実験的チオフェン中毒症ラットの易損性——SHRとWKYの相違——

森 文秋 高屋豪瑩 吉田泰二

弘前大学医学部附属脳・神経疾患研究施設神経病理部門

DIFFERENCE IN SUSCEPTIBILITY TO EXPERIMENTAL THIOPHENE POISONING BETWEEN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE AND WISTAR-KYOTO RATS

Fumiaki Mori, Goyo Koya, and Yasuji Yoshida

Department of Neuropathology, Institute for Neuroscience, Hirosaki University School of Medicine

Abstract: Many of the patients with Minamata disease, caused by methylmercury have developed hypertension. In experimental methylmercury poisoning, the level of mercury and the mortality are higher in spontaneously hypertensive rats (SHR) than in Wistar-Kyoto rats (WKY). Thiophene induces cerebellar degeneration, which is also found in rats with methylmercury poisoning and hepatic necrosis. To clarify the pathophysiology of the thiophene-induced lesions female SHR and WKY aged 150 days were studied and a comparison was made between the two strains. Up to an age of 150 days, the body weight of SHR was less than that of WKY, but food consumption by SHR was higher than that of WKY. SHR were more susceptible to thiophene poisoning than WKY in terms of symptoms, changes in auditory brainstem response (ABR), and histopathological findings. Administration of pentobarbital was more effective in producing hepatic lesions in SHR than in WKY. Ultrastructurally, nuclear chromatin segregation and irregular distribution of rough endoplasmic reticulum (rER) were prominent in the hepatic cells of non-treated SHR. An osmiophilic homogeneous substance appeared to play an important role in the formation of cerebellar lesions in both SHR and WKY. The hepatic injury and disturbance of cerebellar blood vessels seem to cause the cerebellar lesions. It is suggested that a reduced ability for drug metabolism in SHR, which might be inherited or acquired, is one of the causes of the higher susceptibility of this strain to thiophene poisoning, compared with WKY. (*J Toxicol Pathol* 6: 223~232, 1993)

Key words: Cerebellar blood vessel, Spontaneously hypertensive rats, Pentobarbital, Thiophene, Rough endoplasmic reticulum

はじめに

水俣病発生当初その地域に、高血圧症患者が多かったとされている。実験的にジメチル水銀を投与したラットでは血圧上昇がみられる¹。また、自然発症高血圧ラット (SHR) に塩化メチル水銀を投与すると、WKY に投与した場合よりも、死亡率

が高く、肝臓、腎臓、脳の組織内水銀濃度も高い²。メチル水銀化合物投与ラットでみられる小脳病変と同様に、含硫黄有機溶媒の一種であるチオフェンをラットに投与すると、小脳顆粒細胞に変性を惹起する³。チオフェンを投与した SHR ラットに、肝障害⁴、血管障害性小脳変性⁵、聴性脳幹反応 (ARB) 異常並びに下丘変性^{6,7} が高頻度に見られる。しかし、SHR の正常対照例として WKY ラットが採用されることが多いが、SHR と同一実験手法で処理した WKY ラットの病理像を比較した報告はあまり見あたらない。そこで、今回、1) 同一環境下で育てた SHR と WKY の双方に対し

Accepted for publication : May 20, 1993

Mailing address : Fumiaki Mori, Department of Neuropathology, Institute for Neuroscience, Hirosaki University School of Medicine, 5 Zaifu-cho, Hirosaki-shi, Aomori-ken 036, Japan.

て、同一日齢で、チオフェン同一量を与えた後の中毒症状および組織学的病変の相違と、2) これまで投与前 ABR 測定時にペントバルビタール(PB)麻酔を行ってきたが、この麻酔を行う時期が、実験的チオフェン中毒症状および組織学的病変を発生する像に相違があるかどうかを検索した。このことより SHR と WKY の薬物感受性の相違、特に、SHR において、チオフェンによって作られる病変の特性の有無を検討した。その結果、実験的水銀中毒症の場合と同様に、チオフェン中毒の場合も、SHR の方が WKY より易損性が高く、PB の影響も受けやすいことなどを明らかにしたので報告する。

材料と方法

当施設で継代維持されてきた SHR および WKY、雌、150 日齢を実験対象とした。90 日齢時に血圧を測定し、投与開始 1 日または 1 週間前に、PB (Nembutal、大日本製薬、大阪) (20-30 mg/kg) 麻酔下で、ABR を測定 (投与前 ABR 値) した⁷⁾。

投与前の体重と食餌摂取量の変動: SHR、雄、17 頭; SHR、雌、18 頭; WKY、雄、15 頭; WKY、雌、9 頭について、生後 7 日齢 (生まれた日を 1 日として 7 日齢) から 147 日齢まで、1 週間おきに体重測定し、また、離乳したのち、35 日齢以降、毎日の食餌摂取量を測定し、1 頭あたりの食餌摂取量を算出し、系統間で、統計的に比較した (*t* 検定)。

投与前の臓器重量: SHR、雌、50 日齢、9 頭; SHR、雌、150 日齢、4 頭; WKY、雌、50 日齢、4 頭; WKY、雌、150 日齢、4 頭の各々の体重および肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺の重量について、系統間で、統計的に比較した (*t* 検定)。

系統と ABR の測定時の PB 麻酔時期の相違によって次の 4 群に分けた。

I 群, SHR, チオフェン投与開始 1 日前に PB 麻酔, 9 頭。

II 群, SHR, チオフェン投与開始 1 週間前に PB 麻酔, 8 頭。

III 群, WKY, チオフェン投与開始 1 日前に PB 麻酔, 10 頭。

IV 群, WKY, チオフェン投与開始 1 週間前に PB

麻酔, 9 頭。

各群のラットの 150 日齢時に、チオフェン (T223 NR7707, Lot. FAY01, 東京化成, 東京) 0.15 ml を 1 日 1 回, 5-6 回, 後肢筋肉内に投与した。臨床症状を観察し、体重と食事摂取量を毎日測定した。経時的に、PB 麻酔下で ABR 測定後、灌流ポンプ (Model No. 7520-25, Cole-Parmer Instrument Co. USA) を用い、経心的に 4% パラホルムアルデヒド 0.1 M リン酸緩衝液 (4% PFA) を 50-75 ml/分の量 (灌流圧 110-120 mmHg) で灌流固定した。各例の肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳の重量を測定した。肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、小脳、下丘について、通常通りに組織学的検索を行った。小脳病変は、既報⁵⁾の基準に従って、傷害の内容程度を決めた。

肝臓 (方形葉) および小脳 (第 IV 小葉) を手術用顕微鏡下で切り出し、3% グルタルアルデヒド 0.1 M リン酸緩衝液に 4°C、24 時間以上浸漬固定した。その後 1% 4 酸化オスミウム液中で後固定、エタノール脱水後、Quetol 812 (日新 EM) に包埋した。準超薄切片 (1 μ m 厚) をトルイジン・ブルー液中で染色し観察し、超薄切した。1% 酢酸ウランならびに 1% クエン酸鉛液中で電子染色を施した後、透過型電顕 (Hitachi H-300, 75 kV) で観察した。

結 果

1. 投与前 (150 日齢までの) 体重 (Fig. 1) と食餌摂取量の変動 (Fig. 2)

体重について SHR は WKY に比べ、雄で 14 日齢以降、49, 56, 63 日齢時を除き、そして雌で 14 日齢以降、統計的に有意に低い値を示した ($p < 0.05$)。これに対し、食餌摂取量については、SHR は、WKY に比べ、雄で 35 日齢以降、70, 77 日齢時を除き、雌で 91 日齢以降、統計的に有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。

2. 投与前 (50 日齢と 150 日齢時) の臓器重量 (Fig. 3)

50 日齢では、SHR は、WKY に比べ、腎臓 ($p < 0.02$)、心臓 ($p < 0.1$)、肺 ($p < 0.1$) で高い値を示し、脳 ($p < 0.001$) で低い値を示した。150 日齢では、SHR は、WKY に比べ、肝臓 ($p < 0.01$)、心臓 ($p < 0.1$) で高い値を示し、脳 ($p < 0.01$) で低

Fig. 1. Body weight of SHR and WKY (7-147 days old).

Fig. 2. Food consumption of SHR and WKY (35-147 days old).

Fig. 3. Body weight and organ weight (the ratio of SHR to WKY) at 50 and 150 days. Analysis of significance by Student's *t*-test. ns, not significant.

Table 1. Inactivity, ABR Change, Body Weight Loss, and Lesion in Liver, Cerebellum, and Inferior Colliculus in Each Experimental Group

Group Strain Anesthesia	I SHR 1D ^a	II SHR 1W ^b	III WKY 1D	IV WKY 1W
No.	9 ^c	8	10	9
Inactivity	#	+	+	+
ABR ^b	8	8	10	9
Low amplitude	4	4	4	4
Low amplitude & IPL ^c extention	2	2	0	0
Body weight loss				
>20%	2	1	0	0
>10%	4	2	1	6
<10%	3	5	9	3
Liver necrosis				
#	1	1	0	0
#	2	4	0	0
+	1	0	0	3
±	5	2	1	1
—	0	1	9	5
Cbll ^d degeneration				
#	3	0	1	1
#	1	2	0	2
+	1	1	1	1
±	3	1	2	1
—	1	4	6	4
IC ^e degeneration				
+	5	1	1	3
—	4	7	9	6

^a, Day; ^b, Week; ^c, The numbers indicate number of involved cases.

^d, Auditory brainstem response; ^e, Interpeak latency; ^f, Cerebellum; ^g, Inferior colliculus.

い値を示した。

チオフェン投与後の各実験群の症状、体重減少、ABR 変化、肝細胞壊死、小脳病変、下丘病変については、Table 1 に示した。

3. 症状⁵

SHR, WKY ともに、チオフェン投与後に一連の立毛、自発運動の低下、尿中ケトン体、蛋白の出現などがみられた。自発運動の低下については、SHR の方が WKY よりも顕著で、SHR では、1 日前 PB 麻酔施行例 (I 群) の方がその程度はより強かった。

4. 投与後の体重変動

SHR では、WKY に比べ、体重が 10% 減少を超える例が多かった。しかし、1 日前 PB 麻酔施行例 (I 群) は、1 週間前施行例 (II 群) よりも体重減少が多かった。WKY では、PB 麻酔時期による影響はみられなかった。

5. 投与後の食事摂取量変動

いずれの実験群でも、投与後 1 日で極端に減少し、その後ある程度までは回復したが、WKY の 1 日前 PB 麻酔施行例 (III 群) を除き、投与開始後 4 ないし 5 日目には、減少傾向がみられた。

6. ABR 変化⁷

SHR では、WKY に比べ、振幅低下ないし潜時延長が多くみられた。WKY は、殆ど振幅低下のみで、振幅低下と潜時延長を同時に示した例はなかった。SHR, WKY ともに、1 日前 PB 麻酔施行例と 1 週間前施行例の間には差がみられなかった。

7. 投与後の臓器重量の変動

脾臓、腎臓は、いずれの実験群でも減少がみられた。心臓は、SHR で減少がみられたが、WKY では、はっきりしなかった。肝臓は SHR の 1 日前 PB 麻酔施行例 (I 群) では、変化がみられなかったものの、他の 3 実験群では、増加していた。

病理組織像

1. 光顕的観察

一般臓器病変は、SHR の 1 日前 PB 麻酔施行例 (I 群) で最も顕著にみられた。肝臓病変は、既報^{4,5}のように、小葉中心性肝細胞壊死 (Fig. 4)、肝細胞脂肪変性、炎症性細胞浸潤、クッパー細胞の腫大および赤血球貪食、肝細胞索の乱れがみられ、壊死領域周囲には肝細胞の核分裂がしばしばみられた。他には、腎臓の尿細管上皮脂肪変性、脾臓の濾胞萎縮、ヘモジデリン沈着などもみられた。病変の程度については、例により、投与後時間によりさまざまであった。1 週間前 PB 施行例の SHR や WKY でも同様の病変が観察された例もあったが、その頻度は低く、その程度も軽かった。Table 1 に、肝細胞壊死を指標として、各群の病変程度を示した。

小脳病変も、一般臓器病変と同様に、I 群で最も

Fig. 4. Liver at 18 hours after repeated injections for 5 days. A, SHR of group I. Centrilobular coagulative necrosis of hepatocytes. HE Bar = 100 μ m.
B, WKY of group II. Diffuse vacuolar degeneration of hepatocytes. HE Bar = 100 μ m.

Fig. 5. Cerebellum at 18 hours after repeated injections for 5 days.
A, SHR of group II. Focal cerebellar degeneration of pyknotic granule cells and edema. HE Bar = 50 μ m.
B, WKY of group IV. A few granule cells scattered beneath Purkinje cell layer. HE Bar = 50 μ m.

Fig. 6. Liver of non-injected control rat.

A, SHR. Rough endoplasmic reticulum (rER), decreased and degenerated materials, glycogen granules, and lipid were seen in the cytoplasm of hepatocyte. Nuclear euchromatin slightly aggregated. Bar = 2 μ m.

B, WKY. Orderly laminar accumulation of many rER in the cytoplasm. Nuclear chromatin is more homogeneous than that of SHR (A). Bar = 2 μ m.

Fig. 7. Liver of SHR (Group I) at 5 hours after repeated injection for 6 days.

A, Proliferation of smooth endoplasmic reticulum (sER) and electron-dense materials in the cytoplasm. Bar = 2 μ m.

B, Higher magnification of A. The sER are dilated with numerous fine granules attached to its membrane. Bar = 0.2 μ m.

Fig. 8. A blood vessel in the cerebellum of WKY (Group III) at 1 hour after repeated injection for 6 days.

A, Osmiophilic homogeneous material envelopes the entire lumina on the vessels. Bar=2 μ m.

B, Higher magnification of A. Pinocytotic vesicles with the material and fine to granular material are seen in the tissue around the vessels. Bar=0.2 μ m.

顕著にみられた (Table 1, Fig. 5)。既報⁵のように、小脳の顆粒細胞変性および浮腫を主とする小脳皮質の変性壊死病変が、吻側小葉でより有意にみられた。1週間前 PB 施行例の SHR や WKY でも同様の病変が観察された例もあったが、その頻度は低く、その程度も軽かった。但し、小脳病変形成がみられた WKY では、SHR のそれに比べ、病変がより限局性で、プルキンエ細胞層直下から血管周囲性に顆粒細胞変性が波及している像がしばしばみられた (Fig. 5B)。

下丘病変も I 群で最も顕著にみられた。他の群では頻度程度ともに軽度であった。既報⁷のように、下丘中心核の特定部位に神経細胞の壊死が散在してみられた。

2. 電顕的観察

肝臓 SHR と WKY の間には、チオフェン非投与対照例でも、肝細胞の核と細胞質の状態に多少の差異がみられた。PB 投与時期による違いははっきりしなかった。数の上で、SHR では、WKY に比べ、核クロマチンの凝集や変性産物が目立ち、粗面小胞体の層状集積が乏しかった (Fig. 6)。

投与例では、この相違が顕著となり、光顕所見でも述べたように、SHR の方が、WKY よりも、超

微形態的变化も強いことをさらに確認した。すなわち、核融解、小胞体の増生あるいは拡張、ミトコンドリアの拡張ないし濃縮、ライソゾームないし変性産物の増加が、SHR では、WKY よりも顕著にみられた (Fig. 7)。

小脳 病変程度は、光顕所見でも述べたように、SHR の方が WKY のそれよりも強かった。小脳顆粒細胞変性の超微形態像は、SHR も WKY もほぼ同様で、既報⁵のとおりであった。

1 日前 PB 麻酔施行例の WKY の 1 例 (III 群) で、顆粒細胞層内の血管内腔にオスミウム好性の均一物質が観察された (Fig. 8)。この均一物質は、プルキンエ細胞層直下よりも、白質に近い顆粒細胞層深層で観察される頻度が高かった。この均一物質の付着した血管の内皮細胞の変化は軽く、pinocytotic vesicle 内に均一物質が入っており、ミトコンドリアの膨化がみられたが、tight junction は残っていた。内皮細胞の bleb formation はほとんどみられなかった。

今回の SHR では、均一物質は観察されなかった。しかし、WKY に比べ、SHR の方で、血管内皮の変化 (bleb formation) や血管周囲特に細胞間隙の浮腫がより顕著にみられる傾向があった。

考 察

今回の臨床並びに病理組織学的研究結果から、実験的チオフェン中毒症では、1. SHRの方がWKYより易損性が高く、2. PBによるチオフェン易損性の増強が、SHRの方で、WKYより、小脳及び肝臓において強くみられていた。

SHRの高血圧には、生体膜異常、神経性因子の亢進、動脈平滑筋の増殖能亢進などの因子が関与しており、SHR、特にSHRSPでは、赤血球膜のNa⁺透過性亢進を初め、浸透圧脆弱性、脂溶性イオンの透過性亢進がみられる⁸。また、SHRSP由来の培養血管平滑筋細胞が、低酸素状態にあるとき、WKYのそれより易損性が高く、そしてそれは細胞膜の透過性に違いがあることが原因とされている⁹。また、鳥井^{10,11}は、SHRでは、Doxorubicin誘発心筋障害の早期に、脂質過酸化に起因した細胞膜透過性に亢進を認めることから、SHRの肥大心にみられる脆弱性の原因の1つに、フリーラジカルによる脂質過酸化を受けやすいことおよびSOD活性の低下のあることを報告している。

これまで、我々は、チオフェンによる小脳変性で、急性期に血管内および周囲組織に、オスミウム好性の均一物質を認め、この物質が膜親和性を有することを報告した⁵。今回、WKYの小脳血管内に同一の物質を見いだしている。従って、チオフェンの血管傷害性はSHRでもWKYでも同様にみられるが、チオフェンに対する易損性がSHRでWKYよりも高いことについては、標的組織での膜の易損性が高いという相違によることが1つの理由として考えられる。

しかしながら、Tamashiro (1986)²は、実験的塩化メチル水銀中毒でも、SHRの方がWKYより易損性が高いことを示している。実験的有機水銀中毒症では、血管内皮細胞傷害も示唆されている¹²が、形態上では、特有な血管障害所見は見いだされていない。今回の実験では、小脳病変の形成がみられるラットには、必ず、肝小葉の約3分の1以上の肝細胞が変性、壊死を伴っていることから、小脳病変形成には、一定域に一定病変が広がった肝病変が前駆状況としてみられるものと思われる。

肝臓が生体内の薬物代謝の主器官であることはよく知られ、滑面小胞体の増生が薬物代謝酵素活

性の誘導形成に伴う形態学的変化で、フェノバルビタール^{12,13}や農薬¹⁴等の各種薬剤により生ずることについては多数報告されている。今回のチオフェン投与ラット (SHR, WKY の両系統とも) の肝臓で電顕的に観察された小胞体の増生も同様の、チオフェン代謝過程を示しているものと思われる。含硫5環化合物であるチオフェンは、肝臓で主に代謝されメルカプトール酸となり体外へ排泄される¹⁶。我々が以前に行った諸膜器におけるチオフェンの定量で成熟期での肝臓のチオフェン含有量が最も高かったことは、この事実を支持している⁵。我々は、肝細胞の小胞体増生所見とは別に、小脳のプルキンエ細胞の軸索および軸索終末内に、ニューロフィラメントからなるトルペードと関連して、小胞体からなる蜂巢管状構造を観察した¹⁷。この小脳の蜂巢管状構造と肝臓の小胞体の増生との関連についての研究が、現在、進行中である。

SHR (I, II 群) では、主に肝臓で代謝されるPBの麻酔時期の違いによって、肝臓並びに小脳における病変の程度に大きく影響を与えていた。以上のことから、SHRは、先天的、あるいは後天的に薬物代謝系 (SOD, P450, グルタチオン) の能力において、WKYと異なることがチオフェン毒物への易損性が高くなっているともいえる。ここでのいう先天的とは遺伝的に決められた代謝酵素の特性を意味し、SHRの遺伝的な生体膜異常と関連したチオフェン毒性が強かったという事実からも、その存在が推定される。一方、後天的な意味では、出生からチオフェン投与時まで、受けたストレス等により惹起された肝臓の機能低下などを考えられる。今回の実験でも、正常対照例の肝細胞の電顕像において、SHRとWKYの間では若干の相違がみられている。150日齢まで生存したSHRの体重は、WKYに比べ、軽い値を示したのに対し、食餌摂取量は、SHRでは、WKYに比べ、高い値を示したこと、50日齢の臓器重量は、SHRでは、WKYに比べ、腎臓と心臓とで重量が高い値を示し、150日齢では、肝臓と心臓とで重量が高い値を示したことなどから、生後150日齢までに、SHRの肝臓には、なんらかの異常が生じていたものと推察される。

SHRでもWKYでも、チオフェン投与後の体重

減少は、食事摂取量の減少に強く関連し、また、すでに報告してきたように、チオフェンによる小脳や肝臓病変の程度とも強く関連することがわかった。そして、今回の実験から、チオフェン投与後の肝臓、脾臓、腎臓の各臓器重量の変化は、それぞれの光顕所見を反映していた。すなわち、SHR (I 群) 以外での肝臓の重量の増加は、肝細胞の腫大、薬物代謝活性の増大と、脾臓重量の減少は、濾胞萎縮、細胞成分の減少と、腎臓重量の減少は尿細管上皮の変性とよく関連していた。以上のことは、チオフェン投与後の体重、食事摂取量、臓器重量の変動が、チオフェン中毒時の個体全体の状態 (病態) を表すよい指標であることを示している。

チオフェン投与した高齢 SHR で観察できたオスミウム好性均一物質が、同じ小脳病変の中に WKY でも観察できた。この均一物質が、Wistar 系ラットではあるが、異質の血液性状をもつ血管内でみられたことは、小脳病変形成機序のなかで果たす一定の役割が、WKY 系でも、血管を介して高齢 SHR と同様にみられていることを明らかにできた。むしろ、小脳病変の強かった SHR や両系で病変を認めなかったラットでは、これまでこの物質を見いだしていない。

つまり、1) 大半のチオフェンは肝臓で代謝排泄され、脳血液関門で阻止されると、病変形成に至るまでの十分な量が小脳にはみられない、2) 次いで、投与後の、そこでごく短時間に、周囲の組織 (特に、血管旁細胞、アストロサイト) に吸収され血管内腔から消失することなどが考えられる。

小脳病変が形成されるラットに必ず肝小葉の約 3 分の 1 以上の肝細胞変性を伴う病変が形成されているが、このように少なくとも、小脳病変形成と肝病変の形成とがみられる場合、肝病変が前駆していることが大切なことであろう。肝病変も小脳病変もみられなかったラットでは、すくなくともチオフェン投与後、1) の現象が起こっても、2) は、小脳病変が形成されたラットでは、投与直後の小脳顆粒細胞層内血管を観察することによって、異常物質を見いだせることに期待が残る。これらの事実の追跡は、小脳病変形成に果たす肝臓機能障害の程度の関係を、特に、小胞体とミトコ

ンドリアの病的動態からみた内容を明らかにする必要性を示唆しているものと思われる。

McMurtry and Mitchell (1977)¹⁸ は、マウスを用いて、フェノバルビタールの前投与により、チオフェン等の毒物の毒性が増強されることを報告している。PB を使用した今回の実験でも、SHR の I, II 群に、同様の結果を示していた。それに対して、WKY では、必ずしもそのような増強はされていなかった。この事実、彼らの実験¹⁸ に比べ、PB の投与量および投与回数が少なかったことや PB はフェノバルビタールよりも麻酔の作用期間が短い特性のために、チオフェンの継続投与の毒性の増強が、WKY ではおこらなかったものと思われる。また、バルビタール系麻酔剤の実験動物の梗塞に対する防御効果はほとんどないあるいはないとされている¹⁹ が、このようなこともある程度影響しているかもしれない。

SHR の各種毒物に対する易損性の機序は、細胞膜や細胞内小器官の膜レベルでのさらなる検討によって形態学的に明らかにすることが必要であるが、今回の研究では、毒物の毒性を検索する際に、SHR が有用な実験動物である可能性を示した。

本研究の一部は、平成 4 年度文部省科学研究費一般研究 (B) (課題番号 04454354) の補助により行われた。
SHR 学会において一部を発表した (1992)。

文 献

1. 高屋豪堂, 二川原和男, 山谷金光, 古沢真紀子, 寺山百合子: ジメチル水銀投与ラットでみられた血圧変動と 2, 3 の内分泌性因子の相関について, 弘前医学 30: 144-150, 1978.
2. Tamashiro, H, Arakaki, M, Akagi, H, Hirayama, K, and Smolensky, MH: Methylmercury toxicity in spontaneously hypertensive rats (SHR). Bull Environ Contam Toxicol 36: 668-673, 1986.
3. Herndon, RM: Thiophen induced granule cell necrosis in the rat cerebellum, An electron microscopic study. Exp Brain Res 6: 49-68, 1968.
4. 高屋豪堂, 小野 聰: チオフェンにみられた肝萎縮について, 第 28 回 日本病理学会誌: 77 (総会号, 札幌), 1988.
5. 森 文秋, 高屋豪堂, 吉田泰二, 玉山公基, 西岡孝浩: チオフェンによって惹起されたラット小脳血管障害, J. Toxicol Pathol 5: 21-28, 1992.
6. 森 文秋, 高屋豪堂, 吉田泰二, 玉山公基: 高齢 SHR にチオフェン投与を行った後, 小脳顆粒細胞層内血管に出現したオスミウム好性均一物質, J Toxicol

- Pathol 5: 167-177, 1992.
7. 森 文秋, 高屋豪瑩, 吉田泰二, 玉山公基: チオフェン中毒急性期ラットの聴性脳幹反応 (ABR) 異常と下丘 PAS 変化. *J Toxicol Pathol* 5: 179-187, 1992.
 8. 家森幸男: 高血圧症ラット—循環器疾患モデルの医学への寄与—, 感染・炎症・免疫 14: 192-202, 1984.
 9. Yamori, Y: Predictive and preventive pathology of cardiovascular diseases. *Acta Pathol Jpn* 39: 683-705, 1989.
 10. 鳥井幹典, 村岡義博, 伊藤浩行: SHR 肥大心における doxorubicin 誘発心筋障害時の細胞膜透過性亢進, 第 8 回日本毒性病理学会講演要旨集: 19, 1992.
 11. 鳥井幹典, 村岡義博, 伊藤浩行: SHR 心筋における Oxygen radical 防御能異常. 第 9 回日本毒性病理学会講演要旨集: 9, 1993.
 12. 平山紀美子, 安武 章, 井上正康: 微量金属と活性酸素毒性. *最新医学* 45: 802-807, 1990.
 13. Remmer, H und Merker, HJ: Enzyminduktion und Vermehrung von endoplasmatischem Reticulum in der Leberzelle während der Behandlung mit Phenobarbital (Luminal). *Klin Wochenschr* 41: 276-283, 1963.
 14. Orrenius, S, Ericsson, JLE, and Ernster, L: Phenobarbital-induced synthesis of the microsomal drug-metabolizing enzyme system and its relationship to the proliferation of endoplasmic membranes, A morphological and biochemical study. *J Cell Biol* 25: 627-639, 1965.
 15. Hutterer, F, Klion, FM, Wengraf, A, Schaffner, A, and Popper, H: Hepatocellular adaptation and injury, Structural and biochemical changes following dieldrin and methyl Butter yellow. *Lab Invest* 20: 455-464, 1969.
 16. Bray HG, Carpanini FMB, Waters BD: The metabolism of thiophen in the rabbit and the rat. *Xenobiotica* 1: 157-168, 1971.
 17. 高屋豪瑩, 吉田泰二, 森 文秋: 小脳顆粒細胞変性をきたしたラットの Torpedo について. 第 32 回日本神経病理学会, 山形, 1991.
 18. McMurtry RJ, Mitchell JR: Renal and hepatic necrosis after metabolic activation of 2-substituted furans and thiophenes, including furocicide and cephaloridine. *Toxicol Appl Pharmacol* 42: 285-300, 1977.
 19. Wiebers, DO: Animal models of stroke: Are they relevant to human disease? *Stroke* 21: 1-3, 1990.