



The 33rd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

# 第33回日本毒性病理学会 総会及び学術集会

講演要旨集

人と動物の健康，  
そして未来へつなぐ毒性病理学  
—R.Virchowの科学思想に学ぶ—

歴史と伝統の街 **堺**



会 期 2017年1月26日(木)・27日(金)

会 場 ビッグ・アイ(国際障害者交流センター)

年 会 長 山手 丈至

大阪府立大学 大学院 生命環境科学研究科 獣医学専攻 獣医病理学教室



# 第 33 回日本毒性病理学会総会及び学術集会

The 33rd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

- テーマ 人と動物の健康, そして未来へつなぐ毒性病理学  
- R.Virchow の科学思想に学ぶ -
- Theme Human and Animal Health: Connecting the Scientific Thought of R. Virchow  
with the Future of Toxicologic Pathology
- 年会長 山手 丈至 (大阪府立大学 大学院生命環境科学研究科 獣医学専攻 獣医病理学教室 教授)
- 会 期 2017 年 1 月 26 日 (木) ~ 27 日 (金)
- 協賛学会 / 研究会 日本獣医病理学専門家協会 (JCVP)・日本毒性学会  
日本実験動物学会・実験病理組織技術研究会
- 会 場 ビック・アイ (国際障害者交流センター)  
〒 590-0115 大阪府堺市南区茶山台 1-8-1
- プログラム委員会 委員長: 義澤 克彦 (関西医科大学)  
委 員: 乾 公正 (石原産業株式会社)  
尾崎 清和 (摂南大学)  
小林 欣滋 (株式会社新日本科学)  
高橋 智 (名古屋市立大学大学院)  
豊沢かおる (株式会社住化分析センター)  
鳥井 幹則 (塩野義製薬株式会社)  
林 新茂 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社)  
松本 正博 (アステラス製薬株式会社)  
鰐淵 英機 (大阪市立大学大学院)
- 事務局 第 33 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 事務局  
大阪府立大学 大学院生命環境科学研究科 獣医学専攻 獣医病理学教室  
事務局長 桑村 充
- 運営担当 近畿日本ツーリスト株式会社 関西イベント・コンベンション支店  
TEL : 06-6635-2627 FAX : 06-6641-0072  
E-mail : 33jstp@or.knt.co.jp
- ホームページ <http://www.knt-ec.net/2017/33jstp/index.html>



# 目次

年会長挨拶	5
会場アクセス	6
会場案内	8
参加者へのご案内	9
座長・演者の皆様へ	12
日程表	15
日本毒性病理学会のあゆみ	18
協賛法人・企業一覧	19
座長一覧	20
プログラム	22
講演要旨	39
特別講演	41
教育講演	42
基調講演	43
シンポジウム	44
ポスター要旨	61
著者索引	207



## 年会長挨拶

この度、「第33回日本毒性病理学会総会及び学術集会」を、堺市のビッグ・アイ（国際障害者交流センター）で開催させていただくことになりました。

「人と動物の健康、そして未来へつなぐ毒性病理学－R.Virchowの科学思想に学ぶ－」を、テーマに掲げました。毒性病理学は、化学物質による細胞・組織レベルで生じる多様な変化を形態学的に追究する生命科学だと思います。R.Virchowは、1858年「細胞病理学説」を提唱したドイツの病理学者です。「R.Virchowの科学思想である細胞病理学の原点に立ち返り、身近に存在する化学物質のリスク評価（安全性の担保）を、人と動物の健康のために、未来に向けてさらに築いていきたい。」との強い気持ちがこのテーマには込められています。また、R.Virchowは「Between animal and human medicine there is no dividing line - nor should there be」との概念を提示しています。動物の実験データをいかにヒトに外挿するのか、すなわちこのテーマには「比較病理学」の重要性も含まれています。

さて、開催会場がある堺市は政令指定都市で、長い歴史を有します。大和朝廷時代には「大仙陵古墳（通称、仁徳天皇陵）」など大小100数基の百舌鳥古墳群が造られています。中世においては「自由都市」として国際的な貿易港として栄え、戦国時代では鉄砲生産が盛んに行われ、現在ではその技術を継承した「堺打刃物」が知られています。また「草庵の茶（わび茶）」の完成者である「千利休」が活躍した町としても有名です。

学術集会は、毒性病理学に携わる研究者の意見交換の場ですので、会員皆様の日ごろの研究成果を積極的に発表し、討論していただきたいと思います。また毒性病理学の基礎から最新の話題を含めた題目として、特別講演1題、教育講演1題と基調講演1題、そして4つのシンポジウム（16題）を予定しています。実り多い会となりますよう、プログラム委員そして事務局一同最善を尽くす所存です。

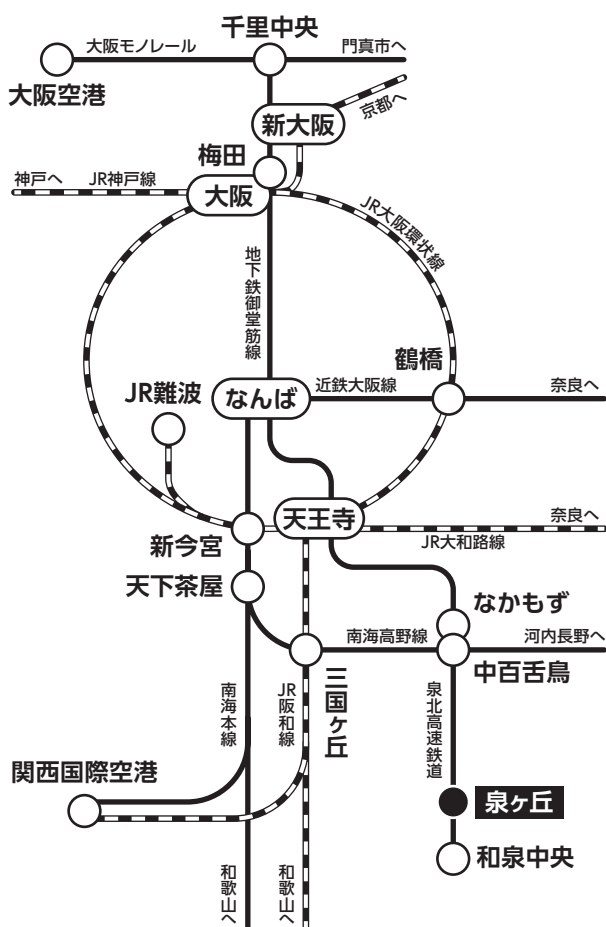
堺市で皆様にお会いできることをこころより楽しみにしています。

第33回日本毒性病理学会総会及び学術集会

年会長 **山手 丈至**（やまて じょうじ）

大阪府立大学 大学院生命環境科学研究科 獣医学専攻 獣医病理学教室 教授

# 会場アクセス



## 電車でお越しの場合

### ■ JR 大阪駅から（所要時間：約 50 分）

環状線内回りで「新今宮駅」下車、南海電車「新今宮駅」にて泉北高速鉄道と泉中央行に乗換え（徒歩約 1 分）「泉ヶ丘駅」下車。

### ■ 地下鉄梅田駅から（所要時間：約 40 分）

地下鉄御堂筋線なかもず行で「なかもず駅」下車、南海電車・泉北高速鉄道「中百舌鳥駅」にて泉北高速鉄道と泉中央行に乗換え（徒歩約 4 分）「泉ヶ丘駅」下車。

### ■ 各線難波駅から（所要時間：約 35 分）

南海電車・泉北高速鉄道と泉中央行で「泉ヶ丘駅」下車。

## 飛行機でお越しの場合

### ■ 関西国際空港より

・リムジンバスを利用（所要時間：約 60 分）  
空港から泉ヶ丘までリムジンバスが出ています。

・JR 関西空港駅から（所要時間：約 60 分）

JR 関空快速・京橋行で「三国ヶ丘駅」下車、南海電車「三国ヶ丘駅」にて泉北高速鉄道と泉中央行に乗換え（徒歩約 1 分）「泉ヶ丘駅」下車。

・南海関西空港駅から（所要時間：約 71 分）

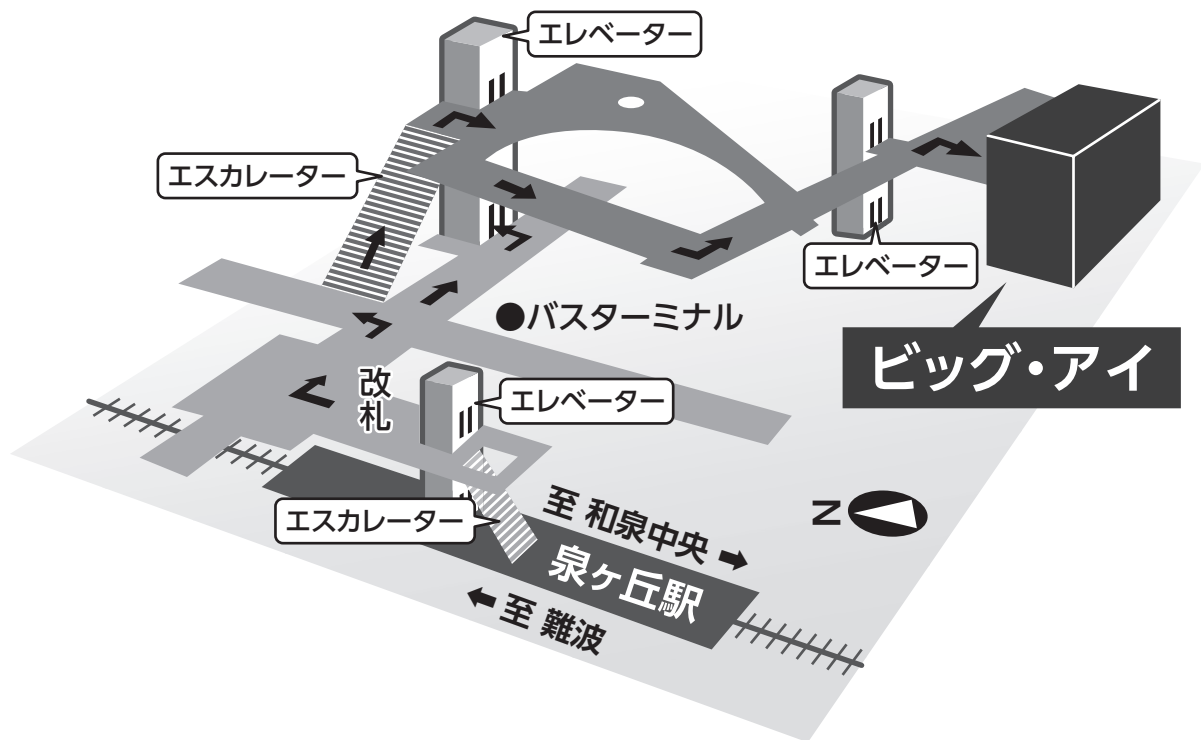
「天下茶屋駅」で、泉北高速鉄道と泉中央行に乗換え（徒歩すぐ）「泉ヶ丘駅」下車。

### ■ 大阪国際空港（伊丹）より

・大阪モノレール大阪空港駅から（所要時間：90 分）  
「千里中央駅」で北大阪急行に乗換え（徒歩約 4 分）、「なかもず駅」下車。南海電車・泉北高速鉄道「中百舌鳥駅」にて泉北高速鉄道と泉中央行に乗換え（徒歩約 4 分）「泉ヶ丘駅」下車。



## 会場アクセス

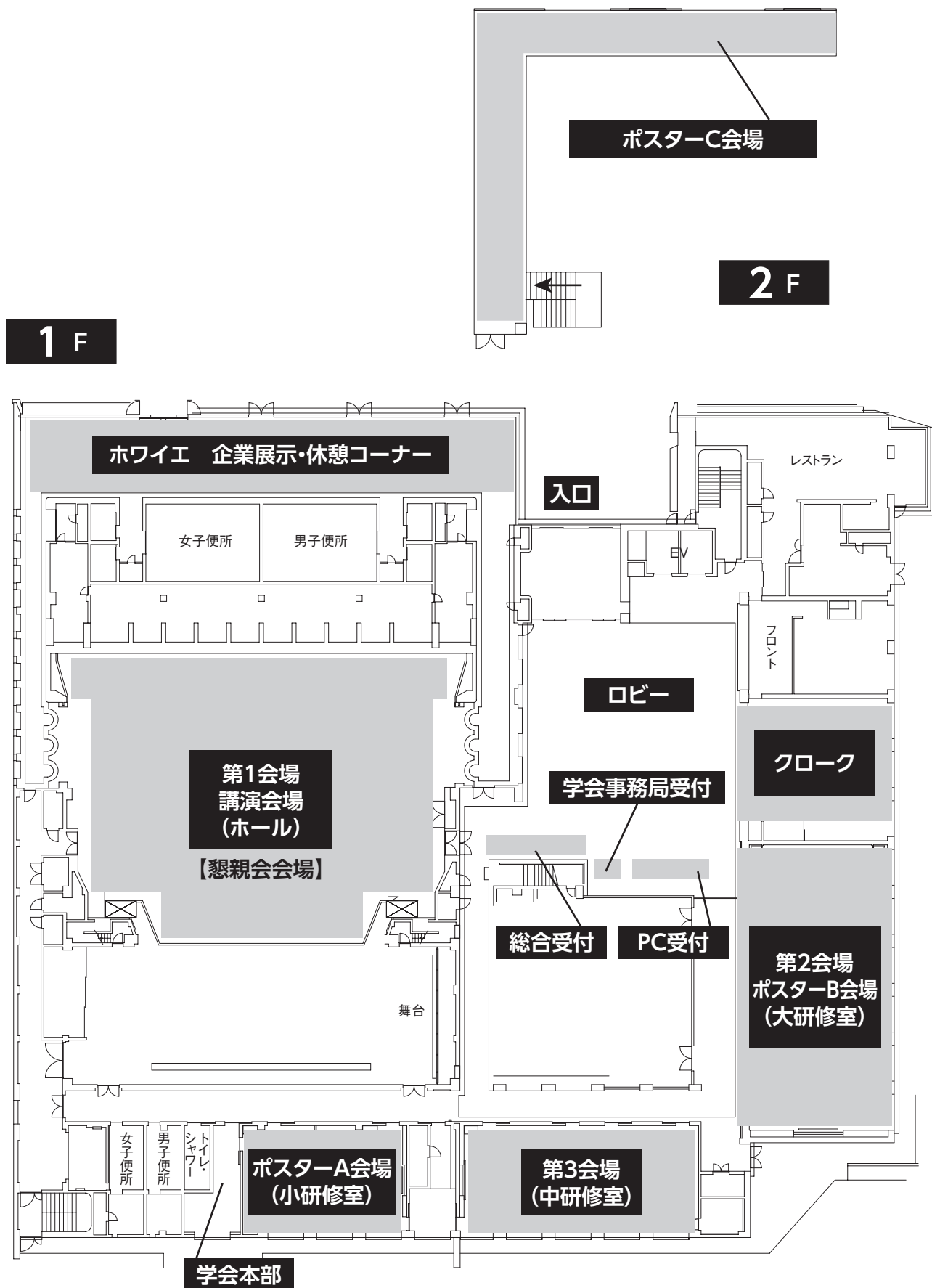


### 最寄り駅からの行き方

泉北高速鉄道「泉ヶ丘」駅で下車、徒歩約3分

- (1) 駅ホームからコンコースへ上がり、改札を出ます
- (2) すぐに右折
- (3) 駅ビルを出て、左前方にあるエスカレーター（もしくは裏のエレベーター）で上へ。
- (4) 右側の通路を直進
- (5) 突き当たりを左折
- (6) 最初に右側に見える大きな建物が『ビッグ・アイ』です

# 会場案内



## 参加者へのご案内

### ■参加者の方へ

1. 総合受付は1F ロビーにて行います。受付時間は下記のとおりです。  
1月26日(木) 8:00～17:00  
1月27日(金) 8:30～15:30
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。休憩コーナー、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26日(木) 8:30～18:00  
1月27日(金) 8:30～15:20  
◆場所  
1F 展示場ホワイエ
10. クロークは1Fにございます。受付時間は下記のとおりです。  
1月26日(木) 8:00～20:30  
1月27日(金) 8:00～17:30
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(1F 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(1F ロビー)までお越しください。  
◆受付時間  
1月26日(木) 8:00～17:00  
1月27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

初冬の候 ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

さて、第33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、活動報告と次年度計画をご承認いただく重要な会議となりますので、ご出席の程何卒よろしくお願い申し上げます。なお、評議員の皆様には、当日ご出欠を確認させていただきます。

敬 具

日本毒性病理学会 理事長 中江 大

日 時：2017年1月27日（金） 16：00～17：30

会 場：ビッグ・アイ（国際障害者交流センター）

第1会場（講演会場／ホール）

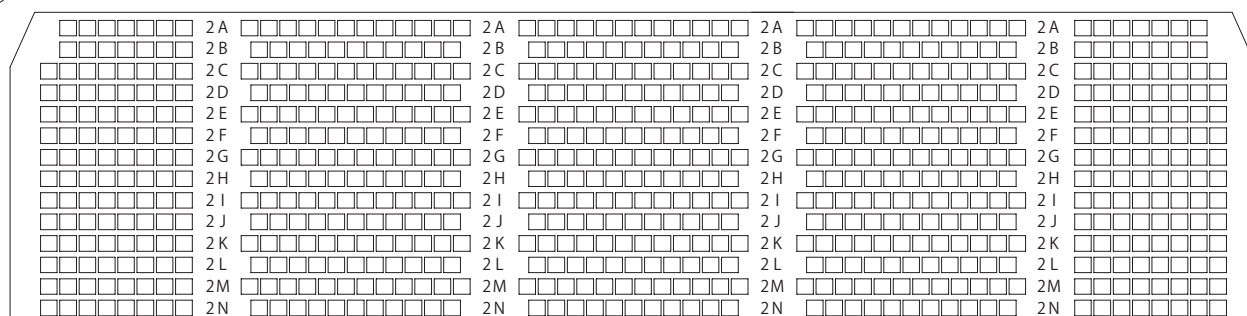
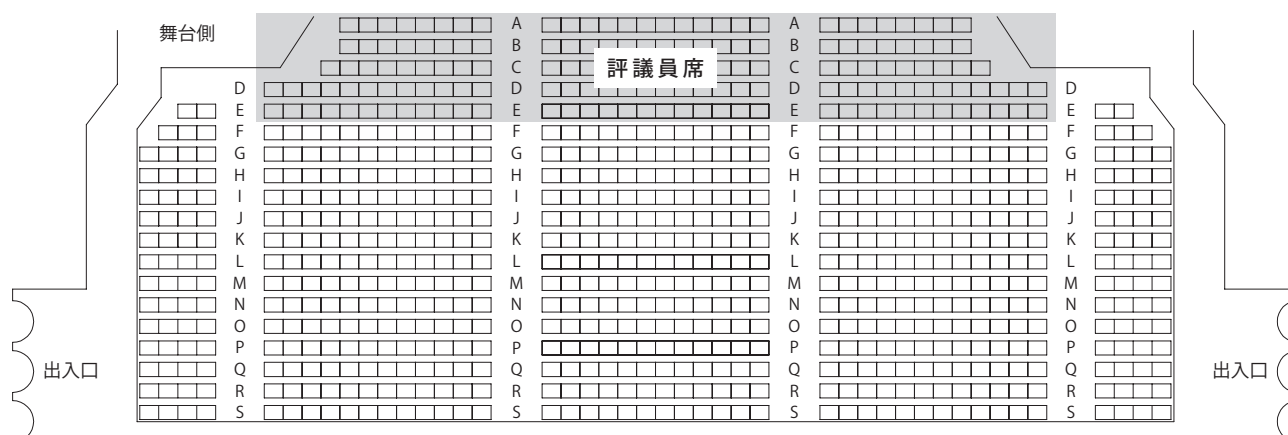
議 題：・2016年度活動報告及び決算報告

・2017年度活動計画及び予算

・功労会員・評議員の推薦

・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26日(木)・27日(金)両日ともに、第2会場(1F大研修室)、第3会場(1F中研修室)にてランチョンセミナーを行います。チケットは、第2会場(1F大研修室)にて配布します。

### ◆配布時間

1月26日(木) 8:00～11:00

1月27日(金) 8:00～11:00

### ランチョンセミナーⅠ

1月26日(木) 12:00～13:00 第2会場(1F大研修室)

「Spectrum of histopathologic lesions in antisense oligonucleotide compounds (ASOs)」

演者：仲辻 俊二 (SNBL USA, Ltd.)

座長：平川 公昭 (株式会社新日本科学)

共催：株式会社新日本科学

### ランチョンセミナーⅡ

1月26日(木) 12:00～13:00 第3会場(1F中研修室)

「Histopathologic review of viral and bacterial infectious disease research at Southern Research – サザンリサーチ社におけるウイルス性/細菌性感染症研究についての病理組織学的検査レビュー」

演者：Sheila Grimes (Southern Research)

座長：渋谷 一元 (一般財団法人日本生物科学研究所)

共催：Southern Research/株式会社スリーエス・ジャパン

### ランチョンセミナーⅢ

1月27日(金) 12:00～13:00 第2会場(1F大研修室)

「Evaluation of the respiratory system in toxicologic pathology」

演者：Melanie A. Greeley (Charles River Ashland)

座長：磯部 香里 (Charles River Edinburgh)

共催：Charles River

### ランチョンセミナーⅣ

1月27日(金) 12:00～13:00 第3会場(1F中研修室)

「Background pathology in non-rodent laboratory animals, with emphasis on the minipig」

演者：Vasanthi Mowat (Envigo CRS Ltd.)

座長：乾 公正 (石原産業株式会社)

共催：エンヴィーゴ株式会社

## ■ 懇親会のご案内

1. 懇親会は1月26日(木) 18:20 から第1会場(ホール)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場合がございます。予めご了承ください。

## 座長・演者の皆様へ

### ■特別講演・教育講演・基調講演・シンポジウムの座長の先生方へ

1. 来館されましたら、座長受付（1F ロビー）にお越しください。リボンをお渡しします。
2. セッション中は参加証（ネームカード）の他に、見えやすい場所にリボンを必ず着用ください。  
セッション終了後、リボンはそのままと持ち帰りください。
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（1F ロビー）にお越しください。  
指示棒、リボン、ストップウォッチをお渡しします。
2. 討論時には参加証（ネームカード）の他に、見えやすい場所にリボンを必ず着用ください。セッション終了後、指示棒、ストップウォッチは必ずご返却ください。リボンはそのままと持ち帰りください。
3. ストップウォッチにて発表時間終了（5 分経過）、質疑応答時間終了（10 分経過、持ち時間終了）をご計時下さい。
4. 時間厳守にご協力ください。

### ■特別講演・教育講演・シンポジウム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（1F 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】シンポジウム - 1 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	予告ランプ
特別講演・シンポジウム等	<ul style="list-style-type: none"> <li>・特別講演 / 教育講演 / 基調講演は討論を含めてそれぞれ 50 分です。</li> <li>・シンポジウムは討論を含めて 1 演題 25 分で、4 つの各シンポジウムは 4 演題で 100 分です。</li> </ul>	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

■ ポスター発表をされる先生方へ

1. ポスターパネルは縦 210 cm、横 90 cm です

- ・図のようにパネル上部左の演題番号 (20 cm × 20 cm) 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 190 cm × 90 cm 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製してください。
- ・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。

2. ポスターは下記時間に貼付けと撤去を行って下さい。

貼付け時間	1月26日(木) 9:00-10:00
発表時間	1月26日(木) 17:00-18:00
	1月27日(金) 15:00-16:00
撤去	1月27日(金) 17:10-17:30

※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。

3. 各ポスターパネルに画鋏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。

4. 発表者は座長の進行で進めてください。

各発表時間の持ち時間は 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。



## ■ 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27日（金）16：00からの評議員会・総会にて授賞者の表彰を行いますので、ご参加ください。

## ■ 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

COI Disclosure Information  
Taro Dokusei

In connection with this presentation, there is  
no COI to be disclosed with any companies.

本演題に関連して開示すべき利益相反はありません。

### Sample2

COI Disclosure Information  
Hanako Dokusei

In connection with the presentation, we  
disclose COI with following companies.

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。

Executive / Advisory Position:	(○○Company)
Funded research / Collaborative research:	(○○Company)
Lecture Honorariums, etc.:	(○○Company)



# 日程表

## 1月25日(水)

	第1会場 (ホール)	第2会場 ポスターB会場 (大研修室)	第3会場 (中研修室)	ポスターA会場 (小研修室)	ロビー	ホワイエ1階	ポスターC会場 (エントランス ホール2階)
8:00							
9:00							
10:00							
11:00							
12:00			12:00				
			編集委員会				
12:30			13:00				
13:00							
			13:30				
14:00			教育委員会				
			14:30				
15:00	第29回 スライド カンファランス  (腎・泌尿器・ 生殖器)		15:00				
16:00			理事会				
17:00			17:00				
17:30							
18:00							
18:00							
19:00							
19:00			19:00				
			International President's Meeting				
20:00			19:50				
			20:00				
20:00			IFSTP EC Meeting				
			20:50				
21:00							

# 日程表

## 1月26日(木)

	第1会場 (ホール)	第2会場 ポスターB会場 (大研修室)	第3会場 (中研修室)	ポスターA会場 (小研修室)	ロビー	ホワイエ1階	ポスターC会場 (エントランス ホール2階)
8:00	8:00~ 受付開始				8:00		
9:00	9:10~ 開会式 9:20	ポスター貼付		ポスター貼付		8:30	ポスター貼付
10:00	シンポジウム1 環境化学物質の毒性 影響とリスク評価 —生活環境病から 発がん影響まで—						
11:00	11:00 IATP教育講演 Robert Maronpot 代理:義澤克彦 11:50	ポスター閲覧					
12:00		12:00 ランチョンセミナーI 株式会社新日本科学	12:00 ランチョンセミナーII Southern Research/ 株式会社スリーエス・ ジャパン		受付		
13:00		13:00	13:00	ポスター閲覧		企業展示	ポスター閲覧
14:00	13:30 特別講演 角田 茂 14:20						
15:00	14:40 シンポジウム2 動物の中毒症	ポスター閲覧					
16:00	16:20						
17:00		17:00 ポスター発表		17:00 ポスター発表	17:00		17:00 ポスター発表
18:00		18:00		18:00		18:00	18:00
19:00	18:20 懇親会						
20:00	20:20						
21:00							

■資格認定委員会 1月26日(木) 12:00~13:00 ホワイエ2階

# 日程表

## 1月27日(金)

	第1会場 (ホール)	第2会場 ポスターB会場 (大研修室)	第3会場 (中研修室)	ポスターA会場 (小研修室)	ロビー	ホワイエ1階	ポスターC会場 (エントランス ホール2階)
8:00							
8:30~					8:30	8:30	
9:00	8:30~ 受付開始						
9:00	9:00 基調講演 J. LaMarre						
9:50	9:50						
10:00	10:00						
10:00	シンポジウム3 MicroRNA研究の 実際と問題点	ポスター閲覧					
11:00							
11:40	11:40						
12:00				ポスター閲覧	受付対応	企業展示	ポスター閲覧
12:00		12:00 ランチョンセミナーⅢ Charles River	12:00 ランチョンセミナーⅣ エンヴィーゴ株式会社				
13:00		13:00	13:00				
13:10	13:10						
14:00	シンポジウム4 がん幹細胞: その形質を標的とした がん治療戦略	ポスター閲覧					
14:50	14:50						
15:00		15:00 ポスター発表		15:00 ポスター発表	15:30	15:20	15:00 ポスター発表
16:00	16:00	16:00		16:00			16:00 ポスター閲覧
16:00	16:00 評議員会・総会 表彰式・閉会式	ポスター閲覧		ポスター閲覧			
17:00		17:10		17:10			17:10
17:30	17:30	17:10 17:30 ポスター撤去		17:10 17:30 ポスター撤去			17:10 17:30 ポスター撤去
18:00							
19:00							
20:00							
21:00							

## 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 等	シンポジウム ワークショップ	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	伊藤 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（第一三共株式会社）	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	3	8	101
33	堺	山手 丈至（大阪府立大学）	2017.1.26-27	3	16	83

\*Joint international meeting of JSTP/IFSTP

## 協賛法人・企業一覧

第33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。ここに名前を掲載して厚く御礼申し上げます。

第33回日本毒性病理学会総会及び学術集会  
年会長 山手 丈至

### ■共催セミナー

エンヴィーゴ株式会社  
Southern Research / 株式会社スリーエス・ジャパン

株式会社新日本科学  
Charles River

### ■広告

ELSEVIER  
株式会社新日本科学  
株式会社バイオ病理研究所  
株式会社フェニックスバイオ  
文永堂出版株式会社

協和発酵キリン株式会社  
株式会社東海電子顕微鏡解析  
株式会社日立ハイテクノロジーズ  
ブリストル・マイヤーズ スクイブ株式会社  
北海道システム・サイエンス株式会社

### ■企業展示

アズワン株式会社  
株式会社エイチ・アンド・ティー  
株式会社キーエンス  
Southern Research  
実験病理組織技術研究会  
株式会社新組織科学研究所  
株式会社スリーエス・ジャパン  
株式会社DIMS医科学研究所  
内閣府食品安全委員会  
株式会社日立ハイテクノロジーズ  
富士通株式会社  
株式会社ボゾリサーチセンター

株式会社イナリサーチ  
MPI Research Inc.  
株式会社ケー・エー・シー  
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  
株式会社新日本科学  
Charles River  
株式会社トスカバノック  
日本エスエルシー株式会社  
PDS パソロジー・データシステムズ・リミテッド  
プライムテック株式会社

### ■寄附

株式会社アーガス・サイエンス  
アステラス製薬株式会社  
アルフレッサファーマ株式会社  
エーザイ株式会社  
小野薬品工業株式会社  
株式会社札幌総合病理研究所  
参天製薬株式会社  
株式会社三和化学研究所  
公益財団法人食品農医薬品安全性評価センター  
株式会社新日本科学  
第一三共株式会社  
大日本住友製薬株式会社  
武田薬品工業株式会社  
中外製薬株式会社  
日産化学工業株式会社  
日本香料工業会  
日本たばこ産業株式会社  
日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社  
扶桑薬品工業株式会社  
八洲薬品株式会社

旭化成ファーマ株式会社  
アスビオファーマ株式会社  
石原産業株式会社  
株式会社 LSI メディエンス  
杏林製薬株式会社  
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社  
一般財団法人残留農薬研究所  
塩野義製薬株式会社  
一般財団法人食品薬品安全センター  
住友化学株式会社  
大正製薬株式会社  
大鵬薬品工業株式会社  
田辺三菱製薬株式会社  
帝人ファーマ株式会社  
日精バイリス株式会社  
一般財団法人日本生物科学研究所  
日本農薬株式会社  
バイエル薬品株式会社  
マルホ株式会社

### ■ネームカードホルダー提供

株式会社イナリサーチ

(50音順)

公益社団法人 堺観光コンベンション協会の助成金制度を受けました。

## 座長一覧

## 会場：ホール

日付	時間	セッション名	座長	所属
1月26日	13:30～14:20	特別講演	乾 公正	石原産業株式会社
1月26日	11:00～11:50	IATP 教育講演	林 新茂	三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
1月27日	9:00～9:50	基調講演	山手 丈至	大阪府立大学 大学院
1月26日	9:20～11:00	シンポジウム1 環境化学物質の毒性影響と リスク評価-生活環境病から発がん 影響まで-	鰐渕 英機	大阪市立大学 大学院
			豊沢かおる	株式会社住化分析センター
1月26日	14:40～16:20	シンポジウム2 動物の中毒症	尾崎 清和	摂南大学
			小林 欣滋	株式会社新日本科学
1月27日	10:00～11:40	シンポジウム3 MicroRNA 研究の実際と問題点	鳥井 幹則	塩野義製薬株式会社
			松本 正博	アステラス製薬株式会社
1月27日	13:10～14:50	シンポジウム4 がん幹細胞： その形質を標的としたがん治療戦略	高橋 智	名古屋市立大学 大学院

## 会場：ポスター A 会場

日付	時間	セッション名	演題番号	座長	所属
1月26日	17:00～18:00	ポスター発表1	PA-01～PA-03	村上 雄一	田辺三菱製薬株式会社
		ポスター発表3	PA-07～PA-10	塚本 徹哉	藤田保健衛生大学
				吉田 敏則	東京農工大学
		ポスター発表5	PA-14～PA-17	下井 昭仁	株式会社イナリサーチ
				杉元 陽子	日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社
ポスター発表7	PA-22～PA-24	串田 昌彦	住友化学株式会社		
1月27日	15:00～16:00	ポスター発表2	PA-04～PA-06	河内 眞美	大日本住友製薬株式会社
		ポスター発表4	PA-11～PA-13	佐藤 順子	株式会社LSIメディエンス
		ポスター発表6	PA-18～PA-21	今井 俊夫	国立がん研究センター
				加藤 淳彦	中外製薬株式会社
		ポスター発表8	PA-25～PA-27	鈴木 智	大鵬薬品工業株式会社

## 会場：ポスター B 会場

日付	時間	セッション名	演題番号	座長	所属
1月26日	17:00～18:00	ポスター発表 9	PB-28～PB-31	小川久美子	国立医薬品食品衛生研究所
				深町 勝巳	名古屋市立大学
		ポスター発表 11	PB-36～PB-39	上田 誠	日本新薬株式会社
				横平 政直	香川大学
		ポスター発表 13	PB-44～PB-47	山口 裕子	株式会社ボゾリサーチセンター
				渡邊 厚	旭化成ファーマ株式会社
ポスター発表 15	PB-52～PB-54	岡崎 欣正	残留農薬研究所		
1月27日	15:00～16:00	ポスター発表 10	PB-32～PB-35	川口 博明	鹿児島大学
				中野今日子	エーザイ株式会社
		ポスター発表 12	PB-40～PB-43	柿本 恒知	日本たばこ産業株式会社
				渋谷 淳	東京農工大
		ポスター発表 14	PB-48～PB-51	魏 民	大阪市立大学
				美谷島克宏	東京農業大学

## 会場：ポスター C 会場

日付	時間	セッション名	演題番号	座長	所属
1月26日	17:00～18:00	ポスター発表 16	PC-55～PC-58	穴山 久志	武田薬品工業株式会社
				小笠原裕之	アスピオファーマ株式会社
		ポスター発表 18	PC-63～PC-66	金子 英志	帝人ファーマ株式会社
				古川 賢	日産化学工業株式会社
		ポスター発表 20	PC-71～PC-73	石上 紀明	小野薬品工業株式会社
ポスター発表 22	PC-77～PC-79	今岡 尚子	第一三共株式会社		
1月27日	15:00～16:00	ポスター発表 17	PC-59～PC-62	小野美穂子	アステラス製薬株式会社
				能登 貴久	参天製薬株式会社
		ポスター発表 19	PC-67～PC-70	相磯 成敏	日本バイオアッセイ研究センター
				河部 真弓	DIMS 医科学研究所
		ポスター発表 21	PC-74～PC-76	林 新茂	三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
		ポスター発表 23	PC-80～PC-83	佐藤 洋	岩手大学
澤本 修	株式会社大塚製薬工場				

# プログラム

## 特別講演

第1日目 1月26日(木) 13:30 ~ 14:20

第1会場(ホール)

座長: 乾 公正 (石原産業株式会社)

- SL 脳科学の哲学的医学史  
○角田 茂 M.D., Ph.D.  
大阪府立大学名誉教授

## 教育講演

第1日目 1月26日(木) 11:00 ~ 11:50

第1会場(ホール)

座長: 林 新茂 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社)

- EL The legacy of the F344 rat as a cancer bioassay model  
R. R. Maronpot D.V.M., MS., M.P.H.  
IATP Education Committee, Maronpot Consulting LLC, USA  
代理:  
○義澤 克彦  
関西医科大学 病理学第二講座

## 基調講演

第2日目 1月27日(金) 9:00 ~ 9:50

第1会場(ホール)

座長: 山手 丈至 (大阪府立大学 大学院生命環境科学研究科 獣医学専攻獣医病理学教室)

- KL Small RNAs: Important regulators of gene expression in embryogenesis, biology and disease  
Jonathan LaMarre, D.V.M., Ph.D.  
Department of Biomedical Sciences, University of Guelph, Guelph, Ontario, CANADA.



## シンポジウム 1 環境化学物質の毒性影響とリスク評価 ー生活環境病から発がん影響までー

第 1 日目 1 月 26 日 (木) 9:20 ~ 11:00

第 1 会場 (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)

豊沢 かおる (株式会社住化分析センター)

- SY1-1 化学物質の職業曝露による環境発がん  
鰐淵 英機  
大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学
- SY1-2 発がんの根源的原因：毒性病理学にできること  
豊國伸哉  
名古屋大学 大学院 医学系研究科 生体反応病理学 分子病理診断学
- SY1-3 環境汚染による生活環境病、生活習慣病の増加、悪化  
高野 裕久  
京都大学 大学院工学研究科 都市環境工学専攻 環境衛生学講座
- SY1-4 環境化学物質の食品安全評価 アクリルアミドのリスク評価を例として  
吉田 緑  
内閣府食品安全委員会

## シンポジウム 2 動物の中毒症

第 1 日目 1 月 26 日 (木) 14:40 ~ 16:20

第 1 会場 (ホール)

座長：尾崎 清和 (摂南大学 薬学部 病理学研究室)

小林 欣滋 (株式会社新日本科学)

- SY2-1 反芻家畜の中毒症  
谷村 信彦  
国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
- SY2-2 最近発生している鳥の中毒事例  
宮崎 茂  
(一財) 生物科学安全研究所
- SY2-3 犬の中毒症  
代田 欣二  
麻布大学 獣医学部
- SY2-4 動物の中毒学：猫の中毒症 (ユリ中毒を中心として)  
野村 耕二  
マルピー・ライフテック株式会社

### シンポジウム 3 MicroRNA 研究の実際と問題点

第2日目 1月27日(金) 10:00～11:40

第1会場(ホール)

座長: 鳥井 幹則(塩野義製薬株式会社 安全性研究部門)

松本 正博(アステラス製薬株式会社 安全性研究所)

- SY3-1 腎臓病を知らせる microRNA –病態マーカーとしての可能性と問題点–  
市居 修  
北海道大学 大学院獣医学研究科
- SY3-2 カニクイザルにおける血漿中肝特異的 miRNA の解析  
井口 拓馬  
第一三共株式会社 安全性研究所
- SY3-3 精巣毒性と microRNA  
福島 民雄  
塩野義製薬株式会社 安全性研究部門
- SY3-4 トリメチルスズ誘発神経毒性ラットモデルにおける血清 miRNA バイオマーカー探索  
緒方 敬子<sup>1,2)</sup>、○武田 周二<sup>1)</sup>、串田 昌彦<sup>1)</sup>、桑村 充<sup>2)</sup>、井澤 武史<sup>2)</sup>、山手 丈至<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>住友化学株式会社 生物環境科学研究所  
<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

### シンポジウム 4 がん幹細胞: その形質を標的としたがん治療戦略

第2日目 1月27日(金) 13:10～14:50

第1会場(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)

- SY4-1 多色細胞系譜追跡法による幹細胞、癌研究  
上野 博夫  
関西医科大学 病理学第一講座
- SY4-2 乳癌・肺癌における癌幹細胞  
後藤 典子  
金沢大学 がん進展制御研究所
- SY4-3 エピゲノム異常を標的とした膠芽腫治療法の開発  
近藤 豊  
名古屋市立大学 大学院医学研究科 遺伝子制御学
- SY4-4 難治性前立腺癌に対する遺伝子発現プロファイルを標的とした新規治療戦略  
○小坂 威雄、前田 高宏、長田 浩彦、吉峰 俊輔、篠島 利明、宮嶋 哲、大家 基嗣  
慶應義塾大学 医学部 泌尿器科学教室

**ポスター発表 1**

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00

ポスター A 会場 (小研修室)

座長：村上 雄一 (田辺三菱製薬株式会社)

- PA-01\* ヘキサクロロフェンのマウス発達期曝露による海馬歯状回 GABA 性介在ニューロンのエピゲノム遺伝子発現制御の変化  
○渡邊 洋祐<sup>1,2)</sup>, 阿部 一<sup>1,2)</sup>, 大塚 (出田) まき<sup>3)</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 先端生命科学研究センター
- PA-02\* PS2APP マウス (アルツハイマー病モデルマウス) における早期アミロイドβの沈着および海馬未熟ニューロンに関する病理組織学的解析  
○村瀬 詩織, 中谷 (パブラック) 晶子, 村澤 寛泰, 小林 洋之, 今井 順, 金原 智美, 伊藤 格, 木村 均  
(株)日本バイオリサーチセンター
- PA-03\* ビーグル犬に発生した大脳における孔脳症の1例についての病理組織学的検討  
○吉田 翔太, 二宮 芙美子, 田中 英樹, 蟹江 尚平, 鈴木 智, 森田 文雄, 箱井 加津男  
大鵬薬品工業 (株) 研究本部 (徳島エリア)

**ポスター発表 2**

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00

ポスター A 会場 (小研修室)

座長：河内 眞美 (大日本住友製薬株式会社)

- PA-04\* ラット胎児および哺育児の発達期における正常な甲状腺組織像の病理組織学的評価に関する基礎検討：(第2報)  
○吉田 しおり, 吉光 仁美, 長井 寛明, 天沼 利宏  
日本農薬株式会社 総合研究所 安全性・医薬ユニット 毒性・薬理グループ
- PA-05\* フェレットの副腎嚢胞に関する免疫組織学的検討  
○畝山 瑞穂<sup>1)</sup>, チェンバーズ ジェームズ<sup>1)</sup>, 三輪 恭嗣<sup>2)</sup>, 内田 和幸<sup>1)</sup>, 中山 裕之<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京大学 獣医病理学研究室, <sup>2)</sup>みわエキゾチック動物病院
- PA-06\* ビーグル犬の好酸性細胞集簇巣の出現を伴うリンパ球性甲状腺炎の1例  
○鈴木 勇, 山口 裕子, 斎藤 翼, 山川 誠己, 枝元 洋, 岡野 拓, 星谷 達  
(株)ボゾリサーチセンター 病理部

## ポスター発表 3

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00

ポスター A 会場 (小研修室)

座長: 塚本 徹哉 (藤田保健衛生大学)・吉田 敏則 (東京農工大学)

- PA-07 メタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの104週間吸入暴露によるラットとマウスの鼻腔発がん病理組織学的特徴  
○妹尾 英樹<sup>1)</sup>, 高信 健司<sup>1)</sup>, 片桐 卓<sup>1)</sup>, 梅田 ゆみ<sup>1)</sup>, 相磯 成敏<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>1,2)</sup>, 菅野 純<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>(独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター, <sup>2)</sup>(社) 化学物質安全性評価研究推進機構
- PA-08 アクロレインの104週間吸入暴露によるラットとマウスの鼻腔における発がん性  
○片桐 卓<sup>1)</sup>, 高信 健司<sup>1)</sup>, 妹尾 英樹<sup>1)</sup>, 梅田 ゆみ<sup>1)</sup>, 相磯 成敏<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>2)</sup>, 菅野 純<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター, <sup>2)</sup>(社) 化学物質安全性評価研究推進機構
- PA-09 MWNT-7 吸入暴露したラットの末梢気道並びに肺胞に於ける上皮の挙動  
○相磯 成敏, 梅田 ゆみ, 妹尾 英樹, 高信 健司, 片桐 卓, 福島 昭治, 菅野 純  
(独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター
- PA-10 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の104週間吸入暴露により誘発されたラットの肺癌と過形成病変  
○梅田 ゆみ<sup>1)</sup>, 高信 健司<sup>1)</sup>, 片桐 卓<sup>1)</sup>, 妹尾 英樹<sup>1)</sup>, 相磯 成敏<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>1,2)</sup>, 菅野 純<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>(独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター, <sup>2)</sup>(社) 化学物質安全性評価研究推進機構

## ポスター発表 4

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00

ポスター A 会場 (小研修室)

座長: 佐藤 順子 (株式会社LSIメディエンス)

- PA-11 シクロフォスファミドのマイクロミニピッグにおける4週間反復投与による毒性検討  
○赤根 弘敏, 江田 景, 奥田 須美子, 楫野 恵美子, 小関 由妃子, 國枝 正幹, 清水 茂一, 市川 敦子, 小松 弘幸, 秋江 靖樹  
シミックファーマサイエンス株式会社
- PA-12\* 低亜鉛飼料給餌ラットにおける組織学的変化  
○山下 由真, 諸木 孝泰, 佐々木 朋, 土肥 孝彰  
マルホ (株) 開発研究部 安全性研究グループ
- PA-13\* 幼若期ラット /CrI:CD (SD) における腎臓, 眼球, 大腿骨の病理組織学的背景データ  
○井上 紗季<sup>1)</sup>, 島山 洋文<sup>1)</sup>, 武井 由弘<sup>1)</sup>, 渡辺 純<sup>1)</sup>, 小泉 治子<sup>1)</sup>, 梶村 哲世<sup>1)</sup>, 下井 昭仁<sup>1)</sup>, 佐藤 伸一<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

**ポスター発表 5**

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00

ポスター A 会場 (小研修室)

座長: 下井 昭仁 (株式会社イナリサーチ)・杉元 陽子 (日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社)

**PA-14\*** 犬の消化管上皮性腫瘍における悪性化関連マーカーの発現○斎藤 翼<sup>1)</sup>, チェンバーズ ジェームズ<sup>1)</sup>, 内田 和幸<sup>1)</sup>, 二瓶 和美<sup>3)</sup>, 中島 亘<sup>4)</sup>, 大野 耕一<sup>2)</sup>, 中山 裕之<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東京大学 大学院農学生命科学研究科 獣医病理学研究室, <sup>2)</sup> 東京大学 大学院農学生命科学研究科 獣医内科学研究室, <sup>3)</sup> 日本動物高度医療センター, <sup>4)</sup> 日本小動物医療センター**PA-15** カニクイザルにおけるリンパ形質細胞性胃炎の胃内分布○黒滝 哲郎, 佐藤 順子, 山田 直明, 土居 卓也, 菅野 剛, 土谷 稔  
株式会社 L S I メディエンス**PA-16\*** ビーグル犬にみられた腸間膜異所性骨化を伴う卵黄管嚢胞の1例○二宮 美美子, 田中 英樹, 鈴木 智, 吉田 翔太, 蟹江 尚平, 森田 文雄, 箱井 加津男  
大鵬薬品工業株式会社**PA-17** 吸収性癒着防止材の局所残存期間が腹膜中皮細胞の治癒に与える影響○田崎 雅子<sup>1)</sup>, 甲斐 美穂<sup>1)</sup>, 寺尾 壽子<sup>1)</sup>, 早場 純子<sup>1)</sup>, 麻生 良平<sup>1)</sup>, 斉藤 義明<sup>2)</sup>, 磯部 厚志<sup>1)</sup>, 長野 嘉介<sup>3)</sup>, 千野 直孝<sup>1)</sup>, 萩原 仁美<sup>1)</sup><sup>1)</sup> テルモ (株) 研究開発本部, <sup>2)</sup> (一財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 病理学研究室, <sup>3)</sup> 長野毒性病理コンサルティング**ポスター発表 6**

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00

ポスター A 会場 (小研修室)

座長: 今井 俊夫 (国立がん研究センター)・加藤 淳彦 (中外製薬株式会社)

**PA-18** FDA SEND への対応 - パンロジストが心得るべき FDA SEND その2-○畠山 洋文<sup>1)</sup>, 堀川 真一<sup>1)</sup>, 桜井 淳一<sup>1)</sup>, 小泉 治子<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>, Potenta Daniel<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> PDS ライフサイエンス**PA-19** SEND に向けた INHAND の活用法と課題 (非増殖性病変)○小泉 治子<sup>1)</sup>, 梶村 哲世<sup>1)</sup>, 畠山 洋文<sup>1)</sup>, 佐藤 伸一<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 (合) 毒性病理研究所**PA-20** MRI を活用した hESC 髄腔内移植マウスにおける造腫瘍性試験○水流 功春<sup>1)</sup>, Schiffenbauer Yael<sup>2)</sup>, Ramot Yuval<sup>3)</sup>, Amouyal Netanel<sup>4)</sup>, Izrael Michal<sup>5)</sup>, Nyska Abraham<sup>6)</sup><sup>1)</sup> プライムテック (株), <sup>2)</sup> Aspect Imaging, <sup>3)</sup> Hadassah-Hebrew University, <sup>4)</sup> Envigo CRS,<sup>5)</sup> KadimaStem, <sup>6)</sup> Timrat and Tel Aviv University**PA-21** Targeting the HER family with pan-HER effectively overcomes resistance to cetuximab○Mari Iida<sup>1)</sup>, Harsh Bahrar<sup>1)</sup>, Toni M. Brand<sup>1)</sup>, Hannah E. Pearson<sup>1)</sup>, John P. Coan<sup>1)</sup>, Rachel A. Orbuch<sup>1)</sup>, Bailey G. Flanigan<sup>1)</sup>, Adam D. Swick<sup>1)</sup>, Prashanth J. Prabakaran<sup>1)</sup>, Johan Lantto<sup>2)</sup>, Ivan D. Horak<sup>2)</sup>, Michael Kragh<sup>2)</sup>, Ravi Salgia<sup>3)</sup>, Randy J. Kimple<sup>1)</sup>, Deric L. Wheeler<sup>1)</sup><sup>1)</sup> Dep. of Human Oncology, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health, Madison, Wisconsin.<sup>2)</sup> Symphogen A/S, Ballerup, Denmark. <sup>3)</sup> City of Hope, Duarte, California.

## ポスター発表 7

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00

ポスター A 会場 (小研修室)

座長: 串田 昌彦 (住友化学株式会社)

PA-22 カドミウム曝露がメダカ (*Oryzias latipes*) 精巢に及ぼす影響に関する病理組織学的検討

○杉山 晶彦<sup>1)</sup>, 竹岡 勇樹<sup>1)</sup>, 平光 彩乃<sup>1)</sup>, 竹内 崇<sup>1)</sup>, 古川 賢<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 鳥取大学 農学部 共同獣医学科, <sup>2)</sup> 日産化学工業株式会社 生物科学研究所

PA-23\* 成魚ゼブラフィッシュにおける病理学的手法を用いた腎毒性及び肝毒性評価系の検討

○加藤 祐樹<sup>1,2)</sup>, 殿村 優<sup>1)</sup>, 花房 弘之<sup>1)</sup>, 西村 享平<sup>1)</sup>, 福島 民雄<sup>1)</sup>, 菱川 敦子<sup>1)</sup>, 上野 元伸<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 塩野義製薬 (株) 安全性研究部門, <sup>2)</sup> 大阪府立大学 獣医病理学教室

PA-24\* 脊椎弯曲ファットヘッドミノアの病理組織学的検索

○木村 真之<sup>1)</sup>, 入江 浩大<sup>1)</sup>, 阿部 正義<sup>1)</sup>, 林 清吾<sup>1)</sup>, 杉山 晶彦<sup>2)</sup>, 古川 賢<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日産化学工業 (株) 生物科学研究所, <sup>2)</sup> 鳥取大学 農学部 共同獣医学科

## ポスター発表 8

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00

ポスター A 会場 (小研修室)

座長: 鈴木 智 (大鵬薬品工業株式会社)

PA-25 免疫組織染色のための技術データベースの確立

○永池 美香<sup>1,2)</sup>, 古川 賢<sup>1,3)</sup>, 尾崎 清和<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup> 実験動物病理標本交見会, <sup>2)</sup> 石原産業 (株), <sup>3)</sup> 日産化学工業 (株), <sup>4)</sup> 摂南大学 薬学部 病理学研究室

PA-26\* 長期保存したホルマリン固定パラフィン包埋ブロック標本を用いた病理組織学的評価の検討

○大野 祐子, 佐藤 寛子, 宮崎 登志子, 藤木 勝也, 久米 英介, 田中 雅治

田辺三菱製薬株式会社 創薬本部 安全性研究所

PA-27 ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片におけるセロトニン産生細胞簡易検出法の開発

○金子 善興<sup>1)</sup>, 恩田 伸彦<sup>1)</sup>, 渡邊 洋祐<sup>2,3)</sup>, 渋谷 淳<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> オリnbas (株), <sup>2)</sup> 東京農工大学 獣医病理, <sup>3)</sup> 岐阜大学 大学院 連合獣医

## ポスター発表 9

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00

ポスターB会場(大研修室)

座長:小川久美子(国立医薬品食品衛生研究所)・深町勝巳(名古屋市立大学)

- PB-28 Dimethylarsinic acid の胎仔期暴露における発がん性の検討  
○魏民, 藤岡正喜, 辰巳久美子, 山口貴嗣, 北野光昭, 梯アンナ, 大石裕司, 鰐淵英機  
大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学
- PB-29 CD44 ノックアウトマウスにおける肝臓発がんの抑制  
○梯アンナ, 辰巳久美子, 奥野高裕, 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
- PB-30\* 1,2-ジクロロプロパンおよびジクロロメタン複合暴露におけるマウス肝臓がん影響  
○河内聡子, 魏民, 藤岡正喜, 辰巳久美子, 多胡善幸, 梯アンナ, 鰐淵英機  
大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学
- PB-31 マウス胆嚢におけるN-メチル-N-フォルミルヒドラジンの発がんイニシエーション作用と系統間における感受性の検討  
○久野壽也, 早川将史, 不二哲, 内木綾, 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

## ポスター発表 10

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00

ポスターB会場(大研修室)

座長:川口博明(鹿児島大学)・中野今日子(エーザイ株式会社)

- PB-32\* 胃潰瘍修復過程における組織幹細胞マーカー *Lgr5* 発現細胞の動態  
○並木健吾<sup>1,2)</sup>, 平田暁大<sup>2)</sup>, 酒井洋樹<sup>2)</sup>, 村井厚子<sup>1,2)</sup>, 富田弘之<sup>3)</sup>, 原明<sup>3)</sup>, 柳井徳磨<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>小野薬品工業株式会社 安全性研究部, <sup>2)</sup>岐阜大学 応用生物科学部 獣医病理学研究室  
<sup>3)</sup>岐阜大学 大学院医学系研究科 腫瘍病理学分野
- PB-33 沖縄県自生植物芭蕉(バショウ、*Musa basjoo*) 葉抽出物のヒト大腸がん細胞に対する細胞毒性  
○松本晴年, 安藤さえこ, 深町勝巳, 二口充, 酒々井眞澄  
名古屋市立大学 大学院医学研究科 分子毒性学分野
- PB-34\* デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘発ラット結腸病変における体性幹細胞認識抗体A3陽性細胞の動態  
○仁科嘉修, 市川(加藤)智彩, 倉持瑞樹, 井澤武史, 桑村充, 山手丈至  
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
- PB-35 麴の種類並びに発酵期間の異なる味噌を用いて産生される有効成分の検討  
○渡辺敦光<sup>1)</sup>, 高端厚子<sup>2)</sup>, 笹谷めぐみ<sup>3)</sup>, 宮坂勇一郎<sup>4)</sup>, 吉栖正生<sup>1)</sup>, 升島努<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 心臓血管生理, <sup>2)</sup>理研, <sup>3)</sup>広島大学 原医研分子発癌, <sup>4)</sup>宮坂醸造(株)

## ポスター発表 11

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00

ポスターB会場(大研修室)

座長: 上田 誠(日本新薬株式会社)・横平 政直(香川大学)

PB-36\* ラット肝発がん物質 thioacetamide 28日間投与により遺伝子過メチル化と発現減少を示した *Tmem70* 及び *Ube2e2* の機能解析

○水上 さやか<sup>1)</sup>, 渡邊 洋祐<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

PB-37 Elemicin の短期遺伝毒性・発がん性包括的試験による評価

○時 亮<sup>1,4)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>, 高須 伸二<sup>1)</sup>, 土屋 卓磨<sup>1)</sup>, 木島 綾希<sup>1)</sup>, 能美 健彦<sup>2)</sup>, 小川 久美子<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>3)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>

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

<sup>3)</sup> 国立衛研 安全性生物試験研究セ, <sup>4)</sup> 筑波大 実験病理研

PB-38\* 雄性SDラットを用いた自然発生性の Glutathione S-Transferase Placental Form (GST-P) 陽性巣とその組織学的特徴に関する検討

○利谷 枝里子, 柿本 恒知, 稲垣 浩二, 安井 雄三, 剣持 佑介, 中村 明子, 豊田 薫, 高橋 明美, 正田 俊之

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所

PB-39\* Piperonyl butoxide 誘発マウス結節性再生性肝細胞過形成の腫瘍性病変との分子病理学的差異

○高須 伸二, 横尾 諭, 木島 綾希, 石井 雄二, 小川 久美子, 梅村 隆志

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

## ポスター発表 12

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00

ポスターB会場(大研修室)

座長: 柿本 恒知(日本たばこ産業株式会社)・渋谷 淳(東京農工大学)

PB-40\* パルミトイルピペリジノピペリジンの毒性影響および抗がん効果発現機序

○安藤 さえこ, 松本 晴年, 深町 勝巳, 二口 充, 酒々井 眞澄

名古屋市立大学 大学院医学研究科 分子毒性学分野

PB-41 Zucker ラットの齶蝕形成に対する唾液腺機能障害の関与

—肥満および糖尿病因子の唾液腺機能への影響について—

西本 大輝<sup>1)</sup>, ○兒玉 安史<sup>1)</sup>, 尾崎 清和<sup>2)</sup>, 松浦 哲郎<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 広島国際大学 薬学部 病態薬物治療学研究室, <sup>2)</sup> 摂南大学 薬学部 病理学研究室

PB-42\* ICR マウス臼歯における加齢性咬合面摩耗および Alloxan 誘発糖尿病による摩耗病変の増強について

○西本 大輝<sup>1)</sup>, 兒玉 安史<sup>1)</sup>, 丸山 早斗<sup>2)</sup>, 寺山 由依<sup>2)</sup>, 尾崎 清和<sup>2)</sup>, 松浦 哲郎<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 広島国際大学 薬学部 病態薬物治療学研究室, <sup>2)</sup> 摂南大学 薬学部 病理学研究室

PB-43\* C57BL/6 マウスにみられた Botryomycosis

○中村 進一, 川瀬 貴博, 塚原 隆充

(株) 栄養・病理学研究所



**ポスター発表 13**

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00

ポスターB会場(大研修室)

座長: 山口 裕子(株式会社ボゾリサーチセンター)・渡邊 厚(旭化成ファーマ株式会社)

- PB-44\*** Effect of lipopolysaccharide on autophagy and autophagic response in liver homeostasis in rats  
○ Karim M. Rabiul, Pervin Munmun, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至  
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
- PB-45\*** 低カルシウム血症が四塩化炭素による肝傷害軽減に対する効果  
○吉岡 弘毅, 田中 美妃, 野々垣 常正  
金城学院大学 薬学部 薬学科
- PB-46\*** チオアセトアミド反復投与ラット肝障害モデルにおける肝細胞傷害の軽減効果の解析  
○倉持 瑞樹, 井澤 武史, Pervin Munmun, Karim M. Rabiul, Bondoc Alexandra, 桑村 充, 山手 丈至  
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
- PB-47\*** マウスを用いたモノクロタリン誘発類洞閉塞症候群モデルにおける肝障害発現機序及び障害検出マーカーの検討  
○原 慎太郎, 林 仁美, 奥田 祐司, 飯河 直子, 測上 貴美子, 市村 英資  
日本化薬(株) 安全性チーム

**ポスター発表 14**

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00

ポスターB会場(大研修室)

座長: 魏 民(大阪市立大学)・美谷島 克宏(東京農業大学)

- PB-48\*** NASH モデルマウスにおける肝細胞癌の病理組織学的特徴  
○松尾 沙織里<sup>1)</sup>, 吉田 綾恵<sup>2)</sup>, 松本 雅彦<sup>1)</sup>, 伊藤 恒夫<sup>1)</sup>, 林 修次<sup>1)</sup>, 西原 香織<sup>1)</sup>, 足立 健児<sup>1)</sup>, 篠塚 淳子<sup>1)</sup>, 鈴木 雅実<sup>1)</sup>, 加藤 淳彦<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>中外製薬(株), <sup>2)</sup>(株)中外医科学研究所
- PB-49\*** 非アルコール性脂肪性肝疾患モデルマウスの病態進展に対する benzo[a]pyrene の影響  
○松下 幸平<sup>1)</sup>, 豊田 武士<sup>1)</sup>, 曾根 瑞季<sup>1,2)</sup>, 森川 朋美<sup>1)</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>東京農工大学 農学部
- PB-50\*** マウス非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)病態に  
Eicosapentaenoic acid (EPA) と docosahexaenoic acid (DHA) が及ぼす異なる影響  
○煙山 紀子<sup>1)</sup>, 松坂 賢<sup>2)</sup>, 中川 嘉<sup>2)</sup>, 矢作 直也<sup>2)</sup>, 美谷島 克宏<sup>1)</sup>, 中江 大<sup>1)</sup>, 島野 仁<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>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, <sup>2)</sup>筑波大学 医学医療 内分泌代謝糖尿病内科
- PB-51\*** ラットにおける利尿剤スピロラクトンと酵素処理イソクエルシトリンの併用投与による脂肪肝関連初期肝発がんの抑制機構の検討  
村山 宗理<sup>1)</sup>, 牧野 絵美<sup>2)</sup>, 大塚 亮一<sup>2)</sup>, 林 新茂<sup>3)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>, ○吉田 敏則<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農工大学 農学部 獣医病理, <sup>2)</sup>(一財)残留農薬研究所, <sup>3)</sup>三栄源エフ・エフ・アイ(株)

## ポスター発表 15

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00

ポスターB会場(大研修室)

座長:岡崎 欣正(残留農薬研究所)

- PB-52\* 肥満および耐糖能異常を伴う非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の新規マウスモデルの確立  
○寺山 由依, 審 一慧, 松浦 哲郎, 尾崎 清和  
摂南大学 薬学部 病理学研究室
- PB-53 非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)モデルであるSTAMマウスモデルの早期病変に関する病態解析  
○美谷島 克宏<sup>1)</sup>, 太田 毅<sup>2)</sup>, 石井 幸仁<sup>2)</sup>, 煙山 紀子<sup>1)</sup>, 中江 大<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>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, <sup>2)</sup>日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所
- PB-54\* 高脂肪食誘発NASHモデルラットにおける背景飼料の影響  
○稲井 洋平, 大地 祥子, 新 真智, 桑村 充, 山手 丈至, 井澤 武史  
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 16

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00

ポスターC会場(エントランスホール2F)

座長:穴山 久志(武田薬品工業株式会社)・小笠原 裕之(アスピオファーマ株式会社)

- PC-55\* ラット前立腺発がんに対するangiotensin II receptor type 2アゴニストの化学予防効果  
○内木 綾, 鈴木 周五, 加藤 寛之, 早川 将史, 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
- PC-56 前立腺発がん物質早期検出のための分子マーカーおよびラットモデルの確立  
○鈴木 周五<sup>1,2)</sup>, 内木 綾<sup>1)</sup>, 不二 哲<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 大学院医学研究科 実験病態病理学, <sup>2)</sup>名古屋市立東部医療センター 病理診断科
- PC-57\* 免疫応答動物に対する前立腺癌細胞株の同種同所移植の検討  
○加藤 寛之, 鈴木 周五, 内木 綾, 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
- PC-58 遺伝毒性膀胱発がん物質によるラット膀胱粘膜における $\gamma$  H2AX発現  
○豊田 武士<sup>1)</sup>, 鈴木 周五<sup>2)</sup>, 加藤 寛之<sup>2)</sup>, 曾根 瑞季<sup>1,3)</sup>, 松下 幸平<sup>1)</sup>, Cho Young-Man<sup>1)</sup>, 赤木 純一<sup>1)</sup>,  
井上 薫<sup>1)</sup>, 高橋 智<sup>2)</sup>, 西川 秋佳<sup>4)</sup>, 小川 久美子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立衛研・病理, <sup>2)</sup>名古屋市大・医・実験病態病理, <sup>3)</sup>東京農工大・農, <sup>4)</sup>国立衛研・安全性生物試験研究セ

## ポスター発表 17

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00 ポスターC会場(エントランスホール2F)

座長:小野 美穂子(アステラス製薬株式会社)・能登 貴久(参天製薬株式会社)

PC-59\* M1/M2分極化に基づいたイソプロテレノール誘発ラット心筋傷害におけるマクロファージの特性解析

○古賀 真昭, カリム ムハンマド ラビウル, 倉持 瑞樹, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至  
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

PC-60 抗ヒト tissue factor 抗体の組織交差反応性試験とカニクイザルにおける出血性病変解析によるリスク評価

○藤井 悦子, 渡部 一人, 西原 香織, 鈴木 雅実, 加藤 淳彦  
中外製薬株式会社 研究本部

PC-61\* 新生児期低栄養曝露児の成獣期 LPS 暴露に対する免疫反応の増強

○等々力 舞<sup>1)</sup>, 瀬沼 美華<sup>1)</sup>, 熊谷 文明<sup>1)</sup>, 小川 哲郎<sup>2)</sup>, 斉藤 義明<sup>1)</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>埼玉医科大学 生理学

PC-62\* エストロジェン投与ラットにおけるメラトニンの毒性修飾作用:

血栓塞栓症の1例についての症例報告

○野宮 奈菜, 今井 大貴, 河本 晴香, 宮田 真衣, 佐藤 洋  
岩手大学 農学部 獣医学課程

## ポスター発表 18

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00 ポスターC会場(エントランスホール2F)

座長:金子 英志(帝人ファーマ株式会社)・古川 賢(日産化学工業株式会社)

PC-63\*  $\gamma$ H2AXを指標とした *in vivo* 遺伝毒性評価系の構築 —ラット腎臓における検討—

○曾根 瑞季<sup>1,2)</sup>, 豊田 武士<sup>1)</sup>, 松下 幸平<sup>1)</sup>, 森川 朋美<sup>1)</sup>, Cho Young-Man<sup>1)</sup>, 赤木 純一<sup>1)</sup>, 水田 保子<sup>1)</sup>,  
西川 秋佳<sup>1)</sup>, 小川 久美子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立衛研 病理, <sup>2)</sup>東京農工大 農

PC-64\* 線維化病態モニターマウスを用いた腎障害モデルの病態解析

○山口 達弘<sup>1,2)</sup>, 加藤 祐樹<sup>1,2)</sup>, 奥田 智彦<sup>1)</sup>, 山手 丈至<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>塩野義製薬株式会社, <sup>2)</sup>大阪府立大学 獣医病理学教室

PC-65 遺伝子発現パターンを用いた短期腎発がん性予測法の開発

○松本 博士, 齋藤 文代, 武吉 正博  
(一財)化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所

PC-66\* オクラトキシンAの発達期曝露によるラットの腎尿細管における巨大核形成および細胞増殖への影響

○長谷川 也須子<sup>1)</sup>, 田中 猛<sup>1)</sup>, 水上 さやか<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科

## ポスター発表 19

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00 ポスターC会場(エントランスホール2F)

座長:相磯 成敏(日本バイオアッセイ研究センター)・河部 真弓(DIMS 医科学研究所)

- PC-67 針状粒子 TISMO (胸腔内投与) の長期的影響におけるマウス系統差  
○横平 政直, 成澤 裕子, 山川 けいこ, 橋本 希, 吉田 翔太, 蟹江 尚平, 今井田 克己  
香川大学 医学部 腫瘍病理学
- PC-68 BALB/c マウスにおけるナノ銀の腹腔内投与による急性毒性はサイズによって異なる  
○Cho Young-Man, 赤木 純一, 水田 保子, 豊田 武士, 小川 久美子  
国立衛研 病理部
- PC-69 ラットにおける多層カーボンナノチューブ (CNT) の発がん性と  
p henyl N -tert-butyl nitron (PBN) 併用が及ぼす影響  
○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 薬事環境科学部, <sup>2)</sup>国立衛研 総合評価研, <sup>3)</sup>東京農大
- PC-70\* 多層カーボンナノチューブによるラット中皮腫誘発過程の経時的観察  
○北條 幹<sup>1)</sup>, 坂本 義光<sup>1)</sup>, 山本 行男<sup>1)</sup>, 長谷川 悠子<sup>1)</sup>, 多田 幸恵<sup>1)</sup>, 湯澤 勝廣<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>国立医薬品食品衛生研究所, <sup>3)</sup>東京農業大学

## ポスター発表 20

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00 ポスターC会場(エントランスホール2F)

座長:石上 紀明(小野薬品工業株式会社)

- PC-71 マンゴスチン果皮成分の  $\alpha$ -Mangostin に中鎖脂肪酸を修飾した  $\alpha$ -Mangostin ドデカン酸  
ジエステルのマウス乳癌転移抑制作用の増強効果  
○柴田 雅朗<sup>1)</sup>, 濱岡 仁美<sup>1)</sup>, 伊藤 裕子<sup>1)</sup>, 飯沼 宗和<sup>2)</sup>, 近藤 洋一<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪医科大学 医学部 生命科学講座解剖学教室, <sup>2)</sup>岐阜薬科大学
- PC-72 (C3HxBALB) N5-p53<sup>+/+</sup>マウスにおける PhIP 誘発性乳腺発がんに対する高脂肪食と  
高スクロース水の作用  
○今井 俊夫<sup>1,2)</sup>, 東島 直子<sup>2)</sup>, 打屋 尚章<sup>1)</sup>, 落合 雅子<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>国立がん研究センター研究所 動物実験支援施設, <sup>2)</sup>国立がん研究センター研究所 動物実験部門
- PC-73\* ラットの乳腺腫瘍に認められた限局性アミロイド症の1例  
○川迫 一史<sup>1)</sup>, 押方 孝文<sup>1)</sup>, 満石 三喜男<sup>1)</sup>, 菅野 剛<sup>1)</sup>, 浜村 政夫<sup>1)</sup>, 村上 智亮<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>(株) L S I メディエンス 試験研究センター 病理研究部,  
<sup>2)</sup>東京農工大学 大学院農学研究院 動物生命科学部門 病態獣医学研究分野

## ポスター発表 21

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00 ポスターC会場(エントランスホール2F)

座長: 林 新茂 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社)

- PC-74\* Dimethylarsinic acid 誘発ラット膀胱発がんに対する NADPH oxidase 阻害剤 Apocynin の抑制効果  
○熊田 賢次, 土井 賢一郎, 藤岡 正喜, 魏 民, 武下 正憲, 鰐淵 英機  
大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学
- PC-75 わさびの香気成分である 5-ヘキセニルイソチオシアネートは 13 週間の経口投与により F334 ラットに膀胱上皮過形成を誘発する  
○赤木 純一, 水田 保子, 豊田 武士, Cho Young-Man, 小川 久美子  
国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- PC-76\* ラット経尿道直接膀胱暴露法を用いた有機ヒ素化合物 DMMTA の *in vivo* 変異原性の検討  
○藤岡 正喜, 魏 民, 河内 聡子, 奥野 高裕, 熊田 賢次, 串田 昌彦, 鰐淵 英機  
大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

## ポスター発表 22

第1日目 1月26日(木) 17:00～18:00 ポスターC会場(エントランスホール2F)

座長: 今岡 尚子 (第一三共株式会社)

- PC-77\* シクロデキストリンで包接した 4-メチルチオ-3-ブテニルイソチオシアネート (MTBI) のマウスにおける生理作用  
○猪野 祥子<sup>1)</sup>, 岡本 陽菜子<sup>2)</sup>, 生田 直子<sup>3)</sup>, 寺尾 啓二<sup>2)</sup>, 坂本 憲広<sup>3)</sup>, 吉川 豊<sup>1,4)</sup>  
<sup>1)</sup> 神戸女子大学 健康福祉学部, <sup>2)</sup> 株式会社シクロケムバイオ, <sup>3)</sup> 神戸大学 大学院医学研究科,  
<sup>4)</sup> 神戸女子大学 大学院健康栄養学研究科
- PC-78\* ココナッツオイルを始めとする高脂肪食の骨代謝・脂質代謝への影響  
○明 千晴<sup>1)</sup>, 小野寺 章<sup>2)</sup>, 吉川 豊<sup>1,3)</sup>  
<sup>1)</sup> 神戸女子大学 健康福祉学部, <sup>2)</sup> 神戸学院大学 薬学部, <sup>3)</sup> 神戸女子大学 大学院健康栄養学研究科
- PC-79 ジブチルニ塩化スズ誘発ラット膵線維化におけるマクロファージと間葉系細胞の動態  
○橋本 愛, ボンドク アレクサンドライオアナ, カリム ムハンマドラビウル, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至  
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 23

第2日目 1月27日(金) 15:00～16:00 ポスターC会場(エントランスホール2F)

座長: 佐藤 洋(岩手大学)・澤本 修(株式会社大塚製薬工場)

- PC-80\* ラットの無色素性メラノーマから確立した腫瘍細胞と腫瘍関連線維芽細胞様(CAF)細胞との関連  
○Bondoc Alexandra, Pervin Munmun, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至  
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
- PC-81 モノヨード酢酸(MIA)誘発サル変形性関節症モデルの病理組織学的特徴  
○小寺 喬<sup>1)</sup>, 小西 静香<sup>1)</sup>, 元野 志保<sup>1)</sup>, 尾山 達哉<sup>1)</sup>, 小川 真弥<sup>2)</sup>, 高松 宏幸<sup>2)</sup>, 上田 誠<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 日本新薬株式会社 安全性・動態研究部, <sup>2)</sup> 株式会社浜松ファーマリサーチ
- PC-82\* NOGマウスの骨格筋に出現するTubular aggregateに関する病理学的研究  
○伊倉 佐織<sup>1)</sup>, 笠原 健一郎<sup>1)</sup>, 福永 八千代<sup>1)</sup>, 保田 昌彦<sup>2)</sup>, 井上 亮<sup>2)</sup>, 田村 一利<sup>1)</sup>, 永谷 真理子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> (株)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
- PC-83\* マイクロチップ埋植誘発によるC57BL/6Jマウスの皮下腫瘍の一症例  
○中村 隆一<sup>1)</sup>, 江頭 志織<sup>2)</sup>, 西村 友成<sup>3)</sup>, 神藤 敏正<sup>3)</sup>, 小笠原 裕之<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup> アスピオファーマ(株)再生医薬フィールド, <sup>2)</sup> アスピオファーマ(株)免疫・炎症疾患フィールド  
<sup>3)</sup> アスピオファーマ(株)創薬技術ファンクション

## ランチョンセミナーⅠ

第1日目 1月26日(木) 12:00～13:00

第2会場(大研修室)

座長: 平川 公昭(株式会社新日本科学)

共催: 株式会社新日本科学

- LS-1 Spectrum of histopathologic lesions in antisense oligonucleotide compounds (ASOs)  
仲辻 俊二  
SNBL USA, Ltd.

## ランチョンセミナーⅡ

第1日目 1月26日(木) 12:00～13:00

第3会場(中研修室)

座長: 渋谷 一元(一般財団法人日本生物科学研究所)

共催: Southern Research / 株式会社スリーエス・ジャパン

- LS-2 Histopathologic review of viral and bacterial infectious disease research at Southern Research  
ーサザンリサーチ社におけるウイルス性/細菌性感染症研究についての病理組織学的検査レビューー  
Sheila Grimes  
Southern Research

## ランチョンセミナーⅢ

第2日目 1月27日(金) 12:00～13:00

第2会場(大研修室)

座長: 磯部 香里(Charles River Edinburgh)

共催: Charles River

- LS-3 Evaluation of the respiratory system in toxicologic pathology  
Melanie A. Greeley  
Charles River Ashland

## ランチョンセミナーⅣ

第2日目 1月27日(金) 12:00～13:00

第3会場(中研修室)

座長: 乾 公正(石原産業株式会社)

共催: エンヴィーゴ株式会社

- LS-4 Background pathology in non-rodent laboratory animals, with emphasis on the minipig  
Vasanthi Mowat  
Envigo CRS Ltd.





# 講演要旨

---

特別講演

教育講演

基調講演

シンポジウム



## SL

## 脳科学の哲学的医学史

角田 茂 M.D., Ph.D

大阪府立大学名誉教授

古代ギリシャの哲学者エンペドクレスは、4体液説に基づく体液病理学を提唱した。4体液とは、血液、粘液、黄胆汁、黒胆汁であり、それぞれ心臓、脳、肝臓、脾臓で生成される。4体液説とは、これらの循環障害により病気が起こるという学説である。現在の解剖学では、血液はそのまま、粘液は髄液に、黄胆汁は胆汁に変えて理解できるが、黒胆汁は仮想のものである。しかし、彼はこの黒胆汁の過剰状態がうつ状態を引き起こし、あらゆる病気を悪化させると考えた。うつ状態があらゆる病気を悪化させるということは、現代医学においても真実であり、現在もなお、我々はうつ状態のことを、メランコリーすなわち黒胆汁症(melancholia : melas + cholē)と呼んでいる。

スペインの古都、トレードは12世紀ルネッサンスの発信基地であった。当時、科学の中心地はアラビアのバグダードであり、その先端科学がトレードに運ばれ、ラテン語に翻訳され、誕生したばかりのボローニャ大学、パリ大学、オックスフォード大学で講義された。アラビア語の“al”は英語の“the”である。現在使用されている、algebra, alchemy, algorithmなどは、12世紀ルネッサンス期に造られた言葉である。Algorithmのタイトルを持つ当時の教科書には、アラビア数字を使って、2次方程式の解が記述されている。

17世紀科学革命は、イタリアのパドヴァ大学で起こり、イギリスのケンブリッジ大学をはじめ、ヨーロッパ全体に広まった。米国の科学史家クーンは、この17世紀科学革命においてパラダイム・シフトが起きたことを指摘している。神中心の宇宙論から機械論的な宇宙論への転換である。学会制度が確立し、ニュートンが活躍した時代である。医学分野では、ケンブリッジ大学を卒業してパドヴァ大学で学んだハーヴィーが『心臓と血液の運動』を発表して、心臓は単なるポンプであることを証明した。

1848年、フィルヒョウは、オーバー・シュレジエン地方でチフスが流行した時、政府から調査の依頼を受けた。彼はその報告書に、大流行発生の根本原因はプロイセン専制君主の圧政にあると書き、その結果、彼はベルリン大学を追放された。その後、1849年、ビュルツブルク大学で教授職を得て、ここで彼の細胞病理学が完成される。1856年、ベルリン大学教授になると、そこで名著『細胞病理学』を発表した。白血病の発見と命名、血栓症と塞栓症の違いなど、病理学の父と言われるのにふさわしい業績を残した。1879年、グラスゴー大学のマキューエンによって行われた脳腫瘍の手術は、麻酔法と消毒法を用いた近代外科学誕生の象徴である。

共感覚 (synesthesia) は、ある感覚刺激を本来の感覚としてではなく、別の感覚として知覚することである。1943年、スイスの化学者ホフマンにより、LSDが麦角アルカロイドから合成された。1960年代後半には、ベトナム反戦運動とLSDを用いたサイケデリックアートが一世を風靡した。LSDを摂取すると、共感覚が呼び起こされ、激しいロックのリズムが強烈な色彩模様となって視覚化される。16～17世紀にかけてヨーロッパでは多くの魔女裁判が行われた。近年、被害にあった魔女は麦角アルカロイド中毒であったとする説が有力となっている。麦角菌は小麦よりもライ麦に多く感染する。貧困層は小麦ではなく、ライ麦を食べていたので、魔女が貧困層に多かったことと一致している。

## The legacy of the F344 rat as a cancer bioassay model

R. R. Maronpot D.V.M., MS., M.P.H.

IATP Education Committee, Maronpot Consulting LLC, USA

The F344 rat originated at Columbia University in 1920 from the 344<sup>th</sup> brother-sister mating of rats from the commercial Fischer breeding colony and was later adopted as the rat of choice for the National Cancer Institute cancer bioassay program. After over 50 years of using the F344 rat for cancer studies, the National Toxicology Program (NTP) switched first to the Wistar rat and subsequently to the Harlan Sprague Dawley rat. The reasons that NTP decided to no longer use the F344 rat for its carcinogenicity studies will be discussed during the presentation but a high and variable background incidence of mononuclear cell leukemia (MNCL), also known as large granule cell (LGL) leukemia, leading to early mortality was one of the main reasons for the switch. There was also concern that the greater than 90% background incidence of Leydig cell tumors precluded making reliable assessments of treatment-induced testicular tumor responses. Other target tissue tumor responses of concern included renal tubular cell tumors secondary to chronic progressive nephropathy, thyroid follicular cell tumors secondary to hepatic microsomal enzyme induction, and forestomach tumors secondary to irritation in gavage studies. The morphological and natural history features of MNCL (today's preferred nomenclature is LGL leukemia), Leydig cell tumors, and tunica vaginalis mesothelioma will be presented along with some case examples where these tumor responses were present. The closest human counterpart to F344 LGL leukemia is an extremely rare and aggressive NK cell leukemia (ANKCL) that is acutely fatal and has an Epstein-Barr viral etiology. In general, LCTs in humans share many similarities to their counterparts in rats, having a relatively benign nature and similar morphologic and clinical characteristics. Nevertheless, in humans, Leydig cell tumors are very rare, in contrast to the much higher prevalence in F344 rats. Furthermore, in humans, LCT has two age peaks, while in F344 rats there is a gradually increasing incidence with age. In contrast to the F344 rat, tunica vaginalis mesotheliomas in humans originate in the scrotal sac that does not connect to the peritoneal cavity as in rats. Furthermore, the TVM response in the F344 rat is secondarily linked to the high incidence of Leydig cell tumors indicating a tumor induction specificity not of likely relevance to humans.

Selected examples of two other target tissue cancer bioassay responses will be presented including renal tubular cell responses in the quercetin and coumarin F344 rat bioassays and forestomach tumor responses in the 2,4-hexadienal and ethyl acrylate F344 rat bioassays. Data will be discussed showing that renal tubular cell neoplastic responses, particularly in male F344 rats, are associated with treatment-induced exacerbation of chronic progressive nephropathy. Forestomach neoplasia in the F344 rat most often occurs in gavage studies with irritating agents that induce a sustained enhanced forestomach epithelial cell proliferation. Finally, a summary of F344 studies with increased incidences of these various tumor responses and how those studies were interpreted with respect to relevance to human cancer risk will be highlighted.

The F344 rat, with its long history of use in toxicology and carcinogenicity testing, has made tangible contributions to biomedical research. Its continued use as a cancer bioassay model appeared to be of limited utility and led to a decision to no longer use this rat in NTP cancer bioassays. However, the F344 rat remains as a reasonable animal model in shorter duration prechronic studies of xenobiotics.

### Selected References

- Adams, T. B., Gavin, C. L., Taylor, S. V., Waddell, W. J., Cohen, S. M., Feron, V. J., Goodman, J., Rietjens, I. M., Marnett, L. J., Portoghese, P. S., and Smith, R. L. (2008). The FEMA GRAS assessment of alpha,beta-unsaturated aldehydes and related substances used as flavor ingredients. *Food Chem Toxicol* **46**, 2935-67.
- Ghanayem, B. I., Maronpot, R. R., and Matthews, H. B. (1986). Association of chemically induced forestomach cell proliferation and carcinogenesis. *Cancer Lett* **32**, 271-8.
- Ghanayem, B. I., Sanchez, I. M., Maronpot, R. R., Elwell, M. R., and Matthews, H. B. (1993). Relationship between the time of sustained ethyl acrylate forestomach hyperplasia and carcinogenicity. *Environ Health Perspect* **101 Suppl 5**, 277-9.
- Hard, G. C., Seely, J. C., Betz, L. J., and Hayashi, S. M. (2007). Re-evaluation of the kidney tumors and renal histopathology occurring in a 2-year rat carcinogenicity bioassay of quercetin. *Food Chem Toxicol* **45**, 600-8.
- Maronpot, R. R., Nyska, A., Foreman, J. E., and Ramot, Y. (2016). The legacy of the F344 rat as a cancer bioassay model (a retrospective summary of three common F344 rat neoplasms). *Crit Rev Toxicol* **46**, 641-75.
- Smith, R. L., Cohen, S. M., Doull, J., Feron, V. J., Goodman, J. I., Marnett, L. J., Munro, I. C., Portoghese, P. S., Waddell, W. J., Wagner, B. M., Adams, T. B., Expert Panel of the, F., and Extract Manufacturers, A. (2005). Criteria for the safety evaluation of flavoring substances. The Expert Panel of the Flavor and Extract Manufacturers Association. *Food Chem Toxicol* **43**, 1141-77.

KL

## Small RNAs: Important regulators of gene expression in embryogenesis, biology and disease

Jonathan LaMarre, D.V.M., Ph.D.

Department of Biomedical Sciences, University of Guelph, Guelph, Ontario, CANADA.

Extensive research conducted over the past decade has revealed the extraordinary complexity and importance of small RNA pathways in the control of normal development, tissue function and pathologic states, including cellular responses to toxic injury. The majority of this work has focused on changes mediated by the class of small RNAs known as microRNAs (miRNAs), which are single-stranded oligoribonucleotides 19-22 residues in length. MiRNAs mediate their effects by post-transcriptionally targeting specific mRNAs based on complementarity with sequences in the mRNA target. These interactions require microRNA binding to a protein complex known as the RNA-induced silencing complex (RISC), leading to mRNA destruction or translational suppression. More recently, an additional class of small RNAs known as “PIWI-interacting RNAs” (piRNAs) has been implicated in biological processes including reproduction, stem cell biology and cancer. This small RNA pathway utilizes related proteins, known as PIWI proteins, and is best recognized as a genome defense mechanism against retrotransposon expression, although some specific roles in mRNA targeting have recently been proposed. Through binding to retrotransposon or mRNA targets, piRNA/PIWI complexes facilitate RNA decay. In addition, piRNA complexes with PIWIs appear to regulate DNA and histone methylation at specific loci, facilitating epigenetic regulation.

Research in my laboratory has focused on each of these small RNA pathways, primarily in the context of reproduction. Next generation sequencing (NGS) of small RNAs present in animal gametes and gonads has revealed both static and dynamic populations of small RNAs. MicroRNAs including miR-21 and members of the let-7 family are highly abundant in the oocyte, testes and early embryos of one or more species. In the oocyte, miR-21 expression markedly increases during oocyte maturation and early phases of embryo development. Functional studies *in vitro* suggest that this is likely mediated through SMAD and STAT3 binding sites in the promoter of the precursor (primary) miR-21 sequence. Investigation of cellular targets strongly supports previous studies implicating miR-21 in the control of apoptosis pathways. In addition to microRNAs, large numbers of piRNAs were identified in the NGS data. In order to further examine their functions, we mapped the piRNAs to the genome revealing numerous retrotransposon and mRNA sequences. piRNA levels were correlated with turnover of these targets, suggesting important roles in mRNA turnover in gametes and embryos. Finally, we cloned the major PIWI proteins from multiple species in order to characterize their functions in reproduction and cancer. Taken together, our studies implicate small RNA pathways as key regulators of cellular function in gametes and embryos that have the potential to become dysregulated in diseases such as cancer.

## SY1-1

## 化学物質の職業曝露による環境発がん

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、医学的に極めて重要である。職業がんは事業場が発がん性物質にさらされていることによって引き起こされるものをいう。現在、国際がん研究機構 (IARC) はアスベスト、ヒ素やベンジジンなどの 32 物質を職業上の発がん性物質に指定している。化学物質のヒトでの発がん性予測は、ヒト集団における疫学的調査と動物を用いた発がん性試験に基づき行われる。近年、我が国では 1,2-ジクロロプロパンやジクロロメタンなどを含む塩素系有機洗浄剤を大量に使用してきた印刷工場の従業員が極めて高頻度に胆管がんを発症していることが報告され、大きな社会問題となった。この事例におけるヒトの疫学調査の結果に基づいて、2013 年に厚生労働省が胆管がんと業務との因果関係を認め、「1,2-ジクロロプロパンにさらされる業務による胆管がん」と「ジクロロメタンにさらされる業務による胆管がん」を職業曝露によると認定されたがんに追加した。さらに、2014 年に、IARC において 1,2-ジクロロプロパンを Group 3 (ヒトへの発がん性が分類できない) から Group 1 (ヒトへの発がん性が認められる)、ジクロロメタンを Group 2B (ヒトに対して発がん性の可能性がある) から Group 2A (ヒトに対しておそらく発がん性がある) へ昇格した。本講演では、1,2-ジクロロプロパン及びジクロロメタンによる職業性胆管がんの疫学的特徴と臨床像について紹介する。また、様々な動物モデルから得られた 1,2-ジクロロプロパン及びジクロロメタンの代謝動態、一般毒性並びに発がん性に関する知見を紹介するとともに、環境発がん物質のリスク評価における動物実験データのヒトへの外挿について議論したい。

## SY1-2

## 発がんの根源的原因：毒性病理学にできること

豊國 伸哉

名古屋大学 大学院医学系研究科 生体反応病理学 分子病理診断学

地球上のすべての生命体において鉄は必須金属であり、ヒトを含む高等生物の生命は、鉄・酸素・食物によって紡がれている。酸素は細胞内で電子の流れを作り出すことにより、制御された生体化学反応を執行するのが主要な役割であるが、体内に取入れられた酸素の数%は活性酸素・フリーラジカルとなり、あらゆる生体分子に切断・修飾・重合などの傷害を与える。この反応は2価鉄の触媒によるFenton反応として1894年より認識され、1930年代には人工ゴム合成反応として先に実用化された。その後、放射線の生物作用として理解されてきたが、生体に身近な存在ではなかった。ところが1968年にsuperoxide dismutaseが発見されると事態は一変し、活性酸素・フリーラジカルの化学反応が細胞内で常時発生していることが初めて認識されるようになった。

発がんは、1980年代に始まるがん遺伝子とがん抑制遺伝子の概念の確立により、論理的に理解されるようになった。古典的な発がん要因の分類として、環境因子・習慣・職業曝露・食習慣・感染症・慢性炎症・遺伝的要因などが列挙され、それを防ぐような手立てが取られてきた。しかしながら、日本においては1981年以降、がんが死因の第1位であり、右上市である。そして2014年には初めて英国男性においてがんが死因の第1位となった。これには、致死性感染症の制御による寿命延長や降圧剤による血圧コントロールが関係深いと考えられるが、死因としてのがんの独走は今のがん予防法に大きな疑問を投げかけている。私は、これまでの研究成果より、がんの独走を私たちが酸素と鉄を使用していることの宿命と理解したいと考えている。Wild typeのラットにFenton反応を起こすことでヒトのがんのゲノム変化と酷似したがんが発生することはこの仮説を強く支持する。アスベストや多層カーボンナノチューブによる発がんも異物発がんでは基本的には過剰鉄を介するものであり、ラットとヒトで極めて類似したゲノム変化が見られることも注目に値する。また、これまでの観察により、これらの動物発がんは1ヶ月程度までの初期変化と基本的に正比例関係にあることは、毒性病理学にとって極めて重要であると考えている。

こう考えてくると、鉄の制御こそが今、がん制御に重要であると考えられる。鉄は一旦、血液内に入ってしまうと、体外への積極的な排泄経路はない。50才を過ぎると基礎代謝も低下し、女性は閉経を迎え、鉄が余分になる。私が年2回の全血献血を推奨する所以である。過剰鉄の視点からの毒性病理学研究もますます重要になると考えている。

## 参考文献

- 1) Toyokuni S. *Pathol Int.* 66: 245, 2016;
- 2) Wang Y *et al.* *Cancer Sci* 107: 250, 2016;
- 3) Toyokuni S. *Front Pharmacol* 5: 200, 2014;
- 4) Akatsuka *et al.* *PLoS One* 7: e43403, 2012;
- 5) Nagai H *et al.* *PNAS* 108: E1330, 2011.

## SY1-3

## 環境汚染による生活環境病、生活習慣病の増加、悪化

高野 裕久

京都大学 大学院工学研究科 都市環境工学専攻 環境衛生学講座

アレルギーをはじめとする生活環境病や、糖尿病、脂肪肝といった生活習慣病が急増している。その増加・悪化の主因としては、遺伝要因よりむしろ環境要因の変化が挙げられている。居住環境、衛生環境、食環境、水・土壌・大気環境等、多くの環境要因の変化の重要性が指摘されているが、これらの背景には化学物質の増加に代表される環境汚染の問題が共通する。事実、種々の大気汚染物質や化学物質等の環境汚染物質は、実験的に種々のアレルギーを悪化させうる。例えば、粒子と莫大な数の化学物質の集合体であるディーゼル排気微粒子はアレルギー性気管支喘息を悪化させ、この主成分としては脂溶性化学物質が重要である。プラスチック製品の可塑剤として汎用されるフタル酸エステル類等の環境化学物質も、アトピー性皮膚炎を悪化させる。ナノメートルサイズの極微小粒子や黄砂のアレルギー悪化作用も明らかにされている。そして、これらに内在する細胞、分子レベルの悪化メカニズムも明らかにされつつある。また、その一方、日々増加する環境汚染物質のアレルギー悪化作用を簡易かつ迅速に評価（スクリーニング）する手法の開発も進展しつつある。環境汚染が広く蔓延する現代社会において、アレルギーを制圧するためには、医学的対策のみならず環境汚染対策も不可欠といえる。一方、ディーゼル排気微粒子やある種の persistent organic pollutants は、実験的に、脂肪肝や脂肪組織炎症、インスリン抵抗性、糖尿病性を悪化させることも明らかになってきている。そして、これに内在する悪化メカニズムも明らかにされつつある。本講演では、環境汚染による生活環境病、生活習慣病の増加、悪化について、我々の知見を紹介する。



## SY1-4

**環境化学物質の食品安全評価  
－アクリルアミドのリスク評価を例として－**

吉田 緑

内閣府食品安全委員会

私たちは多くの化学物質に囲まれて生活し多大なる恩恵を受けている。しかし一方で化学物質は私たちの生活にとって負の側面の可能性も併せ持っている。私たちは環境に存在する化学物質に職業的に、あるいは一般環境を介して曝露されている。今回のシンポジウムでは演者が現在携わっている食品安全という立場から、環境中にも存在するが食品を介して摂取される化学物質としてアクリルアミドを取り上げたい。2016年に食品安全委員会は自ら評価の案件として、加熱時に生ずるアクリルアミドの食品を介したリスクを評価した。アクリルアミドはポリアクリルアミドの原材料として工業用途で採掘されていた。しかし近年、加熱調理中に食品中のアスパラギン酸と還元糖のメイラード反応によりアクリルアミドが生成され、日常の食品中に含まれることが明らかとなって以来、食品安全の新たな問題として国内外で関心が高まったが、日本におけるリスク評価実施の発端である。リスク評価の概要をステップ毎に要約すると：

**ハザード同定・用量反応評価：**体内に取り込まれたアクリルアミドは、反応性の高いグリシドアミドに代謝され、いずれもヘモグロビン又はDNA付加体を形成する。動物等を用いた毒性評価よりアクリルアミドは神経毒性および遺伝毒性を有していた。アクリルアミドはげっ歯類の種々の臓器で催腫瘍性を示したが、その機序はグリシドアミドへの代謝が関与すると考えられた。ヒトの疫学および職業曝露の結果は神経系へ影響を認めたが、がんの発生に一貫した傾向は示さなかった。ヒトの影響を基にした定量評価は困難であったため、動物実験を基に用量反応評価を行い、非発がん性として神経毒性、発がん性としてハーダー腺腫増加を基準点とした。

**曝露評価：**日本人の食品を介したアクリルアミド摂取量に日本での新しい研究データも追加して曝露評価を行った。その値は海外と比較して同程度又は低い値であった。

**リスク特定：**非発がん性の基準点と推定ヒト摂取量との比較では一定の-marginが確保されたことからヒトへのリスクは極めて低いと判断した。しかし発がん性についてはヒトにおける影響は明確ではないが、動物実験から得られた発がん性の基準点と推定ヒト摂取量の-marginが十分でないことから、公衆衛生的な観点から懸念がないとは言えないと判断し、合理的に達成可能な範囲でアクリルアミドの低減に努めるべきと結論した。この結論は海外および国際機関でのリスク評価結果とほぼ一致する。

本シンポジウムでは限られた時間ではあるが、アクリルアミドのリスク評価の過程で議論となったポイントについて紹介し、その責としたい。

## SY2-1

## 反芻家畜の中毒症

谷村 信彦

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門

牛や豚、鶏等の産業動物の中毒症は、有毒植物や過剰な飼料成分、環境汚染物質等の摂取で発生している。牛ではキョウチクトウ、ユズリハ、オナモミ、ワラビ等の有毒植物、腐敗甘藷、飼料中の銅、鉛含有塗料、豚では殺鼠剤、鶏では飼料中の魚粉の摂取による中毒が報告されている。本稿では、反芻家畜で認められた代表的な中毒症例の病理所見を紹介する。

ワラビには ptaquiloside 等の毒性物質が含まれている。牛のワラビ中毒は、摂取状況によって異なる病態が報告されている。短期間に大量のワラビを摂取すると骨髄系細胞が消失し、血小板減少症、好中球減少症、貧血を発症して死亡する。病理所見として腸管、膀胱、胆嚢、心臓、皮下組織、筋肉等に広範な点状及び斑状出血が認められる。第四胃潰瘍を起こすものもある。長期間に渡り少量を摂取した場合は血尿を発症し、地方病性血尿症と呼ばれる。病理所見として慢性膀胱炎や腫瘍が起こる。ワラビ摂取と関連した腺癌、移行上皮癌、扁平上皮癌、乳頭腫、線維腫、腺腫が膀胱や尿管で報告されている。

牛の非定型間質性肺炎は主に晩夏から秋に牧草を摂食した個体の中で発症がみられる。牧草中の L-トリプトファンが第一胃の微生物によって 3-メチルインドールに転換され、血流を介して肺のクララ細胞の酸化酵素によって肺毒性物質に転換され、細気管支上皮や肺胞上皮の壊死を起こす。腐敗甘藷には 4-イボメアノール、エゴマの葉にはペリラケトン等の肺毒性物質が含まれており、同様の肺病変を起こす。肉眼的に肺の退色と腫脹、組織学的に肺泡性及び間質性水腫、気腫、肺胞内腔の硝子膜形成、肺胞上皮の壊死が認められ、数日経過した個体では II 型肺胞上皮細胞の増殖を示す。

反芻家畜のうち羊は銅中毒に特に感受性が高い。羊は銅摂取量の増加に応じて胆汁からの排泄量を増加できないために慢性銅中毒を起こす。銅の蓄積が持続すると肝細胞壊死が起こり、銅が血液中へ放出される。血液中の過剰な銅は赤血球膜の酸化によって溶血を起こす。腎臓は銅の蓄積及び溶血後のヘモグロビンによって傷害される。肉眼的に黄疸、肝臓腫脹、腎臓の暗色化等が認められる。組織学的に肝細胞の凝固壊死、門脈域の線維化、胆管増殖、腎尿管上皮の変性が認められる。牛も比較的高濃度の銅摂取で慢性銅中毒に罹患するが、羊よりも溶血の起こる頻度は低い。

家畜の中毒症は病歴、症状、体液や摂取物の化学分析と病理学的所見を関連付けることによって診断される。今回取り上げる事例は、家畜の中毒症の病態解明と的確な診断には剖検組織の病理学的解析が必須であることを例証している。

## SY2-2

## 最近発生している鳥の中毒事例

宮崎 茂

(一財) 生物科学安全研究所

全国の家畜保健衛生所が守備範囲としている家禽および野鳥の中毒発生事例に関する統計情報は無いが、個別の中毒事例は各種のレポートとして報告されている。すなわち、詳細に検査・診断された事例については論文報告されている。また、論文報告には至らない事例であっても、全国の家畜保健衛生所の業績を紹介する家畜保健衛生業績発表会や、農林水産省が家畜保健衛生所の病性鑑定担当者を対象に、農研機構・動物衛生研究部門で開催する家畜衛生研修会などで、それぞれ紹介されている。本講演では、演者がこれらのレポートから情報収集できた最近の鳥の中毒事例について、原因、症状、診断法、予防法等について紹介したい。

種々の原因で鳥に中毒が発生するが、飼料製造における安全性管理が徹底してきたため、流通飼料（配合飼料）による家禽の中毒はほとんど発生していない。唯一散発しているのは、タンパク質源として使用される魚粉に起因する筋胃糜爛である。ある種の魚粉を多給すると、魚粉に含まれる毒性物質（ジゼロシン）によって胃液分泌が亢進し、筋胃に糜爛や潰瘍が誘発される。しかし、近年は魚粉の価格が高騰し、飼料への配合量が減少しているため、魚粉に起因する筋胃糜爛の発生は報告されていない。

農薬や動物用医薬品による中毒も発生しているが、いずれも飼養失宜によるものである。農薬では、土壌燻蒸剤のクロルピクリンやクマリン系殺そ剤による中毒が、動物用医薬品では、サルファ剤やイオノフォア抗生物質による中毒が発生している。

野鳥においては、鉛中毒と有機リン農薬等による農薬中毒が発生している。鉛中毒は釣り用の錘や鉛製の銃弾によるものが多く、農薬中毒は野鳥の駆除目的で違法に使われたと思われる農薬によるものが発生している。

これらの中毒の診断にあたっては、原因物質の検出・定量が重要であるが、死亡事例においては、病理所見も重要な手掛かりとなる。大量の毒物摂取により急死した場合は、特徴的な病変が観察されないこともあるが、原因となる毒物によっては、特徴的な病理所見が観察される。たとえば、クマリン系殺そ剤中毒では全身のびまん性の出血病変、サルファ剤中毒では骨髄の造血機能障害、鉛中毒では肝細胞や尿管上皮細胞における核内封入体が、それぞれ診断の重要な材料となる。

## SY2-3

## 犬の中毒症

代田 欣二

麻布大学 獣医学部

アメリカ動物虐待防止協会 ASPCA の Animal Poison Control Center (APCC) に 2002 年から 8 年間にわたり報告された動物の中毒症例を動物種別にみると、76% が犬の事例であり、続いて猫 (13%)、馬 (0.46%)、鳥類 (0.4%) となっており、伴侶動物、特に犬の中毒症例が圧倒的に多い。これは好奇心の強さと区別なく何でも食してしまう犬の習性によるところが大きい。同センターによると中毒の原因物質としては人体薬が多く (25%)、続いて農薬、殺鼠剤、食品、動物薬、洗剤等の家庭用品、植物、除草剤、不凍液や凍結防止剤等のアウトドア用品などが挙げられている。これらの中毒症の原因の内訳は、2002 年から 2012 年までの間に日本中毒情報センター (JPIC) に寄せられた動物病院からの犬の急性中毒症例に関する問い合わせの状況と類似している。多くの中毒症では、主に神経障害、肝障害、腎障害が問題になっているが、毒性物質に対する感受性やその物質に対する嗜好は犬と猫の間ですら異なっている。一般的な医薬品や化学物質の毒性やその発現機序についてはよく知られているが、伴侶動物の中毒症例の多くは獣医師によって適切に処置され、死に至るケースは少なく、剖検されて病理組織学的に検索される事例は稀である。このため、病理組織学的病変が報告されているものは少なく、中毒物質の同定や発症機序が不明なものもある。犬の中毒症で最もよく知られているのは不凍液や保冷剤に含まれるエチレングリコール (EG) の中毒である。臨床的には急性腎不全となるが、病変の主体は EG の代謝産物であるシュウ酸がシュウ酸カルシウムとなって尿細管内に沈着することにより生じる急性尿細管壊死である。また、見かけ上のタンパク質含量を上げるためメラミンを添加された原材料を使用し製造されたペットフードによるメラミンシアルネート中毒で、多数の犬に腎不全が引き起こされたことがよく知られている。これらの物質は人に対しても毒性があるが、日常的に我々人間が摂取している食品の中に犬に思わぬ毒性を示すものがある。これらの食品はキシリトール、チョコレート、ココア、茶、ブドウ (ブドウ、レーズン)、ネギ類、マカデミアナッツなどで、獣医臨床上注意すべき食品とされている。いずれも死に至るケースは少なく、必ずしも毒性機序が明らかにされているものばかりではない。また、日本での事例は少ないようであるが、米国ではタマゴテングダケやソテツといった有毒植物による中毒も報告がある。本講演では上記のような、我々の身近にある家庭用品、食品および特定の有毒植物による犬の中毒症例で特徴的組織病変が確認されているものを中心に解説する。

## SY2-4

## 動物の中毒学：猫の中毒症（ユリ中毒を中心として）

野村 耕二

マルピー・ライフテック株式会社

コンパニオンアニマルの中毒症に関する疫学情報は日本では殆どないが、欧米では日本における人の「中毒100番」に相当する機関<sup>1,2</sup>が存在し、そこから種々の情報を得る事が出来る。また、大学が中心となって中毒事例をまとめて解析した文献<sup>3,4,5</sup>も出され、成書<sup>6</sup>にも疫学情報がまとめられている。

そうした情報によるとコンパニオンアニマルの中毒の原因には、医薬品、殺虫剤、殺鼠剤、農薬、家庭用品、食品、植物、毒物などが挙げられている。種々の薬品や殺虫剤、毒物、家庭用品などの大部分は人にも毒性を発揮するため、日常十分な注意を持って取り扱われていると思うが、食品や植物の中には動物にのみ毒性を発揮する物があり、飼い主の不注意でそうした物と動物が接触して事故を起こす事がある。観賞用植物にも中毒を起こす物が多数あり、思いもよらない事故が起こる事がある。

APCCのHPには犬猫馬に毒性を示す植物として420種類が挙げられ、そのうち中毒の原因物質が解明されていない物が52種類、場合によって死の転帰をたどる物が74種類あるとされている。猫にしか毒性を示さないものが12種類あり、そのうち11種類の原因物質が不明で、いずれも死の転帰を取るとされている。この猫にのみ毒性を示し死に至らしめる物はユリ科の植物で、近年、日本でも「ユリ中毒」として知られるようになり、報告例が散見される。ユリ科の植物には人に毒性を示すものがあるが、それらは原因物質が配糖体である事が判明しており、症状は猫に発現する物と異なる。猫では尿細管壊死を特徴とする急性腎不全を起こし、迅速な治療を行わないと多くの例で死の転機を迎える。

今回のシンポジウムでは諸外国の情報を使った猫の中毒症に関する疫学と猫に特異的なユリ中毒に関してご紹介させて頂く。

- 1) ASPCA Animal Poison Control Center(APCC)  
(<http://aspcapro.org/animal-poison-control-center>)
- 2) VETERINARY POISONS INFORMATION SERVICE(VPIS)  
(<https://vpisglobal.com/>)
- 3) The Veterinary Journal 183 (2010) 255-259、doi:10.1016/j.tvjl.2009.03.034
- 4) J Vet Sci Med Diagn 2012, 1:2、doi:10.4172/2325-9590.1000104
- 5) J. Med. Toxicol. (2013) 9:207-211、DOI 10.1007/s13181-013-0289-8
- 6) VETERINARY TOXICOLOGY、ISBN: 978-0-12-385926-6

## SY3-1

## 腎臓病を知らせる microRNA –病態マーカーとしての可能性と問題点–

市居 修

北海道大学 大学院獣医学研究科

慢性腎臓病 (CKD) は 8 人に 1 人が患う国民病であり、獣医学領域でも CKD に罹患する伴侶動物が増えている。腎臓は再生しにくいため、早期診断は腎臓病コントロールの基本である。現在、血中・尿中マーカーが腎臓病診断に汎用されるが、更に感度・特異性の高い病態マーカーの開発は次世代の医療を実現する。演者らは、獣医学的視点から腎病理学的変化を捉え、ヒトおよび動物の医療への還元を目指している。具体的には“腎臓構成細胞の傷害を知らせる分子”を早期かつ非侵襲的に検出する方法を模索し、その候補分子として短鎖の核酸 (miRNA) に着目している。miRNA は標的 mRNA に結合し、その機能を抑制する。miRNA の配列は動物種間で高度に保存されており、“ヒトおよび動物双方の臨床・研究に有用な分子”という利点に着目した。本シンポジウムでは、疾患モデル動物および臨床検体から得たデータの一部を紹介する。

CKD モデルマウス (B6.MRLc1、BXSb 系統) を用い、網羅的に腎組織内の遺伝子発現を解析し、病態進行と共に尿細管間質および糸球体で変動する miRNA を同定した。特に miR-146a の腎臓内発現量は尿細管間質の炎症や線維化の進行と共に増加し、マクロファージの浸潤と強く相関した。miR-146a は NF  $\kappa$  B シグナル伝達分子 (IRAK1、TRAF6) を標的として、その負の制御に参加する。一方、糸球体病変関連 miRNA として miR-26a を同定した。miR-26a の糸球体内発現量は蛋白尿および糸球体の肥大、炎症や硬化の進行と共に減少し、特に足細胞機能関連分子 (Synaptopodin 等) の発現低下と相関した。足細胞培養系の結果から、miR-26a は足細胞の分化、機能および細胞骨格の制御を担うと考えられた。重要なことに、miR-26a の糸球体発現はヒト、ウシ、ウマ、ブタ、イヌ、ネコおよびニワトリでも保存されており、イヌの腎臓病個体ならびにヒトのループス腎炎および IgA 腎症患者の糸球体内 miR-26a 発現は各健常コントロールよりも低かった。

このように、組織解析と miRNA 発現解析から病態マーカー候補を選定することは可能である。では、どのように今後の医療に応用できるのだろうか？ 演者らは miRNA の特異的かつ非侵襲的な高感度検出法を模索しているが、その鍵の一つは“細胞外小胞”かもしれない。細胞外小胞の一つとして直径約 100 nm 程度の“exosome”が有名であり、尿などの様々な体液で検出され、その中には miRNA を含む。現在、動物臨床検体を中心に解析を進めており、上記の miR-26a はイヌの尿中 exosome 内に包含され、腎臓病個体では尿中 exosome 由来 miR-26a 量が低下していた。上述のように、尿中 exosome 由来 miR-26a は傷害を受けた糸球体に由来するとも考えられるが、その検出感度や特異性に課題を残す。今後、臨床検体の“組織内 miRNA と尿中 exosome 由来 miRNA”両方の精査が当該分野の更なる発展に寄与すると考えている。

## SY3-2

## カニクイザルにおける血漿中肝特異的 miRNA の解析

井口 拓馬

第一三共株式会社 安全性研究所

血中 microRNA (miRNA) は高い安定性と組織特異性を有し、新たなバイオマーカーとして注目されている。これまでヒトやげっ歯類では薬剤誘発性肝障害時に変動する miRNA が数種見出されているが、毒性試験で汎用される non-human primate であるカニクイザルにおける報告は無い。そこで本研究では、次世代シーケンサ (NGS: Next-Generation Sequencing) による miRNA-seq のデータからカニクイザル肝臓に特異的な miRNA を明らかにし、正常時の背景データの収集とともに薬剤誘発性カニクイザル肝障害モデルにおける血漿中肝特異的 miRNA の変動を評価した。

最初に、健常成熟カニクイザル (雌雄各 2 例) の主要 22 臓器 (心臓、肺、気管・気管支、胃、十二指腸、空回腸、結腸、直腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精巣、卵巣、子宮、皮膚、骨格筋、坐骨神経、眼球、及び大動脈) の NGS 解析により肝特異的 miRNA を探索した。これまで他種で肝障害バイオマーカーとして報告されている miR-122 及び miR-192 がカニクイザルにおいても肝臓に高い発現を示したが、miR-192 については消化管及び腎臓にも発現が認められた。次に、これら miRNA をバイオマーカーとして評価するための背景データとして、健常成熟カニクイザル (雌雄各 25 例) の血漿中レベルを RT-qPCR 法により解析した。両 miRNA に雌雄差は認められなかったが、miR-122 は miR-192 よりも大きな個体差 (CV 値として miR-122: 112%, miR-192: 67.4%) を示した。さらに、アセトアミノフェン及びグルタチオン枯渇剤併用投与による薬剤誘発性カニクイザル肝障害モデルを作製して、肝障害発症時の肝特異的 miRNA の挙動についても検討を加えた。これらの miRNA は既存のバイオマーカーである ALT と同様に肝障害時に増加し、その最大増加率は miRNA で高値を示した。

以上、本研究から、カニクイザルにおける肝特異的 miRNAs の特性を明らかにした。また、これら肝特異的 miRNA が肝障害の有用なマーカーであることを確認した。一方で、これら miRNAs は ALT と比較して個体差、障害時の増加率及び挙動の違いが認められており、これらを肝障害バイオマーカーとして毒性試験に活用するための課題も示唆された。

## SY3-3

## 精巣毒性と microRNA

福島 民雄

塩野義製薬株式会社 安全性研究部門

精巣毒性は医薬品や農薬などの化学物質によって惹起され、特に医薬品開発においては開発中止を余儀なくされる場合もある毒性の一つである。精巣では主にホルモン産生や精子形成が行われており、これらは厳密なエピジェネティック制御を受けている。近年、エピジェネティック制御に重要な役割を果たすと考えられる非翻訳型 RNA が発見され、精子形成においては、特定の種の microRNA (miRNA) や精巣特異的に発現する piRNA が重要であると報告されてきた。本研究では化学物質における精巣毒性発現に寄与する miRNA を特定し、毒性発現への関与と毒性バイオマーカーとしての応用について検討した。まず、精巣毒性を惹起するエチレングリコールモノメチルエーテル (EGME) 2000 mg/kg を雄ラットに単回経口投与し、投与後 6 及び 24 時間の精巣における病理組織学的変化と miRNA 発現の変化を miRNA マイクロアレイ及び定量 PCR 法にて解析した。投与後 6 時間以降に精母細胞消失、核濃縮、崩壊がみられ、投与 24 時間後にはセルトリ細胞空胞化も併せて認められた。miRNA マイクロアレイ解析および定量 PCR の結果、6 時間後に miR-760-5p の増加、24 時間後に miR-134、miR-320 及び miR-188-5p の増加、miR-92a と miR-449a の減少がみられた。次に、EGME 100 mg/kg/day で雄ラットに 1、7 及び 14 日間反復経口投与し、これらの miRNA の発現への影響を精査したところ、病理組織学的変化が顕著であった投与 7 日目を以降に、miR-134、miR-188-5p 及び miR-320 の発現量の増加がみられたが、miR-92a 及び miR-449a については変化がなかった。さらに、精巣毒性を惹起するジニトロベンゼン (DB)、ヘキサンジオン (HD) 及びシクロホスファミド (CP) の毒性用量を雄ラットに単回投与し、投与 24 時間後の精巣におけるこれらの miRNA 発現量を調べたところ、DB 及び HD 群では、miR-134 及び miR-320 の顕著な減少がみられ、CP 群では変化が認められなかった。EGME 投与群では miR-134、miR-188-5p 及び miR-320 発現量は、単回及び反復投与ともに病理変化と並行して増加していたが、DB 及び HD 群では逆に発現量が減少しており、反応性は全く異なっていた。EGME は主に精母細胞に障害を与え、DB 及び HD 群はセルトリ細胞に、CP は精祖細胞に影響するといわれており、miRNA 発現量の変化の違いは、こういったターゲット細胞の差異が影響している可能性が示唆された。したがって、これらの miRNA は、反応性は異なるが、精巣毒性のバイオマーカーとしての応用ができる可能性が示唆された。



## SY3-4

## トリメチルスズ誘発神経毒性ラットモデルにおける血清 miRNA バイオマーカー探索

緒方 敬子<sup>1,2</sup>、○武田 周二<sup>1</sup>、串田 昌彦<sup>1</sup>、桑村 充<sup>2</sup>、井澤 武史<sup>2</sup>、山手 丈至<sup>2</sup><sup>1</sup>住友化学株式会社 生物環境科学研究所<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

神経系は、生命維持、言語、運動機能など生体にとって重要な役割を担うが、再生能力の低い組織であることから、神経組織の障害が生体に与える影響は甚大である。近年、化学物質による健康影響に対する人々の関心が高まるにつれ、化学物質の安全性評価の重要性は高まっている。安全性評価において、化学物質の神経組織に対する影響は重篤な毒性とみなされ、種々の神経毒性試験が要求されている。化学物質の開発上、神経毒性の発現は、安全性評価上の大きな課題となることより、開発の早期に、神経毒性を見極めることが重要となるが、現状、定型的な安全性試験において、神経毒性を検出できる手段は神経症状観察や病理学的検査に限られている。そこで、神経毒性を評価する有用な手段、例えばバイオマーカーなどの開発が望まれる。

近年、non-coding RNA の一種であるマイクロ RNA (miRNA) が、その組織特異的発現および体液中における高い安定性より、バイオマーカーとして注目されている。神経系においては、神経疾患・神経損傷の体液バイオマーカーとしての報告も増えつつある。また、miRNA が神経毒性の発現にも関与することが報告されているが、毒性発現機序や病理学的変化との関連など、未だ不明な点が多い。そこで、本研究では、神経細胞体を標的とするトリメチルスズ (TMT) により誘発した神経障害ラットモデルを用いて、血清中 miRNA バイオマーカーの探索を行うと同時に、神経症状や病理組織変化との関連を調べた。また、神経病変に関わる miRNA 変動を調べるために、脳組織中 miRNA の網羅的発現解析を行った。その結果、TMT (0, 6, 9, 12 mg/kg) を単回強制経口投与したラットにおいて、振戦や過敏などの神経症状の発現に加え、海馬を中心として、神経細胞死およびグリア細胞反応の発現が用量依存的に認められた。また、海馬における神経細胞死の発現のピークと一致して、神経組織に高発現することが知られる miR-9\* および miR-384-5p の血清中の発現が上昇した。これら 2 種の miRNA は、傷害を受けた脳から逸脱した可能性が考えられ、TMT 誘発神経細胞死の血清中バイオマーカーになり得ると考えられた。さらに、海馬組織において、シナプスの形態や機能などを制御するとされている miR-132 および神経保護作用などに関連するとされている miR-21 の発現上昇傾向を明らかにし、TMT 誘発神経病変との関わりが示唆された。

## SY4-1

## 多色細胞系譜追跡法による幹細胞、癌研究

上野 博夫

関西医科大学 病理学第一講座

成体組織特異的幹細胞研究は、再生医療への応用だけでなく、生体内においてがん化、老化、障害再生等の重要な生命現象の鍵となる機能を担っており、そうした現象のメカニズム解明のためにも、極めて重要である。しかしながら、成体組織特異的幹細胞の内、解析が進んでいるものは骨髄内造血幹細胞、腸上皮幹細胞、皮膚幹細胞、神経幹細胞、精巣生殖幹細胞など比較的細胞代謝の早い一部に過ぎない。一方細胞代謝の遅い臓器など、解析の難しさからこれまで組織幹細胞の同定そのものがなされていない臓器や解析が進んでおらず幹細胞の性質がよくわかっていない臓器は多く存在している。しかしそうした解析が進んでいない臓器、組織の中にも悪性腫瘍の頻度等から重要なものは多く残されており、近年一部のがんの分子標的療法など先端治療が開発される状況において、治療可能な悪性腫瘍のレパトリーを増やして行くためにも、各組織における成体幹細胞の同定と機能解析、遺伝子発現プロファイルの解析などの重要性が改めて注目されているところである。

演者は2006年以降テトラキメラ法、レインボーマウスといった多色細胞系譜追跡法を開発して幹細胞の発生および成体における維持機構、がん化機構について解析を行ってきた。こうした多色細胞系譜追跡法の大きな利点の一つは幹細胞の存在だけでなく、幹細胞のクローナリティを *in vivo*、*in situ* にて容易に視覚化できる点にある。さらにオルガノイド培養などを組み合わせれば *in vitro* にて、また組織によっては生体外より直接 *time lapse imaging* にて幹細胞の動態解析が可能である。演者はこうした方法論を用いて各種成体組織幹細胞の維持機構、がん化におけるその破綻について解析を加えて来た。また、これらの方法にて新しい成体幹細胞の同定にも成功している。本講演にては演者の研究室で同定された舌上皮幹細胞をモデルとして取り上げ、これら新しい研究の流れと現状について紹介したい。

## SY4-2

## 乳癌・肺癌における癌幹細胞

後藤 典子

金沢大学 がん進展制御研究所

がんにも幹細胞に似た性質をもつ細胞が存在し、これがリザーバーのようにがん組織全体を作り出しているのではないかとする「がん幹細胞説」が唱えられてから15年以上がたった。当初は白血病など造血系の腫瘍においてがん幹細胞説が提唱された。その後世界中で活発な研究が行われた結果、現在では乳がんや肺がんなどの固形がん組織も、がん幹細胞様の細胞と、その娘細胞が分化増殖したがん細胞からなる不均一な細胞集団からなることが、広く受け入れつつある。正常の組織の構築が、組織幹細胞とそれが分化増殖した細胞によって成り立っていることは今やよく知られた事実であるが、がん組織といえどもそのような性質をある程度保っているのは、ごく自然なことともいえる。従来型の抗がん剤や放射線治療は、増殖の早いがん細胞を標的として開発されてきた。一方、がん幹細胞の増殖はそれほど早くない上に、様々なストレスに抵抗性であることもわかってきた。そのためがん幹細胞は、従来型の抗がん剤や放射線治療の標的にはなりにくい。がん幹細胞は治療後も組織内に残存し、再発の温床になるとも考えられている。現在世界中の研究者によって、がん幹細胞がどのように維持されるのか、正常では組織幹細胞を支持する微小環境であるニッチが、がんになるとどのように変容しているのか、研究が進行中である。

私どもは、がん組織内ニッチの構成成分であるがん細胞内で、増殖因子のシグナルが活性化することに注目して解析した結果、多くのサイトカイン、ケモカインなどの細胞外因子が、ニッチとがん幹細胞の相互作用を介し、がん幹細胞の維持のために働いていることを明らかにしてきた。これら分子標的候補の proof-of-concept 取得のために、私たちはヒト乳がん組織やその初代培養細胞を免疫不全マウスに移植する Patient-derived xenograft(PDX) モデルを作製し、活用している。私どもは、NFκB、IGF、GDF15、beta-catenin、セマフォリン、MTHFD2 などが鍵分子として働き、オートクライン・パラクライン、未分化性の維持、がん幹細胞の対称性分裂の維持、さらにはがん幹細胞の代謝など、様々なメカニズムによって、がん幹細胞が維持されていることを見出した。がん幹細胞は、これらの「がん幹細胞性維持シグナル」を巧みに操って、生体内に棲みついていると考えられる。この「がん幹細胞性維持シグナル」を断ち切ることができれば、がんによる死亡率を低下させることに大きく貢献できる可能性がある。

## SY4-3

## エピゲノム異常を標的とした膠芽腫治療法の開発

近藤 豊

名古屋市立大学 大学院医学研究科 遺伝子制御学

膠芽腫は、悪性脳腫瘍のうち最も高頻度に見られる極めて予後不良な腫瘍である。浸潤性が強く化学療法や放射線治療が併用されるが必ずしも治療効果は高くない。そのため膠芽腫に対する新たな有効な治療法の開発は急務であり、腫瘍細胞の維持に特異的で必須な分子・パスウェイを解明する必要がある。膠芽腫の腫瘍内には複数の異なった性質をもつがん細胞が存在し、治療を困難にしている。発がんの初期にはがん細胞はモノクローナルな細胞集団である。しかし、がんが増殖・進展していく過程で、細胞外シグナルにより個々の細胞のエピゲノムが変化し、様々な細胞集団が形成される（がんの組織不均一性）。我々は、膠芽腫から自己複製能と分化能を有した細胞集団（がん幹細胞）を樹立し、その臨床的意義を解析してきた。その過程で膠芽腫の組織多様性形成にはがん幹細胞のエピゲノム制御が重要であることが分かった。特に長鎖非翻訳RNA（lncRNA）のひとつである TUG1 が、EZH2 など複数のエピゲノム関連蛋白の“結合の場”となりがん細胞の幹細胞性維持に重要であることを見出した。さらに TUG1 に対する“アンチセンス DNA”を、脳腫瘍特異的ドラッグデリバリーシステム（DDS）と組み合わせ経静脈的に投与した結果、膠芽腫に顕著な抗腫瘍効果を示すことを発見した。がん細胞の可塑性を担うエピジェネティクス制御機構を標的とした治療薬の開発により、膠芽腫治療戦略の新しい展開が期待できると考える。

## SY4-4

## 難治性前立腺癌に対する遺伝子発現プロファイルを標的とした新規治療戦略

小坂 威雄、前田 高宏、長田 浩彦、吉峰 俊輔、篠島 利明、宮嶋 哲、大家 基嗣

慶應義塾大学 医学部 泌尿器科学教室

去勢抵抗性前立腺癌（CRPC）の難治性を打開するために、我々は、発生学的手法を用いて発想の転換を図り、新規薬剤スクリーニング実験系の確立と新たな既存薬の同定を試みた。一般的に創薬スクリーニングにおいては新規分子標的を主役とすることが多いが、我々は、CRPCにおけるがん幹細胞性・治療耐性への進展プロセスと体細胞からの多能性幹細胞性獲得プロセス（iPS細胞誘導）に類似性を見出したことを契機として、難治性との関連が報告されているがん幹細胞性や抗がん剤耐性機構を内包する細胞実験系を新規薬剤アッセイ系の主役とした。その際に遺伝子ネットワークに着目し、既存のヒト臨床上使用可能な化合物ライブラリーとバイオインフォマティクスを融合することで、内包する薬剤抵抗性遺伝子プロファイルを、薬剤感受性プロファイルに変換・再プログラム化できないかという概念的な方法論を着想した。

今回は、幹細胞マーカーからOCT4に着目し、ヒト前立腺癌細胞株を対象として、OCT4の内因性の発現に基づいたヒト多能性幹細胞選択システムを応用して、OCT4の発現が高い細胞群を分離し、分離前の細胞群と、ドセタキセル（DOC）の感受性、ヌードマウス皮下接種によるがん原性を比較した。OCT4の発現が高い群は、選択前の細胞群に比較して *in vitro*, *in vivo* においてDOCに対する感受性が有意に低下しており（抗がん剤耐性化）、少量の細胞数でヌードマウスの皮下腫瘍を形成して（高いがん原性）おり、有用な細胞実験系を提供するものと考えられた。マイクロアレイによる遺伝子発現の変化から再プログラム化候補薬剤をBioinformaticsで解析、選択し、*in silico*でスクリーニングしたところ、候補薬剤として、数種類同定され、それらを *in vitro*, *in vivo* で検定したところ有意に抗腫瘍効果を発揮する薬剤の同定に至った。

既存薬であったことから、迅速にヒト臨床応用への展開が可能と考え、大学の倫理委員会承認の下で、ヒト臨床試験を計画、施行し、一部の症例において有効性を認めた。非臨床POC（概念実証）を裏づける臨床データが得られたと考えられ、AMEDの支援の下で、現在、薬事申請を目指した、医師主導治験を計画し、開始している。ドセタキセル抵抗性前立腺癌に対する新規治療戦略としての可能性を提供するものと考えている。



# ポスター要旨

---

**PA-01 ~ PA-27**

**PB-28 ~ PB-54**

**PC-55 ~ PC-83**





## PA-01\*

## ヘキサクロロフェンのマウス発達期曝露による海馬歯状回 GABA 性介在ニューロンのエピゲノム遺伝子発現制御の変化

○渡邊 洋祐<sup>1,2)</sup>, 阿部 一<sup>1,2)</sup>, 大塚 (出田) まき<sup>3)</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 先端生命科学研究センター

【背景及び目的】我々は、ヒトの脱髄誘発物質であるヘキサクロロフェン (HCP) のマウス発達期曝露により、曝露終了時である生後 21 日目 (PND 21) の児動物の海馬で可逆的なニューロン新生障害の誘発性を報告した。本研究では、HCP 誘発ニューロン新生障害へのエピゲノム遺伝子発現修飾の関与について検討した。

【方法】雌性マウスに妊娠 6 日目から PND 21 まで HCP を 0、100 ppm の濃度で混餌投与し、PND 21 と PND 77 の児動物の脳を採材した。海馬歯状回におけるメチル化次世代シーケンス解析により遺伝子プロモーター領域の過メチル化遺伝子を選別後、リアルタイム RT-PCR 法により遺伝子発現の下方制御を受ける遺伝子を選出し、パイロシーケンス法により過メチル化の検証解析を実施した。更に、それらの遺伝子産物の海馬における発現分布を免疫組織化学的に解析し、GABA 性介在ニューロン指標の GAD67 との共発現を連続ミラー切片を用いて検討した。PND 77 での可逆性の有無も検討した。

【結果】次世代シーケンス解析により 19 遺伝子を過メチル化遺伝子として見出し、このうち 10 遺伝子で mRNA の発現減少を確認した。さらに、パイロシーケンス法により、形態形成に関わる homeobox 遺伝子 *Dlx4*、雄性性分化に関わる転写因子をコードする *Dmrt1*、ホスホリパーゼ C 構成遺伝子の *Plcb4* においてプロモーター領域の過メチル化を確認した。免疫組織化学的解析により歯状回門におけるこれら遺伝子産物の陽性細胞数の減少を認め、一部の陽性細胞で GAD67 との共発現を確認した。いずれの変化も PND 77 には回復した。

【考察】HCP のマウス発達期曝露により海馬ニューロン新生部位で GABA 性介在ニューロンに発現する遺伝子に可逆的な過メチル化と下方制御を認め、ニューロン新生制御系がエピゲノム発現制御の破綻を示す可能性が見出された。

## PA-02\*

PS2APP マウス (アルツハイマー病モデルマウス) における早期アミロイド  $\beta$  の沈着および海馬未熟ニューロンに関する病理組織学的解析

○村瀬 詩織, 中谷 (パブラック) 晶子, 村澤 寛泰, 小林 洋之, 今井 順, 金原 智美, 伊藤 格, 木村 均

(株) 日本バイオリサーチセンター

【背景】アミロイド前駆体タンパク質 (APP) 変異を有する Tg2576 (K670N/M671L) マウス (APP マウス) は、アミロイド  $\beta$  の蓄積がみられるアルツハイマー病モデルとして広く利用されているが、蓄積がみられるまで 12 か月齢以上の飼育が必要とされている。

【目的】家族性 AD 変異を導入した Presenillin (PS) 2 マウスと Tg2576 を交配させたダブルトランスジェニックマウス (PS2APP マウス) を作製し、5~6 ヶ月齢における学習能の変化を評価した。その後脳内アミロイド沈着および海馬における未熟ニューロン数の変化について病理組織学的に解析した。

【方法】5~6 ヶ月齢の雌雄 wild type、PS2、APP 及び PS2APP マウスについて学習能を行動学的に評価した。脳を 4%PFA を用いて灌流後摘出し、海馬付近を切り出した後、パラフィン切片を作製した。免疫染色によりアミロイド  $\beta$  を染色し、海馬、大脳皮質、視床におけるアミロイド斑をカウントした。また海馬におけるダブルコルチン陽性細胞数を調べた。

【結果】Wild type、PS2、APP マウスと比較して PS2APP マウスは、学習障害が認められ、海馬および大脳皮質を中心にアミロイド  $\beta$  の沈着が認められた。また PS2APP マウスでは wild type と比較して海馬におけるダブルコルチン陽性細胞数が有意に増加していた。

【結論】PS2APP マウスは、APP マウスと比較して早期 (5~6 ヶ月齢) に学習障害の発現、アミロイド沈着を示した。また海馬においてダブルコルチン陽性細胞数が増加していたことから、未熟ニューロンの増加が示唆された。

## PA-03\*

## ビーグル犬に発生した大脳における孔脳症の1例についての病理組織学的検討

○吉田 翔太, 二宮 美生子, 田中 英樹, 蟹江 尚平, 鈴木 智, 森田 文雄, 箱井 加津男

大鵬薬品工業(株) 研究本部(徳島エリア)

【背景】孔脳症はヒトやその他の動物で報告がある比較的稀な先天性形態異常であり、感染性、偶発性又は薬剤誘発性に発生するとされている。イヌでの発生については獣医臨床領域における報告が少数あるのみで、実験動物領域において病理組織学的な検討を行った報告はほとんどない。今回、毒性試験に供された媒体対照群の1例にて孔脳症を認めたため、病理組織学的な検討結果について報告する。【材料と方法】5 mg/mL ヒプロメロースを2週間強制経口投与した11ヵ月齢の雄性ビーグル犬の大脳について、肉眼的観察、重量測定、HE染色、特殊染色(ベルリン青染色、シュモール反応等)、免疫染色(GFAP, Iba1等)を実施した。【結果】大脳の右前頭葉において陥凹(10×8 mm)が認められ、陥凹周囲の脳実質は肉眼的に正常部位と同様であった。また、陥凹直上の頭蓋骨脳側表面に骨と連続する隆起が認められた。大脳重量に変化は認められなかった。HE染色標本では、クモ膜下腔から連続する空洞が主として大脳白質領域に形成され、深部は側脳室付近に達していた。空洞周囲の脳実質(大脳白質成分)の一部でグリオーシスが認められた。同部位では軽度の出血や褐色色素貪食マクロファージも認められた。現在、この標本の特殊染色及び免疫染色を実施しており、こちらの検討結果についても合わせて報告する。

## PA-04\*

## ラット胎児および哺育児の発達期における正常な甲状腺組織像の病理組織学的評価に関する基礎検討:(第2報)

○吉田 しおり, 吉光 仁美, 長井 寛明, 天沼 利宏

日本農業株式会社 総合研究所 安全性・医薬ユニット 毒性・薬理グループ

【目的】我々は、Crl:CDラットの胎児および児の甲状腺に及ぼす化学物質の毒性評価に際して基礎となる正常な甲状腺組織の発育と機能の発達の詳細を検討し、HE染色による組織構築の検査とThyroglobulin (Tg) およびThyroxine (T<sub>4</sub>) の免疫組織化学的手法を組み合わせる方法の有用性を昨年の本集会で紹介した。今回、甲状腺の発育のマーカーとして新たにThyroid Peroxidase (TPO) とTgの発現の調節に関わる転写因子Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1)に注目し検討を加えた。【材料と方法】妊娠(GD)15、18、20日の胎児、ならびに哺育(LD)0、2、4、10、21日の児動物から甲状腺を採取し、HE染色による形態観察に加え、免疫組織化学的にTTF-1、TPO、Tg、T<sub>4</sub>の存在を調べた。【結果】TTF-1は、GD15から濾胞上皮細胞およびC細胞の核に発現し、TPOはGD18以降、濾胞上皮細胞の濾胞腔側の細胞膜に認められた。TgおよびT<sub>4</sub>は、前回の報告と同様、GD18から濾胞上皮細胞に認められ、コロイド蓄積が始まるLD0以降は濾胞腔内にも出現した。これらの結果は、TPOの産生に先駆けてその転写調節因子TTF-1が発現することを示しており、その後ホルモン合成が開始され、やがて蓄積へと繋がる過程が明確に捉えられている。【結論】今回の結果は、特徴的な甲状腺組織の発育とこれらマーカーの免疫組織化学的染色で示される一連の機能の発現・発達が発育ステージに応じて調和しながら進むことを捉えている。この基礎的知見は、今後胎児期から新生児期のラット甲状腺組織において化学物質の影響を正しく評価するための拠り所となるものである。

## PA-05\*

## フェレットの副腎嚢胞に関する免疫組織学的検討

○畝山 瑞穂<sup>1)</sup>, チェンバーズ ジェームズ<sup>1)</sup>, 三輪 恭嗣<sup>2)</sup>, 内田 和幸<sup>1)</sup>, 中山 裕之<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学 獣医病理学研究室, <sup>2)</sup> みわエキゾチック動物病院

【背景・目的】近年フェレットは実験動物として多用されるようになった。フェレットには副腎疾患が高率で発生することが知られているが、副腎の嚢胞性病変に関する報告は少なく、その由来組織や病態については不明な点が多い。本研究では、フェレットの副腎に発生した嚢胞について免疫組織学的に解析し、由来組織について検討した。

【材料と方法】副腎に嚢胞を認めたフェレット10例（雄：6例、雌：4例、年齢：2-7歳、右副腎：7例、左副腎：2例、左右副腎：1例）について、組織学および免疫組織学的に検索した。

【結果と考察】8例（右副腎：6例、左副腎：1例、左右副腎：1例）では、副腎皮質において立方形から扁平な上皮細胞で内貼りされる嚢胞を複数認めた。同細胞はサイトケラチン(CK)7およびCK19の一方もしくは両方に陽性であった。そのうち4例（右副腎：4例）では嚢胞周囲にCK7とCK20が陽性、CK19陰性の小型腺管を認めたが、これは胆管上皮や肝オーバル細胞と類似する染色結果であった。残り2例（右副腎：1例、左副腎：1例）では嚢胞壁を内貼りする細胞は認められず、嚢胞周囲にリンパ管の拡張を認めた。これらの症例では、嚢胞壁の内腔側に存在する結合組織がGFAP陽性で、synaptophysin陽性の細胞も嚢胞壁に散在性に認められたことから、これらは副腎髄質に形成された嚢胞と考えられた。以上の結果から、フェレットの副腎嚢胞は、皮質に由来するものと髄質に由来するものに大別されたが、性別や年齢との関連性は認められなかった。皮質由来の嚢胞については、右側に好発したことおよび免疫組織学的特徴から、肝胆道系の遺残組織等に由来する可能性を示唆する報告がある。また、髄質由来の嚢胞は、その組織像からリンパ管拡張との関連が示唆された。

## PA-06\*

## ビーグル犬の好酸性細胞集簇巣の出現を伴うリンパ球性甲状腺炎の1例

○鈴木 勇, 山口 裕子, 斎藤 翼, 山川 誠己, 枝元 洋, 岡野 拓, 星谷 達

(株) ポゾリサーチセンター 病理部

【背景と目的】イヌのリンパ球性甲状腺炎は自然発生的に認められる。また、実験的には、異種のThyroglobulinにて免疫付与することで惹起されることが知られている。今回、好酸性の細胞質を有する細胞の集簇巣を伴うリンパ球性甲状腺炎の症例に遭遇したため、その詳細を検索した。

【材料と方法】本症例は、所有動物として飼育していた4歳齢の雄TOYO Beagleである。剖検時、甲状腺に肉眼的な異常は認められなかった。甲状腺の病理組織学的検索、ならびに免疫組織化学的検索を実施した。

【結果】剖検日の1年前より総コレステロールの高値が継続して観察された。甲状腺は両側とも同様の組織形態を示していた。間質では、び漫性にリンパ球及び形質細胞の顕著な浸潤が観察された。実質では、正常な甲状腺濾胞構造は殆ど観察されず、数個の濾胞構造が残存していた。さらに、好酸性の細胞質を有する細胞から構成される胞巣状の集簇巣が多数観察され、病理組織学的、及び免疫組織化学的検索により、2種類の集簇巣に分類された。(1) 好酸性細胞質内に数個の空胞を有し、抗Thyroglobulin抗体に陽性を示す円形～類円形細胞により構成される集簇巣が観察された。この細胞は濾胞上皮細胞由来と考えられ、正常の濾胞上皮細胞と比較してThyroglobulinに、より強い陽性を示した。(2) 弱好酸性の細胞質と円形核を有し、Calcitoninに陽性を示す非常に大型の、C細胞由来と考えられる円形細胞から構成される集簇巣が認められた。

【考察】本症例は、上記血液生化学検査の結果と、正常な濾胞構造を欠く組織像から、慢性かつ重度のリンパ球性甲状腺炎であると推察された。

## PA-07

メタクリル酸=2,3-エポキシプロピルの104週間吸入暴露によるラットとマウスの鼻腔発がん  
と病理組織学的特徴

○妹尾 英樹<sup>1)</sup>, 高信 健司<sup>1)</sup>, 片桐 卓<sup>1)</sup>, 梅田 ゆみ<sup>1)</sup>, 相磯 成敏<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>1,2)</sup>, 菅野 純<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> (独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター, <sup>2)</sup> (社) 化学物質安全性評価研究推進機構

【背景】メタクリル酸=2,3-エポキシプロピル(メタクリル酸グリシジル:GMA)は無色透明の液体であり、塗料、接着剤、安定剤、イオン交換樹脂、帯電防止剤等に広く用いられている。今回、GMAのラットとマウスに対する長期吸入暴露試験で認められた鼻腔腫瘍について報告する。

【材料・方法】試験には、雌雄各50匹/群のF344ラット(6週齢)及びB6D2F1マウス(6週齢)を用い、ラットには雌雄ともに0(対照群)、3.2、8及び20ppm、マウスには雌雄ともに0(対照群)、0.6、2.5及び10ppmの濃度で1日6時間、週5日間、104週間の全身吸入暴露を行った。

【結果】病理組織学的に、ラットの鼻腔では、雌雄に扁平上皮癌と腺腫ならびに雄に鼻腔神経上皮腫の有意な増加がみられた。また、雌雄に腺扁平上皮癌、雄に扁平上皮乳頭腫と腺癌、雌に鼻腔神経上皮腫と血管肉腫の発生もみられた。その他の臓器には、雄で腹膜中皮腫、皮膚の基底細胞腫および皮下の線維腫、雌では乳腺の線維腺腫と子宮内膜間質肉腫の有意な発生増加がみられた。マウスの鼻腔では、雌雄に血管肉腫と血管腫ならびに雄に腺腫の有意な増加がみられた。また、雌では腺癌の発生もみられた。その他の臓器では、雌に肺の細気管支-肺胞上皮癌と子宮の組織球性肉腫の有意な発生増加がみられた。

【結論】GMAはラット・マウスともに、鼻腔腫瘍の発生増加が雌雄に認められたが、発生した腫瘍はラットでは上皮由来、マウスでは血管内皮由来のものが主体であった。(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)

## PA-08

## アクロレインの104週間吸入暴露によるラットとマウスの鼻腔における発がん性

○片桐 卓<sup>1)</sup>, 高信 健司<sup>1)</sup>, 妹尾 英樹<sup>1)</sup>, 梅田 ゆみ<sup>1)</sup>, 相磯 成敏<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>2)</sup>, 菅野 純<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター, <sup>2)</sup> (社) 化学物質安全性評価研究推進機構

【背景】アクロレインは刺激臭を持つ無色から黄色の液体であり、メチオニン、グルタルアルデヒドの合成原料の中間体として用いられる。

【材料・方法】雌雄各50匹/群のF344ラット(6週齢)及びB6D2F1マウス(6週齢)を用い、ラットには雌雄ともに0(対照群)、0.1、0.5及び2ppm、マウスには雌雄ともに0(対照群)、0.1、0.4及び1.6ppmの濃度で1日6時間、週5日間、104週間の全身吸入暴露を行った。

【結果】ラット雌の生存率が2ppm群で投与期間の終盤に低下したが、ラット雄、マウス雌雄とも一般状態、生存率に被験物質の暴露による影響はみられなかった。なお、マウスでは雌雄とも腎臓病変とアミロイドの沈着による死亡の増加により、対照群を含む全ての群で生存率が低下し、雄は93週、雌は99週で解剖した。病理組織学的検査の結果、ラットでは雌雄とも、鼻腔に腫瘍の発生が認められた。扁平上皮癌の発生が2ppm群で雄1匹、雌2匹に、さらに雌では鼻腔に横紋筋腫の発生が2ppm群で4匹に認められ、扁平上皮癌と横紋筋腫を合わせると2ppm群で6匹に腫瘍が認められた。マウスでは1.6ppm群の鼻腔に腺腫の発生が雄1匹、雌16匹に認められた。その他の臓器にはラット、マウスともアクロレインによる腫瘍発生の増加は認められなかった。

【結論】アクロレインは雌雄ラットの鼻腔に扁平上皮癌の発生、雌ラットに横紋筋腫、雌マウスの鼻腔に腺腫の発生増加が認められた。これらの腫瘍の発生は雌雄ラット及び雌マウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。(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。)

## PA-09

## MWNT-7 吸入暴露したラットの末梢気道並びに肺胞に於ける上皮の挙動

○相磯 成敏, 梅田 ゆみ, 妹尾 英樹, 高信 健司, 片桐 卓, 福島 昭治, 菅野 純

(独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター

【背景】多層カーボンナノチューブ (MWNT-7) のラットへの長期吸入暴露は肺癌の他、細気管支-肺胞上皮過形成、異型過形成、肺胞上皮過形成を誘発し、これらの病変では2型肺胞上皮細胞のマーカーに陽性反応が認められた。今回、短期吸入暴露実験で肺内に吸入された MWNT-7 に対する末梢気道並びに肺胞の上皮の挙動を報告する。

【方法】雄 F344/DuCrIj ラット、6 週齢に、MWNT-7 を 0 及び 2 mg/m<sup>3</sup> の濃度で 3 日間、1 週間、2 週間及び 4 週間暴露し、5 匹ずつを暴露直後に、5 匹を回復群として実験開始から 3 か月後に安楽死させ、肺を採取して病理組織学的検索を行った。免疫染色には CD68 (マクロファージ)、CC10 (クララ細胞)、SP-C (2 型肺胞上皮細胞)、E-カドヘリン (細胞接着分子)、TTF-1 (線毛細胞、クララ細胞、2 型肺胞上皮細胞) を行った。

【結果】MWNT-7 の暴露 3 日から終末細気管支上皮や肺胞上皮の増生を認めた。これらの上皮の増生は、気道終末部と肺胞管周囲に存在する MWNT-7 ないし MWNT-7 貪食マクロファージを入れた肺胞でみられ、MWNT-7 や MENT-7 貪食マクロファージを囲むように増殖していた。この変化は暴露期間が延長するに従い顕著となり、4 週暴露動物の肺胞では肺胞内で TTF-1 陽性と陰性の細胞が MWNT-7 や MENT-7 貪食マクロファージを巻き込んでいた。限局性線維化と肉芽腫様変化病変はこれらの部位に好発した。

【考察・まとめ】MWNT-7 吸入暴露したラットの肺で認められた上皮の増生は MWNT-7 や MENT-7 貪食したフラストレーティドマクロファージに反応した変化と考えられた。

## PA-10

## 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の 104 週間吸入暴露により誘発されたラットの肺癌と過形成病変

○梅田 ゆみ<sup>1)</sup>, 高信 健司<sup>1)</sup>, 片桐 卓<sup>1)</sup>, 妹尾 英樹<sup>1)</sup>, 相磯 成敏<sup>1)</sup>, 福島 昭治<sup>1,2)</sup>, 菅野 純<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>(独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター, <sup>2)</sup>(社) 化学物質安全性評価研究推進機構

【はじめに】我々は、MWCNT の吸入暴露によるがん原性試験により肺癌が発生することを報告した。今回は肺癌と過形成病変について形態的特徴と免疫組織化学的検索結果から腫瘍との関連を検討した。【方法】MWNT-7 (保土谷化学工業 (株)) を全身吸入暴露装置を用いて、雌雄の F344/DuCrIj ラットに 0 (対照群)、0.02、0.2 及び 2 mg/m<sup>3</sup> の濃度で、1 日 6 時間、週 5 日間、104 週間暴露した。暴露によりみられた肺癌や過形成病変について、HE 染色による形態学的検索と肺胞上皮サーファクタント蛋白質 C (SP-C) ならびにクララ細胞分泌蛋白 (CC10) 発現に関する免疫組織化学的検索を実施した。

【結果】MWNT-7 の吸入暴露により、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、分化の程度が高い腫瘍細胞において SP-C 陽性を示した。過形成病変として、気管支上皮過形成、肺胞上皮過形成、細気管支-肺胞上皮過形成、異型過形成が MWCNT 暴露により増加した。気管支上皮過形成は線毛を有する立方から円柱状の細胞が細気管支から肺胞に向かって増殖しており、肺胞上皮過形成は肺胞領域において立方状の細胞が増殖した病変であった。細気管支-肺胞上皮過形成は細気管支の終末から肺胞にかけて認められ、異型過形成は線維化を伴う特徴がみられた。免疫組織化学染色の結果、肺胞上皮過形成、細気管支-肺胞上皮過形成、異型過形成は SP-C 陽性であり、気管支上皮過形成は陰性であった。また、CC10 は何れの病変にも陰性であった。

【結論】細気管支-肺胞上皮癌は主に 2 型肺胞上皮由来の腫瘍と考えられ、肺胞上皮過形成、細気管支-肺胞上皮過形成、異型過形成は腫瘍発生に関連する病変であることが示唆された。(本試験は厚生労働省の委託により実施)

## PA-11

## シクロフォスファミドのマイクロミニピッグにおける4週間反復投与による毒性検討

○赤根 弘敏, 江田 景, 奥田 須美子, 楫野 恵美子, 小関 由妃子, 國枝 正幹, 清水 茂一, 市川 敦子, 小松 弘幸, 秋江 靖樹

シミックファーマサイエンス株式会社

【目的】シクロフォスファミドのヒトへの毒性としては、骨髄抑制、精子形成障害、出血性膀胱炎、肝障害及び腎障害などが報告されている。本研究ではマイクロミニピッグを用いて4週間反復投与を行い、毒性変化をヒトと比較した。

【方法】6～10か月齢、雄マイクロミニピッグ各群3匹にシクロフォスファミド0、1、3及び10 mg/kgを4週間反復強制経口投与した。投与期間中、血液学的検査、血液生化学的検査を実施し、最終投与の翌日に剖検及び器官重量測定を行い、病理組織学的検査を行った。

【結果】血液学的検査において、3 mg/kg以上で好中球、リンパ球、網状赤血球及び血小板の減少がみられた。病理組織学的検査において、3 mg/kg以上で骨髄の細胞数減少、胸腺、脾臓及びリンパ節の萎縮、膀胱粘膜の出血、精巣のライディッヒ細胞の萎縮が認められた。10 mg/kgで膀胱粘膜の粘液細胞化生が認められた。なお、10 mg/kg群の1例が、免疫機能の低下に伴う細菌感染による壊死性出血性肺炎により死亡した。

【結論】本条件下では、3 mg/kg以上でヒトにおける毒性情報と同様に骨髄抑制が認められた。また、肝障害及び腎障害などは確認されなかった。

## PA-12\*

## 低亜鉛飼料給餌ラットにおける組織学的変化

○山下 由真, 諸木 孝泰, 佐々木 朋, 土肥 孝彰

マルホ(株) 開発研究部 安全性研究グループ

【背景・目的】亜鉛は生体内の多くの酵素に含まれる、必須微量元素の一つである。亜鉛が欠乏すると様々な機能障害が誘発され、これに付随して全身性に組織変化が起こると報告されているが、それらの情報は古く、近年の報告は少ない。今回、我々は低亜鉛飼料給餌による亜鉛欠乏ラットを作製し、全身臓器の病理組織学的検査を実施した。亜鉛欠乏ラットで認められた特徴的な変化について報告する。

【材料・方法】5週齢の雄性Crl:CD(SD)ラットに低亜鉛飼料(亜鉛含有量:0.7 ppm)または通常飼料(CRF-1、亜鉛含有量:約60 ppm)を30日間自由摂取させ、一般状態、体重測定及び摂餌量の測定を実施した。また、諸臓器を採取し、10%中性緩衝ホルマリンにて固定後、常法に従いパラフィンブロックを作製し、HE染色を実施した。

【結果・考察】亜鉛欠乏ラットにおいて、一般状態観察では被毛の粗造が認められ、体重及び摂餌量測定では経日的な体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められた。病理組織学的検査では、舌、食道及び前胃に扁平上皮の過角化(錯角化を含む)、食道及び前胃に扁平上皮の過形成、肺にマクロファージの集簇、甲状腺に濾胞上皮の平坦化、精巣に精細管の萎縮、皮膚の毛包ジストロフィー、坐骨神経の軸索変性、唾液腺に分泌物の減少、大腿骨及び胸骨に成長板軟骨の菲薄化及び骨梁の減少が認められ、亜鉛欠乏に起因した変化と考えられた。

## PA-13\*

## 幼若期ラット /Crl:CD (SD) における腎臓, 眼球, 大腿骨の病理組織学的背景データ

○井上 紗季<sup>1)</sup>, 畠山 洋文<sup>1)</sup>, 武井 由弘<sup>1)</sup>, 渡辺 純<sup>1)</sup>, 小泉 治子<sup>1)</sup>, 梶村 哲世<sup>1)</sup>, 下井 昭仁<sup>1)</sup>, 佐藤 伸一<sup>1)</sup>, 岩田 聖<sup>2)</sup><sup>1)</sup>(株) イナリサーチ, <sup>2)</sup>ルナバス毒性病理研究所

【目的】小児用医薬品のための幼若動物を用いた非臨床安全性試験など, 時として幼若動物を用いた毒性試験の実施が必要となる。薬物が幼若動物へ与える影響として, 発達遅延により未熟組織の出現がみられることがある。毒性変化と発達遅延を区別するためには, 各日齢における正常組織の発達の理解が必要である。しかし幼若動物の組織の発達を経日的に示す文献は少ない。そこで本研究では, 幼若ラットの腎臓, 眼球及び大腿骨について病理組織学的検査を実施し, 各日齢でみられる正常組織像の特徴をまとめた。

【方法】Crl:CD (SD) ラット, 4, 7, 14, 21, 28, 35 及び 42 日齢の雌雄各 2~6 匹の計 8 匹ずつを用いて, 腎臓, 眼球及び大腿骨について, 常法に従いホルマリン固定後, ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し, 組織学的観察を行った。

【結果】腎臓: 7 日齢まで, 被膜直下に糸球体芽及び尿細管芽が集まる強い好塩基性の層がみられた。14~21 日齢ではこの層はみられなくなるが, 皮質表層には未熟な糸球体が多数認められた。28 日齢以降は少数の未熟な糸球体がみられるものの, ほぼ成熟した腎臓の像であった。眼球: 7 日齢まで水晶体上皮細胞が立方から円柱形を呈し, 数も多くみられた。これは 21 日齢まで多くみられたが, 14 日齢以降は前極側の細胞の形が扁平に変化した。28 日齢以降では, 硝子体血管の遺残はみられるものの, ほぼ成熟した像であった。大腿骨: 7 日齢までは骨端の髄腔はみられなかった。14 日齢で同部位に髄腔が出現した後は, 徐々に髄腔は広がり, 関節軟骨と成長板が薄くなり, 35 日齢にはほぼ成熟した像となった。

以上のように, 幼若動物を用いた毒性試験にとって有用な背景データが得られた。今後は他臓器についても検索を進める予定である。

## PA-14\*

## 犬の消化管上皮性腫瘍における悪性化関連マーカーの発現

○斎藤 翼<sup>1)</sup>, チェンバーズ ジェームズ<sup>1)</sup>, 内田 和幸<sup>1)</sup>, 二瓶 和美<sup>3)</sup>, 中島 亘<sup>4)</sup>, 大野 耕一<sup>2)</sup>, 中山 裕之<sup>1)</sup><sup>1)</sup>東京大学 大学院農学生命科学研究科 獣医病理学研究室, <sup>2)</sup>東京大学 大学院農学生命科学研究科 獣医内科学研究室,<sup>3)</sup>日本動物高度医療センター, <sup>4)</sup>日本小動物医療センター

【背景】犬を用いる毒性試験, 特に経口投与試験では消化管腫瘍が結果に影響することがある。今回は犬の消化管に発生する上皮性腫瘍について, 悪性化に関与するマーカーの発現を免疫組織学的に検索した。

【材料と方法】イヌの消化管上皮性腫瘍 133 例について, 腺腫 (42), 腺癌 (63), 印環細胞癌 (SRC, 18), 粘液腺癌 (MUC, 6) および未分化癌 (UNC, 4) に分類するとともに, 形態的にポリープ状 (P) と非ポリープ状 (NP) とに分け, 免疫染色 ( $\beta$ -catenin, p53, E-cadherin) を行った。

【結果】胃 (雄:雌:不明=22:16:0) と大腸 (51:28:3) では雄の発生が多く, 小腸 (6:5:2) では性差はなかった。腺腫は 40 例 (2 例は検査から除外) 全て P, 腺癌は 63 例中 53 例 (84%) が P で 10 例 (16%) が NP, SRC, MUC, UNC は 28 例すべてが NP であった。 $\beta$ -catenin は, 腺腫と腺癌 P では免疫染色した全 93 例中 77 例 (83%) で腫瘍細胞の核が陽性であったのに対し, 腺癌 NP, SRC, MUC, UNC では全 38 例中 1 例 (3%) のみが核陽性であった。一方 p53 は, 腺腫 40 例中 17 例 (43%) が陽性であったが, 陽性細胞率はすべて 25% 以下であった。腺癌 P では 53 例中 1 例 (2%) が, 腺癌 NP, SRC, MUC, UNC では全 38 例中 7 例 (18%) が陽性で, 陽性細胞率は 51% 以上であった。E-cadherin は検索した全例で陽性細胞がみとめられた。

【考察とまとめ】腺腫と腺癌 P は腺癌 NP と他の癌腫と比べ  $\beta$ -catenin の核陽性症例が多かったことから, 腺癌 P は腺腫内悪性化により, また腺癌 NP と他の癌腫は de novo に発生すると考えた。

## PA-15

## カニクイザルにおけるリンパ形質細胞性胃炎の胃内分布

○黒滝 哲郎, 佐藤 順子, 山田 直明, 土居 卓也, 菅野 剛, 土谷 稔

株式会社LSIメディエンス

【背景】カニクイザルの胃にはしばしばリンパ形質細胞性胃炎が認められ、胃粘膜の毒性評価を困難にする場合がある。サル胃炎については幾つか報告があるが、部位による発現状況の違いについての報告はない。今回我々は、胃の全領域における病変の分布を検索し、最も胃炎に修飾されにくい部位を調査した。

【材料と方法】カニクイザル 28 頭（雄：21 頭，4 - 7 歳，雌：7 頭，4 - 8 歳）を用いた。全例の胃を大弯に沿って開き、台紙に張り付け、10%リン酸緩衝ホルマリンで固定後、長軸（噴門部から幽門部）方向に約 15 ~ 25 本の短冊状に切り出し、胃の全面について HE 標本を作製した。各標本は胃粘膜の肉眼写真から検索部位の正確な位置を確認し、胃炎の程度を McKeag (2012) 等の組織スコア分類に従い評価した。また背景蓄積標本のカニクイザル 48 頭（雄：24 頭，3 - 6 歳，雌 24 頭，4 - 6 歳）を加えて計 76 例の通常作製部位：胃体部（大弯と小弯の中間部位）、幽門部（正中部位）の胃炎を再評価した。

【結果】胃炎の程度には個体差があるものの、雌雄共に幽門部が顕著で、幽門部内での部位による程度の差はなかった。噴門部もやや強い傾向が認められた。病変は雌雄ともに幽門部から小弯を経て、噴門部に拡がっていた。通常作製部位の胃体部と幽門部計 76 例の胃炎を評価した結果、雌雄共 3 ~ 4 歳の時点で幽門部には平均スコア 1 以上の胃炎認められたが、胃体部では平均スコア 0.5 程度の胃炎が年齢に従い、徐々に増加する傾向が見られた。

【結論】カニクイザルの胃に見られるリンパ形質細胞性胃炎は若齢（3 ~ 4 歳）から発症し、年齢と共に増加する傾向がある。病変は幽門部から小弯を経て、噴門部方向に拡がっていた。最も炎症の程度が弱いのは大弯寄りの胃体部であった。

## PA-16\*

## ビーグル犬にみられた腸間膜異所性骨化を伴う卵黄管嚢胞の 1 例

○二宮 芙美子, 田中 英樹, 鈴木 智, 吉田 翔太, 蟹江 尚平, 森田 文雄, 箱井 加津男

大鵬薬品工業株式会社

【緒言】毒性試験に用いたビーグル犬に卵黄管嚢胞を認め、同部付近の腸間膜に腸間膜異所性骨化を伴う症例を経験したので報告する。

【症例】13 週間投与毒性試験の対照群として試験に供された 9 ヶ月齢の雌性ビーグル犬において、投与期間終了時の剖検にて、回腸漿膜面に内腔と連続しない孤立性嚢胞が認められた。また、嚢胞付近の腸間膜表面に付着または遊離した白色の小型結節・顆粒状物が散在していた。なお、投与期間中に症状、体重、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学検査に異常は認められなかった。

【結果】組織学的検査の結果、回腸の嚢胞は正常回腸と筋層で接し、腸管腔との連続性はなかった。嚢胞壁は正常な回腸と同様の組織構造を示し、嚢胞腔内には粘液状物の貯留が認められた。一部で、嚢胞壁の全層性破壊がみられ、粘液状物及び鉍質沈着が漿膜面の直下まで認められた。腸間膜の結節では、辺縁部に骨形成像、中心部に鉍質沈着、類骨形成及び線維化巣が認められた。結節周囲の腸間膜では、異物巨細胞及びリンパ球を主体とした炎症巣が散見された。

【まとめ】以上より、本症例に認められた変化を、腸間膜異所性骨化及び腸間膜の肉芽腫性炎を伴う回腸の卵黄管嚢胞と診断した。病理発生については、先天性の卵黄管嚢胞に沈着した鉍質あるいは嚢胞腔内粘液の腹腔内漏出により、腸間膜異所性骨化を伴う肉芽腫性炎が誘発されたと推察した。



## PA-17

## 吸収性癒着防止材の局所残存期間が腹膜中皮細胞の治癒に与える影響

○田崎 雅子<sup>1)</sup>, 甲斐 美穂<sup>1)</sup>, 寺尾 壽子<sup>1)</sup>, 早場 純子<sup>1)</sup>, 麻生 良平<sup>1)</sup>, 斉藤 義明<sup>2)</sup>, 磯部 厚志<sup>1)</sup>, 長野 嘉介<sup>3)</sup>, 千野 直孝<sup>1)</sup>, 萩原 仁美<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>テルモ(株) 研究開発本部, <sup>2)</sup>(一財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 病理学研究室, <sup>3)</sup>長野毒性病理コンサルティング

【背景】癒着防止材は、腹腔内手術後の癒着形成を抑制する目的で使用される。癒着防止には、腹膜が治癒するまでの約7日間、臓器を隔壁する必要があると言われているが、癒着防止材の残存期間が腹膜中皮細胞の治癒に与える影響は明らかでない。そこで、腹腔内残存期間が3日程度の材料Aと、7日程度の材料Bをウサギ腹壁・盲腸癒着モデルに適用し、腹膜傷害部位の組織変化を検索した。

【方法】ウサギ腹壁の腹膜面を3cm×5cmのサイズで剥離し、さらに盲腸表面をガーゼで擦過した後、腹膜傷害部に材料Aあるいは材料Bを各群6匹に適用して、術後3日および7日に3匹ずつ剖検した。10%中性緩衝ホルマリン液で腹部組織を灌流固定した後に傷害部位である腹壁と盲腸を採材し、光学顕微鏡で観察した。さらに、灌流固定後の組織を電顕観察用に後固定し、SEMならびにTEMで中皮細胞の形態を観察した。

【結果】術後3日では、両群の腹膜傷害部に明確な中皮細胞は確認されず、炎症性細胞、フィブリン沈着がみられた。これらは、材料が残存していたB群でより顕著であった。術後7日において、SEM観察では、両群で腹膜傷害部の表面に敷石状の細胞がみられた。一方TEM観察では、腹膜傷害部の細胞表面が微絨毛で覆われていたことから、この細胞は中皮細胞であることが分かった。また、中皮細胞の成熟を示す細胞間結合は、A群では全例で認められたのに対し、B群では盲腸で1例/3例、腹壁で2例/3例のみ認められた。

【考察】腹腔内における残存時間が異なる2つの癒着防止材を腹膜傷害部に適用したところ、残存期間が短い材料で中皮細胞の細胞間結合が高頻度にみられた。このことから、癒着防止材の残存期間は、中皮細胞の治癒に影響し、材料の早期消失が中皮細胞の良好な治癒に寄与することが示された。

## PA-18

## FDA SEND への対応 - パソロジストが心得るべき FDA SEND その2-

○畠山 洋文<sup>1)</sup>, 堀川 真一<sup>1)</sup>, 桜井 淳一<sup>1)</sup>, 小泉 治子<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>, Potenta Daniel<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>PDS ライフサイエンス

FDA への NDA、BLA 及び IND 申請時の前臨床データ標準となる SEND(Standard for Exchange of Nonclinical Data) の義務化が、2016 年 12 月開始となった。我々は 2015 年 11 月に日本の CRO として初めて FDA の電子予備申請通過に成功し、その後も連続して複数試験の電子予備申請通過を経験し現在まで SEND 対応のノウハウを蓄積してきている。今回我々は、昨年に引き続きこれまで蓄積してきた SEND ノウハウを示すことにより、より多くのパソロジストに SEND を理解してもらい、病理検査に役立ててもらうことを目的として本演題を発表する。

SEND における病理組織学的所見は、CDISC(Clinical Data Interchange Standards Consortium) により定義された Microscopic Findings(MI) ドメインの各変数にマッピングされていく。そのため、鏡検時に基礎所見(主語)と分布・頻度、側性(両側、片側)などの修飾語とを区別しておくことが重要である。所見の取り方が不適切な場合は、マッピングと QC に多大な時間を費やす結果となる。また、所見は CDISC より発行されている CT(Controlled Terminology) に準拠し、さらに、器官名やグレードについても CT に合わせておく必要がある。CDISC は病理所見について国際的毒性病理用語基準である INHAND を採用し始めていることから、INHAND に従い所見を採取することが将来的には望ましいと思われる。

今後、毒性試験に従事しているパソロジストは、これまでの科学的根拠に基づく病理組織学的検査に加え、SEND を意識した鏡検を実施していくことが求められている。

## PA-19

## SEND に向けた INHAND の活用法と課題 (非増殖性病変)

○小泉 治子<sup>1)</sup>, 梶村 哲世<sup>1)</sup>, 畠山 洋文<sup>1)</sup>, 佐藤 伸一<sup>1)</sup>, 岩田 聖<sup>2)</sup><sup>1)</sup>(株) イナリサーチ, <sup>2)</sup>ルナバス (合) 毒性病理研究所

【背景】毒性試験に用いる病理組織所見用語は、医薬品申請に SEND が導入されること、INHAND 用語の使用が推奨されていることなどから、国際標準化が求められている。INHAND 用語はそれぞれの WG の尽力により、78%ほどの臓器についてはすでに公表されている。しかし、臓器間に若干の齟齬があり、また CDISC で公表されている SEND controlled terminology(CT) との間にも違いが散見される。毒性病理の所見をとる現場としては、これらをどのように使用していけば良いか課題がある。

【方法】すでに公表されている INHAND 用語及び SEND の CT の非増殖性病変について所見ごとに整理、比較した。さらに、公表されている NTP 用語とも比較した。

【課題と提案】INHAND 用語は各臓器/組織系で別々にまとめられているため、全臓器/組織に共通してみられる所見であっても、臓器/組織ごとに用語が若干異なり、統一されていないという問題があった。また CDISC・Implementation Guide には病理組織所見の必須ドメイン (臓器名・病変主語・程度) の他、種々の形容詞ドメインが準備されているため、これを意識して日常の所見を入力することが必要となる。また、今後は CT に記載のある同意語の mapping が求められることが予想されることから、CT の用語にも注目しておく必要がある。今回は INHAND 用語に焦点を絞り、毒性病理の現場でどのような用語を使用するのが良いかをまとめたので、提案したい。

## PA-20

## MRI を活用した hESC 髄腔内移植マウスにおける造腫瘍性試験

○水流 功春<sup>1)</sup>, Schiffenbauer Yael<sup>2)</sup>, Ramot Yuval<sup>3)</sup>, Amouyal Netanel<sup>4)</sup>, Izrael Michal<sup>5)</sup>, Nyska Abraham<sup>6)</sup><sup>1)</sup>プライムテック (株), <sup>2)</sup>Aspect Imaging, <sup>3)</sup>Hadassah-Hebrew University, <sup>4)</sup>Envigo CRS,<sup>5)</sup>KadimaStem, <sup>6)</sup>Timrat and Tel Aviv University

Introduction: We tested MRI in a mouse model of teratoma induction, following a single intrathecal transplantation of hESC. This route was selected since it represents the intended clinical route of proprietary cells. The experiment was aimed to validate an appropriate positive control, assessing the feasibility of Compact MRI to detect teratoma induction.

Materials and Methods: Male 8 weeks old were used, 2 animals injected with the vehicle control and 3 injected with hESC (kindly provided by KadimaStem). The compounds were injected within the inter-vertebral (L5 to L6) groove. Clinical evaluation was done daily. In-vivo MRI was done at 2 occasions (days 25 and 48). The animals were sacrificed on day 55, and after formalin fixation, ex-vivo MRI was accomplished.

Results: Clinically, paresis developed in mice injected with the hESC. In vivo and ex vivo MRI revealed bright irregular areas in the lumbar vertebral region which expanded over time, as well as in various regions in the brain for 2 animals of the treated group, the same two animals that exhibited abnormal clinical signs.

Conclusion: The MRI was successful in localizing the induced teratoma, and the correlation to histopathology was done. The MRI technique is able to cover the whole mouse, and being non-invasive, can be used for time course observations of the carcinogenic changes.

## PA-21

## Targeting the HER family with pan-HER effectively overcomes resistance to cetuximab

○ Mari Iida<sup>1)</sup>, Harsh Bahrar<sup>1)</sup>, Toni M. Brand<sup>1)</sup>, Hannah E. Pearson<sup>1)</sup>, John P. Coan<sup>1)</sup>, Rachel A. Orbuch<sup>1)</sup>, Bailey G. Flanigan<sup>1)</sup>, Adam D. Swick<sup>1)</sup>, Prashanth J. Prabakaran<sup>1)</sup>, Johan Lantto<sup>2)</sup>, Ivan D. Horak<sup>2)</sup>, Michael Kragh<sup>2)</sup>, Ravi Salgia<sup>3)</sup>, Randy J. Kimple<sup>1)</sup>, Deric L. Wheeler<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Dep. of Human Oncology, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health, Madison, Wisconsin.

<sup>2)</sup> Symphogen A/S, Ballerup, Denmark. <sup>3)</sup> City of Hope, Duarte, California.

[Background] Cetuximab, an EGFR antibody, has shown efficacy in treating head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), metastatic colorectal cancer and non-small cell lung cancer (NSCLC). Despite the clinical success of cetuximab, many patients do not respond and virtually all patients who do initially respond become refractory to the drug. This highlights both intrinsic and acquired resistance to cetuximab as significant clinical problems. To further explore these issues, we previously developed models of cetuximab resistance (CtxR) by treating cetuximab-sensitive NSCLC and HNSCC lines with increasing concentrations of cetuximab until single cell resistant clones emerged.

[Aim] Cell-based models and tumors with intrinsic or acquired CtxR may have an extensive response to pan-HER, a mixture of six monoclonal antibodies targeting EGFR, HER2, and HER3.

[Results] In cells exhibiting acquired or intrinsic resistance to cetuximab, pan-HER treatment decreased protein levels of all three receptors and downstream activation of AKT and MAPK. This correlated with decreased cell proliferation in CtxR clones. To determine whether pan-HER had a therapeutic benefit in vivo, we established de novo CtxR mouse xenografts and treated resistant tumors with pan-HER. This regimen resulted in a superior growth delay of CtxR xenografts compared with mice continued on cetuximab. Furthermore, intrinsically CtxR HNSCC patient-derived xenograft tumors treated with pan-HER exhibited significant growth delay when compared to vehicle/cetuximab controls.

[Conclusion] Targeting multiple HER family receptors simultaneously with pan-HER is a promising treatment strategy for tumors displaying intrinsic or acquired resistance to cetuximab.

## PA-22

## カドミウム曝露がメダカ (*Oryzias latipes*) 精巣に及ぼす影響に関する病理組織学的検討

○ 杉山 晶彦<sup>1)</sup>, 竹岡 勇樹<sup>1)</sup>, 平光 彩乃<sup>1)</sup>, 竹内 崇<sup>1)</sup>, 古川 賢<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 鳥取大学 農学部 共同獣医学科, <sup>2)</sup> 日産化学工業株式会社 生物科学研究所

【背景および目的】メダカ (*Oryzias latipes*) は化学物質の毒性試験において繁用されているが、生存挙動、行動学的異常、外観の変化に着眼した評価が主流であり、化学物質曝露によって個々の臓器に誘発される病理組織学的変化に関する詳細な知見は乏しい現状にある。本研究では、メダカを用いた精巣毒性評価系における病理組織学的評価の標準化を目的として、既知の精巣毒性物質であるカドミウム曝露によってメダカ精巣に誘発された病理組織学的変化を解明するための検討を実施した。

【方法】メダカに対し、1ppm カドミウムを半止水方式で96時間曝露させた(カドミウム曝露群40匹、コントロール群40匹)。カドミウム曝露開始後24、48、72、96時間に精巣の病理組織学的解析を実施した。

【結果】全実験期間を通し、カドミウム曝露群およびコントロール群とも総てのメダカが生存し、行動異常や外観の異常を呈した個体は認められなかった。カドミウム曝露群では、曝露後24時間より精原細胞および精母細胞分布領域において細胞死および細胞増殖抑制が誘発された。カドミウム曝露群では、曝露後48時間から96時間にかけて、コントロール群に比較しTUNEL陽性率の有意な増大が認められた。また、カドミウム曝露群におけるPhospho-histone H3陽性率は、全実験期間を通してコントロール群に比較し有意な減少を示した。

【結論】メダカ精巣ではカドミウム曝露により精原細胞および精母細胞に細胞死および細胞増殖抑制が誘発されることが明らかとなった。カドミウム曝露によって誘発されたメダカ精巣障害の病理組織学的変化はげっ歯類のものと類似しており、メダカを用いた精巣毒性評価系がげっ歯類の評価系の代替法として有用である可能性が示唆された。

## PA-23\*

## 成魚ゼブラフィッシュにおける病理学的手法を用いた腎毒性及び肝毒性評価系の検討

○加藤 祐樹<sup>1,2)</sup>, 殿村 優<sup>1)</sup>, 花房 弘之<sup>1)</sup>, 西村 享平<sup>1)</sup>, 福島 民雄<sup>1)</sup>, 菱川 敦子<sup>1)</sup>, 上野 元伸<sup>1)</sup><sup>1)</sup>塩野義製薬(株) 安全性研究部門, <sup>2)</sup>大阪府立大学 獣医病理学教室

腎臓及び肝臓は、化合物の代謝・排泄の中心的役割を担うため、毒性の標的臓器になりやすいが、未だこれらの毒性を十分に評価できる in vitro 試験系は確立されていない。本研究では、齧歯類に代わる実験動物であり、少量の化合物で評価可能な small in vivo 試験系として毒性学分野への適用が進むゼブラフィッシュに注目し、その成魚が哺乳類と同様に化学物質による腎毒性及び肝毒性を評価し得る実験動物であるか病理学的に検討した。

既知毒性物質を成魚ゼブラフィッシュに、トリカイン麻酔下で、単回あるいは反復腹腔内投与または強制経口投与し、病理検査 (Davidson 固定, 全身包埋 HE 標本) により全身の諸臓器を評価した。対照群 220 例の背景データから、壊死などの退行性変化が 2 例 / 群 (6-8 例) 以上認められた場合に陽性と判定した。29 個の既知腎毒性陽性化合物のうち 14 化合物 (ゲンタマイシン, シスプラチン, ドキソルビシン, セフェム系及びカルバペネム系抗生物質など) で尿管管壊死や再生等の腎障害が惹起され、既知陰性の 15 化合物では腎障害は認められなかった。以上の結果より、腎毒性検出精度は、真陽性率が 48%, 偽陽性率は 0% であった。15 個の既知肝毒性陽性化合物のうち、肝細胞壊死等の肝障害が惹起されたのは 1 化合物のみであり、ゼブラフィッシュの肝毒性検出精度は極めて低かった。

以上より、幅広い化学構造の腎毒性物質を評価し得ること、偽陽性が少なく、少量化合物で評価可能であることから、成魚ゼブラフィッシュの初期腎毒性スクリーニング系として一定の有用性が示された。肝毒性評価系としての成魚ゼブラフィッシュの有用性は低いと考えられた。

## PA-24\*

## 脊椎弯曲ファットヘッドミノーの病理組織学的検索

○木村 真之<sup>1)</sup>, 入江 浩大<sup>1)</sup>, 阿部 正義<sup>1)</sup>, 林 清吾<sup>1)</sup>, 杉山 晶彦<sup>2)</sup>, 古川 賢<sup>1)</sup><sup>1)</sup>日産化学工業(株) 生物科学研究所, <sup>2)</sup>鳥取大学 農学部 共同獣医学科

【背景及び目的】ファットヘッドミノーは農薬等の環境影響を評価する試験で利用されている生物種であり、OECD の試験ガイドラインにおいて推奨種とされている。我々は生態毒性試験に供試するために継代飼育しているストック用のファットヘッドミノーにおいて、脊椎の背腹軸方向への弯曲を示す個体を認めた。我々は既に、メダカの脊椎弯曲個体について病理組織学的検索を行い、脊索の形成異常を伴う脊椎の変形が生じていることを見出している。本発表ではファットヘッドミノーの脊椎弯曲症個体について病理組織学的検索を行った結果を報告する。

【材料と方法】本症例は孵化後約 12 ヶ月齢の雄で、安楽死後、ブアン液にて一晚固定し、アルコールで脱ブアン・脱脂後 10% ギ酸ホルマリン液にて一晚脱灰した。その後、常法に従い病理組織標本作製し、HE 染色を施した。

【結果及び考察】臨床的には、脊椎弯曲による行動異常は認められなかった。肉眼的には、脊椎は胸尾部の境界より尾部に向かって腹側方向、背側方向、さらに再度腹側方向へと弯曲していた。組織学的には、脊椎骨は変形し、椎間部で通常みられる線維性組織は部位によって形成されず、代わりに脊索様の海綿状組織が存在していた。脊椎中心部には大型の空隙が存在し、皮質骨は非薄化していた。また、部位によって椎間靭帯は肥厚していた。脊椎周囲の筋組織に異常はみられなかった。一方、正常個体では、椎間部の中心部は線維状組織、辺縁部は空胞状組織により形成されており、脊椎の中心部には皮質骨に区画された数個の空隙が規則正しく配列していた。以上より、脊椎弯曲ファットヘッドミノーにおいて、我々が以前報告したメダカの脊椎弯曲症例と同様に、脊索の形成異常を伴う脊椎の変形が生じていることを見出された。

## PA-25

## 免疫組織染色のための技術データベースの確立

○永池 美香<sup>1,2)</sup>, 古川 賢<sup>1,3)</sup>, 尾崎 清和<sup>1,4)</sup><sup>1)</sup> 実験動物病理標本交見会, <sup>2)</sup> 石原産業 (株), <sup>3)</sup> 日産化学工業 (株), <sup>4)</sup> 摂南大学 薬学部 病理学研究室

【目的および方法】 免疫組織染色は、動物組織や細胞において発現するタンパク質の分布および局在を特異抗体を用いて検出する方法であり、毒性病理学研究において病変の確定診断及び毒性機序解明研究のための重要なツールである。しかし、免疫組織染色の結果は抗体のクローン、供給先、動物種間交差性、抗体希釈濃度、固定条件、反応条件などの影響を受ける。そこで、各種抗体の免疫組織染色のための抗体および染色条件などの技術情報を共有化する目的で、2014年から2015年にかけて実験動物病理標本交見会において免疫組織染色に関するアンケートを実施した。

【結果】 93機関中47機関より約1000種類の一次抗体の回答を得られた。これら回答の中から、販売が中止となった抗体を除き、各機関で使用実績があり、現在も入手可能なべ733の一次抗体（商品数にして425）について、クローン名、取り扱いメーカー、カタログ番号、種交差性等と、染色条件（固定液、固定時間、包埋、賦活化法、抗体希釈濃度、反応時間、反応温度、陽性対照器官、二次抗体情報など）をまとめ、可能な限り免疫染色の組織写真を含めたデータベースを構築した。本発表ではデータの中から一部を紹介する。なお、本データベースの詳細は Journal of Toxicologic Pathology (2017) Vol.30 (1) に掲載予定である。

## PA-26\*

## 長期保存したホルマリン固定パラフィン包埋ブロック標本を用いた病理組織学的評価の検討

○大野 祐子, 佐藤 寛子, 宮崎 登志子, 藤木 勝也, 久米 英介, 田中 雅治

田辺三菱製薬株式会社 創薬本部 安全性研究所

【背景と目的】 GLP試験で作製したホルマリン固定標本、パラフィンブロック、スライド標本は各試験施設で比較的長期間保存される。過去に、長期ホルマリン固定標本の品質に関しては報告があるが、長期保存パラフィンブロックを用いた病理組織学的評価についての検討の報告はない。今回我々は、約30年間保存したホルマリン固定パラフィン包埋ブロック標本からヘマトキシリン・エオジン（HE）染色標本作製して観察し、標本の質及び当時実施した試験の所見の再現性を確認し、長期保存ブロックから試験の病理組織評価の再構築が可能であるか検証した。

【材料と方法】 約30年間保存された雌雄ラットの全身器官・組織のパラフィンブロックを用いてHE染色標本作製した。当時の長期保存スライド標本と比較して顕微鏡観察を行い、全身器官・組織の染色性及び形態及び試験報告書に記載された肝臓及び腎臓の所見の再現性を確認した。

【結果と考察】 作製した全身諸臓器の標本においてヘマトキシリンの染色性低下がみられた。組織形態では、種々の臓器において亀裂や空隙の拡張などのアーティファクトが認められ、これに加えて腎臓では不整形の空胞様のアーティファクトが認められた。このような標本の質の劣化は、対照群と比較して病理評価をする上では支障は無いと考えられた。試験報告書に記載された所見については、ほとんどが同様の所見として認められた。標本の限局した部位に認められた所見については、再現しなかったものもあるが、被験物質投与起因の変化の多くは標本の広範囲に認められるため、試験の病理組織評価を再構築する上では問題無いと考えられた。

【結論】 今回の検討によって、約30年までの保存期間であれば、保存されたパラフィンブロックから試験の病理組織評価は再構築可能と考えられた。

## PA-27

## ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片におけるセロトニン産生細胞簡易検出法の開発

○金子 善興<sup>1)</sup>, 恩田 伸彦<sup>1)</sup>, 渡辺 洋祐<sup>2,3)</sup>, 渋谷 淳<sup>2)</sup><sup>1)</sup> オリンパス (株), <sup>2)</sup> 東京農工大学 獣医病理, <sup>3)</sup> 岐阜大学 大学院 連合獣医

【背景】セロトニンは、エンテロクロマフィン細胞（EC細胞）で産生され、腸管粘膜のシグナル伝達を行う重要な分子であり、炎症性腸疾患や過敏性腸症候群のような複数の胃腸疾患に関与していることが知られている。

【目的】本研究では、ホルマリン固定パラフィン包埋切片でのセロトニン産生細胞の簡易検出法を開発した。

【材料と方法】ホルマリン固定パラフィン包埋された、ヒトの幽門腺、小腸、結腸、ラットとマウスの結腸、正常マウス（C57BL/6J）と妊娠12日目のマウス膀胱の組織切片を用いた。脱パラ後、蒸留水に浸し10分風乾し顕微鏡にて蛍光観察撮影し、引き続き、免疫染色、ヘマトキシリン染色後封入し、顕微鏡にて観察撮影し、蛍光画像と免疫染色画像を同一切片で比較した。

【結果】ヒト幽門腺、小腸、結腸において、蛍光陽性細胞とセロトニン陽性細胞は高い一致率を示した一方、ガストリン陽性細胞とは一致しなかった。蛍光陽性細胞は、マウスとラットの結腸でもセロトニン陽性細胞と高い一致率を示した。さらに、妊娠マウス膀胱ランゲルハンス島のβ細胞で蛍光が検出され、かつ、同一細胞でセロトニン陽性であった。非妊娠マウスの膀胱では、蛍光もセロトニンも検出されなかった。また、アセトン固定したヒト結腸組織では蛍光陽性細胞は観察されなかった。結腸の蛍光陽性細胞の蛍光と肝臓及び心臓のリポフスチンの自家蛍光をハイパースペクトル解析した結果、両者は異なる分光スペクトルを示した。

【結論】以上より、蛍光分子はホルマリンにより修飾されたセロトニンか、セロトニンの産生ないし分解に関与する分子であることが示唆された。さらに、この蛍光検出方法は、実験検体や臨床検体両方において、腸炎症性疾患のモニタリングに応用できると考えられた。

## PB-28

## Dimethylarsinic acid の胎仔期暴露における発がん性の検討

○魏 民, 藤岡 正喜, 辰巳 久美子, 山口 貴嗣, 北野 光昭, 梯 アンナ, 大石 裕司, 鰐淵 英機

大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

【背景】本邦において、ヒ素の主要な暴露源は食用の海産動植物であり、これらに多く含まれる有機ヒ素化合物の健康影響評価が求められている。無機ヒ素は成熟マウスに発がん性を示さないが、母マウスへの暴露は、経胎盤暴露しその後成熟した仔マウスに肝、肺、下垂体、および卵巣への発がん性を引き起こすことが報告されている。しかし、ヒトのヒ素発がん性の主原因と推察されている、無機および有機ヒ素の主な代謝物である Dimethylarsinic acid (以下、DMA) の胎仔期暴露による発がんリスクに関する知見は未だ報告されていない。

【目的】DMA の胎仔期暴露による発がん性の有無を明らかにする。

【方法】CD-1 母マウスに妊娠第8日から18日にかけて DMA を 200 ppm の濃度で飲水投与し、得られた出生仔を胎児期暴露群とした。同様に、無処置の母マウスから得られた出生仔を対照群とした。両群の雌雄の出生仔は、同一環境の下、無処置で飼育および観察し、84週齢で剖検に供した。両群の諸臓器の病理組織学的検索を行い、発がん性を評価した。

【結果】体重や生存率に著変はみられなかった。DMA の胎仔期暴露した雄マウスでは、肝細胞腺腫の増加傾向がみられ、肝細胞癌が有意に増加した。さらに、総肝腫瘍（肝細胞腺腫＋肝細胞がん）も増加傾向が認められた。一方、胎仔期暴露した雌マウスでは、肝腫瘍の発生に影響は認められなかった。また、その他の諸臓器の腫瘍にも影響は認められなかった。

【結論】DMA の胎仔期暴露は CD-1 雄マウスの肝発がん性を示すことが明らかとなった。

**PB-29****CD44 ノックアウトマウスにおける肝臓発がんの抑制**

○梯 アンナ, 辰己 久美子, 奥野 高裕, 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

【緒言】 以前、CD44 antigen splicing variant isoform (CD44v) がヒト肝細胞癌の幹細胞マーカーに成りうる可能性が示された。今回、我々は肝臓がんにおける 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> マウスに肝臓がん誘発剤の 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 週の肝組織を用いて QSTAR Elite LC-MS/MS 及び Ingenuity Pathway 解析を行った。

【結果】 18 週では CD44<sup>-/-</sup> マウスの肝前癌病変の発生個数が CD44<sup>+/+</sup> マウスに比較し有意に減少していた。52 週では CD44<sup>-/-</sup> 雄マウスでは肝細胞癌を認められなかった。CD44<sup>-/-</sup> 雌マウスでは肝臓腺腫の発生率及び個数は CD44<sup>+/+</sup> マウスに対して有意に減少していた。CD44<sup>-/-</sup> 雄及び雌マウスでは、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、酸化的ストレス応答系の蛋白質の発現上昇が見られた。CD44<sup>-/-</sup> マウス肝臓では p62-SQSTM1, Nrf2 および c-myc の抑制を認められた。さらに、CD44<sup>-/-</sup> マウスでは酸化的 DNA 傷害マーカー 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の形成が CD44<sup>+/+</sup> マウスに比べて有意に高かった。

【総括】 CD44v がマウスの肝細胞癌の幹細胞マーカーになりうる可能性があり、また、マウス肝臓がんにおいて有用な因子であると考えられた。

**PB-30\*****1,2-ジクロロプロパンおよびジクロロメタン複合暴露におけるマウス肝臓がん影響**

○河内 聡子, 魏 民, 藤岡 正喜, 辰己 久美子, 多胡 善幸, 梯 アンナ, 鰐淵 英機

大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

[Background] Given the possibility that the occurrence of occupational cholangiocarcinoma in Japan might be attributed to exposure to multiple chemicals, studies are needed to determine the carcinogenic effects of concurrent exposure to 1,2-dichloropropane (1,2-DCP) and dichloromethane (DCM) or other organic solvents contained in the strippers to which the workers with cholangiocarcinoma were exposed.

[Aim] The purpose of the present study is to determine the carcinogenic effects of concurrent administration of 1,2-DCP and DCM in mice. [Materials and Methods] Male C3H mice were divided into three groups and treated twice a week for 52 weeks as follows: vehicle (control group); 500 mg/kg 1,2 DCP; and co-administration of 500 mg/kg 1,2-DCP and 500 mg/kg DCM.

[Results] Incidence and multiplicity of hepatocellular adenomas were significantly increased in co-administered group compared with the 1,2-DCP alone group. Furthermore, The Ki-67 labeling index was significantly increased in the HCAs in the co-administered group compared with the HCAs in the 1,2-DCP alone group. In addition, microarray analysis revealed that expression of twelve tumor cell proliferation-related genes were significantly dysregulated in the HCAs induced by 1,2-DCP and DCM but not in the HCAs induced by 1,2-DCP alone. [Conclusion] These findings indicated that concurrent exposure of 1,2-DCP and DCM exerted a stronger hepatocarcinogenic effects than 1,2-DCP alone in mice.

## PB-31

## マウス胆嚢における N-メチル-N-フォルミルヒドラジンの発がんイニシエーション作用と系統間における感受性の検討

○久野 壽也, 早川 将史, 不二 哲, 内木 綾, 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】胆嚢・胆管がんは進行した状態で発見されることが多く、治療の難しい疾患である。発がんメカニズムの解明やリスク要因同定のため、動物モデルの開発が必要である。

【目的】N-methyl-N-formylhydrazine (MFH) のマウス胆嚢上皮における発がんイニシエーション効果と系統間における感受性の差を検討する。

【方法】6週齢雄性 ICR および C57BL6J マウスをそれぞれ2群に分け、生食、MFH(100mg/kg BW, i.g.)を投与し、2日後に胆嚢、肝外胆管の病理組織学的評価を行った。また、ICR マウスに関しては投与7日後の胆嚢も組織学的検討を行った。増殖、アポトーシス、DNA 二重鎖切断は免疫組織化学的に評価した。

【結果】MFH 処置により ICR マウスにおける胆嚢上皮細胞の Ki-67 及び  $\gamma$  H2AX 陽性細胞率は生食群と比較して有意に増加したが、C57BL6 マウスでは差は見られなかった。肝外胆管上皮細胞における Ki-67 陽性細胞率はいずれの系統にも増加傾向を認めたと差は見られなかった。MFH 処置7日後、ICR マウス胆嚢上皮における Ki-67, TUNEL 陽性率に群間差は見られず、 $\gamma$  H2AX 陽性細胞は生食群と比較して MFH 投与群で有意に減少していた。【考察】ICR マウスは C57BL6 と比べて MFH 感受性が高く、胆嚢特異的に DNA 障害が起こる可能性が示唆された。従って MFH は ICR マウスにおいて胆嚢発がんイニシエーション物質として有望と考えられた。

## PB-32\*

胃潰瘍修復過程における組織幹細胞マーカー *Lgr5* 発現細胞の動態○並木 健吾<sup>1,2)</sup>, 平田 暁大<sup>2)</sup>, 酒井 洋樹<sup>2)</sup>, 村井 厚子<sup>1,2)</sup>, 富田 弘之<sup>3)</sup>, 原 明<sup>3)</sup>, 柳井 徳磨<sup>2)</sup><sup>1)</sup>小野薬品工業株式会社 安全性研究部, <sup>2)</sup>岐阜大学 応用生物科学部 獣医病理学研究室<sup>3)</sup>岐阜大学 大学院医学系研究科 腫瘍病理学分野

【背景と目的】胃粘膜の上皮細胞は、生涯常に新しい細胞へと入れ替わっており、その増殖・分化は腺管単位で制御されている。腺管は複数の種類の分化細胞から構成されるが、各々の腺管には分化多能性、自己複製で特徴づけられる幹細胞が存在する。近年、幽門腺の組織幹細胞が *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が、修復過程におけるそれらの動態については判明していない。そこで、本研究では、胃潰瘍修復過程における *Lgr5* 発現組織幹細胞の動態を解析した。

【材料と方法】マウスに塩酸エタノールを投与し胃潰瘍を誘発した。*Lgr5* 発現細胞は in situ ハイブリダイゼーションおよび同細胞を GFP で標識できるレポーターマウスを用いて同定した。

【結果と結論】塩酸エタノール投与により、幽門部では、潰瘍部近傍の幽門腺底部が分岐し、それらが時間とともに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。重要な点として、再生腺管において、*Lgr5* 発現細胞は形成されたごく初期の段階からその底部に認められ、その後も維持されていた。胃体部では、腺管構造は幽門腺と同様の過程で再生されたが、再生腺管では胃底腺固有の細胞が失われ、TFF2 を発現する小型の粘液細胞に置換されていた。胃底腺においては、正常な状態では *Lgr5* 発現細胞は幹細胞として機能していないことが知られているが、興味深いことに、再生腺管ではその底部に *Lgr5* 発現細胞が出現した。以上より、胃粘膜修復過程において、*Lgr5* 発現細胞は再生する腺管のごく初期から存在し、その形成に寄与すると考えられた。



## PB-33

**沖縄県自生植物芭蕉（バショウ、*Musa basjoo*）葉抽出物の  
ヒト大腸がん細胞に対する細胞毒性**

○松本 晴年, 安藤 さえこ, 深町 勝巳, 二口 充, 酒々井 眞澄

名古屋市立大学 大学院医学研究科 分子毒性学分野

【背景】 これまでに我々は沖縄県産植物のがん細胞への細胞毒性を明らかにした (Asian Pac J Cancer Prev 6: 353-358, 2005, Eur J Cancer Prev 14: 101-105, 2005, Cancer Lett 205: 133-141, 2004)。芭蕉の葉身からの抽出物(アセトン(A)あるいはメタノール(M)抽出)を用いてヒト大腸がん細胞株に対する細胞毒性とその機序を調べた。

【方法】 各抽出物をヒト大腸がん細胞株 HT29 および HCT116 にばく露し、コロニーアッセイあるいは MTT アッセイにて細胞毒性を解析した。細胞毒性の程度を IC<sub>50</sub> 値 (50% 増殖抑制率) にて判定した。アポトーシスの有無と細胞周期への影響をフローサイトメトリーおよびウェスタンブロットアッセイで解析した。

【結果と考察】 コロニーアッセイでの IC<sub>50</sub> 値は、HT29 株では 118 μg/mL (A)、> 200 μg/mL (M)、HCT116 株では 75 μg/mL (A)、141 μg/mL (M) であった。MTT アッセイでの IC<sub>50</sub> 値は、HT29 株では 137 μg/mL (A)、240 μg/mL (M)、HCT116 株では 73 μg/mL (A)、248 μg/mL (M) であった。アセトン抽出物にはより強い作用を持つ有効成分が含まれると考えられた。HT29 株では、100 μg/mL アセトン抽出物のばく露により control と比較して G1 期が 5.3% 有意に上昇し、これに伴って G2/M 期が減少した。SubG1 population は見られなかった。HT29 および HCT116 株では、アセトン抽出物のばく露により cyclinD1 および cdk4 発現レベルが濃度依存的に低下した。一方、HCT116 株では、p21<sup>CIP1</sup> 発現レベルが濃度依存的に増加した。これらの結果より、芭蕉葉の抽出物には細胞毒性をもつ物質が含まれ、アセトン抽出物は cyclinD1 および cdk4 発現を減少させ、p21<sup>CIP1</sup> 発現を増加させることで細胞周期を負に制御すると考えられる。

## PB-34\*

**デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発ラット結腸病変における  
体性幹細胞認識抗体 A3 陽性細胞の動態**

○仁科 嘉修, 市川 (加藤) 智彩, 倉持 瑞樹, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至

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

【背景】 A3 は、ラット MFH 由来クローン細胞を抗原として作製されたモノクローナル抗体で、骨髄幹細胞や毛包幹細胞などの体性幹細胞を認識する。正常結腸では A3 陽性細胞は陰窩周囲に局在することがわかっている。今回、ラット結腸における DSS 誘発の腸粘膜傷害後の線維化と粘膜上皮の再生における A3 陽性細胞の動態を解析した。

【材料・方法】 6 週齢雄ラットに 5%DSS を 5~7 日間飲水投与し、DSS 傷害後と、投与中止後の結腸粘膜病変を検査対象とした。

【結果】 DSS 投与により、結腸遠位側において、絨毛の消失と粘膜上皮の萎縮がみられ、その後固有層において浮腫、好中球やマクロファージなどの炎症細胞反応と、線維化がみられた。傷害が進行するにつれて粘膜上皮が剥離し、陰窩が減少した。投与中止後、線維化がより顕著となり、かつ線維化部位に再生陰窩が観察された。正常な陰窩周囲にみられた A3 陽性細胞は、粘膜傷害後の陰窩減少に伴い消失したが、再生に伴い再び出現した。さらに、線維化病変では剥離した粘膜上皮の部位に A3 陽性細胞の集簇がみられた。集簇した A3 陽性細胞は、ビメンチン、Thy1、そして一部で CK19 との共発現が認められた。再生陰窩周囲に出現した A3 陽性細胞は、線維化に係る α SMA 発現の筋線維芽細胞との共発現は認められなかったが、ラミニン陽性の基底膜の外に位置した。

【まとめ】 A3 陽性細胞は、再生しつつある陰窩周囲に再出現すること、そして傷害された結腸線維化部位の上層に集簇することが示された。A3 陽性細胞は、陰窩上皮の恒常性維持や粘膜の被蓋上皮化に係る足場形成に関与する可能性が示唆された。さらに、二重蛍光免疫染色等を施して A3 陽性細胞の特性を詳細に解析している。

## PB-35

## 麴の種類並びに発酵期間の異なる味噌を用いて産生される有効成分の検討

○渡辺 敦光<sup>1)</sup>, 高端 厚子<sup>2)</sup>, 笹谷 めぐみ<sup>3)</sup>, 宮坂 勇一郎<sup>4)</sup>, 吉栖 正生<sup>1)</sup>, 升島 努<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 心臓血管生理, <sup>2)</sup> 理研, <sup>3)</sup> 広島大学 原医研分子発癌, <sup>4)</sup> 宮坂醸造 (株)

【目的】我々は昨年の本学会で味噌中の有効成分について報告した。そこで今回は麴の種類並びに発酵期間の異なる様々な味噌を用い、産生される成分の検討を行った。

【方法】中央味噌研究所より供与された異なった会社の信州味噌 (A 社、B 社) と仙台味噌、豆味噌並びに麦味噌は Liquid chromatography (LC) で分離し、Orbitrap Velos 質量分析計 Multiple-stage mass spectrometry (MSMS) で分析し、得られたピークを Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) で検索し、その一部は純品を用い検量線を引き、味噌の中の成分の定量を行った。更にマウスを用いγ線照射後の小腸の再生とトラゾリン様物質との相関を検討した。

【成績】トラゾリン、エブレノン、ピロカルピン、スタキドリン並びにミグリトール様物質は量の違いがあるがどの味噌にも含まれていた。特にトラゾリン様物質は A 社に、スタキドリンやミグリトール様物質は B 社に、エブレノン様物質は豆味噌に又ピロカルピン様物質は仙台味噌に多く含まれていた。又 A 社のトラゾリン様物質は熟成 2 年までは増加するが 5 年味噌では減少することから有効成分は発酵が盛んな折に産生され、その後減少すると考えられる。更にトラゾリンは血管新生作用があるため B 社の熟成度の異なる味噌を用い放射線による消化管の再生とその量について検討した結果、良い相関があることから、トラゾリン様物質は放射線防御作用と関連している可能性が示唆された。

【結論】味噌の発酵熟成が進行することにより、特定の複数の物質が産生され、compound として様々な生理活性を発揮する可能性が示唆された。

## PB-36\*

ラット肝発がん物質 thioacetamide 28 日間投与により遺伝子過メチル化と発現減少を示した *Tmem70* 及び *Ube2e2* の機能解析○水上 さやか<sup>1)</sup>, 渡邊 洋祐<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】我々のこれまでの研究により、肝発がん物質 thioacetamide (TAA) を 28 日間投与したラットの肝臓で、DNA 過メチル化により発現減少した遺伝子として *Tmem70* 及び *Ube2e2* を見出した。前がん病変の GST-P<sup>+</sup> 巣におけるこれら遺伝子産物の機能として、transmembrane protein 70 (TMEM70) の発現減少がミトコンドリア ATP 合成酵素の減少を介した細胞呼吸のシフトに関与し、ubiquitin conjugating enzyme E2 E2 (UBE2E2) の減少が c-Myc と PCNA のユビキチンプロテアソーム分解の抑制に関与する可能性をそれぞれ示した。本研究では、TAA を最長 90 日間曝露した際のそれぞれの遺伝子産物の関与する分子機序を検討した。

【方法】TAA の 28 日ないし 90 日間投与ラットの肝臓を用いて TMEM70 及び UBE2E2 関連分子の遺伝子発現と免疫組織学的分布を検討した。

【結果及び考察】投与 28 日目と同様に 90 日目の肝臓において *Tmem70* 及び *Ube2e2* はいずれも mRNA 発現が減少した。TMEM70 関連では、28 日目と 90 日目で *Myc* が発現増加し、免疫組織学的解析でも c-Myc<sup>+</sup> 細胞の増加がみられた。c-Myc は糖輸送担体や解糖系酵素の転写因子であり、これに一致し、90 日目で解糖系酵素遺伝子 *Hk1*, *Hk2*, *Pkm* の発現が増加し、細胞呼吸のシフトが起こっている可能性が考えられた。UBE2E2 関連では、ユビキチンプロテアソーム分解標的の可能性のある lysine demethylase 4A (KDM4A) の陽性細胞数が、DNA2 本鎖切断マーカー phospho-Histone H2A.X 陽性細胞数と共に、90 日間投与で形成された UBE2E2/GST-P<sup>+</sup> 巣で UBE2E2<sup>+</sup>/GST-P<sup>+</sup> 巣に比べて増加し、UBE2E2 発現減少が KDM4A の安定化を介した遺伝子傷害修復に対する阻害作用へ関与することが示唆された。

## PB-37

## Elemicin の短期遺伝毒性・発がん性包括的試験による評価

○時亮<sup>1,4)</sup>, 石井 雄二<sup>1)</sup>, 高須 伸二<sup>1)</sup>, 土屋 卓磨<sup>1)</sup>, 木島 綾希<sup>1)</sup>, 能美 健彦<sup>2)</sup>, 小川 久美子<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>3)</sup>, 梅村 隆志<sup>1)</sup>

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

<sup>3)</sup> 国立衛研 安全性生物試験研究セ, <sup>4)</sup> 筑波大 実験病理研

【目的】 Elemicin はナツメグなどの主成分として天然に存在するアルコキシベンゼン化合物の一つで、香料などとして用いられている。しかし、アルコキシベンゼンを基本骨格とするエストラゴールはげっ歯類において肝発がん性を有することから、elemicin のヒト健康への影響が懸念されるが、その毒性や遺伝毒性および発がん性については明らかになっていない。そこで本研究では、*gpt delta* ラットを用いて elemicin の一般毒性、遺伝毒性および発がん性について包括的評価を実施した。

【方法】 6 週齢の雄性 F344 系 *gpt delta* ラットに elemicin を 13 週間 (0、25、100、400 mg/kg bw) 経口投与した。一般毒性検査項目として体重ならびに臓器重量の測定、血液学的検査、血清生化学検査及び全身諸臓器の病理組織学的検索を、肝発がん性の検索として、肝前がん病変マーカーである GST-P 陽性細胞巢の定量的解析を行った。

【結果】 400 mg/kg 投与群では、投与開始 1 週目からすべての投与期間において有意な体重増加抑制が認められた。肝及び副腎は実及び相対重量ともに 100 mg/kg 投与群から対照群に比して有意な増加を示した。血清生化学検査では 400 mg/kg 投与群において ALT の有意な上昇が認められた。病理組織学的検索の結果、瀰漫性の肝細胞肥大及び変異肝細胞巢が 100 mg/kg 投与群から認められた。また、GST-P 陽性細胞巢の数ならびに面積は、どれも 400 mg/kg 投与群において有意な高値を示した。

【考察】 以上より、elemicin の無毒性量は 25 mg/kg であった。一方、肝前がん病変マーカーの GST-P 陽性巢が高用量群で有意に増加したことから、elemicin にはラット肝発がん性を有する可能性が示唆された。

## PB-38\*

## 雄性 SD ラットを用いた自然発生性の Glutathione S-Transferase Placental Form (GST-P) 陽性巢とその組織学的特徴に関する検討

○利谷 枝里子, 柿本 恒知, 稲垣 浩二, 安井 雄三, 剣持 佑介, 中村 明子, 豊田 薫, 高橋 明美, 正田 俊之

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所

【背景・目的】 Glutathione S-transferase placental form (GST-P) はラット肝化学発がんモデルの前がん病変マーカーとして知られており、GST-P 陽性の変異肝細胞巢は前がん病変として考えられている。今回、我々は無処置動物における自然発生性の GST-P 陽性巢とその組織学的特徴に関する検討を行った。

【材料及び方法】 4, 7, 12 及び 26 ヶ月齢の雄性 SD (CrI:CD) ラット (n=10-20/月齢) の肝臓 (外側左葉, 内側右左葉 / 内側右葉) の連続切片を作製し、GST-P 免疫組織化学染色及び HE 染色を実施した。

【結果】 GST-P 陽性巢の数及び面積は月齢と共に増加した。4 ヶ月齢では、GST-P 陽性の好酸性変異肝細胞巢が 1 個認められたのみであった。7 ヶ月齢では、GST-P 陽性巢の全てないし一部でわずかに好酸性色調変化が認められたが、HE 染色のみでは変異肝細胞巢と診断できるような組織形態像は示していなかった (以下、好酸性細胞変化とする)。12 及び 26 ヶ月齢で、GST-P 陽性巢の組織学的特徴別に個体発生頻度を調べたところ、好酸性細胞変化 (12 ヶ月齢 42%, 26 ヶ月齢 80%), 好酸性変異肝細胞巢 (12 ヶ月齢 32%, 26 ヶ月齢 60%), 形態学的変化なし (12 ヶ月齢 26%, 26 ヶ月齢 50%), 好塩基性細胞変化 (12 ヶ月齢 0%, 26 ヶ月齢 10%) の順であった。また、GST-P 陰性の変異肝細胞巢が 12 ヶ月齢以上で認められたが、部分的に GST-P 陽性を示す変異肝細胞巢は認められなかった。

【結論】 雄性 SD ラットの自然発生性 GST-P 陽性巢の数及び面積は月齢と共に増加していた。7 ヶ月齢では、全ての GST-P 陽性巢が好酸性細胞変化を示し、12 及び 26 ヶ月齢では、好酸性細胞変化が好酸性変異肝細胞巢よりも多く認められた。また、部分的に GST-P 陽性を示す変異肝細胞巢が認められなかったことから、好酸性変異肝細胞巢は GST-P 発現の後に形成される可能性が示唆された。

**PB-39\*****Piperonyl butoxide 誘発マウス結節性再生性肝細胞過形成の腫瘍性病変との分子病理学的差異**

○高須 伸二, 横尾 諭, 木島 綾希, 石井 雄二, 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】我々は、マウスに piperonyl butoxide (PBO) を長期間投与すると結節性に増殖する病変が多発性に認められることを見出した。本病変は周囲への強い圧排像を示すものの、その構成細胞を単一ではなく、肝小葉構造が概ね維持されていることから、非腫瘍性病変であり、再生性病変である可能性が考えられた。そこで本研究では、PBO をマウスに投与すると生じる本病変と同時に誘発される肝細胞腫瘍における部位特異的な網羅的遺伝子発現解析を実施し、それぞれの病変を分子病理学的に比較することでそれぞれの生物学的特徴を明らかにすることを目的とする。

【材料と方法】10-11 週齢の雄性 ICR 系マウスに PBO を 6000 ppm の濃度で 39 週間混餌投与した。投与終了後、肝臓を摘出し、レーザーマイクロダイセクション法にて本病変領域、肝細胞腺腫領域および非増殖病変部をそれぞれ採取し、cDNA マイクロアレイを実施した。

【結果】細胞周期に関連する遺伝子の発現は、本病変および肝細胞腺腫の何れにおいても非増殖病変部に比較して上昇する傾向を示した。また、Cyp 等の代謝に関連する遺伝子は本病変でのみ発現低下が認められ、細胞分化等に関わる Notch 経路に関連する遺伝子の発現は肝細胞腺腫でのみ発現上昇が認められた。

【考察】本病変と肝細胞腺腫は生物学的に異なる特徴を有していることから、本病変は非腫瘍性の増殖性病変であることが明らかとなった。さらに、今回本病変で発現低下が認められた Cyp のうち、いくつかの分子種は肝細胞増殖因子導入マウスや部分肝切除マウスにおいて発現低下がみられる Cyp と一致していたことから、本病変を結節性再生性肝細胞過形成とした。

**PB-40\*****パルミトイルピペリジノピペリジンの毒性影響および抗がん効果発現機序**

○安藤 さえこ, 松本 晴年, 深町 勝巳, 二口 充, 酒々井 眞澄

名古屋市立大学 大学院医学研究科 分子毒性学分野

新規抗がん物質 palmitoyl piperidinopiperidine (PPI) (特許第 5597427, 2014 年) は 50 mg/kg 腹腔内投与で雌ヌードマウスに移植したヒト大腸がん細胞株に対しアポトーシス誘導および血管新生抑制効果を示し腫瘍縮小効果を発揮した。本研究では PPI の毒性検証のため雌ヌードマウスに 50 mg/kg 腹腔内投与を行った。対照を大豆油投与群とした。実験期間を通して各群間の体重に有意差はなく、食道、胃、十二指腸、脾、大腸、肝、脾、腎、副腎、肺、心、卵巣、子宮、骨髄を組織学的に観察したところ対照群と比較し毒性所見は認めなかった。急性毒性試験では雌雄 SD ラットに 500、1000 および 2000 mg/kg PPI を単回強制経口投与し 14 日間観察した。LD<sub>50</sub> は雄で 1000 mg/kg、雌で 500 mg/kg であった。主な毒性所見として肝細胞の脂肪変性、2000 mg/kg 投与群での食道の潰瘍と食道粘膜下の炎症像を認めた。ヒト大腸がん細胞株 SW837 において 0.15 ~ 2.5 μM PPI は用量依存的に STAT3 転写活性を阻害した。2.5 μM PPI は、SW837 細胞株において STAT3 および pSTAT3 の核内移行を抑制した。2.5 μM PPI は STAT3 制御分子である Bcl-2、Bcl-xL、cyclinD1、VEGF の発現を抑制し、p53 の発現を増加させた。以上の結果から、50 mg/kg 腹腔内投与の条件下で、PPI はマウスに重篤な副作用を示すことなく抗がん効果を発揮する。PPI は転写因子 STAT3 の転写活性阻害により STAT3 に制御される分子を介し最終的に抗がん効果を発揮している可能性がある。

## PB-41

Zucker ラットの齲蝕形成に対する唾液腺機能障害の関与  
— 肥満および糖尿病因子の唾液腺機能への影響について —西本 大輝<sup>1)</sup>, ○兒玉 安史<sup>1)</sup>, 尾崎 清和<sup>2)</sup>, 松浦 哲郎<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 広島国際大学 薬学部 病態薬物治療学研究室, <sup>2)</sup> 摂南大学 薬学部 病理学研究室

【背景・目的】我々は糖尿病齲蝕類では、高血糖が齲蝕の誘発・増強因子であることを明らかにし、また肥満形質を有する Zucker fatty ラット (ZF) および ZF にさらに糖尿病形質を発現させた Zucker diabetic fatty ラット (ZDF) を用い、肥満因子も齲蝕形成に関与することを報告した。齲蝕の主要因として、唾液腺機能障害はよく知られているが、糖尿病齲蝕類の齲蝕発症と唾液腺の関連性を調べた報告はほとんどない。そこで今回、Zucker ラットの 3 系統で齲蝕進行に差があることに注目し、唾液腺機能と糖尿・肥満因子の関連性について調べた。

【方法】ZDF、ZF および対照として肥満・糖尿を発症しない Zucker lean (Lean) の 3 系統ラットを用い、10、26 および 42 週齢時にピロカルピン刺激による唾液分泌量の測定を行った。剖検は 42 週齢時の唾液分泌量測定後に行い、臼歯および唾液腺について形態学的解析を実施した。

【結果】全ての測定時点で、ZDF および ZF の唾液分泌量は Lean と比較し有意な低値を示し、42 週齢時に ZDF および ZF の唾液分泌量は、それぞれ Lean の 10% 以下および約 50% に減少した。臼歯歯冠の部分欠損はいずれの群でも認められたが、その程度は ZDF>ZF>Lean の順であり、ZDF および ZF では齲蝕による歯冠崩壊も観察された。唾液腺の組織学的解析では、いずれの群にも耳下腺および舌腺の腺房細胞に微小空胞が観察され、その程度および頻度は ZDF で最も高度であった。

【結論】Zucker 系統ラットでは臼歯齲蝕の強度は ZDF>ZF>Lean の順であり、本病変は唾液分泌量の減少および漿液性唾液腺の空胞化の程度にはほぼ一致することから、本系統の齲蝕形成には肥満・糖尿病因子に起因する唾液腺機能障害が関連している可能性が高いと考えられる。

## PB-42\*

ICR マウス臼歯における加齢性咬合面摩耗および Alloxan 誘発糖尿病による  
摩耗病変の増強について○西本 大輝<sup>1)</sup>, 兒玉 安史<sup>1)</sup>, 丸山 早斗<sup>2)</sup>, 寺山 由依<sup>2)</sup>, 尾崎 清和<sup>2)</sup>, 松浦 哲郎<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 広島国際大学 薬学部 病態薬物治療学研究室, <sup>2)</sup> 摂南大学 薬学部 病理学研究室

【背景・目的】我々は Alloxan(AL) 誘発糖尿病ラットにおいて、13 週の高血糖期間では歯冠崩壊を伴う高度の齲蝕を、7 週の高血糖期間では初期の齲蝕に加え臼歯の咬合面摩耗が増強することを明らかにした。一方、高血糖が 13 週間持続した AL 投与マウス臼歯の実体鏡観察では典型的な齲蝕は検出されず、臼歯の異常は咬頭の溝の消失等の微細な変化にすぎなかった。今回、AL 投与 ICR マウスの臼歯ではラットと同様に高血糖に起因した咬合面摩耗が進行し、これが齲蝕とは異なる臼歯の形態変化を招く要因ではないかと考え、本糖尿病モデルマウスの臼歯について、詳細な形態学的検査を実施した。

【方法】6 週齢の雄 ICR マウスに AL (75 mg/kg) を尾静脈内投与し、高血糖を誘発した DM 群および無処置の対照群を設定した。AL 投与後 4 週 (10 週齢) および 13 週 (19 週齢) に剖検を行った。上顎および下顎の臼歯を実体鏡および軟 X 線で精査し、咬頭丈を測定した後、連続組織切片について病理組織学的に解析した。

【結果】対照群では、19 週齢マウスの臼歯咬頭丈は 10 週齢と比較し有意に短縮し、ICR 系統で加齢性の咬合面摩耗が潜在していた。一方、DM 群では、AL 投与後 4 週および 13 週ともに臼歯の咬頭丈は対照群と比較し有意な低値を示し、高血糖により ICR の咬合面摩耗はさらに増強した。病理組織学的には、すべての個体で臼歯摩耗部直下の象牙質から歯髓境界部に第三象牙質が形成され、本病変は経時的に対照群で増強するとともに、DM 群でさらに高度となった。

【結論】AL 誘発による糖尿病 ICR マウスの臼歯では、高血糖は本系統に潜在する加齢性咬合面摩耗をさらに増強させることが明らかとなった。臼歯咬合面摩耗の増悪化は糖尿で発症する齲蝕に関与している可能性も示唆された。

**PB-43\*****C57BL/6 マウスにみられた Botryomycosis**

○中村 進一, 川瀬 貴博, 塚原 隆充

(株) 栄養・病理学研究所

Botryomycosis は、好酸性沈着物を伴う化膿性肉芽腫性病変を特徴とする慢性感染症である。Dextran sulfate sodium (DSS) 腸炎を誘発した実験において、Botryomycosis がみられたので報告する。【材料と方法】症例は 11 ~ 15 週齢の雌性 C57BL/6 マウス。3 例は 1.5%DSS を 5 ~ 7 日間飲水投与、2 例は非投与群であった。2 例は顔面腫脹が観察され、他 2 例は腸間膜に 10mm 大、1 例は卵巣に 9mm 大の腫瘤がみられた。常法によりパラフィン切片を作製後、HE 染色、Gram 染色および免疫染色を行った。【結果】顔面腫脹部、腸間膜および卵巣腫瘤は剖面灰白色充実性でやや硬く、中心部に微細白色病変が観察された。病変内には化膿性肉芽腫が多発し、グラム陽性球菌が多数みられた。好酸性針状沈着物や壊死物質が混在し、好酸性均質な沈着物が菌塊周囲を被包していた。病巣部には好中球やマクロファージが浸潤し、周囲に結合組織が増生していた。同部位の細菌は抗 *Staphylococcus aureus* 抗体を用いた免疫染色で陽性を示した。【考察】全例に共通して、グラム陽性球菌を伴う化膿性肉芽腫が形成され、病変内には Splendore-Hoeppli 物質が観察された。免疫染色結果から、本例はいずれも *S. aureus* 感染症であり、Botryomycosis と診断した。Botryomycosis は慢性化膿性肉芽腫性病変で、Splendore-Hoeppli 物質の沈着を特徴とする。Splendore-Hoeppli 物質は抗原抗体複合物や線維素から構成されていると考えられているが、病理発生機序の詳細は不明である。*S. aureus* は皮膚常在菌であり、免疫不全マウスでは病変形成に至ることがあるとされている。本例では、病変形成機序は明らかではないが、顔面腫脹は口腔または鼻腔からの感染、腸間膜病変は腸管からの感染が疑われた。

**PB-44\*****Effect of lipopolysaccharide on autophagy and autophagic response in liver homeostasis in rats**

○Karim M. Rabiul, Pervin Munmun, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至

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

<Background and Aims> Autophagy contributes to cell physiology. We investigated the patho-physiological significance of autophagic response in rat liver by lipopolysaccharide (LPS, an autophagy inducer) after hepatic macrophage stimulation or depletion.

<M&M> 6-week F344 male rats were injected with LPS (0.1mg/kg, i.p.) and liver samples were collected on 6h to 48h post injection. Hepatic macrophages were stimulated or depleted by empty liposome (LIP; 10 ml/kg, i.v.) or liposomal clodronate (CLD; 10 ml/kg, i.v.), respectively, one day before LPS injection.

<Results> Histo-architecture of the liver was not changed following LPS injection. AST and ALT values were significantly increased in macrophage-depleted CLD rats in comparison to macrophage-primed LIP rats. However, hepatocytes showed increased autophagic activity in both CLD and LIP group at 6h and 12h, demonstrable with LC3B (autophagy marker) or Lamp1 (lysosome marker) immunostaining and by an increase expression of autophagy-related mRNAs in the liver. The number of autophagosomes within hepatocytes was significantly increased in macrophage-primed LIP rats at 12h. The LC3B double-immunofluorescence with CD163 or CD68 (for macrophages), and with GFAP (for hepatic stellate cell marker; HSC) showed the increase in the co-expression of LC3B in hepatic macrophages and HSCs.

<Conclusions> LPS induced autophagy in hepatocytes, HSCs and liver macrophages and suggesting roles of autophagy in the pathogenesis of liver injury.

**PB-45\*****低カルシウム血症が四塩化炭素による肝傷害軽減に対する効果**

○吉岡 弘毅, 田中 美妃, 野々垣 常正

金城学院大学 薬学部 薬学科

【目的】四塩化炭素 (CCl<sub>4</sub>) はヒトの肝傷害と非常に類似している事や、簡便に傷害が起こる事から、肝傷害モデル化合物として、広く使用されている。これまでに我々は亜鉛を前投与する事で CCl<sub>4</sub> の致死毒性を完全に消失させる事を明らかにしてきた (Yoshioka et al, J Toxicol Sci, 2016)。本研究では、CCl<sub>4</sub> による致死を引き起こす因子の探索を目的として、Ca に着目して、検討を行った。

【方法】実験には雄性の ddY マウスを用いた。4 週齢から通常食または Ca 欠乏食を 4 週間自由摂取させた。その際、1 週間毎に体重測定、二週間毎に血漿中 Ca 測定を実施した。4 週間の飼育後、CCl<sub>4</sub> を 2 g/kg の用量で腹腔内投与し、24 時間後に血漿中の血液マーカーを測定した。加えて、肝臓組織による H&E 染色及び PAS 染色、肝臓中の脂質過酸化を評価した。また、8 週齢のマウスに対し、CCl<sub>4</sub> を投与する 10 分前に塩化カルシウムを 150 mg/kg の用量で腹腔内投与し、同様の検討を実施した。

【結果】Ca 欠乏食を給餌した群では、血漿 Ca 値の有意な減少が認められた。この条件下で CCl<sub>4</sub> を投与したところ、二群間で腎臓の血液マーカーに差は認められなかった。その一方で、肝臓においては、Ca 欠乏食で肝傷害マーカーの有意な減少、肝臓組織の傷害度の減少、酸化ストレスの抑制が確認された。また、塩化カルシウム投与後に CCl<sub>4</sub> を投与すると、肝傷害が重篤化することが確認された。

【考察】これまで、肝傷害を引き起こされた際に Ca が上昇する事は報告されているが、細胞死の終末現象として位置づけられていた。本検討の結果から、CCl<sub>4</sub> の肝傷害に対して、血漿中の Ca が重要な役割を担う事が明らかとなった。また、その作用点として、細胞死の終末以前の脂質過酸化の生成段階に関与する事が示唆された。

**PB-46\*****チオアセトアミド反復投与ラット肝障害モデルにおける肝細胞傷害の軽減効果の解析**

○倉持 瑞樹, 井澤 武史, Pervin Munmun, Karim M. Rabiul, Bondoc Alexandra, 桑村 充, 山手 文至

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

【背景・目的】化学物質の多くは肝臓で代謝される。単回暴露で傷害された肝細胞は、複数回の暴露により傷害がより悪化すると考えられる。単回投与による肝障害の進展機序については、チオアセトアミド (TAA) 誘導ラット肝障害モデルの解析から、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 Toll-like receptor 4 (TLR4) そして TLR4 を主に発現する MHC クラス II 細胞が重要な役割を担うことを明らかにした (Kuramochi et al., Exp Toxicol Pathol, 2016)。しかし、化学物質の連回暴露による肝毒性の報告はほとんどない。今回、TAA 反復投与ラットモデルにおける、「DAMPs-TLRs-MHC クラス II 経路」と肝障害との関係を解析した。

【材料・方法】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 日に肝を採材した。

【結果】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。1 回投与後に AST と ALT が上昇し、それに一致して TLR4 と DAMPs 分子である S-100 A4 の発現が増加した。しかし、MHC クラス II 発現細胞数は 2 回と 3 回投与では漸減したが、その数は対照群よりは有意に増加していた。

【結論】TAA の反復投与により、肝細胞の傷害軽減と MHC クラス II 発現細胞の存在から、肝細胞の傷害の軽減に MHC クラス II 発現細胞が関係している可能性が示唆された。この軽減効果をより明らかにするために、MHC クラス II 細胞の特性解析 (M1/M2 型) に加え、細胞内で DAMPs 分子を包含するオートファジーの形成状況、さらには急性肝障害モデルを用いた抗 DAMPs 抗体や抗 TLR4 抗体・アゴニストを用いた解析を進めている。

**PB-47\*****マウスを用いたモノクロタリン誘発類洞閉塞症候群モデルにおける肝障害発現機序及び障害検出マーカーの検討**

○原 慎太郎, 林 仁美, 奥田 祐司, 飯河 直子, 測上 貴美子, 市村 英資

日本化薬 (株) 安全性チーム

【背景及び目的】 類洞閉塞症候群 (Sinusoidal obstruction syndrome; SOS) は、oxaliplatin (OXP) の化学療法に伴う副作用として広く認識され、肝機能低下のリスク因子となる。本実験では、OXP 及び SOS モデル作製に頻用される monocrotaline (MCT) をマウスに投与し、肝障害発生過程を継時的に病理組織学的及び血液学的に検索することで、病態発症の詳細及び SOS における各種マーカーの有用性を検討した。

【方法】 6 週齢雄性 ICR マウスに、OXP 10 mg/kg × 4 (i.v) 及び MCT 500 mg/kg × 1 (p.o) を投与し、6, 12 及び 24 時間後に肝臓及び血液を採取した。肝臓は HE 染色、免疫染色 (LYVE-1, Stabilin-2, CD41) 及び電顕に供し、血液は PLT, ALT, AST, T-bil, ヒアルロン酸 (HA) を測定した。

【結果】 光顕では、MCT 投与後 6 時間で類洞における軽度の細胞浸潤及び単細胞壊死を認め、その後、類洞の鬱血、小葉中心性の肝細胞変性・壊死を認めた。一方、OXP 群では著変を認めなかった。電顕では、MCT 群で類洞における内皮細胞の変性・消失、血小板の凝集・接着像及びディッセ腔の拡張等を認めた。類洞内皮マーカーの LYVE-1 は、肝細胞障害部に一致した発現低下を示した。また、障害部の類洞では CD41 陽性の血小板の集簇を認めた。血液検査では、PLT の減少、ALT, AST, T-bil 等の上昇を認めた一方で、HA の値は、MCT 群及び明瞭な肝障害像を認めない OXP 群でも上昇した。

【考察】 ICR マウスに MCT を投与し、類洞における鬱血を特徴とした SOS 類似の病態を確認できた。マウスの肝類洞障害マーカーとして、LYVE-1 の有用性が示された。さらに、HA は明らかな類洞内皮障害が認められない時点でも上昇し、類洞内皮障害の素因を有する化合物に対する鋭敏なマーカーになり得ると考えられた。

**PB-48\*****NASH モデルマウスにおける肝細胞癌の病理組織学的特徴**○松尾 沙織里<sup>1)</sup>, 吉田 綾恵<sup>2)</sup>, 松本 雅彦<sup>1)</sup>, 伊藤 恒夫<sup>1)</sup>, 林 修次<sup>1)</sup>, 西原 香織<sup>1)</sup>, 足立 健児<sup>1)</sup>, 篠塚 淳子<sup>1)</sup>, 鈴木 雅実<sup>1)</sup>, 加藤 淳彦<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 中外製薬 (株), <sup>2)</sup> (株) 中外医科学研究所

【背景と目的】 我々は、NASH モデルである Choline-deficient, L-amino acid-defined, high-fat diet (CDAHFD) 給餌マウスの給餌開始後 14 週までの肝臓の組織学的特徴について、第 30 回本集会において報告した。さらに 60 週間にわたり同処置を行った実験において、36 週から肝細胞癌 (HCC) が発生することが明らかとなり (Yoshida et al. 2016 投稿中)、本モデルは NASH を背景とした HCC を発生するモデルであることが示された。今回我々は、CDAHFD マウスに発生した HCC の病理組織像を詳細に観察し、その特徴について報告する。

【材料と方法】 6 週齢の雄の C57BL/6J マウスに CDAHFD あるいは Standard diet (SD) を最大 60 週間与えた。加えて、36 週間 CDAHFD を給餌し、その後 SD を 12 週間給餌する群 (CDAHFD/SD 群) を設けた。Yoshida らの論文で用いた動物及び同様の処置を行ったその他の動物の中から、HCC と診断された 19 症例について HE 染色標本を用いて病理組織学的検査を行った。

【結果】 SD 群において、60 週で索状配列を主体とする HCC が 1 例観察された。CDAHFD 群あるいは CDAHFD/SD 群においては、索状、腺管様、充実性の増殖を示す HCC が認められた。また、再生性過形成あるいは肝細胞腺腫を主体とした腫瘤の内部に HCC を形成するものや、高分化 HCC の内部により低分化 HCC を有するものも認められた。

【結論】 CDAHFD マウスの肝細胞癌は、多彩な増殖パターンを呈することが明らかとなった。CDAHFD マウスの HCC において、Nodule in Nodule の構造が認められたことから、本モデルの NASH を背景とした肝発がん様式には、ヒトの多段階発がんと同様のメカニズムが存在する可能性が示唆された。今後、特殊染色や免疫染色を実施し、合わせて報告する予定である。



**PB-49\*****非アルコール性脂肪性肝疾患モデルマウスの病態進展に対する benzo[a]pyrene の影響**○松下 幸平<sup>1)</sup>, 豊田 武士<sup>1)</sup>, 曾根 瑞季<sup>1,2)</sup>, 森川 朋美<sup>1)</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> 東京農工大学 農学部

【背景】非アルコール性脂肪性肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) の病態進展に関わるリスク因子の一つとして、ダイオキシン類などの環境汚染物質への暴露が考えられており、その機序には aryl hydrocarbon receptor (AhR) 活性化の関与が示唆されている。Benzo[a]pyrene (BaP) は環境中に広く存在する汚染物質であり、AhR のリガンドとしても知られている。本研究では NAFLD の病態進展に対する BaP の修飾作用を明らかにするため、高脂肪食誘発 NAFLD モデルマウスを用いて検討した。

【方法】6週齢の雄性 C57BL/6J マウス 20匹を4群に配し、8週間の実験期間を通して基礎食 (10% kcal from fat) または高脂肪食 (60% kcal from fat) を自由摂取させた。実験開始4週後より、それぞれのマウスに BaP (10 mg/kg 体重/日) あるいは corn oil (溶媒, 10 ml/kg 体重/日) を4週間強制経口投与した後に解剖した。血清生化学的検査並びに肝臓及び精巣上体周囲脂肪組織の病理組織学的解析を実施し、さらに肝臓については代謝関連遺伝子の mRNA 発現を検索した。

【結果及び考察】高脂肪食群では、基礎食群と比して有意な体重増加が実験開始5週後より認められ、剖検時には肝臓の絶対重量並びに精巣上体周囲脂肪組織の絶対及び相対重量の有意な増加を認めたが、それらに対する BaP 投与の影響はみられなかった。また AhR の標的遺伝子である cyp1a2 の肝臓における mRNA 発現は、基礎食群及び高脂肪食群のいずれにおいても BaP 投与により有意に上昇した一方で、両群の間に発現レベルの差はみられなかった。今後、他の代謝関連因子の mRNA 発現解析、血清生化学的検査及び病理解析の結果と併せて、NAFLD の病態進展に対する BaP の修飾作用について考察する。

**PB-50\*****マウス非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) 病態に Eicosapentaenoic acid (EPA) と docosahexaenoic acid (DHA) が及ぼす異なる影響**○煙山 紀子<sup>1)</sup>, 松坂 賢<sup>2)</sup>, 中川 嘉<sup>2)</sup>, 矢作 直也<sup>2)</sup>, 美谷島 克宏<sup>1)</sup>, 中江 大<sup>1)</sup>, 島野 仁<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 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, <sup>2)</sup> 筑波大学 医学医療 内分泌代謝糖尿病内科

【目的】n-3系多価不飽和脂肪酸である EPA と DHA は、共に脂肪肝改善作用や抗炎症作用を持つ。本研究は、EPA と DHA の作用機構を解明する目的で、マウス NASH 病態に及ぼす影響について、比較検討した。

【方法】実験は、C57BL/6J 系雄性マウスに普通食、高脂肪高コレステロール食 (AHF)、5%EPA 含有 AHF または 5%DHA 含有 AHF を4週間投与し、脂質代謝および NASH 病態の諸指標について解析した。

【結果】AHF は、血清の総コレステロール値および ALT 値の上昇、脂肪肝と肝の炎症、酸化ストレス亢進を惹起した。EPA と DHA は、共に血清の総コレステロール値と ALT 値の増加と肝の線維化を抑制した。加えて、EPA は DHA と比較して肝トリグリセリド蓄積に対する抑制作用が強く、DHA は EPA と比較して肝の炎症および酸化ストレスに対する抑制効果が強かった。

【考察】EPA と DHA は共に AHF による NASH 病態および脂質異常に対して抑制的に作用するが、EPA は肝および血清の脂質低下作用が強く、DHA は肝における抗炎症作用が強かった。したがって、この2種類 n-3系多価不飽和脂肪酸は、NASH の病態により、それぞれの有用性を生かした使い分けができることが示唆された。

## PB-51\*

## ラットにおける利尿剤スピロラクトンと 酵素処理イソクエルシトリンの併用投与による脂肪肝関連初期肝発がんの抑制機構の検討

村山 宗理<sup>1)</sup>, 牧野 絵美<sup>2)</sup>, 大塚 亮一<sup>2)</sup>, 林 新茂<sup>3)</sup>, 渋谷 淳<sup>1)</sup>, ○吉田 敏則<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京農工大学 農学部 獣医病理, <sup>2)</sup> (一財) 残留農薬研究所, <sup>3)</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ (株)

カリウム保持性利尿剤スピロラクトン (SR) の脂肪肝関連の初期発がん過程への影響について、酸化防止剤酵素処理イソクエルシトリン (EMIQ) との併用効果を含めて検討した。ラットに基礎飼料または高脂肪 (HFD) を給餌し、HFD 群には、SR 投与群と SR と EMIQ の併用投与群の計 4 群を設け、中期肝発がん性試験を実施し、試験 9 週時に採血・剖検をした。HFD 群では基礎飼料群に比較し、体重及び腹腔脂肪重量の増加がみられ、血漿 T.Chol、TG 及び ALP の高値が観察された。また、糖負荷試験により耐糖能の低下が示唆された。肝重量に影響はなかったが、肝細胞の脂肪化と共に前がん病変指標である GST-P 陽性巣の数及び面積が増加した。これに一致し、酸化ストレス発生源である NADPH oxidase (NOX) 構成分子 p22phox 及び細胞増殖指標 Ki-67 陽性細胞の発現率が GST-P 陽性巣内で増加した。SR 投与によりこれらの値が減少し、EMIQ との併用群ではさらにその抑制作用が増強された。併用群では、active caspase-3 陽性細胞の増加がみられた。これらの抑制作用は、肝組織中の脂肪代謝 (Scd1、Fasn、Paprg)、NOX (P67Phox) 及び抗酸化酵素 (Catalase) の各遺伝子の発現変動を伴っていた。以上の結果より、SR と EMIQ の併用投与により脂肪肝関連の初期発がん過程が抑制され、その作用には肝臓における NOX を含む酸化ストレス指標の減少が関連していた。

## PB-52\*

## 肥満および耐糖能異常を伴う非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の新規マウスモデルの確立

○寺山 由依, 審 一慧, 松浦 哲郎, 尾崎 清和

摂南大学 薬学部 病理学研究室

【目的】非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) のモデル動物は多く作出されているが、ヒトのように肥満・脂肪肝・インスリン抵抗性・肝線維化・腫瘍を発症するモデルは報告されていない。JVS (*jvs/jvs*) マウスはカルニチン欠損により脂肪肝を発症するが、早期に死亡する。そこで、hetero 接合型 (*jvs/+*) および対照である wild 型 (*+/+*) の個体に対し、高脂肪食負荷に加え Alloxan (AL) 投与を行い、肥満および耐糖能異常を伴う NASH モデルの確立を試みた。

【方法】hetero および wild 系統の生後 3 日齢の雌雄マウスに AL を皮下投与後、それぞれ 3 週齢で離乳後に高脂肪飼料 (HFD-60) を与えた 4 群、ならびに両系統の雌雄に AL を投与せず 3 週齢から高脂肪食のみを与えた 4 群、以上の計 8 群を設定し、40 週齢時に剖検した。

【結果】いずれの群の雌雄においても、体重が顕著に増加するとともに、脂肪肝となり、雄の肝相対重量は全群で雌と比べ有意な高値を示した。また、雄の AL 投与 wild 群および雄の AL 非投与 hetero 群では、他の群よりも高頻度 (約 30%) で結節および腫瘍を形成した。全群でインスリンおよび HOMA-IR は高値でインスリン抵抗性を示し、AL を投与した 4 群では、これらの指標はより高度であり、経口糖負荷試験での値も高値を示した。組織学的にはいずれの群においても、小葉中心性の肝細胞の脂肪化、小葉中心部の類洞に沿った線維化および多巣状性好中球集簇を認め、雄では雌と比較して病変はより高度であった。さらに雄の AL 投与 wild 群および雄の AL 非投与 hetero 群では肝細胞過形成または腺腫が多く形成され、両病変を認めた個体の肝線維化は強い傾向を示した。

【結論】肥満および耐糖能異常を示し、脂肪肝、肝線維化さらに腫瘍形成に進展する NASH モデルマウスの作製に成功した。

## PB-53

**非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) モデルである STAM マウスモデルの早期病変に関する病態解析**

○美谷島 克宏<sup>1)</sup>, 太田 毅<sup>2)</sup>, 石井 幸仁<sup>2)</sup>, 煙山 紀子<sup>1)</sup>, 中江 大<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 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, <sup>2)</sup> 日本たばこ産業 (株) 医薬総合研究所

【背景】STAM マウスモデルは新生児マウスにストレプトゾトシン (STZ) を投与し、離乳以降高脂肪食を給餌することにより作出される NASH モデルとされているが、その病態にはなお不明な部分がある。本研究では、STAM マウスモデルの早期段階における病態プロファイルを解析した。

【方法】実験は、2日齢の雄性 C57BL/6J 系マウスに1匹当たり 200  $\mu$ g の STZ を単回皮下投与した STZ マウスまたは無処置対照マウスをそれぞれ3週齢時に株式会社ステリック再生医科学研究所から購入し、4週齢以降基礎飼料または高脂肪含有飼料を給餌し、5・7・10週齢時に解剖して肝臓を採取し検索した。

【結果】STAM マウス (STZ マウス + 高脂肪飼料) では、正常マウス (対照マウス + 基礎飼料) に比較し、5週齢から肝重量の増加・肝中 TG 含量の顕著な増加・顕著な肝細胞の脂肪化とそれに伴う肥大が、10週齢でごく軽度の肝線維化及び炎症が認められた。5週齢からは明細胞性変異肝細胞巣も散見されたが、明らかな腫瘍性病変は10週齢まで認められなかった。その他には、血漿中の ALT 及び AST 活性の上昇・GLU 及び TG 及び TC 濃度の増加・インスリン濃度の減少、肝の CK8/18 及び HNE 陽性領域の増加、線維化関連遺伝子の発現増加が認められた。また、STZ マウス + 基礎飼料または対照マウス + 高脂肪食の群においても STAM マウスと同様の変化が軽微に認められた。

【考察】STAM マウスにおいては、10週齢までに長期飼育で認められる変化の初期病変と考えられる諸変化が認められ、早期から NASH 様病態が誘導されることが明らかとなった。したがって、STAM マウスモデルは、ヒトの NASH の早期段階での予防・治療に資する情報を与え得るものと示唆された。

## PB-54\*

**高脂肪食誘発 NASH モデルラットにおける背景飼料の影響**

○稲井 洋平, 大地 祥子, 新 真智, 桑村 充, 山手 丈至, 井澤 武史

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

【背景と目的】高脂肪食投与による非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) モデルにおいて、脂質の含有量や原料によって病態の違いが生じることが知られているが、脂質以外の飼料成分が病態へ及ぼす影響については不明点が多い。そこで本研究では、脂質の原料と含有量を同等に設定した背景飼料の異なる2種の高脂肪食を作製し、病態の比較検討を行った。

【材料と方法】F344 ラット (雄, 6週齢) に、高脂肪食としてココアバター 11% およびコレステロール 1% を添加した市販飼料 (fat-CE2 群) または指定配合飼料 (fat-custom 群) を自由摂餌投与し、それぞれ実験開始後 30 週または 26 週で血清、肝臓、白色脂肪を採材し、血液生化学検査、肝臓の病理組織学的検査、脂肪組織を用いた real-time PCR 検査を行った。

【結果】fat-CE2 群と fat-custom 群は1日当たりの摂取カロリーに差はなかったが、fat-CE2 群の方が体重は高かった。一方で、相対肝重量は fat-CE2 群と比べて fat-custom 群で高かった。血清 AST および ALT は、fat-CE2 群で上昇がみられたが、fat-custom 群では上昇はみられなかった。病理組織学的には、fat-CE2 群、fat-custom 群共に肝細胞のび慢性脂肪化や小葉内の単核球および好中球浸潤がみられたが、CD68 陽性炎症巣の数は fat-CE2 群の方が多かった。また、fat-CE2 群のみで類洞周囲の線維化がみられた。白色脂肪の CCL2 および CXCL1 発現量は fat-CE2 群で上昇し、fat-custom 群で減少がみられた。

【結論】背景飼料が異なる高脂肪食で、誘発病変に明らかな違い (肝障害、肝炎の程度) がみられたことから、食餌誘発 NASH モデルにおいて、脂質以外の飼料成分も病態に関連することが分かった。現在、血中サイトカイン動態など両モデルのさらなる病態比較を進めている。

## PC-55\*

## ラット前立腺発がんに対する angiotensin II receptor type 2 アゴニストの化学予防効果

○内木 綾, 鈴木 周五, 加藤 寛之, 早川 将史, 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】**我々は以前、降圧薬である angiotensin II receptor type1 (AT1R) ブロッカーによる前立腺発がん抑制効果を見出した。angiotensin II のもう一つのレセプターサブタイプである AT2R は AT1R に対する拮抗作用を有しており、血圧低下作用に着目した AT2R アゴニストの降圧薬への応用が進んでいる。本研究では AT2R アゴニストの前立腺癌に対する化学予防効果について、前立腺発がん好発トランスジェニックラット (Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate, TRAP) を用いて検討した。

**【方法】**6週齢 TRAP ラットに AT2R アゴニストを 1, 2 mg/kg/day の濃度で飲水投与した。12週間後に剖検し、前立腺に生じた腫瘍性病変の病理組織学的、免疫組織学的解析および遺伝子、タンパク発現変化を解析した。

**【結果】**体重、肝、腎および前立腺腹葉重量に群間差は見られなかった。前立腺腹葉では全例に腺癌が観察され、発生頻度に群間差は見られなかったが、側葉では高用量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、側葉いずれも濃度依存性に有意に低下した。Ki67 標識率は腹葉では AT2R アゴニスト濃度依存性に低下し、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た。ウエスタンブロット解析では、腹葉、側葉いずれにおいても caspase 3, 7 の活性化と androgen receptor (AR) 発現の低下が確認された。

**【結論】**TRAP ラットにおいて、前立腺癌に対する AT2R アゴニストの化学予防効果を明らかにした。その機序は AT1R ブロッカーと同様、AR 発現抑制とカスパーゼ依存性アポトーシス誘導によることが解明された。

## PC-56

## 前立腺発がん物質早期検出のための分子マーカーおよびラットモデルの確立

○鈴木 周五<sup>1,2)</sup>, 内木 綾<sup>1)</sup>, 不二 哲<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 大学院医学研究科 実験病態病理学, <sup>2)</sup>名古屋市立東部医療センター 病理診断科

**【目的】**前立腺癌は近年日本でも急増しており、前立腺癌の発症予防は重要課題の一つである。その発症予防には発がんおよび発がん促進因子を同定し、それらの関与を極力抑える事が重要である。そこで我々は、環境化学物質の前立腺に対する発がん性を効率的にスクリーニングするための分子マーカーを同定し、反復毒性試験に準じた短期前立腺発がん物質検出モデル確立を試みた。

**【材料と方法】**前立腺に標的性を示す発がん物質 (PhIP, DMAB, MNU, BOP) および示さない発がん物質 (DMBA, MNNG, DMH, DMN) を 6週齢雄 F344 ラットに 1週間に 5回強制胃内投与し、4週間後に屠殺、前立腺を採取した。リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)、high mobility group box 2 (HMGB2) および Ki67 に対する抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、それぞれの抗体における核陽性率を算出し、対照群と比較検討した。

**【結果】**前立腺腹葉、側葉および背葉における  $\gamma$ -H2AX 標識率は、DMAB において全ての葉における有意な上昇を認めたものの、PhIP, MNU, BOP では有意差はみられなかった。HMGB2 および Ki67 標識率では、PhIP, DMAB, MNU, BOP の全群においてそれぞれ 2 葉以上、1 葉以上で有意な上昇を観察した。一方、DMBA, MNNG, DMH および DMN では、 $\gamma$ -H2AX、HMGB2、Ki67 のいずれの標識率においても有意な上昇は見られなかった。

**【結論】**前立腺上皮における HMGB2 あるいは Ki-67 標識率の上昇は、前立腺発がん物質の検出マーカーとして有用であることが示唆された。

## PC-57\*

## 免疫応答動物に対する前立腺癌細胞株の同種同所移植の検討

○加藤 寛之, 鈴木 周五, 内木 綾, 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

【背景と目的】我々の研究室では、F344 ラットを用いた前立腺化学発がんモデルから高転移能を有する3種類の前立腺癌細胞株 (PLS10, 20, 30) を樹立し、種々の解析を行ってきた。近年、腫瘍を含む周囲の微小環境との相互作用の解明とともに腫瘍免疫機構が注目されているが、細胞移植実験で多用されるヌードマウスなどの免疫不全動物ではこの生体内反応を再現されていない。そこで、本研究ではラット前立腺癌細胞株を免疫応答動物である F344 ラットへ同種同所移植することで、ヒトにおける腫瘍免疫環境に近似した新たな前立腺癌モデルの確立を試みた。

【材料と方法】6週齢 F344 ラットに PLS10, 20, 30 を 50% マトリゲルと共に前立腺腹葉に移植後、4, 8週でそれぞれ屠殺し腫瘍体積、転移の有無を検討した。またそれぞれの細胞株に対し、K-ras, p53, KLF6 の変異を PCR-SSCP にて解析した。

【結果】PLS20, 30 では移植部位に腫瘍形成を認めなかったのに対し、PLS10 ではほぼ全例に腫瘍形成が観察された。腫瘍容積は終局的に増大し、リンパ節、および肺への転移が認められた。いずれの細胞とも p53, KLF6 変異はみられなかったが、K-ras 変異は PLS10 でコドン 13 に、PLS20 ではコドン 61 に認められた。

【結論】正常な免疫応答が保持された F344 ラットに3種のラット前立腺癌細胞株を同種同所移植することにより、PLS10 のみが短期間で腫瘍形成、リンパ節や肺転移を来した。このことから、PLS10 は免疫逃避機構を有しており、PLS20,30 との遺伝子発現の違いを網羅的に解析することにより、癌細胞に対する免疫寛容メカニズムの解明につながるものと考えられる。

## PC-58

遺伝毒性膀胱発がん物質によるラット膀胱粘膜における  $\gamma$ H2AX 発現○豊田 武士<sup>1)</sup>, 鈴木 周五<sup>2)</sup>, 加藤 寛之<sup>2)</sup>, 曾根 瑞季<sup>1,3)</sup>, 松下 幸平<sup>1)</sup>, Cho Young-Man<sup>1)</sup>, 赤木 純一<sup>1)</sup>, 井上 薫<sup>1)</sup>, 高橋 智<sup>2)</sup>, 西川 秋佳<sup>4)</sup>, 小川 久美子<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 国立衛研・病理, <sup>2)</sup> 名古屋市大・医・実験病態病理, <sup>3)</sup> 東京農工大・農, <sup>4)</sup> 国立衛研・安全性生物試験研究セ

【背景】リン酸化ヒストンタンパク質 H2AX ( $\gamma$ H2AX) は DNA 損傷応答に重要な役割を果たすことが知られ、化学物質の遺伝毒性および発がん性評価への応用が期待されている。我々は以前に、遺伝毒性膀胱発がん物質の早期検出に  $\gamma$ H2AX 免疫染色が有用である可能性を報告した。本研究では、さらに被験物質を追加し、ラット膀胱への発がん性に対する本法の特異性を検討した。

【方法】各群 4-6 匹の F344 ラット (雄・6週齢) に対し、いずれも遺伝毒性発がん物質である 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB), *N*-nitroso-*N*-methylurea (MNU), *N*-nitrosodimethylamine (DMN), 1,2-dimethylhydrazine (DMH), 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP), *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP), *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG), 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA) をそれぞれ 5, 5, 2, 5, 15, 5, 10, 5 mg/kg 体重/日の用量で4週間 (5日/週) 強制経口投与した。膀胱粘膜における  $\gamma$ H2AX および細胞増殖マーカーである Ki67 発現を免疫組織化学的に検索した。

【結果】4週間の投与によって、膀胱上皮での  $\gamma$ H2AX 陽性細胞は対照群 (1000細胞あたり  $1.8 \pm 1.2$ 個) と比較し、DMAB ( $13.6 \pm 5.2$ ) および BOP ( $7.1 \pm 2.7$ ) 群で有意な増加が、MNU ( $6.5 \pm 2.9$ ) 群で増加傾向 ( $P=0.063$ ) が認められた。一方、Ki67 陽性細胞の割合は、いずれの投与群でも対照群と有意な差はみられなかった。

【考察】DMAB および BOP はそれぞれハムスターとラットに対し、皮下投与による膀胱発がん性が報告されている。また、BOP と MNU はカテーテルを用いたラット膀胱内投与によって、移行上皮がんを誘発することが知られている。今回の結果から、 $\gamma$ H2AX 発現は遺伝毒性物質による潜在的な膀胱発がん性の指標になり得る可能性が示された。

## PC-59\*

## M1/M2 分極化に基づいたイソプロテレノール誘発ラット心筋傷害におけるマクロファージの特性解析

○古賀 真昭, カリム ムハンマド ラビウル, 倉持 瑞樹, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至

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】 病変部位に出現するマクロファージは、機能的に M1 型と M2 型に分極化される。M1 型は IFN- $\gamma$  や TNF- $\alpha$  などの起炎因子を産生することで傷害を助長する。一方、M2 型は IL-4 や TGF- $\beta$ 1 などを産生することで組織の修復に係る。今回、イソプロテレノール誘発心筋傷害モデルラットを用い、傷害部位に出現するマクロファージの特性を解析した。

【材料と方法】 6 週齢雄 SD ラットにイソプロテレノール (10 mg/kg/ 体重) を単回皮下投与し、投与後 8 時間から 28 日の間経時的に心臓を採取した。マクロファージの機能特性は、免疫組織学的染色と RT-PCR 法による mRNA の発現で解析した。

【結果】 心筋壊死に引き続く炎症が、投与後 3 日で最も強く認められ、線維化は投与後 14 日からみられた。CD68、MHC-クラス II および CD204 陽性マクロファージは投与後 3 日に、CD163 陽性マクロファージは投与後 7 日に最も多く認められた。また、投与後 3 日の材料を用いて、二重蛍光免疫染色を実施したところ、CD68 陽性 M1 マクロファージは CD204 を、CD163 陽性 M2 マクロファージは MHC-Class II を共発現していた。また、M1 型関連因子である MCP-1、IL-1 $\beta$ 、IL-6 と、M2 型関連因子 IL-10 は投与後 8 時間の時点で発現が最も上昇していた。さらに、M1 型関連因子である INF- $\gamma$  と TNF- $\alpha$ 、M2 型関連因子である TGF- $\beta$ 1 は傷害早期から継続的に発現の上昇が認められた。

【結論】 イソプロテレノール誘発心筋傷害において、傷害早期に M1 型マクロファージが、その後線維化の進行期に M2 型マクロファージが多くみられ、病態の進行に応じ M1/M2 の分極化が生じた。

## PC-60

## 抗ヒト tissue factor 抗体の組織交差反応性試験とカニクイザルにおける出血性病変解析によるリスク評価

○藤井 悦子, 渡部 一人, 西原 香織, 鈴木 雅実, 加藤 淳彦

中外製薬株式会社 研究本部

【背景および目的】 抗体医薬開発において組織交差反応性 (TCR) 試験により抗体が結合する臓器・組織を予測するが、毒性発現臓器・組織と一致しないことが多く、毒性リスク評価上の有用性を疑問視する意見も多い。今回我々は抗ヒト tissue factor (TF) 抗体の TCR 試験結果とカニクイザルにおける出血性病変の病理組織学的特徴から TCR 試験の有用性について検討した。

【材料と方法】 抗 TF 抗体を用いてヒトおよびカニクイザルの TCR 試験を実施した。次に、カニクイザルに同抗体 0、3、10、30、100 mg/kg を単回投与後 14 日 (雌雄各 n=2) および 28 日 (雌雄各 n=1) に、さらに 0、1、3、10、30 mg/kg (雌雄各 n=3) を週 2 回、4 週投与後に剖検および病理組織学的検査を行った。

【結果】 TCR 試験では、心臓・膀胱を含む様々な臓器・組織が陽性であり、ヒトとカニクイザルで同様であった。単回投与では主として心臓および膀胱に出血性病変がみられ、用量相関が不明瞭であった。病理組織学的に心臓では、出血、水腫、炎症性細胞浸潤、線維化、ヘモジデリン沈着が同一個体で混在しており、病変の広がり用量相関は不明瞭であった。間歇投与では用量相関がやや明瞭となった。

【考察】 TCR 試験の陽性部位は病変発現部位と一部のみ一致していた。そのうち心臓および膀胱は病変好発部位であり、TF が出血の制御に特に重要であることが示唆された。病変の発現状況から、病変は偶発的に惹起されると考えられた。TCR 試験結果がカニクイザルとヒトで同様であり、今回用いた抗 TF 抗体はヒトで同様の毒性を引き起こすリスクがあると考えられた。以上より、TCR 試験は、カニクイザルにおける毒性試験結果をヒトでのリスク評価につなげる上で有用であることが示された。

## PC-61\*

## 新生児期低栄養曝露児の成獣期 LPS 曝露に対する免疫反応の増強

○等々力 舞<sup>1)</sup>, 瀬沼 美華<sup>1)</sup>, 熊谷 文明<sup>1)</sup>, 小川 哲郎<sup>2)</sup>, 斉藤 義明<sup>1)</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> 埼玉医科大学 生理学

【背景および目的】 発達期の栄養環境は成人期の生活習慣病罹患リスクを高めると考えられている。我々はマウス新生児期低栄養曝露が離乳児の胸腺、脾臓の発達に影響を及ぼすことを明らかにした。本実験では免疫系を刺激するリポポリサッカライド (LPS) を成獣期に投与し免疫器官への影響を比較検討した。

【材料と方法】 C57BL/6 母マウスに分娩後 7 日間 50% 給餌制限した群 (FR) と固形飼料 CE-2 を自由摂食させた対照群を設けた。生後 11 週に 250  $\mu$ g/kg の LPS を 3 日間腹腔内投与後解剖し脾臓、胸腺について HE 染色及び CD3、CD45R、Iba-1 免疫組織化学染色を行った。

【結果および結論】 LPS 投与前の体重は両群間に差はなかったが、FR 群の脾臓および背部脂肪重量は対照群より高値を胸腺重量は低値を示した。組織学的には対照群と比較して FR 群の胸腺では被膜直下の大型リンパ球増加、脾臓では PALS 領域の CD3 陽性細胞減少、辺縁帯および赤脾髄領域に存在する Iba-1 陽性細胞増加が認められた。LPS 投与により両群とも同程度に体重が減少したが、FR 群の脾臓、背部脂肪重量は対照群より高値を示した。組織学的には胸腺では両群ともに萎縮が同程度にみられた。脾臓では両群とも白脾髄領域が減少した。CD45R 陽性細胞の分布は両群に差はなかったが、CD3 陽性細胞の減少が FR 群で顕著に認められた。また、赤脾髄領域では両群ともに好中球および Iba-1 陽性の組織球の増加が観察され FR 群で顕著であった。さらに FR 群では辺縁帯の Iba-1 陽性細胞の増加が観察された。以上の結果から、新生児期に低栄養曝露された児では成獣期においても胸腺および脾臓の組織構造が異なっており、LPS に対する反応が増強することが明らかになった。

## PC-62\*

エストロゲン投与ラットにおけるメラトニンの毒性修飾作用：  
血栓塞栓症の 1 例についての症例報告

○野宮 奈菜, 今井 大貴, 河本 晴香, 宮田 真衣, 佐藤 洋

岩手大学 農学部 獣医学課程

【はじめに】 メラトニンは概日リズムの維持のほか、睡眠誘導作用や抗酸化作用など数多くの作用が知られているが、昨今、抗エストロゲン作用を有する事が報告された。そこで、エストロゲン誘発ラット下垂体腫瘍モデルにおける、メラトニンの修飾作用を検討したところ、その 1 例に血栓塞栓症が観察されたのでここに報告する。

【材料及び方法】 F344/NSlc 6 週齢雌ラットに estradiol dipropionate 20 mg/kg を 2 週間に 1 回背部皮下に投与するとともに、メラトニン 10 mg/kg を毎日腹腔内投与した。動物は、試験開始 6 週目に死亡したため、病理学的検査を実施した。

【結果】 試験開始 5 週目より腹痛様歩行と削瘦がみられ、6 週目に死亡した。剖検において、肺に暗赤色巣が散発し、子宮は内部に膿瘍貯留を認め顕著に拡張するとともに腹腔内器官と癒着していた。下垂体は中等度に腫大していた。病理組織学的検査では、肺における多発性血栓形成と血管周囲に軽度の水腫が認められ、左心室内にも血栓の形成が認められた。子宮は重度の炎症細胞浸潤がみられ、下垂体は好酸性細胞からなる腺腫を呈していた。その他、肝臓では小葉中心性壊死及び脂肪変性が見られ、脾臓の白脾髄萎縮と赤脾髄のうっ血が観察された。肺に観察された血栓は、リタンングステン酸ヘマトキシリン染色で青藍色に染色され、線維素性の血栓であることが確認された。

【まとめ】 以上の結果より、本症例を肺血栓塞栓症と診断した。メラトニン投与による血栓形成作用などの報告がないことから、今回見られた血栓症は、高用量のメラトニンがエストロゲンによる血栓形成を促進した可能性が考えられた。なお、本試験条件下では、メラトニン投与におけるエストロゲン誘発下垂体腫瘍の抑制効果は認められなかった。

## PC-63\*

γH2AX を指標とした *in vivo* 遺伝毒性評価系の構築 — ラット腎臓における検討 —

○曾根 瑞季<sup>1,2)</sup>, 豊田 武士<sup>1)</sup>, 松下 幸平<sup>1)</sup>, 森川 朋美<sup>1)</sup>, Cho Young-Man<sup>1)</sup>, 赤木 純一<sup>1)</sup>, 水田 保子<sup>1)</sup>, 西川 秋佳<sup>1)</sup>, 小川 久美子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国立衛研 病理, <sup>2)</sup> 東京農工大 農

【目的】我々は、反復投与毒性試験のサンプルを活用した *in vivo* 遺伝毒性評価系の構築を試みている。これまでに、種々の DNA 損傷に応じて発現することが報告されているリン酸化ヒストン H2AX (γH2AX) を指標とし、ラット 28 日間反復投与毒性試験系で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。本研究では、標的臓器を腎臓とし、膀胱以外の臓器に対する *in vivo* 遺伝毒性検出指標としての、γH2AX の有用性を検討した。

【方法】6 週齢の雄 F344 ラットに、遺伝毒性腎発がん物質 Potassium bromate (KBrO<sub>3</sub>)、Tris(2,3-dibromopropyl)phosphate (TBPP) および N-Nitrosomorpholine (NMOR)、非遺伝毒性腎発がん物質 Trisodium nitrilotriacetic acid monohydrate (NTA-H<sub>2</sub>O) および d-Limonene、腎毒性物質 Carboxin (CBX) を 4 週間投与し、γH2AX 免疫染色および DNA 修復関連因子 (*Rad51*, *Lig4*, *Xrcc1*, *Ercc1*, *Msh2*, *Mgmt*) の mRNA 発現を解析した。

【結果・考察】近位尿管の γH2AX 陽性細胞数は、対照群と比較し、KBrO<sub>3</sub>、NMOR、d-Limonene、CBX 投与群で有意な増加が、TBPP 投与群で増加傾向が認められた (P=0.052)。一方、NTA-H<sub>2</sub>O 投与群では有意な差はみられなかった。CBX 投与群の γH2AX 陽性細胞の大半は再生尿管に局在し、DNA 修復関連因子の発現増加は認められなかった。再生尿管の γH2AX 発現は、直接的な DNA 損傷よりむしろ細胞増殖との関連が示唆され、*in vivo* 遺伝毒性指標としては、再生尿管以外での評価が適切と考えられた。一方、d-Limonene 投与群では、再生尿管以外の部位においても γH2AX 陽性細胞の増加は有意であった。これは雄ラットに特異的な α<sub>2u</sub> グロブリン蓄積に伴う細胞増殖活性との関連が推測されたことから、現在雌ラットを用いた追加検討を実施しており、この結果についても併せて報告したい。

## PC-64\*

## 線維化病態モニターマウスを用いた腎障害モデルの病態解析

○山口 達弘<sup>1,2)</sup>, 加藤 祐樹<sup>1,2)</sup>, 奥田 智彦<sup>1)</sup>, 山手 丈至<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 塩野義製薬株式会社, <sup>2)</sup> 大阪府立大学 獣医病理学教室

【背景と目的】腎臓の線維化は進行すると人工透析や腎移植が必要になるため、医療経済上大きな問題となっている。しかしながら、線維化のメカニズムや主たるコラーゲン産生細胞については未だ統一した見解が得られていない。本研究では、腎線維化病態においてコラーゲンを産生する細胞を同定するために、コラーゲン産生細胞をモニタリング出来るモニターマウスを作製し、腎線維化病態におけるコラーゲン産生細胞の挙動を組織学的に解析した。

【材料と方法】I 型コラーゲンのプロモーター下で EGFP を発現するように遺伝子改変されたモニターマウスを作製した。本モニターマウスにシスプラチンを投与して腎障害を誘導し、腎臓の線維化病態を継続的に観察した。

【結果と結論】病態の進行に伴ってコラーゲン産生細胞の種類が変わることを明らかにした。本結果はこれまでの研究で得られなかった知見であり、腎線維化のメカニズム解明に寄与する可能性がある。



## PC-65

## 遺伝子発現パターンを用いた短期腎発がん性予測法の開発

○松本 博士, 齋藤 文代, 武吉 正博

(一財) 化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所

発がん性は化学物質の安全性評価で重要なエンドポイントの一つであるが、発がん性試験は長期間にわたる試験期間と高額な試験費用を必要とし、実施者にとって負担の大きい試験であるため、より短期間で検出できるスクリーニング法の開発が望まれている。これまでの発がん性試験では肝臓 (39%) 及び腎臓 (16%) が主な標的臓器であり、肝臓については、28 日間反復投与後の遺伝子発現データから発がん性を高精度に予測できる手法「CARCINOscreen®」を開発してきた。そこで、2011 年より経済産業省 ARCH-Tox プロジェクトに参画し、発がん性物質の標的臓器の一つである腎臓について、発がん性予測法を開発した。本研究では学習データ及び検証データとしてそれぞれ 22 物質及び 10 物質を選定し、SD ラットを用いた 28 日間反復投与試験を実施した。そして、マイクロアレイを用いて腎臓 (皮質) の遺伝子発現プロファイルを取得し、予測遺伝子として選定した 15 遺伝子を用いて、サポートベクターマシン法で予測式を作成した。この式に学習及び検証データを適用した結果、正答率はそれぞれ 100% 及び 90% となり、特に非変異発がん性物質を含んだ腎発がん性物質 (学習: 12 物質、検証: 3 物質) は全て正しく予測できた。これらの結果より、開発した腎発がん性予測法は、変異原性の有無にかかわらず高精度に腎発がん性を予測ができることが示された。以上の結果から、28 日間反復投与試験に腎臓の遺伝子発現解析を組み合わせることで、短期間の動物試験から腎発がん性の予測が可能となり、化学物質のリスク評価を行う上で有効なツールとなることが期待される。

## PC-66\*

## オクラトキシン A の発達期曝露によるラットの腎尿細管における巨大核形成および細胞増殖への影響

○長谷川 也須子<sup>1)</sup>, 田中 猛<sup>1)</sup>, 水上 さやか<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科

【背景および目的】オクラトキシン A (OTA) は主に *Aspergillus* 属のカビが産生するマイコトキシンであり、生体への曝露により腎発がんの増加が懸念されている。我々は既に成熟ラットを用いた OTA の 28 日間強制経口投与によって腎臓髓質外帯外層 (OSOM) において、尿細管上皮の巨大核形成、細胞増殖亢進、アポトーシス及び細胞周期停止細胞の増加を見出している。本研究ではラットに OTA を発達期曝露した際の腎臓における病理組織学的検索と共に細胞増殖活性とアポトーシスの発現頻度を検討した。

【方法】各群 10 匹の妊娠 SD ラットに OTA を 0, 0.12, 0.6, 3.0 ppm の濃度で妊娠 6 日目から離乳時 (生後 21 日目) まで混餌投与した。離乳時及び成熟時 (生後 77 日目) に児動物、分娩後 22 日目に母動物を安楽殺した。

【結果】OSOM における巨大核形成は、母動物では 3.0 ppm の 3 例に認められたが、アポトーシス及び細胞増殖マーカーの Ki-67<sup>+</sup> 細胞の増加はなかった。児動物では  $\geq 0.6$  ppm の多くの個体で、離乳時及び成熟時に OSOM に巨大核が観察された。3.0 ppm で検索した巨大核の発生頻度や大きさは離乳時に比べ成熟時で増加傾向を示し、免疫組織化学的に Ki-67<sup>+</sup> 細胞が離乳時及び成熟時共に有意に増加し、同じく細胞増殖指標の topoisomerase II  $\alpha^+$  細胞も成熟後に有意に増加した。アポトーシスは 3.0 ppm の離乳時で有意に増加した。

【考察】OTA のラットに対する発達期曝露により、低用量より細胞増殖活性亢進と巨大核形成を認め、その影響は休業した成熟後においても継続した。この変化は発がん物質に共通した細胞周期異常と関連することから、OTA の発達期からの曝露により腎発がん誘発に対する感受性の高くなる可能性が示唆された。

## PC-67

## 針状粒子 TISMO (胸腔内投与) の長期的影響におけるマウス系統差

○横平 政直, 成澤 裕子, 山川 けいこ, 橋本 希, 吉田 翔太, 蟹江 尚平, 今井田 克己

香川大学 医学部 腫瘍病理学

当教室ではこれまでに、悪性中皮腫の原因であるアスベストに形状や大きさの類似した針状粒子である、TISMO (potassium octatitanate,  $K_{20} \cdot nTiO_2$ ) に着目し実験を行ってきた。TISMO は自動車用摩擦材、プラスチックの補強材や精密フィルターなどに用いられている。以前、TISMO による胸膜悪性中皮腫発生を目的として、雌性 A/J マウスを用いた 52 週を越える長期の実験を行った。胸膜の線維性肥厚は見られたものの、胸膜悪性中皮腫の発生は確認できなかった (2012 年および 2014 年の日本毒性病理学会で報告)。

今回は、TISMO に対して感受性の強い系統があるのではないかという予想のもと、複数のマウスの系統を用いた長期の実験を行った。7 週齢雌性の A/J, ICR, D3H, C57BL マウスに対して実験開始時に 3mg の TISMO を左胸腔内に開胸下に直接投与した。実験開始 220 日頃から死亡例が増加し、有効匹数の減少のために 457 日目に実験終了した。病理組織学的には、いずれの系統においても肺の胸膜では線維性肥厚および異型を伴う中皮細胞が認められ、C3H ではもっとも強い肥厚を示した。また、胸膜において、A/J は最も細胞異型が強く、C57BL では最も炎症細胞浸潤が顕著であった。一方で、いずれの系統も悪性病変 (胸膜悪性中皮腫) の発生は確認できなかった。胸腔に投与された TISMO は、いずれの系統においても肝臓 (中心静脈近傍) や腎臓 (糸球体) など遠隔臓器に粒子が確認された。

本研究から、針状粒子 TISMO に対する反応性について、マウス系統差が存在することが明らかになった。いずれの系統においても、TISMO の胸腔内から遠隔臓器 (肝腎) への波及が認められた。

## PC-68

## BALB/c マウスにおけるナノ銀の腹腔内投与による急性毒性はサイズによって異なる

○Cho Young-Man, 赤木 純一, 水田 保子, 豊田 武士, 小川 久美子

国立衛研 病理部

【背景・目的】 以前、ナノ物質の毒性を検討する一環として、サイズの異なるナノ銀 (AgNP) の腹腔内投与に対する毒性を検討した所、等量の直径 60 及び 100 nm の AgNP を投与したマウスでは全身状態に明らかな変化がなかったのに対し、10 nm では投与翌日にほぼ全例が死亡した。今回、AgNP がサイズによって異なる毒性を示す可能性とその機序について検討するため、様々なサイズの AgNP の腹腔内投与による急性毒性の機序について経時的に検討した。

【材料と方法】 7 週齢の雌性 BALB/c マウス (5 匹 / 群) に、AgNP (直径 10, 60 及び 100 nm) を 0.2 mg / 匹で腹腔内投与し、1, 3 及び 6 時間後に深麻酔下で採血・解剖し、血清生化学的検査、病理組織診断、OxiSelect™ In Vitro ROS / RNS アッセイを用いて血清及び肝臓の活性酸素種 (ROS) の測定を行った。

【結果】 AgNP 10 nm 群では、投与 5 時間後より立毛及び活動低下が、投与 6 時間後には有意な体温の低下が認められた。投与 6 時間後の血清生化学的検査では、総タンパク、アルブミン、総コレステロール、トリグリセリド及びグルコースの有意な減少、並びに無機リン、AST 及び総ビリルビンの有意な増加が認められた。病理組織学的には脾臓および肝臓のうっ血、肝細胞の空胞化、単細胞壊死、胸腺皮質の単細胞壊死及び肺胞壁の細胞増加が有意な高頻度に認められた。AgNP 100 nm 群では、投与 6 時間後に有意な体温の低下及び投与 1 時間及び 6 時間群の肝臓組織中での有意な ROS の上昇がみられたものの、100 及び 60 nm 群では明らかな病理組織学的変化はなかった。

【結論】 10 nm AgNP の腹腔内投与によって明らかな急性毒性を示すことが再現され、類似した大きさのナノ銀の静脈投与によっては毒性の報告がないことから、機序については動態や分布を含めた検討が必要であると考えられた。

## PC-69

## ラットにおける多層カーボンナノチューブ (CNT) の発がん性と p henyl N -tert-butyl nitron (PBN) 併用が及ぼす影響

○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 薬事環境科学部, <sup>2)</sup> 国立衛研 総合評価研, <sup>3)</sup> 東京農大

(目的) CNT は, ラットに中皮腫や肺癌を誘発し, ヒトでも長期間ばく露によりアスベスト類似の影響を及ぼすことが懸念されている. CNT によるラット発がんメカニズムには, 遷延性炎症と酸化ストレスが関与するものと考えられている. 一方, PBN は活性酸素捕捉などにより, 酸化ストレスによる毒性・発がん性を抑制する. 本研究は, ラットにおける CNT 経気管投与による発がん性と, 抗酸化剤 PBN の併用投与が及ぼす影響について検討した.

(材料・方法) 動物は, Han:WIST 系雄ラット 10 週齢を用いた. CNT は, MWNT-7 [長さ 2  $\mu$ m, 径 7 nm, Fe 含有量 0.344%] を, 0・0.25 mg/kg 体重で単回腹腔内投与 (i.p. 群) または 0・0.01・0.05・0.25mg/kg 体重を 4 週間毎に計 12 回経気管投与 (i.t. 群) した. PBN は, CNT 0・0.25 mg/kg 体重 i.p. または i.t. 投与に併用して, 0.065% の濃度で飲水投与した. 実験期間は, 104 週間とした.

(結果・考察) 投与期間中の途中死亡及び瀕死例の発現, 終了時生存例における一般症状及び体重増加推移に投与と関連した異常は認められなかった. i.t. 群では対照群を含めて下垂体腺腫・膵島腺腫が比較的多く見られた. 中皮腫の発生は 0.25 mg i.p. 群で有意であったが, i.t. 群で散発的であった. CNT 投与に関連したそのほかの腫瘍性病変はいかなる臓器でも発生しなかった. また, 腫瘍性病変の発現に対する PBN の影響も明らかでなかった. 以上より, CNT は, 今回の経気管投与条件において, 発がん性が低いものと考えられた.

## PC-70\*

## 多層カーボンナノチューブによるラット中皮腫誘発過程の経時的観察

北條 幹<sup>1)</sup>, ○坂本 義光<sup>1)</sup>, 山本 行男<sup>1)</sup>, 長谷川 悠子<sup>1)</sup>, 多田 幸恵<sup>1)</sup>, 湯澤 勝廣<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> 国立医薬品食品衛生研究所, <sup>3)</sup> 東京農業大学

【緒言】多層カーボンナノチューブ (MWCNT) は, 齧歯類の腹腔内に投与すると, 持続的炎症の関与の下で中皮腫を誘発するものと指摘されている. 本研究では, 中皮腫発症過程の病理学的変化を理解するため, MWCNT を腹腔内投与したラットを経時的に観察した.

【方法】実験は, 5 週齢の F344 系雄性ラットの腹腔内に 1 年以内に中皮腫を 100% 発症する用量である 1.0 mg/kg 体重の MWNT-7, またはその懸濁液を単回投与し, 8・16・24・32 週間後に解剖して, 病理学的検索を行うと共に, 腹腔洗浄液を用いて炎症および中皮腫のバイオマーカーである IL-1 $\beta$ ・IL-12・MCP-1・CXCL8・メソテリン・CTGF の濃度を測定した.

【結果・考察】病理組織学的には, 観察期間を通して, 肉芽腫形成, 中皮下組織の肥厚, 好酸球の集簇を腹膜全般に認めた. また, 8・16 週には単核球の浸潤を伴う炎症巣を多く観察したが, この変化はその後減少した. さらに, 16 週には, 中皮下間質に線維芽細胞様の細胞が厚い層を形成するようになり, 中皮細胞の過形成を初めて観察した. 中皮腫の発現率は, 16 週, 24 週, 32 週に, それぞれ, 0, 21.4, 76.9% であった. 一方, 腹腔洗浄液中の炎症・中皮腫バイオマーカー濃度は, 各時期とも投与群が対照群より有意に高値で, 投与群では 16 週でピークを示すものが多かった. 以上より, MWCNT の単回腹腔投与は, 少なくとも 32 週間にわたる慢性炎症を引き起こし, 経過中の 16 週前後に, 24-32 週以後の中皮腫誘発に繋がる, 中皮細胞および周辺環境になんらかの質的な変化が発生するものと示唆された.

## PC-71

## マンゴスチン果皮成分の $\alpha$ -Mangostin に中鎖脂肪酸を修飾した $\alpha$ -Mangostin ドデカン酸ジエステルのマウス乳癌転移抑制作用の増強効果

○柴田 雅朗<sup>1)</sup>, 濱岡 仁美<sup>1)</sup>, 伊藤 裕子<sup>1)</sup>, 飯沼 宗和<sup>2)</sup>, 近藤 洋一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 大阪医科大学 医学部 生命科学講座解剖学教室, <sup>2)</sup> 岐阜薬科大学

【目的】私達は以前、マンゴスチンの果皮成分の  $\alpha$ -Mangostin が、高転移性マウス乳癌モデルにおいて、リンパ節転移を抑制したことを報告した (BMC Med., 9:e69, 2011)。そこで、さらに  $\alpha$ -Mangostin の転移抑制効果の増強を目的として、中鎖脂肪酸を付加した  $\alpha$ -Mangostin ドデカン酸ジエステル (MGD) のマウス乳癌に対する抗腫瘍効果について検討した。

【方法】BJMC3879Luc2 乳癌細胞を BALB/c マウス雌に移植し、その 2 週後に MGD を 0、2000 および 4000ppm 濃度で飼料中に混じて実験終了の 6 週まで自由摂取させた。

【結果】生存率では 4000ppm 群で対照群と比較し、有意な延長が示された。腫瘍体積では、投与開始後の 1 週より実験終了まで、2000 および 4000ppm 群で有意な抑制ないしはその傾向が観察された。病理組織学的解析では、リンパ節転移、肺転移ともに、MGD の両群で有意な抑制が観察された。また、その他の臓器にも転移が観察され、1 個体当たりの総転移臓器数も MGD 投与群で有意な低下をみた。腫瘍内の微小血管数は MGD 投与群で有意な低下を示し、リンパ管侵襲の数でも MGD 投与群で有意な抑制をみた。Real-time PCR 解析では、4000 ppm 群の腫瘍では、p21 および GADD45A の増加と Cyclin A2 の低下傾向が示された。天然の  $\alpha$ -Mangostin の 4000ppm のデータと比較すると、4000ppm MGD のリンパ節転移抑制効果は約 2 倍の増強を示した。

【結語】高転移性マウス乳癌モデルにおいて、中鎖脂肪酸を付加した MGD は強い抗腫瘍効果を発揮し、とりわけ延命効果やリンパ節転移の抑制は臨床的意義が高いと考えられた。

## PC-72

## (C3HxBALB)N5- $p53^{+/-}$ マウスにおける PhIP 誘発性乳腺発がんに対する高脂肪食と高スクロース水の作用

○今井 俊夫<sup>1,2)</sup>, 東島 直子<sup>2)</sup>, 打屋 尚章<sup>1)</sup>, 落合 雅子<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 国立がん研究センター研究所 動物実験支援施設, <sup>2)</sup> 国立がん研究センター研究所 動物実験部門

【背景と目的】ホルモン受容体陽性乳がんモデルとして化学物質誘発性ラット乳がんモデルのほか、BALB/c 背景の  $p53$  ヘテロノックアウト ( $p53^{+/-}$ ) マウスにおける自然発生乳がんに関する報告がある (Yan H. et al., 2010)。今回、ラット乳がんモデルに対し発がん作用が示されている 2-アミノ-1-メチル-6-フェニルイミダゾ [4,5-*b*] ピリジン (PhIP) と高脂肪食あるいは高スクロース水の組合せが発がんに及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】理研 BRC より分与された C3H 背景の  $p53^{+/-}$  マウスの精子と BALB/c マウスの卵子との体外受精により F1 を得た。その後順次 BALB/c マウスとの交配を進めている。今回、C3H- $p53^{+/-}$  マウスと BALB/c マウスを戻し交配する過程で得られた (C3HxBALB)N5- $p53^{+/-}$  マウスの 7 週齢時に PhIP (50 mg/kg 体重/日) を 6 回 (2 週) 強制経口投与した。また、5 週齢時から 5 週間高脂肪食 (QuickFat、日本クレア製: HF)、高スクロース水 (10%: HS) 又は HF+HS を与え、基礎食+RO 水の対照群と腫瘍の発生頻度を比較した。

【結果】対照群では 8 例中 2 例 (25%: 37、62 週齢時剖検) に乳がんが発生し、HF 群では 9 例中 3 例 (33%: 36 ~ 41 週齢時剖検) と明らかな差はみられなかったが、HS 群では 8 例中 4 例 (50%: 35 週 ~ 50 週齢時剖検)、HF+HS 群では 7 例中 3 例 (43%: 38 ~ 46 週齢時剖検) と増加傾向を示した。

【結論】 $p53^{+/-}$  マウスにおける PhIP 誘発性乳腺発がんにおいて、若齢期の高スクロース水は発がんを促進する可能性が示された。

## PC-73\*

## ラットの乳腺腫瘍に認められた限局性アミロイド症の1例

○川迫 一史<sup>1)</sup>, 押方 孝文<sup>1)</sup>, 満石 三喜男<sup>1)</sup>, 菅野 剛<sup>1)</sup>, 浜村 政夫<sup>1)</sup>, 村上 智亮<sup>2)</sup><sup>1)</sup>(株) L S I メディエンス 試験研究センター 病理研究部,<sup>2)</sup> 東京農工大学 大学院農学研究院 動物生命科学部門 病態獣医学研究分野

【背景】1970年代にラットの限局性アミロイド症が報告されて以来、ラットの自然発生性のアミロイド症は報告されていない。今回、我々は2006 - 2008年に実施したがん原性試験のための背景データ収集試験において、ラットの乳腺腫瘍に限局性アミロイド症を認めたので報告する。

【材料と方法】試験期間中に死亡した108週齢の雌ラット (CrI:CD(SD)) 1例に認められた乳腺腫瘍の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た。病理組織学的検索としてヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、コンゴレッド (CR) 染色を、超微形態学的検索としてホルマリン固定材料を用いて透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察を行った。

【結果】HE染色において乳腺腫瘍組織内の間質および腺腔内に好酸性均質無構造物が認められ、腺腔内には同心円状 (Corpora Amylacea; CA) または針状結晶構造を呈するものも認められた。これらの好酸性物質はCR染色で赤橙色に染色され、偏光顕微鏡下でアップルグリーンを呈する複屈折性を示した。また、TEMでは間質に直径約10nmの分岐のない細線維の集積が認められた。以上より、好酸性物質がアミロイドであることが確認された。なお、その他の器官・組織にアミロイド沈着は認められなかった。

【考察】以上の結果から、本症例をラットの乳腺腫瘍における限局性アミロイド症と診断した。ラットの乳腺腺腔内のCAにはアミロイドが含まれることが知られているが、乳腺組織間質においてアミロイドが沈着するという報告は無く、本症例は非常に稀有で貴重な症例であると考えられる。現在、このアミロイドの前駆蛋白に関して検索中である。

## PC-74\*

## Dimethylarsinic acid 誘発ラット膀胱発がんに対する NADPH oxidase 阻害剤 Apocynin の抑制効果

○熊田 賢次, 土井 賢一郎, 藤岡 正喜, 魏 民, 武下 正憲, 鰐淵 英機

大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

【背景】ヒ素は疫学的に膀胱で発がん性が認められているが、その作用機序の詳細は不明である。これまでに我々は無機ヒ素化合物の主な代謝物である有機ヒ素化合物 Dimethylarsinic acid (DMA<sup>V</sup>) が、ラットにおいて膀胱発がん性を示すことを明らかにし、DMA<sup>V</sup> が無機ヒ素の膀胱発がん性の原因物質である可能性を示してきた。さらに、DMA<sup>V</sup> による膀胱発がん機序に酸化ストレスが関与する可能性を示している。

【目的】内因性 NADPH-oxidase 阻害剤である Apocynin を用いて、DMA<sup>V</sup> により惹起された発癌早期過程における酸化ストレス、細胞増殖に対する抑制効果について検討をおこなった。

【方法】動物は6週齢雄性 F344 ラット 60匹を3群 (各群 20匹) にわけ、150ppm DMA<sup>V</sup> を飲水投与する無処置群、DMA<sup>V</sup> 単独投与群、150ppm DMA<sup>V</sup> を飲水投与し、さらに Apocynin 15mg/kg の用量で週5回強制胃内投与する併用投与群をそれぞれ設けた。実験開始から第2週時膀胱を用いて酸化ストレスマーカーである 8-OHdG について、第4週時膀胱を用いて細胞増殖能についてそれぞれ検討した。

【結果】実験開始第2週の膀胱では、8-OHdG 形成レベルが DMA<sup>V</sup> 単独投与群で無処置群に比較して有意に増加したが、DMA<sup>V</sup> と Apocynin 併用投与群で DMA<sup>V</sup> 単独投与群に比較して有意に減少した。投与4週後のラット膀胱粘膜において、PCNA 陽性率が無処置群と比較して DMA<sup>V</sup> 投与によって有意に増加したが、Apocynin の併用投与により有意な減少を示した。

【考察】Apocynin は、DMA<sup>V</sup> で誘発した酸化ストレスおよび細胞増殖を抑制したことが明らかとなった。したがって、Apocynin が DMA<sup>V</sup> 誘発ラット膀胱発がんを抑制することが示唆された。

## PC-75

## わさびの香気成分である 5-ヘキセニルイソチオシアネートは 13 週間の経口投与により F334 ラットに膀胱上皮過形成を誘発する

○赤木 純一, 水田 保子, 豊田 武士, Cho Young-Man, 小川 久美子

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【背景】5-ヘキセニルイソチオシアネート (5-HeITC) はわさびに含まれる香気成分であり、香料として用いられている。JECFA では推定摂取量が許容量以下であること等により安全性に関する懸念はないとしているが、個別の毒性試験は実施されていないため今回亜慢性反復投与毒性試験を実施した。

【目的】F344 ラットを用いた5-ヘキセニルイソチオシアネートの反復投与毒性試験を実施し無毒性量 (NOAEL) を決定する。

【材料と方法】6週齢のF344 ラット雌雄 (1群10匹) に0、3、12、48 mg/kg BW の5-HeITCを週7回、13週間経口投与した。投与期間終了後一晩絶食させ、深麻酔下で採血・剖検し血液検査、臓器重量測定および病理組織診断を行った。

【結果】雄の48 mg/kg BW 投与群において、5週日以降有意な体重増加抑制が見られた。血清生化学的検査では雄の12 mg/kg BW 以上投与群と雌の48 mg/kg BW 投与群でトリグリセリドの有意な低下、雄の48 mg/kg BW 投与群で総コレステロールの有意な低下が見られた。臓器重量では雄の12 mg/kg BW 以上投与群で脳絶対重量の低下、48 mg/kg BW 投与群ではそれに加えて脳、肝、腎、副腎、精巣の相対重量増加と心臓絶対重量の低下が見られた。雌では12 mg/kg BW 以上投与群で心臓の絶対重量および心、肝の相対重量の増加、48 mg/kg BW 投与群ではそれに加えて肝絶対重量増加が見られた。病理組織診断では雌雄とも12 mg/kg BW 以上投与群で有意な膀胱上皮の単純過形成が見られ、48 mg/kg BW 投与群ではPN過形成の増加または増加傾向が見られた。

【結論】12 mg/kg BW 以上の5-HeITC 経口投与によりF344 ラットで膀胱上皮過形成を誘発した。本試験における5-HeITCのNOAELは3 mg/kg BW と考えられる。

## PC-76\*

## ラット経尿道直接膀胱暴露法を用いた有機ヒ素化合物 DMMTA の *in vivo* 変異原性の検討

○藤岡 正喜, 魏 民, 河内 聡子, 奥野 高裕, 熊田 賢次, 串田 昌彦, 鰐淵 英機

大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

有機ヒ素化合物 Dimethylarsinic acid (DMA<sup>V</sup>) が、ラットにおいて膀胱発がん性を示すことが知られている。これまでの我々の研究でDMA<sup>V</sup>の代謝物質の一つである dimethylmonothioarsinic acid (DMMTA) が、DMA<sup>V</sup>誘発膀胱がん過程においてDMMTAが重要な役割を担うことが示唆されている。しかし、DMMTAの*in vivo*変異原性について未だ明らかとなっていない。その理由としてDMMTAを経口投与するとその多くがDMA<sup>V</sup>に変換され標的臓器の膀胱に届かないことが挙げられる。そこで本研究では、DMMTAを安定して膀胱に暴露させるラット経尿道直接膀胱暴露法の確立および同法を用いたラット膀胱粘膜におけるDMMTAの*in vivo*変異原性について検討を行った。強制排尿によって膀胱を空虚状態にした10週齢雌性F344ラットを麻酔下で経尿道的に挿管し、DMMTA添加尿を膀胱に注入し、1および3時間後の尿及び膀胱粘膜上皮破砕液におけるヒ素代謝物についてICP-MSにて定量的に検討を行った。その結果、尿中DMMTA濃度は投与量に依存し、3時間後まで尿中DMMTA総量はほとんど同じであったこと、さらに膀胱粘膜内におけるDMMTA量は3時間後まで変動がみられなかったことから、本法を用いることで安定的かつ直接的に膀胱におけるDMMTAの影響を検討できることが明らかとなった。次に、10週齢雌性gpt delta F344ラットを用いて、4週間週2回(計8回)DMMTAを暴露させたのちに、膀胱粘膜上皮における細胞増殖能および*in vivo*変異原性について検討を行った結果、無処置群と比較してDMMTA投与群で有意な変異頻度の変動はみられなかったものの、細胞増殖能の増加傾向がみられた。したがって、DMMTAがラット膀胱粘膜に対して*in vivo*変異原性を示さないこと、細胞増殖能を惹起することが示唆された。

**PC-77\*****シクロデキストリンで包接した 4-メチルチオ-3-ブテニルイソチオシアネート (MTBI) のマウスにおける生理作用**

○猪野 祥子<sup>1)</sup>, 岡本 陽菜子<sup>2)</sup>, 生田 直子<sup>3)</sup>, 寺尾 啓二<sup>2)</sup>, 坂本 憲広<sup>3)</sup>, 吉川 豊<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup> 神戸女子大学 健康福祉学部, <sup>2)</sup> 株式会社シクロケムバイオ, <sup>3)</sup> 神戸大学 大学院医学研究科,

<sup>4)</sup> 神戸女子大学 大学院健康栄養学研究科

【背景・目的】 アブラナ科野菜に含まれる辛味成分のイソチオシアネートは抗ガン作用や抗肥満作用を示すことが報告されている。本研究ではシクロデキストリン (CD) で大根おろし中の MTBI を安定化させた粉末を作成し、C57BL/6J マウスに高脂肪食とともに 16 週間摂取させ、MTBI の生理作用について検討した。

【材料と方法】 CD 存在下で大根を擦りおろし、この溶液を凍結乾燥させ粉末 (MTBI-CD) を得た。CD は  $\alpha$ -CD を用いた。普通食群 (N 群)、高脂肪食群 (C 群)、MTBI-CD 群 (高脂肪食+MTBI-CD)、大根 CD 群、大根群、CD 群の 6 群に分け、6 週齢の雄性 C57BL/6J マウスに摂取させた。MTBI は餌全体に対して 0.05% 加えた。飼育後、麻酔下で解剖を行い、血漿、肝臓、膵臓、脂肪組織を採取し、血漿中の生化学パラメータの測定、脂肪組織、肝臓、膵臓を HE 染色し、組織学的評価を行った。

【結果と結論】 C 群で見られた体重増加が MTBI-CD 群では有意に抑えられ、N 群と同様の傾向を示した。血漿中の脂質代謝のパラメータについても、MTBI-CD 群で高脂肪食摂取による上昇が有意に抑えられた。腹腔内グルコース負荷試験では C 群で見られた急激な血糖値の上昇が MTBI-CD 群では抑制された。脂肪組織の HE 染色から、C 群で見られた脂肪細胞の肥大化が MTBI-CD 群では有意に抑えられた。肝臓については、どの群においても空胞化は認められなかった。以上のことから、CD で安定化された MTBI を含有する大根おろし粉末を摂取すると、体重増加に繋がる脂肪蓄積の抑制、耐糖能低下の解除による抗肥満効果を示すことが示唆された。膵臓のランゲルハンス島の計測を行っており、MTBI の膵臓機能への作用も併せて発表する。

**PC-78\*****ココナッツオイルを始めとする高脂肪食の骨代謝・脂質代謝への影響**

○明 千晴<sup>1)</sup>, 小野寺 章<sup>2)</sup>, 吉川 豊<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup> 神戸女子大学 健康福祉学部, <sup>2)</sup> 神戸学院大学 薬学部, <sup>3)</sup> 神戸女子大学 大学院健康栄養学研究科

【背景・目的】 近年、我が国では高齢化に伴い骨粗鬆症患者が増加している。この疾患は閉経による女性ホルモンの分泌低下が原因の一つで、女性に多くみられる。骨粗鬆症は、骨折で歩行困難や要介護状態に陥る場合もあるため、日常生活において、自らがその疾患予防に努めることが重要である。そこで、日常の食生活の観点から骨粗鬆症を予防・改善できないかと考え、近年注目を浴びているココナッツオイルに着目した。本研究では、卵巣摘出による骨粗鬆状態かつ高脂肪食における骨代謝や脂質代謝への影響及びココナッツオイルの生体への影響を検討した。

【材料と方法】 ICR マウスを用いて作成した卵巣摘出群と偽手術群に 12 週間、餌と水を自由摂取させ、体重、摂食量、摂水量の測定を行った。餌は 40% を油脂とする高脂肪食餌とし、各餌の油脂にはそれぞれココナッツオイル、オリーブオイル、ラードを用い、3 種の高脂肪食餌を作成した。飼育期間終了後、深麻酔下で腹部大動脈からの採血及び解剖を行い、得られた血漿や臓器を用いて、各種生化学パラメータや骨強度の測定等を行い、骨代謝・脂質代謝への影響を観察した。また、肝臓に関しては HE 染色を行い、組織学的評価を実施した。

【結果】 卵巣摘出群と偽手術群ともに、ココナッツオイルの餌を摂食したマウスは他の油脂の餌を摂食したマウスより骨強度と骨形成マーカーの一つである血中オステオカルシンが高値を示した。さらに HE 染色の結果より、摂取させる油脂の種類によって肝臓では変性部位に差が見られた。これらの結果より、ココナッツオイルが骨粗鬆症の予防・改善に有益であることが示唆された。今後、骨吸収マーカーの測定や詳細な肝細胞の評価を行い、油脂の種類と健康への影響を考察していく必要がある。

## PC-79

## ジブチル二塩化スズ誘発ラット膀胱線維化におけるマクロファージと間葉系細胞の動態

○橋本 愛, ボンドク アレクサンドライオアナ, カリム ムハンマドラビウル, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至

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】膀胱線維化は急性膀胱炎から進展する慢性病変で、その病理発生の全貌は未だ解明されていない。線維化にはマクロファージと膠原線維を産生する間葉系細胞が重要な役割を演じる。今回、ジブチル二塩化スズ (DBTC) 誘発ラット膀胱線維化病変における、これら細胞の動態を解析した。

【材料と方法】8週齢 F344 雄ラットに DBTC (4 及び 8 mg/kg/ 体重) を単回静脈内投与し、投与後 1 ~ 15 日に膀胱組織を採取し、解析した。

【成績】投与に伴う膀胱病変は、投与量あるいは経過に拘わらず個体差があったことから、線維化の程度を組織学的にグレード 1、2、3 に分けて評価した。媒体対照群はグレード 0 とした。CD68 発現マクロファージはグレード 1 から、CD163、Iba-1、CD204、MHCII 発現マクロファージはグレード 2 から増加し始めた。MCP-1、IL-6、IL-10 及び IL-1 $\beta$  などの炎症性因子もグレードにともない発現が上昇した。間葉系細胞はビメンチン、デスミン及び  $\alpha$  平滑筋アクチン ( $\alpha$ -SMA) を発現し、その程度はグレードに伴って増加した。線維原性因子の TGF- $\beta$  1 はグレード 2 から上昇した。また、膀胱細胞に発現する GFAP と未分化な間葉系細胞に発現する Thy-1(CD90) はグレードに伴い軽度増加する傾向にあった。また、LC3B 免疫陽性のオートファゴゾームが傷害部位の膀胱外分泌細胞に出現した。

【結論】化学物質誘発性膀胱線維化病変において、種々の免疫表現型を有するマクロファージが出現し、かつデスミンや  $\alpha$ -SMA を発現する間葉系の筋線維芽細胞が線維化に関与することが分かった。オートファゴゾームの出現を含めて、マクロファージと間葉系細胞の特性をさらに解析している。

## PC-80\*

## ラットの無色素性メラノーマから確立した腫瘍細胞と腫瘍関連線維芽細胞様 (CAF) 細胞との関連

○Bondoc Alexandra, Pervin Munmun, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至

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

CAFs are thought to play important roles in tumor progression. Two cloned cell lines (RMM-A1 and RMM-CAF) were obtained from a previously established rat amelanotic melanoma cell line. RMM-A1 cell line was tumorigenic, and the chromosome number was mainly between 66-70, indicating numerical aberrations. RMM-A1 cells were immunocytochemically positive to vimentin, galectin-3 and nestin. The chromosome number of RMM-CAF was 42 (normal number), and the cell line was non-tumorigenic, showing positive reactions for  $\alpha$ -SMA (myofibroblasts). RMM-CAF cells were regarded as CAFs in RMM tumor tissues. RMM-CAF cells were co-cultured with RMM-A1 neoplastic cells. Real-time RT-PCR showed that the levels of tumor-promoting cytokines (TGF- $\beta$  1, M-CSF, Galectin-3), chemokines (CCL-5, CXCL-1, CXCL-2), and tumor invasiveness-related factors (MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2) were significantly up-regulated in co-cultured RMM-CAF cells. Moreover, the neoplastic RMM-A1 cells had a significantly higher migration activity in the presence of RMM-CAF cells. These results indicated that the association of CAFs with neoplastic cells may play important roles in melanoma progression, indicating the importance of tumor microenvironments and making CAFs a possible target to suppress tumor growth.



## PC-81

## モノヨード酢酸 (MIA) 誘発サル変形性関節症モデルの病理組織学的特徴

○小寺 喬<sup>1)</sup>, 小西 静香<sup>1)</sup>, 元野 志保<sup>1)</sup>, 尾山 達哉<sup>1)</sup>, 小川 真弥<sup>2)</sup>, 高松 宏幸<sup>2)</sup>, 上田 誠<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本新薬株式会社 安全性・動態研究部, <sup>2)</sup> 株式会社浜松ファーマリサーチ

【背景・目的】変形性関節症の動物モデルとしては、モノヨード酢酸 (MIA) を用いたラットモデルが一般的に使用されている。今回、我々は MIA を用いたサルの変形性関節症モデルを新たに作製し、同モデルの病理組織学的特徴を、Diclofenac の抑制作用とともに検討したので、その概要を報告する。

【材料と方法】MIA (90 mg/body) を雌カニクイザルの左膝関節腔内に単回投与し (Day 0)、翌日から 0.5% メチルセルロース (0.5% MC) または Diclofenac (1 mg/kg) を 35 日間反復経口投与した (Day 1 - 35)。Day 36 または Day 37 に安楽殺処分を行い、左右膝関節を摘出し、病理組織学的検査を実施した。

【結果】0.5% MC 投与群の左膝関節では、関節軟骨における軟骨細胞の消失/減少、配列不整、軟骨基質の染色性の低下が認められ、これら変化は Diclofenac 投与により改善した。右膝関節では、いずれの投与群でも病理組織学的変化は認められなかった。

【結論】MIA 処置によりサル膝関節の関節軟骨において軟骨細胞の消失/減少や軟骨基質の低下を示す変化が認められ、関節軟骨の変性を特徴とするヒトの病態に類似したものと考えられた。また、変形性関節症の治療剤として使用されている Diclofenac がこのモデルの病態を改善したことから、変形性関節症治療薬の評価モデルとしても有用であると考えられた。

## PC-82\*

## NOG マウスの骨格筋に出現する Tubular aggregate に関する病理学的研究

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

<sup>1)</sup>(株) ポ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: NOG マウスの大腿部骨格筋線維にみられた好酸性物質について病理組織学的検討を行ったので報告する。

材料と方法: 7、26 及び 52 週齢の無処置 NOG マウス、雌雄各 20 匹の大腿部骨格筋を 10% リン酸緩衝ホルマリンで固定し、HE 染色標本作製し病理組織学的検査を行った。また、一部例のホルマリン固定組織を用いて、PAS 反応及び抗ミオグロビン免疫組織化学染色並びに電子顕微鏡による微細形態学的検査を実施した。

結果: 病理組織学的には、均質無構造な好酸性物質を容れた粗大空胞が散発的に出現することを特徴としていた。しかし、明らかな筋変性や炎症性細胞浸潤等の反応性変化は伴わず、また空胞内の好酸性物質は、PAS 反応及び抗ミオグロビン免疫組織化学染色共に陰性であった。微細形態学的には、整然と配列した管状構造体の集簇がみられたが、光学顕微鏡で観察された空胞に一致する変化は確認できなかった。また、52 週齢では集簇内にミエリン様の構造体や集簇以外の部位に不定形な高電子密度体が時折みられ、このような変化は 52 週齢の雄では 26 週齢時に比べ変化の程度が強くみられた。

結論: NOG マウスの骨格筋線維にみられた好酸性物質は、微細形態学的に管状構造体の集簇であり、tubular aggregates と報告されているものに一致していた。tubular aggregates は、wild type の雄マウスにおいて加齢に伴いに増強すると報告されているが、その発生機序は明らかでない。NOG マウスでは、骨格筋の tubular aggregates は wild type のマウスと同様に加齢に伴い増強していたが、wild type のマウスと異なり雌にもみられ、微細形態学的にミエリン様構造体や高電子密度の物質も認められた。

## PC-83\*

## マイクロチップ埋植誘発による C57BL/6J マウスの皮下腫瘍の一症例

○中村 隆一<sup>1)</sup>, 江頭 志織<sup>2)</sup>, 西村 友成<sup>3)</sup>, 神藤 敏正<sup>3)</sup>, 小笠原 裕之<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> アスピオファーマ (株) 再生医薬フィールド, <sup>2)</sup> アスピオファーマ (株) 免疫・炎症疾患フィールド

<sup>3)</sup> アスピオファーマ (株) 創薬技術ファンクション

**【背景と目的】**マウスのマイクロチップ埋植による皮下腫瘍の発生は報告例が少ない。今回、C57BL/6J 系マウスにてマイクロチップ埋植が原因と考えられる皮下腫瘍が認められたので報告する。

**【症例】** 遺伝子 X を強制発現した C57BL/6J 系の無処置の雄ヘテロマウスに、4 週齢時背部皮下へ個体識別のためマイクロチップを埋め込んだ。71 週齢で背部に直径 15 mm の腫瘍が観察されたため、剖検に供し、病理組織学的に検討した。なお、遺伝子 X と皮下腫瘍発生との関連性は低いと考える。

**【結果】** 剖検では、皮下にマイクロチップを取り囲んだ腫瘍が観察された。H&E 染色による病理組織学的検査では、皮下織に不規則に交錯して束状配列を示す紡錘形又は卵円形細胞が充実性に増殖しており、真皮への浸潤が観察された。核は核小体が明瞭な大型の葉巻状、もしくは小型の楕円形を呈し、増殖細胞には分裂像及び壊死像も散見された。マッソントリクローム染色では、マイクロチップ周囲及び束状配列を囲むように膠原線維の形成がみられ、免疫染色では、 $\alpha$ -smooth muscle actin、vimentin 陽性、desmin、S100 及び myogenin 陰性であり、平滑筋肉腫と考えられた。

**【考察】** B6C3F1 系マウスのマイクロチップ埋植誘発腫瘍は今までに報告があり、これらと本症例の組織学的及び免疫組織化学的特徴が一部類似する。C57BL/6J 系マウスのマイクロチップ埋植誘発腫瘍と考えられる平滑筋肉腫の特徴を、超微形態学的観察等の結果も併せて考察する。





# The 33rd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

Theme	Human and Animal Health: Connecting the Scientific Thought of R. Virchow with the Future of Toxicologic Pathology
President	Jyoji Yamate, D.V.M., Ph.D. Graduate School of Life and Environmental Sciences Osaka Prefecture University
Period	January 26 (Thu.) and 27 (Fri.), 2017
Venue	BiG-i (International Communication Center for Persons with Disabilities) 1-8-1 Chayamadai, Minami-ku, Sakai-city, Osaka
Program Committee	Chair : Katsuhiko Yoshizawa (Kansai Medical University) Committee : Kosei Inui (Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.) Kiyokazu Ozaki (Setsunan University) Kinji Kobayashi (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.) Satoru Takahashi (Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences) Kaoru Toyosawa (Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.) Mikinori Torii (Shionogi & Co. Ltd.) Shim-mo Hayashi (San-Ei Gen F.F.I., Inc) Masahiro Matsumoto (Astellas Pharma Inc) Hideki Wanibuchi (Osaka City University Graduate School of Medicine)
Congress Secretariat	Mitsuru Kuwamura, D.V.M., Ph.D. Veterinary Pathology, Veterinary Science Graduate School of Life and Environmental Sciences Osaka Prefecture University 1-58, Rinku Ourai Kita, Izumisano-shi, Osaka, 598-8531, Japan
Office	Management office for the 33rd Annual Meeting of JSTP Events & Conventions, Kansai, Kinki Nippon Tourist Co., Ltd. (KNT) Kintetsu Shin-Namba Bldg. 6F, 1-4-38, Minatomachi, Naniwa-ku, Osaka 556-0017 Japan Phone: +81-6-6635-2627 Fax: +81-6-6641-0072 E-mail: 33jstp@or.knt.co.jp
Website	<a href="http://www.knt-ec.net/2017/33jstp/index.html">http://www.knt-ec.net/2017/33jstp/index.html</a>



# Table of Contents

The 33rd Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology .....	107
Table of Contents .....	109
Greetings .....	111
Access .....	112
Floor Plan .....	114
General Information .....	115
To Presenters .....	118
Timetable .....	121
Program .....	124
Abstracts .....	141
Special Lecture .....	143
Educational Lecture .....	144
Keynote Lecture .....	145
Symposium .....	146
Poster Presentation .....	163
Author's Index .....	207





# Greetings

It is very grateful to have the 33rd Annual Meeting of Japanese Society of Toxicologic Pathology (JSTP) on January 26th and 27th (including the 29th Slide Conference for Histopathology on January 25th), 2017, in Sakai, Osaka, Japan.

The theme of the present meeting is “Human and Animal Health: Connecting the Scientific Thought of R. Virchow with the Future of Toxicologic Pathology”. R. Virchow was a German pathologist, and has been known as "the Father of Modern Pathology". He founded the research field of “Cellular Pathology”. Additionally, he stated “Between animal and human medicine there is no dividing line - nor should there be”, implying the importance of “Comparative Pathology”. Histopathology is the basis for toxicologic pathologists and then the obtained data should be taken into account in terms of extrapolation to humans.

Along with the eighty-three research presentations (poster presentations) which had been submitted by JSTP members, one special lecture (Philosophical Medical History of Neuroscience, by Dr. S. Tsunoda), one educational lecture (The Legacy of the F344 Rat as a Cancer Bioassay Model, by Dr. R. R. Maronpot), and one keynote lecture (Small RNAs: Important Regulators of Gene Expression in Embryogenesis, Biology and Disease, by Dr. J. LaMarre), as well as four different symposia. Based on the theme, these projects have been prepared, in order to attract the attendance.

Last of all, I really appreciate the assistance and cooperation by the members of the program committee of the present meeting, and sponsorship of many companies and institutes. Thanks to their assistance and cooperation, the meeting should be carried out successfully.

I look forward to seeing you in the 33rd Annual Meeting of JSTP, Sakai.

President of the 33rd Annual Meeting  
of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

**Jyoji YAMATE**

Professor of the Laboratory of Veterinary Pathology,  
Osaka Prefecture University

# Access

## By train

### From JR Osaka station

(approximate time required: 50 minutes)

Get on local train of Osaka Loop Line (traveling counterclockwise). Get off at Shin-Imamiya station. Change trains for the Nankai Line (About 1 minute walk from JR Shin-Imamiya station to Nankai Shin-Imamiya station). Get on a train for Izumichuo station of the Semboku-Kousoku Line. Get off at Izumigaoka station.

### From Umeda station / Shin-Osaka station of the subway Midosuji Line

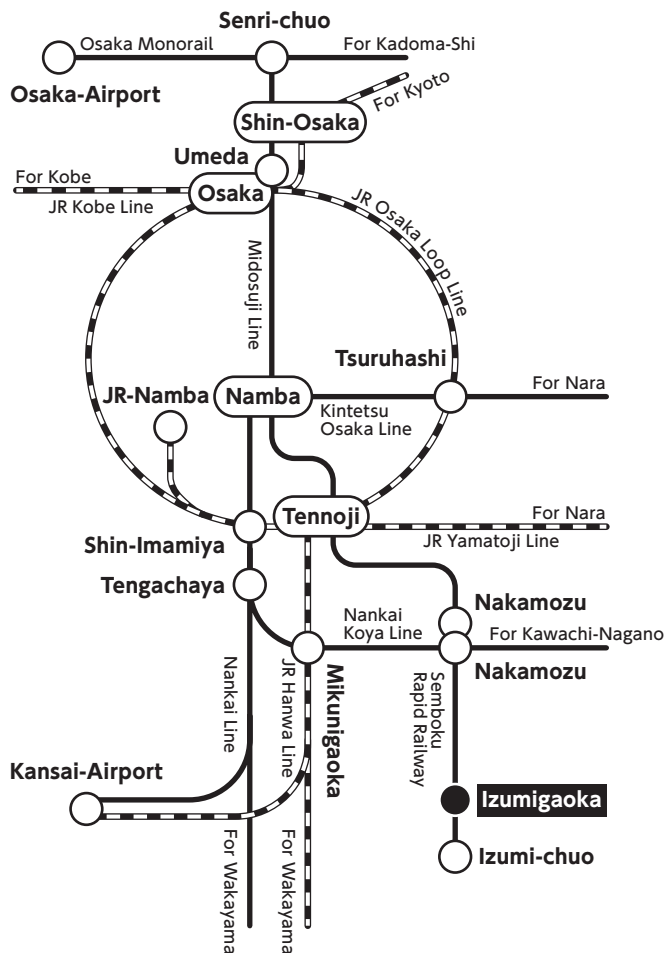
(approximate time required: 40/50 minutes respectively)

Get on a train for Nakamozu of the subway Midosuji Line. Get off at Nakamozu terminal station. Change trains for the Nankai Line/ Semboku-Kousoku Line (About 4 minutes' walk from subway Nakamozu station to Nankai/ Semboku-Kousoku Nakamozu station). Get on a train for Izumichuo station. Get off at Izumigaoka station.

### From Namba station

(approximate time required: 35 minutes)

Get on local express train for Izumi-Chuo of the Nankai Line/the Semboku-Kousoku Line. Get off at Izumigaoka station.



## By Air

### From Kansai International Airport

**By airport limousine bus (approximate time required: 60 minutes)**

An airport limousine bus is available from the airport to Izumigaoka station.

### From JR Kansai-airport station (approximate time required: 60 minutes)

Get on the Kansai-Airport Rapid Service (For Kyobashi). Get off the train at Mikunigaoka station. Change trains for the Nankai Line (About 1 minute walk from JR Mikunigaoka station to Nankai Mikunigaoka station). Get on a train for Izumichuo station. Get off at Izumi gaoka station.

### From Nankai Line Kansai airport station (approximate time required: 70 minutes)

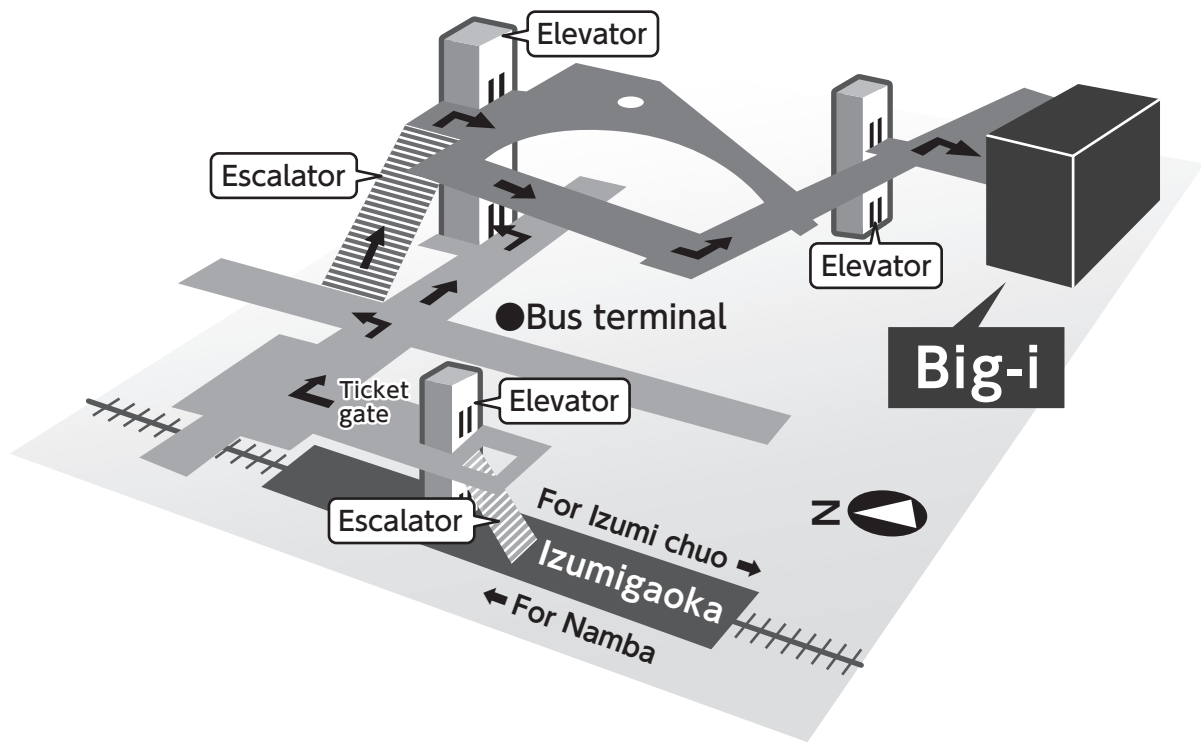
Change trains at Tengachaya station for the Semboku-Kousoku Line (On foot, soon). Get on a local express train for Izumichuo station. Get off at Izumigaoka station.

### From Osaka International Airport (Itami)

**From Osaka Monorail Line Osaka Airport station (approximate time required: 90 minutes)**

Change trains at Senri-chuo for Kita-Osaka Kyuko Line (About 4 minutes' walk). Get on a train for Nakamozu station. Get off at Nakamozu terminal station. Change trains for the Nankai Line/Semboku-Kousoku Line (About 4 minutes' walk). Get on a train for Izumichuo station. Get off at Izumigaoka station.

# Access



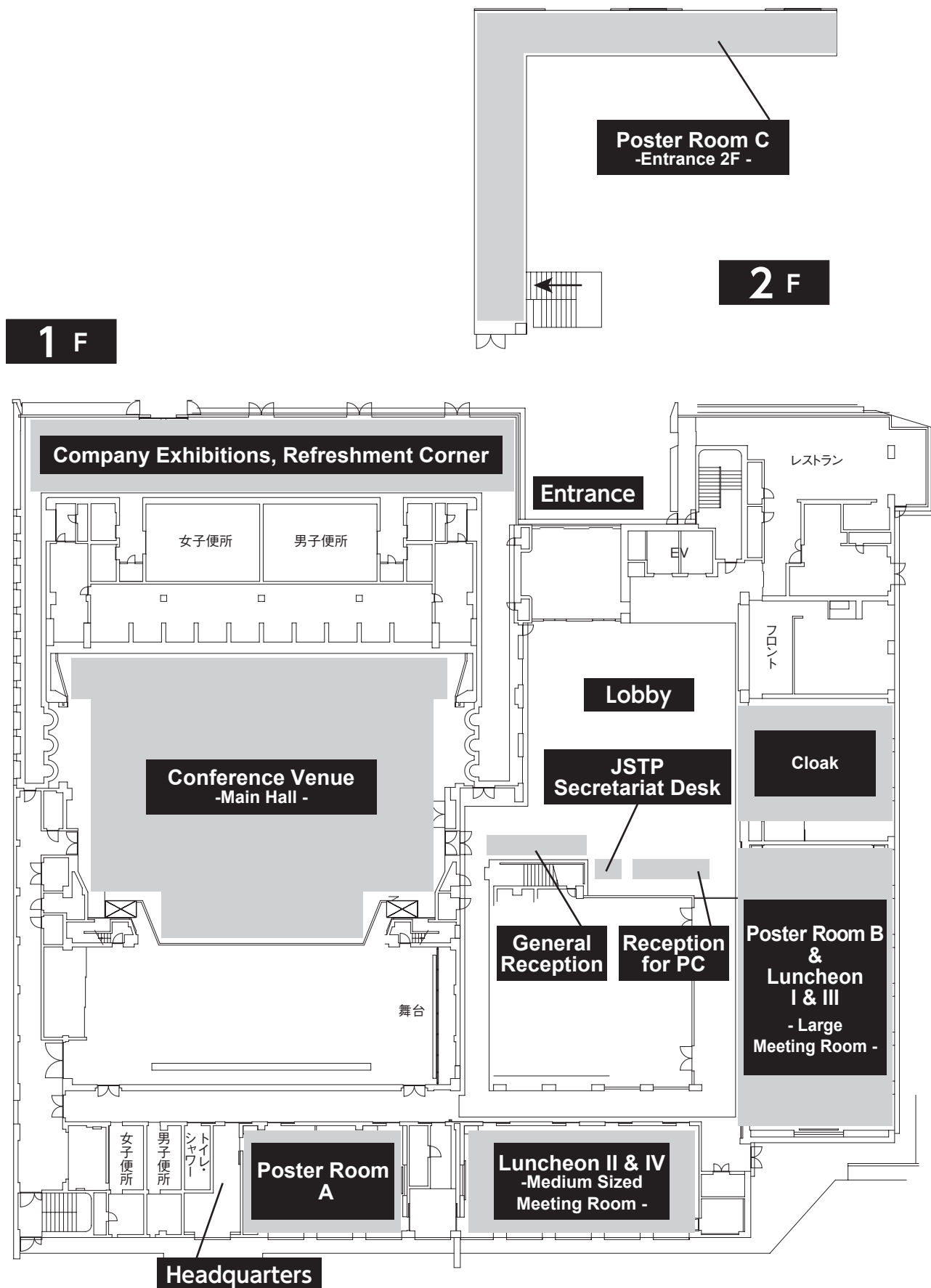
## Directions from the nearest station

**Get off at Izumigaoka station of the Semboku-Kousoku Line.  
BiG-i is about 3 minutes' walk from the station.**

Enlarge the directions from the nearest station

- (1) Go up the stairs from the station platform, then exit the ticket gate.
- (2) Turn right immediately.
- (3) Go through the building next to the station, then you will see an escalator on the left. Go up the escalator (or by an elevator behind the escalator).
- (4) Go straight along the pathway on the right.
- (5) Turn left at the end of the pathway.
- (6) The first big building on the right is BiG-i.

# Floor Plan



# General Information

## ■ To the Participant

1. General Reception is located at 1F Lobby.  
Date and Time: January 26th (Thu.) 8:00 ~ 17:00  
January 27th (Fri.) 8:30 ~ 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 5th, 2016. 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 9th, 2016. In this case, you will be asked to pay the fee for On-site registration.
  - 2) **Early registration from abroad**  
Please printout the confirmation e-mail sent to the registered e-mail address and bring it to the General Reception in the venue. 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 General Reception, 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 General Reception 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 and Drink corner will also be available at the Exhibition Hall.
 

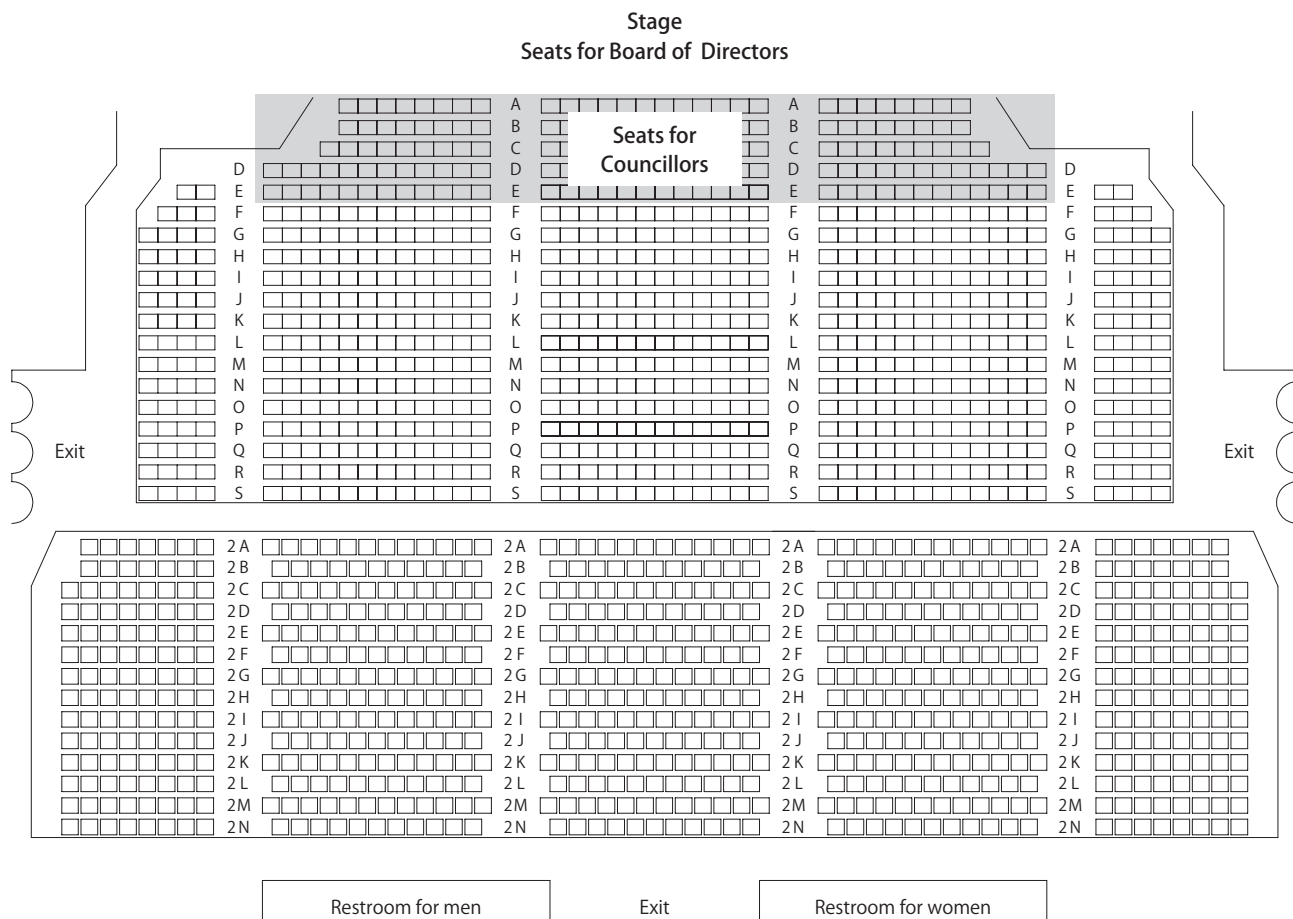
Place:	1F Exhibition Hall, Foyer
Date and Time:	January 26th (Thu.) 8:30 ~ 18:00 January 27th (Fri.) 8:30 ~ 15:20
10. Cloakroom
 

Place:	1F Lobby
Date and Time:	January 26th (Thu.) 8:00 ~ 20:30 January 27th (Fri.) 8:00 ~ 17:30
11. The paging service will not be available in the venue.  
Please use the message board located at the General reception (1F 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 (1F Lobby).
 

Date and Time:	January 26th (Thu.) 8:00 ~ 17:00 January 27th (Fri.) 8:00 ~ 14:30
----------------	--

## ■ General Assembly and Board of Councilors

Place: 1F Main Hall  
 Date and Time: January 27th (Fri.) 16:00 ~ 17:30  
 Agenda: Performance and annual review in 2016  
 Budget and planning for annual performance in 2017  
 Recommendation: Meritorious Members  
 Councilors



## ■ Luncheon Seminar

Free tickets for Luncheon Seminars will be provided at the Luncheon Seminar Ticket Desk (Large Meeting Room).

Date and Time: January 26th (Thu.) 8:00 ~ 11:00  
January 27th (Fri.) 8:00 ~ 11:00

### Luncheon Seminar I

January 26th (Thu.) 12:00 ~ 13:00 Large Meeting Room, 1F

"Spectrum of histopathologic lesions in antisense oligonucleotide compounds (ASOs)"

Speaker: Shunji Nakatsuji (SNBL USA, Ltd.)

Chair: Kimiaki Hirakawa (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)

Co-sponsor: Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

### Luncheon Seminar II

January 26th (Thu.) 12:00 ~ 13:00 Medium-sized Meeting Room, 1F

"Histopathologic review of viral and bacterial infectious disease research at Southern Research"

Speaker: Sheila Grimes (Southern Research)

Chair: Kazumoto Shibuya (Nippon Institute For Biological Science)

Co-sponsor: Southern Research/Three S Japan Co., Ltd.

### Luncheon Seminar III

January 27th (Fri.) 12:00 ~ 13:00 Large Meeting Room, 1F

"Evaluation of the respiratory system in toxicologic pathology"

Speaker: Melanie A. Greeley (Charles River Ashland)

Chair: Kaori Isobe (Charles River Edinburgh)

Co-sponsor: Charles River

### Luncheon Seminar IV

January 27th (Fri.) 12:00 ~ 13:00 Medium-sized Meeting Room, 1F

"Background pathology in non-rodent laboratory animals, with emphasis on the minipig"

Speaker: Vasanthi Mowat (Envigo CRS Ltd.)

Chair: Kosei Inui (Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.)

Co-sponsor: Envigo Co., Ltd.

## ■ Social Gathering Banquet

Place: Main Hall at Big-i, 1F

Date and Time: Jan. 26th (Thu.) 18:20 ~

\*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. 26th (Thu.). First come, first served. Please note that we may close registration due to limited seating.

# To Presenters

## ■ Request to Special Lecture, Educational Lecture, Keynote Lecture and Symposium

### 1. Data and PCs

#### 1) For Windows

- Please bring your USB memory stick or your own PC to Reception for PC 30 minutes before your presentation. (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. Symposium-1 Taro Yamada
- Please do not store any data except your presentation in your USB memory stick.

#### 2) For Macintosh

- Please bring your own PCs to Reception for PC 30 minutes before your presentation.
- 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 pointer.
- Presenter's tool will not be available during presentation.

### 3. Time allocation

Session	Presentation Time	Time indicator lamp
Special Lecture Educational Lecture Keynote Lecture	50 minutes including discussion	Yellow light will turn on 1 minute before the presentation time ends. Red light will turn on when presentation time ends.
Symposium	25 minutes including discussion per title 100 minutes per Each Symposium	



## ■ Request to Poster Presenters

1. 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.

Setup: 9:00 – 10:00, January 26th (Thu.)

Presentation and discussion :

17:00 – 18:00, January 26th (Thu.)

15:00 – 16:00, January 27th (Fri.)

Removal: 17:10 – 17:30, January 27th (Fri.)

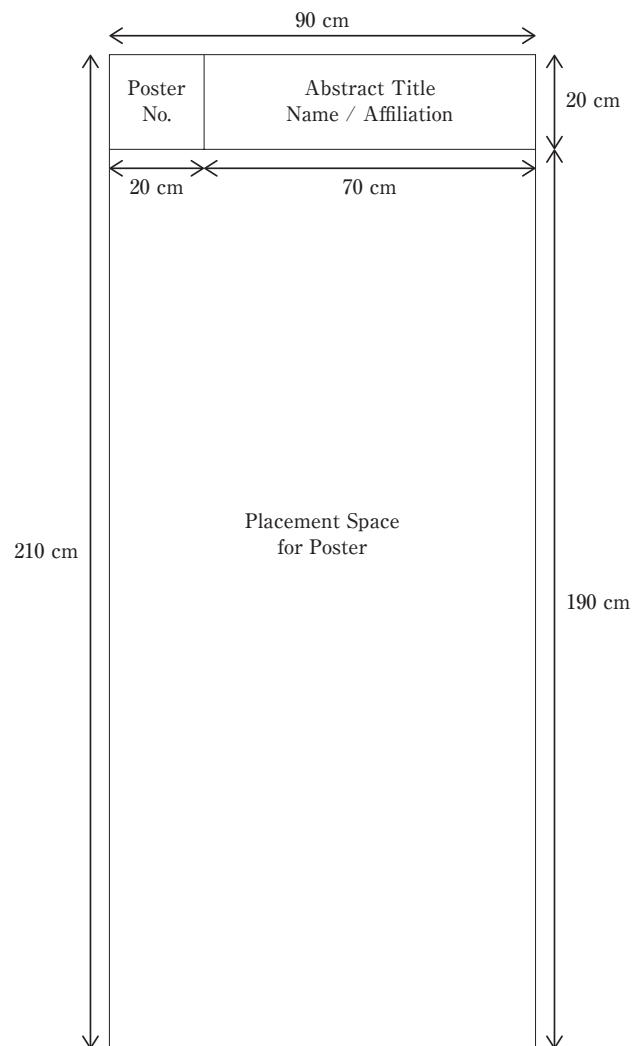
※ In case your poster is not removed during the period, the secretariat properly disposes of the poster.

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 Chair'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).

## ■ 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.

### 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>
---

### 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>Executive / Advisory Position: (○○Company) Funded research / Collaborative research: (○○Company) Lecture Honorariums, etc.: (○○Company)</p>
---

# Timetable

## January 25 (Wed.)

	Main Hall	Poster Room B (Large Meeting Room)	Medium-sized Meeting Room	Poster Room A (Small Meeting Room)	Lobby	Foyer 1F	Poster Room C (Entrance 2F)
8:00							
9:00							
10:00							
11:00							
12:00			12:00				
12:30	The 29th Slide Conference		Editorial Committee				
13:00			13:00				
13:30			13:30				
14:00			Educational Committee				
14:30			14:30				
15:00			15:00				
16:00			Board Meeting				
17:00			17:00				
17:30							
18:00		18:00					
19:00	Explanation of Exam Questions						
19:00	19:00		19:00				
20:00			International President's Meeting				
20:00			19:50				
20:00			20:00				
21:00			IFSTP EC Meeting				
21:00			20:50				

# Timetable

## January 26 (Thu.)

	Main Hall	Poster Room B (Large Meeting Room)	Medium-sized Meeting Room	Poster Room A (Small Meeting Room)	Lobby	Foyer 1F	Poster Room C (Entrance 2F)
8:00	8:00~ Reception Starts				8:00		
9:00	9:10~ Opening ceremony					8:30	
10:00	9:20 Symposium 1 Toxic effects and risk assessment of environmental chemicals -environment disease and cancer-	Poster Setup		Poster Setup			Poster Setup
11:00	11:00 IATP Educational Lecture Robert Maronpot On behalf, Katsuhiko Yoshizawa 11:50	Poster Viewing					
12:00		12:00 Luncheon Seminar I Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.	12:00 Luncheon Seminar II Southern Research/ Three S Japan Co., Ltd.		Reception		
13:00		13:00	13:00			Company Exhibitions	Poster Viewing
14:00	13:30 Special Lecture Shigeru Tsunoda 14:20			Poster Viewing			
15:00	14:40 Symposium 2 Toxicosis in Animals	Poster Viewing					
16:00	16:20						
17:00		17:00 Poster Presentation		17:00 Poster Presentation	17:00		17:00 Poster Presentation
18:00		18:00		18:00		18:00	18:00
19:00	18:20 Social Gathering Banquet						
20:00	20:20						
21:00							

# Timetable

## January 27 (Fri.)

	Main Hall	Poster Room B (Large Meeting Room)	Medium-sized Meeting Room	Poster Room A (Small Meeting Room)	Lobby	Foyer 1F	Poster Room C (Entrance 2F)
8:00							
8:30~					8:30	8:30	
9:00	Reception Starts						
9:00	Keynote Lecture J. LaMarre						
9:50							
10:00							
10:00	Symposium 3 MicroRNAs: Current Topics of the Research in Disease and Toxicology	Poster Viewing					
11:00							
11:40							
12:00				Poster Viewing	Reception	Company Exhibitions	Poster Viewing
12:00		12:00 Luncheon Seminar III Charles River	12:00 Luncheon Seminar IV Envigo Co., Ltd.				
13:00		13:00	13:00				
13:10							
14:00	Symposium 4 Cancer the rapeutic strategies for targeting cancer stem-like cell phenotypes	Poster Viewing					
14:50							
15:00		15:00 Poster Presentation		15:00 Poster Presentation	15:30	15:20	15:00 Poster Presentation
16:00		16:00		16:00			16:00
16:00	Board of Councilors The General Assembly Awards Ceremony Closing Ceremony	Poster Viewing		Poster Viewing			Poster Viewing
17:00		17:10		17:10			17:10
17:30		17:10 17:30 Poster Removal		17:10 17:30 Poster Removal			17:10 17:30 Poster Removal
18:00							
19:00							
20:00							
21:00							

# Program

## Special Lecture

January 26 (Thu.) 13:30 ~ 14:20

Main Hall

Chair : Kosei Inui (Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.)

- SL      **Philosophical medical history of neuroscience**  
○ Shigeru Tsunoda, M.D., Ph.D.,  
Professor Emeritus, Osaka Prefecture University

## Educational Lecture

January 26 (Thu.) 11:00 ~ 11:50

Main Hall

Chair : Shim-mo Hayashi (San-Ei Gen F.F.I., Inc)

- EL      **The legacy of the F344 rat as a cancer bioassay model**  
Robert Maronpot D.V.M., M.S., M.P.H.  
IATP Education Committee, Maronpot Consulting LLC, USA  
On behalf ;  
Katsuhiko Yoshizawa  
Department of Pathology II, Kansai Medical University

## Keynote Lecture

January 27 (Fri.) 9:00 ~ 9:50

Main Hall

Chair : Jyoji YAMATE (Department of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University)

- KL      **Small RNAs: Important regulators of gene expression in embryogenesis, biology and disease**  
Jonathan LaMarre, D.V.M., Ph.D.  
Department of Biomedical Sciences, University of Guelph, Guelph, Ontario, CANADA.

## **Symposium 1**

### **Toxic effects and risk assessment of environmental chemicals -environment disease and cancer-**

**January 26 (Thu.) 9:20 ~ 11:00**

**Main Hall**

Chair : Hideki Wanibuchi (Department of Molecular pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine)  
Kaoru Toyosawa (Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.)

- SY1-1 Occupational exposure to chemicals and cancer risk**  
Hideki Wanibuchi  
Department of Molecular pathology,  
Osaka City University Graduate School of Medicine
- SY1-2 Primary cause of carcinogenesis: what toxicologic pathology can contribute**  
Shinya Toyokuni  
Department of Pathology and Biological Responses, Nagoya University Graduate School of Medicine
- SY1-3 Environmental pollution and common diseases such as fatty liver, diabetes and allergy**  
Hirohisa Takano  
Environmental Health Division, Department of Environmental Engineering,  
Graduate School of Engineering, Kyoto University
- SY1-4 Risk assessment of chemicals in foods and environment**  
**- A case study of acrylamide in foods generated through heating -**  
Midori Yoshida  
Food Safety Commission, Cabinet Office

## **Symposium 2**

### **Toxicosis in Animals**

**January 26 (Thu.) 14:40 ~ 16:20**

**Main Hall**

Chair : Kinji Kobayashi (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd. Pathology Department, Pathology Unit)  
Kiyokazu Ozaki (Laboratory of pathology, Setsunan University)

- SY2-1 Toxicosis of domestic ruminants**  
Nobuhiko Tanimura  
National Institute of Animal Health, NARO
- SY2-2 Recent poisoning cases of bird in Japan**  
Shigeru Miyazaki  
Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology (RIAS)
- SY2-3 Poisoning in dogs**  
Kinji Shirota  
School of Veterinary Medicine, Azabu University
- SY2-4 Poisonings in cats : Lily toxicosis in cat**  
Kohji Nomura  
Marupi Lifetech Co.,Ltd

## Symposium 3

### MicroRNAs: Current Topics of the Research in Disease and Toxicology

January 27 (Fri.) 10:00 ~ 11:40

Main Hall

Chair : Masahiro Matsumoto (Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.,)  
Mikinori Torii (Drug Safety Evaluation, Shionogi & Co., Ltd.)

- SY3-1 Utility and limitations of microRNAs as markers of kidney disease**  
Osamu Ichii  
Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University
- SY3-2 Analysis of circulating liver-specific microRNAs in cynomolgus monkeys**  
Takuma Iguchi  
Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.
- SY3-3 Testicular toxicity and microRNA**  
Tamio Fukushima  
Drug Safety Evaluation, Shionogi & Co., Ltd.
- SY3-4 Serum miRNA biomarkers in trimethyltin induced rat neurotoxicity model**  
Keiko Ogata<sup>1,2)</sup>, ○ Shuji Takeda<sup>1)</sup>, Masahiko Kushida<sup>1)</sup>, Mitsuru Kuwamura<sup>2)</sup>,  
Takeshi Izawa<sup>2)</sup>, and Jyoji Yamate<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup> Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd.  
<sup>2)</sup> Laboratory of Veterinary Pathology, Division of Veterinary Sciences, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University

## Symposium 4

### Cancer therapeutic strategies for targeting cancer stem-like cell phenotypes

January 27 (Fri.) 13:10 ~ 14:50

Main Hall

Chair : Satoru Takahashi (Department of Experimental Pathology and Tumor Biology,  
Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences)

- SY4-1 Stem cell and cancer research by multicolor lineage tracing method**  
Hiroo Ueno  
Department of Stem Cell Pathology, Kansai Medical University
- SY4-2 Cancer stem-like cells derived from breast cancer or lung cancer**  
Noriko Gotoh  
Division of Cancer Cell Biology, Cancer Research Institute, Kanazawa University
- SY4-3 Targeting epigenetic alterations as a novel therapeutics for glioma**  
Yutaka Kondo  
Department of Epigenomics, Nagoya City University, Graduate School of Medical Sciences
- SY4-4 Can we overcome drug resistance of CRPC by targeting endogenous gene expression profile ?**  
○ Takeo Kosaka, Takahiro Maeda, Hirohiko Nagata, Shunsuke Yoshimine, Toshiaki Shinojima,  
Akira Miyajima, Mototsugu Oya  
Department of Urology, Keio University School of Medicine



## Poster Presentation 1

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room A (Small Meeting Room)

Chair : Yuichi Murakami (Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation)

- PA-01\*** Epigenetic disruption of GABAergic interneuron gene control in hippocampal neurogenesis of mice after developmental HCP exposure  
○ Yousuke Watanabe<sup>1,2)</sup>, Hajime Abe<sup>1,2)</sup>, Maky Ideta-Otsuka<sup>3)</sup>, Katsuhide Igarashi<sup>3)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>LVP, Tokyo Univ. Agri. Tech., <sup>2)</sup>Gifu Univ., <sup>3)</sup>L-StaR, Hoshi Univ.
- PA-02\*** Histopathological study of early accumulation of amyloid  $\beta$  and hippocampal immature neurons in PS2APP mice  
○ Shiori Murase, Akiko Nakatani-Pawlak, Hiroyasu Murasawa, Hiroyuki Kobayashi, Jun Imai, Tomomi Kanehara, Tadashi Itoh, Hitoshi Kimura  
Nihon Bioresearch Inc.
- PA-03\*** Histopathological investigation of porencephaly in a beagle dog  
○ Shota Yoshida, Fumiko Ninomiya, Hideki Tanaka, Shohei Kanie, Satoshi Suzuki, Fumio Morita, Kazuo Hakoï  
Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

## Poster Presentation 2

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room A (Small Meeting Room)

Chair : Mami Kouchi (Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.)

- PA-04\*** Basic study for histopathological evaluation of normally developing thyroid in rat fetuses and pups: (2nd Report)  
○ Shiori Yoshida, Hitomi Yoshimitsu, Hiroaki Nagai, Toshihiro Amanuma  
Research center, Nihon Nohyaku Co., Ltd.
- PA-05\*** Immunohistochemical study on adrenal cysts in ferrets  
○ Mizuho Uneyama<sup>1)</sup>, James Chambers<sup>1)</sup>, Yasutsugu Miwa<sup>2)</sup>, Kazuyuki Uchida<sup>1)</sup>, Hiroyuki Nakayama<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, the University of Tokyo, <sup>2)</sup>Miwa Exotic Animal Hospital
- PA-06\*** Lymphocytic thyroiditis with accumulations of eosinophilic cells in male beagle dog  
○ Isamu Suzuki, Yuko Yamaguchi, Tsubasa Saito, Seiki Yamakawa, Hiroshi Edamoto, Hiromu Okano, Toru Hoshiya  
Pathology Department, BoZo Research Center Inc.

## Poster Presentation 3

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room A (Small Meeting Room)

Chair : Tetsuya Tsukamoto (Fujita Health University)

Toshinori Yoshida (Tokyo University of Agriculture and Technology)

- PA-07 Nasal cavity carcinogenicity in rats and mice exposed to glycidyl methacrylate inhalation for two years  
○ Hideki Senoh<sup>1)</sup>, Kenji Takanobu<sup>1)</sup>, Taku Katagiri<sup>1)</sup>, Yumi Umeda<sup>1)</sup>, Shigetoshi Aiso<sup>1)</sup>, Shoji Fukushima<sup>1,2)</sup>, Jun Kanno<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Japan Bioassay Research Center, JOHAS, <sup>2)</sup>Organization for Research Promotion on Risk Assessment
- PA-08 Nasal cavity carcinogenicity in rats and mice exposed to acrolein by inhalation for two years  
○ Taku Katagiri<sup>1)</sup>, Kenji Takanobu<sup>1)</sup>, Hideki Senoh<sup>1)</sup>, Yumi Umeda<sup>1)</sup>, Shigetoshi Aiso<sup>1)</sup>, Shoji Fukushima<sup>2)</sup>, Jun Kanno<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Japan bioassay Research Center, JOHAS, <sup>2)</sup>Organization for Research Promotion on Risk Assessment
- PA-09 Proliferative changes of the terminal bronchiole and alveolar epithelium of rats exposed to MWNT-7 by inhalation  
○ Shigetoshi Aiso, Yumi Umeda, Hideki Senoh, Kenji Takanobu, Taku Katagiri, Shoji Fukushima, Jun Kanno  
Japan Organization of Occupational Health and Safety, Japan Bioassay Research Center
- PA-10 Lung carcinoma and hyperplastic lesion in rats exposed to MWCNT by 104 weeks inhalation  
○ Yumi Umeda<sup>1)</sup>, Kenji Takanobu<sup>1)</sup>, Taku Katagiri<sup>1)</sup>, Hideki Senoh<sup>1)</sup>, Shigetoshi Aiso<sup>1)</sup>, Shoji Fukushima<sup>1,2)</sup>, Jun Kanno<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Japan Bioassay Research Center, JOHAS, <sup>2)</sup>Association for Promotion of Research on Risk Assessment

## Poster Presentation 4

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room A (Small Meeting Room)

Chair : Junko Satou (LSI Medience Corporation.)

- PA-11 Evaluation of toxicities of cyclophosphamide in microminipigs following 4-week repeated administration  
○ Hirotohi Akane, Hiro Eda, Sumiko Okuda, Emiko Kajino, Yukiko Ozeki, Masaki Kunieda, Shigekazu Shimizu, Atsuko Ichikawa, Hiroyuki Komatsu, Yasuki Akie  
CMIC Pharma Science Co., Ltd.
- PA-12\* Histological changes in zinc-deficient rats.  
○ Yuma Yamashita, Takayasu Moroki, Tomo Sasaki, Takaaki Doi  
Toxicological Research Group, Drug Development Research Laboratories, Maruho Co., Ltd.
- PA-13\* Historical data for the histopathology on the kidneys, eyes and femurs in juvenile CrI:CD(SD) rats  
○ Saki Inoue<sup>1)</sup>, Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Yoshihiro Takei<sup>1)</sup>, Jun Watanabe<sup>1)</sup>, Haruko Koizumi<sup>1)</sup>, Tetsuyo Kajimura<sup>1)</sup>, Akihito Shimoi<sup>1)</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1)</sup>, Hijiri Iwata<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Ina Research Inc., <sup>2)</sup>LunaPath LLC

## Poster Presentation 5

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room A (Small Meeting Room)

Chair : Akihito Shimoi (Ina Research Inc.),

Yoko Sugimoto (Boehringer Ingelheim Japan Inc.)

- PA-14\*** Expression of malignant transformation-associated markers in canine gastrointestinal epithelial tumors  
○ Tsubasa Saito<sup>1)</sup>, James Chambers<sup>1)</sup>, Kazuyuki Uchida<sup>1)</sup>, Kazumi Nibe<sup>3)</sup>, Ko Nakashima<sup>4)</sup>, Koichi Ohno<sup>2)</sup>, Hiroyuki Nakayama<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab.Vet.Pathol., the Univ. of Tokyo, <sup>2)</sup>Lab.Vet.Int.Med., the Univ. of Tokyo, <sup>3)</sup>JARMeC, <sup>4)</sup>JSAMC
- PA-15** The incidence of lymphoplasmacytic gastritis in the whole area of cynomolgus monkey stomachs  
○ Tetsuro Kurotaki, Junko Sato, Naoaki Yamada, Takuya Doi, Takeshi Kanno, Minoru Tsuchitani  
LSI Medience Corporation
- PA-16\*** Vitelline duct cyst with heterotopic mesenteric ossification in a beagle dog  
○ Fumiko Ninomiya, Hideki Tanaka, Satoshi Suzuki, Shota Yoshida, Shohei Kanie, Fumio Morita, Kazuo Hakoï  
Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.
- PA-17** Early adhesion-barrier removal contributes to favorable re-mesothelialization  
○ M. Tasaki<sup>1)</sup>, M. Kai<sup>1)</sup>, H. Terao<sup>1)</sup>, J. Souba<sup>1)</sup>, R. Asou<sup>1)</sup>, Y. Saito<sup>2)</sup>, A. Isobe<sup>1)</sup>, K. Nagano<sup>3)</sup>, N. Chino<sup>1)</sup>, H. Hagiwara<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Terumo Corporation, <sup>2)</sup>Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center,  
<sup>3)</sup>Nagano Toxicologic-Pathology Consulting

## Poster Presentation 6

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room A (Small Meeting Room)

Chair : Atsuhiko Kato(Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.),  
Toshio Imai(National Cancer Center Japan)

**PA-18 Responses to FDA SEND data -Part II-**

○ Hirofumi Hatakeyama<sup>1</sup>, Shin-ichi Horikawa<sup>1</sup>, Junichi Sakurai<sup>1</sup>, Haruko Koizumi<sup>1</sup>,  
Akihito Shimoi<sup>1</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1</sup>, Hijiri Iwata<sup>2</sup>, Takayuki Anzai<sup>3</sup>, Daniel Potenta<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>PDS Life Sciences

**PA-19 How to use the terms of INHAND (nonneoplastic lesion) for SEND**

○ Haruko Koizumi<sup>1</sup>, Tetsuyo Kajimura<sup>1</sup>, Hirofumi Hatakeyama<sup>1</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1</sup>, Hijiri Iwata<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Ina Research Inc., <sup>2</sup>LunaPath LLC, Laboratory of Toxicologic Pathology

**PA-20 The use of MRI for tumorigenicity study of hESC following intrathecal transplantation in mice**

○ Yoshiharu Tsuru<sup>1</sup>, Yael Schiffenbauer<sup>2</sup>, Yuval Ramot<sup>3</sup>, Netanel Amoyal<sup>4</sup>, Michal Izrael<sup>5</sup>,  
Abraham Nyska<sup>6</sup>  
<sup>1</sup>Primetech, <sup>2</sup>Aspect Imaging, <sup>3</sup>Hadassah-Hebrew University  
<sup>4</sup>Envigo CRS, <sup>5</sup>KadimaStem, <sup>6</sup>Timrat and Tel Aviv University

**PA-21 Targeting the HER family with Pan-HER effectively overcomes resistance to cetuximab**

○ Mari Iida<sup>1</sup>, Harsh Bahrar<sup>1</sup>, Toni M. Brand<sup>1</sup>, Hannah E. Pearson<sup>1</sup>, John P. Coan<sup>1</sup>,  
Rachel A. Orbuch<sup>1</sup>, Bailey G. Flanigan<sup>1</sup>, Adam D. Swick<sup>1</sup>, Prashanth J. Prabakaran<sup>1</sup>,  
Johan Lantto<sup>2</sup>, Ivan D. Horak<sup>2</sup>, Michael Kragh<sup>2</sup>, Ravi Salgia<sup>3</sup>, Randy J. Kimple<sup>1</sup>, Deric L.  
Wheeler<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Dep. of Human Oncology, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health, Madison, Wisconsin  
<sup>2</sup> Symphogen A/S, Ballerup, Denmark. <sup>3</sup> City of Hope, Duarte, California.

## Poster Presentation 7

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room A (Small Meeting Room)

Chair : Masahiko Kushida(Sumitomo Chemical Co., Ltd.)

**PA-22 Effect of cadmium exposure on testis in Medaka (*Oryzias latipes*)**

○ Akihiko Sugiyama<sup>1</sup>, Yuuki Takeoka<sup>1</sup>, Ayano Hirakou<sup>1</sup>, Takashi Takeuchi<sup>1</sup>, Satoshi Furukawa<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Joint Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori university  
<sup>2</sup>Biological research laboratories, Nissan chemical industries, Ltd.

**PA-23\* Histopathological evaluation of usefulness of adult zebrafish for screening DIKI and DILI**

○ Yuki Kato<sup>1,2</sup>, Yutaka Tonomura<sup>1</sup>, Hiroyuki Hanafusa<sup>1</sup>, Kyohei Nishimura<sup>1</sup>, Tamio Fukushima<sup>1</sup>,  
Atsuko Hishikawa<sup>1</sup>, Motonobu Ueno<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Drug Safety Evaluation, Shionogi & Co., Ltd., <sup>2</sup>Osaka Prefecture University

**PA-24\* Histopathology of a fathead minnow with spinal curvature**

○ Masayuki Kimura<sup>1</sup>, Kota Irie<sup>1</sup>, Masayoshi Abe<sup>1</sup>, Seigo Hayashi<sup>1</sup>, Akihiko Sugiyama<sup>2</sup>,  
Satoshi Furukawa<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, Ltd.  
<sup>2</sup>School of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori University

## Poster Presentation 8

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room A (Small Meeting Room)

Chair : Satoshi Suzuki (Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.)

- PA-25 Databases for technical aspects of immunohistochemistry**  
○ Mika Nagaike<sup>1,2)</sup>, Satoshi Furukawa<sup>1,3)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>1,4)</sup>  
<sup>1)</sup>Conference on Experimental Animal Histopathology, <sup>2)</sup>Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.  
<sup>3)</sup>Nissan Chemical Industries, Ltd., <sup>4)</sup>Laboratory of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Science, Setsunan University
- PA-26\* Investigation of histopathological examination using long-term stored formalin-fixed paraffin-embedded tissues**  
○ Yuko Ono, Hiroko Sato, Toshiko Miyazaki, Katsuya Fujiki, Eisuke Kume, Masaharu Tanaka  
Safety Research Laboratories, Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd.
- PA-27 Identification of 5-HT-producing cells by detection of fluorescence in paraffin-embedded tissue sections**  
○ Yoshioki Kaneko<sup>1)</sup>, Nobuhiko Onda<sup>1)</sup>, Yosuke Watanabe<sup>2,3)</sup>, Makoto Shibutani<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Olympus Corp., <sup>2)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>3)</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.

## Poster Presentation 9

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room B (Large Meeting Room)

Chair : Kumiko Ogawa (National Institute of Health Sciences )  
Katsumi Fukamachi(Nagoya City University)

- PB-28 Carcinogenicity induced by prenatal exposure to dimethylarsinic acid in CD1 mice**  
○ Min Gi, Masaki Fujioka, Kumiko Tatsumi, Takashi Yamaguchi, Mitsuaki Kitano, Anna Kakehashi, Yuji Oishi, Hideki Wanibuchi  
Osaka City University Graduate School of Medicine
- PB-29 Suppression of hepatocarcinogenesis in CD44 knockout mice**  
○ Anna Kakehashi, Kumiko Tatsumi, Takahiro Okuno, Min Gi, Hideki Wanibuchi  
Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.
- PB-30\* Effects of concurrent exposure of 1,2-dichloropropane and dichloromethane on hepatocarcinogenesis in male C3H mice**  
○ Satoko Kawachi, Min Gi, Masaki Fujioka, Kumiko Tatsumi, Yoshiyuki Tago, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi  
Department of Molecular Pathology, Osaka City University, Medical School
- PB-31 Initiation effects and susceptibility of N-methyl-N-formylhydrazine on gallbladder carcinogenesis in two mice strains**  
○ Toshiya Kuno, Masashi Hayakawa, Satoshi Fuji, Aya Naiki, Shugo Suzuki, Satoru Takahashi  
Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

## Poster Presentation 10

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room B (Large Meeting Room)

Chair : Kyoko Nakano (Eisai Co.,Ltd.)

Hiroaki Kawaguchi (Kagoshima University)

**PB-32\*** *Lgr5*-expressing epithelial cell distribution during gastric mucosal regeneration

○ Kengo Namiki<sup>1,2)</sup>, Akihiro Hirata<sup>2)</sup>, Hiroki Sakai<sup>2)</sup>, Atsuko Murai<sup>1,2)</sup>, Hiroyuki Tomita<sup>3)</sup>, Akira Hara<sup>3)</sup>, Tokuma Yanai<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Safety Res., Ono Pharm. Co. Ltd., <sup>2)</sup>Lab. Vet. Pathol., Gifu Univ., <sup>3)</sup>Dept. Tumor Pathol., Gifu Univ. Grad. Sch. Med.

**PB-33** Cytotoxicity of the crude extracts of *Musa basjoo* in human colon carcinoma cells

○ Harutoshi Matsumoto, Saeko Ando, Katsumi Fukamachi, Mitsuru Futakuchi, Masumi Suzui

Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences and Medical School, Nagoya City University

**PB-34\*** Somatic stem cell-recognizing antibody (A3)-labelled cells in colon lesions induced in rats by dextran sulfate sodium (DSS)

○ Hironobu Nishina, Chisa Ichikawa-Kato, Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Osaka Prefecture University, Veterinary Pathology

**PB-35** Study of the ingredient products by miso using in different kinds of koji and in the fermentation stages

○ Hiromitsu Watanabe<sup>1)</sup>, Atsuko Takahashi<sup>2)</sup>, Megumi Sasatani<sup>3)</sup>, Yuichiro Miyasaka<sup>4)</sup>, Masao Yoshizumi<sup>1)</sup>, Tsutomu Masujima<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Gra Sci Biomed Health, Hiroshima U, <sup>2)</sup>Riken, <sup>3)</sup>RIRBM Hiroshima U, <sup>4)</sup>Miyasaka Jozo

## Poster Presentation 11

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room B (Large Meeting Room)

Chair : Masanao Yokohira (Kagawa University)

Makoto Ueda (Nippon Shinyaku Co., Ltd.)

**PB-36\*** Functional analysis of *Tmem70* and *Ube2e2* showing epigenetic transcript downregulation in the liver of rats treated with thioacetamide for 28 days

○ Sayaka Mizukami<sup>1)</sup>, Yousuke Watanabe<sup>1,2)</sup>, Yasuko Hasegawa-Baba<sup>1)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>LVP, TUAT, <sup>2)</sup>UGSVS, Gifu Univ.

**PB-37** Evaluation hepatocarcinogenicity of elemicin in gpt delta rats.

○ Liang Shi<sup>1,4)</sup>, Yuji Ishii<sup>1)</sup>, Shinji Takasu<sup>1)</sup>, Takuma Tsuchiya<sup>1)</sup>, Aki Kijima<sup>1)</sup>, Takehiko Nohmi<sup>2)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>3)</sup>, Takashi Umemura<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Div.Pathol.,NIHS, <sup>2)</sup>Div.Gen.& Mut.,NIHS, <sup>3)</sup>Biol.Safety Res.Ctr.,NIHS, <sup>4)</sup>Lab.Exp.Pathol., Univ.Tsukuba.

**PB-38\*** Histological characteristics of spontaneous GST-P positive foci of hepatocellular alteration in male SD rats

○ Eriko Riya, Kochi Kakimoto, Koji Inagaki, Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi, Akiko Nakamura, Kaoru Toyoda, Akemi Takahashi, Toshiyuki Shoda

Japan Tobacco Inc.

**PB-39\*** Molecular pathological differences between nodular regenerative hepatocellular hyperplasias and neoplastic lesions induced by piperonyl butoxid of exposure to mice

○ Shinji Takasu, Yuh Yokoo, Aki Kijima, Yuji Ishii, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura

Div. of Path., NIHS

## Poster Presentation 12

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room B (Large Meeting Room)

Chair : Kochi Kakimoto (Japan Tobacco Inc.)

Makoto Shibutani (Tokyo University of Agriculture and Technology)

- PB-40\*** Toxicity and anticancer mechanism of action of palmitoyl piperidinopiperidine  
○ Saeko Ando, Harutoshi Matsumoto, Katsumi Fukamachi, Mitsuru Futakuchi, Masumi Suzui  
Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences and Medical School, Nagoya City University
- PB-41** Relationship between salivary gland dysfunction and dental caries formation in Zucker rats strain - The effects of obesity and diabetes on salivary gland function -  
Nishimoto Taiki<sup>1)</sup>, ○ Yasushi Kodama<sup>1)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>2)</sup>, Tetsuro Matsuura<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab. Clinicopathol. Therap., Hiroshima Int. Univ., <sup>2)</sup>Setsunan Univ.
- PB-42\*** Spontaneous occlusal surface wear in molar teeth of ICR mice and enhancement of the lesion caused by alloxan-induced diabetes development.  
○ Nishimoto Taiki<sup>1)</sup>, Yasushi Kodama<sup>1)</sup>, Hayato Maruyama<sup>2)</sup>, Yui Terayama<sup>2)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>2)</sup>, Tetsuro Matsuura<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab. Clinicopathol. Therap., Hiroshima Int. Univ., <sup>2)</sup>Setsunan Univ.
- PB-43\*** Botryomycosis in C57BL/6 mice  
○ Shin-ichi Nakamura, Takahiro Kawase, Takamitsu Tsukahara  
Kyoto Institute of Nutrition & Pathology Inc.

## Poster Presentation 13

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room B (Large Meeting Room)

Chair : Yuko Yamaguchi (Bozo Research Center Inc.)

Atsushi Watanabe (Asahikasei Pharma Corporation)

- PB-44\*** Effect of lipopolysaccharide on autophagy and autophagic response in liver homeostasis in rats  
○ M. Rabiul Karim, Munmun Pervin, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate  
Osaka Prefecture University Graduate School of Life and Environmental Sciences Laboratory of Veterinary Pathology
- PB-45\*** Calcium-deficient diet attenuates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice through suppression of lipid peroxidation and inflammatory response  
○ Hioroki Yoshioka, Miki Tanaka, Tsunemasa Nonogaki  
College of Pharmacy, Kinjo Gakuin University
- PB-46\*** Reduction mechanisms of hepatocyte injury in rat liver injury model by thioacetamide-repeated injections  
○ Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Munmun Pervin, Karim M.Rabiul, Alexandra Bondoc, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate  
Osaka Prefecture University, Veterinary Pathology
- PB-47\*** Evaluation of the sinusoidal obstruction syndrome and hepatotoxic marker in monocrotaline induced mice model  
○ Shintaro Hara, Hitomi Hayashi, Yuji Okuda, Naoko Igo, Kimiko Fuchigami, Eiji Ichimura  
Toxicology Team, Nipponkayaku Co., Ltd.

## Poster Presentation 14

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room B (Large Meeting Room)

Chair : Min Gi (Wei) (Osaka City University)

Katsuhiko Miyajima (Tokyo University Of Agriculture)

**PB-48\* Pathological features of hepatocellular carcinoma in a NASH mouse model**

○ Saori Matsuo<sup>1</sup>, Ayae Yoshida<sup>2</sup>, Masahiko Matsumoto<sup>1</sup>, Tsuneo Ito<sup>1</sup>, Shuji Hayashi<sup>1</sup>,  
Kaori Nishihara<sup>1</sup>, Kenji Adachi<sup>1</sup>, Junko Shinozuka<sup>1</sup>, Masami Suzuki<sup>1</sup>, Atsuhiko Kato<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chugai Pharmaceutical Co., <sup>2</sup>Chugai Research Institute for Medical Science

**PB-49\* Effect of benzo[a]pyrene on progression of non-alcoholic fatty liver disease in mice fed a high-fat diet**

○ Kohei Matsushita<sup>1</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1</sup>, Mizuki Sone<sup>1,2</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., <sup>2</sup>Fac. Agric., Tokyo Univ. Agric. Technol.

**PB-50\* Different effects of EPA and DHA on NASH in mice**

○ Noriko Kemuriyama<sup>1</sup>, Takashi Matsuzaka<sup>2</sup>, Yoshimi Nakagawa<sup>2</sup>, Naoya Yahagi<sup>2</sup>,  
Katsuhiko Miyajima<sup>1</sup>, Dai Nakae<sup>1</sup>, Hitoshi Shimano<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Nutr Sci Food Safety, Tokyo Univ. Agricul., <sup>2</sup>Dept Int Med (Endocrinol Metabol), Univ Tsukuba

**PB-51\* Spirolactone and EMIQ prevent steatosis-related early hepatocarcinogenesis in rats**

Hirotada Murayama<sup>1</sup>, Emi Makino<sup>2</sup>, Ryoiti Ohstuka<sup>2</sup>, Shim-mo Hayashi<sup>3</sup>, Makoto Shibutani<sup>1</sup>,  
○ Toshinori Yoshida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2</sup>The Institute of Environmental Toxicology, <sup>3</sup>San-Ei Gen F.F.I., Inc.

## Poster Presentation 15

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room B (Large Meeting Room)

Chair : Yoshimasa Okazaki (The Institute of Environmental Toxicology)

**PB-52\* Newly established murine model for a non-alcoholic steatohepatitis (NASH) accompanied by obesity and impaired glucose tolerance**

○ Yui Terayama, Kazue Akira, Tetsuro Matsuura, Kiyokazu Ozaki

Laboratory of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University

**PB-53 Early onset of preliminary changes that progress into NASH-like lesions in STAM mice**

○ Katsuhiko Miyajima<sup>1</sup>, Takeshi Ohta<sup>2</sup>, Yukihito Ishii<sup>2</sup>, Noriko Suzuki-Kemuriyama<sup>1</sup>, Dai Nakae<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Nutr Sci Food Safety, Tokyo University of Agriculture

<sup>2</sup>Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.

**PB-54\* Effects of background diet in rat model of high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis (NASH)**

○ Yohei Inai, Shoko Ohji, Machi Atarashi, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate, Takeshi Izawa

Osaka Prefecture University, Veterinary Pathology



**Poster Presentation 16****January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00****Poster Room C (Entrance 2F)**Chair : Hisashi Anayama (Takeda Pharmaceutical Co., Ltd.)  
Hiroyuki Ogasawara (Asubio Pharma Co., Ltd.)

- PC-55\*** Chemopreventive effects of angiotensin II receptor type 2 agonist on rat prostate carcinogenesis  
○ Aya Naiki-Ito, Shugo Suzuki, Hiroyuki Kato, Masashi Hayakawa, Toshiya Kuno, Satoru Takahashi  
Dept. Exp. Path. Tumor Biol., Nagoya City Univ.
- PC-56** Elucidation of molecular markers and establishment of rat model for early detection of prostatic carcinogens.  
○ Shugo Suzuki<sup>1,2)</sup>, Aya Naiki<sup>1)</sup>, Satoshi Fuji<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.
- PC-57\*** Establishment of a syngeneic orthotopic model of prostate cancer in immunocompetent rats.  
○ Hiroyuki Kato, Shugo Suzuki, Aya Naiki-Ito, Toshiya Kuno, Satoru Takahashi  
Dep. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.
- PC-58**  $\gamma$  H2AX expression induced by genotoxic bladder carcinogens in rats  
○ Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Shugo Suzuki<sup>2)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>2)</sup>, Mizuki Sone<sup>1,3)</sup>, Kohei Matsushita<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Kaoru Inoue<sup>1)</sup>, Satoru Takahashi<sup>2)</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>4)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>NIHS, <sup>2)</sup>Nagoya City Univ., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agric. Techol., <sup>4)</sup>NIHS

**Poster Presentation 17****January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00****Poster Room C (Entrance 2F)**Chair : Mihoko Ono (Astellas Pharma Inc.)  
Takahisa Noto (Santen Pharmaceutical Co.,Ltd.)

- PC-59\*** Characterization of macrophages in isoproterenol-induced rat myocardial injury, based on M1/M2 polarization  
○ Masaaki Koga, Mohammad Rabiul Karim, Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate  
Osaka Prefecture University, Laboratory of Veterinary Pathology
- PC-60** Risk assessment of anti-human tissue factor antibody utilizing tissue cross-reactivity study results and analysis of hemorrhagic lesions in cynomolgus monkey  
○ Etsuko Fujii, Kazuto Watanabe, Kaori Nishihara, Masami Suzuki, Atsuhiko Kato  
Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Research Division
- PC-61\*** Enhanced immune response for Lipopolysaccharide administration in mice exposed to neonatal undernutrition  
○ Mai Todoroki<sup>1)</sup>, Mika Senuma<sup>1)</sup>, Fumiaki Kumagai<sup>1)</sup>, Tetsuo Ogawa<sup>2)</sup>, Yoshiaki Saito<sup>1)</sup>, Makiko Kuwagata<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Hatano Reseach Insitute Food and Drug Safety Center, <sup>2)</sup>Physiology, Saitama Medical University
- PC-62\*** Modifying effect of melatonin in estrogen-treated rats: case of thromboembolism in a rat  
○ Nana Nomiya, Daiki Imai, Haruka Kawamoto, Mai Miyata, Hiroshi Satoh  
Department of Veterinary Medicine, Iwate University

## Poster Presentation 18

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room C (Entrance 2F)

Chair : Satoshi Furukawa (Nissan Chemical Industries, Ltd.)  
Eiji Kaneko (Teijin Pharma Ltd.)

- PC-63\* Trial for the detection of *in vivo* genotoxicity in rat kidney using  $\gamma$  H2AX expression  
○ Mizuki Sone<sup>1,2)</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Kohei Matsushita<sup>1)</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1)</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.
- PC-64\* Pathological analysis of renal failure model using fibrosis state monitor mouse  
○ Tatsuhiko Yamaguchi<sup>1,2)</sup>, Yuki Kato<sup>1,2)</sup>, Tomohiko Okuda<sup>1)</sup>, Jyoji Yamate<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>SHIONOGI & CO., LTD., <sup>2)</sup>Osaka Prefecture University
- PC-65 Development of a short-term prediction method for chemical carcinogenicity of kidney by gene expression analysis.  
○ Hiroshi Matsumoto, Fumiyo Saito, Masahiro Takeyoshi  
Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan. Chemical assessment and research center.
- PC-66\* Developmental exposure effect of ochratoxin A on the induction of karyomegaly and cell proliferation activity in renal tubules of rats  
○ Yasuko Hasegawa-Baba<sup>1)</sup>, Takeshi Tanaka<sup>1)</sup>, Sayaka Mizukami<sup>1,2)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>LVP, TUAT., <sup>2)</sup>UGSVS, Gifu U.

## Poster Presentation 19

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room C (Entrance 2F)

Chair : Mayumi Kawabe(DIMS Institute of Medical Science, Inc.)  
Shigetoshi Aiso(Japan Bioassay Research Center)

- PC-67 Strain difference of the long-term study of potassium octatitanate fibers (TISMO) in the left thoracic cavity.  
○ Masanao Yokohira, Yuko Nakano-Narusawa, Keiko Yamakawa, Nozomi Hashimoto, Shota Yoshida, Shohei Kanie, Katsumi Imaida  
Oncopathology, Faculty of Medicine, Kagawa University
- PC-68 Acute toxicity of different sizes of silver nanoparticle intraperitoneally administered in BALB/c mice  
○ Young-Man Cho, Jun-ichi Akagi, Yasuko Mizuta, Takeshi Toyoda, Kumiko Ogawa  
Div. Pathol., Natl. Inst. Health. Sci.
- PC-69 Carcinogenicity of multi-wall carbon nanotube (CNT) in rats and effect of phenyl N-tert-butyl nitrene (PBN)  
○ 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>Dept. Pharm. Environ. Sci. Tokyo, Metropol. Inst. Pub. Health, <sup>2)</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agricul.
- PC-70\* Time course of carcinogenesis by multi-wall carbon nanotube in rats  
○ Motoki Hojo<sup>1)</sup>, Yoshimitsu Sakamoto<sup>1)</sup>, Yukio Yamamoto<sup>1)</sup>, Yuko Hasegawa<sup>1)</sup>, Yukie Tada<sup>1)</sup>, Katsuhiko Yuzawa<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.

## Poster Presentation 20

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room C (Entrance 2F)

Chair : Noriaki Ishigami (Ono Pharmaceutical Co., Ltd.)

- PC-71 **Synthetic A -Mangostin dilaurate strongly inhibits mouse mammary cancer metastasis**  
○ Masaaki Shibata<sup>1</sup>, Hitomi Hamaoka<sup>1</sup>, Yuko Ito<sup>1</sup>, Munekazu Iinuma<sup>2</sup>, Yoichi kondo<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Anatomy & Cell Biology, Osaka Medical College, <sup>2</sup>Gifu Pharmaceutical University
- PC-72 **Effects of high-fat diet and/or high-sucrose drinking water on PhIP-induced mammary carcinogenesis in (C3HxBALB)N5-p53<sup>+/-</sup> mice**  
○ Toshio Imai<sup>1,2</sup>, Naoko Higashijima<sup>2</sup>, Naoaki Uchiya<sup>1</sup>, Masako Ochiai<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Ctr. Animal Div., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., <sup>2</sup>Dept. Animal Exp., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.
- PC-73\* **Localized amyloidosis in a rat mammary gland tumor**  
○ Kazufumi Kawasaki<sup>1</sup>, Takafumi Oshikata<sup>1</sup>, Mikio Mitsuishi<sup>1</sup>, Takeshi Kanno<sup>1</sup>, Masao Hamamura<sup>1</sup>, Tomoaki Murakami<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>LSI Medience Corporation  
<sup>2</sup>Division of Animal Life Science, Institute of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

## Poster Presentation 21

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room C (Entrance 2F)

Chair : Shim-mo Hayashi (San-Ei Gen F.F.I.,Inc.)

- PC-74\* **Essential role of a NADPH oxidase inhibitor, Apocynin, to suppress the earlier stage of Dimethylarsinic acid-induced rat urinary bladder carcinogenesis**  
○ Kenji Kumada, Kenichiro Doi, Masaki Fujioka, Min Gi, Masanori Takeshita, Hideki Wanibuchi  
Dept. Mol. Path., Osaka City Univ. Graduate Sch. Medicine
- PC-75 **5-hexenyl isothiocyanate, natural flavoring agent from Wasabia japonica, causes urinary bladder hyperplasia in F344 rats by 13-week oral administration**  
○ Jun-ichi Akagi, Yasuko Mizuta, Takeshi Toyoda, Young-Man Cho, Kumiko Ogawa  
Division of Pathology, National Institute of Health Sciences
- PC-76\* **Examination of *in vivo* mutagenicity of DMMTA in rat urinary bladder with direct transurethral bladder exposure method**  
○ Masaki Fujioka, Min Gi, Satoko Kawachi, Takahiro Okuno, Kenji Kumada, Masahiko Kushida, Hideki Wanibuchi  
Dept. Mol. Path Osaka city univ. grad. sch. med.

## Poster Presentation 22

January 26 (Thu.) 17:00 ~ 18:00

Poster Room C (Entrance 2F)

Chair : Masako Imaoka (Daiichi Sankyo Co., Ltd.)

**PC-77\* The physiological effect of 4-Methylthio-3-butenyl isothiocyanate with  $\alpha$ -cyclodextrin**

○ Shoko Ino<sup>1</sup>, Hinako Okamoto<sup>2</sup>, Naoko Ikuta<sup>3</sup>, Keiji Terao<sup>2</sup>, Norihiro Sakamoto<sup>3</sup>,  
Yutaka Yoshikawa<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Kobe Woman's University, <sup>2</sup>CycloChem Bio Co., Ltd.

<sup>3</sup>Grad Sch of Med, Kobe Univ, <sup>4</sup>Grad Sch of Sci of Health and Nutrition, KWU

**PC-78\* Influences of high fat diet including coconut oil on bone and lipid metabolism**

○ Chiharu Myo<sup>1</sup>, Akira Onodera<sup>2</sup>, Yutaka Yoshikawa<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Health and Welfare, Kobe Woman's University, <sup>2</sup>Faculty of pharmaceutical, Kobe Gakuin Univ,

<sup>3</sup>Grad School of Science of Health and Nutrition, Kobe Women's University

**PC-79 The kinetics of macrophages and mesenchymal cells in dibutyltin dichloride-induced rat pancreatic fibrosis**

○ Ai Hashimoto, Alexandra Ioana Bondoc, Mohammad Rabiul Karim, Takeshi Izawa,  
Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

## Poster Presentation 23

January 27 (Fri.) 15:00 ~ 16:00

Poster Room C (Entrance 2F)

Chair : Hiroshi Satoh (Iwate University)

Osamu Sawamoto (Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.)

**PC-80\* Relationship between neoplastic cells and cancer-associated fibroblast-like (CAF) cells, established from amelanotic melanoma in rat**

○ Alexandra Bondoc, Munmun Pervin, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

**PC-81 Histopathology of a monkey osteoarthritis model induced by monoiodoacetic acid**

○ Takashi Kotera<sup>1</sup>, Shizuka Konishi<sup>1</sup>, Shiho Motono<sup>1</sup>, Tatsuya Oyama<sup>1</sup>, Shinya Ogawa<sup>2</sup>,  
Hiroyuki Takamatsu<sup>2</sup>, Makoto Ueda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pharmacokinetics and Safety Assessment Dept., Nippon Shinyaku Co., Ltd., <sup>2</sup>Hamamatsu Pharma Research, Inc.

**PC-82\* Pathological research of tubular aggregate occurring in skeletal muscles of NOG mice**

○ Saori Igura<sup>1</sup>, Kenichiro Kasahara<sup>1</sup>, Yachiyo Fukunaga<sup>1</sup>, Masahiko Yasuda<sup>2</sup>, Ryo Inoue<sup>2</sup>,  
Kazutoshi Tamura<sup>1</sup>, Mariko Nagatani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>BoZo Research Center Inc., <sup>2</sup>Central Institute for Experimental Animals (CIEA)

**PC-83\* Subcutaneous tumor associated with microchip implant in a C57BL/6J mouse**

○ Ryuichi Nakamura<sup>1</sup>, Shiori Egashira<sup>2</sup>, Tomonari Nishimura<sup>3</sup>, Toshimasa Jindo<sup>3</sup>,  
Hiroyuki Ogasawara<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Asubio Pharma co., Ltd. Regenerative Medicine Field, <sup>2</sup>Immunology & Inflammatory Disease Field,

<sup>3</sup>Drug Discovery Technology Function

## Luncheon Seminar I

January 26 (Thu.) 12:00 ~ 13:00

Large Meeting Room

Chair : Kimiaki Hirakawa (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)

Co-sponsor : Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

- LS-1     Spectrum of histopathologic lesions in antisense oligonucleotide compounds (ASOs)  
           Shunji Nakatsuji  
           SNBL USA, Ltd.

## Luncheon Seminar II

January 26 (Thu.) 12:00 ~ 13:00

Medium-sized Meeting Room

Chair : Kazumoto Shibuya (Nippon Institute For Biological Science)

Co-sponsor : Southern Research/Three S Japan Co., Ltd.

- LS-2     Histopathologic review of viral and bacterial infectious disease research at Southern Research  
           Sheila Grimes  
           Southern Research

## Luncheon Seminar III

January 27 (Fri.) 12:00 ~ 13:00

Large Meeting Room

Chair : Kaori Isobe (Charles River Edinburgh)

Co-sponsor : Charles River

- LS-3     Evaluation of the respiratory system in toxicologic pathology  
           Melanie A. Greeley  
           Charles River Ashland

## Luncheon Seminar IV

January 27 (Fri.) 12:00 ~ 13:00

Medium-sized Meeting Room

Chair : Kosei Inui (Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.)

Co-sponsor : Envigo Co., Ltd.

- LS-4     Background pathology in non-rodent laboratory animals, with emphasis on the minipig  
           Vasanthi Mowat  
           Envigo CRS Ltd.



# Abstracts

---

**Special Lecture**  
**Educational Lecture**  
**Keynote Lecture**  
**Symposium**





SL

## Philosophical medical history of neuroscience

Shigeru Tsunoda, M.D., Ph.D.,

Professor Emeritus, Osaka Prefecture University

The philosopher Empedocles of ancient Greece, proposed a humoral pathology based on the theory of the four humors. The four body fluids are blood, phlegm, yellow bile, and black bile; each was produced in the heart, brain, liver, and spleen, respectively. According to the theory of the four humors, diseases developed due to disorders of circulation of the humors. According to modern anatomy, the understanding of blood is the same, and phlegm can be understood as cerebrospinal fluid and yellow bile as bile, but black bile is a theoretical fluid. However, he believed that an excessive quantity of this black bile caused a depressive state and exacerbated all kinds of diseases. The idea that depression exacerbates every disease is also true in modern medicine; we still currently refer to depression as melancholy, that is, black bile disease (melancholia: melas + cholē).

Toledo, the former capital of Spain, was a center of the 12th Century Renaissance. At that time, the center of science was Baghdad in Arabia, and the advanced science of Baghdad was brought to Toledo where it was translated into Latin and lectured in the recently born Universities of Bologna, Paris, and Oxford. "Al" in Arabic corresponds to "the" in English. Words currently in use such as "algebra," "alchemy," and "algorithm" were created during the 12th Century Renaissance. The textbook entitled "Algorithm" explains the solution of the quadratic equations by using Arabic numerals.

The Scientific Revolution of the 17th Century started in the University of Padova in Italy, and spread to the University of Cambridge in the United Kingdom and the whole of Europe. The American science historian Kuhn indicates that the Paradigm Shift occurred during the Scientific Revolution of the 17th Century. It is the shift of a cosmology with God at the center to a mechanical cosmology. It was a time in which the academic society system was established and Newton was active. In the medical field, Harvey who graduated from the University of Cambridge and studied at the University of Padova, published "An Anatomical Exercise on the Motion of the Heart and Blood in Living Beings" and showed that the heart proved to be a mere pump.

When typhus became prevalent in the Upper Silesia region in 1848, Virchow received a request for investigation from the government. In the report, he wrote that the fundamental cause of the outbreaks was due to the autocratic rule of the Prussian despot. As a result, he was banished from the University of Berlin. He became a professor of the University of Würzburg in 1849, where he completed his research on cellular pathology. He became a professor of the University of Berlin in 1856 and subsequently published his magnum opus "Cellular Pathology." He was responsible for the discovery and naming of leukemia and for the identification of the difference between thrombosis and embolism, these achievements are worthy of him being known as the father of pathology. Brain tumor surgery, which was performed by Dr. Macewen by using anesthesia and disinfection methods in the University of Glasgow in 1879, was the symbol of the birth of modern surgery.

Synesthesia is the perception of certain sensory stimuli as another sensation, rather than as the original sense. In 1943, LSD was synthesized from ergot alkaloid by the Swiss chemist Hoffman. In the late 1960s, the anti-Vietnam War movement and psychedelic art while using LSD took the world by storm. When LSD is ingested, synesthesia is awakened, and heavy rock rhythms are visualized as intense color patterns. During the 16th and 17th centuries, many witch trials were conducted in Europe. In recent years, the theory that witches were actually victims of ergot alkaloid poisoning has become popular. Ergot fungus infects rye more than wheat. The poor classes ate rye instead of wheat, which is consistent with the finding that witches were often found in poor classes.

## The legacy of the F344 rat as a cancer bioassay model

○ Robert Maronpot D.V.M., M.S., M.P.H.

IATP Education Committee, Maronpot Consulting LLC, USA

The F344 rat originated at Columbia University in 1920 from the 344<sup>th</sup> brother-sister mating of rats from the commercial Fischer breeding colony and was later adopted as the rat of choice for the National Cancer Institute cancer bioassay program. After over 50 years of using the F344 rat for cancer studies, the National Toxicology Program (NTP) switched first to the Wistar rat and subsequently to the Harlan Sprague Dawley rat. The reasons that NTP decided to no longer use the F344 rat for its carcinogenicity studies will be discussed during the presentation but a high and variable background incidence of mononuclear cell leukemia (MNCL), also known as large granule cell (LGL) leukemia, leading to early mortality was one of the main reasons for the switch. There was also concern that the greater than 90% background incidence of Leydig cell tumors precluded making reliable assessments of treatment-induced testicular tumor responses. Other target tissue tumor responses of concern included renal tubular cell tumors secondary to chronic progressive nephropathy, thyroid follicular cell tumors secondary to hepatic microsomal enzyme induction, and forestomach tumors secondary to irritation in gavage studies. The morphological and natural history features of MNCL (today's preferred nomenclature is LGL leukemia), Leydig cell tumors, and tunica vaginalis mesothelioma will be presented along with some case examples where these tumor responses were present. The closest human counterpart to F344 LGL leukemia is an extremely rare and aggressive NK cell leukemia (ANKCL) that is acutely fatal and has an Epstein-Barr viral etiology. In general, LCTs in humans share many similarities to their counterparts in rats, having a relatively benign nature and similar morphologic and clinical characteristics. Nevertheless, in humans, Leydig cell tumors are very rare, in contrast to the much higher prevalence in F344 rats. Furthermore, in humans, LCT has two age peaks, while in F344 rats there is a gradually increasing incidence with age. In contrast to the F344 rat, tunica vaginalis mesotheliomas in humans originate in the scrotal sac that does not connect to the peritoneal cavity as in rats. Furthermore, the TVM response in the F344 rat is secondarily linked to the high incidence of Leydig cell tumors indicating a tumor induction specificity not of likely relevance to humans.

Selected examples of two other target tissue cancer bioassay responses will be presented including renal tubular cell responses in the quercetin and coumarin F344 rat bioassays and forestomach tumor responses in the 2,4-hexadienal and ethyl acrylate F344 rat bioassays. Data will be discussed showing that renal tubular cell neoplastic responses, particularly in male F344 rats, are associated with treatment-induced exacerbation of chronic progressive nephropathy. Forestomach neoplasia in the F344 rat most often occurs in gavage studies with irritating agents that induce a sustained enhanced forestomach epithelial cell proliferation. Finally, a summary of F344 studies with increased incidences of these various tumor responses and how those studies were interpreted with respect to relevance to human cancer risk will be highlighted.

The F344 rat, with its long history of use in toxicology and carcinogenicity testing, has made tangible contributions to biomedical research. Its continued use as a cancer bioassay model appeared to be of limited utility and led to a decision to no longer use this rat in NTP cancer bioassays. However, the F344 rat remains as a reasonable animal model in shorter duration prechronic studies of xenobiotics.

### Selected References

- Adams, T. B., Gavin, C. L., Taylor, S. V., Waddell, W. J., Cohen, S. M., Feron, V. J., Goodman, J., Rietjens, I. M., Marnett, L. J., Portoghese, P. S., and Smith, R. L. (2008). The FEMA GRAS assessment of alpha,beta-unsaturated aldehydes and related substances used as flavor ingredients. *Food Chem Toxicol* **46**, 2935-67.
- Ghanayem, B. I., Maronpot, R. R., and Matthews, H. B. (1986). Association of chemically induced forestomach cell proliferation and carcinogenesis. *Cancer Lett* **32**, 271-8.
- Ghanayem, B. I., Sanchez, I. M., Maronpot, R. R., Elwell, M. R., and Matthews, H. B. (1993). Relationship between the time of sustained ethyl acrylate forestomach hyperplasia and carcinogenicity. *Environ Health Perspect* **101 Suppl 5**, 277-9.
- Hard, G. C., Seely, J. C., Betz, L. J., and Hayashi, S. M. (2007). Re-evaluation of the kidney tumors and renal histopathology occurring in a 2-year rat carcinogenicity bioassay of quercetin. *Food Chem Toxicol* **45**, 600-8.
- Maronpot, R. R., Nyska, A., Foreman, J. E., and Ramot, Y. (2016). The legacy of the F344 rat as a cancer bioassay model (a retrospective summary of three common F344 rat neoplasms). *Crit Rev Toxicol* **46**, 641-75.
- Smith, R. L., Cohen, S. M., Doull, J., Feron, V. J., Goodman, J. I., Marnett, L. J., Munro, I. C., Portoghese, P. S., Waddell, W. J., Wagner, B. M., Adams, T. B., Expert Panel of the, F., and Extract Manufacturers, A. (2005). Criteria for the safety evaluation of flavoring substances. The Expert Panel of the Flavor and Extract Manufacturers Association. *Food Chem Toxicol* **43**, 1141-77.

## Small RNAs: Important regulators of gene expression in embryogenesis, biology and disease

Jonathan LaMarre, D.V.M., Ph.D.

Department of Biomedical Sciences, University of Guelph, Guelph, Ontario, CANADA.

Extensive research conducted over the past decade has revealed the extraordinary complexity and importance of small RNA pathways in the control of normal development, tissue function and pathologic states, including cellular responses to toxic injury. The majority of this work has focused on changes mediated by the class of small RNAs known as microRNAs (miRNAs), which are single-stranded oligoribonucleotides 19-22 residues in length. MiRNAs mediate their effects by post-transcriptionally targeting specific mRNAs based on complementarity with sequences in the mRNA target. These interactions require microRNA binding to a protein complex known as the RNA-induced silencing complex (RISC), leading to mRNA destruction or translational suppression. More recently, an additional class of small RNAs known as “PIWI-interacting RNAs” (piRNAs) has been implicated in biological processes including reproduction, stem cell biology and cancer. This small RNA pathway utilizes related proteins, known as PIWI proteins, and is best recognized as a genome defense mechanism against retrotransposon expression, although some specific roles in mRNA targeting have recently been proposed. Through binding to retrotransposon or mRNA targets, piRNA/PIWI complexes facilitate RNA decay. In addition, piRNA complexes with PIWIs appear to regulate DNA and histone methylation at specific loci, facilitating epigenetic regulation.

Research in my laboratory has focused on each of these small RNA pathways, primarily in the context of reproduction. Next generation sequencing (NGS) of small RNAs present in animal gametes and gonads has revealed both static and dynamic populations of small RNAs. MicroRNAs including miR-21 and members of the let-7 family are highly abundant in the oocyte, testes and early embryos of one or more species. In the oocyte, miR-21 expression markedly increases during oocyte maturation and early phases of embryo development. Functional studies *in vitro* suggest that this is likely mediated through SMAD and STAT3 binding sites in the promoter of the precursor (primary) miR-21 sequence. Investigation of cellular targets strongly supports previous studies implicating miR-21 in the control of apoptosis pathways. In addition to microRNAs, large numbers of piRNAs were identified in the NGS data. In order to further examine their functions, we mapped the piRNAs to the genome revealing numerous retrotransposon and mRNA sequences. piRNA levels were correlated with turnover of these targets, suggesting important roles in mRNA turnover in gametes and embryos. Finally, we cloned the major PIWI proteins from multiple species in order to characterize their functions in reproduction and cancer. Taken together, our studies implicate small RNA pathways as key regulators of cellular function in gametes and embryos that have the potential to become dysregulated in diseases such as cancer.

**SY1-1****Occupational exposure to chemicals and cancer risk**

Hideki Wanibuchi

Department of Molecular pathology,  
Osaka City University Graduate School of Medicine

Occupational cancer is cancer that is caused wholly or partly by exposure to a carcinogen at workplace. Epidemiological studies have played a prominent role in the identification of occupational carcinogens. To date, 32 occupational agents evaluated in monographs 1-106 of International Agency for Cancer Research (IARC) are considered to be carcinogenic to humans such as asbestos, arsenic and inorganic arsenic compounds, and benzidine. However, it is possible that other occupational carcinogens remain unidentified because they involve only a small increased risk that are not easily detected or because they simply have not been studied. Recent epidemiological studies have indicated that occupational exposure to paint striper containing 1,2-dichloropropane (1,2-DCP) and/or dichloromethane (DCM) was associated with a marked increase in cholangiocarcinomas in an offset printing plant in Osaka, Japan. These reports raise serious concern about the risk of cancer in industrial workers chronically exposed to these haloalkanes. In 2013, based on the findings of the above epidemiological studies, The Ministry of Health, Labour and Welfare recognized cholangiocarcinoma due to jobs exposed to 1,2-DCP and cholangiocarcinomas due to jobs exposed to DCM as occupational cancer. In 2014, IARC reclassified 1,2-DCP as carcinogenic to humans (group 1) and reclassified DCM as probably carcinogenic to humans (Group 2A). We will present the epidemiological, clinical and pathological characteristics of patients with occupational cholangiocarcinomas. We will also provide the updated information on the metabolism, toxicity, and carcinogenicity of 1,2-DCP mainly obtained from animal studies, and discuss the relevance of animal data in human risk assessment.

**SY1-2****Primary cause of carcinogenesis: what toxicologic pathology can contribute**

Shinya Toyokuni

Department of Pathology and Biological Responses,  
Nagoya University Graduate School of Medicine

Iron is an essential metal for all the independent life on earth, and our life is spindled by iron, oxygen and foods. The major role of oxygen is to mediate electron flow in the cell, but a few % of oxygen will leak as reactive oxygen species or free radicals, which damage various biological molecules, causing scission, modifications or cross-links. Among these, hydroxyl radicals are the most reactive in the biological system and are produced through Fenton reaction catalyzed by Fe(II). Carcinogenesis is now recognized mainly as a genetic disease with a somatic driver mutation, followed by additional mutations in the oncogenes and tumor suppressor genes. Exposure to most of the carcinogenic agents is associated with oxidative stress, and cancer is the major and increasing cause of human mortality worldwide. Our animal model of ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA)-induced renal carcinogenesis in rats revealed recapitulation of genomic alterations similar to human cancer, which is not observed in other models. Our studies on mesothelial carcinogenesis by asbestos or multiwalled carbon nanotubes (IARC Group 2B) showed that local iron excess is mainly responsible for carcinogenesis. Notably, all the animal models presented a proportional relationship between the early-stage pathologic findings and the final cancer incidence. These data suggest that avoiding iron excess is important for cancer prevention and toxicologic pathology may contribute a lot to evaluating the nature of novel chemical agents.

## References

- 1) Toyokuni S. *Pathol Int.* 66: 245, 2016;
- 2) Wang Y *et al.* *Cancer Sci* 107: 250, 2016;
- 3) Toyokuni S. *Front Pharmacol* 5: 200, 2014;
- 4) Akatsuka *et al.* *PLoS One* 7: e43403, 2012;
- 5) Nagai H *et al.* *PNAS* 108: E1330, 2011.

**SY1-3****Environmental pollution and common diseases such as fatty liver, diabetes and allergy**

Hirohisa Takano

Environmental Health Division, Department of Environmental Engineering,  
Graduate School of Engineering, Kyoto University

Recently, allergy, fatty liver, and diabetes are very common diseases that show increasing incidences. Changes in environmental factors, rather than those in genetic factors, are thought to be responsible for the recent increases in these diseases. An increase in environmental pollutants such as environmental chemicals is involved in the recent changes in the environment and is thought to be responsible, at least partly, for the increase in allergic diseases. In fact, the author has reported that diesel exhaust particles (DEP) can enhance allergic asthma. Organic chemicals in DEP predominantly enhance the allergic inflammation. Furthermore, environmental chemicals including phthalate esters as a plasticizer also enhance atopic dermatitis. Nanomaterials and Asian sand dust particles can also enhance allergic inflammation. The underlying mechanisms have been elucidated at cellular and /or molecular levels. Evaluation of the enhancing effects of environmental pollutants on allergic diseases is developing. Environmental and medical approaches should be necessary for the control of allergic diseases. On the other hand, DEP and a persistent organic pollutant can enhance fatty liver, lipid tissue inflammation, insulin resistance and diabetes. The underlying mechanisms have also been elucidated at cellular and /or molecular levels. This paper will introduce our data on the enhancement of these common diseases by environmental pollution.

## SY1-4

**Risk assessment of chemicals in foods and environment  
- A case study of acrylamide in foods generated through heating -**

Midori Yoshida

Food Safety Commission, Cabinet Office

Chemicals used in various applied technologies cause to benefit and risk for our life. While there are two routes of exposure to various chemicals, i.e. via bystanders or food, we have been mainly exposed to them via foods. In this symposium acrylamide (AA) was chosen as a hazardous chemical found both in environments and food, and would be introduced a risk assessment process of 'acrylamide (AA) in foods generated through heating', which was conducted by Food Safety Commission of Japan (FSCJ) as a self-tasking risk assessment in 2016. Acrylamide, a chemical making polyacrylamide for industrial use, is known to be neurotoxic. Recently a serious concern has been arising from evidence that acrylamide is also produced by many vegetables heated to high temperature in the presence of certain sugar and asparagine. Each step of risk assessment in FSCJ was as follows:

**Hazard identification/characterization:** AA ingested is distributed to various tissues, and one of two major metabolic pathways lead to form a highly reactive glycidamide (GA). Both AA and GA are reactive to form their hemoglobin and DNA adducts. On the basis of data from many toxicity studies, FSCJ recognized AA as a genotoxic carcinogen mediated similar mechanisms to GA although no consistent associations have been obtained in human studies between AA exposure and the increased incidence. There was no feasible data for quantitative assessment on health effects on AA based on the epidemiological studies on general populations and AA workers.

**Exposure assessment:** FSCJ calculated the dietary AA intakes among Japanese people based on the existing and the additional most recent dietary data.

**Risk characterization:** Judging from the dietary AA intake among Japanese people, the non-neoplastic risk was extremely low because of sufficient margins of exposure (MOEs). The neoplastic risk, however, could not be excluded due to insufficient MOEs. FSCJ noted that no consistent relationships between AA exposure and cancer incidences in exposed occupational populations. FSCJ thus concluded the continuous effort are necessary to reduce dietary AA intakes in accordance with the principle of as low as reasonably achievable from the viewpoint of public health.

In this symposium, important discussion points for toxicologic pathologists in the risk assessment process of acrylamide would be introduced.

## SY2-1

**Toxicosis of domestic ruminants**

Nobuhiko Tanimura

National Institute of Animal Health, NARO

Toxicoses of farm animals, including cattle, pigs, and poultry, occur when they are exposed to poisonous plants, excessive feed materials, or environmental toxins, etc. Specifically, toxicoses of cattle have been caused by ingesting poisonous plants (oleander, yuzuriha, cocklebur, bracken fern), moldy sweet potatoes, copper in feed, or lead paint. Toxicoses have been reported in pigs by ingesting rodenticide and in chickens by fish meal. In this report, pathological findings in some cases of toxicoses in domestic ruminants will be presented.

The major toxin of bracken fern is ptaquiloside. In cattle, different pathological conditions of the poisoning by bracken fern are reported. When large amounts of plants are consumed in a short period of time, myeloid cells are destroyed, and thrombocytopenia neutropenia and anemia develop with mortality. The pathological findings include widespread petechial and ecchymotic hemorrhage in intestine, urinary bladder, gall bladder, heart, subcutaneous tissue and muscles. Some animals develop abomasal ulcers. Those animals consuming less quantity for longer period develop hematuria and they are called enzootic hematuria. The pathological findings include chronic cystitis and urinary bladder tumors. Adenocarcinoma, transitional cell carcinoma, squamous cell carcinoma, papilloma, fibroma, and adenoma are reported in the urinary bladder and ureters, related to exposure to bracken fern.

Atypical interstitial pneumonia occurs in cattle consuming lush pasture grasses, predominantly in late summer or fall. L-tryptophan in the grasses is converted to 3-methylindole by rumen microorganisms which is absorbed into the blood reaching the lungs where the oxidase in the Clara cells convert them to a pneumotoxic compound which causes necrosis of the bronchiolar cells and pneumocytes. Other pneumotoxic factors, 4-ipomeanol in moldy sweet potato and perilla ketone in perilla leaves also produce similar pathological changes in the lung. The gross findings include enlarged pale lung. Microscopic findings include alveolar and interstitial edema, emphysema, hyaline membrane in the alveolar lumen and necrosis of the alveolar epithelium. Those animals which survive for several days have proliferation of type II pneumocytes.

In ruminants, sheep are very susceptible to chronic copper poisoning. Chronic copper toxicosis in sheep is caused by the inability of the sheep to increase the biliary excretion of copper in response to dietary increases. If copper accumulation continues in the liver, hepatic necrosis develops and copper is released into bloodstream. Increasing copper concentrations in the bloodstream result in the lysis of RBCs due to the oxidation of the RBC membrane by ionic copper. The kidney is damaged both from the accumulation of copper as well as the toxic effects of hemoglobin following the hemolysis. Postmortem findings include icterus, swollen liver, and the kidneys appear dark. Microscopic findings include coagulative necrosis of hepatocytes, fibrosis of the portal area, bile duct proliferation, and degeneration of renal tubular epithelium. Cattle are also affected by chronic copper toxicosis, but with hemolysis occurring with less frequency than in sheep.

Diagnosis is by correlating case history, clinical sign, and chemical analysis of body fluid or ingesta with pathological findings. The above-mentioned cases demonstrate that the pathological analysis of necropsy specimen is essential for clarifying the pathogenesis and for obtaining the accurate diagnosis of toxicosis in the domestic ruminants.



## SY2-2

## Recent poisoning cases of bird in Japan

Shigeru Miyazaki

Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology (RIAS)

There is no statistical information about the poisoning in birds, both domestic fowl and wild birds. However, the individual poisoning cases have been reported as various reports. Namely, some poisoning cases have been published as original scientific papers. In addition, many oral presentations on bird poisoning were performed in the meetings held by Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries or Prefectural Governments. In this lecture, information of recent bird poisoning cases gathered from these reports would be overviewed.

Poisonings of birds are induced by various kinds of factors. Because of the improvement the safety management of commercial feed (formula feed), poisoning caused by formula feed is rare in this decade. However, gizzard erosion induced by specific kind of fish meal has been occurring sporadically by using commercial feeds which contain toxic fish meal. Gizzerosine, a toxic substance in the fish meal, activates gastric secretion and induces erosion and ulcer in the lining of gizzard.

Poisoning of domestic fowl caused by pharmaceutical chemicals or pesticides has been reported. Almost all of these cases were brought by improper usage of such chemicals. Namely, poisoning by soil fumigant chloropicrin and coumarin rodenticide has been reported. Poisoning cases caused by veterinary drugs, such as sulfonamide and ionophore antibiotics, have also occurred.

As for wild birds, poisoning induced by lead and pesticide has been reported. Shotgun lead shot and fishing lead weight are main cause of lead poisoning in wild birds. Illegal use of pesticide, organophosphorus or carbamate pesticide for example, for the extermination of birds is the main cause of pesticide poisoning in wild birds.

Detection and quantification of the causative substance are important in a diagnosis of the poisoning case. However, the pathological observation of the carcass is also effective for the diagnosis. Namely, some toxic substances induce specific pathological changes. For example, diffused bleeding lesion is typical for coumarin poisoning. In sulfonamide poisoning case, depression of bone marrow function should be observed. Detection of specific inclusion body in hepatocyte or renal tubule epithelium cell is helpful for the diagnosis of lead poisoning. These pathological observations are powerful information for the diagnosis of poisoning cases.

## SY2-3

## Poisoning in dogs

Kinji Shirota

School of Veterinary Medicine, Azabu University

In the ASPCA Animal Poison Control Center (APCC) record of animal poisoning cases between 2002–2010, 76% of cases involve dogs, followed by cats (13%), horses (0.46%), and birds (0.4%), indicating that companion animal cases predominate, especially dog cases. This might be attributable in part to the high curiosity and indiscriminant eating habits of dogs. According to the APCC record, the most prevalent causative agent of animal poisoning is human medicine (25%), followed by pesticides, rodenticides, food, animal medicine, household agents such as detergents, plants, herbicides, and outdoor items including nonfreezing fluids and antifreezes. These causative agents are similar to the findings from acute intoxication cases of dogs from animal hospitals reported by the Japanese Poison Information Center (JPIC) between 2002–2012. Most animal poisoning cases involve neurologic, hepatic, or renal disorders, but vulnerabilities and proneness to toxic substances differ even between dogs and cats. Toxicity and toxic mechanisms of common medicines or chemicals have been well investigated, and most poisoned companion animals might be treated properly by veterinarians and rescued. Relatively few cases have therefore been necropsied and examined histopathologically. Only a small number of reports have described the specific histopathological lesions and essential toxic substances, and the mechanisms of toxicity have not been yet confirmed, even for some frequent types of poisoning.

The best-known poisoning of dogs is that caused by ethylene glycol (EG), present in nonfreezing fluids and coolants. Clinically, EG intoxication induces acute renal failure showing histopathological lesions of acute tubular necrosis due to deposition of calcium oxalate as the metabolite of EG. Pet foods made from raw materials containing intentionally added melamine to increase the ostensible protein content are well known to cause melamine cyanurate poisoning and induce renal failure in dogs. These substances also show toxicity to humans, but some foods that humans take daily also show unexpected toxicity in dogs. Such foods include xylitol, chocolate, cocoa, tea, grapes, raisin, Allium, and macadamia nuts, all of which are concerns in veterinary clinical practice. Cases of fatal poisoning caused by these foods are infrequent, and not all mechanisms of toxicity underlying these poisonings have been clarified. Poisoning of dogs by highly toxic plants like cycad palm and *Amanita phalloides* has been reported in the United States, but few cases appear to have been encountered in Japan.

In this talk, I focus on canine poisoning caused by daily household items, foods and toxic plants and present the characteristic histopathological lesions.

**SY2-4****Poisonings in cats : Lily toxicosis in cat**

Kohji Nomura

Marupi Lifetech Co.,Ltd

In Japan, it is hard to obtain the epidemiology information of poisonings of companion animals. In Europe and US, we can obtain this information from the website, literature, textbook. According to that information, a cause of poisonings of companion animals has Human medications, Insecticide, People food, Household items, Veterinary products, Plants, Rodenticides, Garden products. In them, there is the thing which shows the toxicity to only an animal.

There are a lot of things which cause poisoning to an ornamental plant, so an unexpected accident may happen. Plants indicating the toxicity include 420 kinds to dog and cat horse in a list of APCC, and there are 74 kinds of mortal things in some cases. In that, there are 12 kinds of things showing the toxicity only to a cat, all of them are plants of the Liliaceae. It is known that "Lily Toxicosis in cat", and, the reports increase recently in Japan.

## SY3-1

**Utility and limitations of microRNAs as markers of kidney disease**

Osamu Ichii

Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University

Incidence of kidney disease (KD) is increasing among humans as well as animals. Early diagnosis is crucial for management of KD; therefore, sensitive and specific markers for KD would be important in next-generation medicine. We are focusing on the short-chain nucleic acid, called microRNA (miRNA), as a candidate early and non-invasive marker for KD. miRNAs bind to and inhibit the expression of their target mRNAs. The main advantage of using miRNAs as markers in human and veterinary medicine is that their sequences are highly conserved among animal species. In this presentation, we introduce some of our data obtained from studies on animal disease models and clinical samples.

Using model mice, we identified the miRNAs whose expression in the glomerulus or tubulointerstitium changed with KD progression. In particular, the expression of renal miR-146a increased with the progression of tubulointerstitial lesions, especially macrophage infiltration. miR-146a participates in the negative-feedback regulation of NF  $\kappa$ B signaling by targeting IRAK1 or TRAF6. Further, we demonstrated that decrease in glomerular miR-26a expression was correlated with the progression of glomerular hypertrophy and the severity of inflammation, sclerosis, and proteinuria. Importantly, miR-26a expression decreased following podocyte injury both *in vivo* and *in vitro*, indicating its crucial role in podocyte biology. Furthermore, glomerular expression of miR-26a has been detected in humans, cows, horses, pigs, dogs, cats, and chicken, and decreased glomerular expression was observed in dogs with KD and humans with lupus nephritis and IgA nephropathy.

Thus, we have identified miRNAs that are potential KD markers, but their application to future medicine is a challenge. We are currently focusing on exosomes, extracellular vesicles containing miRNAs. Exosomes have been detected in various body fluids, including urine; therefore, analysis of urinary exosome-derived miRNAs could be a novel approach for evaluating KD. Notably, decreased urinary levels of exosome-derived miR-26a were observed in dogs with KD. Further studies on the correlation between miRNA levels in renal tissues and urinary exosomes could help in the development of a robust KD marker.

**SY3-2****Analysis of circulating liver-specific microRNAs in cynomolgus monkeys**

Takuma Iguchi

Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

Circulating microRNAs (miRNAs) have the potential as sensitive and specific biomarkers for tissue injury. However, the utility of circulating miRNAs as a safety biomarker incorporating into the nonclinical toxicological studies using non-human primate is still challenging due to the limiting information on organ-specific miRNAs. In this study, liver-specific miRNAs were identified in cynomolgus monkeys by next-generation sequencing (NGS) analysis. Next, circulating levels of liver-specific miRNAs were measured under resting condition of animals by using a reverse transcription-quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR). Furthermore, the kinetics of liver-specific miRNAs in plasma was investigated in acetaminophen (APAP)-induced liver injury monkey model.

First, 22 tissues/organs from male and female cynomolgus monkeys ( $n = 2/\text{sex}$ ) were analyzed by NGS. This analysis revealed that miR-122 and miR-192 were highly expressed in the liver: miR-122 was only abundant in the liver while miR-192 was abundant not only in the liver, but also in the stomach, intestines, and kidney. Second, plasma was collected from the femoral vein of conscious naïve male and female cynomolgus monkeys ( $n = 25/\text{sex}$ ) for better understanding of circulating levels of the liver-specific miRNAs. No significant sex differences were noted for these miRNAs. On the other hand, miR-122 showed larger inter-individual variation than miR-192 based on their CV values (miR-122: 112%, miR-192: 67.4%). Finally, kinetics of the circulating liver-specific miRNAs was evaluated in a liver injury monkey model with co-administration of acetaminophen (APAP) and L-buthionine-(S,R)-sulfoximine (BSO), the glutathione biosynthesis inhibitor. Consequently, APAP at 2000 mg/kg with BSO induced hepatotoxicity, which was characterized histopathologically by centrilobular necrosis and vacuolation of hepatocytes. Circulating liver-specific miR-122 and miR-192 levels also drastically increased 24 hr or later compared with ALT

In conclusion, we profiled circulating liver-specific miRNAs and confirmed these circulating miR-122 and miR-192 may serve as more sensitive biomarkers to detect hepatotoxicity in cynomolgus monkeys. However, several issues including large inter-individual variability and differential kinetics compared to ALT remains to be clarified when these miRNAs are used as safety biomarker in the toxicological studies.

**SY3-3****Testicular toxicity and microRNA**

Tamio Fukushima

Drug Safety Evaluation, Shionogi &amp; Co., Ltd.

Testicular toxicity is induced by several chemicals such as drug or fertilizer, and the toxicity is a one of the cause of withdrawal for drug development. The main function of testis is spermatogenesis or production of testosterone, the testicular function is well controlled by epigenetic regulation. Recently, it was reported non-coding RNA has a role for epigenetic regulation. In the testis, several manuscripts said that microRNA or piRNA work for spermatogenesis. In the present study, we investigated which microRNAs contribute to testicular toxicity induced by chemicals and whether microRNA works as a potential toxicological biomarker. As a first study, ethylene glycol monomethyl ether (EGME) administered to the male rats at 2000 mg/kg single orally and after 6 and 24 hr of dosing, testes were applied to histopathological examination and gene expression analysis using miRNA microarray and real-time RT-PCR. At 6 hr, slight decrease of pachytene spermatocytes with cell shrinkage and nucleus pyknosis and, at 24 hr, remarkable decrease or cell death of pachytene spermatocytes with Sertoli cell vacuolation were observed. Gene expression analyses revealed increases in miR-760-5p expression at 6 hr and miR-134, miR-320 and miR-188-5p at 24 hr, and decreases in miR-449a and miR-92a at 24 hr. As a second study, in male rats given EGME at 100 mg/kg/day for 1, 7 and 14 days, the expression of above these microRNA was measured. After 7 days, there were increases in miR-134 and miR-188-5p expression with histopathological changes in the testis, however, there were no changes in miR-92a and miR-449a. As a third study, different testicular toxicants, dinitrobenzene (DB), 2,5-hexanedione (HD) and cyclophosphamide (CP) was given to male rats and after 24 hr, histopathological changes and above the microRNA expression were investigated. Interestingly, DB and HD induced decreases in miR-134 and miR-320 expression, and there were no changes by CP. The reaction was different from EGME treatment. Histopathologically, EGME injured spermatocytes, DB and HD affected Sertoli cells and CP affected spermatogonia. The different reaction of microRNA expression may be reflected on the difference of target cells. From mentioned above, the reaction of microRNA expression was different, but, these data indicated these microRNAs might work for the biomarker of testicular toxicity.

## SY3-4

**Serum miRNA biomarkers in trimethyltin induced rat neurotoxicity model**Keiko Ogata<sup>1,2)</sup>, ○ Shuji Takeda<sup>1)</sup>, Masahiko Kushida<sup>1)</sup>, Mitsuru Kuwamura<sup>2)</sup>, Takeshi Izawa<sup>2)</sup>, and Jyoji Yamate<sup>2)</sup><sup>1)</sup> Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd.<sup>2)</sup> Laboratory of Veterinary Pathology, Division of Veterinary Sciences, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University

The nervous system generally has an extremely low regenerative ability, even though it regulates important functions for the body such as vital functions, language, and motor function. Hence, the damage in the nervous system can have a significant influence on the homeostasis maintenance of the body. As public concern about the adverse impacts of chemicals on human health increases, the safety assessment for chemical compounds is becoming more important. In the safety assessment, toxicological effects on the nervous system are regarded very seriously and regulatory agencies require several neurotoxicity tests for registration of chemical compounds with neurotoxic potential. Neurotoxicity is a critical problem in developing new chemicals, so early detection of neurotoxic potential is very important. In current routine toxicity tests, however, endpoints for detection of neurotoxic effects are limited to neurobehavioral observations and neuropathological examinations. Therefore, there are strong demands for the development of more useful and/or sensitive methods, such as biomarkers, to detect neurotoxicity.

Recently, miRNAs have been attracting attention as biomarkers due to their specific expressions in tissues and high stabilities in the body fluid. In the nervous system, there are many reports that miRNAs are useful biomarkers for neurodegenerative diseases and nervous system injuries. It has also been reported that miRNA associates with neurotoxicity expression, but it remains unclear how alteration of miRNA expression links with toxicological mechanisms and neuropathological abnormalities. In this study, using trimethyltin (TMT)-induced rat neurotoxicity model which causes selective damage on neuronal bodies in the central nervous system, we investigated the usage of serum miRNA as biomarkers and evaluated the relationship between alteration of miRNA expression and nervous symptoms and histopathological changes. A comprehensive analysis for tissue miRNAs was also conducted to find alterations of miRNA expressions which associate with neuronal lesions. A single oral administration of TMT induced nervous symptoms such as tremor and hypersensitivity, and neural cell death and glial reaction mainly in the hippocampus in a dose-dependent manner. Serum expressions of brain-enriched miR-9\* and miR-384-5p were elevated in concurrence with neural cell death. These miRNAs were speculated to be leaked from damaged brains. These miRNAs were considered as novel serum indicators of TMT-induced neurotoxicity. In addition, expressions of miR-132 and miR-21, which have been reported to regulate synaptic growth and plasticity and neuroprotective reaction, were increased in the hippocampus, indicating an association with TMT-induced neuronal lesions.

**SY4-1****Stem cell and cancer research by multicolor lineage tracing method**

Hiroo Ueno

Department of Stem Cell Pathology, Kansai Medical University

Adult tissue specific stem cells have important roles in tissue maintenance and in regeneration upon injury. Therefore, studies on adult stem cells are important as sources for regenerative medicine as well as for analyzing the mechanisms of tissue homeostasis, tissue repair after injury, carcinogenesis, and aging. However, many adult stem cells, especially those in low-turnover tissues, have remained unidentified. We have been working on the development of methods using multiple fluorescent markers, to improve the accuracy of lineage-tracing analyses of adult stem cells and their fetal progenitors. With this method, we could identify lingual epithelial stem cells (LESCs). LESCs, located at the bottom of the interpapillary pit (IPP), are slow-cycling and Bmi1-positive. They supply mature keratinized epithelial cells to three or four surrounding filiform papillae. Additionally, we could potentially identify candidate cancer stem cells in chemical-induced tongue carcinomas. In this review, I would like to discuss how the multicolor lineage tracing method could be used in various stem cell and developmental biology studies.



**SY4-2****Cancer stem-like cells derived from breast cancer or lung cancer**

Noriko Gotoh

Division of Cancer Cell Biology, Cancer Research Institute, Kanazawa University

It has been passed around 15 years since “cancer stem cell (CSC) hypothesis” was proposed. At first, CSCs were identified in hematological malignancy. Recent advancement of this field has provided more and more supportive evidence that tumor tissues are maintained in a hierarchical organization of relatively small amount of CSCs, dividing progenitor cells and differentiated tumor cells. Accumulating evidences suggest that this notion is applied to many types of solid tumors, including breast cancer and lung cancer. It is thought that CSCs are resistant to stressful environment and might survive even after conventional chemotherapy or radiotherapy. CSCs have characteristics in common with normal stem cells from tumor-prone tissue. For instance, CSCs can self-renew and simultaneously produce differentiated daughter cells that proliferate strongly until they reach their final differentiated state. Apparent differences also exist between CSCs and normal stem cells. The latter are maintained under tight homeostatic regulation and are passively protected in the surrounding microenvironment or stem cell niche in adult tissues. However, the former may actively contribute to tumor formation and may use the CSC niche for their own survival and proliferation.

Growth factor signaling plays important roles for a variety of biological aspects in physiological and pathological conditions, including tumorigenesis. We found that growth factor signaling plays critical roles for the communication between cancer stem-like cells and CSC niche in order to maintain the cancer stem-like cells in the CSC niche. We have established conditions of culturing patient-derived tumor spheres and generated patient-derived xenograft (PDX) models derived from the breast cancer tissues. By using these patient-derived cells and PDXs, we uncovered the various key signaling systems mediated by NF $\kappa$ B, IGF, GDF15, beta-catenin, semaphorin, MTHFD2, and so on. There are various mechanisms: autocrine-paracrine mechanisms, regulation of stemness, regulation of symmetric-asymmetric division and metabolism. Cancer stem-like cells appear to survival and divide by using these signaling systems in order to adapt in the different conditions of the CSC niche. Among them, we have been able to identify proper molecular target candidates for cancer stem-like cells to eradicate tumors.

**SY4-3****Targeting epigenetic alterations as a novel therapeutics for glioma**

Yutaka Kondo

Department of Epigenomics, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most lethal form of glioma. The functional and morphological heterogeneity characterize aggressive glioblastoma and contribute to invasion, metastasis, and drug resistance. Therefore, the molecular mechanisms that underlie tumor heterogeneity and associated plasticity is critical to address the current limitations in the treatment of GBM. Cancer cells including GBM have plasticity in response to extracellular signals, being capable to functionally adapt to their microenvironment. The Notch signaling pathway is essential for glioma stem cell (GSC) maintenance through incompletely understood mechanisms. We found that TUG1, a long non-coding RNA (lncRNA), is induced by Notch signaling and is highly expressed in GSCs. TUG1 in the nucleus physically interacted with polycomb repressive complex 2 and promoted locus-specific methylation of histone H3K27, which resulted in dynamic suppression of neuronal differentiation-associated genes. Further, cytoplasmic TUG1 increased the expression of stemness-associated genes through quenching of endogenous microRNA. Inhibition of TUG1 induces GSC differentiation and efficiently represses GSC growth both in vitro and in vivo. Our data indicate that the Notch-regulated lncRNA, TUG1, plays pivotal roles in maintaining the self-renewal properties of GSC. Targeting the GSC population and its associated underlying mechanism may be a novel strategy in GBM treatment. In this talk, I would discuss novel therapeutic strategies targeting epigenetic alterations.

**SY4-4****Can we overcome drug resistance of CRPC by targeting endogenous gene expression profile ?**

Takeo Kosaka, Takahiro Maeda, Hirohiko Nagata, Shunsuke Yoshimine, Toshiaki Shinojima, Akira Miyajima, Mototsugu Oya

Department of Urology, Keio University School of Medicine

Cancer tissues are comprised of cell population including a variety of cells, such as stem cell-like cancer cells, upon which a hierarchical society is constructed. This hypothesis has been applied not only to leukemia, in which the hypothesis was first experimentally confirmed, but also to solid cancers. Recent topics shed light on the modified heterogeneity by various treatments which evolve disease progression.

In prostate cancer, the identification of cancer stem cells using surface markers and the relationship with prostate origin are of current interest. We have previously reported a novel cell reprogramming approach, named drug efficacy reprogramming, as a new model for identifying candidate antitumor drugs targeting cancer stemness related gene network and identified ribavirin as a candidate drug for overcoming docetaxel resistant castration resistant prostate cancer. We conducted a clinical study to evaluate the efficacy and safety of docetaxel with ribavirin in patients with progressive castration resistant prostate cancer who have previously received docetaxel.



# Poster Presentation

---

**PA-01 ~ PA-27**

**PB-28 ~ PB-54**

**PC-55 ~ PC-83**



**PA-01\*****Epigenetic disruption of GABAergic interneuron gene control in hippocampal neurogenesis of mice after developmental HCP exposure**

○ Yousuke Watanabe<sup>1,2</sup>, Hajime Abe<sup>1,2</sup>, Maky Ideta-Otsuka<sup>3</sup>, Katsuhide Igarashi<sup>3</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1</sup>, Makoto shibutani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LVP, Tokyo Univ. Agri. Tech., <sup>2</sup>Gifu Univ., <sup>3</sup>L-StaR, Hoshi Univ.

**Background.** We previously reported that developmental exposure to hexachlorophene (HCP) caused transient disruption of hippocampal neurogenesis on weaning in mice. The present study examined genes showing epigenetically modified expression changes in relation with HCP-induced disruptive neurogenesis.

**Materials and Methods.** Pregnant mice were administered HCP in diet at 0 or 100 ppm from gestational day 6 to postnatal day (PND) 21. On PND 21, methyl-capture sequencing was performed in the hippocampal dentate gyrus, and hypermethylated genes at the promoter region were selected for transcript downregulation, followed by confirmation of hypermethylation. Candidate gene products were further immunohistochemically analyzed for cellular distribution and cellular identity of immunoreactive cells using GAD67, a GABAergic interneuron marker, and serial mirror sections.

**Results.** Among 19 hypermethylated genes, transcript downregulation and promoter region hypermethylation were confirmed with *Dlx4*, *Dmrt1* and *Plcb4*. Immunohistochemically, number of neurons expressing these gene products were decreased in the dentate hilus on PND 21, and a subpopulation of these cells expressed GAD67. All the changes were reversed on PND 77.

**Discussion.** Developmental HCP exposure to mice resulted in reversible promoter-region hypermethylation and transcript downregulation in GABAergic interneuron-related genes, suggestive of the disruptive epigenetic gene control of the neurogenesis regulatory system.

**PA-02\*****Histopathological study of early accumulation of amyloid  $\beta$  and hippocampal immature neurons in PS2APP mice**

○ Shiori Murase, Akiko Nakatani-Pawlak, Hiroyasu Murasawa, Hiroyuki Kobayashi, Jun Imai, Tomomi Kanehara, Tadashi Itoh, Hitoshi Kimura

Nihon Bioresearch Inc.

[Background] Tg2576 (K670N/M671L) mice, which have familial Alzheimer's disease (AD) mutation, are widely used as an AD mouse model in which A $\beta$  accumulation are noted. However, A $\beta$  accumulation does not begin until 12 months old or older.

[Aim] In the present study, presenilin (PS) 2 mice in which familial AD had been introduced and Tg2576 mice were mated to prepare double transgenic mice (PS2APP mice), and learning ability was assessed. We also examined the expression of A $\beta$  and doublecortin (DCX) in the brain by immunohistochemistry.

[Materials and Methods] Wild type, PS2, APP and PS2APP mice of both sexes at 5 - 6 months of age were used. Learning ability was evaluated by various behavioral tests. The brain was fixed in 4% paraformaldehyde and embedded in paraffin for A $\beta$  or DCX staining.

[Results] Learning disability was noted in various tests. In PS2APP mice, amyloid accumulations were observed in the hippocampus, cerebral cortex and thalamus. The number of DCX immunoreactive cells in PS2APP mice was increased more than that in wild type mice.

[Conclusion] From the above results, learning disability and amyloid deposition in PS2APP mice were noted earlier than in APP mice. In the brain of PS2APP mice, immature neurons might be increased.

**PA-03\*****Histopathological investigation of porencephaly in a beagle dog**

○ Shota Yoshida, Fumiko Ninomiya, Hideki Tanaka, Shohei Kanie, Satoshi Suzuki, Fumio Morita, Kazuo Hakoi

Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

<Background> Porencephaly is a relatively rare congenital morphological abnormality reported in animals including humans. The abnormality is considered to be causally related to infection, incidental or chemical compounds. Although there are some clinical cases with image analysis including MRI, histopathological investigations were scarcely reported in laboratory animal field. In the present report, we investigated porencephaly histopathologically which was found in a vehicle control beagle dog of a toxicity study.<Materials and Methods> The animal was a 11-month-old male beagle dog which was orally treated with 5 mg/mL HPMC for 2 weeks. Obtained cerebrum was observed macroscopically and weighed. HE stain, special stain and immunohistochemistry were performed to the sections of cerebrum.<Results> The excavation (10 × 8 mm) was observed in the right frontal lobe. Around the excavation area, cerebrum parenchyma was macroscopically looked like normal parts. A tuber in medial surface of skull was observed corresponding to the excavation. The cerebrum weight showed no change. Histopathologically, there was a cavity mainly in cerebral white matter, which was connected with subarachnoid cavity and reached around lateral ventricle. Gliosis was observed in some parts around the cavity. In the lesion, slight hemorrhage and macrophages containing brown pigments were also found. We will report the details including the results of special stain and Immunohistochemistry.

**PA-04\*****Basic study for histopathological evaluation of normally developing thyroid in rat fetuses and pups: (2nd Report)**

○ Shiori Yoshida, Hitomi Yoshimitsu, Hiroaki Nagai, Toshihiro Amanuma

Research center, Nihon Nohyaku Co., Ltd.

<Objective> This study was attempted to establish the basic information about normal development of the thyroid organ and its hormone synthesis in fetuses and pups in Crl:CD rats. Combination of immunohistochemical approach and conventional histology by H&E staining was adopted to reveal detailed development of thyroid hormone synthesis. We introduced new markers for evaluation, i.e. Thyroid Peroxidase (TPO) and Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1, a regulating factor for TPO and Thyroglobulin (Tg)).

<Materials and methods> Fetuses on gestation day (GD) 15, 18, 20 and pups on lactation day (LD) 0, 2, 4, 10, 21 were sacrificed. Sections of thyroids were stained for TTF-1 and TPO in addition to H&E, Tg and Thyroxine (T<sub>4</sub>).

<Results> TTF-1 was detected in the nuclei of follicular cells and C-cells from GD15. TPO was found at the apical membrane from GD18. Tg and T<sub>4</sub> were detected on cytoplasm from GD18 and also in follicular lumen from LD 0, coinciding with the colloidal accumulation in the follicular lumen. These results suggested that regulation of protein expression by TTF-1 precede the onset of thyroid hormone synthesis.

<Conclusion> It was shown in this study that the characteristic morphology and function of normally developing thyroid is coordinating at several stages of development in rat fetus and pups. Such basic knowledge enables us to perform correct histopathological and functional examination of the effect of xenobiotics on thyroid gland in rat fetuses and pups.



**PA-05\*****Immunohistochemical study on adrenal cysts in ferrets**

○ Mizuho Uneyama<sup>1)</sup>, James Chambers<sup>1)</sup>, Yasutsugu Miwa<sup>2)</sup>, Kazuyuki Uchida<sup>1)</sup>, Hiroyuki Nakayama<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, the University of Tokyo, <sup>2)</sup>Miwa Exotic Animal Hospital

[Background and Aim] Adrenal disorders are common in ferrets. However, there are few studies on cystic lesions. In the present study, we investigated the immunohistochemical characteristics of adrenal cysts in ferrets, in order to assess their origin and pathogenesis.

[Materials and Methods] Adrenal cysts of 10 ferrets (2-7 years old; 6 males and 4 females; 7 cases in the right side, 2 the left and 1 both) were examined immunohistochemically.

[Results and Discussion] In 8 cases (6 right, 1 left and 1 both), there were several cysts lined by cuboidal to flat epithelial cells in the cortex. These epithelial cells were positive for CK7 and/or CK19. In 4 of these cases (4 right), there were small ducts adjacent to the cysts consisting of CK7-and CK20-positive-but CK19-negative cells, indicating the relation to biliary cells. In the other 2 cases (1 right and 1 left), the cysts lacked epithelial cell lining, and there were dilated lymphatic vessels around the cysts. The luminal surfaces of the cyst wall were positive for GFAP, and there were synaptophysin-positive cells in the cyst wall. Thus, these cysts were assumed to be developed in the medulla. The present results suggest that adrenal cysts in ferrets develop either in the cortex or in the medulla. Based on anatomical location (right side) and immunohistochemical features of the epithelial cells, cortical cysts may be derived from hepato-biliary remnant tissue. Besides, medullary cysts may be related to lymphangiectasis.

**PA-06\*****Lymphocytic thyroiditis with accumulations of eosinophilic cells in male beagle dog**

○ Isamu Suzuki, Yuko Yamaguchi, Tsubasa Saito, Seiki Yamakawa, Hiroshi Edamoto, Hiromu Okano, Toru Hoshiya

Pathology Department, BoZo Research Center Inc.

[Aim] Lymphocytic thyroiditis (LT) occurs spontaneously in dogs, and is also experimentally induced by immunization with heterogeneous thyroglobulin. In this research, we examined the case of LT which was accompanied by accumulations of eosinophilic cells in a 4-year-old male beagle dog.

[Materials and Methods] The thyroid glands were subjected to histopathology and immunohistochemistry.

[Results] The animal had shown elevated serum level in the total cholesterol from 1 year before the day of necropsy. In histopathology, similar lesions were seen in the both sides of thyroid glands. Extensive diffuse lymphoplasmacytic infiltration was observed in the interstitium. In the parenchyma, only a few follicles remained. Furthermore, we observed lots of round accumulations consisting of eosinophilic cells. Analysis of histopathology and immunohistochemistry showed that there were two types of accumulations. The first consisted of round to oval cells that had eosinophilic cytoplasm containing some vacuoles, and that were positive for thyroglobulin, suggesting the origin of follicular cells. Thyroglobulin was intensely positive in these cells, as compared to the normal follicular cells. The latter was composed of calcitonin-positive large round cells with slightly eosinophilic cytoplasm, suggesting the origin of C-cells.

[Discussion] Considering the results of serum biochemistry and lack of normal follicular structures in histopathology, it was thought to be chronic and severe LT.

**PA-07****Nasal cavity carcinogenicity in rats and mice exposed to glycidyl methacrylate inhalation for two years**

○ Hideki Senoh<sup>1)</sup>, Kenji Takanobu<sup>1)</sup>, Taku Katagiri<sup>1)</sup>, Yumi Umeda<sup>1)</sup>, Shigetoshi Aiso<sup>1)</sup>, Shoji Fukushima<sup>1,2)</sup>, Jun Kanno<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Japan Bioassay Research Center, JOHAS, <sup>2)</sup>Organization for Research Promotion on Risk Assessment

[Background] Glycidyl methacrylate (GMA) is widely used as paint, glue and stabilizer. In the present study, carcinogenicity of GMA was examined in a long-term inhalation exposure. [Materials and Methods] Airflow containing GMA vapor was administered to groups of 50 males and 50 females of F344 rat and B6D2F1 mouse at target concentrations of 0, 3.2, 8 or 20 ppm (v/v) in rats and 0, 0.6, 2.5 or 10 ppm (v/v) in mice, for 6 hours/day, 5 days/week, and for 104 weeks. [Results] Rats: The nasal cavity tumors were increased; squamous cell carcinomas and adenomas in both sexes and esthesioneuroepitheliomas in the males, non-significant increase in adenosquamouscarcinomas in both sexes, squamous cell papillomas and adenocarcinomas in the males, esthesioneuroepitheliomas and hemangiosarcomas in the females. Other tumors were increased in the peritoneum, skin and subcutis in males and mammary gland and uterus in females. Mice: The nasal cavity tumors were increased; hemangiosarcomas and hemangiomas in both sexes and adenomas in the males, and one adenocarcinoma was found in the female. Other tumors were increased in the lungs and uterus in females. [Conclusion] This study demonstrated that 2-yr inhalation exposure to GMA vapor exerted nasal cavity carcinogenicity in rats and mice. This study was contracted by Ministry of Health Labour and Welfare of Japan (GLP studies).

**PA-08****Nasal cavity carcinogenicity in rats and mice exposed to acrolein by inhalation for two years**

○ Taku Katagiri<sup>1)</sup>, Kenji Takanobu<sup>1)</sup>, Hideki Senoh<sup>1)</sup>, Yumi Umeda<sup>1)</sup>, Shigetoshi Aiso<sup>1)</sup>, Shoji Fukushima<sup>2)</sup>, Jun Kanno<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Japan bioassay Research Center, JOHAS, <sup>2)</sup>Organization for Research Promotion on Risk Assessment

Acrolein is colorless to pale yellow liquid with a pungent odor. Acrolein is used as an intermediate for synthetic material of methionine and glutaraldehyde. The carcinogenicity of acrolein was examined in a long-term inhalation exposure to rats and mice. [Methods] Airflow containing acrolein vapor was administered to groups of 50 males and 50 females of F344 rat and B6D2F1 mouse at target concentrations of 0, 0.1, 0.5 or 2 ppm (v/v) in rats and 0, 0.1, 0.4 or 1.6 ppm (v/v) in mice, for 6 hours/day, 5 days/week, and for 104 weeks. [Results] Survival rate of female rats was reduced to the end of the administration period. In male rats, the survival rate was not influenced by acrolein exposures. In rats, squamous cell carcinomas in nasal cavity were observed in the 2 ppm group in both sexes and rhabdomyoma in nasal cavity increased in female rat. In mice, adenomas in nasal cavity were significantly increased in the 1.6 ppm female group. The increased incidences of tumor occurred by acrolein were not observed in any other organs in both sexes of rats and mice. [Conclusion] This study demonstrated that inhalation exposure to acrolein vapor for 2 years exerted nasal cavity carcinogenicity in rats in both sexes and female mice. This study was conducted in accordance with GLP and contracted by Ministry of Health Labour and Welfare of Japan.

**PA-09****Proliferative changes of the terminal bronchiole and alveolar epithelium of rats exposed to MWNT-7 by inhalation**

○ Shigetoshi Aiso, Yumi Umeda, Hideki Senoh, Kenji Takanobu, Taku Katagiri, Shoji Fukushima, Jun Kanno

Japan Organization of Occupational Health and Safety, Japan Bioassay Research Center

[Background] The long term exposure of multi-walled carbon nanotube, MWNT-7 induced lung carcinoma and pulmonary epithelial hyperplasia. Immuno-histochemical marker SP-C for the type 2 pneumocytes expressed positive reaction. We report the proliferative changes of terminal bronchiole and alveolar epithelium of rats exposed to MWNT-7 by inhalation.

[Materials and Methods] Male F344 rats were exposed to MWNT-7 at concentration of 0 and 2 mg / m<sup>3</sup> for 3 days and 1, 2 and 4 wks. Group of five rats were euthanized immediately after the MWNT-7-exposure, and 5 were euthanized at 3 months of experiment as a recovery group. Histopathological examination for lung was carried out. Immunostaining was performed for macrophages(CD68), and epithelium(CC10, SP-C, E-cadherin, TTF-1).

[Results] Epithelial proliferation of the terminal bronchiole and alveoli were observed from 3 days-exposure. These proliferation were observed at terminal bronchiole and alveoli around alveolar ducts, and surrounded the MWNT-7 and/or MWNT-7 phagocytosed macrophages. These changes became pronounced in accordance with extend exposure period. In the alveoli of 4-weeks-exposed animal, TTF-1 positive and negative proliferative cells involved the MWNT-7 and MENT-7 phagocytosed macrophages. Localized fibrosis and glauromatous change were predilection to these sites.

[Conclusion] Proliferation of the pulmonary epithelium in rats exposed to MWNT-7 were considered response to MWNT-7 and/or frustrated macrophages.

**PA-10****Lung carcinoma and hyperplastic lesion in rats exposed to MWCNT by 104 weeks inhalation**

○ Yumi Umeda<sup>1)</sup>, Kenji Takanobu<sup>1)</sup>, Taku Katagiri<sup>1)</sup>, Hideki Senoh<sup>1)</sup>, Shigetoshi Aiso<sup>1)</sup>, Shoji Fukushima<sup>1,2)</sup>, Jun Kanno<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Japan Bioassay Research Center, JOHAS, <sup>2)</sup>Association for Promotion of Research on Risk Assessment

Lung carcinogenicity of rats by whole body inhalation exposure of MWCNT (MWNT-7) were already reported. We present here that the relationship of lung carcinomas and hyperplastic lesions were examined by histopathology and immunohistochemistry. Methods: F344 rats of both sexes were exposed by whole-body inhalation to MWNT-7 for 6 h/day, 5 day/week and 104 weeks at doses of 0.02, 0.2 or 2 mg/m<sup>3</sup>. Lung carcinomas and hyperplastic lesions were examined by HE stain and by immunohistochemical stain using anti-surfactant protein C (SP-C) and anti-clara cell protein (CC10). Results: The incidences of lung carcinomas in males exposed to 0.2 and 2 mg/m<sup>3</sup> and in females exposed to mg/m<sup>3</sup> were significantly increased. Lung carcinomas were mainly bronchiolo-alveolar carcinomas (B-A carcinomas), and their tumor cells were positive in SP-C. MWCNT-induced hyperplastic lesions were classified into bronchiolar hyperplasia, alveolar hyperplasia, bronchiolo-alveolar hyperplasia (B-A hyperplasia) and atypical hyperplasia by morphological features. Immunohistochemically, alveolar hyperplasia, B-A hyperplasia and atypical hyperplasia were positive in SP-C, but bronchiolar hyperplasia was negative. However, all lesions were CC10-negative. Conclusion: These results were suggested that B-A carcinoma was derived from type 2 pneumocyte, and alveolar hyperplasia, B-A hyperplasia and atypical hyperplasia were related to the lung carcinogenesis.

**PA-11****Evaluation of toxicities of cyclophosphamide in microminipigs following 4-week repeated administration**

○ Hirotohi Akane, Hiro Eda, Sumiko Okuda, Emiko Kajino, Yukiko Ozeki, Masaki Kunieda, Shigekazu Shimizu, Atsuko Ichikawa, Hiroyuki Komatsu, Yasuki Akie

CMIC Pharma Science Co., Ltd.

[Purpose] Bone-marrow suppression, hemorrhagic cystitis, hepatic and renal toxicities have been reported as toxicities of cyclophosphamide (CP) in human. To compare the toxicities of CP in microminipigs (MMP) with those reported in human, a 4-week repeated-dose toxicity study of CP was conducted. [Materials and Methods] CP was given to 3 males of 6 to 10-month-old MMPs per group for 4 weeks by repeated oral gavage at 0, 1, 3 and 10 mg/kg. Analyses of hematology and blood chemistry were performed during the dosing period. After a 4-week administration, pathological examination was performed. [Results] Hematology revealed decreases in neutrophil, lymphocyte, reticulocyte and platelet at 3 mg/kg or more. Histopathological examination revealed hypocellularity in the bone marrow, atrophy in the thymus, spleen and lymph nodes, hemorrhage in the mucous of the urinary bladder, atrophy of Leydig cell at 3 mg/kg or more, and mucous cell metaplasia in the mucous of the urinary bladder at 10 mg/kg. One animal at 10 mg/kg died of hemorrhagic necrotizing pneumonia resulting from bacterial infection associated with suppression of immune function. [Conclusion] Under the present study conditions, bone-marrow suppression was observed at 3 mg/kg or more in MMPs as reported in human, while no hepatic and renal toxicities were observed.

**PA-12\*****Histological changes in zinc-deficient rats.**

○ Yuma Yamashita, Takayasu Moroki, Tomo Sasaki, Takaaki Doi

Toxicological Research Group, Drug Development Research Laboratories, Maruho Co., Ltd.

<Introduction>Zinc is known as one of the essential trace element for humans and animals, which is contained within many enzymes. It has been reported that zinc deficiency induces various dysfunction and histological changes in rats. However, these reports are old and there are few reports about updated histological change of zinc deficient rats. In the present study, dietary zinc deficiency was induced in rats, and gross necropsy and histopathological examination were performed on all organs. We summarize the histological changes observed in zinc deficient rats.

<Method>5-week-old male SD rats were given zinc-deficient diets or normal diets for 30 days. All animals were observed daily for clinical signs. Body weight and food consumption were measured regularly weekly. Detailed gross necropsy and histopathological examination were performed.

<Result and discussion>Zinc deficient rats showed rough fur for clinical signs, decrease in body weight gain and food consumption. Histopathological examination revealed hyperkeratosis with parakeratosis in tongue, esophagus and nonglandular stomach, squamous cell hyperplasia in esophagus and nonglandular stomach, macrophage aggregation in lung, flattened follicular epithelium in thyroid gland, seminiferous tubular atrophy, follicular dystrophy in skin, axonal degeneration in sciatic nerve and secretory depletion in salivary gland. These changes were considered to be related to zinc deficiency.

**PA-13\*****Historical data for the histopathology on the kidneys, eyes and femurs in juvenile Crl:CD(SD) rats**

○ Saki Inoue<sup>1</sup>, Hirofumi Hatakeyama<sup>1</sup>, Yoshihiro Takei<sup>1</sup>, Jun Watanabe<sup>1</sup>, Haruko Koizumi<sup>1</sup>, Tetsuyo Kajimura<sup>1</sup>, Akihito Shimoi<sup>1</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1</sup>, Hijiri Iwata<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ina Research Inc., <sup>2</sup>LunaPath LLC

<Purpose> Toxicity studies using juvenile animals sometimes need to be performed in studies for pediatric medicines. In these studies, it is necessary to distinguish toxic changes from developmental delay. However, little literature of tissue development is available. In this study, histopathological examinations were conducted on kidneys, eyes and femurs of juvenile rats.

<Method> Kidneys, eyes and femurs from 2 to 6 Crl:CD(SD) rats/sex/age (8 animals/age in total) at 4, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days of age were routinely fixed in formalin. From these, hematoxylin and eosin stained specimens were prepared for histological observations.

<Results> Kidneys: An intensely basophilic layer characterized by glomerular and ureteric buds to the subcapsule was observed up to 7 days of age. At 14 to 21 days of age, a large number of immature glomeruli were observed. From 28 days of age, images showed nearly mature kidneys. Eyes: A large number of epithelial cells in the lens were observed up to 7 days of age. This finding was observed until 21 days of age. From 28 days of age, images showed nearly mature eyes. Femurs: Marrow cavity in the epiphysis was not observed up to 7 days of age. Following the appearance of marrow cavity in the epiphysis at 14 days of age, it gradually widened, and images showed nearly mature femurs by 35 days of age.

As described above, useful historical data for toxicity studies in juvenile animals were obtained. Further examinations on other organs are planned.

**PA-14\*****Expression of malignant transformation-associated markers in canine gastrointestinal epithelial tumors**

○ Tsubasa Saito<sup>1</sup>, James Chambers<sup>1</sup>, Kazuyuki Uchida<sup>1</sup>, Kazumi Nibe<sup>3</sup>, Ko Nakashima<sup>4</sup>, Koichi Ohno<sup>2</sup>, Hiroyuki Nakayama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lab.Vet.Pathol., the Univ. of Tokyo, <sup>2</sup>Lab.Vet.Int.Med., the Univ. of Tokyo, <sup>3</sup>JARMeC, <sup>4</sup>JSAMC

[Background] In toxicologic studies using dogs through oral administration, gastrointestinal tumors often influence the results. Immunohistochemical examination for the expression of malignant transformation-associated markers was performed.

[Materials and Methods] A total of 133 cases of canine epithelial gastrointestinal tumors were classified as adenoma (AD, 42), adenocarcinoma (ADC, 63), signet ring cell carcinoma (SRC, 18), mucinous ADC (MUC, 6) and undifferentiated ADC (UNC, 4). These tumors were also classified into polypoid growth-type (P) and non-P (NP). They were examined immunohistochemically for the expression of  $\beta$ -catenin, p53 and E-cadherin.

[Results] All the AD and 53 (84%) ADC cases were included in P, and 10 (16%) ADC and 28 of SRC, MUC and UNC cases were in NP. Tumor cells were positive for nuclear  $\beta$ -catenin in 77 of 93 (83%) AD and ADC-P cases, but only in 1 of 38 (3%) ADC-NP, SRC, MUC and UNC cases. Tumor cells in 17 of 40 (43%) AD cases were positive for p53 and the positive cell-ratios were less than 25%. However, the cells were positive in 1 of 53 (2%) ADC-P cases and in 7 of 38 (18%) in ADC-NP, SRCC, MUC and UNDC cases, and the cell ratios were more than 51%. Tumor cells of all the cases were positive for E-cadherin.

[Conclusions] Since the larger number of nuclear  $\beta$ -catenin-positive cases were observed in AD and ADC-P than in the other types of carcinomas, it is speculated that ADC-P occurs in AD lesions, whereas the other carcinomas do *de novo*.

**PA-15****The incidence of lymphoplasmacytic gastritis in the whole area of cynomolgus monkey stomachs**

○ Tetsuro Kurotaki, Junko Sato, Naoaki Yamada, Takuya Doi, Takeshi Kanno, Minoru Tsuchitani

LSI Medience Corporation

[Background] In cynomolgus monkeys, lymphoplasmacytic gastritis is a concern for toxicological pathologists in preclinical studies because induced gastric changes may be masked by the presence of gastritis. Gastritis has been reported in non-human primates; however, there are no reports describing distribution over the whole area. We examined the whole area of cynomolgus monkey stomachs and investigated distribution and severity of the lesions. [Materials and Methods] A total of 28 stomachs were stapled onto cardboard on necropsy. Following fixation, samples were taken along the lesser curvature as a reference line, and the whole area was sectioned parallel to the line at 5-mm intervals (total 15-25 samples). All HE sections were scored for gastritis severity and distribution reference to McKeag (2012). In addition, a total 76 cases of the body and antrum including 48 stomachs of control animals were evaluated. [Results] The gastritis scores for the antrum were higher than those of the other area. The gastritis extended into the cardia via lesser curvature from pylorus/antrum. The average antrum score ranged 1 < in 3- to 4-year-olds and body score ranged 0.5 and increased severity with age. [Conclusion] Lymphoplasmacytic gastritis in cynomolgus monkeys occurs from 3 to 4 years of age and tends to increase with age. The anterior and posterior walls of the body showed relatively low scores compared with the other area.

**PA-16\*****Vitelline duct cyst with heterotopic mesenteric ossification in a beagle dog**

○ Fumiko Ninomiya, Hideki Tanaka, Satoshi Suzuki, Shota Yoshida, Shohei Kanie, Fumio Morita, Kazuo Hako

Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

[Introduction] We report a case of vitelline duct cyst with heterotopic mesenteric ossification (HMO) in a beagle dog.

[Case] The animal is a 9-month-old female beagle dog in the control group of 13-week repeated toxicity study. A solitary cyst was observed at serous surface of ileum, which was not connected to the ileal lumen. Around the cyst, white small nodules and granular substances were observed in mesentery and abdominal cavity. There were no abnormalities in clinical sign, body weight, food consumption, hematology and blood chemistry.

[Results] The cyst contacted with normal ileum by muscular layer, and was not connected to the ileal lumen. The cystic wall consisted of structure similar to normal ileum. Retention of mucoïd fluid was noted in the cystic lumen. In the part of the cyst, destruction of cystic wall was observed, and mucoïd fluid and mineralization were observed to the nearest serous surface. Nodules in the mesentery consisted of bone formation in the peripheral area and mineralization, osteoid formation and fibrosis in the central area, respectively. Other findings as scattered inflammation composed of foreign-body giant cells and lymphocytes were observed in the mesentery.

[Conclusion] In the present case, we diagnosed a vitelline duct cyst in ileum with HMO and granulomatous inflammation in mesentery. We considered that granulomatous inflammation of mesentery with HMO was induced by the mineral and/or mucus leakage from congenital vitelline duct cyst.

**PA-17****Early adhesion-barrier removal contributes to favorable re-mesothelialization**○ M. Tasaki<sup>1)</sup>, M. Kai<sup>1)</sup>, H. Terao<sup>1)</sup>, J. Souba<sup>1)</sup>, R. Asou<sup>1)</sup>, Y. Saito<sup>2)</sup>, A. Isobe<sup>1)</sup>, K. Nagano<sup>3)</sup>, N. Chino<sup>1)</sup>, H. Hagiwara<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Terumo Corporation, <sup>2)</sup>Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, <sup>3)</sup>Nagano Toxicologic-Pathology Consulting

[Introduction] Adhesion barriers are used to prevent postoperative adhesion in the abdominal/pelvic cavity. Here, the influence of barriers on mesothelial regeneration was examined in the rabbit sidewall-cecum adhesion model, using two materials with different residence times in the abdominal/pelvic cavity: material A, 3 d; material B, 7 d. [Materials and Methods] Peritoneum on the sidewall was removed in a 3 × 5 cm area, and the cecum surface was abraded with gauze. Material A or B was applied to the wound of 6 animals in each group; 3 animals from each group were sacrificed on Day 3 and Day 7, respectively. After perfusion fixation of the abdomen, the wounds were observed under LM, SEM, and TEM. [Results] On Day 3, confirmed mesothelial cells were not observed in any wound; but inflammatory cells and fibrin deposition were more apparent in group B. On Day 7, cobblestone-like cells were observed on wounds under a SEM in both groups. TEM revealed that these cells were mesothelial cells with microvilli, and their intercellular junctions were found in all animals in group A; in group B, these were found on the sidewall in 2 of 3 animals, and on the cecum in 1. [Discussion] Comparing peritoneum healing after barrier treatment, intercellular junctions of mesothelial cells were found with higher incidence in the shorter residence time group (A). These results indicate that early removal of adhesion barriers contributes to the favorable regeneration of mesothelial cells.

**PA-18****Responses to FDA SEND data -Part II-**○ Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Shin-ichi Horikawa<sup>1)</sup>, Junichi Sakurai<sup>1)</sup>, Haruko Koizumi<sup>1)</sup>, Akihito Shimoi<sup>1)</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1)</sup>, Hijiri Iwata<sup>2)</sup>, Takayuki Anzai<sup>3)</sup>, Daniel Potenta<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>PDS Life Sciences

SEND will become a requirement starting December 2016 for regulatory submissions such as INDs. In November 2015, our company was the first CRO in Japan to pass the SEND validation process to make a successful electronic test submission to the FDA. Since then, we went on to successfully submit multiple other studies electronically, giving us the upper hand in practical experience and SEND know-how. In today's presentation, we will disseminate practical information gained since our presentation last year, directed specifically at improving pathologists understanding and utilization of SEND.

For SEND, histopathological findings are converted, or 'mapped', to relevant variables in a MI domain, which is defined by CDISC. Consequently, it is important to appropriately distinguish between a base finding and qualifiers such as distribution, frequency and laterality at microscopic examination. If this is done inappropriately, an enormous amount of time and manpower will be required for manual mapping, not to mention QC. Moreover, not only the names of findings, but also organ names and grades should conform to the 'CT' also published by the CDISC. CDISC is currently incorporating INHAND terminology for SEND. Therefore, it would be beneficial in future studies to collect pathology findings according to such INHAND.

From now on, pathologists engaged in toxicology studies will be required to incorporate SEND-conscious evaluations into their regular scientific-based histopathology.

## PA-19

**How to use the terms of INHAND (nonneoplastic lesion) for SEND**

○ Haruko Koizumi<sup>1)</sup>, Tetsuyo Kajimura<sup>1)</sup>, Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1)</sup>, Hijiri Iwata<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Ina Research Inc., <sup>2)</sup>LunaPath LLC, Laboratory of Toxicologic Pathology

(Background) International standardization is desired from that SEND is introduced by pharmaceutical application and that use of INHAND terminology is recommended into the histopathological terminology used for a toxicity test. INHAND terminology is published by effort of respective WG already about 78 % of organs. But there is some difference of terminology between each organ and also found between INHAND and CDISC SEND controlled terminology (CT). A problem has how to use these terms as the site of toxicologic pathology. (Methods) It was put in order every nonproliferative term about the INHAND and CT published already and it was compared. More published NTP terminology was compared. (Questions and Proposals) There was a problem that even the common findings to the whole organs are different in terminology for a short while every organ and isn't unified because INHAND terminology was gathered separately by each organ. In CDISC Implementation Guide, there are domains for organ name, the histopathological lesion and grade as requested item, and various adjective domains as modifier item. Therefore, we should input the data with regularity in our routine work of histopathological examination. And also, it will be expected that synonyms in CT should be mapping as same term. We should give attention to the CT. In this presentation, INHAND terminology will be focused, and active discussion is expected how to use the terminology at a site of toxicologic pathology.

## PA-20

**The use of MRI for tumorigenicity study of hESC following intrathecal transplantation in mice**

○ Yoshiharu Tsuru<sup>1)</sup>, Yael Schiffenbauer<sup>2)</sup>, Yuval Ramot<sup>3)</sup>, Netanel Amouyal<sup>4)</sup>, Michal Izrael<sup>5)</sup>, Abraham Nyska<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>Primetech, <sup>2)</sup>Aspect Imaging, <sup>3)</sup>Hadassah-Hebrew University, <sup>4)</sup>Envigo CRS, <sup>5)</sup>KadimaStem, <sup>6)</sup>Timrat and Tel Aviv University

**Introduction:** We tested MRI in a mouse model of teratoma induction, following a single intrathecal transplantation of hESC. This route was selected since it represents the intended clinical route of proprietary cells. The experiment was aimed to validate an appropriate positive control, assessing the feasibility of Compact MRI to detect teratoma induction. **Materials and Methods:** Male 8 weeks old were used, 2 animals injected with the vehicle control and 3 injected with hESC (kindly provided by KadimaStem). The compounds were injected within the inter-vertebral (L5 to L6) groove. Clinical evaluation was done daily. In-vivo MRI was done at 2 occasions (days 25 and 48). The animals were sacrificed on day 55, and after formalin fixation, ex-vivo MRI was accomplished. **Results:** Clinically, paresis developed in mice injected with the hESC. In vivo and ex vivo MRI revealed bright irregular areas in the lumbar vertebral region which expanded over time, as well as in various regions in the brain for 2 animals of the treated group, the same two animals that exhibited abnormal clinical signs. **Conclusion:** The MRI was successful in localizing the induced teratoma, and the correlation to histopathology was done. The MRI technique is able to cover the whole mouse, and being non-invasive, can be used for time course observations of the carcinogenic changes.



**PA-21****Targeting the HER family with Pan-HER effectively overcomes resistance to cetuximab**

○ Mari Iida<sup>1)</sup>, Harsh Bahrar<sup>1)</sup>, Toni M. Brand<sup>1)</sup>, Hannah E. Pearson<sup>1)</sup>, John P. Coan<sup>1)</sup>, Rachel A. Orbuch<sup>1)</sup>, Bailey G. Flanigan<sup>1)</sup>, Adam D. Swick<sup>1)</sup>, Prashanth J. Prabakaran<sup>1)</sup>, Johan Lantto<sup>2)</sup>, Ivan D. Horak<sup>2)</sup>, Michael Kragh<sup>2)</sup>, Ravi Salgia<sup>3)</sup>, Randy J. Kimple<sup>1)</sup>, Deric L. Wheeler<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Dep. of Human Oncology, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health, Madison, Wisconsin.

<sup>2)</sup> Symphogen A/S, Ballerup, Denmark. <sup>3)</sup> City of Hope, Duarte, California.

[Background] Cetuximab, an EGFR antibody, has shown efficacy in treating head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), metastatic colorectal cancer and non-small cell lung cancer (NSCLC). Despite the clinical success of cetuximab, many patients do not respond and virtually all patients who do initially respond become refractory to the drug. This highlights both intrinsic and acquired resistance to cetuximab as significant clinical problems. To further explore these issues, we previously developed models of cetuximab resistance (CtxR) by treating cetuximab-sensitive NSCLC and HNSCC lines with increasing concentrations of cetuximab until single cell resistant clones emerged.

[Aim] Cell-based models and tumors with intrinsic or acquired CtxR may have an extensive response to pan-HER, a mixture of six monoclonal antibodies targeting EGFR, HER2, and HER3.

[Results] In cells exhibiting acquired or intrinsic resistance to cetuximab, pan-HER treatment decreased protein levels of all three receptors and downstream activation of AKT and MAPK. This correlated with decreased cell proliferation in CtxR clones. To determine whether pan-HER had a therapeutic benefit in vivo, we established de novo CtxR mouse xenografts and treated resistant tumors with pan-HER. This regimen resulted in a superior growth delay of CtxR xenografts compared with mice continued on cetuximab. Furthermore, intrinsically CtxR HNSCC patient-derived xenograft tumors treated with pan-HER exhibited significant growth delay when compared to vehicle/cetuximab controls.

[Conclusion] Targeting multiple HER family receptors simultaneously with pan-HER is a promising treatment strategy for tumors displaying intrinsic or acquired resistance to cetuximab.

**PA-22****Effect of cadmium exposure on testis in Medaka (*Oryzias latipes*)**

○ Akihiko Sugiyama<sup>1)</sup>, Yuuki Takeoka<sup>1)</sup>, Ayano Hirakou<sup>1)</sup>, Takashi Takeuchi<sup>1)</sup>, Satoshi Furukawa<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Joint Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori university,

<sup>2)</sup>Biological research laboratories, Nissan chemical industries, ltd.

<Background> In toxicity tests using Medaka, evaluations based on survival rate, behavior disorder, changes in appearance are mainly done and there are few reports demonstrating histopathological changes in organs induced by chemicals in Medaka. To standardize histopathological evaluation in the evaluation of testicular toxicity using Medaka, testicular disorders in Medaka induced by cadmium were analyzed histopathologically. <Materials and methods> Medaka was exposed to 1 ppm cadmium in 96 hours using the semi-static method, and testes were examined histopathologically on 24, 48, 72 and 96 hours after exposure. <Results> From 24 hours after exposure in the cadmium group, cell death and cell proliferation inhibition were induced in areas of spermatogonia and spermocyte distribution. From 48 hours after exposure in the cadmium group, TUNEL-positive rate was significantly higher than that in the control group. Thorough all experimental periods, Phospho-histone H3 positive rate was significantly lower in the cadmium group than that in the control group. <Conclusion> This study demonstrated that cadmium induced cell death and cell proliferation inhibition in Medaka testis. Histopathological changes induced by cadmium in Medaka testis were similar to those in rodents, the results of this study suggested that evaluation of testicular toxicity using Medaka was possibly alternative to those using rodents.

**PA-23\*****Histopathological evaluation of usefulness of adult zebrafish for screening DIKI and DILI**

○ Yuki Kato<sup>1,2)</sup>, Yutaka Tonomura<sup>1)</sup>, Hiroyuki Hanafusa<sup>1)</sup>, Kyohei Nishimura<sup>1)</sup>, Tamio Fukushima<sup>1)</sup>, Atsuko Hishikawa<sup>1)</sup>, Motonobu Ueno<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Drug Safety Evaluation, Shionogi & Co., Ltd., <sup>2)</sup>Osaka Prefecture University

Drug-induced kidney injury (DIKI) and drug-induced liver injury (DILI) is a profound safety issues in drug development. We herein focused on adult zebrafish as a small in vivo system, and pathologically evaluated its usefulness for screening DIKI and DILI.

To determine the accuracy of a diagnosis of nephrotoxicity and hepatotoxicity, adult zebrafish were intraperitoneally or orally treated with known toxicants once or repeatedly (for maximum 4 days), and then exsanguinated under tricaine anesthesia 24 hours after the final dosing. They were fixed in Davidson's solution and whole body sections were stained with hematoxylin and eosin. Nephrotoxicity and hepatotoxicity was judged by the occurrence and frequency of degenerative changes from histopathological control reference data (n=220). Fourteen out of 29 known nephrotoxic compounds caused kidney injury in zebrafish (a true positive rate of 48%), with no false positives in non-nephrotoxicant treated zebrafish (a true negative rate of 100%). On the other hand, only one out of 15 hepatotoxic compounds caused liver injury (a true positive rate of 7%).

These results suggest that the application of adult zebrafish to evaluation of DIKI using pathological examinations is useful because a screening system is available with small amount of compounds and provides similar results to those in mammals without false positives. Unfortunately, this system was not available for evaluating DILI.

**PA-24\*****Histopathology of a fathead minnow with spinal curvature**

○ Masayuki Kimura<sup>1)</sup>, Kota Irie<sup>1)</sup>, Masayoshi Abe<sup>1)</sup>, Seigo Hayashi<sup>1)</sup>, Akihiko Sugiyama<sup>2)</sup>, Satoshi Furukawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, Ltd.

<sup>2)</sup>School of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori University

[Background & aim] Fathead minnow is a fish used in for ecotoxicological evaluations, and it is suggested for use in toxicity tests by OECD guidelines. We found a fathead minnow with spinal curvature in our stock of fathead minnow. We previously found spinal deformation accompanying notochordal subinvolution in a wavy medaka. In this study, we showed the histological features of a fathead minnow with spinal curvature. [Materials and methods] A fathead minor, 12-month old male, was euthanized and fixed in Bouin's fluid overnight, decalcified by 10% formic acid, embedded in paraffin, and stained with hematoxylin-eosin. [Results & Discussion] Clinically, no aberration was observed. Macroscopically, the spine displayed a dorsoventral curvature that started at the end of breast region. Histologically, spinal deformation accompanying notochordal subinvolution was observed, without fibrous central tissue in the vertebral joints. Thinness of cortical bones and large void structures were observed in the vertebral bones. The elastic externas of the intervertebral ligament were partly thick. No aberration was observed in the tissues around the spine. In normal spine, intervertebral areas were divided by fibrous central tissue and spongy peripheral tissue. Void structures divided by cortical bones were observed in the vertebral bones. In conclusion, we found spinal deformation accompanying notochordal subinvolution in a fathead minnow with spinal curvature similar to the wavy medaka.

**PA-25****Databases for technical aspects of immunohistochemistry**

○ Mika Nagaike<sup>1,2)</sup>, Satoshi Furukawa<sup>1,3)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup>Conference on Experimental Animal Histopathology, <sup>2)</sup>Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.

<sup>3)</sup>Nissan Chemical Industries, Ltd., <sup>4)</sup>Laboratory of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Science, Setsunan University

Immunohistochemistry (IHC) is a biochemical method that applies to any use of an antibody-based method to identify a specific antigen in order to understand the distribution and localization of biomarkers and differentially expressed proteins in different parts of a biological tissue. IHC is widely utilized for diagnostic interpretation and understanding of pathogenesis and has become a routine tool for toxicological pathology. However, the variable staining conditions of IHC, such as those relating to the antibody clone/supplier, fixation, antigen retrieval, antigen-antibody reactions, etc., raise many challenges for pathologists. A questionnaire about IHC was administered during the period of 2014 to 2015 to members of the Conference on Experimental Animal Histopathology. A total of 733 primary antibodies (425 kinds of primary antibody) were available from 47 research institutes according to the responses to the questionnaire. With the aims of sharing information about the technical aspects of IHC and making it possible to make a suitable choice of antibody for histopathological examination, this presentation describes the immunological properties of primary antibodies (clone, supplier, catalog number, species reactivity, etc.) and the IHC staining conditions (fixing solution, fixing time, embedding, antigen retrieval method, antibody dilution, incubation time, incubation temperature, etc.). These results are going to appear in *J. Toxicol. Pathol.* (2017) Vol.30 (1).

**PA-26\*****Investigation of histopathological examination using long-term stored formalin-fixed paraffin-embedded tissues**

○ Yuko Ono, Hiroko Sato, Toshiko Miyazaki, Katsuya Fujiki, Eisuke Kume, Masaharu Tanaka

Safety Research Laboratories, Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd.

There are no reports about the quality of long-term stored formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues. We therefore examined FFPE tissues stored for 30 years histopathologically in order to investigate the possibility of reconstructing the result of histopathological examination using long-term stored paraffin blocks.

Systemic FFPE tissues of male and female rats stored for 30 years were sectioned and examined histopathologically after HE staining. Stainability and morphology of the tissues and the reproducibility of the microscopic findings in the liver and kidney, which had written in the final report 30 years ago, were evaluated.

Stainability of hematoxylin was weaker, and morphological artifacts such as cracks and spaces were observed in many organ sections. Vacuole-like artifact was also observed in the renal tubular epithelium. These deteriorations of the quality of the tissues were not considered to be a problem in performing histopathological examination comparing with controls. Most microscopic findings produced in the final report were confirmed in the slides of the present study. While some focal findings were not observed in the slides, it was not considered to be a problem in reconstructing the result of histopathological examination since most findings related to the test articles are generally observed in broad area of the tissue.

We concluded that the result of histopathological examination can be reconstructed using paraffin blocks stored within 30 years.

**PA-27****Identification of 5-HT-producing cells by detection of fluorescence in paraffin-embedded tissue sections**

○ Yoshiaki Kaneko<sup>1</sup>, Nobuhiko Onda<sup>1</sup>, Yosuke Watanabe<sup>2,3</sup>, Makoto Shibutani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Olympus Corp., <sup>2</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., <sup>3</sup>United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.

[Background] 5-Hydroxytryptamine (5-HT) produced by enterochromaffin (EC) cells is an important enteric mucosal signaling ligand and has been implicated in several gastrointestinal diseases, including inflammatory bowel disease and functional disorders such as irritable bowel syndrome. [Aim] The present study reports a new, simple and rapid visualization method of 5-HT-producing EC cells utilizing detection of fluorescence in paraffin-embedded tissue sections after formalin fixation. [Materials and methods] We used formalin-fixed, paraffin-embedded, normal human gastric tissue (pyloric glands) array sections, normal human small intestine tissue array sections, normal human colon tissue array sections, C57BL/6J normal mice pancreatic tissue sections and those of pregnant mice at gestation day 12. [Results] In human samples, there was a high incidence of fluorescence<sup>+</sup> cells in the 5-HT<sup>+</sup> cells in the pyloric, small intestinal and colonic glands, while co-localization was lacking between fluorescence<sup>+</sup> and gastrin<sup>+</sup> cells in the pyloric and small intestinal glands. Fluorescence<sup>+</sup> cells were also observed in 5-HT<sup>+</sup>beta cells in the pancreatic islets of Langerhans in pregnant mice, while non-pregnant mouse pancreatic islet cells showed no 5-HT immunoreactivity or fluorescence. [Discussion] These results suggest that fluorescence<sup>+</sup> cells are identical to 5-HT<sup>+</sup> cells, and the source of fluorescence may be 5-HT itself or molecules related to its synthesis or degradation.

**PB-28****Carcinogenicity induced by prenatal exposure to dimethylarsinic acid in CD1 mice**

○ Min Gi, Masaki Fujioka, Kumiko Tatsumi, Takashi Yamaguchi, Mitsuaki Kitano, Anna Kakehashi, Yuji Oishi, Hideki Wanibuchi

Osaka City University Graduate School of Medicine

The main source of arsenic exposure is via ingestion of food containing arsenic in the general Japanese population. Accumulating evidence indicates that prenatal exposure to inorganic arsenic, a human carcinogen, can subsequently cause cancer in adulthood in mice. Dimethylarsinic acid (DMA) is a major metabolite of inorganic arsenic and organic arsenic compounds contained in food. However, little is known about the carcinogenic risk of prenatal DMA exposure. The purpose of the present study is to determine the carcinogenic effects of prenatal DMA exposure in CD1 mice. Pregnant CD1 mice were given 0 or 200 ppm DMA in drinking water from gestation day 8 to 18. After gestation day 18 there was no further DMA treatment. Offspring were observed for up to 84 weeks of age. Prenatal DMA exposure had not significant effects on the body weights and survival rate in the offspring mice. In male offspring, incidence of hepatocellular adenoma tended to increase and incidence of hepatocellular carcinoma was significantly increased in the prenatal DMA exposure group. Furthermore, the incidence of hepatocellular tumor (adenoma plus carcinoma) tended to increase in the in prenatal DMA exposure group. There were not increases in the hepatocellular tumors in the DMA-exposed female offspring mice. These results show that exposure of pregnant CD1 mic to DMA through the drinking water induce hepatocarcinogenesis in male offspring.

**PB-29****Suppression of hepatocarcinogenesis in CD44 knockout mice**

○ Anna Kakehashi, Kumiko Tatsumi, Takahiro Okuno, Min Gi, Hideki Wanibuchi

Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.

CD44 antigen splicing variant isoform (CD44v) has been proposed as a potential tumor-initiating cells marker in human hepatocellular carcinoma (HCC). To investigate the role of CD44v in hepatocarcinogenesis, 6 week-old male and female 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 phenobarbital at a dose of 500 ppm in their drinking water for 18 and 52 weeks. At week 18, no liver preneoplastic lesions (altered foci) were detected in the liver of CD44<sup>-/-</sup> mice. On the contrary, they were present in wild type mice. At week 52, HCCs were absent in males, furthermore, incidences of hepatocellular adenoma in females and incidences and multiplicities of total liver tumors in males and females were significantly lower as compared with CD44<sup>+/+</sup> mice. Proteome analysis demonstrated significant overexpression of proteins involved in formation of oxidative stress in the liver of CD44<sup>-/-</sup> mice. Levels of oxidative DNA marker, 8-hydroxideoxyguanosine, were significantly higher in the livers of CD44<sup>-/-</sup> mice. In addition, suppression of p62-SQSTM1, Nrf2 and c-myc in CD44<sup>-/-</sup> mice was demonstrated. These results indicated that CD44v could be the marker of tumor-initiating cells and plays an important role in development of mouse liver cancer.

**PB-30\*****Effects of concurrent exposure of 1,2-dichloropropane and dichloromethane on hepatocarcinogenesis in male C3H mice**

○ Satoko Kawachi, Min Gi, Masaki Fujioka, Kumiko Tatsumi, Yoshiyuki Tago, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi

Department of Molecular Pathology Osaka City University Medical School

[Background] Given the possibility that the occurrence of occupational cholangiocarcinoma in Japan might be attributed to exposure to multiple chemicals, studies are needed to determine the carcinogenic effects of concurrent exposure to 1,2-dichloropropane (1,2-DCP) and dichloromethane (DCM) or other organic solvents contained in the striper to which the workers with cholangiocarcinoma were exposed. [Aim] The purpose of the present study is to determine the carcinogenic effects of concurrent administration of 1,2-DCP and DCM in mice. [Materials and Methods] Male C3H mice were divided into three groups and treated twice a week for 52 weeks as follows: vehicle (control group); 500 mg/kg 1,2 DCP; and co-administration of 500 mg/kg 1,2-DCP and 500 mg/kg DCM. [Results] Incidence and multiplicity of hepatocellular adenomas were significantly increased in co-administered group compared with the 1,2-DCP alone group. Furthermore, The Ki-67 labeling index was significantly increased in the HCAs in the co-administered group compared with the HCAs in the 1,2-DCP alone group. In addition, microarray analysis revealed that expression of twelve tumor cell proliferation-related genes were significantly dysregulated in the HCAs induced by 1,2-DCP and DCM but not in the HCAs induced by 1,2-DCP alone. [Conclusion] These findings indicated that concurrent exposure of 1,2-DCP and DCM exerted a stronger hepatocarcinogenic effects than 1,2-DCP alone in mice.

**PB-31****Initiation effects and susceptibility of N-methyl-N-formylhydrazine on gallbladder carcinogenesis in two mice strains**

○ Toshiya Kuno, Masashi Hayakawa, Satoshi Fuji, Aya Naiki, Shugo Suzuki, Satoru Takahashi

Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

[Background] Gallbladder cancer is a highly lethal disease because it is difficult to detect in early stage. The development of an efficient animal model for gallbladder (GB) carcinogenesis is necessary. [Aim] The initiation effect of possible carcinogen N-methyl-N-formylhydrazine (MFH) and the susceptibility for MFH in two mice strain were examined. [Materials and Methods] Six-week old male ICR and C57BL6J mice were divided into 2 groups, respectively. One group served as a control and the other was given a single i.g. administration of MFH (100mg/kg BW). At 2 days after the start, GB and extra-hepatic bile ducts were analyzed histopathologically. The levels of proliferation, apoptosis, and DNA double strand break of bile tract epithelium were evaluated by IHC. In addition, the GB of ICR mice were also assessed seven days after the start. [Results] The labeling index of Ki-67 and DSB marker phospho-Histone H2A.X in GB epithelial cells of ICR mice treated with MFH were significantly higher than those of control ( $P < 0.05$  and  $0.01$ , respectively), but there were no difference in those of C57BL6J mice. Those changes of GB in ICR mice had been subsided on the Day7. The difference of Ki-67-positive cell ratio in the extra-hepatic bile duct was not evident in both mice strain. [Conclusion] ICR mice were more sensitive for MFH than C57BL6, and it was suggested that the DNA damage was gallbladder-specific. Therefore, MFH may be a potential initiator of GB cancer in ICR mice.

**PB-32\******Lgr5*-expressing epithelial cell distribution during gastric mucosal regeneration**

○ Kengo Namiki<sup>1,2)</sup>, Akihiro Hirata<sup>2)</sup>, Hiroki Sakai<sup>2)</sup>, Atsuko Murai<sup>1,2)</sup>, Hiroyuki Tomita<sup>3)</sup>, Akira Hara<sup>3)</sup>, Tokuma Yanai<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Safety Res., Ono Pharm. Co. Ltd., <sup>2)</sup>Lab. Vet. Pathol., Gifu Univ., <sup>3)</sup>Dept. Tumor Pathol., Gifu Univ. Grad. Sch. Med.

[Background] Tissue regeneration requires proper spatial allocation and organization of stem cells. A recent study demonstrated that *Lgr5* is biomarker for epithelial stem cells in the pylorus of the stomach, but their dynamics during mucosal regeneration have not been elucidated. [Materials and Methods] We examined the temporal and spatial distribution of *Lgr5*-expressing cells in regenerating mucosa after acidified ethanol-induced gastric ulceration using *Lgr5*-GFP knock in mice and *in situ* hybridization. [Results and Conclusion] Gastric units in the pylorus regenerated after ulceration as multiple small epithelial invaginations. These invaginations developed at the base of glands remaining at the ulcer margins and grew into independent units. Importantly, *Lgr5*-expressing cells were found in each newly formed pyloric gland shortly after the onset of its formation and were maintained throughout the growing phase. Gastric units in the corpus were regenerated through a similar process to that in the pylorus, but this regeneration was accompanied by spasmodic polypeptide/TFF2-expressing metaplasia (SPEM). *Lgr5*-expressing cells appeared in each newly formed gland with SPEM cells from the early phase of gland formation although they do not drive epithelial renewal as stem cells under normal conditions in the corpus. Considering their ability to build gastric units, *Lgr5*-expressing cells could contribute to mucosal regeneration after gastric ulceration.

**PB-33****Cytotoxicity of the crude extracts of *Musa basjoo* in human colon carcinoma cells**

○ Harutoshi Matsumoto, Saeko Ando, Katsumi Fukamachi, Mitsuru Futakuchi, Masumi Suzui

Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences and Medical School, Nagoya City University

*Musa basjoo*(MB) is a tropical evergreen tree growing mainly in subtropical/tropical countries. Biological activity of MB remains unclear. Therefore, we examined whether the acetone/methanol extracts of MB cause cytotoxicity in HT29 or HCT116 human colon carcinoma cell lines. These extracts of MB inhibit the growth of human colon carcinoma cells with IC<sub>50</sub> values of 118 µg/mL (acetone extract, HT29), >200 µg/mL (methanol extract, HT29), 75 µg/mL (acetone extract, HCT116), 141 µg/mL (methanol extract, HCT116) by colony assays, and with IC<sub>50</sub> values of 137 µg/mL (acetone extract, HT29), 240 µg/mL (methanol extract, HT29), 73 µg/mL (acetone extract, HCT116), 248 µg/mL (methanol extract, HCT116) by MTT assays. Flowcytometry analysis demonstrated that treatment of HT29 cells with 100 µg/mL acetone extract causes an increase of G1 phase by 5.3% with concomitant decrease of G2/M phase in HT29 cells, indicating the induction of G1 cell cycle arrest. Acetone/methanol extracts did not cause subG1 fraction in HT29/HCT116 cells. Treatment of HT29 and HCT116 cell lines with 50-100 µg/mL MB extracts caused a marked decrease in expression levels of the cyclinD1 and cdk4 protein. Treatment of HCT116 cells with 50-100 µg/mL MB extracts caused a marked increase in expression levels of the p21<sup>CIP1</sup> protein. Crude extracts of MB contain active component(s) that exert cytotoxicity in HT29/HCT116 cell lines.

**PB-34\*****Somatic stem cell-recognizing antibody (A3)-labelled cells in colon lesions induced in rats by dextran sulfate sodium (DSS)**

○ Hironobu Nishina, Chisa Ichikawa-Kato, Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Osaka Prefecture University, Veterinary Pathology

[Background] A3, generated as a monoclonal antibody against rat MFH cloned cells, recognizes somatic stem cells (bone-marrow/hair follicle stem cells). In adult rat colon, A3-positive cells are localized around the crypts. Then we analyzed the distribution of A3-positive cells in DSS-induced colon lesions; regenerating mucosa and fibrosis. [M. & M.] Male 6-week F344 rats were administrated 5% DSS through drinking water for 5-7 days, and lesions at recovery stage were also subject to examinations. [Results] The DSS induced mucosal atrophy in the distal colon; additionally, inflammatory cell infiltration (neutrophils and macrophages) and then fibrosis were observed in the lamina propria. Thereafter, mucosal epithelia were desquamated and crypts were decreased gradually with decreased A3-positive cells. At recovery stage, crypts showed regeneration and A3-positive cells reappeared; interestingly, A3-positive cells aggregated in fibrosis with desquamated mucosa. Aggregated A3-positive cells co-expressed with vimentin, Thy1 and partly CK19, but did not react simultaneously with  $\alpha$  SMA-expressing myofibroblasts. [Conclusion] A3-positive cells reappeared around regenerating crypts and aggregated in the surface of fibrosis, indicating that the cells participated in mucosal regeneration in injured colon, in particular, re-epithelialization. Detail analyses are under way for characterization of A3-positive cells with double immunofluorescence method.

**PB-35****Study of the ingredient products by miso using in different kinds of koji and in the fermentation stages**

○ Hiromitsu Watanabe<sup>1)</sup>, Atsuko Takahashi<sup>2)</sup>, Megumi Sasatani<sup>3)</sup>, Yuichiro Miyasaka<sup>4)</sup>, Masao Yoshizumi<sup>1)</sup>, Tsutomu Masujima<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Gra Sci Biomed Health, Hiroshima U, <sup>2)</sup>Riken, <sup>3)</sup>RIRBM Hiroshima U, <sup>4)</sup>Miyasaka Jozo

[Background] We had been reported identification of ingredient products in miso (2015). Herein we examined identification of the ingredient products in miso using in kinds of koji or in fermentation periods. [Materials and methods] The Shinsyu Miso (A, B), Sendai miso, Mame miso and Mugi miso were given by Central Miso. We quantified ingredient products in miso by LC-MSMS and identified by KEGG. We quantified the amount of ingredient products in miso by a metage line from pure chemicals. Then, we explored the correlation between the effect of radioprotective effect of miso and the amount of ingredient products. [Results] Tolazoline, eplerenone, pilocarpine, stachydrine and miglitol-like products (T, E, P, S, M) were detected in all miso types but difference in quantity. The amount of T was higher in miso from A. The amount of S or M was higher in B. The amount of E was higher in Mame, and P in Sendai. In addition, the amount of T in miso from A was increased until 2 year fermentations, but it decreased for 5 years. These results suggest that the ingredient stuff such as T was produced as fermentation process and it decreased after that. Moreover, the radioprotective effect of miso was increased by fermentation periods which increased T. It showed a good correlation between radioprotective effect and T. [Conclusion] Specific substances were produced by the fermentation of miso, and possibility to show various bioactivity as compound was suggested.

**PB-36\*****Functional analysis of *Tmem70* and *Ube2e2* showing epigenetic transcript downregulation in the liver of rats treated with thioacetamide for 28 days**

○ Sayaka Mizukami<sup>1)</sup>, Yousuke Watanabe<sup>1,2)</sup>, Yasuko Hasegawa-Baba<sup>1)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>LVP, TUAT, <sup>2)</sup>UGSVS, Gifu Univ.

We have previously reported that *Tmem70* and *Ube2e2* showed promoter region hypermethylation and transcript downregulation in the liver of rats treated with thioacetamide (TAA) for 28 days. We have also found that downregulation of TMEM70 and UBE2E2 in GST-P<sup>+</sup> preneoplastic liver cell foci may cause a cellular respiratory shift via downregulation of mitochondrial ATP synthase and a suppression of ubiquitin/proteasome degradation of c-Myc and PCNA, respectively. In this study, we examined functional role of TMEM70 and UBE2E2 downregulations in the liver of rat treated with TAA for 28- and 90-day. On day 90, both *Tmem70* and *Ube2e2* mRNA were decreased. With regard to TMEM70-related expression changes, *Myc* mRNA level and immunohistochemical distribution of c-Myc were increased on day 28 and 90. Transcript level of glycolytic enzyme genes, *Hk1*, *Hk2* and *Pkm*, were increased on day 90, suggesting that cellular respiratory shift on day 90 via transcriptional activation of glucose transporters and glycolytic enzymes by c-Myc. With regard to UBE2E2-related expression changes, immunoreactive cells of lysine demethylase 4A (KDM4A), a target molecule of ubiquitin/proteasome degradation of UBE2E2, were increased in UBE2E2/GST-P<sup>+</sup> foci as compared with UBE2E2<sup>+</sup>/GST-P<sup>+</sup> foci on day 90. Immunoreactive cells of phospho-Histone H2A.X, a marker of DNA double-strand breaks, were also increased, suggesting that downregulation of UBE2E2 may cause accumulation of DNA damage via stabilization of KDM4A.



**PB-37****Evaluation hepatocarcinogenicity of elemicin in *gpt* delta rats.**

○ Liang Shi<sup>1,4</sup>, Yuji Ishii<sup>1</sup>, Shinji Takasu<sup>1</sup>, Takuma Tsuchiya<sup>1</sup>, Aki Kijima<sup>1</sup>, Takehiko Nohmi<sup>2</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>3</sup>, Takashi Umemura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div.Pathol.,NIHS, <sup>2</sup>Div.Gen.& Mut.,NIHS, <sup>3</sup>Biol.Safety Res.Ctr.,NIHS, <sup>4</sup>Lab.Exp.Pathol., Univ.Tsukuba.

<Aim> Elemicin is the main ingredient of nutmeg seed, one kind of natural alkoxybenzene compound in nature widely used in aroma chemicals. Estragole, carrying the basic structure of alkoxybenzene, has been detected hepatocarcinogenicity in rodents, but the safety of elemicin is still unclear. In this presentation, repeated-dose toxicity, genotoxicity, and carcinogenicity of elemicin are assessed by *gpt* delta rats.<Materials and Methods> Six weeks old male F344 *gpt* delta rats were exposed(dose of 0,25,100 or 400 mg/kg)for oral administration of elemicin for 13 weeks. All rats were necropsied after blood sample collection for hematological and serum biochemical examination. Body weight and excised organs were measured and pathologically examined. As one of indicators of hepatocarcinogenicity, quantitative analysis of GST-P positive foci was carried out.<Result> Rats body weight gained inhibited in 400 mg/kg from the first week to last. The absolute and relative liver and adrenal weight increased from 100 mg/kg, and ALT rose in 400 mg/kg significantly. Pathologically, diffuse hepatocyte hypertrophy and focus of cellular alteration of liver were acknowledged from 100 mg/kg. Numbers and area of GST-P positive foci in 400 mg/kg significantly increased compare with other doses and control.<Conclusion> Our finding suggested that NOAEL of elemicin is 25 mg/kg. Furtherly, GST-P positive foci in 400 mg/kg increased significantly, that indicated rats hepatocarcinogenicity of elemicin.

**PB-38\*****Histological characteristics of spontaneous GST-P positive foci of hepatocellular alteration in male SD rats**

○ Eriko Riya, Kochi Kakimoto, Koji Inagaki, Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi, Akiko Nakamura, Kaoru Toyoda, Akemi Takahashi, Toshiyuki Shoda

Japan Tobacco Inc.

Foci of cellular alteration (FCAs) positive for Glutathione S-transferase placental form (GST-P) are known for preneoplastic lesions during rat chemical-induced hepatocarcinogenesis. In this study, we investigated spontaneous GST-P positive (+) foci and those histological features using untreated rats. The liver tissues were collected from male SD (CrI:CD) rats sacrificed at 4, 7, 12 and 26 month-old (mo) (n=10-20 per age). The serial sections of the liver were analyzed with HE and GST-P staining. The number and area of GST-P (+) foci increased with age. At 4 mo, only a single eosinophilic FCA was observed in a rat. At 7 mo, all foci were partial eosinophilic change which here refers to GST-P (+) foci with all of or part of the composing hepatocytes showing slight morphological alteration. At 12 and 26 mo, the incidence of rats with GST-P (+) foci were observed in the following order; partial eosinophilic change (42% at 12 mo, 80% at 26 mo), eosinophilic FCAs (32%, 60%), no morphological alteration (26%, 50%), and partial basophilic change (0%, 10%). Although GST-P negative FCAs were observed from 12 mo, there were no FCAs partially positive for GST-P. We demonstrated that the number and area of GST-P (+) foci increased with age. Considering histological characteristics of GST-P (+) foci above 7 mo and no FCAs partially positive for GST-P, it was indicated that morphological changes of the hepatocyte in the spontaneous eosinophilic FCAs occur following GST-P expression.

**PB-39\*****Molecular pathological differences between nodular regenerative hepatocellular hyperplasias and neoplastic lesions induced by piperonyl butoxid of exposure to mice**

○ Shinji Takasu, Yuh Yokoo, Aki Kijima, Yuji Ishii, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura

Div. of Path., NIHS

[Introduction] We have previously reported that long term treatment of piperonyl butoxide (PBO) induced multiple proliferative nodules in the liver of mice. This lesion was not composed of clonal cells, and the lobular architecture mostly remained intact although severe compression of surrounding liver was presented. These facts suggest that this lesion may be non-neoplastic and regenerative. In this study, molecular characteristics in this lesion were compared with those in hepatocellular adenomas (HCA) by global gene expression. [Materials & methods] 10-11-week old male ICR mice were given diets containing 6000 ppm PBO for 39 weeks. cDNA microarray was performed in this lesion, HCA, or non-proliferative area collected by the laser microdissection. [Results] The expression of cell cycle related genes were increased in both lesions compared with non-proliferative area. The expression of metabolism related genes including Cyps were decreased only in this lesion. The expression of genes associated with cell differentiation such as Notch pathway was increased only in HCA. [Discussion] This lesion showed several different molecular properties from HCA. Furthermore, the expression of some of Cyps was decreased in this lesion, which was consistent with the findings in hepatocyte growth factor-transgenic mice or partial hepatectomized mice. We concluded that this lesion was nodular regenerative hepatocellular hyperplasia.

**PB-40\*****Toxicity and anticancer mechanism of action of palmitoyl piperidinopiperidine**

○ Saeko Ando, Harutoshi Matsumoto, Katsumi Fukamachi, Mitsuru Futakuchi, Masumi Suzui

Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences and Medical School, Nagoya City University

We earlier demonstrated that our novel drug, palmitoyl piperidinopiperidine, named PPI (granted patent 5597427, 2014) inhibits the growth of implanted tumor cells by inducing apoptosis and suppressing angiogenesis. In the current study, we examined toxicity and mechanism of action of PPI. Female nude mice received i.p. injections of 50 mg/kg PPI every 10 days for 4 weeks. Treatment of mice with PPI did not cause significant body weight loss during experiment. PPI did not cause significant histological changes in the esophagus, stomach, duodenum, pancreas, colon, liver, spleen, kidney, adrenal glands, lung, heart, ovary, uterus and bone marrow. In acute toxicity test, male/female SD rats received i.g. injections of 500, 1000, 2000 mg/kg PPI. LD<sub>50</sub> values of male and female rats were 1000 and 500 mg/kg, respectively. Treatment of rats with PPI exhibited ulcerative changes with severe inflammation in the esophagus and fatty degeneration in the liver. In vitro studies, PPI markedly inhibited transcriptional activity of STAT3 in SW837 human colon carcinoma cells. Also, PPI caused a decrease in expression levels of pSTAT3 in both cytosol and chromatin fractions of HT29 cells without affecting the expression levels of STAT3. PPI caused a dose dependent decrease in expression levels of Bcl-2, Bcl-xL, cyclinD1 and VEGF. Collectively, treatment of mice with PPI inhibited the growth of implanted tumor cells without causing significant adverse side effects.

**PB-41****Relationship between salivary gland dysfunction and dental caries formation in Zucker rats strain - The effects of obesity and diabetes on salivary gland function -**

Nishimoto Taiki<sup>1)</sup>, O Yasushi Kodama<sup>1)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>2)</sup>, Tetsuro Matsuura<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Clinicopathol. Therap., Hiroshima Int. Univ., <sup>2)</sup>Setsunan Univ.

Hyperglycemia enhances dental caries in diabetic rodents, and obesity similarly involves the pathogenesis of dental caries. Salivary gland dysfunction is a major factor inducing dental caries, but there are few reports analyzing the association of dental caries and salivary glands. We focused on differences in dental caries progression in Zucker rat strains, and examined the relationship between salivary gland functions and 2 factors (diabetes and obesity).

**METHODS:** Three rats strains of ZDF, ZF and Zucker Lean as control were used, and saliva weights were measured at 10, 26 and 42 weeks of age. All rats were sacrificed after the measurement at 42 weeks of age.

**RESULTS:** The saliva weights in ZDF and ZF were significantly decreased compared to Lean. At 42 weeks of age, those in ZDF and ZF were below 10% and approximately 50% of that in Lean, respectively. The partial loss of the molar crown was detected in any strain, and the severity was in the order of ZDF>ZF>Lean. The collapsed molar crown was also observed in ZDF and ZF. Histologically, small vacuoles were observed in the parotid and von Ebner's glands in 3 strains, and yet the incidence and severity were highest in the ZDF.

**DISCUSSION:** The severity of dental caries was consistent with decreasing of saliva weights and severity of vacuoles in serous salivary glands. It is possible that dental caries development in Zucker strains may be related to the salivary gland dysfunction caused by obesity and diabetes.

**PB-42\*****Spontaneous occlusal surface wear in molar teeth of ICR mice and enhancement of the lesion caused by alloxan-induced diabetes development.**

O Nishimoto Taiki<sup>1)</sup>, Yasushi Kodama<sup>1)</sup>, Hayato Maruyama<sup>2)</sup>, Yui Terayama<sup>2)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>2)</sup>, Tetsuro Matsuura<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Clinicopathol. Therap., Hiroshima Int. Univ., <sup>2)</sup>Setsunan Univ

Progressive molar caries are observed after 13-week hyperglycemic period in alloxan (AL)-induced diabetic rats. Meanwhile, no tooth is defined as having dental caries after 13-week hyperglycemic period in AL-treated diabetic ICR mice, and the minor external changes are merely observed on the occlusal surface. In this study, we hypothesized that hyperglycemia could induce occlusal wear leading to external change of molar teeth in AL-treated diabetic ICR mice.

**METHODS:** Male ICR mice aged 6 weeks were divided into 2 groups; AL-treated diabetic mice (DM group), and intact mice as control group. These mice were sacrificed at 4 and 13 weeks after AL treatment.

**RESULTS:** In the control group, the cusp height at 19 weeks of age was significantly lower than that at 10 weeks of age, and occlusal wear made progress with aging. Furthermore, the cusp heights in the DM group were significantly lower than those in the control group, and hyperglycemia enhanced occlusal wear. Histopathologically, tertiary dentin formation was observed at the dentin just below the site of occlusal wear in all rats, and the severity was increased with aging, and the lesions more advanced in diabetic state.

**CONCLUSION:** The present study revealed that hyperglycemia enhanced spontaneous occlusal surface wear in diabetic ICR mice strain. Advanced occlusal surface wear owing to hyperglycemia may be involved in dental caries formation in diabetic animals.

**PB-43\*****Botryomycosis in C57BL/6 mice**

○ Shin-ichi Nakamura, Takahiro Kawase, Takamitsu Tsukahara

Kyoto Institute of Nutrition &amp; Pathology Inc.

Botryomycosis is a chronic pyogranulomatous inflammation of the eosinophilic matrix. In this study, we reported five cases of botryomycosis in C57BL/6 mice. <Materials and Methods> Five female C57BL/6 mice were selected, of which three were administered 1.5% DSS and two were left untreated. At the end of the treatment period, two mice had facial swelling, two had mesenteric mass, and one mouse had ovarian mass. <Results> All the observed masses were solid and grayish white in color at the cut surface, with fine white color scattered at the center. These lesions had multiple pyogranulomatous inflammation with Gram-positive cocci. Eosinophilic needle-like crystals were scattered in the lesions, and the cocci were surrounded by eosinophilic amorphous matrix. The lesions were infiltrated with neutrophils and macrophages and surrounded by a fibrous tissue. The cocci were identified as *S. aureus*. <Discussion> All mice had multiple pyogranulomatous inflammation with Gram-positive cocci, and Splendore-Hoeppli materials were detected in the lesions. We diagnosed this condition as botryomycosis caused by *S. aureus*. Splendore-Hoeppli materials consist of antigen-antibody complex and fibrin; however, the detailed mechanism of botryomycosis infection is unclear. *S. aureus* are resident bacteria, and sometimes cause infection, especially in immune-deficient mice. In our study, we had suspected oral or nasal infection in facial swelling, and intestinal infection in the mesenteric mass.

**PB-44\*****Effect of lipopolysaccharide on autophagy and autophagic response in liver homeostasis in rats**

○ M. Rabiul Karim, Munmun Pervin, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Osaka Prefecture University Graduate School of Life and Environmental Sciences Laboratory of Veterinary Pathology

<Background and Aims> Autophagy contributes to cell physiology. We investigated the patho-physiological significance of autophagic response in rat liver by lipopolysaccharide (LPS, an autophagy inducer) after hepatic macrophage stimulation or depletion. <M&M> 6-week F344 male rats were injected with LPS (0.1mg/kg,i.p.) and liver samples were collected on 6h to 48h post injection. Hepatic macrophages were stimulated or depleted by empty liposome (LIP; 10 ml/kg, i.v.) or liposomal clodronate (CLD;10ml/kg,i.v.), respectively, one day before LPS injection. <Results> Histo-architecture of the liver was not changed following LPS injection. AST and ALT values were significantly increased in macrophage-depleted CLD rats in comparison to macrophage-primed LIP rats. However, hepatocytes showed increased autophagic activity in both CLD and LIP group at 6h and 12h, demonstrable with LC3B (autophagy marker) or Lamp1 (lysosome marker) immunostaining and by an increase expression of autophagy-related mRNAs in the liver. The number of autophagosomes within hepatocytes was significantly increased in macrophage-primed LIP rats at 12h. The LC3B double-immunofluorescence with CD163 or CD68 (for macrophages), and with GFAP (for hepatic stellate cell marker; HSC) showed the increase in the co-expression of LC3B in hepatic macrophages and HSCs. <Conclusions> LPS induced autophagy in hepatocytes, HSCs and liver macrophages and suggesting roles of autophagy in the pathogenesis of liver injury.

**PB-45\*****Calcium-deficient diet attenuates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice through suppression of lipid peroxidation and inflammatory response**

○ Hioroki Yoshioka, Miki Tanaka, Tsunemasa Nonogaki

College of Pharmacy, Kinjo Gakuin University

[background]Carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) is widely used in experimental animal models that are meant to mimic human hepatotoxicity. Our previous report indicated that Zn prevented CCl<sub>4</sub>-induced lethal toxicity in mouse. In addition, we reported that Zn-induced MT expression has a protective effect on CCl<sub>4</sub>-induced hepato- and nephro-toxicity. Although pretreatment with Zn protected CCl<sub>4</sub>-induced lethal toxicity, main target organ causing fatal toxicity has not been evaluated. Now, I have one candidate factor which causes lethal toxicity as calcium.

[Aim]The aim of this study is to investigate whether a Ca-deficient diet has an attenuating effect on CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity.

[material and method]The mice were fed either the CE-2 or a Ca-deficient diet for 4-weeks. We monitored plasma Ca level and body weight for every 2-weeks. After 4-weeks, each mouse was injected i.p. with 2 g/kg CCl<sub>4</sub>. At 24-h after the CCl<sub>4</sub>injection, blood samples and the liver were collected.

[result]The CCl<sub>4</sub>-exposed hypocalcemic mice exhibited a significant decrease in hepatic function markers even though kidney functional markers remained unchanged. In addition, hepatic histopathological damage was attenuated in hypocalcemic mice fed the Ca-deficient diet.

[conclusion]Although upregulation of Ca concentration is a known indicator of terminal progression to cell death in the liver, these results suggest that Ca is also involved in other phases of CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity.

**PB-46\*****Reduction mechanisms of hepatocyte injury in rat liver injury model by thioacetamide-repeated injections**

○ Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Munmun Pervin, Karim M.Rabiul, Alexandra Bondoc, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Osaka Prefecture University, Veterinary Pathology

[Background/Purpose] Repeated drug exposures may cause more severe injury. We reported that damage associated molecular patterns (DAMPs), released by injured/necrotic hepatocytes, Toll-like receptor 4 (TLR4) as their ligands, and MHC class II cells, play important roles in thioacetamide (TAA)-induced acute rat liver injury (Kuramochi et al., *Exp Toxicol Pathol*, 2016); however, there are few reports about hepatotoxicity on repeated-injections of hepatotoxicants. We analyzed the relationships between “DAMPs-TLRs-MHC class II pathway” and repeated hepatocyte injury. [M. & M.] 7-week-old male F344 rats were injected with TAA (100 mg/kg BW, i.p.) once every three days (three time injections) and samples were collected on 2 days post each injection. [Results] After the first injection, hepatocyte injury accompanied by inflammatory cell infiltration was clearly seen; however, after the 2nd and 3rd injection, injury level was reduced. AST and ALT values, DAMPs and TLR4 expressions were increased only after the 1st injection. MHC class II cells was increased even after the 2nd and 3rd injections. [Conclusion] The repeated injections reduced hepatocyte injury. MHC class II cells might participate in the reduction. Further investigations (characteristics of MHC class II cells based on M1/M2 types and autophagosomes containing DAMPs, as well as liver lesions using anti-DAMPs antibody and anti-TLR4 antibody/agonists) are under way.

**PB-47\*****Evaluation of the sinusoidal obstruction syndrome and hepatotoxic marker in monocrotaline induced mice model**

○ Shintaro Hara, Hitomi Hayashi, Yuji Okuda, Naoko Igo, Kimiko Fuchigami, Eiji Ichimura

Toxicology Team, Nipponkayaku Co., Ltd.

<Background>Sinusoidal obstruction syndrome (SOS) is caused as a side effect by chemotherapy of oxaliplatin (OXP) and considered to be a hepatotoxic risk factor. We investigated the mechanism of hepatotoxicity and usability of several markers in SOS using mice treated with OXP or monocrotaline (MCT).

<Materials and Methods>Male mice were treated with OXP or MCT. Liver and blood samples were collected after 6, 12 and 24 hours. HE staining, IHC (LYVE-1, Stabilin-2, CD41), TEM and blood chemistry test were performed.

<Results>Apoptosis of sinusoidal endothelial cells (SECs) were found in MCT treated mice (6hr), subsequently congestion and degeneration/necrosis of hepatocytes were observed in centrilobular area. On the other hand, there were no morphological changes in OXP treated mice. In the TEM, degeneration and loss of SECs, aggregation of PLT and dilatation of Disse's space were observed in MCT treated mice. PLT (CD41 positive cells) aggregation and decrease of LYVE-1 expression (marker of SECs) were focally detected in centrilobular region. There were a low level of PLT and high levels of ALT, AST, T-bil, HA with significant hepatocellular damage, though HA level also rose in OXP treated mice which had no morphological changes in its liver.

<Discussion>LYVE-1 is a good marker for SECs damage in mice. In addition, it was suggested that HA can detect chemicals which have the potential to injury SECs, because HA level rose before any histopathological changes.

**PB-48\*****Pathological features of hepatocellular carcinoma in a NASH mouse model**

○ Saori Matsuo<sup>1)</sup>, Aya Yoshida<sup>2)</sup>, Masahiko Matsumoto<sup>1)</sup>, Tsuneo Ito<sup>1)</sup>, Shuji Hayashi<sup>1)</sup>, Kaori Nishihara<sup>1)</sup>, Kenji Adachi<sup>1)</sup>, Junko Shinozuka<sup>1)</sup>, Masami Suzuki<sup>1)</sup>, Atsuhiko Kato<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Chugai Pharmaceutical Co., <sup>2)</sup>Chugai Research Institute for Medical Science

[Background] We previously reported the histopathological characteristics of the liver in mice fed a choline-deficient, L-amino acid-defined, high-fat diet (CDAHFD), which is known as a model for NASH, for up to 14 weeks. A study of CDAHFD feeding for 60 weeks provided evidence that hepatocellular carcinoma (HCC) develops within 36 weeks (Yoshida et al. 2016, article submitted), and we present the histopathological features of HCC in the CDAHFD mouse model. [Materials and Methods] A commercial standard diet (SD) or a CDAHFD with 0.1% methionine (CDAHFD) was fed to 6-week-old C57BL/6J mice for up to 60 weeks. Mice in another group were fed CDAHFD for 36 weeks and then fed SD until 48 weeks (CDAHFD/SD group). 19 cases, diagnosed as HCC in the 60-week experiment or another mice CDAHFD mouse study, were histopathologically examined. [Results] In the SD group, 1 mouse developed HCC with a trabecular pattern at 60 weeks. In the CDAHFD and CDAHFD/SD groups, HCC had trabecular, glandular, and/or solid patterns. HCC arising in regenerative hyperplasia or hepatocellular adenoma, and poorly differentiated HCC arising in well-differentiated HCC were also noted. [Conclusion] HCC in CDAHFD mice showed various types of tumor growth patterns. As nodule in nodule structures of HCC were observed, a multistep carcinogenesis process similar to human was thought to be one of mechanisms of hepatocellular carcinogenesis in the current model. Further investigation will be performed.

**PB-49\*****Effect of benzo[a]pyrene on progression of non-alcoholic fatty liver disease in mice fed a high-fat diet**

○ Kohei Matsushita<sup>1)</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Mizuki Sone<sup>1,2)</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., <sup>2)</sup>Fac. Agric., Tokyo Univ. Agric. Technol.

[Aim] Environmental pollutants including dioxins are considered to be one of the risk factors for progression of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), and the putative mechanisms may be associated with activation of aryl hydrocarbon receptor (AhR). Benzo[a]pyrene (BaP), a ubiquitous pollutant, is also an AhR ligand. The purpose of this study is to investigate the effects of BaP on NAFLD using a mouse model. [Methods] Six-week-old male C57BL/6J mice were fed control diet (10% kcal from fat) or high-fat diet (60% kcal from fat) for 8 weeks. Mice were treated with BaP (10 mg/kg body weight/day) or corn oil (vehicle, 10 ml/kg body weight/day) by gavage from 5th to 8th week of the experiment. Serum biochemistry, histopathology of the liver and epididymal white adipose tissue and mRNA expression of metabolism-related genes in the liver were analyzed. [Results and Discussion] Although body weight from week 5 to the end of experiment, absolute liver weight and absolute and relative epididymal white adipose tissue weight were significantly increased in the high-fat diet groups, BaP treatment showed no effect on these parameters. mRNA expression of *cyp1a2*, one of the target genes of AhR, was significantly upregulated by BaP treatment in both high-fat and control diet groups, whereas there were no differences of expression levels related to the diet. The effects of BaP on NAFLD will be discussed with additional data of gene expression, serum biochemistry and histopathology.

**PB-50\*****Different effects of EPA and DHA on NASH in mice**

○ Noriko Kemuriyama<sup>1)</sup>, Takashi Matsuzaka<sup>2)</sup>, Yoshimi Nakagawa<sup>2)</sup>, Naoya Yahagi<sup>2)</sup>, Katsuhiro Miyajima<sup>1)</sup>, Dai Nakae<sup>1)</sup>, Hitoshi Shimano<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Dept Nutr Sci Food Safety, Tokyo Univ Agricul, <sup>2)</sup>Dept Int Med (Endocrinol Metabol), Univ Tsukuba

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a hepatic manifestation of metabolic syndrome and progresses to steatohepatitis (NASH) and then liver cirrhosis and cancer. Recent studies have shown benefits of consuming n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) for the treatment of NAFLD/NASH. In the present study, we investigated effects of major n-3 PUFAs, eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6), in preventing atherogenic high-fat (AHF) diet-induced NASH. Mice were fed the AHF diet with or without 5% of EPA or DHA for 4 weeks. Both EPA and DHA reduced fatty liver and fibrosis, and the elevation of serum transaminase activity. Intriguingly, EPA had a greater inhibitory effect than DHA on hepatic triacylglycerol (TG) accumulation. In contrast, DHA had a greater suppressive effect than EPA on hepatic inflammation and ROS generation. These results revealed that both EPA and DHA are effective to treat AHF-induced NASH in mice, but that the 2 used n-3 PUFAs exert different effects, which indicate that EPA and DHA may be differentially used in the NASH treatment, depending upon the disease's stage.

**PB-51 \*****Spirolactone and EMIQ prevent steatosis-related early hepatocarcinogenesis in rats**Hirota Murayama<sup>1</sup>, Emi Makino<sup>2</sup>, Ryoiti Ohstuka<sup>2</sup>, Shim-mo Hayashi<sup>3</sup>, Makoto Shibutani<sup>1</sup>, ○ Toshinori Yoshida<sup>1</sup><sup>1</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2</sup>The Institute of Environmental Toxicology, <sup>3</sup>San-Ei Gen F.F.I., Inc.

We determined effects of a potassium-sparing diuretic spironolactone (SR) alone or in combination with an antioxidant, enzymatically modified isoquercitrin (EMIQ) on steatosis-related early hepatocarcinogenesis using a medium-term liver assay. One group (CTL) received normal diet, and all others received HFD containing 0 (HFD group) or 750/300 ppm SR (SR group) for 6 weeks starting at 2 weeks after DEN initiation. The fourth group was administered HFD and SR as well as 0.5% EMIQ (SR+EMIQ). Rats were euthanized at 9 weeks for blood sampling and necropsy. The HFD increased body weight and intra-abdominal adipose tissue weight, and plasma total cholesterol, triglyceride, and alkaline phosphatase as compared with the CTL group. Although there were no changes in liver weight, HFD increased score of steatosis and number and area of glutathione S-transferase placental form (GST-P)<sup>+</sup> foci, where higher expression of a NOX component p22phox<sup>+</sup> cells and a cell proliferation marker Ki-67<sup>+</sup> cells were confirmed. SR decreased these parameters, which were further reduced by EMIQ supplement. RT-PCR in liver tissues revealed that SR and/or EMIQ supplement altered mRNA expression levels of lipogenic enzymes (*Scd1*, *Fasn*, *Pabpg*), NOX component (*P67phox*), and, antioxidant enzymes (*Catalase*) as compared with the HFD group. The results indicated that SR in combination with EMIQ had suppressing steatosis-related early hepatocarcinogenesis through improvement of oxidative stress including NOX.

**PB-52 \*****Newly established murine model for a non-alcoholic steatohepatitis (NASH) accompanied by obesity and impaired glucose tolerance**

○ Yui Terayama, Kazue Akira, Tetsuro Matsuura, Kiyokazu Ozaki

Laboratory of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University

Many animal models of NASH have been proposed, however, there is no suitable model developing obesity, fatty liver, insulin resistance, fibrosis, and tumor like human disease. JVS (*jvs/jvs*) mice develop fatty liver caused by systemic carnitine deficiency, and die shortly after birth. In the present study, we investigate to establish NASH model accompanied by obesity and impaired glucose tolerance using heterozygous (*jvs/+*) and wild-type (*+/+*) mice treated with alloxan (AL) and high fat diet (HFD-60). All mice were sacrificed at 40 weeks of age. **Results:** In all groups, the body weight was remarkably increased. Almost all animals showed fatty liver, and relative liver weight in males was significantly higher than that in females. All groups showed high insulin level and HOMA-IR index, and furthermore in AL-treated 4 groups, these indexes were higher, and glucose levels of oral glucose tolerance test were also higher. Histopathology, hepatic steatosis, sinusoidal fibrosis and multifocal neutrophil accumulation in centrilobular zone were detected in all groups, and these lesions were much severe in males. Furthermore, nodular hyperplasia and/or adenoma were increased in male wild-type mice treated with AL+HFD-60 and male heterozygous mice with HFD-60, and the mice with nodular lesions tended to show severe fibrosis. **Conclusion:** We succeeded in establishment of murine model for NASH developing obesity, fatty liver, insulin resistance, fibrosis, and tumor.



**PB-53****Early onset of preliminary changes that progress into NASH-like lesions in STAM mice**

○ Katsuhiko Miyajima<sup>1)</sup>, Takeshi Ohta<sup>2)</sup>, Yukihito Ishii<sup>2)</sup>, Noriko Suzuki-Kemuriyama<sup>1)</sup>, Dai Nakae<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Dept Nutr Sci Food Safety, Tokyo University of Agriculture,

<sup>2)</sup>Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.

[Background] Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) is a current health problem since it often leads to hepatocellular carcinoma, but the pathogenesis has not as yet been fully elucidated. The present study assessed pathophysiological changes in the early stages of the STAM mice, a novel NASH model. [Materials and Methods] Male C57BL/6J mice, 2 days old, were subcutaneously administered streptozotocin (STZ, STZ mice) or not (control mice), given high-fat (HFD) or basal diet, and dissected at 5, 7 or 10 weeks of age. The liver was obtained and used for assessments. [Results] STAM mice (STZ mice given HFD) showed hyperglycemia, increase of liver weights, hepatocellular steatosis with hypertrophy at 5 weeks old, which were remarkably reinforced at 10 weeks old, when slight fibrosis and inflammation were also observed in the liver. Although clear-cell-typed altered hepatocyte foci were seen from 5 weeks of age, no tumors were seen up to 10 weeks of age. In addition in STAM mice, CK8/18 and NHE-positive areas were increased and fibrosis-associated genes were over-expressed in the liver, while ALT and AST activities and GLU, TG and TC concentrations were increased, but insulin level was reduced in the blood plasma. [Conclusion] In STAM mice, preliminary changes that progress into NASH-like lesions were induced until their 10 weeks. These results suggest that the STAM mice can serve as a useful model to contribute to the prevention and treatment of human NASH in its early phase.

**PB-54\*****Effects of background diet in rat model of high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis (NASH)**

○ Yohei Inai, Shoko Ohji, Machi Atarashi, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate, Takeshi Izawa

Osaka Prefecture University, Veterinary Pathology

[Background and Aim] The pathology of animal models of high-fat diet-induced NASH is known to be affected by the quantity and source of fat. However, the effect of other dietary components remains unknown. Here we investigated liver pathology produced by two high-fat diets with equal fat content and different background components. [Materials and Methods] 6-week-old male rats were fed diets with 11% cocoa butter and 1% cholesterol in a commercial diet (fat-CE2 group) or custom diet (fat-custom group) for 26 or 30 weeks, respectively. Blood biochemistry, histopathological examination and real-time PCR were performed. [Results] Fat-CE2 rats had higher body weight than those of fat-custom rats while daily calorie intake did not change between the two groups. Relative liver weights of fat-custom rats were higher than that of fat-CE2 rats. Serum AST and ALT levels were increased in fat-CE2 rats but decreased in fat-custom rats, compared to those of rats fed with normal diet. Histopathologically, hepatocellular steatosis and lobular infiltration of mononuclear cells and neutrophils were observed. The number of CD68-positive inflammatory foci was higher in fat-CE2 rats than that of fat-custom rats. Perisinusoidal fibrosis was observed only in fat-CE2 rats. Expression of CCL2 and CXCL1 mRNA in white fat tissues were increased in fat-CE2 rats, but decreased in fat-custom rats. [Conclusion] Dietary components other than fat can affect the pathology of dietary NASH model.

**PC-55\*****Chemopreventive effects of angiotensin II receptor type 2 agonist on rat prostate carcinogenesis**

○ Aya Naiki-Ito, Shugo Suzuki, Hiroyuki Kato, Masashi Hayakawa, Toshiya Kuno, Satoru Takahashi

Dept. Exp. Path. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

**[Background]** We recently reported that an angiotensin II receptor type 1 (AT1R) blockers has chemopreventive potentials against prostate cancer. In this study, we investigated effects of an angiotensin II receptor type 2 (AT2R) agonist, which is expected to play similar roles as AT1R blocker, on prostate carcinogenesis by using transgenic rat for adenocarcinoma of prostate (TRAP) model. **[Methods]** Six-week-old male TRAP were treated with AT2R agonist at the concentration of 1 or 2 mg/kg/day in drinking water for 12 weeks. Each group consisted of 12 rats and prostate tissues were collected from each animal for the histopathological, gene and protein expression analysis. **[Results]** AT2R agonist decreased the incidence of adenocarcinoma in lateral prostate, and suppressed the progression of prostate carcinogenesis in lateral and ventral prostate. The Ki67 index was significantly decreased by AT2R agonist in ventral prostate, and percentage of apoptotic cells was increased in lateral and ventral prostate. Western blot revealed that activation of caspase 3 and 7 and down-regulation of androgen receptor (AR) by AT2R agonist treatment. **[Conclusion]** AT2R agonist inhibited prostate carcinogenesis with suppression of AR and induction of apoptosis in common with AT1R blocker. AT2R agonist may be candidate for a novel chemopreventive agent against prostate cancer.

**PC-56****Elucidation of molecular markers and establishment of rat model for early detection of prostatic carcinogens.**

○ Shugo Suzuki<sup>1,2)</sup>, Aya Naiki<sup>1)</sup>, Satoshi Fuji<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]** It is time-consuming for screening prostatic carcinogens because it takes long time to induce preneoplastic and neoplastic lesions in prostate glands. To overcome these problems, we investigated alternative molecular markers for detection of prostatic carcinogens in a short period in rats.**[Materials and Methods]** 6-week-old male F344 rats were treated with various carcinogens including prostate carcinogens (PhIP, DMAB, MNU, BOP, DMBA, MeIQx, DMH and DMN) via intragastric injection 5 times per week for 4 weeks. Animals were sacrificed and prostate was removed. Labeling indices for phospho-H2AX ( $\gamma$ -H2AX), high mobility group box 2 (HMGB2) and Ki67 were analyzed in each prostatic lobe.**[Results]**  $\gamma$ -H2AX labeling indices were significantly increased in rats treated with DMAB (all lobes), but not in rats treated with PhIP, MNU or BOP. HMGB2 and Ki67 labeling indices were significantly increased in rats with PhIP, DMAB, MNU and BOP at least 2 and 1 lobes, respectively. Meanwhile, there were no differences in these 3 labeling indices in prostate of rats treated with non-prostatic carcinogens such as DMBA, MNNG, DMH and DMN compared with respective controls.**[Conclusion]** HMGB2 and Ki67 are possible candidates of alternative molecular markers for detection of prostatic carcinogens in rats within a short period.

**PC-57\*****Establishment of a syngeneic orthotopic model of prostate cancer in immunocompetent rats.**

○ Hiroyuki Kato, Shugo Suzuki, Aya Naiki-Ito, Toshiya Kuno, Satoru Takahashi

Dep. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

[Background and Aim] We previously established 3 cell lines (PLS10, PLS20 and PLS30) from a chemically-induced prostate carcinoma in F344 rats, and demonstrated high potential for metastasis in nude mice. The aim of this study is establishment of an orthotopic model with the 3 cell lines to resolve species-mismatch problems and defects of immune system. [Material and Methods] The 3 cell lines mixed with 50% Matrigel were injected into the ventral prostates of 6-week-old F344 rats, which were sacrificed at experimental 11 weeks 4 and 8. [Results] Tumor mass formation was detected in nearly all rats only with PLS10, but not in those with PLS20 or PLS30. Metastatic carcinomas were found in lymph nodes and lungs of PLS10-inoculated rats by week 8. [Conclusion] We have established syngeneic orthotopic model of prostate cancer which demonstrated short period tumorigenicity and high ability of metastasis simulating human CRPC by using only PLS10, which suggests that PLS10 can escape immune attack from the host. From an immunological viewpoint, this model will be useful for development, screening and validation of therapeutic agents, especially in immunotherapy of metastatic prostate cancer.

**PC-58** **$\gamma$  H2AX expression induced by genotoxic bladder carcinogens in rats**

○ Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Shugo Suzuki<sup>2)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>2)</sup>, Mizuki Sone<sup>1,3)</sup>, Kohei Matsushita<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Kaoru Inoue<sup>1)</sup>, Satoru Takahashi<sup>2)</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>4)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>NIHS, <sup>2)</sup>Nagoya City Univ., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agric. Techol., <sup>4)</sup>NIHS

[Background] Phosphorylated H2AX ( $\gamma$  H2AX), a histone protein associated with DNA damage response, is expected to be a biomarker of genotoxicity and carcinogenicity. We previously reported that immunohistochemical analysis for  $\gamma$  H2AX in rat urinary bladder may be useful for early detection of genotoxic bladder carcinogens. In this study, we further evaluated the specificity of this method to bladder carcinogenicity in rats treated with genotoxic carcinogens.

[Methods] Six-week-old male F344 rats were treated orally with 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB), *N*-nitroso-*N*-methylurea (MNU), *N*-nitrosodimethylamine, 1,2-dimethylhydrazine, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine, *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP), *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine, 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene for 4 weeks (5 days/week). Immunohistochemical analysis for  $\gamma$  H2AX and Ki67 was performed.

[Results]  $\gamma$  H2AX expression (positive cells/1000 cells) was significantly increased in DMAB ( $13.6 \pm 5.2$ ) and BOP ( $7.1 \pm 2.7$ ) groups compared with the controls ( $1.8 \pm 1.2$ ). In the MNU group ( $6.5 \pm 2.9$ ),  $\gamma$  H2AX-positive cells showed a tendency to increase ( $P=0.063$ ). There were no significant differences of Ki67 expression levels among the groups.

[Discussion] Previous studies have reported that subcutaneous administration of DMAB and BOP and intravesical injection of BOP and MNU cause bladder carcinogenesis in rodents. Our results suggest that  $\gamma$  H2AX can detect potential bladder carcinogenicity of genotoxic chemicals.

**PC-59\*****Characterization of macrophages in isoproterenol-induced rat myocardial injury, based on M1/M2 polarization**

○ Masaaki Koga, Mohammad Rabiul Karim, Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate  
Osaka Prefecture University, Laboratory of Veterinary Pathology

<Subject> Macrophages (MPs) appearing in lesions are polarized towards M1 and M2 types. M1 type promotes injury by producing inflammatory factors such as IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ , whereas M2 type participates in tissue repair by producing factors such as IL-4 and TGF- $\beta$ 1. We analyzed functional properties of MPs appearing in injured areas in rat isoproterenol (ISO)-induced myocardial lesion.

<M. & M.> 6-week-old male SD rats were once injected with ISO (10 mg/kg BW, s.c.) and heart samples were collected on 8 hs to 28 days post injection. Properties of MPs were analyzed with immunohistochemistry and at mRNA level by RT-PCR.

<Results> Inflammation following myocardial necrosis was seen with a peak on day 3, and thereafter, reparative fibrosis developed on day 14 onwards. CD68+, MHC class II+ and CD204+ MPs showed the maximum in their numbers on day 3, and CD163+ MPs peaked the number on day 7. In double immunofluorescence using samples on day 3, CD68+ M1 type co-expressed CD204, whereas CD163+ M2 type expressed simultaneously MHC class II. MCP-1, IL-1 and IL-6 (all for M1), as well as and IL-10 (M2) peaked on 8 hs. INF- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  (all for M1) and TGF- $\beta$ 1 (M2) were upregulated throughout the period.

<Conclusion> M1 type appeared at early stage, whereas M2 type was seen at late reparative stage, indicating development of M1/M2-polarizations depending on stages.

**PC-60****Risk assessment of anti-human tissue factor antibody utilizing tissue cross-reactivity study results and analysis of hemorrhagic lesions in cynomolgus monkey**

○ Etsuko Fujii, Kazuto Watanabe, Kaori Nishihara, Masami Suzuki, Atsuhiko Kato

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Research Division

[Background & aim] Tissue cross-reactivity (TCR) studies for therapeutic antibodies estimate antibody-binding organs and tissues, but their value is often questioned because positivity does not necessarily coincide with toxicity. We considered TCR and cynomolgus monkey toxicity study results to determine the value of TCR data for risk assessment of an anti-human tissue factor (TF) antibody. [Materials and methods] TCR studies in cynomolgus monkey and human were conducted. Additionally, a single dose (0, 3, 10, 30, 100 mg/kg) and intermittent dose (twice weekly, 0, 1, 3, 10, 30 mg/kg) study was carried out in cynomolgus monkeys. [Results] For the TCR study, several organs and tissues, including heart and urinary bladder were positive, and results were similar between monkey and human. With single dosing, hemorrhagic lesions were found mainly in heart and urinary bladder. Histopathologically, hemorrhage, edema, inflammation, fibrosis, and hemosiderin deposition coexisted in the same individuals. Dose-response was unclear with single dosing but slightly clearer with intermittent dosing. [Discussion] Lesions were found mainly in heart and urinary bladder, so TF may be essential for regulating hemorrhage in these organs. Additionally, the lesions were thought to have an incidental nature. As the TCR results were similar in monkey and human, there was judged to be toxicity risk in human. Thus TCR results can be utilized to bridge toxicity in monkey to risk assessment in human.

**PC-61 \*****Enhanced immune responses for lipopolysaccharide administration in mice exposed to neonatal undernutrition**

○ Mai Todoroki<sup>1)</sup>, Mika Senuma<sup>1)</sup>, Fumiaki Kumagai<sup>1)</sup>, Tetsuo Ogawa<sup>2)</sup>, Yoshiaki Saito<sup>1)</sup>, Makiko Kuwagata<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Hatano Research Institute Food and Drug Safety Center, <sup>2)</sup>Physiology, Saitama Medical University

**[Background]**

We have previously demonstrated that neonatal undernutrition affects the development of thymus and spleen in mouse weanling. In the study, 11-week-old mice exposed to neonatal undernutrition were administered lipopolysaccharide (LPS, 250 µg/kg, i.p., 3 days), and immune organs were examined histopathologically.

**[Material and Methods]**

C57BL/6 dams were exposed to global 50% food restriction (FR) for 7 days post-delivery, or fed chow *ad libitum* (control). After LPS administration, distribution of CD3, CD45R and Iba-1 immunoreactive cells in the thymus and spleen was examined.

**[Results and Methods]**

Prior to LPS administration, FR group showed an increase and decrease in spleen and thymus weights, respectively, compared with the control group. The body weights between two groups were comparable. Histopathologically, decreased CD3-immunoreactive cells in the white pulp and increased Iba-1-immunoreactive cells in the marginal zone and red pulp in the spleen were detected in the FR group compared with the control. LPS decreased the body weights in both groups comparably. In the spleen, LPS decreased cells staining positive for CD3 without a change in the distribution of CD45R immunoreactivity, and infiltrated neutrophils in the red pulp. Cells positive for Iba-1 in the marginal zone were increased. These changes were more severe in the FR group. Present data point towards enhancement of immune response by LPS in adult mice exposed to neonatal undernutrition.

**PC-62 \*****Modifying effect of melatonin in estrogen-treated rats: case of thromboembolism in a rat**

○ Nana Nomiya, Daiki Imai, Haruka Kawamoto, Mai Miyata, Hiroshi Satoh

Department of Veterinary Medicine, Iwate University

**[Background]** Melatonin has several physiological functions such as maintenance of circadian rhythms and antioxidant effects. An anti-estrogenic effect of melatonin was recently reported. Therefore, we examined the modifying effect of melatonin in an estrogen-induced rat pituitary tumor model to confirm the anti-estrogenic effect of melatonin. We herein report one case of pulmonary thromboembolism in a female F344 rat in the study.

**[Material and Methods]** Six-week-old female F344 rats received a subcutaneous injection of estradiol dipropionate (20 mg/kg) once every 2 weeks and an intraperitoneal injection of melatonin (10 mg/kg) every day.

**[Results]** A female rat showed signs of abdominal pain and severe emaciation at week 5 and died at week 6. Macroscopically, sporadic dark red foci were seen in the lung. Histopathologically, multiple thrombi were found in the alveolar capillaries, and a large thrombus was seen in the left ventricle. The thrombi in the alveolar capillaries were confirmed to be fibrin thrombi by phosphotungstic acid-hematoxylin staining.

**[Conclusion]** Based on the above findings, this case was diagnosed with a pulmonary thromboembolism. There are no previous reports of thrombus formation induced by melatonin. We consider that the thrombosis seen in the present case was caused by high dose of melatonin, which promoted thrombus formation by estrogen. No obvious preventive or inhibitory effects of melatonin on the estrogen-induced pituitary tumor model were observed.

**PC-63\*****Trial for the detection of *in vivo* genotoxicity in rat kidney using  $\gamma$ H2AX expression**

○ Mizuki Sone<sup>1,2)</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Kohei Matsushita<sup>1)</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1)</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.

Objective: Phosphorylated H2AX ( $\gamma$ H2AX) is likely a surrogate marker of genotoxicity *in vitro*. We previously reported that immunohistochemical analysis of  $\gamma$ H2AX in rat urinary bladder may be useful for early detection of genotoxic bladder carcinogens. To examine a potential application, we applied this method to the kidney of rats treated with various chemicals.

Methods: Male F344 rats were treated orally with potassium bromate (KBrO<sub>3</sub>), tris(2,3-dibromopropyl)phosphate (TBPP), and N-nitrosomorpholine (NMOR) as genotoxic renal carcinogens, trisodium nitrilotriacetic acid monohydrate (NTA-H<sub>2</sub>O) and d-limonene as non-genotoxic renal carcinogens, carboxin (CBX) as a renal toxicant for 4 weeks, and immunohistochemical analysis for  $\gamma$ H2AX and RT-PCR analysis of DNA repair genes (*Rad51*, *Lig4*, *Xrcc1*, *Ercc1*, *Mgmt*) were performed.

Results and Discussion: The proportion of cells with  $\gamma$ H2AX foci in proximal tubules was significantly increased in rats treated with KBrO<sub>3</sub>, NMOR, d-limonene or CBX, but there was no significant change in the NTA-H<sub>2</sub>O group. In the TBPP group, the number of  $\gamma$ H2AX-positive cells showed a tendency to increase (P=0.052).  $\gamma$ H2AX expression in the CBX group was mainly localized in regenerative tubules (RT), and no increased expression of DNA repair genes was detected. These results suggested that  $\gamma$ H2AX expression in RT could be associated with cell proliferation and outside of RT should be used for the evaluation of genotoxicity.

**PC-64\*****Pathological analysis of renal failure model using fibrosis state monitor mouse**

○ Tatsuhiro Yamaguchi<sup>1,2)</sup>, Yuki Kato<sup>1,2)</sup>, Tomohiko Okuda<sup>1)</sup>, Jyoji Yamate<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>SHIONOGI & CO., LTD., <sup>2)</sup>Osaka Prefecture University

[Background and Aim]Renal fibrosis is a big medical economic problem because the progression of it results in renal dialysis therapy or kidney transplantation. However, how the fibrosis progresses and which cells mainly produce collagen are obscure. In this study, we made a transgenic mouse in which we can recognize collagen producing cells as EGFP positive cells and investigated which cells mainly produce collagen during the progression of fibrosis.[Materials and Methods]We made a transgenic mouse in which EGFP is expressed under the control of Type I collagen promoter. We administered cisplatin to this mouse and induced renal injury. After that, we examined how the renal fibrosis progressed in this renal injury model histologically.[Results and Conclusion]We revealed that the type of collagen producing cells changed during the progression of fibrosis in renal injury model induced by cisplatin. Our finding is undisclosed in previous researches and may contribute to elucidate the mechanism of renal fibrosis.

**PC-65****Development of a short-term prediction method for chemical carcinogenicity of kidney by gene expression analysis.**

○ Hiroshi Matsumoto, Fumiyo Saito, Masahiro Takeyoshi

Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan. Chemical assessment and research center.

Carcinogenicity study requires long-term experimental period and a huge amount of money, so it imposes a much burden on the conductor. A development of short-term prediction method has been strongly desired. According to chemical carcinogenicity studies, liver and kidney were regarded as the most frequent target organs. Currently, hepatocarcinogens can be screened by using CARCINOscreen®, which we developed as a short-term screening system. In this study, we tried to develop a new prediction method for renal carcinogenicity on ARCH-Tox project (2011-2015, Ministry of Economy, Trade and Industry in Japan). In order to develop a prediction formula for kidney, we conducted 28-day repeated-dose tests in male SD rats with 32 chemicals (training: 22 chemicals, validation: 10 chemicals). Gene expression profiles in the renal cortex were analyzed using a microarray. A prediction formula was built based on support vector machines with 15 genes selected as the candidate predictive genes. The results showed that the concordance of training and validation data were 100% and 90%, respectively. Furthermore, renal carcinogens included by non-mutagenic carcinogens were predicted correctly. These results show that this prediction method demonstrate a high predicting performance on all chemical carcinogenicity, regardless of the mutagenicity. In conclusion, the 28-day repeated-dose test combined the gene expression analysis is expected as an effective tool for risk assessment of chemicals.

**PC-66\*****Developmental exposure effect of ochratoxin A on the induction of karyomegaly and cell proliferation activity in renal tubules of rats**

○ Yasuko Hasegawa-Baba<sup>1)</sup>, Takeshi Tanaka<sup>1)</sup>, Sayaka Mizukami<sup>1,2)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>LVP, TUAT., <sup>2)</sup>UGSVS, Gifu U.

We previously reported that adult rats treated with ochratoxin A (OTA), a well known renal carcinogen, for 28 days increase the numbers of karyomegaly, apoptosis, cell cycle-arrested cells and cell proliferation activity in the renal tubular epithelia of the outer stripe of the outer medulla (OSOM). In the present study, we report induction of karyomegaly in the OSOM cells in rat offspring exposed developmentally to OTA. Pregnant rats were treated with diet containing 0, 0.12, 0.6 or 3.0 ppm OTA from gestational day 6 until weaning on postnatal day (PND) 21. The kidney samples were collected for histopathological analysis on HE sections and immunohistochemical analysis of cell proliferation activity. Induction of karyomegaly was observed with small number of dams at 3.0 ppm and many of offspring at  $\geq 0.6$  ppm on PNDs 21 and 77. The incidence and size of karyomegaly showed an increasing tendency at PND 77 as compared with PND 21. Frequency of apoptotic cells was increased only on 3.0 ppm offspring at PND 21. Offspring showed increases in Ki-67<sup>+</sup> proliferative cells on PNDs 21 and 77 and topoisomerase II  $\alpha$ <sup>+</sup> proliferative cells on PND 77. Our results suggest that maternal OTA exposure induced karyomegaly and facilitation of cell cycling from lower doses in offspring. Considering that induction of karyomegaly reflects cell cycle aberration related to carcinogenic responses, OTA exposure from developmental stage may increase the sensitivity against renal carcinogenesis.

**PC-67****Strain difference of the long-term study of potassium octatitanate fibers (TISMO) in the left thoracic cavity.**

○ Masanao Yokohira, Yuko Nakano-Narusawa, Keiko Yamakawa, Nozomi Hashimoto, Shota Yoshida, Shohei Kanie, Katsumi Imaida

Oncopathology, Faculty of Medicine, Kagawa University

Fiber-shaped particles of potassium octatitanate (tradename TISMO; chemical formula  $K_2O \cdot 6TiO_2$ ), which are morphologically similar to asbestos particles, were shown to induce severe proliferative reactions in the pleural mesothelium in a previous experiment carried out over 52 weeks. We investigated the mouse strain differences observable between the biological responses to the direct infusion of the fibers alone into the pleural cavity.

Four strains of female mice, A/J, C3H, ICR, and C57BL, were examined for 457 days after experimental treatment with 3mg/mouse TISMO into the thoracic cavity. TISMO fibers were observed in the alveoli, indicating penetration through the visceral pleura in mice. Atypical mesothelial cells with severe pleural proliferation were observed, but malignant mesotheliomas were not detected. The length of thickening was remarkable in C3H, cell atypia was in A/J, and infiltration of inflammatory cells was in C57BL. The histopathological detection of TISMO fibers in the liver and kidneys of mice indicated migration of the fibers out of the pleural cavity.

In conclusion, the experiment demonstrated the strain difference of the reaction by fiber-shaped TISMO infused into the thoracic cavity. And hazard risk should also take into account that asbestos-like fiber spread to the several organs from the thoracic cavity.

**PC-68****Acute toxicity of different sizes of silver nanoparticle intraperitoneally administered in BALB/c mice**

○ Young-Man Cho, Jun-ichi Akagi, Yasuko Mizuta, Takeshi Toyoda, Kumiko Ogawa

Div. Pathol., Natl. Inst. Health. Sci.

[Background & Aim] When mice were intraperitoneally administrated silver nano particle (AgNP) 10, 60 or 100 nm in diameter, mice treated with AgNP 10 nm were dead or moribund within 24 hours. This study aimed to evaluate the detailed changes and mechanisms of acute toxicity of intraperitoneally administrated AgNP with different sizes in BALB/c mice.

[Materials & Methods] 10, 60 or 100 nm AgNP (0.2 mg/mouse) was intraperitoneally administered to 7-week-old female BALB/c mice (5/group) and then sacrificed 1, 3 and 6 hours after treatment.

[Results] In AgNP 10 nm, reduced activity and piloerection at 5 hour and lowered body temperature at 6 hour were observed. In serum biochemistry at 6 hour, total protein, albumin, total cholesterol, triglyceride and glucose were decreased, and inorganic phosphorus, AST and total bilirubin were increased. In histopathology, congestion, vacuolation and apoptosis in liver, congestion in spleen and apoptosis in thymus cortex and increased cellularity of alveolar walls were found at 6 hour. In AgNP 100 nm, lowered body temperature at 6 hour and increased reactive oxygen species in liver tissue at 1 and 6 hours were observed, but there were no change of histopathology in AgNP 60 and 100 nm.

[Conclusion] Obvious acute toxicity of intraperitoneally administered 10 nm AgNP was reproduced. Since toxicity of intravenously administered AgNP in similar size were not reported, further research including kinetics and distribution is needed.



**PC-69****Carcinogenicity of multi-wall carbon nanotube (CNT) in rats and effect of phenyl N-tert-butyl nitron (PBN)**

○ 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>Dept. Pharm. Environ. Sci. Tokyo, Metropol. Inst. Pub. Health, <sup>2</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>3</sup>Tokyo Univ. Agricul.

[Introduction] CNT induces mesothelioma and lung cancer in the rats, in which underlying mechanisms, chronic inflammation and oxidative stress are supposed to be involved. The present study assessed carcinogenicity of CNT in rats, when intratracheally administered, and effects of an antioxidant, PBN. [Methods] CNT [MWNT-7, 2  $\mu$  m (L), 75 nm (D), Fe 0.344%] was administered to male Han:WIST rats at single i.p. doses of 0 and 0.25 mg/kg body weight, or i.t. doses of 0, 0.01, 0.05 and 0.25 mg/kg body weight once per 4 weeks for 44 weeks. PBN was administered by admixing into the drinking water at the concentration of 0.065% in rats given 0 and 0.25 mg body weight of CNT either i.p or i.t. An experimental period was 104 weeks. [Results and discussion] Incidences of death or being moribund before termination, or the final body weights were not different among groups. Adenomas were frequently observed in pituitary glands and pancreatic islets, in both control and CNT groups. Mesothelioma was significantly induced in 0.25 mg i.p. groups, but only sporadically in i.t. groups. No other neoplastic lesions were generated in relation to the CNT exposure in any organs, and no apparent effect was observed by PBN. It is suggested that carcinogenicity of CNT in rats is low, when intratracheally administered in the current conditions.

**PC-70\*****Time course of carcinogenesis by multi-wall carbon nanotube in rats**

Motoki Hojo<sup>1</sup>, ○ Yoshimitsu Sakamoto<sup>1</sup>, Yukio Yamamoto<sup>1</sup>, Yuko Hasegawa<sup>1</sup>, Yukie Tada<sup>1</sup>, Katsuhiko Yuzawa<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.

[Introduction] Multi-wall carbon nanotube (MWCNT) has been shown to induce mesothelioma in rodents, in association with chronic inflammation. The present study assessed a time course of this carcinogenesis in rats. [Methods] Five-week-old male F344 rats were administered a single i.p. doses of 0 or 1.0 mg/kg body weight of MWNT-7, and sequentially autopsied at 8, 16, 24 and 32 weeks thereafter. Inflammatory and tumor biomarkers' levels were measured in peritoneal lavage fluid. [Results and discussion] Granuloma, stromal thickening and eosinophil infiltration were seen in the peritoneum throughout the study, while focal mononuclear cell infiltration was observed mainly within 16 weeks. At week 16, a thick layer of fibroblast-like cells appeared in the stroma, and hyperplastic mesothelial cells began observed. Mesothelioma was first found at week 24, and its incidence was increased thereafter. Biomarkers' levels were in peritoneal lavage fluid were increased with the peak at week 16. It is thus indicated that under the presence of chronic inflammation, qualitative changes occur in the mesothelial cells and their surrounding microenvironment around week 16, leading mesothelioma induction.

**PC-71****Synthetic A-Mangostin dilauriate strongly inhibits mouse mammary cancer metastasis**○ Masaaki Shibata<sup>1)</sup>, Hitomi Hamaoka<sup>1)</sup>, Yuko Ito<sup>1)</sup>, Munekazu Iinuma<sup>2)</sup>, Yoichi kondo<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Anatomy & Cell Biology, Osaka Medical College, <sup>2)</sup>Gifu Pharmaceutical University

«Background» The pericarp of the mangosteen fruit has a long history of use as a medicinal plant in Southeast Asia. We previously reported that A-mangostin, extracted from the pericarp of mangosteen fruit, exhibited anti-metastatic properties in a mouse model of mammary cancer (BMC Med, 9:e69, 2011). «Purpose» To amplify this anti-metastatic action, we examined the effect of synthetic A-mangostin dilauriate (MGD, addition of medium chain fatty acid to natural A -mangostin) within the same experimental system in which BALB/c mice carrying mammary tumors induced by inoculation of syngeneic BJMC3879Luc2 cells were given dietary MGD at 0, 2000 and 4000 ppm. «Results» Survival rates in the 4000 ppm group were significantly higher than in the control group, and tumor volumes were significantly suppressed at both 2000 and 4000 ppm; MGD also significantly decreased lymph node and lung metastasis in both groups. BrdU-labelling indices in mammary tumors were significantly decreased and the number of the apoptosis was significantly increased at both concentrations of MGD. In addition, tumor microvessel density was significantly decreased dose-dependently and lymphatic vessel invasion was also significantly reduced in MGD-treated animals. Real-time PCR analysis showed elevations in mRNA levels of p21 and GADD45A and a decrease in Cyclin A2. «Conclusions» It appears that synthetic MGD exhibits a much stronger anti-metastatic action than does natural A -mangostin in this mouse model.

**PC-72****Effects of high-fat diet and/or high-sucrose drinking water on PhIP-induced mammary carcinogenesis in (C3HxBALB)N5-*p53*<sup>+/-</sup> mice**○ Toshio Imai<sup>1,2)</sup>, Naoko Higashijima<sup>2)</sup>, Naoaki Uchiya<sup>1)</sup>, Masako Ochiai<sup>2)</sup><sup>1)</sup>Ctr. Animal Div., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., <sup>2)</sup>Dept. Animal Exp., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.

[Aim] As ER/PR-positive mammary carcinogenesis animal models, chemically induced rat models and spontaneous carcinomas in *p53*<sup>+/-</sup> mice with BALB/c background have been reported. In the present study, effects of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-*b*] pyridine (PhIP), which has been reported to be carcinogenic on rat mammary tissue, and high-fat diet and/or high-sucrose drinking water on mammary carcinogenesis were evaluated in (C3HxBALB)N5- *p53*<sup>+/-</sup> mice. [Materials and methods] PhIP (50 mg/kg body weight) were administered to all mice by gavage for 6 times (/2 weeks). The mice were freely accessed to high-fat diet (Quick Fat, Clea Japan; HF), high-sucrose drinking water (10%; HS), HF+HS or basal diet+RO water (control) for 5 weeks (from 5- to 9-weeks-old) and the incidence of mammary carcinomas were compared among the groups. [Results and conclusion] The incidence of histopathologically diagnosed mammary carcinomas were 2/8 (25%), 3/9 (33%), 4/8 (50%) and 3/7 (42%) in the control, HF, HS and HF+HS groups, respectively, and it was suggested that high-sucrose drinking water at early-life stages shows promoting effects of mammary carcinogenesis in *p53*<sup>+/-</sup> mice.

**PC-73\*****Localized amyloidosis in a rat mammary gland tumor**

○ Kazufumi Kawasaki<sup>1)</sup>, Takafumi Oshikata<sup>1)</sup>, Mikio Mitsuishi<sup>1)</sup>, Takeshi Kanno<sup>1)</sup>, Masao Hamamura<sup>1)</sup>, Tomoaki Murakami<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>LSI Medience Corporation,

<sup>2)</sup>Division of Animal Life Science, Institute of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

[Background] Since localized amyloidosis (LA) in rats were reported in 1970s, there have been no descriptions concerning spontaneously occurring amyloidosis in rats. We reported LA in a rat mammary gland tumor obtained in a study conducted from 2006 to 2008 to obtain background data for a 2-year carcinogenic study. [Materials and methods] Formalin-fixed and paraffin-embedded sections of adenocarcinoma in the mammary gland of a female Sprague-Dawley rat which died at 108-week-old were stained with HE and Congo red (CR). Ultrathin sections of formalin-fixed tissues were examined by a transmission electron microscope. [Result] Eosinophilic amorphous substances were observed in the stroma and lumen of the acini. In addition, concentrically laminated bodies (corpora amyloacea; CA) and needle-like crystals were also observed in the lumen of the acini. These eosinophilic substances stained positive with CR and had green birefringence under polarized light. Ultrastructurally, accumulation of unbranched fibrils having a diameter of approximately 10 nm was observed. Amyloid deposition was not detected in any other organs or tissues. [Discussion] In rat mammary gland, CA in the lumen of the acini has been known to contain amyloid; however, there were no amyloid deposition in the stroma. This is an extremely rare case, which was diagnosed as LA in adenocarcinoma of the mammary gland. Analysis of amyloid precursor protein is ongoing.

**PC-74\*****Essential role of a NADPH oxidase inhibitor, Apocynin, to suppress the earlier stage of Dimethylarsinic acid-induced rat urinary bladder carcinogenesis**

○ Kenji Kumada, Kenichiro Doi, Masaki Fujioka, Min Gi, Masanori Takeshita, Hideki Wanibuchi

Dept. Mol. Path., Osaka City Univ. Graduate Sch. Medicine

Although arsenic exposure can cause urinary bladder cancer in humans, the carcinogenic mode of action largely remains to be elucidated. So far, we demonstrated an organic arsenic compound dimethylarsinic acid (DMA<sup>V</sup>), a major metabolite of ingested inorganic arsenic, to cause bladder cancer in rats. Similarly, it is probable that DMA<sup>V</sup> is a major causative agent for bladder cancers in humans exposed to arsenic. Recently, involvement of oxidative stress has been established. Here, we examined the effect of a NADPH oxidase inhibitor, Apocynin, to modulate DMA<sup>V</sup>-induced oxidative stress and cell proliferation. A total of 60, male F344 rats at 6 weeks of age were divided into 3 groups. G1 was no-treated control, G2 and G3 were administered DMA<sup>V</sup> (150ppm) in drinking water, and G3 was also injected with apocynin (15mg/kg, 5 times/week, i.g). Eight rats from each group were killed at week 2 for 8-OHdG analysis by HPLC and remaining animals were sacrificed at week 4. As a result, DMA<sup>V</sup> significantly upregulated the 8-OHdG levels, while co-administration with apocynin revealed a significant suppression. Similarly, a significant elevation in PCNA-positive indices was observed in G2, while values in G3 were significantly decreased. In conclusion, apocynin may suppress bladder carcinogenesis via the suppression of oxidative stress and cell proliferation. It can be stressed that constant intake of antioxidant would be chemopreventive to bladder carcinogenesis exposed to environmental arsenic.

**PC-75****5-hexenyl isothiocyanate, natural flavoring agent from *Wasabia japonica*, causes urinary bladder hyperplasia in F344 rats by 13-week oral administration**

○ Jun-ichi Akagi, Yasuko Mizuta, Takeshi Toyoda, Young-Man Cho, Kumiko Ogawa

Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

[Background & Aim] 5-hexenyl isothiocyanate (5-HeITC) is a flavoring agent from wasabi. While JECFA has evaluated that the current estimated level of intake of 5-HeITC do not give rise to safety concerns, there are no experimental evidences for toxicological properties of 5-HeITC. Therefore, we performed 13-week subchronic toxicity study by oral administration of 5-HeITC to F344 rats to establish the NOAEL. [Materials & Methods] 0, 3, 12, or 48 mg/kg 5-HeITC was orally administered to 6-week-old male (M) and female (F) F344 rats for 13 weeks. [Results] Body weight gain was decreased in M 48 mg/kg group from the 5th week. In serum biochemistry, decrease of TG was observed in M 12 and 48 mg/kg and F 48 mg/kg groups, and decrease of T-Chol was observed in M 48 mg/kg group. In organ weights, decrease of relative brain weight was observed in M 12 and 48 mg/kg groups. Increases of relative brain, liver, kidneys, adrenals, and testes weights and decrease of absolute heart weight was also observed in M 48 mg/kg group. Increases of absolute heart weight and relative heart and liver weights were observed in F 12 and 48 mg/kg groups. Increase of absolute liver weight was also observed in F 48 mg/kg group. In histopathology, simple hyperplasia in urinary bladder was found in M and F over 12 mg/kg groups, and PN hyperplasia was found in 48 mg/kg group. [Conclusion] Oral administration of 5-HeITC over 12 mg/kg causes urinary bladder hyperplasia. The NOAEL of 5-HeITC was estimated to be 3 mg/kg.

**PC-76\*****Examination of *in vivo* mutagenicity of DMMTA in rat urinary bladder with direct transurethral bladder exposure method**

○ Masaki Fujioka, Min Gi, Satoko Kawachi, Takahiro Okuno, Kenji Kumada, Masahiko Kushida, Hideki Wanibuchi

Dept. Mol. Path Osaka city univ. grad. sch. med.

DMA<sup>V</sup>, a main metabolite of inorganic arsenic, is carcinogenic to the urinary bladder of rats. DMMTA, a metabolite of DMA<sup>V</sup>, has strong cytotoxicity and clastogenic activity. Therefore, DMMTA may play an important role in the arsenic-induced bladder carcinogenesis. But, *in vivo* mutagenicity in rat urinary bladder epithelial is not concerned. The reasons include that most are metabolized to DMA<sup>V</sup> when DMMTA is administered orally and do not reach the bladder. In this study, we examined *in vivo* mutagenicity of DMMTA in rat urinary bladder epithelium. 10 weeks of age female F344 rats with bladder as an empty state by forced urination were transurethral intubated and injected DMMTA addition urine to bladder under anesthesia. Arsenic metabolites in urine were examined in ICP-MS. As a result, urinary DMMTA concentrations depended on the dose and urinary DMMTA total amount was the almost same. Furthermore, the quantity of DMMTA in the urinary bladder epithelium did not have a change. Therefore, it was found that our method could examine effect of DMMTA stably and directly in the bladder under this condition. Then, we examined *in vivo* mutagenicity in the urinary bladder epithelium in the 10 weeks of age female *gpt* delta F344 rats which DMMTA exposed twice a week for four weeks. As a result, in DMMTA treatment group, there were no significantly difference of mutation frequency. Therefore, it was suggested that DMMTA has a lack of *in vivo* mutagenicity in rat urinary bladder epithelium.

**PC-77\*****The physiological effect of 4-Methylthio-3-butenyl isothiocyanate with  $\alpha$ -cyclodextrin**

○ Shoko Ino<sup>1)</sup>, Hinako Okamoto<sup>2)</sup>, Naoko Ikuta<sup>3)</sup>, Keiji Terao<sup>2)</sup>, Norihiro Sakamoto<sup>3)</sup>, Yutaka Yoshikawa<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup>Kobe Woman's University, <sup>2)</sup>CycloChem Bio Co., Ltd., <sup>3)</sup>Grad Sch of Med, Kobe Univ,

<sup>4)</sup>Grad Sch of Sci of Health and Nutrition, KWU

4-Methylthio-3-butenyl isothiocyanate (MTBI) is the pungent and bioactive component in daikon oroshi. However, MTBI is unstable in daikon oroshi including a lot of water. In this study, we evaluated stabilization of MTBI in daikon oroshi by complexation with  $\alpha$ -cyclodextrin (CD), MTBI-CD, and physiological effect of MTBI-CD on C57BL/6J mice. C57BL/6J mice fed normal-diet (normal group), high-fat diet (control group) or high-fat diet with MTBI-CD (MTBI-CD group) for 16 weeks. After feeding, physical parameters and blood profiles were measured. As a result, final body weight and epididymal white adipose tissue weight were significantly lower in the MTBI-CD group compared to the control group. The white adipose tissue size of MTBI-CD group on hematoxylin and eosin stained was not different from the normal group but was significantly smaller than the control group. Furthermore, plasma triglyceride and total cholesterol levels of the MTBI-CD group were significantly lower than the other two groups. Now we evaluate the size of pancreatic islet, we will exhibit the result in this conference.

**PC-78\*****Influences of high fat diet including coconut oil on bone and lipid metabolism**

○ Chiharu Myo<sup>1)</sup>, Akira Onodera<sup>2)</sup>, Yutaka Yoshikawa<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup>Faculty of Health and Welfare, Kobe Woman's University, <sup>2)</sup>Faculty of pharmaceutical, Kobe Gakuin Univ,

<sup>3)</sup>Grad School of Science of Health and Nutrition, Kobe Women's University

An osteoporotic patient is approximately 10 million people in Japan, and 90% is a woman. Moreover, in recent years, patient with postmenopausal osteoporosis increased, because the women live for a long time. The elderly women may fall into a walk difficulty and need of nursing care state by a bone fracture, if they develop the osteoporosis. Thus, it is important that the people try for the prevention of the osteoporosis. We wanted to prevent osteoporosis from the viewpoint of everyday eating habits and paid our attention to the coconut oil which was high-profile material. We divided ICR mouse into 6 groups (sham-operation + lard, + olive oil, + coconut oil, oophorectomy + lard, + olive oil, + coconut oil). We fed the water and HF diet (40% oil). After administration, we collected the blood and dissected a mouse. About a bone, we measured the bone strength with a bone break machine. The liver tissue stained with hematoxylin and eosin and evaluated the area of fat deposition. The mice fed the coconut oil increased the bone strength and the blood osteocalcin level. Moreover, accumulation part of the fat in the liver was different by the difference in kind of the oil. In conclusion, it was suggested that coconut oil was useful for the prevention of the osteoporosis with high fat condition.

**PC-79****The kinetics of macrophages and mesenchymal cells in dibutyltin dichloride-induced rat pancreatic fibrosis**

○ Ai Hashimoto, Alexandra Ioana Bondoc, Mohammad Rabiul Karim, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

<Purpose> Pancreatic fibrosis is the chronic lesion developed from acute pancreatitis, of which the pathogenesis remains to be investigated. Macrophages and mesenchymal cells play important roles in the fibrosis. Herein, we investigated the kinetic of macrophages and mesenchymal cells, which can produce collagens, in dibutyltin dichloride (DBTC)-induced rat pancreatic fibrosis. <M. & M.> Eight-week-old F344 male rats were injected once with DBTC (4 or 8 mg/kg/BW, i.v.) and pancreas were obtained on post-days 1-15. <Results> Because pancreatic lesions were diverse case by case regardless dose and term, the fibrosis was graded histopathologically by 1, 2 and 3. CD68-positive macrophages were increased from grade 1, and macrophages reacting to CD163, Iba-1, CD204 and MHCII showed increase from grade 2. Inflammatory factors such as MCP-1, IL-6, IL-10 and IL-1 $\beta$  were up-regulated with grades. Mesenchymal cells showed positive reactions to vimentin, desmin and  $\alpha$ -SMA in a grade-dependent manner. TGF- $\beta$ 1 was increased slightly from grade 2. GFAP (pancreatic stellate cells) and Thy-1 (CD90) (immature mesenchymal cells) were also incremented slightly with grades. Interestingly, LC3B-positive autophagosomes appeared in exocrine gland cells in the injured area. <Conclusion> In chemically-induced pancreatic fibrosis, macrophages with various immunophenotypes were seen with grades; desmin- and  $\alpha$ -SMA-reacting mesenchymal cells possessing myofibroblastic nature participated in the lesion.

**PC-80\*****Relationship between neoplastic cells and cancer-associated fibroblast-like (CAF) cells, established from amelanotic melanoma in rat**

○ Alexandra Bondoc, Munmun Pervin, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

CAFs are thought to play important roles in tumor progression. Two cloned cell lines (RMM-A1 and RMM-CAF) were obtained from a previously established rat amelanotic melanoma cell line. RMM-A1 cell line was tumorigenic, and the chromosome number was mainly between 66-70, indicating numerical aberrations. RMM-A1 cells were immunocytochemically positive to vimentin, galectin-3 and nestin. The chromosome number of RMM-CAF was 42 (normal number), and the cell line was non-tumorigenic, showing positive reactions for alpha-SMA (myofibroblasts). RMM-CAF cells were regarded as CAFs in RMM tumor tissues. RMM-CAF cells were co-cultured with RMM-A1 neoplastic cells. Real-time RT-PCR showed that the levels of tumor-promoting cytokines (TGF-beta1, M-CSF, Galectin-3), chemokines (CCL-5, CXCL-1, CXCL-2), and tumor invasiveness-related factors (MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2) were significantly up-regulated in co-cultured RMM-CAF cells. Moreover, the neoplastic RMM-A1 cells had a significantly higher migration activity in the presence of RMM-CAF cells. These results indicated that the association of CAFs with neoplastic cells may play important roles in melanoma progression, indicating the importance of tumor microenvironments and making CAFs a possible target to suppress tumor growth.

**PC-81****Histopathology of a monkey osteoarthritis model induced by monoiodoacetic acid**

○ Takashi Kotera<sup>1)</sup>, Shizuka Konishi<sup>1)</sup>, Shiho Motono<sup>1)</sup>, Tatsuya Oyama<sup>1)</sup>, Shinya Ogawa<sup>2)</sup>, Hiroyuki Takamatsu<sup>2)</sup>, Makoto Ueda<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Pharmacokinetics and Safety Assessment Dept., Nippon Shinyaku Co., Ltd., <sup>2)</sup>Hamamatsu Pharma Research, Inc.

[Background/Aim] As an animal model of osteoarthritis (OA), rats treated with monoiodoacetic acid (MIA) have been commonly used. We have developed a new monkey OA model induced by MIA and investigated the histopathological features of the model and the morphological improvement effect of diclofenac.

[Materials and Methods] MIA (90 mg/animal) was intra-articularly injected into the left knee joint of female cynomolgus monkeys (Day 0). Methyl cellulose (MC; 0.5%) or Diclofenac (1 mg/kg) was administered by oral gavage to animals once daily for 35 days (Day 1 to Day 35). On Day 36 or 37, the animals were euthanized and the left and right knees were removed and examined histopathologically.

[Results] Loss/decrease and disarrangement of chondrocytes and pale-staining matrix were observed in the articular cartilage of the left knee joint of animals treated with 0.5% MC. These changes were diminished by diclofenac treatment. No histopathological abnormality was noted in the right knee joint of any animals.

[Conclusion] In monkey articular cartilage, MIA treatment induced a loss/decrease of chondrocytes and changes indicating a deterioration of the matrix. These changes are similar in form to the pathological changes of human OA characterized by articular cartilage degeneration. Because diclofenac, which is widely used to treat human OA, showed improvement in these changes in this monkey model, the model may be a useful tool for assessing the efficacy of drug candidates.

**PC-82\*****Pathological research of tubular aggregate occurring in skeletal muscles of NOG mice**

○ Saori Igura<sup>1)</sup>, Kenichiro Kasahara<sup>1)</sup>, Yachiyo Fukunaga<sup>1)</sup>, Masahiko Yasuda<sup>2)</sup>, Ryo Inoue<sup>2)</sup>, Kazutoshi Tamura<sup>1)</sup>, Mariko Nagatani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>BoZo Research Center Inc., <sup>2)</sup>Central Institute for Experimental Animals (CIEA)

Aim: Histopathological examinations of the eosinophilic substances in the femoral skeletal muscle fiber of NOG mice were conducted. The results are reported. Materials and Methods: The femoral skeletal muscles of untreated NOG mice at 7, 26 or 52 weeks of age were examined histopathologically, and for some animals, the tissues were examined ultrastructurally. Results: Histopathologically, it was characterized by the large vacuoles containing homogeneous and amorphous eosinophilic materials in the muscle fibers. However, they had no clear reactive changes such as degeneration/necrosis of muscles and inflammation. Ultrastructurally, methodical accumulation of tubular structure was observed. In the mice of 52 weeks of age, myelin figures in the accumulations and amorphous materials with high electron density outside the accumulations were observed occasionally, and the severity of such changes was higher in males in 52 weeks of age than in males at the time of 26 weeks of age. Conclusion: The eosinophilic substances in the muscle fibers in NOG mice were accumulation of tubular structures in electron microscopic examination, and identical with those reported as tubular aggregates (TAs). TAs was reported to increase in association with aging in the wild type male mice. However, differently from the mice of wild types, they were also observed in females in 52 weeks of age in the NOG mice and myelin figures and high electron density materials were observed ultrastructurally.

**PC-83\*****Subcutaneous tumor associated with microchip implant in a C57BL/6J mouse**○ Ryuichi Nakamura<sup>1</sup>, Shiori Egashira<sup>2</sup>, Tomonari Nishimura<sup>3</sup>, Toshimasa Jindo<sup>3</sup>, Hiroyuki Ogasawara<sup>3</sup><sup>1</sup>Asubio Pharma co., ltd. Regenerative Medicine Field, <sup>2</sup>Immunology & Inflammatory Disease Field,<sup>3</sup>Drug Discovery Technology Function

<Introduction>Microchip implant-induced subcutaneous tumors in mice have been rarely reported. In this case report, we investigated the detail of a subcutaneous tumor associated with microchip implant in a C57BL/6J strain mouse.<Method> An untreated male C57BL/6J transgenic mouse, heterozygous for gene X, was implanted an identification microchip in the dorsal region at 4 weeks-old. In this mouse, a nodule was found in dorsal skin at 71 weeks-old, and then the mouse was necropsied and examined histopathologically.<Results and Discussion> At necropsy, a subcutaneous mass surrounding the microchip was found. In histopathological examination with H&E staining, proliferative cells in the mass were arranged by irregular interlacing bundle, and invaded into dermis. These cells were spindle or oval shaped with enlarged cigar-shaped or small oval nuclei. Large number of mitotic figures and necrosis were observed. Masson's trichrome stain showed the collagen fiber formation surrounding the microchip and interlacing bundle of proliferative cells. Immunohistochemical analyses revealed these cells were positive for  $\alpha$ -smooth muscle actin, vimentin, and negative for desmin, S100 and myogenin. Therefore this tumor was diagnosed as leiomyosarcoma. We discuss the characteristic of microchip implant-associated leiomyosarcoma in C57BL/6J mouse, with ultrastructural examination.



## 著者索引

## A

阿部 一	PA-01
阿部 正義	PA-24
足立 健児	PB-48
相磯 成敏	PA-07、PA-08、PA-09、PA-10
赤木 純一	PC-58、PC-63、PC-68、PC-75
赤根 弘敏	PA-11
秋江 靖樹	PA-11
審 一慧	PB-52
天沼 利宏	PA-04
Amouyal, Netanel	PA-20
安藤 さえこ	PB-33、PB-40
安齋 享征	PA-18
麻生 良平	PA-17
新 真智	PB-54

## B

Bahrar, Harsh	PA-21
Bondoc, Alexandra	PB-46、PC-79、PC-80
Brand, Toni M.	PA-21

## C

Chambers, James	PA-05、PA-14
千野 直孝	PA-17
Cho, Young-Man	PC-58、PC-63、PC-68、PC-75
Coan, John P.	PA-21

## D

土井 賢一郎	PC-74
土肥 孝彰	PA-12
土居 卓也	PA-15

## E

江田 景	PA-11
枝元 洋	PA-06
江頭 志織	PC-83

## F

湖上 貴美子	PB-47
不二 哲	PB-31、PC-56
藤井 悦子	PC-60
藤木 勝也	PA-26

藤岡 正喜

PB-28、PB-30、PC-74、PC-76

深町 勝巳 PB-33、PB-40

福永 八千代 PC-82

福島 昭治 PA-07、PA-08、PA-09、PA-10

福島 民雄 SY3-3、PA-23

Flanigan, Bailey G. PA-21

古川 賢 PA-22、PA-24、PA-25

二口 充 PB-33、PB-40

## G

魏 民

PB-28、PB-29、PB-30、PC-74、PC-76

後藤 典子 SY4-2

Greeley, Melanie A. LS-3

Grimes, Sheila LS-2

## H

萩原 仁美 PA-17

箱井 加津男 PA-03、PA-16

浜村 政夫 PC-73

濱岡 仁美 PC-71

花房 弘之 PA-23

原 明 PB-32

原 慎太郎 PB-47

長谷川 悠子 PC-70

長谷川 也須子 PB-36、PC-66

橋本 愛 PC-79

畠山 洋文 PA-13、PA-18、PA-19

早川 将史 PB-31、PC-55

林 仁美 PB-47

林 清吾 PA-24

林 新茂 PB-51

林 修次 PB-48

東島 直子 PC-72

平光 彩乃 PA-22

平田 暁大 PB-32

広瀬 明彦 PC-69、PC-70

菱川 敦子 PA-23

Horak, Ivan D. PA-21

北條 幹 PC-69、PC-70

堀川 真一 PA-18

星谷 達 PA-06

橋本 希 PC-67

## I

市居 修 SY3-1

市川 敦子 PA-11

市川 (加藤) 智彩 PB-34

市村 英資 PB-47

井口 拓馬 SY3-2

大塚 (出田) まき PA-01

五十嵐 勝秀 PA-01

飯河 直子 PB-47

伊倉 佐織 PC-82

Iida, Mari PA-21

飯沼 宗和 PC-71

生田 直子 PC-77

今井 大貴 PC-62

今井 順 PA-02

今井 俊夫 PC-72

今井田 克己 PC-67

稲垣 浩二 PB-38

稲井 洋平 PB-54

猪野 祥子 PC-77

猪又 明子 PC-69、PC-70

井上 薫 PC-58

井上 亮 PC-82

井上 紗季 PA-13

入江 浩大 PA-24

石井 雄二 PB-37、PB-39

石井 幸仁 PB-53

磯部 厚志 PA-17

伊藤 恒夫 PB-48

伊藤 裕子 PC-71

伊藤 格 PA-02

岩田 聖 PA-13、PA-18、PA-19

井澤 武史

SY3-4、PB-34、PB-44、PB-46、

PB-54、PC-59、PC-79、PC-80

Izrael, Michal PA-20

## J

神藤 敏正 PC-83

## K

角田 茂 SL

甲斐 美穂 PA-17

梶村 哲世 PA-13、PA-19

楫野 恵美子 PA-11

梯 アンナ PB-28、PB-29、PB-30

柿本 恒知 PB-38

金原 智美	PA-02
金子 善興	PA-27
蟹江 尚平	PA-03、PA-16
蟹江 尚平	PC-67
菅野 純	PA-07、PA-08、PA-09、PA-10
菅野 剛	PA-15、PC-73
Karim, Rabiul M.	PB-44、PB-46、PC-59、PC-79
笠原 健一郎	PC-82
片桐 卓	PA-07、PA-08、PA-09、PA-10
加藤 淳彦	PB-48、PC-60
加藤 寛之	PC-55、PC-57、PC-58
加藤 祐樹	PA-23、PC-64
河内 聡子	PB-30、PC-76
河本 晴香	PC-62
川追 一史	PC-73
川瀬 貴博	PB-43
剣持 佑介	PB-38
煙山 紀子	PB-50
木島 綾希	PB-37、PB-39
Kimple, Randy J.	PA-21
木村 均	PA-02
木村 真之	PA-24
北野 光昭	PB-28
小林 洋之	PA-02
兒玉 安史	PB-41、PB-42
古賀 真昭	PC-59
小泉 治子	PA-13、PA-18、PA-19
小松 弘幸	PA-11
近藤 洋一	PC-71
近藤 豊	SY4-3
小西 静香	PC-81
小坂 威雄	SY4-4
小寺 喬	PC-81
Kragh, Michael	PA-21
熊田 賢次	PC-74、PC-76
熊谷 文明	PC-61
久米 英介	PA-26
國枝 正幹	PA-11
久野 壽也	PB-31、PC-55、PC-56、PC-57
倉持 瑞樹	PB-34、PB-46、PC-59
黒滝 哲郎	PA-15
串田 昌彦	SY3-4、PC-76
桑形 麻樹子	PC-61
桑村 充	SY3-4、PB-34、PB-44、PB-46、PB-54、PC-59、PC-79、PC-80

**L**

LaMarre, Jonathan	KL
Lantto, Johan	PA-21

**M**

前田 高宏	SY4-4
牧野 絵美	PB-51
Maronpot, R. R.	EL
丸山 早斗	PB-42
升島 努	PB-35
松本 晴年	PB-33、PB-40
松本 博士	PC-65
松本 雅彦	PB-48
松尾 沙織里	PB-48
松下 幸平	PB-49、PC-58、PC-63
松浦 哲郎	PB-41、PB-42、PB-52
松坂 賢	PB-50
満石 三喜男	PC-73
三輪 恭嗣	PA-05
宮嶋 哲	SY4-4
美谷島 克宏	PB-50、PB-53
宮坂 勇一郎	PB-35
宮田 眞衣	PC-62
宮崎 茂	SY2-2
宮崎 登志子	PA-26
水上 さやか	PB-36、PC-66
水田 保子	PC-63、PC-68、PC-75
森川 朋美	PB-49、PC-63
森田 文雄	PA-03、PA-16
諸木 孝泰	PA-12
元野 志保	PC-81
Mowat, Vasanthi	LS-4
村井 厚子	PB-32
村上 智亮	PC-73
村澤 寛泰	PA-02
村瀬 詩織	PA-02
村山 宗理	PB-51
明 千晴	PC-78

**N**

長井 寛明	PA-04
永池 美香	PA-25
長野 嘉介	PA-17
長田 浩彦	SY4-4
永谷 真理子	PC-82
内木 綾	PB-31、PC-55、PC-56、PC-57
中江 大	PB-50、PB-53、PC-69、PC-70
中川 嘉	PB-50
中村 明子	PB-38

中村 隆一	PC-83
中村 進一	PB-43
仲辻 俊二	LS-1
成澤 裕子	PC-67
中島 亘	PA-14
中谷 (バブラック) 晶子	PA-02
中山 裕之	PA-05、PA-14
並木 健吾	PB-32
二瓶 和美	PA-14
二宮 美美子	PA-03、PA-16
西原 香織	PB-48、PC-60
西川 秋佳	PB-37、PC-58、PC-63
西村 享平	PA-23
西村 友成	PC-83
仁科 嘉修	PB-34
能美 健彦	PB-37
野宮 奈菜	PC-62
野村 耕二	SY2-4
野々垣 常正	PB-45
Nyska, Abraham	PA-20

**O**

落合 雅子	PC-72
小笠原 裕之	PC-83
緒方 敬子	SY3-4
小川 久美子	PB-37、PB-39、PB-49、PC-58、PC-63、PC-68、PC-75
小川 真弥	PC-81
小川 哲郎	PC-61
大地 祥子	PB-54
大野 耕一	PA-14
大塚 亮一	PB-51
太田 毅	PB-53
大石 祐司	PB-28
大家 基嗣	SY4-4
岡本 陽菜子	PC-77
岡野 拡	PA-06
奥田 須美子	PA-11
奥田 智彦	PC-64
奥田 祐司	PB-47
奥野 高裕	PB-29、PC-76
恩田 伸彦	PA-27
大野 祐子	PA-26
小野寺 章	PC-78
Orbuch, Rachel A.	PA-21
押方 孝文	PC-73
尾山 達哉	PC-81
尾崎 清和	PA-25、PB-41、PB-42、PB-52
小関 由妃子	PA-11

**P**

Pearson, Hannah E.	PA-21
Pervin, Munmun	PB-44, PB-46, PC-80
Potentia, Daniel	PA-18
Prabakaran, Prashanth J.	PA-21

**R**

Ramot, Yuval	PA-20
利谷 枝里子	PB-38

**S**

齋藤 文代	PC-65
斎藤 翼	PA-14
斎藤 翼	PA-06
斎藤 義明	PA-17, PC-61
酒井 洋樹	PB-32
坂本 憲広	PC-77
坂本 義光	PC-69, PC-70
桜井 淳一	PA-18
Salgia, Ravi	PA-21
佐々木 朋	PA-12
笹谷 めぐみ	PB-35
佐藤 寛子	PA-26
佐藤 順子	PA-15
佐藤 伸一	PA-13, PA-18, PA-19
佐藤 洋	PC-62
Schiffenbauer, Yael	PA-20
妹尾 英樹	PA-07, PA-08, PA-09, PA-10
瀬沼 美華	PC-61
時 亮	PB-37
柴田 雅朗	PC-71
渋谷 淳	PA-01, PA-27, PB-36, PB-51, PC-66
島野 仁	PB-50
清水 茂一	PA-11
下井 昭仁	PA-13, PA-18
篠塚 淳子	PB-48
篠島 利明	SY4-4
代田 欣二	SY2-3
正田 俊之	PB-38
曾根 瑞季	PB-49, PC-58, PC-63
早場 純子	PA-17
杉山 晶彦	PA-22, PA-24
酒々井 眞澄	PB-33, PB-40
鈴木 勇	PA-06
鈴木 雅実	PB-48, PC-60
鈴木 智	PA-03, PA-16

鈴木 周五	PB-31, PC-55, PC-56, PC-57, PC-58
煙山 紀子	PB-53
Swick, Adam D.	PA-21

**T**

多田 幸恵	PC-70
多胡 善幸	PB-30
西本 大輝	PB-41, PB-42
高橋 明美	PB-38
高端 厚子	PB-35
高橋 智	PB-31, PC-55, PC-56, PC-57, PC-58
高松 宏幸	PC-81
高野 裕久	SY1-3
高信 健司	PA-07, PA-08, PA-09, PA-10
高須 伸二	PB-37, PB-39
武田 周二	SY3-4
武井 由弘	PA-13
竹岡 勇樹	PA-22
武下 正憲	PC-74
竹内 崇	PA-22
武吉 正博	PC-65
田村 一利	PC-82
田中 英樹	PA-03, PA-16
田中 雅治	PA-26
田中 美妃	PB-45
田中 猛	PC-66
谷村 信彦	SY2-1
田崎 雅子	PA-17
辰巳 久美子	PB-28, PB-29, PB-30
寺尾 壽子	PA-17
寺尾 啓二	PC-77
寺山 由依	PB-42, PB-52
等々力 舞	PC-61
富田 弘之	PB-32
殿村 優	PA-23
豊國 伸哉	SY1-2
豊田 薫	PB-38
豊田 武士	PB-49, PC-58, PC-63, PC-68, PC-75
土谷 稔	PA-15
土屋 卓磨	PB-37
塚原 隆充	PB-43
水流 功春	PA-20
内田 和幸	PA-05, PA-14

打屋 尚章	PC-72
上田 誠	PC-81
上野 博夫	SY4-1
上野 元伸	PA-23
梅田 ゆみ	PA-07, PA-08, PA-09, PA-10
梅村 隆志	PB-37, PB-39
畝山 瑞穂	PA-05

**W**

鰐淵 英機	SY1-1, PB-28, PB-29, PB-30, PC-74, PC-76
渡辺 敦光	PB-35
渡辺 純	PA-13
渡部 一人	PC-60
渡邊 洋祐	PA-01, PA-27, PB-36
Wheeler, Deric L.	PA-21

**Y**

矢作 直也	PB-50
山田 直明	PA-15
山口 貴嗣	PB-28
山口 達弘	PC-64
山口 裕子	PA-06
山川 けいこ	PC-67
山川 誠己	PA-06
山本 行男	PC-70
山下 由真	PA-12
山手 丈至	SY3-4, PB-34, PB-44, PB-46, PB-54, PC-59, PC-64, PC-79, PC-80
柳井 徳磨	PB-32
保田 昌彦	PC-82
安井 雄三	PB-38
横平 政直	PC-67
横尾 諭	PB-39
吉田 綾恵	PB-48
吉田 緑	SY1-4
吉田 しおり	PA-04
吉田 翔太	PC-67
吉田 翔太	PA-03, PA-16
吉田 敏則	PA-01, PB-36, PB-51, PC-66
吉川 豊	PC-77, PC-78
吉峰 俊輔	SY4-4
吉光 仁美	PA-04
吉岡 弘毅	PB-45
吉栖 正生	PB-35
湯澤 勝廣	PC-70



# 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

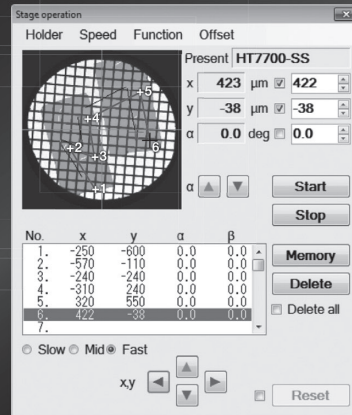
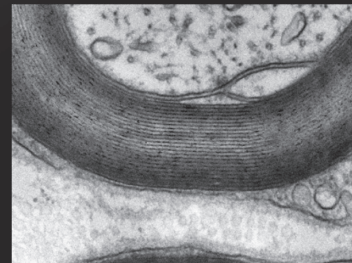


図:グリッド像取得機能 (Whole View)



試料:ラット坐骨神経 (無染色)  
加速電圧:80 kV 倍率:× 25,000

## グリッド像取得機能 (Whole View)

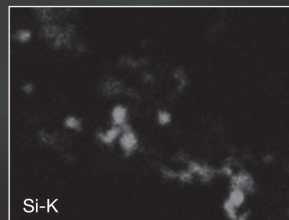
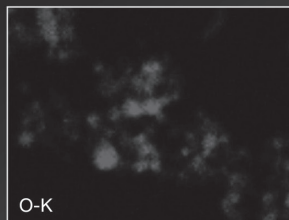
グリッド像全景 (Whole View) をStage Operation画面に貼り込むことができます。マイクロレース機能との組み合わせにより、現在の試料観察領域、観察済と未観察の領域とを容易に確認でき、効率良く、かつ確実に観察作業が行えるようになりました。

## 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。



1 μm



1 μm

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・技術情報をご紹介する技術機関誌です。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/)



高度生命科学で新時代を拓く

 Phoenix Bio

ヒト肝細胞キメラマウス

# PXBマウス®

私たちは PXB マウス® と、  
その試験サービスを高い品質で提供しています



PXBマウス®は、肝臓の70%以上がヒト肝細胞に置換されたマウスです。

PXBマウス®は医薬品研究開発の様々な場面で利用されています。

当社では、PXBマウス®を用いた医薬品開発研究への  
受託サービスを提供しています

- ① 薬物動態関連試験
- ② 安全性試験(肝毒性試験)
- ③ 肝炎ウイルス(HBV、HCV)関連試験
- ④ ヒト特異的な核酸、蛋白を標的とする核酸、抗体、分子標的医薬品の有効性、安全性試験
- ⑤ PXBマウス®から採取した新鮮ヒト肝細胞(PXB-cells®)を利用した*in vitro*試験

お問い合わせ・資料請求先

 Phoenix Bio

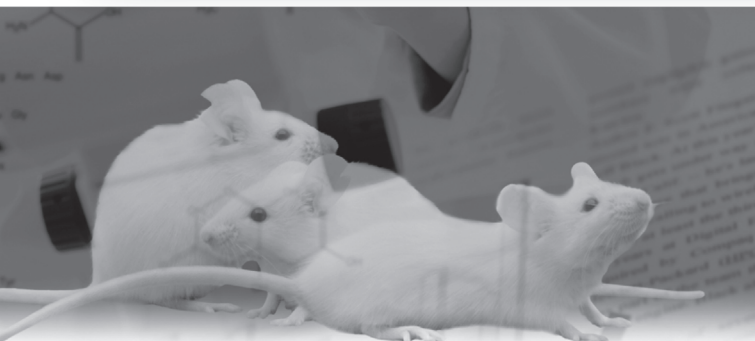
株式会社フェニックスバイオ

本社：広島県東広島市鏡山3丁目4番1号

TEL 082-431-0016 FAX 082-431-0017

Email : [sales@phoenixbio.co.jp](mailto:sales@phoenixbio.co.jp)

<http://phoenixbio.co.jp>



## 動物病理学総論 第3版 日本獣医病理学専門家協会（編）

『動物病理学総論 第2版』（2001年刊）を全面改訂。関連諸科学領域の情報を積極的に取り入れ、さらにコアカりに準拠するよう編集した動物病理学のテキスト。進歩しつつある学問分野の理解に必携の書です。

定価 8,640 円（本体 8,000 円＋税） ISBN 978-4-8300-3245-5（2013年4月発行）

## 動物病理学各論 第2版 日本獣医病理学専門家協会（編）

『動物病理学各論』の改訂版。臓器、組織の疾病別にその病理変化を解剖、生理的な部分も含め解説。また、多くの臓器、組織に及ぶ疾病については、「解説」の項目を設け独立させ、詳しい解説をしたコアカりに準拠のテキスト。

定価 9,720 円（本体 9,000 円＋税） ISBN 978-4-8300-3256-1（2010年4月発行）

## 動物病理カラーアトラス

日本獣医病理学専門家協会（編）

『獣医病理組織カラーアトラス』に新しい病例、肉眼所見の写真を多数追加。世界でも類をみない動物病理学のカラーアトラス。

定価 16,200 円（本体 15,000 円＋税） ISBN 978-4-8300-3208-0（2007年2月発行）



弊社ホームページをぜひご覧下さい

 文永堂出版

〒113-0033 東京都文京区本郷 2-27-18  
URL <https://bun-eido-shuppan.com>

TEL 03-3814-3321  
FAX 03-3814-9407

## 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

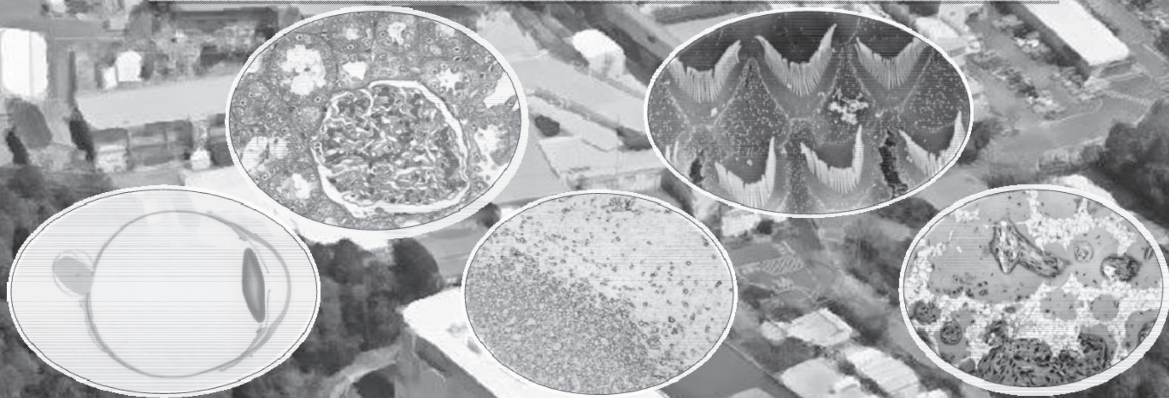
〒873-0511  
大分県国東市国東町小原1200-2

TEL:0978-72-0454 FAX:0978-72-2320  
E-Mail: [mail@biopathology.jp](mailto:mail@biopathology.jp)  
URL : <http://www.biopathology.jp>



# 株式会社新日本科学

SNBLは優れた病理標本作製技術で  
あなたの研究を支えます。



お問い合わせ先 <http://www.snbl.com>

E-mail: [info@snbl.co.jp](mailto:info@snbl.co.jp)



本店/安全性研究所

〒891-1394 鹿児島県鹿児島市宮之浦町2438

電話:099-294-2600 ファクシミリ:099-294-3619

東京本社

〒104-0044 東京都中央区明石町8-1 聖路加タワー 12階

電話:03-5565-6140 ファクシミリ:03-5565-6141

薬物代謝分析センター

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

電話:073-483-8881 ファクシミリ:073-483-7377

大阪支社

〒541-0044 大阪市中央区伏見町2-1-1 三井住友銀行高麗橋ビル

電話:06-6233-8432 ファクシミリ:06-6233-8433

 Bristol-Myers Squibb

医療の進歩した現代社会においても

いまだ根本的な治療法が見つからない、深刻な病と闘う方々があります。  
不安を抱えた患者さんご家族の、より良い明日を育むため、  
私たちは挑戦し続けます。

私たちは、先進のバイオテクノロジーで

世界トップレベルの実績を有するスペシャリティ・バイオファーマ企業。

いまだ根本的な治療法がない、がん、慢性肝炎、  
関節リウマチ、心房細動などに注力し、  
過去7年間に、がん免疫治療薬や肝炎治療薬など、  
12の先例のない革新的な治療薬を生み出しました。

患者さんと共に病に立ち向かい、

これからも、より確かな、いのちの未来を開いていきます。

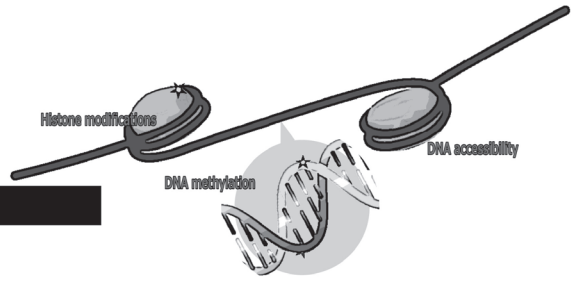
革新的な医薬品で、  
患者さんご家族の希望をつくる。

ブリistol・マイヤーズ スクイブ株式会社

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



# 次世代シーケンス解析 エピゲノム解析



## ChIP-Seq

免疫沈降法により回収した DNA 断片をシーケンス

### 推奨取得データ量

酵母：～1500万リード  
(ゲノムサイズ 16Mb)  
ヒト：5000万リード～  
(ゲノムサイズ 3Gb)

### データ解析 (オプション)

- ・マッピング
- ・ピークコール
- ・近傍遺伝子情報付与

お得意なパッケージプラン  
もございます。  
QRコードをチェック!!



受入サンプル：ChIP DNA  
必要サンプル量：50ng 以上  
濃度：10ng/μl 以上

## Methyl-Seq

### ■バイサルファイト法

バイサルファイト変換により、  
メチル化状態を 1bp の解像度で一気に解析

CpG アイランド  
ターゲットシーケンス

SureSelect XT  
Methyl-Seq  
(Human, Mouse, Rat)

全ゲノムシーケンス

OR

PBAT (Post-bisulfite  
adaptor-tagging)

### 推奨取得データ量

お問い合わせください

### データ解析 (オプション)

- ・マッピング・メチル化候補部位のリスト作成
- ・近傍遺伝子情報付与

受入サンプル：ゲノム DNA  
必要サンプル量：10μg 以上  
濃度：100ng/μl 以上

### ■メチル化 DNA 免疫沈降法 (MeDIP-Seq)

メチル化シトシン認識抗体により  
メチル化 DNA を回収しシーケンス。  
マッピングによりメチル化領域を推定

### 推奨取得データ量

1億リード～/サンプル

### データ解析 (オプション)

- ・マッピング
- ・ピークコール
- ・近傍遺伝子情報付与

受入サンプル：免疫沈降済み DNA  
必要サンプル量：250ng 以上  
濃度：40ng/μl 以上

お問い合わせ先 >>> ☎ 0120-613-190 ☎ 011-768-5903 ✉ hss-ngs@hssnet.co.jp

北海道システム・サイエンス株式会社

〒001-0932 札幌市北区新川西2条1丁目2-1

URL: <http://www.hssnet.co.jp>

HSS

検索



AVAILABLE FROM ELSEVIER

Enter Code  
**BIOMED315**  
for 30% off!

HASCHEK AND ROUSSEAU'S HANDBOOK OF  
**TOXICOLOGIC  
PATHOLOGY**

THIRD EDITION

EDITED BY  
Wanda M. Haschek  
Colin G. Rousseaux  
Matthew A. Wallig

Associate Editors  
Brad Bolon  
Ricardo Ochoa

Illustrations Editor  
Beth W. Mahler



**Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic  
Pathology, 3rd Edition**

Edited by: **Wanda M. Haschek-Hock**, University of Illinois at  
Urbana-Champaign, **Colin G. Rousseaux**, University of  
Ottawa and **Matthew A. Wallig**, University of Illinois at  
Urbana-Champaign

Associate Editors: **Ricardo Ochoa**, Pre-Clinical Safety Inc. and  
**Brad Bolon**, The Ohio State University

June 2013 / ISBN 9780124157590

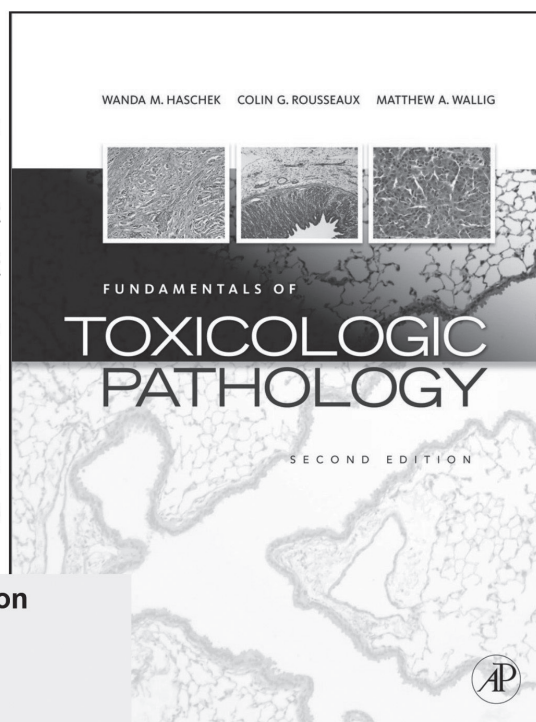
Price: \$699.95 / €530.00 / £425.00

**Fundamentals of Toxicologic Pathology, 2nd Edition**

By **Wanda M. Haschek**, University of Illinois at  
Urbana-Champaign, **Matthew A. Wallig**, University of Illinois at  
Urbana-Champaign and **Colin G. Rousseaux**,  
University of Ottawa

November 2009 / ISBN: 9780123704696

Price: \$240.00 / €180.00 / £145.00



**Fundamentals of Toxicologic Pathology, 3rd Edition**

Edited by: **Wanda M. Haschek-Hock**, **Brad Bolon**,  
**Colin G. Rousseaux** and **Matthew A. Wallig**

October 2017 / ISBN 9780128098417

Price: \$225.00 / €165.00 / £140.00

Prices are tentative and subject to change

Visit [store.elsevier.com](http://store.elsevier.com) for more information!



ACADEMIC PRESS  
An imprint of Elsevier

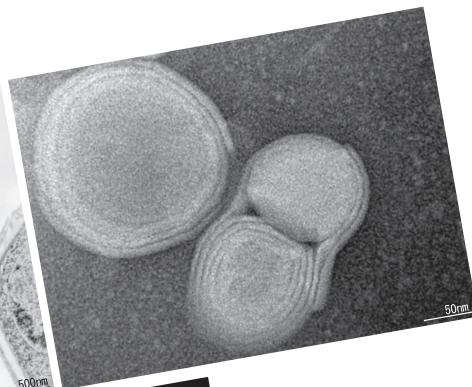
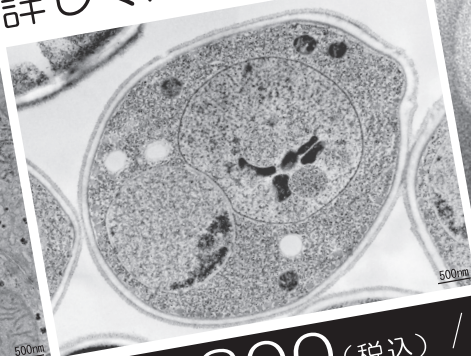
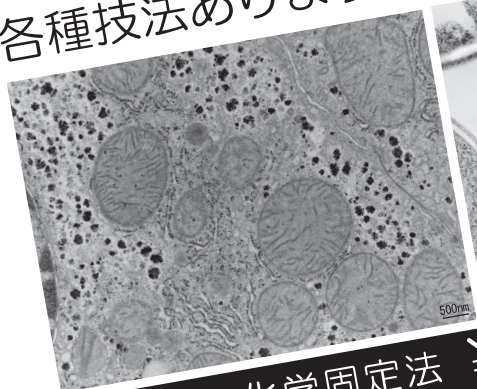
# 丸投げ、歓迎。

電子顕微鏡解析は当社におまかせください

株式会社 東海電子顕微鏡解析



各種技法あります。詳しくは当社HPへ



一般的な化学固定法 **¥91,800** (税込) / 1 試料  
技法によって価格が異なります。詳しくはHPをご参照ください。

追加撮影 無料

立合い観察 無料

撮影枚数 50枚

納期 2週間

かんたん4ステップで、2週間で解析します

STEP1

固定キットをお送りします



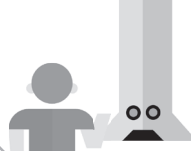
STEP2

固定後、当社へご返送ください



STEP3

電子顕微鏡解析



STEP4

写真とデータをお届けいたします



お問い合わせ・ご依頼は



[www.tokai-ema.com](http://www.tokai-ema.com)



[info@tokai-ema.com](mailto:info@tokai-ema.com)

株式会社 東海電子顕微鏡解析

〒468-0022

愛知県名古屋市天白区高島1-321

052-799-4047 (平日: 9:00~18:00)

たった一度の、いのちと歩く。



人を、想う。  
いのちを、想う。

いくつもの想いは、  
やがて大きな「つばさ」をもって、  
風をとらえ飛び立つ。

かけがえのないいのちに寄りそいながら、  
協和発酵キリンは、  
次なるステージへ飛躍します。