



第25回

日本毒性病理学会

|講|演|要|旨|集|

2009.1.27<sub>火</sub>・28<sub>水</sub>

HAMAMATSU



# harlan

皆様のより良い研究のために。



## Harlan Laboratories ハーランラボラトリーズ株式会社



北米



スイス



ドイツ



英国



スペイン

Harlan Laboratories (旧RCC・SPL) は、世界50カ所、25カ国に展開するグローバルCROです。

前臨床全般から臨床試験まで幅広く皆様のご要望に対応しています。

- Wistar Hannover rat における“世界最高”の試験実績
- 高度な技術を有するテクノロジストによる試験（がん原性、長期毒性、吸入毒性）
- 最新鋭の分析機器・設備
- 日本人モニターによる試験進捗管理とスポンサーへの報告
- 高品質で全世界に安定供給されるハーラン統一ブランドの実験動物
- 欧米において施行された医薬品環境リスクマネジメントの完全対応と実績

### 今後の発表予定

JSTP

#### 第25回日本毒性病理学会総会及び学術総会

2009年1月27日(火)、28日(水) (26日：病理スライドコンファランス) アクトシティ浜松

##### 1月26日(月) イブニングセミナー (18:30～21:00) ★軽食付き

演題：Wistar Han rat の最新の背景データ (仮題) Dr. Klaus Weber

演題：毒性試験に Wistar Han を用いる時の留意点—病理学検査の側面から— 岩田聖

##### 1月27日(火) ランチョンセミナー (12:10～13:10)

演題：Pathology of hamster on carcinogenicity studies (仮題) Dr. Klaus Weber

JSOT

#### 第36回日本トキシコロジー学会学術年会

2009年7月6日(月)～8日(水) アイーナ (岩手県民情報交流センター)

ランチョンセミナー 演題：毒性試験に見られる骨髄塗抹所見 Dr. Klaus Weber

お問い合わせ

harlan™

#### ハーランラボラトリーズ株式会社

〒141-0021 東京都品川区上大崎 2-15-19 AIOS 目黒駅前 905

TEL: 03-5791-3771 FAX: 03-5791-3772

e-mail でのお問い合わせ ymaeda@harlan.com 前田

# 第25回日本毒性病理学会総会及び学術集会

## 目次

第25回日本毒性病理学会総会及び学術集会	1
会場への交通案内	3
会場案内	4
企業展示・ポスター展示会場	6
参加者への御案内	7
日本毒性病理学会のあゆみ	13
司会・座長一覧	14
日程表	15
プログラム	
特別講演	16
教育講演	16
パネルディスカッション	16
ワークショップ	17
一般口演	19
ポスター発表	21
講演要旨	
特別講演	37
教育講演	43
パネルディスカッション	47
ワークショップ	51
一般口演要旨	61
ポスター要旨	67
発表者索引	125
協賛法人・企業一覧	130
広告ページ	132

# 第25回日本毒性病理学会総会及び学術集会

Twenty-fifth Annual Meeting of  
the Japanese Society of Toxicologic Pathology

1. 期 日 2009年1月27日(火)・28日(水)
2. 会 場 アクトシティ浜松(中ホール・コンgresセンター)  
〒430-7790 浜松市中区板屋町111-1  
TEL: 053-451-1111

3. 会 長 真鍋 淳  
(第一三共株式会社 安全性研究所)

## 4. プログラム委員会

- |     |       |                 |
|-----|-------|-----------------|
| 委員長 | 中江 大  | (東京都健康安全研究センター) |
| 委員  | 大石 裕司 | (アステラス製薬)       |
|     | 田中 卓二 | (金沢医科大学)        |
|     | 田村 一利 | (ボゾリサーチセンター)    |
|     | 永井 博文 | (武田薬品工業)        |
|     | 中山 裕之 | (東京大学)          |
|     | 西川 秋佳 | (国立医薬品食品衛生研究所)  |
|     | 山手 丈至 | (大阪府立大学)        |
|     | 鰐淵 英機 | (大阪市立大学) (50音順) |

## 5. 学会協力

株式会社遠鉄トラベル 外販営業部内 第25回日本毒性病理学会デスク  
〒435-0043 静岡県浜松市東区宮竹町172-1  
TEL: 053-460-6677 FAX: 053-460-6680

## 6. 事務局

### 【会期前】

〒437-0065 静岡県袋井市堀越7-1-7番地  
第一三共株式会社 安全性研究所内第25回日本毒性病理学会事務局  
TEL: 0538-42-4356 FAX: 0538-42-4350  
E-mail: jstp25@daiichisankyo.co.jp

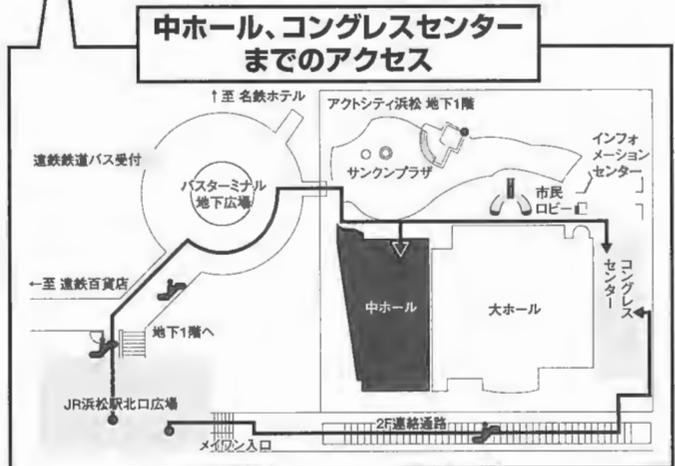
### 【会期中 2009年1月27日・28日】

〒430-7790 浜松市中区板屋町111-1  
アクトシティ浜松(中ホール・主催者事務局)  
TEL: 080-6972-3636 (緊急連絡先)

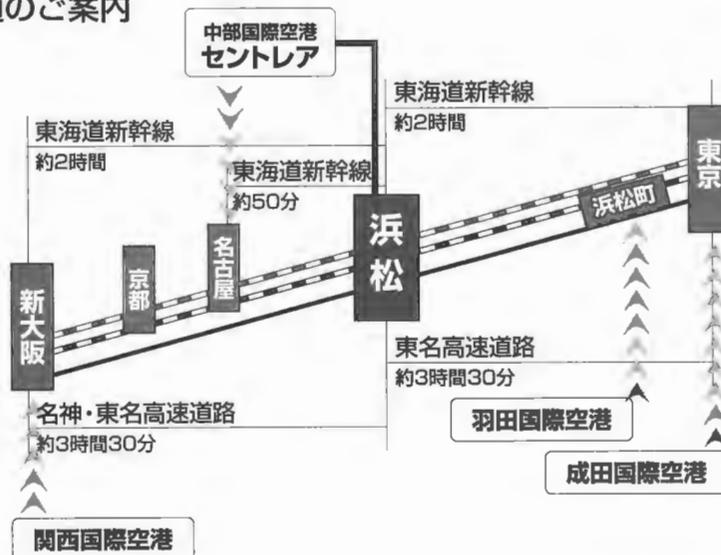


# 会場への交通案内

- アクトシティ浜松までのアクセス  
※JR浜松駅より徒歩5分

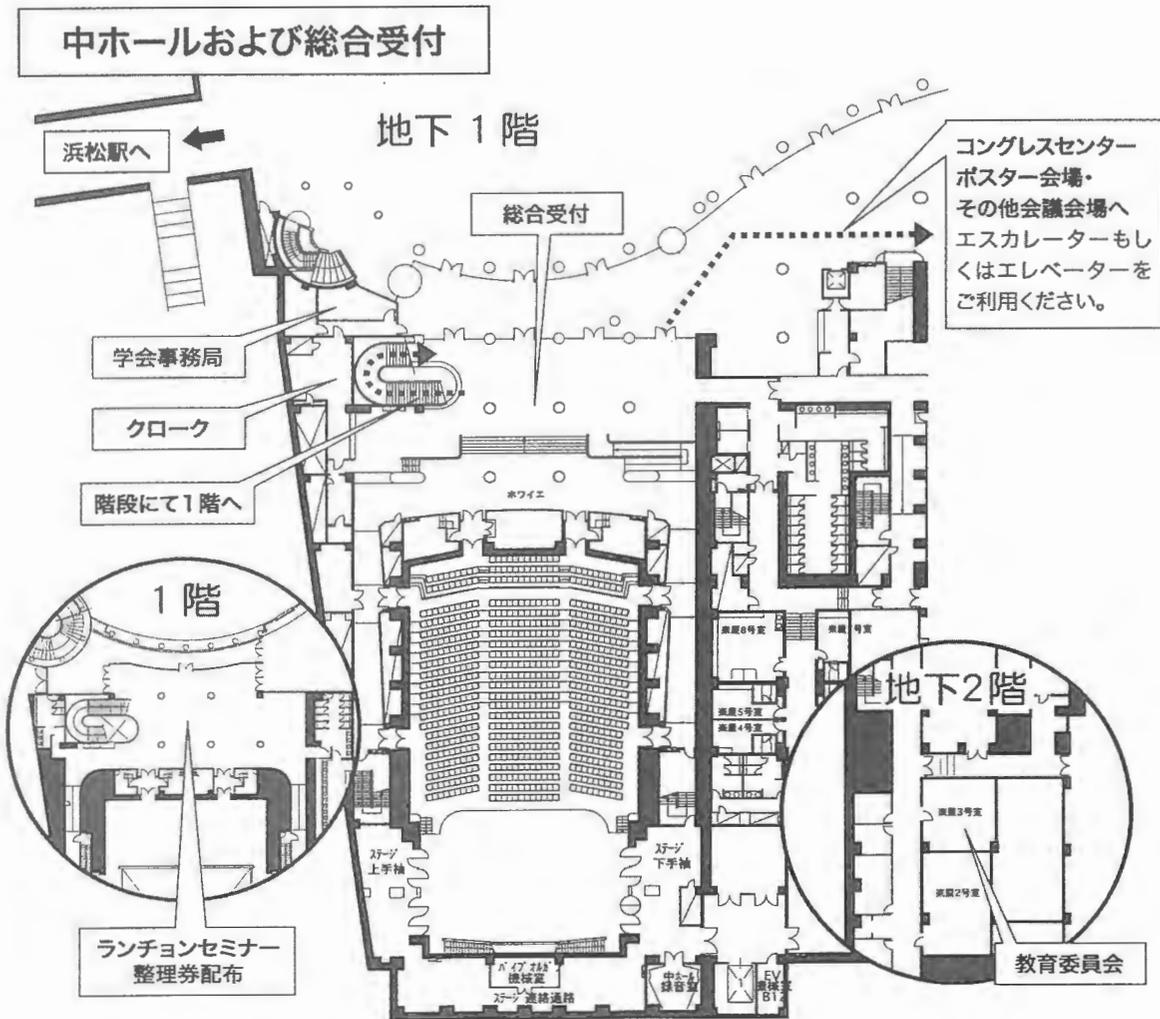


- 浜松までの交通のご案内

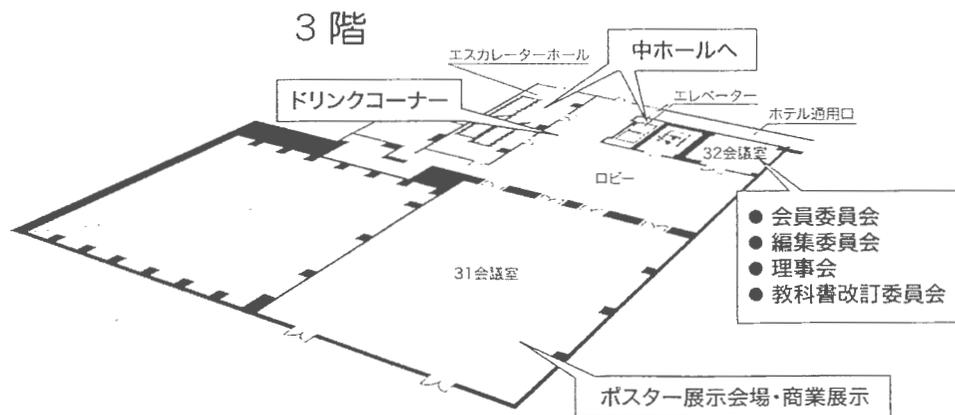
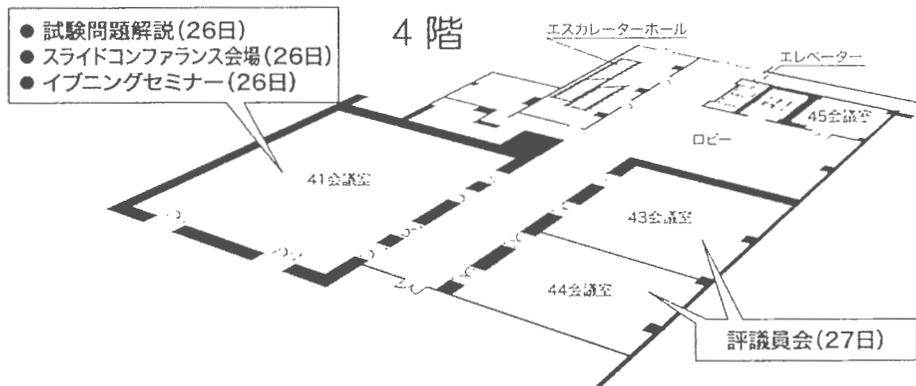
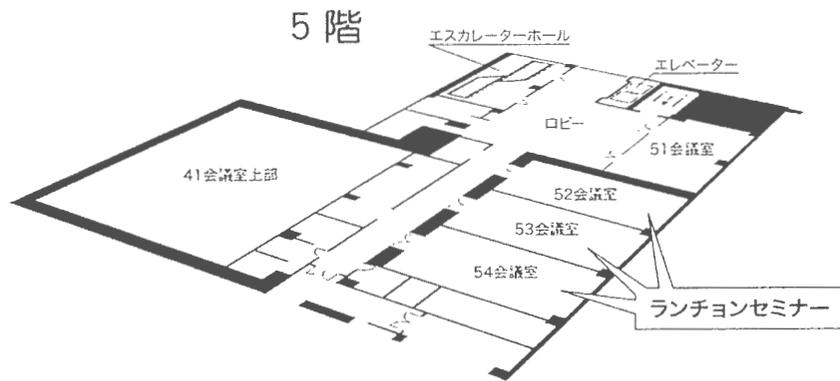


# 会場案内

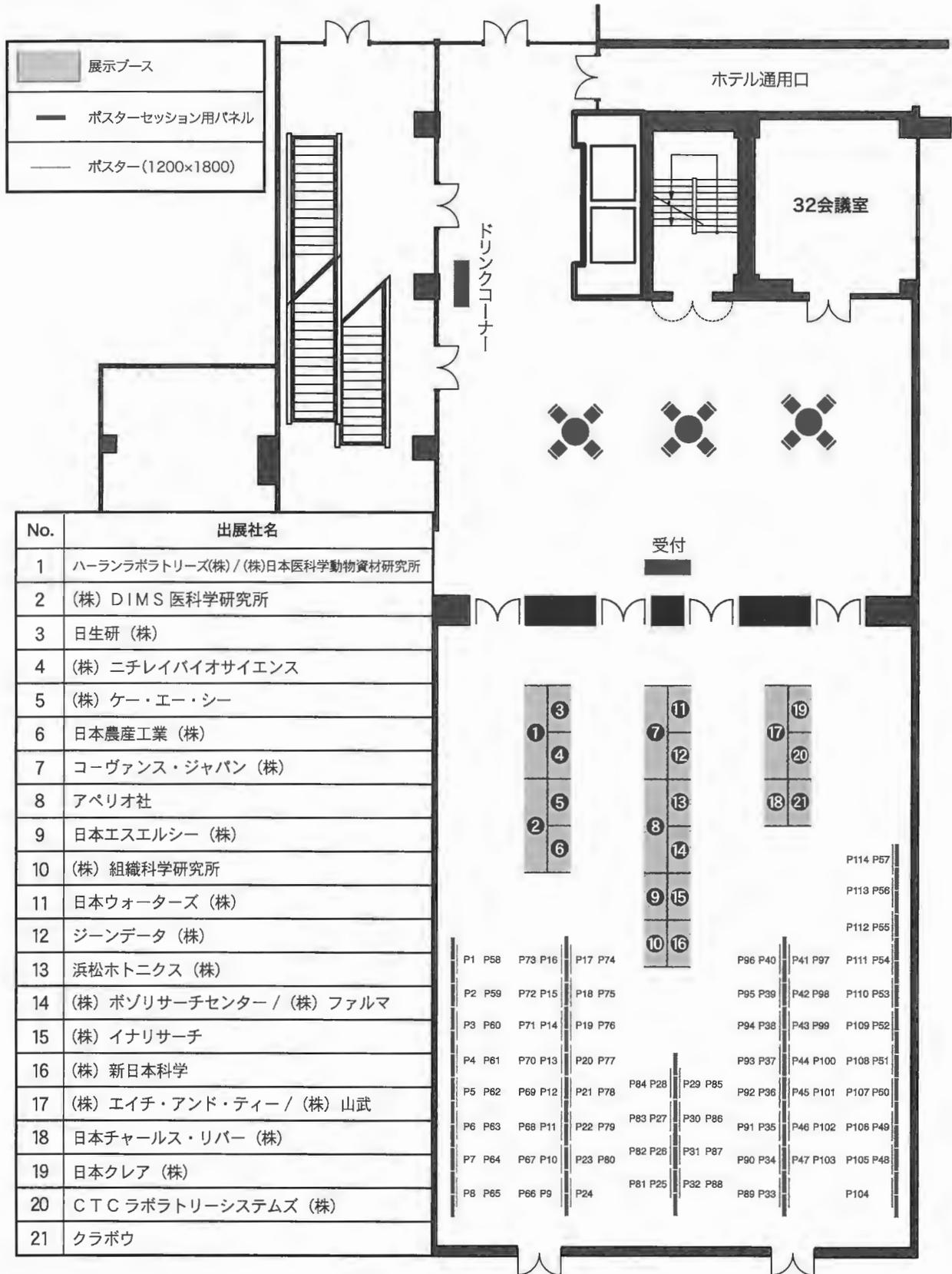
- 総合受付……………中ホール入り口
- 特別講演、教育講演、ワークショップ、パネルディスカッション、  
一般口演、ランチョンセミナー（Ⅰ、Ⅲ）……………中ホール
- ランチョンセミナー（Ⅱ、Ⅳ）……………5階 52-54会議室
- ポスター発表受付、ポスター・商業展示会場……………コンgresセンター 3階31会議室
- 試験問題解説、スライドコンファランス、イブニングセミナー……………4階 41会議室
- 懇親会場……………名鉄ホテル 4階芙蓉の間
- クローク……………中ホールエントランスロビー
- 評議員会……………コンgresセンター 4階43、44会議室
- 会員委員会、編集委員会、理事会、教科書改訂委員会……………コンgresセンター 3階32会議室
- 教育委員会……………中ホール 楽屋 3号室



コングレスセンター



# 企業展示・ポスター展示会場



## 参加者への御案内

### ●参加者の方へ

1. 総合受付は1月27日(火)・28日(水) 両日とも午前8:30から地下1階中ホール前エントランスロビーにて行います。
2. 事前登録者はあらかじめ講演要旨集とともに送付された参加章(ネームカード)を持参し、会期中は必ず着用ください。
3. 当日参加者は「当日参加受付」にて参加費(一般:11,000円、学生:5,000円)を納入して参加章を受け取り、氏名・所属を記入の上、会期中は必ず身につけて下さい。学生の場合は証明書の提示が必要です。
4. 講演要旨集は事前に郵送いたしますので、忘れずにご持参ください。当日2,000円(非会員:5,000円、学生:2,000円)での販売となります。
5. 質問・討論される方は、マイクの前に並んだ上、座長の指示に従って所属と氏名を述べてから発言してください。
6. 示説会場および口演会場内はすべて禁煙です。(喫煙所が指定されていますので、ご確認の上、ご利用ください)
7. 会場内では携帯電話の電源をOFFまたはマナーモードにしてください。
8. ドリンクコーナー・休憩所(コンgresセンター3階ロビー)でドリンクを無料配布します。休憩の際、ご利用ください。
9. 昼食はアクトタワー地下1階、2階および5階のレストラン、浜松駅構内飲食店、浜松駅周辺百貨店内飲食店を御利用ください。
10. クロークは中ホールエントランスロビー横にございます。受付時間は下記のとおりです。  
1月27日(火) 8:30~18:00  
1月28日(水) 8:30~17:50  
懇親会に出席される方は懇親会会場(名鉄ホテル 4階芙蓉の間)のクロークをご利用ください。貴重品の管理は各自でお願いいたします。
11. 会場内での呼出しは緊急以外にいたしませんのでご了承ください。総合受付(中ホール)前にメッセージボードを設置いたしますので御利用ください。
12. 講演会場での写真撮影・録画・録音はご遠慮ください。

### ●総会及び評議員会のご案内

1. 評議員会は学会第1日目(27日) 12:10から4階43、44会議室にて行います。
2. 総会は学会第2日目(28日) 特別講演Ⅱ終了後、11:15から中ホールにて行います。

## ●イブニングセミナーのご案内

1月26日（月）に開催される第21回スライドコンファレンスの終了後、以下のとおり、イブニングセミナーを行います。ふるってご参加ください。

平成21年1月26日（月）12:10～13:10 コンgressセンター4階41会議室

### ①「Wistar Han Ratの最新の背景データ」

演 者：ハーランラボラトリーズ（スイス） Klaus Weber

### ②「毒性試験にWistar Hanを用いる時の留意点－病理学検査の側面から」

演 者：ハーランラボラトリーズ（スイス） 岩田 聖

座 長：病理ピアレビューセンター 高橋 道人

コメンテーター：Experimental Pathology Laboratories Jerry F Hardisty

協 賛：ハーランラボラトリーズ

## ●ランチョンセミナーのご案内

1. 1月27日（火）・28日（水）両日ともに、中ホールとコンgressセンター5階52-54会議室の2ヶ所にて、以下のとおり、ランチョンセミナーを行います。

### ランチョンセミナーⅠ

平成21年1月27日（火）12:10～13:10 中ホール

「Pathology of hamster on carcinogenicity studies」

演 者：ハーランラボラトリーズ（スイス） Klaus Weber

座 長：病理ピアレビューセンター 高橋 道人

協 賛：ハーランラボラトリーズ

### ランチョンセミナーⅡ

平成21年1月27日（火）12:10～13:10 コンgressセンター5階52-54会議室

「The use of new kidney biomarkers in preclinical and clinical safety testing」

演 者：Argutus Medical社 Joe Keenan

司会者：日本農産工業株式会社 榎本 康弘

協 賛：日本農産工業株式会社

### ランチョンセミナーⅢ

平成21年1月28日（水）12:10～13:10 中ホール

「Histopathological identification of endocrine disruption of reproductive tissues in routine toxicity studies」

演 者：Huntingdon Life Sciences Inc. Dianne Creasy

司会者：病理ピアレビューセンター 高橋 道人

協 賛：Huntingdon Life Sciences Inc.

## ランチョンセミナーⅣ

平成21年1月28日（水）12:10～13:10 コングレスセンター5階52-54会議室

「毒性病理におけるデジタルパソロジーの定量評価」

演 者：Pathology Experts LLC Frank Voelker

司会者：アペリオ社 西口 礼子

協 賛：アペリオ社

2. ランチョンセミナー整理券は、1階中ホールホワイエにて、セミナー開催日の午前8:30より配布します。ふるってご参加ください。

## ●懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第1日目（27日）18:30から名鉄ホテル4階芙蓉の間にて開催します。
2. 事前登録制ですが、当日総合受付にて若干名を懇親会費8,000円（学生5,000円）で申し受けます。
3. 懇親会事前登録者には、参加章（ネームカード）に懇親会参加の押印をします。

## ●座長の先生方へ

### 特別講演・教育講演・ワークショップ・一般口演の座長の先生方へ

1. 来館されましたら、総合受付（中ホールエントランスロビー）にお越しくください。会長賞選定のための評価表をお渡しします。
2. ご担当セッション開始の遅くとも20分前までには、総合受付にお越しくください。
3. セッション開始10分前には、会場内の次座長席にお着きください。
4. 会長賞は40歳未満の筆頭演者によるワークショップ、一般口演、ポスターを対象に選考していただきます。抄録と口演発表もしくはポスター発表を評価していただき、1月28日14:30までに評価票を総合受付にご提出ください。

### ポスター発表の座長の先生方へ

1. 来館されましたら、総合受付（中ホールエントランスロビー）にお越しくください。会長賞選定のための評価表をお渡しします。
2. ご担当セッション開始の遅くとも10分前までには、ポスター発表受付（コンgresセンター3階31会議室前）にお越しくください。指示棒、リボンをお渡しします。討論時には参加章（ネームカード）ほかに、リボンを必ず着用ください。
3. 会長賞は40歳未満の筆頭演者によるワークショップ、一般口演、ポスターを対象に選考していただきます。抄録と口演発表もしくはポスター発表を評価していただき、1月28日14:30までに評価票を総合受付にご提出ください。

## ●特別講演・教育講演・ワークショップ・一般口演者の先生方へ

1. 発表用データは学会当日、《注意事項》にて指定しました外部メディアにてお持込ください。
2. ワークショップ・一般口演者の先生方のパソコンの持ち込みは原則、不可とします。
3. 発表機材はPC液晶プロジェクターを使用します。35 mmスライドは使用できません。

### 《注意事項》

#### プレゼンテーションデータ作成時の注意

- ・ お使いのパソコンと発表時に使用するパソコン環境の違いにより、画面レイアウトのバランスが乱れるなどの不具合が発生する可能性があります。当日のパソコン環境を以下に示しますので、必ず同様の環境にて動作確認をお願いします。

#### 【当日のパソコン使用環境】

CPU：Core2Duoプロセッサ 動作周波数2GHz

メモリ：500 MB

画面解像度：1024×768

OS：Windows XP Professional Service Pack2

プレゼンテーション用ソフト：Microsoft Office PowerPoint® 2003

- ・ フォントはOS標準のみ使用可能です。パソコン環境による画面レイアウトの不具合を防ぐには「MS明朝」「MSゴシック」を使用されることをお勧めします。
- ・ PowerPoint内での音声・動画は利用できません。
- ・ PowerPoint 2007で作成した場合には、必ずPowerPoint 2003のバージョンでセーブしてください。
- ・ Macintoshは用意しません。

#### プレゼンテーションデータの受け渡し

- ・ 発表時間の遅くとも30分前までには、総合受付（中ホールエントランスロビー）にお越しください。
- ・ 担当者にプレゼンテーションデータを保存したUSBメモリ（スティック型のUSB差込フラッシュメモリ）をお渡しください。発表用データの動作確認を行っていただきます。データは発表終了後、責任をもって消去させていただきます。
- ・ ファイル名は「演題番号\_演者名」としてください。
- ・ 必ずバックアップデータとして、データを格納したCD-Rをご持参ください。なお、CD-Rの保存形式として、フォーマットMODE1、ファイルの互換性Joleit準拠を守ってください。
- ・ 混乱を避けるため、USBメモリおよびCD-Rには、他のデータは入れないでください。

4. 前演者の発表が始まりましたら、次演者席にお着きください。
5. 一般口演の講演時間、討論時間は次のとおりです。講演時間は厳守してください。

セッション名	講演時間	討論時間	予告ベル
一般口演	8分	4分	発表時間7分経過で、ベル1鈴 発表時間8分経過で、ベル2鈴

## ●ポスター発表をされる先生方へ

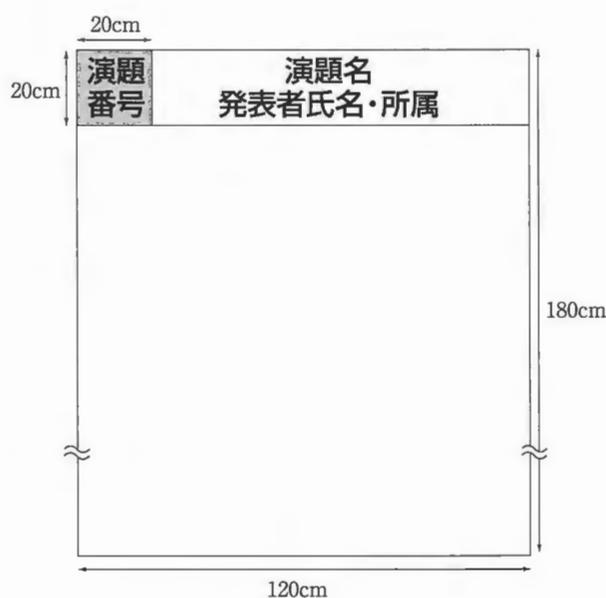
### 1. ポスター展示・撤去時間

	演題番号	準備時間	討論時間	撤去時間
1月27日(火)	P-1～57	8:30～9:00	13:20～14:20	16:00～17:40
1月28日(水)	P-58～114	8:30～9:00	13:15～14:15	16:00～17:00

### 2. ポスター発表受付について

ポスター発表受付（コンgresセンター3階31会議室前）にて受付し、ポスター発表用のリボンをお受け取りください。討論時間には参加章の他に、このリボンを必ず着用し、ポスター前にいてください。

3. 討論時間の遅くとも10分前には、ポスター会場にお越しください。討論時間には参加章（ネームカード）のほかに、発表用リボンを必ず着用してください。
4. パネルの大きさは縦180 cm × 横120 cmです。演題番号については、主催者側で用意いたします。演題名と発表者氏名・所属の表題を次頁図の要領に従って、ご準備ください。展示には会場で用意した専用の画鋏をご使用ください。



5. 討論は1演題あたり発表5分、質疑5分です。発表者の方は、座長の指示に従って要約発表・討論をお願いします。発表時間は厳守してください。討論時間以外の時間帯は、座長なしで自由に討論してください。
6. ポスターの撤去は、撤去時間に済ませてください。時間までに撤去されないポスターは、事務局で処分いたします。発表者用リボン、画鋏はポスター発表受付に備え付けた箱へ返却してください。

## ●演題の英文抄録提出について（日本毒性病理学会編集委員会より）

第25回日本毒性病理学会年次学術集会発表者各位におかれましては、恒例により、Journal of Toxicologic Pathologyに掲載する御演題の英文抄録を御作成いただきますようお願い申し上げます。なお、今回は、第25回JSTPホームページ「発表者の方へ」をご参照の上、以下の規定に従って、作成・御提出いただきますよう、お願い申し上げます。

日本毒性病理学会 編集委員会 委員長 中江 大

1. 抄録は、Microsoft Wordを使用し、A4用紙・上下マージン各40 mm・左右マージン各66 mm・9ポイントTimesフォント・シングルスペース・左揃えの設定で作成してください。なお、ギリシャ文字は、9ポイントSymbolフォントを使用してください。
2. 文字数の制限はありませんが、抄録は上記設定条件下の1ページ以内で作成してください。
3. 演題名は、ボールドで、接続詞等を除き、第1文字のみを大文字としてください。
4. 演者名は名（第1文字のみ大文字）・ミドルイニシャル（要時）・姓（すべて大文字）とし、所属が異なる場合は上付数字・後括弧で識別してください。なお、発表者（通常は筆頭演者）名の前には、アスタリスク(\*)を付けてください。
5. 所属名は、適宜省略してください。
6. 本文において、第1段落は左端開始とし、第2段落以後は1字の字下げで開始してください。
7. 抄録は、Wordフォーマットで保存し、中江<agalennde.dai@nifty.com>宛の電子メールに添付して、学術集会終了日（2009年1月28日）までに提出してください。なお、ファイル名は「演題番号.doc」とし、メールタイトルは「2009JSTP、演題番号、筆頭演者名」とし、メール本文には日本語で筆頭演者の氏名ならびに所属連絡先（正式名称・部署名・郵便番号・所在地・電話番号・メールアドレス）を記載してください。
8. 御質問は、中江宛をお願いします。

## 日本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 ワークショップ その他	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(東京大学)	1986.2.7-8	1	5	29
3	名古屋	伊東 信行(名古屋市立大学)	1987.2.6-7	1	8	47
4	浜松	榎本 眞(安評センター)	1988.2.5-6	1	7	55
5	横浜	蟹沢 成好(横浜市立大学)	1989.1.27-28	1	6	53
6	札幌	板倉 智敏(北海道大学)	1990.2.13-14	1	6	80
7	東京	林 裕造(国立衛試)	1991.1.17-18	1	20	53
8	奈良	小西 陽一(奈良医科大学)	1992.1.23-24	1	19	71
9	東京	土井 邦雄(東京大学)	1993.1.21.22	2	4	126
10	広島	伊藤 明弘(広島大学)	1994.1.27-29	1	18	136
11	大阪	佐久間貞重(大阪府立大学)	1995.1.26-27	2	10	151
12	東京	高橋 道人(国立衛試)	1996.1.24-25	0	16	147
13	鳥取	梅村 孝司(鳥取大)	1997.1.23-24	1	11	151
14	東京	前川 昭彦(佐々木研)	1998.2.3-4	1	9	143
15	水戸	真板 敬三(残農研)	1999.1.28-29	0	7	142
16	岐阜	森 秀樹(岐阜大)	2000.1.26-27	1	12	125
17	淡路	奈良間 功(摂南大)	2001.1.25-26	1	10	146
18	東京	津田 洋幸(国立がんセンター)	2002.1.24-25	0	2	119
19	東京	布谷 鉄夫(日生研)	2003.1.23-24	1	5	102
20	神戸*	福島 昭治(大阪市立大)	2004.2.15-18	2	31	172
21	浜松	今井 清(安評センター)	2005.1.20-21	1	23	100
22	鹿児島	吉田 浩己(鹿児島大学)	2006.1.26-27	1	15	109
23	東京	三森 国敏(東京農工大学)	2007.1.30-31	0	15	107
24	名古屋	白井 智之(名古屋市立大学)	2008.2.6-7	1	13	106
25	浜松	真鍋 淳(第一三共株式会社)	2009.1.27-28	2	17	124

\* Joint international meeting of JSTP/IFSTP

## 司会・座長一覧

セッション名	日 時	司会・座長(所属)	会 場
特別講演Ⅰ	1月27日(火) 16:40~17:40	真鍋 淳(第一三共・安全研)	中 ホ ー ル
特別講演Ⅱ	1月28日(水) 10:10~11:10	中江 大(東京都健康安全研)	
教育講演	1月28日(水) 14:25~15:25	中山 裕之(東大・獣医病理)	
ワークショップⅠ	1月27日(火) 10:30~12:00	鰐淵 英機(大阪市大・都市環境病理) 永井 博文(武田薬品・開発研究センター)	
ワークショップⅡ	1月27日(火) 14:30~16:30	田中 卓二(金沢医大・腫瘍病理) 吉田 緑(国立衛研・病理)	
パネル ディスカッション	1月28日(水) 15:40~17:10	大石 裕司(アステラス製薬・安全研) 田村 一利(ボゾリサーチ・病理)	
一般口演Ⅰ	1月27日(火) 9:20~10:25 O-1~O-5	山手 丈至(大阪府大・獣医病理) 今井田克己(香川大・腫瘍病理)	
一般口演Ⅱ	1月28日(水) 9:00~10:05 O-6~O-10	西川 秋佳(国立衛研・病理) 原田 孝則(残農研・毒性)	
ポスター発表 質疑Ⅰ	1月27日(火) 13:20~14:20 P 1 ~ P 4 P 5 ~ P 8 P 9 ~ P 12 P 13 ~ P 16 P 17 ~ P 20 P 21 ~ P 24 P 25 ~ P 28 P 29 ~ P 32 P 33 ~ P 36 P 37 ~ P 40 P 41 ~ P 44 P 45 ~ P 47 P 48 ~ P 50 P 51 ~ P 53 P 54 ~ P 57	古川 賢(日産化学・生科研) 堤 雅弘(済生会中和病院・病理) 和久井 信(麻布大学・獣・比較毒性) 泉 啓介(徳島大・院・環境病理) 杉江 茂幸(金沢医大・医・病理) 高橋 智(名市大・院・医・実験病態病理) 寺西 宗広(第一三共・安全研) 平川 公昭(新日本科学・大阪病理センター) 佐藤 洋(イナリサーチ) 務台 衛(田辺三菱製薬・安全性研) 渋谷 淳(東京農工大・獣医病理) 豊沢かおる(大日本住友・病理) 土谷 稔(三菱化学安科研) 奈良間 功(摂南大・薬・病理) 古川 文夫(DIMS医科研・試験研究)	31 会 議 室
ポスター発表 質疑Ⅱ	1月28日(水) 13:15~14:15 P 58 ~ P 61 P 62 ~ P 65 P 66 ~ P 69 P 70 ~ P 73 P 74 ~ P 76 P 77 ~ P 80 P 81 ~ P 84 P 85 ~ P 88 P 89 ~ P 92 P 93 ~ P 96 P 97 ~ P 99 P100 ~ P103 P104 ~ P107 P108 ~ P111 P112 ~ P114	鳥井 幹則(塩野義・新薬研) 長野 嘉介(日本バイオアッセイ) 吉見 直己(琉大・腫瘍病理) 小川久美子(名市大・医・病理) 梅村 隆志(国立衛研・病理) 仲辻 俊二(アステラス製薬・安全研) 澤本 修(大塚製薬工場・安全研) 今井 俊夫(国立がんセ・実験動物) 鈴木 雅実(中外製薬・安全研) 北野 光昭(カネカ・生物研) 福田 良(武田薬品 開発研究センター) 岩田 聖(ハーランラボラトリーズ(株)・病理) 尾崎 清和(摂南大・薬・病理) 渋谷 一元(日生研) 義澤 克彦(アステラス製薬・安全研)	31 会 議 室

# 日程表 2009年1月26日(月)～28日(水)

	学会前日 1月26日(月)		学会1日目 1月27日(火)					学会2日目 1月28日(水)			
	41会議室	32会議室	中ホール	31会議室	52-54 会議室	43,44 会議室	中ホール 楽屋3号室	中ホール	31会議室	52-54 会議室	
7:30			7:30	7:30				7:30	7:30		7:30
8:00			準備・開場	準備・開場				準備・開場	準備・開場		8:00
8:30			8:30	8:30			8:30	8:30	8:30		8:30
9:00	9:00		総合受付開始	ポスター受付貼出			教育 委員会	9:00	9:00		9:00
9:30	準備・開場		9:10 開会挨拶 9:20				9:30	一般口演Ⅱ			9:30
10:00	10:00		一般口演Ⅰ					10:05			10:00
10:30	日本毒性病理 専門家認定試験 における 「試験問題解説」		10:25 10:30					10:10	特別講演Ⅱ		10:30
11:00		11:00		ポスター 掲示閲覧				11:10		ポスター 掲示閲覧	11:00
11:30		会員 委員会	ワークショップⅠ					11:15	総会		11:30
12:00	12:00	12:00	12:00準備・開場					12:00準備・開場			12:00
12:30		12:15	12:10		12:10	12:10		12:10		12:10	12:30
		編集 委員会	ランチョン セミナーⅠ		ランチョン セミナーⅡ	評議員会		ランチョン セミナーⅢ		ランチョン セミナーⅣ	
13:00	13:00		13:10		13:10	13:10		13:10		13:10	13:00
13:30				13:20					13:15		13:30
14:00		13:45		ポスター 発表質疑Ⅰ					ポスター 発表質疑Ⅱ		14:00
14:30		教科書改訂 委員会	14:30					14:25			14:30
15:00	第21回 スライド コンファランス	15:00		ポスター 掲示閲覧				教育講演	ポスター 掲示閲覧		15:00
15:30		15:15	ワークショップⅡ					15:25準備・開場			15:30
16:00				16:00				15:40			16:00
16:30		理事会	16:30					パネル ディスカッション	16:00	ポスター撤去	16:30
17:00			16:40	ポスター撤去							
17:30			特別講演Ⅰ					17:10			17:00
18:00	18:00		17:40					表彰式・閉会式			17:30
18:30	18:30	18:15		17:40							18:00
19:00			18:30								18:30
19:30	イブニング セミナー		懇親会								19:00
20:00											19:30
20:30	20:30		20:30								20:00
21:00											20:30
											21:00

# プログラム

○：発表者 \*発表者が40歳未満

## 特別講演 I

第1日目 (1月27日) 16:40~17:40

中ホール

座長： 真鍋 淳 (第一三共・安全研)

Toxicologic Pathology Aspects of Chemically Induced Cardiovascular Toxicity,  
as Seen in National Toxicology Program (NTP) Studies .....39

○Abraham Nyska<sup>1,2</sup>, Katsuhiko Yoshizawa<sup>3</sup>, Yoshiro Tani<sup>4</sup>, Mike Jokinen<sup>5</sup>,  
Warren Lieuallen<sup>3</sup>, June Dunnick<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Tel Aviv University, <sup>2</sup>Consultant in Toxicologic pathology,

<sup>3</sup>Astellas Pharma Inc., <sup>4</sup>Daiichi-Sankyo Co., Ltd.,

<sup>5</sup>Division of Charles River Laboratories, <sup>6</sup>National Institute of Environmental Health Sciences

## 特別講演 II

第2日目 (1月28日) 10:10~11:10

中ホール

座長： 中江 大 (東京都健康安全研)

Carcinogenicity of PPAR  $\gamma$  and Dual  $\alpha/\gamma$  Agonists:  
Mode of Action and Human Relevance .....41

○Samuel M. Cohen<sup>1</sup>, Jon C. Cook<sup>2</sup>, Tim G. Hammond, Sr.<sup>3</sup>, Nancy G. Doerr<sup>4</sup>

<sup>1</sup>University of Nebraska Medical Center, <sup>2</sup>Pfizer, Inc., <sup>3</sup>Astra Zeneca UK,

<sup>4</sup>ILSI Health and Environmental Sciences Institute (HESI)

## 教育講演

第2日目 (1月28日) 14:25~15:25

中ホール

座長： 中山 裕之 (東大・獣医病理)

エピジェネティクスからエピゲノムへ： 毒性病理学への応用 .....45

○塩田邦郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京大学大学院 応用動物科学・獣医学専攻 細胞生化学研究室

## パネルディスカッション

第2日目 (1月28日) 15:40~17:10

中ホール

座長： 大石裕司 (アステラス製薬・安全研)

田村一利 (ボゾリサーチ・病理)

Regulatory perspective for pathological data .....49

パネリスト： Frédéric Schorsch (IFSTP, Bayer CropScience)

Klaus Weber (Harlan Laboratories, Inc.)

Jerry Hardisty (EPL)

藏並潤一 (JSQA, 協和発酵キリン)

## ワークショップ I バイオマーカー

第1日目 (1月27日) 10:30~12:00

中ホール

座長： 鰐淵 英機 (大阪市大・都市環境病理)  
永井 博文 (武田薬品・開発研究センター)

- WS1-1\* ラット肝障害モデルにおける血中バイオマーカー検証および尿中バイオマーカー探索 .....52  
○熊谷 和善<sup>1)</sup>, 伊藤 和美<sup>2)</sup>, 安藤 洋介<sup>3)</sup>, 清澤 直樹<sup>3)</sup>, 齊藤 航<sup>3)</sup>, 松山 拓矢<sup>3)</sup>, 古川 忠司<sup>3)</sup>,  
矢本 敬<sup>3)</sup>, 寺西 宗広<sup>3)</sup>, 真鍋 淳<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>第一三共(株) 安全性研究所
- WS1-2\* イヌにおけるALTアイソザイムの解析 .....52  
○須藤 雄介<sup>1)</sup>, 松本 好枝<sup>1)</sup>, 青木 正美<sup>1)</sup>, 平井 加津子<sup>1)</sup>, 乾 直美<sup>1)</sup>, 宮本 由美子<sup>1)</sup>,  
高井 有一<sup>1)</sup>, 伊藤 隆司<sup>2)</sup>, 大久保 尚一<sup>2)</sup>, 高見 健治<sup>1)</sup>, 今井 良悦<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>武田薬品・開発研究センター, <sup>2)</sup>武田薬品・探索研究センター
- WS1-3\* ラットにおける肺高血圧症の心エコー図診断 .....53  
○松根 圭子<sup>1)</sup>, 永井 博文<sup>1)</sup>, 高井 有一<sup>1)</sup>, 山本 恵司<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>武田薬品工業(株) 医薬研究本部 開発研究センター
- WS1-4\* FT-ICR-MSを用いたメタボリックフィンガープリンティングによる .....53  
ラット尿中肝毒性バイオマーカー候補の探索  
○長谷川 美奈<sup>1)2)</sup>, 井手 美佳<sup>3)</sup>, 桑村 充<sup>1)</sup>, 山手 丈至<sup>1)</sup>, 竹中 重雄<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪府立大学大学院・獣医, <sup>2)</sup>(株) 新日本科学 安全研,  
<sup>3)</sup>田辺三菱製薬(株) 安全研
- WS1-5\* 膀胱発がん物質の早期検出マーカーの検討 .....54  
○魏 民<sup>1)</sup>, 梯 アンナ<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>2)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科 都市環境病理,  
<sup>2)</sup>中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター
- WS1-6\* イメージングMS法の毒性バイオマーカー探索への応用 .....54  
○奈良岡 準<sup>1)</sup>, 鈴村 謙一<sup>2)</sup>, 中野 健二<sup>3)</sup>, 青木 豊<sup>4)5)</sup>, 佐藤 孝明<sup>4)5)</sup>, 渡部 浩治<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>アステラス製薬・安全性研究所, <sup>2)</sup>アステラス製薬・創薬推進研究所, <sup>3)</sup>アステラス  
リサーチテクノロジー・安全性研究部, <sup>4)</sup>東京大学医科学研究所・先端臨床  
プロテオミクス, <sup>5)</sup>島津製作所・ライフサイエンス研究所

## ワークショップⅡ 卵巣毒性

第1日目 (1月27日) 14:30~16:30

中ホール

座長： 田中 卓二 (金沢医大・腫瘍病理)

吉田 緑 (国立衛研・病理)

- WS2-1\* Histopathological changes of female reproductive organs in the rat treated with medroxyprogesterone acetate .....55  
 ○福井 元子<sup>1)</sup>, 大竹 幸代<sup>1)</sup>, 久田 茂<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>あすか製薬株式会社 安全性研究部
- WS2-2\* 4-vinylcyclohexene diepoxideの雌性ラットを用いた2週間あるいは4週間反復投与毒性試験における卵巣毒性評価 .....55  
 ○伊東 篤志<sup>1)</sup>, 真船 直美<sup>1)</sup>, 木村 敬<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>トーアエイヨー (株) 研究開発部 福島研究所 探索研究第三課
- WS2-3\* Cisplatinの卵巣毒性—ラット反復投与試験における卵巣の病理組織学的評価を中心に— .....56  
 ○野崎 佑介<sup>1)</sup>, 木澤 和夫<sup>1)</sup>, 福井 理恵<sup>1)</sup>, 木村 康<sup>1)</sup>, 千葉 真由美<sup>1)</sup>, 古坊 真一<sup>1)</sup>, 三善 隆広<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>富山化学工業株式会社 安全性研究部
- WS2-4\* Anastrozole投与によるラット雌性生殖器の病理組織学的変化 .....56  
 ○白井 真人<sup>1)</sup>, 櫻井 健<sup>1)</sup>, 斉藤 航<sup>1)</sup>, 松山 拓矢<sup>1)</sup>, 寺西 宗広<sup>1)</sup>, 古川 忠司<sup>1)</sup>, 三分一 所 厚司<sup>1)</sup>, 真鍋 淳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>第一三共 (株) 安全性研究所
- WS2-5 ラットにおける新規PPAR  $\alpha/\gamma$  dual agonist投与による卵巣毒性 .....57  
 ○佐藤 則博<sup>1)</sup>, 内田 圭祐<sup>1)</sup>, 中島 幹夫<sup>1)</sup>, 渡邊 厚<sup>1)</sup>, 小平 輝朋<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>旭化成ファーマ株式会社 安全性・動態研究部
- WS2-6\* ミフェプリストンによるラット雌性生殖器及び内分泌への影響 .....57  
 ○田村 啓<sup>1)</sup>, 横井 亮平<sup>1)</sup>, 奥原 裕次<sup>1)</sup>, 林 守道<sup>1)</sup>, 長澤 達也<sup>1)</sup>, 小野里 知哉<sup>1)</sup>, 黒田 淳二<sup>1)</sup>,  
<sup>1)</sup>キッセイ薬品工業株式会社 安全性研究所
- WS2-7 卵巣毒性共同研究—インドメタシンのラット2週間/4週間反復投与毒性試験 .....58  
 ○坪田 健次郎<sup>1)</sup>, 串間 清司<sup>1)</sup>, 山内 研司<sup>1)</sup>, 松尾 成喜<sup>1)</sup>, 三枝 雅<sup>1)</sup>, 伊藤 伸<sup>1)</sup>, 藤原 道夫<sup>1)</sup>, 松本 正博<sup>1)</sup>, 仲辻 俊二<sup>1)</sup>, 大石 裕司<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室
- WS2-8\* Ethylene glycol monomethyl ether (EGME) の卵巣毒性に関する検討 .....58  
 ○武田 賢和<sup>1)</sup>, 猪又 晃<sup>1)</sup>, 園田 二郎<sup>1)</sup>, 早川 和宏<sup>1)</sup>, 中野 今日子<sup>1)</sup>, 桃澤 由妃<sup>1)</sup>, 細川 暁<sup>1)</sup>, 青木 豊彦<sup>1)</sup>, 築館 一男<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>エーザイ株式会社 安全性研究所
- WS2-9 スルピリド投与によるラット雌性生殖器への影響 .....59  
 ○足立 民子<sup>1)</sup>, 岡田 味世子<sup>1)</sup>, 宇部 雅進<sup>1)</sup>, 石井 俊一郎<sup>1)</sup>, 佐野 文子<sup>1)</sup>, 杉本 次郎<sup>1)</sup>, 高木 司郎<sup>1)</sup>, 北村 和之<sup>1)</sup>, 務台 衛<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>田辺三菱製薬・安全性研

# 一般口演 I

第1日目 (1月27日) 9:20~10:25

中ホール

座長： 山手 丈至 (大阪府大・獣医病理)  
今井田克己 (香川大・腫瘍病理)

- O-1\* Tricinによる炎症関連大腸発がん抑制効果 .....62  
○尾山 武<sup>1)</sup>, 安井 由美子<sup>1)</sup>, 杉江 茂幸<sup>1)</sup>, 渡邊 邦友<sup>2)</sup>, 田中 卓二<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>金沢医科大学 腫瘍病理学,  
<sup>2)</sup>岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 嫌気性菌研究分野
- O-2\* Wnt pathwayによる大腸上皮細胞の増殖制御:  $\beta$ -catenin inducibleマウスによる検討 .....62  
○平田 暁大<sup>1)</sup>, 山田 泰広<sup>2)</sup>, 山下 聡<sup>3), 4)</sup>, 牛島 俊和<sup>4)</sup>, 原 明<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>岐阜大学生命科学総合支援センター動物実験分野, <sup>2)</sup>岐阜大学大学院医学系研究科  
腫瘍病理学分野, <sup>3)</sup>さきがけ・科学技術振興機構, <sup>4)</sup>国立がんセンター研究所  
発がん研究部
- O-3 ラット肝発がんプロモーションにより生じるGST-P陽性の変異肝細胞巣と腫瘍で  
特異的に発現変化を示すPTEN/Akt2経路分子とTGF $\beta$ 受容体 .....63  
○渋谷 淳<sup>1)</sup>, 谷合 枝里子<sup>1)</sup>, 出羽 康明<sup>2)</sup>, 西村 次平<sup>1)</sup>, 島 智美<sup>1)</sup>, 吾郷 恭平<sup>1)</sup>,  
高橋 美和<sup>2)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農工大学 獣医病理, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- O-4\* マウス肺扁平上皮がんにおける二段階発がんモデルの開発 .....63  
○多胡 善幸<sup>1)</sup>, 山野 荘太郎<sup>1)</sup>, 北野 光昭<sup>1)</sup>, 林 修次<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学
- O-5\* 片肺虚脱の試みによるマウス肺中期腫瘍モデルの作成と 胸膜中皮腫モデルへの可能性 .....64  
○横平 政直<sup>1)</sup>, 橋本 希<sup>1)</sup>, 鈴木 智<sup>1)</sup>, 竿尾 光祐<sup>2)</sup>, 久野 壽也<sup>1)</sup>, 今井田 克己<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>香川大学医学部腫瘍病理学, <sup>2)</sup>回生病院

## 一般口演Ⅱ

第2日目 (1月28日) 9:00~10:05

中ホール

座長： 西川 秋佳 (国立衛研・病理)  
原田 孝則 (残農研・毒性)

- O-6\* ニューロン発達指標を基軸とした不可逆的脳発達遅延評価法の確立 .....64  
 - Reelinの発現局在と海馬歯状回でのニューロン分布の解析の有効性-  
 ○三枝 由紀恵<sup>1)</sup>, 富士本 仁<sup>3)</sup>, 禹 桂炯<sup>3)</sup>, 川合 正臣<sup>1)</sup>, 松本 明<sup>1)</sup>, 金 美蘭<sup>1)</sup>,  
 広瀬 雅雄<sup>2)</sup>, 西川 秋佳<sup>3)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農工大学 獣医病理学研究室, <sup>2)</sup>内閣府 食品安全委員会,  
<sup>3)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- O-7\* 6-Mercaptopurine (6-MP)投与によるげっ歯類胎子の神経前駆細胞アポトーシス .....65  
 ○金光 弘幸<sup>1,2)</sup>, 山内 啓史<sup>2)</sup>, 小松 真彦<sup>1)</sup>, 山本 論<sup>1)</sup>, 岡崎 修三<sup>1)</sup>, 田村 一利<sup>1)</sup>,  
 内田 和幸<sup>2)</sup>, 中山 裕之<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>(株)ボゾリサーチセンター, <sup>2)</sup>東大・獣医病理
- O-8 メトキシクロル周産期暴露によるDNAメチル化異常をともなう前立腺肥大 .....65  
 ○武田 真記夫<sup>1)</sup>, 大塚 亮一<sup>1)</sup>, 林 宏一<sup>1)</sup>, 山口 悟<sup>1)</sup>, 高橋 尚史<sup>1)</sup>, 榎本 幸子<sup>1)</sup>, 桑原 真紀<sup>1)</sup>,  
 小坂 忠司<sup>1)</sup>, 青山 博昭<sup>1)</sup>, 原田 孝則<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>財団法人残留農薬研究所
- O-9 ナノサイズ二酸化チタニウムの肺と乳腺発がん促進作用とその機序の解析 .....66  
 ○徐 結苟<sup>1)</sup>, 二口 充<sup>1)</sup>, 飯郷 正明<sup>1)</sup>, 深町 勝巳<sup>1)</sup>, アレクサンダー ダビッド<sup>1)</sup>,  
 内野 正<sup>2)</sup>, 西村 哲治<sup>2)</sup>, 広瀬 明彦<sup>2)</sup>, 菅野 純<sup>2)</sup>, 徳永 裕司<sup>3)</sup>, 津田 洋幸<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>名古屋市立大学医学研究科, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所, <sup>3)</sup>医薬品医療機器総合機構
- O-10 ラットにおける多層カーボンナノチューブによる中皮腫の誘発 .....66  
 ○坂本 義光<sup>1)</sup>, 中江 大<sup>1)</sup>, 福森 信隆<sup>1)</sup>, 田山 邦昭<sup>1)</sup>, 前川 昭彦<sup>2)</sup>, 今井 清<sup>3)</sup>,  
 西村 哲治<sup>4)</sup>, 広瀬 明彦<sup>5)</sup>, 大橋 則雄<sup>1)</sup>, 小縣 昭夫<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京都健康安全研究センター, <sup>2)</sup>(独)製品評価技術基盤機構 化学物質管理センター,  
<sup>3)</sup>(財)食品農医薬品安全性評価センター, <sup>4)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部,  
<sup>5)</sup>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 総合評価研究室

ポスター発表・質疑 コングレスセンター3階31会議室

座長：古川 賢（日産化学・生科研）

（質疑 I 1月27日13:20～14:20）

- P-1\* テルプタリン単回内頸動脈投与で誘発されたラット小脳プルキンエ細胞の  
Dark cell degeneration様変化 .....68  
○山田 直明<sup>1)</sup>, 佐々木 啓<sup>2)</sup>, 黒滝 哲郎<sup>3)</sup>, 菅野 剛<sup>4)</sup>, 涌生 ゆみ<sup>5)</sup>, 飯田 昌敏<sup>6)</sup>, 土谷 稔<sup>7)</sup>  
<sup>1)</sup>三菱化学安全科学研究所・鹿島研究所
- P-2\* 幼弱動物の脳の発達に関する病理形態学的検索 .....68  
○高橋 尚史<sup>1)</sup>, 大沼 彩<sup>2)</sup>, 田島 悠<sup>3)</sup>, 樫本 幸子<sup>4)</sup>, 吉田 敏則<sup>5)</sup>, 桑原 真紀<sup>6)</sup>, 中島 信明<sup>7)</sup>,  
千葉 裕子<sup>8)</sup>, 原田 孝則<sup>9)</sup>  
<sup>1)</sup>財団法人 残留農薬研究所
- P-3\* Busulfanのラット新生仔小脳に及ぼす影響 .....69  
○安藤 亮<sup>1)</sup>, 大平 東子<sup>2)</sup>, 八幡 めぐみ<sup>3)</sup>, 西村 信雄<sup>4)</sup>, 中澤 朋美<sup>5)</sup>, 斎藤 翼<sup>6)</sup>, 藤田 麻里子<sup>7)</sup>,  
池崎 信一郎<sup>8)</sup>, 工藤 佳代子<sup>9)</sup>, 田村 一利<sup>10)</sup>  
<sup>1)</sup>(株) ボゾリサーチセンター
- P-4 Busulfanのラット胎仔中枢神経毒性に関する研究 .....69  
-アポトーシスと細胞増殖の経時的変化-  
○大平 東子<sup>1)</sup>, 安藤 亮<sup>2)</sup>, 山本 諭<sup>3)</sup>, 中村 憲彦<sup>4)</sup>, 小松 真彦<sup>5)</sup>, 中澤 朋美<sup>6)</sup>, 斎藤 翼<sup>7)</sup>,  
西原 香織<sup>8)</sup>, 田村 一利<sup>9)</sup>  
<sup>1)</sup>(株) ボゾリサーチセンター

座長：堤 雅弘（済生会中和病院・病理）

（質疑 I 1月27日13:20～14:20）

- P-5\* NTCU誘発マウス肺扁平上皮癌の経時的病理組織学的変化 .....70  
○山野 莊太郎<sup>1)</sup>, 梯 アンナ<sup>2)</sup>, 多胡 善幸<sup>3)</sup>, 魏 民<sup>4)</sup>, 陳 慶義<sup>5)</sup>, 鰐淵 英機<sup>6)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学
- P-6\* PCB126胎生期暴露ラットにおけるBHP誘発肺癌のERK及びER  $\alpha$ の発現 .....70  
○小林 康子<sup>1)</sup>, 武藤 朋子<sup>2)</sup>, 石田 憲太<sup>3)</sup>, 本橋 昌也<sup>4)</sup>, 今井 海<sup>5)</sup>, 保高 秀匡<sup>6)</sup>,  
和久井 信<sup>7)</sup>  
<sup>1)</sup>麻布大学比較毒性学研究室, <sup>2)</sup>財団法人化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所
- P-7 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)の経気管投与 .....71  
により誘発されたラット肺腫瘍の遺伝子異常についての検討  
○楠岡 修<sup>1)</sup>, 北橋 宗<sup>2)</sup>, 三井 雅之<sup>3)</sup>, 阪本 晃佳<sup>4)</sup>, 田村 一利<sup>5)</sup>, 辻内 俊文<sup>6)</sup>, 堤 雅弘<sup>7)</sup>  
<sup>1)</sup>(株)ボゾリサーチセンター, <sup>2)</sup>奈良医大 分子病理,  
<sup>3)</sup>国立がんセンター がん予防基礎研究, <sup>4)</sup>三重大学 創開研センター,  
<sup>5)</sup>近畿大学 理工 生命科学, <sup>6)</sup>済生会中和病院 病理部
- P-8 気管内注入と吸入曝露によるフラレーン(C60)のラット肺への影響 .....71  
○大神 明<sup>1)</sup>, 森本 泰夫<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>産業医科大学 産業生態科学研究所

- P-9\* Polyethylene glycol 400の反復経口投与で誘発されたラット胃のglobule leukocyte浸潤 ……………72  
○植田 芳英<sup>1)</sup>, 太田 泰史<sup>1)</sup>, 安井 雄三<sup>1)</sup>, 木原 亨<sup>1)</sup>, 長谷川 和成<sup>1)</sup>, 細井 理代<sup>1)</sup>, 宮島 留美子<sup>1)</sup>,  
志賀 敦史<sup>1)</sup>, 豊田 和弘<sup>1)</sup>, 今井 清<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>財団法人 食品農医薬品安全性評価センター
- P-10\* マウスN-methyl-N-nitrosourea誘発胃がんにおけるβ-cateninの変異とH.pylori感染 ……………72  
およびCOX-2発現が与える影響  
○高須 伸二<sup>1)</sup>, 塚本 徹哉<sup>1)</sup>, 曹 雪源<sup>1)</sup>, 豊田 武士<sup>1)</sup>, 時 亮<sup>1)</sup>, 山本 昌美<sup>1)</sup>, 酒井 洋樹<sup>2)</sup>,  
柳井 徳磨<sup>2)</sup>, 柵木 利昭<sup>2)</sup>, 大島 正伸<sup>3)</sup>, 立松 正衛<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部, <sup>2)</sup>岐阜大学 応用生物科学部 獣医病理,  
<sup>3)</sup>金沢大学がん研究所 腫瘍遺伝
- P-11\* *Helicobacter pylori* 感染動物モデルにおけるピタバスタチンの胃発癌 ……………73  
および血清脂質動態への影響  
○豊田 武士<sup>1)</sup>, 塚本 徹哉<sup>1)</sup>, 高須 伸二<sup>1)</sup>, 時 亮<sup>1)</sup>, 田中 卓二<sup>2)</sup>, 立松 正衛<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>愛知県がんセンター研究所腫瘍病理学部, <sup>2)</sup>金沢医大 腫瘍病理
- P-12\* Ephrin-A1はApcmin/+マウスの腫瘍悪性化を促進する ……………73  
○時 亮<sup>1)</sup>, 立松 正衛<sup>1)</sup>, 加藤 光保<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部, <sup>2)</sup>筑波大学人間総合科学 実験病理研究室

- P-13\* マウス肝二段階発がんモデルを用いたピペロニル・プトキサイドの肝発がん促進機序 ……………74  
についての分子病理学的解析  
○川合 正臣<sup>1,2)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1,2)</sup>, 出羽 康明<sup>1,2)</sup>, 金 美蘭<sup>3)</sup>, 西村 次平<sup>1,2)</sup>, 松本 明<sup>1,2)</sup>,  
渋谷 淳<sup>1)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農工大学・獣医病理, <sup>2)</sup>岐阜大学大学院・連合獣医,  
<sup>3)</sup>東京農工大学大学院・連合農学
- P-14\* ピペロニルプトキサイドのp53欠損gpt deltaマウスを用いたin vivo変異原性 ……………74  
○田崎 雅子<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>, 木島 綾希<sup>1)</sup>, 鈴木 裕太<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>,  
児玉 幸夫<sup>2)</sup>, 能美 健彦<sup>3)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 毒性部,  
<sup>3)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部,
- P-15\* F344 gpt delta ラット肝におけるDEN誘発in vivo変異原性ならびに前がん病変 ……………75  
に対するトコトリエノールの修飾効果  
○井上 知紀<sup>1)</sup>, 豊田 尚美<sup>2)</sup>, 田崎 雅子<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>, 増井 則夫<sup>3)</sup>,  
能美 健彦<sup>3)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所病理部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部
- P-16 合成平面型カテキンの反復投与毒性試験ならびに2-ニトロプロパン誘発酸化的DNA損傷 ……………75  
への修飾効果  
○梅村 隆志<sup>1)</sup>, 福原 潔<sup>2)</sup>, 木島 綾希<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>1)</sup>, 田崎 雅子<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>,  
鈴木 裕太<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所病理部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所有機化学部

- P-17\* アセトアミノフェン誘発肝障害における細胞間連絡能の役割： .....76  
 Connexin 32ドミナントネガティブトランスジェニックラットを用いた検討  
 ○内木 綾<sup>1)</sup>, 内木 拓<sup>2)</sup>, 朝元 誠人<sup>1)</sup>, 白井 智之<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学,  
<sup>2)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科腎泌尿器科学
- P-18\* ラットの薬物誘発性肝障害モデルにおけるHeat shock protein 25の発現 .....76  
 ○藤澤 可恵<sup>1)</sup>, 土屋 紀子<sup>1)</sup>, 増野 功一<sup>1)</sup>, 山本 絵美<sup>1)</sup>, 村井 隆<sup>1)</sup>, 丸山 敏之<sup>1)</sup>,  
 鳥井 幹則<sup>1)</sup>, 桑村 充<sup>2)</sup>, 山手 文至<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>塩野義製薬株式会社 新薬研究所, <sup>2)</sup>大阪府立大学 獣医病理
- P-19\* 高脂肪コリン欠乏アミノ酸食負荷KK-Ayマウスにおける非アルコール性脂肪肝炎(NASH) .....77  
 モデルの検討  
 ○押方 孝文<sup>1)</sup>, 隈部 志野<sup>1)</sup>, 中原 豊<sup>1)</sup>, 可徳 小四郎<sup>1)</sup>, 鎌先 恵美子<sup>1)</sup>, 満石 三喜男<sup>1)</sup>,  
 山口 浩美<sup>1)</sup>, 牛島 壮太<sup>1)</sup>, 浜村 政夫<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社三菱化学安全科学研究所 熊本研究所
- P-20 Quantitative Assessment of Adipophilin Immunohistochemistry in Rodent Model of .....77  
 Steatohepatitis.  
 ○W. Davis<sup>1)</sup>, T. Bergeron<sup>1)</sup>, S. Ryan<sup>2)</sup>, S. Potts<sup>3)</sup>, T. Johnson<sup>3)</sup>, O. Cornwall<sup>1)</sup> and R. Dunstan<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Comparative Pathology Laboratory - Preclinical and Clinical Development Sciences,  
<sup>2)</sup>Immuno Discovery Biology, Biogen Idec, <sup>3)</sup>Aperio

- P-21\* 糖尿病を早期発症させたWBN/Kobラットに対する片側腎摘出と高脂肪高シヨ糖食投与 .....78  
 による腎病変の増悪化の試み  
 ○佐藤 麻衣<sup>1)</sup>, 尾崎 清和<sup>1)</sup>, 佐野 智弥<sup>1)</sup>, 松浦 哲郎<sup>1)</sup>, 奈良間 功<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>摂南大学 薬学部 病理学研究室
- P-22\* SCGマウス半月体形成糸球体腎炎における免疫組織学的検討 .....78  
 ○林 仁美<sup>1)</sup>, 市村 英資<sup>1)</sup>, 長井 大地<sup>1)</sup>, 樋渡 卓郎<sup>2)</sup>, 雑賀 寛<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>日本化薬株式会社 医薬研究所 安全性チーム, <sup>2)</sup>日本化薬株式会社 医薬研究所  
 動物管理チーム, <sup>3)</sup>日本化薬株式会社 医薬研究所 評価第2チーム
- P-23\* ラットのリン酸水溶液誘発ネフローゼ症候群 .....79  
 ○土屋 紀子<sup>1)</sup>, 藤澤 可恵<sup>1)</sup>, 増野 功一<sup>1)</sup>, 山本 絵美<sup>1)</sup>, 村井 隆<sup>1)</sup>, 丸山 敏之<sup>1)</sup>,  
 鳥井 幹則<sup>1)</sup>, 奈良間 功<sup>2)</sup>, 松井 高峯<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>塩野義製薬株式会社 新薬研究所, <sup>2)</sup>摂南大学 薬学部 病理学研究室,  
<sup>3)</sup>帯広畜産大学 獣医・病理
- P-24\* ニバレノール短期間投与による遺伝性ネフローゼモデルマウスの腎病変に及ぼす影響 .....79  
 ○井上 薫<sup>1)</sup>, 吉田 緑<sup>1)</sup>, 高橋 美和<sup>1)</sup>, 小西 良子<sup>2)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部

P-25	正常性周期におけるラット卵巣の形態学的特徴 ○吉田 緑 <sup>1)</sup> , 井上 薫 <sup>1)</sup> , 高橋 美和 <sup>1)</sup> , 西川 秋佳 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所	……………80
P-26 *	GALASラットの性周期に伴う卵巣の形態学的変化について -SDラットとの比較- ○能登 貴久 <sup>1)</sup> , 坪田 健次郎 <sup>1)</sup> , 竹内 文乃 <sup>1)</sup> , 小野 美穂子 <sup>1)</sup> , 梶川 悟 <sup>1)</sup> , 義澤 克彦 <sup>1)</sup> , 仲辻 俊二 <sup>1)</sup> , 大石 裕司 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室	……………80
P-27 *	卵巣毒性検出のための共同研究 - Bromocriptineのラット2週間或いは 4週間反復投与による雌受胎能に対する影響 - ○石黒 司 <sup>1)</sup> , 中島 淳志 <sup>1)</sup> , 朱 久新 <sup>1)</sup> , 棚治 隆史 <sup>1)</sup> , 原田 聡子 <sup>1)</sup> , 早坂 郁夫 <sup>1)</sup> , 田川 義章 <sup>1)</sup> , 熊澤 俊彦 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 株式会社 三和化学研究所	……………81
P-28 *	雌ラットを用いたアトラジンの2週間および4週間反復経口投与毒性試験における 卵巣の病理学的変化 ○小寺 喬 <sup>1)</sup> , 柴山 寛司 <sup>1)</sup> , 上田 誠 <sup>1)</sup> , 古賀 真昭 <sup>1)</sup> , 山下 康弘 <sup>1)</sup> , 越智 誠支 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 日本新薬(株)	……………81

P-29 *	Di (2-ethylhexyl) adipate (DEHA) 短期経口反復投与によるラット卵巣における 病理組織学的変化 ○朝日山 壮登 <sup>1)</sup> , 香川 雅孝 <sup>1)</sup> , 西村 次平 <sup>1)</sup> , 和藤 英司 <sup>1)</sup> , 遠藤 悦美 <sup>1)</sup> , 船生 志乃 <sup>1)</sup> , 鈴木 愛 <sup>1)</sup> , 天野 幸紀 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 興和株式会社 富士研究所 安全性研究部	……………82
P-30 *	ラットにおける新規PPAR $\alpha/\gamma$ dual agonist投与による卵巣毒性 ○内田 圭祐 <sup>1)</sup> , 佐藤 則博 <sup>1)</sup> , 中島 幹夫 <sup>1)</sup> , 渡邊 厚 <sup>1)</sup> , 小平 輝朋 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 旭化成ファーマ株式会社 医薬研究センター 安全性・動態研究部	……………82
P-31 *	卵巣毒性共同研究-雌ラットにおけるタモキシフェンの2週間あるいは4週間反復投与 毒性試験と受胎能試験の比較- ○辻岡 繁春 <sup>1)</sup> , 坂 芳樹 <sup>1)</sup> , Wise David <sup>2)</sup> , 土屋 毅幸 <sup>1)</sup> , 松江 健太 <sup>1)</sup> , 佐藤 崇裕 <sup>1)</sup> , 佐々木 稔 <sup>1)</sup> , 錦邊 優 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 万有製薬 安全性研究所, <sup>2)</sup> MRL, Safety Assessment Laboratories	……………83
P-32 *	フタル酸エステル反復投与によるラット卵巣の病理組織学的変化 ○宗心 知美 <sup>1)</sup> , 林 修次 <sup>1)</sup> , 松尾 沙織里 <sup>1)</sup> , 高井 了 <sup>1)</sup> , 岩田 良香 <sup>1)</sup> , 清川 順平 <sup>1)</sup> , 溝口 啓二 <sup>1)</sup> , 三好 昌夫 <sup>1)</sup> , 加藤 淳彦 <sup>1)</sup> , 鈴木 雅実 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 中外製薬株式会社 安全性研究部	……………83

## 座長：佐藤 洋（イナリサーチ）

（質疑 I 1月27日13:20～14:20）

- P-33\* カニクイザル下垂体前葉におけるホルモン分泌細胞の分布－免疫組織学的検索－ ……………84  
 ○爰島 洋子<sup>1)</sup>, 佐藤 順子<sup>1)</sup>, 友成 由紀<sup>1)</sup>, 土居 卓也<sup>1)</sup>, 佐々木 啓<sup>1)</sup>, 高橋 一彰<sup>1)</sup>, 土谷 稔<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社三菱化学安全科学研究所
- P-34\* ラット甲状腺二段階発がんモデルにおいてSulfadimethoxineのプロモーション作用 ……………84  
 により高率に形成される被膜浸潤がんに対するCalcitriolの抗腫瘍効果の検討  
 ○松本 明<sup>1)</sup>, 富士本 仁<sup>2)</sup>, 川合 正臣<sup>1)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1)</sup>, 金 美蘭<sup>1)</sup>, 井上 薫<sup>2)</sup>,  
 高橋 美和<sup>2)</sup>, 広瀬 雅雄<sup>3)</sup>, 西川 秋佳<sup>2)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農工大学農学部獣医学科獣医病理学研究室, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・病理部,  
<sup>3)</sup>食品安全委員会
- P-35\* Zuckerラットの遺伝子型による血清生化学/組織学的特性 ……………85  
 ○曹 永晩<sup>1)</sup>, 今井 俊夫<sup>1)</sup>, 高見 成昭<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- P-36 ラットにおけるレプチン受容体遺伝子の異常と乳腺発がん ……………85  
 ○今井 俊夫<sup>1)</sup>, 曹 永晩<sup>1)</sup>, 高見 成昭<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部

## 座長：務台 衛（田辺三菱製薬・安全性研）

（質疑 I 1月27日13:20～14:20）

- P-37\* 局所刺激性試験（反復投与試験）における投与方法と局所反応に関する検討 ……………86  
 ○石澤 由希<sup>1)</sup>, 富田 里美<sup>1)</sup>, 新屋 希子<sup>1)</sup>, 清川 見香<sup>1)</sup>, 松井 元<sup>1)</sup>, 志垣 隆通<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>財団法人 化学及血清療法研究所
- P-38\* 生理食塩液のラット無麻酔下における28日間経気道反復投与毒性試験の基礎的検討 ……………86  
 ○小川 三由紀<sup>1)</sup>, 古川 文夫<sup>1)</sup>, 萩原 昭裕<sup>1)</sup>, 中島 弘尚<sup>1)</sup>, 南部 智美<sup>1)</sup>, 山岡 可奈子<sup>1)</sup>,  
 内ヶ島 由加理<sup>1)</sup>, 玉野 静光<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社DIMS医科学研究所
- P-39\* gpt delta transgenic ratを用いた構造異性体2,4-DAT、2,6-DATの遺伝毒性解析 ……………87  
 ○豊田 尚美<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>2)</sup>, 増村 健一<sup>1)</sup>, 林 宏行<sup>3)</sup>, 川村 祐司<sup>3)</sup>, 倉田 靖<sup>3)</sup>,  
 梅村 隆志<sup>3)</sup>, 西川 秋佳<sup>2)</sup>, 能美 健彦<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・病理部,  
<sup>3)</sup>明治製菓株式会社
- P-40 転移能の異なるラット肝細胞癌細胞株を用いた肺と肝における転移機序の検討 ……………87  
 ○小川 久美子<sup>1)</sup>, 朝元 誠人<sup>1)</sup>, 佐藤 慎哉<sup>1)</sup>, 鈴木 周五<sup>1)</sup>, 高橋 智<sup>1)</sup>, 白井 智之<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学

座長：渋谷 淳（東京農工大・獣医病理）

（質疑 I 1月27日13:20～14:20）

- P-41\* マウス肝発がんにおけるプロテオームおよびバイオマーカー解析 .....88  
○梯 アンナ<sup>1)</sup>, 石井 真美<sup>1)</sup>, 山野 莊太郎<sup>1)</sup>, 魏 民<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学
- P-42 ラット膵管癌モデル血清を用いたメタボローム解析 .....88  
○宮田 かおり<sup>1)</sup>, 藪下 晴津子<sup>1)</sup>, 菊地 文健<sup>1)</sup>, 申田 昌彦<sup>1)</sup>, 福田 貴子<sup>1)</sup>, 羽子田 真理<sup>1)</sup>,  
味方 和樹<sup>1)</sup>, 中山 由美子<sup>1)</sup>, 宇和川 賢<sup>1)</sup>, 西岡 和彦<sup>1)</sup>, 深町 勝巳<sup>2)</sup>, 津田 洋幸<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>住友化学株式会社, <sup>2)</sup>名古屋市大分子毒性
- P-43\* Using ToxWiz to explore the effects of WY14643, RU486, and Phenobarbital on  
nuclear receptors .....89  
Gordana Apic<sup>1)</sup>, Frank Bonner<sup>1)</sup>, ○青木 桜<sup>2)</sup>, Bojana Cosovic<sup>1)</sup>, Robert B Russell<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>Cambridge Cell Networks Ltd, <sup>2)</sup>CTCラボラトリーシステムズ,  
<sup>3)</sup>The European Molecular Biology Laboratory
- P-44\* LipopolysaccharideとRanitidine併用により増悪される肝障害のメカニズム解析 .....89  
○清澤 直樹<sup>1)</sup>, 安藤 洋介<sup>1)</sup>, 伊藤 和美<sup>1)</sup>, 熊谷 和善<sup>1)</sup>, 青木 桜<sup>2)</sup>, 瀧野 望<sup>2)</sup>,  
中野 暢也<sup>2)</sup>, 寺西 宗広<sup>2)</sup>, 矢本 敬<sup>2)</sup>, 真鍋 淳<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>第一三共株式会社・安全性研究所, <sup>2)</sup>CTCラボラトリーシステムズ株式会社

座長：豊沢 かおる（大日本住友・病理）

（質疑 I 1月27日13:20～14:20）

- P-45\* 老齢ラットの腹腔内にみられた自然発生性骨外性骨肉腫 .....90  
○長谷川 也須子<sup>1)</sup>, 渋谷 一元<sup>1)</sup>, 大嶋 篤<sup>1)</sup>, 兼田 直人<sup>1)</sup>, 山下 龍<sup>1)</sup>, 上塚 浩司<sup>1)</sup>, 布谷 鉄夫<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>財団法人日本生物科学研究所
- P-46\* 糖尿病モデルのビーグル犬にみられた気腫性膀胱炎 .....90  
○松尾 沙織里<sup>1)</sup>, 林 修次<sup>1)</sup>, 宗心 知美<sup>1)</sup>, 足立 健児<sup>1)</sup>, 三好 昌夫<sup>1)</sup>, 加藤 淳彦<sup>1)</sup>, 鈴木 雅実<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>中外製薬株式会社
- P-47\* 犬の胸腺腫に出現する肥満細胞の特徴 .....91  
○井澤 武史<sup>1)</sup>, 桑村 充<sup>1)</sup>, 山手 文至<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪府立大学 獣医病理学教室

座長：土屋 稔（三菱化学安科研）

（質疑 I 1月27日13:20～14:20）

- P-48 イヌの大腿部に発生した粘液型脂肪肉腫 .....91  
○桑村 充<sup>1)</sup>, 村井 文<sup>1)</sup>, 藤澤 可恵<sup>1)</sup>, 大橋 文人<sup>2)</sup>, 山手 文至<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪府立大学獣医病理, <sup>2)</sup>大阪府立大学獣医外科
- P-49\* カニクイザルにみられた自然発生性動脈炎 .....92  
○石村美祐<sup>1)</sup>, Richard H. Cardy<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>武田薬品工業株式会社 開発研究センター, <sup>2)</sup>Covance Laboratories Inc.
- P-50\* カニクイザルにみられた肝臓の限局性増殖性病変 .....92  
○藤島 純子<sup>1)</sup>, 佐竹 茂<sup>1)</sup>, 平川 公昭<sup>1)</sup>, 前田 博<sup>1)</sup>, 千早 豊<sup>1)</sup>, 永岡 隆晴<sup>1)</sup>, 楊 秀英<sup>1)</sup>,  
上村 裕洋<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社 新日本科学

- P-51\* カニクイザルの小腸にみられた杯細胞過形成及び筋層肥厚の1例 .....93  
 ○村上 雄一<sup>1)</sup>, 岡崎 欣正<sup>2)</sup>, 梶川 悟<sup>2)</sup>, 藤平 司郎<sup>2)</sup>, 能登 貴久<sup>2)</sup>, 義澤 克彦<sup>2)</sup>, 仲辻 俊二<sup>2)</sup>,  
 大石 裕司<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室
- P-52\* カニクイザルにみられた甲状腺濾胞上皮細胞の空胞変性に関する病態生理学的検討 .....93  
 ○畠山 洋文<sup>1)</sup>, 武井 由弘<sup>1)</sup>, 佐脇 正邦<sup>2)</sup>, 佐藤 洋<sup>2)</sup>, 小泉 治子<sup>2)</sup>, 渡辺 満利<sup>2)</sup>,  
 下井 昭仁<sup>2)</sup>, 野村 護<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社 イナリサーチ 試験研究センター病理部,  
<sup>2)</sup>株式会社 イナリサーチ 試験研究センター
- P-53 Gaucher病を疑うカニクイザルの1例 .....94  
 ○江田 景<sup>1)</sup>, 小林 吉彦<sup>1)</sup>, 楯 美樹<sup>1)</sup>, 楯野 恵美子<sup>1)</sup>, 蛭間 正巳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社 富士バイオメディックス小淵沢総合研究所

- P-54\* 塩酸セミカルバジドのB6C3F1マウスにおける90日間反復投与毒性 .....94  
 ○高見 成昭<sup>1)</sup>, 今井 俊夫<sup>1)</sup>, 菅 永暁<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・病理部
- P-55\* L-メチオニン過剰摂取の影響評価：ホモシステイン過剰との毒性比較 .....95  
 ○陳 慶義<sup>1)</sup>, 東江 咲乃<sup>1)</sup>, 松本 英希<sup>1)</sup>, 河又 康子<sup>1)</sup>, 坂井 良成<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>味の素株式会社ライフサイエンス研究所
- P-56\* スギナ (*Equisetum arvense* L.) の90日間反復投与毒性試験 .....95  
 ○大西 真里子<sup>1)</sup>, 多胡 善幸<sup>1)</sup>, 串田 昌彦<sup>1)</sup>, 森 聖<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学
- P-57 Fischer 344ラットによるL-セリンの90日間反復経口投与毒性試験 .....96  
 ○多田 幸恵<sup>1)</sup>, 矢野 範男<sup>1)</sup>, 高橋 博<sup>1)</sup>, 湯澤 勝廣<sup>1)</sup>, 安藤 弘<sup>1)</sup>, 久保 喜一<sup>1)</sup>, 長澤 明道<sup>1)</sup>,  
 大橋 則雄<sup>1)</sup>, 小縣 昭夫<sup>1)</sup>, 中江 大<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京都健康安全研究センター

- P-58\* 5-Fluorouracilにより誘発されたラット胎児の脳におけるアポトーシス及び細胞増殖活性の経時的変化について .....96  
 ○福永 八千代<sup>1)</sup>, 山口 裕子<sup>1)</sup>, 高木 みづほ<sup>1)</sup>, 松島 圭太<sup>1)</sup>, 蒲 雄一<sup>1)</sup>, 田村 一利<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社ボゾリサーチセンター
- P-59 胎生期バルプロ酸曝露動物における胎児脳評価 .....97  
 ○桑形 麻樹子<sup>1)</sup>, 小川 哲郎<sup>2)</sup>, 白見 憲司<sup>1)</sup>, 熊谷 文明<sup>1)</sup>, 斉藤 義明<sup>1)</sup>, 塩田 清二<sup>3)</sup>, 永田 伴子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>(財)食品薬品安全センター秦野研究所, <sup>2)</sup>昭和大学医学部アンチエイジング医学, <sup>3)</sup>昭和大学医学部第一解剖
- P-60 MeIQx投与後長期飼育におけるF344ラットの心臓病変 .....97  
 ○杉江 茂幸<sup>1)</sup>, 尾山 武<sup>1)</sup>, 安井 由美子<sup>1)</sup>, 田中 卓二<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>金沢医科大学医学部腫瘍病理
- P-61\* カニクイザルの薬物誘発性心筋障害における抗心筋トロポニン抗体を用いた免疫組織学的検査の有用性 .....98  
 ○古川 知宏<sup>1)</sup>, 蓑毛 博文<sup>1)</sup>, 内野 博志<sup>1)</sup>, 門倉 豪臣<sup>1)</sup>, 中間 和浩<sup>1)</sup>, 上村 裕洋<sup>1)</sup>, 前田 博<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社 新日本科学

- P-62\* Induction of MCP-1/CCR2 and oxidative stress in arsenate (As) and hexavalent chromium (Cr)-induced pulmonary inflammation and remodeling .....98  
 ○田島 悠<sup>1)</sup>, 大沼 彩<sup>1)</sup>, 吉田 敏則<sup>1)</sup>, 福山 朋季<sup>1)</sup>, 高橋 尚史<sup>1)</sup>, 榎本 幸子<sup>1)</sup>, 桑原 真紀<sup>1)</sup>, 小坂 忠司<sup>1)</sup>, 中島 信明<sup>1)</sup>, 原田 孝則<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>財団法人 残留農薬研究所
- P-63\* 気管内投与によるCuOナノサイズ粒子の急性変化の検討 .....99  
 -マイクロサイズ粒子との比較による-  
 ○橋本 希<sup>1)</sup>, 横平 政直<sup>1)</sup>, 山川 けいこ<sup>1)</sup>, 鈴木 智<sup>1)</sup>, 竿尾 光祐<sup>2)</sup>, 久野 壽也<sup>1)</sup>, 今井田 克己<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>香川大学医学部腫瘍病理学, <sup>2)</sup>総合病院 回生病院
- P-64\* フラーレン (C60) の肺発がん促進作用 .....99  
 ○深町 勝巳<sup>1)</sup>, 徐 結荷<sup>1)</sup>, 二口 充<sup>1)</sup>, 飯郷 正明<sup>1)</sup>, 津田 洋幸<sup>1)</sup>, 井上 義之<sup>2)</sup>, 高月 峰夫<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科, <sup>2)</sup>化学物質評価研究機構
- P-65\* 塩化ジデシルジメチルアンモニウム (DDAC) 気管内投与によるLactoferrin, Surfactant proteinおよび $\beta$ -defensin mRNAの発現変化 ..... 100  
 ○大沼 彩<sup>1)</sup>, 田島 悠<sup>1)</sup>, 吉田 敏則<sup>1)</sup>, 山口 悟<sup>1)</sup>, 大塚 亮一<sup>1)</sup>, 武田 眞記夫<sup>1)</sup>, 高橋 尚史<sup>1)</sup>, 榎本 幸子<sup>1)</sup>, 桑原 真紀<sup>1)</sup>, 中島 信明<sup>1)</sup>, 原田 孝則<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>財団法人 残留農薬研究所

- P-66\* MeIQx誘発*gpt delta*マウス大腸の*in vivo*変異原性ならびに発がん性に対する慢性炎症の影響について .....100  
 ○岡村 俊也<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>2)</sup>, 井上 知紀<sup>3)</sup>, 田崎 雅子<sup>1)</sup>, 鈴木 裕太<sup>2)</sup>, 児玉 幸夫<sup>2)</sup>, 能美 健彦<sup>3)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立衛研 病理部, <sup>2)</sup>国立衛研 毒性部, <sup>3)</sup>国立衛研 変異遺伝部
- P-67 糖尿病モデルラットにおける発がんリスクの検討 .....101  
 ○泉 啓介<sup>1)</sup>, 高橋 徹行<sup>1)</sup>, Hafez Ezar<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部環境病理学分野
- P-68\* Serine Palmityl Transferase (SPT)コンディショナルノックアウトマウスに認められた病変の形成過程に関する検索 .....101  
 ○太田 恵津子<sup>1)</sup>, 大平 隆史<sup>1)</sup>, 松江 健太<sup>1)</sup>, 池田 結花<sup>2)</sup>, 藤井 健司<sup>3)</sup>, 大脇 健二<sup>4)</sup>, 大須賀 壮<sup>4)</sup>, 平林 義雄<sup>4)</sup>, 佐々木 稔<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>万有製薬株式会社 安全性研究所, <sup>2)</sup>つくば研究所 代謝性疾患領域研究部, <sup>3)</sup>つくば研究所 薬理研究部, <sup>4)</sup>理化学研究所 脳科学総合研究センター
- P-69\* アロキサン誘発糖尿病ラットの膵腺房細胞における巨大ミトコンドリア .....102  
 ○佐野 智弥<sup>1)</sup>, 尾崎 清和<sup>1)</sup>, 児玉 安史<sup>2)</sup>, 松浦 哲郎<sup>1)</sup>, 奈良間 功<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>摂南大学 薬学部 病理学研究室, <sup>2)</sup>広島国際大学 薬学部 毒性薬理学研究室

- P-70\* Oxfendazoleのラットにおける肝発がんプロモーション作用に対する酵素処理イソクエルシトリン或いはメラトニンの修飾作用 .....102  
 ○西村 次平<sup>1)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1)</sup>, 出羽 康明<sup>1)</sup>, 金 美蘭<sup>1)</sup>, 川合 正臣<sup>1)</sup>, 松本 明<sup>1)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農工大・獣医病理
- P-71\* ヘテロサイクリックアミンPhIPのマウス肝イニシエーション作用の検討 .....103  
 ○黒岩 有一<sup>1)</sup>, 田崎 雅子<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- P-72\* CYP1A誘導剤によるラット肝発癌促進作用及びその発癌促進過程におけるヒストン脱アセチル化酵素の発現について .....103  
 ○出羽 康明<sup>1,2)</sup>, 金 美蘭<sup>1,3)</sup>, 川合 正臣<sup>1,2)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1,2)</sup>, 西村 次平<sup>1,2)</sup>, 松本 明<sup>1,2)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農工大学農学部獣医学科獣医病理学研究室, <sup>2)</sup>岐阜大学大学院連合獣医学研究科, <sup>3)</sup>東京農工大学大学院連合農学研究科
- P-73 N,N-Dimethylformamideの吸入曝露と飲水投与における肝臓病変の比較 .....104  
 ○妹尾 英樹<sup>1)</sup>, 梅田 ゆみ<sup>1)</sup>, 片桐 卓<sup>1)</sup>, 相磯 成敏<sup>1)</sup>, 長野 嘉介<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター

- P-74\* diheptyl phthalate (DHP)のラットの肝臓におけるin vivo遺伝毒性および  
28日間反復投与毒性試験 .....104  
○金 美蘭<sup>1)</sup>, 川合 正臣<sup>1)</sup>, 出羽 康明<sup>1)</sup>, 西村 次平<sup>1)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1)</sup>, 松本 明<sup>1)</sup>,  
渋谷 淳<sup>1)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農工大学獣医病理
- P-75 化学物質による肝肥大の毒性指標としての性ホルモン受容体発現の検討 .....105  
○藤本 成明<sup>1)</sup>, 吉田 緑<sup>2)</sup>, 西川 秋佳<sup>2)</sup>, 根本 清光<sup>3)</sup>, 出川 雅邦<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>広島大学原爆放射線医科学研究所, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所, <sup>3)</sup>静岡県立大学
- P-76\* 4週齢ラットを用いた中期イニシエーション活性検索法の有用性 .....105  
○浅岡 由次<sup>1),2)</sup>, 酒井 洋樹<sup>3)</sup>, 平田 暁大<sup>4)</sup>, 佐々木 淳<sup>5)</sup>, 御領 政信<sup>2),5)</sup>,  
柳井 徳磨<sup>2),3)</sup>, 柵木 利昭<sup>2),3)</sup>, 岡田 幸助<sup>2),5)</sup>  
<sup>1)</sup>東レ・医薬研究所, <sup>2)</sup>岐阜大大学院・連合獣医, <sup>3)</sup>岐阜大・獣医病理,  
<sup>4)</sup>岐阜大・生命科学総合研究支援センター, <sup>5)</sup>岩手大・獣医病理

- P-77\* 17βエストラジオールを混餌投与したニホンウズラに認められた腎糸球体病変 .....106  
○山下 龍<sup>1)</sup>, 兼田 直人<sup>1)</sup>, 大嶋 篤<sup>1)</sup>, 長谷川 也須子<sup>1)</sup>, 渋谷 一元<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>財団法人 日本生物科学研究所
- P-78\* アカネ色素ラット腎発がん過程に関与する色素成分の検索 .....106  
○石井 雄二<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>, 田崎 雅子<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>1)</sup>, 増井 則夫<sup>2)</sup>, 福原 潔<sup>3)</sup>,  
能美 健彦<sup>4)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・病理部, <sup>2)</sup>(株)日本エスエルシー,  
<sup>3)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・有機化学部, <sup>4)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部
- P-79 胎児、こどもにおける放射線誘発腎臓腫瘍の被ばく時年齢依存性の検討 .....107  
○小久保 年章<sup>1),2)</sup>, 柿沼 志津子<sup>1)</sup>, 西川 哲<sup>1)</sup>, 島田 義也<sup>1)</sup>, 樋野 興夫<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>放射線医学総合研究所, <sup>2)</sup>順天堂大学
- P-80\* コリンエステラーゼ阻害剤の膀胱平滑筋に対する影響 .....107  
○高井 有一<sup>1)</sup>, 穴山 久志<sup>1)</sup>, 乾 直美<sup>1)</sup>, 古川 初江<sup>1)</sup>, 神田 一男<sup>1)</sup>, 福田 良<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>武田薬品工業株式会社

P-81	Sprague-Dawley ラットの精巣に認められたSertoli-Leydig 細胞腫 ○和久井 信 <sup>1)</sup> , 石田 憲太 <sup>1)</sup> , 本橋 昌也 <sup>1)</sup> , 保高 秀匡 <sup>1)</sup> , 今井 海 <sup>1)</sup> , 小林 康子 <sup>1)</sup> , 武藤 朋子 <sup>2)</sup> <sup>1)</sup> 麻布大・獣・比較毒性学, <sup>2)</sup> 財団法人化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所	……………108
P-82*	TGF $\beta$ 阻害剤Tranilastはヒト前立腺癌細胞株の細胞増殖を抑制する ○佐藤 慎哉 <sup>1)</sup> , 高橋 智 <sup>1)</sup> , 内木 綾 <sup>1)</sup> , 小川 久美子 <sup>1)</sup> , 白井 智之 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学	……………108
P-83	TRAPラットのの前立腺癌の去勢による退縮とテストステロン再負荷による腫瘍発生 ○高橋 智 <sup>1,2)</sup> , 佐藤 慎哉 <sup>1)</sup> , 小宮 雅美 <sup>1)</sup> , 小川 久美子 <sup>1)</sup> , 白井 智之 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学, <sup>2)</sup> 名古屋市立大学病院・病理部	……………109
P-84	ラット前立腺癌モデル(TRAP)由来細胞株の樹立とその性質 ○朝元 誠人 <sup>1)</sup> , 内木 拓 <sup>2)</sup> , 神田 千恵 <sup>1)</sup> , 内木 綾 <sup>1)</sup> , 白井 智之 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学, <sup>2)</sup> 名古屋市立大学大学院医学研究科腎・泌尿器科学	……………109

P-85*	卵巣および子宮における血管およびリンパ管の動態解析 ○木原 亨 <sup>1)</sup> , 太田 泰史 <sup>1)</sup> , 植田 芳英 <sup>1)</sup> , 安井 雄三 <sup>1)</sup> , 長谷川 和成 <sup>1)</sup> , 細井 理代 <sup>1)</sup> , 宮島 留美子 <sup>1)</sup> , 志賀 敦史 <sup>1)</sup> , 豊田 和弘 <sup>1)</sup> , 今井 清 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 安評センター	……………110
P-86*	スルピリド投与によるラット雌性生殖器および下垂体への影響 ○岡田 味世子 <sup>1)</sup> , 足立 民子 <sup>1)</sup> , 宇部 雅進 <sup>1)</sup> , 石井 俊一郎 <sup>1)</sup> , 佐野 文子 <sup>1)</sup> , 杉本 次郎 <sup>1)</sup> , 北村 和之 <sup>1)</sup> , 高木 司郎 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 田辺三菱製薬株式会社 安全性研究所	……………110
P-87*	乳腺および子宮発がんにおけるイソフラボンアグリコンの修飾作用 ○則座 由依 <sup>1)</sup> , 梯 アンナ <sup>1)</sup> , 多胡 善幸 <sup>1)</sup> , 吉田 緑 <sup>2)</sup> , 鰐淵 英機 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学, <sup>2)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所	……………111
P-88*	カニタイザル卵巣におけるAberrant corpus luteumについての組織学的検索 ○橋本 知水 <sup>1)</sup> , 佐藤 順子 <sup>1)</sup> , 爰島 洋子 <sup>1)</sup> , 小谷 百合 <sup>1)</sup> , 土谷 稔 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 三菱化学安全科学研究所・鹿島	……………111

- P-89\* ダニ抗原含有軟膏反復塗布により発症したNC/Ngaマウス皮膚炎病変の経日的変化の解析 .....112  
 ○今泉 美波<sup>1)</sup>, 高場 克己<sup>1)</sup>, 佐伯 幸司<sup>1)</sup>, 木本 直哉<sup>1)</sup>, 高田 千絵<sup>1)</sup>, 竹田 剛<sup>1)</sup>, 鈴木 一生<sup>1)</sup>,  
 原田 大輔<sup>1)</sup>, 伊奈 康博<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>協和発酵キリン株式会社
- P-90 Dysferlinを欠損するS/JLおよびA/Jマウスにおける骨格筋病変の分布と病態解析 .....112  
 ○小林 欣滋<sup>1)</sup>, 山手 丈至<sup>1)</sup>, 井澤 武史<sup>1)</sup>, 桑村 充<sup>1)</sup>, 小谷 猛夫<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻
- P-91\* ラットの創傷治癒過程におけるマクロファージ、筋線維芽細胞及びガレクチン3発現細胞の役割 .....113  
 ○ジュニアンテイト ベトニザ<sup>1)</sup>, 井澤 武史<sup>1)</sup>, 山本 絵美<sup>1)</sup>, 桑村 充<sup>1)</sup>, 小谷 猛夫<sup>1)</sup>, 山手 丈至<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪府大・獣医病理
- P-92\* 各種アジュバント成分により惹起される投与局所反応に関する病理組織学的検討 .....113  
 ○富田 里美<sup>1)</sup>, 石澤 由希<sup>1)</sup>, 新屋 希子<sup>1)</sup>, 清川 見香<sup>1)</sup>, 松井 元<sup>1)</sup>, 志垣 隆通<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>財団法人 化学及血清療法研究所 病理部

- P-93\* 糖尿病と発がんの関係 ～ZDFラットを用いた検討～ .....114  
 ○石井 真美<sup>1)</sup>, 魏 民<sup>1)</sup>, 梯 アンナ<sup>1)</sup>, 土井 賢一郎<sup>1)</sup>, 蟹江 尚平<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学
- P-94 正常ラット胎盤におけるメタロチオネイン発現の経時的変化 .....114  
 ○古川 賢<sup>1)</sup>, 白田 浩二<sup>1)</sup>, 阿部 正義<sup>1)</sup>, 林 清吾<sup>1)</sup>, 小川 いづみ<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>日産化学工業株式会社 生物科学研究所 安全性研究部
- P-95\* カニクイザル(Cynomolgus Monkey)コラーゲン誘発性関節炎モデルにおける骨格筋の病理組織学的検討 .....115  
 ○松田 みゆき<sup>1)</sup>, 児玉 倫哉<sup>1)</sup>, 寶来 直人<sup>1)</sup>, 上村 裕洋<sup>1)</sup>, 永岡 隆晴<sup>1)</sup>, 樋口 逸郎<sup>2)</sup>,  
 阿邊山 和浩<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社 新日本科学, <sup>2)</sup>鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経病学講座,  
<sup>3)</sup>鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 臨床予防医療（新日本科学）講座
- P-96\* ラットにおける骨毒性の病理組織学的検討 .....115  
 ○野口 ちひろ<sup>1)</sup>, 宮田 裕人<sup>1)</sup>, 佐藤 靖<sup>1)</sup>, 岩城 理進<sup>1)</sup>, 奥山 茂<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大正製薬株式会社 安全性・動態研究所

座長：福田 良（武田薬品 開発研究センター） （質疑Ⅱ 1月28日13:15～14:15）

P-97	全デジタルスライドのGLP・ERES戦略 ○西口 礼子 <sup>1)</sup> , ポッツ スティーブ <sup>1)</sup> , ダンストン ロバート <sup>2)</sup> <sup>1)</sup> アペリオ テクノロジース, <sup>2)</sup> バイオジェン アイダック社	……………116
P-98*	ラット甲状腺二段階発がんモデルのMMP活性の <i>in vivo</i> 蛍光イメージング ○恩田 伸彦 <sup>1)</sup> , 松本 明 <sup>2)</sup> , 堀 邦夫 <sup>1)</sup> , 三森 国敏 <sup>2)</sup> , 渋谷 淳 <sup>2)</sup> <sup>1)</sup> オリンパス株式会社, <sup>2)</sup> 東京農工大学・獣医病理	……………116
P-99	Whole Slide Image Analysis With Histology Pattern Recognition On Common Toxicological Problems ○Frank Voelker <sup>1)</sup> , S. Potts <sup>2)</sup> <sup>1)</sup> Pathology Experts, <sup>2)</sup> LLC1, Aperio	……………117

座長：岩田 聖（ハーランラボラトリーズ(株)・病理） （質疑Ⅱ 1月28日13:15～14:15）

P-100*	CrI:CD(SD)IGS BRラットにみられた悪性褐色脂肪腫の1例 ○穴川 明子 <sup>1)</sup> , 岡崎 欣正 <sup>1)</sup> , 梶川 悟 <sup>1)</sup> , 白木 克尚 <sup>1)</sup> , 藤平 司郎 <sup>1)</sup> , 松本 正博 <sup>1)</sup> , 大石 裕司 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室	……………117
P-101	F344ラットの大腿部に認められた滑膜肉腫の1例 ○梅田 ゆみ <sup>1)</sup> , 妹尾 英樹 <sup>1)</sup> , 片桐 卓 <sup>1)</sup> , 相磯 成敏 <sup>1)</sup> , 長野 嘉介 <sup>1)</sup> , 福島 昭治 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	……………118
P-102	F344 Slc/Nラットの大腿部皮下に自然発生した肺転移を伴う骨外性骨肉腫の1例 ○永池 美香 <sup>1)</sup> , 土屋 成一朗 <sup>1)</sup> , 山本 美弥 <sup>1)</sup> , 乾 公正 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 石原産業株式会社	……………118
P-103*	F344ラットの胃にみられた骨外性骨肉腫の一例 ○松島 圭太 <sup>1)</sup> , 安藤 亮 <sup>1)</sup> , 白岩 和己 <sup>1)</sup> , 山川 誠己 <sup>1)</sup> , 永谷 真理子 <sup>1)</sup> , 玉井 幸子 <sup>1)</sup> , 田村 一利 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 株式会社 ボゾリサーチセンター	……………119

P-104*	マウスの子宮に発生した高分化組織の形成を特徴とする奇形腫の1例 ○緒方 敬子 <sup>1)</sup> , 串田 昌彦 <sup>1)</sup> , 宮田 かおり <sup>1)</sup> , 須方 督夫 <sup>1)</sup> , 尾崎 圭介 <sup>2)</sup> , 奥野 泰由 <sup>1)</sup> , 山田 智也 <sup>1)</sup> , 宇和川 賢 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 住友化学株式会社 生物環境科学研究所, <sup>2)</sup> 同・生活環境事業部	……………119
P-105*	NOD/SCID/ $\gamma_c$ <sup>null</sup> マウスに認められた自然発生性胸腺リンパ腫 ○加藤 千恵 <sup>1)</sup> , 藤井 悦子 <sup>1)</sup> , Yu Jau Chen <sup>2)</sup> , 松原 亨一 <sup>2)</sup> , 三好 昌夫 <sup>1)</sup> , 加藤 淳彦 <sup>1)</sup> , 鈴木 雅実 <sup>1)</sup> , 大西 保行 <sup>3)</sup> , 玉置 憲一 <sup>3)</sup> <sup>1)</sup> 中外製薬株式会社富士御殿場研究所, <sup>2)</sup> PharmaLogicals Research Pte Ltd., <sup>3)</sup> 実験動物中央研究所	……………120
P-106*	マウス胸腔内の悪性中皮腫が疑われた1例 ○高木 みづほ <sup>1)</sup> , 山口 裕子 <sup>1)</sup> , 枝元 洋 <sup>1)</sup> , 福永 八千代 <sup>1)</sup> , 中澤 朋美 <sup>1)</sup> , 阪本 晃佳 <sup>1)</sup> , 星谷 達 <sup>1)</sup> , 田村 一利 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 株式会社ボゾリサーチセンター	……………120
P-107	9週齢のSDラットに認めた血管肉腫の一例 ○白木 克尚 <sup>1)</sup> , 小野 美穂子 <sup>1)</sup> , 梶川 悟 <sup>1)</sup> , 竹内 文乃 <sup>1)</sup> , 村上 雄一 <sup>1)</sup> , 穴川 明子 <sup>1)</sup> , 松本 正博 <sup>1)</sup> , 大石 裕司 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室	……………121

P-108*	ラットにおけるオゾケライトの慢性反復投与毒性試験 ○鈴木 裕太 <sup>1)</sup> , 木島 綾希 <sup>1)</sup> , 田崎 雅子 <sup>1)</sup> , 井上 知紀 <sup>1)</sup> , 岡村 俊也 <sup>1)</sup> , 石井 雄二 <sup>1)</sup> , 梅村 隆志 <sup>1)</sup> , 西川 秋佳 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所	……………121
P-109*	昆布エキスの90日間反復投与毒性試験 ○菅 直人 <sup>1)</sup> , 多胡 善幸 <sup>1)</sup> , 北野 光昭 <sup>1)</sup> , 大西 真里子 <sup>1)</sup> , 鰐淵 英機 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学	……………122
P-110*	メタボリックシンドロームモデルSHR/NDmcr-cpにおける病態発現に伴う 病理組織学的変化 ○川井 康司 <sup>1)</sup> , 原田 秀一 <sup>2)</sup> , 佐藤 寛子 <sup>1)</sup> , 高橋 明子 <sup>1)</sup> , 坂入 鉄也 <sup>1)</sup> , 久米 英介 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> 田辺三菱製薬(株) 安全性研究所, <sup>2)</sup> 田辺三菱製薬(株) 薬理研究所	……………122
P-111	WistarHannover/Rcc系ラットの104週間の長期飼育 ○古川 文夫 <sup>1)</sup> , 土井 悠子 <sup>1)</sup> , 難波江 恭子 <sup>1)</sup> , 伊藤 光 <sup>1)</sup> , 河部 真弓 <sup>1)</sup> , 萩原 昭裕 <sup>1)</sup> , 玉野 静光 <sup>1)</sup> <sup>1)</sup> ㈱DIMS医科学研究所	……………123

- P-112\* 雌カニクイザルにおける加齢性病変と卵巣摘出の影響 .....123  
○笹木 祐司<sup>1)</sup>, 児玉 倫哉<sup>1)</sup>, 楊 秀英<sup>1)</sup>, 上村 裕洋<sup>1)</sup>, 永岡 隆晴<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社 新日本科学
- P-113\* Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) cooperates with  
Src Family Kinases (SFKs) in acquired resistance to cetuximab .....124  
○Mari Iida<sup>1)</sup>, Kruser Tim<sup>1)</sup>, Ghia Amol<sup>1)</sup>, Nechrebecki Meghan<sup>1)</sup>,  
Armstrong Eric<sup>1)</sup>, Huang Shyhmin<sup>1)</sup>, Harari Paul<sup>1)</sup>, Wheeler Deric<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>ウィスコンシン大学
- P-114 The role of phosphoinositide 3-kinases/Akt signaling pathway in maintenance  
of cancer stem-like cells of human malignant mesothelioma cell lines .....124  
○Kiyonori Kai<sup>1),2)</sup>, Susan D'Costa<sup>1)</sup>, Marcelo Rodriguez-Puebla<sup>1)</sup>,  
Arnold R. Brody<sup>1)</sup>, and Yongbaek Kim<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>NCSU PHP, <sup>2)</sup>Daiichi Sankyo Co., Ltd.

- MEMO -

## 特別講演 I

Toxicologic Pathology Aspects of Chemically Induced Cardiovascular Toxicity, as Seen in National Toxicology Program (NTP) Studies

Abraham Nyska

Tel Aviv University, Consultant in Toxicologic pathology

## 特別講演 II

Carcinogenicity of PPAR  $\gamma$  and Dual  $\alpha/\gamma$  Agonists:  
Mode of Action and Human Relevance

Samuel M. Cohen

University of Nebraska Medical Center

- MEMO -

## 特別講演 I

# TOXICOLOGIC PATHOLOGY ASPECTS OF CHEMICALLY INDUCED CARDIOVASCULAR TOXICITY, AS SEEN IN NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM (NTP) STUDIES

○Abraham Nyska<sup>1,2</sup>, Katsuhiko Yoshizawa<sup>3</sup>, Yoshiro Tani<sup>4</sup>,  
Mike Jokinen<sup>5</sup>, Warren Lieuallen<sup>5</sup>, June Dunnick<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Tel Aviv University, <sup>2</sup>Consultant in Toxicologic pathology<sup>2</sup>,

<sup>3</sup>Astellas Pharma Inc., <sup>4</sup>Daiichi-Sankyo Co., Ltd., <sup>5</sup>Division of Charles River Laboratories,

<sup>6</sup>National Institute of Environmental Health Sciences

Potential cardiovascular toxicity of environmental agents and pharmaceuticals poses a major concern to health and regulatory authorities. Epidemiological studies have associated cardiovascular and respiratory morbidity and mortality with particulate matter (PM) air pollution, particularly in susceptible humans with concurrent cardiovascular and pulmonary diseases. Between 1961 and 1992, 131 drug products were withdrawn from the markets in Europe and the US. Ten of the 131 were withdrawn as the result of cardiovascular toxicity.

Studies in laboratory rodents are used to investigate the potential toxicity of various agents, identification and characterization of lesions suggesting cardiotoxicity are vital. Morphologic criteria have been described for degenerative myocardial lesions in rodents, but even with these criteria, differentiation of spontaneous from toxicity-induced lesions may be difficult. The histopathological pattern of lesion development may help determine whether the myocardial damage is due to injury of the coronary vasculature (in which case lesions tend to be multifocal) or due to direct myocardial cell toxicity (in which case lesions tend to affect much or all of the myocardium diffusely). In view of this observation, a retrospective light microscopic evaluation was performed on the hearts of F344 rats and B6C3F<sub>1</sub> mice from National Toxicology Program (NTP) studies on six chemicals that produced myocardial toxicity in order to provide a detailed morphologic characterization of spontaneous versus treatment-induced myocardial lesions (Jokinen et al, *Cardiovasc. Toxicol.* 5:227-244, 2005). The findings at light microscopic evaluation, particularly when taken in conjunction with the results of other techniques, such as ultrastructural examination and special staining, may give a general indication of the potential mechanism of cardiotoxicity, and suggest possible areas for mechanistic studies to define more clearly the actual mechanism of toxicity. The lecture will present an overview of the morphologic aspects associated with chemically and drug-induced cardiovascular toxicity, as seen in the NTP studies.

- MEMO -

## Carcinogenicity of PPAR $\gamma$ and Dual $\alpha / \gamma$ Agonists: Mode of Action and Human Relevance

○Samuel M. Cohen<sup>1)</sup>, Jon C. Cook<sup>2)</sup>, Tim G. Hammond, Sr.<sup>3)</sup>, Nancy G. Doerrner<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>University of Nebraska Medical Center, <sup>2)</sup>Pfizer, Inc., <sup>3)</sup>Astra Zeneca UK,

<sup>4)</sup>ILSI Health and Environmental Sciences Institute (HESI)

PPARs are a class of nuclear receptors significantly involved in adipose tissue growth and differentiation, lipid metabolism, and various epithelial cell functions. PPAR  $\gamma$  and dual PPAR  $\alpha / \gamma$  agonists have been developed as therapeutic agents for the treatment of diabetes mellitus and hyperlipidemias. In development of these drugs, two year rodent bioassays have frequently shown a carcinogenic effect. The most common sites are urinary bladder carcinomas and subcutaneous fibrosarcomas in rats and hemangiosarcomas in mice. The Health and Environmental Sciences Institute (HESI) formed a PPAR Agonist Project Committee, including academic, governmental, and pharmaceutical company scientists from Japan, Europe and the United States, to address the modes of action for these tumor types and to evaluate their relevance to human risk. This committee sponsored two Pathology Working Groups (PWG) (classification of sarcomas and related lesions in mice and rats and evaluation of bladder urothelial changes in monkeys). They also developed working hypotheses for possible modes of action. The mode of action regarding urinary bladder carcinogenesis in rats has been most extensively investigated with the dual agonist muraglitazar (Toxicol. Pathol., 34: 903-920, 2006), and includes a direct effect of the PPAR agonist inhibiting citrate synthesis, leading to hypocitratemia and hypocitraturia. Citrate in the urine is the major chelating substance keeping calcium in solution. When it decreases sufficiently, in combination with several other specific parameters in urine composition, formation of calcium-containing urinary crystals ensues leading to cytotoxicity, regenerative hyperplasia, and ultimately malignancy. Demonstration of urinary solids has not always been shown for PPAR agonists that have been studied, but this is likely related to methodology issues such as fasting of the animals, time of collection and analytical methods (Toxicol. Pathol., 35: 337-347, 2007). Abnormal crystalluria or calculus formation does not occur in humans in response to these PPAR agonists. Three purported lesions were identified in the monkey urothelium following administration of PPAR agonists, including intracytoplasmic eosinophilic granules, intercellular vacuoles, and hyperplasia. The PWG (Toxicol. Pathol., 36: 769-776, 2008) ascertained that the granules were a normal component of the monkey urothelium (unique to the monkey). Vacuoles occurred in untreated monkeys but were larger and more numerous in high dose monkeys. No mechanism could be ascertained conclusively. The PWG concluded that there was no evidence of hyperplasia, but rather, the differences in the number of layers of epithelial cells reflected the normal variation of the monkey urothelium, similar to what is seen in the human urothelium, but in contrast to the rodent epithelium. The PWG that addressed sarcomas developed a specific classification system, which has been published (Toxicol. Pathol., 35: 928-941, 2007). A specific mode of action was not developed for the sarcomas in rats. For the hemangiosarcomas in mice, it was noted that mice have a high background incidence of hemangiosarcomas, in contrast to the rarity of these tumors in rats and humans. Possible modes of action that were hypothesized include a direct mitogenic effect on the endothelial cells, an effect on bone marrow endothelial precursor cells, or an indirect paracrine effect of the agonist on adipocytes leading to secretion of endothelial cell growth factors, such as VEGF. Progress in the evaluation of these modes of action were presented and discussed at a December 4-5, 2008, workshop on hemangiosarcomas co-sponsored by the Society of Toxicology and HESI. The modes of action involving the induction of the various tumors by PPAR agonists could also be applicable to other classes of drugs and chemicals.

- MEMO -

## 教育講演

エピジェネティクスからエピゲノムへ：  
毒性病理学への応用

塩田邦郎

東京大学大学院 応用動物科学・  
獣医学専攻 細胞生化学研究室

- MEMO -

## エピジェネティクスからエピゲノムへ： 毒性病理学への応用

塩田 邦郎

東京大学大学院 応用動物科学・獣医学専攻 細胞生化学研究室

エピジェネティクスは「細胞世代を超えて継続する、DNAの変異と伴わない、遺伝子機能を研究する学問分野」と定義される。ゲノム全域のエピジェネティクス情報をエピゲノムと呼ぶ。DNAメチル化とヒストン修飾によるクロマチン構造変化がエピジェネティクス制御の中心である。DNAメチル化は正常哺乳類のゲノムに見られる唯一の化学修飾である。いっぽう、ヒストン修飾はメチル化、アセチル化、リン酸化など様々で修飾部位の種類が多様性も相まって60種類にも及ぶ修飾が知られている。

私たちの身体は、形や機能が様々な数百種類の細胞から構成されている。これら細胞は1個の受精卵に由来し、一部の例外はあるが、同一の遺伝子情報を保有している。発生過程では、特定の遺伝子の不活性化がおこり、細胞に特異的な遺伝子発現セットが決定される。DNAメチル化は細胞分裂後も継承され得ること、ヒストン修飾とクロマチン構造の変化を伴い遺伝子をサイレントにすることから、遺伝子発現の記憶機構ともなっている。したがって、エピジェネティクス制御は細胞の種類に特有の遺伝子レパートリー不活性化の基本機構で、個体発生や細胞分化の基になっているのである。一般に、凝縮したクロマチン構造を特徴とするヘテロクロマチン領域のDNAは高度にメチル化されており、不活性化型のヒストン修飾が見られ、緩んだクロマチン構造を示すユークロマチン領域ではDNAは低メチル化で活性型のヒストン修飾が見られる。

最近のエピゲノム研究で、①ゲノム中に膨大な数の組織特異的メチル化領域（tissue dependent differentially methylated regions, T-DMRs）が存在すること、②細胞の種類ごとにT-DMRsのメチル化状況は異なり、細胞の種類に特有のDNAメチル化・非メチル化状況のモザイク模様（DNAプロフィール）が存在することが明らかになっている。DNAメチル化プロフィールは、細胞のエピジェネティクス状況の同一性、類似性、あるいは違いを知る上でよい指標となる。発生上で近縁あるいは同じ細胞系列の細胞では似たDNAメチル化プロフィールを示し、逆に発生上で異なった細胞ではその違いは大きい。

E S細胞やiPS細胞では一部のヒストン修飾についてゲノム全域の解析が行われている。ヒストン修飾とDNAメチル化はお互いに密接な関係があり、ヒストン修飾状況を変化させるとDNAメチル化プロフィールは変化する。ゲノム全域のDNAメチル化状況を解析する方法は大きく2つ、1)メチル化領域を解析する方法、2)非メチル化領域を解析する方法、がある。1)ではメチル化シトシンを用いた方法やメチル化シトシン結合タンパクを利用した方法が開発されており、正常細胞とがん細胞の違いなど、大幅にDNAメチル化状況が異なる場合に適している。2)ではメチル化感受性の制限酵素を用いるもので、正常細胞や非がん細胞での比較に適している。非がん細胞では繰り返し配列を主体とする非遺伝子領域の殆どは（ゲノム全体の70~90%）はメチル化されており、ゲノム全体での遺伝子領域の占める割合が極少ないため、細胞の種類によるDNAメチル化状況の違いが埋もれてしまうからである。我々が開発したD-REAM（T-DMR profiling with restriction-tag mediated amplification）法で、ゲノムワイドのT-DMRsのメチル化状況と遺伝子発現の関係が明らかになっている。現在、これらのマイクロアレイを基にしたエピゲノム解析が蓄積しつつあり、今後はメガ・シーケンズ技術を組み合わせ、さらにヒストン修飾情報と組み合わせたエピゲノムデータベースが構築されることになる。

エピゲノムに異常をもたらす化合物（エピ変異原）は、変異原性を持たずとも、遺伝子機能に長期的な影響を与える可能性がある。エピジェネティクスの破綻は、異常な細胞を生み出すことになり、最終的にはガンや慢性疾患の基となる様々な異常な細胞を生じる原因となる。エピジェネティクスの制御で異常な細胞を正常細胞に直したり、あるいは最終分化した細胞を未分化細胞に戻し、いわゆるiPS細胞などを作り出すメカニズムとしても注目されている。少なくとも、エピジェネティクス・エピゲノム解析は、薬物、食品添加物、農薬、あるいは環境汚染物質など、様々な化合物の健康への影響を評価する上で必須となってきた。本学会では毒性学を含む生命科学の新たな潮流としてエピジェネティクスとエピゲノムについて紹介する。

- MEMO -

## パネルディスカッション

### Regulatory perspective for pathological data

座 長：大石 裕司（アステラス製薬・安全研）

田村 一利（ボゾリサーチ・病理）

パネリスト：

Frédéric Schorsch (IFSTP, Bayer CropScience)

Klaus Weber (Harlan Laboratories, Inc.)

Jerry Hardisty (EPL)

藏並 潤一（JSQA, 協和発酵キリン）

- MEMO -

## パネルディスカッション

### Regulatory perspective for pathological data

- 座長： 大石 裕司（アステラス製薬・安全研）  
田村 一利（ボゾリサーチ・病理）
- パネリスト： Frédéric Schorsch（IFSTP, Bayer CropScience）  
Klaus Weber（Harlan Laboratories, Inc.）  
Jerry Hardisty（EPL）  
藏並 潤一（JSQA, 協和発酵キリン）

非臨床安全性試験における病理学的検査の生データの取り扱いについて、米国では、2007年に米国毒性病理学会（STP）より、画像データを生データとする場合の基準や、informal/formal pathology peer reviewの結果として発生したデータ修正の取り扱いなどに関するポジション・ペーパー（Toxicol Pathol 35, 450-455, 2007）が公表され、その内容が標準となっている。さらに、米国において、診断や画像解析の根拠になる画像データは生データであるが、所見の代表例を示す画像データは生データではないとされ、また、病理ピアレビューの時期は病理担当者による病理所見確定前であっても問題ないとされている。一方、日本では、日本毒性病理学会が原則的にSTPポジション・ペーパーを支持する旨を表明しているが、現時点の実務において、報告書に添付した代表例の病理写真の元となる画像データを生データとして扱うことや、病理ピアレビュー実施前に病理担当者により病理所見を確定しておくことが求められており、日米欧3極間、また、国内での認識と現状にギャップがある。第25回日本毒性病理学会年次学術集会プログラム委員会は、この状況を憂慮し、実態把握を目的に国際毒性病理学会連合・規制国際委員会（IFSTP/RIC）および日本毒性病理学会合同の「病理生データとピアレビューに関するアンケート」を企画し、国内の製薬企業・委託試験機関の御協力を得て実施すると共に、国内製薬企業・委託試験機関・日本QA研究会（JSQA）・米国研究者・IFSTP/RICの各代表の参加を仰ぐパネルディスカッションを企画した。本パネルディスカッションでは、STPポジションペーパーの概略ならびに、上記アンケートの結果を紹介すると共に、日米欧における病理生データおよび病理ピアレビュープロセスの差異を明らかにし、これら3極間のハーモナイゼーションを図る契機としたい。

なお、本パネルディスカッションでは、同時通訳を用意する予定である。

- MEMO -

## ワークショップ I

バイオマーカー  
(WS1-1～WS1-6)

## ワークショップ II

卵巣毒性  
(WS2-1～WS2-9)

## WS1-1

### ラット肝障害モデルにおける血中バイオマーカー検証および尿中バイオマーカー探索

○熊谷 和善<sup>1)</sup>, 伊藤 和美<sup>1)</sup>, 安藤 洋介<sup>1)</sup>, 清澤 直樹<sup>1)</sup>, 齊藤 航<sup>1)</sup>, 松山 拓矢<sup>1)</sup>,  
古川 忠司<sup>1)</sup>, 矢本 敬<sup>1)</sup>, 寺西 宗広<sup>1)</sup>, 真鍋 淳<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>第一三共(株)安全性研究所

非臨床試験における肝障害評価では、複数の臨床検査項目と病理検査を合わせた検査手法が主体をなす。しかし、血中の逸脱酵素上昇の場合、他臓器の障害に由来する場合や細胞膜の透過性亢進に起因する場合などは肝細胞壊死など器質的な変化を示唆するものでなく、肝障害を正確に予測・評価するには不十分である。薬剤誘発性肝障害が医薬品開発に及ぼす影響がますます増大する今日、臨床試験での応用を見据えた特異的かつ高感度な肝障害マーカーの探索が必要となっている。

European Medicines Agency (EMA) の非臨床試験における肝障害評価に関するガイドライン案では、ALT、AST、ALPなどの一般的なマーカーに加え、GLDH、OCTなどミトコンドリアに由来するマーカーや、 $\alpha$ -GST、osteopontinなど新規マーカーの応用の可能性が提示されている。さらに、従来の手法に加え、メタボノミクスも高速、高分解能、高感度な質量分析システムの開発や代謝物データベースの拡充などの基盤技術の整備を背景に、尿・血液中の内因性代謝物の変動を指標とする新規マーカー探索への応用が進められている。今試験では、毒性発現機序の異なる3種類のラット肝障害モデルを用いて、血液サンプルについてはEMAガイドライン案に示された臨床検査マーカーの有用性の検証を、また尿サンプルについてはメタボノミクスによる新規マーカーの探索を実施した。肝細胞障害モデルとしてconcanavalin A、D-galactosamine、monocrotaline、dexamethazone、胆汁うっ滞モデルとして $\alpha$ -naphthylsulfonamideおよびethinyl estradiol、脂肪肝モデルとしてLieber-ethanol diet modelおよびmethionine-choline deficient modelをそれぞれ用いた。各モデルでは複数の用量を設定し、経時的に各種測定項目と形態学的変化との関係性を評価した。その結果、肝細胞壊死等に伴ってALT、GLDH、 $\alpha$ -GST、OCT、ARGが上昇し、これらマーカー間に相関性が認められたことから、必要に応じ従来の検査項目に追加することで、より正確な評価が可能となると考えられた。メタボノミクスではオロチン酸など肝機能低下を示唆する候補マーカーが選抜された。発表ではこうしたデータを例に、それぞれのモデルに共通するマーカーおよび毒性発現機序ごとに特徴的なマーカーを示しながら、肝障害マーカーの医薬品開発への応用性について考察する。

## WS1-2

### イヌにおけるALTアイソザイムの解析

○須藤 雄介<sup>1)</sup>, 松本 好枝<sup>1)</sup>, 青木 正美<sup>1)</sup>, 平井 加津子<sup>1)</sup>, 乾 直美<sup>1)</sup>, 宮本 由美子<sup>1)</sup>,  
高井 有一<sup>1)</sup>, 伊藤 隆司<sup>2)</sup>, 大久保 尚一<sup>2)</sup>, 高見 健治<sup>1)</sup>, 今井 良悦<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>武田薬品・開発研究センター, <sup>2)</sup>武田薬品・探索研究センター

血中ALT(alanine aminotransferase)値は肝障害により増加することから、肝障害のバイオマーカーとして広く使われている。しかし毒性試験の中では、肝臓に病理組織学的変化がみられなくても血中ALT値が上昇する場合があります。肝臓以外の由来を考慮する必要がある。近年、旧知のALT (ALT1)とは組織分布が異なるALTのアイソザイム (ALT2)がヒト、マウス、ラットで同定されたことから、血中のALT1及びALT2を分けて測定することが由来臓器の正確な推定に繋がると期待されている。そこで本研究では医薬品の毒性試験で汎用されるイヌのALT1, 2について詳しく解析するため、まず遺伝子配列解析を実施し、ヒト並びにマウスのALT2配列と高度に保存されたイヌALT2全長配列を取得した。得られた配列情報を基に、遺伝子発現解析を行うための定量的real-time PCR評価系の構築並びにタンパク質発現解析を行うためのisozyme特異的抗体の作製を実施した。定量的real-time PCR及びWestern blottingにより、イヌの全身各種臓器・組織におけるALT1, 2の発現状況を詳しく調べたところ、ALT1及びALT2は臓器によってそれぞれ発現量が異なり、ALT1は肝臓、心臓等で、ALT2は骨格筋、脂肪、腎皮質等で優位に発現していることがわかった。また特異抗体を用いた免疫組織化学的解析により、臓器内においても細胞種によって発現が異なることがわかった。ALT値が上昇した場合、通常肝障害が疑われるが、今回明らかとなったようにALT1, 2は肝臓以外の臓器・組織にもそれぞれ異なる量で発現しており、肝臓以外から由来する可能性も十分に考えられる。今回得られた結果に加え、今後、血中ALT1, 2アイソザイムの測定法を確立させることにより、前臨床・臨床試験で見られる血中ALT上昇の解釈、由来臓器・組織の同定に有用な情報がもたらされると期待される。

## WS1-3

### ラットにおける肺高血圧症の心エコー図診断

○松根 圭子<sup>1)</sup>, 永井 博文<sup>2)</sup>, 高井 有一<sup>1)</sup>, 山本 恵司<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>武田薬品工業(株) 医薬研究本部 開発研究センター

薬剤誘発性肺高血圧症及び心弁膜症の非侵襲的なバイオマーカーとして、臨床では心エコー図法による肺動脈血流速波形や右心室形態の変化などが用いられているが、非臨床におけるこれらマーカーの有用性あるいは病理組織学的変化との関連については十分に検討されていない。

そこで、今回、肺組織障害に基づく明らかな肺高血圧症を引き起こすことが知られているMonocrotaline(投与量:60 mg/kg)を7~14週齢の雄性Crl:CD(SD)ラットに単回皮下投与し、投与3及び6週後に心エコー図検査、呼吸機能測定及び病理組織学的検査を実施し、これらバイオマーカーの有用性及び病理組織学的変化との関連性について検討した。

その結果、肺高血圧症発症初期と考えられる投与3週後には病理組織学的検査で顕著な間質性肺炎がみられ、心エコー図検査では軽度な肺動脈血流加速時間の短縮が認められた。呼吸機能測定では、軽度な一回換気量減少及び呼吸数増加傾向がみられたが、分時換気量の変化は認められなかった。投与6週後には病変は更に進行し、病理組織学的検査では顕著な間質性肺炎に加えて肺末梢細動脈の新生内膜形成がみられ、さらに左右心室壁の心筋細胞肥大及び間質の線維化も認められた。心エコー図検査では肺動脈血流加速時間の短縮が顕著であり、心臓の形態変化(右心房及び右心室の内腔拡大、右心室壁の肥厚、心室中隔壁の肥厚及び左心室側への偏移、左心室の内腔の狭小化、三尖弁及び僧帽弁逆流等)及び機能変化(心拍出量低下及び左心室拡張不全)がみられた。また、呼吸機能測定では呼吸数及び分時換気量の高値が顕著であった。

以上、心エコー図検査及び呼吸機能測定において、病理組織学的変化に対応した心臓の形態及び機能変化、血行動態並びに呼吸機能の異常を経時的に検出することが可能であったことから、これらバイオマーカーは非臨床においても有用であり、心循環器系及び肺毒性の診断や病態把握に活用可能な評価系であることが示された。

## WS1-4

### FT-ICR-MSを用いたメタボリックフィンガープリンティングによる ラット尿中肝毒性バイオマーカー候補の探索

○長谷川 美奈<sup>1,2)</sup>, 井手 美佳<sup>3)</sup>, 桑村 充<sup>1)</sup>, 山手 丈至<sup>1)</sup>, 竹中 重雄<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>大阪府立大学大学院・獣医, <sup>2)</sup>(株)新日本科学 安全研, <sup>3)</sup>田辺三菱製薬(株) 安全研

医薬品開発において、新規化合物の毒性を早期に検出するスクリーニング手法として、トランスクリプトミクスやプロテオミクス、メタボロミクス等の手法が注目されている。

メタボロミクスは、ある時点における生体や組織、細胞等に含まれるすべての低分子代謝物情報であるメタボロームを網羅的に定性・定量解析することを指している。しかし、メタボロームは、糖、有機酸、アミノ酸、脂質など多種多様な化合物からなり、すべてを同時一斉に解析できる手法は未だ確立されていない。近年、核磁気共鳴装置(NMR)や質量分析装置(MS)を用いたメタボローム測定が実施されているが、実際にはメタボロームの一部にあたる、代謝物プロファイルを取得していることになる。メタボリックフィンガープリンティングは、化合物それぞれに焦点を当てるのではなく、分析結果をパターン認識法によってグループ化し、代謝物の変動を検出する手法であり、化合物投与による代謝への影響やバイオマーカーの探索に適している。

フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析装置(FT-ICR MS)は、高い分解能により混合物の一斉分析が可能であり、高い質量精度によりイオンの組成式の推定が可能である。そこで、FT-ICR MSを用いて毒性化合物を投与したラット尿メタボリックフィンガープリンティングを実施し、毒性評価への適用を検証した。

本ワークショップでは、FT-ICR MSを用いたメタボリックフィンガープリンティングによる肝毒性誘発時における尿中代謝変動の検出およびバイオマーカー探索を試みた例について紹介する。

## WS1-5

### 膀胱発がん物質の早期検出マーカーの検討

○魏 民<sup>1)</sup>, 梯 アンナ<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>2)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科 都市環境病理,

<sup>2)</sup>中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター

【目的】化学物質の発がん性の有無を効率よく検出できる発がん性試験代替法の開発は発がんリスク研究領域において、緊急を要するテーマである。すなわち、長期の発がん性試験法に移る前段階で、効率がよく、特異性に優れ、かつ短期に行えるスクリーニングシステムやバイオマーカーの確立が重要である。本研究では、膀胱発がん性に焦点を絞り、複数の膀胱発がん性物質で誘発された膀胱病変を対象とし、発がん性の早期検出バイオマーカーの同定を試みた。【方法と結果】*N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) 誘発ラット膀胱がんと、dimethylarsinic acid (DMA) 誘発ラットの膀胱がんに対しAffymetrix GeneChipを用いて遺伝子のmRNA発現解析を行った。対照群としての同週齢の無処置ラット膀胱粘膜を用いた。その結果、BBN誘発膀胱がんとDMA誘発膀胱がん共通に発現量が2倍以上の差を示した遺伝子が139種類認められた。これらのうち、過剰発現量上位10遺伝子とパスウェイ解析によりがん発生に重要な役割を担っていると思われる13遺伝子(3遺伝子が共通であった)を膀胱発がん早期検出マーカー候補として選抜した。次に、これらの遺伝子が早期増殖性病変に異常発現するかを検討するためにBBNを2、4、8週投与し、誘発した膀胱病変におけるmRNA発現を検索した。その結果、BBN投与2週から連続して発現量が有意に上昇した12種類の遺伝子を同定した。さらに、6種類の膀胱発がん物質(DMA, 2-acetylaminofluorene, phenethyl isothiocyanate, benzyl isothiocyanate, sodium *ortho*-phenylphenate, uracil)あるいは3種類の非膀胱発がん物質(diethylnitrosamine, *N*-ethyl-*N*-hydroxyethylnitrosamine, 1,2-dimethylhydrazine)をそれぞれ4週投与したラット膀胱粘膜におけるこれらの遺伝子のmRNA発現を検索した結果、Oncomodulinはすべての膀胱発がん物質において共通に過剰発現を示し、一方、すべての非膀胱発がん物質では異常発現はみられなかった。【結論】Oncomodulinは膀胱発がん物質の有用な早期検出マーカーであることが強く示唆され、膀胱発がん物質検出のスクリーニングシステム確立に有用であると考えられる。

## WS1-6

### イメージングMS法の毒性バイオマーカー探索への応用

○奈良岡 準<sup>1)</sup>, 鈴木 謙一<sup>2)</sup>, 中野 健二<sup>3)</sup>, 青木 豊<sup>4,5)</sup>, 佐藤 孝明<sup>4,5)</sup>, 渡部 浩治<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>アステラス製薬・安全性研究所, <sup>2)</sup>アステラス製薬・創薬推進研究所,

<sup>3)</sup>アステラスリサーチテクノロジー・安全性研究部,

<sup>4)</sup>東京大学医科学研究所・先端臨床プロテオミクス, <sup>5)</sup>島津製作所・ライフサイエンス研究所

オミクス解析により得られた毒性バイオマーカー候補は、我々の知見から予想できない分子の場合が多く、バイオマーカー候補の変化と毒性所見との生物学的な関係が不明なケースが多い。検証する手段として、標的臓器の抽出物から遺伝子や蛋白の発現や変動を調べ、特殊染色や免疫染色などの組織化学的手法を用いて組織上の局在の変化と一致させるアプローチが採られてきた。しかし蛋白の場合は抗原の保持や抗体の選択に依存し、特に脂質では色素による組織化学的ツールが少なく、候補分子と組織中の局在の関係が不明なケースがありメカニズムの推定が困難な場合があった。近年、レーザーマイクロダイセクションにより、部位特定的に解析できる環境が整ってきたが、微量であるため遺伝子解析は可能であるが、蛋白あるいはその修飾部分や脂質を解析するには、採材にかかる時間などスループットの面で制限があった。近年、「イメージングMS」といわれる組織切片を直接、質量分析装置で解析することができる手法が注目されている。しかしながら創薬のみならず、毒性研究における報告は極めて少ない。そのことから今回イメージングMSの有用性を確認する目的で解析を試みた。

リン脂質症誘発薬剤を投与したラットの肝臓および肺から新鮮凍結切片を作成し、ケミカルプリンタを用いて、組織切片上のリン脂質蓄積部位にマトリクスを添加した後、AXIMA QIT(島津製作所)で質量分析を行った。一部の分子はMS/MSを行い、公開データベースを用い同定を行った。ホルマリン固定した臓器についても、凍結切片を作成し同様に解析を行った。

その結果、イメージングMS法によって蛋白以外にも脂質や薬剤およびその代謝物を直接組織切片上で同時に解析および同定することに成功した。この結果は、イメージングMS法がバイオマーカーの検証のみではなく、病理検査や薬物動態などの創薬研究に貢献可能な新しい分析法であるとともに、*in situ*での網羅的解析を可能にする分析法であることが示唆された。一方で課題も明らかになったことから、現在継続して検証を行っている。

## WS2-1

### Histopathological changes of female reproductive organs in the rat treated with medroxyprogesterone acetate

○福井 元子<sup>1)</sup>, 大竹 幸代<sup>1)</sup>, 久田 茂<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>あすか製薬株式会社 安全性研究部

【Introduction】 Medroxyprogesterone acetate (MPA) is a synthetic progestagen which has not only progestational effects but also anti-estrogenic, anti-androgenic and glucocorticoid-like effects. MPA has been reported to affect ovarian histology and female fertility after repeated dosing. 【Methods】 MPA was orally administrated to female Crl:CD(SD) rats at the dose levels of 0, 0.4, 2.0 and 10 mg/kg/day for 2 and 4 weeks. After the completion of dosing, the animals were euthanized and the histopathological examination of the female reproductive organs (ovary, uterus and vagina) was performed. 【Results and conclusions】 After 2-week treatment, decreased numbers of large follicle with increased atretic large follicles and decreased numbers of newly formed or old/large corpora lutea were observed at 2.0 mg/kg and greater. After 4-week treatment, atretic follicles are increased in number and all stages of corpora lutea including newly formed, old/large and old/small ones are decreased in number at 2.0 mg/kg and greater. Endometrial atrophy accompanying endometrial epithelial cell hyperplasia of the uterus and mucinous degeneration of vaginal epithelia were evident at 2 mg/kg and greater after 2- and 4-week treatment. These histopathological changes of the uterus and vagina were considered to be caused by progestational and anti-estrogenic effects of MPA. The ovarian histopathology suggests that MPA acts mainly on large follicles to induce atresia and consequent inhibition of ovulation and corpora lutea development. It was reported that MPA reduces the levels of estrogen- and progesterone receptors in the rat pituitary gland which results in decreased responsiveness to luteinizing hormone-releasing hormone. The present study suggested that impaired LH surge via decreased estrogen receptors in the pituitary gland resulted in decreased numbers of corpora lutea in the MPA-treated rats.

## WS2-2

### 4-vinylcyclohexene diepoxideの雌性ラットを用いた 2週間あるいは4週間反復投与毒性試験における卵巣毒性評価

○伊東 篤志<sup>1)</sup>, 真船 直美<sup>1)</sup>, 木村 敬<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>トアエイヨー(株) 研究開発部 福島研究所 探索研究第三課

【目的】工業化学物質の一つである4-vinylcyclohexene diepoxide (VCD) は、マウス及びラットの卵巣において原始卵胞及び一次卵胞の卵細胞にアポトーシスを誘導することにより卵胞を退行させ、その数を減少させることが報告されている。本研究では共同研究の一部として、VCDが引き起こす卵巣毒性を検出できる至適な投与期間を検討するために雌性ラットを用いた2週間あるいは4週間反復投与毒性試験を実施した。【方法】6週齢の雌性Sprague-Dawleyラット各群10匹に、VCDを0 (溶媒：ゴマ油)、5、20、80 mg/kgの用量で2週間あるいは4週間毎日腹腔内に投与した。投与期間中、一般状態を毎日観察し、体重を週2回測定し、スメア検査を2週間投与試験では最後の1週間、4週間投与試験では最後の2週間毎日行い性周期を算出した。投与期間終了後、一晩絶食し、エーテル麻酔下で放血屠殺後に剖検及び肉眼的病理学検査を行い、卵巣、子宮、膈、下垂体、副腎、肝臓、腎臓を摘出した。摘出臓器は絶対及び相対重量を測定し、病理組織切片を作製し、HE染色により病理組織学的検査を行った。また、左右の卵巣についてはそれぞれ最大割面を切り出し、卵胞を詳細に観察するためにHE染色と連続した切片を用いてPCNA免疫染色も同時に行った。卵胞は発育段階により3つ (小型、中型、大型卵胞) に分類して詳細な病理組織学的検査を行った。【結果】両試験とも投与期間中に死亡例はなく、一般状態にも異常は認められなかった。また、体重、性周期、肉眼的病理学検査、臓器の絶対及び相対重量においてもVCDの投与に起因する変化は認められなかった。病理組織学的検査では、4週間投与試験の20mg/kg以上の投与群の卵巣において濃度依存的に小型卵胞の減少が認められた。また、2週間投与試験の80mg/kg投与群でも小型卵胞の減少が認められた。【結論】以上の結果より、VCDが引き起こす卵巣毒性は適切な用量であれば雌性ラットを用いた2週間反復投与毒性試験の病理組織学的検査により検出できると結論した。

## WS2-3

### Cisplatinの卵巣毒性—ラット反復投与試験における卵巣の病理組織学的評価を中心に—

○野崎 佑介<sup>1)</sup>, 木澤 和夫<sup>1)</sup>, 福井 理恵<sup>1)</sup>, 木村 康<sup>1)</sup>, 千葉 真由美<sup>1)</sup>, 古坊 真一<sup>1)</sup>, 三善 隆広<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>富山化学工業株式会社 安全性研究部

【目的】Cisplatin (CDDP) を始めとする抗癌剤では、ヒトにおいて無月経を誘発するなど雌性生殖機能への影響が認められている。また、ラットにおいても、CDDP単回の大量投与により卵巣の病理組織学的な変化が報告されているが、非臨床毒性試験で一般的な2週間及び4週間の反復投与において卵巣の形態学的な変化は確認されていない。今回、ラットにCDDPを2週間及び4週間反復投与し、卵巣の詳細な病理組織学的検査を行い、雌性生殖器に対する影響を評価した。【方法】2週間投与試験では、8週齢雌性CrI:CD(SD)ラットにCDDPの0.25、0.5、1.0及び2.0 mg/kgを、4週間投与試験では、6週齢からCDDPの0.125、0.25及び0.5 mg/kgを1日1回、連日反復腹腔内投与した。対照群には、溶媒（生理食塩液）を同様に投与した。投与期間中、膈スミアを採取し、性周期観察を実施した。最終投与翌日に剖検して卵巣を摘出し、重量を測定した。卵巣は、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後に左右それぞれの最大断面のパラフィン包埋切片を作製し、HE染色及びPCNA免疫組織化学染色を施して鏡検した。病理組織学的検査を実施するにあたり、卵胞はPedersenらの報告を参考に、小型卵胞（Pedersen分類のtype 1-3ab）、中型卵胞（同分類のtype 4-5a）及び大型卵胞（同分類のtype 5b-8）に分類した。【結果・考察】2週間投与試験では、2.0 mg/kgに発情周期の延長あるいは持続的に発情休止期を示す個体がみられた。また、1.0 mg/kg以上で卵巣実重量の低値がみられ、病理組織学的には中型及び大型閉鎖卵胞の増加、大型卵胞の減少あるいは新生黄体の減少が認められた。4週間投与試験では、いずれの用量においても性周期及び卵巣重量に明らかな異常はみられなかったが、病理組織学的検査では0.25 mg/kg以上で大型閉鎖卵胞の増加あるいは小型及び大型卵胞の減少がみられた。なお、PCNA免疫染色では、HE染色よりも小型卵胞の同定及び卵胞の閉鎖の判定が容易であった。以上、ラットにCDDPを2週間及び4週間反復腹腔内投与すると、性周期異常がみられない用量で卵胞の閉鎖及び減少を主とした卵巣の病理組織学的変化が認められ、卵巣毒性を評価する上で、病理組織学的検査は有用と考えられた。

## WS2-4

### Anastrozole投与によるラット雌性生殖器の病理組織学的変化

○白井 真人<sup>1)</sup>, 櫻井 健<sup>1)</sup>, 斉藤 航<sup>1)</sup>, 松山 拓矢<sup>1)</sup>, 寺西 宗広<sup>1)</sup>, 古川 忠司<sup>1)</sup>, 三分一 厚司<sup>1)</sup>, 真鍋 淳<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>第一三共（株）安全性研究所

【はじめに】Anastrozoleはaromatase inhibitorであり、非臨床生殖毒性試験で受胎率が低下することが報告されている。今回、国立医薬品食品衛生研究所と日本製薬工業協会との卵巣毒性に関する共同研究の一環として、anastrozoleを反復投与した雌性ラットの生殖器については卵巣を中心に病理組織学的検索を行った。【材料および方法】7週齢のF344/DuCrI:CrIj 雌性ラットに溶媒または0.01、0.1、1および50 mg/kgのanastrozoleを2週間あるいは4週間反復経口投与した。投与期間終了後、卵巣および膈を採材し、常法により病理組織学的検索を行った。【結果】2週間反復投与の結果、50 mg/kg投与群で、卵巣における大型閉鎖卵胞、卵胞のう胞の増加、黄体数の減少と新世代黄体の消失、膈における膈上皮の粘液変性および単細胞壊死が認められた。4週間反復投与の結果、1 mg/kg以上の投与群で卵巣における大型閉鎖卵胞の増加が認められ、50 mg/kg投与群では2週間反復投与とほぼ同質・同程度の変化が見られた。なお、両試験とも50 mg/kg投与群では全例に性周期の停止が認められた。【考察】本試験ではanastrozoleをラットに2週間反復投与した結果、卵巣と膈に組織学的変化が認められた。卵巣では卵胞のなかでも大型卵胞には組織学的変化が認められたが、小型～中型卵胞には変化が見られなかった。このことは卵胞におけるaromatase発現が大型卵胞で高いことと関連すると考えられた。また、黄体については50 mg/kg投与群では新世代黄体が消失していることから、anastrozole投与により排卵から黄体形成までの過程が阻害されていることが示唆された。膈上皮の変化は抗エストロゲン剤投与と類似しており、aromatase阻害によるホルモンバランスの変化によると推測された。

## WS2-5

### ラットにおける新規PPAR $\alpha/\gamma$ dual agonist投与による卵巣毒性

○佐藤 則博<sup>1)</sup>, 内田 圭祐<sup>1)</sup>, 中島 幹夫<sup>1)</sup>, 渡邊 厚<sup>1)</sup>, 小平 輝朋<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>旭化成ファーマ株式会社 安全性・動態研究部

【緒言】今回、製薬協主催の卵巣毒性共同研究に参加し、カテゴリー3「ホルモン合成および代謝に関与する酵素の阻害を示す化合物」の一例として自社の新規PPAR  $\alpha/\gamma$  dual agonistを用いた雌ラットにおける2週間および4週間反復経口投与毒性試験を実施し、卵巣の病理組織学的評価を行ったので報告する。【方法】6週齢のCrI:CD(SD)雌ラットを用い、PPAR  $\alpha/\gamma$  dual agonistの0、4、20、および100 mg/kg/dayを2週間および4週間反復経口投与した。両試験とも投与の最終週に膣垢スメアを観察し、性周期の確認を行った。剖検後、卵巣、子宮、膣を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した後、常法に従ってパラフィン包埋、HE染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。卵巣については、抗PCNA抗体を用いた免疫組織化学染色およびTUNEL染色をあわせて行った。【結果・考察】被験物質投与による性周期の異常はみられなかったが、投与量に応じた卵巣重量の減少が認められた。卵巣の組織学的検査の結果、多くの大型卵胞の顆粒膜細胞にアポトーシスが観察され、投与量増加あるいは投与期間延長に伴って閉鎖卵胞の増加が認められた。本変化に関連して黄体数の減少および間質腺増加が観察された。一方、小型から中型の卵胞には明らかな変化は認められなかった。また、本化合物に特徴と思われる変化として、大型卵胞の卵胞腔内に顆粒膜細胞様細胞の脱落・剥離像が認められた。これらの顆粒膜細胞様細胞は、いずれもPCNA染色陽性かつTUNEL染色陰性であり、アポトーシスには陥っていないと考えられた。さらに、変性した卵細胞を有する黄体数の増加も観察されたが、これは上記の顆粒膜細胞様細胞の挙動に関連する変化と推察された。以上の結果から、PPAR  $\alpha/\gamma$  dual agonistは特に顆粒膜細胞に作用し、卵巣の機能に障害を及ぼすことが示唆された。

## WS2-6

### ミフェプリストンによるラット雌性生殖器及び内分泌器への影響

○田村 啓<sup>1)</sup>, 横井 亮平<sup>1)</sup>, 奥原 裕次<sup>1)</sup>, 林 守道<sup>1)</sup>, 長澤 達也<sup>1)</sup>, 小野里 知哉<sup>1)</sup>, 黒田 淳二<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>キッセイ薬品工業株式会社 安全性研究所

【緒言】ミフェプリストンはプロゲステロン受容体に高親和性を有する合成ステロイドであり、その高い受容体拮抗作用から、ヒトでは特に妊娠の初期における経口中絶薬として使用されている。実験動物において、ラットでは、妊娠初期の投与により着床後胚死亡や不妊が認められるが、交配前に投与した場合にも胎児数の減少や受胎率の低下が報告されている。今回我々は、ミフェプリストンをラットに反復投与し、雌性生殖器並びに内分泌器への影響を検討した。【方法】6週齢の雌CrI:CD(SD)ラット(20匹/群)に、0.8、4、20、並びに100 mg/kgのミフェプリストンまたは媒体(0.25% CMC)のみを反復強制経口投与した。投与期間中、体重及び摂餌量測定、膣スメアによる性周期観察を行い、投与2週間及び4週間後に各群の半数を剖検し、器官重量測定及び病理組織学的検索を実施した。【結果】ミフェプリストン投与に起因する変化は2週間及び4週間投与とも20 mg/kg以上で認められた。正常な性周期回帰からの逸脱を示す個体は2週間投与から散見され、100 mg/kgの4週間投与では、ほぼ全例に持続発情が観察された。組織学的に、卵巣では黄体化のう胞の増加が認められ、さらに発情期にもかかわらず、卵細胞が残存し顆粒層の一部が黄体化した大型の非破裂黄体化卵胞を認める個体も散見された。また、新生黄体及び新世代黄体が消失・減少する一方、旧世代黄体の肥大が観察された。その他、プロラクチン分泌亢進を示唆する下垂体前葉肥大並びに乳腺の乳汁分泌亢進が観察され、重量増加が認められた副腎では皮質肥大が観察された。【まとめ】雌性生殖器及び内分泌器に認められた主な変化は、ミフェプリストンのプロゲステロン受容体あるいはグルココルチコイド受容体拮抗作用によって誘発されるホルモンバランスの変動に起因するものと考えられた。卵巣にみられた黄体化のう胞の増加、非破裂黄体化卵胞の存在、並びに新生黄体及び新世代黄体の消失・減少は排卵障害を示唆するものであり、これによる排卵数の減少は胎児数の減少や受胎率低下の一因として反映されることが考えられた。

## WS2-7

### 卵巣毒性共同研究～インドメタシンのラット2週間／4週間反復投与毒性試験

○坪田 健次郎<sup>1)</sup>, 串間 清司<sup>1)</sup>, 山内 研司<sup>1)</sup>, 松尾 成喜<sup>1)</sup>, 三枝 雅<sup>1)</sup>, 伊藤 伸<sup>1)</sup>,  
藤原 道夫<sup>1)</sup>, 松本 正博<sup>1)</sup>, 仲辻 俊二<sup>1)</sup>, 大石 裕司<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室

【緒言】代表的な非ステロイド性抗炎症剤であるインドメタシンは、卵巣においてプロスタグランジンの生成を阻害する作用によって卵胞の破裂／排卵を抑制することが知られている。今回卵巣毒性共同研究の一環として実施した、インドメタシンの2週間及び4週間反復投与毒性試験における卵巣の病理組織学的変化について報告する。【方法】6週齢の雌CrI:CD(SD)ラット(1群10例)にインドメタシンの0.3、1.3、4 mg/kgを2週間または4週間それぞれ強制経口投与し、卵巣、子宮、膣を病理組織学的に検査した。【結果・考察】2週試験では、4 mg/kg投与群で排卵が阻害された結果形成されたと考えられる未破裂卵胞(unruptured follicle)が2例に、黄体化嚢胞(luteinized cyst)が1例に認められた。4週試験では4 mg/kg投与群で未破裂卵胞が2例、卵胞嚢胞(follicular cyst)が1例に認められた。1.3 mg/kgはいずれの試験においても卵巣組織に対しての無毒性量であった。未破裂卵胞は正常に排卵された後にできる初期黄体に比べ大きな腔を持つが、莢膜・顆粒膜細胞層は初期黄体と同様に黄体化し、血管の新生などがみられ、腔内に卵細胞が認められるものもあった。発情後期にみられた黄体化嚢胞の卵胞上皮は完全に黄体化していたが、大きな腔を持ち中に卵細胞が認められたため、未破裂卵胞が黄体化した結果形成されたと考えられた。未破裂卵胞は発情期には非常に大きな嚢胞として明瞭に認められるが、発情後期の黄体化嚢胞は標本上に卵が出ていない場合、対照群にも認められる腔を持つ黄体(黄体嚢胞、Cystic corpora lutea)との鑑別が難しい。発情休止期、発情前期の卵巣では未破裂卵胞及び黄体嚢胞は認められなかった。インドメタシンによる未破裂卵胞の誘導については既に文献に幾つか報告があるが、発情前期の動物に強制的な排卵誘発処理を加えるとともに単回投与し、発情期に病理検査する方法で検討されている。以上のことからラットで反復投与によりインドメタシンのような排卵を阻害する作用を持つ化合物を評価する場合には、各投与群に発情期の動物が相当数含まれていることが必須であると考えられた。

## WS2-8

### Ethylene glycol monomethyl ether (EGME) の卵巣毒性に関する検討

○武田 賢和<sup>1)</sup>, 猪又 晃<sup>1)</sup>, 園田 二郎<sup>1)</sup>, 早川 和宏<sup>1)</sup>, 中野 今日子<sup>1)</sup>,  
桃澤 由妃<sup>1)</sup>, 細川 暁<sup>1)</sup>, 青木 豊彦<sup>1)</sup>, 築館 一男<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>エーザイ株式会社 安全性研究所

【目的】Ethylene glycol monomethyl ether (EGME)は、卵巣の黄体細胞に対するプロゲステロン分泌を刺激する物質として知られている。今回、EGMEが雌性生殖器に及ぼす影響について、病理組織学的に検索した。また、ラットでは一回の性周期に4～5日を要し、卵巣には成熟から退縮までの様々な段階の黄体が存在する。EGMEによる黄体の形態学的変化を詳細に把握するため、BrdUを用いて無処置ラットの黄体の分類についても検討した。

【方法】SDラットに、EGMEを0, 30, 100, 300 mg/kgの用量で2週または4週間経口投与した。投与終了後、卵巣についてHE染色標本作製し、光学顕微鏡による観察を行った。胞状卵胞と閉鎖卵胞を判別するためにPCNA免疫染色も実施した。また、性周期を把握するため、膣スメア像の観察を実施した。黄体の分類検討では、排卵直後(発情期の朝)の無処置ラットにBrdUを単回腹腔内投与後、1, 4, 8, 及び12日目に剖検を行い、性周期の継続に伴う黄体の形態学的変化の観察を実施した。

【結果及び考察】BrdUを用いた検討の結果、ラットの黄体は排卵から1サイクル後に最大となり、その後アポトーシスにより徐々に退縮し、4サイクル後にはその殆どが退縮することが明らかとなった。さらに、ラットの黄体は、形態学的に次の4種に分類された：排卵直後の新規形成黄体(Type 1)、1サイクル経過後の成熟黄体(Type 2)、2サイクル経過後の退縮黄体(Type 3)、3サイクル経過後の残存黄体(Type 4)。EGMEを投与したラットでは、100 mg/kg以上の群で性周期の異常が見られた。卵巣の病理組織学的観察では、2週、4週投与群いずれも100 mg/kg以上で黄体の肥大と閉鎖卵胞の増加が特徴的であった。また、100 mg/kg以上の群では成熟期のType 2に相当する黄体が多数認められ、黄体細胞のアポトーシス像も殆ど観察されなかった。以上、今回実施したBrdUによる黄体分類の検討結果もあわせて考えると、EGME投与による黄体の肥大は、黄体の退縮抑制に起因するものであり、閉鎖卵胞の増加は黄体の退縮抑制に伴う二次的な変化であると考えられた。

## スルピリド投与によるラット雌性生殖器への影響

○足立 民子<sup>1)</sup>, 岡田 味世子<sup>1)</sup>, 宇部 雅進<sup>1)</sup>, 石井 俊一郎<sup>1)</sup>, 佐野 文子<sup>1)</sup>,  
杉本 次郎<sup>2)</sup>, 高木 司郎<sup>2)</sup>, 北村 和之<sup>2)</sup>, 務台 衛<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>田辺三菱製薬・安全性研

【はじめに】スルピリドはDopamine D2 receptor antagonistであり、妊娠前および妊娠初期投与試験において妊娠率が低下することが報告されている。今回、日本製薬工業協会からの要請により実施した卵巣毒性共同研究において、スルピリド投与による雌ラット生殖器系器官への影響について病理組織学的に検討したので報告する。【材料および方法】6週齢の雌CrI:CD(SD)ラットに(10匹/群)に1、10、100 mg/kg/dayのスルピリドを2週間あるいは4週間強制経口投与した。対照群として溶媒投与群を設定した。投与期間終了後、卵巣、子宮、膣および乳腺について採材し、HE染色(卵巣のみHE染色およびPCNA染色)を実施後、病理組織学的検索を行った。【結果・考察】2週間投与：1 mg/kg以上の動物で、卵巣における閉鎖卵胞(Type7・8の大型卵胞)の増加、子宮および膣における発情休止期像の増加が、10 mg/kg以上の動物で、卵巣におけるFollicular Cystの増加、子宮および膣における異常休止期像の増加、膣上皮の粘液細胞化、乳腺における腺房の発達および乳汁分泌亢進が認められた。

4週間投与：2週間投与とほぼ同様の変化のほか、10 mg/kg以上の動物で膣における異常な発情前期像が、1 mg/kg以上の動物で卵巣における大型卵胞の減少が認められた。卵巣のFollicular Cystの増加は2週間投与と比べ低用量(1 mg/kg以上)から認められた。

本実験条件下では、スルピリド投与による雌生殖器の変化は投与2週時点から検出可能であることが確認された。スルピリドによる卵巣への影響は、Type 7から8の大型卵胞における発育停止が顕著であり、小型あるいは中型卵胞、および黄体への影響は認められなかった。子宮および膣では発情休止期像あるいは異常発情休止期像が増加しており、性周期が停止していると考えられた。これらの変化と乳腺の変化にはスルピリドのD2拮抗作用に基づく高プロラクチン血症との関連が示唆された。

- MEMO -

# 一般口演要旨

(0-1~0-10)

## \*O-1

### Tricinによる炎症関連大腸発がん抑制効果

○尾山 武<sup>1)</sup>, 安井 由美子<sup>1)</sup>, 杉江 茂幸<sup>1)</sup>, 渡邊 邦友<sup>2)</sup>, 田中 卓二<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>金沢医科大学 腫瘍病理学, <sup>2)</sup>岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 嫌気性菌研究分野)

【目的】抗炎症作用、抗酸化作用などの生理活性を有するtricinはフラボン類に属するフラボノイドの一種で主に小麦、米ぬかなどに含まれる。今回、我々はtricinによる炎症関連大腸発がんへの影響について検討したので報告する。

【方法】5週齢雄性ICRマウスを使用した。実験群はazoxymethane (AOM)/dextran sodium sulfate (DSS)投与群、AOM/DSS/50 ppm tricin投与群、AOM/DSS/250 ppm tricin投与群、250 ppm tricin投与群、AOM投与群、DSS投与群、未処置群の7群とした。AOMは10 mg/kg体重を腹腔内投与した。DSSはAOM投与後1週より一週間、2%の濃度で飲水投与した。TricinはDSS投与終了後1週から実験終了まで15週間、上記3用量で混餌投与した。実験開始後18週目にマウスを犠牲死させ、大腸腫瘍の発生頻度、一匹当たりの腫瘍数ならびに病理組織学的解析を行った。

【結果】大腸腫瘍の発生はAOM/DSS投与マウスでのみ認められた。その大腸腫瘍発生率はAOM/DSS投与群(16/16, 100%)、AOM/DSS/50 ppm tricin投与群(13/16, 81.2%)、AOM/DSS/250 ppm tricin投与群(11/15, 73.3%,  $p=0.0434$ )であった。大腸腫瘍数はAOM/DSS投与群(6.31 $\pm$ 3.72)、AOM/DSS/50 ppm tricin投与群(4.25 $\pm$ 3.53)、AOM/DSS/250 ppm tricin投与群(2.66 $\pm$ 3.09,  $p<0.05$ )であった。大腸腫瘍の発生率、一匹当たりの腫瘍数ともにtricinの投与濃度依存性に減少傾向が認められた。特に高用量tricinの混餌投与により、大腸腫瘍の発生率、発生個数が有意に減少した。

【考察】以上の結果より、tricinは炎症関連大腸発がんに抑制作用を有することが示された。現在その機構解析を行っているところである。

## \*O-2

### Wnt pathwayによる大腸上皮細胞の増殖制御： $\beta$ -catenin inducibleマウスによる検討

○平田 暁大<sup>1)</sup>, 山田 泰広<sup>2)</sup>, 山下 聡<sup>3,4)</sup>, 牛島 俊和<sup>4)</sup>, 原 明<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>岐阜大学生命科学総合支援センター動物実験分野, <sup>2)</sup>岐阜大学大学院医学系研究科 腫瘍病理学分野,

<sup>3)</sup>さきがけ・科学技術振興機構, <sup>4)</sup>国立がんセンター研究所 発がん研究部)

[はじめに]我々は、細胞増殖活性の違いをGFP強度で識別可能なHistone H2B-GFP inducibleマウスを用いて、大腸腺管上部の静止/分化細胞と腺管下部の増殖/未分化細胞を分離し、増殖細胞において $\beta$ -catenin/Tcfの標的遺伝子の発現が高く、Canonical Wnt pathwayが活性化していることを見出し、昨年度本学会にて報告した。今回、大腸上皮細胞の増殖制御におけるWnt pathwayの役割を明らかにするため、 $\beta$ -catenin inducibleマウスを用いて解析した。[方法] Doxycyclin (Dox) の投与により (Tet-on system)、遺伝子導入した安定型 $\beta$ -cateninの発現を制御可能な $\beta$ -catenin inducibleマウスを用いた。同マウスに高濃度(0.2%)および低濃度(0.01%)のDoxを5日間飲水投与し、大腸の形態学的観察ならびにreal-time PCR法による遺伝子発現解析を行った。[結果] $\beta$ -catenin inducibleマウスの大腸上皮において、Dox投与により $\beta$ -cateninおよび $\beta$ -catenin/Tcfの標的遺伝子の発現が有意に亢進した。組織学的解析およびKi-67免疫組織学的解析により大腸粘膜上皮細胞の増殖活性を検討したところ、低濃度Dox投与群において細胞増殖の亢進が見られた。一方、高濃度Dox投与群では細胞増殖の著明な亢進は認められず、また、 $\beta$ -cateninとKi-67の二重染色では $\beta$ -cateninが核に蓄積した細胞の多くはKi-67陰性であり、 $\beta$ -cateninの高発現は必ずしも細胞増殖の亢進に結びつかないことが示唆された。また、高濃度Dox投与群では、腺管底部の分裂 (fission) が高頻度に観察され、さらにMsi 1、Lgr5、Bmi1と言った腸管の幹細胞マーカーの発現がいずれも亢進しており、高濃度Dox投与により大腸上皮幹細胞が増殖したと考えられた。[考察] $\beta$ -catenin inducibleマウスにおいて、低濃度Dox投与により大腸上皮細胞の細胞増殖は活性化され、高濃度Dox投与により大腸上皮幹細胞が増殖したことから、Wnt pathwayは大腸上皮細胞の増殖制御に重要な役割を果たしており、その強度の調節が大腸の恒常性の維持に重要であること示唆された。

### O-3

## ラット肝発がんプロモーションにより生じるGST-P陽性の変異肝細胞巣と腫瘍で特異的に発現変化を示すPTEN/Akt2経路分子とTGF $\beta$ 受容体

○渋谷 淳<sup>1)</sup>, 谷合 枝里子<sup>2)</sup>, 出羽 康明<sup>1)</sup>, 西村 次平<sup>1)</sup>, 島 智美<sup>1)</sup>, 吾郷 恭平<sup>1)</sup>, 高橋 美和<sup>2)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>東京農工大学 獣医病理, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

【目的】PTEN/Akt経路はがん浸潤に関連する重要な分子群であり、我々はその抑制分子であるPTENがラット肝発がんプロモーション過程早期の変異肝細胞巣から進行した肝細胞癌に至るまで発現減少し、発がんに関して相反する二つの機能（細胞増殖抑制とがん浸潤）を示すTGF $\beta$ シグナルの受容体R1分子は逆に発現増加することを見出している。本研究では、3種類の異なる非遺伝毒性肝発がん物質によるプロモーション早期から進展期におけるこれらの関連分子の発現局在を検討した。【材料と方法】6週齢の雄性F344ラットを用いて、肝中期発がん性試験法に従い、フェンベンダゾール（FB）、ピペロニルブトキサイド、チオアセタミドの混餌投与によるプロモーション処置を6週間行い、変異肝細胞巣を誘発した。同様の方法でFBを57週間投与し、肝腫瘍を誘発した。GST-P陽性を示した変異肝細胞巣と肝腫瘍について、PTEN/Akt関連分子、TGF $\beta$  R1、Aktの上流に位置するEGFR等のチロシンキナーゼ型受容体(RTK)の免疫組織化学的な発現局在解析を行った。【結果及び考察】発がん物質を問わず、GST-P陽性細胞巣の多くは、PTENとその不活性型のphospho-PTENの陰性細胞巣を形成し、Aktアイソフォームの中でAkt2の活性型phospho-Akt2と、分子は特定できないもののphospho-Akt substrate (Aktのキナーゼ活性の基質分子群に共通のリン酸化モチーフ)が陽性を示し、プロモーション過程早期でのAkt2とその下流シグナルの活性化が示された。また、TGF $\beta$ シグナルの受容体TGF $\beta$  R1もGST-P陽性細胞巣の多くに共局在し、PI3K/Akt2経路とのクロストークが示唆された。これらの分子は、FBによるプロモーションの結果得られた腫瘍にも同様の局在性を示し、発がん過程全般に関わる基本的な分子メカニズムを担うものと考えられた。特に、phospho-Akt substrateは変異肝細胞巣では細胞膜に、腺腫では細胞膜と細胞質に同程度の分布を示したが、癌では細胞質のみに分布し、悪性化に伴いAkt2の基質分子に機能或いは活性変化の生じていることが示唆された。また、RTKのうちEGFRはGST-P陽性細胞巣と肝腫瘍で選択的に発現減少し、この受容体のリガンドとの結合に伴う内在化亢進の可能性が示唆された。

### \*O-4

## マウス肺扁平上皮がんにおける二段階発がんモデルの開発

○多胡 善幸<sup>1)</sup>, 山野 莊太郎<sup>1)</sup>, 北野 光昭<sup>1)</sup>, 林 修次<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

【目的】近年、がんの分子標的治療薬研究の進展とともに、肺がん組織タイプ別に効果を示す抗がん剤または化学的予防物質の開発が必要とされてきている。しかしながらマウス肺発がん試験において、扁平上皮がんを特異的に誘発するモデルは、現在のところ十分に開発されていない。そこで、新たな二段階肺扁平上皮発がんモデルを確立するため、N-nitroso-tris-chloroethyl-urea(NTCU)を短期間投与したモデルの開発を試みた。

【方法】6週齢のA/JマウスにNTCU-0.013M-75 $\mu$ l、週2回、4または8週にわたり皮膚背面に塗布した。約1週間後より、肺腺がんプロモーターとして知られるDimethylarsinic acid(DMA)を0または200ppmの濃度で飲水投与した。試験開始18週目に全例解剖し、病理組織学的解析を行った。

【結果】NTCU投与により、ほぼすべての個体において肺扁平上皮化が観察された。各群の肺扁平上皮がんの発生率は、4週NTCU単独群および4週NTCU+14週DMA群で、54%(7/13)および53%(8/15)を示した。8週NTCU単独群および8週NTCU+10週DMA群では、71%(5/7)および33%(3/9)を示した。各群の生存率は、4週NTCU単独群および4週NTCU+14週DMA群で、87%(13/15)および100%(15/15)を示し、8週NTCU単独群および8週NTCU+10週DMA群では、47%(7/15)および60%(9/15)を示した。

【考察】8週NTCU投与群において、4週NTCU投与群に比較し生存率が低下したが、肺扁平上皮がんの発生は高頻度に誘発された。すなわち、発がん促進物質の検索には4週NTCU投与試験が適し、発がん抑制物質の検索には8週NTCU投与試験が適している可能性が示唆された。一方、肺腺がんプロモーターとして知られるDMAには、肺扁平上皮がんの促進作用はないことが明らかとなった。

## \*O-5

### 片肺虚脱の試みによるマウス肺中期腫瘍モデルの作成と 胸膜中皮腫モデルへの可能性

○横平 政直<sup>1)</sup>, 橋本 希<sup>1)</sup>, 鈴木 智<sup>1)</sup>, 竿尾 光祐<sup>2)</sup>, 久野 壽也<sup>1)</sup>, 今井田 克己<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>香川大学医学部腫瘍病理学, <sup>2)</sup>回生病院)

【緒言】これまで我々は、雌性のA/Jマウスに2mg/mouse 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)を2回腹腔内投与することにより、最短12週で肉眼的に検索可能な肺腫瘍が発生し、マウス肺腫瘍モデルとして有用であることを報告した。今回、12週よりさらに短期間で肺腫瘍を発生させることを目的に検討を行った。マウスにおいて片肺を切除することで残肺に血流が一過性に増大し、増殖因子も分泌されることが報告されている。これらの報告を参考に、NNK腹腔内投与後に片肺を虚脱させる 操作を加え、肺腫瘍促進効果への影響を検討した。

【方法】7週齢の雌性A/Jマウス30匹を15匹ずつ2群に分け、実験開始日および1週目に2mg のNNKを腹腔内投与した。3週目に1群は、ネプタール麻酔下に左胸部に開胸操作を加え、肺を虚脱させる目的に、左胸腔内に1匹当たり、3.3mg/0.1ml salineの高分子ポリマー（吸湿剤）を直視下に注入し閉胸した。2群はNNK投与のみの群とした。いずれの群も12週目に屠殺剖検後、肺を摘出し肉眼的および病理組織学的に検索を行った。

【結果】NNK+高分子ポリマー群ではNNK群と比べ左肺重量の有意な減少が認められた。肺の肉眼的結節数および肺増殖性病変数については、NNK+高分子ポリマー群はNNK群と比べて増加傾向が見られたが、統計学的な有意差は認められなかった。一方、NNK+高分子ポリマー群では、組織学的に左肺胸膜の反応性増殖様の変化を示す像が認められた。この部は、Calretinin染色において陽性反応を示し、中皮細胞の反応性凝集が認められた。また、胸腔内に入れた異物が肺実質内に陥入したような像も伴っていた。

【結語】今回、高分子ポリマー注入による左肺虚脱操作は、肺腫瘍の有意な促進作用を示さなかった。高分子ポリマーが異物処理反応によって、かなり体積として減少していることが考えられ、今後、高分子ポリマー注入処置を実験の中間期にさらに追加した検討を行う予定である。また、中皮細胞の反応性変化が見られ、この系を胸膜中皮腫モデルとして応用できないか追加検討中である。

## \*O-6

### ニューロン発達指標を基軸とした不可逆的脳発達遅延評価法の確立 - Reelinの発現局在と海馬歯状回でのニューロン分布の解析の有効性 -

○三枝 由紀恵<sup>1)</sup>, 富士本 仁<sup>2)</sup>, 禹 桂炯<sup>3)</sup>, 川合 正臣<sup>1)</sup>, 松本 明<sup>1)</sup>, 金 美蘭<sup>1)</sup>,  
広瀬 雅雄<sup>3)</sup>, 西川 秋佳<sup>3)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>東京農工大学 獣医病理学研究室, <sup>2)</sup>内閣府 食品安全委員会, <sup>3)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

【目的】脳はその発達初期より甲状腺ホルモン受容体を発現し、ニューロンやグリアの発達に重要な役割を果たす。難分解・高蓄積性物質には弱い甲状腺機能低下作用を示すものが多く、このような物質で懸念される発達影響を含む各種の脳発達遅延の包括的な評価法の確立は遅れている。我々は、各種の脳発達遅延を広く評価し得る系の確立を目的として、甲状腺機能低下によるニューロンやグリアの発達・分化影響に着目し、ラットを用いた脳部位特異的なマイクロアレイ解析を利用した障害指標分子の探索と成熟後での不可逆的影響評価法の確立を進めてきた。今回、感度の高いニューロン発達障害評価法を確立したので報告する。【方法】雌SD系ラットに妊娠10日～離乳時（生後3週）まで抗甲状腺剤のメチマゾール200 ppm、プロピオチオウラシル (PTU) 3、12 ppmを飲水投与した。また、脳発達影響の懸念される臭素化難燃剤として、デカブプロモジフェニルエーテルを10、100、1,000 ppm、ヘキサブプロモシクロドデカン及びテトラブプロモビスフェノールAを各々100、1,000、10,000 ppmの割合で混餌投与した。生後3及び11週に児動物の脳でのReelin、EphA5、NK3陽性細胞の解析、生後11週には海馬のCA1及び歯状回領域のNeuN陽性ニューロン分布の形態計測を行った。【結果】甲状腺関連ホルモン測定の結果、児動物の甲状腺機能低下は抗甲状腺剤で明らかで、難燃剤ではごく軽度であった。生後3週では、PTUでのみCA1領域の錐体細胞層外に分布するEphA5ないしNK3陽性細胞の増数を認めた。一方、抗甲状腺剤及び難燃剤共に高用量あるいは中間用量群で歯状回の顆粒細胞層内側に分布するReelin陽性細胞が増数し、12 ppm PTUでは11週でも持続した。11週目の形態計測では、CA1領域の錐体細胞層外に分布するNeuN陽性ニューロン数の増加と分布のばらつきを抗甲状腺剤でのみ認めた。一方、歯状回では、全ての化合物の高用量群で顆粒細胞層下部に分布するニューロン数の増加を認めた。【まとめ】ニューロン発達障害のマーカーとしてReelinを見出し、海馬歯状回でのReelin陽性細胞の測定と成熟期NeuN陽性ニューロン分布の評価は共に合致し、ニューロンを指標とした脳発達遅延の新規定量評価法として有望であることが示された。

## \*O-7

### 6-Mercaptopurine (6-MP)投与によるげっ歯類胎子の神経前駆細胞アポトーシス

○金光 弘幸<sup>1,2</sup>, 山内 啓史<sup>2</sup>, 小松 真彦<sup>1</sup>, 山本 諭<sup>1</sup>, 岡崎 修三<sup>1</sup>, 田村 一利<sup>1</sup>,  
内田 和幸<sup>2</sup>, 中山 裕之<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> (株)ボゾリサーチセンター, <sup>2</sup>東大・獣医病理)

DNA代謝障害作用を持つ6-Mercaptopurine (6-MP)は、白血病などの治療薬として広く用いられているが、胎児に神経毒性を引き起こす。

本研究では、妊娠13日のラットに6-MP 50 mg/kgを単回腹腔内投与し、投与12~72時間後に胎子を採材、病理組織学および分子生物学的検索を行った。その結果、終脳において、投与36時間後をピークとしたTUNEL染色法に陽性を示す神経前駆細胞の増加が確認された。さらに、アポトーシス実行因子であるcleaved caspase-3陽性の神経前駆細胞の著しい増加と電子顕微鏡観察による断片化細胞の増加も認めた。

続いて、6-MPによる胎子終脳の神経前駆細胞のアポトーシス経路について検討を行った。現在、アポトーシス経路には、p53からミトコンドリアを介した内因性経路とデスレセプターと呼ばれるfasを介した外因性経路がよく知られている。Western blotおよび免疫染色の結果から、6-MP投与24~72時間後に、内因性経路の因子であるp53及びpuma並びにcleaved caspase-9 タンパク質の著しい増加を認めた。外因性因子であるfasタンパク質は、実験期間を通じて増加しなかった。

このアポトーシスの内因性経路を明らかにするために、妊娠12日のp53遺伝子欠損マウスおよびfas遺伝子変異マウスに6-MP 50mg/kgを単回腹腔内投与し、投与36時間後に胎子を採材、組織学的検索を行った。その結果、p53遺伝子欠損マウスの終脳では神経前駆細胞のアポトーシス誘導が顕著に抑制されたが、fas遺伝子変異マウスの終脳では、アポトーシス細胞数に変化はみられなかった。

これらの結果から、6-MPに暴露されたげっ歯類の胎子では、神経前駆細胞にアポトーシス誘導が起こること、そのアポトーシス誘導経路は、p53によるミトコンドリアを介した内因性経路が主な担い手であることが示された。

## O-8

### メトキシクロル周産期暴露によるDNAメチル化異常をともなう前立腺肥大

○武田 真記夫<sup>1</sup>, 大塚 亮一<sup>1</sup>, 林 宏一<sup>1</sup>, 山口 悟<sup>1</sup>, 高橋 尚史<sup>1</sup>, 榎本 幸子<sup>1</sup>,  
桑原 真紀<sup>1</sup>, 小坂 忠司<sup>1</sup>, 青山 博昭<sup>1</sup>, 原田 孝則<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>財団法人残留農薬研究所)

メトキシクロル(MXC)の周産期暴露の雄性ラットに対する成熟後の影響を評価するため、一世代繁殖試験を実施した。Sprague-Dawley(Jcl:SD)ラットの母動物に交配2週間前から授乳期まで0, 30, 100, 300, 1000ppmの濃度で混餌投与を行い、得られた雄仔ラットの前立腺に関して、10および52週齢時に重量測定および分子生物学的解析を実施し、52週齢時に病理学的検索ならびにホルモンアッセイを実施した。前立腺重量について、10週齢時には有意な変化は認められなかったが、52週齢時には、300および1000 ppm群の前立腺において対照群に比べて有意な重量の増加が認められた。52週齢時には、前立腺における病理学的変化は認められず、血清中のテストステロン量および前立腺における5- $\alpha$ -reductase発現量の変化も認められなかった。マイクロアレイ解析の結果をもとに前立腺関連遺伝子の定量解析を実施した結果、52週齢時ににおいて3遺伝子がup-regulate, 6遺伝子がdown-regulateされていた。さらに、メチル化解析の結果、10週齢ではなく52週齢で、C3-PBP領域のCpG islandは有意に低メチル化しており、Fos領域のCpG islandは有意に高メチル化していた。また、対照群では、加齢に伴う低メチル化傾向が認められた。哺乳類等の高等生物におけるDNAメチル化には、ゲノムの安定性の維持および発現遺伝子の制御の二つの働きがあることが知られている。このことから、前立腺のゲノムは加齢とともに不安定な状態に向かうと考えられ、周産期暴露によりDNAメチル化制御機構に何らかの影響があったものと考えられる。

## O-9

### ナノサイズ二酸化チタニウムの肺と乳腺発がん促進作用とその機序の解析

○徐 結苟<sup>1)</sup>, 二口 充<sup>1)</sup>, 飯郷 正明<sup>1)</sup>, 深町 勝巳<sup>1)</sup>, アレクサンダー ダビッド<sup>2)</sup>, 内野 正<sup>2)</sup>, 西村 哲治<sup>2)</sup>,  
広瀬 明彦<sup>3)</sup>, 菅野 純<sup>3)</sup>, 徳永 裕司<sup>3)</sup>, 津田 洋幸<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>名古屋市立大学医学研究科, (<sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所, (<sup>3)</sup>医薬品医療機器総合機構)

【目的】 ナノ粒子は全く新しい素材として世界中で開発が進められている一方で、アスベストと同様に吸入曝露の可能性があるため、今後の肺がん等のリスク管理が重要な課題となる。今回我々は、無コーティングルチル型粒径20nm二酸化チタニウム (TiO<sub>2</sub>) 肺と乳腺に対する発がんプロモーション作用およびその機序について追究した。

【方法と結果】 6週齢の雌のc-Ha-ras TGラットにあらかじめ肺発癌物質DHPNを2週間飲水投与し、TiO<sub>2</sub>を250ppm、500ppmの濃度で第4から16週まで計7回気管内噴霧し屠殺剖検した。肺ではTiO<sub>2</sub>の凝集塊が肺胞マクロファージに貪食されていた。肺胞過形成、肺腺腫および乳がんの平均発生個数は、対照群ではそれぞれ平均5.9、0および3.0、TiO<sub>2</sub> 500ppm群では11.1、0.46および6.6であり、有意な増加(P< 0.01, 0.05, 0.05)がみられた。さらに野生型雌SDラットを用いTiO<sub>2</sub>を8日間に5回気管内噴霧した促進機序の解析実験において、肺ではSOD活性および8-OHdGレベルの有意な増加(P< 0.01, 0.001)がみられた。サイトカインアレイを用いた解析では、TiO<sub>2</sub>群でMIP1 $\alpha$ とGRO/KCの発現が有意に増加した。肺胞マクロファージの数が増加し、TiO<sub>2</sub>を貪食する肺胞マクロファージがMIP1 $\alpha$ とCox-2の免疫染色で陽性を示した。初代培養肺胞マクロファージにナノTiO<sub>2</sub>を処置すると、上清中のMIP1 $\alpha$ の発現が上昇しており、その培養上清を用いると、ヒト肺がん細胞 (A549) の増殖促進作用が示された。MIP1 $\alpha$ タンパクは濃度依存性にラット乳がん細胞(C3)の増殖を促進した。

【まとめ】 ナノTiO<sub>2</sub>はラット肺および乳腺発がん促進作用があることが明らかとなった。肺での促進作用の機序として、酸化ストレスに加え、TiO<sub>2</sub>を貪食したマクロファージがMIP1 $\alpha$ を産生し、肺胞上皮の増殖を誘導することが示唆された。MIP1 $\alpha$ は乳腺での促進作用にも関与すると考えられた。

## O-10

### ラットにおける多層カーボンナノチューブによる中皮腫の誘発

○坂本 義光<sup>1)</sup>, 中江 大<sup>1)</sup>, 福森 信隆<sup>1)</sup>, 田山 邦昭<sup>1)</sup>, 前川 昭彦<sup>2)</sup>, 今井 清<sup>3)</sup>,  
西村 哲治<sup>4)</sup>, 広瀬 明彦<sup>5)</sup>, 大橋 則雄<sup>1)</sup>, 小縣 昭夫<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>東京都健康安全研究センター, (<sup>2)</sup>(独)製品評価技術基盤機構 化学物質管理センター, (<sup>3)</sup>(財)食品農医薬品安全性評価センター,  
<sup>4)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部, <sup>5)</sup>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 総合評価研究室)

本研究は、多層カーボンナノチューブ(MWCNT)の発がん性試験実施に先立ち、発がん性の有無を確認する目的で行った。実験は、12週齢のFischer 344系雄性ラットに、MWCNT (体重kg当たり1 mg, 7匹)、クロシドライト (体重kg当たり2 mg, 10匹) または溶媒である2%カルボキシメチルセルロース (体重kg当たり2 ml, 5匹) を、陰嚢腔内に単回投与した。動物は、最長観察期間を52週間として飼育し、死亡または瀕死に当たって随時剖検した。実験の結果、MWCNTを投与したラットは、7匹中6匹が、投与の37-50週間後に、血性腹水を伴って腹腔内に播種性に進展し、一部胸腔に転移する腫瘍により、死亡するか瀕死となった。それらのラットの腹膜においては、中皮が瀰漫性に肥大し、中皮過形成と結節性または乳頭状の中皮腫が散在性に観察された。中皮腫は、中皮様腫瘍細胞で構成される早期型と、表層部の中皮様腫瘍細胞から成る部分・深部の紡錘形肉腫様腫瘍細胞部分から成る部分・それらの移行を示す部分より構成される進行型が観察され、隣接臓器・組織に浸潤していた。胸腔においては、胸膜に起源を持ち、上記と同様の特徴を示す中皮腫を観察したが、腹腔の中皮病変との連続性がなく、遠隔転移と判断された。残る1匹のMWCNT投与ラットは、52週間の最長観察期間終了時まで生存し、腹膜中皮の瀰漫性肥大と散在する中皮過形成を観察した。したがって、中皮腫の累積発生頻度は85.7%であり、発生した中皮腫はすべて悪性形質を有していた。MWCNTは、肝クッパー細胞、肝門脈域や腸間膜および縦隔のリンパ節等のマクロファージおよび巨細胞内に観察され、循環器系を介して全身分布するものと示唆された。クロシドライトまたは溶媒を投与したラットは、全例、52週間の最長観察飼育期間終了時まで生存し、前者においてアスベストの沈着を認めたほかに、特段の変化を認めなかった。以上の結果より、MWCNTは、本実験条件下において高率に中皮腫を発生させ、したがって発がん性を持つものと判明した。

## ポスター要旨

(P-1～P-114)

## \*P-1

### テルブタリン単回内頸動脈投与で誘発されたラット小脳プルキンエ細胞の Dark cell degeneration様変化

○山田 直明<sup>1)</sup>, 佐々木 啓<sup>2)</sup>, 黒滝 哲郎<sup>2)</sup>, 菅野 剛<sup>2)</sup>, 涌生 ゆみ<sup>2)</sup>, 飯田 昌敏<sup>2)</sup>, 土谷 稔<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>三菱化学安全科学研究所・鹿島研究所)

【背景】 $\beta$ 2アドレナリン作動薬であるテルブタリン (TB) は新生児ラット小脳にプルキンエ細胞 (PC) の減数, 顆粒層・分子層の狭小化など, 小脳神経細胞障害を誘発する。一方, 細胞外グルタミン酸濃度上昇によるAMPA型グルタミン酸受容体 (AMPA受容体) への過剰刺激はPCのDark cell degeneration (DCD)を惹起する。また, AMPA受容体刺激によりPCにおけるカルシウム結合蛋白カルビンジンの局在が変化する。我々はTBをマンニトール前処置後に投与することで, 成熟ラットPCにDCD様変化が誘発されることを報告した (2008年9月獣医学会)。今回は, その病理形態像を詳細に検索すると共にPCにおけるカルビンジンの細胞内動態を免疫組織学的に検索した。【方法】9週齢雄Ctrl:CD(SD)ラットの左側内頸動脈から25%マンニトール液を注入後, 硫酸TB 30mg/kgを注入した。投与2時間後, 3日後, 30日後に10%中性ホルマリン液で灌流固定し小脳の形態変化を観察した。またカルビンジンの免疫染色を行い, その細胞内分布を検索した。【結果】病理組織学的に, TB投与群いずれの個体にもPCのDCD様変化が認められ, それは投与2時間後, 3日後で多く, 30日後には減少していた。PC周囲には小型の空胞が認められ, それは投与3日後から出現し30日後には増大していた。パーグマングリア (BG) は投与3, 30日後で増生していた。カルビンジン免疫染色では, PC核内に顆粒状の陽性所見が認められ, それは投与2時間後に顕著で, 3日後, 30日後で減少した。細胞体は辺縁が層状または粗大顆粒状に強陽性を示し, 投与30日後で顕著であった。対照群ではPCの核内および細胞体辺縁に軽度の微細顆粒状陽性所見が認められた。電子顕微鏡学的検索では, TB投与30日後のPC細胞体にはFenestrated cisternが認められた。DCD様変化を起こしたPCには同様の変化に加え核膜が不整となりミトコンドリアやリボソームが増加し大型化した層板小体やその変形物を認めた。PC周囲には腫大したBGが認められた。【まとめ】TB投与によってPCにはDCD様変化, カルビンジンの細胞内分布の変化, 超微形態的变化が観察され, それらの相互関係が注目された。以上の変化はTBによって誘発される小脳神経細胞障害に関わる一変化として捉えられた。

## \*P-2

### 幼弱動物の脳の発達に関する病理形態学的検索

○高橋 尚史<sup>1)</sup>, 大沼 彩<sup>1)</sup>, 田島 悠<sup>1)</sup>, 榎本 幸子<sup>1)</sup>, 吉田 敏則<sup>1)</sup>, 桑原 真紀<sup>1)</sup>,

中島 信明<sup>1)</sup>, 千葉 裕子<sup>1)</sup>, 原田 孝則<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>財団法人 残留農薬研究所)

農薬における発達神経毒性の評価について, 米国EPAに引き続き, 2007年にOECDでもテストガイドラインが最終化され, 日本における同ガイドラインの制定も間近に迫っている。発達神経毒性試験の病理学的検査は, 母親動物に妊娠6日から分娩後21日まで被験物質を投与後, その児動物について幼弱 (生後11~22日) および若齢成獣 (生後60~70日) の2時期に実施する。げっ歯類の脳は出生後にもその発達が継続することが知られているが, 正常な脳の発達に関する詳細な報告は少ない。そこで本研究では, 生後13, 22日の幼弱動物と生後70日の若齢成獣について, 線条体を含む前脳, 海馬を含む大脳中心部および小脳の冠状断面のパラフィン切片を作製後, 各種染色法を用いて, 幼弱動物の脳の発達過程を明らかにすることを試みた。生後13, 22日では, 生後70日と比較し, 全体的に神経細胞の密度が高かった。生後13日では側脳室周囲, 海馬歯状回, 小脳外顆粒層および一部の白質領域に, 抗PCNA抗体陽性の増殖活性の高い細胞が存在し, 生後22日でもその程度は低いものの同様の傾向がみられた。生後70日では側脳室周囲にわずかにPCNA陽性細胞が認められるのみであった。増殖活性の高い部位と一致して, 生後13, 22日ではTUNEL陽性のアポトーシスを示す細胞が散見され, またアポトーシスは大脳皮質にもわずかに観察された。ボディアン染色および抗Neurofilament抗体を用いて, 軸索および樹状突起の伸長について検索したところ, 主に大脳皮質, 海馬および小脳に日齢による差がみられ, 生後70日では, 一定方向に伸びる太い軸索, 樹状突起が認められる一方で, 生後13日では無秩序に網目状に伸びる細い軸索, 樹状突起が観察された。抗Synaptophysin抗体によるシナプス形成の検索では, 日齢の増加に伴い, 主に海馬および小脳分子層でドット状の陽性像の増加が認められた。クリューバー・バレラ染色による髄鞘の観察では, 生後70日でその形成がほぼ完成しているのに対し, 生後13日では大部分の領域で, 22日では一部の領域で髄鞘形成がみられなかった。以上より, 幼弱動物の脳では神経細胞が増殖, 分化し, そのネットワークを形成中であり, これらの発達過程を十分に理解し発達神経毒性試験を実施する必要があると考えられた。

## Busulfanのラット新生仔小脳に及ぼす影響

○安藤 亮<sup>1)</sup>, 大平 東子<sup>1)</sup>, 八幡 めぐみ<sup>1)</sup>, 西村 信雄<sup>1)</sup>, 中澤 朋美<sup>1)</sup>, 斎藤 翼<sup>1)</sup>,  
藤田 麻里子<sup>1)</sup>, 池崎 信一郎<sup>1)</sup>, 工藤 佳代子<sup>1)</sup>, 田村 一利<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>ボゾリサーチセンター)

【目的】 Busulfanは、慢性骨髄性白血病治療薬や造血幹細胞移植前治療薬として使用されるアルキル化剤で、神経毒性や骨髄毒性等を示すことが知られている。本研究では、新生仔ラットにBusulfanを投与することにより惹起される小脳の病理組織学的変化を経時的に観察した。【材料と方法】 動物は、生後6日の雄性Crl:CD(SD)ラットを用いた。Busulfanは、オリーブ油に懸濁し、各用量、各ポイント5匹とし、0, 10, 30, 50 mg/kgの用量で単回背部皮下投与し、1, 2, 4, 7日後および5週後に脳を採取した。但し、30および50mg/kgでは7~16日後に、骨髄抑制に伴う敗血症で死亡ないし瀕死期殺された。新生仔は体重測定後、エーテル麻酔下で腹大動脈より放血し、脳を摘出して重量を測定した。脳は常法通りホルマリン固定・パラフィン包埋、HE染色し、組織学的に検索した。更に、TUNEL法及び抗caspase 3 (CAS), p53, p21並びにPhospho-Histone H3 (HIS) 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。【結果】 Busulfan群では、用量依存性に体重増加抑制および脳重量の低値がみられた。小脳では、Pyknotic cellが外顆粒層 (EGL) の顆粒細胞に強くみられ、TUNEL法及びCASに陽性で、さらにp53, p21に陽性であったことから、p53を介したアポトーシスであることが判明した。アポトーシスは、用量依存性に1日後より発現し、2日後をピークに、4または7日後までにはほぼ回復した。しかし、50mg/kg群では回復性を示さず、4日後以降、EGLが完全に消失し、内顆粒層の細胞密度も低下した。EGLのCASは10mg/kg群では2日後、30, 50mg/kg群では1日後をピークに、その後減少した。EGLのHISはいずれの投与群でも用量依存性に2, 4日後に減少し、10, 30mg/kg群ではその後回復したが、50mg/kg群では回復しなかった。尚、5週後生存した10mg/kg群では明らかな変化はみられなかった。【総括】 生後6日齢の新生仔ラットにBusulfanを単回投与することにより、小脳では主にEGLの顆粒細胞にアポトーシスが惹起されることが明らかとなった。変化は用量依存性であり、障害が軽度に留まった10mg/kgでは回復性が示された。

## P-4

## Busulfanのラット胎仔中枢神経毒性に関する研究－アポトーシスと細胞増殖の経時的变化－

○大平 東子<sup>1)</sup>, 安藤 亮<sup>1)</sup>, 山本 諭<sup>1)</sup>, 中村 憲彦<sup>1)</sup>, 小松 真彦<sup>1)</sup>, 中澤 朋美<sup>1)</sup>,  
斎藤 翼<sup>1)</sup>, 西原 香織<sup>1)</sup>, 田村 一利<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> (株) ボゾリサーチセンター)

【目的】 Busulfan (BUS) は、アルキル化抗がん剤であり、妊娠ラットへの投与により胎仔組織にアポトーシスを誘発し、催奇形性作用を示すことが報告されている。しかし、胎仔中枢神経毒性の発生機序に関する詳細は不明である。本研究では、胎仔中枢神経発生期の妊娠ラットにBUSを投与することにより惹起される胎仔中枢神経組織の変化を経時的に観察し、その発生機序について検索した。【材料と方法】 動物は、妊娠13日目のCrl:CD(SD)ラットを用いた。BUSは、オリーブ油に懸濁し、0及び30 mg/kgの用量にて単回腹腔内投与し、6, 12, 24, 36, 48, 72, 96時間後 (HAT) に胎仔を採取した。胎仔は、秤量後、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定、パラフィン包埋しHE染色を施し組織学的に検索した。更に、TUNEL法及び抗Caspase 3, p53, p21, BrdU並びにPhospho-Histone H3抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。また、BUS群の48 HATの胎仔より、終脳の一部を採取し電顕検査を行った。【結果】 BUS群では、胎仔の重量が48 HAT以降有意に減少した。HE標本では、Pyknotic cellが終脳、間脳、中脳、後脳の神経上皮細胞で特に顕著にみられた。このようなPyknotic cellはTUNEL法、Caspase 3免疫染色に陽性であったことと、その超微細形態から、アポトーシスであることが判明した。終脳におけるアポトーシスは、24 HATより発現し、48 HATをピークに72 HATまで認められ、96 HATではほぼ消失した。一方、p53及びp21陽性細胞は、24 HATより発現し、36 HATにピークに達し、96 HAT消失した。BrdU陽性細胞とPhospho-Histone H3陽性細胞は、24 HATより減少し、48 HATを最低に、96 HATには対照群とほぼ同レベルになった。【まとめ】 妊娠13日目のラットに30 mg/kgのBUSを単回腹腔内投与することにより、胎仔の中枢神経ではp53を介したアポトーシス惹起されることが明らかになった。また、BrdU及びPhospho-Histone H3陽性細胞数の減少で示される細胞増殖抑制が惹起されることが明らかになった。

## \*P-5

### NTCU誘発マウス肺扁平上皮癌の経時的病理組織学的変化

○山野 莊太郎<sup>1)</sup>, 梯 アンナ<sup>1)</sup>, 多胡 善幸<sup>1)</sup>, 魏 民<sup>1)</sup>, 陳 慶義<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

【背景及び目的】化学物質の発癌リスク評価のために、短-中期間で評価できる動物モデルの確立が必要と考えられる。肺においては近年、タバコ含有発癌物質であるNNKやウレタンを用いた短-中期でのマウス肺腺癌モデルが確立されている。一方、肺扁平上皮癌を特異的に誘発することは極めて困難であり、実験系はまだ確立されていない。最近N-nitroso-tris-chloroethylurea (NTCU)を用いて32週の連続経皮投与でマウスに肺扁平上皮癌を誘発することが報告されている。しかし、肺増殖性病変の経時的な変化を検討した報告はまだない。そこで今回、我々は詳細な病理組織学的解析を行い、NTCUが中期肺扁平上皮癌誘発モデルの作成に適するか否かを検討した。【方法】5週齢の雌性A/Jマウスを1週間の予備飼育後、NTCUをアセトンに溶かし、週2回皮下に塗布した。また対照群としてアセトン単独投与群を設けた。投与は20週間行い、投与開始後16、20、及び24週で経時的に剖検し、肺の病理組織学的解析を行った。【結果】NTCU処置により、病理組織学的に終末細気管支から肺胞囊にかけて扁平上皮化生が生じ、そこから異形成、さらには扁平上皮癌が発生することが確認された。肺における扁平上皮化生、異形成、扁平上皮癌の発生頻度は16週投与群で各々67%、50%、17%であり、20週投与群では78%、78%、44%、またさらに20週投与後4週休薬群（24週剖検群）では100%、100%、100%と増加傾向を示しており、各週齢に対するアセトン対照群ではそれらの病変は確認されなかった。また各病変における免疫染色を行ったところ、扁平上皮化生、異形成、扁平上皮癌細胞で扁平上皮系のマーカーであるCK5/6が陽性を示した。一方、正常気管支上皮細胞で陽性を示すクララ細胞マーカーであるCC10は、扁平上皮化生、異形成、扁平上皮癌細胞で陰性を示した。さらに、p53の免疫染色を検討した結果、20及び24週剖検群でそれぞれ34%及び50%の発生頻度で扁平上皮癌に陽性を示した。【結論】本実験では、32週より短い20週で異形成-扁平上皮癌を誘発することが明らかとなった。この結果よりNTCUが中期肺扁平上皮癌誘発モデルの作成に有用である可能性が示唆された。

## \*P-6

### PCB126胎生期暴露ラットにおけるBHP誘発肺癌のERK及びER $\alpha$ の発現

○小林 康子<sup>1)</sup>, 武藤 朋子<sup>2)</sup>, 石田 憲太<sup>1)</sup>, 本橋 昌也<sup>1)</sup>, 今井 海<sup>1)</sup>, 保高 秀匡<sup>1)</sup>, 和久井 信<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>麻布大学比較毒性学研究室, <sup>2)</sup>財団法人化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所)

【背景】PCBsは野生生物やヒトの血液、母乳、肝臓、脂肪組織から検出される環境汚染物質であり、中でもCo-PCBはダイオキシン類と同様の毒性を示す内分泌攪乱物質であることが知られている。さらに、Co-PCBに曝露された母動物の次世代では発がんへの影響なども懸念されている。【目的】肺癌は近年の癌死亡の第一原因となり、その増加には生活環境の変化が関連していると考えられている。さらに、農業工場従事者に肺癌による死亡が有意に増加していることも認められている。本検討では胎生期PCB126曝露ラットのBHP誘発肺癌への影響について明らかにすることを目的とした。【材料と方法】SDラットの妊娠13-19日の間、7.5  $\mu$ g/kg、250ng/kg、2.5ng/kg PCB126連日経口投与を行い、また対照群には溶媒のみを連日経口投与した。その後、次世代雄ラットに8週間BHPを投与し25週齢で剖検、肺組織の病理組織学的検討を行った。【結果】PCB126曝露群の解剖時の体重・肝臓重量は対照群と比べ低値を示した。これに対し、PCB126曝露群の肺重量は対照群と比べ高値を示した。全ての実験群の肺に過形成、腺腫、腺癌が認められた。さらに、7.5  $\mu$ g群では腺扁平上皮癌も認められた。過形成の発生は、対照群と比較して7.5  $\mu$ g群で有意に減少し、腺腫の発生は250ng群で有意に増加していた。肺癌細胞を対象とした免疫組織化学的検討から、AhR・CYP1A1の発現は250ng群・2.5ng群に比べ7.5  $\mu$ g群で低値を示した。これに対し、MEK1・ERK2の発現は7.5  $\mu$ g群で最も高値を示した。しかし、ERK1の発現はPCB126曝露群間ではほぼ同様であった。さらに、ER  $\alpha$  の発現は7.5  $\mu$ g群で最も高値を示した。【考察】PCB126高用量曝露群でBHP肺癌ではMEKとERK2の発現上昇が認められたが、AhR・CYP1A1の発現はPCB126低用量曝露群の方が高いことから、胎生期PCB126曝露量によってBHP肺癌におけるMAPK関連タンパクの変動が示唆された。さらに、PCB126高用量曝露群のBHP肺癌で認められたER  $\alpha$  の発現上昇もMAPK関連タンパクの発現と関連することが想定された。

## P-7

### 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)の経気管投与により誘発されたラット肺腫瘍の遺伝子異常についての検討

○楠岡 修<sup>1,2</sup>, 北橋 宗<sup>3</sup>, 三井 雅之<sup>4</sup>, 阪本 晃佳<sup>1</sup>, 田村 一利<sup>1</sup>, 辻内 俊文<sup>5</sup>, 堤 雅弘<sup>6</sup>

(<sup>1</sup> (株) ポゾリサーチセンター, <sup>2</sup>奈良医大 分子病理, <sup>3</sup>国立がんセ・研・がん予防基礎研究, <sup>4</sup>三重大学 創開研センター, <sup>5</sup>近畿大学 理工 生命科学, <sup>6</sup>済生会中和病院 病理部)

【はじめに】一昨年の本学会でタバコ特異的ニトロサミンであるNNKを経気管的に投与することにより、ラットの肺に腫瘍性病変の発生がみられたことを報告した。今回は、この経気管投与により誘発された肺腫瘍について遺伝子異常の有無を検索し、既に報告されている*N*-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine (BHP)誘発ラット肺腫瘍モデル及びヒト肺腺癌の遺伝子異常との比較を行った。【材料及び方法】7週齢のWistar系雄ラットに1週間に1回、合計8回の気管内投与を行った。NNKの投与は140 mg/mLのNNKと28 mg/mLの酸化鉄を含む溶液0.1 mL、28 mg/mLのNNKと14 mg/mLの酸化鉄を含む溶液0.2 mLと空気0.5 mL、28 mg/mLのNNKを含む溶液0.2 mLと空気0.5 mLの3条件とした。酸化鉄は発癌促進を目的とし、空気は溶液を肺全体に広く分散させるために溶液と同時に投与した。最終投与後69週に剖検し肺を摘出した。10%リン酸緩衝ホルマリンを注入固定し、常法に従いパラフィン包埋薄切切片を作製の上、顕微鏡下にて増殖性病変を切り出し、DNA抽出、PCR-SSCP法にて*K*-ras及びEGFR遺伝子の点突然変異について検索を行った。【結果および考察】NNKの経気管投与により、いずれの条件でも肺腫瘍が発生した。遺伝子検索した肺胞上皮過形成8例、腺腫4例、腺癌1例において*K*-ras及びEGFR遺伝子の点突然変異は検出されなかった。BHP誘発ラット肺腫瘍及びヒト肺腺癌では*K*-ras遺伝子の異常が報告されており、さらにヒト肺腺癌ではEGFR遺伝子の異常も報告されている。しかし、NNKによる肺発癌過程には*K*-rasやEGFR遺伝子は関与しておらず、この実験系における肺腫瘍の発生に関与する遺伝子異常については、さらなる検索が必要である。

## P-8

### 気管内注入と吸入曝露によるフラーレン(C60)のラット肺への影響

○大神 明<sup>1</sup>, 森本 泰夫<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>産業医科大学 産業生態科学研究所)

フラーレン (C60) は、炭素原子60個で構成されるサッカーボール状の構造を持った炭素クラスターであり、ナノ粒子の中でも今後の工業的利用が期待されている物質である。キャラクタリゼーションを行った質量基準50%径 33 nmのフラーレンを0.1mgと 0.2mgの濃度で、界面活性剤Tween80を0.1%含む蒸留水中に懸濁し、Wistar系雄性ラットに単回気管内注入を行った。タイムポイントは注入後3日から3ヶ月まで行った。BALFの解析では、観察期間内では対照群と比べほとんど差異を認めず、酸化ニッケルナノ粒子の結果と比較しても炎症反応は低い結果となった。肺およびその他の臓器の病理組織解析においても、対照群と差は認められなかった。また、対象物質をフラーレンおよび酸化ニッケルとした吸入曝露実験では、これらの粒子の曝露濃度及び曝露粒径分布を曝露チャンバー内でナノ粒子のままほぼ一定に保って1ヶ月間(1日6時間、週5日間、4週間(計19日間))ラットに曝露することに成功した。対照群は、清浄空気のみを曝露した。1ヶ月間の曝露終了後に解剖を行い、3日後、1ヶ月後、3ヶ月後のタイムポイントで評価を行った。その結果、BALFにおいて、フラーレン吸入群では、非曝露群とほとんど差異を認めなかったが、酸化ニッケル吸入群では総細胞数や好中球などの炎症細胞数の増加が認められた。肺組織においては、色素様成分の沈着を伴う肺胞マクロファージがフラーレン吸入群では微細程度に、酸化ニッケル吸入群で軽度に見られ、いずれも間質(気管支、血管周辺)における炎症細胞の微細ないし軽度な出現を伴っていた。ポイントカウンティング法による炎症エリアの評価では、フラーレン吸入群では、非曝露群と比較して曝露終了後3日目に軽微な差異を認めたが、以後の観察期間では有意差は認められなかった。一方、酸化ニッケル吸入群では、曝露終了後1ヶ月で炎症エリアの有意な拡大を認めたが、3ヶ月では非曝露群と比べ有意差は認められなかった。線維化に関しては、いずれの群においても線維増生を示す明らかな所見は認められなかった。この研究は新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)補助金により、広島大学大学院工学研究科、産業技術総合研究所との合同研究にて行われた。

## \*P-9

### Polyethylene glycol 400の反復経口投与で誘発されたラット胃のglobule leukocyte浸潤

○植田 芳英<sup>1)</sup>, 太田 泰史<sup>1)</sup>, 安井 雄三<sup>1)</sup>, 木原 亨<sup>1)</sup>, 長谷川 和成<sup>1)</sup>, 細井 理代<sup>1)</sup>,  
宮島 留美子<sup>1)</sup>, 志賀 敦史<sup>1)</sup>, 豊田 和弘<sup>1)</sup>, 今井 清<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>財団法人 食品農薬薬品安全性評価センター)

Polyethylene glycol 400 (以下, PEG400) は, 分子量約400の粘性液状物質で, 毒性は極めて弱いと考えられており, 現在, 医薬品, 化粧品等の製造工程において広く使用されている. また, 前臨床試験においても, 分散剤, 可溶化剤, 溶剤等の様々な目的で, しばしば投与液に添加される. 今回, PEG400をラットに15日間反復経口投与したところ, 胃にglobule leukocyte (以下GL) 浸潤の増加をはじめ, いくつかの病理組織学的変化を認めたので報告する.

7週齢のCrI: CD(SD)ラット (雌雄) に, 5, 50および100 v/v% PEG400水溶液を5 mL/kgの容量で15日間連日強制経口投与した. 投与期間中, 一般状態, 体重および摂餌量推移を観察し, 最終投与終了後に血液学検査および病理学検査を実施した. 投与期間を通じて軟便が100 v/v% PEG400投与群の雌雄で高頻度に認められたが, 体重, 摂餌量, 血液学検査所見および全身諸器官の肉眼観察所見ではいずれの群においてもPEG400投与による影響は認められなかった. 病理組織学検査では, 用量依存的に前胃limiting ridge粘膜上皮内のGL浸潤増加 (雌雄) ならびに粘膜上皮の海綿状態 (雄) の発生例数が増加した. 一方, 腺胃では, 雌雄ともにlimiting ridge近傍部において, 頸部粘液細胞 (副細胞) の増加, 粘膜上皮内のGL浸潤増加, 粘膜および粘膜下組織の好酸球浸潤増加の発生例数が用量依存的に増加し, 特に, 100 v/v%群のGL浸潤増加は雌雄全例に認められた. また, 増加したGLでは, 細胞質内エオジン好性顆粒が大型化する傾向にあり, トルイジンプルー染色でわずかにメタクロマジーを示し, 粘膜型肥満細胞の特異的マーカーである抗rat mast cell protease 2 (RMCP2) 抗体を用いた免疫組織化学染色で陽性を示した. 同様の変化はこれまで数種の物質において報告されているが, その病理発生機序, 生物学的意義は明らかにされておらず, 現在, それらの変化の機序および意義について解析中である.

## \*P-10

### マウスN-methyl-N-nitrosourea誘発胃がんにおける $\beta$ -cateninの変異と H.pylori感染およびCOX-2発現が与える影響

○高須 伸二<sup>1)</sup>, 塚本 徹哉<sup>1)</sup>, 曹 雪源<sup>2)</sup>, 豊田 武士<sup>1)</sup>, 時 亮<sup>1)</sup>, 山本 昌美<sup>1)</sup>, 酒井 洋樹<sup>2)</sup>,  
柳井 徳磨<sup>2)</sup>, 柵木 利昭<sup>2)</sup>, 大島 正伸<sup>2)</sup>, 立松 正衛<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部, <sup>2)</sup>岐阜大学 応用生物科学部 獣医病理,  
<sup>3)</sup>金沢大学がん研究所 腫瘍遺伝)

*Helicobacter pylori* (Hp)は胃発癌に深く関与している. Hp感染/胃癌発生にはcyclooxygenase-2 (COX-2)の過剰発現が関与すると報告されている. 我々は, これまでにCOX-2及びmicrosomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1)を胃粘膜特異的に発現するK19-C2mEトランスジェニックマウス (Tg)を用いて, COX-2発現が胃発がん性を促進させることを明らかにした. 今回, 胃発がんに関与していることが示唆されているWnt/ $\beta$ -catenin経路の異常に着目し, 胃発がんにおけるCOX-2/mPGES-1発現及びHp感染の与える影響とWnt/ $\beta$ -catenin経路の関与を検討した. Tg及び野生型マウス(WT)をそれぞれHp感染群 (Hp群), 120 ppm N-methyl-N-nitrosourea 10週間間歇投与群(MNU群), MNU+Hp群, および無処置群の4群に分けた. 全マウスとも52週で安楽死させ, 発生した腫瘍の $\beta$ -cateninの局在と遺伝子変異を検討した. その結果, 幽門線部の腫瘍では, 胃底腺部の腫瘍に比較して $\beta$ -cateninの蓄積が高頻度に認められた[MNU群: pyloric (15/15) vs. fundic (0/4),  $P < 0.01$ ; MNU+Hp群: pyloric (18/18) vs. fundic (1/4),  $P < 0.01$ ].  $\beta$ -cateninの蓄積部位では $\beta$ -catenin exon 3の遺伝子変異が認められ, その頻度はMNU群WT (2/11, 18.2%), Tg (3/14, 21.4%), MNU+Hp群 WT (6/19, 31.6%), Tg (10/16, 62.5%)であり, MNU群Tgマウスに比較して, MNU+Hp群Tgマウスにおいて有意に高かった( $P < 0.05$ ). また,  $\beta$ -cateninの非蓄積部位および周辺正常胃粘膜においては, 遺伝子変異はほとんど認められなかった. 以上から, 胃発がんにはWnt/ $\beta$ -catenin経路の活性化が重要な役割を果たしており, COX-2/mPGES-1発現およびHp感染は,  $\beta$ -catenin遺伝子変異を伴うWnt/ $\beta$ -catenin経路の活性化や癌細胞の増殖に寄与している可能性が示唆された.

## \*P-11

### *Helicobacter pylori*感染動物モデルにおけるピタバスタチンの胃発癌および血清脂質動態への影響

○豊田 武士<sup>1)</sup>, 塚本 徹哉<sup>1)</sup>, 高須 伸二<sup>1)</sup>, 時 亮<sup>1)</sup>, 田中 卓二<sup>2)</sup>, 立松 正衛<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>愛知県がんセンター研究所腫瘍病理学部, <sup>2)</sup>金沢医大 腫瘍病理)

スタチン製剤はコレステロール生合成の律速酵素であるHMG-CoA還元酵素の働きを選択的に阻害し、高脂血症治療薬として世界的に広く使用されている。スタチンは心血管障害発症のリスクを低減させることが明らかになっており、近年の研究では各種臓器の発癌に対するスタチンによる抑制効果の有無が論じられている。消化器癌、特に大腸癌に関して多くの疫学報告が成されているが、その結論はスタチンに発癌抑制効果を認めるものと、否定的なもので二分されている。一方で胃癌を対象とした大規模な疫学報告は未だなく、スタチンと胃発癌の関係については不明なままである。そこで我々は、*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染齧歯類モデルを用いて、腺胃発癌および血清脂質動態に対するスタチンの影響を評価した。6週齢の雄SPFスナネズミに*H. pylori*を胃内接種した後、*N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) 20週飲水投与およびピタバスタチン (0, 1, 3, 10 ppm) 混餌投与を行い、実験開始後52週で解剖に供した。検索の結果、スナネズミの胃発癌率は42~56%と各群間に有意な差はなく、ピタバスタチン投与による影響は認められなかった。ピタバスタチン投与群の幽門腺粘膜では、IL-1 $\beta$ とTNF- $\alpha$  mRNA発現が有意に上昇した。血清脂質動態の検索では、*H. pylori*接種+ピタバスタチン投与群において血清総コレステロール (T-Chol)、トリグリセリド (TG) および低比重リポ蛋白 (LDL) の値が濃度依存性に有意に上昇し、通常期待されるピタバスタチンの作用とは逆の動態を示した。*H. pylori*感染マウスおよびスナネズミを用いた短期ピタバスタチン投与実験 (12週) においても、スナネズミ・マウスともに*H. pylori*感染群ではピタバスタチン投与によって長期群と同様にTGが有意に上昇したのに対し、非感染群ではピタバスタチン投与によりT-CholおよびLDLの低下がみられ、*H. pylori*感染がピタバスタチンの脂質降下作用を阻害している可能性が示された。以上の結果から、ピタバスタチン投与は*H. pylori*感染スナネズミにおける腺胃発癌を抑制せず、また重度の*H. pylori*感染が背景にある場合、ピタバスタチンの血清脂質抑制効果が阻害されることが示唆された。

## \*P-12

### Ephrin-A1はApcmin/+マウスの腫瘍悪性を促進する

○時 亮<sup>1)</sup>, 立松 正衛<sup>1)</sup>, 加藤 光保<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部, <sup>2)</sup>筑波大学人間総合科学 実験病理研究室)

Ephrin-A1とEphA受容体は様々な癌細胞で過剰発現が認められ、腫瘍の発生と進展を促進すると考えられている。腸粘膜でのephrin-A1の機能を調べるため、我々はephrin-A1を消化管上皮特異的に発現するトランスジェニックマウスを作製した。さらにこのマウスと家族性大腸腺腫症の原因遺伝子であるApcに変異をもつApc<sup>min</sup>マウスを交配させて両変異をもつ複合マウスを作製し、Apc異常によって発生する良性腺腫にephrin-A1の過剰発現がどのような作用を示すかについて解析した。その結果、12週齢と20週齢のいずれにおいても複合マウスの腫瘍はApc<sup>min</sup>マウスとくらべ、数も多く、大きさも大きくなっていった。更に、複合マウスでは、腫瘍細胞が粘膜筋板を破壊し、浸潤する像が増加していた。15匹の複合マウスのうち、10匹において24個の浸潤腫瘍が見られ、その多数がephrin-A1を過剰発現する小腸下部と大腸に確認された。Apc<sup>min</sup>マウスでは15匹のうち5匹に5個の浸潤腫瘍を認められた。発生部位は小腸上部と中部に局限していた。以上より、消化管上皮に特異的に発現させたephrin-A1は、Apc<sup>min</sup>マウスの腺腫細胞の悪性を促進することが示唆された。

\*P-13

マウス肝二段階発がんモデルを用いたピペロニル・ブトキサイドの  
肝発がん促進機序についての分子病理学的解析

○川合 正臣<sup>1,2)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1,2)</sup>, 出羽 康明<sup>1,2)</sup>, 金 美蘭<sup>3)</sup>, 西村 次平<sup>1,2)</sup>,  
松本 明<sup>1,2)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>東京農工大学・獣医病理, <sup>2)</sup>岐阜大学大学院・連合獣医, <sup>3)</sup>東京農工大学大学院・連合農学)

【目的】殺虫剤やピレスロイド系農薬の共力剤として使用されているピペロニル・ブトキサイド (PBO) は、齧歯類に対し肝発がん促進作用を示すことが知られており、その肝発がんメカニズムに酸化ストレスが関与していることが報告されている。そこで我々は、マウス肝二段階発がんモデルを用いて、以下のような分子病理学的解析を行った。【方法】6週齢の雄性ICRマウスに2/3肝部分切除を実施し、その24時間後にイニシエーターとしてdiethylnitrosamine (DEN) を単回腹腔内投与 (20 mg/kg) した。DEN投与1週後から0 (DEN単独群) ないし0.6 % (DEN+PBO群) のPBOを25週間混餌投与した。投与終了後、肝について、病理組織学的解析、免疫組織学的解析 (ATF3) 及びReal-time RT-PCRを行った。【結果】DEN+PBO群では、DEN単独群と比較し、有意な体重の増加抑制が認められた。DEN+PBO群では、絶対重量及び相対重量の有意な増加が認められた。病理組織学的には、DEN+PBO群で、肝細胞肥大、肝細胞腺腫ならびに肝細胞癌の発生頻度が増加した。Real-time RT-PCR解析では、薬物代謝関連遺伝子 (*cyp2a5*, *por*)、酸化ストレス応答遺伝子 (*nqo1*)、即時性反応遺伝子 (*c-jun*, *c-myc*) および細胞周期関連遺伝子 (*cyclin D1*) の発現増加がDEN+PBO群で認められた。さらにATF/CREBファミリーに属するストレス応答遺伝子ATF3は、酸化ストレスにより誘導され細胞周期の停止やアポトーシスに関与することが知られており、DEN+PBO群で有意に発現増加した。ATF3抗体による免疫染色では、DEN単独群およびDEN+PBO群における肥大肝細胞はATF3に陽性を示したが、DEN単独群およびDEN+PBO群で認められた変異細胞増殖巣や肝細胞腺腫ならびにDEN+PBO群で認められた肝細胞癌の多くはATF3に陰性を示すか、あるいは増殖性病変の一部の肝細胞が弱陽性を示した。【考察】DENイニシエーション後にPBOを25週間投与することにより肝腫瘍が誘発することが示された。その誘発機序として、イニシエーション処置により出現した変異巣や腫瘍における細胞では、ATF3の発現が抑制され、細胞周期抑制に破綻が生じている可能性が示唆された。

\*P-14

ピペロニルブトキサイドの*p53*欠損*gpt delta*マウスを用いた*in vivo*変異原性

○田崎 雅子<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>, 木島 綾希<sup>1)</sup>, 鈴木 裕太<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>,  
兄玉 幸夫<sup>2)</sup>, 能美 健彦<sup>3)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 毒性部,  
<sup>3)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部)

【目的】ピレトリン系殺虫剤の共力剤として作用することから、食品添加物や動物用医薬品として使用されているピペロニルブトキサイド (PBO) は、げっ歯類の肝臓に高率に腫瘍を誘発する。しかし、従来の遺伝毒性試験において陰性を示し、その発がん機序は不明である。一方、マイクロアレイ解析の結果、その投与により薬物代謝酵素、DNA修復酵素ならびに細胞周期に関連するmRNAレベルが上昇し、その発がん機序に代謝過程において生じるDNA損傷ならびに細胞増殖誘導の関与が示唆されている。そこで本研究では、PBOの*in vivo*における変異原性を検索するとともに、DNA損傷と細胞周期に深く関与すると考えられている*p53*の影響を検討する目的で、*p53*欠損*gpt delta*マウスを用いた*in vivo* mutation assayを行った。また、肝プロモーター物質として知られるフェノバルビタール (PB) について同様に検索し、比較検討した。【方法】雄5週齢のB6C3F1系*gpt delta*マウス (*p53*野生型およびホモ欠損型)各群5匹に、PBOを6000 ppm、PBを500 ppmの濃度でそれぞれ13週間混餌投与した。肝臓を摘出し、主に点突然変異を検索する*gpt* assayならびに主に欠失変異を検索するSpi<sup>-</sup> assayを行い、レポーター遺伝子における変異頻度を検索した。【結果】何れの投与群においても肝比重量の有意な増加が認められたが、*p53*遺伝子型間で差異は見られなかった。野生型*gpt delta*マウスでは、PBOならびにPB投与による*gpt*遺伝子突然変異頻度 (*gpt* assay)、*red/gam*遺伝子突然変異頻度 (Spi<sup>-</sup> assay) の上昇は観察されなかった。また、*p53*ホモ欠損*gpt delta*マウスにおいても同様に投与による突然変異頻度の上昇は認められなかった。【考察】本実験条件において、PBO投与による*in vivo*変異原性は認められず、*p53*非存在下においても同様に変異原性は認められなかった。今回同時に実施した肝プロモーター物質のPBも同様に*in vivo*変異原性は陰性を示し、PBOは肝プロモーターである可能性が示唆されたが、PBOはPBに比べて非常に高い肝腫瘍発生率を示していることから、その発がん機序についてさらなる検討が必要であると考えられた。

## \*P-15

### F344 gpt delta ラット肝におけるDEN誘発in vivo変異原性ならびに 前がん病変に対するトコトリエノールの修飾効果

○井上 知紀<sup>1)</sup>, 豊田 尚美<sup>2)</sup>, 田崎 雅子<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>,  
増井 則夫<sup>3)</sup>, 能美 健彦<sup>2)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所病理部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部, <sup>3)</sup>(株)日本エスエルシー)

【目的】ビタミンE群の一つであり、食品添加物として知られるトコトリエノール (TTE) は強い抗酸化作用を有することから、今回、その発がん予防効果を探る目的で、diethylnitrosamine (DEN) が引き起こす肝臓の酸化的DNA損傷、in vivo変異原性ならびに前がん病変に対するTTEの修飾効果について検討した。【方法】7週齢の雄性F344 gpt deltaラットにTTEを1%の濃度で13週間混餌投与し、同時にDEN 20 mg/kgを週1回、計13回腹腔内投与した。対照群には基礎飼料あるいはDEN投与のみの群を設けた。実験開始後13週目に全動物を屠殺し、肝DNA中の8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 量測定、レポーター遺伝子gptの突然変異頻度解析、さらにGST-P陽性肝細胞巢ならびにPCNA陽性肝細胞の定量解析を行った。【結果】8-OHdG量は基礎飼料対照群に比してDEN投与群で有意な上昇を示したが、TTE併用投与の影響は認められなかった。gpt遺伝子突然変異頻度はDEN投与群とTTE併用投与群で基礎飼料対照群に比べて有意に上昇したが、両群間に差は認められなかった。一方、DEN投与によりGST-P陽性肝細胞巢の個数と面積ならびに肝細胞PCNA陽性率は無処置対照群に比して有意に上昇し、TTEの併用投与によりさらに増加し、DEN投与群に対して有意な差となった。【考察】DENの肝発がん機序には、特異的DNA付加体形成に加え、酸化的DNA損傷の関与が示唆されているが、本実験条件下では8-OHdGレベル、gpt遺伝子突然変異頻度の何れにもTTE併用投与の影響は認められず、DEN誘発肝発がんTTEが抑制効果を示す可能性は低いと考えられた。一方、TTEの併用投与によりGST-P陽性肝細胞巢の数および面積が有意に増大した。TTE投与はDENによるgpt遺伝子突然変異頻度の上昇に影響せず、肝細胞PCNA陽性率のみを増加させたことから、GST-P陽性病変の増加には細胞増殖活性の上昇が関与していると考えられた。これまで我々は、中期肝発がん検索モデルにより、TTE自体には明らかなプロモーション作用がないことを報告してきたが、今回認められたTTEによる肝細胞増殖活性の増強はDENの肝細胞増殖活性誘導機序にTTEが促進的に作用している可能性を示唆する。

## P-16

### 合成平面型カテキンの反復投与毒性試験ならびに 2-ニトロプロパン誘発酸化的DNA損傷への修飾効果

○梅村 隆志<sup>1)</sup>, 福原 潔<sup>2)</sup>, 木島 綾希<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>1)</sup>, 田崎 雅子<sup>1)</sup>,  
岡村 俊也<sup>1)</sup>, 鈴木 裕太<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所病理部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所有機化学部)

【目的】天然フラボノイド系抗酸化剤の中でも特に優れた抗酸化作用を有するケルセチンの平面構造に着目し、天然カテキンに対してC環のアルコールとB環を結合させて立体構造を平面に固定化した平面型カテキン誘導體 (P-Cat) を合成した。予想通り、その抗酸化能力はin vitroの系でカテキンの約5倍上昇していた。本研究ではP-Catのin vivoへの応用を目的に、28日間反復投与毒性試験ならびに2-nitropropane (2-NP) による酸化的DNA損傷への修飾効果について検討した。【方法】実験1：雄6週齢のF344系ラット各群3匹に、P-Catを0、0.03、0.1、0.3および1.0%の濃度でそれぞれ4週間混餌投与した。投与期間中は、体重および摂餌量を測定、投与終了後はエーテル麻酔下で採血後、血液及び血清生化学的検査を行った。剖検時には、主要臓器の臓器重量を測定し、定法に従って病理組織学的検査を行った。実験2：雄6週齢のF344系ラット各群5匹にP-Catを0、0.003、0.03および0.3%、catechinを0.03および0.3%に混じた粉末飼料を自由に摂取させ、投与開始後1週目より、2-NPを90 mg/kgの用量で週3回、強制経口投与し、最終投与後4時間目に動物を解剖し、肝DNA中の8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)レベルを測定した。【結果】実験1：最高用量群で投与初期より体重増加抑制があり、実験終了時まで有意な低値を示した。また、肝比重量の有意な低値、血清生化学的検査では、総蛋白、アルブミン、グルコースの有意な低値が認められ、病理組織学的には肝細胞萎縮が認められた。実験2：2-NP投与により、8-OHdGの有意な上昇が認められたが、P-Catならびにcatechinの併用投与の影響は観察されなかった。【考察】P-Catはin vitroでグルコシダーゼ活性阻害効果が認められており、今回の28日間反復投与試験の最高用量で認められた種々の変化は、この作用に起因するものと考えられた。実験1の結果をもとに、無毒性量の0.3%を最高用量として、2-NP誘発酸化的DNA損傷への修飾効果を検討したが、本実験条件下ではその抗酸化効果は明らかとはならなかった。今後は、より脂溶性の高い、毒性影響の少ないカテキン誘導體の合成を検討したい。

## \*P-17

### アセトアミノフェン誘発肝障害における細胞間連絡能の役割： Connexin 32ドミナントネガティブトランスジェニックラットを用いた検討

○内木 綾<sup>1)</sup>, 内木 拓<sup>2)</sup>, 朝元 誠人<sup>1)</sup>, 白井 智之<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学, <sup>2)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科腎泌尿器科学)

【背景・目的】コネクシン(Cx)ファミリーは、ギャップジャンクションを構成するタンパク群で、ラット肝臓においては、Cx26とCx32が細胞間連絡能をつかさどる主要なタンパクである。以前に我々の研究室で作製されたCx32ドミナントネガティブトランスジェニックラット(Cx32ΔTg)は、肝臓特異的に正常Cx32の細胞膜への局在が阻害され、細胞間連絡能が低下している。本研究では、非ステロイド性解熱鎮痛薬として広く汎用されており、しばしば薬剤性肝障害を引き起こすアセトアミノフェン(APAP)に着目し、細胞間連絡能低下がAPAPの肝障害発現にどのような影響を及ぼすかをCx32ΔTgモデルを用いて検討した。【方法】10週齢の雄Cx32ΔTgと同腹の正常型ラット(Wild)を使用した。APAP1000、500および250mg/kgの3容量をそれぞれ強制胃内投与し、24時間後に採血と屠殺・解剖を行った。対照群にはCx32ΔTg、WildそれぞれにAPAP懸濁液として使用した0.5% methylcellulose + 0.1% Tween80を同量投与した。血清AST、ALTの測定値、肝重量およびHE染色標本にて肝障害の程度を検討した。【結果・考察】24時間後における死亡例は認められなかった。Cx32ΔTg、WildいずれもAPAP投与量相関性に相対肝重量の上昇を認め、いずれの投与量においてもCx32ΔTgはWildと比較して相対肝重量が低い傾向にあった。また、血清AST値およびALT値はCx32ΔTgと比較してWildのAPAP1000および500mg/kg投与群において、著明な高値を示し、Cx32ΔTgはAPAP誘発肝障害に対しては抵抗性を示す可能性が示唆された。しかし、AST、ALT逸脱の程度には個体差が大きく、統計学的な有意差は得られなかった。現在、肝ホルマリン固定検体よりHE染色標本を作成中であり、肝障害の程度について組織学的な検討をする。

## \*P-18

### ラットの薬物誘発性肝障害モデルにおけるHeat shock protein 25の発現

○藤澤 可恵<sup>1)</sup>, 土屋 紀子<sup>1)</sup>, 増野 功一<sup>1)</sup>, 山本 絵美<sup>1)</sup>, 村井 隆<sup>1)</sup>,

丸山 敏之<sup>2)</sup>, 鳥井 幹則<sup>2)</sup>, 桑村 充<sup>2)</sup>, 山手 丈至<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>塩野義製薬株式会社 新薬研究所, <sup>2)</sup>大阪府立大学 獣医病理)

【目的】Carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)あるいはThioacetamide (TAA)による早期肝細胞傷害メカニズムの違いを明らかにすることを目的に、炎症時に発現上昇が報告されているHeat Shock Protein 25 (HSP25)に焦点をあて、CCl<sub>4</sub>あるいはTAAをラットに単回投与しその後生じる肝の組織学的変化及びHSP25の発現動態を検討した。

【材料及び成績】6週齢のラット(SDあるいはF344)にCCl<sub>4</sub>あるいはTAAそれぞれ2 mL/kgと300 mg/kgを単回投与し、1, 3, 5, 7, 及び10日後の病変の進展とその病変部におけるHSP25陽性肝細胞の分布及び消退を病理組織学的及び免疫組織化学的に比較検討した。投与1日後には両化合物ともに小葉中心帯の肝細胞の壊死が認められた。このとき、CCl<sub>4</sub>投与群では変性と壊死が混在し、変性部位と一致して小葉中心帯肝細胞がHSP25に陽性を呈した。一方、TAA投与群ではHSP25陽性肝細胞は認められなかった。投与3日後にはCCl<sub>4</sub>投与群では肝細胞壊死は小葉中間帯に散在性に認められ、小葉中心帯は投与1日後に認められた肝細胞の変性・壊死を置換するようにマクロファージの浸潤が認められた。TAA投与群においても、小葉中心帯にはマクロファージの浸潤が認められ、そのマクロファージを取り囲むようにHSP25陽性肝細胞が認められた。CCl<sub>4</sub>投与群においても浸潤マクロファージ周囲にHSP25陽性肝細胞が認められたが、HSP25陽性細胞による取り囲み像は不完全であった。投与5日後以降、CCl<sub>4</sub>及びTAA投与両群においてマクロファージの出現減少と共にHSP25陽性肝細胞も減数し、投与10日後には認められなかった。

【まとめ】CCl<sub>4</sub>またはTAA投与1日後におけるHSP25の発現様式の差は肝細胞壊死に至る過程の差に依存していることが示唆された。また、抗炎症反応としてのHSP25発現には傷害により反応・浸潤するマクロファージならびにマクロファージ由来のサイトカインが関与することが示唆され、マクロファージ浸潤の程度に関連してHSP25発現の差が生じた可能性が考えられた。現在マクロファージの免疫表現型とHSP25発現との関連についてさらに検討している。

\*P-19

高脂肪コリン欠乏アミノ酸食負荷KK-A<sup>y</sup>マウスにおける  
非アルコール性脂肪肝炎(NASH)モデルの検討

○押方 孝文<sup>1)</sup>, 隈部 志野<sup>1)</sup>, 中原 豊<sup>1)</sup>, 可徳 小四郎<sup>1)</sup>, 鍛先 恵美子<sup>1)</sup>, 満石 三喜男<sup>1)</sup>,  
山口 浩美<sup>1)</sup>, 牛島 壮太<sup>1)</sup>, 浜村 政夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>株式会社三菱化学安全科学研究所 熊本研究所)

【緒言】先に報告した「2型糖尿病モデルマウスを使用した非アルコール性脂肪肝炎(NASH)モデルの検討」において、コリン・メチオニン欠乏食(MCDD)を4週間摂餌させた3系統の2型糖尿病モデルマウス(KK-A<sup>y</sup>, db/db及びAKITAマウス)のうち、KK-A<sup>y</sup>マウスがNASHモデルとして最も有用な系統であるとの結論に至った。しかし、4週間のMCDD摂餌では、NASHの重要な病理所見である線維化がほとんど認められなかった。また、体重減少も著しいため、長期間の摂餌に耐えられないものと判断した。そこで、新たな摂餌条件として、ラットで体重減少を伴わず脂肪症や線維化の発生の報告があるコリン欠乏アミノ酸食をKK-A<sup>y</sup>マウスに摂餌させて、NASHモデルの作出を試みた。

【方法】KK-A<sup>y</sup>マウス(雄性)を4週齢で入荷し、7週齢から実験を開始した。2週間高脂肪食を摂餌させた後、高脂肪コリン欠乏アミノ酸食(CDAAD(HF), 60%cal fat)を2, 4又は6週間摂餌させ(摂餌期間ごとに6例使用)、肝臓の病理組織学的検査を実施した。

【結果】2週間のCDAAD(HF)摂餌により、肝臓に大滴性脂肪変性及び炎症性細胞浸潤がみられた。4週間のCDAAD(HF)摂餌では、2週間摂餌と同程度の大滴性脂肪変性及び炎症性細胞浸潤がみられたのに加えて、線維成分(マッソン・トリクローム陽性領域)の増加も認められた。6週間のCDAAD(HF)摂餌では、大滴性脂肪変性の程度は2週間摂餌と差はなかったが、炎症性細胞浸潤の程度は2及び4週間摂餌と比較して増強し、線維成分の量も4週間摂餌と比較して増加していた。

【結論】NASHの主な変化として、大滴性脂肪変性、炎症性細胞浸潤、肝細胞の風船様膨化及び線維化が知られている。今回、CDAAD(HF)摂餌により、大滴性脂肪変性、炎症性細胞浸潤及び線維化(線維成分の増加)が認められた。このことから、CDAAD(HF)を摂餌させたKK-A<sup>y</sup>マウスは、NASHの有用な病態モデルになるものと考えられた。

P-20

Quantitative Assessment of Adipophilin Immunohistochemistry  
in Rodent Model of Steatohepatitis

○W. Davis<sup>1)</sup>, T. Bergeron<sup>1)</sup>, S. Ryan<sup>2)</sup>, S. Potts<sup>3)</sup>, T. Johnson<sup>3)</sup>, O. Cornwall<sup>1)</sup> and R. Dunstan<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Comparative Pathology Laboratory - Preclinical and Clinical Development Sciences.

<sup>2)</sup>Immuno Discovery Biology, Biogen Idec. <sup>3)</sup>Aperio

During the development of small molecule therapeutic candidates, as well as investigative studies involving animal models of steatosis, intracellular lipid accumulation is commonly encountered in the liver. Standard histochemical lipid detection techniques require frozen tissue which is seldom obtained prospectively in GLP toxicology studies. A stain that can be used to define hepatic steatosis on formalin-fixed paraffin-embedded samples (FFPE) would be quite useful. Immunohistochemical staining for adipophilin is an infrequently reported method to define lipid vacuolation in tissues and immunopositivity can be used to quantify lipid accumulation in standard histologic sections.

In this study, we quantified the area of adipophilin immunopositivity in liver sections obtained from a rat model of diet-induced steatohepatitis and compared this to the total liver area. Adipophilin staining defined by diaminobenzidine was color deconvolved from hematoxylin counter-stained sections, and the area of adipophilin staining measured on a color score from 0 to 255. A threshold was chosen for identifying adipophilin positive areas and the same threshold was applied across whole tissue sections for each slide examined. The percent area was calculated for adipophilin positive tissue. The percent area of adipophilin positive tissue in liver sections ranged from 3 to 67 percent, and had high correlation with manual scoring of the slides.

These findings confirm the usefulness of adipophilin IHC for detecting lipid accumulation in FFPE liver sections. Using computer aided image analysis, adipophilin staining can be quantified in individual specimens, and this process is amenable to full automation. We recommend that this approach be considered when more definitive measurement of lipid accumulation is required in investigative and GLP toxicology studies in liver and other tissues.

## \*P-21

### 糖尿病を早期発症させたWBN/Kobラットに対する片側腎摘出と 高脂肪高シヨ糖食投与による腎病変の増悪化の試み

○佐藤 麻衣<sup>1)</sup>, 尾崎 清和<sup>1)</sup>, 佐野 智弥<sup>1)</sup>, 松浦 哲郎<sup>1)</sup>, 奈良間 功<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>摂南大学 薬学部 病理学研究室)

自然発症糖尿病モデルであるWBNラットにアロキサン投与により糖尿病を早期発症させると腎病変が増悪することを明らかにしたが、高血糖期間の長期化のみではヒトに類似した重度病変に至らなかった。今回、アロキサンを投与し糖尿病を早期に発症させ、さらに片側腎摘出または高脂肪高シヨ糖食投与により、重度病変の早期発症を試みた。

方法:10週齢の雄WBNラットにアロキサン(AL)を静脈内投与後、正常食で飼育したAL群、投与3週後に片側腎摘出(NX)を行い正常食で飼育したAL+NX群、高脂肪高シヨ糖食(HF)で飼育したAL+HF群、AL投与を行わない対照群、およびAL投与を行わず片側腎を摘出したNX群の計5群構成とした。10週おきに血糖、尿糖、血圧、尿蛋白および血中脂質を測定し、43週齢で剖検した。

結果:ALを投与した3群では高血糖高尿酸を示したが、ALを投与していない2群では剖検時のみ高血糖高尿酸となった。AL+HF群の血圧は変動しなかった。他の4群の血圧は加齢に伴って上昇したが、4群間に有意差はなかった。尿中アルブミンおよびタンパクはAL+NXとNX群において33週齢から急激に上昇した。中性脂肪は、AL+HF群において投与10週後から剖検時まで高値を継続した。腎重量はAL+NXとNX群において共に高値を示した。

糸球体はAL+NXとNX群において大型化し、メサンギウム基質の瀰漫性増加および糸球体基底膜肥厚が主たる変化であったが、その程度はAL+NX群で僅かに強かった。たこ足細胞の肥大、フィブリンキャップおよび硝子滴沈着もみられたが、その程度はNX群において高度であった。AL+HF群ではAL群と同程度で、糸球体病変はすべて軽微であった。ALを投与した3群において遠位尿細管上皮細胞内にグリコーゲンが蓄積していた。AL+NXとNX群では近位尿細管硝子滴沈着および硝子円柱が頻繁に認められたが、AL+HF群ではAL群と同程度の軽微な変化しか見られなかった。

考察:AL+NX群がヒト糖尿病性腎症の初期病変に類似した変化を示し、NX群より病変が高度であったことから、高血糖にくわえて腎高血圧状態が本ラットの糸球体病変を増悪することが明らかとなり、糖尿病腎症モデルとして利用可能であることがわかった。加えて、高脂肪高シヨ糖食は高脂血症を誘発するが、本ラットの腎病変を悪化させないことも明らかとなった。

## \*P-22

### SCGマウス半月体形成糸球体腎炎における免疫組織学的検討

○林 仁美<sup>1)</sup>, 市村 英資<sup>1)</sup>, 長井 大地<sup>1)</sup>, 樋渡 卓郎<sup>2)</sup>, 雑賀 寛<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>日本化薬株式会社 医薬研究所 安全性チーム, <sup>2)</sup>日本化薬株式会社 医薬研究所 動物管理チーム,

<sup>3)</sup>日本化薬株式会社 医薬研究所 評価第2チーム)

【背景】 Spontaneous crescentic glomerulonephritis(SCG)/Kjマウスは、自然発生性に急速進行性糸球体腎炎(RPGN)様の症状を示す。この動物モデルは半月体形成糸球体腎炎と全身性の微小血管炎を特徴とし、抗好中球細胞質抗体(ANCA)がその病態形成に関与している。今回、我々は、SCG/Kjマウスの病態進行における腎糸球体の病理組織学的変化について、免疫組織学的検討を行った。【方法】 SCG/Kjマウスを軽症例と重症例で比較した。これらのグループ分けは尿試験紙検査と腎病理組織観察により行い、軽症例:尿蛋白1+,潜血-,半月体形成<50%、重症例:尿蛋白3+,潜血 $\geq$ 2+,半月体形成 $\geq$ 50%とした。腎臓内の血管構築を観察する目的で、FITC標識トマトレクチンを尾静脈より投与し、5分後に採取した腎臓を、共焦点顕微鏡および蛍光顕微鏡により観察した。また、凍結切片およびパラフィン包埋切片を用いてHE染色、PAS染色に加えて、vimentin、 $\alpha$ -smooth muscle actin、NG2(neural/glial cell 2)、desmin、コロイド鉄、コンゴ赤、マツント・リクローム、エラスチカ・ワンギーソン 等による免疫染色等を実施した。【結果と考察】 FITC標識トマトレクチンによる血管造影では、重症例において腎糸球体における毛細血管の狭窄像が観察され、血流障害が認められた。また、NG2は正常および軽症例では、毛細血管の周囲に認められるのみであったが、重症例においては、主に半月体を形成する線維芽細胞周囲に陽性細胞が多数、認められた。NG2は、コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの一種であり、オリゴデンドロサイト前駆細胞や軟骨芽細胞表面、増殖する毛細血管内皮細胞などにも発現することが知られている。今回の検索では、半月体を形成する線維芽細胞にも発現していることが認められ、腎糸球体障害のマーカーの一つとなり得る可能性が示唆された。

## \*P-23

### ラットのリン酸水溶液誘発ネフローゼ症候群

○土屋 紀子<sup>1)</sup>, 藤澤 可恵<sup>2)</sup>, 増野 功一<sup>1)</sup>, 山本 絵美<sup>1)</sup>, 村井 隆<sup>3)</sup>, 丸山 敏之<sup>1)</sup>,  
鳥井 幹則<sup>1)</sup>, 奈良間 功<sup>2)</sup>, 松井 高峯<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>塩野義製薬株式会社 新薬研究所, <sup>2)</sup>摂南大学 薬学部 病理学研究室, <sup>3)</sup>帯広畜産大学 獣医・病理)

媒体として用いられる第二リン酸水素ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 水溶液をラットに静脈内投与すると腎糸球体障害が誘発される。今回、より長期の反復投与による腎臓への影響を精査することを目的として、高濃度リン酸水溶液を6週齢のSD系ラットに28日間反復静脈内投与したところ、ネフローゼ症候群が誘発された。そこで、腎糸球体病変の経時的变化に加えて血液化学的、光顕的および電顕的に検査して、この病態の解析を試みた。

リン酸水溶液投与群では、試験期間を通じて経時的な尿タンパクの増加、貧血および高脂血症が発現した。リン酸水溶液28日間投与により糸球体全域への石灰沈着および糸球体毛細血管の拡張、糸球体上皮やボウマン嚢壁細胞の変性が認められ、メサンジウム融解などの著しい糸球体障害に加え、近位尿細管上皮細胞のびまん性変性および再生、尿細管基底膜への石灰沈着、間質への炎症性細胞浸潤、線維化が認められた。また、リン酸水溶液の14日間投与により高度に障害された糸球体病変は、14日間の休薬後も機能的・形態学的に回復せず、皮質尿細管上皮細胞や間質に病変が拡大した。尿細管上皮細胞の変性・再生及び間質の病変はタンパク尿性尿細管障害の結果と考えられ、投与期間の延長により糸球体・尿細管病変からなる糸球体腎症に進展し、ヒトのネフローゼ症候群に類似した臨床症状および組織像となった。

げっ歯類を用いた様々な腎疾患病態モデルでは、自然発生の慢性進行性腎症による病変との類似性からタンパク尿性尿細管障害の解析を複雑にしているが、短期間で誘発可能な本病態は有用な実験モデルの1つになることが示唆された。

## \*P-24

### ニバレノール短期間投与による遺伝性ネフローゼモデルマウスの腎病変に及ぼす影響

○井上 薫<sup>1)</sup>, 吉田 緑<sup>2)</sup>, 高橋 美和<sup>1)</sup>, 小西 良子<sup>2)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部)

ニバレノールはフザリウム属真菌から産生されるマイコトキシンであり、ヒトが日常的に食する穀類等にみられる赤かび病の原因として知られるが、ニバレノールの成熟マウスへの短期間混餌投与によりヒトIgA腎症と同様の变化が認められることが報告されている (Hinoshita et al. 1997)。幼若期の糸球体機能は成熟途上にあることから、腎毒性物質に対して成熟動物とは異なる糸球体傷害を示すことが予想される。しかし、ニバレノールの幼若期暴露による毒性影響については報告がなく、幼児を対象とした一日耐容摂取量を策定する上でもニバレノールの幼若期暴露による腎毒性の検索は重要である。そこで、今回の研究では動物モデルを用いて、幼児、特に腎疾患小児患者の腎臓に対するニバレノールの影響を検討することを目的に、離乳直後の幼若ICGNマウスにニバレノールを短期間投与し、腎病変に及ぼす影響を検索した。ICGNマウスはICR系マウス由来の遺伝性ネフローゼモデルマウスとして知られることから今回の検索に用いた。ICGNマウスの特徴として、生後2日目から糸球体基底膜の肥厚、糸球体上皮細胞の足突起の消失が発生し、2週齢になると全ての糸球体が傷害され、蛋白尿が認められる。さらに糸球体病変 (糸球体基底膜の肥厚、上皮細胞足突起の消失、細胞増殖を伴わないメサンギウム領域の拡大) は進行し、成熟までにネフローゼ症候群 (低蛋白血症、蛋白尿、高脂血症、全身性浮腫) となり、末期には糸球体硬化、尿細管間質の高度線維化に陥る。今回の実験では、3週齢雄性ICGNマウスにニバレノールを6, 12, 24 ppmの用量で4週間混餌投与した。週1回体重測定、検査紙による尿検査を行い、投与4週目に腎臓を採取し、尿蛋白の定量、血清中IgAレベルの測定、腎臓における病理組織学的検索、免疫組織化学的検索 (IgAなど) を実施した。実験期間中、体重はニバレノールの用量にほぼ相関して増加抑制を示したが、尿検査では尿蛋白量について群間に明らかな差を認めなかった。剖検時、腎臓には肉眼的に明らかな変化を認めず、最終体重および腎臓重量 (絶対・相対) はともにNIVの用量の増加に伴い減少傾向を示していた。病理組織学的・免疫組織化学的検討を実施し、糸球体基底膜やメサンギウムにおける変化について報告する。

## 正常性周期におけるラット卵巢の形態学的特徴

○吉田 緑<sup>1)</sup>, 井上 薫<sup>1)</sup>, 高橋 美和<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所)

卵巢毒性の検出は化学物質の毒性評価において重要であるが、その検出には、生殖生理学的分野への理解、とくに性周期への理解が必要である。本研究では、安全性試験にも最も汎用されているラットを用いて性周期ごとの卵巢の形態学的特徴を示し、卵巢毒性検出のためにどのような形態学的観察の視点が必要なかを考察した。供試動物として正常性周期を示すF344およびDonryu系成熟雌ラット143匹を用いた。卵胞の分類はPedersenの分類(1968)を基本とした。両側の卵巢は、体軸に垂直方向に最大断面が得られるように切り出し、パラフィン包埋、HE染色を施し鏡検した。さらに連続切片を用いてPCNA免疫組織化学染色を行い、小型卵胞の分布および増減について観察した。またホルモン関連臓器の病理組織学的検索および性周期観察(Donryu系ラットのみ)も行った。結果として、FSH非依存性である前胞状卵胞までの小型・中型卵胞は、各性周期によって変動することなくPCNAによって容易に検出可能であった。一方FSH依存性である各タイプの胞状卵胞および閉鎖卵胞は、性周期によって変動し、発情前期ではグラブ卵胞(Type 8 follicle)が存在し、その他の大型卵胞は観察されない等、各性周期で特徴的な変化を示した。黄体は形態学的に新世代黄体と旧世代黄体に分類可能で、特に新世代黄体は各性周期に特徴的な形態像を呈した。さらに、卵胞と新世代黄体のタイプを組み合わせることにより、性周期における卵巢の形態学的特徴が一層明らかとなった。これらの結果は、最大断面での質的観察で性周期ごとの卵巢の特徴が確認できることを示している。正常性周期からの逸脱を検出することが、卵巢毒性検出の第一歩と考えられることから、卵巢の最大断面での詳細な形態学的観察は卵巢毒性スクリーニングとして有効である。またHE染色による形態学的観察に加え、PCNA免疫組織化学染色は小型卵胞の減少を簡便に検出する方法として、性周期観察は排卵等、内分泌状態を推測する方法として、卵巢毒性検出に有用であると考えられた。

## \*P-26

### GALASラットの性周期に伴う卵巢の形態学的変化について -SDラットとの比較-

○能登 貴久<sup>1)</sup>, 坪田 健次郎<sup>1)</sup>, 竹内 文乃<sup>1)</sup>, 小野 美穂子<sup>1)</sup>, 梶川 悟<sup>1)</sup>, 義澤 克彦<sup>1)</sup>, 仲辻 俊二<sup>1)</sup>, 大石 裕司<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室)

【目的】BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)ラット(以下GALAS)は、安全性試験に供する目的で国際標準化されたアウトブリードストックであり、欧州・米国では近年その使用頻度は増加傾向にある。本邦においても毒性試験における需要が急増すると考えられるが、その使用実績は乏しく、本ラットの生理学的・解剖学的特徴は十分知られていない。本検討ではGALASの基礎データ収集の一環として、「医薬品卵巢毒性検出のためのワーキンググループ」で採用されている標本作製および組織学的検査の手法に則り、CrI:CD(SD)ラット(以下SD)とGALASの性周期の推移に伴う卵巢の形態変化を比較した。【材料と方法】SDは弊社で実施した4週間反復投与毒性試験の対照群に用いた雌110例(10週齢)を再鏡検した。膣・子宮の組織像から各個体の性周期を判定し、卵巢・子宮および膣について、性周期を意識した詳細な病理組織学的検査を実施した。GALASは雌の膣スメアを10日間観察して性周期判定を行い、一般状態・剖検・性周期サイクルに異常が認められなかった88例(10週齢)について、ワーキンググループの手法に従い卵巢・子宮および膣のHE染色標本作製し、SDと同様に鏡検した。【結果及び考察】発情期(GALAS: 27例, SD: 28例)における排卵直後の初期黄体数、発情後期(GALAS: 26例, SD: 31例)における好塩基性の成熟黄体および黄体嚢胞の数、発情休止期(GALAS: 14例, SD: 26例)における成熟黄体の数はGALASとSDの間で差異は認められなかった。しかし、全性周期を通じてGALASの卵巢では、黄体の空胞化・壊死がSDと比べて高頻度で認められた。なお、黄体の壊死の程度は発情前期に最も強く、以降次第に軽減する傾向が見られた。また、発情前期(GALAS: 21例, SD: 25例)における大型胞状卵胞がGALASではSDより少なかった。現在、免疫組織学的手法を用いた詳細な解析を実施中であるが、ラットの系統により生理的条件下においても卵巢の形態に差異があることが判明し、ラットの系統差は卵巢毒性評価で留意すべき事項の1つであると考えられた。

## \*P-27

### 卵巣毒性検出のための共同研究 - Bromocriptineのラット2週間或いは4週間反復投与による雌受胎能に対する影響 -

○石黒 司<sup>1)</sup>, 中島 淳志<sup>1)</sup>, 朱 久新<sup>1)</sup>, 棚治 隆史<sup>1)</sup>, 原田 聡子<sup>1)</sup>, 早坂 郁夫<sup>1)</sup>, 田川 義章<sup>1)</sup>, 熊澤 俊彦<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>株式会社 三和化学研究所)

【目的】 現行のICHガイドライン修正の根拠データを得るために実施された共同研究の一環として、ドーパミン作動薬であるBromocriptineの一般毒性試験における卵巣の形態的变化を評価するために適正な投与期間の検討を行った。【方法】 一般毒性試験では、6週齢の雌性CrI:CD(SD)ラットにBromocriptineを0、0.08、0.4、2 mg/kgの用量で2週間或いは4週間反復投与 (i.v.) し、最終投与の翌日に剖検して卵巣を摘出した。卵巣重量を測定し、ホルマリン固定後、病理組織学的検査を行った。雌受胎能試験では、10週齢の雌性同系統ラットにBromocriptineを同用量で交配前2週間から妊娠7日まで投与し、妊娠14日に剖検して生殖能に対する影響を確認した。【結果】 一般毒性試験において、2週間反復投与では2 mg/kg投与群、4週間反復投与では0.4及び2 mg/kg投与群で卵巣重量の増加が認められた。また、2週間及び4週間反復投与では卵巣の病理組織学的検査により0.4及び2 mg/kg投与群で黄体数の増加及び黄体細胞のアポトーシスの抑制が認められたが、性周期への影響は認められなかった。雌受胎能試験において、各投与群の全例で交配が認められたが、0.4及び2 mg/kg投与群で妊娠が認められなかった。また、0.08 mg/kg投与群で生殖能に対する影響は認められなかった。【結論】 卵巣の病理組織学的変化が卵巣障害を含む薬剤の評価にとって重要であると考えられた。また、一般毒性試験において、Bromocriptineの卵巣毒性の検出は2週間の投与期間で可能であることが示された。

## \*P-28

### 雌ラットを用いたアトラジンの2週間および4週間反復経口投与毒性試験における卵巣の病理学的変化

○小寺 喬<sup>1)</sup>, 柴山 寛司<sup>1)</sup>, 上田 誠<sup>1)</sup>, 古賀 真昭<sup>1)</sup>, 山下 康弘<sup>1)</sup>, 越智 誠支<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>日本新薬 (株))

化合物の雌受胎能に対する影響について、卵巣の病理組織学的検査を詳細に実施することにより一般毒性試験においても評価可能であるかどうかを検討する目的で、内分泌かく乱作用を介して卵巣毒性を示すとされる農薬アトラジンを用いた雌ラットの2週間および4週間反復経口投与毒性試験を3、30、300 mg/kgの用量で実施し、卵巣の詳細な病理学的検査を実施した。

2週間および4週間投与では300 mg/kg投与群で卵巣の小型化および重量減少が剖検時に認められ、組織学的には2週間投与で新規黄体形成の消失、旧黄体の減少、大型閉鎖卵胞の増加および旧黄体の腫大が、4週間投与で大型閉鎖卵胞の増加および旧黄体の腫大がそれぞれ認められた。また、2週間投与の300 mg/kg投与群ならびに4週間投与の30および300 mg/kg投与群で性周期の延長が認められた。

以上より、雌ラットへのアトラジンの反復経口投与により、2週間以上の投与期間で卵巣の病理組織学的変化が観察され、これらの変化はアトラジンの排卵抑制作用に起因した変化であると考えられた。なお、平行して実施したアトラジンの雌受胎能試験では100 mg/kgの用量で異常が認められ、雌受胎能毒性のポテンシャルを有するアトラジンの毒性を一般毒性試験における卵巣の病理組織学的検査で検出することが可能であると考えられた。

\*P-29

## Di (2-ethylhexyl) adipate (DEHA) 短期経口反復投与による ラット卵巣における病理組織学的変化

○朝日山 壮登<sup>1)</sup>, 香川 雅孝<sup>1)</sup>, 西村 次平<sup>1)</sup>, 和藤 英司<sup>1)</sup>, 遠藤 悦美<sup>1)</sup>, 船生 志乃<sup>1)</sup>, 鈴木 愛<sup>1)</sup>, 天野 幸紀<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>興和株式会社 富士研究所 安全性研究部)

【背景】卵巣の詳細な病理組織学的検査により卵巣毒性を検出することを目的とした製薬協の卵巣毒性共同研究に参加し、塩化ビニル樹脂の可塑剤として使用されているDi (2-ethylhexyl) adipate (DEHA) を被験物質として、雌ラットに2週間及び4週間の経口反復投与を行った。

【方法】6週齢Crl:CD (SD) 雌ラットにDEHAを0 (対照)、200、1000、2000 mg/kgの用量で2週間あるいは4週間強制経口投与した。2週間投与試験では投与開始から投与終了翌日まで、4週間投与試験は投与開始2週間後から投与終了翌日まで膣垢検査法により性周期を観察した。投与期間終了後、卵巣重量を測定し、H-E染色及び細胞増殖マーカーであるPCNAを用いた免疫組織学的染色による病理組織学的評価を行った。

【結果】DEHAの2週間投与により大型閉鎖卵胞増加、卵胞嚢腫、新生黄体減少が認められ、いずれの変化も発現頻度及び程度は4週間投与により増強した。閉鎖卵胞では、顆粒膜細胞のアポトーシス像、PCNA染色陰性像がPerdersenの分類Type 5b (大型前胞状卵胞) 以上の卵胞で多くみられ、小型卵胞及び中型卵胞に変化は認められなかった。卵胞嚢腫においては、卵胞腔が拡張、顆粒膜細胞層が1~2層に薄くなる像を示し、排卵前/グラフ卵胞が排卵できずに閉鎖して生じたものと考えられた。新生黄体減少において、重度なものは卵巣に旧世代の黄体しか観察されず、新生黄体は全く観察されなかった。これらの変化は共に排卵障害を示唆する変化と考えられた。性周期観察においては、周期の乱れや発情期の持続が観察され、また、性周期と卵巣像が一致しない異常な動物も散見されたことから、卵巣毒性検出には性周期を踏まえた病理組織学的評価が重要であることが示唆された。

\*P-30

## ラットにおける新規PPAR $\alpha/\gamma$ dual agonist投与による卵巣毒性

○内田 圭祐<sup>1)</sup>, 佐藤 則博<sup>1)</sup>, 中島 幹夫<sup>1)</sup>, 渡邊 厚<sup>1)</sup>, 小平 輝朋<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>旭化成ファーマ株式会社 医薬研究センター 安全性・動態研究部)

【はじめに】Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) agonistは、卵巣の機能障害を起こすことが知られている。我々は今回、製薬協主催の卵巣毒性共同研究に参加し、ホルモン合成および代謝に関与する酵素の阻害を示す化合物の一例として自社PPAR  $\alpha/\gamma$  dual agonistを用いて、雌ラットにおける2週間および4週間反復経口投与毒性試験を実施し、卵巣の毒性評価を行ったので報告する。

【方法】6週齢のCrl:CD(SD)雌ラットを各群10匹ずつ4群に分け、PPAR  $\alpha/\gamma$  dual agonistの0 (溶媒対照)、4、20および100 mg/kg/dayを2週間および4週間反復経口投与した。両試験とも、投与期間の最終週に膣垢スメアによる性周期観察を行った。投与期間終了後、動物は麻酔下にて剖検し、卵巣、子宮、膣を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。固定終了後、常法に従ってパラフィン包埋、HE染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。卵巣については、抗PCNA抗体を用いた免疫組織化学染色およびTUNEL染色をあわせて行った。

【結果・考察】2週間および4週間試験ともに、被験物質投与に起因した性周期の異常はみられなかったが、投与量に応じた卵巣重量の減少が認められた。卵巣の病理組織学的検査の結果、多くの大型卵胞の顆粒膜細胞にアポトーシスが観察され、投与量増加あるいは投与期間延長に伴って閉鎖卵胞の増加が認められた。また、本変化に関連して成熟黄体の減少および間質腺の過形成が観察された。さらに、一部の大型卵胞には、顆粒膜細胞の卵胞腔内への脱落・剥離像が認められたが、これらの顆粒膜細胞はいずれもPCNA染色陽性かつTUNEL染色陰性であり、アポトーシスには陥っていないと考えられた。今回、閉鎖卵胞の増加に加えて未排卵黄体の増加も観察されたが、これは上記の顆粒膜細胞の挙動に関連する変化と推察された。以上の結果から、PPAR  $\alpha/\gamma$  dual agonistは特に顆粒膜細胞に作用し、卵巣の機能に障害を及ぼすことが示唆された。

\*P-31

卵巣毒性共同研究－雌ラットにおけるタモキシフェンの2週間あるいは  
4週間反復投与毒性試験と受胎能試験の比較－

○辻岡 繁春<sup>1)</sup>, 坂 芳樹<sup>2)</sup>, Wise David<sup>2)</sup>, 土屋 毅幸<sup>2)</sup>, 松江 健太<sup>2)</sup>, 佐藤 崇裕<sup>2)</sup>, 佐々木 稔<sup>2)</sup>, 錦邊 優<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>万有製薬 安全性研究所, <sup>2)</sup>MRL, Safety Assessment Laboratories)

【背景・目的】 現行のICH-M3ガイドラインにおいて、妊娠可能な女性を臨床試験に組み入れるために必要な非臨床試験の設定は三極間で異なっており、ハーモナイズを検討する必要性が提唱された。そこで我々は、ラット雌受胎能へ影響を及ぼすことが知られている選択的エストロゲン受容体調節薬であるタモキシフェン(TAM)を用い、反復投与毒性試験における卵巣の病理組織学的検査により雌受胎能への影響を予測することができるか、さらに2週間反復投与においても卵巣の病理組織変化を検出できるか検討を行った。【方法】 反復投与毒性試験：6週齢雌ラット各群10匹にTAMを0、0.005、0.03、0.2 mg/kg/day (mpk)の用量で2週間あるいは4週間、強制経口投与を行った。投与期間の症状観察、体重測定および摂餌量測定、投与期間終了後、解剖を行い、生殖器および内分泌臓器の重量測定および病理組織検査を行った。受胎能試験：9週齢雌ラット各群20匹にTAMを反復試験と同用量にて交配前2週間、交配期間中及び交配確認後1週間、強制経口投与を行った。投与期間中の性周期、症状観察、体重測定および摂餌量測定を実施し、妊娠中期に母動物を解剖し受胎能への影響を評価した。【結果】 反復投与毒性試験：0.03及び0.2 mpk群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。卵巣の病理組織学的検査では大型閉鎖卵胞および間質腺細胞の増加、新規黄体の欠如が2週間試験では0.2 mpk群で、4週間試験では0.03及び0.2 mpk群で認められ、子宮および膈の病理組織変化を伴っていた。受胎能試験：一般毒性検査として0.03及び0.2 mpk群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。受胎能検査では、全投与群で性周期の異常及び受胎率の低下が認められた。【まとめ】 TAMを用いた2週および4週間反復投与毒性試験における卵巣の病理組織学的検査により大型閉鎖卵胞および間質腺細胞の増加、新規黄体の欠如が観察され、雌受胎能試験でみられた性周期異常及び受胎率の低下への関連性が強く示唆された。したがって、適切な用量設定を行うことによりTAMの4週間および2週間の投与期間における卵巣の病理組織変化の検出が可能であり、卵巣機能を介した雌受胎能への影響を予測することが可能であると考えられた。

\*P-32

フタル酸エステル反復投与によるラット卵巣の病理組織学的変化

○宗心知美<sup>1)</sup>, 林修次<sup>1)</sup>, 松尾沙織里<sup>1)</sup>, 高井了<sup>1)</sup>, 岩田良香<sup>1)</sup>, 清川順平<sup>1)</sup>,  
溝口啓二<sup>2)</sup>, 三好昌夫<sup>2)</sup>, 加藤淳彦<sup>2)</sup>, 鈴木雅実<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>中外製薬・安全研)

【背景】 日本製薬工業協会による医薬品の卵巣毒性検出のためのワーキンググループの共同研究の一環として、フタル酸エステル[Di-(2-ethylhexyl) phthalate、DEHP]の卵巣への影響を病理学的に検索した。今回、DEHP誘発卵巣毒性の病理学的特徴を報告する。【方法】 DEHPを0、300、1000、3000 mg/kgの用量で各群10例の雌ラット[Crl:CD(SD)]に2及び4週間反復経口投与し、性周期検査及び病理学的検査を実施した。【結果及び考察】 DEHPは排卵前卵胞及び顆粒膜細胞の分化に影響し、顆粒膜細胞においてアロマターゼを阻害するといわれている。その結果、低エストロゲンやLHサージの欠如による無排卵性周期を引き起こすと考えられている。今回実施した実験では、性周期検査において4週間投与の3000 mg/kg群で発情周期の延長と発情回数減少が認められた。剖検では、卵巣において2週間投与群に投薬に起因する変化は認められなかった。4週間投与群では、肉眼的な異常を認めなかったものの、卵巣重量の低値が3000 mg/kg群でみられた。病理組織学的検査では、2週間、4週間投与群ともに、卵巣間質腺における空胞化が300 mg/kg以上の群で認められた。卵胞は明瞭な卵胞腔を有し、顆粒膜細胞のアポトーシス像を伴う大型閉鎖卵胞の増加が1000 mg/kg以上の群で認められた。さらに、4週間投与群の卵巣では、好塩基性の細胞質を特徴とする新生黄体が3000 mg/kg群で減少した。卵胞ならびに黄体の変化は卵胞発育ならびに排卵抑制を示唆する変化と認められた。また、肝臓では2週間、4週間投与群ともに、好酸性化を伴う肝細胞の肥大が300 mg/kg以上の群に認められた。以上、DEHPの2及び4週間反復経口投与により、卵巣間質腺の変化と卵胞発育ならびに排卵抑制に起因すると考えられる卵胞及び黄体の変化が病理組織学的に観察された。

## \*P-33

### カニクイザル下垂体前葉におけるホルモン分泌細胞の分布－免疫組織学的検索－

○爰島 洋子<sup>1)</sup>, 佐藤 順子<sup>1)</sup>, 友成 由紀<sup>1)</sup>, 土居 卓也<sup>1)</sup>, 佐々木 啓<sup>1)</sup>, 高橋 一彰<sup>1)</sup>, 土谷 稔<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>株式会社三菱化学安全科学研究所)

サルの下垂体前葉では酸好性細胞, 塩基好性細胞および嫌色素性細胞の分布に偏りがあり, 通常の一断面の標本作製では形態像にばらつきが生じる. 染色性の異なるこれらの細胞はそれぞれ異なるホルモンを産生しており, 毒性試験における薬物誘発性病変の多くがホルモン産生細胞特異的であることから, 各構成細胞の分布が一定した標本作製することが重要である. また, 細胞の変化を鋭敏に捉えるため, 各細胞の正常な分布パターンや割合を知っておくことも重要である. 今回, カニクイザルの下垂体前葉におけるホルモン分泌細胞の分布について組織学的・免疫組織化学的に検索したので報告する. 3歳3ヶ月の雄1例および3歳8ヶ月の雌1例の下垂体を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後, 矢状断となるようにパラフィン包埋し, 1例につき10断面で連続切片を作製した. これらをそれぞれH.E.染色とプロラクチン (PRL), 成長ホルモン (GH), 甲状腺刺激ホルモン (TSH), 黄体刺激ホルモン (LH) および副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) に対する抗体を用いた免疫染色に供した. H.E.染色では, 隆起部から主部にかけて下垂体柄を包むように存在し, 染色性に乏しい細胞が主体を占めるpale areaと, 主部の大部分を占め, 酸好性細胞が多くみられるeosinophilic areaとが識別された. PRL陽性細胞およびGH陽性細胞はeosinophilic areaにはほぼ一致して認められ, 集塊を成す傾向がみられた. また, そのなかでも, PRL陽性細胞は浅部 (被膜側), GH陽性細胞は深部に多く認められた. TSH陽性細胞およびLH陽性細胞は前葉全域に認められ, 個々の細胞が独立して存在する傾向がみられた. ACTH陽性細胞は強陽性を示す小型星状細胞と弱陽性を示す大型細胞の二種類が認められ, 小型星状細胞は前葉全域に, 大型細胞はpale areaに一致して認められた. また, いずれの細胞も前葉の左右端において少なくなる傾向がみられた. 以上のことから, 前葉の各細胞をくまなく観察するには, 正中矢状断標本が最適で, そのためには柄を基準とすると良いと考えられた. なお, 雌雄で陽性細胞数を比較すると, PRLおよびGH陽性細胞は雄で, LH陽性細胞は雌で多く認められた.

## \*P-34

### ラット甲状腺二段階発がんモデルにおいてSulfadimethoxineのプロモーション作用により高率に形成される被膜浸潤がんに対するCalcitriolの抗腫瘍効果の検討

○松本 明<sup>1)</sup>, 富士本 仁<sup>2)</sup>, 川合 正臣<sup>1)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1)</sup>, 金 美蘭<sup>1)</sup>, 井上 薫<sup>2)</sup>,  
高橋 美和<sup>2)</sup>, 広瀬 雅雄<sup>2)</sup>, 西川 秋佳<sup>2)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>東京農工大学農学部獣医学科獣医病理学研究室, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・病理部, <sup>3)</sup>食品安全委員会)

【目的】我々は、現在までにラット甲状腺二段階発がんモデルにおいて、抗甲状腺作用を示すSulfadimethoxine(SDM)のプロモーション作用により高率に誘発される被膜浸潤がんの形成にphosphoinositide 3-kinase(PI3K)/Akt経路の活性化の関与を見出している。本研究では、被膜浸潤がん抑制の有効な分子標的を探索する目的で、このモデルで、活性型VitaminD3製剤であるCalcitriolを投与し、被膜浸潤がん発生に対する抑制効果と標的候補分子の発現局在を検討した。【方法】実験1：6週齢の雄性F344ラットにDHPNのイニシエーション処置(2800 mg/kg皮下)をし、その1週後から1500 ppm SDMを15週間飲水投与した。SDM投与期間中、Calcitriol(0.1 μg/kg)を週に3回の頻度で腹腔内投与し、得られた甲状腺について病理組織学的検索及びPI3K/Akt経路関連分子の免疫組織化学的検索を行った。実験2：同様のプロトコールにおいて、CalcitriolをSDM投与開始後13-15週の2週間腹腔内投与し、同様の検索を行った。【結果】実験1：Calcitriolの投与により、被膜浸潤がんの発生数が有意に減少し、甲状腺実質内増殖性病変の進展も抑制した。しかし、Calcitriolの投与の有無で、被膜浸潤がんにおけるPhospho-PTEN(Ser380), Phospho-Akt(Ser473), Phospho-(Ser/Thr)Akt substrateの染色強度に明らかな差を認めなかった。実験2：Calcitriol投与による被膜浸潤がんの発生数、上記PI3K/Akt経路関連分子の染色強度に差を認めなかったが、PI3Kの下流にある細胞増殖抑制因子p27Kip1の細胞核での陽性率が有意に増加した。【考察】プロモーション期間を通じたCalcitriolの同時投与は被膜浸潤がんを含む甲状腺発がんの形成を抑制し、短期間投与の結果から、被膜浸潤がんの抑制機序としてPI3K/Akt経路の下流にある細胞増殖抑制制御の関与が示唆された。

\*P-35

## Zuckerラットの遺伝子型による血清生化学/組織学的特性

○曹永晩<sup>1)</sup>, 今井俊夫<sup>2)</sup>, 高見成昭<sup>1)</sup>, 西川秋佳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

【目的】肥満と諸臓器における発がんリスクとの関連性については種々の報告があるが、肥満に伴って様々な生化学的因子が変動することから発がんに直接影響する要因については不明な点が多い。Zucker fattyラットは突然変異レプチン受容体遺伝子 $fa$ のホモ接合体( $fa/fa$ )で、若齢期から著しい肥満を呈し、血清中性脂肪、総コレステロール及びインスリン濃度が著しく高い。一方、野生型( $+/+$ )及びヘテロ接合体( $+/fa$ )のZucker leanラットは肥満にならないことからホモ接合体の対照として用いられているが、両者の生化学/組織形態学的な違いについて詳細は明らかではない。今回、肥満関連因子の乳腺発がんに及ぼす影響を解析する動物モデルを確立する目的で、各遺伝子型のZuckerラットを血清生化学/組織学的に比較検討した。【材料と方法】各遺伝子型の7週齢雌ラット及び10%コーン油添加飼料で5週間飼育した12週齢の $+/+$ 及び $+/fa$ 雌ラットを深麻酔下で安楽殺し、非絶食下の血液及び肝臓/乳腺/脂肪組織を採取した。【結果】7週齢時、血清及び脂肪組織中レプチン濃度は、 $+/+$ 及び $+/fa$ に比し $fa/fa$ で、また $+/+$ に比し $+/fa$ で高値を示したが( $p<0.05$ )、 $+/+$ 及び $+/fa$ 間で血清脂質、インスリン値に差はみられず、 $+/+$ に比し $+/fa$ 及び $fa/fa$ の血清中エストラジオールは低値傾向を示した。組織学的には、 $+/+$ 及び $+/fa$ に比し $fa/fa$ では乳腺組織の発達が不良で、terminal end budの数も少なかった( $p<0.05$ )。12週齢時、 $+/+$ 及び $+/fa$ では10%コーン油添加飼料により血清レプチン濃度が上昇し( $p<0.05$ )、脂肪組織中のレプチンmRNAの発現上昇傾向がみられたが、遺伝子型による反応性の違いはみられなかった。また、コーン油添加飼料の有無に関わらず $+/+$ に比し $+/fa$ の血清脂質は低値( $p<0.05$ )あるいは低値傾向を示したが、肝臓/乳腺/脂肪組織の顕著な組織学的差異はみられなかった。【結論】 $fa/fa$ は乳腺発がんモデルへの応用には適さないが、 $+/fa$ と $+/+$ の比較あるいは高脂肪食負荷により、血中レプチン値と乳腺発がんとの関連性が解析できると考えられた。

P-36

## ラットにおけるレプチン受容体遺伝子の異常と乳腺発がん

○今井俊夫<sup>1)</sup>, 曹永晩<sup>2)</sup>, 高見成昭<sup>1)</sup>, 西川秋佳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

肥満と乳がんとの関連性が指摘されているが、詳細は明らかではない。我々はレプチン受容体遺伝子に異常のあるZucker雌ラット(6-7週齢)のヘテロ接合体( $+/fa$ )では、野生型( $+/+$ )に比し血中レプチン値が高く、遺伝子型に関わらずコーン油添加飼料によりレプチン値が上昇することを報告した。今回、7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン(DMBA)誘発乳腺腫瘍の発生状況を基礎飼料あるいはコーン油添加飼料を与えた $+/+$ 及び $+/fa$ で比較した。【材料及び方法】Zucker lean雌ラット98匹を遺伝子解析により $+/+$ 及び $+/fa$ に分けた。7週齢時、全動物にDMBA(50 mg/kg体重)を1回経口投与し、基礎飼料あるいは10%コーン油添加飼料を自由に摂取させた。触診により腫瘍の発生状況を観察、DMBA投与32週後に血清レプチン濃度を測定、乳腺組織及び腫瘍を病理組織学的に検索した。【結果】両飼料群ともに、 $+/fa$ では $+/+$ に比し腫瘍が早期に発生し、基礎飼料群における腺癌の発生頻度及び数は $+/+$ の44%及び $0.9\pm 1.4$ 個/匹に対し、 $+/fa$ では61%及び $1.3\pm 1.5$ 個/匹と増加傾向を示した。遺伝子型に関わらずコーン油群では腫瘍体積の増加傾向がみられたが、頻度及び数に影響はなかった。病理組織学的には、全ての腺癌99個中88個(89%)は浸潤性増殖を伴わない組織型を呈したが、11個(11%)には著しい浸潤がみられた。また、そのうち10個は $+/fa$ に認められ、顕在化までの潜伏期間は浸潤を伴わない腺癌に比して短かった。免疫組織化学において、組織型に関わらず腺癌には種々の程度でレプチン受容体の発現がみられたが、エストロゲン受容体(ER) $\alpha$ 陽性率は、浸潤を伴う腺癌では低かった。血清レプチン値に遺伝子型による差はみられず、コーン油飼料群では高値を示した。【まとめ及び結論】 $+/+$ に比し $+/fa$ では乳腺腫瘍が早期に発生し、頻度及び数も増加傾向を示したことから、レプチンは乳腺発がん感受性に関与することが示唆された。 $+/fa$ に早期に発生した腺癌の一部は浸潤性増殖を伴う組織型を示し、ER $\alpha$ 陽性率が低かった。また、コーン油により乳腺腫瘍の体積が増加傾向を示したことから、レプチンは発生した腫瘍の発育促進にも影響する可能性が示された。

## \*P-37

### 局所刺激性試験（反復投与試験）における投与方法と局所反応に関する検討

○石澤 由希<sup>1)</sup>, 富田 里美<sup>1)</sup>, 新屋 希子<sup>1)</sup>, 清川 見香<sup>1)</sup>, 松井 元<sup>1)</sup>, 志垣 隆通<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>財団法人 化学及血清療法研究所)

【目的】不活化ワクチンでは抗体産生を高めるために臨床で複数回接種される。このように臨床で複数回接種されるワクチンの局所刺激性試験では、免疫反応を含めた刺激性の評価も必要なため、ウサギの外側広筋に反復投与して評価することがある。反復投与時の刺激性を適切に評価するための基礎的検討の一環として、投与方法により惹起される反応の強さに差があるか否かを明らかにするために、同一側の肢に反復投与した場合と、左右別々の肢に投与した場合の変化を比較した。

【方法】投与物質として卵白アルブミン（100 μg/mL）に水酸化アルミニウムゲル（3.0mg/mL）を添加したものをを用いた。第1群は左右別々の肢に反復投与する群とし、1群6匹の雄性ウサギに初回投与では左側の外側広筋に0.5mL投与し、2回目投与は初回投与後14日目に右側の外側広筋に0.5mL投与した。第2群は同一側の肢に反復投与する群とし、初回及び2回目投与の変化が重ならないようにするために、初回投与では右側の半膜様筋に0.5mL投与し、2回目投与は初回投与後14日目に同じ側の外側広筋に0.5mL投与した。両群とも2回目投与後2日目及び7日目に半数ずつ剖検し、投与部位の外側広筋の変化を肉眼的に観察した。2回目投与部位のパラフィン包埋切片を作製し、H.E.染色を施し、病理組織学的に検索した。

【結果】<第1群>2回目投与後2日目には投与物質と考えられる物質が筋線維間に認められ、その周囲に単核細胞及び偽好酸球を主体とする軽度な細胞浸潤が認められた。また、筋肉の変性/壊死も認められた。2回目投与後7日目には投与後2日目と比較して細胞浸潤が旺盛になり、リンパ球及び形質細胞も多数認められた。その他、線維化及び筋肉の再生などの修復像も認められた。<第2群>2回目投与後2日目には投与物質と考えられる物質の貯留と軽度の細胞浸潤などが認められた。7日目には細胞浸潤が旺盛になり、線維化及び筋肉の再生などの修復像も認められ、変化の内容と程度は第1群と同様であった。

【考察】左右別々の肢に投与した場合（第1群）と同一側の肢に投与した場合（第2群）の変化を比較したところ、変化の質及び程度ともに同様であり、明らかな差はなかった。このことより、反復投与時の刺激性評価において、投与される肢の違いが惹起される変化に大きな影響を及ぼすことはないと考えられた。

## \*P-38

### 生理食塩液のラット無麻酔下における28日間経気道反復投与毒性試験の基礎的検討

○小川 三由紀<sup>1)</sup>, 古川 文夫<sup>1)</sup>, 萩原 昭裕<sup>1)</sup>, 中島 弘尚<sup>1)</sup>, 南部 智美<sup>1)</sup>, 山岡 可奈子<sup>1)</sup>, 内ヶ島 由加理<sup>1)</sup>, 玉野 静光<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>株式会社DIMS医科学研究所)

【目的】ラットにおける経気道投与は麻酔下で行われており、種々の報告がされてきた。しかしこれまでの経気道投与方法では、麻酔薬による試験への影響が懸念されることから、長期間の反復投与毒性試験は実施されていない。我々は無麻酔下での投与方法の検討を行っており、今回、WistarHannover系ラットを用いて、無麻酔下での28日間経気道反復投与毒性試験を行い、この試験方法の確立のための基礎的検討を行った。

【方法】8週齢のslc:WistarHannover/RCC系雄ラット、各群9匹に、生理食塩液を0（偽投与）、0.1, 0.2 ml/匹の容量で、1日1回、週5回の頻度で28日間無麻酔下の経気道投与を行った。また、対照群として無処置群を設けた。【結果】体重、体重増加量、摂餌量、摂水量、BALF検査、血液学的検査、血液生化学的検査において、生理食塩液投与群では、偽投与群と比較して投与に起因すると思われる統計学的な有意差は認められなかった。一般状態では、全処置群において、投与直後から呼吸の捻髪音が、全動物にみられた。器官重量では、生理食塩液投与群において偽投与群と比較して肝重量が有意な低値を示したが、軽微であった。なお、肺重量においては影響は認められなかった。病理組織学的検査において、肺には生理食塩液投与に関連すると思われる明らかな変化は認められなかった。しかしながら喉頭では、炎症、扁平上皮化生、気管では炎症、粘膜下の線維化など投与の操作に起因すると思われる変化が観察された。【考察】ラットにおける無麻酔下での経気道投与は、生理食塩液0.2ml/匹の容量でも肺への影響が少ないことから、溶媒としての生理食塩液は0.2ml/匹の容量が可能であると考えられた。

## \*P-39

### gpt delta transgenic ratを用いた構造異性体2,4-DAT、2,6-DATの遺伝毒性解析

○豊田 尚美<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>2)</sup>, 増村 健一<sup>1)</sup>, 林 宏行<sup>3)</sup>, 川村 祐司<sup>3)</sup>, 倉田 靖<sup>3)</sup>,  
梅村 隆志<sup>3)</sup>, 西川 秋佳<sup>3)</sup>, 能美 健彦<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・病理部, <sup>3)</sup>明治製菓株式会社)

[目的]動物モデルを用いた遺伝毒性試験は、標的臓器における発がん性および変異原性を評価するために有用である。In vivoの遺伝毒性試験の感受性のみならず、特異性を評価するためには、発がん物質および非発がん物質を用いて、実験結果の妥当性を評価する必要がある。

[実験]芳香族アミンの構造異性体である2,4-diaminotoluene (2,4-DAT) と 2,6-diaminotoluene (2,6-DAT)は、その変異原性および発がん性が広く検討され、どちらもAmes試験において遺伝毒性が認められている。本研究では、動物モデルを用いた遺伝毒性試験が、標的臓器における長期発がん性試験の結果と対応するかを調べるため、7週齢の雄性F344 gpt delta transgenic ラットを6群に分け、それぞれ2,4-DATを125, 250, 500 ppm、2,6-DATを500 ppmで13週間にわたり混餌投与し、肝臓における変異頻度を検討した。gpt deltaラットはE. coliのgpt遺伝子を組み込んだlambdaEG10 DNAを持ち、gpt遺伝子上の点突然変異を検出することが可能である。

[結果]発がん物質である2,4-DAT投与群では、変異頻度が基礎食群に比較して有意に上昇したが、非発がん物質である2,6-DAT投与群ではバックグラウンドレベルであった。このことから、2,4-DATと2,6-DATに関してgpt deltaラットを用いた遺伝毒性試験は発がん性試験の結果と相関することが示唆された。今後は、用量依存性について検討するとともに、発がん非標的臓器の腎臓における変異頻度の検討を行う予定である。

## P-40

### 転移能の異なるラット肝細胞癌細胞株を用いた肺と肝における転移機序の検討

○小川 久美子<sup>1)</sup>, 朝元 誠人<sup>1)</sup>, 佐藤 慎哉<sup>1)</sup>, 鈴木 周五<sup>1)</sup>, 高橋 智<sup>1)</sup>, 白井 智之<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学)

転移は、癌による死亡の大きな要因の一つである。一方、担癌患者の血中には、早期から腫瘍細胞が存在しているといわれ、また、ヌードマウスの静脈内に $5 \times 10^6$ と多量の腫瘍細胞を接種しても、転移結節を形成するものは、そのうちのごく一部であり、大部分は淘汰される。個体における腫瘍細胞の到達先での生存と消失の機序を検討する目的で、我々の樹立した転移能の異なるラット肝細胞癌細胞株の尾静脈接種後の肺と、脾臓内接種後の肝臓における初期変化を病理組織学的に検討した。【方法】ラット肝細胞癌細胞株の高転移株 (HMCs) と低転移株 (LMCs) を尾静脈内あるいは脾臓内に接種し、1時間後および1日後に屠殺剖検した。肺、脾、肝、腎を主体に標本を作製し、腫瘍細胞の分布とアポトーシスについて検討した。腫瘍形成については、4週後に判定した。【結果】1) 尾静脈接種後の肺では、HMCsの2株とLMCsの一方は1時間後には、 $11.3 \sim 15.8$ 個/mm<sup>2</sup>とほぼ同等の多くの腫瘍細胞が観察されたが、1日後にはいずれも著減しHMCsは $0.5 \sim 0.6$ 個/mm<sup>2</sup>となったが、LMCsは完全に消失していた。LMCの1株は、1時間後でも $0.7$ 個/mm<sup>2</sup>と付着が少なく、さらに1時間後には完全に消失していた。LMCsに比して、HMCsでは、接種後の肺により多くのcleaved-caspase 3陽性細胞が観察され、肺での淘汰には、アポトーシスが関与していると考えられた。2) 一方、脾臓内接種後の肝臓では、1時間後にはHMCsは $48.7 \sim 77.1$ 個/mm<sup>2</sup>と多数みられ、LMCsでは $15.2 \sim 23.3$ 個/mm<sup>2</sup>と少数であった。1日後にはHMCsは $13.3 \sim 15.0$ 個/mm<sup>2</sup>と減少したが、LMCsではほぼ消失していた。しかし、cleaved-caspase 3陽性細胞は、尾静脈接種後の肺と比較すると少数で、ほとんどが顆粒状を呈する変性物であった。さらに、変性した腫瘍周囲では正常肝細胞の巣状〜びまん性の壊死が認められたが、HMCsでは肝細胞壊死に接しない部分にも腫瘍細胞が観察された。【結論】転移過程において、他臓器に到達した腫瘍細胞は、大部分が消失するが、その消失過程は同一細胞でも転移先によって異なる可能性が示唆された。

\*P-41

## マウス肝発がんにおけるプロテオームおよびバイオマーカー解析

○梯 アンナ<sup>1)</sup>, 石井 真美<sup>1)</sup>, 山野 莊太郎<sup>1)</sup>, 魏 民<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

【緒言】現在、マウスの肝発がんにおいては、有用な前がん病変マーカー、または肝臓腫瘍及び血液のバイオマーカーは知られていない。本研究では、マウス肝発がんにおけるプロテオーム解析を行い、肝発がん機序および新たなバイオマーカーを検索した。【方法】動物は、C57BL/6Jマウス(42匹)を用い、14日齢に肝発がん誘発剤であるDiethylnitrosamine (DEN; 10 mg/kg b.w.)の腹腔内投与を行い、27および38週目に動物を屠殺し、プロテオミクスの新しい方法論と技術を開発するとともに、プロテオミクスの視点から、肝臓組織より切り出した腫瘍性病変、前がん病変(好塩基性細胞巣)及び血液(血漿)による肝発がんに及ぼす要因を解明した。【結果】QSTAR Elite LC-MS/MSのProteinPilot 2.0 Softwareを用いた解析では、95%以上のコンフィデンスで109個の蛋白質が同定された。Ingenuity Pathway<sup>TM</sup>解析を用いて、発現が有意に変化していた67個の蛋白質の解析を行ったところ、細胞骨格系(cytokeratin 18, calreticulin)と急性期反応蛋白質の発現上昇および、代謝酵素の発現低下などが認められた。また、尿素代謝酵素の発現減少がみられた。マウス肝細胞癌、肝腺腫および肝前がん病変において、Cytokeratin 8/18 complex (CK8/18), apolipoprotein A-1 (APOA1), apolipoprotein E (APOE)およびcalreticulin (CALR)蛋白質の発現上昇が免疫組織学的に確認された。【総括】今回の結果より、CK8/18, APOA1, APOEおよびCALRはマウス肝発がんにおいて、新たなバイオマーカーのひとつになる可能性が示された。今後、肝臓がんにおける血液中のバイオマーカーの検討を行う予定である。

P-42

## ラット膵管癌モデル血清を用いたメタボローム解析

○宮田 かおり<sup>1)</sup>, 薮下 晴津子<sup>1)</sup>, 菊地 文健<sup>1)</sup>, 串田 昌彦<sup>1)</sup>, 福田 貴子<sup>1)</sup>, 羽子田 真理<sup>1)</sup>,  
味方 和樹<sup>1)</sup>, 中山 由美子<sup>1)</sup>, 宇和川賢<sup>1)</sup>, 西岡和彦<sup>1)</sup>, 深町勝巳<sup>2)</sup>, 津田洋幸<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>住友化学株式会社, <sup>2)</sup>名古屋市大分子毒性)

<緒言> ヒトにおける膵管腺癌は極めて予後の悪い疾患であり、また、その腫瘍発生率も近年増加傾向にある。本疾患に関し、早期発見が最重要点に挙げられるのは言うまでもなく、より鋭敏な腫瘍マーカーの発見が期待されている。昨今、がん患者血清を用いた網羅的解析が数多く検討され、膵管癌患者血清中の数種の蛋白の組み合わせによる解析が臨床で始められるようになっている。しかしながら、まだ理想的なマーカー発見には至っていない。一方、これまでの研究はがん患者の血清を用いた研究が主流であったが、ヒトの病態が非常に複雑でheterogeneityであることから、疾患モデル動物の確立が望まれる。<方法> ヒトHa-ras遺伝子をCre/loxP発現制御系により誘発させた、ヒト膵管癌動物モデルラットを用い、担癌動物血清について、事前に分析対象化合物を特定しないnon-targetedな手法でメタボローム解析を実施した。担癌動物および正常対照動物から得られた各血清をメタノール(MeOH/H<sub>2</sub>O:8/1)で除蛋白した後、凍結乾燥させ、ピリジン転溶、誘導体化(メチルオキシム化およびトリメチルシリル化)後に、GC-MS分析に供した。<結果> GCの保持時間およびMSの総イオン強度からなるデータセットを作成、主成分分析等の多変量解析に供した結果、担癌動物血清と正常動物血清間には明瞭な差が認められた。差に寄与している代謝物をMSスペクトルおよび保持時間情報をもとに同定し、更に、当該代謝物周辺の代謝pathwayを解析した結果、担癌動物では、癌の転移活性を反映する<sup>14</sup>C<sub>18</sub>、<sup>14</sup>C<sub>17</sub>の高値、一般状態悪化を反映した脂質・アミノ酸類の低値、あるいはエネルギー産生の異常を示唆する解糖系・TCAサイクルに寄与する物質の増減が検出された。<まとめ> 本モデル動物が極めて短期間にヒトの膵管癌と類似した膵臓腫瘍を誘発することについて、その病理組織学的な解析を既に報告したが、血液の解析においても腫瘍の進展(悪性化)を示唆する変動が認められ、その有用性が示唆された。

## \*P-43

### Using ToxWiz to explore the effects of WY14643, RU486, and Phenobarbital on nuclear receptors

Gordana Apic<sup>1)</sup>, Frank Bonner<sup>1)</sup>, ○青木 桜<sup>2)</sup>, Bojana Cosovic<sup>1)</sup>, Robert B Russell<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Cambridge Cell Networks Ltd, <sup>2)</sup>CTCラボラトリーシステムズ,

<sup>3)</sup>The European Molecular Biology Laboratory

About 2 billion drug prescriptions were issued to patients during physician office visits in the U.S.A. in 2005, with the number of drugs prescribed per visit averaging 2.1. Co-administration of two or more drugs may result in complex drug interactions, increasing the risk of side-effects. For the safety of patients, it is important to consider these interactions and understand their mechanisms. In this report, ToxWiz software was used to find common molecular targets for WY14643, RU486, and Phenobarbital and to predict toxicity mechanisms of combined exposure to these drugs. ToxWiz is a comprehensive software and database system that provides extensive information on chemicals and their biological effects on organisms. Using previously collected data on chemicals from the public domain and proprietary company datasets, this software generates networks of interacting chemicals, genes, proteins, pathways, and biological effects. Using ToxWiz software to search for WYETH, several chemicals were obtained: meterelin, methylprednisolone, and WY14643. Only WY14643 was further considered in this report. However, results obtained for WY14643, such as target molecules and mechanisms of toxicity, may also apply to chemicals similar in structure to WY14643. Namely, ToxWiz software allows users to predict target molecules and toxicities of novel or modestly studied compounds by comparing their structures to those of related compounds with known targets and effects.

## \*P-44

### LipopolysaccharideとRanitidine併用により増悪される肝障害のメカニズム解析

○清澤 直樹<sup>1)</sup>, 安藤 洋介<sup>1)</sup>, 伊藤 和美<sup>1)</sup>, 熊谷 和善<sup>1)</sup>, 青木 桜<sup>2)</sup>, 瀧野 望<sup>2)</sup>,  
中野 暢也<sup>2)</sup>, 寺西 宗広<sup>1)</sup>, 矢本 敬<sup>1)</sup>, 真鍋 淳<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>第一三共株式会社・安全性研究所, (<sup>2)</sup>CTCラボラトリーシステムズ株式会社)

**【目的】** ラットにおけるRanitidine (RA) の肝障害はLipopolysaccharide (LPS) の併用により増悪し、そのメカニズムにはTNF-alpha凝固系因子等の関与が報告されている。本検討ではさらに詳細なメカニズム解明を目的とし、肝臓の網羅的遺伝子発現解析を行った。**【方法】** 1群5例の10週齢雄性F344ラットに、単剤投与群ではLPS (0.06 mg/kg)、あるいはRA (30 mg/kg)の静脈投与を、併用投与群ではRAの静脈投与2時間前にLPSを静脈内投与した。肝臓の採材をRA投与2時間後および6時間後に行い、AffymetrixのRat 230 2.0アレイを用いて遺伝子発現解析を実施した。**【結果】** LPS・RA併用によって相乗的な発現誘導が認められたプロンプセット (209個) に関してGene Ontology解析を行った結果、炎症 (Irf1, Cxcl10, Tnfrsf14)、細胞死 (Bcl2l2, Ripk2)、アポトーシス (Gadd45b, Casp1, Casp8ap2\_predicted)、細胞分化 (Atf3, Map2k1, Adm) および虚血応答性遺伝子 (Pdgfa) 等の発現誘導が顕著であった。これらの遺伝子群はLPS単剤投与時とは投与2時間後の時点で高い発現レベルを示した後、投与6時間後には発現レベルが低下したのに対し、併用時には投与6時間後にも高い発現レベルを維持した。**【考察】** RA併用により、LPS惹起性の炎症、アポトーシスおよび虚血応答関連遺伝子群の高発現レベルが維持され、これらが肝障害増悪に関与することが示唆された。RAは薬理作用としてヒスタミンシグナルの伝達を阻害すること、またヒスタミンはLPS誘導肝炎モデルにおいて、H2受容体を解した細胞保護作用を有することから、RA投与によるヒスタミン介在性細胞保護作用低下がLPSによる肝細胞障害を増悪する可能性が推察された。

\*P-45

## 老齢ラットの腹腔内にみられた自然発生性骨外性骨肉腫

○長谷川 也須子<sup>1)</sup>, 渋谷 一元<sup>1)</sup>, 大嶋 篤<sup>1)</sup>, 兼田 直人<sup>1)</sup>, 山下 龍<sup>1)</sup>, 上塚 浩司<sup>1)</sup>, 布谷 鉄夫<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>財団法人日本生物科学研究所)

老齢ラットにおける自然発生性の骨外性骨肉腫の発生は非常に稀である。今回我々は、ラットの血管拡張型骨外性骨肉腫の症例に遭遇したため、その組織学的特徴について報告する。

【症例】動物は雌ラット(F344/DuCrj)で、がん原性試験の無処置対照群に供されており、90週齢時に死亡、剖検された。

【肉眼所見】剖検時体重185 g。腹腔内に60 x 25 x 35 mm大の暗赤色腫瘤として認められた。腫瘤は右側背部の腹壁に存在し、一部横隔膜を貫通して胸腔内に突出していた。腫瘤と腹腔内臓器との癒着あるいは腫瘤が腹腔内臓器を巻き込むことはなかった。腫瘤の断面は分葉状充実性で、大小の嚢胞形成を伴っていた。

【組織所見】腫瘍組織内には血液を充満した大小の類洞様空隙、出血巣、壊死巣が観察され、一部では血栓形成も認められた。また類骨組織の形成が散見され、一部では石灰の沈着を伴っていた。腫瘍組織には異型度の高い類円形～紡錘形の腫瘍細胞がび慢性に増殖し、一部では破骨細胞様の多核巨細胞が観察された。免疫組織学的検索ではVimentinおよびOsteopontinに対し腫瘍細胞および多核巨細胞が共に陽性、Collagen type I、Osteocalcin では一部の腫瘍細胞、類骨が陽性を示した。PCNAでは腫瘍細胞のみが陽性を示し、多核巨細胞は陰性であった。ED1では多核巨細胞のみが陽性であった。また一部の類骨でBone sialoproteinが弱陽性を示した。電顕検索では腫瘍細胞の核に不規則な切り込みがみられ、細胞質内には一部拡張した粗面小胞体と少数の細胞内小器官が認められた。多核巨細胞には豊富な小型のミトコンドリアがみられた。

【考察】病理組織化学的検索結果より、腫瘍細胞ではCollagen type I、Osteocalcin、Osteopontinタンパクの発現が確認され、骨芽細胞に類似した性質を有していることが明らかとなった。一方、多核巨細胞は、その形態的特徴とOsteopontin、ED1タンパクの発現より破骨細胞に類似した細胞であると考えられた。本症例は腫瘍巣内に血液を充満した多数の拡張した類洞様組織が観察され、類骨形成を伴った骨芽細胞様腫瘍細胞の増殖がみられたことより血管拡張型とした。本症例は脊椎骨など周囲骨組織との連続性は観察されなかったため、骨外性骨肉腫とした。

\*P-46

## 糖尿病モデルのビーグル犬にみられた気腫性膀胱炎

○松尾 沙織里<sup>1)</sup>, 林 修次<sup>1)</sup>, 宗心 知美<sup>1)</sup>, 足立 健児<sup>1)</sup>, 三好 昌夫<sup>1)</sup>, 加藤 淳彦<sup>1)</sup>, 鈴木 雅実<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>中外製薬株式会社)

【はじめに】気腫性膀胱炎はガス産生菌の感染及び尿中のグルコースやアルブミンの分解により、膀胱壁内にガスが貯留し嚢胞形成を特徴としたまれな疾患である。糖尿病罹患イヌ、ネコ、ヒトでの気腫性膀胱炎の併発が報告されているが、組織学的特徴の詳細な検討報告はない。今回我々は、糖尿病誘発ビーグルで気腫性膀胱炎の1例に遭遇したので、その病理組織学的特徴について報告する。【材料および方法】動物は雌イヌ(CSKビーグル)で、糖尿病モデル作出のためにstreptozotocin及びalloxanを併用単回投与し、薬効試験で用いられた後、streptozotocin/alloxan投与後7年(8歳齢)に計画解剖された。臨床経過として、血糖値は投与後8週までは250~400 mg/dL、投与後28週から7年までは概ね150~300 mg/dLで推移した。血尿が投与後6年半から散見された。膀胱はホルマリン固定後、常法に従いパラフィン包埋し、HE染色、グラム染色、抗Cytokeratin抗体等を用いた免疫組織化学染色を実施した。【結果】肉眼的に膀胱粘膜は不整で暗赤色部が散見された。また、断面では粘膜の肥厚とともに、直径1mm前後の大小さまざまな嚢胞状構造が観察された。なお固定時に細切した病変部の組織片は固定液に浮遊した。組織学的には、粘膜直下から筋層において大小の嚢胞が多数認められた。嚢胞の多くは一層の扁平細胞で内張りされており、内張りが認められない部分もみられた。嚢胞周囲には好中球や多核巨細胞が認められた。また、膀胱内腔にはグラム陰性の短桿菌が散見され、粘膜では移行上皮の変性、剥離、びらん、過形成性増殖が認められた。粘膜上皮から固有層にかけて出血や好中球、リンパ球、マクロファージを主体とした炎症性細胞浸潤が認められた。扁平な嚢胞の内張り細胞は免疫組織化学染色の結果、Cytokeratin陰性を示した。【考察】本症例は持続的な高血糖がみられた糖尿病罹患動物であり、膀胱内腔のグラム陰性短桿菌の感染、膀胱粘膜における嚢胞形成、ならびに、嚢胞周囲の多核巨細胞を含む炎症性細胞浸潤が認められた。以上の変化から、本症例を気腫性膀胱炎と診断した。

## 犬の胸腺腫に出現する肥満細胞の特徴

○井澤 武史<sup>1)</sup>, 桑村 充<sup>1)</sup>, 山手 丈至<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪府立大学 獣医病理学教室)

【背景】ヒトおよび動物の正常胸腺において、肥満細胞は主に実質周囲の結合組織に存在し、まれに胸腺実質にも認められる。胸腺における肥満細胞の生理学的意義は不明だが、血管周囲に分布する特徴があることから、血管形成との関わりが注目されている。犬の胸腺腫では、腫瘍実質内に肥満細胞が出現することが知られているが、詳細な特徴を調べた報告はない。本研究は、犬の胸腺腫に出現する肥満細胞を形態学的に解析し、その特徴を明らかにすることを目的とした。

【材料・方法】2例の犬胸腺腫（ラブラドル7歳、ラブラドル9歳）および正常胸腺（ミニチュアシュナウザー2ヶ月）から、10%中性緩衝ホルマリン固定パラフィン包埋切片を作製し、HE染色、トルイジン青染色およびアルシアン青-サフラニン染色を行った。

【結果・まとめ】対照犬の胸腺実質と比較して、胸腺腫組織では肥満細胞が顕著に増加し、血管周囲性の分布パターンを示した。胸腺腫における肥満細胞は、細胞内顆粒が不明瞭で、HE染色にて細胞質が好酸性を示した。アルシアン青-サフラニン染色の結果、正常胸腺および胸腺腫における肥満細胞は、アルシアン青陰性およびサフラニン陽性であった。通常、結合組織型肥満細胞はアルシアン青のみに陽性で、粘膜型肥満細胞はサフラニンのみに陽性となることから、犬の正常胸腺および胸腺腫に出現する肥満細胞は、粘膜型の特徴を持つと考えられた。これらの所見は、ヒトの正常胸腺および胸腺腫における肥満細胞の特徴とほぼ一致していた。

## イヌの大腿部に発生した粘液型脂肪肉腫

○桑村 充<sup>1)</sup>, 村井 文<sup>1)</sup>, 藤澤 可恵<sup>1)</sup>, 大橋 文人<sup>2)</sup>, 山手 丈至<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪府立大学獣医病理, <sup>2)</sup>大阪府立大学獣医外科)

脂肪肉腫は、ヒトにおいては最も多い軟部肉腫の一つであり、粘液型、多形型、紡錘形型、脱分化型などの組織学的バリエーションがある。イヌにおいて、脂肪腫はしばしば遭遇する軟部腫瘍であるが、脂肪肉腫は比較的稀な腫瘍であり、特に粘液型脂肪肉腫の報告は少ない。今回、イヌの大腿部に原発した粘液型脂肪肉腫の病理所見を報告する。

【症例】イヌ、ラブラドル・レトリバー種、9歳、雄。【臨床経過】ワクチン接種時に左後肢の大腿部に腫瘍が認められた。腫瘍は5×4 cm程度で硬結感があり、大腿部深部に存在した。MRI検査では、病巣部に複数のシストが認められた。腫瘍の摘出術が行われ、病理組織検査が実施された。悪性腫瘍と診断された後、断脚術が行われ、断脚されたサンプルも病理検査に供された。

【病理組織見・考察】生検にて摘出されたサンプルは多胞状の構造をしており、断面には多量の粘液が認められた。組織学的に、腫瘍は線維性結合組織によって分画された大小のシストが認められ、シスト内には紡錘形ないし円形の腫瘍細胞が疎に増殖していた。腫瘍細胞の細胞質には様々な大きさの空胞が形成され、特に円形の腫瘍細胞では、しばしば細胞質内空胞により核が圧迫され偏在していた。腫瘍細胞間は粘液腫状で、アルシアンブルーに染まる間質が認められた。細胞質内の空胞はオイルレッドOに陽性、アルシアンブルーに陰性を示した。抗adipophilin抗体を用いた免疫組織化学では、細胞質内空胞に一致して陽性所見が認められた。断脚されたサンプルにおいては、筋間の脂肪組織を中心に浸潤・増生する腫瘍細胞が認められ、関節腔内にも腫瘍細胞浸潤が観察された。以上の所見より、粘液型脂肪肉腫と診断され、その浸潤・増生パターンより悪性度の高い腫瘍と判断された。また、抗adipophilin抗体を用いた免疫組織化学が、脂肪肉腫の鑑別診断に有用であることが示唆された。

## \*P-49

### カニクイザルにみられた自然発生性動脈炎

○石村美祐<sup>1)</sup>、Richard H. Cardy<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>武田薬品工業株式会社 開発研究センター、<sup>2)</sup>Covance Laboratories Inc.)

カニクイザルを用いた毒性試験において自然発生性動脈炎に遭遇することはまれであり、これまでに2症例が報告されているにすぎない。今回我々は、カニクイザルを用いた毒性試験において自然発生性動脈炎の高頻度の発生を経験したので報告する。

13週間静脈内投与毒性試験及び8週間回復性試験に用いたカニクイザル (*Macaca fascicularis*)、雄19例及び雌18例 (2~6年齢) において、雄9例及び雌5例に動脈炎が観察された。動脈炎は対照群を含む各群でランダムに観察され、用量依存性も無いことから投薬に起因しない自然発生病変と判断した。肉眼的に異常は認められず、組織学的に腎臓、肺、肝臓、胆嚢、膀胱、消化管 (胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、大腸)、膵臓、精巣、心臓 (壁内及び壁外)、坐骨神経周囲結合組織などの組織の主として小~中動脈に単発あるいは多発性病変として認められた。病変は分節状に、様々な程度あるいは発生段階の変化が認められ、発生初期の変化は内膜肥厚、中膜のフィブリン様物沈着、内皮細胞の増殖、まれに外膜のリンパ球を主体とした単核細胞浸潤としてみられ、さらに発達した段階では中膜の壊死が外膜の結合組織の増生を伴ってみられ、一部では内弾性板の断裂などの変化も認められた。これらの所見は結節性多発性動脈炎に類似していたが、いずれの発生段階の病変においても好中球等の炎症性細胞浸潤は特徴的でなく、この点はこれまでにカニクイザルで報告されている結節性多発性動脈炎の特徴と異なっていた。また、動脈に特異的で髄膜血管に病変が首座せず、中膜の壊死を特徴とする点は、カニクイザルで好発するとされるリンパ球浸潤が主体の血管周囲炎/血管炎とも異なっていた。

本症例は、今後カニクイザルを用いた毒性試験を実施する際の動脈病変のHistorical control dataとして毒性評価に有用と思われる。

## \*P-50

### カニクイザルにみられた肝臓の限局性増殖性病変

○藤島 純子<sup>1)</sup>、佐竹 茂<sup>1)</sup>、平川 公昭<sup>1)</sup>、前田 博<sup>1)</sup>、千早 豊<sup>1)</sup>、永岡 隆晴<sup>1)</sup>、楊 秀英<sup>1)</sup>、上村 裕洋<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>株式会社 新日本科学)

カニクイザルの肝臓における増殖性病変は稀であるが、当社予備飼育のカニクイザル2例で肝臓に限局性の増殖性病変がみられたため報告する。

【材料及び方法】症例A：3歳，雌，中国産。症例B：4歳，雌，中国産。10%ホルマリン液固定後，パラフィン切片作製，H.E.染色，PAS染色，MT染色及び鍍銀染色の他，抗マウスPCNA抗体を用いた免疫組織化学染色を実施。

【結果及び考察】症例A：剖検で右葉辺縁部に，直径約30 mmの範囲で，周囲組織より淡色で剖面が膨隆する単発性隆起病巣を認めた。組織学的に肝細胞索は周囲の正常組織と連続しており，一部線維性組織で境界されているところや，病巣周囲の肝組織の圧排及び類洞の拡張により正常肝組織と鑑別できた。病巣内の肝細胞に異型はみられなかったが，一部で細胞質が淡明で豊富，核仁明瞭な大型核や複数核を有する肝細胞が2~3層に配列してみられた。細胞質内にはPAS陽性，電子顕微鏡下で電子密度の高い均一無構造，H.E.で好酸性を示す封入物が頻繁に認められた。PCNA染色では正常肝細胞と比較して陽性肝細胞が多くみられた。病巣内には線維組織が交錯し一部で線維に囲まれた偽小葉様構造を形成していた。特に病巣中心部では線維化が顕著でwagon-wheel 様のパターンを示した。線維化の顕著な部位では肝細胞索は分断され小葉構造は乱れていたが，それ以外の部位では中心静脈ならびに門脈域は確認でき，構造極性は認識できた。中心の線維組織内には再生胆管上皮と考えられる大型卵円形核を有する細胞及び多くの小血管が認められ，病巣内では胆管増生や単核細胞浸潤も散見された。症例B：剖検で左葉辺縁に，周囲組織より淡色で結節状に隆起した直径約5 mmの病巣がみられた。組織像は症例Aと基本的に同じであったが，線維組織は少なく偽小葉様構造は認められず，大型核や複数核の肝細胞が多かった。

いずれの症例でも小葉構造の極性は保たれ，周囲肝臓組織との連続性があり，病巣内に胆管増生や線維化を伴っていることから，肝細胞の再生性増生と考えられた。WHO分類にて，動物で分類されているRegenerative hepatocellular hyperplasiaの範疇に入る変化と考えられたが，ヒトで分類されているFocal nodular hyperplasiaの記載に非常に類似していた。

## \*P-51

### カニクイザルの小腸にみられた杯細胞過形成及び筋層肥厚の1例

○村上 雄一<sup>1)</sup>, 岡崎 欣正<sup>1)</sup>, 梶川 悟<sup>1)</sup>, 藤平 司郎<sup>1)</sup>, 能登 貴久<sup>1)</sup>, 義澤 克彦<sup>1)</sup>, 仲辻 俊二<sup>2)</sup>, 大石 裕司<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室)

毒性試験の対照群に用いたカニクイザルで、小腸全域にわたり杯細胞過形成と筋層肥厚を呈した稀な症例に遭遇したので、その病理組織学的特徴を報告する。【材料・方法】動物は中国産、5歳3ヶ月齢の雄カニクイザルで、当施設に入荷後、剖検までの1年4ヶ月間、一般状態、体重、血液・血液化学検査に異常は認められなかった。剖検時、空腸から回腸にかけて壁の肥厚(約5mm厚)がみられ、粘膜面に径3~7 mm大の白色付着物が6個認められた。全身諸臓器を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、常法に従ってパラフィン包埋、HE染色を施し、組織学的検査を行った。空腸及び回腸はPAS, アルシアン青[AB](pH2.5), グラム, ギムザ及びワーチンスターリーの各染色も行って鏡検した。【結果】組織学的に空腸及び回腸では粘膜及び筋層のび慢性肥厚が認められた。粘膜では杯細胞が顕著に肥大・増生して吸収上皮の大部分を置換し、輪状ヒダ及び絨毛が伸長していた。粘膜面には脱落上皮を含む多量の粘液が堆積し、剖検でみられた白色付着物は細胞残渣を混じた粘液塊であった。これらの粘液はPAS染色で赤紫色, AB染色で青色を呈した。陰窩上皮に明らかな変化はなく、分裂活性も正常であった。増生した杯細胞を含め粘膜上皮は単層に配列し、異型性も認められなかった。空腸では粘膜固有層に軽度の炎症細胞浸潤が認められたが、回腸は炎症反応に乏しかった。各種細菌染色で病原細菌は認められず、原虫や寄生虫などの病原体も確認できなかった。筋層は内輪・外縦走筋ともに平滑筋の肥大によって顕著に肥厚していたが、腸管神経叢に異常は認められなかった。十二指腸でも粘液分泌亢進を伴う軽微な杯細胞増生と筋層肥厚がみられ、粘膜固有層にリンパ球・形質細胞の軽微な浸潤が認められた。胃では胃小窩の伸長を伴う軽微な粘液分泌亢進が認められた。その他の器官・組織では特記すべき変化は認められなかった。【まとめ】杯細胞は細胞異型のない単純増生であることから過形成病変と考えられた。また、筋層肥厚は粘膜のび慢性で顕著な変化に対する二次的反応であると推察した。本症例の病理発生は不明であるが、長期間無症状の経過をたどり、小腸全域に渡って杯細胞過形成と筋層肥厚がみられた症例は、サルを含めてどの動物種においても類似病変の報告はなく、極めて稀な症例であると思われた。

## \*P-52

### カニクイザルにみられた甲状腺濾胞上皮細胞の空胞変性に関する病態生理学的検討

○畠山 洋文<sup>1)</sup>, 武井 由弘<sup>1)</sup>, 佐脇 正邦<sup>1)</sup>, 佐藤 洋<sup>1)</sup>, 小泉 治子<sup>1)</sup>, 渡辺 満利<sup>1)</sup>, 下井 昭仁<sup>2)</sup>, 野村 護<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>株式会社 イナリサーチ 試験研究センター 病理部, <sup>2)</sup>株式会社 イナリサーチ 試験研究センター)

【背景】我々は第23回学術集会において、カニクイザル[Primate Quality Control Center (PQCC), INA RESEARCH PHILIPPINES, INC.]甲状腺濾胞上皮細胞の空胞変性に関する病理形態学的解析について報告した。今回、同ファーム由来の雌カニクイザル1例に同様の変化が認められたため、血漿中ホルモン濃度測定による甲状腺機能解析を試みたので報告する。

【材料及び方法】甲状腺病変が認められた1例を含む5例[カニクイザル, 雌, 2~3歳, 一般毒性試験の対照群, 投与媒体として0.2 w/v% HCO-60及び0.5 w/v% CMCを使用]について、試験開始後7及び13週(剖検時)に採血し、血漿中TSH, T3及びT4濃度を測定した。甲状腺の10%中性緩衝ホルマリン固定組織については、常法に従い組織切片を作製した後、HE染色, PAS反応及び抗thyroglobulin (TG)抗体による免疫染色を施し、組織学的検討を行った。さらに、ホルマリン固定組織から超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡で観察した。

【結果】甲状腺病変を有するサルの血漿中TSH, T3及びT4濃度は、7週で2.1  $\mu$ IU/mL, 187 ng/dL, 4.0  $\mu$ g/dL(正常例n=4のmean $\pm$ SD: 1.4 $\pm$ 0.9, 195 $\pm$ 8, 4.7 $\pm$ 1.1), 13週では1.6, 203, 3.3(正常例: 1.2 $\pm$ 0.8, 188 $\pm$ 21, 4.2 $\pm$ 1.0)であった。光顕では、甲状腺濾胞上皮細胞にPAS反応及び抗TG染色に陰性の細胞質内大型空胞が認められ、核は濾胞腔側に偏在する特徴的形態像を示した。超微形態学的には、光顕で認められた空胞に一致して著しい粗面小胞体の拡張が認められた。なお、甲状腺重量及び下垂体を含めその他の器官に組織学的変化の著変はなかった。

【まとめ】血漿中TSH, T3及びT4濃度は、甲状腺上皮細胞に変化が認められなかった動物と明らかな差はなく、甲状腺は正常に機能していたと考えられた。機能変化を伴わない甲状腺上皮細胞の空胞化は齧歯類で報告があるが(Shimoi A. et al., J Toxicol Pathol, 2001), 霊長類での報告は我々の調べた限り初めてであり、サルにおける非腫瘍性自然発生性病変の一つとして有用な知見である。

## Gaucher病を疑うカンクイザルの1例

○江田 景<sup>1)</sup>, 小林 吉彦<sup>1)</sup>, 楯 美樹<sup>1)</sup>, 梶野 恵美子<sup>1)</sup>, 蛭間 正巳<sup>1)</sup>

(1)株式会社 富士バイオメディックス小淵沢総合研究所)

Gaucher病 (Glucocerebrosidosis) はライソゾームにおいて加水分解酵素であるグルコセレブロシダーゼの減少ないしは欠損によりグルコセレブロシドが蓄積される蓄積病の一つで、イヌ、ヒツジ、ブタなどで報告されている。今回、我々はカンクイザル1例において、Gaucher病を疑う組織病変を認めたので報告する。【材料と方法】 本例は、5歳7ヶ月の雌のカンクイザルで、4週間反復静脈内投与毒性試験に用いた32頭（雄16、雌16）中の1頭で、溶媒対照群として生理食塩液を投与された動物である。投与期間終了日に剖検し、全身諸臓器について病理組織学的に観察した。【結果】 本例は、試験期間中の一般状態、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査ならびに肉眼的検査において著変は認められなかった。病理組織学的には、脾臓、胸腺、リンパ節および腸管リンパ濾胞などのリンパ系器官ならびに骨髄におけるGaucher様細胞の出現が特徴的であった。Gaucher様細胞は約20~50 $\mu$ mの大きさで、1~数個の核濃縮した球状核とエオジン好性の網状を呈した細胞質を有し、その網状物はPAS陽性、マッソントリクローム染色で青色を呈していた。Gaucher様細胞の発現部位は、脾臓では白脾髄の胚中心、胸腺では皮質部、リンパ節および腸管リンパ濾胞では胚中心部、骨髄では彌漫性に認められた。また、Gaucher様細胞とは様相の異なる泡沫マクロファージの増生が腸管粘膜固有層に、また、エオジン好性の均質な細胞質を有するマクロファージの増生が腸間膜リンパ節の髄洞内に観察された。なお、神経系組織、肝臓には著変は認められなかった。以上より、本例はリンパ系組織ならびに骨髄を主体としたマクロファージ (Gaucher様細胞) の多数出現により蓄積病が疑われ、また、多種ある蓄積病の中でもマクロファージの細胞形態ならびに発現臓器からGaucher病に類似していると思われた。なお、現在、電顕など含め検索中である。

## \*P-54

## 塩酸セミカルバジドのB6C3F1マウスにおける90日間反復投与毒性

○高見 成昭<sup>1)</sup>, 今井 俊夫<sup>1)</sup>, 曹 永暁<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>

(1)国立医薬品食品衛生研究所・病理部)

【目的】 セミカルバジド (SEM) は、ガラス製容器の金属蓋に付いているパッキンを製造する際に発泡剤として使用されるアゾジカルボンアミドの熱分解物質で、ベビーフードなどの瓶詰食品中からの検出例が報告されている。一般毒性については、ラットで特有の骨病変であるオステオラチリズムを誘発する事が報告されているが、マウスに関する同様の報告はみられない。今回、マウスにおける90日間反復投与毒性試験を実施した。【方法】 6週齢のB6C3F1マウス雌雄各群10匹に塩酸SEMを0 (対照)、125、250、500及び1000 ppm濃度で基礎飼料に混合し、90日間自由摂取させた。投与期間終了後にエーテル深麻酔下にて採血を行い、血液学的及び血清生化学的検査を実施した。また、剖検により全身諸臓器、組織の観察及び採取を行った後、対照群と高用量群について病理組織学的検査を実施した。【結果】 投与期間中に死亡例はみられなかった。触診による一般状態観察で500 ppm群の雄10匹中9例及び1000 ppm群の全例において膝関節の変形がみられた。体重は1000 ppm群の雄で投与4週目以降、500及び1000 ppm群の雌で投与12、13週目に有意な ( $p < 0.05$  あるいは0.01) 増加抑制を示した。摂餌量は500及び1000 ppm群の雄で投与期間を通して減少傾向がみられたが、雌では群間に差はなかった。血清生化学的検査では1000 ppm群の雄でアルカリフォスファターゼ値が有意な ( $p < 0.01$ ) 高値を示した。1000 ppm群の雌で脾臓の相対重量が有意な ( $p < 0.01$ ) 高値を示した。病理組織学的には1000 ppm群の雄で脛骨近位骨端軟骨、脛骨近位及び大腿骨遠位関節軟骨の肥厚及び大動脈の弾性板間領域の拡大、雌で大腿骨遠位関節軟骨の肥厚、脾臓における髄外造血の亢進及び卵巣における黄体の減少が認められた。【結論】 雌雄のB6C3F1マウスに塩酸SEMを0、125、250、500及び1000 ppmの濃度で混餌投与した結果、体重、後肢骨の骨端及び関節軟骨、大動脈及び卵巣に影響を示す事が明らかとなった。現在、中間及び低用量群の病理組織学的検査を進めており、その結果と合わせて報告する。

## \*P-55

### L-メチオニン過剰摂取の影響評価：ホモシステイン過剰との毒性比較

○陳 慶義<sup>1)</sup>, 東江 咲乃<sup>1)</sup>, 松本 英希<sup>1)</sup>, 河又 康子<sup>1)</sup>, 坂井 良成<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>味の素株式会社ライフサイエンス研究所)

【目的】L-メチオニン (Met) は必須アミノ酸であるが、その過剰摂取は成長抑制や溶血性貧血等の悪影響を及ぼす。Metは生体内でS-アデノシルメチオニン、ホモシステイン(Hcys)など様々な代謝物を生成する。それら代謝物がMet過剰摂取による毒性発現に関与すると推察されるが、そのメカニズムは明らかになっていない。一方、Met投与によりHcysの血中濃度が上昇することや、Hcysの大量投与が成長抑制や痙攣などを引き起こすことが知られている。そこで本研究では、MetとHcysの過剰摂取による毒性を比較し、Met過剰摂取による毒性発現におけるHcysの関与について考察した。【方法】6週齢の雄性F344ラットに、1.2%または2.4%Met、1.1%または2.2%ホモシステチン[(Hcys)2] (Hcysの二量体、各用量はHcysとしてそれぞれ1.2%あるいは2.4%Metと等量)、2.2%(Hcys)2+ 3.8%ベタインを2週間混餌投与した。飼育期間中は体重、摂餌量を測定した。投与期間終了後、血液学的及び病理学的検索を行った。【結果】1) 2.4%Met群で、脾臓におけるうっ血やヘモジデリンの沈着、非ヘム鉄の増加、赤血球中ハイנטツ小体の出現など溶血亢進を示唆する所見が認められた。一方、(Hcys)2群ではいずれの用量でも溶血亢進を示唆する所見は認められなかった。HcysからのMet合成を促進するベタインを(Hcys)2と同時に摂取させることにより血中Met濃度が上昇し、同時に上記の溶血亢進を示唆する所見の一部が認められた。2) 1.2%および2.4%Met群で、肝臓の小葉中心部付近において軽度の脂肪変性が認められた。1.1%および2.2%(Hcys)2群では同所見がより顕著に認められたが、ベタインを同時投与してHcysの代謝を促進することで症状が軽減した。【考察】Met過剰摂取により観察される溶血亢進は、体内のHcys蓄積が直接の原因ではなく、Hcysより上流の代謝物が毒性発現に関与すると考えられた。一方、肝臓における脂肪変性はHcysを介して引き起こされる可能性が推察された。

## \*P-56

### スギナ (*Equisetum arvense* L.) の90日間反復投与毒性試験

○大西 真里子<sup>1)</sup>, 多胡 善幸<sup>1)</sup>, 串田 昌彦<sup>1)</sup>, 森 聖<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

【目的】スギナはケイ素やカルシウムなどのミネラル類を多く含む植物で、東洋医学においては利尿作用、血圧降下などの目的で利用されてきた。また、近年機能性食品素材として摂取する機会が増えている。しかしながら、その危険性・有害性に関する詳細な報告がほとんどなく、早急な安全性評価が求められている。本実験では、雌雄F344ラットにおけるスギナの毒性を評価するためにスギナの混餌投与による90日間反復投与毒性試験を実施した。

【方法と結果】6週齢のF344ラット雌雄40匹ずつを各々10匹ずつ8群に分け、スギナを0, 0.3, 1, 3%の用量で90日間混餌投与後、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査および病理組織学的検索を行った。その結果、試験期間を通じて雌雄とも一般状態に変化は認められず、死亡動物もみられなかった。また体重推移、摂餌量、飲水量および尿検査においても、全投与群で対照群と比較して有意な変化は認められなかった。血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量においても、スギナの影響と考えられる変化は確認できなかった。病理組織学的検索の結果、雄では肝臓の微小肉芽腫、炎症細胞浸潤および胆管増生、腎臓の近位尿細管上皮の萎縮および好酸性小体、脾臓の炎症細胞浸潤、下垂体の嚢胞、雌では肝臓の微小肉芽腫、腎臓の近位尿細管上皮の萎縮、脾臓の脾管増生、卵巣の嚢胞が観察された。雄の腎臓については、 $\alpha 2\mu$ -グロブリン免疫染色を行ったところ、尿細管上皮細胞で陽性像を呈する細胞が散見された。しかしながら、群間にも明らかな発生頻度の差は認められなかったことから、これらの変化は自然発症病変または偶発所見と考えられ、毒性学的意義の低い病変であると判断した。

【結論】以上より、スギナのラットを用いた90日間の反復投与毒性試験を実施した結果、0 ~ 3%の用量において被験物質の影響と考えられる明らかな毒性はみられなかった。したがって、本試験条件におけるスギナの雌雄ラットに対する無毒性量 (NOAEL) は3% (雄では1.79 g/kgBW/day、雌では1.85 g/kgBW/day) であると推察された。

## Fischer 344ラットによるL-セリンの90日間反復経口投与毒性試験

○多田 幸恵<sup>1)</sup>, 矢野 範男<sup>1)</sup>, 高橋 博<sup>1)</sup>, 湯澤 勝廣<sup>1)</sup>, 安藤 弘<sup>1)</sup>, 久保 喜一<sup>1)</sup>,  
長澤 明道<sup>1)</sup>, 大橋 則雄<sup>1)</sup>, 小縣 昭夫<sup>1)</sup>, 中江 大<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>東京都健康安全研究センター)

【背景】L-セリン (L-Ser) は、白色の結晶性粉末で匂いがなく、甘味と旨味を有するため、飲料などの調味料として使用されるほか、近年の健康増進ブームによりアミノ酸の強化を目的として、いわゆる栄養飲料や健康飲料にも使用されている。さらに、サプリメントとしても流通しているが、L-セリンの安全性に関する情報は限られており、早急に基本的な安全性評価を行うことが求められている。今回、我々は厚生労働科学研究費補助金による食品の安心安全確保推進研究事業の一環として、既存添加物の安全性を検討する目的でL-セリンの90日間反復経口投与毒性試験を実施した。

【方法】試験は食品添加物の90日間反復投与毒性試験法ガイドラインに準じて行った。6週齢のF344/DuCrIjラットの雌雄各50匹をそれぞれ5群に分け、1週間コントロール飼料 (改変AIN93G粉末飼料) を与え馴化した後、0 (コントロール) ・0.06 (サプリメント推奨量に相当) ・0.5 ・1.5 ・5.0%のL-Serを添加した飼料を90日間摂取させた。体重・摂餌量測定を1週間に1回、一般状態観察を毎日実施し、解剖前日より絶食させ、翌日尿検査を実施後、エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血し、屠殺・剖検し、血液・血清生化学的及び病理学的検索を行った。

【結果】投与期間中、雌雄とも全群で死亡例はなく一般状態の観察、体重の推移においても特記すべき変化及び有意な変化は認められなかった。平均摂餌・摂水量、血液学的検査及び尿検査においても用量相関性の明らかな変化は認められなかった。血清生化学検査では、雌雄のTP及びALBで用量相関性の減少がみられ、雌雄の5.0%群でTPが、雄の5.0%群でALBが有意に減少した。GGTは雌の投与群で増加傾向を示し、雌の5.0%群で有意に増加した。UA及びASTは雄で用量相関性の減少を示し、雄の1.5及び5.0%でUAが、雄の5.0%群でASTが有意に減少した。病理学的検索では、雌雄の投与群で腎臓の相対重量が増加傾向を示し、雌雄の5.0%群で腎臓の相対重量が有意な増加を示した。現在組織標本観察中であり、結果を併せて報告する。

## \*P-58

5-Fluorouracilにより誘発されたラット胎児の脳における  
アポトーシス及び細胞増殖活性の経時的変化について

○福永 八千代<sup>1)</sup>, 山口 裕子<sup>1)</sup>, 高木 みづほ<sup>1)</sup>, 松島 圭太<sup>1)</sup>, 蒲 雄一<sup>1)</sup>, 田村 一利<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>株式会社ボゾリサーチセンター)

【目的】抗腫瘍薬である5-Fluorouracil (5-Fu) は胎児及び新生児に対し催奇形性を有することが知られている。我々は第24回本学会において、5-Fu暴露が胎児の終脳と脊髄で顕著なアポトーシスの増加を誘発することを報告した。今回、ラット胎児の終脳における5-Fu誘発のアポトーシス及び細胞増殖活性の経時的変化をより詳細に検索したので報告する。【方法】5-Fuを0及び50 mg/kgの投与量で妊娠13日のCrI:CD (SD) ラットに単回腹腔内投与した。投与3、6、9、12、24、48、72時間後に各群3匹の母体から胎児を摘出、重量測定後、10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定した。各母体から無作為に2匹の胎児を選出し、終脳のH・E染色標本作製した。さらにアポトーシスの検索を行う目的で、TUNEL染色及びcleaved caspase 3、抗p53、抗p21抗体を、細胞増殖活性の検索を行う目的で、抗bromodeoxyuridine (BrdU)、histone 3抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い組織学的に検索した。【結果】胎児の重量は、投与群において、投与後48及び72時間で有意な低値を示した。組織学的には、対照群では、アポトーシスの発現はほとんどみられず、細胞増殖活性の時間的変動は一定であった。一方、投与群においては、TUNEL陽性のpyknotic cell及びcleaved caspase 3陽性率が、投与後6時間から増加し、投与後9及び12時間に最も多く発現し、その後経時的に減少した。p53陽性率は、投与後3時間に最も多く発現し、その後経時的に減少し、投与後48時間では対照群と同程度であった。p21陽性細胞の発現はみられなかった。また、BrdU陽性率は投与後9から48時間で、histone 3陽性率は投与後3時間から48時間で減少したが、投与後72時間には対照群と同程度にまで回復した。よって、アポトーシスの増加及び細胞増殖活性の減少がみられる前に、p53の発現の増加がみとめられた。【考察】5-Fu暴露胎児の終脳において誘発されるアポトーシスの増加及び細胞増殖活性の減少は、p53の発現増加に起因した変化である可能性が示唆された。このDNA合成阻害による終脳病変は、既報の5-Fuによる小頭症の発現の大きな要因の一つであると考えられた。

## 胎生期バルプロ酸曝露動物における胎児脳評価

○桑形 麻樹<sup>1)</sup>, 小川 哲郎<sup>2)</sup>, 白見 憲司<sup>3)</sup>, 熊谷 文明<sup>1)</sup>, 斉藤 義明<sup>1)</sup>, 塩田 清二<sup>3)</sup>, 永田 伴子<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> (財) 食品薬品安全センター秦野研究所, <sup>2)</sup> 昭和大学医学部アンチエイジング医学, <sup>3)</sup> 昭和大学医学部第一解剖)

妊婦のバルプロ酸 (VPA) 服用により自閉症発現のリスクが上昇するという報告から、ラット胎生期 VPA 曝露動物を用いた自閉症の発症メカニズムの検討が進められている。我々はこの動物モデルを用いて化学物質曝露直後の脳発生への影響を検討し、ラット胎齢(ED)14日および16日における胎児脳の観察を報告してきた。ED14では脳の発生段階が初期のために、大脳皮質、視床にみられた病理組織学的変化がVPA特有の神経毒性なのか発達遅延による変化なのかの区別が困難であるという問題が残された。また、ED16胎児脳観察では、大脳皮質、橋、峡部にVPA投与によると考えられる形態学的変化が検出された。本発表では、通常、催奇形性試験において胎児観察が実施される妊娠20日に胎児脳観察を実施し、胎生期VPA投与による胎児脳への影響を評価した。

既報に基づきラットの妊娠9日 (VPA9) あるいは妊娠11日 (VPA11) に800 mg/kg のVPAを経口投与し、ED20に帝王切開をして胎児を摘出後4%PFAにて灌流固定し、胎児脳の前顎断連続切片を作製した。ED14の観察でVPA11群のみにみられた大脳皮質のTuJ1 (未熟な神経細胞マーカー) 陽性細胞の減少あるいはED16の観察で両群にみられたcortical plateの形成異常といった大脳皮質層形成異常を示唆する変化は、ED20観察では明らかではなかった。ED16のVPA11群の峡部に認められたTuJ1陽性の神経束走行異常は、ED20の同群の中脳正中部に同様な円形領域として観察された。同領域は前方ではTyrosine hydroxylase 陽性、後方では5-HT陽性であり、間脳後部、腹側被蓋野および腹側縫線核に相当する領域であった。E20のVPA9群ではVPA投与による形態学的変化は観察されなかった。

以上の胎児脳観察から、VPAのED11曝露によりカテコールアミン神経および5-HT神経の分布が対照と異なる事が明らかになった。発生神経毒性試験における胎生期化学物質曝露後の胎児脳評価の有用性についても、観察時期および組織変化の領域特異性から考察し、あわせて報告する。

(本研究は、日本化学工業協会が推進するLRIにより支援されました。)

## MeIQx投与後長期飼育におけるF344ラットの心臓病変

○杉江 茂幸<sup>1)</sup>, 尾山 武<sup>1)</sup>, 安井 由美子<sup>1)</sup>, 田中 卓二<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 金沢医科大学医学部腫瘍病理)

【緒言】ヘテロサイクリックアミン中、その重要性、発癌性において2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)と匹敵すると考えられる2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)は、欧米的食習慣から見るとより重要と考えられる。PhIPについては、発がん性のみならず、伊藤らのグループが18週齢Donryuラットに隔日10回強制経口投与し、1年以内に高率に拡張型心筋症を発症すると報告している。今回、MeIQxをPhIPの早期大腸発癌モデル (中釜モデル) を参考にコーン油高脂肪 (COHF) 食、mixed lipid high fat (MLHF) 食を用いて実験を行い、心臓において興味ある所見を得たので報告する。【方法】5週齢雄F344ラットを4群に分け、5週齢より第1、3群にCOHF食、第2、4群にMLHF食を基礎食として投与し、第1群、第2群に400ppm MeIQx含有食を6週齢、12週齢、18週齢より各2週間投与、それ以外の期間は、基礎食を投与した。各群自然死を待ち、解剖した。【結果】実験開始後114週を経過した時点で全匹死亡した。第1群、第2群共23匹の心臓の病理組織学的検索を行った。第1群では、心肥大7匹 (30%)、拡張1匹 (4%)、線維化8匹 (35%)、局所的線維化4匹 (17%) (線維化計52%)、小円形細胞浸潤6匹 (30%)、石灰沈着3匹 (13%)。第2群では心肥大4匹 (17%)、拡張1匹 (4%)、線維化7匹 (30%)、局所的線維化5匹 (22%) (線維化計52%)、小円形細胞浸潤7匹 (30%)、石灰沈着4匹 (17%) であった。コントロール群には、病変や異常は認めなかった。【考案】第1群に心肥大はやや少ないものの群間で差は認めなかった。今回、コントロール群には著変を認めなかったが、F344ラットでは104週齢で線維化は40%程度あるとの報告があるが、心肥大や拡張、石灰沈着の報告はない。これらは、MeIQxの心臓毒性と考えられる。伊藤らは、PhIPの心臓毒性は半年～1年で現れたと報告しているが、今回、1年半以降の死亡に心病変を認めている。種差はあるものの、MeIQxによる心臓毒性の発現は、PhIPに比べ遅いと考えられる。

## \*P-61

### カニクイザルの薬物誘発性心筋障害における抗心筋トロポニン抗体を用いた免疫組織学的検査の有用性

○古川 知宏<sup>1)</sup>, 糞毛 博文<sup>2)</sup>, 内野 博志<sup>2)</sup>, 門倉 豪臣<sup>2)</sup>, 中間 和浩<sup>2)</sup>, 上村 裕洋<sup>2)</sup>, 前田 博<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>株式会社 新日本科学)

カニクイザルにおける薬物誘発性心筋障害のバイオマーカーとして血中トロポニンの有用性が報告されているが、免疫組織学的手法を用いた心筋トロポニンの変化を検証した報告はない。今回、イソプロテレノールとバソプレシンの併用投与により心筋障害を誘発したカニクイザルの心臓において抗心筋トロポニン抗体を用いた免疫組織学的検査とH.E.染色による病理組織学的検査及び血中トロポニン濃度の関連について検討した。【材料及び方法】イソプロテレノール (0.03, 0.3及び3 mg/kg) 及びバソプレシン (0.3 mg/kg) を各群3匹の雄カニクイザルに単回併用投与し、投与後2時間より投与後7日目までトロポニン (TnI及びTnT) の血中濃度を経時的に測定し、投与後7日目に剖検を実施した。対照群として3匹の生理食塩液投与群を設けた。採取した心臓を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン切片を作製した。H.E.染色及び抗マウス心筋トロポニン抗体 (TnI及びTnT) を用いた免疫組織化学染色を実施した。【結果】血中トロポニン濃度は、イソプロテレノールの投与量の増加に伴いTnI及びTnTともに上昇した。それらの上昇は投与後4~8時間にピークに達し、それぞれ投与後5日目及び7日目まで検出された。H.E.染色による病理組織学的検査において心筋細胞の空胞変性及び壊死が左心室壁を中心にみられた。H.E.染色による病理組織学的検査における壊死病変のスコアと血中トロポニン濃度 (TnI及びTnT) の相関性を検討した結果、両者に高い相関が認められた。抗心筋トロポニン抗体 (TnI及びTnT) を用いた免疫組織学的検査において、H.E.染色による病理組織学的検査で空胞変性及び壊死に陥った心筋細胞で陽性反応の低下がみられた。さらに、H.E.染色による病理組織学的検査で異常が認められない一部の心筋細胞でも陽性反応の低下がみられた。【まとめ】H.E.染色による病理学的検査では形態学的変化が認められない心筋細胞において、抗心筋トロポニン抗体を用いた免疫組織化学的検査では陽性反応の低下、すなわちトロポニンの脱落が認められたことから、トロポニンを用いた免疫組織学的検査が形態学的な変化を伴わない心筋障害を検出する手段となる可能性が示唆された。

## \*P-62

### Induction of MCP-1/CCR2 and oxidative stress in arsenate (As) and hexavalent chromium (Cr)-induced pulmonary inflammation and remodeling

○田島 悠<sup>1)</sup>, 大沼 彩<sup>1)</sup>, 吉田 敏則<sup>1)</sup>, 福山 朋季<sup>1)</sup>, 高橋 尚史<sup>1)</sup>, 榎本 幸子<sup>1)</sup>,  
桑原 真紀<sup>2)</sup>, 小坂 忠司<sup>2)</sup>, 中島 信明<sup>2)</sup>, 原田 孝則<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>財団法人 残留農薬研究所)

Whereas Cr and As are known to be associated with development of lung cancer, combined effects of these metals have not been fully elucidated. Previously we have reported oxidative stress could be involved in As and Cr-evoked pulmonary injuries in mice. Herein we determined sequential changes up to 14 days after intratracheal co-treatment of As with Cr. Those induced inflammation, followed by fibrosis in the lung with increased type I collagen mRNA level. By BAL analysis, MCP-1 level was markedly higher than other chemokines, along with increased level of CCR2 mRNA in lung tissues. To clarify the further mechanism on oxidative stress, we examined the gene expression of Gclc, Gclm, Gpx1, Gpx2, GR, Txn1, Txn2, SOD3, MsrA, Prdx1, Sepx1, HO-1, Nrf2, and Ogg1 on Day 2. Of these genes, co-treatment enhanced mRNA levels of Gclc, Txn1, HO-1, and Gpx2, while As alone reduced Txn2, SOD3 and MsrA levels. These findings suggest that pulmonary injuries by co-treatment with As and Cr could be partially mediated by MCP-1, signaling via CCR2, and imbalance of several gene expression with roles in defense against oxidative stress might augment these processes.

\*P-63

## 気管内投与によるCuOナノサイズ粒子の急性変化の検討 －マイクロサイズ粒子との比較による－

○橋本 希<sup>1)</sup>, 横平 政直<sup>1)</sup>, 山川 けいこ<sup>1)</sup>, 鈴木 智<sup>1)</sup>, 竿尾 光祐<sup>2)</sup>, 久野 壽也<sup>1)</sup>, 今井田 克己<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>香川大学医学部腫瘍病理学, <sup>2)</sup>総合病院 回生病院)

<目的>ナノテクノロジーの発展に伴い、身近な生活でもその恩恵を受けることが多いが、一方でナノサイズオーダー微粒子(ナノ粒子)の毒性および発がん性に対する情報は極めて少ない。これまで我々は、様々な微粒子を経気道的に投与して肺に対する毒性を評価し、同じ物質でも粒径がナノサイズオーダーになることで肺に対して強い急性毒性を示すことを報告した。さらに肝臓の発がん性を検討し、酸化銅(CuO)のナノ粒子では肝臓がんが促進されることが判明した。またナノ粒子はその小さな粒径から、体内で暴露部位から他臓器へ容易に拡散することが報告されている。そこでCuOの微粒子を気管内投与し、急性期でのラットへの影響を検討した。

<実験>被験物質はCuOナノ粒子(粒径:33nm)および粒径の異なる対照としてCuOマイクロ粒子(粒径:5 $\mu$ m)を用いた。6週齢のF344雄性ラットを3群に分け、1群(CuOナノ粒子投与群)、2群(CuOマイクロ粒子投与群)には実験開始時に0.5mg/0.2ml vehicle/ratで被験物質を気管内投与した。3群は無処置としcontrol群とした。投与後1日、3日、7日、14日にそれぞれ1群7匹、2群7匹、3群5匹の計19匹ずつ全群屠殺剖検し、肺の病理組織学的検討に加え、血中Cu値および肝組織中のCu含有量の測定を行った。

<結果>病理組織学的には、第1、3日目の肺組織においてcontrol群およびCuOマイクロ粒子投与群に比べ、CuOナノ粒子投与群での炎症反応が強く認められた。血中Cu値は、CuOナノ粒子投与群で第1日目にcontrol群と比較して有意に上昇した。また、第3日目では、CuOナノ粒子投与群において、control群およびCuOマイクロ粒子投与群の両方と比べ血中Cu値が有意に上昇した。肝組織中のCu含有量は、第1日目でcontrol群と比較して有意に蓄積が認められた。第3日目においては有意差が見られなかったが、CuOナノ粒子投与群のCu含有量がやや多い傾向が認められた。

<まとめ>CuOナノ粒子投与群は、control群およびCuOマイクロ粒子投与群と比較して、急性期の肺において強い炎症像を呈することが判明した。また気管内投与では、Cuナノ粒子はマイクロ粒子と比べ、肺内から血中への移行がすみやかである可能性が示唆された。

\*P-64

## フラーレン(C60)の肺発がん促進作用

○深町 勝巳<sup>1)</sup>, 徐 結荷<sup>1)</sup>, 二口 充<sup>1)</sup>, 飯郷 正明<sup>1)</sup>, 津田 洋幸<sup>1)</sup>, 井上 義之<sup>2)</sup>, 高月 峰夫<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科, <sup>2)</sup>化学物質評価研究機構)

炭素原子60個からなるサッカーボール状の構造をもったフラーレン(C60)は、金属や遺伝子等の種々の物質を内包可能であり、局所へのドラッグデリバリーや遺伝子治療など様々な分野への応用が試みられている。しかし、生体内におけるその安全性については未だに明らかでない。フラーレン(C60)の肺発がんプロモーション作用およびその機序を吸入暴露モデルにおいて検討した。

6週齢の雄F344ラットに0.2% DHPNを2週間飲水投与し、氷砂糖溶液に分散させたC60を一回あたり250 ppmまたは500 ppmの用量で第4週から43週まで計20回気管内噴霧した後、第44週で屠殺剖検した。C60は凝集塊をつくり肺胞マクロファージに貪食されていたが、他の臓器には検出されなかった。対照群において肺胞過形成は平均9.8個、肺腺腫は1.0個に対し、C60 500 ppm投与群ではそれぞれ16.8個および4.0個と有意な増加が見られた。C60は用量依存的に両病変の発生を促進した。C60は酸化ストレスを誘発する報告があることから、さらにその機序解明のため短期試験として同様にF344ラットに500ppmのC60を8日間に5回気管内噴霧し、酸化ストレスの関与について追究した。その結果、C60の投与によりSOD活性は増加傾向を示し、8-OHdGレベルの有意な上昇がみられた。以上より、C60には肺発がん促進作用がみられ、この促進作用には酸化ストレスの関与が示唆された。

## \*P-65

### 塩化ジデシルジメチルアンモニウム (DDAC) 気管内投与によるLactoferrin, Surfactant proteinおよび $\beta$ -defensin mRNAの発現変化

○大沼 彩<sup>1)</sup>, 田島 悠<sup>1)</sup>, 吉田 敏則<sup>1)</sup>, 山口 悟<sup>1)</sup>, 大塚 亮一<sup>1)</sup>, 武田 眞記夫<sup>1)</sup>, 高橋 尚史<sup>1)</sup>,  
榎本 幸子<sup>2)</sup>, 桑原 真紀<sup>3)</sup>, 中島 信明<sup>3)</sup>, 原田 孝則<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>財団法人 残留農薬研究所)

外界に直接接する呼吸器は、常に病原微生物侵入の危険に曝されているため気道粘液を中心とした自然免疫が発達し、多くの一次防御物質が存在している。乳汁や涙、唾液などの外分泌液や粘膜液に多く含まれるLactoferrinもそのひとつであり、抗菌作用やリンパ球増殖作用などを有し、気道分泌液にも含まれることが知られている。また、肺コレクチンのSurfactant protein AおよびD (SP-AおよびSP-D) や上皮細胞から産生される $\beta$ -defensinも抗菌作用をもち、ともに肺の生体防御機構の一端を担っているものと考えられている。しかし、これら防御機構と化学物質曝露との関係についてはほとんど明らかにされていない。今回、殺菌消毒剤や木材防腐剤として広く利用されている塩化ジデシルジメチルアンモニウム (DDAC) の呼吸器毒性評価の一環として、気管内投与を行った際の肺におけるこれら防御物質に対する同物質の影響を検索した。C57BL/6Jマウスへの0.01%DDACを気管内投与1, 3ないし7日後の肺からRNAを抽出し、Real-time RT-PCRによりLactoferrin, SP-A, -B, -C, -Dおよび $\beta$ -defensin (1~3) mRNA量を定量した。その結果、DDAC投与群においてLactoferrin mRNAは経時的に減少傾向を示した。また、 $\beta$ -defensin 2および3 mRNAでは有意な減少がみられたが、 $\beta$ -defensin 1 mRNAの発現量は非常に低く、DDAC投与による明らかな影響を確認することはできなかった。一方、SP-A, -B, -C mRNA量には変化がみられなかったが、SP-D mRNAは対照群と比較して有意に増加した。以上の結果より、吸入されたDDACは、これらタンパク質およびペプチドのインバランスを引き起こすことにより、肺の防御システムに影響を及ぼす可能性が示唆された。

## \*P-66

### MeIQx誘発gpt deltaマウス大腸の*in vivo*変異原性ならびに発がん性に対する慢性炎症の影響について

○岡村 俊也<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>2)</sup>, 田崎 雅子<sup>3)</sup>, 鈴木 裕太<sup>1)</sup>,  
児玉 幸夫<sup>3)</sup>, 能美 健彦<sup>3)</sup>, 梅村 隆志<sup>3)</sup>, 西川 秋佳<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>国立衛研 病理部, <sup>2)</sup>国立衛研 毒性部, <sup>3)</sup>国立衛研 変異遺伝部)

【目的】慢性炎症は発がんリスクを高める要因の一つであり、炎症反応によって生じるサイトカインや活性酸素種/窒素種、組織障害に対する細胞増殖活性の上昇など種々の炎症関連因子の発がん過程への関与が示唆されている。本研究では、慢性炎症下の遺伝毒性発がん物質曝露の生体影響を検索するため、dextran sodium sulfate (DSS) 誘発大腸炎モデルを用いて、gpt deltaマウス大腸に対する遺伝毒性発がん物質2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) の*in vivo*変異原性ならびに発がん性に対する慢性炎症の影響を検討した。【方法】8週齢の雄gpt deltaマウス (背景系統: B6C3F<sub>1</sub>) にMeIQxを300 ppm混餌で7週間投与した。試験開始から2週目にDSSを2%飲水で1週間与えた後に蒸留水を2週間与え、これを2度繰り返した後に解剖し、大腸粘膜を採取してgpt assayに供した。一部の動物については発がん性を調べるため、更に19週間継続飼育した後、大腸の病理組織学的検索を行った。【結果】MeIQxあるいはDSS単独投与群のgpt mutant frequency (MF) は対照群と比べて有意差はみられず、また、併用投与群でも対照群及び単独投与群と比べてMFに差はみられなかった。発がん性試験では、肉眼病変として併用投与群で1例及びDSS単独投与群で2例に大腸の結節が認められたが、統計学的な有意差はみられなかった。【考察】本実験条件下ではMeIQxの*in vivo*変異原性に対する慢性炎症の影響は明らかとはならなかった。今回、MeIQx単独群においても*in vivo*変異原性が認められていなかったことから、MeIQxの投与期間が炎症の影響を観察するのに十分ではなかった可能性が考えられた。また、DSS誘発大腸炎モデルの初期像は、大腸粘膜上皮の糜爛病変を伴う強い炎症細胞の浸潤を特徴としており、上皮細胞の脱落、再生のサイクルの亢進により、MeIQxでイニシエートされた細胞が炎症系関連因子の影響を十分に受けていなかった可能性も考えられた。今後、大腸の前がん病変であるaberrant crypt fociの測定結果を加えて報告する。

## 糖尿病モデルラットにおける発がんリスクの検討

○泉 啓介<sup>1)</sup>, 高橋 徹行<sup>1)</sup>, Hafez Ezar<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部環境病理学分野)

疫学的にヒト2型糖尿病は下部消化管の発がん危険因子である可能性が指摘されている。糖尿病モデルラットであるLong-Evans Agouti (LEA)ラットおよびOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF)ラットを用いた発がん研究の結果からその可能性を考察する。コントロールラットとしてF344ラット、Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO)ラット、LEA.F-Xdm1ラットを用いた。LEA.F-Xdm1ラットは(F344xLEA)xLEAバッククロスラットを用いたQTL解析から得られたX線誘発高血糖遺伝子座の一つであるD20Rat47-D20Mgh4領域をLEAラットからF344ラットに置換したコンジェニックラットであり、糖負荷後30分の血糖値はLEAラットより低い。<実験1>6週齢雄F344ラット、LEAラットに2 GyのX線を全身照射し、72週で屠殺した (n=15)。F344ラット、LEAラットの小腸腫瘍の頻度はそれぞれ0%、7%、大腸腫瘍の頻度はそれぞれ0%、14%であった。<実験2>6週齢雄LETOラット、OLETFラットに4 GyのX線を全身照射し、72週で屠殺した (n=15)。LETOラット、OLETFラットの小腸腫瘍の頻度はそれぞれ0%、30%、大腸腫瘍の頻度はともに0%であった。<実験3>6週齢雄F344ラット、LEAラットに50 mg/kg N-メチル-N-ニトロソウレア (MNU) を4回腹腔内注射し、32週で屠殺した (n=21)。F344ラット、LEAラットの小腸腫瘍の頻度はそれぞれ14%、38%、大腸腫瘍の頻度はそれぞれ10%、24%であった。<実験4>6週齢雄LEAラット、LEA.F-Xdm1ラットに15 mg/kg アゾキシメタンを3回皮下注射し、30週で屠殺した (n=24)。LEAラット、LEA.F-Xdm1ラットの小腸腫瘍の頻度はともに0%、大腸腫瘍の頻度はそれぞれ79%、65%であった。<まとめ>実験1-4でいずれも糖尿病ラットの方が非糖尿病ラットより小腸・大腸の発がん感受性が高い傾向を示す結果であったが、有意差は得られていない。

## \*P-68

### Serine Palmitoyl Transferase (SPT)コンディショナルノックアウトマウス に認められた病変の形成過程に関する検索

○太田 恵津子<sup>1)</sup>, 大平 隆史<sup>1)</sup>, 松江 健太<sup>1)</sup>, 池田 結花<sup>2)</sup>, 藤井 健司<sup>3)</sup>,  
大脇 健二<sup>2)</sup>, 大須賀 壮<sup>1)</sup>, 平林 義雄<sup>1)</sup>, 佐々木 稔<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>万有製薬株式会社 安全性研究所, <sup>2)</sup>つくば研究所 代謝性疾患領域研究部,  
<sup>3)</sup>つくば研究所 薬理研究部, <sup>4)</sup>理化学研究所 脳科学総合研究センター)

【背景】スフィンゴ脂質は細胞膜構成成分として、また、シグナル伝達物質として重要な生体機能を担っていると考えられている。Serine Palmitoyl Transferase (SPT)はスフィンゴ脂質の生合成の最初のステップを触媒する酵素であるが、その個体レベルでの機能に関してはSPTのノックアウト(KO)マウスが胎生致死であることから不明な点が多い。そこで、生後にタモキシフェンを投与することによりほぼ全身でSPTを欠損するコンディショナルKO(cKO)マウスを作成した。今回、このマウスで見られた病変の特徴とその形成過程について検索したので報告する。

【材料と方法】16週齢のSptlc2<sup>lox/lox</sup> : CreERT2マウスに225 mg/kg/dayのタモキシフェン(TAM)を投与した。最初の投与から24,48および72時間後(24, 48, 72H)に、雌雄各3匹から血液および組織を採材し血液検査および組織学的観察に供した。対照群には溶媒を投与したSptlc2<sup>lox/lox</sup> : CreERT2およびTAMを投与したSptlc2<sup>lox/lox</sup> : wtマウスを用いた。

【結果と考察】24H: cKOマウスの体重、臓器重量、血液検査値に著変は無く、小腸および大腸の陰窩部付近に軽度の単細胞壊死が認められた。48H: cKOマウスでは体重の減少傾向、脾臓、胸腺の重量低下、白血球、網状赤血球の減少が認められた。組織学的には小腸絨毛の基部および大腸陰窩に多数の単細胞壊死が観察された。この時点では小腸と大腸の粘膜上皮細胞および小腸絨毛の丈はほぼ正常であった。また胸腺のリンパ球壊死、骨髄細胞の減少が認められた。72H:cKOマウスの体重は対照群と比して有意に減少し、脾臓、胸腺の重量低下および白血球、網状赤血球の減少も顕著であった。この他に脱水および全身状態の悪化が原因と見られる変化が認められた。組織学的には小腸の絨毛および大腸粘膜は萎縮し、壊死・脱落した細胞が陰窩内や腸管腔に認められた。リンパ・造血器系組織ではリンパ球壊死および細胞数減少が顕著であった。

以上より、SPTの欠損は腸上皮のような盛んに増殖する細胞に影響を与え、壊死性病変については当該組織の萎縮を短期間で誘発することが示唆された。

## \*P-69

### アロキサン誘発糖尿病ラットの膵腺房細胞における巨大ミトコンドリア

○佐野 智弥<sup>1)</sup>, 尾崎 清和<sup>2)</sup>, 兒玉 安史<sup>2)</sup>, 松浦 哲郎<sup>2)</sup>, 奈良間 功<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>撰南大学 薬学部 病理学研究室, <sup>2)</sup>広島国際大学 薬学部 毒性薬理学研究室)

【はじめに】様々な細胞の細胞質内に薬物誘発性或いは偶発性の巨大な好酸性顆粒がしばしば形成される。その由来は様々であるが、ミトコンドリアに由来する巨大顆粒の報告はほとんどない。アロキサンを単回投与し、長期間糖尿病状態を維持したF344ラットの膵腺房細胞において、ミトコンドリアに由来する巨大顆粒が高率に発生したので、その概要を報告する。

【方法】6週齢の雄F344ラットに35 mg/kgのアロキサンを単回静脈内投与して糖尿病を誘発し、高血糖を25週間持続した動物 (n=5) の膵臓について組織学および電顕的解析を行った。

【結果】全例で膵臓の腺房細胞がび慢性に萎縮するとともに、腺房基底部の核周囲を中心に大小の好酸性球状物や微細な空胞が多数形成されていた。好酸性球状物は、PAS反応陰性、脂肪染色陰性であった。微細空胞はPAS反応陰性であり、ズダンⅢで橙黄色、オイルレッドで赤色、ナイルブルーでは赤桃色に染色された。

超微形態的に好酸性球状物は2重膜に包まれ、内部に小胞から小管状の構造物が充満しており、球状物の辺縁領域に少数ながら小管状のクリステが存在していた。腺房細胞の基底部の核周囲には、光顕的微小空胞に相当するオスミウム好性ないし内容が空隙の脂肪滴と多数のミエリン様構造物がみられた。さらに、低電子密度の無構造物を容れたチモーゲン顆粒と考えられる均質な顆粒が腺腔付近を中心に多数認められた。

ミトコンドリア内膜に局在するタンパク質であるProhibitinを標的とした免疫染色では、多くの好酸性球状物の辺縁部領域が陽性となり、内部は陰性であった。また、時には全く陰性の好酸性球状物も散見された。Amylaseを標的とした免疫染色では、一部のチモーゲン顆粒に一致して陽性反応が得られたが、電顕的に多数観察されたチモーゲン顆粒の多くは陰性であった。

【結論】アロキサン誘発糖尿病ラットの膵臓腺房細胞に見られた好酸性球状物は、辺縁のクリステ様構造物およびProhibitinを標的とした免疫染色から巨大なミトコンドリアであることが明らかとなった。しかし、Prohibitin陰性の巨大ミトコンドリアも多いことから、その機能は低下していると考えられた。また、電子顕微鏡による観察とAmylaseによる免疫染色からチモーゲン顆粒の発達もしくは産生にも異常が生じていることが示唆された。

## \*P-70

### Oxfendazoleのラットにおける肝発がんプロモーション作用に対する 酵素処理イソクエルシトリン或いはメラトニンの修飾作用

○西村 次平<sup>1)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1)</sup>, 出羽 康明<sup>1)</sup>, 金 美蘭<sup>1)</sup>, 川合 正臣<sup>1)</sup>, 松本 明<sup>1)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>, 三森 国敏<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>東京農工大・獣医病理)

【目的】ベンズイミダゾール系の内寄生虫用剤であるオクスフェンダゾール (OX) はラットに肝腫瘍を誘発することが知られており、その肝発がんメカニズムに酸化ストレスが関与することが報告されている。今回、酸化ストレスとの関与を更に詳細に検討するため、OXを用いたラット二段階肝発がんモデルを用い、抗酸化作用を有する酵素処理イソクエルシトリン (EMIQ) 或いはメラトニンを併用投与した時の発がん修飾作用を検討した。【方法】雄性F344 ラットにDENを単回腹腔内投与し、その2週間後からOX 500 ppmの混餌投与及び2,000 ppmのEMIQ或いは100 ppmのメラトニンの飲水投与を10週間行った。OX投与開始1週間後には2/3肝部分切除を行った。実験終了後、肝臓に対し、HE染色による病理組織検査、肝前がん病変マーカーと考えられているGST-P陽性細胞巢の免疫組織学的解析およびReal-time RT-PCRによる薬物代謝関連遺伝子の発現解析を行った。【結果】摂餌量から算出したOX摂取量は、いずれのOX群においても差はなかった。EMIQ或いはメラトニン併用群では、OX単独群 (対照群との間に差はなし) と比較し、有意な体重の増加抑制が認められた。肝臓重量では、OX単独群 (対照群に対し有意に増加) と比較し、EMIQ併用群で相対重量が有意に増加したが、メラトニン併用群では差はなかった。肝前がん病変マーカーであるGST-Pの免疫染色では、OX単独群と比較し、EMIQ併用群でGST-P陽性巣数の有意な抑制が、メラトニン併用群でGST-P陽性巣数及び面積の有意な抑制が認められた。Real-time RT-PCR解析では、OX単独群と比較し、EMIQ併用群でCyp2b1/2及びMe1の有意な減少が、メラトニン併用群でCyp1a1, Cyp2b1, Afar及びMe1の有意な減少が認められた。【考察】EMIQ及びメラトニンはOXの肝発がんプロモーション作用に対し抑制作用を示すことが示され、その抑制にはCyp1aないし2bの誘導減少に起因する活性酸素の産生低下が関与している可能性が推察された。

## \*P-71

### ヘテロサイクリックアミンPhIPの Maus肝イニシエーション作用の検討

○黒岩 有一<sup>1)</sup>, 田崎 雅子<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

【目的】肉や魚の加熱調理によって生成されるヘテロサイクリックアミンのうち、最も生成量の多い2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)は、マウスの小腸及びリンパ節に対する発がん性が知られている。また、レポーター遺伝子導入マウスを用いた*in vivo* 突然変異解析では、PhIPがこれらの標的臓器以外に大腸及び肝臓に突然変異頻度を増加させることが報告されている。大腸ではPhIP投与後にDextran sulfate sodium誘発大腸炎による発がんプロモーション処置を行うことで腫瘍の誘発が認められたことから、肝臓に対してもプロモーション処置による肝腫瘍誘発の可能性が考えられる。そこで今回、マウスにPhIPを投与した後、作用機序の異なる2種の肝発がんプロモーターを投与して、肝発がん誘発性の有無を検索した。【方法】雄6週齢のC57BL/6JマウスにPhIP (400 ppm)を13週間混餌投与した。2週間の回復期間後、肝発がんプロモーターとして核内レセプターを介した細胞増殖誘導が示唆されるPhenobarbital (PB, 500 ppm)あるいは肝障害物質で代償性の細胞増殖誘導が考えられるAcetaminophen (APAP, 10000 ppm)を63週間混餌投与し、肝臓、脾臓、腸間膜リンパ節及び小腸の病理組織学的検索を行った(実験期間78週間)。使用した動物の系統、PhIPの投与用量及び期間は*in vivo*突然変異解析の実験と同一とした。【結果】PhIP投与によりリンパ腫及び小腸腫瘍の発現率は増加した。しかし、PBあるいはAPAP投与による発がんプロモーション処置群の肝腫瘍性病変の発生頻度に変化はみられなかった。【結論】本試験系では、PhIPのマウス肝臓に対するイニシエーション作用は明らかとはならなかった。PhIPによる*in vivo*突然変異頻度の上昇は大腸では対照群に比べて10倍以上であるのに対し、肝臓では約3倍と低く、本実験結果は、突然変異の増加とエンドポイントとしての腫瘍発生との間に閾値要因が存在することを示唆しているものと考えられた。

## \*P-72

### CYP1A誘導剤によるラット肝発癌促進作用及びその発癌促進過程におけるヒストン脱アセチル化酵素の発現について

○出羽 康明<sup>1,2)</sup>, 金 美蘭<sup>1,3)</sup>, 川合 正臣<sup>1,2)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1,2)</sup>, 西村 次平<sup>1,2)</sup>, 松本 明<sup>1,2)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>東京農工大学農学部獣医学科獣医病理学研究室, <sup>2)</sup>岐阜大学大学院連合獣医学研究科,

<sup>3)</sup>東京農工大学大学院連合農学研究科)

【目的】薬物代謝酵素CYP1A誘導作用を有する化合物の中には、 $\beta$ -naphthoflavone(BNF)のように、げっ歯類に対して肝発癌促進作用を示すものがあることが知られているが、その分子生物学的機序は不明である。そこで我々は、ラット肝二段階発がんモデルを用いて、CYP1A誘導作用が報告されているflutamide(FUL)及びindole-3-carbinol(I3C)における発がんプロモーション作用の有無を確認するとともに、形成された変異細胞巢における分子発現挙動について検討を行った。

【方法】6週齢の雄性F344ラットにイニシエーターとしてdiethylnitrosamine(DEN)を単回腹腔内投与(200 mg/kg)した。投与2週間後から基礎飼料のみ(DEN単独群)、FUL(0.1%)、I3C(0.5%)ないしBNF(0.5%)を6週間混餌投与して、各発癌促進活性の比較を行うと共に、形成された変異細胞巢のエピジェネティックな分子発現制御に関連する分子の発現局在性について免疫組織的に解析した。なお、各CYP1A誘導剤の投与開始1週間後には2/3肝部分切除を実施した。

【結果】前癌病変指標であるGST-P陽性巢の数・面積は、DEN単独群と比較して各投与群とも有意な増加が認められ、その程度はDEN<FUL=I3C<BNFの順であり、Cyp1a1のmRNA発現の強さと同様の傾向を示した。また、GST-P陽性細胞巢の中には、HE染色において細胞異型が強く認められる変異細胞巢の増加が認められ、その程度はDEN=FUL<I3C<BNFであった。またこれらの変異細胞巢の中には、周辺組織と比較してPCNA陽性細胞数の明らかな増加を示すものが観察された。この変異細胞巢において抗ヒストン脱アセチル化酵素1(HDAC1)及びHDAC5抗体による免疫染色を実施した結果、周辺組織に比較してHDAC1の強い核への集積並びにHDAC5の明らかな染色性低下が確認された。

【考察】以上の結果から、BNFと同様に、CYP1A誘導作用を有するI3C並びにFULには肝発癌促進作用が認められた。さらに、その発癌促進過程において出現する変異細胞巢内では、HDACの発現局在変動が見出され、これらの発癌促進過程での早期病変の形成に対するエピジェネティックな遺伝子発現制御の関与が示唆された。

## N,N-Dimethylformamideの吸入曝露と飲水投与における肝臓病変の比較

○妹尾 英樹<sup>1)</sup>, 梅田 ゆみ<sup>1)</sup>, 片桐 卓<sup>2)</sup>, 相磯 成敏<sup>1)</sup>, 長野 嘉介<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>1)</sup>

(中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター)

【目的】N,N-Dimethylformamide (ジメチルホルムアミド, DMF) は、産業界で大量に使用される有機溶媒で、大気中にも環境水域中にも多く放出されており、また、当センターで行ったがん原性試験で発がん性が確認されている。我々はDMFの吸入試験と飲水試験を同じ条件下で4週間曝露し、DMFの影響がみられた濃度と病変の程度を比較した。さらに、肝臓のPCNA染色を行い、PCNA陽性率の比較を行った。【方法】6週齢の雄のF344/DuCrj (Fisher) ラットに対して、DMFを4週間吸入曝露もしくは飲水投与した。群構成は各群5匹、吸入曝露は1日6時間、週5日の全身吸入曝露、飲水投与は自由給水とした。吸入曝露は0, 200, 400 ppm (v/v)、飲水投与は0, 800, 1600, 3200 ppm (w/w)とした。吸入曝露の濃度は、当研究所で行った2週間と13週間の試験データから肝臓への影響が予想される400 ppmを最高濃度とし、飲水投与の濃度は吸入400 ppmの推定体内摂取量に相当する1600 ppmを中心に、その1/2と2倍の濃度を設定した。【結果・まとめ】体重は、吸入400 ppm群と飲水3200 ppm群で減少した。肝臓重量 (実重量・体重比重量) は、吸入・飲水ともに全ての投与群で増加し、飲水の影響が強くみられた。病理組織検査では、肝臓の単細胞壊死と小葉中心性肝細胞肥大が吸入・飲水ともに全ての投与群で認められ、肝臓の細胞分裂像の増加が全ての吸入曝露群と飲水3200 ppm群に認められた。これらの病理組織変化では、肝臓病変の発生数や病変の程度は吸入曝露の影響が飲水の影響よりも強くみられる傾向があった。肝臓のPCNA陽性率は全ての投与群で増加が認められた。DMFの影響は肝臓に強く認められ、肝臓重量については飲水投与の影響が強く認められたが、肝臓の壊死や傷害性変化あるいは体重に対する影響など多くの項目で吸入曝露の影響が強く認められた。以上のように、DMFは吸入曝露で生体への影響がより強く現れた。

## \*P-74

diheptyl phthalate (DHP)のラットの肝臓における  
in vivo遺伝毒性および28日間反復投与毒性試験○金 美蘭<sup>1)</sup>, 川合 正臣<sup>2)</sup>, 出羽 康明<sup>1)</sup>, 西村 次平<sup>1)</sup>, 三枝 由紀恵<sup>1)</sup>, 松本 明<sup>1)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>, 三森 国敏<sup>1)</sup>

(東京農工大学獣医病理, 東京農工大学大学院連合農学研究科)

【目的】diheptyl phthalate (DHP) は、フタル酸エステル的一种で、塩化ビニル樹脂の可塑剤としてレザー、フィルム、壁紙などに広く使用されている。DHPは、PPAR $\alpha$  アゴニストに分類されることから、ラットに精巣障害を引き起こすのみならず、肝細胞の肥大・空胞変性を誘発することが報告されている。また、他のPPAR $\alpha$  アゴニストと同様に肝発がん標的製が想定されるものの、その遺伝毒性や発がん性については不明な点が多い。一方、PPAR $\alpha$  アゴニストは活性酸素種 (ROS) を産生することから、酸化ストレスに起因する遺伝子障害性を示唆する報告が最近なされている。このような背景から、DHPの肝臓を標的としたin vivo遺伝毒性または発がん性を明らかにするために以下の実験を行った。【方法】F344ラットに0, 2.5ないし5 g/kg濃度のDHPを28日間反復強制経口投与した。次に、5 g/kg濃度のDHPを単回または14回強制経口投与したラットの肝臓を用いてコメットアッセイを行った。これらの実験結果をもとに、DHP単回、3回または14回強制経口投与によるin vivoイニシエーション活性試験を行った。【結果】28日間反復経口投与毒性試験においては、14日目から投与群において高度な体重抑制が見られ、解剖時には、絶対および相対肝重量の有意な増加が見られた。さらに、投与群で肝前がん病変マーカーであるGST-P陽性細胞巢が、数、面積ともに、対照群に比べ有意に増加した。コメットアッセイにおいては、14日間連続投与のみ、投与群の50細胞平均の核の移動長が対照群に比べ有意に増加した。DHPのin vivoイニシエーション活性試験においては、DHP 1 または3回投与群のGST-P陽性細胞巢の数や面積は対照群に比べ有意な差はなかったが、14回投与群では、その数と面積は有意に増加した。【考察】以上の結果から、DHPは今まで遺伝毒性発がん物質ではないとされてきたが、遺伝毒性発がん物質である可能性が示唆された。

## 化学物質による肝肥大の毒性指標としての性ホルモン受容体発現の検討

○藤本 成明<sup>1)</sup>, 吉田 緑<sup>2)</sup>, 西川 秋佳<sup>2)</sup>, 根本 清光<sup>3)</sup>, 出川 雅邦<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>広島大学原爆放射線医学科学研究所, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所, <sup>3)</sup>静岡県立大学)

【目的】 農薬をはじめとする化学物質のなかには、非遺伝毒性化合物でありながら、肝肥大さらに肝がんを惹起するものが数多く知られている。肝肥大の理解は形態的な定義に止まっており、化学物質による肝肥大が適応反応か毒性影響かを判断するための科学的指標は見出されていない。肝肥大の発生機序の解明を基盤とした肝発がん予測の評価系の構築は、化学物質のリスク評価の精度向上および迅速化を図る上で極めて有用である。肝発がん性ホルモンの関与することはよく知られる。そのメカニズムは不明であるが、受容体発現との関与が示唆されてきた。本研究では、肝肥大を誘導した組織において、性ホルモン受容体を含むステロイドホルモン受容体の発現動態を検索し、毒性指標としての可能性を検討した。【材料と方法】 6週齢F344/DuCrjラット雌雄に、肝肥大を誘導する非遺伝毒性化合物として、フェノバルビタール (PB)、クロフィブレート (CF) および殺虫剤の化合物X、化合物Yを経口投与した。投与開始3日目、4週目、13週目および回復処理4週間で、肝臓組織を摘出した。組織から全RNAを抽出しcDNA化後、主要なステロイドホルモン受容体等のmRNA発現を定量した。また病理学的、生化学的検査も合わせておこなった。【結果と考察】 用いた4種の化合物とも肝重量増加をもたらすことが検証され、その程度や肝細胞肥大部位に性差があり、特にCFでは雄での感受性が高かった。強く投与の影響を受けたのは、エストロゲン受容体 (ER)  $\alpha$  発現で、CF投与群では一貫して低下していた。また、アンドロゲン受容体 (AR) mRNAも、検体投与により低下傾向がみられ、PBの雄群では顕著に低下した。化学物質による肝肥大の雌雄差と組織での性ホルモン受容体の発現に相関が見られることが明らかとなった。今後、これらの性ホルモン受容体の標的遺伝子の発現検索により、受容体の肝肥大発生への関わりを明らかにしたい。

## \*P-76

### 4週齢ラットを用いた中期イニシエーション活性検索法の有用性

○浅岡 由次<sup>1),2)</sup>, 酒井 洋樹<sup>3)</sup>, 平田 暁大<sup>1)</sup>, 佐々木 淳<sup>3)</sup>, 御領 政信<sup>2),3)</sup>,

柳井 徳磨<sup>2),3)</sup>, 柵木 利昭<sup>2),3)</sup>, 岡田 幸助<sup>2),3)</sup>

(<sup>1)</sup>東レ・医薬研究所, <sup>2)</sup>岐阜大大学院・連合獣医, <sup>3)</sup>岐阜大・獣医病理,

<sup>4)</sup>岐阜大・生命科学総合研究支援センター, <sup>5)</sup>岩手大・獣医病理)

【目的】 従来の7週齢ラットを用いた中期イニシエーション活性検索法では、被験物質投与前に高い肝細胞増殖活性を誘導するために肝部分切除等の細胞増殖刺激を行う必要があり、細胞増殖刺激の煩雑な手技、個体への負荷および個体差等が解決すべき問題であった。今回細胞増殖刺激を行わない4週齢ラットを用いた中期イニシエーション活性検索法の有用性を検討したので報告する。

【方法】 [実験1：肝細胞増殖活性および肝代謝酵素活性] 4、4.5、8週齢のF344雄ラットに100 mg/kgのBrdUを腹腔内投与し、1時間後に肝臓を採材した。得られた肝臓から各週齢のCytochrome P450 (CYP) 蛋白量、CYP酵素活性 (CYP1A、CYP2A、CYP2B、CYP2C、CYP2E、CYP3A)、ならびに抗BrdU免疫染色によるS期肝細胞率を調べた。[実験2：中期イニシエーション活性検索法] 4週齢のF344雄ラットに大腸発がん物質である1,2-dimethylhydrazine (DMH) を単回経口投与 (16 mg/kg) または4日間反復経口投与 (4 mg/kg) し、プロモーション処置として初回DMH投与後1週間からの2-acetylaminofluoreneの2週間混餌投与および四塩化炭素の単回経口投与を行った。初回DMH投与後4週間に肝臓を採材し、免疫組織学的手法により、肝臓の前がん病変である胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ (GST-P) 陽性巣の数および面積を求めた。

【結果およびまとめ】 実験1より、4および4.5週齢は8週齢と比較して、S期肝細胞率が約3倍高く、CYP蛋白量ならびにCYP酵素活性はほぼ同じであったことから (CYP2Cを除く)、4週齢ラットは8週齢と同様な肝代謝酵素活性を有しながら高い細胞増殖活性を有していることが示された。実験2の結果、DMHの単回投与群および4日間反復投与では溶媒対照群と比較してGST-P陽性巣の有意な増加 (約3~4倍) が認められた。これらより、細胞増殖刺激を行わない4週齢ラットを用いた中期イニシエーション活性検索法の有用性が示された。

## \*P-77

### 17 $\beta$ エストラジオールを混餌投与したニホンウズラに認められた腎糸球体病変

○山下 龍<sup>1)</sup>, 兼田 直人<sup>2)</sup>, 大嶋 篤<sup>3)</sup>, 長谷川 也須子<sup>1)</sup>, 渋谷 一元<sup>4)</sup>

(<sup>1)</sup>財団法人 日本生物科学研究所)

【はじめに】 内分泌攪乱物質の鳥類に対する影響の評価方法を確立する目的で、OECD鳥類繁殖毒性試験ガイドライン (TG206) に従い、17 $\beta$  エストラジオール (E2) を陽性対照物質としてニホンウズラに曝露する繁殖試験を実施した。その結果、親動物の腎臓に特徴的な病変が観察されたので報告する。

【材料と方法】 10週齢のWE系ニホンウズラのつがいにE2を6週間混餌投与 (飼料中のE2濃度: 0ppm、0.3ppm、3ppm、30ppmの4群、雌雄各16羽) 後、剖検し、主要臓器について病理組織学的検査を行った。また、剖検時に採血し、血中E2およびビテロジェニン (VTG) 濃度を測定した。腎臓病変の代表例については、特殊染色および抗VTG抗体を用いた免疫染色を実施した。

【結果】 血中E2濃度: 雄では3ppm以上の群で有意に増加した。雌では対照群、0.3ppmおよび3ppm群の濃度はほぼ同レベルであったが、30ppm群で有意に増加した。血中VTG濃度: 雄の対照群は検出限界値であったが、0.3ppm群から増加し、3ppm以上の群で有意に増加した。雌では対照群、0.3ppmおよび3ppm群の濃度はほぼ同レベルであったが、30ppm群で有意に増加した。剖検所見: 雌雄の30ppm群で腎臓の退色および肥大が観察された。病理組織学的所見: 腎糸球体病変として、糸球体の大型化や硬化、糸球体への好酸性物質の沈着がみられ、尿細管では好酸性円柱の出現や上皮の変性がみられた。糸球体および尿細管内に認められた好酸性物質はPAS反応陽性で、抗VTG抗体による免疫染色にも陽性を示した。

【考察とまとめ】 VTGは、卵生脊椎動物の雌の肝臓でE2に誘導されて合成され、血流によって卵巣に運ばれ、卵巣で蓄積されて卵黄の成分となる。本試験で観察された腎糸球体病変は、いずれも30ppm群で重度であったが、雌では対照群にも軽度の病変が見られたのに対し、雄ではE2曝露群にのみ認められた。このことから、雄では本来合成されないVTGがE2曝露によって誘導され、高VTG血症となることにより、過剰のVTGが腎糸球体に沈着し、一方、雌では産卵開始から恒常的に血中にVTGが存在するため、雄で観察されたのと同様の腎糸球体病変を背景病変として持っているものと推察された。

## \*P-78

### アカネ色素ラット腎発がん過程に関与する色素成分の検索

○石井 雄二<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>, 田崎 雅子<sup>2)</sup>, 井上 知紀<sup>3)</sup>, 増井 則夫<sup>3)</sup>,

福原 潔<sup>4)</sup>, 能美 健彦<sup>4)</sup>, 梅村 隆志<sup>4)</sup>, 西川 秋佳<sup>4)</sup>

(<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・病理部, (<sup>2)</sup>株)日本エスエルシー, (<sup>3)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・有機化学部,

(<sup>4)</sup>国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部)

【目的】 ラット腎臓に発がん性を有する着色料のアカネ色素 (Madder color; MC) は現在使用が禁止されているが、その発がん機序は不明であり、発がんに関与する構成成分の同定は急務である。構成成分の一つであるLucidin-3-O-primeveroside (LP) は代謝を受け、変異原性を有するLucidin (Luc) とRubiadin (Rub) を生成する。また、LucはDNA付加体を形成することが報告されているがその詳細については不明である。そこで、本研究では、Luc特異的DNA付加体の検索と構造決定ならびに酸化的DNA損傷を引き起こすことが知られているAlizalin (Alz) を含む各種成分のgpt deltaラット腎臓でのin vivo突然変異原性を検討した。

【方法】 実験1: in vitroの系で疑似硫酸抱合過程を通じてLucを活性化し、dG及びdAと反応させ、それぞれのDNA付加体のLC-MSによる探索及びNMRによる構造解析を実施した。実験2: 5週齢の雄性F344 gpt deltaラットにMC、Alz、LP及びRubを5.0、0.08、0.3および0.04%の濃度でそれぞれ8週間混餌投与して、腎臓DNA中の8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) レベルの測定ならびにgpt点突然変異頻度解析を実施した。

【結果】 実験1: dG及びdAに対して、それぞれ各1種のLuc特異的付加体を確認し、構造解析の結果、Luc-N<sup>2</sup>-dGおよびLuc-N<sup>6</sup>-dAであることが明らかとなった。実験2: 腎8-OHdGレベルはMC群で上昇傾向が、Alz及びLP群で有意な上昇が認められた。一方、gpt遺伝子突然変異頻度はMC、LP及びRub群で対照群に比べ有意な上昇が認められ、Alz群では変化は観察されなかった。gpt変異コロニーのスペクトル解析の結果、AT-TA transversion変異の増加がMC、LPおよびRub群で共通して認められた。【考察】 Luc特異的DNA付加体の化学構造が特定され、これら付加体の細胞レベルでの生物学的意義を検討することが可能となった。また、gptアッセイの結果、MCによる酸化的DNA損傷にはAlzとLuc、遺伝子変異誘発にはLucとRubの関与の可能性が示された。

## 胎児、こどもにおける放射線誘発腎臓腫瘍の被ばく時年齢依存性の検討

○小久保 年章<sup>1,2)</sup>, 柿沼 志津子<sup>1)</sup>, 西川 哲<sup>1)</sup>, 島田 義也<sup>1)</sup>, 樋野 興夫<sup>2)</sup>

(1)放射線医学総合研究所, (2)順天堂大学)

【目的】 近年、胎児、こどもに対する環境ストレスの影響が問題となっている。医療におけるCT被ばくなど放射線被ばく線量が高くなっていることに鑑み、胎児、こどもの放射線リスクを評価する一環として、被ばく時年齢依存性の観点から情報の少ない腎臓の腎癌リスクについて検索を行った。本研究では、発癌のメカニズム解析がしやすい疾患モデル動物である遺伝性腎癌ラット(Ekerラット)と近交系F344ラットを交配したF1ラットを用いて、ガンマ線に対する被ばく時年齢差による要因について明らかにすることを目的とした。

【方法】 雄のEkerラット(Tsc2遺伝子ヘテロ型)と雌のF344ラットを交配し、胎齢15、19日目、生後5、20、49日目に<sup>137</sup>Csガンマ線2Gyを照射した。照射および動物飼育はすべてSPF環境下で行った。照射後、通常飼育を行い、生後27週齢時に解剖を実施した。剖検時に腎臓重量測定後に、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定し、常法に従い包埋、パラフィン切片を作製し、HE染色を施した。作製した標本を用いて、腎尿細管上皮の増殖性病変の発生率を求めた。【結果および考察】 Tsc2遺伝子野生型F1ラットでは、いずれの照射時期においても雌雄ともに尿細管上皮に増殖性病変は認められなかった。Tsc2遺伝子ヘテロ型F1ラットでは、雌雄ともすべての照射時期で尿細管上皮の過形成病変が認められた。また雌雄とも、胎齢19日目の照射動物が放射線非照射の対照動物に比較して、明らかに尿細管が腫瘍化まで進む個体の増加がみられた。これは、腎臓の細胞増殖活性が高い時期での放射線照射が、腎尿細管上皮の腫瘍化に影響を及ぼす可能性が示唆された。

## コリンエステラーゼ阻害剤の膀胱平滑筋に対する影響

○高井 有一<sup>1)</sup>, 穴山 久志<sup>1)</sup>, 乾 直美<sup>1)</sup>, 古川 初江<sup>1)</sup>, 神田 一男<sup>1)</sup>, 福田 良<sup>1)</sup>

(1)武田薬品工業株式会社)

【背景】 コリンエステラーゼ (ChE) 阻害薬はシナプス間隙の遊離アセチルコリン (Ach) を蓄積増加させ、中枢及び末梢神経のムスカリン受容体及びニコチン受容体を過剰刺激する。その毒性所見として流涎、縮瞳、尿失禁、振戦及び痙攣などの急性神経症状が一般的であるが、器質的変化はあまり知られていない。特に膀胱平滑筋の病理組織学的変化に関する報告は乏しく、ChE阻害作用を有するGalantamineのイヌ12ヶ月投与試験で変性が確認されているものの、その発現機作は不明である。【目的】 本研究ではChE阻害作用の膀胱平滑筋に対する影響をラットへの骨盤神経叢切除術及びChE阻害薬であるFenitrothion (FT) 投与を組み合わせることで検討した。【方法】 雌性Crl:CD(SD)ラット (8週齢) 32例の半数例に対し、液体窒素浸漬プローブを用いて左側の骨盤神経叢切除を実施した。処置1週間後に非切除及び切除動物にコーンオイル (CO) あるいはFTの300 mg/kg/日を2日間強制経口投与し、投与終了翌日に膀胱を採取した。各群8例の半数の膀胱はAchE染色ホルマウント標本を作製し実体顕微鏡で神経分布量を観察し、残りの半数例の膀胱はHE染色による病理組織学的検索に供した。【結果及び考察】 膀胱ホルマウントAchE染色では骨盤神経叢切除/CO群の4例中3例で切除側の神経分布量の減少が確認された。病理組織学的検索ではFT投与群の全例で膀胱平滑筋の変性がみられ、このうち骨盤神経叢切除群では切除側における平滑筋変性の程度が非切除側より弱かった (4例中3例)。以上の結果から、FT投与により膀胱平滑筋変性が惹起されること及び骨盤神経叢切除によりその発現が軽減されることが判明し、膀胱平滑筋の変性がChE阻害作用により誘発される可能性が示唆された。

P-81

## Sprague-Dawley ラットの精巣に認められたSertoli-Leydig 細胞腫

○和久井 信<sup>1)</sup>, 石田 憲太<sup>1)</sup>, 本橋 昌也<sup>1)</sup>, 保高 秀匡<sup>1)</sup>, 今井 海<sup>1)</sup>, 小林 康子<sup>1)</sup>, 武藤 朋子<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>麻布大・獣・比較毒性学, <sup>2)</sup>財団法人化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所)

Case report: rare case of testicular intratubular gonadal stromal tumor was observed in a 7-week-old male Sprague-Dawley rat. The tumor comprised an intratubular mixture of two different types of tumor cells with intercellular junctions: the predominant tumor cells consistent with Sertoli cell origin, and the others were a relatively small number of tumor cells situated at basolateral side of the tubuli consistent with Leydig cell origin. The neoplastic Sertoli cells had large pleomorphic nuclei and clear cytoplasm with many tubulovesicular cristae and free ribosomes, while the neoplastic Leydig cells showed relatively small pleomorphic nuclei, dark cytoplasm with rich sER numerous mitochondria, and lipid droplets. Occasionally, a few transitional type neoplastic cells were observed. The presence of thick and/or multilayered basement membrane was confirmed except in tumor infiltrative lesions. The present case was considered to be a testicular mixed tubular Sertoli-Leydig cell tumor in a Sprague-Dawley rat.

\*P-82

## TGF $\beta$ 阻害剤Tranilastはヒト前立腺癌細胞株の細胞増殖を抑制する

○佐藤 慎哉<sup>1)</sup>, 高橋 智<sup>1)</sup>, 内木 綾<sup>1)</sup>, 小川 久美子<sup>1)</sup>, 白井 智之<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学)

【はじめに】前立腺癌は、欧米では男性が罹患する癌のトップであり、近年本邦においても増加の一途をたどっている。前立腺癌は早期では、手術やホルモン療法といった治療が有効であるが、転移を来した進行癌では既存の治療に抵抗性となり、新たな治療法の開発が急務となっている。我々は以前に骨浸潤モデル動物を用いてTGF  $\beta$  が骨微小環境において前立腺癌の進展を促進することを示した。今回我々はTGF  $\beta$  阻害作用を有するTranilastの前立腺癌細胞株に対する影響を観察した。【方法】アンドロゲン依存性前立腺癌細胞株LNCaPと、アンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株PC3、DU145に0.001mM、0.01mM、0.1mMおよび1mMのTranilastを投与し、WST-1 assay(Roche)により細胞増殖の程度を測定した。またLNCaPに関しては、同様の濃度設定でGuava Nexin kit (Guava technologies inc)を用いてearly apoptosisの程度を測定した。【結果】LNCaPにおいて、Tranilast 0.1mM、1mM投与群の細胞増殖の程度は対照群と比較して有意に抑制された ( $p=0.004$ ,  $p<0.0001$ , Scheffe)。PC3およびDU145において、Tranilast 0.1mM、1mM投与群の細胞増殖の程度は対照群と比較して有意に抑制された ( $p<0.0001$ ,  $p<0.0001$ , Scheffe)。また、LNCaPのearly apoptosisの程度は、control(5.7%)と比較して、Tranilast投与群で上昇する傾向が観察された(0.001mM=8.2%, 0.01mM=10.2%, 0.1mM=15.9%, 1mM=13.0%)。【結語】Tranilastはアンドロゲン依存性前立腺癌細胞株LNCaP・アンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株PC3、DU145の細胞増殖を有意に抑制した。またLNCaPに関しては、early apoptosisを誘導する傾向も見られた。

## TRAPラットの前立腺癌の去勢による退縮とテストステロン再負荷による腫瘍発生

○高橋 智<sup>1,2</sup>, 佐藤 慎哉<sup>1</sup>, 小宮 雅美<sup>1</sup>, 小川 久美子<sup>1</sup>, 白井 智之<sup>1</sup><sup>1</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学, <sup>2</sup>名古屋市立大学病院・病理部)

【目的】我々が樹立した前立腺癌好発トランスジェニックラット (Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate, TRAP) は15週齢時にはほぼ全例にアンドロゲン依存性前立腺癌が発生し、長期にわたる観察を行っても微小浸潤癌にとどまり、ヒト前立腺癌にみられるような明らかな浸潤性前立腺癌は惹起されないことを明らかにしている。そこで、腺癌発生時点で去勢を行うことで前立腺内の正常腺房構造が完全に破壊し、そののちにアンドロゲンを負荷して腫瘍組織を再増殖させることにより浸潤癌が惹起できるのではないかと考え、前立腺腫瘍発生前後において去勢を行いテストステロン再負荷後に腫瘍発生を経時的に比較検討した。

【方法】1群は15週齢、2群は5週齢 TRAPラットに精巣摘出を施行してその5週後にTestosterone propionate(TP)を背部皮下に埋植した。その時点から1群では0, 1, 2, 5, 15週後、2群では0, 2, 5, 15週後に3匹ずつ屠殺剖検し、病理組織学的に前立腺を詳細に観察した。

【結果】腫瘍発生前に去勢を行った2群のTP負荷後0週時点ではすべての葉で完全な退縮が認められ、退縮腺の腺房構造は均一かつ明瞭で、腺房を取り囲む平滑筋、線維組織が整然と観察される。腹葉ではその2週後にはPIN、5週後には腺癌が発生し、15週後には微小浸潤癌が観察された。一方腫瘍発生後に去勢を施行した1群のTP負荷後0週時点における腹葉では2群と異なり全体的に腺房構造が不鮮明な退縮を示し、腺房間に存在する間質は幅広い。TP負荷後1週で不鮮明な腺房構造は明瞭化し、高度PINが形成される。2週時点では基本的には1週時と大差はないが全体的に増殖性変化が強い傾向にあり、5週後には腺癌の発生がみられる。15週時には結節状に増殖する大型の癌病巣が観察されるが、浸潤性発育は微小なものにとどまっていた。

【考察】去勢による前立腺腺房基底膜を含む組織構造の器質的破壊のみでは浸潤癌を惹起することは困難であったが腫瘍の増殖速度には大きな差がみられたことから、癌退縮後の残存細胞の癌幹細胞としての生物学的特徴の有無と癌の再増殖におけるこれらの細胞の役割について検討したいと考えている。

## ラット前立腺癌モデル(TRAP)由来細胞株の樹立とその性質

○朝元 誠人<sup>1</sup>, 内木 拓<sup>2</sup>, 神田 千恵<sup>1</sup>, 内木 綾<sup>1</sup>, 白井 智之<sup>1</sup><sup>1</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学, <sup>2</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科腎・泌尿器科学)

前立腺癌の罹患率、死亡率は欧米では極めて高いが、近年日本においても上昇傾向を示している。この要因として、食生活の欧米化が大きいと考えられる。すなわち食事成分の中には前立腺癌の発生、進展を抑制するもの、逆に促進するものが含まれていると考えられる。そこで、本研究では、前立腺癌の発生進展に関わる食品中の因子およびメカニズムの追求を効率よく実施できる実験系の確立のための細胞株の樹立を目指した。

ラット前立腺癌モデル (Transgenic rat for adenocarcinoma of the prostate、TRAP) より樹立したヌードマウス可移植性アンドロゲン依存性前立腺癌とアンドロゲン非依存性前立腺癌の腫瘍組織を採取し、トリプシン処理後培養した細胞の継代およびクローニングを重ね、形態的に均一に増殖する細胞集団を得た。ヌードマウス可移植性アンドロゲン非依存性前立腺癌組織より3種類の細胞株 (PCai-1, PCai-2, PCai-3) を樹立した。これらの細胞はTRAPラットの前立腺癌組織の形質をよく維持しておりアンドロゲンレセプター (AR) の発現もよく保存されていた。また樹立した細胞株はヌードマウスへ移植可能であり組織学的には低分化な腺癌を形成した。一方、ヌードマウス可移植性アンドロゲン依存性前立腺癌組織より樹立した細胞集団 (A1-1F) は上皮様形態を持ち増殖能も高いが、細胞増殖に非対称性が観察され、western blot、免疫染色にてCD133の発現が確認され、Cancer Stem Cells の性格を有する事が示唆された。

また、TRAPラット由来神経芽細胞腫 (アンドロゲン非依存性) ヌードマウス腫瘍からも培養可能な細胞集団 (TNB8-2) が得られた。これらの細胞からtRNAを採取しMicroarray解析をしたところ、PCai-1, PCai-2, PCai-3, A1-1およびTNB8-2それぞれの細胞に特徴的な遺伝子発現が認められた。今回樹立または樹立されつつあるTRAPラット由来細胞株が、前立腺癌の発生、進展のメカニズム研究、発がん修飾因子の検索、発がん抑制因子の検索などに有用な手段となる事が期待される。

## \*P-85

### 卵巣および子宮における血管およびリンパ管の動態解析

○木原 亨<sup>1)</sup>, 太田 泰史<sup>1)</sup>, 植田 芳英<sup>1)</sup>, 安井 雄三<sup>1)</sup>, 長谷川 和成<sup>1)</sup>, 細井 理代<sup>1)</sup>,  
宮島 留美子<sup>1)</sup>, 志賀 敦史<sup>1)</sup>, 豊田 和弘<sup>1)</sup>, 今井 清<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>安評センター)

種々の臓器において血管およびリンパ管の分布を形態学的に把握することは、毒性評価においても有用な場合がある。その技術的検討として、ラットの卵巣と子宮を対象として血管およびリンパ管の動態について形態学的解析を試みた。

ラットの卵巣は、血管およびリンパ管に富み、その形態および機能は性周期に伴って変動する。また、子宮では、性周期に伴う形態変化においてvascular endothelial growth factor (VEGF) 等の調節因子が関与していることが明らかにされている。そこで、9、18および31週齢の無処置雌Slc:WistarHannover/Rccラット各10匹について、卵巣、子宮および膣のHE標本で性周期を確認した後、血管の標識には抗von Willebrand Factor抗体、リンパ管の標識には抗podoplanin抗体を用いた免疫染色を施し、それぞれの染色態度から性周期に伴う血管およびリンパ管の動態の把握を試みた。

性周期は、9週齢では発情前期5例、発情期2例、発情休止期3例、18週齢では発情前期2例、発情期1例、発情休止期7例、31週齢では発情前期4例、発情期2例、発情休止期4例であった。各週齢を通じて発情後期の動物は認められなかった。卵巣では、髄質の迂曲する動脈や静脈叢に混じる様に、podoplanin陽性リンパ管が、連続切片の免疫染色において明確に区別できた。これらのリンパ管は、血管に比較して細くその数も少なく、卵胞の周囲、黄体の周囲並びに黄体内においてもリンパ管が観察された。子宮では、内膜および筋層の血管に添う様に分布するリンパ管内皮が識別された。内膜に観察されたリンパ管も血管より細かった。現在、リンパ管の分布と性周期との関連について検討を進めている。

## \*P-86

### スルピリド投与によるラット雌性生殖器および下垂体への影響

○岡田 味世子<sup>1)</sup>, 足立 民子<sup>1)</sup>, 宇部 雅進<sup>1)</sup>, 石井 俊一郎<sup>1)</sup>, 佐野 文子<sup>1)</sup>,  
杉本 次郎<sup>1)</sup>, 北村 和之<sup>1)</sup>, 高木 司郎<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>田辺三菱製薬株式会社 安全性研究所)

【はじめに】スルピリドはDopamine D2 receptor antagonistであり、下垂体前葉のPRL細胞からのプロラクチン分泌を促進させ、高プロラクチン血症を引き起こすことが知られている。今回、日本製薬工業協会からの要請により実施した卵巣毒性共同研究において、スルピリド投与による雌ラット生殖器系器官および下垂体への影響について病理組織学的に検討したので報告する。

【材料および方法】6週齢の雌CrI:CD(SD)ラット(10匹/群)に1, 10, 100 mg/kg/dayのスルピリドを2週間あるいは4週間強制経口投与した。対照群として溶媒投与群を設定した。投与期間終了後、卵巣、子宮、膣、乳腺および下垂体を採材し、HE染色を実施後、病理組織学的検索を行った。また、対照群および100 mg/kg/dayを2週間投与した動物の下垂体の代表例について抗Dopamine D2 receptor (D2DR) 抗体を用いた免疫組織化学的染色を実施した。

【結果・考察】2週間投与：1 mg/kg以上で、卵巣における閉鎖卵胞(Type 7・8の大型卵胞)の増加、子宮および膣における発情休止期像の増加、10 mg/kg以上で、卵巣における卵胞のう胞の増加、子宮および膣における異常休止期像の増加、膣上皮の粘液細胞化、乳腺における腺房の発達および乳汁分泌亢進、下垂体の中間葉細胞における好酸性物質蓄積が認められた。下垂体中間葉細胞の好酸性物質は抗D2DR抗体で陽性を示した。4週間投与：2週間投与とほぼ同様の変化のほか、膣における異常な発情前期像(1 mg/kg以上)および卵巣における大型卵胞の減少(10 mg/kg以上)が認められた。卵巣における卵胞のう胞の増加は2週間投与と比べ低用量(1 mg/kg以上)から認められた。

スルピリドによる卵巣への影響は、Type 7から8の大型卵胞における発育停止が顕著であり、小型あるいは中型卵胞、および黄体への影響は認められなかった。子宮および膣では発情休止期像あるいは異常発情休止期像が増加しており、性周期が停止していると考えられた。下垂体では、中間葉細胞においてD2DRの発現が増強しており、スルピリドのD2拮抗作用に対し下垂体中間葉のD2受容体がより顕著に反応していることが確認された。

\*P-87

## 乳腺および子宮発がんにおけるイソフラボンアグリコンの修飾作用

○則座 由依<sup>1)</sup>, 梯 アンナ<sup>2)</sup>, 多胡 善幸<sup>1)</sup>, 吉田 緑<sup>2)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学, <sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所)

[はじめに] 大豆イソフラボン植物性エストロゲン作用を有することが知られており、食品安全委員会においてヒトでの摂取量の上限值が定められた。本研究では、ヒト摂取量の上限と同等量（安全係数100倍を加味）と考えられる大豆イソフラボンをラットに投与した時の乳腺および子宮発がん修飾作用を検討した。

[方法] 5週齢雌性Donryuラットに乳腺腫瘍を誘発する7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA) を50 mg/kg b.w. 単回胃内強制投与を行い、実験開始より7日および11日に子宮がん誘発剤であるN-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG) を10 mg/kg b.w. 子宮内強制投与した。DMBA投与と同時にイソフラボンアグリコン (IA) を0.2%および0 (対照群) の濃度で36週間混餌投与した。

[結果] 乳腺腫瘍の発生推移において、対照群と比較し0.2% IA投与群では早期から腫瘍の体積増加が認められた。乳腺の病理組織学的解析においては、乳腺腺癌の発生個数は対照群に対して0.2% IA投与群では有意な高値を示した。0.2% IA投与群で子宮の病理組織学的解析における子宮内膜悪性および良性増殖性病変の発生個数は有意に上昇した。これらの結果は、被験物質のエストロゲン作用による影響であると考えられる。

[考察] 以上の結果から、本試験条件での乳腺および子宮発がんにおいて0.2% IAの促進作用が示された。すなわち、ヒトに対する安全性を考える時、高危険度群（担がん者等）に対する用量設定を再考する必要があると示唆された。

\*P-88

## カニクイザル卵巣におけるAberrant corpus luteumについての組織学的検索

○橋本 知水<sup>1)</sup>, 佐藤 順子<sup>1)</sup>, 爰島 洋子<sup>1)</sup>, 小谷 百合<sup>1)</sup>, 土谷 稔<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>三菱化学安全科学研究所・鹿島)

【緒言】サル類の性周期はヒトと同様に約28日で単排卵であり、卵巣の組織形態学的特徴もヒトときわめて類似している。しかし、サル類の卵巣の中では、退行黄体の中に、退行の方向へ行かない機能黄体類似の細胞塊が残存することがあり、これはアカゲザルの古い文献にAberrant corpus luteum (ACL) として報告されている。このACLは、カニクイザルの卵巣ではしばしば認められるにも関わらず、今までその組織学的特徴や機能について報告されていない。今回我々は、このACLについて組織学的ならびに免疫組織学的に検索したので、その結果を報告する。【発現頻度】検索は3才以上のカニクイザルで組織学的に性周期の回転が認められる卵巣について行った。検索した卵巣47例中14例にACLが認められ、そのうち3例は両側卵巣にACLが認められた。1つの卵巣に見られるACLは1個～2個であった。【ACLの組織学的特徴】ACLは退行してゆく黄体の中に島状、帯状に認められ、場合によっては旧世代黄体全域を占めるものもあった。その分布は黄体の最外層を除いた内側に多く見られた。細胞の大きさは、機能黄体よりも小型で、細胞質は好酸性から好塩基性充実性で、円形から楕円形の核を有し、ACL内には毛細血管網が見られた。【免疫組織化学】抗インヒビン $\alpha$ 抗体を用いた免疫組織化学染色を行ったところ、ACLはいずれもインヒビン $\alpha$ 陽性であった。同時に染めた機能黄体はインヒビン $\alpha$ 陽性、旧世代黄体は陰性であった。PCNA染色にはACLは陰性であった。【考察】ACLの存在は以前から知られているにも関わらず、ホルモン分泌に関して役割を担っていないと考えられていたことから、今まで検索されることはなかった。今回の検索でこのACLがインヒビン $\alpha$ を産生していることがわかった。インヒビンは下垂体FSHへの負のフィードバックによりFSHの分泌を抑制する。FSHの負の調整は、黄体期における卵胞発育の抑制や卵胞期の主席卵胞以外の卵胞の閉鎖への誘導などの作用として重要である。このACLがインヒビンを介したサル類卵巣における単排卵のための卵胞数の調整を行っているのかもしれない。今後、他のホルモン抗体を用いた検索も行い、Aberrant黄体の役割を推測してゆく予定である。

## ダニ抗原含有軟膏反復塗布により発症した NC/Ngaマウス皮膚炎病変の経日的変化の解析

○今泉 美波<sup>1)</sup>, 高場 克己<sup>2)</sup>, 佐伯 幸司<sup>3)</sup>, 木本 直哉<sup>4)</sup>, 高田 千絵<sup>5)</sup>, 竹田 剛<sup>6)</sup>,  
鈴木 一生<sup>7)</sup>, 原田 大輔<sup>8)</sup>, 伊奈 康博<sup>9)</sup>

(<sup>1)</sup>協和発酵キリン株式会社)

【背景】アトピー性皮膚炎の評価モデルとして、我々はNC/Ngaマウスのダニ自然感染皮膚炎モデルを使用してきた。しかし、本モデルは、自然発症であることから病変の程度と発症時期に大きな個体差がある点、動物の搔破行動に伴う二次的な影響が大きい点から、病理組織学的に皮膚病変をスコア化して薬効評価することには適していないと感じていた。そこで、今回、皮膚の特定部位にダニ抗原を塗布することによりアトピー性皮膚炎を誘発したモデルについて、病理組織学的な薬効評価に適したモデルか否かを検証した。

【材料及び方法】皮膚炎モデルとして、NC/Ngaマウスを用いたダニ抗原含有軟膏塗布皮膚炎モデルを用いた。NC/Ngaマウスの背部皮膚にダニ抗原含有軟膏を3-4日間隔で計6回間歇反復塗布し、皮膚炎モデルを作製した(試験期間21日)。経日的に皮膚炎惹起部位を採取してH&E染色標本を作製し、病理組織学的検査を実施した。

【結果及び考察】軟膏塗布部位では、初回塗布後3日以降から病理組織学的に表皮の痂皮、びらん、扁平上皮細胞の過形成および過角化ならびに真皮の外根鞘上皮の過形成、線維化および炎症細胞浸潤から成る明瞭な皮膚炎が認められ、反復塗布開始約2週間(4回塗布後4日)以降は同程度の病態が継続した。同一個体内で採取部位によって各病変の程度に明瞭な差はなく、同一群内で各病変の程度に明瞭な個体差はなかった。本モデルでは、肉眼観察による薬理評価と病理組織学的検査が同一部位で実施でき、各々での皮膚炎スコアの推移はほぼ一致した。以上より、本皮膚炎モデルは病理組織学的評価に適したモデルであると考えられた。

【参考文献】1. Yamamoto M. et al., Allergy International 56: 139-148. 2007.

## Dysferlinを欠損するS/JLおよびA/Jマウスにおける 骨格筋病変の分布と病態解析

○小林 欣滋<sup>1)</sup>, 山手 丈至<sup>2)</sup>, 井澤 武史<sup>3)</sup>, 桑村 充<sup>4)</sup>, 小谷 猛夫<sup>5)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻)

【目的】ヒトの肢帯型筋ジストロフィー2B型の病理発生機序の全貌は未だ解明されていない。今回、このモデル動物として知られるS/JLおよびA/Jマウスの骨格筋病変の分布と病態について病理学的に解析し、両系統間でその特性を比較した。

【方法】10および35週齢の雄性S/JLおよびA/Jマウスと正常対照としてのBALB/cマウス(各系統各週齢6匹)から大腿筋、下腿筋、上腕筋、前腕筋、腹筋、胸筋、咬筋、腰部筋、横隔膜、球海綿体筋、舌筋を採取し、10%中性緩衝ホルマリンで固定し、病理組織学的に検査した。また、速筋・遅筋を区別するために抗ミオシン(遅筋)抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、骨格筋病変の筋線維型特異性を解析した。

【結果】10週齢:S/JLマウスでは、5~6例の大腿筋、上腕筋、腹筋、咬筋、腰部筋で、1~3例の下腿筋、前腕筋、胸筋、横隔膜で、極軽度~軽度の筋線維の硝子変性・壊死がみられた。一方、A/Jマウスでは、BALB/cマウスと同様、いずれの筋線維にも変性・壊死は認められなかった。35週齢:S/JLマウスでは、5~6例の大腿筋、下腿筋、上腕筋、腹筋、胸筋、咬筋、腰部筋において極軽度~中等度の筋線維の硝子変性・壊死がみられた。さらに、進行し重篤な病変である脂肪浸潤を伴った筋線維の萎縮が腰部筋の最長筋、次いで大腿筋でみられた。一方、A/Jマウスでは、全例の大腿筋と腰部筋に、1例の下腿筋、上腕筋、腹筋に、筋線維の硝子変性・壊死が認められたが、極軽度に過ぎなかった。なお、両系統とも骨格筋病変の筋線維型特異性は認められず、50週齢を超えるS/JLマウスで報告されているfiber type groupingも35週齢時までは認められなかった。

【まとめ】骨格筋病変は、S/JLマウスの方がA/Jマウスよりも発症が早く、分布が広範囲であった。また、両マウスとも四肢では近位筋、特に大腿筋でその進行が顕著であった。S/JLマウスでみられた腰部最長筋での進行した骨格筋病変はこれまで報告がなく、従来報告されていた四肢近位筋だけでなく、腰部最長筋も病変の好発部位であることを明らかにした。現在、骨格筋病変のさらなる解析とその発症機序として小胞体ストレスの関与について検討を加えている。

## \*P-91

### ラットの創傷治癒過程における マクロファージ、筋線維芽細胞及びガレクチン3発現細胞の役割

○ジュニアンテイト ベトニザ<sup>1)</sup>, 井澤 武史<sup>1)</sup>, 山本 絵美<sup>1)</sup>, 桑村 充<sup>1)</sup>, 小谷 猛夫<sup>1)</sup>, 山手 丈至<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪府大・獣医病理)

Wound healing is a basic process of body restoration. Mechanisms remain to be clarified. Appearance of macrophages, myofibroblasts, and galectin 3 cells was investigated in rat wound healing. Samples were examined on post-wounding days 1-26. Macrophages reacting to ED1 (CD68), ED2 (CD163), and OX6 (MHC class II) appeared on day 1, and peaked on days 3, 5, and 15, respectively. OX6 cells were present beneath regenerating epithelia. These findings indicated that ED1 and ED2 cells are responsible for inflammatory and subsequent granulation tissues, whereas OX6 cells might relate to epithelial regeneration. Myofibroblasts reacting to alpha-smooth muscle actin began to be seen on day 5 in periphery of wounds, forming granulation tissues; the cells reached maximum on day 9 following peaked number of ED1 and ED2 cells. Galectin 3 cells peaked on day 1 and many galectin-3 cells also reacted to ED1. This study showed that diverse macrophages participated into wound healing, with myofibroblasts.

## \*P-92

### 各種アジュバント成分により惹起される投与局所反応に関する病理組織学的検討

○富田 里美<sup>1)</sup>, 石澤 由希<sup>1)</sup>, 新屋 希子<sup>1)</sup>, 清川 見香<sup>1)</sup>, 松井 元<sup>1)</sup>, 志垣 隆通<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>財団法人化学及血清療法研究所 病理部)

【目的】不活化ワクチンではアジュバントが添加されるものがある。アジュバントの種類により投与局所反応の強さや変化の広がり異なることが考えられる。今回、人体用あるいは動物用ワクチンに添加されているアジュバントについて、その投与局所反応を比較検討した。

【方法】投与物質として、水酸化アルミニウムゲル、流動パラフィン及びスクワレンを用いた。1群6匹の雄性ウサギの左外側広筋に各投与物質0.5mLを1回投与した。投与後2日目及び7日目に半数ずつ剖検し、投与部位の変化を肉眼的に観察した。投与部位のパラフィン包埋切片を作製し、H.E染色を施し、病理組織学的に検索した。

【結果】<水酸化アルミニウムゲル>投与後2日目には水酸化アルミニウムゲルと思われる物質が限局して認められた。水酸化アルミニウムゲル周囲の筋線維は軽度に変性・壊死していたが、単核細胞の浸潤はわずかで、全体的に炎症反応は乏しかった。投与後7日目には、依然として水酸化アルミニウムゲルと思われる物質が限局性にみられたが、単核細胞の浸潤は投与後2日目よりも強く見られた。<流動パラフィン>投与後2日目には、筋線維間に流動パラフィンと考えられる大きな空隙が形成されており、単核細胞が軽度に浸潤していた。投与後7日目でも、筋線維間に大きな空隙が見られたが、細胞反応は軽く、投与後2日目と同様の変化であった。筋表面には筋膜炎が認められた。<スクワレン>投与後2日目には、筋線維間にスクワレンと考えられる空隙が見られ、単核細胞の浸潤が見られた。空隙の大きさは流動パラフィンよりも小さく、びまん性に見られた。投与後7日目には、筋線維間に比較的大きな空隙が散在していたが、細胞反応には乏しかった。筋表面には筋膜炎が見られた。

【まとめ】水酸化アルミニウムゲルでは、筋線維間に水酸化アルミニウムゲルと思われる物質が限局し、細胞浸潤は軽度に認められた。一方、流動パラフィン及びスクワレンでは空隙が見られたが、細胞反応は乏しく、筋膜炎が認められた。流動パラフィン及びスクワレンの病理組織変化の特徴は類似していたが、スクワレンのほうが空隙の大きさは小さく、びまん性に見られた。以上のように、アジュバントの種類により、投与部位でのアジュバントの分布及び細胞浸潤の程度は異なっており、ワクチンの投与局所反応を評価するうえで、アジュバントは重要な要因と考えられた。

\*P-93

## 糖尿病と発がんの関係 ～ZDFラットを用いた検討～

○石井 真美<sup>1)</sup>, 魏 民<sup>1)</sup>, 梯 アンナ<sup>1)</sup>, 土井 賢一郎<sup>1)</sup>, 蟹江 尚平<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

【はじめに】糖尿病ががんの促進に働くことが報告されているが、その詳細は不明な点が多い。今回我々は、レプチン受容体遺伝子に変異をもち、2型糖尿病を自然発症するZucker diabetic fatty (ZDF) ラットと対照のLeanラットを用いて、糖尿病による発がん促進の有無を多臓器発がんモデルで調べた。

【方法】6週齢の雄性、レプチン受容体遺伝子異常をもつZDFと対照のLeanに、5種類の発がん物質 (Diethylnitrosamine (DEN), N-methyl-N-nitrosourea (MNU), N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosoamine (BBN), dihydroxybutyl-di-N-propylnitrosamine (DHPN), 1,2-dimethylhydrazine (DMH)) を4週間にわたり投与した (DMBDD処置)。すなわち、100mg/kg体重のDENを実験開始時に腹腔内投与し、実験1、2週目に20mg/kg体重のMNUを4回腹腔内投与し、実験3、4週目に40mg/kg体重のDMHを4回皮下投与した。0.1% DHPNを最初の2週間、続いて0.05%BBNを2週間飲水投与した。ただし、ZDFは血糖値の上昇に伴い飲水量の増加が見られたため、Leanと体重あたりの投与量が等しくなるように希釈して飲水投与を行った。実験開始後30週目に全動物を屠殺し、標的臓器の病理学的検索を行った。

【結果】DMBDD投与群における膀胱腫瘍発生率について、乳頭腫は、ZDFでは27%、Leanでは20%、移行上皮癌は、ZDFでは67%、Leanでは5%、総腫瘍は、ZDFでは87%、Leanでは25%で、移行上皮癌と総腫瘍で、ZDFで有意な増加がみられた。膀胱腫瘍発生個数に関しても、同様の結果がみられた。また、肉眼的に、大腸腫瘍もZDFでは75%、Leanでは35%と、ZDFで有意な発生増加がみられた。

【結論】DMBDD投与による膀胱癌および大腸癌の発生は、2型糖尿病自然発症モデルで有意な増加が認められた。糖尿病はがんの発生を促進することが示された。

P-94

## 正常ラット胎盤におけるメタロチオネイン発現の経時的変化

○古川 賢<sup>1)</sup>, 白田 浩二<sup>1)</sup>, 阿部 正義<sup>1)</sup>, 林 清吾<sup>1)</sup>, 小川 いづみ<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>日産化学工業株式会社 生物科学研究所 安全性研究部)

【目的】メタロチオネイン (MT) はシステインを含有する金属結合性の低分子タンパク質で、亜鉛や銅の恒常性維持及びカドミウムや水銀などの解毒を行い、肝臓、腎臓などの種々の臓器に分布している。本発表では正常ラット胎盤についてMTの発現を免疫組織学的に経時的に検索した。【材料及び方法】試験にはWistar Hannoverラット28匹を供試し、妊娠9、11、13、15、17、19及び21日に胎盤及び胚子/胎児を摘出した。重量測定、ホルマリン固定後、胎盤及び胚子/胎児の肝臓についてMTの免疫組織染色を施し、組織病理検査を実施した (妊娠9及び11日の胚子については実施せず)。【結果】卵黄嚢：MTの発現は妊娠9日において臓側卵黄嚢上皮細胞で認められ、主として卵黄嚢上皮細胞の自由面側に局在していた。発現の程度は妊娠進行と共に増し、妊娠19日にピークとなるものの、その後低下した。迷路層及び基底層：MTの発現は迷路層では認められず、基底層では少数の海綿状栄養膜細胞で認められた。脱落膜：MTの発現は妊娠9日において胚子周囲の一次脱落膜域で認められ、妊娠11日では基底脱落膜よりも壁側脱落膜で顕著であった。壁側脱落膜の消失後、妊娠13日では基底脱落膜において発現が認められ、妊娠15日にピークとなるものの、その後低下した。胚子/胎児肝臓：肝細胞でのMTの発現は妊娠15日以降認められ、発現の程度は妊娠進行と共に増した。子宮：MTの発現は子宮腺上皮細胞において妊娠期間を通して認められた。【考察】MTは妊娠初期から胚子を取り囲むように卵黄嚢と一次脱落膜域で発現し、妊娠中期では卵黄嚢と基底脱落膜で強く発現し、胚子/胎児の肝臓でのMTの発現が増すにつれて、胎盤での発現は次第に低下することが明らかとなった。MTの主たる発現部位は胚子/胎児発達に伴って胎盤子宮部から胎児子宮部、さらに胎児肝臓へと変化するものの、MTは妊娠期間を通して常に胚子/胎児を取り囲むように発現し、胚子/胎児の発生及び妊娠維持において重要な役割を果たしているものと推察した。

\*P-95

## カニクイザル(Cynomolgus Monkey)コラーゲン誘発性関節炎モデルにおける骨格筋の病理組織学的検討

○松田 みゆき<sup>1)</sup>, 児玉 倫哉<sup>2)</sup>, 寶来 直人<sup>1)</sup>, 上村 裕洋<sup>1)</sup>, 永岡 隆晴<sup>1)</sup>, 樋口 逸郎<sup>2)</sup>, 阿邊山 和浩<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>株式会社 新日本科学, <sup>2)</sup>鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経病学講座,

<sup>3)</sup>鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 臨床予防医療 (新日本科学) 講座)

【目的】我々が確立したカニクイザルのCIA (collagen-induced arthritis)モデルは、抗リウマチ薬の薬効評価に使用されている。本モデルでは、主要な病態である関節腫脹のほか、顕著な体重減少とともに、骨格筋の腓薄化が認められている。ヒトでも、リウマチ患者において、急激な筋萎縮がQuality of Lifeの低下の一因となり、問題となっている。そこで今回、我々は、本モデルの骨格筋について、組織学的検査を実施したので報告する。

【方法】本研究にはウシII型コラーゲン及び Freund's complete adjuvantの2回の免疫によって誘発した雌カニクイザルを用いた。これらの動物は初回免疫後11, 21, 35, 63日で安楽死させ、大腿四頭筋の組織学的検査を行った。組織学的検査では、H.E染色に加えGomoriトリクローム、NADH-TR及びATPaseの染色を行った。また、透過型電子顕微鏡による観察も行った。加えて体重、血液生化学パラメータ (CPK、クレアチニン) も経時的に測定した。

【結果】初回免疫後11日では軽微な筋線維の変性、壊死、出血性変化及び炎症性細胞の浸潤がみられ、CPKが顕著に上昇していた。免疫後21日では、筋線維の変性、壊死、萎縮、単核細胞浸潤及び膠原線維の増加などがより強く現れた。免疫後35日では、これらの組織変化が最も強く、筋線維の再生像もみられた。免疫後63日では、筋線維の変性及び萎縮像はみられたものの免疫後35日に比べて軽微な変化であった。また、血清クレアチニン値は減少し、体重減少と関連していた。筋肉の特殊染色では、赤筋に比し白筋の障害像が強くみられた。電子顕微鏡観察では、ミトコンドリアの増加、筋原線維の配列の乱れや小胞体による来すると思われる空胞の増加がみられた。

【考察】サルCIAモデルにおける骨格筋の組織学的変化は、白筋を主体とした筋肉の変性及び壊死を示す筋炎であり、血清クレアチニン値も減少していたことから、筋肉の障害が本モデルにおける体重減少の主な原因であることが明らかになった。筋肉の組織学的変化は関節腫脹の程度と関連しており、筋肉病変は炎症性因子によって生じた可能性が考えられた。

\*P-96

## ラットにおける骨毒性の病理組織学的検討

○野口 ちひろ<sup>1)</sup>, 宮田 裕人<sup>1)</sup>, 佐藤 靖<sup>1)</sup>, 岩城 理進<sup>1)</sup>, 奥山 茂<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>大正製薬株式会社 安全性・動態研究所)

【目的】反復毒性試験を行なう際、骨の評価部位は医薬品毒性試験法ガイドライン等に記載されている大腿骨及び胸骨を選択することが多い。ラットの骨はその部位により骨端閉鎖時期が異なることが知られており、生後50週齢付近のラットをX線撮影により観察すると、上腕骨近位部、脛骨近位部、大腿骨遠位部の各部位において、骨端核の融合の程度が異なるとの報告がある。そこで本試験では、若齢動物の骨端軟骨板への影響が報告されているドキシソルビシン (DOX) を生後50週齢付近のラットに投与し、反復毒性試験において選択される大腿骨及び胸骨だけではなく、骨端閉鎖時期が異なる骨を用いて比較観察を行ない、骨の各部位による骨端軟骨板 (成長板) への影響の相違について病理組織学的に検討した。

【方法】46週齢の雄性Crl:CD(SD)ラットを用い、4-5週齢のラットで骨端軟骨板への影響が報告されている投与量のDOXである15及び0 (対照) mg/m<sup>2</sup> body surface areaを隔週1回、計5回静脈内投与後、55週齢時に安楽殺を行い、大腿骨遠位部、脛骨近位部、上腕骨近位部、第4胸骨片の各部位における骨端軟骨板について病理組織学的に検索した。

【結果及び考察】DOX投与群の脛骨及び上腕骨近位部に骨端軟骨板の菲薄化が顕著に観察され、若齢動物のラットの脛骨におけるDOX投与時の変化と同質のものであったが、大腿骨遠位部及び第4胸骨片については同所見が観察されなかった。本試験の結果から、骨端軟骨板への薬物の影響は部位による特異性があり、その原因として骨端閉鎖時期が関与する可能性が示唆された。骨の毒性病理組織学的評価では、動物の週齢と評価部位を考慮した解析が重要と考えられた。

## 全デジタルスライドのGLP・ERES戦略

○西口 礼子<sup>1)</sup>, ポッツ スティープ<sup>1)</sup>, ダンストン ロバート<sup>2)</sup>

(1)アベリオ テクノロジース, (2)バイオジェン アイダック社)

Whole slide digital images can be produced from glass slides at resolutions of 20x, 40x, and 100x, and assembled without producing image artifacts or seams. This technology offers exciting opportunities in toxicology, for recording results, viewing images remotely, and for applying quantitative morphology and IHC algorithms. However, the implications of working in a GLP environment in compliance with 21 CFR 11 and Japan's ERES report must be addressed. There is substantial debate within the industry as to whether digital slides constitute raw data. If the digital slide is not considered raw data, digital pathology vendors must demonstrate that a computer-based calculation can be recreated from the glass slide, that the results are not dependent on an individual scanner or intermediate digital slide. If however, the digital slide is considered raw data, then this places a different set of requirements on the vendor. The vendor must verify that a digital read is equivalent to a read under a microscope, and must have full authentication and digital chain of custody, to ensure the correct slide is being read and has not been modified or tampered with in any way.

## \*P-98

ラット甲状腺二段階発がんモデルのMMP活性の*in vivo*蛍光イメージング○恩田 伸彦<sup>1)</sup>, 松本 明<sup>2)</sup>, 堀 邦夫<sup>1)</sup>, 三森 国敏<sup>2)</sup>, 渋谷 淳<sup>2)</sup>

(1)オリンパス株式会社, (2)東京農工大学・獣医病理)

【目的】近年、生きたままの状態では生体内を観察する分子イメージング技術がライフサイエンス分野で発達し、がん研究においても広がってきている。しかし、これまでのがんの分子イメージングの多くは腫瘍細胞株を移植した担がんモデル動物で行われており、発がんモデルを用いた研究は少ない。本研究では、発がん過程を*in vivo*で可視化することを目的に、蛍光イメージング法を用いてラット甲状腺二段階発がんモデルで形成された被膜浸潤がん、がん浸潤部位に特異的に活性増強を示すことが知られているmatrix metalloprotease (MMP)の活性を可視化して両者の関係を検討した。【方法】ラット甲状腺二段階発がんモデルによる腫瘍は、甲状腺発がん物質である*N*-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN)をイニシエーターとして用い、抗甲状腺作用を示すSulfadimethoxine (SDM)をプロモーターとして用いることで誘発させた。具体的には、6週齢の雄性F344ラットにDHPN (2800 mg/kg)を単回皮下投与し、その1週間後から1500 ppmのSDMを飲水投与した。投与開始11-12週後に、MMP活性の*in vivo*イメージングを行った。MMP活性を可視化するために、MMPの酵素活性を受けることで蛍光を発する活性型蛍光試薬MMPsense680 (VisEn Medical)を用い、観察前日に静脈投与した。*In vivo*イメージングは、蛍光イメージング装置を用いて麻酔下の個体を侵襲して行った。【結果】皮膚や筋肉などの他の組織に比べ、甲状腺ではMMPsenseのシグナルが上昇していた。そのシグナルは甲状腺の辺縁部に局在し、少数ではあるが、明らかに被膜浸潤がん結節を形成している部位でも結節状のシグナル増強が確認できた。さらに、これらの部位では多数のMMPsenseシグナル陽性の細胞が観察された。【考察】甲状腺の辺縁部位、或いは結節性病変で観察されたMMPsenseのシグナルは、被膜浸潤がんによるMMP活性の亢進を可視化していると考えられた。MMPsenseを用いた蛍光イメージングは、発がん過程の一端を*in vivo*で可視化でき、病理組織学的検索や*in situ*ザイモグラフィに代わる血管新生阻害剤等の簡便な評価手法になりうる可能性が示唆された。

## Whole Slide Image Analysis With Histology Pattern Recognition On Common Toxicological Problems

○Frank Voelker<sup>1)</sup>, S. Potts<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>Pathology Experts, LLC, <sup>2)</sup>Aperio)

Whole slide imaging offers the ability to observe and quantitate areas of interest on much larger sample sizes, including an entire tissue sample. Quantitation is typically either morphologic (e.g. cellular hypertrophy or tissue infiltrates) or biomarker expression with special stains (e.g. in-situ hybridization or immunohistochemistry). Quantitation requires that a pathologist either draw a region of interest or provide highly specific tissue staining prior to the computer calculating the results. This step can be particularly challenging in cases with large and morphologically intricate areas of tissue, or when tissue staining is nonspecific. The pathologist needs to be able to identify regions to include or exclude, and then ask the computer to find all similar regions and classify the tissue. Once this histology pattern recognition step has been completed, the pathologist can then run quantitative image analysis on the regions found by the computer across the entire slide.

The histology pattern recognition algorithm Genie (GENetic Imagery Exploitation) from Los Alamos National Laboratory was used in conjunction with Aperio quantitation algorithms to access the ability of a pathologist to train the computer to find different tissue types or histopathology common in toxicology and other studies. The following four examples are demonstrated: human bronchoalveolar carcinoma, mouse spleen, rat liver with necrosis and rat liver with biliary hyperplasia and peribiliary lymphoid infiltrates. It was found that lesions and tissues of interest could be consistently distinguished by histology pattern recognition in the above examples evaluated.

### \*P-100

#### CrI:CD(SD)IGS BRラットにみられた悪性褐色脂肪腫の1例

○穴川 明子<sup>1)</sup>, 岡崎 欣正<sup>1)</sup>, 梶川 悟<sup>1)</sup>, 白木 克尚<sup>1)</sup>, 藤平 司郎<sup>1)</sup>, 松本 正博<sup>1)</sup>, 大石 裕司<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室)

ラットの褐色脂肪腫は、特徴的な組織・細胞所見から診断は容易であるものの、自然発生の報告が極めて少ない稀な腫瘍である。今回、我々は雄性CrI:CD(SD)IGS BRラットに自然発生した悪性褐色脂肪腫に遭遇したので、その病理組織学的特徴について報告する。【症例】症例はがん原性試験の対照群に供された動物で、3週間に及ぶ努力性呼吸及び摂餌量並びに体重減少ののち53週齢で死亡した。外表から触知できる腫瘍はなく、剖検時、胸腔内に2.5X3.0X3.5cm大の、淡褐色で硬い充実性腫瘍が認められた。腫瘍表面は比較的平滑で、胸大動脈、食道及び肺の一部と癒着していた。【方法】腫瘍及び諸臓器をホルマリン固定後、定法に従って、HE染色及びオイルレッドO染色等のほか、抗UCP 1 (uncoupling protein 1) 抗体を用いた免疫組織化学染色を施し観察した。更に、ホルマリン固定後の腫瘍組織を用いて電子顕微鏡観察を行った。【結果】腫瘍は線維性結合組織性被膜でほぼ完全に被われていたが、被膜を欠く部位では周囲の正常白色脂肪組織あるいは褐色脂肪組織に接していた。腫瘍実質は血管を含む結合組織性成分によって分葉状の構造を呈していた。腫瘍細胞の多くは円形から多角形で細胞質は多胞性を示し、細胞のほぼ中央に位置する核を1個有し、敷石状に配列していた。なお、細胞質内にみられた空胞はオイルレッドOに陽性を示した。これらの形態学的特徴は正常褐色脂肪細胞に非常に類似していた。加えて本例では、核の大型化や多核化が目立ち、N/C比が大きく、大小不同の著しい細胞で構成される領域があり、このような領域では有糸分裂像も高頻度に見られた。また、腫瘍内には血栓、出血及び壊死巣が散在性に認められた。胸大動脈、食道、肺への転移・浸潤や遠隔臓器への転移は確認できなかったものの腫瘍被膜内において血管侵襲像が観察された。電子顕微鏡観察では、細胞質内に高密度で長いクリステを有する円形から卵円形のミトコンドリアが多数存在し、褐色脂肪細胞に特徴的な所見が認められた。また、免疫組織化学的に、腫瘍細胞は褐色脂肪細胞に特異的に発現するとされるUCP-1に陽性を示した。以上の結果より、本症例を悪性褐色脂肪腫と診断した。

## P-101

### F344ラットの大腿部に認められた滑膜肉腫の1例

○梅田 ゆみ<sup>1)</sup>, 妹尾 英樹<sup>1)</sup>, 片桐 卓<sup>2)</sup>, 相磯 成敏<sup>1)</sup>, 長野 嘉介<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター)

はじめに：げっ歯類での滑膜肉腫の自然発生は極めて稀であり、当センターの過去20年間のがん原性試験に使用したF344/DuCrjラットの雄2249匹（45試験）、雌2097匹（42試験）のヒストリカルコントロールデータに滑膜肉腫の発生はみられていない。今回、ラットの大腿部に滑膜肉腫と考えられる腫瘍の発生を認めたので報告する。

材料・方法：症例は、がん原性試験に供したF344/DuCrjラットの雄1例である。飼育条件は通常のバリアシステムで単飼、飼料はオリエンタル酵母工業(株)の固形飼料を、飲水は市水をフィルター濾過し紫外線滅菌したものを自由摂取させ、110週齢で放血屠殺し剖検した。標本は10%緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従って光顕標本を作製し病理組織学的に検索した。

結果：剖検により左後肢の大腿部に最長径45mmの赤色腫瘍がみられた。腫瘍は膝関節を巻き込んでおり、嚢胞状を呈していた。病理組織学的には、腫瘍の嚢胞を内張りする細胞は比較的広い細胞質を有した上皮様の腫瘍細胞であった。この細胞層の周囲には線維芽細胞様の紡錘型の腫瘍細胞が充実性に増殖しており、腫瘍の主体となっていた。免疫染色では、上記の上皮様及び紡錘型の両腫瘍細胞ともサイトケラチン陰性であり、ビメンチンは紡錘型の細胞で強く陽性を示した。アルシアンブルー染色では紡錘型細胞で弱陽性、渡銀染色では紡錘型細胞の増殖領域に比較して上皮様細胞の領域で細網線維が極端に少なかった。

考察：滑膜細胞は通常A型とB型の2種類があると報告されている。A型はマクロファージ由来の細胞で滑膜の表層に位置し、上皮様に見えるが真の上皮とは異なる。B型は滑膜固有の細胞で線維芽細胞に類似している。今回みられた腫瘍は関節部を中心とした腫瘍であり、組織形態は上皮様細胞と紡錘型細胞の増殖による二相性の構築を示す特徴をもっていた。また、腫瘍細胞は周囲の筋組織に浸潤していた。従って、本症例を滑膜肉腫と診断した。なお、本症例は投与群での1例であるが、中間用量群に発生した腫瘍であり、高用量群では発生がみられなかった事から、自然発生腫瘍と判断した。

## P-102

### F344 Slc/Nラットの大腿部皮下に自然発生した 肺転移を伴う骨外性骨肉腫の1例

○永池 美香<sup>1)</sup>, 土屋 成一朗<sup>1)</sup>, 山本 美弥<sup>1)</sup>, 乾 公正<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>石原産業株式会社)

【目的】83週齢の雌ラットにおいて肺転移を伴う自然発生性骨外性骨肉腫を経験したので報告する。

【材料および方法】本症例は、2年間発がん性試験の対照群に供された雌のF344 Slc/Nラットである。83週齢時、臨床観察にて貧血、削瘦、鼻出血及び右大腿部皮下腫瘍を認め、予後不良と判断し切迫殺した。右大腿部の皮下腫瘍は4×3×3 cm、剖面は白色充実性で血液を含む大小の嚢胞が認められた。皮膚・骨格筋との分離は困難であったが、骨との癒着は認められなかった。その他の剖検所見としては、気管内赤色泡沫液充満、肺小結節多発・出血、胃黒色内容物、肝臓腫大・退色、脾臓腫大、下垂体中間部出血を認めた。

【組織検査結果】腫瘍組織は大小の血管と充実性増殖部、壊死巣が入り混じり、一部に骨組織が認められた。腫瘍細胞の核は類円形からコマ型で有糸分裂像も散見され、細胞境界は不明瞭、比較的豊富で好酸性の細胞質を有していた。肺に認められた小結節は皮下腫瘍組織の転移巣で、一部に骨形成を認めた。また、腎近位尿管上皮内には硝子滴が観察された。腫瘍組織はマッソントリクローム染色にて膠原線維の積極的な産生は認められず、渡辺式鍍銀法では細網線維が1～数個の細胞を不規則にとり囲んでおり、特定の構造は認められなかった。PAS反応およびオイルレッドO染色ともに、腫瘍細胞に陽性を示す構造物は観察されなかった。免疫染色を実施したところ、腫瘍細胞はVimentinおよびPCNAに対し強陽性を示した。またCD68(ED-1)およびOsterixに対して一部の細胞が陽性を示し、骨形成部位ではOsteocalcinに対し陽性を示した。一方、S-100、第Ⅷ因子関連抗原、CD-31、CD-34、デスミン、 $\alpha$ 平滑筋アクチン、リソソーム、 $\alpha$ 1アンチトリプシン、ラットMFH抗原に対して腫瘍細胞は陰性であった。

【考察】以上の結果より、本腫瘍を骨外性骨肉腫と診断した。

## \*P-103

### F344ラットの胃にみられた骨外性骨肉腫の一例

○松島 圭太<sup>1)</sup>, 安藤 亮<sup>1)</sup>, 白岩 和己<sup>1)</sup>, 山川 誠己<sup>1)</sup>, 永谷 真理子<sup>1)</sup>, 玉井 幸子<sup>1)</sup>, 田村 一利<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>株式会社 ボゾリサーチセンター)

骨外性骨肉腫は、骨及び骨膜とは無関係に種々の器官及び組織から発生する骨肉腫で、ラットにおいては極めて稀な腫瘍で、その報告例は少ない。これまでの報告では、皮下組織や胸腔において骨外性骨肉腫がみられている (Yoshizawa et al., 2005; Minato et al., 1988) が、その他の組織における骨外性骨肉腫の発生はみられていない。今回、ラットの胃において、初めて骨外性骨肉腫がみられたので報告する。

〔症例及び方法〕 症例は、がん原性試験の対照動物に供されたF344ラットの雌で、110週齢時に計画剖検された。採取した組織はリン酸緩衝10%中性ホルマリンで固定後、パラフィン包埋し、HE染色およびマッソン・トリクロム染色を実施した。〔結果〕 肉眼的には、腺胃の大弯側に18×18×18mm大の腫瘤が認められ、その粘膜側の中央部は陥凹していた。組織学的には、腫瘍は細胞境界の不明瞭な細胞の充実性増殖からなり、間質には網目状を呈する類骨及び骨形成が認められた。腫瘍細胞は、主に類円形から多角形を呈し、紡錘形細胞が一部で混在してみられた。また、腫瘍細胞は、淡い好酸性の細胞質、類円形核を有し、明瞭な核小体及び核の大小不同が目立つ異性性の強い細胞であったが、核分裂像は散見される程度であった。

〔まとめ〕 ラットの骨肉腫は、その主体を占める構成成分により骨形成型、線維芽細胞型、骨芽細胞型、末梢血管拡張型、混合型に分類される (International classification of rodent tumors, IARC (WHO),1993)。本症例は、類円形から多角形を呈する骨芽細胞に類似した細胞が腫瘍の主体を占め、類骨及び骨成分が散見されることから、骨芽細胞型と考えられた。なお、胃以外の組織において、骨肉腫の発生がみられなかったことから、胃原発の骨外性骨肉腫と診断された。

## \*P-104

### マウスの子宮に発生した高分化組織の形成を特徴とする奇形腫の1例

○緒方 敬子<sup>1)</sup>, 串田 昌彦<sup>1)</sup>, 宮田 かおり<sup>1)</sup>, 須方 督夫<sup>1)</sup>, 尾崎 圭介<sup>2)</sup>, 奥野 泰由<sup>1)</sup>, 山田 智也<sup>1)</sup>, 宇和川 賢<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>住友化学株式会社 生物環境科学研究所, <sup>2)</sup>同・生活環境事業部)

【背景】 奇形腫は一般に精巣、卵巣に発生し、子宮を原発とする自然発生はまれである。今回、マウスの子宮において高分化組織の形成を特徴とする奇形腫が認められたので、その病理組織学的特徴を報告する。

【症例】 無処置の26週齢C57BL系自家繁殖マウスの雌1例において、右側子宮角の内腔に5×5×10mmの腫瘤が認められた。該当動物は、解剖3ヵ月前に分娩経験があるが、分娩時を含め解剖日まで異常は認められなかった。

【病理組織学的特徴】 腫瘤の大部分は骨組織や軟骨組織で占められ、成長板や骨髄様細胞の含有など、高度に分化した骨組織の形成が見られた。その他、眼球様の構造、横紋筋を含む部位、外分泌腺様の構造、メラニンを多量に含有する細胞が集簇する部位などが確認された。しかしながら、いずれの部位においても細胞増殖活性は認められなかった。

【考察】 腫瘤は2ないし3胚葉由来の様々な組織から成ることより奇形腫と診断された。形成された組織の多くが高度に分化している点、細胞増殖活性がほとんど認められない点が本症例の特徴であった。げっ歯類を用いて実験的に作製されたvisceral yolk sac由来と考えられる奇形腫において、高分化組織の形成が頻繁に見られ、長期放置すると腫瘍性増殖が認められなくなると報告されている。本症例の特徴も、これに類似すると考えられた。

\*P-105

NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$ マウスに認められた自然発生性胸腺リンパ腫

○加藤 千恵<sup>1)</sup>, 藤井 悦子<sup>1)</sup>, Yu Jau Chen<sup>2)</sup>, 松原 亨一<sup>3)</sup>, 三好 昌夫<sup>1)</sup>, 加藤 淳彦<sup>1)</sup>,  
鈴木 雅実<sup>1)</sup>, 大西 保行<sup>3)</sup>, 玉置 憲一<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>中外製薬株式会社富士御殿場研究所, <sup>2)</sup>PharmaLogicals Research Pte Ltd., <sup>3)</sup>実験動物中央研究所)

NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$ マウスはT細胞、B細胞、NK細胞及びマクロファージの機能不全、補体活性の低下の認められる重度複合免疫不全マウスである。本マウスはがん研究などに広く活用されているが、背景病変に関する報告はない。今回、自然発生性の胸腺リンパ腫を認めたため病理学的特徴を報告する。【方法】ヒト組織皮下移植試験に用いたNOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$ マウス2406匹(8-62週齢、オス503匹、メス1903匹)を剖検し、肉眼的に観察した。胸腔内に認められた腫瘍及び主要諸臓器を採取し、病理組織学検索及び抗Thy 1抗体を用いた免疫組織学的染色を実施した。【結果及び考察】肉眼的に、2406匹中16匹に、胸腔の前腹側部に位置する直径0.4~2 cm大の乳白色腫瘍を認めた(12-26週齢、オス1匹、メス15匹、発生率0.7%)。組織学的検索では、シート状に増殖するリンパ芽球性の細胞が認められ、starry sky像も認められた。本細胞は小~中型で円形から多円形、細胞質に乏しく、円形の核を有し、分裂像は多く認められた。免疫組織学的にThy 1陽性であり、マウスT細胞由来であることが示唆された。また、検索した脾臓、肺、肝臓、腎臓及び心臓に本細胞の増殖巣・浸潤巣が認められた。以上より、NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$ マウスにみられた胸腔腫瘍は自然発生性の胸腺リンパ腫と考えられた。他系統の免疫不全マウスにおいても自然発生性の胸腺リンパ腫が報告されており、その病理組織学的特徴は類似していた。発生率の系統間比較では、C.B-17 SCID マウス 15% (41/269匹) 1、NOD/ SCID マウス 67% (24/ 36匹) 2との報告に比べ、NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$ マウスにおけるの発生率は0.7%と極めて低頻度であった。

1. Custer RP et al. *Am J Pathol* 1985. 2. Prochazka M et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992.

\*P-106

マウス胸腔内の悪性中皮腫が疑われた1例

○高木 みづほ<sup>1)</sup>, 山口 裕子<sup>1)</sup>, 枝元 洋<sup>1)</sup>, 福永 八千代<sup>1)</sup>, 中澤 朋美<sup>1)</sup>,  
阪本 晃佳<sup>1)</sup>, 星谷 達<sup>1)</sup>, 田村 一利<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>株式会社ボゾリサーチセンター)

【はじめに】悪性中皮腫は、F344系ラットの雄の胸腔あるいは腹腔内に比較的高率に自然発生することが知られるが、マウスにおける報告は稀である。今回我々は、胸腔内悪性中皮腫を疑うB6C3F1マウスの1例を経験したので報告する。【材料と方法】本症例は、無処置飼育されていた雄性B6C3F1マウスで、100週齢で死亡した。剖検後、胸腔内結節(肋骨を含む)、肝臓、脾臓、心臓、肺及び腎臓をリン酸緩衝10%ホルマリン液で固定、パラフィン包埋後、H・E染色標本を作製した。また、結節についてはマッソントリクローム染色、PAS染色、アルシアンブルー染色及び抗WT-1、TTF-1、Keratin、Vimentin抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、組織学的に検索した。更に、ホルマリン固定された結節の一部を用いて、電子顕微鏡検索を行った。【結果】肉眼的には、約1 mLの血性胸水の貯留、肋骨胸膜の背側に白色小結節(径3~5 mm)が散在性にみられた。組織学的には、腫瘍は僅かな線維性結合組織を伴った腺管状及び乳頭腺管状増殖を主体として、一部では胞巣状増殖を示し、筋層及び肋骨内に浸潤増殖していた。腺管状及び乳頭腺管状の部分は、比較的大型で円形~類円形の核と好酸性の豊かな細胞質を有する高円柱状あるいは立方状の細胞より構成されていた。一方、胞巣状の部分には、紡錘形細胞が混在してみられた。腫瘍細胞は、軽度の異型性を示したが、有糸分裂像は少数であった。また、一部の腫瘍細胞では、細胞質内あるいは腺腔内に、アルシアンブルーあるいはPAS染色陽性の粘液様物質がみられた。免疫組織化学的染色では、Keratinは殆どの腺管状、乳頭腺管状構造部分に強陽性を示し、Vimentinは腺管状、乳頭腺管状構造の一部と、紡錘形細胞に陽性を示した。また、WT-1はごく少数の細胞が陽性を示したのみであった。その他の抗体は全て陰性であった。電子顕微鏡検索では、微絨毛及び発達したデスモゾームが確認された。【まとめ】以上の結果より、本腫瘍は、その形態学的特徴より悪性中皮腫である可能性が高いと考えられた。

## 9週齢のSDラットに認められた血管肉腫の一例

○白木 克尚<sup>1)</sup>, 小野 美穂子<sup>2)</sup>, 梶川 悟<sup>2)</sup>, 竹内 文乃<sup>2)</sup>, 村上 雄一<sup>2)</sup>, 穴川 明子<sup>2)</sup>, 松本 正博<sup>2)</sup>, 大石 裕司<sup>2)</sup>

(1)アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室)

SD系ラットでの自然発生の血管肉腫の発生率は非常に低い。今回、9週齢ラットの自然発生血管肉腫に遭遇したので報告する。【材料・方法】症例は1週間反復投与毒性試験の中間用量群に用いられ計画解剖された9週齢Crj:CD(SD)IGS系雄ラットである。一般症状観察、血液および血液生化学検査では異常は認められなかった。剖検では脾臓が腫大し、大小の白色結節が多数認められた。断面は灰白色充実性で、一部赤色を呈していた。肝臓にも小型の白色結節が散在していた。他には肉眼的異常は認められなかった。全身諸臓器を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、定法に従い、パラフィン包埋、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、組織学的検査を行った。なお、脾臓及び肝臓については免疫染色・電子顕微鏡検査も行った。【結果】病理組織学的に、脾臓は殆ど腫瘍細胞により置換し、一部残存した正常組織との境界部分では、被膜形成はなく浸潤性の増殖が認められた。腫瘍細胞は大部分でシート状に充実性に配列していたが、一部では渦巻状配列あるいは不明瞭ながら区画された小胞巣状を示した。腫瘍細胞は好塩基性で紡錘形を示し、細胞境界は不明瞭で、核は類円形～紡錘形を示し、核分裂像が多数認められた。小胞巣状を示した腫瘍細胞の間には赤血球を容れた不規則な血管様構造が観察された。肉眼で赤色を呈した部分は血腫であった。肝臓の結節も同様の組織像であったが、主に類洞内に位置していた。組織検査では、同様の腫瘍細胞の増殖が、副腎髄質(片側)および脾門部リンパ節に認められた。その他の臓器・組織では、特記すべき変化は認められなかった。免疫染色では、脈管内皮のマーカーであるVimentin, Factor VIII, CD34に陽性、リンパ管内皮に特異的に発現するPodoplaninに陰性を示した。電子顕微鏡検査では腫瘍細胞内に血管内皮細胞に特有とされるWeibel-Palade 小体様構造が認められた。【まとめ】以上の結果から、本症例は脾臓原発の血管肉腫と診断した。SDラットでの自然発生の血管由来の腫瘍の発生率0~2.8%と非常に低く、中でも血管肉腫と診断されるものは0.1~0.9%と更に発生率は低い。また、平均発症週齢も90~107週齢と、今回のように9週齢での発症例は極めて稀なケースであると思われた。

## \*P-108

## ラットにおけるオゾケライトの慢性反復投与毒性試験

○鈴木 裕太<sup>1)</sup>, 木島 綾希<sup>1)</sup>, 田崎 雅子<sup>1)</sup>, 井上 知紀<sup>1)</sup>, 岡村 俊也<sup>1)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>

(1)国立医薬品食品衛生研究所)

【目的】オゾケライトはワックスシュールの鉍脈に含まれるロウを精製したもので、主にチューインガムのガムベースとして使用されている他、口紅、リップクリーム等の化粧品の油性成分の固化剤としても使用されている。しかし、その安全性についてはこれまでほとんど報告はなく、90日間反復投与毒性試験が近年報告され、諸臓器における小肉芽腫瘍が観察された。そこで今回、さらに長期投与の影響を検索する目的でラットを用いた1年間の慢性毒性試験を実施した。【方法】6週齢のF344/DuCrjラットに、オゾケライトを0(対照)、0.05、0.1、0.2%濃度で混餌投与した。投与期間中は、体重および摂餌量を測定し、投与終了後はエーテル麻酔下で開腹して採血後、血液及び血清生化学的検査を行い、剖検時には主要臓器の臓器重量を測定し、定法に従って組織標本を作製、病理組織学的検索を行った。【結果】雄の0.1%以上の投与群で有意な体重増加抑制が認められた。血液学的検査では、雄の0.1%以上の投与群で赤血球パラメータおよびPLTの有意な低値並びにWBCの有意な高値が認められ、雌の0.1%以上の投与群で赤血球パラメータに有意な低値が散見され、PLTおよびWBCにも有意な低値が認められた。血清生化学的検査では、雌雄の0.05%以上の投与群において肝臓および腎臓障害を示唆するパラメータに変動があり、特にASTおよびALTの有意な高値が示された。臓器重量では、雄の0.1%以上の投与群で肝臓、脾臓及び肺の有意な高値、0.2%投与群で腎臓の有意な高値が認められ、雌では、0.1%以上の投与群で肝臓および脾臓の有意な高値が認められた。肉眼所見では、雌雄の0.05%以上の投与群の脾臓および脾リンパ節の腫大ならびに黄色化を伴った肝臓腫大が認められた。一部終了した病理組織学的検索結果からは高用量群の肝臓に多発性肉芽腫が認められた。【考察】試験期間中、摂餌量に変化がなかったことから、雄の体重増加抑制は、オゾケライト投与に起因するものと考えられた。また、血液学、血清生化学的検査結果および臓器重量の変化から、オゾケライトは肝臓、脾臓、肺、腎臓、血液に毒性影響を及ぼす可能性が示された。また、肝臓における肉芽腫の発生は難分解性高分子化合物大量摂取に起因しているものと推察されたが、他の臓器の詳細な病理組織検査結果と併せて報告する。

\*P-109

## 昆布エキスの90日間反復投与毒性試験

○菅 直人<sup>1)</sup>, 多胡 善幸<sup>1)</sup>, 北野 光昭<sup>1)</sup>, 大西 真里子<sup>1)</sup>, 鰐淵 英機<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 都市環境病理学)

**【目的】**コンブはコンブ科に属する海藻で、ミネラルやビタミンなどを多く含む食品として広く知られており、昆布エキスは健康食品として販売されている。しかしながら、安全性評価に関する報告はほとんどない。そこで本研究では、ラットを用いた90日間反復投与毒性試験を実施した。

**【方法】**動物は、6週齢の雌雄F344ラット、各群10匹を用いた。雌雄の各群には1.0%、2.0%および4.0%の昆布エキスを基礎飼料であるCRF-1にそれぞれ混じり、90日間混餌投与した。対照群にはCRF-1のみを投与した。検索項目は、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的病理検査および病理組織学的検査とした。

**【結果】**試験期間を通じて雌雄とも一般状態に変化は認められず、死亡動物もみられなかった。また体重、摂餌量および摂水量のいずれにおいても対照群と比較して有意な変化は認められなかった。なお、昆布エキスの摂取量は、雌雄ともに用量にほぼ依存していた。血液学的検査では、雄では全投与群でいずれの項目においても対照群と比較して有意な変化は認められなかった。雌では、対照群と比較して2.0%および4.0%投与群でHt、MCVの有意な増加およびMCHCの有意な減少がみられた。血液生化学的検査では、雄では対照群と比較して4.0%投与群でALPの有意な増加がみられた。また雌雄とも4.0%投与群でT-Cho有意な増加がみられた。尿検査においては、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。臓器重量において、絶対重量では、雄では対照群と比較して2.0%および4.0%投与群の胸腺で有意な増加がみられた。また雌では対照群と比較して4.0%投与群の心臓、脾臓、肝臓で有意な増加がみられた。相対重量では、雌で対照群と比較して4.0%投与群の肝臓で有意な増加がみられた。現在、病理組織解析中であり、その結果および総合的な考察をもとに無毒性量 (NOAEL) を設定する予定である。

\*P-110

## メタボリックシンドロームモデルSHR/NDmcr-cpにおける 病態発現に伴う病理組織学的変化

○川井 康司<sup>1)</sup>, 原田 秀一<sup>2)</sup>, 佐藤 寛子<sup>1)</sup>, 高橋 明子<sup>1)</sup>, 坂入 鉄也<sup>1)</sup>, 久米 英介<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>田辺三菱製薬(株) 安全性研究所, <sup>2)</sup>田辺三菱製薬(株) 薬理研究所)

**【目的】**SHR/NDmcr-cp (以下SHRcp) はレプチン受容体遺伝子にナンセンス変異を持ち、高血圧、肥満、高血糖を自然発症するラットである。本系統はメタボリックシンドロームや2型糖尿病腎症のモデル動物として知られるが、腎臓以外での病理組織学的変化についての報告は少ない。本研究では、通常食又は糖尿病誘発食で20週間飼育した場合の臨床検査値の変動および主要臓器の病理学的変化について検索を行い、本系統の特徴について精査した。**【材料および方法】**SHRcp (日本SLC) を7週齢で群分け後、通常食 (MRストック, 日本農産) および糖尿病誘発食 (MR-DBT, 日本農産) によって維持し、4週毎に体重、血圧、血糖値およびHbA1cの測定および尿検査を行った。試験開始20週後に剖検を行い、血液学的検査、血液生化学的検査および病理解剖学的検査を行った。また、肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、膵臓、大動脈、腸間膜動静脈を病理組織学的検査に供した。**【結果】**SHRcpの血圧 (前値検査で平均約125 mmHg) は、試験開始後はいずれの飼料においても8週まで経時的に値が上昇し、8週以降は約160~180 mmHgの間で推移した。血糖値 (前値検査で約110 mg/dL) は、糖尿病誘発食群では4~12週にかけて高値を示し、その平均値はおおよそ170~230 mg/dLであったが、以降は低下傾向にあった。通常食群では血糖値の上昇はごく軽度であった。剖検時の血液生化学的検査においてはいずれの飼料においても総コレステロール、トリグリセリド、リン脂質が高値を示した。病理組織学的には、肝臓における肝細胞空胞化、腎臓におけるメサングウム領域の拡張・糸球体の分節状硬化・硝子円柱・好塩基性尿管の増加・皮質における炎症細胞浸潤、膵臓における膵島過形成が認められた。肝細胞空胞化、硝子円柱および好塩基性尿管の増加は、糖尿病誘発食群で増強した。その他の臓器では病態に関連した組織学的変化は認められなかった。**【まとめ】**SHRcpはヒトのメタボリックシンドロームと類似した病態を発症し、他の糖尿病腎症モデルと類似した腎臓病変を形成することが確認された。しかし、本試験においては血糖値の変動は糖尿病誘発食群においても一過性のものであった。また、膵島の過形成は他の糖尿病モデルと比較し著しく、本系統に特徴的であると思われた。

## WistarHannover/Rcc系ラットの104週間の長期飼育

○古川 文夫<sup>1)</sup>, 土井 悠子<sup>1)</sup>, 難波江 恭子<sup>1)</sup>, 伊藤 光<sup>1)</sup>, 河部 真弓<sup>1)</sup>, 萩原 昭裕<sup>1)</sup>, 玉野 静光<sup>1)</sup>

(1) (株) DIMS医科学研究所)

【はじめに】 がん原性試験では主としてF344ラットやSDラットが用いられているが、長期飼育における体重増加や自然発生腫瘍による生存率の低下が指摘されていることにより、米国NTPではWistarHannover系ラットを新たに選択した。今後、我が国でもWistarHannoverによるがん原性試験が望まれることから、背景データの蓄積を目的として2年間の長期飼育を行い自然発生腫瘍について検討した。【実験方法】 6週齢Slc:WistarHannover/Rccラット雄55匹、雌55匹（日本SLC）にMF固形飼料と水道水を自由に与え、ポリカーボネートケージ（床敷き：ベータチップ）にて104週間無処置で飼育し、経時的に尿検査を実施するとともに、最終屠殺時には血液生化学的検査、血液学的検査、病理組織学的検索を実施した。【結果およびまとめ】 105週の生存率は雄ラットで62%、雌で55%、平均最終体重は雄で602g、雌で411gであった。2年間の平均摂餌量は雄で21.3g/day、雌で15.6g/day、2年間の平均摂水量は雄で30.8g/day、雌で31.9g/dayであった。雌雄に共通に認められた主たる病理組織学的変化は、下垂体の過形成および腺腫、甲状腺のC細胞過形成、肝臓の変異巣であった。また、雄に発生した主たる病変は慢性腎症、副腎皮質の過形成、臍動脈と思われる動脈周囲炎、雌では乳腺の腺腫および線維腺腫であった。F344ラットの自然発生腫瘍と比較して臍のラ氏島、副腎、精巣、子宮、乳腺、白血病、包皮/陰核腺、軟部組織および肺の腫瘍は低率であった。

## 雌カニクイザルにおける加齢性病変と卵巣摘出の影響

○笹木 祐司<sup>1)</sup>, 児玉 倫哉<sup>1)</sup>, 楊 秀英<sup>1)</sup>, 上村 裕洋<sup>1)</sup>, 永岡 隆晴<sup>1)</sup>

(1) (株式会社 新日本科学)

【はじめに】 第22回毒性病理学会学術集会において我々は、雌のカニクイザル及びアカゲザルの生殖器及び乳腺における加齢性病変について報告した。今回は、同じカニクイザルの全身臓器を病理組織学的に検索し、加齢性病変の出現状況及び卵巣摘出の影響について検討した。【材料及び方法】 中国産のカニクイザルを用い、無処置の10歳から16歳の雌12匹（非卵摘サル）及び約10歳で卵巣を摘出した15歳から17歳の雌12匹（卵摘サル）のホルマリン固定、パラフィン包埋した全身臓器について病理組織学的検査を実施した。また、解剖日に採血し測定を行った血液学的検査、血液生化学的検査、血清中エストロゲン及びプロゲステロン濃度について検討した。【結果】 非卵摘サルでは加齢性病変として、腎臓糸球体のメサンギウム細胞及び基質の増加並びに糸球体係蹄壁の肥厚、腎臓間質の単核細胞浸潤及び線維化、大脳及び小脳の黄褐色色素沈着（神経細胞外）、臍島細胞の空胞化がみられた。一方、卵摘サルでは、3匹で臍島アミロイド沈着がみられ、非卵摘サルと比較して、下垂体前葉の塩基好性細胞の増生、腫大及び空胞化が強く、大動脈の内膜肥厚の増加傾向がみられた（非卵摘サル2/12匹、卵摘サル5/12匹）。腎臓の糸球体及び間質の病変、大脳及び小脳の黄褐色色素沈着、臍島細胞の空胞化の頻度及び程度は非卵摘サルと同等であった。増殖性病変としては、卵巣の奇形腫及び乳腺の過形成が非卵摘サル各1匹に、肺の肺胞/気管支上皮の過形成及び十二指腸腺の乳頭状過形成が卵摘サル各1匹にみられた。血液生化学的検査では、卵摘サルで血糖値が高く、臍島アミロイド沈着のみられたサルで特に高値を示した。血清中ホルモン濃度測定では、卵摘サルではエストロゲンが全例で、プロゲステロンが11匹で定量下限値以下であった。【まとめ】 加齢性病変としては腎臓の糸球体病変が顕著であったが、非卵摘サルと卵摘サルの間には明らかな差はみられなかった。一方、卵摘サルでは、臍島のアミロイド沈着がみられ、非卵摘サルと比較して下垂体前葉の塩基好性細胞の腫大、増生が強く現れ、大動脈において内膜肥厚の増加傾向がみられており、これらの変化には卵巣ホルモンの関与が考えられた。

**\*P-113**

## **Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) cooperates with Src Family Kinases (SFKs) in acquired resistance to cetuximab**

○Mari Iida<sup>1)</sup>, Kruser Tim<sup>1)</sup>, Ghia Amol<sup>1)</sup>, Nechrebecki Meghan<sup>1)</sup>, Armstrong Eric<sup>1)</sup>,  
Huang Shyhmin<sup>1)</sup>, Harari Paul<sup>1)</sup>, Wheeler Deric<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>ウイスクンシン大学)

The EGFR is a receptor tyrosine kinase that plays a major role in oncogenesis. Cetuximab is an EGFR blocking antibody that is FDA approved for use in metastatic colorectal cancer, head and neck squamous cell carcinoma and non-small cell lung cancer (NSCLC). Although cetuximab has shown strong clinical benefit many individuals become refractory to cetuximab therapy. We reported that cetuximab resistant NSCLC line NCI-H226 cells have increased steady-state expression of EGFR secondary to altered trafficking/degradation and this increase in EGFR expression leads to hyper-activation of HER3 and its down stream signals to survival. We present that Src family kinases (SFKs) are highly activated in cetuximab resistant cells and enhance EGFR activation of HER3 and PI(3)K/Akt. Studies using the FDA approved Src kinase inhibitor dasatinib decreased HER3 activity followed by loss of PI(3)K/Akt. Dasatinib therapy re-sensitized cetuximab resistant cells to cetuximab therapy. These results indicate that SFKs and the EGFR cooperate in acquired resistance to cetuximab and suggest that dasatinib therapy in combination with cetuximab may have strong clinical benefit.

**P-114**

## **The role of phosphoinositide 3-kinases/Akt signaling pathway in maintenance of cancer stem-like cells of human malignant mesothelioma cell lines**

○Kiyonori Kai<sup>1),2)</sup>, Susan D'Costa<sup>1)</sup>, Marcelo Rodriguez-Puebla<sup>1)</sup>, Arnold R. Brody<sup>1)</sup>, and Yongbaek Kim<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>NCSU PHP, <sup>2)</sup>Daiichi Sankyo Co., Ltd.)

Side population (SP) cells determined by flow cytometry using Hoechst 33342 dye staining are known to be enriched for tumor initiating cells, so called cancer stem cells.

SP cells from NCI-H513 and MS-1, human malignant mesothelioma (HMM) cell lines, were significantly decreased by treatment with verapamil hydrochloride, a blocker of ABC transporter, and survived treatment with cisplatin, a DNA-damaging anticancer drug. Sorted SP cells exhibited higher clonogenicity than non-SP (NSP) cells and generated both SP and NSP cells, indicating self-renewability. Stem cell properties of SP cells were further supported by upregulation of stemness genes such as ABCG2, BMI1, OCT4 and NOTCH1. Moreover, phosphoinositide 3-kinases (PI3K)/AKT inhibition by LY294002 decreased SP fraction in conjunction with down-regulation of OCT4.

The data demonstrated that PI3K/AKT signaling pathway plays a crucial role in maintenance of SP cells of HMM, which would provide new insights into tumorigenesis and chemoresistance.

# 発表者索引

(数字は演題番号)

## A

阿部 正義 P-94  
 阿邊山 和浩 P-95  
 足立 健児 P-46  
 足立 民子 WS2-9, P-86  
 吾郷 恭平 O-3  
 相磯 成敏 P-73, P-101  
 天野 幸紀 P-29  
 穴川 明子 P-100, P-107  
 穴山 久志 P-80  
 安藤 弘 P-57  
 安藤 亮 P-3, P-4, P-103  
 安藤 洋介 WS1-1, P-44  
 青木 正美 WS1-2  
 青木 桜 P-43, P-44  
 青木 豊 WS1-6  
 青木 豊彦 WS2-8  
 青山 博昭 O-8  
 Apic Gordana P-43  
 Armstrong Eric P-113  
 朝日山 壮登 P-29  
 朝元 誠人 P-17, P-40, P-84  
 浅岡 由次 P-76

## B

坂 芳樹 P-31  
 Bergeron T. P-20  
 Bonner Frank P-43  
 Brody, Arnold R. P-114

## C

曹 雪源 P-10  
 Cardy, Richard H. P-49  
 千葉 真由美 WS2-3  
 千葉 裕子 P-2  
 千早 豊 P-50  
 陳 慶義 P-5, P-55  
 曹 永晚 P-35, P-36, P-54  
 Cornwall O. P-20  
 Cosovic Bojana P-43

## D

アレクサンダー ダビッド O-9  
 Davis W. P-20  
 D'Costa Susan P-114  
 出川 雅邦 P-75  
 出羽 康明 O-3, P-13, P-70, P-72, P-74

土井 賢一郎 P-93  
 土居 卓也 P-33  
 土井 悠子 P-111  
 Dunstan R. P-20, P-97

## E

江田 景 P-53  
 枝元 洋 P-106  
 遠藤 悦美 P-29  
 Ezar Hafez P-67

## F

藤平 司郎 P-51, P-100  
 藤井 悦子 P-105  
 藤井 健司 P-68  
 富士本 仁 O-6, P-34  
 藤本 成明 P-75  
 藤澤 可恵 P-18, P-23, P-48  
 藤島 純子 P-50  
 藤田 麻里子 P-3  
 藤原 道夫 WS2-7  
 深町 勝巳 O-9, P-42, P-64  
 福田 良 P-80  
 福田 貴子 P-42  
 福原 潔 P-16, P-78  
 福井 元子 WS2-1  
 福井 理恵 WS2-3  
 福森 信隆 O-10  
 福永 八千代 P-58, P-106  
 福島 昭治 WS1-5, P-73, P-101  
 福山 朋季 P-62  
 古坊 真一 WS2-3  
 古川 文夫 P-38, P-111  
 古川 初江 P-80  
 古川 賢 P-94  
 古川 忠司 WS1-1, WS2-4  
 古川 知宏 P-61  
 二口 充 O-9, P-64

## G

Ghia Arnol P-113  
 御領 政信 P-76

## H

萩原 昭裕 P-38, P-111  
 羽子田 真理 P-42  
 浜村 政夫 P-19  
 原 明 O-2  
 原田 大輔 P-89

原田 聡子 P-27  
 原田 秀一 P-110  
 原田 孝則 O-8, P-2, P-62, P-65

Harari Paul P-113  
 長谷川 和成 P-9, P-85  
 長谷川 美奈 WS1-4  
 長谷川 也須子 P-45, P-77  
 橋本 希 O-5, P-63  
 橋本 知水 P-88  
 畠山 洋文 P-52  
 早川 和宏 WS2-8  
 早坂 郁夫 P-27  
 林 宏行 P-39  
 林 仁美 P-22  
 林 宏一 O-8  
 林 守道 WS2-6  
 林 清吾 P-94  
 林 修次 O-4, P-32, P-46  
 樋口 逸郎 P-95  
 樋野 興夫 P-79  
 平林 義雄 P-68  
 平井 加津子 WS1-2  
 平川 公昭 P-50  
 平田 暁大 O-2, P-76  
 広瀬 明彦 O-9, O-10  
 広瀬 雅雄 O-6, P-34  
 蛭間 正巳 P-53  
 久田 茂 WS2-1  
 樋渡 卓郎 P-22  
 竇来 直人 P-95  
 堀 邦夫 P-98  
 星谷 達 P-106  
 細井 理代 P-9, P-85  
 細川 暁 WS2-8  
 保高 秀匡 P-6, P-81  
 Huang Shyhmin P-113  
 船生 志乃 P-29

## I

市村 英資 P-22  
 井手 美佳 WS1-4  
 Iida Mari P-113  
 飯田 昌敏 P-1  
 飯郷 正明 O-9, P-64  
 池田 結花 P-68  
 池崎 信一郎 P-3  
 今井 海 P-6, P-81  
 今井 清 O-10, P-9, P-85  
 今井 良悦 WS1-2  
 今井 俊夫 P-35, P-36, P-54  
 今井田 克己 O-5, P-63  
 今泉 美波 P-89

伊奈 康博 P-89  
猪又 晃 WS2-8  
井上 薫 P-24, P-25, P-34  
井上 知紀 P-14, P-15, P-16,  
P-39, P-66, P-71,  
P-78, P-108  
井上 義之 P-64  
乾 公正 P-102  
乾 直美 WS1-2, P-80  
石田 憲太 P-6, P-81  
石黒 司 P-27  
石井 真美 P-41, P-93  
石井 俊一郎 WS2-9, P-86  
石井 雄二 P-14, P-15, P-16,  
P-66, P-71, P-78,  
P-108  
石村 美祐 P-49  
石澤 由希 P-37, P-92  
伊東 篤志 WS2-2  
伊藤 光 P-111  
伊藤 和美 WS1-1, P-44  
伊藤 伸 WS2-7  
伊藤 隆司 WS1-2  
岩城 理進 P-96  
岩田 良香 P-32  
井澤 武史 P-47, P-90, P-91  
泉 啓介 P-67

J

金 美蘭 O-6, P-13, P-34,  
P-70, P-72, P-74  
Johnson T. P-20

K

蒲 雄一 P-58  
門倉 豪臣 P-61  
香川 雅孝 P-29  
Kai Kiyonori P-114  
梶川 悟 P-26, P-51, P-100,  
P-107  
楫野 恵美子 P-53  
梯 アンナ WS1-5, P-5, P-41,  
P-87, P-93  
柿沼 志津子 P-79  
上村 裕洋 P-50, P-61, P-95,  
P-112  
神田 千恵 P-84  
神田 一男 P-80  
兼田 直人 P-45, P-77  
金光 弘幸 O-7  
蟹江 尚平 P-93  
菅野 純 O-9  
菅野 剛 P-1  
檜本 幸子 O-8, P-2, P-62,  
P-65  
片桐 卓 P-73, P-101  
加藤 淳彦 P-32, P-46, P-105  
加藤 千恵 P-105

加藤 光保 P-12  
可徳 小四郎 P-19  
河部 真弓 P-111  
川井 康司 P-110  
川合 正臣 O-6, P-13, P-34,  
P-70, P-72, P-74  
河又 康子 P-55  
川村 祐司 P-39  
木原 亨 P-9, P-85  
木島 綾希 P-14, P-16, P-108  
菊地 文健 P-42  
Kim Yongbaek P-114  
木本 直哉 P-89  
木村 敬 WS2-2  
木村 康 WS2-3  
北橋 宗 P-7  
北村 和之 WS2-9, P-86  
北野 光昭 O-4, P-109  
清川 順平 P-32  
清川 見香 P-37, P-92  
清澤 直樹 WS1-1, P-44  
木澤 和夫 WS2-3  
小林 欣滋 P-90  
小林 康子 P-6, P-81  
小林 吉彦 P-53  
児玉 倫哉 P-95, P-112  
児玉 安史 P-69  
児玉 幸夫 P-14, P-66  
古賀 真昭 P-28  
小平 輝朋 WS2-5, P-30  
小泉 治子 P-52  
爰島 洋子 P-33, P-88  
小久保 年章 P-79  
小松 真彦 O-7, P-4  
小宮 雅美 P-83  
小西 良子 P-24  
小坂 忠司 O-8, P-62  
小谷 猛夫 P-90, P-91  
小谷 百合 P-88  
小寺 喬 P-28  
Kruser Tim P-113  
久保 喜一 P-57  
工藤 佳代子 P-3  
隈部 志野 P-19  
熊谷 文明 P-59  
熊谷 和善 WS1-1, P-44  
熊澤 俊彦 P-27  
久米 英介 P-110  
久野 壽也 O-5, P-63  
倉田 靖 P-39  
黒田 淳二 WS2-6  
黒岩 有一 P-71  
黒滝 哲郎 P-1  
串田 昌彦 P-42, P-56, P-104  
串間 清司 WS2-7  
楠岡 修 P-7  
桑形 麻樹子 P-59  
桑原 真紀 O-8, P-2, P-62,  
P-65

桑村 充 WS1-4, P-18,  
P-47, P-48, P-90,  
P-91  
歙先 恵美子 P-19

M

前田 博 P-50, P-61  
前川 昭彦 O-10  
真船 直美 WS2-2  
真鍋 淳 WS1-1, WS2-4,  
P-44  
丸山 敏之 P-18, P-23  
柵木 利昭 P-10, P-76  
増井 則夫 P-15, P-78  
増村 健一 P-39  
増野 功一 P-18, P-23  
松原 亨一 P-105  
松田 みゆき P-95  
松江 健太 P-31, P-68  
松井 元 P-37, P-92  
松井 高峯 P-23  
松本 英希 P-55  
松本 正博 WS2-7, P-100,  
P-107  
松本 明 O-6, P-13, P-34,  
P-70, P-72, P-74,  
P-98  
松本 好枝 WS1-2  
松根 圭子 WS1-3  
松尾 沙織里 P-32, P-46  
松尾 成喜 WS2-7  
松島 圭太 P-58, P-103  
松浦 哲郎 P-21, P-69  
松山 拓矢 WS1-1, WS2-4  
味方 和樹 P-42  
蓑毛 博文 P-61  
三井 雅之 P-7  
満石 三喜男 P-19  
三森 国敏 O-3, O-6, P-13,  
P-34, P-70, P-72,  
P-74, P-98  
宮島 留美子 P-9, P-85  
宮本 由美子 WS1-2  
宮田 裕人 P-96  
宮田 かおり P-42, P-104  
三好 昌夫 P-32, P-46, P-105  
溝口 啓二 P-32  
桃澤 由妃 WS2-8  
森 聖 P-56  
森本 泰夫 P-8  
本橋 昌也 P-6, P-81  
村井 文 P-48  
村井 隆 P-18, P-23  
村上 雄一 P-51, P-107  
務台 衛 WS2-9  
武藤 朋子 P-6, P-81

## N

難波江 恭子 P-111  
 長井 大地 P-22  
 永井 博文 WS1-3  
 永池 美香 P-102  
 長野 嘉介 P-73, P-101  
 永岡 隆晴 P-50, P-95, P-112  
 長澤 明道 P-57  
 長澤 達也 WS2-6  
 永田 伴子 P-59  
 永谷 真理子 P-103  
 内木 綾 P-17, P-82, P-84  
 内木 拓 P-17, P-84  
 中江 大 O-10, P-57  
 中原 豊 P-19  
 中島 淳志 P-27  
 中島 幹夫 WS2-5, P-30  
 中間 和浩 P-61  
 中村 憲彦 P-4  
 中野 健二 WS1-6  
 中野 今日子 WS2-8  
 中野 暢也 P-44  
 中島 弘尚 P-38  
 中島 信明 P-2, P-62, P-65  
 仲辻 俊二 WS2-7, P-26, P-51  
 中山 裕之 O-7  
 中山 由美子 P-42  
 中澤 朋美 P-3, P-4, P-106  
 南部 智美 P-38  
 奈良間 功 P-21, P-23, P-69  
 奈良岡 準 WS1-6  
 Nechrebecki Meghan P-113  
 根本 清光 P-75  
 西口 礼子 P-97  
 西原 香織 P-4  
 西川 秋佳 O-6, P-14, P-15, P-16, P-24, P-25, P-34, P-35, P-36, P-39, P-54, P-66, P-71, P-75, P-78, P-108  
 西川 哲 P-79  
 錦邊 優 P-31  
 西村 次平 O-3, P-13, P-29, P-70, P-72, P-74  
 西村 信雄 P-3  
 西村 哲治 O-9, O-10  
 西岡 和彦 P-42  
 野口 ちひろ P-96  
 能美 健彦 P-14, P-15, P-39, P-66, P-78  
 野村 護 P-52  
 能登 貴久 P-26, P-51  
 野崎 佑介 WS2-3  
 布谷 鉄夫 P-45

## O

越智 誠支 P-28  
 大神 明 P-8  
 小縣 昭夫 O-10, P-57  
 緒方 敬子 P-104  
 小川 いづみ P-94  
 小川 久美子 P-40, P-82, P-83  
 小川 三由紀 P-38  
 小川 哲郎 P-59  
 大橋 文人 P-48  
 大橋 則雄 O-10, P-57  
 大平 隆史 P-68  
 大平 東子 P-3, P-4  
 大久保 尚一 WS1-2  
 大沼 彩 P-2, P-62, P-65  
 大嶋 篤 P-45, P-77  
 太田 恵津子 P-68  
 大竹 幸代 WS2-1  
 大塚 亮一 O-8, P-65  
 大脇 健二 P-68  
 大石 裕司 WS2-7, P-26, P-51, P-100, P-107  
 岡田 幸助 P-76  
 岡田 味世子 WS2-9, P-86  
 岡村 俊也 P-14, P-15, P-16, P-66, P-71, P-78, P-108  
 岡崎 修三 O-7  
 岡崎 欣正 P-51, P-100  
 奥原 裕次 WS2-6  
 奥野 泰由 P-104  
 奥山 茂 P-96  
 恩田 伸彦 P-98  
 大西 真里子 P-56, P-109  
 大西 保行 P-105  
 小野 美穂子 P-26, P-107  
 小野里 知哉 WS2-6  
 押方 孝文 P-19  
 大島 正伸 P-10  
 大須賀 壮 P-68  
 太田 泰史 P-9, P-85  
 尾山 武 O-1, P-60  
 尾崎 圭介 P-104  
 尾崎 清和 P-21, P-69

## P

Potts Steven P-20, P-97, P-99

## R

Rodriguez-Puebla Marcelo P-114  
 Russell, Robert B. P-43  
 Ryan S. P-20

## S

三枝 雅 WS2-7  
 三枝 由紀恵 O-6, P-13, P-34, P-70, P-72, P-74  
 佐伯 幸司 P-89  
 雑賀 寛 P-22  
 斎藤 翼 P-3, P-4  
 斎藤 義明 P-59  
 斎藤 航 WS1-1, WS2-4  
 酒井 洋樹 P-10, P-76  
 坂井 良成 P-55  
 坂入 鉄也 P-110  
 阪本 晃佳 P-7, P-106  
 坂本 義光 O-10  
 櫻井 健 WS2-4  
 三分一所 厚司 WS2-4  
 佐野 文子 WS2-9, P-86  
 佐野 智弥 P-21, P-69  
 三善 隆広 WS2-3  
 竿尾 光祐 O-5, P-63  
 佐々木 淳 P-76  
 佐々木 稔 P-31, P-68  
 佐々木 啓 P-1, P-33  
 笹木 祐司 P-112  
 佐竹 茂 P-50  
 佐藤 寛子 P-110  
 佐藤 麻衣 P-21  
 佐藤 則博 WS2-5, P-30  
 佐藤 慎哉 P-40, P-82, P-83  
 佐藤 孝明 WS1-6  
 佐藤 崇裕 P-31  
 佐藤 靖 P-96  
 佐藤 洋 P-52  
 佐藤 順子 P-33, P-88  
 佐脇 正邦 P-52  
 妹尾 英樹 P-73, P-101  
 時 亮 P-10, P-11, P-12  
 柴山 寛司 P-28  
 渋谷 淳 O-3, O-6, P-13, P-34, P-70, P-72, P-74, P-98  
 渋谷 一元 P-45, P-77  
 志賀 敦史 P-9, P-85  
 志垣 隆通 P-37, P-92  
 島 智美 O-3  
 下井 昭仁 P-52  
 新屋 希子 P-37, P-92  
 塩田 清二 P-59  
 白井 真人 WS2-4  
 白井 智之 P-17, P-40, P-82, P-83, P-84  
 白岩 和己 P-103  
 白木 克尚 P-100, P-107  
 島田 義也 P-79  
 則座 由依 P-87  
 園田 二郎 WS2-8  
 宗心 知美 P-32, P-46  
 須藤 雄介 WS1-2  
 菅 直人 P-109

杉江 茂幸 O-1, P-60  
 杉本 次郎 WS2-9, P-86  
 須方 督夫 P-104  
 鈴木 愛 P-29  
 鈴木 一生 P-89  
 鈴木 雅実 P-32, P-46, P-105  
 鈴木 智 O-5, P-63  
 鈴木 周五 P-40  
 鈴木 裕太 P-14, P-16, P-66, P-108  
 鈴木 謙一 WS1-6

T

多田 幸恵 P-57  
 田川 義章 P-27  
 多胡 善幸 O-4, P-5, P-56, P-87, P-109  
 田島 悠 P-2, P-62, P-65  
 高場 克己 P-89  
 高田 千絵 P-89  
 高木 みづほ P-58, P-106  
 高木 司郎 WS2-9, P-86  
 高橋 明子 P-110  
 高橋 博 P-57  
 高橋 一彰 P-33  
 高橋 美和 O-3, P-24, P-25, P-34  
 高橋 尚史 O-8, P-2, P-62, P-65  
 高橋 智 P-40, P-82, P-83  
 高橋 徹行 P-67  
 高井 了 P-32  
 高井 有一 WS1-2, WS1-3, P-80  
 高見 健治 WS1-2  
 高見 成昭 P-35, P-36, P-54  
 高須 伸二 P-10, P-11  
 高月 峰夫 P-64  
 武田 真記夫 O-8, P-65  
 竹田 剛 P-89  
 武井 由弘 P-52  
 竹中 重雄 WS1-4  
 武田 賢和 WS2-8  
 竹内 文乃 P-26, P-107  
 瀧野 望 P-44  
 玉井 幸子 P-103  
 玉野 静光 P-38, P-111  
 玉置 憲一 P-105  
 田村 一利 O-7, P-3, P-4, P-7, P-58, P-103, P-106  
 田村 啓 WS2-6  
 棚治 隆史 P-27  
 田中 卓二 O-1, P-11, P-60  
 谷合 枝里子 O-3  
 田崎 雅子 P-14, P-15, P-16, P-66, P-71, P-78, P-108  
 楯 美樹 P-53  
 立松 正衛 P-10, P-11, P-12

田山 邦昭 O-10  
 寺西 宗広 WS1-1, WS2-4, P-44  
 徳永 裕司 O-9  
 富田 里美 P-37, P-92  
 友成 由紀 P-33  
 鳥井 幹則 P-18, P-23  
 東江 咲乃 P-55  
 豊田 和弘 P-9, P-85  
 豊田 尚美 P-15, P-39  
 豊田 武士 P-10, P-11  
 坪田 健次郎 WS2-7, P-26  
 土谷 稔 P-1, P-33, P-88  
 土屋 紀子 P-18, P-23  
 土屋 成一朗 P-102  
 土屋 毅幸 P-31  
 津田 洋幸 O-9, P-42, P-64  
 辻岡 繁春 P-31  
 辻内 俊文 P-7  
 塚本 徹哉 P-10, P-11  
 築館 一男 WS2-8  
 堤 雅弘 P-7

U

宇部 雅進 WS2-9, P-86  
 内田 和幸 O-7  
 内田 圭祐 WS2-5, P-30  
 内ヶ島 由加理 P-38  
 内野 博志 P-61  
 内野 正 O-9  
 上田 誠 P-28  
 植田 芳英 P-9, P-85  
 上塚 浩司 P-45  
 梅田 ゆみ P-73, P-101  
 梅村 隆志 P-14, P-15, P-16, P-39, P-66, P-71, P-78, P-108  
 牛島 壮太 P-19  
 牛島 俊和 O-2  
 白田 浩二 P-94  
 白見 憲司 P-59  
 宇和川 賢 P-42, P-104

V

ジュニアンテイト ベトニザ P-91  
 Voelker Frank P-99

W

涌生 ゆみ P-1  
 和久井 信 P-6, P-81  
 鰐淵 英機 WS1-5, O-4, P-5, P-41, P-56, P-87, P-93, P-109  
 渡邊 厚 WS2-5, P-30  
 渡部 浩治 WS1-6  
 渡邊 邦友 O-1

渡辺 満利 P-52  
 和藤 英司 P-29  
 魏 民 WS1-5, P-5, P-41, P-93  
 Wheeler Deric P-113  
 Wise David P-31  
 禹 桂炯 O-6

X

徐 結苟 O-9, P-64

Y

薮下 晴津子 P-42  
 八幡 めぐみ P-3  
 山田 直明 P-1  
 山田 智也 P-104  
 山田 泰広 O-2  
 山口 浩美 P-19  
 山口 悟 O-8, P-65  
 山口 裕子 P-58, P-106  
 山川 けいこ P-63  
 山川 誠己 P-103  
 山本 絵美 P-18, P-23, P-91  
 山本 美弥 P-102  
 山本 恵司 WS1-3  
 山本 昌美 P-10  
 山本 諭 O-7, P-4  
 山野 莊太郎 O-4, P-5, P-41  
 山岡 可奈子 P-38  
 山下 龍 P-45, P-77  
 山下 聡 O-2  
 山下 康弘 P-28  
 山手 丈至 WS1-4, P-18, P-47, P-48, P-90, P-91  
 山内 啓史 O-7  
 山内 研司 WS2-7  
 矢本 敬 WS1-1, P-44  
 柳井 徳磨 P-10, P-76  
 楊 秀英 P-50, P-112  
 矢野 範男 P-57  
 安井 由美子 O-1, P-60  
 安井 雄三 P-9, P-85  
 横平 政直 O-5, P-63  
 横井 亮平 WS2-6  
 吉田 緑 P-24, P-25, P-75, P-87  
 吉田 敏則 P-2, P-62, P-65  
 義澤 克彦 P-26, P-51  
 Yu Jau Chen P-105  
 湯澤 勝廣 P-57

Z

朱 久新 P-27



## 協賛法人・会社ご芳名

有限会社アグロトックス  
旭化成ファーマ株式会社  
味の素株式会社 医薬カンパニー医薬研究所  
あすか製薬株式会社  
アステラス製薬株式会社 安全性研究所  
アスピオファーマ株式会社  
岩井化学薬品株式会社  
エーザイ株式会社  
エルエスジー株式会社  
株式会社大塚製薬工場  
小野薬品工業株式会社  
財団法人化学物質評価研究機構 日田事業所  
株式会社化合物安全性研究所  
株式会社鎌倉テクノサイエンス  
学校法人北里研究所 生物製剤研究所  
キッセイ薬品工業株式会社  
杏林製薬株式会社  
協和発酵キリン株式会社  
株式会社ケー・エー・シー  
コーヴァンス・ジャパン株式会社  
株式会社札幌総合病理研究所  
サノフィ・アベンティス株式会社  
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社  
参天製薬株式会社  
財団法人残留農薬研究所  
株式会社三和化学研究所  
CTCラボラトリーシステムズ株式会社

ジーンデータ株式会社  
塩野義製薬株式会社 新薬研究所  
財団法人食品農医薬品安全性評価センター  
財団法人食品薬品安全センター  
株式会社新日本科学  
住友化学株式会社  
株式会社組織科学研究所  
第一三共株式会社 安全性研究所  
大正製薬株式会社 安全性・動態研究所  
大日本住友製薬株式会社 安全性研究所  
大鵬薬品工業株式会社  
武田薬品工業株式会社  
田辺三菱製薬株式会社 研究本部安全性研究所  
中外製薬株式会社  
帝人ファーマ株式会社  
株式会社DIMS医科学研究所  
日本イーライリリー株式会社  
株式会社日本医科学動物資材研究所  
日本新薬株式会社  
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所  
バイエル薬品株式会社  
ハムリー株式会社  
萬有製薬株式会社  
株式会社富士薬品 第二研究所  
株式会社ボゾリサーチセンター  
株式会社三菱化学安全科学研究所

## ランチョンセミナー共催会社ご芳名

アペリオ社  
日本農産工業株式会社

ハーランラボラトリーズ株式会社  
ハンティンドンライフサイエンス株式会社

## イブニングセミナー共催会社ご芳名

ハーランラボラトリーズ株式会社

## 商業展示会社ご芳名

アペリオ社  
株式会社イナリサーチ  
株式会社エイチ・アンド・ティー  
クラボウ  
株式会社ケー・エー・シー  
コーヴァンス・ジャパン株式会社  
CTCラボラトリーシステムズ株式会社  
ジーンデータ株式会社  
株式会社新日本科学  
株式会社組織科学研究所  
株式会社DIMS医科学研究所  
株式会社ニチレイバイオサイエンス

日生研株式会社  
株式会社日本医科学動物資材研究所  
日本ウォーターズ株式会社  
日本エスエルシー株式会社  
日本クレア株式会社  
日本チャールス・リバー株式会社  
日本農産工業株式会社  
ハーランラボラトリーズ株式会社  
浜松ホトニクス株式会社  
株式会社ボゾリサーチセンター  
株式会社山武

## 広告掲載会社ご芳名

株式会社ケー・エー・シー  
コーヴァンス・ジャパン株式会社  
財団法人残留農薬研究所  
財団法人食品農医薬品安全性評価センター  
株式会社新日本科学  
株式会社組織科学研究所  
第一三共株式会社  
第一三共ヘルスケア株式会社

株式会社DIMS医科学研究所  
日管株式会社  
株式会社日本医科学動物資材研究所  
日本エスエルシー株式会社  
日本農産工業株式会社  
日本バイオアッセイ研究センター  
ハーランラボラトリーズ株式会社  
株式会社バイオ病理研究所

## ドリンク協賛会社ご芳名

日本コカ・コーラ株式会社  
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所

第一三共ヘルスケア株式会社

## ネームホルダー協賛会社ご芳名

株式会社ボゾリサーチセンター

2008年12月15日現在 50音順

# 病理組織標本作製は

## さらなる進化へ

2007.3月「**病理用切り出しフォルダー**」新発売！  
詳細はwebにて掲載しております。

<http://www.biopathology.jp/folder/folder.htm>

### ●組織標本作製

HE染色標本作製(複数場所試験対応GLP、化学物質GLP、非GLP対応など)  
特殊染色標本作製(PAS, MT, Azan, LUNA, Bodian 染色など多数)  
免疫組織化学染色(CD, 関連IL関連抗体, TUNEL, 8-OHdG, IHC, IEL等多数)  
凍結切片・凍結非脱灰標本作製(脂肪染色・免疫染色対応)

### ●組織学的検査

GLPに則し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

### ●病理学的研究コンサルタント

研究企画から最終報告書まで

病理組織標本作製および検査

## 株式会社 バイオ病理研究所

Biopathology Institute Co., Ltd

〒873-0511

大分県国東市国東町小原1200-2

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

E-Mail: [mail@biopathology.jp](mailto:mail@biopathology.jp)

URL : <http://www.biopathology.jp>

## DIMS医科学研究所は

化学物質の発がん性の有無を短期的に予測することが可能な**中期発がん性試験**を開発確立した研究所です。そのユニークな方法と膨大な過去の成果から国際的に高い信頼と評価を得ており、新規化学物質の開発を推進する上で重要なデータを提供することができます。



GST-P陽性細胞集



中期発がん性試験開発ラボ

# DIMS

株式会社 DIMS医科学研究所  
DIMS Institute of Medical Science, Inc.

〒491-0113 愛知県一宮市浅井町西浅井郷裏64番地  
PHONE 0586-51-1201(代) FAX 0586-51-5634  
E-mail : [query@dims.co.jp](mailto:query@dims.co.jp)  
URL : <http://www.dims.co.jp>

### 【受託試験の内容】

医薬品、農薬、食品添加物などについて、マウスまたはラットを用いた下記の試験をGLP対応により実施いたします。

- 1 中期発がん性試験  
(肝、膀胱、胃、腎臓、肺、甲状腺、鼻腔、皮膚等)
- 2 中期多臓器発がん性試験
- 3 発がん性試験(がん原性試験)
- 4 一般毒性試験(単回および反復投与毒性試験)
- 5 病理組織標本の作製及び病理組織学的検査
- 6 肝癌肺自然転移モデル

# harlan™

Helping you do research better

## Hannover Wistar Rat

Harlan RcchHan™:WIST



<http://www.jla-net.com/>

(株) 日本医科学動物資材研究所

◎ 病理組織学的検査

病理組織標本作製

HE染色、特殊染色、免疫組織化学的染色、  
酸素組織化学的染色（GLP対応）

病理組織学的検査

Non-GLP試験（安全性試験、薬効薬理試験等）  
の実験病理組織標本作製および評価

硬組織標本作製

非脱灰、インプラント留置等の研磨標本作製  
非脱灰凍結切片作製

◎ 実験動物の飼育管理

◎ 薬理・安全性試験受託

◎ 研究者・技術者派遣

◎ 試薬提供

ヒト・各種動物組織由来製品  
血液由来製品など



本 社

〒604-8423  
京都市中京区西ノ京西月光町40番地  
TEL:075-801-9311  
FAX:075-801-7688  
E-mail:bseigy@kacnet.co.jp

東京本社

〒110-0001  
東京都台東区谷中3丁目25-6  
TEL:03-3822-9311  
FAX:03-3822-9313  
E-mail:tokyo@kacnet.co.jp

大阪事業所

〒567-0034  
大阪府茨木市中穂積1-2-51  
シャトー春日第3ビル502  
TEL:072-625-9311  
FAX:072-625-9320  
E-mail:@kacnet.co.jp

バイオサイエンス事業部 病理部

〒520-3001  
滋賀県粟東市東坂531-1  
TEL:077-558-3971  
FAX:077-558-3972  
E-mail:pathology@kacnet.co.jp

詳しくは弊社ホームページをご覧ください

<http://www.kacnet.co.jp>



病理組織標本作製と評価のプロフェッショナル

株式会社 組織科学研究所

病理組織学的検査

◆ 病理組織標本作製

1. GLP
  - ・省令およびGLPに基づいた安全性試験の病理組織標本作製
2. 非GLP
  - ・各種動物の病理組織標本作製
  - ・薬効薬理試験の病理組織標本作製および評価
  - ・特殊染色標本作製 ・免疫染色標本作製
  - ・インプラント、アパタイト、人工関節、ステント等のサンプルの組織標本作製（樹脂包埋）
  - ・組織マイクロアレイ法によるパラフィン切片作製
3. 臨床（動物）
  - ・臨床（動物）の病理組織標本作製および診断
  - ・遺伝子改変動物の表現型解析における病理組織学的スクリーニング
  - ・医学・歯学関係の学術研究用や学会発表用の病理組織標本作製

◆ 標本作製技術者の派遣

1. 業務委託 長期間
2. 人材派遣 短期間

◆ 病理組織標本作製技術者の研修

1. 新人病理組織標本作製技術者の研修
2. 病理組織標本作製技術者経験者研修コース
3. オーダー病理組織標本作製技術研修コース

◆ 各種分野におけるサポート・コンサルティング

1. 病理組織学的研究分野
2. 各種非臨床試験業務

30有余年の経験と実績に基づいた  
信頼性の高い技術を提供します

◆ 本社 問い合わせ先 ◆

〒198-0005 東京都青梅市黒沢2-984-1  
電話：0428-74-4741 FAX：0428-74-4505  
E-mail：info@hslabo.co.jp  
URL：http://www.hslabo.co.jp/



# かぜに

## Ⓐ 案!

## Ⓑ 案!



「はやく治って」なかぜに  
すぐ溶ける細粒。



「しっかり治って」なかぜに  
飲みやすい錠剤。



新ルルAゴールド 新ルルAゴールド細粒 かぜの諸症状の緩和 これらの医薬品は「使用上の注意」をよく読んで正しくお使い下さい。  
特にアレルギー体質の方は服用前に医師や薬剤師等にご相談下さい。 [医薬品]

<http://lulu.jp>



第一三共ヘルスケア

日本毒性病理学会の成功をお祈りします。



ご安心の24時間サービス

**NIKKAN**

本 社:浜松市中区池町220-4

支 店:東京 御殿場 沼津 静岡 焼津 掛川 湖西 刈谷 名古屋 大阪

営業所:三島 富士 吉田 御前崎 袋井 磐田 浜北 三方原 浜松西 三重 鈴鹿



# 新日本科学グループ

新薬の創生から評価まで

<http://www.snbl.com>

## 基礎研究

### トランスレーショナルリサーチ事業

#### ■Translational Research 株式会社

〒104-0044 東京都中央区明石町8番1号 聖路加タワー12階 TEL 03-5565-6148 FAX 03-5565-6208

## 前臨床試験

### 前臨床試験実施施設

#### ■株式会社新日本科学

・東京本社(営業統括部)  
TEL 03-5565-6140 FAX 03-5565-6141  
・大阪支社(営業統括部)  
TEL 06-6233-8432 FAX 06-6233-8433

#### ■SNBL U.S.A.,Ltd.

6605 Merrill Creek Parkway, Everett, WA 98203, USA  
TEL+1-425-407-0121 FAX +1-425-407-8601

#### ・安全性研究所

〒891-1394 鹿児島市宮之浦町2438  
TEL 099-294-2600 FAX 099-294-3619

#### ・薬物代謝分析センター

〒642-0017 和歌山県海南市南赤坂16-1  
海南インテリジェントパーク内  
TEL 073-483-8881 FAX 073-483-7377

## 臨床試験

### 臨床試験実施施設

#### ■SNBL Clinical Pharmacology Center, Inc.

800 West Baltimore Street, 5<sup>th</sup> Floor, Baltimore, Maryland 21201, USA  
TEL +1-800-690-9110 FAX +1-410-706-8963

## 承認審査

### CRO 事業

#### ■株式会社 新日本科学

・臨床事業部 東京本社  
〒104-0044 東京都中央区明石町8番1号  
聖路加タワー12階  
TEL 03-5565-3311 FAX 03-5565-3312  
・臨床事業部 大阪支社  
〒541-0044 大阪市中央区伏見町2-1-1  
三井住友銀行高麗橋ビル3階  
TEL 06-6233-8411 FAX 06-6233-8412  
・臨床事業部 生物統計部  
〒891-1394 鹿児島市宮之浦町2438  
TEL 099-294-2600 FAX 099-294-3619

### SMO 事業

#### ■株式会社 新日本科学臨床薬理研究所

・大阪本社  
〒541-0044 大阪市中央区伏見町2-1-1  
三井住友銀行高麗橋ビル9階  
TEL 06-4706-7630 FAX 06-4706-7640  
・福岡支社  
〒812-0011 福岡市博多区博多駅前3-2-1  
日本生命ビル5階  
TEL 092-415-6500 FAX 092-415-6501  
・鹿児島支社  
〒890-0081 鹿児島市唐湊4-21-1  
TEL 099-813-1088 FAX 099-813-1080  
・宮崎支社  
〒880-0032 宮崎市霧島3-111-1  
TEL 0985-35-2561 FAX 0985-22-6011

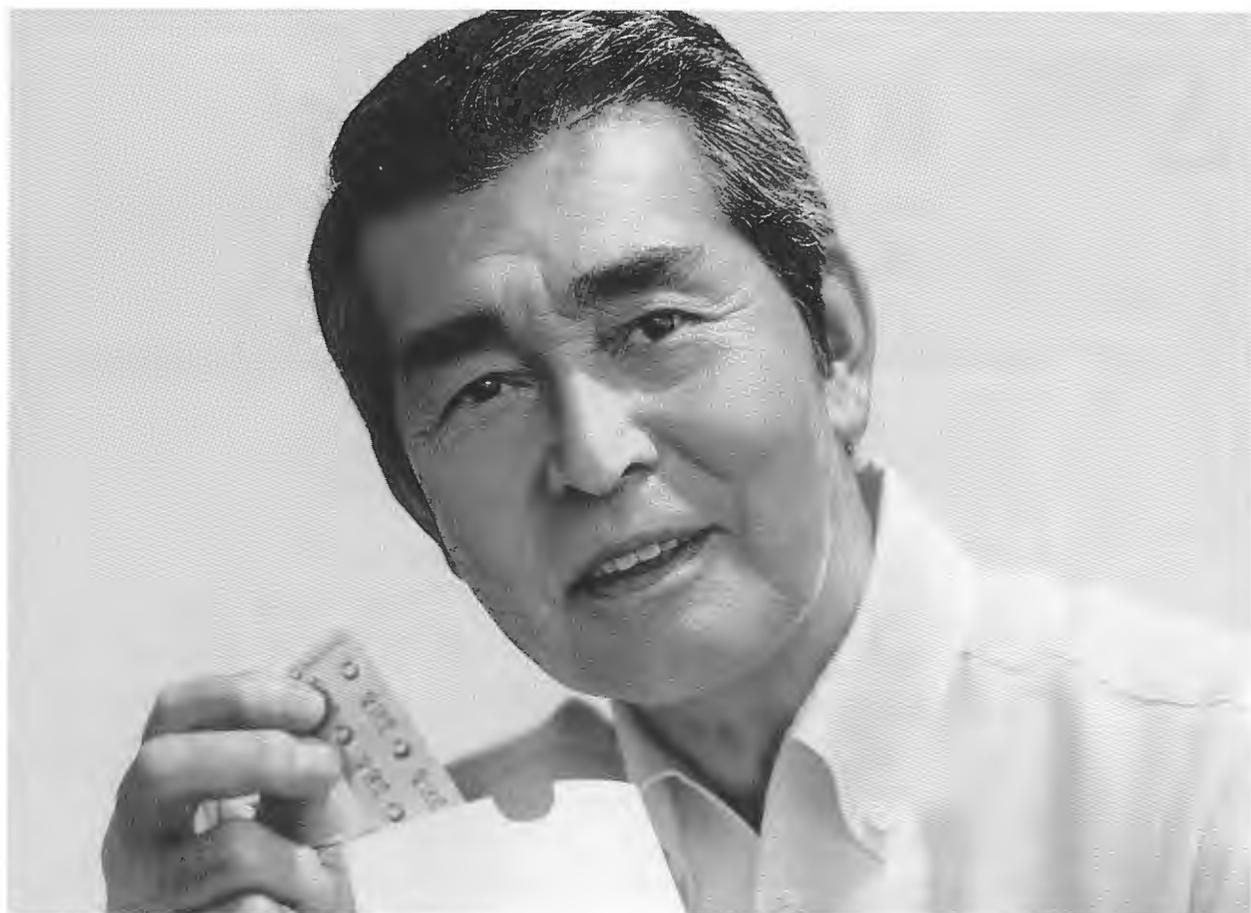
## 製造販売後 調査等



安全性研究所



SNBL U.S.A.,Ltd



「どんな薬か」だけじゃなく、  
「どこの薬か」を考えたことが  
ありますか。

世界には、まだ治すことができない病気がたくさんある。  
それは、製薬会社が挑み、克服すべき広大なフィールド。  
医療の現場へ画期的新薬を届けることは、  
私たちの大きな使命なのです。

たとえば、高コレステロール血症治療剤、高血圧症治療剤、  
広範囲経口抗菌製剤、消炎鎮痛剤など。

第一三共の研究開発力が新薬として結実し、  
世界中で服用されている例は、数多く存在します。  
10年、ときには20年におよぶ新薬開発。  
何万回もの挫折と挑戦をくり返す日々。  
その中で培われた多くの実績、新技術、そして情熱が、  
薬のひと粒ひと粒に込められているのです。

どこにも負けない先進の力で、  
いち早く有効な新薬を届けていく。

薬を手にするすべての人に、ふたたび大きな笑顔を。  
そんな、いのちのすこやかさを、めざして。

[www.daiichisankyo.co.jp](http://www.daiichisankyo.co.jp)

つくっているのは、希望です。  
第一三共株式会社



Daiichi-Sankyo



# Slc:WistarHannover/Rcc

日本エスエルシー(株)は、2004年に  
HanRcc:WIST(SPF)をRCC Ltd.から導入し、  
生産、供給を開始いたしました。  
このSlc:WistarHannover/Rccのオリジンである  
HanRcc:WIST(SPF)は、RCC Ltd.で豊富な背景データが  
蓄積されており、欧州での使用実績がある系統です。

毛色：アルビノ  
性質温順、発育良好  
長期毒性試験・生殖試験・薬理・薬効試験・各種研究に使用されております。



日本エス エル シー株式会社  
〒431-1103 静岡県浜松市西区湖東町3371番地の8  
TEL(053)486-3178(代) FAX(053)486-3156  
<http://www.jslc.co.jp/>

(Slc:WistarHannover/Rcc)に関する注文・お問い合わせは▼

営業専用 TEL 関東エリア(053)486-3155(代)  
関西エリア(053)486-3157(代)  
九州エリア(0942)41-1656(代)



## 肝障害・腎障害測定キット(ELISA)

### キットの特徴

● 肝・腎に特異的な毒性バイオマーカー

● 部位特異的な検出が可能

肝障害 肝・胆管

腎障害 近位尿細管・遠位尿細管・  
集合管・ヘンレ係蹄

● 簡便なサンプル取得

血清・尿・組織・肝細胞等



弊社では本学会にてブースを出展しております。是非お立ち寄りください。

### NOSAN

日本農産工業株式会社 ライフテック部

〒220-8146 横浜市西区みなとみらい2-2-1 ランドマークタワー46F  
Tel: 045-224-3733 Fax: 045-224-3737  
email: [bio@nosan.co.jp](mailto:bio@nosan.co.jp) web: <http://bio.nosan.co.jp>

# 非臨床試験の総合的安全性評価研究施設

長い経験と実績に基づく遺伝毒性試験とがん原性試験  
 豊富な毒性病理学的知識と経験に裏打ちされたメカニズム解析試験と  
 コンサルテーション

[www.anpyo.or.jp](http://www.anpyo.or.jp)

- CTD(Compendium Technical Document) への取り組み (ICH によるCTD に関するガイドラインに対応)
- 最新の動物飼育設備を備えたバリシステム(2006年2月10日GLP運用開始)
- 受託試験病理検査データの第三者機関による Peer Review 実施に対応  
 (米国EPL社“Experimental Pathology Laboratories, Inc.”との業務提携)

■ 公益法人としての取り組み

- ☆ 望月喜多司記念賞の贈呈 ☆ 学術講演会の開催 ☆ 学生支援のための奨学金事業
- ☆ 病理研修を含む各種研修の実施 ☆ 実験動物背景病変データ等の各種情報の発信

(安評センター)

財団法人 **食品農医薬品安全性評価センター**

BIOSAFETY RESEARCH CENTER, FOODS, DRUGS, AND PESTICIDES (BSRC)

〒437-1213 静岡県磐田市塩新田 582-2 Tel 0538-58-1266(代) Fax 0538-58-1293

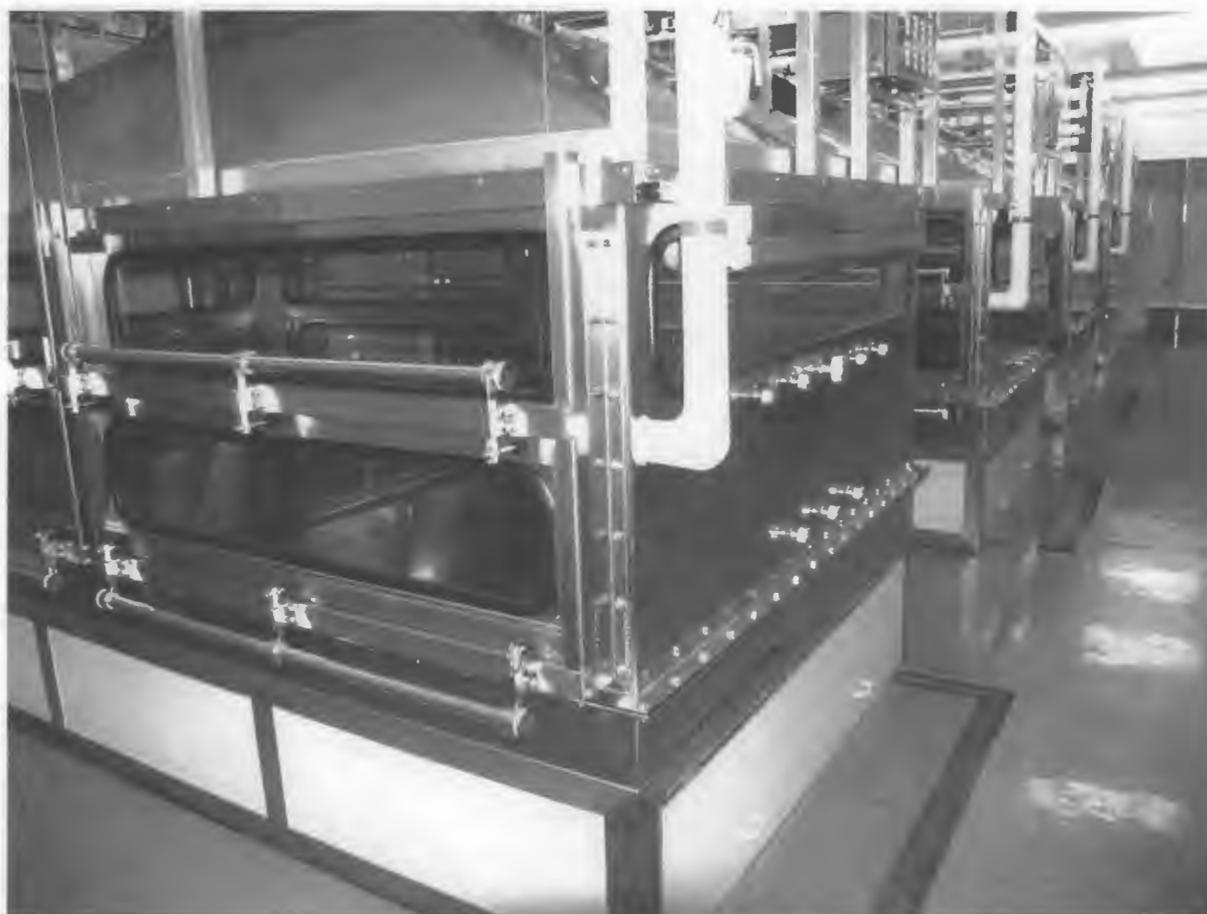
# 世界に類を見ない大規模な吸入試験施設

## 安全性試験の内容

- 吸入毒性試験
  - 経口毒性試験
  - がん原性試験
  - 生殖発生毒性試験
  - 微生物変異原性試験  
(ガス・揮発性物質 可)
  - 培養細胞染色体異常試験  
(ガス・揮発性物質 可)
  - 培養細胞を用いる小核試験
  - 哺乳動物を用いる小核試験
- その他被験物質の特性により、特殊な検査の追加や試験方法についてもご相談に応じます。

## 日本バイオアッセイ研究センター

【連絡先】 企画調整部 企画課  
〒257-0015 神奈川県秦野市平沢2445  
電 話 0463-82-3911  
FAX 0463-82-3860  
E.mail: baio@jisha.or.jp



The Institute of Environmental Toxicology (IET)

農薬、医薬品、一般化学物質

## 各種安全性試験の受託およびコンサルタント

適合GLP

農薬取締法 医薬品機構法、化審法 安衛法 薬事法（動物用医薬品）

受託試験項目

○作物・土壌残留性試験○水質汚濁性に関する試験○有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験○代謝運命試験（動物、植物、土壌、水中光・加水分解試験）○各種急性毒性試験○一般毒性試験○発癌性試験○生殖毒性試験○神経毒性試験○免疫毒性試験○各種変異原性試験○毒性・発癌性に関する各種メカニズム試験○内分泌かく乱物質に関する各種評価試験○標識体を用いたホルモン等生体内物質測定試験○遺伝子解析、細胞分画試験など

コンサルタント業務も行っております。試験デザインの立案、翻訳、試験結果の評価など、試験全般に関するご相談に広くお答え致します。

創立 1970 年 以来の信頼と豊富な実績



## 財団法人 残留農薬研究所

〒303-0043 茨城県常総市内守谷町 4321 番地

TEL : 0297-27-4501 (代表) URL : <http://www.iet.or.jp>

試験に関する問い合わせは、試験事業部業務課までお気軽にお電話ください。

TEL : 0297-27-4506,4509 Fax : 0297-27-1225 E-mail : [info@iet.or.jp](mailto:info@iet.or.jp)



第25回日本毒性病理学会講演要旨集

編 集 第25回日本毒性病理学会事務局  
〒437-0065  
静岡県袋井市堀越7 1 7  
第一三共株式会社 安全性研究所

責任者 真鍋 淳



# We're investing in toxicology services so you won't have to.

Covance continues to invest in our industry-leading toxicology business in locations around the world. We're focused on providing efficient, effective nonclinical toxicology studies to reduce the time and cost of developing your new drugs.

Covance is committed to investing in the technologies, facilities, processes and personnel required to help you achieve your study goals. We're enhancing our specialty toxicology services, and offering innovative approaches to nonclinical drug development. As a result, you can focus your resources, attain greater efficiencies and maintain control throughout the development process.

To find out more about how our global investments can benefit you, visit [www.covance.com/toxicology](http://www.covance.com/toxicology).

**COVANCE**  
THE DEVELOPMENT SERVICES COMPANY

コーヴァンス・ジャパン株式会社  
〒104-0031

東京都中央区京橋 3-12-7 京橋山本ビル 7F  
TEL 03-5159-3362 FAX 03-5250-1234



日本毒性病理学会