



The 32nd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

# 第32回 日本毒性病理学会総会 及び学術集会

## 講演要旨集



リスクアセスメントと  
毒性病理学の将来への展望



2016年  
1月28日[木]~29日[金]



サンポートホール高松  
かがわ国際会議場・展示場



今井田 克己  
香川大学医学部 病理病態・  
生体防御医学講座 腫瘍病理学



# 第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会

The 32nd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

テーマ                    リスクアセスメントと毒性病理学の将来への展望  
Theme                    Prospects of Risk Assessment and Toxicologic Pathology

年会長                    今井田 克己(香川大学 医学部 病理病態・生体防御医学講座 腫瘍病理学)

会 期                    2016年1月28日(木)・29日(金)

会 場                    サンポートホール高松  
                                 〒760-0019 香川県高松市サンポート2-1 高松シンボルタワー ホール棟  
                                 TEL : 087-825-5000 FAX : 087-825-5040

かがわ国際会議場・展示場  
                                 〒760-0019 香川県高松市サンポート2-1  
                                 高松シンボルタワー タワー棟6階 (国際会議場)  
                                 高松シンボルタワー ホール棟1階 (展示場)  
                                 TEL : 087-825-5120 FAX : 087-825-5129

プログラム委員会 委員長 大石 裕司 (アステラス製薬株式会社)  
(50音順)                    委 員 小川久美子 (国立医薬品食品衛生研究所)  
                                 小野寺博志 (独立行政法人医薬品医療機器総合機構)  
                                 鈴木 雅実 (中外製薬株式会社)  
                                 林 新茂 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社)  
                                 古川 賢 (日産化学工業株式会社)  
                                 星谷 達 (株式会社ボゾリサーチセンター)  
                                 鰐淵 英機 (大阪市立大学大学院)

事務局                    第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 事務局  
香川大学 医学部 病理病態・生体防御医学講座 腫瘍病理学  
事務局長 横平 政直

[会期中の事務局(運営本部)]  
サンポートホール高松 5F 53会議室

[事務代行]  
日本コンベンションサービス株式会社 関西支社内  
(富永、宇田川、徳田)  
Tel : 06-6221-5933 Fax : 06-6221-5938  
E-mail : 32jstp@convention.co.jp

ホームページ                    <http://jstp32.umin.jp/index.html>



# 第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会

## 目次

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会	1
目次	3
年会長挨拶	5
会場アクセス	6
会場案内	7
参加者へのご案内	11
座長の先生方へ	14
発表者の先生方へ	14
日程表	17
日本毒性病理学会のあゆみ	20
協賛法人・企業一覧	21
座長一覧	22
プログラム	24
講演要旨	
特別講演	45
教育講演	47
シンポジウム	48
ワークショップ	52
一般口演要旨	59
ポスター要旨	74
著者索引	220





## 年会長挨拶

---

この度、第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会を、香川のJR高松駅に隣接する施設で開催できることを大変嬉しく思います。四国では2年前に泉啓介先生が第30回を徳島で開催されていますが、香川での開催は初めてです。

今回の学術集会では、テーマを「リスクアセスメントと毒性病理学の将来への展望」といたしました。医薬品、農薬、食品等の我々が必要とする化学物質のリスクアセスメントの中で、毒性病理学は極めて重要な位置にあります。今回は、そのリスクアセスメントと毒性病理学についての現状を把握し、種々の角度から議論を深めることで、将来への明るい展望に結びつけるきっかけになることを期待しています。そこで、三森国敏先生とDr. Samuel M. Cohenにリスクアセスメントに関連する特別講演をお願いしました。さらに、シンポジウムでは「各種のリスクアセスメントと毒性病理学」を企画し、各分野の立場からの発表をお願いしています。また、ワークショップでは「発癌研究の最新の動向」と題して、4人の発癌研究者に発表していただくことになっています。

今回のプログラムでは新しい試みとして、一般演題の口頭発表を2会場で同時進行するプログラムを組んであります。その1つのセッションでは症例報告（Case Report）の口頭発表もあります。また、教育講演としてDr. Robert R. MaronpotのIATP共催の講演があります。このようなプログラムを組むにあたって、大石プログラム委員長をはじめとするプログラム委員各位のご尽力に深く感謝いたします。

最後になりましたが、関連します企業・団体様より多くの協賛をいただきました。心より感謝いたします。

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会

年会長 **今井田 克己**

(香川大学医学部 病理病態・生体防御医学講座 腫瘍病理学)

# 会場アクセス



## Access

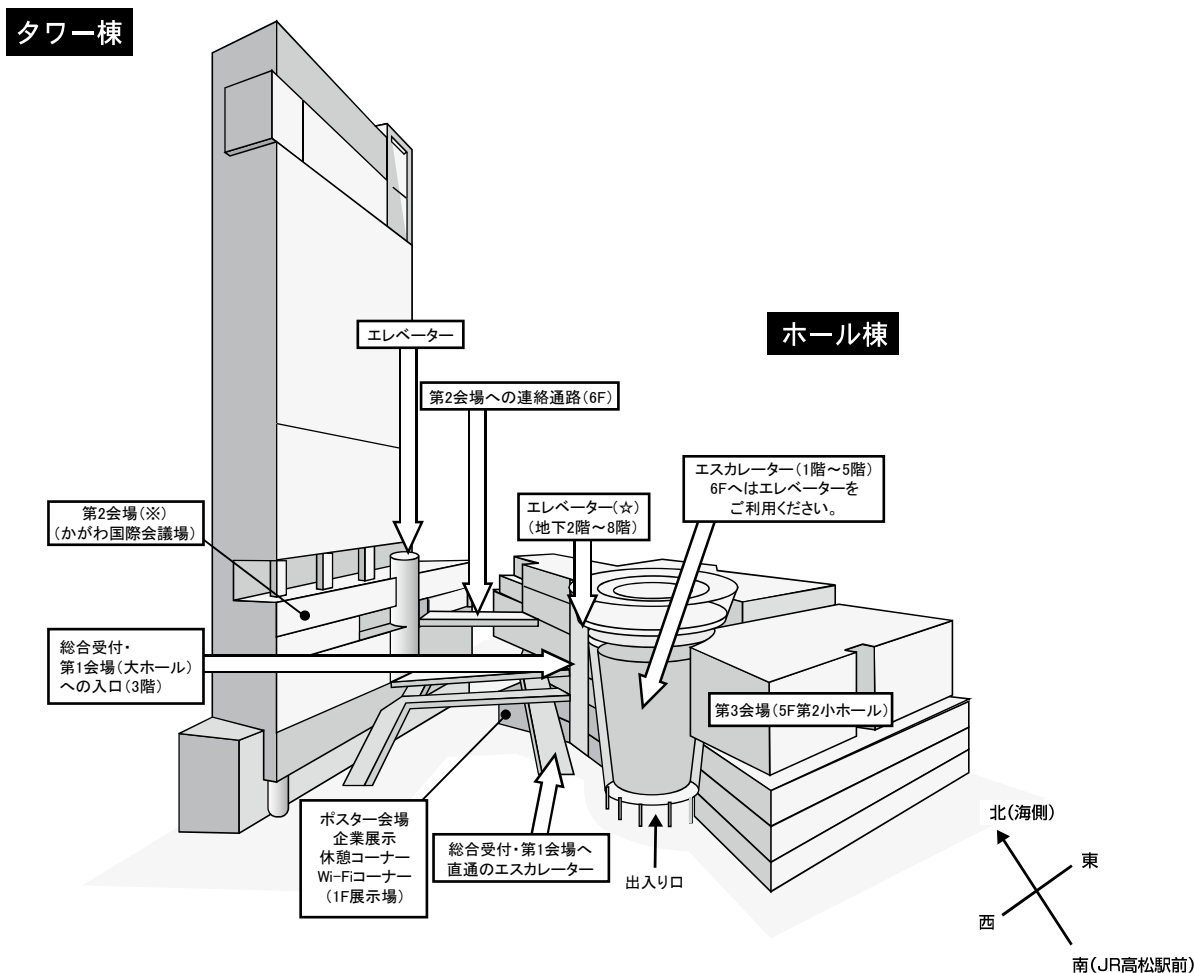
### ■鉄道でお越しの場合



### ■飛行機でお越しの場合



# 会場案内

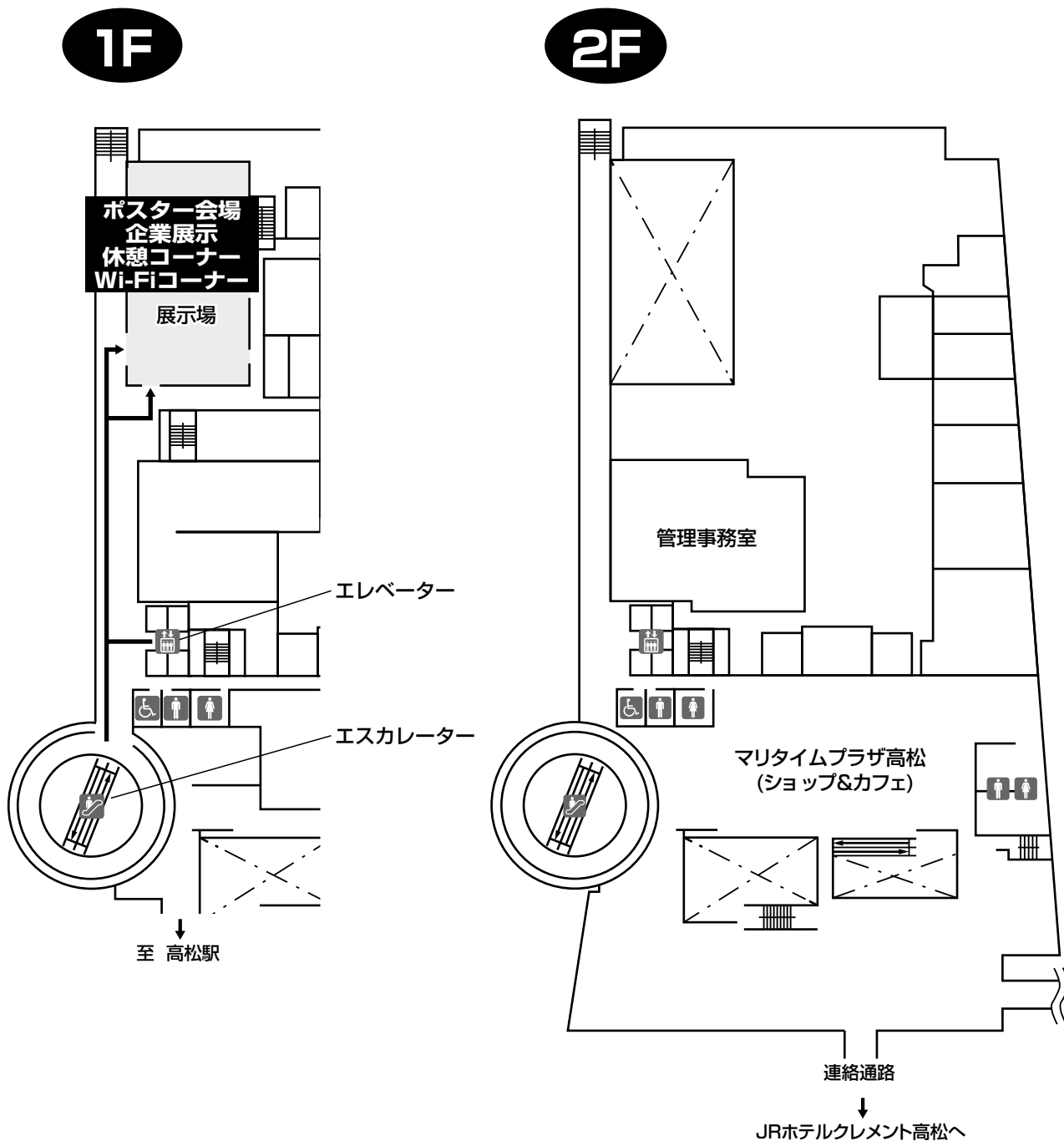


階	部屋名	会場	プログラム
6F	かがわ国際会議場(※)	第2会場	スライドカンファランス、試験問題解説、 一般口演Ⅲ・Ⅴ、ランチョンセミナーⅠ・Ⅲ
5F	第2小ホール	第3会場	教育委員会、編集委員会、理事会、 ランチョンセミナーⅡ・Ⅳ
	53会議室		運営本部
	51会議室		資格認定委員会、新編集委員会
3F	ロビー		総合受付
	メインホール	第1会場	特別講演、教育講演、シンポジウム、ワークショップ、 一般口演Ⅰ・Ⅱ・Ⅳ、評議員会・総会
	ロビー		企業展示
1F	展示場		ポスター発表、企業展示、休憩コーナー、Wi-Fiコーナー
JRホテルクレメント高松 3F 飛天の間			懇親会

※ 6Fかがわ国際会議場へはホール棟のエレベーター(☆)で6Fに上がり、連絡通路を渡ってお越しください。  
またはタワー棟のエレベーターをご利用ください。(P.10参照)

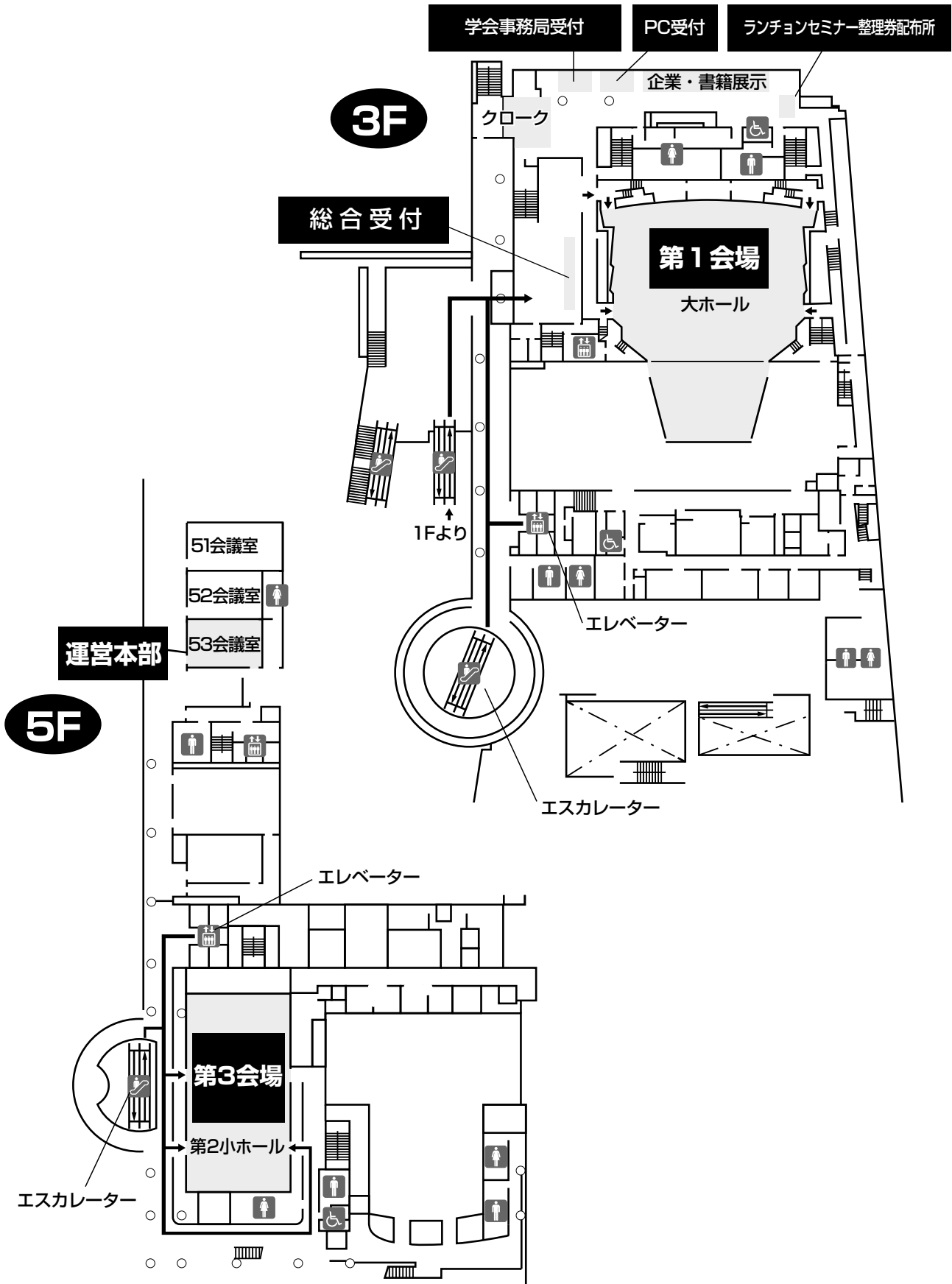
# 会場案内

## ● サポートホール高松（ホール棟）



# 会場案内

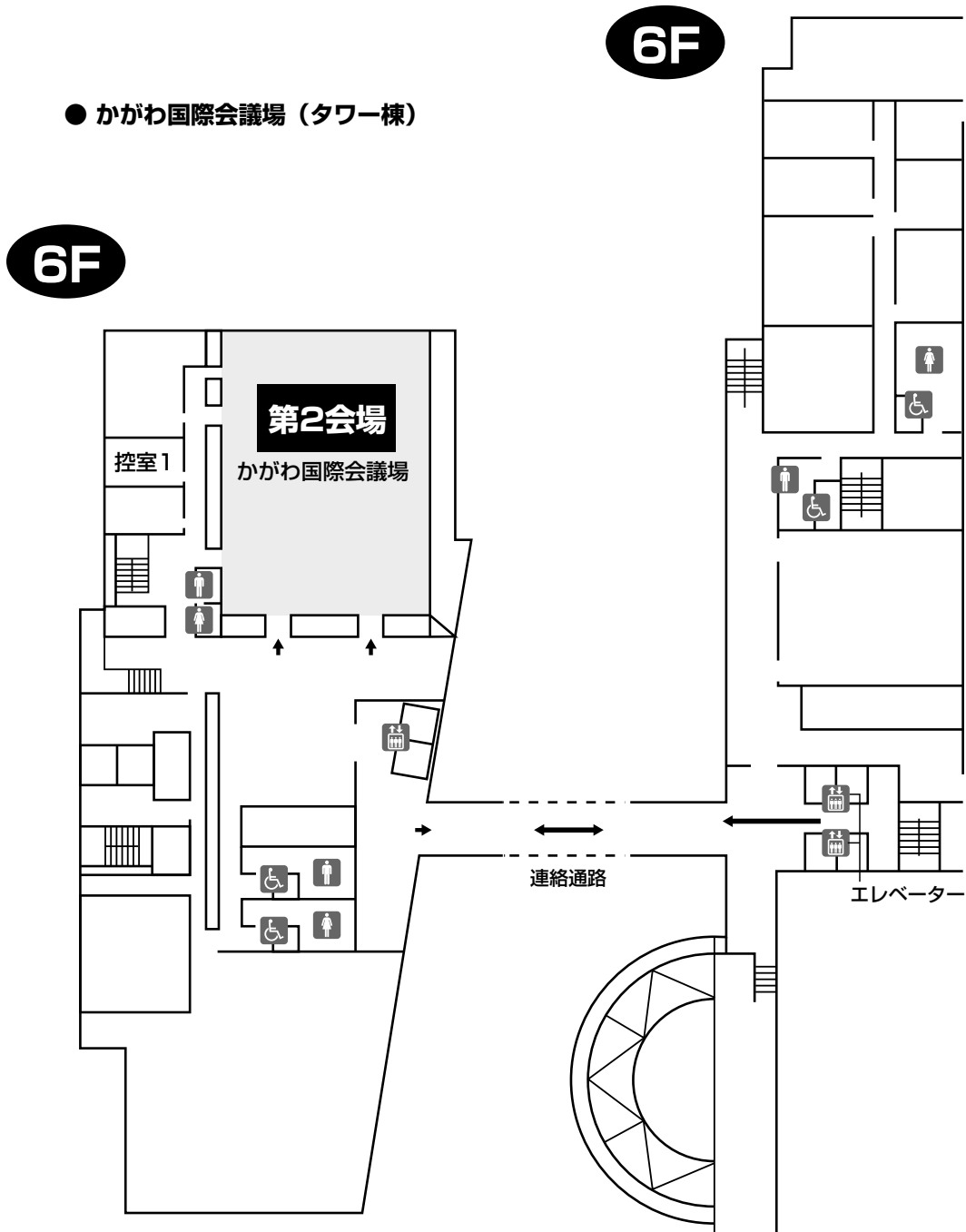
## ● サポートホール高松（ホール棟）



# 会場案内

● サポートホール高松（ホール棟）

● かがわ国際会議場（タワー棟）





## 参加者へのご案内

### ◆参加者の方へ

1. 総合受付は3F ロビーにて行います。受付時間は下記のとおりです。  
1月28日（木）8：00～17：00  
1月29日（金）8：00～15：30
2. 事前参加登録者はあらかじめ送付された参加証（ネームカード）を持参し、会期中は必ずご着用ください。ネームホルダーは総合受付にご用意いたしますので、ご利用ください。
3. 当日参加者は「当日参加申込書」に必要事項を記入の上、「当日参加受付」にて下記参加費を納入して参加証を受け取り、氏名・所属を記入の上、会期中は必ずご着用ください。学生の場合は学生証の提示が必要です。  
一般会員：12,000円  
学生会員：6,000円  
非会員：18,500円 ※講演要旨集5,000円含む  
※名誉・功労会員の先生は無料でご参加頂けます。当日は招待者受付にお越しください。
4. 会員の方には講演要旨集を事前に郵送いたしますので、忘れずにご持参ください。  
お忘れ、または購入をご希望の場合は一般会員・学生会員：2,000円、非会員：5,000円での販売となります。なお、数に限りがありますので、ご了承ください。
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. 館内はすべて禁煙です。
7. 場内では携帯電話の電源を切るか、マナーモードにしてください。
8. 昼食はランチョンセミナー、あるいは会場周辺のレストランなどをご利用ください。
9. 会期中、企業展示を開催いたします。1F 展示場には休憩コーナー、Wi-Fiコーナー、ドリンクコーナーも設置しますのでご利用ください。  
◆日時  
1月28日（木）8：30～18：00  
1月29日（金）8：30～15：20  
◆場所  
1F 展示場、3F ロビー
10. クロークは3F ロビーにございます。受付時間は下記のとおりです。  
1月28日（木）8：00～18：30※  
1月29日（金）8：00～17：30  
※懇親会の際には懇親会会場（JRホテルクレメント高松）のクロークをご利用ください。
11. 会場内での呼び出しは緊急時以外にはいたしませんのでご了承ください。  
総合受付付近（3F ロビー）にメッセージボードを設置いたしますのでご利用ください。
12. 会場内での写真撮影・録画・録音は禁止させていただきます。
13. 貴重品は各自の自己責任で管理してください。

14. 年会費支払い、新入会受付、勤務先・住所変更受付、評議員会及び総会委任状の出し忘れの方などの受付は、学会事務局デスク（3F ロビー）までお越しください。

今回は、すでにSTPおよびJSTPより発行されたINHANDの別冊誌を1部3,000円（税込）にて販売いたします。在庫がなくなり次第販売終了ですので、必要な方はお早めにご購入下さい。

◆受付時間

1月28日（木）8：00～17：00  
 1月29日（金）8：00～14：30

◇ 評議員会・総会合同開催のお知らせ

日本毒性病理学会会員 各位  
 拝啓

時下益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

さて、第32回日本毒性病理学会では、通例に従って評議員会及び総会を合同で下記のとおり開催いたします。本会議は、例年の活動報告と次年度計画に加え、現任理事会構成者の任期満了に伴う次期理事会構成者候補の就任をご承認頂く重要な会議となりますので、ご出席の程何卒お願い申し上げます。なお、評議員の皆様には、従前どおりご出欠を当日確認させていただきます。

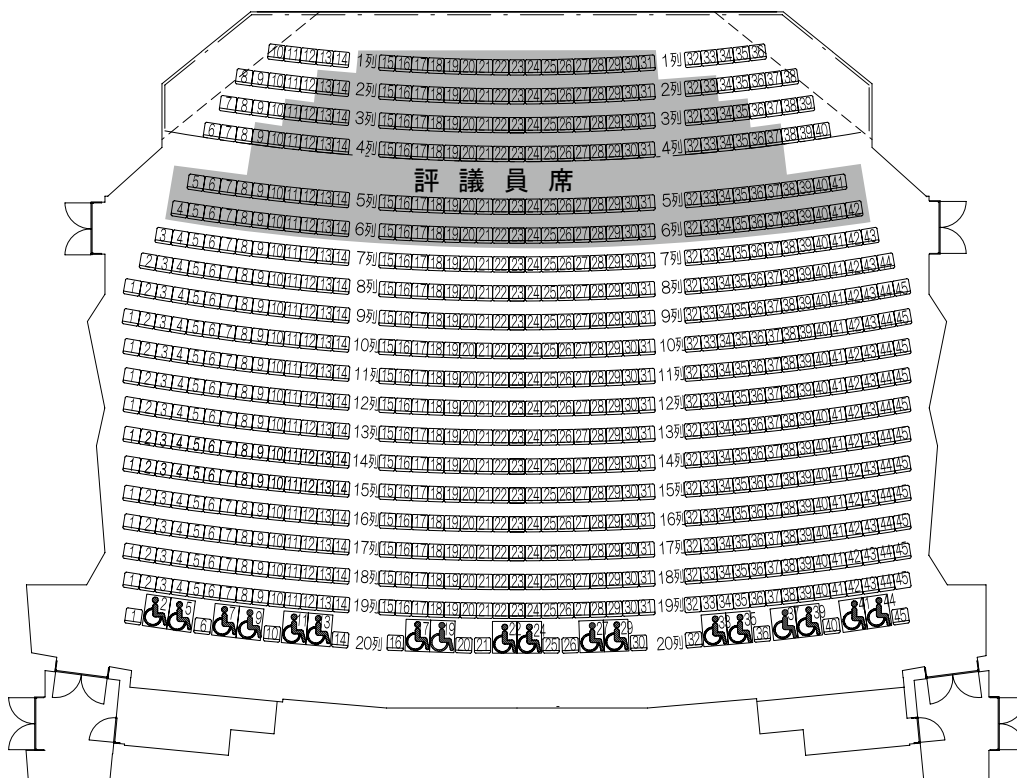
敬具  
 日本毒性病理学会 理事長 今井田 克己

日時：平成28年1月29日（金）15：30～17：00

会場：3F大ホール

議題：平成27年度活動報告及び決算報告  
 平成28年度活動計画及び予算  
 役員改選  
 功労会員・評議員推薦  
 その他

舞台  
 理事会役員席



## ◇ ランチョンセミナーのご案内

1月28日（木）・29日（金）両日ともに、第2会場（6F 国際会議場）、第3会場（5F 第2小ホール）にてランチョンセミナーを行います。

チケットは、3F ロビーにて配布します。

### ◆ 配布時間

1月28日（木）8：00～11：00

1月29日（金）8：00～11：00

### ランチョンセミナーⅠ

1月28日（木）12：00～13：00 第2会場（6F 国際会議場）

「誘発性精子障害の理解を深めるための様々なデバイスを用いた観察・評価（事例）」

演 者：クラウド・ウェーバー（アナパスGmbH）

座 長：高橋 道人（病理ピアレビューセンター）

共 催：アナパスGmbH/セーフティアライアンス

### ランチョンセミナーⅡ

1月28日（木）12：00～13：00 第3会場（5F 第2小ホール）

「重度免疫不全動物であるNOGマウスとNSGマウスの特徴とその比較」

演 者：永谷 真理子（株式会社ボゾリサーチセンター）

共 催：株式会社ボゾリサーチセンター

### ランチョンセミナーⅢ

1月29日（金）12：00～13：00 第2会場（6F 国際会議場）

「Bias in Image Analysis and its Solution: Unbiased Stereology

～毒性試験におけるステレオロジーの最新情報とその応用～」

演 者：Danielle Brown（WIL Research）

座 長：義澤 克彦（関西医科大学 病理学第二講座）

共 催：WIL Research

### ランチョンセミナーⅣ

1月29日（金）12：00～13：00 第3会場（5F 第2小ホール）

「Historical background pathology data for selection of rat strain in carcinogenicity studies」

演 者：Luc Chouinard（Charles River Laboratories Montreal ULC）

座 長：鰐渕 英機（大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学）

共 催：日本チャールス・リバー株式会社

## ◇ 学術年会長賞（最優秀賞、優秀賞、優秀症例報告賞）の選出について

演題番号に\*が表示されている演題は、40歳未満の筆頭演者の演題であり、学術年会長賞（最優秀賞、優秀賞、優秀症例報告賞）の選出対象演題です。

1月29日（金）15：30～の評議員会・総会にて授賞者の表彰を行いますので、ご参加ください。

## ◇ 懇親会のご案内

1. 懇親会は1月28日（木）18：30からJRホテルクレメント高松 飛天の間（3階）にて開催します。

2. 事前登録制ですが、総合受付にて懇親会費9,000円（学生7,000円）で申し受けます。

ただし、定員に達した場合は締め切ることがございます。予めご了承ください。

## 座長の先生方へ

### ◆ 特別講演・教育講演・シンポジウム・ワークショップ・一般口演の座長の先生へ

1. 来館されましたら、座長受付（3F ロビー）にお越しください。バッジをお渡しします。
2. セッション中は参加証（ネームカード）の他に、見えやすい場所にバッジを必ず着用ください。セッション終了後、バッジはそのままお持ち帰りください。
3. ご担当セッション開始15分前には、会場内の次座長席にご着席ください。
4. 時間厳守にご協力ください。

### ◆ ポスター発表の座長の先生へ

1. 担当セッション開始時間の遅くとも15分前までには、座長受付（3F ロビー）にお越しください。指示棒、バッジをお渡しします。
2. 討論時には参加証（ネームカード）の他に、見えやすい場所にバッジを必ず着用ください。セッション終了後、指示棒は必ずご返却ください。バッジはそのままお持ち帰りください。
3. 会場にて計時進行用のチンベルをお渡しいたします。発表時間終了（5分経過）で1回、質疑応答時間終了（10分経過、持ち時間終了）で2回鳴らしてください。
4. 時間厳守にご協力ください。

## 発表者の先生方へ

### ◆ 利益相反について

- ・発表者の皆様はCOI（利益相反）の開示をお願いいたします。企業に所属の場合は、別企業とCOI状態にある場合に開示してください。
- ・口演発表者は発表スライドの2枚目（表題の次のスライド）に、ポスター発表者は一番最後に記載してください。

Sample1

<p style="text-align: center;"><b>COI Disclosure Information</b> <b>Taro Dokusei</b></p> <p style="text-align: center;">In connection with this presentation, there is no COI to be disclosed with any companies.</p> <p style="text-align: center;">本演題に関連して開示すべき利益相反はありません。</p>
---

Sample2

<p style="text-align: center;"><b>COI Disclosure Information</b> <b>Hanako Dokusei</b></p> <p style="text-align: center;">In connection with the presentation, we disclose COI with following companies.</p> <p style="text-align: center;">本演題に関連して開示すべき利益相反は以下の通りです。</p> <p>Executive / Advisory Position: (○○Company)</p> <p>Funded research / Collaborative research: (○○Company)</p> <p>Lecture Honorariums, etc.: (○○Company)</p>
---

## ◆ 特別講演・教育講演・シンポジウム・ワークショップ・一般口演の発表者の先生方へ

### 1. 発表スライド

PowerPointでの口演発表用スライド作成にあたっては、外国からの参加者を考慮して可能な限り英語で作成ください。

### 2. PC受付

- ・メディア（USBフラッシュメモリ）持込みの方は発表の30分前までにPC受付（3F ロビー）にご持参ください。
- ・PCを持込みの方はPC受付にて発表データ確認後、発表の30分前までに発表会場の左手前方のオペレーター席までPCをご持参ください。
- ・発表データは、会場のPCに一時保存いたしますが、これらのデータは本学会終了後、責任を持って廃棄します。

#### 1) Windowsをご使用の方

- ・USBフラッシュメモリ、またはご自身のPCをお持込みください。
- ・会場ではWindows7、アプリケーションはPowerPoint2007/2010/2013のPCをご用意しております。
- ・フォントは文字化けを防ぐため下記のフォントで作成してください。
  - ①日本語（MSゴシック、MSPゴシック、MS明朝、MSP明朝）
  - ②英語（Century、Century Gothic、Times New Roman、Arial）
- ・USBフラッシュメモリはWindowsで読み込み可能なもののみとさせていただきます。
- ・データファイル名は「演題番号」「氏名」の順でつけてください。  
【例】O-160 山田太郎
- ・お持込みのUSBフラッシュメモリの中には発表データ以外は入れないでください。

#### 2) Macintoshをご使用の方

- ・ご自身のPCをご持参ください。
- ・USBフラッシュメモリでのデータの持込みはできません。

#### 3) ご自身のPCをお持込みの際のご注意点

- ・モニタの出力端末につきましてD-Sub15ピン以外の変換ケーブルが必要な機種を使用する方は変換ケーブルをご持参ください。
- ・会場には必ず電源アダプターをご持参ください。
- ・PCのトラブルにより映像の投影が不可能になる場合にそなえ、必ずバックアップデータをご持参ください。
- ・動画や音声の再生はできません。
- ・発表終了後、PCはオペレーター席で返却いたします。

### 3. 発表

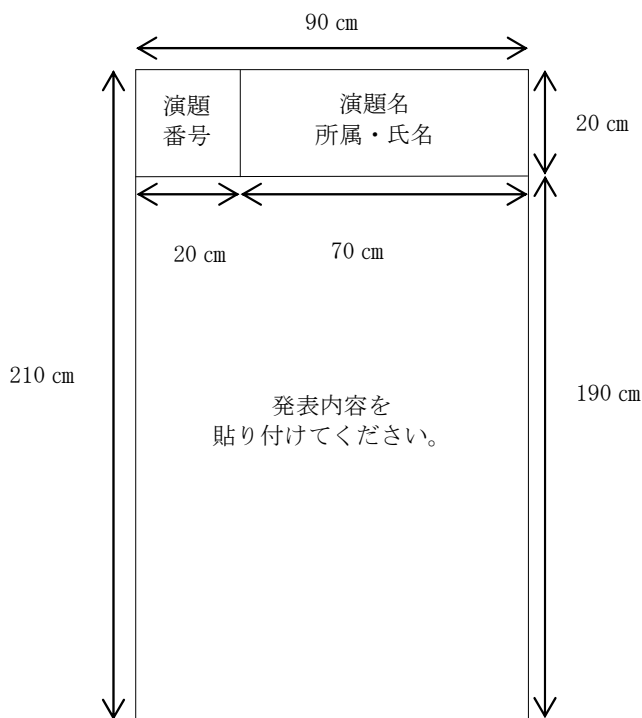
- ・前演者の発表が始まりましたら、次演者席にご着席ください。
- ・発表機材はPC液晶プロジェクターを使用します。スライド・ビデオは使用できませんのでご注意ください。
- ・発表は、演台におかれたディスプレイを見ながら、ご自身で画面操作をしてください。
- ・発表者ツールの対応はできませんので、ご了承ください。

#### 4. 発表時間

セッション	講演時間	討論時間	予告ランプ
シンポジウム ワークショップ	講演時間、討論形式等は事前に連絡している通りです。		発表時間終了1分前に黄色ランプ 発表時間終了で赤色ランプ
一般演題（口演）	8分	4分	

#### ◇ ポスター発表をされる先生方へ

- ポスターパネルは縦210cm、横90cmです。  
図のようにパネル上部左の演題番号（20cm × 20cm）は事務局で用意します。演題名・所属・氏名はポスター上部に適宜表示ください。  
掲示スペースは190cm × 90cmですが、上端から貼る場合は、演題番号表示スペースをとってポスターを作成してください。（ただし、下まで貼ると見えにくくなりますので配置の際は気を付けてください。）  
ポスターは日本語で問題ありません。



- ポスターは1日ごとの貼り換えとなります。下記時間に貼付けと撤去を行ってください。

日時	貼付け	発表・質疑応答	撤去
1月28日（木）	8：00～9：00	17：00～18：00	18：00～18：30
1月29日（金）	8：00～9：00	14：20～15：20	15：50～17：20

※撤去時間内に撤去されないポスターは事務局にて処分させていただきます。

- 各ポスターパネルに画鋲とポスター発表者用のリボンを用意してあります。  
発表・質疑応答の時間帯は必ず発表者用リボンをご着用ください。
- 発表者は座長の進行で進めてください。  
各発表時間持ち時間は10分（発表5分、質疑応答5分）です。時間厳守をお願いします。  
なお、発表時間終了（5分経過）で1回、質疑応答時間終了（10分経過、持ち時間終了）で2回ベルが鳴ります。

#### ◇ 学術年会長賞（最優秀賞、優秀賞、優秀症例報告賞）の選出について

演題番号に\*が表示されている演題は、40歳未満の筆頭演者の演題であり、学術年会長賞（最優秀賞、優秀賞、優秀症例報告賞）の選出対象演題です。

1月29日（金）15：30～の評議員会・総会にて授賞者の表彰を行いますので、ご参加ください。

# 日程表

1月27日(水)		
第2会場 (6F 国際会議場)	第3会場 (5F 第2小ホール)	JRホテルクレメント高松 (2F 雅)
8:00		
9:00		
10:00		
11:00		
11:00	11:10	
	教育委員会	
12:00	12:10	
13:00	12:30	
	編集委員会	
14:00	14:30	
第28回スライドカンファランス		
15:00	15:00	
	理事会	
16:00		
17:00	17:00	
17:20		
日本毒性病理専門家認定試験 における「試験問題解説」		
18:00		
18:20		
19:00		
20:00		
21:00		20:45 International President's Meeting 21:45
22:00		22:00 IFSTP EC Meeting 23:00
23:00		



# 日程表

## 1月28日(木)

	第1会場 (3F 大ホール)	第2会場 (6F 国際会議場)	第3会場 (5F 第2小ホール)	ポスター会場 (1F 展示場)	5F 51会議室
8:00				8:00	
	8:20~ 開会式			ポスター貼付け	
	8:30			9:00	
9:00	一般口演 I O-01~O-08				
10:00	10:10				
	10:20				
11:00	ワークショップ 座長：小川 久美子 鰐淵 英機				
	11:50				
12:00		12:00 ランチョンセミナー I アナパス GmbH/セーフティアライアンス	12:00 ランチョンセミナー II 株式会社ボゾリサーチセンター		12:00 資格認定委員会
13:00		13:00	13:00	ポスター閲覧	13:00
	13:10				
14:00	教育講演 演者：Robert R. Maronpot 座長：林 新茂				
	14:10				
15:00	特別講演 I 演者：三森 国敏 座長：中江 大				
	15:10				
	15:20	15:20			
16:00	一般口演 II O-09~O-15	一般口演 III (症例報告) O-16~O-22			
	16:50	16:50			
17:00				17:00 ポスター発表 I P-01~P-34	
18:00				18:00 ポスター撤去 18:00~18:30	
19:00	18:30~ 懇親会 JRホテルクレメント高松 3F 飛天の間				
20:00					
21:00					
22:00					
23:00					

# 日程表

## 1月29日(金)

	第1会場 (3F 大ホール)	第2会場 (6F 国際会議場)	第3会場 (5F 第2小ホール)	ポスター会場 (1F 展示場)	5F 51会議室
8:00				8:00 ポスター貼付け	
9:00	8:40  <b>シンポジウム</b> 座長：大石 裕司 小野寺 博志			9:00	
10:00	10:40			ポスター閲覧	
11:00	10:50 <b>特別講演Ⅱ</b> 演者：Samuel M. Cohen 座長：今井田 克己 11:50				
12:00		12:00 <b>ランチョンセミナーⅢ</b> WIL Research	12:00 <b>ランチョンセミナーⅣ</b> 日本チャールス・リパー株式会社		12:00 <b>新編集委員会</b>
13:00		13:00	13:00		13:00
14:00	13:10 <b>一般口演Ⅳ</b> O-23～O-26 14:00	13:10 <b>一般口演Ⅴ</b> O-27～O-30 14:00			
15:00				14:20 <b>ポスター発表Ⅱ</b> P-35～P-71	
16:00	15:30 <b>評議員会・総会 論文賞表彰 閉会式</b>			15:20	
17:00	17:00			15:50 <b>ポスター撤去</b>	
18:00				17:20	
19:00					
20:00					
21:00					
22:00					
23:00					

# 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（鳥取大学）	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（岐阜大学）	2000.1.26-27	1	12	125
17	淡路	奈良間 功（摂南大学）	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（大阪市立大学）	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)）	2009.1.27-28	2	17	124
26	金沢	田中 卓二（金沢医科大学）	2010.2.3-4	2	10	125
27	大阪	大石 裕司（アステラス製薬(株)）	2011.1.27-28	2	13	144
28	東京	西川 秋佳（国立衛研）	2012.2.2-3	2	21	108
29	つくば	原田 孝則（残農研）	2013.1.31-2.1	1	8	107
30	徳島	泉 啓介（徳島大学）	2014.1.30-31	2	15	114
31	東京	中山 裕之（東京大学）	2015.1.29-30	1	11	96
32	香川	今井田克己（香川大学）	2016.1.28-29	2	9	101

\* Joint international meeting of JSTP/IFSTP

## 協賛法人・企業一覧

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会を開催するにあたり、  
多くの企業・団体様よりご支援ご協力を賜りました。  
ここにお名前を掲載して厚く御礼申し上げます。

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会  
年会長 今井田 克己

### □ 共催セミナー

AnaPath GmbH/Safety Alliance  
WIL Research

日本チャールス・リバー株式会社  
株式会社ボゾリサーチセンター

### □ 広告

四国医療器株式会社  
株式会社スリーエス・ジャパン  
株式会社ニコンインステック

株式会社バイオ病理研究所  
株式会社日立ハイテクノロジーズ  
四電ビジネス株式会社

### □ 企業展示

AnaPath GmbH  
Cyagen Biosciences Inc.  
MPI Research Inc.  
WIL Research／株式会社スリーエスジャパン  
独立行政法人医薬品医療機器総合機構  
株式会社エイチ・アンド・ティー  
コニカミノルタ株式会社  
サクラファインテックジャパン株式会社  
白井松器械株式会社  
実験病理組織技術研究会

株式会社新日本科学  
株式会社DIMS医科学研究所  
内閣府食品安全委員会  
日本エスエルシー株式会社  
日本チャールス・リバー株式会社  
PDSパソロジー・データシステムズ・リミテッド  
富士通株式会社  
株式会社ボゾリサーチセンター  
株式会社宮脇書店

### □ 寄附

旭化成ファーマ株式会社  
アステラス製薬株式会社  
アスピオファーマ株式会社  
エーザイ株式会社 筑波安全性研究部  
株式会社LSIメディエンス  
小野薬品工業株式会社 安全性研究部  
杏林製薬株式会社 わたらせ創薬センター  
株式会社札幌総合病理研究所  
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社  
参天製薬株式会社  
株式会社三和化学研究所  
塩野義製薬株式会社  
株式会社四国細胞病理センター  
昭和電工株式会社  
公益財団法人食品農医薬品安全性評価センター

住友化学株式会社  
第一三共株式会社 安全性研究所  
大正製薬株式会社  
大日本住友製薬株式会社  
大鵬薬品工業株式会社  
武田薬品工業株式会社 薬剤安全性研究所  
田辺三菱製薬株式会社  
中外製薬株式会社  
帝人ファーマ株式会社 医薬開発研究所  
日産化学工業株式会社  
日本香料工業会  
一般財団法人日本食品分析センター  
日本たばこ産業株式会社  
病理ピアレビューセンター  
四電ビジネス株式会社

### □ ネームカードホルダー提供

株式会社イナリサーチ

公益財団法人高松観光コンベンション・ビューローの補助事業として賛助を受けております。

## 座長一覧

日付	時間	セッション名	座長	所属	会場名
1月28日	14:10~15:10	特別講演 I	中江 大	東京農業大学	第1会場
1月29日	10:50~11:50	特別講演 II	今井田克己	香川大学	
1月28日	13:10~14:10	教育講演	林 新茂	三栄源エフ・エフ・アイ株式会社	
1月29日	8:40~10:40	シンポジウム 各種のリスクアセスメントと毒性病理学	大石 裕司	アステラス製薬株式会社	
			小野寺博志	独立行政法人医薬品医療機器総合機構	
1月28日	10:20~11:50	ワークショップ 発癌研究の最新の動向	小川久美子	国立医薬品食品衛生研究所	
			鰐淵 英機	大阪市立大学大学院	
1月28日	8:30~10:10	一般口演 I (O-01 ~ O-08)	渋谷 淳	東京農工大学	
			細川 暁	エーザイ株式会社	
			寺西 宗広	第一三共株式会社	
			山手 丈至	大阪府立大学	
	15:20~16:50	一般口演 II (O-09 ~ O-15)	高橋 智	名古屋市立大学大学院	
			高橋 尚史	一般財団法人残留農薬研究所	
			吉見 直己	琉球大学大学院	
			一般口演 III (O-16 ~ O-22)	乾 公正	石原産業株式会社
				星谷 達	株式会社ボゾリサーチセンター
				義澤 克彦	関西医科大学
1月29日	13:10~14:00	一般口演 IV (O-23 ~ O-26)	尾崎 清和	摂南大学	第1会場
			鈴木 雅実	中外製薬株式会社	第2会場
		一般口演 V (O-27 ~ O-30)	岩田 聖	ルナパス合同会社	
			古川 賢	日産化学工業株式会社	

日付	時間	セッション名	座長	所属	会場名
1月28日	17:00~18:00	ポスター発表 I-1 (P-01 ~ P-04)	相磯 成敏	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	ポスター会場
			下井 昭仁	株式会社イナリサーチ	
		ポスター発表 I-2 (P-05 ~ P-08)	梶谷 高敏	大日本住友製薬株式会社	
			横平 政直	香川大学	
		ポスター発表 I-3 (P-09 ~ P-13)	勝田 修	参天製薬株式会社	
			正田 俊之	日本たばこ産業株式会社	
		ポスター発表 I-4 (P-14 ~ P-18)	河部 真弓	株式会社DIMS医科学研究所	
			平田 暁大	岐阜大学	
		ポスター発表 I-5 (P-19 ~ P-21)	久野 壽也	名古屋市立大学大学院	
		ポスター発表 I-6 (P-22 ~ P-25)	塚本 徹哉	藤田保健衛生大学	
			箱井加津男	大鵬薬品工業株式会社	
		ポスター発表 I-7 (P-26 ~ P-29)	串田 昌彦	住友化学株式会社	
			藤原 利久	株式会社田辺R&Dサービス	
		ポスター発表 I-8 (P-30 ~ P-34)	小林 欣滋	株式会社新日本科学	
			豊沢かおる	株式会社住化分析センター	
		1月29日	14:20~15:20	ポスター発表 II-1 (P-35 ~ P-39)	
永井 博文	武田薬品工業株式会社				
ポスター発表 II-2 (P-40 ~ P-44)	上田 誠			日本新薬株式会社	
	涌生 ゆみ			株式会社LSIメディエンス	
ポスター発表 II-3 (P-45 ~ P-48)	梅村 隆志			国立医薬品食品衛生研究所	
	佐藤 洋			岩手大学	
ポスター発表 II-4 (P-49 ~ P-53)	田中 雅治			田辺三菱製薬株式会社	
	仲辻 俊二			SNBL USA, Ltd. Pathology Services	
ポスター発表 II-5 (P-54 ~ P-57)	小笠原裕之			アスピオファーマ株式会社	
	澤本 修			株式会社大塚製薬工場	
ポスター発表 II-6 (P-58 ~ P-62)	岡崎 欣正			AnaPath GmbH	
	志賀 敦史			公益財団法人食品農薬品安全性評価センター	
ポスター発表 II-7 (P-63 ~ P-66)	大町 康			放射線医学総合研究所	
	渋谷 一元			一般財団法人 日本生物科学研究所	
ポスター発表 II-8 (P-67 ~ P-71)	高場 克己			協和発酵キリン株式会社	
	笛木 修			独立行政法人医薬品医療機器総合機構	

# プログラム

## 特別講演 I

第1日目 1月28日 (木) 14:10~15:10

第1会場 [3F 大ホール]

座長: 中江 大 (東京農業大学応用生物科学部 食品安全健康学科 食品安全評価学研究室)

- SL-01 化学物質のリスクアセスメントにおける毒性病理学: その限界への挑戦  
○三森 国敏  
東京農工大学名誉教授

## 特別講演 II

第2日目 1月29日 (金) 10:50~11:50

第1会場 [3F 大ホール]

座長: 今井田 克己 (香川大学医学部 病理病態・生体防御医学講座 腫瘍病理学)

- SL-02 Critical Role of Toxicologic Pathology in a Short-Term Screen for Carcinogenicity  
○Samuel M. Cohen  
Department of Pathology and Microbiology, University of Nebraska Medical Center, USA

## 教育講演

第1日目 1月28日 (木) 13:10~14:10

第1会場 [3F 大ホール]

座長: 林 新茂 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 安全性科学部)

共催: IATP

- EL Adverse, Non-adverse, and Adaptive Responses in Toxicologic Pathology  
○Robert R. Maronpot  
Chair, IATP Education Committee  
Maronpot Consulting LLC, USA



## シンポジウム

第2日目 1月29日(金) 8:40~10:40

第1会場[3F 大ホール]

座長: 大石 裕司 (アステラス製薬株式会社 安全性研究所)

小野寺 博志 (独立行政法人医薬品医療機器総合機構 毒性領域)

### 各種のリスクアセスメントと毒性病理学

- SY-01 食品のリスクアセスメントと毒性病理学  
○林 新茂  
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 安全性科学部
- SY-02 化学物質のリスクアセスメントと毒性病理学  
○一鬼 勉  
九州大学 ARO 次世代医療センター
- SY-03 農薬のリスクアセスメントと毒性病理学  
○古川 賢  
日産化学工業株式会社 生物科学研究所
- SY-04 環境物質のリスクアセスメントと毒性病理学  
○鰐淵 英機  
大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

## ワークショップ

第1日目 1月28日(木) 10:20~11:50

第1会場[3F 大ホール]

座長: 小川 久美子 (国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

鰐淵 英機 (大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学)

### 発癌研究の最新の動向

- WS-01 慢性炎症による異常DNAメチル化誘発の分子機構  
○竹島 秀幸、牛島 俊和  
国立がん研究センター研究所・エピゲノム解析分野
- WS-02 Sleeping Beauty トランスポゾンによるマウス肝発癌モデル-発癌関連遺伝子と肝腫瘍形質の関連の検討  
○山本 雅大  
旭川医科大学病理学講座腫瘍病理分野
- WS-03 遺伝子改変マウス由来正常上皮細胞の3次元培養法を用いる新たな化学物質発がん性試験法の開発  
○今井 俊夫<sup>1)</sup>、落合 雅子<sup>1)</sup>、松浦 哲也<sup>2)</sup>、中釜 齊<sup>1)</sup>、筆宝 義隆<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup> 国立がん研究センター・研・動物実験部門、<sup>2)</sup> 横浜市大・院医・肝胆膵消化器病、  
<sup>3)</sup> 千葉県がんセンター・研・発がん制御
- WS-04 放射線の被ばく時年齢に依存した発がんメカニズム-放射線誘発マウス胸腺リンパ腫発生モデルを用いた解析から-  
○砂押 正章、甘崎 佳子<sup>1)</sup>、坂入 しのぶ<sup>1)</sup>、Benjamin Blyth<sup>1,2)</sup>、森岡 孝満<sup>1,2)</sup>、  
上西 睦美<sup>1)</sup>、尚 奕<sup>2)</sup>、西村 まゆみ<sup>1,2)</sup>、島田 義也<sup>1,2)</sup>、立花 章<sup>3)</sup>、柿沼 志津子<sup>1,2,3)</sup>  
<sup>1)</sup> 放射線医学総合研究所放射線防護研究センター発達期被ばく影響研究プログラム、  
<sup>2)</sup> 放射線医学総合研究所福島復興支援本部長期低線量被ばく影響プロジェクト、<sup>3)</sup> 茨城大学理学部

## 一般口演 I

第1日目 1月28日 (木) 8:30~10:10

第1会場[3F 大ホール]

座長：渋谷 淳 (東京農工大学 獣医病理学研究室)

細川 暁 (エーザイ株式会社 筑波安全性研究部)

O-01 NADPH oxidase阻害剤apocyninによるラット肝発がん抑制効果

○鈴木 周五<sup>1,2)</sup>、内木 綾<sup>1)</sup>、佐藤 慎哉<sup>1)</sup>、加藤 寛之<sup>1)</sup>、久野 壽也<sup>1)</sup>、高橋 智<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 名古屋市立大学 実験病態病理、<sup>2)</sup> 名古屋市立東部医療センター 病理診断科

O-02 \* Acifluorfen誘発肝腫瘍へのCARの関与

○桑田 和倫<sup>1,2,3)</sup>、井上 薫<sup>1)</sup>、高橋 美和<sup>1)</sup>、市村 亮平<sup>1)</sup>、森川 朋美<sup>1)</sup>、児玉 幸夫<sup>4)</sup>、  
吉田 緑<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所病理部、<sup>2)</sup> 田辺三菱製薬株式会社創薬本部、<sup>3)</sup> 東京農工大学農学部、

<sup>4)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所病理部毒性部、<sup>5)</sup> 内閣府食品安全委員会

O-03 \* Connexin32の低下はDusp1-Erkシグナル制御機構を介しラットエタノール肝発がんを促進する

○加藤 寛之、内木 綾、不二 哲、鈴木 周五、佐藤 慎哉、久野 壽也、高橋 智  
名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学

O-04 \* ピペロニルブトキシドのマウス肝発がん過程における酸化ストレスの関与

○田崎 雅子<sup>1)</sup>、黒岩 有一<sup>1)</sup>、井上 知紀<sup>1)</sup>、日比 大介<sup>1)</sup>、松下 幸平<sup>1)</sup>、木島 綾希<sup>1)</sup>、  
西川 秋佳<sup>2)</sup>、梅村 隆志<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国立衛研 病理部、<sup>2)</sup> 国立衛研 安全性生物試験研究センター

座長：寺西 宗広 (第一三共株式会社 薬事監査部)

山手 丈至 (大阪府立大学 獣医病理)

O-05 ラット腎癌肺高転移株を用いた転移亢進に寄与する分子生物学的特性の検討

○山野 荘太郎<sup>1)</sup>、山田 健二<sup>2)</sup>、梶原 健太郎<sup>3)</sup>、尾崎 清和<sup>4)</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 分子病理学、<sup>2)</sup> 独立行政法人 国立がん研究センター 発がん・予防研究分野、<sup>3)</sup> 大阪大学 微生物病研究所 発癌制御研究分野、<sup>4)</sup> 摂南大学 薬学部 病理学教室

O-06 \* 腎障害に伴う浸透圧性腎症の病態増悪機序の解明-2-

○松下 幸平<sup>1)</sup>、高須 伸二<sup>1)</sup>、黒田 顕<sup>1)</sup>、石井 雄二<sup>1)</sup>、木島 綾希<sup>1)</sup>、北浦 敬介<sup>2)</sup>、  
佐藤 亮<sup>2)</sup>、松本 智志<sup>2)</sup>、梅村 隆志<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup> 大塚製薬(株) 安全性研究センター

O-07 \* 前立腺発がんおよび去勢抵抗性細胞増殖に対するluteolinの抑制効果

○内木 綾、加藤 寛之、佐藤 慎哉、鈴木 周五、久野 壽也、高橋 智

名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学

O-08 LAT1 and 4F2hc expression in tumor microvasculature of BBN induced rat bladder carcinoma

○武藤 朋子<sup>1)</sup>、和久井 信<sup>2)</sup>、金井 好克<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> (株)化合物安全研 毒性、<sup>2)</sup> 麻布大学 獣医 比較毒性学、<sup>3)</sup> 大阪大学大学院 生体システム薬理学

## 一般口演Ⅱ

第1日目 1月28日(木) 15:20~16:50

第1会場[3F 大ホール]

座長：高橋 智（名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理学）  
高橋 尚史（一般財団法人残留農薬研究所）

- 09 \* 非遺伝毒性ラット肝発がん物質ダンマル樹脂の発がん機序の検討  
○藤岡 正喜、魏 民、山野 莊太郎、河内 聡子、房 赫、武下 正憲、鰐淵 英機  
大阪市大 院 医 分子病理学
- 10 \* ラットポストイニシエーション早期での肝発がん物質・プロモーター反復投与に対する肝細胞における細胞周期関連分子の反応性  
○木村 真之<sup>1,2)</sup>、水上 さやか<sup>1,2)</sup>、寒川 祐見<sup>1)</sup>、吉田 敏則<sup>1)</sup>、渋谷 淳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京農工大 獣医病理、<sup>2)</sup> 岐阜大 院 連合獣医
- 11 顕微ラマン及び顕微赤外吸収スペクトル測定を用いた病理切片上の異物解析  
○萩原 仁美<sup>1)</sup>、麻生 良平<sup>1)</sup>、猪俣 依子<sup>1)</sup>、小澤 沙紀<sup>1)</sup>、近藤 美子<sup>1)</sup>、磯部 厚志<sup>1)</sup>、  
早場 純子<sup>1)</sup>、田崎 雅子<sup>1)</sup>、長野 嘉介<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup> テルモ株式会社 評価センター、<sup>2)</sup> 長野毒性病理コンサルティング
- 12 病理ピアレビューとINHANDを活用した毒性病理所見の国際標準化と課題  
○岩田 聖<sup>1)</sup>、安齋 享征<sup>2)</sup>、高橋 道人<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup> ルナパス(合) 毒性病理研究所、<sup>2)</sup> 昭和大医学部、<sup>3)</sup> 病理ピアレビューセンター
- 
- 座長：吉見 直己（琉球大学大学院医学研究科 腫瘍病理学講座）
- 13 胃幽門部潰瘍修復過程における胃上皮幹細胞、増殖細胞、分化細胞の動態  
○平田 暁大<sup>1)</sup>、並木 健吾<sup>2)</sup>、酒井 洋樹<sup>2)</sup>、富田 弘之<sup>3)</sup>、原 明<sup>3)</sup>、柳井 徳磨<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup> 岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野、<sup>2)</sup> 岐阜大学 応用生物科学部 獣医病理学分野、  
<sup>3)</sup> 岐阜大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学分野
- 14 味噌の発酵熟成期間の差による放射線防御作用並びに血圧抑制効果の検討  
○渡辺 敦光<sup>1,2)</sup>、笹谷 めぐみ<sup>1)</sup>、高端 厚子<sup>2)</sup>、宮坂 勇一郎<sup>3)</sup>、吉栖 正生<sup>4)</sup>、升島 努<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup> 広大原医研、<sup>2)</sup> (独) 理研、<sup>3)</sup> 宮坂醸造(株)、<sup>4)</sup> 広大大学院医歯保健学
- 15 \* ヒト大腸発がん動物モデルを用いたNrf2遺伝子多型がもたらす大腸発がんリスク  
○横尾 諭、木島 綾希、石井 雄二、高須 伸二、土屋 卓磨、小川 久美子、  
梅村 隆志  
国立医薬品食品衛生研究所 病理部

## 一般口演Ⅲ (症例報告)

第1日目 1月28日 (木) 15:20~16:50

第2会場 [6F 国際会議場]

座長：乾 公正 (石原産業株式会社中央研究所 安全科学研究室)  
星谷 達 (株式会社ボゾリサーチセンター)

- 16 \* MRL/lpr マウスにおける小脳萎縮に関する病理組織学的検索  
○川迫 一史、隈部 志野、押方 孝文、満石 三喜男、浜村 政夫  
(株) LSIメディエンス 試験研究センター 病理研究部
- 17 \* SDラットに認められた眼球腫大の眼科学的及び病理組織学的検索  
○瀧本 憲史、黒田 顕、奥 春孝、日比 大介、中村 賢志、村井 厚子、下内 孝司、  
小西 幹夫  
小野薬品工業株式会社 研究本部 安全性研究部
- 18 \* 11週齢のSD雌ラットに認められた組織球肉腫の一症例  
○中野 由佳、野一色 香織、岡崎 孝信、平川 公昭、小林 欣滋  
(株) 新日本科学 安全性研究所
- 19 マウス悪性肝臓腫瘍における胆管成分の診断的意義  
○志賀 敦史、太田 泰史、細井 理代、宮島 留美子、長谷川 和成、奈良間 功  
(公財) 食品農医薬品安全性評価センター

---

座長：義澤 克彦 (関西医科大学 病理学第二講座)

- 20 \* Ishibashi rat (ISR) の脊椎病変の発達期における経時的变化  
○高木 みづほ、山口 裕子、中澤 朋美、霜山 奈津美、鷹野 正生、田村 一利、  
星谷 達  
(株) ボゾリサーチセンター
- 21 マイクロミニピッグにおける精細管の自然発生変化  
○寒川 彰久、大竹 正剛、塩谷 聡子、柴田 昌利  
静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター
- 22 \* 妊娠ラットでみられた乳腺癌の形態学および免疫組織化学的特徴  
○佐山 絢子、青木 貴志、袴田 志野婦、石川 加代子、五十嵐 功、牧野 俊彦、  
甲斐 清徳、高崎 渉  
第一三共(株) 安全性研究所

## 一般口演Ⅳ

第2日目 1月29日(金) 13:10~14:00

第1会場[3F 大ホール]

座長：尾崎 清和（摂南大学薬学部 病理学研究室）  
鈴木 雅実（中外製薬株式会社 研究本部）

○-23 \* イミノジプロピオニトリル発達期暴露によるマウス海馬歯状回ニューロン新生に対する晩発影響とエピジェネティクス毒性

○田中 猛<sup>1,2)</sup>、長谷川 也須子<sup>1)</sup>、板橋 恵<sup>1,2)</sup>、五十嵐 勝秀<sup>3)</sup>、吉田 敏則<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> 岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、<sup>3)</sup> 星薬科大学 先端研

○-24 \* アムホテリシンB投与によるカニクイザルの核変化および水腫性変性を特徴とする心筋病変

○小林 亮介<sup>1)</sup>、小林 大礎<sup>2)</sup>、平嶋 昂<sup>2)</sup>、原田 英樹<sup>2)</sup>、大西 康之<sup>2)</sup>、土居 卓也<sup>1)</sup>、  
涌生 ゆみ<sup>1)</sup>、菅野 剛<sup>1)</sup>、土谷 稔<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 株式会社LSIメディエンス 試験研究センター 病理研究部、

<sup>2)</sup> 株式会社LSIメディエンス 試験研究センター 安全性研究部

○-25 DHPN誘発ラット肺腫瘍におけるERK1/2の活性化に関する検討

○山川 けいこ<sup>1)</sup>、横平 政直<sup>1)</sup>、成澤 裕子<sup>1)</sup>、蟹江 尚平<sup>1)</sup>、吉田 翔太<sup>1)</sup>、  
竿尾 光祐<sup>1,2)</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

○-26 多層カーボンナノチューブ（MWCNT）の4週間吸入暴露によりラットの肺に沈着したMWCNT処理に係わる病理組織学的変化

○相磯 成敏、高信 健司、片桐 卓、妹尾 英樹、梅田 ゆみ、福島 昭治  
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

## 一般口演V

第2日目 1月29日(金) 13:10~14:00

第2会場[6F 国際会議場]

座長：岩田 聖 (ルナパス合同会社 毒性病理研究所)

古川 賢 (日産化学工業株式会社 生物科学研究所)

- 27 ApoE-ノックアウトマウスの石灰化を伴う動脈硬化病変の病理組織学的解析  
○柴田 雅朗<sup>1)</sup>、柴田 映子<sup>2)</sup>、斯波 真理子<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup> 大阪保健医療大学大学院 解剖学・病理組織学研究室、<sup>2)</sup> 国立循環器病研究センター研究所 病態代謝部
- 28 Mcl-1 蛋白を標的とする低分子抗がん物質の毒性と有効性の評価  
○土井 賢一郎、鰐淵 英機、魏 民、梯 アンナ、石井 真美、山野 莊太郎  
大阪市立大学 院 医 分子病理
- 29 多層カーボンナノチューブを経気管反復投与したラットに見られた肺過形成病変に関する病理組織学的解析  
○坂本 義光<sup>1)</sup>、北條 幹<sup>1)</sup>、広瀬 明彦<sup>2)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>、中江 大<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup> 国立衛研、<sup>3)</sup> 東京農大
- 30 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の104週間全身吸入暴露によるラット肺癌の発生  
○梅田 ゆみ、妹尾 英樹、高信 健司、片桐 卓、相磯 成敏、笠井 辰也、大西 誠、  
福島 昭治  
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

## ポスター発表 I-1

第1日目 1月28日 (木) 17:00~18:00

ポスター会場 [1F 展示場]

座長：相磯 成敏 (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)

下井 昭仁 (株式会社イナリサーチ)

- P-01 ラットにおけるDHPNの発がん性に対して磁性ナノ粒子マグネタイトが及ぼす影響  
○多田 幸恵<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>、  
海鋒 藤文<sup>1)</sup>、北條 幹<sup>1)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>、中江 大<sup>2)</sup>、栗田 雅行<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 生体影響研究科、<sup>2)</sup> 東京農業大学
- P-02 \* DHPN誘発ラット肺腫瘍におけるS100A4の発現  
○成澤 裕子<sup>1)</sup>、横平 政直<sup>1)</sup>、山川 けいこ<sup>1)</sup>、蟹江 尚平<sup>1)</sup>、吉田 翔太<sup>1)</sup>、  
竿尾 光祐<sup>1,2)</sup>、今井田 克己<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 香大・医・腫瘍病、<sup>2)</sup> 回生病院
- P-03 \* Whole slide を用いたBleomycin誘発マウス肺線維化の経時的・定量的な病理組織学的解析  
○藤井 雄太、青木 正光、栃谷 智秋、河内 眞美、松本 泉美、山田 徹、  
船橋 斉  
大日本住友製薬(株)
- P-04 rasH2マウスを用いた1,2-ジクロロエタンの反復経皮投与による26週間短期発がん性試験  
○沼野 琢旬<sup>1)</sup>、勝呂 繭子<sup>1)</sup>、土井 悠子<sup>1)</sup>、河部 真弓<sup>1)</sup>、浦野 浩司<sup>2)</sup>、堤 秀樹<sup>2)</sup>、  
萩原 昭裕<sup>1)</sup>、米良 幸典<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>(株) DIMS医科学研究所、<sup>2)</sup> 公益財団法人 実験動物中央研究所

## ポスター発表 I-2

第1日目 1月28日 (木) 17:00~18:00

ポスター会場 [1F 展示場]

座長：梶谷 高敏 (大日本住友製薬株式会社 前臨床研究所 前臨床研究推進グループ)

横平 政直 (香川大学医学部 腫瘍病理学)

- P-05 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の肺障害性と遺伝子発現への影響  
○松本 晴年<sup>1)</sup>、深町 勝巳<sup>1)</sup>、二口 充<sup>1)</sup>、津田 洋幸<sup>2)</sup>、酒々井 眞澄<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 名古屋市立大学 大学院 医学研究科 分子毒性学分野、<sup>2)</sup> 名古屋市立大学 津田特任教授研究室
- P-06 経皮曝露したナノ銀のアジュバント効果解析  
○Young-Man Cho<sup>1)</sup>、水田 保子<sup>1)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、平田 直<sup>1,3)</sup>、  
曾根 瑞季<sup>1,4)</sup>、安達 玲子<sup>2)</sup>、木村 美恵<sup>2)</sup>、最上 (西巻) 知子<sup>2)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup> 同・生化学部、<sup>3)</sup> 昭和大学大学院 薬学研究科、  
<sup>4)</sup> 東京農工大学 農学部 共同獣医学科
- P-07 \* 皮膚バリア破綻とナノ白金粒子皮膚透過性の検討  
○熊谷 文明<sup>1)</sup>、等々力 舞<sup>1)</sup>、瀬沼 美華<sup>1)</sup>、斉藤 義明<sup>1)</sup>、東阪 和馬<sup>2)</sup>、吉岡 靖雄<sup>2)</sup>、  
堤 康央<sup>2)</sup>、桑形 麻樹子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所、<sup>2)</sup> 大阪大学大学院薬学研究科



- P-08 rasH2 マウスを用いた超短期皮膚二段階発がん性評価法の開発  
○勝呂 繭子<sup>1)</sup>、河部 真弓<sup>1)</sup>、沼野 琢旬<sup>1)</sup>、浦野 浩司<sup>2)</sup>、堤 秀樹<sup>2)</sup>、米良 幸典<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> (株) DIMS 医科学研究所、<sup>2)</sup> (公財) 実験動物中央研究所

## ポスター発表 I-3

第1日目 1月28日 (木) 17:00~18:00 ポスター会場 [1F 展示場]  
座長: 勝田 修 (参天製薬株式会社 グローバル非臨床研究統括部 安全性動態グループ)  
正田 俊之 (日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所)

- P-09 Trimethyltin Chloride (TMT) Neurodevelopmental Toxicity in Embryonic Zebrafish  
○パク チェハク、キム ジン  
Seoul National University, Korea
- P-10 \* ラットを用いたユーエフティ投与による嗅上皮の組織学的変化と回復性  
○二宮 芙美子、田中 英樹、吉田 翔太、蟹江 尚平、鈴木 智、箱井 加津男  
大鵬薬品工業 (株)
- P-11 \* 髄鞘傷害物質クプリゾンの28日間反復投与ラットにおける脳部位での網羅的遺伝子発現解析  
○阿部 一<sup>1,2)</sup>、齋藤 文代<sup>3)</sup>、赤堀 有美<sup>3)</sup>、今田中 伸哉<sup>3)</sup>、吉田 智則<sup>1)</sup>、渋谷 淳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京農工大 獣医病理、<sup>2)</sup> 岐阜大 院 連合獣医、<sup>3)</sup> 化学物質評価研究機構
- P-12 \* STP position paper に準じたイヌ脳の切り出し位置の検討  
○山田 直明、友成 由紀、黒滝 哲郎、佐藤 順子、土居 卓也、菅野 剛、  
土谷 稔  
(株)LSIメディアエンス 試験研究センター 病理研究部
- P-13 \* メチルニトロソウレアのラット妊娠期及び授乳期暴露による海馬ニューロン新生への影響  
○渡邊 洋祐<sup>1,2)</sup>、白木 彩子<sup>1,2)</sup>、赤堀 有美<sup>3)</sup>、今田中 伸哉<sup>3)</sup>、吉田 敏則<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> 岐阜大学大学院・連合獣医学研究科、<sup>3)</sup> 化学物質評価研究機構

## ポスター発表 I-4

第1日目 1月28日 (木) 17:00~18:00 ポスター会場 [1F 展示場]  
座長: 河部 真弓 (株式会社 DIMS 医科学研究所)  
平田 暁大 (岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野)

- P-14 \* 酢酸鉛の発達期暴露によるマウス海馬歯状回のニューロン新生に対する影響  
○長谷川 也須子<sup>1)</sup>、田中 猛<sup>1,2)</sup>、渡邊 洋祐<sup>1,2)</sup>、白木 彩子<sup>1,2)</sup>、吉田 敏則<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> 岐阜大学大学院 連合獣医学研究
- P-15 \* Hatano ラットをモデルとした新生ラットの開眼に向けた眼瞼組織の発達に関する研究  
○神明 諒、高村 美帆、長谷川 雄太、鈴木 美帆、田中 恵、末岡 花菜子、  
仲江 嶺夏、島扇 笙子、代田 真理子  
麻布大学 獣医学部 動物応用科学科 比較毒性学研究室

- P-16 \* ラットにおける被覆材及びハーネス装着による眼球角膜への影響及び減弱効果への検討  
 ○渡辺 純<sup>1)</sup>、畠山 洋文<sup>1)</sup>、武井 由弘<sup>1)</sup>、小泉 治子<sup>1)</sup>、梶村 哲世<sup>1)</sup>、井上 紗季<sup>1)</sup>、  
 空 純子<sup>1)</sup>、佐藤 伸一<sup>1)</sup>、下井 昭仁<sup>1)</sup>、岩田 聖<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>(株)イナリサーチ、<sup>2)</sup>ルナパス毒性病理研究所
- P-17 \* ゼブラフィッシュ眼球の病理組織学的検査～固定液の検討及びN-methyl-N-nitrosourea曝露により誘発される網膜の病理組織変化～  
 ○山際 慶典、貞本 和代、根本 真吾、倉田 昌明、榊 秀之  
 千寿製薬株式会社 研究開発本部 薬物動態安全性研究所
- P-18 \* L-glutamate誘発網膜障害における各日齢での標的細胞の同定  
 ○見鳥 光<sup>1,2)</sup>、中原 豊<sup>1)</sup>、坪田 健次郎<sup>1)</sup>、井澤 武史<sup>2)</sup>、桑村 充<sup>2)</sup>、松本 正博<sup>1)</sup>、  
 山手 丈至<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>アステラス製薬(株) 安全性研究所、<sup>2)</sup>大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 獣医病理学教室

## ポスター発表 I-5

第1日目 1月28日(木) 17:00~18:00

ポスター会場[1F 展示場]

座長: 久野 壽也 (名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理学)

- P-19 \* アロキサン誘発糖尿病ラットにおけるプレドニゾロン投与に伴う *Candida albicans* 感染による扁平上皮増殖性および炎症性病変の増悪化  
 ○寺山 由依、中島 悠介、松浦 哲郎、奈良間 功、尾崎 清和  
 摂南大学 薬学部 病理学研究室
- P-20 H pylori除菌によってどのような病変が改善するのか: 胃腺管単位での検討  
 ○桐山 諭和<sup>1)</sup>、立松 正衛<sup>2)</sup>、塚本 徹哉<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科、<sup>2)</sup>日本バイオアッセイ研究センター
- P-21 \* ビーグル犬の胃における各種内分泌細胞の分布に関する免疫組織化学的検討  
 ○山内 啓史、神鳥 仁志、渡辺 武志  
 武田薬品工業株式会社 薬剤安全性研究所

## ポスター発表 I-6

第1日目 1月28日(木) 17:00~18:00

ポスター会場[1F 展示場]

座長: 塚本 徹哉 (藤田保健衛生大学医学部 病理診断科)

箱井 加津男 (大鵬薬品工業株式会社 研究本部)

- P-22 沖縄産天然物質Aのマウス大腸発癌モデルにおける抑制効果  
 ○渡慶次 愛、高松 玲佳、新垣 和也、仲地 里織、吉見 直己  
 琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座

- P-23 \* マウス Azoxymethane/Dextran sulfate sodium モデルを用いた大腸がん抑制物質の探索及び A-kinase anchor proteins 13 の発現解析  
○寒川 祐見<sup>1,2)</sup>、吉田 敏則<sup>1)</sup>、片岡 暁<sup>2)</sup>、木原 亨<sup>2)</sup>、衣斐 彼方<sup>2)</sup>、林 新茂<sup>3)</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> 科研製薬株式会社、<sup>3)</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
- P-24 \* ICR および C57BL/6 マウスにおける炎症性大腸腫瘍誘発モデルにおける系統差  
○中島 康太、野崎 祐次、高木 久宜、古川 文夫  
日本エスエルシー (株) バイオテクニカルセンター
- P-25 ob/ob マウスにおける AOM-DSS 誘発炎症関連大腸発がんへの感受性について  
○杉江 茂幸<sup>1)</sup>、古川 文夫<sup>1)</sup>、田中 卓二<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup> 朝日大学・村上記念病院・病理、<sup>2)</sup> 岐阜市民病院病理診断科・病理診断研究センター

## ポスター発表 I-7

第1日目 1月28日 (木) 17:00~18:00

ポスター会場 [1F 展示場]

座長: 串田 昌彦 (住友化学株式会社 生物環境科学研究所)  
藤原 利久 (株式会社田辺R&Dサービス)

- P-26 \* フッ素の長期過剰投与におけるラット骨毒性の多面的解析  
○関 由妃<sup>1)</sup>、則武 健一<sup>2)</sup>、朝倉 省二<sup>1)</sup>、大塚 昭代<sup>1)</sup>、後藤 彩<sup>1)</sup>、武田 賢和<sup>1)</sup>、  
太田 恵津子<sup>1)</sup>、中野 (伊藤) 今日子<sup>1)</sup>、猪又 晃<sup>1)</sup>、早川 和宏<sup>2)</sup>、細川 暁<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> エーザイ (株) 筑波安全性研究部、<sup>2)</sup> (株) サンプラネット 安全性研究事業部
- P-27 フッ素症の骨及び歯組織に見られる好塩基性顆粒沈着に関する組織学的検索  
○早川 和宏<sup>1)</sup>、関 由妃<sup>2)</sup>、猪又 晃<sup>2)</sup>、太田 恵津子<sup>2)</sup>、武田 賢和<sup>2)</sup>、後藤 彩<sup>2)</sup>、  
園田 二郎<sup>2)</sup>、中野 (伊藤) 今日子<sup>2)</sup>、細川 暁<sup>2)</sup>、青木 豊彦<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> (株) サンプラネット 安全性研究事業部、<sup>2)</sup> エーザイ (株) 筑波安全性研究部
- P-28 \* 血球貪食性組織球肉腫を発症したビーグルの一症例  
○野一色 香織、藤島 純子、小林 欣滋  
株式会社新日本科学 安全性研究所
- P-29 \* ラットにおける静注用鉄剤 (sucrose 鉄剤) による組織変化  
○香川 雄輔、村松 大、木嶋 恵、末廣 美紀、南澤 由佳、伊東 志野、小島 康裕、  
北澤 郁恵、沼尾 湖須生、山口 宏明、二井 愛介  
生化学工業 (株) 中央研究所

## ポスター発表 I-8

第1日目 1月28日 (木) 17:00~18:00

ポスター会場 [1F 展示場]

座長：小林 欣滋 (株式会社新日本科学 安全性研究所)

豊沢 かおる (株式会社住化分析センター)

- P-30 NOG マウスにおける組織所見背景データ  
○笠原 健一郎<sup>1)</sup>、伊倉 佐織<sup>1)</sup>、永谷 真理子<sup>1)</sup>、保田 昌彦<sup>2)</sup>、井上 亮<sup>2)</sup>、  
福永 八千代<sup>1)</sup>、金光 弘幸<sup>1)</sup>、田村 一利<sup>1)</sup>、花見 正幸<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 株式会社ボゾリサーチセンター、<sup>2)</sup> 公益財団法人実験動物中央研究所
- P-31 \* 長期飼育した RccHan :WIST 系雄性ラットにみられた自然発生病変の病理組織学的解析  
○北條 幹<sup>1)</sup>、坂本 義光<sup>1)</sup>、多田 幸恵<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>、高橋 博<sup>1)</sup>、中江 大<sup>2)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup> 東京農業大学
- P-32 光顕とTEMの併用によるステント留置血管の組織解析  
○寺尾 壽子<sup>1)</sup>、早場 純子<sup>1)</sup>、岩谷 綱一<sup>1)</sup>、田崎 雅子<sup>1)</sup>、磯部 厚志<sup>1)</sup>、熊谷 文明<sup>2)</sup>、  
斉藤 義明<sup>2)</sup>、長野 嘉介<sup>3)</sup>、萩原 仁美<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> テルモ (株)、<sup>2)</sup> (財) 食品薬品安全センター 秦野研究所、<sup>3)</sup> 長野毒性病理コンサルティング
- P-33 \* 高分解能イメージング質量分析法 (IMS) を用いた毒性評価の検討  
○佐藤 寛子<sup>1)</sup>、樫村 茜<sup>1)</sup>、橋本 博幸<sup>2)</sup>、鍛冶 秀文<sup>2)</sup>、山本 卓志<sup>3)</sup>、西川 智美<sup>1)</sup>、  
藤木 勝也<sup>1)</sup>、田中 雅治<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) 薬物動態研究所、  
<sup>3)</sup> (株) 島津製作所 分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター
- P-34 FDA SEND への対応ーパソロジストが心得るべき FDA SEND ー  
○畠山 洋文<sup>1)</sup>、堀川 真一<sup>1)</sup>、桜井 淳一<sup>1)</sup>、下井 昭仁<sup>1)</sup>、佐藤 伸一<sup>1)</sup>、岩田 聖<sup>2)</sup>、  
安齋 享征<sup>3)</sup>、中江 大<sup>4)</sup>  
<sup>1)</sup> (株) イナリサーチ、<sup>2)</sup> ルナパス毒性病理研究所、<sup>3)</sup> 昭和大学医学部、<sup>4)</sup> 東京農業大学

## ポスター発表 II-1

第2日目 1月29日 (金) 14:20~15:20

ポスター会場 [1F 展示場]

座長：鳥井 幹則 (塩野義製薬株式会社 開発研究所)

永井 博文 (武田薬品工業株式会社)

- P-35 ラット肝臓における DEN 誘発遺伝毒性に対する MTBITC による抑制効果とその作用メカニズムの解析  
○平田 直<sup>1,2)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、曾根 瑞季<sup>1,3)</sup>、  
中村 孝志<sup>4)</sup>、沼澤 聡<sup>2)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 国立衛研 病理部、<sup>2)</sup> 昭和大学大学院 薬学研究科、<sup>3)</sup> 東京農工大学 農学部、  
<sup>4)</sup> 京都府立大学 生命環境科学研究科

- P-36 \*      メタボリックシンドロームモデルマウス (TSOD マウス) における肝腫瘍の発生メカニズムの検討  
○石井 真美、梯 アンナ、辰己 久美子、藤岡 正喜、土井 賢一郎、魏 民、  
    鰐渕 英機  
大阪市立大学 大学院 医学研究科 分子病理学
- P-37      CD44 ノックアウトマウスを用いた二段階発がん性試験における肝臓腫瘍の発生の検討  
○梯 アンナ<sup>1)</sup>、石井 真美<sup>1)</sup>、辰己 久美子<sup>1)</sup>、魏 民<sup>1)</sup>、佐谷 秀行<sup>2)</sup>、  
    鰐渕 英機<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学、  
<sup>2)</sup> 慶應義塾大学 医学部 先端医科学研究所 遺伝子制御研究部門
- P-38 \*      ラット thioacetamide 投与により DNA メチル化と発現下方制御を受けるミトコンドリア酸化的  
リン酸化関連分子 *Tmem70* の肝臓増殖性病変における発現挙動  
○水上 さやか<sup>1,2)</sup>、八舟 宏典<sup>1,2)</sup>、長谷川 也須子<sup>1)</sup>、吉田 敏則<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> 岐阜大学大学院 連合獣医学研究科
- P-39      高脂肪飼料給餌ラットを用いた二段階肝発がんモデルにおける血中脂質および肝 p22phox 発現  
の解析  
○吉田 敏則<sup>1)</sup>、村山 宗理<sup>1)</sup>、河嶋 将司<sup>1)</sup>、木村 真之<sup>1,2)</sup>、水上 さやか<sup>1,2)</sup>、  
    寒川 祐見<sup>1)</sup>、林 新茂<sup>3)</sup>、渋谷 淳<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京農工大学・獣医病理、<sup>2)</sup> 岐阜大・院・連合獣医、<sup>3)</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ (株)

## ポスター発表Ⅱ-2

第2日目 1月29日 (金) 14:20~15:20

ポスター会場 [1F 展示場]

座長：上田 誠 (日本新薬株式会社 安全性・動態研究部)

涌生 ゆみ (株式会社LSIメディエンス)

- P-40 \*      肝発がん物質エストラゴールの突然変異誘発過程における細胞増殖発現機序の検討  
○石井 雄二、高須 伸二、横尾 諭、土屋 卓磨、木島 綾希、小川 久美子、  
    梅村 隆志  
国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- P-41 \*      CYP2E1 ノックアウトマウスを用いた 1,2-ジクロロプロパンの肝細胞毒性機序検討  
○河内 聡子、藤岡 正喜、辰己 久美子、魏 民、山野 荘太郎、房 赫、武下 正憲、  
    鰐渕 英機  
大阪市立大学 医学研究科 分子病理学
- P-42 \*      ダンマル樹脂の雄性 F344 ラットにおける肝発がん性  
○房 赫、魏 民、藤岡 正喜、辰己 久美子、河内 聡子、土井 賢一郎、石井 真美、  
    梯 アンナ、山野 荘太郎、鰐渕 英機  
大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

- P-43 チオアセトアミド誘発ラット肝障害における障害誘導因子とMHC クラスII 発現細胞の特性  
○倉持 瑞樹、井澤 武史、ペルビン ムンムン、ボンドク アレクサンドラ、桑村 充、  
山手 丈至  
大阪府大 獣医病理
- P-44 \* 高脂肪・高コレステロール飼料を給餌したSHRSP5/Dmcr, SDラット, Wistar-Kyotoラットの  
NASHモデルとしての肝臓および全身病理組織学的特徴  
○大野 祐子、西川 智美、藤木 勝也、洞井 康、田中 雅治  
田辺三菱製薬(株)創薬本部 安全性研究所

## ポスター発表Ⅱ-3

第2日目 1月29日(金) 14:20~15:20

ポスター会場[1F 展示場]

座長: 梅村 隆志(国立医薬品食品衛生研究所)

佐藤 洋(岩手大学)

- P-45 Subcutaneous and Orthotopic Patient-derived Human Hepatocellular Carcinoma Xenograft  
Models for Pharmacodynamic Efficacy Assessment of Sorafenib  
○Chun-Min Liu<sup>1</sup>, Shih-Ta Chen<sup>1</sup>, Mai-Wei Lin<sup>1</sup>, Dian-Kun Li<sup>2</sup>, Hsiang-Wen Tseng<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Industrial Technology Research Institute (ITRI), Taiwan, <sup>2</sup>Buddhist Tzu Chi General Hospital, Taiwan
- P-46 Genotoxicity Assessment on Perillaldehyde, a Flavoring Agent  
○林 新茂<sup>1,2</sup>, Cheryl Hobbs<sup>1,3</sup>, Robert Maronpot<sup>1,4</sup>  
<sup>1</sup>日本香料工業会、<sup>2</sup>三栄源エフ・エフ・アイ(株)、<sup>3</sup>Integrated Laboratory Systems, Inc.,  
<sup>4</sup>Maronpot Consulting LLC
- P-47 \* 胎生期および哺育期におけるPhenobarbital暴露の児動物への影響の検索  
○加藤 由隆、牧野 絵美、伊藤 強、嶋田 悠子、小山 彩、高橋 尚史、大塚 亮一、  
武田 眞記夫、桑原 真紀、原田 孝則  
(一財) 残留農薬研究所
- P-48 LEAラットの膵島初期病変の形態学的検討  
○佐藤 亮<sup>1</sup>、高橋 徹行<sup>2</sup>、泉 啓介<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>大塚製薬 安全性研究センター、<sup>2</sup>徳島大学大学院

## ポスター発表Ⅱ-4

第2日目 1月29日(金) 14:20~15:20

ポスター会場[1F 展示場]

座長: 田中 雅治(田辺三菱製薬株式会社 安全性研究所)

仲辻 俊二(SNBL USA, Ltd. Pathology Services)

- P-49 \* 酸化的DNA損傷を引き起こす腎発がん物質による遺伝子突然変異  
○土屋 卓磨、石井 雄二、高須 伸二、木島 綾希、横尾 諭、小川 久美子、  
梅村 隆志  
国立衛研 病理部

- P-50 4-クロロ-2-ニトロアニリンの経口投与によるがん原性試験のラットでみられた慢性腎症  
○高信 健司、梅田 ゆみ、妹尾 英樹、片桐 卓、相磯 成敏、福島 昭治  
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-51 \* 片腎摘出处置がdb/dbマウスにおける腎臓病変に及ぼす影響  
○豊田 薫、柿本 恒知、美谷島 克宏、安井 雄三、剣持 佑介、中村 明子、  
谷合 枝里子、高橋 明美、正田 俊之、高木 賀容子、竹内 里美、前川 竜也、  
宮川 義史  
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所
- P-52 ラット腎間葉系腫瘍の分子生物学的類似性に関する検討腎間葉腫は、腎芽腫の一分類か？  
○奥村 真衣<sup>1)</sup>、尾崎 清和<sup>2)</sup>、山野 荘太郎<sup>1)</sup>、奈良間 功<sup>3)</sup>、鰐淵 英機<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 大阪市立大学大学院 分子病理学、<sup>2)</sup> 摂南大学 病理学教室、<sup>3)</sup> (財) 食品農医薬品安全性評価センター
- P-53 SDラットに自然発生した腎尿細管上皮細胞のカリオメガリーの1例  
○中村 賢志、瀧本 憲史、村井 厚子、日比 大介、下内 孝司、小西 幹夫  
小野薬品工業(株) 研究本部 安全性研究部

## ポスター発表Ⅱ-5

第2日目 1月29日(金) 14:20~15:20

ポスター会場[1F 展示場]

座長: 小笠原 裕之(アスピオファーマ株式会社)

澤本 修(株式会社大塚製薬工場)

- P-54 \*  $\gamma$ H2AXを用いた遺伝毒性膀胱発がん物質の早期検出系構築-マウスでの検討  
○曾根 瑞季<sup>1,2)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、水田 保子<sup>1)</sup>、  
平田 直<sup>1,3)</sup>、西川 秋佳<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 国立衛研、<sup>2)</sup> 東京農工大 農 共同獣医、<sup>3)</sup> 昭和大 院 薬
- P-55 利尿薬投与によるラット膀胱壁肥大 一画像解析を用いた評価—  
○吉川 剛、西村 悠花里、土屋 卓磨、伊藤 優子、松下 幸平、佐藤 亮、北浦 敬介、  
松本 智志  
大塚製薬株式会社 徳島研究所 安全性研究センター 毒性研究部
- P-56 発酵玄米によるTRAPラット前立腺発がん抑制効果の検討  
○久野 壽也、加藤 寛之、内木 綾、佐藤 慎哉、鈴木 周五、高橋 智  
名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学
- P-57 \* 選択的HDAC阻害剤による前立腺癌増殖抑制効果の検討  
○佐藤 慎哉<sup>1,2)</sup>、鈴木 周五<sup>1)</sup>、内木 綾<sup>1)</sup>、加藤 寛之<sup>1)</sup>、久野 壽也<sup>1)</sup>、高橋 智<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 名市大・院 医 実験病態病理、<sup>2)</sup> 名古屋市立西部医療センター 病理診断科

## ポスター発表Ⅱ-6

第2日目 1月29日(金) 14:20~15:20

ポスター会場[1F 展示場]

座長:岡崎 欣正 (AnaPath GmbH)

志賀 敦史 (公益財団法人食品農医薬品安全性評価センター)

- P-58 \* ラット胎児および哺育児の甲状腺における化学物質の毒性の病理組織学的評価に関する基礎検討: (1) 発達期における正常な甲状腺組織像の変遷  
○吉光 仁美、吉田 しおり、長井 寛明、天沼 利宏  
日本農薬(株) 総合研究所 安全性・医薬ユニット 毒性・薬理グループ
- P-59 \* ラット胎児および哺育児の甲状腺における化学物質の毒性の病理組織学的評価に関する基礎検討: (2) Propylthiouracil (PTU) 投与による病理組織学的変化  
○吉田 しおり、吉光 仁美、長井 寛明、天沼 利宏  
日本農薬(株) 総合研究所 安全性・医薬ユニット 毒性・薬理グループ
- P-60 \* 新生児期17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール (EE) 曝露による遅発影響に関わる初発影響の探索  
○田中 恵、古澤 理沙、吉河 佑莉、川嶋 潤、代田 真理子  
麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室
- P-61 カニクイザルの自然発生性子宮内膜症の病理学的特徴と臨床類似性  
○松尾 沙織里<sup>1)</sup>、西本 綾子<sup>1)</sup>、根津 幸穂<sup>2)</sup>、林 修次<sup>1)</sup>、加藤 淳彦<sup>1)</sup>、鈴木 雅実<sup>1)</sup>、今野 良<sup>2)</sup>、山海 直<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup> 中外製薬、<sup>2)</sup> 自治医科大学付属さいたま医療センター 産婦人科、  
<sup>3)</sup> 医薬基盤・健康・栄養研究所 霊長類医科学研究センター
- P-62 Characterization of mammary carcinomas in male and female rats after MNU exposure  
○義澤 克彦<sup>1)</sup>、結城 美智子<sup>1)</sup>、木下 勇一<sup>1,2)</sup>、榎本 祐子<sup>1)</sup>、垾 貴司<sup>1)</sup>、四方 伸明<sup>2)</sup>、Susan A Elmore<sup>3)</sup>、螺良 愛郎<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 関西医科大学 病理学第二講座、<sup>2)</sup> 関西医科大学滝井病院、<sup>3)</sup> NIH/NIEHS

## ポスター発表Ⅱ-7

第2日目 1月29日(金) 14:20~15:20

ポスター会場[1F 展示場]

座長:大町 康 (放射線医学総合研究所)

渋谷 一元 (一般財団法人 日本生物科学研究所)

- P-63 \* NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$  マウスにおける自然発生性胸腺リンパ腫がPDXモデル作製へ与える影響  
○加藤 千恵、藤井 悦子、西原 香織、加藤 淳彦、鈴木 雅実  
中外製薬株式会社 研究本部
- P-64 \* 封入体遺伝子組換え *Yersinia* adhesion A (rYadA) は、*Yersinia pseudotuberculosis* 感染の症状を軽減する  
○津郷 孝輔、中村 進一、山中 寛子、宇根 有美  
麻布大 獣医病理



- P-65 Anti-oxidative Property of Phikud Navakot on Sheep Erythrocyte  
○Sumate Ampawong<sup>1)</sup>, Kanchana Kengkoom<sup>2)</sup>, Supattra Suwanmanee<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> Department of Tropical Pathology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Thailand  
<sup>2)</sup> Academic Services Division, National Laboratory Animal Center, Mahidol University, Thailand
- P-66 酸化ストレス刺激による細胞遊走亢進機序の解析  
○安井 雄三<sup>1,2)</sup>、北谷 佳那恵<sup>1)</sup>、柿本 恒知<sup>2)</sup>、美谷島 克宏<sup>2)</sup>、剣持 佑介<sup>2)</sup>、  
中村 明子<sup>2)</sup>、豊田 薫<sup>2)</sup>、谷合 枝里子<sup>2)</sup>、高橋 明美<sup>2)</sup>、正田 俊之<sup>2)</sup>、菅井 象一郎<sup>2)</sup>、  
竹腰 進<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東海大学 医学部 基礎医学系生体防御学、<sup>2)</sup> 日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所

## ポスター発表Ⅱ-8

第2日目 1月29日(金) 14:20~15:20

ポスター会場[1F 展示場]

座長：高場 克己(協和発酵キリン株式会社 トランスレーショナルリサーチユニット)

笹木 修(独立行政法人医薬品医療機器総合機構)

- P-67 \* 高脂血症ラットを用いた不確実係数の妥当性の検証  
○豊田 武士<sup>1)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、水田 保子<sup>1)</sup>、西川 秋佳<sup>2)</sup>、  
小川 久美子<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 安全性生物試験研究センター
- P-68 \* 発達期高脂肪摂食による児の免疫組織への形態学的影響  
○等々力 舞、瀬沼 美華、熊谷 文明、斉藤 義明、桑形 麻樹子  
(一財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 毒性部 病理学研究室
- P-69 ICR マウスを用いた発がん性試験の対照群で高頻度に見られたアミロイド症の背景データとの比較解析  
○伊藤 強、加藤 由隆、牧野 絵美、嶋田 悠子、小山 彩、高橋 尚史、桑原 真紀、  
原田 孝則  
(一財) 残留農薬研究所
- P-70 \* Tris (2,3-dibromopropyl) isocyanurate の28日間反復投与毒性試験  
○高須 伸二、石井 雄二、横尾 諭、土屋 卓磨、木島 綾希、小川 久美子、  
梅村 隆志  
国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- P-71 \* SDラットを用いたリポソーム投与による影響及び回復性についての検討  
○吉田 翔太、田中 英樹、二宮 芙美子、蟹江 尚平、土井 祐輔、鈴木 智、  
別枝 和彦、森田 文雄、箱井 加津男  
大鵬薬品工業(株) 安全性研究所

## ランチョンセミナーⅠ

第1日目 1月28日(木) 12:00~13:00

第2会場 [6F 国際会議場]

座長: 高橋 道人 (病理ピアレビューセンター)

共催: アナパス GmbH/セーフティアライアンス

- LS1 誘発性精子障害の理解を深めるための様々なデバイスを用いた観察・評価 (事例)  
クラウス・ウェーバー  
アナパス GmbH

## ランチョンセミナーⅡ

第1日目 1月28日(木) 12:00~13:00

第3会場 [5F 第2小ホール]

共催: 株式会社ボゾリサーチセンター

- LS2 重度免疫不全動物である NOG マウスと NSG マウスの特徴とその比較  
永谷 真理子  
株式会社ボゾリサーチセンター

## ランチョンセミナーⅢ

第2日目 1月29日(金) 12:00~13:00

第2会場 [6F 国際会議場]

座長: 義澤 克彦 (関西医科大学 病理学第二講座)

共催: WIL Research

- LS3 Bias in Image Analysis and its Solution: Unbiased Stereology  
~毒性試験におけるステレオロジーの最新情報とその応用~  
Danielle Brown  
WIL Research

## ランチョンセミナーⅣ

第2日目 1月29日(金) 12:00~13:00

第3会場 [5F 第2小ホール]

座長: 鰐淵 英機 (大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学)

共催: 日本チャールス・リバー株式会社

- LS4 Historical background pathology data for selection of rat strain in carcinogenicity studies  
Luc Chouinard  
Charles River Laboratories Montreal ULC



# 講演要旨

---

特別講演

教育講演

シンポジウム

ワークショップ



## SL-01

## 化学物質のリスクアセスメントにおける毒性病理学：その限界への挑戦

○三森 国敏

東京農工大学名誉教授

医薬品や食品に含まれる化学物質のリスクアセスメントにおいては、毒性病理学が最も重視されていることは周知のとおりである。今までに私達は、化学物質により誘発される様々な毒性病変を発見することができたが、毒性病理学においてもその解析力には限界があることを経験している。本講演では、その限界の事例をいくつか取り挙げ、今後どのように克服していくべきかについて述べたい。

毒性試験における病理組織学的検査は、主にヘマトキシリン・エオジン（HE）染色標本について実施されている。毒性病変の特徴を更に明確にするため免疫組織化学や電子顕微鏡解析等が実施されているが、HE染色標本観察に替わる画期的な検索法が近年開発されているわけではない。特に、光学顕微鏡下での観察では、その解析力に限界があることから、軽微な毒性変化を見逃す危険性があるので、細心の注意が必要である。

光学顕微鏡の限界の一例として、精巣の精細管上皮に誘発される毒性病変は、経時的観察を行えば、ある程度の病理発生は推測可能である。しかし、ほとんどの場合パキテン期精母細胞のアポトーシスがみられ、その誘発機序を形態学的手法のみで明確にすることはできない。最近、そのアポトーシス発現にはヒストン・ジアセチラーゼの抑制によるエピジェネティックな機序が関与していることが示唆されてきており、今後分子生物学的手法等も私達は積極的に取り入れていくべきである。

毒性病理学研究者は、個体レベルでその化学物質による毒性を評価できるが、化学構造式から誘発される毒性や発がん性を予測することについては不得意である。例えば、フェナセチンは腎毒性や発がん性を示すが、その代謝物のアセトアミノフェンにはそのような毒性は見られない。その差異は、フェナセチンの多くはアセトアミノフェンに代謝されるが、一部は水酸化されて毒性の強いN-ヒドロキシフェナセチンとなるからである。私達は、今後構造活性相関を考慮した毒性予測法等についての知識も深めていく必要がある。

発がん性試験では、被験物質についての通常の遺伝毒性試験では陰性結果が得られているにもかかわらず、自然発生では見られない稀な腫瘍が誘発されることがある。このような場合、その発がん機序をどのように解明すべきか戸惑うことがある。まず、遺伝毒性の可能性を完全に否定するため追加遺伝毒性試験が必要となる。遺伝毒性の可能性が否定できた場合、次のステップとして、非遺伝毒性発がん物質であることを証明するための機序解析が不可欠となるが、その機序を解明することは必ずしも容易ではない。その機序解明のために必要な最新の科学情報を積極的に収集すべきである。

最近の生命科学の飛躍的進歩に伴い、毒性評価にゲノミクス解析が積極的に取り入れられている。しかし、この解析で得られたデータからどのように毒性を評価するかについては、分子生物学研究者の知識のみでは限界があり、誘発された毒性所見の全体像を把握できる毒性病理学研究者の参画が不可欠である。一枚のHE染色標本から過去にどのような傷害が誘発され、今後どのような病態に進展していくかを推測できるのは私達病理学研究者だけであることを強調すると共に、21世紀における毒性病理学のさらなる発展を期待している。

## SL-02

## Critical Role of Toxicologic Pathology in a Short-Term Screen for Carcinogenicity

○Samuel M. Cohen

Department of Pathology and Microbiology, University of Nebraska Medical Center, USA

A major consideration for safety evaluation of chemicals is an assessment for possible carcinogenic activity, most commonly utilizing the two-year assay in rats and mice. Many problems have been identified with this assay, including cost, time, and extensive use of animals. Over the past decades, it has also become clear that the results of these assays are frequently not applicable to human risk. A variety of alternatives have been suggested, beginning with the Ames assay in the 1970's. However, none of these have proven satisfactory. A few modes of action that are highly predictive of human carcinogenicity and require only short-term assessments are DNA reactivity, immunosuppressive, and strong estrogenic activity. Immunosuppression in humans, whether caused by inherited disorders, medications, or AIDS, increases risk of various cancers, mainly related to viral infections. Estrogen increases risk of breast and endometrial cancer in humans, possibly ovary and liver. Immunosuppressive and estrogenic activities can be readily evaluated by histopathology in short term animal studies combined with *in vitro* assessments. An additional indication of possible carcinogenic activity is an increase in cell proliferation. This can be assessed by a variety of methods, beginning with something as simple as increased organ weight, but most commonly evaluated on the basis of hyperplasia in routine histopathologic examinations. However, proliferation labeling indices are more sensitive for detection of early increases in cell proliferation, utilizing various labels such as bromodeoxyuridine (BrdU), Ki-67, and PCNA. Increased proliferation is detected in 7 to 90 days in animal studies, depending on chemical class and target tissue. Evaluation of dose and mode of action are critical for evaluating human relevance. In evaluating dose and mode of action, reliance on histopathology is critical, and can include other modalities, such as immunohistochemistry and genomic and other molecular analyses. It is essential for such analyses that proper tissue samples are selected for examination. Furthermore, evaluation of transgenic and knockout models of carcinogenesis require thorough evaluation by trained pathologists. Despite the current emphasis on *in vitro* studies and molecular analyses, pathology remains central to an overall evaluation of carcinogenic risk.

## IATP Lecture

### Adverse, Non-adverse, and Adaptive Responses in Toxicologic Pathology

○Robert R. Maronpot

Chair, IATP Education Committee

Maronpot Consulting LLC, USA

One basic definition of toxicology is “the study of adverse effects,” and yet a precise and all-encompassing definition of ‘adverse’ is elusive. Finding a universally agreed upon and understood definition of ‘adverse’ in the context of preclinical studies is challenging and communicating what is ‘adverse’ versus ‘non-adverse’ or ‘adaptive’ to regulatory authorities and the public is even more challenging. Defining and communicating an effect or change that is non-adverse suffers from the same imprecision and difficulties as defining and communicating what is adverse. In assessment of potential risk to human health, we attempt to define adverse within the context of a given method of exposure and dose and communicate our opinion using the concept of ‘no observable adverse effect level’ (NOAEL). But NOAEL also suffers from ambiguity in terms of statistical and biological relevance as it simultaneously deals with objective and subjective endpoints.

Most traditional definitions of adverse involve a “*change in the morphology, physiology, growth, development, reproduction, or life span of an organism, system, or (sub) population that results in an impairment of functional capacity, an impairment of the capacity to compensate for additional stress, or an increase in susceptibility to other influences*” (IPCS, 2004). However, in many cases whether a change in one of these categories is adverse (pathological) or adaptive (physiological) is not clear and is subject to conflicting opinions. Identifying a response that is non-adverse is as problematic as identifying an adverse response and basically involves an observable outcome or response that is basically not harmful. The concept of an adaptive response in toxicology involves a response to a xenobiotic or stress whereby the organism survives in the presence of the xenobiotic or stress without functional impairment. Determination of what is adverse versus adaptive involves a judgment based on expert opinion in defining where a response falls on the continuum from normal to pathological. Some apical responses such as death and cancer are readily accepted as adverse. A mild change in organ morphology and function that is reversible, such as hepatocellular hypertrophy and enzyme induction, is generally regarded as adaptive. However, excessive and prolonged hepatic enzyme induction can lead to generation of reactive metabolites that alter DNA, stimulate a proliferative response, and lead to cancer.

Up to the present time definitions of adverse have been based on what is referred to as apical endpoints where the term ‘apical’ refers to definitive phenotype and/or functional changes. As part of the current paradigm shift from conventional animal studies to new technologies (‘omics tools’, human cells, *in vitro* high throughput screening, stem cell culturing, reconstructed tissues) and alternative approaches (mode-of-action, pathway-based toxicology, adverse outcome pathways) we will need to rethink definitions of adverse, non-adverse, and adaptive for assessing toxicity potential. At this point in time, use of toxicogenomics and newer-based test methods and computational strategies must await more complete biological validation. In the meantime, we are still using the more traditional apical measurements to identify adverse versus non-adverse effects.

Whether a specific chemical challenge to a biological system will result in an adverse or adaptive outcome should be assessed within a temporal- and dose-response continuum. Examples of changes in different organs and the rationale for considering these adverse, non-adverse or adaptive will be presented for adrenal, thyroid, liver, kidney, and lung.

#### References

- Boekelheide, K. and S.N. Campion, 2010, Toxicity testing in the 21<sup>st</sup> century: Using the new toxicity testing paradigm to create taxonomy of adverse effects. *Toxicol Sci* v. 114 (1), p. 20-24.
- Dorato, M. A., and J. A. Engelhardt, 2005, The no-observed-adverse-effect-level in drug safety evaluations: use, issues, and definition(s). *Regul.Toxicol.Pharmacol.*, v. 42, no. 3, p. 265-274.
- Hall, A. P. et al., 2012, Liver hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-adverse) changes--conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop: *Toxicol.Pathol.*, v. 40, no. 7, p. 971-994.
- IPCS. IPCS Harmonization Project: Risk Assessment Terminology. Part 1: IPCS/OECD Key Generic Terms used in Chemical Hazard / Risk Assessment Part 2: IPCS Glossary of Key Exposure Assessment Terminology. World Health Organization . 2004.
- Keller, D. A., D. R. Juberg, N. Catlin, W. H. Farland, F. G. Hess, D. C. Wolf, and N. G. Doerrer, 2012, Identification and characterization of adverse effects in 21st century toxicology: *Toxicol.Sci.*, v. 126, no. 2, p. 291-297.
- Krabe E, Williams G, Lewis R, Kimber I, Foster P. Distinguishing between adverse and non-adverse effects. *Exp Toxic Pathol* 54, 51-55. 2002. Urban & Fischer.
- Krewski D, Acosta Jr D, Andersen M, et al. 2010. Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Review* 13[2-4], 51-138.
- Lewis, R. W., R. Billington, E. Debryune, A. Gamer, B. Lang, and F. Carpanini, 2002, Recognition of adverse and nonadverse effects in toxicity studies: *Toxicol.Pathol.*, v. 30, no. 1, p. 66-74.



## SY-01

## 食品のリスクアセスメントと毒性病理学

○林 新茂

三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 安全性科学部

食品安全を確保するためのリスク分析の基本的枠組みにおいて、食品のリスクアセスメントは、食品中に含まれるハザードを摂取することにより、ヒトにどのような健康影響が起りうるかを専門家が科学的根拠に基づいて評価することである。通常、十分な疫学データは得難く、動物を用いた毒性試験データがリスクアセスメントに用いられる。

食品の安全に絶対はなく、ゼロリスクはありえない。すなわち、リスクの存在を前提に管理されている。具体的には、食中毒菌などの生物学的ハザードや食品添加物、農薬あるいは加工食品の製造過程で副次的に発生する汚染物質などの化学物質が評価されている。食品添加物は不特定多数のヒトが生涯にわたり様々な状況下で非意図的に摂取することから、ヒトの健康に何ら影響が生じないことを科学的に確認された品目だけが使用を認められている。食品香料は、多くが食品の常在成分であり、単純な化学構造の品目が多いこと、ごく微量で使用されるという点から、欧米やFAO/WHO合同食品添加物専門家会議（JECFA）での安全性評価法は日本と異なっている。こうしたリスク分析の枠組みでは、科学的根拠に基づいて評価された品目でも新たなデータがあれば再評価される。JECFAでは、コーデックス食品添加物部会（CCFA）の要請により再評価を開始している。欧米でも食品添加物や香料の安全性評価の見直しは逐次行われており、欧州食品安全機関（EFSA）は、2009年より以前に欧州連合内で認可された全ての食品添加物を2020年までに再評価することになっている。

一方、健康食品の安全性確保は企業に委ねられているが、その根拠の多くは食経験を基にした極めて信頼性の低いものであり、毒性試験データの質および量は共に限りなく乏しい。しかしながら、天然由来の抽出物や特定の成分からなる健康食品は通常の食事ではあり得ない量を長期間にわたって摂ることが多く、必然的にばく露量が増え、これに起因する健康被害が報告されている。

本シンポジウムでは、我が国における食品添加物や食品香料に係る規制の沿革を振り返り、現況と課題を整理する。食品中の化学的ハザードの例として、加熱調理過程で非意図的に発生するアクリルアミドや、いくつかの食品香料を取り上げる。米国NTPでは、ばく露量が多い健康食品成分について継続的に毒性試験や発がん性試験を実施しておりイチヨウ葉エキスや緑茶抽出物、アロエベラを例に病理変化を供覧する。これらの毒性病理学的所見を通して、食品安全確保のためのリスクアセスメントの世界的趨勢を概観する。

## SY-02

## 化学物質のリスクアセスメントと毒性病理学

○一鬼 勉

九州大学ARO次世代医療センター

現代の世の中にとって、化学物質はなくてはならない存在となっている。つまり、人々は化学物質の恩恵を受けて生活しているということになる。しかしながら、「化学物質」という言葉を聞くと我々の健康や環境に悪影響を及ぼすのではないかと不安に思う人が多いのも事実である。毒性学の父、パラケルススが言った「用量が毒を作る。」という言葉は有名である。つまり、量により毒にも薬にもなるということである。

化学物質が固有に持っている性質のうち、環境や健康に対して悪影響を与えるものを有害性 (Hazard) といい、これがすなわち毒性である。有害性が強ければその摂取量は大きく抑えなければならない。化学物質のリスクの説明で良く使用されるのがライオンである。目の前にライオン (Hazard) が現われる (曝露: Exposure) とすぐに逃げ出すであろう。しかし、それが檻の中に入っていれば動物園と同じで、怖がらずに近づいて観察することが可能になる (曝露の低減)。このように物質が持っている毒性そのものはなくせないが、それによって引き起こされるリスクを低減することは可能である。

今、世界各国は「予防的取組方法に留意しつつ、透明性のある科学的根拠に基づくリスク評価手順を用いて、2020年までにすべての化学物質を人の健康や環境への影響を最小化する方法で生産・利用される」べく、官民挙げて取り組んでいる。日本においても「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(化審法)の改正(2011年完全施行)が行われ、有害性を重視した規制からリスク評価を基にした規制に大きく変わってきた。また、同時に新規化学物質を中心とした規制体系から既存化学物質をも大きく取り込んだ規制体系となった。

では、法規制の中での化学物質のリスク評価とはどのようなものであろうか。化学物質に一定の有害性があったとしても、その曝露量が少なければ、そのリスクは容認される程度に抑えることは可能であろうという考え方を世界中が採用し始めている。有害性が高いと判断された物質はその曝露を抑えるために強く規制され、有害性がそれほど高くなければ緩やかな規制となり、リスクはそれぞれ容認される範囲に収まることになる。

リスクを厳密に評価するには、有害性と曝露量を可能な限り正確に測定する必要がある。化審法においては「長期毒性」を有害性判定の基本においていることから、動物を使用した毒性試験が重要視される。ヒトの健康有害性については、28日間反復投与毒性試験を中心とした動物試験を実施することにより、その毒性の特徴とNOELを可能な限り正確に求めることにより、有害性を厳密に評価することが可能となる。また、当然ながら28日間反復投与よりは90日間反復投与、さらには1年間の慢性毒性試験から得られたNOELのほうが確実性は増す(不確実性が減少する)。今後は、リスク評価を厳密に行うために、政府が長期毒性の「有害性調査指示」を出す機会が増加する可能性があり、毒性試験においてNOEL導出に重要な鍵を提示する毒性病理学の役割はますます重くなってくると思われる。

## SY-03

## 農薬のリスクアセスメントと毒性病理学

○古川 賢

日産化学工業株式会社 生物科学研究所

農薬は生理活性を有する化学物質であり、環境中に放出されるため、防除対象とする病害虫や雑草以外の生物、ヒト及び環境に対する影響が危惧される。日本において農薬登録申請で必要となる安全性試験は、農薬が影響を及ぼす対象を考慮して1) 農薬散布者に対する健康影響を対象にした試験（急性毒性試験、刺激性試験、感作性試験、変異原性試験、催奇形性試験など）、2) 残留農薬による消費者への健康影響を対象にした試験（慢性毒性試験、発がん性試験、繁殖毒性試験、作物残留試験など）、3) 環境影響を対象にした試験（水産動植物影響評価試験、土壌中/水中運命試験、水質汚濁性試験など）の3つに大別される。これら各種試験より農薬散布者、消費者及び環境生物へのリスクアセスメントが行われている。

## 1) 農薬散布者へのリスクアセスメント

農薬散布者の安全性を担保するために、農薬の毒性指標（急性毒性、眼及び皮膚刺激性及び感作性）を参考に分類し、農薬使用時の注意事項において必要な防護装備（マスク、保護眼鏡、手袋、防除衣）を適正に着用することでリスク管理を行っている。

## 2) 消費者へのリスクアセスメント

## (1) 作物中の残留農薬による急性的な毒性リスクアセスメント

急性参照用量（ARfD）はヒトが農薬を短時間（24時間以内）に経口摂取した場合、健康に悪影響を示さないと推定される一日当たりの摂取量である。主として単回投与試験で得られた結果から血液、免疫、神経系及び肝臓/腎臓などへの影響を指標に無毒性量を設定し、適切な安全係数を用いてARfDを算出する。作物からの推定摂取量がARfDを超えることがないように残留農薬基準値が設定される。

## (2) 作物、食品あるいは飲料水中の残留農薬による慢性的な毒性リスクアセスメント

一日許容摂取量（ADI）はヒトが一生にわたり毎日摂取しても健康に悪影響を示さないと推定される一日当たりの摂取量である。主として長期毒性試験で得られた無毒性量から、種差及び個体差を考慮して安全係数1/100をかけてADIを算出する。当該農薬の作物残留試験及び対象となる作物の平均的な一日摂取量（フードファクター）からその推定摂取量を算出し、この含量がADIの80%を超えないように、作物ごとに残留農薬基準値が設定される。

農薬の安全かつ適正な使用を確保するため、これらリスクアセスメントにより設定された残留農薬基準以下になるように農薬の使用方法（農薬使用基準）が規定されている。

## 3) 環境生物へのリスクアセスメント

農薬は開放系で使用されることから、生態系、特に水域環境への影響について水域リスク評価が実施されている。農薬の物理化学性、施用方法及び投下薬量から環境中予測濃度（PEC）を算出し、魚類、ミジンコ及び藻類の急性毒性値より算出された急性影響濃度（AEC）を水産動植物の被害防止に係る登録保留基準値とし、両者を比較することによりリスクアセスメントを行う。その結果、PECがAECを上回る場合はさらに、高次の試験（水質汚濁性試験あるいは実濃度毒性）よりPECを算出し、それでもPECが上回る場合には登録保留となる。陸域環境については同様のリスクアセスメントはなされていないが、有用昆虫（ミツバチ、カイコ、天敵昆虫など）、鳥類などへの影響を確認した試験の提出が義務づけられており、その結果を踏まえた農薬容器ラベルの注意事項によりリスク管理を行っている。

## SY-04

## 環境物質のリスクアセスメントと毒性病理学

○鰐渕 英機

大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

環境中には多数の化学物質が存在し、医薬品、農薬を始め種々の目的に使用されている。我々が環境物質の恩恵にあずかるところは大きい、一方、人々の健康に悪影響、特に発がんに大きく関与している面があることも事実である。したがって、環境発がん物質の同定や、それがヒトのがん発生にどの程度影響を及ぼすのかという課題の解決は社会的、医学的にも極めて重要である。しかし、大部分の環境物質による発がん性はヒトでは未知である。したがって、環境物質のリスクアセスメントにおいて毒性病理学が重要な役割を担っている。すなわち、実験動物を用いた発がん研究による環境物質の発がん性およびそのメカニズムの解明がリスクアセスメントにおいて重要不可欠である例としてヒ素の発がん性をあげる。ヒ素の発がん性については、疫学的に皮膚、肺、膀胱などで認められている。井戸水を介したヒ素汚染による慢性ヒ素中毒の危険にさらされている人々は、アジア諸国、中南米諸国において約数千万人にも及ぶといわれており、ヒ素曝露からの潜在的ながんの発生リスクが高まっていることから、世界的な問題となっている。しかしながら、動物実験においてのヒ素の発がん性は、まだ十分に検証されておらず、その発がんの本態は不明である。我々は、ほ乳類における無機ヒ素の主な代謝産物である有機ヒ素化合物の dimethylarsinic acid (DMA) の染色体毒性に注目し、DMA の発がん性およびその発生機序を様々な動物モデルを用いて明らかにしてきた。今回は、ヒ素発がん性の実験的証明に関する我々のこれまでに得られた知見について紹介し、環境物質のリスクアセスメントにおける毒性病理学の意義について議論したい。

動物実験を実施する際には実験動物愛護の観点から3R原則（Replacement：代替法の利用、Reduction：使用動物数の削減、Refinement：実験動物の苦痛軽減）が求められている。したがって、毒性病理学分野において発がん性検証の迅速化および発がんに関する最新知見を取り入れた発がん性評価手法の開発が求められている。そこで、我々は *in vivo* 変異原性を検索できる gpt delta ラットを用いて発がん性と遺伝毒性を包括的に検出できる新規発がんリスク評価法を開発し、データを蓄積している段階にある。また、発がん性予測のためのトキシコジェノミクス解析に基づく遺伝子マーカーセットの開発を行っている。本講演では、これらの評価法についても紹介したい。

## WS-01

## 慢性炎症による異常DNAメチル化誘発の分子機構

○竹島 秀幸、牛島 俊和

国立がん研究センター研究所・エピゲノム解析分野

異常DNAメチル化は、がんになる前のポリクローナルな組織においても高レベルに蓄積しており、がんなどの疾患の発症に深く関与している。異常メチル化は、様々な環境要因への曝露により誘発されるが、慢性炎症は、特に強力な誘発要因として知られている。しかしながら、どのような分子機構により異常メチル化が誘発されるかは不明である。そこで本研究では、慢性炎症による異常メチル化誘発の分子機構を明らかにすることを目的とした。

最初に、*Helicobacter felis*感染マウス胃炎モデルを用いて、異常DNAメチル化の誘発を解析した。散在性のメチル化（CpGアイランド内の少数のCpG部位のみがメチル化された状態）は、感染初期に誘発されるのに対して、CpGアイランド全体のメチル化は、感染後期でより顕著に誘発された。慢性炎症によるDNAメチル化関連遺伝子の発現変化を解析したところ、DNAメチル化酵素群の発現変化は認められなかった、一方で、DNA脱メチル化に関与する*Tet*遺伝子群では、*Tet3* ( $p=2.2 \times 10^{-6}$ ) 遺伝子の発現低下が感染初期に、*Tet1* ( $p=1.7 \times 10^{-3}$ ) 及び *Tet2* ( $p=1.2 \times 10^{-3}$ ) 遺伝子の発現低下が感染後期に認められた。次に、慢性炎症による*Tet*遺伝子発現抑制の分子機構を明らかにするために、1,881個のマイクロRNAの発現変化を解析した。1,881個のマイクロRNAのうち、36個が慢性炎症により発現上昇した。これらのマイクロRNAのうち、miR-29cは*Tet1*、*Tet2*及び*Tet3*遺伝子の発現を抑制することが分かった。

以上の結果より、慢性炎症への曝露により複数のマイクロRNAの発現が上昇し、*Tet*遺伝子の発現が低下することで、異常DNAメチル化の誘発に至る可能性が示唆された。



## WS-02

## Sleeping Beautyトランスポゾンによるマウス肝発癌モデル—発癌関連遺伝子と肝腫瘍形質の関連の検討

○山本 雅大

旭川医科大学病理学講座腫瘍病理分野

肝発癌には様々な遺伝子変異やシグナル伝達経路の活性化が関わっている。肝癌の組織型は肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) と胆管癌 (cholangiocarcinoma, CC) およびそれらが混合した混合型肝癌 (combined HCC-CC, cHCC-CC) からなっているが、それらの発癌機序やシグナル伝達経路との関連性は不明な点が多い。近年の遺伝子の網羅的解析により、CCのうちHCCと同様に肝炎を背景に発生したものは、HCCと異なる遺伝子発現プロファイルを示す一方で、遺伝子変異プロファイルは類似しており、この様なCCはHCCと起源が同じであるが、異なった方向に分化したものと考えられている (Fujimoto et al., Nat Commun 2015)。また、マウスを用いた実験では、肝細胞よりHCCやCCまたはそれらが混在した腫瘍が発生しうることが報告されている (Fan et al., J Clin Invest 2012; Li et al., Oncotarget 2015; Sekiya and Suzuki, J Clin Invest 2012)。このように、肝細胞からHCCだけではなくCCなどの異なる形質を示す肝腫瘍が生じうることが明らかになってきている。

我々は現在、Sleeping Beautyトランスポゾンにより、様々な発癌関連遺伝子を *in vivo* でマウス肝細胞に単独または複数と同時に導入し、肝腫瘍の形質との関連性を検討している。その中から今回は、PI3 kinase経路を活性化するミリスチル化Akt (*myrAkt*)、Hippo-Yap経路を活性化する *YapS127A* および *Myc* 遺伝子を単独または組み合わせで導入した肝腫瘍について紹介する。*Myc* を単独で肝細胞に導入した場合、1年以上観察しても肝腫瘍は形成されなかった。*myrAkt* または *YapS127A* をそれぞれ単独で導入した場合は、6-12ヶ月でHCCが誘導されたが、遺伝子が導入された肝細胞の胆管上皮細胞への分化像が腫瘍内に認められた。*myrAkt* と *Myc* を同時に導入すると6週間で中分化HCCが誘導された一方、*myrAkt* と *YapS127A* を同時に導入すると6週間でCCが誘導された。また、*YapS127A* と *Myc* を同時に導入すると、10週間前後で小型肝腫瘍細胞からなり辺縁に胆管分化を伴うcHCC-CCが誘導された。さらに、*myrAkt*、*YapS127A* と *Myc* の3者を同時に導入すると2-3週間で分化度の低いHCCが誘導された。RT-qPCRで遺伝子発現を検討すると、*myrAkt* と *YapS127A* で誘導されたCCでは、*Tnf* やHippo-Yapの下流のNotch経路関連遺伝子 (*Jag1*, *Hes1*, *Hes2*), *Ctgf*, *Tgfb2* が高い発現を示したが、*myrAkt* と *Myc* または *myrAkt*, *YapS127A* および *Myc* で誘導されたHCCではそれらの遺伝子発現の上昇は見られなかった。また、*YapS127A* と *Myc* で誘導されたcHCC-CCでは、肝芽細胞のマーカー (*Afp*, *Dlk1*) や幹細胞のマーカー (*Nanog*, *Sox2*) が発現していた。

以上より、肝細胞においてPI3 kinaseと同時にHippo-Yap経路を活性化すると、CCが誘導されるが、*Myc* を過剰発現した場合には、*Tnf* やHippo-Yap経路の下流遺伝子の発現が抑制され、HCCが誘導されることが明らかになった。さらに、Hippo-Yap経路と *Myc* の活性化により、肝芽細胞/幹細胞の性質をもつcHCC-CCが誘導されることが明らかになった。Sleeping Beautyトランスポゾンを用いたマウス肝発癌モデルは、癌関連遺伝子やこれらにより活性化されるシグナル伝達経路の肝発癌における役割を明らかにするために有用であると考えられる。

## WS-03

**遺伝子改変マウス由来正常上皮細胞の3次元培養法を用いる新たな化学物質発がん性試験法の開発**

○今井 俊夫<sup>1)</sup>、落合 雅子<sup>1)</sup>、松浦 哲也<sup>2)</sup>、中釜 齊<sup>1)</sup>、筆宝 義隆<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 国立がん研究センター・研・動物実験部門、<sup>2)</sup> 横浜市大・院医・肝胆膵消化器病、<sup>3)</sup> 千葉県がんセンター・研・発がん制御

【背景】 実験動物を用いる化学物質の長期発がん性試験の代替法として1群15匹程度のrasH2マウスを用いる26週間試験法が確立されている。

【目的】 更に少数の動物による短期試験系を確立する。

【材料と方法】 4~6週齢の（遺伝子改変）マウスから採取した正常上皮細胞を3次元（3D）培養し、必要に応じその継代過程でレンチウイルスなどによる遺伝子操作を行い、ヌードマウス皮下で腫瘍を形成する発がんモデルを作製する。化学物質の発がん性評価に応用する際には継代過程において培地への化学物質添加処理を加える。[背景マウス系統] C57BL/6、BALB/c (*Prkdc*の多型有) [遺伝子改変/操作] *p53*ヘテロ欠損マウス、活性型*Ras*又はプロト型*Ras*導入マウス、*Pten*ノックダウン（細胞へのshRNA導入による）[対象臓器] 大腸、肝内胆管、肺、膀胱-等で検討を進めている。今回は3D培養したC57BL/6背景マウスの大腸上皮細胞に対し*Kras*活性化あるいは*Pten*ノックダウンと大腸発がん物質の2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) 処置を組合せた際の影響について報告する。

【結果】 大腸上皮への活性型*Kras*導入によりヌードマウス皮下にて腫瘍性病変を形成したが、*Pten*ノックダウンでは対照処置群と比較して僅かに腺管形成が促進されたのみであった。一方*Pten*ノックダウンに3又は10  $\mu$  M濃度のPhIP処置を加えると腫瘍性病変を形成した。

【結論】 正常上皮細胞の3D培養法に遺伝子操作を加える系を用いて化学物質の発がん性が検出できる可能性が示された。

## WS-04

**放射線の被ばく時年齢に依存した発がんメカニズム –放射線誘発マウス胸腺リンパ腫発生モデルを用いた解析から–**

○砂押 正章<sup>1)</sup>、甘崎 佳子<sup>1)</sup>、坂入 しのぶ<sup>1)</sup>、Benjamin Blyth<sup>1,2)</sup>、森岡 孝満<sup>1,2)</sup>、上西 睦美<sup>1)</sup>、尚 奕<sup>2)</sup>、西村 まゆみ<sup>1,2)</sup>、島田 義也<sup>1,2)</sup>、立花 章<sup>3)</sup>、柿沼 志津子<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup> 放射線医学総合研究所放射線防護研究センター発達期被ばく影響研究プログラム、

<sup>2)</sup> 放射線医学総合研究所福島復興支援本部長期低線量被ばく影響プロジェクト、<sup>3)</sup> 茨城大学理学部

疫学調査の結果から、小児は大人と比較して放射線に対する発がんリスクが高いと考えられている。しかし、放射線の被ばく時年齢に依存した発がんメカニズムは未だ明らかになっていない。そこで本研究では、ヒト急性リンパ性白血病のモデルとして研究されている放射線誘発マウス胸腺リンパ腫の遺伝子異常を解析し、被ばく時年齢に依存して発がんメカニズムが変化するか否かを明らかにすることを目的とした。

胸腺リンパ腫は、年齢の異なるB6C3F1雌マウスに1.2 GyのX線を1週間間隔で4回全身照射することで誘発した。胸腺リンパ腫の発生率は、新生児期（1週齢から）照射群、幼若期（4週齢から）照射群、若齢成体期（8週齢から）照射群の3照射群間において、統計学的な有意差を示さなかった。しかし、ヘテロ接合性の消失を伴うがん抑制遺伝子*Pten*の突然変異頻度は被ばく時年齢の増加と共に減少する傾向を示し、新生児期群において最も高かった。一方で、*Ikaros*の突然変異頻度は被ばく時年齢の増加と共に増加する傾向を示し、若齢成体期群において最も高かった。また、ヘテロ接合性の消失が生じるメカニズムにも被ばく時年齢依存的な相違が観察され、新生児期群においては染色体組換え/不分離を介した重複型、若齢成体期群においては欠失型が特徴的であった。

以上の結果から、小児期の放射線被ばく後に特徴的な発がんメカニズムとして、*Pten*の突然変異とそれに続く染色体組換え/不分離により生じるヘテロ接合性の消失が関与する可能性が示唆された。放射線誘発マウス胸腺リンパ腫の前リンパ腫細胞は、放射線照射後2週間までに胸腺内に形成されると考えられている。そのため、本研究では、前リンパ腫細胞が形成される時期に被ばく時年齢依存的な相違が存在すると仮説を立て、放射線照射後の胸腺の動態についても予備的な解析を行った。本演題では、マウス胸腺リンパ腫モデルの解析から考察される被ばく時年齢に依存した放射線発がんメカニズム、そしてヒトの発がんリスクへの関連性についても言及したい。

[参考文献]

Sunaoshi *et al.*, The effect of age at exposure on the inactivating mechanisms and relative contributions of key tumor suppressor genes in radiation-induced mouse T-cell lymphomas. *Mut. Res.* 779: 58-67 (2015).





# 一般口演要旨

O-01 ~ O-30

# ポスター要旨

P-01 ~ P-71



## O-01

## NADPH oxidase阻害剤apocyninによるラット肝発がん抑制効果

○鈴木 周五<sup>1,2)</sup>、内木 綾<sup>1)</sup>、佐藤 慎哉<sup>1)</sup>、加藤 寛之<sup>1)</sup>、久野 壽也<sup>1)</sup>、高橋 智<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 名古屋市立 院 医 実験病態病理、<sup>2)</sup> 名古屋市立東部医療センター 病理診断科

【目的】 活性酸素は種々の癌において増殖や進展に関与する報告があり、その抑制は発癌抑制に繋がると考えられる。我々は内因性の活性酸素誘導酵素であるNADPH oxidaseに着目し、その阻害剤apocyninの肝発癌抑制効果について、肝中期発がん試験法で検討した。

【方法】 6週齢F344雄ラットに200 mg/kg B.W.のdiethylnitrosamineを腹腔内投与、2週間後よりapocyninを100および500 mg/Lの濃度で飲料水投与した。開始3週目に肝部分切除を行い、8週間後に屠殺・剖検した。発癌の指標として前癌病変マーカーglutathione S-transferase placental-form (GST-P) 陽性細胞巢の単位面積あたりの数と面積を計測した。肝組織内の活性酸素量をdihydroethidium (DHE)を用いて確認した。蛋白発現をWestern blot法で検討した。

【結果】 期間中の飲水量および屠殺時の体重や臓器重量に群間で差がなかった。肝組織内活性酸素量はapocynin投与濃度依存性に抑制された。単位面積当たりのGST-P陽性細胞巢の数および面積は、apocynin濃度依存性に有意な低下を認めた。細胞増殖指標Ki67は、GST-P陽性細胞巢内外においていずれもapocynin投与濃度に依存して有意な低下を認めたが、アポトーシス指標であるTUNEL染色の陽性率は群間で差がなかった。蛋白発現解析で酸化ストレスマーカーであるNrf-2やNQO1、細胞増殖に関与するcyclin D1のapocyninによる発現低下を確認した。

【結論】 肝中期発がん試験法においてapocyninによる発癌抑制が認められ、肝癌化学予防剤としての可能性が示された。

## O-02

## Acifluorfen誘発肝腫瘍へのCARの関与

○桑田 和倫<sup>1,2,3)</sup>、井上 薫<sup>1)</sup>、高橋 美和<sup>1)</sup>、市村 亮平<sup>1)</sup>、森川 朋美<sup>1)</sup>、児玉 幸夫<sup>4)</sup>、吉田 緑<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所病理部、<sup>2)</sup> 田辺三菱製薬株式会社創業本部、<sup>3)</sup> 東京農工大学農学部、

<sup>4)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所病理部毒性部、<sup>5)</sup> 内閣府食品安全委員会

【目的】 Acifluorfen (ACI) はprotoporphyrinogen oxidase阻害作用を有する除草剤でげっ歯類肝臓にポルフィリン蓄積及び肝腫瘍を誘発する。ポルフィリン症はヒトで肝発がんリスクと考えられているが、ACI誘発肝発がんの機序は明らかでない。そこで本研究では、げっ歯類肝発がん重要な働きをしている核内受容体Constitutive Androstane Receptor (CAR)に着目して肝発がん機序の解析を行った。

【方法】 6週齢の雄性C3H (WT) およびC3H由来CAR knock out (CARKO) マウスに肝発がん発現用量の2500 ppm ACIを1, 4, 13及び26週間混餌投与し解析した。26週間投与動物は肝腫瘍促進作用を観察するためdiethylnitrosamineを処置した。

【結果】 1, 4, 13週間投与動物について検索したところ、両遺伝子型ACI投与マウスでは投与1週間後から血清中ALTの増加、4週間後から肝細胞の単細胞死を始めとする肝障害性の変化を認めたが、CARKOにおけるこれらの変化はWildと比し明らかに減弱した。また肝障害の程度に相関してPCNA陽性肝細胞が増加した。ACI投与マウスでは肝臓中Protoporphyrin IX量が上昇したが、遺伝子型間に明らかな差は認められず投与期間に伴う蓄積の増加は認められなかった。26週間投与動物の病理組織学的解析ではWTマウスで好酸性及び好塩基性のFoci及びAdenomaが増加したが、CARKOではこれら増殖性病変の発生率、数ともに明らかに抑制された。さらに、WTマウスでは投与によるRegenerative hepatocellular hyperplasia およびHepatocellular carcinomaが増加したが、CARKOマウスではこれらの変化は認められなかった。

【考察】 ACI誘発肝発がんにはCAR及びCARを介した肝障害が主に関与しており、ポルフィリンはACI誘発肝腫瘍の主要因ではないと考えられた。

## O-03

## Connexin32の低下はDusp1-Erkシグナル制御機構を介しラットエタノール肝発がんを促進する

○加藤 寛之、内木 綾、不二 哲、鈴木 周五、佐藤 慎哉、久野 壽也、高橋 智

名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学

【背景】アルコール摂取は国際がん研究機関によるリスク分類にてGroup1（ヒトへの発がん性が認められる）とされているが、肝臓における発がん機構の解析は十分でない。昨年の本学術集会でエタノール（EtOH）摂取は野生型（Wt）ラットに影響しない条件下で、肝ギャップ結合蛋白Connexin32（Cx32）が阻害されたドミナントネガティブトランスジェニック（Tg）ラットでは肝発がん性が亢進し、前癌病変内での細胞増殖の上昇が寄与する事を報告した。本年はその分子機序について、新たなデータと共に発表する。

【方法】9週齢雄TgとWtラットにdithylnitrosamine（200 mg/kg）を腹腔内投与後、1%、5%のEtOHを16週間飲水投与した群と対照群の肝を用いて、遺伝子及びタンパク発現解析を行った。【結果】Tgラットの5% EtOH投与群においてpErk、pElk1、cyclinD1タンパク発現の上昇を認めた。Microarray解析によりErkの抑制因子であるDusp1はEtOHにより発現低下する遺伝子として同定され、mRNA及びタンパクレベルでの発現低下が見られた。GST-P/ pErk/ Dusp1の三重蛍光免疫染色では、pErkの正常肝細胞での陽性像は認められないのに対し、GST-P陽性細胞巢内においては肝細胞の核小体に局在し、Dusp1発現の低下を伴っていた。さらに、Tgラットの5% EtOH投与群では、GST-P陽性細胞巢内におけるpErk核小体の陽性率は有意に上昇した一方、Dusp1のmRNAは低下する事がレーザーマイクロディセクションによるGST-P陽性細胞巢を回収した組織の解析により明らかとなった。

【結論】EtOH摂取はCx32機能低下状態では、前癌病変内でのDusp1発現を低下させ、それに引き続くErkの活性化による細胞増殖が肝発がんに寄与している事が示唆された。

## O-04

## ピペロニルブトキシドの Maus 肝発がん過程における酸化ストレスの関与

○田崎 雅子<sup>1)</sup>、黒岩 有一<sup>1)</sup>、井上 知紀<sup>1)</sup>、日比 大介<sup>1)</sup>、松下 幸平<sup>1)</sup>、木島 綾希<sup>1)</sup>、西川 秋佳<sup>2)</sup>、梅村 隆志<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国立衛研 病理部、<sup>2)</sup> 国立衛研 安全性生物試験研究センター

【背景】非遺伝毒性肝発がん物質ピペロニルブトキシド（PBO）はその発がん過程に酸化ストレスの関与が予想されているが詳細は明らかとなっていない。そこで今回、種々の抗酸化酵素群の転写因子NRF2の遺伝子欠損マウスにPBOを投与して、誘発される増殖性病変について検索した。

【方法】雄7週齢のICR系Nrf2ホモ欠損並びにその野生型マウスにPBOを3000あるいは6000 ppmの濃度で8あるいは52週間、混餌投与した。投与8週間目に各群5匹について肝DNA中の8-hydroxydeoxyguanosine（8-OHdG）レベル、血清中の肝障害マーカーを測定した。各群25～30匹については52週間投与して病理組織学的な検索を実施した。

【結果】8-OHdGレベルは、何れの高用量群でも有意に上昇したが、低用量群ではNrf2欠損マウスのみ有意な上昇を示した。血清中の肝障害マーカーに著変は認められなかった。PBO投与により再生性肝細胞結節が認められたが、その発生頻度に遺伝子型間で差異は認められなかった。しかし、Nrf2欠損マウスの結節内に生じた肝細胞腺腫の発生頻度ならびに1個体当たりの数は野生型に比して有意に高かった。

【考察】Nrf2欠損マウスでは低用量より酸化的DNA損傷が生じ、PBOによる酸化ストレスに高感受性を示した。肝障害はPBOの肝発がん過程初期に重要な役割を演じていると考えられているが、肝障害を起因とした再生性結節の発生は両遺伝子型間で差異はなく、その発生機序に酸化ストレスの関与は低いものと考えられた。一方、結節内での腫瘍発生はNrf2欠損マウスで有意に高かったことから、酸化ストレスはPBO肝発がん過程後期の増殖性病変から腫瘍への進展に大きく関与することが明らかとなった。

## O-05

## ラット腎癌肺高転移株を用いた転移亢進に寄与する分子生物学的特性の検討

○山野 莊太郎<sup>1)</sup>、山田 健二<sup>2)</sup>、梶原 健太郎<sup>3)</sup>、尾崎 清和<sup>4)</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 分子病理学、<sup>2)</sup> 独立行政法人 国立がん研究センター 発がん・予防研究分野、

<sup>3)</sup> 大阪大学 微生物病研究所 発癌制御研究分野、<sup>4)</sup> 摂南大学 薬学部 病理学教室

【背景及び目的】 これまでにN-Ethyl-N-Hydroxyethyl-Nitrosamine (EHEN) 誘発ラット腎細胞癌より樹立したラット腎癌細胞株rRCCd5を用いた同種同所移植よりヒトと同様に肺転移することを見いだした。さらにrRCCd5を腎移植後、肺転移巣より細胞株を作製 (In vivo selection法) し、肺高転移株d5krm#7及びd5krm#3を樹立した。本研究では高転移株の分子生物学的特徴を明らかにし、転移関連分子を同定することを目的とした。

【材料と方法】 親株rRCCd5Parent (d5P)、高転移株d5krm#7及びd5krm#3を用いて各種解析に興じた。

【結果】 2次元培養において、d5Pと比較し、高転移株でWST8により増殖能の有意な亢進、FCMによりCD44/CD133 double positive及びSP分画の有意な増加を認めた。さらに、sunitinib及びeverolimus処理により高転移株でIC50の亢進が認められた。以上の結果より、高転移株では細胞増殖能の亢進のみならず幹細胞性の亢進が認められ、薬剤耐性能が増加していることが明らかとなった。さらに、3次元培養において、高転移株で高度のprotrusion形成を認め、基質を溶解させ周囲への浸潤が認められた。【結論】 高転移株において、種々の違いを見出した。現在、3次元培養からトランスクリプトーム解析を行っており、本学会ではその結果も含め議論したい。

## O-06

## 腎障害に伴う浸透圧性腎症の病態増悪機序の解明-2-

○松下 幸平<sup>1)</sup>、高須 伸二<sup>1)</sup>、黒田 顕<sup>1)</sup>、石井 雄二<sup>1)</sup>、木島 綾希<sup>1)</sup>、北浦 敬介<sup>2)</sup>、佐藤 亮<sup>2)</sup>、松本 智志<sup>2)</sup>、梅村 隆志<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup> 大塚製薬(株) 安全性研究センター

【目的】 血漿増量剤や造影剤投与後に発症する浸透圧性腎症は腎障害が先在することにより重篤化するがその機序は不明である。我々はこれまで、特徴病変であるclear tubuleが再生初期の再生尿細管に投与薬物が病的に蓄積している状態であることを見出した (第30回本学会)。今回はその発生機序の詳細を検討するため、再生初期及び末期の再生尿細管 (stage I及びII) の特徴を組織学的及び分子病理学的に解析した。

【方法】 雌性10週齢F344系ラットの左腎臓に虚血再灌流処置後、3及び7日目に屠殺し、マイクロダイセクション法にてstage I及びIIを回収し、cDNAマイクロアレイ及び定量PCRを実施した。また、HE及びPAS染色並びにvimentin、PCNA及びAQP1免疫染色、 $\gamma$ -GT組織化学染色を実施した。

【結果】 尿細管の分化・増殖に関連する因子を検索した結果、PAS陽性を示す刷子縁はstage Iにはほぼ認められず、stage IIでは不完全ながら観察された。Vimentin蛋白発現はstage Iで強く、stage IIではわずかに認められた。cell cycle関連遺伝子のmRNA発現量はstage Iで正常尿細管に比して有意な高値を示し、PCNA陽性細胞も顕著に増加した。尿細管の機能に関与する因子を検索した結果、再吸収に関連するtransporter及びendosome関連遺伝子、代謝・分解に関連するmetabolism及びglycosidase関連遺伝子のmRNA発現量はstage Iで著しく低く、stage IIでは正常尿細管より低いもののstage Iと比して高かった。AQP1蛋白発現量及び $\gamma$ -GT活性も同様の結果を示した。

【考察】 stage Iは機能的分化度が低く、再吸収能の低下に比して、分解能がそれ以上に著しく低下している結果、外来物質再吸収の際、clear tubuleの形成に至ると考えられた。腎障害に続発する分化度の低い再生尿細管の出現が腎障害重篤化の機序であると考えられた。

## O-07

## 前立腺発がんおよび去勢抵抗性細胞増殖に対するluteolinの抑制効果

○内木 綾、加藤 寛之、佐藤 慎哉、鈴木 周五、久野 壽也、高橋 智

名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学

【背景】エゴマ種子に多く含まれるフラボノイドで、抗酸化作用を有するluteolinは、様々な癌腫に対して抗腫瘍効果を発揮する。本研究では、前立腺癌好発トランスジェニックラット (TRAP) およびTRAPに発生した前立腺癌から樹立した、去勢抵抗性前立腺癌細胞Pca1を用いて、前立腺発がんおよび去勢抵抗性前立腺癌細胞の増殖に対するluteolinの予防・治療効果について検討した。

【方法】(1) 6週齢TRAPラットにluteolin (20、100ppm) を8週間混餌投与した。前立腺に生じた腫瘍性病変の病理組織学的解析および活性酸素レベル、遺伝子、タンパク発現変化を解析した。(2) 去勢抵抗性前立腺癌細胞Pca1の細胞増殖およびアポトーシスに対するluteolinの影響を解析した。去勢ヌードマウスに対してPCa1を皮下移植し、luteolin (20、100ppm、6週間混餌投与) の腫瘍増殖に対する影響を検討した。

【結果】(1) 前立腺側葉ではluteolin 100 ppm投与群で有意な低下を認めた。腺房に占める癌病巣の割合は、腹葉、側葉いずれもluteolin濃度依存性に有意に低下した。アポトーシス標識率は腹葉、側葉いずれにおいても有意な亢進を認め、Caspase 3、7の活性化を伴っていた。側葉内活性酸素量は、luteolin濃度依存性に有意に減少し、酸化ストレス防御因子Gpx2、Ho-1 mRNA発現低下を認めた。(2) Pca1の細胞増殖活性は、luteolin濃度依存性に有意に抑制され、アポトーシスの亢進を伴っていた。またPca1移植腫瘍の体積は、両用量ともにluteolin投与により有意に減少し、アポトーシス標識率の有意な上昇と、Gpx2タンパク発現の低下を認めた。

【結論】Luteolinは、前立腺の発がんおよび去勢抵抗性細胞増殖を抑制作用することが明らかとなり、その作用機序として、酸化ストレス軽減やアポトーシス誘導の関与が示唆された。

## O-08

## LAT1 and 4F2hc expression in tumor microvasculature of BBN induced rat bladder carcinoma

○武藤 朋子<sup>1)</sup>、和久井 信<sup>2)</sup>、金井 好克<sup>3)</sup><sup>1)</sup> (株)化合物安全研 毒性、<sup>2)</sup> 麻布大学 獣医 比較毒性学、<sup>3)</sup> 大阪大学大学院 生体システム薬理学

System L is a major nutrient transport system responsible for the Na<sup>+</sup>-independent transport of large neutral amino acid including several essential amino acids, L-type amino acid transporter1 (LAT1) and heavy chain of 4F2 cell surface antigen (4F2hc) up-regulate to support malignant tumor cell growth in vitro. As tumor angiogenesis is critical for tumor cell growth, the present study was to clarify the expression of LAT1 and 4F2hc in tumor microvasculature of N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) induced rat bladder carcinomas. We had described the normal rat bladder microvasculature compose non-fenestrated endothelial cell, while bladder tumor microvasculature compose fenestrated and non-fenestrated endothelial cells. Electron microscopic immunohistochemical analyses revealed that LAT1 and 4F2hc were exclusively distributed at the fenestrated endothelial cells in bladder tumor microvasculatures, but almost all non-fenestrated endothelial cells and pericytes of microvasculature did not express them. The present studies first indicate that the blood capillary endothelial cells of microvasculature in rat bladder carcinomas are responsible for transport of large neutral amino acids by LAT1 and 4F2hc.



## O-09

## 非遺伝毒性ラット肝発がん物質ダンマル樹脂の発がん機序の検討

○藤岡 正喜、魏 民、山野 莊太郎、河内 聡子、房 赫、武下 正憲、鰐淵 英機

大阪市大 院 医 分子病理学

【背景】ダンマル樹脂はフタバガキ科又はナンヨウスギ科の分泌液より得られる多糖類であり、多くの飲食物に増粘安定剤として使用されている。これまでに我々はダンマル樹脂がラット肝発がん性を有すること、非遺伝毒性肝発がん物質であることを明らかにしている。しかし、その肝発がん機序の詳細については明らかとなっていない。

【目的】ダンマル樹脂によるラット肝発がん機序について検討した。

【方法】動物は6週齢のF344ラットを用いて、無処置群および発がん用量である2%ダンマル樹脂投与群の2群を設定し、4、13、32週でそれぞれ剖検をおこなった。得られた肝臓について種々の検討をおこなった。

【結果】CYP1A1遺伝子の有意な発現増加がダンマル樹脂投与群で投与期間依存的に確認されたことから、AhRシグナルの活性化が発がんに寄与していることが示唆された。さらに、*de novo*メチル基転移酵素であるDNMT3Bの発現低下がダンマル樹脂投与群でみられたことから、DNMT3Aおよび3Bの酵素活性について検討した結果、ダンマル樹脂投与群で両酵素の活性低下がみられた。そこで、レトロトランスポゾンLINE-1を指標としたバイサルファイトシーケンス法によるゲノムワイドな定量的DNAメチル化解析の結果、対照群と比較してダンマル樹脂32週間投与群で有意なメチル化レベルの低下がみられた。また、がん遺伝子MYCの発現が投与群で投与期間依存的に増大していること、さらにMYCと結合し、転写活性を調節するDNA結合タンパクが投与群で増加していることから、ダンマル樹脂投与によってMYCの核移行が増大し、転写が活性化されることが示唆された。以上の結果から、ダンマル樹脂による肝発がん機序には、ゲノムワイドなDNAメチル化レベルの低下および核内転写因子の活性化が関与している可能性が示唆された。

## O-10

## ラットポストイニシエーション早期での肝発がん物質・プロモーター反復投与に対する肝細胞における細胞周期関連分子の反応性

○木村 真之<sup>1,2)</sup>、水上 さやか<sup>1,2)</sup>、寒川 祐見<sup>1)</sup>、吉田 敏則<sup>1)</sup>、渋谷 淳<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東京農工大 獣医病理、<sup>2)</sup> 岐阜大 院 連合獣医

【背景】我々は既に、ラットへの28日間反復投与により発がん標的細胞に増殖活性の亢進を示す発がん物質は、標的臓器を問わず細胞周期停止を反映した細胞周期分子発現とアポトーシスの増加と共に、M期スピンドルチェックポイントの破綻を誘発することを見出した。

【目的】本研究では、ラットに、反復投与では細胞増殖誘発性に乏しい肝発がん物質・発がんプロモーターをポストイニシエーション期に2週間ないし4週間反復投与し、肝臓での細胞増殖活性、アポトーシス及び細胞周期関連分子発現を経時的に検討した。

【材料と方法】ラットにDENを単回腹腔内投与し、2週後から肝発がんプロモーターの $\beta$ -naphthoflavone (BNF)、肝発がん物質のcarbadox (CRB)、弱い肝発がん性が示唆されているleucomalachite green (LMG)及び非発がん性肝毒性物質のacetaminophenを2ないし4週間混餌投与した。投与開始後1週目に2/3肝部分切除を行った。実験終了後に肝臓について免疫組織化学的解析を実施した。

【結果】投与開始後2週目では、全投与群で細胞増殖活性が亢進し、それらのうちBNFのみが増殖細胞のうちM期に存在する細胞の割合を減少させた。4週目では、強い細胞増殖活性の亢進を示したBNFのみが細胞周期分子発現とアポトーシスを増加させた。また、BNFとCRBは、増殖細胞のうちM期に存在する細胞の割合を減少させた。

【考察】発がん促進期の解析において、強い細胞増殖活性の亢進を示した発がんプロモーターであるBNFが細胞周期関連分子発現細胞とアポトーシスの増加を誘発した。一方で、BNFに加え、明らかに増殖活性を亢進しなかったCRBも、発がん促進4週目でスピンドルチェックポイントの破綻を誘発することが推察された。しかし、LMGはこの反応を示さず、発がんないし発がん促進強度に依存した反応であることが推察された。



## O-11

## 顕微ラマン及び顕微赤外吸収スペクトル測定を用いた病理切片上の異物解析

○萩原 仁美<sup>1)</sup>、麻生 良平<sup>1)</sup>、猪俣 依子<sup>1)</sup>、小澤 沙紀<sup>1)</sup>、近藤 美子<sup>1)</sup>、磯部 厚志<sup>1)</sup>、早場 純子<sup>1)</sup>、田崎 雅子<sup>1)</sup>、  
長野 嘉介<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> テルモ株式会社 評価センター、<sup>2)</sup> 長野毒性病理コンサルティング

【背景】病理切片上に異物が認められた場合、微量の異物と病理切片をそのままの形で残すためには非破壊性の分析が望まれる。そのため、光を用いた分析が適しており、今回2種類の分光分析装置を用いた解析を試みた。

【目的】病理切片に対し、ラマン分析法および赤外吸収スペクトル分析法を実施し、肉芽腫を形成している原因となる異物の同定を行った。

【材料と方法】(1) ラマン分析では、埋植試験を実施したブタの皮膚の封入済みHE染色標本について、顕微ラマン分光光度計(以下ラマン)(NRS-5100、日本分光)を用い、測定を行った。(2) 赤外吸収スペクトル分析では、未知の異物があるラット肺標本について、その未染色連続切片を専用ダイヤモンドウィンドウに載せ、フーリエ変換赤外分光光度計赤外顕微鏡システム(以下FT-IR)(Spotlight400、パーキンエルマー)による解析を実施した。

【結果】(1) ブタ皮膚上異物のラマン分析の結果、スペクトルの同等性から埋植物のコーティング剤であることが判明した。(2) ラット肺のFT-IR解析では、脱パラフィン後に異物の特異スペクトルが取得でき、IRのデータベースで検索した結果、その特性吸収とその帰属(780 cm<sup>-1</sup>付近の(Si)-CH<sub>3</sub>対称変角、1100 cm<sup>-1</sup>、1020 cm<sup>-1</sup>付近のSi-O非対称伸縮、1260 cm<sup>-1</sup>付近(Si)-CH<sub>3</sub>対称変角)から、シリコンと同定できた。

【結論】ラマン及び顕微赤外吸収スペクトル測定の手法を用いることにより、組織切片の状態まま肉芽腫中の異物のスペクトルを取得でき、またFT-IRではデータベースが豊富であったことから未知物質の同定が可能となった。分光分析は、異物と病理切片を非破壊性に解析できる有用な方法であることが分かった。

## O-12

## 病理ピアレビューとINHANDを活用した毒性病理所見の国際標準化と課題

○岩田 聖<sup>1)</sup>、安齋 享征<sup>2)</sup>、高橋 道人<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> ルナバス(合) 毒性病理研究所、<sup>2)</sup> 昭和大学医学部、<sup>3)</sup> 病理ピアレビューセンター

【背景】毒性試験の病理ピアレビューについては、2010年にSTP学会推薦案が報告され、2012年にOECDガイダンスに登場、さらに2014年9月には同追補が公表され、実施法についての考え方が国際的にほぼ統一された。日本でも2015年9月のGLP研修会で医薬品医療機器総合機構(PMDA)の見解が公表され、病理所見最終化前のピアレビューも容認された。さらに最近では、FDA医薬品申請におけるSEND(Standard for Exchange of Nonclinical Data)導入やINHAND(International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic criteria)の利用などの国際標準化が求められている。しかし、現実的にはいくつかの課題がある。

【方法】病理ピアレビューについては、STP学会推薦案、OECDガイドラインおよび同追補の内容から実施上の留意点を考察した。また、INHAND用語については臓器別に内容を比較し、さらにNTPなど毒性データベースにある被験物質投与による病変名と比較して課題を整理した。

【国際標準化の課題】1. 日常行われる病理ピアレビューについては、病理所見最終化前の事前ピアレビュー(Prospective Peer Review)が効率的・実質的であり推奨される。2. INHANDについては、全臓器がまだ揃っていない、同じ病変でも臓器によって用語表現が違う、被験物質投与による病変では当てはまらない用語が多いなどの課題があり、今後の積極的議論が待たれる。3. 特に長期毒性試験やがん原性試験では、毒性病理用語は所見名よりはなるべく診断名を使うべきと考えられた。4. 各病理システムによって病理用語の配置法に違いがあり、データのSEND変換の課題と思われた。

## O-13

## 胃幽門部潰瘍修復過程における胃上皮幹細胞、増殖細胞、分化細胞の動態

○平田 暁大<sup>1)</sup>、並木 健吾<sup>2)</sup>、酒井 洋樹<sup>2)</sup>、富田 弘之<sup>3)</sup>、原 明<sup>3)</sup>、柳井 徳磨<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野、<sup>2)</sup> 岐阜大学 応用生物科学部 獣医病理学分野、

<sup>3)</sup> 岐阜大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学分野

【背景】胃上皮細胞は、腺管単位で増殖・分化が制御されている。幽門腺においては、上皮幹細胞が腺管底部に局在し、幹細胞より生み出された細胞が峽部で活発に増殖し、上部あるいは下部に移動した細胞は増殖能を失い、表層粘液細胞、幽門腺細胞へと分化する。近年、幽門腺の上皮幹細胞が *Lgr5* を特異的に発現することが見出され、その発現を指標に幹細胞を同定できるようになった。

【目的】本研究では、胃幽門部潰瘍修復過程で生じる新生腺管における上皮幹細胞、増殖細胞、分化細胞の動態を解析した。

【方法】*Lgr5* 発現細胞を GFP で標識できる *Lgr5-GFP* ノックインマウスを使用した。6週齢のマウスに 0.3 M 塩酸 - 60% エタノール溶液を 0.2 ml 胃内投与し、経時的に剖検し、採取した胃を組織学的に検索した。

【結果】塩酸エタノール投与により幽門部において潰瘍が生じ、投与後 1~2 日目より、潰瘍部表面を覆うように一層の上皮細胞が伸長し、5 日目には潰瘍部全域が覆われていた。投与後 7~10 日目には、潰瘍部近傍の幽門腺底部が分岐し、潰瘍部に向かって伸長する腺管構造の再生像が認められた。分岐により生じた再生腺管の先端で GFP 陽性の *Lgr5* 発現細胞が認められた。*Lgr5* 発現細胞の局在は *in situ* hybridization 法でも確認された。Ki-67 陽性細胞は再生腺管の中央部から下部にかけて存在し、底部においては認められなかった。再生腺管底部の細胞はアルシアンブルー陽性の粘液を有し、幽門腺細胞への分化を示し、一方、上部の細胞は PAS 陽性陽性の粘液を有し、表層粘液細胞への分化を示した。

【考察】今回の結果から、幽門部潰瘍の修復過程において、分岐により生じた複数の再生腺管がそれぞれ独立した腺管へと成長していく段階で、既に幹細胞、増殖細胞、分化細胞に階層化されていることが明らかとなった。

## O-14

## 味噌の発酵熟成期間の差による放射線防御作用並びに血圧抑制効果の検討

○渡辺 敦光<sup>1,2)</sup>、笹谷 めぐみ<sup>1)</sup>、高端 厚子<sup>2)</sup>、宮坂 勇一郎<sup>3)</sup>、吉栖 正生<sup>4)</sup>、升島 努<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 広大原医研、<sup>2)</sup> (独) 理研、<sup>3)</sup> 宮坂醸造(株)、<sup>4)</sup> 広大大学院医歯保健学

【目的】我々はこれまでに味噌が様々な生理活性を有する事や、味噌の発酵熟成期間の差が、生物効果に影響を与えることを明らかにしてきた (H.Watanabe, J Toxicol Pathol 26, 91-103, 2013)。そこで今回は、B6C3F1/Crj マウス並びに Dahl ラットを用いて、味噌の発酵熟成度の違いによる放射線防御作用の差を検討した。

【方法】宮坂醸造製辛口米味噌の熟成 1 か月、熟成 6 か月、11 ヶ月並びに熟成 23 か月を用い、MF 飼料に 10% の味噌、ならびに 2.3% 食塩を混入した飼料を、5 週齢 B6C3F1 雄マウスに照射 1 週間前自由摂取させ、 $\gamma$  線 (ガンマセル 40 エグザクタ MDS Nordion 社製、1 Gy/min) 10 Gy を照射し 3.5 日で剖検し小腸腺窩再生を検討した。又 4 週齢の Dahl 食塩感受性雄ラット [DIS/EisSlc (Dahl S/Iwai)] を SLC より購入し同様に熟成度の異なる味噌を与えた。血圧はソフトロン社の血圧計 (BP-98E) で測定した。

【結果】発酵が進むにつれて小腸腺窩再生が直線的に増加した。液クロマトグラフ-マススペクトルで血圧降下作用物質としてトラゾリン (血流改善も行う)、エブレノン、ピロカルピン、スタキドリル、並びに血糖降下物質ミグリトールが存在を確認した。トラゾリン量と小腸再生との間で有意な相関関係があることから、腺窩の再生に関与している可能性が示唆された。また Dahl ラットは、2.3% の食塩単独では血圧増加が観察されず、少ない食塩量での血圧実験には適さないことが明らかになった。

【結論】味噌は、その熟成度に依存して、放射線防護作用を有することを明らかにした。

## O-15

## ヒト大腸発がん動物モデルを用いたNrf2遺伝子多型がもたらす大腸発がんリスク

○横尾 諭、木島 綾希、石井 雄二、高須 伸二、土屋 卓磨、小川 久美子、梅村 隆志

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【目的】酸化ストレス関連遺伝子を欠損したマウスに臭素酸カリウム (KBrO<sub>3</sub>) を投与して小腸腫瘍を検索する実験系は酸化ストレスが関与するヒト大腸発がんにおける当該遺伝子の役割を研究する有用な動物モデルと考えられている。本研究では、Nrf2欠損マウスにKBrO<sub>3</sub>を投与して、NRF2遺伝子多型がもたらすヒト大腸発がんリスクを検討した。

【方法】雌性6週齢のNrf2ホモ欠損 (Nrf2<sup>-/-</sup>) およびその野生型マウスに0、750、1500 ppm のKBrO<sub>3</sub>を13あるいは52週間飲水投与し、小腸の病理組織学的検査、小腸粘膜におけるNrf2制御下遺伝子のmRNA並びに蛋白発現量、8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 量、COX2蛋白発現量及びPCNA陽性細胞数の測定を実施した。

【結果】Nrf2<sup>-/-</sup>では全ての投与群で異形過形成が認められ、その発生頻度は用量依存的に上昇した。高用量での異形過形成と腺癌を合わせた発生頻度は対照群に比して有意な高値を示した。一方、野生型では腫瘍性増殖性病変は認められなかった。8-OHdG量の上昇に遺伝子型間で差異は認められなかったが、Nrf2制御下遺伝子のmRNA並びに蛋白発現量は野生型のみで有意に上昇した。また、COX2蛋白発現量はNrf2<sup>-/-</sup>で顕著に上昇し、粘膜上皮のPCNA陽性細胞数も有意な高値を示した。

【考察】Nrf2<sup>-/-</sup>マウスをヒト大腸発がん動物モデルに適用した結果、COX2の発現上昇が関与する腫瘍性病変の発生が認められた。ヒト大腸発がんに対するCOX2の関与が報告されていることを考慮すると、本実験結果はNRF2遺伝子多型が酸化ストレスを介した大腸発がんリスクを高める可能性を示唆していると考えられた。

## O-16

## MRL/lprマウスにおける小脳萎縮に関する病理組織学的検索

○川迫 一史、隈部 志野、押方 孝文、満石 三喜男、浜村 政夫

(株) LSIメディエンス 試験研究センター 病理研究部

【背景】MRL/lprマウスは全身性エリテマトーデスのモデルマウスの1つであり、偶発的に行動異常と脳における神経病理学的変化を引き起こすことが知られている。今回、このマウスにおいて病理組織学的に小脳萎縮が認められたので報告する。

【材料と方法】無処置のMRL/MpJ Jms Slc-lpr/lpr (MRL/lpr) マウス、雌、26週齢の脳の10%リン酸緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋切片を用いてHE染色、抗GFAP抗体を用いた免疫染色を行った。

【結果】組織学的に小脳溝の明瞭化および第4脳室の拡張が認められた。左右対称性でびまん性のプルキンエ細胞の消失、減少が認められ、プルキンエ細胞層におけるバグマングリアの増殖、空胞形成が認められた。腹側の小脳回のプルキンエ細胞は比較的保たれていた。また、顆粒層では核濃縮像を伴う菲薄化が認められた。抗GFAP抗体を用いた免疫染色では、分子層におけるisomorphicグリオシス、顆粒層および髄質におけるグリオシスが認められた。

【考察】MRL/lprマウスの脳の画像診断装置を用いた検索では、対照マウスと比較して小脳の小型化が示されているが、病理組織学的な検索はこれまでに報告がない。本検索により、MRL/lprマウスにおける小脳病変の1つは示すことができたが、画像診断装置で捉えられている小脳の小型化が、病理組織学的に本症例で見られた小脳萎縮に一致する変化であるかどうかについては今後更なる検索が必要であると考えられた。

## O-17

## SDラットに認められた眼球腫大の眼科学的及び病理組織学的検索

○瀧本 憲史、黒田 顕、奥 春孝、日比 大介、中村 賢志、村井 厚子、下内 孝司、小西 幹夫  
小野薬品工業株式会社 研究本部 安全性研究部

【背景と目的】SDラットにおける眼球腫大の発生は珍しく、また、眼科学的及び病理組織学的検査による詳細な評価を行った報告はほとんどない。今回、SDラットの雄1例に眼球腫大が認められたため、その詳細を検索した。

【材料と方法】本症例は、Crl:CD (SD) 系ラットを用いた13週間反復投与毒性試験で偶発的に眼球腫大が認められた雄の1例である。6週齢で投与を開始(実験0日)し、実験83日に眼科学的検査を行い、実験92日にイソフルラン麻酔下で放血致死後、剖検を実施した。眼球及び視神経をグルタルアルデヒド・中性ホルマリン溶液で固定後、HE染色に供した。

【結果】実験56日から剖検日(実験92日)まで継続して右眼に眼球腫大が認められ、投与期間中の眼科学的検査では同側眼に前房拡張に加え、角膜限局性混濁、眼底反射性亢進、網膜出血が認められた。剖検では右眼の眼球腫大及び視神経萎縮が確認され、病理組織学的検査の結果、巣状の角膜上皮変性、毛様体の褐色色素沈着、巣状の水晶体上皮過形成、びまん性の網膜萎縮、視神経萎縮が認められた。なお、反対側の左眼に著変は認められなかった。

【考察】本症例における眼球腫大の詳細な原因は明らかとならなかったが、眼科学的検査で認められた右眼の前房拡張は眼球内における過剰な眼房水の貯留を示唆するものである。従って、本症例では眼房水の貯留によって右眼の眼球が腫大し、それに伴う眼圧上昇によって、網膜及び視神経の萎縮などの変化が生じたと推察された。

## O-18

## 11週齢のSD雌ラットに認められた組織球肉腫の一症例

○中野 由佳、野一色 香織、岡崎 孝信、平川 公昭、小林 欣滋  
(株)新日本科学 安全性研究所

【背景と目的】若齢ラットにおける組織球肉腫の発症は非常に稀である。今回、11週齢ラットで初期像と考えられる自然発生性の組織球肉腫を経験したので報告する。

【症例】症例は経口投与毒性試験の対照群として解剖された11週齢のCrl:CD (SD) 雌ラットである。剖検では顕著な脾臓腫大および軽微な肝臓腫大がみられた。

【結果】脾臓の赤脾髄において、核小体が明瞭で比較的大きな多形核と豊富な好酸性細胞質を有する円形ないし類円形細胞が赤血球の間に散在性に極めて多数存在し、一部は小集塊状に増殖していた。それらには有糸分裂像および貪食像が散見された。肝臓の類洞内では、脾臓でみられたのと同様の細胞が肝細胞を圧排しながら慢性に増殖していた。脾臓および肝臓には明らかな結節形成や壊死像は観察されなかった。免疫染色ではこれらの増殖細胞は抗Iba-1抗体、vimentin、Ki67およびPCNAに陽性であり、CD3およびCD45RAには陰性であった。また、CD68は脾臓の増殖細胞および肝臓クッパー細胞では陽性を示したが肝臓の増殖細胞では陰性であった。

【考察と結論】増殖細胞は抗Iba-1抗体に陽性を示したことから組織球の性質を有しており、また、結節や壊死巣はみられないもののKi67およびPCNAに陽性を示し、有糸分裂像も散見されたことから腫瘍性増殖と考えられた。さらに、顕著に腫大した脾臓に組織球系の腫瘍細胞が肝臓より多く認められたこと、肝臓において腫瘍細胞とは別に肝臓クッパー細胞の局在が認められたことから、腫瘍細胞は肝臓クッパー細胞由来ではないと考え、本病変は脾臓原発の組織球肉腫と推察した。本症例は、11週齢という若齢であり、腫瘤形成を伴わずに転移が認められた組織球肉腫の初期像と考えられた。



## O-19

## マウス悪性肝臓腫瘍における胆管成分の診断的意義

○志賀 敦史、太田 泰史、細井 理代、宮島 留美子、長谷川 和成、奈良間 功

(公財) 食品農医薬品安全性評価センター

【背景・目的】雄マウスでは、加齢により肝細胞腫瘍が高率に発生する。肝細胞腺腫は圧排性増殖することから、増殖巣内の胆管成分を取り込まれた正常胆管とみるか肝細胞腫瘍の胆管への分化とみるかで、結節性病変における腫瘍、非腫瘍の鑑別点になると考えられているが、必ずしも確定的な診断基準になっていない。また、INHAND (2010) では、肝細胞癌組織内には胆管が存在すると明記されている。一方、肝細胞・胆管混合型肝癌 (混合型肝癌) では、肝細胞癌、胆管細胞癌両方の特徴を持つことが診断基準とされている。今回、原発部位の胆管細胞癌成分が不明瞭な混合型肝癌および胆管成分が豊富な肝細胞癌の胆管構造に着目し、その診断的意義について考察した。

【材料・方法】混合型肝癌と診断したマウス3例 (症例1, 2: ICR, 雄, 85週齢, 症例3: ICR, 雌, 81週齢) および肝細胞癌と診断したマウス1例 (症例4: B6C3F1, 雌, 88週齢) の癌組織および全身諸器官・組織について病理組織学的に検査した。

【結果】症例1では原発部位の一部に胆管細胞癌成分を伴うが、大部分が肝細胞癌成分であった。症例2, 3も原発部位は肝細胞癌成分が主体で胆管細胞癌成分は認められなかったが、分化した胆管様構造が高率に認められた。これら症例1~3は、いずれも遠隔転移を示し、転移部位では明瞭な混合型肝癌の組織像を示した。症例4は、大部分が索状型肝細胞癌で偽腺管構造を伴い一部には胆管様構造が認められたが、遠隔転移はなかった。

【結論】今回の混合型肝癌の症例から、肝細胞癌組織内に胆管成分が認められた場合は、転移部位の組織検査を含めた総合的な判断が必要と考えられた。肝細胞癌の症例4でも腫瘍細胞が胆管様構造を作っており、マウスの肝細胞癌、混合型肝癌は、ヒトと同様に一連のスペクトル上にある可能性が示唆された。

## O-20

## Ishibashi rat (ISR) の脊椎病変の発達期における経時的变化

○高木 みづほ、山口 裕子、中澤 朋美、霜山 奈津美、鷹野 正生、田村 一利、星谷 達

(株) ボゾリサーチセンター

【背景・目的】Ishibashi rat (ISR) は、自然発生性に腰-仙移行部に先天性脊椎後側弯症がみられることで知られる。第31回日本毒性病理学会において、我々は罹病動物 (21週齢) の椎骨の病理組織像を示した。本研究では、さらに脊椎後側弯症を罹患したISRの胎児期及び新生児期の脊椎を詳細に観察し、病変の発現時期及び経時的な組織像の変化を報告する。

【材料と方法】SPF条件下でISRを飼育、交配させて得られた胎児 (14日齢、16日齢、19日齢)、新生児 (4日齢、11日齢、4週齢) 及び成獣 (36週齢) の脊椎 (頸椎から仙椎) を10%中性緩衝ホルマリン液で固定、縦断した後、定法に従いH.E.染色標本作製し、観察した。

【結果】36週齢では、肉眼的に腰椎から仙椎に様々な程度の彎曲が、雌雄各60%の動物にみられた。組織学的には、腰仙椎に椎体軟骨終板の異形性、椎間円板の消失による隣接する椎体軟骨終板の融合、椎体軟骨終板の消失による椎体の融合がみられ、特に第3から第2仙椎に限局していた。これらは先に報告した21週齢にみられた変化と同質で、15週間の経過に伴う病変の進行は明らかでなかった。胎児期には組織学的に、第3から第6腰椎に椎間板の不明瞭化がみられ、程度の強い例では隣接する椎体が融合してみられた。椎間板の不明瞭化は特に腹側で明らかであった。これらの病変は胎生14日ではごく一部の動物にみられ、胎生16日には発現頻度が60%に増加した。さらに、胎生19日には椎体融合が明らかな例が増加した。

【結論】以上より、ISRの脊椎の彎曲は、組織学的に胎児期の椎間板病変に始まり、胎児期に発育と共に変化が進行することが推察された。なお、学会では新生児の結果を含め報告する。

## O-21

## マイクロミニピッグにおける精細管の自然発生変化

○寒川 彰久、大竹 正剛、塩谷 聡子、柴田 昌利

静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター

【背景】マイクロミニピッグは6ヵ月齢時の体重が約10kgと実験用ミニブタの中でも小型であることから、試験研究等での利用が近年増加している。しかし、マイクロミニピッグの組織学的特徴を始めとする基礎的データの報告は少ないのが現状である。

一方、ミニブタを始めイヌ、ウサギ、サル等の非げっ歯類では精細管の自然発生変化が確認されており、毒性評価等への影響が懸念されている。【目的】マイクロミニピッグの精細管における自然発生変化の有無や月齢別の推移を把握する。

【材料と方法】3、4.5、6、8.5、12ヵ月齢のマイクロミニピッグの精巣各3～6頭分についてFSA液もしくは改変Davidson液で固定後、常法に従いパラフィン包埋切片を作製した。組織学的検索はRehm(2000)が用いた分類方法を用い、Hypospermatogenesis, Tubular atrophy/hypoplasia, Multinucleated giant cells等の発生個体数や精細管の変化率を調査した。

【結果】HypospermatogenesisとMultinucleated giant cellsは月齢に関わらずほぼすべての個体で観察され、精細管の変化率はそれぞれ月齢平均で0.15%～0.36%と0.09%～0.42%であった。Tubular atrophy/hypoplasiaは4.5ヵ月齢で4頭中1頭にみられ、月齢とともに発生個体数は増加し、8.5ヵ月齢と12ヵ月齢では6頭中5頭で観察された。変化率は月齢平均で0.04%～0.33%であった。

【結論】マイクロミニピッグにおいても非げっ歯類における過去の報告例と同様、Hypospermatogenesisを始めとする精細管の変化が観察された。ミニブタでの影響が特に懸念されているTubular atrophy/hypoplasiaについては、月齢とともに発生個体数は増加したが、精細管の変化率はわずかであることから毒性評価等に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

## O-22

## 妊娠ラットでみられた乳腺癌の形態学および免疫組織化学的特徴

○佐山 絢子、青木 貴志、袴田 志野婦、石川 加代子、五十嵐 功、牧野 俊彦、甲斐 清徳、高崎 渉

第一三共(株) 安全性研究所

妊娠CrI:CD (SD) ラット3例で発生した乳腺癌における筋上皮細胞の分布を形態学的及び免疫組織化学的に検討したので報告する。

【症例】複数の生殖毒性研究に用いた妊娠CrI:CD (SD) ラット3例。[症例1]妊娠9日目よりトリメタジオンを2日間経口投与し、妊娠10日目に右下腹部皮下腫瘍を触知した。妊娠20日目(14週齢)に剖検し、3.5 x 2.5 cm大の腫瘍を摘出した。[症例2]妊娠9日目よりインスリン製剤を3日間皮下投与し、剖検時まで左下腹部皮下腫瘍を触知した。妊娠20日目(14週齢)に剖検し、3.5 x 2 cm大の腫瘍を摘出した。[症例3]妊娠20日目(16週齢)、無処置動物の右下腹部に4 x 2.5 cmの皮下腫瘍を発見し、剖検した。上記3症例の腫瘍について、組織学的及び免疫組織化学的検査を行った。

【結果】いずれの症例でも乳腺上皮細胞が多層性に増殖し、症例1は2-3層の上皮が腺房状/管状、症例2及び3は3-4層以上の上皮がそれぞれ篩状、及び面皸状の増殖パターンを示した。 $\alpha$ -Smooth Muscle Actin ( $\alpha$ -SMA)染色では、増殖上皮を裏打ちし線状に配列する細胞が陽性を示したのに加え、多層化した増殖上皮内にも孤在性に陽性像が認められた。この孤在性 $\alpha$ -SMA陽性細胞は上皮の多層化と比例して増加し、特に症例2及び3では多数観察された。

【結論】3症例はいずれも自然発生性腫瘍であり、その多層性増殖像から乳腺癌と考えられた。 $\alpha$ -SMA陽性を示す筋上皮細胞は、正常乳腺における分布と同様の乳腺上皮基底部分のみならず、多層性増殖巣内にも孤在性に混在して腫瘍の一構成成分となっており、混在の頻度は上皮の多層化の度合いと共に増す傾向がみられた。

## O-23

## イミノジプロピオニトリル発達期暴露によるマウス海馬歯状回ニューロン新生に対する晩発影響とエピジェネティクス毒性

○田中 猛<sup>1,2)</sup>、長谷川 也須子<sup>1)</sup>、板橋 恵<sup>1,2)</sup>、五十嵐 勝秀<sup>3)</sup>、吉田 敏則<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> 岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、<sup>3)</sup> 星薬科大学 先端研

【背景および目的】イミノジプロピオニトリル (IDPN) はげっ歯類への飲水投与により中枢及び末梢神経系の軸索障害を誘発することが知られている。本研究ではIDPNのマウスを用いた発達期暴露により、離乳及び成熟時の児動物海馬歯状回 (DG) におけるニューロン新生への影響をエピジェネティックな変化を含めて検討した。

【方法】妊娠ICRマウスに、妊娠6日目から離乳時 (生後21日) までIDPNを0, 600及び1200 ppmの濃度で飲水投与した。離乳時ならびに成熟時 (生後77日目) の児動物脳を用いて海馬歯状回の顆粒細胞層下帯 (subgranular zone: SGZ) におけるニューロン新生の各段階にある顆粒細胞系譜の細胞数と歯状回門でのGABA性介在ニューロンの分布を免疫組織化学的に検討した。また、歯状回におけるプロモーター領域のDNA過メチル化遺伝子を次世代シーケンシング法により抽出し、RT-PCR法、Pyrosequencing法並びに免疫染色により発現を解析した。

【結果】免疫組織学的検索により成熟後のみで、DGでの神経可塑性に関与する最初期遺伝子蛋白質であるARC、FOS陽性ニューロン、SGZのGFAP、TBR2、DCX陽性細胞、PCNA陽性細胞が1200 ppmで有意に減少した。歯状回でDNA過メチル化及びmRNA発現量の低下を示す3遺伝子 (*Eed4*, *Kiss1*, *Mrpl38*) が見いだされた。この内、ミトコンドリア内の蛋白質合成に関わるリボソーム蛋白質である*Mrpl38*は離乳時、成熟後の両方でプロモーター領域の過メチル化を示すとともに、MRPL38を発現する歯状回門ニューロン数が減少した。

【考察】IDPNのマウスに対する発達期暴露により、type-1神経幹細胞から未熟顆粒細胞に及ぶ晩発的なニューロン新生傷害が生じ、それに対するエピジェネティックな機序による介在ニューロンへの影響を介した顆粒細胞系譜の分化・増殖障害の関与が示唆された。

## O-24

## アムホテリシンB投与によるカニクイザルの核変化および水腫性変性を特徴とする心筋病変

○小林 亮介<sup>1)</sup>、小林 大礎<sup>2)</sup>、平嶋 昂<sup>2)</sup>、原田 英樹<sup>2)</sup>、大西 康之<sup>2)</sup>、土居 卓也<sup>1)</sup>、涌生 ゆみ<sup>1)</sup>、菅野 剛<sup>1)</sup>、土谷 稔<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 株式会社LSIメディエンス 試験研究センター 病理研究部、<sup>2)</sup> 株式会社LSIメディエンス 試験研究センター 安全性研究部

【背景と目的】抗真菌剤であるアムホテリシンBは副作用として腎障害がよく知られている。一方、稀に不整脈や心疾患の増悪を引き起こすとの報告があるが、その心筋病変についての記載は見当たらない。アムホテリシンBを投与したカニクイザルにおいてみられた心筋病変の病理学的特徴を報告する。

【材料と方法】雌のカニクイザルにアムホテリシンBを1, 2, 4 mg/kg (各3例) 静脈内単回投与し、7日後に剖検、組織検査した。心臓は右心房右心室、左心房左心室、心室中隔を縦断し、HE染色、特殊染色 (PTAH, マッソントリクローム)、免疫染色 (Iba-1, Tenascin-Cなど) をおこない、鏡検した。また、戻し電顕による超微形態学的観察を実施した。

【結果】心臓に肉眼的異常はみられなかった。心筋細胞の巨核化/複核化および空胞形成を伴う腫大を特徴とする多巣性の心筋変性が2 mg/kg群の2例で軽微に、4 mg/kg群の2例で軽度ならびに重度に認められた。重度な病変中心部では心筋が壊死脱落し、豊富な新生毛細血管を伴う肉芽組織に置換されていた。病変の分布としては、主に左心室および心室中隔の心基底部を中心に拡がり、程度の増強に伴い左心室乳頭筋でも顕著であった。また、病変部に一致して少数のマクロファージが浸潤し、間質には心筋傷害マーカーであるTenascin-Cが発現していた。電顕観察では、心筋細胞における水腫性変性および筋原線維の崩壊とミトコンドリアの腫大がみられた。心臓以外では、鈣質沈着を伴う腎尿細管変性が4 mg/kg群全例でみられたが、冠状動脈などの血管や骨格筋を含む其他器官に明らかな組織変化は認められなかった。

【結論】心筋病変の特徴は4例で一致しており、アムホテリシンBに起因する変化と考えられた。病態発現には直接的な細胞傷害あるいは循環障害の関与を疑っている。

## O-25

## DHPN誘発ラット肺腫瘍におけるERK1/2の活性化に関する検討

○山川 けいこ<sup>1)</sup>、横平 政直<sup>1)</sup>、成澤 裕子<sup>1)</sup>、蟹江 尚平<sup>1)</sup>、吉田 翔太<sup>1)</sup>、竿尾 光祐<sup>1,2)</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

【目的】RASの下流にあるERK1/2の活性化は細胞増殖に関与し、我々は、NNK誘発マウス肺発がん過程において肺腫瘍の悪性化に重要な役割を果たしていることを報告してきた。今回、N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) 誘発ラット肺発がん過程においてもERK1/2経路が関与しているのかを明らかにするため、DHPN誘発ラット肺腫瘍におけるERK1/2の活性化を免疫組織学的に検討した。

【材料と方法】6週令の雄性F344ラットに実験開始時より2週間0.1% DHPNを飲水投与し、52週目に発生した肺腺癌(12例)を対象として、リン酸化ERK1/2(pERK1/2)の免疫染色を行った。

【結果】52週目の肺の組織像では、核腫大、核異型を伴う腺癌細胞とともに好中球、リンパ球の浸潤像に加え、線維化像が高頻度に認められた。pERK1/2の発現は12例中9例に認められたが、pERK1/2陽性細胞数が10%以上認められたのは2例のみであった。

また、8例において、腺癌細胞周囲の間質細胞の一部にpERK1/2の発現を認めた。

【考察】今回のラット腺癌症例では、明らかなERK1/2活性化の亢進は認められなかった。DHPN投与後の実験期間と発生した腫瘍細胞の増殖性、また上流のRAS遺伝子変異ならびに他の遺伝子変異の関与の可能性について今後検討すべき課題と考える。

## O-26

## 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の4週間吸入暴露によりラットの肺に沈着したMWCNT処理に係わる病理組織学的変化

○相磯 成敏、高信 健司、片桐 卓、妹尾 英樹、梅田 ゆみ、福島 昭治

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

【背景】当施設で実施したラットを用いたMWCNT (MWNT-7) の吸入暴露発がん性試験で、0.2mg/m<sup>3</sup>以上で肺癌の発生増加を認めた。しかし、MWCNTを吸入暴露した肺の気道や肺胞上皮の反応や肺胞壁を経由したMWNT-7のクリアランスなど発がん作用様式 (MOA) の上で未解明な点が多い。

【目的】MWNT-7の肺発がんMOAを解明する一端として、発がん性試験と同一条件でラットにMWNT-7を吸入暴露し、気道や肺胞の上皮に生じる組織反応と肺胞壁を経由するMWNT-7の体内移行を検討した。

【方法】6週齢雄のF344/DuCrIcrIjにMWNT-7を0、0.2及び2 mg/m<sup>3</sup>、1日あたり6時間で3日、5日、2週間または4週間、全身暴露した (各群5匹)。肺を中性緩衝ホルマリンで注入固定後、病理組織、免疫組織化学及び透過型電顕 (TEM) による検索を行った。

【結果】肺の中間領域を中心として暴露3日に幼弱クララ細胞の増生、暴露5日に幼弱クララ細胞によるMWNT-7及びMWNT-7貪食マクロファージの囲い込み、暴露4週ではそれらの表層に肺胞2型細胞や毛細血管の出現を認め、TEM検索で基底膜構造の改変と膠原線維の形成等、局所的な肺胞構造の改変と器質化が示された。なお、免疫染色で肺胞壁内にMWNT-7貪食マクロファージを確認できなかった。

【考察】肺に吸引されたMWNT-7の封入を目的と推察する幼弱クララ細胞の増生と器質化、呼吸機能の確保を目的とした肺胞2型細胞の増生と肺胞構造の再構築が肺胞単位に起り、やがて限局性の線維化や肺胞壁の肥厚、さらに肺がん発生に移行する可能性が示唆された。(厚労科研補助金 化学物質リスク研究事業)



## O-27

## ApoE-ノックアウトマウスの石灰化を伴う動脈硬化病変の病理組織学的解析

○柴田 雅朗<sup>1)</sup>、柴田 映子<sup>2)</sup>、斯波 真理子<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 大阪保健医療大学大学院 解剖学・病理組織学研究室、<sup>2)</sup> 国立循環器病研究センター研究所 病態代謝部

動脈硬化の石灰化は陳旧性あるいは進行した動脈硬化病変と考えられており、また石灰化病巣と不安定プラークとの関連性も強く示唆されており、臨床的に極めて重要な所見となっている。

【方法】普通食を自由摂取させた25週齢から45週齢の週齢の違うApoE-ノックアウト (ApoE-KO) マウス雌の動脈について、CT装置 (LCT-200, Hitachi Aloka Medical) を用いて、プラークの石灰化の有無を評価した後、それら病変を骨・軟骨を識別する特殊染色 (アルシアン青, アニリン赤, TRAP, ALP, Kossa)、骨芽細胞分化誘導因子に関わる分子 (BMP-2, BMP-4) や平滑筋マーカーの  $\alpha$ -SMA を免疫組織学的に解析した。

【結果】動脈硬化の石灰化病巣では、HE染色と特殊染色により、骨化と軟骨化を識別した。BMP-2は正常な動脈の平滑筋細胞でも軽微な発現を認めたが、BMP-4では発現は見られなかった。動脈硬化病変部やその周辺の平滑筋細胞では、BMP-2およびBMP-4とも強い発現を観察した。骨化や軟骨化した部位ではBMP-2やBMP-4の発現はむしろ著しく低下し、その周辺で強い発現が見られた。また、完全に骨や軟骨に分化した部位では  $\alpha$ -SMA の発現は殆どみられなかった。しかし、骨、軟骨への分化途中段階にある部位では依然として  $\alpha$ -SMA の強い発現がみられ、骨芽細胞が平滑筋由来である可能性が示唆された。

【考察】動脈硬化病巣の平滑筋細胞でBMP-2/4の発現が亢進し、平滑筋細胞由来と考えられる骨芽細胞が観察され、そこで軟骨・骨形成が生じたと推測された。以上、ApoE-KOマウスは石灰化を伴う動脈硬化の治療薬の開発やその評価などに応用できる有用な病態モデルと考えられた。

## O-28

## Mcl-1蛋白を標的とする低分子抗がん物質の毒性と有効性の評価

○土井 賢一郎、鰐淵 英機、魏 民、梯 アンナ、石井 真美、山野 莊太郎

大阪市立大学 院 医 分子病理

【背景と目的】Myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1) はB-cell lymphoma 2 (Bcl-2) protein familyに属し、anti-apoptotic作用を發揮する。Mcl-1は多種類の癌で発現誘導され、薬剤治療抵抗性と予後不良に関連している。我々は2008年に発見された新種の海洋微生物から抽出された物質が、Mcl-1選択的に癌細胞死を誘導することを発見しMaritoclaxと命名した (Doi K, JBC2012)。これを起点にMcl-1蛋白を薬理的に阻害する低分子化合物を開発することを命題とした。

【方法】GST-mMcl-1deltaNC蛋白質を精製し、ELISAとFPアッセイ法を確立した。同様に15N-mMcl-1deltaNC蛋白を精製してNMR titrationに用いた。ヒト白血病細胞を用い新規化合物の細胞毒性を評価し、更に薬剤抵抗性細胞株を作製した。Maritoclaxの構造を丁度半分にしたPyoluteorin分子をモチーフにし、Structure-activity relationship解析を行った。腫瘍細胞株をマウスに移植し、新規化合物の生体内での毒性と有効性とを検討し、薬物動態を評価した。

【結果】Maritoclaxとpyoluteorin derivativesはMcl-1を過剰発現する癌細胞に対して、Bax/Bak依存性の内因性アポトーシスを誘導する (on target効果)。Mcl-1高発現細胞を皮下移植したマウスに、連日化合物を腹腔内投与して有効性を認めたが、病理組織学的所見に異常は無く骨髄抑制も認めなかった。SARからMaritoclaxのpharmacophoreの一端を明らかにし、有効性の高い化合物を用いてマウス血中濃度や半減期を評価した。これら新規化合物とABT-737との併用はsynergisticであり、薬剤抵抗性の克服にも寄与していた。

【考察】我々はMcl-1依存性癌細胞にアポトーシスを誘導する、新規の低分子化合物を前臨床期開発した。今後はEPR効果を図ったDDSの改善と対象癌種の選定、薬剤併用療法の開発が重要である。

## O-29

**多層カーボンナノチューブを経気管反復投与したラットに見られた肺過形成病変に関する病理組織学的解析**

○坂本 義光<sup>1)</sup>、北條 幹<sup>1)</sup>、広瀬 明彦<sup>2)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>、中江 大<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup> 国立衛研、<sup>3)</sup> 東京農大

【背景・目的】多層カーボンナノチューブ (MWCNT) は、齧歯類に腹膜中皮腫を誘発することから、社会的認容のための適切なリスク評価が求められている。本研究は、ラットを用いた経気管反復投与実験においてMWCNT投与群に観察された、組織学的性状を異にする肺胞過形成病変の生物学的特性について解析した。

【材料・方法】動物は、Han:WIST系雄性ラット10週齢を用いた。被験物質としては、MWNT-7をショ糖及びTween 80に混合した水溶性懸濁液 [長さ、2 μm, 径75 nm, 鉄含有量0.344%] を調整し、1回投与用量0 (懸濁媒)・0.01・0.05・0.25 mg/kg体重を4週間毎に計12回経気管噴霧投与し、最終投与終了後52週間飼育した。

【結果・考察】被験物質投与に関連した中途死亡・瀕死や、臨床症状または体重及び肺重量の変化はなかった。MWCNT投与群では、被験物質が主にマクロファージに貪食された状態で、肺胞腔/壁、細気管支・血管周囲間質及び細気管支周囲リンパ組織内に沈着し、高用量群で顕著であった。MWCNT投与群では、沈着に関連して、肺胞の軽度な炎症性病変、線維の増生に加え、組織学的性状が異なる2種の過形成病変が認められた。一方はMWCNT貪食マクロファージが集簇する肺胞のII型上皮の反応性過形成であり、他方は扁平～多形な細胞が一層または多層に配列し部分的に小集塊状の増生を伴う異型過形成であった。反応性または異型過形成の発現数 (率) は、中用量群でそれぞれ1/17 (6%) または1/17 (6%)、高用量群で6/17 (35%) または4/17 (23%) であった。現在は、過形成病変の生物学的特性について、詳細な検討を行っている。

## O-30

**多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の104週間全身吸入暴露によるラット肺癌の発生**

○梅田 ゆみ、妹尾 英樹、高信 健司、片桐 卓、相磯 成敏、笠井 辰也、大西 誠、福島 昭治

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】繊維状のMWCNTはアスベストと同様にヒトに肺癌や中皮腫を引き起こすことが危惧されるが、実験動物を用いた長期吸入暴露による発がん性データはない。我々は、MWCNTの吸入暴露によるがん原性試験を行うために、全身吸入暴露システムの開発、肺内MWCNTの微量定量法の開発、がん原性試験の濃度を設定するための予備試験を実施し、報告してきた。今回は、全身吸入暴露システムを用いたラットの発がん性試験の結果について報告する。

【方法】被験物質はMWNT-7 (保土谷化学工業 (株)) を使用し、暴露にはサイクロン・シープ方式による全身吸入暴露装置を用いた。暴露は雌雄とも0 (対照群)、0.02、0.2及び2 mg/m<sup>3</sup>濃度とし、1日6時間、週5日間の頻度で104週間暴露した。動物はF344/DuCrIrljラットの雌雄各濃度群50匹、合計400匹を用いた。全動物を剖検し、臓器重量、肺内MWNT-7の定量、病理組織学的検査等を実施した。

【結果】剖検により、MWNT-7投与群の雌雄の肺に結節や白色斑がみられ、肺重量では、雄は0.2 mg/m<sup>3</sup>以上の群、雌では0.02 mg/m<sup>3</sup>以上の群から増加が認められた。肺のMWCNT沈着量は暴露濃度に依存して増加した。病理組織学的検査では、雄の0.2 mg/m<sup>3</sup>以上の群と雌の2 mg/m<sup>3</sup>群で肺癌の発生増加が認められた。肺癌は、雌雄とも主に細気管支-肺胞上皮癌であり、雄に腺扁平上皮癌、雌に扁平上皮癌、腺扁平上皮癌及び低分化型腺癌が少数例認められた。また、上記腫瘍に関連した肺の過形成の発生も投与群で増加した。その他の臓器には腫瘍の発生増加はみられなかった。

【まとめ】MWNT-7の104週間全身吸入暴露は雌雄のラットに明らかな発がん性を示した。(本試験は厚生労働省の委託により実施したGLP試験である)

## P-01

## ラットにおけるDHPNの発がん性に対して磁性ナノ粒子マグネタイトが及ぼす影響

○多田 幸恵<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>、海鋒 藤文<sup>1)</sup>、北條 幹<sup>1)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>、中江 大<sup>2)</sup>、栗田 雅行<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 生体影響研究科、<sup>2)</sup> 東京農業大学

【背景・目的】磁性ナノ粒子マグネタイトはin vitro及びin vivo試験において遺伝毒性が報告されていることから、その発がん性の評価が急務である。我々は、これまでマグネタイトの安全性について検討し、慢性投与試験において肺に過形成性変化を観察したが、2段階肺発がんモデルを用いた検索の結果、マグネタイトが明らかな肺発がん性を有さず、むしろDHPNによる肺発がんを抑制することを見出した。本研究は、DHPNの肺以外に対する発がん性に対してマグネタイトが及ぼす影響について検索した。

【方法】実験は、F344/DuCrIj系雄性ラット（6週齢）を5群に分け、細菌ろ過器を経由した水道水（I・II群）または0.1% DHPN水（III・IV・V群）を2週間自由に摂取させた後、マグネタイトを4週間毎に1回、0(I・III群)・5.0(II・IV群)・1.0(V群) mg/kg体重の用量でスプレー投与器（Penn-Century）を用いて、計7回気管内投与し、DHPN投与開始から30週間後にイソフルラン麻酔下で採血と殺を行い、全臓器を病理学的に検索した。

【結果】DHPN処置群においては甲状腺・食道・腎臓に腫瘍を認め、甲状腺濾胞細胞腫瘍の発生頻度（III・IV・V群：77.8%・47.4%・61.1%）及び個体当たりの腫瘍数（1.33・0.89・1.06）はマグネタイト投与により用量相関性に減少する傾向を示した。腎臓においても、腫瘍の発生頻度（III・IV・V群：66.7%・57.9%・66.7%）及び個体当たりの腫瘍数（0.83・0.68・1.00）がマグネタイト高濃度投与で軽度減少する傾向を示した。以上の結果より、マグネタイトは、肺のみならず、DHPNの発がん性を全体として抑制することが示された。

## P-02

## DHPN誘発ラット肺腫瘍におけるS100A4の発現

○成澤 裕子<sup>1)</sup>、横平 政直<sup>1)</sup>、山川 けいこ<sup>1)</sup>、蟹江 尚平<sup>1)</sup>、吉田 翔太<sup>1)</sup>、竿尾 光祐<sup>1,2)</sup>、今井田 克己<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 香大・医・腫瘍病、<sup>2)</sup> 回生病院

S100A4は、ヒトの種々のがんにおける転移と関連していることで知られている蛋白質であるが、その他、細胞周期調節、細胞間接着、浸潤などにも関与しているという報告がある。ヒトの肺がんにおいてもその発現は認められ、肺腺癌においては、S100A4の発現が予後不良のマーカーであるという報告もある。そこで、今回我々は、N-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) 誘発ラット肺腫瘍において、S100A4の発現について検討した。

6週齢の雄性 Wistar-Hannover (GALAS) ラットを用い、実験開始0週目から2週間、0.1% DHPNの飲水投与を行った。その後、第4週目にQuartz投与群には、2mg quartz/0.2ml saline/ratの濃度で、対照群には、0.2 ml saline/ratを気管内投与した。実験開始から52週目に屠殺剖検を行い、肺組織において、病理組織学的検討ならびにS100A4の免疫組織学的染色（the Ventana Discovery™ staining system (Ventana Medical Systems, AZ, USA)、抗体：Anti-S100A4 antibody ab27957, abcam, 希釈倍率1:400）を行った。

その結果、各群において過形成、腺腫、腺癌の発生が確認された。得られた病変に対して行ったS100A4の免疫組織学的染色では、主に腫瘍細胞において陽性像が認められ、陽性細胞は腺腫よりも腺癌のほうが多い印象が見られた。

今回の検討により、DHPN誘発ラット肺腫瘍においても、ヒトの肺腫瘍で確認されているS100A4の発現が認められ、その発現は腺癌でより強いことが示唆された。

## P-03

## Whole slideを用いたBleomycin誘発マウス肺線維化の経時的・定量的な病理組織学的解析

○藤井 雄太、青木 正光、栃谷 智秋、河内 真美、松本 泉美、山田 徹、船橋 斉

大日本住友製薬(株)

【背景・目的】 Bleomycin (BLM) の単回気管内投与により作製したマウス肺線維症モデルでは、主に気管支周囲に変化が生じ、肺全体からのランダムな抽出では解析部位に偏りが生じる可能性がある。そこで、標本全体を対象とした定量的な画像解析法を用い、投与6週までの肺の経時の変化および他の線維化関連指標との関連性を明確にすることを目的とし、本検討を実施した。

【材料と方法】 5 mg/kgのBLMを24-30週齢のC57BL/6J雄マウスに単回気管内投与し、投与後1、1.5、2、2.5、3、4、5、6週に剖検した (n=4~6)。肺全葉の定性的な病理組織学的検査、Masson trichrome stainの変法および $\alpha$ -SMA免疫染色標本の画像解析を行なった。画像解析については、解析ソフト (ImageScope™, Leica) を使用し、標本全体を解析した。さらに、線維化関連遺伝子 (*Acta2*, *Colla1*, *Tgfb1*) のmRNA発現量、Hydroxyproline (HP) 量を測定した。

【結果】 画像解析による線維化面積の割合は、対照群と比べ1週目から高値を示し、2.5週目まで増加した後、6週目まで概ね一定の値を示した。HP量は、3週目から6週目で高値を示した。なお、線維化を対象とした定性的な病理検査結果と画像解析結果は概ね相関した。 $\alpha$ -SMA陽性面積の割合は、対照群と比べ1週目で高値を示し、1.5、2週目でより高い値を示し、その後、程度は減弱した。*Acta2*のmRNA解析でも同様の変動が認められた。

【結論】 Whole slideを用いた定量的な画像解析により、肺線維化の経時的な変化を明確に捉えられ、他の線維化指標との関連性も明確に示された。*Colla1*, *Tgfb1*の発現量および関連した免疫染色の解析結果も併せて発表する。

## P-04

## rasH2マウスを用いた1,2-ジクロロエタンの反復経皮投与による26週間短期発がん性試験

○沼野 琢旬<sup>1)</sup>、勝呂 繭子<sup>1)</sup>、土井 悠子<sup>1)</sup>、河部 真弓<sup>1)</sup>、浦野 浩司<sup>2)</sup>、堤 秀樹<sup>2)</sup>、萩原 昭裕<sup>1)</sup>、米良 幸典<sup>1)</sup><sup>1)</sup>(株) DIMS医学研究所、<sup>2)</sup> 公益財団法人 実験動物中央研究所

【背景】 rasH2マウスを用いた短期 (26週間) 発がん性試験は長期試験の代替法として3極行政当局より承認されているが、経皮剤については適応外となっている。今回、ICRマウスへの2年間反復経皮投与で肺への発がん性が認められている1,2-ジクロロエタンを本マウスに26週間反復経皮投与し、その再現性について検討した。

【材料及び結果】 雌雄各群10匹のrasH2マウスの背部皮膚に、126 mg/匹/回の用量で週3回、また陰性対照として媒体であるアセトン100  $\mu$ Lを1日1回、26週に渡り投与した。陽性対照群として、実験開始時にMNU (75 mg/kg) を単回腹腔内投与する群を設けた。肉眼病理組織学的に、1,2-ジクロロエタン投与群では肺の変色斑/変色域又は腫瘍がみられた。これらは病理組織学的に、肺胞上皮由来の過形成、腺腫又は腺癌がみられ、腺腫及び腺癌の発生率は、雄で80% (P<0.01) 及び50% (P<0.05)、雌で70%及び100%であった (P<0.01)。MNU群では腫瘍性病変が全例にみられ、使用したマウスの発がん感受性に問題のないことが確認された。

【まとめ】 ICRマウスへの反復経皮投与で肺への発がん性が認められた物質をrasH2マウスに経皮投与した結果、統計的有意差を持っての再現性が確認された。これにより、rasH2マウスは経皮剤についても適応可能であることが示唆された。なお、肺を標的臓器にした超短期 (8-10週) 発がん性評価法を検討するために、この1,2-ジクロロエタンをイニシエーターにした2段階法も行ったので、併せて報告する。



## P-05

## 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の肺障害性と遺伝子発現への影響

○松本 晴年<sup>1)</sup>、深町 勝巳<sup>1)</sup>、二口 充<sup>1)</sup>、津田 洋幸<sup>2)</sup>、酒々井 眞澄<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 名古屋市立大学 大学院 医学研究科 分子毒性学分野、<sup>2)</sup> 名古屋市立大学 津田特任教授研究室

本研究では MWCNT の長さの違いが肺に対してどのような影響を及ぼすのかを組織と遺伝子発現レベルで検証した。MWCNT を 25 μm の篩 (ふるい) にかけて、通り抜けた MWCNT を flow through (FT)、篩の上に残っているものを remaining (R)、通らなかったものを primary mixed fraction (P) とした。F344 ラット肺に MWCNT を 2 週間で計 8 回各分画および分散剤 (PF68, Vehicle control, VEH) を気管内噴霧後 (計 1.0 mg)、2 週間、52 週間で屠殺剖検し肺を取り出し解析に用いた。先行研究において初代培養マクロファージに MWCNT をばく露し網羅的にスクリーニングした結果発現量の高かった Csf3, IL6, Ccl4, Cxcl2 を解析した。2~5 個体サンプルをそれぞれアッセイし発現シグナルを平均した。2 週試験では FT 分画での炎症面積は溶媒対象群および他の 2 分画と比較して有意に増加した。52 週試験では炎症面積、異物肉芽組織 / 線維化の数は溶媒対象群と比較して有意に増加した。分画間での差はなかった。2 週間試験の mRNA 発現レベルはいずれの分画でも低い。タンパク発現では、どの分画でも発現の上昇傾向がみられた。52 週試験ではいずれの分画でも mRNA 発現が上昇した。タンパク発現では Csf3 と Cxcl2 の発現が維持された。炎症像は 52 週経過後も持続してみられるので Csf3 と Cxcl2 のタンパク発現状況と炎症像は比較的リンクすると考えられる。Csf3 と Cxcl2 は CNT 投与に伴う炎症を反映するバイオマーカーになりうる。

## P-06

## 経皮曝露したナノ銀のアジュバント効果解析

○Young-Man Cho<sup>1)</sup>、水田 保子<sup>1)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、平田 直<sup>1,3)</sup>、曾根 瑞季<sup>1,4)</sup>、安達 玲子<sup>2)</sup>、木村 美恵<sup>2)</sup>、最上 (西巻) 知子<sup>2)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup> 同・生化学部、<sup>3)</sup> 昭和大学大学院 薬学研究科、<sup>4)</sup> 東京農工大学 農学部 共同獣医学科

【目的】 ナノ銀 (AgNPs) は抗菌作用を示すことから、化粧品、衣類及び家庭用品、更に食品容器包装にも使用されている。生産量及び消費量の増加に伴いヒトへの経口及び経皮曝露量も増加しているにも関わらず、ナノ銀の経皮曝露による免疫毒性に関する報告は乏しい。本研究ではオボアルブミン (OVA) 及びナノ銀で経皮感作したマウスを用いて免疫学的及び病理組織学的検討を行った。

【方法】 BALB/c マウス (8 週齢雌) の背部を剃毛し、パッチテスターを用いて溶媒 (2 mM クエン酸) に 100 μg OVA 及び各サイズの 49 μg AgNPs (直径 10、60 及び 100 nm) を加えた懸濁液をマウス皮膚に貼付した (3 日間連続貼付 / 週 × 4 週)。その後血中の抗原特異的抗体価、OVA 腹腔内又は強制経口投与 (各々 1 又は 5 mg / 匹) によるアナフィラキシー反応惹起について検討した。また、皮膚、脾臓及びリンパ節について病理組織学的解析を行った。

【結果】 OVA の腹腔内投与で惹起した OVA+AgNPs 群では感作後の IgG1 及び IgE 抗体価上昇、惹起後の直腸温度低下、アナフィラキシー症状、血中ヒスタミン濃度上昇が溶媒対照群に比べ有意に見られた。また、感作部位近傍のリンパ節において、細胞増殖を示す濾胞の数が、溶媒対照群と比較して全 OVA 処置群で増加した。OVA の強制経口投与で惹起した OVA + AgNPs 群では IgG1 及び IgE 抗体価上昇が溶媒対照群に比べ有意に見られた。しかし、いずれのパラメーターにおいても OVA 群に比べ AgNPs 処置による有意な変化は認めなかった。

【考察】 OVA+AgNP の経皮曝露後、OVA を腹腔内または強制経口投与する本モデルは、感作やアナフィラキシーの観察に有用だが、AgNP の明らかなアジュバント活性は認めなかった。今後、皮膚感作性試験の陽性対照や貼付する OVA 抗原の濃度などの検討が必要と考えられた。

## P-07

## 皮膚バリア破綻とナノ白金粒子皮膚透過性の検討

○熊谷 文明<sup>1)</sup>、等々力 舞<sup>1)</sup>、瀬沼 美華<sup>1)</sup>、斉藤 義明<sup>1)</sup>、東阪 和馬<sup>2)</sup>、吉岡 靖雄<sup>2)</sup>、堤 康央<sup>2)</sup>、桑形 麻樹子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所、<sup>2)</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

【背景】 これまでに、ナノ白金 (1 または 20 nm) をラットに 28 日間反復経皮投与し生体への影響を調べた。その結果、潰瘍などの皮膚病変が投与 2 週間から認められた。ICP-MS 分析では生体内に白金の分布が確認されたが、ナノ白金投与に起因した全身毒性は認められなかった。

【目的】 本実験では、皮膚透過性を再検討するために、角質層を除去した皮膚にナノ白金を経皮投与して生体への影響を調べた。

【材料と方法】 SD ラットの背部皮膚に、クエン酸修飾された 5 nm ナノ白金 (5nPt) またはクエン酸水溶液 (対照) を 24 時間経皮投与した。それぞれの投与群に対して、投与前に 20 回のテープストリッピング処理により角質を除去した群と、未処理群を設けた。解剖後、投与部皮膚および主要臓器の病理組織学的検査を実施した。さらに、ICP-MS により投与部皮膚、肝臓および血液中の白金含有量を測定した。

【結果】 病理組織学的検査の結果、投与部皮膚ではテープストリッピング処理により表皮肥厚や真皮の細胞浸潤等がみられたが、ナノ白金投与に起因した変化ではなかった。肝臓、腎臓、脾臓および副腎ではナノ白金投与による組織学的な変化は認められなかった。ICP-MS の結果、5nPt 群では、投与部皮膚において白金の残留がみられたが、肝臓および血液では検出限界値 (0.05 ppm) 以下であった。

【結論】 以上の結果から、5 nm ナノ白金は角質層のみに傷害がある場合では生体内に入ることはなく、急性毒性は認められないと考えられた。このことから、28 日間反復経皮投与試験で生体内に認められた白金は、潰瘍といった真皮にまで達する傷害から移行したと考えられた。

## P-08

## rasH2マウスを用いた超短期皮膚二段階発がん性評価法の開発

○勝呂 繭子<sup>1)</sup>、河部 真弓<sup>1)</sup>、沼野 琢旬<sup>1)</sup>、浦野 浩司<sup>2)</sup>、堤 秀樹<sup>2)</sup>、米良 幸典<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> (株) DIMS 医科学研究所、<sup>2)</sup> (公財) 実験動物中央研究所

近年、マウス長期発がん性試験の代替法として rasH2 マウスを用いた 26 週間発がん性試験が使用されてきている。我々は rasH2 マウスの標的臓器の 1 つである皮膚を用いた「超短期皮膚二段階発がん性評価法」の開発を進め、評価法として確立した。今回は、これまでに実施してきた種々の検討結果についてまとめて報告する。

「超短期皮膚二段階発がん性評価法」では、イニシエーターとして DMBA を実験開始時に 1 回、背部皮膚に塗布し、その 1 週間後より被験物質を 7 週間塗布した。DMBA の用量については、26 週間の用量設定試験を実施した結果、50  $\mu$ g に設定した。

次に、既知の皮膚発がんプロモーターである TPA を塗布する実験を行った結果、皮膚腫瘍が実験 4 週より観察され、8 週間で十分な数の腫瘍がみられ、さらに用量相関性もみられたことから、短期間で皮膚発がん性の検出が可能であることが明らかとなった。さらに、発生メカニズムが異なるプロモーターの benzoyl peroxide (BPO) についても、同様に検出が可能であることが確認された。

しかしながら、種々の非発がん物質及び媒体を用いて検討した結果、少数例ではあるが皮膚腫瘍の発生がみられた。そこで、DMBA の用量を 12.5  $\mu$ g に減じて検討した結果、TPA 又は BPO により皮膚腫瘍が用量相関性に発生した一方で、溶媒又は非発がん物質による腫瘍の発生がみられなかったことから、DMBA の用量は 12.5  $\mu$ g が適切と考えられた。

【まとめ】 ICR マウスを用いた中期皮膚発がん性試験 (20 週間) に対し、rasH2 マウスを用いた「超短期皮膚二段階発がん性評価法」では、8 週間という短期間で発がんプロモーション作用の評価が可能であることから、このモデルは、経皮剤の開発段階のスクリーニング等に有用であると考えられる。

## P-09

**Trimethyltin Chloride (TMT) Neurodevelopmental Toxicity in Embryonic Zebrafish**

○パク チェハク、キム ジン

Seoul National University, Korea

Trimethyltin chloride (TMT) is a neurotoxicant that is widely existing in the aquatic environment, primarily from the production of plastic. TMT is known to cause acute limbic-cerebellar syndrome characterized by selective neuronal death in limbic system, and particularly in hippocampus. But few studies have estimated aquatic neurotoxicity. We examined TMT dose-dependent malformation of neuronal system by morphological changes, fluorescent analysis using HuC-GFP transgenic zebrafish embryo and changes in gene expression related to neurodevelopment. Exposure of embryos to TMT for 4 days post fertilization (dpf) elicited a concentration-related decrease in body length and increase in curved ratio. TMT affected fluorescent CNS structure of HuC-GFP transgenic zebrafish. TMT also significantly modulated the expression patterns of sonic hedgehog (shha), neurogenin1 (ngn1), embryonic lethal abnormal vision like protein 3 (elavl3), and glial fibrillary acidic protein (gfap). Our study demonstrates the morphological and genetic changes of the developing zebrafish embryo to TMT and establishes a platform for future identification of the neurodevelopmental effects in vertebrates of TMT toxicity.

This study was partially supported by the Research Institute for Veterinary Science, Seoul National University.

## P-10

**ラットを用いたユーエフティ投与による嗅上皮の組織学的変化と回復性**

○二宮 美美子、田中 英樹、吉田 翔太、蟹江 尚平、鈴木 智、箱井 加津男

大鵬薬品工業(株)

【序論】臨床における代謝拮抗剤の重篤な副作用の一つとして、嗅覚障害が報告されている。今回、ラットにユーエフティ(UFT)の反復経口投与を行い、嗅上皮の組織学的変化及びその回復性を検討した。

【材料と方法】6週齢の雄性CrI:CD (SD) ラットに、テガフル投与量として30 mg/kg/dayのUFTを8週間反復経口投与した。投与4、8週及び休薬10週時に各群の鼻腔(Level 3)の標本を作製し、嗅上皮粘膜の病理組織学的検査を行った。投与8週及び休薬10週の標本は免疫組織化学的検査(PGP 9.5及びPCNA)も併せて行った。

【結果】投与4週で嗅上皮等の萎縮及び篩骨甲介骨の菲薄がみられた。投与8週ではこれらの変化が増強し、嗅上皮の扁平上皮化生や多核嗅上皮細胞等も認められた。免疫染色では、PGP9.5陽性嗅上皮細胞及びPCNA陽性基底細胞に減少がみられた。休薬10週では、前述した組織変化は回復し、嗅上皮で配列不整または呼吸上皮化生が限局性に認められた。

【総括】UFTを反復経口投与したラットで、嗅上皮の萎縮性変化が投与4週から認められた。10週間の休薬により、それらの変化には回復性が確認された。病理学的検索に加えて、ワサビ香料を用いた飲水量測定による嗅覚機能評価の結果も併せて報告する。

## P-11

## 髄鞘傷害物質クプリゾンの28日間反復投与ラットにおける脳部位での網羅的遺伝子発現解析

○阿部 一<sup>1,2)</sup>、齋藤 文代<sup>3)</sup>、赤堀 有美<sup>3)</sup>、今田中 伸哉<sup>3)</sup>、吉田 智則<sup>1)</sup>、渋谷 淳<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東京農工大 獣医病理、<sup>2)</sup> 岐阜大 院 連合獣医、<sup>3)</sup> 化学物質評価研究機構

【背景及び目的】我々は髄鞘傷害物質クプリゾン (CPZ) のラット発達期暴露により、子動物の皮質及び白質組織での希突起膠細胞系譜の分化・増殖障害と、これに対するKLOTHOを介した希突起膠細胞の成熟促進による白質での保護反応を見出した。

本研究では、28日間反復投与試験の枠組みでの髄鞘傷害に起因する神経毒性指標を検出する目的で、以下の実験を行った。

【方法】5週齢の雄性SDラットにCPZを0、120及び600 mg/kgの用量で28日間強制経口投与し、複数の脳部位でマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。また、発現変動遺伝子について免疫染色による分布解析を行った。

【結果】網羅的発現解析により、600 mg/kg群の脳の各部位で炎症又は免疫応答に関連する遺伝子群の発現上昇、髄鞘形成及びグリア発生に関連する遺伝子群の発現減少が検出された。免疫染色の結果、脳梁及び小脳髄質でCD68陽性小膠細胞数とMT (I+II) 陽性小膠細胞数が増加した。一方、発達期暴露とは対照的に、脳梁においてKLOTHO陽性希突起膠細胞数が減少した。

【考察】CPZの28日間反復投与ラットで、網羅的遺伝子発現解析により炎症・免疫応答を反映しうる遺伝子発現変動が検出され、免疫染色においても、白質組織で活性化した小膠細胞数の増加を検出し、髄鞘傷害と炎症・免疫応答の関連性が示唆された。また、各脳部位で髄鞘形成抑制に関連する遺伝子発現や、白質におけるKlothoを介した希突起膠細胞の成熟化の阻害に伴う機能性希突起膠細胞の減少が、成熟期のラットへのCPZ暴露による脱髄の誘導機序に関与している可能性が示された。

## P-12

## STP position paperに準じたイヌ脳の切り出し位置の検討

○山田 直明、友成 由紀、黒滝 哲郎、佐藤 順子、土居 卓也、菅野 剛、土谷 稔

(株)LSIメディエンス 試験研究センター 病理研究部

【背景・目的】STPが推奨する神経系の組織学的検査部位についてのposition paperが発表された[Bolon et al. 2013]. このposition paperでは、ラット、サルについての写真は掲載されているが、イヌについては記述のみとなっている。そこで、我々はposition paperで推奨されている検査部位を網羅できるイヌ脳の切り出し位置を検討した。

【材料と方法】イヌ15匹の脳を10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定した後、position paperのFigure 2 (サルの切り出し図)、Table 3(各断面のランドマーク)を参考に、Table 4に記載されている扁桃体、外包、内包、尾状核/被殻、小脳、大脳皮質(前頭葉、側頭葉、頭頂葉、後頭葉)、脈絡叢、脳梁、深部小脳核、海馬、視床下部、延髄、橋、視床が観察できる切り出し位置を検討し、HE染色標本で適否を評価した。

【結果】脳をまず正中線で縦断し、その断面を確認しながら以下のように切り出すことで良好な結果を得ることができた。Level 1: 十字溝より前方で切り出すことで前頭葉が観察できた。Level 2: 視交叉の前方、脳梁の吻側で切り出すことで、尾状核/被殻、脈絡叢、脳梁、内包、外包が観察できた。また、頭頂葉も同レベルで観察できた。Level 3: 下垂体漏斗部から視床下部、視床間橋の中心より吻側を繋ぐ線上で切り出すことで、扁桃体、側頭葉、視床、視床下部が観察できた。Level 4: 橋の吻側から中脳を通り脳梁の最尾側で切り出すことで、海馬、橋が観察できた。Level 5: 第四脳室の前方の小脳脚で切り出すことで、小脳、深部小脳核、延髄が観察できた。また、同レベルの大脳を切り出すことで、後頭葉が観察できた。

【結論】イヌでも、サルと同様に全7ブロックでSTP推奨の検査部位を網羅することができた。



## P-13

## メチルニトロソウレアのラット妊娠期及び授乳期暴露による海馬ニューロン新生への影響

○渡邊 洋祐<sup>1,2)</sup>、白木 彩子<sup>1,2)</sup>、赤堀 有美<sup>3)</sup>、今田中 伸哉<sup>3)</sup>、吉田 敏則<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> 岐阜大学大学院・連合獣医学研究科、<sup>3)</sup> 化学物質評価研究機構

【背景及び目的】増殖細胞のDNA傷害物質であるメチルニトロソウレア（MNU）は、げっ歯類の実験において母動物を介した発達期暴露により児動物に小頭症を誘発することが知られている。先行研究において、マウス妊娠10日目腹腔単回投与又はラット妊娠18～20日目腹腔内短期投与により、生後21日目の児動物の脳重量の減少や海馬での可逆的なニューロン新生障害を誘発することを報告している。本研究では、ラットを用いて持続的な妊娠期・授乳期暴露によるMNUの海馬ニューロン新生への影響について検討を行う。

【方法】雌性SDラットに妊娠6日目から経産後21日目までMNUを0、3、10、30 ppmの濃度で飲水投与し、生後21日及び77日目の児動物脳を採材した。海馬歯状回の顆粒細胞層下帯におけるニューロン新生の各段階にある顆粒細胞と歯状回門のGABA性介在ニューロンの分布を免疫組織化学的に解析した。

【結果】30 ppm投与群で脳重量の低値が持続した。免疫組織化学的解析の結果、生後21日目の30 ppm投与群で顆粒細胞層下帯のGFAP陽性細胞数が有意に減少し、sex determining region Y box 2、T box brain protein 2及びdoublecortin陽性細胞数の有意な増加が確認された。また、顆粒細胞層のTUNEL染色陽性細胞の有意な増加も確認された。歯状回門のGABA性介在ニューロンの変動は確認されなかった。生後77日目では細胞分布の変動は確認されなかった。

【考察】MNUの持続的な妊娠期及び授乳期暴露による影響として、顆粒細胞層下帯のタイプ1神経幹細胞を標的としたアポトーシスによる減少と残存細胞の代償作用を反映したタイプ2前駆細胞から未熟顆粒細胞への分化促進が示唆された。以上より、ラットにおいてMNUの持続的な妊娠期・授乳期暴露によっても、誘発される海馬のニューロン新生障害は可逆的であることが見出された。

## P-14

## 酢酸鉛の発達期暴露によるマウス海馬歯状回のニューロン新生に対する影響

○長谷川 也須子<sup>1)</sup>、田中 猛<sup>1,2)</sup>、渡邊 洋祐<sup>1,2)</sup>、白木 彩子<sup>1,2)</sup>、吉田 敏則<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> 岐阜大学大学院 連合獣医学研究

【背景および目的】重金属である鉛は神経毒性物質として知られ、酢酸鉛（PbAc）のマウスの発達期暴露では学習・記憶能力の低下を誘発することが報告されているが、海馬歯状回のニューロン新生に関する十分な検索は行われていない。本研究ではPbAcをマウスの発達期に暴露し、海馬歯状回（DG）におけるニューロン新生に及ぼす影響について解析を行った。

【方法】雌性ICRマウスに妊娠6日目からPbAcを0、1200、3600 ppmの濃度で離乳時（生後21日目）まで飲水投与した。暴露期間を通じて母動物の体重、摂餌量および飲水量を測定した。雄児動物は生後21日目に安楽殺し、脳重量を測定後、DGの顆粒細胞層下帯（SGZ）におけるニューロン新生の各段階にある細胞数の変動および歯状回門でのGABA性介在ニューロンの分布を免疫組織化学的に検討した。

【結果】母動物の摂餌量および飲水量はPbAc暴露両群のいくつかの時点で有意な低値を示したが、体重および脳重量に変化は認められなかった。雄児動物の体重はPbAc暴露の両群で暴露期間を通じて有意な低下がみられ、脳重量の絶対重量においても有意な低下が認められた。免疫組織化学的検索では、SGZの神経前駆細胞のマーカーであるT box brain 2（TBR2）陽性細胞が高用量群で、細胞増殖マーカーであるPCNA陽性細胞が低用量、高用量群で有意に減少した。歯状回門のGABA性介在ニューロンの1種であるSomatostatin陽性細胞が高用量群で有意に増加した。SGZのGFAP、TUNEL陽性細胞、歯状回門のParvalbumin（PVAlb）陽性細胞はいずれも変動しなかった。

【結論】中枢神経毒性物質であるPbAcをマウスに発達期暴露することにより、海馬歯状回のニューロン新生の分化中期段階を標的とすることが示唆された。

## P-15

**Hatanoラットをモデルとした新生ラットの開眼に向けた眼瞼組織の発達に関する研究**

○神明 諒、高村 美帆、長谷川 雄太、鈴木 美帆、田中 恵、末岡 花菜子、仲江 嶺夏、島扇 笙子、代田 真理子

麻布大学 獣医学部 動物応用科学科 比較毒性学研究室

【背景・目的】開眼時期は生殖発生毒性評価における身体的発達指標の一つとされている。我々は、体重増加を修飾しても眼瞼開裂時期の系統差が維持される近交系Hatanoラットの二つの亜系統（HAA及びLAA）の間で開裂前後の眼瞼組織を比較し、開裂時期の系統差は眼瞼組織の発達開始時期が関与している可能性を報告したが、その組織は特定されていない。本研究では、これを明らかにするために、眼瞼開裂に向けた眼瞼組織の経日変化をHAAとLAAの間で比較した。

【材料と方法】継代維持しているHatanoラットを、10日齢から安楽と殺して眼球とともに眼瞼を採取し、ブアン固定後、眼瞼の中心部分からやや眼角側で上瞼と下瞼の結合部を切り出し、切断面が観察面になるようにパラフィン包埋して6um厚に薄切し、HE染色した。標本はバーチャルスライドにして組織学的観察を行うとともに眼瞼上皮、結膜、瞼板腺および角膜上皮の厚さを測定して系統間で比較した。

【結果および考察】用いたHatanoラットの眼瞼開裂はHAAでは13日齢から、LAAでは14日齢から認められた。開裂が生じる眼瞼上皮では、両系統ともに日齢の進行に伴い顆粒細胞層及び角質層が厚みを増し、HAAでは11日齢に上皮厚が最大値を示し、翌日には角質層が脱落を始めて眼瞼が開裂すると上皮厚は減少した。同様の変化はLAAでも認められたが、1日遅れて変動し、開裂時期の系統差を反映していた。一方、角膜上皮および瞼板腺の厚さは有意差の認められる日齢はあったが、系統差を反映した変化は認められなかった。また、結膜はいずれの日齢も系統間で有意差は認められなかった。以上の結果から、眼瞼上皮の発達開始時期及び上皮細胞の角化の進行の差異が開眼時期の系統差を生じさせていることが示唆された。

## P-16

**ラットにおける被覆材及びハーネス装着による眼球角膜への影響及び減弱効果への検討**

○渡辺 純<sup>1)</sup>、畠山 洋文<sup>1)</sup>、武井 由弘<sup>1)</sup>、小泉 治子<sup>1)</sup>、梶村 哲世<sup>1)</sup>、井上 紗季<sup>1)</sup>、空 純子<sup>1)</sup>、佐藤 伸一<sup>1)</sup>、下井 昭仁<sup>1)</sup>、岩田 聖<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>(株)イナリサーチ、<sup>2)</sup>ルナパス毒性病理研究所

【背景・目的】ラットの反復経皮投与毒性試験で被覆材の着用により、眼科学的検査において角膜混濁の発現数が増加し、病理検査では角膜上皮の変性壊死、鉍質沈着の発生頻度が増加することを経験した。この現象を確認するため今回、我々は被覆材またはハーネスの着用による眼球角膜及び眼球周囲組織への影響について検討した。また、発生機序としてドライアイとの関連を推察し、生理食塩液又はヒアルロン酸の点眼投与による、角膜傷害に対する減弱効果について検討した。

【材料・方法】5週齢の雄のSDラット30匹を無処置群、被覆材群、被覆材+生食群、被覆材+ヒアルロン酸群、ハーネス群に分け、処置群の動物に被覆材又はハーネスを着用し、5週間飼育を行った。着用期間中、被覆材+生食群及び被覆材+ヒアルロン酸群の動物に生理食塩液又はヒアルロン酸の点眼投与を行った。着用/点眼終了時に剖検を行い、全例の眼、視神経、ハーダー腺及び涙腺を採取後、常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検を行った。

【結果・考察】無処置群に比べ処置群では角膜上皮の変性/壊死及び角膜の鉍質化の発生数や程度が明らかに増大した。被覆材群では角膜病変の程度はいずれも軽度であり、発生頻度も低かった。被覆材+生食群、被覆材+ヒアルロン酸点眼群及びハーネス群における角膜鉍質化の発生頻度は同等であり、被覆材+生食群ではその程度が最も強く、角膜上皮の変性/壊死の発生頻度も高かった。本結果より、被覆材及びハーネス群で発現した角膜の変化が、生食又はヒアルロン酸の点眼処置により軽減されることを期待したが、相反する結果であった。しかし、被覆材又はハーネス装着で角膜異常を惹起する傾向は確認することができた。発表では眼科検査、涙液量測定結果も含めて報告する予定である。

## P-17

## ゼブラフィッシュ眼球の病理組織学的検査～固定液の検討及びN-methyl-N-nitrosourea曝露により誘発される網膜の病理組織変化～

○山際 慶典、貞本 和代、根本 真吾、倉田 昌明、柳 秀之

千寿製薬株式会社 研究開発本部 薬物動態安全性研究所

【目的】ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*, ZF) は近年薬物の毒性評価系として検討がされており、視覚行動学的解析が可能なことから眼毒性の評価動物としても注目されている。今回我々はZF眼毒性評価系確立の一環として(1)ZF眼球の病理組織学的検査に適した固定液を検討するとともに、(2)代表的な網膜毒性物質であるN-methyl-N-nitrosourea (MNU)を曝露したZF網膜の病理組織標本観察を行った。【方法】(1)2.5%グルタルアルデヒド/4%パラホルムアルデヒド(GA/PFA)液、Superfix<sup>®</sup>、Davidson液、及びブアン液それぞれに浸漬固定したZF眼球のHE染色標本について、固定の影響を比較した。(2)MNUを150 mg/L含む飼育水に成魚ZFを入れて1時間曝露後、通常の飼育水で飼育した。曝露後翌日から8日にかけて経時的に安楽死させたZFの眼球をブアン液で浸漬固定後、HE染色標本を光学顕微鏡で観察した。

【結果】(1)GA/PFA液は眼球全体が収縮する傾向があり、Superfix<sup>®</sup>は網膜内顆粒層に裂隙が生じた。Davidson液は角膜に限局的な膨化が生じた。ブアン液は角膜・網膜とも形態が比較的保たれていた。(2)MNU曝露により神経節細胞層・内顆粒層・外顆粒層の細胞死を伴った網膜変性が認められ、その後、再生する傾向が認められた。

【結論】(1)4種の固定液の中で、ブアン液が眼球に対する影響が最も小さいと考えられた。(2)MNUはZFでも網膜毒性を誘発した。一方、MNU曝露により影響が生じることが知られている視細胞層に加え、ZFでは内顆粒層や神経節細胞層にも影響が認められた。またZFの網膜では、ほ乳類でMNU曝露時にみられる委縮ではなく再生性変化が発現した。

## P-18

## L-glutamate誘発網膜障害における各日齢での標的細胞の同定

○見鳥 光<sup>1,2)</sup>、中原 豊<sup>1)</sup>、坪田 健次郎<sup>1)</sup>、井澤 武史<sup>2)</sup>、桑村 充<sup>2)</sup>、松本 正博<sup>1)</sup>、山手 丈至<sup>2)</sup><sup>1)</sup> アステラス製薬(株) 安全性研究所、<sup>2)</sup> 大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 獣医病理学教室

【目的】新生児ラットにL-glutamateを皮下投与すると網膜障害が惹起され、投与時日齢により網膜障害の程度が異なることを報告した(第31回本学会)。本実験では、各日齢におけるL-glutamate投与直後の組織変化、及びL-glutamate標的細胞を検索した。

【材料及び方法】4, 6, 8, 10及び12日齢のCrl:CD (SD)系ラットにL-glutamate (10 µl/g, 2.4 M)を単回皮下投与し、投与後6及び24時間、及び21日齢時に眼球を採材し、HE染色とL-glutamateの標的細胞同定のため、各種免疫染色を実施した。また、投与後6時間の標本ではTUNEL染色を加えた。

【結果】21日齢時：4～10日齢時投与群で網膜内層(神経線維層～内顆粒層)が菲薄化し、8日齢時投与群で最も顕著であった。なお、12日齢時投与群に変化はなかった。免疫組織化学的検査では、6日齢時投与群でPax6陽性アマクリン細胞が減少し、8日齢時投与群ではPax6陽性細胞に加え、Chx10陽性双極細胞及びPKC α陽性桿体型双極細胞が減少し、Calbindin陽性水平細胞は消失した。Glutamine synthetase陽性ミューラー細胞に変化はなかった。また、4及び10日齢時投与群で著変はなかった。投与後6時間：4～8日齢時投与群で網膜内層に核濃縮像がみられ、その一部がTUNEL染色陽性を示した。投与後24時間：投与後6時間と比べ核濃縮像が減少し、僅かに残存するのみであった。

【結論】L-glutamate投与による網膜の菲薄化は投与直後のアポトーシスに関連して生じ、その標的細胞は6日齢ではアマクリン細胞、8日齢ではアマクリン細胞、双極細胞及び水平細胞であることが明らかになった。



## P-19

**アロキサン誘発糖尿病ラットにおけるプレドニゾロン投与に伴う*Candida albicans*感染による扁平上皮増殖性および炎症性病変の増悪化**

○寺山 由依、中島 悠介、松浦 哲郎、奈良間 功、尾崎 清和

摂南大学 薬学部 病理学研究室

*Candida albicans* (*C. albicans*) は、口腔、食道および膣にカンジダ症を引き起こすことが知られており、一部で粘膜上皮が肥厚し癌化することがある。アロキサンにより糖尿病を誘発したラットの上部消化管では、*C. albicans*の感染による慢性炎症と扁平上皮増殖性病変が形成され、その一部は扁平上皮癌に進展することを我々は明らかにしてきたが発癌率は低い。そこで、プレドニゾロン投与による免疫抑制作用により、*C. albicans*を早期にかつ高率に感染させることで、病変形成が促進されるか否かを検討した。

【方法】 WBN/Kobラットにアロキサンを投与し糖尿病を誘発したA群、加えてプレドニゾロンを投与したAP群、糖尿病を誘発させずにプレドニゾロンのみを投与したP群の3群を設けた。42週齢にて剖検を実施し、上部消化管の増殖性変化および炎症性変化に関して解析を行った。

【結果】 AP群とA群のほぼ全例に、前胃扁平上皮過形成および粘膜固有層から粘膜下織における慢性炎症が認められたが、A群と比べAP群で有意に強かった。さらにAP群において1例扁平上皮癌にまで進展していた。AP群ではA群と比べ、T細胞が粘膜上皮間から粘膜下織に、マクロファージが粘膜筋板および粘膜下織において有意に強く浸潤していたが、B細胞の浸潤はいずれの領域においても差がなかった。粘膜表層には*C. albicans*の感染と好中球、マクロファージを主体とする化膿性炎症を認め、AP群で強い傾向を示した。P群においては、いずれの病変も認められなかった。

【結論】 糖尿病状態におけるプレドニゾロン投与に伴う免疫抑制状態は、*C. albicans*感染による慢性炎症と扁平上皮増殖性病変を増悪化し、さらに粘膜上皮過形成の増強とT細胞およびマクロファージの増加が相関することが明らかとなった。

## P-20

**H pylori除菌によってどのような病変が改善するのか：胃腺管単位での検討**○桐山 諭和<sup>1)</sup>、立松 正衛<sup>2)</sup>、塚本 徹哉<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科、<sup>2)</sup> 日本バイオアッセイ研究センター

【はじめに】 *Helicobacter pylori* (Hp) は慢性胃炎や胃癌の発症に重要な要因であり、近年では除菌療法が保険適用され胃癌抑制効果が期待されている。しかし、Hp除菌後の短期間では胃癌の抑制効果がみられているが、Hp感染によって萎縮や腸上皮化生 (intestinal metaplasia, IM) が進行した症例では除菌による胃癌抑制効果がないという疫学的報告もある。胃粘膜の変化の程度が胃癌予防に重要な要因であることが示されているが、病理組織学的な除菌前後の評価や不可逆的な段階については一定の見解は得られていない。

【方法】 ヒトHp陽性胃炎症例34例について除菌前後の腺管単位での状態を比較検討した。胃腺窩上皮と幽門腺が保たれているものを胃型 (G)、腸型上皮のみからなり胃上皮が消失した状態を腸単独型腸上皮化生 (I-IM)、胃腸両者の形質の発現しているものを胃腸混合型腸上皮化生 (GI-IM) に分類した。またHp陽性群 (Hp(+)) と除菌後陰性群 (Hp(-)) とに分け、計6グループに分類し、炎症所見や腺管単位で腺窩上皮の腺管の幅や核/細胞質 (N/C) 比、増殖帯の変化を定量的に解析した。

【結果】 除菌により急性及び慢性炎症は減弱したが胃型ムチンコアタンパク発現量に有意な変化は得られなかった。腺管の幅、N/C比、腺管あたりの増殖帯の長さやKi-67陽性細胞数は、Hp(+) G群に比較しHp(-) G群では有意に低下した。一方、腸上皮化生のある群では除菌による改善は認められなかった。核分裂期に陽性となるserine 28リン酸化histone H3は除菌の有無にかかわらずGでは低値であったが、GIおよびI-IMでは有意に増加していた。

【結論】 以上より、IMの開始時点、すなわちGI-IMの発生時点が除菌によっても改善しない不可逆的なポイント “point of no return” であり、これらの胃粘膜の変化が胃癌に関与している可能性が示唆された。

## P-21

## ビーグル犬の胃における各種内分泌細胞の分布に関する免疫組織化学的検討

○山内 啓史、神鳥 仁志、渡辺 武志

武田薬品工業株式会社 薬剤安全性研究所

【目的】 ビーグル犬の胃の胃底腺部及び幽門腺部粘膜におけるホルモン産生細胞の形態及び分布を検討する。

【方法】 Chromogranin A並びにGastrin、Ghrelin、Histamine、Serotonin及びSomatostatinの各ホルモンに対する免疫染色を実施した。また、Gastrin或いはSomatostatinの産生細胞を同定する手法として、これらホルモンの産生細胞の分化を制御する転写因子Pax6免疫染色の有用性を検討するために、Gastrin、Somatostatin及びPax6の三重免疫染色を実施した。

【結果】 胃底腺部では、Ghrelin、Serotonin及びSomatostatin陽性細胞が胃底腺の峽部から底部にかけて散見され、その数は底部で最も多かった。Gastrin陽性細胞は胃底腺部粘膜にはみられなかった。幽門腺部では、Gastrin、Serotonin及びSomatostatin陽性細胞が幽門腺峽部から腺上部にかけて多見され、これらの細胞は胃小窩や幽門腺下部にも散見された。また、Histamine陽性細胞が胃小窩に散見され、その他、Ghrelin陽性細胞も少数認められた。Chromogranin A免疫染色では、胃底腺部及び幽門腺部で各種の内分泌細胞に概ね一致して陽性像がみられた。三重免疫染色では、Gastrin或いはSomatostatin陽性細胞の多くがPax6に陽性であった。

【結論】 胃粘膜の内分泌細胞の分布を評価することで、毒性試験の所見考察に資する背景データを得ることができた。また、Gastrin或いはSomatostatinの産生細胞の同定の一助としてPax6免疫染色が有用であると考えられた。

## P-22

## 沖縄産天然物質Aのマウス大腸発癌モデルにおける抑制効果

○渡慶次 愛、高松 玲佳、新垣 和也、仲地 里織、吉見 直己

琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座

【背景】 沖縄産天然物質(A)は、ポリフェノールの含量が高いことが知られ、含まれるポリフェノール類はクロロゲン酸やジカフェオイルキナ酸といったカフェオイルキナ酸(CQA)誘導体を中心である。CQAは抗酸化活性や抗突然変異活性などの生理活性を持つことが明らかにされており、本研究ではazoxymethane(AOM)によるマウス大腸癌モデルにおいてA抽出物の大腸癌に対する抑制効果を検討した。

【材料と方法】 5週令の雄性ICRマウス71匹を5つの実験群に分けた。第1群から3群は実験1週目にAOM(10 mg/kg BW)を1回腹腔内投与し、その1週間後から1.5% dextran sulfate sodiumを7日間飲水投与した。第1群及び5群のマウスには基礎飼料を与えた。第2群には基礎飼料にAの抽出物を200 ppmの濃度で、第3群及び4群は1000 ppmの濃度で混ぜたものを与えた。実験開始から12週目に全て犠牲死させて臓器を摘出し、前癌病変であるaberrant crypt foci(ACF)数の測定及び3 mm以上の隆起性病変(77病変)について病理組織学的解析を行った。

【結果】 大腸長1 cmあたりのACF数は第1群で $1.64 \pm 0.95$ 、第2群で $1.18 \pm 0.79$ 、第3群で $1.14 \pm 0.60$ となり、1群と比べ3群ではACFの発生が抑制される傾向をみた( $P = 0.09$ )。また、病理組織学的解析の結果、多くはリンパ濾胞であったが、第1、2、3群でそれぞれ9個、8個、2個の腫瘍が観察された。その内高度異型を呈するものは8個、5個、0個であり、A抽出物により腫瘍の進展が抑制された( $P < 0.05$ )。第4、5群でACF及び腫瘍の発生はみられなかった。

【結論】 本研究ではA抽出物のマウスAOM誘導性大腸癌においてACFの発生及び腫瘍の発生を抑制する傾向をみた。

## P-23

**マウスAzoxymethane/Dextran sulfate sodiumモデルを用いた大腸がん抑制物質の探索及びA-kinase anchor proteins 13の発現解析**

○寒川 祐見<sup>1,2)</sup>、吉田 敏則<sup>1)</sup>、片岡 暁<sup>2)</sup>、木原 亨<sup>2)</sup>、衣斐 彼方<sup>2)</sup>、林 新茂<sup>3)</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> 科研製薬株式会社、<sup>3)</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

**【目的】**我々はマウスDextran sulfate sodium (DSS) 誘発大腸炎モデルにおいて、抗酸化剤である酵素処理イソクエルシトリン (EMIQ) 及び $\alpha$ -リポ酸 (ALA) と血小板凝集抑制剤であるシロスタズール (CZ) が大腸炎抑制作用を有することを報告している。さらに、大腸炎の傷害・再生過程でA-kinase anchor proteins 13 (Akap13) が粘膜特異的に発現することを見出した。今回、Azoxymethane (AOM) /DSS大腸発がんモデルでのこれら3剤の大腸がん抑制作用及びマウス大腸がんにおけるAkap13の発現を検討した。

**【方法】**雌性BALB/cマウスに1.5%EMIQ、0.2%ALA及び0.3%CZに加えて、抗腫瘍作用が多数報告されているanthocyanin (AC) を5%の用量で混餌投与した (N=8)。大腸がん誘発のため、AOM (10 mg/kg, i.p.) 単回投与と単回又は2回のDSS (3%、1週間) 混水投与を行った。剖検後、mucin-depleted foci (MDF) 数、結節数/結節容積及び結節を含む大腸重量を計測した。さらに、大腸組織を4%パラホルムアルデヒドで固定し、Akap13の免疫染色を行った。

**【結果】**いずれの評価項目においても、AOM+DSS群と比較してAOM + DSS+EMIQ群で有意な又はAOM + DSS+AC群と同程度の大腸がん抑制作用が認められた。Akap13は正常粘膜部と比較して、腫瘍細胞の細胞質において高発現したが、発現の程度にAOM+DSS群とEMIQ、ALA、CZ及びAC投与群間の明らかな差はなかった。

**【結論】**以上のようにEMIQがAOM/DSS誘発大腸がんモデルでの大腸がん抑制作用を有することが確認された。Akap13はRho/Rho kinaseの足場蛋白であり、ヒト大腸がんで細胞質に発現することが知られている。今回の検討ではマウス大腸がんにおいても同様の局在を示したが、発がんの抑制に応じた発現の変動は示さなかった。

## P-24

**ICRおよびC57BL/6マウスにおける炎症性大腸腫瘍誘発モデルにおける系統差**

○中島 康太、野崎 祐次、高木 久宜、古川 文夫

日本エスエルシー (株) バイオテクニカルセンター

**【背景】**大腸がんの研究を進める上でモデル動物の背景データは非常に重要である。そのモデルとして様々な動物やその系統が使われているが、系統ごとの特性や有用性についての報告は乏しい。

**【目的】**Slc:ICR (ICR) およびC57BL/6N:CrSlc (B6) マウスの2系統を用いてAzoxymethane (AOM) とDextran sodium sulfate (DSS) による誘発大腸がんモデルにおける系統差について比較検討した。

**【材料と方法】**5週齢の雄性ICRおよびB6の各30匹に10mg/kg AOMを腹腔内に1回投与し、その1週間後から2% DSS溶液を1週間飲水投与した。AOM投与から4、10および15週間後の各ポイントで両系統10匹ずつを剖検し、肉眼的に大腸腫瘍をカウントするとともに、各腫瘍のサイズを計測して体積を算出した。また、定法に従い結腸下部から肛門部までの標本作製し病理組織学的検査を実施した。一方、15週のマウスについては大腸内視鏡検査も検討した。

**【結果】**一般状態においてはICRのAOM投与後12日目で肛門周囲の出血、16日目で下痢、54日目で脱肛が観察された。B6では、14日目で出血、97日目で脱肛が観察されたが、下痢は認められなかった。肉眼的な腫瘍の発生数は、ICRでAOM投与後4週:  $3.9 \pm 1.9$ 、10週:  $4.3 \pm 2.6$ 、15週:  $6.2 \pm 4.4$ 、B6で4週:  $0.2 \pm 0.4$ 、10週:  $2.5 \pm 1.5$ 、15週:  $3.1 \pm 1.8$ で週齢とともに増加した。病理組織所見は、ICRで早期に、高率に腺がんの発生が認められた。また、異形成はB6の4週で、腺がんはICRの15週で顕著であった。内視鏡検査では両系統ともに15週で腫瘍の確認が可能であった。

**【結論】**腫瘍の発生数および悪性度はICR > B6であり、2系統間に差は認められたが、両系統ともに早期に大腸の腫瘍性病変が好発することから、大腸がんモデルとして有用であると考えられた。

## P-25

## ob/obマウスにおけるAOM-DSS誘発炎症関連大腸発がんへの感受性について

○杉江 茂幸<sup>1)</sup>、古川 文夫<sup>1)</sup>、田中 卓二<sup>1,2)</sup><sup>1)</sup> 朝日大学・村上記念病院・病理、<sup>2)</sup> 岐阜市民病院病理診断科・病理診断研究センター

【背景】肥満は、大腸癌のリスクファクターとして知られている。ob/obマウスは、肥満のモデル動物と知られているが、PhIPを用いたマウス炎症関連大腸発がんモデルでの検討で、wild typeマウスよりも発癌性が低い結果を認めた。

【目的】今回、AOMを用いた炎症関連大腸発がんモデルについて、ob/obマウス、そのwild typeのC57BL/6マウス間で比較検討したので報告する。

【材料と方法】6週齢雄ob/obマウス、C57BL/6マウスに azoxymethane (AOM) 10 mg/kg体重をi.p.投与し、1週間後より1週間1.5% dextran sodium sulfate (DSS) を飲水投与した。実験開始20週後に実験終了し、病理組織学的見当を行った。

【結果】腫瘍腫瘍発生個体数は、ob/obマウス：100%、C57BL/6マウス：95%。腫瘍の腫瘍平均個数は、ob/obマウス：5.6 ± 3.3、C57BL/6マウス：5.3 ± 3.1。腫瘍の平均サイズは、ob/obマウス：3.3 ± 1.8 mm、C57BL/6マウス：2.2 ± 1.2 mmであった。

【結論】以上から、ob/obマウスでは、AOMを用いた炎症関連大腸発がんモデルにおける感受性の低下を認めなかった。このことからob/obマウスは、wild typeよりもPhIPに感受性が低いと考えられるが、詳細は、今後の検討が必要である。

## P-26

## フッ素の長期過剰投与におけるラット骨毒性の多面的解析

○関 由妃<sup>1)</sup>、則武 健一<sup>2)</sup>、朝倉 省二<sup>1)</sup>、大塚 昭代<sup>1)</sup>、後藤 彩<sup>1)</sup>、武田 賢和<sup>1)</sup>、太田 恵津子<sup>1)</sup>、  
中野 (伊藤) 今日子<sup>1)</sup>、猪又 晃<sup>1)</sup>、早川 和宏<sup>2)</sup>、細川 暁<sup>1)</sup><sup>1)</sup> エーザイ (株) 筑波安全性研究部、<sup>2)</sup> (株) サンプラネット 安全性研究事業部

【背景と目的】フッ素の毒性についてはこれまでに多くの報告があり、フッ化ナトリウム (NaF) をげっ歯類に過剰摂取させることにより、骨や歯に病変が生じることが知られている。しかしながら、フッ素の暴露、蓄積による骨毒性の発現と、その形態学的変化及び骨の力学的性状との関連を詳細に解析した報告はない。今回我々は、フッ素による骨毒性をより多面的に解析するため、ラットにNaFを長期投与し、詳細な形態学的検索を行うとともに、フッ素濃度、骨強度、骨密度等との関連について検索したので報告する。

【材料と方法】NaF (0, 10, 25, 50 mg/kg) を雌SDラットに14週間あるいは26週間経口投与後に剖検し、脱灰パラフィン包埋標本 (脛骨) 及び非脱灰MMA樹脂包埋標本 (大腿骨、脛骨) を作製し、病理組織学的検索を行った。尿中フッ素排泄量及び骨中のフッ素濃度測定、大腿骨の骨強度、骨密度及び骨灰分測定も併せて実施した。

【結果と考察】NaFを長期投与した結果、脛骨、腓骨の骨折が散見された他、切歯の白色化等の症状が認められた。14週間投与後、尿中フッ素排泄量及び骨中のフッ素濃度は用量依存的に増加しており、骨への顕著なフッ素の蓄積がみられた中、高用量群では、用量依存的な骨梁の減少、類骨の増加、骨強度、骨密度及び骨灰分量の減少が認められた。26週間投与後では、骨におけるフッ素の蓄積のさらなる増加はみられず、骨病変、骨強度及び骨密度等の増悪も認められなかった。本実験の結果から、骨梁の減少や類骨の増加は骨に過剰なフッ素が蓄積したことによって生じ、これらの形態学的な変化は、骨強度及び骨密度の減少といった骨の力学的性状の変化とよく相関していることが明らかとなった。



## P-27

## フッ素症の骨及び歯組織に見られる好塩基性顆粒沈着に関する組織学的検索

○早川 和宏<sup>1)</sup>、関 由妃<sup>2)</sup>、猪又 晃<sup>2)</sup>、太田 恵津子<sup>2)</sup>、武田 賢和<sup>2)</sup>、後藤 彩<sup>2)</sup>、園田 二郎<sup>2)</sup>、中野 (伊藤) 今日子<sup>2)</sup>、細川 暁<sup>2)</sup>、青木 豊彦<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> (株) サンプラネット 安全性研究事業部、<sup>2)</sup> エーザイ (株) 筑波安全性研究部

【目的】フッ素の過剰摂取により、骨及び歯のフッ素症が生じることが知られている。フッ化ナトリウム (NaF) を投与したラットでは、用量や投与期間により種々の骨および歯の病変が認められるが、それに伴い、好塩基性を示す顆粒がこれらの臓器に沈着することが知られている。今回我々は、フッ素症ラットの皮質骨及び切歯象牙質中に見られた好塩基性顆粒の分布と形態学的特徴について検索したので報告する。

【方法】NaFの7.5, 15 mg/kgを雄SDラットに9週間反復経口投与後、脛骨及び切歯を採取し10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。各組織の右側をギ酸にて脱灰、左側をEDTAにて脱灰後、パラフィン切片を作製し、HE及び鉄染色を実施した。また、採取した脛骨の一部をアルコール固定し、未脱灰MMA樹脂切片を作製しHE染色を施した。

【結果・考察】ギ酸脱灰後のパラフィン切片HE標本において、投与群では、骨皮質及び切歯象牙質に、好塩基性ないし好酸性を示す滴状あるいは染み状の小顆粒 (サイズ: < 20  $\mu$ m) が散見されたが、それらの沈着に部位特異性はみられなかった。鉄染色では、多くの顆粒が陽性を示し、顆粒そのものが陽性あるいは辺縁を縁取るように陽性を示すものがみられた。一方、EDTA脱灰切片や未脱灰MMA樹脂切片では、同様の顆粒は全く見られなかった。以上のことから、ギ酸脱灰後のHE標本上で観察された小顆粒は、酸による脱灰過程で人工的に生じたフッ素顆粒と考えられ、その顆粒の一部には鉄が混在していることが明らかとなった。

## P-28

## 血球貪食性組織球肉腫を発症したビーグルの一症例

○野一色 香織、藤島 純子、小林 欣滋

株式会社新日本科学 安全性研究所

【背景】血球貪食性組織球肉腫は、比較的まれなイヌの腫瘍である。本症例は、予備飼育中に急激な自発運動の低下と下血を生じ、数日の経過で死亡した4歳8カ月齢の雄ビーグルである。剖検では、脾臓及び肝臓に直径約3~8 mmの白色巣が散在し、胸水及び腹水の貯留を認めた。また、左肺の前葉前部および後部に硬結が、肺門部および脾臓周囲に腫大したリンパ節と考えられる直径約10 mm~30×20×20 mmの灰白色充実性の腫瘍が複数個認められた。

【材料と方法】各臓器および腫瘍を10%中性緩衝ホルマリンで固定後、常法に従いパラフィン切片を作製し、HE染色および免疫染色を行った。なお、予備飼育中に血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査は実施しなかった。

【結果】病理組織学的に脾臓、骨髄および腫瘍には、正常な組織構造はほとんど認められず、類円形の核と弱好酸性の豊富な細胞質を有する腫瘍細胞のびまん性増殖がみられた。腫瘍細胞は明瞭な核仁を有し、有糸分裂像、赤血球貪食像、多核巨細胞が多数認められた。肺の硬結部や肝臓においても同様の腫瘍細胞の浸潤・増生がみられ、赤血球貪食像が認められた。免疫染色で腫瘍細胞はCD3およびCD20に陰性、CD204に陽性を示したことより、マクロファージ由来が示唆された。

【まとめ】以上の病理学的特徴より、本例を血球貪食性組織球肉腫と診断した。イヌにおけるマクロファージ由来の血球貪食性組織球肉腫の報告例は、樹状細胞由来の組織球肉腫と比較して稀であり、ビーグルでは本例が初の報告となる。



## P-29

## ラットにおける静注用鉄剤（sucrose鉄剤）による組織変化

○香川 雄輔、村松 大、木嶋 恵、末廣 美紀、南澤 由佳、伊東 志野、小島 康裕、北澤 郁恵、沼尾 湖須生、山口 宏明、二井 愛介

生化学工業（株）中央研究所

【目的】静注用鉄剤は、鉄と保護コロイドによって構成された鉄欠乏性貧血治療薬である。静注用鉄剤には、sucrose鉄剤やferumoxytol鉄剤があり、肝臓や脾臓などの網内系細胞に取り込まれた後、ヘモグロビン合成に利用される。網内系に取り込まれる以外に、sucrose鉄剤では腎排泄されることが知られているが、その他の静注用鉄剤における組織分布は、詳細に報告されていない。本研究では、sucrose鉄剤を鉄欠乏性貧血モデルラットに投与した際の薬理効果と組織変化を経時的に評価した。また、sucrose鉄剤を正常ラットに投与した際の組織分布を、粒子径の大きいferumoxytol鉄剤と病理組織学的に比較した。

【方法】鉄欠乏性飼料を28日間給餌したSD雄ラットにsucrose鉄剤を20 mg/kgの用量で単回静脈内投与し、経時的に臨床検査、肝臓及び脾臓の病理組織的検査を実施した。また、無処置SD雄ラットにsucrose鉄剤またはferumoxytol鉄剤を20 mg/kgの用量で14日間反復静脈内投与し、最終投与の翌日に肝臓、脾臓、腎臓及び腸間膜リンパ節の病理組織的検査を実施した。

【結果】Sucrose鉄剤の単回投与では、投与後4時間から血清鉄の増加、肝臓及び脾臓にヘモジデリン沈着及びベルリンブルー染色陽性反応が認められた。投与後1日では白血球の増加、投与後3日ではヘモグロビン値の上昇並びに肝臓及び脾臓の髄外造血が認められた。また、sucrose鉄剤の反復投与では、ferumoxytol鉄剤と比較した場合、肝臓及び脾臓への移行性に明らかな差は認められなかったが、腸間膜リンパ節への移行性は低く、腎臓への移行性は高かった。

【結論】Sucrose鉄剤投与により、肝臓及び脾臓で造血を示す組織変化がみられ、血液学的検査値と経時的な相関を示した。また、静注用鉄剤における粒子径の違いは、組織の分布や排泄に影響すると考えられた。

## P-30

## NOGマウスにおける組織所見背景データ

○笠原 健一郎<sup>1)</sup>、伊倉 佐織<sup>1)</sup>、永谷 真理子<sup>1)</sup>、保田 昌彦<sup>2)</sup>、井上 亮<sup>2)</sup>、福永 八千代<sup>1)</sup>、金光 弘幸<sup>1)</sup>、田村 一利<sup>1)</sup>、花見 正幸<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>株式会社ボゾリサーチセンター、<sup>2)</sup>公益財団法人実験動物中央研究所

【目的】重度免疫不全動物であるNOGマウスを用いた再生医療等製品の安全性に関わる前臨床試験の適正評価に資することを目的として、7、26週齢時のNOGマウスを病理組織学的に検索したので報告する。

【材料と方法】公益財団法人実験動物中央研究所より供与された5週齢のNOGマウス雌雄各60例を試験に供した。動物は7、26及び52週齢時まで無処置飼育し、各週齢時に雌雄各20例を剖検し全器官・組織を採取した。採取した器官・組織はHE染色の他、脳・脊髄についてクリューパー・バレラ及びボディアン染色、抗GFAP及び抗Iba1抗体を用いた免疫組織化学染色を実施した。下記の悪性リンパ腫については抗CD3抗体を用いた免疫組織化学染色を実施した。

【結果】動物は、20週齢時に全身状態の悪化を来し安楽殺された雌1例を除き、いずれの動物も計画殺まで生存した。計画剖検ではいずれの週齢においても胸腺、脾臓及び全身諸リンパ節が極めて小さく、胸腺、リンパ節及び回腸パイエル板は肉眼による確認が困難であった。病理組織学検査では、胸腺、脾臓及び全身諸リンパ節においてリンパ球はほとんど認められなかったが、脾臓及び腸間膜リンパ節では一部の動物にリンパ球が認められた。橋及び脊髄には海綿状変化がみられ、雌雄ともに26週齢において発現例数が増加した。瀕死期殺動物では悪性リンパ腫がみられた。

【結論】以上、NOGマウスではリンパ・造血組織にリンパ球の低形成がみられたが、いずれの器官・組織においても感染性の変化は観察されなかった。一方、脾臓及び腸間膜リンパ節では少数ながらリンパ球が観察されたことから、本現象についてさらなる検索が必要と考えられた。中枢神経の海綿状変化は極めて弱い変化であり、今回の検討では病理発生を解明することはできなかった。

## P-31

## 長期飼育したRccHan :WIST系雄性ラットにみられた自然発生病変の病理組織学的解析

○北條 幹<sup>1)</sup>、坂本 義光<sup>1)</sup>、多田 幸恵<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>、高橋 博<sup>1)</sup>、  
中江 大<sup>2)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup> 東京農業大学

【背景】Wistar Han系ラットは近年毒性試験に用いられるようになってきたが、この系統の背景病変、特に長期飼育における自然発生病変の理解は十分でなく、さらなるデータの蓄積が求められている。此度我々は、Wistar Han系ラットの2年間飼育における自然発生病変を観察したので、報告する。

【方法】動物は、(株)日本医科学動物資材研究所より5週齢で購入した39匹のRccHan:WIST系雄性ラットを当センターで実施した毒性試験の対照群及び無処置群として10週齢から実験に供したもので、実験終了時に104-110週齢に達しており、全臓器及び肉眼的に認められた腫瘤部位を病理組織学的に解析した。

【結果と考察】実験終了時の動物の生存率は、87%であった。腫瘍性病変は内分泌器官において発現頻度が高く、特に頻度が高かったものは下垂体前葉の腺腫(30.8%)、睪島の腺腫(23.1%)、副腎の褐色細胞腫(7.7%)であった。これらの発現頻度は、同系のラットを用いた他の報告における結果と類似していた。各腫瘍の発生率について既報の背景データと比較すると、睪島の腺腫(23.1%対3.2%)および胸腺腫(10.3%対0.2%)等が多い一方で、精巣の間細胞腫(5.1%対87.8%)が少なかった。特筆すべき所見としては、齧歯類においてきわめて希な腫瘍である下垂体中間葉の腺腫が2例(5.1%)認められた。非腫瘍性病変については、甲状腺傍濾胞細胞の過形成、総胆管の拡張、肺泡マクロファージの集簇、外涙腺のハーダー腺様変性等が高頻度に認められ、F344系ラットと比較しても多かった。以上の成果は、Wistar Han系ラットの自然発生病変に関する貴重なデータである。

## P-32

## 光顕とTEMの併用によるステント留置血管の組織解析

○寺尾 壽子<sup>1)</sup>、早場 純子<sup>1)</sup>、岩谷 綱一<sup>1)</sup>、田崎 雅子<sup>1)</sup>、磯部 厚志<sup>1)</sup>、熊谷 文明<sup>2)</sup>、斉藤 義明<sup>2)</sup>、長野 嘉介<sup>3)</sup>、  
萩原 仁美<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> テルモ(株)、<sup>2)</sup> (財)食品薬品安全センター 秦野研究所、<sup>3)</sup> 長野毒性病理コンサルティング

【背景と目的】本会の第30回学術集会において、我々は光顕観察用に作製したステント留置血管の隣接樹脂切片を用い、光顕標本とほぼ同部位をTEMで観察できる方法を報告した。その際、光顕観察用の標本作製方法(ホルマリン灌流固定、後固定なし)で樹脂切片を作製したため、TEMの超微形態学的観察に課題が残った。今回、細胞の微細構造の形態保持を目的に、灌流固定液を変更し、さらにオスミウムによる後固定にて導電性を付加した組織から隣接樹脂切片を作製し、光顕とTEMで観察する方法を考案したので報告する。

【材料・方法】ステントを留置したブタの心臓を冷2%パラホルムアルデヒド・1.25%グルタルアルデヒド混合固定液にて灌流固定後、ステント留置血管を摘出し、冷1%オスミウム-0.1Mリン酸緩衝液で後固定、Quetol 651樹脂で包埋して連続切片を作製した。光顕：オスミウムにより組織が黒色化するため、そのまま染色すると黒色を帯びた染色性を示す。そこで、過ヨウ素酸および過酸化水素で脱オスミウム処理後、H-E染色、エラスチカ・マッソントリクローム染色、免疫染色を施し、観察した。TEM：上記の連続切片の1枚をQuetol 812樹脂に倒立法で再包埋後、超薄切片を作製し、観察した。

【結果・結論】光顕：脱オスミウム処理をしたことにより、パラフィン標本と同等の染色性が得られた。TEM：組織の固定液変更及びオスミウムによる後固定により、細胞の微細構造が保持され、前回のTEM画像と比較してより詳細な超微形態学的観察が可能となった。隣接切片でほぼ同一部位の組織を、光顕標本の染色性を維持しつつTEMで詳細に観察できた本方法は、ミリレベルからナノレベルまでを結びつけて組織変化を捉えられる有用な手法と考える。

## P-33

## 高分解能イメージング質量分析法 (IMS) を用いた毒性評価の検討

○佐藤 寛子<sup>1)</sup>、榎村 茜<sup>1)</sup>、橋本 博幸<sup>2)</sup>、鍛冶 秀文<sup>2)</sup>、山本 卓志<sup>3)</sup>、西川 智美<sup>1)</sup>、藤木 勝也<sup>1)</sup>、田中 雅治<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) 薬物動態研究所、

<sup>3)</sup> (株) 島津製作所 分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター

イメージング質量分析法 (IMS) は、質量分析計を用いて組織切片上で測定された分子の局在を2次的画像として取得する技術であり、創薬研究においては化合物の薬効あるいは毒性メカニズム解明や新規標的分子探索への応用が期待されている。今回我々は、本技術を用いて既知の毒性物質により惹起される種々の組織毒性和投与物質の局在との関係を検証したので報告する。6~10週齢の雄のSDラットにゲンタマイシン、アミオダロンをそれぞれ投与し、毒性標的組織を凍結採材した。これらを厚さ5~10 $\mu$ mで連続して薄切し、マトリックス (イオン化補助剤) を処理した測定用切片およびヘマトキシリン・エオジン染色切片を作製した。これらの切片に対してiMScope (島津製作所) を用いて顕微鏡観察と質量分析を行い、未変化体の局在を解析した。その結果、ゲンタマイシンでは腎皮質に分析ピークが確認され、シグナル強度は用量依存的に増加した。アミオダロンでは肺および腸間膜リンパ節でリン脂質症を示唆する泡沫マクロファージの浸潤がみられ、病変部に一致して未変化体の分析ピークが高シグナルで検出された。以上の結果より、IMS技術が薬剤の毒性メカニズム解明に利用できる可能性が示唆された。

## P-34

## FDA SENDへの対応ーパソロジストが心得るべきFDA SENDー

○畠山 洋文<sup>1)</sup>、堀川 真一<sup>1)</sup>、桜井 淳一<sup>1)</sup>、下井 昭仁<sup>1)</sup>、佐藤 伸一<sup>1)</sup>、岩田 聖<sup>2)</sup>、安齋 享征<sup>3)</sup>、中江 大<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> (株) イナリサーチ、<sup>2)</sup> ルナパス毒性病理研究所、<sup>3)</sup> 昭和大学医学部、<sup>4)</sup> 東京農業大学

2016年12月より、米国FDAはSDTM (Study Data Tabulation Model) を利用した臨床試験の電子申請・審査を本格的に開始する。非臨床における試験データの電子化である SEND (Standard for Exchange of Nonclinical Data) も同時に義務化される。しかし、義務化を待たずして、現実には既に60%以上の臨床試験申請でSDTMが利用されている。また、SEND及びSDTMには統制用語 (CT: Controlled Terminology) のマッピングが必要であり、その中でも病理用語は大きな課題の一つとなっている。昨今、我々は幾つかの試験においてFDAへのSENDデータセットの提出を経験し、その経験から豊富な情報を得ることができた。我々が用いた方法は、SENDデータ変換装置である TranSEND<sup>TM</sup> を用い、生データあるいは変換前のオリジナル電子データを準備し、最新のSEND Implementation Guide version 3.0に準拠したSENDデータセットを作成した。その結果、変換前データと変換後データの整合性確認方法や、留意すべき点が明らかになった。特に病理所見については使用用語の課題も残されているが、今後のSENDデータ作成における多くのパソロジストに有用な共通課題を提供する。

## P-35

## ラット肝臓におけるDEN誘発遺伝毒性に対するMTBITCによる抑制効果とその作用メカニズムの解析

○平田 直<sup>1,2)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、曾根 瑞季<sup>1,3)</sup>、中村 孝志<sup>4)</sup>、沼澤 聡<sup>2)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国立衛研 病理部、<sup>2)</sup> 昭和大学大学院 薬学研究科、<sup>3)</sup> 東京農工大学 農学部、<sup>4)</sup> 京都府立大学 生命環境科学研究科

【背景・目的】 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (MTBITC) は発がん抑制効果が期待されており、齧歯類においてその効果が報告されている。今回我々は MTBITC のラット肝臓における diethylnitrosoamine (DEN) の遺伝毒性作用の抑制効果を検討するため、*gpt* delta ラットを用いてレポーター遺伝子変異解析を実施した。また、ラット肝細胞 RLNB2 とヒト肝臓細胞 HepG2 を用いて MTBITC の肝細胞における作用メカニズムについて検討を実施した。

【材料と方法】 6週齢の雄の F344 *gpt* delta ラットに DEN (100 mg/kg B.W.) の腹腔内投与を実施、また DEN 投与の一週間前より、MTBITC を 80 ppm の用量で5週間混餌投与を実施した。投与終了時に肝臓を摘出し、*in vivo* 変異原性試験としてレポーター遺伝子変異解析を実施した。また、RLNB2 細胞、HepG2 細胞に対し、MTBITC (0-10  $\mu$ M) を処理し、遺伝子・タンパク発現解析を実施した。

【結果】 *gpt* mutation assay の結果、MTBITC + DEN 投与群はDEN単独投与群と比較し、有意に変異頻度が減少した。また RLNB2 細胞、HepG2 細胞において Nrf2 タンパクの増加及び Nrf2 下流遺伝子の発現増加が確認された。

【結論】 レポーター遺伝子変異解析の結果より、DEN の遺伝毒性作用の MTBITC による抑制効果が確認された。また *in vitro* 試験の結果より、その作用メカニズムについては Nrf2-KEAP1 経路の関与が示唆された。

## P-36

## メタボリックシンドロームモデルマウス (TSODマウス) における肝腫瘍の発生メカニズムの検討

○石井 真美、梯 アンナ、辰己 久美子、藤岡 正喜、土井 賢一郎、魏 民、鰐淵 英機

大阪市立大学 大学院 医学研究科 分子病理学

非アルコール性脂肪肝炎 (NASH: nonalcoholic steatohepatitis) は、メタボリックシンドロームの肝臓における表現型とされ、肝細胞癌の発生母地となりうる事が明らかとなっている。今回、メタボリックシンドロームモデルマウスである TSOD マウスおよび対照である TSNO マウスを用いて NASH における肝腫瘍発生メカニズムについて検討を行った。TSOD マウスでは、12ヶ月齢および14ヶ月齢ともに、肝臓の線維化は目立たなかったが、肝細胞への脂肪滴沈着、肝細胞壊死や小葉間への炎症細胞浸潤などのヒト NASH に類似した組織所見が認められた。TSOD マウスでの肝腫瘍発生率は、12ヶ月齢で11例 (61%)、14ヶ月齢で13例 (81%)、対照の TSNO マウスでは12ヶ月齢で1例 (20%) であった。QSTAR-Elite LC-MS/MS 及び Ingenuity pathway 解析を用いて12ヶ月齢の非腫瘍部の肝組織のプロテオーム解析を行ったところ、glutathione S-transferase, pi 1 (GSTP1) や acyl-CoA oxidase 1 (ACOX1) の発現上昇が認められ、Upstream regulators の解析では、Insulin signaling、catenin beta 1、transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) や leptin receptor 経路の活性化が示された。TSOD マウスでは、ヒト NASH 様の組織変化を背景として多数の肝腫瘍の発生が認められ、GSTP1、ACOX1 の発現上昇や insulin signaling、catenin beta 1、TCF7L2 や leptin receptor 経路の活性化などが NASH における肝腫瘍発生に関与している可能性が示唆された。



## P-37

## CD44ノックアウトマウスを用いた二段階発がん性試験における肝臓腫瘍の発生の検討

○梯 アンナ<sup>1)</sup>、石井 真美<sup>1)</sup>、辰己 久美子<sup>1)</sup>、魏 民<sup>1)</sup>、佐谷 秀行<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 分子病理学、<sup>2)</sup> 慶應義塾大学 医学部 先端医学研究所 遺伝子制御研究部門

【緒言】以前、CD44 antigen splicing variant isoform (CD44v) がヒト肝細胞癌のがん幹細胞マーカーに成りうる可能性が示された。今回、我々は肝発がんにおけるCD44vの役割を解明するためCD44ノックアウト (CD44<sup>-/-</sup>) 及び野生型 (CD44<sup>+/+</sup>) マウスを用いてin vivo二段階発がん性試験を行い、前がん病変および肝臓腫瘍の発生について検討した。

【方法】6週齢雌雄CD44<sup>-/-</sup>及びCD44<sup>+/+</sup>マウス (各群25匹) に肝発がん誘発剤のdiethylnitrosamine (10 mg/kg b.w.) の4回腹腔内投与を行い、一週間後500ppmのphenobarbital飲水投与を開始し、18及び52週目に動物を屠殺し、病理組織学的解析を行った。また、18週の肝組織のQSTAR Elite LC-MS/MS及びIngenuity Pathway解析によるプロテオーム解析を行った。

【結果】18週ではCD44<sup>-/-</sup>マウスの肝前癌病変 (好酸性細胞巣) の発生個数がCD44<sup>+/+</sup>マウスに比較し有意に減少していた。52週での肝細胞癌及び全肝臓腫瘍の発生率は、CD44<sup>-/-</sup>マウスではそれぞれ2.5%、25%、CD44<sup>+/+</sup>マウスではそれぞれ17.5%、60%でCD44<sup>-/-</sup>マウスではいずれも有意に減少していた (p<0.05)。CD44<sup>-/-</sup>マウスでは、肝細胞癌や全肝臓腫瘍の発生個数も有意に減少していた。18週でのプロテオーム解析では、酸化ストレス応答系の蛋白質、特にcatalase及びCYP2C54の発現上昇が見られた。

【総括】二段階発がん性試験においてCD44<sup>-/-</sup>マウスでは肝細胞癌の発生率及び発生個数が有意に低く、CD44がマウスの肝発がんに有用な因子であると考えられた。

## P-38

ラットthioacetamide投与によりDNAメチル化と発現下方制御を受けるミトコンドリア酸化的リン酸化関連分子*Tmem70*の肝臓増殖性病変における発現挙動○水上 さやか<sup>1,2)</sup>、八舟 宏典<sup>1,2)</sup>、長谷川 也須子<sup>1)</sup>、吉田 敏則<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> 岐阜大学大学院 連合獣医学研究科

【背景及び目的】CpGアイランドの過剰なメチル化によるエピジェネティックな遺伝子発現制御機構の破綻は、発がんの進行に重要な役割を果たすと考えられる。本研究では、肝発がん過程の初期から関与する分子を明らかにすることを目的としてラットを用いて以下の実験を行った。

【方法】ラットにthioacetamide (TAA) を28日間、400 ppmの割合で混餌投与し、得られた肝組織を用いてCpG island microarray解析を実施して過メチル化遺伝子を同定した。次いで、real-time RT-PCR法により発現の下方制御を示した遺伝子につき、methylation-specific PCR法及びpyrosequencing法によるメチル化の検証を行った。解析の結果、免疫染色可能な分子を選別し、発がんへの関与を検討するため、ラット中期肝発がん性試験法に従って様々な発がん物質による発がん促進によって得られた増殖性病変での免疫染色による発現挙動を検討した。

【結果及び考察】TAAの28日間投与により、ミトコンドリア膜内でATP合成酵素の生成に関わる*Tmem70*のプロモーター領域におけるメチル化増加と転写産物発現量の減少を認めた。さらに、発がん物質投与によって誘発された変異肝細胞巣に一致して、TMEM70及びATP synthase complex V beta subunit (ATPB) は陰性巣を形成しており、発がん促進により陰性巣の数が増加した。この陰性巣と一致して解糖系関連分子であるglucose transporter 1とglucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) の発現増加が認められた。長期の発がん促進の結果得られた肝臓腫瘍性病変でもTMEM70とATPBは発現低下、G6PDは発現増加を示した。以上より、TMEM70は発がん過程における酸化的リン酸化から解糖系への代謝変化に関与する新たな癌抑制遺伝子である可能性が示唆された。

## P-39

## 高脂肪飼料給餌ラットを用いた二段階肝発がんモデルにおける血中脂質および肝p22phox発現の解析

○吉田 敏則<sup>1)</sup>、村山 宗理<sup>1)</sup>、河嶋 将司<sup>1)</sup>、木村 真之<sup>1,2)</sup>、水上 さやか<sup>1,2)</sup>、寒川 祐見<sup>1)</sup>、林 新茂<sup>3)</sup>、渋谷 淳<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京農工大学・獣医病理、<sup>2)</sup> 岐阜大・院・連合獣医、<sup>3)</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ (株)

【目的】酵素処理イソクエルシトリン (EMIQ) 及びアポシニン (APO) の血中脂質、肝内酸化ストレスNADPH oxidase (NOX) 及び前がん病変への影響を、高脂肪飼料給餌下で脂質代謝に影響を及ぼす物質を投与したラットから得た血液及び肝臓サンプルを用いて検討した。

【材料と方法】二段階肝発がんモデル処置ラットに高脂肪飼料を与え、脂質代謝修飾物質としてmalachite green (MG) を混餌投与した。EMIQを飲水投与し、比較のためNOX阻害剤 APOを併用する群も設けた。血中の脂質及びalkaline phosphatase (ALP) を測定し、肝臓の glutathione S-transferase placental form (GST-P)、adipophilin、p22phox、p47phox、NOX4、Ki-67、active caspase-3の発現を免疫組織学的に調べた。

【結果】高脂肪飼料群では総コレステロール、中性脂肪及びALPの高値が観察された。MG群では高脂肪飼料群に比較し総コレステロール及びALPが減少し、EMIQとの併用群ではさらにその減少作用が増強された。中性脂肪についてもEMIQによる低下傾向がみられた。APOの併用投与により前がん病変指標であるGST-P陽性 (adipophilin陰性) 巣の抑制傾向と共にNOX構成分子p22phox及び細胞増殖活性が減少傾向を示した。EMIQ併用により肝細胞のアポトーシスが増加した。

【結論】本試験条件下では、EMIQはラットの高脂血症を抑制し、APOは肝臓における酸化ストレス指標p22phoxの軽減に関連して前がん病変を抑制する傾向を示すことが明らかとなった。

## P-40

## 肝発がん物質エストラゴールの突然変異誘発過程における細胞増殖発現機序の検討

○石井 雄二、高須 伸二、横尾 諭、土屋 卓磨、木島 綾希、小川 久美子、梅村 隆志

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【目的】我々はこれまで、肝発がん物質エストラゴール (ES) の突然変異誘発に特異的DNA付加体の形成に加えて細胞増殖が寄与することを報告してきた。本研究では、ESの細胞増殖活性に寄与する分子メカニズムを明らかにするため、*gpt delta* マウスを用いてES単回投与し、突然変異誘発に至る関連因子の経時的变化を解析した。

【方法】6週齢の雌性B6C3F<sub>1</sub>系 *gpt delta* マウス35匹を各群5匹に配し、ESを100又は300 mg/kgの用量でそれぞれ単回強制経口投与し、投与後1、2、3、5、7及び14日に肝臓を採取し、病理組織学的検索、ES特異的DNA付加体、PCNA及びCaspase 3陽性細胞、細胞周期調節因子の遺伝子発現レベルならびにp53とPP2Aのリン酸化状態を検索した。

【結果】300 mg/kg投与では、投与後1日目にES特異的DNA付加体量が最大値を示し、p53のser15及び392のリン酸化蛋白が増加した。2日目には、小葉中心性の肝細胞のアポトーシス像と共に caspase 3陽性細胞の増加とPP2Aのtyr307のリン酸化蛋白の増加が認められた。3日目には、辺縁部における肝細胞の核分裂亢進が認められ、PCNA陽性細胞率及び細胞周期調節因子 (*Ccna2*、*Ccnb1* 及び *Ccne1*) の遺伝子発現レベルが最大値を示した。7日目以降、病理組織学的変化は認められず、14日目に *gpt delta* 変異体頻度の有意な上昇が認められた。一方、100 mg/kg投与では、投与後1日目からDNA付加体の形成は認められたものの、病理組織学的変化ならびに細胞周期関連因子の変化は認められなかった。

【考察】100 mg/kg投与では肝細胞のアポトーシス及び細胞増殖のいずれも認められなかったことから、ESの細胞増殖活性はp53を介したアポトーシス経路の活性化に関連して生じることが示唆された。また、同時期に認められたPP2Aのリン酸化は、細胞増殖誘発のシグナル伝達に寄与するものと考えられた。

## P-41

## CYP2E1ノックアウトマウスを用いた1,2-ジクロロプロパンの肝細胞毒性機序検討

○河内 聡子、藤岡 正喜、辰巳 久美子、魏 民、山野 莊太郎、房 赫、武下 正憲、鰐淵 英機

大阪市立大学 医学研究科 分子病理学

【目的】雄性CYP2E1ホモ欠損マウス(CYP2E1<sup>-/-</sup>)を用いて、肝毒性および異物代謝酵素の発現を野生型(CYP2E1<sup>+/+</sup>)と比較し、1,2-DCPの肝毒性およびその機序について検討した。

【材料と方法】CYP2E1<sup>-/-</sup>とCYP2E1<sup>+/+</sup>それぞれに1,2-DCP 0, 250, 500 mg/kg B.W.の用量で週5回、4週間反復投与を行い、実験期間終了後剖検を実施した。さらに、CYP2E1<sup>-/-</sup>とCYP2E1<sup>+/+</sup>に1,2-DCP 0, 500 mg/kg B.W.の用量で強制胃内投与し、4時間後剖検を行った。

【結果】1,2-DCP 4週間反復投与実験において、CYP2E1<sup>+/+</sup>500 mg/kg B.W.投与群では全匹が途中死亡し、小葉中心性の肝細胞壊死がみられたのに対し、CYP2E1<sup>-/-</sup>ではいずれもみられなかった。対照群と比較して、CYP2E1<sup>-/-</sup>とCYP2E1<sup>+/+</sup>双方の250 mg/kg B.W. 投与群で、GST-T1の発現低下がみられた。また250 mg/kg B.W. 投与群の1,2-DCP投与群において、CYP2B10, 4A10, 4A14のより顕著な発現増加がCYP2E1<sup>-/-</sup>でみられた。1,2-DCP単回投与の実験では、CYP2E1<sup>-/-</sup>とCYP2E1<sup>+/+</sup>双方でグルタチオンの有意な減少がみられ、CYPの発現は4週間反復投与と同様の発現パターンを呈した。

【結論】CYP2E1<sup>+/+</sup>とCYP2E1<sup>-/-</sup>で異物代謝酵素の発現が異なることから、CYPによる代謝産物が異なる可能性が示唆された。また、CYP2E1<sup>+/+</sup>でみられた1,2-DCP投与による肝細胞毒性はCYP2E1<sup>-/-</sup>ではみられなかったことから、CYP2E1による1,2-DCPの代謝がマウスの肝細胞毒性の誘発に寄与していることが示唆された。

## P-42

## ダンマル樹脂の雄性F344ラットにおける肝発がん性

○房 赫、魏 民、藤岡 正喜、辰巳 久美子、河内 聡子、土井 賢一郎、石井 真美、梯 アンナ、山野 莊太郎、鰐淵 英機

大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

Dammar resin is a natural food additive used as stabilizer, glazing agent, and clouding agent in many foods and drinks. The purpose of the present study was to evaluate the carcinogenicity of dammar resin in a two-year rat carcinogenicity study. Groups of 50 F344 rats of each sex were fed diet supplemented with dammar resin at doses of 0, 0.03, 0.5% and 2% for 104 weeks. Survival rate of the male 2% group was significantly decreased compared to the concurrent control group. Bleeding tendency evidenced by multi-organ hemorrhage was the major causes for the death in the 2% male group. Histopathologically, incidences of hepatocellular adenomas and carcinomas were significantly increased in the male 2% group. No significant difference was observed in the male 0.03% or 0.5% groups compared with the control. In females, there was no significant difference in the incidence of liver tumors in the dammar resin supplemented groups compared to the control. Various tumors were seen in organs and tissues other than the liver in both males and females; however, these were within the scope of background data reported in previous F344 rat studies and were considered to be naturally occurring lesions unrelated to dammar resin administration. Therefore, the results of the present study demonstrated that dammar resin is carcinogenic for the liver in male rats.

## P-43

## チオアセトアミド誘発ラット肝障害における障害誘導因子とMHC クラスII 発現細胞の特性

○倉持 瑞樹、井澤 武史、ペルビン ムンムン、ボンドク アレクサンドラ、桑村 充、山手 丈至

大阪府大 獣医病理

【背景・目的】薬物性肝障害の発生と進展には、傷害・壊死組織から放出されるDamage associated molecular patterns (DAMPs) と、その受容体であるMHC class IIやToll-like receptors (TLRs) が重要な役割を担うと考えられている。チオアセトアミド (TAA) 誘導ラット肝障害モデルを用いて、化学物質により誘発される肝障害機序の一端を明らかにする目的で、これらの因子や細胞の動態を解析した。

【材料・方法】(1) 急性肝障害モデル：7週齢F344雄ラットにTAA (300 mg/kg BW) を単回腹腔内投与し、投与後10時間から7日まで経時的に採材した。(2) 反復投与肝障害モデル：7週齢F344雄ラットにTAA (100 mg/kg BW) を3日間隔で1~3回腹腔内投与し、それぞれの投与後2日に採材した。

【結果】(1) 小葉の中心静脈領域で1日から凝固壊死、3日で炎症細胞浸潤がみられ、5日以降回復した。ASTとALTは1日で高値を示した。MHC class II発現細胞数とDAMPsであるHigh mobility group box (HMGB) -1, -2, S-100 A4は2日で、TLR-4は3日で最大となった。(2) 1回投与により小葉の中心静脈周囲に炎症を伴う肝細胞傷害がみられたが、2回と3回の反復投与後では肝細胞傷害は軽減した。ASTとALTの上昇は1回投与のみで上昇した。それに一致しMHC class II, TLR-4, S-100 A4も1回投与時に限り発現が増加した。

【結論】(1) 肝細胞の傷害に一致してDAMPsが増加し、MHCクラスII発現細胞とTLR-4が上昇したことから、炎症の進展にDAMPsが誘導因子として関与することが示唆された。(2) TAAの反復投与により、傷害が軽減することが分かった。今後DAMPsの発現レベルと炎症の抑制因子との関連などをさらに解析する予定である。

## P-44

## 高脂肪・高コレステロール飼料を給餌したSHRSP5/Dmcr, SDラット, Wistar-KyotoラットのNASHモデルとしての肝臓および全身病理組織学的特徴

○大野 祐子、西川 智美、藤木 勝也、洞井 康、田中 雅治

田辺三菱製薬 (株) 創薬本部 安全性研究所

【背景と目的】高脂肪・高コレステロール (HFC) 飼料を8週間給餌したSHRSP5/Dmcr (脳卒中易発性高血圧自然発症ラットの垂系統) で重度の線維化を含むNASH様の病変が報告されており、HFC飼料を給餌したSDラットおよびWistar-Kyotoラット (WKY/Izm) でも同様の報告がある。今回、SHRSP5/Dmcr, SD, WKY/Izmの各系統のラットにHFC飼料を給餌し、病理解析により全身の病理組織学的特徴を明らかにした。

【材料と方法】6週齢の雄性SHRSP5/Dmcr, SDラットおよびWKY/IzmをSHRSP用飼料 (SP飼料) またはHFC飼料で8週間飼育し、体重、臓器重量、血圧の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、肝臓を含む全身臓器の病理組織学的検査を実施した。

【結果と考察】検討した全ての系統のHFC飼料給餌群の肝臓でNASH様の中心性脂肪変性、線維化、炎症細胞浸潤、肝細胞の好酸性小体が認められた。他の臓器では、上部消化管粘膜の糜爛および再生、顆粒球系の造血亢進、大動脈の病変、泡沫状マクロファージの浸潤等、HFC飼料に起因すると考えられる多数の変化が認められ、系統間で顕著な差は認められなかった。またSHRSP5/Dmcrでのみ、膵臓で膵島の色素貪食マクロファージの浸潤および線維化、心臓で心筋線維の変性・壊死等、高血圧に起因すると考えられる変化が観察された。以上の結果から、全ての系統のHFC飼料給餌群でNASH様病変をはじめとするHFC飼料起因の多数の変化、SHRSP5/DmcrではNASH様病変以外に高血圧起因の変化が生じていることが明らかとなった。全身の病理学的特徴と各種検査結果の関連性から本モデルの病態についても考察を加える。



P-45

## Subcutaneous and Orthotopic Patient-derived Human Hepatocellular Carcinoma Xenograft Models for Pharmacodynamic Efficacy Assessment of Sorafenib

○Chun-Min Liu<sup>1)</sup>, Shih-Ta Chen<sup>1)</sup>, Mai-Wei Lin<sup>1)</sup>, Dian-Kun Li<sup>2)</sup>, Hsiang-Wen Tseng<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Industrial Technology Research Institute (ITRI), Taiwan, <sup>2)</sup>Buddhist Tzu Chi General Hospital, Taiwan

The development of oncology drug needs a lot of money and manpower from preclinical study to approach. To resolve this “Valley of Death”, a reliable and predictable animal model to evaluate the pharmacodynamic effects of new candidate is needed. There has been a recent increase in the use of patient-derived tumor tissue (PDTT) xenografts engrafted into immune-compromised mice for preclinical modeling. The PDTT xenograft tumor models retained histology, genome and biology similarities compared with their donors, and could be used as a more accurate screening tool and evaluate key markers of responses to novel drugs. We minced primary human hepatocellular carcinoma (HCC) tissues, mixed them with matrigel, and injected subcutaneously into immunodeficient mice. One primary tissue from a 59-years-old male patient grown and allowed a subcutaneous or orthotopic passage in the second mouse after serial transplantation and also showed similar histologic presentation to original donor tumor. Comparative analysis by gene chips also showed genomic similarity in different passaged tumors. The primary HCC xenograft of subcutaneous and orthotopic models were used to evaluate the pharmacodynamic effects of sorafenib. Our results demonstrated that sorafenib inhibited 59.4% tumor growth and reduced 52.6% secretion of human alpha-fetoprotein (h-AFP) in subcutaneous model. In addition, sorafenib also reduced 83.3% secretion of h-AFP and prolonged the survival of orthotopic HCC mice. We successfully established a new HCC xenograft tissue line from PDTT and can be used to evaluate the new anti-HCC candidates and applied to achieve individualized chemo-drugs by preclinically assessing.

P-46

## Genotoxicity Assessment on Perillaldehyde, a Flavoring Agent

○林 新茂<sup>1,2)</sup>、Cheryl Hobbs<sup>1,3)</sup>、Robert Maronpot<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup> 日本香料工業会、<sup>2)</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ (株)、<sup>3)</sup> Integrated Laboratory Systems, Inc.、<sup>4)</sup> Maronpot Consulting LLC

Perillaldehyde, a natural monoterpenoid with an aldehyde group, is a flavoring ingredient found most abundantly in the perennial herb perilla. It has a long history of use to add spiciness to salad dressing, sauce and pickled vegetables. Perillaldehyde is designated by the Minister of Health, Labour and Welfare in Japan as unlikely to harm human health, and is affirmed as “generally recognized as safe” by the U.S. Flavor and Extract Manufacture Association. A genotoxicity battery was conducted for its world-wide application and consisted of the following GLP studies: a bacterial reverse mutation assay (Ames assay), an in vitro micronucleus assay in human lymphocytes, an HPRT assay in mouse lymphoma cells, and a comet/micronucleus assay in Wistar Han rats. Perillaldehyde induced mutation in *Salmonella typhimurium* strain TA98 in the absence of metabolic activation. Previously conducted TA98 assays were negative. The comet assay was negative for duodenum and positive in liver only at a hepatotoxic dose of perillaldehyde. All other genotoxicity assays were negative. It is concluded that perillaldehyde is not of concern to human health at current exposure levels.

## P-47

## 胎生期および哺育期におけるPhenobarbital暴露の児動物への影響の検索

○加藤 由隆、牧野 絵美、伊藤 強、嶋田 悠子、小山 彩、高橋 尚史、大塚 亮一、武田 眞記夫、桑原 真紀、原田 孝則

(一財) 残留農薬研究所

【背景・目的】近年、妊娠期および哺育期の母親に対する化学物質曝露が子供に及ぼす影響について大きな関心が寄せられている。人に対する安全性を担保する目的で実施される毒性試験では、繁殖毒性試験で離乳児および若齢成獣についての評価が行われるが、これ以降については発達期に投与を行わない一般毒性試験の長期試験しか参照できるデータはない。また、繁殖毒性試験のF1親動物および一般毒性試験の90日間反復投与毒性試験の動物の間で被験物質投与の影響として認識される変化に差がみられることはしばしば経験する問題である。したがって母動物を介して投与された化学物質が、児動物の成長後、経年性変化が介入するような段階で、一般毒性試験と異なる変化が発現するのかを検索する事は極めて重要である。この検索の第一段階として、化学物質の毒性発現の基本的なメカニズムを担う薬物代謝酵素に着目し、各発育段階の児動物について検索を実施した。

【方法】SPF系雌性Wistar Hannoverラットを12週齢で交配し、妊娠12日(GD 12)から児動物の生後21日(PND 21)まで、代表的な薬物代謝酵素誘導剤であるPhenobarbitalを0, 40, 80mg/kg/dayの用量で母動物に連続強制経口投与した。児動物はPND 0, 11, 21, 70に剖検し、肝臓薬物代謝酵素測定を中心とした検索を行なった。

【結果】80 mg/kg/day群の母動物6例全例で投与期間を通じて鎮静などの神経症状が確認された。3例では児動物の消失があったため、1例をGD 21に帝王切開したところ、生存胎児が確認された。残る2例については、GD 19より休薬を行ったところ、正常な分娩が観察されたのでPND 1より投与を再開した。投与群の児動物では、PND 0と11において、肝臓の相対重量の増加傾向が認められ、現在、肝臓薬物代謝酵素の動態等について精査中である。

## P-48

## LEAラットの膵島初期病変の形態学的検討

○佐藤 亮<sup>1)</sup>、高橋 徹行<sup>2)</sup>、泉 啓介<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 大塚製薬 安全性研究センター、<sup>2)</sup> 徳島大学大学院

【目的】Long-Evans Agouti (LEA) ラットは非肥満2型糖尿病モデル動物であり、X線全身照射によって糖尿病が増悪する。糖尿病発症の初期病変を捉えることを目的に膵臓の病理組織学的検索および透過型電顕検査を実施した。

【材料及び方法】10~12週齢の雄性LEAラット8匹の膵島について病理組織学的検査を、そのうち、6匹の透過型電顕検査を実施した。

【結果】病理組織学的検査ではβ細胞の減少がみられない膵島において、膵臓の出血および血栓がみられた。電顕検査では膵島内血管の内皮細胞の剥離が認められた。β細胞には低電子密度顆粒の出現がほとんどの膵島にみられ、一部の膵島ではミトコンドリア膨化、粗面小胞体の拡張を特徴とする変性・壊死β細胞の散在も認められたが、そのような像は少なく、むしろ、β細胞の細胞間の解離による細胞の脱落が多く認められた。病理組織学的検査で膵島の萎縮(β細胞の減少)がみられた膵島ではマクロファージ主体の細胞浸潤や線維芽細胞の増生が認められた。

【考察】本モデル動物では膵島の初期病変として膵島の内皮細胞の障害を示唆する変化がみられた。加えて、β細胞の変性・壊死だけでなくβ細胞間の解離によって、細胞が脱落することにより、膵島が萎縮するものと推察された。

## P-49

## 酸化了的DNA損傷を引き起こす腎発がん物質による遺伝子突然変異

○土屋 卓磨、石井 雄二、高須 伸二、木島 綾希、横尾 諭、小川 久美子、梅村 隆志

国立衛研 病理部

【目的】腎発がん剤臭素酸カリウム (KBrO<sub>3</sub>) 並びにフラントイン (NFT) は何れも酸化了的DNA損傷を引き起こすが誘発する遺伝子変異スペクトラムは異なる。そこで、この2剤を抗酸化物質の転写因子であるNrf2をホモ欠損させた (*Nrf2*<sup>-/-</sup>) *gpt* deltaマウスに投与して、酸化了的DNA損傷と誘発される遺伝子突然変異との関連性について検索した。

【材料と方法】6~7週齢の雄性C57BL/6系*Nrf2*<sup>-/-</sup> *gpt* deltaマウス及びその野生型 (*Nrf2*<sup>+/+</sup>) *gpt* deltaマウスに、KBrO<sub>3</sub> 1500 ppmの飲水投与或いはNFT 2500 ppmの混餌投与を13週間行った。投与終了後腎臓DNA中の*gpt*及びSpi<sup>-</sup>変異体頻度 (MF) 並びにその変異スペクトラム解析、腎臓DNA中の8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の定量解析を行った。また、Nrf2下流遺伝子群 (*Nqo1*, *Hmox1*, *Txnrd1*, *Gclc*) の発現レベルについても解析した。

【結果】KBrO<sub>3</sub>の投与により、*Nrf2*<sup>+/+</sup>及び*Nrf2*<sup>-/-</sup>において、8-OHdG量がそれぞれ対照群に比して2.1倍及び3.3倍、*gpt* MFが2.7倍及び4.8倍増加し、何れも有意な変化であった。同様にNFTの投与により、*gpt* MFが*Nrf2*<sup>+/+</sup>及び*Nrf2*<sup>-/-</sup>において有意に増加し、その増加率はそれぞれ対照群に比して2.3倍及び3.5倍であった。また、*Nrf2*<sup>+/+</sup>の何れの投与群においても*Nqo1*の有意な発現増加を認められたが、*Nrf2*<sup>-/-</sup>では増加は認められず、対照群を含め*Nrf2*<sup>+/+</sup>に比して有意に低値を示した。

【考察】同条件下の4週間投与では、*Nrf2*<sup>-/-</sup>においてKBrO<sub>3</sub>の投与により、その特徴的変異である欠失変異が*Nrf2*<sup>+/+</sup>に比して顕著な増加を示したが、NFT投与による変異スペクトラムの変化は認められなかった。今後、13週間投与時点におけるSpi<sup>-</sup> MFの検索及び*gpt*及びSpi<sup>-</sup>変異体における変異スペクトラム解析を行い、酸化了的DNA損傷と遺伝子突然変異との関連性について考察する予定である。

## P-50

## 4-クロロ-2-ニトロアニリンの経口投与によるがん原性試験のラットでみられた慢性腎症

○高信 健司、梅田 ゆみ、妹尾 英樹、片桐 卓、相磯 成敏、福島 昭治

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】4-クロロ-2-ニトロアニリン (PCONA) は染料中間物や有機顔料として使用されている。今回、ラットを用いた経口投与によるがん原性試験でみられた慢性腎症 (CPN) について、その用量設定試験である13週間試験で認められた腎臓病変と併せて報告する。

【材料・方法】F344ラットを用い、がん原性試験では雌雄各50匹/群 (6週齢) で雄は0、280、1400及び7000 ppm、雌は160、800及び4000 ppmの濃度で104週間混餌投与した。また、13週間の用量設定試験は、雌雄各10匹/群 (6週齢) に対し0、640、1600、4000、7000及び10000 ppmで混餌投与を行った。

【結果】がん原性試験では発がん性はみられなかった。CPNは雄の1400 ppm以上、雌の800 ppm以上の群で発生増加ないし程度の増強が認められ、雄よりも雌に強くみられた。また、CPNに付随する腎臓病変として、鉍質沈着の発生増加が雄では7000 ppm群で腎乳頭と腎盂にみられ、雌では4000 ppm群で尿細管と腎盂にみられた。鉍質沈着は雌では雄よりも低用量で認められた。また、腎盂の尿路上皮過形成の発生増加は、雄の1400 ppm以上の群と雌の4000 ppmの群にみられ、雌では雄よりも高用量で認められた。一方、褐色色素沈着が雌雄にみられた。また、13週間の用量設定試験では、雄に好酸滴の程度の増強と、雌に褐色色素の沈着がみられた。

【まとめ】がん原性試験ではCPNが雌で強くみられた。要因は、加齢の影響と褐色色素沈着や代謝産物等が考えられる。(本試験は厚生労働省の委託によるGLP試験である)

## P-51

## 片腎摘出处置がdb/dbマウスにおける腎臓病変に及ぼす影響

○豊田 薫、柿本 恒知、美谷島 克宏、安井 雄三、剣持 佑介、中村 明子、谷合 枝里子、高橋 明美、  
正田 俊之、高木 賀容子、竹内 里美、前川 竜也、宮川 義史

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所

【背景・目的】自然発症肥満2型糖尿病モデルである db/db マウスはレプチン受容体をコードする db 遺伝子に変異をもち、摂食過剰による高度の肥満と高血糖、高レプチン及び高インスリン血症といった代謝異常を示す。db/db マウスは8週齢からアルブミン尿が検出され、16週齢から肉眼的に腎臓の腫大、病理組織学的にはより早期から糸球体の腫大、メサンギウム基質の増加が認められ、加齢によりそれらの変化が増悪することが知られている。この経過はヒトの糖尿病性腎症の経過と類似し、自然発症2型糖尿病腎症モデル動物として広く研究に用いられている。今回、本モデル動物における腎臓病変について詳細な病理評価を実施した。

【材料・方法】 db/m マウス、片腎摘出を行った db/m マウス、db/db マウス及び片腎摘出を行った db/db マウスを19、24、35及び42週齢で解剖し、腎臓の組織を光学顕微鏡で観察した。光学顕微鏡的評価にはHE、PAS、PAM及びシリウスレッド染色標本を用いた。また電子顕微鏡的評価も実施した。

【結果・考察】 db/db マウス及び片腎摘出を行った db/db マウスにおいて19週齢から糸球体の腫大、メサンギウム基質の増加及び尿細管が認められた。これらの腎臓病変は片腎摘出により増悪した。また、尿細管には Armanni Ebstein lesion として知られる細胞質内へのグリコーゲンの沈着だけでなく、核内のグリコーゲン沈着が初期から認められたが、この病変は片腎摘出の影響を受けなかった。本モデルマウスでは、片腎摘出による負荷の増加がその増悪要因となることが示唆された。

## P-52

## ラット腎間葉系腫瘍の分子生物学的類似性に関する検討腎間葉腫は、腎芽腫の一分類か？

○奥村 真衣<sup>1)</sup>、尾崎 清和<sup>2)</sup>、山野 莊太郎<sup>1)</sup>、奈良間 功<sup>3)</sup>、鰐淵 英機<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 大阪市立大学大学院 分子病理学、<sup>2)</sup> 摂南大学 病理学教室、<sup>3)</sup> (財) 食品農医薬品安全性評価センター

【目的】ラットの腎間葉腫には、しばしば腺管が認められ、腫瘍性と判断した場合には腎芽腫、腫瘍内に取り込まれた尿細管や集合管と判断した場合には間葉腫と診断される。そこで、本研究では腎芽腫および腎間葉腫の分子生物学的類似性を明らかにすることにより、腎間葉腫が腎芽腫の一分類であることを提示することを目的とした。

【材料と方法】自然発症及び化学発がん物質により誘発したラット腎間葉腫、自然発症のラット腎芽腫及びラット胎生13.5日の後腎を用いた。

【結果】組織形態学的に腎間葉腫と診断された症例において、いずれも間葉系腫瘍組織内に腺管構造が認められた。腺管は腫瘍周囲の尿細管や集合管と連続していなかった。腺管は、尿細管や集合管とは異なり、p63およびNa/Kpomp陽性、PAM染色で基底膜が認められず、誘発症例では周囲正常組織と比較し、約10倍高い細胞増殖能を示したことから、腫瘍性と判断した。これらの分子生物学的特徴は、腎芽腫内の腺管構造と類似していた。次に、腎間葉腫の間葉系腫瘍細胞において、WT1の発現を検討した結果、腺管周囲において高頻度に陽性となった。同様の陽性所見は、腎芽腫の腎芽細胞および紡錘形細胞、ならびに胎生期後腎の尿管芽周囲の腎芽細胞や紡錘形細胞においても認められ、間葉腫の間葉系腫瘍細胞と分子生物学的に類似すると考えられた。

【まとめ】形態学的に腎間葉腫と診断された症例は、分子生物学的に腎芽腫と極めて類似する症例が存在することが明らかとなった。この結果は、腎間葉腫が腎芽腫の一分類である可能性を示していた。



## P-53

## SDラットに自然発生した腎尿細管上皮細胞のカリオメガリーの1例

○中村 賢志、瀧本 憲史、村井 厚子、日比 大介、下内 孝司、小西 幹夫

小野薬品工業（株）研究本部 安全性研究部

【背景と目的】ラットの腎尿細管上皮細胞におけるカリオメガリーは、腎発がん物質で誘発されることが知られているが、自然発生例に関する報告はほとんどない。今回、媒体対照群の1例にてカリオメガリーを認めたため、免疫染色による詳細な検討結果と併せて報告する。

【材料と方法】0.5%メチルセルロースを26週間強制経口投与した32週齢雌性CrI:CD (SD)ラットの腎臓について、重量測定、HE染色、PCNA、細胞周期関連因子であるcyclin A2、cyclin B2及びcyclin D1の免疫染色を実施した。また、免疫染色の陰性対照として、病理組織学的に異常のない同週齢同系統の雌性ラットの腎臓を用いた。

【結果】腎臓重量に変化はなかった。HE染色では、カリオメガリーは主に髄質外帯外層部の近位尿細管上皮細胞に認められた。免疫染色では、同部位の近位尿細管上皮細胞におけるcyclin D1の陽性像がびまん性に増加しており、PCNA、cyclin A2及びcyclin B2の陽性像も増加していた。これらは、カリオメガリーに対しても陽性を示した。一方、陰性対照例の腎臓においても、髄質外帯外層部の近位尿細管上皮細胞にcyclin D1の陽性像が多見された。

【結論】細胞周期関連因子の発現増強が認められたことから、本症例におけるカリオメガリーは細胞周期の異常に起因した変化であると考えられた。また、腎臓における髄質外帯外層部でのcyclin D1の潜在的な高発現は、本症例におけるカリオメガリーの部位特異的な発現に寄与していると考えられた。

## P-54

 $\gamma$ H2AXを用いた遺伝毒性膀胱発がん物質の早期検出系構築-マウスでの検討○曾根 瑞季<sup>1,2)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、水田 保子<sup>1)</sup>、平田 直<sup>1,3)</sup>、西川 秋佳<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 国立衛研、<sup>2)</sup> 東京農工大 農 共同獣医、<sup>3)</sup> 昭和大 院 薬

【目的】DNA二重鎖切断の鋭敏な指標として知られるリン酸化ヒストンH2AX ( $\gamma$  H2AX)は、遺伝毒性早期検出系への応用が期待されている。我々はラット4週間の投与系で、 $\gamma$  H2AXの免疫組織化学的解析により遺伝毒性膀胱発がん物質を検出できる可能性を報告した。発がん物質に対する感受性は、肝臓の代謝活性などによる種差の存在が知られることから、本研究ではマウスを用い膀胱における $\gamma$  H2AX発現の種差について検討した。

【方法】各群10匹の6週齢・雄B6C3F1マウスに、2-acetylaminofluorene (2-AAF)、*p*-cresidine、*N*-nitrosodiethylamine、glycidol、acrylamide、dimethylarsinic acidの計6物質を4週間混餌または飲水投与した。投与終了時および2週間の休薬後に各群5匹ずつ解剖し、膀胱における $\gamma$  H2AX、細胞増殖マーカー Ki67の発現を免疫組織化学的に解析した。

【結果】4週間投与後の膀胱上皮における $\gamma$  H2AX陽性細胞数は、対照群と比較し、遺伝毒性膀胱発がん物質とされる2-AAF、*p*-cresidine群においてのみ有意な増加が認められ、ラットでの解析と一致した。Ki67に関しては、*p*-cresidine群のみ有意な陽性細胞数の増加が認められた。さらに2-AAF、*p*-cresidine群に関して、 $\gamma$  H2AXおよびKi67陽性細胞の局在を膀胱粘膜上皮3層 (basal、intermediate、umbrella層)に分類した結果、*p*-cresidine群ではいずれの陽性細胞もbasal層に多く認められた。一方2-AAF群では、 $\gamma$  H2AX陽性細胞はumbrella層に、Ki67陽性細胞はbasal層に多く存在し、ラットとの差異が認められた。休薬後、すべての群で $\gamma$  H2AXおよびKi67発現は減少したが、*p*-cresidine群における $\gamma$  H2AX発現は、対照群と比較して有意に高い発現レベルが維持されていた。今後、本検討で認められたラット試験系との差異が、発がん性の種差を反映した結果であるか検討を行う。

## P-55

## 利尿薬投与によるラット膀胱壁肥大—画像解析を用いた評価—

○吉川 剛、西村 悠花里、土屋 卓磨、伊藤 優子、松下 幸平、佐藤 亮、北浦 敬介、松本 智志

大塚製薬株式会社 徳島研究所 安全性研究センター 毒性研究部

【目的】糖尿病あるいは浸透圧利尿誘発ラットにおいて、多尿に関連した膀胱肥大がみられる。今回、利尿薬投与による尿量増加の程度に依存した膀胱壁、特に平滑筋層の肥大について、画像解析を用いて明らかにすることを目的に、試験を実施した。

【材料と方法】6~7週齢雄性SDラットにフロセミドを0、30及び100 mg/kgの用量で1日2回経口投与した（対照群、60及び200 mg/kg/日群）。尿量測定は週1回実施し、1、4週間後及び4週間回復期間後に安楽死させた。画像解析は膀胱の連続組織切片を使用し、画像解析ソフト（Win ROOF）を用い実施した。HE染色標本は膀胱壁総面積及び壁の厚さ、サイトケラチン（CK）免疫染色標本は尿路上皮面積、平滑筋アクチン（SMA）免疫染色標本は平滑筋面積、シリウスレッド（SR）染色標本は膠原線維面積の計測に用いた。

【結果】尿量は60 mg/kg群で投与1週より増加傾向、投与2~4週では約2倍の有意な増加を示し、回復期間には回復した。200 mg/kg群では投与1週より投与4週まで約3.6倍の有意な増加を示し、回復期間は約1.5倍と増加傾向がみられた。画像解析では1週時には変化はみられなかった。4週時には60 mg/kg群では変化はみられなかったが、200 mg/kg群で平滑筋面積の増加に起因した膀胱壁総面積の有意な増加がみられた。回復期間終了時では200 mg/kg群で膀胱壁総面積の増加がみられた。

【結論】CK及びSMA免疫染色並びにSR染色標本を用いた膀胱画像解析により、ラットにフロセミド200 mg/kg/日の4週間反復経口投与によって、尿量増加に関連した平滑筋面積の増加による膀胱壁総面積の増加が認められ、利尿薬誘発の膀胱壁肥大がみられることを示した。

## P-56

## 発酵玄米によるTRAPラット前立腺発がん抑制効果の検討

○久野 壽也、加藤 寛之、内木 綾、佐藤 慎哉、鈴木 周五、高橋 智

名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学

【背景】前立腺がんは我が国において罹患率、死亡率ともに増加傾向にある疾患で、食生活を中心とする生活習慣の欧米化と関係があると考えられている。FBRA (fermented brown rice by *Aspergillus Oryzae*) は玄米を発酵させた食品で種々の発がん予防物質を含んでおり、実験動物を用いた様々な臓器の発癌モデルにおいて腫瘍抑制効果が報告されている。

【目的】遺伝子改変前立腺がんモデル（TRAP, transgenic rat developing adenocarcinoma of the prostate）ラットを用いてFBRAの前立腺がんには及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】36匹の6週齢TRAPラットを3群に分け、1群に基礎食、2,3群にそれぞれ5%、10% FBRA混合食を通期で投与した。実験開始15週間後に前立腺を摘出し、病理組織学的、及び分子生物学的な評価を行った。

【結果】経過中の体重、食餌摂取量にFBRA摂取による差は見られず、肝臓および腎臓に毒性を示唆する所見も観察されなかった。病理組織学的にFBRA摂取は腹葉および側葉における低異型度上皮内腫瘍の割合を増加させ、側葉中の腺癌の割合を有意に減少させた。免疫組織化学的に高異型度上皮内腫瘍の増殖活性を評価したところ、10%FBRA摂取は側葉および腹葉のいずれにおいてもKi-67陽性率を低下させた（ $P < 0.01$ ）。FBRAが腫瘍細胞の代謝に及ぼす影響をウェスタンブロットティング法で検討したところ、リン酸化AMPK発現量がFBRAの濃度に依存して増加しており、AMPKの活性化を介した増殖抑制が示唆された。

【考察】以上の結果から、FBRAはヒト前立腺がん予防物質の候補として有望と考えられた。

## P-57

## 選択的HDAC阻害剤による前立腺癌増殖抑制効果の検討

○佐藤 慎哉<sup>1,2)</sup>、鈴木 周五<sup>1)</sup>、内木 綾<sup>1)</sup>、加藤 寛之<sup>1)</sup>、久野 壽也<sup>1)</sup>、高橋 智<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 名古屋市立 院 医 実験病態病理、<sup>2)</sup> 名古屋市立西部医療センター 病理診断科

【目的】 Histone deacetylase (HDAC) 阻害剤は高い抗腫瘍活性を有するものの、その副作用が課題となっている。我々は約20種類存在するHDACの一部を抑制する選択的HDAC阻害剤は副作用が少ないと考え、選択的HDAC阻害剤の前立腺癌細胞株に対する増殖抑制効果およびヒト前立腺癌におけるHDAC発現を検索した。

【方法】 ヒト前立腺癌細胞株LNCaP, VCaP, 22Rv1にHDAC3、6、8阻害剤3P、NCT-10、NCC-149およびHDAC1,2,3,8阻害剤NCH-51を処置し、WST-1 assay、Nexin assay、cell cycle assayおよび細胞から抽出した蛋白を用いてwestern blotを行った。

【結果】 WST-1 assayの結果、NCT-10、NCC-149、NCH-51は前立腺癌細胞株に対し10-5Mの濃度で有意な増殖抑制効果を認めしたが、3Pは抑制効果を認めなかった。Nexin assay、cell cycle assayの結果、NCT-10、NCC-149はLNCaP、22Rv1に対し10-5Mの濃度でapoptotic cell、G1期細胞を有意に増加させた。Western blotの結果、NCC-149は22Rv1のアンドロゲン受容体およびcyclinD1蛋白の発現を抑制した。

【結語】 我々は選択的HDAC阻害剤が阻害するHDACの種類により異なる増殖抑制メカニズムを有することを示した。今後前立腺癌細胞株に対するヒストン修飾を介した遺伝子発現制御機構および、in vivoにおける前立腺癌に対する阻害剤の作用を検討し、阻害するHDACの種類に特異的な増殖抑制メカニズムを明らかにする予定である。

## P-58

## ラット胎児および哺育児の甲状腺における化学物質の毒性の病理組織学的評価に関する基礎検討：(1) 発達期における正常な甲状腺組織像の変遷

○吉光 仁美、吉田 しおり、長井 寛明、天沼 利宏

日本農薬(株) 総合研究所 安全性・医薬ユニット 毒性・薬理グループ

【目的】 甲状腺ホルモンは胎児および児の神経の発達に必要であるため、化学物質が胎児および哺育児の甲状腺に及ぼす毒性影響を評価することは重要である。しかし、毒性評価に主として供されるラットにおいてさえも胎児および哺育児の正常な発育に伴う甲状腺組織像の変遷に関する情報は少ない。我々は、Crl:CDラットの各発育段階における正常な甲状腺組織像を調べ、甲状腺毒性評価の前提となるべき情報を収集した。

【材料と方法】 妊娠20日(GD20)の胎児、ならびに哺育4日(LD4)および21日(LD21)の児動物とそれらの母獣から甲状腺を採取した。HE染色を施した甲状腺の組織切片を観察し、既存ガイドラインの各種評価基準を参考に濾胞上皮の細胞丈、コロイド領域の面積、その他の所見についてそれぞれの程度を評価した。

【結果】 GD20の胎児では、立方状の濾胞上皮細胞が密に増殖し、小さな濾胞腔がみられたものの、その内部にコロイドの蓄積はほとんど認められなかった。LD4では、濾胞腔内のコロイドの蓄積に伴ってやや扁平となった濾胞上皮も認められた。LD21ではさらにコロイドの蓄積が進み、濾胞腔の大きさや上皮細胞の形態は母獣とほぼ同様であった。

【結論】 ラットの胎児および哺育児の甲状腺において、発育段階に応じた正常な組織構築の特徴に関する情報を得た。これを基盤として、ラットの児における化学物質の甲状腺毒性を病理組織学的に正しく評価することが可能になるものと考えられる。



## P-59

## ラット胎児および哺育児の甲状腺における化学物質の毒性の病理組織学的評価に関する基礎検討：(2) Propylthiouracil (PTU) 投与による病理組織学的変化

○吉田 しおり、吉光 仁美、長井 寛明、天沼 利宏

日本農薬(株) 総合研究所 安全性・医薬ユニット 毒性・薬理グループ

【目的】ラット胎児・哺育児(児)の甲状腺発達に及ぼす化学物質の影響を病理組織学的に評価する際は、既知の抗甲状腺物質による典型的な病理所見を参照することが重要である。そのような参照例とすべく、PTU投与により胎児・児の甲状腺に認められる病理組織学的変化を検討した。

【材料と方法】CrI:CD系ラット母獣に、妊娠6日から各採材日までの間、PTUを0、0.5および10 mg/kg/dayで強制経口投与し、妊娠20日の母獣および胎児、哺育4日(LD4)の児およびLD21の母獣と児から採材した。血清中の甲状腺関連ホルモン濃度と甲状腺重量の測定とあわせ、甲状腺のHE染色切片を病理組織学的に検査し、既存のガイドライン等に示される各種の診断基準を参考に濾胞上皮の細胞丈、コロイド領域の面積、上皮細胞肥大等の程度を評価した。

【結果】PTU投与により、母獣、胎児、児のいずれにおいてもT4濃度が低下し、これに伴ってTSH濃度増加および甲状腺重量増加が認められた。また、これらの変化に一致して、病理組織学的には濾胞上皮細胞の肥大が認められ、その細胞丈のスコアが増加した。一方、コロイド領域のスコアは、コロイドの減少に伴ない母獣と児で減少したが、正常でもコロイドの蓄積が乏しい胎児では投与の影響が認められなかった。

【結論】母獣と児の甲状腺では、上皮細胞の肥大とコロイド減少というPTUの典型的な影響がそろって認められたが、胎児では甲状腺の発育段階を反映して濾胞上皮細胞の変化のみが認められた。本結果は、発達中の甲状腺に及ぼす化学物質の毒性評価に際し参考例として有用であり、評価に携わる病理担当者に資するものと考えられる。

## P-60

新生児期17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール(EE)曝露による遅発影響に関わる初発影響の探索

○田中 恵、古澤 理沙、吉河 佑莉、川嶋 潤、代田 真理子

麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室

【背景及び目的】新生雌ラットへの17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール(EE)反復経口投与による性周期早期回帰停止などの遅発影響の出現時期はEEの用量に逆相関して延長するが、単回投与でも投与日齢の変動に伴い変化し、遅発影響出現時期の決定にはEEの用量あるいは曝露時期が関与していると考えられる。本研究では、EE投与による遅発影響出現のメカニズムを知るために、視床下部でEEが直接作用するエストロゲン受容体(ER)ならびに性腺刺激ホルモン放出ホルモン分泌を上位から直接制御するKisspeptin(KP)シグナル伝達分子の遺伝子発現を検討した。

【材料及び方法】EEの用量は性周期が早期に回帰停止する2  $\mu$ g/kg/dayを最高用量として公比5で除し、対照群と同様の性周期を回帰する0.016  $\mu$ g/kg/dayを最小用量として1日齢のSD系雌ラットに5日間反復経口投与した。また、2あるいは10  $\mu$ g/kgのEEを1あるいは5日齢に単回経口投与する群も設定した。動物は最終投与24時間後に剖検して脳を採取し、視床下部とそれより上部の領域とに分割後、total RNAを抽出して、ER $\alpha$ および $\beta$ 、ならびにKPをコードする*Kiss1*、KP受容体をコードする*GPR54*のmRNAを定量解析し、コーン油を投与した対照群と比較した。

【結果及び考察】視床下部におけるER $\alpha$ 発現は、性周期に顕著な影響が認められないEE曝露では対照群と比べて有意な増加が認められ、性周期に顕著な影響が認められるEE曝露では低下が認められた。一方、*Kiss1*は性周期の早期回帰停止をもたらすEE曝露で顕著な低下が認められ、2  $\mu$ g/kg群では1日齢の単回投与でも低下が認められたことから、*Kiss1*の低下は遅発影響へと繋がる初発変化であることが示唆された。*GPR54*およびER $\beta$ の発現量にはEE投与の影響は認められなかった。

## P-61

## カニクイザルの自然発生性子宮内膜症の病理学的特徴と臨床類似性

○松尾 沙織里<sup>1)</sup>、西本 綾子<sup>1)</sup>、根津 幸穂<sup>2)</sup>、林 修次<sup>1)</sup>、加藤 淳彦<sup>1)</sup>、鈴木 雅実<sup>1)</sup>、今野 良<sup>2)</sup>、山海 直<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 中外製薬、<sup>2)</sup> 自治医科大学付属さいたま医療センター 産婦人科、<sup>3)</sup> 医薬基盤・健康・栄養研究所 霊長類医学研究センター

【背景と目的】子宮内膜症 (EMS) は、痛みや不妊等の症状を伴う疾患であるが、その病態の理解や新規治療法の確立には、ヒトと類似した病変を作るモデル動物の存在が必須である。今回我々は、ヒトの雌性生殖器と解剖学的・生理学的に類似するカニクイザルのEMSを検索し、その病理学的特徴の臨床類似性について検討した。

【材料と方法】剖検時にEMSが疑われた5から21歳齢の雌のカニクイザル8例について、定法に従い異常部位の病理組織学的検索を行った。また、代表的な病変について、抗CD10、抗 $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA)、抗PGP9.5抗体を用いて免疫組織学的染色を行った。

【結果】剖検時に、卵巣、子宮、膀胱、消化管等の臓器間の癒着、嚢胞、結節が認められた。組織学的には、嚢胞壁は子宮内膜様上皮及びCD10陽性のストローマ細胞から成り、嚢胞内や嚢胞壁において出血やヘモジデリン貪食マクロファージ、炎症性細胞浸潤が認められた。一部では、結腸の筋層や粘膜下織に達する病変や、子宮壁の腺筋症病変が認められた。また、全例において子宮内膜様上皮やストローマ細胞を取り囲むSMA陽性細胞が認められ、その他に間質の線維化や、病変内へのPGP9.5陽性無髄神経線維の分布が認められた。標本中にリンパ節が含まれていた2例において、リンパ節内における子宮内膜様組織が認められた。

【結論】カニクイザルの自然発生性EMSは、ヒトのEMSの病理学的特徴と類似していた。特に今回の検索では、近年ヒトにおいて痛みや再発との関連性が注目されている平滑筋化生、線維化、神経線維の分布、リンパ節へのEMS様組織の迷入が、カニクイザルの自然発生例においても認められることが明らかとなった。

## P-62

## Characterization of mammary carcinomas in male and female rats after MNU exposure

○義澤 克彦<sup>1)</sup>、結城 美智子<sup>1)</sup>、木下 勇一<sup>1,2)</sup>、榎本 祐子<sup>1)</sup>、塚 貴司<sup>1)</sup>、四方 伸明<sup>2)</sup>、Susan A Elmore<sup>3)</sup>、  
螺良 愛郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 関西医科大学 病理学第二講座、<sup>2)</sup> 関西医科大学滝井病院、<sup>3)</sup> NIH/NIEHS

The frequency of male breast cancer in humans is extremely rare; less than 1 % of all reported breast cancers. An available animal model of male mammary tumors has not yet been reported. We compared the immunohistochemical characteristics of *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU)-induced mammary carcinomas in male and female SD rats; here we report the expression of tumor cells for estrogen receptor  $\alpha$  (ER), progesterone receptor (PgR), androgen receptor (AR), Her2/Neu (HER2), GATA3, and proliferating cell nuclear antigen (PCNA). ER expressed in 9% males and 100% females, PgR expressed in 0% males and 60% females, AR expressed in 27% males and 0% females, HER2 expressed in 0% males and females, GATA3 expressed in 0% males and 53% females, and PCNA expressed in 100% males and females. From the immunohistochemical analysis, such as ER and PgR positivities and HER2 negativity, we conclude that MNU-induced mammary carcinoma in females have hormonal dependency, similar to human luminal A subtype breast cancers. In contrast, MNU-induced mammary carcinoma in males showed no reactivity for ER, PgR, HER2 nor GATA3, suggesting a lack of hormonal dependency. Male and female carcinomas showed high proliferating activity by PCNA immunohistochemistry. Published literature indicates that human male breast cancers are mainly dependent on ER and/or PgR, therefore the biological property of MNU-induced male mammary cancers in rats may be different from that of male breast cancer in humans.

## P-63

NOD/SCID/ $\gamma_c^{\text{null}}$ マウスにおける自然発生性胸腺リンパ腫がPDXモデル作製へ与える影響

○加藤 千恵、藤井 悦子、西原 香織、加藤 淳彦、鈴木 雅実

中外製薬株式会社 研究本部

【背景・目的】 重度免疫不全マウスであるNOD/SCID/ $\gamma_c^{\text{null}}$ マウス (NOGマウス) を用いたPatient derived xenografted model (PDXM) は、ヒト腫瘍に類似した構造を繰り返し再現することから、がん領域での活用が期待されている。以前、マウス自然発生性胸腺リンパ腫 (STL) が、他の免疫不全マウスに比べNOGマウスでは極めて低頻度であることを報告した。今回STLがPDXMの維持管理へ影響を与えた例を報告する。

【材料と方法】 ヒト由来肺扁平上皮癌株をNOGマウス腹部皮下に移植 (P0) し、以降各代 Donor 1匹から Recipient 2匹に移植し、3代継代 (P1-P3) した。全例で腫瘍径測定、P1-Donorを除く全例で病理組織学的検索及び抗マウスCD3抗体による免疫染色を実施した。

【結果】 腫瘍径は、P0及びP1で緩やかな増大を示し、P2及びP3で急速な増大を示した。組織学的に、P0及びP1で肺扁平上皮癌組織 (LSq) が、P2及びP3全例でリンパ芽球性細胞 (LBC) のシート状増殖し、特にP2では僅かに残存するLSqにLBCが浸潤・置換する像が認められた。LBCは免疫組織学的にマウスCD3陽性であった。

【結論】 P1-DonorにSTLが発生し、LBCがP2、P3へ継代されたものと推察された。LBCは増殖能が高くヒト由来腫瘍を置換し、可移植性があり継代された。以前 Epstein-barr virus感染ヒトリンパ球増殖病変がPDXM作製の初期に障害となることを報告したが、今回、STLも本モデルの維持管理に影響することが示された。本病変は早めに検出するなどにより本モデル樹立後の維持管理への影響を最小限にとどめる工夫が求められる。

## P-64

封入体遺伝子組換え *Yersinia adhesin A* (rYadA) は、*Yersinia pseudotuberculosis* 感染の症状を軽減する

○津郷 孝輔、中村 進一、山中 寛子、宇根 有美

麻布大 獣医病理

【背景】 *Yersinia pseudotuberculosis* (*Y. ptb*) は、エルシニア症の原因菌で、ヒト、マウスやサル類など多様な動物に重篤な急性腸管感染症を引き起こし、公衆衛生上、種の保存上問題となっている。そこで、本症のワクチン開発を目的として、*Y. ptb* の持つ接着因子の1つである *Yersinia adhesin A* (YadA) に注目し、大腸菌を用いて組換えYadA (rYadA) を作製し免疫原としての有効性を検討した。

【材料と方法】 *Y. ptb* のプラスミドにコードされているYadA (遺伝子全長1,299bp) を、異なる2種のベクターに組込んで大腸菌を形質転換させ2株を作製した。性状を確認したところ、rYadAはそれぞれ可溶化物と、不溶性の封入体として発現した。これらをBALB/cマウスに、1群:封入体rYadA、2群:可溶性rYadAをそれぞれ100  $\mu$ g/匹、3群:YadA強発現不活化 *Y. ptb* を20mg/匹、1週間ごとに2回皮下投与し、4群にはPBS0.2mlを投与した。最終免疫の1週間後に *Y. ptb* を10<sup>7</sup>個/匹接種して2週間観察し、生存率と病理学的所見を比較した。併せて抗rYadA抗体価の推移を検討した。

【結果】 1群の生存率は100%で、3群は60%であった。一方、2群と4群は全て死亡した。血清抗rYadA IgG抗体価は、1群、3群で上昇した。また、エルシニア症に特徴的な病変である脾臓、肝臓の多数の白色結節病変が、死亡個体は高度だったのに対し、1、3群では病変は軽度であった。病理組織学的には、死亡個体では菌塊を伴う多病巣性高度な壊死や好中球浸潤が脾臓、肝臓にみられたが、生存個体ではそれらの病変は軽度で大部分は器質化していた。

【まとめ】 以上の結果は、YadAに対する免疫が致死的な病勢悪化を阻止していると考えられた。そして、rYadAの免疫原性は、封入体という不溶化物で、菌体成分などを含むことで高められることが示唆された。

## P-65

**Anti-oxidative Property of Phikud Navakot on Sheep Erythrocyte**

○Sumate Ampawong<sup>1)</sup>, Kanchana Kengkoom<sup>2)</sup>, Supattra Suwanmanee<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Tropical Pathology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Thailand,

<sup>2)</sup> Academic Services Division, National Laboratory Animal Center, Mahidol University, Thailand

Phikud Navakot (PN), Thai herbal remedy in National List of Essential Medicines, composes of nine crude herbal plants. Not only vasorelaxation effect, PN also attenuates oxidative stress on endothelial cell. Its properties have been claimed to reduce many cardiovascular symptoms especially dizziness and fainting. Apart from the capacity of blood supply, erythrocyte integrity is also main consideration factor in cardiovascular diseases. Because the erythrocyte deformability, both shape and size, affects to the oxygen transportation. Unfortunately, little is known about anti-oxidative property of PN on erythrocyte. In this study, 1,000 mM hydrogen peroxide induced-oxidative stress was conducted on sheep erythrocyte. Three doses of PN (1, 0.5, and 0.25 mg/ml) and 10 μM of ascorbic acid were compared. Electron microscopic and immunohistochemical studies were performed to characterize dysmorphic erythrocyte and osmotic ability in relation to aquaporin (AQP)-1 expression, respectively. The results revealed that all doses of PN and ascorbic acid decreased the severity of dysmorphic erythrocyte, particularly echinocyte, acanthocyte, knizocyte, codocyte, clumping, and other malformations. However, the most effective was 0.5 mg/ml of PN. Interestingly, hydrostatic pressure may be increased in dysmorphic erythrocyte in association with AQP-1 up-regulation. Therefore, our results demonstrated that PN composed of anti-oxidative effect and maintained osmotic ability on sheep erythrocyte.

## P-66

**酸化ストレス刺激による細胞遊走亢進機序の解析**

○安井 雄三<sup>1,2)</sup>、北谷 佳那恵<sup>1)</sup>、柿本 恒知<sup>2)</sup>、美谷島 克宏<sup>2)</sup>、剣持 佑介<sup>2)</sup>、中村 明子<sup>2)</sup>、豊田 薫<sup>2)</sup>、  
谷合 枝里子<sup>2)</sup>、高橋 明美<sup>2)</sup>、正田 俊之<sup>2)</sup>、菅井 象一郎<sup>2)</sup>、竹腰 進<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学 医学部 基礎医学系生体防御学、<sup>2)</sup> 日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所

【目的】細胞遊走は生体の免疫反応、創傷治癒、癌細胞の浸潤等に深く関与している。最近、過酸化水素等の酸化ストレス刺激により細胞遊走が亢進することが報告されているが、その詳細な分子機序については明らかにされていない。今回、薬剤により酸化ストレス刺激をHeLa細胞に与えた際の細胞遊走変動の分子機序について解析を行った。

【方法】酸化ストレス誘発物質であるAMVN（脂溶性ラジカル発生剤）及びAAPH（水溶性ラジカル発生剤）により刺激を加えた。細胞遊走はWound Healing及びTranswell assay法で解析を行い、細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK）、焦点接着キナーゼ（FAK）及びパキシリンのリン酸化をWestern blottingにより解析を行った。

【結果】Wound Healing及びTranswell assayによりAMVN及びAAPHの刺激によって細胞遊走が亢進していることが判明した。また、両薬剤の刺激によりERK、FAK（セリン910）及びパキシリン（チロシン113）のリン酸化が亢進された。

【結語】酸化ストレス刺激によってMAP kinaseシグナル伝達系の活性化と共にHeLa細胞の細胞遊走が亢進することが明らかとなった。



## P-67

## 高脂血症ラットを用いた不確実係数の妥当性の検証

○豊田 武士<sup>1)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、水田 保子<sup>1)</sup>、西川 秋佳<sup>2)</sup>、小川 久美子<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 安全性生物試験研究センター

【目的】化学物質のリスク評価指標であるTDI (ADI) は、健常動物を用いた毒性試験で得られた無毒性量 (NOAEL) に、種差・個体差としてそれぞれ10倍の不確実係数 (安全係数) を乗じて求められる。一方で、現代のヒト成人の多くが高脂血症や糖尿病をはじめとする基礎疾患を有しており、これらのハイリスク群を含めた個体差が10倍の範囲に収まるのか、十分な検証はなされていない。本研究では、高脂血症モデル動物を用いて既知の化合物に対する反復投与毒性試験を実施し、現行の不確実係数の妥当性を検討する。

【方法】各群10匹の6週齢、雄のF344またはobese Zuckerラット (fattyおよびlean) に対し、アセトアミノフェン (AP) (混餌: 0.80, 253, 800, 2530, 8000 ppm) または3-MCPD (飲水: 0.9, 28.5, 90, 285, 900 ppm) を90日間投与し、血液学的・血清生化学的解析および病理組織学的検索を実施した。

【結果】8000 ppm AP投与群において、体重増加抑制とMCV・MCHの上昇がlean・F344ラットに共通して認められた一方、fattyラットに顕著な変化は観察されなかった。3-MCPD投与群では、体重増加抑制、脳・心・腎・精巣相対重量の増加、RBC・HGB・HCTの低下、A/Gの増加およびCreの低下、さらに病理組織学的変化として、精巣上体管上皮における単細胞壊死の増加が、すべてのラットに共通する変化として認められた。この中で、fattyラットではHGB・HCTの低下、leanおよびF344ラットではCreの低下が90 ppm以上の群で有意であった。以上の結果から、本試験の条件下におけるNOAELは、APではlean・F344ラットともに2530 ppm、fattyラットは8000 ppm、3-MCPDではすべての系統で28.5 ppmと判断された。すなわち、高脂血症動物と健常動物との間に10倍以上のNOAELの差は認められず、現行の不確実係数の範囲内に収まることが示された。

## P-68

## 発達期高脂肪摂食による児の免疫組織への形態学的影響

○等々力 舞、瀬沼 美華、熊谷 文明、斉藤 義明、桑形 麻樹子

(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所 毒性部 病理学研究室

【目的】これまでにマウス授乳期高脂肪摂食後の肝臓DNAマイクロアレイ解析の結果、免疫関連遺伝子が増加していることを明らかにしている。本実験では発達期の栄養環境変化による免疫系組織の発達への影響について組織学的に検討した。

【方法】C57BL母マウスに、分娩後21日間高脂肪食 (60% Kcal fat) を摂食 (HF) させ、生後7 (PD7) 及び21日に児を解剖し、肝臓、脾臓、胸腺についてHE、CD3、CD45R及びIba-1各染色を行った。なお対照群には固形飼料CE-2を自由摂取させた。

【結果】HF群の児体重は対照群と比較して高値に推移した。PD7の器官重量は両群に差はなかったが、PD21のHF群では対照群と比較して脾臓は高値、肝臓及び胸腺は低値を示した。PD7およびPD21の肝臓では造血像がみられたが、HF群ではその程度が強かった。さらにPD21のHF群では肝細胞の脂肪化が観察された。PD7の脾臓では両群ともにIba-1陽性細胞は辺縁帯領域に、CD3陽性細胞は中心動脈周囲に、CD45R陽性細胞は辺縁帯周囲に観察された。PD21のHE染色像では白脾髄の形態に差はなかったが、HF群ではIba-1陽性細胞の分布異常及びCD3陽性細胞の減少が認められた。PD7の胸腺では差はなかった。PD21ではHF群の胸腺皮質の胸腺細胞密度が低かった。さらに、細胞質が膨満した上皮細胞が皮質及び髄質ともに多く、髄質のIba-1陽性細胞が対照群と比較して多く認められた。

【結論】肝臓の遺伝子解析では炎症性サイトカインの上昇を示唆する遺伝子発現の上昇が認められたが、組織観察像では炎症を示唆する変化はなく、脾臓での免疫系細胞の分布、胸腺細胞の減少および貪食細胞の増加から、自然免疫系発達の異常が示唆された。

## P-69

**ICRマウスを用いた発がん性試験の対照群で高頻度にみられたアミロイド症の背景データとの比較解析**

○伊藤 強、加藤 由隆、牧野 絵美、嶋田 悠子、小山 彩、高橋 尚史、桑原 真紀、原田 孝則

(一財) 残留農薬研究所

【背景】 毒性試験において広く使用されているICRマウスはアミロイド症を好発するとされている。しかし、文献的に長期試験における発生頻度は雄2~41%、雌0.7~31%と様々で、当研究所の背景データでは、雄0.1% (1/680例)、雌0.3% (2/680例)程度である。今回、直近の発がん性試験の対照群において背景データと比較し高頻度でアミロイド症がみられたことから、その詳細な比較解析を行った。

【方法】 日本チャールズ・リバー (株) より購入したICR系SPFマウス [CrIj:CD1 (ICR)] を用いた。4週齢で購入し、5週齢から78週間発がん性試験を実施した。対照群には雌雄各52匹を用い、全動物について全身臓器および肉眼的異常部位を採材し、常法に従いHE染色標本を作製した。背景データとの比較には78週間発がん性試験に供した対照群のCrIj:CD1 (ICR) マウスを用いた。

【結果】 本試験におけるアミロイド症の発生頻度は雄で13% (7/52例)、雌で8% (4/52例) であり、背景データと比較すると明らかに高かった。また、アミロイド症罹患動物の多くで回腸、腸間膜リンパ節、甲状腺、腎臓、心臓、外涙腺、子宮、盲腸、上皮小体ないし副腎にアミロイド沈着がみられた。

【考察】 アミロイド沈着臓器を背景データと比較すると、その類似性から同様のアミロイド症であることが考えられた。一方、CrIj:CD1マウスを用いた長期試験の文献データと比較すると、雌で罹患臓器に違いが認められた。この点および、本試験で偶発的にアミロイド症が高頻度に発生したのか、あるいはCrIj:CD1マウスにおける発生頻度が増加傾向にあるのかについて、さらなる検討を加える予定である。

## P-70

**Tris (2,3-dibromopropyl) isocyanurateの28日間反復投与毒性試験**

○高須 伸二、石井 雄二、横尾 諭、土屋 卓磨、木島 綾希、小川 久美子、梅村 隆志

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【背景】 臭素系難燃剤であるTris- (2,3-dibromopropyl) isocyanurate (TBC) は、環境中からも検出されることからヒトへの暴露の可能性が懸念されているが、十分な毒性評価は行われていない。本研究ではTBCのハザード評価に資するデータの取得を目的に、ラットを用いてTBCの反復投与毒性試験を行った。

【材料と方法】 6週齢雌雄SDラット各群5匹にTBCを0.3%、1.2%または5.0%の濃度で28日間混餌投与し、対照群には基礎食を自由摂取させた。対照群および5.0%投与群には雌雄各群5匹の14日間の回復群を設けた。実験期間中の一般状態観察、体重、摂餌量測定、並びに解剖時の血液学的検査、血清生化学的検査、器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

【結果と考察】 雌雄何れの投与群においても、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査に変化は認められなかった。血清生化学的検査の結果、投与群の雄及び1.2%、5.0%投与群の雌に塩素イオンの有意な上昇が認められた。塩素イオンをイオン電極法で測定すると臭素イオンが加算されて測定されることが知られていることから、今回認められた変化はTBCの臭素イオンに起因するものと考えられた。器官重量では、雄の投与群において肝臓および腎臓の絶対および相対重量の有意な高値が認められた。また、雌の1.2%、5.0%投与群においても肝臓相対重量の有意な高値が認められた。しかし、何れも14日間の休薬により回復した。今後、全身諸臓器の病理組織学的検索を行い、28日間反復投与によるTBCの毒性評価を実施する。



## P-71

**SDラットを用いたリポソーム投与による影響及び回復性についての検討**

○吉田 翔太、田中 英樹、二宮 美生子、蟹江 尚平、土井 祐輔、鈴木 智、別枝 和彦、森田 文雄、箱井 加津男

大鵬薬品工業（株） 安全性研究所

【背景及び目的】リポソームはリン脂質二重膜を有する球状粒子で、生体適合性が高く、分解酵素等から包含物質を保護して運搬できるため、医薬品の薬物輸送システム（DDS）の担体として広く利用されている。薬剤封入リポソーム製剤の非臨床毒性試験においては、リポソーム固有の影響を把握する必要があるが、担体であるリポソームの動物に対する影響についての報告は少ない。本検討では、薬剤非封入リポソーム（以下リポソーム）をSDラットに静脈内投与した際に認められる影響及びその回復性について検討した。

【方法】6週齢の雄性CrI:CD（SD）ラットにリポソームを週2回・2週間（A群）、2週1回・32日間（B群）の頻度で尾静脈内投与した。陰性対照として生理食塩液投与群を設定した。各投与期間終了時、血液学的検査、血液凝固検査、血液化学的検査及び病理組織学的検査を実施した。回復性確認のため、A群は投与期間終了後1、2、3及び4週に、B群は投与期間終了後2週に検査を実施した。また、腎臓について特殊染色を、HE染色標本上で変化が認められた組織について免疫組織化学的検索及び透過型電子顕微鏡による超微形態学的検査を実施した。

【結果】投与期間終了時の病理組織学的検査では、両群とも腎糸球体、肝類洞、赤脾髄等に泡沫細胞の出現が認められた。A群では、血小板数の高値、フィブリノーゲン量の高値、プロトロンビン時間の延長、並びに総コレステロール、リン脂質及びトリグリセリドの高値が認められた。B群でこれらの変化は認められなかった。所見の詳細及び回復性については現在、検討を行っている。







# The 32nd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

Theme	Prospects of Risk Assessment and Toxicologic Pathology
President	Katsumi Imaida (Onco-Pathology, Department of Pathology and Host-Defense, Faculty of Medicine, Kagawa University)
Period	Jan 28 (Thu) to Jan 29 (Fri), 2016
Venue	<b>Sunport Hall Takamatsu</b> Hall Wing, Takamatsu Symbol Tower, 2-1 Sunport, Takamatsu, Kagawa 760-0019, Japan <b>Kagawa International Conference Hall, Exhibition Hall</b> Tower Wing 6F, Takamatsu Symbol Tower, (Kagawa International Conference Hall) Hall Wing 1F, Takamatsu Symbol Tower, (Exhibition Hall) 2-1 Sunport, Takamatsu, Kagawa 760-0019, Japan
Program Committee	Chair Yuji Oishi (Astellas Pharma Inc.) Committee Kumiko Ogawa (National Institute of Health Sciences) Hiroshi Onodera (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency) Masami Suzuki (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.) Shim-mo Hayashi (San-Ei Gen F.F.I., Inc.) Satoshi Furukawa (Nissan Chemical Industries, LTD.) Toru Hoshiya (BoZo Research Center Inc.) Hideki Wanibuchi (Osaka City University Graduate School of Medicine)
Office	The 32nd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology Administration Office Onco-Pathology, Department of Pathology and Host-Defense, Faculty of Medicine, Kagawa University Secretary-General: Masanao Yokohira  [Office During Conference (Headquarter)] Conference Room 53, Sunport Hall Takamatsu 5F  [Congress Secretariat] Japan Convention Services, Inc. Kansai Office Tominaga, Udagawa, Tokuda Tel: +81-6-6221-5933 Fax: +81-6-6221-5938 E-mail: 32jstp@convention.co.jp
Website	<a href="http://jstp32.umin.jp/index.html">http://jstp32.umin.jp/index.html</a>





The 32nd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology  
Table of Contents

The 32nd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology .....	113
Table of Contents .....	115
Greetings .....	117
Access .....	118
Floor Plan .....	119
General Information .....	123
To the Presenters .....	126
Timetable .....	129
Program .....	132
Abstract	
Special Lecture .....	155
Educational Lecture .....	157
Symposium .....	158
Workshop .....	162
Oral Presentation .....	169
Poster Presentation .....	184
Author's Index .....	220



# Greetings

---

It is my great honor to have the 32nd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology in Takamatsu on January 28 and 29, 2016. It is the first annual meeting in Takamatsu, Kagawa.

Toxicologic pathology is known to play a very important role in the risk assessment of many kinds of chemicals. The theme of this meeting has set to be “Prospects of Risk Assessment and Toxicologic Pathology.” Dr. Kunitoshi Mitsumori and Dr. Samuel M. Cohen have 2 Special Lectures concerning the theme, and a Symposium for the theme by 4 expert toxicologic pathologists in different fields, is also set.

An Educational Lecture by Dr. Robert R. Maronpot and a Workshop concerning recent progress of carcinogenesis research are also planned. In this meeting, 2 Oral Sessions will be running at the same time, and one of the Oral Session is set for Case Reports.

Last of all, I really appreciate the assistance and cooperation of the Program Committee of the meeting, and members of the JSTP Executive Committee, and financial support from many companies.

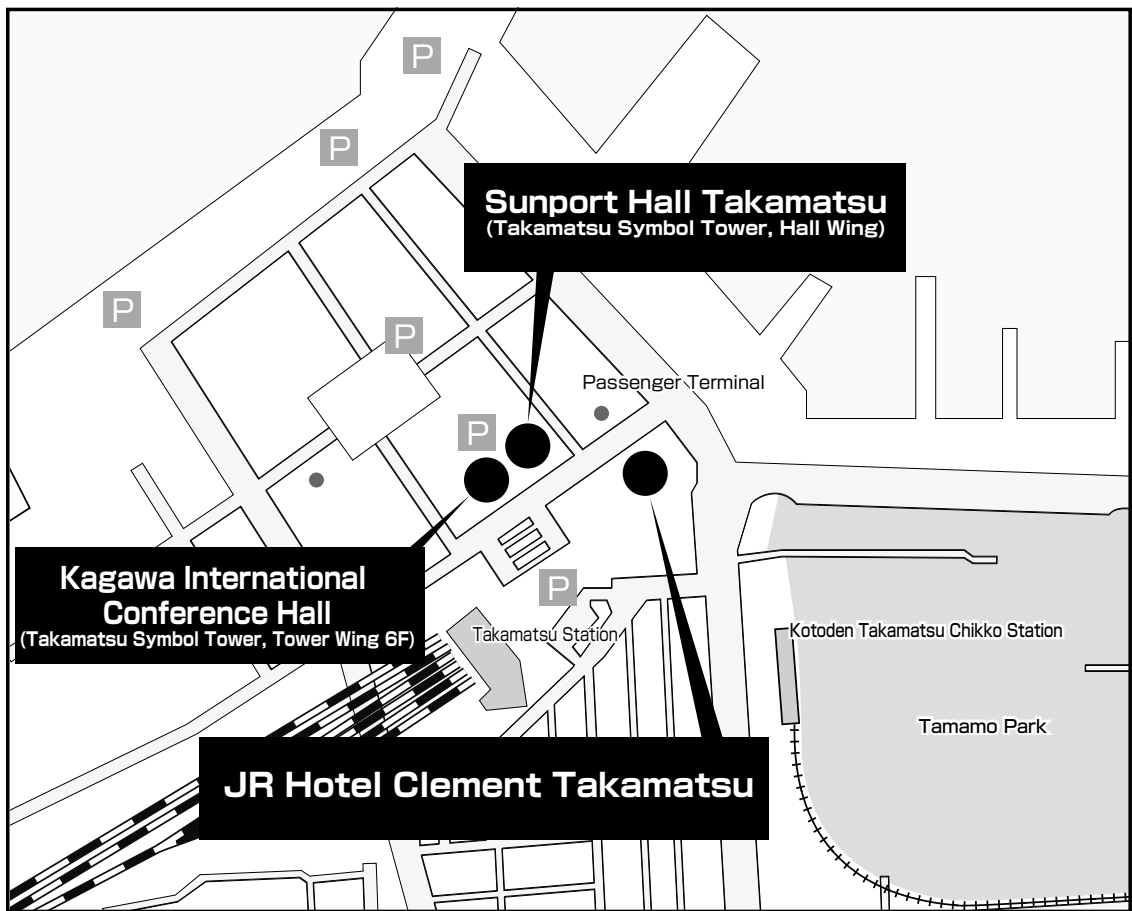
*Katsumi Imaida, M.D., Ph.D.*

President of the 32nd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

(Onco-Pathology, Department of Pathology and Host-Defense,

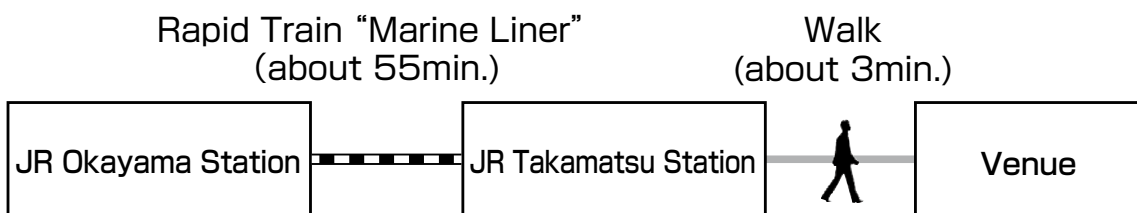
Faculty of Medicine, Kagawa University)

# Access

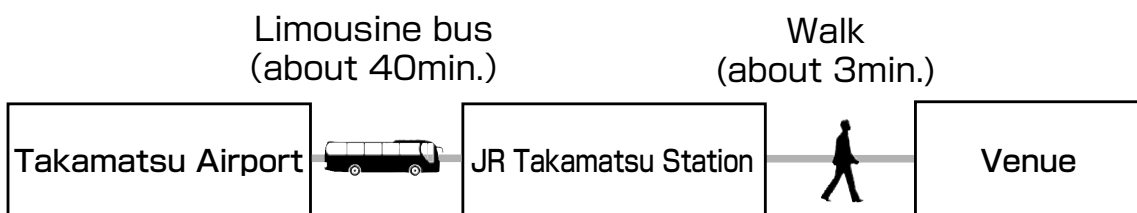


## Access

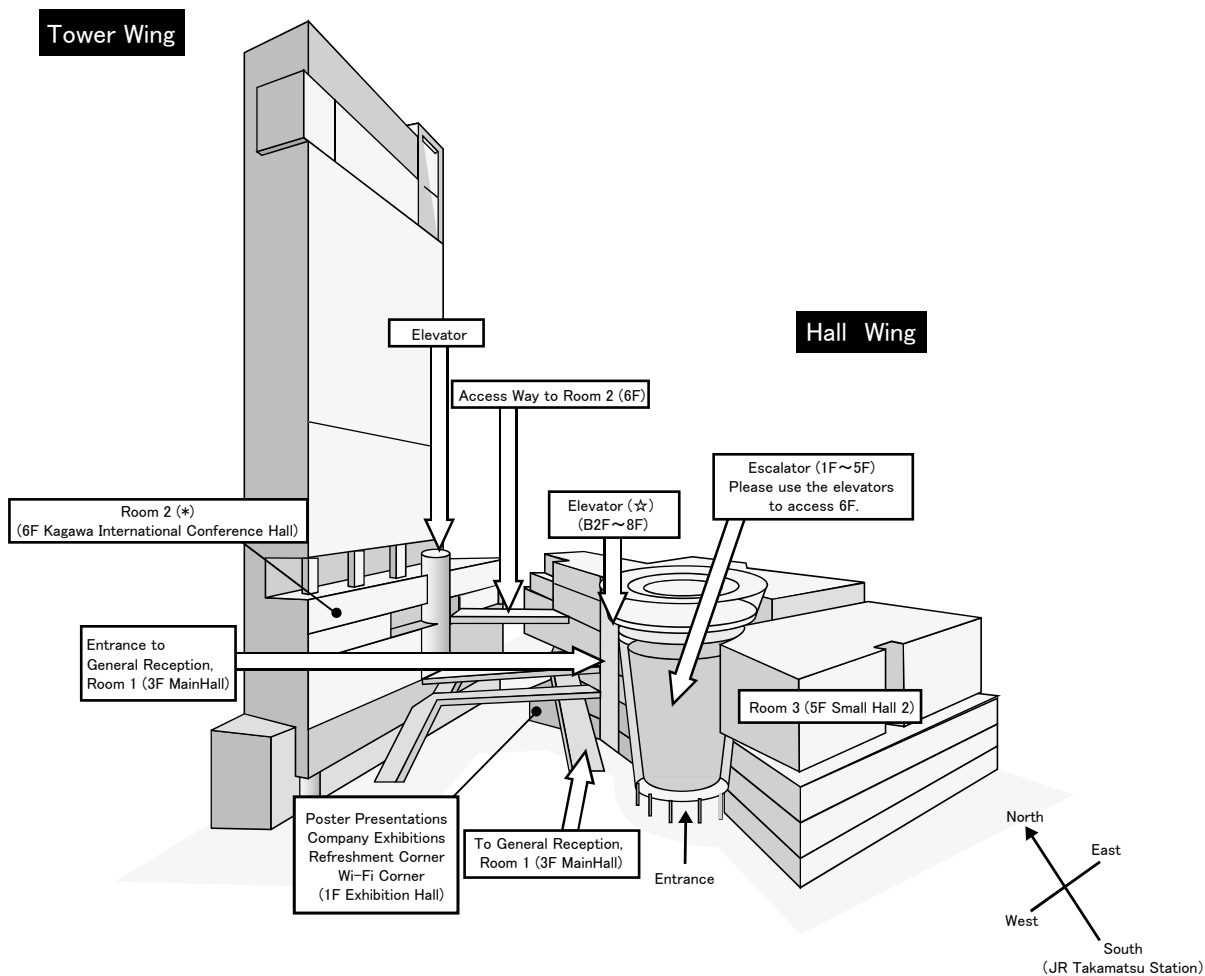
### ■By Train



### ■By Airplane



# Floor Plan

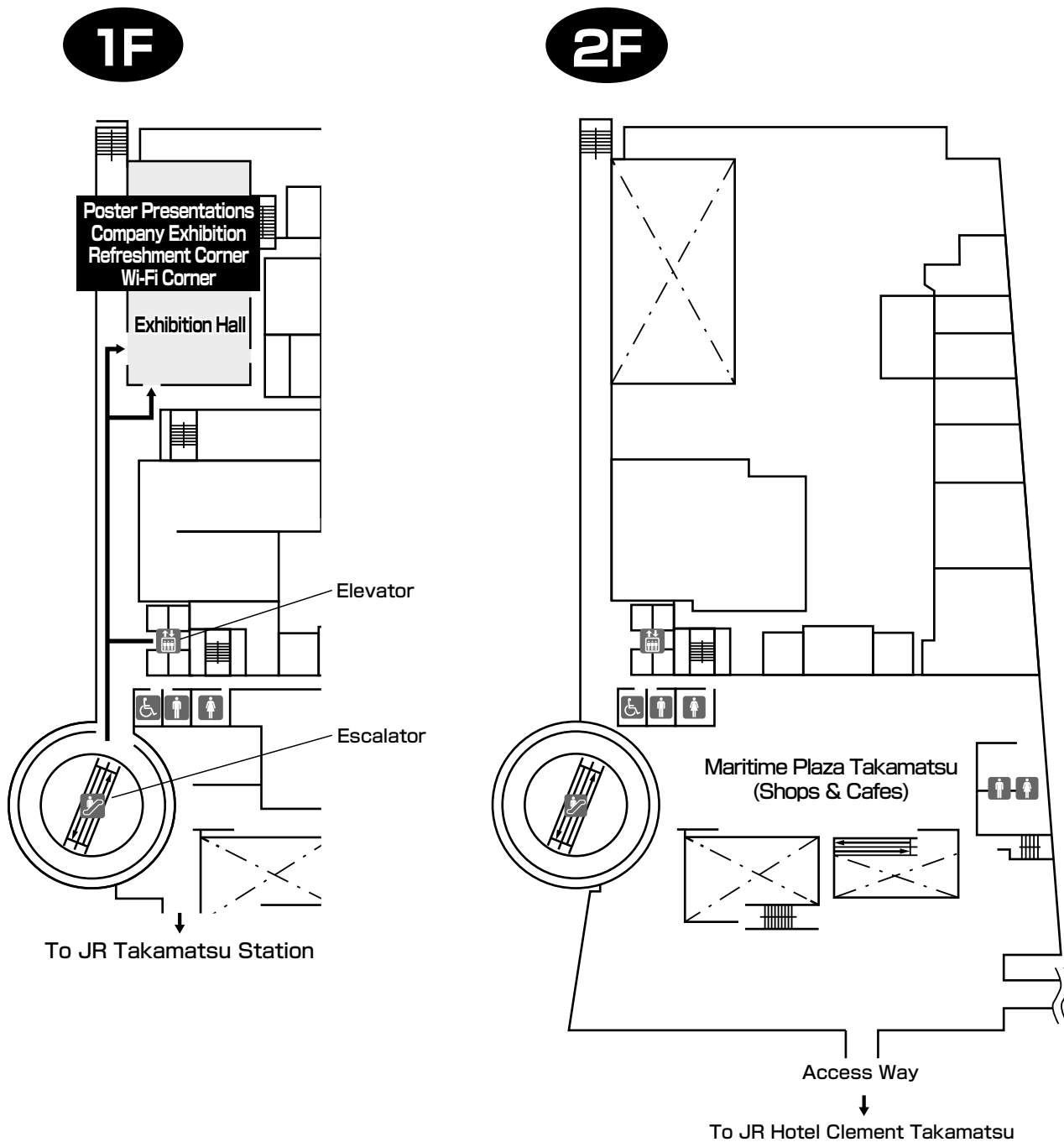


Floor	Room	Venue	Program
6F	Kagawa International Conference Hall (*)	Room 2	28th Slide Conference, Explanation of Exam Questions, Oral Presentation III・V, Luncheon Seminar I・III
5F	Small Hall 2	Room 3	Educational Committee, Editorial Committee, Board Meeting, Luncheon Seminar II・IV
	Conference Room 53		Headquarter
	Conference Room 51		Board Certification Committee, New Editorial Committee
3F	Lobby		General Reception
	Main Hall	Room 1	Special Lecture, Educational Lecture, Symposium, Workshop, Oral Presentation I・II・IV, Board of Councilors, The General Assembly
	Lobby		Company Exhibitions
1F	Exhibition Hall		Poster Presentations, Company Exhibitions Refreshment Corner, Wi-Fi Corner
JR Hotel Clement Takamatsu 3F Room Hiten			Social Gathering Banquet

\*Access to Kagawa International Conference Hall:  
Please use the elevator of Hall Wing (☆) and go up to 6F, then come across the Access Way.  
Or, please use the elevator of Tower wing. (Please refer to P. 122)

# Floor Plan

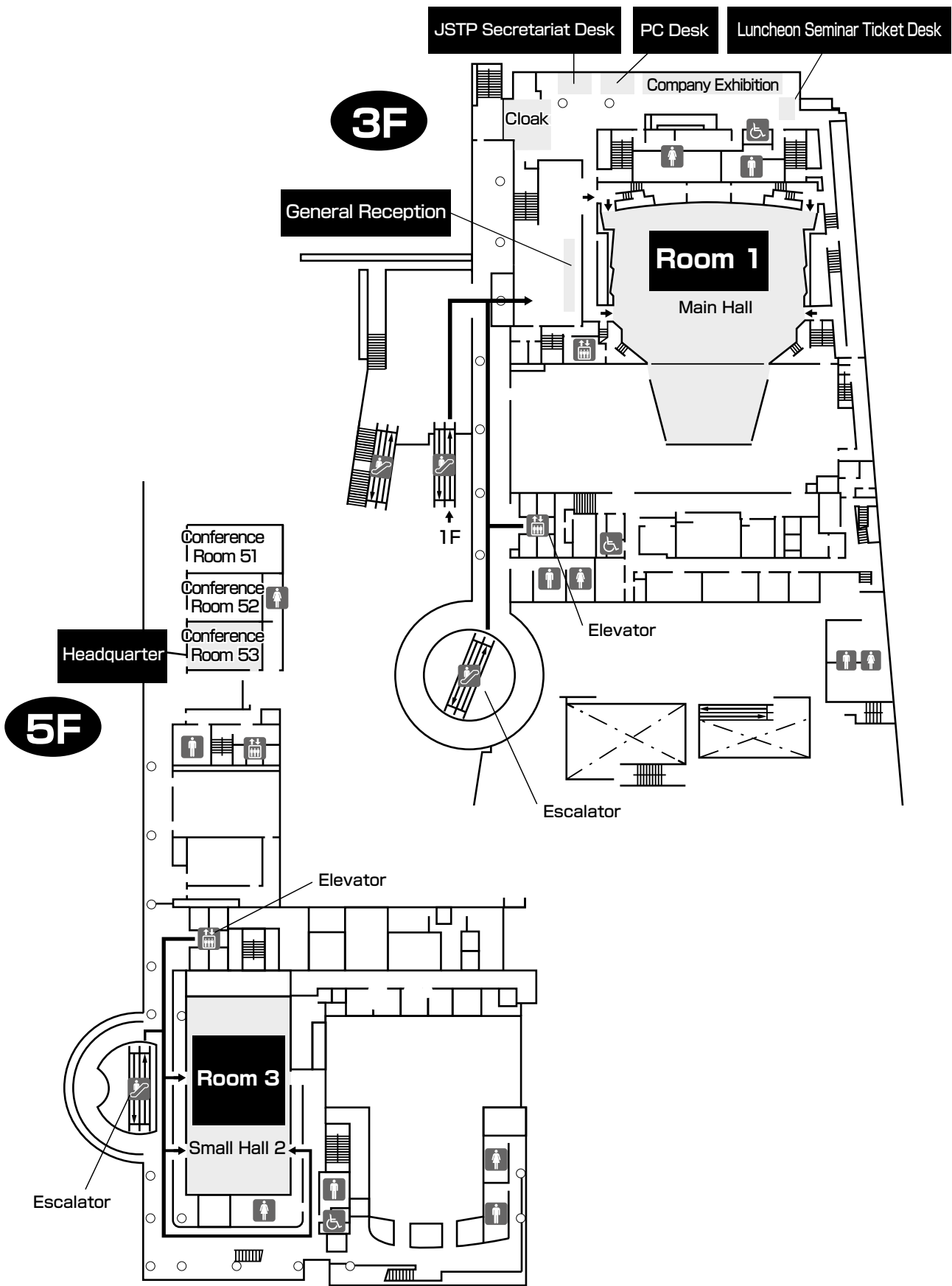
## ● Sunport Hall Takamatsu (Hall Wing)





# Floor Plan

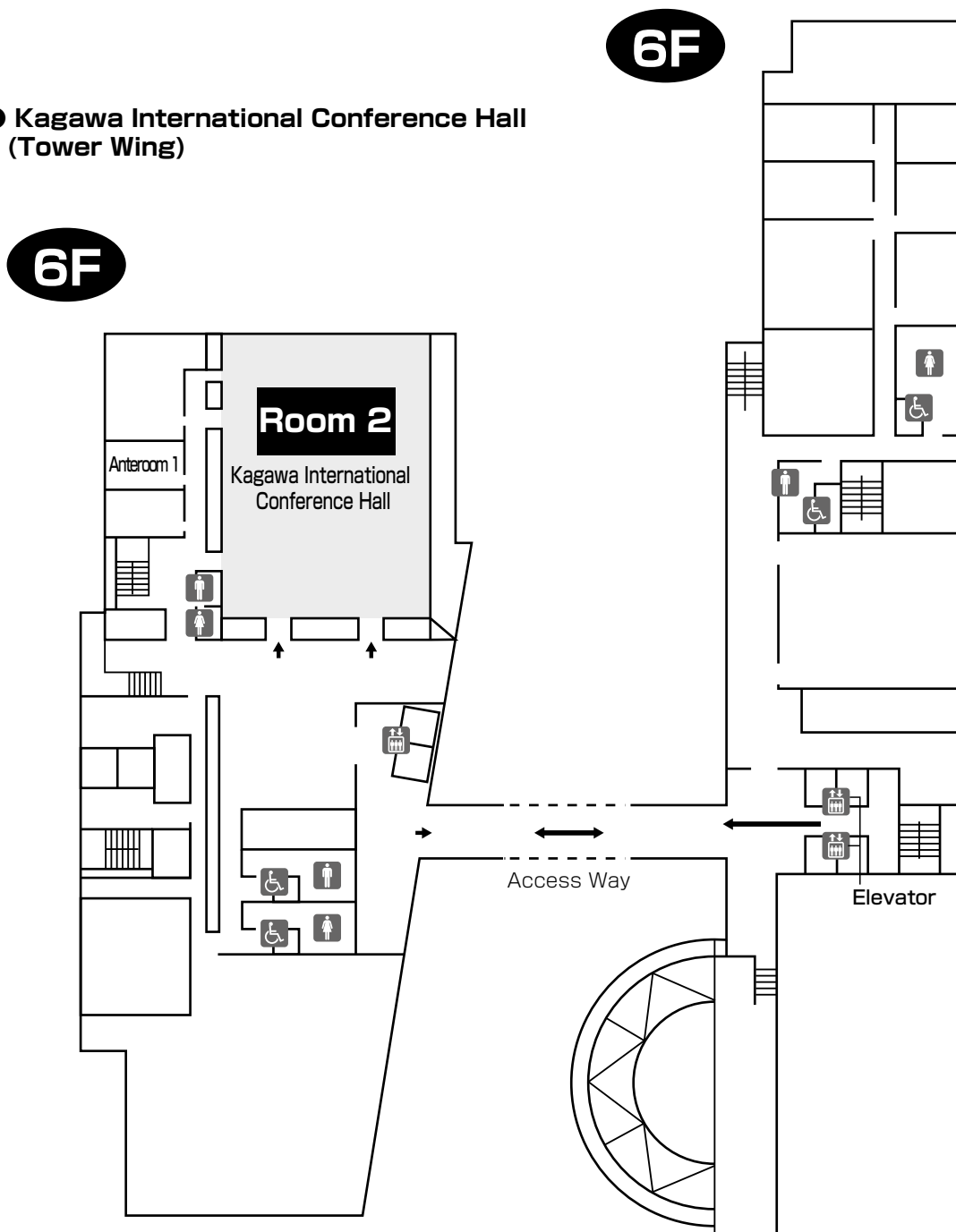
## ● Sunport Hall Takamatsu (Hall Wing)



# Floor Plan

● Sunport Hall Takamatsu(Hall Wing)

● Kagawa International Conference Hall (Tower Wing)



# General Information

---

## ❖ To the Participant

1. General Reception is located at 3F Lobby.

◆ Date and Time

January 28th (Thu.) 8 : 00 ~ 17 : 00

January 29th (Fri.) 8 : 00 ~ 15 : 30

2. Early registration

1) Early registration through the website

Name card will be sent only domestically to those who have completed Early registration through the website by December 4th, 2015. You are kindly asked to bring your name card to the venue on the day. Your name card will not be sent if your payment has not been confirmed by December 8th, 2015. In this case, you will be asked to pay the fee for On-site registration.

2) Early registration from abroad by “Early Registration Form (Excel)”

Please printout e-mail sent to the registered e-mail address and bring it to the Early registration desk in the venue. Please note that the registration fee should be paid by cash only (Japanese Yen (¥)). The payment by credit card cannot be accepted. After payment of the registration fee, you will receive a receipt and a name card.

3. For On-site registered participants, please fill out the On-site registration form and make the payment for Registration fee at the On-site registration desk, and wear provided name card throughout the congress. Students must exhibit student IDs.

Member : 12,000 Yen

Student Member : 6,000 Yen

Non-Member : 18,500 Yen ※ Included abstract book fee (5,000 yen)

※ Honorary and meritorious members are free of charge. Please come to a General Information desk on the day.

4. The abstract book will be mailed to the members in advance, so please bring it on the day.

Extra copies of the abstract book will be available at 2,000 yen for members, 5,000 yen for non-members and 2,000 yen for Students per issue.

5. For questions and discussions, please follow the chairperson's instructions and state your name and affiliation first by using the provided microphone.

6. Smoking is not allowed inside the venue.

7. Please turn off your cell phones or set them to be silent mode inside the venue.

8. Lunch boxes will be provided during Luncheon Seminars. You can also use restaurants in the vicinity of the venue.

9. Company Exhibitions will be held. Refreshment corner, Wi-Fi corner and Drink corner will also be available at the Exhibition Hall.

Place: 1F Exhibition Hall, 3F Lobby  
 Date and Time: January 28th (Thu.) 8 : 30 ~ 18 : 00  
 January 29th (Fri.) 8 : 30 ~ 15 : 20

10. Cloakroom

Place: 3F Lobby  
 Date and Time: January 28th (Thu.) 8 : 00 ~ 18 : 30 ※  
 January 29th (Fri.) 8 : 00 ~ 17 : 30  
 ※ The participants attending the Social Gathering Banquet can use the cloakroom at the banquet venue (JR Hotel Clement Takamatsu).

11. The paging service will not be available in the venue.

Please use the message board located at the General reception (3F Lobby).

12. Photography and video or sound recording are prohibited in the venue.

13. Please take the charge of your valuables.

14. For the payment of annual membership fee, new member enrollment, and the alteration registration, please contact to JSTP Secretariat desk (3F Lobby).

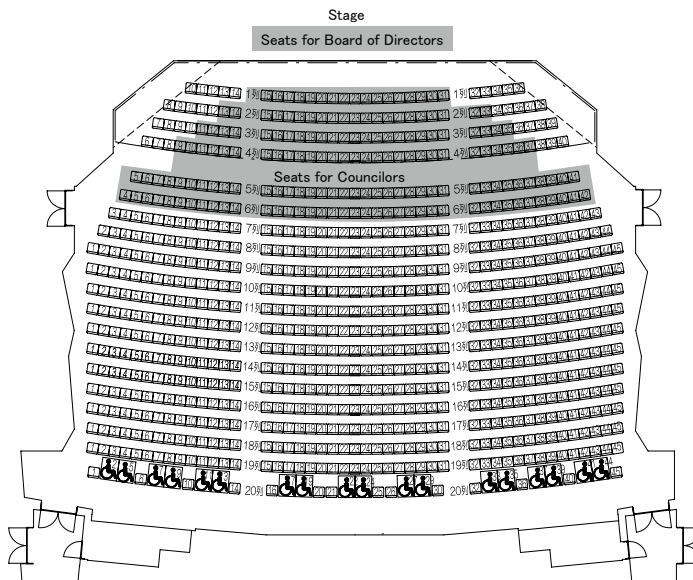
We sell the Supplement of INHAND published by STP and JSTP, for JPY 3,000 (tax included). As the sale ends as soon as the present stock has run out, early purchase is recommended.

◆ Date and Time

January 28th (Thu.) 8 : 00 ~ 17 : 00  
 January 29th (Fri.) 8 : 00 ~ 14 : 30

❖ General Assembly and Board of Councilors

Place: 3F Main Hall  
 Date and Time: January 29th (Fri.) 15 : 30 ~ 17 : 00  
 Agenda: Performance and annual review in 2015  
 Budget and planning for annual performance in 2016  
 Election of Directors  
 Recommendation: Meritorious Members  
 Councilors



## ❖ Luncheon Seminar

Free tickets for Luncheon Seminars will be provided at the Luncheon Seminar Ticket Desk (3F Lobby).

### ◆ Date and Time

January 28th (Thu.) 8 : 00 ~ 11 : 00  
January 29th (Fri.) 8 : 00 ~ 11 : 00

### Luncheon Seminar I

January 28th (Thu.) 12 : 00 ~ 13 : 00 Room2 (6F International Conference Hall)

「Understand Sperm Damage Beyond the Light Microscope」

Speaker: Klaus Weber (AnaPath GmbH)  
Chairman: Michito Takahashi (Pathology Peer Review Center)  
Co-sponsor: AnaPath GmbH/Safety Alliance

### Luncheon Seminar II

January 28th (Thu.) 12 : 00 ~ 13 : 00 Room3 (5F Small Hall 2)

「Comparison of pathological characteristics between severely immunodeficient NOG and NSG mice」

Speaker: Mariko Nagatani (BoZo Research Center Inc.)  
Co-sponsor: BoZo Research Center Inc.

### Luncheon Seminar III

January 29th (Fri.) 12 : 00 ~ 13 : 00 Room2 (6F International Conference Hall)

「Bias in Image Analysis and its Solution: Unbiased Stereology

– Updated Information and Availability for Stereology in Toxicity Studies –」

Speaker: Danielle Brown (WIL Research)  
Chairman: Katsuhiko Yoshizawa (Pathology II, Kansai Medical University)  
Co-sponsor: WIL Research

### Luncheon Seminar IV

January 29th (Fri.) 12 : 00 ~ 13 : 00 Room3 (5F Small Hall 2)

「Historical background pathology data for selection of rat strain in carcinogenicity studies」

Speaker: Luc Chouinard (Charles River Laboratories Montreal ULC)  
Chairman: Hideki Wanibuchi (Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine)  
Co-sponsor: Charles River Laboratories Japan, Inc.

## ❖ President's Awards (Best Award, Excellent Award, Case Study Award)

Please note that abstracts marked with asterisks (\*) are written by authors under the age of 40 and are considered for President's Awards (Best Award, Excellent Award, and Case Study Award).

## ❖ Social Gathering Banquet

Place: Room Hiten, JR Hotel Clement Takamatsu 3F

Date and Time: Jan. 28th (Thu.) 18:30 ~

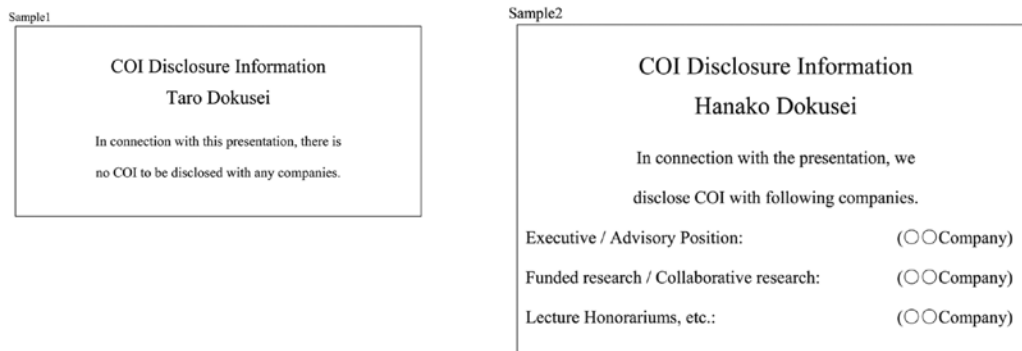
\*The Social gathering banquet requires Early registration, and On-site registration will be available at 9,000 yen (7,000 yen for students) at the General Information desk on Jan. 28th (Thu.). First come, first served. Please note that we may close registration due to limited seating.

## To the Presenters

---

### ◆ COI

- Please disclose COI (Conflict of Interest). When you are company employees, please disclose COI status with other companies.
- Presenters for Oral Presentation are required to show COI on the second slide.
- Presenters for Poster Presentation are required to show COI on the last position.



### ◆ Request to Special Lecture, Educational Lecture, Symposium, Workshop and Oral presentations

#### 1. Data and PCs

- Please bring your USB memory sticks to the PC Desk (3F Lobby) no later than 30 minutes before your presentation.
- If you use your own PC, please reconfirm your presentation data at PC Desk. And bring your PC to the PC operator desk on the left side of the lecture room at least 30 minutes before your presentation.
- An irrelevant data will be deleted completely by the congress secretariat.

#### 1) For Windows

- Please bring your USB memory stick or your own PC. (It is recommended to bring personal USB memory sticks or PC to avoid any troubles that may be caused by differences in the user environment.)
- Windows 7 based PCs with Microsoft Power Point 2007, 2010, and 2013 are available.
- To avoid display problems, please use standard OS fonts such as Century, Century Gothic, Times New Roman or Arial.
- Please bring USB memory sticks acceptable for windows.
- Please name your presentation file using your program number and your name.  
EX. O-160 Taro Yamada
- Please do not store any data except your presentation in your USB memory stick.

#### 2) For Macintosh

- Please bring your own PCs.
- USB memory stick is unavailable.

3) Notification for using your own PC.

- Monitor output with a D-sub15 pin is required. If your PC requires an adaptor for D-sub15 pin, please prepare by yourself. Please note that connections other than D-sub15 pin are unavailable.
- Please make sure to bring the power cable.
- Please bring an extra data in case of any unexpected media problems.
- Movies and sound reproductions are not allowed.
- Please bring your PC with you when you finish your presentation.

2. **Presentation**

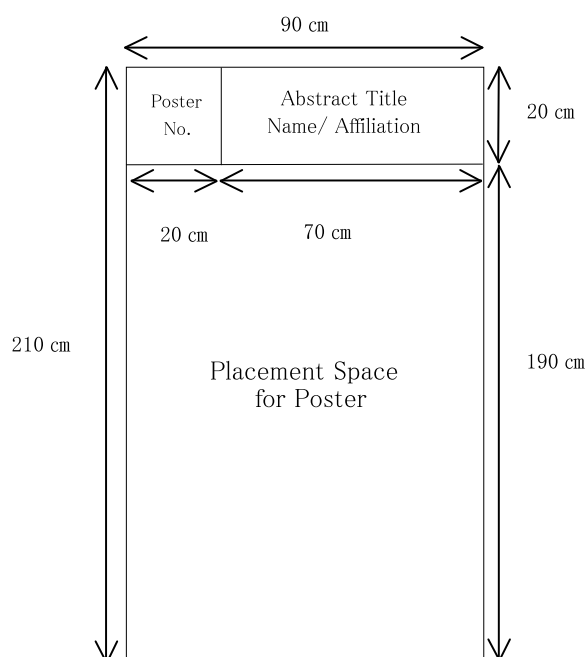
- When the prior presenter starts his/her presentation, please sit in the Next-Presenter seat.
- The monitor, pad and mouse will be provided on the rostrum. Please use them by yourself with looking at the screen and use the cursor of the mouse or a laser pointer as a pointer.
- Presenter's tool will not be available during presentation.

3. **Time allocation**

Session	Presentation	Q&A	Time indicator lamp
Symposium Workshop	Please follow the instruction informed you in advance		Yellow light will turn on 1 minute before the presentation time ends.
Oral Presentation	8 min	4 min	Red light will turn on when presentation time ends.

◆ **Request to Poster Presenters**

- Poster panel size is described as right figure.
  - Poster number tags (20 cm × 20 cm) will be provided by the congress secretariat. Please indicate your abstract title, name and affiliation in the upper area of the poster panel.
  - The placement space for the poster is height 190 cm and width 90 cm. The space for the poster number should be secured when you place your poster from the top edge. (If your poster would be placed to the bottom, please be careful of the placement to avoid getting difficult to see.)
  - Japanese language is acceptable.





2. Please set up and remove your poster according to the time table below.

Date	Setup	Presentation and discussion	Removal
<b>January 28th (Thu.)</b>	8 : 00~9 : 00	17 : 00~18 : 00	18 : 00~18 : 30
<b>January 29th (Fri.)</b>	8 : 00~9 : 00	14 : 20~15 : 20	15 : 50~17 : 20

※ In case your poster is not removed during the period, the secretariat properly disposes of the poster.

3. Pushpins and presenter's ribbon are available for each poster panels.

Please wear presenter's ribbon during presentation time.

4. Please proceed with your presentations by chairman's instructions.

10 minutes are prepared for each presenter (5 minutes for presentation and 5 minutes for discussion).

Please be strict to your presentation time.

Please note that the bell rings the following 2 times.

1. after the presentation (after a lapse of 5 minutes)
2. after the Q & A (after a lapse of 10 minutes)

### ◆ President's Awards (Best Award, Excellent Award, Case Study Award)

Please note that abstracts marked with asterisks (\*) are written by authors under the age of 40 and are considered for President's Awards (Best Award, Excellent Award and Case Study Award).

# Timetable

<b>Jan. 27 (Wed)</b>			
	Room 2 (6F International Conference Hall)	Room 3 (5F Small Hall 2)	JR Hotel Clement Takamatsu (2F Miyabi)
8:00			
9:00			
10:00			
11:00			
11:00	11:00	11:10	
12:00	<b>28th Slide Conference</b>	<b>Educational Committee</b>	
12:00		12:10	
13:00		12:30	
14:00		<b>Editorial Committee</b>	
15:00		14:30	
16:00		15:00	
17:00		<b>Board Meeting</b>	
17:00	17:00	17:00	
18:00	17:20		
18:00	<b>Explanation of Exam Questions</b>		
19:00	18:20		
20:00			
21:00			20:45
22:00			<b>International President's Meeting</b>
23:00			21:45
			22:00
			<b>IFSTP EC Meeting</b>
			23:00

# Timetable

<b>Jan. 28 (Thu)</b>					
	Room 1 (3F Main Hall)	Room 2 (6F International Conference Hall)	Room 3 (5F Small Hall 2)	Poster (1F Exhibition Hall)	5F Conference Room 51
8:00				8:00	
	8:20~ Opening ceremony			<b>Poster Setup</b>	
9:00	8:30 <b>Oral Presentation I</b> O-01~ O-08			9:00	
10:00	10:10				
	10:20				
11:00	<b>Workshop</b> Chair : Kumiko Ogawa Hideki Wanibuchi				
	11:50				
12:00		12:00 <b>Luncheon Seminar I</b> AnaPath GmbH/Safety Alliance	12:00 <b>Luncheon Seminar II</b> BoZo Research Center Inc.		12:00 <b>Board Certification Committee</b>
13:00		13:00	13:00	<b>Poster Viewing</b>	13:00
	13:10 <b>Educational Lecture</b> Speaker : Robert R. Maronpot Chair : Shim-mo Hayashi				
14:00	14:10 <b>Special Lecture I</b> Speaker : Kunitoshi Mitsumori Chair : Dai Nakae				
15:00	15:10				
	15:20 <b>Oral Presentation II</b> O-09~ O-15	15:20 <b>Oral Presentation III</b> (Case Report) O-16~ O-22			
16:00	16:50	16:50			
17:00				17:00 <b>Poster Presentation I</b> P-01~ P-34	
18:00				18:00 <b>Poster Removal</b> 18:00~18:30	
19:00	18:30~ <b>Social Gathering Banquet</b> JR Hotel Clement Takamatsu 3F Room Hiten				
20:00					
21:00					
22:00					
23:00					

# Timetable

<b>Jan. 29 (Fri)</b>					
	Room 1 (3F Main Hall)	Room 2 (6F International Conference Hall)	Room 3 (5F Small Hall 2)	Poster (1F Exhibition Hall)	5F Conference Room 51
8:00				8:00 <b>Poster Setup</b>	
9:00	8:40  <b>Symposium</b> Chair : Yuji Oishi Hiroshi Onodera			9:00	
10:00	10:40				
11:00	10:50 <b>Special Lecture II</b> Speaker : Samuel M. Cohen Chair : Katsumi Imaida 11:50			<b>Poster Viewing</b>	
12:00		12:00 <b>Luncheon Seminar III</b> WIL Research 13:00	12:00 <b>Luncheon Seminar IV</b> Charles River Laboratories Japan, Inc. 13:00		12:00 <b>New Editorial Committee</b>
13:00					13:00
14:00	13:10 <b>Oral Presentation IV</b> O-23~ O-26 14:00	13:10 <b>Oral Presentation V</b> O-27~ O-30 14:00			
15:00				14:20 <b>Poster Presentation II</b> P-35~ P-71 15:20	
16:00	15:30 <b>Board of Councilors</b> <b>The General Assembly</b> <b>Awards Ceremony</b> <b>Closing Ceremony</b> 17:00			15:50  <b>Poster Removal</b>	
17:00				17:20	
18:00					
19:00					
20:00					
21:00					
22:00					
23:00					

# Program

---

## Special Lecture I

January 28 (Thursday) 14 : 10~15 : 10

Room 1 [3F Main Hall]

Chair : Dai Nakae (Laboratory of Food Safety Assessment Science, Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture)

- SL-01 Toxicologic Pathology in the Risk Assessment of Chemicals: Challenges of the Limitations  
○Kunitoshi Mitsumori  
Professor Emeritus, Tokyo University of Agriculture and Technology

## Special Lecture II

January 29 (Friday) 10 : 50~11 : 50

Room 1 [3F Main Hall]

Chair : Katsumi Imaida (Onco-Pathology, Department of Pathology and Host-Defense, Faculty of Medicine, Kagawa University)

- SL-02 Critical Role of Toxicologic Pathology in a Short-Term Screen for Carcinogenicity  
○Samuel M. Cohen  
Department of Pathology and Microbiology, University of Nebraska Medical Center, USA

## Educational Lecture

January 28 (Thursday) 13 : 10~14 : 10

Room 1 [3F Main Hall]

Chair : Shim-mo Hayashi (Global Scientific and Regulatory Affairs, San-Ei Gen F.F.I., Inc.)

Co-Sponsor : IATP

- EL Adverse, Non-adverse, and Adaptive Responses in Toxicologic Pathology  
○Robert R. Maronpot  
Chair, IATP Education Committee  
Maronpot Consulting LLC, USA

## Symposium

January 29 (Friday) 8 : 40~10 : 40

Room 1 [3F Main Hall]

Chair : Yuji Oishi (Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.)

Hiroshi Onodera (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency)

### The Risk Assessment and Toxicologic Pathology in the Various Fields

---

- SY-01 Risk Assessment in Food Safety and Relevant Toxicologic Pathology  
○Shim-mo Hayashi  
Global Scientific and Regulatory Affairs, San-Ei Gen F.F.I., Inc.
- SY-02 Risk assessment of industrial chemicals and toxicologic pathology  
○Tsutomu Ichiki  
Center for Clinical and Translational Research Kyushu University
- SY-03 Risk assessment of Pesticide and Relevant Toxicologic Pathology  
○Satoshi Furukawa  
Nissan Chemical Industries, LTD. Biological Research Laboratories
- SY-04 Risk assessment of environmental chemicals and toxicologic pathology  
○Hideki Wanibuchi  
Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

## Workshop

January 28 (Thursday) 10 : 20~11 : 50

Room 1 [3F Main Hall]

Chair : Kumiko Ogawa (Division of Pathology, National Institute of Health Sciences)

Hideki Wanibuchi (Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine)

### Current Trends of Carcinogenesis Research

---

- WS-01 Mechanisms of aberrant DNA methylation induction by chronic inflammation  
○Hideyuki Takeshima, Toshikazu Ushijima  
Division of Epigenomics, National Cancer Center Research Institute
- WS-02 Sleeping Beauty transposon-mediated mouse liver cancer model – Relationship of cancer-related genes with cancer phenotypes  
○Masahiro Yamamoto  
Division of Tumor Pathology, Department of Pathology, Asahikawa Medical University
- WS-03 A novel approach for detection of chemical carcinogenicity using 3D-cultured normal epithelia derived from genetically modified mice  
○Toshio Imai<sup>1</sup>, Masako Ochiai<sup>1</sup>, Tetsuya Matsuura<sup>2</sup>, Hitoshi Nakagama<sup>1</sup>, Yoshitaka Hippo<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., <sup>2</sup>Yokohama City Univ., <sup>3</sup>Chiba Cancer Ctr. Res. Inst.

- WS-04 The mechanism of radiation carcinogenesis depending on age at exposure  
– Based on the analysis of radiation-induced mouse thymic lymphomas –  
○Masaaki Sunaoshi<sup>1)</sup>, Yoshiko Amasaki<sup>1)</sup>, Shinobu Sakairi<sup>1)</sup>, Benjamin Blyth<sup>1,2)</sup>,  
Takamitsu Morioka<sup>1,2)</sup>, Mutsumi Kaminishi<sup>1)</sup>, Yi Shang<sup>2)</sup>, Mayumi Nishimura<sup>1,2)</sup>,  
Yoshiya Shimada<sup>1,2)</sup>, Akira Tachibana<sup>2)</sup>, Shizuko Kakinuma<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>Radiobiology for Children's Health Program, Research Center for Radiation Protection, National Institute of Radiological Sciences

<sup>2)</sup>Radiation Effect Accumulation and Prevention Project, Fukushima Project Headquarters, National Institute of Radiological Sciences

<sup>3)</sup>Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Ibaraki University



## Oral Presentation I

January 28 (Thursday) 8 : 30~10 : 10

Room 1 [3F Main Hall]

Chair : Makoto Shibutani (Tokyo University of Agriculture and Technology, Laboratory of Veterinary Pathology)  
Satoru Hosokawa (Tsukuba Drug Safety, Eisai Co., Ltd.)

O-01      Suppressive effect of apocynin, NADPH oxidase inhibitor, on rat hepatocarcinogenesis  
○Shugo Suzuki<sup>1,2)</sup>, Aya Naiki<sup>1)</sup>, Shinya Sato<sup>1)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>1)</sup>, Toshiya Kuno<sup>1)</sup>,  
Satoru Takahashi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ., <sup>2)</sup>Pathol. Div., Nagoya City East Med., Ctr.

O-02 \*    Involvement of CAR in Tumorigenesis Induced by Acifluorfen  
○Kazunori Kuwata<sup>1,2,3)</sup>, Kaoru Inoue<sup>1)</sup>, Miwa Takahashi<sup>1)</sup>, Ryohei Ichimura<sup>1)</sup>,  
Tomomi Morikawa<sup>1)</sup>, Yukio Kodama<sup>4)</sup>, Midori Yoshida<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>Div. Path., NIHS, <sup>2)</sup>Drug Dev. Div., MTPC., <sup>3)</sup>Fac. Agri., TUAT., <sup>4)</sup>Div. Toxicol., NIHS,

<sup>5)</sup>Food Safety Commission, Cabinet Office

O-03 \*    Connexin 32 dysfunction promotes ethanol-related hepatocarcinogenesis via activation  
of Dusp1-Erk axis in rats

○Hiroyuki Kato, Aya Naiki-Ito, Satoshi Fuji, Shugo Suzuki, Shinya Sato,  
Toshiya Kuno, Satoru Takahashi

Dep. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

O-04 \*    Possible involvement of oxidative stress in hepatocarcinogenesis in mice treated with  
piperonyl butoxide

○Masako Tasaki<sup>1)</sup>, Yuichi Kuroiwa<sup>1)</sup>, Tomoki Inoue<sup>1)</sup>, Daisuke Hibi<sup>1)</sup>, Kohei Matsushita<sup>1)</sup>,  
Aki Kijima<sup>1)</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>2)</sup>, Takashi Umemura<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Div. of Path., NIHS, <sup>2)</sup>BSRC, NIHS

---

Chair : Munehiro Teranishi (Daiichi Sankyo Co., Ltd., R&D/PV Quality Assurance Department)  
Jyoji Yamate (Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University)

O-05      Molecular biological characteristics of experimental high metastatic clones of rat  
RCC

○Shotaro Yamano<sup>1)</sup>, Kenji Yamada<sup>2)</sup>, Kentaro Kajiwara<sup>3)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>4)</sup>,  
Hideki Wanibuchi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Osaka City University, <sup>2)</sup>National Cancer Center Research Institute, <sup>3)</sup>Osaka University, <sup>4)</sup>Setsunan University

O-06 \*    Possible mechanisms underlying exacerbation of osmotic nephrosis in the presence of  
kidney injury-2-

○Kohei Matsushita<sup>1)</sup>, Shinji Takasu<sup>1)</sup>, Ken Kuroda<sup>1)</sup>, Yuji Ishii<sup>1)</sup>, Aki Kijima<sup>1)</sup>,  
Keisuke Kitaura<sup>2)</sup>, Makoto Sato<sup>2)</sup>, Satoshi Matsumoto<sup>2)</sup>, Takashi Umemura<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Div. Path., NIHS, <sup>2)</sup>Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

- O-07 \* Chemopreventive and chemotherapeutic effects of luteolin on rat prostate cancer  
○Aya Naiki-Ito, Hiroyuki Kato, Shinya Sato, Shugo Suzuki, Toshiya Kuno,  
Satoru Takahashi  
Dept. Exp. Path. & Tumor Biol., Nagoya City Univ. Grad. Sch. Med. Sci.
- O-08 LAT1 and 4F2hc expression in tumor microvasculature of BBN induced rat bladder carcinoma  
○Tomoko Mutou<sup>1)</sup>, Shin Wakui<sup>2)</sup>, Yoshikatsu Kanai<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>Toxicol and Pathol Res, SRICC, <sup>2)</sup>Dept of Tox., Azabu Univ. Such. Vet. Med.,  
<sup>3)</sup>Dept. Pharmacol., Osaka Univ. Grad. Sch. Med.

## Oral Presentation II

January 28 (Thursday) 15 : 20~16 : 50

Room 1 [3F Main Hall]

Chair : Satoru Takahashi (Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences)  
Naofumi Takahashi (The Institute of Environmental Toxicology)

- O-09 \* Study on mechanism of dammar resin induced hepatocarcinogenesis in rats  
○Masaki Fujioka, Min Gi, Shotaro Yamano, Satoko Kawachi, He Fang,  
Masanori Takeshita, Hideki Wanibuchi  
Dept. Mol. Path., Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.
- O-10 \* Responses of cell cycle proteins in rat liver cells to hepatocellular carcinogens/  
promoters at the early post-initiation phase  
○Masayuki Kimura<sup>1,2)</sup>, Sayaka Mizukami<sup>1,2)</sup>, Yumi Kangawa<sup>1)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>,  
Makoto Shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.
- O-11 Identification of foreign materials on the histological section by micro-FTIR and Raman spectroscopy  
○Hitomi Hagiwara<sup>1)</sup>, Ryouhei Asou<sup>1)</sup>, Yoriko Inomata<sup>1)</sup>, Saki Ozawa<sup>1)</sup>, Yoshiko Kondou<sup>1)</sup>,  
Atsushi Isobe<sup>1)</sup>, Junko Souba<sup>1)</sup>, Masako Tasaki<sup>1)</sup>, Kasuke Nagano<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>TERUMO Co., <sup>2)</sup>Nagano Toxicologic-Pathology Consulting
- O-12 International Globalization of Findings in Toxicologic Pathology by Peer Review and INHAND, and Consideration  
○Hijiri Iwata<sup>1)</sup>, Takayuki Anzai<sup>2)</sup>, Michihito Takahashi<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>LunaPath LLC, Laboratory of Toxicologic Pathology, <sup>2)</sup>Showa University School of Medicine,  
<sup>3)</sup>Pathology Peer Review Center

Chair : Naoki Yoshimi (Dept. Pathol. Oncol., Univ. Ryukyus Med. Sch.)

O-13 Distribution of *Lgr5*-expressing epithelial stem cells in the regenerative process of gastric ulcer in mice

○Akihiro Hirata<sup>1)</sup>, Kengo Namiki<sup>2)</sup>, Hiroki Sakai<sup>2)</sup>, Hiroyuki Tomita<sup>3)</sup>, Akira Hara<sup>3)</sup>, Tokuma Yanai<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Div. Animal Exp., Gifu Univ., <sup>2)</sup>Lab. Vet. Pathol., Gifu Univ., <sup>3)</sup>Dept. Tumor Pathol., Gifu Univ.

O-14 Radiation protection and blood pressure decreasing effect by miso of different fermented time

○Hiromitsu Watanabe<sup>1,2)</sup>, Megumi Sasatani<sup>1)</sup>, Atsuko Takahashi<sup>2)</sup>, Yuichiro Miyasaka<sup>3)</sup>, Masao Yoshizumi<sup>4)</sup>, Tsutomu Masujima<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>RIRBM, Hiroshima Univ, <sup>2)</sup>Riken, <sup>3)</sup>Miyasaka Jozo Co. LTD., <sup>4)</sup>Gra. Sci. Biomed. Health, Hiroshima Univ.

O-15 \* The risk of colorectal cancer in individuals with SNPs in NRF2 evaluated by using an experimental model of human colorectal cancer

○Yuh Yokoo, Aki Kijima, Yuji Ishii, Shinji Takasu, Takuma Tsuchiya, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura

Divisions of Pathology, National Institute of Health Sciences

## Oral Presentation III (Case Report)

January 28 (Thursday) 15 : 20~16 : 50 Room 2 [6F International Conference Hall I]

Chair : Kosei Inui (Safety Science Research Laboratory, Central Research Institute, Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.)  
Toru Hoshiya (BoZo Research Center Inc.)

O-16 \* Cerebellar atrophy in a MRL/lpr mouse

○Kazufumi Kawasako, Shino Kumabe, Takafumi Oshikata, Mikio Mitsuishi, Masao Hamamura

Pathology Department, Nonclinical Research Center, LSI Medience Corporation

O-17 \* Ophthalmologic and histopathological investigation of an enlarged eye in a Sprague-Dawley rat

○Norifumi Takimoto, Ken Kuroda, Harutaka Oku, Daisuke Hibi, Kenji Nakamura, Atsuko Murai, Koji Shimouchi, Mikio Konishi

Safety Research Laboratories, Discovery and Research, ONO Pharmaceutical Co., Ltd.

O-18 \* A spontaneous histiocytic sarcoma in an 11-week-old female SD rat

○Yuka Nakano, Kaori Noishiki, Takanobu Okazaki, Kimiaki Hirakawa, Kinji Kobayashi  
Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

O-19 The Significance of Bile Duct Components in the Diagnosis of Malignant Liver Tumors in Mice

○Atsushi Shiga, Yasufumi Ota, Masayo Hosoi, Rumiko Miyajima, Kazushige Hasegawa, Isao Narama

Public Interest Incorporated Foundation, Biosafety Research Center (BSRC)

Chair : Katsuhiko Yoshizawa (Pathology II, Kansai Medical University)

- O-20 \* Histopathologic characteristics in congenital kyphoscoliotic Ishibashi rats during animal growth  
○Mizuho Takagi, Yuko Yamaguchi, Tomomi Nakazawa, Natsumi Shimoyama, Masao Takano, Kazutoshi Tamura, Toru Hoshiya  
BoZo Research Center Inc.
- O-21 Spontaneous testicular changes in Microminipigs  
○Akihisa Kangawa, Masayoshi Otake, Satoko Enya, Masatoshi Shibata  
Shizuoka Prefectural Research Institute of Animal Industry, Swine and Poultry Research Center
- O-22 \* Morphological and immunohistochemical features of mammary adenocarcinoma in pregnant Sprague-Dawley rats  
○Ayako Sayama, Takashi Aoki, Shinobu Hakamata, Kayoko Ishikawa, Isao Igarashi, Toshihiko Makino, Kiyonori Kai, Wataru Takasaki  
Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

## Oral Presentation IV

January 29 (Friday) 13 : 10~14 : 00

Room 1 [3F Main Hall]

Chair : Kiyokazu Ozaki (Laboratory of Pathology, Setsunan University)  
Masami Suzuki (Research Division, Chugai Pharmaceutical Co.,Ltd.)

- O-23 \* Late Onset Effect of Iminodipropionitrile on Mouse Hippocampal Neurogenesis with Epigenetic Toxicity  
○Takeshi Tanaka<sup>1,2)</sup>, Yasuko Hasegawa-Baba<sup>1)</sup>, Megu Itahashi<sup>1,2)</sup>, Katsuhide Igarashi<sup>3)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>UGSVS, Gifu Univ., <sup>3)</sup>L-StaR, Hoshi Univ.
- O-24 \* Myocardial lesions with nuclear alteration and hydropic degeneration induced by Amphotericin B in monkeys  
○Ryosuke Kobayashi<sup>1)</sup>, Daiki Kobayashi<sup>2)</sup>, Takashi Hirashima<sup>2)</sup>, Hideki Harada<sup>2)</sup>, Yasuyuki Oonishi<sup>2)</sup>, Takuya Doi<sup>1)</sup>, Yumi Wako<sup>1)</sup>, Takeshi Kanno<sup>1)</sup>, Minoru Tsuchitani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Pathology Department, LSI Medience Corporation,  
<sup>2)</sup>Safety Assessment Department, LSI Medience Corporation
- O-25 Activation of ERK1/2 on DHPN-induced lung carcinogenesis in F344 rats  
○Keiko Yamakawa<sup>1)</sup>, Masanao Yokohira<sup>1)</sup>, Yuko Narusawa<sup>1)</sup>, Shohei Kanie<sup>1)</sup>, Shota Yoshida<sup>1)</sup>, Kousuke Saoo<sup>1,2)</sup>, Katsumi Imaida<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Onco-Pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University, <sup>2)</sup>Kaisei General Hosp.

- O-26 Histopathological changes induced by multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) lung deposition due to inhalation exposure to rats  
○Shigetoshi Aiso, Kenji Takanobu, Taku Katagiri, Hideki Senoh, Yumi Umeda,  
Shoji Fukushima  
Japan Bioassay Research Center

## Oral Presentation V

January 29 (Friday) 13 : 10~14 : 00

Room 2 [6F International Conference Hall]

Chair : Hijiri Iwata (LunaPath LLC, Laboratory of Toxicologic Pathology)

Satoshi Furukawa (Nissan Chemical Industries, LTD. Biological Research Laboratories)

- O-27 Histopathological analyses of calcified atherosclerosis in ApoE-knockout mice  
○Masa-Aki Shibata<sup>1)</sup>, Eiko Shibata<sup>2)</sup>, Mariko Harada-Shiba<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab. Anatomy & Histopathol, Grad. Sch. of Health Sci., Osaka Health Sci. Univ.,  
<sup>2)</sup>Dept. of Mol. Innov. in Lipidol, Natl. Cereb. & Cardiovasc. Centr. Res.
- O-28 In vivo toxicity and effectiveness of Mcl-1-targeting small-molecule inhibitors  
○Kenichiro Doi, Hideki Wanibuchi, Min Gi, Anna Kakehashi, Naomi Ishii,  
Shotaro Yamano  
Molecular Pathology, Osaka City Univ. Graduate School of Medicine
- O-29 Alveolar hyperplastic lesions observed in rats administered multi-wall carbon nanotube by repeated intratracheal instillation  
○Yoshimitsu Sakamoto<sup>1)</sup>, Motoki Hojo<sup>1)</sup>, Akihiko Hirose<sup>2)</sup>, Akiko Inomata<sup>1)</sup>, Dai Nakae<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>Tokyo, Metropl. Inst. Pub. Health, <sup>2)</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agricul.
- O-30 Lung Carcinogenesis in Rats Exposed to Multi-walled Carbon Nanotubes (MWCNT) by Whole Body Inhalation  
○Yumi Umeda, Hideki Senoh, Kenji Takanobu, Taku Katagiri, Shigetoshi Aiso,  
Tatsuya Kasai, Makoto Ohnishi, Shoji Fukushima  
Japan Bioassay Research Center, JISHA

## Poster Presentation I -1

January 28 (Thursday) 17 : 00~18 : 00

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Shigetoshi Aiso (Japan Bioassay Research Center)  
Akihito Shimoi (Ina Research Inc.)

- P-01      Effects of magnetite nanoparticles on carcinogenicity of DHPN in Fischer 344 rats  
○Y Tada<sup>1)</sup>, H Takahashi<sup>1)</sup>, K Yuzawa<sup>1)</sup>, H Ando<sup>1)</sup>, Y Kubo<sup>1)</sup>, A Nagasawa<sup>1)</sup>, F Kaihoko<sup>1)</sup>,  
M Houjou<sup>1)</sup>, A Inomata<sup>1)</sup>, D Nakae<sup>2)</sup>, M Kurita<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, <sup>2)</sup> Tokyo University of Agriculture
- P-02 \*      The expression of S100A4 in the DHPN-induced lung tumors of rats  
○Yuko Narusawa<sup>1)</sup>, Masanao Yokohira<sup>1)</sup>, Keiko Yamakawa<sup>1)</sup>, Shohei Kanie<sup>1)</sup>,  
Shota Yoshida<sup>1)</sup>, Kousuke Saoo<sup>1,2)</sup>, Katsumi Imaida<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Onco-Pathol., Fac. Med., Kagawa Univ., <sup>2)</sup>Kaisei General Hosp.
- P-03 \*      Temporal and Quantitative Histological Analysis using Whole slides of Bleomycin  
Induced Pulmonary Fibrosis in Mice  
○Yuta Fujii, Masamitsu Aoki, Tomoaki Tochtani, Mami Kouchi, Izumi Matsumoto,  
Toru Yamada, Hitoshi Funabashi  
Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.
- P-04      26-week carcinogenesis study of 1,2-dichloroethane by repeated topical application  
using rash2 mice  
○Takamasa Numano<sup>1)</sup>, Mayuko Suguro<sup>1)</sup>, Yuko Doi<sup>1)</sup>, Mayumi Kawabe<sup>1)</sup>, Koji Urano<sup>2)</sup>,  
Hideki Tsutsumi<sup>2)</sup>, Akihiro Hagiwara<sup>1)</sup>, Yukinori Mera<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>DIMS Institute of Medical Science, <sup>2)</sup>Central Institute for Experimental Animals

## Poster Presentation I -2

January 28 (Thursday) 17 : 00~18 : 00

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Takatoshi Koujitani (Preclinical Research Management Group, Preclinical Research Laboratories, Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.)  
Masanao Yokohira (Onco-Pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University)

- P-05      Effects of multiwall carbon nanotube on the pulmonary injury and expression status of  
specific cytokines  
○Harutoshi Matsumoto<sup>1)</sup>, Katsumi Fukamachi<sup>1)</sup>, Mitsuru Futakuchi<sup>1)</sup>, Hiroyuki Tsuda<sup>2)</sup>,  
Masumi Suzui<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Dep. Mol. Toxicol., Grad. Sch. Med. Sci. Sch., Nagoya City Univ, <sup>2)</sup>Nanotoxicol. Project., Nagoya City Univ.
- P-06      Adjuvant effects of transcutaneously exposed silver nanoparticles  
○Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1)</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>,  
Tadashi Hirata<sup>1,3)</sup>, Mizuki Sone<sup>1,4)</sup>, Reiko Adachi<sup>2)</sup>, Yoshie Kimura<sup>2)</sup>,  
Tomoko Nishimaki-Mogami<sup>2)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Div. Path. NIHS, <sup>2)</sup>Div. Biochem., NIHS, <sup>3)</sup>Showa Univ., <sup>4)</sup>Tokyo Univ. Agricul. Technol.

- P-07 \* Permeability of skin to nano platinum particles after the epidermal skin barrier is disrupted  
○Fumiaki Kumagai<sup>1)</sup>, Mai Todoroki<sup>1)</sup>, Mika Senuma<sup>1)</sup>, Yoshiaki Saito<sup>1)</sup>,  
Kazuma Higashisaka<sup>2)</sup>, Yasuo Yoshioka<sup>2)</sup>, Yasuo Tsutsumi<sup>2)</sup>, Makiko Kuwagata<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Hatano Research Institute, FDSC, <sup>2)</sup>Grad. Sch. of Pharm. Sci., Osaka University
- P-08 Development of Two-Stage Ultra-Short-Term Skin Carcinogenicity Model Using rasH2 Mice  
○Mayuko Suguro<sup>1)</sup>, Mayumi Kawabe<sup>1)</sup>, Takamasa Numano<sup>1)</sup>, Kouji Urano<sup>2)</sup>,  
Hideki Tsutsumi<sup>2)</sup>, Yukinori Mera<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>DIMS Institute of Medical Science, Inc., <sup>2)</sup>Central Institute for Experimental Animals

## Poster Presentation I -3

January 28 (Thursday) 17 : 00~18 : 00

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Osamu Katsuta (Toxicology & Pharmacokinetics Group, Global Non-Clinical Research, Santen Pharmaceutical Co., Ltd.)  
Toshiyuki Shoda (Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.)

- P-09 Trimethyltin Chloride (TMT) Neurodevelopmental Toxicity in Embryonic Zebrafish  
○Jaehak Park, Jin Kim  
Seoul National University, Korea
- P-10 \* Histopathological changes and reversibility of olfactory epithelium induced by UFT in rats  
○Fumiko Ninomiya, Hideki Tanaka, Shota Yoshida, Shohei Kanie, Satoshi Suzuki,  
Kazuo Hakoi  
Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.
- P-11 \* Gene expression analysis for evaluation of neurotoxicity of rats after 28-day exposure to CPZ  
○Hajime Abe<sup>1,2)</sup>, Fumiyo Saito<sup>3)</sup>, Yumi Akahori<sup>3)</sup>, Nobuya Imatanaka<sup>3)</sup>,  
Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ., <sup>3)</sup>Chem. Eval. Res. Inst.
- P-12 \* Trimming of the dog brain in accordance with the STP position paper  
○Naoaki Yamada, Yuki Tomonari, Tetsuro Kurotaki, Junko Sato, Takuya Doi,  
Takeshi Kanno, Minoru Tsuchitani  
Pathology Department, Drug Development Service Segment, LSI Medience Corporation
- P-13 \* Developmental exposure effect of MNU on hippocampal neurogenesis in rat offspring  
○Yousuke Watanabe<sup>1,2)</sup>, Ayako Shiraki<sup>1,2)</sup>, Yumi Akahori<sup>3)</sup>, Nobumi Imatanaka<sup>3)</sup>,  
Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ., <sup>3)</sup>Chem. Eval. Res. Inst.



## Poster Presentation I -4

January 28 (Thursday) 17 : 00~18 : 00

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Mayumi Kawabe (DIMS Institute of Medical Science, Inc.)

Akihiro Hirata (Division of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu University)

- P-14 \* Effect of Developmental Exposure to Lead Acetate on Neurogenesis in the Hippocampal Dentate Gyrus in Mice  
○Yasuko Hasegawa<sup>1)</sup>, Takeshi Tanaka<sup>1,2)</sup>, Yousuke Watanabe<sup>1,2)</sup>, Ayako Shiraki<sup>1,2)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.
- P-15 \* Study on the development of eyelid tissues toward the eyelid opening modeled in the strain difference between Hatano high-and low-avoidance rats  
○Makoto Shinmei, Miho Takamura, Yuta Hasegawa, Miho Suzuki, Megumi Tanaka, Kanako Sueoka, Reina Nakae, Shouko Shimaooigi, Mariko Shiota  
Azabu University
- P-16 \* Evaluation of effects of wearing animal jackets or harnesses on the cornea in the rat  
○Jun Watanabe<sup>1)</sup>, Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Yoshihiro Takei<sup>1)</sup>, Haruko Koizumi<sup>1)</sup>, Tetsuyo Kajimura<sup>1)</sup>, Saki Inoue<sup>1)</sup>, Junko Sora<sup>1)</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1)</sup>, Akihito Shimoi<sup>1)</sup>, Hijiri Iwata<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Ina Research Inc., <sup>2)</sup>LunaPath LLC
- P-17 \* Histopathological examination of zebrafish eye -influence of fixatives and retinal histopathological changes with exposure to *N*-methyl-*N*-nitrosourea-  
○Yoshinori Yamagiwa, Kazuyo Sadamoto, Shingo Nemoto, Masaaki Kurata, Hideyuki Sakaki  
Toxicology Research Laboratory, Senju Pharmaceutical Co., Ltd.
- P-18 \* Age dependent target cells in L-glutamate-induced retinal damage  
○Hikaru Mitori<sup>1,2)</sup>, Yutaka Nakahara<sup>1)</sup>, Kenjiro Tsubota<sup>1)</sup>, Takeshi Izawa<sup>2)</sup>, Mitsuru Kuwamura<sup>2)</sup>, Masahiro Matsumoto<sup>1)</sup>, Jyoji Yamate<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.,  
<sup>2)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

## Poster Presentation I -5

January 28 (Thursday) 17 : 00~18 : 00

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Toshiya Kuno (Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.)

- P-19 \* Immunosuppression by prednisolone enhances *Candida albicans*-induced mucosal proliferation and chronic inflammation in alloxan-induced diabetic rats  
○Yui Terayama, Yusuke Nakajima, Tetsuro Matsuura, Isao Narama, Kiyokazu Ozaki  
Laboratory of Pathology, Setsunan University

- P-20 What lesions could be improved with eradication of *H. pylori* in the human stomach?  
Comparison of gastric and intestinal-metaplastic glands  
○Yuka Kiriya<sup>1)</sup>, Masae Tatematsu<sup>2)</sup>, Tetsuya Tsukamoto<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Dept. of Diag. Pathol., Fujita Health Univ. Sch. of Med., <sup>2)</sup>Japan Bioassay Res. Ctr.
- P-21 \* Immunohistochemical study for regional distribution of endocrine cells in the stomach of the beagle dog  
○Hirofumi Yamauchi, Hitoshi Kandori, Takeshi Watanabe  
Drug safety research laboratories, Takeda Pharmaceutical Company Limited

## Poster Presentation I -6

January 28 (Thursday) 17 : 00~18 : 00

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Tetsuya Tsukamoto (Department of Diagnostic Pathology, Fujita Health University School of Medicine)  
Kazuo Hakoi (Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.)

- P-22 The modifying effects of the extract from okinawan herb A in mouse colon carcinogenesis  
○Ai Tokeshi, Reika Takamatsu, Kazunari Arakaki, Saori Nakachi, Naoki Yoshimi  
Department of Pathology & Oncology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus
- P-23 \* Search for suppressants of colon cancer and expression analysis of Akap13 in mouse AOM/DSS model  
○Yumi Kangawa<sup>1,2)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Akira Kataoka<sup>2)</sup>, Tohru Kihara<sup>2)</sup>, Kanata Ibi<sup>2)</sup>, Shim-mo Hayashi<sup>3)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2)</sup>Kaken Pharmaceutical CO., LTD. , <sup>3)</sup>San-Ei Gen F.F.I., Inc.
- P-24 \* Strain differences between ICR and C57BL/6 mouse models of inflammation-induced colorectal tumorigenesis  
○Kota Nakajima, Yuji Nozaki, Hisayoshi Takagi, Fumio Furukawa  
Bio Technical Center, Japan SLC, Inc.
- P-25 AOM-DSS-induced inflammation related colon carcinogenesis in ob/ob mice  
○Shigeyuki Sugie<sup>1)</sup>, Fumio Furukawa<sup>1)</sup>, Takuji Tanaka<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>Dept. Pathol., Murakami Memorial Hosp., Asahi Univ., Sch. Dent.,  
<sup>2)</sup>Dept. Diag. Pathol. Res. Cent. Diag. Pathol., Gifu Mun. Hosp.

## Poster Presentation I -7

January 28 (Thursday) 17 : 00~18 : 00

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Masahiko Kushida (Sumitomo Chemical Co., Ltd. Environmental Health Science Laboratory)  
Toshihisa Fujiwara (Tanabe R&D Service Co., Ltd.)

- P-26 \* Bone toxicity induced by chronic administration of excessive fluoride in rats  
○Yuki Seki<sup>1)</sup>, Kenichi Noritake<sup>2)</sup>, Shoji Asakura<sup>1)</sup>, Akiyo Otsuka<sup>1)</sup>, Aya Goto<sup>1)</sup>,  
Yoshikazu Taketa<sup>1)</sup>, Etsuko Ohta<sup>1)</sup>, Kyoko Nakano<sup>1)</sup>, Akira Inomata<sup>1)</sup>,  
Kazuhiro Hayakawa<sup>2)</sup>, Satoru Hosokawa<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Tsukuba Drug Safety Eisai Co.,Ltd. , <sup>2)</sup>Sunplanet Co., Ltd.
- P-27 Basophilic granules in the bone and teeth tissues in fluorosis  
○Kazuhiro Hayakawa<sup>1)</sup>, Yuki Seki<sup>2)</sup>, Akira Inomata<sup>2)</sup>, Etsuko Ohta<sup>2)</sup>, Yoshikazu Taketa<sup>2)</sup>,  
Aya Goto<sup>2)</sup>, Jiro Sonoda<sup>2)</sup>, Kyoko Nakano-Ito<sup>2)</sup>, Satoru Hosokawa<sup>2)</sup>, Toyohiko Aoki<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Preclinical Safety Research, Sunplanet Co., Ltd., <sup>2)</sup>Tsukuba Drug Safety, Eisai Co., Ltd.
- P-28 \* Hemophagocytic histiocytic sarcoma in a beagle  
○Kaori Noishiki, Junko Fujishima, Kinji Kobayashi  
Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.
- P-29 \* Histopathological Changes Induced by Sucrose Iron in the Rat  
○Yusuke Kagawa, Dai Muramatsu, Kei Kijima, Miki Suehiro, Yuka Minamisawa,  
Shino Ito, Yasuhiro Kojima, Ikue Kitazawa, Kosumo Numao, Hiroaki Yamaguchi,  
Aisuke Nii  
Central Research Lab., Seikagaku Co.

## Poster Presentation I -8

January 28 (Thursday) 17 : 00~18 : 00

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Kinji Kobayashi (Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)  
Kaoru Toyosawa (Sumika Chemical Analysis Service)

- P-30 Histological background data of NOG mice  
○Kenichiro Kasahara<sup>1)</sup>, Saori Igura<sup>1)</sup>, Mariko Nagatani<sup>1)</sup>, Masahiko Yasuda<sup>2)</sup>,  
Ryo Inoue<sup>2)</sup>, Yachiyo Fukunaga<sup>1)</sup>, Hiroyuki Kanemitsu<sup>1)</sup>, Kazutoshi Tamura<sup>1)</sup>,  
Masayuki Kemi<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>BoZo Research Center Inc., <sup>2)</sup>Central Institute for Experimental Animals (CIEA)
- P-31 \* Histopathological analysis of spontaneous lesions in aged male Rcc Han:WIST rats  
○Motoki Hojo<sup>1)</sup>, Yoshimitsu Sakamoto<sup>1)</sup>, Yukie Tada<sup>1)</sup>, Katsuhiro Yuzawa<sup>1)</sup>,  
Hiroshi Ando<sup>1)</sup>, Yoshikazu Kubo<sup>1)</sup>, Akemichi Nagasawa<sup>1)</sup>, Hiroshi Takahashi<sup>1)</sup>,  
Dai Nakae<sup>2)</sup>, Akiko Inomata<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, <sup>2)</sup>Tokyo Univ. Agricul.

- P-32 Methods of combined observation by LM and TEM for tissue analysis of the artery implanted with stent  
 ○Hisako Terao<sup>1)</sup>, Junko Soba<sup>1)</sup>, Koichi Iwatani<sup>1)</sup>, Masako Tasaki<sup>1)</sup>, Atsushi Isobe<sup>1)</sup>, Fumiaki Kumagai<sup>2)</sup>, Yoshiaki Saito<sup>2)</sup>, Kasuke Nagano<sup>3)</sup>, Hitomi Hagiwara<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>TERUMO Co., <sup>2)</sup>FDSC, <sup>3)</sup>Nagano Toxicologic-Pathology Consulting
- P-33 \* Application of high-resolution imaging mass spectrometry to toxicity assessment  
 ○Hiroko Sato<sup>1)</sup>, Akane Kashimura<sup>1)</sup>, Hiroyuki Hashimoto<sup>2)</sup>, Hidefumi Kaji<sup>2)</sup>, Takushi Yamamoto<sup>3)</sup>, Satomi Nishikawa<sup>1)</sup>, Katsuya Fujiki<sup>1)</sup>, Masaharu Tanaka<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Mitsubishi Tanabe Pharma Co., <sup>2)</sup>Mitsubishi Tanabe Pharma Co., <sup>3)</sup>Shimadzu Co.
- P-34 Responses to the Standard for Exchange of SEND Data  
 ○Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Shin-ichi Horikawa<sup>1)</sup>, Junichi Sakurai<sup>1)</sup>, Akihito Shimoi<sup>1)</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1)</sup>, Hijiri Iwata<sup>2)</sup>, Takayuki Anzai<sup>3)</sup>, Dai Nakae<sup>4)</sup>  
<sup>1)</sup>Ina Research Inc., <sup>2)</sup>LunaPath LLC, <sup>3)</sup>Showa University School of Medicine, <sup>4)</sup>Tokyo University of Agriculture

## Poster Presentation II - 1

January 29 (Friday) 14 : 20~15 : 20

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Mikinori Torii (Research Laboratory for Development, Shionogi & Co., Ltd.)  
 Hirofumi Nagai (Takeda Pharmaceutical Company Limited)

- P-35 The inhibitory effect of MTBITC on mutagenicity of DEN in the liver of *gpt* delta rats  
 ○Tadashi Hirata<sup>1,2)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Mizuki Sone<sup>1,3)</sup>, Yasushi Nakamura<sup>4)</sup>, Satoshi Numazawa<sup>2)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Div. Pathol., NIHS., <sup>2)</sup>Showa Univ., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>4)</sup>Kyoto Prefect. Univ.
- P-36 \* Analyses of mechanism of hepatocarcinogenesis in TSOD mice, metabolic syndrome model mice  
 ○Naomi Ishii, Anna Kakehashi, Kumiko Tatsumi, Masaki Tatsumi, Kenichiro Doi, Min Gi, Hideki Wanibuchi  
 Department of molecular pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine
- P-37 Analysis of liver tumor development in CD44 knockout mice by 2-step carcinogenicity bioassay  
 ○Anna Kakehashi<sup>1)</sup>, Naomi Ishii<sup>1)</sup>, Kumiko Tatsumi<sup>1)</sup>, Min Gi<sup>1)</sup>, Hideyuki Saya<sup>2)</sup>, Hideki Wanibuchi<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Dept. Mol. Pathol., Osaka City Univ., Grad. Sch. Med., <sup>2)</sup>Div. Gene Regulation, Inst. Adv. Med. Res., Keio Univ., Sch. Med.
- P-38 \* Epigenetic downregulation of oxidative phosphorylation-related *Tmem70* from an early stage of rat hepatocarcinogenesis  
 ○Sayaka Mizukami<sup>1,2)</sup>, Atsunori Yafune<sup>1,2)</sup>, Yasuko Hasegawa-Baba<sup>1)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.

- P-39 Analyses of blood lipid and hepatic p22phox expression in a two-stage rat hepatocarcinogenesis model  
○T Yoshida<sup>1)</sup>, H Murayama<sup>1)</sup>, M Kawashima<sup>1)</sup>, M Kimura<sup>1,2)</sup>, S Mizukami<sup>1,2)</sup>, Y Kangawa<sup>1)</sup>, SM Hayashi<sup>3)</sup>, M Shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ., <sup>3)</sup>San-Ei Gen F.F.I., Inc.

## Poster Presentation II -2

January 29 (Friday) 14 : 20~15 : 20

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Makoto Ueda (Nippon Shinyaku Co., Ltd.)  
Yumi Wako (LSI Medience Corporation)

- P-40 \* Induction mechanism of cell proliferation contribute to the mutagenicity of estragole, a hepatocarcinogen  
○Yuji Ishii, Shinji Takasu, Yuh Yokoo, Takuma Tsuchiya, Aki Kijima, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura  
National Institute of Health Sciences
- P-41 \* Evaluation of the hepatotoxicity of 1,2-dichloropropane in the CYP2E1 null mice  
○Satoko Kawachi, Masaki Fujioka, Kumiko Tatsumi, Min Gi, Shotaro Yamano, He Fang, Masanori Takeshita, Hideki Wanibuchi  
Dept. Mol. Path., Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.
- P-42 \* Dammar resin is a hepatocarcinogen in male F344 rats  
○He Fang, Min Gi, Masaki Fujioka, Kumiko Tatsumi, Satoko Kawachi, Kenichirou Doi, Naomi Ishii, Anna Kakehashi, Shotaro Yamano, Hideki Wanibuchi  
Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine
- P-43 Characterization of injury factors and MHC class II-expressing cells in thioacetamide-induced rat liver injury  
○Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Munmun Pervin, Alexandra Bondoc, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate  
Osaka Prefecture University, Veterinary pathology
- P-44 \* Systemic histopathological evaluation of SHRSP5/Dmcr, SD rats and Wistar-Kyoto rats fed high fat-cholesterol (HFC) diet as a model of non-alcoholic steatohepatitis (NASH)  
○Yuko Ono, Satomi Nishikawa, Katsuya Fujiki, Yasushi Horai, Masaharu Tanaka  
Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd.

## Poster Presentation II-3

January 29 (Friday) 14 : 20~15 : 20

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Takashi Umemura (National Institute of Health Sciences)  
Hiroshi Satoh (Iwate University)

- P-45 Subcutaneous and Orthotopic Patient-derived Human Hepatocellular Carcinoma Xenograft Models for Pharmacodynamic Efficacy Assessment of Sorafenib  
○Chun-Min Liu<sup>1</sup>, Shih-Ta Chen<sup>1</sup>, Mai-Wei Lin<sup>1</sup>, Dian-Kun Li<sup>2</sup>, Hsiang-Wen Tseng<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Industrial Technology Research Institute (ITRI), Taiwan, <sup>2</sup>Buddhist Tzu Chi General Hospital, Taiwan
- P-46 Genotoxicity Assessment on Perillaldehyde, a Flavoring Agent  
○Shim-mo Hayashi<sup>1,2</sup>, Cheryl Hobbs<sup>1,3</sup>, Robert Maronpot<sup>1,4</sup>  
<sup>1</sup>Japan Flavor & Fragrance Materials Association, <sup>2</sup>San-Ei Gen F. F. I., Inc.,  
<sup>3</sup>Integrated Laboratory Systems, Inc., <sup>4</sup>Maronpot Consulting LLC, USA
- P-47 \* Effects of maternal exposure of Phenobarbital during gestation and lactation periods on pups  
○Yoshitaka Katoh, Emi Makino, Tsuyoshi Ito, Yuko Shimada, Aya Koyama,  
Naofumi Takahashi, Ryoichi Ohtsuka, Makio Takeda, Maki Kuwahara,  
Takanori Harada  
The Institute of Environmental Toxicology
- P-48 Pathological studies of pancreatic islet in Diabetic Long-Evans Agouti LEA rat  
○Makoto Sato<sup>1</sup>, Tetsuyuki Takahashi<sup>2</sup>, Keisuke Izumi<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., <sup>2</sup>University of Tokushima Graduate School

## Poster Presentation II-4

January 29 (Friday) 14 : 20~15 : 20

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Masaharu Tanaka (Safety Research Laboratories, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation)  
Shunji Nakatsuji (SNBL USA, Ltd. Pathology Services)

- P-49 \* Characteristics of gene mutations by renal carcinogens with oxidative stress-inducible potency  
○Takuma Tsuchiya, Yuji Ishii, Shinji Takasu, Aki Kijima, Yuh Yokoo, Kumiko Ogawa,  
Takashi Umemura  
Division of Pathology, National Institute of Health Sciences
- P-50 Chronic Progressive Nephropathy of Rats Administrated 4-chloro-2-nitroaniline in Carcinogenicity Study  
○Kenji Takanobu, Yumi Umeda, Hideki Senoh, Taku Katagiri, Shigetoshi Aiso,  
Shoji Fukushima  
Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association

- P-51 \* Effects of Nephrectomy on Kidney Lesions in db/db Mice  
○Kaoru Toyoda, Kochi Kakimoto, Katsuhiko Miyajima, Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi,  
Akiko Nakamura, Eriko Taniai, Akemi Takahashi, Toshiyuki Shoda, Kayoko Takagi,  
Satomi Takeuchi, Tatsuya Maekawa, Yoshifumi Miyakawa  
CPRI, JAPAN TOBACCO INC.
- P-52 Molecular biological similarity between rat renal mesenchymal tumor and nephroblastoma  
○Mai Okumura<sup>1)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>2)</sup>, Syotaro Yamano<sup>1)</sup>, Isao Narama<sup>3)</sup>,  
Hideki Wanibuchi<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Osaka City University, <sup>2)</sup>Setsunan University,  
<sup>3)</sup>Public Interest Incorporated Foundation, Biosafety Research Center
- P-53 A spontaneous occurring karyomegaly in renal tubular epithelial cells in a Sprague-Dawley rat  
○Kenji Nakamura, Norifumi Takimoto, Atsuko Murai, Daisuke Hibi, Koji Shimouchi,  
Mikio Konishi  
Safety Research Laboratories, Discovery and Research, ONO Pharmaceutical Co., Ltd.

## Poster Presentation II -5

January 29 (Friday) 14 : 20~15 : 20

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Hiroyuki Ogasawara (Asubio Pharma Co., Ltd.)  
Osamu Sawamoto (Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.)

- P-54 \*  $\gamma$  H2AX expression in urinary bladders of chemical-treated mice  
○Mizuki Sone<sup>1,2)</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1)</sup>, Tadashi Hirata<sup>1,3)</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>2)</sup>Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>3)</sup>Showa Univ.
- P-55 Diuretic-induced Bladder Wall Hypertrophy in Rats - Evaluation by Image Analysis  
○Tsuyoshi Yoshikawa, Yukari Nishimura, Takuma Tsuchiya, Yuko Ito,  
Kohei Matsushita, Makoto Satou, Keisuke Kitaura, Satoshi Matsumoto  
Otsuka Pharmaceutical Co.,Ltd. Tokushima Research Institute
- P-56 Suppression of prostatic carcinogenesis with fermented brown rice by *Aspergillus Oryzae* in transgenic rats developing adenocarcinoma (TRAP)  
○Toshiya Kuno, Hiroyuki Kato, Aya Naiki, Shinya Sato, Shugo Suzuki,  
Satoru Takahashi  
Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.
- P-57 \* Effects of selective HDAC inhibitors on cell viability, cell cycle, or androgen receptor expression of prostate cancer  
○Shinya Sato<sup>1,2)</sup>, Shugo Suzuki<sup>1)</sup>, Aya Naiki<sup>1)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>1)</sup>, Toshiya Kuno<sup>1)</sup>,  
Satoru Takahashi<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ., <sup>2)</sup>Pathol. Div., Nagoya City West Med. Ctr.



## Poster Presentation II-6

January 29 (Friday) 14 : 20~15 : 20

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Yoshimasa Okazaki (AnaPath GmbH)

Atsushi Shiga (Public Interest Incorporated Foundation, Biosafety Research Center)

- P-58 \* Basic study for histopathological evaluation of toxicity of chemicals on thyroid of rat fetuses and pups: Part 1. Histology of the normally developing thyroid  
○Hitomi Yoshimitsu, Shiori Yoshida, Hiroaki Nagai, Toshihiro Amanuma  
Research center, Nihon Nohyaku Co., Ltd.
- P-59 \* Basic study for histopathological evaluation of toxicity of chemicals on thyroid of rat fetuses and pups: Part 2. Histopathological changes by propylthiouracil (PTU)  
○Shiori Yoshida, Hitomi Yoshimitsu, Hiroaki Nagai, Toshihiro Amanuma  
Research center, Nihon Nohyaku Co., Ltd.
- P-60 \* Search for the initial effects relating to the delayed effects of neonatal exposure to 17  $\alpha$ -ethynylestradiol (EE) in female rat  
○Megumi Tanaka, Risa Hurusawa, Yuri Yoshikawa, Jun Kawashima, Mariko Shirota  
Laboratory of Comparative Toxicology, School of Veterinary Medicine, Azabu University
- P-61 Pathological features and clinical relevance of spontaneous endometriosis in cynomolgus monkeys  
○Saori Matsuo<sup>1</sup>, Ayako Nishimoto<sup>1</sup>, Sachiho Netsu<sup>2</sup>, Shuuji Hayashi<sup>1</sup>, Atsuhiko Kato<sup>1</sup>, Masami Suzuki<sup>1</sup>, Ryo Konno<sup>2</sup>, Tadashi Sankai<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>Chugai Pharmaceutical Co., <sup>2</sup>Jichi Medical University Saitama Medical Center, <sup>3</sup>NIBIOHN
- P-62 Characterization of mammary carcinomas in male and female rats after MNU exposure  
○Katsuhiko Yoshizawa<sup>1</sup>, Michiko Yuki<sup>1</sup>, Yuichi Kinoshita<sup>1,2</sup>, Yuko Emoto<sup>1</sup>, Takashi Yuri<sup>1</sup>, Nobuaki Shikata<sup>2</sup>, Susan A Elmore<sup>3</sup>, Airo Tsubura<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Pathology II, Kansai Medical University, <sup>2</sup>Kansai Medical University Takii Hospital, <sup>3</sup>NIH/NIEHS

## Poster Presentation II-7

January 29 (Friday) 14 : 20~15 : 20

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Yasushi Ohmachi (National Institute of Radiological Sciences)

Kazumoto Shibuya (Nippon Institute for Biological Science)

- P-63 \* Impact of spontaneous thymic lymphoma on construction of PDX models in NOD/SCID/ $\gamma_c^{\text{null}}$  mice  
○Chie Kato, Etsuko Fujii, Kaori Nishihara, Atsuhiko Kato, Masami Suzuki  
Research Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd
- P-64 \* Recombinant *Yersinia* adhesion A inclusion bodies reduce the symptoms of *Yersinia pseudotuberculosis* infection  
○Kosuke Tsugo, Shin/ichi Nakamura, Hiroko Yamanaka, Yumi Une  
Azabu Univ. Lab. of Vet. Pathol.

- P-65      **Anti-oxidative Property of Phikud Navakot on Sheep Erythrocyte**  
○Sumate Ampawong<sup>1)</sup>, Kanchana Kengkoom<sup>2)</sup>, Supattra Suwanmanee<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Department of Tropical Pathology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Thailand  
<sup>2)</sup>Academic Services Division, National Laboratory Animal Center, Mahidol University, Thailand
- P-66      **Investigation of the mechanisms in oxidative stress-induced acceleration of cell migration**  
○Yuzo Yasui<sup>1,2)</sup>, Kanae Kitatani<sup>1)</sup>, Kochi Kakimoto<sup>2)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>2)</sup>,  
Yusuke Kemmochi<sup>2)</sup>, Akiko Nakamura<sup>2)</sup>, Kaoru Toyoda<sup>2)</sup>, Eriko Taniai<sup>2)</sup>,  
Akemi Takahashi<sup>2)</sup>, Toshiyuki Shoda<sup>2)</sup>, Shoichiro Sugai<sup>2)</sup>, Susumu Takekoshi<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Tokai University School of Medicine, Division of Host Defense Mechanism,  
<sup>2)</sup>Japan Tobacco Inc., Toxicology Research Laboratories

## Poster Presentation II-8

January 29 (Friday) 14 : 20~15 : 20

Poster [1F Exhibition Hall]

Chair : Katsumi Takaba (Translational Research Unit, Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.)  
Osamu Fueki (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency)

- P-67 \*      **Validation study of the uncertainty factor in repeated-dose toxicity tests using obese Zucker rats**  
○Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1)</sup>,  
Akiyoshi Nishikawa<sup>2)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., <sup>2)</sup>Biol. Safety Res. Ctr., Natl. Inst. Health Sci.
- P-68 \*      **Development of the immune organs in mouse exposed neonatally to High- Fat Diet**  
○Mai Todoroki, Mika Senuma, Fumiaki Kumagai, Yoshiaki Saito, Makiko Kuwagata  
Hatano Research Institute, FDSC
- P-69      **Amyloidosis observed in high incidence in the control group of a carcinogenicity study in ICR mice: Comparison to historical controls**  
○Tsuyoshi Ito, Yoshitaka Katoh, Emi Makino, Yuko Shimada, Aya Koyama,  
Naofumi Takahashi, Maki Kuwahara, Takanori Harada  
The Institute of Environmental Toxicology (IET)
- P-70 \*      **A 28-day repeated oral dose toxicity study of tris-(2,3-dibromopropyl) isocyanurate in SD rats**  
○Shinji Takasu, Yuji Ishii, Yuh Yokoo, Takuma Tsuchiya, Aki Kijima, Kumiko Ogawa,  
Takashi Umemura  
Division of Pathology, National Institute of Health Sciences
- P-71 \*      **Effects and reversibility of plain liposome in Sprague-Dawley rat**  
○Shota Yoshida, Hideki Tanaka, Fumiko Ninomiya, Shohei Kanie, Yusuke Doi,  
Satoshi Suzuki, Kazuhiko Besshi, Fumio Morita, Kazuo Hako  
Taiho Pharmaceutical Co., Ltd. Toxicology Laboratory

## Luncheon Seminar I

January 28 (Thursday) 12 : 00~13 : 00 Room 2[6F Internatinal Conference Hall]

Chair : Michito Takahashi (Pathology Peer Review Center)

Co-sponsor : AnaPath GmbH/Safety Alliance

- LS1 Understand Sperm Damage Beyond the Light Microscope  
Klaus Weber  
AnaPath GmbH

## Luncheon Seminar II

January 28 (Thursday) 12 : 00~13 : 00

Room 3[5F Small Hall 2]

Co-sponsor : BoZo Research Center Inc.

- LS2 Comparison of pathological characteristics between severely immunodeficient NOG and NSG mice  
Mariko Nagatani  
BoZo Research Center Inc.

## Luncheon Seminar III

January 29 (Friday) 12 : 00~13 : 00 Room 2[6F Internatinal Conference Hall]

Chair : Katsuhiko Yoshizawa (Pathology II, Kansai Medical University)

Co-sponsor : WIL Research

- LS3 Bias in Image Analysis and its Solution: Unbiased Stereology  
— Updated Information and Availability for Stereology in Toxicity Studies —  
Danielle Brown  
WIL Research

## Luncheon Seminar IV

January 29 (Friday) 12 : 00~13 : 00

Room 3[5F Small Hall 2]

Chair : Hideki Wanibuchi (Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine)

Co-sponsor : Charles River Laboratories Japan, Inc.

- LS4 Historical background pathology data for selection of rat strain in carcinogenicity studies  
Luc Chouinard  
Charles River Laboratories Montreal ULC



# Abstracts

---

Special Lecture

Educational Lecture

Symposium

Workshop



## SL-01

## Toxicologic Pathology in the Risk Assessment of Chemicals: Challenges of the Limitations

○Kunitoshi Mitsumori

Professor Emeritus, Tokyo University of Agriculture and Technology

It is well known that the toxicologic pathology is regarded as a very important field in the risk assessment of pharmaceuticals and chemicals contained in food. We have detected various kinds of toxic lesions in experimental animals induced by chemicals so far, but we recognize that there are some limitations in the evaluation. In this presentation, I will pick up some examples of the limitations and would like to talk about how we should overcome them.

Histopathological examinations in toxicity studies are mainly conducted in sections stained with hematoxylin-eosin (HE). Immunohistochemistry and electron microscopy are performed to clarify the characteristics of toxic lesions, but no epoch-making tool to replace the ordinary light microscopic examinations using HE-stained sections has been developed until now. Especially, since there is a potential risk to overlook minimal toxic changes induced in light microscopy, we must pay careful attention to them.

In light microscopy, possible pathogenesis of toxic lesions induced in seminiferous tubular epithelia can be speculated to a certain degree, when chronological observations are done. However, apoptosis of pachytene spermatocytes is usually observed in most cases of testicular toxicities, but we cannot clarify the possible mechanism of the toxicity with the light microscopy alone. Taking into account the recent findings that epigenetic mechanism due to inhibition of histone deacetylase is suggested to be involved in the induction of apoptosis, we should proactively use the modern tool of molecular biology.

Toxicologic pathologists can evaluate the toxicity induced by chemicals at a whole body level, but are weak in predicting their toxicities from the chemical structures. Phenacetin has potentials of renal toxicity and carcinogenicity, but its metabolite, acetaminophen, doesn't have such effects. As the cause of such a difference, it is demonstrated that most of phenacetin is metabolized into acetaminophen, but a part of phenacetin is metabolized into more toxic metabolite, *N*-hydroxyphenacetin. We must also gain the knowledge on the toxicity prediction tool taking into account the quantitative structure activity relationship.

We sometimes encounter the following case; negative results are obtained in ordinary genotoxicity studies of the test substance, while rare tumors that are seldom seen as spontaneous are induced in treated groups in carcinogenicity studies. In this case, we have some difficulties as to how we should clarify the mechanism of carcinogenicity. First of all, additional genotoxicity studies to deny the genotoxicity are necessary. When the genotoxicity can be denied, mechanistic studies to demonstrate that the test substance is a nongenotoxic carcinogen should be performed. However, it is not always easy to clarify the mechanism. We must make aggressive efforts to obtain the latest information on the methodology analyzing the mechanism.

Along with the recent dramatic progress of life sciences, genomics analysis has been frequently used for the toxicological evaluation. However, since it is sometimes difficult for molecular scientists to predict the toxicity of chemicals from the molecular data, the assistance of toxicologic pathologists who can get the overall picture of toxic lesions is absolutely necessary. I would like to emphasize the ability of pathologists who can predict not only the early stage of toxic lesions but also the final stage of toxic lesions from just one HE-stained section, and to pray for the further progress of toxicologic pathology in the 21st century.



## SL-02

## Critical Role of Toxicologic Pathology in a Short-Term Screen for Carcinogenicity

○Samuel M. Cohen

Department of Pathology and Microbiology, University of Nebraska Medical Center, USA

A major consideration for safety evaluation of chemicals is an assessment for possible carcinogenic activity, most commonly utilizing the two-year assay in rats and mice. Many problems have been identified with this assay, including cost, time, and extensive use of animals. Over the past decades, it has also become clear that the results of these assays are frequently not applicable to human risk. A variety of alternatives have been suggested, beginning with the Ames assay in the 1970's. However, none of these have proven satisfactory. A few modes of action that are highly predictive of human carcinogenicity and require only short-term assessments are DNA reactivity, immunosuppressive, and strong estrogenic activity. Immunosuppression in humans, whether caused by inherited disorders, medications, or AIDS, increases risk of various cancers, mainly related to viral infections. Estrogen increases risk of breast and endometrial cancer in humans, possibly ovary and liver. Immunosuppressive and estrogenic activities can be readily evaluated by histopathology in short term animal studies combined with *in vitro* assessments. An additional indication of possible carcinogenic activity is an increase in cell proliferation. This can be assessed by a variety of methods, beginning with something as simple as increased organ weight, but most commonly evaluated on the basis of hyperplasia in routine histopathologic examinations. However, proliferation labeling indices are more sensitive for detection of early increases in cell proliferation, utilizing various labels such as bromodeoxyuridine (BrdU), Ki-67, and PCNA. Increased proliferation is detected in 7 to 90 days in animal studies, depending on chemical class and target tissue. Evaluation of dose and mode of action are critical for evaluating human relevance. In evaluating dose and mode of action, reliance on histopathology is critical, and can include other modalities, such as immunohistochemistry and genomic and other molecular analyses. It is essential for such analyses that proper tissue samples are selected for examination. Furthermore, evaluation of transgenic and knockout models of carcinogenesis require thorough evaluation by trained pathologists. Despite the current emphasis on *in vitro* studies and molecular analyses, pathology remains central to an overall evaluation of carcinogenic risk.

## Adverse, Non-adverse, and Adaptive Responses in Toxicologic Pathology

○Robert R. Maronpot

Chair, IATP Education Committee

Maronpot Consulting LLC, USA

One basic definition of toxicology is “the study of adverse effects,” and yet a precise and all-encompassing definition of ‘adverse’ is elusive. Finding a universally agreed upon and understood definition of ‘adverse’ in the context of preclinical studies is challenging and communicating what is ‘adverse’ versus ‘non-adverse’ or ‘adaptive’ to regulatory authorities and the public is even more challenging. Defining and communicating an effect or change that is non-adverse suffers from the same imprecision and difficulties as defining and communicating what is adverse. In assessment of potential risk to human health, we attempt to define adverse within the context of a given method of exposure and dose and communicate our opinion using the concept of ‘no observable adverse effect level’ (NOAEL). But NOAEL also suffers from ambiguity in terms of statistical and biological relevance as it simultaneously deals with objective and subjective endpoints.

Most traditional definitions of adverse involve a “*change in the morphology, physiology, growth, development, reproduction, or life span of an organism, system, or (sub) population that results in an impairment of functional capacity, an impairment of the capacity to compensate for additional stress, or an increase in susceptibility to other influences*” (IPCS, 2004). However, in many cases whether a change in one of these categories is adverse (pathological) or adaptive (physiological) is not clear and is subject to conflicting opinions. Identifying a response that is non-adverse is as problematic as identifying an adverse response and basically involves an observable outcome or response that is basically not harmful. The concept of an adaptive response in toxicology involves a response to a xenobiotic or stress whereby the organism survives in the presence of the xenobiotic or stress without functional impairment. Determination of what is adverse versus adaptive involves a judgment based on expert opinion in defining where a response falls on the continuum from normal to pathological. Some apical responses such as death and cancer are readily accepted as adverse. A mild change in organ morphology and function that is reversible, such as hepatocellular hypertrophy and enzyme induction, is generally regarded as adaptive. However, excessive and prolonged hepatic enzyme induction can lead to generation of reactive metabolites that alter DNA, stimulate a proliferative response, and lead to cancer.

Up to the present time definitions of adverse have been based on what is referred to as apical endpoints where the term ‘apical’ refers to definitive phenotype and/or functional changes. As part of the current paradigm shift from conventional animal studies to new technologies (‘omics tools’, human cells, *in vitro* high throughput screening, stem cell culturing, reconstructed tissues) and alternative approaches (mode-of-action, pathway-based toxicology, adverse outcome pathways) we will need to rethink definitions of adverse, non-adverse, and adaptive for assessing toxicity potential. At this point in time, use of toxicogenomics and newer-based test methods and computational strategies must await more complete biological validation. In the meantime, we are still using the more traditional apical measurements to identify adverse versus non-adverse effects.

Whether a specific chemical challenge to a biological system will result in an adverse or adaptive outcome should be assessed within a temporal- and dose-response continuum. Examples of changes in different organs and the rationale for considering these adverse, non-adverse or adaptive will be presented for adrenal, thyroid, liver, kidney, and lung.

### References

- Boekelheide, K. and S.N. Campion, 2010, Toxicity testing in the 21<sup>st</sup> century: Using the new toxicity testing paradigm to create taxonomy of adverse effects. *Toxicol Sci* v. 114 (1), p. 20-24.
- Dorato, M. A., and J. A. Engelhardt, 2005, The no-observed-adverse-effect-level in drug safety evaluations: use, issues, and definition(s). *Regul.Toxicol.Pharmacol.*, v. 42, no. 3, p. 265-274.
- Hall, A. P. et al., 2012, Liver hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-adverse) changes-conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop: *Toxicol.Pathol.*, v. 40, no. 7, p. 971-994.
- IPCS. IPCS Harmonization Project: Risk Assessment Terminology. Part 1: IPCS/OECD Key Generic Terms used in Chemical Hazard / Risk Assessment Part 2: IPCS Glossary of Key Exposure Assessment Terminology. World Health Organization . 2004.
- Keller, D. A., D. R. Juberg, N. Catlin, W. H. Farland, F. G. Hess, D. C. Wolf, and N. G. Doerrler, 2012, Identification and characterization of adverse effects in 21st century toxicology: *Toxicol.Sci.*, v. 126, no. 2, p. 291-297.
- Krabe E, Williams G, Lewis R, Kimber I, Foster P. Distinguishing between adverse and non-adverse effects. *Exp Toxic Pathol* 54, 51-55. 2002. Urban & Fischer.
- Krewski D, Acosta Jr D, Andersen M, et al. 2010. Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Review* 13[2-4], 51-138.
- Lewis, R. W., R. Billington, E. Debryune, A. Gamer, B. Lang, and F. Carpanini, 2002, Recognition of adverse and nonadverse effects in toxicity studies: *Toxicol.Pathol.*, v. 30, no. 1, p. 66-74.

## SY-01

**Risk Assessment in Food Safety and Relevant Toxicologic Pathology**

○Shim-mo Hayashi

Global Scientific and Regulatory Affairs, San-Ei Gen F.F.I., Inc.

In the paradigm of risk analysis for ensuring food safety, risk assessment is a scientific evaluation of adverse health effects resulting from human exposure to a hazard in food by professional experts. Since it is hard to get epidemiological data in humans, toxicological data derived from animal studies are used in risk assessment.

Risk managers consider that there is no zero risk for food safety. Typical hazards in foods include microbiological pathogens and chemicals including food additives, pesticides or contaminants which might occur secondarily in a manufacture processing of food and in cooking. Because an unspecified number of humans may be unintentionally exposed for a lifetime under various situations, endorsement of food additives is judged on available scientific evidence indicating no appreciable health risk to consumers at the proposed use levels. Food flavorings safety assessment procedures in the US, Europe and the FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) differ from those in Japan in terms of flavorings properties, simple chemical structure, and self-limiting use levels. In the framework of risk analysis, when new data are available, re-evaluation of a hazard can be conducted even if a science-based evaluation had been done previously. Upon request from the Codex Committee on Food Additives (CCFA), JECFA has started such re-evaluations. The U.S. and European authorities also have been conducted safety assessments of food additives and flavoring substances based on currently available data. Under regulation, by 2020 the European Food Safety Authority (EFSA) should re-evaluate all food additives authorized for use in the EU prior to 20 January 2009 before those additives can be included on the EU safe to use list.

For ensuring the safety of health foods, it is responsible for the company producing and marketing the food to show the safety of their products. However, their claims are often based on long safety use and have low credibility. Their toxicity data are often of limited quantity and are of poor quality. Up to now, it has been reported that excessive and long exposure to specific dietary supplements beyond a daily diet level has caused adverse health effects in humans.

Here, I present the current and historical legal framework of food additives and flavors, the risk assessment procedure, and ongoing activity in the Japanese government. I will focus on chemical hazards in food such as the unexpected occurrence of acrylamide during the process of cooking. In addition I will look at several flavoring substances. The U.S. National Toxicology Program (NTP) has conducted toxicity and carcinogenicity studies of health food ingredients with heavy human exposure such as ginkgo leaf extract, green tea leaf extract, and aloe vera extract. Showing adverse, non-adverse and/or adapted pathological findings, an overview of worldwide current risk assessment for food will be presented.

## SY-02

**Risk assessment of industrial chemicals and toxicologic pathology**

○Tsutomu Ichiki

Center for Clinical and Translational Research Kyushu University

Chemicals have been essential for modern society. In other words, people are living by receiving the benefits of chemicals. However, it is also true that there are many persons who are anxious about "chemical substances" which might cause adverse effects on the human health and the environment. Herald of modern toxicology, Paracelsus leaves famous maxim "The dose makes the poison". All substances can be poisons or medicines according to their intake.

Among the property of the chemicals, characteristics adversely affecting to the human health and environment is called Hazard, i.e., Toxicity. If hazard of a chemical is severe, the intake of the chemical must be strongly suppressed. For example, if a hungry lion appears in front of somebody, he/she will soon run away. However, if the lion is inside of the cage, people can approach the cage to observe the lion without fear. Thus the toxicity itself cannot be weakened, however it is possible to reduce a risk by suppressing the exposure.

Currently, many countries are promoting to address reducing the risks from chemicals. This is a 2020 goal of World Summit on Sustainable Development (WSSD). It says "To achieve, by 2020, that chemicals are used and produced in ways that lead to the minimization of significant adverse effects on human health and the environment, using transparent science-based risk assessment procedures and science-based risk management procedures, taking into account the precautionary approach". In Japan, Chemical Substance Control Law (CSCL) was amended in 2011 (effective in its entirety), and the law shifted from hazard-based to risk-based regulation. Furthermore, the existing chemicals as well as the new chemicals were incorporated into this law.

What is a risk assessment of industrial chemicals in CSCL? If a chemical has some hazard but the exposure to this chemical is low level, the risk may be acceptable. This concept is now adopted in many countries. In case of highly hazardous chemical, it is strictly regulated in order to reduce the exposure. On the contrary, in less hazardous chemical, the regulation may be loose. It is important the risk is within the acceptable range.

To assess the risk exactly, it is necessary to measure as accurately as possible the amount of exposure and hazard level of the chemical. Since CSCL places "long-term toxicity" at the heart of the hazard evaluation, the toxicity tests using animals are very important. Human health hazards can be evaluated by carrying out the animal studies such as 28-day repeated dose toxicity study which determine the NOAEL. As a matter of course, certainty of NOAEL increases in the 90-day toxicity or one year chronic toxicity studies than in the 28-day repeated dose toxicity study. In the near future, there is a possibility that the government directs manufacturers and importers to conduct a long term toxicity survey, and the role of toxicologic pathology which presents an important key to the NOAEL derived in toxicity study will become more important.

## SY-03

## Risk Assessment of Pesticide and Relevant Toxicologic Pathology

○Satoshi Furukawa

Nissan Chemical Industries, LTD. Biological Research Laboratories

There are concerns about the influence of pesticides on the human, environment and organisms other than the controlled pests and weeds, because pesticides are bioactive compounds and are released in the environment. In consideration of the above, the toxicity studies for the registration application of pesticides in Japan are divided as follows: 1) toxicity studies for the health effects on pesticide applicators (acute toxicity, irritation, sensitization, mutagenicity, teratogenicity, etc.), 2) toxicity studies for the health effects on the consumers exposed to pesticide residues (chronic toxicity, carcinogenicity, reproductive toxicity, residue in crops, etc.) and 3) toxicity studies for the environmental effects (acute toxicity for aquatic organisms, in the soil/water fate, water pollution, etc.). The risk assessment of pesticides for the pesticide applicators, the consumers and the environment is performed based on the above toxicity studies.

### 1) Risk assessment for the pesticide applicators

In order to ensure the safety for the pesticide applicators, the risk management is performed by providing direction to wear protective equipment (mask, gloves, etc.) referring to the results of the short-term toxicity studies (acute toxicity, irritation, sensitization, etc.).

### 2) Risk assessment for the consumers

#### (1) Risk assessment for short-term effects of pesticide residues in crops

The acute reference dose (ARfD) is an estimate of the amount a substance that can be ingested in a period of 24 hours or less without appreciable human health risk. An ARfD is established based on acute toxic alerts in the animal toxicity studies, such as haematotoxicity, immunotoxicity, acute neurotoxicity, liver and kidney toxicity, etc. The maximum residue limits (MRLs) are established so that the estimated intake of pesticide residues in crops does not exceed the ARfD.

#### (2) Risk assessment for long-term effects of pesticide residues in crops, food or in drinking water

The acceptable daily intake (ADI) is an estimate of the amount a substance that can be ingested on a daily basis over a lifetime without appreciable human health risk. ADI is established by dividing the NOAEL resulting from the long-term toxicity studies by a safety factor, conventionally 100. The MRLs are established so that the estimated intake of pesticide residues in crops does not exceed 80% of the ADI.

#### (3) Risk assessment for environment

The predicted environmental concentration (PEC) is the calculated value of a chemical in the environment based on physicochemical property, application technique and application rate. The acute effect concentrations (AEC) is established based on the acute toxicities of the pesticide to aquatic organisms, and used as the registration withholding standard. The risk assessment for the environment performed by comparing the PEC value and the AEC value ( $PEC < AEC$ ). For terrestrial organisms (bees, silk worms, avian, etc.), as the risk management measure, appropriate precaution statements should be presented on the label of the container.

**SY-04****Risk assessment of environmental chemicals and toxicologic pathology**

○Hideki Wanibuchi

Department of Molecular pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

It is virtually impossible to eliminate all of the many harmful toxins and carcinogens from the environment. Therefore, science-based risk assessment of environmental chemicals is essential. Since it is generally not possible to study the toxicity of chemicals, especially those newly introduced into the environment, in humans, toxicologic pathology data generated from various animal models is a major component of risk assessment for humans.

Inorganic arsenic is a human carcinogen, and chronic exposure to arsenic via drinking water is associated with increased incidences of human bladder, liver, and lung cancers. However, the mechanisms of arsenic carcinogenicity are not fully understood, in large part due to the lack of an appropriate animal model. We present here our data on the evaluation of the carcinogenic potential of dimethylarsinic acid (DMA), which is a major metabolite of arsenic in most mammals including humans, using various animal models. We demonstrate, for the first time, that DMA is a carcinogen for the rat urinary bladder and show that oxidative DNA damage and alteration of diverse cancer-related genes are involved in the DMA-induced bladder carcinogenesis.

While animal studies should be conducted only after consideration of the 3Rs (reduction, refinement and replacement, the guiding principles underpinning the humane use of animals in scientific research), there is a great need to develop short-term and comprehensive animal models for risk assessment. We will present our recent work on the development of a rat model for comprehensive analysis of genotoxicity and carcinogenicity and a model for detecting hepatocarcinogens in rats using gene marker sets.

## WS-01

**Mechanisms of aberrant DNA methylation induction by chronic inflammation**

○Hideyuki Takeshima, Toshikazu Ushijima

Division of Epigenomics, National Cancer Center Research Institute

Aberrant DNA methylation is highly accumulated in normal-appearing tissues, and is involved in the onset of cancers and possibly in other diseases. Aberrant methylation is induced by exposure to various environmental factors, such as chronic inflammation. However, underlying mechanisms of aberrant methylation induction are unclear. In this study, we aimed to clarify molecular mechanisms of aberrant methylation induction. First, aberrant methylation induction was analyzed using a mouse gastritis model induced by *Helicobacter felis* (*H. felis*) infection. Sparse methylation was induced at a relatively early period after *H. felis* infection, followed by the appearance of dense methylation. Second, expression changes of DNA methylation machineries were analyzed. Expression levels of DNA methyltransferases were not changed by chronic inflammation. In contrast, expression levels of *Tet3* ( $p=2.2 \times 10^{-6}$ ) was down-regulated in *H. felis* infected-mice at a relatively early period, and those of *Tet1* ( $p=1.7 \times 10^{-3}$ ) and *Tet2* ( $p=1.2 \times 10^{-3}$ ) were down-regulated at a relatively late period. Levels of 5-hydroxymethylcytosine were also reduced in *H. felis* infected-mice. Finally, to reveal the underlying mechanisms of down-regulation of *Tet* genes by chronic inflammation, expression changes of 1,881 microRNAs were analyzed. Thirty-six of 1,881 microRNAs were up-regulated in *H. felis* infected-mice, and miR-29c was shown to repress *Tet1*, *Tet2*, and *Tet3*. These results showed that the *Tet* genes were down-regulated by chronic inflammation, potentially via induction of multiple microRNAs.

## WS-02

## Sleeping Beauty transposon-mediated mouse liver cancer model –Relationship of cancer-related genes with cancer phenotypes

○Masahiro Yamamoto

Division of Tumor Pathology, Department of Pathology, Asahikawa Medical University

Mutation of genes and aberrant activation of signal transduction pathways are involved in liver carcinogenesis. Histology of liver cancer is subdivided into hepatocellular carcinoma (HCC), cholangiocarcinoma (CC), and combined HCC-CC (cHCC-CC). The relationship of the mutation and the signal transduction pathways with the histological subtypes is not fully elucidated yet. Genome-wide analysis of liver cancer revealed that CCs which developed in a background of hepatitis that is a common background liver pathology in HCCs show similar mutation profiles to HCCs, although they show different gene expression profiles. This result suggests that the CCs with hepatitis share common cellular origin with HCCs, however, show different direction of differentiation (Fujimoto et al., Nat Commun 2015). In animal model, it is reported that CCs or mixed HCCs and CCs can arise from hepatocytes (Fan et al., J Clin Invest 2012; Li et al., Oncotarget 2015; Sekiya and Suzuki, J Clin Invest 2012). These results suggest that liver tumors showing various phenotypes including CCs can be derived from hepatocytes. Currently, we directly introduce single or combination of various cancer-related genes into hepatocytes *in vivo* by Sleeping Beauty transposon to examine the relationship of the introduced genes with liver cancer phenotypes. From our experience, I'd like to present our results of liver cancers showing contrasting phenotypes which were induced by single or combinational introduction of myristoylated *Akt* (*myrAkt*) that activates the PI3 kinase pathway, constitutive active *Yap* (*YapS127A*) that activates the Hippo-Yap pathway, and *Myc*. Single introduction of *Myc* did not induce any liver tumors even after 1 year. Single introduction of either *myrAkt* or *YapS127A* induced HCCs accompanied with bile duct epithelial cells derived from the hepatocytes in 6 to 12 months. Combination of *myrAkt* and *Myc* induced HCCs, whereas combination of *myrAkt* and *YapS127A* induced CCs in 6 weeks. Combination of *YapS127A* and *Myc* induced cHCC-CC composed of small hepatocellular tumor cells with bile duct differentiation at the periphery of the tumors around 10 weeks. In addition, combination of all 3 genes induced poorly differentiated HCCs in 2 weeks. Gene expression analysis by RT-qPCR revealed that the CCs induced by *myrAkt/YapS127A* showed high expression of *Tnf* and genes downstream to the Hippo-Yap pathway; Notch-related genes (*Jag1*, *Hes1*, *Hes2*), *Ctgf*, and *Tgfb2*, although the HCCs induced by *myrAkt/Myc* and *myrAkt/YapS127A/Myc* did not show the upregulation. The cHCC-CC induced by *YapS127A* and *Myc* specifically upregulated hepatoblastic markers (*Afp* and *Dlk*) and stem cell markers (*Nanog* and *Sox2*).

In summary, activation of the PI3 kinase pathway and the Hippo-Yap pathway induced CCs from hepatocytes, whereas co-activation with *Myc* induced HCCs with suppression of *Tnf* and downstream targets of the Hippo-Yap pathway. In addition, activation of the Hippo-Yap pathway and *Myc* induced cHCC-CC with hepatoblast/stem cell features. Sleeping Beauty transposon-mediated mouse liver cancer model is thought to be useful model to explore the roles of cancer-related genes and signal transduction pathways in liver carcinogenesis.



## WS-03

## A novel approach for detection of chemical carcinogenicity using 3D-cultured normal epithelia derived from genetically modified mice

○Toshio Imai<sup>1)</sup>, Masako Ochiai<sup>1)</sup>, Tetsuya Matsuura<sup>2)</sup>, Hitoshi Nakagama<sup>1)</sup>, Yoshitaka Hippo<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., <sup>2)</sup>Yokohama City Univ., <sup>3)</sup>Chiba Cancer Ctr. Res. Inst.

〈**Background**〉 A 26-week alternative method using *rash2* mice (15 mice/group) has been established for long-term conventional carcinogenicity studies.

〈**Aim**〉 Establishment of a short-term method using minimal number of mice.

〈**Materials and Methods**〉 Normal epithelia from (genetically modified) mice were used for 3-dimensional (3D) culture, to which genetic modifications by lentivirus were added if necessary. Investigations about following parameters are now on going. {Mouse strain} C57BL/6, BALB/c (harboring *Prkdc* polymorphism)

〈**Genetic modification**〉 *p53*<sup>+/-</sup> mice, *LSLKras*<sup>G12D/+</sup> transgenic mice, *rash2* mice, *Pten*-knockdown (shRNA-transduction to cells)

〈**Target organ**〉 Large intestine, intrahepatic bile duct, lung, urinary bladder, and others. At the present stage, effects of PhIP-treatment in combination with *Kras*-activation/*Pten*-knockdown on 3D-cultured large intestinal epithelia from C57BL/6 mice would be reported.

〈**Results**〉 Although tumor formation was confirmed in subcutis of nude mice with *Kras*-activated large intestinal epithelia, only slight promotion of ductal formation was seen with *Pten* knockdown. On the other hand, tumor formation was found with 3 or 10 micro M of PhIP in combination with *Pten* knockdown.

〈**Conclusion**〉 Combinations of 3D culture technique of mouse normal epithelia and genetic modifications should be a promising candidate method for detection of chemical carcinogenicity.

## WS-04

**The mechanism of radiation carcinogenesis depending on age at exposure  
—Based on the analysis of radiation-induced mouse thymic lymphomas—**

○Masaaki Sunaoshi<sup>1)</sup>, Yoshiko Amasaki<sup>1)</sup>, Shinobu Sakairi<sup>1)</sup>, Benjamin Blyth<sup>1,2)</sup>, Takamitsu Morioka<sup>1,2)</sup>,  
Mutsumi Kaminishi<sup>1)</sup>, Yi Shang<sup>2)</sup>, Mayumi Nishimura<sup>1,2)</sup>, Yoshiya Shimada<sup>1,2)</sup>, Akira Tachibana<sup>2)</sup>,  
Shizuko Kakinuma<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>Radiobiology for Children's Health Program, Research Center for Radiation Protection, National Institute of Radiological Sciences

<sup>2)</sup>Radiation Effect Accumulation and Prevention Project, Fukushima Project Headquarters, National Institute of Radiological Sciences

<sup>3)</sup>Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Ibaraki University

Epidemiology studies show that in general the risk of radiation carcinogenesis is higher in exposed children than adults. However, the mechanism of this age dependency is still unclear. In this study, genetic alterations in radiation-induced mouse thymic lymphomas, a model of human acute lymphoblastic leukemia, were analyzed to assess whether the mechanism of radiation carcinogenesis depends on age at exposure.

Thymic lymphomas were induced by fractionated whole-body X-irradiation (four weekly fractions) of female B6C3F1 mice during infancy (starting at 1 week old), adolescence (4 weeks old), or as young adults (8 weeks old). The incidence of thymic lymphoma was not significantly different among the three irradiation groups; however, mutation of the tumor suppressor gene *Pten* combined with loss of the second allele increased with age and was most frequently observed in lymphomas arising after infant irradiation; while in contrast, the mutation frequency of *Ikaros* showed opposite correlation with age and was highest in the young adult-irradiation group. Furthermore, the mechanism of loss of the other allele also depended on age at irradiation with duplication by mitotic recombination/chromosomal missegregation characteristic of lymphomas after infant irradiation, and deletion common after young adult irradiation.

Since pre-lymphoma cells are thought to be generated in the thymus in the 2 weeks after irradiation, we hypothesized that there may be an age-dependent difference in the development of pre-lymphoma cells and began analysis of the dynamics of thymus cell recovery after irradiation. We will discuss proposed age dependent mechanisms of radiation tumorigenesis in mouse thymic lymphomas and the relevance for human cancer risk.

**〈Reference〉**

Sunaoshi *et al.*, The effect of age at exposure on the inactivating mechanisms and relative contributions of key tumor suppressor genes in radiation-induced mouse T-cell lymphomas. *Mut. Res.* 779: 58-67 (2015).



# Oral Presentation

O-01 ~ O-30

---

# Poster Presentation

P-01 ~ P-71



## O-01

**Suppressive effect of apocynin, NADPH oxidase inhibitor, on rat hepatocarcinogenesis**

○Shugo Suzuki<sup>2)</sup>, Aya Naiki<sup>1)</sup>, Shinya Sato<sup>1)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>1)</sup>, Toshiya Kuno<sup>1)</sup>, Satoru Takahashi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ., <sup>2)</sup>Pathol. Div., Nagoya City East Med. Ctr.

〈**Aim**〉 Recently, reactive oxygen species (ROS) are known to be important factors for carcinogenesis and tumor progression. Therefore, we focused on NADPH oxidase and utilized its inhibitor, apocynin for the suppression of hepatocarcinogenesis with medium-term rat liver bioassay.

〈**Materials and Methods**〉 Six-week-old male rats received an intraperitoneal injection of diethylnitrosamine at a dose of 200 mg/kg b.w. for initiation, and two weeks later, they were given drinking water with apocynin (0, 100 and 500 mg/L) for 6 weeks. The rats were subjected to two-thirds partial hepatectomy at the end of experimental week 3. All surviving animals were sacrificed at week 8. The number and size of the glutathione S-transferase placental form (GST-P)-positive liver foci were analyzed by image analyzer. ROS production in the liver was detected with dihydroethidium. Protein expression in liver was analyzed by Western blotting.

〈**Results**〉 There were no differences of body and organ weights and water consumption among the groups. Reduction of ROS by apocynin was detected in the liver. The number and size of the GST-P-positive foci were significantly reduced by apocynin with dose-dependent manner. Ki67 labeling indices were also significantly reduced by apocynin, but UNEL indices were not. The down-regulations of Nrf2, NQO1 and cyclin D1 were detected in the apocynin treated groups.

〈**Conclusion**〉 The present data suggest that apocynin possess a potential of anti-hepatocarcinogenic property.

## O-02

**Involvement of CAR in Tumorigenesis Induced by Acifluorfen**

○Kazunori Kuwata<sup>1,2,3)</sup>, Kaoru Inoue<sup>1)</sup>, Miwa Takahashi<sup>1)</sup>, Ryohei Ichimura<sup>1)</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1)</sup>, Yukio Kodama<sup>4)</sup>, Midori Yoshida<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>Div. Path., NIHS., <sup>2)</sup>Drug Dev. Div., MTPC., <sup>3)</sup>Fac. Agri., TUAT., <sup>4)</sup>Div. Toxicol., NIHS.,

<sup>5)</sup>Food Safety Commission, Cabinet Office

〈**Background**〉 Acifluorfen (ACI), a protoporphyrinogen oxidase inhibitor herbicide, promoted the accumulation of porphyrin and induced tumors in rodent liver. Porphyria is accepted as a risk factor for liver tumors in rodents and humans; however, the precise mechanisms of PROTOX inhibition have remained undetermined. We investigated the mode of action of ACI focusing on constitutive active/androstane receptor (CAR).

〈**Material and Methods**〉 Male CAR knockout mice (CARKO) and wild-type mice (WT) were treated with 2500 ppm acifluorfen in diet for 1, 4, 13, or 26 weeks. Before 26-week treatment with ACI, mice were initiated with diethylnitrosamine.

〈**Results**〉 ACI treatment (up to 13 weeks) induced cytotoxic changes in the liver. Concurrently, the number of PCNA-positive hepatocytes increased with prolongation of the treatment period in WT. In contrast, these changes were significantly attenuated in CARKO. ACI treatment led to increased liver protoporphyrin IX levels in both genotypes with comparable magnitudes. 26-week treatment with ACI clearly increased incidences and multiplicities of proliferative lesions including altered foci and adenomas of hepatocytes in WT, but these effects were much lower in CARKO. Regenerative hepatocellular hyperplasia and hepatocellular carcinoma were only detected in ACI-treated WT.

〈**Discussion**〉 Our present study suggests that CAR rather than porphyrin plays an important role in ACI-induced liver injury as well as tumor development.

## O-03

### Connexin 32 dysfunction promotes ethanol-related hepatocarcinogenesis via activation of Dusp1-Erk axis in rats

○Hiroyuki Kato, Aya Naiki-Ito, Satoshi Fuji, Shugo Suzuki, Shinya Sato, Toshiya Kuno, Satoru Takahashi

Dep. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

〈**Background and Aim**〉 Alcoholic beverages was defined carcinogenic to human by IARC. However, the detailed molecular mechanisms by which EtOH contributes to hepatocarcinogenesis have not fully elucidated to date. We use connexin 32 (Cx32) dominant negative transgenic rat (Tg) that were susceptible to hepatocarcinogenesis, and examined the role of Cx32 and investigate the mechanisms for alcohol-related hepatocarcinogenesis.

〈**Materials and Methods**〉 9 wk-old male Tg and littermate wild-type rats (Wt) were administered 1, 5 % EtOH or water ad libitum respectively for 16 wks after a peritoneal injection of diethylnitrosamine (200 mg/kg).

〈**Results**〉 The incidence of HCC was significantly increased by EtOH in Tg though that not in Wt. EtOH did not affect formation of GST-P positive foci, however in Tg, it increased Ki67 labeling indices in GST-P positive foci. The protein expression of pErk, pElk and cyclinD1 were elevated. The mRNA and protein expression of Dusp1, an Erk inhibitor, was significantly decreased in Tg-5%EtOH. Triple immunofluorescence staining of GST-P, pErk and Dusp1 revealed increases in nucleolar localization of pErk and contrasting reduction in Dusp1 expression in GST-P positive foci of Tg given EtOH. Additionally, mRNA expression of Dusp1 in GST-P positive foci were also significantly decreased in Tg given EtOH.

〈**Conclusion**〉 Cx32-Dusp1-Erk interaction may contribute to the tumor promoting activity of EtOH and subsequent development of hepatocarcinogenesis.

## O-04

### Possible involvement of oxidative stress in hepatocarcinogenesis in mice treated with piperonyl butoxide

○Masako Tasaki<sup>1</sup>, Yuichi Kuroiwa<sup>1</sup>, Tomoki Inoue<sup>1</sup>, Daisuke Hibi<sup>1</sup>, Kohei Matsushita<sup>1</sup>, Aki Kijima<sup>1</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>2</sup>, Takashi Umemura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div. of Path., NIHS, <sup>2</sup>BSRC, NIHS

〈**Introduction**〉 Despite possible involvement of oxidative stress in piperonyl butoxide (PBO)-induced hepatocarcinogenesis, the detailed mechanism of action remains unknown. In the present study, long-term exposure of *Nrf2*-deficient (*Nrf2*<sup>-/-</sup>) mice to PBO was performed to clarify the role of oxidative stress.

〈**Materials & methods**〉 Seven-week old *Nrf2*<sup>-/-</sup> and their wild-type (*Nrf2*<sup>+/+</sup>) of mice were exposed to 0, 3000 or 6000 ppm PBO for 8 or 52 weeks. Measurements of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) levels in liver DNA and hepatotoxicological parameters in serum at 8 weeks, and histopathological analysis in the livers at 52 weeks were examined.

〈**Results**〉 A significant elevation of 8-OHdG levels was observed in either genotype of mice given high-dose PBO and only in *Nrf2*<sup>-/-</sup> mice given low-dose PBO. There were no changes in any hepato-toxicological parameters. There were no inter-genotype changes in the incidence of regenerative hepatocellular hyperplasia (RHH). The incidence and multiplicity of hepatocellular adenomas in RHH were much higher in *Nrf2*<sup>-/-</sup> mice than in *Nrf2*<sup>+/+</sup> mice.

〈**Discussion**〉 Increment of 8-OHdG in *Nrf2*<sup>-/-</sup> mice given low-dose PBO suggests a high sensitivity of *Nrf2*<sup>-/-</sup> mice to PBO-induced oxidative stress. Since there were no inter-genotype changes in the incidence of RHH regarded as the early key event of hepatocarcinogenesis, the etiology of RHH may not involve oxidative stress. Oxidative stress may contribute to the progression of proliferative lesions to neoplasms.

## O-05

**Molecular biological characteristics of experimental high metastatic clones of rat RCC**

○Shotaro Yamano<sup>1</sup>, Kenji Yamada<sup>2</sup>, Kentaro Kajiwara<sup>3</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>4</sup>, Hideki Wanibuchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Osaka City University, <sup>2</sup>National Cancer Center Research Institute, <sup>3</sup>Osaka University, <sup>4</sup>Setsunan university

〈**Introduction**〉 We previously reported that establishment of rat renal cell carcinoma cell line rRCCd5. This cell line have metastatic activity into lung by intracapsule transplantation method. Accordingly, high metastatic clones d5krm#7 and #3 were established by in vivo selection methods from d5P. In this study, we evaluated the molecular biological characteristics of high metastatic clones.

〈**Material & method**〉 High metastatic clones d5krm#7, #3 and its parental clone d5P were used in this study.

〈**Results**〉 In 2D culture, Significant increasing of cell proliferative activity, CD44/CD133 double positive fraction and SP fraction were observed in high metastatic clones compared with d5P. Moreover, increasing of IC50 by sunitinib and everolimus treatment was detected in high metastatic clones compared with d5P. These data indicated that high metastatic clone have acquired the growth advantage, enrichment of stem cell population and drug-resistance. In 3D culture, advanced protrusions were only observed in highly metastatic clones. Moreover, ECM degradation via MMP activity was observed in high metastatic clones using DQ-collagen. These data indicated that collective cell invasion was important as 3D culture behavior of high metastatic clones.

〈**Conclusion**〉 These results suggested that acquisition of growth advantage, enrichment of stem cell population and collective cell invasion is needed for metastatic activity into lung in this model.

## O-06

**Possible mechanisms underlying exacerbation of osmotic nephrosis in the presence of kidney injury-2-**

○Kohei Matsushita<sup>1</sup>, Shinji Takasu<sup>1</sup>, Ken Kuroda<sup>1</sup>, Yuji Ishii<sup>1</sup>, Aki Kijima<sup>1</sup>, Keisuke Kitaura<sup>2</sup>, Makoto Sato<sup>2</sup>, Satoshi Matsumoto<sup>2</sup>, Takashi Umemura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div. Path., NIHS, <sup>2</sup>Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

〈**Aim**〉 The mechanism underlying exacerbation of osmotic nephrosis in the presence of kidney injury remains unclear. Clear tubules were shown to be formed by over-accumulation of causative agent in regenerative tubules at early phase (30th JSTP). In the present study, characteristics of regenerative tubules at early and late phases (stage I and II) were analyzed to investigate the mechanism.

〈**Methods**〉 Female F344 rats (10-weeks-old) were subject to ischemia/reperfusion in the left kidney and sacrificed after 3 or 7 days. cDNA microarray and quantitative PCR were performed in stage I and II collected by microdissection. HE and PAS, vimentin, PCNA and AQP1 immunohistochemistry and  $\gamma$ -GT histochemistry staining were performed.

〈**Results**〉 Brush border with PAS positive almost lacked in stage I, and was slightly in stage II. Vimentin protein was highly expressed in stage I and weakly in stage II. mRNA expression of cell cycle-related genes and PCNA positive cells increased in stage I. mRNA expression of transporter/endosome-related and metabolism/glycosidase-related genes markedly decreased in stage I. Stage II showed lower expression than normal, but higher than stage I. AQP1 protein expression and  $\gamma$ -GT activity showed the comparable results.

〈**Discussion**〉 Clear tubules may originate from stage I with greater decrease in degradation relative to low reabsorption capacity. Poor differentiated regenerative tubules due to kidney injury may contribute to exacerbation of osmotic nephrosis.



O-07

## Chemopreventive and chemotherapeutic effects of luteolin on rat prostate cancer

○Aya Naiki-Ito, Hiroyuki Kato, Shinya Sato, Shugo Suzuki, Toshiya Kuno, Satoru Takahashi

Dept. Exp. Path. & Tumor Biol., Nagoya City Univ. Grad. Sch. Med. Sci.

〈**Background**〉 The present study focused on the effect of luteolin with antioxidant properties on rat prostate carcinogenesis in transgenic rat for adenocarcinoma of prostate (TRAP), and castration-resistant prostate cancer cell line (PCa1), which was established from prostate cancer derived in TRAP, *in vitro* and *in vivo*.

〈**Methods**〉 i) Six-week-old male TRAP were fed basal diet or diet with luteolin (20 or 100 ppm) for 8 weeks. Each group consisted of 12 rats and prostate tissues were collected from each animal for the histopathological, gene and protein expression analysis. ii) Effect of luteolin on cell proliferation and apoptosis in PCa1 cells and on tumor growth of subcutaneously-implanted PCa1 in nude mice were analyzed.

〈**Results**〉 i) Luteolin decreased the incidence of adenocarcinoma and suppressed the progression from prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) to adenocarcinoma in TRAP. Increased apoptosis index with activation of caspase-3 and 7 was observed in high grade-PIN of TRAP treated luteolin. Production of reactive oxygen species, and mRNA expression of Gpx2 and Ho-1, which are oxidative stress defense genes, were reduced by luteolin. ii) luteolin suppressed cell proliferation in a dose-dependent manner *in vitro*, and inhibited tumor growth in a xenograft model via induction of apoptosis and down-regulation of Gpx2.

〈**Conclusion**〉 Luteolin is a potential chemopreventive and chemotherapeutic agent for prostate cancer via induction of apoptosis.

O-08

## LAT1 and 4F2hc expression in tumor microvasculature of BBN induced rat bladder carcinoma

○Tomoko Mutou<sup>1)</sup>, Shin Wakui<sup>2)</sup>, Yoshikatsu Kanai<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Toxicol and Pathol Res, SRICC, <sup>2)</sup>Dept of Tox., Azabu Univ. Such. Vet. Med., <sup>3)</sup>Dept. Pharmacol., Osaka Univ. Grad. Sch. Med.

System L is a major nutrient transport system responsible for the Na<sup>+</sup>-independent transport of large neutral amino acid including several essential amino acids, L-type amino acid transporter1 (LAT1) and heavy chain of 4F2 cell surface antigen (4F2hc) up-regulate to support malignant tumor cell growth *in vitro*. As tumor angiogenesis is critical for tumor cell growth, the present study was to clarify the expression of LAT1 and 4F2hc in tumor microvasculature of N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) induced rat bladder carcinomas. We had described the normal rat bladder microvasculature compose non-fenestrated endothelial cell, while bladder tumor microvasculature compose fenestrated and non-fenestrated endothelial cells. Electron microscopic immunohistochemical analyses revealed that LAT1 and 4F2hc were exclusively distributed at the fenestrated endothelial cells in bladder tumor microvasculatures, but almost all non-fenestrated endothelial cells and pericytes of microvasculature did not express them. The present studies first indicate that the blood capillary endothelial cells of microvasculature in rat bladder carcinomas are responsible for transport of large neutral amino acids by LAT1 and 4F2hc.

O-09

## Study on mechanism of dammar resin induced hepatocarcinogenesis in rats

○Masaki Fujioka, Min Gi, Shotaro Yamano, Satoko Kawachi, He Fang, Masanori Takeshita, Hideki Wanibuchi  
Dept. Mol. Path., Osaka city univ. grad. sch. med.

〈**Background**〉 Dammar resin is a food additive primarily used as a thickening agent. We previously reported that dammar resin induced liver tumors in a two-year rat carcinogenicity study and showed that it is negative for mutagenicity in *gpt* delta rats.

〈**Aim**〉 The purpose of this study is to clarify the mechanisms underlying the liver carcinogenesis induced by dammar resin in rats.

〈**Materials and Methods**〉 6 weeks old F344 rats were divided into 2 groups and were fed diet supplemented with dammar resin at doses of 0, 2% (carcinogenic dose), for 4, 13, 32 weeks.

〈**Results**〉 CYP1A1 was increased in livers of rats treated with dammar resin compared to respective controls and showed a time-dependent manner. These results suggest that activation of aryl hydrocarbon receptor may involve in dammar resin-induced rat hepatocarcinogenesis. Line-1 methylation analysis revealed that dammar resin induced global hypomethylation in rat livers. Moreover, we also found that low expression of *de novo* DNA methyltransferases DNMT3b might attribute to the global hypomethylation. Also, oncogene MYC expression increased in treatment group and DNA-binding protein which bound to MYC increased in dammar resin treatment group.

〈**Conclusion**〉 Our findings suggest that activation of nuclear transcription factor and aberrant DNA methylation are involved in the dammar resin-induced rat hepatocarcinogenesis.

O-10

## Responses of cell cycle proteins in rat liver cells to hepatocellular carcinogens/promoters at the early post-initiation phase

○Masayuki Kimura<sup>1,2)</sup>, Sayaka Mizukami<sup>1,2)</sup>, Yumi Kangawa<sup>1)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.

〈**Aim**〉 We examined time course of cell proliferation activity, apoptosis and expression of cell cycle proteins in the liver of rats treated with hepatocellular carcinogens/promoters, which do not evoke cell proliferation by repeated administration, after initiation.

〈**Materials and methods**〉 Two weeks after the initiation with DEN, animals were orally treated with hepatocarcinogenic promoter beta-naphthoflavone (BNF), hepatocarcinogen carbadox (CRB), weak hepatocarcinogen leucomalachite green (LMG) or non-carcinogenic hepatotoxicant acetaminophen for 2 or 4 weeks. All animals were partially hepatectomized at week 1.

〈**Results**〉 At week 2, all the chemicals non-specifically evoked cell proliferation. At week 4, BNF strongly evoked cell proliferation with increased expression of cell cycle proteins and apoptosis. BNF and CRB reduced the ratio of proliferative cells staying at M phase.

〈**Discussion**〉 This study revealed that tumor promoters that exert strong proliferation activity can increase expression of cell cycle proteins and apoptosis, even after short-term treatment. On the other hand, it is suggested that both hepatocarcinogens which do not evoke cell proliferation and promoters facilitating cell proliferation can induce spindle checkpoint dysfunction at week 4 of tumor promotion. However, marginal hepatocarcinogen do not induce this response, suggestive of the induction of spindle checkpoint dysfunction depending on the carcinogenic/tumor-promoting potential of chemicals.

## O-11

**Identification of foreign materials on the histological section by micro-FTIR and Raman spectroscopy**

○Hitomi Hagiwara<sup>1</sup>, Ryouhei Asou<sup>1</sup>, Yoriko Inomata<sup>1</sup>, Saki Ozawa<sup>1</sup>, Yoshiko Kondou<sup>1</sup>, Atsushi Isobe<sup>1</sup>, Junko Souba<sup>1</sup>, Masako Tasaki<sup>1</sup>, Kasuke Nagano<sup>2</sup>

<sup>1</sup>TERUMO Co., <sup>2</sup>Nagano Toxicologic-Pathology Consulting

〈**Background**〉 Some light analyses nondestructively provide useful structural information.

〈**Aim**〉 To identify foreign materials responsible for granuloma on tissue sections nondestructively Raman and infrared spectrometry were performed.

〈**Materials and Methods**〉 (1) The HE stained section of the porcine skin with foreign material was covered by glass which does not affect the Raman analysis and examined by micro-Raman spectrometer (NRS-5100, JASCO Co.). (2) The unstained serial paraffin section of rat lung with granuloma was placed on a dedicated diamond window and was analyzed by micro-fourier transform infrared spectrometer (FT-IR) (Spectrum100 / Spotlight400, Perkin-Elmer).

〈**Result**〉 (1) The spectrum of the foreign material on the skin was identified as that of a coating agent of implants by Raman analysis. (2) Specific peaks of the foreign material was obtained by FT-IR analysis after deparaffinization as followings; the absorption bands and their functional groups were 780cm<sup>-1</sup> (Si)-CH<sub>3</sub> symmetric bending, 1100 cm<sup>-1</sup> and 1020 cm<sup>-1</sup> Si-O asymmetric stretching, 1260 cm<sup>-1</sup> (Si)-CH<sub>3</sub> symmetric bending. And this spectrum was identified as the spectrum of silicone from the database of FT-IR.

〈**Conclusion**〉 We obtained the spectrum of foreign material on the sections by FT-IR and Raman analyses and identified material by use of extensive database of FT-IR.

## O-12

**International Globalization of Findings in Toxicologic Pathology by Peer Review and INHAND, and Consideration**

○Hijiri Iwata<sup>1</sup>, Takayuki Anzai<sup>2</sup>, Michihito Takahashi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>LunaPath LLC, Laboratory of Toxicologic Pathology, <sup>2</sup>Showa University School of Medicine,

<sup>3</sup>Pathology Peer Review Center

〈**Background**〉 For pathology peer review(PR), STP Society recommendation in 2010, OECD Guidance in 2012, and their advisory document in 2014 has been published. Then, the method was standardized globally. In Japan, comments of Pharmaceutical and Medical Devices Agency (PMDA) were expressed in 2015 GLP Workshop and PR done before data finalization was permitted. Furthermore, international standardization such as the introduction of Standard for Exchange of Nonclinical Data (SEND) of FDA pharmaceutical application and use of the International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic criteria (INHAND) is required. However, there are several practical problems.

〈**Methods**〉 Attentions on PR operation were discussed from STP recommendation, OECD Guidance and their advisory document. Terminology of INHAND was compared during each organ, and compared with drug induced lesions in data base such as NTP.

〈**Consideration for International Standardization**〉 1. Prospective PR was recommended from the efficiency and practical as routine work. 2. INHAND: It was not over yet to prepare all. There were some different terms during each organs. Many drug-induced findings were not applicable. And active discussion is expected further. 3. The diagnostic terminology rather than objective findings should be used, particularly in chronic toxicity and carcinogenicity study. 4. There was a difference in the arrangement of the term by computer system and it may become an issue in SEND data conversion.

## O-13

**Distribution of *Lgr5*-expressing epithelial stem cells in the regenerative process of gastric ulcer in mice**

○Akihiro Hirata<sup>1)</sup>, Kengo Namiki<sup>2)</sup>, Hiroki Sakai<sup>2)</sup>, Hiroyuki Tomita<sup>3)</sup>, Akira Hara<sup>3)</sup>, Tokuma Yanai<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Div. Animal Exp., Gifu Univ., <sup>2)</sup>Lab. Vet. Pathol., Gifu Univ., <sup>3)</sup>Dept. Tumor Pathol., Gifu Univ.

〈**Background & Aim**〉 Tissue regeneration requires proper spatial allocation and organization of stem cells. Recently, *Lgr5*-expressing cells have been identified as stem cells in the pyloric glands of adult mice. In this study, we examined the regeneration process after the experimentally-induced gastric ulcer in mice, focusing on the distribution of *Lgr5*-expressing putative stem cells.

〈**Materials and Methods**〉 For the visualization of *Lgr5*-expressing cells by means of EGFP detection, *Lgr5-EGFP* knock-in mice were used. Six-week-old mice received an intragastric administration of 0.2 ml acidified ethanol (0.3 M HCl in 60% ethanol) and then sacrificed on day 0 to 21.

〈**Results**〉 Histologically, acute ulcerations were observed in the glandular stomach of the treated mice. In the pyloric mucosa, a monolayer of epithelial cells covered the surface of ulcer bed by day 5. On day 7-10, the pyloric glands adjacent to the ulcerated regions showed branching phenotype by multiple fissions at the gland base. Of note, immunostaining for EGFP in *Lgr5-EGFP* knock-in mice and *in situ* hybridization for *Lgr5* revealed that *Lgr5*-expressing cells were located at the each base of the branching glands adjacent to the ulcers.

〈**Conclusion**〉 Our results indicated that the pyloric gland structures would be reconstituted by fission of the existing glands around ulcer and *Lgr5*-expressing putative stem cells are already located at its proper position in the newly-formed glands immediately after the fissions.

## O-14

**Radiation protection and blood pressure decreasing effect by miso of different fermented time**

○Hiromitsu Watanabe<sup>1,2)</sup>, Megumi Sasatani<sup>1)</sup>, Atsuko Takahashi<sup>2)</sup>, Yuichiro Miyasaka<sup>3)</sup>, Masao Yoshizumi<sup>4)</sup>, Tsutomu Masujima<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>RIRBM, Hiroshima Univ, <sup>2)</sup>Riken, <sup>3)</sup>Miyasaka Jozo Co.LTD., <sup>4)</sup>Gra. Scl. Biomed. Health, Hiroshima Univ.

The miso showed various bioactivities and its fermentation time affects the biological effects (H.Watanabe, J Toxicol Pathol 26, 91-103, 2013). Therefore, in this study, we explored the radioprotection activity and hypotensive actions of miso at different fermentation time using B6C3F1/CrJ mice and Dahl rats (DIS/EisSlc(Dahl S/Iwai)). One week before irradiation, six-week-old male B6C3F1 mice were fed a MF diet with the 10% miso at different fermentation time (1 month, 6 months, 11 months and 23 months) produced by Miyasaka Jozo or 2.3% NaCl. Mice were irradiated with 10 Gy (1Gy/min). They were autopsied for histological observation of intestinal crypt survival at 3.5 days after irradiation. Dahl S/Iwai rats of 4-weeks-old were fed those miso or salt diets. Blood pressure was measured by the tail cuff method (BP-98E, Softlone). When fermentation advanced, small intestinal crypt survival increased linearly. Tolazoline, eplerenone, pilocarpine, stachydrine and miglitol found by using Liquid chromatograph-mass spectrometer were identified in those miso. It shows good correlation between the concentration of Tolazoline and intestinal crypts survival. Otherwise, blood pressure was not increased in 2.3% NaCl only diet. So it was considered that the Dahl S/Iwai strain rats were not assumed to be suitable for study of blood pressure experiment at the lower concentration of NaCl. In summary, longer fermented miso might have stronger radiation protection effects.

O-15

## The risk of colorectal cancer in individuals with SNPs in NRF2 evaluated by using an experimental model of human colorectal cancer

○Yuh Yokoo, Aki Kijima, Yuji Ishii, Shinji Takasu, Takuma Tsuchiya, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura

Divisions of Pathology, National Institute of Health Sciences

⟨**Purpose**⟩ Examination of small intestinal tumors using oxidative stress-related gene-deficient mice administered KBrO<sub>3</sub> is able to provide significant information concerning the role of the gene in colorectal tumorigenesis in human. In the present study, exposure of *Nrf2*-deficient mice (*Nrf2*<sup>-/-</sup>) to KBrO<sub>3</sub> was performed to evaluate the risk of colorectal cancer in individuals with SNPs in *NRF2*.

⟨**Methods**⟩ *Nrf2*<sup>-/-</sup> and their wild type mice (wild) were treated with KBrO<sub>3</sub> at 0, 750, or 1500 ppm for 52 weeks followed by histopathological examination of the small intestine. An additional 13-week study was performed to examine the role of *Nrf2* in the early stage of small intestinal tumorigenesis.

⟨**Results**⟩ Atypical hyperplasia was observed at all doses in *Nrf2*<sup>-/-</sup>, the incidences being dose-dependently increased. Combined incidence of atypical hyperplasia and adenocarcinoma at the high dose in *Nrf2*<sup>-/-</sup> was significantly increased compared with that in the relevant control. No neoplastic lesions were observed in wild. There were no inter-genotype changes in 8-OHdG formation, but mRNA and/or protein expression levels of *Nrf2*-regulated genes were significantly increased only in wild. Protein expression levels of COX2 were markedly and PCNA-positive cell numbers were significantly increased in *Nrf2*<sup>-/-</sup>.

⟨**Discussion**⟩ Neoplastic lesions were induced in *Nrf2*<sup>-/-</sup> treated with KBrO<sub>3</sub> possibly due to COX2 overexpression. The overall data suggest that SNPs in *NRF2* may increase the risk of colorectal cancer.

O-16

## Cerebellar atrophy in a MRL/lpr mouse

○Kazufumi Kawasaki, Shino Kumabe, Takafumi Oshikata, Mikio Mitsuishi, Masao Hamamura

Pathology Department, Nonclinical Research Center, LSI Medience Corporation

⟨**Background**⟩ MRL/lpr mice are one of the animal models for human systemic lupus erythematosus that spontaneously develops behavioral abnormalities and neuropathological changes.

⟨**Material and method**⟩ The brain from female MRL/MpJ Jms *Slc-lpr/lpr* (MRL/lpr) mouse aged 26 weeks was stained with HE. IHC was performed using an anti-GFAP antibody.

⟨**Result**⟩ Histologically, the cerebellar fissures were distinct and the fourth ventricle was dilated. Symmetrical disappearance or degeneration of Purkinje cells, proliferation of Bergmann glia and vacuole formation in the Purkinje cell layer were observed throughout the cerebellum, except for the ventral cerebellar folia. Mild thinning of the granular layer with pyknotic nuclei was also observed. IHC with anti-GFAP antibody revealed isomorphic gliosis in the molecular layer, and gliosis in the granular cell layer and medulla of the cerebellum.

⟨**Discussion**⟩ Although imaging examinations have demonstrated smaller cerebellum in MRL/lpr mice compared to that of the control mice, histopathological examination on the cerebellum has not yet been reported. One of the lesions of the MRL/lpr mouse cerebellum was demonstrated in this report; however, further studies are needed to clarify whether the smaller cerebellum in imaging corresponds to the cerebellar atrophy in histopathology.

O-17

## Ophthalmologic and histopathological investigation of an enlarged eye in a Sprague-Dawley rat

○Norifumi Takimoto, Ken Kuroda, Harutaka Oku, Daisuke Hibi, Kenji Nakamura, Atsuko Murai, Koji Shimouchi, Mikio Konishi

Safety Research Laboratories, Discovery and Research, ONO Pharmaceutical Co., Ltd.

〈**Background and aim**〉 Spontaneous enlarged eye in Sprague-Dawley (SD) rats is rare and there is little information on its ophthalmologic and histopathological changes. In the present, we have experienced enlarged eye in a male SD rat, and examined ophthalmologic and histopathological features of the lesion.

〈**Materials and methods**〉 In a 13-week toxicity study using Crl:CD(SD) rats, enlarged eye was incidentally observed in one of the male rats. The ophthalmologic examination was conducted on day 83, and the rat was necropsied on day 92. The eyes were fixed with Glutaraldehyde-formalin for histopathological examination.

〈**Results**〉 The right eye had swelled after day 56. In the ophthalmologic examination, dilatation of anterior chamber, corneal focal opacity, hyperreflectivity in fundus, and retinal hemorrhage were observed. At necropsy, there were enlargement of the eye and optic nerve atrophy. Histopathologically, focal degeneration of cornea epithelium, brown pigmentation in ciliary body, focal hyperplasia of epithelium lentis, diffuse retinal atrophy, and optical nerve atrophy were found.

〈**Conclusion**〉 Although the definite cause of enlarged eye in this case was not identified, the dilatation of anterior chamber suggests the excessive accumulation of aqueous humor. Therefore, as a possible etiology, the accumulation of aqueous humor induced enlarged eye, and subsequently, increase of ocular pressure might cause these changes followed by retinal and optic nerve atrophy.

O-18

## A spontaneous histiocytic sarcoma in an 11-week-old female SD rat

○Yuka Nakano, Kaori Noishiki, Takanobu Okazaki, Kimiaki Hirakawa, Kinji Kobayashi

Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

〈**Introduction**〉 Histiocytic sarcoma is a very rare neoplasm in young rats. In this case, an 11-week-old, control-group female Crl:CD(SD) rat presented enlarged spleen (marked) and liver (slight) at necropsy in a toxicity study.

〈**Method**〉 The spleen and liver were examined microscopically after HE, immunohistological and special staining.

〈**Results**〉 Histopathology revealed large numbers of round/oval cells with clear nucleoli, large polymorphic nuclei and abundant eosinophilic cytoplasm among erythrocytes, with proliferative cell aggregation in some areas, and the sporadic presence of mitotic figures and phagocytized material, in the red pulp of the spleen. Similar round/oval cells were diffusely present in the sinusoids of the liver, proliferating to replace hepatocytes. No clear nodule formation or necrosis was observed in the spleen or liver. Immunohistochemically, these proliferating cells were positive for Iba-1, vimentin, Ki67, and PCNA, and negative for CD3 and CD45RA. They were positive for CD68 in the spleen but not the liver. CD68-positive Kupffer cells were also observed.

〈**Conclusion**〉 The proliferating cells had histiocytic characteristics, indicated neoplastic proliferation, and were more widespread in the spleen than the liver, and Kupffer cells were not the proliferating cells in the liver. Accordingly, a histiocytic sarcoma of splenic origin was postulated, and considered to be at early stage after tumorigenesis in this young rat.

O-19

## The Significance of Bile Duct Components in the Diagnosis of Malignant Liver Tumors in Mice

○Atsushi Shiga, Yasufumi Ota, Masayo Hosoi, Rumiko Miyajima, Kazushige Hasegawa, Isao Narama

Public Interest Incorporated Foundation, Biosafety Research Center (BSRC)

〈**Background/Aim**〉 In the diagnostic criteria of hepatocellular carcinoma (HCC) by INHAND (2010), the presence of bile duct in HCC tissues are clearly described. Combined hepatocellular and cholangiocellular carcinoma (HCC-CCC) has histological features of both HCC and cholangiocellular carcinoma (CCC) components, however the diagnostic criteria on the amount of ductal components is still controversial. The significance of bile duct components in the diagnosis of malignant hepatocellular tumors, focusing on the Combined HCC-CCC with scant CCC components and bile duct components-rich HCC is studied.

〈**Materials and Methods**〉 Three cases of Combined HCC-CCC in mice (Case. 1, 2: ICR, Male, 85-week-old, Case. 3: ICR, Female, 81-week-old) and one HCC (B6C3F1, Female, 88-week-old) were examined histopathologically.

〈**Results**〉 Case 1 was mainly composed of HCC components with a few CCC components. Cases 2 and 3 was also mainly composed of HCC components with some well-differentiated bile ducts. All 3 cases showed distant metastatic sites with Combined HCC-CCC. Case 4 was mainly composed of trabecular type of HCC with pseudoglandular structures and well-differentiated bile duct components without distant metastasis.

〈**Conclusion**〉 HCC with bile duct components should be diagnosed carefully based on histological features of metastatic sites. In Case 4, tumor cells formed bile duct-like structures. HCC and Combined HCC-CCC in mice are suggested to have same spectrum, as in humans.

O-20

## Histopathologic characteristics in congenital kyphoscoliotic Ishibashi rats during animal growth

○Mizuho Takagi, Yuko Yamaguchi, Tomomi Nakazawa, Natsumi Shimoyama, Masao Takano, Kazutoshi Tamura, Toru Hoshiya

BoZo Research Center Inc.

〈**Introduction**〉 Ishibashi rats (ISR) are known to have congenital malformation leading to kyphoscoliosis in their lumbosacral vertebrae. We observed the vertebrae of fetal, juvenile and adult ISR suffering congenital kyphoscoliosis in detail, and report the occurrence point, initial changes and development of the lesions.

〈**Materials and methods**〉 H.E. specimens of vertebrae obtained from fetal (14, 16, 19 days postcoitum (dpc)), juvenile (4, 11 days old and 4 weeks old (wo)) and adult ISR (39 wo) were prepared routinely.

〈**Results and Conclusion**〉 Macroscopically, abnormal curvature was found in 60.0% of 36 wo ISR in various degrees. Histopathologically, chondrodysplasia or fusion of adjacent vertebral body endplates due to loss of vertebral disk and fusion of adjacent vertebral body were observed in particular from the third (L3) to sixth lumbar vertebra (L6). These lesions were homogenous with those observed in 21 wo ISR. In L3 to L6 of fetal ISR, the boundary between vertebral body and disk was obscure and in severe degree, showing fusion of adjacent vertebral body. Obscuration of vertebral disk was particularly clear in the ventral side of the vertebra. These lesions were observed in a few 14 dpc fetuses, but frequency was increased in 16 dpc. In 19 dpc fetuses, fusion of vertebral body was clear.

As described above, it is suggested that curvature of ISR vertebra occurs in intervertebral disk lesions in the fetal period and progresses during animal growth.



**O-21**

## Spontaneous testicular changes in Microminipigs

○Akihisa Kangawa, Masayoshi Otake, Satoko Enya, Masatoshi Shibata

Shizuoka Prefectural Research Institute of Animal Industry, Swine and Poultry Research Center

〈**Background**〉 Microminipigs are one of the smallest experimental pigs, weighing about 10 kg at six months of age. Microminipigs have been used in various experiments and researches, however the histological features have scarcely been reported. In non-rodents experimental animals such as minipigs, beagle dogs, rabbits, and monkeys, spontaneous testicular changes are said to bring difficulties in toxicological studies.

〈**Aim**〉 To clarify the incidence and extent of spontaneous testicular changes in microminipigs.

〈**Materials and Methods**〉 Testes of microminipigs from 3 to 12 months of age were submitted for histological examinations. The testes were fixed in FSA or modified Davidson's fluid and embedded in paraffin. Histological examinations were performed according to the published nomenclature (Rehm 2000).

〈**Results**〉 Hypospermatogenesis and Multinucleated giant cells were observed in almost all pigs regardless of age. The extents of the changes on average were 0.15% to 0.36% and 0.09% to 0.42%, respectively. Tubular atrophy/hypoplasia were seen in pigs older than 4.5 months of age. The highest incidence rate was five out of six at 8.5 and 12 months of age. The extents of the changes were 0.04% to 0.33% on average.

〈**Conclusion**〉 Spontaneous testicular changes were observed in microminipigs as well as other non-rodents reported in the literature. The influence of these changes to the toxicological studies, however, could be minimal since the extent of these changes was quite low.

**O-22**

## Morphological and immunohistochemical features of mammary adenocarcinoma in pregnant Sprague-Dawley rats

○Ayako Sayama, Takashi Aoki, Shinobu Hakamata, Kayoko Ishikawa, Isao Igarashi, Toshihiko Makino, Kiyonori Kai, Wataru Takasaki

Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

The distribution of myoepithelial cells in mammary adenocarcinoma in three pregnant CrI:CD(SD) rats were investigated. Case 1: The animal received an oral 2-day administration of trimethadione at gestation day (GD) 9 & 10, and a mass in the lower abdomen was found at GD 10. At autopsy, it was at GD 20. Case 2: The animal received subcutaneous 3-day administration of insulin formulation from GD 9 to 11, and a mass was found in the lower abdomen in a later period of the gestation. At autopsy, it was at GD 20. Case 3: At autopsy, a mass in the lower abdomen was found in the non-treated animal at GD20. Microscopically, the mass consisted of columnar epithelial cells forming several layers in all cases. In Case 1, the cells arranged in an alveolar/tubular pattern, and in Case 2 and 3, the cells arranged in cribriform and comedo patterns, respectively. Immunohistochemically, solitary  $\alpha$ -Smooth Muscle Actin ( $\alpha$ -SMA) positive cells were observed inside the multilayered lesions as well as in the basement of the epithelium. The solitary  $\alpha$ -SMA positive cells were observed especially in Case 2 and 3. Since they showed multilayered proliferation, three cases were thought to be spontaneous mammary adenocarcinoma. The  $\alpha$ -SMA positive cells, considered to be myoepithelial cells, were found to exist not only in the basement of the epithelium, but also inside the multilayered lesions. The solitary  $\alpha$ -SMA positive cells showed an increasing trend in proportion to the thickness of the epithelium.



O-23

## Late Onset Effect of Iminodipropionitrile on Mouse Hippocampal Neurogenesis with Epigenetic Toxicity

○Takeshi Tanaka<sup>1,2)</sup>, Yasuko Hasegawa-Baba<sup>1)</sup>, Megu Itahashi<sup>1,2)</sup>, Katsuhide Igarashi<sup>3)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>UGSVS, Gifu Univ., <sup>3)</sup>L-StaR, Hoshi Univ.

〈**Background and Aim**〉 Iminodipropionitrile (IDPN) is known to cause proximal axonopathy in the rodent nervous system. We examined the developmental exposure effect to IDPN on mouse hippocampal neurogenesis including epigenetic effect on DNA methylation.

〈**Materials and Methods**〉 Oral doses of IDPN (0, 600, or 1200 ppm in drinking water) were given to maternal mice from gestational day 6 until weaning on postnatal day (PND) 21. Neurogenesis markers in the dentate gyrus (DG) of offspring were immunohistochemically examined on PND 21 and PND 77. Genes showing promoter region hypermethylation were examined in the DG using next generation sequencing on PND 21.

〈**Results**〉 Granule cells expressing neuronal plasticity-related ARC or FOS, and GFAP<sup>+</sup> stem cells, TBR2<sup>+</sup> or DCX<sup>+</sup> progenitor cells, and PCNA<sup>+</sup> proliferative cells in the subgranular zone were decreased at 1200 ppm only on PND 77. Promoter region hypermethylation accompanying transcript downregulation was detected with three genes (*Edc4*, *Kiss1*, *Mrpl38*) at 1200 ppm. Immunohistochemically, neurons expressing MRPL38, mitochondrial ribosomal protein, were decreased in the dentate hilus on both PND 21 and PND 77.

〈**Conclusion**〉 Maternal IDPN exposure induces late effect on hippocampal neurogenesis targeting broad populations of granule cell lineage in mouse offspring. For this late effect, sustained alteration in epigenetic gene control was suggested to be involved in hilar interneurons.

O-24

## Myocardial lesions with nuclear alteration and hydropic degeneration induced by Amphotericin B in monkeys

○Ryosuke Kobayashi<sup>1)</sup>, Daiki Kobayashi<sup>2)</sup>, Takashi Hirashima<sup>2)</sup>, Hideki Harada<sup>2)</sup>, Yasuyuki Oonishi<sup>2)</sup>, Takuya Doi<sup>1)</sup>, Yumi Wako<sup>1)</sup>, Takeshi Kanno<sup>1)</sup>, Minoru Tsuchitani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Pathology Department, LSI Medience Corporation, <sup>2)</sup>Safety Assessment Department, LSI Medience Corporation

〈**Background**〉 Amphotericin B (AmB) used to treat fungal infections has numerous adverse effects, especially renal failure. Histopathology of myocardial lesions induced by AmB has not been reported although AmB rarely exhibits cardiotoxicity. In this study, we report pathological characteristics of myocardial lesions in monkeys treated with AmB.

〈**Material and Method**〉 Female cynomolgus monkeys were administered a single i.v. injection of AmB at doses of 1, 2 and 4 mg/kg (n=3 each) and necropsied 7 days after injection. In the heart, longitudinal sections were examined using histopathological, immunohistochemical and electron microscopic methods.

〈**Results**〉 Multifocal myocardial degeneration was observed in 2 cases in the 2 mg/kg group (minimal grade) and 2 cases in the 4 mg/kg group (mild and severe grade). The cardiocytes showed swelling and vacuolar formation in the cytoplasm with karyomegaly/multinucleation. The lesions occurred mainly at the base of the heart in the left ventricle and septum, and papillary muscles in the left ventricle. Moreover, electron microscopy revealed hydropic degeneration with deterioration of myofibril and mitochondrial swelling in the cardiocytes. Histopathological changes were not significant in other systemic organs, except for renal tubular degeneration.

〈**Conclusion**〉 The myocardial lesions in 4 cases were considered to have been induced by AmB. The pathogenesis might be associated with direct cell injury and/or irregular cardiac perfusion.

**O-25****Activation of ERK1/2 on DHPN-induced lung carcinogenesis in F344 rats**

○Keiko Yamakawa<sup>1)</sup>, Masanao Yokohira<sup>1)</sup>, Yuko Narusawa<sup>1)</sup>, Shohei Kanie<sup>1)</sup>, Shota Yoshida<sup>1)</sup>, Kousuke Saoo<sup>1,2)</sup>, Katsumi Imaida<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Onco-Pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University, <sup>2)</sup>Kaisei General Hosp.

⟨**Aim**⟩ The activation of ERK1/2, a downstream pathway of Ras, plays a key role in the regulation of proliferation. In mouse lung carcinogenesis model, mutations of Kras have been detected at high frequency. Previous reports have suggested that activation of ERK plays a key role in malignant transformation during mouse NNK-induced lung carcinogenesis. In this study, ERK1/2 activation in the N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN)-induced rat lung tumors were examined immunohistochemically.

⟨**Materials and Methods**⟩ Male F344 rats, 6-week old, were given 0.1% DHPN in the drinking water for 2weeks, and then maintained without additional treatment until sacrifice at week 52. The phosphorylated ERK1/2 (pERK1/2) expression in 12 adenocarcinomas was examined by immunohistochemical staining.

⟨**Results**⟩ Histopathologically, infiltration of neutrophils and lymphocytes and scirrhous reaction were observed in adenocarcinoma lesions. The expressions of pERK1/2 were observed in 9 adenocarcinomas, however, the pERK1/2 positive cell was little. In 8 adenocarcinomas, expression of pERK1/2 was observed in stromal cells surrounding adenocarcinomas.

⟨**Conclusion**⟩ The activation of ERK1/2 in these rat lung adenocarcinomas was not clear. It is necessary to search the proliferative capacity and frequency of mutations of Kras or other gene in DHPN-induced adenocarcinomas.

**O-26****Histopathological changes induced by multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) lung deposition due to inhalation exposure to rats**

○Shigetoshi Aiso, Kenji Takanobu, Taku Katagiri, Hideki Senoh, Yumi Umeda, Shoji Fukushima

Japan Bioassay Research Center

⟨**Background and Aim**⟩ Carcinogenicity of a MWCNT, MWNT-7 has become clear based on an evidence that two year inhalation studies in rats exerted induction of lung carcinomas. It is important to understand the actual situation of clearance via the alveolar walls and the reaction of the epithelium to the inhaled MWNT-7 in aspects of mode of action of lung carcinogenicity.

⟨**Materials and Methods**⟩ Male, 6-week-old F344 rats were exposed to MWNT-7 aerosol for 3 days and 5 days (6 h/day), and 2 weeks and 4 weeks (6 h/day, 5 day/week) at doses of 0, 0.2 or 2 mg/m<sup>3</sup>. After predetermined exposure, animals were necropsied. Formalin-fixed, paraffin -embedded lung samples were subjected to histopathological, immunohistological and ultramicroscopical examinations.

⟨**Results**⟩ On day 3, proliferation of immature Clara cells was observed at intermediate region of the lung. On day 5, the proliferating immature cells overlaid MWNT-7 and MWNT-7 -phagocytosed macrophages were enclosed. At 4 weeks exposure, alveolar type2 cells appeared above the preliminary proliferate epithelial cells that enclosed MWNT-7 and MWNT-7-phagocytosed macrophages. Ultrastructurally, localized organization and remodeling of alveolar structure occurred. Immunohistochemically, MWNT-7-phagocytosed macrophages were not observed in the alveolar wall.

⟨**Conclusion**⟩ As one of the processing method of the MWNT-7 deposited in the lung, the enclosing by the immature Clara cells, and secondly type2 cell proliferation were indicated.

O-27

## Histopathological analyses of calcified atherosclerosis in ApoE-knockout mice

○Masa-Aki Shibata<sup>1)</sup>, Eiko Shibata<sup>2)</sup>, Mariko Harada-Shiba<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Anatomy & Histopathol, Grad. Sch. of Health Sci., Osaka Health Sci. Univ.,

<sup>2)</sup>Dept. of Mol. Innov. in Lipidol, Natll. Cereb. & Cardiovasc. Centr. Res.

Plaque calcification is regarded as an old or advanced lesion of clinical importance in atherosclerosis with a strongly suggested relationship between calcified lesions and unstable plaques.

〈**Methods**〉 Calcified plaques in 25 to 44-week old female atherosclerosis of ApoE-knockout (ApoE-KO) mice fed normal diet were analyzed with special stains to identify bone and cartilage and by immunohistochemistry for expression of osteoblast differentiation factors BMP-2/4 and the smooth muscle marker  $\alpha$ -SMA.

〈**Results**〉 Expression of BMP-2/4 was elevated in both atherosclerotic plaques and in neighboring smooth muscle cells but was markedly decreased in areas of ossification/chondrification. BMP-2, but not BMP-4, was expressed specifically in smooth muscle cells of normal aorta. High  $\alpha$ -SMA expression was shown in lesions undergoing differentiation to bone and/or cartilage and low expression in completely differentiated lesions, suggesting derivation of osteoblasts from smooth muscle cells.

〈**Conclusions**〉 Osteoblasts contributing to cartilage/bone formation in atherosclerotic lesions may be of smooth muscle origin. Further, the ApoE-KO mouse may be a useful model for both development of therapeutic drugs and the evaluation of their efficacy.

O-28

## In vivo toxicity and effectiveness of Mcl-1-targeting small-molecule inhibitors

○Kenichiro Doi, Hideki Wanibuchi, Min Gi, Anna Kakehashi, Naomi Ishii, Shotaro Yamano

Molecular Pathology, Osaka City Univ. Graduate School of Medicine

〈**Background**〉 An anti-apoptotic member of the Bcl-2 family proteins, myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1) correlates with drug resistance and poor prognosis in various cancers. Recently, we discovered a marine-derived natural product as a Mcl-1 inhibitor and named it Maritoclax (Doi K, JBC2012). Our project focuses on pharmacologic inhibition of Mcl-1 by pro-apoptotic small-molecule inhibitors.

〈**Method**〉 GST-tagged mouse Mcl-1 $\Delta$ NC protein was expressed in E.coli and was used for ELISA and FP assay. 15N-Mcl-1 $\Delta$ NC protein was also purified for NMR titration. Drug-resistant leukemic cell lines and Mcl-1-IRES-Bim or Bcl-2-IRES-Bim transduced cells were established. Tumor xenograft and engraftment models in mice were used for in vivo evaluation of toxicity and effectiveness, and pharmacokinetic analysis was conducted.

〈**Results**〉 Maritoclax and pyoluteorin derivatives shorten Mcl-1 half-life via proteasomal degradation which caused mitochondrial apoptosis in a Bax/Bak-dependent manner. Derivatives bearing a single pyoluteorin motif were characterized as more soluble than Maritoclax as based on structure-activity relationship which suggested pharmacophore(s) to exert biological effects. Derivatives synergized with the Bcl-2/Bcl-xL inhibitor ABT-737 in vivo without any toxicity.

〈**Discussion**〉 Improvement of drug-delivery system for enhanced permeability and retention effect is needed and appropriate co-treatment protocol should be investigated for derivatives as novel anti-cancer drugs.

O-29

## Alveolar hyperplastic lesions observed in rats administered multi-wall carbon nanotube by repeated intratracheal instillation

○Yoshimitsu Sakamoto<sup>1</sup>, Motoki Hojo<sup>1</sup>, Akihiko Hirose<sup>2</sup>, Akiko Inomata<sup>1</sup>, Dai Nakae<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Tokyo, Metropol.Inst.Pub.Health, <sup>2</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>3</sup>Tokyo Univ. Agricul.

〈**Background**〉 Multi-wall carbonnanotube (MWCNT) induces mesothelioma in rodents and thus its risk must be assessed as appropriate. The present study was conducted to evaluate biological characteristics of histologically different alveolar hyperplastic lesions observed in rats given repeated intratracheal spray instillation of MWCNT.

〈**Methods**〉 Male Han:WIST rats were exposed to 12 quadweekly intratracheal instillations of MWCNT [MWNT-7; 2 $\mu$ m (L),75nm (D), Fe0.344%], in suspension with a vehicle of sucrose and Tween 80, at doses per administration of 0 (vehicle), 0.01, 0.05 and 0.25 mg/kg body weight for 44 weeks and kept untreated for additional 52 weeks. The experiment was then terminated, and all organs were pathologically examined.

〈**Results and Discussion**〉 MWCNT deposition was observed mainly in alveolar space and also in the perivasucular or peribronchiolar regions including lymphatic tissues of the exposed animals. Slight alveolar inflammatory/fibrotic changes and histologically distinguishable 2-type alveolar hyperplastic lesions were observed in such animals. One type was a hyperplasia of typeII alveolar cells in alveoli with MWCNT-laden macrophages. In the other type, mono- or multilayered squamous/polygonal cells lined along the alveolar walls, and small clusters of proliferating cells were scattered. Both types of lesions were induced in a dose-dependent manner. Detailed evaluation on biological characteristics of these lesions are in progress.

O-30

## Lung Carcinogenesis in Rats Exposed to Multi-walled Carbon Nanotubes (MWCNT) by Whole Body Inhalation

○Yumi Umeda, Hideki Senoh, Kenji Takanobu, Taku Katagiri, Shigetoshi Aiso, Tatsuya Kasai, Makoto Ohnishi, Shoji Fukushima

Japan Bioassay Research Center, JISHA

Cancer development due to straight type of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) has raised concerns for human health safety because of its similar shape as asbestos. In the animal experiment study, there is no carcinogenicity data in the long-term inhalation study. We present here the result of carcinogenicity study in rats by whole body exposure.

〈**Methods**〉 Straight-type MWCNTs (MWNT-7) were purchased from Hodogaya Chemical, Co. Ltd. A dry aerosol generator by cyclone sieve method was used in whole-body inhalation exposure system. F344 rats of both sexes were exposed by inhalation to MWNT-7 aerosol for 6 h/day, 5 day/week and 104 weeks at doses of 0.02, 0.2 or 2 mg/m<sup>3</sup>. Necropsy was preceded, and organ weight, microscopy were examined.

〈**Results**〉 In necropsy, masses and white patch in the lung were found in exposed group. Lung weights were increased in males exposed to 0.2 mg/m<sup>3</sup> and above, and all exposed females. Histopathologically, the incidences of lung cancer (bronchiolo-alveolar carcinoma, adenosquamous carcinoma, squamous carcinoma and poorly differentiated adenocarcinoma) in males exposed to 0.2 mg/m<sup>3</sup> and above and in females exposed to 2 mg/m<sup>3</sup> were significantly increased. No exposure-related tumors were observed in any other organs.

〈**Conclusion**〉 It can be concluded that there is clear evidence of carcinogenicity of the straight type of MWNT-7 in male and female rats. (This study carried out on a commission from the Ministry of Health Labour and Welfare of Japan.)

**P-01****Effects of magnetite nanoparticles on carcinogenicity of DHPN in Fischer 344 rats**

○Y Tada<sup>1</sup>, H Takahashi<sup>1</sup>, K Yuzawa<sup>1</sup>, H Ando<sup>1</sup>, Y Kubo<sup>1</sup>, A Nagasawa<sup>1</sup>, F Kaihoko<sup>1</sup>, M Houjou<sup>1</sup>, A Inomata<sup>1</sup>, D Nakae<sup>2</sup>, M Kurita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, <sup>2</sup> Tokyo University of Agriculture

〈**Background**〉 Magnetite is genotoxic both in vitro and in vivo, and thus it is urgent to assess its carcinogenic potency. In rats, we have previously found that intratracheally instilled magnetite induces alveolar hyperplasia in a chronic toxicity study, but does not exert carcinogenic potency in 2-stage carcinogenic studies and inhibits lung carcinogenicity of DHPN. The present study assessed effects of magnetite on extra-pulmonary carcinogenicity of DHPN.

〈**Method**〉 Male Fischer 344 rats, 6-week-old, were randomly separated into 5 groups, and given a vehicle drinking water (groups I and II) or a water containing 0.1% DHPN (III, IV and V) for 2 weeks. Thereafter, rats were exposed to 7 quadweekly intratracheal instillations of magnetite at doses per administration of 0 (I and III), 5.0 (II and IV) or 1.0 (V) mg/kg body weight. The experiment was terminated 30 weeks after the commencement, and all organs were pathologically examined.

〈**Result**〉 DHPN induced tumors in the thyroid gland, esophagus and kidney. The incidence (77.8, 47.4 and 61.1%, for III, IV and V, respectively) and multiplicity (1.33, 0.89 and 1.06) of the thyroid follicular cell tumors were reduced by the magnetite treatment in a dose dependent manner. The incidence and multiplicity of the renal tumors were slightly reduced in the high dose magnetite-treated group. It is thus indicated that magnetite may inhibit the carcinogenicity of DHPN not only for the lung but also as a whole.

**P-02****The expression of S100A4 in the DHPN-induced lung tumors of rats**

○Yuko Narusawa<sup>1</sup>, Masanao Yokohira<sup>1</sup>, Keiko Yamakawa<sup>1</sup>, Shohei Kanie<sup>1</sup>, Shota Yoshida<sup>1</sup>, Kousuke Saoo<sup>1,2</sup>, Katsumi Imaida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Onco-Pathol., Fac. Med., Kagawa Univ. , <sup>2</sup>Kaisei General Hosp.

S100A4 is known as a metastasis-related protein in various human cancers, to have functions in cell cycle progression, extracellular functions and invasion. In human lung cancer, the expression of S100A4 has been reported in non-small cell carcinoma, and its upregulation is significantly associated with poor prognosis in lung adenocarcinoma. In present study, we demonstrated the expression of S100A4 in the DHPN-induced lung tumors of rats.

On week 0, male Wistar-Hannover rats were initiated for lung tumorigenesis by 0.1% DHPN in drinking water for 2 weeks, and 2 mg quartz/rat was administrated to animals in quartz group. On week 52, all rats were sacrificed. The lungs were analyzed histopathologically and immunohistochemically. The lungs of rats were immunostained by the avidin-biotin complex (ABC) method, all processes from deparaffinization to counterstaining with hematoxylin being performed automatically using the Ventana Discovery<sup>TM</sup> staining system (Ventana Medical Systems, AZ, USA). S100A4 (ab27957, Abcam) was employed at 1:400 dilution and anti-rabbit secondary employed as secondary antibody.

In the lung tumors, S100A4 was expressed, and the positive cells might increase in adenocarcinoma than adenoma. The lung tumors of rats were expressed S100A4 as well as human lung cancer.

## P-03

## Temporal and Quantitative Histological Analysis using Whole slides of Bleomycin Induced Pulmonary Fibrosis in Mice

○Yuta Fujii, Masamitsu Aoki, Tomoaki Tochtani, Mami Kouchi, Izumi Matsumoto, Toru Yamada, Hitoshi Funabashi

Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.

〈**Background and Aim**〉 In pulmonary fibrosis of mice induced by single intratracheal (IT) administration of bleomycin (BLM), the lesion is seen mainly around bronchi. Thus, if areas are randomly chosen, the results may be biased. We used whole slide image (WSI) analysis to avoid this bias, and clarified the temporal histological changes, and the relationship between the histological changes and other endpoints of fibrosis.

〈**Materials and Methods**〉 Male C57BL/6J mice received single IT administration of BLM (5 mg/kg, n=4-6). The lung were examined qualitatively using HE slides and quantitatively using WHI analysis of slides stained with modified Masson trichrome (MTC) stain and IHC for alpha-SMA. In addition, mRNA expression levels of fibrosis related genes (*Acta2*, *Colla1*, *Tgfb1*) and hydroxyproline (HP) were examined.

〈**Results**〉 In image analysis of MTC-stained slides, the percentage of fibrotic area of BLM was higher than that of control at 1 week, and increased until 2.5 week. The percentage of immunopositive area for alpha-SMA of BLM was higher than that of control at 1 week, and increased until 2 week. Thereafter, the percentage decreased. Similar temporal change was observed in *Acta2*. The HP was high from 3 week to 6 week. The results of qualitative examination and that of image analysis were correlated.

〈**Conclusion**〉 WHI analysis clarified the temporal changes of the pulmonary fibrosis, and the relationship between the histological changes and other endpoints of fibrosis.

## P-04

## 26-week carcinogenesis study of 1,2-dichloroethane by repeated topical application using rash2 mice

○Takamasa Numano<sup>1)</sup>, Mayuko Suguro<sup>1)</sup>, Yuko Doi<sup>1)</sup>, Mayumi Kawabe<sup>1)</sup>, Koji Urano<sup>2)</sup>, Hideki Tsutsumi<sup>2)</sup>, Akihiro Hagiwara<sup>1)</sup>, Yukinori Mera<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>DIMS Institute of Medical Science, <sup>2)</sup>Central Institute for Experimental Animals

〈**Background**〉 A typical 26-week rash2 mice carcinogenesis study has been approved as an alternative to the conventional bioassay by regulatory authorities. However, percutaneous absorption plaster has not been covered. It has been reported that 1,2-dichloroethane (DCE) showed the lung carcinogenicity by repeated topical application to CD-1(ICR) mice. In this study, the reproducibility of DCE was confirmed by topical application to the rash2 mice for 26 weeks.

〈**Method and results**〉 DCE was applied to the both sexes of rash2 mice (10 mice in each sex per group) at a dose of 126 mg/mouse, 3 times/week for 26 weeks. Acetone (100uL/mouse) used as vehicle was applied once daily. At necropsy, discolored area or nodule of lung were seen in DCE treated mice. Histopathologically, alveolar hyperplasia, adenoma or adenocarcinoma of lung were seen in DCE treated mice. The incidences of adenoma and adenocarcinoma were 80% ( $P < 0.01$ ) and 50% ( $P < 0.05$ ) in male mice and 70% and 100% ( $P < 0.01$ ) in female mice.

〈**Summary**〉 The carcinogenicity of DCE, showed to CD-1(ICR) mice, was confirmed by repeated topical application to rash2 mice with statistical significance. Thus, these results indicated that the carcinogenicity of test material applied skin could be elucidated using rash2 mice. In order to develop the ultra-short-term lung carcinogenesis study, we also conducted the two-stage lung carcinogenesis study using DCE as an initiator. The results are now to be reported.

**P-05****Effects of multiwall carbon nanotube on the pulmonary injury and expression status of specific cytokines**

○Harutoshi Matsumoto<sup>1</sup>, Katsumi Fukamachi<sup>1</sup>, Mitsuru Futakuchi<sup>1</sup>, Hiroyuki Tsuda<sup>2</sup>, Masumi Suzui<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dep. Mol. Toxicol., Grad. Sch. Med. Sci. Sch., Nagoya City Univ, <sup>2</sup>Nanotoxicol. Project., Nagoya City Univ.

The purpose of the present study was to examine inflammatory profile and gene expression study induced by intratracheal instillation of multiwall carbon nanotube (MWCNT) into rat lung. Male F344 rats were treated with 0.5 mL of 250 mg/mL suspensions of three fractions of MWCNT eight times over a 14-day period by intrapulmonary spraying (IPS). After the last IPS, the rats were sacrificed (two-week-study). At 52 and 104 weeks after the start of the experiment, the remaining rats were also sacrificed (one-year and two-year-study). At 2weeks examination, area of inflammatory was significantly increased in the FT fraction treatment group as compared to the other two fractions treatment groups and control group. At 52weeks examination, area of inflammatory and number of foreign granulomatous/fibrous was significantly increased as compared to control group. mRNA expression levels are low in any of two-week study samples (FT, P, and R fractions). Levels of protein expression of cytokines increased in any of two-week study samples. mRNA expression increases in any of fifty two-week study samples (FT, P, and R fractions). After 52weeks of treatment, protein expression of Csf3 and Cxcl2 persists high compared to that of the vehicle control samples. Protein expression status of Csf3 and Cxcl2 may link with inflammation in the lung tissue of 52-week study, indicating that expression of these two cytokines may be useful as biomarkers that predict existence of inflammation.

**P-06****Adjuvant effects of transcutaneously exposed silver nanoparticles**

○Young-Man Cho<sup>1</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1</sup>, Tadashi Hirata<sup>1,3</sup>, Mizuki Sone<sup>1,4</sup>, Reiko Adachi<sup>2</sup>, Yoshie Kimura<sup>2</sup>, Tomoko Nishimaki-Mogami<sup>2</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div. Path. NIHS, <sup>2</sup>Div. Biochem., NIHS, <sup>3</sup>Showa Univ., <sup>4</sup>Tokyo Univ. Agricul. Technol.

〈**Background**〉 Silver nanoparticles (AgNPs) are, due to antimicrobial properties, used in cosmetics, clothes, household products and even in food contact materials. We investigated immunological and histopathological changes of mice transcutaneously sensitized with ovalbumin (OVA) + AgNPs.

〈**Methods**〉 Different sized AgNPs (10, 60 and 100 nm) at a dose of 49 $\mu$ g with 100 $\mu$ g OVA was applied in skin patches to the left flanks of 8-week old BALB/c female mice 3 days a week for 4 weeks, and immune responses were evoked with 1 or 5 mg of OVA given via i.p. or i.g. routes, respectively. Rectal temperatures, scores on anaphylactic responses, plasma histamine levels and histopathological changes were evaluated.

〈**Results**〉 In the OVA + AgNPs groups evocated via i.p. injection, increased IgG1 and IgE levels after sensitization and decreased rectal temperature, with augmented anaphylaxis scores and plasma histamine levels after evocation were noted. Ki67-positive germinal center in the lymph node was observed more frequently than in the vehicle group. In the OVA + AgNPs groups evocated via i.g. injection, increased IgG1 and IgE levels were observed. No significant differences in any parameters between OVA and OVA + AgNPs groups were observed.

〈**Conclusion**〉 Although this model is useful for evaluation of sensitization and anaphylaxis reaction, transcutaneous exposure to AgNPs is not sufficient to activate key immune pathways necessary for sensitizing mice for immediate hypersensitivity reactions.



**P-07****Permeability of skin to nano platinum particles after the epidermal skin barrier is disrupted**

○Fumiaki Kumagai<sup>1)</sup>, Mai Todoroki<sup>1)</sup>, Mika Senuma<sup>1)</sup>, Yoshiaki Saito<sup>1)</sup>, Kazuma Higashisaka<sup>2)</sup>, Yasuo Yoshioka<sup>2)</sup>, Yasuo Tsutsumi<sup>2)</sup>, Makiko Kuwagata<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Hatano Research Institute, FDSC, <sup>2)</sup>Grad. Sch. of Pharm. Sci., Osaka University

〈**Background**〉 In our 28-day repeated percutaneous toxicity study of nano platinum particles (nPt) in rats, marked skin lesions, such as ulcers, were observed starting two weeks after administration. Whereas nPt was distributed in the body, adverse systemic toxicity was not induced.

〈**Aim**〉 To confirm the skin permeability of nPt, percutaneous nPt-induced systemic toxicity was examined after epidermal barrier disruption in rats.

〈**Materials and Methods**〉 Citrate-coated platinum nanoparticles of 5 nm (5nPt) or 0.2 M citric acid (Control) was applied percutaneously for 24 hours to the SD rat back skin. The stratum corneum was removed by tape stripping the skin 20 times before application. At autopsy, the skin exposed to 5nPt and key organs were examined histopathologically. In addition, platinum content in the skin, liver, and blood were analyzed by ICP-MS.

〈**Results**〉 Although epidermal thickening and cellular infiltration in the dermis due to the tape stripping were observed, these were not specific histopathological changes caused by 5nPt. Liver, kidney, spleen and adrenal gland showed no histopathological changes caused by 5nPt. Using ICP-MS analysis, platinum was detected only in the skin in the 5nPt group, and it was below the detection limit value in the liver and blood.

〈**Conclusion**〉 Even when the stratum corneum is defective, nPt would be unlikely to penetrate the skin and acute toxicity would not be induced by nPt.

**P-08****Development of Two-Stage Ultra-Short-Term Skin Carcinogenicity Model Using rash2 Mice**

○Mayuko Suguro<sup>1)</sup>, Mayumi Kawabe<sup>1)</sup>, Takamasa Numano<sup>1)</sup>, Kouji Urano<sup>2)</sup>, Hideki Tsutsumi<sup>2)</sup>, Yukinori Mera<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>DIMS Institute of Medical Science, Inc., <sup>2)</sup>Central Institute for Experimental Animals

To establish an ultra-short-term skin carcinogenicity model using rash2 mice, we have experienced various studies. This time, we introduce the review of the past experimental data.

In the model, DMBA, as an initiator, is once applied to shaved dorsal skin of rash2 mice. One week after, application of test chemical is performed for 7 weeks. Dose level of DMBA is decided 50 $\mu$ g based on the result of 26-week dose-finding study.

We investigated skin tumor promoting effect of TPA, well known promotor, using this model. Skin nodules were appeared and increased in numbers since 4th experiment week and it was confirmed that skin tumor promoting potential could be detected in 8-week experiment. In addition, benzoyl peroxide (BPO), another promotor, also could be detected.

However, several false positive reactions have been observed following treatment with a certain vehicle and some non-carcinogens. We conducted investigation at lower DMBA dose (12.5 $\mu$ g). In the result, tumors were observed again in the mice applied to promotors. On the other hand, no tumors were found in the mice applied to solvent or non-carcinogens. These results indicate that appropriate dose level of DMBA is 12.5 $\mu$ g as an initiator.

Thus, an ultra-short-term skin carcinogenicity model using rash2 mice can detect skin tumor promoting potential in a very short term as 8 weeks, less than half of those in the ICR mice model. This model is seemed useful as a method for skin carcinogenicity screening and evaluation.



**P-09**

## Trimethyltin Chloride (TMT) Neurodevelopmental Toxicity in Embryonic Zebrafish

○Jaehak Park, Jin Kim

Seoul National University, Korea

Trimethyltin chloride (TMT) is a neurotoxicant that is widely existing in the aquatic environment, primarily from the production of plastic. TMT is known to cause acute limbic-cerebellar syndrome characterized by selective neuronal death in limbic system, and particularly in hippocampus. But few studies have estimated aquatic neurotoxicity. We examined TMT dose-dependent malformation of neuronal system by morphological changes, fluorescent analysis using HuC-GFP transgenic zebrafish embryo and changes in gene expression related to neurodevelopment. Exposure of embryos to TMT for 4 days post fertilization (dpf) elicited a concentration-related decrease in body length and increase in curved ratio. TMT affected fluorescent CNS structure of HuC-GFP transgenic zebrafish. TMT also significantly modulated the expression patterns of sonic hedgehog a (shha), neurogenin1 (ngn1), embryonic lethal abnormal vision like protein 3 (elavl3), and glial fibrillary acidic protein (gfap). Our study demonstrates the morphological and genetic changes of the developing zebrafish embryo to TMT and establishes a platform for future identification of the neurodevelopmental effects in vertebrates of TMT toxicity.

This study was partially supported by the Research Institute for Veterinary Science, Seoul National University.

**P-10**

## Histopathological changes and reversibility of olfactory epithelium induced by UFT in rats

○Fumiko Ninomiya, Hideki Tanaka, Shota Yoshida, Shohei Kanie, Satoshi Suzuki, Kazuo Hakoi

Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

〈**Introduction**〉 Smell dysfunction caused by metabolic antagonist is recognized as serious side effect in clinical. In the present study, we examined histopathological changes of olfactory epithelium and its reversibility in the UFT treated rats.

〈**Materials and Methods**〉 UFT (30 mg/kg/day as tegafur) was orally administered to male Crl:CD(SD) rats for 8 weeks. The nasal cavities (Level 3) were prepared at week 4, 8 and recovery week 10, and evaluated olfactory mucosa histopathologically. Immunohistochemistry (PGP9.5 and PCNA) was performed for the samples of week 8 and recovery week 10.

〈**Results**〉 At week 4, atrophy of olfactory epithelium and others, and thinning of ethmoturbinat bone were observed in UFT treated rats. At week 8, those changes progressed, and squamous metaplasia, multinucleated olfactory epithelium and others were observed. Immunohistochemistry, PGP9.5 positive olfactory epithelial cell and PCNA positive basal cell were decreased. After recovery period, all findings mentioned above were recovered, and irregularity of olfactory epithelial cell arrangement and respiratory metaplasia were observed focally.

〈**Conclusion**〉 In UFT treated rats, atrophic changes of olfactory epithelium were observed from week 4. The reversibility of these changes was confirmed after 10 weeks cessation. We will also report the evaluation result of smell function by drinking behavior analysis using wasabi-flavored water.

## P-11

**Gene expression analysis for evaluation of neurotoxicity of rats after 28-day exposure to CPZ**

○Hajime Abe<sup>1,2)</sup>, Fumiyo Saito<sup>3)</sup>, Yumi Akahori<sup>3)</sup>, Nobuya Imatanaka<sup>3)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ., <sup>3)</sup>Chem. Eval. Res. Inst.

〈**Background and Aim**〉 In this study, to capture the target gene profile for evaluation of neurotoxicity in relation with demyelination by cuprizone (CPZ) exposure in a framework of 28-day repeated toxicity study, we performed the following experiment.

〈**Materials and Methods**〉 We performed expression microarray analysis in four brain regions of postpubertal male rats exposed to 0, 120 or 600 mg/kg CPZ for 28 days, followed by immunohistochemical analysis of selected gene products.

〈**Results**〉 CPZ at 600 mg/kg downregulated myelination-related genes and upregulated genes for inflammatory reaction and immune response in all four brain regions. Immunohistochemically, increases in the number of CD68<sup>+</sup> microglia and MT (I+II)<sup>+</sup> microglia were detected in the corpus callosum and cerebellar vermis. In contrast to developmental CPZ exposure, postpubertal CPZ exposure decreased the density of KLOTTHO<sup>+</sup> oligodendrocytes in the corpus callosum.

〈**Discussion**〉 Myelin injury-related gene profiles related to inflammation and immune responses in brain regions and increase of activated microglia in white matter suggest cellular responses against destruction of myelin sheath. Gene expression profile of suppressed myelination in brain regions and reduction of functional oligodendrocytes due to inhibition of Klotho-mediated oligodendrocyte maturation in the corpus callosum may be responsible mechanisms for induction of demyelination by postpubertal CPZ exposure in rats.

## P-12

**Trimming of the dog brain in accordance with the STP position paper**

○Naoaki Yamada, Yuki Tomonari, Tetsuro Kurotaki, Junko Sato, Takuya Doi, Takeshi Kanno, Minoru Tsuchitani  
Pathology Department, Drug Development Service Segment, LSI Medience Corporation

〈**Background & Aim**〉 STP has recommended the best practice for sampling and processing the nerve system (Bolon et al. 2013). Thus, we investigated the desirable trimming location of the dog brain in accordance with the position paper.

〈**Materials and Methods**〉 We investigated the trimming location of 15 beagle dog brains to examine the neural regions recommended in the STP position paper.

〈**Results**〉 **Level 1:** The frontal lobe could be evaluated by cutting the front of the cruciate sulcus. **Level 2:** The external capsule, internal capsule, caudate/putamen, choroid plexus, and corpus callosum could be evaluated by cutting the line from the front of the optic chiasm to the rostrad of the corpus callosum. The temporal lobe could also be evaluated in level 2. **Level 3:** The amygdala, parietal lobe, hypothalamus, and thalamus could be evaluated by cutting the line from the hypothalamic infundibulum via the hypothalamus to the interthalamic adhesion. **Level 4:** The hippocampus and pons could be evaluated by cutting the line from the rostrad of the pons via the midbrain to the caudal end of the corpus callosum. **Level 5:** The cerebellum, cerebellar nuclei, and medulla oblongata could be evaluated by cutting the cerebellar peduncle at the front of the fourth ventricle. The occipital lobe could also be evaluated by cutting the cerebral cortex at level 5.

〈**Conclusion**〉 Just like monkeys, the neural regions recommended in the STP position paper could be evaluated by these seven blocks.

## P-13

**Developmental exposure effect of MNU on hippocampal neurogenesis in rat offspring**

○Yousuke Watanabe<sup>1,2)</sup>, Ayako Shiraki<sup>1,2)</sup>, Yumi Akahori<sup>3)</sup>, Nobumi Imatanaka<sup>1)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ., <sup>3)</sup>Chem. Eval. Res. Inst.

〈**Background**〉 *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) is a DNA-damaging agent targeting proliferative cells and known to cause microcephaly by gestational exposure in rodents. We have reported that MNU exposed by transplacental single injection at gestational day (GD) 10 in mice or short-term repeated injections from GD 18 to 20 in rats reduced brain weight and transient disruption of hippocampal neurogenesis in offspring. In this study, we examined the developmental long-term exposure effect of MNU on neurogenesis in rats.

〈**Materials and Methods**〉 Oral doses of MNU at 0, 3, 10, 30 ppm in drinking water were given to maternal rats from GD 6 until postnatal day (PND) 21. Offspring were immunohistochemically examined the distribution of granule cell lineage at the subgranular zone (SGZ) and granule cell layer and GABAergic interneurons in the dentate hilus.

〈**Results**〉 On PND 21, the number of GFAP<sup>+</sup> cells decreased and the number of SRY box 2<sup>+</sup>, T box brain protein 2<sup>+</sup>, doublecortin<sup>+</sup> cells and TUNEL<sup>+</sup> apoptotic cells increased at 30 ppm in the SGZ. GABAergic interneurons did not change the number in the hilus. There were no fluctuations in neurogenesis markers on PND 77.

〈**Conclusion**〉 Developmental long-term MNU exposure decreased type-1 neural stem cells by increase of apoptosis. Increases of type-2 progenitor cells ~ immature granule cells may be the reflection of a compensatory reaction against aberrant neurogenesis, and disruption of neurogenesis by MNU was reversible even by long-term exposure.

## P-14

**Effect of Developmental Exposure to Lead Acetate on Neurogenesis in the Hippocampal Dentate Gyrus in Mice**

○Yasuko Hasegawa<sup>1)</sup>, Takeshi Tanaka<sup>1,2)</sup>, Yousuke Watanabe<sup>1,2)</sup>, Ayako Shiraki<sup>1,2)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.

〈**Background and Aim**〉 Experimentally, lead acetate (PbAc) is known to cause learning and memory deficits in rodents. The present study was performed to examine the developmental exposure effect of PbAc on hippocampal adult neurogenesis in mice.

〈**Materials and Methods**〉 Pregnant ICR mice were treated with PbAc at 0, 1200 or 3600 ppm in drinking water from gestational day 6 until weaning on postnatal day (PND) 21. Dams were subjected to measurements of body weight, food and water consumption throughout the experiment. The offspring were also weighed until PND 21. Male offspring were necropsied on PND 21, and brains were weighed and immunohistochemically examined neurogenesis-related parameters in the hippocampal dentate gyrus.

〈**Results**〉 Dose-related decreases in food and water consumption of dams were observed at both doses at several time points. The decreases of the body weight during exposure after birth and absolute brain weight on PND 21 were found in male offspring at both doses. Immunohistochemically, decreases in T box brain 2 (TBR2)<sup>+</sup> progenitor cells at high dose and PCNA<sup>+</sup> proliferative cells at both doses were observed in the dentate subgranular zone, and increases in Somatostatin<sup>+</sup> GABAergic interneurons was observed at high dose in the dentate hilus.

〈**Conclusion**〉 Our results suggest that maternal PbAc exposure during gestational and lactational period affects hippocampal adult neurogenesis targeting intermediate-stage differentiation of granule cell lineage in mice.

**P-15****Study on the development of eyelid tissues toward the eyelid opening modeled in the strain difference between Hatano high-and low-avoidance rats**

○Makoto Shinmei, Miho Takamura, Yuta Hasegawa, Miho Suzuki, Megumi Tanaka, Kanako Sueoka, Reina Nakae, Shouko Shimaooigi, Mariko Shirota

Azabu University

〈**Background and Aims**〉 Eyelid tissues of two inbred sub-strains of Hatano high- and low-avoidance rats (LAA and HAA) were compared. Strain differences in the timing of eyelid opening suggested that the developmental commencement of the eyelid tissues might be involved. To identify the tissues involved, we compared eyelid tissue variations per day between the strains.

〈**Materials and Methods**〉 Hatano rats were euthanized daily from postnatal day (PND) 10. Their eyelids and eyeballs were collected and fixed in Bouin's solution. The specimens were cut at the junction between the upper and lower eyelids and were embedded in paraffin to be observed along the cut surface. Specimens were then sectioned and stained with hematoxylin and eosin. The thickness of the eyelid epithelium (EP), conjunctiva, meibomian gland, and cornea were measured for each age.

〈**Results and Discussion**〉 Eyelid opening was confirmed by PND 13 and 14 in HAA and LAA, respectively. The granular cell layer and cornified layer in the eyelid EP became thicker with age, and its thickness peaked at PND 11 in HAA. For eyelid opening, the cornified layer began to shed from the next day, and its thickness was decreased after eyelid opening. Similar changes were also observed in the LAA but were delayed by 1 day. There were no significant differences in the three other tissues. Developmental commencement of the eyelid EP and its progression of cornification may be involved in the strain difference in timing of eyelid opening.

**P-16****Evaluation of effects of wearing animal jackets or harnesses on the cornea in the rat**

○Jun Watanabe<sup>1)</sup>, Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Yoshihiro Takei<sup>1)</sup>, Haruko Koizumi<sup>1)</sup>, Tetsuyo Kajimura<sup>1)</sup>, Saki Inoue<sup>1)</sup>, Junko Sora<sup>1)</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1)</sup>, Akihito Shimoi<sup>1)</sup>, Hijiri Iwata<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Ina Research Inc., <sup>2)</sup>LunaPath LLC

〈**Background and Purpose**〉

We experienced that incidence of corneal opacity increased in ophthalmological examinations and the incidences of cornea lesions increased in pathological examinations in a rat when animals wore animal jackets. To confirm this phenomenon, we evaluated the effects of wearing animal jackets or harnesses on cornea. In addition, we also evaluated the corneal damage-decreasing effects by ocular instillation of physiological saline or hyaluronic acid.

〈**Materials and Methods**〉

Male SD rats at 5 weeks of age were divided into untreated, animal jacket and harness groups. Animals in treated groups wore jackets or harnesses and were bred for 5 weeks. During wearing period, saline or hyaluronic acid was instilled into the eyes of the animals. Animals were necropsied at end of wearing period and the eyes were collected. HE-stained specimens of eyes were prepared and examined by light microscopy.

〈**Result and Consideration**〉

Incidences and degree of cornea lesions were markedly increased in treated groups as compared to untreated group. Degree of this lesion was the highest and the incidence of cornea lesions was high in the animal jacket + saline group. Although we expected that the degree of corneal lesions in animal jacket and harness groups would be decreased by ocular instillation of saline or hyaluronic acid, opposite results were obtained. However, we could confirm the tendency to cause cornea abnormalities by wearing animal jackets or harnesses to the animals.

P-17

## Histopathological examination of zebrafish eye -influence of fixatives and retinal histopathological changes with exposure to *N*-methyl-*N*-nitrosourea-

○Yoshinori Yamagiwa, Kazuyo Sadamoto, Shingo Nemoto, Masaaki Kurata, Hideyuki Sakaki

Toxicology Research Laboratory, Senju Pharmaceutical Co., Ltd.

〈**Aim**〉 Recent years, zebrafish (*Danio rerio*, ZF) has been investigated as an experimental animal for the evaluation of ocular toxicity. The aims of this study were to investigate (1) the suitable fixative of ZF eye, and (2) the change of ZF retina exposed to *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU), a typical retinal toxicant.

〈**Methods**〉 (1) ZF eyes were placed in 2.5% glutaraldehyde/4% paraformaldehyde (GA/PFA), Superfix<sup>®</sup>, Davidson, or Bouin fixative. After the fixation, tissue specimens were stained with HE, and the influence of each fixative was investigated. (2) Adult ZFs were exposed to 150 mg/L MNU for 1 hour. ZF was then reared in the normal rearing water, and sacrificed temporally from the next day to 8 days after the exposure. The eyes were collected and fixed by Bouin fixative, and the specimens stained with HE were observed by a light microscopy.

〈**Result**〉 (1) GA/PFA contracted the whole eye. Superfix<sup>®</sup>-immersed eye cracked on the INL in retina. Davidson fixative occurred focal swelling of cornea. Influence of Bouin fixation was minimal. (2) MNU induced retinal degeneration with GCL, INL and ONL cell apoptosis and subsequent regeneration.

〈**Conclusion**〉 (1) Among 4 fixatives, Bouin fixative showed the least influence on ZF eyes. (2) MNU induced retinal toxicity even in ZF. However, INL and GCL were also affected, together with ONL which is well known target of MNU. In addition, ZF retina showed regenerative change but not atrophy which is a common change induced by MNU in mammals.

P-18

## Age dependent target cells in L-glutamate-induced retinal damage

○Hikaru Mitori<sup>1,2)</sup>, Yutaka Nakahara<sup>1)</sup>, Kenjiro Tsubota<sup>1)</sup>, Takeshi Izawa<sup>2)</sup>, Mitsuru Kuwamura<sup>2)</sup>, Masahiro Matsumoto<sup>1)</sup>, Jyoji Yamate<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc., <sup>2)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

〈**Aim**〉 We demonstrated L-glutamate-induced retinal damage depends on the dosed age in day in the 31st annual meeting. This time we investigated the histological changes after dosing and the age dependent target cells for L-glutamate in neonatal rats.

〈**Materials and Methods**〉 SD rats were given single subcutaneous injection of L-glutamate (10 μl/g, 2.4 M) on postnatal day (PND) 4, 6, 8, 10 and 12. The eyes were removed at 6 and 24 hour after dosing and on PND 21 for HE and immunostaining. TUNEL staining was also performed at 6 hour after dosing.

〈**Results**〉 On PND 21, the inner retina was thinning in rats treated on PND 4 to 10; the retinal damage was most marked in rats treated on PND 8. There was no change in rats treated on PND 12. Immunohistochemically, Pax6 positive-amacrine cells in rats treated on PND 6 and 8 were decreased. In rats treated on PND 8, Chx10 positive-bipolar cells and PKC alpha positive-rod bipolar cells were also decreased, and Calbindin positive-horizontal cells were lost. There was no change in Glutamine synthetase positive-Müller cells. At 6 hour after dosing, the pyknotic cells in inner retina were observed in rats treated on PND 4 to 8; some of them were positive for TUNEL staining. At 24 hour after dosing, few pyknotic cells were remained.

〈**Conclusion**〉 This study revealed that L-glutamate-induced apoptosis results in the thinning of inner retina and target cells were amacrine cells on PND 6, amacrine cells, bipolar cells and horizontal cells on PND 8.

## P-19

**Immunosuppression by prednisolone enhances *Candida albicans*-induced mucosal proliferation and chronic inflammation in alloxan-induced diabetic rats**

○Yui Terayama, Yusuke Nakajima, Tetsuro Matsuura, Isao Narama, Kiyokazu Ozaki

Laboratory of Pathology, Setsunan University

〈**Introduction**〉 Chronic oral infection with *Candida albicans* (*C. albicans*) is associated with mucosal hyperplasia progressing to squamous cell carcinoma (SCC). Previously, we reported that alloxan-induced diabetic rats had squamous hyperplasia with chronic inflammation and *C. albicans* infection in the forestomach, and that some advanced to SCC, but the carcinogenic rate is low. In the present study, we investigate whether immunosuppression may accelerate *C. albicans*-induced proliferative and inflammatory changes in this model.

〈**Methods**〉 WBN/Kob rats were divided into 3 groups; alloxan-induced diabetic rats (A group), diabetic rats treated with prednisolone (AP group), and non-diabetic rats treated with prednisolone (P group). They were sacrificed at the 42 weeks of age.

〈**Results**〉 Squamous hyperplasia and chronic inflammation were observed in the AP and A groups, with highest severity of the lesions in the AP group. In addition, SCC was detected in one rat of AP group. T-cell and macrophage infiltration in AP group were significantly stronger than that in A group. But there was no clear difference in B-cell infiltration between these groups. Neutrophil infiltration and *C. albicans* showed a tendency the increase in the AP group.

〈**Conclusion**〉 Immunosuppression by prednisolone treatment may enhance *C. albicans*-induced proliferative and inflammatory changes, and the enhancement of squamous cell hyperplasia is correlated with the increase of T-cell and macrophage infiltration.

## P-20

**What lesions could be improved with eradication of *H. pylori* in the human stomach? Comparison of gastric and intestinal-metaplastic glands**

○Yuka Kiriya<sup>1)</sup>, Masae Tatematsu<sup>2)</sup>, Tetsuya Tsukamoto<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. of Diag. Pathol., Fujita Health Univ. Sch. of Med., <sup>2)</sup>Japan Bioassay Res. Ctr.

〈**Background**〉 *Helicobacter pylori* (Hp) is an important factor in the development of gastric cancer. Eradication of the Hp has been reported to prevent gastric cancer only in cases without atrophy/intestinal metaplasia (IM). However, histological changes with eradication have not been fully clarified yet.

〈**Materials and Methods**〉 We evaluated 34 Hp-positive cases histologically before (Hp(+)) and after (Hp(-)) eradication in the gland level, which were classified into gastric (G) and IM glands consisting of gastric-and-intestinal mixed (GI) and solely-intestinal (I) IM.

〈**Results**〉 After eradication, acute and chronic inflammation was attenuated, whereas expression level of MUC5AC and MUC6 was not altered. The width of the glands, nuclear/cytoplasmic ratio of the surface epithelium, Ki-67 positive proliferating zone in the glands were significantly decreased with eradication only in the G glands. On the other hand, these factors were not alleviated in the GI-IM and I-IM glands after eradication. Serine 28 phosphorylated histone H3 positive mitotic cells were increased in GI-IM and I-IM compared with lower value in the G glands irrespective of Hp status.

〈**Conclusion**〉 These results suggest that the beginning of the IM, i.e. GI-IM, could be the histological irreversible point with eradication.

**P-21**

## Immunohistochemical study for regional distribution of endocrine cells in the stomach of the beagle dog

○Hirofumi Yamauchi, Hitoshi Kandori, Takeshi Watanabe

Drug safety research laboratories, Takeda Pharmaceutical Company Limited

〈**Aim**〉 The distributions of endocrine cells were examined in the fundic and pyloric mucosa in the stomach of the beagle dog.

〈**Methods**〉 Immunohistochemical examinations for Chromogranin A, Gastrin, Ghrelin, Histamine, Serotonin and Somatostatin were performed. Distribution of Pax6, a transcription factor regulating the development of Gastrin- or Somatostatin-producing cells was also examined.

〈**Results**〉 In the fundic mucosa, Ghrelin-, Serotonin- and Somatostatin-positive cells were observed in the isthmus and neck, and mostly in the base of the glands. Gastrin-positive cells were not observed in the fundic mucosa. In the pyloric mucosa, Gastrin-, Serotonin- and Somatostatin-positive cells were observed mainly in the isthmus and upper part of the pyloric glands of the pyloric glands. Histamine-positive cells were also observed in the pit, and a small number of Ghrelin-positive cells were scattered in the pyloric mucosa. The distribution of Chromogranin A-positive cells was consistent with that of the hormone-producing cells. In the triple-immunostaining for Gastrin/Somatostatin/Pax6, most of Gastrin- and Somatostatin-positive cells expressed Pax6 in the nuclei suggesting that Pax6 immunostaining is an additional method to identify Gastrin- or Somatostatin-producing cells.

〈**Conclusion**〉 The distribution of canine gastric endocrine cells was clarified and the results were expected to be a helpful background data to assess the gastric toxicities.

**P-22**

## The modifying effects of the extract from okinawan herb A in mouse colon carcinogenesis

○Ai Tokeshi, Reika Takamatsu, Kazunari Arakaki, Saori Nakachi, Naoki Yoshimi

Department of Pathology & Oncology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus

It is known that Okinawan herb (A) contain much higher polyphenols such as Caffeoylquinic acid (CQA) derivatives than other vegetables. It is reported that CQA derivatives have anti-oxidative or anti-mutagenic activity. We examined the modifying effect of A extract in two-step mouse colon carcinogenesis.

〈**Materials and Methods**〉 71 male ICR mice, 5 week-old, were divided into 5 groups. Mice in groups 1-3 were given azoxymethane (AOM ; 10 mg/kg body weight, ip) once at experimental first week, and 1 week after AOM injection they were administrated 1.5 % dextran sulfate sodium in drinking water for 7 days. Mice in G1 and G5 were fed control diet. Mice in G2 were fed the diet contained A extract (200ppm), mice in G3 and G4 were also fed the 1000 ppm diet throughout the experimental period. At 12 weeks, all colon tissues were counted the number of aberrant crypt foci (ACF) and analysed the nodules (> 3mm in size) histopathologically.

〈**Results**〉 The mean of ACF was  $1.64 \pm 0.95$  (/colon length cm) in G1,  $1.18 \pm 0.79$  in G2,  $1.14 \pm 0.60$  in G3, respectively. Histopathologically, the numbers of neoplastic lesions with high grade were observed 9, 8 and 2 in G1, G2 and G3. The neoplasms with high-grade revealed 8, 5 and 0 in G1, G2 and G3, respectively, and the incidence of tumors with high grade was inhibited by the extract ( $P < 0.05$ ).

〈**Conclusion**〉 We showed that the A extract has a possibility to prevent the development and progression of neoplasms in mouse colon carcinogenesis model.



**P-23****Search for suppressants of colon cancer and expression analysis of Akap13 in mouse AOM/DSS model**

○Yumi Kangawa<sup>1,2)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Akira Kataoka<sup>2)</sup>, Tohru Kihara<sup>2)</sup>, Kanata Ibi<sup>2)</sup>, Shim-mo Hayashi<sup>3)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2)</sup>Kaken Pharmaceutical CO., LTD. , <sup>3)</sup>San-Ei Gen F.F.I., Inc.

〈**Aim**〉 We previously reported the inhibitory effects of anti-oxidants, enzymatically modified isoquercitrin (EMIQ) and alpha-lipoic acid (ALA) and a platelet aggregation inhibitor, cilostazol (CZ) using dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis model in mice, and found that Akap13 expression was specifically increased in the process of mucosal injury and regeneration. In this study, we examined anti-tumor effect of these three substances and also another anti-oxidant anthocyanin (AC) and Akap13 expression in tumor cells using azoxymethane (AOM)/DSS-induced colorectal cancer model.

〈**Methods**〉 1.5% EMIQ, 0.2% ALA, 0.3% CZ and 5% AC were administered to BALB/c mice. To induce tumor, mice were treated with AOM (10 mg/kg, i.p.) and 3% DSS in drinking water. After necropsy, we measured the numbers of mucin-depleted foci (MDF) and gross nodules, the volume of nodules, and colon weight. Immunohistochemical staining of Akap13 was conducted using 4% paraformaldehyde-fixed tissues.

〈**Results**〉 In almost the evaluations, AOM+DSS+EMIQ group showed anti-tumor effects in comparison with AOM+DSS group. Akap13 was highly expressed in the cytoplasm of tumor cells; however, there was no clear expression difference between AOM+DSS group and each treatment groups.

〈**Conclusion**〉 EMIQ treatment exhibited the suppression effect on the induction of murine colon tumors. Akap13, a scaffold protein of Rho/Rho kinase, previously found in human colon carcinoma cells was also expressed in mouse cancer cells.

**P-24****Strain differences between ICR and C57BL/6 mouse models of inflammation-induced colorectal tumorigenesis**

○Kota Nakajima, Yuji Nozaki, Hisayoshi Takagi, Fumio Furukawa

Bio Technical Center, Japan SLC, Inc.

Background data of model animals is essential for colorectal cancer research. Various animals and strains have been used as models, but the characteristics and effectiveness of each strain have been scarcely reported. Strain differences of models of colorectal carcinogenesis induced by azoxymethane (AOM) and dextran sodium sulfate (DSS) were investigated by comparing two mouse strains, Slc:ICR (ICR) and C57BL/6NCrSlc (B6). 10mg/kg of AOM was intraperitoneally administered to 5-week-old male mice, 30 of both ICR and B6. After a week, 2% DDS solution was administered in drinking water over 1 week. Ten mice of each strain were dissected at 4, 10 and 15 weeks after the AOM administration. In ICR bleeding around the anus, diarrhea and prolapse of the anus were observed on the 12th, 16th and 56th days respectively after the administration of AOM. In B6, bleeding and prolapse of the anus were observed on the 14th and 97th days respectively, but diarrhea was not observed. A high rate of adenocarcinoma development was observed in ICR in the early stages. Dysplasia was prominent in 4-week B6, and adenocarcinoma was conspicuous in 15-week ICR. The occurrence and malignancy of tumors was ICR > B6, showing a difference between the strains. As neoplastic lesions occurred frequently in the colon in early stages in both strains, both are likely to be effective models of colorectal carcinogenesis.



**P-25****AOM-DSS-induced inflammation related colon carcinogenesis in ob/ob mice**

○Shigeyuki Sugie<sup>1)</sup>, Fumio Furukawa<sup>1)</sup>, Takuji Tanaka<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Pathol., Murakami Memorial Hosp., Asahi Univ., Sch. Dent.,

<sup>2)</sup>Dept. Diag. Pathol. Res. Cent. Diag. Pathol., Gifu Mun. Hosp.

〈**Background**〉 Obesity is known to one of the risk factor of colon cancer. We investigated the inflammation related colon carcinogenesis initiated PhIP in ob/ob mice. Incidence of colon neoplasms in ob/ob mice were lower than mild type mice (C57BL/6).

〈**Aim**〉 In this study, the sensitivity of ob/ob mice to azoxymethane (AOM)-induced inflammation related colon carcinogenesis were investigated using an AOM /dextran sodium sulfate (DSS) model.

〈**Materials and Methods**〉 Male ob/ob mice and C57BL/6 mice initiated with a single intraperitoneal injection of AOM (10 mg/kg body weight) were promoted by the addition of 1.5% (w/v) DSS to their drinking water for 7 days. They were sacrificed at the end of experiment 20 weeks after the experiment.

〈**Results**〉 Incidence of colon tumors were 100% in ob/ob mice, and 95% in C57BL/6 mice. Multiplicity of colon tumors were  $5.6 \pm 3.3$  in ob/ob mice,  $5.3 \pm 3.1$ , in C57BL/6 mice.

〈**Conclusion**〉 Our findings indicate that sensitivity of ob/ob mice to AOM induced colitis-related colon carcinogenesis is not lower than wild type C57BL/6 mice.

**P-26****Bone toxicity induced by chronic administration of excessive fluoride in rats**

○Yuki Seki<sup>1)</sup>, Kenichi Noritake<sup>2)</sup>, Shoji Asakura<sup>1)</sup>, Akiyo Otsuka<sup>1)</sup>, Aya Goto<sup>1)</sup>, Yoshikazu Taketa<sup>1)</sup>, Etsuko Ohta<sup>1)</sup>,  
Kyoko Nakano<sup>1)</sup>, Akira Inomata<sup>1)</sup>, Kazuhiro Hayakawa<sup>2)</sup>, Satoru Hosokawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Tsukuba Drug Safety Eisai Co.,Ltd. , <sup>2)</sup>Sunplanet Co., Ltd,

Fluoride toxicity is widely reported and excessive dosing of sodium fluoride (NaF) is known to induce changes in the bone and teeth of rodents. However, there are few reports investigating morphological changes and mechanical property in the bone in relationship to fluoride exposure. We investigated fluoride induced bone toxicity by examining morphology, mechanical property, and fluoride contents in the bone of rats orally administered NaF.

Female SD rats were given NaF (0, 10, 25, 50 mg/kg) orally by gavage for 14 or 26 weeks, and were necropsied. Histopathological examination was conducted on decalcified paraffin-embed sections (tibia) and un-decalcified MMA-embed sections (femur, tibia). Fluoride concentration in the urine and bone, strength, mineral density, ash mineral contents were analyzed.

After 14 weeks of dosing, there were dose-dependent increases in urinary fluoride excretion and bone fluoride concentration at mid- and high-dose. In these groups, decreased bone strength, density, and mineral ash contents were associated with dose-dependent decrease in trabecular bone and increase in osteoid. After 26 weeks of dosing, no further fluoride accumulation in the bone or exacerbation of changes in the bone, strength, and density was noted. The results suggest that in rats decreased trabecular bone and increased osteoid are induced by excessive fluoride accumulation in the bone, and correlate with decreased bone strength and density.

**P-27****Basophilic granules in the bone and teeth tissues in fluorosis**

○Kazuhiro Hayakawa<sup>1</sup>, Yuki Seki<sup>2</sup>, Akira Inomata<sup>2</sup>, Etsuko Ohta<sup>2</sup>, Yoshikazu Taketa<sup>2</sup>, Aya Goto<sup>2</sup>, Jiro Sonoda<sup>2</sup>,  
Kyoko Nakano-Ito<sup>2</sup>, Satoru Hosokawa<sup>2</sup>, Toyohiko Aoki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Preclinical Safety Research, Sunplanet Co., Ltd., <sup>2</sup>Tsukuba Drug Safety, Eisai Co., Ltd.

⟨**Aim**⟩ Excess fluoride ingestion is known to induce fluorosis in bones and teeth. In rats given sodium fluoride (NaF), various lesions including basophilic granule deposits are observed in the bones and teeth. The present investigation examined the distribution and morphologic characteristics of basophilic granules in fluorotic rats.

⟨**Methods**⟩ Male SD rats were given NaF (7.5 and 15 mg/kg) orally for 9 weeks. Tibia and incisor were bilaterally fixed in 10 % neutral buffered formalin, and decalcified with either formic acid or EDTA. Paraffin sections were stained with HE and Berlin blue. A portion of tibia was fixed separately in alcohol, and processed for undecalcified MMA resin sections stained with HE.

⟨**Results and Discussion**⟩ In the paraffin embedded HE section decalcified with formic acid, small granules were deposited in the cortex of tibia and dentin of incisor in all of treated rats. They were basophilic or eosinophilic in color under HE, droplet or spot like shape with various sizes (<20 μm) and unclear demarcation and deposited without any predilection for location within the tissues. Most granules were partially or clearly positive for iron staining. On the other hand, no granules were observed in the EDTA-decalcified paraffin or undecalcified MMA resin sections. The granules on the formic acid-decalcified paraffin section were considered to be artificial fluoride granules containing iron which have been formed during decalcification under acidic condition.

**P-28****Hemophagocytic histiocytic sarcoma in a beagle**

○Kaori Noishiki, Junko Fujishima, Kinji Kobayashi

Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

⟨**Introduction**⟩ Hemophagocytic histiocytic sarcoma is a relatively uncommon tumor in dogs. In this case, a 4.7 year-old male stock beagle died a few days after presenting decreased spontaneous activity and bloody discharge. At necropsy, it showed scattered white foci (approximately 3-8 mm in diameter) in the spleen and liver, indurated lung, and grayish-white masses (ranging from approximately 10 mm in diameter to 30 × 20 × 20 mm; suspected lymph node enlargement) in the pulmonary hilar and pancreatic regions, ascites, and pleural fluid.

⟨**Method**⟩ Paraffin-embedded tissues and gross masses (fixed in 10% neutral-buffered formalin) were examined microscopically after H.E. and immunohistochemical staining.

⟨**Results**⟩ Histopathology revealed diffuse proliferation of tumor cells in the spleen, bone marrow, and gross masses. The tumor cells had round nuclei, prominent nucleoli, and abundant pale eosinophilic cytoplasm, and the tumors contained large numbers of mitotic figures, phagocytosed erythrocytes, and multinucleated giant cells. Immunohistochemically, the tumor cells were negative for CD3 and CD20, and positive for CD204, indicating a macrophagic origin.

⟨**Conclusion**⟩ Hemophagocytic histiocytic sarcoma was diagnosed based on the characteristic histopathological appearance. In dogs, histiocytic sarcomas are much more frequently reported to be of dendritic, rather than macrophagic, origin. This is the first report on hemophagocytic histiocytic sarcoma in a beagle.

P-29

## Histopathological Changes Induced by Sucrose Iron in the Rat

○Yusuke Kagawa, Dai Muramatsu, Kei Kijima, Miki Suehiro, Yuka Minamisawa, Shino Ito, Yasuhiro Kojima, Ikue Kitazawa, Kosumo Numao, Hiroaki Yamaguchi, Aisuke Nii

Central Research Lab., Seikagaku Co.

Intravenous iron formulations, constituted by iron and protective colloid, are drugs for iron deficiency anemia, and sucrose iron and ferumoxytol iron are known as common formulations. After inoculation, they are taken by the reticuloendothelial system and are used for hemoglobin synthesis. For their tissue distribution, sucrose iron is known to be excreted from the kidney, however, little is known for other intravenous irons. When sucrose iron was once administered to anemic rats intravenously to evaluate time-dependent changes, serum iron level increased, and histologically hemosiderin deposition and positive response for berlin blue staining were observed in the liver and spleen from 4 hours after administration. Hemoglobin level evidently increased, and extramedullary hematopoiesis was observed in the liver and spleen at 3 days after administration. When sucrose iron and ferumoxytol iron were repeatedly administered to normal rats for 14 days intravenously to evaluate tissue distribution, while deposition of iron granules in the sucrose iron treated rats was similar to the ferumoxytol iron treated rats in the liver and spleen, it was less severe in the mesenteric lymph node and more severe in the kidney. In conclusion, after sucrose iron administration, histological changes in the liver and spleen time-dependently correlated with hematological values. Tissue distribution of intravenous iron formulations was considered to be influenced by their particle sizes.

P-30

## Histological background data of NOG mice

○Kenichiro Kasahara<sup>1</sup>, Saori Igura<sup>1</sup>, Mariko Nagatani<sup>1</sup>, Masahiko Yasuda<sup>2</sup>, Ryo Inoue<sup>2</sup>, Yachiyo Fukunaga<sup>1</sup>, Hiroyuki Kanemitsu<sup>1</sup>, Kazutoshi Tamura<sup>1</sup>, Masayuki Kemi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>BoZo Research Center Inc., <sup>2</sup>Central Institute for Experimental Animals (CIEA)

⟨**Aim**⟩ In order to evaluate appropriately the safety of tissue-engineered medical products in pre-clinical studies using NOG mouse, histopathological background data of NOG mice were obtained from non-treated animals at 7 and 26 weeks of age.

⟨**Materials and Methods**⟩ Male and female NOG mice at 5 weeks of age supplied by CIEA were maintained without any treatment until the necropsy times of 7, 26 and 52 weeks of age, and they were necropsied at each time. Organs/tissues collected at the necropsy were stained with H&E. The Brains and spinal cords were also stained with Klüver-Barrera and Bodian, and anti-GFAP and anti-Iba1 antibodies immunohistochemically. The malignant lymphoma shown below was immunohistochemically stained with anti-CD3 antibody.

⟨**Results**⟩ The lymphocyte was severely depleted in the thymus, spleen or lymph nodes, but a small number of the lymphocyte was observed in the spleen and mesenteric lymph nodes of some animals. Spongiotic change was observed in the pons and spinal cord. One female that was euthanized in week 20 of age showed malignant lymphoma.

⟨**Conclusion**⟩ Remarkable hypoplasia of lymphocytes was noted in lymphatic tissues, but there was no infectious lesion in any tissue. Since a few lymphocytes in the spleen and mesenteric lymph nodes were observed in some animals, it is thought to be necessary to examine the difference from the other in future. The cause of spongiotic change in the central nervous system was not clarified in the present study.

**P-31****Histopathological analysis of spontaneous lesions in aged male Rcc Han:WIST rats**

○Motoki Hojo<sup>1</sup>, Yoshimitsu Sakamoto<sup>1</sup>, Yukie Tada<sup>1</sup>, Katsuhiko Yuzawa<sup>1</sup>, Hiroshi Ando<sup>1</sup>, Yoshikazu Kubo<sup>1</sup>, Akemichi Nagasawa<sup>1</sup>, Hiroshi Takahashi<sup>1</sup>, Dai Nakae<sup>2</sup>, Akiko Inomata<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, <sup>2</sup>Tokyo Univ. Agricul.

〈**Background**〉 Information about spontaneous lesions developed in aged Wistar Han rats is limited. The present report highlights our experience about spontaneous lesions developed in such animals.

〈**Methods**〉 Animals were 39 male RccHan:WIST rats obtained from Japan Laboratory Animals, Inc., used for control and a non-treated group in our toxicological study, and sacrificed at their 104-110 weeks of age. All tissues and tumor masses were collected and sections were histopathologically evaluated.

〈**Results and discussion**〉 The survival rate was 87 % at the end of the experiment. Neoplastic lesions were frequently found in the endocrine system; e.g., adenoma in pituitary gland, pars distalis (30.8%), adenoma in pancreatic islet (23.1%) and pheochromocytoma in adrenal gland (7.7%), well in accordance with previous studies. When compared with previous studies using F344 rats, incidences of adenoma in pancreatic islet (23.1 vs. 3.2%) and thymoma (10.3 vs. 0.2%) are high, while that of Leydig cell tumor is low (5.1 vs. 87.8%). It is noteworthy that we encountered 2 cases of adenoma in pituitary gland, pars intermedia (5.1%), which is remarkably rare in rodents. As for non-neoplastic lesions, C-cells hyperplasia in thyroid gland, dilatation of common bile duct, accumulation of alveolar macrophages and hardening of lacrimal gland were frequently observed with the higher incidences than F344 rats. These data are significant as spontaneous lesions in Wistar Han rats.

**P-32****Methods of combined observation by LM and TEM for tissue analysis of the artery implanted with stent**

○Hisako Terao<sup>1</sup>, Junko Soba<sup>1</sup>, Koichi Iwatani<sup>1</sup>, Masako Tasaki<sup>1</sup>, Atsushi Isobe<sup>1</sup>, Fumiaki Kumagai<sup>2</sup>, Yoshiaki Saito<sup>2</sup>, Kasuke Nagano<sup>3</sup>, Hitomi Hagiwara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>TERUMO Co., <sup>2</sup>FDSC, <sup>3</sup>Nagano Toxicologic-Pathology Consulting

〈**Background and Aim**〉 We use the light microscopy (LM) to observe whole tissue and the TEM to detect intracellular microstructure, however, the same region of specimen manufacture process make it hard. We report the improved TEM specimen which is applicable also to LM analysis.

〈**Materials and Methods**〉 Stents were implanted in the porcine coronary arteries. After perfusion fixing the heart in 2% PFA and 1.25% GA mixed solution, the stented artery was removed, fixed in 1% osmium, embedded in Quetol 651 resin and sectioned serially. For LM, the black color of osmium was removed from the section after deresination. Then, HE, Elastic-Masson (E/MT), and immunostaining sections were observed. For TEM, the section was re-embedded in Quetol 812 resin by resupinate method and cut into ultrathin section.

〈**Results and Conclusion**〉 As for LM analysis, the resin section was improved as clear as paraffin section by adding deosmium treatment (1% periodic acid treatment for each staining, and additional treatment with 1% hydrogen peroxide for E/MT and  $\alpha$ -SMA immunostaining). The TEM image of the tissue fixed by above method depicted the morphologically retained structure more vividly and detailed than the formalin-fixed tissue without osmium fixation. The combined observation of adjacent specimen by LM and TEM enables us to link the change in millimeter-scale to nano level.

**P-33**

## Application of high-resolution imaging mass spectrometry to toxicity assessment

○Hiroko Sato<sup>1</sup>, Akane Kashimura<sup>1</sup>, Hiroyuki Hashimoto<sup>2</sup>, Hidefumi Kaji<sup>2</sup>, Takushi Yamamoto<sup>3</sup>,  
Satomi Nishikawa<sup>1</sup>, Katsuya Fujiki<sup>1</sup>, Masaharu Tanaka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mitsubishi Tanabe Pharma Co., <sup>2</sup>Mitsubishi Tanabe Pharma Co., <sup>3</sup>Shimadzu Co.

Imaging mass spectrometry (IMS) is a technology to analyze molecules on tissue section and obtain a data of the localization in 2D graphic form. In a field of drug research, this method is expected to help to clarify pharmacological and toxicological mechanisms of drugs or explore new target molecules. In this study, we examined the relation between histological changes and toxicant localization using well-known compounds. Six to 10 weeks old male SD rats were administered gentamicin (GEN) or amiodarone (AMD) and the target tissues were sampled cryogenically. The tissues were sliced into 5 to 10  $\mu$ m thick continuously and matrix-applied sections for mass spectrometry or Hematoxylin and Eosin stained specimens were prepared. Microscopic observation and mass spectrometry were conducted using iMScope (Shimadzu Co.) and the distributions of unchanged compounds were analyzed. As a result, GEN was detected in the cortex of kidney and its signal intensity was increased in a dose-dependent manner. AMD caused foamy macrophage infiltration in the lung and mesenteric lymph node histologically indicating phospholipidosis and was detected in the lesion with high signal intensity. These results suggested IMS could be a useful tool to clarify toxic mechanisms of drugs.

**P-34**

## Responses to the Standard for Exchange of SEND Data

○Hirofumi Hatakeyama<sup>1</sup>, Shin-ichi Horikawa<sup>1</sup>, Junichi Sakurai<sup>1</sup>, Akihito Shimoi<sup>1</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1</sup>, Hijiri Iwata<sup>2</sup>,  
Takayuki Anzai<sup>3</sup>, Dai Nakae<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ina Research Inc., <sup>2</sup>LunaPath LLC, <sup>3</sup>Showa University School of Medicine, <sup>4</sup>Tokyo University of Agriculture

Starting in December 2016, Standard for Exchange of Nonclinical Data (SEND) and Study Data Tabulation Model (SDTM) will become mandatory for nonclinical and clinical FDA submissions. While this may appear a long way off, in reality it is not. Already, more than 60% of clinical submissions utilize SDTM. And, Controlled terminology (CT) mapping is required for SEND and SDTM. Especially regarding pathology terminology, how to manage and adapt CT is a big issue at present. Recently, we conducted several nonclinical studies together with SEND datasets submission to the FDA. We converted original electric data into SEND datasets using TranSEND™ according to the SEND Implementation Guide version 3.0. On our experience, we could obtain informative results and a variety of practical issues came to light. Concerning pathological and CT findings, some issues still remain to be solved, but the results and experiences in this trial provide useful information for many pathologists dealing with the SEND data production.

## P-35

**The inhibitory effect of MTBITC on mutagenicity of DEN in the liver of *gpt* delta rats**

○Tadashi Hirata<sup>1,2)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Mizuki Sone<sup>1,3)</sup>, Yasushi Nakamura<sup>4)</sup>, Satoshi Numazawa<sup>2)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Div. Pathol., NIHS., <sup>2)</sup>Showa Univ., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>4)</sup>Kyoto Prefect. Univ.

〈**Background and Aim**〉 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (MTBITC) which is included in white radish is expected to have inhibitory effects on carcinogenesis and there are some reports on the prevention of various cancers in rodents. In the present study, we investigated the inhibitory effect of MTBITC on mutagenicity of diethylnitrosoamine (DEN) in the liver of *gpt* delta rats and the mechanism of chemopreventive action of MTBITC in human and rat hepatocytes.

〈**Materials and Methods**〉 From a week before single injection of DEN (100 mg / kg B.W., i.p.), the male 5-week-old F344 *gpt* delta rats were given 80 ppm MTBITC in diet for 5 weeks. Animals were sacrificed after the experiments, *gpt* mutation assay was performed. *in vitro* studies, HepG2 cells and RLNB2 cells were treated with MTBITC ( 0-10  $\mu$  M ). Then, qPCR and Western blotting analysis were performed.

〈**Results**〉 There was a significantly decrease in the mutation frequency in the liver of rats treated with MTBITC and DEN compared with rats treated with DEN alone. In addition, Nrf2 protein increased in a dose dependent-manner in both HepG2 cells and RLNB2 cells exposed to MTBITC and the gene expression of cytoprotective genes regulated by Nrf2 also increased in these cells.

〈**Conclusion**〉 Result of *gpt* mutation assay indicates that MTBITC has potential for suppression of genotoxicity of DEN in rat liver. Moreover, *in vitro* studies indicate that Nrf2 may possibly play an important role in the chemopreventive effects of MTBITC.

## P-36

**Analyses of mechanism of hepatocarcinogenesis in TSOD mice, metabolic syndrome model mice**

○Naomi Ishii, Anna Kakehashi, Kumiko Tatsumi, Masaki Tatsumi, Kenichiro Doi, Min Gi, Hideki Wanibuchi

Department of molecular pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) is the hepatic manifestation of metabolic syndrome and one of the risk factors of hepatocellular carcinoma. To investigate the mechanism of hepatocarcinogenesis in NASH, pathological and proteome analyses were performed in metabolic syndrome model TSOD mice. In the liver of 12- and 14-month-old TSOD mice, histopathological findings of the liver included human NASH like steatosis, hepatocellular necrosis and lobular inflammation, however fibrosis of the liver was not obvious. The incidences of liver tumors were 11 (61%) and 13 (81%) in 12- and 14-month-old TSOD mice respectively, and 1 (20%) in 12-month-old control TSNO mice. Proteome analysis of non-tumor liver tissue by QSTAR-Elite LC-MS/MS and Ingenuity pathway analysis showed overexpression of glutathione S-transferase, pi 1 (GSTP1) and acyl-CoA oxidase 1 (ACOX1), activation of insulin signaling, catenin beta 1, transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) and leptin receptor pathway in the liver of TSOD mice. In conclusion, TSOD mice developed numerous liver tumors which presented histological features similar to human NASH. Overexpression of GSTP1 and ACOX1 and activation of insulin signaling, catenin beta 1, TCF7L2 and leptin receptor pathway may be involved in hepatocarcinogenesis in TSOD mice.

**P-37****Analysis of liver tumor development in CD44 knockout mice by 2-step carcinogenicity bioassay**○Anna Kakehashi<sup>1)</sup>, Naomi Ishii<sup>1)</sup>, Kumiko Tatsumi<sup>1)</sup>, Min Gi<sup>1)</sup>, Hideyuki Saya<sup>2)</sup>, Hideki Wanibuchi<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Dept. Mol. Pathol., Osaka City Univ., Grad. Sch. Med., <sup>2)</sup>Div. Gene Regulation, Inst. Adv. Med. Res., Keio Univ., Sch. Med.

We have previously reported that CD44 antigen splicing variant isoform (CD44v) could become the potential cancer stem-like cells biomarker in human hepatocellular carcinoma (HCC). To further investigate its role in hepatocarcinogenesis, 6 week-old male and female (25/group) CD44 knockout (CD44<sup>-/-</sup>) and wild type (CD44<sup>+/+</sup>) mice were treated with diethylnitrosamine (10 mg/kg b.w.) 4 times, and 1 week later administered 500ppm phenobarbital in their drinking water up to 18 and 52 weeks. At 18 weeks, the number of liver preneoplastic lesions (eosinophilic foci) were significantly lower in CD44<sup>-/-</sup> mice as compared to the wild type mice. At week 52, incidences of HCC and total liver tumors were 2.5% and 17.5% in CD44<sup>-/-</sup> and CD44<sup>+/+</sup> mice, respectively ( $p < 0.05$ ). Furthermore, incidence of total liver tumors in CD44<sup>-/-</sup> and CD44<sup>+/+</sup> mice were 25% and 60%, respectively ( $p < 0.05$ ). In addition, multiplicities of HCC and total liver tumors were significantly decreased in CD44<sup>-/-</sup> mice. QSTAR Elite LC-Ms/Ms and Ingenuity Pathway analyses results indicated overexpression of proteins related to oxidative stress, high expression of catalase and CYP2C54 in CD44<sup>-/-</sup> mice livers. These results indicated that CD44 plays an important role in development of mouse liver cancer.

**P-38****Epigenetic downregulation of oxidative phosphorylation-related *Tmem70* from an early stage of rat hepatocarcinogenesis**○Sayaka Mizukami<sup>1,2)</sup>, Atsunori Yafune<sup>1,2)</sup>, Yasuko Hasegawa-Baba<sup>1)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.

Genomic methylation status can be inherited by daughter cells, and alteration of DNA methylation in the genome can lead to changes in gene expression to acquire further growth advantages for cancer development. To obtain irreversible molecular markers from the early stage of hepatocarcinogenesis, CpG island microarray analysis was performed in the liver of rats treated with a hepatocarcinogen, thioacetamide (TAA), for 28 days. Among 48 genes hypermethylated, *Tmem70*, encoding mitochondrial membrane protein playing a role in biogenesis of ATP synthase, was confirmed to be hypermethylated by methylation-specific PCR and pyrosequencing analyses accompanying downregulation of mRNA level by real-time RT-PCR. Immunohistochemically, expression of TMEM70, as well as ATP synthase complex V beta subunit (ATPB), was decreased in preneoplastic liver cell foci produced by tumor promotion with hepatocarcinogens/promoters in a two-stage model. In contrast, expression of glycolysis-related molecules, glucose transporter 1 (GLUT1) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), were increased in preneoplastic liver cell foci. Downregulation of TMEM70 and ATPB and upregulation of G6PD were also observed in hepatocellular tumors induced after long-term promotion. These results suggest that *Tmem70* may play a role as a tumor suppressor gene showing epigenetic downregulation from an early stage of hepatocarcinogenesis to contribute to metabolic shift from oxidative phosphorylation to glycolysis.



## P-39

## Analyses of blood lipid and hepatic p22phox expression in a two-stage rat hepatocarcinogenesis model

○T Yoshida<sup>1)</sup>, H Murayama<sup>1)</sup>, M Kawashima<sup>1)</sup>, M Kimura<sup>1,2)</sup>, S Mizukami<sup>1,2)</sup>, Y Kangawa<sup>1)</sup>, SM Hayashi<sup>3)</sup>,  
M Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ., <sup>3)</sup>San-Ei Gen F.F.I., Inc.

〈**Aim**〉 To determine effects of enzymatically modified isoquercitrin (EMIQ) and apocynin (APO) on blood lipids and intrahepatic oxidative stress, NADPH oxidase (NOX), we examined blood and/or liver samples in rats fed high fat diet.

〈**Materials and Methods**〉 Rats were fed with high fat diet (HFD) containing a fatty liver modified substance malachite green (MG) and co-administered with EMIQ or a NOX inhibitor APO in a two-stage hepatocarcinogenesis model. Levels of lipids and alkaline phosphatase (ALP) in blood samples were measured, and expression of glutathione S-transferase placental form (GST-P), adipophilin, p22phox, p47phox, NOX4, Ki-67, and active caspase-3 were immunohistochemically examined in liver tissues.

〈**Results**〉 Increased levels of total cholesterol (T.Chol), triglyceride, and ALP were detected in blood samples from the control HFD-fed rats. MG treatment decreased T.Chol and ALP, which were further reduced by EMIQ supplement. EMIQ supplement decreased TG as well. APO supplement reduced the preneoplastic lesions, glutathione S-transferase placental form (GST-P)+ foci (adipophilin- foci), in association with decreased expression of a NOX component p22phoxa and cell proliferation activity; EMIQ supplement increased apoptotic hepatocytes.

〈**Conclusion**〉 The results suggested that EMIQ had a potential of suppressing hyperlipidemia and APO tended to reduce preneoplastic liver lesions through suppression of intrahepatic oxidative stress marker p22phox.

## P-40

## Induction mechanism of cell proliferation contribute to the mutagenicity of estragole, a hepatocarcinogen

○Yuji Ishii, Shinji Takasu, Yuh Yokoo, Takuma Tsuchiya, Aki Kijima, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura  
National Institute of Health Sciences

〈**Introduction**〉 Induction of cell proliferation is prerequisite in the pathways leading from estragole (ES)-specific DNA adducts to gene mutations. To understand the molecular mechanisms, we examined time-dependent changes of cell proliferation-related factors in the livers of *gpt* delta mice treated with ES.

〈**Materials and Methods**〉 Six-week-old female B6C3F<sub>1</sub> *gpt* delta mice (5 mice/group) were given ES at a single dose of 100 or 300 mg/kg by gavage. The livers were collected after 1, 2, 3, 5, 7 and 14 days. Histopathological examinations, PCNA- and caspase3-positive hepatocytes count, semi- or quantitative analysis of ES-specific DNA adducts, expression of cell cycle-related genes, and the phosphorylation of p53 and PP2A were performed.

〈**Results**〉 In the high dose group, ES-specific DNA adducts, phosphorylation of p53 at day 1, caspase3-positive centrilobular hepatocytes, phosphorylation of PP2A at day 2, hepatocyte mitosis, PCNA-positive index and cell cycle-related genes at day 3, and the *gpt* mutant frequencies at day 14 increased and/or reached the maximum levels. In the low dose group, there were no changes in any parameters despite formation of ES-specific DNA adducts from day 1.

〈**Discussion**〉 Lack of both hepatocyte apoptosis and cell proliferation in the low dose group indicates that activation of p53-dependent apoptosis pathway may be involved in the ES-induced cell proliferation. Phosphorylation of PP2A might contribute to signal transduction of cell proliferation.



**P-41**

## Evaluation of the hepatotoxicity of 1,2-dichloropropane in the CYP2E1 null mice

○Satoko Kawachi, Masaki Hujioaka, Kumiko Tatsumi, Min Gi, Shotaro Yamano, He Fang, Masanori Takeshita, Hideki Wanibuchi

Dept. Mol. Path., Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.

〈**Background**〉 Occupational exposure to 1,2-dichloropropane (1,2-DCP) was associated with increased cholangiocarcinoma in Japan. However, the relationship between the metabolism and toxic effects of 1,2-DCP remains unclear. Our recent findings suggested that CYP2E1 may play an important role in hepatotoxicity induced by 1,2-DCP in hamsters and mice.

〈**Materials and Methods**〉 In the 4-week experiment, CYP2E1<sup>-/-</sup> and CYP2E1<sup>+/+</sup> mice were administered 1,2-DCP by oral gavage at doses of 0, 250, and 500 mg/kg 5 days/week. In the single treatment study, CYP2E1<sup>-/-</sup> and CYP2E1<sup>+/+</sup> were given a single oral gavage treatment of 0 or 500 mg/kg 1,2-DCP.

〈**Results**〉 In the 4-week experiment, 500 mg/kg 1,2-DCP induced centrilobular hepatocellular necrosis in CYP2E1<sup>+/+</sup> but not in CYP2E1<sup>-/-</sup>. Furthermore, 250 mg/kg 1,2-DCP caused marked increases in expression level of CYP2B10, 4A10, 4A14 in CYP2E1<sup>-/-</sup> mice, while slight increases in these enzymes were observed in CYP2E1<sup>+/+</sup> mice. In the single treatment study, 1,2-DCP caused significant reduction of glutathione in both CYP2E1<sup>+/+</sup> and <sup>-/-</sup> mice, and alteration expression pattern of CYP2B10, 4A10, 4A14 were similar to the 4-week experiment.

〈**Conclusion**〉 CYP2E1 is the key enzyme responsible for hepatocytotoxicity of 1,2-DCP in mice. Metabolism by CYP2B10, 4A10, 4A14 in CYP2E1<sup>-/-</sup> mice may compensate for the deficiency of CYP2E1 but not contribute to the hepatotoxicity of 1,2-DCP.

**P-42**

## Dammar resin is a hepatocarcinogen in male F344 rats

○He Fang, Min Gi, Masaki Fujioka, Kumiko Tatsumi, Satoko Kawachi, Kenichirou Doi, Naomi Ishii, Anna Kakehashi, Shotaro Yamano, Hideki Wanibuchi

Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

Dammar resin is a natural food additive used as stabilizer, glazing agent, and clouding agent in many foods and drinks. The purpose of the present study was to evaluate the carcinogenicity of dammar resin in a two-year rat carcinogenicity study. Groups of 50 F344 rats of each sex were fed diet supplemented with dammar resin at doses of 0, 0.03, 0.5% and 2% for 104 weeks. Survival rate of the male 2% group was significantly decreased compared to the concurrent control group. Bleeding tendency evidenced by multi-organ hemorrhage was the major causes for the death in the 2% male group. Histopathologically, incidences of hepatocellular adenomas and carcinomas were significantly increased in the male 2% group. No significant difference was observed in the male 0.03% or 0.5% groups compared with the control. In females, there was no significant difference in the incidence of liver tumors in the dammar resin supplemented groups compared to the control. Various tumors were seen in organs and tissues other than the liver in both males and females; however, these were within the scope of background data reported in previous F344 rat studies and were considered to be naturally occurring lesions unrelated to dammar resin administration. Therefore, the results of the present study demonstrated that dammar resin is carcinogenic for the liver in male rats.

**P-43**

## Characterization of injury factors and MHC class II-expressing cells in thioacetamide-induced rat liver injury

○Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Munmun Pervin, Alexandra Bondoc, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate  
Osaka Prefecture University, Veterinary pathology

〈**Background, subject**〉 Damage-associated molecular patterns (DAMPs), their ligand-receptor, MHC class II and Toll-like receptors (TLRs) play roles in pathogenesis of chemical-induced liver injury. To elucidate their functional roles, we analyzed the kinetics of these factors in TAA-induced rat liver injury.

〈**M. & M.**〉 (1) Acute liver injury: F344 rats (male, 7 weeks) were injected with TAA (300 mg/kg BW, i.p.) and liver samples were collected on 10 h to 7 days post injection. (2) Repeated-injection liver injury: F344 rats (male, 7 weeks) were injected with TAA (100 mg/kg BW, i.p.) one to three times every three days and liver samples were collected on 2 days each post injection.

〈**Results**〉 (1) Coagulation necrosis developed in perivenular areas on day 1, followed by inflammatory reaction on days 2 and 3. AST and ALT peaked on day 1; MHC class II<sup>+</sup> cells and DAMPs showed maximum on day 2, and TLR-4 expression peaked on day 3. (2) After the 1st injection, hepatocyte injury was seen with inflammation reaction; however, after 2nd and 3rd injection, injury was reduced. AST and ALT, MHC class II cells, and DAMPs and TLR-4 were increased only after the first injection.

〈**Conclusion**〉 (1) Injured hepatocytes were related to increasing of DAMPs, MHC class II cells and TLR-4, indicating important roles of DAMPs as injury factors in acute liver injury. (2) In TAA repeated-injection liver injury, detailed analyses were under way for DAMPs and their relation with inflammation regulators.

**P-44**

## Systemic histopathological evaluation of SHRSP5/Dmcr, SD rats and Wistar-Kyoto rats fed high fat-cholesterol (HFC) diet as a model of non-alcoholic steatohepatitis (NASH)

○Yuko Ono, Satomi Nishikawa, Katsuya Fujiki, Yasushi Horai, Masaharu Tanaka  
Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd.

SHRSP5/Dmcr is known to develop NASH-like hepatic lesion including fibrosis by feeding HFC diet. In addition, there are similar reports of HFC diet-fed SD rats and Wistar-Kyoto rats (WKY/Izm). In the present study, the organs and tissues from the SHRSP5/Dmcr, SD rats and WKY/Izm fed HFC diet for 8 weeks were examined histopathologically in order to investigate the systemic characteristics of histopathological changes.

6-weeks-old male SHRSP5/Dmcr, SD rats and WKY/Izm were fed HFC diet for 8 weeks. Body weight, organ weight and blood pressure were measured and hematology, blood chemistry and histopathological examination were performed.

In the liver in all species rats fed HFC diet, central fatty change of hepatocyte, fibrosis, infiltration of leukocyte and eosinophilic inclusion body in hepatocyte were observed. In the other organs, erosion/ulcer and regeneration of mucosal epithelium in the digestive system, increase of granulocytic hematopoiesis, lesion of aorta and infiltration of foamy macrophage were observed and were considered to be related to HFC diet. Only in the SHRSP5/Dmcr, infiltration of pigmentophages and fibrosis in the islet and degeneration/necrosis of myocardial fiber were observed and were considered to be related to hypertension. These results revealed that many HFC diet-related changes including NASH-like lesion were developed in all species rats fed HFC diet and that hypertension-related changes were developed only in SHRSP5/Dmcr.

**P-45**

## Subcutaneous and Orthotopic Patient-derived Human Hepatocellular Carcinoma Xenograft Models for Pharmacodynamic Efficacy Assessment of Sorafenib

○Chun-Min Liu<sup>1)</sup>, Shih-Ta Chen<sup>1)</sup>, Mai-Wei Lin<sup>1)</sup>, Dian-Kun Li<sup>2)</sup>, Hsiang-Wen Tseng<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Industrial Technology Research Institute (ITRI), Taiwan, <sup>2)</sup>Buddhist Tzu Chi General Hospital, Taiwan

The development of oncology drug needs a lot of money and manpower from preclinical study to approach. To resolve this "Valley of Death", a reliable and predictable animal model to evaluate the pharmacodynamic effects of new candidate is needed. There has been a recent increase in the use of patient-derived tumor tissue (PDTT) xenografts engrafted into immune-compromised mice for preclinical modeling. The PDTT xenograft tumor models retained histology, genome and biology similarities compared with their donors, and could be used as a more accurate screening tool and evaluate key markers of responses to novel drugs. We minced primary human hepatocellular carcinoma (HCC) tissues, mixed them with matrigel, and injected subcutaneously into immunodeficient mice. One primary tissue from a 59-years-old male patient grown and allowed a subcutaneous or orthotopic passage in the second mouse after serial transplantation and also showed similar histologic presentation to original donor tumor. Comparative analysis by gene chips also showed genomic similarity in different passaged tumors. The primary HCC xenograft of subcutaneous and orthotopic models were used to evaluate the pharmacodynamic effects of sorafenib. Our results demonstrated that sorafenib inhibited 59.4% tumor growth and reduced 52.6% secretion of human alpha-fetoprotein (h-AFP) in subcutaneous model. In addition, sorafenib also reduced 83.3% secretion of h-AFP and prolonged the survival of orthotopic HCC mice. We successfully established a new HCC xenograft tissue line from PDTT and can be used to evaluate the new anti-HCC candidates and applied to achieve individualized chemo-drugs by preclinically assessing.

**P-46**

## Genotoxicity Assessment on Perillaldehyde, a Flavoring Agent

○Shim-mo Hayashi<sup>1,2)</sup>, Cheryl Hobbs<sup>1,3)</sup>, Robert Maronpot<sup>1,4)</sup><sup>1)</sup>Japan Flavor & Fragrance Materials Association, <sup>2)</sup>San-Ei Gen F. F. I., Inc., <sup>3)</sup>Integrated Laboratory Systems, Inc.,<sup>4)</sup>Maronpot Consulting LLC, USA

Perillaldehyde, a natural monoterpenoid with an aldehyde group, is a flavoring ingredient found most abundantly in the perennial herb perilla. It has a long history of use to add spiciness to salad dressing, sauce and pickled vegetables. Perillaldehyde is designated by the Minister of Health, Labour and Welfare in Japan as unlikely to harm human health, and is affirmed as "generally recognized as safe" by the U.S. Flavor and Extract Manufacture Association. A genotoxicity battery was conducted for its world-wide application and consisted of the following GLP studies: a bacterial reverse mutation assay (Ames assay), an in vitro micronucleus assay in human lymphocytes, an HPRT assay in mouse lymphoma cells, and a comet/micronucleus assay in Wistar Han rats. Perillaldehyde induced mutation in *Salmonella typhimurium* strain TA98 in the absence of metabolic activation. Previously conducted TA98 assays were negative. The comet assay was negative for duodenum and positive in liver only at a hepatotoxic dose of perillaldehyde. All other genotoxicity assays were negative. It is concluded that perillaldehyde is not of concern to human health at current exposure levels.

**P-47**

## Effects of maternal exposure of Phenobarbital during gestation and lactation periods on pups

○Yoshitaka Katoh, Emi Makino, Tsuyoshi Ito, Yuko Shimada, Aya Koyama, Naofumi Takahashi, Ryoichi Ohtsuka, Makio Takeda, Maki Kuwahara, Takanori Harada

The Institute of Environmental Toxicology

〈**Background**〉 Recently, large attention has been given to chemical effects on children after maternal exposure during gestation and lactation periods. Although reproduction toxicity study provides evaluation on pups and young adults, subsequent data are obtained from general long term toxicity studies using untreated adolescents. Toxic profiles of chemicals sometimes differ between reproduction and subchronic toxicity studies. We focused on the conceivable difference of chemical effects on maternally exposed pups at adult and aged phases from those noted in general toxicity study. As the first step, expressions of drug metabolizing enzymes which play dominant roles in toxicity onset were evaluated at different developmental stages of pups.

〈**Methods**〉 Female Wistar rats were mated at 12 weeks of age. They were treated with 0, 40 and 80 mg/kg/day of phenobarbital from gestation day (GD) 12 to postnatal day (PND) 21. Evaluations focusing hepatic drug metabolizing enzymes of pups were conducted on PND 0, 11, 21 and 70.

〈**Results**〉 In dams treated at 80 mg/kg/day, nervous symptoms such as sedations were observed. Although all pups were lost on PND 0 in 3 dams, viable fetuses were found in one dam killed on GD 21. Pause of treatment from GD 19 brought normal delivery on the 2 reminders and treatment was restarted on them from PND 1. In the treated group of pups, relative liver weight tended to increase on PND 0 and 11 plausibly suggesting the treatment effect on liver function.

**P-48**

## Pathological studies of pancreatic islet in Diabetic Long-Evans Agouti LEA rat

○Makoto Sato<sup>1)</sup>, Tetsuyuki Takahashi<sup>2)</sup>, Keisuke Izumi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., <sup>2)</sup>University of Tokushima Graduate School

〈**Introduction**〉 Long-Evans Agouti(LEA) rat was animal model of non-obese type 2 diabetic rat. Radiation induced enhancement of diabetes in this model. The purpose of this studies to determined early histopathological changes, it was performed pathological and ultrastructural examination.

〈**Material and methods**〉 Eight LEA rats(10 weeks to 12 weeks of age) were studied histologically. Six LEA rats were studied in ultramicroscopy.

〈**Results**〉 The islets appeared to be structurally normal and hemorrhage and thrombosis were present in islet. Ultrastructural examination revealed exfoliation of endothelial cells. The beta cells of almost islets showed many low-electron dense secreting vesicles. In a few islets, beta cells were degeneration swelling of mitochondria and Dilatation of rER. Detachment of intracellular junctions between islet cells were also observed. In histology, macrophages infiltration and fibroplasia were showed in affected atrophic islets.

〈**In conclusion**〉 In the present studies, we demonstrate initial changes of the pancreatic islet endothelial cell injured. The other results suggested loss of cells with detachment of intracellular junctions between islet cells contributed to atrophy of islets.

P-49

## Characteristics of gene mutations by renal carcinogens with oxidative stress-inducible potency

○Takuma Tsuchiya, Yuji Ishii, Shinji Takasu, Aki Kijima, Yuh Yokoo, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura

Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

〈**Purpose**〉 Although both potassium bromate (KBrO<sub>3</sub>) and nitrofurantoin (NFT), renal carcinogens, were able to induce oxidative DNA damage, the resultant spectra of gene mutations are different. To investigate the relationship between oxidative DNA damage and subsequent gene mutations, we administrated KBrO<sub>3</sub> or NFT to *Nrf2*-deficient *gpt* delta mice.

〈**Materials and Methods**〉 6 to 7-week old male *Nrf2*<sup>-/-</sup> *gpt* delta and their wild type (*Nrf2*<sup>+/+</sup>) of *gpt* delta mice were treated with 0 or 1500 ppm of KBrO<sub>3</sub> in drinking water, or 0 or 2500 ppm of NFT in diet for 13 weeks, respectively. *gpt* and *Spi* assays, measurement of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) in the kidney DNA and the expression levels of *Nrf2*-regulated genes were examined.

〈**Results**〉 KBrO<sub>3</sub> induced significant increases in 8-OHdG levels (*Nrf2*<sup>+/+</sup>; 2.1-, *Nrf2*<sup>-/-</sup>; 3.3-fold) and *gpt* mutant frequencies (MFs) (*Nrf2*<sup>+/+</sup>; 2.7-, *Nrf2*<sup>-/-</sup>; 4.8-fold). NFT induced significant increase in *gpt* MFs (*Nrf2*<sup>+/+</sup>; 2.3-, *Nrf2*<sup>-/-</sup>; 3.5-fold). The expression level of *Nqo1* was significantly increased by the treatment with KBrO<sub>3</sub> or NFT in *Nrf2*<sup>+/+</sup>, but not in *Nrf2*<sup>-/-</sup>.

〈**Discussion**〉 In the previous 4-week study, while deletion mutation was significantly increased in *Nrf2*<sup>-/-</sup> compared with *Nrf2*<sup>+/+</sup> by the treatment with KBrO<sub>3</sub>, no changes was observed by the treatment with NFT. Including mutation spectra of *gpt* and *Spi* mutants in the present study, further discussion about the relationship between oxidative DNA damage and gene mutation will be presented.

P-50

## Chronic Progressive Nephropathy of Rats Administrated 4-chloro-2-nitroaniline in Carcinogenicity Study

○Kenji Takanobu, Yumi Umeda, Hideki Senoh, Taku Katagiri, Shigetoshi Aiso, Shoji Fukushima

Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association

〈**Introduction**〉 The main use of 4-chloro-2-nitroaniline (PCONA) is intermediate dye and organic pigment. In this study, we present the chronic progressive nephropathy (CPN) observed in the PCONA oral carcinogenicity study using rats. In addition, we also report renal lesions observed in the 13-week study.

〈**Methods**〉 The carcinogenicity study consisted of 3 dose-groups (280, 1400 or 7000 ppm in males, and, 160, 800 or 4000 ppm in females) and one control group in both sexes, each comprising of 50 rats (starting at an age of 6 weeks) in both sexes. The 13-week study consisted of 5 dose-groups (640, 1600, 4000, 7000 or 10000 ppm) and one control group, each comprising of 10 rats (starting at an age of 6 weeks) in both sexes.

〈**Results**〉 In the carcinogenicity study, there was no increase of incidence of the all tumors. The CPN was enhanced / increased in the 1400 ppm or higher group in male, 800 ppm or higher group females. In the 13-week study, eosinophilic globules in proximal tubules were enhanced in male dose-groups. Brown pigment in proximal tubules was seen in female dose-groups.

〈**Conclusion**〉 CPN observed more severe in females than males in carcinogenicity study. It can be suggested that the cause of those gender difference were the affect of the brown pigmentation, the influence metabolic products and the effects of aging. (This was a GLP study carried out on a commission from the Ministry of Health Labour and Welfare of Japan.)

**P-51****Effects of Nephrectomy on Kidney Lesions in db/db Mice**

○Kaoru Toyoda, Kochi Kakimoto, Katsuhiko Miyajima, Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi, Akiko Nakamura, Eriko Taniai, Akemi Takahashi, Toshiyuki Shoda, Kayoko Takagi, Satomi Takeuchi, Tatsuya Maekawa, Yoshifumi Miyakawa

CPRI, JAPAN TOBACCO INC.

**〈Background and Objective〉**

The db/db mouse, which is a model of type 2 diabetes, has a mutation of the db gene which encodes a leptin receptor. Lack of leptin signaling leads to the development of hyperphagia, obesity, hyperglycemia and hyperinsulinemia. The db/db mouse is also used as a diabetic nephropathy model because this model is known to spontaneously develop increased urinary protein level, renal hypertrophy and increase of glomerular matrix and these changes are progressively worsen with ages. In this study, we used unilateral nephrectomized (uNx) animals and investigated the effect of nephrectomy on the renal lesions in the db/db mouse sequentially.

**〈Materials and Methods〉**

Male unoperated and uNx db/m mice and unoperated and uNx db/db mice were necropsied at 19, 24, 35 and 42 weeks old. Kidneys were collected from the animals and prepared for histopathological and electron microscopic examinations.

**〈Results and Conclusion〉**

Renal hypertrophy, increase of glomerular matrix and tubular change were observed from 19 weeks old in both unoperated and uNx db/db mice. The incidence and severity of these changes were increased in uNx db/db mice when compared to unoperated animals from 24 weeks old. Glycogen accumulation in the cytoplasm and nucleus in the tubular epithelium was not worsened by nephrectomy. This study suggested that nephrectomy could be an exacerbation factor of a part of the renal lesions in the db/db mice.

**P-52****Molecular biological similarity between rat renal mesenchymal tumor and nephroblastoma**

○Mai Okumura<sup>1)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>2)</sup>, Syotaro Yamano<sup>1)</sup>, Isao Narama<sup>3)</sup>, Hideki Wanibuchi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Osaka City University, <sup>2)</sup>Setsunan University, <sup>3)</sup>Public Interest Incorporated Foundation, Biosafety Research Center

**〈Aim〉** Diagnostic criteria of rat renal mesenchymal tumor (RMT) is known as malignant mesenchymal cancer cell proliferation and invasion into surrounding kidney. Ductal component is frequently observed in RMT and nephroblastoma (NB) and is understood that one of the cancerous component in NB but not RMT. In this study, we identified the molecular biological similarity between rat RMT and NB.

**〈Material & Method〉** Spontaneously or chemically-induced rat RMT and NB were used in this study.

**〈Result〉** In rat RMT which was histopathologically diagnosed, ductal component were included in cancer tissue and not continuously into surrounding normal collecting ducts and tubules. Ductal component were positively in p63, Na/K pump by IHC, negative by PAM staining and high proliferative activity compared with surrounding tissues. These data indicated that these are cancerous components in this study. Moreover, WT1 expression were detected in not only mesenchymal cancer cells of rat RMT but also cancerous blastoma and mesenchymal cells in NB. This data indicated that RMT and NB include the cancerous ductal components and have molecular biological similarity.

**〈Conclusion〉** Histopathologically diagnosed rat RMT and NB have common molecular biological characteristics. These data indicated that rat RMT might reclassify the subclass of rat NB.

P-53

## A spontaneous occurring karyomegaly in renal tubular epithelial cells in a Sprague-Dawley rat

○Kenji Nakamura, Norifumi Takimoto, Atsuko Murai, Daisuke Hibi, Koji Shimouchi, Mikio Konishi

Safety Research Laboratories, Discovery and Research, ONO Pharmaceutical Co., Ltd.

〈**Aim**〉 Karyomegaly in renal tubular epithelial cells in rats is known to be induced by renal carcinogens. However, its spontaneous case has been rarely reported. In this report, we investigate the detail of karyomegaly which was found in the kidney of a vehicle-control rat.

〈**Materials and methods**〉 With the kidney of a 32-week-old female Crl:CD(SD) rat which was orally given 0.5% methylcellulose for 26 weeks, we conducted measurement of kidney weight, HE and immunohistochemical staining using antibodies for PCNA, cyclin A2, cyclin B2 and cyclin D1. As a negative control, we used the normal kidney of a 32-week-old female Crl:CD(SD) rat.

〈**Results**〉 The kidney weight was not changed. The karyomegaly in proximal tubular epithelial cells were observed mainly at the outer stripe of the outer medulla (OSOM). In the proximal tubular epithelial cells at OSOM, increase of positive-cells for cyclin D1, PCNA, cyclin A2 and cyclin B2 were found, compared with the negative control. Moreover, the karyomegaly showed positive for these antibodies. Interestingly, in the kidney of the negative control, the positive-cells for cyclin D1 were observed a lot at the OSOM.

〈**Discussion**〉 Based on enhancement of the expression of cell-cycle related factors, it is suggested that the karyomegaly in this case might result from the abnormal cell-cycle. Additionally, potential high expression of cyclin D1 at the OSOM might contribute to the site-specific expression of the karyomegaly in this case.

P-54

## $\gamma$ H2AX expression in urinary bladders of chemical-treated mice

○Mizuki Sone<sup>1,2)</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1)</sup>, Tadashi Hirata<sup>1,3)</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>2)</sup>Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>3)</sup>Showa Univ.

〈**Background**〉 Phosphorylated H2AX ( $\gamma$ H2AX) is rapidly accumulated at the site of DNA double strand break, and supposed to be a useful biomarker for genotoxicity. We reported that immunohistochemistry for  $\gamma$ H2AX can detect genotoxic urinary bladder carcinogens in rats (Toyoda et al., Toxicol Sci). Since there are species differences of the sensibility to carcinogens, we examined  $\gamma$ H2AX expression in urinary bladders of mice to compare with the results of rats.

〈**Methods**〉 Male 6-week-old B6C3F1 mice were orally treated with 2-acetylaminofluorene (2-AAF), *p*-cresidine, *N*-nitrosodiethylamine, glycidol, acrylamide, and dimethylarsinic acid for 4 weeks. Animals were sacrificed at the end of administration or after 2 weeks of recovery, and immunohistochemistry for  $\gamma$ H2AX and Ki67 was performed.

〈**Results**〉 Compared with the controls, the number of  $\gamma$ H2AX-positive cells at week 4 was significantly increased by 2 genotoxic bladder carcinogens (2-AAF and *p*-cresidine), consistent with the previous results in rats. Significant increase of Ki67-positive cells was observed only in *p*-cresidine group. We classified  $\gamma$ H2AX- and Ki67-positive cells into 3 layers of urothelium (basal, intermediate, and umbrella). In *p*-cresidine group, both  $\gamma$ H2AX and Ki67 expression were mainly localized in basal layer, whereas  $\gamma$ H2AX and Ki67 were detected in umbrella and basal layer of 2-AAF group, respectively. We will show the data for recovery groups and discuss the difference of  $\gamma$ H2AX expression between mice and rats.



**P-55**

## Diuretic-induced Bladder Wall Hypertrophy in Rats - Evaluation by Image Analysis

○Tsuyoshi Yoshikawa, Yukari Nishimura, Takuma Tsuchiya, Yuko Ito, Kohei Matsushita, Makoto Satou, Keisuke Kitaura, Satoshi Matsumoto

Otsuka Pharmaceutical Co.,Ltd. Tokushima Research Institute

⟨**Aim**⟩ Diuresis alone can cause bladder hypertrophy in diabetic- and osmotic diuretic-induced rats. We investigated whether increased urine volume would induce bladder wall hypertrophy in furosemide-treated rats by image analysis of the urinary bladder.

⟨**Materials & Methods**⟩ Male SD rats were dosed twice daily with oral doses of 0, 30 and 100 mg/kg of furosemide, and sacrificed at 1 or 4 weeks post dosing. The urine volume was measured weekly. Digital images of whole cross-sections of the urinary bladder were saved for analysis, and the images were analyzed with WinROOF. The HE-stained slides were used to determine the bladder tissue cross-sectional area, and the cytokeratin-stained slides for the urothelium area, the smooth muscle actin-stained slides for smooth muscle area and sirius red-stained slides for the collagen area, respectively.

⟨**Results**⟩ The urine volume increased 2-fold as compared with that of the control from 2 to 4 weeks for the 60 mg/kg group and 3.6-fold during the dosing period for the 200 mg/kg group. In the image analysis, significant increases in the total bladder wall area and smooth muscle area were observed in the 200 mg/kg group at 4 weeks, which suggested that the increased bladder wall area were due to increased smooth muscle.

⟨**Conclusion**⟩ Using the image analysis we observed increased total bladder wall area due to increased smooth muscle in the rats after the 4-week dosing of furosemide, indicating that furosemide induced bladder wall hypertrophy.

**P-56**

## Suppression of prostatic carcinogenesis with fermented brown rice by *Aspergillus Oryzae* in transgenic rats developing adenocarcinoma (TRAP)

○Toshiya Kuno, Hiroyuki Kato, Aya Naiki, Shinya Sato, Shugo Suzuki, Satoru Takahashi

Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

⟨**Background**⟩ Fermented brown rice by *Aspergillus Oryzae* (FBRA) is reported to have the potential to prevent chemical carcinogenesis in several organs.

⟨**Aim**⟩ The present study was performed to elucidate the effects of FBRA on prostatic carcinogenesis using transgenic rat for adenocarcinoma of prostate (TRAP) model.

⟨**Materials and Methods**⟩ Six-week-old male TRAP rats were divided into three groups, Groups 2 and 3 were respectively fed diets containing 5 and 10% FBRA through the examination. Group 1 was kept on the basal diet alone. The effect of FBRA on prostate tumor progression was investigated by histological analysis. The number of LG-PIN (low grade prostatic intraepithelial neoplasia), HG (high grade)-PIN and adenocarcinoma lesions in ventral and lateral prostate was scored by microscopy. Effects of FBRA for cell proliferation and metabolism were evaluated by IHC and Western blotting.

⟨**Results**⟩ Treatment with 10% FBRA blocked the progression of the LG-PIN to adenocarcinomas. A Ki-67 positivity of HG-PIN in Group 3 significantly decreased as compared with that in Group 1 ( $P < 0.01$ ). As potential mechanisms of FBRA efficacy, an increase in levels of phospho-AMPactivated kinase (AMPKTh172) were observed in prostate tissues of FBRA-treated rats.

⟨**Conclusion**⟩ FBRA prevent the progression of prostatic carcinogenesis through the regulation of metabolic events occurring in TRAP prostate.



**P-57****Effects of selective HDAC inhibitors on cell viability, cell cycle, or androgen receptor expression of prostate cancer**

○Shinya Sato<sup>1,2)</sup>, Shugo Suzuki<sup>1)</sup>, Aya Naiki<sup>1)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>1)</sup>, Toshiya Kuno<sup>1)</sup>, Satoru Takahashi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Exp. Pathol.Tumor Biol., Nagoya City Univ., <sup>2)</sup>Pathol. Div., Nagoya City West Med. Ctr.

〈**Introduction**〉 Histone deacetylase inhibitor (HDACi) regulates several transcripts and has shown strong antitumor activity. HDAC isoforms exist over 20, and pan-HDACis cause severe side effects in patients. We hypothesized that isoform-selective HDACis could suppress prostate cancer and reduce side effects. In this study, we examined antiproliferative effects of isoform-selective HDACis on prostate cancer.

〈**Materials & Methods**〉 We used 4 isoform-selective HDACis (3P, NCC149, NCT10 and NCH51 inhibited HDAC3, 8, 10 and class I, respectively) and 3 human prostate cancer cell lines (LNCaP, 22Rv1, and VCaP).

〈**Results**〉 In WST-1 assay, cell viability of prostate cancer cell lines were significantly decreased by 3 HDACis except for 3P. In FACS analysis, induction of G1 arrest and apoptosis were observed in LNCaP and 22Rv1 by NCT10 and NCC149. In western blot analysis, protein expression of androgen receptor and cyclin D1 was decreased in 22Rv1 by NCC149.

〈**Conclusion**〉 In conclusion, we clarified differences of modes of action among kinds of inhibited HDAC isoforms. We will further investigate histone acetylation-related gene expression, suppressive effects of the HDACis in vivo, and clarify HDAC isoform-specific mechanisms.

**P-58****Basic study for histopathological evaluation of toxicity of chemicals on thyroid of rat fetuses and pups: Part 1. Histology of the normally developing thyroid**

○Hitomi Yoshimitsu, Shiori Yoshida, Hiroaki Nagai, Toshihiro Amanuma

Research center, Nihon Nohyaku Co., Ltd.

〈**Objective**〉 As the thyroid hormone is essential for neural development of the fetuses and the pups, histopathological examination of the thyroid in fetuses and pups is important for evaluation of the toxic effects of xenobiotics. However, there is limited information on normal histological development of the thyroid, even in the rat that is most commonly used in toxicology studies. In order to establish the basic information, we investigated the histological development of the thyroid, at several time points including fetuses and pups of CrI:CD rats.

〈**Materials and methods**〉 Fetuses on GD 20 and pups on LD 4 and 21 were sacrificed with their dams. H&E stained sections of the thyroids were subjected to the histopathological evaluation. Referring with several criterion in guidelines, follicular cell height (FCH), colloid area (CA), and other findings were evaluated.

〈**Results**〉 In fetuses on GD 20, cuboidal follicular cells proliferated densely but colloid was hardly recognized. In pups on LD 4, most follicular lumen was filled with the increased amount of colloid and some follicular cell became flatten. On LD 21, both FCH and CA became almost similar with their dams, accompanied with colloid accumulation.

〈**Conclusion**〉 Characteristic morphology of normal developing thyroid gland was obtained at several developing stage of rat fetus and pups. The data enables correct histopathological examination of the effect of xenobiotics on thyroid gland in rat fetuses and pups.

**P-59**

## Basic study for histopathological evaluation of toxicity of chemicals on thyroid of rat fetuses and pups: Part 2. Histopathological changes by propylthiouracil (PTU)

○Shiori Yoshida, Hitomi Yoshimitsu, Hiroaki Nagai, Toshihiro Amanuma

Research center, Nihon Nohyaku Co., Ltd.

〈**Objective**〉 On histopathological evaluation of the effects of chemicals on developing thyroids in rat fetuses and pups, it's important to refer typical findings by known anti-thyroid substance. We investigated the changes in thyroid by PTU treatment, to prepare referable example.

〈**Materials & methods**〉 Dams of Crl:CD rats were given daily oral dose of PTU at 0, 0.5 and 10 mg/kg/day from gestation day (GD) 6 until sacrifice. A half of them were sacrificed on GD 20 with fetuses. Delivered pups were sacrificed on lactation day (LD) 4 and 21. Hormones and thyroid weight (TW) were measured and H&E stained thyroid sections were evaluated for follicular cell (FC) height, colloid area (CA), FC hypertrophy and so on by criterion in existing guidelines.

〈**Results**〉 T4 decreased by treatment of PTU in dams, fetuses and pups. As a consequence, both TSH and TW increased. Histopathologically, in line with such change, FC hypertrophy was detectable in treated animals and scores for FC height increased. In association with decreased colloid amount, scores for CA decreased in treated animals except for treated fetuses in which colloid is normally sparse and hence CA was not affected.

〈**Conclusion**〉 Typical changes by PTU treatment are comparatively detected in pups and dams, however in the fetal thyroid, the change was limited to follicular cells. The results are useful and contribute to pathologists, as a referable example for evaluation of the toxicity of chemicals on the developing thyroid.

**P-60**

## Search for the initial effects relating to the delayed effects of neonatal exposure to 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE) in female rat

○Megumi Tanaka, Risa Hurusawa, Yuri Yoshikawa, Jun Kawashima, Mariko Shirota

Laboratory of Comparative Toxicology, School of Veterinary Medicine, Azabu University

〈**Background and Aim**〉 The doses or ages of neonatal exposure to 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE) may determine the timing of delayed effects, such as arrest of estrous cycle at younger ages. In the present study, we investigated the initial effects of the exposure on the hypothalamic gene expression of estrogen receptors (ERs) and Kisspeptin-signaling molecules.

〈**Materials and Methods**〉 EE was administered orally to female Sprague-Dawley rats for 5 days from postnatal day (PND) 1 or either on PND 1 or 5. Doses of EE were determined based on previous observations on the delayed effects, and were ranged from 0.016 to 2  $\mu$ g/kg/day or either 2 or 10  $\mu$ g/kg. These animals were sacrificed at 24 h after the final treatment, and their brains were dissected. The brains were divided into the hypothalamus and the remaining upper area, and the total RNA was extracted from the sections. Subsequently, the amounts of mRNAs such as *ER  $\alpha$*  and  *$\beta$* , *Kiss1*, and *GPR54*, were quantified and compared with the control groups.

〈**Results and Conclusion**〉 Although the expression of *ER  $\alpha$*  was increased at doses where the estrous cycle was unaffected, they were decreased at doses where the estrous cycle was arrested. Conversely, the expression of *Kiss1* was affected only at doses that arrested the estrous cycle. Taken together, these findings suggest that the decrease in *Kiss1* could be a candidate for the initial changes linked to the delayed effects.

**P-61**

## Pathological features and clinical relevance of spontaneous endometriosis in cynomolgus monkeys

○Saori Matsuo<sup>1</sup>, Ayako Nishimoto<sup>1</sup>, Sachiho Netsu<sup>2</sup>, Shuuji Hayashi<sup>1</sup>, Atsuhiko Kato<sup>1</sup>, Masami Suzuki<sup>1</sup>, Ryo Konno<sup>2</sup>, Tadashi Sankai<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Chugai Pharmaceutical Co., <sup>2</sup>Jichi Medical University Saitama Medical Center, <sup>3</sup>NIBIOHN

〈**Background**〉 Endometriosis (EMS) is characterized by infertility and the presence of pain. To understand the pathobiology and to establish novel treatments for EMS, animal models such as non-human primates are crucial. This study investigated the pathological features and clinical relevance of spontaneous EMS in cynomolgus monkeys.

〈**Materials and Methods**〉 Eight cynomolgus monkeys were diagnosed with EMS at necropsy and were subjected to study. Each lesion was routinely processed for histopathology. In addition, representative lesions were subjected to immunohistochemistry against CD10,  $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA), and PGP9.5.

〈**Results**〉 At necropsy, adhesions between several pelvic organs, cysts, and nodules were noted. The walls of the cystic lesions were composed of endometriotic epithelium and CD10-positive stromal cells. In addition, hemorrhage and inflammatory cells within the cyst or cyst wall were often accompanied with hemosiderin-laden macrophages. Some of the lesions had invaded the colonic muscle layer and the submucosa. Furthermore, SMA-positive cells surrounding the endometriotic epithelium and stromal component, and distribution of PGP9.5-positive unmyelinated nerve fibers were also noted in the lesions. EMS lesions within the lymph nodes were incidentally noted in 2 cases.

〈**Conclusion**〉 Spontaneous EMS in cynomolgus monkeys has pathological features similar to the human case, including smooth muscle metaplasia and nerve fibers, and EMS in the lymph node.

**P-62**

## Characterization of mammary carcinomas in male and female rats after MNU exposure

○Katsuhiko Yoshizawa<sup>1</sup>, Michiko Yuki<sup>1</sup>, Yuichi Kinoshita<sup>1,2</sup>, Yuko Emoto<sup>1</sup>, Takashi Yuri<sup>1</sup>, Nobuaki Shikata<sup>2</sup>, Susan A Elmore<sup>3</sup>, Airo Tsubura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pathology II, Kansai Medical University, <sup>2</sup>Kansai Medical University Takii Hospital, <sup>3</sup>NIH/NIEHS

The frequency of male breast cancer in humans is extremely rare; less than 1 % of all reported breast cancers. An available animal model of male mammary tumors has not yet been reported. We compared the immunohistochemical characteristics of *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU)-induced mammary carcinomas in male and female SD rats; here we report the expression of tumor cells for estrogen receptor  $\alpha$  (ER), progesterone receptor (PgR), androgen receptor (AR), Her2/Neu (HER2), GATA3, and proliferating cell nuclear antigen (PCNA). ER expressed in 9% males and 100% females, PgR expressed in 0% males and 60% females, AR expressed in 27% males and 0% females, HER2 expressed in 0% males and females, GATA3 expressed in 0% males and 53% females, and PCNA expressed in 100% males and females. From the immunohistochemical analysis, such as ER and PgR positivities and HER2 negativity, we conclude that MNU-induced mammary carcinoma in females have hormonal dependency, similar to human luminal A subtype breast cancers. In contrast, MNU-induced mammary carcinoma in males showed no reactivity for ER, PgR, HER2 nor GATA3, suggesting a lack of hormonal dependency. Male and female carcinomas showed high proliferating activity by PCNA immunohistochemistry. Published literature indicates that human male breast cancers are mainly dependent on ER and/or PgR, therefore the biological property of MNU-induced male mammary cancers in rats may be different from that of male breast cancer in humans.

P-63

## Impact of spontaneous thymic lymphoma on construction of PDX models in NOD/SCID/ $\gamma_c^{\text{null}}$ mice

○Chie Kato, Etsuko Fujii, Kaori Nishihara, Atsuhiko Kato, Masami Suzuki

Research Division, Chugai Pharmaceutical Co.,Ltd

〈**Background & Aim**〉 The severely immunodeficient NOD/SCID/ $\gamma_c^{\text{null}}$  (NOG) mouse is known to be an excellent experimental animal for constructing patient derived xenografted models (PDXMs). We have reported that the incidence of spontaneous thymic lymphoma (STL) is markedly low in NOG mice. In the present study, we report a case of STL that had a significant impact on construction of PDXMs.

〈**Materials and Methods**〉 A human lung squamous carcinoma (LSq) cell line was transplanted into the subcutis of 1 NOG mice (P0) and passage subsequently into 2 mice per generation from P1 to P3. The tumor volume was measured in all cases and the tumor tissues were examined histopathologically, and immunohistochemically for mouse CD3.

〈**Results**〉 The tumor volume increased gradually at P0 and P1 but rapidly at P2 and P3. Histopathologically, LSq cells were observed in P0 and P1. In all cases of P2 and P3, the masses were composed of sheets of lymphoblastic cells (LBC) or LBC infiltrated into remaining LSq tissues. LBCs were mouse CD3-positive.

〈**Conclusion**〉 We judged that STL occurred in the P1-donor mouse and LBC was transplanted into P2 and P3 mice. Previously we had reported that Epstein-barr virus related lymphoproliferative lesions affect the early stages of the establishment process. In this study, we have found that STL can also affect the model even after establishment. Early detection after engraftment is important to minimize the impact of STL on the maintenance and management of PDXMs.

P-64

## Recombinant *Yersinia* adhesion A inclusion bodies reduce the symptoms of *Yersinia pseudotuberculosis* infection

○Kosuke Tsugo, Shin/ichi Nakamura, Hiroko Yamanaka, Yumi Une

Azabu Univ Lab of Vet Pathol

〈**Background**〉 *Yersinia pseudotuberculosis* (*Y. ptb*) causes Yersiniosis in humans and animals such as rodents and nonhuman primates, and is thus a public health concern. Therefore, in this study, we produced a recombinant *Yersinia* adhesion A protein (rYadA) and studied its immunogenicity.

〈**Materials and Methods**〉 The gene (1,299 bp) for YadA, which is encoded by the *Y. ptb* plasmid, was inserted into two vectors and transformed into *E. coli*. rYadA was expressed in the lysate and as an inclusion body. 16 BALB/c mice were then grouped as follows: 1: subcutaneously administered rYadA inclusion bodies; 2: administered 100  $\mu$ g of soluble rYadA; 3: YadA strongly expressing inactivated *Y. ptb* reported protective effect 20mg; and, 4(control): subcutaneously administered 0.2 ml of PBS (twice). After all mice were orally inoculated with *Y. ptb* ( $10^7$  cells), the survival rate, pathological findings, and anti-rYadA antibody titer were compared.

〈**Results**〉 Survival rates of group 1 and 3 were 100% and 60%, respectively, but all mice in groups 2 and 4 died. Additionally, serum anti-rYadA IgG antibody titers were elevated in groups 1 and 3, and these mice exhibited milder white nodules in the spleen and liver compared to those in the dead mice. Histopathologically, multifocal necrosis and neutrophil infiltration in the spleen and liver were severe in all dead mice but were mild in the surviving mice.

〈**Conclusion**〉 Our results suggest that rYadA inclusion bodies prevent the lethal Yersiniosis.

## P-65

**Anti-oxidative Property of Phikud Navakot on Sheep Erythrocyte**○Sumate Ampawong<sup>1)</sup>, Kanchana Kengkoom<sup>2)</sup>, Supattra Suwanmanee<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Tropical Pathology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Thailand,<sup>2)</sup>Academic Services Division, National Laboratory Animal Center, Mahidol University, Thailand

Phikud Navakot (PN), Thai herbal remedy in National List of Essential Medicines, composes of nine crude herbal plants. Not only vasorelaxation effect, PN also attenuates oxidative stress on endothelial cell. Its properties have been claimed to reduce many cardiovascular symptoms especially dizziness and fainting. Apart from the capacity of blood supply, erythrocyte integrity is also main consideration factor in cardiovascular diseases. Because the erythrocyte deformability, both shape and size, affects to the oxygen transportation. Unfortunately, little is known about anti-oxidative property of PN on erythrocyte. In this study, 1,000 mM hydrogen peroxide induced-oxidative stress was conducted on sheep erythrocyte. Three doses of PN (1, 0.5, and 0.25 mg/ml) and 10 μM of ascorbic acid were compared. Electron microscopic and immunohistochemical studies were performed to characterize dysmorphic erythrocyte and osmotic ability in relation to aquaporin (AQP)-1 expression, respectively. The results revealed that all doses of PN and ascorbic acid decreased the severity of dysmorphic erythrocyte, particularly echinocyte, acanthocyte, knizocyte, codocyte, clumping, and other malformations. However, the most effective was 0.5 mg/ml of PN. Interestingly, hydrostatic pressure may be increased in dysmorphic erythrocyte in association with AQP-1 up-regulation. Therefore, our results demonstrated that PN composed of anti-oxidative effect and maintained osmotic ability on sheep erythrocyte.

## P-66

**Investigation of the mechanisms in oxidative stress-induced acceleration of cell migration**○Yuzo Yasui<sup>1,2)</sup>, Kanae Kitatani<sup>1)</sup>, Kochi Kakimoto<sup>2)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>2)</sup>, Yusuke Kemmochi<sup>2)</sup>, Akiko Nakamura<sup>2)</sup>, Kaoru Toyoda<sup>2)</sup>, Eriko Taniai<sup>2)</sup>, Akemi Takahashi<sup>2)</sup>, Toshiyuki Shoda<sup>2)</sup>, Shoichiro Sugai<sup>2)</sup>, Susumu Takekoshi<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Tokai University School of Medicine, Division of Host Defense Mechanism,<sup>2)</sup>Japan Tobacco Inc., Toxicology Research Laboratories

〈**Introduction**〉 Recent studies showed that oxidative stress accelerates cell migration, whereas these detail mechanisms are less well understood. In this study, we investigated that the mechanisms of oxidative stress-induced acceleration of cell migration in HeLa cells.

〈**Materials and Methods**〉 HeLa cells were cultured in DMEM containing 10% fetal bovine serum (FBS) in a 5% CO<sub>2</sub> environment at 37 °C . A lipophilic free radical initiator, 2,2'-azobis-2,4-dimethylvaleronitrile (AMVN), and a water-soluble free radical initiator, 2,2'-azobis-2-methylpropanimidamide dihydrochloride (AAPH), respectively, were used for oxidative stress stimulation. HeLa cells with 90 to 100% confluence were wounded by scraping across the cell monolayer with a yellow tip. Cells were treated with 0, 0.125 to 4 mM AMVN (6 doses), 1.88 to 60 mM AAPH (6 doses), respectively. Wound closure of the scratched surface was observed and photographed at 0 to 9-hour time interval. Invasion assay was performed using a 24-well Transwell plate. We evaluated phosphorylation of extracellular signal regulated kinase (ERK), focal adhesion kinase (FAK) and paxillin by immunoblotting analysis.

〈**Results**〉 AMVN and AAPH accelerated cell migration, and induced phosphorylation of ERK, FAK (Serine 910) and paxillin (tyrosine 113) in the wound healing and invasion assay, and immunoblotting analysis.

〈**Conclusions**〉 This study shows that oxidative stress activates MAP kinase (ERK 1 and 2) and FAK and accelerates cell migration in HeLa cells.

**P-67**

## Validation study of the uncertainty factor in repeated-dose toxicity tests using obese Zucker rats

○Takeshi Toyoda<sup>1</sup>, Young-Man Cho<sup>1</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>2</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., <sup>2</sup>Biol. Safety Res. Ctr., Natl. Inst. Health Sci.

〈**Background**〉 The 100-fold uncertainty factor (UF) represents the product of 2 separate 10-fold factors that allow for interspecies differences and individual variability. Although the rate of obesity, a underlying disease disturbs the systemic metabolism, is increasing in many countries, there are quite limited data for association between obesity and toxic susceptibility. We performed 13-week subchronic toxicity studies using an obese rat model to validate the UF.

〈**Methods**〉 Male F344 and Zucker (fatty and lean) rats were administered 0, 80, 253, 800, 2530, or 8000 ppm acetaminophen (AP) in basal diet or 0, 9, 28.5, 90, 285, or 900 ppm 3-MCPD in drinking water for 13 weeks. Serology, serum biochemistry, and histopathology were analyzed.

〈**Results**〉 In F344 and lean rats, 8000 ppm AP caused decrease of body weight gain and increases of MCV and MCH. 3-MCPD treatment induced decrease of body weight gain, increase of relative kidney weights, decreases of RBC, HGB, and HCT, increase of A/G and decrease of Cre, and single cell necrosis of epithelial cells in epididymal ducts in all 3 strains. Among these results, 90 ppm 3-MCPD caused decreases of HGB and HCT in fatty rats and decrease of Cre in F344 and lean rats. The NOAELs of AP and 3-MCPD were estimated to be 2530 ppm for F344 and lean rats and 8000 ppm for fatty rats and 28.5 ppm for all 3 strains, respectively. These results suggest that the differences between healthy and obese rats may be within the 10-fold intraspecies UF.

**P-68**

## Development of the immune organs in mouse exposed neonatally to High-Fat Diet

○Mai Todoroki, Mika Senuma, Fumiaki Kumagai, Yoshiaki Saito, Makiko Kuwagata

Hatano Research Institute, FDSC

〈**Aim**〉 A whole-DNA microarray analysis of mouse liver exposed neonatally to a high-fat diet revealed that the immune system-related genes were affected. In this study, the development of the immune tissues in the offspring of mice exposed neonatally to a high-fat diet was examined histopathologically.

〈**Method**〉 C57BL dams were exposed to a 60%-Kcal% high-fat diet (HF) for 21 days after delivery. The controls were fed chow ad libitum. The liver, thymus and spleen in the offspring were observed on postnatal days 7 (PD7) and 21. The distributions of CD3, CD45R, and Iba-1 immunoreactive cells were also examined.

〈**Result**〉 The body weights of the offspring in the HF group were higher than in the control group. While organ weights were comparable on PD7, increased spleen, and decreased liver and thymus, weights were observed in the HF group on PD21. Hematopoiesis in the HF liver was stronger than in the control group on both, PD7 and PD21. In addition, fatty changes in the hepatocytes group were observed on PD21. On PD21, in the HF spleen, an abnormal distribution of cells positive for Iba-1 and decreased cells positive for CD3 were observed on PD7. In the HF thymus, the number of thymic cells in the cortex was decreased, while the number of cells positive for Iba-1 in the medulla were increased.

〈**Conclusion**〉 The results indicated that in neonatal nutrition, HF exposure affects the development of the immune tissues, leading to dysfunction of the natural immune system in adulthood.

**P-69**

## **Amyloidosis observed in high incidence in the control group of a carcinogenicity study in ICR mice: Comparison to historical controls**

○Tsuayoshi Ito, Yoshitaka Katoh, Emi Makino, Yuko Shimada, Aya Koyama, Naofumi Takahashi, Maki Kuwahara, Takanori Harada

The Institute of Environmental Toxicology (IET)

〈**Background**〉 ICR mice are known to be frequently affected with amyloidosis. But, according to literature data, the range of the incidence is wide (2-41% in males and 0.7-31% in females) and the incidence in IET's historical control data was only 0.1% in males and 0.3% in females. As the control incidence of amyloidosis was high in the latest carcinogenicity study when compared to the historical control data, detailed comparison was conducted.

〈**Methods**〉 SPF ICR mice [Crlj:CD1(ICR)] (Charles River Japan, Inc.) were purchased at 4 weeks of age and 78-week carcinogenicity study was initiated at 5 weeks of age. Systemic organs and gross lesions from the control males and females (52 each) were removed and HE-stained sections were prepared by a routine method. IET's historical control data of Crlj:CD1(ICR) mice were used for comparison.

〈**Results**〉 The incidence of amyloidosis was significantly high (13% in males and 8% in females) when compared to the historical control data. Amyloid deposition in the ileum, mesenteric lymph node, thyroid, kidney, heart, extraorbital lacrimal gland, uterus, cecum, parathyroid and/or adrenal was observed in many of amyloidosis-affected mice.

〈**Conclusion**〉 Since the amyloid-deposited organs were similar to those in the historical control data, the amyloidosis in the latest study was considered to be identical to those observed in the historical controls. In females, affected organs were somewhat different from literature data of Crj:CD1 mice.

**P-70**

## **A 28-day repeated oral dose toxicity study of tris-(2,3-dibromopropyl) isocyanurate in SD rats**

○Shinji Takasu, Yuji Ishii, Yuh Yokoo, Takuma Tsuchiya, Aki Kijima, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura

Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

〈**Introduction**〉 Tris-(2,3-dibromopropyl) isocyanurate (TBC) is a brominated flame retardant. Because TBC is detected in environment, possible exposure of human to TBC has been concerned. However, there have been few reports in terms of the safety assessment for TBC. In present study, we investigated a repeated oral dose toxicity of TBC using rats.

〈**Materials & methods**〉 5 male and female SD rats at 6 weeks of age were given diets containing 0.3, 1.2 or 5.0% TBC for 28 days. Fourteen days recovery study using 5 males and females was also examined. The clinical sign, body weight, and food consumption thorough the experimental period, and hematology, serum biochemistry, organ weight and histopathology at necropsy were analyzed.

〈**Results & discussion**〉 There were no treatment-related clinical sign and significant changes of body weight, food consumption and hematology. The serum chlorine was significantly increased in all TBC-treated males and 1.2% and 5.0% TBC-treated females. These changes might result from the bromine ion dissociated from TBC because of the ion electrode method used in the present study indistinguishable from each other. The absolute and relative liver and kidney weights were significantly increased in all TBC-treated males. The relative liver weights were also increased in 1.2% and 5.0% TBC-treated females. However, these changes returned to normal after recovery period. Including histopathological data, the safety assessment for TBC will be conducted.



**P-71**

## Effects and reversibility of plain liposome in Sprague-Dawley rat

○Shota Yoshida, Hideki Tanaka, Fumiko Ninomiya, Shohei Kanie, Yusuke Doi, Satoshi Suzuki, Kazuhiko Besshi, Fumio Morita, Kazuo Hakoi

Taiho Pharmaceutical Co., Ltd. Toxicology Laboratory

〈**Aim**〉 Liposomes are spherical vesicles having phospholipid bilayer, and can transport other materials with preventing from breakdown for its excellent biocompatibility. Thus, it has been widely used as a carrier for drug delivery system. In toxicity studies of liposome including compounds, the effects of liposome without compounds (plain liposome) on animals should be confirmed; however such information has not been reported sufficiently. In the present study, the effects and reversibility of plain liposome treatment in rats were evaluated.

〈**Materials and Methods**〉 Plain liposome was administered intravenously to 6-week-old male Crl:CD(SD) rats biweekly for 2 weeks (group A) or once biweekly for 32 days (group B). After dosing period, analyses of hematology, blood coagulation, blood chemistry and histopathology were conducted. To evaluate reversibility of changes, those analyses were also conducted 1, 2, 3 and 4 weeks (group A) or 2 weeks (group B) after dosing period. Special staining, IHC and electron microscopic analysis were also performed.

〈**Results**〉 Appearance of foamy cells was observed histopathologically in several tissues of both groups such as glomerulus, hepatic sinusoids and splenic red pulp. Group A showed significant increases in PLT, fibrinogen, total cholesterol, phospholipid and triglyceride and prolonged PT. Group B showed no changes in clinical laboratory tests. We will also report the details and reversibility of those changes.



## 著者索引

## A

阿部 一 P-11  
 安達 玲子 P-06  
 相磯 成敏 O-26、O-30、P-50  
 赤木 純一 P-06、P-35、P-54、  
 P-67  
 赤堀 有美 P-11、P-13  
 天沼 利宏 P-58、P-59  
 甘崎 佳子 WS-04  
 Ampawong, Sumate P-65  
 安藤 弘 P-01、P-31  
 安齋 享征 O-12、P-34  
 青木 正光 P-03  
 青木 貴志 O-22  
 青木 豊彦 P-27  
 新垣 和也 P-22  
 朝倉 省二 P-26  
 麻生 良平 O-11

## B

別枝 和彦 P-71  
 Blyth, Benjamin WS-04  
 ボンドク アレクサンドラ P-43  
 Brown, Danielle LS3

## C

Chen, Shih-Ta P-45  
 Cho, Young-Man P-06、P-35、  
 P-54、P-67  
 Chouinard, Luc LS-04  
 Cohen, Samuel M. SL-02

## D

土井 賢一郎 O-28、P-36、P-42  
 土居 卓也 O-24、P-12  
 土井 悠子 P-04  
 土井 祐輔 P-71

## E

Elmore, Susan A. P-62  
 榎本 祐子 P-62  
 塩谷 聡子 O-21

## F

房 赫 O-09、P-41、P-42  
 不二 哲 O-03  
 藤井 悦子 P-63  
 藤井 雄太 P-03  
 藤木 勝也 P-33、P-44  
 藤岡 正喜 O-09、P-36、  
 P-41、P-42  
 藤島 純子 P-28  
 深町 勝巳 P-05  
 福島 昭治 O-26、O-30、P-50  
 船橋 斉 P-03  
 古川 文夫 P-24、P-25  
 古川 賢 SY-03  
 二口 充 P-05

## G

魏 民 O-09、O-28、P-36、  
 P-37、P-41、P-42  
 後藤 彩 P-26、P-27

## H

萩原 昭裕 P-04  
 萩原 仁美 O-11、P-32  
 袴田 志野婦 O-22  
 箱井 加津男 P-10、P-71  
 浜村 政夫 O-16  
 原 明 O-13  
 原田 英樹 O-24  
 原田 孝則 P-47、P-69  
 斯波 真理子 O-27  
 長谷川 和成 O-19  
 長谷川 也須子 O-23、P-14、P-38  
 長谷川 雄太 P-15  
 橋本 博幸 P-33  
 畠山 洋文 P-16、P-34  
 早川 和宏 P-26、P-27  
 林 新茂 SY-01、P-23、  
 P-39、P-46  
 林 修次 P-61  
 日比 大介 O-17、P-53  
 東阪 和馬 P-07

筆宝 義隆 WS-03  
 平川 公昭 O-18  
 平嶋 昂 O-24  
 平田 暁大 O-13  
 平田 直 P-06、P-35、P-54  
 広瀬 明彦 O-29  
 Hobbs, Cheryl P-46  
 北條 幹 O-29、P-01、P-31  
 洞井 康 P-44  
 堀川 真一 P-34  
 星谷 達 O-20  
 細井 理代 O-19  
 細川 暁 P-26、P-27  
 福永 八千代 P-30  
 古澤 理沙 P-60

## I

衣斐 彼方 P-23  
 市村 亮平 O-02  
 五十嵐 功 O-22  
 五十嵐 勝秀 O-23  
 伊倉 佐織 P-30  
 今井 俊夫 WS-03  
 今井田 克己 O-25、P-02  
 今田中 伸哉 P-11、P-13  
 猪又 明子 O-29、P-01、P-31  
 猪又 晃 P-26、P-27  
 猪俣 依子 O-11  
 井上 薫 O-02  
 井上 亮 P-30  
 井上 紗季 P-16  
 井上 知紀 O-04  
 石井 真美 O-28、P-36、P-37、  
 P-42  
 石井 雄二 O-06、O-15、P-40、  
 P-49、P-70  
 石川 加代子 O-22  
 磯部 厚志 O-11、P-32  
 板橋 恵 O-23  
 伊東 志野 P-29  
 伊藤 強 P-47、P-69  
 伊藤 優子 P-55

岩田 聖	O-12、P-16、P-34	木嶋 恵	P-29	升島 努	O-14
岩谷 綱一	P-32	キム ジン	P-09	松本 晴年	P-05
井澤 武史	P-18、P-43	木村 真之	O-10、P-39	松本 泉美	P-03
泉 啓介	P-48	木村 美恵	P-06	松本 正博	P-18
		木下 勇一	P-62	松本 智志	O-06、P-55
<b>K</b>		桐山 諭和	P-20	松尾 沙織里	P-61
香川 雄輔	P-29	北谷 佳那恵	P-66	松下 幸平	O-04、O-06、P-55
甲斐 清徳	O-22	北浦 敬介	O-06、P-55	松浦 哲郎	P-19
海鋒 藤文	P-01	北澤 郁恵	P-29	松浦 哲也	WS-03
鍛冶 秀文	P-33	小林 大礎	O-24	米良 幸典	P-04、P-08
梶村 哲世	P-16	小林 欣滋	O-18、P-28	南澤 由佳	P-29
梶原 健太郎	O-05	小林 亮介	O-24	見鳥 光	P-18
梯 アンナ	O-28、P-36、P-37、 P-42	兎玉 幸夫	O-02	満石 三喜男	O-16
柿本 恒知	P-51、P-66	小泉 治子	P-16	三森 国敏	SL-01
柿沼 志津子	WS-04	小島 康裕	P-29	美谷島 克宏	P-51、P-66
上西 睦美	WS-04	近藤 美子	O-11	宮島 留美子	O-19
金井 好克	O-08	小西 幹夫	O-17、P-53	宮川 義史	P-51
神鳥 仁志	P-21	今野 良	P-61	宮坂 勇一郎	O-14
金光 弘幸	P-30	河内 眞美	P-03	水上 さやか	O-10、P-38、P-39
寒川 彰久	O-21	小山 彩	P-47、P-69	水田 保子	P-06、P-54、P-67
寒川 祐見	O-10、P-23、P-39	久保 喜一	P-01、P-31	最上(西巻) 知子	P-06
蟹江 尚平	O-25、P-02、P-10、 P-71	隈部 志野	O-16	森川 朋美	O-02
		熊谷 文明	P-07、P-32、P-68	森岡 孝満	WS-04
菅野 剛	O-24、P-12	久野 壽也	O-01、O-03、O-07、 P-56、P-57	森田 文雄	P-71
笠原 健一郎	P-30	倉持 瑞樹	P-43	村井 厚子	O-17、P-53
笠井 辰也	O-30	倉田 昌明	P-17	村松 大	P-29
檜村 茜	P-33	栗田 雅行	P-01	村山 宗理	P-39
片桐 卓	O-26、O-30、P-50	黒田 顕	O-06、O-17	武藤 朋子	O-08
片岡 暁	P-23	黒岩 有一	O-04	<b>N</b>	
加藤 淳彦	P-61、P-63	黒滝 哲郎	P-12	長井 寛明	P-58、P-59
加藤 千恵	P-63	桑形 麻樹子	P-07、P-68	長野 嘉介	O-11、P-32
加藤 寛之	O-01、O-03、O-07、 P-56、P-57	桑原 真紀	P-47、P-69	長澤 明道	P-01、P-31
加藤 由隆	P-47、P-69	桑村 充	P-18、P-43	永谷 真理子	LS2、P-30
河部 真弓	P-04、P-08	桑田 和倫	O-02	内木 綾	O-01、O-03、O-07、 P-56、P-57
河内 聡子	O-09、P-41、P-42	<b>L</b>		仲地 里織	P-22
川迫 一史	O-16	Li, Dian-Kun	P-45	中江 大	O-29、P-01、 P-31、P-34
川嶋 潤	P-60	Lin, Mai-Wei	P-45		
河嶋 将司	P-39	Liu, Chun-Min	P-45	仲江 嶺夏	P-15
花見 正幸	P-30	<b>M</b>		中釜 斉	WS-03
Kengkoom, Kanchana	P-65	前川 竜也	P-51	中原 豊	P-18
剣持 佑介	P-51、P-66	牧野 絵美	P-47、P-69	中島 康太	P-24
木原 亨	P-23	牧野 俊彦	O-22	中島 悠介	P-19
木島 綾希	O-04、O-06、O-15、 P-40、P-49、P-70	Maronpot, Robert R.	EL、P-46	中村 明子	P-51、P-66
				中村 賢志	O-17、P-53

中村 進一	P-64	<b>P</b>		曾根 瑞季	P-06、P-35、P-54
中村 孝志	P-35		パク チェハク	園田 二郎	P-27
中野(伊藤) 今日子	P-26、P-27		ペルビン ムンムン	空 純子	P-16
中野 由佳	O-18			末廣 美紀	P-29
中澤 朋美	O-20	<b>S</b>		末岡 花菜子	P-15
並木 健吾	O-13		貞本 和代	菅井 象一郎	P-66
奈良間 功	O-19、P-19、P-52		齋藤 文代	杉江 茂幸	P-25
成澤 裕子	O-25、P-02		斉藤 義明	勝呂 繭子	P-04、P-08
根本 真吾	P-17		酒井 洋樹	砂押 正明	WS-04
根津 幸穂	P-61		坂入 しのぶ	酒々井 眞澄	P-05
二井 愛介	P-29		榭 秀之	鈴木 雅実	P-61、P-63
二宮 芙美子	P-10、P-71		坂本 義光	鈴木 美帆	P-15
西原 香織	P-63		桜井 淳一	鈴木 智	P-10、P-71
西川 秋佳	O-04、P-54、P-67		山海 直	鈴木 周五	O-01、O-03、O-07、 P-56、P-57
西川 智美	P-33、P-44		竿尾 光祐	Suwanmanee, Supattra	P-65
西本 綾子	P-61		笹谷 めぐみ		
西村 まゆみ	WS-04		佐藤 寛子		
西村 悠花里	P-55		佐藤 順子		
野一色 香織	O-18、P-28		佐藤 亮	O-06、P-48、P-55	
則武 健一	P-26		佐藤 伸一	P-16、P-34	
野崎 祐次	P-24		佐藤 慎哉	O-01、O-03、O-07、 P-56、P-57	
沼野 琢旬	P-04、P-08		佐谷 秀行	P-37	
沼尾 湖須生	P-29		佐山 絢子	O-22	
沼澤 聡	P-35		関 由妃	P-26、P-27	
<b>O</b>			妹尾 英樹	O-26、O-30、P-50	
落合 雅子	WS-03		瀬沼 美華	P-07、P-68	
小川 久美子	O-15、P-06、P-35、 P-40、P-49、P-54、 P-67、P-70		柴田 映子	O-27	
大西 誠	O-30		柴田 雅朗	O-27	
太田 恵津子	P-26、P-27		柴田 昌利	O-21	
大塚 亮一	P-47		渋谷 淳	O-10、O-23、P-11、 P-13、P-14、P-23、 P-38、P-39	
岡崎 孝信	O-18		志賀 敦史	O-19	
奥 春孝	O-17		四方 伸明	P-62	
奥村 真衣	P-52		島田 義也	WS-04	
大野 祐子	P-44		嶋田 悠子	P-47、P-69	
大西 康之	O-24		島扇 笙子	P-15	
押方 孝文	O-16		下井 昭仁	P-16、P-34	
太田 泰史	O-19		下内 孝司	O-17、P-53	
大竹 正剛	O-21		霜山 奈津美	O-20	
大塚 昭代	P-26		神明 諒	P-15	
尾崎 清和	O-05、P-19、P-52		白木 彩子	P-13、P-14	
小澤 沙紀	O-11		代田 真理子	P-15、P-60	
			正田 俊之	P-51、P-66	
			早場 純子	O-11、P-32	

瀧本 憲史	O-17、 P-53	鰐淵 英機	SY-04、 O-05、 O-09、	結城 美智子	P-62
田村 一利	O-20、 P-30		O-28、 P-36、 P-37、	塚 貴司	P-62
田中 英樹	P-10、 P-71		P-41、 P-42、 P-52	湯澤 勝廣	P-01、 P-31
田中 雅治	P-33、 P-44	渡辺 敦光	O-14		
田中 恵	P-15、 P-60	渡辺 純	P-16		
田中 猛	O-23、 P-14	渡辺 武志	P-21		
田中 卓二	P-25	渡邊 洋祐	P-13、 P-14		
谷合 枝里子	P-51、 P-66	Weber, Klaus	LS1		
田崎 雅子	O-04、 O-11、 P-32				
立松 正衛	P-20	<b>Y</b>			
辰己 久美子	P-36、 P-37、 P-41、 P-42	八舟 宏典	P-38		
寺尾 壽子	P-32	山田 健二	O-05		
寺山 由依	P-19	山田 直明	P-12		
栃谷 智秋	P-03	山田 徹	P-03		
等々力 舞	P-07、 P-68	山際 慶典	P-17		
渡慶次 愛	P-22	山口 宏明	P-29		
富田 弘之	O-13	山口 裕子	O-20		
友成 由紀	P-12	山川 けいこ	O-25、 P-02		
豊田 薫	P-51、 P-66	山本 雅大	WS-02		
豊田 武士	P-06、 P-35、 P-54、 P-67	山本 卓志	P-33		
Tseng, Hsiang-Wen	P-45	山中 寛子	P-64		
坪田 健次郎	P-18	山野 荘太郎	O-05、 O-09、 O-28、 P-41、 P-42、 P-52		
螺良 愛郎	P-62	山手 丈至	P-18、 P-43		
土谷 稔	O-24、 P-12	山内 啓史	P-21		
土屋 卓磨	O-15、 P-40、 P-49、 P-55、 P-70	柳井 徳磨	O-13		
津田 洋幸	P-05	保田 昌彦	P-30		
津郷 孝輔	P-64	安井 雄三	P-51、 P-66		
塚本 徹哉	P-20	Yi, Shang	WS-04		
一鬼 勉	SY-02	横平 政直	O-25、 P-02		
堤 秀樹	P-04、 P-08	横尾 諭	O-15、 P-40、 P-49、 P-70		
堤 康央	P-07	吉田 緑	O-02		
<b>U</b>		吉田 しおり	P-58、 P-59		
梅田 ゆみ	O-26、 O-30、 P-50	吉田 翔太	O-25、 P-02、 P-10、 P-71		
梅村 隆志	O-04、 O-06、 O-15、 P-40、 P-49、 P-70	吉田 敏則	O-10、 O-23、 P-11、 P-13、 P-14、 P-23、 P-38、 P-39		
宇根 有美	P-64	吉川 剛	P-55		
浦野 浩司	P-04、 P-08	吉河 佑莉	P-60		
牛島 俊和	WS-01	吉見 直己	P-22		
<b>W</b>		吉光 仁美	P-58、 P-59		
涌生 ゆみ	O-24	吉岡 靖雄	P-07		
和久井 信	O-08	義澤 克彦	P-62		
		吉栖 正生	O-14		



# Three S Japan

株式会社スリーエス・ジャパンは、  
医薬品、医薬部外品、農薬等の開発におけるプロフェッショナル集団です。



## 申請資料の作成業務

- 医薬品、医薬部外品、医療機器、農薬、動物用医薬品、化粧品、機能性食品の申請資料作成

## 整合性確認(QC)業務

- 申請資料と試験報告書との整合性確認(QC)とレビュー
- 翻訳原稿の整合性確認(QC)とレビュー

## 翻訳(日英・英日・日中・中日)業務

- 医薬品、医薬部外品、医療機器、農薬、動物用医薬品、化粧品、機能性食品の申請資料・治験薬概要書の翻訳
- 非臨床試験報告書・各種資料の翻訳

## 信頼性保証に関するコンサルティング業務

- 試験の信頼性に対するコンサルテーション
  - 一 品質試験の信頼性について
  - 一 薬理、薬物動態、毒性試験の信頼性について
  - 一 トランスレーショナル・リサーチデータの信頼性確保について
  - 一 委託試験の信頼性保証について
- 申請資料の信頼性に対するコンサルテーション
- 信頼性保証に関する業務の代行
- 教育研修

## SEND対応受託サービス

- FDAへの事前SEND申請確認を含む、PDS社のSENDデータ・セット作成サービスの受託

## 薬事関連サービス

- 導入剤、新規開発剤の開発申請戦略に関する各種相談
- 海外承認資料および試験報告書の評価(CMC、非臨床試験)
- 治験薬概要書の作成(CMC、非臨床試験、臨床試験)

## 医薬品の開発支援業務

- 医薬品開発の非臨床～臨床開発に関わる開発支援(コンサルティング)
- 医薬品導入剤の試験データ評価
- 日本申請に向けた海外企業へのトータルサポート
- 医師主導型治験および臨床試験のサポート
- 申請時の照会事項の対応
- Gap Analysis評価(CMC・非臨床)
- 海外(欧米・中国・韓国)への申請サポート

## 橋渡し研究(TR)支援ビジネス

- 臨床研究中核病院、拠点医療機関、橋渡し研究(TR)拠点以外の医師主導型治験および臨床研究をサポート
- 医薬品開発ベンチャーの臨床開発をサポート

## GMPサポート

- GMP施設の立ち上げ・調査・設備のサポート、GMP教育

## 試験受託業務

- 海外CRO(WIL RESEARCH, ViruSure)の日本総代理店として非臨床試験を受託



<http://www.3sjapan.com>

【お問い合わせ】 TEL:03-5911-7022 FAX:03-5911-7028

E-mail [info@3sjapan.com](mailto:info@3sjapan.com)

〒171-0022 東京都豊島区南池袋2-14-10 瀬川池袋ビル301

# HITACHI

Inspire the Next

次なるステージへ

# HT7700

ユニバーサルデザインTEM HT7700



オプション付き

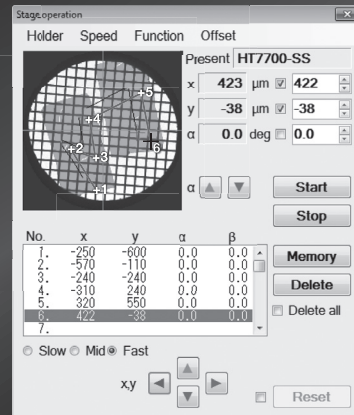
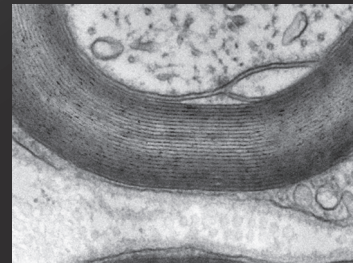


図: グリッド像取得機能 (Whole View)



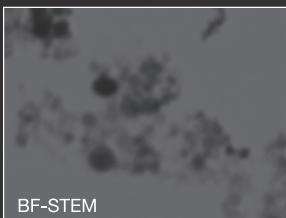
試料: ラット坐骨神経 (無染色)  
加速電圧: 80 kV 倍率:  $\times 25,000$

## グリッド像取得機能 (Whole View)

グリッド像全景 (Whole View) を Stage Operation 画面に貼り込むことができます。マイクロトレース機能との組み合わせにより、現在の試料観察領域、観察済と未観察の領域とを容易に確認でき、効率良く、かつ確実に観察作業が行えるようになりました。

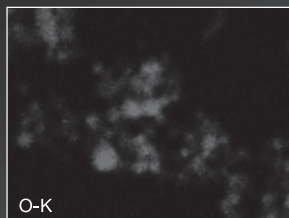
## 高機能化へのチャレンジ

HT7700はユニークな複合対物レンズ、高精度なオートモンタージュ・オートパノラミック機能を標準装備しているほか、オプションで3DトモグラフィやSTEM観察、EDX元素分析、高分解能EXALENSなどを装着できます。これらの機能を活用して、バイオ・メディカルから食品・アグリカルチャー、高分子・化学・ナノマテリアルまで、さまざまな研究分野において最適なTEM解析ソリューションを提供します。

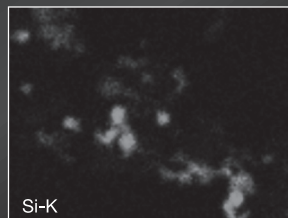


BF-STEM

1  $\mu$ m



O-K



Si-K



Ti-K

1  $\mu$ m

図: 酸化物ナノ粒子のBF-STEM像とEDX元素マッピング像



日立ハイテック

"SI NEWS" 公式Facebookページ

<https://www.facebook.com/HitachiHighTechnologies.SINEWS>

SI NEWSは、弊社製品を使用した社内外の研究論文を中心に、先端の研究動向・技術情報をご紹介します。技術情報誌です。Facebookページでは、本誌内容のご紹介を中心に、皆さまのご研究に役立つ情報をタイムリーに発信してまいります。



株式会社 日立ハイテクノロジーズ

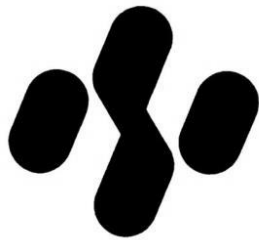
本社 〒105-8717 東京都港区西新橋一丁目24番14号 電話 ダイヤルイン (03) 3504-6111  
インターネットでも製品紹介しております。以下のURLへアクセスしてください。

URL [www.hitachi-hightech.com/jp/science/](http://www.hitachi-hightech.com/jp/science/)



# 人のからだを支える企業

医科器械・理化学器械・病院設備機器



**Shikoku  
Medical  
Instruments**



**四国医療器株式会社**

本社 高松市錦町 1-11-11  
香川営業所 高松市香川町川東下 277-1  
高知支店 高知市稲荷町 10-7  
中村営業所 四万十市右山天神町 9-19  
東予営業所 西条市喜多川 158-1  
松山営業所 松山市井門町 52-1

TEL 087-851-3318

TEL 087-879-0055

TEL 088-882-5550

TEL 0880-31-0088

TEL 0897-52-0771

TEL 089-960-0130

<http://www.shikokuiryoki.com>

E-mail [smi@shikokuiryoki.com](mailto:smi@shikokuiryoki.com)

## 病理組織標本作製は

## さらなる進化へ

「バーチャルスライド受託を開始しました」  
HE染色や特殊染色および免疫組織化学染色などの明視野スライドから蛍光重染色などの暗視野スライドまで、病理用スライドをバーチャル化することで、大切な研究用データを半永久的に保存することが可能になりました！

### ●組織標本作製

HE染色標本作製(医薬品、化学物質、農薬GLP:複数場所試験、non-GLP)  
特殊染色標本作製(PAS, MT, Azan, Sirius Red, Golgi染色 など多数)  
免疫組織化学染色(CD関連, IL抗体, TUNEL, 8-OHdG, 4HNE染色等多数)  
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

一般病理組織学的検査  
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>



# ベストなサービスをあなたへ

## 商事事業

燃料・資材等の販売、  
オートリース

## ビル事業

ビル賃貸、土地建物総合管理

## 環境事業

環境保全設備の運転、  
石炭灰資源のリサイクル

## サービス事業

文書管理、保険代理業、  
商品販売

## 広告事業

総合広告代理業

## 不動産事業

不動産管理・仲介斡旋

## OA事業

OA機器等の販売・リース、  
労働者派遣事業



ホームページにアクセス！  
<http://www.yon-b.co.jp/>

## 四電ビジネス株式会社

代表取締役社長 福壽 芳久

本店／〒760-8559 香川県高松市丸の内2番5号 TEL(087)851-1151

事務所／東京 支店／徳島、高知、愛媛 営業所／池田、中村、新居浜、宇和島 事業所／阿南、橘湾、西条、坂出、伊方



従来の正立顕微鏡の枠を超えた基本性能の向上と、進化した階層構造によるシステムアップの自由度の拡大を実現した、生物顕微鏡の新しい頂点。生物科学・医学分野での研究の未来に新たな可能性を拓けます。

研究用顕微鏡  
**ECLIPSE Ni Series**



## 生物顕微鏡の進化の実感！

“もっと楽な姿勢で観察したい”、“ワンタッチで操作したい”などなど、みなさまからの切実なご要望にお応えして進化した、Ciシリーズ。使い始めたその日から、今までにない快適さを実感していただけます。

検査用顕微鏡  
**ECLIPSE Ci Series**



販売元

株式会社 **ニコン** / 株式会社 **ニコン インステック**

カタログ・パンフレット等のご請求は、(株)ニコンインステック バイオサイエンス営業本部へ

108-6290 東京都港区港南2-15-3 品川インターシティC棟 電話 (03)6433-3982

<http://www.nikon-instruments.jp>

