、第 2 腰神経、及び第 1 仙骨神経のそれぞれ背根神経節を光学顕微鏡で観察したものである。図 3 から 6 において、濃い紫色に染まっている円形のもが神経細胞体、その中で一層濃い青紫色に染まっている部分が核である。赤紫色に染まっているのは神経線維、ピンク色に染まっているのは結合組織である。また、太い脊髄神経ほどその膨大部である背根神経節は大きかった。背根神経節の形については、ほとんどの場合、L6 あるいは

その前後の脊髄神経で馬蹄形である以外は桿状で、特に S3 から下位では他よりも細長い桿状であった。桿状の背根神経節の長軸の、背根の伸びる方向に対するおおよその向きは、S3 から下位では平行、そのほかでは直角であった。

神経根の数は仙骨神経で少なく、多くの場合背根、腹根各 1 本の計 2 本であった。これ以外に特段の傾向は見られず、互いに同じ分節から出る脊髄神経の太さに大きな個体差はなかったが、神経根の数は、上述の仙骨神経以外では、2 本から 10 本と、個体によりあるいは脊髄神経によりまちまちであった。神経根は多数の根系からなる太いものもあれば、比較的少数の根系からなる細いものもあり、それらの出現に規則性が見出されなければ、脊髄神経の太さが同程度であるからといって必ずしも神経根の数も同程度とは限らない。また逆に、神経根の数が同程度でも、脊髄神経の太さが同程度とは限らなかった。

硬膜から背根神経節までの背根の長さは、上位の頸神経で短く、腰神経以降次第に長くなり、特に仙骨神経では顕著に長く 100 mm に達するものもあった。これは以下の理由による。脊髄は脊柱より短いので、脊髄の各分節とそれに対応する脊椎とのずれは尾側に行くほど大きく、かつ一般に背根神経節は椎間孔付近にあるから、脊髄の各分節とその背根神経節との距離は尾側に行くほど大きい。しかも、特に仙骨部では背根神経節が仙骨の外に位置している。

2. 牛の脊柱からの背根神経節の除去

各月の除去率を表 2 から表 20 に掲げる。〈別表 2~20（表と番号対応）〉では、○は背根神経節の全体（1）が付随しているものを表し、□は背根神経節の大部分（2/3）

が付随しているものを、□は背根神経節の半分程度(1/2)が付随しているものを、▲は背根神経節の一部(1/3)が付随しているものを、×は背根神経節が全く付随していない(0)ものを表す。表の最も左の欄の数字は検体番号を表す。> また除去率の推移を図7に、各神経節毎の除去率を図8に、さらに図8に背根の長さを重ねたものが図9である。

背根神経節の除去率は、2003年7月の作業開始から同年10月まで飛躍的に向上し、その後漸増して2004年3月に80%に達した。これは除去すべき背根神経節の位置が明確になってきたことと、使用するナイフの改良によると思われる。しかしそれ以降はほぼ横ばいであった。また、除去率の標準偏差は2003年12月からほぼ一定であった。除去率が安定して以降、最も除去されやすいのは頸部および胸部の上位から中位の脊髄神経節であり、次いで腰部の上位、その次に胸部の下位と続き、最も除去されにくいのが腰部の下位および仙骨部の背根神経節であった。

頸部および胸部の上位から中位の背根神経節が脊柱から除去されやすいのは、硬膜から背根神経節までの背根の長さが短いことと、背根神経節がある程度大きいことに起因すると思われる。

しかし、これと同じ条件下にある胸部下位と腰部上位の背根神経節について、後者の除去成績が、頸部および胸部の上位から中位のそれよりも若干低く、前者でさらに低くなる理由は不明である。

腰部下位および仙骨部の背根神経節が除去されにくいのは、背根の硬膜から背根神経節までの距離が長く(図9)、殊に仙骨部の背根神経節は仙骨の外に位置するので、背根神経節から中枢側で脊髄神経を切断してしまう傾向にあるためと思

われる。なお、S1とその前後の脊髄神経で背根神経節は大きいのであるから、腰部下位および仙骨部の背根神経節が除去されにくいことと背根神経節の大きさとは無関係であろう。

E. 結論

1. では背根神経節の形態計測学的な解析を行った。背根神経節の重量は第7頸神経や第6腰神経及びそれらの前後で大きく、下位の仙骨神経で小さかった。硬膜から背根神経節までの背根の長さは、頸神経で小さく、仙骨神経で大きかった。

2. では2003年7月から2005年1月までに得られた試料について、背根神経節の脊柱からの除去率を調べたところ、2004年3月に80%を超えてから停滞していた。除去成績の低い下位の胸神経の背根神経節、及び下位の腰神経の背根神経節に関して、その理由は分からなかったが、同じく除去成績の低い仙骨神経の背根神経節に関しては、背根の、硬膜から背根神経節までが長いと推測された(図9)。

牛の脊柱をゼラチンや牛エキスの原材料として利用するためには、と畜場において背根神経節が完全に脊柱から分離されなければならないが、これまでのところその状況には達していない。今後、ナイフの刃をより細くする等、さらなる除去技術の改良が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

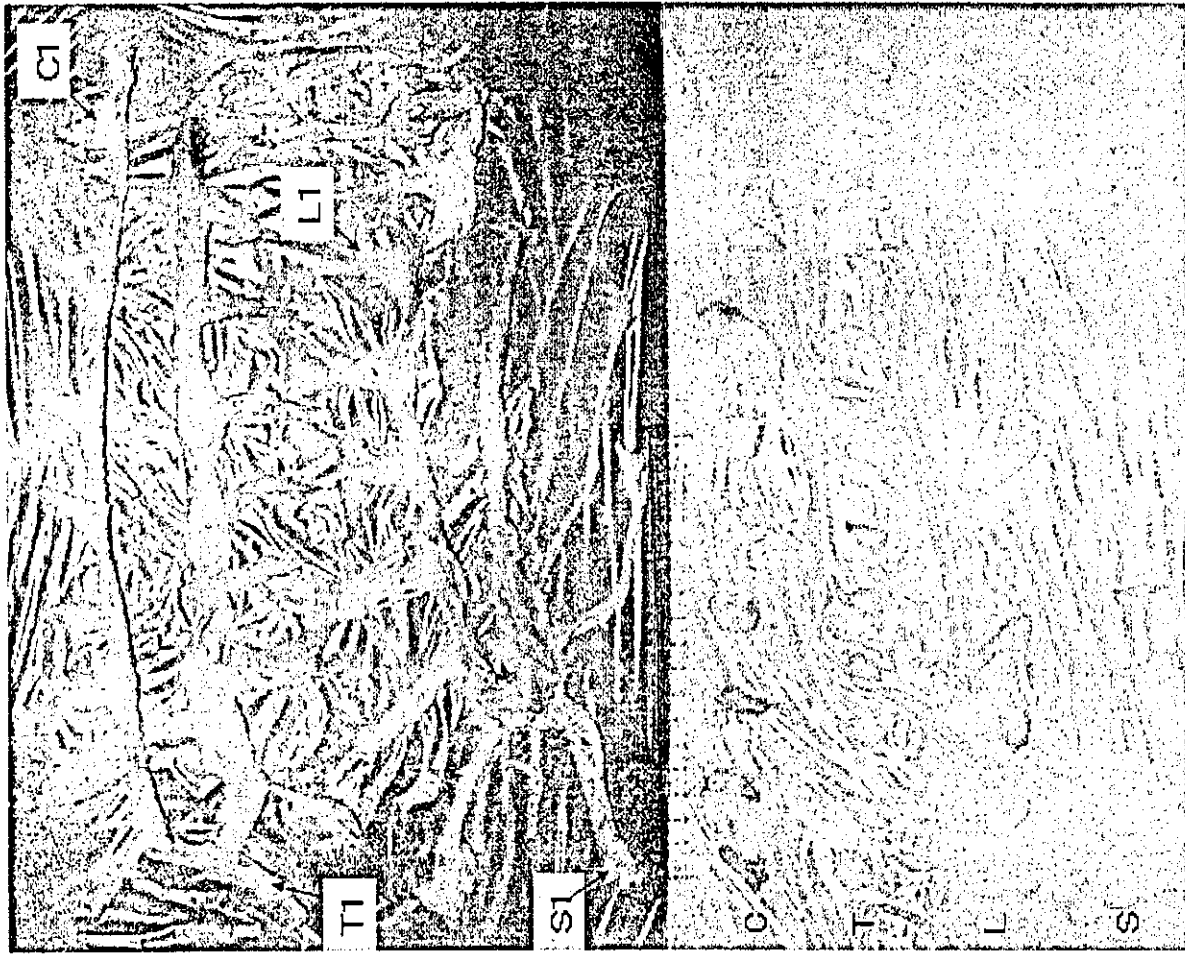


図1

硬膜に付随している
背根神経節の全体像

- C1: 第1頸神経背根神経節
- T1: 第1胸神経背根神経節
- L1: 第1腰神経背根神経節
- S1: 第1仙骨神経背根神経節

図2

上段から頸神経(C)、
胸神経(T)、腰神経(L)、
及び仙骨神経(S)の背根
神経節(左側が上位の神経節)
L5, S2, S3は欠損

表1

1018-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			×	2
神経節の重さ	27 36 21 37 29 39 62 41	28 27 23 21 24 23 27 18 24 16 9 21 15	33 33 21 × 55 84	53 24 9 6 7
神経根の数	4 4 5 4 5 6 6 5	4 5 5 3 6 5 6 7 5 5 4 6 6	5 4 5 5 4 2	2 2 2 2 2
神経節までの長さ	5 5 2 2 7 10 9 14	22 27 23 18 14 13 13 16 12 15 12 8 10	8 10 11 × 37 46	67 86 87 86 74
1108-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			×	2
神経節の重さ	24 22 21 20 21 38 45 29	29 23 18 20 21 14 23 16 18 15 13 11 ×	12 28 28 17 28 94	51 17 14 11 8
神経根の数	5 4 5 5 4 2 3 3	3 3 4 5 5 6 4 3 4 3 3 4 4	4 5 4 3 7 5	2 2 3 2 2
神経節までの長さ	3 3 5 4 4 16 12 19	24 27 24 22 21 19 17 16 22 20 18 17 18	13 12 23 34 53 71	65 86 83 102 124
1108-b	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			2	
神経節の重さ	21 15 17 24 30 54 47 17	18 11 × 16 19 23 22 24 25 21 13 16 13	13 18 23 25 25 82	68 31 16 7 6
神経根の数	4 2 3 4 3 4 4 3	3 4 × 4 7 5 7 3 5 4 3 3 4	3 5 5 4 5 2	2 2 2 2 2
神経節までの長さ	1 2 2 1 2 8 14 16	30 12 × 21 13 12 17 13 14 12 17 14 9	8 12 13 20 35 46	71 82 93 116 95
1109-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			2	
神経節の重さ	24 32 26 29 28 49 67 38	20 17 17 13 14 17 15 13 14 9 13 20 20	18 35 25 23 84 76	49 38 7 5 3
神経根の数	5 6 5 3 4 4 4 6	3 4 5 5 7 5 7 7 6 3 3 4 4	5 6 5 8 5 5	7 2 2 2 2
神経節までの長さ	3 2 4 6 8 13 17 22	28 30 27 17 14 17 14 16 16 19 17 18 13	13 12 13 32 44 53	62 83 72 67 49
1109-b	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			×	2
神経節の重さ	20 19 15 26 16 26 48 18	15 14 18 11 14 14 11 14 12 13 16 15 28	21 13 26 19 38 72	44 19 × 6 4
神経根の数	4 5 4 6 5 5 6 4	3 4 6 5 5 4 5 5 6 3 5 6 7	6 7 7 8 6 4	2 2 2 2 2
神経節までの長さ	2 3 3 4 4 7 11 16	19 24 17 14 14 11 12 13 14 16 15 13 9	12 10 19 40 56 73	69 86 120 88 63
1110-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			2	2
神経節の重さ	20 43 24 25 32 43 70 41	28 12 11 24 22 23 22 27 20 22 14 19 12	13 16 26 26 39 47	58 × 4 8 4
神経根の数	2 2 3 2 2 2 3 3	3 3 3 4 3 3 5 3 3 3 3 3 3	3 2 2 5 3 2	2 2 2 2 2
神経節までの長さ	3 4 3 6 5 10 9 15	23 21 28 22 27 19 11 13 9 15 22 19 14	15 12 18 32 36 53	97 96 85 82 74
1110-b	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			×	2
神経節の重さ	22 29 20 22 33 59 67 38	17 15 13 12 11 14 14 17 18 15 12 13 20	19 32 21 35 × 70	43 21 5 6 4
神経根の数	5 4 3 2 3 5 10 5	5 6 6 4 5 7 8 6 5 5 3 4 4	5 6 6 5 3 2	2 2 2 2 2
神経節までの長さ	8 4 3 3 6 12 14 23	22 26 27 25 23 20 18 22 26 31 27 19 15	17 19 28 52 59 78	81 97 116 93 69
1114-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数	×		×	2
神経節の重さ	× 29 25 28 29 58 81 39	25 22 16 15 19 19 12 23 25 24 25 29 21	32 33 31 × 41 86	35 8 6 5 4
神経根の数	2 4 3 4 6 5 6 6	5 6 5 6 6 6 4 8 6 5 5 6 8	7 9 7 × 4 2	2 2 2 2 2
神経節までの長さ	4 5 6 7 8 10 14 26	27 21 27 26 22 16 19 11 15 17 16 15 12	11 14 25 × 62 61	92 126 117 118 95
1115-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			×	2
神経節の重さ	12 17 15 19 17 48 59 39	17 9 10 10 10 12 15 14 8 6 10 × 12	12 18 22 × 29 49	19 4 4 6 3
神経根の数	4 3 2 4 4 5 3 5	4 5 6 6 4 5 3 6 5 4 4 2 6	6 7 8 7 3 3	2 2 2 2 2
神経節までの長さ	8 6 3 4 6 13 21 26	33 42 35 37 34 21 22 16 18 13 16 14 13	11 12 25 34 67 72	83 119 163 117 136
1116-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			×	2
神経節の重さ	29 29 31 31 30 80 66 28	23 21 14 21 19 16 21 22 20 13 19 25 29	34 46 44 × 56 89	40 16 7 7 6
神経根の数	4 5 4 5 5 6 9 7	6 4 5 6 6 7 5 8 6 5 6 5 7	8 7 8 6 5 6	2 2 2 2 2
神経節までの長さ	4 5 3 3 7 9 16 22	23 22 23 15 13 13 16 12 19 17 22 15 12	11 10 14 × 42 57	68 81 75 73 64
1117-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			×	2
神経節の重さ	23 37 21 31 28 65 66 38	22 26 18 15 18 17 16 19 20 12 × 14 18	26 28 27 × 27 59	53 18 11 4 4
神経根の数	3 5 5 3 4 4 6 5	5 5 4 5 7 6 6 6 5 4 5 5 4	7 6 6 6 5 4	3 2 2 2 2
神経節までの長さ	6 4 3 5 9 11 17 21	23 29 27 24 18 13 15 22 27 31 31 16 13	16 15 30 × 73 67	87 96 128 110 122
1118-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			2	×
神経節の重さ	20 26 21 26 32 54 55 26	20 15 12 13 12 12 13 12 16 20 12 17 20	23 23 27 × 39 48	×
神経根の数	4 4 2 3 2 2 4 4	4 5 5 6 5 7 7 5 5 5 6 6 5	8 6 6 5 4 6	2 2 2 2 2
神経節までの長さ	1 3 4 4 8 13 16 21	30 30 32 31 26 19 18 17 16 17 18 13 12	10 12 21 × 68 76	×
1123-a	C1 2 3 4 5 6 7 8	T1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13	L1 2 3 4 5 6	S1 2 3 4 5
神経節の数			×	2

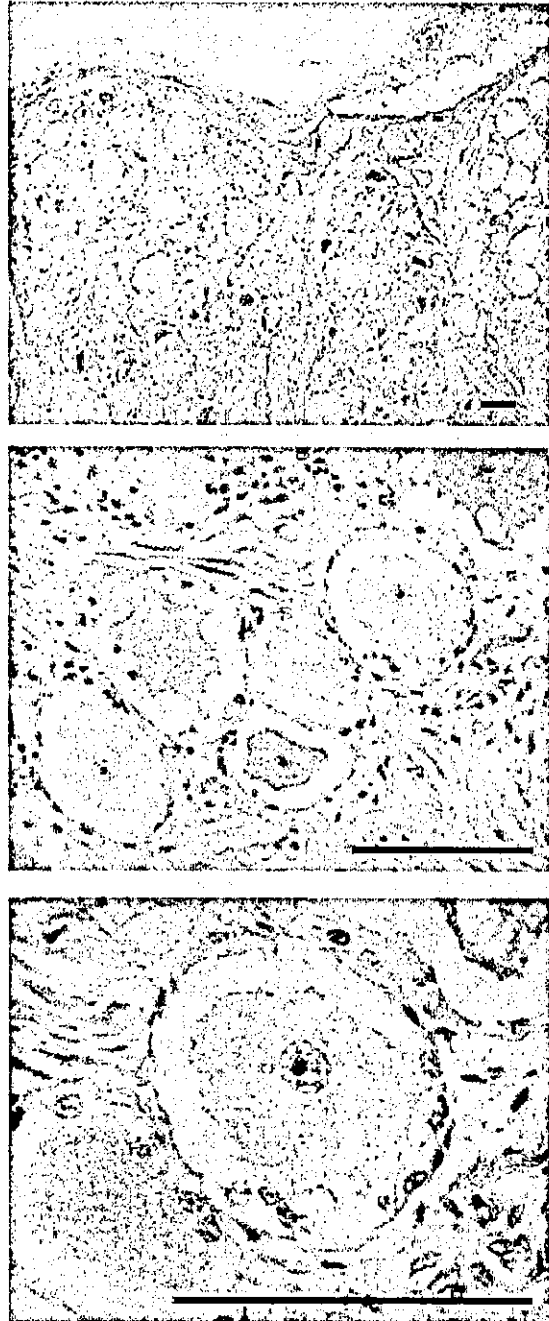


図3 脊髄神経節(第3頭神経)
Barは100 μ m

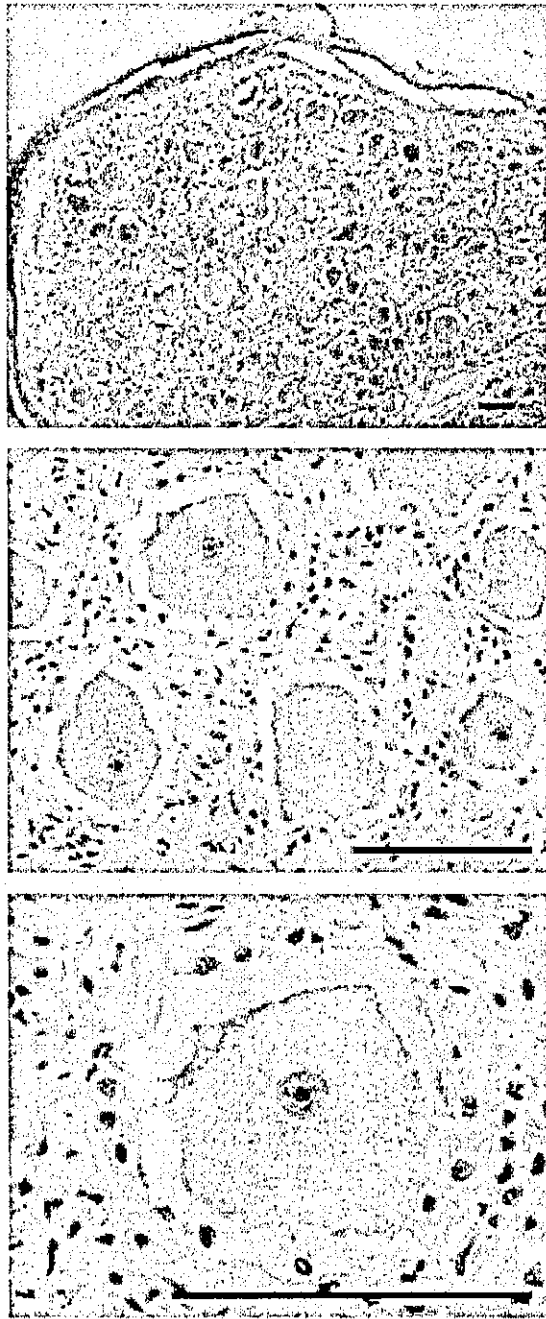


図4 脊髄神経節(第7胸神経)
Barは100 μ m



図5 脊髄神経節(第2腰神経)
Barは100 μ m