



The 34th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

第34回日本毒性病理学会 総会及び学術集会 講演要旨集

安心・安全をめざした基礎医学から
臨床医学への橋渡し

会期

2018年
1月 25日(木)・26日(金)

会場

沖縄かりゆしアーバンリゾート・ナハ

吉見 直己

年会長

琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座



第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会

The 34th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

テーマ	安心・安全をめざした基礎医学から臨床医学への橋渡し
Theme	Bridging Basic Research and Clinical Practice for a Safer Life
年会長	吉見 直己(琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座 教授)
会 期	2018年1月25日(木)～26日(金)
協賛学会 / 研究会	日本毒性学会、実験病理組織技術研究会
会 場	沖縄かりゆしアーバンリゾート・ナハ 〒900-0016 沖縄県那覇市前島3-25-1
プログラム委員会	委員長：鰐淵 英機(大阪市立大学大学院) 委 員：加藤 淳彦(中外製薬株式会社) 串田 昌彦(住友化学株式会社) 桑村 充(大阪府立大学) 酒々井眞澄(名古屋市立大学大学院) 高橋 智(名古屋市立大学大学院) 塚本 徹哉(藤田保健衛生大学) 平川 公昭(株式会社新日本科学) 義澤 克彦(武庫川女子大学) 吉田 緑(内閣府食品安全委員会)
事務局	第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会 事務局 琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座 事務局長 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)
運営担当	株式会社 沖縄コングレ TEL：098-869-4220 FAX：098-869-4252 Email：34jstp@okicongre.jp
ホームページ	http://www.okinawa-congre.co.jp/34jstp/

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	
特別講演	41
シンポジウム	43
パネルディスカッション	51
ワークショップ	55
一般口演要旨	61
ポスター要旨	66
著者索引	229

年会長挨拶

「第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会」の年次会長に推薦され、2018年1月25日(木)と26日(金)に沖縄・那覇市の沖縄かりゆしアーバンリゾート・ナハで開催させていただきます。前日には恒例のスライドカンファランスと試験問題解説を予定しております。

さて、恩師である森秀樹会長(第16回、岐阜)に始まり、同門である田中卓二会長(第26回、金沢)、西川秋佳会長(第28回、東京)から本学会開催を受け継ぐことになりました。しかしながら16年前の沖縄赴任後、先島を含む沖縄県内の病理医不足の改善のため、毒性病理学を専門とした基礎研究から病理診断学を中心に微力ながら活動して参りました。その活動のなかでもやはり基礎研究の重要性を日々感じたため、「安心・安全をめざした基礎医学から臨床医学への橋渡し」をテーマに掲げました。

我々の毒性病理学の研究は、農薬・医薬品をはじめとする化学物質や食品等による細胞・組織レベルで生じる様々な変化を、先端の分子生物学的手法を交え、形態学的に追究する生命科学であり、その理念は、究極的には人への安心・安全を与える学問であると理解しております。医療に携わる者にとって、ある種のリスクを有する化学物質等を利用する必要があり、その安全性の基盤として本学会員の努力なくして臨床医学への応用や発展はないと思います。このような視点から、本学会での研究成果の医療や社会への還元が、今回のテーマである「基礎医学から臨床医学への橋渡し」になることを期待しております。

本学会が開催される1月の沖縄は、季節的には沖縄らしい季節ではありませんが、本土の気候からすれば、まだまだコートが必要な季節でしょうが、まず、コートは要りません。開催会場である沖縄かりゆしアーバンリゾート・ナハは、離島へのフェリー乗り場に隣接しており、開催時期は多くのホエールウォッチングボートの発着地となっております。また空港から車で約15分、国際通りから徒歩で約15分の立地にあり、東シナ海のサンセットをお楽しみいただけます。1月頃の沖縄は本土に比べると格段に暖かく、観光や泡盛を堪能いただければ幸甚です。

本学会にて会員皆様の日ごろの研究成果を積極的に発表していただき、研究者の意見交換の場になることを願っております。なお、現在、プログラム委員会では、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2題、2つのシンポジウム(8題)、パネルディスカッション(4題)およびワークショップ(5題)を予定しております。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。

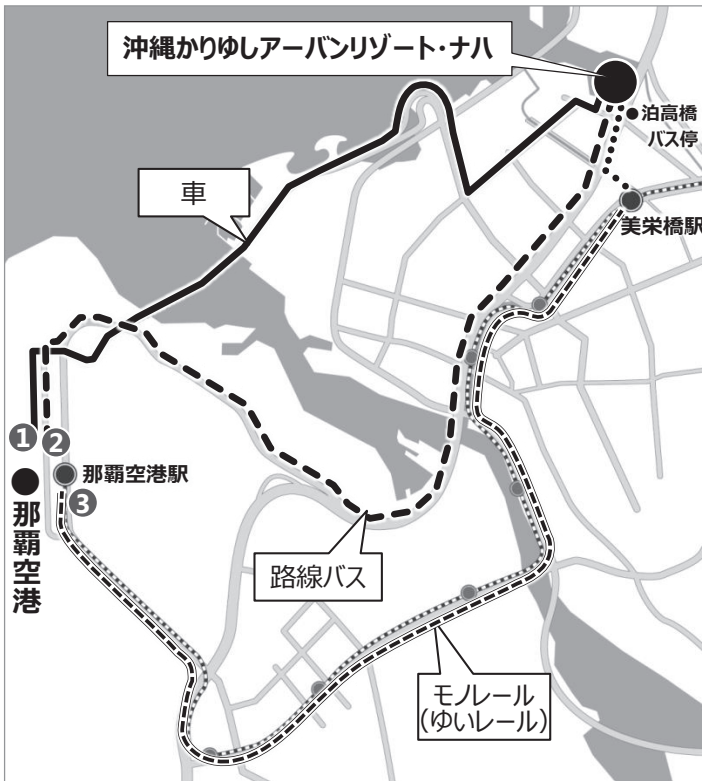
期待される沖縄の青い海と青い空の下、皆様にお会いできることを心より楽しみにしております。

第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会

年会長 **吉見 直己** (よしみ なおき)

琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座 教授

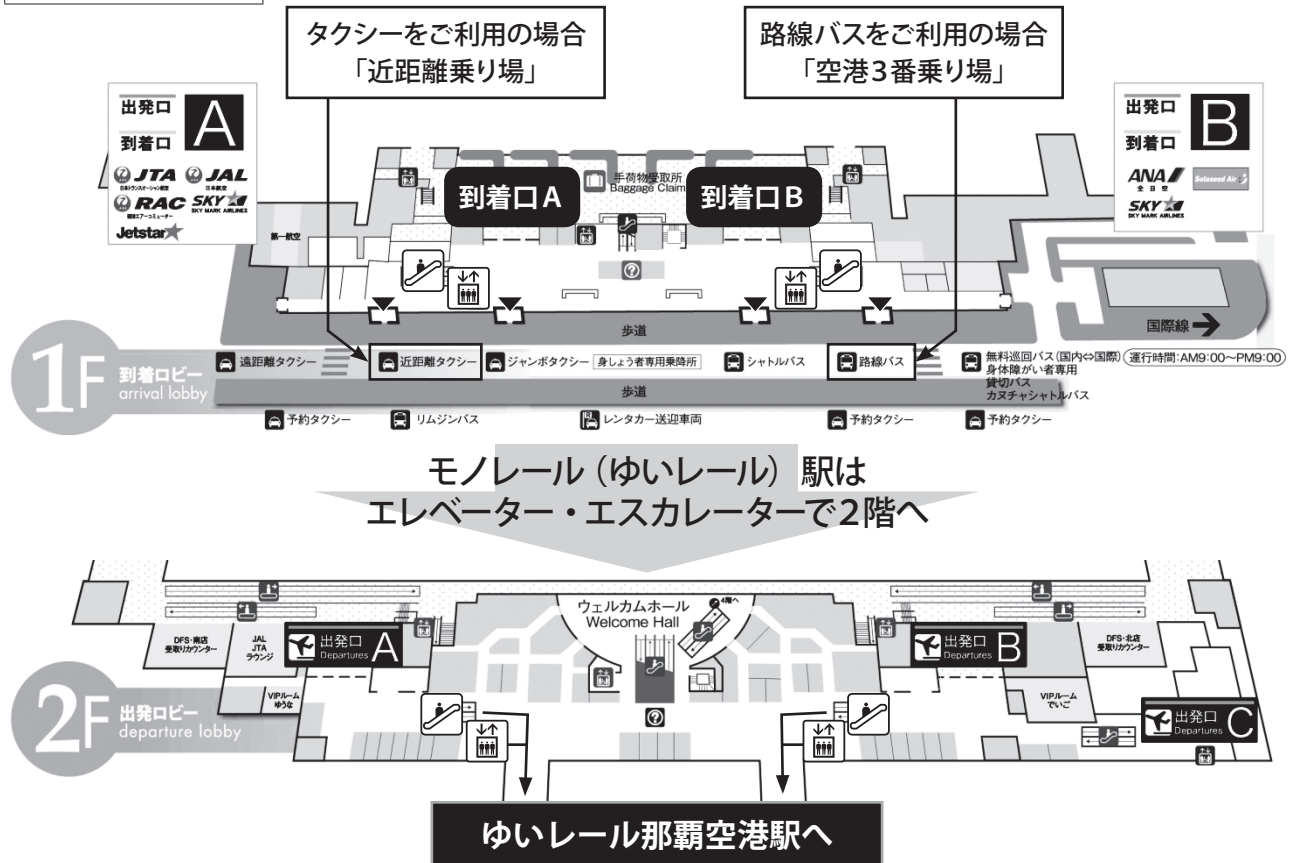
会場アクセス



アクセスルート

- ①車(タクシー・レンタカー)利用
- ②路線バス利用
- ③ゆいレール利用+徒歩

那覇空港案内図



タクシーをご利用の場合

乗車区間：那覇空港 ～ うみそらトンネル ～ 久茂地交差点
 ～ 沖縄かりゆしアーバンリゾート・ナハ(とまりん内)
 所要時間：約10分
 料 金：タクシーの場合、約1,250円



空港ターミナルを出ると、右手がタクシー乗り場となっております。
 タクシー乗り場は「遠距離乗り場」「近距離乗り場」に分かれておりますので、
 「近距離乗り場」からご乗車ください。

レンタカーをご利用の場合

那覇空港より、うみそらトンネルをご利用の場合：上記タクシーと同じルートで約10分(4.9km)
 沖縄かりゆしアーバンリゾート・ナハの入口は、空港から国道58号線を北上して「とまりん」の
 奥側(北側)になります。

※ホテル玄関のベルボーイが「とまりんアネックス駐車場」へのご案内をいたします。

先にお荷物を降ろしになってから、お車をご駐車ください。

※「とまりんアネックス駐車場」の駐車は無料となります。

駐車券を沖縄かりゆしアーバンリゾート・ナハ1階のフロントまでお持ちください。

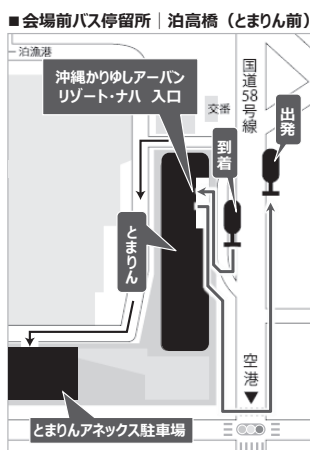
■国道58号線バスレーン規制のお知らせ

ホテル前の国道58号線は平日(月～金)バスレーン規制が下記の時間帯にございます。

第一車線(左側)がバス専用レーンとなり特に夕方の時間帯、空港方面からホテルにお越しの場
 合は十分にご注意ください。

- ・AM7:30～AM9:30(南向け上り：那覇市天久→那覇市久茂地)
- ・PM5:30～PM7:30(北向け下り：那覇市旭橋→那覇市天久)

路線バスをご利用の場合



系統番号：99番 天久新都心線

所要時間：[平日] 約20分～30分
 [土日祝日] 約20分

停 留 所：[乗車]「空港3番乗り場」国内線旅客ターミナルビル
 ▶ [下車] 泊高橋 ▶ 徒歩約1分

料 金：230円

モノレール(ゆいレール)をご利用の場合

所要時間：合計約25分

[モノレール] 約14分

[徒歩] 約10分(美栄橋駅 ▶ 会場)

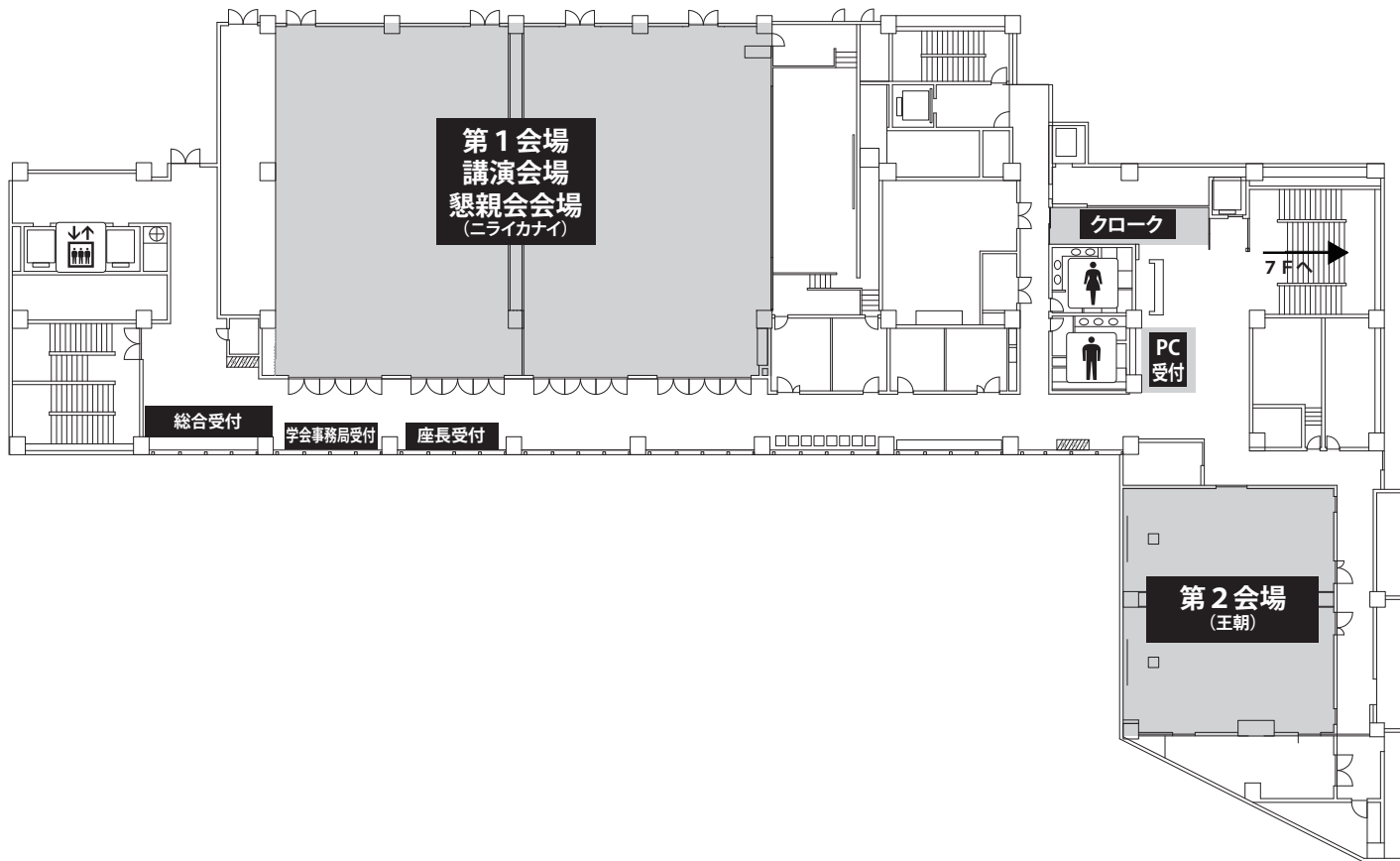
経 路：[モノレール] 那覇空港駅乗車 ▶ 美栄橋駅下車
 ▶ 会場まで徒歩約10分

料 金：300円

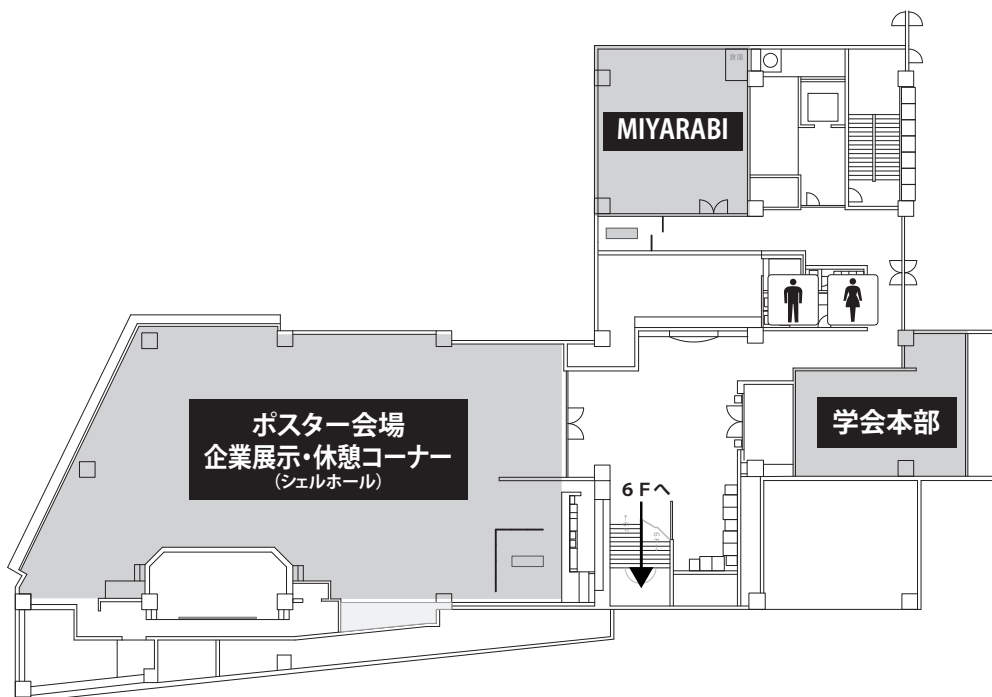


会場案内

6F



7F



参加者へのご案内

■参加者の方へ

1. 総合受付は6 F ニライカナイ前にございます。受付時間は下記のとおりです。
1月25日(木) 8:00～17:00
1月26日(金) 8:30～15:00
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。当日お忘れの場合、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、マイクの前に並び、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、指定場所以外はすべて禁煙です。
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、あるいはホテル内や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25日(木) 8:30～18:20
1月26日(金) 8:30～15:00
 - ◆場所
7 F 企業展示会場(シェルホール)
10. クロークは6 F の第2会場(王朝)の向かいにございます。受付時間は下記のとおりです。
1月25日(木) 8:00～20:40
1月26日(金) 8:30～17:00
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(6 F 廊下)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(6 F ニライカナイ前)までお越しください。
今回は、すでにSTPおよびJSTPより発行されたINHANDの別冊誌を1部3,000円(税込)にて販売いたします。必要な方はお早めにご購入下さい。
 - ◆受付時間
1月25日(木) 8:00～17:00
1月26日(金) 8:30～14:00

■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34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。本会議では、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ひ申し上げます。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：2018年1月26日(金) 15:20～16:50

会 場：第1会場(6Fニライカナイ)

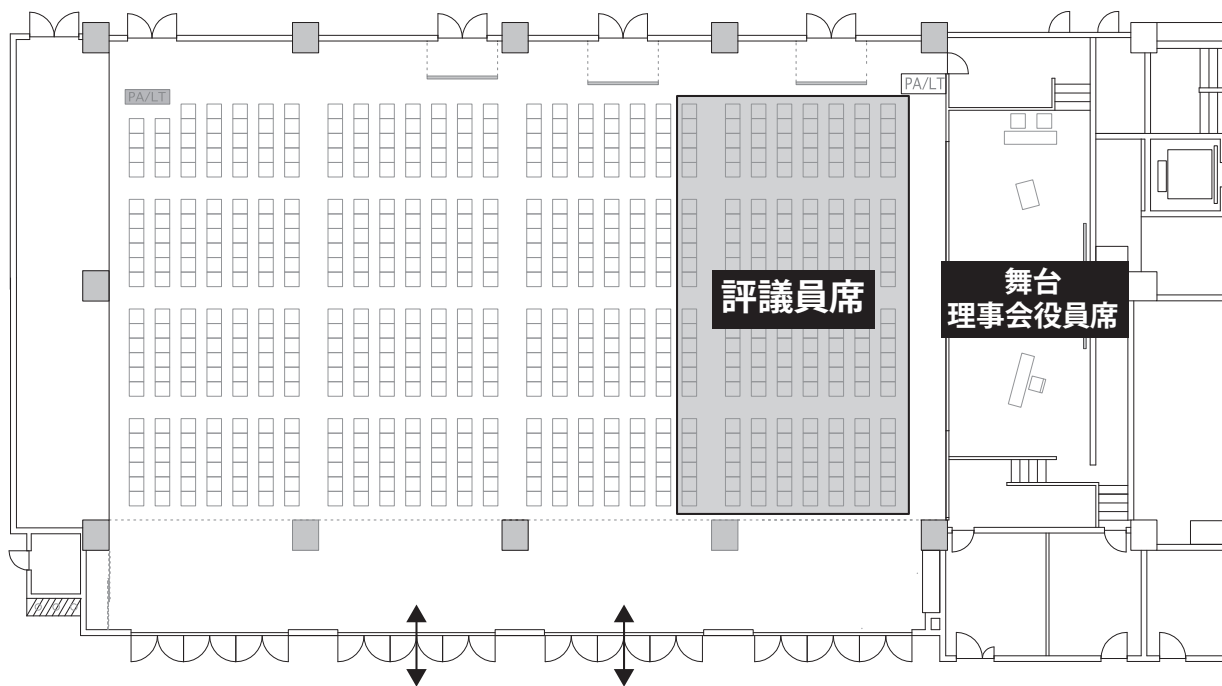
議 題：・2017年度活動報告及び決算報告

・2018年度活動計画及び予算

・功労会員・評議員の推薦

・その他

第1会場(6Fニライカナイ)



■ランチョンセミナーのご案内

1月25日(木)・26日(金)両日ともに、第1会場(6F ニライカナイ)、第2会場(6F 王朝)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(6F 王朝)にて配布します。

◆配布時間

1月25日(木) 8:00～11:00

1月26日(金) 8:30～11:00

ランチョンセミナー I

1月25日(木) 12:10～13:00 第1会場(6F ニライカナイ)

「Immune functions in lymph nodes - how lymph nodes work; illustrated anatomical basis for surveillance, filtration and antigen response」

演 者: Cynthia Willard-Mack (Pathology, Envigo US)

座 長: 今立 真(エンヴィーゴ株式会社)

共 催: エンヴィーゴ株式会社

ランチョンセミナー II

1月25日(木) 12:10～13:00 第2会場(6F 王朝)

「Histopathologic evaluation for the Monkey Safety Test for Neurovirulence of Yellow Fever and Tetravalent Dengue Vaccines - WHO Protocol for Live-Attenuated Vaccines-

サルを用いた神経毒力試験における病理所見評価についてー弱毒生ワクチンのWHOプロトコールにおける黄熱病および4価デングワクチンでの事例を中心にー」

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26日(金) 12:10～13:00 第1会場(6F ニライカナイ)

「Use of Unbiased Stereology in Drug Development」

演 者: Danielle L. Brown, DVM, MS, DACVP, DABT (Charles River Pathology Associates)

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26日(金) 12:10～13:00 第2会場(6F 王朝)

「ヒト細胞を用いた再生医療等製品の安全性試験

Non-clinical safety studies for human cell derived tissue-engineered medical products」

演 者: 孫谷 弘明(株式会社新日本科学 安全性研究所)

座 長: 平川 公昭(株式会社新日本科学 安全性研究所)

共 催: 株式会社新日本科学

■懇親会のご案内

1. 懇親会は1月25日(木) 18:30から第1会場(6F ニライカナイ)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・シンポジウム・パネルディスカッション・ワークショップ・一般口演の座長の先生方へ

1. 来館されましたら、座長受付（6 F ニライカナイ前）にお越しください。バッジをお渡しします。
2. セッション中は参加証（ネームカード）の他に、見えやすい場所にバッジを必ず着用ください。セッション終了後、バッジはそのままお持ち帰りください。
3. ご担当セッション開始15分前には、会場内の次座長席にご着席ください。
4. 時間厳守にご協力ください。

■ポスター発表の座長の先生方へ

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（6 F ニライカナイ前）にお越しください。指示棒、バッジ、ストップウォッチをお渡しします。
2. 討論時間には参加証（ネームカード）の他に、見えやすい場所にバッジを必ず着用ください。セッション終了後、指示棒、ストップウォッチは必ずご返却ください。バッジはそのままお持ち帰りください。
3. 各発表時間5分（要約1分、質疑応答4分）を目処に進行ください。
4. 時間厳守にご協力ください。

■特別講演・シンポジウム・パネルディスカッション・ワークショップ・一般口演の発表者の先生方へ

1. 発表スライド

- ・ PowerPointでの口演発表用スライド作成にあたっては、外国からの参加者を考慮して可能な限り英語で作成してください。
- ・ 画面解像度はXGA（1024×768ピクセル）です。

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分前までにはPC受付（6F 王朝前ロビー）にご持参ください。
- ・ PCを持込みの方はPC受付にて発表データ確認後、発表の30分前までに発表会場の左手前方のオペレーター席までPCをご持参ください。
- ・ 発表データは、会場のPCに一時保存いたしますが、これらのデータは本学会終了後、責任を持って廃棄します。

1) Windowsをご使用の方

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

2) Macintoshをご使用の方

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

3. 発表

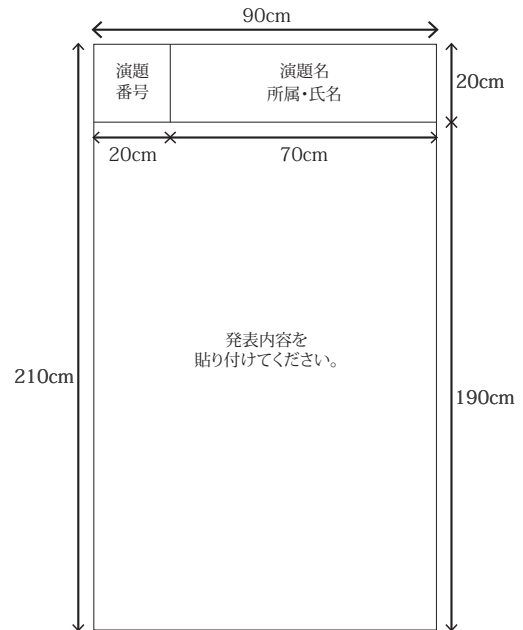
- ・前演者の発表が始まりましたら、次演者席にご着席ください。
- ・発表機材はPC液晶プロジェクターを使用します。スライド・ビデオは使用できませんのでご注意ください。
- ・発表は、演台におかれたディスプレイを見ながら、ご自身で画面操作をしてください。
- ・発表者ツールの対応はできませんので、ご了承ください。

4. 発表時間

セッション	講演時間	討論時間	予告ランプ
特別講演 シンポジウム パネルディスカッション	講演時間・討論形式等は事前に連絡している通りです。		発表時間終了1分前に黄色ランプ 発表時間終了で赤ランプ
ワークショップ 一般口演	各8分	各4分	

■ポスター発表をされる先生方へ

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



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

日時	貼付け	発表・質疑応答	撤去
1月25日(木)	8:30 ~ 10:00	17:20 ~ 18:20	18:20 ~ 18:30
1月26日(金)	8:30 ~ 10:00	13:10 ~ 14:10	15:00 ~ 15:20

※撤去時間内に撤去されないポスターは事務局にて処分させていただきます。

- 各ポスターパネルにマグネットとポスター発表者用のバッジ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バッジをご着用ください。セッション終了後、バッジはそのままお持ち帰りください。
- 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5分(要約1分、質疑応答4分)、その後自由討論です。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26日（金）15:20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。企業の所属の場合は、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 this 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24日(水)

	第1会場 (6F ニライカナイ)	第2会場 (6F 王朝)	控室 (6F 寿・優)	ニライカナイ前 (6F 廊下)	企業展示 (7F シェルホール前)	ポスター会場 企業展示 (7F シェルホール)
8:00						
9:00						
10:00						
11:00						
12:00						
12:30	第30回スライド カンファランス (内分泌系および感覚器系)	12:30 編集委員会				
13:00		13:30				
14:00		13:45 教育委員会				
15:00		14:45				
16:00		15:00 理事会				
17:00		17:00				
17:30						
18:00	17:50 試験問題解説					
18:50						
19:00	19:00					
20:00	バンケットセミナー 株式会社イナリサーチ ルナバス毒性病理研究所 PDS バイロロジー・ データシステムズ		20:00 Global President's Meeting			
21:00			20:50			
			21:00 IFSTP EC Meeting			
			21:50			

日程表

1月25日(木)

	第1会場 (6F ニライカナイ)	第2会場 (6F 王朝)	MIYARABI (7F)	ニライカナイ前 (6F 廊下)	企業展示 (7F シェルホール前)	ポスター会場 企業展示 (7F シェルホール)
8:00				8:00 ~ 受付開始		
9:00	8:40 ~ 開会式 8:50				8:30	8:30
10:00	一般口演 O-01 ~ O-10					ポスター貼付
11:00	10:50					10:00
12:00	11:00 特別講演 1 演者：安仁屋洋子 11:50					10:00
13:00	12:10 ランチョンセミナー I エンヴィーゴ株式会社 13:00	12:10 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 13:00		受付対応	企業展示	
14:00	13:20					ポスター閲覧/ 企業展示
15:00	シンポジウム 1 発がんリスク評価法					
16:00	15:00					
17:00	15:10 パネル ディスカッション 毒性病理専門家の 教育システムと キャリアデザイン			17:00		
18:00	17:10					17:20
19:00						17:20 ポスター発表 I
20:00	18:30				18:20	18:20
21:00	懇親会					18:20 18:30 ポスター撤去

日程表

1月26日(金)

	第1会場 (6F ニライカナイ)	第2会場 (6F 王朝)	MIYARABI (7F)	ニライカナイ前 (6F 廊下)	企業展示 (7F シェルホール前)	ポスター会場 企業展示 (7F シェルホール)
8:00						
9:00	8:50 シンポジウム 2 ナノ化学物質の 安全性評価と展望			8:30 ~ 受付開始	8:30	8:30 ポスター貼付
10:00						10:00 10:00
11:00	10:50 11:00 特別講演 2 演者：木戸 博					
12:00	11:50			受付対応	企業展示	ポスター閲覧 / 企業展示
13:00	12:10 ランチョンセミナーⅢ Charles River	12:10 ランチョンセミナーⅣ 株式会社新日本科学	12:10 国際用語委員会			13:10 13:10 ポスター発表Ⅱ
14:00	13:00	13:00	13:00			14:10 14:10 ポスター閲覧
15:00	14:20 ワークショップ NASH モデルの病態と機序			15:00	15:00	15:00 15:00 15:20 ポスター撤去
16:00	15:20 15:20 評議員会・ 総会・表彰式・ 閉会式					
17:00	16:50					
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 その他	一般演題
1	東京	西山 保一 (北里学園)	1985.3.25	2	0	0
2	東京	藤原 公策 (東京大学)	1986.2.7-8	1	5	29
3	名古屋	伊東 信行 (名古屋市立大学)	1987.2.6-7	1	8	47
4	浜松	榎本 眞 (安評センター)	1988.2.5-6	1	7	55
5	横浜	蟹沢 成好 (横浜市立大学)	1989.1.27-28	1	6	53
6	札幌	板倉 智敏 (北海道大学)	1990.2.13-14	1	6	80
7	東京	林 裕造 (国立衛試)	1991.1.17-18	1	20	53
8	奈良	小西 陽一 (奈良医科大学)	1992.1.23-24	1	19	71
9	東京	土井 邦雄 (東京大学)	1993.1.21-22	2	4	126
10	広島	伊藤 明弘 (広島大学)	1994.1.27-29	1	18	136
11	大阪	佐久間貞重 (大阪府立大学)	1995.1.26-27	2	10	151
12	東京	高橋 道人 (国立衛試)	1996.1.24-25	0	16	147
13	鳥取	梅村 孝司 (鳥取大学)	1997.1.23-24	1	11	151
14	東京	前川 昭彦 (佐々木研)	1998.2.3-4	1	9	143
15	水戸	真板 敬三 (残農研)	1999.1.28-29	0	7	142
16	岐阜	森 秀樹 (岐阜大学)	2000.1.26-27	1	12	125
17	淡路	奈良間 功 (摂南大学)	2001.1.25-26	1	10	146
18	東京	津田 洋幸 (国立がんセンター)	2002.1.24-25	0	2	119
19	東京	布谷 鉄夫 (日生研)	2003.1.23-24	1	5	102
*20	神戸	福島 昭治 (大阪市立大学)	2004.2.15-18	2	31	172
21	浜松	今井 清 (安評センター)	2005.1.20-21	1	23	100
22	鹿児島	吉田 浩己 (鹿児島大学)	2006.1.26-27	1	15	109
23	東京	三森 国敏 (東京農工大学)	2007.1.30-31	0	15	107
24	名古屋	白井 智之 (名古屋市立大学)	2008.2.6-7	1	13	106
25	浜松	真鍋 淳 (第一三共株式会社)	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
34	沖縄	吉見 直己 (琉球大学)	2018.1.25-26	2	17	108

*Joint international meeting of JSTP/IFSTP

協賛法人・企業一覧

第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会を開催するにあたり、多くの企業・団体様よりご支援ご協力を賜りました。ここにお名前を掲載して厚く御礼申し上げます。

第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会
年会長 吉見 直己

■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

株式会社沖縄パソロジー
金秀バイオ株式会社
社会医療法人敬愛会中頭病院
株式会社新日本科学
株式会社中央医療器
株式会社日立ハイテクノロジーズ

■企業展示

株式会社イナリサーチ
Indica Labs (インディカ・ラボ)
株式会社エイチ・アンド・ティー
MPI Research Inc.
株式会社考文堂
サクラファインテックジャパン株式会社
実験病理組織技術研究会
株式会社新日本科学
株式会社スリーエス・ジャパン / Southern Research
株式会社DIMS 医科学研究所
内閣府食品安全委員会
日本エスエルシー株式会社
浜松ホトニクス株式会社
株式会社VIP グローバル
PDS パソロジー・データシステムズ・リミテッド
富士通株式会社
株式会社ボゾリサーチセンター

■HPバナー広告

トミー沖縄ノボサイエンス株式会社

■ネームカードホルダー提供

株式会社イナリサーチ

■寄附

アイティーアイ株式会社
旭化成ファーマ株式会社
アステラス製薬株式会社
株式会社猪原商会
エーザイ株式会社
株式会社LSIメディエンス
沖縄県医師会
医療法人沖縄徳洲会中部徳洲会病院
医療法人沖縄徳洲会南部徳洲会病院
株式会社沖縄パソロジー
小野薬品工業株式会社
金秀バイオ株式会社
社会医療法人かりゆし会ハートライフ病院
杏林製薬株式会社わたらせ創薬センター
社会医療法人敬愛会中頭病院
医療法人月桃会宮良クリニック
株式会社札幌総合病理研究所
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
参天製薬株式会社
一般財団法人残留農薬研究所
塩野義製薬株式会社
社会医療法人仁愛会浦添総合病院
住友化学株式会社
正晃株式会社
第一三共株式会社
大正製薬株式会社
大日本住友製薬株式会社
大鵬薬品工業株式会社
武田薬品工業株式会社
中外製薬株式会社
一般社団法人中部地区医師会検診センター
帝人ファーマ株式会社
一般財団法人徳明会
日産化学工業株式会社
日本たばこ産業株式会社
ファイザー株式会社

■ドリンク提供

農業生産法人株式会社アセローラフレッシュ
農業生産法人有限会社勝山シークワサー

一般財団法人沖縄観光コンベンションビューローの補助事業として賛助を受けております。

(50音順)

座長一覧

会場：第1会場 (6F ニライカナイ)

日付	時間	セッション名	座長	所属
1月25日	11:00～11:50	特別講演1	吉見 直己	琉球大学大学院
1月26日	11:00～11:50	特別講演2	鰐淵 英機	大阪市立大学大学院
1月25日	13:20～15:00	シンポジウム1 発がんリスク評価法	西川 秋佳	国立医薬品食品衛生研究所
			塚本 徹哉	藤田保健衛生大学
1月26日	8:50～10:50	シンポジウム2 ナノ化学物質の安全性評価と展望	酒々井眞澄	名古屋市立大学大学院
			宮田かおり	住友化学株式会社
1月25日	15:10～17:10	パネルディスカッション	吉田 緑	内閣府食品安全委員会
			桑村 充	大阪府立大学
1月26日	14:20～15:20	ワークショップ	高橋 智	名古屋市立大学大学院
			加藤 淳彦	中外製薬株式会社
1月25日	8:50～9:26	一般口演I	義澤 克彦	武庫川女子大学
			河部 真弓	株式会社 DIMS 医科学研究所
1月25日	9:26～10:14	一般口演II	猪又 晃	富士フイルム株式会社
			谷 吉朗	第一三共株式会社
1月25日	10:14～10:50	一般口演III	魏 民	大阪市立大学
			日比 大介	小野薬品工業株式会社

会場：ポスター会場（7F シェルホール）

日付	時間	セッション名(演題番号)	座長	所属
1月25日	17:20～18:20	ポスター発表 I-1 (P-01～P-05)	中野(伊藤)今日子	エーザイ株式会社
			畠山 洋文	株式会社イナリサーチ
		ポスター発表 I-2 (P-06～P-10)	井上 薫	国立医薬品食品衛生研究所
			横平 政直	香川大学
		ポスター発表 I-3 (P-11～P-14)	小野美穂子	アステラス製薬株式会社
			高須 伸二	国立医薬品食品衛生研究所
		ポスター発表 I-4 (P-15～P-19)	鈴木 周五	名古屋市立大学
			土屋 紀子	塩野義製薬株式会社
		ポスター発表 I-5 (P-20～P-23)	小林 欣滋	株式会社新日本科学
			松尾沙織里	中外製薬株式会社
		ポスター発表 I-6 (P-24～P-28)	野口ちひろ	大正製薬株式会社
			平田 暁大	岐阜大学
		ポスター発表 I-7 (P-29～P-32)	金子 英志	帝人ファーマ株式会社
			中村 明子	JT 医薬
		ポスター発表 I-8 (P-33～P-36)	川口 博明	鹿児島大学
			平川 公昭	株式会社新日本科学
		ポスター発表 I-9 (P-37～P-40)	鈴木 智	大鵬薬品工業株式会社
			西村 友成	アスピオファーマ株式会社
		ポスター発表 I-10 (P-41～P-45)	井澤 武史	大阪府立大学
			乾 公正	石原産業株式会社
		ポスター発表 I-11 (P-46～P-49)	佐々木 朋	マルホ株式会社
渡邊 厚	旭化成メディカル株式会社			
1月26日	13:10～14:10	ポスター発表 II-1 (P-50～P-54)	小寺 喬	日本新薬株式会社
			篠塚 淳子	中外製薬株式会社
		ポスター発表 II-2 (P-55～P-59)	河内 眞美	大日本住友製薬株式会社
			能登 貴久	参天製薬株式会社
		ポスター発表 II-3 (P-60～P-64)	藤島 純子	株式会社新日本科学
			牧野 俊彦	第一三共株式会社
		ポスター発表 II-4 (P-65～P-68)	飯塚 生一	株式会社ツムラ
			神鳥 仁志	Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社
		ポスター発表 II-5 (P-69～P-72)	尾崎 清和	摂南大学
			中原 豊	アステラス製薬株式会社
		ポスター発表 II-6 (P-73～P-76)	豊沢かおる	株式会社住化分析センター
			山口 裕子	株式会社ボゾリサーチセンター
		ポスター発表 II-7 (P-77～P-80)	黒滝 哲郎	株式会社 LSI メディエンス
			松本 泉美	大日本住友製薬株式会社
		ポスター発表 II-8 (P-81～P-85)	吉川 剛	大塚製薬株式会社
			渡辺 武志	武田薬品工業株式会社
		ポスター発表 II-9 (P-86～P-89)	石上 紀明	小野薬品工業株式会社
			西川 智美	田辺三菱製薬株式会社
		ポスター発表 II-10 (P-90～P-93)	岡崎 欣正	一般財団法人残留農薬研究所
			美谷島克宏	東京農業大学
		ポスター発表 II-11 (P-94～P-98)	杉元 陽子	日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社
友成 由紀	株式会社 LSI メディエンス			

プログラム

特別講演 1

第 1 日目 1 月 25 日 (木) 11:00 ~ 11:50

第 1 会場 (6F ニライカナイ)

座長：吉見 直己 (琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座)

- SL1 沖縄の開発研究と毒性学
安仁屋 洋子
沖縄科学技術大学院大学理事

特別講演 2

第 2 日目 1 月 26 日 (金) 11:00 ~ 11:50

第 1 会場 (6F ニライカナイ)

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)

- SL2 乳幼児期の食物アレルギーの発症と経口免疫寛容の獲得メカニズムと、それらをモニターするバイオマーカー
木戸 博
徳島大学先端酵素学研究所 特任教授

シンポジウム 1 発がんリスク評価法

第 1 日目 1 月 25 日 (木) 13:20 ~ 15:00

第 1 会場 (6F ニライカナイ)

座長：西川 秋佳 (国立医薬品食品衛生研究所)
塚本 徹哉 (藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科)

- SY1-1 γ -H2AX 免疫染色による膀胱発がんリスク早期検出法の開発
○豊田 武士¹⁾, 松下 幸平¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, 赤木 純一¹⁾, 曾根 瑞季^{1,2)}, 西川 秋佳³⁾, 小川 久美子¹⁾
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所・病理, ²⁾東京農工大・獣医病理,
³⁾国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター
- SY1-2 肺胞サーファクタントの役割と発癌リスク評価への応用
横平 政直
香川大学 医学部 腫瘍病理学
- SY1-3 前立腺発がん物質の早期検出モデルの確立
○鈴木 周五, 内木 綾, 加藤 寛之, 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
- SY1-4 遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の開発
○魏 民, 藤岡 正喜, 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

シンポジウム2 ナノ化学物質の安全性評価と展望

第2日目 1月26日(金) 8:50～10:50

第1会場(6F ニライカナイ)

座長：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)
宮田 かおり(住友化学株式会社)

- SY2-1 ラットモデルによる大規模吸入試験での毒性影響評価
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
- SY2-2 ナノ化学物質のリスク評価の国際動向と慢性試験の必要性
広瀬 明彦
国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 安全性予測評価部
- SY2-3 食品関連製品に含まれるナノ素材の安全性評価
～ナノ安全科学研究からナノ最適デザイン研究へ～
○東阪 和馬^{1,2)}, 長野 一也¹⁾, 松本 博志²⁾, 堤 康央^{1,3)}
¹⁾ 阪大院薬, ²⁾ 阪大院医, ³⁾ 阪大MEIセ
- SY2-4 抗酸化能を有するナノメディシンの開発
長崎 幸夫
筑波大学数理物質科学研究科・人間総合科学研究科・アイソトープ環境動態研究センター

パネルディスカッション「毒性病理専門家の教育システムとキャリアデザイン」

第1日目 1月25日(木) 15:10～17:10

第1会場(6F ニライカナイ)

座長：吉田 緑(内閣府食品安全委員会)
桑村 充(大阪府立大学)

- PD-1 毒性病理学専門家に向けた教育としてのマイクロ問題解説-詳細版-の現状と医薬品開発における毒性病理学専門家の役割
細川 暁
エーザイ株式会社 グローバル安全性研究
- PD-2 日本の大学における毒性病理学・毒性学の専門家教育と卒後の進路指導について
渋谷 淳
東京農工大学
- PD-3 米国での獣医学部教育の実態と毒性病理専門家のキャリア形成について
平良木 肇
Amgen, Inc., Comparative Biology & Safety Sciences
- PD-4 企業での毒性病理専門家の活動における日米間の比較
土屋 毅幸
Department of Safety Assessment and Laboratory Animal Resources (West Point, PA U.S.A.), Merck Research Laboratories, Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA

ワークショップ NASHモデルの病態と機序

第2日目 1月26日(金) 14:20 ~ 15:20

第1会場 (6F ニライカナイ)

座長：高橋 智(名古屋市立大学大学院)・加藤 淳彦(中外製薬株式会社)

- WS-1 非アルコール性脂肪性肝炎モデルラットの肝炎進展に関わる全身免疫の役割
○井澤 武史, 大地 祥子, 新 真智, 宮城 伶奈, 橋本 愛, 桑村 充, 山手 丈至
大阪府大 獣医病理
- WS-2 * 肥満および耐糖能異常を示す新規NASHモデルマウスでは、脂肪肝は肝線維化・腫瘍形成へと経時的に進行する
○寺山 由依, 審 一慧, 山際 高史, 中谷 祐樹, 大嶋 成奈優, 森尾 剛, 松浦 哲郎, 尾崎 清和
摂南大学 薬学部 病理学研究室
- WS-3 * 改変コリン欠乏メリオニン低減アミノ酸食誘発マウス非アルコール性脂肪性肝炎様病態に対するトランス脂肪酸と代替品の影響
○煙山 紀子¹⁾, 池端 香織¹⁾, 山下 卓也¹⁾, 宇野 絹子¹⁾, 張 舜恵¹⁾, 小川 秀治²⁾, 渡邊 厚³⁾, 美谷島 克宏¹⁾, 中江 大¹⁾
¹⁾東京農大・応生・食品安全健康, ²⁾ゼリア新薬・動態安全性研, ³⁾旭化成メディカル・医療技術材料研
- WS-4 * Connexin 32 ドミナントネガティブトランスジェニックラットを用いたメタボリックシンドローム随伴NASH発がんモデルの樹立
○内木 綾^{1,2)}, 加藤 寛之¹⁾, 鈴木 周五¹⁾, 高橋 智¹⁾
¹⁾名市大・院・医・実験病態病理, ²⁾名古屋市立東部医療センター 病理診断科
- WS-5 2つのNASHモデルマウスにおける病理組織学的所見の違い
○奥野 高裕, 石井 真美, 梯 アンナ, 藤岡 正喜, 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

一般口演 I 発がん機序・がん予防

第1日目 1月25日(木) 8:50 ~ 9:26

第1会場 (6F ニライカナイ)

座長：義澤 克彦(武庫川女子大学)・河部 真弓(株式会社DIMS医科学研究所)

- O-01 * 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¹⁾, 松本 晴年¹⁾, 深町 勝巳¹⁾, 二口 充^{1,2)}, 吉見 直己³⁾, 酒々井 眞澄¹⁾
¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科分子毒性学分野, ²⁾長崎大学病院病理診断科・病理部, ³⁾琉球大学大学院医学研究科腫瘍病理学講座
- O-02 BALB/c-*p53*^{+/-}マウスにおけるDMBAまたはPhIP誘発性乳がんの遺伝子変異/表現型の比較解析
○町田 雪乃¹⁾, 須藤 柚稀子¹⁾, 打屋 尚章¹⁾, 落合 雅子²⁾, 今井 俊夫¹⁾
¹⁾国立がん研究センター研究所 動物実験施設, ²⁾国立がん研究センター研究所 動物実験部門
- O-03 * マウス経胎盤ばく露による有機ヒ素化合物Dimethylarsinic acidの発がん性およびその機序
○藤岡 正喜, 魏 民, 奥野 高裕, 熊田 賢次, 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

一般口演Ⅱ 毒性機序

第1日目 1月25日(木) 9:26 ~ 10:14

第1会場(6F ニライカナイ)

座長:猪又 晃(富士フイルム株式会社)・谷 吉朗(第一三共株式会社)

- O-04*** 嚢胞における上皮間葉転換-脈絡叢と尿細管の検討-
○村井 厚子, 中村 賢志, 瀧本 憲史, 並木 健吾, 日比 大介, 柳澤 幸宏, 下内 孝司, 柳 浩由紀
小野薬品工業(株) 安全性研究部
- O-05** Diacylglycerol acyltransferase 1 阻害剤 DS-7250 による肝臓での脂肪酸合成亢進を介した Zucker fatty ラットにおける脂肪肝増強
○熊谷 和善, 安野 恭平, 井口 拓馬, 甲斐 清徳, 森 和彦
第一三共(株) 安全性研究所
- O-06*** カニクイザルにおける Mifepristone による卵巣毒性の病理組織学的解析
○武田 賢和¹⁾, 堀江 勘太²⁾, 後藤 哲也³⁾, 太田 恵津子¹⁾, 中野(伊藤) 今日子¹⁾, 早川 和宏¹⁾, 関 由妃¹⁾, 後藤 彩¹⁾, 細川 暁¹⁾
¹⁾エーザイ(株) 筑波安全性研究部, ²⁾エーザイ(株) ニューロロジービジネスグループ,
³⁾(株) サンプラネット 筑波研開発支援事業部
- O-07*** げっ歯類にみられた薬物誘発性フッ素症の機序検討
○関 由妃¹⁾, 則武 健一²⁾, 武田 賢和¹⁾, 朝倉 省二¹⁾, 大塚 昭代¹⁾, 後藤 彩¹⁾, 太田 恵津子¹⁾, 中野(伊藤) 今日子¹⁾, 早川 和宏¹⁾, 園田 二郎¹⁾, 細川 暁¹⁾
¹⁾エーザイ株式会社 筑波安全性研究部, ²⁾株式会社サンプラネット 安全性研究ユニット

一般口演Ⅲ マーカー

第1日目 1月25日(木) 10:14 ~ 10:50

第1会場(6F ニライカナイ)

座長:魏 民(大阪市立大学)・日比 大介(小野薬品工業株式会社)

- O-08*** DNA二重鎖切断マーカー γ -H2AX を用いた胃発がん物質の短期同定
○岡部 麻子¹⁾, 桐山 諭和¹⁾, 鈴木 周五²⁾, 櫻井 浩平¹⁾, 高橋 智²⁾, 塚本 徹哉¹⁾
¹⁾藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科, ²⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学
- O-09*** ブタ腎動脈における熱焼灼直後の病理学的変化と画像診断法による検出:血管内超音波と光干渉断層法を用いた検討
○坂岡 篤^{1,2)}, 田上 暁之³⁾, 鬼村 祐治¹⁾, 萩原 仁美¹⁾, 寺尾 壽子¹⁾, 熊谷 文明⁴⁾, 松村 潔²⁾
¹⁾テルモ株式会社, ²⁾大阪工業大学大学院 工学研究科, ³⁾福井大学 医学部,
⁴⁾(一財) 食品薬品安全センター 秦野研究所
- O-10** 膵がん血清診断マーカーの探索
○深町 勝巳¹⁾, 二口 充¹⁾, 津田 洋幸²⁾, 酒々井 眞澄¹⁾
¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性学分野, ²⁾名古屋市立大学 津田特任教授研究室

ポスター発表 I -1

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 中野(伊藤) 今日子(エーザイ株式会社)・畠山 洋文(株式会社イナリサーチ)

- P-01 **NNK誘発マウス肺腺癌におけるCD44v6の発現に関する検討**
○山川 けいこ¹⁾, 横平 政直¹⁾, 橋本 希¹⁾, 成澤 裕子¹⁾, 吉田 翔太¹⁾, 竿尾 光祐^{1,2)}, 今井田 克己¹⁾
¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学, ²⁾回生病院
- P-02 * **若齢 Sprague-Dawley ラットでみられた腎臓の微小変化群の1例**
○安野 恭平, 本多 久美, 袴田 志野婦, 甲斐 清徳, 森 和彦
第一三共(株) 安全性研究所
- P-03 **マウス大腸オルガノイドを用いるPhIPの発がんメカニズムの解析**
○今井 俊夫¹⁾, 落合 雅子¹⁾, 成瀬 美衣¹⁾, 筆宝 義隆²⁾
¹⁾国立がん研究センター 研究所 動物実験部門, ²⁾千葉県がんセンター 研究所 発がん制御研究部
- P-04 **植物芭蕉 (Musa basjoo) 葉抽出物のヒト大腸がん細胞に対する殺細胞効果**
○松本 晴年¹⁾, 安藤 さえこ¹⁾, 深町 勝巳¹⁾, 二口 充^{1,2)}, 吉見 直己³⁾, 酒々井 眞澄¹⁾
¹⁾名古屋市立大学 大学院 医学研究科 分子毒性学分野, ²⁾長崎大学病院 病理診断科・病理部,
³⁾琉球大学大学院医学研究科 腫瘍病理学講座
- P-05 **Overcoming resistance to cetuximab with honokiol, a small-molecule polyphenol**
○飯田 麻里¹⁾, Hannah E. Pearson¹⁾, Rachel A. Orbuch¹⁾, Nellie K. McDaniel¹⁾,
Kwangok P. Nickel¹⁾, Randall J. Kimple¹⁾, Jack Arbiser²⁾, Deric L. Wheeler¹⁾
¹⁾Department of Human Oncology, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health,
²⁾Department of Dermatology, Emory University School of Medicine, Winship Cancer Institute

ポスター発表 I -2

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 井上 薫(国立医薬品食品衛生研究所)・横平 政直(香川大学)

- P-06 **NASHの肝臓組織や肝臓癌におけるプロテオーム解析**
○梯 アンナ, 奥野 高裕, 藤岡 正喜, 魏 民, 鰐淵 英機
大阪市立大学・院・医・分子病理学
- P-07 * **ラット反復投与による肝臓における細胞老化関連代謝分子の発現に関する遺伝毒性及び非遺伝毒性肝発がん物質の反応性の違い**
○伊藤 優子^{1,2)}, 中島 康太^{1,2)}, 増淵 康則^{1,2)}, 齋藤 文代³⁾, 赤堀 有美³⁾, 吉田 敏則¹⁾, 渋谷 淳¹⁾
¹⁾東京農工大 獣医病理, ²⁾岐阜大 院 連合獣医, ³⁾化学物質評価研究機構
- P-08 **早期ラット肝発がんに対する黄き注射液の影響**
○金 美蘭, 唐 倩, 張 梅, 方 仁東, 王 劍, 王 自力
西南大学 動物科術学院 獣医病理研究室
- P-09 * **Luteolinの膀胱癌化学予防効果の検討**
○加藤 寛之, 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
- P-10 **ラットにおけるコリン欠乏メチオニン低減アミノ酸食による非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)様病態に対してトランス脂肪酸が及ぼす系統差の影響**
○宇野 絹子, 美谷島 克宏, 張 舜恵, 煙山 紀子, 小川 秀治, 渡邊 厚, 中江 大
東京農業大学大学院 農学研究科

ポスター発表 I-3

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長：小野 美穂子 (アステラス製薬株式会社)・高須 伸二 (国立医薬品食品衛生研究所)

- P-11 老齢マウスにおける飢餓誘導性肝オートファジー**
○飯塚 生一¹⁾, 名畑 美和¹⁾, 関根 瞳¹⁾, 藤塚 直樹¹⁾, 武田 宏司^{2,3)}
¹⁾(株)ツムラ ツムラ漢方研究所, ²⁾北海道大学大学院 薬学研究院 臨床病態解析学,
³⁾北海道大学病院 消化器内科
- P-12 * カドミウムを用いた時間毒性学の検討～組織学的検討を中心とした感受性時刻差の解析～**
○吉岡 弘毅^{1,2)}, 野々垣 常正¹⁾, 市丸 嘉¹⁾, 大谷 勝己³⁾, 酒々井 眞澄²⁾, 三浦 伸彦³⁾
¹⁾金城学院大学 薬学部 薬学科, ²⁾名古屋市立大学 医学部 分子毒性学分野, ³⁾労働安全衛生総合研究所
- P-13 クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) による肝毒性の発現機序解析**
○高橋 尚史¹⁾, 山口 悟¹⁾, 大塚 亮一¹⁾, 武田 眞記夫¹⁾, 加藤 由隆¹⁾, 伊藤 強¹⁾, 小山 彩¹⁾,
志賀 敦史¹⁾, 岡崎 欣正¹⁾, 吉田 敏則²⁾, 原田 孝則¹⁾
¹⁾(一財) 残留農薬研究所, ²⁾東京農工大学 獣医病理学研究室
- P-14 * Time dependent cytoprotective phenomenon of lipopolysaccharide in TAA-induced acute liver injury in rats**
○Karim Mohammad Rabiul, Pervin Munmun, 倉持 瑞樹, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至
大阪府立大 獣医病理

ポスター発表 I-4

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長：鈴木 周五 (名古屋市立大学)・土屋 紀子 (塩野義製薬株式会社)

- P-15 シスプラチンの腎毒性に対するエダラボンの効果**
○小池 夏未, 佐々木 彩花, 矢守 凜, 村上 智亮, 鈴木 和彦
東京農工大学 農学部 共同獣医学科
- P-16 * フマル酸ジメチルの腎間質線維化抑制効果の検討**
○佐々木 彩花, 小池 夏未, 矢守 凜, 村上 智亮, 鈴木 和彦
東京農工大学 農学部 共同獣医学科
- P-17 * HNF4 α 発現低下に伴う尿細管上皮細胞の形質変化**
○矢守 凜, 小池 夏未, 佐々木 彩花, 村上 智亮, 古谷 哲也, 鈴木 和彦
東京農工大学 農学部 共同獣医学科
- P-18 低酸素応答のハイスループットスクリーニング：プロモーター機能解析**
○米沢 理人¹⁾, フォースアルドレッド シェリー¹⁾, トリンクライン ネイサン¹⁾,
シア メンハン²⁾, フアン ルイリ²⁾, ハドソン ジム³⁾, サムエルソン ジョハナ¹⁾
¹⁾アクティブ・モティフ, ²⁾NIHケミカルジェノミクスセンター, ³⁾ハドソンアルファ細胞工学研究所
- P-19 * 免疫器官の発達に影響をおよぼす因子**
○等々力 舞, 瀬沼 美香, 熊谷 文明, 斉藤 義明, 桑形 麻樹子
(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所

ポスター発表 I -5

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 小林 欣滋 (株式会社新日本科学)・松尾 沙織里 (中外製薬株式会社)

- P-20 * **Inhalation single toxicity studies of 1-methylnaphthalene in rats and mice: Histopathological Aspect**
○Lee Mi Ju
Inhalation Toxicity Research Center, Occupational Safety and Health Research Institute
- P-21 **アクリル酸メチルの13週間吸入暴露によるラット呼吸器病変**
○高信 健司, 妹尾 英樹, 梅田 ゆみ, 相磯 成敏, 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
- P-22 **アクリル酸メチルの104週間吸入暴露によるラットの鼻腔発がん呼吸器病変**
○妹尾 英樹, 高信 健司, 梅田 ゆみ, 相磯 成敏, 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
- P-23 * **微小管重合阻害薬 combretastatin A4 disodium phosphate の単回投与によりラットに誘発される心筋障害**
○枋内 亮太¹⁾, 小松 加代子¹⁾, 村上 純太¹⁾, 永田 百合子¹⁾, 安藤 稔¹⁾, 畑 千恵¹⁾, 鈴木 倫¹⁾, 角 将一¹⁾, 小林 稔秀¹⁾, 桑原 正貴²⁾
¹⁾(株)ヤクルト本社 中央研究所, ²⁾東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医衛生学研究室

ポスター発表 I -6

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 野口 ちひろ (大正製薬株式会社)・平田 暁大 (岐阜大学)

- P-24 * **α リノレン酸-ジアシルグリセロール油の発がんプロモーション作用に関する検討**
○本田 大士¹⁾, 川本 泰輔¹⁾, 土井 悠子²⁾, 森 卓也¹⁾, 松村 奨士¹⁾, 今井 則夫²⁾, 米良 幸典²⁾, 伊藤 勇一¹⁾, 森田 修¹⁾
¹⁾花王株式会社, ²⁾株式会社 DIMS 医科学研究所
- P-25 **有機ゲルマニウム poly-trans-[(2-carboxyethyl) germasesquioxane] (Ge-132) の rasH2 マウスを用いた26週間短期発がん性試験**
○土井 悠子¹⁾, 今井 則夫¹⁾, 勝呂 繭子¹⁾, 河部 真弓¹⁾, 佐藤 功²⁾
¹⁾(株) DIMS 医科学研究所, ²⁾(株) 浅井ゲルマニウム研究所
- P-26 * **肝臓に観察された肝原発とは考えられない腫瘍の免疫組織学的検討**
○杜 牧, Hui Guo, Yuexiang Zhang, Xiargjiang Liu, Weijuan Zhang, Xiaoxia Ji, Maowu Guo, Yasuhiko Hirouchi
JOINN Laboratories
- P-27 * **o-Acetoacetotoluidide (AAOT) の毒性影響の検討**
○熊田 賢次, 奥野 高裕, 魏 民, 藤岡 正喜, 行松 直, 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
- P-28 **Wistar Hannover ラット胸腺の増殖性病変における免疫組織学的特徴**
○友成 由紀, 佐藤 順子, 黒滝 哲郎, 小林 亮介, 土居 卓也, 菅野 剛, 土谷 稔
(株) LSI メディエンス 創薬支援事業本部 試験研究センター 病理研究部 病理 1 G

ポスター発表 I-7

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長：金子 英志 (帝人ファーマ株式会社)・中村 明子 (JT 医薬)

- P-29** **ネオニコチノイド系農薬ジノテフランのCD-1マウスによる経口毒性試験**
 ○多田 幸恵, 田中 豊人, 生嶋 清美, 鈴木 俊也, 猪又 明子, 守安 貴子
 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
- P-30 *** **中期多臓器発がん性試験におけるMNUの製造施設間比較検討**
 ○杉山 大揮, 宇田 一成, 樋口 仁美, 土井 悠子, 萩原 昭裕, 米良 幸典
 株式会社DIMS医科学研究所
- P-31 *** **ICRマウスを用いた発がん性試験の対照群で高頻度にみられたアミロイド症の背景データとの比較解析 (第2報)**
 ○伊藤 強, 加藤 由隆, 牧野 絵美, 小山 彩, 高橋 尚史, 志賀 敦史, 岡崎 欣正, 原田 孝則
 (一財) 残留農薬研究所
- P-32 *** **ラットにおける多層カーボンナノチューブおよびクリソタイル誘発中皮腫の病理学的性状の比較**
 ○北條 幹¹⁾, 坂本 義光¹⁾, 山本 行男¹⁾, 長谷川 悠子¹⁾, 村上 詩歩¹⁾, 前野 愛¹⁾, 広瀬 明彦²⁾, 中江 大³⁾
¹⁾東京都健康安全研究センター, ²⁾国立医薬品食品衛生研究所, ³⁾東京農業大学

ポスター発表 I-8

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長：川口 博明 (鹿児島大学)・平川 公昭 (株式会社新日本科学)

- P-33** **ラットを用いたバニリンプロピレングリコールアセタール (バニリンPGA) の90日間亜慢性反復経口投与毒性試験**
 ○山田 貴宣^{1,2)}, 松下 幸平¹⁾, 豊田 武士¹⁾, 森川 朋美¹⁾, 高橋 美和¹⁾, 井上 薫¹⁾, 小川 久美子¹⁾
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部, ²⁾東京農工大学大学院 獣医病理学研究室
- P-34 *** **イソオイゲニルメチルエーテルのF344ラットにおける90日間反復投与毒性試験**
 ○赤木 純一, Cho Young-Man, 水田 保子, 小川 久美子
 国立衛研・病理
- P-35 *** **Characteristic pathological changes in nuclei of ADC drug-treated animals**
 ○Mingshu Huang, Toko Ohira, Liang He, Jingjing Mao, Jianyan Yan, Tiantian Cui, Minbo Hou, Hua Li, Jing Ma
 国立上海新薬安全評価研究中心
- P-36** **医療用医薬品のがん原性試験に関する調査 -その1-**
 ○西村 次平¹⁾, 野中 瑞穂¹⁾, 直田 みさき¹⁾, 角田 聡¹⁾, 三枝 由紀恵¹⁾, 堂口 裕士¹⁾, 小野寺 博志¹⁾, 笹木 修¹⁾, 篠田 和俊¹⁾, 小川 久美子²⁾, 西川 秋佳²⁾
¹⁾(独) 医薬品医療機器総合機構, ²⁾国立医薬品食品衛生研究所

ポスター発表 I-9

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長：鈴木 智 (大鵬薬品工業株式会社)・西村 友成 (アスピオファーマ株式会社)

- P-37 * ラット実験的自己免疫性神経炎モデルにおける末梢神経の病理組織像の経時変化の検討
○富川 恵美, 六鹿 麻由, 原 宏士朗, 金子 ちひろ, 三好 智也, 井村 奈緒子, 富樫 裕子, 林 亮司
東レ(株) 医薬研究所
- P-38 * レプチン受容体欠損メダカの眼病変に関する病理組織学的検討
○荳田 慎一¹⁾, 平光 彩乃²⁾, 杉山 晶彦²⁾
¹⁾杏林大学 医学部 衛生学公衆衛生学教室, ²⁾鳥取大学 農学部 共同獣医学科
- P-39 マングスチン果皮抽出物 (α および γ -mangostin) のApoE-KOマウスにおける動脈硬化発症に対する抑制効果とその作用機序の解析
○柴田 雅朗¹⁾, 斯波 真理子²⁾, 柴田 映子²⁾, 前村 憲太郎¹⁾, 近藤 洋一¹⁾
¹⁾大阪医科大学 医学部 生命科学講座解剖学教室, ²⁾国立循環器病研究センター 研究所 病態代謝部
- P-40 脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (SHRSH) を用いた味噌による脳卒中の抑制効果
○渡辺 敦光¹⁾, 笹谷 めぐみ²⁾, 佐藤 健一²⁾, 宮坂 勇一郎³⁾, 吉栖 正生¹⁾
¹⁾広大学院医歯薬保研究院心臓血管生理医学, ²⁾広大学原医研, ³⁾神州一味噌(株)

ポスター発表 I-10

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長：井澤 武史 (大阪府立大学)・乾 公正 (石原産業株式会社)

- P-41 * 緑茶抽出物誘発ラット肝臓障害モデルにおけるミード酸の抑制効果
○竹之内 明子¹⁾, 榎本 祐子²⁾, 木下 勇一³⁾, 浜崎 景⁴⁾, 螺良 愛郎⁵⁾, 義澤 克彦¹⁾
¹⁾武庫川女子大学 生活環境学部, ²⁾関西医科大学 倫理審査センター,
³⁾和歌山県立医科大学附属病院 中央検査部, ⁴⁾富山大学 医学部 公衆衛生学講座,
⁵⁾大阪府済生会泉尾病院 病理診断科
- P-42 * 炎症誘導因子 (DAMPs) と関連シグナルを介したチオアセトアミド (TAA) 誘発ラット急性肝障害における進展機序の解析
○倉持 瑞樹, 井澤 武史, Pervin Munmun, Karim Mohammad Rabiul, 桑村 充, 山手 丈至
大阪府立大学 獣医病理
- P-43 * 雌SDT fatty ラットにおける若齢及び高齢の病態解析
○Teoh Soon Hui¹⁾, 美谷島 克宏¹⁾, 太田 毅²⁾, 篠原 雅巳³⁾, 宇野 絹子¹⁾, 煙山 紀子¹⁾, 中江 大¹⁾
¹⁾東京農業大学大学院 農学研究科, ²⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所, ³⁾日本クレア(株) 東京AD部
- P-44 * NZB/W F1 マウスのLPS誘発早期腎炎発症モデルに対するSLE治療薬の効果および病理組織学的検索
○金原 智美, 大芝 泰弘, 今井 順, 村瀬 詩織, 伊藤 格, 木村 均
(株)日本バイオリサーチセンター
- P-45 食塩負荷が肥満2型糖尿病モデルであるSDT fatty ラットの腎症の進展に及ぼす影響
○美谷島 克宏^{1,2)}, 太田 毅³⁾, 篠原 雅巳⁴⁾, 岩崎 日向子¹⁾, 張 舜恵²⁾, 宇野 絹子²⁾, 煙山 紀子¹⁾, 中江 大^{1,2)}
¹⁾東京農大・食品安全健康, ²⁾東京農大・院・食品栄養, ³⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所,
⁴⁾日本クレア株式会社

ポスター発表 I -11

第1日目 1月25日(木) 17:20 ~ 18:20

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長：佐々木 朋 (マルホ株式会社)・渡邊 厚 (旭化成メディカル株式会社)

- P-46 ビーグル犬の膝関節に広範囲な軟骨欠損が作製可能か？軟骨欠損施術後の組織修復に関する研究
○田崎 雅子¹⁾, 平井 俊行¹⁾, 秋山 真洋¹⁾, 伊藤 好文¹⁾, 中澤 圭一¹⁾, 原田 恭治²⁾, 長野 嘉介³⁾, 萩原 仁美¹⁾
¹⁾テルモ(株), ²⁾日本獣医生命科学大学 獣医外科学研究室, ³⁾長野毒性病理コンサルティング
- P-47 * アレルギー性皮膚炎モデルにおけるエストロゲンレセプターを介した炎症反応誘導の病理組織学的検討
○小山 彩, 田食 里沙子, 渡部 優子, 福山 朋季, 加藤 由隆, 牧野 絵美, 伊藤 強, 高橋 尚史, 志賀 敦史, 岡崎 欣正, 原田 孝則
(一財)残留農薬研究所
- P-48 世界最高水準のラットリソース拠点としてのナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」
○田中 美有, 本多 新, フォークト ビルガー, 根小田 祐基, 萩原 和美, 崔 宗虎, 橋 亮磨, 長尾 朋美, 中西 聡, 山崎 賢一, 庫本 高志, 浅野 雅秀
京都大学 医学研究科 附属動物実験施設
- P-49 F344ラットにおける2-Furanmethanethiolの13週間反復経口投与による毒性評価
○時 亮^{1,3)}, 石井 雄二¹⁾, 高須 伸二¹⁾, 土屋 卓磨¹⁾, 木島 綾希¹⁾, 小川 久美子¹⁾, 西川 秋佳²⁾, 梅村 隆志¹⁾
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部, ²⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター, ³⁾筑波大学 実験病理研究室

ポスター発表 II -1

第2日目 1月26日(金) 13:10 ~ 14:10

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長：小寺 喬 (日本新薬株式会社)・篠塚 淳子 (中外製薬株式会社)

- P-50 * 心筋壊死の検出のための免疫組織化学的検討
○高井 有一, 神鳥 仁志, 渡辺 武志
武田薬品工業株式会社 リサーチ 薬剤安全性研究所
- P-51 画像解析ソフトImageJを用いた細胞小器官の定量的解析 -PGE2投与マウスの胃表層粘膜細胞に認められた変化-
○衣斐 彼方, 木原 亨, 寒川 祐見, 柴主 敏行, 高部 浩行, 橋本 和人
科研製薬(株)
- P-52 経皮曝露感作性試験におけるコレラトキシン及びコレラトキシンBサブユニットのアジュバント作用
○Cho Young-Man, 水田 保子, 赤木 純一, 豊田 武士, 小川 久美子
国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- P-53 ベンチマークドーズ (BMD) 法を適用した化学物質の毒性評価において適切な毒性病理所見をエンドポイントとして選択するために毒性病理学者が注意すべき点
○吉田 緑¹⁾, 梅村 隆志²⁾
¹⁾内閣府食品安全委員会, ²⁾ヤマザキ学園大学

- P-54 ウシ摘出角膜の混濁度および透過性試験法 (BCOP 法) と病理組織学的検査の併用による眼に対する弱刺激性物質判定の検討
○伊藤 浩太, 古川 正敏, 遠藤 ちひろ, 松浦 正男
株式会社 化合物安全性研究所 安全性研究部 臨床検査・病理検査室

ポスター発表Ⅱ-2

第2日目 1月26日(金) 13:10 ~ 14:10

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 河内 眞美 (大日本住友製薬株式会社)・能登 貴久 (参天製薬株式会社)

- P-55 * ラットにおける Paclitaxel 投与による自律神経の病理組織学的変化
○中村 賢志, 横尾 諭, 王 蒙東, 下内 孝司, 村井 厚子, 並木 健吾, 栗林 正伯, 柳 浩由紀
小野薬品工業(株) 研究本部 安全性研究部
- P-56 * T-2 toxin のマウス発達期曝露による海馬歯状回及び小脳における metallothionein 発現増加と発現細胞の同定
○中島 康太^{1,2)}, 伊藤 優子^{1,2)}, 増渕 康哲^{1,2)}, 吉田 敏則¹⁾, 渋谷 淳¹⁾
¹⁾東京農工大 獣医病理, ²⁾岐阜大・院・連合獣医
- P-57 ラット発達期の甲状腺機能低下による海馬歯状回の神経新生障害と抗酸化物質併用による神経保護作用の検討
○増渕 康哲^{1,2)}, 中島 康太^{1,2)}, 伊藤 優子^{1,2)}, 小柳 美穂子³⁾, 林 新茂³⁾, 吉田 敏則¹⁾, 渋谷 淳¹⁾
¹⁾東京農工大 獣医病理, ²⁾岐阜大・院・連合獣医, ³⁾三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
- P-58 * 幼若白色種ウサギの眼球の組織学的特徴
○山際 慶典, 根本 真吾, 榊 秀之, 倉田 昌明
千寿製薬株式会社 研究開発本部
- P-59 Deep Convolutional Neural Network を用いたヒト肺がん細胞像の自動分類
○塚本 徹哉¹⁾, 桐山 諭和^{1,2)}, 寺本 篤司³⁾
¹⁾藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科, ²⁾成田記念病院 病理診断科,
³⁾藤田保健衛生大学 医療科学部 放射線学科

ポスター発表Ⅱ-3

第2日目 1月26日(金) 13:10 ~ 14:10

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 藤島 純子 (株式会社新日本科学)・牧野 俊彦 (第一三共株式会社)

- P-60 * 制限給餌のカニクイザルにみられた心臓病変
○松尾 沙織里¹⁾, 藤澤 希望¹⁾, 松下 智哉¹⁾, 林 修次¹⁾, 篠塚 淳子¹⁾, 三好 昌夫¹⁾, 鈴木 雅実^{1,2)}, 加藤 淳彦¹⁾
¹⁾中外製薬(株), ²⁾(株) 未来創薬研究所
- P-61 * マウス大腸炎モデルの A-kinase anchor protein (AKAP) 13 発現解析及び Rho-associated coiled-coil containing protein kinase (ROCK) 阻害の影響評価
○寒川 祐見^{1,2)}, 吉田 敏則²⁾, 村山 宗理^{1,2)}, 衣斐 彼方¹⁾, 木原 亨¹⁾, 葛谷 和也¹⁾, 小柳 美穂子³⁾, 林 新茂³⁾, 渋谷 淳²⁾
¹⁾科研製薬, ²⁾東京農工大獣医病理, ³⁾三栄源エフ・エフ・アイ

- P-62 幼若期ラット /CrI:CD (SD) における腎臓の病理組織学的背景データ**
 ○井上 紗季¹⁾, 畠山 洋文¹⁾, 武井 由弘¹⁾, 渡辺 純¹⁾, 小泉 治子¹⁾, 梶村 哲世¹⁾, 下井 昭仁¹⁾, 佐藤 伸一¹⁾, 岩田 聖²⁾
¹⁾(株)イナリサーチ, ²⁾ルナパス毒性病理研究所
- P-63 * 幼若期ラット /CrI:CD (SD) における皮膚の病理組織学的背景データ**
 ○渡辺 純¹⁾, 畠山 洋文¹⁾, 武井 由弘¹⁾, 井上 紗季¹⁾, 小泉 治子¹⁾, 梶村 哲世¹⁾, 下井 明仁¹⁾, 佐藤 伸一¹⁾, 岩田 聖²⁾
¹⁾(株)イナリサーチ, ²⁾ルナパス毒性病理研究所
- P-64 * F344系gpt delta ラットの自然発生病変スペクトラム**
 ○松下 幸平¹⁾, 木島 綾希¹⁾, 石井 雄二¹⁾, 高須 伸二¹⁾, 黒田 顕¹⁾, 能美 健彦²⁾, 小川 久美子¹⁾, 梅村 隆志^{1,3)}
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部, ²⁾国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部, ³⁾ヤマザキ学園大学 動物看護学部

ポスター発表Ⅱ-4

第2日目 1月26日(金) 13:10 ~ 14:10

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 飯塚 生一 (株式会社ツムラ)・神鳥 仁志 (Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社)

- P-65 * IS/Kyo ラットの30週齢までの雌生殖器における病理組織学的特徴—妊娠率及び着床率低下との関連—**
 ○岡野 拓, 山口 裕子, 伊倉 佐織, 鈴木 勇, 斎藤 翼, 星谷 達
 (株)ボゾリサーチセンター 病理部
- P-66 * マウス /CrI:CD1 (ICR) の精巣に出現する異常遺残体の背景データ検索**
 ○早川 知里, 木村 真之, 黒田 雄介, 林 清吾, 竹内 和也, 古川 賢
 日産化学工業 (株) 生物科学研究所
- P-67 マイクロミニピッグにおけるライディッヒ細胞の発達に関する組織学的検索**
 ○寒川 彰久, 大竹 正剛, 塩谷 聡子, 柴田 昌利
 静岡県畜産技術研究所 中小家畜研究センター
- P-68 * ゲッチングミニブタにおける精巣毒性評価のための精子形成サイクルステージ分類**
 ○山田 直明, 涌生 ゆみ, 爰島 洋子, 土居 卓也, 菅野 剛, 土谷 稔
 L S I メディエンス (株) 試験研究センター 病理研究部

ポスター発表Ⅱ-5

第2日目 1月26日(金) 13:10 ~ 14:10

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 尾崎 清和 (摂南大学)・中原 豊 (アステラス製薬株式会社)

- P-69 化合物投与により神経症状が顕在化したビーグル犬における肉芽腫性髄膜炎の1例**
 ○見鳥 光¹⁾, 寶来 直人²⁾, 梶川 悟¹⁾, 小野 美穂子¹⁾
¹⁾アステラス製薬株式会社 安全性研究所, ²⁾株式会社新日本科学 安全性研究所
- P-70 * Sprague-Dawley ラットの胸腔に自然発生した癌肉腫の1例**
 ○木嶋 恵, 末廣 美紀, 伊東 志野, 二井 愛介
 生化学工業 (株)

- P-71 * 若齢 Crl:CD (SD) ラットの空腸における自然発症性の高分化型管状腺癌の一例
○浅岡 由次, 増野 功一, 藤澤 可恵, 殿村 優, 田尻 美奈子, 加藤 祐樹, 柏木 絵美, 土屋 紀子,
鳥井 幹則, 上野 元伸
塩野義製薬(株) 開発研究所
- P-72 盲腸結腸重積を呈したイヌに認められた過誤腫
○小野 美穂子, 高橋 美和, 中原 豊, 坪田 健次郎, 松本 正博
アステラス製薬(株) 安全性研究所

ポスター発表Ⅱ-6

第2日目 1月26日(金) 13:10 ~ 14:10

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 豊沢 かおる (株式会社住化分析センター)・山口 裕子 (株式会社ボゾリサーチセンター)

- P-73 ミニブタの壊死性動脈炎を伴う急性出血性胃炎の1症例
○江田 景, 赤根 弘敏, 市川 敦子, 清水 茂一, 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
- P-74 昼行性動物マイクロミニピッグにおける無麻酔下経時的脳脊髄液採取法の確立
○川口 博明¹⁾, 阿部 正治¹⁾, 牛飼 美晴¹⁾, 大井 紗弓²⁾, 柚川 藍色²⁾, 吉川 哲也²⁾, 和泉 博之²⁾,
谷本 昭英³⁾, 堀内 正久¹⁾
¹⁾ 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 衛生学・健康増進医学分野,
²⁾ 株式会社新日本科学安全性研究所,
³⁾ 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 病理学分野
- P-75 * RccHan: WIST ラットにみられた子宮の部分的形成不全の2例
○下間 由佳子, 武田 周二, 緒方 敬子, 串田 昌彦
住友化学(株) 生物環境科学研究所
- P-76 * 若齢雄性 SD ラットに認められた乳腺腫瘍についての病理組織学的検討
○吉田 翔太, 田中 英樹, 二宮 美美子, 松原 健嗣, 山本 宏美, 鈴木 智, 森田 文雄, 箱井 加津男
大鵬薬品工業株式会社 研究本部

ポスター発表Ⅱ-7

第2日目 1月26日(金) 13:10 ~ 14:10

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 黒滝 哲郎 (株式会社 LSI メディエンス)・松本 泉美 (大日本住友製薬株式会社)

- P-77 * 若齢成熟 Wistar ラットで認められた肺転移を伴う皮膚血管肉腫の1例
○鈴木 志野, 高木 理恵, 平井 和也, 平田 淳也, 樫本 幸子, 赤沼 三恵
株式会社クレハ 安全性研究・評価センター
- P-78 老齢 SD ラットの後腹膜に自然発生した脱分化型脂肪肉腫
○内藤 智春^{1,2)}, 齋藤 剛²⁾, 樋口 珠美¹⁾, 猪又 晃¹⁾, 林 大久生²⁾, 山内 敦子¹⁾, 剣持 明¹⁾,
柿沼 千早^{1,2)}, 八尾 隆²⁾
¹⁾ 富士フイルム株式会社 R&D 統括本部 医薬品・ヘルスケア研究所, ²⁾ 順天堂大学医学部人体病理病態学講座
- P-79 NOG マウスに発生した皮下腫瘍の一症例
○赤根 弘敏, 江田 景, 市川 敦子, 清水 茂一, 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

- P-80 ビーグル犬の舌下腺腺房細胞にみられた硝子滴を伴う水腫変性
 ○押方 孝文, 満石 三喜男, 浜村 政夫
 (株) L S I メディエンス

ポスター発表Ⅱ-8

第2日目 1月26日(金) 13:10 ~ 14:10

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 吉川 剛 (大塚製薬株式会社)・渡辺 武志 (武田薬品工業株式会社)

- P-81 ラットを用いたセルレイン投与による腭外分泌毒性の検討
 ○田中 英樹, 吉田 翔太, 二宮 芙美子, 藤枝 光博, 松下 宗史, 松原 健嗣, 山本 宏美, 鈴木 智, 森田 文雄, 箱井 加津男
 大鵬薬品工業株式会社 研究本部
- P-82 * 自動車排出粒子はリソソームに集積しリゾチームで溶解される
 ○古賀 のどか, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 横山 聖, 今村 麗, 谷川 千明, 大元 知貴, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一
 神院大薬LCMP
- P-83 * 自動車排出粒子刺激による鼻咽頭関連リンパ組織の免疫応答への影響
 ○横山 聖, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 今村 麗, 谷川 千明, 大元 知貴, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一
 神院大薬LCMP
- P-84 * 都市大気粉塵は鼻腔上細胞の増殖能を抑制する
 ○谷川 千明, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 横山 聖, 今村 麗, 大元 知貴, 古賀 のどか, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一
 神院大薬LCMP
- P-85 * 成熟マウスにおける自動車排出粒子に対する鼻腔免疫の雌雄での違いに関する検討
 ○今村 麗, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 横山 聖, 古賀 のどか, 谷川 千明, 大元 知貴, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一
 神戸学院大学 薬学部 生体機能制御学研究室

ポスター発表Ⅱ-9

第2日目 1月26日(金) 13:10 ~ 14:10

ポスター会場 (7F シェルホール)

座長: 石上 紀明 (小野薬品工業株式会社)・西川 智美 (田辺三菱製薬株式会社)

- P-86 * VEPで刺激された鼻腔上皮細胞のリンパ球サブセットへ及ぼす影響
 ○大元 知貴, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 今村 麗, 谷川 千明, 古賀 のどか, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一
 神院大薬LCMP
- P-87 * 免疫制御薬としてのTNFR1選択的アンタゴニストの有効性・安全性の検討
 — 一本鎖化技術による構造最適化 —
 ○大崎 奈都喜¹⁾, 井上 雅己^{1,2)}, 國重 将大¹⁾, 三木 望稔里¹⁾, 小野寺 章¹⁾, 河合 裕一¹⁾, 鎌田 春彦^{2,3)}, 堤 康央³⁾, 角田 慎一^{1,2)}
¹⁾神戸学院大・薬・生体機能制御学, ²⁾医薬健栄研, ³⁾阪大院・薬

- P-88 *** 免疫制御薬としてのTNFR1選択的アンタゴニストの有効性・安全性の検討
— 部位特異的PEG修飾による構造最適化 —
○國重 将大¹⁾, 井上 雅己^{1,2)}, 大崎 奈都喜¹⁾, 三木 望稔里¹⁾, 小野寺 章¹⁾, 河合 裕一¹⁾,
鎌田 春彦^{2,3)}, 堤 康央³⁾, 角田 慎一^{1,2)}
¹⁾神戸学院大・薬・生体機能制御学, ²⁾医薬健栄研, ³⁾阪大院・薬
- P-89 *** 制御性T細胞の機能制御分子としてのTNFR2の有用性評価
○三木 望稔里¹⁾, 井上 雅己^{1,2)}, 大崎 奈都喜¹⁾, 國重 将大¹⁾, 小野寺 章¹⁾, 河合 裕一¹⁾,
安藤 大介^{2,3)}, 鎌田 春彦^{2,3)}, 堤 康央³⁾, 角田 慎一^{1,2)}
¹⁾神戸学院大・薬・生体機能制御学, ²⁾医薬健栄研, ³⁾阪大院・薬

ポスター発表Ⅱ-10

第2日目 1月26日(金) 13:10～14:10

ポスター会場(7F シェルホール)

座長: 岡崎 欣正(一般財団法人残留農薬研究所)・美谷島 克宏(東京農業大学)

- P-90** Desmoglein-3を標的分子としたADCC抗体のマウスにおける抗原発現と発現臓器の生理学的特性による毒性反応の相違
○藤井 悦子^{1,2)}, 谷口 健治²⁾, 加藤 淳彦²⁾, 鈴木 雅実^{1,2)}
¹⁾(株)未来創薬研究所, ²⁾中外製薬(株)研究本部
- P-91** The Role of the Toxicologic Pathologist in Drug Discovery and Development
○Shirai Norimitsu¹⁾, Tomlinson Lindsay²⁾
¹⁾Pfizer Drug Safety R & D, Pathology, Groton, CT, USA,
²⁾Pfizer Drug Safety R & D, Pathology, Cambridge, MA, USA
- P-92** FDA SENDへの対応 —パソロジストが心得るべきFDA SEND その3—
○畠山 洋文¹⁾, 堀川 真一¹⁾, 桜井 淳一¹⁾, 小泉 治子¹⁾, 下井 昭仁¹⁾, 佐藤 伸一¹⁾, 岩田 聖²⁾,
安齋 享征³⁾
¹⁾(株)イナリサーチ, ²⁾ルナパス毒性病理研究所, ³⁾昭和大学医学部
- P-93** 病理ピアレビューと病理報告書についての一考察
○岩田 聖¹⁾, 安齋 享征²⁾, 大石 裕司³⁾
¹⁾ルナパス合同会社 毒性病理研究所, ²⁾昭和大学医学部, ³⁾大阪市立大学

ポスター発表Ⅱ-11

第2日目 1月26日(金) 13:10～14:10

ポスター会場(7F シェルホール)

座長: 杉元 陽子(日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社)・友成 由紀(株式会社LSIメディエンス)

- P-94** 多層カーボンナノチューブの経気管反復投与によりラット肺に誘発された増殖性病変の免疫組織学的解析
○坂本 義光¹⁾, 北條 幹¹⁾, 鈴木 俊也¹⁾, 猪又 明子¹⁾, 広瀬 明彦²⁾, 中江 大³⁾
¹⁾東京都健安研センター 生体影響研究科, ²⁾国立衛研 総合評価研, ³⁾東京農業大 応用生物科学部

P-95 * Comparative Pulmonary toxicity of DWCNT and MWCNT-7 in Rats

○ Ahmed M. El-Gazzar^{1,2,7}, Mohamed Abdelgied^{1,2,8}, David B. Alexander¹, William T. Alexander¹, Takamasa Numano¹, Masaaki Iigo¹, Aya Naiki², Hirotugu Takase³, Akihiko Hirose⁴, Yuhji Taquahashi⁵, Jun Kannno⁶, Satoru Takahashi², Ashraf Mohamed Nazem⁹, Osama Saeid Elokke⁷, Hiroyuki Tsuda¹

¹ Nanotoxicology Project, Nagoya City University, Nagoya, Japan.,

² Dept Exp Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Grad School Med Sciences, Nagoya, Japan.,

³ Nagoya City University Graduate School Med Sciences, Nagoya, Japan.,

⁴ Div Risk Assessment, NIH, Tokyo, Japan.,

⁵ Div Cellular and Molecular Toxicology, NIH, Tokyo, Japan.,

⁶ Japan Industrial Safety and Health Association, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan.,

⁷ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.,

⁸ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Beni Suef University, Beni Suef, Egypt.,

⁹ Dept Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.

P-96 消化管粘膜修復過程における幹細胞、増殖細胞、分化細胞の動態 —胃潰瘍および大腸潰瘍モデルの比較—

○ 平田 暁大¹, 並木 健吾², 村井 厚子², 富田 弘之³, 原 明³, 酒井 洋樹⁴, 柳井 徳磨⁴

¹ 岐阜大学 動物実験分野, ² 小野薬品工業株式会社, ³ 岐阜大学大学院 腫瘍病理学分野,

⁴ 岐阜大学 獣医病理学研究室

P-97 * 異なる挙動を示す Furan 及び DEN 誘発 GST-P 陽性細胞巢の網羅的遺伝子発現解析

○ 高須 伸二¹, 石井 雄二¹, 木島 綾希¹, 小川 久美子¹, 梅村 隆志^{1,2}

¹ 国立医薬品食品衛生研究所 病理部, ² ヤマザキ学園大学 動物看護学部

P-98 * Potassium octatitanate fiber (K₂O · 8TiO₂) fiber is a potent inducer of lung and pleural injury in male Fischer 344 rats: A comparative study of titanium dioxide nano particles

○ Mohamed Abdelgied^{1,2,3}, Ahmed M. El-Gazzar^{1,2,4}, David B. Alexander¹, William T. Alexander¹, Takamasa Numano¹, Masaaki Iigo¹, Aya Naiki², Hirotugu Takase⁵, Khaled Abbas Abdou³, Akihiko Hirose⁶, Yuhji Taquahashi⁷, Jun Kannno⁸, Satoru Takahashi², Hiroyuki Tsuda¹

¹ Nano toxicology Project, Nagoya City University, Nagoya, Japan.,

² Dept Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan.,

³ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Beni Suef University, Beni-Suef, Egypt.,

⁴ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.,

⁵ Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan.,

⁶ Div Risk Assessment, NIH, Tokyo, Japan.,

⁷ Div Cellular and Molecular Toxicology, NIH, Tokyo, Japan.,

⁸ Japan Industrial Safety and Health Association, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan.

ランチョンセミナーⅠ

第1日目 1月25日(木) 12:10～13:00

第1会場(6F ニライカナイ)

座長: 今立 真(エンヴィーゴ株式会社)

共催: エンヴィーゴ株式会社

- LS-1 Immune functions in lymph nodes - how lymph nodes work; illustrated anatomical basis for surveillance, filtration and antigen response
Cynthia Willard-Mack
Pathology, Envigo US

ランチョンセミナーⅡ

第1日目 1月25日(木) 12:10～13:00

第2会場(6F 王朝)

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 evaluation for the Monkey Safety Test for Neurovirulence of Yellow Fever and Tetravalent Dengue Vaccines - WHO Protocol for Live-Attenuated Vaccines-
サルを用いた神経毒力試験における病理所見評価についてー弱毒生ワクチンのWHOプロトコールにおける黄熱病および4価デングワクチンでの事例を中心にー
Sheila Grimes
Southern Research

ランチョンセミナーⅢ

第2日目 1月26日(金) 12:10～13:00

第1会場(6F ニライカナイ)

座長: 磯部 香里(Charles River Edinburgh)

共催: Charles River

- LS-3 Use of Unbiased Stereology in Drug Development
Danielle L. Brown, DVM, MS, DACVP, DABT
Charles River Pathology Associates

ランチョンセミナーⅣ

第2日目 1月26日(金) 12:10～13:00

第2会場(6F 王朝)

座長: 平川 公昭(株式会社新日本科学 安全性研究所)

共催: 株式会社新日本科学

- LS-4 ヒト細胞を用いた再生医療等製品の安全性試験
Non-clinical safety studies for human cell derived tissue-engineered medical products
孫谷 弘明
株式会社新日本科学 安全性研究所

講演要旨

特別講演

シンポジウム

パネルディスカッション

ワークショップ

SL1

沖縄の開発研究と毒性学

安仁屋 洋子

沖縄科学技術大学院大学理事

大学は地域連携、地域貢献が様々なレベルで求められるようになり、研究を通して地域の開発発展に寄与する役割を担っている。亜熱帯地域としての環境特性、独自の風土・文化を持つ沖縄にある琉球大学でも様々な地域連携研究がなされてきた。また、米国統治・日本復帰という歴史的背景から日本政府により設置された沖縄科学技術大学院大学(OIST)はそのミッションとして教育研究の「Best in the world」を目指す一方、「沖縄の自立的発展」に寄与するとしている。本講演では私が琉球大学で関わってきた健康バイオ資源の地域連携共同研究を紹介し、合わせてOISTを紹介したい。

健康バイオ資源として沖縄産薬草・食材を用い、疾病の予防・健康促進にかかる抗酸化物質の産官学共同開発研究を行った。紫外線をカットするビニールハウスの内外で薬草、野菜を栽培し、紫外線照射が抗酸化作用を強くすることや、古くから食されてきた地元産野菜は強い抗酸化作用を有することが確認された。地元産薬草・野菜の抗酸化成分が分離同定され、それらの薬理作用(肝保護作用、心臓保護作用、大腸がん予防作用、抗炎症作用、抗菌作用、血糖降下作用など)が明らかにされた。また、海藻モズクの多糖類成分に抗酸化作用があることや紅麴菌より抗酸化成分が分離同定され、その構造式、抗酸化作用メカニズムも明らかにされた。この連携研究は地元の健康食品開発を後押しする結果となった。これらの研究を通して強く感じたことがある。バイオ資源から機能性食品や薬を開発する場合、効能・毒性と用量の関係は最も大きな問題であるが、植物の機能性成分はin vitro, in vivoで2相性用量反応曲線を示すものが多く、多様な標的を有するものも多い。また、機能性成分の物理化学的性質はin vitroの試験に影響するものがある。機能性成分の開発に際してこれらの特性を考慮し、機能性試験、毒性試験を行う毒性学のバックグラウンドが重要である。

OISTは学部学生を持たない大学院大学で2011年に設立され、世界中から学生が集まり、すべて英語で教育され、来春に第一回生のPh.D.取得者が卒業する。研究室は各教官(教授、准教授)が独立して研究ユニットを形成し、神経科学、生命科学、海洋科学、物理学、数学、化学の分野にわたる60のユニットがあり、100ユニットまで増やす予定である。Best in the Worldをめざした研究がなされ、多くの研究論文がトップジャーナルに発表されている。沖縄の自立発展に関しては、産学連携研究が推進され、また、各研究成果を産業界につなげる「技術開発&改革センター」部門が強化され、技術移転などの成果が出つつある。

SL2

乳幼児期の食物アレルギーの発症と経口免疫寛容の獲得メカニズムと、それらをモニターするバイオマーカー

木戸 博

徳島大学先端酵素学研究所 特任教授

近年食物アレルギーの発症原因が、これまで信じられていた経口アレルギー摂取によるものではなく、湿疹などを原因とする経皮アレルギー感作によって発症することが証明された。これにより、離乳食の開始を遅らせる従来の食物アレルギー予防法とは逆に、離乳早期から卵やピーナツなどのアレルギーを経口摂取することで食物アレルギーを予防できることが論文に発表され、国内外で注目されている。しかしこの革新的事実を、食物アレルギーの発症機序と経口免疫寛容機序から説明する基礎研究が遅れている。また医療現場では、食物アレルギーの予防のため、離乳早期からアレルギー経口摂取を開始する事の可否を、どのような根拠によって診断したら良いか、手探り状態にある。現状では、湿疹を完治させた後でアレルギーの経口摂取を開始する事以外には、アレルギー経口摂取の可否を判定する基準やバイオマーカーは知られていない。

我々は最近乳児を対象に、出生直後から2ヶ月毎に生後6ヶ月までの血中アレルギー特異抗体のモニターと、生後1年目の食物負荷試験を実施して、食物アレルギーの発症と経口免疫寛容に関する新たなバイオマーカーを見出した。具体的には、食物アレルギー発症者群と経口免疫寛容に進むと予想された乳幼児群間で、イムノグロブリンクラススイッチパターンの明らかな違いと、食物アレルギーハイリスク者群に検出されるアレルギー高親和性IgE抗体と、経口免疫寛容進展予想者群のアレルギー低親和性IgE抗体の検出である。アレルギー特異的低親和性IgE抗体は、従来のIgE測定方法では測定できなかったため、ヒトでの存在と生理的意義がこれまで解析されていなかった抗体で、我が国で新たに開発されたDCP (Densely Carboxylated Protein) チップ法で初めて測定が可能になった抗体である。アレルギー低親和性IgE抗体は、抗原との架橋反応が弱いために肥満細胞からのFcεRIを介したヒスタミン遊離反応を引き起こすことなく、むしろアレルギー反応を抑制する抗体で、これまで臍帯血中に検出されていたが、経口免疫寛容に進むと予想される乳幼児で検出されたため、食物アレルギー発症と経口免疫寛容を判定するバイオマーカーの一つとして、イムノグロブリンクラススイッチのパターン解析と共に注目されている。

本講演では、新規DCPチップ測定法が切り開いた抗原親和性の異なるIgE抗体の生理的・病態学的意義に関するパラダイムシフトについて、最新知見を紹介したい。

SY1-1

γ-H2AX免疫染色による膀胱発がんリスク早期検出法の開発

○豊田 武士¹⁾, 松下 幸平¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, 赤木 純一¹⁾, 曾根 瑞季^{1,2)}, 西川 秋佳³⁾, 小川 久美子¹⁾

¹⁾ 国立医薬品食品衛生研究所・病理,

²⁾ 東京農工大・獣医病理,

³⁾ 国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター

齧歯類を用いた長期発がん性試験の代替法が求められる中で、我々は膀胱発がんリスクの早期検出法開発を目指し、近年発がん過程への関与が急速に明らかにされつつあるDNA損傷・修復経路に着目した。発がん物質の曝露初期に変動するDNA修復関連因子を特定するため、遺伝毒性膀胱発がん物質である*N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN)を投与したラット膀胱粘膜において、DNA二重鎖切断(DSB)・ミスマッチ修復・塩基除去修復など、様々な経路を対象とした免疫組織化学的検索を実施した。その結果、DSBの指標とされるγ-H2AXの形成がBBN投与群で特異的に増加していることが明らかとなった。γ-H2AX陽性細胞は膀胱がんの腫瘍細胞だけでなく、投与終了から33週経過後の正常様上皮細胞においても認められた。このことは、曝露時に生じたDNA損傷が長期にわたって残存し、後の発がんに寄与していることを示している。

γ-H2AXはヒストンタンパク質の一つであるH2AXの、139番目のセリン残基がリン酸化されることで形成される。1998年の報告以来、DSBの鋭敏かつ特異性の高いマーカーとして知られ、遺伝毒性試験から臨床診断まで幅広い分野での応用が期待されている。そこで、遺伝毒性と膀胱発がん性について情報のある12種類の化学物質をラットに4週間経口投与したところ、膀胱を標的としない遺伝毒性発がん物質によるγ-H2AX形成は対照群と同じレベルであった一方、遺伝毒性膀胱発がん物質はγ-H2AX陽性細胞数を有意に増加させた。マウスを用いた比較実験においても、膀胱発がん性の種差を反映した同様の結果を示した。また、経皮または膀胱内投与による遺伝毒性膀胱発がん物質を経口投与した場合でも、程度は減弱するものの、γ-H2AX形成の増加が確認された。以上の結果は、γ-H2AXは遺伝毒性膀胱発がん物質の早期検出に有用であることを示唆している。本手法は4週間という短期の毒性試験で、通常の免疫染色によって実施できることから、化学物質の効率的かつ迅速なリスク評価法になり得る。

上記の検討においてγ-H2AX形成は、非遺伝毒性膀胱発がん物質であるメラミンおよびウラシルを投与したラットにおいても、有意差はないものの増加傾向を示した。DSBはDNAに対する直接的な傷害に限らず、間接的な傷害あるいはDNA複製時のエラーとしても生じる。γ-H2AXは遺伝毒性機序によるものに限らず、膀胱発がん性の広範なマーカーとして利用し得る可能性が考えられる。

さらに、γ-H2AX以外の膀胱発がん性早期検出指標の候補として、細胞増殖マーカーとして汎用されるKi67は、多くの膀胱発がん物質に対して発現増加を示した。また、膀胱幹細胞マーカーであり、ヒト膀胱浸潤癌の起源となることが報告されているKRT14も応用できる可能性がある。これらの複数のバイオマーカーを併用した検討は、評価の精度向上および発がん機序の推定にもつながると期待される。

SY1-2

肺胞サーファクタントの役割と発癌リスク評価への応用

横平 政直

香川大学 医学部 腫瘍病理学

肺胞サーファクタントプロテイン（以下、SP）はⅡ型肺胞上皮から産生され、表面活性物質として肺の構造維持（含気腔確保）に重要な物質である。臨床現場で去痰剤として広く用いられているアンブロキシール塩酸塩は、Ⅱ型肺胞上皮から分泌されるSPの促進作用を有しており、喀痰排泄を促すとともに抗炎症作用を有する。このように、SPは抗炎症作用や異物の除去等の肺の状態維持にも働くと考えられている。SPには、SP-A、SP-B、SP-C、SP-Dの4つのサブタイプが報告されており、この4つのサブタイプについて、肺での炎症や腫瘍における発現パターンの特徴と発癌リスク評価への有用性について報告する。

ラットを用い、肺発癌物質のDHPNに誘発された腫瘍性病変や炎症誘発物質のquartz微粒子の気管内投与による炎症性病変に対して、SP-A～Dの発現を免疫組織化学染色で検討した。SP-BとSP-Cは気管支肺胞上皮過形成（以下、過形成）や肺腺腫で強陽性、SP-AとSP-Dは炎症性病変の肺胞内における粘液成分などに陽性を示した。このようにSPはサブタイプによって機能に差があることが確認された。また、ラットにquartz微粒子を気管内投与後、SP促進剤のアンブロキシール塩酸塩を混餌投与すると、炎症所見が顕著に抑制された。一方で、ラットDHPN誘発肺腫瘍についてはアンブロキシール塩酸塩投与の効果は認められなかった。

Napsin AはSP-Bの成熟に寄与する蛋白であり、Ⅱ型肺胞上皮で産生される。肺の炎症性病変と腫瘍性病変において、napsin Aの免疫組織化学染色による陽性部位に明らかな違いが認められた。発癌物質により誘発された過形成は肺胞壁がnapsin Aに陽性を示した。炎症性の過形成においては肺胞内に貯留している物質やマクロファージには陽性を示したが、肺胞壁の陽性細胞はごく少数であった。

以上より、SPは抗炎症作用を有するものの、腫瘍性病変に対しては直接的な修飾作用は及ぼさないと推測される。一方で、肺の過形成において、将来腫瘍化リスクのある過形成は肺胞壁におけるnapsin Aの陽性所見が指標となることが判明した。これは、肺胞壁におけるnapsin Aを産生するⅡ型肺胞上皮の増殖性変化を検出するものであり、この増殖が腫瘍性変化に重要であることが示唆された。

SY1-3

前立腺発がん物質の早期検出モデルの確立

○鈴木 周五, 内木 綾, 加藤 寛之, 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

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。動物を用いた前立腺発がん研究は、前癌病変発生も30週以上かかることから、病理組織学的な解析による前立腺への早期発がん物質検出モデル開発は困難である。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、短期前立腺発がん物質検出モデル確立を試みた。

前立腺腹葉に標的性を示す発がん物質PhIPをラットに投与後、1, 2, 7日後に屠殺し前立腺組織を採取、増殖の高い時期を検討した結果、2日後腹葉であることを確認した。その前立腺腹葉からRNAを抽出し、PhIP投与により発現の亢進する遺伝子を選出し、その中からマーカー候補であるリン酸化ヒストンH2AX (γ -H2AX)、high mobility group box 2 (HMGB2) およびKi67を見いだした。発がん物質投与2日後の前立腺組織において、これらマーカーの標識率を検討した結果、前立腺に標的性を示す発がん物質4種においてHMGB2やKi67は有意に上昇する一方で、前立腺に標的性のない発がん物質においては対照群との差が見られず、短期前立腺発がん物質検出モデルとして一定の成果が得られた。次に化学物質の投与経路で検出力に差が現れるかを、前立腺発がん試験において皮下投与されるDMABや、腹腔内投与されるMNUを、同用量の経口投与群と比較検討した結果、一部で異なる標識率が存在するものの、総じて投与経路に関わらず有意な上昇を認めた。これら結果をふまえ、化学物質の毒性試験として一般的な28日間反復経口投与毒性試験で採取された前立腺組織においても、同様に検出可能であるか検討した。前立腺に標的性を示す発がん物質4種および、示さない発がん物質4種を、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、前立腺を採取し検討した。結果、HMGB2およびKi67では前立腺発がん物質特異的に有意な標識率上昇を認める一方で、前立腺に標的性のない発がん物質においては対照群との差が見られなかった。 γ -H2AXは前立腺発がん物質での発現上昇傾向を認めたものの、DMAB以外は有意な差がなかった。また、これらマーカー発現をPhIPやDMABで誘導したラット前立腺腫瘍病変や、ヒト前立腺癌で検討した結果、周囲正常上皮に比べ有意に標識率上昇を認め、早期の発現上昇は腫瘍形成時まで保持されることが確認された。

以上の結果から、28日間反復経口投与毒性試験で採取された前立腺組織を用いて前立腺発がん物質を検出できる可能性を示し、その検出マーカー候補タンパクとしてHMGB2およびKi67を同定した。

SY1-4

遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の開発

○魏 民, 藤岡 正喜, 梯 アンナ, 鰐渕 英機

大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

生活環境を取り巻く化学物質の発がん性を迅速にかつ高精度に検証できるシステムの確立は、有害性評価の面から社会的にも経済的にも非常に重要である。現在、国際的な動物試験における3Rの原則に基づき、*in vitro*代替実験法の開発が模索されている。一方、ヒトに対する発がん影響を反映できる個体レベルの動物モデルによる評価法は未だに必要不可欠であり、少数の試験動物数においても正確に発がん性評価ができる短・中期でのバイオアッセイ系の開発が望まれている。こうした背景のもと、我々は遺伝毒性肝発がん物質を短期間かつ高精度に検出する*in vivo*スクリーニング系の開発に取り組んでいる。官民共同プロジェクトであるトキシコゲノミクスプロジェクトで取得されたトキシコゲノミクスデータベース (Open TG-GATE) より解析を実施した。まず初めに遺伝毒性肝発がん物質のラット単回投与24時間後において、肝臓に共通して発現変化を示す10遺伝子(遺伝子マーカーセット)を抽出した。次に、抽出され遺伝子マーカーセットとOpen TG-GATEに格納されている遺伝子発現データを用いて、遺伝子解析ソフト (GeneSpring) で利用できるサポートベクターマシーン (SVM) によって、遺伝毒性肝発がん物質とそれ以外の物質を区別できる数理的予測モデルを構築した。最後に、構築した予測モデルの検証として、Open TG-GATEsに含まれていない既知遺伝毒性肝発がん物質について、ラット単回投与試験を行い、qPCR法にて遺伝子マーカーセットの発現データを取得し、構築した予測モデルに発がん性を予測させた。その結果、検索したすべての遺伝毒性肝発がん物質について、陽性判定が得られた。以上より、本研究で開発した遺伝子マーカーセットを用いた遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法は、従来の肝発がん性評価系と比較して、極短期間かつ高精度に評価でき、発がん性未知化学物質の新規評価系としての活用が期待される。現在、本検出法を用いて、多施設協同研究で多数の化学物質を検討しており、同時に評価することにより、その有用性をより一層検証し確立するとともに、標準化を目指している。

SY2-1

ラットモデルによる大規模吸入試験での毒性影響評価

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

ナノマテリアル (NM) は、その粒子の縦・横・高さのどれか一辺が100ナノメートル以下と定義される多種多様な粒子の総称であり、それらの新しい物理化学的特性が、新たな毒性の危惧を生んでいる。

従来、粒子状物質毒性学という分野があり、その一つにアスベストに代表される繊維発癌 (肺癌や中皮腫) がある。カーボンナノチューブの中には、これに該当する大きさや形状の粒子を含むものがある事から、まず腹腔内投与モデルにより、そして全身曝露吸入試験により、その癌原性が確認された。

人におけるNMの曝露経路として重要なものに「吸入」が挙げられる。その毒性評価を行うために実施する実験動物を用いた全身曝露吸入試験は、実施に必要な設備が必要、かつ、その運転には熟練を要する。これに加え粒子状物質であるNMは、その物理化学的特性に合わせた分散法の開発が必要となる。

毒性学的には、難分解性・不溶性の粒子状物質の「急性毒性」は弱く、その「慢性毒性」が問題となる事が多い。NMの場合、個々の粒子 (一次粒子) はナノサイズでも、凝集体 (二次粒子) はマイクロメートルに及ぶ場合があり得る。その為、吸入により誘発される毒性は、粒子の大きさや形によって呼吸器系内での到達部位が異なる点や、異物除去や炎症等の組織反応の主役であるマクロファージの反応様式が異なる点などにより、単純ではない。Frustrated phagocytosis、肉芽腫・瘢痕形成、凝集体の修飾、等が論議される。また、細胞外基質への沈着と間葉系細胞との相互作用も考慮される。

ここでは、日本バイオアッセイ研究センターにおいてラットを用いて実施した、多層カーボンナノチューブ (Mitsui MWNT-7) の2年間全身曝露吸入発がん性試験と関連短期曝露試験、及び二酸化チタン (テイカ (株) AMT-600) の短期曝露試験から得られた肺を中心とした呼吸器所見を提示し、毒性発現機序についての考察を試みる。

SY2-2

ナノ化学物質のリスク評価の国際動向と慢性試験の必要性

広瀬 明彦

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 安全性予測評価部

ナノマテリアルの健康影響に関して国際的に関心が高まってから約10年余りの期間が過ぎ、その間にOECDなどの国際機関による活動やEUを中心としたナノマテリアルの安全性に関するプロジェクトを通して多くに知見が集積されてきた。我が国もOECDスポンサーシッププログラムの一環として、炭素系ナノマテリアルに関しての毒性情報の収集に貢献してきた。近年ではこれらの成果を用いて、多種多様に及ぶナノマテリアルをグループ化して、カテゴリー評価の手法による包括的評価手法の構築が模索されている。我々は特にナノチューブを中心に慢性投与研究を進めてきており、特に腹腔内投与試験では複数の種類のナノチューブについての中皮腫誘発性の比較検討を行ってきた結果、その強さは長い線維を多く含むナノチューブほど強くなることを示唆してきた。さらに、*in vitro*系においてはTHP-1細胞を用いた炎症性サイトカインの誘導による影響も同様の傾向を示していることを明らかにしてきた。このことはfrustrated phagocytosisが発がん性の引き金になっていることを支持している。一方、吸入暴露試験については、現在のところ利用可能な慢性影響結果はMWNT-7に限られている。ところが、MWNT-7の吸入暴露試験では肺がんは認められたが中皮腫は観察されておらず、腹腔内投与の結果をそのまま外挿できない可能性がでてきた。他方で、気管内投与試験では、中皮腫と肺がんの両方を引き起こすことが示唆されているが、気管内投与による慢性研究の結果も現在のところMWNT-7を含む2種類のナノチューブについて公表されているのみである。結論的には、MWNT-7以外のナノチューブ暴露による肺組織に対する慢性影響を評価できるデータが不足している状況である。2年間の慢性吸入曝露を行う設備を持つ実験施設は国際的にも数が限られている現状を考慮すると、現実的な対応として少なくとも気管内投与による慢性影響のデータを蓄積していく必要があると考えられる。国際的な状況としては、OECDのナノマテリアルのような粒子物質を評価対象とした吸入毒性試験法の改良が行われ、非溶解性の粒子状物質が肺に蓄積して慢性影響を示すことを評価するための肺負荷量を測定する項目が追加されたが、吸入試験を代替する試験法の開発については消極的である。そこで、我が国はこれまでの国内研究の成果を生かすべく、短期間の気管内投与及び吸入試験による*in vivo*試験法の妥当性評価に関するプロジェクトを提案している。慢性吸入曝露試験を全ての物質で行うことができない状況から、カテゴリー評価など共通した物性を持つナノマテリアルの包括的な評価手法としては有用ではないかと考えられる。これらの短期暴露による慢性影響を評価できる手法を確立するために、当面は更なる慢性影響のデータを蓄積する必要があると考えられる。

SY2-3

食品関連製品に含まれるナノ素材の安全性評価～ナノ安全科学研究からナノ最適デザイン研究へ～

○東阪 和馬^{1,2)}, 長野 一也¹⁾, 松本 博志²⁾, 堤 康央^{1,3)}

¹⁾ 阪大院薬, ²⁾ 阪大院医, ³⁾ 阪大MEIセ

近年の食と健康に関する研究の進展により、健康の維持・増進や生活習慣病の予防に役立つ新たな素材や成分が次々と開発されている。従って、食の安全・安心に対する希求は増しており、食品に使用される新素材・新成分についても同様に、安全性の確保が喫緊の課題となっている。このような背景のもと、ナノ粒子(粒子径 100 nm 以下)をはじめとした、21 世紀テクノロジーを活用した新素材の利用(サプリメント・食品添加物・食品用容器包装等)が食品業界においても急速に進行している。例えば、ナノ粒子の代表例である銀ナノ粒子・白金ナノ粒子は、強い抗酸化作用や抗菌活性など、特有の性能を有し、食品関連製品(サプリメント・食品添加物・食品用容器包装等)に幅広く実用化されている。しかし、ナノ粒子特有の機能が、二面性を呈し、予想外の部位で未知の生体影響を発現し得ることが指摘されつつあるものの、実際の曝露実態を加味した投与量・経路での体内動態を追求し、リスクを解明しようとする研究は少ないのが現状である。即ち、ナノ粒子は我々の生活の質を飛躍的に向上し得ることから、科学的根拠に基づいたナノ粒子のリスク解析に資する安全性情報を幅広く収集し、これら情報を基盤として、ナノ粒子の安全性の理解と確保が重要な課題であると考えられる。

本観点から我々は、種々ナノ粒子の物性・品質を解析すると共に、リスク解析基盤となる細胞内・体内動態と一般毒性・特殊毒性を定性・定量解析し、物性・動態・安全性の連関評価に資するナノ安全科学研究を推進してきた。そのうえで、安全なものも積極的に有効活用し、安全性に懸念があるものについては安全なものに仕立てあげていくナノ最適デザイン研究をも推し進めることで、持続的なナノ技術の発展に貢献し得る基盤情報の集積を試みてきた。これまでに、食品添加物等として汎用されている非晶質ナノシリカや銀ナノ粒子を用いて、定性的・定量的に体内吸収性・組織移行性を解析することで、経口吸収されたナノ粒子が、胃や小腸などの消化管局所だけでなく、相当量が血中に移行することをはじめ、従来までのサブミクロンサイズ以上のものとは異なる体内動態を示すことを明らかとしてきた。さらに、ナノ粒子曝露後の一般毒性試験や特殊毒性試験を実施することで、従来素材と比較してより強いハザード(急性毒性、生殖毒性、免疫毒性など)を誘導し得ることを明らかとすると共に、安全性に懸念があるものに関しては、適切な表面修飾を施すことで、安全性を担保し得ることを見出してきた。

本シンポジウムでは、我々が取り組む、これらナノ安全科学研究、およびナノ最適デザイン研究に関する最新の知見について紹介し、ナノ粒子の安全性評価の現状の課題と今後について議論したい。

SY2-4

抗酸化能を有するナノメディシンの開発

長崎 幸夫

筑波大学数理物質科学研究科・人間総合科学研究科・アイソトープ環境動態研究センター

1990年代初頭より、過剰に産生される活性酸素 (ROS) が様々な疾病の原因として重要な役割を果たすことが明らかになってきた。これまで、活性酸素種を消去するために様々な抗酸化剤が開発されてきた。しかしながらこれらは正常な細胞やその中のミトコンドリアに入り込み、電子伝達系を始め、重要なレドックス反応を阻害してしまうことが問題であった。我々はこれらの問題を解決するため、「高分子に抗酸化剤を共有結合でぶら下げる」という発案をし、分子をデザインした。具体的には図1に示すように、自己組織化能や環境応答能を有する高分子に触媒的に活性酸素消去能を有するニトロキンドラジカル (TEMPO) を導入した。これはすなわち、分子量が大きいことにより、細胞膜やミトコンドリア膜を通りにくく、したがってミトコンドリア内の正規電子伝達系を阻害せず、マクロファージや好中球が過剰に産生する悪玉活性酸素種を選択的に消去するレドックス高分子材料を企図して設計したものである。このレドックスポリマーは水に溶ける部分と溶けない部分を併せ持つため水中で自己組織化してナノ粒子となる (レドックスナノ粒子、RNP と略記する)。RNP の安全性を確認するため、例えば生まれたばかりのゼブラフィッシュ水槽に入れてみると、水溶性の低分子4-ヒドロキシTEMPOは30 mMの濃度で12時間後に全滅するのに対し、RNPでは同濃度で100%生存している。このように分子のサイズを制御することにより強い抗酸化剤を有するにもかかわらず、生存に大切な細胞内レドックス反応を保護することが可能となった。RNPを抗酸化剤として用いると、脳や心臓、腎臓血管の梗塞、再灌流によって生じるROSの消去のみならず、がんや潰瘍性大腸炎、アルツハイマー病など様々な疾患部位に送達し、そこで過剰に産生される悪玉活性酸素を効果的に消去し、副作用の少ない新しいナノメディシン (レドックスポリマー薬) としてはたらくことが確認された (レビューとしてYoshitomiら, *Adv. Health. Mat.*, 3, 1149 (2014))。

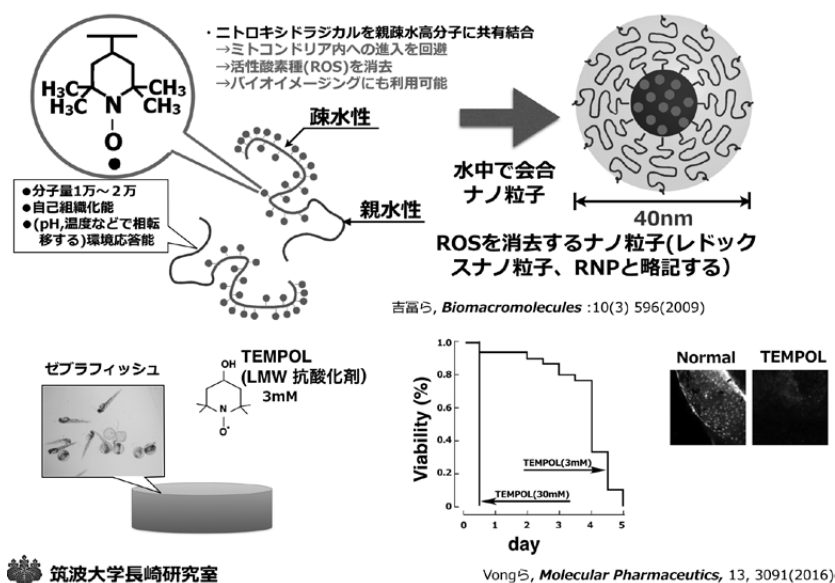


図1 レドックスナノ粒子の設計

PD-1

毒性病理学専門家に向けた教育としてのミクロ問題解説-詳細版-の現状と医薬品開発における毒性病理学専門家の役割

細川 暁

エーザイ株式会社 グローバル安全性研究

日本毒性病理学会資格認定制度は1992年度に設立され、これまで延べ514名の日本毒性病理学会認定毒性病理学専門家を輩出している。資格認定制度の設立趣意は、安全性試験における病理学的検査成績の信頼性向上と毒性病理学の進歩に寄与するため質の高い専門家を認定することであり、日本の安全性試験における病理学的評価の向上と信頼性の確保に大きく貢献してきた。資格認定試験は、マクロ問題、ミクロ問題さらに筆記問題から構成されるが、マクロと筆記問題については比較的高得点が得られているものの、ミクロ問題については組織標本の見方や病変の捉え方を適切に教育されている受験生と教育が充分ではないと思われる受験生の二極化が目立ち、特に複数回の受験生ではその努力が実を結んでいない傾向がうかがわれた。病理組織標本に対する基本的なアプローチや読み方の教育が充分ではない現状が根本的な原因と考えられ、ミクロ問題についての包括的な教育研修の場を提供する必要があると考えられたことから、ミクロ問題解説-詳細版-が企画された。今年度で3回目を迎えたが、ミクロ問題詳細解説では、前年度の試験で回答率の低かった問題を選抜し、病変の捉え方にフォーカスを当てながら詳細に解説、資格認定試験の合格率向上に大きく寄与している。本発表では、ミクロ問題詳細解説の現状について紹介する。

一方、安全性試験における病理学的評価は、化合物のリスクアセスメントにおいて重要な役割を果たしており、毒性病理学専門家に求められる役割は年々増加している。医薬品開発における安全性評価においても、毒性病理担当者に期待される役割は極めて大きく、薬理試験や安全性試験における病理学的な評価にとどまらず、プロジェクトのマネジメントやリスクアセスメントにおける重要な役割を果たしている。特に、医薬品の開発過程では様々な課題(issue)が生じるが、多種多様な課題の認識(issue identification)、解決策の提示(issue resolution)、さらに課題の防止(issue prevention)に果たす毒性病理担当者の役割は大きい。また、それらを病理学的な知識を持たない社内外の関係者にわかりやすく適切に伝達し、適切なリスクコミュニケーションを進めることも重要な役割の一つである。これらの実例をいくつか紹介するとともに、医薬品開発における毒性病理学専門家の役割、さらにはその教育システムとキャリアデザインについて議論したい。

PD-2

日本の大学における毒性病理学・毒性学の専門家教育と卒後の進路指導について

渋谷 淳

東京農工大学

日本の16校の獣医系大学のうち、毒性学系講座を配置している大学は7校に留まっている。また、その多くは薬理学系教員から構成されており、それら以外の大学においても、薬理学ないし衛生学関連の講座教員が毒性学の講義・実習を分担している。獣医毒性学の教科書は日本比較薬理学・毒性学会が編集していることもあり、毒性病理学的な視点が乏しく、それに沿った教育環境は十分ではない。一方、毒性病理学を専門とする大学教員は獣医病理学研究室出身者で構成されるため、学問領域としての毒性病理学が学部学生に認知されるためには、これらの教員が毒性学の授業、実習に参画するか、獣医病理学の中で教えるかのどちらかになる。日本獣医病理学会編集の動物病理学総論には環境性疾患(毒性病理学の基礎)が含まれるが、毒性病理学の講義を担当できる教員は少数の大学に留まり、全国の大学で毒性病理学の講義を一律に実施することは困難である。これらの背景により、毒性病理学に対する学部学生の認知度は必ずしも高くないのが現状であり、学生が毒性病理学専門家の道を選択するかどうかは、研究室における研究・教育活動に依存する部分が大きく、ゼミ等で毒性病理学及び毒性学に対応できるメニューを備えているかが鍵となる。私どもの研究室では、各学生が当番で実施する4種類のゼミと、教員が担当するスライドカンファランスをそれぞれ月に1回実施している。具体的には、病理診断のルーチンに入る前に全身諸臓器の組織学を学び直す組織ゼミ、ラット癌原性試験の1匹分の全身臓器の標本に現れる自然発生病変を学ぶFischerラットゼミ、分子生物学的視点を養うためのCELLゼミと称するMolecular Biology of the Cellの輪読会、卒業研究テーマ関連論文の文献紹介をする学部ゼミ・院ゼミを実施している。学部ゼミでは、外部の社会人を講師として招いて、毒性病理学及び毒性学研究や業務に関連したレクチャーを依頼しており、学部学生が興味を持って聴講してくれている。スライドカンファランスは、JSTPというよりはJCVP向きの病変の供覧が多いが、両方の認定専門家試験対応として企業などの若手も参加しており、学生が将来の進路選択の候補として安全性病理などの情報を入手できる環境にある。また、卒業研究テーマは動物実験研究であるため、一般毒性及び実験病理学的内容を学ぶ良い機会となり、成果について学会での発表を義務づけておくことと外部の毒性病理学及び毒性学担当者との接点ができ、将来の進路として安全性病理をイメージする学生が多くなることを期待している。さらに、5年次に症例報告で学会発表(JCVP学会)と英文論文作成を経験させ、6年次に卒論研究成果の学会発表(日本毒性学会など)、海外のWoS雑誌に論文投稿させることで、博士課程へ進学した際の学位取得のイメージも可能となり、今までに7名がPh.D.を取得している。過去10年間の研究室卒業生の進路の割合では、毒性病理学関連は75%となっており最も多い就職先となっている。動物を使わない代替法へのシフトが進む中、動物を用いた安全性試験は今後も必須であることに変わりはなく、毒性病理学を担う人材の確保のためには、毒性病理学を専門とする教員養成が喫緊の課題であり、大学と国立や財団の研究所、企業体と連携して将来の教員となり得る人材と一緒に育成していくことが重要であることを強く感じている。

PD-3

米国での獣医学部教育の実態と毒性病理専門家のキャリア形成について

平良木 肇

Amgen, Inc., Comparative Biology & Safety Sciences

北米の獣医学位 (DVM プログラム) は基本的に学士課程終了後に受験し進学する 4 年制のプロフェッショナル・スクールを通して授与され、現在米国内には 30 校の獣医学校が存在する。獣医学位課程において「毒性病理学」という単独の履修科目は無く、獣医毒性学及び獣医病理学の講義の一部に含まれる程度であり、それも既存の毒素、毒性物質についての概要が主な内容である。また日本の大学と異なり、獣医学位課程段階である程度専門分野を履修できる研究室制度は無く、DVM プログラムは基本的に臨床獣医育成に重点が置かれている。

北米の獣医学教育のもうひとつの特徴としては、DVM 学位取得後に進むことのできる、専門分野に分かれた研修獣医師 (レジデント) 制度を通しての各種認定専門獣医師養成プログラムがあり、現在 AVMA (アメリカ獣医師協会) 認定の専門獣医師資格は 22 種類ある。全米約 8 万名の獣医師中、およそ 1 万 2 千名が何らかの専門獣医師認定資格を有するため、獣医師の専門化が進んでいるのが伺える。その認定資格中の一つである獣医病理学会 (ACVP) の認定病理師数は現在 1400 名程度である。一部 ACVP 認定病理師の中にはレジデント・プログラムと重複、若しくは継続して毒性病理専攻の大学院やポスト・ドクトラル・プログラムへと進む者もいる。北米 STP では資格認定は行っておらず、米国においては JSTP に当たる毒性病理専門家の資格認定制度は無く、毒性病理業務の多くは ACVP 認定病理師が担っている。

毒性病理専門家の教育システムとキャリアデザインについては、主に就職先の企業、CRO、その他研究機関での実務経験 (GLP 試験経験、ピアレビューなど) や、STP 等関連学会によって提供されるセミナー、ワークショップやワーキング・グループの参加等を通して行われている。Amgen では毎週インターネット上でスライド・カンフェレンスを行っている。

米国のバイオテクノロジー、製薬・化学業界においては比較病理学、及びシステム・バイオロジーのエキスパートで、かつ新薬、製品開発の実務経験のある毒性病理の専門家は需要が高く、若手毒性病理師の育成が急務である。また、技術革新に伴うバイオ・ベンチャー新興企業設立や企業買収、統合も活発であり、コアである比較病理学、毒性病理学の知識に加え、最新の分子生物学やテクノロジー (バイオ画像解析、NGS など) に精通した専門家 (病理・プラスアルファ) の需要は増えている。加えて、バイオ・製薬業界、及び政府機関を含めた薬品開発業務の国際化 (ICH 等) に伴い、クロスボーダーで活躍できる人材の養成も急務である。毒性病理は重要度と専門性が高く、ダイナミックに進化する領域であるため、継続的かつ親和的に新しいコンセプトを学びあえる機会、場が必要であると考えられる。

PD-4

企業での毒性病理専門家の活動における日米間の比較

土屋 毅幸

Department of Safety Assessment and Laboratory Animal Resources (West Point, PA U.S.A.), Merck Research Laboratories, Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA

日米の毒性病理専門家の活動の比較と、毒性病理専門家のキャリア形成における潜在的な課題とその対策について触れた。毒性病理専門家の役割は、非臨床試験における病理所見の検出と解釈、他の検査項目における変化との関連性評価、そして包括的な被検物質のリスク評価に貢献することである。最終的にはリスクを適切にステークホルダー（トキシコロジストや規制当局のレビューワー）に伝えることである。日米とも毒性病理専門家は主に製薬会社、コントラクトラボラトリー、そして比較的少数が農薬、その他の化合物を開発する企業、規制当局あるいは民間の研究機関に採用されている。ここでは企業に就職する前後の過程とその後の活動について焦点を当てたい。毒性病理学者の企業への就職の資格要件には日米間に違いがある。米国の殆どの企業で獣医学の修了と American College of Veterinary Pathology (ACVP) ボード（あるいは同等のボード）の取得が応募の必須要件となっている。一方、日本の企業では資格取得前の経験の少ない人材の採用が一般的に行われている。専門家認定については本学会が5年以上の学会員歴および本学会が規定する科学的な活動要件を満たした者を対象に毒性病理専門家の認定を行っている。また企業が採用後に社員の育成を目的として行う国内あるいは海外留学も日本では珍しくないが、米国には殆ど見られない取り組みである。このように米国企業では求人応募以前に獣医病理専門家として一定の素地構築が求められているのに対し、日本では経験の少ない人材を採用した後、毒性病理専門家として育成を試みるというしくみがある。日米に共通している課題はいずれも企業に入る前に毒性病理に特化した教育およびトレーニングを受けられる教育機関あるいはプログラムが多くないということである。米国ではACVPボード取得に必要な3年間のレジデンスー期間内に毒性病理トレーニングを行う大学は限られており、毒性病理専門家の認定制度は存在しない。同様に日本においても毒性病理教育に特化した研究室を有する大学は限られている。また2014年から2016年までの3年間の一年当たりのJSTPによる毒性病理専門家認定数は7～23人、ACVPボードの取得者数は56～61人と限られている。これらの課題は、毒性病理専門家の将来的に持続的な人材確保にも影響を及ぼすと考えられる。持続可能な人材確保のために、企業が行えるアプローチとしてインターンシップあるいはエクスターンシップ等を拡充して適性人材を早期に発掘し、企業における毒性病理学者の採用についてより具体的な見通しを提供することが考えられる。米国では、3年間のレジデンスーを製薬企業やコントラクトラボラトリーがサポートするプログラムがThe ACVP/STP Coalition for Veterinary Pathology Fellowsの下で行われている。以上の点に加えて、業務内容および社外活動についても比較しパネルディスカッションの一助としたい。

WS-1

非アルコール性脂肪性肝炎モデルラットの肝炎進展に関わる全身免疫の役割

○井澤 武史, 大地 祥子, 新 真智, 宮城 伶奈, 橋本 愛, 桑村 充, 山手 丈至

大阪府大 獣医病理

【目的】非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) はメタボリックシンドロームの肝表現型であり, 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) から肝硬変, 肝癌に至る進行性疾患である. NASHの進展には, 脂肪組織の炎症, 消化管の dysbiosis など全身の病態が関わると考えられているが, その詳細は未だ不明である. 本研究では, 免疫系や腸内細菌叢の変化を中心に, NASHモデルラットの whole body解析により, 肝炎の進展メカニズムを調べた.

【方法】6週齢のF344/DuCrlCrij雄ラットに正常食(5%脂質), 高脂肪食(16%脂質; 11%ココアバター, 1%コレステロール添加)を最長30週間給餌し, 血清および全身諸臓器を経時的に採取し, 病理組織学的解析, 遺伝子発現解析, 腸内細菌叢解析を実施した.

【結果】高脂肪食群において, 肝炎の進展に伴って, ALT優勢型の肝逸脱酵素上昇, 肝小葉内炎症巣の増加, 肝組織中のサイトカイン (TNF α , IFN γ , TGF β , IL1 β) の発現上昇がみられた. 白色脂肪組織ではCCL2ケモカインの発現上昇が, 脾臓ではIFN γ の発現上昇とIL4の発現低下がみられた. 盲腸内容物からの腸内細菌叢解析では, グラム陰性菌の割合増加, *Osillospira* 属菌と *Ruminococcus* 属菌の減少, *Akkermansia* 属菌と *Parabacteroides* 属菌の増加がみられ, 肝組織中のTLR4・TLR2シグナル分子の発現上昇, NK細胞関連分子の発現上昇を伴っていた.

【結論】NASHモデルラットの肝炎進展には, 脂肪組織や脾臓に由来するサイトカイン, 腸内細菌叢の変化による自然免疫の活性化など, 全身の病態が寄与すると考えられた.

WS-2 *

肥満および耐糖能異常を示す新規NASHモデルマウスでは、脂肪肝は肝線維化・腫瘍形成へと経時的に進行する

○寺山 由依, 審 一慧, 山際 高史, 中谷 祐樹, 大嶋 成奈優, 森尾 剛, 松浦 哲郎, 尾崎 清和

摂南大学 薬学部 病理学研究室

【目的】カルニチン欠損によりJVS (*jvs/jvs*) マウスは脂肪肝を発症するが, 我々はJVS系統のhetero型 (*jvs/+*) に高脂肪食ならびにwild型 (*+/+*) にAlloxan (AL) と高脂肪食を負荷する条件で, 40週齢時に肥満および耐糖能異常を示し, 脂肪肝・肝線維化・腫瘍形成を認めるNASHモデルマウスの作製に成功した. 今回, 肝病変の経時的変化を組織学的に検索するとともに, 関与する炎症細胞およびサイトカインの発現を解析した.

【方法】JVS系統の生後3日齢の雄wild型にALを皮下投与後, 離乳(3週齢)後に高脂肪飼料(HFD-60)を与えた群, ならびに雄のheteroおよびwild型にALを投与せず高脂肪食のみを与えた2群, 以上の計3群を設定した. 20および40週齢時に剖検し, 形態学的解析を行った.

【結果】20週齢から, 実験群のほぼ全ての個体は脂肪肝となり, インスリン・HOMA-IR・コレステロールは高値を示した. 組織学的には, 軽度から中等度の小葉中心性の肝細胞の脂肪化および多巣状性好中球集簇を認め, これらはAL投与群でやや強い傾向を示した. いずれの変化も40週齢で高度となり, 肝線維化に進行した. さらに, 肝病変はAL投与wild群およびAL非投与hetero群の約30%で肝細胞過形成または腺腫にまで達した. 脂肪肝・線維化から腫瘍への進行に伴い, 肝臓のIL-6・TNF- α ・TGF- β のmRNA量は上昇し, 炎症細胞では好中球に加えCD3陽性T細胞が増加し, 肝細胞の再生ならびに増殖を示唆するcytokeratin 19陽性細胞(細胆管反応あるいはオーバル細胞)を多数認めた.

【結論】本NASHモデルマウスはヒトNASH患者と極めて類似した肝病変の経時的変化を示す.

WS-3 *

改変コリン欠乏メチオニン低減アミノ酸食誘発マウス非アルコール性脂肪性肝炎様病態に対するトランス脂肪酸と代替品の影響

○煙山 紀子¹⁾, 池端 香織¹⁾, 山下 卓也¹⁾, 宇野 絹子¹⁾, 張 舜恵¹⁾, 小川 秀治²⁾, 渡邊 厚³⁾, 美谷島 克宏¹⁾, 中江 大¹⁾

¹⁾東京農大・応生・食品安全健康, ²⁾ゼリア新薬・動態安全性研, ³⁾旭化成メディカル・医療技術材料研

【目的】本研究は、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) を背景とした肝発がん病態を明らかにする目的で、NASHの動物モデルであるラット・コリン欠乏メチオニン低減アミノ酸 (CDAA) 食系を感受性の低いマウスに移殖するため、改変CDAA食の開発を行うと共に、肝に蓄積する脂質の質のNASH様病態に果たす役割を明らかにするため、トランス脂肪酸と近年開発されているトランス脂肪酸代替品が当該病態に及ぼす影響を比較検討した。

【方法】実験は、6週齢の雄性C57BL/6J系マウスに、普通食・CDAA；HF-T+ (脂質45%；トランス脂肪酸含有ショートニング、メチオニン0.1%)・CDAA；HF-T- (脂質45%；トランス脂肪酸非含有ショートニング、メチオニン0.1%) のいずれかを、3または6ヶ月投与して解剖し、各種の検索を行った。

【結果】3ヶ月投与群では、CDAA；HF食群で著明な肝脂質の増加と血漿アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の上昇を認めた。F4/80 (マクロファージ)・ α -SMA (活性化星細胞)・シリウスレッド (SR、線維化) 染色では、CDAA；HF-T+群に比較して、CDAA；HF-T-群でシグナル強度が強い傾向を示した。6ヶ月投与群でも同様の傾向をより強く認め、さらに、CDAA；HF-T-群においては増殖性変化を含む結節性変化をCDAA；HF-T+群より多く認めた。

【結論】以上の結果より、いずれの改変CDAA食も、マウスにおいて、3ヶ月投与で肝脂肪化・炎症・線維化を誘発し、さらに6ヶ月投与で結節性変化を誘発したが、トランス脂肪酸と代替品という脂質の質の違いによって表現されるNASH様病態に差異が顕れることが示唆された。

WS-4 *

Connexin 32 ドミナントネガティブトランスジェニックラットを用いたメタボリックシンドローム随伴NASH発がんモデルの樹立

○内木 綾^{1,2)}, 加藤 寛之¹⁾, 鈴木 周五¹⁾, 高橋 智¹⁾

¹⁾名市大・院・医・実験病態病理, ²⁾名古屋市立東部医療センター 病理診断科

【背景】非アルコール性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis : NASH) は、近年の食生活変化に伴い発生率が増加しており、肝硬変や肝癌へ進展する危険性が指摘されている。我々はこれまでに、肝の主要なギャップ結合タンパクである connexin 32 (Cx32) の、NASHおよび肝発がんに対する役割を調べるため、methionine choline deficient diet (MCDD) を用いて、Cx32ドミナントネガティブトランスジェニック (Tg) ラットに対して、NASHを誘導した。その結果、Cx32のNASHおよび肝発がんに対する抑制作用が実証され、Tgの使用によりNASHの誘発期間を短縮することができた。

【目的・方法】上記のTg-MCDDモデルは、ヒトNASHに組織像は類似していたが、ヒトで併発するメタボリックシンドロームを伴わなかった。本研究では、メタボリックシンドロームを随伴するNASHモデルを確立するため、7週齢雄Tgラットおよび野生型 (Wt) ラットに、高脂肪食とdimethylnitrosamine (15 mg/kg.i.p., 1回/2週間) を12週間投与しNASHを惹起し、ジェノタイプの差を検証した。

【結果】高脂肪食の投与により、いずれのジェノタイプにおいても体重、肝重量、精巣周囲脂肪織重量が増加した。Tgラットにのみ、血中インスリン値、インスリン抵抗性指標HOMA-IRの有意な上昇を認め、肝炎症細胞浸潤、線維化、肝逸脱酵素 (AST, ALT)、炎症性サイトカイン (Tnf α , Tgf β , Il1 β , Timp2, Col1a1)、活性型NF- κ Bが、Wtと比較して有意に亢進した。肝発がん性に関しても、TgラットにおけるGST-P陽性細胞巢 (数、面積) は、Wtラットと比較して、有意に増加した。

【結論】Cx32は、メタボリックシンドローム併発NASHおよび肝発がんに対して、抑制的に作用することが明らかになった。Tg-HFD-DMNモデルは、新規NASH評価系として有用であることが示唆された。

WS-5

2つのNASHモデルマウスにおける病理組織学的所見の違い

○奥野 高裕, 石井 真美, 梯 アンナ, 藤岡 正喜, 魏 民, 鰐渕 英機

大阪市立大学 大学院 医学研究科 分子病理学

【背景】非アルコール性脂肪肝炎(NASH: nonalcoholic steatohepatitis)は、生活習慣病と関連がある疾患であり、ウイルス性慢性肝炎と同様に肝硬変や肝細胞癌に進展する。しかしながら、生活習慣病を合併しないNASHや薬剤性のNASHが報告されていることから、NASHは様々な因子によって生じるheterogeneousな疾患概念であると考えられ、結果としてNASHを背景として肝細胞癌が生じるメカニズムも背景因子によって異なることが予想される。我々は肥満や糖尿病を自然発症するTSODマウスと、コリン不含メチオニン減量高脂肪食(45%CDHF)にて飼育したマウスをNASHモデルマウスとして用い、両者の病理組織学的検討を行った。

【方法】TSODマウスをMFペレットにて48週齢、56週齢まで、C57BL/6Jマウスを45%CDHFにて38週齢、48週齢まで飼育し、病理組織学的な解析を行った。

【結果】TSODマウス、45%CDHF食餌マウスはいずれも脂肪沈着や線維化、炎症細胞浸潤といったNASH様の変化が肝組織に認められ、両者とも肝腫瘍が発生した。しかしながら、炎症や線維化の程度はそれぞれのマウスで異なっていた。また、肝腫瘍に対するp-mTORの免疫染色では45%CDHF投与マウスに比べ、TSODマウスでは陽性率が高かった。

【結論】糖尿病モデルマウスと食餌モデルマウスでは肝組織像に差異があり、NASH様の病変が生じるメカニズムは両者で異なる可能性が考えられた。また、肝腫瘍におけるp-mTORの染色性が異なる点から、肝細胞癌に至るメカニズムも両者で異なっていることが示唆された。

一般口演要旨

0-01 ~ 0-10

ポスター要旨

P-01 ~ P-98

0-01 *

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¹⁾, 松本 晴年¹⁾, 深町 勝巳¹⁾, 二口 充^{1,2)}, 吉見 直己³⁾, 酒々井 眞澄¹⁾¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科分子毒性学分野, ²⁾長崎大学病院病理診断科・病理部,³⁾琉球大学大学院医学研究科腫瘍病理学講座

我々は天然脂肪酸をリードとし新規抗がん物質 palmitoyl piperidinopiperisin (PPI, 特許第 5597427, 2014 年) を創製した。本研究では PPI の毒性影響と抗がん作用機序について検証した。50 mg/kg PPI 腹腔内投与は、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により腫瘍縮小効果を発揮した。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。実験期間を通して各群間の体重に有意差はなく、主要臓器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。LD₅₀ は雄で 1000 mg/kg、雌で 500 mg/kg であった。主な毒性所見として 500 mg/kg 投与群で肝細胞に軽度の脂肪変性、2000 mg/kg 投与群で肝細胞に高度の脂肪変性、食道の潰瘍および食道粘膜下の炎症像がみられた。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 pSTAT3 の発現と核内移行を抑制した。2.5 μM PPI は STAT3 制御分子である Bcl-2、BclxL、cyclin D1、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腫瘍縮小効果を発揮する。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。

0-02

BALB/c-*p53*^{+/-}マウスにおける DMBA または PhIP 誘発性乳がんの遺伝子変異 / 表現型の比較解析○町田 雪乃¹⁾, 須藤 柚稀子¹⁾, 打屋 尚章¹⁾, 落合 雅子²⁾, 今井 俊夫¹⁾¹⁾国立がん研究センター研究所 動物実験施設, ²⁾国立がん研究センター研究所 動物実験部門

【背景】環境発がん物質の 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) または 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) 誘発性ラット乳がんの遺伝子変異を比較した報告があるが、マウスの乳がんに関する報告は少ない。今回、乳がん自然発症モデルとして知られる BALB/c-*p53*^{+/-}マウスの DMBA または PhIP 誘発性乳がんの遺伝子変異と表現型を比較解析した。

【材料と方法】BALB/c-*p53*^{+/-}マウス (雌、7 週齢) に DMBA (50 mg/kg 体重、1 回) または PhIP (50 mg/kg 体重、6 回) の経口投与を行い、触知された乳がんの estrogen receptor α (ER α) の免疫染色と病理組織学的解析を行った。また、遺伝子解析では *p53* 遺伝子の exon5 ~ 8 領域をシーケンス解析した。

【結果】DMBA と PhIP 各群の乳がん発生率は各 90 と 42% であった。組織学的に DMBA 群では主に管腔細胞と基底細胞様の細胞が二相性に増殖した中～高分化腺がん、管腔細胞が ER α 陽性を示した。PhIP 群では多角細胞が胞巣状、充実性に増殖する中分化腺がん、ER α は大部分の細胞が陰性であった。遺伝子解析では、DMBA 群と PhIP 群の各 10 例中 9 例で *p53* の野生型アレルに A135V 変異もしくは LOH がみられ、DMBA 投与群の 1 例で R246P の変異を認めた。

【結論】DMBA と PhIP により誘発される乳がんでは *p53* の遺伝子変異頻度に差はみられなかったが、分化度と ER α 陽性率に違いを認めた。以上より、両物質により誘発される他のがん関連遺伝子変異や細胞内シグナル伝達系の変化の違いがあるものと推察された。

0-03 *

マウス経胎盤ばく露による有機ヒ素化合物 Dimethylarsinic acid の発がん性およびその機序

○藤岡 正喜, 魏 民, 奥野 高裕, 熊田 賢次, 梯 アンナ, 大石 裕司, 鰐渕 英機

大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学

【背景】これまでに我々の研究で、無機ヒ素化合物の主な体内代謝物である Dimethylarsinic acid (以下、DMA) を胎仔期に曝露した雄において、その成熟後 84 週齢の肝臓および肺において、発がん性を生じることをすでに明らかにしている。しかし、その詳細な発がん機序については未だ明らかとなっていない。

【目的】本研究は DMA の経胎盤曝露による雄性新生仔マウス肺における影響について検討を行った。

【方法】妊娠期の雌マウスに DMA を 0、200 ppm の用量で胎齢 8 日から 18 日までの 10 日間飲水投与し、経胎盤曝露により作製した雄性新生仔マウスを出生後、直ちに剖検を実施して肺を回収後、以降に記す種々の解析を行った。

【結果】無処置群と比較して DMA 投与群の肺において、KI67 陽性率の有意な増加がみられた。また HPLC/ICP-MS による肺におけるヒ素の形態別解析の結果、無処置群と比較して TMAO の有意な変化がみられなかったのに対して、DMMTA および DMDTA が有意に増加していることが明らかとなった。さらにその代謝過程で S-adenosylmethionine (SAM) が有意に増加していること、ヒストンメチル基転移酵素である G9a の発現増加、ヒストン H3K9me3 が有意に増加していることが明らかとなった。

【結論】以上の結果から、DMA に経胎盤曝露した雄性新生仔マウス肺において、ヒストン H3K9me3 が増加していることが明らかとなった。また、そのメカニズムとしてヒ素の代謝過程で生じた SAM の増大が関与していることが強く示唆された。

0-04 *

嚢胞における上皮間葉転換－脈絡叢と尿細管の検討－

○村井 厚子, 中村 賢志, 瀧本 憲史, 並木 健吾, 日比 大介, 柳澤 幸宏, 下内 孝司, 柳 浩由紀

小野薬品工業(株) 安全性研究部

【背景と目的】我々は、第四脳室における脈絡叢嚢胞をラットで初めて報告した。免疫組織化学的染色 (IHC) の結果、嚢胞壁で cytokeratin MNF 116 (CK) と vimentin の共発現が認められ、嚢胞が上皮間葉転換 (EMT) の過程にある可能性が示唆されたが、同病変はまれであるため更なる検討ができなかった。そこで、嚢胞が比較的多く認められる腎臓を用いて、嚢胞における EMT の進展を明らかにするため、嚢胞形成の初期に着目して検討した。

【材料と方法】雌雄 26 週齢の無処置 CrI:CD (SD) ラットで、腎臓に嚢胞の初期と考えられる尿細管の拡張、あるいは嚢胞が認められた動物のパラフィン包埋ブロックを用い、IHC を実施した。

【結果】正常な尿細管では、CK の発現はヘンレループの細い部分を除く近位尿細管直部～集合管で、E-cadherin はヘンレループ～集合管で認められており、近位尿細管直部では CK は発現し、E-cadherin は発現していなかった。拡張した近位尿細管直部は CK が消失して vimentin が発現し、尿細管周囲に SMA の陽性像がみられた。一方、CK 及び E-cadherin が発現する尿細管では拡張した尿細管でも CK の消失や vimentin の発現は認められず、嚢胞では一部で vimentin の発現が認められたが、CK や E-cadherin の発現もみられた。なお、正常な脈絡叢では CK と共に E-cadherin が発現していた。

【考察】上皮の細胞接着に関与する E-cadherin の消失は EMT に重要なステップである。今回の結果より、正常な状態で E-cadherin を発現しない尿細管では、嚢胞より早期の拡張した尿細管でも CK の消失及び vimentin の発現が認められたことから、他の尿細管に比べて EMT が起きやすい状態にある可能性が示唆された。なお、正常な脈絡叢では E-cadherin が発現していたため、嚢胞でも EMT が容易に起こらず上皮の性質が残存した可能性が考えられた。

0-05

Diacylglycerol acyltransferase 1 阻害剤 DS-7250 による肝臓での脂肪酸合成亢進を介した Zucker fatty ラットにおける脂肪肝増強

○熊谷 和善, 安野 恭平, 井口 拓馬, 甲斐 清徳, 森 和彦

第一三共(株) 安全性研究所

Diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) は中性脂肪を合成する最終段階を担う酵素である。高脂肪食 (HFD) 負荷 *Dgat1*^{-/-} マウスでは、食餌性肥満及び脂肪肝が抑制される。このことから、選択的 DGAT1 阻害剤である DS-7250 は、抗肥満及び脂肪肝抑制作用が期待される。本試験では、通常食又は HFD を給餌した雄性 F344 ラット及び Zucker fatty (ZF) ラットに、溶媒又は 10 mg/kg の DS-7250 を 14 日間又は 28 日間反復経口投与し、肝臓への影響を評価した。HFD 給餌 ZF ラットでは DGAT1 阻害による変化と考えられる摂餌量及び体重増加抑制がみられた。ZF ラットでは給餌条件によらず軽度の肝細胞脂肪化がみられたが、DS-7250 は HFD 給餌 ZF ラットの肝細胞脂肪化を増悪した。一方、F344 ラットでは、HFD 給餌下においても肝細胞脂肪化は認められず、DS-7250 の血漿中薬物濃度は ZF ラットと同等であった。肝トランスクリプトーム解析では、HFD 給餌下において、脂質吸収及び脂肪酸合成に関与する遺伝子発現が F344 ラットと比べて ZF ラットで増加した。さらに、HFD 給餌 ZF ラットでは、DS-7250 投与により *de novo* lipogenesis に関与する主要遺伝子 (*Elovl6*, *Me1*, *Srebf1*, 及び *Fasn*) の発現が溶媒対照群と比べて増加した。以上より、遺伝的素因として肝細胞脂肪化に高い感受性を示す ZF ラットでは、DS-7250 は *de novo* lipogenesis を亢進することで、肝細胞脂肪化を増悪させると考えられた。

0-06 *

カニクイザルにおける Mifepristone による卵巣毒性の病理組織学的解析

○武田 賢和¹⁾, 堀江 勘太²⁾, 後藤 哲也³⁾, 太田 恵津子¹⁾, 中野 (伊藤) 今日子¹⁾, 早川 和宏¹⁾, 関 由妃¹⁾, 後藤 彩¹⁾, 細川 暁¹⁾

¹⁾ エーザイ (株) 筑波安全性研究部, ²⁾ エーザイ (株) ニューロロジービジネスグループ,

³⁾ (株) サンプラネット 筑波研開発支援事業部

【目的】卵巣毒性の病理組織評価では、各動物種の性周期・月経周期による特徴的な組織学的変化を踏まえた観察が重要であるが、非ヒト霊長類において、月経周期を考慮した卵巣毒性の病理組織学的な知見は少ない。本研究では、抗プロゲステロン作用を有する Mifepristone による非ヒト霊長類の卵巣毒性の病理組織学的特徴を、月経観察および血中性ステロイドホルモン値の経時的変化とともに解析した。

【方法】4 例の雌カニクイザル (4 歳) に、Mifepristone (20 mg/kg/day) を 2 ヶ月間経口投与した。投与期間中、月経観察および LC-MS/MS を用いた血中エストラジオールならびにプロゲステロン値の経時的測定を実施し、投与期間終了後に剖検し、卵巣の両側複数断面の観察による雌性生殖器の詳細な病理評価を実施した。

【結果・考察】Mifepristone 投与によって月経が消失し、血中エストラジオールおよびプロゲステロン値の周期的な上昇が抑制された。病理観察の結果、子宮内膜の萎縮が認められた。卵巣は、全例が follicular phase の組織像を示し、対照群と比較して閉鎖胞状卵胞の比率に変化は認められなかった。これらの結果から、カニクイザルでは、Mifepristone 投与によって性ステロイドホルモンの周期的上昇が抑制され、月経周期が停止するにも関わらず、胞状卵胞の発育はある程度維持されると考えられた。以上から、非ヒト霊長類における卵巣毒性評価においても、月経周期の各ステージの特徴を踏まえた雌性生殖器の総合的な病理評価が重要であり、月経観察および血中性ステロイドホルモンの経時的測定は、その評価において有用であることが示された。

0-07 *

げっ歯類にみられた薬物誘発性フッ素症の機序検討

○関 由妃¹⁾, 則武 健一²⁾, 武田 賢和¹⁾, 朝倉 省二¹⁾, 大塚 昭代¹⁾, 後藤 彩¹⁾, 太田 恵津子¹⁾, 中野(伊藤) 今日子¹⁾, 早川 和宏¹⁾, 園田 二郎¹⁾, 細川 暁¹⁾

¹⁾エーザイ株式会社 筑波安全性研究部, ²⁾株式会社サンブラネット 安全性研究ユニット

【背景】ラットを用いた慢性毒性試験において、脛骨・腓骨の骨折、切歯の白色化、病理組織所見として骨の色素沈着、骨梁の減少、エナメル芽細胞の変性が認められた。これらの骨及び歯の変化は、ラットにおけるフッ素と類似していたことから、機序検討を実施したので報告する。

【材料と方法】化合物Aをラットに14週間反復経口投与し、病理組織学的検索、尿中フッ素排泄量及び骨中のフッ素濃度測定を併せて実施した。ラットにおいてフッ素症を誘発することが知られる、フッ化ナトリウム (NaF) に関しても同様の試験を実施した。

【結果と考察】化合物Aを投与したラットにおいて、骨梁の減少、類骨の増加、骨の色素沈着、骨強度及び骨密度の減少が認められた。これらの変化は、NaFをげっ歯類に過剰摂取させた際の骨や歯病変と一致していた。また、尿中フッ素排泄量及び骨中フッ素濃度の増加がみられた。非特異的CYP阻害剤と化合物Aの併用により、尿中のフッ排泄量の減少が認められ、種差の検討の結果、化合物Aによる骨、歯の病変はラット特異的であることが示された。以上のことから、ラットの慢性毒性試験で認められた骨及び歯の毒性が、化合物の代謝に伴うフッ素遊離に起因したことが確かめられた。

0-08 *

DNA二重鎖切断マーカー γ -H2AXを用いた胃発がん物質の短期同定

○岡部 麻子¹⁾, 桐山 諭和¹⁾, 鈴木 周五²⁾, 櫻井 浩平¹⁾, 高橋 智²⁾, 塚本 徹哉¹⁾

¹⁾藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科, ²⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学

Helicobacter pylori感染と慢性炎症によって発生する活性酸素等によるDNA損傷は発癌の重要なリスクファクターと考えられている。本研究では、二重鎖DNA損傷によって誘導されるSer139リン酸化ヒストンH2AX(γ -H2AX)のフォーカスを指標に、種々の化学発がん物質のラット胃粘膜における応答を検討した。6週齢オスF344ラットに、直接発がん物質のN-methyl-N-nitrosourea (MNU)、間接発がん物質の3, 2'-dimethyl-4-aminobiphenil (DMAB)、dimethylnitrosamine (DMN)、1, 2-dimethylhydrazine (DMH)を5日/週x4週間強制胃内投与した。対象群には水を投与した。実験28日に屠殺し、胃粘膜の一部よりtotal RNAを抽出し、残りをホルマリン固定しパラフィン切片を作製した。胃底腺、幽門腺領域に関して、Hematoxylin eosin (HE)染色及び抗 γ -H2AX免疫染色を施行し腺管あたりの陽性細胞をカウントした。また、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenaseを内部標準とし、H2AX (h2afx)、p21waf1、pepsinogen c、pepsinogen a5遺伝子発現の変化をSYBR Greenを用いて定量的RT-PCR法により検討した。胃底腺、幽門腺ともに増殖帯で γ -H2AX focus形成が観察された。幽門腺領域ではcontrol群に比べてMNU群で1腺管あたりの陽性細胞数が有意に増加した。胃底腺領域ではMNU群のみならずDMAB群でも陽性細胞数の有意な増加がみられた。MNU群では、表層でアポトーシスによる γ -H2AX陽性像が観察された。各種遺伝子発現の検討では、control群と比較しMNU群、DMN群でh2afx mRNA発現は有意に減少し、p21は上昇傾向にあった。既知の胃発がん物質MNUのみならず、胃発がん性の報告されていないDMABでも γ -H2AX陽性細胞の有意な増加が見られた。本システムは、未知の胃発がん物質のスクリーニングに有用である可能性が示された。

O-09 *

ブタ腎動脈における熱焼灼直後の病理学的変化と画像診断法による検出：血管内超音波と光干渉断層法を用いた検討

○坂岡 篤^{1,2)}, 田上 暁之³⁾, 鬼村 祐治¹⁾, 萩原 仁美¹⁾, 寺尾 壽子¹⁾, 熊谷 文明⁴⁾, 松村 潔²⁾

¹⁾テルモ株式会社, ²⁾大阪工業大学大学院 工学研究科, ³⁾福井大学 医学部, ⁴⁾(一財) 食品薬品安全センター 秦野研究所

【背景】高血圧の新規治療法である腎除神経術では、腎動脈内に挿入したカテーテル先端部から腎動脈壁への高周波電流の通電により、腎交感神経を熱焼灼する。焼灼手技が不良の場合には治療効果を得られないが、術中の手技成否の診断方法が存在しない。

【目的】焼灼直後の腎動脈の病理学的変化を明らかにするとともに、焼灼巣を画像診断法の血管内超音波 (IVUS)、光干渉断層法 (OFDI) で検出できるか検討した。

【方法】生体ブタ腎動脈を焼灼し、その直後の変化を病理組織学的に観察した。次の実験として、肉眼的に焼灼巣を視認して確実に病理組織検査と画像診断法を対応させるため、切り開いた摘出ブタ腎動脈を焼灼した。このうち3箇所を透過型電子顕微鏡 (TEM) で観察した。

【結果】生体ブタでの焼灼直後には、腎動脈外膜では膠原線維の硝子化と膨化、中膜では平滑筋細胞の萎縮と層全体の菲薄化、神経束では空胞変性と核濃縮が認められた。摘出ブタ腎動脈の焼灼巣でも、病理組織学的に生体焼灼と同様の所見が認められた。TEM 観察では、外膜膠原線維の直径が無処置部の約2倍に拡大した。中膜平滑筋細胞では核クロマチンの凝集、細胞質の myofilament 減少や消失が認められた。神経線維では、軸索内細胞小器官の変性・減少または消失を伴う軸索の拡張が認められた。腎動脈の形態変化は、IVUS 画像では外膜の高エコー輝度層で囲まれた領域として、OFDI 画像では腎動脈壁の管腔側表層での信号高散乱・高減衰として観察され、画像診断と病理組織標本での焼灼巣の深度・面積は有意に相関した。神経は画像診断法で同定できなかった。

【結論】熱焼灼直後の腎動脈の形態変化を IVUS、OFDI で検出できたことから、これらの画像診断法が腎除神経術の成否を診断できると考えられた。

O-10

膵がん血清診断マーカーの探索

○深町 勝巳¹⁾, 二口 充¹⁾, 津田 洋幸²⁾, 酒々井 眞澄¹⁾

¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒理学分野, ²⁾名古屋市立大学 津田特任教授研究室

膵がんは極めて悪性度が高いため長期生存が得られにくい、5年生存率は未だに10%以下である、難治癌である。腫瘍特異的な生物学的マーカーがないため、効率的なスクリーニング法が確立されておらず、症状が現れた時にはすでに広く進展している。従来、臨床で用いられてきた膵がんの腫瘍マーカーは、スクリーニングおよび早期診断には不適とされている。これまでにラット膵管がんにおいて N-ERC の血清濃度が高くなっていることから、N-ERC がラット膵がんの血清診断マーカーとなることを報告した。しかし、ヒト膵がんにおいては、血清 N-ERC 濃度はほとんど上昇しなかった。本研究においては、さらに別の血清診断マーカーとなる候補をラット膵管がんモデルにおいて探索した。Cre/loxP システムを用いた活性型 KrasV12 コンディショナルトランスジェニックラットの膵管内に Cre リコンビナーゼ発現アデノウイルスを注入することにより活性型 Kras を膵臓に発現させ膵管がんを発生させた。発生した膵管がんを高発現する遺伝子群を調べることにより、膵がんの診断マーカーとなる候補を同定した。アレイ解析の結果、ラット膵管で高発現するいくつかの膵がんの診断マーカーとなる候補を同定できた。特に、ヒト膵がんにおいても高発現する LRG の血清濃度が高くなっていた。ラット膵管モデルを用いることにより、ヒト膵がんに応用可能な診断マーカーの候補を同定することが可能であることが示唆された。

P-01

NNK 誘発マウス肺腺癌における CD44v6 の発現に関する検討

○山川 けいこ¹⁾, 横平 政直¹⁾, 橋本 希¹⁾, 成澤 裕子¹⁾, 吉田 翔太¹⁾, 竿尾 光祐^{1,2)}, 今井田 克己¹⁾

¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学, ²⁾回生病院

【背景・目的】ヒアルロン酸のレセプターである CD44 は Cancer stem cell のマーカーの一つでもあり、variant form である CD44 variant6 (CD44v6) は、多くのヒト腫瘍で発現が認められ、予後との相関性が報告されている。4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) を用いたマウス肺発がんモデルにおいては、早期の過形成の段階より CD44v6 の発現が認められている。今回、我々は、NNK 誘発マウス肺腺癌において組織学的特徴と CD44v6 の発現について検討した。

【材料と方法】7週令の雌性 A/J マウスに 2mg/0.1 mL NNK を 0 および 7 日目に腹腔内投与を行い、78 週目に発生した肺腺癌 19 例を対象として CD44v6 の免疫染色を行った。

【結果】全例の肺腺癌で CD44v6 の発現が認められた。腺癌結節内では、乳頭状あるいは管状構造部、また結節の辺縁部で CD44v6 の発現が強い傾向を示した。また、結節の周辺の肺胞内に CD44v6 強陽性の腺癌細胞の小集塊を認める症例もあった。多核形細胞では CD44v6 の強発現、リン酸化 ERK1/2 および SOX9 の発現が認められた。結節辺縁ならびに周辺の正常部では多数のマクロファージが出現していた。

【考察】今回の NNK 誘発マウス肺腺癌症例における CD44v6 の発現の不均一性は、肺発がん過程の進行期において分化や増殖の進行度の異なる様々な表現型の細胞の混在が影響しており、CD44v6 の発現が腺癌の進展や分化に影響している可能性が示唆された。

P-02 *

若齢 Sprague-Dawley ラットでみられた腎臓の微小変化群の 1 例

○安野 恭平, 本多 久美, 袴田 志野婦, 甲斐 清徳, 森 和彦

第一三共(株) 安全性研究所

微小変化群 (minimal change disease) はラットで puromycin aminonucleoside の単回投与によって実験的に誘発することができるが、自然発症例の報告はほとんどない。今回、若齢の Sprague-Dawley ラットにヒトの微小変化群に類似した糸球体腎炎がみられたので報告する。9 週齢の雄の Crl:CD (SD) ラットにおいてアルブミン尿が観察され、11 週齢ではさらに増悪した。いずれの週齢においても、他の尿中バイオマーカー (kidney injury marker-1、osteopontin、neutrophil gelatinase-associated lipocalin、及び clusterin) 及び尿生化学的検査値に異常はみられなかった。光学顕微鏡による検査では糸球体及び尿細管に異常はみられず、蛍光抗体法を用いた検査においても Immunoglobulin (Ig) G 及び IgM の糸球体への沈着は観察されなかった。電子顕微鏡検査では糸球体足細胞の足突起が広範にわたり扁平化しており、扁平化した足突起の糸球体基底膜側ではアクチン細胞骨格の再編が観察された。免疫組織学的検査では足細胞傷害マーカーである desmin に陽性を示す足細胞は観察されなかった。また、スリット膜の代表的な構成分子である nephrin は糸球体係蹄に沿って線状に発現している像が観察され、発現の低下はみられなかった。以上の特徴はヒト微小変化群と一致していたことから、本症例はラットでみられた自然発症性の微小変化群の稀な 1 例と考えられた。

P-03

マウス大腸オルガノイドを用いる PhIP の発がんメカニズムの解析

○今井 俊夫¹⁾, 落合 雅子¹⁾, 成瀬 美衣¹⁾, 筆宝 義隆²⁾

¹⁾国立がん研究センター 研究所 動物実験部門, ²⁾千葉県がんセンター 研究所 発がん制御研究部

化学物質の長期投与による発がん過程における作用メカニズムについて、包括的に解析し理解するのは容易ではない。我々は以前、マウス正常大腸組織から樹立したオルガノイド系に対し *in vitro* にて Kras の活性化、Apc、p53 あるいは Pten のノックダウン (KD) 処理し、ヌードマウスに皮下接種すると造腫瘍性を示すことを報告した。今回、同様のオルガノイド系を用いて、2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) の短期投与による発がん作用とその作用メカニズムの解析を試みた。

【方法】B6J 雄マウスを安楽死させ、結腸を摘出、マトリゲルと各種増殖因子を用いる 3 次元培養法によりオルガノイドを調製した。オルガノイドにレンチウイルスを用いて shLuc (対照) あるいは shPten を導入後、PhIP (15 μ M) を 3 回処置し、ヌードマウス皮下に接種した。接種 44 日後に皮下組織を摘出、病理組織学的に観察した。

【結果】オルガノイドに対する shPten 導入のみ、あるいは shLuc 導入後の PhIP 処置では造腫瘍性を示さず、shPten 導入後に PhIP 処置するとヌードマウス皮下にて腺がんが形成された。現在、オルガノイドから抽出した DNA を用いて whole exome 解析を行っている。

【考察】先行研究にて K-ras の活性化と Apc の KD の組合せでは造腫瘍性を示さず、更に p53 あるいは Pten の KD 処置を加えると造腫瘍性を示すことを明らかにしている。今回のマウス正常大腸組織由来のオルガノイドに対する Pten の KD と PhIP 処置の組合せによる造腫瘍性について、1) PhIP による K-ras や Apc など他の発がん関連遺伝子の突然変異誘発 (PhIP の直接作用) と 2) Pten の発現低下に伴う PI3K-Akt 経路の活性化やゲノム不安定性誘導による PhIP の遺伝子突然変異誘発作用の増強 (PhIP の作用増強) のメカニズムが考えられ、whole exome 解析の結果を考察する予定である。

P-04

植物芭蕉 (Musa basjoo) 葉抽出物のヒト大腸がん細胞に対する殺細胞効果

○松本 晴年¹⁾, 安藤 さえこ¹⁾, 深町 勝巳¹⁾, 二口 充^{1,2)}, 吉見 直己³⁾, 酒々井 眞澄¹⁾

¹⁾名古屋市立大学 大学院 医学研究科 分子毒性学分野, ²⁾長崎大学病院 病理診断科・病理部,

³⁾琉球大学大学院医学研究科 腫瘍病理学講座

【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 (パショウ) 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。アセトン抽出物を用いて細胞周期への影響およびアポトーシス誘導能の有無をフローサイトメトリーで、細胞周期調節分子発現レベルをウェスタンブロット法で検討した。ヌードマウスに HT29 を皮下移植し定着した腫瘍内にアセトン抽出物を投与して腫瘍縮小効果を検討した。

【結果と考察】コロニーアッセイでの IC₅₀ 値は、HT29 では 121 μ g/mL (A)、149 μ g/mL (M)、HCT116 では 60 μ g/mL (A)、129 μ g/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 ではアセトン抽出物のばく露により G1 期が 5% 有意に上昇、HCT116 では G1 期が 10% 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。cyclinD1 および cdk4 の発現がアセトン抽出物の濃度依存的に減少し、p21^{CIP1}、p27^{KIP1} および p53 の発現が濃度依存的に増加した。移植モデルにおいて腫瘍内へのアセトン抽出物の投与は、体重に影響することなく腫瘍縮小傾向をきたした。画像解析において腫瘍の生存領域はアセトン抽出物投与群とコントロール群間で有意差はなかった。実験終了時には主要臓器に毒性影響は見られなかった。芭蕉葉の抽出物には殺細胞効果をもつ物質が含まれ、アセトン抽出物は細胞周期を負に制御したと考えられる。

P-05

Overcoming resistance to cetuximab with honokiol, a small-molecule polyphenol

○飯田 麻里¹⁾, Hannah E. Pearson¹⁾, Rachel A. Orbuch¹⁾, Nellie K. McDaniel¹⁾, Kwangok P. Nickel¹⁾, Randall J. Kimple¹⁾, Jack Arbiser²⁾, Deric L. Wheeler¹⁾

¹⁾Department of Human Oncology, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health,

²⁾Department of Dermatology, Emory University School of Medicine, Winship Cancer Institute

Overexpression and activation of the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) have been linked to poor prognosis in several human cancers. Cetuximab is a monoclonal antibody against EGFR, that is used for the treatment in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) and metastatic colorectal cancer. Unfortunately, most tumors have intrinsic or acquire resistance to cetuximab during the course of therapy. Honokiol is a natural compound found in the bark and leaves of the Chinese Magnolia tree and is established to have several anti-cancer properties without appreciable toxicity. In this study, we hypothesized that combining cetuximab and honokiol treatments could overcome acquired resistance to cetuximab. We previously developed a model of acquired resistance to cetuximab in non-small cell lung cancer H226 cell line. Treatment of cetuximab resistant clones with honokiol and cetuximab resulted in a robust anti-proliferative response. Immunoblot analysis revealed the HER family and their signaling pathways were downregulated after combination treatment, most notably the proliferation (MAPK) and survival (AKT) pathways. Additionally, we found a decrease in phosphorylation of DRP1 and reactive oxygen species after combination treatment in cetuximab resistant clones which may signify a change in mitochondrial function. Furthermore, we utilized cetuximab resistant HNSCC patient derived xenografts (PDX) to test the benefit of combinatorial treatment in vivo. There was significant growth delay in PDX tumors after combination treatment with a subsequent down-regulation of active MAPK, AKT, and DRP1 signaling as seen in vitro. Collectively these data suggest that honokiol is a promising natural compound in overcoming acquired resistance to cetuximab.

P-06

NASHの肝臓組織や肝臓癌におけるプロテオーム解析

○梯 アンナ, 奥野 高裕, 藤岡 正喜, 魏 民, 鰐淵 英機

大阪市立大学・院・医・分子病理学

本研究は、肝臓における非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) を背景とした肝細胞癌の発がんメカニズムの解明を行うとともに、ヒトのNASH肝細胞癌に特異的な発がんマーカーを同定することを目的とした。ヒトNASH生検、肝細胞癌組織、大腸癌転移患者の正常肝臓組織、またはNASHモデルマウス (STAM) を用いてQSTAR-Elite LC-MS/MS、Ingenuity Pathway解析及び免疫染色を行った。その結果によりNASH由来HCCやNASH生検におけるinsulin シグナリング、SMAD3-TGF- β 、 β -catenin、Nrf2、SREBP-LXR α 及びnuclear receptor-interacting protein 1 (NRIP1) 転写因子の活性化が認められた。さらに、PPARsやp53の抑制、cytokeratin 8/18 (CK8/18)の発現減少、ミトコンドリア機能不全、脂質代謝不全、alcohol代謝不全、線維化及び酸化的ストレスの誘導が認められた。また、ヒトのNASH肝細胞癌と異なって、STAMマウスの肝臓組織におけるPPARsの抑制が認められなかったがCK8/18の有意な過剰発現が観察された。

P-07 *

ラット反復投与による肝臓における細胞老化関連代謝分子の発現に関する遺伝毒性及び非遺伝毒性肝発がん物質の反応性の違い

○伊藤 優子^{1,2)}, 中島 康太^{1,2)}, 増淵 康則^{1,2)}, 齋藤 文代³⁾, 赤堀 有美³⁾, 吉田 敏則¹⁾, 渋谷 淳¹⁾

¹⁾ 東京農工大 獣医病理, ²⁾ 岐阜大院 連合獣医, ³⁾ 化学物質評価研究機構

【背景及び目的】細胞周期停止を表現型とする細胞老化は化学物質投与による不可逆的毒性と考えられる。我々は、肝発がん物質のラット投与時に、肝臓での発がん性に関連した細胞周期分子の反応性が発がん物質の遺伝毒性の有無により異なることを見出しており、本研究では、それぞれジエチルニトロソアミン (DEN)、四塩化炭素 (CCl₄) を例としてラットに投与した際の、肝臓における細胞老化関連代謝分子の発現と発がん過程への関与の相違を比較・検討した。

【材料と方法】ラットに DEN ないし CCl₄ の発がん用量を 28 日間ないし 84 日間反復経口投与し、肝臓における代謝及び細胞老化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】解糖系関連遺伝子は、DEN 群では 84 日目まで発現増加したが、CCl₄ 群では 28 日目より減少した。酸化リン酸化関連遺伝子は、CCl₄ 群のみで 28 日目から発現減少した。老化関連遺伝子 *Cdkn1a* 及び *Cdkn2a* の発現は DEN 群で顕著に増加したが、CCl₄ 群では 28 日目のみで *Cdkn2a* が増加し 84 日目では逆に低下した。84 日目の免疫組織学的解析により、DEN 群のみで GST-P⁺ 巢に一致して、グルコーストランスポーター GLUT1 の発現が増加しており、解糖系の亢進が示唆された。一方、ミトコンドリア ATP 合成酵素である ATPase の発現は両群で減少し、酸化リン酸化の抑制が示唆された。細胞老化マーカー p21^{WAF1/CIP1} の発現は、CCl₄ 群では GST-P⁺ 巢に一致して陽性を示したが、DEN 群では GST-P⁺ 巢を含めた肝臓全域で陽性を示した。以上より、遺伝毒性発がん物質では細胞老化が亢進しながら発がんのスイッチが入り、前がん病変内では悪性腫瘍でみられる代謝シフトが生じるのに対して、非遺伝毒性発がん物質では投与期間の延長に伴う細胞老化の破綻と、前がん病変での解糖系の不応答が示唆された。

P-08

早期ラット肝発がんに対する黄き注射液の影響

○金 美蘭, 唐 倩, 張 梅, 方 仁東, 王 劍, 王 自力

西南大学 動物科術学院 獣医病理研究室

【背景】黄き注射液 (ASI) は黄きから抽出した主要成分で作られた薬物であり、活性酸素種 (ROS) などを駆逐する抗酸化作用や抗腫瘍作用を有することが知られている。

【目的】本実験ではラット早期肝発がんに対する黄き注射液の抑制作用について検討し、その作用機序を解明することを目的とした。

【方法】6 週齢の雄 SD ラット 40 匹を 4 群 (1 群: DEN 単独群、2 群: DEN+PBO 群、3 群: DEN+PBO+ASI 1 群、4 群: DEN+PBO+ASI 2 群) に分け、全群に 200mg/kg DEN でイニシエーション処置を行い、実験開始 2 週間後より第 2 ~ 4 群には 0.5% PBO を 9 週間混餌投与した。第 3 群には DEN を投与した直後から 2 週間 0.5ml/kg ASI を毎日一回腹腔内投与した。第 4 群には PBO を投与するとともに 0.5ml/kg ASI を 9 週間腹腔内投与した。実験開始 3 週間後に全群に対して 2/3 肝部分切除を行った。投与終了後に動物を屠殺し、体重や肝重量測定すると共に、HE 染色、Ki67 や GST-P 免疫染色、遺伝子発現解析を行った。

【結果】その結果、プロモーション期に ASI を処理した群の最終体重と絶対肝重量は DEN + PBO 群に比べ有意に減少した。さらに、GST-P 陽性細胞巢の数、面積においても統計学的な有意な差はないものの明らかな減少傾向を示した。また、ASI 処理群の Ki67 陽性細胞率は DEN + PBO 群に比べ有意に減少した。遺伝子発現解析においては、ASI 投与群の CYP1A1 が DEN+PBO 群に比べ有意に増加したが、ASI 2 群の p53, Bax, Bcl-2, caspase3 も DEN + PBO 群に比べ増加傾向を示した。特に、Bcl-2 においては統計学的有意な差も見られた。

【結論】これらの結果から、黄き注射液はラット早期肝発がんに対して抑制作用を有し、その抑制機序には細胞増殖抑制やアポトーシス促進などが含まれている可能性が示唆された。また、これらの作用はプロモーション期にもっと強いことが示唆された。

P-09 *

Luteolinの膵癌化学予防効果の検討

○加藤 寛之, 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】膵癌は治療抵抗性で予後は極めて不良であり、その予防法の検討は重要な課題である。フラボノイドの一種であるLuteolin (Lut) は種々の癌種において腫瘍抑制効果が報告されているが、膵発癌に対する *in vivo* での報告はない。そのため本研究ではハムスターを用いた膵発癌モデルを用い、膵癌化学予防効果とそのメカニズムについて検討した。

【方法】6週齢 Syrian Golden Hamster に4回のN-nitrosobis (2-oxopropyl) amine (BOP) 10mg/kg皮下投与を行った後、Lut (100ppm)群 (n=13)と対照群 (n=14)に分け、高脂肪食と共に13週間混餌投与を行い、膵腫瘍性病変を解析した。その後ヒト膵癌細胞株を用いてLut投与による細胞増殖抑制とそのパスウェイについて解析し、ハムスター組織で再検討した。

【結果】最終体重、臓器重量において群間差は見られなかった。血液生化学検査では総コレステロールがLut投与によって有意に減少した。さらに、Lu投与により腫瘍の発生率、発生数は減少し、異形成病変におけるKi-67 labeling indexも有意に低下した。In vitroではLut投与による膵癌細胞株 (MiaPaCa, PANC1, HPD1NR) での濃度依存性の抑制を認めた。半網羅的リン酸化タンパク解析を行った結果Lut処置によりリン酸化Stat3 (Tyr705) が低下し、下流にあるcyclin D1発現も低下していることが明らかとなった。ハムスターの異形成病変、癌いづれにおいてもLut投与によりリン酸化Stat3の陽性率が低下していることを免疫組織学的に確認した。さらにハムスター膵組織において種々のサイトカインの有意な低下が見られた。

【結論】BOPハムスター膵発がんモデルにおいてLutにおいて膵癌の発生が有意に低下し、リン酸化Stat3経路が関与していることが示唆された。Lutの膵癌化学予防剤としての可能性が示唆された。

P-10

ラットにおけるコリン欠乏メチオニン低減アミノ酸食による非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) 様病態に対してトランス脂肪酸が及ぼす系統差の影響

○宇野 絹子, 美谷島 克宏, 張 舜恵, 煙山 紀子, 小川 秀治, 渡邊 厚, 中江 大

東京農業大学大学院 農学研究科

【目的】コリン欠乏メチオニン低減アミノ酸 (CDAA) 食により誘導するNASH様の病態に対するトランス脂肪酸の影響をHsd:Sprague Dawley系 (HSD) ラット及びFischer344系 (F344) ラットを用いて検討した。

【方法】6週齢の雄Hsdラットならびに雄F344ラットに、トランス脂肪酸を含まないCDAA食 (CDAA-T (-))、トランス脂肪酸を含むCDAA食 (CDAA-T (+)) (いずれもRESEARCH DIETS社) を13週間給餌した (各群6匹)。両系統共に対照群にはCDAA食と同様に基礎食 (CLEA Rodent Diet CE-2、日本クレア (株)) を給餌した。飼育期間中、一般状態観察ならびに体重・摂餌量の測定を行った。解剖時には、麻酔下で腹大動脈より採血した後放血殺し、速やかに肝臓を採取し重量を測定した後、一部は凍結保存、残りは4%パラホルムアルデヒド液にて固定した。血漿サンプルを用いた生化学的検査、肝臓の病理組織学的検査及び肝臓中の遺伝子発現解析を実施した。

【結果】両系統のラットにおいて、CDAA食群は対照群と比較して、肝相対重量の有意な増加、病理組織学的に肝細胞の脂肪化や線維化が認められた。F344ラットではHsdラットと比較し、顕著な血漿中AST及びALT活性の上昇、炎症および線維化に関連する遺伝子発現の有意な増加が認められた。

【考察】以上の結果より、トランス脂肪酸の有無はCDAA食により誘発されるNASH様の病態に明らかな差は示さなかった。CDAA食で誘発されるNASH様病態は、Hsdラットと比較しF344ラットにおいて、一部の検索項目で顕著な影響を示すことが明らかとなった

P-11

老齢マウスにおける飢餓誘導性肝オートファジー

○飯塚 生一¹⁾, 名畑 美和¹⁾, 関根 瞳¹⁾, 藤塚 直樹¹⁾, 武田 宏司^{2,3)}¹⁾(株)ツムラ ツムラ漢方研究所, ²⁾北海道大学大学院 薬学研究院 臨床病態解析学, ³⁾北海道大学病院 消化器内科

【背景および目的】オートファジーは、異常蛋白の蓄積や損傷した細胞内小器官を排除・再構築し、細胞や臓器の機能を維持する役割を果たす一方、栄養状態が悪化した際の適応反応としてエネルギーを供給する作用をもつ。本研究は、老齢マウスにおける飢餓誘発による肝オートファジー機能の変化について検討した。

【材料と方法】C57BL/6J雄マウス(Young:8週齢, Aged:23ヶ月齢)に通常摂餌量の30%を与え、12日間飼育した。オートファジー活性はLC3蛋白を定量し、肝細胞内のautolysosomeを電子顕微鏡で観察した。ユビキチン・プロテアゾーム機能は足底筋におけるAtrogin-1およびMuRF-1のmRNAを測定した。

【結果】30%制限食により、Youngマウスでは死亡は見られなかったが、Agedマウスでは12日目で生存率が20%に低下した。肝LC3-II/I蛋白比はYoungマウスでは5日目を中心に増加したが、Agedマウスでは変化が見られなかった。Agedマウスの肝細胞内autolysosome数は制限食5日目でYoungマウスと比較して低値を示した。足底筋のAtrogin-1およびMuRF-1のmRNAはYoungマウスよりもagedマウスで有意に低下した。

【結論】栄養制限によるAgedマウスの生存率の低下は、筋蛋白からのエネルギー供給と肝オートファジー機能低下が関与していると推測された。肝オートファジー機能の活性化は、低栄養高齢者の脆弱性を回避するターゲットになる可能性が示唆された。

P-12 *

カドミウムを用いた時間毒性学の検討～組織学的検討を中心とした感受性時刻差の解析～

○吉岡 弘毅^{1,2)}, 野々垣 常正¹⁾, 市丸 嘉¹⁾, 大谷 勝己³⁾, 酒々井 眞澄²⁾, 三浦 伸彦³⁾¹⁾金城学院大学 薬学部 薬学科, ²⁾名古屋市立大学 医学部 分子毒性学分野, ³⁾労働安全衛生総合研究所

【目的】我々は生体リズムを考慮した毒性学を「時間毒性学」として展開しており、これまでにカドミウム(Cd)を中心に様々な物質を用いて検討を行っている。その結果、投与時刻により、毒性感受性が個々で異なることを報告してきた。本発表では、我々が最も研究を進めているCdに関して、組織学的検討を中心にその差を見出したので報告する。

【方法】実験には、7週齢のC57BL/6J系雄性マウスを用いた。CdCl₂を4.5 mg/kgの用量で14時または2時に単回腹腔内投与した。投与24時間後に解剖を行い、血液を採取し、血漿中のALT、ASTを測定した。また、肝臓組織のH&E染色、TUNEL染色および脂質過酸化を観察・測定することで肝傷害を評価した。

【結果】4時にCdを投与したマウスは、重篤な肝障害(ALT、ASTの上昇)が認められたが、2時投与群ではほとんど毒性は観察されなかった。この時、14時投与群の肝臓では広範囲にわたる壊死、出血、脂肪変性等が観察されたが、2時投与群の肝臓ではそれらの傷害は認められず、対照群と同様の病理像であった。アポトーシスの指標として、TUNEL染色を行ったが、TUNEL陽性細胞はCd投与により両投与時刻ともにほとんど観察されなかった。その一方で、necroptosisの指標として知られているreceptor interacting protein (RIP)は、2時投与群に比べて14時投与群で顕著に上昇した。

【考察】Cdは高用量投与ではnecrosisを引き起こす。今回用いた投与量はnecrosis優位の量であり、RIPの上昇は投与時刻によって顕著に異なっていたことから、Cdによる感受性時刻差はnecroptosisレベルでも観察されるものと考えられる。今後はアポトーシス優位な低用量のCd投与による感受性時刻差についても検討を加えていくことで、曝露時刻を考慮した防御対策強化への基盤的情報となり得ることが期待される。

P-13

クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) による肝毒性の発現機序解析

○高橋 尚史¹⁾, 山口 悟¹⁾, 大塚 亮一¹⁾, 武田 眞記夫¹⁾, 加藤 由隆¹⁾, 伊藤 強¹⁾, 小山 彩¹⁾, 志賀 敦史¹⁾, 岡崎 欣正¹⁾, 吉田 敏則²⁾, 原田 孝則¹⁾

¹⁾(一財) 残留農薬研究所, ²⁾ 東京農工大学 獣医病理学研究室

【背景と目的】クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) は、日本では50年ほど前から使用されており、東日本大震災では、住宅土台に使用されたCCA処理木材が災害廃棄物として大量に発生するなど、現在その廃材の排出およびそれに伴うヒトへの曝露が問題となっている。過去に我々はWistar Hannoverラットに4週間にわたりCCAを0, 8, 40および80 mg/kg/dayの用量で強制経口投与し、雌の肝臓に血液生化学的な肝毒性パラメーターの変動と8-OHdGの増加を伴うび慢性肝細胞肥大がみられることを報告した。今回肝毒性発現機序の解明を目的として、分子病理学的解析を実施した。

【材料と方法】過去に行なったCCAラット4週試験の雌の肝臓試料を使用し、細胞増殖活性、アポトーシスおよびグルタチオン化タンパクについて免疫組織化学的に評価した。遺伝子発現解析にはマイクロアレイおよび定量RT-PCRを用いた。転写関連領域のDNAメチル化をメチル化DNA免疫沈降と定量PCRを用いて解析した。

【結果】CCA投与により肝臓では細胞増殖活性の増加傾向がみられた。遺伝子発現解析では主にグルタチオンS-トランスフェラーゼ、抗酸化、熱ショックタンパク、ユビキチン・プロテアソーム系、細胞増殖、DNAメチル化およびP450に関連する遺伝子の変動が認められた。このうち抗酸化に関わるメタロチオネインの発現は抑制されたが、DNAメチル化の関与はなかった。還元型グルタチオン (GSH) / 酸化型グルタチオン比の減少に伴い増加するグルタチオン化タンパクはCCA投与により増加した。

【結論】CCA投与では解毒および活性酸素の消去のためGSHが消費され、さらにメタロチオネインの発現抑制によりレドックス制御の破断がおり、肝毒性を誘発する可能性が示唆された。

P-14 *

Time dependent cytoprotective phenomenon of lipopolysaccharide in TAA-induced acute liver injury in rats

○Karim Mohammad Rabiul, Pervin Munmun, 倉持 瑞樹, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至

大阪府立大 獣医病理

[Background and Aims] Lipopolysaccharide (LPS) acts as an important cofactor in the pathogenesis of hepatotoxicity. Here, the time-dependent role of LPS-stimulated autophagy and macrophages in thioacetamide (TAA)-induced acute rat liver injury were investigated.

[M&M] F344 rats were pretreated with LPS (0.1 mg/kg BW, i.p.) at 2, 6, 12h and 24h before TAA injection (100 mg/kg BW, i.p.). Serum and liver were collected one day after TAA injection.

[Results] TAA injection produced centrilobular hepatocyte necrosis in liver, which was markedly reduced in LPS-pretreated rats at 12h or 24h as compared with those of without pretreated alone TAA-injected rats. Consistently, AST, ALT and ALP values tended to be decreased in LPS-pretreated rats at 12h or 24h. At each time point, LC3B (autophagy marker) expression was increased in liver of TAA-injected rats, however LC3B-labeled cytoplasmic granules in hepatocytes were significantly increased in LPS-pretreated rats. At each time point, additionally, CD163⁺ and CD68⁺ macrophages were significantly increased in TAA-injected rats, however, CD68⁺ exudative macrophages were significantly increased or tended to be increased in LPS-pretreated rats particularly at 12h or 24h.

[Conclusions] LPS pretreatment at 12 h or 24 h showed the highest cytoprotection in TAA-induced acute liver injury, which might be related to the LPS-activated hepatic macrophages and LPS-induced hepatocyte autophagy.

P-15

シスプラチンの腎毒性に対するエダラボンの効果

○小池 夏未, 佐々木 彩花, 矢守 凜, 村上 智亮, 鈴木 和彦

東京農工大学 農学部 共同獣医学科

【背景と目的】シスプラチン(CIS)は、有用な抗がん剤である一方、腎臓をはじめとする多臓器への毒性が報告されている。腎毒性としては、尿細管壊死とそれに続く腎間質線維化がみられ、その病態形成の一端に酸化ストレスの関与が示唆されている。本研究では、合成フリーラジカル・スカベンジャーであるエダラボン(Eda)による腎尿細管間質病変に対する抑制効果を検討した。

【材料と方法】6週齢の雄性Wisterラット(n=25)を各群5匹として、陰性対照群、CIS投与群、CIS投与+低用量Eda投与群、CIS投与+中用量Eda投与群、CIS投与+高用量Eda投与群の5群に分けた。CISは6 mg/kgで単回腹腔内投与を行い、Edaは1、10、100 mg/kgでCIS投与の5日前より隔日に腹腔内投与した。CIS投与から28日後に血液と腎臓を採材し、組織学的・免疫組織化学的検索およびPCR解析を行った。

【結果】CIS投与により認められた血液尿素窒素(BUN)およびクレアチニン(Cr)レベルの上昇は、Edaの併用によって抑制された。腎臓の組織学的検索では、CIS投与で認められた皮髄境界領域を中心とした尿細管の拡張、尿細管上皮の脱落、間質線維の蓄積増加が、高用量Eda併用群でのみ有意に軽減された。CD68陽性マクロファージとCD3陽性リンパ球の浸潤はCIS投与により有意に増加し、Edaの併用により浸潤に抑制が認められた。 α -SMA陽性筋線維芽細胞数もCISで増加したが、Eda併用により用量反応性に抑制傾向がみられた。各種抗酸化関連因子のmRNA発現については現在検索中である。

【結論】本研究により、EdaのCIS腎毒性に対する抑制効果が認められ、その機序の一端として抗酸化作用の関与が示唆された。

P-16 *

フマル酸ジメチルの腎間質線維化抑制効果の検討

○佐々木 彩花, 小池 夏未, 矢守 凜, 村上 智亮, 鈴木 和彦

東京農工大学 農学部 共同獣医学科

【背景と目的】腎間質線維化は各種腎疾患に付随して認められ、腎機能の低下と相関がある病態である。しかし、線維化は基本的には組織修復の過剰反応であり、間質への過剰な細胞外基質の沈着を抑制することが治療法として求められている。フマル酸ジメチル(DMF)はNrf2転写経路活性化による酸化ストレス軽減を機序とする多発性硬化症治療薬で、抗酸化による各種病態軽減作用が期待される化合物である。本研究ではシスプラチン(CIS)による腎障害モデルを用いて、DMFによる腎間質線維化の発現・進展に対する影響を検討した。

【材料と方法】6週齢の雄性Wisterラットを陰性対照群、CIS投与群、CIS投与+低用量DMF投与群、CIS投与+中用量DMF投与群、CIS投与+高用量DMF投与群の5群に分けた。CISは6 mg/kgで単回腹腔内投与した。DMFは300、1500または7500ppmでCIS投与の7日前より混餌投与した。CIS投与28日後に剖検を実施して血液と腎臓を採材し、各種検索に供した。

【結果と考察】CIS投与群で認められたBUN及びCre値の上昇は、DMF投与により抑制された。組織学的にCIS投与群において認められた尿細管傷害及び間質線維の蓄積増加も、DMF投与により抑制された。さらに、CD68陽性マクロファージ及びCD3陽性リンパ球の浸潤も、DMF投与により用量反応性に抑制効果が認められた。 α 平滑筋アクチン陽性細胞は、高用量DMF投与群のみ増加抑制効果が認められた。各種抗酸化因子のmRNA発現については現在検索中であるが、血液生化学と組織レベルではDMFによる腎線維化抑制効果が認められ、その機序の一端として抗酸化作用の関与が示唆された。

P-17 *

HNF4 α 発現低下に伴う尿細管上皮細胞の形質変化

○矢守 凜, 小池 夏未, 佐々木 彩花, 村上 智亮, 古谷 哲也, 鈴木 和彦

東京農工大学 農学部 共同獣医学科

【背景と目的】肝細胞核因子 4 α (HNF4 α) は核内転写因子の一種で、腎臓では発生・成熟段階での複数のトランスポーター発現制御への関与と成熟後の近位尿細管上皮細胞での恒常的な発現が報告されている。これまでの研究で、アデニン投与マウスでは傷害後の再生尿細管上皮細胞で近位尿細管での HNF4 α 発現が消失することを確認した。本研究では、腎臓における HNF4 α の役割を明らかにするために腎臓細胞由来株での HNF4 α の発現低下による変化およびシスプラチンに対する反応性の変化について検討した。

【方法】ラット HNF4 α の shRNA プラスミドベクターをラット腎臓細胞由来株 (NRK-52E) に導入し、細胞形態ならびに各種トランスポーターなどの遺伝子発現の変動について導入株と非導入株で比較した。さらに、腎毒性物質としてシスプラチンを培養液へ添加した際の薬剤感受性の差異についても検討を行った。

【結果】HNF4 α の shRNA を導入した株では、取り込みトランスポーター (Oat1, Oat3, Oct2, Oct3) などの mRNA レベルの発現が低下し、Snail mRNA の発現は増加した。またシスプラチンへの曝露では、導入株と非導入株で細胞の生存率に差がみられた。

【考察】シスプラチン曝露後の再生尿細管上皮細胞において取り込みトランスポーターの発現の低下がみられるという報告もあるため、shHNF4 α を導入した株で発現が低下したトランスポーターの多くはシスプラチン取り込みに関与するもので、シスプラチン曝露に対して非導入株よりも細胞生存率が高かったことは、HNF4 α は尿細管上皮細胞において薬物トランスポーター発現を調節しており、その発現低下は薬物によるさらなる傷害から腎臓を保護していることを示唆している。

P-18

低酸素応答のハイスループットスクリーニング：プロモーター機能解析

○米沢 理人¹⁾, フォースアルドレッド シェリー¹⁾, トリンクライン ネイサン¹⁾, シア メンハン²⁾,
ファンルイリ²⁾, ハドソン ジム³⁾, サムエルソン ジョハナ¹⁾¹⁾アクティブ・モティフ, ²⁾NIHケミカルジェノミクスセンター, ³⁾ハドソンアルファ細胞工学研究所

低酸素シグナル伝達系は化学療法抵抗性を含む広範囲の生物学的プロセスに関わっている。化学療法薬や毒物と組み合わせたハイスループットな遺伝子発現制御研究を簡便に行えるよう、我々は 18,000 を超えるヒト遺伝子の内在性プロモーターおよび合成応答エレメントをルシフェラーゼアッセイ系に組み込んだゲノムワイドライブラリーを構築した。この“LightSwitch™ Assay System”は高度に最適化された新規ルシフェラーゼ遺伝子 (RenSP) とそれに合わせたアッセイ用試薬を含み、高感度と広いダイナミックレンジを実現している。我々は多種類の LightSwitch™ プロモーターベクターを利用し、様々な細胞外刺激に対する応答を検証した。400 を超える低酸素応答関連プロモーターベクターを利用した解析により、細胞種ごとに、低酸素に対し異なる応答を示すことが明らかになった。更に、1,400 種類の化合物の毒性スクリーニングにおいて、HIF-1 α 依存的誘導因子を含む低酸素応答経路活性化に寄与する化合物を複数同定した。以上より、我々の構築した LightSwitch™ Assay System は毒性応答やその他の細胞経路における遺伝子制御機構を解析する上で非常に役立つと期待される。

P-19 *

免疫器官の発達に影響をおよぼす因子

○等々力 舞, 瀬沼 美香, 熊谷 文明, 斉藤 義明, 桑形 麻樹子

(一財) 食品薬品安全センター 秦野研究所

【背景および目的】胎生期から乳幼児期にいたる栄養環境が成人期の生活習慣病リスクに影響を及ぼすとされる概念(DOHaD)が提唱されており、動物モデルを用いて検証が多くなされている。DOHaD概念では、乳児期の栄養環境が変化し体重の急激な増加(catch up growth)が原因の一つとされている。我々もこれまでに動物実験にて母動物を分娩後7日間50%給餌制限(FR)し、その児がcatch up growthする実験を行ってきた。その結果、FR群では免疫器官の発達に影響があること、また対照群、FR群ともに群内で組織所見の結果に個体差があることを明らかにした。今回はこの個体差がどのような因子と関連しているのかをcatch up growthを中心に調べ考察した。

【材料と方法】C57BL/6J母マウスにFRした群と固形飼料(CE-2)を自由摂食させた対照群を設けた。生後7日(PD7)、21日(PD21)の児を解剖し、器官重量を測定し病理組織学検査を行った。児の体重はPD1、PD7、PD14およびPD21に測定し、PD7からPD14の体重増加幅を算出した。

【結果】PD21の対照群では胸腺の大型のリンパ球の減少および脾臓のPALS領域(CD3陽性細胞)の増加のほか、脾臓辺縁帯への樹状細胞(Iba-1陽性細胞)の集簇が認められた。これらの変化は、体重増加量の少ない例で強い傾向がみられた。FR群では同様の組織変化を示したが、対照群と比較すると変化の程度は弱く、Catch up growthが強い例でより顕著であった。一方、これらの変化は哺育児数および哺育児体重に相関は認められなかった。

【まとめ】哺育期間中のある時期の体重増加量の程度が免疫器官の発達に影響を及ぼすことが明らかになった。

P-20 *

Inhalation single toxicity studies of 1-methylnaphthalene in rats and mice: Histopathological Aspect

○Lee Mi Ju

Inhalation Toxicity Research Center, Occupational Safety and Health Research Institute

[Background] 1-Methylnaphthalene is a polycyclic aromatic hydrocarbon and naphthalene-related compound called alpha methylnaphthalene. It is used to produce dyes and resins and present in cigarette smoke, wood smoke, tar, and asphalt. Reliable inhalation toxicity information of 1-methylnaphthalene has not been reported to date although its primary contact route is the respiratory tract.

[Aim] Therefore, the present study was conducted to screening the toxicity of 1-methylnaphthalene via single inhalation exposure in rats and mice.

[Materials and Methods] Twelve male and 12 female rats and mice were gradationally exposed to 1-Methylnaphthalene aerosol at 0.05, 0.5, 1 and 5 mg/ and 5 and 1 mg/L 1-methylnaphthalene for 4 hours, respectively. Exposed animals were necropsied for 14 days observation period. Histopathological examination was performed in animals exposed at 5 mg/L 1-methylnaphthalene.

[Results] Two male and a female rats exposed to 5 mg/L 1-methylnaphthalene found dead or moribund during the observation period. Enlargement of the lung was noted in all male rats exposed 5 mg/L. Gray focus in the lung was noted in a female mouse exposed to 5 mg/L. Histopathologically, bronchiolar lesions including epithelial hyperplasia, inflammation and erosion/ulcer in the lung were noted in rats and mice exposed to 5 mg/L.

[Conclusion] This result may be helpful to prepare toxic profiles for 1-methylnaphthalene.

P-21

アクリル酸メチルの13週間吸入暴露によるラット呼吸器病変

○高信 健司, 妹尾 英樹, 梅田 ゆみ, 相磯 成敏, 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】アクリル酸メチル (Methyl acrylate : MA) はアクリル樹脂の原料、繊維や粘・接着剤、塗料として使用されている。今回、がん原性試験の濃度設定試験として実施した、ラットを用いた13週間の全身吸入暴露試験でみられた、MAによる呼吸器病変を報告する。

【材料・方法】雌雄各10匹/群 (6週齢) のF344ラットに、MAを0、12.5、25、50、100および200 ppmの濃度で、6時間/日、5日/週の13週間全身吸入暴露を行い、OECDテストガイドライン (TG413) に従い、全身臓器の病理組織学的検査を実施した。

【結果・まとめ】MA暴露の影響は、雌雄とも気道系 (鼻腔、喉頭、及び気管) に限局してみられた。鼻腔では、呼吸部に、杯細胞の過形成、呼吸上皮や粘膜固有層への炎症性細胞浸潤、呼吸上皮の再生、扁平上皮化生、過形成および鼻腺の呼吸上皮化生等の病変がみられた。嗅部に、嗅上皮の萎縮、壊死/剥離、潰瘍、嗅上皮や粘膜固有層への炎症性細胞浸潤、嗅上皮の再生や呼吸上皮化生、嗅腺の呼吸上皮化生、篩骨甲介の癒着がみられた。喉頭に、炎症性細胞浸潤と上皮の再生、気管に、上皮の萎縮と再生がみられたが、肺には毒性所見は認められなかった。これら病変の強度は軽度から中程度であった。この試験を基に、用量設定を行い実施されたMAの全身吸入暴露による104週間がん原性試験では、雌雄に鼻腔の扁平上皮がんの発生あるいは発生増加がみられた。これらは、本試験で認められた呼吸上皮の化生や過形成等の病変が前腫瘍性病変となり、そこから発がんに至ったものと考察される。(本試験は厚生労働省の運営交付金事業として実施したGLP試験である)

P-22

アクリル酸メチルの104週間吸入暴露によるラットの鼻腔発がん呼吸器病変

○妹尾 英樹, 高信 健司, 梅田 ゆみ, 相磯 成敏, 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】アクリル酸メチル (CAS No. 96-33-3) は、刺激臭のある無色透明の液体であり、アクリル繊維、成形樹脂、接着剤、塗料等に広く用いられている。今回、アクリル酸メチルのラットに対する長期吸入試験で認められた鼻腔腫瘍について報告する。

【材料・方法】試験は、雌雄各50匹/群のF344ラット (6週齢) を用い、雌雄ともに0 (対照群)、10、40および160 ppmの濃度のアクリル酸メチルを、1日6時間、週5日間の頻度で、104週間全身吸入暴露を行った。

【結果】腫瘍性病変は、鼻腔の扁平上皮癌が、雄の40 ppm以上の群と雌の160 ppm群に認められ、雄の160 ppm群に有意な増加がみられた。また、非腫瘍性病変として、雌雄ともに鼻腔の呼吸上皮の扁平上皮化生、炎症および杯細胞過形成、嗅上皮の基底細胞過形成、呼吸上皮化生、上皮の萎縮、炎症、再生および扁平上皮化生、固有層の腺の変性と呼吸上皮化生、その他、炎症性ポリープ、甲介の癒着および鉍質沈着を認めた。鼻咽頭では、杯細胞過形成が雄のみにみられ、喉頭では、扁平上皮化生が雌雄に、扁平上皮過形成が雄にみられた。気管には雌雄に上皮の萎縮がみられた。

【結論】ラットに対するアクリル酸メチルの長期吸入暴露により、鼻腔の扁平上皮癌が雌雄ともに認められた。当センターでは過去に鼻腔の扁平上皮癌が雌雄ともに自然発生した経験がないこと、また、前腫瘍性病変と考えられる変化が雌雄とも増加していることから、雌雄にみられた鼻腔の扁平上皮癌は、アクリル酸メチル暴露により発生したと考えた。

(本試験は厚生労働省の運営交付金事業として実施したGLP試験である)

P-23 *

微小管重合阻害薬 combretastatin A4 disodium phosphate の単回投与によりラットに誘発される心筋障害

○ 栃内 亮太¹⁾, 小松 加代子¹⁾, 村上 純太¹⁾, 永田 百合子¹⁾, 安藤 稔¹⁾, 畑 千恵¹⁾, 鈴木 倫¹⁾, 角 将一¹⁾, 小林 稔秀¹⁾, 桑原 正貴²⁾

¹⁾(株)ヤクルト本社 中央研究所, ²⁾東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医衛生学研究室

【背景】微小管重合阻害薬は腫瘍血管破綻薬としての応用が期待されているが、徐脈、頻脈、心機能低下、心筋虚血等の心毒性の克服が課題の一つである。今回、微小管重合阻害薬である combretastatin A4 disodium phosphate (CA4DP) をラットに単回投与して誘発される心毒性所見を解析し、ヒトに対する微小管重合阻害薬の安全性試験における心毒性モデルとしての有用性を考察した。

【方法】i) SDラットにCA4DP 120 mg/kg を単回、尾静脈内投与し、投与後 0.5、24 あるいは 72 h に心臓の病理組織学的検査および血液バイオマーカー検査 (LDH、LDH 1、CK、CK-MB、cTnT、cTnI、FABP3、Myl3、NT-proBNP、BNP) を行った。ii) i) と同様にCA4DPを単回投与し、投与前、投与後 0.5、24 および 72 h に経時的に心電図検査および心エコー検査を実施した。

【結果】i) 投与後 0.5 h にCK、CK-MBおよびFABP3 の高値が、24 h にLDH 1、CK、CK-MBの高値および心尖部内層の心筋細胞における多巣性の空胞変性および毛細血管内皮細胞の核濃縮・断片化が、72 h にLDH 1 の高値および心尖部内層における多巣性の心筋壊死および炎症性細胞浸潤、毛細血管内皮細胞の核濃縮・断片化および水腫が認められた。ii) 投与後 0.5 h に心拍数、左室駆出分画および心拍出量の低下が、24 h に心拍出量の低下が、72 h に心拍数、左室駆出分画および心拍出量の低下ならびにT波の電位に低下が認められた。

【考察】ラットへのCA4DP単回投与により心筋傷害、徐脈および心筋収縮機能の低下が誘発された。病変の分布や心電図変化から、心筋傷害は冠血流量および微小循環の低下に起因した虚血性変化であると推察された。これらの変化はヒトで既報の変化と共通であり、今回の試験系はヒトに対する微小管重合阻害薬の心毒性研究に有用であると考えられた。

P-24 *

αリノレン酸-ジアシルグリセロール油の発がんプロモーション作用に関する検討

○ 本田 大士¹⁾, 川本 泰輔¹⁾, 土井 悠子²⁾, 森 卓也¹⁾, 松村 奨士¹⁾, 今井 則夫²⁾, 米良 幸典²⁾, 伊藤 勇一¹⁾, 森田 修¹⁾

¹⁾花王株式会社, ²⁾株式会社DIMS医科学研究所

【背景】αリノレン酸(ALA)-ジアシルグリセロール(DAG)油は、DAGとALAに富む食用油であり、食品の脂肪の代謝を高める作用を有することが報告されている。細胞内に元々存在する短鎖1,2-DAGが発がん過程に関わるProtein kinase C(PKC)を活性化することから、オレイン酸とリノール酸を主に含有するDAG油については発がんプロモーション作用に関する様々な検討が実施されてきたが、通常の摂取において発がんプロモーション作用は認められないと考えられている。一方で、ALA-DAG油の発がんプロモーション作用については検討されていない。

【目的】ラットを用いてALA-DAG油の発がんプロモーション作用を検索する。

【材料と方法】ラット中期多臓器発がんモデルにおいては、遺伝毒性物質によるイニシエーションの後、ALA-DAG油を含む飼料(0, 13,750, 27,500, 55,000 ppm)をラットに24週間混餌投与し、ALA-DAG油の舌および消化管に対する発がんプロモーション作用を評価した。また、舌および消化管におけるPKC活性をALA-DAG油を含む飼料(0, 7.5, 30%)を28日間混餌投与したラットにおいて測定した。

【結果】前がん性および腫瘍性の病変の有意な増加は、ラット中期多臓器発がんモデルにおいて認められなかった。ALA-DAG油を混餌投与した動物においてPKC活性の有意な増加は確認されなかった。

【結論】ALA-DAG油はDAG油同様に発がんプロモーション作用を有しないと考えられる。

P-25

有機ゲルマニウム poly-*trans*- [(2-carboxyethyl) germasesquioxane] (Ge-132) の rasH2 マウスを用いた 26 週間短期発がん性試験

○土井 悠子¹⁾, 今井 則夫¹⁾, 勝呂 繭子¹⁾, 河部 真弓¹⁾, 佐藤 功²⁾

¹⁾(株) DIMS 医科学研究所, ²⁾(株) 浅井ゲルマニウム研究所

【目的】有機ゲルマニウム poly-*trans*- [(2-carboxyethyl) germasesquioxane] (Ge-132) は食品の原材料として使用されており、多様な生理作用が報告されている。急性、亜急性、慢性、催奇形性、変異原性試験等によりその安全性が確認されているが、発がん性については十分な情報が得られていない。そこで発がん性評価を目的として、CB6F1-Tg rasH2 (rasH2) マウスを用いた 26 週間短期発がん性試験を実施した。

【材料と方法】7～8 週齢の rasH2 マウス雌雄各群 20 匹に 0、0.3、0.8 及び 2.5% の濃度で 26 週間、混餌投与した。投与量は本試験に先立って実施された用量設定試験をもとに決定した。陽性対照として雌雄各 10 匹に MNU を 75 mg/kg の用量で単回腹腔内投与した。26 週間経過後に剖検し、各器官・組織を病理組織学的に検索した。

【結果】投与期間中に雌雄の 2.5% 群において全例に軟便が観察され、摂水量の有意な高値が認められた。剖検時には盲腸の拡張が観察されたが、病理組織学的には盲腸に異常はみられなかった。Ge-132 投与群において種々の腫瘍性病変が発生したが、対照群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。MNU 群においては、雌雄全例に腫瘍性病変が認められ、悪性リンパ腫及び胃の扁平上皮乳頭腫が多く動物で観察された。

【考察】本試験条件下において、最高用量の 2.5% (雄：3837 mg/kg/day、雌：5442 mg/kg/day) の用量では Ge-132 投与の発がん性は認められなかった。

P-26 *

肝臓に観察された肝原発とは考えられない腫瘍の免疫組織学的検討

○杜 牧, Hui Guo, Yuexiang Zhang, Xiargjiang Liu, Weijuan Zhang, Xiaoxia Ji, Maowu Guo, Yasuhiko Hirouchi

JOINN Laboratories

Background and objective Scattering nodules with approximately 0.1-1 cm diameter were observed in the liver of a rat. We considered that these nodules are different from primary liver tumor, and conducted immunohistochemical examination to determine the original tissue.

Materials and methods This case was a male CD rat sacrificed on scheduled necropsy at week 104. At macroscopic examination on necropsy, scattered nodules were observed in the liver. Histological examination and immunohistochemical examination of the liver were conducted.

Results The accumulated foci of tumor cells consisted of oval cells with light basophilic cytoplasm and round nuclei. There was no dysplasia of nuclei, and mitosis was very rare. Although nodular proliferation of tumor cells was shown, significant exclusion of surrounding tissues was not observed. Disseminated infiltration and proliferation of isolated tumor cells were observed around the tumor nodules. In addition, C cell adenoma of the thyroid gland were observed. As the result of immunohistochemical examination, this tumor was AFP-negative, CK19-negative and vimentin-negative. Therefore, this tumor was not considered to be derived from hepatocytes or intrahepatic bile ducts. As a possibility for metastasis of an endocrine system tumor was considered from tissue morphology of the tumor, immunohistochemical examination using calcitonin and chromogranin was conducted. The results are reported.

P-27 *

***o*-Acetoacetotoluidide (AAOT) の毒性影響の検討**

○熊田 賢次, 奥野 高裕, 魏 民, 藤岡 正喜, 行松 直, 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

o-Acetoacetotoluidide (AAOT) は *o*-Toluidine (OTD) のアミノ基がアシル化された化合物であり、アゾ顔料の合成原料として用いられている物質である。OTDの職業曝露が膀胱癌を誘発することが知られており、IARC によって Group1 (ヒトに対して発がん性がある) に分類されている。しかし、化学構造的に類似している AAOT の毒性や発がん性などについての知見はなく、AAOT のリスク評価が急務とされている。したがって、本研究は AAOT の毒性影響について評価することを目的とした。

ヒト膀胱上皮細胞 1T1 およびラット膀胱上皮細胞 MYP3 を用いて、AAOT および OTD を 0、78、156、313、625、1000、1250、2000、2500ppm の用量でそれぞれ培地に添加し、LD50 を算出した。さらに、6 週齢の雌性 F344 ラットを用いて、AAOT を 0、1500 および 3000ppm の用量で混餌投与し、投与開始から 72 時間後の早朝尿中における AAOT およびその代謝物について解析を行った。

細胞を用いた解析の結果、AAOT の LD50 は 1T1 で 1049ppm、MYP3 で 874.1ppm であった。OTD の LD50 は 1T1 で 157.4ppm、MYP3 で 257ppm であった。

ラット尿中代謝物の解析の結果、対照群と比較して AAOT 投与群で OTD の有意な増加がみられた。興味深いことに、AAOT 投与群の尿中代謝物の大部分を OTD が占めていた。

以上の結果から、AAOT は OTD と比較して細胞毒性が弱いことが明らかとなった。しかし、生体代謝物として OTD が尿中に産生されることから膀胱粘膜上皮に対する影響が懸念される。現在、動物試験が進行中であり発表ではその結果も含めて報告する。

P-28

Wistar Hannover ラット胸腺の増殖性病変における免疫組織学的特徴

○友成 由紀, 佐藤 順子, 黒滝 哲郎, 小林 亮介, 土居 卓也, 菅野 剛, 土谷 稔

(株) LSI メディエンス 創薬支援事業本部 試験研究センター 病理研究部 病理 1 G

【背景】第 30 回日本毒性病理学会学術集会にて Wistar Hannover ラット (WH) の胸腺では過形成と胸腺腫の発生が SD 系ラットより多く、胸腺腫の特徴として組織学的に正常胸腺皮髄構造に類似することを報告した。このほか、髄質様であるがリンパ球の存在しない淡明領域の形成も特徴の一つである。

【目的】皮質と髄質の胸腺上皮の Cytokeratin (CK) 発現の違いに着目し、胸腺腫と正常胸腺との皮髄構造の比較を行った。

【材料と方法】胸腺腫 40 例 (104 週間 (w) WH 背景データ集積試験) 及び比較対照として正常な胸腺 (104w, 26w, 4w 試験) について、CK14 抗体 (髄質型上皮マーカー)、CK18 抗体 (皮質型上皮マーカー) 及び CD20 抗体 (B-cell マーカー) を用い免疫染色を行った。

【結果】正常胸腺では、CK14 は髄質と被膜直下、CK18 は主に皮質の胸腺上皮、CD20 は髄質の B-cell に陽性を示した。胸腺腫では皮質様の富リンパ球領域 (LyR) に大小の髄質様分化領域 (MD) が全域に散在する例と局在する例が認められた。胸腺上皮は MD では CK14、LyR 及び淡明領域では CK18 が陽性であった。MD には CD20 陽性の B-cell が見られた。

【結論】胸腺腫では、LyR の胸腺上皮は皮質型であったが、LyR 内に形成された MD の胸腺上皮は髄質型の発現パターンを示していた。MD では B-cell も存在しており正常胸腺の髄質の特徴を有していた。胸腺腫の LyR と MD は、CK 発現の異なる胸腺上皮によって形成されるものと推測された。また、淡明領域は LyR 内に形成される皮質型胸腺上皮の集簇巣であり、MD とは異なっていた。

P-29

ネオニコチノイド系農薬ジノテフランのCD-1 マウスによる経口毒性試験

○多田 幸恵, 田中 豊人, 生嶋 清美, 鈴木 俊也, 猪又 明子, 守安 貴子

東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部

【背景】ネオニコチノイド系農薬ジノテフランは、稲、野菜、果実等に使用されるほか、動物用医薬品としても使用される。ジノテフランは近年急激に出荷量が増加しているが、これまで哺乳類におけるジノテフランの行動観察の報告は無く、安全性に関しても公表された知見は極めて少ない。今回、マウスを用いたジノテフランの反復投与試験を実施し、併せて行動観察を行ったので結果を報告する。

【方法】雌雄のCD-1 マウス各40匹を5週齢でそれぞれ4群に分け、0(対照群)、22、44及び88 mg/kg体重のジノテフランを、10 mL/kg体重の投与容量で、1日1回、週5日間、4週間にわたり、体重測定後胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与2週間後に多様式T型水迷路試験を、投与3週間後に探索行動の運動活性を測定した。4週間の投与期間終了後、イソフルラン麻酔下で採血と殺し、血液・生化学及び病理学的検索を行った。

【結果及び結論】雌雄のマウスとも全群で死亡例はなく、体重及び摂餌量にジノテフラン投与の影響はみられなかった。血液検索の結果、雌雄の投与群にWBCの減少傾向が認められた。また、雌雄の投与群で好中球数の用量相関性の減少がみられ、雌の高濃度群では有意な減少であった。生化学的検索、病理学的検索及び行動観察では投与の影響はみられなかった。これまで、哺乳動物の免疫系に及ぼすジノテフランの影響は報告されていないが、WBC及び好中球数の減少はジノテフランの免疫系への影響を示唆している。

P-30 *

中期多臓器発がん性試験におけるMNUの製造施設間比較検討

○杉山 大揮, 宇田 一成, 樋口 仁美, 土井 悠子, 萩原 昭裕, 米良 幸典

株式会社DIMS医科学研究所

【背景と目的】中期多臓器発がん性試験法ではラットに5種類の発がん物質を投与し、イニシエーション(DMBDD)処置を行う。そのうちMNUのA社製品の製造中止を受け、代替品を探す目的でA社、B社及びC社の製品を用いて得られた種々のデータについて比較検討を行った。

【材料と方法】F344/DuCrIj雄ラットを用い、これまでと同様の方法でDENを実験開始時に100 mg/kgの用量で1回腹腔内投与した。その後、実験1週から2週の2週間、BBNを0.05%の濃度で飲料水に混入して投与し、またA社(第1群)、B社(第2群)及びC社(第3群)のMNUをそれぞれ20 mg/kgの用量で4回腹腔内投与した。その後、実験3週から4週の2週間、DHPNを0.1%の濃度で飲料水に混入して投与し、またDMHを40 mg/kgの用量で4回皮下投与した。DMBDD処置終了後は、26週間(実験30週まで)無処置で飼育し、全生存動物を剖検し、全身諸器官を病理組織学的に検索した。

【結果】27週までの生存率は、第1群で90%、第2群で95%、第3群で90%であった。一般状態は21週以降、各群数例ずつに貧血様、血色素尿、消瘦の症状がみられた。また途中死亡動物では、主に肺、腎、小腸及び腹腔に腫瘍が認められ、これまでの研究と同様の所見であった。

【結論】27週までの結果は、いずれも背景データの範囲内で、各群間のばらつきもみられなかった。30週までの結果と各器官・組織の病理組織学的検査の検索結果を併せて、2製造施設(B又はC社)により製造されたMNUの代替性について報告する。

P-31 *

ICRマウスを用いた発がん性試験の対照群で高頻度にみられたアミロイド症の背景データとの比較解析 (第2報)

○伊藤 強, 加藤 由隆, 牧野 絵美, 小山 彩, 高橋 尚史, 志賀 敦史, 岡崎 欣正, 原田 孝則

(一財) 残留農薬研究所

【背景】我々は第32回本学術集会において、2015年最終剖検のマウス発がん性試験1試験の対照群の検査結果から、アミロイド症が雌雄で増加傾向にあること、そして約半数の症例で血清アミロイドA(SAA)を前駆体とするアミロイド(AA)が沈着していることを報告した。マウスでは特に脾臓や肝臓に沈着するAAの他に、アポリポ蛋白AII(ApoAII)を前駆体とし、特に小腸や心臓に沈着するアミロイド(AApoAII)が知られている。今回、調査試験を追加し、ApoAIIの免疫染色を実施したため、前回報告分と併せて再評価した。

【材料と方法】日本チャールス・リバー(株)より購入したICR系SPFマウス[Crj:CD1(ICR)]を用いた78週間発がん性試験における対照群を2試験分追加調査した(2015年最終剖検)。4週齢で入荷し、5週齢から試験を実施後、全動物の全身臓器を採材しHE染色標本を作製した。また、前回SAAの免疫染色を行った1試験の症例について、同じ臓器をApoAIIで免疫染色した。背景データには1991～2014年最終剖検のCrj:CD-1あるいはCrj:CD1(ICR)マウスを用いた78週間発がん性試験の対照群を使用した。

【結果と考察】2015年最終剖検の全3試験におけるアミロイド症の発生頻度は雄23%(36/156例)、雌34%(53/156例)であり、アミロイド症が最も多発した1996年(雄12%、雌28%)と比較しても高頻度であった。当該3試験では、小腸、心臓への沈着が脾臓、肝臓に比較して多かった。ApoAIIは免疫染色した全症例で陽性であった。以上の沈着臓器および免疫染色結果から、現在主にAApoAIIによるアミロイド症が多発していることが示唆された。

P-32 *

ラットにおける多層カーボンナノチューブおよびクリソタイル誘発中皮腫の病理学的性状の比較

○北條 幹¹⁾, 坂本 義光¹⁾, 山本 行男¹⁾, 長谷川 悠子¹⁾, 村上 詩歩¹⁾, 前野 愛¹⁾, 広瀬 明彦²⁾, 中江 大³⁾¹⁾ 東京都健康安全研究センター, ²⁾ 国立医薬品食品衛生研究所, ³⁾ 東京農業大学

【緒言】多層カーボンナノチューブ(MWCNT)はアスベストと同様に腹腔投与により齧歯類に腹膜中皮腫を誘発するが、両者の中皮腫の特徴を比較検討した報告が少ないため、本研究では両者の病理学的性状を比較した。

【方法】実験は、10週齢のF344系雄性ラット各群20匹の腹腔内に、1 mg/kg体重のMWCNT(MWNT-7:以下M群)あるいは40 mg/kg体重のアスベスト(UICCクリソタイルB;以下C群)を投与し、途中死亡例および瀕死例について剖検し、中皮腫について病理学的・免疫組織化学的・生化学的に分析し、体細胞変異の検出を行った。

【結果・考察】M群では投与28週後より、C群では37週後より、それぞれ死亡例が認められ、いずれも60週までに全例が死亡した。肉眼的には、M群でC群に比べて肝臓の変形の程度が強かった他に顕著な差異がなく、両群の全例で、腹腔内にび慢性に腫瘍結節を認めた。腫瘍結節は、微細な顆粒状のものから、巨大な球状または肥厚したプラーク様のものなど、個体によって様々な形態であった。組織学的には、両群で同様に、上皮性(種々の組織型を含む)、肉腫性および二相性に分類される様々な型の中皮腫が観察された。また、巨大な中皮腫結節の腫瘍細胞では、両群共にCdkn2aの欠失が高頻度に認められた。血清中のメソテリン濃度は、両群で有意差なく正常ラットのレベルより高値であった。以上より、MWCNTとアスベストは本研究で用いた用量で、60週以内に全ラットに中皮腫を誘発し、誘発された中皮腫の病理学的性状はMWCNT由来・アスベスト由来共に同等のものであった。また、本研究で示されたMWCNTまたはアスベスト由来のラット中皮腫の病理学的性状は、ヒト中皮腫のそれにも類似していることが示唆された。

P-33

ラットを用いたバニリンプロピレングリコールアセタール (バニリンPGA) の90日間 慢性反復経口投与毒性試験

○山田 貴宣^{1,2)}, 松下 幸平¹⁾, 豊田 武士¹⁾, 森川 朋美¹⁾, 高橋 美和¹⁾, 井上 薫¹⁾, 小川 久美子¹⁾

¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部, ²⁾東京農工大学大学院 獣医病理学研究室

【背景と目的】バニリンプロピレングリコールアセタール(バニリンPGA)はフェノール類に分類される指定添加物の一つで、香料として使用されている。JECFAにおけるグループ評価では「安全性の懸念はない(No safety concern)」と判断されているが、その毒性プロファイルについてはほとんど情報がない。そこで本研究ではラットを用いて、バニリンPGAの90日間慢性反復経口投与毒性試験を実施した。

【材料と方法】6週齢のF344/DuCrj系ラット雌雄各群10匹に、コーン油を溶媒として本剤を0, 100, 300, 1000 mg/kg体重/日の用量で90日間強制経口投与した。

【結果】一般状態観察の結果、本剤投与による死亡動物は認められなかった。一方、1000 mg/kg体重/日群の雌雄に、虚脱及び活動性低下が試験期間を通して認められた。体重測定の結果、1000 mg/kg体重/日群の雄で投与6週以降に、同群の雌で投与7週及び投与9週以降に体重増加抑制が認められた。摂餌量測定及び血液学的検査の結果、雌雄共に本剤投与による毒性影響は認められなかった。血清生化学検査の結果、1000 mg/kg体重/日群の雌雄でTP, Alb, TC, Ca, IP及び γ -GTPの高値が認められ、さらに同群の雄ではA/G比及びBUNの増加も認められた。臓器重量測定の結果、1000 mg/kg体重/日群の雌雄に肝臓相対重量の高値が認められた。病理組織学的検査の結果、1000 mg/kg体重/日群の雌雄において肝臓での小葉中心性肝細胞肥大が認められ、さらに同群の雄では肝細胞の脂肪化の発現頻度減少を伴っていた。

【結論】以上より、本試験におけるバニリンPGAの無毒性量は、雌雄共に300 mg/kg体重/日であると判断した。

P-34 *

イソオイゲニルメチルエーテルのF344ラットにおける90日間反復投与毒性試験

○赤木 純一, Cho Young-Man, 水田 保子, 小川 久美子

国立衛研・病理

【背景】イソオイゲニルメチルエーテル(CAS No. 93-16-3)は香料として用いられている指定添加物である。イソオイゲニルメチルエーテルの日本における使用量(2010年度)は484.1 kg、推定摂取量は122.8 μ g/人/日であり、香料に関する食品健康影響評価指針に基づき構造クラスIIIに分類される。そのクラスにおける許容曝露閾値90 μ g/人/日をわずかに超過しているが、SDラットを用いた28日間の混餌投与ではNOELは100 mg/kg体重/日であること、および90日間の混餌投与のNOELは6 mg/kg体重/日とされていることから、JECFAでは安全性に関する懸念はないとされている。しかし、90日試験は単用量で実施されており、私信であるためデータは公開されていない。そこで安全性評価においてはより詳細な90日間反復投与毒性試験データが必要であると考えられた。

【目的】F344ラットを用いたイソオイゲニルメチルエーテルの90日間慢性毒性試験を実施し、毒性プロファイルを明らかにすると共に、最大無毒性量を判断する。

【材料と方法】6週齢のF344ラット雌雄(各群10匹)に8, 40または200 mg/kg体重/日のイソオイゲニルメチルエーテル(純度99.3%)を91日間強制経口投与した。

【結果】試験期間を通じて途中死亡および一般状態の変化は見られなかった。9週目以降に雄の200 mg/kg体重群で体重増加抑制が見られた。血清生化学的検査では、雄の200 mg/kg体重/日群でtriglycerideの減少が見られた。臓器重量については、雌雄ともに200 mg/kg体重/日群で肝臓の絶対および相対重量増加が見られた。病理組織学的検査では雄の200 mg/kg体重群で肝細胞肥大の増加が見られた。

【結論】イソオイゲニルメチルエーテルの主要標的臓器は肝臓であると考えられ、本試験における最大無毒性量は40 mg/kg体重/日であると判断した。

P-35 *

Characteristic pathological changes in nuclei of ADC drug-treated animals

○Mingshu Huang, Toko Ohira, Liang He, Jingjing Mao, Jianyan Yan, Tiantian Cui, Minbo Hou, Hua Li, Jing Ma

国立上海新薬安全評価研究中心

[Background] The antibody-drug conjugate (ADC) is a cytotoxic drug coupled to an antibody that specifically targets a certain tumor marker. The mechanism of ADCs has been studied in depth by many researchers. However, the pathological changes induced by ADCs were rarely reported.

[Aim] To evaluate the pathological changes of nuclei induced by ADCs, we analyzed the histopathological data from monkeys and rats treated with ADCs. [Materials and Methods] The 13-week repeated dose toxicity study was carried out in monkeys and rats. Animals were dosed with vehicle (control group) and ADCs (treated groups) via intravenous infusion. All tissues were collected and processed for histopathological examination.

[Results] The characteristic changes of nuclei include karyomegaly and mitosis and were found in multiple organs of ADC-treated monkeys and rats. The nuclei were enlarged with or without expansion of cytoplasm. Affected nuclei were irregularly bordered and varied in size, and some had several nucleoli or increased mitosis. These nuclear changes were noted in the liver, heart, spleen, duodenum and skin of monkeys and the kidney, liver, spleen and lacrimal gland of rats.

[Conclusion] Karyomegaly and mitosis were observed in multiple organs of ADC-treated monkeys and rats.

P-36

医療用医薬品のがん原性試験に関する調査 —その1—

○西村 次平¹⁾, 野中 瑞穂¹⁾, 直田 みさき¹⁾, 角田 聡¹⁾, 三枝 由紀恵¹⁾, 堂口 裕士¹⁾, 小野寺 博志¹⁾, 笹木 修¹⁾, 篠田 和俊¹⁾, 小川 久美子²⁾, 西川 秋佳²⁾

¹⁾(独) 医薬品医療機器総合機構, ²⁾ 国立医薬品食品衛生研究所

2011年に米国研究製薬工業協会(PhRMA)から発表された未承認薬を含む182の医薬品におけるラット2年間がん原性試験に関する回顧的解析結果(Toxicol. Pathol. 39, 716-744, 2011)を端緒に、2012年6月に医薬品規制調査国際会議(ICH)においてS1ガイドライン(医薬品のがん原性試験に関するガイドライン)改定のための専門家作業部会(EWG)が設置され、現在、薬理作用に関する知見、6カ月反復投与毒性試験における発がん関連病変、遺伝毒性、ホルモン作用等のエビデンスに基づき、ラット2年間がん原性試験を省略できるのではないかの仮説を検証するための前向き調査がすすめられている。上記の背景を踏まえ、我々は、2007年以降、本邦で承認された医療用医薬品(がん原性試験が実施された約200品目)の試験成績を用いて、同様の視点に着目した回顧的調査を行っているところである。本発表では、調査の過程で見いだされたラット腫瘍性病変についての解析結果を報告する予定である。

P-37 *

ラット実験的自己免疫性神経炎モデルにおける末梢神経の病理組織像の経時変化の検討

○富川 恵美, 六鹿 麻由, 原 宏士朗, 金子 ちひろ, 三好 智也, 井村 奈緒子, 富樫 裕子, 林 亮司

東レ(株) 医薬研究所

【背景と目的】ギランバレー症候群のモデルであるラット実験的自己免疫性神経炎 (EAN) モデルは神経症状および末梢神経の病理変化を示すが、これらの経過の相互関係は不明な点が多い。そこで、ラット EAN モデルの神経症状の発症初期、ピーク期および回復期における末梢神経 (坐骨神経) の病理変化について検討した。

【材料と方法】Lewis ラットに末梢ミエリン蛋白質部分ペプチド P2 (57-81) を投与して EAN モデルを作製し、Day 10、16、22、25 に坐骨神経を摘出し、光学顕微鏡観察 (HE、LFB-HE 染色、免疫染色) および電子顕微鏡像の画像解析を実施した。

【結果】光学顕微鏡観察の結果、神経症状の発症初期 (Day 10) では軸索変性および髄鞘変性がみられ、ピーク期 (Day 16) では頻度および程度が増加し、回復期 (Day 22、25) では変性の持続がみられた。神経線維の画像解析の結果、Day 10 から有髄神経線維密度および髄鞘面積が減少し、Day 22 で最小となった。また、有髄神経線維密度の減少は、大径線維の消失に起因することが示された。軸索および髄鞘の超微形態の定量解析の結果、Day 10 では軽度の変性 (軸索内の小胞の蓄積、局所的な髄鞘の離開・折りたたみ) が増加し、Day 16 では重度の変性 (軸索消失、髄球、脱髄) が増加し、Day 22、25 では再生性変化 (再髄鞘化、シュワン細胞の細胞質腫大) がみられた。

【結論】ラット EAN モデルにおいて、神経症状の発症初期から軽度の末梢神経の変性がみられ、ピーク期では大径有髄神経の消失を伴う重度の変性となり、回復期では重度の変性および再生性変化が同時にみられることが示された。

P-38 *

レプチン受容体欠損メダカの眼病変に関する病理組織学的検討

○荻田 慎一¹⁾, 平光 彩乃²⁾, 杉山 晶彦²⁾¹⁾杏林大学 医学部 衛生学公衆衛生学教室, ²⁾鳥取大学 農学部 共同獣医学科

【背景、目的、材料と方法】これまでの研究により、レプチン受容体欠損 (LepRKO) メダカは不断給餌下においてインスリン分泌不全による高血糖を示すことが明らかにされている。本研究では、LepRKO メダカの糖尿病性網膜症・白内障モデル動物としての有用性を明らかにすることを目的として、10、28、37 週齢の LepRKO メダカおよび Cab 系メダカ (Control) の眼球を病理組織学的に解析した。1 群につきメダカ 3 匹を用いた。

【結果】10 週齢の LepRKO メダカの空腹時血糖値には Control メダカに比較し有意差は認められなかったが、28 および 37 週齢の LepRKO メダカの空腹時血糖値は Control メダカに比較し有意な高値を示した。また、28 および 37 週齢の LepRKO メダカの血漿インスリン濃度は Control メダカに比較し有意な低値を示した。Control メダカおよび 10 週齢の LepRKO メダカの網膜および水晶体の病理組織学的所見に著変は認められなかった。28 および 37 週齢の LepRKO メダカの水晶体では、水晶体線維の空胞化、水腫、崩壊、液状化が観察された。また、28 および 37 週齢の LepRKO メダカでは、網膜中心静脈、網膜毛細血管、虹彩静脈・毛細血管、脈絡叢静脈の拡張が認められた。28 および 37 週齢の LepRKO メダカの網膜の色素上皮層、桿体・錐体層、外顆粒層、外網状層、内顆粒層、内網状層は、Control メダカに比較し有意に菲薄化していた。

【結論】本研究により、LepRKO メダカは II 型糖尿病モデルラットに認められる糖尿病性網膜症・白内障に類似した眼病変を形成することが明らかとなった。LepRKO メダカは当該眼病変を II 型糖尿病モデルラットよりも早期に発症することから、糖尿病性網膜症・白内障モデル動物として有用であることが示された。

P-39

マンゴスチン果皮抽出物 (α および γ -mangostin) の ApoE-KO マウスにおける動脈硬化発症に対する抑制効果とその作用機序の解析

○柴田 雅朗¹⁾, 斯波 真理子²⁾, 柴田 映子²⁾, 前村 憲太郎¹⁾, 近藤 洋一¹⁾

¹⁾大阪医科大学 医学部 生命科学講座解剖学教室, ²⁾国立循環器病研究センター研究所 病態代謝部

【背景】近年、動脈硬化の罹患率が増加し、それを基盤として脳・心血管の閉塞が生じ、生命を脅かす重大な病態がもたらされ、動脈硬化発症の抑制は重大な課題となっている。

【方法】ApoE-KO マウス雄を用い、マンゴスチン果皮抽出物 (MG, α -Mangostin 84% および γ -Mangostin 7% 含有) を 0.3% または 0.4% 濃度で混餌投与した。また、対照群には基礎飼料のみを与えた。投与開始の 17 週目には全生存動物を屠殺・剖検した。

【結果】実験期間中の体重では、対照群と比較して、両群ともに体重増加の抑制が観察されたが、一般状態は極めて良好であった。血液生化学的検査では、0.3% および 0.4% MG 群で総コレステロール値の有意な低下が見られ、0.4% MG 群ではさらにトリグリセライド値の有意な低下も観察された。また、LPL 活性の有意な上昇が 0.4% MG 群でみられた。大動脈のオイルレッド O 染色において、動脈硬化巣の面積率は、0.3% および 0.4% MG 群ともに有意な低下を示した。病理組織学的検査では、マウス 1 匹当たりの動脈硬化病変の数は、MG 両群ともに有意な減少を示した。動脈硬化の発症に関わる因子 (Timp-1, Mmp-9, Lox-1, Cxcl16, Klf-5) の動脈硬化病変を含む血管組織での Real-time PCR 解析では、群間に差は示されなかった。しかし、マクロファージの解析では、0.4% MG 群で CD163 (M2) の発現が Real-time PCR と免疫組織染色の両解析で有意な増加を示した。

【結論】マンゴスチン果皮抽出物は、ApoE-KO マウスの動脈硬化の発症に対して、抑制作用があることが明らかとなり、その作用機序の一端としてマクロファージ M2 の関与があることが示唆された。

P-40

脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (SHRSH) を用いた味噌による脳卒中の抑制効果

○渡辺 敦光¹⁾, 笹谷 めぐみ²⁾, 佐藤 健一²⁾, 宮坂 勇一郎³⁾, 吉栖 正生¹⁾

¹⁾ 広大学院医歯薬保研究院心臓血管生理学, ²⁾ 広大学原医研, ³⁾ 神州一味噌 (株)

【目的】味噌はがんの予防や血圧を抑えることが疫学的並びに動物実験で報告されている。一方ダイズイソフラボンは、女性の脳梗塞や心筋梗塞のリスクを低下させることが示されている。しかし、味噌の摂取が動物モデルにおける脳卒中の発生率を低下させるかどうかは不明であった。本研究では、脳卒中動物モデルを用いて味噌の脳卒中の予防効果を調べた。

【材料と方法】4週令雄脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (SHRSP/Izm Nihon SLM) に味噌飼料 (180日熟成米味噌、神州一味噌株式会社、通常餌90%、味噌10%、最終NaCl含量2.8%)、高食塩餌 (通常食およびNaCl 2.5%、最終NaC含量2.8%) のに低食塩餌 (通常食; 最終NaCl含量0.3%) を与えた。飲料水、飼料は自由に摂取させた摂取量並びに血圧を測定した。一日朝、昼、夕方の3回動物は観察し、異常を見つけ剖検し、63日目に全ての動物を屠殺し病理解剖を行った。

【結果】線形回帰直線により、低食塩群および味噌群と比較して、高食塩群において有意に高い最高血圧を示した。低食塩群と味噌群の最低血圧には有意差はなかった。同じ食塩が含まれているにもかかわらず味噌群の血圧は低食塩群と同じであった。更にKaplan-Meier生存曲線では、味噌群と比較して高食塩群で有意に生存率が減少した。普通餌と味噌群とでは生存率には差は認められなかった。高食塩群では大出血斑が見られたが、他の2群では大出血性斑は認められなかった。味噌群の脳血管には血栓や腎臓における組織学的および免疫組織化学的变化は、高食塩群に比べて少なかった。

【結論】本研究の結果から、味噌は食塩濃度が高いにもかかわらず血圧の上昇を妨げ、脳卒中に対して保護作用を有する可能性があることが示唆された。

P-41 *

緑茶抽出物誘発ラット肝臓障害モデルにおけるミード酸の抑制効果

○竹之内 明子¹⁾, 榎本 祐子²⁾, 木下 勇一³⁾, 浜崎 景⁴⁾, 螺良 愛郎⁵⁾, 義澤 克彦¹⁾¹⁾武庫川女子大学 生活環境学部, ²⁾関西医科大学 倫理審査センター, ³⁾和歌山県立医科大学附属病院 中央検査部,
⁴⁾富山大学 医学部 公衆衛生学講座, ⁵⁾大阪府済生会泉尾病院 病理診断科**【背景及び目的】**我々は緑茶抽出物(GTE)誘発ラット肝臓障害モデルの特徴について第30回本学術集会で報告した。このモデルを用いて日常摂取する食品成分の不飽和脂肪酸であるミード酸(MA)の肝臓抑制効果について検証した。**【方法】**7週齢SD系雄ラットに200mg/kg GTEを単回腹腔内投与し、投与後24、48時間、7日に血清及び肝臓を採取した。基礎食(0%MA)あるいは4.8%MA食をGTE投与7日前から解剖時まで摂取させ、基礎食+生食投与群、4.8%MA食+生食投与群、基礎食+GTE投与群、4.8%MA食+GTE投与群を設けた。肝臓パラメータ(AST, ALT)、肝臓の病理組織学的検査、アポトーシス(γ H2AX)・酸化ストレス(8-Nitroguanosine)、低酸素状態(HIF-1 α)に関する各種マーカーの免疫染色を実施した。さらに、基礎食あるいは4.8%MA食+生食投与群の血清・肝臓について脂肪酸分析を実施した。**【結果】**基礎食+GTE投与群ではAST及びALT値の顕著な増加と小葉中心性の肝細胞障害が投与後24、48時間で観察されたが、MA摂取によりその程度が減弱した。さらに、基礎食+GTE投与群では γ H2AX、8-Nitroguanosine、HIF-1 α 陽性肝細胞の発現が観察され、投与後48時間でピークを示した。これらの変化もMA摂取により程度が減弱した。MA食により血清・肝臓中MA濃度の顕著な増加が認められた。**【結論】**MA食群では、基礎食群に比べて肝臓パラメータの有意な減少と肝細胞死の抑制が認められ、MAの肝臓抑制効果が確認された。その効果は肝臓における酸化ストレス並びに低酸素状態の制御による細胞死抑制が関与するものと考えられた。

P-42 *

炎症誘導因子(DAMPs)と関連シグナルを介したチオアセトアミド(TAA)誘発ラット急性肝臓障害における進展機序の解析

○倉持 瑞樹, 井澤 武史, Pervin Munmun, Karim Mohammad Rabiul, 桑村 充, 山手 丈至

大阪府立大学 獣医病理

【背景・目的】薬物性肝臓障害の進展には、傷害組織から放出されるDamage associated molecular patterns(DAMPs)と、受容体であるMHCクラスIIやToll-like receptors(TLRs)が重要な役割を担う。これまでの研究から、高用量TAA誘発ラット急性肝臓障害の解析から、DAMPsとしてHigh mobility group box 1(HMGB1)とTLR4が炎症の進展に重要な役割を担う可能性が示された。今回、TAA誘発ラット急性肝臓障害モデルにおける炎症の進展について、HMGB1に着目し、詳細な解析を行った。**【材料・方法】**7週齢F344雄ラットにTAA(50 mg/kg BW)を単回腹腔内投与し、6時間後にHMGB1中和IgY抗体または非免疫IgY抗体(200 μ g/rat)を尾静脈投与した。TAA投与後1日に肝臓を採材した。**【結果】**TAA投与後1日でも中心静脈周辺に肝細胞壊死と単核球・好中球浸潤が軽度みられたが、両群間に明らかな差はなかった。TAA+中和抗体投与群で、TAA+IgY投与群に比べ、AST値とALT値が低値を示し、中心静脈周辺でのIba-1陽性マクロファージ数の減少、炎症性サイトカイン(MCP-1, IL-6)の発現の低下がみとめられた。TLR4のシグナル分子(MyD88, TRAM1)は両群間に有意な発現の差はみとめられなかった。**【結論】**TAA誘発急性肝臓障害では、HMGB1が肝細胞傷害に続くマクロファージの集簇を促し、炎症の進展に寄与していることが明らかになった。しかし、その進展にTLR4の関与は否定的で、現在ほかの受容体の検討を進めている。

P-43 *

雌 SDT fatty ラットにおける若齢及び高齢の病態解析

○Teoh Soon Hui¹⁾, 美谷島 克宏¹⁾, 太田 毅²⁾, 篠原 雅巳³⁾, 宇野 絹子¹⁾, 煙山 紀子¹⁾, 中江 大¹⁾

¹⁾東京農業大学大学院 農学研究科, ²⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所, ³⁾日本クレア(株) 東京AD部

【背景】糖尿病合併症は世界規模の健康問題として注目されており、疾病のメカニズムをより深く理解するため、ヒト2型糖尿病に類似する動物モデルが開発されてきた。肥満を伴う2型糖尿病モデルとして開発されたSDT fatty ラットは若週齢から様々な糖尿病合併症を発症することが知られているが、加齢に伴う変化は十分に解明されていない。

【目的】本研究では、SDT fatty ラットの腎臓について加齢による病態の推移を解析した。

【材料と方法】雌性SDT fatty ラットは日本クレア(株)の動物施設において通常食で飼育された。その後、東京農業大学に搬入され、17、59及び63週齢時に剖検し、腎臓を採取・固定した後、常法に従い組織標本を作製し、病理組織学的観察並びに遺伝子発現解析を行った。

【結果】59及び63週齢の腎臓において、糸球体ではメサンギウム領域の増加と萎縮、尿細管の間質では重度の線維化及び炎症性細胞浸潤、尿細管における変性・壊死及び重度の尿円柱が観察された。これらの変化は17週齢では明らかな変化を認めないか、ごく軽度の変化として観察された。遠位尿細管上皮における糖の蓄積を示唆するArmani-Ebstein病変は、いずれの週齢においても観察された。腎臓中のTGFB, TNFa, IL-1B 及びMCP1の遺伝子発現は59週齢で増加したが、63週齢ではそれに対しむしろ低値を示した。

【結論】病理組織学的解析から腎臓の病変は加齢により明らかに増強したが、59及び63週齢の間には明らかな差は見られなかった。59週齢に対し63週齢において炎症関連遺伝子の発現低下が認められたが、これはより顕著な腎機能の破綻を示唆するものと考えられた。

P-44 *

NZB/W F1 マウスのLPS 誘発早期腎炎発症モデルに対するSLE 治療薬の効果および病理組織学的検索

○金原 智美, 大芝 泰弘, 今井 順, 村瀬 詩織, 伊藤 格, 木村 均

(株)日本バイオリサーチセンター

【背景】NZB/W F1 マウスはループス腎炎を自然発症し、全身性エリテマトーデス(SLE)の病因解明に有用である。しかし、ループス腎炎の発症は生後6か月以降であり、研究に多大な時間を要する。近年、LPSを投与しループス腎炎を早期に発症させる手法が報告されているが、他の臓器の病理評価や、SLE治療薬の効果については報告が乏しい。

【目的】NZB/W F1 マウスにLPSを投与し、早期に腎炎を発症するモデルの病理評価を行う。また、SLE治療薬のCyclosporine、Betamethasoneを投与し、治療効果を検討する。

【材料と方法】NZB/W F1 マウス(雌、7週齢)に対し、LPSの腹腔内投与を週に2回、計10回行った。生理食塩水(対照群)、Cyclosporine(Cyc群)、Betamethasone(BM群)をそれぞれLPS投与開始から毎日経口投与した。採尿と採血を行い、LPS投与終了後に剖検を行った。主要臓器の病理組織学的検索を行い、腎臓の標本にはPAS染色およびMasson trichrome染色を、脾臓の標本にはB220抗体およびCD3抗体による免疫染色を行った。

【結果】BUN、血中クレアチニン、尿蛋白/尿中クレアチニン比は、対照群では無処置群と比較して有意に増加し、Cyc群、BM群では対照群と比較して減少した。対照群、Cyc群、BM群の腎臓において、硬化糸球体、間質の線維化などがび漫性に観察され、硬化性糸球体腎炎と診断した。対照群、Cyc群、BM群の脾臓は、無処置群と比較して肉眼的に腫大しており、組織像では白脾髄領域が増加していた。

【結論】NZB/W F1 マウスへのLPS投与により硬化性糸球体腎炎が早期に発症した。CyclosporineおよびBetamethasoneの投与により、BUN、血中クレアチニン、尿蛋白/尿中クレアチニン比が減少し、治療効果が示された。硬化性糸球体腎炎の要因として、脾臓の白脾髄領域が増加していたことから、免疫系の活性化が示唆された。

P-45

食塩負荷が肥満 2 型糖尿病モデルである SDT fatty ラットの腎症の進展に及ぼす影響

○美谷島 克宏^{1,2)}, 太田 毅³⁾, 篠原 雅巳⁴⁾, 岩崎 日向子¹⁾, 張 舜恵²⁾, 宇野 絹子²⁾, 煙山 紀子¹⁾, 中江 大^{1,2)}

¹⁾東京農大・食品安全健康, ²⁾東京農大・院・食品栄養, ³⁾日本たばこ産業(株)医薬総合研究所, ⁴⁾日本クレア株式会社

【目的】慢性腎臓病 (CKD) 患者が世界中で増加しており、臨床病態を反映した糖尿病性腎症の病態モデルの確立は、新規治療薬の開発を行う上で必要不可欠であり、特に短期間に腎機能が低下する動物モデルの要求が高まっている。本研究は、肥満 2 型糖尿病モデルである SDT fatty ラットにおいて、食塩負荷が腎症の進展に及ぼす影響を検討した。

【方法】実験は、雄性 SDT fatty ラットに、7 週齢から 0.3 及び 0.5% の食塩水を 11 週間飲水投与し、対照群として同週齢の SDT fatty ラットに水道水を飲水処置した。動物は、飼育期間終了後に解剖し、血漿生化学的検査、腎臓を対象に HE 染色・PAS 染色・Sirius Red (SR) 染色・ED1 染色・ α SMA 染色による病理組織学的検査を実施した。

【結果】血漿 BUN 及びクレアチニン値は、0.5% 食塩水群でごく軽度増加したのみであった。病理組織学的検査において、対照群では、間質の炎症、線維化ならびに尿円柱がごく軽度に認められた。0.3 及び 0.5% の食塩水群では、それらの変化が用量依存的に増悪すると共に、糸球体の硬化・萎縮・ボーマン嚢との癒着、尿細管間質の線維化、SR 染色陽性領域の増加が軽度から中等度に認められた。また、それらの群では、糸球体内及び尿細管間質において ED-1 陽性マクロファージが、尿細管間質において α SMA 陽性細胞が、それぞれ増加した。

【結論】食塩負荷は、雄性 SDT fatty ラットの腎臓病態を悪化させることが明らかとなった。したがって、SDT fatty ラットモデルは、CKD を標的とした化合物の開発に有用な評価モデルとなり得ることが示唆された。

P-46

ビーグル犬の膝関節に広範囲な軟骨欠損が作製可能か？軟骨欠損施術後の組織修復に関する研究

○田崎 雅子¹⁾, 平井 俊行¹⁾, 秋山 真洋¹⁾, 伊藤 好文¹⁾, 中澤 圭一¹⁾, 原田 恭治²⁾, 長野 嘉介³⁾, 萩原 仁美¹⁾

¹⁾テルモ(株), ²⁾日本獣医生命科学大学 獣医外科学研究室, ³⁾長野毒性病理コンサルティング

【目的】これまで薬剤誘発による変形性関節症モデルの作製が報告されているが、その軟骨欠損範囲は限局的である。我々は、外科的治療法の評価に適した広範囲軟骨欠損モデルの開発を目的に、大腿骨遠位部における軟骨欠損部の作製を検討した。さらに、本モデルの軟骨欠損部にインプラントを埋植し、組織修復能を検索した。

【方法】8 か月齢雄ビーグル犬の左膝関節部を切開し、大腿骨両側顆の軟骨を、金属製ポンチと骨鋭匙で剥離した。4 週間後、8 週間後にそれぞれ 3 例を剖検し、軟骨欠損部の病理学的検査を実施した (軟骨欠損群)。さらに、軟骨欠損部の表面に小型のチタン製インプラントを埋植し (インプラント埋植群)、処置部に生じる組織反応を同様に検索した。

【結果】全例の大腿骨遠位部両側顆に、立位の荷重部全域にわたる軟骨欠損を作製できた。術後に起立不能、歩行不可となった動物はなかった。病理組織学的検査の結果、軟骨欠損群では、軟骨石灰化層の露出がみられ、8 週間後では 4 週間後と比較して軟骨石灰化層の摩耗が進む傾向があった。また、ヒト変形性膝関節症の特徴である線維化、血管拡張、血管新生、嚢胞が観察された。一方、インプラント埋植群では、インプラントが関節腔に面する部位に、インプラントを縁取るように線維性組織あるいは軟骨様組織による修復像が観察された。これらの変化は 8 週間後で 4 週間後と比較し、より顕著に観察された。

【考察】本動物モデルは、ヒト変形性膝関節症と類似する組織学的特徴を示し、経時観察の結果から、軟骨損傷の進行過程を観察可能と考えられた。さらに、インプラントの埋植により、軟骨損傷部の組織修復反応を促進できる可能性が示唆された。以上のことから、本動物モデルは外科的治療効果の評価モデル動物として有用であると考えられた。

P-47 *

アレルギー性皮膚炎モデルにおけるエストロゲンレセプターを介した炎症反応誘導の病理組織学的検討

○小山 彩, 田食 里沙子, 渡部 優子, 福山 朋季, 加藤 由隆, 牧野 絵美, 伊藤 強, 高橋 尚史, 志賀 敦史, 岡崎 欣正, 原田 孝則

(一財) 残留農薬研究所

【背景と目的】エストロゲンが免疫系に影響を及ぼすことは古くから知られており、環境中のエストロゲン様物質による免疫攪乱が世界的に問題となっている。しかし、エストロゲンレセプターと炎症反応の直接的な関連について調査した報告はこれまでにない。そこで我々は、アレルギー性皮膚炎モデルマウスを用いて、エストロゲンレセプターが皮膚アレルギー性炎症に関与する可能性について調査した。本発表では、アレルギー性皮膚炎が誘導されたマウス耳介の病理組織学的検査結果を中心に報告する。

【材料と方法】Toluene-2,4-diisocyanate (TDI) の感作により作製された雄性BALB/c マウスアレルギー性皮膚炎モデルに、環境中エストロゲン様物質 (メトキシクロル, MXC) および内在性エストロゲン様物質 (β -エストラジオール, E2) を3日間投与し、TDIを耳介に惹起した。TDI惹起後24時間の耳介腫脹反応を測定後、耳介を採取し、病理組織学的検査およびサイトカイン量測定を行った。

【結果】アレルギー性皮膚炎モデルマウスの耳介では、対照群を含む全群でTDIにより惹起された炎症反応がみられ、特に毛嚢を中心として好中球が多数観察された。この炎症反応は対照群と比較してMXCおよびE2投与群で強く、毛嚢以外にも真皮領域に広く炎症細胞の浸潤がみられた。MXCおよびE2投与群では、耳介腫脹反応およびサイトカイン産生量も対照群と比較して有意に増加しており、組織学的な炎症の程度と一致していた。発表では、免疫組織学的検討結果も含めて報告する予定である。

P-48

世界最高水準のラットリソース拠点としてのナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」

○田中 美有, 本多 新, フォークト ビルガー, 根小田 祐基, 萩原 和美, 崔 宗虎, 橘 亮磨, 長尾 朋美, 中西 聡, 山崎 賢一, 庫本 高志, 浅野 雅秀

京都大学 医学研究科 附属動物実験施設

【はじめに】文部科学省は、実験動植物や各種生物の遺伝子材料などの生物資源のうち、国が戦略的に整備することが重要なものについて、体系的な「収集・保存・提供」などを行うための体制を整備することを目的とし、2002年からナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) を開始した。ラット (NBRP-Rat) については、NBRP発足と同時に開始され、開始から15年を経て、質・量ともに世界最大・最高水準のラットリソースセンターに成長した。

【第4期NBRP-Rat】2017年度 (第4期) より、京都大学が代表機関、理研BRC (凍結胚・精子バックアップ保存) と大阪大学 (免疫不全ラットの保存・提供) が分担機関となり、新たな体制での事業が始まった。2017年8月時点で、約850のラット系統が寄託されており、そのうち730系統が提供可能となっている。保存系統は、国内外の標準系統、自然発症ミュータント、コンジェニック系統、そしてレポーター遺伝子導入ラット等のトランスジェニックラット、ノックアウト・ノックインラットなど多岐にわたる。各系統の特性情報はデータベースにて公開され、研究者は研究目的に合った系統を選択・入手することが可能である。

【今後の展望】近年では、CRISPR/Cas9などのゲノム編集技術を用いた遺伝子改変ラットの作製が可能となり、バイオリソースとしてのラットの価値は一段と高まってきている。今後も、ユーザーからのニーズも取り入れた独自性の高いラット系統の収集、系統情報の充実、ラット生殖工学技術の進展をはかり、毒性病理学分野を含めたライフサイエンスへのラットリソースのさらなる貢献を促進したい。

P-49

F344 ラットにおける 2-Furanmethanethiol の 13 週間反復経口投与による毒性評価

○時 亮^{1,3)}, 石井 雄二¹⁾, 高須 伸二¹⁾, 土屋 卓磨¹⁾, 木島 綾希¹⁾, 小川 久美子¹⁾, 西川 秋佳²⁾, 梅村 隆志¹⁾¹⁾ 国立医薬品食品衛生研究所 病理部, ²⁾ 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター,³⁾ 筑波大学 実験病理研究室

【目的】 2-furanmethanethiol (2FM) は香料指定添加物のうちのチオール類に指定される香料の一つであり、食品の風味向上のため賦香剤として使用されるが、自然界においても酵母による発酵熟成中に生成し、調理時にも発生すると報告されている。2FM の安全性評価に資する知見を収集するため、ラットを用いた 13 週間亜慢性毒性試験を実施した。

【方法】 6 週齢の雌雄 F344 系ラット (各群 10 匹) に、2FM を 0、6.25、10 および 40 mg/kg 体重/日の用量で 13 週間強制経口投与し、一般毒性検査項目について検討した。

【結果】 投与中、死亡例はなかった。1 週目に雌雄全ての投与群において眼瞼周囲の紅涙、鼻出血及び流涎が認められたが、本症状は軽減し 2 週目以降には観察されなかった。また、雌雄 40 mg/kg 体重/日の投与群において、投与 1 週間から有意な体重増加抑制が見られた。血液学的検査では異常はみられなかったが、血液生化学検査では雌 40 mg/kg 体重/日投与群において血糖の高値が認められた。雄 40 mg/kg 体重/日投与群では複数の臓器で絶対重量の減少が見られたが、体重増加抑制に伴う変化と考えられた。また、病理組織学的検査の結果、雌雄の 40 mg/kg 体重/日投与群および雄 10 mg/kg 体重/日投与群において、鼻腔嗅上皮の壊死・再生および炎症細胞浸潤が認められた。鼻腔粘膜の変化は、げっ歯類では誘導されやすい病変とされるが、体重増加抑制など他の毒性影響も伴っているため、毒性影響を否定できなかった。

【考察】 以上より、本試験の無毒性量は雄で 6.25 mg/kg 体重/日、雌で 10 mg/kg 体重/日と考えられた。

P-50 *

心筋壊死の検出のための免疫組織化学的検討

○高井 有一, 神鳥 仁志, 渡辺 武志

武田薬品工業株式会社 リサーチ 薬剤安全性研究所

Artificial eosinophilic myocardium (MC) is often encountered in the heart and might result in misinterpretation. We examined whether immunohistochemistry (IHC) could be used to distinguish between artifact (AF) or necrosis (NS) by using 2 categories of antibody. Myoglobin (Myo), cardiac troponin T (cTnT), and fatty acid binding protein3 (FABP3) were used to detect leakage due to NS; and complement components 3 and 9 (C3 and C9) were used to detect deposition in necrotic tissue. Formalin-fixed paraffin-embedded heart tissues from vehicle or cardiotoxic agent treated animals (rat: isoproterenol, dog: minoxidil, monkey: metaproterenol) were used for IHC. Positive reactions of Myo, cTnT, and FABP3 present in the normal MC were not observed in the necrotic MC of all species tested. Additionally, positive reactions of Myo and cTnT in monkeys, and FABP3 in rats and monkeys, were also not observed in the AF-related MC. No positive reactions of C3 and/or C9 (monkey only) were noted in the normal MC of all species tested or in the AF-related MC in rats and monkeys. In dogs, a positive reaction of C3 was noted in both the AF-related and necrotic MC. In rats, a positive reaction of C3 was noted only in a partial area of the necrotic tissue. Positive reactions of C3 and C9 were specifically detected in the necrotic MC in monkeys. In conclusion, IHC for Myo and cTnT in rats, Myo, cTnT, and FABP3 in dogs, and C3 and C9 in monkeys might be useful markers to differentiate cardiomyocyte NS.

P-51

画像解析ソフト ImageJ を用いた細胞小器官の定量的解析 -PGE2 投与マウスの胃表層粘膜細胞に認められた変化-

○衣斐 彼方, 木原 亨, 寒川 祐見, 柴主 敏行, 高部 浩行, 橋本 和人

科研製薬(株)

【背景と目的】近年の画像解析技術の進歩は目覚ましく、定性的評価が中心であった病理所見の定量的評価も期待されている。一方、特定の細胞小器官に対する定量的評価法はほとんど確立されていない。本研究では、PGE2 を反復投与したマウスの腺胃表層粘膜細胞に認められた細胞小器官の変化に注目し、画像解析ソフト ImageJ による各種細胞小器官の定量的解析法を検討した。

【材料と方法】BALB/cAnNCrCrIj 雌性マウスに対し、PGE2 を 0.018 mg/回の用量で 2 日に 1 度、計 10 回皮下投与し、2 日後に胃を採材した (Control、PGE2 群各 10 例)。次に腺胃組織を用い、以下の 4 項目を検討した。

- (1) HE 染色下の病理組織学的検査 (定性的評価)
 - (2) 透過型電子顕微鏡検査 (定性的評価)
 - (3) PAS と Cytokeratin 免疫染色の重染色組織の画像解析 (定量的評価)
 - (4) LAMP-2 と Cytokeratin の二重免疫染色組織の画像解析 (定量的評価)
- (3)、(4) の画像解析については、各個体につき表層粘膜細胞を 100 細胞以上抽出し、ImageJ を用いて核面積、細胞面積、N/C 比、細胞質に占める分泌顆粒 (PAS 陽性) 及びライソソーム (LAMP-2 陽性) の割合を算出して t 検定を実施した。

【結果】PGE2 投与群において以下の変化が認められた。

- (1) 表層粘膜細胞の肥大
- (2) 表層粘膜細胞における分泌顆粒、ライソソームの増加
- (3)、(4) 表層粘膜細胞の細胞面積、細胞質に占める分泌顆粒及びライソソームの割合の有意な上昇、N/C 比の有意な低下

【考察と結論】定性的評価の結果、PGE2 を反復投与したマウスの腺胃表層粘膜細胞において、細胞肥大、分泌顆粒及びライソソームの増加が観察された。さらに ImageJ を用いた本評価法により、この結果を定量的に裏付けることができた。以上から、核、分泌顆粒及びライソソームといった細胞小器官の定量的評価法として、本法の有用性が示された。

P-52

経皮曝露感作性試験におけるコレラトキシン及びコレラトキシン B サブユニットの アジュバント作用

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

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【目的】小麦タンパク質加水分解物を含有する洗顔石鹸の使用により重篤な小麦アレルギーを発症する事例が多数報告された。当所の生化学部では即時型アレルギー誘発経皮感作性試験法を開発し、タンパク質加水分解物を含む様々な化学物質による経皮感作について、感作性や影響要因の詳細に関する解析を進めている。本研究では、コレラトキシン (CT) 及びコレラトキシン B サブユニット (CTB) の経皮曝露によるアジュバント作用を、本モデルを用いて解析した。

【方法】実験 1 では、BALB/c マウス (8 週齢雌) の背部を剃毛し、パッチテスターを用いて溶媒に 2 μ g オボアルブミン (OVA) 及び 0.1、1、10 μ g CT を加えた懸濁液をマウス皮膚に貼付した (3 日間連続貼付/週 \times 4 週)。その後血中の OVA 特異的抗体価、OVA 腹腔内投与によるアナフィラキシー反応惹起について検討した。また、皮膚、脾臓及びリンパ節について病理組織学的解析を行った。実験 2 では、OVA 及び 0.7 μ g CTB の懸濁液を用いて実験 1 と同様の実験を行った。

【結果】OVA の腹腔内投与で惹起した OVA + CT 群及び OVA + CTB 群では感作後の IgG1 及び IgE 抗体価上昇、惹起後の直腸温度低下、アナフィラキシー症状、血中ヒスタミン濃度上昇が溶媒対照群に比べ有意に見られた。抗体価においては OVA + CT 群は OVA 単独群に比べても有意な高値をしめした。感作部位近傍のリンパ節において、細胞増殖を示す濾胞の数が、溶媒対照群と比較して全 OVA 処置群で増加した。

【考察】OVA+ 被験物質の経皮曝露後、OVA を腹腔内投与する本モデルにおいて、CT は明らかなアジュバント活性が認められたが、同じ成分濃度の CTB による明らかなアジュバント効果は認められなかった。CT は毒素であり、取り扱いが困難であることから、今後、CTB の皮膚毒性及び至適濃度に関する検討が必要と考えられた。

P-53

ベンチマークドーズ (BMD) 法を適用した化学物質の毒性評価において適切な毒性病理所見をエンドポイントとして選択するために毒性病理学者が注意すべき点

○吉田 緑¹⁾, 梅村 隆志²⁾¹⁾内閣府食品安全委員会, ²⁾ヤマザキ学園大学

【背景】BMD法は、無毒性量を求める評価法とは異なり用量反応関係を全体として関数化し、生体に悪影響を検出できる反応レベルの用量に対する95%信頼限界の用量下限値を悪影響のでない指標値(BMDL)とする評価法である。BMD法は無毒性量が求められない、遺伝毒性懸念物質の評価等に使用されてきた。

【目的と方法】本発表では毒性病理データが適切にBMD法による評価に反映されるためにデータ作成および評価に携わる毒性病理学者が注意すべき点について評価事例を紹介しながら考察したい。

【結果と考察】近年のBMD法適用例として、食品安全委員会がアクリルアミドの評価でマウスハーダー腺腫瘍を、EFSAが3-MCPDの評価でラット尿管過形成を、JECFAが動物用医薬品の評価で無毒性量が求められないとして肝細胞肥大をそれぞれエンドポイントとしてBMDLを算出した。まず毒性病理学者は毒性組織学的所見が数理モデルであるBMD法で評価されていることを認識すべきである。毒性病理データ作成にあたり病変の程度だけでなく病変の発生部位(小葉中心性かび漫性)や発生状況(単細胞壊死か巣状壊死)等の記載は、毒性の機序や経緯の推測に有用な情報となる。ヒト外挿性に関する機序研究の進展も望まれる。リスク評価が多様な専門家により行われることから、他分野にもわかりやすい説明や考察も有用である。また評価にあたり毒性病理データを的確に解析可能な毒性病理学者の参画があれば適切なエンドポイントの選択に資すると考えられる。

【結論】このように毒性病理学者による毒性機序や病態の毒性病理データへの適切な反映や明確な説明並びに機序研究そして評価への参画は今回取り上げたBMD法のみならず毒性評価全体における毒性病理学の貢献度を高めるものとする。

P-54

ウシ摘出角膜の混濁度および透過性試験法(BCOP法)と病理組織学的検査の併用による眼に対する弱刺激性物質判定の検討

○伊藤 浩太, 古川 正敏, 遠藤 ちひろ, 松浦 正男

株式会社 化合物安全性研究所 安全性研究部 臨床検査・病理検査室

緒言 牛摘出角膜を用いる混濁度および透過性試験法(BCOP法)はウサギを用いる眼刺激性試験(Draize法)の代替法として開発され、2009年に経済協力開発機構(OECD)の化学物質に関するテストガイドライン(TG437)に採択され、2013年に改訂されている。しかし、BCOP法ではUN GHS分類の2Aあるいは2Bに相当する弱刺激性物質の判定が出来ないことが課題となっており、UN GHS Category 2を判定することが出来るin vitro眼刺激性代替法は確立されていない。我々は多くの被験物質について検討を重ね、BCOP法と病理組織学的検査による早期回復性の判定を組み合わせる方法で弱刺激性物質の分類を試みた。材料および方法 85の被験物質を用いてOECD TG437に従って試験を実施し、病理組織標本はOECD Guidance document No.160に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製した。病理組織学的検査では、角膜上皮の損傷を4段階に分類し、基底細胞層全体の損傷がなく、損傷が角膜基質に至っていない場合には、早期の回復が望める変化とした。結果および考察 角膜損傷の回復性とUN GHS Categoryおよびin vitro刺激性スコア(IVIS)の関係性について解析した結果、この方法によってUN GHS No Category + Category 2BとCategory 1 + 2Aを分類した際の正確度は81%、偽陰性率は19%、偽陽性率は18%であり、UN GHS Category 2BおよびNo Categoryの物質の分類が可能であると考えられた。

P-55 *

ラットにおける Paclitaxel 投与による自律神経の病理組織学的変化

○中村 賢志, 横尾 諭, 王 蒙東, 下内 孝司, 村井 厚子, 並木 健吾, 栗林 正伯, 柳 浩由紀

小野薬品工業(株) 研究本部 安全性研究部

【背景と目的】抗がん剤である Paclitaxel (PTX) は、臨床において感覚神経障害や自律神経障害といった末梢神経障害を示すことが報告されている。基礎研究としては、PTXを投与したラットにおける感覚神経の病理組織学的変化に関する報告はなされていないが、自律神経の病理組織学的変化を詳細に解析した報告はない。そこで、先に報告されているラット PTX 誘発末梢神経障害モデルを用いて、自律神経の病理組織学的変化について検討した。

【材料と方法】6週齢の雄性SDラットにPTXを0, 2.5及び5 mg/kgの用量で実験1, 2, 3, 8, 9日に各1回ずつ計5回投与後、交感神経幹、上頸神経節及び星状神経節の病理組織学的検査を実施した。また、上頸神経節について、特殊染色(クリューバ・バレラ染色)及び免疫染色(GFAP, S-100及びCleaved caspase-3)を実施し、その病理組織学的変化を詳細に検討した。

【結果】病理組織学的検査の結果、PTX投与群では、上頸神経節及び星状神経節の神経節細胞において、辺縁性色質融解が認められた。また、クリューバ・バレラ染色においても辺縁性色質融解が確認された。なお、交感神経幹では著変は認められなかった。上頸神経節におけるGFAP, S-100及びCleaved caspase-3の発現及び分布に対照群との明らかな差は認められなかった。

【結論】ラットへのPTX投与により、自律神経の神経節細胞において辺縁性色質融解が認められた。今後、さらに超微形態学的解析、神経傷害マーカーの免疫染色等を行い、本変化の病理学的意義について考察する予定である。

P-56 *

T-2 toxinのマウス発達期曝露による海馬歯状回及び小脳における metallothionein 発現増加と発現細胞の同定

○中島 康太^{1,2)}, 伊藤 優子^{1,2)}, 増淵 康哲^{1,2)}, 吉田 敏則¹⁾, 渋谷 淳¹⁾¹⁾東京農工大 獣医病理, ²⁾岐阜大・院・連合獣医

【背景及び目的】我々は、かび毒T-2 toxin (T2)のマウス発達期曝露により、生後21日目(離乳時)の児動物海馬歯状回(DG)でtype 1神経幹細胞及びtype 2前駆細胞を標的とした可逆的神経新生障害とmalondialdehyde (MDA)の増加を報告した。本研究では、T2マウス発達期曝露によるDG及び小脳において酸化ストレス除去及び神経保護作用のある metallothionein (MT)の発現について検索した。

【材料と方法】妊娠ICRマウスに妊娠6日目から分娩後21日目までT2を0, 1, 3, 9 ppmの濃度で混餌投与した。離乳時と成熟後の児動物脳についてDG及び小脳におけるMT-I/II、グリア細胞関連マーカー及び神経細胞各分化段階マーカーについて二重免疫染色も含めて免疫組織化学的に解析した。さらに、DGでのMT発現関連因子の遺伝子発現解析を実施した。

【結果】免疫染色では、離乳時の9 ppm群でDG及び小脳でMT-I/II⁺細胞数が有意に増加し、小脳ではGFAP⁺細胞数が有意に増加したが、海馬歯状回門のGFAP⁺及びIBA1⁺細胞数に変動は認められなかった。MT-I/IIとの二重免疫染色では、DGにおいてGFAP及びSOX2との共発現が認められたが、TBR2、DCX及びNeuNとの共発現は認められなかった。小脳では主にGFAPと共発現を認めた。DGでの遺伝子発現では*Mt2*、*Il1 α* 及び*Il1r1*において有意な発現増加を認めた。

【考察】T2のマウス発達期曝露によりMTの誘導がDGと小脳で確認された。DGではtype 1神経幹細胞がMTを発現し、神経新生障害に対する保護的作用が示唆され、遺伝子発現解析と先行研究でのMDA増加の結果より、MTは炎症性メディエーター及び酸化ストレスにより誘導されたと考えられた。一方、小脳ではT2曝露による明らかな組織傷害はないものの、GFAP特異的なMT発現が示唆されたことから、小脳においてもMTを介した保護機能の亢進が考えられた。

P-57

ラット発達期の甲状腺機能低下による海馬歯状回の神経新生障害と抗酸化物質併用による神経保護作用の検討

○増淵 康哲^{1,2)}, 中島 康太^{1,2)}, 伊藤 優子^{1,2)}, 小柳 美穂子³⁾, 林 新茂³⁾, 吉田 敏則¹⁾, 渋谷 淳¹⁾

¹⁾東京農工大 獣医病理, ²⁾岐阜大・院・連合獣医, ³⁾三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

【背景及び目的】抗甲状腺薬である propylthiouracil (PTU) のラット発達期曝露により児動物の海馬歯状回の神経新生障害が生じることが知られており、これに対する酸化ストレスの関与が示唆されている。本研究は、PTU と抗酸化物質である alpha-glycosyl isoquercitrin (AGIQ) あるいは α -リポ酸 (ALA) をラットに同時に発達期曝露し、神経新生障害に対する抗酸化物質の神経保護作用について検討した。

【材料と方法】妊娠SDラットに、妊娠6日目から分娩後21日目(離乳時)までPTU、PTU+AGIQ及びPTU+ALAを投与した。PTU、AGIQ及びALAの投与方法及び投与量はそれぞれ飲水(12 ppm)、混餌(0.5%)及び混餌(0.2%)とした。離乳時の児動物脳について海馬歯状回の顆粒細胞系譜及び歯状回門の介在ニューロンの免疫組織化学的解析を行った。

【結果】PTU投与群では、無処置対照群と比較して、GFAP、TBR2、DCX及びNeuN陽性顆粒細胞系譜の減数及びPVALB陽性GABA性介在ニューロンの減数がみられた。PTU+AGIQ群では、顆粒細胞系譜の解析において、PTU群と比較してGFAP陽性細胞の減数及びSOX2陽性細胞、TBR2陽性細胞及びNeuN陽性細胞の増数がみられ、これらの変化はいずれも統計学的に有意であった。しかし、介在ニューロンの解析では、いずれの介在ニューロンにも変化がみられなかった。PTU+ALA群では、顆粒細胞系譜のいずれの細胞についても、PTU群と比較して細胞数の変化がみられなかった。一方介在ニューロンの解析では、PTU群と比較してPVALB陽性細胞が有意に増加した。

【考察】AGIQ併用により成熟ニューロンを含む顆粒細胞系譜の増加が、ALA併用により神経新生の制御に関わる一部の介在ニューロンの増加がみられ、AGIQ及びALA共に発達期甲状腺機能低下に起因する海馬神経新生障害に対する保護作用を示すことが示唆された。

P-58 *

幼若白色種ウサギの眼球の組織学的特徴

○山際 慶典, 根本 真吾, 榎 秀之, 倉田 昌明

千寿製薬株式会社 研究開発本部

【緒言】ウサギは眼科用剤の毒性試験に汎用されるが、薬物曝露部位である眼の発育に関する情報は断片的である。今回我々はウサギの生後眼組織発育の情報を得るため、幼若日本白色種ウサギの眼球及び眼瞼について経日的な組織学的検索を行った。

【材料と方法】21匹の幼若日本白色種ウサギKbl:JWを、生後1、3、5、7、9、11、14、18、21、24、28、35、及び42日に1～2例ずつ安楽死させ、採取した眼球・眼瞼組織標本を組織学的に観察した。

【結果】動物は10～12日齢で開眼した。眼瞼では、成長とともにマイボーム腺腺房が増生した。角結膜では、開眼とともに角膜固有質の肥厚、角膜上皮の多層化、結膜杯細胞の増加がみられ、生後28日で概ね組織学的に成熟した。水晶体は成長とともに水晶体線維増生により大型化が進んだ。出生後しばらく残存していた硝子体血管や瞳孔膜構造は、それぞれ生後14日あるいは18日までに消失した。網膜は、成長とともに内・外顆粒層細胞の減数と分化が進み、視神経は次第に太くなり、生後35日で概ね組織学的に成熟した。

【結論】本検討で幼若日本白色種ウサギの眼球の経日的な組織発育を確認でき、幼若動物毒性試験を含む毒性試験でのウサギの齡選択や病理組織評価に有用な基礎的知見となると考えられる。

P-59

Deep Convolutional Neural Networkを用いたヒト肺がん細胞像の自動分類

○塚本 徹哉¹⁾, 桐山 諭和^{1,2)}, 寺本 篤司³⁾

¹⁾ 藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科, ²⁾ 成田記念病院 病理診断科, ³⁾ 藤田保健衛生大学 医療科学部 放射線学科

近年の治療法の進歩により、肺がんを腺がんと扁平上皮がんに厳密に分類する必要性が出てきた。しかし、細胞診画像では両者の鑑別が困難な場合が多い。本研究ではDeep Convolutional Neural Network (DCNN)を用いて、細胞診画像から肺がん組織型を自動診断する手法の開発を行った。Papanicolaou染色した肺細胞診検体を対象とし、腺がん、扁平上皮がん、小細胞がんの画像を顕微鏡デジタルカメラで撮影した。分類に使用するDCNNは、3つのConvolution層とPooling層、2層のフル結合層からなり、入力層には256×256画素の画像を与え、出力層の3つのユニットから、それぞれの組織型の確信度を得た。画像枚数が少ないため、画像の回転・反転等により枚数を220倍に増加させて学習を行った。DCNNの処理にはGPU (GeForce GTX TITAN X)を用いCaffeを利用し30,000回の学習を行った。交差確認法にて分類能力を評価した結果、がん別の正解率は腺がんが85.5%、扁平上皮癌が55.2%、小細胞癌が82.4%であった。識別正解率が71.9%と比較的良好な結果となり、DCNNが細胞診の画像分類に有効であることが示唆された。今後、扁平上皮がんの識別率向上のため、DCNNの構造最適化を行う必要があると考えられた。

P-60 *

制限給餌のカニクイザルにみられた心臓病変

○松尾 沙織里¹⁾, 藤澤 希望¹⁾, 松下 智哉¹⁾, 林 修次¹⁾, 篠塚 淳子¹⁾, 三好 昌夫¹⁾, 鈴木 雅実^{1,2)}, 加藤 淳彦¹⁾

¹⁾ 中外製薬(株), ²⁾ (株) 未来創薬研究所

【背景と目的】毒性試験において、被験物質投与群における摂餌量の減少にしばしば遭遇する。その際、各種評価項目に摂餌量減少による二次的变化が認められ、被験物質による直接的な変化との区別が困難な場合がある。我々は、カニクイザルにおける2週間の制限給餌試験を行い、その結果については第44回日本毒性学会学術年会にて報告した。今回は、その試験において認められた心臓病変の特徴について報告する。

【材料と方法】カニクイザル(雄、3-4歳)を対照群(n=2)及び制限給餌群(n=3)に分け、制限給餌群には対照群の25%を2週間給餌した。心臓は弊社の標準の切り出し方法を用いて標本作製を行い、病理組織学的検査を行った。また、病変の出現状況や局在を確認するために、非制限給餌のカニクイザル5例を加え心臓の追加切り出しを行い、病理組織学的検査を実施した。

【結果】制限給餌群において、冠状動脈周囲脂肪織を含む脂肪細胞の萎縮が全例で認められた。加えて、右冠状動脈周囲の脂肪織において、単核あるいは多核の泡沫状マクロファージの集簇を主体とした肉芽腫性病変も全例で観察された。制限給餌群の心臓のその他の部位や、対照群や追加した非制限給餌のカニクイザルの心臓のいずれの部位においても肉芽腫性病変は観察されなかった。

【結論】制限給餌群のカニクイザルにみられた肉芽腫性病変の病理発生は不明であるが、制限給餌による冠状動脈周囲脂肪織の萎縮に関連し、右冠状動脈周囲に好発する変化であると推察された。従って、毒性試験の中で同様の心臓病変が観察された場合は、摂餌量減少や体重減少に伴う二次的变化である可能性についても考慮すべきであると考えられた。今後、追加染色を実施し、合わせて報告する予定である。

P-61 *

マウス大腸炎モデルのA-kinase anchor protein (AKAP) 13発現解析及びRho-associated coiled-coil containing protein kinase (ROCK) 阻害の影響評価

○寒川 祐見^{1,2)}, 吉田 敏則²⁾, 村山 宗理^{1,2)}, 衣斐 彼方¹⁾, 木原 亨¹⁾, 葛谷 和也¹⁾, 小柳 美穂子³⁾, 林 新茂³⁾, 渋谷 淳²⁾

¹⁾ 科研製薬, ²⁾ 東京農工大獣医病理, ³⁾ 三栄源エフ・エフ・アイ

【背景・目的】AKAP13は細胞内シグナル伝達調節に関わる足場蛋白質であり、下流エフェクターであるROCKは、消化管粘膜の傷害初期に restitution と呼ばれる細胞増殖を伴わない上皮の遊走に関与することが知られている。しかし、AKAP13とROCKの消化管での役割に関する検討は限定的である。そこで、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発大腸炎モデルの大腸炎初期におけるAKAP13の発現及びROCK阻害によるDSS誘発大腸炎への影響を解析した。

【方法】BALB/cマウスに、4% DSSを4、6、8日間 (急性期試験) 又は2% DSSを16日間 (亜急性期試験) 飲水投与すると共に、ROCKのリン酸化阻害剤 fasudil hydrochloride hydrate (FH, 10 mg/kg, twice per day) を反復皮下投与した。

【結果】AKAP13の発現は、急性期試験ではDSSによって誘発される組織傷害に先行して粘膜上皮の細胞質において増加した。亜急性期試験では、粘膜欠損部を覆うrestituted細胞にAKAP13が発現した。急性期試験において、FH投与により血漿中serum amyloid A濃度及び粘膜傷害が増加の傾向を示した。また、亜急性期試験では、FH投与によって restitution 率の抑制が認められた。

【考察】FH投与によってDSS誘発大腸炎は増悪した。これらの結果から、消化管におけるAKAP13の機能としてAKAP13/ROCKシグナルを介した restitution の制御が考えられた。また、AKAP13/ROCKシグナルはDSS誘発大腸炎において傷害に対する初期応答に作用し、粘膜修復及び大腸粘膜の恒常性維持に関与する可能性が示唆された。

P-62

幼若期ラット /CrI:CD (SD) における腎臓の病理組織学的背景データ

○井上 紗季¹⁾, 畠山 洋文¹⁾, 武井 由弘¹⁾, 渡辺 純¹⁾, 小泉 治子¹⁾, 梶村 哲世¹⁾, 下井 昭仁¹⁾, 佐藤 伸一¹⁾, 岩田 聖²⁾

¹⁾ (株) イナリサーチ, ²⁾ ルナパス毒性病理研究所

【目的】小児用医薬品には、幼若動物を用いた毒性試験による安全性評価が推奨される場合がある。幼若動物への薬物の影響を適切に評価するには、各日齢における正常組織を熟知する必要がある。腎臓は薬物代謝に関与し、標的となり易いため、毒性試験において重要な臓器の一つである。我々は昨年の本集会において、腎臓の糸球体の成熟過程について発表したが、本研究では腎臓についてより詳細に検索し、各日齢でみられる正常組織像の特徴をまとめた。

【方法】CrI: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匹ずつ用いて、腎臓を常法に従いホルマリン固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、組織学的観察を行った。

【結果】4日齢から皮質と髄質は明瞭に区別されていた。4～7日齢では、皮質は被膜直下の好塩基性の層、皮質迷路及び髓放線から成る。被膜直下の層にはネフロンの原基である未熟な細胞塊がみられた。髓放線を構成する近位尿細管及び集合管は好塩基性を呈し、核分裂像が多数認められた。髄質は主に集合管から成り、外帯及び内帯の区別は明らかでないが、外側では尿細管の密度が低く、間質に緩やかな結合組織が豊富に認められた。4日齢では腎乳頭付近においてヘンレのループはほとんど認められなかったが、7日齢では多数みられた。14～21日齢では髄質外帯が好塩基性を呈し、尿細管及び集合管が高密度にみられ、核分裂像が多数みられた。間質の結合組織は徐々に減少し、21日齢では僅かにみられる程度になった。28日齢では髓放線は成熟し、髄質は外帯外側、外帯内側及び内帯に明瞭に分けられ、腎臓全体は成獣に近い像となった。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。今後は他組織についても検索を進める予定である。

P-63 *

幼若期ラット /CrI:CD (SD) における皮膚の病理組織学的背景データ

○渡辺 純¹⁾, 畠山 洋文¹⁾, 武井 由弘¹⁾, 井上 紗季¹⁾, 小泉 治子¹⁾, 梶村 哲世¹⁾, 下井 明仁¹⁾, 佐藤 伸一¹⁾, 岩田 聖²⁾

¹⁾(株)イナリサーチ, ²⁾ルナパス毒性病理研究所

【目的】我々は第33回本学会において幼若ラットの腎臓, 眼球及び大腿骨の正常組織について報告した。しかし, 幼若動物の正常組織像についての文献は未だ少なく, 更なる調査が必要である。皮膚は外界からの刺激に対するバリア機能を果たしているが, 小児の皮膚は未熟であり, 大人とは化学物質に対する反応が異なると考えられる。そこで今回は, 幼若ラットの皮膚について, 各日齢でみられる正常組織像の特徴をまとめた。

【方法】CrI:CD (SD) ラット, 4, 7, 14, 21, 28, 35 及び 42 日齢の雌各 4 匹を用い, 腹部皮膚について, 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】表皮: 7 日齢まで, 成獣と比較して厚い表皮がみられ, 顆粒層, 有棘層, 基底細胞層の観察が可能であった。14 日齢ではこの表皮の厚みはなくなり, 21 日齢では成獣とほぼ同様の表皮が認められた。角質層については 14 日齢まで成獣より厚く, 21 日齢以降は成獣とほぼ同じ厚みに変化した。毛: 4 及び 7 日齢では真皮内に多数の毛包が存在し, 毛乳頭が毛母細胞で完全に覆われており, 未熟な毛幹もわずかに観察された。14 日齢以降では, 多数の毛幹が皮膚表面に突出している像が観察された。また, 14 日齢まで真皮内に密集し未熟で大型であった毛胞は, 21 日齢以降で小型化し, 28 日齢以降で密度が低くなる傾向がみられた。皮脂腺: 4 日齢では未熟な皮脂腺がごくわずかに観察され, 7 日齢ではその数の増加が認められた。この日齢では, 皮脂腺の細胞は毛胞の細胞よりやや大型かつ淡明で, 毛胞内に 2 ~ 4 個程度の塊を形成していた。14 日齢では, 皮脂腺細胞が大型化し, 毛に隣接し 3 ~ 10 個程度の塊を形成する像が観察され, 21 日齢ではほぼ成熟した像となった。

P-64 *

F344系 *gpt delta* ラットの自然発生病変スペクトラム

○松下 幸平¹⁾, 木島 綾希¹⁾, 石井 雄二¹⁾, 高須 伸二¹⁾, 黒田 顕¹⁾, 能美 健彦²⁾, 小川 久美子¹⁾, 梅村 隆志^{1,3)}

¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部, ²⁾国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部, ³⁾ヤマザキ学園大学 動物看護学部

【背景】レポーター遺伝子導入動物の *gpt delta* ラットは新しい *in vivo* 変異原性試験ツールとして開発された。近年, 本動物を用いた遺伝毒性, 一般毒性及び発がん性を同時に評価する包括的試験法が提唱されているが, 本動物の実験動物としての背景データに関する報告はほとんどない。そこで本研究では, 基礎的データ収集を目的として長期飼育による自然発生病変スペクトラムを野生型と比較した。

【方法】6 週齢の雌雄 F344 系 *gpt delta* ラット及びその背景系統である F344 系ラット各 75 匹を同条件下で 2 年間飼育し, 全身諸臓器について病理解析を実施した。

【結果】実験期間中の生存率に遺伝子型間で差は認められなかった。雄性 *gpt delta* ラットの体重は試験開始 10 週目から終了時まで野生型に比して有意な低値を示した。腫瘍スペクトラム解析では, 雄性 *gpt delta* ラットの副腎褐色細胞腫の発生率が野生型に比して有意な高値を示した (野生型ラット 16/75 例, *gpt delta* ラット 30/75 例)。一方, 雌雄ともに副腎髄質過形成の発生率に遺伝子型間で差は認められなかった。その他, 雄性 F344 系ラットで好発する脾臓の大顆粒リンパ球性白血病, 精巣の間細胞腫, 雌性 F344 系ラットで好発する下垂体前葉腺腫, 乳腺の線維腺腫が高率にみられたが, それらの発生率に遺伝子型間で差はなく, その他の腫瘍及び前腫瘍性病変の発生率にも差は認められなかった。

【考察】雄性 *gpt delta* ラットにみられた褐色細胞腫の発生率の有意な上昇は, 同ラット副腎の髄質過形成並びに雌性 *gpt delta* ラット副腎の褐色細胞腫及び髄質過形成の発生率に野生型との差はみられなかったことから, 検索母数が小さいことから生じた偶発事象であると結論した。今後, 非増殖性病変の病理解析結果を加えて, F344 系 *gpt delta* ラットの自然発生病変のスペクトラムを検証する。

P-65 *

IS/Kyo ラットの30週齢までの雌生殖器における病理組織学的特徴
—妊娠率及び着床率低下との関連—

○岡野 拓, 山口 裕子, 伊倉 佐織, 鈴木 勇, 斎藤 翼, 星谷 達

(株)ボゾリサーチセンター 病理部

【背景】IS/Kyoラット (ISR) は腰椎を主とする脊椎後側弯症及び心室中隔欠損を自然発症することが知られている。ヒトを含め多くの哺乳類は加齢により生殖機能が減退する。ISRにおいても20から30週齢にかけて妊娠率及び着床率が顕著に減少し、20週齢のISRでは同週齢のWistar Hannover系ラット (RccHanTM:WIST) と比較して妊娠率及び着床率の低値が認められる。そこで、ISRの加齢による妊娠率低下と組織形態との関連を考察するために、卵巣及び膣スミアを用いた検索を行った。

【材料と方法】ISRの膣スミアを連日採取し、10、20及び30週齢までの性周期を評価した。対照としてWISTについても同様に評価した。20、30週齢のISR及びWISTの卵巣についてHE染色標本を作製、検索した。

【結果】性周期異常がISRは10週齢で1/36匹、20週齢で13/29匹、30週齢で12/15匹に認められた。一方、WISTは10週齢で1/6匹にのみ認められ、20及び30週齢には認められなかった。病理組織学的には、ISRでは加齢により間質腺の割合が増加し、黄体数が顕著に減少していた。また同週齢のWISTと比較して間質腺の割合は高値、黄体数は低値を示した。間質腺への移行を示し、内腔に顆粒膜細胞の残存あるいは好酸性液胞を含む閉鎖卵胞が30週齢で増加する特徴がみられた。

【まとめ】週齢別及びWISTとの比較より、ISRでは性周期の乱れ、卵胞の発育不良ならびに排卵減少が加齢により増強することが示され、これらが妊娠率及び着床率の低下に関連することが示唆された。現在、他の雌生殖器の検索中であり、これらの結果も含め報告する。

P-66 *

マウス/Crl:CD1 (ICR) の精巣に出現する異常遺残体の背景データ検索

○早川 知里, 木村 真之, 黒田 雄介, 林 清吾, 竹内 和也, 古川 賢

日産化学工業 (株) 生物科学研究所

【目的】マウスの精巣では、異常遺残体は毒性変化として出現するが、背景病変としても認められるため、両者を区別する必要がある。マウスの異常遺残体の背景データに関する知見は少ないため、本研究ではマウスにおける異常遺残体の背景データを収集した。

【材料と方法】Crl:CD1 (ICR) マウス、5、6、8、10及び19週齢の雄各15匹の右精巣について、常法に従い標本作製後、組織学的観察を行った。形態学的に精子形成段階をI～VI期、VII～VIII期、IX～XII期の3ステージに大別し、精細管各10個の異常遺残体数を観察した。5週齢では未成熟でありステージ分類ができなかった為、ランダムに30個の精細管を観察した。

【結果及び考察】異常遺残体が認められた動物数は、5週齢では11/15、6週齢では5/15、8週齢では5/15、10週齢では1/14 (外れ値により1例除外)、19週齢では3/15であり、加齢とともに減少した。異常遺残体が出現した個体の平均異常遺残体数 (平均±SD) は、5週齢では7.2±5.2、6週齢では6.0±4.6、8週齢では7.4±4.4、10週齢では6、19週齢では17.3±8.1であった。病理組織学的に異常遺残体の多くは好塩基性大型球形塊状を呈した。異常遺残体が認められた精細管のステージは、6及び8週齢では大部分はIX～XII期であり、10週齢以降ではIX～XII期のみであった。異常遺残体は精細管の管腔側あるいは精上皮内に認められ、精細管内の出現部位における割合は、5～6週齢では90%以上が管腔側に認められ、8週齢以上では50～65%が管腔側であったものの、精上皮内でも認められた。背景病変として認められる異常遺残体は8週齢までは高頻度に発現すること、IX～XII期に多く認められることが明らかとなった。また、異常遺残体の出現における週齢差については、セルトリ細胞の貪食能との関連が示唆されるが今回は不明であった。

P-67

マイクロミニピッグにおけるライディッヒ細胞の発達に関する組織学的検索

○寒川 彰久, 大竹 正剛, 塩谷 聡子, 柴田 昌利

静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター

【背景】マイクロミニピッグは6ヵ月齢時の体重が約10kgと実験用ミニブタの中でも小型である利点を活かし、一般毒性試験を始め様々な試験研究で利用されている。雄のマイクロミニピッグの性成熟時期は精子形成や副生殖腺の発達状況より4.5ヵ月齢頃と報告してきたが、ライディッヒ細胞の発達については未だ検討されていない。

【目的】マイクロミニピッグにおけるライディッヒ細胞の発達を組織学的側面から明らかにする。

【材料と方法】0日齢～12ヵ月齢のマイクロミニピッグ合計28頭の精巣について常法に従いパラフィン包埋切片を作製した。染色はHEに加え、特殊染色としてPAS、シュモール染色を実施し、免疫組織化学ではステロイド代謝酵素等に対する染色性を確認した。また、組織形態の計測と血清中テストステロン濃度検査も合わせて実施した。

【結果】ライディッヒ細胞は0日齢では部位による形態の違いはほとんど認められなかった。1.5ヵ月齢以降では精細管周囲に位置し好酸性細胞質を有する大型な細胞と白膜下や結合組織間に存在する小型な細胞の2種類の細胞が認められ、共に免疫染色で細胞質がP450sc α とAromataseに陽性を示した。4.5ヵ月齢以降で大型の細胞内には大小様々な好酸性顆粒が出現し、同顆粒はP450sc α に強陽性を呈した。リポフスチンは6ヵ月齢の一部と12ヵ月齢のすべての個体で観察された。精巣断面に占めるライディッヒ細胞の面積割合は1.5と3ヵ月齢で約20%であったが、4.5ヵ月齢以降では約35%で推移した。血清中テストステロン濃度は1.5ヵ月齢から4.5ヵ月齢にかけて顕著な増加がみられた。

【結論】マイクロミニピッグのライディッヒ細胞は細胞・組織形態の発達状況より4.5ヵ月齢で成熟期に達すると推察された。これは精子形成等からの性成熟時期を補完する結果であった。

P-68 *

ゲッチンゲンミニブタにおける精巣毒性評価のための精子形成サイクルステージ分類

○山田 直明, 涌生 ゆみ, 爰島 洋子, 土居 卓也, 菅野 剛, 土谷 稔

L S I メディエンス(株) 試験研究センター 病理研究部

実験動物の精巣毒性評価には、精子形成サイクルを考慮した評価方法が用いられている。Jorgensenらは、ゲッチンゲンミニブタ(Göttingen MinipigsTM, 以下GMP)の精細管の精子形成サイクルステージをセルトリ細胞と精子細胞の関係等を目安に分類している(1998)。しかし、この方法はラットやイヌで用いられている分類方法と差異がある。そこで、我々はイヌのステージ分類を参考にGMPの精子形成サイクルを分類してドキシソルピシン(DOX)で誘発した精巣の毒性変化を評価し実用性を検討した。

【方法】9-10ヵ月齢のGMPにDOX 0.5 mg/kgを第1, 8日に静脈内投与し、第15, 43, 64日に剖検した(各2匹)。精巣はブアン液にて固定し、定法に従ってHE染色およびPAS染色標本を作製し鏡検した。

【結果】GMPはイヌと同様に一つの精細管に複数のステージが混在し、精子形成サイクルのステージもイヌとほぼ同様にVIIIステージに分類できた。DOX投与第15日では、ほぼ全ステージの精母細胞の減少・消失が認められた。第43日では、elongate精子細胞は認められず、精祖細胞と精母細胞、round精子細胞が認められ、セルトリ精細管も多く認められた。第64日では、ほとんどの精細管がセルトリ精細管であったが、ほぼ正常に回復した精細管も僅かに見られた。これら経時的な組織変化から、DOXは主に精祖細胞を傷害することが示された。

【考察】本実験で用いたVIIIステージ分類による評価によって、GMPでも、DOXの精祖細胞への障害性変化を評価することができた。他種の動物間で精巣毒性を比較する上でも、イヌやラットのステージ分類に基づいたステージ分類方法は利点があると考えられる。

P-69

化合物投与により神経症状が顕在化したビーグル犬における肉芽腫性髄膜炎の1例

○見鳥 光¹⁾, 寶来 直人²⁾, 梶川 悟¹⁾, 小野 美穂子¹⁾

¹⁾アステラス製薬株式会社 安全性研究所, ²⁾株式会社新日本科学 安全性研究所

【目的】予備的な安全性薬理試験において、2例のビーグル犬に30, 100, 300 mg/kgの投与量で化合物を投与したところ、1例で30 mg/kg投与時から常同行動や身もだえといった薬理作用からは想定できなかった神経症状が認められた。もう1例では300 mg/kg投与時においても同様の症状はみられなかったことから、神経症状の原因となる基礎疾患の有無を確認する目的で脳のMRI検査及び全身諸臓器の病理組織学的検査を含む各種検査を実施した。

【材料及び方法】予備的な安全性薬理試験において症状を呈した雄のビーグル犬(35ヶ月齢)について体重、眼科学的検査、血液・血液化学的検査に加え、脳のMRI検査を実施した。検査後、剖検を行い、脳のMRI検査異常部位及び全身諸臓器について、定法に従い病理組織学的検査を実施した。また、脳については抗Iba-1抗体を用いた免疫染色を施した。

【結果】MRI検査の結果、T1及びT2強調画像において大脳左側と比較し、大脳右側前頭葉に高信号域がみられた。病理組織学的検査の結果、MRI検査異常部位に一致して脳溝の拡張が認められた。また、大脳、小脳、橋にIba-1陽性類上皮細胞を伴う多巣性の髄膜炎及び白質の囲管性細胞浸潤が認められ、肉芽腫性髄膜炎と診断した。その他器官・組織に症状との関連が疑われる変化は認められなかった。また、体重、眼科学的検査、血液・血液化学的検査及び剖検で明らかな異常はなかった。

【結論】同化合物を用いた予備毒性試験において神経症状は認められなかったことから、これらの病変によって化合物投与時の神経症状が顕在化した可能性が示された。

P-70 *

Sprague-Dawley ラットの胸腔に自然発生した癌肉腫の1例

○木嶋 恵, 末廣 美紀, 伊東 志野, 二井 愛介

生化学工業(株)

【背景と目的】癌肉腫は、上皮性成分と非上皮性成分が混在する稀な悪性腫瘍で、非上皮性成分は骨、軟骨並びに横紋筋等へ分化することが知られている。ラットでは、子宮や乳腺で少数例報告されているのみであるが、今回、胸腔内に自然発生性の癌肉腫を認めたため、その病理組織学的特徴について報告する。

【症例と方法】本症例は、モニタリング動物として飼育された21週齢の雄性CrI:CD(SD)ラットで、死亡後発見された。剖検時に認められた胸腔内の腫瘤について、HE染色、Movat Pentachrome染色、PAS染色及び各種免疫組織学的染色を実施した。

【結果】剖検では、胸腺は確認できず、心臓、肺表面に結節状の腫瘤(割面白色)が密在していた。組織学的検査では、腫瘤は、胸腺を包囲していたが連続性はみられず、一方、肺との連続性が確認された。腫瘤は、巣状に配列した腫瘍細胞と、それらを結節状に取り囲むように走行する少量の間質から構成されていた。腫瘍細胞は、主に大型の核を持ち弱好酸性の細胞質を有するCytokeratinAE1/AE3陽性細胞と、充実した細胞質を持つ小型のVimentin陽性細胞から成り、両抗原を共発現している細胞は認められなかった。これらの細胞は、 α -SMA、S-100、並びに中皮マーカーであるmesothelin及びpodoplaninに陰性を示した。細胞間基質は、Movat染色のアルシアンブルー及びPAS染色陽性であった。さらに、結節内には軟骨及び骨の形成が認められた。

【考察】本症例は、悪性中皮腫、肺癌、軟骨肉腫及び骨肉腫が疑われたが、上皮性成分と非上皮性成分が混在し、非上皮性成分は軟骨及び骨への分化が認められたことから、癌肉腫と診断した。

P-71 *

若齢 Crl:CD (SD) ラットの空腸における自然発症性の高分化型管状腺癌の一例

○浅岡 由次, 増野 功一, 藤澤 可恵, 殿村 優, 田尻 美奈子, 加藤 祐樹, 柏木 絵美, 土屋 紀子, 鳥井 幹則, 上野 元伸

塩野義製薬(株) 開発研究所

【背景】ラットの小腸における自然発症性の腫瘍の発生は極めて少なく、若齢における報告はほとんどない。今回、8週齢の雄性SDラットの空腸における自然発症性の腺癌の症例を報告する。

【症例】本例は1ヵ月間反復経口投与毒性試験の中間用量群の雄性Crl:CD(SD)ラットで、投与開始12日目から体重減少が認められ、投与16日目に安楽死された(解剖時8週齢)。剖検時、胃、十二指腸及び空腸の拡張、空腸の重積、大腸の暗赤色内容物が認められた。空腸の重積部分の粘膜面には大小の表面滑沢で膨隆する充実性の白色腫瘍(直径約4から10mm)が認められた。なお、高用量群を含めた他の個体に消化管の変化が認められなかったことから、病変は自然発症性の変化と判断した。

【結果及び考察】腫瘍は主として粘膜内で粘膜上皮細胞が管腔様構造を有して増殖し、それらの構成細胞は細胞内にPAS染色陽性の粘液を有する杯細胞及び好酸性顆粒を有するパネート細胞が多数認められ、ときにクロモグラニンA免疫染色陽性の基底顆粒細胞も認められた。多量の粘液産生と貯留を呈する異型の腺管構造が混在して認められたが、その領域は概ね全体の50%未満であった。一方、粘膜筋板は部分的に断裂し、粘膜下織には核分裂像が豊富で多層化する異型細胞からなる基底膜形成が不完全でいびつな管腔様構造の浸潤増殖巣が認められ、周囲に線維化や炎症性細胞浸潤を伴っていた。腫瘍と正常組織の境界に明瞭な圧排増殖は認められなかった。以上の組織学的特徴から、本例を高分化型管状腺癌と診断した。若齢ラットの空腸における高分化型管状腺癌は報告がなく、極めてまれな症例と考える。

P-72

盲腸結腸重積を呈したイヌに認められた過誤腫

○小野 美穂子, 高橋 美和, 中原 豊, 坪田 健次郎, 松本 正博

アステラス製薬(株) 安全性研究所

【目的】盲腸結腸重積は結腸内へ盲腸が反転して入り込む病態であるが、発生は極めて稀であり、原因に関する報告も乏しい。今回、イヌにおける盲腸過誤腫に起因すると考えられる盲腸結腸重積を経験したので報告する。

【材料及び方法】4週間反復投与毒性試験の被験物質投与群に供された12か月齢の雌性ビーグル犬1例で、投与期間中の症状、体重、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学検査に薬物投与関連以外の変化はなかった。剖検時に盲腸は反転して完全に結腸内へ入り込み、先端部の粘膜は暗赤色であった。盲腸は反転したまま採材し10%中性緩衝ホルマリン液で固定後パラフィン切片を作製し、HE染色及び各種抗体(α SMA, neurofilament, CD34, Ki-67)による免疫染色を施し病理組織学的検査を行った。

【結果】先端部粘膜の暗赤色部には潰瘍が認められた。漿膜側では、成熟した大小様々な血管、平滑筋束、神経線維束及び大型の神経細胞が不均一に混在する組織が被膜を持たずに漿膜に沿って増殖していた。組織は一部で縦走筋層内に浸潤し、さらに結合組織に沿って増殖していた。回腸及び結腸漿膜において同様の変化は認められなかった。

【結論】病理組織学的検査より、盲腸漿膜側に増殖した組織は過誤腫と判断した。ヒトでは平滑筋束、無髄神経線維束、散在する神経細胞、及び血管腫様血管の組織学的特徴により neuromuscular and vascular hamartoma (NMVH) と診断される。NMVHは主に小腸で発生し、盲腸における報告は非常に稀である。本症例は盲腸においてヒト neuromuscular and vascular hamartoma に相当する過誤腫が発生し、それにより盲腸結腸重積が起こった極めて稀な症例と考えられた。

P-73

ミニブタの壊死性動脈炎を伴う急性出血性胃炎の1症例

○江田 景, 赤根 弘敏, 市川 敦子, 清水 茂一, 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】壊死性血管炎は、家畜では牛、馬、豚などで報告されている。我々は、ミニブタで壊死性動脈炎を伴う急性出血性胃炎を経験したので報告する。

【材料及び方法】本症例は所有動物として飼育していたが、1週間前より摂餌量が減少し、突然死した11ヶ月齢の雄クラウン系ミニブタである。常法に従ってHE及びPTAH染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

【結果及び考察】剖検では、胃体部及び胃幽門部粘膜に顕著な水腫、出血及び壊死が認められた。また、小腸及び大腸粘膜の限局性出血、腸間膜及び幽門付近のリンパ節の暗赤色、血性心嚢水貯留、心臓及び肝臓の点状出血、肝臓の腫大及び多発性梗塞巣、腎臓の腫大、うっ血及び出血などが観察された。病理組織学的検査では、胃粘膜に出血性壊死及び炎症細胞浸潤、粘膜下組織に水腫、出血及びリンパ管の拡張、胃の小動脈及び細動脈のフィブリノイド壊死及び血栓形成が観察された。PTAH染色では、胃粘膜の毛細血管に多数の線維素血栓がみられた。同様の病変は、心臓、肝臓、腸管、膵臓、リンパ節、副腎、腎臓などの小動脈及び細動脈に多発した。更に、心臓及び肝臓の梗塞、腎糸球体の微小血栓形成及び限局性壊死、尿細管の壊死などもみられた。急性出血性胃炎は感染症、ストレスなどにより発症することが知られているが、本症例における顕著な胃粘膜出血性壊死は、胃の動脈のフィブリノイド壊死及び血栓形成による虚血性変化と推察された。

P-74

昼行性動物マイクロミニピッグにおける無麻酔下経時的脳脊髄液採取法の確立

○川口 博明¹⁾, 阿部 正治¹⁾, 牛飼 美晴¹⁾, 大井 紗弓²⁾, 柚川 藍色²⁾, 吉川 哲也²⁾, 和泉 博之²⁾, 谷本 昭英³⁾, 堀内 正久¹⁾¹⁾ 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 衛生学・健康増進医学分野,²⁾ 株式会社新日本科学安全性研究所,³⁾ 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 病理学分野

【緒言】脳脊髄液(CSF: Cerebrospinal fluid)の研究は、脳科学、認知症をはじめとして、多岐にわたって行われてきた。動物実験においては、大槽穿刺や穿頭術による脳室内カテーテル留置によるCSF採取が報告されているが、侵襲性や手技の困難さなどの問題がある。本研究ではヒトと同様に昼行性であるミニブタ(マイクロミニピッグ)を用いて、経皮的にくも膜下腔カテーテルを大槽内に留置し、無麻酔下で経時的にCSFを採取する方法を確立した。

【方法】2歳雌雌2頭(体重約19kg)を用いた。麻酔・透視下、腹臥位として、21Gスパイナル針で腰仙椎間隙より、経皮的にくも膜下腔にアプローチした。ガイドワイヤーを用いて、ポリエチレンチューブを挿入し、先端位置は大槽に位置するように固定した。カテーテル留置後、無麻酔下で経時的にCSFを採取し、1頭は、カテーテル刺入に対する回復期間(血球細胞数を指標)を検討し、別の1頭は、メラトニンの日内変動(生化学検査含む:LDH、CK、Na、K、glucose、total protein、glutamine、alanine)を検証した。

【結果】留置直後のCSFは淡血性であり、手技に伴う血液混入が考えられた。7日後に透明となったものの、赤血球は残存していたが(約600個/ μ l)、21日時点で赤血球はほぼ消失した。メラトニンは夜間で日中よりも高値とヒトと同様の日内変動を示したが、生化学所見に日内変動はみられなかった。

【まとめ】本CSF採取マイクロミニピッグモデルは、無麻酔下で経時的CSF採取が可能であり、睡眠などの脳科学研究や化学物質の毒性評価への応用が考えられる。

P-75 *

RccHan：WIST ラットにみられた子宮の部分的形成不全の2例

○下間 由佳子, 武田 周二, 緒方 敬子, 串田 昌彦

住友化学(株) 生物環境科学研究所

【背景】発生異常による子宮の形成不全は複数の動物種で報告されているが、RccHan：WIST ラットにおける報告例は少ない。今回我々はRccHan：WIST ラットの無処置動物において、自然発生性の子宮の部分的形成不全を2例経験したため、その病理学的特徴について報告する。

【症例】2例とも同一生産場から入荷した別ロットのRccHan：WIST ラットであり、解剖時の週齢は9および14週齢であった。いずれの動物も一般状態に異常は認められなかった。剖検において、右側子宮の卵管近位部に無色透明の液を貯留するシストの形成が認められた。シストより尾側の子宮角は正常な子宮構造が確認されず、紐状構造物により子宮頸部と連続していた。なお、左右の卵巣、卵管および腎臓は正常な位置に存在し、著変は認められなかった。組織学的検査において、シストは子宮内膜上皮様の単層立方上皮により内張りされており、内膜が薄く、子宮腺はみられなかった。免疫染色の結果、紐状構造物は α -SMA陽性の平滑筋や結合組織および血管で構成されており、Cytokeratin AE1/AE3陽性の上皮はみられず、子宮内膜構造は認められなかった。

【考察】本病変は、発生過程において片側子宮が正常に形成されず、子宮頸部との交通が途絶され、分泌液が内腔に貯留してシスト状に拡張した可能性が考えられた。本例と同質の子宮病変は、ミューラー管の発生異常による雌生殖器の形成不全として、牛、猫、ヒトなど複数の動物種で報告されている。ラットではACI系やUUA系において、腎臓の形成不全を伴い雌雄生殖器の形成不全が生じることが知られているが、RccHan：WISTにおける報告例はなく、今回の症例はRccHan：WIST ラットでみられた子宮の部分的形成不全の初めての報告である。

P-76 *

若齢雄性SDラットに認められた乳腺腫瘍についての病理組織学的検討

○吉田 翔太, 田中 英樹, 二宮 芙美子, 松原 健嗣, 山本 宏美, 鈴木 智, 森田 文雄, 箱井 加津男

大鵬薬品工業株式会社 研究本部

【背景】ラットにおける自然発生性乳腺腫瘍は、一般に老齢雌性ラットに認められるが、少数ながら若齢雌性ラットでの発生も報告されている。しかしながら、我々の調査範囲では若齢雄性ラットにおける発生の報告はほとんどない。今回、毒性試験の媒体対照群に供された7週齢の雄性SDラットに自然発生性の乳腺腫瘍が認められたため、病理組織学的な検討結果について報告する。

【材料と方法】7週齢の雄性Crl:CD (SD) ラットを剖検し、採材された鼠径部皮膚及び乳腺を10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定後、常法に従ってパラフィン包埋切片を作製した。肉眼的に腫瘍は確認できなかったが、HE染色標本上で、乳腺組織中に約8.5×6.0 mmの腫瘍が認められ、この腫瘍について、特殊染色及び免疫組織化学的染色を実施し、病理組織学的検討を実施した。

【結果】腫瘍の大部分は線維性結合組織に区画された多中心性の増殖巣によって形成されていた。腫瘍と正常な乳腺組織との境界は不明瞭であり、腫瘍と考えられる領域内にも非腫瘍性の乳腺腺房等の既存構造が散見された。腫瘍細胞の増殖巣では、腺腔形成の他、筋上皮細胞様細胞による偽腺腔形成や塊状の増殖が認められた。また、腫瘍中央部において、腫瘍細胞が乳頭状又は腺管状に増殖する領域も認められ、この領域では腫瘍細胞はやや核異型を示し、有糸分裂像も多数認められた。

【考察】7週齢という若齢かつ雄性のラットにおける乳腺腫瘍の発生は非常に稀である。当日は特殊染色や免疫組織化学の結果に加え、本腫瘍の特徴像や組織診断名を踏まえて報告する。

P-77 *

若齢成熟 Wistar ラットで認められた肺転移を伴う皮膚血管肉腫の1例

○鈴木 志野, 高木 理恵, 平井 和也, 平田 淳也, 檜本 幸子, 赤沼 三恵

株式会社クレハ 安全性研究・評価センター

【目的】ラットにおいて血管肉腫の発生は少なく、若齢ラットではごく稀である。さらにラットの皮膚に発生した血管肉腫の報告はない。今回、14週齢の雄性 Wistar ラットに肺への転移を伴う皮膚血管肉腫が認められたので報告する。

【症例】微生物モニタリング動物として飼育されていた14週齢の雄性 Wistar ラットの背部皮膚に腫瘍が認められ、自発運動の低下及び腫瘍からの出血がみられたため、安楽死させた後、剖検した。肉眼所見として背部皮膚に径10 mm大の暗赤色腫瘍がみられ、表面の一部は潰瘍状であった。また、肺の全葉に径5～15 mm大の暗赤色腫瘍が散在して認められた。皮膚及び肺腫瘍からのヘマトキシリン・エオジン染色標本を鏡検したところ、類円形核と、豊富な細胞質を有する紡錘形細胞が赤血球を容れた大小の血管様空隙を形成しながら増殖し、広範囲な壊死が病巣の中央部に存在していた。免疫組織化学染色にて、増殖する紡錘形細胞は von Willebrand factor 及び CD34 に陽性であり、Ki-67 に高い陽性率を示した。

【考察】組織形態的及び免疫組織化学的に血管内皮由来の悪性腫瘍であったことから血管肉腫と診断した。また、腫瘍の大きさや分布から皮膚が原発と判断した。ヒトでも皮膚血管肉腫の発生は稀であり、肺転移する例が多く予後不良である。免疫組織化学的な Ki-67 及び programmed death - ligand 1 (PD-L1) の発現が予後を予測するマーカーとなるとの報告があるため、ヒトと同様に肺転移を示した本例についても現在検討中である。

P-78

老齢 SD ラットの後腹膜に自然発生した脱分化型脂肪肉腫

○内藤 智春^{1,2)}, 齋藤 剛²⁾, 樋口 珠美¹⁾, 猪又 晃¹⁾, 林 大久生²⁾, 山内 敦子¹⁾, 剣持 明¹⁾, 柿沼 千早^{1,2)}, 八尾 隆²⁾¹⁾富士フィルム株式会社 R&D 統括本部 医薬品・ヘルスケア研究所, ²⁾順天堂大学医学部人体病理病態学講座

【背景】げっ歯類(ラット)における自然発生性の脂肪肉腫は非常に稀である。特に、多臓器への転移を伴う悪性脂肪肉腫はこれまで報告されていない。今回我々は、背景データ収集のために長期飼育した Sprague-Dawley (SD) 雄ラットに多臓器転移を伴う悪性度の高い脱分化型脂肪肉腫を認めたため報告する。

【材料と方法】本症例において89週齢より体重減少がみられ、104週齢で自発運動減少及び腹部膨満を呈し瀕死状態に陥ったため、麻酔下で安楽死後に剖検を実施した。摘出した臓器は常法に従い、ホルマリン固定、パラフィン包埋切片を作製し、HE染色、脂肪染色及び各種免疫染色を行い、顕微鏡による検査を実施した。腫瘍組織の一部については戻し電顕による検査を実施した。

【結果】剖検時に、腹腔内全域で大量の脂肪塊かつ血性腹水を伴う腹膜播種像、肝臓の退色及び腎臓に乳白色の腫瘍を認めた。顕微鏡による検査の結果、腫瘍組織は成熟脂肪様の細胞、紡錘形細胞、及び脂肪芽細胞からなる多型性に富む形態を示した。同様の腫瘍細胞は胃、肺及び肝臓において血行性に転移していることが認められた。脂肪染色においては、成熟脂肪様の細胞及び脂肪芽細胞が陽性像を示した他、胃粘膜下層及び成熟脂肪周囲に局在する紡錘形細胞に陽性像を認めた。免疫組織化学的検査の結果、これらの腫瘍細胞は S100 陽性像を示した。以上より、本症例は高分化型細胞、脂肪滴を含有する脂肪芽細胞及び紡錘形細胞が混在する脱分化型脂肪肉腫と診断した。

【結論】本症例においてみられた、多臓器転移を伴う自然発生性の悪性脱分化型脂肪肉腫は、老齢 SD ラット症例としては初の症例報告となる。

P-79

NOG マウスに発生した皮下腫瘍の一症例

○赤根 弘敏, 江田 景, 市川 敦子, 清水 茂一, 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】再生医療等製品の安全性評価試験では、重度免疫不全マウスであるNOGマウス(NOD/Shi-scid, IL-2R γ KO Jic)を使用しているが、自然発生腫瘍の報告例は少ない。今回、無処置雄NOGマウスの大腿部皮下に腫瘍を経験したので、病理組織学的に検討した。

【方法】32週齢時に切迫剖検したNOGマウスの皮下腫瘍について、ホルマリン固定後、HE染色および免疫組織化学染色を施して病理組織学的検査を実施した。

【結果および考察】剖検時、大腿部皮下において直径約5.5 cmの灰白色腫瘍がみられた。その他の全身諸臓器において異常は認められなかった。病理組織学的に、腫瘍は、核異型が強く、細胞質が比較的乏しい腫瘍細胞で構成されていた。これら腫瘍細胞は充実性に増殖しており、大型の淡明な核を有する細胞も散在していた。さらに有糸分裂像を有する細胞も多数みられた。腫瘍の中心部は壊死に陥っており、一部に骨形成もみられた。これらHE染色での所見に加え、さらに、免疫染色による検討を追加して報告する。

P-80

ビーグル犬の舌下腺腺房細胞にみられた硝子滴を伴う水腫変性

○押方 孝文, 満石 三喜男, 浜村 政夫

(株)LSIメディエンス

【諸言】ビーグル犬の舌下腺において、硝子滴を伴う水腫変性が認められたので報告する。

【症例】2週間反復経皮投与毒性試験の対照群として試験に供された雄のビーグル犬で、7か月齢で剖検された。肉眼的には、舌下腺を含めた唾液腺やその他の器官に異常は認められなかった。10%中性緩衝ホルマリンで固定したのち、パラフィン切片を作製し、HE、PAS、Azan染色を実施した。また、電子顕微鏡による検査も実施した。

【結果】HE染色において、舌下腺の漿液腺の腺房細胞に弱好酸性の空胞及び好酸性顆粒がみられ、多くの弱好酸性の空胞内に硝子滴が認められた。好酸性顆粒及び硝子滴は、いずれもPAS染色で陰性、Azan染色で赤色を呈した。電顕的には、それぞれ粗面小胞体内における高電子密度の顆粒及びその凝集物として認められた。弱好酸性の空胞は、PAS染色で陰性を呈し、Azan染色では硝子滴に加え、赤色に染まる粒子状物を含んでいるのが確認された。電顕的には、空胞は拡張した粗面小胞体であり、その中に粒子状物に対応する高電子密度の顆粒が疎に分布していた。

【まとめ】以上の形態的特徴から、ビーグル犬の舌下腺腺房細胞にみられた硝子滴を伴う水腫変性と診断した。なお、本病変でみられた硝子滴、好酸性顆粒及び粒子状物については、粗面小胞体内の合成蛋白の凝集物と考えられた。

P-81

ラットを用いたセルレイン投与による膵外分泌毒性の検討

○田中 英樹, 吉田 翔太, 二宮 芙美子, 藤枝 光博, 松下 宗史, 松原 健嗣, 山本 宏美, 鈴木 智, 森田 文雄, 箱井 加津男

大鵬薬品工業株式会社 研究本部

【目的】薬物誘発性の膵外分泌傷害に遭遇する機会は稀であり, その病理発生及び組織学的変化と膵逸脱酵素変動の関係性については不明な点が多い. 今回, 膵外分泌傷害の初期像及び膵逸脱酵素変動と病理組織学的変化の相関性を検索する目的で, 膵外分泌傷害を誘発するコレシストキニン類似体のセルレインをラットに単回投与し, 以下の検討を行った.

【材料と方法】6週齢の雌性CrI:CD (SD) ラットに, セルレインを0, 10及び50 μ g/kgの用量で単回腹腔内投与後, 4及び24時間にアミラーゼ・リパーゼを含む血液化学的検査, 血液学的検査及び血液凝固検査を実施し, 剖検後, 病理組織学的検査を実施した.

【結果】50 μ g/kg投与群で, 投与後4時間に血中アミラーゼ・リパーゼの高値, 肉眼的に膵臓の水腫, 病理組織学的に膵腺房細胞の空胞変性/単細胞壊死が認められた. 一方, 投与後24時間では, 4時間時点の組織学的変化と同様の変化がみられたが, 膵臓の肉眼的な水腫や逸脱酵素の高値は認められなかった. 現在, 膵臓について, 免疫組織化学的及び透過型電子顕微鏡による検索を実施中であり, その結果も併せて報告する.

P-82 *

自動車排出粒子はリソソームに集積しリゾチームで溶解される

○古賀 のどか, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 横山 聖, 今村 麗, 谷川 千明, 大元 知貴, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一

神院大薬 LCMP

【背景】本研究グループは, 大気中に浮遊する微粒子の生体影響の解明を目的に, 自動車排出粒子 (VEP) の炎症性・毒性に着目した研究を進めている. 一方で, 皮膚炎モデル試験や細胞毒性試験では, VEPの生体影響を担保する実験結果は得られていない. また, 培養細胞を用いた解析では, VEPはリソソームに集積することを見出し, VEPの毒性の程度はリソソーム分解と関連するものと考えられた. そこで本研究は, リソソームによりVEPが溶解されるか否か, および*in vivo*曝露によるVEPの動態と局在について検討した.

【材料・方法】*In vitro*の解析には人鼻腔上皮細胞 (HNEpC) を用いた. *In vivo*の解析にはC57BL/6 マウスを用いた. VEPは国立環境研究所の環境標準物質を用いた. リゾチームは卵白由来のものを用い, 肉眼的観察とFACSによりVEPの溶解性を評価した. VEPの動態と局在は透過型電子顕微鏡 (TEM) で観察した.

【結果】リソソームはpH 5前後の酸性溶液及び複数の分解酵素を含み, 細胞内外成分の溶解により細胞内の恒常性維持に寄与している. HNEpCへVEPを24時間処置すると, VEPはリソソーム内に集積し, その後5日間培養すると消失していた. 試験管内でVEPをリゾチームで処理すると, 黒色VEP分散液が透明になった. 現在, VEPは生体でどのように処理されるかを明らかにするため, *in vivo*曝露によるVEPの影響を解析している.

P-83 *

自動車排出粒子刺激による鼻咽頭関連リンパ組織の免疫応答への影響

○横山 聖, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 今村 麗, 谷川 千明, 大元 知貴, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一

神院大薬LCMP

【背景・目的】大気中の微小粒子状物質は、喘息や気管支炎の原因となることが危惧されている。これら病態の発症には鼻腔免疫との関連が想定されるが、詳細は明らかにされていない。鼻腔免疫は、ヒトの扁桃・アデノイド、げっ歯類の鼻咽頭関連リンパ組織(NALT)がその中心を担い、大気中の微小粒子状物質の刺激もこれらリンパ組織での免疫応答を惹起すると想定される。そこで本研究では、NALTにおける微小粒子状物質の局在や抗体産生について検討した。

【材料・方法】実験動物は、8週齢のNC/Nga雄性マウスを用いた(n = 4)。微小粒子状物質は、環境標準物質の自動車排出粒子(国立環境研究所)をモデル材料として用いた。NALTは、摘出後にAlys培地で24時間培養し解析に用いた。抗体産生は、IgA、IgG、IgE、IgMについてELISA法で測定した。

【結果・考察】NALTへVEPを24時間または48時間処置し、培養上清を回収した。次に、培養上清に含まれる免疫グロブリンの量をELISA法で測定した。培養上清に含まれるIgA量は、無処置が約50 ng/mL、VEP処置は約50 ng/mLであった。IgG量は、無処置が約450 ng/mL、VEP処置は約300 ng/mLであった。IgE量は、無処置が0 ng/mL、VEP処置は0 ng/mLであった。IgM量は、無処置が約30 ng/mL、VEP処置は約30 ng/mLであった。以上より、NALTでの液性免疫の成立において、VEP刺激の関与は低いと考えられた。現在、抗体産生に関する再現性を確認するとともに、NALTにおけるVEPの局在と組織レベルでの影響について検討している。

P-84 *

都市大気粉塵は鼻腔上皮細胞の増殖能を抑制する

○谷川 千明, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 横山 聖, 今村 麗, 大元 知貴, 古賀 のどか, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一

神院大薬LCMP

【背景】大気中の微小粒子は、喘息や鼻アレルギーなどの呼吸器疾患の原因となると考えられている。またこれら疾患の発症には、大気中の微小粒子による上皮細胞障害からはじまる好酸球性炎症が関与すると示唆されている。一方で、大気中の微小粒子による炎症惹起の有無や上皮細胞の役割は未だ解明されていない。そこで本研究は、中国の北京市で採取された都市大気粉塵(UA)をモデル材料に、上皮細胞への影響と炎症惹起との関連をヒトの上皮細胞を用い解析した。

【材料・方法】上皮細胞は鼻腔から採取された初代培養細胞(HNEpC, Takara bio)を用いた。UAは国立環境研究所の環境標準物質を用いた。上皮細胞への影響は、死細胞数の測定と増殖率を指標に評価した。また、UAが細胞内に取込まれるか否かを共焦点走査型顕微鏡で観察した。

【結果】7.4-200 μ g/mLのUAをHNEpCへ処置し24、48時間後の死細胞数を測定した。その結果、UAの処置濃度および処置時間に関わらず、死細胞数の増加は観察されなかった。次に、同様の条件で細胞の増殖率を測定した。その結果、処置濃度の増加に伴い増殖率が低下し、200 μ g/mLのUAを処置した細胞は48時間後においても増殖しなかった。また、UAの細胞内取込みは、処置後24、48時間ともに細胞内での蓄積が観察されている。すなわち、UAの細胞障害性は弱いものの細胞増殖を停止させるような毒性があると考えられた。

P-85 *

成熟マウスにおける自動車排出粒子に対する鼻腔免疫の雌雄での違いに関する検討

○今村 麗, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 横山 聖, 古賀 のどか, 谷川 千明, 大元 知貴, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一

神戸学院大学 薬学部 生体機能制御学研究室

【背景】呼気から取込まれる大気中の微粒子は、上下気道の各部位へと移行する。粒径の小さい微粒子は、下気道の深部へと移行し、鼻アレルギーや喘息を惹起すると考えられている。このような影響は、主に子供への影響が懸念されるものの、成人においても類似のリスクが存在する。そこで本研究は、微粒子の曝露から病態の発症に至る過程において、成熟マウスにおける獲得免疫への影響を雌雄の違いを含めて検討した。なお本解析では、マウスから摘出した鼻腔リンパ組織を実験材料に、国内で採取された自動車排出粒子 (VEP) の影響について検討した。

【材料・方法】 VEPは国立環境研究所の環境標準物質を用いた。マウスは、20週齢のC57BL/6雄マウス及び雌マウスを用いた。マウスから摘出したNALTは、培養液中で2時間培養し、200 µg/mLのVEPを処置した。5日後、培養液中のIgA、IgG、IgE、IgM量をELISA法で測定した。

【結果・考察】 成熟マウスから採取したNALTへVEPを処置し、NALTから産生される免疫グロブリン量を指標に、獲得免疫への影響を検討した。正常状態における雌雄の免疫グロブリン産生の違いはIgMで観察され、IgM量は雄が雌の1.5倍であった。雄におけるVEPの影響は、IgA、IgG、IgMが無処置と比較し20～30%減少し、IgEは1.7倍であった。雌においては、IgEとIgMが無処置と同程で、IgAとIgGが1.4倍と1.2倍に増加した。以上の結果は、成熟したリンパ組織においても自動車排出粒子の刺激が体液性免疫を惹起することを示しており、また雌雄によってVEPに対する免疫応答が異なることが示唆された。

P-86 *

VEPで刺激された鼻腔上皮細胞のリンパ球サブセットへ及ぼす影響

○大元 知貴, 小野寺 章, 屋山 勝俊, 今村 麗, 谷川 千明, 古賀 のどか, 井上 雅己, 角田 慎一, 河合 裕一

神院大薬LCMP

【背景】 IgE非依存的な自然型アレルギーの成立には、IL-33を含めた種々サイトカインの関与が示唆されている。大気中の微小粒子状物質による鼻アレルギーの発症においても、自然型アレルギーとの関連が示唆されており、鼻腔上皮細胞から産生される種々サイトカイン・ケモカインが免疫応答を引き起こすものと考えられる。そこで本研究は、VEP刺激により産生されるHNEpC由来の液性因子がリンパ球サブセットへ与える影響を検討し、微小粒子状物質と鼻腔上皮細胞及び免疫応答との関連を明らかにする。

【材料と方法】 *In-vitro*の解析には正常ヒト鼻腔上皮細胞 (HNEpC)を用いた。*In-vivo*の解析には、7週齢のBALB/cマウスを用いた。VEPは国立環境研究所の環境標準物質を用いた。リンパ球サブセットは、種々処置後のリンパ球を蛍光標識モノクローナル抗体で標識し、フローサイトメーター (FACS)で測定した。

【結果】 VEPをHNEpCへ処置し、48時間後に培養上清 (コンディションドメディウム)を回収した。マウスの脾臓から採取したリンパ球へコンディションドメディウムを24時間処置し、リンパ球サブセットをFACSで評価した。その結果、VEP刺激の有無にかかわらず、B細胞・T細胞・NK細胞の細胞集団の増加は観察されなかった。現在、自動車排出粒子と炎症性物質をHNEpCへ共処置し脾細胞の分化・成熟にどのような影響を及ぼすかを解析している。

P-87 *

免疫制御薬としてのTNFR1選択的アンタゴニストの有効性・安全性の検討
— 一本鎖化技術による構造最適化 —

○大崎 奈都喜¹⁾, 井上 雅己^{1,2)}, 國重 将大¹⁾, 三木 望稔里¹⁾, 小野寺 章¹⁾, 河合 裕一¹⁾, 鎌田 春彦^{2,3)}, 堤 康央³⁾, 角田 慎一^{1,2)}

¹⁾神戸学院大・薬・生体機能制御学, ²⁾医薬健栄研, ³⁾阪大院・薬

【背景・目的】TNFは種々の自己免疫疾患の病態形成に関わっており、その作用は主に1型TNF受容体(TNFR1)を介するシグナルによる。一方、2型TNF受容体(TNFR2)のシグナルは病態の抑制に寄与することが示唆されており、TNFR2シグナルに着目した創薬が期待されている。本観点から我々は、有効性・安全性に優れた新規モダリティのTNF制御薬の開発を目指し、TNFR1選択的アンタゴニストとして機能するTNF変異体タンパク質(R1antTNF)を創製し、関節リウマチモデルマウス等での効果を明らかにしてきた。しかし、R1antTNFは抗体医薬品に比べて生体内での安定性に乏しいことから、有効性のさらなる向上には分子構造の安定化が必要と考えられた。そこで本発表では、R1antTNFの構造最適化のため、ホモ3量体構造を一本鎖化したR1antTNF(scR1antTNF)を創製し、特性評価を試みたので報告する。

【方法】scR1antTNFは、ペプチドリンカーによって3つのR1antTNF単量体が直鎖状に連結するようにcDNAを設計した。哺乳類細胞発現系で作製し、TNF受容体への結合親和性、生物活性、熱安定性測定等を*in vitro*で評価した。

【結果・考察】scR1antTNFの*in vitro*特性評価の結果、従来型のR1antTNFと同等のTNFR1選択結合活性、アンタゴニスト活性を保持しつつ、熱安定性が向上していた。これは、ペプチドリンカーがR1antTNFとTNFR1との結合に干渉しないこと、また、単量体間の分子内相互作用が強化されたことによると考えられた。以上、R1antTNFの3量体構造を融合し一本鎖化する構造安定化技術は、TNFR1アンタゴニストの有効性向上に有用と考えられた。

P-88 *

免疫制御薬としてのTNFR1選択的アンタゴニストの有効性・安全性の検討
— 部位特異的PEG修飾による構造最適化 —

○國重 将大¹⁾, 井上 雅己^{1,2)}, 大崎 奈都喜¹⁾, 三木 望稔里¹⁾, 小野寺 章¹⁾, 河合 裕一¹⁾, 鎌田 春彦^{2,3)}, 堤 康央³⁾, 角田 慎一^{1,2)}

¹⁾神戸学院大・薬・生体機能制御学, ²⁾医薬健栄研, ³⁾阪大院・薬

【背景・目的】我々は、有効性・安全性に優れた新規モダリティの抗TNF薬として、TNFR1選択的アンタゴニストとして機能するTNF変異体タンパク質(R1antTNF)の開発を推進している。これまでに、関節リウマチモデルマウス等の自己免疫疾患モデルマウスで有用性を明らかにしてきたが、抗体医薬品に比べ、血中半減期の短さが課題であった。そこで現在、R1antTNFの血中半減期延長を目的に、3量体構造を連結した一本鎖化R1antTNF(scR1antTNF)及びポリエチレングリコール(PEG)修飾体の創製を試みている。本発表では、PEG化scR1antTNFの特性評価を行ったので報告する。

【方法】修飾のためのPEGには分岐型(20kDa×2)のNHS活性化PEGを使用した。PEGとscR1antTNFを複数の条件で反応させ、GPC分析を行うとともにアンタゴニスト活性を測定し、最適な修飾条件を探った。さらに、マウスに投与した際の薬物動態を調べた。

【結果・考察】従来の3量体型のR1antTNFは、NHS活性化PEGの反応によって複数箇所PEG修飾されるのに対し、scR1antTNFの修飾部位は一箇所であることから、単一組成のPEG修飾体を効率的に得ることができた。また、バイオアッセイの結果、PEG-scR1antTNFは、未修飾体と同等のアンタゴニスト活性を示した。さらに、PEG-scR1antTNFの血中半減期は未修飾体に比べて大きく延長した。以上の結果より、R1antTNFの一本鎖化によって可能となった、部位特異的PEG修飾が有効性・安全性の向上のための最適化法として有用であると考えられた。

P-89 *

制御性T細胞の機能制御分子としてのTNFR2の有用性評価

○三木 望稔¹⁾, 井上 雅己^{1,2)}, 大崎 奈都喜¹⁾, 國重 将大¹⁾, 小野寺 章¹⁾, 河合 裕一¹⁾, 安藤 大介^{2,3)}, 鎌田 春彦^{2,3)}, 堤 康央³⁾, 角田 慎一^{1,2)}

¹⁾神戸学院大・薬・生体機能制御学, ²⁾医薬健栄研, ³⁾阪大院・薬

【背景・目的】制御性T細胞(Treg)は免疫抑制機能を有するリンパ球であり、免疫応答を調節する役割を担っている。一方で、Tregの機能の過不足は病態形成に関わっており、例えば、がんにおいてはTregの機能が亢進し、がんの免疫逃避に関与していると考えられている。従って、がんや免疫疾患の新規創薬標的として、Tregの選択的な機能制御分子の探索が期待される。本観点から我々のグループでは、Treg制御分子として、2型TNF受容体(TNFR2)の可能性について検討を行っており、本発表ではTregにおけるTNFR2の発現特異性や機能を検討したので報告する。

【方法】マウス脾臓等からリンパ球を調製し、CD4+CD25+ T細胞をTreg、CD4+CD25- T細胞をTconvとして解析を行った。Treg/Tconvにおけるサイトカイン受容体等の発現プロファイルはフローサイトメトリーにより解析した。また、Treg機能へのTNFR2シグナルの関与を調べるため、細胞増殖アッセイを行い、TNFR2を刺激した場合のTregの増殖性の変化を測定した。

【結果・考察】発現プロファイル解析の結果から、TNFR2はTconvでの発現率が低いのに対し、Tregでは高発現していることが判明した。また、細胞増殖アッセイにおいて、TCR単独刺激に比べ、TCR/TNFR2の共刺激によりTregの細胞分裂が亢進したことから、TNFR2はTregの増殖促進に関与することが明らかとなった。以上の結果より、TNFR2は、Tregの機能に関与しており、Tregの機能制御のための標的となりうることを示された。

P-90

Desmoglein-3 を標的分子とした ADCC 抗体のマウスにおける抗原発現と発現臓器の生理学的特性による毒性反応の相違

○藤井 悦子^{1,2)}, 谷口 健治²⁾, 加藤 淳彦²⁾, 鈴木 雅実^{1,2)}

¹⁾(株)未来創薬研究所, ²⁾中外製薬(株)研究本部

【背景】Desmoglein-3 (DSG3)は種々の器官・組織の扁平上皮癌に対する細胞障害性抗体医薬の標的抗原として有望であると考えられる。しかし、同抗原は様々な正常組織の扁平上皮にも発現しており、抗体投与の影響を受ける可能性が考えられる。

【目的】DSG3の組織分布とマウスにおける抗DSG3抗体投与毒性試験の情報を組み合わせることで毒性発現の可能性を精度高く評価することを目的として検討を行った。

【材料と方法】BALB/cAnNCrCrIjマウスの膣、皮膚、舌、胃、回腸、結腸、食道、眼球、肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓組織を用い、免疫組織化学的解析により抗原分布を評価した。さらに、同マウスを用いて抗DSG3抗体を0、10、50 mg/kg (n=5)の用量で週に1回投与し、3回投与後3日で剖検を実施し、扁平上皮を含む臓器を中心に、全身の諸臓器・組織を病理組織学的に評価した。同様に、卵巣摘出(OVX)動物でも膣における抗原分布解析と抗体投与試験を実施した。

【結果】DSG3は皮膚、食道、舌、前胃、眼球、膣の扁平上皮に発現していることが明らかとなった。膣ではすべての性周期で発現がみられ、周期によって発現パターンが異なっており、卵巣摘出(OVX)動物では発現が低下していた。抗体投与試験では、様々な臓器で発現しているにもかかわらず膣でのみ変化がみられた。これらの結果から、膣の変化は性周期に応じた組織構築の変動に関連していると考えられた。OVX動物では性周期の停止とDSG3の発現低下に伴い、組織変化は低減した。

【結論】以上より、抗体の特徴と抗原の発現量・分布によって毒性発現予測が可能であるが、生理的に組織構築ならびに抗原発現が変化する臓器については注意深く解析する必要があることが示された。

P-91

The Role of the Toxicologic Pathologist in Drug Discovery and Development

○ Shirai Norimitsu¹⁾, Tomlinson Lindsay²⁾¹⁾Pfizer Drug Safety R & D, Pathology, Groton, CT, USA, ²⁾Pfizer Drug Safety R & D, Pathology, Cambridge, MA, USA

Aim: The drug discovery and development process encompasses target identification, synthesis of new chemical or biological entities to interact with the target chosen, preclinical and clinical evaluations for efficacy and safety, and approval and registration. We will focus on the unique skill set of toxicologic pathologists, who have a strong understanding of normal and abnormal tissue morphology, and various toxicity or disease processes. We will also discuss their roles in the biopharmaceutical industry in order to highlight career development opportunities and institutional benefits.

Conclusion: Toxicologic pathologists can contribute widely including, but not limited to the following roles: engagement in target selection; evaluation of animal models, efficacy in animal models of human disease, and tissue cross reactivity; interpretation of anatomic and clinical pathology data from toxicity studies; pathology peer review; due diligence for licensing activities; design, management, and reporting of investigative and regulatory nonclinical studies; and representation of drug safety research and development (R&D) on multidisciplinary drug development teams at all levels from early discovery through late stage development. This poster outlines the perspectives of toxicologic pathologists and the benefit of their input in the development of therapies including integrating findings in efficacy and toxicity studies and translating findings to clinical studies.

P-92

FDA SEND への対応 —パソロジストが心得るべき FDA SEND その3—

○ 畠山 洋文¹⁾, 堀川 真一¹⁾, 桜井 淳一¹⁾, 小泉 治子¹⁾, 下井 昭仁¹⁾, 佐藤 伸一¹⁾, 岩田 聖²⁾, 安齋 享征³⁾¹⁾(株)イナリサーチ, ²⁾ルナパス毒性病理研究所, ³⁾昭和大学医学部

米国FDAへのSEND (Standard for Exchange of Nonclinical Data) フォーマットでの電子データ審査・申請の義務化が開始され約1年が経過した。また、昨今CDISC (Clinical Data Interchange Standards Consortium) により作成されSENDのデータセットの交換・提出方法を解説した現行のSEND Implementation Guide (SENDIG) Version 3.0からVersion 3.1への移行時期が決定した。我々は第32回の本学会より継続してSENDに関して発表してきたが、今回、新バージョンSENDIG 3.1と現行のSENDIG 3.0との病理組織検査に関わる変更点およびSEND統制用語であるControlled Terminology (CT) とINHANDをパソロジストの立場から比較検討した。SENDIG 3.1では、病理組織所見に関するMIドメインに、FOCID (Focus of Study-Specific Interest), MICHRON (Chronicity of Finding), MIDISTR (Distribution Pattern of Finding) の新たに3つの変数が追加されたため、所見マッピングの際に留意が必要である。CTはこの1年間で臓器名を示すCodelistが“Specimen”及び腫瘍性所見を示す“Neoplasm”はそれぞれ486語と301語と変動が無いのに対し、非腫瘍性所見を示す“Non-neoplastic”は約1.3倍の179語まで増加した。しかし、INHANDの用語数には満たないため今後の充実化が期待されている。また、SENDデータセットを適切に完成させるためには、たとえSENDIGやCTに変遷があったとしても、毒性試験で最終化された所見(総括表)とMIドメインのSTRESC変数とを一致させることが重要である。SENDを取り巻く環境が刻々と移り変わる中で、TCG (Study Data Technical Conformance Guide) の的確な理解や最新情報を入手し続け、所見入力段階からSENDを意識した病理検査の実施により、SENDデータセットのスムーズな作成が今求められている。

P-93

病理ピアレビューと病理報告書についての一考察

○岩田 聖¹⁾, 安齋 享征²⁾, 大石 裕司³⁾

¹⁾ルナパス合同会社 毒性病理研究所, ²⁾昭和大学医学部, ³⁾大阪市立大学

【背景】INHANDやSEND Controlled Terminologyなど毒性病理用語の標準化が叫ばれている。しかし用語を統一しても鏡検者Study Pathologistによる所見入力が適切でないという意味がない。そこで組織所見の定性的品質保証法としてGLP試験では病理ピアレビューが推奨される。更に、鏡検者が作成する病理報告書についても生データとして重要である。

【方法】病理ピアレビューに関するSTP学会(連合)の推薦案, OECDガイダンスや同追補などの公的見解や文献から, 病理ピアレビューや病理報告書について一考した。

【結論】1: OECDガイダンスでは, 病理ピアレビューは慢性/発癌試験の中に記載されている。一方, STP学会の推薦案にはさらに一般毒性試験や非げっ歯類試験でのピアレビュー方法についても解説があり, 病理ピアレビューは慢性/発癌試験に限らず広くGLP試験では実施すべきであると考えられた。2: 病理ピアレビューでは, 被験物質の有害性(Adversity)所見が正しく記録されているかがピアレビューアーPeer Review Pathologistによって確認されることが大切で, 鏡検者との意見一致を表明した同意書として記録される。3: 自然発生性病変を含むその他の病変についても両者の見解に大きな差はないことも記載しておくべきである。事前ピアレビューでは, 個々の所見変遷の記録は必ずしも必要とされないと考えられる。4: ピアレビューアーは, 同意された所見が最終所見として報告書に反映されることを確認すべきである。5: ピアレビューアーは被験物質による有害病変が, 病理報告書に適切に説明されているかを確認すべきである。また, この病理報告書は生データとして保管されるべきである。

P-94

多層カーボンナノチューブの経気管反復投与によりラット肺に誘発された増殖性病変の免疫組織学的解析

○坂本 義光¹⁾, 北條 幹¹⁾, 鈴木 俊也¹⁾, 猪又 明子¹⁾, 広瀬 明彦²⁾, 中江 大³⁾

¹⁾東京都健康安全センター 生体影響研究科, ²⁾国立衛研 総合評価研, ³⁾東京農業大 応用生物科学部

【背景・目的】多層カーボンナノチューブ(MWCNT)は, 齧歯類に腹膜中皮腫または肺癌を誘発することから, その社会的認容を得るために詳細なリスク評価が求められている。本研究は, ラットを用いた経気管反復投与実験のMWCNT投与群の肺に観察された, 組織学的性状を異にする2種類の増殖性病変について, 免疫組織学的に解析した。

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

【結果・考察】被験物質投与に関連した中途死亡・瀕死や, 臨床症状または体重及び肺重量の変化はなかった。被験物質投与群の肺では, MWCNT繊維沈着に関連した肺胞の軽度な炎症性変化や線維の増生に加え, 組織学的性状が異なる2種類の増殖性病変が, いずれも用量依存性に誘発された。一方の病変は, 扁平~多形な細胞が一層または多層に配列し, 部分的に小集塊状の増生を伴う組織像から, 早期の扁平上皮化生と診断した。本病変は, メソテリン・サイトケラチンAE1 / AE3に加え, ラット肺扁平上皮癌前がん病変のバイオマーカーであるGST-Pが陽性で, しかもPCNA染色にて高い細胞増殖活性を示したことから, 扁平上皮癌の前がん病変であるものと示唆された。他方の病変は, 組織学的にMWCNT貪食マクロファージが集簇する肺胞のII型上皮の過形成であり, 上記のいずれの蛋白も発現していなかった。こちらの病変は, 反応性過形成と診断した。

P-95 *

Comparative Pulmonary toxicity of DWCNT and MWCNT-7 in Rats

- Ahmed M. El-Gazzar^{1,2,7)}, Mohamed Abdelgied^{1,2,8)}, David B. Alexander¹⁾, William T. Alexander¹⁾, Takamasa Numano¹⁾, Masaaki Iigo¹⁾, Aya Naiki²⁾, Hirotsugu Takase³⁾, Akihiko Hirose⁴⁾, Yuhji Taquahashi⁵⁾, Jun Kannno⁶⁾, Satoru Takahashi²⁾, Ashraf Mohamed Nazem⁹⁾, Osama Saeid Elokke⁷⁾, Hiroyuki Tsuda¹⁾

¹⁾ Nanotoxicology Project, Nagoya City University, Nagoya, Japan.,

²⁾ Dept Exp Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Grad School Med Sciences, Nagoya, Japan.,

³⁾ Nagoya City University Graduate School Med Sciences, Nagoya, Japan.,

⁴⁾ Div Risk Assessment, NIH, Tokyo, Japan.,

⁵⁾ Div Cellular and Molecular Toxicology, NIH, Tokyo, Japan.,

⁶⁾ Japan Industrial Safety and Health Association, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan.,

⁷⁾ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.,

⁸⁾ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Beni Suef University, Beni Suef, Egypt.,

⁹⁾ Dept Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.

The toxicity of double-walled carbon nanotubes (DWCNTs) is mostly uncharacterized. It is theorized that because DWCNTs are less rigid than multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs), DWCNTs may be less toxic than MWCNTs. In the present study, we compared the pulmonary toxicity of DWCNT to MWCNT-7. Rats were divided into 6 groups: untreated, vehicle, low dose DWCNT, high dose DWCNT, low dose MWCNT-7, and high dose MWCNT-7. The test materials were administered by trans-tracheal intrapulmonary spraying (TIPS) every other day for 15 days: the low dose and high dose groups were administered final total doses of 0.250 and 0.500 mg/rat, respectively, of the test materials. The animals were sacrificed 1 and 6 weeks after the final TIPS administration. Bronchioalveolar lavage (BALF), pleural cavity lavage (PL), and lung tissue were collected to assess pulmonary damage. The results showed that DWCNT exposure has no significant effect on LDH activity, ALP activity, or protein concentration in the BALF or LDH activity or protein concentration in the PL supernatant at 6 weeks after the final TIPS administration. In contrast, at 6 weeks MWCNT-7 administration resulted in significant elevation of LDH activity, ALP activity, and protein concentration in the BALF and a small increase in protein concentration in the PL supernatant. In conclusion, our data indicate that MWCNT-7 has higher pulmonary toxicity than DWCNT, and suggest that MWCNT-7 may have higher carcinogenic potential than DWCNT.

P-96

消化管粘膜修復過程における幹細胞、増殖細胞、分化細胞の動態 —胃潰瘍および大腸潰瘍モデルの比較—

- 平田 暁大¹⁾, 並木 健吾²⁾, 村井 厚子²⁾, 富田 弘之³⁾, 原 明³⁾, 酒井 洋樹⁴⁾, 柳井 徳磨⁴⁾

¹⁾ 岐阜大学 動物実験分野, ²⁾ 小野薬品工業株式会社, ³⁾ 岐阜大学大学院 腫瘍病理学分野, ⁴⁾ 岐阜大学 獣医病理学研究室

【背景・目的】胃および大腸上皮細胞は、腺管・陰窩単位で細胞の増殖と分化が制御されており、単一の腺管・陰窩内に上皮幹細胞、増殖細胞および分化細胞を含んでいる。我々は、マウスの胃および大腸に誘発された潰瘍の修復過程を組織学的に解析し、再生粘膜組織内での未分化細胞および分化細胞の動態に共通点を見出したので報告する。

【方法】消化管上皮幹細胞である *Lgr5* 発現細胞を GFP で標識できる *Lgr5-GFP* ノックインマウスを使用した。胃潰瘍モデルでは、0.3 M 塩酸-60% エタノール溶液を 0.2 ml 胃内投与した。大腸潰瘍モデルでは、2% デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 水溶液を 5 から 7 日間飲水投与した。消化管潰瘍誘発後、マウスを経時的に剖検し、採取した胃を組織学および免疫組織学的に解析した。

【結果】胃および大腸いずれにおいても、はじめに潰瘍部表面を覆うように一層の上皮細胞が伸長し、その後、潰瘍部近傍において、残存する胃腺管・大腸陰窩の底部が分岐し、複数の再生腺管・陰窩が生じ、潰瘍部に向かって伸長した。再生胃腺管 (幽門腺)・再生大腸陰窩において、伸長途中の段階から *Lgr5* 発現細胞、増殖細胞、分化細胞が認められ、その配置も正常な胃腺管・大腸陰窩と一致していた。

【考察】潰瘍修復過程は、胃と大腸で類似しており、分岐により生じた複数の再生腺管・陰窩がそれぞれ独立した腺管・陰窩へと成長していく段階で、既に幹細胞、増殖細胞、分化細胞に階層化されていることが明らかとなった。

P-97 *

異なる挙動を示す Furan 及び DEN 誘発 GST-P 陽性細胞巢の網羅的遺伝子発現解析

○高須 伸二¹⁾, 石井 雄二¹⁾, 木島 綾希¹⁾, 小川 久美子¹⁾, 梅村 隆志^{1,2)}¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部, ²⁾ヤマザキ学園大学 動物看護学部

我々はこれまでに、GST-P 陽性細胞巢の生物学的特徴を明らかにする目的で、肝発がん物質を投与したラットに一定の休薬期間を設け、その動態を検討してきた。その結果、diethylnitrosamine (DEN) 誘発 GST-P 陽性細胞巢は休薬後にも増加する一方、furan 誘発では休薬後に減少し、なかでも大型の GST-P 陽性細胞巢が減少していることを報告した。そこで、本研究では furan 誘発と DEN 誘発の GST-P 陽性細胞巢の休薬後の異なる挙動に寄与した遺伝子群の探索を目的に、それぞれの GST-P 陽性巢について網羅的遺伝子解析を行い、比較した。6 週齢の雄性 F344 ラットに furan を 8 mg/kg 体重/日の用量で 1 日 1 回、週 5 日間の頻度で 13 週間強制経口投与、あるいは DEN を 10 ppm の濃度で 13 週間飲水投与した。投与終了後、肝臓を摘出し GST-P 陽性細胞巢並びに GST-P 陰性領域をレーザーマイクロダイセクション法にて採取し、網羅的遺伝子発現解析を実施した。その結果、Gstp1 の発現上昇は furan 並びに DEN 誘発 GST-P 陽性細胞巢に共通しており、試料採取方法の妥当性を確認した。また、DEN 誘発 GST-P 陽性細胞巢では Mors2 や Cdh23、Secisbp21 等の発現上昇が、furan 誘発 GST-P 陽性細胞巢では Col1a1 や Sox9、Fbln1 等の発現上昇が認められた。以上より、furan 誘発と DEN 誘発の GST-P 陽性細胞巢には異なる遺伝子発現を示す細胞群が存在することが示され、これら分子の中に GST-P 陽性細胞巢の異なる挙動を規定している分子が含まれている可能性が考えられた。

P-98 *

Potassium octatitanate fiber ($K_2O \cdot 8TiO_2$) fiber is a potent inducer of lung and pleural injury in male Fischer 344 rats: A comparative study of titanium dioxide nano particles○Mohamed Abdelgied^{1,2,3)}, Ahmed M. El-Gazzar^{1,2,4)}, David B. Alexander¹⁾, William T. Alexander¹⁾, Takamasa Numano¹⁾, Masaaki Iigo¹⁾, Aya Naiki²⁾, Hirotsugu Takase⁵⁾, Khaled Abbas Abdou³⁾, Akihiko Hirose⁶⁾, Yuhji Taquahashi⁷⁾, Jun Kannno⁸⁾, Satoru Takahashi²⁾, Hiroyuki Tsuda¹⁾¹⁾Nano toxicology Project, Nagoya City University, Nagoya, Japan.,²⁾Dept Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan.,³⁾Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Beni Suef University, Beni-Suef, Egypt.,⁴⁾Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.,⁵⁾Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan.,⁶⁾Div Risk Assessment, NIH, Tokyo, Japan.,⁷⁾Div Cellular and Molecular Toxicology, NIH, Tokyo, Japan.,⁸⁾Japan Industrial Safety and Health Association, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan.

Potassium octatitanate fibers ($K_2O \cdot 8TiO_2$, POT fibers) are widely used as an alternative to asbestos. We investigated the pulmonary and pleural toxicity of POT fibers with reference to 2 non-fibrous titanium dioxide nanoparticles (nTiO₂), photo-reactive anatase (a-nTiO₂) and inert rutile (r-nTiO₂). Male F344 rats were administered 1 mg POT fibers, a-nTiO₂, or r-nTiO₂ over a 2 week period by trans-tracheal intrapulmonary spraying (TIPS) and killed 6 hours and 4 weeks after the last TIPS administration. A significant increase in the number of alveolar macrophages was observed in all three treatment groups at 6 hr and 4 wk. At week 4: a-nTiO₂, and r-nTiO₂ were largely cleared from the lung, but a large fraction of POT fibers persisted. In the BALF, ALP activity was elevated in all three treatment groups, and LDH activity was elevated in the a-nTiO₂ and POT groups. In the lung tissue, the oxidative stress index and the PCNA index were elevated in the a-nTiO₂ and POT groups, and there CCL2 mRNA and protein was elevated in the POT group. All three test materials were also observed in the pleural cell pellet, and in the pleural lavage, total protein was elevated in all three treatment groups, and LDH activity was elevated in the a-nTiO₂ and POT groups. In addition, the PCNA index of the visceral mesothelium was increased in the POT group. Overall, POT fibers had greater biopersistence, induced higher expression of CCL2, and provoked a larger tissue response than a-nTiO₂ or r-nTiO₂.

The 34th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

Theme	Bridging Basic Research and Clinical Practice for a Safer Life
President	Naoki Yoshimi (Department of Pathology & Oncology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus)
Period	January 25th (Thu.) and 26th (Fri.), 2018
Venue	Okinawa Kariyushi Urban Resort Naha 3-25-1 Maejima, Naha, Okinawa, Japan
Program Committee	Chair: Hideki Wanibuchi (Osaka City University Graduate School of Medicine) Members: Atsuhiko Kato (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.) Masahiko Kushida (Sumitomo Chemical Co., Ltd.) Mitsuru Kuwamura (Osaka Prefecture University) Masumi Suzui (Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences) Satoru Takahashi (Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences) Tetsuya Tsukamoto (Fujita Health University) Kimiaki Hirakawa (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.) Katsuhiko Yoshizawa (Mukogawa Women's University) Midori Yoshida (Food Safety Commission of Japan, Cabinet Office)
Office	Department of Pathology & Oncology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus 207 Uehara, Nishihara, Okinawa 903-0215, Japan
Congress Secretariat	Office for the 34th Annual Meeting of JSTP Okinawa Congress Corporation Nippon Seimei Naha Bldg., 3-1-1 Kumoji, Naha, Okinawa, 900-0015, Japan Phone: +81-98-869-4220 FAX: +81-98-869-4252 Email: 34jstp@okicongre.jp
Website	http://www.okinawa-congre.co.jp/34jstp/

Table of Contents

Greetings	121
Access to the venue	122
Venue Floor Plans	124
General Information	125
To Presenters	128
Timetable	131
Program	134
Abstracts	
Special Lecture	155
Symposium	157
Panel Discussion	165
Workshop	169
Oral Presentation	175
Poster Presentation	180
Author's Index.....	229

Greetings

The 34th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology (JSTP) will be held at Okinawa Kariyushi Urban Resort Naha on January 25th (Thu) and 26th (Fri) (including the 30th slide conference for histopathology on January 24th (Wed)), 2018, in Naha city, Okinawa.

It is a great honor for me to serve as president of this coming congress in Okinawa, following my predecessors, namely my mentor Dr. Hideki Mori (16th meeting in Gifu), Dr. Takuji Tanaka (26th meeting in Kanazawa), and Dr. Akiyoshi Nishikawa (28th meeting in Tokyo). Since coming to Okinawa to take up my new post 16 years ago, I have been working to overcome the shortage of pathologists in Okinawa Prefecture, including the Sakishima Islands, with a focus on basic research into toxicologic pathology and pathological diagnosis. Through such activities, I have strongly felt the importance of basic research, and so I decided on “Bridging from Basic Medicine to Clinical Medicine for a Safer Life” as the main theme for this meeting.

Our research into toxicologic pathology can be described as a branch of the life sciences that pursues the truth in a wide variety of changes caused at the cellular and tissue levels by agrochemicals, pharmaceuticals, and other chemical substances, as well as herbs and foods, using morphological approaches, including advanced molecular biology. I believe the ultimate goal is to ensure people’s safety. Engaging in medical care services, we unavoidably use chemical substances and other approaches that entail certain risks, and I believe that achievements in basic research cannot be applied or extended to clinical medicine without the efforts of the members of our Society to ensure safety. Accordingly, I hope that the research achievements published at this congress will contribute to medical care services and society at large by “Bridging from Basic Medicine to Clinical Medicine.”

In January, Okinawa is not as warm as in the rest of the year. Unlike on the Japanese mainland, however, you will not need to wear an overcoat when attending the congress. The venue, Okinawa Kariyushi Urban Resort Naha, is close to the pier for ferries going to isolated islands as well as many whale-watching boats, which will be active during the congress period. Accessible in 15 minutes by car from Naha Airport and just 15 minutes on foot from Kokusaidori Street, the venue is ideal for enjoying the splendid sunset over the East China Sea. Okinawa in January is much warmer than the mainland, and you will surely enjoy the many sights and awamori, a distilled alcoholic beverage unique to Okinawa.

I hope many members of our Society will be keen to present the achievements of their work at the congress and take the opportunity to exchange opinions with other researchers. The Program Committee has planned to hold 2 special invited lectures, 8 topics in two symposiums, 4 topics in panel discussion and 5 topics in workshop, ranging from the basics of toxicologic pathology to the latest topics. The Program Committee and Congress Secretariat members will do their best to make the congress rewarding for all participants.

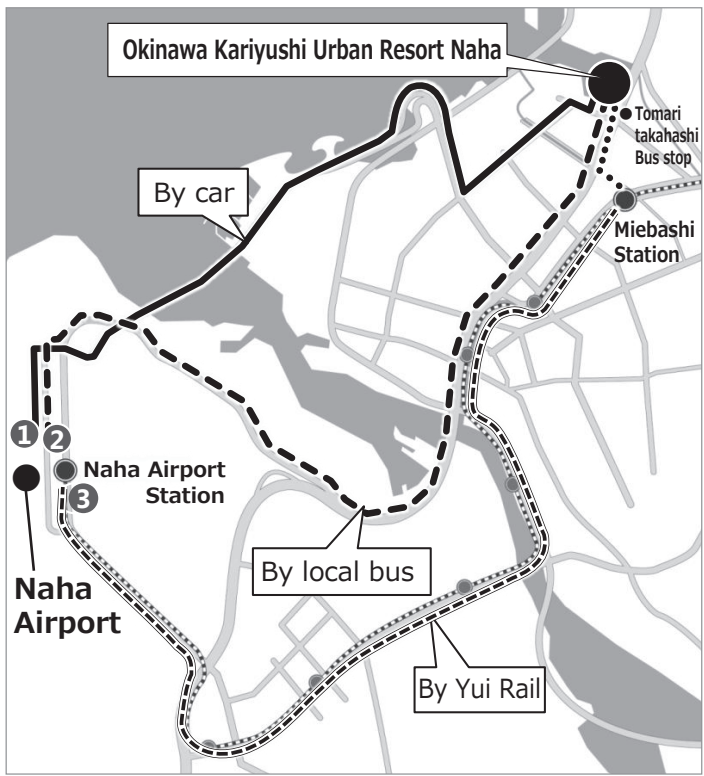
I look forward to seeing you in Okinawa with its blue sea and sky.

Naoki Yoshimi, M.D., Ph.D.

President, The 34th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

(Department of Pathology & Oncology, Graduate School of Medicine,
University of the Ryukyus)

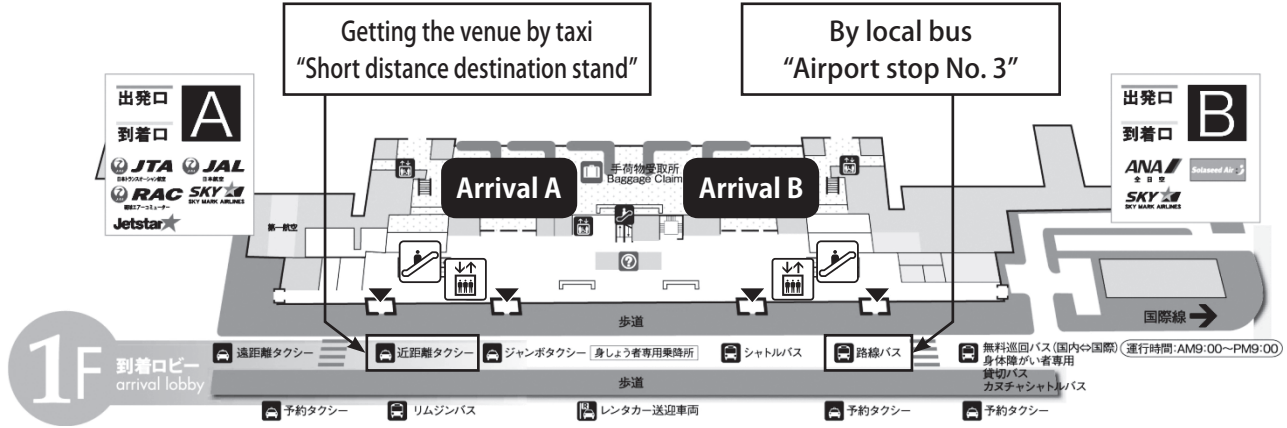
Access to the venue



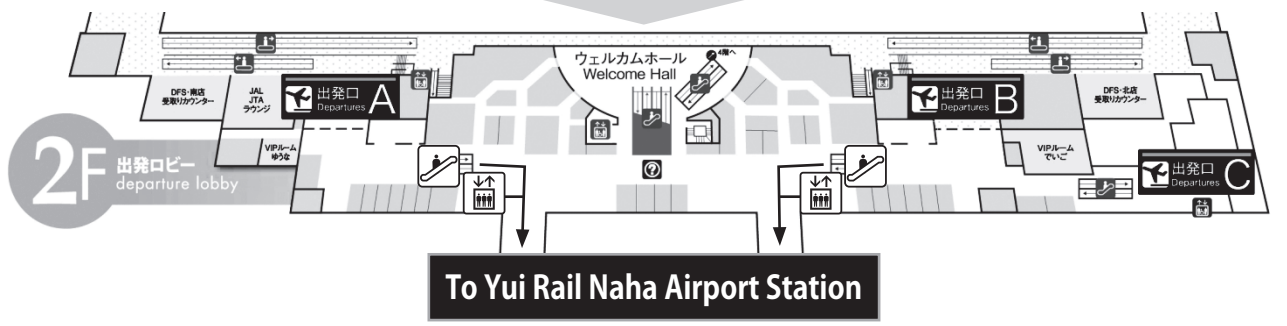
Access routes

- ① By car (taxi, rented car) ———
- ② By local bus - - - - -
- ③ By Yui Rail + Walk

Naha Airport Map



To get the Monorail (Yui Rail) station, use the elevator or escalator to the second floor



Getting the venue by taxi

Route: Naha Airport – Umisora Tunnel -Kumoji intersection -
Okinawa Kariyushi Urban Resort Naha
(within the Tomarin Port building)

Time required: Approx. 10 minutes

Fare: In the case of a taxi, approx. 1,250 yen.



Taxi stands are located to the right when coming out of the airport terminal. The taxi stands are divided into "Long distance taxi stand" and "Short distance taxi stand," so please take a taxi from "short distance taxi stand."

Getting the venue by a rented car

Umisora tunnel route from Naha Airport: Approx. 10 minutes (4.9km) taking the same route as the taxi route described above.

The entrance of Okinawa Kariyushi Urban Resort Naha is located at the backside (the north side) of the Tomarin Port building if driving from the airport to the north on Route 58

* Bellboys at the hotel entrance will guide you to the parking space.

Please park your car after unloading luggage from the car.

* "Tomarin Annex Parking Garage" is available for free.

Please bring a parking ticket to the Reception on the ground floor of Okinawa Kariyushi Urban Resort Naha.

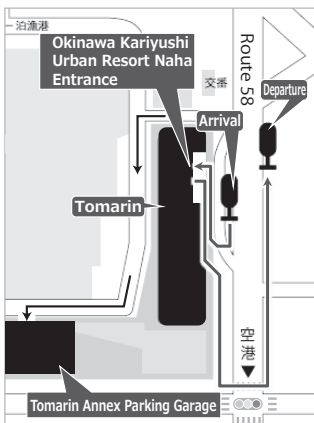
■ Notice about the bus lane regulation on Route 58

On weekdays (Monday-Friday), the bus lane on Route 58 in front of the hotel operates during the following time zones.

The first lane (left lane) becomes a bus-only lane. Please pay careful attention to this if you drive from the airport direction to the hotel, particularly during the evening time,

- 7:30 AM ~ 9:30 AM (Southwards upbound: Ameku, Naha City → Kumoji, Naha City)
- 5:30 PM ~ 7:30 PM (Northwards downbound: Asahibashi, Naha City → Ameku, Naha City)

Getting the venue by local bus



Route No.: No. 99 Ameku Shintoshin Route

Time required: [Weekday] Approx. 20-30 minutes

[Weekend and national holidays] Approx. 20 minutes

Stops: [Getting on] "Airport stop No. 3" at the domestic flight passenger terminal building

[Getting off] Tomaritakahashi stop –
Approx. 1 minute walk

Fare: 230 yen

Getting the venue by Monorail (Yui Rail)

Time required: Approx. 25 minutes in total

[Monorail] Approx. 14 minutes

[Walk] Approx. 10 minutes (Miebashi Station venue)

Route: [Monorail] Get on at Naha Airport Station –

Get off at Miebashi Station –

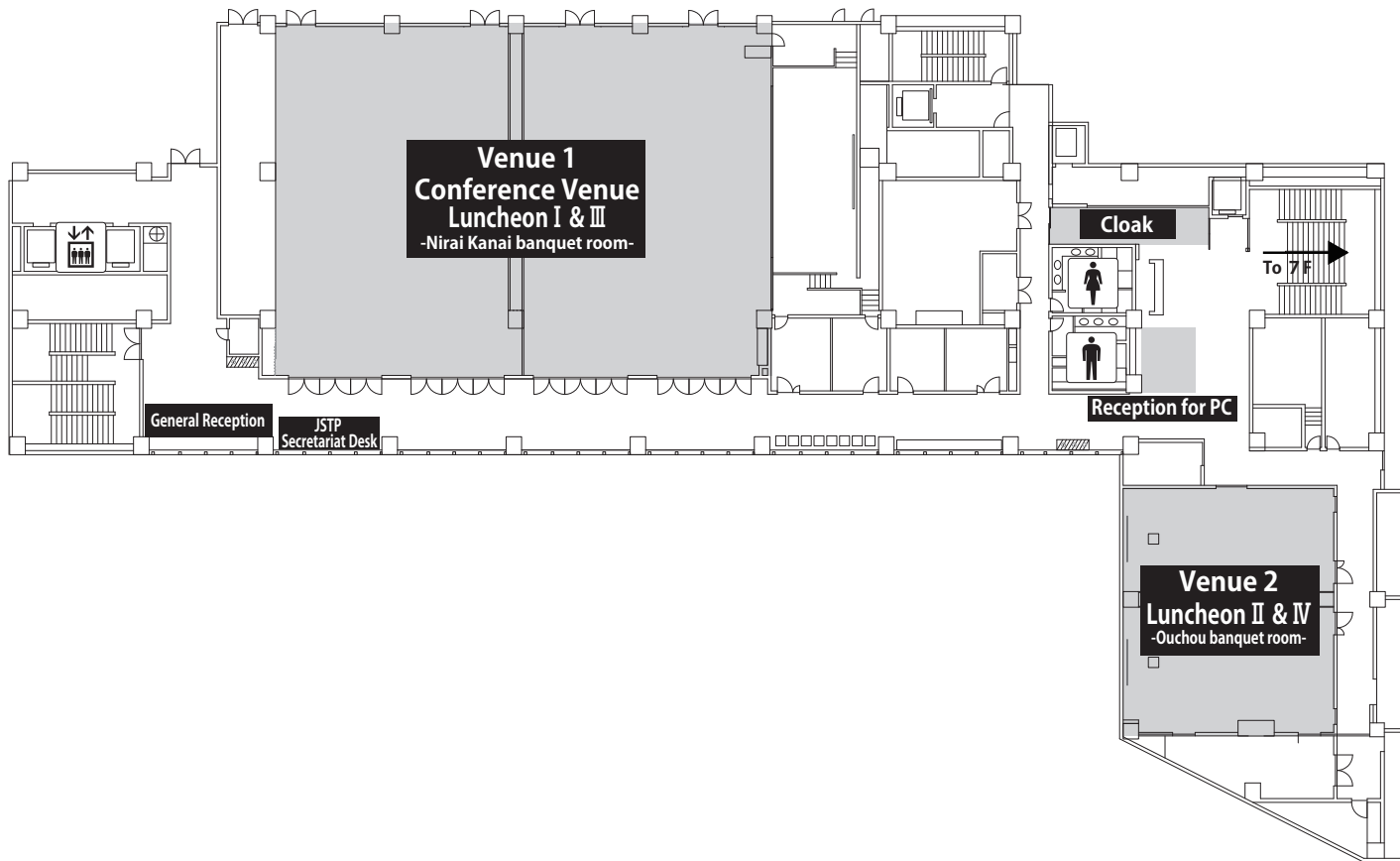
Approx. 10 minute walk to the venue

Fare: 300 yen

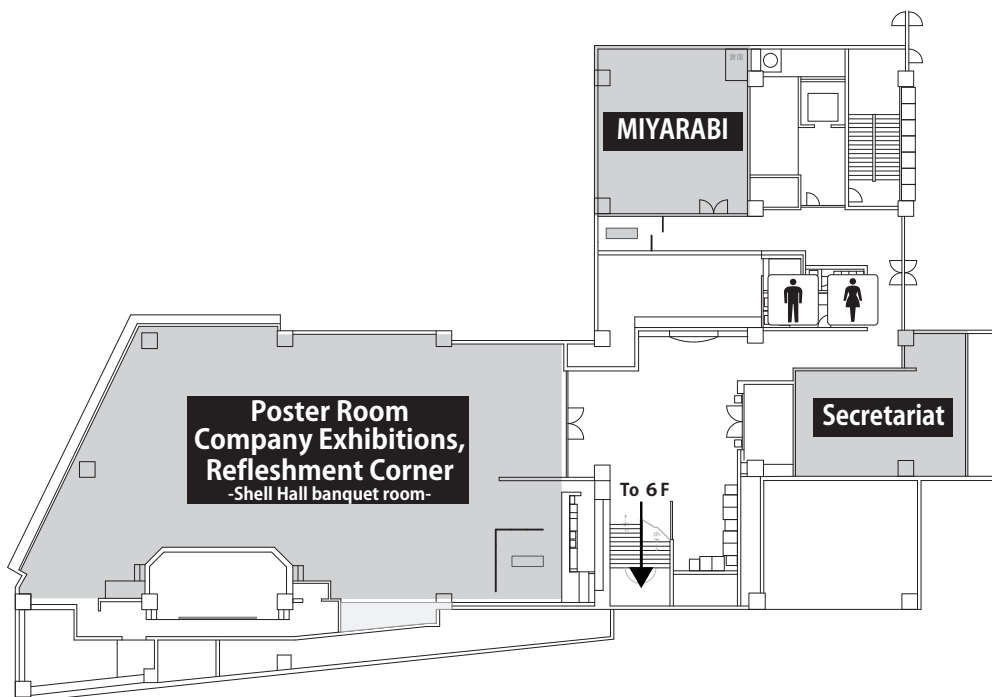


Venue Floor Plans

6 F



7 F



General Information

■ To the Participant

1. General Reception is located at 6F Lobby.
Date and Time: January 25th (Thu.) 8 : 00 - 17 : 00
January 26th (Fri.) 8 : 30 - 15 : 00
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 8th, 2017. 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 15th, 2017. 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 show 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 allowed in designated areas.
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 Shell Hall.

Place:	7F Shell Hall
Date and Time:	January 25th (Thu.) 8 : 30 ~ 18 : 20
	January 26th (Fri.) 8 : 30 ~ 15 : 00
10. Cloakroom

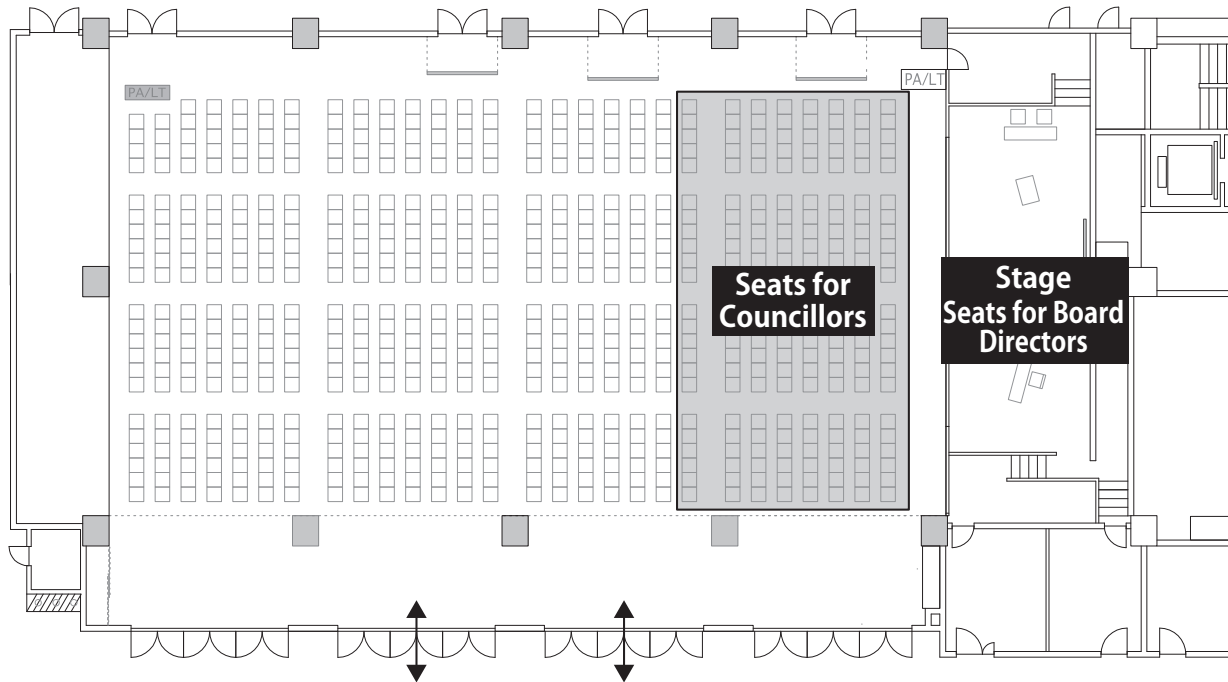
Place:	6F Lobby(in front of Ouchou banquet room)
Date and Time:	January 25th (Thu.) 8 : 00 ~ 20 : 40
	January 26th (Fri.) 8 : 30 ~ 17 : 00
11. The paging service will not be available in the venue.
Please use the message board located at the General reception (6F Lobby).
12. Photography and video or 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 (6F Lobby) .

Date and Time:	January 25th (Thu.) 8 : 00 - 17 : 00
	January 26th (Fri.) 8 : 30 - 14 : 00

■ General Assembly and Board of Councillors

- Place: 6F Nirai Kanai banquet room
Date and Time: January 26th (Fri.) 15 : 20 - 16 : 50
Agenda: Performance and annual review in 2017
Budget and planning for annual performance in2018
Recommendation Meritorious Members
Councillors

Nirai Kanai banquet room (Venue 1)



■ Luncheon Seminar

Free tickets for Luncheon Seminars will be provided at the Luncheon Seminar Ticket Desk (Ouchou banquet room)

Date and Time: January 25th (Thu.) 8:00 ~ 11:00

January 26th (Fri.) 8:30 ~ 11:00

Luncheon Seminar I

January 25th (Thu.) 12:10 ~ 13:00 Nirai Kanai banquet Room, 6F

“Immune functions in lymph nodes - how lymph nodes work; illustrated anatomical basis for surveillance, filtration and antigen response”

Speaker: Cynthia Willard-Mack (Pathology, Envigo US)

Chair: Makoto Imatachi (Envigo Co., Ltd.)

Co-sponsor: Envigo Co., Ltd.

Luncheon Seminar II

January 25th (Thu.) 12:10 ~ 13:00 Ouchou banquet Room, 6F

“Histopathologic evaluation for the Monkey Safety Test for Neurovirulence of Yellow Fever and Tetravalent Dengue Vaccines - WHO Protocol for Live-Attenuated Vaccines-”

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 26th (Fri.) 12:10 ~ 13:00 Nirai Kanai banquet Room, 6F

“Use of Unbiased Stereology in Drug Development”

Speaker: Danielle L. Brown, DVM, MS, DACVP, DABT (Charles River Pathology Associates)

Chair: Kaori Isobe (Charles River Edinburgh)

Co-sponsor: Charles River

Luncheon Seminar IV

January 26th (Fri.) 12:10 ~ 13:00 Ouchou banquet Room, 6F

“Non-clinical safety studies for human cell derived tissue-engineered medical products”

Speaker: Hiroaki Magotani (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)

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

Co-sponsor: Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

■ Social Gathering Banquet

Place: Nirai Kanai Banquet room. 6F

Date and Time: Jan. 25th (Thu.) 18:30 ~

*The Social gathering banquet requires Early registration, and On-site registration will be available at 9,000 yen (7,000 yen for students) at the General Information desk on Jan. 25th (Thu.) . First come, first served. Please note that we may close registration due to limited seating.

To Presenters

■ Request to Special Lecture , Symposium, Panel discussion, Workshop and Oral Presentation

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

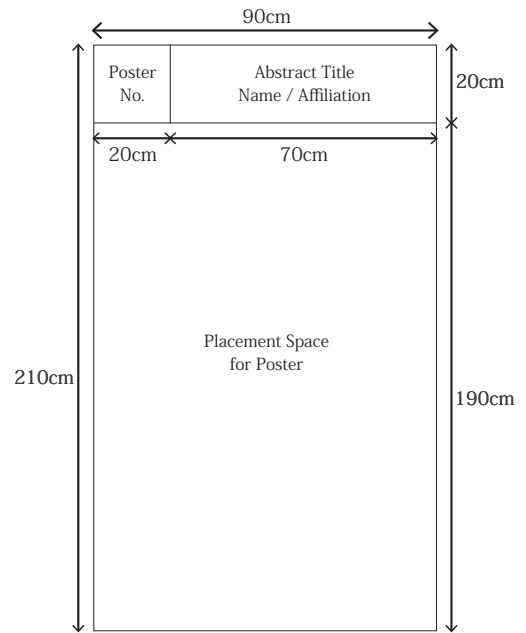
- When the prior presenter starts his/her presentation, please sit in the Next-Presenter seat.
- The monitor, pad and mouse will be provided on the rostrum. Please use them by yourself with looking at the screen and use the cursor of the mouse or a pointer.
- Presenter's tool will not be available during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

3. Time allocation

Session Types	Presentation time	Discussion Time	Signal light colors
Special Lecture Symposium Panel discussion	Presentation time and discussion style are as informed before.		Yellow light will turn on 1 minute before the presentation time ends. Red light will turn on when presentation time ends.
Workshop Oral Presentation	8 minutes	4 minutes	

■ 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.

Set-Up Time	Presentation periods	Removal time
January 25, Thu. 8:30 ~ 10:00	17:20 ~ 18:20	18:20 ~ 18:30
January 26, Fri. 8:30 ~ 10:00	13:10 ~ 14:10	15:00 ~ 15:20

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

3. Magnets and presenter's badge are available for each poster panels. Please wear presenter's badge during presentation time. Please take the badge with you after the session.
4. Please proceed with your presentations by Chair's instructions.
 - 5 minutes are prepared for each presenter (1 minute for presentation and 4 minutes for discussion).
 - Please be strict to your presentation time.

■ 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>COI Disclosure Information Taro Dokusei</p> <p>In connection with this presentation, there is no COI to be disclosed with any companies.</p>

Sample2

<p>COI Disclosure Information Hanako Dokusei</p> <p>In connection with this 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 24 (Wed.)

	Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)	Venue 2 (Ouchou banquet room, 6F)	Kotobuki · Sugure, 6F	In front of Nirai Kanai banquet room, 6F	In front of Shell Hall banquet room, 7F	Poster room (Shell Hall banquet room, 7F)
8:00						
9:00						
10:00						
11:00						
12:00						
13:00	12:30 The 30th Slide Conference	12:30 Editorial Committee				
		13:30				
14:00		13:45 Educational Committee				
		14:45				
15:00		15:00 Board Meeting				
16:00						
17:00						
18:00	17:30 17:50 Explanation of Exam Questions					
	18:50					
19:00	19:00 Banquet Seminar					
20:00			20:00 Global President's Meeting			
			20:50			
21:00			21:00 IFSTP EC Meeting			
			21:50			

Timetable

January 25 (Thu.)

	Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)	Venue 2 (Ouchou banquet room, 6F)	MIYARABI, 7F	In front of Nirai Kanai banquet room, 6F	In front of Shell Hall banquet room, 7F	Poster room (Shell Hall banquet room, 7F)
8:00				8:00 ~ Reception Starts		
8:40 ~ 8:50	Opening ceremony				8:30	8:30
9:00	Oral Presentaion O-01 ~ O-10					Poster Setup
10:00	10:50					10:00 10:00
11:00	11:00 Special Lecture 1 Yoko Aniya					
11:50						
12:00	12:10 Luncheon Seminar I Envigo Co., Ltd.	12:10 Luncheon Seminar II Southern Research/ Three S Japan Co., Ltd.		Reception	Company Exhibitions	
13:00	13:00	13:00				
13:20						Poster Viewing/ Company Exhibitions
14:00	Symposium 1 Innovation of carcinogenic risk assessment					
15:00	15:00					
15:10						
16:00	Panel Discussion Expertise training for toxicologic pathologists and encouragement of their career design					
17:00	17:10			17:00		17:20 17:20
18:00					18:20	Poster Presentation I
18:20						18:20 18:30 Poster Removal
18:30						
19:00	Social Gathering Banquet					
20:00	20:30					
21:00						

Timetable

January 26 (Fri.)

	Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)	Venue 2 (Ouchou banquet room, 6F)	MIYARABI, 7F	In front of Nirai Kanai banquet room, 6F	In front of Shell Hall banquet room, 7F	Poster room (Shell Hall banquet room, 7F)
8:00						
9:00	8:50 Symposium 2 A safety assessment of nano-materials and its prospect			8:30 ~ Reception Starts	8:30	8:30 Poster Setup
10:00	10:50			Reception	Company Exhibitions	10:00 Poster Viewing/ Company Exhibitions
11:00	11:00 Special Lecture 2 Hiroshi Kido					
12:00	11:50					
13:00	12:10 Luncheon Seminar III Charles River	12:10 Luncheon Seminar IV Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.	12:10 International Terminology Committee			13:00
14:00						13:10 Poster Presentation II
15:00	14:20 Workshop Pathological aspects and the mechanisms in NASH models			15:00	15:00	14:10 Poster Viewing
16:00	15:20 Board Councillors The General Assembly Awards Ceremony Closing Ceremony					15:00 Poster Removal
17:00	16:50					
18:00						
19:00						
20:00						
21:00						

Program

Special Lecture 1

Day 1, January 25, Thursday 11:00 ~ 11:50 Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)

Chair: Naoki Yoshimi (Department of Pathology and Oncology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus)

SL1 Development of bioresources in Okinawa and toxicology

Yoko Aniya

Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University

Special Lecture 2

Day 2, January 26, Friday 11:00 ~ 11:50 Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)

Chair: Hideki Wanibuchi (Department of Molecular Pathology, Osaka City University Medical School)

SL2 Mechanisms of food allergy and oral immune tolerance in early infancy and possible diagnostic biomarkers of them

Hiroshi Kido, M.D., Ph.D.

Institute for Enzyme Research, Tokushima University

Symposium 1 Innovation of carcinogenic risk assessment

Day 1, January 25, Thursday 13:20 ~ 15:00 Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)

Chair: Akiyoshi Nishikawa (National Institute of Health Sciences) •
Tetsuya Tsukamoto (Department of Diagnostic Pathology, Fujita Health University School of Medicine)

SY1-1 Early detection of risk of bladder carcinogenesis by immunohistochemistry for γ -H2AX

○ Takeshi Toyoda¹⁾, Kohei Matsushita¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, Jun-ichi Akagi¹⁾,
Mizuki Sone^{1,2)}, Akiyoshi Nishikawa³⁾, Kumiko Ogawa¹⁾

¹⁾ Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

²⁾ Tokyo University of Agriculture and Technology,

³⁾ Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

SY1-2 The role of surfactant protein and application for assessment of the risk of carcinogenesis.

Masanao Yokohira

Onco-pathology, faculty of medicine, Kagawa university

SY1-3 Elucidation of molecular markers and establishment of rat model for early detection of prostatic carcinogens.

○ Shugo Suzuki, Aya Naiki-Ito, Hiroyuki Kato, Satoru Takahashi

Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences Experimental Pathology and Tumor Biology

SY1-4 A novel gene expression-based short-term model for detecting genotoxic hepatocarcinogens

○ Min Gi, Masaki Fujioka, Ann Kakehashi, Hideki Wanibuchi

Department of Molecular pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

Symposium2 A safety assessment of nano-materials and its prospect

Day 2, January 26, Friday 8:50 ~ 10:50

Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)

Chair: Masumi Suzui (Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences and Medical School Nagoya City University) •

Kaori Miyata (Sumitomo Chemical Co., Ltd)

SY2-1 Nanomaterial respiratory toxicity monitored in rats after whole body inhalation.

Jun Kanno

Japan Bioassay Research Center, Japan Organization of Occupational Health and Safety

SY2-2 International trends and necessity of chronic effects information on risk assessment of nanomaterials

Akihiko Hirose

Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

SY2-3 Nano-safety research of nanoparticles used in foods toward sustainable nanotechnology

○ Kazuma Higashisaka^{1,2)}, Kazuya Nagano¹⁾, Hiroshi Matsumoto²⁾, Yasuo Tsutsumi^{1,3)}

¹⁾Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ., ²⁾Grad. Sch. Med., Osaka Univ., ³⁾MEIC, Osaka Univ.

SY2-4 Novel Antioxidative Nanotherapeutics by Nitroxide-radical Containing Polymer Nanoparticles

Yukio Nagasaki

Department of Materials Science and Medical Sciences, Satellite, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

Panel Discussion Expertise training for toxicologic pathologists and encouragement of their career design

Day 1, January 25, Thursday 15:10 ~ 17:10

Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)

Chair: Midori Yoshida (Food Safety Commission of Japan, Cabinet Office) •

Mitsuru Kuwamura (Osaka Prefecture University)

PD-1 Current status of histopathology slide educational session for JSTP certification exam, and the role of toxicologic pathologists in drug development

Satoru Hosokawa

Global Drug Safety Research, Eisai Co., Ltd.

PD-2 Education and Postgraduate Career Guidance on Toxicologic Pathology in Japanese Veterinary Schools

Makoto Shibutani

Tokyo University of Agriculture and Technology

PD-3 Veterinary Education in the U.S. and Career Development Path for Toxicologic Pathologists

Hajime Hiraragi

Amgen Inc., Comparative Biology & Safety Sciences, South San Francisco, CA, USA

PD-4 A Comparison of Practice of Industrial Toxicologic Pathologists in Japan and the United States

Takayuki Tsuchiya

Department of Safety Assessment and Laboratory Animal Resources (West Point, PA U.S.A.), MR L, Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA

Workshop Pathological aspects and the mechanisms in NASH models

Day 2, January 26, Friday 14:20 ~ 15:20

Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)

Chair: Satoru Takahashi (Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences) • Atsuhiko Kato (Chugai Pharmaceutical Co.,Ltd.)

WS-1 Role of systemic immunity in the progression of hepatic inflammation in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis

○ Takeshi Izawa, Shoko Ohji, Machi Atarashi, Rena Miyagi, Ai Hashimoto, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamete

Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

WS-2 * How does the hepatic lesion progress to fibrosis and tumor in a newly established murine model for NASH

○ Yui Terayama, Kazue Akira, Takashi Yamagiwa, Yuki Nakatani, Nanayu Oshima, Tsuyoshi Morio, Tetsuro Matsuura, Kiyokazu Ozaki

Laboratory of Pathology, Setsunan University

WS-3 * Effects of *trans* fatty acid and its substitute on NASH model by a modified CDAA diet

○ Noriko Kemuriyama¹⁾, Kaori Ikehata¹⁾, Takuya Yamashita¹⁾, Kinuko Uno¹⁾, Soon Hui Teoh¹⁾, Shuji Ogawa²⁾, Atsushi Watanabe³⁾, Katsuhiko Miyajima¹⁾, Dai Nakae¹⁾

¹⁾Dept. Nutr. Sci. Food Safety, Facul. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agricul.,

²⁾Zeria Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾ASAHI KASEI MEDICAL CO., LTD.

WS-4 * Establishment a model of non-alcoholic steatohepatitis-related hepatocarcinogenesis in connexin 32 dominant negative transgenic rats

○ Aya Naiki-Ito^{1,2)}, Hiroyuki Kato¹⁾, Shugo Suzuki¹⁾, Satoru Takahashi¹⁾

¹⁾Dept. Exp. Path. Tumor Biol., Nagoya City Univ., ²⁾Pathol. Div., Nagoya City East Med. Ctr.

WS-5 Differences of pathological findings between two NASH model mice

○ Takahiro Okuno, Naomi Ishii, Anna Kakehashi, Masaki Fujioka, Min Wei, Hideki Wanibuchi

Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

Oral Presentation I Carcinogenic mechanism & cancer prevention

Day 1, January 25, Thursday 8:50 ~ 9:26

Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)

Chair: Katsuhiko Yoshizawa (Mukogawa Women's University) • Mayumi Kawabe (DIMS Institute of Medical Science, Inc)

O-01 * Toxicity and mechanism of action of palmitoyl piperidinopiperidine

○ S Ando¹⁾, H Matsumoto¹⁾, K Fukamachi¹⁾, M Futakuchi^{1,2)}, N Yoshimi³⁾, M Suzuki¹⁾

¹⁾Dept. Mol. Tox., Grad. Sch. Med. Sci., Nagoya City Univ., ²⁾Dept. Path., Nagasaki Univ. Hosp.,

³⁾Dept. Path. Oncol., Faculty of Medicine, Univ. of the Ryukyus

- O-02 Genotypic/phenotypic differences between DMBA- and PhIP-induced mammary adenocarcinomas in BALB/c-*p53*^{+/-} mice**
 ○ Yukino Machida¹⁾, Yukiko Sudo¹⁾, Naoaki Uchiya¹⁾, Masako Ochiai²⁾, Toshio Imai¹⁾
¹⁾Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., Dep. Anim. Exp., ²⁾Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., Ctr. Anim. Div.
- O-03 * Study of the mechanism of carcinogenesis by prenatal exposure to dimethylarsinic acid in mice**
 ○ Masaki Fujioka, Min Gi, Takahiro Okuno, Kenji Kumada, Anna Kakehashi, Yuji Oishi, Hideki Wanibuchi
 Dept. Mol. Path., Osaka city univ. grad. sch. med.

Oral Presentation II Toxic mechanism

Day 1, January 25, Thursday 9:26 ~ 10:14 Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)
 Chair: Akira Inomata (Fujifilm Corporation) • Yoshiro Tani (Daiichi Sankyo Co., Ltd.)

- O-04 * Epithelial-Mesenchymal Transition in Cysts in the Choroid Plexus and Renal Tubules**
 ○ Atsuko Murai, Kenji Nakamura, Norifumi Takimoto, Kengo Namiki, Daisuke Hibi, Yukihiro Yanagizawa, Koji Shimouchi, Hiroyuki Yanagi
 Safety Research Laboratories, Discovery and Research, Ono Pharmaceutical Co., Ltd.
- O-05 DS-7250, a Diacylglycerol Acyltransferase 1 Inhibitor, Enhances Hepatic Steatosis in Zucker Fatty Rats Via Upregulation of Fatty Acid Synthesis**
 ○ Kazuyoshi Kumagai, Kyohei Yasuno, Takuma Iguchi, Kiyonori Kai, Kazuhiko Mori
 Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.
- O-06 * Histopathologic Characterization of Mifepristone-Induced Ovarian Toxicity in Cynomolgus Monkeys**
 ○ Yoshikazu Taketa¹⁾, Kanta Horie²⁾, Tetsuya Goto³⁾, Etsuko Ohta¹⁾, Kyoko Nakano-Ito¹⁾, Kazuhiro Hayakawa¹⁾, Yuki Seki¹⁾, Aya Goto¹⁾, Satoru Hosokawa¹⁾
¹⁾Tsukuba Drug Safety, Eisai, ²⁾Neurology Business Group, Eisai, ³⁾Sunplanet
- O-07 * Drug-Induced Fluorosis in Skeletal/Dental Tissues in Rodent Chronic Toxicity Studies**
 ○ Yuki Seki¹⁾, Kenichi Noritake²⁾, Yoshikazu Taketa¹⁾, Shoji Asakura¹⁾, Akiyo Otsuka¹⁾, Aya Goto¹⁾, Etsuko Ohta¹⁾, Kyoko Nakano¹⁾, Kazuhiro Hayakawa¹⁾, Jiro Sonoda¹⁾, Satoru Hosokawa¹⁾
¹⁾Eisai Co., Ltd., ²⁾Sunplanet Co., Ltd.

Oral Presentation III Biomarkers

Day 1, January 25, Thursday 10:14 ~ 10:50 Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)
 Chair: Min Gi (Osaka City University Graduate School of Medicine) • Daisuke Hibi (ONO pharmaceutical Co.,Ltd.)

- O-08 * Short-term detection of gastric carcinogens using DNA double-strand break marker, γ -H2AX**
 ○ Asako Okabe¹⁾, Yuka Kiriya¹⁾, Shugo Suzuki²⁾, Kouhei Sakurai¹⁾, Satoru Takahashi²⁾, Tetsuya Tsukamoto¹⁾
¹⁾Dept Diag Path, Fujita Health Univ Sch Med, ²⁾Dept Exp Pathol Tumor Biol, Nagoya City Univ

O-09 * Acute changes in histopathology and intravascular imaging after renal denervation in swine

○ Atsushi Sakaoka^{1,2)}, Akiyuki Takami³⁾, Yuji Onimura¹⁾, Hitomi Hagiwara¹⁾,
Hisako Terao¹⁾, Fumiaki Kumagai⁴⁾, Kiyoshi Matsumura²⁾

¹⁾Terumo, ²⁾Osaka Inst. of Technology, ³⁾Univ. of Fukui, ⁴⁾Hatano Res. Inst. FDSC

O-10 Potential biomarker for diagnosis of pancreas cancer

○ Katsumi Fukamachi¹⁾, Mitsuru Futakuchi¹⁾, Hiroyuki Tsuda²⁾, Masumi Suzui¹⁾

¹⁾Department of Molecular Toxicology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

²⁾Nanotoxicology project, Nagoya City University

Poster Presentation I -1

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Kyoko Nakano(Ito) (Eisai Co.,Ltd.) • Hirofumi Hatakeyama (Ina Research Inc.)

P-01 CD44v6 expression in NNK-induced mouse lung adenocarcinoma

○ Keiko Yamakawa¹⁾, Masanao Yokohira¹⁾, Nozomi Hashimoto¹⁾, Yuko Narusawa¹⁾,
Shota Yoshida¹⁾, Kousuke Saoo^{1,2)}, Katsumi Imaida¹⁾

¹⁾Onco-Pathol., Fac. Med., Kagawa Univ., ²⁾Kaisei General Hosp.

P-02 * Minimal change disease of the kidney in a young Sprague-Dawley rat

○ Kyohei Yasuno, Kumi Honda, Shinobu Hakamata, Kiyonori Kai, Kazuhiko Mori
Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

P-03 Mechanistic analysis of PhIP on carcinogenesis using mouse colon organoids

○ Toshio Imai¹⁾, Masako Ochiai¹⁾, Mie Naruse¹⁾, Yoshitaka Hippo²⁾

¹⁾Div. Anim. Exp., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., ²⁾Div. Mol. Carcinog., Chiba Cancer Ctr. Res. Inst.

P-04 Cytotoxicity of the crude extracts of *Musa basjoo* in human colon cancer cells

○ H Matsumoto¹⁾, S Ando¹⁾, K Fukamachi¹⁾, M Futakuchi^{1,2)}, N Yoshimi³⁾, M Suzui¹⁾

¹⁾Dept. Mol. Toxicol., Nagoya City Univ. Grad. Sch. Med. Sci. & Med. Sch.,

²⁾Dept. Pathol., Nagasaki Univ. Hosp., ³⁾Dept. Pathol. & Oncol., Univ. of the Ryukyus

P-05 Overcoming resistance to cetuximab with honokiol, a small-molecule polyphenol

○ Mari Iida¹⁾, Hannah E. Pearson¹⁾, Rachel A. Orbuch¹⁾, Nellie K. McDaniel¹⁾,
Kwangok P. Nickel¹⁾, Randall J. Kimple¹⁾, Jack Arbiser²⁾, Deric L. Wheeler¹⁾

¹⁾Department of Human Oncology, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health

²⁾Department of Dermatology, Emory University School of Medicine, Winship Cancer Institute

Poster Presentation I -2

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Kaoru Inoue (National Institute of Health Sciences) • Masanao Yokohira (Kagawa University)

P-06 Proteome analysis in NASH liver tissue and associated hepatocellular carcinomas

○ Anna Kakehashi, Takahiro Okuno, Masaki Fujioka, Min Gi, Hideki Wanibuchi

Dept. Mol. Pathol. Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.

- P-07 *** Responses of cellular senescence-linked cell metabolism-related molecules by genotoxic or non-genotoxic carcinogens in rats
○ Yuko Ito^{1,2)}, Kota Nakajima^{1,2)}, Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Fumiyo Saito³⁾, Yumi Akahori³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾
¹⁾LVP, TUAT, ²⁾UGSVS, Gigu Univ., ³⁾Chem. Eval. Res. Inst.
- P-08** Effects of astragalus injection on early hepatocarcinogenesis in SD rats.
○ Meilan Jin, Qian Tang, Mei Zhang, Rendong Fang, Jian Wang, Zili Wang
Laboratory of Veterinary Pathology, College of Animal Science and Technology, Southwest University
- P-09 *** Chemopreventive effects of luteolin on pancreatic carcinogenesis
○ Hiroyuki Kato, Aya Naiki-Ito, Shugo Suzuki, Satoru Takahashi
Dep. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.,
- P-10** Influence of strain difference of trans fatty acids on NASH-like lesions between Hsd rats and F344 rats fed with a CDAA diet.
○ Kinuko Uno, Ktsuhiro Miyjima, Soon Hui Teoh, Noriko Kemuriyama, Shuji Ogawa, Atsusi Watanabe, Dai Nakae
Facul. Agricul, Graduate School of Tokyo Univ. Agricul

Poster Presentation I -3

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Mihoko Ono (Astellas Pharma Inc.) • Shinji Takasu (National Institute of Health Science)

- P-11** Starvation-induced liver autophagy in aged mice
○ Seiichi Iizuka¹⁾, Miwa Nahata¹⁾, Hitomi Sekine¹⁾, Naoki Fujitsuka¹⁾, Hiroshi Takeda^{2,3)}
¹⁾Tsumura & Co.,
²⁾Pathophysiology and Therapeutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University,
³⁾Hokkaido University Hospital Gastroenterological Medicine
- P-12 *** Multidirectional analyses of hepatic chronotoxicity induced by cadmium in mice
○ Hiroki Yoshioka^{1,2)}, Tsunemasa Nonogaki¹⁾, Yoshimi Ichimaru¹⁾, Katsumi Ohtani³⁾, Masumi Suzui²⁾, Nobuhiko Miura³⁾
¹⁾Kinjo Gakuin University, ²⁾Nagoya City University,
³⁾Japan National Institute of Occupational Safety and Health
- P-13** Analyses of mechanism on liver toxicity by CCA
○ Naofumi Takahashi¹⁾, Satoru Yamaguchi¹⁾, Ryoichi Ohtsuka¹⁾, Makio Takeda¹⁾, Yoshitaka Katoh¹⁾, Tsuyoshi Ito¹⁾, Aya Koyama¹⁾, Atsushi Shiga¹⁾, Yoshimasa Okazaki¹⁾, Toshinori Yoshida²⁾, Takanori Harada¹⁾
¹⁾The Institute of Environmental Toxicology, ²⁾Tokyo Univ. Agricul. Technol.
- P-14 *** Time dependent cytoprotective phenomenon of lipopolysaccharide in TAA-induced acute liver injury in rats
○ Mohammad Rabiul Karim, Munmun Pervin, Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate
Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

Poster Presentation I -4

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Shugo Suzuki (Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences) •
Noriko Tsuchiya (Shionogi&Co.,Ltd.)

- P-15 Effect of edaravone on cisplatin nephrotoxicity**
○ Natsumi Koike, Ayaka Sasaki, Rin Yamori, Tomoaki Murakami, Kazuhiko Suzuki
Tokyo University of Agriculture and Technology Faculty of Agriculture Cooperative Department of Veterinary Medicine
- P-16 * Effects of Dimethyl Fumarate on renal interstitial fibrosis**
○ Ayaka Sasaki, Natsumi Koike, Rin Yamori, Tomoaki Murakami, Kazuhiko Suzuki
Tokyo University of Agriculture and Technology, Faculty of Agriculture, Department of Veterinary Medicine
- P-17 * Transformation of renal tubular epithelial cell associated with decreased expression of HNF α**
○ Rin Yamori, Natsumi Koike, Ayaka Sasaki, Tomoaki Murakami, Tetsuya Furuya, Kazuhiko Suzuki
Tokyo University of Agriculture and Technology, Faculty of Agriculture, Cooperative Department of Veterinary Medicine
- P-18 High-throughput screening of the hypoxia pathway: examining promoter response and function**
○ Masato Yonezawa¹⁾, Shelley Force Aldred¹⁾, Nathan Trinklein¹⁾, Menghang Xia²⁾, Ruili Huang²⁾, Jim Hudson³⁾, Johanna Samuelsson¹⁾
¹⁾Active Motif Inc., ²⁾NIH Chemical Genomics Center, ³⁾Hudson Alpha Institute for Biotechnology
- P-19 * Catch up growth and immune organ development in DOHaD study**
○ Mai Todoroki, Mika Senuma, Fumiaki Kumagai, Yoshiaki Saito, Makiko Kuwagata
Hatano Research Institute Food and Drug Safety center

Poster Presentation I -5

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Kinji Kobayashi (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.) •
Saori Matsuo (Chugai Pharmaceutical Co.,Ltd.)

- P-20 * Inhalation single toxicity studies of 1-methylnaphthalene in rats and mice: Histopathological Aspect**
○ Mi Ju Lee
Inhalation Toxicity Research Center, Occupational Safety and Health Research Institute
- P-21 Respiratory lesions induced in rats after inhalation exposed to Methyl Acrylate for 13 weeks.**
○ Kenji Takanobu, Hideki Senoh, Yumi Umeda, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno
Japan Bioassay Research Center, JOHAS
- P-22 Nasal Cavity Neoplastic/Non-neoplastic lesion induced by 104-week whole body inhalation exposure to Methyl Acrylate in rats**
○ Hideki Senoh, Kenji Takanobu, Yumi Umeda, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno
Japan Bioassay Research Center, JOHAS

- P-23 * Myocardial damage induced in rats by a single dose of combretastatin A4 disodium phosphate**
○ R Tochinai¹⁾, K Komatsu¹⁾, J Murakami¹⁾, Y Nagata¹⁾, M Ando¹⁾, C Hata¹⁾, T Suzuki¹⁾, S Kado¹⁾, T Kobayashi¹⁾, M Kuwahara²⁾
¹⁾Yakult Cent. Inst., ²⁾Dep. of Vet. Pathophysiol. and Anim. Health, The Univ. of Tokyo

Poster Presentation I -6

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)
Chair: Chihiro Noguchi (TAISHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) • Akihiro Hirata (Gifu University)

- P-24 * Studies on the tumor-promoting activity of alpha-linolenic acid-enriched diacylglycerol oil**
○ Hiroshi Honda¹⁾, Taisuke Kawamoto¹⁾, Yuko Doi²⁾, Takuya Mori¹⁾, Shoji Matsumura¹⁾, Norio Imai²⁾, Yukinori Mera²⁾, Yuichi Ito¹⁾, Osamu Morita¹⁾
¹⁾Kao Corporation, ²⁾DIMS Institute of Medical Science, Inc.
- P-25 A 26-week Short-term Carcinogenesis Bioassay of Organic Germanium, poly-trans-[(2-carboxyethyl) germasesquioxane] (Ge-132) using rasH2 Mice**
○ Yuko Doi¹⁾, Norio Imai¹⁾, Mayuko Suguro¹⁾, Mayumi Kawabe¹⁾, Isao Sato²⁾
¹⁾DIMS Institute of Medical Science, Inc., ²⁾Asai Germanium Research Institute Co., Ltd.
- P-26 * Immunohistochemical examination of a tumor observed in the liver**
○ Du Mu, Guo Hui, Zhang Yuexiang, Liu Xiangjiang, Zhang Weijuan, Ji Xiaoxia, Guo Maowu, Yasuhiko Hirouchi
JOINN Laboratories
- P-27 * Study on toxicity of o-Acetoacetotoluidide (AAOT) Kenji Kumada Dept. Mol. Path., Osaka City Univ. Graduate Sch. Medicine**
○ Kenji Kumada, Takahiro Okuno, Min Gi, Masaki Fujioka, Nao Yukimatsu, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi
Department of Molecular Pathology Osaka City University Medical School
- P-28 Immunohistochemical characteristics of proliferative lesions in Wistar Hannover rat thymus**
○ Yuki Tomonari, Junko Sato, Tetsuro Kurotaki, Ryosuke Kobayashi, Takuya Doi, Takeshi Kanno, Minoru Tsuchitani
LSIMedience Corporation, Pathology Department

Poster Presentation I -7

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)
Chair: Hideshi Kaneko (TEIJIN PHARMA LIMITED) • Akiko Nakamura (JAPAN TOBACCO INC.)

- P-29 Oral toxicity study of neonicotinoid pesticide dinotefuran in CD-1 mice**
○ Yukie Tada, Toyohito Tanaka, Kiyomi Ikushima, Toshinari Suzuki, Akiko Inomata, Takako Moriyasu
Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

- P-30 *** **Comparison between MNU manufacturing facilities concerning the medium-term multi-organ carcinogenesis bioassay**
○ Taiki Sugiyama, Kazunari Uda, Hitomi Higuchi, Yuko Doi, Akihiro Hagiwara, Yukinori Mera
DIMS Institute of Medical Science, Inc.
- P-31 *** **The high incidence of amyloidosis in control ICR mice in carcinogenicity studies: Comparison to historical controls (2nd report)**
○ Tsuyoshi Ito, Yoshitaka Katoh, Emi Makino, Aya Koyama, Naofumi Takahashi, Atsushi Shiga, Yoshimasa Okazaki, Takanori Harada
The Institute of Environmental Toxicology (IET)
- P-32 *** **Comparative study of pathological characteristics of rat mesotheliomas induced by MWCNT and chrysotile**
○ Motoki Hojo¹⁾, Yoshimitsu Sakamoto¹⁾, Yukio Yamamoto¹⁾, Yuko Hasegawa¹⁾, Shiho Murakami¹⁾, Ai Maeno¹⁾, Akihiko Hirose²⁾, Dai Nakae³⁾
¹⁾Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, ²⁾Natl. Inst. Health Sci., ³⁾Tokyo Univ. Agricul.

Poster Presentation I -8

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Hiroaki Kawaguchi (Kagoshima University.) •
Kimiaki Hirakawa (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)

- P-33** **A 90-day oral toxicity study of vanillin propylene glycol acetal (vanillin PGA) in rats**
○ Takanori Yamada^{1,2)}, Kohei Matsushita¹⁾, Takeshi Toyoda¹⁾, Tomomi Morikawa¹⁾, Miwa Takahashi¹⁾, Kaoru Inoue¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾
¹⁾Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²⁾LVP, Tokyo Univ. Agri. Tech.
- P-34 *** **13-week subchronic toxicity study of isoeugenol methyl ether in F344 rats**
○ Jun-ichi Akagi, Young-Man Cho, Yasuko Mizuta, Kumiko Ogawa
Div. Pathology, Natl. Inst. Health Sci.
- P-35 *** **Characteristic pathological changes in nuclei of ADC drug-treated animals**
○ Mingshu Huang, Toko Ohira, Liang He, Jingjing Mao, Jianyan Yan, Tiantian Cui, Minbo Hou, Hua Li, Jing Ma
National Shanghai Center for New Drug Safety Evaluation and Research
- P-36** **Investigation on carcinogenicity study of prescription drugs -Part I-**
○ Jihei Nishimura¹⁾, Mizuho Nonaka¹⁾, Misaki Naota¹⁾, Satoshi Tsunoda¹⁾, Yukie Saegusa¹⁾, Hiroshi Doguchi¹⁾, Hiroshi Onodera¹⁾, Osamu Fueki¹⁾, Kazutoshi Shinoda¹⁾, Kumiko Ogawa²⁾, Akiyoshi Nishikawa²⁾
¹⁾PMDA, ²⁾NIHS

Poster Presentation I -9

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Satoshi Suzuki (Taiho Pharmaceutical Co.,Ltd.) • Tomonari Nishimura (Asubio Pharma Co.,Ltd.)

- P-37 *** Time course study on histopathological changes of the peripheral nerve in experimental autoimmune neuritis rats
○ Emi Tomikawa, Mayu Mutsuga, Kojiro Hara, Chihiro Kaneko, Tomoya Miyoshi, Naoko Imura, Yuko Togashi, Ryoji Hayashi
Pharmaceutical Research Laboratories, Toray Industries, Inc.
- P-38 *** Histopathological examination of ocular lesions in leptin receptor-knockout medaka
○ Shin-ichi Chisada¹⁾, Ayano Hirako²⁾, Akihiko Sugiyama²⁾
¹⁾School of Medicine, Kyorin University, ²⁾Faculty of Agriculture, Tottori University
- P-39** Inhibition of atherosclerosis in ApoE-knockout mice by mangosteen extracts and the mechanism analysis
○ Masa-Aki Shibata¹⁾, Mariko Harada-Shiba²⁾, Eiko Shibata²⁾, Kentaro Maemura¹⁾, Yoichi Kondo¹⁾
¹⁾Dept of Anat & Cell Biol, Osaka Med Coll, ²⁾Dept of Mol Innov Lipidol, Natl Cereb & Cardiovasc Centr Res Inst
- P-40** Protective effects of Japanese soybean paste (miso) on SHRSP
○ H Watanabe¹⁾, M Sasatani²⁾, K Satoh²⁾, Y Miyasaka³⁾, M Yoshizumi¹⁾
¹⁾Dept Cardiovascular Physiol Med, Inst Biom Health Sci, Hiroshima Univ, ²⁾Dept Envir Biomet, Res Inst Radiat Biol Med, Hiroshima Univ, ³⁾Shinsyu-ich Miso

Poster Presentation I -10

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Takeshi Izawa (Osaka Prefecture University) • Kousei Inui (Ishihara Sangyo Kaisha,Ltd.)

- P-41 *** Inhibitory Effects of Mead Acid Supplementation on Green Tea Extract-Induced Hepatotoxicity
○ A Takenouchi¹⁾, Y Emoto²⁾, Y Kinoshita³⁾, K Hamazaki⁴⁾, A Tsubura⁵⁾, K Yoshizawa¹⁾
¹⁾Mukogawa Women's Univ., ²⁾Kansai Med. Univ., ³⁾Wakayama Med. Univ. Hospital, ⁴⁾Public Health-Univ.of Toyama, ⁵⁾Pref Osaka Saiseikai Izuo Hospital
- P-42 *** Damage associated molecular patterns (DAMPs) and the related signals in thioacetamide (TAA)-injected rat liver injury
○ Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Munmun Pervin, Mohammad Rabiul Karim, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate
Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University
- P-43 *** Histopathological Analysis of Young and Aged Female SDT Fatty Rats
○ Soon Hui Teoh¹⁾, Katsuhiko Miyajima¹⁾, Takeshi Ohta²⁾, Masami Shinohara³⁾, Kinuko Uno¹⁾, Noriko Kemuriyama¹⁾, Dai Nakae¹⁾
¹⁾Grad. Sch. of Agricul.Tokyo Univ of Agricul., ²⁾Central Pharma. Research Inst. Japan Tobacco Inc, ³⁾Tokyo AD Dept. CLEA Japan Inc

- P-44 *** **The effects of SLE therapeutic medication and histopathological examination on LPS-induced early nephritis develop model in NZB/W F1 mice**
○ Tomomi Kanehara, Yasuhiro Ohshiba, Jun Imai, Shiori Murase, Tadashi Itoh, Hitoshi Kimura
Nihon Bioresearch Inc.
- P-45** **Effect of NaCl supplementation on renal complications in SDT fatty rat**
○ Katsuhiko Miyajima^{1,2)}, Takeshi Ohta³⁾, Masami Shinohara⁴⁾, Hinako Iwasaki¹⁾, Soon Hui Teoh²⁾, Kinuko Uno²⁾, Noriko Kemuriyama¹⁾, Dai Nakae^{1,2)}
¹⁾Tokyo Univ. Agricul., ²⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. TUA., ³⁾Japan Tobacco Inc., ⁴⁾CLEA Japan Inc.

Poster Presentation I -11

Day 1, January 25, Thursday 17:20 ~ 18:20 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Tomo Sasaki (Maruho Co.,Ltd.) • Atsushi Watanabe (Asahi Kasei Medical Co.,Ltd.)

- P-46** **Development of canine model with large cartilage defects on femoral condyles**
○ M. Tasaki¹⁾, T. Hirai¹⁾, M. Akiyama¹⁾, Y. Itou¹⁾, K. Nakazawa¹⁾, Y. Harada²⁾, K. Nagano³⁾, H. Hagiwara¹⁾
¹⁾Terumo Corp., ²⁾Div. of Vet. Surg., Nippon Veterinary and Life Science Univ.,
³⁾Nagano Toxicologic-Pathology Consulting
- P-47 *** **Histopathology of inflammatory response through ERs in allergic dermatitis mice model**
○ Aya Koyama, Risako Tajiki, Yuko Watanabe, Tomoki Fukuyama, Yoshitaka Katoh, Emi Makino, Tsuyoshi Ito, Naofumi Takahashi, Atsushi Shiga, Yoshimasa Okazaki, Takanori Harada
The Institute of Environmental Toxicology
- P-48** **The world's leading rat resource center: the National BioResource Project-Rat**
○ Miyuu Tanaka, Arata Honda, Birger Voigt, Yuki Neoda, Kazumi Hagiwara, Zong-hu Cui, Ryoma Tachibana, Tomomi Nagao, Satoshi Nakanishi, Ken-ichi Yamasaki, Takashi Kuramoto, Masahide Asano
Kyoto University
- P-49** **A 13-week repeated oral dose toxicity study of 2-furanmethanethiol in F344 rats.**
○ Liang Shi^{1,3)}, Yuji Ishii¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Takuma Tsuchiya¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Akiyoshi Nishikawa²⁾, Takashi Umemura¹⁾
¹⁾Div.Pathol., NIHS, ²⁾Biol.Safety Res.Ctr.,NIHS, ³⁾Lab.Exp.Pathol., Univ.Tsukuba

Poster Presentation II -1

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Takashi Kotera (Nippon Shinyaku Co.,Ltd.) • Junko Shinozuka (Chugai Pharmaceutical Co.,Ltd.)

- P-50 *** **An immunohistochemical study to differentiate cardiomyocyte necrosis**
○ Yuichi Takai, Hitoshi Kandori, Takeshi Watanabe
Drug Safety Research and Evaluation, Research, Takeda Pharmaceutical Company Limited

- P-51 Quantitative evaluation of organelles using image analysis software ImageJ — Stomach surface mucous cell alteration of PGE2 treated mouse —**
○ Kanata Ibi, Tohru Kihara, Yumi Kangawa, Toshiyuki Shibanushi, Hiroyuki Takabe, Kazuto Hashimoto
Kaken Pharmaceutical Co.,Ltd.
- P-52 Adjuvant effects of transcutaneously exposed cholera toxin and its B subunit in skin sensitization model**
○ Young-Man Cho, Yasuko Mizuta, Jun-ichi Akagi, Takeshi Toyoda, Kumiko Ogawa
Division of Pathology, National Institute of Health Sciences
- P-53 Contribution of toxicologic pathologists to choosing appropriate histopathological findings as endpoints for benchmark dose (BMD) approach in toxicological evaluation of chemicals**
○ Midori Yoshida¹⁾, Takashi Umemura²⁾
¹⁾Food Safety Commission of Japan, Cabinet Office, ²⁾Yamazaki Gakuen University
- P-54 An approach for assessing mild irritants in the Bovine Corneal Opacity and Permeability Test (BCOP test) includes a histopathological examination**
○ Kouta Itoh, Masatoshi Furukawa, Chihiro Endoh, Masao Matsuura
SAFETY RESEARCH INSTITUTE FORCHEMICAL COMPOUNDS CO., LTD

Poster Presentation II-2

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Mami Kouchi (Sumitomo Dainippon Pharma Co.,Ltd. Preclinical Research Unit) • Takahisa Noto (Santen Pharmaceutical Co.,Ltd)

- P-55 * Histopathological changes of autonomic nerves induced by Paclitaxel in rats**
○ Kenji Nakamura, Yu Yokoo, Moutou Ou, Koji Shimouchi, Atsuko Murai, Kengo Namiki, Masanori Kuribayashi, Hiroyuki Yanagi
Safety Research Laboratories, Discovery and Research, ONO Pharmaceutical Co., Ltd.
- P-56 * Cellular identification of MT⁺ cells increased in the hippocampal dentate gyrus and cerebellum by developmental exposure to T-2 toxin in mice**
○ Kota Nakajima^{1,2)}, Yuko Ito^{1,2)}, Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾
¹⁾LVP, Tokyo Univ. Agricul. Technol., ²⁾United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.
- P-57 Neuroprotection on the disruptive hippocampal neurogenesis induced by developmental hypothyroidism in rats**
○ Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Kota Nakajima^{1,2)}, Yuko Ito^{1,2)}, Mihoko Koyanagi³⁾, Shim-mo Hayashi³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾
¹⁾LVP, TUAT, ²⁾UGSVS, Gifu Univ., ³⁾San-Ei Gen F.F.I., Inc
- P-58 * Histological features of the eye in the juvenile white rabbit**
○ Yoshinori Yamagiwa, Shingo Nemoto, Hideyuki Sakaki, Masaaki Kurata
Research and Development Division, Senju Pharmaceutical, Co., Ltd.

P-59 Classification of Lung Cancer Types from Cytological Images Using Deep Convolutional Neural Networks

○ Tetsuya Tsukamoto¹⁾, Yuka Kiriyama^{1,2)}, Atsushi Teramoto³⁾

¹⁾Dept Diag Path, Fujita Health Univ Sch Med, ²⁾Dept Diag Path, Narita Memorial Hosp,

³⁾Fac Radiol Tech, Sch Health Sci, Fujita Health Univ

Poster Presentation II-3

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Junko Fujishima (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.) •

Toshihiko Makino (Daiichi Sankyo Co.,Ltd.)

P-60 * Cardiac lesions in cynomolgus monkey with food restriction

○ Saori Matsuo¹⁾, Nozomi Fujisawa¹⁾, Tomochika Matsushita¹⁾, Shuji Hayashi¹⁾,
Junko Shinozuka¹⁾, Akio Miyoshi¹⁾, Masami Suzuki^{1,2)}, Atsuhiko Kato¹⁾

¹⁾Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., ²⁾Forerunner Pharma Research Co., Ltd

P-61 * Expression analysis of AKAP13 and ROCK inhibition assay in mouse DSS-induced colitis

○ Y Kangawa^{1,2)}, T Yoshida²⁾, H Murayama^{1,2)}, K Ibi¹⁾, T Kihara¹⁾, K Kuzutani¹⁾,
M Koyanagi³⁾, SM Hayashi³⁾, M Shibutani²⁾

¹⁾Kaken Pharmaceutical Co., Ltd., ²⁾Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agric. Technol., ³⁾San-Ei Gen F. F. I., Inc.

P-62 Historical Data for the Histopathology on the Kidneys in Juvenile Crl:CD(SD) rats

○ Saki Inoue¹⁾, Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Yoshihiro Takei¹⁾, Jun Watanabe¹⁾,
Haruko Koizumi¹⁾, Tetsuyo Kajimura¹⁾, Akihito Shimoi¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Hijiri Iwata²⁾

¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC.

P-63 * Historical Data for the Histopathology on the Skin in Juvenile Crl:CD(SD) Rats

○ Jun Watanabe¹⁾, Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Yoshihiro Takei¹⁾, Saki Inoue¹⁾,
Haruko Koizumi¹⁾, Tetsuyo Kajimura¹⁾, Akihito Shimoi¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Hijiri Iwata²⁾

¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC.

P-64 * Spontaneous lesions spectrum in male and female F344 *gpt* delta rats in two years breeding

○ Kohei Matsushita¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Yuji Ishii¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Ken Kuroda¹⁾,
Takehiko Nohmi²⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura^{1,3)}

¹⁾Div. Pathol., NIHS., ²⁾Div. Genet. Mutat., NIHS., ³⁾Fac. Anim. Sci. Tech., Yamazaki Gakuen Univ.

Poster Presentation II-4

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Seiichi Iizuka (Tsumura & Co.) •

Hitoshi Kandori (Axcelead Drug Discovery Partners, Inc. Nonclinical Safety Research)

P-65 * Histopathological features of female genitals in IS/Kyo rats up to 30 weeks of age — Relationship with a decline of the pregnancy and the implantation rate —

○ Hiromu Okano, Yuko Yamaguchi, Saori Igura, Isamu Suzuki, Tsubasa Saito,
Toru Hoshiya

Pathology Department, BoZo Research Center Inc.

- P-66 *** **Background data of atypical residual bodies in the testes of CrI:CD1(ICR) mice**
○ Chisato Hayakawa, Masayuki Kimura, Yusuke Kuroda, Seigo Hayashi,
Kazuya Takeuchi, Satoshi Furukawa
Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, Ltd.
- P-67** **Histological development of Leydig cells in microminipigs**
○ Akihisa Kangawa, Masayoshi Otake, Satoko Enya, Masatoshi Shibata
Shizuoka Prefectural Research Institute of Animal Industry, Swine and Poultry Research Center
- P-68 *** **Classification of spermatogenesis cycle for evaluation of testicular toxicity in Göttingen Minipigs**
○ Naoaki Yamada, Yumi Wako, Hiroko Kokoshima, Takuya Doi, Takeshi Kanno,
Minoru Tsuchitani
LSI Medience Corporation, Nonclinical Research Center, Pathology Department

Poster Presentation II -5

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)
Chair: Kiyokazu Ozaki (Setsunan University) • Yutaka Nakahara (Astellas Pharma Inc.)

- P-69** **Granulomatous meningitis in a beagle dog showing neurological signs by compound administration**
○ Hikaru Mitori¹⁾, Naoto Horai²⁾, Satoru Kajikawa¹⁾, Mihoko Ono¹⁾
¹⁾ Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.,
²⁾ Drug Safety Research Labs., Shin Nippon Biomedical Laboratories Ltd.
- P-70 *** **A spontaneous intrathoracic carcinosarcoma in a Sprague-Dawley rat : a case report**
○ Kei Kijima, Miki Suehiro, Shino Ito, Aisuke Nii
Central Research Lab., Seikagaku Co.
- P-71 *** **A spontaneous tubular adenocarcinoma (well differentiated type) in the jejunum of young SD rat**
○ Yoshiji Asaoka, Koichi Masuno, Kae Fujisawa, Yutaka Tonomura, Minako Tajiri,
Yuki Kato, Emi Kashiwagi, Noriko Tsuchiya, Mikinori Torii, Motonobu Ueno
Research Laboratory for Development, Shionogi & Co, Ltd
- P-72** **Cecal hamartoma in the dog with cecocolic intussusception**
○ Mihoko Ono, Miwa Takahashi, Yutaka Nakahara, Kenjiro Tsubota,
Masahiro Matsumoto
Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.

Poster Presentation II -6

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)
Chair: Kaoru Toyosawa (Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.) •
Yuko Yamaguchi (BOZO Research Center Inc.)

- P-73** **A case of acute hemorrhagic gastritis with necrotic arteritis in mini pig**
○ Hiro Eda, Hirotohi Akane, Atsuko Ichikawa, Shigekazu Shimizu, Hiroyuki Komatsu,
Yasuki Akie
CMIC Pharma Science Co., Ltd.

- P-74 Method for Sequential Cerebrospinal Fluid Collection from Diurnal Microminipigs**
○ Hiroaki Kawaguchi¹⁾, Masaharu Abe¹⁾, MiharU Ushikai¹⁾, Sayumi Oi²⁾, Airo Yukawa²⁾,
Tetsuya Yoshikawa²⁾, Hiroyuki Izumi²⁾, Akihide Tanimoto¹⁾, Masahisa Horiuchi¹⁾
¹⁾Kagoshima University, ²⁾Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.
- P-75 * Segmental aplasia of uterine horn in two RccHan:WIST rats**
○ Yukako Shimotsuma, Shuji Takeda, Keiko Ogata, Masahiko Kushida
Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- P-76 * Histopathological Investigation of Mammary Tumor in a Young Male SD Rat**
○ Shota Yoshida, Hideki Tanaka, Fumiko Ninomiya, Kenji Matsubara, Hiromi Yamamoto,
Satoshi Suzuki, Fumio Morita, Kazuo Hakoi
Discovery and Preclinical Research Division, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

Poster Presentation II -7

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Tetsuro Kurotaki (LSI Medience Corporation) •
Izumi Matsumoto (Sumitomo Dainippon Pharma Co.,Ltd.)

- P-77 * Cutaneous hemangiosarcoma with pulmonary metastasis in a young adult Wistar rat**
○ Shino Suzuki, Rie Takagi, Kazuya Hirai, Junya Hirata, Yukiko Takeuchi-Kashimoto,
Mie Watanabe-Akanuma
Kureha Corporation, Safety Research Center
- P-78 Dedifferentiated liposarcoma of retroperitoneum spontaneously occurred in aged SD rat.**
○ Tomoharu Naito^{1,2)}, Tsuyoshi Saito²⁾, Tamami Higuchi¹⁾, Akira Inomata¹⁾,
Takuo Hayashi²⁾, Atsuko Yamauchi¹⁾, Sayaka Kemmochi¹⁾, Chihaya Kakinuma^{1,2)},
Takashi Yao²⁾
¹⁾FujiFilm Co., ²⁾Dept Human Pathology, School of Medicine, Juntendo Univ
- P-79 Subcutaneous tumor in a NOG mouse**
○ Hirotooshi Akane, Hiro Eda, Atsuko Ichikawa, Shigekazu Shimizu, Hiroyuki Komatsu,
Yasuki Akie
CMIC Pharma Science Co., Ltd.
- P-80 Hydropic degeneration with hyaline droplet of the acinar cell in the sublingual gland in a beagle dog**
○ Takafumi Oshikata, Mikio Mitsuishi, Masao Hamamura
LSI Medience Corporation

Poster Presentation II-8

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Tsuyoshi Yoshikawa (Otsuka Pharmaceutical Co.,Ltd.) •
Takeshi Watanabe (Takeda Pharmaceutical Company Limited.)

- P-81 Exocrine pancreatic injury induced by Caerulein in rats**
○ Hideki Tanaka, Shota Yoshida, Fumiko Ninomiya, Mitsuhiro Fujieda, Norifumi Matsushita, Kenji Matsubara, Hiromi Yamamoto, Satoshi Suzuki, Fumio Morita, Kazuo Hako
Discovery and Preclinical Research Division, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.
- P-82 * Vehicle exhaust particulates accumulate in lysosomes and are lysed by lysozyme**
○ Nodoka Koga, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Akira Yokoyama, Rei Imamura, Chiaki Tanigawa, Tomoki Ohmoto, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai
Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.
- P-83 * Effect of vehicle exhaust particulates on the immune response in nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissues**
○ Akira Yokoyama, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Rei Imamura, Chiaki Tanigawa, Tomoki Ohmoto, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai
Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.
- P-84 * Urban aerosols suppress proliferation of nasal epithelial cells**
○ Chiaki Tanigawa, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Akira Yokoyama, Rei Imamura, Tomoki Ohmoto, Nodoka Koga, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai
Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.
- P-85 * Effect of gender on upper airway immunity to vehicle exhaust particulates in aged mice**
○ Rei Imamura, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Akira Yokoyama, Nodoka Koga, Chiaki Tanigawa, Tomoki Ohmoto, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai
Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.

Poster Presentation II-9

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Noriaki Ishigami (ONO pharmaceutical Co.,Ltd.) •
Satomi Nishikawa (Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation)

- P-86 * Effects of nasal epithelial cells treated with vehicle exhaust particulates on lymphocyte composition in vitro**
○ Tomoki Ohmoto, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Rei Imamura, Chiaki Tanigawa, Nodoka Koga, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai
Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.
- P-87 * Structural optimization of TNFR1 antagonist by single-chain modification**
○ Natsuki Osaki¹⁾, Masaki Inoue^{1,2)}, Masahiro Kunishige¹⁾, Midori Miki¹⁾, Akira Onodera¹⁾, Yuichi Kawai¹⁾, Haruhiko Kamada^{2,3)}, Yasuo Tsutsumi³⁾, Shin-ichi Tsunoda^{1,2)}
¹⁾Fac. Pharm. Sci., Kobe Gakuin Univ., ²⁾NIBIOHN, ³⁾Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.

P-88 * Structural optimization of TNFR1 antagonist using site-specific PEGylation

○ Masahiro Kunishige¹⁾, Masaki Inoue^{1,2)}, Natsuki Osaki¹⁾, Midori Miki¹⁾, Akira Onodera¹⁾, Yuichi Kawai¹⁾, Haruhiko Kamada^{2,3)}, Yasuo Tsutsumi³⁾, Shin-ichi Tsunoda^{1,2)}

¹⁾Fac. Pharm. Sci., Kobe Gakuin Univ., ²⁾NIBIOHN, ³⁾Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.

P-89 * Function of TNFR2 signaling as a regulatory T cell regulator

○ Midori Miki¹⁾, Masaki Inoue^{1,2)}, Natsuki Osaki¹⁾, Masahiro Kunishige¹⁾, Akira Onodera¹⁾, Yuichi Kawai¹⁾, Daisuke Ando^{2,3)}, Haruhiko Kamada^{2,3)}, Yasuo Tsutsumi³⁾, Shin-ichi Tsunoda^{1,2)}

¹⁾Fac. Pharm. Sci., Kobe Gakuin Univ., ²⁾NIBIOHN, ³⁾Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.

Poster Presentation II-10

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Yoshimasa Okazaki (The Institute of Environmental Toxicology(IET)) • Katsuhiko Miyajima (Tokyo University of Agriculture)

P-90 Difference in toxic response of an anti-desmoglein-3 ADCC antibody in mouse due to target expression and physiological characteristics of organs

○ Etsuko Fujii^{1,2)}, Kenji Taniguchi²⁾, Atsuhiko Kato²⁾, Masami Suzuki^{1,2)}

¹⁾Forerunner Pharma Research, Co., Ltd., ²⁾Research Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

P-91 The Role of the Toxicologic Pathologist in Drug Discovery and Development

○ Norimitsu Shirai¹⁾, Lindsay Tomlinson²⁾

¹⁾Pfizer Drug Safety R & D, Pathology, Groton, CT, USA,

²⁾Pfizer Drug Safety R & D, Pathology, Cambridge, MA, USA

P-92 Responses to FDA SEND data -Part III-

○ Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Shin-ichi Horikawa¹⁾, Junichi Sakurai¹⁾, Haruko Koizumi¹⁾, Akihito Shimoi¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Hijiri Iwata²⁾, Takayuki Anzai³⁾

¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC., ³⁾Showa University School of Medicine

P-93 A consideration on pathology peer review and pathology phase report

○ Hijiri Iwata¹⁾, Takayuki Anzai²⁾, Yuji Oishi³⁾

¹⁾LunaPath L.L.C., ²⁾Showa University School of Medicine, ³⁾Osaka City University

Poster Presentation II-11

Day 2, January 26, Friday 13:10 ~ 14:10 Poster Room (Shell Hall banquet room, 7F)

Chair: Yoko Sugimoto (Nippon Boehringer Ingelheim Co.,Ltd.) • Yuki Tomonari (LSI Medience Corporation)

P-94 Immunohistochemical characterization of lung proliferative lesions in rats intratracheally given MWCNT

○ Yoshimitsu Sakamoto¹⁾, Motoki Hojo¹⁾, Tosinari Suzuki¹⁾, Akiko Inomata¹⁾, Akihiko Hirose²⁾, Dai Nakae³⁾

¹⁾Tokyo, Metropol. Inst. Pub. Health, ²⁾Natl. Inst. Health Sci., ³⁾Tokyo Univ. Agricul

P-95 * Comparative Pulmonary toxicity of DWCNT and MWCNT-7 in Rats

○ Ahmed M. El-Gazzar^{1,2,7)}, Mohamed Abdelgied^{1,2,8)}, David B. Alexander¹⁾, William T. Alexander¹⁾, Takamasa Numano¹⁾, Masaaki Iigo¹⁾, Aya Naiki²⁾, Hirotsugu Takase³⁾, Akihiko Hirose⁴⁾, Yuhji Taquahashi⁵⁾, Jun Kannno⁶⁾, Satoru Takahashi²⁾, Ashraf Mohamed Nazem⁹⁾, Osama Saeid Elokke⁷⁾, Hiroyuki Tsuda¹⁾

¹⁾ Nanotoxicology Project, Nagoya City University, Nagoya, Japan.,

²⁾ Dept Exp Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Grad School Med Sciences, Nagoya, Japan.,

³⁾ Nagoya City University Graduate School Med Sciences, Nagoya, Japan.,

⁴⁾ Div Risk Assessment, NIH, Tokyo, Japan.,

⁵⁾ Div Cellular and Molecular Toxicology, NIH, Tokyo, Japan.,

⁶⁾ Japan Industrial Safety and Health Association, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan.,

⁷⁾ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.,

⁸⁾ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Beni Suef University, Beni Suef, Egypt.,

⁹⁾ Dept Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.

P-96 Dynamics of stem, progenitor, and differentiated cells in the regenerative process of gastrointestinal ulcer in mice

○ Akihiro Hirata¹⁾, Kengo Namiki²⁾, Atsuko Murai²⁾, Hiroyuki Tomita³⁾, Akira Hara³⁾, Hiroki Sakai⁴⁾, Tokuma Yanai⁴⁾

¹⁾ Gifu Univ., ²⁾ Ono Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾ Gifu Univ. Graduate Sch. Med., ⁴⁾ Gifu Univ.

P-97 * Comprehensive gene expression analysis for two different types of GST-P positive foci in terms of their kinetics after cessation of carcinogen treatment

○ Shinji Takasu¹⁾, Yuji Ishii¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura^{1,2)}

¹⁾ Div. of Pathol, NIHS, ²⁾ Faculty of Anim. Sci. Technology, Yamazaki Gakuen Univ.

P-98 * Potassium octatitanate fiber (K₂O · 8TiO₂) fiber is a potent inducer of lung and pleural injury in male Fischer 344 rats: A comparative study of titanium dioxide nano particles

○ Mohamed Abdelgied^{1,2,3)}, Ahmed M. El-Gazzar^{1,2,4)}, David B. Alexander¹⁾, William T. Alexander¹⁾, Takamasa Numano¹⁾, Masaaki Iigo¹⁾, Aya Naiki²⁾, Hirotsugu Takase⁵⁾, Khaled Abbas Abdou³⁾, Akihiko Hirose⁶⁾, Yuhji Taquahashi⁷⁾, Jun Kannno⁸⁾, Satoru Takahashi²⁾, Hiroyuki Tsuda¹⁾

¹⁾ Nano toxicology Project, Nagoya City University, Nagoya, Japan.,

²⁾ Dept Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan.,

³⁾ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Beni Suef University, Beni-Suef, Egypt.,

⁴⁾ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.,

⁵⁾ Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan.,

⁶⁾ Div Risk Assessment, NIH, Tokyo, Japan., ⁷⁾ Div Cellular and Molecular Toxicology, NIH, Tokyo, Japan.,

⁸⁾ Japan Industrial Safety and Health Association, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan.

Luncheon Seminar I

Day 1, January 25, Thursday 12:10 ~ 13:00 Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)

Chair: Makoto Imatachi (Envigo Co., Ltd.)

Co-sponsor: Envigo Co., Ltd.

- LS1 **Immune functions in lymph nodes - how lymph nodes work; illustrated anatomical basis for surveillance, filtration and antigen response**
Cynthia Willard-Mack
Pathology, Envigo US

Luncheon Seminar II

Day 1, January 25, Thursday 12:10 ~ 13:00 Venue 2 (Ouchou banquet room, 6F)

Chair: Kazumoto Shibuya (Nippon Institute for Biological Science)

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

- LS2 **Histopathologic evaluation for the Monkey Safety Test for Neurovirulence of Yellow Fever and Tetravalent Dengue Vaccines - WHO Protocol for Live-Attenuated Vaccines-**
Sheila Grimes
Southern Research

Luncheon Seminar III

Day 2, January 26, Friday 12:10 ~ 13:00 Venue 1 (Nirai Kanai banquet room, 6F)

Chair: Kaori Isobe (Charles River Edinburgh)

Co-sponsor: Charles River

- LS3 **Use of Unbiased Stereology in Drug Development**
Danielle L. Brown, DVM, MS, DACVP, DABT
Charles River Pathology Associates

Luncheon Seminar IV

Day 2, January 26, Friday 12:10 ~ 13:00 Venue 2 (Ouchou banquet room, 6F)

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

Co-sponsor: Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

- LS4 **Non-clinical safety studies for human cell derived tissue-engineered medical products**
Hiroaki Magotani
Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Abstracts

Special Lecture

Symposium

Panel Discussion

Workshop

SL1

Development of bioresources in Okinawa and toxicology

Yoko Aniya

Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University

It is an important role for local university to contribute to welfare and development of each prefecture. In line with such a policy various developmental researches have been conducted in University of the Ryukyus. Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University (OIST) founded by Japanese Government aims to achieve excellence in research and science education, and thus contribute to the sustainable development of Okinawa. I would like to talk about the developmental research of bioresources performed by Ryukyu University-Industry cooperation, and also to introduce OIST.

In the developmental research of bioresources in Okinawa screening and evaluation of antioxidant action were examined by using traditional medicinal and dietary herbs as well as food materials. It was clarified that antioxidant activity of herbs is potentiated by cultivating under irradiation of UV rays and typical Okinawan vegetables show higher antioxidant activity compared with general vegetables. Pharmacological and toxicological actions of these herbs/foods were evaluated and main antioxidant components were isolated. Antioxidants thus obtained have shown various pharmacological actions including liver protective, cancer preventive, anti-inflammatory, antidiabetic, and antibacterial actions. Some new antioxidants were isolated and their functional mechanisms were also clarified. These academia-industry collaboration researches resulted in promotion of a development of healthy food in Okinawa. I really, through these studies, recognized that herbal antioxidants show biphasic dose-response curve and multi-target actions, and these unique properties of herbal antioxidants should be kept in mind for evaluation of pharmacological/toxicological action.

OIST is an international graduate school and all education and research are conducted entirely in English. The first students will graduate at the end of this year with Ph.D. At OIST there are no academic departments but are 60 research units, each directed by faculty members (professor, associate professor, assistant professor). Research areas of the units include neuroscience, environmental and ecological science, physics and chemistry, mathematical and computational science, and molecular, cellular and developmental biology. Excellent academic achievements at OIST have been seen in many papers published in prestigious journals. OIST has also strengthened the Technology Transfer and Development Center to promote the development of Okinawa.

Mechanisms of food allergy and oral immune tolerance in early infancy and possible diagnostic biomarkers of them

Hiroshi Kido, M.D., Ph.D.

Institute for Enzyme Research, Tokushima University

Recently, evidences are accumulating that there is a strong association between food sensitization and atopic dermatitis, suggesting that allergic sensitization to foods can be mediated by cutaneous allergen sensitization. For prevention of food allergy, such as peanut and egg allergy, it has been reported that early consumption is more beneficial in reducing the incidence of food allergy than late introduction or avoidance of the food allergen. We recently reported that introduction of heated egg in a stepwise manner together with aggressive eczema treatment is a safe and efficacious way to prevent hen's egg allergy at one year of age in high-risk infants (The Lancet 389:276-86, 2017). However, studies on the mechanisms of food allergy and oral immune tolerance in early infancy and possible diagnostic biomarkers for introduction of early consumption in medical setting have not been fully studied.

We recently monitored egg and milk allergen-specific immunoglobulin subclass formation trajectories every 2 months from birth to 6 months of age. Allergen-specific immunoglobulins and allergen-specific affinity of IgE were measured by the densely carboxylated protein (DCP) microarray using a 20 μ L serum or plasma in total under a less burden conditions on infants. We found two different immunoglobulin class-switching patterns between food allergy infants and no-food allergy infants who will develop to oral tolerance at one years of age, and high and low allergen-specific affinity of IgE in food allergy and no food allergy infants, respectively. Low-affinity IgE has not been detected by the ordinal assay methods reported and is detected only by the new DCP microarray established in Japan. Low-affinity IgE in human was originally found in cord blood by us and has characteristics of no-induction of Fc ϵ RI-mediated histamine release from mast cells. In the present study, we found high-affinity IgE in the infants who had eczema history and developed to food allergy at one years of age, and low-affinity IgE in the infants who have no food allergy at one years of age and will develop to oral tolerance.

In this presentation, I will introduce the new findings and paradigm shifts of human low- and high-affinity of IgE which are detected by a novel DCP chip microarray.

SY1-1

Early detection of risk of bladder carcinogenesis by immunohistochemistry for γ -H2AX

○ Takeshi Toyoda¹⁾, Kohei Matsushita¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, Jun-ichi Akagi¹⁾, Mizuki Sone^{1,2)}, Akiyoshi Nishikawa³⁾, Kumiko Ogawa¹⁾

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

²⁾Tokyo University of Agriculture and Technology,

³⁾Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

Alternative methods for long-term carcinogenicity tests using rodents are required. To develop an early detection method for risk of bladder carcinogenesis, we focused on the DNA repair pathway. In order to identify DNA repair-associated factors that change at the early stage of exposure of carcinogens, we performed immunostaining for various pathways, such as double-strand breaks (DSB) and mismatch repair, using the urinary bladder of rats treated with *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN), a genotoxic bladder carcinogen. The formation of γ -H2AX, a biomarker of DSB, was increased in the BBN-treated groups. γ -H2AX-positive cells were observed not only in tumor cells but also in normal-like epithelial cells after 33 weeks from the end of administration. These results indicate that the DNA damage generated at the early stage of exposure persists for a long time and contributes to later carcinogenesis.

γ -H2AX is formed by phosphorylation at Ser139 of H2AX. Since its discovery in 1998, γ -H2AX is known as a sensitive and specific marker of DSB, and is expected to be applied in a wide range of scientific fields. Genotoxic bladder carcinogens significantly increased the number of γ -H2AX-positive cells in the bladder urothelium of rats, whereas chemicals that were genotoxic but not carcinogenic in the bladders did not cause upregulation of γ -H2AX. Comparative experiments using mice showed similar results, reflecting species differences in bladder carcinogenicity. In addition, oral treatment of the genotoxic bladder carcinogen by subcutaneous or intravesical administration induced increased γ -H2AX formation, although the degree was attenuated. These results suggest that γ -H2AX is useful for early detection of genotoxic bladder carcinogens. Since this method can be performed by routine immunostaining in short-term toxicity test, it can be an efficient and rapid risk assessment of chemicals.

γ -H2AX formation showed a tendency to increase in rats treated with nongenotoxic bladder carcinogens, such as melamine and uracil, without statistical significance. DSB occurs not only as a result of direct injury to DNA but also as indirect injury or DNA replication error. γ -H2AX is not limited to those based on genotoxic mechanism but may possibly be used as a broad marker of bladder carcinogenicity.

Furthermore, as a candidate for early detection of bladder carcinogenicity other than γ -H2AX, Ki67 showed the increased expression by many bladder carcinogens. It might be possible to apply KRT 14 which is a bladder stem cell marker and reported to be the origin of human bladder invasive cancer. Combined use of these biomarkers is expected to lead to an improvement in the accuracy of the evaluation and estimation of carcinogenic mechanisms.

SY1-2

The role of surfactant protein and application for assessment of the risk of carcinogenesis.

Masanao Yokohira

Onco-pathology, faculty of medicine, Kagawa university

Surfactant proteins (SPs) are essential to proper respiratory structure and function. There are 4 subtypes, SP-A, SP-B, SP-C and SP-D. However, the expression of SP-A, SP-B, SP-C or SP-D in lung tumors has received only limited information. The expectorant drug ambroxol hydrochloride is clinically prescribed to stimulate pulmonary surfactant and airway serous secretion, and some studies reported that ambroxol treatment regulated SP production and lowered pulmonary inflammation. In this presentation, it is shown the expressions of SP-A, SP-B, SP-C and SP-D in lung neoplastic lesions and in inflammatory lesions in rodents, and application for diagnosis by using marker concerning the SPs.

SP-B and SP-C showed strong expression in lung hyperplasias and adenomas and expression of SP-A and SP-D was observed in mucus or exudates in inflammatory alveoli. It has also demonstrated a suppressive effect of ambroxol hydrochloride, stimulating pulmonary surfactant and airway serous secretion, on the quartz-induced lung inflammation. Latent tumorigenic hyperplasia induced by various carcinogens in rodents were positive for napsin A, an aspartic proteinase involved in the maturation of SP-B, and this indicated focal type 2 pneumocytes increase in the lung. Thus, high expression of napsin A in alveolar walls may serve as a useful marker for detecting the tumorigenic potential of lung hyperplasia in rodents.

SY1-3

Elucidation of molecular markers and establishment of rat model for early detection of prostatic carcinogens.

○ Shugo Suzuki, Aya Naiki-Ito, Hiroyuki Kato, Satoru Takahashi

Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences Experimental Pathology and Tumor Biology

Elucidation of molecular markers and establishment of rat model for early detection of prostatic carcinogens. 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 with rat model. For the purpose, microarray analysis was utilized with RNA from ventral prostate in PhIP-treated rat, and phospho-H2AX (γ -H2AX), high mobility group box 2 (HMGB2) and Ki67 were detected as up-regulated genes. For the potency of these genes as prognostic markers, 6-week-old male F344 rats were treated with various carcinogens including prostate carcinogens such as PhIP, DMAB, MNU and BOP, and were sacrificed at experimental day 2. γ -H2AX labeling indices were significantly increased in rats treated with PhIP and DMAB, but not in rats treated with MNU or BOP. HMGB2 and Ki67 labeling indices were significantly increased in rats treated with all prostate carcinogens. Meanwhile, there were no differences in these 3 labeling indices in prostate of rats treated with non-prostatic carcinogens. To consider the 3Rs (Replacement, Reduction and Refinement), we investigated the detection method of prostatic carcinogens with a toxicological program, and focused on the Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. Six-week-old male F344 rats were orally treated for 4 weeks with 8 carcinogens including prostate carcinogens (PhIP, DMAB, BOP and MNU), and were sacrificed at the end of administration. γ -H2AX labeling indices were significantly increased in rats treated with DMAB, but not in rats treated with other prostate carcinogens. HMGB2 and Ki67 labeling indices were significantly increased in rats with all prostate carcinogens. Meanwhile, there were no differences in these 3 labeling indices in prostate of rats treated with non-prostatic carcinogens. In rat and human neoplastic lesions, HMGB2 and Ki67 labeling indices were significantly higher than these around normal epithelium. In conclusion, HMGB2 and Ki67 are possible candidates of alternative molecular markers for detection of prostatic carcinogens in rats within a short period.

SY1-4

A novel gene expression-based short-term model for detecting genotoxic hepatocarcinogens

○ Min Gi, Masaki Fujioka, Ann Kakehashi, Hideki Wanibuchi

Department of Molecular pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

Cancer risk assessment of environmental chemicals using various animal models is a major component of risk assessment for humans. While animal studies should be conducted only after consideration of the 3Rs (reduction, refinement and replacement, the guiding principles underpinning the humane use of animals in scientific research), there is a great need to develop short-term and comprehensive animal models for risk assessment. Current experimental methods used to evaluate carcinogenicity are often time-consuming and expensive, indicating that they are not suitable for a large-scale evaluation, especially for those newly introduced into the environment. We will present our recent work on the development of a short-term rat model for detecting genotoxic hepatocarcinogens using expression profiles of marker genes after 24-hour exposure and support vector machine (SVM) method. GeneChip expression data deposited in the Open Toxicogenomics Project-Genomics Assisted Toxicity Evaluation System (TG-GATEs) was used to identify marker genes. Ten genes whose expression were commonly altered 24 hours after exposure to genotoxic hepatocarcinogens were identified as marker genes and a SVM classification model was developed. We showed that our gene expression-based classification model can discriminate genotoxic hepatocarcinogens from other chemicals. We also demonstrated that expression data of marker genes deriving from the quantitative real-time PCR are directly applicable for the classification. These results indicated that our model is useful for rapid detection of genotoxic hepatocarcinogens.

SY2-1

Nanomaterial respiratory toxicity monitored in rats after whole body inhalation.

Jun Kanno

Japan Bioassay Research Center, Japan Organization of Occupational Health and Safety

One of the reasons that the chronic toxicity study on nanomaterials (NMs) has not been well developed, compared to general chemicals or “soluble” compounds, is because they are one of the particulate matter (PM), and PM toxicology which is a very difficult subfield of Toxicology to engage. One of the most important routes of exposure of PMs is inhalation. This inhalation is another big hurdle for toxicologists; inhalation facilities are expensive to build and run, and requires skillful operators. Methods to generate well-dispersed aerosol and quantitatively measure the aerosol density often need case-by-case innovation for each NM specimen.

And yet, fortunately, we find a few hints from the PM-related human diseases that are reported in the past. One example is asbestos. Studies ranges from foreign body inflammation, granulomatous responses, responses towards fibrosis, to the most important “frustrated phagocytosis” for a specific size and shape of a fiber related to the oxidative stress mechanisms to initiate and promote mesotheliomagenesis and lung adenocarcinomagenesis.

Here, lung responses against multi-wall carbon nanotubes (MWCNT: Mitsui MWNT-7, long and short term) and titanium dioxide (TiO₂, Tayca Corp. AMT-600, short term) monitored by whole body inhalation studies are presented. In addition, findings of “Taquann” dispersion method and direct injection system using MWCNT and other particles at NIHS are shown for comparison.

In vitro and *in vivo* acute toxicity data are accumulating fast. The extrapolation of such data to *in vivo* chronic toxicity awaits further accumulation of bridging data. For the sound growth of nanomaterial industry and protection of workers and users, usage of both *acute* and *chronic* toxicity data in a reasonable balance is practical and essential.

SY2-2

International trends and necessity of chronic effects information on risk assessment of nanomaterials

Akihiko Hirose

Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

After activities of gathering initial toxicological information for nanomaterial safety evaluation by international or national agencies including OECD for the last decade, the future works are focusing on developing category risk assessment approaches as the next step. The Japanese government has also contributed to construct the dossiers of carbon-based nanomaterials under the OECD sponsorship program, and focused on the development of screening studies or sample preparation methods. We studied several types of MWCNTs to rats by single intraperitoneal administration and followed by one-year observation period. The potential of induction of mesothelioma seems to be dependent on ratios of the number for longer length fibers. We found that the potency of the inflammatory cytokines production in macrophage type cells (THP-1) mainly depended on the fiber length of nanofibers. Such results support that the frustrated phagocytosis is a major mechanism of carcinogenicity by nanomaterials exposure. The recent report indicated that the MWNT-7, a one of the various types of multi-wall carbon nanotubes (MWCNTs), induced lung cancer, but not induced mesothelioma in a two-year inhalation rat study. We realized that the potential of induction of mesothelioma is not always correlated with the potential of induction of lung carcinoma. Meanwhile, it is reported that chronic observation by intratracheal administration of only a few carbon nanotubes caused both mesothelioma and lung carcinoma. Therefore, it is still lack of assessment information to evaluate chronic effects by carbon nanotubes exposure. As for the international test guideline activities by OECD, recently, the two inhalation toxicity guidelines (28 days and 90 days) were revised for adjusting nanomaterials evaluation. Especially, the protocols for measuring lung burden of particles, such as insoluble nanomaterials, were added to the both guidelines. However, we have not fully understood the correlation of short-term exposure effects and chronic carcinogenicity. Additionally, conducting the inhalation studies for many kinds of nanomaterials is not realistic option. Then, we proposed the feasible study for assessment of *in vivo* short-term exposure methods which include an intratracheal administration method for inhalation toxicity testing of manufactured nanomaterials. We should continuously gather the chronic effects of nanomaterials exposure by using such methods, and further researches for chronic toxicity mechanism are undoubtedly important for the development of the *in vitro* or short-term *in vivo* methods.

SY2-3

Nano-safety research of nanoparticles used in foods toward sustainable nanotechnology

○ Kazuma Higashisaka^{1,2)}, Kazuya Nagano¹⁾, Hiroshi Matsumoto²⁾, Yasuo Tsutsumi^{1,3)}

¹⁾Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ., ²⁾Grad. Sch. Med., Osaka Univ., ³⁾MEIC, Osaka Univ.

Due to progress of researches on food and health in recent years, new materials and ingredients useful for maintenance and promotion of health and for prevention of lifestyle diseases are being developed one after another. Therefore, the desire for food safety and security is increasing, and securing safety is an urgent issue for new materials used for foods. From this viewpoint, the use of new materials, including nanoparticles, is also progressing rapidly in the food industry. Nanoparticles are defined as substances that have at least one dimension of less than 100 nm in size. They have unique physicochemical properties and innovative functions compared with conventional materials of submicron size. However, safety concerns regarding the use of nanoparticles have extended worldwide. On the other hand, there are few studies trying to elucidate the risk by pursuing biological kinetics in doses and proper routes taking into account the actual exposure situation. Since nanoparticles can dramatically improve the quality of our lives, it is essential to obtain wide range of safety information that contributes to the risk analysis of nanoparticles based on scientific evidence. Moreover, understanding and securing their safety based on this information are important issues to ensure their safety. Thus, in order to promote the development of safe and effective forms of nanoparticles, we have attempted to assess the association among their physical properties, nanoparticles-induced biological effects, and biological kinetics. In addition, basic information that could contribute to the development of sustainable nanotechnology have attempted to be collected by accumulating information for making it safe what are concerned about safety. In this symposium, we introduce the latest findings on these nano-safety science and nano-safety design research, and we would like to discuss the current issues of the safety assessment of nanoparticles.

SY2-4

Novel Antioxidative Nanotherapeutics by Nitroxide-radical Containing Polymer Nanoparticles

Yukio Nagasaki

Department of Materials Science and Medical Sciences, Satellite, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

Reactive oxygen species (ROS) are known to play various roles on the occasion of many important events in vivo. However, excessive production of ROS causes significant adverse side effects to living body. Numerous drugs have been applied to reduce excessive generated ROS. However, low molecular weight (LMW) antioxidants spread non-specifically to entire body and internalize in healthy cells. Because the living body obtains energy via the mitochondrial electron transport chain, such LMW antioxidants suppress this kind of normal redox reaction to cause severe damage to normal organs and body. In order to improve selective anti-oxidant character in vivo, we have designed redox polymer drugs, which possess self-assembling character in aqueous media. The synthesized amphiphilic block copolymer, poly(ethylene glycol)-b-poly[4-(2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl)aminomethylstyrene] (PEG-b-PMNT) spontaneously forms core-shell type self-assembled nanoparticle in aqueous media. The nitroxide radicals, which covalently installed as a side chain of hydrophobic segment in the block copolymer were compartmentalized in a solid core of the nanoparticle, and named nitroxide radical-containing-nanoparticle (RNP^N). Because RNP^N hardly internalize in healthy cells, it showed the extremely low toxicity in vivo, unlike LMW antioxidants. RNP^N has pH-sensitive disintegration character, thus it disintegrates in tumor and inflamed sites because of decrease in pH in these areas, which can be utilized as pH-responsive bioimaging and therapy. We have so far employed this particle for cerebral, renal and myocardial ischemia-reperfusion, cerebral hemorrhage, cancer chemo-therapy, gene delivery system, ulcerative colitis and Alzheimer's disease and confirmed that it is promising as novel redox-polymer nanotherapeutics. The nitroxide radical-containing polymers can also be used for new types of biomaterials.

References

1. Hiroyuki Nakagawa, et al., Design of high-performance anti-adhesion agent using injectable gel with an anti-oxidative stress function, *Biomaterials*, Vol. 69,165-173 (2015)
2. Yukio Nagasaki, et al., Design and use of silica-containing redox nanoparticles, siRNP for high-performance peritoneal dialysis, *Biomaterials Science*, Vol.2, No.4., 522-5298(2014)
3. Toru Yoshitomi, Yukio Nagasaki, ROS-scavenging Nanomedicine for Treatment of Oxidative Stress Injuries, *Advanced Healthcare Materials*, Vol.3, Issue 8, p.1149-1161(2014)
4. Toru Yoshitomi, et al., Redox Nanoparticle Therapeutics to Cancer -Increase in therapeutic effect of doxorubicin, suppressing its adverse effect-, *Journal of Controlled Release*, Vol. 172 No. 1, pp. 137-143
5. Long Binh Vong, et al., An Orally Administered Redox Nanoparticle that Accumulates in the Colonic Mucosa and Reduces Colitis in Mice, *Gastroenterology*, Vol.143, No.4, 1027-1036 (2012).
6. Yukio Nagasaki, Nitroxide radicals and nanoparticles: A partnership for nanomedicine radical delivery, *Therapeutic Delivery*, 3(2) 1-15(2012)

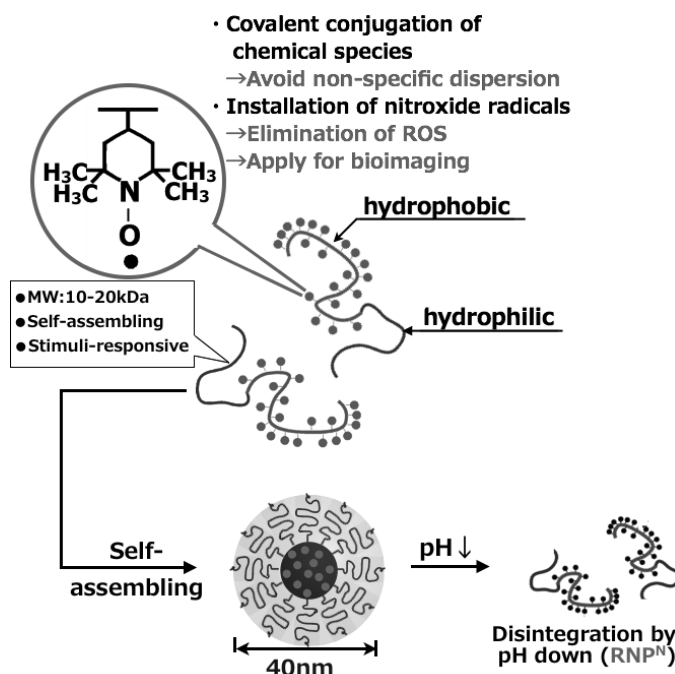


Fig.1. Design of Redox Nanoparticle for Novel Anti-oxidative

PD-1

Current status of histopathology slide educational session for JSTP certification exam, and the role of toxicologic pathologists in drug development

Satoru Hosokawa

Global Drug Safety Research, Eisai Co., Ltd.

In order to meet the increasing demand to verify the quality of pathological assessments in safety studies for chemicals, the Japanese Society of Toxicologic Pathology established the board certification system in 1992. The purpose of certification is to provide credentials for toxicologic pathologists, and to promote professional competency in toxicologic pathology. Up until now, 514 pathologists, in total, have been certified as Diplomates of the Japanese Society of Toxicologic Pathology. The certification exam is composed of three categories, i.e. the written examination, and practical examinations in macroscopic and microscopic diagnosis. In spite of relatively consistent high marks in the written examinations and macroscopic diagnosis, there is a tendency for microscopic diagnosis marks to vary substantially among applicants. There is a group that appears to have been given adequate opportunity to learn slide reading and interpretation of pathologic lesions; while another group includes those with apparently little opportunity. This is especially likely for those sitting for the exam more than once, in spite of their efforts. These observations led us to hold a histopathology slide educational session. Three slide sessions have been held so far. The session is designed to have group discussions for selected slides, that were used in the previous year's certification examination with resultant low marks among candidates. The educational session provides a training opportunity for the JSTP exam candidates. These sessions have greatly contributed to improvement of the rate of passing grades. An introduction to the slide session will be delineated.

Pathological assessment in safety studies plays a critical role in the risk assessment of chemicals, and the demand for the role and responsibilities of toxicologic pathologists is increasing. In the preclinical safety assessment during drug development, the toxicologic pathologists play an essential role in project management and risk assessment, as well as pathological evaluation in pharmacology and toxicity studies. In the face of various issues during drug development, toxicologic pathologists contribute to issue identification, issue resolution and issue prevention. It is also important for toxicologic pathologists to adequately communicate these issues to internal/external non-pathologists in an easy-to-understand and appropriate manner (risk communication). Examples of such issues in drug development will be introduced, and the education and career design for toxicologic pathologist will be discussed.

PD-2

Education and Postgraduate Career Guidance on Toxicologic Pathology in Japanese Veterinary Schools

Makoto Shibutani

Tokyo University of Agriculture and Technology

In many veterinary schools of Japan, toxicology class and its practice are handled by academics who have scientific background of pharmacology or hygiene. In addition, textbook of veterinary toxicology edited by Japanese Society of Comparative Pharmacology and Toxicology lacks viewpoints of toxicologic pathology. Therefore, educational environment is insufficient in terms of toxicologic pathology in Japanese veterinary schools. On the other hand, all the academics specialized in toxicologic pathology have scientific background of veterinary pathology. Therefore, they should either participate in veterinary toxicology classes or include toxicologic pathological contents in the veterinary pathology classes, if they wish students to know toxicologic pathology. However, it is virtually difficult to give such lectures evenly in all schools, because many of academics of veterinary pathology are not familiar with toxicologic pathology. From these points of view, veterinary undergraduates usually do not have a chance to recognize toxicologic pathology as a part of veterinary sciences, and therefore, activities on research and education in the laboratories investigating toxicologic pathological studies become important for guiding students to the field of toxicologic pathology.

In our laboratory, we have Histology Relearning Seminar for students before entering the routine of histopathological diagnosis; Fischer Rat Seminar for learning of spontaneous histopathological lesions developed in animals in carcinogenicity studies; Cell Seminar to promote understanding of molecular biological mechanism of the cells; two kinds of Journal Club for each of undergraduate and graduate school students to promote understanding of scientific issues related to graduation or doctor thesis work. We also invite scientists to give us lecture regarding up-to-date topics on researches and related affairs. We also host a slide conference, and undergraduate school students can collect information on pharmaceutical and/or agrochemical companies as a choice for future career from the attending young researchers of outside. In addition, graduation work in our laboratory involves animal experiment studies, and thus, students can learn general toxicity and experimental pathological studies during the study. Through the presentation of research findings in scientific meetings, students can have opportunities to discuss with outside scientists, and this experience may lead to a motivation to have career in the field of toxicologic pathology. Moreover, by paper publication in international journals, students can describe images to have a Ph.D. degree. In our laboratory, 75% of alumnae and alumni during the recent 10 years have careers in the field of toxicologic pathology, and seven of them got a Ph.D. degree.

To recruit researchers for toxicologic pathology, it becomes now urgent issue to train academic candidates in the field of toxicologic pathology. For this purpose, co-operative education of human resources may be necessary among universities, governmental and foundation institutes, and company institutes.

PD-3

Veterinary Education in the U.S. and Career Development Path for Toxicologic Pathologists

Hajime Hiraragi

Amgen Inc., Comparative Biology & Safety Sciences, South San Francisco, CA, USA

Doctorate of Veterinary Medicine (DVM) is a professional degree awarded after completing a 4-year program at one of 30 accredited veterinary schools within the U.S. In a typical DVM curriculum, there is no stand-alone course for toxicologic pathology. Instead, it is typically covered as a part of veterinary toxicology and veterinary pathology courses, with its contents limited to clinical manifestations of mostly well-characterized toxins and toxic compounds. In contrary to the program in Japan, there is a limited opportunity for students to specialize a certain discipline as the U.S. veterinary degree program weighs heavily on clinical practice education and training.

Another feature of U.S. veterinary education system is its long-established and widely recognized post-DVM residency programs, in which a DVM graduate can opt to pursue a training to become a specialist of certain type of veterinary practice through board-certification process. As of 2017, there are 22 veterinary specialties recognized by the American Veterinary Medical Association (AVMA) with approximately 12,000 out of 80,000 U.S. veterinarians board-certified in at least one specialty. American College of Veterinary Pathologists (ACVP) currently has approximately 1,400 pathologists, making it the third largest veterinary specialty group. Some pathology trainees who are enrolled in pathology residency programs either concurrently or subsequently pursue additional graduate-degree (*e.g.*, M.S, Ph.D.) and/or complete post-doctoral research work in fields including toxicologic pathology.

There is no certifying body for toxicologic pathologist in the U.S. The Society of Toxicologic Pathology (STP) does not certify toxicologic pathologist unlike JSTP, and ACVP-boarded pathologists conduct the majority of toxicologic pathology work. For toxicologic pathologists in industry setting, most of training and career design information are provided as on-the-job basis, including work experience as a study and peer review pathologist, with mentorship from experienced pathologists, and through participation in continuous education (CE) courses and workshops on topics in toxicologic pathology offered by various societies and organizations. At Amgen, weekly slide conference with digitally scanned slides is held to review and discuss cases and their impact to R&D projects.

As technical and scientific experts in comparative pathology and system biology, the demand for toxicologic pathologists, especially those who have hands-on experience in drug and chemical product development processes, remains high among U.S. biopharmaceutical and chemical industry, hence the urgent need to recruit, train, and retain future talents. Additionally, there is an increasing demand for veterinary pathologists who possess additional skill sets in emerging technologies such as digital image analysis and genomics, given the fast pace of innovation in biotechnology and its proliferation in the U.S. From globalization aspect, more pathologists who can work effectively under international environment are needed as well.

As toxicologic pathology is a pivotal scientific discipline in a wide range of industry such as biopharmaceuticals and agrochemicals that are constantly subject to new technology and regulatory environment, a common and sustainable platform to share and learn both basic and emerging concepts in toxicologic pathology is needed for successful career development of toxicologic pathologists.

PD-4

A Comparison of Practice of Industrial Toxicologic Pathologists in Japan and the United States

Takayuki Tsuchiya

Department of Safety Assessment and Laboratory Animal Resources (West Point, PA U.S.A.), MR L, Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA

The author would like to share views on the practice of toxicologic pathologists in Japan and the United States, and will touch upon potential challenges in the career development of toxicologic pathologists, as well as possible approaches to address these challenges.

Toxicologic pathologists are responsible for detecting and interpreting pathological findings, assessing correlation of these findings to changes in other parameters, and contributing to a comprehensive risk assessment of the test article. Ultimately, identified risks should be communicated to stakeholders (toxicologists and regulatory reviewers) properly. In both Japan and the United States the majority of toxicologic pathologists are employed by pharmaceutical companies, contract laboratories and, to a lesser extent, agricultural or other chemical companies or governmental or private research organizations. The focus here will be on the path to enter the profession and following practice in Japan and the United States.

Qualifications for employment as a toxicologic pathologist differ between Japan and the United States. In the United States, job applicants must have a doctor of veterinary medicine and certification from the American College of Veterinary Pathology (ACVP) board (or equivalent) for most industrial positions. In contrast in Japan, in general, companies hire entry level applicants without these qualifications. The Japanese Society of Toxicologic Pathology (JSTP) certifies eligible toxicologic pathologists who maintain a full membership in JSTP continuously or intermittently during the past five years, or longer, and have completed scientific activities specified by JSTP. Employer-sponsored job training in pathology, either domestically or abroad, which is not uncommon in Japan, is not seen in the United States. Therefore, industrial job applicants in the United States must acquire a basic education as a veterinary pathologist before entering the job market. In contrast, in Japan there is a system based on employers investing in inexperienced pathologists by providing on the job training. An issue common to Japan and the United States is that there are few educational institutions or programs that provide specialized toxicologic pathology training before joining the industrial work force. In the United States there are a limited number of universities that offer programs emphasizing toxicologic pathology training during the 3-year residence period necessary for ACVP board certification. In addition, in the United States there is no certification system for toxicologic pathologists. The number of universities with laboratories specialized in toxicologic pathology training are limited in Japan as well. Furthermore, the numbers of toxicologic and veterinary pathologists qualified by JSTP and ACVP per year from 2014 through 2016 were 7 to 23 and 56 to 61, respectively, and are limited. These issues could have an impact on the sustainable acquisition of future toxicologic pathology talent. A potential approach to these problems is to expand industrial internships or externships in order to identify talented individuals early in their careers and provide greater perspective on possible employment of toxicologic pathologist in industry. In the United States, the ACVP / STP Coalition for Veterinary Pathology Fellows organizes a program in which pharmaceutical companies and contract laboratories support three year pathology residencies for students interested in industrial careers. In addition to the above points, the author will touch on the comparison of work content and external activities between Japan and the United State, and would like to assist this panel discussion.

WS-1

Role of systemic immunity in the progression of hepatic inflammation in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis

○ Takeshi Izawa, Shoko Ohji, Machi Atarashi, Rena Miyagi, Ai Hashimoto, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamete

Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

[Background] Nonalcoholic fatty liver disease is a hepatic manifestation of metabolic syndrome, and can progress to nonalcoholic steatohepatitis (NASH), cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The mechanism of NASH progression is still largely unknown. Here we investigated the mechanism of steatohepatitis progression in rat model, focusing on changes in immune systems and intestinal microbiota. [Materials and Methods] Six-week old male F344 rats were fed a control (5% fat) or high-fat diet (16% fat) for 30 weeks. Serum and systemic organs were used for histopathological, gene expression and intestinal biota analyses. [Results] In high-fat group, ALT-predominant elevation of serum transaminases, increases in hepatic lobular inflammation and cytokine expression (TNF α , IFN γ , TGF β , IL1 β) are associated with disease progression. Simultaneously, increased expression of CCL2 in the white fat tissue, and increased expression of IFN γ and decreased expression of IL4 in the spleen were observed. Microbiota analysis from cecal content revealed an increased proportion of Gram-negative bacteria, increases in *Akkermansia* and *Parabacteroides*, and decreases in *Osillospira* and *Ruminococcus*, which are associated with upregulation of TLR2/4 signaling and NK cell-related molecules. [Conclusion] Systemic pathology, including cytokine release from fat tissue and spleen, and activation of innate immunity by intestinal dysbiosis, is involved in the progression of steatohepatitis in NASH model rat.

WS-2 *

How does the hepatic lesion progress to fibrosis and tumor in a newly established murine model for NASH

○ Yui Terayama, Kazue Akira, Takashi Yamagiwa, Yuki Nakatani, Nanayu Oshima, Tsuyoshi Morio, Tetsuro Matsuura, Kiyokazu Ozaki

Laboratory of Pathology, Setsunan University

Introduction: Homozygous mice of JVS (*jvs/jvs*) strain are known to develop fatty liver. We have reported that both heterozygous (*jvs/+*) mice fed high fat diet (HFD) and wild-type (+/+) mice treated with alloxan (AL) and HFD, show steatosis, inflammation, fibrosis and tumor at 40 weeks of age. In the present study, we try to investigate time-dependent change from 20 to 40 weeks of age, and inflammatory cells and cytokines involved in this lesions.

Methods: Male heterozygous and wild-type mice were fed HFD from 3 weeks of age. In addition, the wild type was divided into 2 groups; mice treated with/without AL treatment. **Results:** At 20 weeks of age, almost all mice in 3 groups showed fatty liver as well as high insulin level, HOMA-IR index and cholesterol level. Histopathologically, mild to moderate hepatic steatosis and multifocal neutrophil accumulation in centrilobular zone were detected, and these changes tended to be stronger in the AL-treated group. These hepatic lesions became stronger and progressed to sinusoidal fibrosis in all groups at 40 weeks of age. The incidence of nodular hyperplasia and/or adenoma reached nearly 30% in heterozygous mice with HFD and wild-type mice treated with AL+HFD. The mRNA levels of IL-6, TNF- α and TGF- β were elevated, and CD3-positive T cell, neutrophil, and cytokeratin 19-positive hepatocyte also increased.

Conclusion: A newly established murine model for NASH showed time-dependent histologic changes closely similar to those in human NASH.

WS-3 *

Effects of *trans* fatty acid and its substitute on NASH model by a modified CDAA diet

○ Noriko Kemuriyama¹⁾, Kaori Ikehata¹⁾, Takuya Yamashita¹⁾, Kinuko Uno¹⁾, Soon Hui Teoh¹⁾,
Shuji Ogawa²⁾, Atsushi Watanabe³⁾, Katsuhiko Miyajima¹⁾, Dai Nakae¹⁾

¹⁾Dept. Nutr. Sci. Food Safety, Facul. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agricul.,

²⁾Zeria Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾ASAHI KASEI MEDICAL CO., LTD.

Background: This study aimed to develop a mouse model of hepatocarcinogenesis through non-alcoholic steatohepatitis (NASH), using a modified choline-deficient, methionine-lowered, L-amino acid-defined (CDAA) diet, because mice is less sensitive to the original diet than rats, and to investigate effects of *trans* fatty acid and its substitute on the model.

Methods: C57BL/6J mice (male, 6 weeks old) were fed a control diet, CDAA; HF-T+ (45% fat by a shortening with *trans* fat, methionine 0.1%) or CDAA; HF-T- (45% fat by a shortening without *trans* fat, methionine 0.1%), for 3 or 6 months.

Results: At the end of month 3, plasma alanine aminotransferase activity, hepatic lipid contents and inflammatory marker gene expressions were markedly increased in both of modified CDAA diets. F4/80, alpha-smooth muscle actin, and Sirius red staining were stronger in CDAA; HF-T- group than in CDAA; HF-T+ one. These phenotypes were enhanced at the end of month 6, when hepatocellular proliferative, nodular lesions were observed more in CDAA; HF-T- than in CDAA; HF-T+.

Conclusions: The present study indicates that high-fat CDAA diets can induce NASH in mice, and that the characteristics of the fat may play roles in the induced NASH.

WS-4 *

Establishment a model of non-alcoholic steatohepatitis-related hepatocarcinogenesis in connexin 32 dominant negative transgenic rats

○ Aya Naiki-Ito^{1,2)}, Hiroyuki Kato¹⁾, Shugo Suzuki¹⁾, Satoru Takahashi¹⁾

¹⁾Dept. Exp. Path. Tumor Biol., Nagoya City Univ., ²⁾Pathol. Div., Nagoya City East Med. Ctr.

[Background] We previously reported that Cx32 has suppressive roles in non-alcoholic steatohepatitis (NASH) by analyzing methionine-choline deficient diet (MCDD) received Cx32 dominant negative transgenic (Tg) rat. Though MCDD is well-established tool for induction of NASH, this model system does not reflect metabolic syndrome, such as obesity and insulin resistance. **[Aim and Methods]** In this study, we aimed to establish an improved NASH model. 7 week-old male Tg and wild-type (Wt) rats were received high-fat diet (HFD) with dimethylnitrosamine (DMN) for 12 weeks. **[Results]** HFD gained body, liver and visceral fat weights in both genotypes. Serum insulin level and HOMA-IR score in Tg rats were higher than those in Wt rats. Elevation of serum hepatic enzymes (AST, ALT), inflammatory cytokine expressions (Tnf α , Tgf β , Il1 β , Timp2, Col1a1), NF- κ B activity, and progression of steatohepatitis, fibrosis were induced by HFD especially in Tg rats. Concerning NASH-related hepatocarcinogenesis, the number, area of GST-P positive foci and expression of Bex1, which was established as a maker for hepatocarcinogenesis with NASH, were significantly increased in Tg as compared to Wt rats. **[Conclusion]** Cx32 dysfunction promoted the development of steatohepatitis and carcinogenesis in NASH accompanied by metabolic syndrome. Therefore Tg-HFD-DMN model may be a useful tool for NASH study.

WS-5**Differences of pathological findings between two NASH model mice**

○ Takahiro Okuno, Naomi Ishii, Anna Kakehashi, Masaki Fujioka, Min Wei, Hideki Wanibuchi

Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

[background] Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) is related to lifestyle disease like diabetes or dyslipidemia, and progresses into cirrhosis and hepatocellular carcinoma. However, some kinds of NASH do occur without lifestyle disease, and some drugs are reported to trigger NASH. Therefore, NASH may be heterogeneous disease caused by various factors, and the carcinogenic mechanisms of NASH may also be different depending on the factor. To investigate these differences, we studied the pathological findings of two NASH model mice. One is TSOD mouse which develops obesity and diabetes spontaneously. The other is the mouse fed a choline-deficient, L-amino acid-defined, high-fat diet consisting of 45 kcal% fat (45%CDAHFD). [method] TSOD mice were fed MF pellets, and bred up to 48 or 58 weeks of age. C57BL/6J mice were fed 45%CHAHFD up to 38 or 48 weeks of ages. We analyzed the pathological findings of the liver of the two models. [result] Both of two model mice showed fatty changes, fibrosis, and inflammation in their liver, and developed liver tumors. But the degree of the fibrosis and inflammation was different between two models. Immunohistochemistry of liver tumors about phosphorylated mTOR revealed stronger and higher positivity in TSOD mice than in the mice fed 45%CHAHFD [conclusion] The differences on the pathological findings between two models may show the different mechanisms of NASH development and the carcinogenicity of NASH depending on various background factors.

Oral Presentation

O-01 ~ O-10

Poster Presentation

P-01 ~ P-98

O-01 *

Toxicity and mechanism of action of palmitoyl piperidinopiperidine

○ S Ando¹⁾, H Matsumoto¹⁾, K Fukamachi¹⁾, M Futakuchi^{1,2)}, N Yoshimi³⁾, M Suzui¹⁾¹⁾Dept. Mol. Tox., Grad. Sch. Med. Sci., Nagoya City Univ., ²⁾Dept. Path., Nagasaki Univ. Hosp.,³⁾Dept. Path. Oncol., Faculty of Medicine, Univ. of the Ryukyus

We developed a novel anticancer drug, palmitoyl piperidinopiperidine, named PPI (patent 5597427, 2014). We examined toxicity and mechanism of action of PPI. PPI inhibits the growth of implanted tumor by the induction of apoptosis and the inhibition of angiogenesis. Treatment of mice with PPI did not cause either significant body weight loss or significant histological changes in main organ sites. In acute toxicity test, male/female SD rats received a single gavage of PPI. The LD₅₀ values of male and female rats were 1000 and 500 mg/kg, respectively. Treatment of mice with PPI caused ulcerative changes with severe inflammation in the forestomach and fatty degeneration in the liver. PPI markedly inhibited transcriptional activity of STAT3 in SW837 cells. PPI caused a decrease in expression levels of pSTAT3 in both whole lysate and chromatin fraction of SW837 cells. Also, PPI caused a decrease in expression levels of VEGF, Bcl-2, Bcl-XL, cyclin D1. Inhibition of STAT3 by PPI may affect the function of molecules that are related to apoptosis, angiogenesis, and cell cycle progression and eventually contributes to PPI-induced growth inhibition.

O-02

Genotypic/phenotypic differences between DMBA- and PhIP-induced mammary adenocarcinomas in BALB/c-*p53*^{+/-} mice

○ Yukino Machida¹⁾, Yukiko Sudo¹⁾, Naoaki Uchiya¹⁾, Masako Ochiai²⁾, Toshio Imai¹⁾¹⁾Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., Dep. Anim. Exp., ²⁾Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., Ctr. Anim. Div.

7,12-Dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA) and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) are environmental carcinogens. There are some reports of genotypic differences between DMBA- and PhIP-induced rat mammary tumors, whereas there is few report of mouse. *p53*^{+/-} mice with BALB/c-background display increased mammary tumors compared with other strains. In the present study, phenotypic and genetical analyses were performed to examine the differences between them. [Materials and methods] DMBA (50 mg/kg b.w., once) or PhIP (50 mg/kg b.w., 6 times) were administered to BALB/c-*p53*^{+/-} mice (female, 7-week-old) by gavage. The palpable tumors were analysed with H&E-stained and estrogen receptor α (ER α)-immunostained specimens. Sequence analyses of exon 5 to 8 of *p53* gene were also performed. [Results] The incidence of mammary carcinomas in DMBA- or PhIP-treated groups were 90% or 42%, respectively. Histologically, DMBA-induced mammary tumors showed moderately to well differentiated double-layered structures with ER α -positive ductal and -negative basal-like cells. PhIP-induced ones showed moderately differentiated alveolar structures with ER α -negative polygonal cells. By sequencing analyses, 9 out of 10 of each group had A135V mutation of *p53*. 1 out of 10 of DMBA- group had R246P mutation of *p53*. [Conclusion] There was no mutational differences but distinct differences were observed in morphology and ER α -positivities between DMBA- or PhIP-induced mammary tumors.

O-03 *

Study of the mechanism of carcinogenesis by prenatal exposure to dimethylarsinic acid in mice

○ Masaki Fujioka, Min Gi, Takahiro Okuno, Kenji Kumada, Anna Kakehashi, Yuji Oishi, Hideki Wanibuchi

Dept. Mol. Path., Osaka city univ. grad. sch. med.

In our previous study, prenatal exposure to dimethylarsenic acid (DMA), which is the main metabolites of inorganic arsenic, occurred lung and liver tumor in male adult mice. Though, the mechanism of carcinogenesis by prenatal exposure to DMA is unclear. The purpose of this study is to clarify the mechanism of carcinogenesis by prenatal exposure of DMA in male neonatal mice lung. DMA was administered to female CD-1 mice at dose of 0 and 200 ppm for 10 days from 8 to 18 days of gestation, and male newborn mice prepared by transplacental exposure were postnatally subjected immediately. And various analyzes described below were performed. A significant increase in the Ki 67 positive index was observed in the lungs of the DMA administration group as compared with the control group. In addition, as a result of morphological analysis of arsenic with HPLC/ICP-MS in the lung, no significant change in TMAO was observed as compared with the control group, whereas it was revealed that DMMTA and DMDTA were significantly increased. Furthermore, it was revealed that S-adenosylmethionine (SAM) was significantly increased in its metabolic process, the expression of histone methyltransferase G9a increased, and histone H3K9me3 was significantly increased. From the above results, it was revealed that histone H3K9me3 was increased in neonatal male mice lung prenatal exposed to DMA. In addition, involved as its mechanism suggested that SAM increase caused by metabolic process of arsenic.

O-04 *

Epithelial-Mesenchymal Transition in Cysts in the Choroid Plexus and Renal Tubules

○ Atsuko Murai, Kenji Nakamura, Norifumi Takimoto, Kengo Namiki, Daisuke Hibi, Yukihiro Yanagizawa, Koji Shimouchi, Hiroyuki Yanagi

Safety Research Laboratories, Discovery and Research, Ono Pharmaceutical Co., Ltd.

(Background and Aim) We have reported the first case of a choroid plexus cyst in the fourth ventricle in rats. Immunohistochemistry (IHC) revealed that the cyst was undergoing the epithelial-mesenchymal transition (EMT). To clarify the development of EMT, we are now focusing on the beginning of cyst formation. Kidneys were used in this study because choroid plexus cysts are rare and cysts are relatively common in the kidneys. (Materials and Methods) Paraffin embedded kidneys from male and female 26-week-old CrI:CD(SD) rats without dosing were used for IHC. (Results) In normal renal tubules, IHC revealed that expression of cytokeratin MNF116 (CK) was from thin limb of Henle's loops to collecting ducts and E-cadherin was from Henle's loops to collecting ducts. In pars recta of proximal tubules which express CK but not E-cadherin, dilated tubules expressed vimentin without CK and SMA was found around these tubules. In tubules normally express both CK and E-cadherin, dilated tubules retained CK without vimentin expression and cyst showed focal expression of CK, vimentin, and E-cadherin. Normal choroid plexus expressed both CK and E-cadherin. (Discussion) Loss of E-cadherin, which is associated with cell adhesion, has an important role in EMT. The present study suggested that renal tubules without E-cadherin expression could easily undergo EMT. Retaining epithelial feature in the choroid plexus cyst may be associated with E-cadherin expression in the choroid plexus.

O-05

DS-7250, a Diacylglycerol Acyltransferase 1 Inhibitor, Enhances Hepatic Steatosis in Zucker Fatty Rats Via Upregulation of Fatty Acid Synthesis

○ Kazuyoshi Kumagai, Kyohei Yasuno, Takuma Iguchi, Kiyonori Kai, Kazuhiko Mori

Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

Diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) catalyzes the final step in triglyceride synthesis. Since *Dgat1*^{-/-} mice fed a high fat diet (HFD) are resistant to diet-induced obesity and hepatic steatosis, a DGAT1 inhibitor is expected to have anti-obesity and anti-fatty liver effects. To evaluate the hepatic effects of DS-7250, which is a selective DGAT1 inhibitor, vehicle or 10 mg/kg of DS-7250 was administered orally to male Fisher 344 (F344) and Zucker fatty (ZF) rats fed a standard diet or HFD for 14 or 28 days. DS-7250 decreased food consumption and body weight gain in ZF rats fed a HFD, which was attributable to its pharmacological action. Twelve-week old ZF rats showed slight hepatic steatosis regardless of feeding conditions. DS-7250 deteriorated hepatic steatosis in ZF rats fed a HFD compared to the vehicle-treated ZF rats. Hepatic steatosis did not occur in F344 rats fed a HFD, in which systemic exposures of DS-7250 were comparable to those in ZF rats. In hepatic transcriptome analysis, there was a higher expression of genes involved in lipid uptake and fatty acid synthesis in ZF rats as compared to F344 rats under HFD conditions. DS-7250 upregulated key genes involved in *de novo* lipogenesis (e.g., *Elovl6*, *Me1*, *Srebf1*, and *Fasn*) in ZF rats fed a HFD compared to the vehicle-treated ZF rats. These data suggest ZF rats were susceptible to hepatic steatosis due to their genetic characteristics and DS-7250 exacerbated hepatic steatosis through increased *de novo* lipogenesis.

O-06 *

Histopathologic Characterization of Mifepristone-Induced Ovarian Toxicity in Cynomolgus Monkeys

○ Yoshikazu Taketa¹⁾, Kanta Horie²⁾, Tetsuya Goto³⁾, Etsuko Ohta¹⁾, Kyoko Nakano-Ito¹⁾, Kazuhiro Hayakawa¹⁾, Yuki Seki¹⁾, Aya Goto¹⁾, Satoru Hosokawa¹⁾

¹⁾Tsukuba Drug Safety, Eisai, ²⁾Neurology Business Group, Eisai, ³⁾Sunplanet

[Introduction] Mifepristone, which has anti-progesterone activity, is a known ovarian toxicant. The present study was undertaken to investigate detailed histopathologic changes in the ovary induced by mifepristone and its relationship to changes in menstrual cycle and circulating sex steroid hormone in non-human primates.

[Methods] Twenty mg/kg of mifepristone was orally administered to 4 cynomolgus monkeys for 2 months. Menstrual signs and circulating sex steroid hormone levels were monitored; and, a detailed histopathologic examination of the reproductive organs, with ovaries transversely dissected into 3 different sections, was conducted.

[Results & Discussion] Mifepristone inhibited the cyclic increases in estradiol and progesterone with absence of menstruation. Histopathologically, the ovary in the treated animals showed follicular phase without changes in the percentage of atretic antral follicles. There was endometrial atrophy in the uterus. These changes indicated that a certain degree of antral follicle development had been retained in spite of the menstrual cycle arrest by mifepristone. These results suggest the importance of a detailed histopathologic examination of reproductive organs in conjunction with evaluation of menstrual stages in order to detect ovarian toxicity in non-human primates. Monitoring of menstrual signs and circulating sex steroid hormone levels provides additional evidence to understand the mechanism of ovarian toxicity.

O-07 *

Drug-Induced Fluorosis in Skeletal/Dental Tissues in Rodent Chronic Toxicity Studies

○ Yuki Seki¹⁾, Kenichi Noritake²⁾, Yoshikazu Taketa¹⁾, Shoji Asakura¹⁾, Akiyo Otsuka¹⁾, Aya Goto¹⁾, Etsuko Ohta¹⁾, Kyoko Nakano¹⁾, Kazuhiro Hayakawa¹⁾, Jiro Sonoda¹⁾, Satoru Hosokawa¹⁾

¹⁾Eisai Co., Ltd., ²⁾Sunplanet Co., Ltd.

[Background] In a chronic toxicity study in rats, characteristic findings in bone and teeth were identified, including bone fracture, incisor discoloration, histopathologic pigmentation, decreased trabecular bone, and ameloblast degeneration. Based on similarities of these changes to those seen in fluorosis in rats, investigational studies were conducted. [Experimental design] Compound A (Cpd. A) was administered orally by gavage for 14 weeks in rats. Pathologic examination and fluoride measurements in urine and bone were conducted. A chronic study was also conducted in a similar manner with sodium fluoride (NaF) as a positive control. [Results] Bone changes were characterized by decreased trabecular bone, increased osteoid, and artifactual fluoride-related pigmentation, correlated with decreases in strength and mineral density. In the incisors, degeneration of the ameloblast with decreased iron content was associated with discoloration. These changes were fully consistent with those noted in rats given NaF that have developed fluorosis. Significant increases in fluoride in urine and bone were observed in rats treated with Cpd. A, and a high ratio of defluorinated-metabolites was identified. The bone/teeth toxicity induced by Cpd. A is rodent specific. This is the first report, to our knowledge, to demonstrate in rats that the skeletal and dental toxicity noted in long term toxicity studies was due to fluoride released through metabolism of the compound.

O-08 *

Short-term detection of gastric carcinogens using DNA double-strand break marker, γ -H2AX

○ Asako Okabe¹⁾, Yuka Kiriya¹⁾, Shugo Suzuki²⁾, Kouhei Sakurai¹⁾, Satoru Takahashi²⁾, Tetsuya Tsukamoto¹⁾

¹⁾Dept Diag Path, Fujita Health Univ Sch Med, ²⁾Dept Exp Pathol Tumor Biol, Nagoya City Univ

DNA damage caused by *Helicobacter pylori* infection and chronic inflammation is considered as an important risk factor of gastric carcinogenesis. In this study, we have evaluated double-stranded DNA damage response utilizing focus formation of Ser 139 phosphorylated histone H2AX (γ -H2AX) against various chemical carcinogens. Six-week-old male rats were administered N-methyl-N-nitrosourea (MNU), 3, 2'-dimethyl-4-aminobiphenil (DMAB), dimethylnitrosamine (DMN), 1,2-dimethylhydrazine (DMH), and water for control intragastrically for 5 days / week x 4 weeks. Animals were sacrificed at day 28 and stomachs were excised. Total RNA was extracted for quantitative RT-PCR, and the rest were fixed with formalin for histological analyses. γ -H2AX focus formation was observed in the proliferative zone of both fundic and pyloric glands. The number of positive cells/gland significantly increased in pyloric glands in MNU group and in fundic glands in the MNU and DMAB groups. γ -H2AX positive apoptotic cells were observed on the surface layer in MNU group. H2AX (h2afx) mRNA expression was significantly decreased and p21waf1 was in increasing trend in MNU and DMN groups compared to the control. Pepsinogens c and a5 showed no significant differences. In conclusion, there was a significant increase in γ -H2AX-positive cells not only with MNU but also with DMAB, unknown for gastric carcinogenesis. This system, utilizing γ -H2AX, may be useful for screening undetermined gastric carcinogens.

O-09 *

Acute changes in histopathology and intravascular imaging after renal denervation in swine

○ Atsushi Sakaoka^{1,2)}, Akiyuki Takami³⁾, Yuji Onimura¹⁾, Hitomi Hagiwara¹⁾, Hisako Terao¹⁾, Fumiaki Kumagai⁴⁾, Kiyoshi Matsumura²⁾

¹⁾Terumo, ²⁾Osaka Inst. of Technology, ³⁾Univ. of Fukui, ⁴⁾Hatano Res. Inst. FDSC

[Background] No practical endpoint to determine procedural success during renal denervation (RDN) has been established.

[Aim] We first aimed to identify the histopathological changes occurring immediately after RDN with radiofrequency energy, and then to assess the feasibility of determining procedural success using currently available clinical intravascular imaging techniques.

[Methods] Ablation lesions were induced *in vivo* and *ex vivo* in porcine renal arteries. Acute histological changes and appearance on intravascular imaging of the lesions were investigated with light microscopy, transmission electron microscopy, intravascular ultrasound (IVUS), and optical frequency domain imaging (OFDI).

[Results] Marked changes were noted in media, adventitia, and nerves immediately after *in vivo* ablation. Changes visualized on IVUS were characterized by focal adventitial thickening comprising a relatively echogenic layer around a heterogeneously hypoechoic interior region, and on OFDI as disappearance of the external elastic membrane signals with high scattering of signals in the surface layer. The changes after *ex vivo* ablation were histopathologically identical to those from *in vivo* ablation. There were significant positive correlations in measured dimensions of ablation lesions between histopathology and IVUS/OFDI findings.

[Conclusions] These findings suggest that observation of treated renal arteries by IVUS or OFDI immediately after RDN improves the success rate of RDN.

O-10

Potential biomarker for diagnosis of pancreas cancer

○ Katsumi Fukamachi¹⁾, Mitsuru Futakuchi¹⁾, Hiroyuki Tsuda²⁾, Masumi Suzui¹⁾

¹⁾Department of Molecular Toxicology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

²⁾Nanotoxicology project, Nagoya City University

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the most lethal types of cancer, with a five-year survival rate of less than 10% and a mortality rate closely approaching the incidence rate. At present, biomarkers have limited utility for detecting early-stage PDAC. Several new approaches were taken in the search for biomarkers for pancreatic cancer. We have established transgenic rats carrying a mutated K-ras gene controlled by Cre/loxP activation. Targeted activation of the transgene is accomplished by injection of a Cre recombinase-carrying adenovirus into the pancreatic ducts through the common bile duct. The animals develop PDAC which is histopathologically similar to that in humans. We reported that serum levels of N-ERC were significantly higher in rats bearing PDAC than in controls. However there was no significant difference in serum N-ERC concentrations between pancreas cancer patients and healthy control groups. In this study, we performed a global analysis to find diagnosis markers to detect rat PDAC. Our array analysis indicated that LRG was overexpressed in PDAC compared to pancreata of control. Importantly, a previous report showed that overexpression of LRG was identified in pancreas carcinomas in humans. Our findings indicate that the rat models of cancer provide a useful strategy to identify candidate markers applicable to human cancer with potential utility for early detection.

P-01**CD44v6 expression in NNK-induced mouse lung adenocarcinoma**

○ Keiko Yamakawa¹⁾, Masanao Yokohira¹⁾, Nozomi Hashimoto¹⁾, Yuko Narusawa¹⁾, Shota Yoshida¹⁾, Kousuke Saoo^{1,2)}, Katsumi Imaida¹⁾

¹⁾Onco-Pathol., Fac. Med., Kagawa Univ., ²⁾Kaisei General Hosp.

[Background and Aim] CD44 which acts as receptor for hyaluronan, is one of the markers of cancer stem cells. Expression of CD44 variant isoform encoded by variable exon 6 (CD44v6) have been observed in various human cancers and is correlated with poor prognosis. In this study, expression of CD44v6 in the 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) -induced mouse lung adenocarcinomas.

[Materials and Methods] Female 7-week old A/J mice were administered a single dose of NNK (2 mg/0.1 ml saline/mouse, i.p.) at days 0 and 7, then maintained without any additional treatment until sacrifice at weeks 78. The 19 lung adenocarcinomas were examined histopathologically and immunohistochemically for CD44v6.

[Results] The expression of CD44v6 was detected in all cases. Increased expression of CD44v6 was detected in papillary and ductal structures or peripheral area of tumor lesions. The small clusters of adenocarcinoma cells expressing CD44v6 strongly were observed. Polygonal form cells expressing strongly CD44v6, phosphorylated Erk1/2 and SOX9 were observed in adenocarcinoma lesions. A large number of macrophages were observed in peripheral area of tumor lesions and normal adjacent tissue.

[Conclusion] The heterogeneity of CD44v6 expression in adenocarcinomas at the advanced stage of NNK-induced mouse lung carcinogenesis was impacted by various phenotypes of adenocarcinoma cells, suggesting that CD44v6 is associated with progression or differentiation of lung adenocarcinomas.

P-02 ***Minimal change disease of the kidney in a young Sprague-Dawley rat**

○ Kyohei Yasuno, Kumi Honda, Shinobu Hakamata, Kiyonori Kai, Kazuhiko Mori

Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

Minimal change disease (MCD) can be experimentally induced in rats by single administration of puromycin aminonucleoside, but spontaneous cases have been not reported. Herein, we present a case of MCD in rats, which resembled the phenotypes of human MCD. A male Sprague-Dawley rat aged 9 weeks developed albuminuria and this albuminuria was exaggerated at 11 weeks of age. Other urinary biomarkers such as kidney injury marker-1, osteopontin, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, and clusterin, and urinary biochemical values did not show significant changes at both 9 and 11 weeks of age. Histological test of the rat at 11 weeks of age revealed no glomerular or renal tubular abnormalities on light microscopy. Immunofluorescence revealed absence of immunoglobulin G or immunoglobulin M deposition in the glomerulus. Extensive foot process effacement of glomerular podocytes was observed by electron microscopy, with rearrangement of the actin cytoskeleton at the base of the fused foot processes. The rat did not show podocyte injury marker (desmin)-positive podocytes, and the nephrin, which is the major component of slit diaphragm, showed a normal liner pattern distribution along the glomerular capillary loop throughout the glomeruli. These pathological characteristics corresponded to those of human MCD, and the glomerular lesion was considered a rare case of rat MCD.

P-03

Mechanistic analysis of PhIP on carcinogenesis using mouse colon organoids

○ Toshio Imai¹⁾, Masako Ochiai¹⁾, Mie Naruse¹⁾, Yoshitaka Hippo²⁾¹⁾Div. Anim. Exp., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., ²⁾Div. Mol. Carcinog., Chiba Cancer Ctr. Res. Inst.

The mechanisms of multistep carcinogenesis by long-time treatment of chemicals *in vivo* have not been comprehensively understood. We reported that subcutaneously injected mouse colon-derived organoids, to which *Kras* activation, *Apc*, *p53* and/or *Pten* knockdown have been introduced *in vitro*, showed tumorigenicity. In the present study, analyses for carcinogenic potential and molecular mechanisms by a short-time treatment of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) was conducted using organoids. [Materials and methods] Colon tissue was excised from B6 mice and its organoids were established by a 3D-culture method using Matrigel and growth factors. After introduction of *shLuc* (control) or *shPten* followed by three times of PhIP (0, 15 microM) treatment, the organoids were injected to nude mouse subcutis. At 44 days after the injection, subcutaneous tissues were histopathologically examined. [Results] Although adenocarcinomas were induced in *shPten*+1 microM PhIP group, no tumor formation was observed in *shPten*+0 microM, *shLuc*+1 microM groups. A whole exome analysis using DNA isolated from organoids is now conducted. [Discussion] As for mechanisms of the tumorigenesis by *shPten*+1 microM PhIP treatment, 1) additional mutations of tumor-related gene(s) by PhIP or 2) increased susceptibilities to PhIP by genomic instability by *shPten* are considered, we now analyze the whole exome sequencing.

P-04

Cytotoxicity of the crude extracts of *Musa basjoo* in human colon cancer cells

○ H Matsumoto¹⁾, S Ando¹⁾, K Fukamachi¹⁾, M Futakuchi^{1,2)}, N Yoshimi³⁾, M Suzui¹⁾¹⁾Dept. Mol. Toxicol., Nagoya City Univ. Grad. Sch. Med. Sci. & Med. Sch., ²⁾Dept. Pathol., Nagasaki Univ. Hosp.,³⁾Dept. Pathol. & Oncol., Univ. of the Ryukyus

Musa basjoo (MB) is a tropical evergreen tree growing mainly in subtropical/tropical countries. Biological activities of MB are unknown. Therefore, we examined whether the acetone/methanol extracts of MB cause cytotoxicity in human colon cancer cells. These extracts inhibited the growth of cells with IC₅₀ values of 121 μg/mL (acetone extract, HT29), 149 μg/mL (methanol extract, HT29), 60 μg/mL (acetone extract, HCT116), 129 μg/mL (methanol extract, HCT116) by colony assays. Flowcytometry analysis demonstrated that treatment of HT29/HCT116 caused an increase of G1 phase by 5%/10% with a concomitant decrease of G2-M phase, indicating the induction of G1 arrest. Acetone/methanol extracts did not cause subG1 fraction. When these cells were treated with 50-100 μg/mL acetone extract, there was a marked decrease in expression levels of the cyclinD1, cdk4 and a marked increase in expression levels of the p21^{CIP1}, p27^{KIP1} and p53. Tumor weight and volume were tended to be inhibited during experiment without causing significant body weight loss. There was no significant difference in the ratio of viable region/total tumor area (%) between treatment and control. At the end of the experiment, no toxic effects were found in any of organ sites. The crude extracts of MB contain active component(s) that exert cytotoxicity in human colon cancer cells.

P-05**Overcoming resistance to cetuximab with honokiol, a small-molecule polyphenol**

○ Mari Iida¹⁾, Hannah E. Pearson¹⁾, Rachel A. Orbuch¹⁾, Nellie K. McDaniel¹⁾, Kwangok P. Nickel¹⁾, Randall J. Kimple¹⁾, Jack Arbiser²⁾, Deric L. Wheeler¹⁾

¹⁾Department of Human Oncology, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health

²⁾Department of Dermatology, Emory University School of Medicine, Winship Cancer Institute

Overexpression and activation of the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) have been linked to poor prognosis in several human cancers. Cetuximab is a monoclonal antibody against EGFR, that is used for the treatment in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) and metastatic colorectal cancer. Unfortunately, most tumors have intrinsic or acquire resistance to cetuximab during the course of therapy. Honokiol is a natural compound found in the bark and leaves of the Chinese Magnolia tree and is established to have several anti-cancer properties without appreciable toxicity. In this study, we hypothesized that combining cetuximab and honokiol treatments could overcome acquired resistance to cetuximab. We previously developed a model of acquired resistance to cetuximab in non-small cell lung cancer H226 cell line. Treatment of cetuximab resistant clones with honokiol and cetuximab resulted in a robust anti-proliferative response. Immunoblot analysis revealed the HER family and their signaling pathways were downregulated after combination treatment, most notably the proliferation (MAPK) and survival (AKT) pathways. Additionally, we found a decrease in phosphorylation of DRP1 and reactive oxygen species after combination treatment in cetuximab resistant clones which may signify a change in mitochondrial function. Furthermore, we utilized cetuximab resistant HNSCC patient derived xenografts (PDX) to test the benefit of combinatorial treatment in vivo. There was significant growth delay in PDX tumors after combination treatment with a subsequent down-regulation of active MAPK, AKT, and DRP1 signaling as seen in vitro. Collectively these data suggest that honokiol is a promising natural compound in overcoming acquired resistance to cetuximab.

P-06**Proteome analysis in NASH liver tissue and associated hepatocellular carcinomas**

○ Anna Kakehashi, Takahiro Okuno, Masaki Fujioka, Min Gi, Hideki Wanibuchi

Dept. Mol. Pathol. Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.

To uncover mechanisms of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) associated hepatocarcinogenesis, we compared the proteomes of human NASH-associated liver biopsies, and resected hepatocellular carcinomas (HCCs) with normal liver tissue of patients with gastrointestinal tumor metastasis. In addition, LC-MS/MS analysis of liver tumors in male STAM NASH-model mice was performed. Similar changes in the proteome spectrum such as overexpression of enzymes involved in lipid, cholesterol and bile acid biosynthesis and examples associated with suppression of fatty acid oxidation and catabolism, alcohol metabolism, mitochondrial function as well as low expression of cytokeratins 8 and 18 (CK8/18) were observed in both human NASH biopsies and NASH HCCs. Significant activation of insulin signaling, SMAD3-TGF-beta, beta-catenin, Nrf2, SREBP-LXR-alpha, nuclear receptor-interacting protein 1 (NRIP1) and inhibition of PPARs and p53 in human NASH biopsies and/or HCCs, suggesting their involvement in accumulation of lipids, development of fibrosis, oxidative stress, cell proliferation and suppression of apoptosis in NASH hepatocarcinogenesis. In STAM mice, PPARs inhibition was not obvious, while expression of CK8/18 was elevated.

P-07 *

Responses of cellular senescence-linked cell metabolism-related molecules by genotoxic or non-genotoxic carcinogens in rats

○ Yuko Ito^{1,2)}, Kota Nakajima^{1,2)}, Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Fumiyo Saito³⁾, Yumi Akahori³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾

¹⁾LVP, TUAT, ²⁾UGSVS, Gigu Univ., ³⁾Chem. Eval. Res. Inst.

Background and Aim. We previously reported that responses of cell cycle proteins differed between genotoxic and non-genotoxic hepatocarcinogens. In this study, we examined the hepatocellular expression of senescence-linked cell metabolism-related molecules in rats administered genotoxic or non-genotoxic hepatocarcinogen, as exemplified by *N*-diethylnitrosoamine (DEN) and carbon tetrachloride (CCl₄). **Materials and Methods.** Rats were orally administrated DEN or CCl₄ for 28 or 84 days. The liver was examined with real-time RT-PCR and immunohistochemistry. **Results and Discussion.** Glycolysis-related genes were upregulated with DEN, but were downregulated with CCl₄. Oxidative phosphorylation-related genes were downregulated with CCl₄. Senescence-related genes, *Cdkn1a* and *Cdkn2a*, were profoundly upregulated with DEN. Immunohistochemically, glucose transporter 1 (GLUT1)-positive⁽⁺⁾ foci were increased in GST-P⁺ foci with DEN, whereas mitochondrial ATP synthase, ATPB-negative foci in GST-P⁺ foci were increased with both DEN and CCl₄. p21^{WAF1/CIP1+} foci in GST-P⁺ foci were increased with CCl₄; however, liver cells were entirely p21^{WAF1/CIP1+} with DEN. These results may suggest that genotoxic hepatocarcinogens lead to carcinogenic process concurrently with facilitation of cellular senescence. In contrast, non-genotoxic hepatocarcinogens may disrupt cellular senescence after long-term administration. Metabolism changes in GST-P⁺ foci were also different between these carcinogens.

P-08

Effects of astragalus injection on early hepatocarcinogenesis in SD rats.

○ Meilan Jin, Qian Tang, Mei Zhang, Rendong Fang, Jian Wang, Zili Wang

Laboratory of Veterinary Pathology, College of Animal Science and Technology, Southwest University

Astragalus injection (ASI) is a drug made with the main component of astragalus, which is known to have an anti-oxidative and an antitumor effects. However, whether ASI have antitumor effect to early hepatocarcinogenesis in rats, is still unclear. To clarify the suppressive effects of the ASI on early hepatocarcinogenesis in rats, SD rats in the initiation or promotion periods were intraperitoneally administered 0.5ml/kg ASI for 2 or 9 weeks, respectively. The grouping is as follows: gr. 1: DEN alone; gr. 2: DEN+PBO; gr. 3: DEN+PBO+ASI1 (initiation); gr. 4: DEN+PBO+ASI2 (promotion). The final body weights and absolute liver weights in the gr. 4 were significantly decreased compared to the gr.2. The number and area of GST-P positive foci were showed decrease tendency in the gr. 3 or 4 as compared to the gr. 2, but there are no significant difference. Therefore, the Ki67 positive ratio of the gr.3 and gr.4 were significantly decreased compared to the gr.2. In the analysis of gene expression, CYP1A1 gene in the gr. 4 had significantly increased as compared to the gr. 2, but the levers of p53, Bax, Bcl-2, caspase 3 were also showed increase tendency in the gr.4. Especially, it was seen statistically significant difference in Bcl-2. These results may suggest that the ASI to early hepatocarcinogenesis in rats has a suppressive effect and suppression to the inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis are involved in those mechanisms.

P-09 *

Chemopreventive effects of luteolin on pancreatic carcinogenesis

○ Hiroyuki Kato, Aya Naiki-Ito, Shugo Suzuki, Satoru Takahashi

Dep. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.,

[Background] New strategy for preventing pancreatic cancer is urged because of its poor prognosis and none of effective therapeutics. luteolin, one of flavonoids, were reported anti-tumor activities in in vivo on several cancers except pancreatic cancer. [Materials and Methods] In this study, to assess the chemopreventive effects of luteolin, twenty seven syrian golden hamsters at 6 week-old were administered with or without luteolin (100ppm) in quick fat diets for 13 weeks after four times subcutaneous administration of N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. [Results] The body and organ weights were not different among the groups while serum cholesterol was decreased by luteolin. Furthermore, the incidence and multiplicity of pancreatic cancer were significantly suppressed by luteolin. Ki67 labeling indices were decreased in dysplastic lesions of treated luteolin. In vitro study, cell growth was inhibited by luteolin treatment in dose-dependent manner in hamster (HPD1NR) and human pancreatic cancer cell lines (MiaPaCa, PANC1). We found Stat3 was molecule responsible for the mechanisms of chemopreventive action of luteolin by multi-blot analysis for phosphorylated proteins in vitro and we confirmed down-regulation of pStat3(Tyr705) in both carcinomas and dysplasia of hamsters by immunohistochemistry. Several cytokines in hamster pancreatic tissue were also decreased by luteolin administration. [Conclusion] Luteolin have potential as a chemopreventive agent for pancreatic cancer.

P-10

Influence of strain difference of trans fatty acids on NASH-like lesions between Hsd rats and F344 rats fed with a CDAA diet.

○ Kinuko Uno, Ktsuhiro Miyjima, Soon Hui Teoh, Noriko Kemuriyama, Shuji Ogawa, Atsusi Watanabe, Dai Nakae

Facul. Agricul, Graduate School of Tokyo Univ. Agricul

[Aim]To clarify the influence of trans fatty acids on nonalcoholic steatohepatitis (NASH)-like lesions in Hsd:Sprague Dawley (Hsd) rats and Fischer 344 (F344) rats by feeding a choline-deficient, methionine-lowered, amino acid-defined (CDAA) diet. [Methods]A trans fatty acids-containing CDAA diet (CDAA-T (+)) or trans fatty acids free CDAA diet (CDAA-T (-)) were fed from 6 weeks to Hsd rats and F344 rats in males for 13 weeks (6 animals in each group). In control group, basal diet was fed as a same manner to CDAA diets in each strain. At necropsy, liver was removed and weighed and stored as frozen tissue or fixed. Plasma biochemistry, histopathological examination and gene expression in the liver were performed. [Results]In the CDAA group of both strains, significant increase of the relative liver weight were noted compared with that of control group. Histopathologically, fatty change of hepatocyte and fibrosis were observed in CDAA groups in both strain. In F344 rats, significant elevation of plasma AST and ALT activities, increases of inflammation and fibrosis related gene expression were observed compared with these of Hsd rats. [Conclusions] There was no difference between CDAA-T (+) and CDAA-T (-) in NASH like lesions and it was suggested that trans fatty acid had no obvious effect on the lesions fed with CDAA diet. On the other hand, the strain difference was seen in NASH-like lesions which were prominent in F344 rats compared with the lesions in Hsd rats.

P-11

Starvation-induced liver autophagy in aged mice

○ Seiichi Iizuka¹⁾, Miwa Nahata¹⁾, Hitomi Sekine¹⁾, Naoki Fujitsuka¹⁾, Hiroshi Takeda^{2,3)}

¹⁾Tsumura & Co., ²⁾Pathophysiology and Therapeutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University,

³⁾Hokkaido University Hospital Gastroenterological Medicine

[Background/Aim] Autophagy plays an important role in the maintenance of cytosolic protein and cell organelles. Additionally, it supplies poorly nourished cells and organs with energy as an adaptive response to starvation. This study aimed to examine the changes in liver autophagy function following starvation in aged mice. [Materials and Methods] C57BL/6J male mice (young: 8 weeks old, aged: 23 months old) were fed 30% of the amount of food consumed before the restriction and were maintained for 12 days. Liver autophagy activity was evaluated by determining LC3. The morphological features of autolysosomes were examined by electron microscopy. The function of the ubiquitin-proteasome system in plantar muscle was analyzed. [Results] Aged mice exhibited an 80% decrease in the survival rate by day 12, although mortality did not occur among young mice following the restricted diet. While young mice showed an increase in the liver LC3-II/I ratio and autolysosome count of hepatocytes on day 5 of the restricted diet, only slight changes were observed in aged mice. The mRNA expression of atrogin-1 and MuRF-1 in aged mice decreased significantly more than those in young mice. [Conclusion] It is conceivable that the disruption of adaptive energy supply from muscle protein and dysfunction of liver autophagy led to a decline in the survival rate of aged mice following the restricted diet. The activation of this function could minimize the fragility in malnourished elderly people.

P-12 *

Multidirectional analyses of hepatic chronotoxicity induced by cadmium in mice

○ Hiroki Yoshioka^{1,2)}, Tsunemasa Nonogaki¹⁾, Yoshimi Ichimaru¹⁾, Katsumi Ohtani³⁾, Masumi Suzui²⁾, Nobuhiko Miura³⁾

¹⁾Kinjo Gakuin University, ²⁾Nagoya City University, ³⁾Japan National Institute of Occupational Safety and Health

<background>Now, we have focused on the relationship between injection timing and the severity of cadmium (Cd) toxicity, which we advocated as “chronotoxicology.” These previous studies clearly indicated that mice showed remarkable daily fluctuations in the severity of the toxic response to Cd. In addition, we investigated other chemicals, suggesting that diurnal variation was observed in the toxicity of each compounds. <Aim> The aim of this study is to investigate the factor which Cd-induced diurnal variation triggers. <material and method>Seven-weeks old male C57BL/6J mice received a single i.p. injection of 4.5 mg/kg CdCl₂ (24.5 μmol Cd/kg) at 14:00 or 2:00. Control mice received the same volume of saline. At 24-h after the Cd or saline injection, blood samples and the liver were collected. <result> Injection of Cd at 14:00 showed drastic hepatic injury estimated by histopathological analyses, plasma hepatic injury markers, and oxidative stress but showed no injury when injected at 2:00. In addition, although TUNEL positive cell was not observed, necroptosis-related parameters such as receptor interacting protein was upregulated when injected at 14:00. <conclusion> Chronotoxicology is of great value not only for the field of toxicology, the importance of injection timing for toxicity evaluation tests, but also for occupational health, to improve the quality of risk assessments for night shift workers who may be exposed to toxic substances at various time of the day.

P-13**Analyses of mechanism on liver toxicity by CCA**

○ Naofumi Takahashi¹⁾, Satoru Yamaguchi¹⁾, Ryoichi Ohtsuka¹⁾, Makio Takeda¹⁾, Yoshitaka Katoh¹⁾, Tsuyoshi Ito¹⁾, Aya Koyama¹⁾, Atsushi Shiga¹⁾, Yoshimasa Okazaki¹⁾, Toshinori Yoshida²⁾, Takanori Harada¹⁾

¹⁾The Institute of Environmental Toxicology, ²⁾Tokyo Univ. Agricul. Technol.

[Background and Aim] Wood preservative chromated copper arsenate (CCA) has been used in Japan for about 50 years. Lots of CCA-treated wood wastes after the Great East Japan Earthquake could hazard to human health. Our prior study, in which Wistar Hannover rats were given CCA (0, 8, 40, 80 mg/kg/day) by gavage for 4 weeks, showed that CCA induced diffuse hepatocellular hypertrophy accompanied by blood biochemical hepatotoxicity and increased 8-OHdG in female liver. To elucidate the mechanism on hepatotoxicity, molecular pathological analyses were conducted.

[Materials and Methods] Using female liver sampled in the prior study, cell proliferation (CP), apoptosis and glutathionylated protein (GP) were evaluated immunohistochemically. Microarray and qRT-PCR were used for gene expression analysis. DNA methylation in the transcription-related region was analyzed by methylated DNA immunoprecipitation and qPCR.

[Results] Increased trend of CP was noted by CCA. In gene expression analysis, genes involved in GST, antioxidant, HSP, ubiquitin-proteasome pathway, CP, DNA methylation and P450 were mainly changed. Metallothionein (MT) related to antioxidant was down-regulated, but DNA methylation was not associated. GP which increases with reduction of reduced glutathione (GSH) / oxidized glutathione ratio was increased by CCA.

[Conclusion] CCA may induce redox dysregulation-related hepatotoxicity caused by GSH consumption due to detoxification and elimination of ROS and by suppression of MT.

P-14 ***Time dependent cytoprotective phenomenon of lipopolysaccharide in TAA-induced acute liver injury in rats**

○ Mohammad Rabiul Karim, Munmun Pervin, Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

[Background and Aims] Lipopolysaccharide (LPS) acts as an important cofactor in the pathogenesis of hepatotoxicity. Here, the time-dependent role of LPS-stimulated autophagy and macrophages in thioacetamide (TAA)-induced acute rat liver injury were investigated. [M&M] F344 rats were pretreated with LPS (0.1 mg/kg BW, i.p.) at 2, 6, 12h and 24h before TAA injection (100 mg/kg BW, i.p.). Serum and liver were collected one day after TAA injection. [Results] TAA injection produced centrilobular hepatocyte necrosis in liver, which was markedly reduced in LPS-pretreated rats at 12h or 24h as compared with those of without pretreated alone TAA-injected rats. Consistently, AST, ALT and ALP values tended to be decreased in LPS-pretreated rats at 12h or 24h. At each time point, LC3B (autophagy marker) expression was increased in liver of TAA-injected rats, however LC3B-labeled cytoplasmic granules in hepatocytes were significantly increased in LPS-pretreated rats. At each time point, additionally, CD163⁺ and CD68⁺ macrophages were significantly increased in TAA-injected rats, however, CD68⁺ exudative macrophages were significantly increased or tended to be increased in LPS-pretreated rats particularly at 12h or 24h. [Conclusions] LPS pretreatment at 12 h or 24 h showed the highest cytoprotection in TAA-induced acute liver injury, which might be related to the LPS-activated hepatic macrophages and LPS-induced hepatocyte autophagy.

P-15

Effect of edaravone on cisplatin nephrotoxicity

○ Natsumi Koike, Ayaka Sasaki, Rin Yamori, Tomoaki Murakami, Kazuhiko Suzuki

Tokyo University of Agriculture and Technology Faculty of Agriculture Cooperative Department of Veterinary Medicine

[Background and Aim]Cisplatin (CIS) is known as a useful anticancer agent, while its toxicity to multiple organs including the kidney has been reported. As for the nephrotoxicity, tubular necrosis and subsequent renal interstitial fibrosis are observed, and the involvement of oxidative stress is suggested as part of its pathogenesis. In this study, we examined the inhibitory effect of Edaravone (Eda), synthetic free-radical scavenger, on renal tubule interstitium lesions. [Materials and Methods]6 weeks old male Wistar rats (n=25) were divided into five groups; Control, CIS, CIS + Low dose Eda, CIS + Medium dose Eda, CIS + High dose Eda. CIS (6 mg/kg, i.p.) was injected at first day, and Eda (1, 10, 100 mg/kg) was intraperitoneally administered every other day from 5 days before CIS injection. Blood and kidney were sampled at 28 days after CIS administration and used for various searches. [Results]BUN and Cr level increased by CIS, and were suppressed by Eda. Tubular injury, increased accumulation of extracellular matrix and increased number of α -SMA positive cells were induced by CIS, and were attenuated by high dose of Eda. CD68-positive macrophages and CD3-positive lymphocytes were significantly increased by CIS, and these increase were significantly attenuated by Eda. The mRNA expression of various antioxidant-related factors is currently being researched. [Conclusion]It was suggested that Eda has inhibitory effect on CIS nephrotoxicity via anti-oxidative pathway.

P-16 *

Effects of Dimethyl Fumarate on renal interstitial fibrosis

○ Ayaka Sasaki, Natsumi Koike, Rin Yamori, Tomoaki Murakami, Kazuhiko Suzuki

Tokyo University of Agriculture and Technology, Faculty of Agriculture, Department of Veterinary Medicine

[Background and Aim]Renal interstitial fibrosis is observed in various kidney disease and correlated with renal dysfunction. However, fibrosis is fundamentally an overreaction of tissue repair, the treatment focused on inhibition of excessive extracellular matrix accumulation is required. Dimethyl fumarate (DMF) is therapeutic agent for multiple sclerosis with mechanism of oxidative stress reduction by activating Nrf2 transcription pathway, and is expected for treatment of any other diseases. We investigated the effect of DMF on renal interstitial fibrosis using cisplatin (CIS)-induced model. [Materials and Methods]6-week-old male Wistar rats were divided into 5 groups.; negative control, CIS, CIS + low dose DMF, CIS + middle dose DMF, CIS + high dose DMF. 6 mg/kg of CIS was injected intraperitoneally once. DMF was administered by food containing 300, 1500 or 7500 ppm from 7 days before CIS administration. 28 days after CIS administration, blood and kidney were sampled and used for various searches. [Results and Discussions]Increased BUN and Cr levels and tubulointerstitial lesions in the CIS-group were suppressed by DMF. The increased number of CD68-positive macrophages and CD3-positive lymphocytes was attenuated by DMF dose-dependently. Increase number of α -smooth muscle actin-positive cells was suppressed by high dose of DMF. Although mRNA expressions of oxidative stress related factors are under investigation, DMF may attenuate renal fibrosis by anti-oxidative pathway.

P-17 *

Transformation of renal tubular epithelial cell associated with decreased expression of HNF α

○ Rin Yamori, Natsumi Koike, Ayaka Sasaki, Tomoaki Murakami, Tetsuya Furuya, Kazuhiko Suzuki

Tokyo University of Agriculture and Technology, Faculty of Agriculture, Cooperative Department of Veterinary Medicine

Background and Purpose Hepatocyte nuclear factor 4-alpha (HNF4 α) has been reported the involvement of multiple transporter expression at development and maturation stage and constitutive expression in proximal renal tubular epithelial cells after maturation in the kidney. Our previous study showed that HNF4 α expression was loss in the regenerating epithelial cells after injury in adenine-treated mice. In this study, we constructed HNF4 α knock out cell line, and compared the cell morphology, mRNA expression and reactivity to various stimulations with NRK-52E.

Methods The rat HNF4 α shRNA plasmid vector was introduced into NRK-52E (shHNF4 α cell), and the changes in cell morphology and mRNA expressions, including various transporters, was compared. Furthermore, susceptibility against cisplatin (CIS) was also compared. **Results** The mRNA expressions of transporters decreased and the Snail mRNA expression increased in shHNF4 α cell. In addition, survival rate after CIS exposure was higher in shHNF4 α cell.

Discussion Considering with previous report that the transporters expression decrease in regenerating renal tubular epithelial cells after CIS exposure, findings of this investigation that most of the transporters whose expression decreased in shHNF4 α cell was involved in CIS uptake, and that higher survival rate after CIS exposure suggests that HNF4 α regulates drug transporter expression in renal tubular epithelial cells and its decreased expression would protect from further injury.

P-18

High-throughput screening of the hypoxia pathway: examining promoter response and function

○ Masato Yonezawa¹⁾, Shelley Force Aldred¹⁾, Nathan Trinklein¹⁾, Menghang Xia²⁾, Ruili Huang²⁾, Jim Hudson³⁾, Johanna Samuelsson¹⁾

¹⁾Active Motif Inc., ²⁾NIH Chemical Genomics Center, ³⁾Hudson Alpha Institute for Biotechnology

The hypoxia pathway is involved in a wide range of biological processes including tumor resistance to chemotherapy. To facilitate high throughput gene regulation studies in combination with chemotherapeutic drugs and toxic substances, we created a genome-wide library of over 18,000 human endogenous promoters and synthetic response elements in a quantitative and sensitive luciferase-based reporter system. This system, designated the LightSwitch™ Assay System, contains a novel and highly optimized luciferase gene (RenSP) and all companion assay reagents yielding industry leading sensitivity and dynamic range. Using a large panel of the LightSwitch™ promoter vectors, we validated the response of each promoter to various external cellular stimuli. Application of over 400 hypoxia-related promoter vectors revealed differential responses to hypoxia in different cell types. Furthermore, a toxicology screen of 1,400 compounds allowed the identification of several compounds that activate hypoxia pathway, including HIF-1 alpha-dependent hypoxia inducers. Thus, our LightSwitch™ Assay System is a highly useful tool to dissect gene regulatory mechanisms in toxicological response and other cellular processes.

P-19 *

Catch up growth and immune organ development in DOHaD study

○ Mai Todoroki, Mika Senuma, Fumiaki Kumagai, Yoshiaki Saito, Makiko Kuwagata

Hatano Research Institute Food and Drug Safty center

To reveal the mechanisms of the developmental origin of health and disease (DOHaD) hypothesis, many animal studies have been conducted. Excessive increase in body weight over the short term after undernutrition in the lactation period (catch up growth) is considered one of triggers of DOHaD. We demonstrated histopathologically that 50% undernutrition in C57BL dams during neonatal one week induced altered development of the immune organs, such as the spleen and thymus, in pups. Between postnatal days 7 to 14, body weight in the pups rapidly increased under this condition compared to that in the controls (catch up growth). In addition, individual differences in the degree of the histopathological changes in these organs were observed in the pups exposed to neonatal undernutrition, as well as in the controls. In this study, we examined the relationship of the individual differences in the histopathological changes in the pups to other developmental parameters, such as litter size, body weight gain and organ weight. The differences in the degree of the histopathological changes in the immune organs of the pups was not related to litter size, organ weight or body weight.

P-20 *

Inhalation single toxicity studies of 1-methylnaphthalene in rats and mice: Histopathological Aspect

○ Mi Ju Lee

Inhalation Toxicity Research Center, Occupational Safety and Health Research Institute

[Background] 1-Methylnaphthalene is a polycyclic aromatic hydrocarbon and naphthalene-related compound called alpha methylnaphthalene. It is used to produce dyes and resins and present in cigarette smoke, wood smoke, tar, and asphalt. Reliable inhalation toxicity information of 1-methylnaphthalene has not been reported to date although its primary contact route is the respiratory tract. [Aim] Therefore, the present study was conducted to screening the toxicity of 1-methylnaphthalene via single inhalation exposure in rats and mice. [Materials and Methods] Twelve male and 12 female rats and mice were gradationally exposed to 1-Methylnaphthalene aerosol at 0.05, 0.5, 1 and 5 mg/ and 5 and 1 mg/L 1-methylnaphthalene for 4 hours, respectively. Exposed animals were necropsied for 14 days observation period. Histopathological examination was performed in animals exposed at 5 mg/L 1-methylnaphthalene. [Results] Two male and a female rats exposed to 5 mg/L 1-methylnaphthalene found dead or moribund during the observation period. Enlargement of the lung was noted in all male rats exposed 5 mg/L. Gray focus in the lung was noted in a female mouse exposed to 5 mg/L. Histopathologically, bronchiolar lesions including epithelial hyperplasia, inflammation and erosion/ulcer in the lung were noted in rats and mice exposed to 5 mg/L. [Conclusion] This result may be helpful to prepare toxic profiles for 1-methylnaphthalene.

P-21**Respiratory lesions induced in rats after inhalation exposed to Methyl Acrylate for 13 weeks.**

○ Kenji Takanobu, Hideki Senoh, Yumi Umeda, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno

Japan Bioassay Research Center, JOHAS

[Background] Methyl Acrylate (MA) is used as a material for acrylic resin, adhesive, paint, etc. In this study, we report on the respiratory lesions of the rats induced by whole body inhalation of MA for 13 weeks.

[Material and Methods] F344 rats of each sex (n = 10 for each group) at 6 weeks of age were exposed to 0, 12.5, 25, 50, 100 or 200 ppm (v/v) MA, for 13 weeks. All organs were sampled for histopathological examination.

[Results] Goblet cell hyperplasia, inflammatory infiltration, regeneration, squamous metaplasia, and hyperplasia of the respiratory epithelium, and respiratory metaplasia of the nasal gland were observed in the respiratory area of nasal cavity. In the olfactory part of the nasal cavity, atrophy, necrosis/desquamation, ulcer, inflammatory infiltration, regeneration and respiratory metaplasia of the olfactory epithelium, and respiratory metaplasia of the olfactory gland were found. In the larynx and trachea, atrophy, inflammatory infiltration, and regeneration of the lining epithelium were seen.

[Conclusion] In the following inhalation carcinogenicity study for 104 weeks, squamous cell carcinoma of the nasal cavity was induced in both sexes. We consider that metaplasia and hyperplasia of respiratory epithelium might have preceded in the study. This study was contracted by Ministry of Health Labour and Welfare of Japan. (GLP study)

P-22**Nasal Cavity Neoplastic/Non-neoplastic lesion induced by 104-week whole body inhalation exposure to Methyl Acrylate in rats**

○ Hideki Senoh, Kenji Takanobu, Yumi Umeda, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno

Japan Bioassay Research Center, JOHAS

[Background] Methyl Acrylate (CAS No. 96-33-3) is a liquid substance with irritable odor. It is widely used for Acrylic fiber, molding resin, adhesives and paints. In the present study, inhalation carcinogenicity of Methyl Acrylate was examined.

[Materials and Methods] Airflow containing Methyl Acrylate vapor was administered to groups each of 50 males and 50 females of F344 rat at target concentrations of 0, 10, 40 or 160 ppm (v/v), 6 hours/day, 5 days/week for 104 weeks.

[Results] The squamous cell carcinomas in nasal cavity were increased in 160 ppm exposed male and non-significant increase in 40 ppm exposed male and 160 ppm exposed females. Non-neoplastic lesions were increased in nasal cavity, larynx and trachea in both sexes and nasopharynx in male.

[Conclusion] This study demonstrated that 104-week inhalation exposure to Methyl Acrylate vapor exerted nasal cavity carcinogenicity in rats of both sexes. This study was contracted by Ministry of Health Labour and Welfare of Japan (GLP studies).

P-23 ***Myocardial damage induced in rats by a single dose of combretastatin A4 disodium phosphate**○ R Tochinai¹⁾, K Komatsu¹⁾, J Murakami¹⁾, Y Nagata¹⁾, M Ando¹⁾, C Hata¹⁾, T Suzuki¹⁾, S Kado¹⁾, T Kobayashi¹⁾, M Kuwahara²⁾¹⁾ Yakult Cent. Inst., ²⁾ Dep. of Vet. Pathophysiol. and Anim. Health, The Univ. of Tokyo

[Background] Cardiotoxicity is a problem in the development of microtubule disassembling agents (MDA) in vascular disruption of tumors. This study investigated cardiotoxic findings in rats induced by a single dose of combretastatin A4 disodium phosphate (CA4DP), and discussed the use of this rat model in non-clinical studies of MDA. [Methods] i) CA4DP (120 mg/kg) was administered to rats intravenously, and cardiac histopathology and blood biomarkers were examined after 0.5, 24, and 72 h. ii) As with i), CA4DP was administered to rats, and electrocardiography (ECG) and echocardiography results were analyzed over time. [Results] i) At 0.5 h after dosing, plasma creatine kinase (CK), CK-MB, and Fatty Acid Binding Protein 3 levels increased. At 24 h, lactate dehydrogenase (LDH) 1, CK, and CK-MB levels increased, and multifocal vacuolar degeneration of myocardial cells in apical subendocardial regions was observed. At 72 h, LDH 1 levels were increased, and multifocal myocardial necrosis was observed. ii) At 0.5 h after dosing, heart rate (HR), ejection fraction (EF), and cardiac output (CO) decreased. At 24 h, HR and CO decreased. At 72 h, HR, EF, and CO decreased, and depression of T-wave potential was observed. [Conclusion] Myocardial injury, bradycardia, and depression of cardiac function were induced. Distribution of lesions and ECG features suggested that myocardial injury was induced by ischemia. This rat model proved useful in the study of cardiotoxicity of MDA in humans.

P-24 ***Studies on the tumor-promoting activity of alpha-linolenic acid-enriched diacylglycerol oil**○ Hiroshi Honda¹⁾, Taisuke Kawamoto¹⁾, Yuko Doi²⁾, Takuya Mori¹⁾, Shoji Matsumura¹⁾, Norio Imai²⁾, Yukinori Mera²⁾, Yuichi Ito¹⁾, Osamu Morita¹⁾¹⁾ Kao Corporation, ²⁾ DIMS Institute of Medical Science, Inc.

[Background] Alpha-linolenic acid (ALA)-enriched diacylglycerol (DAG) oil, an edible oil enriched with DAG and ALA, has been reported to enhance dietary fat utilization as energy. Since protein kinase C (PKC), which is involved in carcinogenesis, could be activated by intracellular short-chain 1,2-DAG, the tumor-promoting activity of DAG oil mainly containing oleic or linoleic acids has been investigated and no activity was demonstrated. However, the activity of ALA-DAG oil has not been investigated. [Aim] The aim of the present study was to investigate the tumor-promoting activity of ALA-DAG oil on rats. [Materials and Methods] Using a rat medium-term multi-organ carcinogenesis bioassay model, the tumor-promoting activity of ALA-DAG oil in the tongue and gastrointestinal tract was investigated. After treatment with genotoxic carcinogens, the rats were fed on a diet of ALA-DAG oil (0, 13,750, 27,500, and 55,000 ppm) for 24 weeks. Meanwhile, the activity of PKC in the tongue and gastrointestinal tract was measured in rats consumed a diet with ALA-DAG oil (0, 7.5, and 30%) for 28 days. [Results] There were no meaningful increases in the incidence of pre-neoplastic and neoplastic lesions in the rat medium-term multi-organ carcinogenesis bioassay model. Animals that consumed the diet with ALA-DAG oil exhibited no significant increase in PKC activities. [Conclusion] ALA-DAG oil would have no tumor-promoting activity, similar to the DAG oil.

P-25

A 26-week Short-term Carcinogenesis Bioassay of Organic Germanium, poly-trans-[(2-carboxyethyl) germasesquioxane] (Ge-132) using rasH2 Mice

○ Yuko Doi¹⁾, Norio Imai¹⁾, Mayuko Suguro¹⁾, Mayumi Kawabe¹⁾, Isao Sato²⁾

¹⁾DIMS Institute of Medical Science, Inc., ²⁾Asai Germanium Research Institute Co., Ltd.

[Purpose] An organic germanium, poly-trans-[(2-carboxyethyl) germasesquioxane] (Ge-132) is used as an ingredient of food, and its various physiological effects were reported. The safety of Ge-132 has been confirmed by single and repeated dose toxicity, teratogenic and mutagenic studies. However, sufficient information to assess carcinogenesis is not available. Therefore, present 26-week short-term carcinogenicity study using rasH2 mice was performed.

[Materials and Methods] Seven to 8 week-old mice were fed a diet containing 0, 0.3, 0.8 and 2.5% of Ge-132 (20 mice/sex/group) for 26 weeks. The dose level was determined by a preceding dose finding study. As a positive control, 10 males and 10 females were treated with a single i.p. injection of MNU at 75 mg/kg. After 26 week-feeding, all mice including MNU group were necropsied.

[Results] Loose stool was observed in all mice of the 2.5% group, and water intake was statistically increased. Dilatation of the cecum was observed at necropsy, however, no abnormality was observed histopathologically. Incidences of neoplastic lesions in the Ge-132 groups were not significantly different compared with the control group. In the MNU group, all mice showed neoplastic lesions, and most of them developed malignant lymphoma and/or squamous cell papilloma of the stomach.

[Conclusion] Our results indicate that Ge-132 ingestion up to 2.5% (male: 3837 mg/kg/day, female: 5442 mg/kg/day) was not carcinogenic under the conditions in this study.

P-26 *

Immunohistochemical examination of a tumor observed in the liver

○ Du Mu, Guo Hui, Zhang Yuexiang, Liu Xiangjiang, Zhang Weijuan, Ji Xiaoxia, Guo Maowu, Yasuhiko Hirouchi

JOINN Laboratories

Background and objective Scattering nodules with approximately 0.1-1 cm diameter were observed in the liver of a rat. We considered that these nodules are different from primary liver tumor, and conducted immunohistochemical examination to determine the original tissue. Materials and methods This case was a male CD rat sacrificed on scheduled necropsy at week 104. At macroscopic examination on necropsy, scattered nodules were observed in the liver. Histological examination and immunohistochemical examination of the liver were conducted. Results The accumulated foci of tumor cells consisted of oval cells with light basophilic cytoplasm and round nuclei. There was no dysplasia of nuclei, and mitosis was very rare. Although nodular proliferation of tumor cells was shown, significant exclusion of surrounding tissues was not observed. Disseminated infiltration and proliferation of isolated tumor cells were observed around the tumor nodules. In addition, C cell adenoma of the thyroid gland were observed. As the result of immunohistochemical examination, this tumor was AFP-negative, CK19-negative and vimentin-negative. Therefore, this tumor was not considered to be derived from hepatocytes or intrahepatic bile ducts. As a possibility for metastasis of an endocrine system tumor was considered from tissue morphology of the tumor, immunohistochemical examination using calcitonin and chromogranin was conducted. The results are reported.

P-27 ***Study on toxicity of *o*-Acetoacetotoluidide (AAOT) Kenji Kumada Dept. Mol. Path., Osaka City Univ. Graduate Sch. Medicine**

○ Kenji Kumada, Takahiro Okuno, Min Gi, Masaki Fujioka, Nao Yukimatsu, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi

Department of Molecular Pathology Osaka City University Medical School

o-Acetoacetotoluidide (AAOT) is a compound in which the amino group of *o*-Toluidine (OTD) is acylated, and is a substance used as a raw material for synthesis of azo pigment. Occupational exposure of OTD is known to induce bladder cancer and is classified by IARC as Group 1 (carcinogenic to humans). However, there is no information on the toxicity, carcinogenicity of AAOT and risk assessment is urgently required. Therefore, this study aimed to evaluate toxicity of AAOT.

By human bladder epithelial cells 1T1 and rat bladder epithelial cells MYP3, AAOT and OTD were added to the medium at doses of 0, 78, 156, 313, 625, 1000, 1250, 2000 and 2500 ppm. Then, LD 50 was calculated. Using 6 week old female F344 rats, AAOT was fed at doses of 0, 1500 and 3000 ppm. Further, AAOT and its metabolites were analyzed 72 hours after.

As analysis results of the cells, LD 50 of AAOT was 1049 ppm at 1 T 1 and 874.1 ppm at MYP 3. LD50 of OTD was 157.4 ppm at 1 T 1 and 257 ppm at MYP 3.

Analysis of urinary metabolites showed a significant increase in OTD in AAOT group compared to control group. Interestingly, OTD accounted for the majority of urinary metabolites in the AAOT group. From the results, they revealed that AAOT is weaker in cytotoxicity than OTD. However, since OTD is produced in the urine as a biological metabolite, there is a concern about the effect on bladder mucosal epithelium. Currently, animal testing is ongoing and will be reported in the presentation.

P-28**Immunohistochemical characteristics of proliferative lesions in Wistar Hannover rat thymus**

○ Yuki Tomonari, Junko Sato, Tetsuro Kurotaki, Ryosuke Kobayashi, Takuya Doi, Takeshi Kanno, Minoru Tsuchitani

LSIMedience Corporation, Pathology Department

[Background] We reported at the 30th JSTP annual meeting a higher incidence of thymic hyperplasia and thymoma in Wistar Hannover (WH) rats than SD rats and a histopathological resemblance of thymoma to the normal thymic cortex and medulla. Moreover, thymoma have pale areas similar to the medulla but without lymphocytes. [Aim] We focalized on the differences of thymic epithelium (TE) of the cortex and medulla, and then compared the structure of thymoma with normal thymic cortex and medulla. [Materials & Methods] Thymoma (40 cases, 104-week background study (ws) of WH rats) and normal thymus as control (104, 26, and 4ws) were stained with anti-cytokeratin (CK) 14 (medullary TE), CK18 (cortical TE), and CD20 (B-cell). [Results] In the normal thymus, TEs were positive for CK14 at the medulla and subcapsular area, CK18 at the cortex; B-cells in the medulla were positive for CD20. In thymoma, small to large medullary differentiation areas (MDs) were noted focally or diffusely at the cortex-like lymphocyte rich area (LyR). TEs were positive for CK14 at MD, CK18 at LyR and pale areas; B-cells in MDs were positive for CD20. [Conclusion] TEs at LyR and MDs at LyR indicated the nature of TEs of the normal cortex and medulla, respectively. B-cells also existed at MDs as in the normal medulla. LyR and MDs of thymoma were suggested dependent on the difference in an immunohistochemical pattern of each TE. Additionally, the pale areas consisted of CK18 positive TEs at LyR, differed from MDs.

P-29

Oral toxicity study of neonicotinoid pesticide dinotefuran in CD-1 mice

○ Yukie Tada, Toyohito Tanaka, Kiyomi Ikushima, Toshinari Suzuki, Akiko Inomata, Takako Moriyasu

Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

<Background> Neonicotinoid pesticide dinotefuran is widely used in Japan. However, there is minimal data on adverse effects of dinotefuran in either experimental animals or humans. In the present study, an oral toxicity study of dinotefuran was conducted in CD-1 mice.

<Methods> Each of 40 male and female mice, 5-week-old, was administered 0 (control), 22, 44 or 88 mg/kg body weight for dinotefuran by gavage, once per day, 5 days per week, for 4 weeks. After two or three weeks from start of the study, behavioral parameters were measured. After 4 weeks administration, the mice were anesthetized under isoflurane, and hematological, biochemical and pathological consequences were investigated.

<Results> There were no significant differences on body weight or food intake during the experimental period in each sex. The spatial learning memory or movement activity of exploratory behavior was not affected by dinotefuran. In hematological study, white blood cells in the treated group were showed a tendency to decrease, and neutrophils in the female high dose group were significantly decreased compared with the corresponding control group. There were no treatment-related changes in the biochemical and pathological findings.

P-30 *

Comparison between MNU manufacturing facilities concerning the medium-term multi-organ carcinogenesis bioassay

○ Taiki Sugiyama, Kazunari Uda, Hitomi Higuchi, Yuko Doi, Akihiro Hagiwara, Yukinori Mera

DIMS Institute of Medical Science, Inc.

[Background and Aim] In the medium-term multi-organ carcinogenesis bioassay, animals were sequentially given 5 carcinogens (DMBDD). MNU product by company A had been discontinued, therefore, we tried to compare bioassay data obtained by using alternative MNU products of company B and C. [Materials and Methods] At the commencement of the experiment, male F344 rats were treated with DEN (100 mg/kg body weight, single i.p. injection), sequentially followed by MNU (20 mg/kg body weight, s.c. injection, four times during Weeks 1 and 2) of each company A (G1), B (G2) and C (G3), DMH (40 mg/kg body weight, i.p., four times during Weeks 3 and 4), BBN (0.05% in drinking water during Weeks 1 and 2) and DHPN (0.1% in drinking water during Weeks 3 and 4). After the DMBDD treatment, animals would be maintained until experimental Week 30. At Week 31, all surviving animals will be necropsied, and the organs and tissues will be examined histopathologically. [Results] The survival rates for G1, G2 and G3 up to Week 27 were 90%, 95% and 90%. After Week 21, anemia, hemoglobinuria and emaciation were observed in some rats in each group. In the dead animals, tumors were mainly found in the lung, kidneys, small intestine and abdominal cavity, similar to the previous studies. [Conclusion] No significant differences between groups were noted until Week 27. We will report the final results including histopathological data, and discuss the use of alternative MNU manufactured by company B or C.

P-31 *

The high incidence of amyloidosis in control ICR mice in carcinogenicity studies: Comparison to historical controls (2nd report)

○ Tsuyoshi Ito, Yoshitaka Katoh, Emi Makino, Aya Koyama, Naofumi Takahashi, Atsushi Shiga, Yoshimasa Okazaki, Takanori Harada

The Institute of Environmental Toxicology (IET)

[Background] In the 32nd annual meeting of JSTP, we reported that control ICR mice showed an increasing trend in the incidence of amyloidosis in a carcinogenicity study terminated in 2015 and AA amyloid (AA), whose precursor was serum amyloid protein A (SAA), deposited in half of cases. Besides AA, which tends to deposit mainly in the spleen and liver, apolipoprotein AII amyloid (AApoAII), whose precursor is apolipoprotein AII (ApoAII) and which tends to deposit mainly in the small intestine and heart, is known in mice. We added data to the previous report. [Methods] The data of control SPF ICR mice [Crj:CD1(ICR)] (Charles River Japan, Inc.) in two 78-week carcinogenicity studies were added. Mice were purchased at 4 weeks of age and studies were initiated at 5 weeks of age. Systemic organs were removed and HE-stained sections were prepared. For all amyloidosis cases previously subjected to SAA immunostain, ApoAII immunostain was conducted. IET's historical controls of Crj:CD-1 and Crj:CD1(ICR) mice were used. [Results and discussion] The incidence (%) of amyloidosis in total three carcinogenicity studies was higher than upper limit of historical controls. In these three studies, the incidence of amyloid deposition in the small intestine and heart was higher than that in the spleen and liver, and all cases examined were immunopositive for ApoAII. From these results, it was suggested that amyloidosis which occurred recently in high incidence was mainly caused by AApoAII.

P-32 *

Comparative study of pathological characteristics of rat mesotheliomas induced by MWCNT and chrysotile

○ Motoki Hojo¹⁾, Yoshimitsu Sakamoto¹⁾, Yukio Yamamoto¹⁾, Yuko Hasegawa¹⁾, Shiho Murakami¹⁾, Ai Maeno¹⁾, Akihiko Hirose²⁾, Dai Nakae³⁾

¹⁾Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, ²⁾Natl. Inst. Health Sci., ³⁾Tokyo Univ. Agricul.

[Introduction] Multi-wall carbon nanotube (MWCNT) and asbestos have been shown to induce mesotheliomas in rodents by similar mechanisms. The present study comparatively examined characteristics of such mesotheliomas. [Methods] Twenty each of 10-week-old male F344 rats were intraperitoneally administered 1 mg/kg body weight of MWCNT (MWNT-7; M-group) or 40 mg/kg of asbestos (UICC chrysotile B; C-group), and moribund or dead animals were autopsied. Mesotheliomas were pathologically and molecular biologically analyzed. [Results and discussion] The first deaths occurred 28 and 37 weeks after in M- and C- groups, respectively, and all animals died within 60 weeks. There were no apparent differences in gross findings between 2 groups, except the liver deformity severer in M-group, and diffusely distributed tumor nodules were found throughout the abdomen with a variety of appearances including small granular, large spherical and plaque-like shapes in all rats. Histologically, all types of mesothelioma (epithelioid, sarcomatoid and mixed) were observed, and again there were no apparent differences between 2 groups. Most of these tumor cells in both groups displayed the deletion at Cdkn2A locus. Serum mesothelin levels were similar in both groups, higher than its control level. It is thus indicated that under the present conditions both MWCNT and asbestos induce mesotheliomas with similar characteristics that are also similar to those of a human counterpart.

P-33**A 90-day oral toxicity study of vanillin propylene glycol acetal (vanillin PGA) in rats**

○ Takanori Yamada^{1,2)}, Kohei Matsushita¹⁾, Takeshi Toyoda¹⁾, Tomomi Morikawa¹⁾,
Miwa Takahashi¹⁾, Kaoru Inoue¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾

¹⁾Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²⁾LVP, Tokyo Univ. Agri. Tech.

[Background] Vanillin propylene glycol acetal (vanillin PGA) is one of the designated additives and used as a flavoring agent. Although vanillin PGA was evaluated as "No safety concern" by JECFA, there is little information regarding the toxicity. In this study, we performed a 90-day oral toxicity study of vanillin PGA in rats to establish a no-observed-adverse-effect level (NOAEL). [Methods] Six-week-old male and female F344 rats were administered orally with corn oil [0 mg/kg BW/day (control)] and vanillin PGA [100 (low), 300 (middle), 1000 mg/kg BW/day (high)] for 90 days. [Results] In clinical signs, loss of vigorous prostration and listless were observed at high dose in both sex. Suppression of body weight gain was noted at high dose in both sex (male: 6th week and later, female: 7th week, 9th week and later). In food consumption and the hematology, no toxicity effects were observed. In serum biochemistry, increases in TP, Alb, TC, Ca, IP and GGTP were noted at high dose in both sex. In addition, increases in A/G ratio and BUN were also detected in high dose males. In organ weights, increased relative weights in the liver was noted at high dose in both sex. In histopathology, centrilobular hepatocellular hypertrophy in the liver was observed at high dose in both sex. Furthermore, decrease in the incidence of fatty change of hepatocytes was observed at high dose in males. [Conclusion] Based on the results, NOAEL of vanillin PGA was determined to be 300 mg/kg BW/day.

P-34 ***13-week subchronic toxicity study of isoeugenol methyl ether in F344 rats**

○ Jun-ichi Akagi, Young-Man Cho, Yasuko Mizuta, Kumiko Ogawa

Div. Pathology, Natl. Inst. Health Sci.

[Introduction]

Isoeugenyl methyl ether (CAS No. 93-16-3) is a food additive used as a naturally deriving flavoring agent. In Japan, daily per capita intake of isoeugenyl methyl ether, classified as structural class III, is 122.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight (BW)/day, which exceeds the threshold of concern estimated by JECFA's 'decision tree' approach (90 $\mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$). Therefore, we performed subchronic toxicity test of isoeugenyl methyl ether in F344 rats to determine the toxicity profile and the no-observed-adverse-effect level (NOAEL).

[Materials & Methods]

8, 40, or 200 mg/kg BW/day of isoeugenyl methyl ether (99.3% purity) was orally administrated to six-week-old male and female F344 rats for 13 weeks.

[Results]

All animals survived and no clinical signs were observed throughout the experimental period. Body weight gain in the male 200 mg/kg BW/day group was decreased from the ninth week. In serum biochemistry, decrease in triglyceride was observed in the male 200 mg/kg BW/day group. In organ weights, increases in both absolute and relative liver weights were observed in both sexes of 200 mg/kg BW/day group. In histopathological examination, hepatocyte hypertrophy was observed in the male 200 mg/kg BW/day group.

[Conclusion]

We considered that the main target organ of isoeugenyl methyl ether is liver. The NOAEL of isoeugenyl methyl ether was estimated to be 40 mg/kg BW/day.

P-35 *

Characteristic pathological changes in nuclei of ADC drug-treated animals

○ Mingshu Huang, Toko Ohira, Liang He, Jingjing Mao, Jianyan Yan, Tiantian Cui, Minbo Hou, Hua Li, Jing Ma

National Shanghai Center for New Drug Safety Evaluation and Research

[Background] The antibody-drug conjugate (ADC) is a cytotoxic drug coupled to an antibody that specifically targets a certain tumor marker. The mechanism of ADCs has been studied in depth by many researchers. However, the pathologic changes induced by ADCs were rarely reported. [Aim] To evaluate the pathological changes of nuclei induced by ADCs, we analyzed the histopathological data from monkeys and rats treated with ADCs. [Materials and Methods] The 13-week repeated dose toxicity study was carried out in monkeys and rats. Animals were dosed with vehicle (control group) and ADCs (treated groups) via intravenous infusion. All tissues were collected and processed for histopathological examination. [Results] The characteristic changes of nuclei include karyomegaly and mitosis and were found in multiple organs of ADC-treated monkeys and rats. The nuclei were enlarged with or without expansion of cytoplasm. Affected nuclei were irregularly bordered and varied in size, and some had several nucleoli or increased mitosis. These nuclear changes were noted in the liver, heart, spleen, duodenum and skin of monkeys and the kidney, liver, spleen and lacrimal gland of rats. [Conclusion] Karyomegaly and mitosis were observed in multiple organs of ADC-treated monkeys and rats.

P-36

Investigation on carcinogenicity study of prescription drugs -Part I-

○ Jihei Nishimura¹⁾, Mizuho Nonaka¹⁾, Misaki Naota¹⁾, Satoshi Tsunoda¹⁾, Yukie Saegusa¹⁾, Hiroshi Doguchi¹⁾, Hiroshi Onodera¹⁾, Osamu Fueki¹⁾, Kazutoshi Shinoda¹⁾, Kumiko Ogawa²⁾, Akiyoshi Nishikawa²⁾

¹⁾PMDA, ²⁾NIHS

Beginning with retrospective analysis on data collected from 182 marketed- and unapproved- pharmaceuticals which was published by PhRMA (Toxicol. Pathol. 39, 716-744, 2011), ICH S1 (carcinogenicity study) Expert Working Group (EWG) was set in June 2012. Currently, prospective evaluations have been conducted to verify a hypothesis that a 2-year rat carcinogenicity study could be waived based on evidences such as pharmacology, genotoxicity and tumor-related lesions from rat 6-month studies. In view of the above background, we are retrospectively investigating from the similar point of view using data of about 200 prescription drugs approved in Japan in 2007 or after wherein carcinogenicity studies were conducted. In this presentation, we will introduce analysis results regarding neoplastic lesions in rats which were found in the process of the investigation.

P-37 ***Time course study on histopathological changes of the peripheral nerve in experimental autoimmune neuritis rats**

○ Emi Tomikawa, Mayu Mutsuga, Kojiro Hara, Chihiro Kaneko, Tomoya Miyoshi, Naoko Imura, Yuko Togashi, Ryoji Hayashi

Pharmaceutical Research Laboratories, Toray Industries, Inc.

[Background and Aim] The experimental autoimmune neuritis (EAN), an animal model for Guillain-Barré syndrome, shows neurological symptoms and histopathological changes of the peripheral nerve, but the interrelation of their progress is not well understood. We examined the time course of histopathological changes in EAN rats.

[Materials and Methods] The sciatic nerves in P2 (57-81)-administered Lewis rats were sampled on Day 10, 16, 22, and 25, and were observed under light microscope (HE, LFB-HE, and IHC staining) and TEM.

[Results] In the light microscope, axon/myelin degeneration appeared at the onset of neurological symptoms (Day 10), became severe at the peak (Day 16), and persisted at the recovery (Day 22 and 25). The myelinated nerve fiber density and myelin area decreased from Day 10 and became the minimum on Day 22. The decreased density was attributed to the loss of large diameter fibers. In the TEM analysis, slight axon/myelin degeneration (accumulation of vesicle in axon, focal myelin splitting/folding) increased on Day 10, severe degeneration (axonal loss, myelin ovoid, demyelination) increased on Day 16, and regenerative changes (remyelination, enlargement of Schwann cell cytoplasm) was observed on Day 22 and 25.

[Conclusion] In EAN rats, degeneration of the peripheral nerve slightly appeared at the onset of neurological symptoms and became severe with less large myelinated fibers at the peak, and regenerative changes also occurred at the recovery.

P-38 ***Histopathological examination of ocular lesions in leptin receptor-knockout medaka**

○ Shin-ichi Chisada¹⁾, Ayano Hirako²⁾, Akihiko Sugiyama²⁾

¹⁾School of Medicine, Kyorin University, ²⁾Faculty of Agriculture, Tottori University

[Background, Aim, Materials and Methods] Leptin receptor-knockout (LepRKO) medaka reared with ad libitum feeding showed hypoinsulinemia and hyperglycemia. Eyeballs of LepRKO and control medaka at 10, 28, and 37 weeks old were examined histopathologically to clarify the usefulness of the LepRKO medaka as a model of diabetic cataract and retinopathy. [Result] The LepRKO medaka at 28 and 37 weeks old showed hypoinsulinemia and hyperglycemia. Histopathologically, vacuolation, edema, fragmentation and liquefaction of the lens fibers were observed in the lens cortex of LepRKO medaka at 28 and 37 weeks old. In LepRKO medaka at 28 and 37 weeks old, dilatation was observed in the retinal central veins, retinal capillaries, iridal veins and capillaries, and choroidal veins. The pigment epithelial layer, layer of rods and cones, outer granular layer, outer plexiform layer, inner granular layer and inner plexiform layer in LepRKO medaka at 28 and 37 weeks old were significantly thinner compared with those in control medaka. [Conclusion] The histopathological characteristics in the lens and retina of LepRKO medaka were similar to those in rat models for type II diabetes mellitus. In the LepRKO medaka, the above-mentioned histopathological changes were induced within a shorter rearing period compared with rat models for type II diabetes mellitus. These findings demonstrate the usefulness of LepRKO medaka as a model of diabetic cataract and retinopathy.

P-39

Inhibition of atherosclerosis in ApoE-knockout mice by mangosteen extracts and the mechanism analysis

○ Masa-Aki Shibata¹⁾, Mariko Harada-Shiba²⁾, Eiko Shibata²⁾, Kentaro Maemura¹⁾, Yoichi Kondo¹⁾¹⁾Dept of Anat & Cell Biol, Osaka Med Coll, ²⁾Dept of Mol Innov Lipidol, Natl Cereb & Cardiovasc Centr Res Inst

Background: The incidence of atherosclerosis is increasing with an aging population, as are the myocardial and cerebral infarctions associated with the disease. Since lifestyle choices play heavily in development of atherosclerosis, development of more effective therapeutic treatments is of critical importance. Methods: Male ApoE-knockout mice were fed 0, 0.3 and 0.4% mangosteen (MG) extracts, comprised of 84% alpha- and 7% gamma-mangostin, in the diet for 17 weeks and tissues collected from all animals surviving to terminal sacrifice. Results: Body weights were significantly decreased in both MG-treated groups as compared to control. Total serum cholesterol levels were also significantly decreased in both MG-treated groups. However, at 0.4% dietary MG, serum LPL was significantly increased and triglyceride levels were significantly decreased. Both H&E and Oil-Red O staining showed that atherosclerotic changes were significantly reduced at both levels of MG exposures. Expression of such atherogenic markers as Timp-1, Mmp-9, Lox-1, Cxcl16 and Klf-5 were similar between control and MG-treated groups by real-time PCR analysis, but in mice receiving 0.4% MG, CD163, a M2 macrophage marker, was significantly elevated in lesions while M1 markers CD63 and NOS2 were not. Conclusions: A crude mangosteen extract comprised largely of alpha-mangostin suppressed development of atherosclerosis in male ApoE-KO mice, possibly through a M2 macrophage-mediated mechanism.

P-40

Protective effects of Japanese soybean paste (miso) on SHRSP

○ H Watanabe¹⁾, M Sasatani²⁾, K Satoh²⁾, Y Miyasaka³⁾, M Yoshizumi¹⁾¹⁾Dept Cardiovascular Physiol Med, Inst Biom Health Sci, Hiroshima Univ,²⁾Dept Envir Biomet, Res Inst Radiat Biol Med, Hiroshima Univ, ³⁾Shinsyu-ich Miso

<Aim> Whether intake miso can reduce the incidence of stroke in animal models remains unknown. In this study, we investigated the effects of soybean paste (miso) in an animal model. <Materials and Methods> Stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP/Izm, SLC) were fed a miso diet (Shinsyu-ich Miso, NaCl 2.8%), a high salt diet, NaCl 2.8%, or a low salt diet (NaCl 0.3%). <Results> A significantly higher systolic blood pressure (SBP) in the high salt group compared to the low salt group and the miso group. There was no significant difference in SBP between the low salt group and the miso group. Diastolic blood pressure was significantly higher in the high salt group compared to the low salt group and the miso group. There was no significant difference in diastolic blood pressure between the low salt group and the miso group. The Cox proportional hazards model revealed that event-free time was significantly shorter in the high salt group compared to the low salt group and the miso group. There was no significant difference between the low salt group and the miso group. Large hemorrhagic macules were found in the cerebrum in the high salt group. There were also fewer histological and immunohistochemical changes in the brain and kidneys in the miso group compared to the high salt group. <Conclusion> In conclusion, our findings suggest that a miso-containing diet, regardless of its high salt content, may be protective against stroke.

P-41 *

Inhibitory Effects of Mead Acid Supplementation on Green Tea Extract-Induced Hepatotoxicity

○ A Takenouchi¹⁾, Y Emoto²⁾, Y Kinoshita³⁾, K Hamazaki⁴⁾, A Tsubura⁵⁾, K Yoshizawa¹⁾

¹⁾Mukogawa Women's Univ., ²⁾Kansai Med. Univ., ³⁾Wakayama Med. Univ. Hospital, ⁴⁾Public Health-Univ.of Toyama,

⁵⁾Pref Osaka Saiseikai Izuo Hospital

<Background> We reported on the characteristics of green tea extract (GTE)-induced hepatotoxicity in rats. We explored the inhibitory effects of an n-9 PUFA, Mead acid (MA), by dietary supplementation. <Methods> 7-week-old male Sprague-Dawley rats received a single intraperitoneal injection of 200 mg/kg GTE, serum and liver were collected 24, 48hrs, and 7 days after the GTE injection. The basal, or 4.8% MA diets were given from one week before GTE injection to sacrifice. Basal diet+saline, 4.8% MA diet+saline, basal diet+GTE, and 4.8% MA diet+GTE groups were set. Serum biomarkers of hepatotoxicity (AST, ALT), histopathology, and immunohistochemistry of apoptosis, oxidative stress and hypoxia were examined. Fatty acid in serum and liver tissue of the basal diet + saline and 4.8% MA diet+saline groups were analyzed. <Results>In the basal diet+GTE group, AST and ALT levels increased. Centrilobular hepatocellular necrosis was seen 24 and 48 hrs after GTE exposure. Furthermore, the levels of these changes decreased in the MA diet group. In the basal diet+GTE group, γ H2AX, 8-NG, and HIF-1 α -positive hepatocytes appeared and peaked at 48hr. The level of these changes reduced by MA diet feeding. <Conclusion>The levels of GTE-induced liver damage, such as serum biomarkers, histology, and immunohistochemistry for hepatotoxicity were inhibited by MA diet feeding. This effect may be related to suppression of cell death via the pathway of oxidative stress and hypoxia in the liver.

P-42 *

Damage associated molecular patterns (DAMPs) and the related signals in thioacetamide (TAA)-injected rat liver injury

○ Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Munmun Pervin, Mohammad Rabiul Karim,
Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

[Background/Purpose] Damage-associated molecular patterns (DAMPs), which are released from injured cells, and their ligand-receptor, MHC class II or Toll-like receptors (TLRs), play important roles in the pathogenesis of chemical-induced liver injury. We have already reported that DAMPs, particularly high mobility group box 1 (HMGB1), and TLR4 may play important roles in TAA-induced rat acute liver injury. Here, we analyzed the roles of HMGB1 and TLR4 in TAA-induced rat liver injury in more details. [M & M] 7-week-old male F344 rats were injected with TAA (50 mg/kg BW, ip) and after 6 hours post injection with HMGB1 neutralizing IgY antibody or non-immune IgY (control) was injected (200 μ g/rat, iv). Samples were collected on 1 day post TAA injection. [Results] After injection, hepatocyte injury accompanied by mononuclear cell and neutrophil infiltration was seen around the central veins; no clear difference was seen between both groups. Compared with control, neutralizing group showed low values of AST and ALT, the low number of Iba-1 positive macrophages around central vein and low expression level of MCP-1 and IL-6. The expressions of signal molecules of TLR4, MyD88 and TRAM1, were the same level between both groups. [Conclusion] In TAA-induced liver injury, HMGB1 promotes the accumulation of macrophages following hepatocytes injury, and progresses hepatic injury. TLR4 is likely not to relate with progressing inflammation, and other receptors should be investigated.

P-43 *

Histopathological Analysis of Young and Aged Female SDT Fatty Rats

○ Soon Hui Teoh¹⁾, Katsuhiko Miyajima¹⁾, Takeshi Ohta²⁾, Masami Shinohara³⁾, Kinuko Uno¹⁾,
Noriko Kemuriyama¹⁾, Dai Nakae¹⁾

¹⁾Grad. Sch. of Agricul.Tokyo Univ of Agricul., ²⁾Central Pharma. Research Inst. Japan Tobacco Inc,

³⁾Tokyo AD Dept. CLEA Japan Inc

[Background]The SDT fatty rats, introduced as a new model of obese type 2 diabetes had shown several diabetic complications from a young age. However, details of the pathophysiological features of the aged SDT fatty rats have not been reported. [Aim]This study is focused on the pathophysiological progression of diabetes on the kidney of the SDT fatty rats.[Materials and Methods]Female SDT fatty rats were kept in animal facilities of CLEA Japan Inc. with basal diet. Necropsy was performed at the ages 17, 59 and 63-weeks and kidney samples were immediately fixed and histopathological examination and analysis of gene expression were performed. [Results]The kidney of SDT fatty rats at 59 and 63-weeks showed increased mesangial matrix and atrophy of the glomeruli, severe fibrosis and inflammatory cell infiltration in the tubulointerstitium and severe urinary cast in the renal tubule. These changes were found negative or very slight at 17-weeks. Armani-Ebstein changes which are accumulation of glucose in the epithelial cells in distal tubules were observed in all observation periods. The gene expression of TGF β , TNF α , IL-1 β and MCP1 increased at 59-weeks compared to 17-weeks, but decreased in 63-weeks. [Conclusion]Renal lesions showed progression with aging but there was no significant difference between 59 and 63-weeks. The lowered gene expression was considered to be related to severe kidney lesions in 63-weeks.

P-44 *

The effects of SLE therapeutic medication and histopathological examination on LPS-induced early nephritis develop model in NZB/W F1 mice

○ Tomomi Kanehara, Yasuhiro Ohshiba, Jun Imai, Shiori Murase, Tadashi Itoh, Hitoshi Kimura

Nihon Bioresearch Inc.

[Background] NZB/W F1 mice are useful to study SLE because they develop lupus nephritis (LN). However the problem is the time to develop LN (6 months after the birth). Recently, LPS administration to make mice develop LN early has been reported, but the pathological evaluation of organs and the effects of SLE remedy are poorly reported.[Aim]We evaluate the histopathology of NZB/W F1 mice by administering LPS, and the effect of Cyclosporine (Cyc), Betamethasone (BM). [Materials and Methods] LPS were injected intraperitoneally on NZB/W F1 mice twice a week and saline (control), Cyc or BM were administrated orally every day for 5 weeks and necropsied. The kidneys were stained with PAS and Masson trichrome stain, and the spleens were immunostained with B220 and CD3 antibodies. The histopathology and therapeutic analysis were done and compared with the untreated group (no LPS, Cyc, BM or saline). [Results] BUN, blood creatinine, and urine protein/creatinine ratio increased more in the control group than the untreated group. The Cyc and BM group had lower values of them compared to the control group. The LPS injected groups were diagnosed sclerosing glomerulonephritis, had enlarged spleens, and their white pulp region was increased. [Conclusion]NZB/W F1 mice developed sclerosing glomerulonephritis in early age by administration of LPS. Cyc and BM showed positive effect. The cause of sclerosing glomerulonephritis is suggested to be activation of the immune system from the result.

P-45**Effect of NaCl supplementation on renal complications in SDT fatty rat**

○ Katsuhiko Miyajima^{1,2)}, Takeshi Ohta³⁾, Masami Shinohara⁴⁾, Hinako Iwasaki¹⁾, Soon Hui Teoh²⁾, Kinuko Uno²⁾, Noriko Kemuriyama¹⁾, Dai Nakae^{1,2)}

¹⁾Tokyo Univ. Agricul., ²⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. TUA., ³⁾Japan Tobacco Inc., ⁴⁾CLEA Japan Inc.

Background: Spontaneously Diabetic Torii (SDT) fatty rats rapidly develop obesity, type 2 diabetes and hypertension with aging, but the development of kidney disorders need about 40 weeks. This study aimed to examine effects of NaCl supplementation on advanced renal complications in SDT fatty rats. Materials and Methods: Male SDT fatty rats were given 0, 0.3 and 0.5% NaCl solution as the drinking water from 7-week of age for 11 weeks, and necropsied, when blood samples were collected for plasma biochemistry, and the kidney was collected for histopathological examination. Results: Plasma BUN and creatinine levels were slightly increased in 0.5% NaCl group. Histopathologically, interstitial inflammation and fibrosis and urinary cast were slightly observed in control group, and these findings were prominent in NaCl supplementation in a dose-dependent manner. Slight to moderate sclerosis, atrophy and adhesion to Bowman's capsule were observed in the glomeruli of NaCl groups. Sirius Red-positive area, and numbers of ED1- and α SMA-positive cells in the interstitium or the glomeruli were increased in NaCl groups in a dose-dependent fashion. Conclusion: It is indicated that NaCl supplementation enhances advanced kidney disorders in male SDT fatty rats. Therefore, SDT fatty rat represents a robust model to evaluate drugs targeting diabetic nephropathy.

P-46**Development of canine model with large cartilage defects on femoral condyles**

○ M. Tasaki¹⁾, T. Hirai¹⁾, M. Akiyama¹⁾, Y. Itou¹⁾, K. Nakazawa¹⁾, Y. Harada²⁾, K. Nagano³⁾, H. Hagiwara¹⁾

¹⁾Terumo Corp., ²⁾Div. of Vet. Surg., Nippon Veterinary and Life Science Univ.,

³⁾Nagano Toxicologic-Pathology Consulting

[Aim] The purpose of this study was to establish a cartilage defect animal model with adequate area to evaluate medical treatment or devices. We developed a canine model with large cartilage defects on the femoral condyles. [Material and Methods] Eight-month-old male beagle dogs were used in this study. The cartilage lesions were produced using a metal punch and bone curette on the medial and lateral condyles of the femur. Gross and histopathological examinations were performed at 4 and 8 weeks after surgery, respectively. To assess the histological response to the medical treatments, small titanium implants were applied on the surface of the defects. [Results] Cartilage defects were successfully produced over the weight-bearing sites of the medial and lateral femoral condyles. Histopathological observation revealed disappearance of the calcified cartilage in a time-dependent manner in the cartilage defect group. Fibrosis, vasodilation, neovascularization, and cysts were also observed in this group. In the implantation group, repair by fibrous or cartilage-like tissue was observed lateral to the implant heads. [Discussion] The model exhibited morphological features similar to human osteoarthritis of the knee with respect to progression of the cartilage lesions. Additionally, implantation on the surface of the cartilage lesion has the potential to induce the tissue repair. In summary, this canine model is a useful tool for evaluation of the efficacy of medical treatments.

P-47 *

Histopathology of inflammatory response through ERs in allergic dermatitis mice model

○ Aya Koyama, Risako Tajiki, Yuko Watanabe, Tomoki Fukuyama, Yoshitaka Katoh, Emi Makino, Tsuyoshi Ito, Naofumi Takahashi, Atsushi Shiga, Yoshimasa Okazaki, Takanori Harada

The Institute of Environmental Toxicology

[Background and Aim] It has been reported that estrogen influences the immune system, and immune disturbance by environmental estrogen is a worldwide problem. However, direct interaction between estrogen receptors (ERs) and inflammatory response are still remained uncertain. We investigated whether ERs are possibly involved in pro-inflammatory reaction of cutaneous allergy using allergic dermatitis model, and histopathological evaluation of the ear auricle sample was mainly presented here.

[Materials and Methods] Allergic dermatitis was produced in male BALB/c mice by sensitization of Toluene-2,4-diisocyanate (TDI). The sensitized animals were exposed to Methoxychlor (MXC) or β -Estradiol (E2) for 3 days and challenged with TDI onto ear auricle. The ear swelling response was measured 24 h after challenge, and ear auricle was sampled for histopathological evaluation and cytokine measurement.

[Results] In histopathological evaluation, inflammatory responses induced by TDI, in particular neutrophil influx around hair follicle, were observed in all groups. However, the histologic degree of inflammation was higher in the MXC- or E2-treated group than that of vehicle control group. Significant enhancement of ear swelling response and cytokine production in MXC- or E2-treated group was correspondingly observed. More detail results including immunohistochemical staining will be presented in this conference.

P-48

The world's leading rat resource center: the National BioResource Project-Rat

○ Miyuu Tanaka, Arata Honda, Birger Voigt, Yuki Neoda, Kazumi Hagiwara, Zong-hu Cui, Ryoma Tachibana, Tomomi Nagao, Satoshi Nakanishi, Ken-ichi Yamasaki, Takashi Kuramoto, Masahide Asano

Kyoto University

[Background] The National BioResource Project - Rat in Japan (NBRP-Rat) is one part of the NBRP in Japan for more than 20 species including animals, plants, microbes, tissues and DNAs, and conducted the collection, preservation and supply of rat resources. It is founded by the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology and started in 2002. NBRP-Rat is now operating in its 16th year, and contributes as the world's largest and leading rat resource center to various fields of biomedical research. [The 4th term of NBRP-Rat] From 2017, the 4th term of NBRP-Rat starts with collaboration of Kyoto University (central facility), RIKEN BRC and Osaka University (cooperative facilities). By August 2017, 850 rat strains (various inbred, spontaneous mutant, congenic, transgenic, and genetically modified (GM) strains) are deposited, and 730 strains are available for biological research. We provide a unique database and this allows scientists to select strains suitable for their research. [Prospects] Recent developments of the generation of GM rats are boosting the utility of the rat as biological resource. Collection of unique rat strains, improvement of strain database, and development of rat reproduction technologies in the NBRP-Rat can promote further utilization of the rat resources as a research tool in biomedical sciences including toxicological pathology.

P-49**A 13-week repeated oral dose toxicity study of 2-furanmethanethiol in F344 rats.**

○ Liang Shi^{1,3)}, Yuji Ishii¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Takuma Tsuchiya¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Akiyoshi Nishikawa²⁾, Takashi Umemura¹⁾

¹⁾Div.Pathol., NIHS, ²⁾Biol.Safety Res.Ctr.,NIHS, ³⁾Lab.Exp.Pathol., Univ.Tsukuba

<Aim> 2-Furanmethanethiol (2FM) has been used as flavoring agent. 2FM is also produced during cooking and yeast fermentation. However, its oral toxicity remains unclear. We investigated a rat 13-week repeated oral dose toxicity of 2FM for its safety assessment. <Materials and methods> Six-week old male and female F344 rats were given 2FM at doses of 0, 6.25, 10 and 40 mg/kg body weight/day by gavage for 13 weeks. Typical parameters used in a subchronic toxicity study were examined. <Results> No mortality were observed. The reddish tear, nasal bleeding and salivation were observed in all 2FM treated rats in the first week. However, these clinical signs were disappeared from the second week. Body weight gain was significantly reduced from the first week to the end of experiment at the highest dose in both sexes. The serum glucose was significantly increased in 40 mg/kg treated female. Necrosis and regeneration of olfactory epithelium, and inflammation cell infiltration were observed in 40 mg/kg treated male and female and 10 mg/kg treated male. These pathological finding were relatively easily induced in rodents, however, we could not exclude the possibility of toxicity related, since other changes such as body weight loss was also observed. <Conclusion> The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) of 2FM in the present study was concluded as 6.25 mg/kg weight/day in male and 10 mg/kg weight/day in female.

P-50 ***An immunohistochemical study to differentiate cardiomyocyte necrosis**

○ Yuichi Takai, Hitoshi Kandori, Takeshi Watanabe

Drug Safety Research and Evaluation, Research, Takeda Pharmaceutical Company Limited

Artificial eosinophilic myocardium (MC) is often encountered in the heart and might result in misinterpretation. We examined whether immunohistochemistry (IHC) could be used to distinguish between artifact (AF) or necrosis (NS) by using 2 categories of antibody. Myoglobin (Myo), cardiac troponin T (cTnT), and fatty acid binding protein3 (FABP3) were used to detect leakage due to NS; and complement components 3 and 9 (C3 and C9) were used to detect deposition in necrotic tissue. Formalin-fixed paraffin-embedded heart tissues from vehicle or cardiotoxic agent treated animals (rat: isoproterenol, dog: minoxidil, monkey: metaproterenol) were used for IHC. Positive reactions of Myo, cTnT, and FABP3 present in the normal MC were not observed in the necrotic MC of all species tested. Additionally, positive reactions of Myo and cTnT in monkeys, and FABP3 in rats and monkeys, were also not observed in the AF-related MC. No positive reactions of C3 and/or C9 (monkey only) were noted in the normal MC of all species tested or in the AF-related MC in rats and monkeys. In dogs, a positive reaction of C3 was noted in both the AF-related and necrotic MC. In rats, a positive reaction of C3 was noted only in a partial area of the necrotic tissue. Positive reactions of C3 and C9 were specifically detected in the necrotic MC in monkeys. In conclusion, IHC for Myo and cTnT in rats, Myo, cTnT, and FABP3 in dogs, and C3 and C9 in monkeys might be useful markers to differentiate cardiomyocyte NS.

P-51

Quantitative evaluation of organelles using image analysis software ImageJ — Stomach surface mucous cell alteration of PGE2 treated mouse —

○ Kanata Ibi, Tohru Kihara, Yumi Kangawa, Toshiyuki Shibanushi, Hiroyuki Takabe,
Kazuto Hashimoto

Kaken Pharmaceutical Co.,Ltd.

[Background and purpose]The progress of the image analytic technology is remarkable, and the quantitative evaluation of pathological findings is expected. However, the quantitative evaluation methods for organelles have hardly been established. We focused on stomach surface mucous cells of the mouse with repeated dose of PGE2 and investigated the quantitative evaluation for organelles with ImageJ.

[Materials and methods] BALB/cAnNCrCrJ female mice were treated with PGE2(0.018 mg/dose/2day,10 times) and the stomachs were collected 2 days from last dose(Control, PGE2 group:10 mice).We investigated following 4 methods.

(1)Histopathological examination

(2)Transmission electron microscopy examination

(3)Image analysis of the double stained slides with PAS and Cytokeratin

(4)Image analysis of the double stained slides with LAMP-2 and Cytokeratin

For image analysis, over 100 surface mucous cells were selected per mouse and nuclear area, cell area, N/C, the ratio of secretary granule and lysosome to cytoplasm (S/C, L/C) were measured by ImageJ.

[Results] The following changes were observed in PGE2 group.

(1)Hypertrophy of the surface mucous cell

(2)Increase of secretary granule and lysosome in surface mucous cell

(3), (4)Significant increase of cell area, S/C, and L/C, and decrease of N/C.

[Discussion and conclusion]We confirmed the results of qualitative evaluation quantitatively by ImageJ. This suggests that this method is useful for quantitative evaluation for some organelles.

P-52

Adjuvant effects of transcutaneously exposed cholera toxin and its B subunit in skin sensitization model

○ Young-Man Cho, Yasuko Mizuta, Jun-ichi Akagi, Takeshi Toyoda, Kumiko Ogawa

Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

[Background] We investigated immunological and histopathological changes of mice transcutaneously sensitized with ovalbumin (OVA) as antigen and cholera toxin (CT) or its B subunit (CTB) as positive adjuvant candidate. [Methods] In experiment 1, 0.1, 1 and 10 μ g CT with 2 μ g OVA was applied in skin patches to the flanks of BALB/c female mice 3 days a week for 4 weeks, and immune responses were evoked with OVA given intraperitoneally. Rectal temperatures, scores on anaphylactic responses, plasma histamine levels and histopathology were evaluated. In experiment 2, 2 μ g OVA with 1 μ g CT or 0.7 μ g CTB was applied mice as same manner in experiment 1. [Results] In the OVA + CT groups and the OVA + CTB group, increased IgG1 and IgE levels after sensitization and decreased rectal temperature, with augmented anaphylaxis scores and plasma histamine levels after evocation were noted as compared with vehicle control. In addition, IgG1 and IgE levels in the OVA + CT groups, were significantly increased as compared with OVA group. Ki67-positive germinal center in the regional axillary lymph node was observed more frequently in all OVA-treated groups, except OVA + CTB group than in the vehicle group. [Conclusion] Transcutaneously exposed CT with antigen showed sufficient adjuvant effect in skin sensitization model and CT is promising positive control material. Further studies about optimum dose on sensitization with CTB should be analyzed.

P-53

Contribution of toxicologic pathologists to choosing appropriate histopathological findings as endpoints for benchmark dose (BMD) approach in toxicological evaluation of chemicals

○ Midori Yoshida¹⁾, Takashi Umemura²⁾

¹⁾Food Safety Commission of Japan, Cabinet Office, ²⁾Yamazaki Gakuen University

[Background] BMD approach, a fitting mathematical model to dose response, has been accepted as an alternative to NOAEL based method at toxicological evaluation of chemicals. In the approach, BMD lower (BMDL), the lower limit of a confidence interval (typically 95%) on the maximum likelihood estimate of the dose associated with a specified benchmark response level, is calculated as preferred POD. [Aim and Methods] We propose consideration points to choose histopathological endpoints appropriately for BMD approach and contribution of toxicologic pathologists to the approach in the poster. [Results and Discussions] BMD approaches were recently applied in the assessments of acrylamide by FSCJ, 3MCPD by EFSA, and a veterinary drug by JECFA. Toxicologic pathologists should recognize current situation that health guidance values have been established based on histopathological findings applying BMD approach at national or international toxicological evaluation. To choose sensitive and appropriate endpoints for the evaluation, comprehensive description and clear explanation indicating MoA or pathogenesis of the histopathological findings are useful for non-toxicologic pathology background assessors. Participation of toxicologic pathologist to the evaluation will contribute to precise interpretation of pathology data. [Conclusion] Toxicologic pathologists could contribute to choosing histopathological endpoints appropriately for BMD approach at toxicological evaluation of chemicals.

P-54

An approach for assessing mild irritants in the Bovine Corneal Opacity and Permeability Test (BCOP test) includes a histopathological examination

○ Kouta Itoh, Masatoshi Furukawa, Chihiro Endoh, Masao Matsuura

SAFETY RESEARCH INSTITUTE FORCHEMICAL COMPOUNDS CO., LTD

Introduction The bovine corneal opacity and permeability (BCOP) test was developed as an alternative to the in vivo Draize eye irritation test in rabbits, it was adopted by the OECD Test Guideline (TG437) in 2009, and updated in 2013. However, in alternative eye irritation tests, there is no test system capable of evaluating UN GHS Categories 2A and 2B (mild irritants), which is a major issue to be solved. We have been considering the possibility on the evaluation of mild irritants in the BCOP test with a combination of histopathological examination for determining potential for early recovery. **Material and Method** The BCOP test conducted in accordance with the OECD TG437 using test substances of 85, the corneas were stained with hematoxylin and eosin, according to the OECD Guidance Document No. 160. In pathological examination, we defined four stages of damage to the epithelium and concluded that there is potential for early recovery when damage does not extend throughout the entire basal cell layer and there no damage to the stroma. **Results and Discussion** Predictive capacity of the BCOP test with histopathological examination exhibits an accuracy of 81%, a false negative rate of 19%, and a false positive rate of 18%, which demonstrates the ability of this method to predict test chemicals to be UN GHS Category 2B and No Category, that these results demonstrate the ability of successfully distinguish Category 1 and 2A chemicals from No Category and Category 2B chemicals.

P-55 *

Histopathological changes of autonomic nerves induced by Paclitaxel in rats

○ Kenji Nakamura, Yu Yokoo, Moutou Ou, Koji Shimouchi, Atsuko Murai, Kengo Namiki, Masanori Kuribayashi, Hiroyuki Yanagi

Safety Research Laboratories, Discovery and Research, ONO Pharmaceutical Co., Ltd.

[Aim] Paclitaxel (PTX), an antitumor drug, induces peripheral neuropathy (PN) in patients. Histopathological changes of sensory nerves have been reported in rats treated with PTX, but those of autonomic nerves have not been reported yet. In this study, we examined the histopathological changes of autonomic nerves by using previously-reported PTX-induced PN model. [Material and methods] Histopathological examinations of sympathetic trunk, superior cervical ganglion (SCG) and stellate ganglion were conducted after each single administration of PTX at the doses of 0, 2.5 and 5 mg/kg to 6-week-old male SD rats on the days of 1, 2, 3, 8 and 9. Furthermore, the details of the histopathological changes of SCG were examined by Kluver-Barrera (KB) staining and IHC staining using antibodies for GFAP, S-100 and Cleaved caspase-3. [Results] Peripheral chromatolysis was observed in ganglion cells of SCG and stellate ganglion. This change was confirmed by KB staining. There was no change in sympathetic trunk. There were no obvious differences in the expressions and distributions of GFAP, S-100 and Cleaved caspase-3 in SCG between control and PTX-dosing group. [Conclusion] Peripheral chromatolysis was observed in ganglion cells of autonomic nerve in rats treated with PTX. Its pathological significance will be discussed from the results of additional examinations about its ultrastructural change and the neuropathy marker.

P-56 *

Cellular identification of MT⁺ cells increased in the hippocampal dentate gyrus and cerebellum by developmental exposure to T-2 toxin in mice

○ Kota Nakajima^{1,2)}, Yuko Ito^{1,2)}, Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾

¹⁾LVP, Tokyo Univ. Agricul. Technol., ²⁾United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.

Background and aim. We previously reported that developmental exposure to T-2 toxin (T2) caused transient disruption targeting type 1 neural stem cells and type 2 progenitor cells and involvement of oxidative stress in the hippocampal neurogenesis on weaning in mice. The present study examined expression of metallothionein (MT) and cellular markers in the hippocampal dentate gyrus (DG) and cerebellum in these animals. **Materials and methods.** T2 at 0, 1, 3, 9 ppm in diet were given to maternal mice from gestational day 6 to postnatal day (PND) 21 after delivery. The hippocampal DG of offspring was examined with immunohistochemistry and real-time RT-PCR analysis on PNDs 21 and 77. **Results.** Immunohistochemically, increase of MT⁺ cells was noted in the DG and cerebellum at 9 ppm on PND 21. In the cerebellum, increase of GFAP⁺ cells was noted. Although there were no co-expression with TBR2, DCX and NeuN, double immunostaining between MT and neuronal stage markers showed co-expression of MT with GFAP and SOX2 in the DG, and with GFAP in the cerebellum. Expression level of *Mt2*, *Il1 α* and *Il1r1* was increased in the DG. **Discussion.** Developmental T2 exposure to mice resulted in induction of MT in the DG and cerebellum. MT expression in type 1 and type 2a cells in the DG suggested neuroprotective action on T2-induced disruptive neurogenesis, in response to oxidative stress and inflammatory mediator. It was thought that the protective function through MT is also enhanced in the cerebellum.

P-57

Neuroprotection on the disruptive hippocampal neurogenesis induced by developmental hypothyroidism in rats

○ Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Kota Nakajima^{1,2)}, Yuko Ito^{1,2)}, Mihoko Koyanagi³⁾, Shim-mo Hayashi³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾

¹⁾LVP, TUAT, ²⁾UGSVS, Gifu Univ., ³⁾San-Ei Gen F.F.I., Inc

Introduction. Developmental exposure to propylthiouracil (PTU) induces disruption of hippocampal neurogenesis, and induction of oxidative stress is suggested to be involved in this disruption. In the present study, PTU was developmentally administered to rats together with antioxidants, i.e., alfa-glycosyl isoquercitrin (AGIQ) and alpha-lipoic acid (ALA), to evaluate whether antioxidant mitigates neurogenesis.

Materials and methods. Pregnant SD rats were exposed to PTU (in water at 12 ppm), PTU+AGIQ (in diet at 0.5%) and PTU+ALA (in diet at 0.2%) from gestational day 6 to postnatal day 21 (weaning day). On weaning, distribution of granule cell lineage (GCL) in the dentate gyrus and interneurons in the dentate hilus were immunohistochemically analyzed.

Results. In PTU group, GFAP⁺ cells, TBR2⁺ cells, DCX⁺ cells and NeuN⁺ cells of the GCL and PVALB⁺ interneurons were decreased vs. untreated control group. In PTU+AGIQ group, GFAP⁺ cells were decreased and SOX2⁺ cells, TBR2⁺ cells and NeuN⁺ cells were increased vs. PTU group, but no differences were observed in the number of interneurons. In PTU+ALA group, although any GCL cells were unaltered the number from PTU group, PVALB⁺ interneurons were increased vs. PTU group.

Conclusion. AGIQ treatment improved GCL populations, and ALA treatment increased GABAergic interneurons, suggestive of neuroprotective effects of these antioxidants on disruptive hippocampal neurogenesis induced by developmental hypothyroidism in rats.

P-58 *

Histological features of the eye in the juvenile white rabbit

○ Yoshinori Yamagiwa, Shingo Nemoto, Hideyuki Sakaki, Masaaki Kurata

Research and Development Division, Senju Pharmaceutical, Co., Ltd.

[Introduction] Rabbits are frequently used in ocular toxicity studies; however, information about its ocular histological development is limited. To provide the information, we investigated postnatal histological development of the eyes in the juvenile rabbits. [Methods] Twenty-one neonates/infants of Japanese white rabbits Kbl:JW were euthanized per 1-2 animals at postnatal days (PND) 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 18, 21, 24, 28, 35, 42. Following euthanasia, their eyes and eyelids were examined histologically. [Results] At PND 10-12, their eyes were opened. In the eyelid, the meibomian gland acini increased with maturity. Thickening of the corneal stroma, increases in the corneal epithelial layer and in the conjunctival goblet cells were occurred after eye-opening. The cornea and conjunctiva were matured on PND 28. The lens enlarged by the proliferation of fibers with aging. The remaining hyaloid vessels and pupillary membrane disappeared on PND 14 and 18, respectively. Differentiation and decreases of the INL/ONL cells, and thickening of the optic nerve were occurred on the postnatal period. The retina and optic nerve were matured on PND 35. [Conclusion] In this study, we confirmed postnatal histological features of the eyes in the juvenile white rabbit. This result provides basic knowledge for histological examination of the ocular tissues of juvenile rabbits and rationale for appropriate study design using juvenile animals, especially for ophthalmic drug evaluation.

P-59

Classification of Lung Cancer Types from Cytological Images Using Deep Convolutional Neural Networks

○ Tetsuya Tsukamoto¹⁾, Yuka Kiriya^{1,2)}, Atsushi Teramoto³⁾

¹⁾Dept Diag Path, Fujita Health Univ Sch Med, ²⁾Dept Diag Path, Narita Memorial Hosp,

³⁾Fac Radiol Tech, Sch Health Sci, Fujita Health Univ

Lung cancer is a leading cause of death worldwide. Currently, in differential diagnosis of lung cancer, accurate classification of cancer types (adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, and small cell carcinoma) is required. However, improving the accuracy and stability of diagnosis is challenging. In this study, we developed an automated classification scheme for lung cancers presented in microscopic images using a deep convolutional neural network (DCNN), which is a major deep learning technique. The DCNN used for classification consists of three convolutional layers, three pooling layers, and two fully connected layers. In evaluation experiments conducted, the DCNN was trained using our original database with a graphics processing unit. Microscopic images were first cropped and resampled to obtain images with resolution of 256x256 pixels and, to prevent overfitting, collected images were augmented via rotation, flipping, and filtering. The probabilities of three types of cancers were estimated using the developed scheme and its classification accuracy was evaluated using threefold cross validation. In the results obtained, approximately 71% of the images were classified correctly, which is on par with the accuracy of cytotechnologists and pathologists. Thus, the developed scheme is useful for classification of lung cancers from microscopic images.

P-60 *

Cardiac lesions in cynomolgus monkey with food restriction

○ Saori Matsuo¹⁾, Nozomi Fujisawa¹⁾, Tomochika Matsushita¹⁾, Shuji Hayashi¹⁾, Junko Shinozuka¹⁾, Akio Miyoshi¹⁾, Masami Suzuki^{1,2)}, Atsuhiko Kato¹⁾

¹⁾Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., ²⁾Forerunner Pharma Research Co., Ltd

[Background] In toxicity studies, test article treatment occasionally causes reduction of food consumption. In such cases, it is not easy to distinguish primary changes in each test item from secondary changes related to reduced food consumption caused by test article treatment. We have previously reported the results of a 2-week food restriction study in cynomolgus monkey in the 44th Annual Meeting of JSOT. In this presentation, we will report features of cardiac lesions in the food restriction study. [Materials and Methods] Male cynomolgus monkeys were assigned to the control group (n=2) or food-restricted (FR) group (n=3, 25% food supply compared to the control group for two weeks). The heart specimens were prepared according to our SOP and examined histopathologically. To clarify the incidence and localization of the lesions, Non-FR males were added, and additional heart specimens were prepared and examined. [Results] All animals in the FR group showed atrophy of adipocytes in the heart. Furthermore, granuloma composed of aggregation of mono- or multinuclear foamy macrophages was noted in adipose tissues surrounding the right coronary artery. No granuloma was observed in control or Non-FR animals at any site of the heart examined. [Conclusion] Although the pathogenesis of granuloma in FR animals was unclear, it was suggested that granuloma appeared commonly in the adipose tissue surrounding the right coronary artery and was related to atrophy of coronary fat.

P-61 ***Expression analysis of AKAP13 and ROCK inhibition assay in mouse DSS-induced colitis**

○ Y Kangawa^{1,2)}, T Yoshida²⁾, H Murayama^{1,2)}, K Ibi¹⁾, T Kihara¹⁾, K Kuzutani¹⁾, M Koyanagi³⁾, SM Hayashi³⁾, M Shibutani²⁾

¹⁾Kaken Pharmaceutical Co., Ltd., ²⁾Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agric. Technol., ³⁾San-Ei Gen F. F. I., Inc.

[Background and Aim] AKAP13 is a scaffold protein that acts upstream of ROCK. ROCK is involved in the migration of surrounding epithelial cells to cover the denuded area without proliferation, termed restitution. However the role of AKAP13 and ROCK in gastrointestinal is unknown. In this study, we determined the expression of AKAP13 in mice with DSS-induced colitis, and investigated whether inhibition of ROCK affects these mucosal responses. [Materials and Methods] BALB/c mice were challenged with 4% or 2% DSS in their drinking water for up to 8 or 16 days, respectively. During this period, mice received subcutaneous injections of fasudil hydrochloride hydrate (FH, 10mg/kg, twice per day), an inhibitor of phosphorylation of ROCK. [Results] In immunohistochemistry, AKAP13 was highly expressed in the mucosal epithelium prior to DSS-induced mucosal injury, and also expressed in ulcer-covering non-proliferative epithelium, which corresponded to restituted epithelial cells. Coadministration of FH increased serum amyloid A levels and histopathological scores for mucosal injury and decreased restituted score, as compared with the DSS group. [Conclusion] Coadministration of FH exacerbated DSS-induced colitis. Our findings suggested that AKAP13 is involved in the regulation of mucosal restitution via AKAP13/ROCK signaling in DSS-induced colitis in mice. Furthermore, it is suggested that AKAP13 and ROCK are involved in mucosal response at early injury and maintenance of homeostasis.

P-62**Historical Data for the Histopathology on the Kidneys in Juvenile Crl:CD(SD) rats**

○ Saki Inoue¹⁾, Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Yoshihiro Takei¹⁾, Jun Watanabe¹⁾, Haruko Koizumi¹⁾, Tetsuyo Kajimura¹⁾, Akihito Shimoi¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Hijiri Iwata²⁾

¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC.

<Purpose>When performing non-clinical safety studies using juvenile animals for evaluate the safety of pediatric medicines, it is necessary to understand normal tissues at each age. However, there is little literature available on tissue development in juvenile animals. In this study, postnatal development of the kidneys was examined at different days of age. <Method>The kidneys 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 processed and fixed in formalin. From these, hematoxylin and eosin (HE) stained specimens were prepared for histological observations. <Results>At 4 to 7 days of age, the cortex consists of a subcapsular basophilic layer, cortical labyrinth and medullary rays. The medullary rays showed basophilia. The medulla consists mainly of collecting ducts. The density of renal tubules was low at the outer side, and loose connective tissue was abundantly observed in the interstitium. At 14 to 21 days of age, renal tubules and collecting ducts present high density in medulla. Interstitial connective tissue decreased. At 28 days of age, the medullary lays matured, the medulla was clearly divided into the inner and outer medulla, the inner and outer stripe, and the whole kidney was close to the mature. As described above, useful historical data for toxicity studies in juvenile animals were obtained. Further examinations on other tissue are planned in the future.

P-63 *

Historical Data for the Histopathology on the Skin in Juvenile CrI:CD(SD) Rats

○ Jun Watanabe¹⁾, Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Yoshihiro Takei¹⁾, Saki Inoue¹⁾, Haruko Koizumi¹⁾, Tetsuyo Kajimura¹⁾, Akihito Shimoi¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Hijiri Iwata²⁾

¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC.

[Purpose] We have previously reported on normal tissues of the kidneys, eyes and femur of juvenile rats. However, literature on juvenile animals is still insufficient and further investigation is necessary. The skin has a barrier function against stimulation from the outside, but the skin of children differs from that of adults in that it is immature. In this study, histopathological examinations were conducted on the skin of juvenile rats.

[Method] The abdominal skin from 4 CrI:CD(SD) rats at 4, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days of age were routinely processed and fixed in formalin. From these, hematoxylin and eosin (HE) stained specimens were prepared for histological observations.

[Results] Epidermis: Until 7 days of age, a thick epidermis compared to adults, and it was possible to observe the 4 stratum. At 21 days of age almost the same epidermis as adults was observed. The stratum corneum was thicker than the adult until 14 days of age. Hair: At 4 and 7 days of age, numerous hair follicles were present in the dermis, the hair papilla was completely covered with hair matrix cells, and immature hair shaft was also slightly observed. After 14 days of age, a large number of hair shafts protruded on the skin surface. Sebaceous glands: Immature sebaceous glands were observed slightly at 4 days of age. At 14 days of age, the sebaceous gland cells became large, images adjacent to the hair forming 3 to 10 clusters were observed, and at 21 days of age, the images were almost mature.

P-64 *

Spontaneous lesions spectrum in male and female F344 *gpt* delta rats in two years breeding

○ Kohei Matsushita¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Yuji Ishii¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Ken Kuroda¹⁾, Takehiko Nohmi²⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura^{1,3)}

¹⁾Div. Pathol., NIHS., ²⁾Div. Genet. Mutat., NIHS., ³⁾Fac. Anim. Sci. Tech., Yamazaki Gakuen Univ.

[Background] The *gpt* delta rats, reporter gene-transgenic rats, were developed for *in vivo* mutation assay. The animals are applied to comprehensive studies including genotoxicity, general toxicity and carcinogenicity studies despite lack of their background data. The aim of the present study is to investigate spectra of spontaneous lesions observed in aged *gpt* delta rats. [Methods] Six-week-old male and female F344 *gpt* delta and their wild-type of rats were bred for two years and histopathological analysis of all their organs were performed. [Results] Incidence of adrenal pheochromocytoma in male *gpt* delta rats was significantly higher than that in wild-type of rats (Wild type: 16/75, *gpt* delta: 30/75). There were no inter-genotype differences in incidences of adrenal medullary hyperplasia, and other pre- and neoplastic lesions in both sexes including large granular lymphocytic leukemia in spleen and leydig cell tumor in testes in the males, and adenoma in anterior lobe of pituitary and fibroadenoma in mammary glands in the females observed with higher incidences.[Discussion] In consideration of no differences in preneoplastic (male and female) and neoplastic (female) adrenal lesions of both genotypes, increased incidence of pheochromocytoma in male *gpt* delta rats was likely incidental due to a small number of animals examined in the present study. Along with further analysis of non-proliferative lesions, spectra of spontaneous lesions in the *gpt* delta rats will be discussed.

P-65 *

Histopathological features of female genitals in IS/Kyo rats up to 30 weeks of age — Relationship with a decline of the pregnancy and the implantation rate —

○ Hiromu Okano, Yuko Yamaguchi, Saori Igura, Isamu Suzuki, Tsubasa Saito, Toru Hoshiya

Pathology Department, BoZo Research Center Inc.

[Aim] IS/Kyo rats (ISR) are known to have congenital kyphoscoliosis in their lumbar and ventricular septal defects. In ISR, the pregnancy and the implantation rate declined definitely from 20 to 30 weeks of age (wk). These rates were lower than those of Wistar Hannover rats (RccHanTM:WIST) at 20 wk. We researched the ovaries and vaginal smears to clarify the relationship between the decline of these rates due to aging and the morphological changes in ovaries in ISR. [Methods] Vaginal smears at 10, 20 and 30 wk and ovaries at 20 and 30 wk were examined in ISR and WIST. [Results] Abnormal estrous cycle in ISR was observed in 1/36 at 10 wk, in 13/29 at 20 wk and in 12/15 at 30 wk. On the other hand, in WIST, it was observed only in 1/6 at 10 wk and was not observed at 20 or 30 wk. In histopathology, the number of corpora lutea decreased definitely, and the appearance rate of interstitial glands increased by aging and compared to that of WIST at the same wk. Distinctively, the atretic follicles that shifted to interstitial glands and included the remnant of granulosa cells or eosinophilic liquid inside were increased at 30 wk. [Conclusion] From the results, it was considered that the enhancement of the disorder of estrous cycle, underdevelopment of follicles and the decrease of ovulation are the important factor for the declines of the pregnancy and the implantation rate. At present, we are researching other female genitals and will report including these results.

P-66 *

Background data of atypical residual bodies in the testes of Crl:CD1(ICR) mice

○ Chisato Hayakawa, Masayuki Kimura, Yusuke Kuroda, Seigo Hayashi, Kazuya Takeuchi, Satoshi Furukawa

Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, Ltd.

[Aim] Atypical residual bodies are a frequent background finding in mice but can also be a treatment-related finding in toxicity studies, and the necessity of differentiation between both lesions should be discussed. In this study, we collected histopathologic background data of atypical residual bodies in mice. [Materials and Method] Seminiferous tubules in testes from ICR mice at 5, 6, 8, 10 and 19 weeks for each 15 male were histologically classified in stages of I-VI, VII-VIII and IX-XII and the frequency of atypical residual bodies examined in each stage. [Results and Discussion] The frequency in the number of animal with atypical residual bodies was 11/15 at 5 weeks, 5/15 at 6 weeks, 5/15 at 8 weeks, 1/14 at 10 weeks (1 for outlier) and 3/15 at 19 weeks. The average number of atypical residual bodies (mean \pm SD) per animal was 7.2 ± 5.2 at 5 weeks, 6.0 ± 4.6 at 6 weeks, 7.4 ± 4.4 at 8 weeks, 6 at 10 weeks and 17.3 ± 8.1 at 19 weeks. The atypical residual bodies were mostly observed in the stages of IX-XII. Atypical residual bodies appeared both in the luminal side and in the epithelium of the seminiferous tubule, and the appearance frequency was evident in the luminal side at 5 to 6 weeks in comparison with 8 weeks or above. The cause of the age difference in the appearance frequency of atypical residual bodies was unknown, but it was considered that the phagocytic activity by Sertoli cells could be related to the occurrence of this lesion.

P-67

Histological development of Leydig cells in microminipigs

○ Akihisa Kangawa, Masayoshi Otake, Satoko Enya, Masatoshi Shibata

Shizuoka Prefectural Research Institute of Animal Industry, Swine and Poultry Research Center

[Background] Microminipigs have been used in various experiments and researches including regulatory toxicological studies. Sexual maturity age of male microminipigs is known to be 4.5 months of age according to the development of spermatogenesis and accessory glands. However, the development of Leydig cells has not been investigated. [Aim] To clarify the histological development of Leydig cells in microminipigs. [Materials and Methods] Testes of 28 microminipigs from 0 to 12 months of age were used for histological examinations. Sections were stained with HE, PAS, and Schmorl method, and were also stained immunohistochemically with antibodies against steroidogenic enzymes. In addition, histomorphometry was performed. [Results] Leydig cells at 0 day of age appeared to be similar all over the testis. After 1.5 months of age, two types of Leydig cells were recognized: the large cells with abundant eosinophilic cytoplasm, and the small cells with scant cytoplasm, both positive for P450_{scc} and aromatase. Various sizes of eosinophilic granules within the large cells first appeared at 4.5 months of age. The area occupied by Leydig cells in the transverse sections of the testis was approximately 20% at 1.5 and 3 months of age, and then increased to approximately 35% at 4.5 months of age and thereafter. [Conclusion] It was suggested that Leydig cells in microminipigs matured at 4.5 months of age, which supported the previous report describing the sexual maturity of male microminipigs.

P-68 *

Classification of spermatogenesis cycle for evaluation of testicular toxicity in Göttingen Minipigs

○ Naoaki Yamada, Yumi Wako, Hiroko Kokoshima, Takuya Doi, Takeshi Kanno, Minoru Tsuchitani

LSI Medience Corporation, Nonclinical Research Center, Pathology Department

The spermatogenesis cycle of Göttingen MinipigsTM(GMPs) had been classified considering the relationship between Sertoli cells and spermatids (Jorgensen et al., 1998). Thus, we classified the spermatogenesis cycle of GMPs referring to that of dogs and evaluated testicular toxicity of doxorubicin (DOX) to evaluate the validity of the method.

[Materials and methods] Six GMPs from 9 to 10 months of age were administered 0.5 mg/kg of DOX intravenously on Day 1 and 8. Animals were necropsied on Day 15, 43 and 64 (2 animals each). The testes were fixed in Bouin's solution. HE- and PAS-stained specimens were prepared by the standard method and observed microscopically.

[Results] The spermatogenesis cycle of GMPs could be classified into VIII stages similar to that of dogs. Multiple stages were present in a seminiferous tubule. On Day 15, spermatocytes were decreased or depleted at all stages. On Day 43, spermatogonia, spermatocytes, and spermatids were sporadically observed without elongated spermatids. Many Sertoli tubules were observed. On Day 64, mostly seminiferous tubules were Sertoli tubules, but a few of them recovered to normal. The results of diachronic changes showed that DOX mainly affected the spermatogonia.

[Discussion] The testicular toxicity of DOX could be evaluated by the VIII stage classification of the spermatogenesis cycle in GMPs. It was judged that the spermatogenesis cycle based on that of dogs is useful to compare testicular toxicity with other species.

P-69

Granulomatous meningitis in a beagle dog showing neurological signs by compound administration

○ Hikaru Mitori¹⁾, Naoto Horai²⁾, Satoru Kajikawa¹⁾, Mihoko Ono¹⁾

¹⁾ Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.,

²⁾ Drug Safety Research Labs., Shin Nippon Biomedical Laboratories Ltd.

[Aim] Neurological signs such as stereotypy and writhing were observed in a dog treated with a compound over 30 mg/kg, but not in the other dog in the preliminary telemetry study. Therefore, further investigations including MRI and histopathological examination were conducted to examine underlying diseases. [Materials and Methods] A male beagle dog (35 months old) showing neurological signs was subjected to MRI examination of the brain, body weight, ophthalmology, hematology and blood chemistry. After euthanization, gross pathology and histopathologic examination were conducted. Immunostaining (Iba-1) was also performed in the brain. [Results] In MRI examination, a high signal area was seen in the right frontal lobe of the cerebrum in the T1 and T2 weighted images. In histopathological examination, dilation of the sulcus was observed consistent with the lesion of MRI examination. In addition, multifocal meningitis and perivascular infiltration of inflammatory cells in white matter with Iba-1 positive epithelioid cells were observed in the cerebrum, cerebellum and pons, and were diagnosed as granulomatous meningitis. There were no abnormalities in the other examinations. [Conclusion] Neurological signs were not recognized in the other toxic studies. It is suggested that those lesions have potential to aggravate drug-induced neurological signs.

P-70 *

A spontaneous intrathoracic carcinosarcoma in a Sprague-Dawley rat : a case report

○ Kei Kijima, Miki Suehiro, Shino Ito, Aisuke Nii

Central Research Lab., Seikagaku Co.

Carcinosarcomas are rare malignant tumors in animals and humans. They are composed of malignant epithelial and nonepithelial elements, and the latter sometimes includes bone and cartilage. We here report a case of spontaneous intrathoracic carcinosarcoma in a rat.

A 21-week-old male Sprague-Dawley rat, kept as a monitoring animal, was found dead. At necropsy, many white masses were found at the surfaces of the lung and heart. Histopathologically, these masses surrounded the thymus without a continuity with the organ, while they showed a continuity with the lung. In the masses, tumor cells formed nodules which were surrounded by poor stromata. There were two distinct types of tumor cells; one is characterized by epithelial (carcinomatous) nature and another is nonepithelial (sarcomatous) one. The carcinomatous cells had large nucleus and weak eosinophilic cytoplasm, and were positive for Cytokeratin AE1/AE3. The sarcomatous cells had small and enriched cytoplasm, and were positive for Vimentin. There were no tumor cells which were double positive for both antigens. In addition, these cells were negative for SMA, S-100, mesothelin and podoplanin. Moreover, cartilage and bone components were formed in many nodules.

Malignant mesothelioma, lung cancer, chondrosarcoma and osteosarcoma were included in the differential diagnosis list in this case. Since this case was characterized by an admixture of malignant epithelial and nonepithelial elements, it was diagnosed as carcinosarcoma.

P-71 *

A spontaneous tubular adenocarcinoma (well differentiated type) in the jejunum of young SD rat

○ Yoshiji Asaoka, Koichi Masuno, Kae Fujisawa, Yutaka Tonomura, Minako Tajiri, Yuki Kato, Emi Kashiwagi, Noriko Tsuchiya, Mikinori Torii, Motonobu Ueno

Research Laboratory for Development, Shionogi & Co, Ltd

Spontaneous tumors of the rat small intestine are very rare. We report an 8 week-old male Crl:CD(SD) rat had a spontaneous adenocarcinoma in the jejunum.

This animal was assigned the middle dose group in the 4-week repeated oral dosing toxicity study, and was euthanized after administrations for 16 days because of an abrupt decrease in the body weight. The necropsy findings were as follows; dilations of stomach, duodenum and jejunum, invagination of jejunum, dark red contents in the large intestine and the large and small nodules on the mucosa of invaginate jejunum. These changes were judged to be spontaneous because other animals including high dose group had no compound-related lesion in the gastrointestinal tract.

Histopathologically, the mucosal epithelia were proliferated with mostly tubular growth pattern in the mucosal region of nodules; and these proliferation lesions included goblet cells, Paneth granular cells and basal granule cells. Abundant intra- and extra-cellular mucus occupied less than approximately half of nodule area were also observed. In the submucosal region of nodules, the atypical cells were proliferated with irregular tubule-like structure and deficient basal membrane, and these lesions were accompanied with desmoplasia and inflammation. Based on the histopathological features, we diagnosed tubular adenocarcinoma (well differentiated type) in the jejunum. This spontaneous tumor in a young rat has not still been reported, and is extremely rare.

P-72

Cecal hamartoma in the dog with cecocolic intussusception

○ Mihoko Ono, Miwa Takahashi, Yutaka Nakahara, Kenjiro Tsubota, Masahiro Matsumoto

Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.

[Background] Cecocolic intussusception, which is defined as an invagination of the cecum into the lumen of the colon, is rare and information of the cause is scarce. Here, we report a case of cecocolic intussusception induced by hamartoma in the dog. [Materials and Methods] The animal was a 12-month-old female beagle dog in the treatment group in a 4-week toxicity study. This animal showed no abnormalities in clinical signs, body weight, food consumption, hematology, or blood chemistry other than treatment-related findings. At necropsy, whole cecum was inverted into the colon. The mucosa of the apex was dark red. The cecum was examined histopathologically. Immunohistochemistry was performed with alpha-SMA, neurofilament, CD34, and Ki-67. [Results] Ulcer was observed at the mucosa of the apex. In the serosa, a tissue, which was composed of disorganized nerve fibers, smooth muscle, various sized blood vessels, and scattered ganglion cells, was proliferated along the serosa without a capsule. This tissue partially invaded into the muscle. There was no change in the serosa of the ileum or colon. [Conclusion] The proliferative tissue was diagnosed as hamartoma. In clinic, hamartoma with features such as smooth muscle, non-myelinated nerve fibers, abnormal ganglion cells and hemangiomatous vessels is specifically diagnosed as neuromuscular and vascular hamartoma (NMVH). This is a rare case in the dog with cecocolic intussusception caused by hamartoma with the features of NMVH.

P-73

A case of acute hemorrhagic gastritis with necrotic arteritis in mini pig

○Hiro Eda, Hirotohi Akane, Atsuko Ichikawa, Shigekazu Shimizu, Hiroyuki Komatsu, Yasuki Akie
CMIC Pharma Science Co., Ltd.

[Aim] Necrotic vasculitis of domestic animals has been reported in cattle, horses and pigs. We report a case of acute hemorrhagic gastritis with necrotic arteritis in mini pig. [Materials and Methods] This case is an 11-month-old male crown mini pig which suffered a sudden death with a decrease in food intake from one week before. HE and PTAH staining specimens were prepared according to a conventional method, and histopathological examination was performed. [Result and discussion] Necropsy revealed marked hemorrhage and necrosis in the pylorus and body of the stomach, dark red color of the mesentery and the pyloric lymph node, bloody pericardial effusion, petechia in the heart and liver, liver enlargement and multiple infarction, and enlargement and dark red of the kidney. In histopathological examination, hemorrhagic necrosis in the gastric mucosa, fibrinoid necrosis and thrombus in arterioles and arteriolae in the stomach were observed. Similar vascular lesions occurred in the heart, liver, intestine, pancreas, lymph nodes, adrenal gland, kidney and bladder. In addition, hepatic and myocardial infarction, renal tubular necrosis, glomerular microthrombosis and focal necrosis were seen. Acute hemorrhagic gastritis is known to develop due to infection, stress etc. The gastric mucosal hemorrhage and necrosis in this case was thought to be due to fibrinoid necrosis and thrombus formation in the artery in the stomach.

P-74

Method for Sequential Cerebrospinal Fluid Collection from Diurnal Microminipigs

○Hiroaki Kawaguchi¹⁾, Masaharu Abe¹⁾, Miharu Ushikai¹⁾, Sayumi Oi²⁾, Airo Yukawa²⁾,
Tetsuya Yoshikawa²⁾, Hiroyuki Izumi²⁾, Akihide Tanimoto¹⁾, Masahisa Horiuchi¹⁾

¹⁾Kagoshima University, ²⁾Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Background: The number of studies using minipigs, which share many physiological and anatomical similarities with humans, including diurnality, has increased in recent years; however, there are few reports on porcine cerebrospinal fluid (CSF) collection methods.

Aim: To develop a method for sequentially collecting CSF from unanesthetized Microminipigs (mMPs).

Materials and methods: We used two adult female mMPs. A catheter was placed percutaneously into the subarachnoid space of an anesthetized animal by first inserting a spinal needle into the lumbosacral space. After confirming the outflow of CSF, a guide wire was inserted and used to place the tip of the catheter into the cisterna magna.

Results & Discussion: After catheter placement, a period of one week or more was necessary to ameliorate the effect of RBCs on CSF. The CSF sample was collected sequentially from unanesthetized animals, and high melatonin levels in the CSF were noted during lights-off time. This technique is easy and requires less-skilled operators compared to other existing methods involving a surgical approach. Moreover, being less invasive, it potentially leads to fewer complications.

Conclusions: This method of sequential CSF collection from the cisterna magna from unanesthetized mMPs will contribute to CSF research, brain science, and toxicological testing.

P-75 *

Segmental aplasia of uterine horn in two RccHan:WIST rats

○ Yukako Shimotsuma, Shuji Takeda, Keiko Ogata, Masahiko Kushida

Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd.

[Background] Aplasia of uterine horn caused by developmental defects was reported in several species but very rare in RccHan:WIST rats. We encountered two cases of spontaneous segmental aplasia of the right uterine horn in RccHan:WIST rats, and their detailed characteristics were evaluated.

[Case] RccHan:WIST rats were supplied from the same production site, but the rats with aplasia were of different lots. The age of those two rats were 9 and 14 weeks at necropsy, and no clinical signs were observed. At necropsy, a cyst with clear and transparent fluid was observed in the right uterine horn close to the oviduct. Normal uterine horn wasn't observed on the right side, and remaining tissue consisted of a fibrous band connected to the cervix. Histologically, the cyst was lined by simple cuboidal epithelium looks like uterine endometrium, and endometrium was thin, but uterine glands were not observed. The fibrous band was consisted of α -SMA positive smooth muscles, connective tissue and blood vessels, but no Cytokeratin AE1/AE3 positive epithelium and uterine endometrium were observed.

[Conclusion] The cysts might be due to accumulation of secretory fluid by disruption of canalization in the rudimentary tissue. Segmental aplasia of uterine horn, which might be caused by partial nondevelopment of the Mullerian ducts is reported in several species such as cattle, cat and human, but this should be the first described case of segmental aplasia of uterine horn in RccHan:WIST rats.

P-76 *

Histopathological Investigation of Mammary Tumor in a Young Male SD Rat

○ Shota Yoshida, Hideki Tanaka, Fumiko Ninomiya, Kenji Matsubara, Hiromi Yamamoto, Satoshi Suzuki, Fumio Morita, Kazuo Hakoi

Discovery and Preclinical Research Division, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

<Background> Spontaneous mammary tumors are commonly known in aging female rats. There are only a few reports of mammary tumors in young female rats, however no reports of them in young male rats as far as we searched. In the present report, we histopathologically investigated a spontaneous mammary tumor found in a young male SD rat.

<Materials and Methods> Inguinal skin and mammary tissue were obtained from a vehicle control 7-week-old male Crl:CD(SD) rat of a toxicity study. The tissues were fixed in 10% neutral-buffered formalin, embedded in paraffin, sectioned and stained with hematoxylin-eosin. A mass (approximately 8.5 × 6.0 mm) was observed in the section regardless of no macroscopic findings. Then, special stain and immunohistochemistry were also performed to the sections.

<Results> The most part of the mass was histopathologically composed of multicentric nodules divided by collagen. The border between the mass and normal tissue was unclear, and there were non-proliferative mammary acini within the mass. Those nodules consisted of neoplastic cells arranged in glandular and pseudoglandular structures with myoepithelial cells. In the central area of the mass, neoplastic cells formed papillary and ductal structures, and showed nuclear atypia including multilayered proliferation and mitoses. We will report the details including the results of special stain and immunohistochemistry and the diagnosis.

P-77 ***Cutaneous hemangiosarcoma with pulmonary metastasis in a young adult Wistar rat**○ Shino Suzuki, Rie Takagi, Kazuya Hirai, Junya Hirata, Yukiko Takeuchi-Kashimoto,
Mie Watanabe-Akanuma

Kureha Corporation, Safety Research Center

[Aim] Hemangiosarcoma is uncommon in rats and especially rare in young ones. There is no report of cutaneous hemangiosarcoma in rats. This report describes the case with pulmonary metastasis in 14-week-old male Wistar rat.

[Case] A mass, 10 mm in diameter, was observed on the back skin of a 14-week-old male Wistar rat, kept as a microbiological monitoring animal. The rat showed decreased locomotor activity and hemorrhages from the mass, and hence was euthanized and necropsied. In addition to the skin mass, dark red masses, 5-15 mm in diameter, scattered throughout the lungs. Microscopic examination of hematoxylin and eosin stained sections from the masses revealed that proliferated spindle-shaped cells formed blood vessel-like structures of various sizes filled with erythrocytes. The cells were immunohistochemically positive for von Willebrand factor and CD34, and showed high Ki-67 labeling index.

[Discussion] The lesions were identified as malignant tumors derived from the vascular endothelial cells from their morphological and immunohistochemical features; therefore it was diagnosed as hemangiosarcoma and categorized as a cutaneous primary tumor. Cutaneous hemangiosarcoma is rare even in human, and frequently accompanied by pulmonary metastases with poor prognosis. With reference to an earlier report of Ki-67 and programmed death-ligand 1 (PD-L1) expressions being useful as prognostic markers, we have examined these expressions in the present case as well.

P-78**Dedifferentiated liposarcoma of retroperitoneum spontaneously occurred in aged SD rat.**○ Tomoharu Naito^{1,2)}, Tsuyoshi Saito²⁾, Tamami Higuchi¹⁾, Akira Inomata¹⁾, Takuo Hayashi²⁾,
Atsuko Yamauchi¹⁾, Sayaka Kemmochi¹⁾, Chihaya Kakinuma^{1,2)}, Takashi Yao²⁾¹⁾FujiFilm Co., ²⁾Dept Human Pathology, School of Medicine, Juntendo Univ

[Background] Spontaneous liposarcoma is very rare in rats and that with distant metastasis has not yet reported. We report here highly metastatic dedifferentiated liposarcoma occurred in a Sprague-Dawley (SD) male rat in a long-term study.

[Materials and Methods] The rat was euthanized at 104 weeks of age as it became moribund accompanied by abdominal distension. At necropsy, collected tissues were fixed in formalin for microscopic examination. The tissue sections were stained with HE, Oil-red-o stain and immunohistochemically with several antibodies. Small pieces of formalin-fixed tumor were also processed for electron microscopic examination.

[Results] At necropsy, there was tumor dissemination with a large amount of fatty-like tissue and bloody ascites in abdominal cavity. A white nodule in the right kidney, and pale discolored liver were also noted. Microscopically, the tumor tissue showed pleomorphic features consisting of lipogenic cells, spindle cells, and lipoblasts. There were blood-borne metastases in the stomach, lung and liver. The fine cytoplasmic vacuoles of lipogenic cells and spindle cells in submucosal and around matured lipocytes in the stomach were positive for oil-red-o stain. These tumor cells were positive for S100. Based on these, we diagnosed dedifferentiated liposarcoma mixed with well-differentiated component.

[Conclusion] This is the first report of a spontaneous dedifferentiated liposarcoma with metastatic tumor dissemination in an aged SD rat.

P-79

Subcutaneous tumor in a NOG mouse

○ Hirotoshi Akane, Hiro Eda, Atsuko Ichikawa, Shigekazu Shimizu, Hiroyuki Komatsu, Yasuki Akie
CMIC Pharma Science Co., Ltd.

[Purpose] The incidence of spontaneous tumors has been rarely reported in the NOG (NOD/Shi-scid, IL-2R γ KO Jic) mice, which are severely immunocompromised, and commonly used in toxicity studies of biological products for regenerative medicine. In this case report, we pathologically investigated the details of spontaneous femoral subcutaneous tumors which were found in an untreated male NOG mouse.

[Method] A NOG mouse at 32 weeks of age was necropsied. Histopathological examination was performed for a subcutaneous mass of the mouse, after fixation with formalin, HE staining and immunohistochemical staining.

[Results and Discussion] At necropsy, a gray-white mass (about 5.5 cm in diameter) was observed in the femoral subcutaneous region. No abnormalities were found in any other organs. Histopathological examination revealed solidly proliferated neoplastic cells with prominent nuclear atypia and relatively poor cytoplasm and sporadic cells with large pale nucleus. Cells with mitosis were frequently observed. Necrosis was observed in the center of mass. Osseous metaplasia was observed partially.

P-80

Hydropic degeneration with hyaline droplet of the acinar cell in the sublingual gland in a beagle dog

○ Takafumi Oshikata, Mikio Mitsuishi, Masao Hamamura

LSI Medience Corporation

<Introduction>We report the hydropic degeneration with hyaline droplets in the sublingual gland of a beagle dog.

<Case>A male beagle dog used as a control in a 2-week repeated-dose dermal toxicity study was subjected to necropsy at the age of 7 months. There were no macroscopic abnormalities in any organs including the sublingual gland. The sublingual gland was fixed with 10% neutral buffered formalin solution, embedded in paraffin, and stained with HE, PAS, and Azan. Electron microscopic examination (EM) was also performed.

<Results>HE staining revealed pale eosinophilic vacuoles (PEV) and eosinophilic granules (EG) in serous acinar cells in the sublingual gland and hyaline droplets (HD) in many of the PEV. The EG and HD stained negative by PAS staining and red by Azan staining, and were ultrastructurally electron dense granules (EDG) and aggregates of the EDG in rER, respectively. PEV stained negative by PAS staining and contained particulates (PC), which also stained red by Azan staining, as well as HD. EM revealed vacuoles as dilated rER which contained sparsely-distributed EDG corresponding to the PC.

<Conclusion>According to the morphological features described above, we diagnosed hydropic degeneration with hyaline droplet of the acinar cell in the sublingual gland of a beagle dog. HD, EG, and PC noted in this case were likely to be aggregates of synthesized protein in rER.

P-81**Exocrine pancreatic injury induced by Caerulein in rats**

○ Hideki Tanaka, Shota Yoshida, Fumiko Ninomiya, Mitsuhiro Fujieda, Norifumi Matsushita, Kenji Matsubara, Hiromi Yamamoto, Satoshi Suzuki, Fumio Morita, Kazuo Hakoï

Discovery and Preclinical Research Division, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

[Aim] Opportunities for encountering drug-induced exocrine pancreatic injury are rare. In addition, its pathogenesis and relationship with deviation enzymes in blood are not fully clarified. In the present study, a cholecystokinin analog: caerulein which was reported to induce an exocrine disorder in pancreas was administered to rats for confirming the histopathological characteristics in initial phase and relationship between morphological changes and the deviation enzymes.

[Materials and Methods] Caerulein at dose levels of 0 (saline), 10 and 50 ug/kg was administered interperitoneally to 6-week-old female CrI:CD(SD) rats in a single-dose. Blood samples were collected to perform hematological test, coagulation test and blood chemistry including amylase and lipase 4 and 24 hours after dosing. Rats were sacrificed immediately to take their organs for histopathological examination.

[Results] In the 50 ug/kg group, high values of amylase and lipase in the blood chemistry, pancreatic edema, vacuolar degeneration/single cell necrosis of pancreatic acinar cells were noted 4 hours after dosing. On the other hand, alterations of pancreatic parameters and macroscopic findings were not observed 24 hour after dosing. We will report the details including the results of the immunohistochemical and electron microscopic analysis which are in progress now.

P-82 ***Vehicle exhaust particulates accumulate in lysosomes and are lysed by lysozyme**

○ Nodoka Koga, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Akira Yokoyama, Rei Imamura, Chiaki Tanigawa, Tomoki Ohmoto, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai

Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.

[Background] To elucidate the biological effects of atmospheric particulates, we examined the inflammation and toxicity caused by vehicle exhaust particulates (VEPs). Skin inflammation animal model and cellular toxicity analyses have not produced conclusive evidence of the effect of VEPs. Analyzing cell cultures have confirmed the accumulation of VEPs in lysosomes, and the severity of VEP-associated toxicity is thought to be related to lysosomal resolvability. Here, we examined *in vivo* VEP kinetics and whether VEPs were lysed by lysozymes.

[Materials and Methods] We analyzed human nasal epithelial cells (HNEpCs) *in vitro* and 7-week-old C57BL/6 mice *in vivo*. VEPs were used as standard environmental materials, as classified by the National Institute for Environmental Studies. Egg-white lysozyme was used and the resolvability of VEPs was evaluated by macroscopic observation and flow cytometry. *In vivo* kinetics of VEPs was observed using a transmission electron microscope.

[Results] Lysosomes contain acidic solution of approximately pH 5 and many lytic enzymes, and they contribute to the maintenance of intracellular homeostasis by lysing intracellular and extracellular components. Following the treatment of HNEpCs with VEPs for 24 h, VEPs were shown to accumulate in lysosomes. Five days later, no VEPs were present in the culture. The treatment of VEPs with lysozymes transformed the black VEP suspension to a transparent liquid, indicating lysis of VEPs.

P-83 *

Effect of vehicle exhaust particulates on the immune response in nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissues

○ Akira Yokoyama, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Rei Imamura, Chiaki Tanigawa, Tomoki Ohmoto, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai

Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.

[Background] Atmospheric particulates are believed to cause asthma and bronchitis in association with nasal immune mechanisms; however, this phenomenon is still unclear. A nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissue (NALT) in rodents play an important role in nasal immunity. Atmospheric particulates are believed to evoke immune response in these lymphoid tissues. This study examined the localization of atmospheric particulates and production of antibodies in NALT.

[Materials and Methods] We used 8-week-old NC/Nga male mice (n = 4) and vehicle exhaust particulates (VEPs), a standard environmental material as classified by the National Institute for Environmental Studies, as atmospheric particulates. NALT samples cultured for 24 h after its isolation were analyzed to determine the levels of IgA, IgG, IgE, and IgM using ELISA.

[Results] NALT was treated with VEPs for 24 or 48 h and the culture supernatant (CS) was collected. IgA level was 50 ng/mL in both the untreated and VEP-treated CS. IgG level was 450 ng/mL in the untreated CS, whereas it was 300 ng/mL in the VEP-treated CS. IgE was not detected in untreated or VEP-treated CS. IgM level was 30 ng/mL in both the VEP-treated and untreated CS. These results demonstrated that VEPs do not induce the activation of humoral immunity in NALTs. It is assumed that the establishment of humoral immunity in NALT is not associated with VEP stimulation.

P-84 *

Urban aerosols suppress proliferation of nasal epithelial cells

○ Chiaki Tanigawa, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Akira Yokoyama, Rei Imamura, Tomoki Ohmoto, Nodoka Koga, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai

Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.

[Background] Atmospheric particulates are believed to cause respiratory diseases such as asthma and nasal allergies. In addition, onset of these diseases suggests that eosinophilic inflammation begin with epithelial cell damage by atmospheric particulates; however, the mechanism remains to be clarified. This study examined the effects of urban aerosols (UA), which was collected in Beijing City, China, on epithelial cells and the relationship between UAs and inflammation.

[Materials and Methods] Primary human nasal epithelial cells were used to study the relationship between UAs and inflammation. UAs were used as standard environmental materials, as classified by the National Institute for Environmental Studies. HNEpCs were treated with 7.4-200 µg/mL of UAs, and the number of dead cells and total cells was measured using the CytoTox-Glo cytotoxicity assay after 24 and 48 h. Cellular uptake of UAs was observed by confocal microscopy.

[Results] An increase in cell death was not observed regardless of treatment time or UA concentration, and cell proliferation rate was found to decrease with increase in UA concentration. At a UA concentration of 200 µg/mL, HNEpCs completely arrested a cell proliferation. Intracellular accumulation of UA was observed both at 24 and 48 h. These results suggested that UA can arrest cell proliferation, but has a low cytotoxicity.

P-85 ***Effect of gender on upper airway immunity to vehicle exhaust particulates in aged mice**

○ Rei Imamura, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Akira Yokoyama, Nodoka Koga, Chiaki Tanigawa, Tomoki Ohmoto, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai

Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.

[Background] Atmospheric particulates localize in both the upper and lower airways. Smaller atmospheric particulates can reach deep parts of the lower airway that may induce development or aggravation of nasal allergies and asthma. There is predominant concern regarding these effects in children, but there is a similar risk in adults. This study examined the effects of vehicle exhaust particulates (VEPs) on acquired immunity in an aged mouse, including gender-specific effects on developing symptoms due to atmospheric particulates. In addition, we demonstrated the effect of VEPs on nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissue (NALT) in adult mice.

[Materials and Methods] NALT samples from 20-week-old male and female C57BL/6 mice were treated with VEPs. After five days, culture supernatants were collected, and the levels of IgA, IgG, IgE, and IgM were measured using ELISA.

[Results] Gender differences in normal immunoglobulin production were observed for IgM, with males producing 1.5 times more IgM than females. In males, VEP-induced production of IgA, IgG, and IgM decreased 20%-30% and IgE increased 1.7 times compared with the control. In females, VEP induced no change in IgE or IgM levels; however, IgA and IgG levels increased 1.4 and 1.2 times compared with the control, respectively. These results indicated that VEPs induce humoral immunity in mature lymphoid tissue in a gender-specific manner.

P-86 ***Effects of nasal epithelial cells treated with vehicle exhaust particulates on lymphocyte composition *in vitro***

○ Tomoki Ohmoto, Akira Onodera, Katsutoshi Yayama, Rei Imamura, Chiaki Tanigawa, Nodoka Koga, Masaki Inoue, Shinichi Tsunoda, Yuichi Kawai

Fac. Pharmaceut. Sci., Kobegakuin Univ.

[Background] Different types of cytokines, including interleukin (IL)-33, are thought to be involved in the development of IgE-independent innate-type allergy. Atmospheric particulates are believed to induce the onset or aggravate nasal allergies by inducing cytokine production in nasal epithelial cells (NEpCs) as an immune response. To elucidate the relationship among atmospheric particulates, NEpCs, and immune response, we examined the effect of factors secreted by the atmospheric particulate-treated NEpCs on lymphocyte composition.

[Materials and Methods] We used human NEpCs (HNEpCs) and 7-week-old C57BL/6 mice. Vehicle exhaust particulates (VEPs) were used as standard environmental materials, as classified by the National Institute for Environmental Studies. HNEpCs were treated with VEPs for 48 h, and the culture supernatants were collected (conditioned medium, CM). Subsequently, lymphocytes isolated from mouse spleen were treated with the CM for 24 h, and lymphocyte subsets were detected using fluorescent monoclonal antibodies and flow cytometry.

[Results] We demonstrated the effects of VEP-treated HNEpC-secreted factors on lymphocyte differentiation or maturation *in vitro*. With respect to the lymphocyte composition, no increase was observed in the population of B cells, T cells, or natural killer cells.

P-87 *

Structural optimization of TNFR1 antagonist by single-chain modification

○ Natsuki Osaki¹⁾, Masaki Inoue^{1,2)}, Masahiro Kunishige¹⁾, Midori Miki¹⁾, Akira Onodera¹⁾,
Yuichi Kawai¹⁾, Haruhiko Kamada^{2,3)}, Yasuo Tsutsumi³⁾, Shin-ichi Tsunoda^{1,2)}

¹⁾Fac. Pharm. Sci., Kobe Gakuin Univ., ²⁾NIBIOHN, ³⁾Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.

[Background and Aim]

The signaling mediated by type 1 TNF receptor (TNFR1), but not type 2 TNF receptor (TNFR2), is involved in the pathogenesis of autoimmune diseases. Signaling of TNFR2 presumably contribute to the suppression of these disorders. We previously generated a TNFR1 selective antagonistic TNF mutant protein (R1antTNF) that specifically inhibits TNFR1 signaling as a novel modality TNF-regulating drug. However, R1antTNF cannot be used therapeutically because it displays poor stability in vivo. Here, we generated a single-chain variant of R1antTNF (scR1antTNF) fused as a homo trimeric structure of R1antTNF using peptide linkers.

[Materials and Methods]

The sequence of scR1antTNF was designed to comprise three R1antTNF monomers fused by two peptide linkers. scR1antTNF protein was expressed in mammalian cells. In vitro assays were performed to confirm (i) affinity for the TNF receptors (ii) TNF inhibitory activity and (iii) thermal stability.

[Results and Conclusion]

scR1antTNF retained TNFR1 selective binding activity and antagonist activity, while displaying improved thermal stability by comparison to R1antTNF. We suppose the fusion by peptide linkers does not interfere with the binding to TNFR1, but enhances interaction between each monomer in scR1antTNF. Thus, structural optimization of R1antTNF by single-chain modification is useful for improving TNFR1 antagonist.

P-88 *

Structural optimization of TNFR1 antagonist using site-specific PEGylation

○ Masahiro Kunishige¹⁾, Masaki Inoue^{1,2)}, Natsuki Osaki¹⁾, Midori Miki¹⁾, Akira Onodera¹⁾,
Yuichi Kawai¹⁾, Haruhiko Kamada^{2,3)}, Yasuo Tsutsumi³⁾, Shin-ichi Tsunoda^{1,2)}

¹⁾Fac. Pharm. Sci., Kobe Gakuin Univ., ²⁾NIBIOHN, ³⁾Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.

[Background and Aim]

We previously developed a TNF mutant protein (R1antTNF) with TNFR1 selective antagonistic activity as a novel therapeutic modality. Although R1antTNF has been shown to be useful in rheumatoid arthritis model mice, its half-life in blood is much shorter than antibody drugs. In order to extend the half-life of R1antTNF, we aimed to generate a single-chain variant of R1antTNF (scR1antTNF) and to modify scR1antTNF with polyethylene glycol (PEGylation). Here, we report on the characterization of PEGylated scR1antTNF.

[Materials and Methods]

To identify effective PEGylation conditions, scR1antTNF was reacted with NHS-activated PEG at various temperatures, and the molecular weight of the reaction product determined by size-exclusion chromatography. A 40-kDa branched PEG-scR1antTNF was evaluated by measuring (i) antagonistic activity using a TNF-inhibition assay and (ii) pharmacokinetics when administered to mice.

[Results and Conclusion]

scR1antTNF has only one N-terminus, whereas R1antTNF, which adopts a trimeric structure, possesses three N-termini. Therefore, the scR1antTNF protein enables facile modification to generate a uniformly PEGylated product. Bioassays demonstrated PEG-scR1antTNF retained antagonistic activity. Furthermore, the half-life of PEG-scR1antTNF in blood was significantly prolonged. Therefore, site-specific PEGylation of scR1antTNF was useful for structural optimization.

P-89 *

Function of TNFR2 signaling as a regulatory T cell regulator

○ Midori Miki¹⁾, Masaki Inoue^{1,2)}, Natsuki Osaki¹⁾, Masahiro Kunishige¹⁾, Akira Onodera¹⁾, Yuichi Kawai¹⁾, Daisuke Ando^{2,3)}, Haruhiko Kamada^{2,3)}, Yasuo Tsutsumi³⁾, Shin-ichi Tsunoda^{1,2)}

¹⁾Fac. Pharm. Sci., Kobe Gakuin Univ., ²⁾NIBIOHN, ³⁾Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.

[Background and Aim]

Regulatory T cells (Treg) are a sub-population of CD4 positive T lymphocytes with immunosuppressive functions that regulate the host immune response. For example, Treg enhances its activity in the microenvironment of a tumor, and induces the cancer immune escape state. We aim to identify molecules that specifically regulate Treg function as novel targets for the treatment of cancer. In this regard, we have confirmed the usefulness of type 2 TNF receptor (TNFR2). Here, we report the function of TNFR2 signaling in ex vivo Treg.

[Materials and Methods]

Treg (CD4+CD25⁻ T cells) and Tconv (CD4+CD25⁺ T cells) were prepared from mouse lymph tissue. The expression level of cytokine receptors on Treg and Tconv was checked using flow cytometry. To confirm the effect of TNFR2 signaling on Treg expansion and activation, the growth rate of Treg during TNFR2 stimulation was measured by a cell proliferation assay.

[Results and Conclusion]

Results of receptor profiling show TNFR2 was expressed at high levels on Treg, but at low levels on Tconv. Furthermore, Treg was expanded significantly by the stimulation of TCR with TNFR2 compared to TCR solo stimulation. Treg expansion appeared to depend on TNFR2 signaling. Therefore, we believe that TNFR2 signaling is functionally involved in Treg and may be a useful target as a Treg regulator.

P-90

Difference in toxic response of an anti-desmoglein-3 ADCC antibody in mouse due to target expression and physiological characteristics of organs

○ Etsuko Fujii^{1,2)}, Kenji Taniguchi²⁾, Atsuhiko Kato²⁾, Masami Suzuki^{1,2)}

¹⁾Forerunner Pharma Research, Co., Ltd., ²⁾Research Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

[Background] Desmoglein-3 (DSG3) is a promising target for cytotoxic antibody therapy in squamous cell carcinoma of various organs. But it is expressed in several normal squamous epithelial tissues, which may cause toxicity. [Aim] To accurately evaluate the toxic potential of cytotoxic antibody therapy targeting DSG3 by combining tissue target distribution and toxicity study data in mouse. [Materials and methods] The vagina, skin, tongue, and other organs of BALB/cAnNCrIj were examined immunohistochemically for DSG3 expression. Additionally, mice were administered an anti-DSG3 antibody at doses of 0, 10, and 50 mg/kg, once weekly for 3 weeks and examined pathologically. The same procedures were performed for ovariectomized (OVX) mice. [Results] DSG3 was expressed in the squamous epithelium of various tissues including the vagina with different expression patterns at each estrus cycle, and reduced expression in OVX mice. With antibody administration, in spite of target expression in multiple organs, changes were limited to the vagina, so the changes were judged to be related to changes in tissue structure during the estrus cycle. The severity of the lesions was reduced in OVX mice. [Conclusion] It was possible to evaluate the toxic potential of anti-DSG3 therapy by combining tissue distribution and toxicity study data in mice. Furthermore, it was thought that organs with physiological change in tissue structure and target expression require careful analysis.

P-91

The Role of the Toxicologic Pathologist in Drug Discovery and Development

○ Norimitsu Shirai¹⁾, Lindsay Tomlinson²⁾¹⁾Pfizer Drug Safety R & D, Pathology, Groton, CT, USA, ²⁾Pfizer Drug Safety R & D, Pathology, Cambridge, MA, USA

Aim: The drug discovery and development process encompasses target identification, synthesis of new chemical or biological entities to interact with the target chosen, preclinical and clinical evaluations for efficacy and safety, and approval and registration. We will focus on the unique skill set of toxicologic pathologists, who have a strong understanding of normal and abnormal tissue morphology, and various toxicity or disease processes. We will also discuss their roles in the biopharmaceutical industry in order to highlight career development opportunities and institutional benefits. Conclusion: Toxicologic pathologists can contribute widely including, but not limited to the following roles: engagement in target selection; evaluation of animal models, efficacy in animal models of human disease, and tissue cross reactivity; interpretation of anatomic and clinical pathology data from toxicity studies; pathology peer review; due diligence for licensing activities; design, management, and reporting of investigative and regulatory nonclinical studies; and representation of drug safety research and development (R&D) on multidisciplinary drug development teams at all levels from early discovery through late stage development. This poster outlines the perspectives of toxicologic pathologists and the benefit of their input in the development of therapies including integrating findings in efficacy and toxicity studies and translating findings to clinical studies.

P-92

Responses to FDA SEND data -Part III-

○ Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Shin-ichi Horikawa¹⁾, Junichi Sakurai¹⁾, Haruko Koizumi¹⁾, Akihito Shimoi¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Hijiri Iwata²⁾, Takayuki Anzai³⁾¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC., ³⁾Showa University School of Medicine

One year has passed since the commencement of mandatory electronic data review and application in the SEND format to the FDA. The timing of transition from the current CDISC SEND Implementation Guide (SENDIG) Version 3.0 to Version 3.1, that explains the method of converting / submitting SEND data sets, was decided. We compared changes related to histopathological examinations as well as controlled terminology (CT) vs. INHAND between the new version, SENDIG 3.1, and current SENDIG 3.0. In SENDIG 3.1, three new variables of FOCID (Focus of Study-Specific Interest), MICHRON (Chronicity of Finding), MIDISTR (Distribution Pattern of Finding) were added to the MI domain, and it is necessary to pay attention to the mapping of findings. In CT, there are now 486 words representing the organ name for "Specimen", 301 representing the neoplastic findings for "Neoplasm", and 179 representing the non-neoplastic findings for "Non-neoplastic", an approximately 1.3-fold increase in terms. Also, in order to properly complete the SEND data set, it is important to match findings (summary table) finalized in the toxicity study with the STRESC variables of the MI domain. Therefore, smart creation of a pathology SEND data set, based on a sound understanding of and latest information on the Study Data Technical Conformance Guide (TCG), is required.

P-93

A consideration on pathology peer review and pathology phase report

○ Hijiri Iwata¹⁾, Takayuki Anzai²⁾, Yuji Oishi³⁾

¹⁾LunaPath L.L.C., ²⁾Showa University School of Medicine, ³⁾Osaka City University

Background: Standardization of the terms such as INHAND and SEND Controlled Terminology has been discussed. However, it is meaningless unless the input finding is inappropriate. So, pathology peer review (PPR) is recommended as a qualitative quality assurance. In addition, pathological phase reports are important as a raw data. **Methods:** From the publication on the PPR such as the recommendation proposal of the STP Society (Union) and OECD guidance and supplement and other literatures on the PPR, importance of the PPR and the pathology report in study were discussed. **Conclusions:** 1: When OECD guidance and the recommendation of the STP Society were compared, it seemed that the PPR should be performed not only in the chronic and carcinogenic study but also in the other general GLP studies. 2: It is important that the reviewer confirms whether the adversity by the test substance is recorded correctly as findings. And agreement is recorded as a raw data. 3: It should also be noted there is no significant difference between the pathologists for the other findings. In the preliminary peer review, a record of individual finding changes was not necessarily required. 4: The peer reviewer should confirm the agreed findings are reflected in the report as the final finding. 5: The peer reviewer should confirm the adverse lesion by the test substance is adequately described in the pathology report. In addition, the pathology report should be archived as a raw data.

P-94

Immunohistochemical characterization of lung proliferative lesions in rats intratracheally given MWCNT

○ Yoshimitsu Sakamoto¹⁾, Motoki Hojo¹⁾, Tosinari Suzuki¹⁾, Akiko Inomata¹⁾, Akihiko Hirose²⁾, Dai Nakae³⁾

¹⁾Tokyo, Metropol. Inst. Pub. Health, ²⁾Natl. Inst. Health Sci., ³⁾Tokyo Univ. Agricul

Background: As a part of the risk assessment of multi-wall carbon nanotube (MWCNT), the present study evaluated immunohistochemical characteristics of histologically different 2 types of proliferative lesions observed in the lung of rats given MWCNT by the repeated intratracheal spray instillation. **Methods:** Male Han:WIST rats, 10 weeks old, were exposed to 12 quadweekly intratracheal instillations of MWCNT [MWNT-7; 2 μ m (L), 75 nm (D), Fe 0.344%], suspended into a vehicle consisting of sucrose and Tween 80, at doses of 0 (vehicle), 0.01, 0.05 and 0.25 mg/kg body weight, kept untreated for additional 52 weeks and then killed for the examination. **Results and Discussion:** Two histologically different types of proliferative lesions were induced in the lung of MWCNT-treated rats, both in a dose-dependent manner. One was a lesion consisting of mono- or multilayered squamous/polygonal cells lining along the alveolar walls with scattered clusters of proliferating cells, which was positive for mesothelin, cytokeratin AE1/AE3 and GST-P, and with high PCNA-positive cell proliferating activity. This lesion was diagnosed as an early stage squamous metaplasia and suggested to be a preneoplastic lesion for squamous cell carcinoma. The other was a hyperplasia of type II alveolar cells with MWCNT-laden macrophages, which was negative for aforementioned proteins. This lesion was diagnosed as reactive hyperplasia.

P-95 *

Comparative Pulmonary toxicity of DWCNT and MWCNT-7 in Rats

- Ahmed M. El-Gazzar^{1,2,7)}, Mohamed Abdelgied^{1,2,8)}, David B. Alexander¹⁾, William T. Alexander¹⁾, Takamasa Numano¹⁾, Masaaki Iigo¹⁾, Aya Naiki²⁾, Hirotugu Takase³⁾, Akihiko Hirose⁴⁾, Yuhji Taquahashi⁵⁾, Jun Kannno⁶⁾, Satoru Takahashi²⁾, Ashraf Mohamed Nazem⁹⁾, Osama Saeid Elokke⁷⁾, Hiroyuki Tsuda¹⁾

¹⁾ Nanotoxicology Project, Nagoya City University, Nagoya, Japan.,

²⁾ Dept Exp Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Grad School Med Sciences, Nagoya, Japan.,

³⁾ Nagoya City University Graduate School Med Sciences, Nagoya, Japan.,

⁴⁾ Div Risk Assessment, NIH, Tokyo, Japan.,

⁵⁾ Div Cellular and Molecular Toxicology, NIH, Tokyo, Japan.,

⁶⁾ Japan Industrial Safety and Health Association, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan.,

⁷⁾ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.,

⁸⁾ Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Beni Suef University, Beni Suef, Egypt.,

⁹⁾ Dept Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.

The toxicity of double-walled carbon nanotubes (DWCNTs) is mostly uncharacterized. It is theorized that because DWCNTs are less rigid than multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs), DWCNTs may be less toxic than MWCNTs. In the present study, we compared the pulmonary toxicity of DWCNT to MWCNT-7. Rats were divided into 6 groups: untreated, vehicle, low dose DWCNT, high dose DWCNT, low dose MWCNT-7, and high dose MWCNT-7. The test materials were administered by trans-tracheal intrapulmonary spraying (TIPS) every other day for 15 days: the low dose and high dose groups were administered final total doses of 0.250 and 0.500 mg/rat, respectively, of the test materials. The animals were sacrificed 1 and 6 weeks after the final TIPS administration. Bronchioalveolar lavage (BALF), pleural cavity lavage (PL), and lung tissue were collected to assess pulmonary damage. The results showed that DWCNT exposure has no significant effect on LDH activity, ALP activity, or protein concentration in the BALF or LDH activity or protein concentration in the PL supernatant at 6 weeks after the final TIPS administration. In contrast, at 6 weeks MWCNT-7 administration resulted in significant elevation of LDH activity, ALP activity, and protein concentration in the BALF and a small increase in protein concentration in the PL supernatant. In conclusion, our data indicate that MWCNT-7 has higher pulmonary toxicity than DWCNT, and suggest that MWCNT-7 may have higher carcinogenic potential than DWCNT.

P-96

Dynamics of stem, progenitor, and differentiated cells in the regenerative process of gastrointestinal ulcer in mice

- Akihiro Hirata¹⁾, Kengo Namiki²⁾, Atsuko Murai²⁾, Hiroyuki Tomita³⁾, Akira Hara³⁾, Hiroki Sakai⁴⁾, Tokuma Yanai⁴⁾

¹⁾ Gifu Univ., ²⁾ Ono Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾ Gifu Univ. Graduate Sch. Med., ⁴⁾ Gifu Univ.

[Background & Aim] In the gastrointestinal mucosa, cellular proliferation and differentiation are tightly regulated in an individual gland/crypt under normal physiological conditions. In this study, we examined the temporal and spatial distribution of *Lgr5*-expressing stem cells, progenitor, and differentiated cells in regenerating glands/crypts after gastrointestinal ulceration in mice. [Materials and Methods] For the visualization of *Lgr5*-expressing cells, *Lgr5-EGFP* knock-in mice were used. In gastric ulcer model, mice received an intragastric administration of 0.2 ml acidified ethanol (0.3 M HCl in 60% ethanol). In colonic ulcer models, mice were treated with 2% DSS in the drinking water for 5 to 7 days. [Results] The regenerative process was similar in the both models. In both the gastric and colonic mucosa, the surface of the ulcer bed was covered by a single layer of epithelial cells that arose from the remaining glands/crypts adjacent to the ulcerated region. Small epithelial invaginations developed within glands/crypts remaining at the ulcer margins and grew into independent glands/crypts. Importantly, *Lgr5*-expressing cells, Ki-67+ progenitor cells and differentiated cells were arranged in the regenerating glands/crypts in a pattern similar to normal glands/crypts. [Discussion] These findings indicate that the stem, progenitor, and differentiated cells are already hierarchically arranged within newly formed glands/crypts before they grow into independent glands/crypts.

P-97 *

Comprehensive gene expression analysis for two different types of GST-P positive foci in terms of their kinetics after cessation of carcinogen treatment

○ Shinji Takasu¹⁾, Yuji Ishii¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura^{1,2)}

¹⁾Div. of Pathol, NIHS, ²⁾Faculty of Anim. Sci. Technology, Yamazaki Gakuen Univ.

We previously reported the existence of two different types of GST-P positive foci in terms of their kinetics after cessation of carcinogen treatment. Namely, GST-P positive foci induced by diethylnitrosamine (DEN) were increased after cessation of the treatment, those by furan being decreased. In the present study, we compared global gene expression between the two types of GST-P positive foci. 6-week old male F344 rats were given 10 ppm DEN in the drinking water or 8 mg/kg/day (5 days/week) furan by gavage for 13 weeks. cDNA microarray was performed using mRNA extracted from serial frozen sections including GST-P positive foci or negative area collected by the laser microdissection with a mirror section stained by GST-P immunohistochemical staining. In both DEN and furan-treated groups, the expression levels of *Gstp1* were significantly up-regulated in GST-P positive foci compared with GST-P negative area, demonstrating the validity of the collected samples. The up-regulated genes in GST-P positive foci induced by DEN included *Mors2*, *Cdh23* and *Secisbp2l*, those by furan including *Col1a1*, *Sox9* and *Fbln1*. Thus, we were able to demonstrate the existence of GST-P foci showing different gene expression in response to carcinogen-cessation. These results might suggest that some of those genes regulate the kinetics of GST-P foci.

P-98 *

Potassium octatitanate fiber ($K_2O \cdot 8TiO_2$) fiber is a potent inducer of lung and pleural injury in male Fischer 344 rats: A comparative study of titanium dioxide nano particles

○ Mohamed Abdelgied^{1,2,3)}, Ahmed M. El-Gazzar^{1,2,4)}, David B. Alexander¹⁾, William T. Alexander¹⁾, Takamasa Numano¹⁾, Masaaki Iigo¹⁾, Aya Naiki²⁾, Hirotsugu Takase⁵⁾, Khaled Abbas Abdou³⁾, Akihiko Hirose⁶⁾, Yuhji Taquahashi⁷⁾, Jun Kannno⁸⁾, Satoru Takahashi²⁾, Hiroyuki Tsuda¹⁾

¹⁾Nano toxicology Project, Nagoya City University, Nagoya, Japan.,

²⁾Dept Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan.,

³⁾Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Beni Suef University, Beni-Suef, Egypt.,

⁴⁾Dept Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria, Egypt.,

⁵⁾Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan.,

⁶⁾Div Risk Assessment, NIH, Tokyo, Japan.,

⁷⁾Div Cellular and Molecular Toxicology, NIH, Tokyo, Japan.,

⁸⁾Japan Industrial Safety and Health Association, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan.

Potassium octatitanate fibers ($K_2O \cdot 8TiO_2$, POT fibers) are widely used as an alternative to asbestos. We investigated the pulmonary and pleural toxicity of POT fibers with reference to 2 non-fibrous titanium dioxide nanoparticles (nTiO₂), photo-reactive anatase (a-nTiO₂) and inert rutile (r-nTiO₂). Male F344 rats were administered 1 mg POT fibers, a-nTiO₂, or r-nTiO₂ over a 2 week period by trans-tracheal intrapulmonary spraying (TIPS) and killed 6 hours and 4 weeks after the last TIPS administration. A significant increase in the number of alveolar macrophages was observed in all three treatment groups at 6 hr and 4 wk. At week 4: a-nTiO₂, and r-nTiO₂ were largely cleared from the lung, but a large fraction of POT fibers persisted. In the BALF, ALP activity was elevated in all three treatment groups, and LDH activity was elevated in the a-nTiO₂ and POT groups. In the lung tissue, the oxidative stress index and the PCNA index were elevated in the a-nTiO₂ and POT groups, and there CCL2 mRNA and protein was elevated in the POT group. All three test materials were also observed in the pleural cell pellet, and in the pleural lavage, total protein was elevated in all three treatment groups, and LDH activity was elevated in the a-nTiO₂ and POT groups. In addition, the PCNA index of the visceral mesothelium was increased in the POT group. Overall, POT fibers had greater biopersistence, induced higher expression of CCL2, and provoked a larger tissue response than a-nTiO₂ or r-nTiO₂.

著者索引

A			El-Gazzar, Ahmed M.	P-95、P-98	原 宏士朗	P-37
Abdelgied, Mohamed			Elokke, Osama Saeid	P-95	原田 孝則	P-13、P-31、P-47
	P-95、P-98		榎本 祐子	P-41	原田 恭治	P-46
Abdou, Khaled Abbas	P-98		遠藤 ちひろ	P-54	長谷川 悠子	P-32
阿部 正治	P-74		塩谷 聡子	P-67	橋本 愛	WS-1
相磯 成敏	P-21、P-22		F			
赤木 純一	SY1-1、P-34、P-52		方 仁東	P-08	橋本 和人	P-51
赤堀 有美	P-07		Force Aldred, Shelley	P-18	橋本 希	P-01
赤根 弘敏	P-73、P-79		笛木 修	P-36	畑 千恵	P-23
赤沼 三恵	P-77		藤枝 光博	P-81	畠山 洋文	P-62、P-63、P-92
秋江 靖樹	P-73、P-79		藤井 悦子	P-90	早川 知里	P-66
審 一慧	WS-2		藤岡 正喜		早川 和宏	O-06、O-07
秋山 真洋	P-46			SY1-4、WS-5、O-03、P-06、 P-27	林 亮司	P-37
Alexander, David B.	P-95、P-98		藤澤 可恵	P-71	林 清吾	P-66
Alexander, William T.	P-95、P-98		藤澤 希望	P-60	林 新茂	P-57、P-61
安藤 大介	P-89		藤塚 直樹	P-11	林 修次	P-60
安藤 稔	P-23		深町 勝巳	O-01、O-10、P-04	林 大久生	P-78
安藤 さえこ	O-01、P-04		福山 朋季	P-47	He, Liang	P-35
安仁屋 洋子	SL1		古川 正敏	P-54	日比 大介	O-04
安齋 享征	P-92、P-93		古川 賢	P-66	東阪 和馬	SY2-3
Arbiser, Jack	P-05		古谷 哲也	P-17	樋口 仁美	P-30
朝倉 省二	O-07		二口 充	O-01、O-10、P-04	樋口 珠美	P-78
浅野 雅秀	P-48		G			
浅岡 由次	P-71		魏 民	SY1-4、WS-5、O-03、P-06、 P-27	筆宝 義隆	P-03
新 真智	WS-1		後藤 彩	O-06、O-07	平井 和也	P-77
B			後藤 哲也	O-06	平井 俊行	P-46
Brown, Danielle L.	LS3		Grimes, Sheila	LS2	平光 彩乃	P-38
C			Guo, Hui	P-26	平良木 肇	PD-3
菑田 慎一	P-38		Guo, Maowu	P-26	平田 暁大	P-96
Cho, Young-Man			平田 淳也			
	SY1-1、P-34、P-52				広瀬 明彦	
Cui, Tiantian	P-35				SY2-2、P-32、P-94、P-95、 P-98	
崔 宗虎	P-48		H			
D			萩原 昭裕	P-30	Hirouchi, Yasuhiko	P-26
堂口 裕士	P-36		萩原 仁美	O-09、P-46	北條 幹	P-32、P-94
土居 卓也	P-28、P-68		萩原 和美	P-48	本多 新	P-48
土井 悠子	P-24、P-25、P-30		袴田 志野婦	P-02	本田 大士	P-24
E			箱井 加津男	P-76、P-81	本多 久美	P-02
江田 景	P-73、P-79		浜村 政夫	P-80	寶来 直人	P-69
			浜崎 景	P-41	堀江 勘太	O-06
			原 明	P-96	堀川 真一	P-92
					堀内 正久	P-74
					星谷 達	P-65
					細川 暁	PD-1、O-06、O-07
					Hou, Minbo	P-35

Huang, Mingshu	P-35	K	古賀 のどか
Huang, Ruili	P-18	角 将一	P-82、P-84、P-85、P-86
Hudson, Jim	P-18	甲斐 清徳	O-05、P-02
		梶川 悟	P-69
		梶村 哲世	P-62、P-63
		梯 アンナ	
I			
衣斐 彼方	P-51、P-61		
市川 敦子	P-73、P-79	SY1-4、WS-5、O-03、P-06、	
市丸 嘉	P-12	P-27	
井口 拓馬	O-05	柿沼 千早	P-78
伊倉 佐織	P-65	鎌田 春彦	P-87、P-88、P-89
飯田 麻里	P-05	神鳥 仁志	P-50
Iigo, Masaaki	P-95、P-98	金原 智美	P-44
飯塚 生一	P-11	金子 ちひろ	P-37
池端 香織	WS-3	寒川 彰久	P-67
生嶋 清美	P-29	寒川 祐見	P-51、P-61
今井 順	P-44	菅野 純	
今井 則夫	P-24、P-25		SY2-1、P-21、P-22、P-95、
今井 俊夫	O-02、P-03		P-98
今井田 克己	P-01	菅野 剛	P-28、P-68
今村 麗		Karim, Mohammad Rabiul	
	P-82、P-83、P-84、P-85、		P-14、P-42
	P-86	櫻本 幸子	P-77
井村 奈緒子	P-37	柏木 絵美	P-71
猪又 明子	P-29、P-94	加藤 淳彦	P-60、P-90
猪又 晃	P-78	加藤 寛之	SY1-3、WS-4、P-09
井上 薫	P-33	加藤 祐樹	P-71
井上 雅己		加藤 由隆	P-13、P-31、P-47
	P-82、P-83、P-84、P-85、	河部 真弓	P-25
	P-86、P-87、P-88、P-89	川口 博明	P-74
井上 紗季	P-62、P-63	河合 裕一	
石井 真美	WS-5		P-82、P-83、P-84、P-85、
石井 雄二	P-49、P-64、P-97		P-86、P-87、P-88、P-89
伊藤 浩太	P-54	川本 泰輔	P-24
伊東 志野	P-70	剣持 明	P-78
伊藤 格	P-44	煙山 紀子	
伊藤 強	P-13、P-31、P-47		WS-3、P-10、P-43、P-45
伊藤 好文	P-46	木戸 博	SL2
伊藤 勇一	P-24	木原 亨	P-51、P-61
伊藤 優子	P-07、P-56、P-57	木島 綾希	P-49、P-64、P-97
岩崎 日向子	P-45	木嶋 恵	P-70
岩田 聖	P-62、P-63、P-92、P-93	木村 均	P-44
井澤 武史	WS-1、P-14、P-42	木村 真之	P-66
和泉 博之	P-74	Kimble, Randall J.	P-05
		木下 勇一	P-41
J		桐山 諭和	O-08、P-59
Ji, Xiaoxia	P-26	小林 亮介	P-28
金 美蘭	P-08	小林 稔秀	P-23

松本 正博	P-72	内木 綾		大谷 勝己	P-12
松村 潔	O-09		SY1-3、WS-4、P-09、P-95、	大塚 亮一	P-13
松村 奨士	P-24		P-98	大井 紗弓	P-74
松尾 沙織里	P-60	内藤 智春	P-78	大石 裕司	O-03、P-93
松下 幸平	SY1-1、P-33、P-64	中江 大		岡部 麻子	O-08
松下 宗史	P-81		WS-3、P-10、P-32、P-43、	岡野 拓	P-65
松下 智哉	P-60		P-45、P-94	岡崎 欣正	P-13、P-31、P-47
松浦 正男	P-54	中原 豊	P-72	奥野 高裕	
松浦 哲郎	WS-2	中島 康太	P-07、P-56、P-57		WS-5、O-03、P-06、P-27
McDaniel, Nellie K.	P-05	中村 賢志	O-04、P-55	鬼村 祐治	O-09
米良 幸典	P-24、P-30	中西 聡	P-48	小野 美穂子	P-69、P-72
三木 望稔里	P-87、P-88、P-89	中野(伊藤) 今日子	O-06、O-07	小野寺 章	
見鳥 光	P-69	中谷 祐樹	WS-2		P-82、P-83、P-84、P-85、
満石 三喜男	P-80	中澤 圭一	P-46		P-86、P-87、P-88、P-89
三浦 伸彦	P-12	並木 健吾	O-04、P-55、P-96	小野寺 博志	P-36
宮城 伶奈	WS-1	直田 みさき	P-36	Orbuch, Rachel A.	P-05
美谷島 克宏		成澤 裕子	P-01	大崎 奈都喜	P-87、P-88、P-89
	WS-3、P-10、P-43、P-45	成瀬 美衣	P-03	押方 孝文	P-80
宮坂 勇一郎	P-40	Nazem, Ashraf Mohamed	P-95	大嶋 成奈優	WS-2
三好 昌夫	P-60	根本 真吾	P-58	大竹 正剛	P-67
三好 智也	P-37	根小田 祐基	P-48	大塚 昭代	O-07
水田 保子	P-34、P-52	Nickel, Kwangok P.	P-05	王 蒙東	P-55
森 和彦	O-05、P-02	二井 愛介	P-70	尾崎 清和	WS-2
森 卓也	P-24	二宮 芙美子	P-76、P-81		
森川 朋美	P-33	西川 秋佳	SY1-1、P-36、P-49	P	
森尾 剛	WS-2	西村 次平	P-36	Pearson, Hannah E.	P-05
森田 文雄	P-76、P-81	能美 健彦	P-64	Pervin, Munmun	P-14、P-42
森田 修	P-24	野中 瑞穂	P-36		
守安 貴子	P-29	野々垣 常正	P-12	S	
杜 牧	P-26	則武 健一	O-07	三枝 由紀恵	P-36
村井 厚子	O-04、P-55、P-96	Numano, Takamasa	P-95、P-98	齋藤 文代	P-07
村上 純太	P-23			斎藤 翼	P-65
村上 詩歩	P-32	O		齋藤 剛	P-78
村上 智亮	P-15、P-16、P-17	落合 雅子	O-02、P-03	斉藤 義明	P-19
村瀬 詩織	P-44	緒方 敬子	P-75	酒井 洋樹	P-96
村山 宗理	P-61	小川 久美子		榭 秀之	P-58
六鹿 麻由	P-37		SY1-1、P-33、P-34、P-36、	坂本 義光	P-32、P-94
			P-49、P-52、P-64、P-97	坂岡 篤	O-09
N		小川 秀治	WS-3、P-10	桜井 淳一	P-92
長野 嘉介	P-46	Ohira, Toko	P-35	櫻井 浩平	O-08
長野 一也	SY2-3	大地 祥子	WS-1	Samuelsson, Johanna	P-18
長尾 朋美	P-48	大元 知貴		竿尾 光祐	P-01
長崎 幸夫	SY2-4		P-82、P-83、P-84、P-85、	佐々木 彩花	P-15、P-16、P-17
永田 百合子	P-23		P-86	笹谷 めぐみ	P-40
名畑 美和	P-11	大芝 泰弘	P-44	佐藤 功	P-25
		太田 恵津子	O-06、O-07	佐藤 順子	P-28
		太田 毅	P-43、P-45	佐藤 健一	P-40

佐藤 伸一	P-62、P-63、P-92	田尻 美奈子	P-71	螺良 愛郎	P-41
関 由妃	O-06、O-07	高部 浩行	P-51	土谷 稔	P-28、P-68
関根 瞳	P-11	高木 理恵	P-77	土屋 紀子	P-71
妹尾 英樹	P-21、P-22	高橋 美和	P-33、P-72	土屋 毅幸	PD-4
瀬沼 美香	P-19	高橋 尚史	P-13、P-31、P-47	土屋 卓磨	P-49
時 亮	P-49	高橋 智		津田 洋幸	O-10、P-95、P-98
斯波 真理子	P-39		SY1-3、WS-4、O-08、P-09、	塚本 徹哉	O-08、P-59
柴主 敏行	P-51		P-95、P-98	角田 聡	P-36
柴田 映子	P-39	Taquahashi, Yuhji	P-95、P-98	角田 慎一	
柴田 雅朗	P-39	高井 有一	P-50		P-82、P-83、P-84、P-85、
柴田 昌利	P-67	谷本 昭英	P-74		P-86、P-87、P-88、P-89
渋谷 淳		田上 暁之	O-09	堤 康央	
	PD-2、P-07、P-56、P-57、	高信 健司	P-21、P-22		SY2-3、P-87、P-88、P-89
	P-61	高瀬 弘嗣	P-95、P-98		
志賀 敦史	P-13、P-31、P-47	高須 伸二	P-49、P-64、P-97	U	
清水 茂一	P-73、P-79	武田 宏司	P-11	打屋 尚章	O-02
下井 昭仁	P-62、P-92	武田 眞記夫	P-13	宇田 一成	P-30
下井 明仁	P-63	武田 周二	P-75	上野 元伸	P-71
下間 由佳子	P-75	武井 由弘	P-62、P-63	梅田 ゆみ	P-21、P-22
下内 孝司	O-04、P-55	竹之内 明子	P-41	梅村 隆志	
篠田 和俊	P-36	武田 賢和	O-06、O-07		P-49、P-53、P-64、P-97
篠原 雅巳	P-43、P-45	竹内 和也	P-66	宇野 絹子	
篠塚 淳子	P-60	瀧本 憲史	O-04		WS-3、P-10、P-43、P-45
Shirai, Norimitsu	P-91	田中 英樹	P-76、P-81	牛飼 美晴	P-74
曾根 瑞季	SY1-1	田中 美有	P-48		
園田 二郎	O-07	田中 豊人	P-29	V	
須藤 柚稀子	O-02	唐 倩	P-08	Voigt, Birger	P-48
末廣 美紀	P-70	谷川 千明			
杉山 晶彦	P-38		P-82、P-83、P-84、P-85、	W	
杉山 大揮	P-30		P-86	涌生 ゆみ	P-68
勝呂 繭子	P-25	谷口 健治	P-90	王 剣	P-08
酒々井 眞澄		田崎 雅子	P-46	王 自力	P-08
	O-01、O-10、P-04、P-12	張 舜恵	WS-3、P-10、P-43、P-45	鰐淵 英機	
鈴木 勇	P-65	寺本 篤司	P-59		SY1-4、WS-5、O-03、P-06、
鈴木 和彦	P-15、P-16、P-17	寺尾 壽子	O-09		P-27
鈴木 雅実	P-60、P-90	寺山 由依	WS-2	渡邊 厚	WS-3、P-10
鈴木 智	P-76、P-81	柄内 亮太	P-23	渡辺 敦光	P-40
鈴木 志野	P-77	等々力 舞	P-19	渡辺 純	P-62、P-63
鈴木 周五		富樫 裕子	P-37	渡辺 武志	P-50
	SY1-3、WS-4、O-08、P-09	富川 恵美	P-37	渡部 優子	P-47
鈴木 倫	P-23	富田 弘之	P-96	Wheeler, Deric L.	P-05
鈴木 俊也	P-29、P-94	友成 由紀	P-28	Willard-Mack, Cynthia	LS1
T		殿村 優	P-71		
橘 亮磨	P-48	鳥井 幹則	P-71	X	
多田 幸恵	P-29	豊田 武士	SY1-1、P-33、P-52	Xia, Menghang	P-18
田食 里沙子	P-47	Trinklein, Nathan	P-18		
		坪田 健次郎	P-72		

Y

山田 直明	P-68
山田 貴宣	P-33
山際 高史	WS-2
山際 慶典	P-58
山口 悟	P-13
山口 裕子	P-65
山川 けいこ	P-01
山本 宏美	P-76、P-81
山本 行男	P-32
山崎 賢一	P-48
山下 卓也	WS-3
山手 丈至	WS-1、P-14、P-42
山内 敦子	P-78
矢守 凜	P-15、P-16、P-17
Yan, Jianyan	P-35
柳 浩由紀	O-04、P-55
柳澤 幸宏	O-04
柳井 徳磨	P-96
八尾 隆	P-78
安野 恭平	O-05、P-02
屋山 勝俊	P-82、P-83、P-84、P-85、 P-86
横平 政直	SY1-2、P-01
横尾 諭	P-55
横山 聖	P-82、P-83、P-84、P-85
米沢 理人	P-18
吉田 緑	P-53
吉田 翔太	P-01、P-76、P-81
吉田 敏則	P-07、P-13、P-56、P-57、 P-61
吉川 哲也	P-74
吉見 直己	O-01、P-04
吉岡 弘毅	P-12
義澤 克彦	P-41
吉栖 正生	P-40
行松 直	P-27
柚川 藍色	P-74

Z

Zhang, Weijuan	P-26
Zhang, Yuexiang	P-26
張 梅	P-08

HITACHI
Inspire the Next

Hitachi Tabletop SEM

**WE STAND
BY YOU**

Miniscope® TM4000 Series

未来を見るキカイ

卓上SEMの次の未来が、もうすぐそばに。

日立のコンパクト&パワフルSEMは、あなたのそばで、あなたの研究や仕事をささえます。もっと高画質に、もっと使いやすく、見やすく。

観察ニーズの“もっと”にお応えする最新テクノロジーを搭載したTM4000シリーズ。卓上SEMの世界を拡げ、さらなるイノベーション創出をお手伝いします。



Science for
a better tomorrow



1 さらなる高画質を実現
新設計の電子光学系搭載

2 設置場所を選ばない
オイルフリーの排気系採用

3 直感的な操作
目的のデータをレポート作成まで支援

※SEM：Scanning Electron Microscope ※画像はオプション付きです。



日立ハイテク "SI NEWS" 公式Facebookページ
<https://www.facebook.com/HitachiHighTechnologies.SINEWS>



一般ブラウザ



Facebookアプリ

SI NEWSは、弊社製品を使用した社内外の研究論文を中心に、先端の研究動向・技術情報をご紹介します技術機関誌です。Facebookページでは、本誌内容を中心に、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

科学・医用システム事業統括本部

〒105-8717 東京都港区西新橋 1-24-14


お客様サポートセンタ 電話 (03) 3504-6111

URL <http://www.hitachi-hightech.com/jp/tm/>

N 中頭病院

〒904-2195 沖縄市字登川610番地
☎(098)939-1300(代)



 **ちばなクリニック**
Chibana Clinic
〒904-2143 沖縄市知花6丁目25番15号
☎(098)939-1301(代)



沖縄がん診断センター(ちばなクリニック2階) ☎(098)939-1302(直)
健康管理センター(ちばなクリニック4階) ☎(098)939-5477(直)
居宅介護支援事業所 **なかがみ** ☎(098)939-2434(直)
訪問看護ステーション **なかがみ** ☎(098)939-1638(直)

SNBL

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.co.jp>

E-mail: 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

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

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

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

沖縄産の
確かな素材から
健康食品を
お届けします。



【長寿の島・沖縄の豊富な健康食品素材】

- 沖縄モズク由来フコイダン ●ウコン各種(熱帯ウコン、春ウコン、秋ウコン、紫ウコン)
- 長命草 ●ノニ ●ゴーヤー(ニガウリ) ●クミスクチン ●青パパイヤ・・・など。

※原料販売・OEM受託製造も行っています。



金秀バイオ株式会社

〒901-0306 沖縄県糸満市西崎町5丁目2番地2

TEL.(098)994-1001 FAX.(098)994-0636 <http://www.kanehide-bio.co.jp>



OLYMPUS[®]

Your Vision Our Future

システム生物顕微鏡 BX53

NEW

新開発の高輝度・高演色 LED 光源を搭載
光源 LED 化(長寿命 50,000時間)による
病理観察のユーティリティ向上

一般白色LED光源の お困りごと

ハロゲンランプ光源と違って標本の色が黄色かったり、青色が強く見える。

アミロイド標本(偏光観察)の見えが暗い。
大人数のディスカッションでは光量が足りない。

高演色
LED

高輝度
LED

新開発の高輝度・高演色LED光源が お困りごとを解決します

新開発のLED光源はハロゲンランプ光源と同様の色合いを再現しています。

明るいLED 光源により、アミロイド標本を明るく観察できます。
さらに新開発のマルチディスカッションシステムを用いれば最大26名*の観察が可能になります。

*26人のディスカッションは明視野のみの対応



株式会社中央医療器

ALL KIND OF MEDICAL INSTRUMENT

ライフサイエンスグループ

TEL(098)888-0070



すぐそばにある安心と信頼を
私達は提供し続けます…

【営業種目】 病理組織検査 / 細胞診検査 / 研究開発

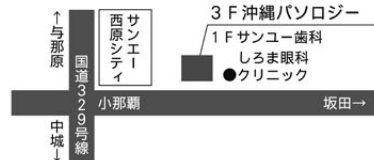


Okinawa Pathology

株式会社 沖縄パソロジー

代表取締役 城間 学

〒903-0122 沖縄県中頭郡西原町小橋川154-5 タマナハビル3階
TEL/FAX(098)946-6426 E-mail: tonaki1013@gmail.com



食

を考える!

主催：第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会

2018年

日時

1月26日(金)

18:15～19:45 (開場17:45)

会場

沖縄県立博物館・美術館 講堂
(那覇市おもろまち3丁目1番1号)

プログラム

司会

吉見 直己

(第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会 学会長)
(琉球大学大学院医学研究科腫瘍病理学講座 教授)

開会の挨拶

中江 大 先生

(日本毒性病理学会 理事長)
(東京農業大学食品安全健康学科 教授)

講演1

「食物アレルギーについて」

木戸 博 先生

(徳島大学先端酵素学研究所 特任教授)

講演2

「カフェインについて」

吉田 緑 先生

(内閣府食品安全委員会 委員)

質疑応答・閉会の挨拶

共催：日本毒性病理学会/内閣府食品安全委員会
後援：沖縄県医師会/沖縄県教育委員会/琉球大学/琉球大学後援財団

お問い合わせ：【第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会】
〒903-0215 沖縄県中頭郡西原町字上原207番地
琉球大学大学院医学研究科腫瘍病理学講座 (担当：高松)
TEL: 098-895-1120 FAX: 098-895-1406

入場
無料

直接会場にお越しください

定員200名

市民公開講座

