

香料等の遺伝毒性・発がん性短・中期包括的試験法の開発と、その標準的安全性評価法の確立に関する研究

分担研究課題名：オルガノイドの調製、オルガノイドを用いる発がん性試験の技術整備

研究分担者 今井俊夫 国立がん研究センター・研究所・動物実験部門長

## 研究要旨

本分担研究課題においては、マウスオルガノイド系を用いる遺伝毒性・発がん性短中期試験法として多施設で実施可能な標準法の確立を目的として、バリデーション試験において使用する陽性および陰性対照物質の選択、ならびにオルガノイド樹立に使用するマウス系統差を明らかにするための解析を行っている。結果として、メタンスルホン酸エチル(EMS)処置したBALB/cおよびB6背景 *Trp53*ヘテロノックアウト (*p53* +/-) マウス由来肺オルガノイドでEMS濃度に対応し発がん性を示す上皮細胞の重層化 / 浸潤性 / 異型性がみられ、LSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス由来肝臓(胆管)オルガノイドでもEMS高濃度群で同様の所見がみられた。ジエチルニトロサミンは肝臓(胆管)由来オルガノイドに対して明らかな変化を示さなかったが、アクリルアミド(AA)はBALB/c背景の野生型マウスにEMSと同様の変化を、7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン(DMBA)はBALB/c背景の *Trp53* +/- マウス由来乳腺オルガノイドに造腫瘍性を示した。安息香酸ナトリウム処置群では対照群との間に差はみられなかった。以上、EMSとAAについては平成27~29年度の厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)で明らかにした研究結果の再現性を確認し、DMBAについては新たに乳腺由来オルガノイドに発がん性を示すことを明らかにした。また、バリデーション試験において使用する陽性対照物質としてはAAを用いることとした。

## A. 研究目的

香料等の遺伝毒性・発がん性短・中期包括的試験法の開発と、その標準的安全性評価法の確立に関する研究において、レポーター遺伝子導入マウスから3次元培養法により調製したオルガノイド系を用いることで既知の遺伝毒性物質を検出し、野生型マウス、がん関連遺伝子改変マウスあるいはshRNAにより発がん関連遺伝子の発現を変化させたオルガノイド系を用いることで既知の発がん物質による造腫瘍性あるいは上皮細胞の重層化・浸潤性・異型性の誘発を指標とする発がん性物質を検出する方法を確立する。本分担研究においては、マウスオルガノイド系を用いる遺伝毒性・発がん性短中期試験法として多施設で実施可能な標準法の確立を目的としている。平成30年度は、*gpt delta*マウス、BALB/c背景 *Trp53*ヘテロノックアウトおよび野生型マウス、およびB6背景 LSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス(Cre導入あるいは陰性対照としてpLKO.1導入)の正常組織として肺と肝臓(胆管)からオルガノイドを調製して研究に供した。

本分担研究課題においては、マウスオルガノイド系を用いる遺伝毒性・発がん性短中期試験法として多施設で実施可能な標準法の確立を目的としたバリデーション試験において使用する陽性および陰性対照

物質の選択、ならびにオルガノイド樹立に使用するマ

ウス系統差を明らかにするための解析を行った。具体的には、平成27~29年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)「腫瘍性病変をエンドポイントとするオルガノイド系を用いる食品添加物等の遺伝毒性・発がん性の短期包括的試験法の開発」においてオルガノイドに対する*in vitro*処理により発がん性を示す形態学的変化を誘発することを明らかにしたメタンスルホン酸エチル(EMS)、アクリルアミド(AA)を陽性対照物質とし、更にジエチルニトロサミン(DEN)と7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン(DMBA)を加え、陰性対照物質としては安息香酸ナトリウム(SB)を用いた。また、マウス系統としてはBALB/cまたはC57BL/6J(B6)背景 *Trp53*ヘテロノックアウトおよび野生型マウスとB6背景LSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス(Cre導入あるいは陰性対照としてpLKO.1導入)の肺と肝臓由来オルガノイドを、更にBALB/c背景 *Trp53*ヘテロノックアウトおよび野生型マウスの乳腺由来のオルガノイドを調製し陽性物質に対する感受性を比較した。*In vitro*処置した各化学物質の発がん性評価は、オルガノイドをヌードマウス皮下に接種後~8週間経過後に採取した組

織の病理組織学的解析により行った。

## B. 研究方法

(1) オルガノイドをヌードマウス皮下に移植し造腫瘍性の観察あるいは病理組織学的解析により発がん性の有無を判定する際の形態学的特徴を明らかにするための検討

### 1) オルガノイドの調製

BALB/cまたはC57BL/6J (B6) 背景 *Trp53*ヘテロノックアウト (*p53* +/-) および野生型マウスとB6背景LSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス(Cre導入あるいは陰性対照としてpLKO.1導入)の肺および肝臓から、更にBALB/c背景 *Trp53*ヘテロノックアウトおよび野生型マウスの乳腺からオルガノイドを調製した。調製手順の概略は次の通りである。

### [1日目]

- ) 肺・肝臓・乳腺を摘出、細切、酵素処理
- ) 12ウェルプレートに滴下、37℃で固まらせたマトリゲル上に単離細胞を播種し液体培地にて1日間培養

### [2日目]

- ) 液体培地を除きマトリゲルを重層
- ) マトリゲル上に液体培地を加え培養

### [1週間目(オルガノイドの増殖程度で判断)]

- ) マトリゲルを除きオルガノイドを軽く破碎して継代
- ) 1日目、2日目と同様の操作により培養継続
- ) 継代・培養を3回程度繰返し

### [オルガノイド樹立後の取扱い]

- ) *p53* +/-マウス由来オルガノイド：*p53* +/-マウスおよび野生型マウス由来オルガノイドに対してレンチウイルス処置なし。
- ) LSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス由来オルガノイド：Cre recombinase遺伝子を導入して*Kras*を活性化、あるいは陰性対照としてのpLKO.1を導入した。

### 2) オルガノイドへの化学物質暴露

- ) 被験物質と適用オルガノイド：  
メタンスルホン酸エチル(EMS)；B6およびBALB/c背景 *Trp53* +/- 野生型マウスあるいはLSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス由来の肺および肝臓(胆管)オルガノイドに対して、0、0.05、0.2 mM (+S9 mix 50 µg/mL) 濃度にて暴露した。  
ジエチルニトロサミン(DEN)；B6およびBALB/c背景 *p53* +/- 野生型マウスあるいはLSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス由来の肝臓(胆管)オルガノイドに対して、0、0.2、1.0 mM (+S9 mix) 濃度にて暴露した。  
アクリルアミド(AA)；B6およびBALB/c背景

*Trp53* +/- 野生型マウスあるいはLSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス由来の肺オルガノイドに対して、0、0.28、1.4 mM (+S9 mix) 濃度にて暴露した。

7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン(DMBA)；BALB/c背景 *Trp53* +/- 野生型マウス由来の乳腺オルガノイドに対して、0、0.2、0.6 µM (+S9 mix) 濃度にて暴露した。

安息香酸ナトリウム；B6およびBALB/c背景 *Trp53* +/- 野生型マウスあるいはLSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス由来の肺および肝臓(胆管)オルガノイドに対して、0、5、20 mM (+S9 mix) 濃度にて暴露した。

)処置：各オルガノイドに対する化学物質曝露は、3回にわたる継代時において、分散したオルガノイドを播種した2時間後に開始し、更に24時間後のマトリゲル重層時までに行った。また、化学物質を添加した培地には更にS9mixを加えた。

### 3) オルガノイドのヌードマウス皮下への接種

[オルガノイドの継代・培養を3回程度繰返し後]

- ) オルガノイドをマトリゲルとともに回収し、等量のマトリゲルを混和した。
- ) イソフルランによる麻酔下にて1ウェル分のオルガノイドを背部皮下1カ所に、1匹あたり左右2カ所に接種した。

(2) ヌードマウス皮下に接種したオルガノイドから形成された組織に対する病理組織学的評価および免疫組織化学による検討

### 1) パラフィン包埋切片の作製と病理組織学的評価

接種～8週後に熟練した技術者によりヌードマウスを頸椎脱臼により安楽死させた後、皮下から結節/腫瘤あるいはオルガノイド接種部位を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液にて1日固定した。常法に従い、パラフィン包埋した後、4 µmの切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色あるいは必要に応じて粘液に染色性を示すアルシアンブルー-PAS染色を行い、光学顕微鏡にて観察した。

### 2) サイトケラチン(CK)19に対する免疫組織化学

パラフィン包埋切片に対し、脱パラフィン後にクエン酸緩衝液(pH6.0)にて10分間オートクレーブ処置して抗原不活化を行った。一次抗体として抗CK19ウサギモノクローナル抗体(abcam社製)を用いてABC法により染色した。ペルオキシダーゼ反応によるジアミノベンチジンの発色により検出した。

### (倫理面への配慮)

本研究で行う動物実験の実施にあたり「動物の愛護及び管理に関する法律(昭和48年法律第105号、平成24年最終改正法律第50号)」「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準(平成18年環境省告示第88号、平成25年最終改正環境省告示第84

号)」及び「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針（平成18年6月1日厚生労働省通知、平成27年2月20日一部改正）」を遵守した。また、「国立研究開発法人国立がん研究センターにおける動物実験に関する指針」に従い、事前に動物実験倫理委員会に計画書を提出し、理事長の実施承認を得た。実際の実験においては、適切な人道的エンドポイントを見極め、屠殺は頸椎脱臼やイソフルラン麻酔下にて腹部大動・静脈からの脱血により行うなど動物の苦痛を軽減するよう細心の注意を払うとともに、使用する動物数を最小限に留めるなど、動物の愛護に十分配慮して行った。また、遺伝子組換え実験については、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成15年法律第97号）等、遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める法令に則り、機関承認を得た後に実施した。

## C. 研究結果

### (1) メタンスルホン酸エチル (EMS)

#### 1) 肉眼所見

ヌードマウス皮下において、B6およびBALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup> マウスおよび野生型マウス由来の肺オルガノイドについて、EMS処置群と非処置群ともに長径4~7 mm程度の白色~乳白色（一部赤褐色出血痕を含む）の結節としてみられ、EMS処置による明らかな違いは認められなかった（写真1-1）。また、pLKO.1（対照）あるいはCre処置後のLSL-*Kras*<sup>G12D</sup> マウス由来の肺オルガノイドについても、EMS処置群と非処置群ともに長径3~8 mm程度の白色~乳白色の結節としてみられ、EMS処置による明らかな違いは認められなかった。

肝臓（胆管）オルガノイドについては、B6背景野生型マウスのEMS高濃度群、BALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup> マウスのEMS低・高濃度群にて、EMS非処置対照群に比し淡桜桃色充実化あるいは大型化がみられた。LSL-*Kras*<sup>G12D</sup> マウス由来の各群では乳白色~淡黄褐色の結節がみられたが、EMS処置による明らかな影響は認められなかった。

#### 2) 病理組織学的所見

B6およびBALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup> マウス由来肺オルガノイドでEMS濃度に対応し発がん性を示す上皮細胞の重層化/浸潤性/異型性がみられ（写真1-2）、B6背景野生型マウスではEMS高濃度群にて同様の所見がみられた一方、BALB/c背景野生型マウスではEMS濃度に対応した所見頻度の増加がみられたものの有意ではなかった。B6背景 *Trp53*<sup>+/-</sup> マウスのEMS高濃度群の1/4例ではがん肉腫の形態を呈する造腫瘍性を示した。LSL-*Kras*<sup>G12D</sup> マウス由来肺オルガノイドにおいては、EMS処置の影響はみられなかった。

LSL-*Kras*<sup>G12D</sup> マウス由来肝臓（胆管）オルガノイドではEMS高濃度群で肺にみられたものと同様の所見がみられた。BALB/c背景 *p53*<sup>+/-</sup> マウス由来肝臓（胆管）オルガノイドでも同様の所見がみられたが、EMS濃度への対応は明瞭ではなかった。B6背景 *Trp53*<sup>+/-</sup> マウス及び野生型、BALB/c背景野生型由来肝臓（胆管）オルガノイドにEMS処置による明らかな影響は認められなかった。（表1）

### (2) ジエチルニトロサミン (DEN)

#### 1) 肉眼所見

ヌードマウス皮下において、B6およびBALB/c背景 *p53*<sup>+/-</sup> および野生型マウス由来の肝臓（胆管）オルガノイドについて、EMS処置群と非処置群ともに痕跡~長径7 mm程度の白色~乳白色（一部赤褐色出血痕を含む、B6背景 *p53*<sup>+/-</sup> マウス由来オルガノイドは水胞形成傾向）の結節としてみられ、DEN処置による明らかな違いは認められなかった。

#### 2) 病理組織学的所見

B6背景 *Trp53*<sup>+/-</sup> と野生型マウス由来、ならびにLSL-*Kras*<sup>G12D</sup> マウス由来肝臓（胆管）オルガノイドでは、DEN処置により上皮細胞の重層化/浸潤性/異型性を示す所見の頻度の増加傾向がみられたが有意ではなかった。BALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup> と野生型マウス由来肝臓（胆管）オルガノイドでは、対照群とDEN処置群ともに1/4~3/4の頻度で上皮細胞の重層化/浸潤性/異型性を示す所見がみられ、群間の明らかな違いはみられなかった。（表1）

### (3) アクリルアミド (AA)

#### 1) 肉眼所見

ヌードマウス皮下において、BALB/c背景野生型マウスの肺オルガノイドについて、AA低濃度処置群にて1/4、高濃度処置群にて2/4の頻度で結節の黒色化がみられ、特に高濃度処置群の1/4は長径が20 mmと大型化を伴っていた（写真2-1）。BALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup> マウス由来の肺オルガノイドは痕跡~長径7 mm程度の白色~乳白色（一部赤褐色出血痕を含む）の結節としてみられ、AA処置による明らかな違いは認められなかった。B6背景 *Trp53*<sup>+/-</sup> マウスおよび野生型マウス由来の肺オルガノイドについてはAA非処置、AA処置群とも白色~乳白色（一部褐色化）の結節形成がみられたが、AA処置による明らかな変化はみられなかった。LSL-*Kras*<sup>G12D</sup> マウス由来の肺オルガノイドは白色~乳白色を呈していたが、AA高濃度処置群にて2/4の頻度で褐色化がみられた。

#### 2) 病理組織学的所見

BALB/c背景野生型マウス由来肺オルガノイドでAA濃度に対応し発がん性を示す上皮細胞の重層化/浸潤性/異型性がみられた（写真2-2）。BALB/c

背景 *Trp53*<sup>+/-</sup>-マウス由来肺オルガノイドではAAの低濃度、高濃度群で各2/4の頻度で、B6背景 *Trp53*<sup>+/-</sup>-マウスではAA低濃度群と高濃度群で各々1/4と2/4の頻度で、Cre処置後のLSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス由来肺オルガノイドのAA高濃度群で2/4の頻度で同様の所見がみられたが有意ではなかった。(表1)

#### (4) 7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン (DMBA)

##### 1) 肉眼所見

ヌードマウス皮下において、BALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup>-マウス由来の乳腺オルガノイドについて、DMBA高濃度処置群にて長径7~9 mm程度の乳白色の結節としてみられたが、DMBA低濃度処置群と非処置群との間に明らかな違いは認められなかった(写真3-1)。野生型マウスの乳腺オルガノイドについては、DMBA処置による明らかな違いは認められなかった。

##### 2) 病理組織学的所見

BALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup>-マウス由来の乳腺オルガノイドのDMBA高濃度処置群の4/4例では腺がん/扁平上皮がんの形態を呈する造腫瘍性を示し、DMBA低濃度処置群には一部に上皮細胞の重層化がみられたが限局的であった(写真3-2)。野生型マウスの乳腺オルガノイドについては、DMBA処置による明らかな変化はみられなかった。(表1)

#### (5) 安息香酸ナトリウム (SB)

##### 1) 肉眼所見

B6およびBALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup>-、野生型マウス、あるいはLSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス由来の肺および肝臓(胆管)オルガノイドについて、ヌードマウス皮下にみられた痕跡を含む組織にSB処置の影響は認められなかった。

##### 2) 病理組織学的所見

B6およびBALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup>-、野生型マウス、あるいはLSL-*Kras*<sup>G12D</sup>マウス由来の肺および肝臓(胆管)オルガノイドについて、安息香酸ナトリウム処置による明らかな変化はみられなかった。但し、BALB/c背景野生型マウス由来の肺オルガノイドのSB非処置群にて3/4、BALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup>-マウス由来の肝臓(胆管)オルガノイドのSB非処置群にて4/4の頻度で上皮細胞の重層化/浸潤性/異型性がみられたほか、SB非処置群で同所見が散見された。(表1)

以上、EMSについては B6およびBALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup>-マウス由来肺オルガノイドでEMS濃度に対応し、AAについてはBALB/c背景野生型マウス由来肺オルガノイドでAA濃度に対応し発がん性を示す上皮細胞の重層化/浸潤性/異型性がみられるなど、平成27~29年度の厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)で明らかにした研究結果の再現

性を確認し、DMBAについては新たに乳腺由来オルガノイドに造腫瘍性を示すことを明らかにした。また、ジエチルニトロサミンは肝臓(胆管)由来オルガノイドに対して明らかな変化を示さず、陰性対照としてのSB処置群では対照群との間に差はみられなかった。以上の結果より、被験物質により、発がん性を示す病理組織学的変化にマウス系統差がみられることが明らかとなり、幅広い被験物質に感受性を示すマウス系統をみつけることが重要であると考えられた。来年度はrasH2マウスの正常組織由来のオルガノイドを中心に検討を進める。また、今年度の本研究課題オルガノイドパートでの複数施設間のバリデーション試験において使用する陽性対照物質としてはAAを用いることとした。

技術的な課題として、SBの評価を行ったBALB/c背景野生型マウス由来の肺オルガノイド、BALB/c背景 *Trp53*<sup>+/-</sup>-マウス由来の肝臓(胆管)オルガノイドなどでは化学物質非処置群において一定頻度で上皮細胞の重層化/浸潤性/異型性がみられたことが挙げられる。その詳細な原因は不明であった。特にそれらが化学物質非処置群に3/4以上の高頻度でみられた際に使用したオルガノイドが、マウス組織から樹立後に一旦凍結保存、その後融解したものであったことから、オルガノイドの保存・継代条件に起因する変化である可能性などを考えた上で原因を明らかにし、今後は化学物質非処置群ではそのような所見がみられない条件を設定すべきである。

本分担研究課題における活動の一部として、2019年3月に米国、ボルチモアで開催された第58回米国毒性学会年次集会(Annual Meeting of the Society of Toxicology)で研究成果の一部をポスター発表した。同集会での基調講演で毒性試験におけるオルガノイド(細胞三次元培養法)について述べられていたほか、ポスター発表における質疑においても各施設でのオルガノイド培養技術の毒性学への応用に関して情報交換をすることができた。本研究課題における多施設での技術共有に関しては、日本国内における毒性学分野での細胞三次元培養法の発展に寄与するものと考えている。

#### D. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) Maru, Y., Onuma, K., Ochiai, M., Imai, T., Hippo, Y.: Shortcuts to intestinal carcinogenesis by genetic engineering in organoids. *Cancer Sci.* 110, 858-866 (2019)
- (2) Ochiai, M., Yoshihara, Y., Maru, Y., Tetsuya, M., Izumiya, M., Imai, T., Hippo, Y.: *Kras*-driven heterotopic tumor development from hepatobiliary organoids. *Carcinogenesis*. doi: 10.1093/carcin/bgz024 (2019)
- (3) Hori, M., Mutoh, M., Ishigamori, R., Imai, T., Takahashi, M.: Activated ductal

proliferation induced by  
*N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine in  
fat-infiltrated pancreas of KK-*A<sub>y</sub>* mice. In  
vivo 32, 499-505 (2018)

- ( 4 ) Hattori, N., Niwa, T., Ishida, T., Kobayashi, K., Imai, T., Mori, A. Kimura, K., Mori, T., Asami, Y., Ushijima, T.: Antibiotics suppress colon tumorigenesis through inhibition of aberrant DNA methylation in an AOM/DSS colitis model. Cancer Sci. 110, 147-156 (2019)
- ( 5 ) Machida, Y., Sudo, Y., Uchiya, N., Imai, T.: Increased susceptibility to mammary carcinogenesis and an opposite trend in endometrium in *Trp53* heterozygous knockout female mice by back-crossing the BALB/c strain onto the background C3H strain. J. Toxicol. Pathol. (In press, 2019)

## 2. 学会発表

- ( 1 ) 今井俊夫、成瀬美衣、落合雅子、筆宝義隆：  
マウス大腸オルガノイドにおける PhIP 誘発がん  
早期過程における遺伝子変異．第 65 回日本実  
験動物学会総会（2018 年 5 月、富山）
- ( 2 ) 今井俊夫、成瀬美衣、落合雅子、筆宝義隆：  
マウス正常上皮組織由来オルガノイドの化学発がん  
物質に対する反応性．第 25 回日本がん予防学  
会総会（2018 年 6 月、高松）
- ( 3 ) 成瀬美衣、落合雅子、筆宝義隆、今井俊夫：  
マウス正常上皮オルガノイドを用いた化学発がん  
過程の初期変化．第 45 回日本毒性学会学術年会  
（2018 年 7 月、大阪）
- ( 4 ) 今井俊夫：新規 *in vivo*, *in vitro* モデルの発展  
とその応用 - マウス正常組織由来オルガノイドの  
化学発がん研究への応用．第 35 回日本毒性病理  
学会学術集会シンポジウム 2(2019 年 2 月、東京)
- ( 5 ) Imai, T., Ochiai, M., Naruse, M., Hippo, Y.:  
Carcinogenic alteration of mouse tissue-derived  
organoids by chemical treatment. 58<sup>th</sup> Annual  
Meeting of the Society of Toxicology (2019年3月、  
ボルチモア、米国)

## E . 知的財産権の出願・登録状況

( 予定を含む。 )

### 1. 特許取得

該当なし。

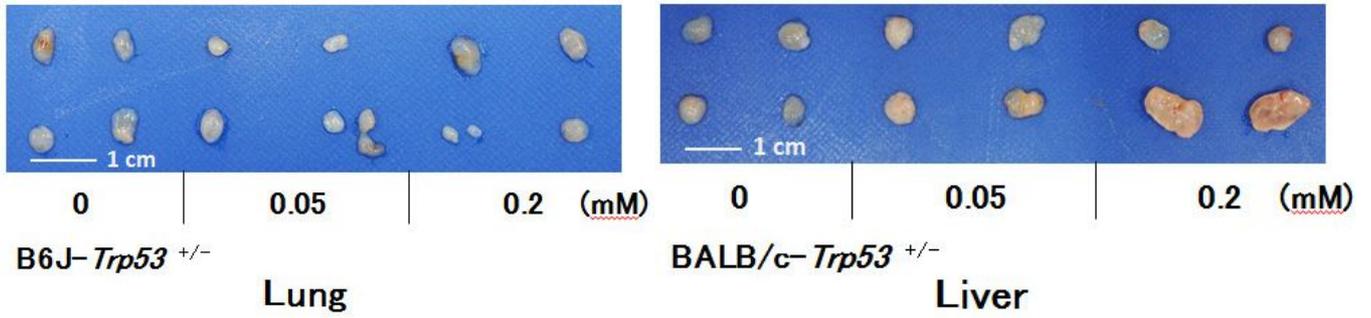
### 2. 実用新案登録

該当なし。

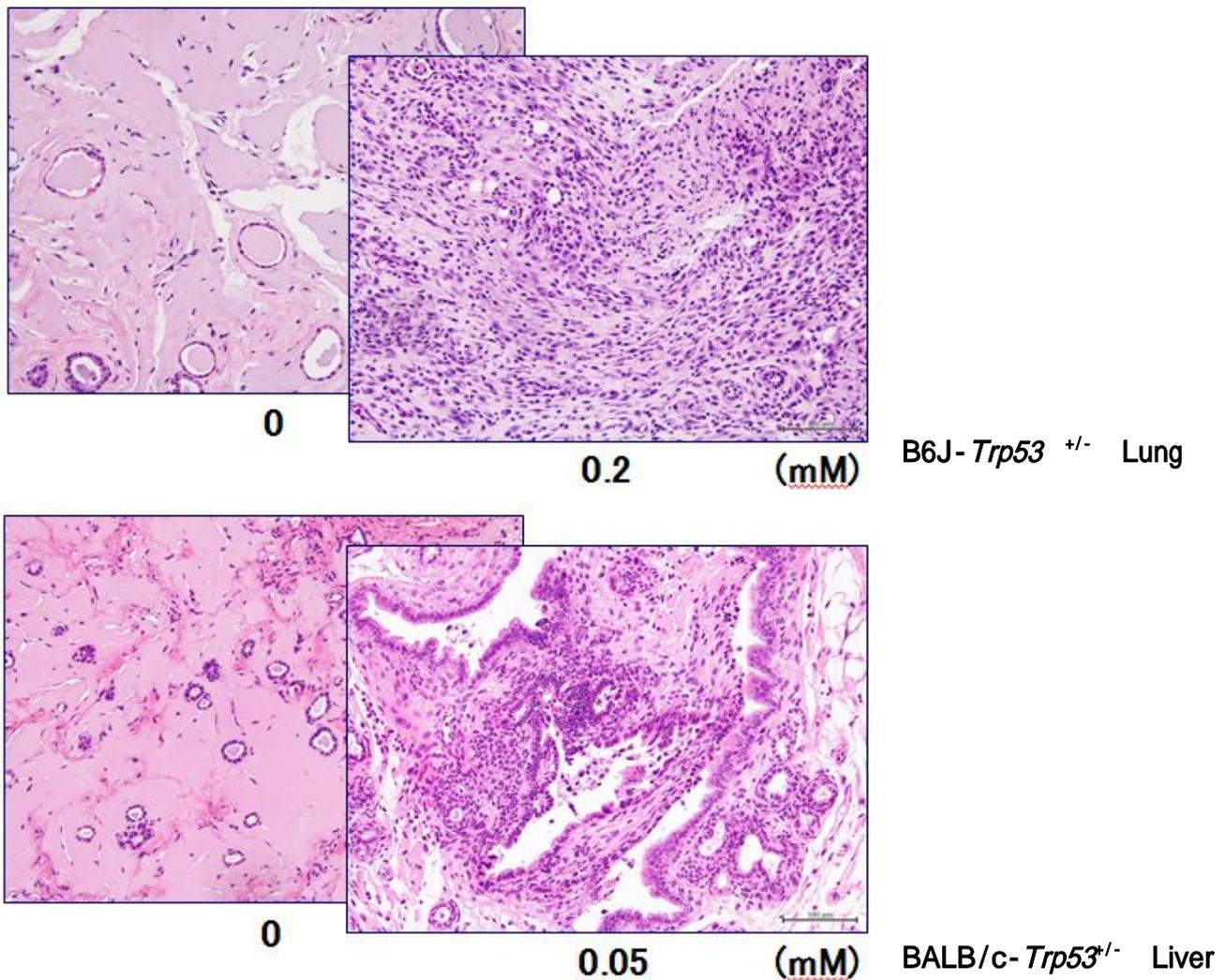
### 3. その他

該当なし。





(写真1 - 1) EMS処置したB6背景*Trp53*<sup>+/-</sup>マウス由来の肺オルガノイド(左)とBALB/c背景*Trp53*<sup>+/-</sup>マウス由来の肝臓(胆管)オルガノイド(右)のヌードマウス皮下接種後の肉眼像。B6背景*Trp53*<sup>+/-</sup>マウス由来の肺オルガノイドではEMS処置による明らかな違いはみられないが、BALB/c背景*Trp53*<sup>+/-</sup>マウス由来の肝臓(胆管)オルガノイドでは、EMS処置により淡桜桃色充実化あるいは大型化がみられる。



(写真1 - 2) EMS処置したB6背景*Trp53*<sup>+/-</sup>マウス由来の肺オルガノイド(上)とBALB/c背景*Trp53*<sup>+/-</sup>マウス由来の肝臓(胆管)オルガノイド(下)のヌードマウス皮下接種後の病理組織像。。B6背景*Trp53*<sup>+/-</sup>マウス由来の肺オルガノイドではEMS0.2 mM処置によりがん肉腫様を呈し、BALB/c背景*Trp53*<sup>+/-</sup>マウス由来の肝臓(胆管)オルガノイドでは、EMS0.05 mM処置により上皮細胞の重層化、浸潤性がみられた。

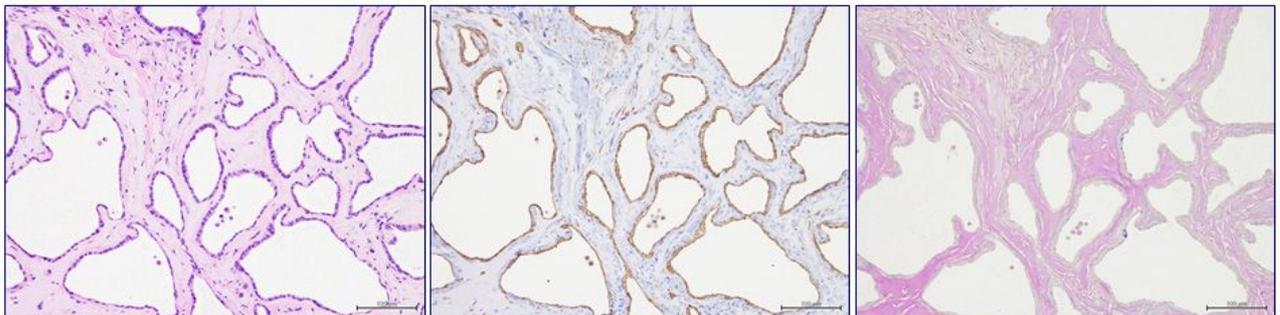


BALB/c-wt  
0

0.28

1.4 (mM)

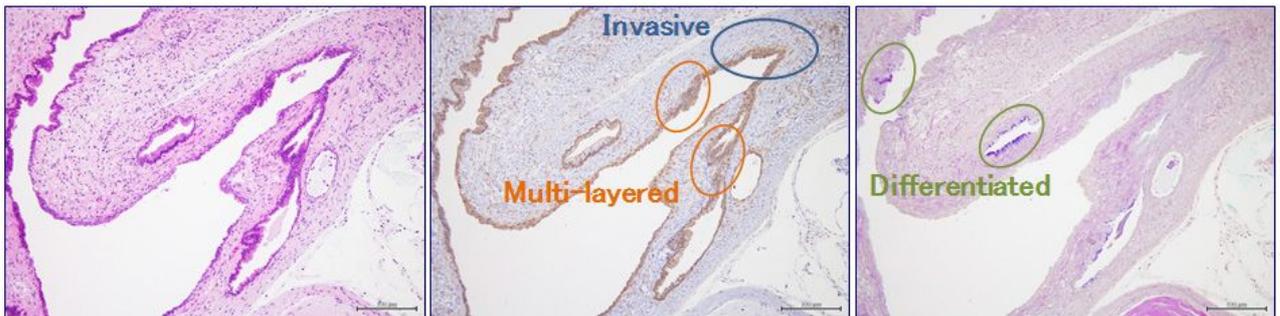
(写真2 - 1) AA処置したBALB/c背景野生型マウス由来の肺オルガノイドのヌードマウス皮下接種後の肉眼像。0.28および1.4 mM処置群では、各1/4および2/4の頻度で結節の黒色化がみられる。



BALB/c-*Trp53*<sup>+/-</sup> AA-0 mM

CK19 (for lung epithelia)

Alcian blue-PAS (for mucin)



BALB/c-*Trp53*<sup>+/-</sup> AA-1.4 mM

CK19

Alcian blue-PAS

(写真2 - 2) AA処置したBALB/c背景*Trp53*<sup>+/-</sup>マウス由来の乳腺オルガノイドのヌードマウス皮下接種後の病理組織像。1.4 mM処置群では非処置(0 mM)群に比し、上皮細胞の重層化、浸潤性がみられた。また、1.4 mM処置群では粘液をもつ分化した細胞も混在していた。

