

第35回 The 35th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

日本毒性病理学会総会 及び学術集会 講演要旨集

テーマ: 医学・生物学の進歩と毒性病理

Advances in Medical and Biological Science Applied for Toxicologic Pathology

会 期

2019年 | 月31日(木)・2月1日(金)

会 場

東京都江戸川区

タワーホール船堀

年会長

鈴木 雅実

(中外製薬株式会社 研究本部)

第35回日本毒性病理学会総会及び学術集会

目 次

第35回日本毒性病理学会総会及び学術集会概要	3
年会長挨拶	5
会場へのアクセス	7
会場案内	8
ポスター・商業展示	10
参加者へのご案内	11
座長の先生方へ	14
発表者の先生方へ	14
協賛法人・企業一覧	16
日本毒性病理学会のあゆみ	17
日程表	18
司会・座長一覧	20
プログラム	
特別講演	22
シンポジウム	23
ワークショップ	24
IATP セミナー	24
一般口演	25
ポスター	26
講演要旨	
特別講演	39
シンポジウム	41
ワークショップ	46
IATP セミナー	50
一般口演	51
ポスター	59
発表者索引	198

第35回日本毒性病理学会総会及び学術集会

The 35th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

1. 期 日 2019年1月31日(木)・2月1日(金)
2. 会 場 タワーホール船堀 (東京)
〒134-0091 東京都江戸川区船堀 4-1-1
Tel: 03-5676-2211
3. テーマ 医学・生物学の進歩と毒性病理
4. 年会長 鈴木 雅実
(中外製薬株式会社 研究本部)
5. プログラム委員会
委員長 小川久美子 (国立医薬品食品衛生研究所)
委 員 岩田 聖 (ルナパス合同会社)
甲斐 清徳 (第一三共株式会社)
渋谷 淳 (東京農工大学大学院)
高橋 智 (名古屋市立大学大学院)
田中 雅治 (一般財団法人バイオインダストリー協会)
藤原 利久 (株式会社新日本科学)
古川 賢 (日産化学株式会社)
星谷 達 (株式会社ボゾリサーチセンター)
義澤 克彦 (武庫川女子大学)
(50音順)
6. 事務局
【会期前】 株式会社未来創薬研究所
〒153-8904 東京都目黒区駒場 4-6-1
東京大学駒場オープンラボラトリー
Tel: 03-5452-5726 Fax: 03-5452-5772
Email: jstp35@chugai-pharm.co.jp
【会期中】 2019年1月31日・2月1日
タワーホール船堀 (東京)
Tel: 03-5676-2211
7. 事務局補佐
株式会社アイベック
〒170-0002 東京都豊島区巢鴨 1-24-12
Tel: 03-5978-4067 Fax: 03-5978-4068
E-mail: jstp35ip@ipec-pub.co.jp
8. ホームページ <http://www.ipec-pub.co.jp/35jstp/>

年会長挨拶

第35回日本毒性病理学会総会及び学術集会の会長を務めます、中外製薬・研究本部の鈴木雅実です。本学会総会・学術集会は2019年1月31日（木）・2月1日（金）の2日間、タワーホール船堀（東京都江戸川区）にて開催します。また、1月30日（水）には、スライドカンファレンス、ならびに、日本毒性病理学専門家認定試験における問題解説を開催します。

毒性病理学では、医薬品、農薬、環境物質など様々な化学物質により惹起される病態と、その発現機序を病理学的に解明し、化学物質のヒトへの影響を評価しています。その利点は、比較的簡便な手法で、全身の臓器・組織・細胞を観察・評価することができ、永年培われてきた学問体系を理解・利用することで、病態の原因、経過、発生機序、全身への影響等を推測することができることだと思います。一方、病変の強さ、拡がり等を定量的に解析することは難しく、また、病態の原因、発現機序などの推測は可能であるものの、結論を導くことが難しいという欠点もあります。

近年、遺伝子発現解析、タンパク質発現解析の進歩により、組織・細胞の変化を分子生物学的視点から解析・理解できるようになりました。さらに、ゲノム編集技術の発達により、遺伝子ならびタンパク質発現を人工的に制御し、組織・細胞の病理形態的变化と分子生物学的変動との関連を追及することができるようになりました。また、イメージング技術の進歩により、スナップショットの病理組織像の意味を、時空間的な組織・細胞の変化として解釈できるようになりつつあります。このような、「医学・生物学の進歩」を、「毒性病理」研究で利用していくことは、永年培われてきた毒性病理の学問体系に磨きをかけるとともに、病理学的変化の解釈に新たな視点を加え、毒性病理学的研究手法の弱点とされる部分を克服していくものと期待しています。そこで今回の学術集会のテーマを「医学・生物学の進歩と毒性病理」としました。遺伝子発現解析、イメージングなど第一線でご活躍されている先生方による特別講演・教育講演・シンポジウムなどを計画しており、今後の毒性病理学を発展させる原動力のひとつになればこの上ない喜びです。

最後に、本学会総会・学術集会にご参加いただきました会員の皆様が、それぞれ将来の毒性病理学の発展に夢と使命を見出せるような、楽しく意見交換と交流を行う場にしていきたいと考えています。多くの皆様方のご参加を心よりお待ちしております。

第35回日本毒性病理学会総会及び学術集会

年会長 鈴木雅実

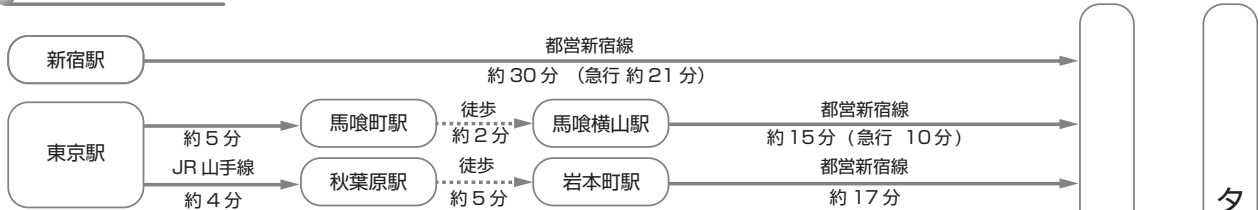
中外製薬株式会社 研究本部

会場へのアクセス

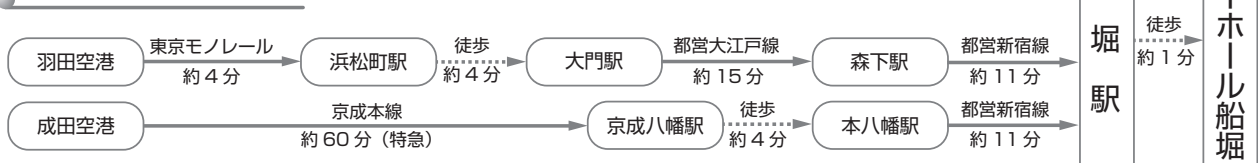
タワーホール船堀は都営新宿線「船堀」駅前、徒歩1分です。

会場へは、公共の交通機関をご利用ください。

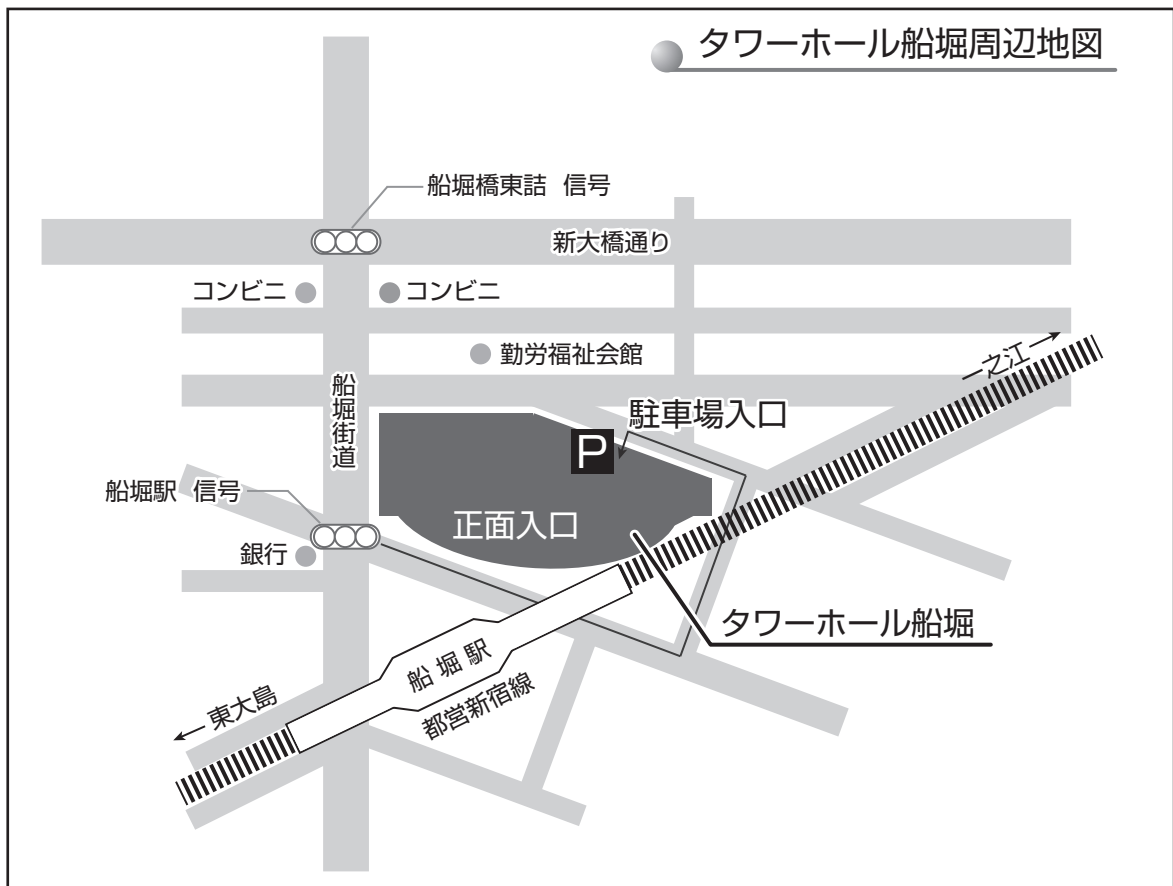
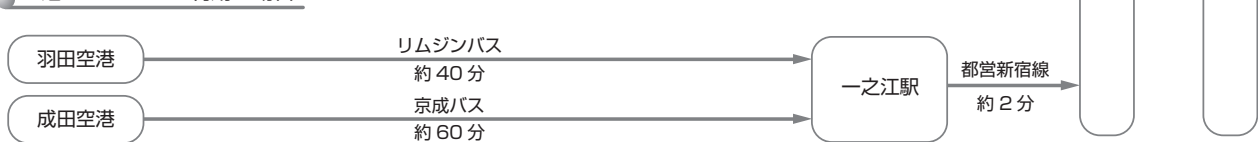
● 電車をご利用の場合



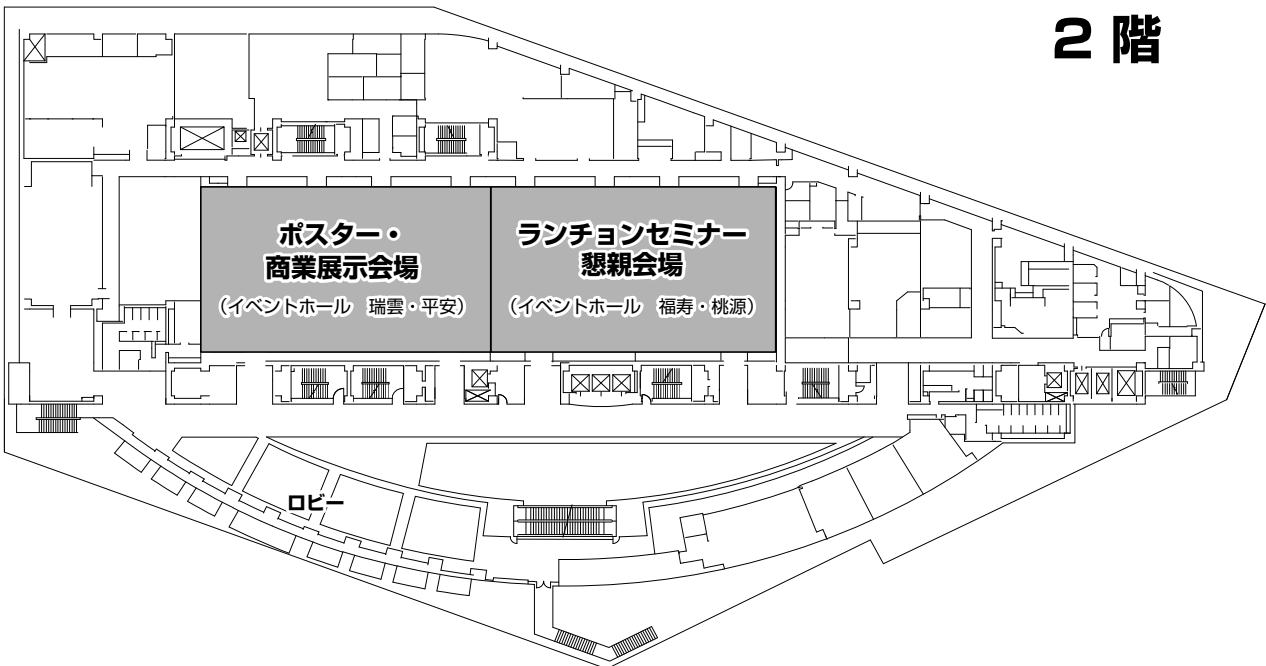
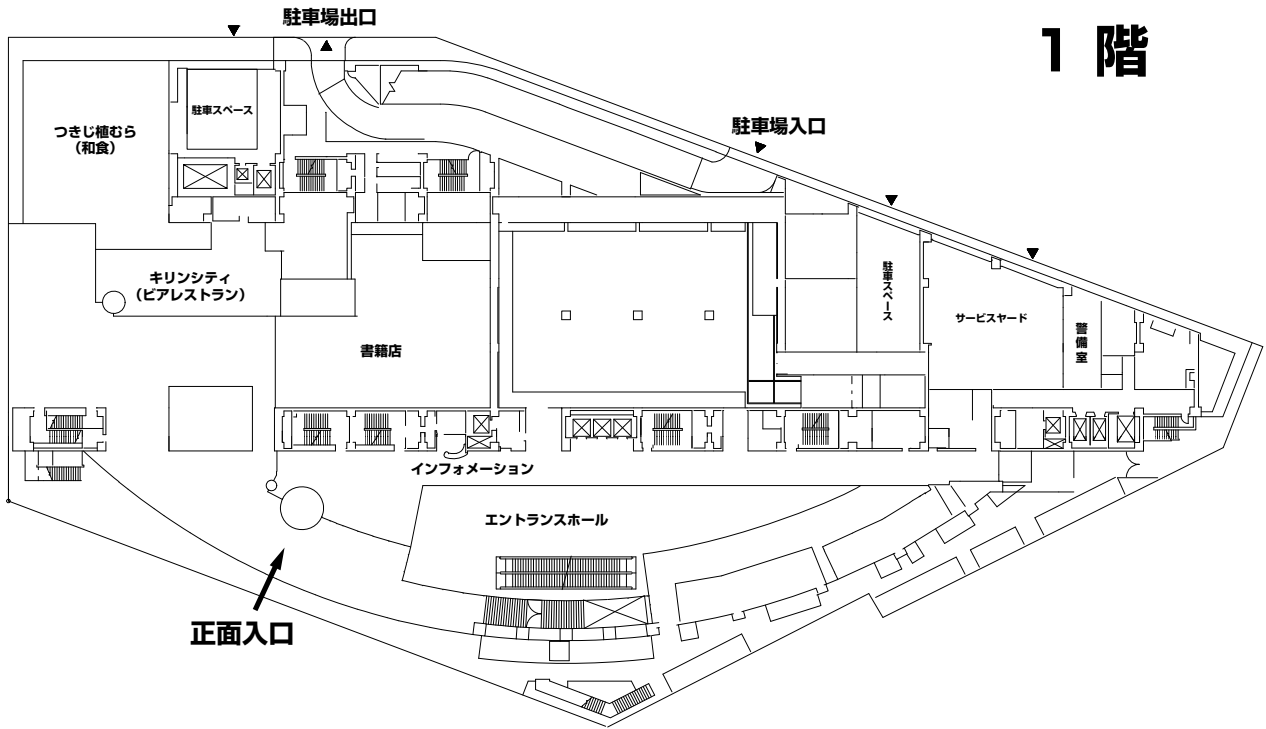
● 空港から電車をご利用の場合



● 空港からバスをご利用の場合

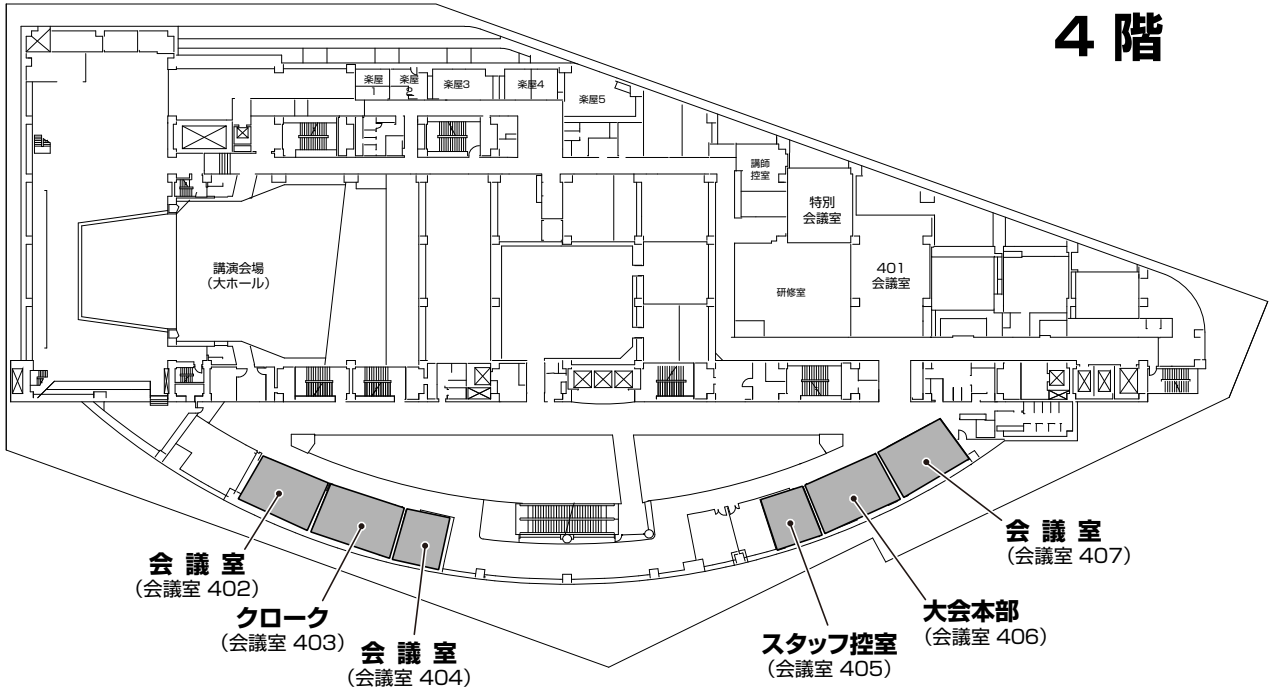


会場案内

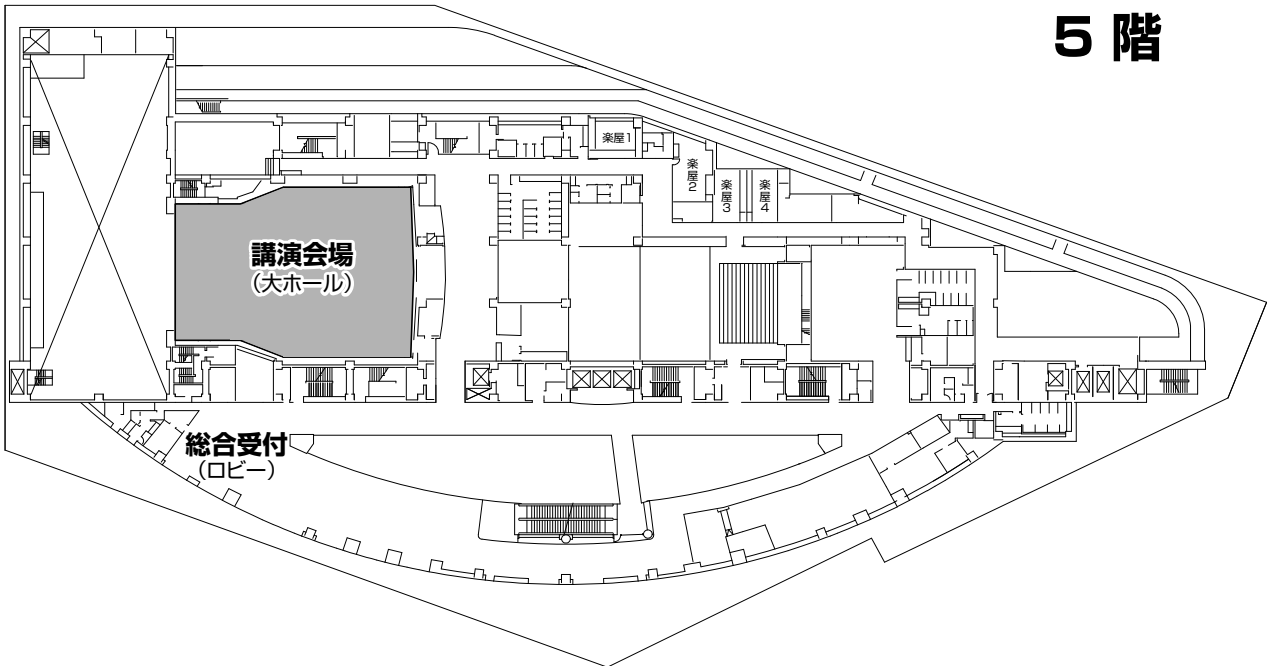


会場案内

4 階

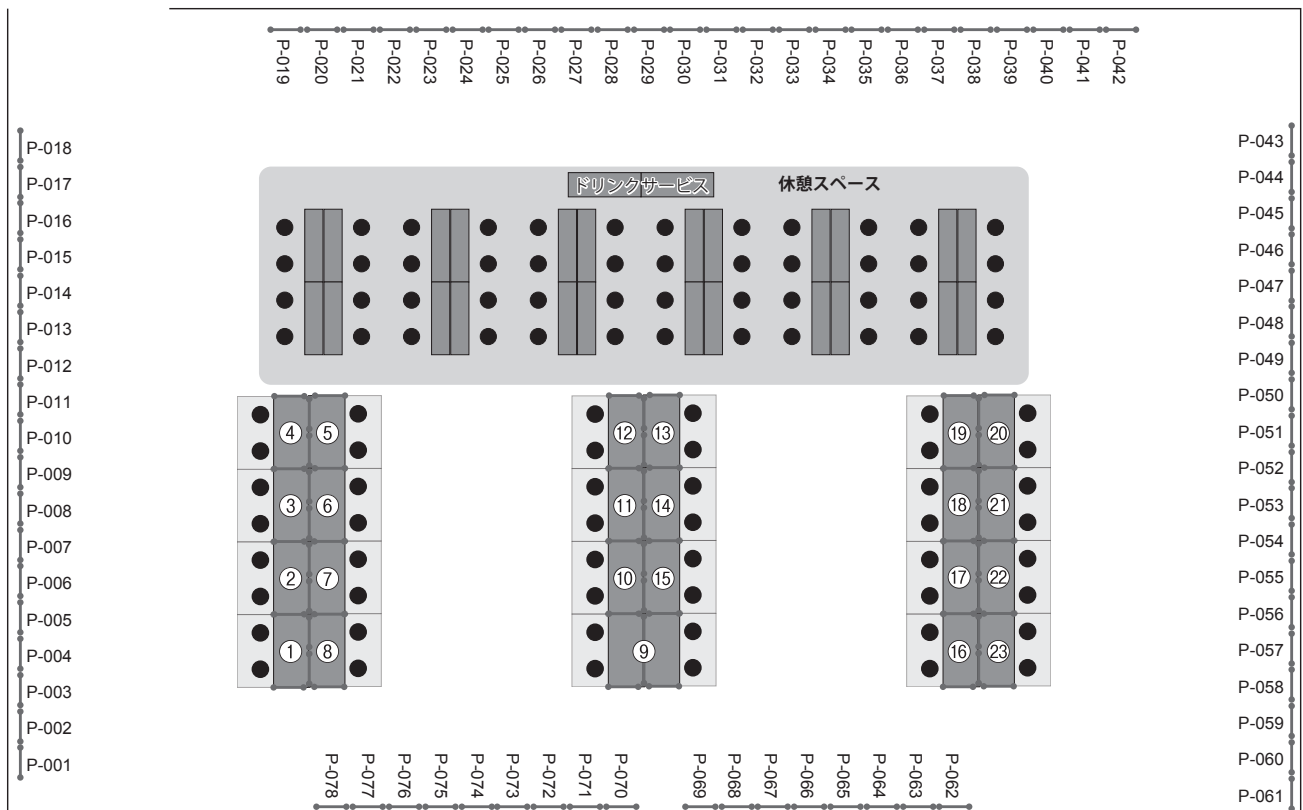
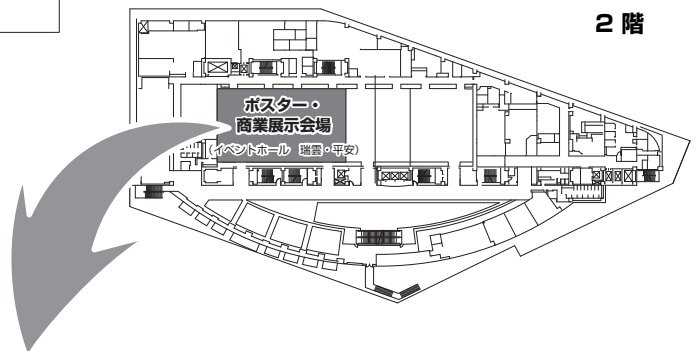


5 階



ポスター・商業展示

ブース番号	企業名	ブース番号	企業名
1	株式会社ボゾリサーチセンター	13	日本毒性病理学会
2	株式会社鎌倉テクノサイエンス	14	実験病理組織技術研究会
3	株式会社DIMS 医科学研究所	15	日本エスエルシー株式会社
4	株式会社フィリップス・ジャパン	16	株式会社新日本科学
5	株式会社ニコインステック	17	株式会社池田理化
6	株式会社安評センター	18	株式会社ビジコムジャパン
7	日研ザイル株式会社	19	オリンパス株式会社
8	AnaPath/Safety Alliance	20	浜松ホトニクス株式会社
9	PDS パソロジー・データシステムズ・リミテッド	21	サクラファインテックジャパン株式会社
10	株式会社イナリサーチ	22	株式会社新組織科学研究所
11	インディカ・ラボ	23	Charles River
12	富士通株式会社		



参加者へのご案内

●参加者の方へ

1. 総合受付は5階ロビーにて行います。受付時間は下記のとおりです。

1月31日（木）9：00～18：00

2月 1日（金）8：45～15：00

2. 事前登録者はあらかじめ講演要旨集とともに送付された参加証（ネームカード）を持参し、会期中は必ず着用ください。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。なお、ネームホルダーは大会終了後に総合受付までご返却くださいますよう、お願いします。

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、会期中は必ず身につけてください。

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

4. 講演要旨集は事前に郵送いたしますので、忘れずにご持参ください。
お忘れの場合は一般会員・学生会員：2,000円、非会員：5,000円での販売となります。
5. 質問・討論される方は、マイクの前に並んだ上、座長の指示に従って所属と氏名を述べてから発言してください。
6. 館内はすべて禁煙です。
7. 場内では携帯電話の電源をOFFまたはマナーモードにしてください。
8. ドリンクコーナー・休憩所（2階ポスター・商業展示会場）でドリンクを無料配布します。休憩の際、ご利用ください。また、無線LANによるインターネット接続をご提供しますのでご利用ください。
9. 昼食はランチョンセミナー、あるいは会場1階・7階のレストランなどをご利用ください。
10. クロークは4階（会議室403）にあります。
受付時間は下記のとおりです。

1月31日（木）9：00～18：30

2月 1日（金）8：45～18：30

懇親会の際には懇親会会場（福寿・桃源）のクロークをご利用ください。学術集会のクロークは18：30で終了とさせていただきますので、お預けになったお荷物は必ず18：30までにお受け取りください。

11. 会場内での呼び出しは緊急時以外にはいたしませんのでご了承ください。5階 総合受付前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。

●評議員会及び総会のご案内

日本毒性病理学会 会員各位

拝啓

新春の候 ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

さて、第35回日本毒性病理学会では、通例に従って評議員会及び総会を合同で下記のとおり開催いたします。

本会議は、活動報告と次年度計画をご承認いただく重要な会議となりますので、ご出席の程何卒よろしくお願い申し上げます。

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：2019年2月1日（金）16：10～18：10

会 場：講演会場（5F 大ホール）

- 主な議題：
- ・2018年度活動報告及び決算報告
 - ・役員選出結果と新体制
 - ・2019年度活動計画及び予算
 - ・功労会員・評議員の推薦
 - ・2021年度年会長選出
 - ・その他

講演会場（5F 大ホール）



●ランチョンセミナーのご案内

1月31日(木)・2月1日(金) 両日ともに、2階 イベントホール(福寿・桃源)にてランチョンセミナーを行います。チケットは、5階 総合受付の前にて配布します。配布時間は下記のとおりです。

1月31日(木) 9:00

2月 1日(金) 8:50

ランチョンセミナー L1

1月31日(木) 12:05 ~ 13:00 2階 イベントホール 福寿

BIA 10-2474 – Preclinical study data, safety evaluation, pharmacokinetic and pharmacodynamic studies

演 者: Klaus Weber (AnaPath GmbH)

座 長: 岡崎 欣正 (AnaPath GmbH)

共 催: AnaPath/Safety Alliance

ランチョンセミナー L2

1月31日(木) 12:05 ~ 13:00 2階 イベントホール 桃源

病理組織学所見における Adversity の考え方と具体例

演 者: 西川 秋佳 (済生会宇都宮病院病理診断科 主任診療科長,
前 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長)

座 長: 三森 国敏 (東京農工大学 名誉教授)

共 催: 株式会社ボゾリサーチセンター

ランチョンセミナー L3

2月1日(金) 12:05 ~ 13:00 2階 イベントホール 福寿

NOD/Shi-scid, IL-2R γ KO (NOG) マウスの背景データ

演 者: 小林 欣滋 (株式会社新日本科学)

座 長: 平川 公昭 (株式会社新日本科学)

共 催: 株式会社新日本科学

ランチョンセミナー L4

2月1日(金) 12:05 ~ 13:00 2階 イベントホール 桃源

Immunohistochemical Investigations of Biopharmaceutical Distribution, Immunogenicity and Immune Complex Findings

演 者: Kevin S. McDorman, DVM, PhD, Diplomate, ACVP
(Corporate Vice President, Global Pathology Services, Charles River)

共 催: Charles River

●懇親会のご案内

1. 懇親会は1月31日(木) 18:30から2階 イベントホール(福寿・桃源)にて開催します。
2. 事前登録制ですが、総合受付にて若干名を懇親会費9,000円(学生7,000円)で申し受けます。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。

●座長の先生方へ

■特別講演・シンポジウム・ワークショップ・IATPセミナー・一般口演の座長の先生方へ

1. ご担当セッション開始時間の遅くとも20分前までには、口演座長受付にお越しください。
2. セッション開始10分前には、会場内の次座長席にご着席ください。

■ポスター発表の座長の先生方へ

1. ご担当セッション開始時間の遅くとも10分前までには、ポスター受付にお越しください。指示棒、リボンをお渡しします。討論時には参加証（ネームカード）の他に、リボンを必ず着用ください。セッション終了後、指示棒は必ずご返却ください。

●発表者の先生方へ

■利益相反について

発表者の皆様は可能な限りCOI（利益相反）の開示をお願いいたします。企業に所属の場合は別企業とCOI状態にある場合に開示してください。

口演発表者は発表スライドの2枚目（表題の次のスライド）に、ポスター発表者は一番最後に記載してください。

Sample1

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

Sample2

<p style="text-align: center;">COI Disclosure Information Hanako Dokusei</p> <p style="text-align: center;">In connection with the presentation, we disclose COI with following companies.</p> <p style="text-align: center;">本演題に関連して開示すべき利益相反は以下の通りです。</p> <p>Executive / Advisory Position: (〇〇Company)</p> <p>Funded research / Collaborative research: (〇〇Company)</p> <p>Lecture Honorariums, etc.: (〇〇Company)</p>

■特別講演・シンポジウム・ワークショップ・IATPセミナー・一般口演の発表者の先生方へ

1. 発表時間の遅くとも30分前までに、口演発表受付にお越しいただき、発表データを提出（USBメモリ）してください。動作確認を行っていただきます。
特別講演、シンポジウム、ワークショップ、IATPセミナーのご講演の先生で、パソコンをお持ち込みの場合は、ミニD-Sub15ピンの端子が必要となりますので、変換コネクター等をご準備ください。
2. 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。
3. 発表は、演壇におかれたパソコン画面を見ながら、ご自身で画面操作をしてください。
4. 前演者の発表が始まりましたら、次演者席にお着きください。
5. 発表データは、会場のパソコン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。

プレゼンテーションデータ作成時の注意

- 環境の違いにより、画面レイアウトが乱れるなどの不具合が発生する可能性があります。
会場のパソコン使用環境は以下の通りですので、ご注意ください。
パソコン : Windows PC (Macintoshは用意しておりません)
OS : Windows 7
解像度 : XGA (1024 × 768)
プレゼンテーション用ソフト : PowerPoint 2010 / 2013 / 2016
フォント : OS (Windows7) 標準
- USBメモリに保存してご提出ください。

■一般口演発表をされる先生方へ

発表時間は、講演時間8分、質疑4分となります。

■ポスター発表をされる先生方へ

1. ポスター発表・貼付・撤去時間

貼付時間 1月31日(木) 9:00～10:00

※1月31日(木) 10:00までに、2階ポスター・商業展示会場のポスター受付にて受付を行ってください。

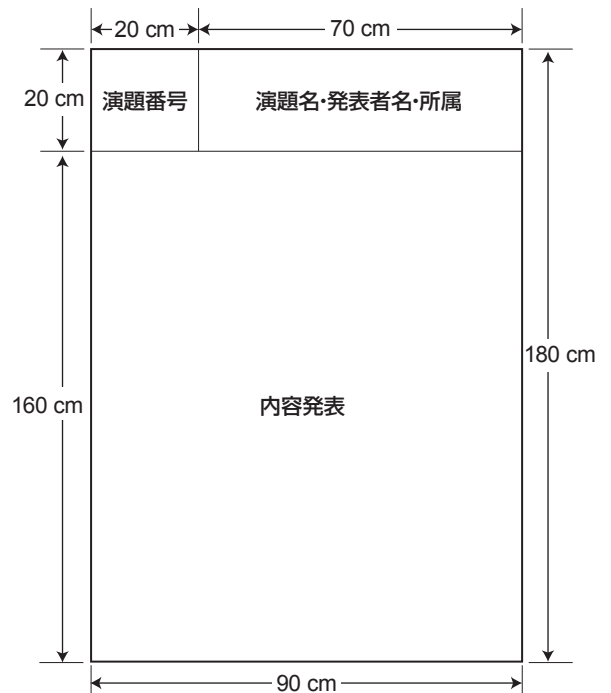
撤去時間 2月1日(金) 16:00～17:00

※発表者用リボン、ピンは元の位置に返却してください。

時間までに撤去されないポスターは事務局で処分いたします。

発表日時	コアタイム
1月31日(木)	17:20～18:10
2月1日(金)	15:10～16:00

- 各パネルの前に掲示用のピンと発表者用のリボンをご用意しますので、ご使用ください。また、コアタイムには参加証(ネームカード)のほかに、このリボンを必ず着用してください。
- パネルのサイズは縦180cm×横90cmです。演題番号については主催者側で用意いたします。演題名と発表者氏名・所属の表題を下記の図に従ってご準備ください。
- 発表は、1演題あたり発表5分、質疑5分で行います。発表者は、座長の指示に従って要約発表・討論をお願いします。発表時間は厳守してください。



協賛法人・企業一覧

第35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感謝申し上げます。

第35回日本毒性病理学会総会及び学術集会
年会長 鈴木雅実

■ 学会後援

日本毒性学会 (JSOT)
日本獣医病理学専門家協会 (JCVP)
実験病理組織技術研究会

■ 寄付

旭化成ファーマ株式会社
味の素株式会社
アステラス製薬株式会社
エーザイ株式会社
株式会社L S I メディエンス
小野薬品工業株式会社
杏林製薬株式会社
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
株式会社ジェネティックラボ
塩野義製薬株式会社
株式会社新日本科学
住友化学株式会社
生化学工業株式会社
第一三共株式会社
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
田辺三菱製薬株式会社
中外製薬株式会社
帝人ファーマ株式会社
日産化学株式会社
日本香料工業会
日本たばこ産業株式会社
株式会社バイオテック・ラボ
株式会社バイオ病理研究所
ファイザー株式会社
Meiji Seika ファルマ株式会社

■ HP バナー広告

理科研株式会社

■ ランチョンセミナー

AnaPath / Safety Alliance
株式会社新日本科学
Charles River
株式会社ボゾリサーチセンター

■ 商業展示

AnaPath / Safety Alliance
株式会社安評センター
株式会社池田理化
株式会社イナリサーチ
インディカ・ラボ
オリンパス株式会社
株式会社鎌倉テクノサイエンス
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
株式会社新組織科学研究所
株式会社新日本科学
Charles River
株式会社 DIMS 医科学研究所
株式会社ニコインステック
日研ザイル株式会社
日本エスエルシー株式会社
浜松ホトニクス株式会社
PDS パソロジー・データシステムズ・リミテッド
株式会社ビジコムジャパン
株式会社フィリップス・ジャパン
富士通株式会社
株式会社ボゾリサーチセンター

■ 広告

アルテア技研株式会社
インビボサイエンス株式会社
株式会社新日本科学
株式会社バイオ病理研究所

(50音順)

日本毒性病理学会のあゆみ

回	開催地	会 長 (所 属)	会 期	特別講演	シンポジウム ワークショップ その他	一般 演題
1	東 京	西山 保一 (北里学園)	1985. 3. 25	2	0	0
2	東 京	藤原 公策 (東京大学)	1986. 2. 7-8	1	5	29
3	名古屋	伊東 信行 (名古屋市立大学)	1987. 2. 6-7	1	8	47
4	浜 松	榎本 眞 (安評センター)	1988. 2. 5-6	1	7	55
5	横 浜	蟹澤 成好 (横浜市立大学)	1989. 1. 27-28	1	6	53
6	札 幌	板倉 智敏 (北海道大学)	1990. 2. 13-14	1	6	80
7	東 京	林 裕造 (国立衛試)	1991. 1. 17-18	1	20	53
8	奈 良	小西 陽一 (奈良医科大学)	1992. 1. 23-24	1	19	71
9	東 京	土井 邦雄 (東京大学)	1993. 1. 21-22	2	4	126
10	広 島	伊藤 明弘 (広島大学)	1994. 1. 27-29	1	18	136
11	大 阪	佐久間貞重 (大阪府立大学)	1995. 1. 26-27	2	10	151
12	東 京	高橋 道人 (国立衛試)	1996. 1. 24-25	0	16	147
13	鳥 取	梅村 孝司 (鳥取大学)	1997. 1. 23-24	1	11	151
14	東 京	前川 昭彦 (佐々木研)	1998. 2. 3-4	1	9	143
15	水 戸	真板 敬三 (残農研)	1999. 1. 28-29	0	7	142
16	岐 阜	森 秀樹 (岐阜大学)	2000. 1. 26-27	1	12	125
17	淡 路	奈良間 功 (摂南大学)	2001. 1. 25-26	1	10	146
18	東 京	津田 洋幸 (国立がんセンター)	2002. 1. 24-25	0	2	119
19	東 京	布谷 鉄夫 (日生研)	2003. 1. 23-24	1	5	102
20	神 戸*	福島 昭治 (大阪市立大学)	2004. 2. 15-18	2	31	172
21	浜 松	今井 清 (安評センター)	2005. 1. 20-21	1	23	100
22	鹿児島	吉田 浩己 (鹿児島大学)	2006. 1. 26-27	1	15	109
23	東 京	三森 国敏 (東京農工大学)	2007. 1. 30-31	0	15	107
24	名古屋	白井 智之 (名古屋市立大学)	2008. 2. 6-7	1	13	106
25	浜 松	真鍋 淳 (第一三共(株))	2009. 1. 27-28	2	17	124
26	金 沢	田中 卓二 (金沢医科大学)	2010. 2. 3-4	2	10	125
27	大 阪	大石 裕司 (アステラス製薬(株))	2011. 1. 27-28	2	13	144
28	東 京	西川 秋佳 (国立衛研)	2012. 2. 2-3	2	21	108
29	つくば	原田 孝則 (残農研)	2013. 1. 31-2. 1	1	8	107
30	徳 島	泉 啓介 (徳島大学)	2014. 1. 30-31	2	15	114
31	東 京	中山 裕之 (東京大学)	2015. 1. 29-30	1	11	96
32	香 川	今井田克己 (香川大学)	2016. 1. 28-29	2	13	101
33	大 阪	山手 丈至 (大阪府立大学)	2017. 1. 26-27	1	22	83
34	沖 縄	吉見 直己 (琉球大学)	2018. 1. 25-26	2	17	108
35	東 京	鈴木 雅実 (中外製薬(株))	2019. 1. 31-2. 1	2	18	87

*Joint international meeting of JSTP/IFSTP

日 程 表

	1月30日 (水曜日)		1月31日 (木曜日)		
	講演会場	懇親会・ 各種会議室	講演会場	ポスター・ 商業展示会場	ランチョン・ 懇親会
8:45					
9:00			受付開始 9:00～	ポスター貼付 9:00～10:00	
10:00			開会式 9:55～	ポスター閲覧 / 商業展示	
11:00			一般演題講演 10:00～11:50		
12:00					
13:00	第31回 スライド カンファランス 12:30～17:30	編集委員会 12:00～13:30 (2F: 桃源)			ランチョンセミナー 12:05～13:00
14:00		教育委員会 13:45～14:45 (会議室 402)	シンポジウム 1 13:10～15:10		
15:00			特別講演 1 15:15～16:15		
16:00		理事会 15:00～18:00 (会議室 402)	IATP セミナー 16:20～17:10		
17:00					
18:00				ポスター発表I 17:20～18:10	
19:00	試験問題解説 18:00～19:00				懇親会 18:30～20:30
20:00		President's Meeting 19:00～20:00			
21:00					

日 程 表

2月1日(金曜日)				
	講演会場	ポスター・商業 展示会場	ランチョン	各種会議
8:45	受付開始 8:45~			
9:00				
10:00	シンポジウム 2 9:00 ~ 10:50			
11:00	特別講演 2 10:55 ~ 11:55			
12:00		ポスター閲覧 / 商業展示	ランチョンセミナー 12:05 ~ 13:00	国際用語委員会 12:00 ~ 13:00 (会議室 402)
13:00				
14:00	ワークショップ 13:10 ~ 15:00			
15:00				
16:00		ポスター発表II 15:10 ~ 16:00		
17:00	総会 16:10 ~ 18:10	ポスター撤去 16:00 ~ 17:00		
18:00				
19:00				
20:00				
21:00				

司会・座長一覧

セッション名	日時	演題番号	司会・座長(所属)	会場
特別講演 1	1月31日(木) 15:15 ~ 16:15		鈴木 雅実(中外製薬(株))	講演会場(大ホール)
特別講演 2	2月 1日(金) 10:55 ~ 11:55		小川 久美子(国立医薬品食品衛生研究所)	
シンポジウム 1	1月31日(木) 13:10 ~ 15:10		高橋 智(名古屋市立大学) 田中 雅治((一財)バイオインダストリー協会)	
シンポジウム 2	2月 1日(金) 9:00 ~ 10:50		義澤 克彦(武庫川女子大学) 渋谷 淳(東京農工大学大学院)	
ワークショップ	2月 1日(金) 13:10 ~ 15:00	W1 ~ 4	古川 賢(日産化学(株)) 星谷 達((株)ボゾリサーチセンター)	
		W5 ~ 8	藤原 利久((株)新日本科学) 岩田 聖(ルナパス合同会社)	
一般口演 I	1月31日(木) 10:00 ~ 10:50		横平 政直(香川大学) 桑村 充(大阪府立大学)	
一般口演 II	1月31日(木) 10:50 ~ 11:50		魏 民(大阪市立大学) 尾崎 清和(摂南大学)	
IATP Seminar Molecular Pathogy	1月31日(木) 16:20 ~ 17:10		甲斐 清徳(第一三共(株))	
ポスター発表 I	1月31日(木) 17:20 ~ 18:10	P-01 ~ 04	平田 暁大(岐阜大学) 猪又 晃(富士フィルム(株))	
		P-09 ~ 11	梯 アンナ(大阪市立大学) 豊沢 かおる((株)住化分析センター)	
		P-16 ~ 18	飯田 麻里(University of Wisconsin-Madison) 中野 今日子(エーザイ(株))	
		P-23 ~ 26	河部 真弓((株)DIMS医科学研究所) 川口 博明(鹿児島大学)	
		P-31 ~ 34	高橋 尚史((一財)残留農薬研究所) 佐藤 則博(旭化成ファーマ(株))	
		P-39 ~ 42	村上 雄一(田辺三菱製薬(株)) 山口 裕子((株)ボゾリサーチセンター)	
		P-47 ~ 50	下井 昭仁((株)イナリサーチ) 日比 大介(小野薬品工業(株))	
		P-55 ~ 57	豊田 武士(国立医薬品食品衛生研究所) 村井 厚子(中外製薬(株))	

セッション名	日時	演題番号	司会・座長(所属)	会場
ポスター発表Ⅰ	1月31日(木) 17:20～18:10	P-62～65	佐々木 朋(マルホ(株)) 篠塚 淳子(中外製薬(株))	ポスター会場 (瑞雲・平安)
		P-70～72	白井 紀充(ファイザー製薬(株)) 諸木 孝泰(大塚製薬(株))	
		P-76～78	上田 誠(日本新薬(株)) 松本 泉美(大日本住友製薬(株))	
ポスター発表Ⅱ	2月1日(金) 15:10～16:00	P-05～08	高須 伸二(国立医薬品食品衛生研究所) 能登 貴久(参天製薬(株))	ポスター会場 (瑞雲・平安)
		P-12～15	土居 卓也((株)LSIメディエンス) 安藤 亮(北里大学)	
		P-19～22	鈴木 周五(名古屋市立大学) 金子 英志(帝人ファーマ(株))	
		P-27～30	池崎 信一郎((株)ボゾリサーチセンター) 鈴木 智(大鵬薬品工業(株))	
		P-35～38	美谷島 克宏(東京農業大学) 高橋 美和(アステラス製薬(株))	
		P-43～46	土屋 紀子(塩野義製薬(株)) 佐藤 洋(岩手大学)	
		P-51～54	小林 欣滋((株)新日本科学) 佐藤 寛子(田辺三菱製薬(株))	
		P-58～61	穴山 久志(武田薬品工業(株)) 菅野 剛((株)LSIメディエンス)	
		P-66～69	今岡 尚子(第一三共(株)) 安井 雄三(日本たばこ産業(株))	
		P-73～75	井上 薫(国立医薬品食品衛生研究所) 野口 ちひろ(大正製薬(株))	

プログラム

特別講演1

第1日目 1月31日(木) 15:15 - 16:15

講演会場(大ホール)

座長: 鈴木 雅実(中外製薬(株))

SL-1 がんゲノム解析からひもとく変異プロセス

油谷 浩幸

東京大学 先端科学技術研究センター ゲノムサイエンス分野

特別講演2

第2日目 2月1日(金) 10:55 - 11:55

講演会場(大ホール)

座長: 小川 久美子(国立医薬品食品衛生研究所)

SL-2 革新的バイオイメージング技術が拓く次世代毒性病理

今村 健志

愛媛大学 大学院医学系研究科 分子病態医学講座

シンポジウム1 病理解析技術の進展

第1日目 1月31日(木) 13:10 - 15:10

講演会場(大ホール)

座長：高橋 智(名古屋市立大学)

田中 雅治((一財)バイオインダストリー協会)

S1-1 透明化技術を利用した組織構造解析法

- 山崎 雅輝
中外製薬(株)

S1-2 毒性病理評価におけるMagnetic Resonance Imaging (MRI) 活用の可能性

- 武田 賢和
エーザイ株式会社 バイオフィーマシューティカル・アセスメント機能ユニット 筑波安全性研究部

S1-3 毒性評価におけるイメージング質量分析法の活用

- 樫村 茜¹⁾, 佐藤 寛子¹⁾, 田中 広治²⁾, 明石 知也²⁾, 大野 祐子¹⁾, 吉川 佳佑¹⁾, 馬場 伸之¹⁾, 鍛冶 秀文³⁾, 田中 雅治⁴⁾
¹⁾田辺三菱製薬(株) 安全性研究所, ²⁾田辺三菱製薬(株) 薬物動態研究所, ³⁾(株) LSI メディエンス, ⁴⁾(一財)バイオインダストリー協会

S1-4 人工知能を用いた病理検査の取り組み—現状と今後の展望—

- 甲斐 清徳¹⁾, 土屋 卓磨²⁾, 岩本 和樹³⁾, 袴田 和巳^{4,5)}
¹⁾第一三共株式会社, ²⁾大塚製薬株式会社, ³⁾富士通株式会社, ⁴⁾シスメックス株式会社, ⁵⁾エルピクセル株式会社

S1-5 キメラ変異遺伝子の検出によるヒト軟部腫瘍の診断

- 野島 孝之
金沢大学 整形外科 病理診断科

シンポジウム2 新規 *in vivo*, *in vitro* モデルの発展とその応用

第2日目 2月1日(金) 9:00 - 10:50

講演会場(大ホール)

座長：義澤 克彦(武庫川女子大学)

渋谷 淳(東京農工大学大学院)

S2-1 マウス正常組織由来オルガノイドの化学発がん研究への応用

- 今井 俊夫
国立がん研究センター 研究所 動物実験部門

S2-2 ヒト化NOGマウスを用いたヒト免疫反応の再現と応用

- 高橋 武司
(公財)実験動物中央研究所

S2-3 オートファジー欠損マウスの解析から何がわかったか？

- 小松 雅明
順天堂大学 医学部 生理学第二講座

S2-4 尿路結石モデルマウスの開発とその活用による遺伝学的研究の成果

- 岡田 淳志, 田中 勇太郎, 杉野 輝明, 海野 怜, 田口 和己, 濱本 周造, 安藤 亮介, 戸澤 啓一, 郡 健二郎, 安井 孝周
名古屋市立大学大学院 医学研究科 腎・泌尿器科学

ワークショップ 毒性評価時に問題となる基礎病変とその考え方

第2日目 2月1日(金) 13:10 - 15:00

講演会場(大ホール)

座長：古川 賢(日産化学(株))
星谷 達((株)ボゾリサーチセンター)

W-1 がん原性試験における腫瘍病変

○山口 裕子, 山川 誠己, 永谷 真理子, 池崎 信一郎, 星谷 達
(株)ボゾリサーチセンター 病理部

W-2 毒性評価上注意すべき胃病変—それって被験物質の影響?—

○佐藤 順子
(株)LSIメディエンス

W-3 摂餌減少や日内変動に関連した心臓や肝臓の変化

○松尾 沙織里
中外製薬株式会社

W-4 毒性試験における動脈炎, 自然発生か薬剤誘発性か

○藤原 利久
(株)新日本科学 安全性研究所 病理研究部

座長：藤原 利久((株)新日本科学)
岩田 聖(ルナバス合同会社)

W-5 ストレスと副腎

○猪又 晃
富士フィルム株式会社 医薬品・ヘルスケア研究所

W-6 大動物の未成熟生殖器における毒性評価上の課題

○畠山 洋文¹⁾, 井上 紗季¹⁾, 渡辺 純¹⁾, 武井 由弘¹⁾, 小泉 治子¹⁾, 梶村 哲世¹⁾, 佐藤 伸一¹⁾,
岩田 聖²⁾
¹⁾(株)イナリサーチ 試験研究センター, ²⁾ルナバス毒性病理研究所

W-7 毒性評価時に問題となる基礎病変とその考え方—気管内投与法により誘発される肺病変—

○沼野 琢旬, 杉山 大揮, 森岡 舞, 宇田 一成, 土井 悠子, 河部 真弓, 米良 幸典, 玉野 静光
株式会社DIMS医科学研究所

W-8 Pathological Indicators for Reflux-Related Changes in Oral (Gavage) Studies

○Klaus Weber
AnaPath GmbH, Switzerland, Eurofins/BSL BIOSERVICE Scientific Laboratories Munich GmbH

IATP Seminar Molecular Pathology

第1日目 1月31日(木) 16:20 - 17:10

講演会場(大ホール)

座長：甲斐 清徳(第一三共(株))

IATP The Toolbox for Molecular Pathology

Darlene Dixon, DVM, PhD, DACVP, FIATP

Molecular Pathogenesis Group, National Toxicology Program (NTP) Laboratory, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, North Carolina, USA

一般口演 I

第1日目 1月31日(木) 10:00 - 10:50

講演会場(大ホール)

座長：横平 政直(香川大学)
桑村 充(大阪府立大学)

O-01 ラット膀胱発がんに対するニコチンの影響

○鈴木 周五, 加藤 寛之, 不二 哲, 内木 綾, 高橋 智
名市大・院・医・実験病態病理

O-02* o-Acetoacetotoluidideによる膀胱に対する毒性、発がんプロモーション作用の検討

○行松 直, 奥野 高裕, 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

O-03 新生仔期での甲状腺被曝で特異的に誘発される甲状腺病変

○藤本 成明¹⁾, 松山 睦美²⁾, 中島 正洋²⁾
¹⁾広島大学 原爆放射線医学研究所, ²⁾長崎大学 原爆後障害医療研究所

O-04* 非遺伝毒性肝発がん物質特異的に過メチル化・発現下方制御を示した遺伝子の肝発がん物質に対する発現反応性

○伊藤 優子^{1,2)}, 中島 康太^{1,2)}, 増淵 康哲^{1,2)}, 菊地 聡美¹⁾, 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

一般口演 II

第1日目 1月31日(木) 10:50 - 11:50

講演会場(大ホール)

座長：魏 民(大阪市立大学)
尾崎 清和(摂南大学)

O-05 マウス乳癌転移モデルにおけるリンパ節の転移前ニッチの形成

○柴田 雅朗, 伊藤 裕子, 田中 義久, 濱岡 仁美, 近藤 洋一
大阪医科大学医学部・生命科学講座解剖学教室

O-06* Luteolinの去勢抵抗性前立腺癌に対する抑制効果と androgen receptor splice variantの役割

○内木 綾^{1,2)}, 加藤 寛之¹⁾, 鈴木 周五¹⁾, 高橋 智¹⁾
¹⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学, ²⁾名古屋市立東部医療センター 病理診断科

O-07 ジブチルスズのラット胎盤及び胎児毒性への影響

○古川 賢¹⁾, 辻 菜穂¹⁾, 小林 由幸²⁾, 林 清吾¹⁾, 阿部 正義¹⁾, 黒田 雄介¹⁾, 早川 知里¹⁾, 竹内 和也¹⁾,
杉山 晶彦³⁾
¹⁾日産化学株式会社 生物科学研究所, ²⁾日産化学株式会社 物質科学研究所,
³⁾岡山理科大学 獣医学部 獣医学科

O-08 腹腔内投与銀ナノ粒子によるBALB/cマウスの急性毒性における抗酸化剤の影響

○Young-Man Cho, 水田 保子, 赤木 純一, 豊田 武士, 井手 鉄哉, 小川 久美子
国立医薬品食品衛生研究所 病理部

O-09 トキシコゲノミクスによるインフルエンザワクチンおよびアジュバントの次世代安全性評価法の開発

○水上 拓郎¹⁾, 平舘 裕希¹⁾, 佐々木 永太¹⁾, 百瀬 暖佳¹⁾, 古畑 啓子¹⁾, 楠 英樹¹⁾, 浅沼 秀樹²⁾,
浜口 功¹⁾
¹⁾国立感染症研究所 血液・安全性研究部, ²⁾国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター

ポスター発表Ⅰ 神経系1

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：平田 暁大(岐阜大学)

猪又 晃(富士フィルム(株))

P-01 マウスのreserpine投与における神経毒性検討

○佐藤 亮, 寺山 由依, 西村 悠花里, 土屋 卓磨, 諸木 孝泰, 北浦 敬介, 松本 智志, 吉川 剛
(株)大塚製薬 徳島研究所 前臨床研究センター

P-02* ステリグマトシスチンのラット発達期曝露による海馬歯状回における神経新生に対する影響

○中島 康太^{1,2)}, 伊藤 優子^{1,2)}, 増渕 康哲^{1,2)}, 菊地 聡美¹⁾, 吉田 敏則¹⁾, 小西 良子³⁾, 渋谷 淳¹⁾
¹⁾東京農工大・獣医病理, ²⁾岐阜大・院・連合獣医, ³⁾麻布大・生命環境科学・食品安全科学

P-03* ラット発達期から成熟期までのalpha-glycosyl isoquercitrinの曝露が恐怖記憶の消去学習を促進する

○増渕 康哲^{1,2)}, 中島 康太^{1,2)}, 伊藤 優子^{1,2)}, 菊地 聡美¹⁾, 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-04* カニクイザルの神経黒色症の1例

○柚川 藍色, 森山 亜紀子, 永田 一郎, 小林 欣滋, 千早 豊
(株)新日本科学 安全性研究所

ポスター発表Ⅱ 神経系2

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：高須 伸二(国立医薬品食品衛生研究所)

能登 貴久(参天製薬(株))

P-05* 亜硫化ニッケル(Ni₃S₂)を単回硝子体内投与したFischerラットの眼球外に発生した眼窩内腫瘍の病理組織学的解析

○山際 慶典^{1,2)}, 政次 美紀¹⁾, 田原 春菜¹⁾, 根本 真吾¹⁾, 倉田 昌明¹⁾, 佐藤 洋²⁾
¹⁾千寿製薬(株) 総合研究所, ²⁾岩手大学大学院 獣医学研究科 比較薬理毒性学研究室

P-06 外傷性孔脳症と視覚器異常がみられた雌ビーグル犬の1例

○橋口 収, 池崎 信一郎, 齋藤 翼, 伊倉 佐織, 中澤 朋美, 笠原 健一郎,
山口 裕子
(株)ボゾリサーチセンター 病理部

P-07* 網膜色素変性症動物モデルにおけるキトサンオリゴ糖の抑制効果

○小山 千尋¹⁾, 竹之内 明子¹⁾, 金瀬 茜¹⁾, 行光 由莉¹⁾, 榎本 祐子²⁾, 野口 貴子³⁾, 黒住 誠司³⁾,
佐藤 公彦³⁾, 岡本 芳晴⁴⁾, 義澤 克彦¹⁾
¹⁾武庫川女子大学大学院 生活環境学研究科 食物栄養学専攻, ²⁾関西医科大学 倫理審査センター,
³⁾甲陽ケミカル株式会社, ⁴⁾鳥取大学 共同獣医学科 臨床獣医学

P-08* ラット下垂体中間葉および後葉にみられる自然発生性病変の病理組織学的特徴

○加藤 由隆, 伊藤 強, 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

ポスター発表Ⅲ 口腔・消化管1

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長: 梯 アンナ(大阪市立大学)
豊沢 かおる((株)住化分析センター)

- P-09 C57BL/6J野生型およびPol κ 欠損マウスにおけるベンゾ[a]ピレンおよび α -ナフトフラボン併用投与の効果**
○赤木 純一¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, 豊田 武士¹⁾, 横井 雅幸^{2,3)}, 花岡 文雄^{2,4)}, 大森 治夫²⁾, 小川 久美子¹⁾
¹⁾国立衛研・病理, ²⁾学習院大・理・生命, ³⁾神戸大・バイオシグナル研セ, ⁴⁾筑波大・生命領域学際研セ
- P-10* 胃癌マウス移植モデルにおける同所移植と皮下移植腫瘍の形態学的特徴と遺伝子発現プロファイルの比較**
○松尾 沙織里¹⁾, 中野 清孝²⁾, 西沢 隆²⁾, 河村 大輔³⁾, 藤井 悦子^{1,2)}, 加藤 淳彦¹⁾, 舟橋 真一²⁾, 石川 俊平³⁾, 鈴木 雅実^{1,2)}
¹⁾中外製薬(株), ²⁾(株)未来創薬研究所, ³⁾東京医科歯科大学
- P-11 新規抗がん物質の特性と作用機序**
○安藤 さえこ¹⁾, 深町 勝巳¹⁾, 松本 晴年¹⁾, 吉見 直己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⁾琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座

ポスター発表Ⅳ 口腔・消化管2

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長: 土居 卓也((株)LSIメディエンス)
安藤 亮(北里大学)

- P-12 Azoxymethane and dextrane sulfate sodium 誘発大腸炎関連大腸癌は、糖尿病により増悪する**
○尾崎 清和, 出雲 友扶子, 大嶋 成奈優, 寺山 由依, 松浦 哲郎
摂南大学 薬学部 病理学
- P-13 デキストラン硫酸ナトリウム誘発マウス大腸炎モデルにおけるラカンカの効果に関する検討**
○小川 秀治¹⁾, 美谷島 克宏^{1,2)}, 名倉 かれん²⁾, 野沢 美波²⁾, 原田 紗枝²⁾, 山口 理紗子²⁾, 小柳 美穂子³⁾, 林 新茂³⁾, 渡邊 厚^{1,4)}, 煙山 紀子²⁾, 中江 大^{1,2)}
¹⁾東京農大・院・食品栄養, ²⁾東京農大・食品安全健康, ³⁾三栄源エフ・エフ・アイ, ⁴⁾旭化成メディカル
- P-14 イヌの遺伝性消化管腫瘍の同定**
○平田 暁大¹⁾, 吉寄 響子²⁾, 西飯 直仁³⁾, 川部 美史⁴⁾, 森 崇⁴⁾, 柳井 徳磨²⁾, 酒井 洋樹²⁾
¹⁾岐阜大学 科学研究基盤センター 動物実験分野, ²⁾岐阜大学 応用生物科学部 共同獣医学科 獣医病理学研究室, ³⁾岐阜大学 応用生物科学部 共同獣医学科 獣医内科学研究室, ⁴⁾岐阜大学 応用生物科学部 共同獣医学科 分子病態学研究室
- P-15* イヌの組織球性潰瘍性大腸炎の病理組織学的検討**
○畝山 瑞穂¹⁾, チェンバーズ ジェームズ¹⁾, 中島 亘²⁾, 内田 和幸¹⁾, 中山 裕之¹⁾
¹⁾東京大学 獣医病理学研究室, ²⁾日本小動物医療センター

ポスター発表V 肝臓・膵臓1

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：飯田 麻里 (University of Wisconsin-Madison)
中野 今日子 (エーザイ(株))

P-16* リボソーム製剤投与が引き起こすイヌ肝臓及び胆嚢における出血性変化

○牧田 慶子¹⁾, 柿沼 千早²⁾, 阪田 佳紀¹⁾, 山川 達也¹⁾, 猪又 晃¹⁾, 原 健史¹⁾

¹⁾富士フイルム(株) 医薬品・ヘルスケア研究所, ²⁾バイオサイエンス&テクノロジー開発センター

P-17* Participation of heterogeneous macrophages related to M1/M2 types in D-galactosamine-induced acute rat liver injury

○Nahid Rahman, Munmun Pervin, 倉持 瑞樹, Mohammad Karim, 井澤 武史, 桑村 充, 山手 丈至
大阪府立大 獣医病理

P-18* チオアセトアミド(TAA)誘発ラット急性肝障害モデルでの好中球・マクロファージ誘導における炎症誘導因子(DAMPs)の役割の解明

○倉持 瑞樹, 井澤 武史, ナヒド ラマン, 桑村 充, 山手 丈至

大阪府立大 獣医病理

ポスター発表VI 肝臓・膵臓2

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：鈴木 周五 (名古屋市立大学)
金子 英志 (帝人ファーマ(株))

P-19 NASHモデルTSODマウスにおける肝臓腫瘍および肝臓組織のメタボローム解析

○梯 アンナ, 石井 真美, 奥野 高裕, 多胡 善幸, 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

P-20 F344系ラットにおけるCDAA食誘発非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)様病態に対してラカンカ抽出物が及ぼす影響

○宇野 絹子¹⁾, 美谷島 克宏^{1,2)}, 鈴木 佳奈恵²⁾, 菊池 耕平²⁾, 仲井 杏海²⁾, 永吉 司²⁾, 張 舜恵¹⁾, 煙山 紀子²⁾, 小柳 美穂子³⁾, 林 新茂³⁾, 小川 秀治¹⁾, 渡邊 厚¹⁾, 中江 大^{1,2)}

¹⁾東京農大・院・食品栄養, ²⁾東京農大・食品安全健康, ³⁾三栄源エフ・エフ・アイ

P-21 雌性SDT fattyラットの非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)様病態の形成過程における血中パラメータの変動

○龍 完次朗¹⁾, 美谷島 克宏^{1,2,3)}, 張 舜恵²⁾, 篠原 雅巳⁴⁾, 太田 毅⁵⁾, 大畑 敬一⁶⁾, 宇野 絹子²⁾, 煙山 紀子³⁾, 小川 秀治¹⁾, 渡邊 厚^{1,7)}, 中江 大^{1,2,3)}

¹⁾東京農業大学大学院 農学研究科 食品安全健康学専攻, ²⁾東京農業大学大学院 農学研究科 食品栄養学専攻, ³⁾東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科, ⁴⁾日本クレア(株) 東京AD部, ⁵⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所, ⁶⁾シミックホールディングス(株) L-FABP事業部, ⁷⁾旭化成メディカル(株)

P-22* 脂質代謝関連転写因子SREBP-1が小胞体ストレスと慢性炎症に及ぼす影響

○高 臨風¹⁾, 煙山 紀子²⁾, 斎藤 奈津美²⁾, 渡邊 聖栄子²⁾, 竹井 亜矢子²⁾, 田添 晴椰²⁾, 龍 完次朗¹⁾, 宇野 絹子³⁾, 張 舜恵³⁾, 小川 秀治³⁾, 渡邊 厚^{3,4)}, 美谷島 克宏^{1,2,3)}, 中江 大^{1,2,3)}

¹⁾東京農大・院・農学研・食品安全健康, ²⁾東京農大・応生・食品安全健康, ³⁾東京農大・院・農学研・食品栄養, ⁴⁾旭化成メディカル・医療技術材料研

ポスター発表Ⅶ 肝臓・膵臓 3

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：河部 真弓((株)DIMS医科学研究所)
川口 博明(鹿児島大学)

P-23 F344ラットを用いたアセタミドの28日間反復投与による肝毒性評価

○石井 雄二¹⁾, 菊池 玲美花^{1,2)}, 木島 綾希¹⁾, 高須 伸二¹⁾, 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⁾ヤマザキ動物看護大 動物看護学部

P-24 早期ラット肝発がんに対するBear Bile Powderの抑制作用

○金美蘭, 張 梅, 唐 倩, 王 自力, 王 劍

中国 西南大学 動物科術学院

P-25 ジフェニルアルシン酸のF344ラットにおける慢性毒性試験及び発がん性試験

○山口 貴嗣, 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

P-26* ラット肝臓におけるGST-P陽性巣の種々発がん物質休業後動態の検討

○高須 伸二¹⁾, 中村 くるみ^{1,2)}, 石黒 結唯^{1,2)}, 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⁾ヤマザキ動物看護大学 動物看護学部

ポスター発表Ⅷ 肝臓・膵臓 4

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：池崎 信一郎((株)ボゾリサーチセンター)
鈴木 智(大鵬薬品工業(株))

P-27 犬の肝腫瘍における筋上皮細胞分化の免疫組織化学的解析

○桑村 充¹⁾, 辻 佑佳¹⁾, 倉持 瑞樹¹⁾, 井澤 武史¹⁾, 秋吉 秀保²⁾, 山手 丈至¹⁾

¹⁾大阪府立大学 獣医病理学教室, ²⁾大阪府立大学 獣医外科学教室

P-28* マウスにおける自然発生性の膵腺房細胞の空胞化についての病理学的検討

○安野 恭平¹⁾, 伊倉 佐織²⁾, 袴田 志野婦¹⁾, 岡戸 恵子³⁾, 山口 裕子²⁾, 甲斐 清徳¹⁾, 森 和彦¹⁾

¹⁾第一三共(株) 安全性研究所, ²⁾(株)ボゾリサーチセンター 病理部,

³⁾第一三共RDノバーレ(株) トランスレーショナル研究部

P-29 若齢のSDラットにみられた膵臓傍胆管部の嚢胞の1例

○山下 由真, 佐々木 朋, 土肥 孝彰

マルホ(株) 開発研究部 安全性研究グループ

P-30* 抗アレルギー薬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

ポスター発表区 泌尿器 1

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：高橋 尚史((一財)残留農薬研究所)
佐藤 則博(旭化成ファーマ(株))

P-31* 雄SDT fatty ラットにおけるSGLT2の発現及び病態解析

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

¹⁾東京農大・院・食品栄養, ²⁾東京農大・食品安全健康, ³⁾日本たばこ産業, ⁴⁾日本クレア

P-32* 若年(11週間)のICRマウスに見られる自然腎尿細管肥大

○崔 賢智¹⁾, 孔 ミンジョン¹⁾, 金 惠貞¹⁾, 鈴木 雅実²⁾, 岩田 聖³⁾, 朴 チャンヒ¹⁾

¹⁾C&C新薬研究所, ²⁾中外製薬, ³⁾ルナパス合同会社 毒性病理研究所

P-33* アセトアミノフェン誘発ラット腎障害モデルにおけるミード酸の抑制効果

○竹之内 明子¹⁾, 平塚 未夢¹⁾, 三浦 麻里安¹⁾, 新家 由実子¹⁾, 平山 由佳理¹⁾, 小山 千尋¹⁾, 木下 勇一²⁾, 浜崎 景³⁾, 義澤 克彦¹⁾

¹⁾武庫川女子大学 生活環境学部 食物栄養学科, ²⁾和歌山県立医科大学附属病院 中央検査部 病理診断部門, ³⁾富山大学 医学部 公衆衛生学講座

P-34* 高コレステロール・高ナトリウム給餌ミニブタにみられた組織学的所見

○村瀬 詩織, 加藤 正巳, 今泉 隆人, 荒井 剛志, 小沼 克安, 松下 久美, 遠藤 克己, 小池 恒雄, 金原 智美, 今井 順, 伊藤 格, 木村 均

(株)日本バイオリサーチセンター

ポスター発表区 泌尿器 2

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：美谷島 克宏(東京農業大学)
高橋 美和(アステラス製薬(株))

P-35* 若齢CrI:CD1(ICR)マウスに自然発生したヒアリン糸球体症の一例

○仁科 嘉修, 檜村 茜, 水川 真緒, 藤木 勝也, 村上 雄一, 馬場 伸之, 久米 英介
田辺三菱製薬(株) 創薬本部 安全性研究所

P-36* 膀胱がん物質投与による γ -H2AX形成の用量相関性及び経時的変化

○山田 貴宣^{1,2)}, 豊田 武士¹⁾, 松下 幸平¹⁾, 森川 朋美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-37 BBN誘発マウス膀胱がんモデルにおけるAcetazolamideの予防効果の検討

○魏 民, 藤岡 正喜, 行松 直, 奥野 高裕, 山口 貴嗣, 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-38 膀胱がん物質投与初期における遺伝子発現解析および新規膀胱がんマーカーの探索

○豊田 武士¹⁾, 山田 貴宣^{1,2)}, 松下 幸平¹⁾, 森川 朋美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 獣医病理学研究室

ポスター発表XI 呼吸器1

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長: 村上 雄一(田辺三菱製薬(株))

山口 裕子((株)ボゾリサーチセンター)

P-39* Cisplatinのラットへの反復経口投与による肺障害の経時的解析

○寺山 由依, 佐藤 亮, 西村 悠花里, 土屋 卓磨, 諸木 孝泰, 北浦 敬介, 吉川 剛
大塚製薬株式会社 徳島研究所 前臨床研究センター

P-40* プレオマイシン気管内投与によるラットの肺胞洗浄液検査及び病理組織学的所見に及ぼす投与容量の影響について

○杉山 大揮, 森岡 舞, 沼野 琢旬, 樋口 仁美, 河部 真弓, 米良 幸典
株式会社DIMS医科学研究所

P-41 カニクイザルにおけるプレオマイシン誘発肺毒性の評価法検討

○熊谷 和善, 櫻井 健, 前田 優, 片岡 広子, 玉井 聡, 本多 久美, 大澤 徹也,
千葉 克芳, 甲斐 清徳, 森 和彦
第一三共(株)安全性研究所

P-42* げっ歯類における慢性胸膜炎症及び肺増殖性病変に対するアンブロキシソール塩酸塩の修飾作用についての検討

○吉田 翔太^{1,2)}, 横平 政直¹⁾, 山川 けいこ¹⁾, 成澤 裕子¹⁾, 蟹江 尚平²⁾, 橋本 希¹⁾, 今井田 克己¹⁾
¹⁾香川大学 医学部 病理病態学・生体防御医学講座 腫瘍病理学,
²⁾大鵬薬品工業株式会社 研究本部 安全性研究所

ポスター発表XII 呼吸器2

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長: 土屋 紀子(塩野義製薬(株))

佐藤 洋(岩手大学)

P-43* 有機ヒ素化合物Dimethylarsinic acidの経胎盤ばく露によるマウス肺発がん過程におけるヒストン修飾異常

○藤岡 正喜, 魏 民, 奥野 高裕, 行松 直, 梯 アンナ, 大石 裕司, 鰐淵 英機
大阪市立大学 院 医 分子病理学

P-44 肺発がん過程における片肺虚脱によるpromotion作用とInsulin-like growth factor-1 (IGF-1)の関与

○横平 政直, 橋本 希, 山川 けいこ, 成澤 裕子, 今井田 克己
香川大学 医学部 腫瘍病理学

P-45* プロゲステロン阻害剤(mifepristone)の雌性A/JマウスNNK誘発肺腫瘍への影響

○成澤 裕子, 横平 政直, 山川 けいこ, 橋本 希, 吉田 翔太, 今井田 克己
香川大学 医学部 腫瘍病理学

P-46 ラットにおいてDHPNで誘発されたメソテリン陽性肺増殖性病変の病理組織化学的性状

○坂本 義光¹⁾, 多田 幸恵¹⁾, 北條 幹¹⁾, 前野 愛¹⁾, 鈴木 俊也¹⁾, 猪又 明子¹⁾, 守安 貴子¹⁾, 中江 大²⁾
¹⁾東京都健康安全研究センター, ²⁾東京農業大

ポスター発表XIII 生殖器

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：下井 昭仁((株)イナリサーチ)
日比 大介(小野薬品工業(株))

P-47 胎生期Di (n-butyl) phthalate曝露ラットにおける雄ラット精管形成に関する検討

○杉山 光¹⁾, 岡山 祐弥¹⁾, 鷹橋 浩幸²⁾, 池上 雅博²⁾, 武藤 朋子³⁾, 和久井 信¹⁾

¹⁾麻布大学 獣医学部 比較毒性学, ²⁾東京慈恵会医科大学 病理学,

³⁾一般財団法人 食品薬品安全センター

P-48* SDラットにみられた真性半陰陽の1例

○岡野 拓, 高木 みづほ, 鈴木 勇, 藤原 史織, 永谷 真理子, 山口 裕子

(株)ボゾリサーチセンター 病理部

P-49* 非妊娠カニクイザルにおける子宮のepithelial plaqueの1例

○矢吹 悠乃, 柚川 藍色, 森山 亜紀子, 小林 欣滋

株式会社新日本科学 安全性研究所

P-50 CD-1及びB6C3F1マウスの乳腺由来腺腫/腺癌の形態学的差異

○爰島 洋子, 土居 卓也, 土谷 稔

(株)LSIメディアエンス

ポスター発表XIV 循環器・血液・免疫1

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：小林 欣滋((株)新日本科学)
佐藤 寛子(田辺三菱製薬(株))

P-51 NOS阻害剤投与による超短期マイクロミニピッグ動脈硬化モデルの開発

○川口 博明¹⁾, 谷本 昭英²⁾

¹⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科研衛生学・健康増進医学,

²⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科病理学

P-52 急性出血性胃炎で死亡したミニブタの血管病変についての病理組織学的検討

○奥田 須美子, 赤根 弘敏, 江田 景, 市川 敦子, 清水 茂一, 秋江 靖樹

シミックファーマサイエンス(株)

P-53* ビーグル犬の胸部大動脈に移植した人工血管の治癒過程

○松田 崇斗¹⁾, 寺尾 壽子¹⁾, 前田 一葉¹⁾, 田崎 雅子¹⁾, 早場 純子¹⁾, 磯部 厚志¹⁾, 長野 嘉介²⁾,
数野 公正¹⁾, 萩原 仁美¹⁾

¹⁾テルモ株式会社, ²⁾長野毒性病理コンサルティング

P-54* カニクイザル(Macaca fascicularis)における自然発症性の肥大型心筋症の一例

○小西 静香, 沼倉 佑樹, 古賀 真昭, 小寺 喬, 上田 誠

日本新薬(株) 安全性・動態研究部

ポスター発表XV 循環器・血液・免疫2

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：豊田 武士(国立医薬品食品衛生研究所)
村井 厚子(中外製薬(株))

P-55 炎症性反応を伴う Wistar Hannover ラットにおける自然発生性 globule leukocyte tumor の1例

○佐藤 順子, 友成 由紀, 土居 卓也, 土谷 稔
(株) LSIメディエンス

P-56 上皮型胸腺腫及び上皮型過形成の Cytokeratin 発現に関する免疫組織学的特徴

○友成 由紀, 佐藤 順子, 黒滝 哲郎, 山田 直明, 川迫 一史, 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グループ

P-57* SD ラットの胸腺にみられた異所性横紋筋組織

○小林 亮介¹⁾, 友成 由紀¹⁾, 赤川 唯²⁾, 関谷 明生¹⁾, 爰島 洋子¹⁾, 土居 卓也¹⁾,
菅野 剛¹⁾, 土谷 稔¹⁾
¹⁾(株) LSIメディエンス 試験研究センター 病理研究部, ²⁾(株) LSIメディエンス 試験研究センター
鹿島安全性第1研究部

ポスター発表XVI その他1

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：穴山 久志(武田薬品工業(株))
菅野 剛((株) L S Iメディエンス)

P-58 カニクイザルの腰椎椎間板におけるコンドリナーゼの基質特異性と髄核融解作用

○南澤 由佳, 村松 大, 山口 宏明, 二井 愛介
生化学工業(株)

P-59* 2,4-ジメチル-4-フェニルテトラヒドロフランの90日間反復投与毒性試験および異性体存在比の検討

○井手 鉄哉¹⁾, 水田 保子¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, 赤木 純一¹⁾, 増本 直子²⁾, 杉本 直樹²⁾, 佐藤 恭子²⁾,
小川 久美子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 食品添加物部

P-60* 1,3-Dichloro-2-propanol の F344 ラットを用いた 28 日間反復強制経口投与による毒性プロファイルの検索

○松下 幸平, 豊田 武士, 森川 朋美, 山田 貴宣, 小川 久美子
国立医薬品食品衛生研究所 病理部

P-61* F344 ラットを用いた 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal の 90 日間反復投与毒性試験

○中村 賢志¹⁾, 木嶋 綾希¹⁾, 石井 雄二¹⁾, 高須 伸二¹⁾, 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⁾ヤマザキ動物看護大学 動物看護学部

ポスター発表XVII その他2

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：佐々木 朋(マルホ(株))
篠塚 淳子(中外製薬(株))

P-62 免疫不全マウス(NOG, NOD SCID及びヌードマウス)を用いたHeLa細胞の造腫瘍性試験における病理組織学的検索

○押方 孝文, 涌生 ゆみ, 満石 三喜男, 浜村 政夫
(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2G

P-63* NOGマウスの皮下に自然発生した上皮性腫瘍の2症例

○Angeline Ping Ping Teh¹⁾, 町田 雪乃^{1,2)}, 打屋 尚章¹⁾, 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⁾日本獣医生命科学大学 獣医病理学研究室

P-64* 高齢F344ラットに自然発生した退形成ジンバル腺癌(Anaplastic Zymbal's gland carcinoma)を疑う2例

○前野 愛¹⁾, 坂本 義光¹⁾, 北條 幹¹⁾, 湯澤 勝廣¹⁾, 長谷川 悠子¹⁾, 鈴木 俊也¹⁾,
猪又 明子¹⁾, 守安 貴子¹⁾, 煙山 紀子²⁾, 美谷島 克宏²⁾, 中江 大²⁾
¹⁾東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 生体影響研究科, ²⁾東京農業大学 応用生物科学部
食品安全健康学科

P-65* Spontaneous basal cell carcinoma with ductal differentiation in the rat salivary gland

○佐野 智弥¹⁾, 神鳥 仁志²⁾, 原 陽子³⁾
¹⁾武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所, ²⁾Axcelead Drug Discovery Partners(株), ³⁾島根県 農林水産課
家畜病性鑑定室

ポスター発表XVIII SEND/INHAND

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：今岡 尚子(第一三共(株))
安井 雄三(日本たばこ産業(株))

P-66 INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions - An Update - 2019

○林 新茂¹⁾, A ブラッドレイ²⁾, DG グッドマン³⁾, 原田 孝則⁴⁾, R ハーバ⁵⁾, 岩田 聖⁶⁾,
M ヤコブセン⁷⁾, CM キーナン⁸⁾, R ケルナ⁹⁾, マーラ ベス⁵⁾, E メセック¹⁰⁾, T ノルテ¹¹⁾,
S リッテンハウゼン⁹⁾, C ロウルフェルテ¹²⁾, J バーレ¹³⁾, 義澤 克彦¹⁴⁾
¹⁾三栄源エフ・エフ・アイ(株) 安全性科学部, ²⁾チャールスリバー, ³⁾コンサルタント, ⁴⁾残留農薬研究所,
⁵⁾米国立環境健康科学研究所, ⁶⁾ルナバス毒性病理研究所, ⁷⁾アストラゼネカ, ⁸⁾キーナン コンサルティング,
⁹⁾フラウンフォッファー, ¹⁰⁾ノバルティス, ¹¹⁾ペーリンガーインゲルハイム, ¹²⁾バイエル, ¹³⁾イーライリリー,
¹⁴⁾武庫川女子大学 生活環境学部 食物栄養学科

P-67 製薬企業のSEND対応事例—SENDに対応した病理組織学的検査体制の構築—

○松本 泉美, 栃谷 智秋, 河内 眞美, 藤井 雄太, 吉野 有香, 宮脇 出
大日本住友製薬株式会社 前臨床研究ユニット

P-68 INHAND 病理用語を SENDIG v3.1 に対応したフォーマットに変更した病理組織所見用語集の作成

○柿本 恒知¹⁾, 諏訪 浩一²⁾, 枝元 洋¹⁾, 山川 誠己¹⁾, 山口 裕子¹⁾, 星谷 達¹⁾
¹⁾株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所 病理部, ²⁾株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所 情報システム部

P-69 CDISC SEND CT 病理用語の 2018 年内変遷と INHAND 用語との比較

○井上 紗季¹⁾, 畠山 洋文¹⁾, 小泉 治子¹⁾, 堀川 真一¹⁾, 佐藤 伸一¹⁾, 安齋 享征²⁾, 岩田 聖²⁾
¹⁾(株)イナリサーチ, ²⁾ルナパス毒性病理研究所

ポスター発表 X IX AI・画像解析

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：白井 紀充(ファイザー製薬(株))
 諸木 孝泰(大塚製薬(株))

P-70 製薬企業におけるデジタルパソロジー技術を用いた形態計測に関する調査

○吉川 剛^{1,2)}, 洞井 康^{1,3)}, 浅岡 由次^{1,4)}, 櫻井 孝信^{1,5)}, 菊地 聡美^{1,6)}, 山岡 牧子^{1,7)}, 田中 雅治^{1,3,8)}
¹⁾日本製薬工業協会 研究開発委員会, ²⁾大塚製薬株式会社 徳島研究所, ³⁾田辺三菱製薬株式会社 創薬本部, ⁴⁾塩野義製薬株式会社 開発研究所, ⁵⁾大正製薬株式会社 安全性・動態研究所, ⁶⁾持田製薬株式会社 総合研究所 薬物動態安全性, ⁷⁾杏林製薬株式会社 わたらせ創薬センター, ⁸⁾一般財団法人バイオインダストリー協会 先端技術・開発部

P-71* 画像解析ソフト HALO を用いた病理所見の定量化の検討

○水川 真緒, 洞井 康, 大野 祐子, 西川 智美, 仁科 嘉修, 馬場 伸之, 久米 英介
 田辺三菱製薬(株)創薬本部安全性研究所

P-72 ヒト肺癌細胞像の自動分類における Fine-tuning した Deep Convolutional Neural Networks の比較検討

○塚本 徹哉¹⁾, 寺本 篤司²⁾, 桐山 諭和^{1,3)}, 山田 あゆみ²⁾
¹⁾藤田医科大学 医学部 病理診断学, ²⁾藤田医科大学 医療科学部 放射線学科,
³⁾成田記念病院 病理診断科

ポスター発表 X X 実験法・新規技術 1

第2日目 2月1日(金) 15:10 - 16:00

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：井上 薫(国立医薬品食品衛生研究所)
 野口 ちひろ(大正製薬(株))

P-73* PAXgene 固定パラフィンブロック包埋サンプルの特徴

○山崎 雅輝¹⁾, 中野 清孝²⁾, 名取 修²⁾, 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-74 低発現分子検出のための蛍光免疫染色の増感法とその特徴

○篠塚 淳子¹⁾, 山崎 雅輝¹⁾, 中野 清孝²⁾, 舟橋 真一²⁾, 鈴木 雅実^{1,2)}, 加藤 淳彦¹⁾
¹⁾中外製薬(株) 富士御殿場研究所 安全性研究部, ²⁾(株)未来創薬研究所

P-75 FIB-SEM を用いたラット腎系球体上皮細胞の 3次元構造解析

宮内 泰¹⁾, ○上田 耕平¹⁾, 井村 奈緒子¹⁾, 稲元 伸²⁾, 大塚 祐二²⁾, 吉田 晃世²⁾
¹⁾(株)鎌倉テクノサイエンス 生物試験業務部, ²⁾(株)東レリサーチセンター 形態科学研究部

ポスター発表XXI 実験法・新規技術2

第1日目 1月31日(木) 17:20 - 18:10

ポスター会場(2F 瑞雲・平安)

座長：上田 誠(日本新薬(株))

松本 泉美(大日本住友製薬(株))

P-76 3D培養系の形態学的解析手法

○藤井 悦子^{1,2)}, 川合 重人¹⁾, 山崎 雅輝²⁾, 中野 清孝¹⁾, 加藤 淳彦²⁾, 鈴木 雅実^{1,2)}

¹⁾株式会社未来創薬研究所, ²⁾中外製薬株式会社

P-77* トリフルオロエタノール及びトリフルロアセトアルデヒドを曝露させたメダカの精巣病変

○黒田 雄介¹⁾, 木村 真之¹⁾, 早川 知里¹⁾, 林 清吾¹⁾, 竹内 和也¹⁾, 古川 賢¹⁾, 杉山 晶彦²⁾

¹⁾日産化学(株) 生物科学研究所, ²⁾岡山理科大学 獣医学部 獣医学科

P-78* 網膜毒性発現機序解明における laser capture microdissection の有用性についての検討

○白井 真人, 青木 貴志, 新野 訓代, 藤本 和則, 今岡 尚子, 甲斐 清徳, 森 和彦

第一三共株式会社 安全性研究所

講演要旨

特別講演
シンポジウム
ワークショップ
IATP セミナー

SL-1

がんゲノム解析からひもとく変異プロセス

油谷 浩幸

東京大学 先端科学技術研究センター ゲノムサイエンス分野

細胞のがん化は体細胞変異の蓄積の結果引き起こされ、例えば、喫煙によるC>Aの塩基変異、紫外線によるC>T変異は肺がん、メラノーマそれぞれにおいて顕著である。しかしながら個々の症例において塩基変異を生じる生物学的プロセスを同定することは必ずしも容易ではなかった。この十年間で次世代シーケンス解析によって1万を超える症例から収集されたがんゲノム解析データに基づいて特徴的な変異パターン (mutation signature) を抽出し、変異原と関連づけることが可能となった。CpG部位のC>T変異はほとんどの腫瘍には共通して観察され、DNAメチル化の影響が示唆される。また、アルキル化剤による治療後に再発したグリオーマ症例では hypermutator となる症例が観察され、アルキル化剤によって塩基変異が誘発されたと考えられた。肝細胞がんの発症は肝炎ウイルス感染に加えて、アルコール摂取、脂肪性肝炎、アフラトキシンなど複数の要因に基づくと考えられる。我々は日本人413例並びに米国人90例(合計503例)のがん組織・正常組織の全エクソン解析を実施し、mutation signature解析を行った。日本人、米国人症例に特徴的な signature が抽出され、アルコール摂取に関連すると推定している。アルコール代謝に関与する酵素遺伝子の塩基多型と飲酒習慣の関連についても言及する。

SL-2

革新的バイオイメージング技術が拓く次世代毒性病理

今村 健志

愛媛大学 大学院医学系研究科 分子病態医学講座

バイオイメージング技術は生物学において将来有望な技術であり、すでに *in vitro* 実験では必要不可欠な実験ツールになっている。最近、バイオイメージング技術、中でも蛍光イメージング技術を駆使して、生体でがんなどのさまざまな疾患プロセスや複雑な生物学を研究することへの関心が高まっている。特に、種々の蛍光色素や蛍光タンパク質を用いた生体内蛍光イメージングは、最新の顕微鏡と組み合わせることで、これまで観察が難しかった生体での細胞動態や細胞機能のイメージングを可能にする。

本講演では、生体でがん細胞をモニターするための蛍光イメージングシステムのアプリケーションについて紹介する。さらに、蛍光イメージングシステムを使用することにより、生体で血管新生、リンパ血管新生およびプロテアーゼ活性などのがん微小環境の役割を研究する例を示す。さらに、がん研究への2光子励起顕微鏡を含む蛍光イメージング法の技術開発や蛍光イメージングのがん研究応用について紹介する。2光子顕微鏡法は、深部組織における細胞の挙動および機能を調べる強力な方法である。さらに、1,040 nm 以上の励起波長を用いた赤外(IR)-2光子励起顕微鏡の開発と応用についても紹介する。IR-2光子励起顕微鏡法は、赤色蛍光タンパク質/色素の適用を可能にし、従来の多光子顕微鏡と比較してより深いイメージングを可能にする。

次世代の毒物学的病理において、これら革新的バイオイメージング技術を駆使し、がんの病態を明らかにし、新規治療薬を開発することは有用であろう。

S1-1

透明化技術を利用した組織構造解析法

○山崎 雅輝

中外製薬(株)

組織の立体構造をそのまま認識することは、2Dの組織切片のみでの解析よりも多くの情報を得られる可能性がある。従来、連続の2D組織切片を作製することにより、立体構造の再構築を試みる手法はあるが、作製労力に加え最終的に直接立体構造を観察できない点が難点がある。近年、脳神経領域を中心に厚さのある組織あるいは組織全体を透明化することにより、立体構造を維持したまま、直接観察する方法が開発され、その他の領域にもその用途を拡大している。現在、いくつかの透明化試薬が入手可能であり、有機溶媒を用いた手法(BABB, DISCO)、水溶性化合物を用いた手法(SeeDB, Scale, CUBIC)、脱脂と固定を組み合わせた手法(CLEARITY, SWITCH)など、それぞれの透明化試薬に特徴があるとされている。今回、組織片及び培養細胞から作製されたOrganoidについて、各透明化試薬により透明化を施し、その特徴を透明化能・蛍光色素/自家蛍光の鮮明度・観察深度などの観点において比較検討をした。各透明化試薬の特徴と観察時の留意点についてご紹介をしたい。

S1-2

毒性病理評価におけるMagnetic Resonance Imaging(MRI)活用の可能性

○武田 賢和

エーザイ株式会社 バイオフィーマシューティカル・アセスメント機能ユニット 筑波安全性研究部

Magnetic Resonance Imaging (MRI) は、非侵襲的かつ高感度に生体内の病巣を3次元的に捉えるイメージング技術として、臨床での病態診断や病態モデル動物での薬効評価等に幅広く用いられている。MRIは、Computed Tomography (CT) やPositron Emission Tomography (PET) と比較して、放射線被曝がなく、骨や空気の影響を受けず、高い分解能で横断像や縦断像など任意の断面を撮像できる特長を有する。また、MRIは磁場と電磁波を利用し、生体の水や脂肪に豊富に存在するプロトンの、組織内の密度や磁力による励起後の緩和(元の平衡状態に戻る過程)の違いを画像化することで病変を検出できるため、脳などの水分や脂肪の多い臓器の解析に適すると言われる。

本技術は、非臨床安全性研究の分野においても応用可能であり、同一生体内で病変部位を検出し、その経時変化や回復性の評価への活用が期待される。毒性病理学的には、臓器中の病変の有無や局在・分布を3次元的に確認することで、最適な病理標本作製部位の抽出や、病変の病理組織的特徴とその臓器内分布との関連性の比較・考察への応用などが期待される。したがって、毒性病理評価への活用としては、生体だけでなく、剖検後に採取した臓器組織をMRIで解析する方法も有効と考える。本演題では、MRIを活用した毒性病理評価の可能性と展望について、弊社のラット固定臓器における中枢神経病変の検討事例および文献情報を交えて紹介する。

S1-3

毒性評価におけるイメージング質量分析法の活用

○櫻村 茜¹⁾、佐藤 寛子¹⁾、田中 広治²⁾、明石 知也²⁾、大野 祐子¹⁾、吉川 佳佑¹⁾、馬場 伸之¹⁾、鍛冶 秀文³⁾、田中 雅治⁴⁾

¹⁾田辺三菱製薬(株) 安全性研究所、²⁾田辺三菱製薬(株) 薬物動態研究所、³⁾(株) LSIメディエンス、
⁴⁾(一財) バイオインダストリー協会

イメージング質量分析法(IMS: imaging mass spectrometry)は、質量分析計を用いて組織切片上で測定した分子の局在を2次元の画像として取得する技術であり、創薬研究においては、新規標的探索、PK/PD評価、毒性メカニズム解明等への応用が期待されている。IMSの最大の強みは標識不要で投与化合物等の局在を可視化できることで、通常の毒性試験に容易に組み込むことができる。我々は、IMSを病理組織学的検査と組み合わせることで、毒性機序解明に活用する取り組みを進めている。

(1) 既知化合物での検証

Amiodarone (AMD) を7日間経口投与したラットの肺、脾臓、腸間膜リンパ節を用いて、リン脂質蓄積による組織学的な空胞化病変と、IMS解析で得られたAMD・AMD代謝物・リン脂質の分布を比較した。その結果、AMD・AMD代謝物・リン脂質は、空胞化病変の領域において病変のない領域よりも多く検出された。これはリン脂質症の機序(AMD・AMD代謝物が細胞に蓄積しリン脂質を蓄積することで空胞を形成)を裏付ける結果であり、IMSの毒性メカニズム解明における有用性が確認された。

(2) 創薬毒性評価における活用事例

Caco-2膜透過性の低いCompound Aをマウスに2週間混餌投与したところ、十二指腸粘膜上皮細胞の空胞化が認められた。本病変の形成に投与物質がどのように影響しているのか考察するためIMS解析を実施した結果、十二指腸粘膜上皮細胞に限局してCompound Aが検出された。このことから、Compound Aが、腸内腔から作用したのではなく腸上皮細胞内に取り込まれて、本病変の形成に関与した可能性が示唆された。

このように、毒性評価においてIMSが今後ますます活用されていくことが期待される。本講演では、我々の取り組みの一部をご紹介しますとともに、IMSの毒性評価における期待と展望についても議論したい。

S1-4

人工知能を用いた病理検査の取り組み—現状と今後の展望—

○甲斐 清徳¹⁾、土屋 卓磨²⁾、岩本 和樹³⁾、袴田 和巳^{4,5)}

¹⁾第一三共株式会社、²⁾大塚製薬株式会社、³⁾富士通株式会社、⁴⁾シスメックス株式会社、⁵⁾エルピクセル株式会社

医薬品の研究開発において非臨床安全性試験で病理検査は重要な評価を担うが、創薬シーズのスクリーニングで多大な時間と労力を要するため研究開発の律速になる場合がある。近年、自動車の自動運転に代表されるように、artificial intelligence (AI) の社会生活、製造あるいは科学分野への適用とその技術進歩は目覚ましい。その中でも、AIによる画像認識能は臨床でのX線、MRIなどの画像診断等にも応用され、病理分野では深層学習をヒトの腫瘍診断にも適用されている事例が多く、論文も見かけるようになってきている。また、日本病理学会ではAMED研究資金を用いて、国立情報学研究所と共同でAIを用いた病理診断支援システムの(Japan Pathology AI Diagnostic Project) 開発を行っている。創薬の分野で医薬・医療関係機関が所属しているコンソーシアムであるLife Intelligence Consortium (LINC) において、非臨床安全性試験の開発候補化合物選抜前のスクリーニング段階でAIを活用し、病理標本の非腫瘍病変(正常と異常)を判別し、病変がみられない低リスク臓器を判定可能なモデルについて検討している。本シンポジウムでは、最近の病理画像のAI適用の動向とOpen TG-GATEsに格納されている肝臓の種々の非腫瘍性病変のAIによる解析のLINCでの試みの事例を紹介し、毒性試験の病理検査へのAI適用の課題と今後の展望について概説する。

S1-5

キメラ変異遺伝子の検出によるヒト軟部腫瘍の診断

○野島 孝之

金沢大学 整形外科 病理診断科

ヒト悪性骨軟部腫瘍の多くでは遺伝的異常を有していることが知られている。代表的には、悪性骨軟部腫瘍の約30%で特徴的な転座型のキメラ癒合変異遺伝子が報告されている。この遺伝子変異は腫瘍の細胞機能や細胞の増殖制御に関与している。一方、これらの癒合遺伝子の検出は、病理診断が困難なことが多い骨軟部腫瘍の病理診断の補助に有用となっている。例としてユーイング肉腫/未分化神経外胚葉性腫瘍(PNET)の*EWSRI-Fli1*、滑膜肉腫の*SYT-SSX*、胞巣型横紋筋肉腫の*PAX-FKHR (FOXO1)*、低悪性度線維肉腫の*FUS-CREB3L2*などが挙げられる。遺伝子は種々の他遺伝子と再配列をすることができ、これらの再配列を検出する手法として、我々は逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)法、あるいは、蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH)法を用いている。これらの方法は簡便であり、日常の病理診断補助に非常に有益となっている。FISH法、RT-PCR法ともに、欠点、長所がいくつもあるが、両者を組み合わせて使用することにより、ヒト悪性骨軟部腫瘍の診断精度を向上させることができると考える。

S2-1

マウス正常組織由来オルガノイドの化学発がん研究への応用

○今井 俊夫

国立がん研究センター 研究所 動物実験部門

オルガノイドはマトリゲルを用いる三次元培養法により樹立・維持される上皮系の胞状細胞群であり、幹細胞を含む器官固有の細胞で構成される。ヒトがん組織由来のオルガノイドは元組織の遺伝子変異／発現特性を維持していることから、分子標的薬の評価に応用されている。我々は、マウス正常上皮由来のオルガノイドを作製し、レンチウイルスベクターによるがん関連遺伝子の発現再構成により発がん過程が再現できることを報告した。その後、化学物質がマウス正常上皮由来オルガノイドに及ぼす影響について検討を開始し、野生型または一つのがん関連遺伝子の発現を変化させたオルガノイドに対して化学発がん物質を *in vitro* で暴露した後ヌードマウス皮下に移植すると、腫瘍性病変の組織学的特性を示す結節を形成することを明らかにした。動物モデルを用いる化学発がん研究では、全身の諸器官を対象にできる上、経時的観察により前がん病変から腫瘍性病変への変化を解析できるが、腫瘍性病変の発生まで一般的に長期間を要する。一方、オルガノイドの化学発がん研究への応用により、比較的短期間で腫瘍性病変を誘発できること、上皮細胞に対する化学物質の直接的な作用の解析が可能であり、更に化学物質の暴露を *in vitro* で行うことによる動物の苦痛軽減といった特性を生かすことが期待できる。現在、*in vitro* で化学物質曝露した後のオルガノイドの変異遺伝子を解析して発がん早期過程で標的となる遺伝子を明らかにし、更にヌードマウス皮下移植後の腫瘍性病変にみられる変異遺伝子と比較する作業を行っている。発がん早期の起始過程の現象と、その後の進展過程で付加される現象とを分けて解析することで、複雑な化学発がん過程の分子機序に関してより詳細な知見が得られるか考察を試みる。

S2-2

ヒト化NOGマウスを用いたヒト免疫反応の再現と応用

○高橋 武司

(公財) 実験動物中央研究所

重度免疫不全マウスを用いたヒト血液免疫系のマウス体内の再構築によりヒト免疫反応を生体内で解析することが可能になりつつある。実験動物中央研究所(実中研)ではNOGマウスの遺伝子改変を通じて幅広い血液系譜の発生、機能的免疫反応の誘導に取り組んでいる。これらはヒトサイトカイン遺伝子の導入、ヒトHLA遺伝子の導入、マウス遺伝子の破壊などを含み、次世代型NOGマウスとして現在までに60種類ほどのマウスを樹立し、その特性を解析している。中でもヒトGM-CSFとIL-3を発現させたNOG-GM-CSF/IL-3トランスジェニックマウス(Tg)ではNOGマウスと比較してヒト好酸球、好塩基球などの顆粒球、マスト細胞、樹状細胞などのミエロイド系細胞の分化発生が促進される。これらのミエロイド細胞は炎症反応において直接のメディエーターとなる場合が多いため、病態再現という観点からヒト化NOG-GM-CSF/IL-3TgマウスはNOGマウスに比べてより適していると考えられる。我々はこのマウスを用いてヒトアレルギー反応の再現を試みている。本発表ではこのマウスを用いた受動的皮膚アレルギー反応、受動的食料アレルギー反応、喘息様症状の再現について紹介する。特に喘息モデルにおいては、IL-33をトリガーとしてIL-13産生細胞の誘導、エオタキシンの産生、ヒト好酸球の浸潤、肺粘膜におけるゴプレット細胞の誘導、などヒト病態に類似する症状の再現が可能であり、ヒト化マウスを用いた創薬研究の有用なツールとなることが示唆された。

S2-3

オートファジー欠損マウスの解析から何がわかったか？

○小松 雅明

順天堂大学 医学部 生理学第二講座

オートファジーは小胞体ないしはその近傍の構造体から出現した隔離膜が伸長して細胞質成分を取り囲んだオートファゴソームが形成される過程と、生じたオートファゴソームがエンドソームないしはリソソームと融合し内容物を消化する二つの過程から構成されている。1990年代の大隅良典博士らの出芽酵母を用いた先駆的な研究、すなわち出芽酵母におけるオートファジーの発見とそれに引き続くオートファゴソーム形成に必須なATG (AuTophaGy) 遺伝子の同定により、「分子機構の基本フレームワーク」、そして「栄養素の供給や細胞内品質管理機構といった基本的な生理作用」が明らかになった。さらに、近年のオートファジー研究の爆発的発展を背景に、オートファジーが遺伝情報の維持機構、分化や環境変化に伴う細胞制御、幹細胞の維持・分化、そして老化抑制に深く関与することが明らかになってきた。即ち、オートファジーは生命の謎を解くキープレイヤーであると共に高齢化社会における健康を守るための重要な生体監視システムであることが判明した。しかし、このような生命の根幹に関わる事象の制御は基本的なオートファジーの生理機能だけでは説明できない。本講演では、オートファジー欠損マウスからわかってきた選択的オートファジーによる転写制御機構、すなわち「ユビキチンリガーゼの分解を介したストレス応答機構」を紹介するとともに、それらの破綻による病態発症機構について討議したい。

S2-4

尿路結石モデルマウスの開発とその活用による遺伝学的研究の成果

○岡田 淳志、田中 勇太郎、杉野 輝明、海野 怜、田口 和己、濱本 周造、安藤 亮介、戸澤 啓一、郡 健二郎、安井 孝周

名古屋市立大学大学院 医学研究科 腎・泌尿器科学

尿路結石は、90数%の無機物質と数%の有機物質で構成される。これまでの尿路結石研究は、無機物質を中心に行われてきたが、その有病率は増加の一途を辿っていた。私たちは、尿路結石の遺伝因子に着目し、遺伝子改変技術の確立したマウスでの結石モデルの確立に取り組んだ。

① 尿路結石モデルマウスの開発

当初はモデルラットに準じ、エチレングリコールの自由飲水を行ったが、結石は形成されなかった。このため、シュウ酸前駆物質(エチレングリコール、グリコール酸、グリオキシル酸(GOx))を多段階の濃度・期間を設定し、胃管・腹腔内投与を行ったところ、GOxの腹腔内投与のみが腎結晶形成を生じた。

② オステオポンチン(OPN)ノックアウトマウス研究

尿路結石のマトリックス蛋白OPNの機能解析を遺伝子改変マウスを用いて行った。OPN^{+/+}の腎結石はOPN^{-/-}より有意に多かった。またOPN^{+/+}の結晶は花弁状に大きく、OPN^{-/-}は砂状で小さかった。さらにOPN機能ドメインマウス・OPN抗体研究によって、OPNが結石の促進因子であることを証明した。

③ 尿路結石消失現象とマクロファージ(Mφ)の関与の発見

モデルマウスにおいて一度増えた結石が消失する現象を発見した。マイクロアレイ解析によりMφ関連遺伝子の発現亢進を認め、Mφの結晶貪食を捉えた。またMφのsubtypeに着目し、M1(炎症型)が結晶形成を促進し、M2(抗炎症型)が抑制することを見いだした。

④ その後の研究の発展

モデルマウスにおけるミトコンドリア障害の発見は、Cyclophilin D欠損マウス研究と垂系統マウス研究を通じて、現在オートファジー研究を行っている。またメタボリックシンドローム(MetS)モデルマウス研究から、現在ベージュ細胞研究を行っている。

W-1

がん原性試験における腫瘍病変

○山口 裕子、山川 誠己、永谷 真理子、池崎 信一郎、星谷 達

(株) ポゾリサーチセンター 病理部

がん原性試験は、104週間という長い投与期間を有し、試験開始から終了まで約3年間を要する。誘発性の腫瘍発現の有無を検討する事が最大の目的である。発がん性は統計学的検査結果(Peto検定結果における腫瘍発生率の有意差の有無)を主とし、用量との関連性、前腫瘍性病変の誘因の有無あるいは類似薬などでの発がん性の情報などを考慮して総合的に評価される。今回は、適切に発がん性を評価するにあたり、考慮すべき下記の4点について述べる。

1. 造血器系腫瘍あるいは全身性に多発する腫瘍の個体毎発生率の評価：造血器系腫瘍は原発臓器を特定するのが困難なため、「Hemolymphreticular system」などの系を臓器名として登録し、これに当該腫瘍を入力する事により個体毎発生率を評価する。血管系腫瘍などの全身性に多発する腫瘍も、上記と同じ方法により個体毎発生率を評価する事が重要である。
2. 良性と悪性をあわせた個体毎発生率の評価：増殖性病変は、過形成病変、良性腫瘍、悪性腫瘍へと進展していく考え方が一般的である。よって、良性腫瘍、悪性腫瘍のいずれかで有意差がみられた場合は、良性と悪性をあわせた個体毎発生率の検定結果を考慮する。
3. 背景値の重要性：Peto検定の有意水準は、試験実施施設での背景的発生率が1%を境に異なる。またロット間差及び年代による変動も考慮するため試験実施施設における背景値は重要である。
4. 有意差の有無以外に考慮する事項：げっ歯類の腫瘍発現は1年半以降に急激に増加する。被験物質投与の影響により生存率低下あるいは体重増加抑制がみられる場合は腫瘍発現の低下が起こるため注意が必要である。また腫瘍発生率に有意差がみられても偶発性を疑う、逆に稀な腫瘍が有意差なく増加傾向を示す場合は、過形成病変の動向及び周辺情報の確認が必要である。

W-2

毒性評価上注意すべき胃病変—それって被験物質の影響？—

○佐藤 順子

(株) LSIメディエンス

多くの毒性試験において投与経路として経口投与が選択されるため、被験物質の影響が胃に出ることがある。しかし胃は常に胃酸にさらされる環境にあり、経口投与では毒性とは別の薬物刺激が直接加わり、またストレスにも敏感に反応する臓器でもある。病理評価において真の毒性変化か否かを見極めるには、毒性試験でみられる非特異的な変化を知っておくことが必要となる。今回、そのうちの「ストレス性びらん・潰瘍」と「媒体刺激による胃粘膜の反応」にスポットを当ててみた。胃では、群に偏らない腺胃粘膜の壊死・びらんが見られることがある。炎症性細胞浸潤や再生等の細胞反応はない、ただゴースト状の壊死部が限局性に見られるのみ。これは薬剤の影響、ストレス、それともアーティファクト？動物はストレスを受けると胃粘膜の細動脈が収縮し、虚血状態となる。また収縮・弛緩を連続する場合もある。この胃の血流量低下、虚血再灌流状態、粘膜防御機構低下により胃粘膜に急性壊死病変が生じる。また胃酸は病変の増悪因子となり、急性にびらん・潰瘍を作り得る。ラット虚血再灌流モデルでは再灌流後1時間でびらんが発生し、48時間で潰瘍まで発展することが報告されている。注意すべきは再灌流後3時間までは炎症性細胞の出現がないということである。腺胃粘膜は主細胞、壁細胞および副細胞で構成され、さらにECL細胞が基底部に、Globule leukocyteが粘膜上皮間に散在する。こういった様々な構成細胞の割合、量の振れ幅を正常ラットの観察時に把握しておかなければ変化が起こった時に気づくことができない。今回はポリエチレングリコールを媒体とする経口投与の際に認められる胃粘膜反応(Globule leukocyteの増加)について紹介する。

W-3

摂餌減少や日内変動に関連した心臓や肝臓の変化

○松尾 沙織里

中外製薬株式会社

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。また、動物の摂餌時間と剖検のタイミングにより、評価項目の変動が被験物質による影響か否かを区別することが難しい場合もある。我々は、摂餌量の減少に関連した各種評価項目の変動を確認する目的でカンクイザルにおける2週間の制限給餌試験及び剖検のタイミングによる評価項目への変動を確認する目的でマウスの経時的剖検試験を行った。カンクイザルの制限給餌試験において、制限給餌群(雄、n=3)には対照群の25%を2週間給餌した。マウスの経時的剖検試験において、CrI:CD1 (ICR)の8週齢の雄を用い、非絶食下で午前9時に剖検する群、午後13時に剖検する群、午後17時に剖検する群(各群n=3)を設定した。今回は、カンクイザルの心臓及び肝臓の変化、マウスの肝臓の変化の特徴について報告し、摂餌量低下時や同一試験内で剖検タイミングが異なる場合の毒性評価の際に考慮すべき点等について言及したい。

W-4

毒性試験における動脈炎、自然発生か薬剤誘発性か

○藤原 利久

(株)新日本科学 安全性研究所 病理研究部

我々が毒性試験等でしばしば遭遇する動脈炎は単発的で用量相関性を示さず、試験内の対照群や施設の背景データとの比較により、自然発生と判断されることが多い。一方で全身器官・組織に多発したり、高用量群の少数例で観察されたり、薬剤誘発性か自然発生かの判断に迷う事例にも遭遇する。実験動物における自然発生の動脈炎は、薬剤誘発性のものと好発部位や組織所見が類似しているため、病理組織検査だけで両者を区別することが難しい。加えて、自然発生の動脈炎は投薬ストレスや薬剤による干渉で病変が複雑化したり重篤化することがあるため、解釈をより混乱させる。動脈炎は全身のあらゆる器官で発生するが、動物種により好発部位や発生頻度、薬剤による反応性が異なる。イヌで自然発生する特発性多発性動脈炎は心臓、精巣上体および胸腺などで好発し、血管系に作用する薬剤(血管拡張型の降圧剤など)では病態が重篤化することがある。ラットでは、精巣、膵臓および腸間膜の動脈で自然発生し、加齢とともに発生頻度は上昇する。また、ホスフォジエステラーゼ阻害薬の投与により、腸間膜に動脈炎が発生することが知られている。サルでは発生例数は少ないが、腎臓、心臓、精巣上体および肝臓(胆嚢)などで自然発生する。この様に、動脈炎の解釈は、動物の種差や特性を理解した上で、試験群間での発生頻度の比較、病変の質及び程度(病期)、分布などの病理学的評価、臨床症状や臨床病理学検査の結果を基に考察することが重要である。さらに、投与した薬剤の薬理学的特性(薬効メカニズムなど)や薬物動態学的特性(分布など)なども考慮した上で薬剤誘発性か自然発生かを判断すべきであろう。本発表では、主に自然発生の動脈炎の特徴について解説し、毒性試験における評価の一助となることを目的とする。

W-5

ストレスと副腎

○猪又 晃

富士フィルム株式会社 医薬品・ヘルスケア研究所

副腎は化合物投与に起因した変化がよくみられる内分泌系臓器であり、なかでも副腎皮質細胞の肥大はステロイド合成阻害作用やホルモン作用を有する化合物で引き起こされる。一方、副腎はストレスホルモンを生合成・分泌する臓器でもあることから、種々の化合物の高用量投与群において一般状態の悪化などで動物が高いストレス条件下におかれた場合に非特異的な変化として副腎皮質細胞の肥大が起こる。したがって、毒性試験でこれらの変化に遭遇した際に、一般状態、体重及び摂餌量の推移、臓器重量、各種検査値はもとより、病理組織学的検査にあたっては、動物種、性、週齢による組織学的差異、及び関連臓器の変化を含めて総合的に評価することが肝要である。

W-6

大動物の未成熟生殖器における毒性評価上の課題

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

1) (株) イナリサーチ 試験研究センター、2) ルナパス毒性病理研究所

イヌ及びカンクイザルなどの大動物を用いた一般毒性試験において、発育過程にある生殖器の毒性評価については試験を実施する上で重要な課題である。OECD (Test No.409)、FDA Redbook 2000: IV.B.1、EPA OPPTS 870.4100などの各ガイドラインにおいて、イヌでは4～6カ月齢で投与を開始することが望ましく、遅くとも9カ月齢を超えないものと定められており、実際には6～8カ月齢で試験を開始するが多い。一方、カンクイザルでは2～3歳齢からの試験開始が一般的である。性成熟は、イヌでは7～12カ月齢、サルでは4.5～5.5歳とされており、短中期(2、4、13週間)反復投与試験では性成熟を迎えていない動物を用いて生殖器毒性を評価することも予想される。雄イヌでは同じ月齢でも生殖器及び副生殖器の成熟度の個体差が大きく、成熟の指標とはならず毒性評価を困難にしている。また、サルはコスト面、動物のサイズ、供給元などの要因により成熟サルを入手することが難しい場合もある。大動物を用いた一般毒性試験では、未成熟動物を供試しているという理解が大事である。体重増加抑制により生殖器の発育が遅延することに度々遭遇するため、体重や他臓器の体重比重量の変動を総合的に判断して生殖器への影響を評価することが必要である。本ワークショップでは、雌雄の生殖器及び副生殖器の発生(未成熟な形態学的特徴)、グレーディング評価の意義、INHAND及びSEND Controlled TerminologyにおけるImmature、Atrophy、Hypoplasiaの定義及び鑑別点、大動物を用いた生殖器毒性評価で注意すべき点について解説を行う。また、毒性試験で遭遇するケースについて具体例を挙げて紹介する。

W-7

毒性評価時に問題となる基礎病変とその考え方—気管内投与法により誘発される肺病変—

○沼野 琢旬、杉山 大揮、森岡 舞、宇田 一成、土井 悠子、河部 真弓、米良 幸典、玉野 静光

株式会社DIMS医科学研究所

【背景と目的】 気管内投与法は、気道を介して暴露される物質(ナノマテリアル並びに薬剤)の肺毒性評価に用いることが可能な方法であり、簡便且つ安価、投与量を推定可能なことから、用量反応関係を決定でき、さらには生体反応機序の解明に適した手法である。しかしながら、被験物質を懸濁する媒体由来ないし投与法それ自身による影響についての知見は少ない。そこで今回は媒体を気管内投与することにより誘発される変化、さらに化学物質誘発性の変化の特徴について比較検討した。

【材料と方法】(実験1)被験物質の毒性評価を行った文献を参照し、各種の媒体について、8週齢のCrI:CD(SD)雄ラットに単回気管内投与し、投与3日後に剖検して、肺胞洗浄液(BALF)及び病理組織学的検査結果の比較を行った。(実験2)薬剤としてプレオマイシンを、ナノ物質として単層カーボンナノチューブを、それぞれ単回気管内投与し、病理組織学的に検索した。

【結果及び結論】 媒体の投与により誘発されたBALF値の変動、肺の病変並びにその程度は、媒体の種類により変化がみられた。つまり、気管内投与法により被験物質の毒性を議論する際には、無処置群を設定し、BALFの検査と病理組織学的検査により、媒体による影響を把握したうえで薬剤の影響を適切に判断することが必要となる。本発表では、薬剤誘発性の肺の病理組織学的変化ならびに気管内投与法の手技に依存した病変について、また、単層カーボンナノチューブを気管内投与した急性の病理組織像についても併せて報告する。

【本発表内容には、平成29年度化学物質安全対策(ナノ材料気管内投与試験法等の国際標準化に関する調査)による研究成果を含む】

W-8

Pathological Indicators for Reflux-Related Changes in Oral (Gavage) Studies

○Klaus Weber

AnaPath GmbH, Switzerland, Eurofins/ BSL BIOSERVICE Scientific Laboratories Munich GmbH

When evaluating oral toxicity studies, gavage-related findings are not uncommon. Often, reflux-related lesions consist of inflammatory and degenerative processes in nasal cavities, larynx, trachea, larynx, and lungs. These lesions may be related to the vehicle, e.g., corn oil, liquid paraffin etc. Even well-known vehicles, e.g., carboxymethylcellulose, may cause unusual lesions in the lungs under specific physical/chemical conditions. Under some conditions, the resulting lesions may be misinterpreted as test item-related lesions, e.g., phospholipidosis. Early death may occur, and hence, such alteration affect the study outcome, especially if not recognized and well-interpreted. Also test items may cause such lesions, e.g., test items hardly to dissolve, test items with thixotropic behavior, or of high pH values. In some cases, the primary reflux-related lesions may cause secondary lesions that need to be excluded of primary systemic test-item related lesions, e.g., nasal cavity inflammation due to reflux may cause secondary effects in the brain (meningitis, encephalitis). Rarer are reflux-related findings in the esophagus or even in the pharynx. The latter lesions however, do not occur as isolated changes but are present in a combination with aforementioned organ affections. In the case of a participation of the forestomach and/or esophagus, other factors may play a role that need to be excluded, e.g., the selection of gavage probes.

The Toolbox for Molecular Pathology

Darlene Dixon, DVM, PhD, DACVP, FIATP

Molecular Pathogenesis Group, National Toxicology Program (NTP) Laboratory, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, North Carolina, USA

With rapid advances in molecular based assays and high-throughput screening (HTS) approaches in toxicologic assessments, the pathologist in the 21st century is faced with great opportunities and challenges. Modern toxicology is moving towards high-throughput screening (HTS), two- and three-dimensional (2-D and 3-D, respectively) *in vitro models*, and molecular technologies with the goal of Reduction, Refinement, and Replacement (3 R's) of animals in toxicity and carcinogenicity testing (MacArthur Clark, 2017). This movement towards lower animal species, *in vitro* model systems, and molecular high-throughput technologies challenges the pathologist to become partners of multidisciplinary teams and to have a basic understanding of molecular biology terminology and the application of tools used in modern toxicology.

Molecular pathology is defined as an emerging discipline that studies disease or toxicant/drug induced changes that involves the examination of molecules in cells, tissues, organs, or body fluids, and requires a multidisciplinary approach. It is described as a "crossover discipline" incorporating anatomic and clinical pathology with other disciplines including molecular biology, biochemistry, and cell biology. Therefore, with the ever advancing and merging fields of molecular biology and toxicology, it is important for the pathologist to have a working knowledge of the terminology and a basic understanding of the approaches used to detect molecular toxicology events.

There are several approaches available to evaluate changes in the genome, epigenome, and the transcriptome (Zhao et al., 2014). This presentation will give an overview of technologies used for gene expression assessments to next generation sequencing (NGS, RNAseq) platforms to Nanostring™ technologies and their applications. Additionally, gene silencing approaches (Bar et al., 2016) have become commonly employed in biomedical research and their importance will be discussed. Basic molecular biology terminology and molecular tools and technologies available to toxicologic pathologists for protein analysis in addition to the advantages and disadvantages of current *in vitro* 2-D versus 3-D model systems will be covered.

References

1. MacArthur Clark J (2017). The 3Rs in research: A contemporary approach to replacement, reduction and refinement. *Br J Nutr* 2017 October 30, 1–7.
2. Zhao S, Fung-Leung W-P, Bittner A, Ngo K, Liu X (2014). Comparison of RNA-Seq and Microarray in Transcriptome Profiling of Activated T Cells. *PLoS ONE* 9(1): e78644.
3. Bar C, Chatterjee S, Thum T (2016). Long Noncoding RNAs in Cardiovascular Pathology, Diagnosis, and Therapy *Circulation*. 134:1484–1499.

一般口演 要旨

O-01 ~ O-09

O-01

ラット膀胱発がんに対するニコチンの影響

○鈴木 周五、加藤 寛之、不二 哲、内木 綾、高橋 智

名市大・院・医・実験病態病理

【目的】喫煙は尿路上皮癌のリスク因子であり、ニトロソアミン類など発がん物質とともにニコチンが多く含まれる。尿路上皮癌細胞株を含む種々の細胞でニコチンによる細胞増殖促進効果が報告されており、膀胱に対するニコチンの発癌促進効果および、その機序について動物を用いて検討した。

【材料と方法】発癌促進効果を検討するため、6週齢雄F344ラットにBBNを4週間飲水投与後、酒石酸ニコチンを0、10、20および40 ppmニコチン濃度相当で32週間飲水投与した。また、ニコチンによる発癌促進効果機序を検討するため、6週齢雄F344ラットに酒石酸ニコチンを4週間飲水投与し、その投与中にニコチン性アセチルコリン受容体阻害剤(hexamethonium chlorideもしくはMLA)を週5回腹腔内(計20回)に投与した。いずれも屠殺・剖検し、病理組織検討および免疫組織化学染色を行った。

【結果】ニコチン投与群では飲水量および体重増加が濃度依存性に低下し、20 ppm以上で有意な低下を認めた。病理組織検討の結果、膀胱尿路上皮癌の発生はニコチン投与濃度依存性に増加し、40 ppm投与群において有意な差が見られた。加えて、Ki67、リン酸化Stat3の陽性率が、ニコチン投与濃度依存性に有意差をもって増加した。また、4週間のニコチンおよびニコチン性アセチルコリン受容体阻害剤を用いた実験では、ニコチンにより誘導された膀胱および腎盂の単純性過形成病変発生が阻害剤投与群で抑制され、Ki67陽性率も有意に抑制された。腎盂においてはリン酸化Stat3の陽性率も有意に低下した。

【結論】ニコチンは膀胱発がん促進作用を有し、その機序としてニコチン性アセチルコリン受容体を介することが考えられる。

O-02*

o-Acetoacetotoluidideによる膀胱に対する毒性、発がんプロモーション作用の検討

○行松 直、奥野 高裕、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

芳香族アミンによる膀胱発がんは以前より知られているが、詳細な発生メカニズムは明らかでない。近年、福井県の化学工場でお-toluidine (OTD) などの芳香族アミンを扱った従業員複数人が膀胱がんを発症し、労災認定を受けた。OTDはIARCにてGroup1 (ヒトに対する発がん性がある) に分類されている。o-Acetoacetotoluidide (AAOT) はOTDのアミノ基がアシル化された化合物である。しかし、OTDと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。AAOTのラット膀胱に対する毒性、発がんプロモーション作用を評価するためラットにAAOTを4週間投与する短期毒性試験、既知の膀胱発がん物質であるN-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) を4週間投与後、AAOTを31週投与する2段階発がん試験を行った。短期毒性試験の結果、AAOT投与群でラット膀胱粘膜上皮に対して細胞増殖能の亢進およびDNA障害を用量相関性に生じさせることが明らかとなった。また、尿中代謝物においてAAOTより高濃度のOTDが検出されたことからAAOTがOTDに代謝され膀胱に対する毒性を示す可能性が示唆された。2段階発がん試験では、AAOT投与群で膀胱重量の増加、膀胱がんの発生頻度の増加を認めた。AAOTはラットの膀胱に対し毒性、発がんプロモーション作用を有することが明らかとなった。

O-03

新生仔期での甲状腺被曝で特異的に誘発される甲状腺病変

○藤本 成明¹⁾、松山 睦美²⁾、中島 正洋²⁾¹⁾広島大学 原爆放射線医学研究所、²⁾長崎大学 原爆後障害医療研究所

【背景】小児期の放射線被曝により甲状腺癌発症リスクが高まることはよく知られており、福島第一原発事故後にも多くの関心が払われた。一方、小児期被曝は甲状腺機能障害に関与することも示唆されてきた。そこで、新生仔ラットと成体ラットの甲状腺へ局部X線照射を行い、甲状腺組織及び甲状腺機能への影響を解析した。

【方法】雄Wistarラット(1週齢および8週齢)を用い、0, 6Gy, 12GyのX線を頸部照射した。8週齢および16週齢時で安楽死させ、甲状腺組織の病理学的解析、甲状腺組織内の各種遺伝子発現を定量した。

【結果】1) 甲状腺組織：1週齢X線照射群では、8週齢時に甲状腺濾胞小型化を伴う特徴的な変化が観察された。変化の程度は照射線量依存的であった。この変化は15週齢時でも継続していた。一方、8週齢時X線照射群では甲状腺組織像に有意な変化はなかった。2) 甲状腺遺伝子発現：1週齢X線照射群でのみthyroglobulin (Tg) mRNAの発現低下、thyroid peroxidase (TPO) mRNAの発現上昇がみられた。3) 血中ホルモン：1週齢X線照射群ではTSH値が上昇したが、8週齢X線照射群では影響がみられなかった。

【考察】新生仔期ラットの甲状腺組織及び甲状腺ホルモン調節系は、放射線に高感受性であることが示された。小児期単回被曝により、成体期に及ぶ甲状腺病理組織変化・機能障害が引き起こされる可能性が示唆された。

O-04*

非遺伝毒性肝発がん物質特異的に過メチル化・発現下方制御を示した遺伝子の肝発がん物質に対する発現反応性

○伊藤 優子^{1,2)}、中島 康太^{1,2)}、増淵 康哲^{1,2)}、菊地 聡美¹⁾、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】DNAのメチル化は細胞分裂後の娘細胞に継承される性質を持つため、不可逆的な発がん過程の進行に重要な役割を果たす可能性がある。これまで我々は、遺伝毒性肝発がん物質(GHC)であるジエチルニトロソアミン、非遺伝毒性肝発がん物質(NGHC)である四塩化炭素(CCl₄)の発がん用量をそれぞれ28日間反復投与したラットの肝臓を用いて網羅的DNAメチル化解析を実施し、CCl₄特異的に過メチル化により発現減少した遺伝子として*Ldlrad4*(LDL受容体)、*Proc*(血液凝固因子阻害分子)、*Cdh17*(カドヘリン分子)、*Nfia*(転写因子)を見出した。本研究では、他の複数のGHCないしNGHCを投与した際の、これら4つの遺伝子産物の反応性を比較・検討した。

【材料と方法】GHC 3剤(アフラトキシンB₁、N-ニトロソピロリジン、カルバドックス)、NGHC 2剤(チオアセトアミド及びメタピリレン)について発がん用量を28日間ないし90日間反復投与したラットの肝臓におけるmRNA発現と免疫組織学的分布を検討した。

【結果及び考察】NGHC投与群では、4遺伝子共にmRNA発現は投与28日目から減少した。発がん物質投与90日間で形成されたGST-P陽性巣(前がん病変)において、NGHC投与群ではGHC投与群に比べて、LDLRAD4及びPROC陰性巣が増加した。一方、CDH17及びNFIAの発現は遺伝毒性の有無で差を認めなかった。LDLRAD4は発現増加による肝発がん促進の報告があるものの、この分子は構造上多機能が想定されることから、発がんへのコンテクスチュアルな関与が示唆される。また、担がん患者における血中のPROCレベルが死亡率と逆相関するとの報告がある。以上より、本研究での解析の結果、*Ldlrad4*と*Proc*はNGHCのin vivo 短期検出指標となる可能性が示唆された。

O-05

マウス乳癌転移モデルにおけるリンパ節の転移前ニッチの形成

○柴田 雅朗、伊藤 裕子、田中 義久、濱岡 仁美、近藤 洋一

大阪医科大学医学部・生命科学講座解剖学教室

【目的】癌転移の成立には転移に適した微小環境が重要で、転移予定先臓器では癌細胞の生着や増殖に適した転移前ニッチが形成されていることが重要である。そこで、マウス乳癌転移モデルを用いて、リンパ節の転移前ニッチの形成について、分子病理学的に解析した。

【方法】転移性マウス乳癌細胞株BJMC3879Luc2をBALB/cマウス雌(右鼠径部)に移植し、発光イメージングにより、経時的にリンパ節転移の有無を解析した。その結果、移植後4週に屠殺剖検し(転移前群)、リンパ節を採取した。また、無処置対照群の動物も同様にリンパ節を採取した。リンパ節の病理組織標本より、RNAを抽出し、Real-time PCRを用いて、遺伝子発現を解析し、更に免疫組織学的染色を実施した。

【結果】病理組織学的解析において、転移前群では2例の右腋窩部のセンチネルリンパ節に微小転移が観察された。左鼠径部の非センチネルリンパ節についてLYVE-1の免疫組織学的染色を行った結果、転移前群において、著しいリンパ管新生を示した。Real-time PCR解析では、転移前群で*Lyve1*、*Prox1*(リンパ管内皮の増殖を促進)、*Vegf-c*および*Vegf-a*が著しく上昇していた。

【考察】転移前のリンパ節では、既にリンパ管新生の誘導因子が上昇しており、リンパ管新生が著明であり、非センチネルリンパ節において転移前ニッチは形成されていた。これは癌細胞とその生着に有利な修飾を受けたリンパ節との間に大循環を介した作用があることが示唆された。

O-06*

Luteolinの去勢抵抗性前立腺癌に対する抑制効果とandrogen receptor splice variantの役割

○内木 綾^{1,2)}、加藤 寛之¹⁾、鈴木 周五¹⁾、高橋 智¹⁾¹⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学、²⁾名古屋市立東部医療センター 病理診断科

【背景】フラボノイドの一種であるluteolinは、酸化ストレス抑制やアポトーシス誘導を介して、前立腺癌を予防することが明らかとなった。本研究では、去勢抵抗性前立腺癌(Castration-resistant prostate cancer; CRPC)に対するluteolinの効果を検証するため、CRPC細胞(ラットPcail、ヒト22Rv1)を用いて検討した。またCRPC治療薬であるenzalutamideに対する治療耐性獲得との関連が報告されている、androgen receptor (AR)のスプライスバリエント、AR-V7へのluteolinの影響も解析した。

【方法】Pcail、22Rv1の細胞増殖、アポトーシスに対するluteolinの影響を解析した。去勢ヌードマウスに対してPcail、22Rv1を皮下移植し、luteolin(100 ppm、6週間混餌投与)の腫瘍増殖、アポトーシスや血管新生に対する影響を検討した。さらに、22Rv1細胞あるいは移植腫瘍の薬剤耐性やAR-V7発現に対するluteolinの影響を解析した。

【結果】Pcail、22Rv1の細胞増殖活性および活性酸素種の産生は、luteolin濃度依存性に有意に抑制され、アポトーシスの亢進とcaspase 3、7の活性化を伴っていた。またPcail、22Rv1の移植腫瘍の体積は、luteolin投与により有意に減少し、アポトーシス標識率の上昇と、血管新生の抑制が確認された。22Rv1において、培地添加および摂餌投与いずれの投与方法においても、luteolinによりAR-V7発現は顕著に抑制され、CRPCの細胞増殖抑制能と相関していた。また、22Rv1細胞および移植腫瘍に対するenzalutamideの治療効果は、luteolinを併用投与することにより有意に向上した。

【結論】Luteolinは、酸化ストレス、AR-V7発現抑制やアポトーシス誘導を解して、CRPCに対する治療効果を発揮することが明らかとなった。現在luteolinによるAR-V7抑制機序について解析中である。

O-07

ジブチルスズのラット胎盤及び胎児毒性への影響

○古川 賢¹⁾、辻 菜穂¹⁾、小林 由幸²⁾、林 清吾¹⁾、阿部 正義¹⁾、黒田 雄介¹⁾、早川 知里¹⁾、竹内 和也¹⁾、杉山 晶彦³⁾

¹⁾日産化学株式会社 生物科学研究所、²⁾日産化学株式会社 物質科学研究所、³⁾岡山理科大学 獣医学部 獣医学科

【目的】ジブチルスズ(DBT)はラットに対して重篤な催奇形性を有することが知られている。本発表ではDBTのラットにおける胚子/胎児毒性に対する影響を明らかにするために、胎盤および胚子の病理組織学的検査とイメージングによるSnの組織内分布について検討した。

【材料及び方法】試験にはHan Wistar妊娠ラット85匹を供試した。塩化ジブチルスズ(DBTCI)はオリーブオイルに懸濁し、0及び20 mg/kgの用量にて強制経口投与した。DBTCIは妊娠7～9日(GD7-9投与群)と妊娠10～12日(GD10-12投与群)に投与した。妊娠9.5、11、13、14、15、17及び21日に剖検を行い、胚子/胎児及び胎盤を摘出し、重量測定を行った。一部の胚子/胎児及び胎盤については病理組織学的検査、ICP-MSあるいはLA-ICP-MSによるSnの組織内分布を検索した。

【結果】胚子/胎児死亡率はGD7-9投与群で、妊娠15日以降増加した。胚子/胎児及び胎盤重量は試験期間を通して両投与群で、減少あるいは減少傾向を示した。胎児外表検査では無頭有口を主体とする奇形が、GD7-9投与群のみで認められた。LA-ICP-MSによるイメージング解析ではGD7-9投与群の妊娠9.5日受胎産物の病理組織切片において、Snが胚子、外胎盤錘、卵黄嚢及び脱落膜で検出された。同切片の病理組織学検査ではアポトーシスが胚子においてのみ認められた。胎盤の病理組織学的検査では両投与群で迷路層及び基底層において一過性のアポトーシス及び有糸分裂阻害が認められ、これにより胎盤胎児部は発育遅延による低形成を示した。

【考察】DBTは妊娠7～9日の胚子に対して特異的にアポトーシスを惹起し、これにより奇形及び胚子/胎児死亡が誘発されるものと推察した。胎盤に対しては一過性に発育遅延することで小胎盤を惹起し、これにより胎児の子宮内発育遅延が誘発されるものと推察した。

O-08

腹腔内投与銀ナノ粒子によるBALB/cマウスの急性毒性における抗酸化剤の影響

○Young-Man Cho、水田 保子、赤木 純一、豊田 武士、井手 鉄哉、小川 久美子

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【背景】ナノ銀粒子(AgNPs)はその抗菌作用から生活用品のみならず、食品や医薬品分野でも最も幅広く使われるナノ物質の1つである。これまでに、ナノ物質の毒性を検討する一環として、サイズの異なるAgNPsの腹腔内投与に対する毒性を検討した所、等量の直径60及び100 nmのAgNPsを投与したマウスでは全身状態及び病理組織学的病変に明らかな変化がなかったのに対し、10 nm群では投与5時間後には立毛及び活動低下、6時間後には体温低下が認められ、投与翌日にはほぼ全例が死亡した。病理組織学的には主に肝臓の顕著な病変が認められ、銀ナノ粒子のサイズの違いによる毒性の相異が認められた。

【目的】今回、AgNPsの腹腔内投与による急性毒性の機序について抗酸化剤の影響を経時的に検討した。

【材料及び方法】7週齢の雌性BALB/cマウス(5匹/群)に、N-acetyl-L-cysteine(NAC, 2,000 mg/kg bw, i.g.)、Vitamin C(200 mg/kg bw, i.g.)、Vitamin E(100 mg/kg bw, i.g.)又はL-buthionine-(S,R)-sulfoximine(1.6 g/kg bw, i.p.)を投与した1時間後、10 nm AgNPsを0.2 mg/匹で腹腔内投与し、6及び24時間後に深麻酔下で採血・解剖し、血清生化学的検査及び病理組織診断を行った。

【結果】NAC + AgNPs群を除くすべてのAgNP投与群で、投与6時間後の血清生化学的検査では、グルコースの有意な増加が認められ、病理組織学的にはこれまでの10 nm AgNPs群と同様の肝臓のうっ血、肝細胞の空胞化及び類洞内細胞増加並びに白脾髄の単細胞壊死が有意な高頻度に認められた。このような病変は24時間後にも認められた。一方、NAC + AgNPs群では、これらの変化は明らかに抑制された。

【結論】AgNPsの腹腔内投与による急性毒性はNAC投与のみによって抑制された。

O-09

トキシコゲノミクスによるインフルエンザワクチンおよびアジュバントの次世代安全性評価法の開発

○水上 拓郎¹⁾、平舘 裕希¹⁾、佐々木 永太¹⁾、百瀬 暖佳¹⁾、古畑 啓子¹⁾、楠 英樹¹⁾、浅沼 秀樹²⁾、浜口 功¹⁾

¹⁾国立感染症研究所 血液・安全性研究部、²⁾国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター

インフルエンザの予防においてワクチンは重要な役割を果たす。本邦では1953年に全粒子ワクチン(WPv)が開発され、1962年には児童への集団接種が開始されたが発熱などの副反応が多く、1972年には副反応の軽減を目的としてHAスプリットワクチン(HAv)が開発された。近年、有効性を高めるために新規アジュバントや遺伝子組換え技術によるVLPワクチンなどの多様な剤型、経鼻接種方法の応用など多様なワクチンの開発がなされている一方、安全性、毒性評価に関しては既存の試験法で検証され、製剤間での定量的な比較は困難であった。我々は、ワクチン接種後の生体変化を遺伝子発現に置き換えることで迅速・高感度な安全性評価・予測に資するバイオマーカー (BMs) の同定を試みた。WPv及びHAvを異常毒性否定試験のプロトコールに準じ、ラットに腹腔内接種し、接種後4日間の各臓器の網羅的遺伝子発現解析を実施した。その結果、1日目の肺組織において全粒子ワクチン特異的に上昇するBMs遺伝子の同定に成功した。これらの遺伝子の中から18の遺伝子をピックアップし、HAvの安全性・品質評価に有用であることを検証した結果、より高精度かつ短期間で安全性を評価できることを明らかにした。さらにBMs発現量を数値化することで、Virisomeなどのアジュバント型インフルエンザワクチンやCpG-K3などの新規アジュバントのアジュバント増強活性や定量的な毒性の評価にも応用可能であることも明らかにした。そこで種々の未承認アジュバント添加HAvを投与した後のBMsの発現誘導と肺における組織障害、血液毒性等の変化について検証した結果、毒性病理変化のスクリーニングにBMs発現解析が応用可能であることが示唆された。現在、多数のアジュバントデータベースを作成し、BMsによる安全性評価法が可能か検討している。

ポスター要旨

P01 ~ P78

P-01

マウスのreserpine投与における神経毒性検討

○佐藤 亮、寺山 由依、西村 悠花里、土屋 卓磨、諸木 孝泰、北浦 敬介、松本 智志、吉川 剛

(株)大塚製薬 徳島研究所 前臨床研究センター

【目的】本会の第27回学術集会において、我々はreserpine投与マウスを用い、低体温誘発による精巣毒性について報告した。今回は中枢神経毒性について検討した。

【材料および方法】雄性ICRマウスにReserpineを100 mg/kgの用量で単回腹腔内投与し、投与2及び6日に剖検し、脳の病理組織学的検査及び電子顕微鏡検査を実施した。尚、投与前、投与後2、6及び12時間、投与2～投与6日における体温(直腸温)を測定した。

【結果】病理組織学的検査では投与6日屠殺例で、脳梁、前交連といった白質において希突起膠細胞の壊死(アポトーシス)あるいは空胞化を、小脳の神経核において空胞化が、橋/延髄において空胞化及び神経細胞の色質融解を認めた。投与6日屠殺例の電子顕微鏡検査では大脳白質、小脳核及び橋/延髄の空胞化にはミエリン障害を示唆する変化であることが確認された。橋/延髄の軸索に変性を、神経細胞にはrERの減少が認められた。投与2日屠殺例では異常は観察されなかった。経時的な体温(直腸温)の測定では、100 mg/kgでは投与後6時間で体温低下がみられ、投与後12時間では25℃か、もしくは、それを下回る体温低下がみられ、投与6日まで25℃か、もしくは、それを下回る低体温が持続されていた。

【まとめ】本試験でみられた脳の希突起膠細胞の壊死、白質あるいは神経核の空胞化は、精巣と同様に、低体温の持続した状態と関連があることは示唆された。

P-02*

ステリグマトシスチンのラット発達期曝露による海馬歯状回における神経新生に対する影響

○中島 康太^{1,2)}、伊藤 優子^{1,2)}、増淵 康哲^{1,2)}、菊地 聡美¹⁾、吉田 敏則¹⁾、小西 良子³⁾、渋谷 淳¹⁾

¹⁾東京農工大・獣医病理、²⁾岐阜大・院・連合獣医、³⁾麻布大・生命環境科学・食品安全科学

【背景及び目的】ステリグマトシスチン(STC)は我が国ではコメを高頻度に汚染するかび毒であり、アフラトキシンB₁生合成の中間物質として知られ、酸化的DNA損傷誘発性と共に弱い発がん性が報告されている。本研究では、STCの神経発達毒性を検討する目的で、ラットを用いた発達期曝露実験を行い、児動物における海馬歯状回の神経新生への影響を検討した。

【方法】各群12匹の妊娠SDラットに、妊娠6日目から分娩後21日目までSTC(純度:99%)を0、1.7、5.0ないし15.0 ppmの濃度で混餌投与し、児動物を生後21日目(離乳時)と生後77日目(成熟時)に解剖し、顆粒細胞層下帯における顆粒細胞系譜細胞数の変動及び歯状回門でのGABA性介在ニューロンの分布を免疫組織化学的に検討し、関連する遺伝子発現変動も検討した。

【結果】母動物では分娩後5～21日目、雄児動物では生後16～40日目で用量依存的な体重減少傾向を認めた。また、母動物の剖検時における肝臓絶対重量の低値を15.0 ppmで認めた。児動物では、15.0 ppmで顆粒細胞系譜のうち、DCX⁺のtype-3神経前駆細胞～未熟顆粒細胞数とPCNA⁺細胞数の減少、歯状回門におけるPVAlB⁺ないしCALB1⁺GABA性介在ニューロン数の増加を認めた。15.0 ppmでの遺伝子発現解析では、*Bdnf*、*Chrna7*の発現増加、*Ntrk2*、*Chrn2*、*Drd2*の発現減少を認めた。

【考察】既にアフラトキシンB₁で報告したように、STCのラット発達期曝露によっても、離乳時の海馬歯状回におけるtype-3神経前駆細胞の増殖抑制による神経新生障害を認めた。STCでは更にGABA性介在ニューロン数の増加や神経新生制御系の発現変動を認め、これらはいずれも神経新生障害に対する反応性変化であると判断された。学会では、成熟後での回復性の有無を併せて報告する。

P-03*

ラット発達期から成熟期までのalpha-glycosyl isoquercitrinの曝露が恐怖記憶の消去学習を促進する

○増淵 康哲^{1,2)}、中島 康太^{1,2)}、伊藤 優子^{1,2)}、菊地 聡美¹⁾、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

【背景と目的】我々は、抗酸化物質であるalpha-glycosyl isoquercitrin (AGIQ)をラットに発達期から成熟期まで曝露すると、恐怖記憶の消去学習が促進することを明らかにした。本研究では、AGIQ曝露時期と消去学習促進効果の関係を明らかにするために、曝露時期を発達期と離乳後に分け、曝露終了時に文脈的恐怖条件付け試験を行った。

【材料と方法】SDラットを用い、妊娠6日目(GD 6)から分娩後21日目(PND 21; 離乳時)まで(DEV群)、PND 21からPND 76まで(PW群)ないしGD 6からPND 76まで(WP群)の間AGIQを0.5%の濃度で混餌投与した。無処置対照群も設けた。PND 64から文脈的恐怖条件付け試験を行い、PND 76の条件刺激提示90分後に脳を摘出し、海馬歯状回(DG)の免疫組織化学的解析及び遺伝子発現解析を行った。

【結果】WP群のみに消去学習の促進を認めた。DGの顆粒細胞層におけるFOS⁺、ARC⁺及びCOX2⁺細胞数は、いずれのAGIQ曝露群でも変化がみられなかった。遺伝子発現解析では、WP群で*Kif21b*及び*Notch1* mRNAの高値が、DV群及びWP群で*Fos*及び*Vegfa* mRNAの高値がみられた。

【考察】WP群で、キネシンスーパーファミリーに属する*Kif21b*(恐怖記憶の消去学習に関与していることが最近報告された)発現の上昇、及び血管新生に関わる*Vegfa*及び*Notch1*((-)エピカテキン投与マウスで空間学習の促進と共に海馬歯状回で血管形成の増加が報告された)発現の上昇がみられ、これらが消去学習促進に関与した可能性がある。WP群で*Fos* mRNAが高値を示したが、FOS⁺細胞数に変動がみられないことから、FOS⁺顆粒細胞あたりのFOS発現が増加を示して、消去学習の促進に関与する可能性が示唆された。また、AGIQによる消去学習の促進には、妊娠期からの継続的な投与が必要であると判断された。

P-04*

カニクイザルの神経黒色症の1例

○柚川 藍色、森山 亜紀子、永田 一郎、小林 欣滋、千早 豊

(株)新日本科学 安全性研究所

【背景と目的】カニクイザルでは多量のメラニン色素沈着が皮膚、脳髄膜下及び血管周囲にみられた神経皮膚黒色症についての報告がある。今回、一般毒性試験に供したカニクイザルの大脳髄膜に顕著な黒色素沈着がみられ神経黒色症が疑われたので、病理組織学的に精査した。

【材料と方法】当該動物(カンボジア産、5歳、雌)には、投与期間中、一般状態及び臨床検査結果に異常はみられなかった。剖検時、大脳の側頭葉や頭頂葉などの髄膜に針尖大~小豆大の黒色巣が散在性にみられた。脳及び全身諸臓器については常法に従ってホルマリン固定・HE染色を施し、大脳の黒色巣については特殊染色及び免疫組織学的染色を施し精査した。

【結果】剖検時にみられた黒色巣では、紡錘形または円形の黒色素含有細胞の集簇及び黒色素沈着が髄膜下結合組織、大脳の皮質及び血管周囲腔に多発性にみられた。さらに一部の神経細胞及びグリア細胞の細胞質内にも黒色素沈着がみられた。これら黒色素はFontana-Masson及びmelanoma antibody陽性のメラニン色素であった。色素含有細胞のほとんどはNeuN、Iba1、GFAP、Olig2陰性であったが、一部の細胞はNeuN、Iba1あるいはGFAP陽性であった。大脳以外の他の器官・組織に特記すべき異常はみられなかった。

【結論】大脳の髄膜下や血管周囲腔におけるメラノサイトの集簇及びメラニン色素沈着のみならず、大脳の皮質におけるメラノサイトの集簇、さらに神経細胞、小膠細胞及び星状膠細胞の細胞質内にもメラニン色素がみられ、集簇メラノサイトに腫瘍性を示唆する形態学的特徴はみられず、神経黒色症と診断した。メラノサイトは神経堤細胞由来であり、脳の神経細胞及びグリア細胞は神経上皮細胞由来であることから、本病態には神経堤及び神経上皮両細胞の関与の可能性が示唆された。

P-05*

亜硫化ニッケル(Ni_3S_2)を単回硝子体内投与したFischerラットの眼球外に発生した眼窩内腫瘍の病理組織学的解析

○山際 慶典^{1,2)}、政次 美紀¹⁾、田原 春菜¹⁾、根本 真吾¹⁾、倉田 昌明¹⁾、佐藤 洋²⁾

¹⁾千寿製薬(株) 総合研究所、²⁾岩手大学大学院 獣医学研究科 比較薬理毒性学研究室

【緒言】亜硫化ニッケル(Ni_3S_2)はラットへの単回硝子体内投与により眼球内腫瘍を誘発することが知られている。硝子体内投与医薬品の発がん評価確立検討の一環で Ni_3S_2 を単回硝子体内投与したラット1例に、既報に報告の無い眼球外の眼窩内腫瘍が発生したため、その病理組織学的特徴を報告する。

【材料と方法】 Ni_3S_2 を用量0.5 mg/眼で右眼に単回硝子体内投与し、8ヵ月が経過した雄性F344/DuCrIjラットにみられた眼窩腫瘍を材料とした。動物はセボフルラン吸入麻酔下で放血致死させ、摘出した眼窩腫瘍及びその他肉眼病変のHE染色標本を作製し、光学顕微鏡で観察した。また、腫瘍の免疫組織化学染色および透過型電子顕微鏡による超微形態解析を実施した。

【結果】腫瘍は乳白色で右眼窩内に充満し、眼窩から突出して眼球を眼窩から押し出していた。また、頭蓋腔内の右三叉神経の腫大、右下顎リンパ節・頸部リンパ節の腫大を認めた。HE染色で眼窩内腫瘍は小型の楕円形～紡錘形の核を有する紡錘形細胞が束状に交錯しながら増殖しており、頭蓋骨・眼瞼・頭蓋腔・鼻腔へ浸潤していた。免疫組織化学染色ではS-100蛋白に陽性、 α -SMA、NSE、Melan-Aに陰性で、透過型電子顕微鏡観察では細胞周囲に断片的な基底膜様構造が見られたほか、細胞間の線維増生が見られた。腫大した下顎/頸部リンパ節では眼窩腫瘍を構成する細胞と同様の腫瘍細胞が観察され、リンパ節転移が確認された。

【考察及び結論】光顕の形態特徴、電顕での基底膜様構造及びS-100蛋白に陽性を示したことから、本腫瘍を眼窩内悪性神経鞘腫と診断した。本結果から、 Ni_3S_2 はFischerラットへの硝子体内投与により眼球外にも腫瘍を生じることが明らかとなった。

P-06

外傷性孔脳症と視覚器異常がみられた雌ビーグル犬の1例

○橋口 収、池崎 信一郎、齋藤 翼、伊倉 佐織、中澤 朋美、笠原 健一郎、山口 裕子

(株)ボゾリサーチセンター 病理部

【背景】孔脳症は、周産期や胎児期等に、感染症、循環障害、遺伝子異常、外傷などが原因で、脳に嚢胞または空洞が生じる病変として知られている。獣医学領域では反芻動物での報告が多いものの、実験用ビーグル犬での報告はほとんどない。今回、視覚障害を示し、孔脳症を疑うビーグル犬に遭遇し、脳及び視覚器(眼球、視神経)について病理学的に検討する機会を得た。

【材料・方法】症例は、社内背景データ収集のために水道水を1年間経口投与した雌の1例(TOYO Beagle、北山ラベス、18ヶ月齢)である。本例は一般毒性試験で実施する各種検査、眼検査を行った。病理組織学的には、脳、視覚器を用いて、HE染色、ルクソールファストブルー染色(LFB)、マッソントリクローム染色、免疫染色(Iba1)を行った。

【結果】肉眼的には、脳は大脳右半球の前頭葉から頭頂葉にかけて陥凹巣(20×10×5 mm)及び脳脊髄液貯留がみられた。陥凹巣に接する脳実質は、硬膜との部分的な癒着がみられた。右視神経は小型化がみられた。組織学的には、大脳は、くも膜下腔から右側脳室にかけて空洞がみられ、空洞周囲の脳実質は萎縮していた。癒着部位は、脳実質に広範な線維化がみられ、同部位に褐色色素の沈着及びIba1に陽性を示すミクログリアの増加がみられた。右眼球は神経節細胞層を主とする網膜萎縮が、同側視神経は径の縮小及び細胞数の減少がみられ、LFBで染色性の低下を伴っていた。

【まとめ】本症例は、側脳室まで空洞が連続していたことから程度の強い孔脳症と考えられ、脳実質傷害がみられたことから、外傷に起因する可能性が示唆された。視覚器の組織学的異常と脳病変との関連性は不明であったが、追加検索を実施し、その結果についても合わせて報告する。

P-07*

網膜色素変性症動物モデルにおけるキトサンオリゴ糖の抑制効果

○小山 千尋¹⁾、竹之内 明子¹⁾、金瀬 茜¹⁾、行光 由莉¹⁾、榎本 祐子²⁾、野口 貴子³⁾、黒住 誠司³⁾、佐藤 公彦³⁾、岡本 芳晴⁴⁾、
義澤 克彦¹⁾

¹⁾武庫川女子大学大学院 生活環境学研究科 食物栄養学専攻、²⁾関西医科大学 倫理審査センター、³⁾甲陽ケミカル株式会社、
⁴⁾鳥取大学 共同獣医学科 臨床獣医学

【背景及び目的】網膜色素変性症は最終的に失明を来す代表的な眼科疾患で、病態の理解と治療法の開発が必要である。N-メチル-N-ニトロソ尿素(MNU)誘発ラット網膜変性症及び遺伝性網膜変性症モデル(C3Hマウス)でのキトサンオリゴ糖による病態抑制効果について検証した。

【方法】1. 7週齢雌SDラットに4 mg/kg MNUもしくは生理食塩水を単回腹腔内投与した。4%COS水(2 mL/匹)をMNU投与3日前から投与後7日まで1日1回(MNU投与日は投与2時間前及び6時間後)、強制経口投与した。MNU投与後7日に両側眼球と血清を採取し、眼球の病理評価を実施した。網膜の形態計測(網視細胞比率・網膜障害率)に加えて、d-ROMsテストにより血清中酸化ストレス度を測定した。2. C3H母マウスに出産日から解剖日まで2%COS水もしくは蒸留水を自由飲水させた。13及び18日齢仔マウスの眼球を病理評価し、視細胞比率を算出した。

【結果】1. 4%COS水併用群ではMNU単独群に比べ中心部網膜視細胞比率が高く、網膜障害率は低下を示し、視細胞障害の抑制がみられた。MNU投与群では血清d-ROMs値が高値を示したが、4%COS水併用群では軽減した。2. 18日齢C3Hマウスでは蒸留水群で網膜外層の減少が顕著であったが、2%COS水併用群では網膜外層が残存した。

【結論】COS水はMNU誘発視細胞障害及びC3Hマウスの遺伝性網膜変性を軽減させた。MNU並びにC3Hマウスの視細胞障害には酸化ストレスによる細胞死が関与することが報告されており、COSによる酸化ストレスの軽減が病態抑制に関与しているのかもしれない。COSはヒト網膜色素変性症の病態抑制効果が期待できるものと考えられた。

P-08*

ラット下垂体中間葉および後葉にみられる自然発生性病変の病理組織学的特徴

○加藤 由隆、伊藤 強、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】ラット下垂体にみられる自然発生性病変は、その発生率の高さから前葉の過形成や腺腫がよく知られている。そのため、毒性試験で中間葉および後葉における病変に遭遇することは前葉に比べると稀である。本発表では特に中間葉および後葉に着目し、自然発生性病変について病理組織学的特徴をまとめた。

【方法】過去に実施したWistar HannoverおよびFischer 344ラットを用いた発がん性試験において、104週時に計画殺された対照群の個体のうち、下垂体中間葉および後葉に病変のあるものを選択し、病理組織学的特徴を検索した。

【結果】下垂体中間葉にみられた主な病変として、(1)中間葉過形成、(2)中間葉腺腫、下垂体後葉にみられた病変として、(3)頭蓋咽頭管遺残、(4)頭蓋咽頭腫が挙げられた。以下にそれらの特徴を簡潔に述べる。(1)中間葉過形成は巣状で、正常中間葉細胞と比べると細胞質の染色性はやや好塩基性を増す。(2)中間葉腺腫は後葉へ浸潤増殖するものと前葉へ浸潤増殖するものがあるが、後者は前葉腺腫との鑑別が難しい症例がある。(3)頭蓋咽頭管遺残は、管状、腺房状、紡錘状の型があり、それぞれが混在することが多い。(4)1例のみ確認され、本例では扁平上皮への分化が顕著で、嚢胞内の層状の角化物が特徴的である。発表では、特殊染色および免疫染色法の結果も併せて報告する。

P-09

C57BL/6J野生型およびPolk欠損マウスにおけるベンゾ[a]ピレンおよび α -ナフトフラボン併用投与の効果

○赤木 純一¹⁾、Young-Man Cho¹⁾、豊田 武士¹⁾、横井 雅幸^{2,3)}、花岡 文雄^{2,4)}、大森 治夫²⁾、小川 久美子¹⁾

¹⁾国立衛研・病理、²⁾学習院大・理・生命、³⁾神戸大・バイオシグナル研セ、⁴⁾筑波大・生命領域学際研セ

【背景】ベンゾ[a]ピレン(BaP)は主にCYP1A1によって代謝活性化され、またBaP自身が芳香族炭化水素受容体(AhR)のリガンドとしてCYP1A1の発現を亢進させる。そこで我々はCYP1A1阻害剤との複合曝露がBaPの発がん性に影響するか調べるため、マウスを用いてCYP1A1の阻害剤である α -ナフトフラボン(ANF)とBaPの併用投与を行った。さらに、BaPの活性代謝物であるベンゾ[a]ピレンジオールエポキシドのグアニン付加体を正確に乗り越える活性を持つDNAポリメラーゼ κ (カッパ)の欠損の影響についても検討した。

【目的】CYP1A1阻害剤の併用投与およびPolkの欠損がBaP誘発腫瘍発生に影響するかどうか明らかにする。

【材料と方法】雄のPolk欠損(*Polk*^{-/-})マウスおよび同腹仔のC57BL/6J野生型マウスにBaPおよびANFを40週間混餌投与した。

【結果】0.01% BaP単独投与により野生型マウス、*Polk*^{-/-}マウスのいずれも前胃において単純過形成の有意な増加が見られたが、腫瘍性病変の有意な増加は見られなかった。これに対して、BaPとANF併用投与群では野生型マウスで前胃の乳頭腫の増加が見られた。さらに、BaPとANF併用投与群では、野生型および*Polk*^{-/-}マウスのいずれにおいてもBaP単独投与群に比べて扁平上皮癌の発生数が有意に増加していた。

【結論】ANFとの併用投与により、野生型および*Polk*^{-/-}マウスのいずれにおいてもBaPの発がん性が増強されると考えられる。

P-10*

胃癌マウス移植モデルにおける同所移植と皮下移植腫瘍の形態学的特徴と遺伝子発現プロファイルの比較

○松尾 沙織里¹⁾、中野 清孝²⁾、西沢 隆²⁾、河村 大輔³⁾、藤井 悦子^{1,2)}、加藤 淳彦¹⁾、舟橋 真一²⁾、石川 俊平³⁾、鈴木 雅実^{1,2)}

¹⁾中外製薬(株)、²⁾(株)未来創薬研究所、³⁾東京医科歯科大学

【目的】免疫不全マウスを用いたヒト腫瘍細胞の移植モデルは癌研究において重要なモデルと考えられる。その移植部位により腫瘍微小環境が大きく異なると考えられるが、形態学的特徴や微小環境と腫瘍細胞の相互作用について詳細な解析は少ない。そこで、今回ヒト食道-胃境界部腺癌由来のOE19細胞を用いて同所移植(ORT)と皮下移植(SC)腫瘍の病理組織学的解析と遺伝子発現解析を組み合わせ、移植部位の相違によるモデルの特徴を評価した。

【材料および方法】SCモデルではOE19細胞をscidマウスに皮下移植し、移植後3週に採取した。また、ORTモデルでは、同細胞をマウス胃壁の漿膜下に移植し、移植後3及び6週に採材を行った。採取した組織よりパラフィン包埋薄切HEおよびマッソン・トリクローム染色標本作製し、光学顕微鏡下で観察した。また、採取した組織よりmRNAを抽出し、ヒトおよびマウス特異的なRNA sequencingを行った。

【結果】病理組織学的に、SC腫瘍は周囲組織との境界が明瞭で、間質が乏しい傾向にあり、大型の管腔形成がみられた。一方で、ORT腫瘍は周囲組織との境界が不明瞭で、豊富な間質内へ小型管腔が浸潤している像や、周囲組織における多数の脈管侵襲像が認められた。遺伝子発現解析では腫瘍微小環境やmigrationに影響を及ぼすことが知られている複数の腫瘍-間質相互作用がORTモデルにおいて選択的に亢進していることが明らかとなった。

【結論】以上より、病理組織学的解析および遺伝子発現解析を組み合わせるとSCとORTを比較したところ、OE19細胞のORTモデルではより浸潤性が強く、SCと比較して間質との相互作用が亢進していることが明らかとなった。

P-11

新規抗がん物質の特性と作用機序

○安藤 さえこ¹⁾、深町 勝巳¹⁾、松本 晴年¹⁾、吉見 直己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⁾琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座

私たちは天然中鎖脂肪酸をリードとしパルミトイルピペリジノピペリジン(PPI)を創製した(特許第5597427号)。PPIはSTAT3の転写活性を抑制することで細胞増殖抑制効果を発揮する。細胞実験においてPPIはある有効用量で腫瘍選択性を発揮するという特性をもつ。構造活性相関解析によりPPIの腫瘍選択性にはピペリジン環のN(窒素)原子の求核性が重要であることを発見した。ピペリジン環の求核性を修飾することで、腫瘍選択性をさらに向上させた化合物DPHE/DPHの創製に私たちは成功した(特許審査請求中)。ヒト大腸がんHCT116細胞株に対するDPHE/DPHの細胞増殖抑制効果を既存の抗がん物質と比較した。各薬物のIC₅₀は、DPHE<DPH<PPI<5FU<S3I-201 (a specific STAT3 inhibitor)であった。HCT116細胞株においてDPHE/DPHはアポトーシスを誘導することがわかった。*In silico*解析(DS 2017R2)にてDPHE/DPHは転写因子STAT3のSH2ドメインに結合することが予測された。Luciferase assayではDPHE/DPHはヒト大腸がんSW837細胞株においてSTAT3の転写活性を抑制した。DPHE/DPHはpSTAT3、Bcl-2、p53のタンパク発現に影響を及ぼすことがわかった。これらの所見より、DPHE/DPHはSTAT3の抑制を介して抗がん効果を発揮している可能性がある。

P-12

Azoxymethane and dextrane sulfate sodium誘発大腸炎関連大腸癌は、糖尿病により増悪する

○尾崎 清和、出雲 友扶子、大嶋 成奈優、寺山 由依、松浦 哲郎

摂南大学 薬学部 病理学

【目的】糖尿病による発癌リスクの上昇が臨床ならびに実験的に報告されている。その機序として高インスリンとともに高血糖や慢性炎症が考えられている。そこで、AOM/DSSにより誘発した大腸炎関連大腸癌に、さらに糖尿病を発症させた動物を用い、高血糖が発癌に与える影響を解析した。

【方法】6週齢でAOM+DSSによる大腸発癌処置を全例のマウスに施した。試験群としてAOM+DSS処置のみのC群と8週齢でアロキサン投与により1型糖尿病を誘発させたD群を設定し、20週齢(C20およびD20群)および25週齢(C25およびD25群)で剖検し、大腸の病変を比較検討した。

【結果】20週齢では腫瘍の多くは直腸に発生した粘膜内に留まる腺癌であった。D20群の直腸の腫瘍発生率(93.8%)およびマウス1個体当たりの腫瘍個数(2.3個)はC20群(86.7%および2.2個)とほぼ同等の値を示し、腫瘍サイズも2群間で差を認めなかった。25週齢では、ほぼ全例の直腸に腺癌を認め、D25群のマウス1個体当たりの腫瘍個数(3.2個)および腫瘍サイズ(3.00 mm)はC25群(2.4個および2.37 mm)と比べると、有意ではないが糖尿群でやや増加傾向を示した。さらに、D25群の悪性度の高い浸潤癌の発生率は47.1%であり、C25群の6.7%と比較すると著しい増加を示した。結腸における発癌は20週齢では少なかったが、25週齢では両群ともに増加した。D25群の腺癌の発生率(41.2%)およびマウス1個体当たりの腫瘍個数(1.82個)はC25群(33.3%および0.67個と比較すると糖尿群でやや増加していたが、有意な変化ではなかった。

【結論】1型糖尿病マウスでは、高血糖により大腸炎関連大腸癌の悪性度が高くなることが明らかとなった。また、病変の増強には、糖尿病の罹患期間の長期化が必要であることも示唆された。

P-13

デキストラン硫酸ナトリウム誘発マウス大腸炎モデルにおけるラカンカの効果に関する検討

○小川 秀治¹⁾、美谷島 克宏^{1,2)}、名倉 かれん²⁾、野沢 美波²⁾、原田 紗枝²⁾、山口 理紗子²⁾、小柳 美穂子³⁾、林 新茂³⁾、渡邊 厚^{1,4)}、煙山 紀子²⁾、中江 大^{1,2)}

¹⁾東京農大・院・食品栄養、²⁾東京農大・食品安全健康、³⁾三栄源エフ・エフ・アイ、⁴⁾旭化成メディカル

【目的】ラカンカは中国原産の瓜科植物の果実であり、その抽出物は甘味料として利用されるほか、抗酸化作用があることが明らかになっている。本研究では、食品成分による大腸炎の予防・改善効果を見出す目的の下、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘発マウス大腸炎モデルを用いてラカンカ抽出物(ラカンカ)の効果を確認した。

【方法】実験は、C57BL/6Jcl系雄性マウス(8週齢)を用い、対照群・1.25%DSS投与群・1.25%DSS+0.15%ラカンカ投与群・1.25%DSS+0.5%ラカンカ投与群・1.25%DSS+1.5%ラカンカ投与群の5群(1群6匹)を設定した。実験期間は5週間とし、DSSは1週間混水投与後に1週間休薬期間を設け、これを繰り返した。ラカンカは実験期間中、連続して混餌投与した。実験期間中には体重・摂餌量・摂水量をモニターし、実験期間終了時には体重測定後に動物を屠殺・剖検し、大腸を含む主要臓器を摘出して臓器重量を測定し、大腸の長さを測定したほか、炎症関連遺伝子の発現解析・各臓器の病理組織学的解析を実施した。

【結果】DSSは、大腸の長さの短縮、大腸粘膜における広範囲の強い炎症及び大腸におけるTNF- α 遺伝子発現の増強を誘発した。ラカンカの併用投与は、これらの変化を軽減するか、その傾向を示した。

【結論】以上の結果より、ラカンカは、DSS誘発大腸炎に対して抑制的に作用することが明らかになった。

P-14

イヌの遺伝性消化管腫瘍の同定

○平田 暁大¹⁾、吉崎 響子²⁾、西飯 直仁³⁾、川部 美史⁴⁾、森 崇⁴⁾、柳井 徳磨²⁾、酒井 洋樹²⁾

¹⁾岐阜大学 科学研究基盤センター 動物実験分野、²⁾岐阜大学 応用生物科学部 共同獣医学科 獣医病理学研究室、

³⁾岐阜大学 応用生物科学部 共同獣医学科 獣医内科学研究室、⁴⁾岐阜大学 応用生物科学部 共同獣医学科 分子病態学研究室

【緒言】ヒトの遺伝性疾患の動物モデルの多くは、人為的な遺伝子操作により作出されたマウスモデルである。ヒトの家族性大腸腺腫症(Familial adenomatous polyposis, FAP)は、APC遺伝子の変異を原因とする優性遺伝性疾患で、大腸における腺腫性ポリープの発生を特徴する。また、そのモデル動物として、*Apc* (Min/+)マウスが広く用いられている。近年、ジャックラッセルテリア(J.R.テリア)という犬種で消化管ポリープの症例が増加している。今回、この疾患がFAPに相当するイヌの遺伝性疾患であるか検討した。

【材料・方法】消化管ポリープが生じたJ.R.テリア20頭を対象とした。内視鏡または外科的に切除されたポリープについて病理組織学的に解析した(胃病変22例、大腸病変16例)。血液あるいはパラフィン包埋組織からDNAを抽出し、PCRダイレクトシーケンス法によりAPC遺伝子変異の検索を行った。遺伝子検索には、対照として他疾患のJ.R.テリア6頭を用いた。

【結果】ポリープは胃、大腸に発生し、特に幽門部と直腸に集中していた。12頭では多発性にポリープが認められ、5頭では胃と大腸の両方で発生していた。病理組織学的に、胃病変は過形成(2例)、腺腫(9例)あるいは腺癌(10例)と診断された。大腸病変は、腺腫の1例を除き全て腺癌であった。免疫組織学的に、腺腫および腺癌において、腫瘍細胞の核および細胞質内への β カテニンの蓄積が認められた。遺伝子解析では、全症例で同一のAPC遺伝子変異(c.462A>T及びc.463A>T)が認められた。前者はミスセンス変異、後者はナンセンス変異であった。一方、他疾患のJ.R.テリアでは同遺伝子変異は認められなかった。

【考察】J.R.テリアに発生する消化管腫瘍は、ヒトのFAPに相当する遺伝性疾患であり、FAPの新たなモデルとして有用であると考えられる。

P-15*

イヌの組織球性潰瘍性大腸炎の病理組織学的検討

○畠山 瑞穂¹⁾、チェンバーズ ジェームズ¹⁾、中島 亘²⁾、内田 和幸¹⁾、中山 裕之¹⁾

¹⁾東京大学 獣医病理学研究室、²⁾日本小動物医療センター

【背景】組織球性潰瘍性大腸炎(HUC)は若齢のボクサー犬に特異的に発生する炎症性腸疾患であり、ヒトのWhipple病と類似した組織像を示す。HUCの発症には遺伝的背景に加え大腸菌感染が深く関与する。近年フレンチブルドッグ等の非ボクサー犬種においてもHUCの発生が報告されているが、詳しい病理組織学的知見は乏しい。今回、非ボクサー犬種のHUC症例に対し大腸菌感染との関連を調べるとともに、オートファジー関連マーカーを用いた病理組織学的検討を実施したので報告する。

【材料と方法】HUCと診断された犬4症例(フレンチブルドッグ3例、パセットハウンド1例)の結腸組織についてHE染色、PAS染色、グラム染色およびワルチンスターリー染色を行った。またCD204、*E.coli* LPS、Iba1、LC3、p62、Ubiquitinについて免疫染色を実施した。

【結果と考察】全症例で、粘膜固有層において顆粒状細胞質を有するマクロファージの集簇が観察され、同細胞質顆粒はPAS陽性であった。また、一部マクロファージの細胞質内にグラム陰性短桿菌が認められた。マクロファージはCD204強陽性、Iba1弱陽性であり、細胞質内に*E.coli* LPS陽性の小粒子が多数観察された。全症例でマクロファージの細胞質にp62の蓄積が認められたが、LC3の蓄積は1症例で僅かに認められるのみであった。いずれの症例でもUbiquitinの蓄積は認められなかった。以上の結果から、非ボクサー犬種に発生したHUCはボクサー犬と同様の病理組織学的特徴を示し、大腸菌感染との関連が示唆された。また、HUCの発症機構に選択的オートファジーの調節異常が関与する可能性が考えられた。

P-16*

リポソーム製剤投与が引き起こすイヌ肝臓及び胆嚢における出血性変化

○牧田 慶子¹⁾、柿沼 千早²⁾、阪田 佳紀¹⁾、山川 達也¹⁾、猪又 晃¹⁾、原 健史¹⁾

¹⁾富士フィルム(株) 医薬品・ヘルスケア研究所、²⁾バイオサイエンス&テクノロジー開発センター

【背景及び目的】近年、薬効向上もしくは毒性軽減を特長としたドキシルなどのリポソーム製剤が複数上市されている。今回、我々は、ドキシル(Doxil、ドキシソルピシン(DOX)内包リポソーム)及び空リポソーム(DOX非内包リポソーム)をイヌに投与した際に肝臓及び胆嚢にみられた変化について病理学的に精査するとともに、その発生機序について考察した。

【方法】8ヶ月齢の雄性ビーグルにドキシルまたは空リポソームを単回静脈内投与し(4例/群)、投与24時間後に剖検を行い、肝臓及び胆嚢について病理組織学的検査を実施した。

【結果・考察】ドキシル投与群及び空リポソーム群において、剖検時に肝臓(胆嚢外膜の周囲)及び胆嚢(体部から底部の漿膜面)に赤色巣が各群2例ずつ認められた。病理組織学的検査において、肝臓において中心静脈、小葉下静脈もしくはグリソン鞘の血管周囲への出血及び中心静脈周囲のリンパ管拡張、胆嚢では外膜下に出血を認めた。また、イヌの肝臓の血管内皮下に種特異的に分布するマスト細胞の細胞内顆粒の減少を認めた。これらの変化は両投与群間で頻度及び程度に明らかな差はみられず、投与後24時間で認められていること、細胞浸潤を伴わないことから急性期の変化であると考えられた。以上より、今回みられた出血性変化の発生機序は、イヌ種特異的に分布するマスト細胞及びマスト細胞から放出されたヒスタミンなどの生理活性物質が関与しているものと考えられた。

P-17*

Participation of heterogeneous macrophages related to M1/M2 types in D-galactosamine-induced acute rat liver injury

○Nahid Rahman、Munmun Pervin、倉持 瑞樹、Mohammad Karim、井澤 武史、桑村 充、山手 丈至

大阪府立大 獣医病理

[Background and Aim] Macrophages in pathological lesions are heterogeneous. Generally, M1/M2-macrophages play roles as injury and remodeling, respectively. Hepatic lesions induced by a single injection of D-galactosamine (D-GalN; 800 mg/kg, ip) were investigated based on M1/M2 polarization.

[Materials and Methods] Blood and liver samples were collected on 8 hr and 1, 2, 3 and 5 days after injection.

[Results] Extensive lesions characterized by sporadic coagulative necrosis, inflammatory cells and reparative fibrosis were seen on days 1 and 2 with a significant increases of AST and ALT levels. On days 3 and 5, the lesions recovered to normal. M2-macrophages reacting to CD163 increased on days 1 and 2, and then, M1-macrophages positive for CD68 increased on day 2, with simultaneous increments of M1-related cytokines (TNF- α , IL-6, INF- γ) and M2-related cytokines (TGF- β 1, IL-10, MCP-1, IL-4). MHC class II- and CD-204-positive macrophages showed increase in number on days 1 and 2; the former tended to M1 polarization and the latter to M2 polarization.

[Conclusion] Because Kupffer cells showed a positive reaction for CD163, D-GalN-induced lesions may be characterized by a quick appearance of CD163-positive Kupffer cell-derived M2 macrophages; thereafter, M1-/M2-macrophages with heterogeneous immunophenotypes participated in extensive hepatic lesions consisting of both injury and reparative fibrosis.

P-18*

チオアセトアミド(TAA)誘発ラット急性肝障害モデルでの好中球・マクロファージ誘導における炎症誘導因子(DAMPs)の役割の解明

○倉持 瑞樹、井澤 武史、ナヒドラマン、桑村 充、山手 丈至

大阪府立大 獣医病理

【背景・目的】薬物性肝障害の進展には、傷害組織から放出される Damage associated molecular patterns (DAMPs)が重要な役割を担う。高用量TAA 誘発ラット急性肝障害の解析から、DAMPsとしてHigh mobility group box 1 (HMGB1)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雄ラットに生食またはTAA(50 mg/kg)を単回腹腔内投与し、投与後6時間から72時間まで採材した。さらに、TAA 投与後6時間にHMGB1中和抗体を投与し、病態を解析した。

【結果】TAA 投与後6時間で中心静脈周辺に肝細胞の好酸性変化、18時間で肝細胞壊死と単核球・好中球浸潤が軽度みられ、AST、ALT値は24時間で最大となった。HMGB1免疫染色では、対照群では肝細胞の核に陽性像を認め、6時間で傷害部において細胞質に陽性を示す肝細胞が現れ、12時間で顕著となり、その後核内に復帰した。好中球誘導ケモカインであるCXCL1は6時間から発現増加し、18時間がピークであった。中和抗体投与によって、好中球数とCXCL1発現、マクロファージ数とCCL2発現が低減し、肝障害が抑制された。

【結論】TAA 誘発急性肝障害では、傷害肝細胞においてHMGB1が核外へ移行し、好中球やマクロファージを誘導・集簇させることで炎症の進展に寄与していることが示された。

P-19

NASHモデルTSODマウスにおける肝臓腫瘍および肝臓組織のメタボローム解析

○梯 アンナ、石井 真美、奥野 高裕、多胡 善幸、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

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。本研究では、肥満や糖尿病を自然発症するTSODマウスをNASHモデルマウスとして用い、肝臓において病理組織学的解析、免疫組織学的検討およびCE-TOFMS, CE-QqQMSを用いたメタボローム解析を行った。TSODマウスでは、ヒトNASH様の組織変化を背景として多数の細胞巣と肝腫瘍の発生が認められた。TSODマウスの肝臓では脂肪沈着や線維化、炎症細胞浸潤といったNASH様の変化が肝臓組織に認められた。細胞増殖およびアポトーシスは、TSODマウスの細胞巣と肝臓腫瘍ではTSNOマウスと比較して有意に上昇した。また、TSODマウスの肝臓の変異性細胞巣において8-hydroxy-2'-deoxyguanosine陽性率は有意に増加した。それに関連して、肝臓腫瘍では解糖系の活性化、酸化ストレスに対する抵抗性を示すGSH/GSSGの増加が観察された。さらに、腫瘍ではarginineレベルの有意な上昇とglycineやmethionineの有意な現象が認められ、arginineの増加がarginaseの発現減少により引き起こされることが明らかとなった。メタボロームの変化から肝臓腫瘍に対するmTORシグナリングの活性化が認められた。

P-20

F344系ラットにおけるCDA食誘発非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)様病態に対してラカンカ抽出物が及ぼす影響

○宇野 絹子¹⁾、美谷島 克宏^{1,2)}、鈴木 佳奈恵²⁾、菊池 耕平²⁾、仲井 杏海²⁾、永吉 司²⁾、張 舜恵¹⁾、煙山 紀子²⁾、小柳 美穂子³⁾、林 新茂³⁾、小川 秀治¹⁾、渡邊 厚¹⁾、中江 大^{1,2)}

¹⁾東京農大・院・食品栄養、²⁾東京農大・食品安全健康、³⁾三栄源エフ・エフ・アイ

【目的】甘味料として用いられるラカンカ抽出物は、抗酸化作用による抗炎症・抗がん性など、様々な効果を持つものと報告されている。本研究では、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様の病態に対するラカンカ抽出物の予防ないし病態軽減に関する効果について、Fischer344 (F344)系ラットを用いて検討した。

【材料及び方法】6週齢の雄F344系ラットに、CDAA食(RESEARCH DIETS社)または基礎食(CLEA Rodent Diet CE-2、日本クレア(株))、また、ラカンカ抽出物水溶液(0.6% (w/v))または蒸留水を、2週間投与した。飼育期間中には、一般状態観察ならびに体重・摂餌量・摂水量の測定を行った。解剖時には、麻酔下で腹大動脈より採血した後に放血殺し、速やかに肝臓を採取し重量を測定した後、一部を凍結保存、残りを4%パラフォルムアルデヒド液にて固定した。肝臓は、病理組織学的解析及び遺伝子発現解析に供した。

【結果】CDAA食群の肝では、重量増加・肝細胞脂肪化・線維化、炎症関連遺伝子発現増強がみられた。ラカンカ抽出物は、炎症関連遺伝子発現増強を抑制し、線維化を減弱する傾向を示した。

【結論】以上の結果より、ラカンカ抽出物は、F344系ラットにおけるCDAA食誘発NASH様病態を抑制するものと示唆された。

P-21

雌性SDT fatty ラットの非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)様病態の形成過程における血中パラメータの変動

○龍 完次朗¹⁾、美谷島 克宏^{1,2,3)}、張 舜恵²⁾、篠原 雅巳⁴⁾、太田 毅⁵⁾、大畑 敬一⁶⁾、宇野 絹子²⁾、煙山 紀子³⁾、小川 秀治¹⁾、渡邊 厚^{1,7)}、中江 大^{1,2,3)}

¹⁾東京農業大学大学院 農学研究科 食品安全健康学専攻、²⁾東京農業大学大学院 農学研究科 食品栄養学専攻、

³⁾東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科、⁴⁾日本クレア(株) 東京AD部、⁵⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所、

⁶⁾シミックホールディングス(株) L-FABP事業部、⁷⁾旭化成メディカル(株)

【目的】本研究は、腎障害の尿中バイオマーカーとして用いられている肝臓型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)の、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)の血清バイオマーカーとしての有用性について検討する目的で、2型糖尿病のモデル動物であり、NASH様病態も誘発する雌性SDT fatty ラットを用いて、NASH様病態の進行における経時的推移を調べた。

【材料及び方法】本試験は、各12匹の6週齢雌性SDT fatty ラットおよび対象群のSDラットに基礎飼料(CE-2)を自由摂取させて10週間飼育し、2週毎に採血して血清GLU・TG・T-CHO・INS・L-FABPを測定し、実験終了時に剖検して肝臓・腎臓・血液を採取し、病理組織学的および血液生化学的解析を実施した。

【結果】SDT fatty ラットの血清GLUは、8週齢から高値となり、それ以降も増加した。血清T-CHO・TGは、常に高値で、10週齢以降特に顕著であった。血清INS・L-FABPは、10週齢をピークに高値を示した後に減少した。16週齢の肝では、顕著な肝細胞の脂肪化と肥大、軽度の炎症と線維化を観察し、NASH様の病態と診断した。

【結論】以上の結果より、血清L-FABPは雌性SDT fatty ラットのNASH様病態の初期に増加し、L-FABPはNASHの血清バイオマーカーとして有用であるものと示唆された。

P-22*

脂質代謝関連転写因子SREBP-1が小胞体ストレスと慢性炎症に及ぼす影響

○高 臨風¹⁾、煙山 紀子²⁾、斎藤 奈津美²⁾、渡邊 聖栄子²⁾、竹井 亜矢子²⁾、田添 晴椰²⁾、龍 完次朗¹⁾、宇野 絹子³⁾、張 舜恵³⁾、小川 秀治³⁾、渡邊 厚^{3,4)}、美谷島 克宏^{1,2,3)}、中江 大^{1,2,3)}

¹⁾東京農大・院・農学研・食品安全健康、²⁾東京農大・応生・食品安全健康、³⁾東京農大・院・農学研・食品栄養、

⁴⁾旭化成メディカル・医療技術材料研

【目的】Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs)は脂質合成を司る転写因子であり、その過剰な活性化は肥満や脂質代謝異常を促進すると考えられている。本研究では、SREBPsが代謝調節だけでなく、NASHをはじめとした慢性炎症にも関与する可能性を明らかにするため、*in vitro*および*in vivo*での解析を行った。

【方法】*In vitro*実験は、HepG2細胞を用い、siRNAによるSREBP-1ノックダウン処理による遺伝子発現変動について、既知の遺伝子発現に関するreal time-PCRによる解析に加え、RNA-Seqによる網羅的解析を実施した。*In vivo*実験は、改変コリン欠乏メチオニン低減アミノ酸(mCDAA)食によりC57BL6系雄性マウスに誘発したNASH様病態の肝臓を用いて、RNA-Seqにより抽出された遺伝子とその産物の発現を解析した。

【結果】SREBP-1をノックダウンしたHepG2細胞においては、SREBP-1の発現が減弱した。RNA-SeqからはIL-21Rの発現減弱が抽出され、これはreal time-PCRにより確認された。また、SREBP-1aまたはSREBP-2を過剰発現させたHEK293細胞においては、IL-21Rの発現が有意に増強した。NASH様病態を誘発したマウス肝では、IL-21Rの発現増強をreal time-PCRおよび免疫組織化学染色で観察した。

【考察】以上の結果より、SREBP-1またはSREBP-2が、IL-21Rの発現調節を介して、NASHにおける慢性炎症の発生に関与している可能性が示唆された。

P-23

F344 ラットを用いたアセタミドの28日間反復投与による肝毒性評価

○石井 雄二¹⁾、菊池 玲美花^{1,2)}、木島 綾希¹⁾、高須 伸二¹⁾、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⁾ヤマザキ動物看護大 動物看護学部

【目的】食品やたばこ煙等に含まれるアセタミドは、ラット肝臓に発がん性を有するものの、種々の遺伝毒性試験は陰性であり、その発がん機序は未だ明らかとなっていない。本研究では*gpt delta*ラットを用いた一般毒性・遺伝毒性包括試験によるアセタミドの評価に先立ち、F344ラットを用いた28日間の反復投与試験を実施して、肝毒性を評価すると共にその発がん機序への関与を探った。

【方法】雄性6週齢のF344ラットに、アセタミドを1.25、2.5又は5.0%の濃度で28日間混餌投与し、血清中の肝毒性パラメーターの検索、病理組織学的及び免疫組織化学的検索を行った。

【結果】5.0%群では投与1週目から体重増加抑制が見られ、3週目以降、体重は減少した。血清ALTは1.25%群から、AST及びALPは2.5%群から有意に上昇し、2.5%群では肝細胞の有糸分裂像及び単細胞壊死とオーバルセルの過形成が認められた。また、肝細胞に好塩基性の細胞質内封入体が散見され、フォイルゲン染色陽性を示した。さらに、同群ではcleaved caspase3及びKi67陽性細胞が増加した。一方、1.25%群でこれらの病理組織学的変化は認められず、5.0%群ではオーバルセルの過形成は認められたものの、その他の変化はいずれも減少又は消失した。

【考察】5.0%群における各変化の減少又は消失は、一般状態の悪化に伴うものと考えられた。肝細胞のアポトーシス及び核成分に由来する細胞質内封入体は、細胞増殖に伴う分裂異常によって生じたものと考えられた。また、発がん用量近傍の中間用量における顕著な細胞増殖活性の上昇がアセタミドの肝発がん性に寄与する可能性が示唆された。本試験における最高用量は最大耐量を越えており、最低用量は肝毒性の無影響量であると判断した。これらの結果より、包括試験の最高用量を2.5%に設定した。

P-24

早期ラット肝発がんに対する Bear Bile Powderの抑制作用

○金 美蘭、張 梅、唐 倩、王 自力、王 劍

中国 西南大学 動物科術学院

【目的】熊科動物黒熊の胆嚢から得られた胆汁を乾燥させ作られた天然薬 Bear Bile Powder (BBP)は抗菌、解熱、鎮痛、抗炎症、抗腫瘍作用などを有していることが知られている。しかし、BBPが早期肝発がんに対して抑制作用を有するか否かはまだ知られていない。本実験ではラット早期肝発がんに対するBBPの抗腫瘍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、3群: DEN+PBO+BBP-L、4群: DEN+PBO+BBP-H)に分け、全群に200 mg/kg diethylnitrosamine (DEN)でイニシエーション処置を行い、実験開始2週後より第2～4群には0.5% PBOを混餌投与するとともに第3、4群には200 mg/kgまたは400 mg/kg BBPを9週間経口投与した。また、細胞増殖活性を高めるために実験開始3週後に全群に対して2/3肝部分切除を行った。投与終了後に体重や肝重量を測定し、肝臓に対して病理組織学検査、Ki67やGST-P免疫染色、real-time RT-PCRによる遺伝子発現解析を行った。

【結果】その結果、BBP高用量群の最終体重と絶対肝重量はDEN+PBO群に比べ減少傾向を示した。さらに、GST-P陽性細胞巢の数、面積においても明らかな減少傾向を示した。特に低用量群では統計学的有意な差もあった。また、BBP投与群のKi67陽性細胞率はDEN+PBO群に比べ有意に減少した。遺伝子発現解析では、細胞増殖に関連するp27、アポトーシスに関連するp53、p21、Bax、Bcl-2、caspase3、caspase 8、caspase 9の発現レベルがBBP高用量群においてDEN+PBO群に比べ有意に増加した。

【結論】これらの結果から、BBP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。

P-25

ジフェニルアルシン酸のF344ラットにおける慢性毒性試験及び発がん性試験

○山口 貴嗣、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

【背景】茨城県神栖市の地下水や土壌には、合成有機ヒ素化合物であるジフェニルアルシン酸(以下、DPAA)が存在し、不法投棄による汚染地域の住民に神経毒性症状が報告されていた。本研究の目的は、ラットにおけるDPAAの慢性毒性及び発がん性を評価することである。

【方法】雌雄のF344ラットに0、5、10及び20 ppmの濃度のDPAAを52週間(慢性毒性試験)及び104週間(発がん性試験)飲水投与した。

【結果】慢性毒性試験：雌ではコントロール群と比較して、20 ppmのDPAA群でALP及び γ -GPTの有意な増加、10及び20 ppm群でTCHOの有意な増加が認められた。20 ppmのDPAA群の雌雄全例でファーター乳頭部における総胆管の拡張及び開口部の狭窄が認められた。さらに20 ppmのDPAA群の雌雄では肝内の胆管上皮過形成の有意な発生数の増加が認められた。発がん性試験：5、10、20 ppmのDPAAを投与した雌雄のF344ラットではどの臓器及び組織においても腫瘍発生率の有意な増加は認められなかった。

【結論】これらの結果より、DPAAはF344ラットにおいて、胆管上皮に対して毒性を示すことが明らかとなった。さらに本試験の条件下において、DPAAの無毒性量は雄で10 ppm、雌で5 ppmと推定された。また発がん性試験では、DPAAは雌雄のF344ラットにおいて、発がん性を有しないことが明らかとなった。

P-26*

ラット肝臓におけるGST-P陽性巢の種々発がん物質休薬後動態の検討

○高須 伸二¹⁾、中村 くるみ^{1,2)}、石黒 結唯^{1,2)}、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⁾ヤマザキ動物看護大学 動物看護学部

【背景】我々はこれまでに、遺伝毒性発がん物質のdiethylnitrosamineにより誘発されるGST-P陽性巢は休薬後に増加する一方、発がん機序が不明なfuranでは休薬後に減少することを見出した。本研究では、他の遺伝毒性発がん物質あるいはfuran類で同様の結果を示すかを検討する目的で、遺伝毒性発がん物質として2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinolone (IQ)、estragole (ES)、furan類として2-methylfuran (2-MF) および2-pentylfuran (2-PF) を用いてそれぞれが誘発するGST-P陽性巢の休薬後動態を解析した。

【材料と方法】6週齢雄性F344ラットにIQ(100 ppm)を混餌により、2-MF(30 mg/kg/day)、2-PF(100 mg/kg/day)またはES(150 mg/kg/day)を強制経口により13週間投与した。その後、7週間の休薬期間を設けた。投与終了後および休薬後に肝臓を摘出し、GST-P陽性巢の定量解析を行った。

【結果】IQ投与群では休薬前後でGST-P陽性巢の数および面積に顕著な差は認められなかった。一方、2-MF、2-PFおよびES投与群では休薬後にその何れもが減少した。特に、2-MFおよびESでは休薬後にGST-P陽性細胞がモザイク状に認められる陽性巢が散見された。

【考察】IQとESでは、GST-P陽性巢の休薬後動態が異なっていたことから、遺伝毒性発がん物質が誘導するGST-P陽性巢は共通の性質を有しているわけではなかった。一方、furan類では何れも退縮が観察されたことから、退縮する細胞が含まれていることはfuran類が誘導するGST-P陽性巢に共通の性質であると考えられた。また、モザイク状の退縮像は、GST-Pの大きさに依存した変化であり、2-PFで観察されなかった原因は誘導されたGST-P陽性巢が非常に小型であったためと考えた。従って、退縮するGST-P陽性細胞は何れも退縮しない陽性細胞と混在していると結論した。

P-27

犬の肝腫瘍における筋上皮細胞分化の免疫組織化学的解析

○桑村 充¹⁾、辻 佑佳¹⁾、倉持 瑞樹¹⁾、井澤 武史¹⁾、秋吉 秀保²⁾、山手 丈至¹⁾

¹⁾大阪府立大学 獣医病理学教室、²⁾大阪府立大学 獣医外科学教室

【背景】犬の筋上皮細胞は乳腺や唾液腺の腫瘍で見られ、通常、正常な胆管周囲にはみられない。我々は、肝臓原発の筋上皮の表現型を示す癌を経験した。本例および犬の代表的な肝臓腫瘍について、筋上皮の表現型について検討した。

【材料と方法】11歳、雌、ミニチュアダックスフンドの肝臓外側左葉に存在した灰白色充実性孤立性軟性腫瘍と犬の代表的な肝臓悪性腫瘍についてHE染色、免疫組織化学染色で検査を行った。

【結果】本例は、組織学的に類円形核と少量の弱好酸性～空胞状の細胞質を持つ腫瘍細胞が胞巣状、索状、びまん性に増殖していた。免疫組織化学的には、腫瘍細胞はCK AE1/AE3、CK5、CK14、vimentin、Sox9と筋上皮細胞マーカー α -smooth muscle actin、p63、calponinに陽性を示した。本腫瘍は、筋上皮の表現型を示す癌と診断された。さらに、本腫瘍と犬の代表的な肝臓の悪性腫瘍を免疫組織化学的に比較したところ、胆管癌において筋上皮細胞に分化する腫瘍細胞が見られた。胆管癌の腫瘍細胞ではCK19の発現も見られたが、本腫瘍ではCK19陰性であった。肝細胞癌では筋上皮に分化する腫瘍細胞は見られなかった。

【考察】本例は、筋上皮の表現型を示す犬の肝臓癌の希少例と考えられた。胆管癌では、筋上皮細胞へ分化する潜在能をもつ腫瘍細胞が存在する可能性が示唆された。

P-28*

マウスにおける自然発生性の膵腺房細胞の空胞化についての病理学的検討

○安野 恭平¹⁾、伊倉 佐織²⁾、袴田 志野婦¹⁾、岡戸 恵子³⁾、山口 裕子²⁾、甲斐 清徳¹⁾、森 和彦¹⁾

¹⁾第一三共(株) 安全性研究所、²⁾(株)ボゾリサーチセンター 病理部、

³⁾第一三共RDノバーレ(株) トランスレーショナル研究部

【目的】マウスでは自然発生性の膵腺房細胞の空胞化が稀にみられるが、詳細な検討はなされていない。今回、マウスにみられる自然発生性の膵腺房細胞の空胞化について病理学的検討を実施した。

【動物】C57BL/6Jマウスを遺伝的背景としたとある遺伝子のノックアウト(KO)マウス(17週齢、n=15)、ICR(CD-1)マウス(110週齢、n=298)、B6C3F1マウス(110週齢、n=110)、及び*rasH2*マウス(32週齢、n=399)を用いた。

【結果】KOマウスの2例、ICR(CD-1)マウスの4例、B6C3F1マウスの1例、及び*rasH2*マウスの3例において腺房細胞の空胞化がみられた。HE染色では空胞の多くは腺房単位で観察され、病変は膵臓全域に地図状にみられた。空胞は腺房細胞の基底側のエルガストプラズムと管腔側のチモーゲン顆粒の間に微細空胞状にみられ、同時にチモーゲン顆粒の減少を伴っていた。また、空胞は内部に弱好塩基性の物質を含み、これはperiodic acid Schiff反応に陽性を示し、免疫組織化学的染色では小胞体ストレスセンサー及び分子シャペロンマーカーである抗calreticulin抗体に陽性を示した。電子顕微鏡検査では、空胞は腺房細胞のエルガストプラズムと管腔の間の粗面小胞体の拡張として観察され、小胞体の拡張が数珠状に連なる像が観察された。拡張した小胞体内ではモザイク状の電子密度を示すタンパク質様成分の貯留がみられた。

【結論】本研究に用いた症例の膵腺房細胞空胞化はミスフォールディングタンパク質の貯留による粗面小胞体の拡張によるものであった。発生頻度は稀であったが、複数の系統に跨って認められたことから、マウスの背景病変として認識すべきと考えられた。

P-29

若齢のSDラットにみられた膵臓傍胆管部の嚢胞の1例

○山下 由真、佐々木 朋、土肥 孝彰

マルホ (株) 開発研究部 安全性研究グループ

【緒言】毒性試験に用いたSDラットにおいて、先天異常を疑う膵臓傍胆管部の嚢胞の症例を経験したので報告する。

【症例】4週間反復投与毒性試験の被験物質投与群として試験に供された10週齢の雌性CrI:CD (SD)ラットにおいて、投与期間終了時の剖検にて、膵臓傍胆管部に直径約10 mmの嚢胞が認められた。嚢胞内には無色の液体が貯留していた。なお、投与期間中に一般状態、体重、摂餌量に異常は認められず、血液学的検査及び血液生化学検査においても異常は認められなかった。

【結果】組織学的検査の結果、嚢胞壁は単層の立方上皮に内張りされており、内腔側に粘液様の胞体をもつ上皮細胞も存在した。嚢胞壁はさらに膠原線維層及び平滑筋層に囲まれており、軽度～中等度の炎症性細胞浸潤が認められた。炎症の程度が強い領域では、膠原線維及び平滑筋の層構造が不整となり、上皮の内張りが破壊され、嚢胞内腔への炎症性細胞の漏出が認められた。他に、膠原線維内に膵管類似の管状構造が多数認められる領域や膵臓腺房細胞類似の細胞が認められる領域も存在した。免疫組織化学染色の結果、嚢胞壁を内張りする上皮はSOX9陽性であった。なお、嚢胞以外、他の臓器に異常は認められなかった。

【まとめ】若齢かつ一般状態等の検査値及び嚢胞以外の臓器の病理学的検査に異常を認めなかったことから、本症例の病因は自然発生性の先天異常を疑った。嚢胞の由来としては、解剖学的な位置、上皮の形態及び平滑筋層の存在から肝外胆管と考えた。

P-30*

抗アレルギー薬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。近年、I型アレルギー疾患である喘息やアレルギー性鼻炎患者を対象とする疫学調査で、喘息罹患患者で特に長期治療患者は非罹患患者に比べ、膵癌発症率は有意に低下することが明らかとなった。本研究ではこれらの事象についてハムスターを用いた膵発癌モデルにより検証を行った。

【方法】6週齢Syrian Golden Hamsterに4回のN-nitrosobis(2-oxopropyl)amine 10 mg/kg皮下投与後、13週間高脂肪食投与と共に被験物質を飲水投与した。実験1) 12匹ずつ4群に分け、対照群と常用的にアレルギー患者に投与されるロイコトリエン拮抗薬(Montelukast, Mont) 0.2 mg/kg/day、選択的H1受容体拮抗薬(Levocetirizine, Levo) 0.1 mg/kg/day、選択的 β_2 アドレナリン受容体作動薬(Bambuterol, Bamb) 0.2 mg/kg/dayをそれぞれ飲水投与した。実験2) 実験1で膵発癌を抑制する可能性が見られたMontを0.1, 0.2, 0.4 mg/kg/day投与群と対照群の4群(15匹ずつ)に分け実験を行った。

【結果】実験1) 体重、臓器重量はLevo群で体重の有意な増大が見られたが、他群で明らかな有意差は見られなかった。膵癌はLevo, Bam群では膵癌のincidence, multiplicityに変化は見られなかったが、Mont群ではいずれも低下傾向が見られた。実験2) 各群体重、臓器重量に有意差は見られなかった。膵癌のincidenceに有意な差はみられなかったが、multiplicityにおいてMont 0.4mg/kg/day投与群で有意な低下を認めた(0.4±0.5 v.s. 対照群 1.1±1.0, P<0.05)。また、Mont投与濃度と膵癌発生に有意な相関が見られた(Pearson -0.3, P<0.05)。

【結論】Montは膵発癌の化学予防剤として有望な可能性がある。現在詳細なメカニズム解析を行っており、その結果と共に発表する。

P-31*

雄 SDT fatty ラットにおける SGLT2 の発現及び病態解析

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

¹⁾東京農大・院・食品栄養、²⁾東京農大・食品安全健康、³⁾日本たばこ産業、⁴⁾日本クレア

【背景】SGLT2阻害剤は、2型糖尿病の高血糖を低下させる作用及び腎保護作用が報告されており、臨床応用されている薬品として知られている。SDT fatty ラットは2型糖尿病及び合併症の薬理評価に使われているが、この動物の糖尿病病態における加齢及びSGLT2発現の影響は十分に解明されていない。

【目的】本研究では、SDT fatty ラットの腎について加齢による病態及びSGLT2の発現を解析した。

【材料と方法】実験は、雄性SDT fatty またはSD ラットを通常食で飼育し、17・60週齢時に剖検して腎臓を採取し、ホルマリン固定または凍結保存した後、病理組織学的観察並びに遺伝子発現解析を行った。

【結果】SDT fatty ラットの腎においては、加齢に伴い、糸球体において萎縮と線維化の増加、尿細管部間質において重度の線維化及び炎症性細胞浸潤、尿細管において変性・壊死及び重度の尿円柱が増強した。これらの変化は、SD ラットの17週齢において明らかでないか、ごく軽度であり、60週齢において軽度-中等度の変化として観察された。腎のSGLT2の遺伝子発現及び免疫組織化学陽性細胞は、SDT fatty・SD ラットいずれも17週齢に比べて60週齢で増強し、SDT fatty ラットの17週齢とSD ラットの60週齢が同程度であった。

【結論】以上の結果より、SDT fatty ラットにおいては、ヒトと同様、加齢によって腎病変が悪化することから、ヒト2型糖尿病のモデル動物として有用であることが明らかになった。さらに、当該動物で加齢により腎のSGLT2発現が増加したことは、ヒト糖尿病の背景メカニズムの解明に資する結果である。

P-32*

若年(11週間)のICRマウスに見られる自然腎尿細管肥大

○崔 賢智¹⁾、孔 ミンジョン¹⁾、金 惠貞¹⁾、鈴木 雅実²⁾、岩田 聖³⁾、朴 チャンヒ¹⁾

¹⁾C&C新薬研究所、²⁾中外製薬、³⁾ルナパス合同会社 毒性病理研究所

Renal tubular hypertrophy is often observed in chronic progressive nephropathy in old aged mice and is believed to be a compensatory mechanism related to a decline in renal function. However, published incidence data of tubular hypertrophy in young mice is hard to find. In the 4-week acute repeated toxicity study, renal tubular hypertrophy was observed in 2 ICR mice. To investigate the origin and pathogenesis of kidney finding, we performed additional histopathological analysis. Kidney samples of two females were additionally sectioned 25–50 μm apart serially and stained with H&E. Hypertrophic tubules were lined by tall cuboidal to columnar cells. The cytoplasm was pale and eosinophilic and the nuclei were located apically. In the serial sections, hypertrophic tubules were observed continuously and they were unilateral in both cases which suggests these are incidental events rather than systemic effects. In addition, a cystic structure was observed between the hypertrophic tubules in both cases and considered to be the cause of the tubular hypertrophy. As the mice were young and there were no accompanied lesions like inflammation, tubular dilatation, atrophy, or necrosis, and not much time to progress nephropathy, this change was considered to be spontaneous and related to renal developmental process. We would like to suggest this lesion as one of the spontaneous lesions observed in young ICR mice.

P-33*

アセトアミノフェン誘発ラット腎障害モデルにおけるミード酸の抑制効果

○竹之内 明子¹⁾、平塚 未夢¹⁾、三浦 麻里安¹⁾、新家 由実子¹⁾、平山 由佳理¹⁾、小山 千尋¹⁾、木下 勇一²⁾、浜崎 景³⁾、義澤 克彦¹⁾

¹⁾武庫川女子大学 生活環境学部 食物栄養学科、²⁾和歌山県立医科大学附属病院 中央検査部 病理診断部門、

³⁾富山大学 医学部 公衆衛生学講座

【背景及び目的】アセトアミノフェン(APAP)による腎障害は、中間活性代謝産物N-acetyl-p-benzoquinone imineを介して発症することが推察されている。我々はAPAP単回投与により腎障害モデルを作成し、日常摂取する不飽和脂肪酸であるミード酸(MA)の腎障害抑制効果について検証した。

【方法】7週齢SD系雄ラットに500 mg/kg APAPを単回腹腔内投与し、投与後24、48時間に血清及び腎臓を採取した。基礎食(0%MA)あるいは4.8% MA食をAPAP投与7日前から解剖時まで摂取させ、基礎食+溶媒投与群、4.8% MA食+溶媒投与群、基礎食+APAP投与群、4.8% MA食+APAP投与群を設定した。腎障害パラメータ(BUN、CRE)、腎臓の組織学的検査(HE)、薬物代謝酵素(CYP2E1)及び酸化ストレスマーカー(HO-1・TG)の免疫染色を実施した。血中酸化ストレス測定のためd-ROMsテスト、抗酸化力測定のためにBAPテストをFREE Carrio Duoで実施した。

【結果】基礎食+APAP投与群ではBUN及びCRE値の顕著な増加がみられ、髄質外帯を中心に近位尿細管壊死及び拡張が観察された。尿細管壊死は免疫組織学的にCYP2E1が発現する部位に観察され、HO-1とTGの発現も認められた。MA摂取群では尿細管壊死の程度は減弱し、HO-1の発現が低下した。

【結論】MA摂取群では、基礎食群に比べて腎障害パラメータの有意な減少が認められ、MAの腎障害抑制効果が確認され、その効果はMA摂取により腎臓での酸化ストレス発現の抑制が関与していることが示唆された。現在、酸化ストレスマーカーについて追加検討中である。

P-34*

高コレステロール・高ナトリウム給餌ミニブタにみられた組織学的所見

○村瀬 詩織、加藤 正巳、今泉 隆人、荒井 剛志、小沼 克安、松下 久美、遠藤 克己、小池 恒雄、金原 智美、今井 順、伊藤 格、木村 均

(株)日本バイオリサーチセンター

【背景】ミニブタでは、血漿中コレステロール(Cho)画分の組成や動脈硬化病変の性状や分布がヒトのそれと類似していることから高Cho食による動脈硬化症モデルが作出されている。ヒトでは動脈硬化と関連した腎硬化症や腎血管性高血圧症が知られているが、実験動物としてこれらを再現できるモデルはない。

【目的】ミニブタの腎臓の解剖学的特徴がヒトと同様な特徴を示すことに着目し、今回、高Cho食に加えて高ナトリウム(Na)食を与え、血管、腎臓及びその他臓器における変化を検索した。

【材料と方法】8ヶ月齢の雌のミニブタ(Göttingen)6例に、7か月間高脂肪・高Cho・高Na食(Cho 1.5%、牛脂5%、Na 5%)を800 g/head/day給餌した。その間間欠的に血液学的検査を行った。7ヶ月後、血管内超音波検査及び剖検を行い、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、胸部大動脈、腹大動脈の組織学的変化を観察した。

【結果】血液学的検査では投与1週からT-Cho、HDL及びLDLの上昇が認められた。摘出した臓器においては絶対重量の増大が認められ、脾臓では相対重量の増加も認められた。また、脾臓の表面は粗造であった。血管内超音波検査では、ヒトと同様な急性心筋梗塞などの原因になるプラーク像が観察された。病理組織学的には冠状動脈及び腹大動脈において顕著な粥状動脈硬化、肝組織における脂肪の取り込み、赤脾髄に泡沫細胞の集簇が認められた。また腎臓において、好塩基性尿細管の増加、糸球体構成細胞の空胞化、腎乳頭における間質の水腫が認められた。

【結論】高脂肪・高Cho・高Na食を与えた今回の動物では、複数動脈における粥腫、肝臓及び脾臓への脂肪蓄積に加え、腎臓に何らかの障害が引き起こされていることが示された。

P-35*

若齢CrI:CD1 (ICR)マウスに自然発生したヒアリン糸球体症の一例

○仁科 嘉修、櫻村 茜、水川 真緒、藤木 勝也、村上 雄一、馬場 伸之、久米 英介

田辺三菱製薬(株) 創薬本部 安全性研究所

【背景・目的】ヒアリン糸球体症は糸球体に免疫複合体の沈着を認め、メサングウム細胞の増殖を認めない病態である。老齢マウスでは自然発生病変として認められるが、若齢における報告はほとんどない。今回、若齢ICRマウスにおいて高度の免疫複合体沈着を示すヒアリン糸球体症を経験したため報告する。

【症例】本症例は環境モニタリング用に飼育されていた15週齢の雌性CrI:CD1 (ICR)マウスで、急激な体重減少のため安楽死処置された。血液生化学検査ではBUNおよびクレアチニンが高値を示した。剖検の結果、腎臓の褪色と表面粗造、頸部皮下浮腫、胸腺の不明瞭、脾臓の小型化および肝臓の白色巣が認められた。腎臓について、HE染色、各種特殊染色(PAS、PAM、コンゴ赤、マッソントリクローム(MT))、抗IgG・抗IgM抗体を用いた免疫染色による顕微鏡検査および電顕検査を実施した。

【結果】糸球体の大型化、尿細管の拡張・萎縮・再生および間質の炎症細胞浸潤がびまん性に認められた。糸球体において、糸球体内の好酸性均質無構造物の高度な沈着が全節性に認められたが、メサングウム細胞の増殖は認められなかった。糸球体沈着物はPASに強陽性、コンゴ赤に陰性、MT染色に赤染し、IgG・IgMともに強陽性を示した。PAM染色と電顕検査により、糸球体沈着物は糸球体内に存在することが確認された。

【結論】病理組織学的検査より、糸球体沈着物は免疫複合体であることが確認され、メサングウム細胞の増殖は認められなかったことから、本症例はヒアリン糸球体症と診断した。若齢ICRマウスのヒアリン糸球体症という非常に珍しい症例であり、一般毒性試験におけるICRマウスの背景病変として有用な知見と考えられた。

P-36*

膀胱発がん物質投与による γ -H2AX形成の用量相関性及び経時的変化

○山田 貴宣^{1,2)}、豊田 武士¹⁾、松下 幸平¹⁾、森川 朋美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】我々はリン酸化H2AX(γ -H2AX)の免疫染色により、ラット28日間反復投与毒性試験において膀胱発がん物質を検出し得る可能性を報告した。本研究では、 γ -H2AX形成の用量相関性及びより短期間での検出可能性を検討するため、2種類の膀胱発がん物質(BBN: 遺伝毒性、メラミン: 非遺伝毒性)を用いた経時的解析を実施した。

【方法】各群5匹の雄性F344ラット(6週齢)に、BBN(飲水)を0、1、10、100、200、500 ppm又はメラミン(混餌)を0、0.3、1、3%の濃度で2日間及び4週間経口投与した。膀胱粘膜上皮における病理組織学的検査及び γ -H2AX形成並びにKi67(細胞増殖マーカー)発現の免疫組織化学的解析を行った。

【結果】4週時点で、BBNの100 ppm以上の投与群及びメラミンの3%投与群で過形成等の組織学的病変が見られた。BBN投与群では、 γ -H2AX及びKi67陽性細胞は2日・4週いずれの時点でもそれぞれ10 ppm及び100 ppm以上の投与群で用量依存的に有意に増加した。メラミン投与群では、 γ -H2AX及びKi67陽性細胞は2日・4週時点で共に3%群で有意に増加した。膀胱粘膜三層の層別解析の結果、 γ -H2AX陽性細胞はBBN投与群では比較的均等な分布であった一方、メラミン投与群では基底層に偏った分布を示した。 γ -H2AX形成機序の検討として、 γ -H2AX-Ki67の二重蛍光染色を行った結果、BBN投与群では共発現細胞及び γ -H2AX単独陽性細胞が見られた一方、メラミン投与群では γ -H2AX陽性細胞の大半がKi67発現細胞と一致していた。

【結論】今回の結果から、 γ -H2AX形成に用量相関性が見られること及びより短期間の投与でも膀胱発がん物質を検出できることが示唆された。さらに、Ki67との共発現解析の結果から、 γ -H2AX形成機序の解析によって膀胱発がん過程における遺伝毒性の関与の有無を判別できる可能性が示された。

P-37

BBN誘発マウス膀胱がんモデルにおけるAcetazolamideの予防効果の検討

○魏 民、藤岡 正喜、行松 直、奥野 高裕、山口 貴嗣、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

【背景】がん微小環境は一般的に低酸素、酸性状態であり、酸性条件下ではがん細胞の浸潤・遊走能が増強されると考えられている。炭酸脱水酵素(carbonic anhydrase, CA)は二酸化炭素の水和反応を可逆的に触媒する酵素で、pH調節、CO₂輸送などにおいて重要な役割を果たしている。これまでの我々の研究では、浸潤性膀胱がんにおいてCA2の発現の増加が認められている。今回BBN誘発マウス膀胱がんモデルを用いて、CA阻害剤であるAcetazolamide (Ace)を投与することにより、その膀胱がん予防効果、浸潤抑制効果について検討した。

【方法】0.05% N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)を6週齢C57BLマウスに10週間飲水投与した。その後、BBN単独群、BBN→Cisplatin(Cis)群、BBN→Ace群、BBN→Ace+Cis群に分け、12週間Aceを強制胃内投与、Cisを腹腔内投与した。実験開始から22週間後に膀胱がんの発生頻度、浸潤の程度について検討した。

【結果】膀胱重量はBBN単独群に比較してBBN→Ace+Cis群で有意に減少した。また、膀胱がんの発生頻度はBBN単独群に比較してBBN→Ace+Cis群で有意な発生頻度の低下を認めた。その他の投与群とBBN単独群間では膀胱重量、膀胱がんの発生頻度共に有意な差は認めなかった。さらに、筋層浸潤がんについてはBBN→Ace群、BBN→Ace+Cis群ではBBN単独群に比較して、有意に浸潤が抑制されていた。

【結論】CA阻害剤Aceと従来の抗がん剤であるCisを併用することによりマウスにおける膀胱がんの予防効果、浸潤抑制効果が示された。

P-38

膀胱発がん物質投与初期における遺伝子発現解析および新規膀胱発がんマーカーの探索

○豊田 武士¹⁾、山田 貴宣^{1,2)}、松下 幸平¹⁾、森川 朋美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 獣医病理学研究室

【背景と目的】近年の大規模遺伝子発現解析によって、膀胱がんの進展に関わる遺伝子の詳細が明らかにされつつある。一方、膀胱発がんの初期過程における遺伝子の動態にはいまだ不明な点が多い。本研究では、複数の膀胱発がん物質をラットに短期間経口投与し、膀胱発がん過程の最初期における遺伝子発現動態の解析および新規免疫組織化学的マーカーの探索を実施した。

【方法】6週齢の雄F344ラットに、0.05% N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)、3%ウラシル、0.8% *o*-トルイジン、1% *o*-アニシジンを4週間混餌(BBNのみ飲水)投与した。投与後2日から4週、および2週間の休薬後にかけて経時的に膀胱を採材した。PCRアレイ(QIAGEN)を用いて、ヒト膀胱がんにおける全ゲノム解析で関連が指摘されている5項目(細胞周期・DNA損傷・Hedgehog経路・クロマチン修飾・クロマチン再構築因子)各84遺伝子について、RT-PCRによる発現解析を行った。各投与群で高発現を示した遺伝子を対象に、膀胱粘膜上皮における発現を免疫組織化学的に検討した。

【結果と考察】4週間の投与終了時点で、細胞周期・DNA損傷・Hedgehog経路関連遺伝子は各投与群において多数の発現変動がみられ、これらは膀胱発がん過程の初期に重要である可能性が唆された。一方、クロマチン修飾/再構築関連因子の発現変動は比較的少なく、初期段階よりも発がん後期あるいは進展に関与すると考えられた。複数の投与群で高発現を示した遺伝子のうち、29遺伝子についてラット膀胱組織における発現を免疫染色により検討した。その結果、少なくとも7因子(Runx2, Cdc6, Birc5等)が、BBN投与群の膀胱粘膜上皮細胞において発現増加していることが確かめられた。今後、他時点での遺伝子発現解析および免疫組織化学的検討を実施する予定である。

P-39*

Cisplatinのラットへの反復経口投与による肺障害の経時的解析

○寺山 由依、佐藤 亮、西村 悠花里、土屋 卓磨、諸木 孝泰、北浦 敬介、吉川 剛

大塚製薬株式会社 徳島研究所 前臨床研究センター

【目的】 Cisplatin (CP) は、様々な悪性腫瘍の治療に使用される白金化合物である。腎臓や聴覚など様々な毒性がしばしば問題となるが、肺障害に関する報告は少ない。そこで、今回我々はラットにCPを反復経口投与し、肺障害に関して経時的に解析を行った。

【方法】 6週齢の雄SDラットにCP (0, 3.5 mg/kg/day) を反復経口投与し、投与1、3、7、14、28回目の翌日 (Day 2、4、8、15、29) にそれぞれ5例ずつ解剖を行い、組織学的および免疫組織学的解析を行った。

【結果】 Day 4の剖検例に肺胞上皮細胞の壊死および2型肺胞上皮の過形成がみられた。Day 8では、肺胞上皮細胞の壊死、2型肺胞上皮の過形成・腫大、間質の好中球浸潤がみられた。さらに、一部の例では硝子膜形成、血管内皮の傷害を伴う出血、間質のマクロファージおよび好中球浸潤、および間質の線維化がみられ、線維化領域で α -SMA陽性筋線維芽細胞の発現が顕著であった。Day 15では、継続して肺胞上皮細胞の壊死および2型肺胞上皮の過形成・腫大、間質のマクロファージおよび好中球浸潤がみられ、Day 29ではその程度は増強され一部で線維化を伴っていた。

【結論】 CPのラットへの反復経口投与によって投与初期から肺胞上皮が傷害され、投与一週間で肺病変が増悪し急性の間質性肺炎へ移行する例がみられる。一方、病変が憎悪しない場合には肺胞上皮細胞の傷害が投与期間を通じて観察され、線維化が進行し投与1か月で間質性肺炎が形成される可能性が考えられた。

P-40*

ブレオマイシン気管内投与によるラットの肺胞洗浄液検査及び病理組織学的所見に及ぼす投与容量の影響について

○杉山 大揮、森岡 舞、沼野 琢旬、樋口 仁美、河部 真弓、米良 幸典

株式会社 DIMS 医科学研究所

【背景と目的】 ブレオマイシンはがん治療に用いられる薬物で、副作用として肺線維症を引き起こす事が知られている。げっ歯類においてもブレオマイシン誘発による肺線維症モデルは古くから薬理試験に用いられている。しかしながら、気管内投与した際の投与容量の違いによるブレオマイシンの肺への影響についてはあまり知られていない。本研究では、ブレオマイシン気管内投与による経時的な各種肺障害のパラメータ、病理組織学的並びに免疫組織学的変化と、投与容量の違いによる肺への障害の程度について検討を行う。

【材料と方法】 動物は8週齢の雄Crl:CD (SD) ラットを用い、ブレオマイシンを1 mg/kgの投与量にて、1 mL/kg若しくは2 mL/kgの投与容量で単回気管内投与した。観察期間中は一般状態及び体重測定を行い、投与3、10及び28日後に剖検して肉眼的病理学検査及び器官重量測定を行った。また肺胞洗浄液 (右肺) を採取し、細胞分類及び生化学的検査を行った。現在、肺 (左葉) 及び主要臓器について病理組織学的検査を実施中であり、免疫組織学的に肺線維化の程度についても検索し、ブレオマイシン気管内投与による投与3、10及び28日後における経時的変化と、投与容量の違いによる肺への障害の程度について報告する。

P-41

カニクイザルにおけるブレオマイシン誘発肺毒性の評価法検討

○熊谷 和善、櫻井 健、前田 優、片岡 広子、玉井 聡、本多 久美、大澤 徹也、千葉 克芳、甲斐 清徳、森 和彦

第一三共(株) 安全性研究所

ブレオマイシン塩酸塩の0(溶媒:生理食塩液)、3、及び12 mg/12 mL/bodyを雄性カニクイザル(3例/群)に単回気管内投与し、肺毒性を経時的に評価した。胸部CT検査、血液ガス分析、及び血漿 surfactant protein D (SP-D)測定を経時的(投与前、Day 2、4、8、及び15:投与日をDay 1とする)に行い、Day 15に肺の病理組織学的検査を実施した(0 mg群は1例のみ安楽死処置)。胸部CT検査では、3 mg群でDay 15に肺葉の一部で軽度のすりガラス影、12 mg群でDay 4に右肺前葉を除く全葉に軽度から中等度のすりガラス影、Day 8以降にはほぼ全葉に軽度から重度のすりガラス影を認めた。血液ガス分析では、3 mg群で著変を認めず、12 mg群でDay 8から二酸化炭素分圧の高値、酸素分圧及び動脈血酸素飽和度の低値を認め、Day 15でこれら変化が増悪した。血漿SP-Dは3 mg群で著変を認めず、12 mg群ではDay 8で最大値を示し、Day 15も高値であった。肺の病理組織学的検査では、3 mg群の肺葉の一部で軽微から軽度の肺胞マクロファージ及び炎症細胞浸潤、扁平上皮化生を含む細気管支・肺胞上皮過形成、並びに線維化が認められた。12 mg群では3 mg群より重度の変化がほぼ全葉に認められ、異物巨細胞形成、肺胞水腫、及び硝子膜形成もみられた。以上より、胸部CT検査は血液ガス分析や血漿SP-D測定と比べ、カニクイザルにおける肺毒性を早期かつ経時的に検出出来る有用な評価法であると考えられた。

P-42*

げっ歯類における慢性胸膜炎及び肺増殖性病変に対するアンブロキシソール塩酸塩の修飾作用についての検討

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

¹⁾香川大学 医学部 病理病態学・生体防御医学講座 腫瘍病理学、²⁾大鵬薬品工業株式会社 研究本部 安全性研究所

【背景と目的】肺胞サーファクタント蛋白質(SPs)は肺胞構造の維持機能や感染に対する免疫防御機能等を有する。我々はこれまでに、肺の炎症性病変や増殖性病変においてSPが高発現していることを報告してきた。アンブロキシソール塩酸塩(AH)は去痰剤として臨床使用されており、SPsの分泌を促進する作用を有する。本実験では、AHがこれらの肺病変に対して及ぼす修飾作用について検討した。

【材料と方法】チタン酸カリウム繊維であるTISMO®をA/Jマウスに開胸下にて胸腔内投与して作出したマウス胸膜炎・肥厚モデル、NNKをA/Jマウスに単回腹腔内投与して作出したマウス肺発がんモデル、DHPNをF344ラットに2週間飲水投与して作出したラット肺発がんモデルを用いた。それぞれのモデル動物にAHを0、12、又は120 ppmの濃度で16週間(A/Jマウス)、又は28週間(F344ラット)混餌投与し、体重測定、血液学的検査、血液化学的検査、肉眼的及び病理組織学的検査(胸膜肥厚長計測、腫瘍数カウント及び免疫染色を含む)を実施した。

【結果】胸膜肥厚A/Jマウスモデルでは、TISMO投与に起因して一旦減少した体重や末梢血中の炎症(白血球数)が、AHの混餌投与によって大幅に回復した。一方で、病理組織学的な胸膜炎関連所見および胸膜の肥厚長に有意差は認められなかった。IL-1βに対する免疫染色についてもAHの影響を推測する明らかな差は見られなかった。また、マウス及びラットの肺発がんモデルにおいても、AH混餌投与による腫瘍の発生率や個体あたりの病変数に有意差は認められなかった。

【結論】AHは炎症に対する抑制作用(抗炎症作用)を有するが、肺腫瘍に対する直接的な修飾作用は示さないと考えられた。

P-43*

有機ヒ素化合物Dimethylarsinic acidの経胎盤ばく露によるマウス肺発がん過程におけるヒストン修飾異常

○藤岡 正喜、魏 民、奥野 高裕、行松 直、梯 アンナ、大石 裕司、鰐淵 英機

大阪市立大学 院 医 分子病理学

【背景】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)、肺がんを生じることをこれまでに我々は明らかにしている。また、同様にDMA経胎盤ばく露させた雄性新生仔マウス肺において、ヒストンH3K9me3の有意な増加が生じていることを報告している。したがって、DMA経胎盤ばく露による肺発がん機序にエピゲノム異常の関与が強く示唆されている。しかし、その標的遺伝子および遺伝子発現変動に関する知見は十分でない。

【目的】DMA経胎盤曝露雄性新生仔マウス肺におけるヒストンH3K9me3の標的遺伝子および遺伝子発現変動について検討を行った。またDMA経胎盤ばく露6週齢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CD-1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、得られた雄性新生仔および6週齢マウスより肺を回収し解析に供した。

【結果】マウス新生仔肺におけるヒストンH3K9me3のChIP-seq解析を実施した結果、無処置群と比較してDMA経胎盤ばく露群のX染色体領域でH3K9me3を標的とする領域が多くみられた。また、網羅的遺伝子解析の結果、X染色体不活性化lncRNAであるXistの発現増加がDMA経胎盤ばく露群でみられた。さらにパスウェイ解析の結果、Fibrosisの有意な増加、糖代謝の亢進および脂質代謝の抑制が示唆された。6週齢マウス肺における細胞増殖能の解析の結果、DMA経胎盤ばく露群で有意な増加がみられた。

【結論】DMA経胎盤曝露後6週経過マウスにおいても、細胞増殖能の亢進がみられたことから、マウス肺発がん過程においてDMAばく露によって生じたエピゲノム記憶の関与が示唆された。

P-44

肺発がん過程における片肺虚脱によるpromotion作用とInsulin-like growth factor-1 (IGF-1)の関与

○横平 政直、橋本 希、山川 けいこ、成澤 裕子、今井田 克己

香川大学 医学部 腫瘍病理学

【背景および目的】ラット肝中期発がん性試験法(伊東モデル)では、肝切除を行うことで肝再生変化に伴う肝発がんpromotion作用を応用している。我々は肺発がんでも同様の現象が起こるのかについて着目し、研究を行っている。今回、片肺虚脱時の残肺における肺発がんpromotion作用の有無とそれに関わる因子についての検討を行った。

【材料と方法】齧歯類(ラットおよびマウス)に肺発がん物質を投与後、片肺(左肺)の肺門部を結紮し片肺を虚脱壊死させた。残肺(右肺)の腫瘍性病変について解析した。さらに、残肺のマイクロアレイの解析を行い、注目したIGF-1の免疫組織学的検討を行った。

【結果】左肺虚脱により、残肺(右肺)重量が対照群の両肺の合計重量とほぼ同様になると共に、腫瘍数の有意な増加が見られた。これは片肺の虚脱に伴う残肺の代償性変化に伴うpromotion作用と考えられるが、同時に、残肺(右肺)のマイクロアレイ解析によりInsulin-like growth factor-1 (IGF-1)の発現が亢進することが判明した。さらに、IGF-1の免疫組織化学染色を行ったところ、齧歯類の発がん物質誘発による気管支肺胞過形成、気管支肺胞腺腫および気管支肺胞腺癌のいずれもIGF-1の高発現が確認された。また、肺結紮の有無にかかわらず、肺増殖性病変においてはIGF-1が強く発現していた。

【結論】今回の実験から、片肺虚脱により残肺に肺発がんpromotion作用が確認され、特に、IGF-1のpromotion作用への関与が示唆された。IGF-1は成長ホルモン(GH)による刺激で分泌され、インスリン様効果に加えて細胞増殖能を有するとされている。今後、IGF-1の腫瘍マーカーへの応用を目指して研究を続けたい。

P-45*

プロゲステロン阻害剤(mifepristone)の雌性A/JマウスNNK誘発肺腫瘍への影響

○成澤 裕子、横平 政直、山川 けいこ、橋本 希、吉田 翔太、今井田 克己

香川大学 医学部 腫瘍病理学

A/Jマウスは雄性よりも雌性で肺腫瘍が好発する。我々はこれまでに、雌性A/Jマウスにおける4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) 誘発肺腫瘍細胞でのエストロゲン受容体やプロゲステロン受容体の発現を報告し、このことから肺発癌過程での性ホルモンの関与が示唆された。そこで今回、マウス誘発肺発がん過程におけるプロゲステロンの影響について、プロゲステロン阻害剤である mifepristone (MIF) を用いて検討した。

7週齢の雌性A/Jマウスを4群に分け、実験開始0、1週目にGroup 1と2はNNK (2 mg/0.1 ml saline/mouse) を腹腔内投与した。その後、13週目にGroup 1と3にはMIF錠 (90-day release, 7.5 mg/pellet/mouse) を、Group 2と4には対照として placebo錠 (PL) を、上背部の皮下に埋め込んだ。26週目に採血および屠殺剖検を行った。

Group 1 (NNK+MIF) において、Group 2 (NNK+PL) と比較して肺腫瘍の発生数ならびに肺腺癌の大きさは減少傾向を示したが、有意な差は認められなかった。血清中のプロゲステロン濃度では、肉眼的肺結節数との間に負の相関が認められた。また、子宮ではMIFの作用と考えられるcystic endometrial hyperplasiaが、Group 1と3(いずれもMIF投与群)のみの全例で認められた。以上より、MIFはNNK誘発雌マウス肺腫瘍形成において、明らかな抑制効果は認められなかった。このことは、A/Jマウスの肺腫瘍形成における雌雄差にプロゲステロンの関与は低いものと考えられた。

P-46

ラットにおいてDHPNで誘発されたメソテリン陽性肺増殖性病変の病理組織化学的性状

○坂本 義光¹⁾、多田 幸恵¹⁾、北條 幹¹⁾、前野 愛¹⁾、鈴木 俊也¹⁾、猪又 明子¹⁾、守安 貴子¹⁾、中江 大²⁾

¹⁾東京都健康安全研究センター、²⁾東京農業大

【目的】多層カーボンナノチューブ(MWCNT)を経気管投与したラット肺に発生した早期扁平上皮化生と考えられる病変はメソテリン・胎盤型グルタチオンSトランスフェラーゼ(GST-P)およびサイトケラチンが陽性であり、特にメソテリンはこの病変のマーカーであると示唆された。これまで、ヒトにおいては肺・膈・卵巣などの腺癌でのメソテリン発現が報告されているが、ラットにおいては正常中皮および中皮腫の細胞以外で報告がなかった。本研究は、ラット肺増殖性病変におけるメソテリン発現の意義を探究するため、DHPN誘発性病変について解析した。

【材料・方法】実験は、F344系雄性ラット(6週齢、20匹)に0.1% DHPN水溶液を2週間飲水投与し、投与後30週において生存した18匹を屠殺して肺を摘出し、病理組織学的に解析した。

【結果・考察】肺増殖性病変としては、18匹中18匹に細気管支・肺胞過形成、5匹に腺腫、3匹に腺癌を認めた。メソテリンは、過形成で6/18例、腺腫で2/5例、腺癌で1/3例で陽性であった。なお、18匹中の過形成総病変数は637個であり、このうちメソテリン陽性病変数は8個で、過形成病変における発現率は1.26%と低かった。本研究では、現在、詳細な解析を実行中である。

P-47

胎生期Di(n-butyl) phthalate 曝露ラットにおける雄ラット精管形成に関する検討

○杉山 光¹⁾、岡山 祐弥¹⁾、鷹橋 浩幸²⁾、池上 雅博²⁾、武藤 朋子³⁾、和久井 信¹⁾

¹⁾麻布大学 獣医学部 比較毒性学、²⁾東京慈恵会医科大学 病理学、³⁾一般財団法人 食品薬品安全センター

【背景と目的】フタル酸エステル類であるDi(n-butyl)phthalate (DBP) は、硬いプラスチック製品に柔軟性を与える可塑剤として現在広く用いられている有機化合物である。DBPは内分泌かく乱作用をもつとされており、曝露された雄ラットにおいて精巣のライディッヒ細胞のテストステロン産生を阻害することなどが報告されている。しかし、同じく重要な生殖器系である精管に対するDBPの影響は現在ほとんど報告がなされていない。そこで、本研究では、精子を尿道へと導く重要な管である精管に対するDBP胎生期曝露による影響を検討した。

【材料と方法】実験には雄のSDラットを用いた。DBPは100、300、0 mg/kg/dayの3パターンの用量を設定し、妊娠12～21日までの間、母ラットに連日経口投与を行った。また、週齢による変化を観察するため、若齢期から成獣期にいたるまで、7、9、14、17週齢の4つのポイントを設定し、各群に10匹ずつ用いた。それぞれの動物は各週齢において剖検し、得られた精管は10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定を行い、常法に従って4 μmの組織切片を作製した。各組織切片は各種の染色を施し、観察および計測を行った。

【結果】胎生期DBP曝露群と対照群において、精管上皮細胞の高さは、7週齢と9週齢においては有意な差が得られなかった。しかし、14週齢および17週齢においては正常な個体と比較して有意に低値を示した。

【結論】週齢の増加による精管上皮細胞の高さの変化は、14週齢以降の成獣期に近づくにつれて低値を示したことから、精巣におけるテストステロンレベルの低下に伴う副次的な萎縮性の変化であり、DBP胎生期曝露による遅延的な影響を受けていると考えられた。

P-48*

SDラットにみられた真性半陰陽の1例

○岡野 拓、高木 みづほ、鈴木 勇、藤原 史織、永谷 真理子、山口 裕子

(株)ボゾリサーチセンター 病理部

【背景】真性半陰陽は、卵巣と精巣の両方あるいは卵精巣を有する先天異常であり、種々の動物での報告があるもののラットではわずかである。今回、真性半陰陽を疑う症例に遭遇した為、病理学的検索を行った。

【症例】SDラット[CrI:CD(SD)](30週齢)について検索した。

【結果】外表への開口部から陰茎、包皮腺、尿道球腺、精囊、前立腺及び膀胱が正常な雄と同位置にみられた。さらに尿道から連続して頭側に膣、子宮頸、子宮角がみられた。左子宮角は正常な雌と同様の長さ／径を示し、子宮角に沿うように管状構造がみられ、その先に小型の精巣上体、生殖腺らしき構造が認められた。右子宮角は、左子宮角の1/3程度の長さで、紐状構造物、精巣上体と続き、その先端に生殖腺らしき構造が認められた。その他の器官に肉眼的な異常はみられなかった。組織学的に左生殖腺は、数個の大型卵巣と間質腺細胞と思われる円形で明るい細胞が密に存在する領域と、精索間質組織(セルトリ細胞様)をライディッヒ細胞様細胞が取り囲む構造で占められる領域で構成されていた。右生殖腺は、主に膠原線維、血管、精索間質組織(セルトリ細胞様)から成り、褐色色素の沈着の他、鈣質沈着を伴った管状組織が多数みられた。また周囲には脂肪織炎がみられた。左右生殖腺ともに、明らかな精上皮細胞は認められなかった。両側の精巣上体および子宮は高度に分化していた。左子宮角に沿う管状構造物は精管であり、右側の紐状構造物は精管、血管、末梢神経より構成されていた。また、膣及び精囊、前立腺の導管は尿道に開口していた。

【まとめ】本例は左側が卵精巣、右側が雌雄不別の生殖腺からなる一側性の真性半陰陽と診断した。組織学的に生殖腺は未発達であるものの両性の副生殖器は発達している事が特徴的だった。

P-49*

非妊娠カニクイザルにおける子宮のepithelial plaqueの1例

○矢吹 悠乃、柚川 藍色、森山 垂紀子、小林 欣滋

株式会社新日本科学 安全性研究所

【背景と目的】子宮のepithelial plaqueは、旧世界ザルと新世界ザルの数種においてのみみられる着床初期に起こる生理的な変化で、大型類人猿やヒトではみられない。今回、我々は非妊娠カニクイザルの子宮においてepithelial plaqueに遭遇したので、その病理学的特徴について報告する。

【材料と方法】当該動物(中国産、約4歳、雌)は標本作製技術検討用に供された無処置動物で、一般状態に異常は認められず、剖検時に特記すべき肉眼的異常所見は認められなかった。常法に従って、ホルマリン固定・HE染色および免疫組織学的染色を実施した。

【結果】子宮内膜被覆上皮直下において、対面の2カ所に増殖巣がみられた。増殖細胞は胞巣状・小塊状を呈して内膜表層から下方に向かって増殖していた。増殖巣辺縁では正常な子宮内膜被覆上皮と連続しており、子宮内腔へ向かっての乳頭状増殖や子宮内膜深層への浸潤性増殖はみられなかった。増殖細胞は多形性を呈し、大型核や多核、核分裂像も比較的多く観察され、cytokeratin陽性、vimentin陰性を示した。

【結論】以上の組織形態学的ならびに免疫組織学的特徴よりepithelial plaqueと診断した。非妊娠カニクイザルでのepithelial plaqueの発生は稀であり、多形に富む増殖活性の高い細胞で構成されていることから、子宮内膜由来の腫瘍性変化や脱落膜反応との鑑別が求められ、薬剤の安全性評価において留意すべき自然発生病変と考えられた。

P-50

CD-1及びB6C3F1マウスの乳腺由来腺腫／腺癌の形態学的差異

○爰島 洋子、土居 卓也、土谷 稔

(株) LSIメディエンス

【背景及び目的】老齢雌マウスでは、乳腺腫瘍が認められる。CD-1マウスとB6C3F1マウスの乳腺の腺腫／腺癌が形態学的に異なっていることに注目し検討した。

【材料及び方法】149例の雌CD-1マウスから得られた乳腺由来15腺癌及び2腺腫、520例の雌B6C3F1マウスから得られた乳腺由来12腺癌及び2腺腫を病理組織学的に検査した。そのうちCD-1マウス由来14腺癌及び2腺腫とB6C3F1マウス由来7腺癌及び1腺腫について、AB-PAS染色とSmooth muscle action(SMA)の免疫組織化学染色も実施した。

【結果】CD-1の全腺癌及び1腺腫では、腫瘍性腺上皮細胞が腺房／管状～充実性に増殖していた。一方、B6C3F1マウスの全腺癌及び全腺腫では、多形性や異型を伴わない小型円形～紡錘形細胞が腺房／管状構造を形成する腫瘍性腺上皮細胞と共に増殖していた。このような細胞は、腫瘍性腺上皮細胞と基底膜の間に認められ、免疫組織化学染色においてSMAに陽性を示した。これらの特徴から、紡錘形細胞は筋上皮細胞であると考えられた。このような筋上皮細胞の増殖はCD-1の1腺腫のみに認められた。

【結論】B6C3F1マウスの乳腺の腺腫／腺癌は筋上皮細胞の増殖を伴うのに対し、CD-1マウスの乳腺のほとんどの腺腫／腺癌は筋上皮細胞の増殖を伴わなかった。

P-51

NOS 阻害剤投与による超短期マイクロミニピッグ動脈硬化モデルの開発

○川口 博明¹⁾、谷本 昭英²⁾¹⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科研衛生学・健康増進医学、²⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科病理学

マイクロミニピッグは世界最小のミニブタであり、ヒトの解剖・生理をよく反映している。比較的、扱いやすい大きさの実験動物であり、生活習慣病などのヒト疾患モデル動物の作成に適していると考えられている。我々はマイクロミニピッグに8週間の高脂肪高コレステロール食を給餌することで動脈硬化を誘発するモデルをすでに確立しており、このモデルでは、脂質代謝、動脈硬化の分布や組織像がヒトの動脈硬化と類似していた。本研究では、高脂肪高コレステロール食に加えて、さらに nitric oxide synthase 阻害剤である *N*^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) を追加投与し、血管内皮機能を阻害することにより、超短期に動脈硬化を発症するモデルを開発した。結果、L-NAME の追加投与で動脈硬化病変の増悪が認められ、2週間で肉眼的に確認出来る動脈硬化の発生が大動脈にみられたが、L-NAME 投与による血中脂質代謝マーカーへの影響はみられなかった。この超短期動脈硬化モデルは、化学物質や薬剤の動脈硬化増悪性評価(毒性試験)に応用できる可能性が考えられた。とくに、最近注目されている抗がん剤による心血管毒性の評価系にも利用できることが示唆された。

P-52

急性出血性胃炎で死亡したミニブタの血管病変についての病理組織学的検討

○奥田 須美子、赤根 弘敏、江田 景、市川 敦子、清水 茂一、秋江 靖樹

シミックファーマサイエンス(株)

【目的】第34回日本毒性病理学会学術集会で発表した急性出血性胃炎で死亡したミニブタについて、諸臓器の血管病変について精査したので報告する。

【材料及び方法】本症例は社内保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ヶ月齢の雄クローン系ミニブタである。諸臓器について、HE染色、各種特殊染色及び免疫組織化学染色を行った。

【結果及び考察】前回報告した、胃を中心とする諸臓器の小動脈及び細動脈の線維素性血栓とは異なり、小動静脈の内腔に糸球体様の閉塞性の管腔内増殖が認められ、その細胞は紡錘形を示していた。この血管内増殖性病変は、主に心臓及び肝臓の線維化病巣内、肝臓と胆嚢の間膜、腎臓で観察された。本症例は猫で報告されている猫全身性反応性血管内皮腫症に類似していると考えられた。猫の他に、牛での報告があり、ヒトでは類似する疾患として反応性血管内皮症、良性の皮内血管内皮および周皮増殖症がある。ブタでの報告はなく、今回特殊染色、免疫染色の結果を踏まえて報告する。

P-53*

ビーグル犬の胸部大動脈に移植した人工血管の治癒過程

○松田 崇斗¹⁾、寺尾 壽子¹⁾、前田 一葉¹⁾、田崎 雅子¹⁾、早場 純子¹⁾、磯部 厚志¹⁾、長野 嘉介²⁾、数野 公正¹⁾、萩原 仁美¹⁾

¹⁾テルモ株式会社、²⁾長野毒性病理コンサルティング

【背景】動脈瘤や解離といった血管疾患の治療として、人工血管置換術が行われている。人工血管は、血栓形成による内腔の閉塞が生じることなく、開存性が維持されることが重要であるものの、内腔を長期的に観察し、その治癒過程に言及した報告は少ない。本研究では、イヌ胸部大動脈に人工血管を移植し、内腔の治癒過程を26週間にわたり病理学的に検索した。

【方法】ビーグル犬の左胸部を開胸し、胸部下行大動脈を人工血管(トリプレックス[®])と置換した。4週間後(6例)、26週間後(12例)に血管造影検査を行い、剖検した。摘出した人工血管は、長軸方向に分割後、内腔を肉眼的に観察し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。その後、パラフィン標本を作製し、HE染色、マッソン・トリクローム染色、PTAH染色を施し、病理組織学的に観察した。

【結果】血管造影検査の結果、4週間後、26週間後に狭窄等の異常は認められず、内腔は開存していた。人工血管内腔面を肉眼的に観察したところ、4週間後では赤色部が広く観察されたのに対し、26週間後では減る傾向が認められた。病理組織学的検査の結果、4週間後の人工血管内腔面は広範囲に血栓で覆われ、宿主血管と人工血管との両吻合部近傍に、線維化および血管内皮様細胞が観察された。一方、26週間後の人工血管内腔面は、線維化および血管内皮様細胞が広範囲に観察され、血流面との境界は平滑だった。内皮様細胞による被覆率は、4週間後で78±16%、26週間後で97±4%を示した。

【考察】人工血管内腔面は、血栓が付着後、両吻合部から中央に向かい線維化が進行すること、内皮様細胞による被覆も吻合部から生じやすく、経時的に内腔面を覆うことが示された。これにより血栓が付着しにくい安定した組織が構築されると考えられた。

P-54*

カニクイザル(Macaca fascicularis)における自然発症性の肥大型心筋症の一例

○小西 静香、沼倉 佑樹、古賀 真昭、小寺 喬、上田 誠

日本新薬(株) 安全性・動態研究部

【背景】カニクイザルの心筋症に関する数例の報告において、肥大型と診断された症例はない。今回、11歳齢の雄のカニクイザルに自然発生した肥大型心筋症の症例を報告する。

【症例】本例は薬物動態試験に供された中国産の雄のカニクイザルであり、4-9歳の間少量の被験物質を数種類繰り返し投与された。飼育中の一般状態観察および定期的な血液検査において異常は見られなかった。11歳齢時に、ペントバルビタールによる深麻酔下で放血致死させた。

【結果及び考察】肉眼的に、心室中隔、左心室および右心室壁の肥厚が認められた。組織学的には、左心室壁および/あるいは中隔に心筋細胞の肥大、錯綜配列、空胞化、ならびに間質の線維化が認められ、右心室壁でも軽度の間質の線維化を伴う軽度の心筋細胞の肥大が認められた。異型な巨大核を伴った心筋細胞の肥大は左心室壁と中隔で高度であった。心筋細胞の錯綜配列は中隔で高度であり左心室壁では認められなかった。マッソントリクローム染色で青染する間質の線維化が左心室壁と中隔の広範囲に観察され、これら線維化領域に一致して心筋細胞の空胞化が左心室壁で中等度に、中隔で軽微に認められた。これらの形態学的特徴から、本例を肥大型心筋症と診断した。投与された各種被験物質に心毒性の情報がないこと、同様の試験に使用された他の2個体において類似の変化が認められなかったことから、本症例は自然発生性的変化と考えている。過去に心筋細胞の肥大と錯綜配列が同一症例で発生したカニクイザルの報告はなく、本例はカニクイザルにおける自然発生性的肥大型心筋症の初の報告である。

P-55

炎症性反応を伴う Wistar Hannover ラットにおける自然発生性 globule leukocyte tumor の 1 例

○佐藤 順子、友成 由紀、土居 卓也、土谷 稔

(株) LSI メディエンス

We encountered neoplastic lesions of hematopoietic cells forming numerous small to large nodules in the spleen, and growth in the Glisson sheath in the liver in a 110-week-old male Wistar Hannover rat (CrI:WI(Han)). Many of the neoplastic cells contained distinct eosinophilic granules or droplets. We investigated the histological features of this tumor based on the results of special and immunohistochemical staining. [Macroscopic findings] Three protruding areas on the surface of the spleen (5-8 mm diameter) and multiple pale white or yellow nodules on the cut surfaces were observed. [Microscopic findings] Multiple variable-sized nodules containing atypical proliferative cells, lymphocytes, eosinophils and histiocytes were noted in the white pulp, marginal zone and red pulp of the spleen, and Glisson sheath of the liver. Proliferative cells consisting of a few types of atypical cells with or without cytoplasmic eosinophilic granules or intermediate types were observed. The granules were positive for PAS and elastase stains, and bluish purple for PTAH, and showed no metachromasia with toluidine blue stain. In immunohistochemical staining, the proliferative cells with or without granules were positive for granzyme B, rat mast cell protease 2 and Ki-67, while negative for Iba1, ED1, klight chain, CD3 and 20. These results led to a diagnosis of globule leukocyte tumor. The inflammatory reaction may have been caused by an active substance of cytoplasmic granules.

P-56

上皮型胸腺腫及び上皮型過形成の Cytokeratin 発現に関する免疫組織学的特徴

○友成 由紀、佐藤 順子、黒滝 哲郎、山田 直明、川迫 一史、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グループ

【諸言】 Wistar Hannover ラット (WH) の胸腺腫は正常胸腺の皮髄構造を模倣した組織構築を特徴とする。Cytokeratin (CK) 18 が皮質様の富リンパ球領域の胸腺上皮、CK14 が髄質様分化領域の胸腺上皮に陽性を示すことから、CK 発現の異なる胸腺上皮が WH の胸腺腫の特徴的な組織構築に関与する可能性を報告した (第 34 回本会)。一方、老齢 F344/DuCrI:CrIj ラット (F344) では、上皮型胸腺腫が発生し、管腔構造を特徴とする上皮型過形成も高率に発現する。これらの病変での胸腺上皮の CK18 と CK14 発現状況は不明である。

【方法】 F344 の過形成 2 例及び胸腺腫 1 例を用い、病理組織学的特徴及び胸腺上皮の免疫組織学的特徴 (CK18、CK14 発現) を調べた。

【結果】 過形成では胸腺髄質領域で管腔構造の増加が認められた。管腔構造では単層の立方上皮が管状に配列し、その周囲を扁平な上皮が取り巻いていた。胸腺腫では管腔構造に加え、腔が不明瞭となり、丈の低い上皮が胞巣塊または不規則に数層連なる索状構造を形成する領域も多く認められた。管腔構造が不明瞭な領域では、構成上皮の形態的な区別は不明であった。免疫組織化学的には過形成、胸腺腫共に、管腔構造の内側の上皮は CK18 に周囲の上皮は CK14 に陽性であった。管腔構造が不明瞭な領域でも胞巣塊や索状構造の内側の層の上皮は CK18、外側の層の上皮は CK14 陽性を示す傾向があった。

【結論】 上皮優勢の過形成及び胸腺腫では、CK 発現の異なる胸腺上皮が内側と外側の層状関係を構築しつつ増殖することが分かった。胸腺上皮の CK 発現の違いが、上皮型胸腺腫と皮髄構造を模倣した胸腺腫の組織像の違いに関与する可能性が示唆された。

P-57*

SDラットの胸腺にみられた異所性横紋筋組織

○小林 亮介¹⁾、友成 由紀¹⁾、赤川 唯²⁾、関谷 明生¹⁾、爰島 洋子¹⁾、土居 卓也¹⁾、菅野 剛¹⁾、土谷 稔¹⁾

¹⁾(株) LSIメディエンス 試験研究センター 病理研究部、²⁾(株) LSIメディエンス 試験研究センター 鹿島安全性第1研究部

【背景・目的】ラットにおいて、胸腺組織内に横紋筋組織が稀に観察されるが、文献的な報告は見当たらないため、その解剖学的、組織学的特徴を検索した。

【材料と方法】組織検査で偶発的に横紋筋組織がみられた11週齢、雄のCrl:CD(SD)ラット1例の胸腺を横断で5分割してパラフィン包埋した。亜連続切片を作製し、HE、マッソントリクローム、と銀染色を行なった。

【結果】ホルマリン固定後の胸腺断面において、横紋筋組織は境界明瞭な微小白色斑として認められた。主な組織学的特徴として、横紋筋組織は胸腺小葉間に局在し、周囲の薄い膠原線維で胸腺組織と区画されており、直径20～40μmの成熟した筋線維が数個～数十個まとまった一本の束として横断面で観察された。一部では1～数個の筋線維束が近傍に複数観察された。亜連続切片により全体を観察すると、横紋筋組織は胸腺左葉の前方部4/5程度を縦断方向に走行するまとまった筋束で、前方では左葉の腹側表面に接し、後方に向かい徐々に胸腺小葉間に入り、最終的に筋線維数を減じ、消失していた。これらの前方末端は胸腺外まで延びていたため確認できず、後方末端では筋線維の消失とともに筋束周囲の膠原線維が胸腺小葉間結合組織に融け込んでいた。特殊染色において、胸腺内横紋筋組織は正常な骨格筋と同様の染色性を示していた。

【考察】観察された横紋筋組織は、局在や組織学的特徴から、胸腺の発生段階で形成された異所性組織と考えられ、アーティファクトではないと判断した。胸腺髄質には、免疫組織化学的、電顕的に横紋筋への分化傾向を示すmyoid cellの存在が知られているが、本変化は胸腺小葉間に局在する成熟した横紋筋線維であることから、myoid cellとの関連性は低いと考えた。

P-58

カニクイザルの腰椎椎間板におけるコンドリアーゼの基質特異性と髓核融解作用

○南澤 由佳、村松 大、山口 宏明、二井 愛介

生化学工業(株)

【背景】グリコサミノグリカン分解酵素であるコンドリアーゼは、タンパク質分解酵素であるキモパインと比べて基質特異性が高いことから、腰椎椎間板ヘルニアにおける髓核融解術に適していると考えられている。両酵素の椎間板への影響については、様々な動物種で評価されているが、椎間板および隣接する椎体への影響の詳細は明らかではない。本試験では、コンドリアーゼおよびキモパインの基質特異性による影響の違いについて、カニクイザルを用いて病理組織学的に比較検討した。

【材料と方法】カニクイザルに、コンドリアーゼを臨床用量の12～494倍相当、キモパインを同じく12倍相当の用量で腰椎椎間板内へ投与し、投与後1～26週に病理組織学的検査を行った。

【結果】コンドリアーゼを投与した椎間板および隣接する椎体において、グリコサミノグリカン分解作用による病理組織学的変化が認められた。椎間板および椎体に認められた組織変化は、投与後4週で最も顕著に認められ、投与後26週には沈静化した。一方、キモパインを投与した椎間板では、コンドリアーゼと同質の変化が認められたが、椎体への影響はより広範囲に及んでいた。さらに、キモパインによる組織変化の程度は、コンドリアーゼの最高用量で認められた組織変化と比べて重度で、投与後26週においても組織変化は増悪した。

【結論】コンドリアーゼによる病理組織学的変化は、キモパインと比べて、酵素作用による影響はより軽度かつ選択的であった。コンドリアーゼは、腰椎椎間板ヘルニアにおける髓核融解術において、より望ましい基質特異性を有することが組織学的にも示された。

P-59*

2,4-ジメチル-4-フェニルテトラヒドロフランの90日間反復投与毒性試験および異性体存在比の検討

○井手 鉄哉¹⁾、水田 保子¹⁾、Young-Man Cho¹⁾、赤木 純一¹⁾、増本 直子²⁾、杉本 直樹²⁾、佐藤 恭子²⁾、小川 久美子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 食品添加物部

【背景】2,4-ジメチル-4-フェニルテトラヒドロフランは指定添加物として食品への使用が認められている香料で、「類又は誘導体として指定されている18項目の香料(18類)」のうちエーテル類に分類され、比較的使用量が多い。現在、代表的な18類の安全性については再検討が進められていることから、本香料のラットを用いた反復投与毒性試験を実施した。加えて、本香料には4つの異性体が存在し、異性体によって毒性が異なる可能性もあることから、被験物質中の異性体存在比の検討も行った。

【方法】6週齢のF344ラット雌雄各群10匹に2,4-ジメチル-4-フェニルテトラヒドロフランを0(対照)、6、24及び96 mg/kg 体重/日で90日間強制経口投与し、投与期間中の一般状態観察、体重・摂餌量測定、解剖時の血液学的・血清生化学的検査、器官重量測定、並びに病理組織学的検査を実施した。被験物質中の異性体存在比は、定量NMRとキラルカラムを備えたGC/MSを用いて測定した。

【結果】いずれの投与群においても一般状態、体重および摂餌量に変化はみられなかった。血液学的検査では高用量群の雌雄でMCV・MCHの減少がみられ、血清生化学的検査では高用量群の雌雄でTPの増加、雄でAlbの増加が認められた。また、高用量群の雌雄で肝臓の絶対・相対重量の増加、腎臓の相対重量の増加がみられ、肝臓の相対重量の増加は中間用量群の雌でも認められた。病理組織学的検査では、高用量群の雌雄でびまん性肝細胞肥大、雄で尿管硝子滴沈着と再生尿管が観察された。また、被験物質中には4つの異性体がほぼ等量ずつ存在していることが明らかになった。

【考察】今回の毒性試験に用いた2,4-ジメチル-4-フェニルテトラヒドロフランには4つの異性体がほぼ等量ずつ存在し、その無毒性量は雌雄ともに24 mg/kg 体重/日であると判断した。

P-60*

1,3-Dichloro-2-propanolのF344ラットを用いた28日間反復強制経口投与による毒性プロファイルの検索

○松下 幸平、豊田 武士、森川 朋美、山田 貴宣、小川 久美子

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【背景】1,3-Dichloro-2-propanol(1,3-DCP)は肉や魚の加工品やチーズ等の様々な食品に含まれる汚染物質であり、肝臓や腎臓等に明確な発がん性を示すものの一般毒性及び遺伝毒性に関する情報は限定的である。我々は*gpt delta*ラットを用いた中期遺伝毒性/発がん性評価系による1,3-DCPの発がん機序の解明を目的とした研究を進めており、本学会では用量設定試験において野生型F344ラットを用いて検索した1,3-DCPの毒性プロファイルについて報告する。

【方法】6週齢雄性F344系ラットに25、50及び100 mg/kgの1,3-DCPを28日間反復強制経口投与し、対照群には蒸留水を投与した。全例の全身諸臓器の病理組織学的検索を行い、計画屠殺例では血液学的及び血清生化学的検査並びに肝臓における免疫組織学的及び遺伝子発現解析を実施した。

【結果】100 mg/kg群の全例が実験開始2日目に死亡/切迫屠殺となり、肝臓に重度の小葉中心性肝細胞壊死、腎臓に近位尿管の空胞化及び壊死がみられた。25及び50 mg/kg群では体重及び摂餌量に変動はなく、赤血球パラメータの有意な低値、肝臓及び腎臓の絶対/相対重量の有意な高値がみられ、50 mg/kg群ではALTが有意な高値を示した。25及び50 mg/kg群の肝臓では小葉中心帯においてc-caspase 3陽性を示す単細胞壊死及びKi67陽性細胞の増加がみられ、細胞周期関連遺伝子のmRNA発現量が有意な高値を示した。glutathione S-transferase placental form(GST-P)陽性反応が小葉中心帯にみられたが、GST-P陽性細胞巣は認められなかった。

【考察】100 mg/kg群の死因として急性肝障害が示唆された。25及び50 mg/kg群の肝臓では細胞増殖活性の亢進がみられ、発がんプロモーション作用との関連が考えられた。今後、全身諸臓器の病理検査結果を加えて1,3-DCPの毒性プロファイルを検討する予定である。

P-61*

F344 ラットを用いた 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal の 90 日間反復投与毒性試験

○中村 賢志¹⁾、木嶋 綾希¹⁾、石井 雄二¹⁾、高須 伸二¹⁾、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⁾ヤマザキ動物看護大学 動物看護学部

【目的】 5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal (MPH) は指定添加物「類又は誘導体として指定されている 18 項目の香料」(18 類)のうち、「芳香族アルデヒド類」に分類されている食品香料である。FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会 (JECFA) におけるグループ評価では「安全性の懸念はない」と判断されているが、MPH の個別の毒性ファイルについてはほとんど情報が無い。本研究では、本剤の安全性評価に資する知見の収集を目的とし、F344 ラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験を実施した。

【方法】 雌雄 6 週齢の F344 系ラット (各群 10 匹) に、コーン油を溶媒として本剤を 0、8、24、70 mg/kg 体重/日の用量で 90 日間強制経口投与した。投与量は食品香料としてのヒト推定暴露量の 100,000 倍を最高用量とした。試験期間中の一般状態観察、体重、摂餌量測定、並びに解剖時の血液学的検査、血清生化学的検査、器官重量測定及び病理組織学的検索を行った

【結果】 試験期間中、動物の死亡および一般状態の異常は認められなかった。体重および摂餌量は雌雄ともに全ての投与群において対照群と同様に推移した。血液学的検査および血清生化学的検査では投与に起因する変化は認められなかった。臓器重量では肝臓の絶対および相対重量の有意な増加が雌の 70 mg/kg 体重/日群で、精巣の絶対重量の有意な増加が雄の 70 mg/kg 体重/日群で認められたが、病理組織学的検索ではいずれの臓器においても被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

【結論】 以上より、本試験における MPH の無毒量は雌雄ともに 70 mg/kg 体重/日と判断した。

P-62

免疫不全マウス (NOG, NOD SCID 及びヌードマウス) を用いた HeLa 細胞の造腫瘍性試験における病理組織学的検索

○押方 孝文、涌生 ゆみ、満石 三喜男、浜村 政夫

(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 2G

【目的】 再生医療等製品の造腫瘍性試験の背景データ取得を目的に、3 系統の免疫不全マウス (NOG、NOD SCID 及びヌードマウス) に HeLa 細胞の移植を行い、病理組織学的検索を行った。

【方法】 3 系統の雄マウスを、系統ごとに HeLa 細胞を移植した陽性対照群 (N=10) 及び MRC-5 細胞 (ヒト胎児肺線維芽細胞) を移植した陰性対照群 (N=10) の 2 群に分けた。各群とも 6 週齢時に右背部皮下に細胞 (1×10^6 cells/0.1 mL/body) の移植を行い、移植後 16 週に解剖し、全身臓器について HE 染色標本作製し、検査した。

【結果】 3 系統とも陽性対照群の全動物で HeLa 細胞を移植した部位の皮下に灰白色の充実性の腫瘍がみられた。病理組織学的に腫瘍は、類円形の腫瘍細胞の充実性増殖からなり、全例において広範囲の壊死領域がみられ、分裂像やアポトーシスも散見された。また、NOG マウスの 1 例で肺に、NOD SCID マウスの 1 例で腋窩リンパ節に転移が認められた。これに加え、3 系統の陽性対照群のほぼ全例で脾臓及び肝臓の顆粒球系の髓外造血、骨髄の顆粒球系造血細胞の増加がみられた。ヌードマウスでは、髓外造血の程度が他の系統と比較して強い傾向にあった。さらに、NOD SCID マウスでは、リンパ節の好中球浸潤、ヌードマウスでは、リンパ節の好中球浸潤、脾臓及びリンパ節の形質細胞の増加が認められた。

これらの変化については、腫瘍形成に対する生体反応であると考えられた。陰性対照群では腫瘍はみられなかった。また、陽性対照群でみられたいずれの病変も各系統で認められなかった。

【まとめ】 それぞれの免疫不全動物において、HeLa 細胞の腫瘍形成に伴う生体反応が異なることが示された。今後、免疫染色を含め、各系統間の詳細な形態学的比較を行う予定である。

P-63*

NOG マウスの皮下に自然発生した上皮性腫瘍の2症例

○Angeline Ping Ping Teh¹⁾、町田 雪乃^{1,2)}、打屋 尚章¹⁾、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⁾日本獣医生命科学大学 獣医病理学研究室

【背景】NOG マウスは重度免疫不全マウスであり、患者由来異種移植(patient-derived xenograft: PDX) モデルの樹立に汎用されている。NOG マウスにおける自然発生腫瘍については胸腺リンパ腫を除いて、上皮性腫瘍を含めほとんど報告はみられない。今回、皮下にみられた自然発生性と考えられる2症例について、病理組織学的特徴および由来組織について検討を行ったので報告する。

【肉眼所見】症例(1)は38週齢の雌性NOG マウスで、10週齢時、右腹部皮下にヒト子宮体がんを移植したが生着しなかった。剖検時、左頸部から上腕部の皮下に、長径1.8 cmの灰白色腫瘍がみられた。症例(2)は61週齢の雌性NOG マウスで、7週齢時に右腹部皮下にヒト子宮体がんを移植したが生着しなかった。剖検時、右腰部皮下に大腿骨および骨盤を巻き込む長径2.8 cmの淡桃色腫瘍を認めた。

【方法】摘出した腫瘍をホルマリン固定後、パラフィン包埋切片を作製し、HE染色および各種免疫組織化学染色(AE1/AE3, Vimentin, NFP, Ki67, ER α 等)を実施した。

【結果と考察】両腫瘍は、病理組織学的に核異型が強く細胞境界が不明瞭な腫瘍細胞の胞巣状増殖像を呈していた。広範な壊死巣内にあってもスリット状の血管周囲に腫瘍細胞が巣状に残存していた。症例(1)において腫瘍細胞が周辺の筋・骨組織内へ浸潤し、骨髓組織も腫瘍に置換されていた。両腫瘍ともAE1/AE3に陽性であるがER α には陰性で、VimentinおよびNFPにも陰性を示したことから、上皮性腫瘍と判断された。本腫瘍の由来組織について更なる検索を実施中である。両症例ともヒトがん移植部位にはヒトがん組織の増殖を認められなかった。長期飼育下のNOG マウス皮下にみられた自然発生性の上皮性腫瘍については報告がみられないが、移植したヒトがん組織と区別するためにも引続き基盤データの蓄積が重要と考えられた。

P-64*

高齢F344 ラットに自然発生した退形成ジンバル腺癌(Anaplastic Zymbal's gland carcinoma)を疑う2例

○前野 愛¹⁾、坂本 義光¹⁾、北條 幹¹⁾、湯澤 勝廣¹⁾、長谷川 悠子¹⁾、鈴木 俊也¹⁾、猪又 明子¹⁾、守安 貴子¹⁾、煙山 紀子²⁾、美谷島 克宏²⁾、中江 大²⁾

¹⁾東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 生体影響研究科、²⁾東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科

【背景】ラットにおけるジンバル腺由来の腫瘍の自然発生は少なく、中でも退形成ジンバル腺癌(Anaplastic Zymbal's gland carcinoma)についてはほとんど報告がない。本演題では、慢性毒性試験に用いたラット2匹に観察された、退形成ジンバル腺癌を疑う症例について報告する。

【材料・方法】症例は、低用量の多層カーボンナノチューブを投与したF344雄性ラットの経過観察中に皮下結節を認めたものである。その後体重減少あるいは腫瘍組織の著しい増大を来したため、症例1は89週齢、症例2は77週齢で安楽殺し、耳介基部の腫瘍組織を摘出し、定法に従って病理組織学的解析に供した。

【結果・考察】両症例とも、腫瘍は、直径約30 mm大で、表面が潰瘍化し出血を伴っていた。腫瘍の断面は、黄白色で、広範な壊死が認められた。病理組織学的には、楕円形から多角形の腫瘍細胞が密接してシート状に増殖する部位と、紡錘形の腫瘍細胞が増殖する部位とが不規則に混在しており、両者の移行像と周辺組織への浸潤がみられ、一部に扁平上皮化生や角化もみられた。肺への転移を認めたが、腫瘍組織周辺を含む各組織切片において、既存のジンバル腺組織を確認できなかった。また、症例1では骨形成がみられ、症例2では腫瘍細胞の多型性が強かった。腫瘍細胞は、いずれの症例でも、vimentin陽性のものとcytokeratin陽性のものとが混在したが、アルシアンブルー・PAS・CD68・S100・ α SMA・von Willebrand factor・desminは陰性であった。以上の結果より、腫瘍細胞の由来を直接的に特定できないものの、発生部位が耳介基部であり、扁平上皮様の形態を示す上皮性の腫瘍細胞と間葉系の腫瘍細胞が混在して増殖していることから、両症例とも退形成ジンバル腺癌を疑った。

P-65*

Spontaneous basal cell carcinoma with ductal differentiation in the rat salivary gland

○佐野 智弥¹⁾、神鳥 仁志²⁾、原 陽子³⁾

¹⁾武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所、²⁾Axcelead Drug Discovery Partners(株)、³⁾鳥根県 農林水産課 家畜病性鑑定室

Macroscopically, a mass was observed in the subcutaneous tissue of the submandibular area in a 17-week-old male Sprague-Dawley rat. Histopathologically, pale basophilic basaloid tumor cells with round to oval-shaped nuclei formed multiple solid lobules and/or nests and was highly invaded to the salivary gland. A small number of duct-like structures, composed of a monolayer of cuboidal epithelia without surrounding cells or basal lamina, were also observed in the tumor. Immunohistochemically, the tumor cells showed positive reactions for p63, cytokeratins, proliferating cell nuclear antigen, and vimentin, but negative reactions for alpha-smooth muscle actin and S100. Ultrastructurally, the basaloid tumor cells contained multiple ribosomes and mitochondria in the cytoplasm, and a few desmosomes in the intercellular portion. However, there were no ultrastructural features that would suggest the presence of myoepithelium or squamous cells. According to the INHAND, this tumor could be categorized as a solid type of adenocarcinoma with ductal differentiation. On the other hand, the basal cell in the excretory duct is known to be able to differentiate to all types of cells in the normal salivary gland and may be related to the tumorigenesis of this tumor. Additionally, morphological and immunohistochemical characteristics of the tumor cells resemble to the basal cells. Therefore, it could be diagnosed as a basal cell carcinoma from the histogenetic point of view.

P-66

INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions - An Update - 2019

○林 新茂¹⁾、A ブラッドレイ²⁾、DG グッドマン³⁾、原田 孝則⁴⁾、R ハーバ⁵⁾、岩田 聖⁶⁾、M ヤコブセン⁷⁾、CM キーナン⁸⁾、R ケルナ⁹⁾、マーラ ベス⁵⁾、E メセック¹⁰⁾、T ノルテ¹¹⁾、S リッテンハウゼン⁹⁾、C ロウルフェルテ¹²⁾、J バーレ¹³⁾、義澤 克彦¹⁴⁾

¹⁾三栄源エフ・エフ・アイ(株) 安全性科学部、²⁾チャールスリバー、³⁾コンサルタント、⁴⁾残留農薬研究所、⁵⁾米国立環境健康科学研究所、⁶⁾ルナパス毒性病理研究所、⁷⁾アストラゼネカ、⁸⁾キーナン コンサルティング、⁹⁾フラウンフォッファー、¹⁰⁾ノバルティス、¹¹⁾ペーリンガーインゲルハイム、¹²⁾バイエル、¹³⁾イーライリリー、¹⁴⁾武庫川女子大学 生活環境学部 食物栄養学科

The INHAND Proposal has been operational since 2005. A Global Editorial Steering Committee (GESC) helps coordinate overall objectives of the project. Development of harmonized terminology for each rodent organ system or non-rodent species is the responsibility of the Organ Working Groups (OWG) or Non-rodent Working Groups (NRWG) respectively, drawing upon experts from North America, Europe and Japan. Great progress has been made with 14 rodent organ systems published to date: Respiratory, Hepatobiliary, Urinary, Central/Peripheral Nervous Systems, Male Reproductive and Mammary, Zymbals, Clitoral and Preputial Glands in Toxicologic Pathology and the Integument and Soft Tissue, Female Reproductive System, Digestive System, Cardiovascular System, Skeletal System, Special Senses and Endocrine System in the Journal of Toxicologic Pathology as supplements and on a web site: www.goReni.org. Recommendations of the Apoptosis/Necrosis Working Group have been published. There are 5 non-rodent working groups: non-human primate, dog, minipig, rabbit and fish: with draft manuscripts in progress. A new group has been formed to address terminology in non-rodent ocular toxicity studies. INHAND guides offer terminology, diagnostic criteria, differential diagnoses and guidelines for recording lesions in toxicity and carcinogenicity studies. The guides provide representative photo-micrographs of morphologic changes, information regarding pathogenesis, and key references.

P-67

製薬企業のSEND対応事例—SENDに対応した病理組織学的検査体制の構築—

○松本 泉美、栃谷 智秋、河内 眞美、藤井 雄太、吉野 有香、宮脇 出

大日本住友製薬株式会社 前臨床研究ユニット

FDAへのSEND (Standard for Exchange of Nonclinical Data) 申請が、NDAに続きIND申請でも義務化され、2017年12月17日以降に開始された単回及び反復投与毒性試験、がん原性試験については、FDA申請時にSENDデータの提出が要求される。このため、FDA申請を行う製薬企業にとって、SEND対応は必須となっている。当社においても、2016年から社内SEND対応チームを立ち上げ、SENDに対応できる体制構築を進めてきた。SENDデータ作成では、定められた標準フォーマットに準拠したデータの格納が必要であり、またその際には元の用語を統制用語(CT)にマッピングすることが推奨されている。SENDデータ作成の課題の一つとして、記述的用語が使われている病理組織学的検査のデータでは、マッピングや用いるCTが不適切な場合、所見の意味が異なってしまう懸念が挙げられる。さらに、データ数、用語のバリエーションが多い病理組織学的検査のSENDデータ作成は、パソロジスト以外の担当者が適切に対応することが難しい。当社では、病理組織学的検査のSEND対応として、以前より進めてきたINHANDを活用した所見名の統一に加え、データ格納及びマッピングの社内ルールの策定、報告書とSENDデータの対応表の作成などを行い、SENDデータ作成の容易化、迅速化に繋がる体制を構築したので、今回紹介する。パソロジストが、適切な所見名を用いるとともに、SENDを意識した対応を行うことで、SENDデータ作成時の負担軽減や、データの均質化が可能となり、また、将来的なデータ活用に繋がる可能性も考えられる。

P-68

INHAND病理用語をSENDIG v3.1に対応したフォーマットに変更した病理組織所見用語集の作成

○柿本 恒知¹⁾、諏訪 浩一²⁾、枝元 洋¹⁾、山川 誠己¹⁾、山口 裕子¹⁾、星谷 達¹⁾¹⁾株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所 病理部、²⁾株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所 情報システム部

【背景】FDAへの毒性試験データの申請は、2020年3月までにSENDIG v3.1への対応が義務付けられている。v3.1では、非腫瘍性病変(NONNEO)についても統制用語(CT)を使用してMISTRESCを作成しなければならない。NONNEO CTは200語弱の基礎所見が主であり、600語以上あるINHAND用語で所見を取得した場合、CTとその修飾語から構成され、修飾語は別のSUPPMI.XPTに収納しなければならない。この規定に従い、INHAND用語を適切なCTとその修飾語に置き換えた用語集を作成した。また、この用語集のマインドマップも併せて作成した。

【方法】SENDIG v3.1に従って、MI.XPT及びSUPPMI.XPTに入力する要件を備えたExcelファイルを作成した。すべてのINHAND用語について、適切なCT及びその修飾語に置き換え、これをMIORRESに収納した。基礎用語はMISTRESCに、修飾語は編集にはExcelを用い、オリジナルのINHAND用語はINHANDに収納し、修飾語はQUALに収納した。CTに適切な病理用語のない用語についてINHAND用語はそのまま各変数に収納した。さらに実際のSENDデータ作成を想定し、MI.XPT及びSUPPMI.XPTと同じ変数が入ったワークシートも併せて作成した。マインドマップはMindManagerを用いて作成した。

【結果／結論】NONNEOのCTはINHAND用語の1/3しかないにも関わらず、かなりの部分をカバーできていることがわかった。今回作成した用語集を実際の病理所見用語として使用すれば、v3.1への対応は容易と考えられる。被験物質投与と関連のない所見は本用語集を用いることで省力化でき、申請者は被験物質投与の影響とした所見のSENDデータの作成に集中できる。一方、データ解析に用いるという立場では、v3.1の改訂に有用性を見いだせないだけでなく、基礎所見のみのMISTRESCを解析に用いることは誤ったデータ解釈を行う危険性さえある。

P-69

CDISC SEND CT病理用語の2018年内変遷とINHAND用語との比較

○井上 紗季¹⁾、畠山 洋文¹⁾、小泉 治子¹⁾、堀川 真一¹⁾、佐藤 伸一¹⁾、安齋 享征²⁾、岩田 聖²⁾

¹⁾(株)イナリサーチ、²⁾ルナパス毒性病理研究所

FDA医薬申請についてはSEND (Standard for Exchange of Nonclinical Data) 対応が求められるようになり、2019年にはCDISCから提案されているSEND IG (Implementation Guide) 3.1が適用の予定である。SEND IG3.1では非腫瘍性病変についてはSEND CT (Controlled Terminology) にある用語の同義語はなるべくマッピングするように求められ、SEND CTにない用語はStudy Data Reviewer's Guide (SDRG) への記載が必要となる。従って、将来SEND対応が求められる試験について毒性病理検査を実施する場合には、INHAND用語と共にSEND CT用語についても注目しておく必要がある。

SEND CT用語はCDISCのホームページに公開されており、3か月に一度更新されている。今回我々は2018年におけるSEND CT病理組織用語の変遷を解析した。9月末時点の用語数は非腫瘍性病変185、腫瘍性病変298であり、INHANDの用語数と比較すると非腫瘍性病変数が少なかった(約1/4程度)。2018年に追加あるいは削除された用語をINHAND用語との比較も併せて紹介したい。あわせて、弊社で実施したSEND Data SET作成の経験から、SEND病理学検査データ作成における注意点や対策についても言述したい。

P-70

製薬企業におけるデジタルパソロジー技術を用いた形態計測に関する調査

○吉川 剛^{1,2)}、洞井 康^{1,3)}、浅岡 由次^{1,4)}、櫻井 孝信^{1,5)}、菊地 聡美^{1,6)}、山岡 牧子^{1,7)}、田中 雅治^{1,3,8)}

¹⁾日本製薬工業協会 研究開発委員会、²⁾大塚製薬株式会社 徳島研究所、³⁾田辺三菱製薬株式会社 創薬本部、⁴⁾塩野義製薬株式会社 開発研究所、⁵⁾大正製薬株式会社 安全性・動態研究所、⁶⁾持田製薬株式会社 総合研究所 薬物動態安全性、⁷⁾杏林製薬株式会社 わたらせ創薬センター、⁸⁾一般財団法人バイオインダストリー協会 先端技術・開発部

【背景】日本製薬工業協会(JPMA)の研究開発委員会は先端創薬実現に向けた産産連携活動の一環で「病理組織変化の形態計測技術の開発」というテーマにタスクフォース(TF)として取り組んできた。近年画像解析処理技術を用いた病理スライドの形態情報の定量化技術は急速に発展しているが、創薬においてはデジタルパソロジー技術(DPT)を応用した病理組織変化の自動計測への活用事例は乏しく、現状も不明である。今回我々はDPTを用いた形態計測の現状、必要性、可能性あるいは技術開発についての課題等を調査するためにアンケートを実施した。

【方法】調査はJPMA研究開発委員会の加盟35社を対象に、薬効及び安全性病理評価の部門に分けて実施した。形態計測に関する経験、実績及び課題、病理組織学的評価に関する質問、定量化ソフトの開発あるいは将来展望について質問を行い、形態計測技術開発に関する自由意見も収集した。アンケートはJPMA事務局を通じて配信及び回収を行い、回収したアンケートは事務局で匿名化した後にTFが受領し集計を行った。

【結果及び考察】加盟35社中26社から有効回答を得た。回答企業の多くは形態計測で病変を定量化するメリットは客観性や説得性を得られる事と考えているが、高い精度と客観性を兼ね揃えた解析条件の設定に苦慮している事が分かった。また創薬においてDPTを応用したソフトウェアのニーズは高く、技術の進歩により病理評価業務の一部は、将来コンピューターに置き換わる可能性があると考えている。本調査結果は創薬活動におけるDPTを応用した形態計測技術開発の必要性を明らかにし、病理組織変化の解析ソフトウェアを開発する際の有益な情報となり得ると考えられた。

P-71*

画像解析ソフトHALOを用いた病理所見の定量化の検討

○水川 真緒、洞井 康、大野 祐子、西川 智美、仁科 嘉修、馬場 伸之、久米 英介

田辺三菱製薬(株)創薬本部安全性研究所

【背景と目的】病理組織標本の画像解析は、形態変化の数値化により、病理評価結果の客観性や説得力の向上に活用できる。しかし、特殊染色・免疫染色標本が用いられることが多く、HE染色標本では解析実績のある所見は少ない。今回我々は病理画像解析ソフトウェアHALO(indica labs.)を用いて、解析報告の少ない所見(腎臓の再生尿管、胸腺萎縮、耳下腺萎縮他)について定量化を試みた。

【材料と方法】病理変化がみられたラットの腎臓、胸腺、耳下腺のHE染色標本をバーチャルマイクロスコープAperioで撮影し、デジタル画像を取得した。HALOのClassifier moduleを使用して画像中の構成成分を識別し組織全体面積に対する割合を定量化した。さらに一部の組織については、他のmoduleを使用して詳細に解析した。

【結果】Classifier moduleにより、腎臓の再生尿管が識別され、その割合は正常個体では0%、有所見個体では約20%であった。胸腺では皮質と髄質が識別され、正常個体で平均80%だった皮質の面積比が胸腺萎縮所見(軽度)のある個体では平均58%であった。耳下腺では、Classifier moduleで腺房と導管が識別され、その他のmoduleを組み合わせることで、各腺房細胞の細胞質面積測定が可能となり、正常個体では平均62%、腺房萎縮所見(軽度)のある個体では平均40%であった。また、他の所見についても定量化を実施中である。

【結論】HALOを用いることでHE染色標本での種々の病理所見の定量化が可能となり、より客観的な病理評価ができ得ることが示唆された。また、今回所見が認められた部位以外の領域の識別も可能であったことから、他の所見へ応用できる可能性が見いだされた。

P-72

ヒト肺癌細胞像の自動分類におけるFine-tuningしたDeep Convolutional Neural Networksの比較検討

○塚本 徹哉¹⁾、寺本 篤司²⁾、桐山 諭和^{1,3)}、山田 あゆみ²⁾

¹⁾藤田医科大学 医学部 病理診断学、²⁾藤田医科大学 医療科学部 放射線学科、³⁾成田記念病院 病理診断科

非小細胞肺癌の中でも、細胞診画像による腺癌と扁平上皮癌の鑑別は困難な場合が多い。本研究では、既に大量の自然画像を学習したDeep Convolutional Neural Networks(DCNN)アーキテクチャーの流用(fine-tuning)が画像識別能力の改善に有効かどうかを検討した。対象には、気管支鏡生検時の液状検体細胞診標本(BD SurePath Liquid-based Pap Test)をPapanicolaou染色し、顕微鏡デジタルカメラで撮影した腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌の肺細胞診検体画像を用いた。Fine-tuningしたアーキテクチャーとして、AlexNet、GoogLeNet、VGG-16の3つのDCNNを用いた。オリジナルのDCNNは3層の畳み込み層(Convolution layer)、3層のプーリング層(Pooling layer)、2層のフル結合層(Fully connected layer)を持ち、腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌の3つの癌細胞の識別確信度を得、その識別結果は71.9%であった。それに対して、AlexNetは、5つの畳み込み層、5つのプーリング層、3つのフル結合層を持ち、総合的な識別確信度は75.5%に向上した。一方、GoogLeNetは、22のlayerを持つがフル結合層を欠く構造で識別確信度70.8%と低値であった。また、VGG-16は、16個のlayerからなり識別確信度76.8%と良好な結果を得た。以上から、Fine-tuning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、更なる識別率向上のため、DCNNの構造最適化を行う必要があると考えられた。

P-73*

PAXgene 固定パラフィンブロック包埋サンプルの特徴

○山崎 雅輝¹⁾、中野 清孝²⁾、名取 修²⁾、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

病理標本作製にあたり形態保持とRNA品質保持を両立することは、形態学的解析と網羅的遺伝子解析を活用しバイオロジーを理解するために重要である。形態保持とRNA品質保持両方に優れる固定液とされるPAXgene-fixed paraffin-embedded (XFPE) サンプルのHE染色の染色態度、RNA品質の保持についてその他のサンプル作製法(modified methacarn-fixed paraffin-embedded, paraformaldehyde-fixed paraffin-embedded using the AMeX method, formalin-fixed paraffin-embedded, fresh frozen, PAXgene-frozen)と比較した。また、XFPEに対しlaser capture microdissection (LCM) が適応できるかについて検討した。XFPEは細胞形態を観察するに堪えうるものであり、アルコール固定サンプルと類似の染色態度、すなわち赤血球のゴースト化、細胞のShrinkage、多少エオジンの赤味が強いことなどが特徴として挙げられた。RNA品質保持は、fresh-frozenに次いで高く、ホルマリン系固定液にみられるRNAの断片化が少なく、Next generation sequencing解析に耐えうる品質であった。また、XFPEは1年間以上の保存後でもRNA品質を保持されていた。さらに、LCMへの適用において、5,000 μm^2 以上の大ききで切り取った場合良いRNA品質を保持していた。XFPEは形態学的解析と網羅的遺伝子解析の活用に必要なツールとなると考えられる。

P-74

低発現分子検出のための蛍光免疫染色の増感法とその特徴

○篠塚 淳子¹⁾、山崎 雅輝¹⁾、中野 清孝²⁾、舟橋 真一²⁾、鈴木 雅実^{1,2)}、加藤 淳彦¹⁾

¹⁾中外製薬(株) 富士御殿場研究所 安全性研究部、²⁾(株)未来創薬研究所

低発現分子を蛍光免疫染色で検出するには増感法が必要となる。今回、低発現分子として知られるLeucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 (LGR5)の検出法として、高輝度色素であるQdotを用いた増感法、ラベル色素の集積により増感させるTyramide Signal Amplification (TSA)、及び比較対照であるAlexa色素を用いたlabeled streptavidin biotin (LSAB)法を用いLGR5に対する染色を施し、各染色法の特徴について比較検討した。検出感度としてはTSAが高く、タンパクの細胞内局在を詳細に観察するという点においてはQdot法が明瞭に検出できることがわかった。また、共焦点顕微鏡での撮像条件の設定幅は、QdotがTSAに比較し広く、比較的容易に設定できることが確認された。これらの結果は、それぞれの増感法の原理に依存するものと考えられ、TSAはラベル色素を集積することから感度は高いがバックグラウンドも上がりやすい、一方、色素自体の輝度が高いQdot法はS/N(シグナル/ノイズ)比が高いためバックグラウンドを抑えられることが理由として考えられた。

P-75

FIB-SEMを用いたラット腎糸球体上皮細胞の3次元構造解析

宮内 泰¹⁾、○上田 耕平¹⁾、井村 奈緒子¹⁾、稲元 伸²⁾、大塚 祐二²⁾、吉田 晃世²⁾

¹⁾(株) 鎌倉テクノサイエンス 生物試験業務部、²⁾(株) 東レリサーチセンター 形態科学研究部

【背景・目的】透過型電子顕微鏡(TEM)および走査型電子顕微鏡(SEM)は、これまで様々な生体試料の構造解析に使用されてきたが、これらは2次元的な画像(TEM:平面画像、SEM:表面画像)しか作成することはできない。そこで、我々はFIB-SEMトモグラフィー技術を利用し、生体試料の3次元超微細構造解析を実施した。

【材料と方法】SDラットの腎臓から糸球体を含む皮質の一部を採取し、FIB-SEM用に特別な固定および染色を施し、樹脂包埋した。樹脂包埋サンプルの表面を取束イオンビーム(FIB)によりナノメートル単位でエッチング加工し、露出した表面画像をSEMにて取得した。この工程を繰り返すことで等間隔に連続する2次元画像を取得し、各画像において糸球体毛細血管壁構造の構成成分を中心に色付けした。また、今回は糸球体上皮細胞のミトコンドリアにも注目し色付けした。色付けした2次元画像を積層し、3次元立体像を構築した。

【結果】FIB-SEMを用いた3次元超微形態構造解析により、SDラットの腎糸球体上皮細胞はボーマン腔側に長い突起を持つこと、また糸球体上皮細胞のミトコンドリアは非常に細長い形態であることが新たに示された。本法は、生体試料内の様々な細胞およびミトコンドリアをはじめとする細胞内小器官の超微形態を解析する上で、今後有用な方法と成り得ると考えられる。

P-76

3D培養系の形態学的解析手法

○藤井 悦子^{1,2)}、川合 重人¹⁾、山崎 雅輝²⁾、中野 清孝¹⁾、加藤 淳彦²⁾、鈴木 雅実^{1,2)}

¹⁾株式会社未来創薬研究所、²⁾中外製薬株式会社

【目的】近年、臓器・組織の立体構築と機能を有する3D培養系が様々な医学・生物学研究に盛んに用いられている。本研究領域においても形態学的解析が重要と考えられるが、適切な観察方法に関する情報は少ない。そこで、病理学的手法とwhole mount法を組み合わせた3D培養系の適切な形態学的解析法を検討した。

【材料および方法】病理組織学的観察のために大腸癌幹細胞株より作製したorganoidを4%パラホルムアルデヒド固定後agarose液に懸濁し、遠心により同一平面上に沈殿させAMeX法にてパラフィン包埋を行った。HE染色、AB-PAS染色、免疫組織化学的染色(Ki-67、villin)および免疫蛍光染色(LGR5)を実施し、光学顕微鏡・共焦点レーザー顕微鏡にて評価した。また、Whole mountによる構造体全体の観察として、phalloidinのwhole mount染色・透明化を実施し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察を行った。

【結果】上記の方法により作製した薄切染色標本では、同一切片上に多数のorganoidが観察され、organoidの多様な形態が確認された。さらに、AB-PAS、免疫組織化学的染色、免疫蛍光染色による観察も可能であった。Organoidの立体構造を俯瞰的に把握するためには連続切片を作製し、観察する必要があったが、whole mount法による観察では管腔形成を含むorganoidの立体構築を容易に観察することが可能であった。

【結論】同一平面上で複数のorganoidの観察が可能な病理学的手法の確立によりorganoidの詳細な形態学的解析が可能となった。また、whole mount法では俯瞰的な立体構造を容易に把握することができ、目的に応じて両者を選択あるいは組み合わせ形態学的解析を進めることが推奨される。

P-77*

トリフルオロエタノール及びトリフルロアセトアルデヒドを曝露させたメダカの精巣病変

○黒田 雄介¹⁾、木村 真之¹⁾、早川 知里¹⁾、林 清吾¹⁾、竹内 和也¹⁾、古川 賢¹⁾、杉山 晶彦²⁾

¹⁾日産化学(株) 生物科学研究所、²⁾岡山理科大学 獣医学部 獣医学科

【背景・目的】トリフルオロエタノール(TFE)及びトリフルオロアセトアルデヒド(TFALD)は、ラットにおいて精巣病変(精母細胞や精子細胞への傷害等)を誘発することが報告されている。今回、メダカにTFE及びTFALDを曝露させ、魚類の精巣における影響を病理組織学的に検索した。

【材料と方法】実験動物は成熟雄メダカ(*Oryzias latipes*) (3～6か月齢)を用いた。被験物質を一定量添加した2 Lの試験液にメダカを止水式で飼育した。曝露期間は8日間とし、試験液は2日に1回交換した。曝露濃度に関してTFEは0、62.5、125、250及び500 mg/L (5匹/群)、TFALDは0、15.625、31.25、62.5、125及び250 mg/L (6匹/群)を設定した。曝露期間終了後にメダカを安楽殺し、ブアン液で固定後、HE染色を施し、病理組織学的検索を実施した。

【結果】TFE曝露群では125 mg/Lで1匹死亡、250 mg/L以上は全匹が死亡又は途中殺となった。TFALD曝露群では125 mg/L以上で全匹が死亡又は途中殺となった。生存動物における病理組織学的検査の結果、TFE曝露群では62.5 mg/L以上、TFALD曝露群では15.625 mg/L以上で精母細胞及び精子細胞の変性・壊死が認められ、高用量では明らかな精子細胞の減少も認められた。

【結論】今回の検討によって、TFE及びTFALDはメダカにおいても精巣病変を誘発することが分かった。また、本病変は主に精母細胞及び精子細胞に影響が認められたことから、ラットの精巣病変と同様の機序である可能性が考えられた。

P-78*

網膜毒性発現機序解明におけるlaser capture microdissectionの有用性についての検討

○白井 真人、青木 貴志、新野 訓代、藤本 和則、今岡 尚子、甲斐 清徳、森 和彦

第一三共株式会社 安全性研究所

【目的】網膜は複数の層から成り、各々の細胞層が毒性標的となりうる。網膜毒性は医薬品開発上の大きな問題であり、毒性回避やリスクアセスメントのために分子生物学的な機序解明が必要となることが多いが、眼球を丸ごと試料として解析すると層特異的なシグナルの変化がマスクされる可能性がある。そこで、我々は顕微鏡下で任意の組織を採材できるlaser capture microdissection (LCM)が網膜毒性の機序解明に有用であるか、既知網膜毒性物質であるN-methyl-N-nitrosourea (MNU)を用いて検討した。

【方法】7週齢の雌Crl:CD (SD)ラットにMNUの60 mg/kgを単回腹腔内投与し、6時間後に解剖して眼球を採材した。毒性標的的部位である外顆粒層及び杆状体錐状体層を凍結切片からLCMで採取したサンプル(LCMサンプル)と解剖時に目視で水晶体、硝子体及び角膜を取り除いた後に眼球を丸ごと凍結したサンプル(WEサンプル)からRNAを抽出し、GeneChip解析結果を比較した。

【結果と考察】WEサンプルでは炎症関連遺伝子の発現変動が強くみられた。一方、LCMサンプルでは炎症関連遺伝子の変動は少なかったのに対して複数の解糖系に関連する遺伝子の発現が変動しており、両サンプルの遺伝子変動に差があることが明らかになった。また、WEサンプルには外顆粒層及び杆状体錐状体層が含まれるにも関わらず、LCMサンプルのみでみられた糖代謝関連遺伝子を初めとする複数の遺伝子の発現がみられなかった。これらのことから、眼球全体をホモジナイズして解析した際には検出できない毒性部位特異的な遺伝子変動がLCMにより検出・解析できることが明らかになり、網膜毒性の機序解明にLCMは有用であることが示唆された。

The 35th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

Date **Jan 31** (Thu) and **Feb 1** (Fri), 2019
Venue **Tower Hall Funabori**
4-1-1 Funabori, Edogawa-ku, Tokyo 134-0091, Japan
Tel: 03-5676-2211
President **Masami Suzuki**
(Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.)

Program Committee

Chair Dr. Kumiko Ogawa (National Institute of Health Sciences)
Committee Dr. Hijiri Iwata (LunaPath LLC)
Dr. Kiyonori Kai (Daiichi Sankyo Co., Ltd.)
Dr. Makoto Shibutani (Tokyo University of Agriculture and Technology)
Dr. Satoru Takahashi (Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences)
Dr. Masaharu Tanaka (Japan Bioindustry Association)
Dr. Toshihisa Fujiwara (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)
Dr. Satoshi Furukawa (Nissan Chemical Corporation)
Dr. Toru Hoshiya (BoZo Research Center Inc.)
Dr. Katsuhiko Yoshizawa (Mukogawa Women's University)

Office

Forerunner Pharma Research Co., Ltd.
The 35th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology
Komaba Open Laboratory, The University of Tokyo
4-6-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8904
E-mail: jstp35@chugai-pharm.co.jp

[Office During Conference]
Tower Hall Funabori
Tel: 03-5676-2211 Fax: 03-5676-2501

[Congress Secretariat]
IPEC, INCORPORATION
1-24-12 Sugamo, Toshima-ku, Tokyo 170-0002
Tel: 03-5978-4067 Fax: 03-5978-4068
E-mail: jstp35ip@ipec-pub.co.jp

<http://www.ipec-pub.co.jp/35jstp/>

The 35th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

Table of Contents

Greetings	105
Access to the Site	106
Floor Plan	107
General Information	109
To the Presenters	112
Timetable	114
Program	
Special Lecture	116
Symposium	116
Workshop	117
IATP Seminar	118
Oral Presentation	119
Poster Presentation	120
Abstracts	
Special Lecture	137
Symposium	139
Workshop	144
IATP Seminar	148
Oral Presentation	149
Poster Presentation	157
Author's Index	198

Greetings

I, Masami Suzuki from the Research Division of Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., am honored to serve as President of the 35th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology, to be held from Thursday January 31st to Friday February 1st 2019 at Tower Hall Funabori (Edogawa-ku, Tokyo), together with a Slide Conference and the Commentary Session of the JSTP Diplomat Examination on Wednesday, January 30th.

Toxicologic pathology deals with the pathological effects on humans of chemical substances, such as therapeutic drugs, pesticides, and environmental substances. The advantages of pathological evaluation are that organs, tissues, and cells of the body can be observed and evaluated systemically by a relatively simple method and that reference to an established body of knowledge makes it possible to infer the etiology, pathological processes, pathogenesis, and effects on the body as a whole. On the other hand, it is difficult to pathologically quantify the severity or extent of a lesion, and although the etiology or mechanism of pathogenesis can be estimated, it is difficult to draw a definitive conclusion from pathological evaluation.

In recent years, genetic and proteomic expression analysis has advanced sufficiently to enable the changes in tissues and cells to be studied and understood from a perspective of molecular biology. In addition, the development of gene editing technologies has made it possible to manipulate the expression of genes and proteins, to pursue how morphological changes in tissues and cells are related to molecular biological changes. Furthermore, progress in imaging technologies has now made it possible to understand the true meaning of a snapshot view of a histological lesion as a spatiotemporal change of tissues and cells. When these “advances in the field of medicine and biology” are applied to the field of toxicologic pathology, they will pave new paths that provide insights into the interpretation of pathological changes, and may supply a means to overcome the weak points of pathological methods. To this end, the theme we have selected for this year’s meeting is “Advances in medical and biological science applied for toxicologic pathology”. Speakers that are on the cutting edge in the field of gene expression analysis and imaging techniques have been invited to give special lectures, educational lectures, and symposiums, and I would be delighted if this event became a driving force for progression in the field of toxicologic pathology.

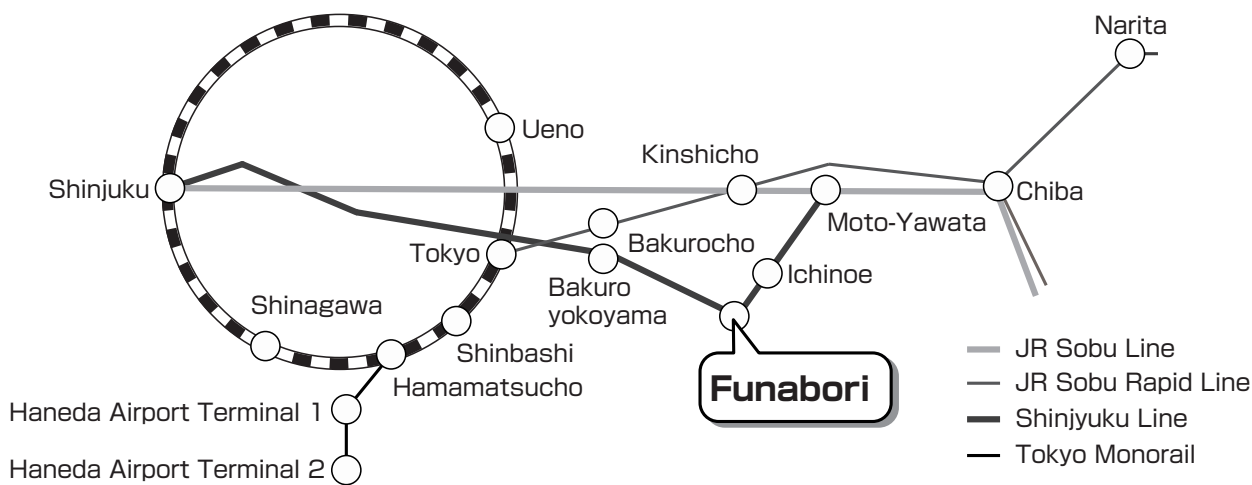
Lastly, I am hoping that this meeting will provide a pleasant occasion for participants to interact and exchange opinions, thus allowing the discovery of future visions and purposes in the advancement of toxicologic pathology. I am sincerely looking forward to welcoming you in Tokyo.

President of the 35th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

Masami Suzuki

Research Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

Access to the Site



By Train

[From Shinjuku Station]

Take “Toei Subway Shinjuku Line” bound for Motoyawata to Funabori Station (Traveling time; 30-minutes). It is about one minute walk to the venue from the north exit of Funabori Station.

[From Tokyo Station]

Take “JR Sobu Line (Rapid)” to Bakurocho Station, transfer to Toei Subway Shinjuku Line at Bakuro-yokoyama Station for Funabori Station.

It is about one minute walk to the venue from the venue from the north exit of Funabori Station.

By Limousine Bus from the Airports

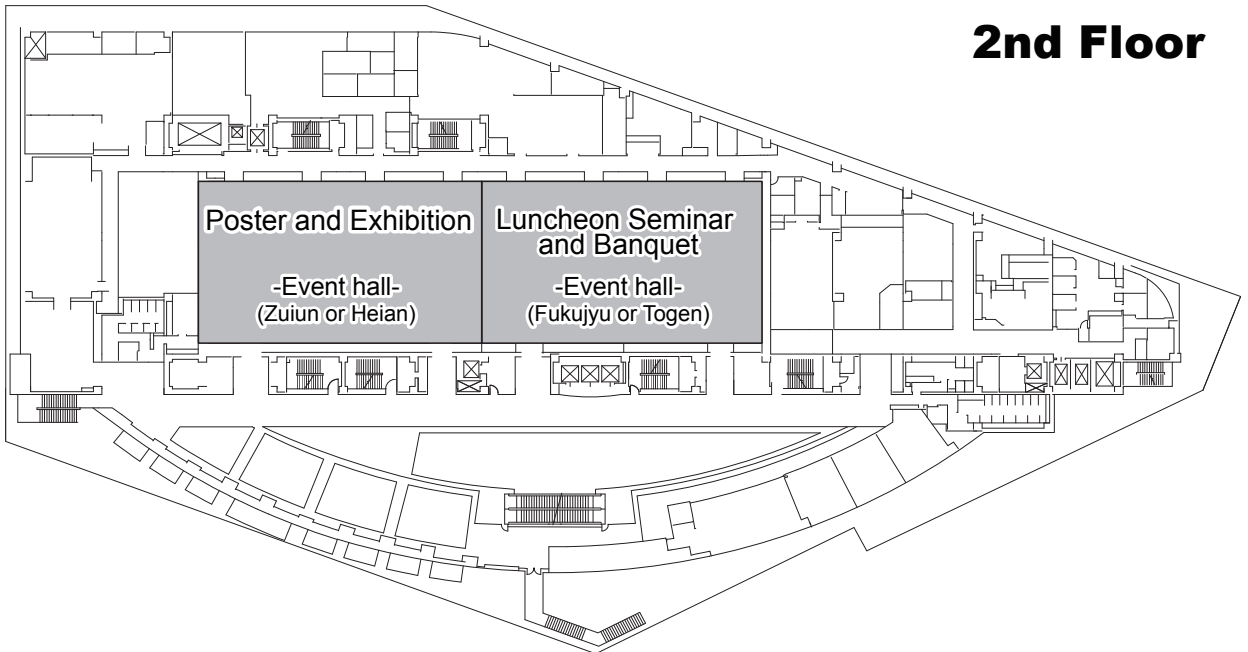
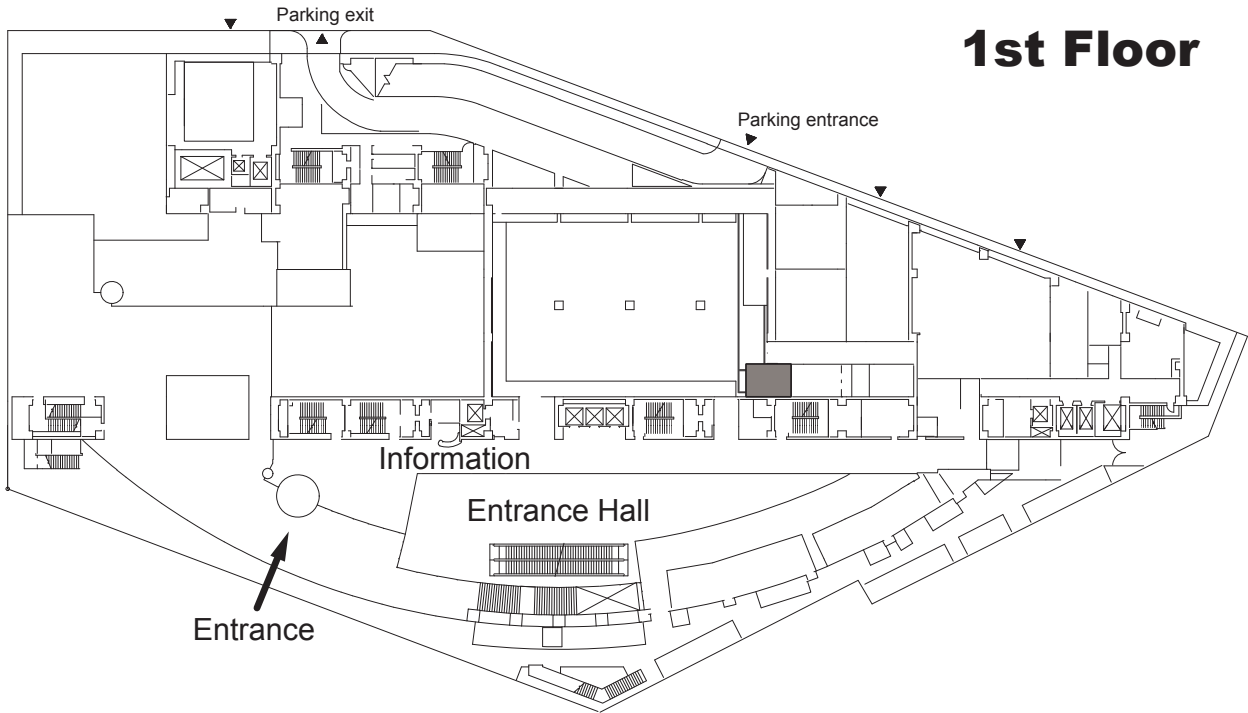
[From Haneda Airport (HND)]

Take the airport limousine bus to Toei Subway Shinjuku Line, Ichinoe Station. Then take Toei Subway Shinjuku Line bound for Shinjuku to Funabori Station (Traveling time: 2-minutes). It is about one minute walk to the venue from the north exit of Funabori Station.

[From Narita Airport (NRT)]

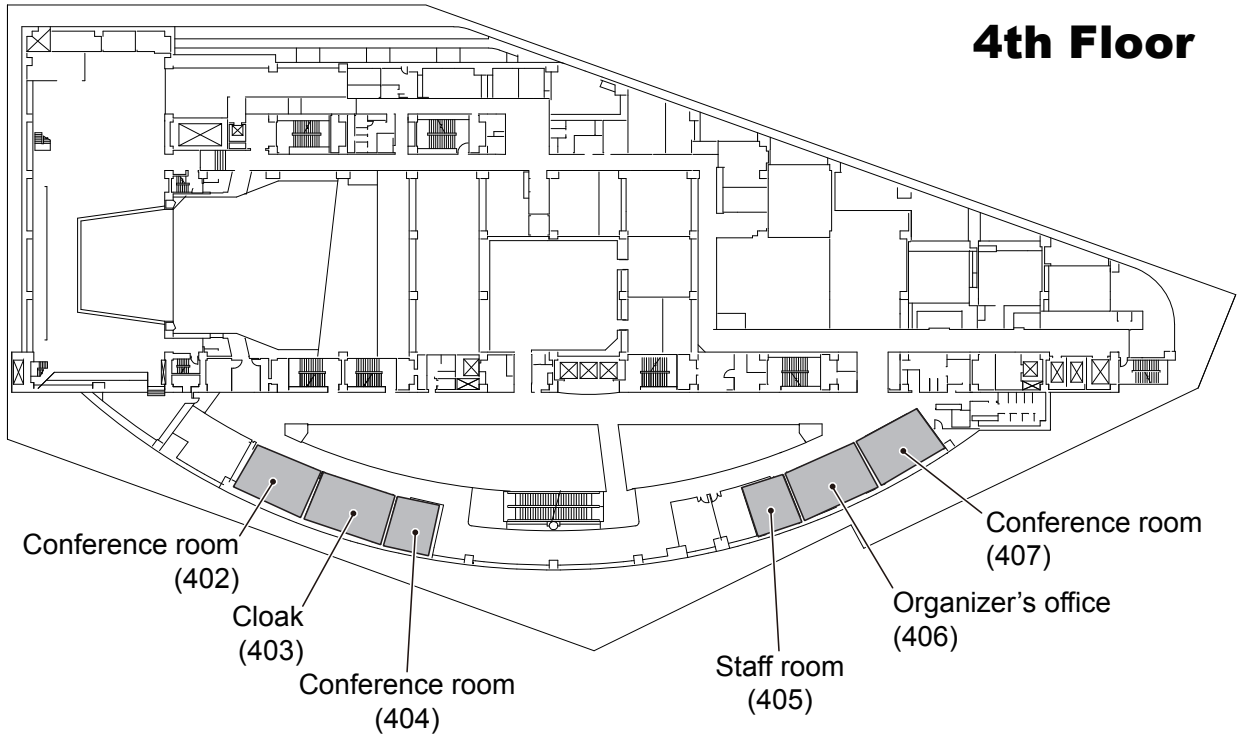
Take the Keisei bus to Toei Subway Shinjuku Line, Ichinoe Station. Then take Toei Subway Shinjuku Line bound for Shinjuku to Funabori Station (Traveling time: about 2-minutes). It is about one minute walk to the venue from the north exit of Funabori Station.

Floor Plan

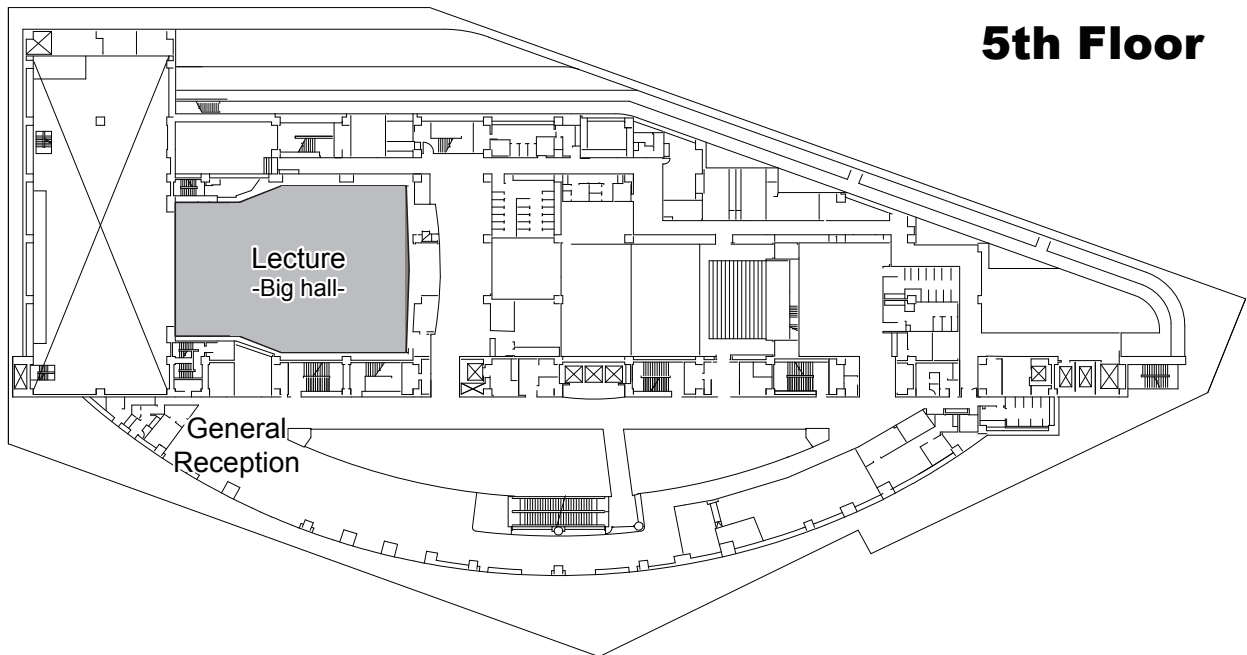


Floor Plan

4th Floor



5th Floor



General Information

To the Participant

1. General Reception will be open from 9:00 am to 6:00 pm on Jan. 31 (Thu) and from 8:45 am to 3:00 pm on Feb. 1 (Fri), and it is located on the 5th floor of Tower Hall.
2. Overseas participants who applied early registration are required to visit the Registration Counter, 5th floor of Tower Hall with the confirmation sheet which sent by E-mail. We accept only cash, no credit card accepted. Also ticket at the door is available.
3. For on-site registered participants, please fill out the on-site registration form and make the payment for Registration fees at the on-site registration desk, and wear provided name cards throughout the congress. Students must present their student IDs.

◆ Member: 12,000 yen ◆ Student Member: 6,000 yen ◆ Non-Member: 18,500 yen

*Included abstract book fees (5,000 yen)

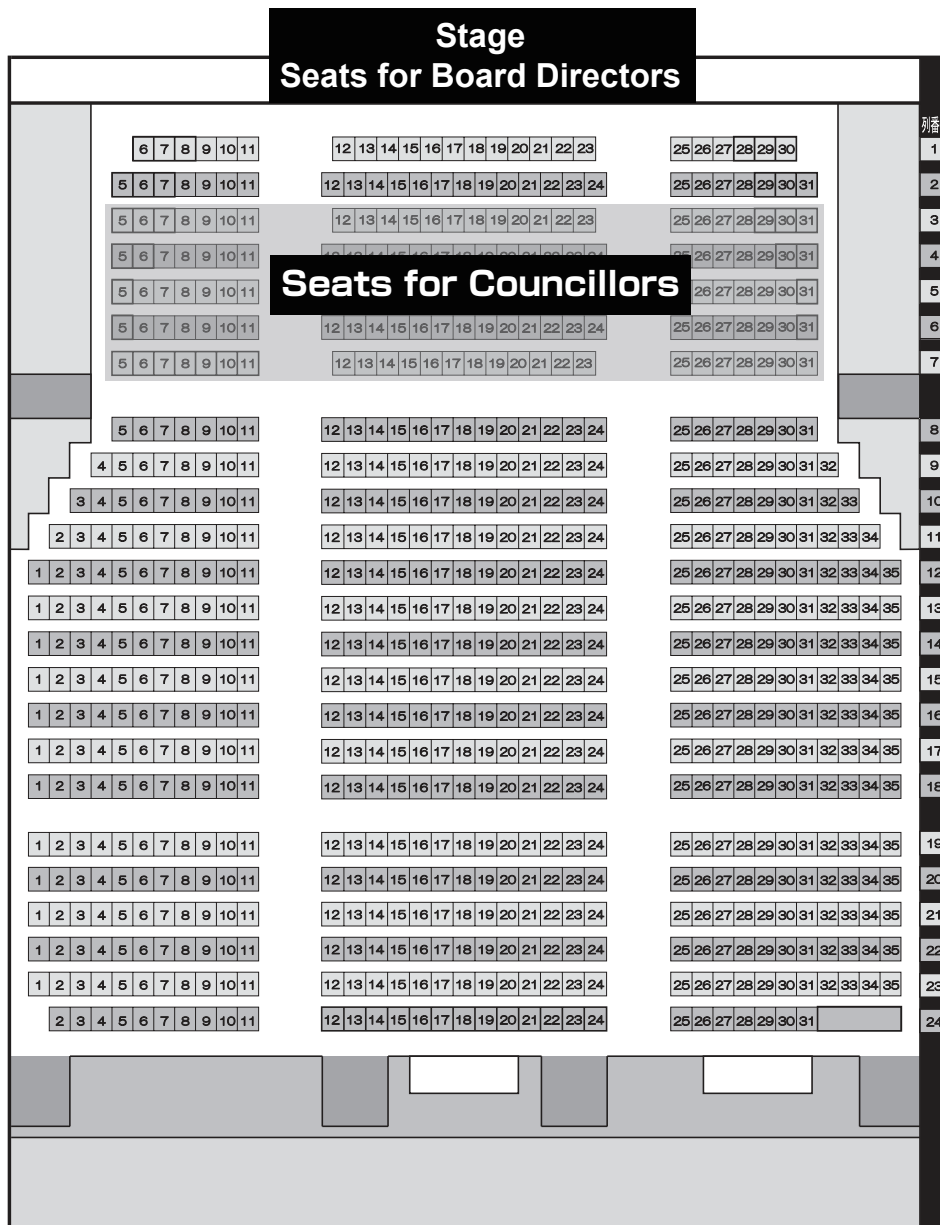
Honorary and meritorious members are free of charge. Please come to a General Reception desk on the day.

4. The abstract book will be mailed to the members in advance, so please bring it on the day. Extra copies of the abstract book will be available at 2,000 yen for Members, 5,000 yen for Non-Members and 2,000 yen for Students per issue.
5. For questions and discussions, please follow the chairman's instructions and state your name and affiliation first by using the provided microphone.
6. Smokings are not allowed inside the venue.
7. Please turn off your cell phones or set them to be silent mode inside the venue.
8. Free drinks and free Wi-Fi service will be available on the 2nd floor, Poster-Exhibition Room.
9. Lunch boxes will be provided during luncheon seminars. You can also use restaurants in the vicinity of the venue.
10. Cloakroom
Place: 403, the 4th floor of Tower Hall
Dates and Time: Jan. 31 (Thu) 9:00 - 18:30, Feb. 1 (Fri) 8:45 - 18:30
11. The paging service will not be available in the venue. Please use the message board located at the General Reception, the 5th floor of Tower Hall.
12. Photography and video or sound recording will not be allowed in the venue.
13. For the payment of annual membership fee, new member enrollment, and the alteration registration, please come to JSTP Secretariat desk (5th floor of Tower Hall).
Dates and Times: Jan. 31 (Thu) 9:00 - 17:00, Feb. 1 (Fri) 8:45 - 15:00

General Assembly and Board of Councillors

Place: Big Hall, the 5th floor of Tower Hall
 Date and Time: Feb. 1 (Fri) 16:10–18:10
 Agenda: Performance and annual review in 2018
 Results for the election of Board Members and an introduction of the new Board
 Budget and planning for annual Performance in 2019
 Recommendation Meritorious Members and Councillors
 Election of president for 2021 annual meeting
 Others

Big Hall, the 5th floor



Luncheon Seminar

[Luncheon Seminar L1]

Place: Fukuju Event hall, 2F
Date and Time: Jan. 31 (Thu) 12:05–13:00
Title : BIA 10-2474–Preclinical study data, safety evaluation, pharmacokinetic and pharmacodynamic studies
Speaker : Klaus Weber (AnaPath GmbH)
Chairman : Yoshimasa Okazaki (AnaPath GmbH)
Co-sponsor : AnaPath/Safety Alliance

[Luncheon Seminar L2]

Place: Togen Event hall, 2F
Date and Time: Jan. 31 (Thu) 12:05–13:00
Title : Toxicological point of view on the adversity of histopathological lesions in experimental animals induced by pharmaceutical drugs
Speaker : Akiyoshi Nishikawa, MD, PhD
(Division Director, Clinical Pathology, Saiseikai Utsunomiya Hospital)
(Former Director, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences)
Chairman : Kunitoshi Mitsumori, DVM, PhD
(Professor Emeritus, Tokyo University of Agriculture and Technology)
Co-sponsor : BoZo Research Center Inc.

[Luncheon Seminar L3]

Place: Fukuju Event hall, 2F
Date and Time: Feb. 1 (Fri) 12:05–13:00
Title : Historical control data in NOD/Shi-scid, IL-2R γ KO (NOG) mice
Speaker : Kinji Kobayashi (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)
Chairman : Kimiaki Hirakawa (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)
Co-sponsor : Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

[Luncheon Seminar L4]

Place: Togen Event hall, 2F
Date and Time: Feb. 1 (Fri) 12:05–13:00
Title : Immunohistochemical Investigations of Biopharmaceutical Distribution, Immunogenicity and Immune Complex Findings
Speaker : Kevin S. McDorman, DVM, PhD, Diplomate, ACVP
(Corporate Vice President, Global Pathology Services, Charles River)
Co-sponsor : Charles River

The ticket for Luncheon Seminar will be distributed at the General Reception, the 5th floor at 9:00 am on Jan. 31 (Thu) and 8:50 am on Feb. 1 (Fri).

Fellowship Banquet

Place: Fukuju and Togen, Event Hall, the 2nd floor of Tower Hall
Date and Time: Jan. 31 (Thu) 18:30–

- * The Fellowship Banquet requires Early registration, and on-site registration will be available at 9,000 yen (7,000 yen for students) at the General Reception desk on Jan. 31 (Thu). First come, first served. Please note that we may close registration due to limited seating.

[Macintosh]

- 1) Please bring your own PCs.
- 2) No USB memory sticks are allowed.

[Please note the followings in regards to Windows PCs and Macintosh PCs.]

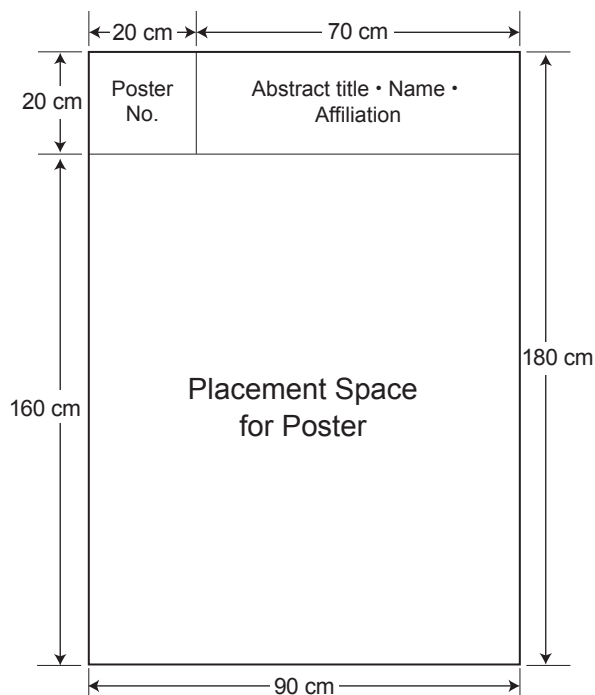
- 1) Monitor output with a D-sub15 pin is required. If your PC requires an adaptor for D-sub15 pin, please arrange the one on your own. Please note that connections other than D-sub15 pin are not allowed.
- 2) Please make sure to bring the power cable.
- 3) Please bring an extra copy of your data in case of any unexpected media problems.
- 4) Please bring your PC with you when you finish your presentation.

Request to Poster Presenters

1. Poster Panel size: Height 180 cm and Width 90 cm.
 Poster number tags (20 cm × 20 cm) in the upper left side of the poster panel 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 160 cm and Width 90 cm. The space for the Poster number should be secured when you place your poster from the top edge. (Please be careful of the placement to avoid getting difficult to see if your poster would be placed to the bottom.)
 Japanese language is acceptable.

Date	Time
Jan 31 (Thu)	17:20-18:10
Feb 1 (Fri)	15:10-16:00

2. Please come to the 2nd floor, Poster-Exhibition Room when displaying posters.
3. Pushpins and presenter's ribbons are available for each poster panels. Please wear it during Q&A.
4. Please proceed your presentations by chairman's instructions.
 10 min are allowed for each presenters (5 min for presentation and 5 min for Q&As).
 Please be strict to your presentation time.



Timetable

	Jan. 30 (Wed)		Jan. 31 (Thu)		
	Lecture	Meetings/ Banquet	Lecture	Poster/ Exhibition	Luncheon seminar/ Banquet
8:45					
9:00			Open 9:00-	Poster setup 9:00-10:00	
10:00			Opening ceremony 9:55-	Poster viewing/ Exhibition	
11:00		Oral presentation 10:00-11:50			
12:00					
13:00	31st Slide conference 12:30-17:30	Editorial committee 12:00-13:30 (2F: Togen)			Luncheon seminar 12:05-13:00
14:00		Educational committee 13:45-14:45 (conference room 402)	Symposium 1 13:10-15:10		
15:00					
16:00		Board meeting 15:00-18:00 (conference room 402)	Special lecture1 15:15-16:15		
17:00			IATP Seminar 16:20-17:10		
18:00				Poster presentation I 17:20-18:10	
19:00	Explanation of exam questions 18:00-19:00				Banquet 18:30-20:30
20:00		Global president's meeting 19:00-20:00			
21:00					

Timetable

Feb. 1 (Fri)				
	Lecture	Poster/ Exhibition	Luncheon seminar	Meeting
8:45	Open 8:45-			
9:00	Symposium 2 9:00-10:50	Poster viewing/ Exhibition		
10:00				
11:00	Special lecture 2 10:55-11:55			
12:00			Luncheon seminar 12:05-13:00	International Terminology Committee 12:00-13:00 (conference room 402)
13:00				
14:00	Workshop 13:10-15:00			
15:00				
16:00		Poster presentation II 15:10-16:00		
17:00	Board of Councillors The General assembly Awards ceremony Closing ceremony 16:10-18:10	Poster removal 16:00-17:00		
18:00				
19:00				
20:00				
21:00				

Program

Special lecture 1

Day 1, January 31, Thursday 15:15 - 16:15

Lecture (Big hall 5F)

Chair: Masami Suzuki (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.)

SL-1 Mutational Processes in Human Cancer

Hiroyuki Aburatani

Genome Science Division, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo

Special lecture 2

Day 2, February 1, Friday 10:55 - 11:55

Lecture (Big hall 5F)

Chair: Kumiko Ogawa (National Institute of Health Sciences)

SL-2 Next generation toxicologic pathology by innovative bio-Imaging techniques

Takeshi Imamura

Department of Molecular Medicine for Pathogenesis, Ehime University Graduate School of Medicine

Symposium 1

Day 1, January 31, Thursday 13:10 - 15:10

Lecture (Big hall 5F)

Chair: Satoru Takahashi (Nagoya City Univ. Grad. Sch. Med. Sci.)
Masaharu Tanaka (Japan Bioindustry Association)

Advancement of pathological analysis

S1-1 Tissue clearing technique in analysis for morphology

○Masaki Yamazaki

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

S1-2 Utilization of magnetic resonance imaging (MRI) in histopathological evaluation

○Yoshikazu Taketa

Tsukuba Drug Safety, Biopharmaceutical Assessments Core Function Unit, Eisai Co., Ltd.

S1-3 Application of imaging mass spectrometry for toxicity assessment

○Akane Kashimura¹⁾, Hiroko Sato¹⁾, Kouji Tanaka²⁾, Tomoya Akashi²⁾, Yuko Ono¹⁾,
Keisuke Yoshikawa¹⁾, Nobuyuki Baba¹⁾, Hidefumi Kaji³⁾, Masaharu Tanaka⁴⁾

¹⁾Safety Research Laboratories, Mitsubishi Tanabe Pharma Co., ²⁾DMPK Research Laboratories,
Mitsubishi Tanabe Pharma Co., ³⁾LSI Medience Co., ⁴⁾Japan Bioindustry Association

S1-4 Application of artificial intelligence to pathological examination -Current status and future direction-

○Kiyonori Kai¹⁾, Takuma Tsuchiya²⁾, Kazuki Iwamoto³⁾, Kazumi Hakamata^{4,5)}

¹⁾Daiichi Sankyo Co., Ltd., ²⁾Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾Fujitsu Limited, ⁴⁾Systemex Corporation, ⁵⁾LPixel Inc.

S1-5 Pathologic diagnosis of human soft tissue tumors by detection of chimeric fusion gene

○Takayuki Nojima

Departments of Orthopedic Surgery and Pathology, Kanazawa University

Symposium 2

Day 2, February 1, Friday

9:00 - 10:50

Lecture (Big hall 5F)

Chair: Katsuhiko Yoshizawa (Mukogawa Women's University)

Makoto Shibutani (Tokyo University of Agriculture and Technology Graduate School)

Progress and its application of the newly developed *in vivo*, *in vitro* models

S2-1 An application of mouse normal tissue-derived organoids to chemical carcinogenesis research

○ Toshio Imai

Department of Animal Experimentation, National Cancer Center Research Institute

S2-2 Induction of human immune reactions in humanized NOG mice and the application

○ Takeshi Takahashi

Central Institute for Experimental Animals

S2-3 Lesson from autophagy-deficient mouse models

○ Masaaki Komatsu

Department of Physiology, Juntendo University School of Medicine

S2-4 Establishment of a mouse model of urinary stone formation and the model-utilized genetic researches

○ Atsushi Okada, Yutaro Tanaka, Teruaki Sugino, Rei Unno, Kazumi Taguchi, Shuzo Hamamoto, Ryosuke Ando, Keiichi Tozawa, Kenjiro Kohri, Takahiro Yasui

Department of Nephro-urology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Workshop

Day 2, February 1, Friday

13:10 - 15:00

Lecture (Big hall 5F)

Chair: Satoshi Furukawa (Nissan Chemical Corporation)

Toru Hoshiya (BoZo Research Center Inc.)

Understanding for the basic histological findings in toxicity studies

W-1 Tumor in carcinogenicity study

○ Yuko Yamaguchi, Seiki Yamakawa, Mariko Nagatani, Shinichiro Ikezaki, Toru Hoshiya

BoZo Research Center Inc.

W-2 Gastric lesions to take note of in toxicity evaluations that an effect of the test substance?

○ Junko Sato

LSI Medience Corporation

W-3 Cardiac and hepatic changes related to reduced food consumption and diurnal variation

○ Saori Matsuo

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

W-4 Arteritis in toxicity study, spontaneous or drug induced

○ Toshihisa Fujiwara

Shin Nippon Biomedical Laboratories, LTD.

Workshop

Day 2, February 1, Friday

13:10 - 15:00

Lecture (Big hall 5F)

Chair: Toshihisa Fujiwara (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)
Hijiri Iwata (LunaPath LLC)

Understanding for the basic histological findings in toxicity studies

W-5 Stress and adrenal glands

○Akira Inomata

Pharmaceutical & Healthcare Research Laboratories, Fujifilm Corporation

W-6 Toxicological Assessment Issues in Immature Reproductive System of Non-Rodent Animals

○Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Saki Inoue¹⁾, Jun Watanabe¹⁾, Yoshihiro Takei¹⁾, Haruko Koizumi¹⁾,
Tetsuyo Kajimura¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Hijiri Iwata²⁾

¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC

W-7 Considerations and evaluation for basic lung pathological lesions caused by the intratracheal instillation

○Takamasa Numano, Taiki Sugiyama, Mai Morioka, Kazunari Uda, Yuko Doi, Mayumi Kawabe,
Yukinori Mera, Seiko Tamano

DIMS Institute of Medical Science, Inc.

W-8 Pathological Indicators for Reflux-Related Changes in Oral (Gavage) Studies

○Klaus Weber

AnaPath GmbH, Switzerland, Eurofins/ BSL BIOSERVICE Scientific Laboratories Munich GmbH

IATP Seminar Molecular Pathology

Day 1, January 31, Thursday

16:20 - 17:10

Lecture (Big hall 5F)

Chair: Kiyonori Kai (Daiichi Sankyo Co., Ltd.)

IATP The Toolbox for Molecular Pathology

Darlene Dixon, DVM, PhD, DACVP, FIATP

Molecular Pathogenesis Group, National Toxicology Program (NTP) Laboratory, National Institute of
Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, North Carolina, USA

Oral presentation I

Day 1, January 31, Thursday 10:00 - 10:50

Lecture (Big hall 5F)

Chair: Masanao Yokohira (Kagawa University)

Mitsuru Kuwamura (Osaka Prefecture University)

O-01 Effects of nicotine on rat urinary bladder carcinogenesis

○ Shugo Suzuki, Hiroyuki Kato, Satoshi Fuji, Aya Naiki-Ito, Satoru Takahashi
Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

O-02* Study on toxicity and carcinogenic promoting effect to bladder of o-Acetoacetotoluidide

○ Nao Yukimatsu, Takahiro Okuno, Min Gi, Masaki Fujioka, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi
Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

O-03 Histological and functional changes in the thyroid in rats neonatally exposed to X-rays

○ Nariaki Fujimoto¹⁾, Mutsumi Matsuu-Matsuyama²⁾, Masahiro Nakashima²⁾
¹⁾RIRBM, Hiroshima University, ²⁾ABDI, Nagasaki University

O-04* Expression characteristics of genes hypermethylated and downregulated specifically to non-genotoxic hepatocarcinogens in analysis in other hepatocarcinogens

○ Yuko Ito^{1,2)}, Kota Nakajima^{1,2)}, Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Satomi Kikuchi¹⁾, Fumiyo Saito³⁾,
Yumi Akahori³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾
¹⁾LVP, TUAT, ²⁾UGSVS, Gifu Univ., ³⁾Chem. Eval. Res. Inst.

Oral presentation II

Day 1, January 31, Thursday 10:50 - 11:50

Lecture (Big hall 5F)

Chair: Min Gi (Osaka City University)

Kiyokazu Ozaki (Setsunan University)

O-05 Premetastatic niche formation in the lymph nodes of a metastatic mouse mammary cancer model

○ Masa-Aki Shibata, Yuko Ito, Yoshihisa Tanaka, Hitomi Hamaoka, Yoichi Kondo
Dept. of Anatomy and Cell Biology, Div. of Life Sci, Osaka Medical College

O-06* Chemotherapeutic effects of luteolin on castration-resistant prostate cancer through inhibition of androgen receptor splice variant

○ Aya Naiki-Ito^{1,2)}, Hiroyuki Kato¹⁾, Shugo Suzuki¹⁾, Satoru Takahashi¹⁾
¹⁾Dept. Exp. Path. Tumor Biol., Nagoya City Univ., ²⁾Path. Div., Nagoya City East Med. Ctr.

O-07 Effect of Dibutyltin on Placental and Fetal Toxicity in Rat

○ Satoshi Furukawa¹⁾, Naho Tsuji¹⁾, Yoshiyuki Kobayashi²⁾, Seigo Hayashi¹⁾, Masayoshi Abe¹⁾,
Yusuke Kuroda¹⁾, Chisato Hayakawa¹⁾, Kazuya Takeuchi¹⁾, Akihiko Sugiyama³⁾
¹⁾Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Corporation, ²⁾Chemical Research Laboratories,
Nissan Chemical Industries, ³⁾Veterinary Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine,
Okayama University of Science

O-08 Effects of antioxidants on acute toxicity of silver nanoparticles intraperitoneally administered in BALB/c mice

○ Young-Man Cho, Yasuko Mizuta, Jyun-ichi Akagi, Takeshi Toyoda, Tetsuya Ide, Kumiko Ogawa
Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

O-09 Application of toxicogenomics in next generation preclinical and lot release testing for influenza vaccine and adjuvant

○ Takuo Mizukami¹⁾, Yuki Hiradate¹⁾, Eita Sasaki¹⁾, Haruka Momose¹⁾, Keiko Furuhata¹⁾, Hideki Kusunoki¹⁾, Hideki Asanuma²⁾, Isao Hamaguchi¹⁾

¹⁾Department of Safety Research on Blood and Biologicals, National Institute of Infectious Diseases,

²⁾Influenza Virus Research Center, National Institute of Infectious Diseases

Poster presentation I

Day 1, January 31, Thursday

17:20 - 18:10

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Akihiro Hirata (Gifu University)

Akira Inomata (Fujifilm Corporation)

Nervous system 1

P-01 Examination neurotoxicity of mouse treated with administration of reserpine

○ Makoto Sato, Yui Terayama, Yukari Nishimura, Takuma Tsuchiya, Takayasu Moroki, Keisuke Kitaura, Satoshi Matsumoto, Tsuyoshi Yoshikawa

Nonclinical Research Center Tokushima Research Institute

P-02* Effect of developmental exposure to sterigmatocystin on adult neurogenesis of the hippocampal dentate gyrus in rats

○ Kota Nakajima^{1,2)}, Yuko Ito^{1,2)}, Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Satomi Kikuchi¹⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Yoshiko Sugita-Konishi³⁾, Makoto Shibutani¹⁾

¹⁾LVP, TUAT, ²⁾UGSVS, Gifu Univ., ³⁾LFSS, Azabu Univ.

P-03* Exposure to alpha-glycosyl isoquercitrin from gestational stage to adult stage facilitates fear extinction learning in rats

○ Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Kota Nakajima^{1,2)}, Yuko Ito^{1,2)}, Satomi Kikuchi¹⁾, 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-04* A case of neuromelanosis in the brain of a cynomolgus monkey

○ Airo Yukawa, Akiko Moriyama, Ichiro Nagata, Kinji Kobayashi, Yutaka Chihaya

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Poster presentation II

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Shinji Takasu (National Institute of Health Sciences)

Takahisa Noto (Santen Pharmaceutical Co., Ltd.)

Nervous system 2

P-05* Histopathological analysis of an extraocular orbital tumor induced by single intravitreal injection of nickel subsulfide (Ni₃S₂) in a Fischer rat

○ Yoshinori Yamagiwa^{1,2)}, Miki Masatsugu¹⁾, Haruna Tahara¹⁾, Shingo Nemoto¹⁾, Masaaki Kurata¹⁾, Hiroshi Satoh²⁾

¹⁾Central Research Laboratories, Senju Pharmaceutical Co., Ltd., ²⁾Veterinary Pharmacology and Toxicology Laboratory, Graduate School of Veterinary Sciences, Iwate University

P-06 A case of traumatic porencephaly with optic organ abnormality in beagle dog

- Osamu Hashiguchi, Shinichiro Ikezaki, Tsubasa Saito, Saori Igura, Tomomi Nakazawa, Kenichiro Kasahara, Yuko Yamaguchi
Pathology Department, BoZo Research Center Inc.

P-07* Inhibitory Effects of Chitosan Oligosacchride Supplementation on Retinal Degeneration Models

- Chihiro Koyama¹⁾, Akiko Takenouchi¹⁾, Akane Kanase¹⁾, Yuri Yukimitsu¹⁾, Yuko Emoto²⁾, Takako Noguchi³⁾, Seiji Kurozumi³⁾, Kimihiko Sato³⁾, Yoshiharu Okamoto⁴⁾, Katsuhiko Yoshizawa¹⁾
¹⁾Department of Food Sciences and Nutrition, Mukogawa Women's University, ²⁾Kansai Medical University, ³⁾Koyo Chemical Co., Ltd., ⁴⁾Veterinary Medicine, Tottori University

P-08* Histological Characterization of Spontaneous Lesions Occurring in the Pars Intermedia and Pars Posterior of the Rat Pituitary Gland

- Yoshitaka Katoh, Tsuyoshi Ito, Aya Koyama, Naofumi Takahashi, Atsushi Shiga, Yoshimasa Okazaki, Takanori Harada
The Institute of Environmental Toxicology

Poster presentation III

Day 1, January 31, Thursday 17:20 - 18:10 Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Anna Kakehashi (Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.)
Kaoru Toyosawa (Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.)

Oral cavity and GI tract 1

P-09 Effects of co-administration of benzo[a]pyrene and α -naphthoflavone in male C57BL/6J wild-type mice and Polk-knockout littermates

- Jun-ichi Akagi¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, Takeshi Toyoda¹⁾, Masayuki Yokoi^{2,3)}, Fumio Hanaoka^{2,4)}, Haruo Ohmori²⁾, Kumiko Ogawa¹⁾
¹⁾Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²⁾Dept. Life Sci., Facul. Sci., Gakushuin Univ., ³⁾Biosignal Res. Ctr., Kobe Univ., ⁴⁾Life Sci. Ctr. Surviv. Dynamics, Tsukuba Adv. Res. Alliance, Tsukuba Univ.

P-10* Comparison of morphology and gene expression profiles between orthotopic and subcutaneous transplantation of a gastric cancer mouse model

- Saori Matsuo¹⁾, Kiyotaka Nakano²⁾, Takashi Nishizawa²⁾, Daisuke Komura³⁾, Etsuko Fujii^{1,2)}, Atsuhiko Kato¹⁾, Shin-ichi Funahashi²⁾, Shumpei Ishikawa³⁾, Masami Suzuki^{1,2)}
¹⁾Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., ²⁾Forerunner Pharma Research Co., Ltd., ³⁾Tokyo Medical and Dental University

P-11 Anticancer property and mechanisms of a action of newly synthesized drugs

- Saeko Ando¹⁾, Katsumi Fukamachi¹⁾, Harutoshi Matsumoto¹⁾, Naoki Yoshimi²⁾, Masumi Suzui¹⁾
¹⁾Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Science and Medical School, Nagoya City University, ²⁾Department of Pathology and Oncology, Faculty of Medicine, University of the Ryukyus

Poster presentation IV

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Takuya Doi (LSI Medience Corporation)
Ryo Ando (Kitasato University)

Oral cavity and GI tract 2

P-12 **Hyperglycemia deteriorates malignancy of colon cancer associated with colitis induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate in alloxan-induced type-1 diabetic mice**

○ Kiyokazu Ozaki, Yuko Izumo, Nanayu Oshima, Yui Terayama, Tetsuro Matsuura
Lab of Pathology, Setsunan University

P-13 **Ameliorating effect of Luo hanguo extract on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice**

○ Shuji Ogawa¹⁾, Katsuhiko Miyajima^{1,2)}, Karen Nagura²⁾, Minami Nozawa²⁾, Sae Harada²⁾,
Risako Yamaguchi²⁾, Mihoko Koyanagi³⁾, Shim-mo Hayashi³⁾, Atsushi Watanabe^{1,4)},
Noriko Kemuriyama²⁾, Dai Nakae^{1,2)}
¹⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. TUA., ²⁾Tokyo Univ. Agricul., ³⁾San-Ei Gen F.F.I., Inc., ⁴⁾Asahi Kasei Medical Co., Ltd.

P-14 **Gastrointestinal polyps in dogs with germline mutations of APC gene: a canine counterpart of human familial adenomatous polyposis**

○ Akihiro Hirata¹⁾, Kyoko Yoshizaki²⁾, Naohito Nishii³⁾, Mifumi Kawabe⁴⁾, Takashi Mori⁴⁾,
Tokuma Yanai²⁾, Hiroki Sakai²⁾
¹⁾Division of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu University, ²⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Faculty of Applied Biological Science, Gifu University, ³⁾Laboratory of Veterinary Internal Medicine, Faculty of Applied Biological Science, Gifu University, ⁴⁾Laboratory of Veterinary Clinical Oncology, Faculty of Applied Biological Science, Gifu University

P-15* **Histopathologic study of histiocytic ulcerative colitis in dogs**

○ Mizuho Uneyama¹⁾, James Chambers¹⁾, Ko Nakashima²⁾, Kazuyuki Uchida¹⁾, Hiroyuki Nakayama¹⁾
¹⁾Department of Veterinary Pathology, the University of Tokyo, ²⁾Japan Small Animal Medical Center

Poster presentation V

Day 1, January 31, Thursday

17:20 - 18:10

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Mari Iida (University of Wisconsin-Madison)
Kyoko Nakano-Ito (Eisai Co., Ltd.)

Liver and Pancreas 1

P-16* **Hemorrhagic changes in canine liver and gallbladder induced by liposomal formulations**

○ Keiko Makita-Suzuki¹⁾, Chihaya Kakinuma²⁾, Yoshinori Sakata¹⁾, Tatsuya Yamakawa¹⁾,
Akira Inomata¹⁾, Takefumi Hara¹⁾
¹⁾Pharmaceutical & Healthcare Research Laboratories, FUJIFILM Corporation, ²⁾Bioscience & Technology Development Center, FUJIFILM Corporation

P-17* Participation of heterogeneous macrophages related to M1/M2 types in D-galactosamine-induced acute rat liver injury

○ Nahid Rahman, Munmun Pervin, Mizuki Kuramochi, Mohammad Karim, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate
Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

P-18* The role of damage-associated molecular patterns (DAMPs) for neutrophil and macrophage migration in thioacetamide (TAA)-induced rat liver injury

○ Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Rahman Nahid, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate
Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

Poster presentation VI

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Shugo Suzuki (Nagoya City Univ. Grad. Sch. Med.)

Hideshi Kaneko (Teijin Pharma Limited)

Liver and Pancreas 2

P-19 Metabolome analysis in the liver tumors and tissues of NASH model TSOD mice

○ Anna Kakehashi, Naomi Ishii, Takahiro Okuno, Yoshiyuki Tago, Masaki Fujioka, Min Gi, Hideki Wanibuchi
Dept. Mol. Pathol., Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.

P-20 Effects of Siraitia Grosvenorii Extract on NASH-like lesions in F344 rats fed a choline-deficient, methionine-lowered, L-amino acid-defined diet

○ Kinuko Uno¹⁾, Katsuhiko Miyajima^{1,2)}, Kanae Suzuki²⁾, Kohei Kikuchi²⁾, Ami Nakai²⁾, Tsukasa Nagayoshi²⁾, Soon Hui Teoh¹⁾, Noriko Kemuriyama²⁾, Mihoko Koyanagi³⁾, Shim-mo Hayashi³⁾, Shuji Ogawa¹⁾, Atsushi Watanabe¹⁾, Dai Nakae^{1,2)}
¹⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch., Tokyo Univ. Agricul., ²⁾Tokyo Univ. Agricul., ³⁾San-Ei Gen F.F.I., Inc.

P-21 Chronological Changes of Serum Parameters in the Course of the Nonalcoholic Steatohepatitis-like Lesion in female SDT fatty Rats

○ Kanjiro Ryu¹⁾, Katsuhiko Miyajima^{1,2,3)}, Soon Hui Teoh²⁾, Masami Shinohara⁴⁾, Takeshi Ohta⁵⁾, Keiichi Ohata⁶⁾, Kinuko Uno²⁾, Noriko Kemuriyama³⁾, Shuji Ogawa¹⁾, Atsushi Watanabe^{1,7)}, Dai Nakae^{1,2,3)}
¹⁾Dept Nutr Sci Food Safety, Grad Sch, Tokyo Univ Agricul., ²⁾Dept Food Nutr Sci, Grad Sch, Tokyo Univ Agricul., ³⁾Dept Nutr Sci Food Safety, Facul Appl Sci, Tokyo Univ Agricul., ⁴⁾Tokyo Animal Diet Dept, CLEA Japan, Inc., ⁵⁾Biol/Pharmacol Res Lab Central Pharm Res Inst, Japan Tobacco Inc., ⁶⁾CMIC HOLDINGS Co., Ltd., ⁷⁾Asahi Kasei Medical Co., Ltd.

P-22* Effects of Lipid Metabolism-related Gene SREBP-1 on ER Stress and Chronic Inflammation

○ Linfeng Gao¹⁾, Noriko Kemuriyama²⁾, Natsumi Saito²⁾, Mieko Watanabe²⁾, Ayako Takei²⁾, Seiya Tazoe²⁾, Kanjiro Ryu¹⁾, Kinuko Uno³⁾, Soon Hui Teoh³⁾, Shuji Ogawa³⁾, Atsushi Watanabe^{3,4)}, Katsuhiko Miyajima^{1,2,3)}, Dai Nakae^{1,2,3)}
¹⁾Dept. Nutr. Food Safety, Grad. Sch. Agricul., Tokyo Univ. Agricul., ²⁾Dept. Nutr. Food Safety, Facul. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agricul., ³⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. Agricul., Tokyo Univ. Agricul., ⁴⁾Asahi Kasei Medical Co., Ltd.

Poster presentation VII

Day 1, January 31, Thursday

17:20 - 18:10

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Mayumi Kawabe (DIMS Institute of Medical Science, Inc.)
Hiroaki Kawaguchi (Kagoshima University)

Liver and Pancreas 3

P-23 Evaluation of hepatotoxicity in F344 rats after repeated 28-day administration of acetamide

○ Yuji Ishii¹⁾, Remika Kikuchi^{1,2)}, Aki Kijima¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura^{1,2)}

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²⁾Faculty of Animal Health Technology, Yamazaki University of Animal Health Technology

P-24 Suppressive effects of Bear Bile Powder on early hepatocarcinogenesis in SD rats

○ Meilan Jin, Mei Zhang, Qian Tang, Zili Wang, Jian Wang

Laboratory of Veterinary Pathology, College of Animal Science and Technology, Southwest University, China

P-25 Chronic toxicity and carcinogenicity study of diphenylarsinic acid in F344 rat

○ Takashi Yamaguchi, Min Gi, Masaki Fujioka, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi

Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

P-26* The kinetics of GST-P positive foci after cessation of treatment with various carcinogens in the liver of rat

○ Shinji Takasu¹⁾, Kurumi Nakamura^{1,2)}, Yui Ishiguro^{1,2)}, Yuji Ishii¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura^{1,2)}

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²⁾Faculty of Animal Health Technology, Yamazaki University of Animal Health Technology

Poster presentation VIII

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Shinichiro Ikezaki (BoZo Research Center Inc.)
Satoshi Suzuki (Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.)

Liver and Pancreas 4

P-27 Immunohistochemical study on myoepithelial phenotype in canine hepatic tumors

○ Mitsuru Kuwamura¹⁾, Yuka Tsuji¹⁾, Mizuki Kuramochi¹⁾, Takeshi Izawa¹⁾, Hideo Akiyoshi²⁾, Jyoji Yamate¹⁾

¹⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University, ²⁾Laboratory of Veterinary Surgery, Osaka Prefecture University

P-28* Pathological examination of spontaneous vacuolation of pancreatic acinar cell in mice

○ Kyohei Yasuno¹⁾, Saori Igura²⁾, Shinobu Hakamata¹⁾, Keiko Okado³⁾, Yuko Yamaguchi²⁾, Kiyonori Kai¹⁾, Kazuhiko Mori¹⁾

¹⁾Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd., ²⁾Pathology Department, BoZo Research Center Inc., ³⁾Translational Research Department, Daiichi Sankyo RD Novare Co., Ltd.

P-29 Pancreatic parabiliary lobe cyst

- Yuma Yamashita, Tomo Sasaki, Takaaki Doi
Toxicological Research Group, Drug Development Research Laboratories, Maruho Co., Ltd.

P-30* Chemopreventive effects of anti-allergic drug on pancreatic carcinogenesis

- Hiroyuki Kato, Aya Naiki-Ito, Shugo Suzuki, Satoru Takahashi
Dep. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

Poster presentation IX

Day 1, January 31, Thursday 17:20 - 18:10 Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Naofumi Takahashi (The Institute of Environmental Toxicology)
Norihiro Sato (Asahi Kasei Pharma Corporation)

Urinary system 1

P-31* SGLT2 Expression in the Kidney of Male SDT Fatty Rats

- Soon Hui Teoh¹⁾, Katsuhiko Miyajima^{1,2)}, Yuka Nakamura²⁾, Takeshi Ohta³⁾, Masami Shinohara⁴⁾,
Kinuko Uno¹⁾, Noriko Kemuriyama²⁾, Dai Nakae^{1,2)}
¹⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. Tokyo Univ. Agri., ²⁾Dept. Nutr. & Food Safety, Tokyo Univ. Agri.,
³⁾Japan Tobacco Inc., ⁴⁾CLEA Japan Inc.

P-32* Spontaneous renal tubular hypertrophy observed in young (11-week) ICR mouse

- Hyun-Ji Choi¹⁾, Min-Jung Kong¹⁾, Hye-Jeong Kim¹⁾, Masami Suzuki²⁾, Hijiri Iwata³⁾, Chan-Hee Park¹⁾
¹⁾C&C Research Laboratories, ²⁾Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾LunaPath LLC

P-33* Inhibitory Effects of Mead Acid Supplementation on Acetaminophen-Induced Renal Toxicity in Rats

- Akiko Takenouchi¹⁾, Miyu Hiratsuka¹⁾, Maria Miura¹⁾, Yumiko Shinke¹⁾, Yukari Hirayama¹⁾,
Chihiro Koyama¹⁾, Yuichi Kinoshita²⁾, Kei Hamazaki³⁾, Katsuhiko Yoshizawa¹⁾
¹⁾Department of Food Sciences and Nutrition, School of Human Environmental Sciences, Mukogawa Women's
University, ²⁾Division of Diagnostic Pathology, Wakayama Medical University Hospital, ³⁾Department of Public
Health, Faculty of Medicine, University of Toyama

P-34* Histological findings in minipigs fed with high-cholesterol and high-sodium diet

- Shiori Murase, Masami Kato, Takahito Imaizumi, Tsuyoshi Arai, Yoshiyasu Konuma,
Hisami Matsushita, Katsumi Endo, Tsuneo Koike, Tomomi Kanehara, Jun Imai, Tadashi Itoh,
Hitoshi Kimura
Nihon Bioresearch Inc.

Poster presentation X

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Katsuhiko Miyajima (Tokyo University of Agriculture)
Miwa Takahashi (Astellas Pharma Inc.)

Urinary system 2

P-35* A spontaneous hyaline glomerulopathy in a young Crl:CD1(ICR) mouse

- Hironobu Nishina, Akane Kashimura, Mao Mizukawa, Katsuya Fujiki, Yuuichi Murakami, Nobuyuki Baba, Eisuke Kume
Safety Research Laboratories, Sohyaku. Innovative Research Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd.

P-36* The dose and time dependency of γ -H2AX formation induced by bladder carcinogens

- Takanori Yamada^{1,2}, Takeshi Toyoda¹, Kohei Matsushita¹, Tomomi Morikawa¹, Kumiko Ogawa¹
¹Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agri. Tech.

P-37 Evaluation of inhibitory effects of acetazolamide on the mouse bladder carcinogenesis

- Min Gi, Masaki Fujioka, Nao Yukimatsu, Takahiro Okuno, Takashi Yamaguchi, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi
Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

P-38 Gene expression analysis in the early stage of bladder carcinogenesis and search for novel biomarkers of bladder carcinogen

- Takeshi Toyoda¹, Takanori Yamada^{1,2}, Kohei Matsushita¹, Tomomi Morikawa¹, Kumiko Ogawa¹
¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²Laboratory of Veterinary Medicine, Tokyo University of Agriculture and Technology

Poster presentation X I

Day 1, January 31, Thursday

17:20 - 18:10

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Yuichi Murakami (Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation)
Yuko Yamaguchi (BoZo Research Center Inc.)

Respiratory system 1

P-39* Time-dependent analysis of pneumotoxicity caused by repeated oral administration of Cisplatin in rats

- Yui Terayama, Makoto Sato, Yukari Nishimura, Takuma Tsuchiya, Takayasu Moroki, Keisuke Kitaura, Tsuyoshi Yoshikawa
Nonclinical Research Center, Tokushima Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

P-40* Effects of administration volume on bronchoalveolar lavage fluid test and histopathological findings in rat treated with bleomycin intratracheally

- Taiki Sugiyama, Mai Morioka, Takamasa Numano, Hitomi Higuchi, Mayumi Kawabe, Yukinori Mera
DIMS Institute of Medical Science, Inc.

P-41 Diagnostic Investigation of Bleomycin-Induced Lung Toxicity in Cynomolgus Monkeys

○ Kazuyoshi Kumagai, Ken Sakurai, Yu Maeda, Hiroko Kataoka, Satoshi Tamai, Kumi Honda,
Tetsuya Ohsawa, Katsuyoshi Chiba, Kiyonori Kai, Kazuhiko Mori
Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

P-42* Effects of the expectorant drug, ambroxol hydrochloride, on chemically induced lung inflammatory and proliferative lesions in rodents

○ Shota Yoshida^{1,2}, Masanao Yokohira¹, Keiko Yamakawa¹, Yuko Narusawa¹, Shohei Kanie²,
Nozomi Hashimoto¹, Katsumi Imaida¹
¹Onco-Pathology, Department of Pathology and Host Defense, Faculty of Medicine, Kagawa University,
²Toxicology Laboratory, Discovery and Preclinical Research Division, TAIHO Pharmaceutical Co., Ltd.

Poster presentation X II

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Noriko Tsuchiya (Shionogi & Co., Ltd.)
Hiroshi Satoh (Iwate University)

Respiratory system 2

P-43* Epigenetic modification abnormality in lung carcinogenesis in mice transplacental exposure of organic arsenic compound Dimethylarsinic acid

○ Masaki Fujioka, Min Gi, Takahiro Okuno, Nao Yukimatsu, Anna Kakehashi, Yuji Oishi,
Hideki Wanibuchi
Osaka City University Graduate School of Medicine

P-44 The promotion effects of lung tumor with Insulin-like growth factor-1, IGF-1, expression by left pulmonary ligation in rodents

○ Masanao Yokohira, Nozomi Hashimoto, Keiko Yamakawa, Yuko Narusawa, Katsumi Imaida
Onco-Pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University

P-45* The effects of progesterone inhibitor (mifepristone) on lung tumorigenesis in female A/J mice

○ Yuko Narusawa, Masanao Yokohira, Keiko Yamakawa, Nozomi Hashimoto, Shota Yoshida,
Katsumi Imaida
Onco-Pathol., Fac. Med., Kagawa Univ.

P-46 Histopathological characteristics of mesothelin-positive proliferative lesions in the lung of rats treated with DHPN

○ Yoshimitsu Sakamoto¹, Yukie Tada¹, Motoki Hojo¹, Ai Maeno¹, Tosinari Suzuki¹, Akiko Inomata¹,
Takako Moriyasu¹, Dai Nakae²
¹Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, ²Tokyo Univ. Agricul.

Poster presentation X III

Day 1, January 31, Thursday

17:20 - 18:10

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Akihito Shimoi (Ina Research Inc.)

Daisuke Hibi (ONO Pharmaceutical Co., Ltd.)

Reproductive system

P-47 Male SD rats exposed in utero to di(n-butyl)phthalate: investigation of deferent duct

○ Mitsuru Sugiyama¹⁾, Yuya Okayama¹⁾, Hiroyuki Takahashi²⁾, Masahiro Ikegami²⁾, Tomoko Muto³⁾, Shin Wakui¹⁾

¹⁾Department of Toxicology, Veterinary Medicine, Azabu University, ²⁾Department of Pathology, The Jikei Univ. Sch. Med., ³⁾Food and Drug Safety Center

P-48* True hermaphroditism in a SD rat

○ Hiromu Okano, Mizuho Takagi, Isamu Suzuki, Shiori Fujiwara, Mariko Nagatani, Yuko Yamaguchi
Pathology Department, BoZo Research Center Inc.

P-49* A Case of Epithelial Plaque in the Uterus of a Non-Pregnant Cynomolgus Monkey

○ Haruno Yabuki, Airo Yukawa, Akiko Moriyama, Kinji Kobayashi
Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

P-50 Morphological difference of mammary adenomas and adenocarcinomas between CD-1 and B6C3F1 mice

○ Hiroko Kokoshima, Takuya Doi, Minoru Tsuchitani
LSI Medience Corporation

Poster presentation X IV

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Kinji Kobayashi (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)

Hiroko Sato (Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation)

Cardiovascular and Hematolymphoid system 1

P-51 Development of ultra-short term atherosclerosis model induced by nitric oxide synthases inhibitor in Microminipig

○ Hiroaki Kawaguchi¹⁾, Akihide Tanimoto²⁾

¹⁾Department of Hygiene and Health Promotion Medicine, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, ²⁾Department of Pathology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

P-52 Histopathological Investigation of a Minipig Who Died of Acute Hemorrhagic Gastritis

○ Sumiko Okuda, Hirotohi Akane, Hiro Eda, Atsuko Ichikawa, Shigekazu Shimizu, Yasuki Akie
CMIC Pharma Science Co., Ltd.

P-53* Healing after vascular grafting in the thoracic aorta of beagle dogs

○ Takato Matsuda¹⁾, Hisako Terao¹⁾, Kazuha Maeda¹⁾, Masako Tasaki¹⁾, Junko Souba¹⁾, Atsushi Isobe¹⁾, Kasuke Nagano²⁾, Kimimasa Kazuno¹⁾, Hitomi Hagiwara¹⁾

¹⁾Terumo Corporation, ²⁾Nagano Toxicologic-Pathology Consulting

P-54* A case of spontaneous hypertrophic cardiomyopathy in cynomolgus macaque (Macaca fascicularis)

○ Shizuka Konishi, Yuki Numakura, Masaaki Koga, Takashi Kotera, Makoto Ueda

Pharmacokinetics and Safety Assessment Dept., Nippon Shinyaku CO., LTD.

Poster presentation X V

Day 1, January 31, Thursday 17:20 - 18:10

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Takeshi Toyoda (National Institute of Health Sciences)
Atsuko Murai (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.)

Cardiovascular and Hematolymphoid system 2

P-55 Spontaneous globule leukocyte tumor with inflammatory reaction in a Wistar Hannover rat

○ Junko Sato, Yuki Tomonari, Takuya Doi, Minoru Tsuchitani

LSI Medience Corporation

P-56 Immunohistochemical characteristics of cytokeratin expression in epithelial type thymoma and thymic epithelial hyperplasia

○ Yuki Tomonari, Junko Sato, Tetsuro Kurotaki, Naoaki Yamada, Kazufumi Kawasako, Takuya Doi, Takeshi Kanno, Minoru Tsuchitani

Pathology Department, LSI Medience Corporation

P-57* Ectopic striated muscle of the thymus in a SD rat

○ Ryosuke Kobayashi¹⁾, Yuki Tomonari¹⁾, Yui Akagawa²⁾, Akio Sekiya¹⁾, Hiroko Kokoshima¹⁾, Takuya Doi¹⁾, Takeshi Kanno¹⁾, Minoru Tsuchitani¹⁾

¹⁾Pathology Department, Nonclinical Research Center, LSI Medience Corporation, ²⁾Kashima Safety Assessment Department A, Nonclinical Research Center, LSI Medience Corporation

Poster presentation XVI

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Hisashi Anayama (Takeda Pharmaceutical Co., Ltd.)
Takeshi Kanno (LSI Medience Corporation)

Miscellaneous 1

P-58 Selective chemonucleolysis with condoliase in cynomolgus monkeys

○ Yuka Minamisawa, Dai Muramatsu, Hiroaki Yamaguchi, Aisuke Nii
SEIKAGAKU CORPORATION

P-59* A 90-day repeated oral dose toxicity study of 2,4-dimethyl-4-phenyltetrahydrofuran and the determination of its isomer abundance ratio

○ Tetsuya Ide¹, Yasuko Mizuta¹, Young-Man Cho¹, Jun-ichi Akagi¹, Naoko Masumoto²,
Naoki Sugimoto², Kyoko Sato², Kumiko Ogawa¹
¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²Division of Foods Additives, National Institute of Health Sciences

P-60* Investigation of toxicological profiles of 1,3-dichloro-2-propanol in 28 days repeated dose study in F344 rats

○ Kohei Matsushita, Takeshi Toyoda, Tomomi Morikawa, Takanori Yamada, Kumiko Ogawa
Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

P-61* A 90-Day Repeated Oral Dose Toxicity Study of 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal in F344 Rats

○ Kenji Nakamura¹, Aki Kijima¹, Yuji Ishii¹, Shinji Takasu¹, Kumiko Ogawa¹, Takashi Umemura^{1,2}
¹Div. Pathology, NIHS, ²Faculty of Animal Health Technology, Yamazaki University of Animal Health Technology

Poster presentation XVII

Day 1, January 31, Thursday

17:20 - 18:10

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Tomo Sasaki (Maruho Co., Ltd.)
Junko Shinozuka (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.)

Miscellaneous 2

P-62 Histopathological examination of tumorigenicity study of HeLa cells in immunodeficient mice (NOG, NOD SCID and nude mice)

○ Takafumi Oshikata, Yumi Wako, Mikio Mitsuishi, Masao Hamamura
Pathology Department, LSI Medience Corporation

P-63* Spontaneous subcutaneous epithelial tumors in NOG Mice: A report of 2 cases

○ Angeline Ping Ping Teh¹, Yukino Machida^{1,2}, Naoaki Uchiya¹, Toshio Imai¹
¹Ctr. Anim. Div., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., ²Dept. Vet. Pathol., Nippon Vet. Life Sci. Univ.

P-64* Two cases suspected as anaplastic zymbal's gland carcinomas in aged F344 rats

- Ai Maeno¹⁾, Yoshimitsu Sakamoto¹⁾, Motoki Hojo¹⁾, Katsuhiko Yuzawa¹⁾, Yuko Hasegawa¹⁾, Toshinari Suzuki¹⁾, Akiko Inomata¹⁾, Takako Moriyasu¹⁾, Noriko Kemuriyama²⁾, Katsuhiko Miyajima²⁾, Dai Nakae²⁾

¹⁾Department of Pharmaceutical and Environmental Sciences, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,

²⁾Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture

P-65* Spontaneous basal cell carcinoma with ductal differentiation in the rat salivary gland

- Tomoya Sano¹⁾, Hitoshi Kandori²⁾, Yoko Hara³⁾

¹⁾Drug Safety Research Laboratories, Takeda Pharmaceutical Company Limited, ²⁾Axcelead Drug Discovery Partners Inc., ³⁾Department of Agriculture, Livestock Hygiene Research Office, Shimane Prefecture

Poster presentation XVIII

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Masako Imaoka (Daiichi Sankyo Co., Ltd.)
Yuzo Yasui (Japan Tobacco Inc.)

SEND and INHAND

P-66 INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions - An Update - 2019

- Shim-mo Hayashi¹⁾, A Bradley²⁾, DG Goodman³⁾, Takanori Harada⁴⁾, R Herbert⁵⁾, Hijiri Iwata⁶⁾, M Jacobsen⁷⁾, CM Keenan⁸⁾, R Kellner⁹⁾, B Mahler⁵⁾, E Meseck¹⁰⁾, T Nolte¹¹⁾, S Rittinghausen⁹⁾, C Ruehl-Fehlert¹²⁾, J Vahle¹³⁾, Katsuhiko Yoshizawa¹⁴⁾

¹⁾Global Scientific and Regulatory Affairs, San-Ei Gen F. F. I., Inc., ²⁾Charles River, ³⁾Independent Consultant,

⁴⁾The Institute of Environmental Toxicology, ⁵⁾NIEHS, ⁶⁾LunaPath LLC, ⁷⁾AstraZeneca, ⁸⁾CM Keenan ToxPath Consulting, ⁹⁾Fraunhofer ITEM, ¹⁰⁾Novartis Institute for Biomedical Research, ¹¹⁾Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, ¹²⁾Bayer AG, ¹³⁾Eli Lilly & Co., ¹⁴⁾Department of Food Sciences and Nutrition, School of Human Environmental Sciences, Mukogawa Women's University

P-67 Example of SEND Implementation in Pharmaceutical Company -Establishment of Histopathological Examination System for SEND-

- Izumi Matsumoto, Tomoaki Tochitani, Mami Kochi, Yuta Fujii, Yuka Yoshino, Izuru Miyawaki
Preclinical Research Unit, Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.

P-68 Creation of a histopathological glossary using INHAND nomenclature modified CDISC SENDCT according to the SENDIG v3.1

- Kochi Kakimoto¹⁾, Kouichi Suwa²⁾, Hiroshi Edamoto¹⁾, Seiki Yamakawa¹⁾, Yuko Yamaguchi¹⁾, Toru Hoshiya¹⁾

¹⁾Department of Pathology, Gotemba Laboratories, BoZo Research Center Inc., ²⁾Department of Information System, Gotemba Laboratories, BoZo Research Center Inc.

P-69 Changes of pathological terminology of CDISC SEND CT in 2018 and comparison with INHAND terminology

- Saki Inoue¹⁾, Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Haruko Koizumi¹⁾, Shin-ichi Horikawa¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Takayuki Anzai²⁾, Hijiri Iwata²⁾

¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC

Poster presentation XIX

Day 1, January 31, Thursday

17:20 - 18:10

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Norimitsu Shirai (Pfizer Inc.)

Takayasu Moroki (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.)

AI and Morphometry

P-70 A questionnaire survey on the image analysis of the digital pathology technology of pharmaceutical companies

- Tsuyoshi Yoshikawa^{1,2)}, Yasushi Horai^{1,3)}, Yoshiji Asaoka^{1,4)}, Takanobu Sakurai^{1,5)},
Satomi Kikuchi^{1,6)}, Makiko Yamaoka^{1,7)}, Masaharu Tanaka^{1,3,8)}

¹⁾R&D Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA), ²⁾Tokushima Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾Sohyaku. Innovative Research Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, ⁴⁾Research Laboratory for Development, Shionogi & Co., Ltd., ⁵⁾Drug Safety and Pharmacokinetics Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., ⁶⁾DMPK and Safety Assessment, Research Center, Mochida Pharmaceutical Co., Ltd., ⁷⁾Watarase Research Center, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd., ⁸⁾R&D Department, Japan Bioindustry Association

P-71* Quantitative evaluation of histopathological changes using imaging analysis software HALO

- Mao Mizukawa, Yasushi Horai, Yuko Oono, Satomi Nishikawa, Hironobu Nishina, Nobuyuki Baba,
Eisuke Kume

Safety Research Laboratories Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

P-72 Comparison of fine-tuning deep convolutional neural networks for classification of lung cancer types from cytological images

- Tetsuya Tsukamoto¹⁾, Atsushi Teramoto²⁾, Yuka Kiriama^{1,3)}, Ayumi Yamada²⁾

¹⁾Department of Diagnostic Pathology, Fujita Health University School of Medicine, ²⁾Faculty of Radiological Technology, Fujita Health University School of Health Sciences, ³⁾Department of Diagnostic Pathology, Narita Memorial Hospital

Poster presentation XX

Day 2, February 1, Friday

15:10 - 16:00

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Kaoru Inoue (National Institute of Health Sciences)

Chihiro Noguchi (Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.)

New analysis methods and techniques 1

P-73* Characteristic for PAXgene fixed paraffin embedded samples

- Masaki Yamazaki¹⁾, Kiyotaka Nakano²⁾, Osamu Natori²⁾, Masami Suzuki^{1,2)}, Atsuhiko Kato¹⁾

¹⁾Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., ²⁾Forerunner Pharma Research Co., Ltd.

P-74 Intensive immunofluorescence staining methods for low expression protein and the characteristics

- Junko Shinozuka¹⁾, Masaki Yamazaki¹⁾, Kiyotaka Nakano²⁾, Shin-ichi Funahashi²⁾,
Masami Suzuki^{1,2)}, Atsuhiko Kato¹⁾

¹⁾Safety Assessment Dept., Fuji Gotenba Research Labs. Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.,

²⁾Forerunner Pharma Research Co., Ltd.

P-75 Three-dimensional structure analysis of podocytes in rat kidney using FIB-SEM

- Yasushi Miyauchi¹⁾, ○ Kouhei Ueda¹⁾, Naoko Imura¹⁾, Shin Inamoto²⁾, Yuji Otsuka²⁾, Akiyo Yoshida²⁾

¹⁾Department of Bio Research, Kamakura Techno-Science, Inc., ²⁾Morphological Research Laboratories, Toray Research Center, Inc.

Poster presentation XXI

Day 1, January 31, Thursday

17:20 - 18:10

Poster and Exhibition (Zuiun/Heian Event hall 2F)

Chair: Makoto Ueda (Nippon Shinyaku Co., Ltd.)

Izumi Matsumoto (Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.)

New analysis methods and techniques 2

P-76 Method for morphological analysis of 3D cell cultures

○ Etsuko Fujii^{1,2)}, Shigeto Kawai¹⁾, Masaki Yamazaki²⁾, Kiyotaka Nakano¹⁾, Atsuhiko Kato²⁾,
Masami Suzuki^{1,2)}

¹⁾Forerunner Pharma Research Co., Ltd., ²⁾Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

P-77* Testicular lesions by exposure to trifluoroethanol or trifluoroacetaldehyde in medaka

○ Yusuke Kuroda¹⁾, Masayuki Kimura¹⁾, Chisato Hayakawa¹⁾, Seigo Hayashi¹⁾, Kazuya Takeuchi¹⁾,
Satoshi Furukawa¹⁾, Akihiko Sugiyama²⁾

¹⁾Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Corporation, ²⁾Veterinary Clinical Pathology,
Faculty of Veterinary Medicine, Okayama University of Science

P-78* Investigation of the usefulness of laser capture microdissection on mechanism analysis of retinal toxicity

○ Makoto Shirai, Takashi Aoki, Noriyo Niino, Kazunori Fujimoto, Masako Imaoka, Kiyonori Kai,
Kazuhiko Mori

Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.



Abstracts

Special Lecture

Symposium

Workshop

IATP Seminar

Mutational Processes in Human Cancer

Hiroyuki Aburatani

Genome Science Division, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo

Carcinogenesis is caused as a result of accumulation of somatic mutations, where distinct base change patterns, such as C>A due to smoking, C>T mutation by ultraviolet are frequently observed in lung cancer and melanoma, respectively. However, it has been difficult to reveal the biological processes contributing in each cancer case. Based on cancer genome data collected from more than 10,000 cases by the next generation sequencing analysis over the past decade, various mutation signatures were extracted. In the recurrent glioma cases after treatment with an alkylating agent, hypermutator phenotype was often observed with distinct base change pattern, which was presumably induced by the alkylating agent.

Various factors are involved in liver cancer development, e.g. hepatitis virus infection, alcohol intake, steatohepatitis and aflatoxin. We examined whole exome of 503 liver cancer cases in total, 413 Japanese cases and 90 cases from the TCGA dataset. Mutation signature analysis revealed an mutation pattern prevalent in Japanese male cases. Such signature is also observed in other cancer types and correlated with alcohol intake and genetic variants of alcohol metabolism genes.

SL-2

Next generation toxicologic pathology by innovative bio-Imaging techniques

Takeshi Imamura

Department of Molecular Medicine for Pathogenesis, Ehime University Graduate School of Medicine

Bio-imaging technique is a promising technique, and has already been applied for *in vitro* experiments in cellular biology. Recently, there has been a growing interest in applying this fluorescent imaging technique to study different disease process and complex biology such as cancer *in vivo*. Particularly, the intravital fluorescent imaging using various fluorophores and/or fluorescent proteins, in conjunction with appropriate microscopy, allows visualization of cell behavior as well as cell function *in vivo*.

In this talk, I will talk about applications of the fluorescent imaging systems to monitor cancer cell *in vivo*. In addition, I will show the study the roles of tumor microenvironment such as angiogenesis, lymphoangiogenesis, and activity of proteases *in vivo* by using fluorescent imaging systems. In addition, I would like to talk about a technological development of fluorescent imaging methods including two-photon microscopy, and the application of the fluorescent imaging approaches to cancer research. Two-photon microscopy is a powerful method to investigate behavior and function of cells in deep tissues. Moreover, I would like to present the setup and application of infrared-(IR)-two-photon microscopy using excitation wavelengths above 1,040 nm. IR-two-photon microscopy enables us the application of red fluorescent proteins/dyes and deeper imaging compared with conventional multi-photon microscopy.

It will be useful to investigate the cancer biology and test the effectiveness of therapeutic agents in the next generation toxicologic pathology using these innovative bio-Imaging techniques.

S1-1

Tissue clearing technique in analysis for morphology

○ Masaki Yamazaki

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

Further information could be obtained if you recognize three-dimensional (3D) structure itself compared to analysis for two-dimensional (2D) structure from sectioned slides. In the conventional manner for recognition of 3D structure, there is a method to reconstruct 3D structure images from serial sections, but the effort to make the serial sections is required and also the final images are still artificial. Some improvement is wanted in these points. Recently, mainly in the field of cranial nerve, the methods to clear thick tissues or whole organs were developed and it enable to observe 3D structure directly and the technique is widely spread to the other field. Now, there are several commercial available clearing reagents like organic solvent-based (BABB, DISCO), aqueous-based (See DB, Scale, CUBIC), and hydrogel-based (CLARITY, SWITCH). There are some reports that these methods have each characteristics. We performed clearing tissues and organoids created from a cell line by several clearing solutions and compared the characteristics in terms of clearing capability, fluorescence signal preservation or depth of observation and so on. These characteristics and points to consider about observation will be introduced.

S1-2

Utilization of magnetic resonance imaging (MRI) in histopathological evaluation

○ Yoshikazu Taketa

Tsukuba Drug Safety, Biopharmaceutical Assessments Core Function Unit, Eisai Co., Ltd.

Magnetic resonance imaging (MRI) is a powerful noninvasive tool to detect lesions three-dimensionally with high sensitivity in clinical medicine and pharmacological evaluation in animal models. Compared to other bioimaging devices such as computed tomography (CT) and positron-emission tomography (PET), MRI has higher spatial resolution without radiation exposure and can provide optional cross-sections. MRI is said to be suitable for the analysis of the organs with high water and fat contents such as brain since MRI visualizes the density and relaxation (the return process to equilibrium state of magnetization after excitation) of proton in the tissue. This in vivo approach can also be applied to the preclinical drug safety examination, e.g., for detecting the lesion and evaluating its time course, as well as its reversibility in the same animal. For the toxicologic pathology evaluation, it allows detection and localization of the lesions, thus assisting with selection of sections for subsequent histopathologic examination, and to see the relationship between the histological features of the lesion and its intra-organ distribution. Therefore, imaging of the fixed tissue specimens with MRI would be a powerful tool for toxicologic pathology evaluation. This presentation will introduce utilization and possibility of MRI analysis for toxicologic pathology evaluation, including our examination of neural lesions in rat formalin-fixed brain and current literature reports.

S1-3

Application of imaging mass spectrometry for toxicity assessment

○ Akane Kashimura¹⁾, Hiroko Sato¹⁾, Kouji Tanaka²⁾, Tomoya Akashi²⁾, Yuko Ono¹⁾, Keisuke Yoshikawa¹⁾, Nobuyuki Baba¹⁾, Hidefumi Kaji³⁾, Masaharu Tanaka⁴⁾

¹⁾Safety Research Laboratories, Mitsubishi Tanabe Pharma Co., ²⁾DMPK Research Laboratories, Mitsubishi Tanabe Pharma Co., ³⁾LSI Medience Co., ⁴⁾Japan Bioindustry Association

Imaging mass spectrometry (IMS) is a technology to analyze molecules on tissue section and obtain a 2D image of molecular localization. It is expected to help to elucidate pharmacological and toxicological mechanisms of drugs or explore new target molecules. Because it requires no labeling, we can readily conduct IMS analyses in toxicity studies with histological examination.

(1) IMS analysis in known animal model

We analysed amiodarone (AMD)-treated rat tissues by IMS and compared the distribution of AMD, its metabolites, and phospholipids with the areas of histological vacuolar changes. In the lesion areas, these molecules were detected with relatively higher intensities than in the normal areas. The results are consistent with the known mechanism of AMD-induced phospholipidosis. IMS is a useful technique to understand the mechanisms of organ toxicity.

(2) A case applying IMS to toxicity assessment

Vacuolation of mucosal epithelium in mouse duodenum was found in the 2-week dietary administration study of Compound A, which has low membrane permeability. We conducted IMS analysis in the duodenum and IMS revealed Compound A was localized in the mucosal epithelial cells. It indicated that Compound A induced the vacuolation not on the luminal surface but in the epithelial cells. In this symposium, we will introduce some of our data and discuss the contribution of IMS in future toxicity assessment.

S1-4

**Application of artificial intelligence to pathological examination
-Current status and future direction-**

○ Kiyonori Kai¹⁾, Takuma Tsuchiya²⁾, Kazuki Iwamoto³⁾, Kazumi Hakamata^{4,5)}

¹⁾Daiichi Sankyo Co., Ltd., ²⁾Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾Fujitsu Limited, ⁴⁾Sysmex Corporation, ⁵⁾LPixel Inc.

Pathological examination assumes important role in the non-clinical assessment in research and development of drugs. However histopathological examination may be a rate-limiting factor in the timeline in the screening of seeds in drug discovery because the histopathological examination takes long time and many resources. In resent, artificial intelligence (AI) has been applied to social life, manufacturing and life science fields, and progress of AI technology is spectacular as typified by automated driving of motor vehicle. Particularly, image recognition function of AI has been used for diagnosis of X ray and MRI images. Deep learning of pathological images has been utilized for diagnosis of tumor in human. Moreover the Japanese society of pathology is conducting Japan Pathology AI Diagnostic Project in corroborate with National Institute of Informatics using AMED budget. In the drug discovery, a histopathological diagnostic model of AI to classify normal or abnormal specimens and identify low risk organs in which non-neoplastic lesions are not observed, are exploring in Life Intelligence Consortium (LINC). The current status of AI application to pathological images and a case of AI analysis on several non-neoplastic hepatic lesions archived Open TG-GATEs will be introduced, and issues to utilize AI for pathological examination of toxicity studies and future direction will be also overviewed in the symposium.

S1-5**Pathologic diagnosis of human soft tissue tumors by detection of chimeric fusion gene**

○ Takayuki Nojima

Departments of Orthopedic Surgery and Pathology, Kanazawa University

Most of human bone and soft tissue sarcomas have genetic aberrations. About 30% of bone and soft tissue sarcomas are associated with chromosomal translocations, which involve the exchange between two chromosomes. This leads to formation of chimeric fusion genes that alter cellular function, often dysregulating proliferation, and resulting in clinically and genetically distinct neoplasms. On the other hand, the detection of these fusion genes has become useful for pathological diagnosis. Examples include *EWSR1-Fli1* in Ewing sarcoma/PNET, *SYT-SSX* in synovial sarcoma, *PAX-FKHR (FOXO1)* in alveolar rhabdomyosarcoma, and *FUS-CREB3L2* in low grade fibromyxoid sarcoma. A gene may rearrange with various partners. We use fluorescence in situ hybridization (FISH), to detect gene rearrangement and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) to assess for fusion transcripts for routine diagnostic ancillary tools. There are some disadvantages in FISH and RT-PCR, respectively, but by combining FISH and RT-PCR, accuracy of pathologic diagnosis of human bone and soft tissue sarcomas can be improved.

S2-1

An application of mouse normal tissue-derived organoids to chemical carcinogenesis research

○ Toshio Imai

Department of Animal Experimentation, National Cancer Center Research Institute

Organoids are 3D-cultured round cystic epithelial cell groups, which consist of each organ-innate cells including stem cells. Organoids derived from human carcinoma tissues maintain genetic mutations and gene expression patterns of their original ones and used for evaluation of molecularly targeted drugs. We culture normal mouse epithelia-derived organoids, and cancer-associated genetic reconstitution using lentivirus has been shown to recapitulate carcinogenesis. And then, we started to evaluate effects of chemicals on carcinogenesis in organoids. Organoids treated with several genotoxic carcinogens *in vitro* have been presented to develop subcutaneous nodules with histopathological characteristics resembling carcinoma tissues in nude mice. Currently, gene mutation analyses of chemical exposed-organoids *in vitro* are proceeding to detect early genetic targets in chemical carcinogenesis, followed by additional mutation analyses of subcutaneous carcinoma tissues in nude mice for comparison between them. It is expected that such stage-specific approaches provide new insights into molecular mechanisms of chemical carcinogenesis.

S2-2

Induction of human immune reactions in humanized NOG mice and the application

○ Takeshi Takahashi

Central Institute for Experimental Animals

Humanized mouse technology has been enabling *in vivo* analysis of human immune reactions. The development of severe immunodeficient mouse strains is the core of the technology. Since Central Institute for Experimental Animals (CIEA) established NOG mice in 2000, more than 60 NOG sub-strains have been produced by gene modifications, which include introduction of human cytokine genes, HLA genes, or targeted disruption of mouse genes, and their characteristics have been analyzed. Among them, NOG-human GM-CSF/IL-3 Tg mice (NOG-GM-CSF/IL-3 Tg) are particularly useful, since the development of human granulocytes like eosinophils and basophils, mast cells, and dendritic cells is significantly enhanced in this model compared to NOG mice. These myeloid cells are directly responsible for inflammation in many diseases and thus NOG-GM-CSF/IL-3 Tg would be more suitable for modelling human diseases than NOG mice. In this presentation, we are going to introduce our attempts to recapitulate some allergic symptoms including passive cutaneous anaphylaxis (PCA), passive food allergy, and asthma. In the asthma model, IL-33 triggered a series of disease symptoms; e.g. induction of IL-13 producing cells, production of Eotaxin, infiltration of human eosinophils, and hyperplasia of Goblet cells in lung mucosal tissues, which resembled human pathology. These results suggest that NOG-GM-CSF/IL-3 Tg are very useful for developing novel therapeutic ways to treat these diseases.

S2-3

Lesson from autophagy-deficient mouse models

○ Masaaki Komatsu

Department of Physiology, Juntendo University School of Medicine

The discovery of Autophagy-related genes (ATGs) by Dr. Yoshinori Ohsumi opened the door to solve the molecular mechanisms of autophagy. But, the research on autophagy does not still mature, rather it contains a large number of issues that should be addressed. To date, a series of ATG genes has been identified, but working mechanism of each ATG gene product remains unclear. Moreover, while growing lines of evidence shed light on the importance of non-conceptual mode of autophagy such as selective autophagy, the role in our life course is still a mystery. Further, while autophagy is considered to be involved in various vital events such as cellular differentiation, stem cell homeostasis and anti-aging, those regulatory mechanisms through autophagy are still not clear. In my talk, I show a molecular mechanism(s) for a selective autophagy-mediated stress response and introduce links between the deregulation and tumor development.

S2-4

Establishment of a mouse model of urinary stone formation and the model-utilized genetic researches

○ Atsushi Okada, Yutaro Tanaka, Teruaki Sugino, Rei Unno, Kazumi Taguchi, Shuzo Hamamoto, Ryosuke Ando, Keiichi Tozawa, Kenjiro Kohri, Takahiro Yasui

Department of Nephro-urology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Urinary stones consist of about 90% inorganic substances and several % organic substances. Previous studies have been conducted mainly on inorganic substances, but the prevalence has been steadily increasing. We focused on the genetic factors of stone disease and worked on establishing a stone formation model using mice that established gene recombinant technology.

1. Development of urinary stone model mice

Several types of oxalate precursor (ethylene glycol, glycolic acid, glyoxylate (GOx)) were administered at multiple stages of concentration, time period, and methods, and only intraabdominal administration of GOx could induce the kidney crystal formation.

2. Osteopontin (OPN) knockout mouse research

The functional analysis of OPN, the matrix protein of urinary stone was performed using gene recombinant mice. OPN^{+/+} showed significantly more stone formation than OPN^{-/-}. The morphology of OPN^{+/+} crystals revealed large flower-shape, but OPN^{-/-} crystals small sand-like. Furthermore, OPN functional domain transgenic mice and OPN antibody research proved that OPN was a promotor of stone formation.

3. Involvement of crystal elimination and macrophage (Mφ)

We discovered a phenomenon in which the crystals generated in the model mouse could disappeared. Microarray analysis revealed that expression of Mφ-related genes increased, and detected crystal phagocytosis of Mφ. In addition, we found that M1 (inflammatory type) promoted crystal formation and M2 (anti-inflammatory type) suppressed.

4. Development of subsequent research

Using Cyclophilin D deficient mice, involvement of mitochondrial disorders was showed and we are undergoing autophagy research. And we are conducting beige cell research from MetS model mouse studies.

W-1

Tumor in carcinogenicity study

○ Yuko Yamaguchi, Seiki Yamakawa, Mariko Nagatani, Shinichiro Ikezaki, Toru Hoshiya

BoZo Research Center Inc.

The carcinogenicity study has a long administration period of 104 weeks, and it takes about 3 years from the start to the end of the study. The primary objective is to examine the presence or absence of induced tumor development. Carcinogenicity is mainly evaluated based on the statistical test result (Peto test result), taking the relevance to the dose, the presence or absence of incentives for pre-neoplastic lesions, similar drug information, etc. into consideration. We describe the following four points in evaluating carcinogenesis appropriately.

1. Evaluation of individual incidence of hematopoietic tumors or tumors frequently occurring systemically: Because hematopoietic tumors are difficult to identify the primary organ, we register “Hemolymphoreticular system” as an organ name and evaluate the individual incidence by entering the tumor there.
2. Evaluation of incidence of individuals with benign and malignant tumors in combination.
3. Importance of historical data: The significance level of the Peto test differs depending on the background occurrence rate at the test execution facility at 1%.
4. Matters to be considered except for the presence/absence of significant difference: We must consider factors related to the reduction of tumor incidence such as decreased survival rate or suppression of body weight gain, and the state of development of hyperplastic lesions.

W-2

Gastric lesions to take note of in toxicity evaluations that an effect of the test substance?

○ Junko Sato

LSI Medience Corporation

Many toxicity studies are conducted by oral administration, so test substance-related lesions may be present in the stomach. It should be noted that the stomach is always exposed to stomach acid, receives direct stimulus of drugs other than toxic influence on mucosal surface during oral administration, and is sensitive to stress. In order to determine whether a lesion is a true toxic change in the pathological evaluation, it is necessary to understand nonspecific changes of the stomach in toxicity studies. In the glandular stomach, mucosal necrosis/erosion without dose dependence can be seen. There is no biological reaction such as inflammatory cell infiltration and regeneration, and only ghost-like necrosis of mucosa is focally seen. Is this a test substance-related change, a stress-related change, or an artifact? In an animal with stress, arterioles of the gastric mucosa contract and become ischemic. An acute necrotic lesion occurs in the gastric mucosa due to this gastric blood flow reduction, ischemia reperfusion, and mucosal defense reduction. Furthermore, gastric acid becomes an exacerbating factor of the lesion, and acute erosion/ulcer can be formed. In a rat ischemia reperfusion model, it has been reported that erosion occurs 1 hour after reperfusion and develops into ulcers in 48 hours. Interestingly, there is no infiltration of inflammatory cells until 3 hours after reperfusion.

W-3

Cardiac and hepatic changes related to reduced food consumption and diurnal variation

○ Saori Matsuo

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

In toxicity studies, test article treatment occasionally causes a reduction in food consumption, making it difficult to distinguish primary changes in the measured item from secondary changes that are related to reduced food consumption caused by test article treatment. Additionally, the timing of food intake and necropsy might affect whether changes in the results of measured items are due to the test article or not. To clarify what changes are related to reduced food consumption, we conducted a 2-week food restriction study in cynomolgus monkeys, and to investigate the effect of timing of food intake and necropsy, we performed sequential necropsies in mice. In the cynomolgus monkey study, animals in the food-restricted group were supplied 25% of food compared to the control group. In the mouse study, 8 week-old CrI:CD1 (ICR) fed mice were necropsied at 9 am, 1 pm, and 5 pm (n=3 per group). In this presentation, I will introduce features of histopathological changes in the heart and liver in the cynomolgus monkey study, and the liver in the mouse study. Furthermore, I will focus on the points to consider in toxicological evaluation when animals show reduced food consumption or when animals are necropsied at a different time of day in the same study.

W-4

Arteritis in toxicity study, spontaneous or drug induced

○ Toshihisa Fujiwara

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Arteritis noted sporadically without dose dependency in toxicity studies is often judged to be a spontaneous lesion by comparison with the data in its control group or background control data. When arteritis is observed in multiple organs/tissues and is in a high-dose group with a low incidence, it is difficult to judge histopathologically whether it is spontaneous or drug induced. Since the spontaneous arteritis is similar to drug-induced arteritis in its finding sites and features. In addition, spontaneous arteritis disturbs a toxicological evaluation because spontaneous arteritis becomes severe by treatment stress and drug interference. Arteritis occurs in any systemic organs, but the common site, occurrence frequency, and lesion feature are different among animal species. It is important to evaluate the arteritis by comparison of the data on clinical signs and clinical pathology as well as the histopathological data (difference in incidence, character and degree of the lesion, and site). Pharmacological and pharmacokinetic properties (tissue distribution of drugs, etc.) also support its toxicological evaluation. The purpose of this presentation is to contribute to a toxicological evaluation of arteritis.

W-5**Stress and adrenal glands**

○ Akira Inomata

Pharmaceutical & Healthcare Research Laboratories, Fujifilm Corporation

The adrenal gland is the most common endocrine organ affected by chemically induced changes. Among these changes, hypertrophy of adrenocortical cells is reported to be caused by steroidogenesis inhibitors and steroid hormones. The adrenal gland is also the organ where biosynthesis and secretion of stress hormones take place, and therefore adrenocortical cell hypertrophy can be induced by a nonspecific stress subsequent to a poor physical condition in animals administered the high dose of a chemical drug. Thus, we need to monitor and evaluate carefully animal general conditions, body weight, food consumption, organ weight, and clinical laboratory test results when we encounter adrenal histological changes in toxicity studies. In histopathology, the histological features derived from species, gender and age differences, and the changes in the other related organs should also be taken into account for an overall assessment of adrenal glands.

W-6**Toxicological Assessment Issues in Immature Reproductive System of Non-Rodent Animals**○ Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Saki Inoue¹⁾, Jun Watanabe¹⁾, Yoshihiro Takei¹⁾, Haruko Koizumi¹⁾, Tetsuyo Kajimura¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Hijiri Iwata²⁾¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC

In general toxicity studies using non-rodent animals such as dogs and cynomolgus monkeys, toxicity evaluation of the developmental process of reproductive organs is an important issue. According to regulatory guidelines, such as OECD Test No. 409, FDA Redbook 2000: IV.B.1 and EPA OPPTS 870.4100, dosing in dogs should begin at 4 to 6 months of age, and no later than 9 months of age. In practice, dosing is most commonly initiated at 6 to 8 months of age. In cynomolgus monkeys, studies commonly start at 2 to 3 years of age. Since sexual maturity is considered to be at 7 to 12 months in dogs and at 4.5 to 5.5 years in monkeys, short- and medium-term repeated dose studies of 2, 4 and 13 weeks may also evaluate reproductive toxicity using animals that have not reached sexual maturity. As individual differences in the maturity of reproductive organs are large in male dogs at the same age, this parameter is a poor indicator of maturation, making toxicity evaluation difficult. Factors such as cost, animal size and limited suppliers can make it difficult to obtain matured monkeys. Therefore, it is important to understand that immature animals are commonly used in general toxicity studies in large animals. Since development of the reproductive organs is often delayed due to the suppression of weight gain, it is necessary to include judgement of the changes in body weights and the relative organ weights of other organs in an overall evaluation.

W-7

Considerations and evaluation for basic lung pathological lesions caused by the intratracheal instillation

○ Takamasa Numano, Taiki Sugiyama, Mai Morioka, Kazunari Uda, Yuko Doi, Mayumi Kawabe, Yukinori Mera, Seiko Tamano

DIMS Institute of Medical Science, Inc.

[Background and Purpose] The intratracheal instillation method can be used for assessing lung toxicity of test materials, nanomaterials and drugs, exposed via respiratory tract. The method is simple and inexpensive, and suitable for searching dose-related relationship and bio-reaction mechanisms due to exact lung burden estimation. A little is known about effects of vehicle for test materials or the instillation method itself. We compared the method-derived alterations with the lesions induced by the vehicle or test material.

[Materials and Methods] Male Cr1: CD (SD) rats, 8-week old, were given a single Ii of various vehicles and necropsied 3 days after. The results of BALF: bronchoalveolar lavage fluid test and histopathological examination were compared. Bleomycin as a drug, SWCNT: single-walled carbon nanotubes as a nanomaterial, were used, and given by a single, and their effects were examined.

[Results and Conclusion] BALF values, lung lesions and their degree were dependent on the vehicle type. Therefore, when assessing test material toxicity by the instillation method, a non-treat group should be set to clarify the vehicle effects to discriminate from those of test the material on examinations of BALF and histopathology. We here report the lung histopathological alterations caused by the drug and the method itself, including the acute lung histopathology in the SWCNT instillation. [This presentation contains results of “2017 chemical substance safety measures”].

W-8

Pathological Indicators for Reflux-Related Changes in Oral (Gavage) Studies

○ Klaus Weber

AnaPath GmbH, Switzerland, Eurofins/ BSL BIOSERVICE Scientific Laboratories Munich GmbH

When evaluating oral toxicity studies, gavage-related findings are not uncommon. Often, reflux-related lesions consist of inflammatory and degenerative processes in nasal cavities, larynx, trachea, larynx, and lungs. These lesions may be related to the vehicle, e.g., corn oil, liquid paraffin etc. Even well-known vehicles, e.g., carboxymethylcellulose, may cause unusual lesions in the lungs under specific physical/chemical conditions. Under some conditions, the resulting lesions may be misinterpreted as test item-related lesions, e.g., phospholipidosis. Early death may occur, and hence, such alteration affect the study outcome, especially if not recognized and well-interpreted. Also test items may cause such lesions, e.g., test items hardly to dissolve, test items with thixotropic behavior, or of high pH values. In some cases, the primary reflux-related lesions may cause secondary lesions that need to be excluded of primary systemic test-item related lesions, e.g., nasal cavity inflammation due to reflux may cause secondary effects in the brain (meningitis, encephalitis). Rarer are reflux-related findings in the esophagus or even in the pharynx. The latter lesions however, do not occur as isolated changes but are present in a combination with aforementioned organ affections. In the case of a participation of the forestomach and/or esophagus, other factors may play a role that need to be excluded, e.g., the selection of gavage probes.

The Toolbox for Molecular Pathology

Darlene Dixon, DVM, PhD, DACVP, FIATP

Molecular Pathogenesis Group, National Toxicology Program (NTP) Laboratory, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, North Carolina, USA

With rapid advances in molecular based assays and high-throughput screening (HTS) approaches in toxicologic assessments, the pathologist in the 21st century is faced with great opportunities and challenges. Modern toxicology is moving towards high-throughput screening (HTS), two- and three-dimensional (2-D and 3-D, respectively) *in vitro* models, and molecular technologies with the goal of Reduction, Refinement, and Replacement (3 R's) of animals in toxicity and carcinogenicity testing (MacArthur Clark, 2017). This movement towards lower animal species, *in vitro* model systems, and molecular high-throughput technologies challenges the pathologist to become partners of multidisciplinary teams and to have a basic understanding of molecular biology terminology and the application of tools used in modern toxicology.

Molecular pathology is defined as an emerging discipline that studies disease or toxicant/drug induced changes that involves the examination of molecules in cells, tissues, organs, or body fluids, and requires a multidisciplinary approach. It is described as a “crossover discipline” incorporating anatomic and clinical pathology with other disciplines including molecular biology, biochemistry, and cell biology. Therefore, with the ever advancing and merging fields of molecular biology and toxicology, it is important for the pathologist to have a working knowledge of the terminology and a basic understanding of the approaches used to detect molecular toxicology events.

There are several approaches available to evaluate changes in the genome, epigenome, and the transcriptome (Zhao et al., 2014). This presentation will give an overview of technologies used for gene expression assessments to next generation sequencing (NGS, RNAseq) platforms to Nanostring™ technologies and their applications. Additionally, gene silencing approaches (Bar et al., 2016) have become commonly employed in biomedical research and their importance will be discussed. Basic molecular biology terminology and molecular tools and technologies available to toxicologic pathologists for protein analysis in addition to the advantages and disadvantages of current *in vitro* 2-D versus 3-D model systems will be covered.

References

1. MacArthur Clark J (2017). The 3Rs in research: A contemporary approach to replacement, reduction and refinement. *Br J Nutr* 2017 October 30, 1–7.
2. Zhao S, Fung-Leung W-P, Bittner A, Ngo K, Liu X (2014). Comparison of RNA-Seq and Microarray in Transcriptome Profiling of Activated T Cells. *PLoS ONE* 9(1): e78644.
3. Bar C, Chatterjee S, Thum T (2016). Long Noncoding RNAs in Cardiovascular Pathology, Diagnosis, and Therapy *Circulation*. 134:1484–1499.



Oral Presentation

O-01 ~ O-09

O-01

Effects of nicotine on rat urinary bladder carcinogenesis

○ Shugo Suzuki, Hiroyuki Kato, Satoshi Fuji, Aya Naiki-Ito, Satoru Takahashi

Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ.

[Aim] Tobacco smoking is a major risk factor for human cancers including urinary bladder carcinoma. Nicotine is a major component of tobacco smoke, but it is not clear whether nicotine is carcinogenic on the urinary bladder. In the present study, we examined the carcinogenicity of nicotine with animal models.

[Materials and Methods] For determination of promotion effects of nicotine, 6-week-old male F344 rats were treated with BBN for 4 weeks, and administered nicotine in drinking water for 32 weeks. To investigate the mechanism of nicotine effects, 6-week-old rats were administered nicotine in drinking water for 4 weeks with/without inhibitors of nicotinic acetylcholine receptor (nAChR; hexamethonium chloride or MLA). Rats were sacrificed and urinary bladder and kidneys were removed. Histological and immunohistochemical analyses were performed.

[Results] The body weights in the 20 and 40 ppm nicotine treated rats were significantly reduced. Nicotine significantly increased the incidence and number of urothelial carcinomas dose-dependently. Ki67 and pStat3 labeling indices in non-tumor bladder urothelial lesions were significantly increased by nicotine. In a 4 week study, nAChR inhibitors decreased nicotine-induced urothelial simple hyperplasia and Ki67 labeling index in the bladder and renal pelvis, and pStat3 labeling index in renal pelvis.

[Conclusion] These data suggest that nicotine enhances urinary bladder carcinogenesis via nAChR and Stat3 signaling pathways.

O-02*

Study on toxicity and carcinogenic promoting effect to bladder of o-Acetoacetotoluidide

○ Nao Yukimatsu, Takahiro Okuno, Min Gi, Masaki Fujioka, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi

Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

Bladder carcinogenesis by aromatic amines has been known, but the underlying mechanisms are not fully understood. Recent years, employees who handled aromatic amines such as o-toluidine (OTD) at a chemical factory in Fukui developed bladder cancer and got workers' accident certification. OTD is classified as a Group 1 carcinogen by IARC. Acetoaceto-o-toluidide (AAOT) is a compound in which the amino group of OTD is acylated. However, there is no knowledge about toxicity or carcinogenicity of AAOT which is similar to OTD and risk assessment is urgently required. To evaluate the toxicity and carcinogenic promoting effect of AAOT on bladder of rat, we conducted a short-term toxicity study in rats administered AAOT for 4 weeks, and two-stage carcinogenicity study in which AAOT was administered for 31 weeks after administration of known bladder carcinogen, N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) for 4 weeks. In the short-term toxicity study, it was revealed AAOT causes cell proliferation and DNA damage in the urinary bladder epithelium of the rats administered AAOT in a dose dependent manner. In addition, it was suggested AAOT was metabolized to OTD and toxicity to bladder due to the detection of OTD at higher concentration than AAOT in urinary metabolites. In the two-stage carcinogenicity study, it was revealed AAOT causes increased bladder weight and incidence of bladder cancer. It was found that AAOT has toxicity and carcinogenic promoting effect on bladder of rat.

O-03

Histological and functional changes in the thyroid in rats neonatally exposed to X-rays

○ Nariaki Fujimoto¹⁾, Mutsumi Matsuu-Matsuyama²⁾, Masahiro Nakashima²⁾

¹⁾RIRBM, Hiroshima University, ²⁾ABDI, Nagasaki University

[BACKGROUND] Exposure to ionized radiation in childhood is recognized as a risk factor for thyroid cancer and possibly for other thyroid disorders. Despite its potential importance, there have been no investigations with animal models to explore the effects of neonatal radiation exposure on thyroid function.

[METHODS] Neonatal rats (one-week-old Wistar rats, male) were subjected to cervical X-irradiation at 6 and 12 Gy. For comparison, adult rats (8-week-old) were X-irradiated at the same doses. Thyroid histology was examined by computer-assisted microscopy. Gene expression in the thyroid was quantified by qRT-PCR.

[RESULTS] In neonatal rats received cervical X-irradiation, thyroid follicle size significantly decreased at the age of 8 weeks old as well as at 16 weeks old. No morphological changes were noted in the thyroid of rats exposed to X-rays at 8 weeks old. Thyroglobulin mRNA levels were significantly decreased in the neonatally-irradiated groups, while thyroid peroxidase mRNA expression was increased.

[CONCLUSIONS] Our results clearly demonstrated that neonatal rat thyroid was sensitive to ionized radiation, developing specific morphological changes characterized by smaller thyroid follicles along with changes in the gene expression related to thyroid function.

O-04*

Expression characteristics of genes hypermethylated and downregulated specifically to non-genotoxic hepatocarcinogens in analysis in other hepatocarcinogens

○ Yuko Ito^{1,2)}, Kota Nakajima^{1,2)}, Yasunori Masubuchi^{1,2)}, Satomi Kikuchi¹⁾, Fumiyo Saito³⁾, Yumi Akahori³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾

¹⁾LVP, TUAT, ²⁾UGSVS, Gifu Univ., ³⁾Chem. Eval. Res. Inst.

Background and Aim. We have previously reported that *Ldlrad4*, *Proc*, *Cdh17* and *Nfia* showed promoter region hypermethylation and transcript downregulation specifically to carbon tetrachloride, a non-genotoxic hepatocarcinogen, in comparison with *N*-diethylnitrosamine, a genotoxic hepatocarcinogen, in the liver of rats treated for 28 days. In this study, we examined responses of these 4 genes in the liver of rats treated with other genotoxic or non-genotoxic hepatocarcinogens.

Materials and Methods. Rats were repeatedly administered genotoxic hepatocarcinogens, aflatoxin B₁, *N*-nitrosopyrrolidine and carbadox, or non-genotoxic hepatocarcinogens, thioacetamide and methapyrilene hydrochloride, for 28 or 90 days. The livers were subjected to analyses for real-time RT-PCR and immunohistochemistry.

Results and Discussion. On both day 28 and 90, transcript downregulation was found in all of 4 genes by treatment with non-genotoxic hepatocarcinogens. In immunohistochemical analysis in the preneoplastic GST-P-positive foci, LDLRAD4 and PROC formed negative foci to increase in number by non-genotoxic hepatocarcinogens compared with genotoxic hepatocarcinogens. In contrast, CDH17 and NFIA did not show specific expression changes in response to non-genotoxic hepatocarcinogens. These results suggest that *Ldlrad4* and *Proc* may be the early in vivo markers for detection of non-genotoxic hepatocarcinogens.

O-05

Premetastatic niche formation in the lymph nodes of a metastatic mouse mammary cancer model

○ Masa-Aki Shibata, Yuko Ito, Yoshihisa Tanaka, Hitomi Hamaoka, Yoichi Kondo

Dept. of Anatomy and Cell Biology, Div. of Life Sci, Osaka Medical College

Accomplishment of cancer metastasis requires a suitable microenvironment in premetastatic phase (premetastatic niche). Premetastatic niche formation of the lymph nodes (LNs) was analyzed molecular pathologically in a mouse mammary cancer model.

Methods: BJMC3879Luc2 cells (metastatic mouse mammary cancer cell line) were subcutaneously inoculated into female BALB/c mice, and subsequently conducted bioluminescent imaging for detection of cancer metastasis. As a result, mice were killed at 4-week post-implantation (premetastatic group) as well as untreated control mice. LNs were histopathologically and immunohistochemically examined, and then real-time PCR analysis was conducted using FFPE LNs.

Results: Micrometastasis of the sentinel LNs was histopathologically detected in 2 mice from the premetastatic group. Immunohistochemistry for LYVE-1 in non-sentinel LNs showed a tremendous increase in lymphangiogenesis in the premetastatic group as compared with the control group. In real-time PCR analysis, levels of *Lyve1*, *Prox1*, *Vegf-c* and *Vegf-a* were markedly elevated in the premetastatic group.

Conclusion: In premetastatic LNs, lymphangiogenic factors were already elevated and in fact LYVE-1-positive lymphangiogenesis was occurred in non-sentinel LNs. The results suggested that the LNs in premetastatic phase are possibly received modifications with a suitable micro-environment for adherent of cancer cells from primary cancer site via greater circulation.

O-06*

Chemotherapeutic effects of luteolin on castration-resistant prostate cancer through inhibition of androgen receptor splice variant

○ Aya Naiki-Ito^{1,2)}, Hiroyuki Kato¹⁾, Shugo Suzuki¹⁾, Satoru Takahashi¹⁾

¹⁾Dept. Exp. Path. Tumor Biol., Nagoya City Univ., ²⁾Path. Div., Nagoya City East Med. Ctr.

[Background] We recently reported that luteolin with antioxidant properties has chemopreventive potentials against prostate carcinogenesis. The present study focused on the effect of luteolin on castration-resistant prostate cancer (CRPC). We also focused on androgen receptor splice variant 7 (AR-V7), which contributes to cell proliferation and therapeutic resistance of CRPC.

[Methods] Effect of luteolin on cell proliferation, apoptosis, AR-V7 expression and chemotherapeutic effect of enzalutamide in CRPC cells (rat: PCa1, human: 22Rv1) and on tumor growth of subcutaneously-implanted PCa1 or 22Rv1 in castrated-nude mice were analyzed.

[Results] Luteolin suppressed cell proliferation in a dose-dependent manner and induced apoptosis with activation of caspase-3 and 7 in both PCa1 and 22Rv1. Dietary luteolin also suppressed tumor growth via increase of TUNEL-positive apoptotic cells and decrease of vessel density in PCa1 and 22Rv1 xenograft model. Luteolin dramatically suppressed AR-V7 protein expression in 22Rv1 in vitro and ex vivo. Furthermore, luteolin enhanced the chemotherapeutic effect of enzalutamide in 22Rv1 cells and xenografts due to suppression of AR-V7 expression.

[Conclusion] Luteolin is a potential chemotherapeutic agent for CRPC via inhibition of AR-V7 and induction of apoptosis.

O-07

Effect of Dibutyltin on Placental and Fetal Toxicity in Rat

○ Satoshi Furukawa¹, Naho Tsuji¹, Yoshiyuki Kobayashi², Seigo Hayashi¹, Masayoshi Abe¹, Yusuke Kuroda¹, Chisato Hayakawa¹, Kazuya Takeuchi¹, Akihiko Sugiyama³

¹Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Corporation, ²Chemical Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, ³Veterinary Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Okayama University of Science

In order to elucidate the role of chorioallantoic and yolk sac placenta in the embryonic/fetal toxicity in dibutyltin dichloride (DBTCl)-exposed rats, we examined the histopathological changes and the tissue distribution of dibutyltin in the placentas and embryos. DBTCl was orally administered to the groups at doses of 0 mg/kg during gestation days (GD)s 7-9 and 20 mg/kg during GDs 7-9 (GD7-9 TG), and GDs 10-12 (GD10-12 TG). The fetal mortality was increased and malformations characterized by craniofacial dysmorphism were detected in the GD7-9 TG. The embryonic/fetal weight and placental weight showed a decrease in both DBTCl-treated groups. Histologically, some embryos on GD 9.5 in the GD7-9 TG underwent apoptosis without any changes of yolk sac. In the LA-ICP-MS, tin was detected in the embryo, allantois, yolk sac, ectoplacental cone and decidual mass surrounding the conceptus on GD 9.5 in the GD7-9 TG. Thus, it is considered that the embryo in this period is specifically sensitive to DBTCl-induced apoptosis, compared with other parts. The chorioallantoic placentas in both DBTCl-treated groups showed the developmental delay and hypoplasia in the fetal parts of placenta. Thus, it was speculated that the DBTCl-induced malformations and fetal resorption resulted from the apoptosis in the embryo caused by the direct effect of DBTCl. The DBTCl-induced placental lesions were a non-specific transient placental developmental retardation, leading to intrauterine growth retardation.

O-08

Effects of antioxidants on acute toxicity of silver nanoparticles intraperitoneally administered in BALB/c mice

○ Young-Man Cho, Yasuko Mizuta, Jyun-ichi Akagi, Takeshi Toyoda, Tetsuya Ide, Kumiko Ogawa

Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

[Background] Silver nanoparticles (AgNPs) are, largely due to their antimicrobial properties, one of the most commonly used nanomaterials in consumer products and even in food products and biomedical purposes. Recently, we reported that intraperitoneally administered AgNPs in 10 nm diameter showed acute toxicity in BALB/c mice but the same amount of AgNPs in 60 and 100 nm diameter did not.

[Aim] This study aimed to evaluate the effects of antioxidants on acute toxicity of intraperitoneally administered AgNPs in BALB/c mice.

[Materials and Methods] One hour after the administration of N-acetyl-L-cysteine (NAC, 2000 mg/kg bw, i.g.), Vitamin C (200 mg/kg bw, i.g.), Vitamin E (100 mg/kg bw, i.g.) or L-buthionine- (S,R)-sulfoximine (1.6 g/kg bw, i.p.), 10 nm AgNPs (0.2 mg/mouse) was intraperitoneally administered to 7-week-old female BALB/c mice (5 mice/group) and then sacrificed 6 and 24 hours after treatment.

[Results] In biochemistry, glucose was increased in all AgNPs treated groups, except for NAC + AgNPs group. In histopathology, the lesions observed in AgNPs only group, congestion, vacuolation in the liver, increased cellular component in the liver sinusoid and apoptosis in white pulp of the spleen were found at 6 hours, while these lesions were eliminated by NAC pre-treatment but not by others. These lesions were remained until 24 hours.

[Conclusion] Acute toxicity of intraperitoneally administered 10 nm AgNPs was reduced by only NAC of pre-treated antioxidant.

O-09

Application of toxicogenomics in next generation preclinical and lot release testing for influenza vaccine and adjuvant

○ Takuo Mizukami¹⁾, Yuki Hiradate¹⁾, Eita Sasaki¹⁾, Haruka Momose¹⁾, Keiko Furuhashi¹⁾, Hideki Kusunoki¹⁾, Hideki Asanuma²⁾, Isao Hamaguchi¹⁾

¹⁾Department of Safety Research on Blood and Biologicals, National Institute of Infectious Diseases, ²⁾Influenza Virus Research Center, National Institute of Infectious Diseases

Influenza vaccine is considered a key prophylactic strategy used to combat influenza. In Japan, whole particle inactivated influenza vaccine (WPv) was first developed and used to immunize school children as part of a universal vaccination program. Due to the high incidence of fever following vaccination, Hemagglutinin (HA) split vaccine (HA_v) was introduced in 1972 and this vaccine successfully reduced the rate of adverse events. In order to understand molecular signatures following influenza vaccination, we performed global gene expression analysis after WPV and HA_v vaccination. On day 1 after vaccination the lung tissue showed a unique gene expression signature, where we identified 18 biomarker genes (BMs) that distinguish WPv from HA_v. Using these BMs, we were able to statistically evaluate lot-to-lot differences in influenza vaccines. Next, we evaluated the virosome influenza vaccine and the CpG-K3 adjuvanted HA_v, and found that both adjuvanted HA_v (aHA_v) induced BMs, thus enabling the quantification of immunogenicity and toxicity. Finally, we tested whether the unauthorized aHA_v induced our BMs in a manner which correlates to histopathological changes following vaccination. Our results indicated that some unauthorized aHA_v may induce much higher BM expression than that of WPv and also induce leukocyte toxicity and inflammation of lung tissue. These findings suggested that our BMs may predict the safety and toxicity of newly developed aHA_v.



Poster Presentation

P-01 ~ P-78

P-01

Examination neurotoxicity of mouse treated with administration of reserpine

○ Makoto Sato, Yui Terayama, Yukari Nishimura, Takuma Tsuchiya, Takayasu Moroki, Keisuke Kitaura, Satoshi Matsumoto, Tsuyoshi Yoshikawa

Nonclinical Research Center Tokushima Research Institute

In the 27nd Academic Assembly of the Society, we reported the testicular toxicity induced by hypothermia using reserpine-administered mice. We examined the central nervous system toxicity of mice this study.

Materials and methods: Male ICR mice received a single intraperitoneal injection of reserpine at a dose of 100 mg/kg and autopsied on day 2 and 6, followed by histopathological examination and electron microscopic examination of the brain. Body temperature (rectal temperature) was measured before administration on day 1, 2, 6 and 12 hours after administration, and 2 to 6 day after administration.

Result: Histopathological examination showed the necrosis of oligodendrocyte and vacuolation in the white matter such as the corpus callosum, anterior commissure on day 6 of administration. Electron microscopic examination of day 6 of administration confirmed that vacuolation of the cerebral white matter, cerebellar nuclei and pons/medulla oblongata were observed. No abnormalities were observed in the day 2 sacrifice cases. In measurement of body temperature over time (rectal temperature), body temperature decreased at 6 hours after administration at 100 mg/kg, body temperature decreased at 25°C or less at 12 hours after administration.

Conclusion: The necrosis of the brain oligodendrocytes, the white matter or the nucleus of the nerve nucleus found in this study are related to the sustained state of hypothermia like the testes.

P-02*

Effect of developmental exposure to sterigmatocystin on adult neurogenesis of the hippocampal dentate gyrus in rats

○ Kota Nakajima^{1,2}, Yuko Ito^{1,2}, Yasunori Masubuchi^{1,2}, Satomi Kikuchi¹, Toshinori Yoshida¹, Yoshiko Sugita-Konishi³, Makoto Shibutani¹

¹LVP, TUAT, ²UGSVS, Gifu Univ., ³LFSS, Azabu Univ.

Background and Objective. Sterigmatocystin (STC), a mycotoxin which frequently contaminates rice in Japan, is known as an intermediate of aflatoxin B₁. To investigate neurodevelopmental toxicity of STC, we performed a developmental exposure study using rats and examined the influence on hippocampal neurogenesis in offspring.

Methods. Twelve pregnant SD rats per group were fed STC (purity: 99%) at concentrations of 0, 1.7, 5.0 or 15.0 ppm in diet from gestational day 6 to postnatal day (PND) 21.

Results. Dams during PND 5-21 and male offspring during PND 16-40 revealed tendencies of dose-dependent body weight reduction. At PND 21 necropsy, dams revealed lower absolute liver weight at 15.0 ppm. In offspring, decreases in the number of DCX⁺ type-3 cells and PCNA⁺ cells in the granule cell lineages of the dentate gyrus (DG), and increases in the number of PVALB⁺ and CALB1⁺ GABAergic interneurons in the DG hilar region were observed at 15.0 ppm. Gene expression analysis at 15.0 ppm in the DG showed increased expression of *Bdnf* and *Chrna7*, decreased expression of *Ntrk2*, *Chrn2*, and *Drd2*.

Discussion. Similar to aflatoxin B₁, aberrations in neurogenesis due to suppressed proliferation of type-3 neural progenitor cells was also observed on weaning by developmental exposure to STC. STC additionally increased the number of GABAergic interneurons and changed transcript levels of genes related to neurogenesis-regulatory system, suggestive of reparative changes to aberrant neurogenesis.

P-03*

Exposure to alpha-glycosyl isoquercitrin from gestational stage to adult stage facilitates fear extinction learning in rats

○ Yasunori Masubuchi^{1,2}, Kota Nakajima^{1,2}, Yuko Ito^{1,2}, Satomi Kikuchi¹, Mihoko Koyanagi³, Shim-mo Hayashi³, Toshinori Yoshida¹, Makoto Shibutani¹

¹LVP, TUAT, ²UGSVS, Gifu Univ., ³San-Ei Gen F.F.I., Inc.

Introduction. We recently revealed that exposure to alpha-glycosyl isoquercitrin (AGIQ) from gestational stage to adult stage facilitates fear extinction learning in rats. The present study was performed to clarify the effective exposure period of AGIQ for this facilitation.

Materials and Methods. AGIQ was fed at 0.5% in a diet to SD rats from gestational day 6 (GD 6) to postnatal day (PND) 21 (DEV group), PND 21 to PND 76 (PW group) or from GD 6 to PND 76 (WP group). A contextual fear conditioning test was conducted from PND 64 and brains were removed 90 minutes after presentation of a conditional stimulus on PND 76.

Results. A facilitation of fear extinction was observed only in the WP group. No change in the number of FOS⁺, ARC⁺ or COX2⁺ cells in the granule cell layer was observed in any exposure group. High transcript levels of *Kif21b*, *Notch1*, *Fos* and *Vegfa* in the dentate gyrus was found in the DEV group and/or the WP group.

Discussion. KIF21B is a recently identified memory re-writing motor protein, and VEGFA and NOTCH1 are related to angiogenesis upregulated in relation with a facilitation of spatial learning. FOS is a synaptic plasticity-related molecule and obtained result suggested increased expression of FOS in FOS⁺ cells. Thus, upregulation of *Fos*, *Kif21b*, *Notch1* and *Vegfa* by AGIQ exposure suggests an involvement of multiple mechanisms on the facilitation of extinction learning. Continuous exposure from gestational stage may be necessary for this effect.

P-04*

A case of neuromelanosis in the brain of a cynomolgus monkey

○ Airo Yukawa, Akiko Moriyama, Ichiro Nagata, Kinji Kobayashi, Yutaka Chihaya

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Neurocutaneous melanosis characterized by widespread melanin pigmentation in both the skin and brain has been known in cynomolgus monkeys. We histopathologically investigated a case of spontaneous neuromelanosis in a female cynomolgus monkey.

The animal (purpose bred, Cambodia origin, 5 years old) showed no abnormalities in clinical signs or clinical pathology. At necropsy, black foci approximately 0.1–4.0 cm in diameter were diffused in the meninges of parietal and temporal lobes of the brain. HE, histochemical, and immunohistochemical specimens were prepared from the brain.

In histopathology of the brain, multifocal black pigment and aggregation of black-pigmented spindle or round cells were distributed throughout the leptomeningeal connective tissue, cerebral cortex, and perivascular spaces. A few neurons and glial cells had intracytoplasmic black pigment. The pigment was positive in Fontana-Masson staining and for melanoma antibodies. Though most pigmented cells were negative for NeuN, Iba1, GFAP, and Olig2 in immunohistochemistry, a few were positive for NeuN, Iba1, or GFAP. No other abnormal findings were observed in any organ/tissue.

The melanocytes or melanin pigments were observed not only beneath the leptomeninges and in the perivascular spaces, but also in the cerebral cortex, and in neurons, microglia, or astrocytes. These cells had no neoplastic characteristics. Based on the histopathological features, we diagnosed neuromelanosis.

P-05*

Histopathological analysis of an extraocular orbital tumor induced by single intravitreal injection of nickel subsulfide (Ni₃S₂) in a Fischer rat

○Yoshinori Yamagiwa^{1,2}, Miki Masatsugu¹, Haruna Tahara¹, Shingo Nemoto¹, Masaaki Kurata¹, Hiroshi Satoh²

¹Central Research Laboratories, Senju Pharmaceutical Co., Ltd., ²Veterinary Pharmacology and Toxicology Laboratory, Graduate School of Veterinary Sciences, Iwate University

[Introduction] Single intravitreal injection of nickel subsulfide (Ni₃S₂) is known to induce intraocular neoplasms in rats. As a part of investigations for evaluating carcinogenicity of intravitreal drugs, we intravitreally administered Ni₃S₂ once in the right eye in rats at a dose of 0.5 mg/eye. The aim of this report is to characterize an extraocular tumor found 8 months after the treatment in a male F344/DuCrj rat histopathologically.

[Methods] The animal was euthanized by exsanguination under sevoflurane anesthesia. The mass of right orbit and other macroscopic lesions were enucleated, and histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural examinations were performed.

[Results] Milky white orbital mass was projected with squeezing the right eyeball. Swelling of cranial trigeminal nerve and cervical and right submandibular lymph nodes were observed. The mass was composed by proliferation of spindle-shaped cells with fascicular growth pattern, and invaded in cranium and nasal cavity. The cells were positive for S-100 and negative for α -SMA, NSE, and Melan-A. Ultrastructurally, basement membrane-like structures were sparsely observed around the tumor cell membrane. Metastasis were found in the swollen lymph nodes.

[Conclusion] Based on these results, this lesion was diagnosed as orbital malignant schwannoma. This study indicates that single intravitreal injection of Ni₃S₂ has also a potential to induce extraocular neoplasm in Fischer rats.

P-06

A case of traumatic porencephaly with optic organ abnormality in beagle dog

○Osamu Hashiguchi, Shinichiro Ikezaki, Tsubasa Saito, Saori Igura, Tomomi Nakazawa, Kenichiro Kasahara, Yuko Yamaguchi

Pathology Department, BoZo Research Center Inc.

Porencephaly is a rare brain lesion characterized by cyst or cavitation, and brain injury such as infection, circulatory disorder, and traumatic injury has been considered to be the pathogenesis. In the present study, a case of the dog with brain lesion accompanied by visual disorder was subjected to the histopathological examination.

[Materials and Methods] The animal was an 18-month-old female beagle dog (TOYO Beagle, KITAYAMA LABES Co., Ltd.) which was orally treated with water for 12 months.

[Results] Macroscopically, excessive accumulation of cerebrospinal fluid was observed. In the cerebrum, the concavity focus (20 × 10 × 5 mm) was observed from right frontal lobe to parietal lobe with partial adhesion of parenchyma of the brain and dura mater. The right optic nerve was small. Microscopically, excavation from the subarachnoid cavity to right lateral cerebral ventricle (LCV) and cerebral parenchymal atrophy were observed in the brain. In the adhered region, fibrosis, brown pigment deposition, and increased microglia were observed. In the right eye, retinal atrophy mainly in ganglion cell layer was observed. Furthermore, the right optic nerve showed reduced diameter, decreased number of cells, and reduced dyeability with LFB.

[Conclusion] These results suggest that the brain lesion was severe porencephaly, and the pathogenesis was traumatic injury because the parenchymal lesions were observed. The relationship between the brain lesion and ocular lesion was not clear.

P-07*

Inhibitory Effects of Chitosan Oligosacchride Supplementation on Retinal Degeneration Models

○ Chihiro Koyama¹⁾, Akiko Takenouchi¹⁾, Akane Kanase¹⁾, Yuri Yukimitsu¹⁾, Yuko Emoto²⁾, Takako Noguchi³⁾, Seiji Kurozumi³⁾, Kimihiko Sato³⁾, Yoshiharu Okamoto⁴⁾, Katsuhiko Yoshizawa¹⁾

¹⁾Department of Food Sciences and Nutrition, Mukogawa Women's University, ²⁾Kansai Medical University, ³⁾Koyo Chemical Co., Ltd.,

⁴⁾Veterinary Medicine, Tottori University

[Background] Retinitis pigmentosa (RP) is an ophthalmic disease that eventually leads to blindness. The development of new strategy for the therapy is necessary. The effects of chitosan oligosaccharide (COS) on N-methyl-N-nitrosourea (MNU) induced retinal degeneration in rats and hereditary retinal degeneration in C3H mice were examined.

[Methods] 1. Female SD rats at 7 weeks of age were given a single i.p. injection of 40 mg/kg MNU. 4% COS was orally administered once daily from 3 days before MNU until 7 days after (2 hrs before and 6 hrs after MNU injection). Eyes and serum were collected 7 days after MNU. Photoreceptor cell ratio, retinal damage ratio and serum oxidative stress (d-ROMs test) were measured. 2. 2% COS water was freely ingested by pregnant C3H mice from the weaning until 13 and 18 days of age. Photoreceptor cell ratio of infant mice were calculated.

[Results] 1. In the 4%COS combined group, central retinal photoreceptor cell ratio was higher than in the MNU treated group, and the retinal damage ratio was reduced. The d-ROMs values were reduced in 4%COS combined group compared to those of MNU treated group. 2. At 18 days of C3H mice, the width of retinal outer layer decreased significantly in the DW group, compared to that of the COS combined group.

[Conclusion] COS suppressed photoreceptor damages in these rodent models involved in oxidative stress. Reduction of oxidative stress by COS may be important. COS appears to be effective in suppressing of human RP.

P-08*

Histological Characterization of Spontaneous Lesions Occurring in the Pars Intermedia and Pars Posterior of the Rat Pituitary Gland

○ Yoshitaka Katoh, Tsuyoshi Ito, Aya Koyama, Naofumi Takahashi, Atsushi Shiga, Yoshimasa Okazaki, Takanori Harada

The Institute of Environmental Toxicology

[Background] In the rat pituitary gland, various spontaneous lesions including hyperplasia and neoplasia often occur in the pars distalis but are rare in the pars intermedia or posterior. Consequently, the incidence of spontaneous lesions in the pars intermedia or posterior is generally lower than those in the pars distalis in toxicological studies with rats. We have attempted histological characterization of spontaneous lesions that occurred in the pars intermedia or posterior of the rat pituitary gland.

[Materials and Methods] Pituitary lesions in the pars intermedia or posterior were selected from controls in 2-year carcinogenicity studies with F344 or Wistar Hannover rats and were subjected to histological characterization.

[Results] Major lesions observed in the pars intermedia were hyperplasia and adenoma and those in the pars posterior were craniopharyngeal duct remnant and craniopharyngioma. The pars intermedia hyperplasia was focal and consisted of faintly basophilic cells. The pars intermedia adenoma often showed an invasion into the pars posterior or distalis and the latter case was difficult to distinguish from anterior adenoma. The craniopharyngeal duct remnant had acinar, tubular, or fusiform structures and often showed mixture of these structures. Craniopharyngioma was observed in one control rat and was characterized by prominent squamous differentiation and cystic lamellar keratinizing debris. The results of immunohistochemical analysis will be also presented.

P-09

Effects of co-administration of benzo[a]pyrene and α -naphthoflavone in male C57BL/6J wild-type mice and Polk-knockout littermates

○ Jun-ichi Akagi¹), Young-Man Cho¹), Takeshi Toyoda¹), Masayuki Yokoi^{2,3}), Fumio Hanaoka^{2,4}), Haruo Ohmori²), Kumiko Ogawa¹)

¹)Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²)Dept. Life Sci., Facul. Sci., Gakushuin Univ., ³)Biosignal Res. Ctr., Kobe Univ., ⁴)Life Sci. Ctr. Surviv. Dynamics, Tsukuba Adv. Res. Alliance, Tsukuba Univ.

[Background] Metabolic activation of benzo[a]pyrene (BaP) is mainly catalyzed by cytochrome P450 (CYP) 1A1 and BaP itself induces CYP1A1 expression via activation of aryl hydrocarbon receptor (AhR). To examine whether combined exposure CYP1A1 inhibitor affects to carcinogenic potential of BaP, we performed co-administration of α -naphthoflavone (ANF), a CYP1A1 inhibitor, with BaP in mice. In addition, we also examined effects of deficiency in DNA polymerase κ (Polk), which possesses an activity of correctly bypassing guanine adduct of 7,8-dihydro-7,8-dihydroxybenzo[a]pyrene, a metabolically activated form of BaP.

[Aim] To investigate whether co-treatment of CYP1A1 inhibitor and the deficiency of Polk affects to BaP-induced tumor development.

[Materials and Methods] Male Polk knockout (*Polk*^{-/-}) mice and wild-type C57BL/6J (WT) littermates were fed BaP and ANF in basal diet for 40 weeks.

[Results] Administration of 0.01% BaP significantly increased simple hyperplasia in the forestomach in both *Polk*^{-/-} and WT mice; however, no significant increases of tumor lesions were observed. In contrast, co-administration of BaP + ANF caused significant increase of papillomas in the forestomach in WT but not *Polk*^{-/-} mice. Moreover, co-administration of BaP + ANF significantly increased multiplicity of squamous cell carcinomas in both *Polk*^{-/-} and WT mice than BaP alone.

[Conclusion] Co-administration of ANF increased the carcinogenic potential of BaP in both *Polk*^{-/-} and WT mice.

P-10*

Comparison of morphology and gene expression profiles between orthotopic and subcutaneous transplantation of a gastric cancer mouse model

○ Saori Matsuo¹), Kiyotaka Nakano²), Takashi Nishizawa²), Daisuke Komura³), Etsuko Fujii^{1,2}), Atsuhiko Kato¹), Shin-ichi Funahashi²), Shumpei Ishikawa³), Masami Suzuki^{1,2})

¹)Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., ²)Forerunner Pharma Research Co., Ltd., ³)Tokyo Medical and Dental University

[Objective] With xenograft tumor models, the tumor microenvironment is thought to largely differ depending on the site of engraftment, but the detailed features have not been well studied. Here we have orthotopically and subcutaneously transplanted a cell line of human esophageal-gastric junction cancer (OE19), and analyzed the characteristics by pathological and gene expression analysis.

[Materials and Methods] OE 19 cell were trasplanted into the subcutis (SC) or the serosa of the gastric wall (ORT) in scid mice and sampled at 3 weeks or 3 and 6 weeks after transplantation, respectively. Tissue sections were stained with H & E and Masson's trichrome stain and read under light microscope. Additionally, mRNA was obtained from the samples, and human and mouse species-specific RNA sequencing was carried out.

[Results] Histopathologically, the SC tumors were well circumscribed, had scant stroma, and large ductal structures were formed. ORT tumors were poorly circumscribed, with small ductal structures invading into abundant stroma, and also with multiple areas of vascular invasion. The gene expression analysis revealed that several tumor-stromal interactions that are known to affect the tumor microenvironment and migration were selectively enhanced in ORT tumors.

[Conclusions] By combining pathological and gene expression analysis, we found that with OE19 ORT tumors were more invasive and there was enhanced stromal interaction compared to SC tumors.

P-11

Anticancer property and mechanisms of a action of newly synthesized drugs

○ Saeko Ando¹⁾, Katsumi Fukamachi¹⁾, Harutoshi Matsumoto¹⁾, Naoki Yoshimi²⁾, Masumi Suzui¹⁾

¹⁾Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Science and Medical School, Nagoya City University,

²⁾Department of Pathology and Oncology, Faculty of Medicine, University of the Ryukyus

After discovering *in vitro* antiproliferative activity of a natural medium chain fatty acid, we eventually obtained a novel lead compound, palmitoyl piperidinopiperidine, named PPI (patented in 2014). PPI inhibited transcriptional activity of STAT3 in several human colon carcinoma cell lines. We found that this drug selectively kills carcinoma cells at an effective dose level *in vitro*, and that this effect is attributed to nucleophilicity of the nitrogen atom in PPI's structure by performing QSAR analysis. We then developed two drugs named DPHE and DPH (patent pending) by improving nucleophilicity of PPI. The IC₅₀ values were DPHE<DPH<PPI<5FU<S3I-201 (a specific STAT3 inhibitor). DPHE/DPH induce apoptosis in HCT116 cells. *In silico* docking simulation exhibits that PPI can bind to SH2 domain of STAT3. DPHE/DPH inhibit transcriptional activity of STAT3 in human SW837 cells. These two drugs also affect protein expression levels of pSTAT3, Bcl-2, and p53. The finding suggests that DPHE/DPH is able to exert anticancer effects via a transcriptional inhibition of STAT3.

P-12

Hyperglycemia deteriorates malignancy of colon cancer associated with colitis induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate in alloxan-induced type-1 diabetic mice

○ Kiyokazu Ozaki, Yuko Izumo, Nanayu Oshima, Yui Terayama, Tetsuro Matsuura

Lab of Pathology, Setsunan University

Cancer risk from diabetes has been reported to increase clinically and experimentally, and its risk is considered to be due to hyperinsulinemia, hyperglycemia and chronic inflammation. In this study, we investigated the effect of hyperglycemia on the colon carcinogenesis. All female ICR mice were given azoxymethane (AOM) followed by dextran sodium sulfate (DSS) treatment. Then, they were allocated into 2 groups: control group (C) and diabetic alloxan-treated group (D). Mice were killed at 20 weeks (C20 and D20 groups), and at 25 weeks (C25 and D25 groups). At 20 weeks, almost all tumors were detected in the mucosa of the rectum. The incidence and multiplicity of adenocarcinoma in D20 group (93.8% and 2.3) were similar to those in C20 group (86.7% and 2.2), and there was no significant difference in tumor size between 2 groups. At 25 weeks, the multiplicity and tumor size of rectal adenocarcinoma in D25 group (3.2 and 3.00 mm) did not significantly increase but tended to rise compared to those in C25 group (2.4 and 2.37 mm). In addition, invasive adenocarcinoma of D25 group (47.1%) remarkably and significantly increased compared to that of C25 group (6.7%). Therefore, the present study suggests that longer duration of hyperglycemia deteriorate malignancy of colon cancer induced by AOM and DSS in alloxan-induced type-1 diabetic mice.

P-13

Ameliorating effect of Luo hanguo extract on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice

○ Shuji Ogawa¹⁾, Katsuhiko Miyajima^{1,2)}, Karen Nagura²⁾, Minami Nozawa²⁾, Sae Harada²⁾, Risako Yamaguchi²⁾, Mihoko Koyanagi³⁾, Shim-mo Hayashi³⁾, Atsushi Watanabe^{1,4)}, Noriko Kemuriyama²⁾, Dai Nakae^{1,2)}

¹⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. TUA., ²⁾Tokyo Univ. Agricul., ³⁾San-Ei Gen F.F.I., Inc., ⁴⁾Asahi Kasei Medical Co., Ltd.

[Background] Luo hanguo is a fruit of a cucurbitaceous vine endemic to China, and its extract is used as a sweetener and known to have anti-oxidative effects. In this study, in order to find out the preventing or ameliorating effects of food ingredients on colitis, the effect of Luo hanguo extract (LHG) was examined in dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis model in mice.

[Materials and Methods] Male C57BL/6JJcl mice (8 weeks old) were divided into 5 groups (6 animals/group), and groups of control, 1.25% DSS, 1.25% DSS + 0.15% LHG, 1.25% DSS + 0.5% LHG and 1.25% DSS + 1.5% LHG were set. The experimental period was 5 weeks. DSS was administered by admixing into the drinking water, via cyclical administration (cycles of 7 days of DSS followed by 7 days of water). The LHG was administered continuously by admixing into the basal diet throughout the experimental period. At the end of the experiment, the animals were sacrificed and necropsied. The main organs, including the large intestine, were removed and weighed, and the length of the large intestine was measured. Additionally, analysis of inflammation-related genes and histopathological examination were conducted.

[Results] DSS caused the shortening of the length, extensive and marked inflammation and upregulation of TNF-alpha in the colon. Concomitant administration of LHG ameliorated or at least showed a tendency to ameliorate these changes.

[Conclusion] The above results indicate that LHG inhibits DSS-induced colitis.

P-14

Gastrointestinal polyps in dogs with germline mutations of APC gene: a canine counterpart of human familial adenomatous polyposis

○ Akihiro Hirata¹⁾, Kyoko Yoshizaki²⁾, Naohito Nishii³⁾, Mifumi Kawabe⁴⁾, Takashi Mori⁴⁾, Tokuma Yanai²⁾, Hiroki Sakai²⁾

¹⁾Division of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu University, ²⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Faculty of Applied Biological Science, Gifu University, ³⁾Laboratory of Veterinary Internal Medicine, Faculty of Applied Biological Science, Gifu University, ⁴⁾Laboratory of Veterinary Clinical Oncology, Faculty of Applied Biological Science, Gifu University

[Introduction] Jack Russell Terriers (JRTs) with gastrointestinal polyps (GIPs) are recently increasing in Japan and there is a possibility that it is a novel hereditary disorder in dogs. In this study, we investigated pathological features of the GIPs in JRTs and association with germline mutations of *APC* gene, which was causative gene of familial adenomatous polyposis (FAP).

[Materials and Methods] Twenty JRTs with GIPs were examined. GIPs were analyzed pathologically. For mutation analysis of the *APC* gene, genomic DNA extracted from whole bloods or paraffin sections of JRTs with GIPs, or those of JRTs without GIPs as normal controls (n=6) were analyzed by PCR-direct sequencing method, and the sequence of their *APC* gene were compared.

[Results] Polyps were found in either or both of the stomach and colorectum in JRTs and most of the polyps were located in the gastric antrum and rectum. Notably, the polyps developed multifocally in 12 of 18 dogs including 5 dogs that had the lesions in both the stomach and colorectum. All gastric lesions were histopathologically diagnosed as adenocarcinomas or adenomas, except for a few epithelial hyperplasias. All colorectal lesions, except for one adenoma, were adenocarcinomas. The DNA sequencing analysis revealed that all JRTs with GIPs harbored the same germline mutation in the 5' part of the *APC* gene.

[Conclusions] This disease in JRTs would be a canine counterpart of human FAP and would provide valuable information as a novel FAP model.

P-15*

Histopathologic study of histiocytic ulcerative colitis in dogs

○ Mizuho Uneyama¹), James Chambers¹), Ko Nakashima²), Kazuyuki Uchida¹), Hiroyuki Nakayama¹)

¹)Department of Veterinary Pathology, the University of Tokyo, ²)Japan Small Animal Medical Center

[Background and Aim] Histiocytic ulcerative colitis (HUC) is a specific form of inflammatory bowel disease in young Boxer dogs and displays similar pathologic features to that of Whipple's disease in human. The genetic background and *Escherichia coli* infection are involved in pathogenesis of HUC. Recently, cases of HUC in non-Boxer breeds such as French Bulldog has been reported; however, the pathologic description of them is limited. In this study, we investigated the association of *E. coli* infection and pathologic features including autophagic status in non-Boxer HUC.

[Materials and Methods] Colon tissues from 4 HUC dogs (3 French Bulldogs and 1 Basset Hound) were stained with HE, Gram, Warthin-Starry, PAS and examined immunohistochemically for CD204, *E. coli* LPS, Iba1, LC3, p62 and Ubiquitin expression.

[Results and Discussion] Infiltration of macrophages with granular and PAS positive cytoplasm in the lamina propria was observed in all cases. Gram negative, small rod-shaped bacteria were detected in macrophage cytoplasm. Macrophages were strongly positive for CD204 and weakly positive for Iba1, and many *E. coli* LPS positive particles were found in the cytoplasm. All cases displayed p62 accumulation in macrophage, but only weak expression of LC3 was detected in one case. These results indicate that HUC in non-Boxer breeds and HUC in boxer share same pathologic features. Our results also suggest that dysregulation of selective autophagy may be associated with HUC pathogenesis.

P-16*

Hemorrhagic changes in canine liver and gallbladder induced by liposomal formulations

○ Keiko Makita-Suzuki¹), Chihaya Kakinuma²), Yoshinori Sakata¹), Tatsuya Yamakawa¹), Akira Inomata¹), Takefumi Hara¹)

¹)Pharmaceutical & Healthcare Research Laboratories, FUJIFILM Corporation, ²)Bioscience & Technology Development Center, FUJIFILM Corporation

[Background] Liposomal drugs have been recently approved that attenuate adverse effects and/or improved the efficacy of contained agents, such as Doxil (liposomal doxorubicin (DOX)). In the present study, we examined pathological changes in canine liver and gallbladder following injection of Doxil or empty liposome (DOX-free liposome).

[Method] A single dose of Doxil or empty liposome was administered intravenously to eight-month-old male beagles (N=4/group) and gross necropsy was conducted at 24 h post-injection. The liver and gallbladder were then examined histopathologically.

[Result and Discussion] Reddish foci were observed in the liver (sub-adventitia of gallbladder) and gall bladder (serosa from body to bottom) at necropsy in 2 of 4 animals per treatment group. In histopathology, there were perivascular hemorrhage around central/sublobular vein, or Glisson's sheath, dilated lymphatic vessels around central vein in the liver, and hemorrhage in adventitia of the gallbladder. Decreased cytoplasmic granules in mast cell, beneath endothelium of hepatic vein, a location unique to canines were also noted. No differences were observed in the incidence and severity of hemorrhagic changes between the two groups. These were considered as acute changes, because they occurred within 24 h post-injection accompanying little cellular infiltration. Based on these findings, we speculate active substances released from mast cells contributed to the pathogenesis of hemorrhagic changes.

P-17*

Participation of heterogeneous macrophages related to M1/M2 types in D-galactosamine-induced acute rat liver injury

○ Nahid Rahman, Munmun Pervin, Mizuki Kuramochi, Mohammad Karim, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

[Background and aim] Macrophages in pathological lesions are heterogeneous. Generally, M1/M2-macrophages play roles as injury and remodeling, respectively. Hepatic lesions induced by a single injection of D-galactosamine (D-GalN; 800 mg/kg, ip) were investigated based on M1/M2 polarization.

[Materials and Methods] Blood and liver samples were collected on 8 hr and 1, 2, 3 and 5 days after injection.

[Results] Extensive lesions characterized by sporadic coagulative necrosis, inflammatory cells and reparative fibrosis were seen on days 1 and 2 with a significant increases of AST and ALT levels. On days 3 and 5, the lesions recovered to normal. M2-macrophages reacting to CD163 increased on days 1 and 2, and then, M1-macrophages positive for CD68 increased on day 2, with simultaneous increments of M1-related cytokines (TNF- α , IL-6, INF- γ) and M2-related cytokines (TGF- β 1, IL-10, MCP-1, IL-4). MHC class II- and CD-204-positive macrophages showed increase in number on days 1 and 2; the former tended to M1 polarization and the latter to M2 polarization.

[Conclusion] Because Kupffer cells showed a positive reaction for CD163, D-GalN-induced lesions may be characterized by a quick appearance of CD163-positive Kupffer cell-derived M2 macrophages; thereafter, M1-/M2-macrophages with heterogeneous immunophenotypes participated in extensive hepatic lesions consisting of both injury and reparative fibrosis.

P-18*

The role of damage-associated molecular patterns (DAMPs) for neutrophil and macrophage migration in thioacetamide (TAA)-induced rat liver injury

○ Mizuki Kuramochi, Takeshi Izawa, Rahman Nahid, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

[Background/Purpose] Damage-associated molecular patterns (DAMPs), which are released from injured cells, play important roles in the pathogenesis of chemical-induced liver injury. We have already reported that DAMPs, particularly high mobility group box 1 (HMGB1) may associate with TAA-induced rat acute liver injury. Here, we analyzed the roles of HMGB1 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). Samples were collected on 6 hours to 72 hours. Additionally, as a neutralizing model, anti-HMGB1 neutralizing antibody was injected.

[Results] On 6 hours, hepatocytes showed eosinophilic change, and then, on 18 hours necrotic hepatocytes appeared accompanied by mononuclear cell and neutrophil infiltration around the central veins. The levels of AST and ALT peaked on 24 hours. IHC for HMGB1 showed positive in nuclear on control samples. On 6 hours, injured hepatocytes showed positive reaction in their cytoplasm; it was seen on 12 and 18 hours. The expression of CXCL1, neutrophil chemotactic factor, and the number of neutrophils were increased on 6 hours; on 18 hours showed the peak. The expression and the number were suppressed by HMGB1 neutralizing.

[Conclusion] In TAA-induced hepatocyte injury, HMGB1 moves from nuclear to cytoplasm on injured hepatocytes, and induces the expression of CXCL1, thereby promoting migration of neutrophil; thereafter, macrophage infiltration occurs, leading to hepatic injury.

P-19

Metabolome analysis in the liver tumors and tissues of NASH model TSOD mice

○Anna Kakehashi, Naomi Ishii, Takahiro Okuno, Yoshiyuki Tago, Masaki Fujioka, Min Gi, Hideki Wanibuchi

Dept. Mol. Pathol., Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.

The TSOD mice exhibits both obesity and diabetes associated with marked pancreatic islets hypertrophy and hyperinsulinemia, thus resembling a common form of obese type 2 diabetes in humans. To uncover mechanisms of nonalcoholic steatohepatitis (NASH)-associated hepatocarcinogenesis, we performed the histopathological, immunohistochemical and metabolome analysis of 20-week-old TSOD mice liver tissues and tumors using the CE-TOFMS and CE-QqQMS. In the livers of TSOD mice, development of liver tumors and increase in depositions of lipids, fibrosis and inflammatory cell infiltration were observed resembling the histopathological changes of human NASH liver tissue. In TSOD mice liver preneoplastic foci and tumors, increases of cellular proliferation and apoptosis were obvious. Furthermore, in TSOD mice preneoplastic foci increase of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine was found in the nuclei. Metabolome analysis demonstrated significant activation of glycolysis and elevation of GSH/GSSG reflecting the resistance of tumors to oxidative stress. Furthermore, significant increase of arginine and decrease of glycine and methionine levels were found. The changes in arginine level were likely be related to the decrease of arginase expression in tumors. The metabolome alterations could be induced to the activation of mTOR pathway in the liver tumors of TSOD mice.

P-20

Effects of *Siraitia Grosvenorii* Extract on NASH-like lesions in F344 rats fed a choline-deficient, methionine-lowered, L-amino acid-defined diet

○Kinuko Uno¹⁾, Katsuhiro Miyajima^{1,2)}, Kanae Suzuki²⁾, Kohei Kikuchi²⁾, Ami Nakai²⁾, Tsukasa Nagayoshi²⁾, Soon Hui Teoh¹⁾, Noriko Kemuriyama²⁾, Mihoko Koyanagi³⁾, Shim-mo Hayashi³⁾, Shuji Ogawa¹⁾, Atsushi Watanabe¹⁾, Dai Nakae^{1,2)}

¹⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch., Tokyo Univ. Agricul., ²⁾Tokyo Univ. Agricul., ³⁾San-Ei Gen F.F.I., Inc.

[Aim] The *siraitia grosvenorii* (SG) is a fruit of a cucurbitaceous vine endemic to China, and its extract is used as a sweetener and known to exert various effects including anti-inflammatory and anti-carcinogenic, through the antioxidant property. The present study was conducted to clarify its preventing or ameliorating effects on nonalcoholic steatohepatitis (NASH)-like lesions induced in Fischer 344 (F344) rats fed a choline-deficient, methionine-lowered, L-amino acid-defined (CDAA) diet.

[Materials and Methods] Male F344 rats (6 weeks old) were fed the CDAA or a control diet, and water solution of the SG extract (0.6%(w/v)) or distilled water for 2 weeks. At necropsy, the liver was removed, weighed and stored as frozen tissue or fixed in 4% paraformaldehyde, to be used in histopathological examination and gene expression analyses.

[Results] The SG extract inhibited the overexpression of liver inflammatory genes and fibrosis, induced in the liver by the CDAA diet.

[Conclusion]It is suggested that the SG extract attenuates NASH-like lesions induced in F344 rats fed the CDAA diet.

P-21

Chronological Changes of Serum Parameters in the Course of the Nonalcoholic Steatohepatitis-like Lesion in female SDT fatty Rats

○ Kanjiro Ryu¹⁾, Katsuhiko Miyajima^{1,2,3)}, Soon Hui Teoh²⁾, Masami Shinohara⁴⁾, Takeshi Ohta⁵⁾, Keiichi Ohata⁶⁾, Kinuko Uno²⁾, Noriko Kemuriyama³⁾, Shuji Ogawa¹⁾, Atsushi Watanabe^{1,7)}, Dai Nakae^{1,2,3)}

¹⁾Dept Nutr Sci Food Safety, Grad Sch, Tokyo Univ Agricul., ²⁾Dept Food Nutr Sci, Grad Sch, Tokyo Univ Agricul., ³⁾Dept Nutr Sci Food Safety, Facul Appl Sci, Tokyo Univ Agricul., ⁴⁾Tokyo Animal Diet Dept, CLEA Japan, Inc., ⁵⁾Biol/Pharmacol Res Lab Central Pharm Res Inst, Japan Tobacco Inc., ⁶⁾CMIC HOLDINGS Co., Ltd., ⁷⁾Asahi Kasei Medical Co., Ltd.

[BACKGROUND] The present study aimed to examine a potential usefulness of L-FABP, a urinary biomarker of renal disorders, as a serum biomarker of NASH, using female SDT fatty rats.

[METHODS] Twelve each of female SDT fatty and control SD rats, 6 weeks old, were fed a basal diet ad libitum for 10 weeks. Blood sampling was performed every 2 weeks, and necropsy was performed at the end of the experiment to obtain liver, kidney and blood samples for the analyses.

[RESULTS] In SDT fatty rats, serum GLU increased at 8 weeks of age and further thereafter. Serum T-CHO and TG were high throughout and became significant after 10 weeks of age. Serum INS and L-FABP increased until 10 weeks of age and then decreased. In the liver at 16 weeks of age, prominent hepatocellular fatty change and hypertrophy, and mild inflammation and fibrosis were observed, which was diagnosed as NASH-like lesion.

[DISCUSSION] The above results indicate that serum L-FABP increases in the early phase of NASH-like lesions in female SDT fatty rats, and may be useful as a serum biomarker of NASH.

P-22*

Effects of Lipid Metabolism-related Gene SREBP-1 on ER Stress and Chronic Inflammation

○ Linfeng Gao¹⁾, Noriko Kemuriyama²⁾, Natsumi Saito²⁾, Mieko Watanabe²⁾, Ayako Takei²⁾, Seiya Tazoe²⁾, Kanjiro Ryu¹⁾, Kinuko Uno³⁾, Soon Hui Teoh³⁾, Shuji Ogawa³⁾, Atsushi Watanabe^{3,4)}, Katsuhiko Miyajima^{1,2,3)}, Dai Nakae^{1,2,3)}

¹⁾Dept. Nutr. Food Safety, Grad. Sch. Agricul., Tokyo Univ. Agricul., ²⁾Dept. Nutr. Food Safety, Facul. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agricul., ³⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. Agricul., Tokyo Univ. Agricul., ⁴⁾Asahi Kasei Medical Co., Ltd.

[Aim] Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) are transcription factors that regulate lipid synthesis. Overexpression of SREBPs promote obesity and disorders of the lipid metabolism. The aim of this study was to investigate *in vitro* and *in vivo* a potential of SREBPs not only to regulate metabolism, but also to be involved in chronic inflammation occurring cases including NASH.

[Methods] *In vitro*, altered gene expression by the SREBP-1 knocking-down with siRNA was assessed in HepG2 cells, using real time-PCR to analyze known gene expression, and RNA-Seq. for the comprehensive exploration. *In vivo*, the expression of the genes detected by the RNA-Seq. in HepG2 cells, and their product proteins in the NASH-like liver induced in male C57BL6 mice fed a modified choline-deficient, L-amino acid-defined (mCDAA) diet.

[Results] In the SREBP-1-knocked-down HepG2 cells, the SREBP-1 expression was decreased. RNA-Seq. revealed the decrease of the IL-21R expression, which was confirmed by real time-PCR. In addition, the IL-21R expression was significant increased by the overexpression of SREBP-1a and SREBP-2 in HEK293 cells. Furthermore, the increased IL-21R expression was confirmed by both real time-PCR and immunohistochemistry in the NASH-like liver of mice fed the mCDAA diet.

[Conclusion] The present results indicate that SREBP-1 and SREBP-2 may participate in the chronic inflammation occurring in NASH through the regulation of the IL-21R expression.

P-23**Evaluation of hepatotoxicity in F344 rats after repeated 28-day administration of acetamide**

○ Yuji Ishii¹⁾, Remika Kikuchi^{1,2)}, Aki Kijima¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura^{1,2)}

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²⁾Faculty of Animal Health Technology, Yamazaki University of Animal Health Technology

[Introduction] Acetamide is known to be a hepatocarcinogen in rats. However, the underlying mechanisms remain unknown. In this study, we investigated hepatotoxicity in rat after repeated 28-day administration of acetamide and its possible contribution to the hepatocarcinogenesis prior to the scheduled comprehensive toxicity study using *gpt* delta rats.

[Method] Six-week old male F344 rats were fed a diet containing 1.25, 2.5 and 5.0% acetamide for 28 days.

[Results] Serum ALT level was increased from 1.25% group, AST and ALP levels being increased from 2.5% group. In the 2.5% group, mitosis and single cell necrosis of hepatocyte, oval cell hyperplasia and basophilic hepatocyttoplasmic inclusion body with positive Feulgen reaction were found. Immunohistochemical staining showed increases in cleaved caspase 3 and Ki67 positive cells. These histopathological changes were not observed in 1.25% group, and were slightly or not found except oval cell hyperplasia in 5.0% group.

[Discussion] Hepatocyte apoptosis and cytoplasmic inclusion body might result from abnormal cell division. Considering that the middle dose was close to the carcinogenic dose, cell proliferation observed in 2.5% group might contribute to acetamide-induced hepatocarcinogenicity. These results suggest that the NOAEL of hepatotoxicity in this study was 1.25%. Since a dose of 5.0% exceeded the maximum tolerated dose of acetamide, the highest dose in the comprehensive study will be set to be 2.5%.

P-24**Suppressive effects of Bear Bile Powder on early hepatocarcinogenesis in SD rats**

○ Meilan Jin, Mei Zhang, Qian Tang, Zili Wang, Jian Wang

Laboratory of Veterinary Pathology, College of Animal Science and Technology, Southwest University

Bear Bile Powder (BBP) is a natural medicine made with drying obtained from gall bladder of black bear, is known to have antimicrobial, antipyretic, analgesic, anti-inflammatory, antitumor effect. However, whether BBP have antitumor effect to early hepatocarcinogenesis in rats, is still unclear. To clarify the suppressive effects of the BBP on early hepatocarcinogenesis in SD rats, SD rats in the promotion periods were oral administered 200 or 400 mg/kg BBP for 2 or 9 weeks. The grouping is as follows: gr. 1: DEN alone; gr. 2: DEN+PBO; gr. 3: DEN+PBO+BBP-L (200 mg/kg); gr. 4: DEN+PBO+BBP-H (400 mg/kg). The final body weights and absolute liver weights in the gr. 3 and 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. In particular, there was also a statistically significant difference in the low dose group. 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, p27 related to cell proliferation, p53, p21, Bax, Bcl-2, caspase 3, caspase 8, caspase 9 related to apoptosis in the gr. 4 were significantly increased as compared to the gr. 2. These results may suggest that the BBP high dose to early hepatocarcinogenesis in rats has a suppressive effect and the induction of apoptosis and the inhibition of cell proliferation are involved in those mechanisms.

P-25

Chronic toxicity and carcinogenicity study of diphenylarsinic acid in F344 rat

○ Takashi Yamaguchi, Min Gi, Masaki Fujioka, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi

Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

[Background] Diphenylarsinic acid (DPAA), a chemical warfare-related neurotoxic organic arsenical, is present in the groundwater and soil in some regions of Japan due to illegal dumping after World War II. The purpose of these studies was to evaluate the potential toxicity and carcinogenicity of DPAA when administered to rats in their drinking water.

[Methods] DPAA was administered to male and female F344 rats at concentrations of 0, 5, 10, and 20 ppm in their drinking water for 52 (chronic toxicity study) and 104 (carcinogenicity study) weeks.

[Results] Chronic toxicity study: In females 20 ppm DPAA significantly increased ALP and gamma-GTP, and 10 and 20 ppm DPAA significantly increased TCHO compared to controls. Dilatation of the common bile duct outside the papilla of Vater and stenosis of the papilla of Vater was observed in all male and female rats administered 20 ppm DPAA. Moreover, the incidence of intrahepatic bile duct hyperplasia was significantly increased in male and female rats treated with 20 ppm DPAA. Carcinogenicity study: There were no significant increase of tumor incidence in any organ or tissue of the 5, 10, 20 ppm DPAA-treated male or female F344 rats.

[Conclusion] These results suggest that DPAA is toxic to the bile duct epithelium in F344 rats. The NOAEL of DPAA were estimated to be 10 ppm for males and 5 ppm for females under the conditions of this study. Carcinogenicity study demonstrated that DPAA is not a complete carcinogen in male or female F344 rats.

P-26*

The kinetics of GST-P positive foci after cessation of treatment with various carcinogens in the liver of rat

○ Shinji Takasu¹⁾, Kurumi Nakamura^{1,2)}, Yui Ishiguro^{1,2)}, Yuji Ishii¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura^{1,2)}

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²⁾Faculty of Animal Health Technology, Yamazaki University of Animal Health Technology

[Introduction] We previously reported that GST-P positive (GST-P⁺) foci induced by diethylnitrosamine, a genotoxic carcinogen, were increased after cessation of the treatment, but those by furan, unclassified carcinogen, were decreased. To investigate whether other genotoxic carcinogens or furan derivatives induce the same phenomena, we examined their kinetics using 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinolone (IQ) or estragole (ES) as a genotoxic carcinogen, or 2-methylfuran (2-MF) or 2-pentylfuran (2-PF) as furan derivatives.

[M&M] 6-week old male F344 rats were given IQ (100 ppm) in diet or 2-MF (30 mg/kg), 2-PF (100 mg/kg) or ES (150 mg/kg) by gavage for 13 weeks. Quantitative analysis for GST-P⁺ foci was performed just after the cessation of the treatment and 7 weeks later.

[Results] In the IQ group, the number and area of GST-P⁺ foci were not significantly changed after cessation. Those in the 2-MF, 2-PF and ES group were decreased. GST-P⁺ foci having mosaic appearance were scattered in the 2-MF and ES group.

[Discussion] Difference in the kinetics between the IQ and ES groups indicates that GST-P⁺ foci induced by genotoxic carcinogens might not have common features. The same phenomenon as in the case of furan was observed in 2-MF and 2-PF groups, indicating that GST-P⁺ foci induced by furan derivatives commonly possess regression of GST-P⁺ hepatocytes. Mosaic appearance might result from the fact that regressing GST-P⁺ hepatocytes exist in normal-appearing GST-P⁺ foci.

P-27

Immunohistochemical study on myoepithelial phenotype in canine hepatic tumors

○ Mitsuru Kuwamura¹⁾, Yuka Tsuji¹⁾, Mizuki Kuramochi¹⁾, Takeshi Izawa¹⁾, Hideo Akiyoshi²⁾, Jyoji Yamate¹⁾

¹⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University, ²⁾Laboratory of Veterinary Surgery, Osaka Prefecture University

Myoepithelial cells are found in the canine mammary and salivary tumors. However, normal bile duct has no myoepithelial cells. We encountered a unique hepatic tumor with myoepithelial phenotype. We examined myoepithelial phenotype of representative canine hepatic tumors.

[M&M] An 11-year-old female miniature dachshund dog was presented with a solid soft gray color mass on the hepatic lateral left lobe. We examined this tumor and representative canine hepatic tumors histopathologically and immunohistochemically.

[Results] Histologically, the mass consisted of neoplastic proliferation of cells with round nuclei and eosinophilic and vacuolated cytoplasm arranged in alveolar, trabecular and diffuse patterns. Immunohistochemically, the neoplastic cells were positive for pancytokeratins (CK AE1/AE3), CK5, CK14, vimentin, Sox9 and myoepithelial markers (α -smooth muscle actin, p63 and calponin). Based on the morphological and immunohistochemical findings, a diagnosis of carcinoma with myoepithelial phenotype was made. We found that myoepithelial differentiated tumor cells in cholangiocarcinoma showed similar immunohistochemical features, except for the CK19 positivity. Neoplastic cells with myoepithelial phenotype were not observed in hepatocellular carcinoma.

[Discussion] The present case is the first report of hepatic carcinoma with myoepithelial phenotype in veterinary medicine. Some neoplastic cells in cholangiocarcinoma may have potential to differentiate into the myoepithelial cells.

P-28*

Pathological examination of spontaneous vacuolation of pancreatic acinar cell in mice

○ Kyohei Yasuno¹⁾, Saori Igura²⁾, Shinobu Hakamata¹⁾, Keiko Okado³⁾, Yuko Yamaguchi²⁾, Kiyonori Kai¹⁾, Kazuhiko Mori¹⁾

¹⁾Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd., ²⁾Pathology Department, BoZo Research Center Inc.,

³⁾Translational Research Department, Daiichi Sankyo RD Novare Co., Ltd.

[Aim] Vacuolation of pancreatic acinar cell is spontaneously observed in mice, but these cases are rare and have not been well documented. Herein, we present a detailed pathological examination on this lesion.

[Animals] Gene X knockout (KO) mice with backgrounds of C57BL/6J mouse, ICR(CD-1) mice, B6C3F1 mice, and *rasH2* mice were used.

[Results] The number of animals with the fine vacuoles in pancreatic acinar cell was 2/15 in KO mice, 4/298 in ICR(CD-1) mice, 1/110 in B6C3F1 mice, and 3/297 in *rasH2* mice. The vacuoles were usually observed in a unit of the acinus and these lesions were spread through the pancreas geographically. In the acinar cell, the vacuoles were located between the ergastoplasm and zymogen granules at the basal and luminal aspects, respectively. These vacuoles contained weakly basophilic material which was positive for periodic acid Schiff reaction. Immunohistochemically, the vacuoles were positive for calreticulin antibody, a molecular chaperone which is a sensor of endoplasmic reticulum stress. Electron microscopy revealed globular dilatation of rough endoplasmic reticulum (rER) and showed beaded appearance. Accumulation of proteinous material showing mosaic electron density was observed in the enlarged rER.

[Conclusion] The vacuolation of the pancreatic acinar cell is considered to be accumulation of misfolding proteins and enlargement of rER. The typical lesions were observed in various strains and considered as a rare spontaneous lesion in mice.

P-29**Pancreatic parabiliary lobe cyst**

○Yuma Yamashita, Tomo Sasaki, Takaaki Doi

Toxicological Research Group, Drug Development Research Laboratories, Maruho Co., Ltd.

[Introduction] We report a case of a cyst observed at the parabiliary lobe of the pancreas in a young Sprague-Dawley (SD) rat.

[Case] The animal was a 10-week-old female SD rat in a test article group in a 4-week repeated dose toxicity study. A cyst containing clear fluid was observed during necropsy at the parabiliary lobe of the pancreas. There were no abnormalities in clinical signs, body weight, food consumption, hematology and blood chemistry.

[Result] The cyst wall was lined by flattened cuboidal epithelial and mucus-secreting cells. It was surrounded by abundant collagen fibers and a smooth muscle layer accompanied by mild to moderate inflammatory cell infiltration. There was destruction of the cystic wall in the area of moderate inflammation. In addition, there were pancreatic duct-like tubular structures and pancreatic acinar-like cells between the collagen fibers. Epithelial cells were positive for SOX9. There were no abnormalities in other organs.

[Conclusion] Considering the age of the animal and the lack of other findings, the cyst is presumed to be a spontaneous congenital abnormality. On the basis of the location of the cyst, morphology of epithelial cells and presence of surrounding smooth muscle layer, the origin of the cyst was most likely the common bile duct (hepatoenteric duct).

P-30***Chemopreventive effects of anti-allergic drug 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. Recent study showed a consistent inverse association between pancreatic carcinoma and allergic disease such as asthma or nasal allergies.

[Materials and Methods] In this study, to assess the chemopreventive effects of anti-allergic drug, we used syrian golden hamsters model at which were injected four times subcutaneous administration of N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine and were administrated test substrates with quick fat diets. Exp 1) Forty-eights hamsters divided into 4 groups, Montelukast (Mont) 0.2 mg/kg./day, Levocetirizine (Levo) 0.1 mg/kg/day, Bambterol (Bamb) 0.2 mg/kg/day each in drinking, and control. Exp 2) Sixty hamsters divided into 4 groups, Mont 0.1, 0.2, 0.4 mg/kg/day and control.

[Results] Exp 1) The body and organ weights were increased in Levo group compared to control. No differences were found in incidence and multiplicity of pancreatic cancer in Levo or Bamb. While Mont group had tended to decrease both incidence and multiplicity of pancreatic cancer compared to control group. Exp 2) The body and organ weights were not different among the groups. The multiplicity of pancreatic cancer were significantly suppressed by Mont 0.4 mg/kg/day treatment (0.4 ± 0.5 v.s. Control 1.1 ± 1.0 , $P < 0.05$).

[Conclusion] Montelukast have potential as a chemopreventive agent for pancreatic cancer. The analysis of mechanisms in vitro is undergoing.

P-31*

SGLT2 Expression in the Kidney of Male SDT Fatty Rats

○ Soon Hui Teoh¹⁾, Katsuhiko Miyajima^{1,2)}, Yuka Nakamura²⁾, Takeshi Ohta³⁾, Masami Shinohara⁴⁾, Kinuko Uno¹⁾, Noriko Kemuriyama²⁾, Dai Nakae^{1,2)}

¹⁾Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. Tokyo Univ. Agri., ²⁾Dept. Nutr. & Food Safety, Tokyo Univ. Agri., ³⁾Japan Tobacco Inc.,

⁴⁾CLEA Japan Inc.

[Background] SGLT2 inhibitors are clinically used to reduce hyperglycemia in human type 2 diabetes and renal complications. The SDT fatty rat was widely used in pharmacological studies of type 2 diabetes and complications, but the pathophysiological features with regard to aging and SGLT2 expression in their kidney have not yet been reported.

[Aim] This study pathologically analyzed the progression of diabetic changes and SGLT2 expression in the kidney of SDT fatty rats.

[Materials and Methods] Male SD and SDT fatty rats were sacrificed at 17 and 60 weeks old, when kidney samples were immediately fixed or kept frozen to be used in analyses.

[Results] In the kidney of SDT fatty rats, fibrosis and adhesion of the glomeruli, regeneration and hyaline cast in the tubules, interstitial fibrosis and inflammatory cell infiltration were progressed with age. The gene expression and positive regions of immunohistochemistry of SGLT2 were increased in 60 weeks of age from 17 weeks in both of the SDT fatty and SD rats, and the magnitudes were in the same range between 17 weeks old SDT fatty and 60 weeks old SD rats.

[Conclusion] Renal disorders were progressed with age in the SDT fatty rats similarly to the humans, indicating that the animal is useful as a model of human type 2 diabetes. In addition, it is noteworthy that the present study revealed the aging-caused increase of the SGLT2 expression in the kidneys of SDT fatty rats.

P-32*

Spontaneous renal tubular hypertrophy observed in young (11-week) ICR mouse

○ Hyun-Ji Choi¹⁾, Min-Jung Kong¹⁾, Hye-Jeong Kim¹⁾, Masami Suzuki²⁾, Hijiri Iwata³⁾, Chan-Hee Park¹⁾

¹⁾C&C Research Laboratories, ²⁾Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾LunaPath LLC

Renal tubular hypertrophy is often observed in chronic progressive nephropathy in old aged mice and is believed to be a compensatory mechanism related to a decline in renal function. However, published incidence data of tubular hypertrophy in young mice is hard to find. In the 4-week acute repeated toxicity study, renal tubular hypertrophy was observed in 2 ICR mice. To investigate the origin and pathogenesis of kidney finding, we performed additional histopathological analysis. Kidney samples of two females were additionally sectioned 25–50 μm apart serially and stained with H&E. Hypertrophic tubules were lined by tall cuboidal to columnar cells. The cytoplasm was pale and eosinophilic and the nuclei were located apically. In the serial sections, hypertrophic tubules were observed continuously and they were unilateral in both cases which suggests these are incidental events rather than systemic effects. In addition, a cystic structure was observed between the hypertrophic tubules in both cases and considered to be the cause of the tubular hypertrophy. As the mice were young and there were no accompanied lesions like inflammation, tubular dilatation, atrophy, or necrosis, and not much time to progress nephropathy, this change was considered to be spontaneous and related to renal developmental process. We would like to suggest this lesion as one of the spontaneous lesions observed in young ICR mice.

P-33***Inhibitory Effects of Mead Acid Supplementation on Acetaminophen-Induced Renal Toxicity in Rats**

○Akiko Takenouchi¹⁾, Miyu Hiratsuka¹⁾, Maria Miura¹⁾, Yumiko Shinke¹⁾, Yukari Hirayama¹⁾, Chihiro Koyama¹⁾, Yuichi Kinoshita²⁾, Kei Hamazaki³⁾, Katsuhiko Yoshizawa¹⁾

¹⁾Department of Food Sciences and Nutrition, School of Human Environmental Sciences, Mukogawa Women's University, ²⁾Division of Diagnostic Pathology, Wakayama Medical University Hospital, ³⁾Department of Public Health, Faculty of Medicine, University of Toyama

[Background] A mode of action of acetaminophen (APAP)-induced renal toxicity is supposedly via N-acetyl-p-benzoquinone imine. In this renal toxicity model we explored the inhibitory effects of mead acid (MA), which is an n-9 PUFA of dietary supplementation.

[Methods] 7-week-old male SD rats received a single intraperitoneal injection of 500 mg/kg APAP and serum and kidney samples were collected at 24 and 48hrs after. Basal or 4.8%MA diets were given from one week before the APAP injection until sacrifice. Experimental groups were basal diet + vehicle, 4.8%MA diet + vehicle, basal diet + APAP, and 4.8% MA diet + APAP. Biomarkers of renal toxicity (BUN, CRE), histopathology of kidney and immunohistochemistry for drug-metabolizing enzyme (CYP2E1) and oxidative stress (HO-1, TG) were performed. The d-ROM and BAP tests were conducted to detect oxidative stress and anti-oxidative activity in serum, respectively.

[Results] In the basal diet + APAP group, the BUN and CRE levels were significantly increased and acute necrosis and dilatation in the renal outer medullary area were present. Tubular necrosis was detected mainly in proximal tubules which was positive for CYP2E1. HO-1 and TG signals were also seen in these epithelia. In contrast, these tubular changes and expression of HO-1 signal were reduced in the rats fed the MA diet.

[Conclusion] MA supplementation inhibited APAP-induced renal toxicity via the decreased level of oxidative stress in kidney.

P-34***Histological findings in minipigs fed with high-cholesterol and high-sodium diet**

○Shiori Murase, Masami Kato, Takahito Imaizumi, Tsuyoshi Arai, Yoshiyasu Konuma, Hisami Matsushita, Katsumi Endo, Tsuneo Koike, Tomomi Kanehara, Jun Imai, Tadashi Itoh, Hitoshi Kimura

Nihon Bioresearch Inc.

[Background] It has been reported that minipigs have similarities to humans in composition of plasma cholesterol (Cho) and properties of atherosclerosis lesions. Therefore, minipigs which are fed with high-fat and Cho diet are used as an atherosclerosis model. Renal damages related to atherosclerosis are known as human diseases, but these animal models have not been established.

[Aim] Minipigs, which have similar anatomical structure of the kidney to humans, were fed with high-Na and Cho diet, and histological changes in the vessels, kidneys and other organs were assessed.

[Materials and Methods] Six female Göttingen minipigs aged 8 months were fed with 800 g of high-fat (beef tallow: 5%), Cho (1.5%), and Na (5%) diet daily. Hematological analysis was performed intermittently. After 7 months, the animals were necropsied. Histological changes in the thoracic aorta, abdominal aorta, heart, lungs, liver, pancreas, spleen and kidneys were examined.

[Results] T-Chol, HDL and LDL were increased in the 1st week. The following findings were also noted: formation of obvious atheroma in the coronary arteries and abdominal aorta, accumulation of lipid particles in the hepatic tissues, foamy cell infiltration in the splenic red pulps, basophilic changes in the renal tubules, vacuolation of glomerular constitutive cells and interstitial tissue edema in the renal papilla.

[Conclusion] Some kinds of renal damages and formation of atheroma were caused in minipigs by feeding high-fat, Cho and Na diet.

P-35***A spontaneous hyaline glomerulopathy in a young Crl:CD1(ICR) mouse**

○ Hironobu Nishina, Akane Kashimura, Mao Mizukawa, Katsuya Fujiki, Yuuichi Murakami, Nobuyuki Baba, Eisuke Kume

Safety Research Laboratories, Sohyaku Innovative Research Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd.

[Background] Hyaline glomerulopathy is the glomerular lesion whose features are immune complex deposition and no proliferation of the mesangial cells. Spontaneous hyaline glomerulopathy is very rare in young mice. Here, we report a case of hyaline glomerulopathy with severe immune complex deposition in a young mouse.

[Case] The animal was a 15-week-old female ICR mouse kept for environmental monitoring, and was euthanized because of an abrupt body weight loss. The necropsy findings were as follows; discoloration and roughness of surface of the kidney, edema of the cervical subcutis, small in the thymus and spleen, and white spot in the liver. The kidney was examined by HE stain, special stains; PAS, PAM, Congo red, and Masson's trichrome (MT), immunohistochemistry; anti-IgM and anti-IgG, and electron microscope (EM).

[Result] Glomerular enlargement, dilatation, atrophy, and regeneration of renal tubule, and interstitial inflammation were observed. Eosinophilic material deposited severely in the glomerular. Mesangial cells were not proliferated. The material was strongly positive for anti-IgM, anti-IgG, PAS, and was stained red by MT. Congo red was negative. PAM and EM revealed the material deposited inside of the glomerular tufts.

[Conclusion] These results indicate that the eosinophilic material is immune complex. Based on the histological features, we diagnosed hyaline glomerulopathy. This case is helpful knowledge as the spontaneous lesion in toxicological studies.

P-36***The dose and time dependency of γ -H2AX formation induced by bladder carcinogens**○ Takanori Yamada^{1,2}, Takeshi Toyoda¹, Kohei Matsushita¹, Tomomi Morikawa¹, Kumiko Ogawa¹¹Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agri. Tech.

[Background] We have reported that immunostaining for γ -H2AX, a biomarker of DNA damage, can detect bladder carcinogens in 28-day toxicity study of rats. The aim of the present study was to examine the dose response and time course of γ -H2AX formation in the rat urinary bladder treated with carcinogen.

[Methods] Six-week-old male F344 rats were orally treated with 0, 1, 10, 100, 200, or 500 ppm BBN, a genotoxic bladder carcinogen, and 0, 0.3, 1, or 3% melamine, a non-genotoxic bladder carcinogen, for 2 days and 4 weeks. Immunohistochemistry for γ -H2AX and Ki67, a cell proliferation marker, was performed in the bladder epithelium.

[Results] In the BBN groups, γ -H2AX formation and Ki67 expression were significantly increased from 10 ppm and 100 ppm, respectively, with a clear dose-dependency at both day 2 and week 4. In the melamine groups, significant increases in γ -H2AX- and Ki67-positive cells were observed only in the highest dose (3%) at both periods. In double-immunofluorescence staining, while γ -H2AX- and Ki67-positive cells were almost colocalized in the urothelium of rats treated with melamine, γ -H2AX single positive cells were detected in the BBN groups.

[Conclusion] Our results demonstrated that γ -H2AX formation shows the clear dose dependency and can detect bladder carcinogens earlier than 4 weeks. Furthermore, it may be possible to determine whether genotoxic mechanism is associated with bladder carcinogenesis by analyzing the colocalization of γ -H2AX-Ki67.

P-37

Evaluation of inhibitory effects of acetazolamide on the mouse bladder carcinogenesis

○ Min Gi, Masaki Fujioka, Nao Yukimatsu, Takahiro Okuno, Takashi Yamaguchi, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi

Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

The extracellular pH of tumor tissues is often acidic, and an acidic microenvironment is closely associated with migration and invasion of tumor cells, leading to more aggressive behavior. carbonic anhydrases (CAs) play an important role in maintaining pH homeostasis. Expression of CAs have been associated with the invasion and progression of human urothelial carcinoma (UC). The purpose of the present study is to evaluate the effects of CAs inhibitor acetazolamide (Ace) on the BBN-induced mice bladder carcinogenesis. Male mice were treated with 0.05% BBN in their drinking water for 10 weeks, then followed by Cisplatin (Cis) or/and ACE treatment for 12 weeks. At the end of week 22, the incidence of total UCs was significantly decreased in the BBN-Ace+Cis group. Moreover, the incidences of muscle invasive UC were significantly decreased in the BBN-Ace and BBN-Ace+Cis groups. These findings demonstrated the inhibitory effects of Ace against the invasion of UC in mice, and suggested that combination treatment of Ace and Cis may provide a new therapeutic strategy to improve the outcomes of UC patients.

P-38

Gene expression analysis in the early stage of bladder carcinogenesis and search for novel biomarkers of bladder carcinogen

○ Takeshi Toyoda¹⁾, Takanori Yamada^{1,2)}, Kohei Matsushita¹⁾, Tomomi Morikawa¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²⁾Laboratory of Veterinary Medicine, Tokyo University of Agriculture and Technology

[Background] Although recent large-scale genome analysis revealed genes associated with bladder carcinogenesis, the roles in the early stage of bladder tumorigenesis are still unknown. In the present study, the gene expression profile in the bladder mucosa of rats treated with bladder carcinogens was analyzed to clarify their effect on cancer development in the early stage, and to detect novel biomarkers of bladder carcinogens.

[Methods] Six-week-old male F344 rats were administered 0.05% *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN), 3% uracil, 0.8% *o*-toluidine, and 1% *o*-anisidine in diet or drinking water for 4 weeks. Expression levels of genes in 5 categories, which are known to be associated with bladder carcinogenesis, were analyzed by PCR array. Immunohistochemical staining for genes that showed high expression was performed.

[Results and Discussion] Increased expression of genes associated with cell cycle, DNA damage, and Hedgehog signaling pathway was induced by all 4 chemicals examined, suggesting the important roles in the early stage of bladder carcinogenesis. Because changes of expression pattern of chromatin modification enzymes and remodeling factors were relatively low in the all treatment groups, they may be important in the later stage or progression. Among the factors showing increased expression in several groups, at least 7 factors (Runx2, Birc5, Cdc6, etc.) were confirmed to be highly expressed in the bladder urothelium.

P-39*

Time-dependent analysis of pneumotoxicity caused by repeated oral administration of Cisplatin in rats

○ Yui Terayama, Makoto Sato, Yukari Nishimura, Takuma Tsuchiya, Takayasu Moroki, Keisuke Kitaura, Tsuyoshi Yoshikawa

Nonclinical Research Center, Tokushima Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

Introduction: Cisplatin (CP) is well-known for its nephro and ototoxicity, however there are few reports on the pneumotoxicity. In the present study, we try to investigate the time-dependent pneumotoxicity caused by oral administration of CP in rats.

Methods: Six-week-old male SD rats were orally administered CP (0, 3.5 mg/kg/day) repeatedly, and 5 rats were sacrificed on the following day 1, 3, 7, 14 and 28 of administration (Day 2, 4, 8, 15, 29).

Results: On Day 4, necrosis of pneumocytes and hyperplasia of type 2 pneumocytes were observed. On Day 8, necrosis of pneumocytes, hyperplasia/hypertrophy of type 2 pneumocytes were observed in all treated rats, and interstitial macrophage and neutrophil infiltration were also observed. In addition, hyaline membrane, multifocal hemorrhage with vascular endothelium injury, and interstitial fibrosis with marked expression of α -SMA positive myofibroblasts were observed in some animals. On Day 15, pneumocyte injury was continuously observed, and on Day 29, the lung lesions were exacerbated with fibrosis.

Conclusion: Repeated oral CP administration causes pneumocytes injury, and some animals turned into acute interstitial pneumonia at one week of administration. When the lung lesions did not exacerbate at early stage of administration, the pneumocyte injury continues throughout the administration period and fibrosis progresses, then CP administration causes interstitial pneumonia at 1 month of administration.

P-40*

Effects of administration volume on bronchoalveolar lavage fluid test and histopathological findings in rat treated with bleomycin intratracheally

○ Taiki Sugiyama, Mai Morioka, Takamasa Numano, Hitomi Higuchi, Mayumi Kawabe, Yukinori Mera

DIMS Institute of Medical Science, Inc.

[Background and Aim] Bleomycin is well known to cause pulmonary fibrosis as a side effect. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis animal model has been used in pharmacological studies. However, there is a little knowledge about the effects of intratracheal administration volume on the pulmonary examinations. We investigate the volume effects of bleomycin administered intratracheally by searching for chronological changes in lung toxicity parameters including BALF (bronchoalveolar lavage fluid) test, histopathological and immunohistochemical examinations at different administration period and volumes.

[Materials and Methods] Male CrI:CD(SD) rats aged 8 weeks old were treated with a single intratracheal bleomycin administration at a dose of 1 mg/kg in the volume of 1 or 2 mL/kg. General condition and body weight were measured and necropsied at 3, 10 and 28 days after the administration, and gross pathology and organ weight measurement were performed. Besides, BALF was collected from the right lung and subjected to cell sorting and biochemical analysis. The left lung and major organs were used for histopathology. The lung fibroblastic lesion caused by bleomycin are under immunohistochemical examination. In this presentation, we will report the results of chronological changes in lung toxicity parameters, histopathological and immunohistochemical findings at various bleomycin-treatment periods, and the effects of administration volume on the pulmonary injury will be discussed.

P-41**Diagnostic Investigation of Bleomycin-Induced Lung Toxicity in Cynomolgus Monkeys**

○ Kazuyoshi Kumagai, Ken Sakurai, Yu Maeda, Hiroko Kataoka, Satoshi Tamai, Kumi Honda, Tetsuya Ohsawa, Katsuyoshi Chiba, Kiyonori Kai, Kazuhiko Mori

Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

Time-course changes of lung toxicity was investigated in male cynomolgus monkeys (3 animals/group) which were injected intratracheally with bleomycin hydrochloride as a single dose of 0 (saline as vehicle), 3, and 12 mg/12 mL/body (Day 1: day of instillation). A time-course analysis was done for chest CT, blood gas analysis, and plasma surfactant protein D (SP-D) during the pre-dosing or on Day 2, 4, 8, and 15. Lung histopathology was done on Day 15 (only one male at 0 mg/kg was euthanized). Chest CT showed slight ground-glass opacities (GGO) in part of the lobes at 3 mg on Day 15. The scan showed slight to moderate GGO in all lobes except the right anterior lobe on Day 4 and more severe GGO in almost all lobes at 12 mg on Day 8 or later. Higher pCO₂, lower pO₂ and SO₂ were detected at 12 mg on Day 8 and deteriorated on Day 15 (no change: 3 mg). Higher plasma SP-D was noted on Day 8 and it showed the highest values on Day 8 at 12 mg (no change: 3 mg). In lung histopathology, minimal to slight alveolar macrophage and inflammatory cell infiltrate, bronchoalveolar hyperplasia with squamous cell metaplasia, and fibrosis were observed in part of the lobes at 3 mg. Almost all lobes showed more severe changes mentioned above as well as multinuclear giant cell formation, alveolar edema, and hyaline membrane at 12 mg. In conclusion, chest CT is considered useful for detecting lung toxicity serially in cynomolgus monkeys in its earlier stage than the others.

P-42***Effects of the expectorant drug, ambroxol hydrochloride, on chemically induced lung inflammatory and proliferative lesions in rodents**

○ Shota Yoshida^{1,2)}, Masanao Yokohira¹⁾, Keiko Yamakawa¹⁾, Yuko Narusawa¹⁾, Shohei Kanie²⁾, Nozomi Hashimoto¹⁾, Katsumi Imaida¹⁾

¹⁾ Onco-Pathology, Department of Pathology and Host Defense, Faculty of Medicine, Kagawa University,

²⁾ Toxicology Laboratory, Discovery and Preclinical Research Division, TAIHO Pharmaceutical Co., Ltd.

[Background and Aim] Ambroxol hydrochloride (AH) is an expectorant medicine, inducing surfactant proteins (SPs) in the lung. SPs expression has been reported in lung inflammatory and proliferative lesions. To determine whether AH exerts modulatory effects on these lung lesions, three experiments were conducted.

[Materials and Methods] Pleuritis was induced by intrathoracic administration of dipotassium titanate (TISMO[®]) fibers in A/J mice. Neoplastic lung lesions were induced by NNK in A/J mice and by DHPN in F344 rats. AH were treated at 0, 12 or 120 ppm in basal diet for 16 weeks in A/J mice or 28 weeks in F344 rats. Clinical and pathological examinations were performed.

[Results] A/J mice treated with TISMO showed decrease in their body weights, increase in white blood cell (WBC) counts, and pleural thickening with pleuritis and poor general condition. A/J mice treated with TISMO and 120 ppm AH showed significant recovery of the body weight and WBC counts to the same levels compared as A/J mice without TISMO. However, regardless of AH administration or not, no significant inter-group differences were observed in histopathological changes including the immunohistopathological expression of IL-1 β in the lung and maximum pleural thickness. In the NNK and DHPN experiments, no significant effects associated with AH were observed.

[Conclusion] AH exerts anti-inflammatory effects though AH does not have any direct suppressive effect on lung tumorigenesis in rodents.

P-43***Epigenetic modification abnormality in lung carcinogenesis in mice transplacental exposure of organic arsenic compound Dimethylarsinic acid**

○Masaki Fujioka, Min Gi, Takahiro Okuno, Nao Yukimatsu, Anna Kakehashi, Yuji Oishi, Hideki Wanibuchi

Osaka City University Graduate School of Medicine

In our previous studies, male mice exposed to the fetal stage of the organic arsenic compound Dimethylarsinic acid (DMA) have been shown to develop lung cancer after maturation. It also reports that a significant increase in histone H3K9me3 occurs in the lung of a male newborn mouse exposed to DMA transplacental exposure. However, its target gene and gene expression fluctuation have not been clarified. In this study, we clarify the target genes of histone H3K9me3 and microarray analysis were performed in the lung of male neonatal mouse exposed to DMA transplacental. Also, we investigate the influence on DMA transplacental 6-week old mouse lung. DMA was administered to pregnant female CD-1 mice at a dose of 0,200 ppm from gestation day 8 to 18, and lungs were collected from the obtained male neonates and 6-week old mice. As a result of the analysis in neonatal mouse lung, a targeting region of H3K9me3 was more in X chromosome than in the control group. Also, as a result of the microarray analysis, increased expression of Xist, which is the X chromosome-inactivated lncRNA, in the DMA exposure group. Furthermore, as a result of pathway analysis, it was suggested that Fibrosis increased significantly, glucose metabolism increased and suppressed lipid metabolism. In 6-week old mouse lung, there was the significant increase of Ki67 index in the DMA transplacental exposure group. It was suggesting epigenome memory contribution caused by DMA exposure in mouse lung carcinogenesis.

P-44**The promotion effects of lung tumor with Insulin-like growth factor-1, IGF-1, expression by left pulmonary ligation in rodents**

○Masanao Yokohira, Nozomi Hashimoto, Keiko Yamakawa, Yuko Narusawa, Katsumi Imaida

Onco-Pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University

[Aim and Materials and Methods] To induce strong promotion effect for lung tumor, the effects of left pulmonary ligation to lung tumor initiated by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) or N-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) in A/J mice or F344 rats, respectively, were examined. The expressions of mRNA in right lung of A/J mice were also examined by DNA microarray analysis on Day 7 after left pulmonary ligation.

[Results] The number of tumors initiated by carcinogens in right lung after left pulmonary ligation was increased significantly with increasing of the weight in mice and rats. In addition, expression of several mRNA markers, including insulin like growth factor-1, IGF-1, was increasing in right lung of mice on Day 7. The strong expression of IGF-1 for the lung proliferations induced by carcinogen was confirmed immunohistochemically in mice and rats.

[Conclusion] The results of present experiments demonstrated the clear promotion effects by pulmonary ligation with induction of IGF-1. The results also indicate IGF-1 is a potential marker of the lung tumors and further study is scheduled in our laboratory with the aim to establish IGF-1 as a tumor marker.

P-45*

The effects of progesterone inhibitor (mifepristone) on lung tumorigenesis in female A/J mice

○ Yuko Narusawa, Masanao Yokohira, Keiko Yamakawa, Nozomi Hashimoto, Shota Yoshida, Katsumi Imaida

Onco-Pathol., Fac. Med., Kagawa Univ.

In A/J mice, female mouse is more sensitive than male on lung tumorigenesis. We reported that the expression of estrogen receptor and progesterone receptor in 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)-induced lung tumors in female A/J mice. Sex hormones are suggested to involve in lung tumorigenesis. The present study was conducted to investigate the effects of progesterone in the lung tumorigenesis by progesterone inhibitor, mifepristone (MIF).

Female A/J mice at 7-week-old were separated into four groups. Groups 1 and 2 were treated with interperitoneal injections of NNK (2mg/0.1ml saline/mouse) at Weeks 0 and 1. At Week 13, MIF pellet (90-day release, 7.5 mg/pellet/mouse) was implanted under the skin in Groups 1 and 3, and placebo pellet (PL) was in Groups 2 and 4. All mice were sacrificed after sampling their blood at Week 26.

In Group 1 (NNK+MIF), the number of tumor and the area of adenocarcinoma in the lungs were trend to decrease than Group 2 (NNK+PL). The concentration of progesterone in the serum showed a negative correlation with the number of macroscopic lung nodules. Cystic endometrial hyperplasia, considering the effect of MIF, was observed only MIF treated groups (Groups 1 and 3).

These results suggest MIF has little suppression effect to NNK-induced lung tumorigenesis. Therefore, the cause of sex difference in lung tumorigenesis of A/J mice needs to be taken into account the other mechanisms than sexual hormones effects, especially progesterone.

P-46

Histopathological characteristics of mesothelin-positive proliferative lesions in the lung of rats treated with DHPN

○ Yoshimitsu Sakamoto¹⁾, Yukie Tada¹⁾, Motoki Hojo¹⁾, Ai Maeno¹⁾, Toshinari Suzuki¹⁾, Akiko Inomata¹⁾, Takako Moriyasu¹⁾, Dai Nakae²⁾

¹⁾Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, ²⁾Tokyo Univ. Agricul.

Background: We previously reported that mesothelin-positive alveolar proliferative lesions were observed in rats treated with multi-wall carbon nanotube administered by the intratracheal instillation, and they were diagnosed as early stage squamous metaplasias. Mesothelin has been reported to be positive in lung, pancreas and ovary adenocarcinomas of humans, but only in mesothelial and mesothelioma cells of rats. The present study was conducted to assess expression of mesothelin in lung proliferative lesions induced in the lung of rats treated with DHPN.

Methods: Male F344 rats (6 weeks old, n=20) were treated with 0.1% DHPN in the drinking water for 2 weeks, kept for 30 weeks and killed for the histological examination.

Results and Discussion: Histologically, alveolar hyperplasias, adenomas and adenocarcinomas were observed in 18, 5 and 3, respectively, in 18 rats surviving at the end of the study. Among them, 6/18 alveolar hyperplasias, 2/5 adenomas and 1/3 adenocarcinomas were mesothelin-positive. The total number of hyperplasias in 18 rats was 637, among which only 8 lesions (1.26%) were mesothelin-positive. Detailed assessments are in progress.

P-47**Male SD rats exposed in utero to di(*n*-butyl)phthalate: investigation of deferent duct**

○ Mitsuru Sugiyama¹⁾, Yuya Okayama¹⁾, Hiroyuki Takahashi²⁾, Masahiro Ikegami²⁾, Tomoko Muto³⁾, Shin Wakui¹⁾

¹⁾Department of Toxicology, Veterinary Medicine, Azabu University, ²⁾Department of Pathology, The Jikei Univ. Sch. Med.,

³⁾Food and Drug Safety Center

[Background] Di (*n*-butyl) phthalate (DBP) which is a phthalate ester is an organic compound widely used at the present time as a plasticizer giving flexibility to a hard plastic product. DBP has an endocrine disrupting effect and inhibits testosterone production of Leydig cells in exposed male rats. However, little is known about the effect of DBP on the deferent ducts are important component of the reproductive system. In this study, we investigated the effect of DBP fetal exposure on the deferent ducts.

[Materials and Methods] Male SD rats were applied for the present study. Three patterns of DBP 100, 300, 0 mg/kg/day were used as doses, and orally administered to the mother rats for GD12 to 21. To observe changes due to age, four points of 7, 9, 14 and 17 weeks old were set up from young to adult stage, and 10 animals were used for each group. Each animal was autopsied at each age and a 4 μm tissue section was prepared. Each tissue section was stained using several staining methods and measured and observed.

[Results] In the DBP group and the control group, the height of deferent duct epithelial cells were similar between 7 weeks and 9 weeks of age. However, at 14 weeks of age and 17 weeks of age, it was significantly lower than that of normal individuals.

[Conclusion] From the present study, it is a secondary change of the deferent ducts in atrophy caused by a decrease in testosterone level in the testes, which is thought to be delayed by prenatal DBP exposure.

P-48***True hermaphroditism in a SD rat**

○ Hiromu Okano, Mizuho Takagi, Isamu Suzuki, Shiori Fujiwara, Mariko Nagatani, Yuko Yamaguchi

Pathology Department, BoZo Research Center Inc.

True hermaphroditism which has both ovary and testis either as ovotestis or as separate organs has been reported in rats rarely. A 30-week-age CrI:CD(SD) rat suspected to be true hermaphroditism was examined pathologically. The penis, urinary bladder and male accessory genitals were observed at the same location as these of normal males. The vagina, uterine cervix and uterine horns were observed continuously from the urethra to cranial. Normal left uterine horn and the ductal structure along left uterine horn were observed. Next, the small epididymis and gonad-like structure were observed. Right uterine horn which had the length about 1/3 of the left uterine horn was observed. Next, the corded structure, epididymis and gonad-like structures were observed. Histologically, Left gonad was the region which had several large follicles and interstitial gland-like cells densely and the region which had many sex cord stromal tissues like Sertoli cells surrounded by many Leydig-like cells. Right gonad had collagen fibers, vessels and sex cord stromal tissues like Sertoli cells. The defined sperm cells were unrecognized in either gonad. The bilateral epididymides and uterine horns were well differentiated. The ductal structure and the corded structure was the deferent duct mainly. The vagina opened to the urethra. This case was diagnosed as unilateral true hermaphroditism. It was characteristic that the gonads were undeveloped, but accessory genitals developed histologically.

P-49*

A Case of Epithelial Plaque in the Uterus of a Non-Pregnant Cynomolgus Monkey

○Haruno Yabuki, Airo Yukawa, Akiko Moriyama, Kinji Kobayashi

Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

[Background and Aim] Epithelial plaque has been known as an endometrial response to initial implantation and observed in several Old and New World monkeys. This change has never been reported in great apes or humans. We encountered a case of epithelial plaque in the uterus of a non-pregnant cynomolgus monkey, and this was histopathologically investigated.

[Materials and Methods] The animal (bred in China, approximately 4 years old, female, untreated) showed no abnormalities in clinical observation or at necropsy. The collected uterus was examined histopathologically and immunohistochemically.

[Results] Two proliferative foci were observed facing each other and directly under the luminal epithelia of the endometrium. The cells that composed both foci showed nest and cluster structures and downward growth from the luminal epithelia. The proliferative foci and normal luminal epithelia connected to each other at marginal parts. Pleomorphism, karyomegaly, multinuclear, and mitosis were frequently observed in these foci. These cells were positive for cytokeratin, and negative for vimentin.

[Conclusion] Based on the morphological and immunohistochemical characteristics, this case was diagnosed as epithelial plaque. This spontaneous lesion is required to distinguish from endometrial neoplasm and decidual reaction in safety assessment for drug development.

P-50

Morphological difference of mammary adenomas and adenocarcinomas between CD-1 and B6C3F1 mice

○Hiroko Kokoshima, Takuya Doi, Minoru Tsuchitani

LSI Medience Corporation

[Background and Aim] Mammary gland tumors are commonly observed in aged female mice. We found morphological difference of mammary adenomas and adenocarcinomas between CD-1 mice (CD-1) and B6C3F1 mice (B6C3F1).

[Materials and Methods] 15 adenocarcinomas and 2 adenomas from 149 aged CD-1 females and 12 adenocarcinomas and 2 adenomas from 520 aged B6C3F1 females were histopathologically examined. Additionally, Alcian blue-Periodic acid-Schiff (AB-PAS) reaction and immunostaining for smooth muscle actin (SMA) were performed in 14 adenocarcinomas and 2 adenoma of CD-1 and 7 adenocarcinomas and 1 adenoma of B6C3F1.

[Results] In all adenocarcinomas and 1 adenoma of CD-1, glandular neoplastic cells proliferated with alveolar/tubular and/or solid growth pattern. Meanwhile, in all adenocarcinomas and adenomas of B6C3F1, small round to spindle cells without pleomorphism or atypia proliferated, with glandular neoplastic cells forming alveolar/tubular structure. These round to spindle cells were observed in the interspace between the neoplastic glandular cells and the basement membrane. They were positive for SMA. These characteristics suggest that these cells may be myoepithelial cells. These myoepithelial cell proliferation was observed in the only 1 adenoma of CD-1.

[Conclusion] There is a morphological difference of mammary adenocarcinomas and adenoma between CD-1 and B6C3F1 in terms of the absence of myoepithelial cell proliferation in the former and its presence in the latter.

P-51

Development of ultra-short term atherosclerosis model induced by nitric oxide synthases inhibitor in Microminipig

○ Hiroaki Kawaguchi¹⁾, Akihide Tanimoto²⁾

¹⁾Department of Hygiene and Health Promotion Medicine, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences,

²⁾Department of Pathology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Microminipig is the world smallest minipig, enabling easy handling, and the anatomical and physical similarities to human make this minipig a suitable species for human lifestyle disease research. We had established atherosclerosis model induced by feeding high fat and cholesterol diets (HFCD) for 8 weeks in Microminipig. In this study, we developed ultra-short term atherosclerosis model induced by feeding HFCD and administration of N^G -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) as nitric oxide synthase inhibitor for 2 weeks in Microminipig. HFCD induced hypercholesterolemia while there were no effects of L-NAME on blood lipid metabolism. HFCD induced aortic atherosclerosis was accelerated by L-NAME administration. This ultra-short term atherosclerosis model may be useful for the atherosclerosis acceleration evaluation (toxicological study) of chemicals and medicines.

P-52

Histopathological Investigation of a Minipig Who Died of Acute Hemorrhagic Gastritis

○ Sumiko Okuda, Hirotohi Akane, Hiro Eda, Atsuko Ichikawa, Shigekazu Shimizu, Yasuki Akie

CMIC Pharma Science Co., Ltd.

[Aim] We report on the vascular lesions in various organs of the minipig died of acute hemorrhagic gastritis that we have presented at the 34th Annual Meeting of Japanese Society of Toxicological Pathology.

[Materials and Methods] An 11-month-old male crown minipig which has been kept as an in-house animal showed a decreased food consumption and suddenly died one week later. For various organs, HE staining, various special staining and immunohistochemical staining were performed.

[Results and Discussion] Unlike previously reported fibrinoid thrombus of small arteries and arterioles in various organs mainly in the stomach, glomerular-like obstructive intraluminal proliferation was found in the lumen of the small arteries and veins, and the cells were spindle-shaped. This intravascular proliferative lesion was mainly observed in fibrotic lesions of the heart and liver, between the liver and gall bladder, and in the kidney. This case was thought to be similar to feline systemic reactive angioendotheliomatosis. This is also reported in cattle, and in humans, similar diseases are reactive angioendotheliomatosis, benign cutaneous intravascular endothelial and pericytic proliferative condition. As there are no reports in pigs, we report on the results of special staining and immunostaining this time.

P-53*

Healing after vascular grafting in the thoracic aorta of beagle dogs

○ Takato Matsuda¹⁾, Hisako Terao¹⁾, Kazuha Maeda¹⁾, Masako Tasaki¹⁾, Junko Souba¹⁾, Atsushi Isobe¹⁾, Kasuke Nagano²⁾, Kimimasa Kazuno¹⁾, Hitomi Hagiwara¹⁾

¹⁾Terumo Corporation, ²⁾Nagano Toxicologic-Pathology Consulting

[Background] Vascular grafts (VGs) should exhibit long-term patency without thrombotic obstruction after implantation. However, few studies have described the healing process of VGs, especially on the luminal surface. To examine healing of the luminal surfaces of VGs, we performed a long-term implantation study using a canine model.

[Materials and Methods] VGs (Triplex[®]) were implanted in the descending thoracic aortas of beagle dogs. At 4 or 26 weeks after implantation, the dogs were evaluated for graft patency using angiography, and were sacrificed. VGs were macroscopically observed and paraffin sections were stained with HE, Masson's trichrome, and PTAH.

[Results] Angiography showed no abnormalities, and confirmed VG patency. Gross examination revealed a wide red region on the luminal surface at 4 weeks, which tended to decrease by 26 weeks. Histopathology at 4 weeks revealed extensive thrombus within the lumen, and the presence of fibrous tissue and vascular endothelial-like cells at nearby the anastomosis sites. At 26 weeks, fibrous tissue and vascular endothelial-like cells were observed extensively on the luminal surface, and the VG lumen was smooth. Vascular endothelial-like cell coverage was 78% ± 16% at 4 weeks and 97% ± 4% at 26 weeks.

[Discussion] Our study demonstrates that thrombus is replaced by fibrous tissue and coverage by vascular endothelial-like cells at both anastomosis sites, with the entire luminal surface covered with stable tissue formation.

P-54*

A case of spontaneous hypertrophic cardiomyopathy in cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*)

○ Shizuka Konishi, Yuki Numakura, Masaaki Koga, Takashi Kotera, Makoto Ueda

Pharmacokinetics and Safety Assessment Dept., Nippon Shinyaku Co., Ltd.

In several reports on cardiomyopathy in cynomolgus macaques, there are no cases diagnosed as hypertrophic type. A male cynomolgus macaque originated from China had been repeatedly administered small amounts of several test substances in pharmacokinetic studies between 4 and 9 years of age. It showed no significant abnormalities in clinical findings or routine blood tests. At 11 years of age, the animal was euthanized by exsanguination under deep pentobarbital anesthesia. Macroscopically, the interventricular septum (IVS) and left ventricular (LV) and right ventricular (RV) walls of the heart were thickened. Histologically, the lesions exhibited marked hypertrophy, disarray and vacuolation of cardiomyocytes with atypical karyomegaly and moderate interstitial fibrosis in the LV wall and/or IVS. The RV wall also showed mild hypertrophy of cardiomyocytes with mild interstitial fibrosis. Based on these morphological features, this case was diagnosed as hypertrophic cardiomyopathy. The substances that had been administered to the animal were not observed to induce cardiotoxicity. Furthermore, two age-matched normal cynomolgus macaques used for similar tests showed no similar cardiac changes. Therefore, this case was considered to be a spontaneous lesion. There have been no reports of cardiomyopathy in cynomolgus macaques in which cardiomyocyte hypertrophy and disarray occur together. This is the first report of spontaneous hypertrophic cardiomyopathy in a cynomolgus macaque.

P-55**Spontaneous globule leukocyte tumor with inflammatory reaction in a Wistar Hannover rat**

○ Junko Sato, Yuki Tomonari, Takuya Doi, Minoru Tsuchitani

LSI Medience Corporation

We encountered neoplastic lesions of hematopoietic cells forming numerous small to large nodules in the spleen, and growth in the Glisson sheath in the liver in a 110-week-old male Wistar Hannover rat (CrI:WI(Han)). Many of the neoplastic cells contained distinct eosinophilic granules or droplets. We investigated the histological features of this tumor based on the results of special and immunohistochemical staining. [Macroscopic findings] Three protruding areas on the surface of the spleen (5–8 mm diameter) and multiple pale white or yellow nodules on the cut surfaces were observed. [Microscopic findings] Multiple variable-sized nodules containing atypical proliferative cells, lymphocytes, eosinophils and histiocytes were noted in the white pulp, marginal zone and red pulp of the spleen, and Glisson sheath of the liver. Proliferative cells consisting of a few types of atypical cells with or without cytoplasmic eosinophilic granules or intermediate types were observed. The granules were positive for PAS and elastase stains, and bluish purple for PTAH, and showed no metachromasia with toluidine blue stain. In immunohistochemical staining, the proliferative cells with or without granules were positive for granzyme B, rat mast cell protease 2 and Ki-67, while negative for Iba1, ED1, κ light chain, CD3 and 20. These results led to a diagnosis of globule leukocyte tumor. The inflammatory reaction may have been caused by an active substance of cytoplasmic granules.

P-56**Immunohistochemical characteristics of cytokeratin expression in epithelial type thymoma and thymic epithelial hyperplasia**

○ Yuki Tomonari, Junko Sato, Tetsuro Kurotaki, Naoaki Yamada, Kazufumi Kawasako, Takuya Doi, Takeshi Kanno, Minoru Tsuchitani

Pathology Department, LSI Medience Corporation

[Introduction] Thymomas in Wistar Hannover rats (WH) resemble the normal structure of thymus; thymic epithelium (TE) in the cortex like area and medulla like area show positive for cytokeratin (CK) 18 and CK14, respectively. The features of thymomas in WH are suggested to depend on the CK expression patterns of each TE (34th JSTP annual meeting). Meanwhile, epithelial type thymomas and thymic epithelial hyperplasias are observed in aged F344/DuCrI:CrIj rats (F344). The characteristics of CK expression patterns are unknown.

[Materials & Methods] Two hyperplasias and one thymoma in F344 were examined for histopathological features and immunohistochemical expression patterns of CK18 and CK14.

[Results] Tubular structures at the medulla were noted in hyperplasias. Single layer cuboidal TEs were lying surrounded by flattened TEs. In thymoma, tubular structures were noted, but the lumina were indistinct. Low cuboidal TEs forming alveoli or cords were also noted. Inner and outer TEs at tubules and alveoli and/or cords tended to be positive for CK18 and CK14, respectively.

[Conclusion] Epithelial type thymoma and thymic epithelial hyperplasias were characterized by inner and outer TEs expressing different CKs. The characteristics might be contributed to the difference in structure between epithelial type thymomas and thymomas noted in WH.

P-57*

Ectopic striated muscle of the thymus in a SD rat

○ Ryosuke Kobayashi¹⁾, Yuki Tomonari¹⁾, Yui Akagawa²⁾, Akio Sekiya¹⁾, Hiroko Kokoshima¹⁾, Takuya Doi¹⁾, Takeshi Kanno¹⁾, Minoru Tsuchitani¹⁾

¹⁾Pathology Department, Nonclinical Research Center, LSI Medience Corporation, ²⁾Kashima Safety Assessment Department A, Nonclinical Research Center, LSI Medience Corporation

[Background] Striated muscle tissue (StMT) is found in rat thymus on rare occasions, but the lesion has not been reported. We examined the anatomical and histological characteristics of StMT.

[Materials and Methods] We examined the thymus of an 11 week old male Crl:CD(SD) rat in which StMTs were incidentally found in histology. The thymus was transversely cut into fifths, embedded in paraffin, and then cut into semi-serial sections. These sections were stained with H.E., Masson's trichrome, and silver.

[Results] StMTs were observed transversely as a fascicle composed of matured muscle fibers with a diameter of 20 to 40 μm . The muscle fascicle was localized in thymic interlobular space and surrounded by thin collagen fibers. Semi-serial sections showed fascicles of StMTs running longitudinally up to the anterior four-fifths of the left lobe of the thymus. StMTs contacted the ventral surface of the thymus in the anterior portion, and gradually penetrated into the thymic tissue toward the posterior portion. The anterior end of StMTs could not be identified in these sections. In the posterior end, the muscle fibers were vanishing and collagen fibers around the muscle fascicle integrated into thymic interlobular connective tissues.

[Discussion] We conclude that StMTs are ectopic muscle tissues in the thymus based on their localized nature and histological characteristics. Our results suggest that StMTs are not associated with myoid cell in the thymic medulla.

P-58

Selective chemonucleolysis with condoliase in cynomolgus monkeys

○ Yuka Minamisawa, Dai Muramatsu, Hiroaki Yamaguchi, Aisuke Nii

SEIKAGAKU CORPORATION

[Background] Condoliase, a glycosaminoglycan degrading enzyme, has been considered to be suitable for selective chemonucleolysis of lumbar disc herniation due to its substrate selectivity, compared to chymopapain, a protease. Although the selective effects of both compounds on the intervertebral disc were examined in several animal species, the detailed process of changes in the disc as well as the adjacent vertebral body has not been clarified. In this study, the selectivity of chemonucleolysis with condoliase and chymopapain was compared histopathologically in cynomolgus monkeys.

[Materials and Methods] Animals were treated with condoliase at 12 to 494-fold the clinical dose or with chymopapain at 12-fold the clinical dose. Histopathology was performed at 1 to 26 weeks after injection.

[Results] Histopathological changes related to the glycosaminoglycan degrading action of condoliase were observed in the disc, and effects extended to the vertebral body. These changes were most remarkable at week 4 and then subsided at week 26. Although chymopapain showed qualitatively similar changes, the effects extended more widely in the vertebral body. The degree of these changes was more severe than at the maximum dose of condoliase, and the changes were exacerbated even at week 26.

[Conclusion] Histopathological changes caused by condoliase were less severe and more selective than those seen with chymopapain. Condoliase is expected to be more suitable for selective chemonucleolysis.

P-59***A 90-day repeated oral dose toxicity study of 2,4-dimethyl-4-phenyltetrahydrofuran and the determination of its isomer abundance ratio**

○ Tetsuya Ide¹⁾, Yasuko Mizuta¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, Jun-ichi Akagi¹⁾, Naoko Masumoto²⁾, Naoki Sugimoto²⁾, Kyoko Sato²⁾, Kumiko Ogawa¹⁾

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²⁾Division of Foods Additives, National Institute of Health Sciences

[Introduction] 2,4-dimethyl-4-phenyltetrahydrofuran is one of flavoring agents permitted for use in food in Japan. To ensure the safety of it, we conducted a repeated oral dose toxicity study using rats. In the case of this compound, 4 isomers could exist. Generally, it is important to reveal the abundance ratio of the isomers as they could have different biological activities, so the isomer abundance ratio in the test article was determined.

[Methods] A 90-day repeated dose oral gavage of 0, 6, 24 and 96 mg/kg BW/day toxicity study was conducted using F344 rats (n=10 per sex/group). Examinations of clinical signs, body weight, food consumption, hematology, serum biochemistry, organ weight and histopathology were performed. The isomer abundance ratio was determined by quantitative ¹H-NMR and GC/MS equipped with a chiral column.

[Results] Decreased MCV and MCH were detected in the high-dose males and females. Increased serum TP and absolute/relative liver and kidney weight were detected in the high-dose males and females, as well as increased serum Alb in the high-dose males and relative liver weights in the mid-dose females. Histopathology revealed diffuse hepatocellular hypertrophy in the high-dose males and females and renal tubular hyaline droplet accumulation and regeneration in the high-dose males. In addition, 4 isomers existed in almost equal amount in the test article.

[Discussion] The NOAEL for the present test article was evaluated to be 24 mg/kg BW/day in both the sexes.

P-60***Investigation of toxicological profiles of 1,3-dichloro-2-propanol in 28 days repeated dose study in F344 rats**

○ Kohei Matsushita, Takeshi Toyoda, Tomomi Morikawa, Takanori Yamada, Kumiko Ogawa

Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

[Aim] 1,3-Dichloro-2-propanol (1,3-DCP) is a contaminant in various foods such as meat products. Although 1,3-DCP is carcinogenic in the liver and kidney, the toxicity and genotoxicity are still unclear. Prior to investigation of the mechanisms of carcinogenicity using *gpt* delta rats, toxicological profiles of 1,3-DCP were evaluated in this study.

[Methods] Six-week-old male F344 rats were given 0, 25, 50, and 100 mg/kg of 1,3-DCP by gavage for 28 days. General toxicity in all rats and immunohistochemistry and gene expression in the liver of selected groups were examined.

[Results] All rats of 100 mg/kg group were died/sacrificed at day 2 with severe centrilobular necrosis in the liver. In 25 and 50 mg/kg groups, while body weights and food consumption showed no changes, decreases in RBC-related parameters and increases in liver and kidney weights were detected. ALT was increased in 50 mg/kg group. In the liver of 25 and 50 mg/kg groups, c-caspase 3- and Ki67-positive cells were increased in the central zone, and increased expression of cell cycle-related genes was observed. Although glutathione S-transferase placental form (GST-P)-positive hepatocytes were present in the central zone, there were no obvious GST-P foci.

[Discussion] Acute liver injury may be cause of death in 100 mg/kg group. Increased cell proliferation in the liver of 25 and 50 mg/kg groups may be related to tumor promotion. The toxicological profiles of 1,3-DCP will be discussed with further analysis.

P-61*

A 90-Day Repeated Oral Dose Toxicity Study of 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal in F344 Rats

○ Kenji Nakamura¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Yuji Ishii¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura^{1,2)}

¹⁾Div. Pathology, NIHS, ²⁾Faculty of Animal Health Technology, Yamazaki University of Animal Health Technology

[Introduction] 5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal (MPH) is one of the designated additives classified into “Aromatic aldehyde” as a flavoring agent. Although MPH was evaluated to be “No safety concern” by JECFA, there have been no reports in terms of safety assessment for MPH itself. In the present study, we performed a 90-day repeated oral dose toxicity study of MPH in F344 rats to clarify toxicological profiles of MPH.

[Methods] Six-week-old male and female F344 rats were given MPH at doses of 0, 8, 24 and 70 mg/kg body weight/day by gavage for 90 days. The highest dose was determined based on 100,000-times of estimated human exposure as food flavoring agent. Typical parameters assessed in a subchronic toxicity study were examined.

[Results] No mortality and clinical signs were observed throughout the experimental period in any of the groups. Body weight and food consumption in all treated groups of both sexes were almost the same as in the control group each. In hematology and serum biochemistry, no toxic effects were observed. In organ weights, absolute and relative liver weights were significantly increased in 70 mg/kg bw/day group of females, and absolute testes weight was significantly elevated in 70 mg/kg bw/day group of males. However, no treatment-related histopathological changes were observed in all organs.

[Discussion] Based on the overall results, the NOAEL of MPH in this study was determined to be 70 mg/kg BW/day, the highest dose tested, in both male and female rats.

P-62

Histopathological examination of tumorigenicity study of HeLa cells in immunodeficient mice (NOG, NOD SCID and nude mice)

○ Takafumi Oshikata, Yumi Wako, Mikio Mitsuishi, Masao Hamamura

Pathology Department, LSI Medience Corporation

Aim: Histopathological features of 3 strains of immunodeficient mice (NOG, NOD SCID and nude mice) transplanted with HeLa cells were evaluated to obtain background data for a tumorigenicity study.

Methods: Male mice were allocated to 2 groups, positive control (PC, N=10) and negative control (NC, N=10), for each strain and transplanted with HeLa and MRC-5 cells, respectively. The cells were transplanted in the dorsal subcutis and then necropsied 16 weeks thereafter. HE-stained samples of all organs were prepared and examined microscopically.

Results: In 3 strains of animals in the PC Gr, a tumor was found in the transplantation site. Histopathologically, the tumor consisted of round cells showing a solid growth, and extensive necrosis in all cases. Metastasis was noted in one NOG mouse in the lung and in one NOD SCID mouse in the axillary lymph node (LN). Granulocytic hematopoietic cell proliferation in the spleen, liver and bone marrow were observed in 3 strains in the PC Gr. Furthermore, neutrophil infiltration in the LNs in NOD SCID and nude mice, besides an increase of plasma cells in the spleen and LNs in nude mice. These changes were considered to be biological reactions to tumor. No tumor was observed in the NC Gr.

Conclusion: Strain-specific biological responses associated with tumor formation by HeLa cells were observed in each strain of immunodeficient mice. Detailed morphological comparison between the 3 strains including immunostaining will be presented.

P-63***Spontaneous subcutaneous epithelial tumors in NOG Mice: A report of 2 cases**

○ Angeline Ping Ping Teh¹⁾, Yukino Machida^{1,2)}, Naoaki Uchiya¹⁾, Toshio Imai¹⁾

¹⁾Ctr. Anim. Div., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst., ²⁾Dept. Vet. Pathol., Nippon Vet. Life Sci. Univ.

The severely immunodeficient NOG mice are widely used for establishment of patient-derived xenograft (PDX) tumor model. Spontaneously developed epithelial tumors in NOG mice have rarely been reported. 2 cases of subcutaneous tumors spontaneously observed in NOG mice were evaluated here. Case 1 and 2 were female NOG mice, in which patient uterine endothelial cancer tissue was implanted subcutaneously to right flank each at 10 weeks and 7 weeks of age respectively, were euthanized 28 weeks and 54 weeks later, respectively, due to mass discovered at undesirable site. At necropsy, a subcutaneous mass involving left cervical region to upper foreleg was found in case 1. While a subcutaneous mass involving the femur and pelvis was found in case 2. Histopathologically, both tumors were composed by alveolar proliferation of tumor cells with severe nuclear atypia and obscure cellular boundary. Tumor cells were arranged in peritheliomatous pattern in large areas of coagulative necrosis. Invasion of tumor cells into adjacent soft tissue, and replacement of bone marrow cavity was observed in case 1. In both cases, tumor cells were expressed AE1/AE3 and negative for vimentin, NFP and ER alpha. The tumors were diagnosed to be epithelial origin. Fibrous tissue was found at the site of human cancer implantation with no proliferation of human cancer tissue. The origin of organ of the tumors is still currently investigated.

P-64***Two cases suspected as anaplastic zymbal's gland carcinomas in aged F344 rats**

○ Ai Maeno¹⁾, Yoshimitsu Sakamoto¹⁾, Motoki Hojo¹⁾, Katsuhiko Yuzawa¹⁾, Yuko Hasegawa¹⁾, Toshinari Suzuki¹⁾, Akiko Inomata¹⁾, Takako Moriyasu¹⁾, Noriko Kemuriyama²⁾, Katsuhiko Miyajima²⁾, Dai Nakae²⁾

¹⁾Department of Pharmaceutical and Environmental Sciences, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, ²⁾Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture

[Background] Neoplasms of zymbal's gland, especially anaplastic ones, are rare in rats used in toxicity studies. This report describes about 2 cases that were suspected to be spontaneous anaplastic zymbal's gland carcinomas.

[Materials] In male F344 rats used in the low dose group of a carcinogenicity test of multi-walled carbon nanotube, subcutaneous nodules were found in 2 rats, which were euthanized at 89- (case I) and 77 week-old (case II) due to the body weight loss and/or the progressive expansion of the tumor. The tumors were then excised and processed for analyses.

[Results & Discussion] In both cases, the tumor nodules, approx. 30 mm in diameter, with ulceration, were located at near the ear pinna. Histologically, elliptical to polygonal cells proliferating as a solid sheet and fusiform cells were irregularly mixed. They were mutually transited and invaded to adjacent tissues. Squamous metaplasia and keratinization were observed. The lung metastases but not intact zymbal acini were observed. Case I contained ossified area, while case II was characterized by the pleomorphic appearance. Tumor cells were positive for cytokeratin or vimentin, but negative for CD68, S100, α SMA, VWF and desmin. From given results, both cases were suspected as anaplastic zymbal's gland carcinomas, despite unidentified origins, because of the tumor location and the intermingled pattern of squamoid and mesenchymal tumor cells.

P-65***Spontaneous basal cell carcinoma with ductal differentiation in the rat salivary gland**○ Tomoya Sano¹⁾, Hitoshi Kandori²⁾, Yoko Hara³⁾¹⁾Drug Safety Research Laboratories, Takeda Pharmaceutical Co. Ltd., ²⁾Axcelead Drug Discovery Partners Inc., ³⁾Department of Agriculture, Livestock Hygiene Research Office, Shimane Prefecture

Macroscopically, a mass was observed in the subcutaneous tissue of the submandibular area in a 17-week-old male Sprague-Dawley rat. Histopathologically, pale basophilic basaloid tumor cells with round to oval-shaped nuclei formed multiple solid lobules and/or nests and was highly invaded to the salivary gland. A small number of duct-like structures, composed of a monolayer of cuboidal epithelia without surrounding cells or basal lamina, were also observed in the tumor. Immunohistochemically, the tumor cells showed positive reactions for p63, cytokeratins, proliferating cell nuclear antigen, and vimentin, but negative reactions for alpha-smooth muscle actin and S100. Ultrastructurally, the basaloid tumor cells contained multiple ribosomes and mitochondria in the cytoplasm, and a few desmosomes in the intercellular portion. However, there were no ultrastructural features that would suggest the presence of myoepithelium or squamous cells. According to the INHAND, this tumor could be categorized as a solid type of adenocarcinoma with ductal differentiation. On the other hand, the basal cell in the excretory duct is known to be able to differentiate to all types of cells in the normal salivary gland and may be related to the tumorigenesis of this tumor. Additionally, morphological and immunohistochemical characteristics of the tumor cells resemble to the basal cells. Therefore, it could be diagnosed as a basal cell carcinoma from the histogenetic point of view.

P-66**INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions - An Update - 2019**○ Shim-mo Hayashi¹⁾, A Bradley²⁾, DG Goodman³⁾, Takanori Harada⁴⁾, R Herbert⁵⁾, Hijiri Iwata⁶⁾, M Jacobsen⁷⁾, CM Keenan⁸⁾, R Kellner⁹⁾, B Mahler⁵⁾, E Meseck¹⁰⁾, T Nolte¹¹⁾, S Rittinghausen⁹⁾, C Ruehl-Fehlert¹²⁾, J Vahle¹³⁾, Katsuhiko Yoshizawa¹⁴⁾¹⁾Global Scientific and Regulatory Affairs, San-Ei Gen F. F. I., Inc., ²⁾Charles River, ³⁾Independent Consultant, ⁴⁾The Institute of Environmental Toxicology, ⁵⁾NIEHS, ⁶⁾LunaPath LLC, ⁷⁾AstraZeneca, ⁸⁾CM Keenan ToxPath Consulting, ⁹⁾Fraunhofer ITEM, ¹⁰⁾Novartis Institute for Biomedical Research, ¹¹⁾Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, ¹²⁾Bayer AG, ¹³⁾Eli Lilly & Co., ¹⁴⁾Department of Food Sciences and Nutrition, School of Human Environmental Sciences, Mukogawa Women's University

The INHAND Proposal has been operational since 2005. A Global Editorial Steering Committee (GESC) helps coordinate overall objectives of the project. Development of harmonized terminology for each rodent organ system or non-rodent species is the responsibility of the Organ Working Groups (OWG) or Non-rodent Working Groups (NRWG) respectively, drawing upon experts from North America, Europe and Japan. Great progress has been made with 14 rodent organ systems published to date: Respiratory, Hepatobiliary, Urinary, Central/Peripheral Nervous Systems, Male Reproductive and Mammary, Zymbals, Clitoral and Preputial Glands in Toxicologic Pathology and the Integument and Soft Tissue, Female Reproductive System, Digestive System, Cardiovascular System, Skeletal System, Special Senses and Endocrine System in the Journal of Toxicologic Pathology as supplements and on a web site: www.goReni.org. Recommendations of the Apoptosis/Necrosis Working Group have been published. There are 5 non-rodent working groups: non-human primate, dog, minipig, rabbit and fish: with draft manuscripts in progress. A new group has been formed to address terminology in non-rodent ocular toxicity studies. INHAND guides offer terminology, diagnostic criteria, differential diagnoses and guidelines for recording lesions in toxicity and carcinogenicity studies. The guides provide representative photo-micrographs of morphologic changes, information regarding pathogenesis, and key references.

P-67**Example of SEND Implementation in Pharmaceutical Company
-Establishment of Histopathological Examination System for SEND-**

○ Izumi Matsumoto, Tomoaki Tochitani, Mami Kochi, Yuta Fujii, Yuka Yoshino, Izuru Miyawaki

Preclinical Research Unit, Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.

SEND (Standard for Exchange of Nonclinical Data) submission to FDA has been mandated for NDA and IND, and SEND data are required for single and repeated dose toxicity studies and carcinogenicity studies started on December 17, 2017 or later. Therefore, pharmaceutical companies that conduct FDA submission need to implement SEND. We made an in-house SEND-implementation team since 2016 and have been working on building a system that enables conformation to SEND. For SEND data creation, it is necessary to configure data according to the standard format, and it is recommended to map original terms to controlled terminology (CT). SEND data creation of histopathological examination in which descriptive terms are used is considered as an issue, because the meanings of the finding may change if mapping and used CT are inappropriate. Furthermore, it is difficult for non-pathologists to appropriately create SEND data of histopathological examinations with a large number of data and variety of terms. Regarding to SEND data creation of histopathological examination, we made internal rules for data configuration and mapping, in addition to unification of the terms utilizing INHAND that we have conducted since before. Thus, we have established a system which makes SEND data creation easier and faster. In this presentation, we introduce our histopathological examination system for SEND.

P-68**Creation of a histopathological glossary using INHAND nomenclature modified CDISC SENDCT according to the SENDIG v3.1**○ Kochi Kakimoto¹⁾, Kouichi Suwa²⁾, Hiroshi Edamoto¹⁾, Seiki Yamakawa¹⁾, Yuko Yamaguchi¹⁾, Toru Hoshiya¹⁾¹⁾Department of Pathology, Gotemba Laboratories, BoZo Research Center Inc., ²⁾Department of Information System, Gotemba Laboratories, BoZo Research Center Inc.

[Background] Submission of the SEND datasets according to the SENDIG v3.1 to the US FDA will be required for all pre-clinical studies within scope in 2019/2020. In this version, the MISTRESC is important for standardizing the value in MIORRES and where possible must use the controlled lists of not only NEOPLASM but also NONNEO. The NONNEO terms predominantly uses INHAND nomenclature, but are only about 200 comprised of base pathological process. INHAND nomenclature has about 600 of non-neoplastic lesions, therefore, the NONNEO terms are expected to be deficient. Here, we created a glossary with requirements for SENDIG v3.1 using all INHAND terms and examined how many terms were short on the NONNEO list. In addition, we created mind-maps of this glossary.

[Methods] According to the SENDIG v3.1, we create the Excel file containing the same variables as MI.XPT and SUPPMI.XPT using all INHAND terms. The terms were separated one base pathological process and its modifiers; the former was translated into the appropriate term in the NONNEO or NEOPLASM, and the later was stored in the QVAL. The mind maps of the glossary were created using MindManager.

[Results/Conclusion] The NONNEO terms could cover the majority of the INHAND terms. Since our glossary was comprised all INHAND terms modified by NONNEO terms, it seems to be an efficient and useful tool for creating SEND datasets. However, such storage methods according to SENDIG v3.1 are questionable values for data analysis.

P-69

Changes of pathological terminology of CDISC SEND CT in 2018 and comparison with INHAND terminology

○ Saki Inoue¹⁾, Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Haruko Koizumi¹⁾, Shin-ichi Horikawa¹⁾, Shin-ichi Sato¹⁾, Takayuki Anzai²⁾, Hijiri Iwata²⁾

¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC

As for FDA medicine application, preparation of SEND Data set is required, and SEND IG (Implementation Guide) 3.1 proposed by CDISC will be applied in 2019. According to SEND IG 3.1, synonyms of non-neoplastic lesions with SEND CT (Controlled Terminology) in the study report are required to map as much as possible, and terms not in SEND CT need to be entered in Study Data Reviewer's Guide (SDRG). Therefore, it is necessary to pay attention to the SEND CT terminology together with the INHAND terminology, if we conduct a pathological examination for toxicity study that requires SEND compliance in the future.

SEND CT is published on homepage of CDISC and has been updated once every three months. In this study, we analyzed the changes of SEND CT pathological terminology in 2018. The total number of terms was 185 as non-neoplastic lesion and 298 as neoplastic lesion at the end of September. The total number of non-neoplastic terms in SEND CT was few compared with it of INHAND terms (about 1/4). We would like to introduce the SEND CT terms added or deleted in 2018, together with the comparison with INHAND terminology. In addition, we would like to state the notes and countermeasures in preparing of SEND pathology data from our experiences of making SEND Data SET.

P-70

A questionnaire survey on the image analysis of the digital pathology technology of pharmaceutical companies

○ Tsuyoshi Yoshikawa^{1,2)}, Yasushi Horai^{1,3)}, Yoshiji Asaoka^{1,4)}, Takanobu Sakurai^{1,5)}, Satomi Kikuchi^{1,6)}, Makiko Yamaoka^{1,7)}, Masaharu Tanaka^{1,3,8)}

¹⁾R&D Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA), ²⁾Tokushima Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., ³⁾Sohyaku. Innovative Research Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, ⁴⁾Research Laboratory for Development, Shionogi & Co., Ltd., ⁵⁾Drug Safety and Pharmacokinetics Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., ⁶⁾DMPK and Safety Assessment, Research Center, Mochida Pharmaceutical Co., Ltd., ⁷⁾Watarase Research Center, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd., ⁸⁾R&D Department, Japan Bioindustry Association

[Background] JPMA has been working as a task force (TF) on the theme of "Development of image analysis technology for histopathologic changes" as part of the collaboration for realizing cutting-edge drug development. Digital pathology technology (DPT) has developed in recent years, but there are few applications of the DPT in drug development. From these situations we conducted a questionnaire to survey the current status, needs, possibility or development of image analysis with DPT.

[Methods] The subjects were 35 members of the R&D committee. The questionnaire was for each of Efficacy and/or Safety Pathology Divisions. The questions consisted of the experiences, implementation and issues regarding histopathologic examination, needs for image analysis software, and future views. The survey was anonymized through the JPMA secretariat and returned to the TF, and the TF analyzed it.

[Results & Conclusions] Valid responses were obtained from 26 companies and most of the companies think the benefit of image analysis is to obtain objectivity and persuasiveness, but are struggling with analysis conditions with accuracy and objectivity. There is a strong needs for image analysis software applied DPT, and most of the companies think the part of the histopathologic evaluation will be replaced by computer in the future. In conclusion, these results clarify the needs for the development of image analysis software applied DPT and provide useful information in the development of the software.

P-71*

Quantitative evaluation of histopathological changes using imaging analysis software HALO

○Mao Mizukawa, Yasushi Horai, Yuko Oono, Satomi Nishikawa, Hironobu Nishina, Nobuyuki Baba, Eisuke Kume

Safety Research Laboratories Mitsubishi Tanabe Pharma Coporation

[Background] Quantitative analysis of histopathological changes provides convincing and objective data. However, only a few analyses have been reported in HE slides. In this study, we quantified some histopathological changes in HE slides using an imaging analysis software HALO.

[Material and Method] Whole slide images of the kidney, thymus, and parotid gland were obtained from each HE slides of rats with (treated rats) or without (control rats) histopathological changes using virtual microscope Aperio. The images were analyzed by HALO; the analytical target structures were distinguished and quantified with classifier module. In addition, some of the distinguished structures were analyzed with another module.

[Results] In the kidney, basophilic tubule was distinguished and quantified. The basophilic tubule area were 0% in control rats and 20% in treated rats. In the thymus, cortex and medulla were distinguished and quantified. The cortical area was 80% in control rats and 58% in treated rats (with cortical atrophy). In the parotid gland, acinus and duct were distinguished with classifier module, then, acinus cytoplasm area was quantified with another module. The cytoplasm area was 62% in control rats and 40% in treated rats (with acinar atrophy).

[Conclusion] We could quantify the various histopathological changes in HE slides and distinguish other than the target structures, suggesting that HALO allows more objective evaluation.

P-72

Comparison of fine-tuning deep convolutional neural networks for classification of lung cancer types from cytological images

○Tetsuya Tsukamoto¹⁾, Atsushi Teramoto²⁾, Yuka Kiriyama^{1,3)}, Ayumi Yamada²⁾

¹⁾Department of Diagnostic Pathology, Fujita Health University School of Medicine, ²⁾Faculty of Radiological Technology, Fujita Health University School of Health Sciences, ³⁾Department of Diagnostic Pathology, Narita Memorial Hospital

Lung cancer is a leading cause of death worldwide. Depending on the recent progress of therapeutics, 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 especially in cytological diagnosis. We have previously developed an automated classification scheme for lung cancer cytological images using a deep convolutional neural network (DCNN), resulting in accuracy of 71.9%. In this study, we have evaluated 3 fine-tuning DCNNs including AlexNet, GoogLeNet, and VGG-16 to improve accuracy of classification. AlexNet consists of 5 convolutional, 5 pooling, and 3 fully connected layers; the last layer was modified to classify 3 lung cancer types. Overall accuracy was 75.5%. GoogLeNet possesses 22 layers without fully connected layers with modification to output 3 cancer categories. Accuracy was as low as 70.8%. VGG-16 is constituted with 16 simple layers and resulted in the best value of 76.8% in accuracy. Considering these data, fine-tuning, although depending on the architectures, could be useful for classification of lung cancer cytological images.

P-73***Characteristic for PAXgene fixed paraffin embedded samples**○ Masaki Yamazaki¹⁾, Kiyotaka Nakano²⁾, Osamu Natori²⁾, Masami Suzuki^{1,2)}, Atsuhiko Kato¹⁾¹⁾Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., ²⁾Forerunner Pharma Research Co., Ltd.

In procedure for preparation of pathological sample, it is important that preservation of both morphology and RNA quality for understanding biological insight. PAXgene-fixed paraffin-embedded (XFPE) is known as a pathological sample to satisfy the need for preservation of morphology and high-quality RNA. In this study, we compared the stain patten of H&E and RNA-quality to the other sample preparation procedures (modified methacarn-fixed paraffin-embedded, paraformaldehyde-fixed paraffin-embedded using the AMeX method, formalin-fixed paraffin-embedded, fresh frozen, PAXgene-frozen). Furthermore, we assessed whether XFPE can be applicable for laser capture microdissection (LCM). In XFPE, the morphological feature was similar to that in alcohol-based fixed samples; ghosted red blood cells, cell shrinkage and eosinophilic cell cytoplasm. And the quality of the RNA extracted from XFPE was excellent following by fresh-frozen. XFPE can keep high RNA-quality because less RNA-fragmentation occur comparing to fixations made from formaldehyde. And it can be applied for next generation sequencing analysis. In addition, the quality of RNA was maintained after storage over one year later. RNA quality was found to be best preserved when tissue was cut into pieces of over 5,000 μm^2 . XFPE can be a good tool when used with LCM and RNA-Seq, giving well-balanced RNA quality and tissue morphology.

P-74**Intensive immunofluorescence staining methods for low expression protein and the characteristics**○ Junko Shinozuka¹⁾, Masaki Yamazaki¹⁾, Kiyotaka Nakano²⁾, Shin-ichi Funahashi²⁾, Masami Suzuki^{1,2)}, Atsuhiko Kato¹⁾¹⁾Safety Assessment Dept., Fuji Gotenba Research Labs., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. ²⁾Forerunner Pharma Research Co., Ltd.

Enhanced visualization technique is needed to detect low expression proteins. Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5, or LGR5, is known as a low expression protein. In this study, some enhanced visualization methods in immunofluorescence staining were conducted for detection of LGR5; the Qdot method (a high-brightness fluorophore), Tyramide Signal Amplification (TSA) (high sensitivity is achieved by an accumulated deposition of labeling dye), and the Alexa labeled streptavidin biotin (LSAB) as a control. The detection sensitivity was highest in TSA, whereas subcellular localization of the protein was most clear in the Qdot method. In addition, range of setting condition for taking photos by confocal microscopy was wider in the Qdot method to TSA, so that it was confirmed that the condition setting for the Qdot method is easier than that of TSA. It is thought that these results depend on each principle, namely an accumulation of dye by TSA leads to high background, though it can achieve high sensitivity. While, the Qdot method with high-brightness fluorophore can repress the background because of the high S/N (signal/noise) ratio.

P-75**Three-dimensional structure analysis of podocytes in rat kidney using FIB-SEM**Yasushi Miyauchi¹⁾, Kouhei Ueda¹⁾, Naoko Imura¹⁾, Shin Inamoto²⁾, Yuji Otsuka²⁾, Akiyo Yoshida²⁾¹⁾Department of Bio Research, Kamakura Techno-Science, Inc. ²⁾Morphological Research Laboratories, Toray Research Center, Inc.

[Background and Aim] Transmission electron microscopes (TEM) and scanning electron microscopes (SEM) have been used for morphological analysis of various biological specimens, but they can only create 2-dimensional images (TEM: flat image, SEM: surface image) of the specimen. Therefore, we utilized FIB-SEM tomography technique for 3-dimensional ultrastructure analysis of the biological sample.

[Materials and Methods] A small part of renal cortex containing glomeruli was collected from the SD rat, and the tissue was fixed, stained and embedded in resin for FIB-SEM. The surface of the resin sample was etching in nanometer scale using focused ion beam (FIB) and the image of exposed surface was captured by SEM. This process was repeated to obtain sequential 2-dimensional images. The components of glomerular capillary wall in each image were detected and colored. Mitochondria in podocytes were also colored. Then, the 2-dimensional images with colored parts were organized into a 3-dimensional structure image.

[Results] The 3-dimensional ultrastructure analysis using FIB-SEM showed the new fact that podocytes extended long foot processes to Bowman's capsule and mitochondria inside of podocytes had long-slender shape in the kidney of SD rat. This method is considered to be useful for analyzing ultrastructure of various types of cells and organelles such as mitochondria in biological specimens.

P-76**Method for morphological analysis of 3D cell cultures**○ Etsuko Fujii^{1,2)}, Shigeto Kawai¹⁾, Masaki Yamazaki²⁾, Kiyotaka Nakano²⁾, Atsuhiko Kato²⁾, Masami Suzuki^{1,2)}¹⁾Forerunner Pharma Research Co., Ltd., ²⁾Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

[Objective] 3D cell culture reproduces the 3D structure and function of organs and tissues, and is widely used in medical and biological research. But there is little information concerning appropriate methodology for morphological analyses. Thus, we have attempted to combine a pathological method with whole mount observation.

[Materials and Methods] For histopathological observation, organoids derived from a colon cancer stem cell line were fixed in 4% paraformaldehyde, suspended in agarose solution, centrifuged onto a singular plane and embedded into paraffin by the AMeX method. H&E, AB-PAS, immunohistochemistry (IHC, Ki-67, villin), and immunofluorescence (IF, LGR5) slides were prepared. Then whole mount samples were stained for phalloidin, cleared and analyzed by confocal microscopy.

[Results] Histopathological slides enabled observation of multiple organoids on the same section, and the varying structures of the organoids were identified. AB-PAS, IHC and IF staining was also possible. Consecutive sections were required for an overall 3D view of the structures, but by whole mount the 3D structures including formation of ducts was easily observed.

[Conclusions] A pathological method that enables the observation of multiple organoids on a single plane enabled detailed morphological analysis. Additionally, comprehension of the overall view of the 3D structure was possible by whole mount. Thus we recommend these methods should be used according to the aim of a study.

P-77***Testicular lesions by exposure to trifluoroethanol or trifluoroacetaldehyde in medaka**

○ Yusuke Kuroda¹⁾, Masayuki Kimura¹⁾, Chisato Hayakawa¹⁾, Seigo Hayashi¹⁾, Kazuya Takeuchi¹⁾, Satoshi Furukawa¹⁾, Akihiko Sugiyama²⁾

¹⁾Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Corporation, ²⁾Veterinary Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Okayama University of Science

[Background] Trifluoroethanol (TFE) and trifluoroacetaldehyde (TFALD) induced testicular lesions (injury to spermatocytes and spermatids, etc.) in rats. In this study, medaka exposed to TFE or TFA were histopathologically examined.

[Materials and Methods] Male adult medaka (*Oryzias latipes*) (3 to 6 months old) were used. Medaka were bred in 2 L test solution using the static method. The exposure period was 8 days, and the test solution was exchanged once every 2 days. The exposure concentrations were set at 0, 62.5, 125, 250 and 500 mg/L (5 males in each group) for TFE and 0, 15.625, 31.25, 62.5, 125 and 250 mg/L (6 males in each group) for TFALD.

[Results] In the middle of the exposure period, 1 male died at 125 mg/L in the TFE group, and all males died or were euthanized at 250 mg/L or more in the TFE group and at 125 mg/L or more in the TFALD group. In surviving males, degeneration and necrosis of spermatocytes and spermatids were observed at 62.5 mg/L or more in the TFE group and at 15.625 mg/L or more in the TFALD group, and obvious reduction of spermatids was also observed at high concentrations.

[Conclusion] TFE and TFALD also induced the testicular lesions in medaka. It was considered that the lesion in medaka might be a similar mechanism to the testicular lesion induced in rats because effects of spermatocytes and spermatids were observed in the lesion in medaka.

P-78***Investigation of the usefulness of laser capture microdissection on mechanism analysis of retinal toxicity**

○ Makoto Shirai, Takashi Aoki, Noriyo Niino, Kazunori Fujimoto, Masako Imaoka, Kiyonori Kai, Kazuhiko Mori

Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

[Background] The retina consists of several layers and each of them can be a toxic target. Therefore, analysis of retinal toxicity mechanism using whole eye samples may be difficult because of dilution of layer-specific signal changes. We investigated usefulness of laser capture microdissection (LCM) to assess mechanism of retinal toxicity by GeneChip analysis.

[Materials and Methods] Female CrI:CD(SD) rats were administered N-methyl-N-nitrosourea (MNU) once intraperitoneally at 60 mg/kg, and necropsied at 6 hours after the dosing. LCM samples were prepared to collect outer nuclear layers (ONL) and rod and cone photoreceptor layers (PRL) from frozen sections, which are known to be toxic targets of MNU. Whole eye (WE) samples were prepared by macroscopically removing lens, vitreous bodies, and corneas and then immediately freezing the rest eyes at necropsy.

[Results] GeneChip analysis on these samples revealed that the expressions of inflammatory genes dynamically changed in WE samples. Meanwhile, the expression of genes related to glycolysis altered in LCM samples. In addition, expression changes of most of these glycolytic genes were not be detected in WE samples, although WE samples contained ONL and PRL.

[Conclusion] It is suggested that layer-specific changes of gene expressions in the retina can be detected by collecting the layer using LCM, and LCM is useful in the mechanistic studies of retinal toxicity by GeneChip analysis.

発表者索引

A

阿部 正義	O-07
油谷 浩幸	SL-1
赤川 唯	P-57
赤木 純一	O-08, P-09, P-59
赤堀 有美	O-04
赤根 弘敏	P-52
明石 知也	S1-3
秋江 靖樹	P-52
秋吉 秀保	P-27
安藤 亮介	S2-4
安藤 さえこ	P-11
安齋 享征	P-69
青木 貴志	P-78
荒井 剛志	P-34
浅沼 秀樹	O-09
浅岡 由次	P-70

B

馬場 伸之	S1-3, P-35, P-71
Bradley, A	P-66

C

Chambers, James	P-15
千葉 克芳	P-41
千早 豊	P-04
Cho, Young-Man	O-08, P-09, P-59
崔 賢智	P-32

D

Dixon, Darlene	IATP
土肥 孝彰	P-29
土居 卓也	P-50, P-55, P-56, P-57
土井 悠子	W-7

E

江田 景	P-52
枝元 洋	P-68
榎本 祐子	P-07
遠藤 克己	P-34

F

不二 哲	O-01
------	------

藤井 悦子	P-10, P-76
藤井 雄太	P-67
藤木 勝也	P-35
藤本 和則	P-78
藤本 成明	O-03
藤岡 正喜	O-02, P-19, P-25, P-37, P-43
藤原 史織	P-48
藤原 利久	W-4
深町 勝巳	P-11
舟橋 真一	P-10, P-74
古畑 啓子	O-09
古川 賢	O-07, P-77

G

高 臨風	P-22
魏 民	O-02, P-19, P-25, P-37, P-43
Goodman, DG	P-66

H

萩原 仁美	P-53
袴田 和巳	S1-4
袴田 志野婦	P-28
浜口 功	O-09
濱本 周造	S2-4
浜村 政夫	P-62
濱岡 仁美	O-05
浜崎 景	P-33
花岡 文雄	P-09
原 健史	P-16
原 陽子	P-65
原田 紗枝	P-13
原田 孝則	P-08, P-66
長谷川 悠子	P-64
橋口 収	P-06
橋本 希	P-42, P-44, P-45
畠山 洋文	W-6, P-69
早川 知里	O-07, P-77
林 清吾	O-07, P-77
林 新茂	P-03, P-13, P-20, P-66
Harbert, R	P-66
樋口 仁美	P-40
平舘 裕希	O-09

平田 暁大	P-14
平塚 未夢	P-33
平山 由佳理	P-33
北條 幹	P-46, P-64
本多 久美	P-41
洞井 康	P-70, P-71
堀川 真一	P-69
星谷 達	W-1, P-68

I

市川 敦子	P-52
井手 鉄哉	O-08, P-59
伊倉 佐織	P-06, P-28
池上 雅博	P-47
池崎 信一郎	W-1, P-06
今井 順	P-34
今井 俊夫	S2-1, P-63
今井田 克己	P-42, P-44, P-45
今泉 隆人	P-34
今村 健志	SL-2
今岡 尚子	P-78
井村 奈緒子	P-75
稲元 伸	P-75
猪又 明子	P-46, P-64
猪又 晃	W-5, P-16
井上 紗季	W-6, P-69
石黒 結唯	P-26
石井 真美	P-19
石井 雄二	P-23, P-26, P-61
石川 俊平	P-10
磯部 厚志	P-53
伊藤 格	P-34
伊藤 強	P-08
伊藤 裕子	O-05
伊藤 優子	O-04, P-02, P-03
岩本 和樹	S1-4
岩田 聖	W-6, P-32, P-66, P-69
井澤 武史	P-17, P-18, P-27
出雲 友扶子	P-12

J

Jacobsen, M	P-66
金 美蘭	P-24

K

甲斐 清徳	S1-4, P-28, P-41, P-78
鍛冶 秀文	S1-3
梶村 哲世	W-6
梯 アンナ	O-02, P-19, P-25, P-37, P-43
柿本 恒知	P-68
柿沼 千早	P-16
金瀬 茜	P-07
神鳥 仁志	P-65
金原 智美	P-34
蟹江 尚平	P-42
菅野 剛	P-56, P-57
Karim, Mohammad	P-17
笠原 健一郎	P-06
櫻村 茜	S1-3, P-35
片岡 広子	P-41
加藤 淳彦	P-10, P-73, P-74, P-76
加藤 寛之	O-01, O-06, P-30
加藤 正巳	P-34
加藤 由隆	P-08
河部 真弓	W-7, P-40
川部 美史	P-14
川口 博明	P-51
川合 重人	P-76
川迫 一史	P-56
数野 公正	P-53
Keenan, CM	P-66
Kellner, R	P-66
煙山 紀子	P-13, P-20, P-21, P-22, P-31, P-64
木島 綾希	P-23, P-26
木嶋 綾希	P-61
菊池 耕平	P-20
菊池 玲美花	P-23
菊地 聡美	O-04, P-02, P-03, P-70
金 恵貞	P-32
木村 均	P-34
木村 真之	P-77
木下 勇一	P-33
桐山 諭和	P-72
北浦 敬介	P-01, P-39
小林 欣滋	P-04, P-49
小林 亮介	P-57
小林 由幸	O-07
河内 眞美	P-67
古賀 真昭	P-54
郡 健二郎	S2-4

小池 恒雄	P-34
小泉 治子	W-6, P-69
爰島 洋子	P-50, P-57
小松 雅明	S2-3
河村 大輔	P-10
近藤 洋一	O-05
孔 ミンジョン	P-32
小西 静香	P-54
小西 良子	P-02
小沼 克安	P-34
小寺 喬	P-54
小山 彩	P-08
小山 千尋	P-07, P-33
小柳 美穂子	P-03, P-13, P-20
熊谷 和善	P-41
久米 英介	P-35, P-71
倉持 瑞樹	P-17, P-18, P-27
倉田 昌明	P-05
黒田 雄介	O-07, P-77
黒滝 哲郎	P-56
黒住 誠司	P-07
楠 英樹	O-09
桑村 充	P-17, P-18, P-27

M

町田 雪乃	P-63
前田 一葉	P-53
前田 優	P-41
前野 愛	P-46, P-64
Mahler, B	P-66
牧田 慶子	P-16
政次 美紀	P-05
増渕 康哲	O-04, P-02, P-03
増本 直子	P-59
松田 崇斗	P-53
松本 晴年	P-11
松本 泉美	P-67
松本 智志	P-01
松尾 沙織里	W-3, P-10
松下 久美	P-34
松下 幸平	P-36, P-38, P-60
松浦 哲郎	P-12
松山 睦美	O-03
米良 幸典	W-7, P-40
Meseck, E	P-66
南澤 由佳	P-58
満石 三喜男	P-62
三浦 麻里安	P-33

美谷島 克宏	P-13, P-20, P-21, P-22, P-31, P-64
宮内 泰	P-75
宮脇 出	P-67
水上 拓郎	O-09
水川 真緒	P-35, P-71
水田 保子	O-08, P-59
百瀬 暖佳	O-09
森 和彦	P-28, P-41, P-78
森 崇	P-14
森川 朋美	P-36, P-38, P-60
森岡 舞	W-7, P-40
森山 亜紀子	P-04, P-49
守安 貴子	P-46, P-64
諸木 孝泰	P-01, P-39
村上 雄一	P-35
村松 大	P-58
村瀬 詩織	P-34
武藤 朋子	P-47

N

長野 嘉介	P-53
永田 一郎	P-04
永谷 真理子	W-1, P-48
永吉 司	P-20
名倉 かれん	P-13
Nahid, Rahman	P-18
内木 綾	O-01, O-06, P-30
中江 大	P-13, P-20, P-21, P-22, P-31, P-46, P-64
仲井 杏海	P-20
中島 康太	O-04, P-02, P-03
中村 賢志	P-61
中村 くるみ	P-26
中村 優佳	P-31
中野 清孝	P-10, P-73, P-74, P-76
中島 亘	P-15
中島 正洋	O-03
中山 裕之	P-15
中澤 朋美	P-06
成澤 裕子	P-42, P-44, P-45
名取 修	P-73
根本 真吾	P-05
二井 愛介	P-58
新野 訓代	P-78
西飯 直仁	P-14
西川 智美	P-71
西村 悠花里	P-01, P-39

仁科 嘉修 P-35, P-71
 西沢 隆 P-10
 野口 貴子 P-07
 野島 孝之 S1-5
 Nolte, T P-66
 野沢 美波 P-13
 沼倉 佑樹 P-54
 沼野 琢旬 W-7, P-40

O

小川 久美子 O-08, P-09, P-23,
 P-26, P-36, P-38,
 P-59, P-60, P-61
 小川 秀治 P-13, P-20, P-21, P-22
 大畑 敬一 P-21
 大森 治夫 P-09
 大澤 徹也 P-41
 太田 毅 P-21, P-31
 大石 裕司 P-43
 岡田 淳志 S2-4
 岡戸 恵子 P-28
 岡本 芳晴 P-07
 岡野 拡 P-48
 岡山 祐弥 P-47
 岡崎 欣正 P-08
 奥田 須美子 P-52
 奥野 高裕 O-02, P-19, P-37, P-43
 大野 祐子 S1-3, P-71
 押方 孝文 P-62
 大嶋 成奈優 P-12
 大塚 祐二 P-75
 尾崎 清和 P-12

P

朴 チャンヒ P-32
 Pervin, Munmun P-17

R

Rahman, Nahid P-17
 Rittinghausen, S P-66
 Ruehl-Fehlert, C P-66
 龍 完次朗 P-21, P-22

S

齋藤 文代 O-04
 斎藤 奈津美 P-22
 齋藤 翼 P-06

酒井 洋樹 P-14
 坂本 義光 P-46, P-64
 阪田 佳紀 P-16
 櫻井 健 P-41
 櫻井 孝信 P-70
 佐野 智弥 P-65
 佐々木 永太 O-09
 佐々木 朋 P-29
 佐藤 寛子 S1-3
 佐藤 順子 W-2, P-55, P-56
 佐藤 公彦 P-07
 佐藤 恭子 P-59
 佐藤 亮 P-01, P-39
 佐藤 伸一 W-6, P-69
 佐藤 洋 P-05
 関谷 明生 P-57
 柴田 雅朗 O-05
 渋谷 淳 O-04, P-02, P-03
 志賀 敦史 P-08
 清水 茂一 P-52
 新家 由実子 P-33
 篠原 雅巳 P-21, P-31
 篠塚 淳子 P-74
 白井 真人 P-78
 早場 純子 P-53
 杉本 直樹 P-59
 杉野 輝明 S2-4
 杉山 晶彦 O-07, P-77
 杉山 光 P-47
 杉山 大揮 W-7, P-40
 諏訪 浩一 P-68
 酒々井 眞澄 P-11
 鈴木 勇 P-48
 鈴木 佳奈恵 P-20
 鈴木 雅実 P-10, P-32, P-73,
 P-74, P-76
 鈴木 周五 O-01, O-06, P-30
 鈴木 俊也 P-64, P-46

T

多田 幸恵 P-46
 多胡 善幸 P-19
 田口 和己 S2-4
 田原 春菜 P-05
 高木 みづほ P-48
 鷹橋 浩幸 P-47
 高橋 尚史 P-08

高橋 智 O-01, O-06, P-30
 高橋 武司 S2-2
 高須 伸二 P-23, P-26, P-61
 竹井 重矢子 P-22
 武井 由弘 W-6
 竹之内 明子 P-07, P-33
 武田 賢和 S1-2
 竹内 和也 O-07, P-77
 玉井 聡 P-41
 玉野 静光 W-7
 田中 広治 S1-3
 田中 雅治 S1-3, P-70
 田中 義久 O-05
 田中 勇太郎 S2-4
 唐 倩 P-24
 谷本 昭英 P-51
 田崎 雅子 P-53
 田添 晴椰 P-22
 Teh, Angeline Ping Ping P-63
 張 舜恵 P-20, P-21, P-22, P-31
 寺本 篤司 P-72
 寺尾 壽子 P-53
 寺山 由依 P-01, P-12, P-39
 栃谷 智秋 P-67
 友成 由紀 P-55, P-56, P-57
 豊田 武士 O-08, P-09, P-36,
 P-38, P-60
 戸澤 啓一 S2-4
 土谷 稔 P-50, P-55, P-56, P-57
 土屋 卓磨 S1-4, P-01, P-39
 辻 菜穂 O-07
 辻 佑佳 P-27
 塚本 徹哉 P-72

U

内田 和幸 P-15
 打屋 尚章 P-63
 宇田 一成 W-7
 上田 耕平 P-75
 上田 誠 P-54
 梅村 隆志 P-23, P-26, P-61
 畝山 瑞穂 P-15
 海野 怜 S2-4
 宇野 絹子 P-20, P-21, P-22, P-31

V

Vahle, J P-66

W

涌生 ゆみ	P-62
和久井 信	P-47
王 剣	P-24
王 自力	P-24
鰐淵 英機	O-02, P-19, P-25, P-37, P-43
渡邊 厚	P-13, P-21, P-22, P-20
渡辺 純	W-6
渡邊 聖栄子	P-22
Weber, Klaus	W-8

Y

矢吹 悠乃	P-49
山田 あゆみ	P-72
山田 直明	P-56
山田 貴宣	P-36, P-38, P-60

山際 慶典	P-05
山口 宏明	P-58
山口 理紗子	P-13
山口 貴嗣	P-25, P-37
山口 裕子	W-1, P-06, P-28, P-48, P-68
山川 けいこ	P-42, P-44, P-45
山川 誠己	W-1, P-68
山川 達也	P-16
山岡 牧子	P-70
山下 由真	P-29
山手 丈至	P-17, P-18, P-27
山崎 雅輝	S1-1, P-73, P-74, P-76
柳井 徳磨	P-14
安井 孝周	S2-4
安野 恭平	P-28
横平 政直	P-42, P-44, P-45

横井 雅幸	P-09
吉田 晃世	P-75
吉田 翔太	P-42, P-45
吉田 敏則	O-04, P-02, P-03
吉川 佳佑	S1-3
吉川 剛	P-01, P-39, P-70
吉見 直己	P-11
吉野 有香	P-67
吉崙 響子	P-14
義澤 克彦	P-07, P-33, P-66
柚川 藍色	P-04, P-49
行松 直	O-02, P-37, P-43
行光 由莉	P-07
湯澤 勝廣	P-64

Z

張 梅	P-24
-----	------

第35回日本毒性病理学会総会及び学術集会
講演要旨集

編 集 第35回日本毒性病理学会総会及び学術集会事務局
株式会社未来創薬研究所
〒153-8904 東京都目黒区駒場4丁目6番1号
東京大学駒場オープンラボラトリー
責任者 鈴木 雅実

印刷・製本 株式会社アイベック

病理組織標本作製は

さらなる進化へ

「バーチャルスライド受託を開始しました」
HE染色や特殊染色および免疫組織化学染色などの明視野スライドから蛍光重染色などの暗視野スライドまで、病理用スライドをバーチャル化することで、大切な研究用データを半永久的に保存することが可能になりました！

●組織標本作製

HE染色標本作製(医薬品、化学物質、農業GLP:複数場所試験、non-GLP)
特殊染色標本作製(PAS, MT, Azan, Sirius Red, Golgi染色など多数)
免疫組織化学染色(CD関連, IL抗体, TUNEL, 8-OHdG, 4HNE染色等多数)
凍結切片・凍結非脱灰標本作製(脂肪染色・免疫染色対応)

●組織学的検査

一般病理組織学的検査
開発スクリーニングにおける病理組織学的検討
作用メカニズム・作用部位等の基礎検討における組織学的検討
病態動物における組織学的検討

●病理学的研究コンサルタント

研究企画から最終報告書まで

病理組織標本作製および検査

株式会社 バイオ病理研究所

Biopathology Institute Co.,Ltd

〒873-0511

大分県国東市国東町小原1200-2

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

E-Mail: mail@biopathology.jp

URL : http://www.biopathology.jp

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 <https://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

東京本社

〒104-0044 東京都中央区明石町8-1 聖路加タワー 28階
電話:03-5565-6140 ファクシミリ:03-5565-6141

薬物代謝分析センター

〒642-0017 和歌山県海南市南赤坂16-1 海南インテリジェントパーク内
電話:073-483-8881 ファクシミリ:073-483-7377

大阪支社

〒541-0044 大阪市中央区伏見町2-1-1 三井住友銀行高麗橋ビル
電話:06-6233-8432 ファクシミリ:06-6233-8433



騒音、高所、振動など作業者のストレス軽減により作業効率を向上させます

イオンベンチ



昇降幅71-123cm



昇降幅 71-123cm



昇降幅45-75, 57-87cm

Liftable

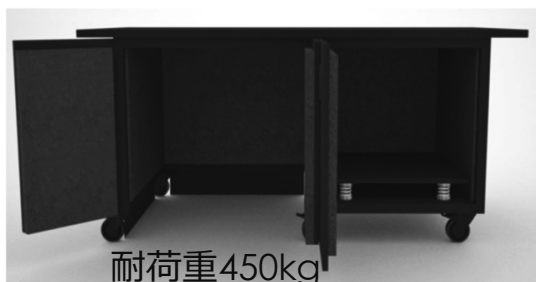
Motorized

Space Flexibility

- **電動昇降**（ギアタイプ）昇降幅は上記
- **人間工学的**に繰り返し作業を行う場合に体にかかるストレスを最小限化
- 搭載機器に合わせた耐荷重**70kg~250kgのバリエーション**
- 顕微鏡等の比較的軽量の装置に最適
- **可動式**で3Dに転回・移動が可能
- **ポジションメモリー**と各種オプション

<防音関連>

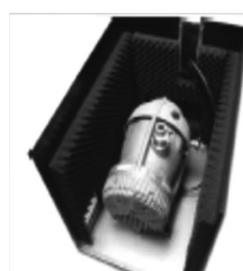
防音庫付可動実験台



耐荷重450kg

防音用エンクロージャー

80%騒音カット



アルテア技研株式会社

〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3-23-3

TEL:045-473-6211 / FAX:045-473-2884

インビボサイエンス株式会社

ヒト化マウスモデルに最適な
CIEA 次世代 NOG マウスラインをご提供いたします！

広がるヒト免疫システム再構築モデル ポートフォリオ



NOG マウス

- ・ヒト化マウスの基盤となる超免疫不全マウス
- ・多様な異種移植およびヒト細胞の生着が可能
- ・がん、感染症、免疫学、CAR-T、iPS、およびヒト化免疫系移植に関する研究に使用
- ・ヒト造血幹細胞 (hHSC) を移植した NOG (huNOG) として納品することも可能



NOG-EXL マウス

- ・ヒト GM-CSF およびヒト IL-3 を発現する NOG マウス
- ・hHSC の生着率が高く、優れた骨髄性細胞への分化を示す
- ・hHSC を移植した、huNOG-EXL として納品することも可能
- ・ヒト急性骨髄性白血病の移植のための適切な宿主



hIL-2 NOG マウス

- ・ヒト IL-2 を発現する NOG マウス
- ・hHSC 生着後、ヒト NK 細胞を優勢分化



hIL-6 NOG マウス

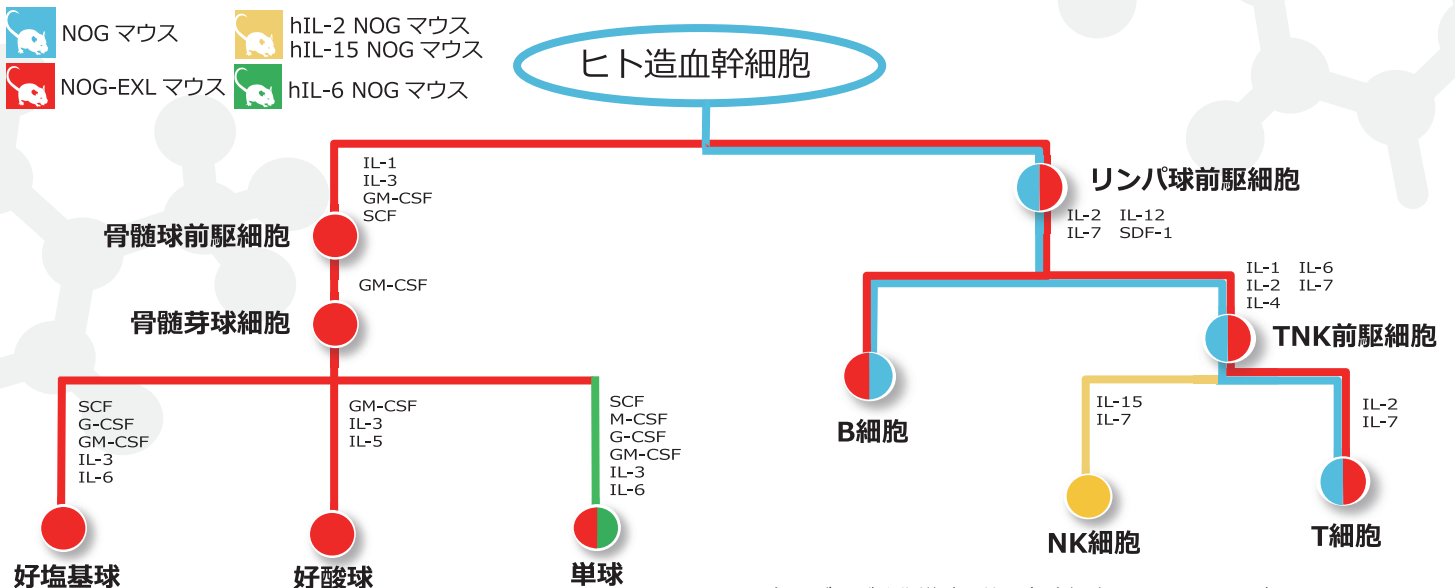
- ・ヒト IL-6 を発現する NOG マウス
- ・ヒト多発性骨髄腫移植の適切な宿主
- ・hHSC 生着後、ヒト単球を優勢分化



hIL-15 NOG マウス

- ・ヒト IL-15 を発現する NOG マウス
- ・末梢血単核細胞 (PBMC) に由来する CD56 陽性 NK 細胞の移植により、ヒト NK 細胞が生着および増殖

免疫細胞分化およびヒト免疫再構築マウス



※各モデルが分化増殖可能な免疫細胞をアイコンと同色で示しております

お問い合わせ

インビボサイエンス株式会社

〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町3丁目25番12

TEL : 044-201-8518

FAX : 044-201-8519

WEB : www://invivoscience.com

e-mail : sales@invivoscience.com