

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）
OECDプロジェクトでの成果物を厚生労働行政に反映させるための研究

令和4年度 分担研究報告書

発がん性試験における AOP 及び TG の実験データ支援

研究分担者 豊田武士

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 病理部 室長

研究要旨

本研究では、腎発がん物質検出における γ -H2AX の感度・特異度の検証を目的とする。令和4年度は、腎発がん物質6種および腎毒性/非発がん物質2種を用いたラット28日間反復経口投与試験を実施し、腎臓における γ -H2AX 形成の免疫組織化学的解析を行った。腎発がん物質はいずれも、尿細管上皮細胞における γ -H2AX 形成を有意に増加させた。腎毒性/非発がん物質である Carboxin は、発がん性試験で用いられた用量（0.04%）では γ -H2AX 形成の増加を示さなかった一方、短期試験の最大耐量（0.2%）では γ -H2AX 陽性率を有意に増加させた。以上の結果から、 γ -H2AX 免疫染色によりラットにおける腎発がん性と用量との関係を適切に評価し得ると考えられた。

A. 研究目的

近年、化学物質の安全性評価の効率化・迅速化および実験動物福祉（3R）の観点から、長期がん原性試験をより短期間の試験で代替する手法の開発が求められている。我々はこれまでに、DNA 損傷マーカーである γ -H2AX が、化学物質の膀胱発がん性早期検出に有用な指標となり得ることを報告してきた。一方で、主要な毒性標的臓器である肝臓および腎臓への応用を検討する必要があると考えられる。腎臓を対象とした評価をこれまでに16物質について実施した結果、 γ -H2AX 免疫染色は膀胱と同様、腎発がん物質の早期検出にも有用である可能性が示唆された。

そこで本研究では、腎発がん物質早期検出における γ -H2AX 形成の感度および特異度を検証することを目的とする。具体的には、新規の被験物質を用いた28日間反復経口投与試験を実施し、腎臓における γ -

H2AX 形成の定量解析を行う。また、過去に実施した28日間反復投与試験で得られた腎臓についても同様に検討し、 γ -H2AX 形成を指標とした腎発がん物質検出法の妥当性を評価する。

B. 研究方法

令和4年度に検索する新規被験物質として、腎発がん物質6種：Lead (II) acetate trihydrate (LAT)、1-Amino-2-methylanthraquinone (Disperse orange)、3-(4-Chlorophenyl)-1,1-dimethylurea (Monuron)、Nitrofurantoin (NFT)、Phenolphthalein (Phph) および Quercetin、ならびに腎毒性/非発がん物質2種：Carboxin (CBX) および Fradiomycin sulfate (Neomycin) を、6週齢の雄 F344 ラットに28日間混餌投与した（各群5匹）。腎毒性/非発がん物質の投与濃度は、報告されている長期がん原性試験および短期試験で用いられた最大耐量として、

CBX はそれぞれ 0.04%/0.2%、Neomycin は 0.04%/1%の 2 用量を設定した。腎発がん物質については、短期試験における最大耐量として 0.8% LAT、0.24% Disperse orange、0.2% Monuron、0.25% NFT、5% Phph および 4% Quercetin に設定した。

投与期間終了時に解剖し、腎臓および肝臓の重量を測定した。腎臓の病理組織学的検索を実施するとともに、免疫組織化学的手法による γ -H2AX 形成の定量解析を実施した。右腎横断面において皮質および髄質外層外帯の特定部位を顕微鏡下 (x400) でそれぞれ 4 か所撮影し、尿細管上皮細胞の総数ならびに γ -H2AX 陽性細胞をカウントすることで陽性細胞率を測定した。

(倫理面への配慮)

動物の数は最小限にとどめ、実験は国立医薬品食品衛生研究所の実験動物取扱い規定に基づき、動物の苦痛を最小限とするよう配慮して行った。

C. 研究結果

対照群および各被験物質投与群の、体重・摂餌量・被験物質摂取量を表 1 および 2 に示す。投与期間終了時点で、Disperse orange・Monuron・NFT・Quercetin 投与群において有意な体重増加抑制が認められた。摂餌量は NFT 投与群で低値の傾向を示した。

各群における臓器重量を表 3 および 4 に示す。0.2% CBX・LAT・Monuron・NFT・Quercetin 投与群では腎相対重量の有意な増加が、0.04% CBX・1% Neomycin 投与群では腎相対重量の減少が、Disperse orange 投与群では腎絶対重量の減少が認められた。また、Disperse orange 投与群で肝絶対・相対重量の増加、Monuron・Phph・Quercetin 投与群で肝相対重量の増加、NFT 投与群で肝

絶対重量の減少、1% Neomycin 投与群では肝絶対・相対重量の減少が観察された。

各群における腎臓の病理組織学的検索結果を表 5 および 6 に示す。LAT・Monuron 投与群では、尿細管上皮細胞における核の大型化が認められた。Disperse orange・CBX 投与群では再生尿細管の形成がみられ、0.2% CBX 投与群ではさらに尿細管上皮の変性壊死および髄質における鉍質沈着が認められた。Monuron・NFT 投与群では尿細管の変性壊死が認められ、NFT 投与群ではこれに加えて近位尿細管上皮細胞における好酸性顆粒の沈着が認められた。Phph・Quercetin 投与群では、再生尿細管の散発的な増加がみられたものの、発生頻度の有意な増加は示さなかった。Neomycin 投与群では、明らかな腎病変は観察されなかった。

各群の腎尿細管上皮細胞における γ -H2AX 形成を免疫組織化学的に検討した結果、対照群では陽性細胞は稀であったのに対し、腎発がん物質投与群では皮質および (Quercetin 投与群を除く) 髄質外層外帯のいずれにおいても γ -H2AX 陽性率の有意な増加が認められた (図 1)。腎毒性/非発がん物質投与群では、0.2% CBX 投与群の髄質外層外帯において γ -H2AX 形成の有意な増加がみられたのに対し、0.04% CBX 投与群では対照群と同じレベルにとどまった (図 2)。一方、Neomycin 投与群では 0.04%/1% いずれの用量においても γ -H2AX 形成の誘導は認められなかった。

D. 考察

令和 4 年度は、新規被験物質として腎発がん物質 6 種および腎毒性/非発がん物質 2 種についてラット 28 日間反復経口投与試験を実施し、腎臓における病理組織学的検索および γ -H2AX 形成の免疫組織化学的解析を行った。

その結果、6種の腎発がん物質はいずれも、腎尿細管上皮細胞での γ -H2AX形成を有意に増加させることが明らかとなった。腎発がん物質の早期検出において、 γ -H2AXを指標とした本手法の感度の高さが示唆された。

腎毒性/非発がん物質の検索では、CBXは短期試験の最大耐量(0.2%)を投与した群では腎臓に種々の病理組織学的所見が観察され、 γ -H2AX陽性細胞の有意な増加が認められた。一方、がん原性試験での用量(0.04%)を投与した群では、腎臓の病理所見は比較的軽微であり、 γ -H2AX形成の程度も対照群と同程度であった。以上の結果は、 γ -H2AX免疫染色はラットがん原性試験における腎発がん性の結果を、用量に応じて適切に予測し得る指標であることを示唆している。

Neomycinは1%の混餌投与により、ラットに腎病変を誘導することが報告されているものの(動物用医薬品評価書、2018年、食品安全委員会)、試験結果は非公表であり、詳細は確認できなかった。本研究では病理組織学的所見・ γ -H2AX形成のいずれも認められなかったことから、本試験条件下ではNeomycinはラット腎臓に毒性影響を及ぼさないことが示唆された。

E. 結論

これまでの検討結果を総合すると、腎発がん物質20種のうち、19物質(感度:95.0%)が γ -H2AX陽性細胞の有意な増加を示した一方、非腎発がん物質は検索した9種のうちCBXを除く8物質(特異度:88.9%)が陰性であった。以上より、 γ -H2AX免疫染色を用いることで、腎発がん物質の早期検出が可能であることが示唆された。

F. 研究発表

F-1. 論文発表

1. Toyoda T, Sone M, Matsushita K, Akane H, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, Cho YM, Ogawa K. Early detection of hepatocarcinogens in rats by immunohistochemistry of γ -H2AX. *J Toxicol Sci.* (in press)
2. Toyoda T, Ogawa K. Early detection of urinary bladder carcinogens in rats by immunohistochemistry for γ -H2AX: a review from analyses of 100 chemicals. *J Toxicol Pathol.* 2022; 35: 283-298.
3. Toyoda T, Kobayashi T, Miyoshi N, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. Toxicological effects of two metabolites derived from *o*-toluidine and *o*-anisidine after 28-day oral administration to rats. *J Toxicol Sci.* 2022; 47: 457-466.
4. Matsushita K, Toyoda T, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of heme iron in SD rats. *Food Chem Toxicol.* 2023; 175: 113702.
5. Yamada T, Toyoda T, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Cho YM, Ogawa K. Persistent γ -H2AX formation and expression of stem cell markers in *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced bladder carcinogenesis in rats. *Toxicol Sci.* 2022; 189: 51-61.
6. Akane H, Toyoda T, Mizuta Y, Cho YM, Ide T, Kosaka T, Tajima H, Aoyama H, Ogawa K. Histopathological and immunohistochemical evaluation for detecting changes in blood hormone levels caused by endocrine disruptors in a 28-day repeated-dose study in rats. *J Appl Toxicol.* 2022; 42: 1603-1617.
7. Kobayashi T, Kishimoto S, Watanabe S,

Yoshioka Y, Toyoda T, Ogawa K, Watanabe K, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. Cytotoxic homo- and hetero-dimers of *o*-toluidine, *o*-anisidine, and aniline formed by *in vitro* metabolism. *Chem Res Toxicol*. 2022; 35: 1625-1630.

8. Arakawa N, Ushiki A, Abe M, Matsuyama S, Saito Y, Kashiwada T, Horimasu Y, Gemma A, Tatsumi K, Hattori N, Tsushima K, Miyashita K, Saito K, Nakamura R, Toyoda T, Ogawa K, Sato M, Takamatsu K, Mori K, Nishiya T, Izumi T, Ohno Y, Saito Y, Hanaoka M. Stratifin as a novel diagnostic biomarker in serum for diffuse alveolar damage. *Nat Commun*. 2022; 13: 5854.

F-2 学会発表

1. Toyoda T, Yamada T, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. Early detection of urinary bladder carcinogens in rats by immunohistochemistry for γ -H2AX. 62nd Annual Meeting of the Society of Toxicology, Nashville (2023.3)
2. 豊田武士, 松下幸平, 赤根弘敏, 森川朋美, 小川久美子. γ -H2AX 免疫染色を指標とした腎発がん性の短期評価法開発. 第39回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京 (2023年1月)
3. 豊田武士, 赤根弘敏, 小川久美子. 化学物質誘発ラット膀胱腫瘍の発生過程における γ -H2AXの役割. 第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
4. 豊田武士, 松下幸平, 赤根弘敏, 森川朋美, 小川久美子. γ -H2AXを指標とした化学物質の腎発がん性早期検出系の開発. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年7月)
5. 孫雨晨, 齊藤公亮, 牛木淳人, 安部光洋, 齋藤好信, 柏田建, 堀益靖, 弦間昭彦,

巽浩一郎, 服部登, 津島健司, 荒川憲昭, 赤根弘敏, 豊田武士, 小川久美子, 佐藤元信, 高松一彦, 森和彦, 西矢剛淑, 泉高司, 大野泰雄, 齋藤嘉朗, 花岡正幸. 新規薬剤性間質性肺疾患バイオマーカーとしてのキヌレニン及びキノリン酸の同定並びに検証. 日本薬学会第143年会、札幌 (2023年3月)

6. 赤木純一, 水田保子, 赤根弘敏, 豊田武士, 小川久美子. 結晶子径6 nmの超微小粒子径アナターゼ型二酸化チタンナノ粒子の反復経口投与毒性. 日本薬学会第143年会、札幌 (2023年3月)
7. Ogawa K, Akagi J, Mizuta Y, Akane H, Toyoda T. Oral toxicological study of titanium dioxide nanoparticles with a crystallite diameter of 6 nm in rats. 62nd Annual Meeting of the Society of Toxicology, Nashville (2023.3)
8. Akane H, Toyoda T, Matsushita K, Morikawa T, Kosaka T, Tajima H, Aoyama H, Ogawa K. Comparison of sensitivity between histopathological and immunohistochemical analyses and blood hormone levels for early detection of antithyroid effects in rats treated with thyroid peroxidase inhibitors and promoters of thyroid hormone metabolism. 62nd Annual Meeting of the Society of Toxicology, Nashville (2023.3)
9. 小林琢磨, 豊田武士, 吉岡泰淳, 渡邊正悟, 岸本真治, 松下幸平, 赤根弘敏, 小川久美子, 渡辺賢二, 高村岳樹, 戸塚ゆかり, 若林敬二, 三好規之. 単環芳香族アミンの新規尿中代謝物はラット膀胱上皮におけるALDH1A1の発現を誘導する. 日本農芸化学会2023年度大会、Web開催 (2023年3月)
10. 赤木純一, 水田保子, 赤根弘敏, 豊田武

- 士、小川久美子. ナノサイズ酸化チタンの90日間反復経口投与による毒性研究. 第39回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京（2023年1月）
11. 赤根弘敏、豊田武士、松下幸平、森川朋美、小坂忠司、田島均、青山博昭、小川久美子. ヨウ素取込み阻害剤によるラット抗甲状腺作用の検出指標としての病理組織学的及び免疫組織化学的解析と血中ホルモン値の比較. 第39回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京（2023年1月）
 12. 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. 腎線維化における部分的上皮間葉転換の生じた尿細管の役割とCD44との関連. 第39回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京（2023年1月）
 13. 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. 薬剤性腎障害の慢性化病変におけるCD44陽性尿細管の病態生理学的意義. 第5回医薬品毒性機序研究会、東京（2022年12月）
 14. 岡本悠佑、福井千恵、赤根弘敏、豊田武士、梶山健次、権英淑、神山文男、小川久美子、伊豆津健一、山本栄一、野村祐介. コーティング型マイクロニードルアレイにおける高極性薬剤の皮膚透過性の評価. 第44回日本バイオマテリアル学会、東京（2022年11月）
 15. 増田寛喜、豊田武士、宮下知治、吉田寛、瀬戸泰之、野村幸世. ラット外科的逆流モデルにおけるバレット食道に対するMEKインヒビターの治療効果の検討. 第33回日本消化器癌発生学会総会、東京（2022年11月）
 16. 赤木純一、水田保子、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子. ナノサイズ二酸化チタンの90日間反復経口投与毒性. 第59回全国衛生化学技術協議会年会、川崎（2022年11月）
 17. 赤根弘敏、豊田武士、小川久美子. ラットを用いた病理組織学的及び免疫組織化学的手法による抗甲状腺物質の検出. 第81回日本癌学会学術総会、横浜（2022年9月）
 18. 赤木純一、豊田武士、小川久美子. γ -H2AXとの組み合わせによる肝発癌物質検出のためのバイオマーカーとしてのEpCAMおよびアミノペプチダーゼNの有用性. 第81回日本癌学会学術総会、横浜（2022年9月）
 19. 増田寛喜、豊田武士、宮下知治、吉田寛、瀬戸泰之、野村幸世. ラット外科的逆流モデルにおけるバレット食道に対するMEKインヒビターの治療効果の検討. 第81回日本癌学会学術総会、横浜（2022年9月）
 20. Kobayashi T, Toyoda T, Yoshioka Y, Murai N, Kishimoto S, Matsushita K, Yamada T, Ogawa K, Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. Cytotoxic metabolites of *o*-toluidine and *o*-anisidine induce ALDH1A1 in rat bladder epithelium. 13th International Conference on Environmental Mutagens, Ottawa (2022.8)
 21. 岡本悠佑、福井千恵、赤根弘敏、豊田武士、梶山健次、権英淑、神山文男、小川久美子、伊豆津健一、山本栄一、野村祐介. コーティング型マイクロニードルアレイにおける穿刺性及び薬剤透過性の評価. 第8回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム、東京（2022年8月）
 22. 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. 薬剤性腎障害から慢性腎臓病への移行を予測するバイオマーカーの探索. 第8回次世代を担う若手の

- ためのレギュラトリーサイエンスフォーラム、東京（2022年8月）
23. 小林琢磨、豊田武士、吉岡泰淳、岸本真治、松下幸平、赤根弘敏、小川久美子、渡辺賢二、高村岳樹、戸塚ゆ加里、若林敬二、三好規之。細胞毒性を有する*o*-Toluidineと*o*-anisidineの尿中代謝物はラット膀胱上皮でALDH1A1を誘導する。第29回日本がん予防学会総会、京都（2022年7月）
 24. 赤根弘敏、豊田武士、松下幸平、森川朋美、小坂忠司、田島均、青山博昭、小川久美子。甲状腺ホルモン代謝促進物質投与ラットにおける抗甲状腺作用の検出に対する病理組織学的及び免疫組織化学的解析と血中ホルモン値との比較。第49回日本毒性学会学術年会、札幌（2022年7月）
 25. 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子。アロプリノール誘発腎線維化モデルラットを用いたCD44の腎線維化バイオマーカーとしての有用性の検証。第49回日本毒性学会学術年会、札幌（2022年7月）
 26. 赤木純一、水田保子、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子。ナノサイズ酸化チタン(IV)の毒性研究。第49回日本毒性学会学術年会、札幌（2022年7月）
 27. 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子。AKIからCKDへの移行におけるCD44の役割とバイオマーカーとしての応用。第65回日本腎臓学会学術総会、神戸（2022年6月）
 28. 森川朋美、豊田武士、赤根弘敏、松下幸平、小川久美子。ラットを用いたオリゴガラクチュロン酸の90日間亜慢性反復経口投与毒性試験。日本食品化学学会第28回総会・学術大会、東京（2022年5月）

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

表 1. 腎発がん物質投与群における体重・摂餌量・被験物質摂取量。

Table 1. Body weights, food consumption, and chemical intake

Treatment	Body weight (g)		Food consumption (g/rat/day)	Chemical intake (mg/kg/day)
	Initial	Day 28		
Control	113.1 ± 4.7	229.8 ± 7.7	14.8	-
Disperse orange	112.8 ± 4.5	192.2 ± 9.1**	11.9	177
Monuron	113.1 ± 4.5	198.5 ± 6.6**	12.6	150
NFT	112.7 ± 7.4	165.2 ± 13.4**	9.5	166
Phph	112.9 ± 8.7	222.9 ± 16.9	15.6	4198
Quercetin	112.7 ± 5.2	205.4 ± 7.4**	14.6	3451

*, **; $P < 0.05$ and 0.01 vs. Control by t -test, respectively.

Disperse orange, 1-amino-2-methylantraquinone; Monuron, 3-(4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea; NFT, nitrofurantoin; Phph, phenolphthalein.

表 2. 腎毒性/非発がん物質および LAT 投与群における体重・摂餌量・被験物質摂取量。

Table 2. Body weights, food consumption, and chemical intake

Treatment	Body weight (g)		Food consumption (g/rat/day)	Chemical intake (mg/kg/day)
	Initial	Day 28		
Control	120.0 ± 4.3	219.0 ± 9.7	13.9	-
CBX (low)	120.2 ± 4.6	226.8 ± 10.3	15.4	32.8
CBX (high)	119.9 ± 4.7	210.5 ± 4.1	13.7	154.2
Neomycin (low)	119.9 ± 5.9	228.7 ± 6.9	14.1	29.7
Neomycin (high)	119.9 ± 6.3	215.6 ± 12.5	13.6	747.5
LAT	120.1 ± 5.2	213.5 ± 9.5	13.5	607.3

CBX, carboxin; Neomycin, fradiomycin sulfate; LAT, lead(II) acetate trihydrate.

表3. 腎発がん物質投与群における腎および肝重量。

Table 3. Liver and kidney weight data for male F344 rats

Treatment	Kidney weight		Liver weight	
	Absolute (g)	Relative (%)	Absolute (g)	Relative (%)
Control	1.54 ± 0.129	0.67 ± 0.04	7.7 ± 0.58	3.37 ± 0.15
Disperse orange	1.35 ± 0.061*	0.70 ± 0.04	9.7 ± 0.75**	5.04 ± 0.21**
Monuron	1.54 ± 0.078	0.77 ± 0.03**	7.9 ± 0.18	3.99 ± 0.11**
NFT	1.42 ± 0.168	0.86 ± 0.04**	5.6 ± 0.71**	3.36 ± 0.18
Phph	1.52 ± 0.162	0.68 ± 0.02	8.3 ± 0.79	3.71 ± 0.10**
Quercetin	1.52 ± 0.069	0.74 ± 0.03*	7.5 ± 0.27	3.65 ± 0.21*

*, **; $P < 0.05$ and 0.01 vs. Control by t -test, respectively.

Disperse orange, 1-amino-2-methylantraquinone; Monuron, 3-(4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea; NFT, nitrofurantoin; Phph, phenolphthalein.

表4. 腎毒性/非発がん物質およびLAT投与群における腎および肝重量。

Table 4. Liver and kidney weight data for male F344 rats

Treatment	Kidney weight		Liver weight	
	Absolute (g)	Relative (%)	Absolute (g)	Relative (%)
Control	1.48 ± 0.08	0.68 ± 0.01	7.58 ± 0.61	3.46 ± 0.19
CBX (low)	1.45 ± 0.08	0.64 ± 0.02**	7.91 ± 0.42	3.49 ± 0.07
CBX (high)	1.47 ± 0.06	0.70 ± 0.02*	7.85 ± 0.41	3.73 ± 0.18
Neomycin (low)	1.49 ± 0.08	0.65 ± 0.02	7.52 ± 0.33	3.29 ± 0.11
Neomycin (high)	1.34 ± 0.11	0.62 ± 0.02**	6.29 ± 0.58**	2.92 ± 0.14**
LAT	1.54 ± 0.12	0.72 ± 0.03*	7.43 ± 0.57	3.48 ± 0.12

*, **; $P < 0.05$ and 0.01 vs. Control by t -test, respectively.

CBX, carboxin; Neomycin, fradiomycin sulfate; LAT, lead(II) acetate trihydrate.

表5. 腎発がん物質投与群における腎臓の病理組織学的所見。

Table 5. Histopathological evaluation in the kidney of male F344 rats treated with renal carcinogens for 28 days

	Control	0.24% Disperse orange	0.2% Monuron	0.25% NFT	5% Phph	4% Quercetin
<i>Findings</i>						
Regenerative tubule (±, +, ++)	0	4* (0, 1, 3)	0	0	2 (2, 0, 0)	3 (2, 1, 0)
Inflammation, interstitial (±)	0	3	0	0	1	2
Degeneration/necrosis (±, +)	0	1 (0, 1)	5** (5, 0)	5** (5, 0)	1 (1, 0)	2 (2, 0)
Eosinophilic granule (±, +)	0	0	0	5** (0, 5)	0	3 (1, 2)
Karyomegaly (+)	0	0	5**	0	0	0

* and **: significantly different from control at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively.

±, +, and ++: slight, mild, and moderate, respectively.

Disperse orange, 1-amino-2-methylantraquinone; Monuron, 3-(4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea; NFT, nitrofurantoin; Phph, phenolphthalein.

表6. 腎毒性/非発がん物質およびLAT投与群における腎臓の病理組織学的所見。

Table 6. Histopathological evaluation in the kidney of male F344 rats treated with renal toxicant and carcinogen for 28 days

	Control	0.04% CBX	0.2% CBX	0.04% Neomycin	1% Neomycin	0.8% LAT
<i>Findings</i>						
Regenerative tubule (±, +, ++)	1 (1, 0, 0)	5* (3, 2, 0)	5* (0, 0, 5)	1 (1, 0, 0)	0	0
Inflammation, interstitial (±)	0	1	2	1	0	0
Degeneration/necrosis (±)	0	0	4*	0	0	0
Calcification, medulla (+)	0	0	5**	0	0	0
Karyomegaly (+)	0	0	0	0	0	5**

* and **: significantly different from control at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively.

±, +, and ++: slight, mild, and moderate, respectively.

CBX, carboxin; Neomycin, fradiomycin sulfate; LAT, lead(II) acetate trihydrate.

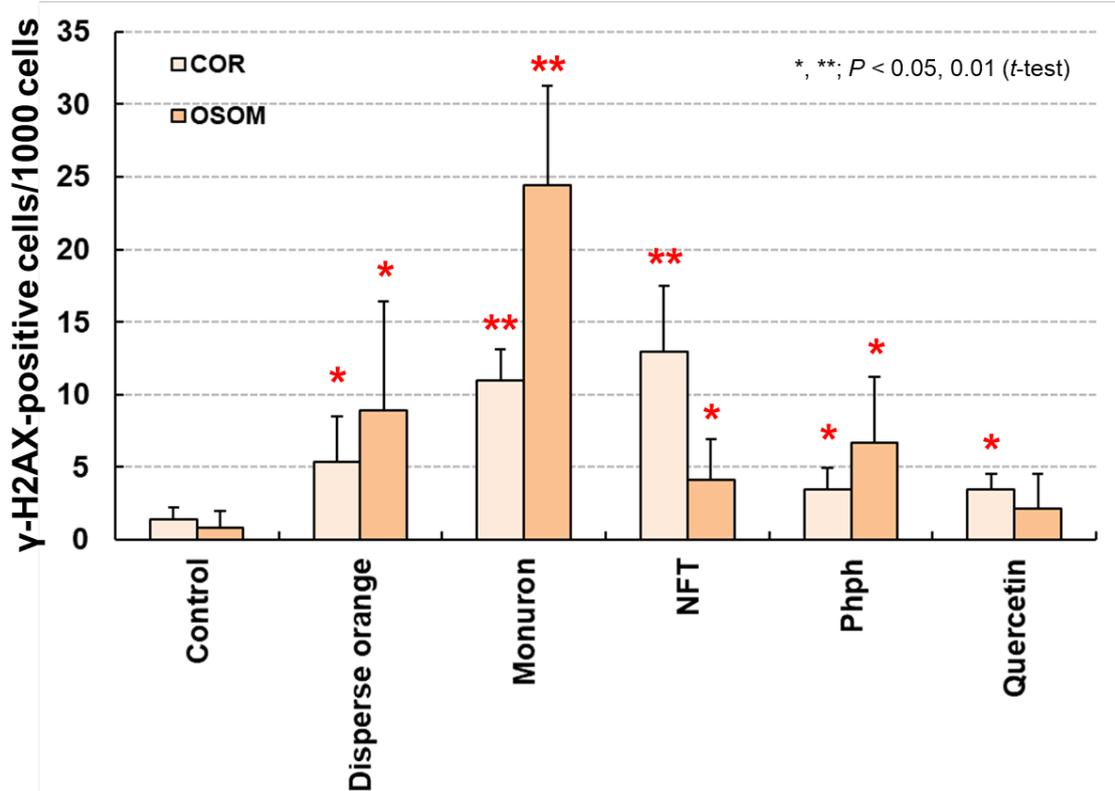


図1. 腎発がん物質投与群における γ -H2AX 陽性率。COR：皮質、OSOM：髄質外層外帯。

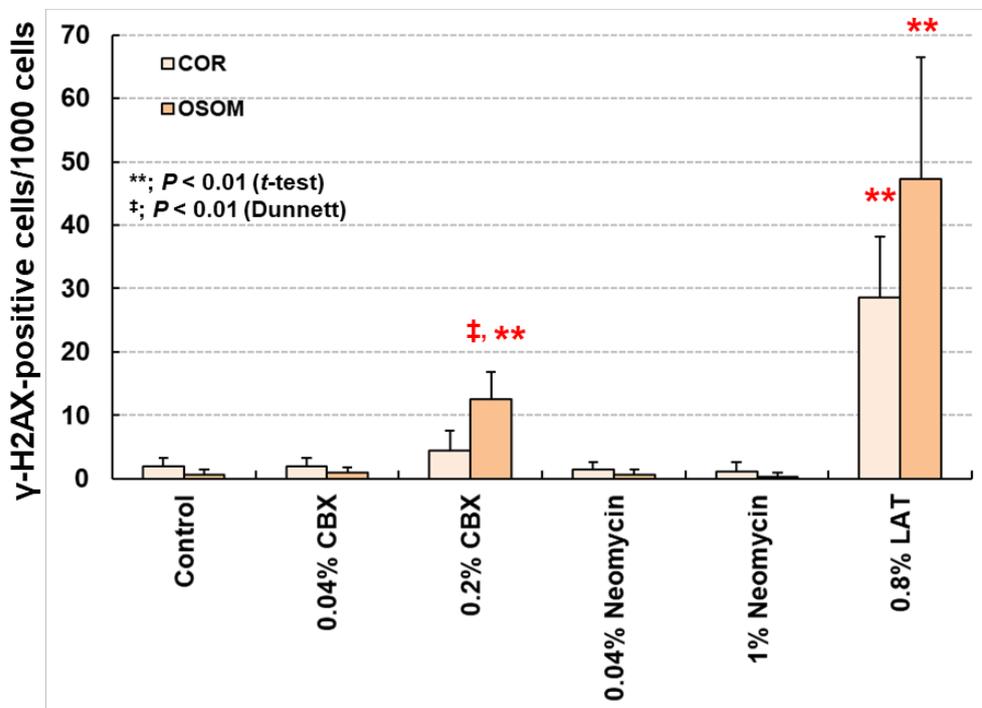


図2. 腎毒性/非発がん物質およびLAT投与群における γ -H2AX 陽性率。COR：皮質、OSOM：髄質外層外帯。