



The 36th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

第36回

講演要旨集

# 日本毒性病理学会総会 及び学術集会

新しい世界へ: 毒性病理学と日本毒性病理学会のこれから

年会長 中江 大(東京農業大学)



会期

2020年 2月13日(木)・14日(金)

場所

東京農業大学世田谷キャンパス  
百周年記念講堂・1号館



日本毒性病理学会  
Japanese Society of Toxicologic Pathology

東京農業大学  
助成金交付学術集会



# 第36回日本毒性病理学会総会及び学術集会

## 目 次

第36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
情報交換会会場へのアクセス	8
会場案内	9
ポスター・商業展示	11
参加者・座長・発表者の方々への重要なお知らせ	12
参加者へのご案内	13
座長の方々へ	16
発表者の方々へ	16
後援・協賛法人・企業一覧	18
日本毒性病理学会のあゆみ	19
日程表	20
司会・座長一覧	22
プログラム	
年会長特別セッション	24
特別セッション	24
シンポジウム	25
ワークショップ	26
IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture	26
ポスター	27
講演要旨	
年会長特別セッション	41
特別セッション	43
シンポジウム	46
ワークショップ	55
IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture	59
ポスター	61
発表者索引	206



# 第36回日本毒性病理学会総会及び学術集会

## The 36th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

1. 期 日                   2020年2月13日(木)・14日(金)
2. 会 場                   東京農業大学 世田谷キャンパス  
〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1  
Tel: 03-5477-2539
3. テーマ                 新しい世界へ：毒性病理学と日本毒性病理学会のこれから
4. 年会長                 中江 大  
(東京農業大学)
5. プログラム委員会  
委員長     古川 賢 (日産化学株式会社)  
副委員長   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)  
菅野 剛 (株式会社 LSI メディエンス)  
魏 民 (大阪市立大学)  
白井 紀充 (Pfizer Incorporated)  
中野今日子 (エーザイ株式会社)  
林 新茂 (東京農工大学)  
藤原 利久 (株式会社新日本科学)  
山口 裕子 (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)  
渡辺 武志 (武田薬品工業株式会社)  
(50音順)
6. 事務局  
東京農業大学 応用生物科学部  
〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1  
食品安全健康学科 食品安全評価学研究室  
Tel: 03-5477-2539 Fax: 03-5477-2527  
E-mail: jstp36@nodai.ac.jp  
事務局長： 美谷島 克宏  
事務局次長： 煙山 紀子
7. 事務局補佐  
株式会社アイベック  
〒170-0002 東京都豊島区巣鴨 1-24-12  
Tel: 03-5978-4067 Fax: 03-5978-4068  
E-mail: jstp36ip@ipec-pub.co.jp
8. ホームページ         <http://www.ipec-pub.co.jp/36jstp/>





# 年会長挨拶

第36回日本毒性病理学会総会及び学術集会

年会長 中江 大

東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科

第36回日本毒性病理学会総会及び学術集会（年会）の会長（年会長）を拝命いたしました。精一杯務めさせていただきます。第36回年会は、2020年2月13日（木）および2月14日（金）の2日間、東京都世田谷区の東京農業大学 世田谷キャンパスにて開催する予定です。加えて、前日の2月12日（水）には、恒例により、認定毒性病理学専門家資格認定試験問題の解説と第32回スライドカンファレンスが開催されます。

毒性病理学は、医薬品・（残留）農薬・食品関係化学物質・化成品・化粧品など様々な化学物質のヒトに対するリスクを、形態学的手法を基盤とし、生化学・生理学・分子生物学などの隣接分野に由来する多彩な方法を駆使して評価する学問です。日本毒性病理学会（JSTP）は、毒性病理学の進化・発展を目的として設立され、これまで多くの研究成果を生み出し、当該成果を以て科学と社会に多大に貢献して参りました。しかし、JSTPを取り巻く内外の状況は、かなり厳しいものです。たとえば、近年開発が進むバイオ医薬品・核酸医薬品などでは、低分子医薬品に比べ、毒性病理学の活躍の場である動物を用いた「毒性試験のニーズ」が低くなっています。加えて、動物福祉推進による動物実験の減少、動物実験代替法の進展、毒性評価における *in silico* 手法の発達や、人工知能（AI）技術を用い蓄積された臨床知見を医薬品開発に利用するリアルワールドデータ／エビデンスの利用が今後進展することが予想されます。しかしそのような状況下であっても毒性病理学専門家の需要がなくなることはなく、むしろ変化する科学的・社会的情勢の下で JSTP は今後も社会から必要とされる毒性病理学の維持・発展、そして、その専門家の育成を担っていかねばなりません。そのために、JSTP は、その活動範囲を拡大する必要があります。ひとつの方向性は、医薬・農薬など従来の対象分野に拘らず、毒性病理学を含む安全性評価への関心が高い新たな分野に発展し、それら分野を取り込むことです。たとえば食品分野は、これまでも一部対象としてきましたが、今後、主たる対象分野の一角として位置付けるべきです。そしてもちろん、取り組むべき分野は、食品分野に限りません。いまひとつの方向性は、新たな科学技術を取り込んだ守備範囲の拡大です。JSTP は、これまで動物実験に対する形態病理学的解析を基盤とする、古典的な意味での「毒性病理学」を重視してきました。もちろんこれまでも分子生物学／工学やハイスループット技術に立脚した新しい手法を取り込んできましたが、今後はさらに積極的に新しい手法に取り組み、既に一部で応用も始まっている *in silico* 病理学・細胞病理学（*in vitro* 病理学）、動物実験代替法や幹細胞を用いる新評価法・実験手法における病理学、リアルワールドデータ・AIを用いる新評価法・実験手法における病理学、などの取り込み・実装を図らねばならないものと考えます。また、JSTP は、これまでの実績に基づき、毒性病理学者の知識・経験・識見を駆使して、安全性情報を一般社会に正しく伝える、リスクコミュニケーションの分野にも、自ら積極的に関与していくべきです。

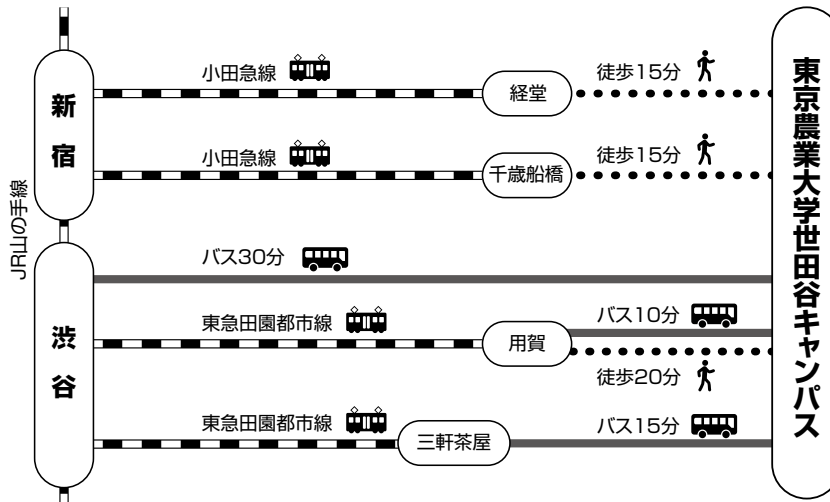
年会は、会員が最新の知見・情報を交換・共有し、また、若手を教育する場として機能し、JSTP の活動の核として、その社会貢献において重要な位置を占めるものです。したがって、第36回年会においては、「新しい世界へ：毒性病理学と日本毒性病理学会のこれから」をテーマとして掲げ、科学的・社会的な環境やニーズが大きく変化しつつある中、それらに対応して進化する、また、進化すべき毒性病理学と JSTP の現在と将来を論じ合う場を提供することを計画し、プログラム委員会を中心に魅力ある企画を模索し、国内外の最前線のインフルエンサーたる第一人者の方々による指定演題の講演セッション（特別セッション・シンポジウム・ワークショップ等）のほか、現場の研究者による一般演題のポスターセッションも併せ、参加者に満足していただく計画を練っているところです。第36回年会では、参加して下さる皆様に毒性病理学の将来がどうあるべきか、また、それぞれがその中で如何に行動すべきかについて想いをいたしていただき、それらに基づいた楽しい情報収集・意見交換・人的交流を行っていただければ幸いです。それでは、多くの皆様方の御参加を心よりお待ちしております。

さあ御一緒に、新しい世界へ!!





# 会場へのアクセス



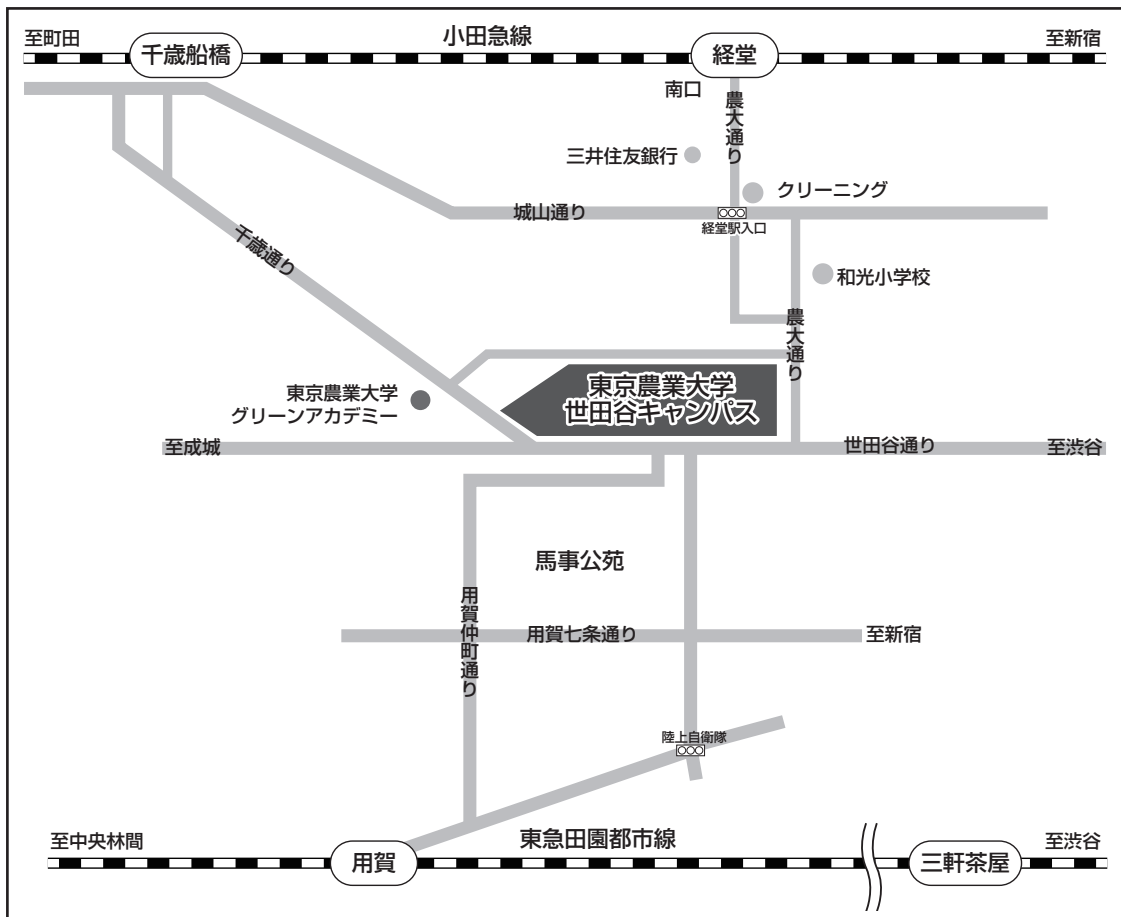
**小田急線**  
 経堂駅下車  
 徒歩 約15分

千歳船橋駅下車  
 徒歩 約15分  
 バス 約5分 (千歳船橋駅～農大前)  
 <東急バス>  
 渋谷駅行 (渋23)  
 等々力操車所行 (等11)  
 用賀駅行 (用01)

**JR山の手線**  
 渋谷駅下車 (渋谷駅西口)  
 バス 約30分 (渋谷駅～農大前)  
 <小田急バス>  
 成城学園前駅西口行 (渋24)  
 調布駅南口行 (渋26)  
 <東急バス>  
 成城学園前駅西口行 (渋24)  
 祖師ヶ谷大蔵駅行 (渋23)

**東急田園都市線**  
 用賀駅下車  
 徒歩 約20分  
 バス 約10分 (用賀～農大前)  
 <東急バス>  
 祖師ヶ谷大蔵駅行 (用01)  
 渋谷駅行 (渋22)

三軒茶屋駅下車  
 バス 約15分 (三軒茶屋～農大前)  
 <東急バス>  
 祖師ヶ谷大蔵駅行 (渋23)  
 成城学園前駅西口行 (渋24)  
 用賀駅行 (渋22)  
 <小田急バス>  
 成城学園前駅西口行 (渋24)  
 調布駅南口行 (渋26)

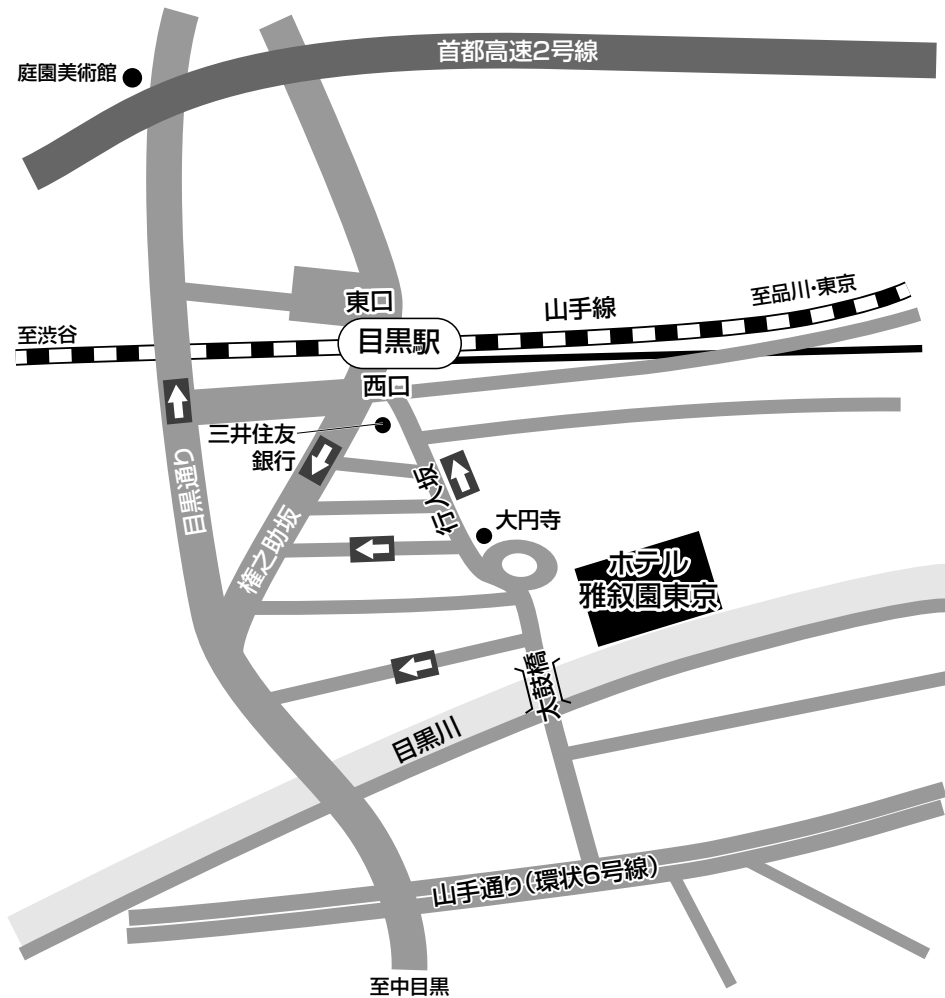


## 情報交換会会場へのアクセス

### ホテル雅叙園東京

#### ●シャトルバス（無料）のご案内●

東京農大の農大サイエンスポート右側の駐車場からホテル雅叙園東京への無料バスを運行します。是非ご利用ください。17時30分から順次出発いたします。



#### <電車でお越しの場合>

目黒駅より徒歩3分

目黒駅（JR山手線西口、東急目黒線、地下鉄南北線・三田線）より行人坂を下って徒歩3分。権之助坂を下って徒歩5分。

<主要な駅から目黒駅までの所要時間>

内回り：渋谷5分、新宿11分、池袋20分

外回り：品川7分、浜松町12分、東京20分

#### <お車でお越しの場合>

首都高速2号線 目黒ランプより3分

首都高速2号線目黒ランプを降りすぐ右折車線へ。上大崎交差点を右折し、目黒駅を過ぎて、二つ目の信号の先を左折してください。

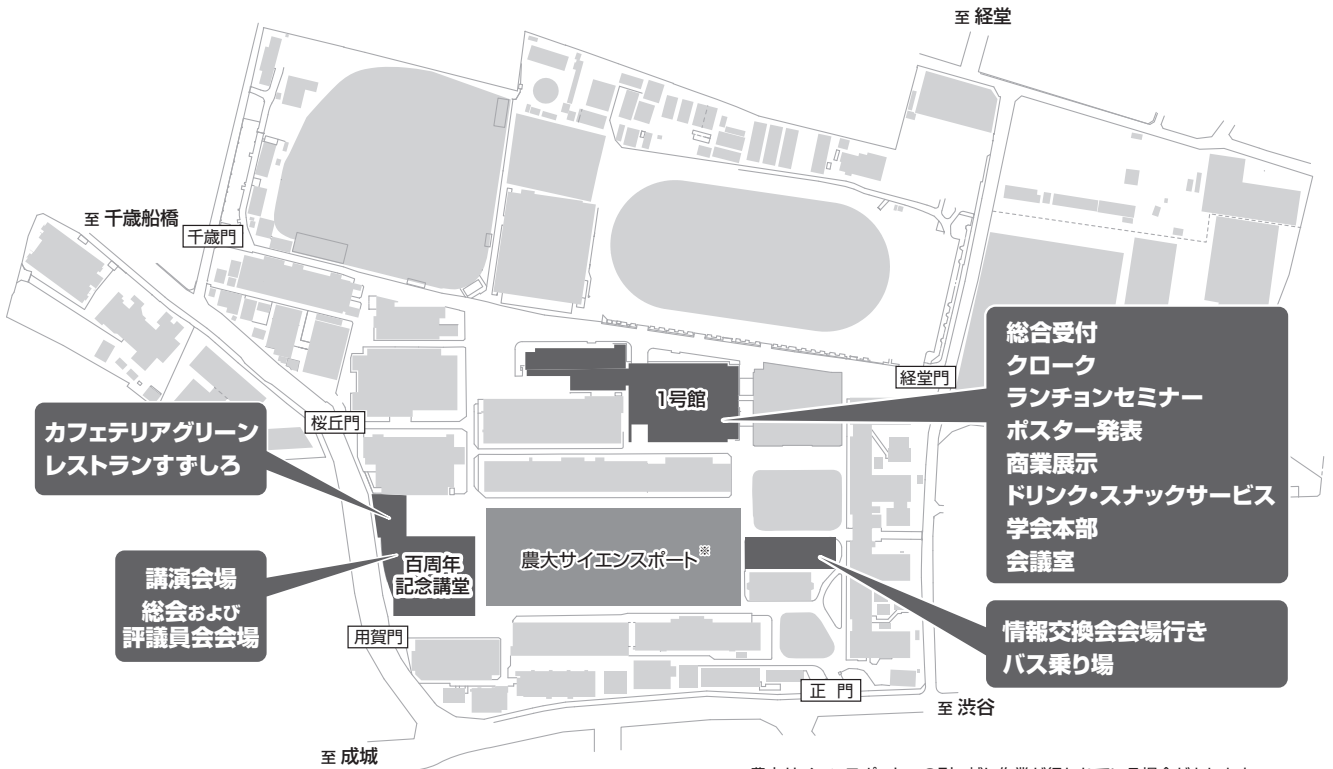
#### <無料ホテルバスのご案内>

JR目黒駅 東口より無料ホテルバスをご用意しております。

停車場にバス停はございませんので、バスが到着しましたら随時ご乗車ください。

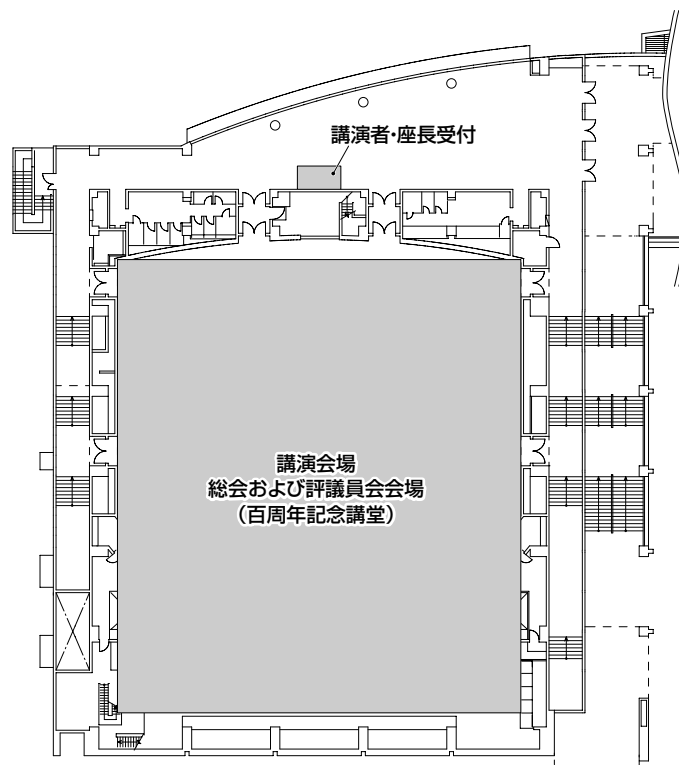
タクシー乗り場の並び、目黒駅前交番前付近がバス乗車箇所となります。

# 会場案内



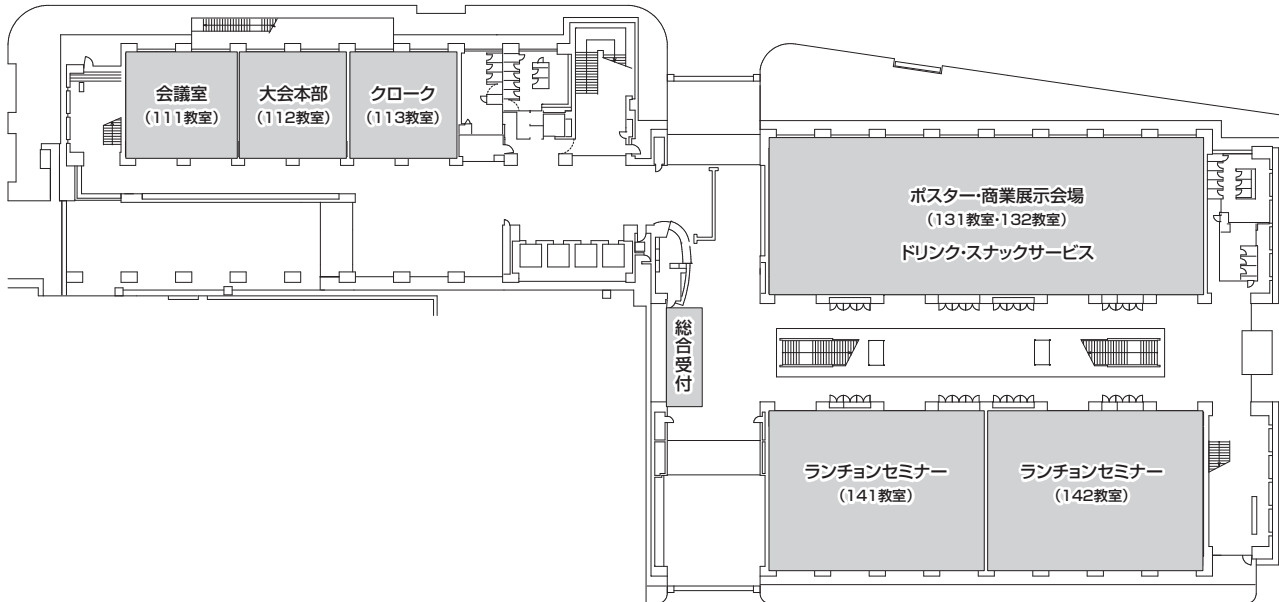
※農大サイエンスポートへの引越し作業が行われている場合があります。  
機材の搬入等により、ご迷惑をお掛けしますが、ご了承の程お願いいたします。

## 百周年記念講堂

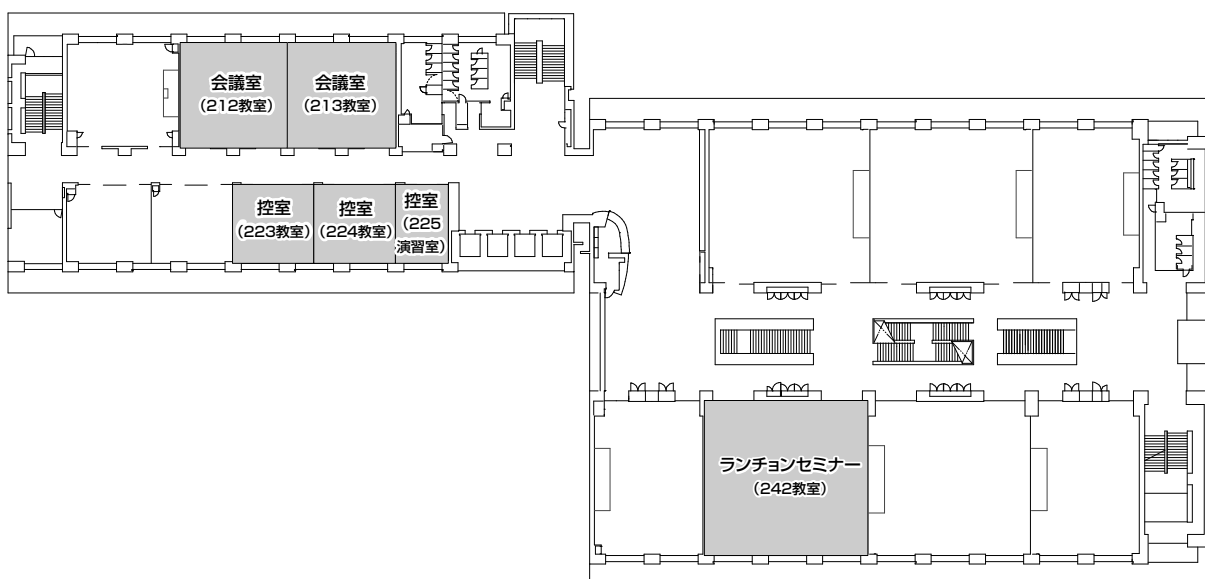


# 会場案内

## 1号館1階

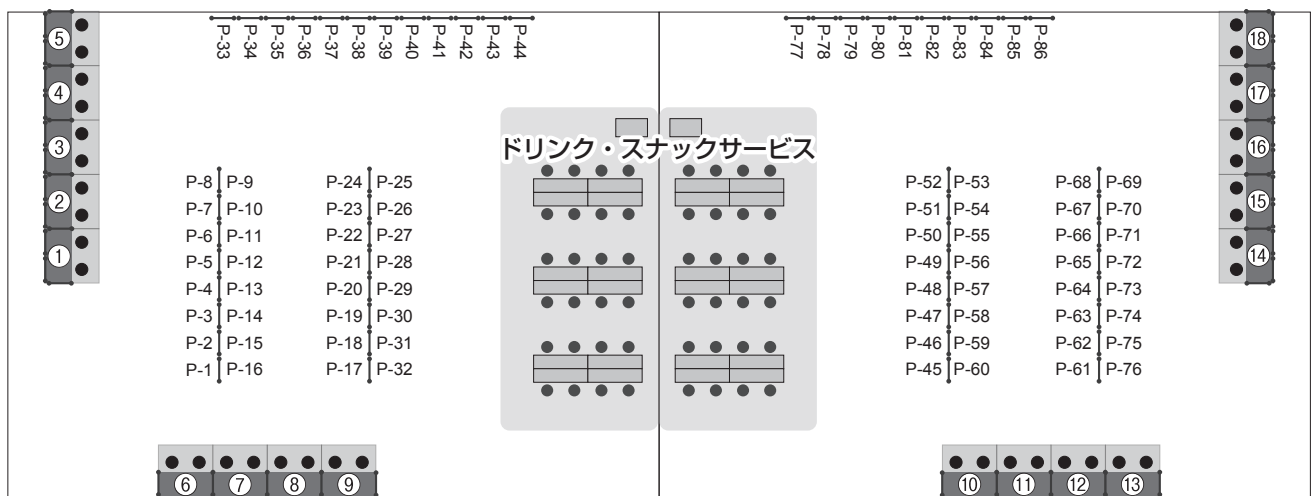
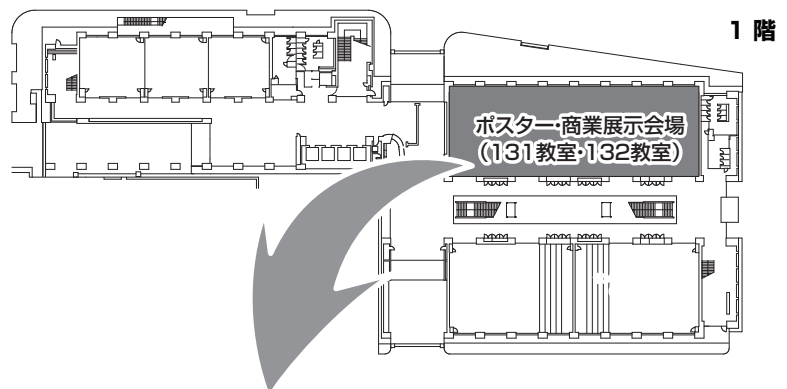


## 1号館2階



# 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	株式会社イナリサーチ	10	株式会社ボゾリサーチセンター
2	PDS パソロジー・データシステムズ・リミテッド	11	株式会社新日本科学
3	日本エスエルシー株式会社	12	株式会社鎌倉テクノサイエンス 株式会社東レリサーチセンター
4	株式会社DIMS 医科学研究所	13	インラボテックジャパン合同会社
5	浜松ホトニクス株式会社	14	オリンパス株式会社
6	Charles River	15	インディカ・ラボ
7	サクラファインテックジャパン株式会社	16	実験病理組織技術研究会
8	株式会社新薬リサーチセンター 株式会社安評センター	17	東京農業大学 生活協同組合
9	AnaPath GmbH; EPL, Inc.	18	株式会社池田理化 株式会社フィリップス・ジャパン



## 参加者・座長・発表者の方々への重要なお知らせ

**今回の学術集会は、従来と異なり、以下のように運用されますので、くれぐれも御注意ください。**

1. [参加者・座長・発表者の方々へ] すべてのセッション（講演セッションおよびポスターセッション）と、講演セッション内のすべての演題は、それぞれの間に余裕を取った構成でプログラムされています。したがって、進行状況によっては、次のセッション、また、次の講演演題の開始予定時刻前に余り時間が発生することがあります。そのような場合は、次のセッション、また、次の演題の開始時刻を繰り上げて開始しますので、御注意ください。ただし、セッション間の休憩時間等は確保され、次のセッションの開始時刻はその都度事務局よりアナウンスいたします。
2. [参加者・講演セッション座長・講演発表者の方々へ] 講演発表者の略歴等の紹介については、講演前に座長から口頭で行わず、要旨集への掲載を以て換えさせていただきます。
3. [参加者・講演セッション座長・講演発表者の方々へ] 各講演の発表時間は発表と質疑応答の合計として設定され、両者の配分は発表者に一任されています。
4. [講演セッション座長の方々へ] 第1項～第3項に記載された運用方針を予め御承知の上、担当セッション内を進行してください。特に、質疑応答については、十分な時間を確保すべく、必要に応じて演者に指示を出してください。また、前述のように、セッションの開始時刻が変動することがありますので、実際の開始時刻の把握については、十分に注意してください。
5. [講演発表者の方々へ] 第1項～第3項に記載された運用方針を予め御承知ください。前述のように、発表時間は発表と質疑応答の合計として設定されたものであり、両者の配分は一任いたしますが、全体の設定時間を厳守することと、質疑応答に十分な時間を割くことの2点については重々留意してください。また、これも前述のように、セッションおよび講演の開始時刻が変動することがありますので、実際の開始時刻の把握については、十分に注意してください。



## 参加者へのご案内

### ●参加者の方々へ

1. 総合受付は1号館1階ロビーにて行います。受付時間は下記のとおりです。

2月13日(木) 8:30～18:00

2月14日(金) 8:00～15:00

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・スナックサービス(1号館1階(131・132教室)・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、あるいは百周年記念講堂1Fのカフェテリアグリーン(11:30～14:30)、レストランすずしろ(9:00～15:00)をご利用ください。
10. クロークは1号館1階(113教室)にございます。

受付時間は下記のとおりです。

2月13日(木) 8:30～18:15

2月14日(金) 8:00～18:45

情報交換会の際には情報交換会会場(ホテル雅叙園東京)のクロークをご利用ください。学術集会のクロークは18:15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18:15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。1号館1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36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 鰐淵英機

日 時：2019年2月14日（金）16：50～18：20

会 場：百周年記念講堂

主な議題：・2019年度活動報告及び決算報告

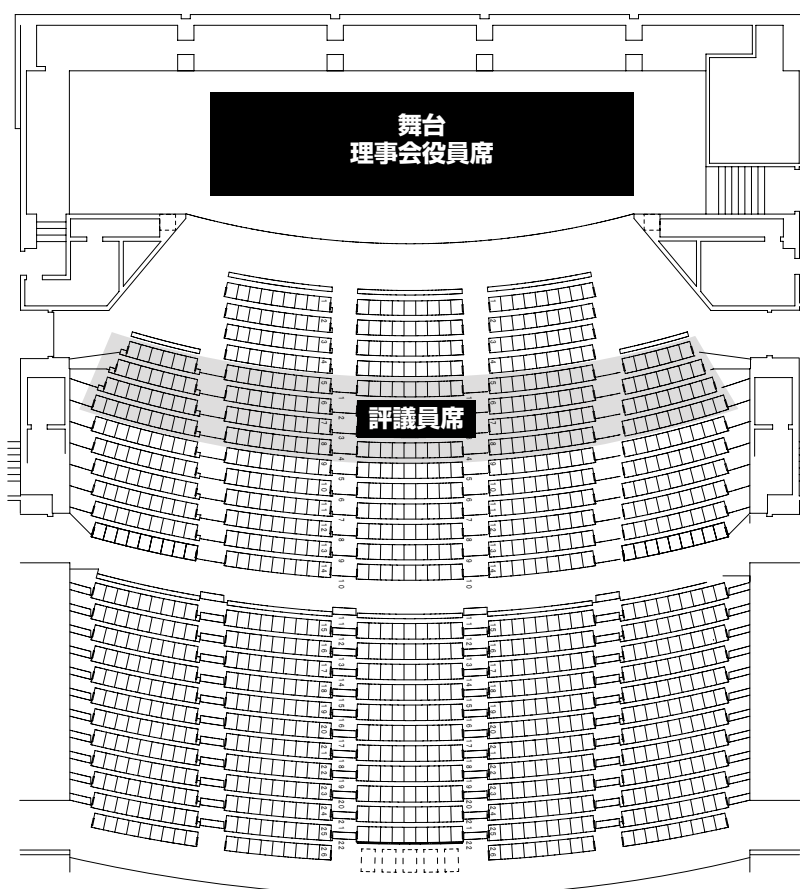
・2020年度活動計画及び予算

・功労会員・評議員の推薦

・2022年度年会長選出

・その他

### 百周年記念講堂



## ●ランチョンセミナーのご案内

2月13日(木)・2月14日(金)両日ともに、1号館1階・2階の教室にてランチョンセミナーを行います。  
チケットは、1号館1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。

2月13日(木) 8:30

2月14日(金) 8:00

### ランチョンセミナー L1

2月13日(木) 11:40～12:30 場所 141教室

遺伝子を対象とする医薬品開発とヒト肝細胞キメラマウス

演 者：加国 雅和(株式会社フェニックスバイオ 受託試験部)

座 長：森山 亜紀子(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 L2

2月13日(木) 11:40～12:30 場所 142教室

Pitfalls and issues in the interpretation of findings in environmental toxicity fish and frog studies

演 者：Laura Polledo Ruiz (Toxicologic Pathologist; AnaPath GmbH, AnaPath Services)

Klaus Weber (CEO/Senior Pathologist; AnaPath GmbH)

座 長：古川 賢(日産化学株式会社 生物科学研究所 理事副所長/安全性研究部長)

共 催：AnaPath GmbH; EPL, Inc.

### ランチョンセミナー L3

2月13日(木) 11:40～12:30 場所 242教室

New developments in carcinogenicity testing with emphasis on the 6-month Tg.rasH2 assay

演 者：Aaron M. Sargeant, DVM, PhD, DACVP Scientific Director, Pathology

(Charles River Spencerville)

共 催：チャールス・リバー

### ランチョンセミナー L4

2月14日(金) 12:05～12:55 場所 141教室

各種実験動物の最近時の背景データと話題

演 者：山口 裕子(株式会社ボゾリサーチセンター)

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 L5

2月14日(金) 12:05～12:55 場所 142教室

我が国における生体電磁環境に関する研究の取組み

演 者：大久保 千代次(一般財団法人電気安全環境研究所 電磁界情報センター 所長)

今井田 克己(香川大学 理事・副学長)

座 長：総務省

共 催：総務省

## ●情報交換会のご案内

1. 情報交換会は2月13日(木) 19:30からホテル雅叙園東京 パンドラにて開催します。
2. 事前登録制ですが、総合受付にて若干名を情報交換会費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。

## ●座長の方々へ

### ■年会長特別セッション・特別セッション・シンポジウム・ワークショップ・IATPセミナー

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、講演会場(百周年記念講堂)の講演者・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

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、1号館1階(131・132教室)のポスター・商業展示会場の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。討論時間には参加証(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。

## ●発表者の方々へ

### ■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。

講演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>COI Disclosure Information</p> <p>Taro Dokusei</p> <p>In connection with this presentation, there is no COI to be disclosed with any companies.</p> <p>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>COI Disclosure Information</p> <p>Hanako Dokusei</p> <p>In connection with the presentation, we disclose COI with following companies.</p> <p>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>
--

### ■年会長特別セッション・特別セッション・シンポジウム・ワークショップ・IATPセミナー

1. 発表時間の遅くとも30分前までに、講演会場(百周年記念講堂)の講演者・座長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 10  
解像度 : 1920 × 1080  
プレゼンテーション用ソフト : PowerPoint 2010 / 2013 / 2016  
フォント : OS (Windows10) 標準
- USBメモリに保存してご提出ください。

## ■ポスター発表

### 1. ポスター発表・貼付・撤去時間

貼付時間 2月13日(木) 9:00 ~ 10:00

※ 2月13日(木) 10:00までに、1号館1階(131・132教室)のポスター・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。

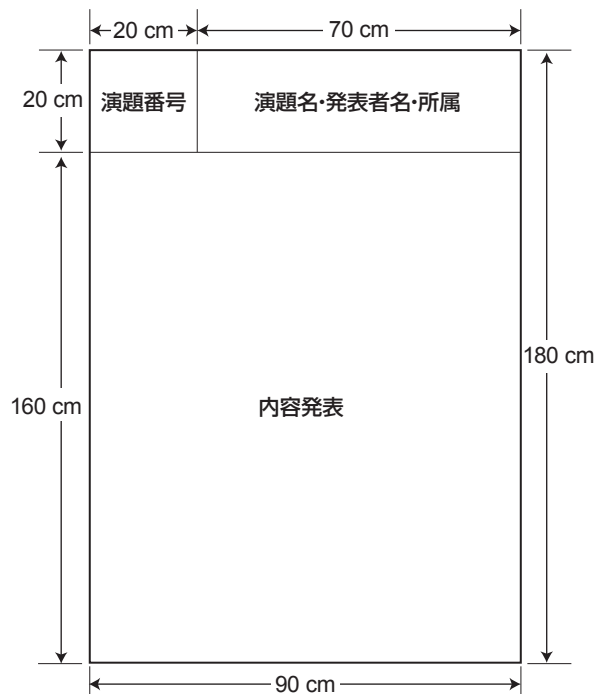
撤去時間 2月14日(金) 16:35 ~ 17:35

※ 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
ポスター発表Ⅰ	2月13日(木)	16:55 ~ 17:45
ポスター発表Ⅱ	2月14日(金)	15:45 ~ 16:35

- 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180 cm × 横90 cmです。演題番号については主催者側で用意いたします。演題名と発表者氏名・所属の表題を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。



## 後援・協賛法人・企業一覧

第36回日本毒性病理学会総会及び学術集会を開催するにあたり、多くの企業・団体様よりご支援ご協力を賜りました。ここにお名前を掲載して厚く御礼申し上げます。

第36回日本毒性病理学会総会及び学術集会  
年会長 中江 大

### ■ 助成金

東京農業大学

### ■ 後援

特定非営利活動法人国際生命科学研究機構  
東京農業大学  
一般社団法人レギュラトリーサイエンス学会

### ■ 協賛

実験病理組織技術研究会  
日本食品化学学会  
一般社団法人日本毒性学会

### ■ 寄付

旭化成ファーマ株式会社  
旭化成メディカル株式会社  
味の素株式会社  
あすか製薬株式会社  
アステラス製薬株式会社  
イカリ消毒株式会社  
石原産業株式会社  
エーザイ株式会社  
株式会社 LSI メディエンス  
小野薬品工業株式会社  
花王株式会社  
一般財団法人化学物質評価研究機構  
株式会社カネカ  
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  
一般財団法人残留農薬研究所  
塩野義製薬株式会社  
昭和電工株式会社  
住友化学株式会社  
ゼリア新薬工業株式会社  
第一三共株式会社  
大正製薬株式会社  
大日本住友製薬株式会社  
大鵬薬品工業株式会社  
武田薬品工業株式会社  
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  
株式会社バイオ病理研究所  
パルテノン ジャパン株式会社  
Pfizer Inc.  
Meiji Seika ファルマ株式会社  
ライオン株式会社

### ■ バナー広告

株式会社ヤクルト本社

### ■ ランチョンセミナー

AnaPath GmbH; EPL, Inc.  
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  
総務省

### ■ 商業展示

AnaPath GmbH; EPL, Inc.  
株式会社新薬リサーチセンター／株式会社安評センター  
株式会社池田理化／株式会社フィリップス・ジャパン  
株式会社イナリサーチ  
インディカ・ラボ  
インラボテックジャパン合同会社  
オリンパス株式会社  
株式会社鎌倉テクノサイエンス／株式会社東レリサーチセンター  
サクラファインテックジャパン株式会社  
実験病理組織技術研究会  
株式会社新日本科学  
Charles River  
株式会社 DIMS 医科学研究所  
東京農業大学 生活協同組合  
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  
株式会社ボゾリサーチセンター

### ■ 広告

キューピー株式会社  
高信化学株式会社  
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社  
株式会社食品化学新聞社  
株式会社新日本科学  
株式会社シンファクトリー  
合同会社スカイバソ  
株式会社ニコインステック  
株式会社日清製粉グループ本社  
一般社団法人日本食品添加物協会  
株式会社バイオ病理研究所  
富士フィルム和光純薬株式会社  
株式会社薬物安全性試験センター  
八洲薬品株式会社

### ■ 製品提供

花王株式会社  
キリンホールディングス株式会社  
サッポロホールディングス株式会社  
サントリー MONOZUKURI エキスパート株式会社  
株式会社明治  
株式会社メルカード東京農大  
森永製菓株式会社



# 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
36	東 京	中江 大 (東京農業大学)	2020. 2. 13-14	5	14	86

\*Joint international meeting of JSTP/IFSTP

# 日 程 表

	2月12日 (水曜日)		2月13日 (木曜日)			
	講演会場	各種会議室	講演会場	ポスター・商業展示会場	ランチョン・情報交換会	
8:30						
9:00			受付開始 8:30～			
10:00			開会式 9:25～ ワークショップ 9:35～11:15	ポスター貼付 9:00～10:00		
11:00				ポスター閲覧 / 商業展示		
12:00		編集委員会 12:00～13:30 (111 教室)			ランチョンセミナー 11:40～12:30	
13:00	第32回 スライド カンファランス 12:30～17:30	教育委員会 13:45～14:45 (213 教室)	特別 セッション 1 12:45～14:05			
14:00			シンポジウム 1 14:15～15:40			
15:00		理事会 15:00～18:00 (111 教室)	IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture 15:50～16:40			
16:00				ポスター発表I 16:55～17:45		
17:00						
18:00	試験問題解説 18:00～19:00					
19:00		President's Meeting 19:00～20:00				
20:00					情報交換会 19:30～21:30	
21:00						

# 日 程 表

2月14日（金曜日）				
	講演会場	ポスター・ 商業展示会場	ランチョン	各種会議室
8:00	<b>受付開始</b> 8:00～			
9:00	<b>シンポジウム 2</b> 8:30～ 10:00	ポスター閲覧 / 商業展示		
10:00				
11:00	<b>年会長特別 セッション</b> 10:10～ 11:40			
12:00			<b>ランチョンセミナー</b> 12:05～ 12:55	<b>国際用語委員会</b> 11:55～ 12:55 (111 教室)
13:00				
14:00	<b>特別 セッション 2</b> 13:10～ 14:05			
15:00	<b>シンポジウム 3</b> 14:15～ 15:30			
16:00		<b>ポスター発表II</b> 15:45～ 16:35		
17:00		<b>ポスター撤去</b> 16:35～ 17:35		
18:00	<b>総会</b> 16:50～ 18:20			
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
年会長特別セッション	2月14日(金) 10:10 ~ 11:40		中江 大(東京農業大学)	講演会場(百周年記念講堂)
特別セッション1	2月13日(木) 12:45 ~ 14:05		渡辺 武志(武田薬品工業(株)) 義澤 克彦(武庫川女子大学)	
特別セッション2	2月14日(金) 13:10 ~ 14:05		白井 紀充(ファイザー製薬(株)) 中野 今日子(エーザイ(株))	
シンポジウム1	2月13日(木) 14:15 ~ 15:40		小川 久美子(国立医薬品食品衛生研究所) 山口 裕子((株)ボソリサーチセンター)	
シンポジウム2	2月14日(金) 08:30 ~ 10:00		古川 賢(日産化学(株)) 岩田 聖(ルナバス(合))	
シンポジウム3	2月14日(金) 14:15 ~ 15:30		魏 民(大阪市立大学) 美谷島 克宏(東京農業大学)	
ワークショップ	2月13日(木) 09:35 ~ 11:15		藤原 利久((株)新日本科学) 菅野 剛((株)LSIメディエンス)	
IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture	2月13日(木) 15:50 ~ 16:40		林 新茂(東京農工大学)	
ポスター発表 I	2月13日(木) 16:55 ~ 17:45	P-1 ~ 4	澤本 修((株)大塚製薬工場) 河内 眞美(大日本住友製薬(株))	
		P-8 ~ 11	岡崎 欣正(AnaPath GmbH) 田中 雅治((一財)バイオインダストリー協会)	
		P-12 ~ 15	横平 政直(香川大学) 篠塚 淳子(中外製薬(株))	
		P-20 ~ 22	梅田 ゆみ((独)日本バイオアッセイ研究センター) 井澤 武史(大阪府立大学)	
		P-26 ~ 28	梅村 隆志(ヤマザキ動物看護大学) 日比 大介(小野薬品工業(株))	
		P-33 ~ 36	鈴木 智(大鵬薬品工業(株)) 小寺 喬(日本新薬(株))	
		P-41 ~ 44	池崎 信一郎((株)ボソリサーチセンター) 井上 薫(国立医薬品食品衛生研究所)	
		P-49 ~ 52	仲辻 俊二(Altasciences Preclinical Seattle LLC) 松尾 沙織里(中外製薬(株))	
		P-57 ~ 60	渡邊 厚(旭化成メディカル(株)) 土屋 紀子(塩野義製薬(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	2月13日(木) 16:55～17:45	P-65～67	猪又 晃(富士フイルム(株)) 乾 公正(石原産業(株))	(1号館1階 ポスター会場 131・132 教室)
		P-71～73	小林 欣滋((株)新日本科学) 佐々木 朋(マルホ(株))	
		P-78～80	今井 俊夫(国立がんセンター) 安藤 亮(北里大学)	
		P-84～86	正田 俊之(日本たばこ産業(株)) 木ノ本 寿子(ゼリア薬品(株))	
ポスター発表Ⅱ	2月14日(金) 15:45～16:35	P-5～7	梯 アンナ(大阪市立大学大学院) 能登 貴久(参天製薬(株))	ポスター会場(1号館1階 131・132 教室)
		P-16～19	河部 真弓((株)DIMS医科学研究所) 畠山 洋文((株)イナリサーチ)	
		P-23～25	金子 英志(帝人ファーマ(株)) 佐野 智弥(武田薬品工業(株))	
		P-29～32	鈴木 周五(大阪市立大学大学院) 今岡 尚子(第一三共(株))	
		P-37～40	内木 綾(名古屋市立大学大学院) 高橋 尚史((一財)残留農薬研究所)	
		P-45～48	高橋 美和(アステラス製薬(株)) 高須 伸二(国立医薬品食品衛生研究所)	
		P-53～56	太田 恵津子(エーザイ(株)) 下井 昭仁((株)イナリサーチ)	
		P-61～64	神鳥 仁志(Axcelead Drug Discovery Partners(株)) 佐藤 順子((株)LSIメディエンス)	
		P-68～70	佐藤 則博(旭化成ファーマ(株)) 野口 ちひろ(大正製薬(株))	
		P-74～77	飯田 麻里(University of Wisconsin-Madison) 鈴木 倫((株)ヤクルト本社)	
P-81～83	甲斐 清徳(第一三共(株)) 西川 智美(田辺三菱製薬(株))			

# プログラム

## 年会長特別セッション リスクコミュニケーションの今そこにある問題

第2日目 2月14日(金) 10:10 - 11:40

講演会場(百周年記念講堂)

座長: 中江 大(東京農業大学)

### ASL-1 一般市民とのコミュニケーションが難しい理由

○中谷内 一也

同志社大学 心理学部

### ASL-2 クライシスコミュニケーションの現場～科学者は<正しい>だけで十分か

○柴田 文隆

東京農業大学

## 特別セッション1 再生医療のリスク評価

第1日目 2月13日(木) 12:45 - 14:05

講演会場(百周年記念講堂)

座長: 渡辺 武志(武田薬品工業(株))

義澤 克彦(武庫川女子大学)

### SL1-1 多能性幹細胞由来分化細胞の遺伝子不安定性と腫瘍発生の関係についての考察

○川真田 伸

公益財団法人 神戸医療産業都市推進機構

### SL1-2 ヒトiPS細胞株の造腫瘍性に関する特性解析

○安田 智

国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部

## 特別セッション2 癌免疫療法における肝臓毒性

第2日目 2月14日(金) 13:10 - 14:05

講演会場(百周年記念講堂)

座長: 白井 紀充(ファイザー製薬(株))

中野 今日子(エーザイ(株))

### SL2 免疫チェックポイント阻害薬の併用療法による免疫介在性肝障害の病理

○Timothy Affolter, Heather Llewellyn, Changhua Ji

ファイザー 医薬安全性研究開発部門 病理



## シンポジウム1 医療機器のリスク評価

第1日目 2月13日(木) 14:15 - 15:40

講演会場(百周年記念講堂)

座長：小川 久美子(国立医薬品食品衛生研究所)  
山口 裕子((株)ボソリサーチセンター)

- S1-1 医療機器の生物学的安全性評価を巡る国内外の動向**  
○齋島 由二  
国立医薬品食品衛生衛研 医療機器部
- S1-2 医療機器の非臨床試験の現場から**  
○萩原 仁美  
テルモ株式会社 評価センター
- S1-3 医療機器の生体適合性評価における形態学的解析手法の有用性**  
○宮内 泰  
株式会社鎌倉テクノサイエンス 生物試験業務部

## シンポジウム2 日本毒性病理学会の広がるウイング

第2日目 2月14日(金) 08:30 - 10:00

講演会場(百周年記念講堂)

座長：古川 賢(日産化学(株))  
岩田 聖(ルナパス(合))

- S2-1 Trends in regulation and animal substitution tests for cosmetic safety evaluation in Korea**  
○Jae-Sik Hwang  
Dt&CRO
- S2-2 食品安全性評価の進化に向けたILSI Japanの取り組み**  
○田中 康浩<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>特定非営利活動法人 国際生命科学研究機構 日本支部、  
<sup>2)</sup>サントリー MONOZUKURI エキスパート株式会社
- S2-3 The fresh water snail as a specific model in environmental toxicity study and the histopathological changes under testing**  
○Klaus Weber  
AnaPath GmbH

## シンポジウム3 毒性病理学の現代化

第2日目 2月14日(金) 14:15 - 15:30

講演会場(百周年記念講堂)

座長：魏 民(大阪市立大学)

美谷島 克宏(東京農業大学)

### S3-1 肝臓ヒト化モデルの毒性研究への応用

○末水 洋志

(公財)実験動物中央研究所 実験動物研究部 バイオメディカル研究室

### S3-2 SLEモデルの病理評価上の留意点

○加藤 淳彦、村井 厚子

中外製薬(株) 研究本部

### S3-3 三次元培養組織と毒性評価

○美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、服部 一夫<sup>2)</sup>、岩槻 健<sup>1,2,3)</sup>、煙山 紀子<sup>1)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科、<sup>2)</sup>東京農業大学 院 食品栄養学専攻、

<sup>3)</sup>東京農業大学 院 食品安全健康学専攻

## ワークショップ 毒性病理の最前線

第1日目 2月13日(木) 09:35 - 11:15

講演会場(百周年記念講堂)

座長：藤原 利久((株)新日本科学)

菅野 剛((株)LSIメディエンス)

### W-1 Antibody-drug conjugatesの毒性病理

○白井 紀充

ファイザー 医薬安全性研究開発部門 病理

### W-2 核酸医薬品の毒性試験でみられる病理組織変化

○仲辻 俊二

Altasciences Preclinical Seattle LLC

### W-3 神経細胞壊死を評価するために知っておきたいこと

○山田 直明

(株)LSIメディエンス 試験研究センター 病理研究部

### W-4 小型魚類による発がん性試験とメチルアゾキシメタノールによるメダカの肝発がん

○古川 賢、星川 優美子

日産化学(株) 生物科学研究所 安全性研究部

## IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture

第1日目 2月13日(木) 15:50 - 16:40

講演会場(百周年記念講堂)

座長：林 新茂(東京農工大学)

### L-1 Confounders of kidney carcinogenesis in rodent cancer bioassays

○Gordon Hard

Private Consultant

※演題番号に\*の表記があるものは、筆頭演者が40歳未満の会長賞候補演題です。

## ポスター発表1 感覚器系1

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：澤本 修((株)大塚製薬工場)  
河内 眞美(大日本住友製薬(株))

- P-1\*** 亜硫化ニッケル(Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub>)を単回硝子体内投与したラットの腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の病理組織学的解析  
○山際 慶典<sup>1,2)</sup>、政次 美紀<sup>1)</sup>、田原 春菜<sup>1)</sup>、倉田 昌明<sup>1)</sup>、佐藤 洋<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>千寿製薬(株)総合研究所、<sup>2)</sup>岩手大学大学院 獣医学研究科 比較薬理毒性研究室
- P-2** カニクイザルの1例にみられた限局性網膜病変  
○神鳥 仁志、清水 文、植田 浩介、中村 小百合、福田 良、永井 博文  
Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社
- P-3\*** 三種混合麻酔薬のラットの角膜への影響  
○神尾 恭平、守田 淳哉、石井 愛子、中西 豊、佐々木 稔  
大正製薬(株) 安全性研究室
- P-4** ラットの経皮投与毒性試験における眼球の組織学的変化  
○押方 孝文、涌生 ゆみ、中原 豊、佐藤 順子、満石 三喜男、菅野 剛  
(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

## ポスター発表2 感覚器系2

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：梯 アンナ(大阪市立大学大学院)  
能登 貴久(参天製薬(株))

- P-5** Busulfan, Cisplatin, Kanamycin投与によるラット新生子蝸牛への影響  
○安藤 亮、江川 萌美、並木 啓汰、朴 天鎬、小山田 敏文  
北里大学 獣医病理学研究室
- P-6** SDT fattyラットにおける片腎摘出術および食塩負荷が糖尿病網膜症進展に及ぼす影響  
○篠原 雅巳<sup>1)</sup>、Francois Briand<sup>2)</sup>、Sophie Antoneli<sup>3)</sup>、Virginie Mauro<sup>3)</sup>、Nicolas Cimbolini<sup>3)</sup>、  
Emmanuel Brousseau<sup>2)</sup>、太田 毅<sup>4)</sup>、美谷島 克宏<sup>5)</sup>、影山 靖<sup>1)</sup>、Laurence Feraille<sup>3)</sup>、Thierry Sulpice<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>日本クレア株式会社、<sup>2)</sup>Physiogenex S.A.S.-Prologue Biotech、<sup>3)</sup>Iris Pharma、<sup>4)</sup>京都大学大学院 農学研究科、  
<sup>5)</sup>東京農大・食品安全健康
- P-7** ラット及びマウスに対するHPPD阻害剤の経口ばく露による眼球角膜および小脳分子層への影響  
○永池 美香、宮本 沙也佳、橋本 元気、馬場 雄大、池田 瑛人、本郷 直子、岡田 亜希子、乾 公正  
石原産業(株)

## ポスター発表3 神経系

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：岡崎 欣正 (AnaPath GmbH)

田中 雅治((一財)バイオインダストリー協会)

### P-8\* N-methyl-N-nitrosoureaのラット発達期曝露による大脳皮質への影響

○岡野 拓<sup>1,2)</sup>、伊藤 優子<sup>1,3)</sup>、菊地 聡美<sup>1,2)</sup>、高橋 康德<sup>1,2)</sup>、高嶋 和巳<sup>1,2)</sup>、余 沁蔓<sup>1)</sup>、吉田 敏則<sup>1,2)</sup>、  
渋谷 淳<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>東京農工大・獣医病理、<sup>2)</sup>東京農工大・院・共同獣医学専攻、<sup>3)</sup>岐阜大・院・連合獣医

### P-9\* ラット発達期海馬神経新生障害時でのDNA過メチル化に着目した発達神経毒性標的遺伝子の網羅的探索

○菊地 聡美<sup>1,2)</sup>、伊藤 優子<sup>1,3)</sup>、岡野 拓<sup>1,2)</sup>、高橋 康德<sup>1,2)</sup>、高嶋 和巳<sup>1,2)</sup>、余 沁蔓<sup>1)</sup>、吉田 敏則<sup>1,2)</sup>、  
渋谷 淳<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>東京農工大・獣医病理、<sup>2)</sup>東京農工大・院・共同獣医学専攻、<sup>3)</sup>岐阜大・院・連合獣医

### P-10 NOD/Shi-scid IL-2R $\gamma$ null (NOG) マウスにみられた脳病変に関する病理組織学検討

○松島 圭太<sup>1)</sup>、福永 八千代<sup>1)</sup>、金光 弘幸<sup>2)</sup>、山川 誠己<sup>1)</sup>、永谷 真理子<sup>1)</sup>、笠原 健一郎<sup>1)</sup>、山口 裕子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>(株)ポゾリサーチセンター 病理部、<sup>2)</sup>(株)ポゾリサーチセンター 安全性・薬理研究部

### P-11 てんかん様発作を呈した若齢マウスの片側巨脳症の一症例

○安井 雄三、剣持 佑介、中村(穴川) 明子、豊田 薫、利谷(谷合) 枝里子、島寄 大志、高橋 明美、  
宮川 義史、正田 俊之

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 横浜リサーチセンター 安全性研究所

## ポスター発表4 呼吸器1

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：横平 政直(香川大学)

篠塚 淳子(中外製薬(株))

### P-12\* C57BL/6Jマウスを用いた低温加熱型の加熱式たばこ6ヶ月間全身曝露試験における呼吸器の病理組織学的解析

○大波 冴子、平田 直、鈴木 啓明

日本たばこ産業株式会社 製品評価センター

### P-13\* 異なる投与器具を用いた多層カーボンナノチューブ(MWCNT)のラット気管内投与試験における肺毒性とクリアランスの比較

○前野 愛<sup>1)</sup>、坂本 義光<sup>1)</sup>、北條 幹<sup>1)</sup>、湯澤 勝廣<sup>1)</sup>、長谷川 悠子<sup>1)</sup>、長澤 明道<sup>1)</sup>、大貫 文<sup>1)</sup>、鈴木 俊也<sup>1)</sup>、  
猪又 明子<sup>1)</sup>、守安 貴子<sup>1)</sup>、後藤 裕子<sup>2)</sup>、大西 誠<sup>2)</sup>、小林 憲弘<sup>3)</sup>、広瀬 明彦<sup>3)</sup>、中江 大<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup>独立行政法人 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター、

<sup>3)</sup>国立医薬品食品衛生研究所、<sup>4)</sup>東京農業大学

### P-14\* 気相法炭素繊維VGCF<sup>®</sup>-Hの気管内投与によるF344ラットに対する肺有害性評価

○沼野 琢旬<sup>1)</sup>、樋口 仁美<sup>1)</sup>、杉山 大揮<sup>1)</sup>、宇田 一成<sup>1)</sup>、河部 真弓<sup>1)</sup>、米良 幸典<sup>1)</sup>、池田 和子<sup>2)</sup>、  
小川 良二<sup>2)</sup>、佐藤 敬<sup>2)</sup>、西岡 綾子<sup>2)</sup>、萩原 雄二<sup>2)</sup>、伴野 富美子<sup>2)</sup>、福井 浩子<sup>2)</sup>、米田 正<sup>2)</sup>、  
津田 洋幸<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>(株)DIMS医科学研究所、<sup>2)</sup>昭和電工株式会社 レスポシブルケア部 安全性試験センター、

<sup>3)</sup>名古屋市立大学 津田特任教授研究室

**P-15** メタクリル酸ブチルのラット・マウスに対する発がん性と鼻腔病変

○妹尾 英樹、山野 莊太郎、高信 健司、梅田 ゆみ、相磯 成敏、菅野 純  
(独)労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター

**ポスター発表5 呼吸器2**

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：河部 真弓((株)DIMS医科学研究所)  
島山 洋文((株)イナリサーチ)

**P-16** 粉体吸入曝露におけるⅡ型肺胞上皮過形成について

○梅田 ゆみ、山野 莊太郎、高信 健司、妹尾 英樹、相磯 成敏、菅野 純  
(独)労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター

**P-17** 多層カーボンナノチューブを反復気管内投与したラットにおける肺神経内分泌細胞(PNEC)の増生

○坂本 義光<sup>1)</sup>、北條 幹<sup>1)</sup>、前野 愛<sup>1)</sup>、鈴木 俊也<sup>1)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>、守安 貴子<sup>1)</sup>、広瀬 明彦<sup>2)</sup>、中江 大<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所、<sup>3)</sup>東京農業大学

**P-18** 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)誘発A/J雌性マウス肺腫瘍モデルの経時的肺腫瘍発生数の検討

○横平 政直、山川 けいこ、成澤 裕子、松田 陽子、今井田 克己  
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

**P-19** ブレオマイシン及びシリカ口腔咽頭内投与肺線維症モデルマウスの病態解析

○石井 愛子<sup>1)</sup>、神尾 恭平<sup>1)</sup>、武田 卓也<sup>2)</sup>、小島 直季<sup>2)</sup>、中西 豊<sup>1)</sup>、佐々木 稔<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大正製薬(株) 安全性研究室、<sup>2)</sup>大正製薬(株) 薬理第2研究室

**ポスター発表6 呼吸器3**

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：梅田 ゆみ((独)日本バイオアッセイ研究センター)  
井澤 武史(大阪府立大学)

**P-20\*** F344ラットにおける*N*-ethyl-*N*-nitrosourea誘発肺病変の病理組織学的検討

○井手 鉄哉<sup>1)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、水田 保子<sup>1)</sup>、大石 裕司<sup>2)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

**P-21\*** 1,2-ジクロロエタン及び2,3-ジブロモ-1-プロパノール経皮投与により誘発された肺腫瘍の形態学的特徴

○原 智美、土井 悠子、萩原 顕昭、今井 則夫、藤原 あかり、河部 真弓  
(株)DIMS医科学研究所

**P-22** Three-dimensional analysis of lung metastatic tumors in mice

○Jin Soek Kang<sup>1)</sup>、Seyl Kim<sup>2)</sup>、Ha Neul Lee<sup>1)</sup>、Se Ryeong Jeong<sup>1)</sup>、Hyun Ji Won<sup>1)</sup>、Kibeom Park<sup>3)</sup>、  
Sooah Park<sup>4)</sup>、Woonggyu Jung<sup>3)</sup>

1)Department of Biomedical, Laboratory Science, Namseoul University, 2)Ferramed Inc., National Nanofab Center, KAIST, 3)Department of Biomedical Engineering, Ulsan National Institute of Science and Technology,

4)In Vivo Research Center, UNIST Central Research Facilities, Ulsan National Institute of Science and Technology

## ポスター発表7 呼吸器4・循環器

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：金子 英志(帝人ファーマ(株))  
佐野 智弥(武田薬品工業(株))

### P-23\* マウス正常組織由来オルガノイドの施設間輸送の最適条件の検討

○入澤 祐太<sup>1)</sup>、平田 暁大<sup>2)</sup>、酒井 洋樹<sup>1)</sup>、今井 俊夫<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>岐阜大学 獣医病理学研究室、<sup>2)</sup>岐阜大学 科学研究基盤センター 動物実験分野、

<sup>3)</sup>国立がん研究センター 研究所 動物実験部門

### P-24 異なる物理学的性状のナノマテリアルを吸入曝露したマウスの肺と縦隔における肺泡マクロファージの挙動

○相磯 成敏、山野 莊太郎、梅田 ゆみ、近藤 ひとみ、齋藤 美佐江、高信 健司、妹尾 英樹、  
菅野 純

(独)労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター

### P-25\* Duchenne 型筋ジストロフィーモデルラットにおける心臓の病態解析

○枅内 亮太<sup>1)</sup>、宮本 真緒<sup>1)</sup>、関澤 信一<sup>1)</sup>、水流 功春<sup>2)</sup>、桑原 正貴<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>東京大学 農学部 獣医衛生学教室、<sup>2)</sup>プライムテック株式会社 ライフサイエンス研究室

## ポスター発表8 口腔・消化管1

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：梅村 隆志(ヤマザキ動物看護大学)  
日比 大介(小野薬品工業(株))

### P-26\* 糖尿病マウスにおける胃のカンジダ感染は非感染部位である大腸の炎症性発癌を促進する

○出雲 友扶子、大嶋 成奈優、寺山 由依、松浦 哲郎、尾崎 清和

摂南大学 薬学部

### P-27 コリンエステラーゼ阻害薬リバスチグミンは、アロキササン糖尿病ラットの脂質異常および唾液腺腺房細胞の脂肪蓄積を増悪する

○兒玉 安史<sup>1)</sup>、尾崎 清和<sup>2)</sup>、神垣 真由美<sup>1)</sup>、石原 熊寿<sup>1)</sup>、松浦 哲郎<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>広島国際大学 薬学部 病態薬理学研究室、<sup>2)</sup>摂南大学 薬学部 病理学研究室

### P-28 同所移植モデルを用いた RhoA 変異の DGC 形態形成への影響検討

○藤井 悦子<sup>1)</sup>、中野 清孝<sup>1)</sup>、鈴木 雅実<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>株式会社未来創薬研究所、<sup>2)</sup>中外製薬株式会社



## ポスター発表9 口腔・消化管2

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：鈴木 周五(大阪市立大学大学院)  
今岡 尚子(第一三共(株))

**P-29 Inhibition of tumor necrosis factor alpha and increased of interleukin 10 by lactobacillus to protect against TNBS-induced ulcerative colitis in chicks**

○Long Jing<sup>1,2)</sup>, Zhiqiang Yu<sup>1)</sup>, Xueli Gao<sup>1)</sup>, Chaonan Liu<sup>1)</sup>, Xiaoping Lv<sup>1)</sup>, Shimin Zheng<sup>1)</sup>

1)Northeast Agricultural University, 2)CTI Biotechnology (Suzhou) Co., Ltd.

**P-30\* マウスにおけるデオキシニバレノール誘発腸管傷害の毒性メカニズム解析**

○宇野 絹子<sup>1)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2)</sup>、沼田 大智<sup>2)</sup>、谷戸 亮太<sup>2)</sup>、羽生 ひかる<sup>1)</sup>、服部 一夫<sup>1)</sup>、  
煙山 紀子<sup>2)</sup>、中江 大<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>東京農大・院・食品栄養、<sup>2)</sup>東京農大・食品安全健康

**P-31\* 猫の十二指腸腺腫の病理組織学的検討**

○畝山 瑞穂、チェンバーズ ジェームズ、内田 和幸、中山 裕之

東京大学 獣医病理学研究室

**P-32 新規抗がん物質の効果および作用機序解析**

○安藤 さえこ、吉本 恵里、松本 晴年、深町 勝巳、酒々井 眞澄

名古屋市立大学 大学院 医学研究科 神経毒性学分野

## ポスター発表10 肝臓・膵臓1

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：鈴木 智(大鵬薬品工業(株))  
小寺 喬(日本新薬(株))

**P-33 ラット肝癌形成後期に対する Bear Bile Powderの修飾作用**

○金美蘭、張梅、洪澤宣、邱欣雨、王剣、王自力、熊文、徐玉薇

西南大学 動物科術学院 獣医病理研究室

**P-34 NASH肝臓発がんにおける新規マーカー候補分子の検討**

○梯 アンナ、石井直美、魏民、鈴木周五、鰐淵 英機

大阪市立大学・院・医・分子病理学

**P-35 異なる細胞動態を示す Furan及びDEN誘発 GST-P陽性細胞株における Sox9の発現**

○高須 伸二<sup>1)</sup>、中根 牙<sup>1,2)</sup>、石井 雄二<sup>1)</sup>、木島 綾希<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>、梅村 隆志<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup>ヤマザキ動物看護大学 動物看護学部

**P-36\* gpt delta ラットを用いた acetamideのラット肝発がんメカニズムに関する検討**

○中村 賢志<sup>1,2)</sup>、石井 雄二<sup>1)</sup>、木島 綾希<sup>1)</sup>、高須 伸二<sup>1)</sup>、能美 健彦<sup>1)</sup>、渋谷 淳<sup>2)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>

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

## ポスター発表11 肝臓・膵臓2

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：内木 綾(名古屋市立大学大学院)  
高橋 尚史((-財)残留農薬研究所)

### P-37\* Luteolinは相互依存関係にあるpSTAT3とDPDの発現抑制を介して膵発癌を抑制する

○加藤 寛之<sup>1)</sup>、内木 綾<sup>1)</sup>、鈴木 周五<sup>2)</sup>、高橋 智<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、<sup>2)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科分子病理学

### P-38\* マウスにおけるコリン欠乏メチオニン低減アミノ酸高脂肪食による非アルコール性脂肪肝炎様病態に対するラカンカ抽出物の影響

○阿部 有加里<sup>1)</sup>、煙山 紀子<sup>2)</sup>、鈴木 紀宏<sup>2)</sup>、松島 亮太<sup>2)</sup>、本山 智之<sup>3)</sup>、宇野 絹子<sup>3)</sup>、結城 恵美<sup>2,5)</sup>、佐野 龍平<sup>3)</sup>、小川 秀治<sup>3)</sup>、渡邊 厚<sup>3)</sup>、小柳 美穂子<sup>4)</sup>、林 新茂<sup>6)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>東京農大・院・食品安全健康、<sup>2)</sup>東京農大・食品安全健康、<sup>3)</sup>東京農大・院・食品栄養、

<sup>4)</sup>三栄源エフ・エフ・アイ株式会社・安全性科学部、<sup>5)</sup>株式会社新組織科学研究所 診断・鏡検グループ、

<sup>6)</sup>東京農工大・獣医病理

### P-39 ジフェニルアルシン酸のマウスにおける経胎盤発がん作用

○魏 民<sup>1)</sup>、鈴木 周五<sup>2)</sup>、梯 アンナ<sup>2)</sup>、山口 貴嗣<sup>2)</sup>、鰐淵 英機<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 環境リスク評価学、<sup>2)</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

### P-40 ヒト肝細胞キメラマウス(PXBマウス)を用いたLipopolysaccharide誘発肝障害に関する検討

○笹木 祐司<sup>1)</sup>、森山 亜紀子<sup>1)</sup>、木村 文子<sup>1)</sup>、松尾 純子<sup>1)</sup>、藤原 章雄<sup>2)</sup>、和泉 博之<sup>3)</sup>、小林 欣滋<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>株式会社新日本科学 安全性研究所、<sup>2)</sup>熊本大学大学院 生命科学研究部 細胞病理学講座、

<sup>3)</sup>株式会社新日本科学 前臨床カンパニー

## ポスター発表12 肝臓・膵臓3

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：池崎 信一郎((株)ボゾリサーチセンター)  
井上 薫(国立医薬品食品衛生研究所)

### P-41\* 雄性hL-FABPTgマウスを用いた食餌性NASH様病態と背景メカニズムの解析

○龍 完次朗<sup>1)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、張 舜恵<sup>2)</sup>、山口 彩音<sup>1)</sup>、日高 佳穂<sup>3)</sup>、大畑 敬一<sup>4)</sup>、宇野 絹子<sup>2)</sup>、煙山 紀子<sup>1,3)</sup>、小川 秀治<sup>2)</sup>、渡邊 厚<sup>2)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科 食品安全健康学専攻、<sup>2)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科

食品栄養学専攻、<sup>3)</sup>東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科、

<sup>4)</sup>シミックホールディングス(株) L-FABP事業部

### P-42 NASHモデルマウス(STHD-01およびCDAHFD供与マウス)の病理組織学的変化の比較(その2) -免疫組織化学的検討-

○富樫 裕子、青木 豊彦、斎藤 友希、江島 智子、山浦 唯、小田切 泰輝、松谷 尚美、倉重 誠一郎、安藤 綾俊、児玉 晃孝

EAファーマ株式会社 創薬研究所

### P-43\* SHRSP5/Dmcr系ラットを用いた食餌組成の違いによるNASHモデルの検討

○本山 智之<sup>1)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2)</sup>、宇野 絹子<sup>1)</sup>、煙山 紀子<sup>2)</sup>、政木 隆博<sup>4)</sup>、松浦 智和<sup>4)</sup>、中江 大<sup>1,2)</sup>、古庄 律<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科 食品栄養学専攻、<sup>2)</sup>東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康

学科、<sup>3)</sup>東京農業大学 国際食料情報学部 国際食農科学科、<sup>4)</sup>東京慈恵会医科大学 臨床検査医学講座

**P-44 NAFLDラットモデルにおけるLPS曝露の病態進展への影響**

○新 真智、井澤 武史、水口 恵理、藤原 咲春、桑村 充、山手 丈至  
大阪府大 獣医病理

**ポスター発表13 肝臓・膵臓4**

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：高橋 美和(アステラス製薬(株))  
高須 伸二(国立医薬品食品衛生研究所)

**P-45\* コリン欠乏メチオニン低減アミノ酸高脂肪食(CDAA-HT-T(-))によるマウスNASH合併肝発癌モデルの開発**

○煙山 紀子<sup>1)</sup>、阿部 有加里<sup>2)</sup>、宇野 絹子<sup>3)</sup>、高 臨風<sup>2)</sup>、龍 完次朗<sup>2)</sup>、山口 彩音<sup>2)</sup>、結城 恵美<sup>1,4)</sup>、  
小川 秀治<sup>3)</sup>、佐野 龍平<sup>3)</sup>、渡邊 厚<sup>3)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農大・応生・食品安全健康、<sup>2)</sup>東京農大院・農学研究科・食品安全健康学専攻、  
<sup>3)</sup>東京農大院・農学研究科・食品栄養学専攻、<sup>4)</sup>株式会社新組織科学研究所 診断・鏡検グループ

**P-46\* Lipopolysaccharide誘発性エンドトキシン血症モデルラットにおける病態検索**

○杉山 淳一、田中英樹、吉田 翔太、松原 健嗣、二宮 美美子、山本 宏美、鈴木 智、別枝 和彦  
大鵬薬品工業 研究本部

**P-47\* 若齢ラットの肝臓に認められたび慢性肝紫斑症(peliosis hepatis)様病変の1例**

○島崎 大志、安井 雄三、剣持 佑介、中村 明子、豊田 薫、利谷 枝里子、高橋 明美、宮川 義史、  
正田 俊之  
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 横浜リサーチセンター 安全性研究所

**P-48 肝発がん物質投与ラット肝臓におけるγ-H2AX陽性細胞率の検討**

○赤木 純一、Young-Man Cho、豊田 武士、水田 保子、井手 鉄哉、西川 秋佳、小川 久美子  
国立衛研・病理

**ポスター発表14 泌尿器1**

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：仲辻 俊二(Altasciences Preclinical Seattle LLC)  
松尾 沙織里(中外製薬(株))

**P-49 去勢抵抗性前立腺癌におけるandrogen receptor splice variantの役割とmicroRNAによる制御機構**

○内木 綾<sup>1)</sup>、加藤 寛之<sup>1)</sup>、鈴木 周五<sup>2)</sup>、高橋 智<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理、<sup>2)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

**P-50 ラット尿路上皮に対するコチニンの増殖性病変促進効果**

○鈴木 周五<sup>1,2)</sup>、加藤 寛之<sup>2)</sup>、内木 綾<sup>2)</sup>、鰐淵 英機<sup>1)</sup>、高橋 智<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学、<sup>2)</sup>名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学

**P-51\* BBN誘発ラット膀胱発がん過程におけるHepatocyte growth factor(HGF)の関与**

○山田 貴宣<sup>1,2)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、松下 幸平<sup>1)</sup>、森川 朋美<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup>東京農工大学大学院 獣医病理学研究室

**P-52\* 急性腎障害から慢性腎臓病への進展を早期に予測する新規評価分子の探索**

○松下 幸平<sup>1)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、山田 貴宣<sup>1,2)</sup>、森川 朋美<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup>東京農工大学 獣医病理学研究室

## ポスター発表 15 泌尿器 2

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：太田 恵津子(エーザイ(株))  
下井 昭仁((株)イナリサーチ)

### P-53\* ラットにおけるBBN誘発膀胱がんに対するo-Acetoacetotoluidideの促進効果

○行松 直、魏 民、梯 アンナ、鈴木 周五、鰐淵 英機  
大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

### P-54\* Angiotensin IIを投与した5/6腎摘出マウスの腎臓における病理組織学的検索

○利谷 枝里子、沼田 康晴、安井 雄三、剣持 佑介、中村 明子、豊田 薫、島崎 大志、高橋 明美、  
宮川 義史、正田 俊之  
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 横浜リサーチセンター

### P-55 骨ミネラル代謝異常を伴った慢性腎障害ラットモデルの簡便な作製

○堀川 琢心、佐野 裕介、宇木 遥、渡邊 厚  
旭化成メディカル(株) 医療製品開発本部 医療技術・材料研究所

### P-56\* イミキモド誘発性ループス腎炎モデルの病理学的特徴

○村井 厚子<sup>1)</sup>、山崎 雅輝<sup>1)</sup>、西原 香織<sup>1)</sup>、鬼頭 亜姫<sup>2)</sup>、加藤 淳彦<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>中外製薬(株) 創薬基盤研究部 病理グループ、  
<sup>2)</sup>中外製薬(株) 創薬薬理研究部 フロンティア1グループ

## ポスター発表 16 泌尿器 3

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：渡邊 厚(旭化成メディカル(株))  
土屋 紀子(塩野義製薬(株))

### P-57 C57BL/6 マウス幼若期に始まる腎盂尿管移行部の好酸球性炎症は将来、水腎症と慢性炎症性尿路上皮癌を誘発する

○尾崎 清和、松浦 哲郎  
摂南大 薬学部 病理

### P-58\* SDT fatty ラットの死亡動物における腎臓および心臓の病理組織学的変化

○山口 彩音<sup>1)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、橋本 杏奈<sup>3)</sup>、煙山 紀子<sup>3)</sup>、篠原 雅巳<sup>4)</sup>、太田 毅<sup>5)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科 食品安全評価学研究室、<sup>2)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科 食品栄養学専攻、<sup>3)</sup>東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科、<sup>4)</sup>日本クレア株式会社 東京AD部、  
<sup>5)</sup>京都大学大学院 農学研究科 応用生物科学専攻 生体機構学分野

### P-59 腎がん物質早期検出指標としての $\gamma$ -H2AXの応用可能性：至適評価時点の検討

○豊田 武士<sup>1)</sup>、山田 貴宣<sup>1,2)</sup>、松下 幸平<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、森川 朋美<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup>東京農工大学 獣医病理学研究室

### P-60\* 複数の組織に異なる腫瘍及び非腫瘍性増殖性病変を認めたRccHan<sup>TM</sup>:WIST ラットの1例

○早川 知里、木村 真之、黒田 雄介、林 清吾、竹内 和也、古川 賢  
日産化学(株) 生物科学研究所

## ポスター発表17 生殖器・乳腺

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長: 神鳥 仁志(Axcelead Drug Discovery Partners(株))  
佐藤 順子((株)LSIメディエンス)

- P-61** ウリプリスタル酢酸エステル雌性ラット生殖器に対する影響  
○福井 元子<sup>1)</sup>、大亀 吏江子<sup>2)</sup>、福井 規雄<sup>2)</sup>、柴田 誠司<sup>2)</sup>、磯部 充威<sup>2)</sup>、久田 茂<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>あすか製薬(株)開発本部、<sup>2)</sup>あすか製薬(株)創薬研究本部
- P-62** 遺伝子改変マウス(Tg rasH2)を用いた26週間がん原性試験でみられた精巢上体原発の扁平上皮癌  
○池田 学、藤原 利久、藤島 純子、小林 欣滋  
(株)新日本科学 安全性研究所 病理研究部
- P-63** 子宮体がんPDXの継代数増加による形質変化  
○今井 俊夫<sup>1)</sup>、町田 雪乃<sup>1)</sup>、ピンピン テー アンジェリン<sup>1)</sup>、吉田 裕<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>国立がん研究センター 研究所 動物実験施設、<sup>2)</sup>国立がん研究センター 中央病院 病理診断科
- P-64\*** Crlj:CD-1(ICR)マウスの卵巣における性索間質腫瘍の発現状況とその特徴  
○青木 萌子、鈴木 勇、中澤 朋美、伊倉 佐織、枝元 洋、池崎 信一郎、山口 裕子  
(株)ボゾリサーチセンター 病理部

## ポスター発表18 内分泌

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長: 猪又 晃(富士フイルム(株))  
乾 公正(石原産業(株))

- P-65** マウス乳癌転移モデルにおけるリンパ節での転移前および転移後ニッチのVegfsを標的とするmicroRNA網羅的解析  
○柴田 雅朗<sup>1)</sup>、谷口 高平<sup>2,3)</sup>、奥崎 大介<sup>4)</sup>、伊藤 裕子<sup>3)</sup>、白岡 千夏<sup>1)</sup>、生出 林太郎<sup>3)</sup>、近藤 洋一<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪医大・医・生命科学講座解剖学、<sup>2)</sup>大阪医大・医・一般消化器外科、<sup>3)</sup>大阪医大・医・研究支援セ・トランスレーショナルリサーチ部門、<sup>4)</sup>大阪大・微研・遺伝子情報セ・ゲノム解析
- P-66** 成長遅延症(*grt*)マウス甲状腺の組織学的特徴  
○小林 健一、久保田 久代、大谷 勝己  
独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所
- P-67\*** F344ラットにおける脈管侵襲を伴う睪島細胞癌  
○藤原 史織、斎藤 翼、高木 みづほ、橋口 収、神谷 有美子、柿本 恒知、星谷 達、山口 裕子  
株式会社ボゾリサーチセンター 病理部



## ポスター発表 19 皮膚・運動器 1

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：佐藤 則博(旭化成ファーマ(株))  
野口 ちひろ(大正製薬(株))

### P-68\* ラット変形性膝関節症モデルの膝関節における病理変化の比較

○木嶋 恵、南澤 由佳、佐々木 大和、高田 秀平、山口 宏明、二井 愛介  
生化学工業(株)

### P-69 脊椎の湾曲がみられたカニクイザルの一例

○赤根 弘敏、江田 景、奥田 須美子、杉山 賢、市川 敦子、秋江 靖樹  
シミックファーマサイエンス株式会社

### P-70 3Dヒト皮膚再構成系を用いた金属ナノマテリアルの経皮膚毒性評価

○小川 秀治<sup>1)</sup>、煙山 紀子<sup>2)</sup>、大西 未悠<sup>2)</sup>、橋口 ゆり<sup>2)</sup>、浦崎 涼子<sup>2)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2)</sup>、中江 大<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農大・院・食品栄養、<sup>2)</sup>東京農大・食品安全健康

## ポスター発表 20 皮膚・運動器 2

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：小林 欣滋((株)新日本科学)  
佐々木 朋(マルホ(株))

### P-71\* 3Dヒト皮膚再構成系によるfolpetの経皮毒性評価法の検討

○政所 陽菜<sup>1)</sup>、煙山 紀子<sup>2)</sup>、小川 絢子<sup>2)</sup>、小川 秀治<sup>3)</sup>、阿部 有加里<sup>1)</sup>、高 臨風<sup>1)</sup>、  
山口 彩音<sup>1)</sup>、宇野 絹子<sup>1,3)</sup>、龍 完次朗<sup>1)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2)</sup>、中江 大<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科 食品安全健康学専攻、<sup>2)</sup>東京農業大学 応用生物科学部  
食品安全健康学科、<sup>3)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科 食品栄養学専攻

### P-72\* カニクイザル頭頸部及び胸部上皮系組織におけるサイトケラチン発現に関する免疫組織化学的検討

○吉田 翔太、田中 英樹、杉山 淳一、松原 健嗣、二宮 美美子、山本 宏美、鈴木 智、別枝 和彦  
大鵬薬品工業株式会社 研究本部

### P-73\* SDラットにおけるCol17a1の一塩基重複による接合部型表皮水疱症(JEB)

○加藤 由隆、西岡 康、佐藤 旭、遠藤 直子、伊藤 強、小山 彩、高橋 尚史、志賀 敦史、青山 博昭、  
原田 孝則  
(一財)残留農薬研究所

## ポスター発表21 その他1

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：飯田 麻里 (University of Wisconsin-Madison)  
鈴木 倫 ((株)ヤクルト本社)

- P-74\*** トリフルオロエタノール及びその代謝物を暴露させたメダカの精巣病変  
○黒田 雄介、木村 真之、早川 知里、林 清吾、竹内 和也、古川 賢  
日産化学(株)
- P-75\*** MWCNT 誘発性のラット腹膜中皮腫発症過程における炎症および免疫関連因子に着目した病理組織学的解析  
○北條 幹<sup>1)</sup>、坂本 義光<sup>1)</sup>、山本 行男<sup>1)</sup>、前野 愛<sup>1)</sup>、多田 幸恵<sup>1)</sup>、長谷川 悠子<sup>1)</sup>、湯澤 勝廣<sup>1)</sup>、長澤 明道<sup>1)</sup>、田中 和良<sup>1)</sup>、矢野 範男<sup>1)</sup>、鈴木 俊也<sup>1)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>、守安 貴子<sup>1)</sup>、広瀬 明彦<sup>2)</sup>、中江 大<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所、<sup>3)</sup>東京農業大学
- P-76** 医療用医薬品のトランスジェニックマウスを用いたがん原性試験に関する調査  
○野中 瑞穂<sup>1)</sup>、西村 次平<sup>1)</sup>、直田 みさき<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>2)</sup>、西川 秋佳<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>(独)医薬品医療機器総合機構、<sup>2)</sup>国立医薬品食品衛生研究所
- P-77** ヒト(自己)骨格筋由来細胞シートの非臨床評価における病理解析手法について  
○早場 純子<sup>1)</sup>、寺尾 壽子<sup>1)</sup>、田崎 雅子<sup>1)</sup>、田中 直子<sup>1)</sup>、長野 嘉介<sup>2)</sup>、西田 仁<sup>1)</sup>、萩原 仁美<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>テルモ(株)、<sup>2)</sup>長野毒性病理コンサルティング

## ポスター発表22 その他2

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：今井 俊夫 (国立がんセンター)  
安藤 亮 (北里大学)

- P-78\*** 短期化学発がんモデル、rasH2 マウスの血管肉腫におけるPD-L1の発現—腫瘍微小環境下における抗腫瘍評価—  
○萩原 顕昭、宮田 裕人、勝呂 繭子、杉山 大揮、米良 幸典  
株式会社 DIMS 医科学研究所
- P-79** ビーグル犬の心臓及び骨格筋の電子顕微鏡学的検査におけるアーティファクトについて  
○剣持 佑介、安井 雄三、中村(穴川) 明子、豊田 薫、利谷(谷合) 枝里子、島寄 大志、高橋 明美、宮川 義史、正田 俊之  
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 横浜リサーチセンター 安全性研究所
- P-80** Use of minipigs in juvenile toxicity studies  
○Robert R. Maronpot<sup>1)</sup>, Abraham Nyska<sup>2)</sup>, Shim-mo Hayashi<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>Maronpot Consulting, LLC, <sup>2)</sup>Tel Aviv University, <sup>3)</sup>Tokyo University of Agriculture and Technology



## ポスター発表23 その他3

第2日目 2月14日(金) 15:45 - 16:35

ポスター会場(1号館1階 131・132教室)

座長：甲斐 清徳(第一三共(株))

西川 智美(田辺三菱製薬(株))

**P-81 発がん性試験におけるF344/DuCrIjラットの自然発生腫瘍と2年生存率**

○高信 健司、山野 莊太郎、妹尾 英樹、梅田 ゆみ、相磯 成敏、菅野 純

(独)労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター

**P-82\* 幼若期ラット/Crl:CD(SD)における肝臓及び脾臓の病理組織学的背景データ**

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

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

**P-83\* Investigation for the contribution of BMP9 signaling on vascularization using *in vitro* tube formation assay**

○Maya Kimura<sup>1)</sup>, Heather Estrella<sup>2)</sup>, Tadahiro Shinozawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Drug Safety Research and Evaluation, Research, Takeda Pharmaceutical Company Limited, <sup>2)</sup>Takeda California

## ポスター発表24 その他4

第1日目 2月13日(木) 16:55 - 17:45

ポスター・会場(1号館1階 131・132教室)

座長：正田 俊之(日本たばこ産業(株))

木ノ本 寿子(ゼリア薬品(株))

**P-84 INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions -An Update- 2020**

○Shimmo Hayashi<sup>1)</sup>, CM Keenan<sup>2)</sup>, A Bradley<sup>3)</sup>, DG Goodman<sup>4)</sup>, Takanori Harada<sup>5)</sup>, R Herbert<sup>6)</sup>, Hijiri Iwata<sup>7)</sup>, M Jacobsen<sup>8)</sup>, R Kellner<sup>9)</sup>, B Mahler<sup>6)</sup>, E Meseck<sup>10)</sup>, T Nolte<sup>11)</sup>, S Rittinghausen<sup>9)</sup>, J Vahle<sup>12)</sup>, Katsuhiko Yoshizawa<sup>13)</sup>

<sup>1)</sup>Japanese Society of Toxicologic Pathology, <sup>2)</sup>CM Keenan ToxPath Consulting, <sup>3)</sup>Charles River,

<sup>4)</sup>Independent Consultant, <sup>5)</sup>The Institute of Environmental Toxicology, <sup>6)</sup>NIEHS, <sup>7)</sup>LunaPath LLC, Laboratory of Toxicologic Pathology, <sup>8)</sup>AstraZeneca, <sup>9)</sup>Fraunhofer ITEM, <sup>10)</sup>Novartis Institute for Biomedical Research,

<sup>11)</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, <sup>12)</sup>Eli Lilly & Company, <sup>13)</sup>Mukogawa Women's University

**P-85 パンロジストのSENDへの関わりの実例 -SENDIG 3.1におけるパンロジストが担う役割とは-**

○畠山 洋文<sup>1)</sup>、小泉 治子<sup>1)</sup>、堀川 真一<sup>1)</sup>、飯野 好美<sup>1)</sup>、佐藤 伸一<sup>1)</sup>、安齋 享征<sup>2)</sup>、岩田 聖<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>株式会社イナリサーチ、<sup>2)</sup>昭和大学 医学部、<sup>3)</sup>ルナパス毒性病理研究所

**P-86 病理組織標本の長期保存性の検討**

○下内 孝司、日比 大介、瀧本 憲史、柳澤 幸宏、柳 浩由紀、栗林 正伯

小野薬品工業(株)

# 講演要旨

年会長特別セッション

特別セッション

シンポジウム

ワークショップ

IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture



## ASL-1

## 一般市民とのコミュニケーションが難しい理由

○中谷内 一也

同志社大学 心理学部

ワクチンの副作用のリスクや農薬、食品添加物の健康影響について、毒性病理学の専門家として一般市民に説明したがうまく理解してもらえなかった、あるいは、理解が得られたという感触はあったのに行動レベルでの影響が見られなかった、という経験はないだろうか。専門知識がなくても理解できるように易しく解説し、エビデンスを丁寧に説明しているにもかかわらず、納得が得られないということである。本講演ではなぜこのようなことが起こるのかを心理学的な視点から検討したい。このようなことが起こる理由を説明する理論群として二重過程理論がある。この理論群にはバリエーションがあるが、ほぼ共通するのは、私たちの判断や意思決定を支える思考モードが、直感的で低負荷かつ高速な「システム1」と、単なる直感を超えてリスク対ベネフィットのトレードオフ計算し是非を判断する「システム2」との両者で構成されているという点である。毒性病理学の専門知はシステム2によって生み出され、専門家としての説明もシステム2によって準備され、一般市民のシステム2によって理解されるものとして情報発信される。しかし、一般市民がシステム2によって理解したとしても個人の行動を規定する判断・意思決定がシステム1を基盤としたものであれば、「説明は理解されたはずなのに、行動は何も変わらない」ということになる。本講演では思考の二重過程がもたらすこういった齟齬を具体的に説明し、対応方針について議論する。

## ■ 略歴

中谷内 一也  
同志社大学 心理学部  
教授

1962年 大阪生まれ。

同志社大学大学院心理学専攻を単位取得退学後、日本学術振興会特別研究員、静岡県立大学、帝塚山大学を経て現在、同志社大学心理学部教授。

## ■ 経歴

専門は社会心理学で、とくに、人々の直感的なリスク認知や防災行動、信頼の問題について研究を進めている。

近著として「信頼学の教室（講談社現代新書、2015年）」、「リスク（翻訳：丸善サイエンス・パレットシリーズ、2015年）」など。

論文“The Unintended Effects of Risk-Refuting Information on Anxiety”がRisk Analysis誌の2013年最優秀論文賞受賞。

## ASL-2

## クライシスコミュニケーションの現場～科学者は&lt;正しい&gt;だけで十分か

○柴田 文隆

東京農業大学

近年、東日本大震災で起きた原子力発電所事故のような緊急事態の際に起こる、専門家と、一般市民やマスコミ、防災担当者、政治家などの間のコミュニケーション不全が問題となっている。誠実な専門家ほど、科学的に「正しい」事実を知らせ、理解してもらうことを使命と考え、専門用語と研究データを駆使して知識を一般市民(国民、住民、納税者、有権者)に伝達しようと努力する。しかし基礎知識に乏しい市民にとって、その内容はしばしば難解で、専門家のそうした「語り口(説明スタイル)」が、「科学的に正しい」知識を一方向的に押し付けるものになっているとの反発を招くことも少なくない。では専門家はどうか振る舞えば良いのだろうか。ギリシャ語では対話のことをディアロゴス(dialogos)という。ロゴス(真理、真相)をディア(分ける、分有する)という意味から成る。つまり話し合うとは、ある物事の真実を分かち合い、理解し合う行為だった。専門家が市民らと話し、重要な事実を理解してもらおうとするなら、学問上の厳密さ、正確性が少々損なわれることがあったとしても、相手の理解度を測りながら歩み寄り、共有できる事実に近づこうとする姿勢を崩さないことが大事だ。市民の選択、判断、行動の基礎となる事実・真理が「ディア」されることを最優先とし、市民に正しい行動を選択してもらえることをもって、専門家の役割を果たしたと満足すべきなのだと思う。そのためには日頃からの地道な活動が欠かせない。市民講座などで科学リテラシーの向上を目指すと同時に、自分たちが防災担当者や政治家とどう接するべきか、相手をミスリードしない説明スタイルとはどういうものか実地で研鑽を積むことも重要である。国(政府)には、こうした地道な活動が行えるプラットフォームを構築する責任がある。

## ■ 略歴

柴田 文隆

東京農業大学 応用生物科学部

教授

1959年 秋田県生まれ。

1982年 明治大学法学部法律学科卒、読売新聞東京本社に入社。

科学部で脳死臓器移植、生命科学、原子力、宇宙開発など取材。東日本大震災時は科学部長。

編集局次長、編集委員(科学技術・原子力担当)など歴任。

2017年 東京農大教授(「現代の環境問題」「科学と哲学」「科学メディア論」「科学の歴史」など教養科目を担当)。

## SL1-1

## 多能性幹細胞由来分化細胞の遺伝子不安定性と腫瘍発生の関係についての考察

○川真田 伸

公益財団法人 神戸医療産業都市推進機構

ES細胞やiPS細胞等の多能性幹細胞を用いた細胞移植を実施するうえで最も懸念される安全性上のリスクは、移植細胞による腫瘍形成リスクである。腫瘍は細胞側の問題として、1) 分化抵抗性の未分化細胞や分化抵抗性の中間体細胞が最終製品に残留し、これらの細胞からは奇形腫や腫瘍が形成されるリスク2) 長期間の培養による遺伝子異常が生じ、この遺伝子異常を原因として腫瘍が形成されるリスク、そして3) 腫瘍を検出する側の問題として、不十分な腫瘍形成能細胞の検出系のため、腫瘍形成事象を見落とすリスクである。臨床にはゼロリスクはないため、どのようなリスクがあり、どのようにリスクを減らし、どのようにリスクを管理したと説明するかが前臨床試験の目的である。本章ではこれらのリスクのうち、移植細胞の長期培養による遺伝子異常に起因する腫瘍形成について考察する。多能性幹細胞は体性幹細胞と異なり未分化状態では理論上無限に分裂するため、分裂回数の増加に基づく遺伝子の不安定性からSingle nucleotide variants (SNVs) や insert/deletion (Indel)、copy number variants (CNVs) の変異が起こる。これらの変異のうちCNVsはDNA arrayで比較的簡単に定量性をもって評価可能であり、実際当LabではKaryostat HDのarrayを使ってCNVs $\geq$ 4を認める場合は、腫瘍形成リスクが高いとして臨床使用不可と判断している。一方Whole Gene Sequence (WGS) や Whole Exon Sequence (WES) で発癌リストとされるCosmic Census List や Shibata List に該当する遺伝子のSNVsやIndelを検出しても直ちに腫瘍形成に結び付かないケースが殆どで(29例中1例)あった。このためCNV $<$ 4の細胞のみマウスへの移植試験を実施して最終的な安全性試験の判断を行っている。

## ■ 略歴

川真田 伸

公益財団法人 神戸医療産業都市推進機構

1981年 京都大学理学部物理学科卒業

1990年 神戸大学医学部卒業

1990年 京都大学医学部附属病院 (研修医)

1991年 和歌山赤十字病院 (研修医・修練医・血液内科)

1998年 京都大学博士 (医学) 病理系授与

1999年 米国・Systemix、スタンフォード大学医学部博士研究員

2002年 財団法人先端医療振興財団主任研究員

2015年 公益財団法人先端医療振興財団 (現 公益財団法人神戸医療産業都市推進機構)

細胞療法研究開発センター長

## ■ 経歴

血液内科医として和歌山日赤に勤務。その後京都大学大学院および米国Systemix、スタンフォード大学で造血幹細胞の研究に従事。帰国後2002年から先端医療振興財団 (現在の神戸医療産業都市推進機構) で再生医療の実施、2004年から細胞培養センター (CPC) の管理運営を行っている。幹細胞研究と細胞培養加工技術開発を専門とする。

## SL1-2

## ヒトiPS細胞株の造腫瘍性に関する特性解析

○安田 智

国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部

ヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)は、様々なタイプの細胞に分化が可能な多能性と自己増殖能を持つことから、ヒト細胞加工製品(再生医療等製品)の原材料として期待されおり、実用化に向けた研究開発も盛んに行われている。しかしながら、未分化なiPS細胞はテラトーマ(奇形腫)形成能を持つことから、最終製品を構成する分化細胞における未分化iPS細胞の混在が、移植後の腫瘍形成の潜在的リスクとして懸念されている。造腫瘍性リスクにおける問題として、想定される移植細胞数である $10^4$ から $10^9$ 個中の僅かな未分化・造腫瘍性細胞混入の検出・解釈法に関する量的な問題と、未分化iPS細胞に起因する腫瘍の病理学的特性の予測・管理法に関する質的な問題がある。したがって、iPS細胞加工製品の造腫瘍性リスク対策として、製品に混在する未分化細胞の量を把握するだけではなく、原材料であるiPS細胞株の造腫瘍性に関連する特性も把握する必要があると考えられる。本セッションでは、各種ヒトiPS細胞を用いた*in vivo*造腫瘍性試験および形成腫瘍の病理学的評価の結果と、iPS細胞の網羅的遺伝子発現解析やエクソーム解析のデータから、iPS細胞の造腫瘍性に関連した細胞特性について考察したい。

## ■ 略歴

安田 智  
 国立医薬品食品衛生研究所 細胞・再生医療製品部  
 室長  
 1999年 名古屋市立大学大学院薬学研究科博士後期課程修了  
 1999年 国立感染症研究所細胞化学部  
 2002年 米国テネシー大学ヘルスサイエンスセンター生理学部門において、博士研究員として研究に従事。  
 2004年 札幌医科大学医学部に助手として着任し、一貫して脂質生化学を専門とした研究を行う。  
 2009年 国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医療部主任研究官に着任してからは、現在まで再生医療に用いる細胞加工製品の品質・安全性の評価に関する研究に携わる。主にヒトiPS細胞の特性である造腫瘍性と分化傾向の視点から、iPS細胞を利用した製品の品質評価法の開発とその性能評価を行っている。  
 2012年 国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医療部室長。  
 2014年 現職



## SL2

## 免疫チェックポイント阻害薬の併用療法による免疫介在性肝障害の病理

○ Timothy Affolter, Heather Llewellyn, Changhua Ji

ファイザー 医薬安全性研究開発部門 病理

免疫チェックポイント阻害薬(CPI)は、がん免疫療法の柱となる薬剤である。CPIは、一般的に、がんを攻撃するT細胞を活性化させることにより、がん細胞を死滅させるが、ヒトにおいてCPI併用療法による免疫介在性の有害事象が認められている。一方、既存の動物モデルでは、CPI併用療法によるこれら有害事象の発現率および重症度の予測性が低いことから、我々は再現性の高い新規マウスモデルを開発した。PD1 (programmed cell death protein 1)欠損マウスへの抗CTLA4 (細胞傷害性Tリンパ球抗原4)抗体とIDO1 (インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ1)阻害薬の併用投与により、肝臓に炎症と壊死が発生すると共に、他の組織にも同様の病変が散発する。そして、これらの病変はヒトで報告されているものと病理組織学的に類似する。免疫フェノタイピングの結果、病変部に浸潤した炎症細胞はICOS (inducible t-cell costimulator)とCD44を高発現するオリゴクローナルなCD8陽性T細胞群であることが明らかとなった。さらに、レーザーキャプチャー顕微鏡、病理画像解析、単一細胞トランスクリプトーム解析などの新技術を利用して浸潤したCD8陽性T細胞群におけるT細胞の活性化および枯渇化を示す様々なマーカーの発現を検索した。また、全身のCD8陽性T細胞の減少により、CPIで誘発される肝障害が軽減された。

## ■ Biography

Timothy W. Affolter  
Associate Research Fellow  
Global Pathology, Drug Safety Research and Development, Pfizer Inc.

Tim Affolter is a pathologist at Pfizer in La Jolla, California with 14 years of industry experience in discovery and toxicologic pathology with an emphasis in the therapeutic areas of oncology and immunology. Prior to his career at Pfizer, Tim completed a fellowship in zoo and wildlife pathology at the Zoological Society of San Diego, preceded by pathology residency and advanced training at the University of California (Davis). Tim is also an accomplished musician and songwriter, and in his spare time he enjoys playing ice hockey, travelling, and spending time with his four children.

## S1-1

## 医療機器の生物学的安全性評価を巡る国内外の動向

○配島 由二

国立医薬品食品衛生衛研 医療機器部

生体と接触する医療機器の薬事申請には、非臨床試験として生物学的安全性試験の実施が求められる。医療機器における生物学的安全性評価の枠組みとその方法は、国際規格ISO 10993に規定され、各国の規制に使用されている。我が国では日本工業規格JIS T 0993-1が発行されると共に、厚生労働省(国内)ガイダンス「医療機器の製造販売承認等に必要となる生物学的安全性評価の基本的考え方について」の発出により規制指針が示されている。

2018年8月に改訂されたISO 10993-1(医療機器の生物学的安全性試験の基本的考え方)では、評価に要求される試験パッケージが大幅に見直されている。10993シリーズの試験法規格の中では、感作性・刺激性試験の内容(10993-10)を大きく見直す方向で改訂作業が進められている。また、10993-1の引用規格である10993-17(曝露量評価)や10993-18(化学的特性)等も改訂中であり、毒性学的懸念の閾値(TTC)を考慮した化学分析を併用して生物学的安全性を評価する手法が国際標準となりつつある。

ISO 10993-1:2018の発行に伴い、現在、JIS T 0993-1及び国内ガイダンスも改訂作業が進められており、試験法を含む国内ガイダンスでは、刺激性試験及び血液適合性試験の内容が大きく見直されている。本講演では、ISO 10993シリーズ及び国内規格の改訂状況、トピックスとなる試験法、並びに化学分析を併用した評価の基本的考え方等、医療機器の生物学的安全性評価を巡る最近の動向について概説する。

## ■ 略歴

配島 由二

国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部  
部長

1980年3月	城西大学付属城西川越高等学校 卒業
1980年4月	城西大学薬学部薬学科 入学
1984年3月	同上 卒業
1984年4月	城西大学大学院薬学研究科病原微生物学専攻(修士課程) 入学
1986年3月	同上 修了
1986年4月	城西大学大学院薬学研究科病原微生物学専攻(博士課程) 入学
1989年3月	同上 修了、学位取得(薬学博士)
1989年4月	ボルステル研究所 研究員(旧・西ドイツ/Director: Ernst Th. Rietschel)
1990年4月	国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部第一室 研究員
1996年4月	同上 主任研究官
1996年7月	JICA 中国天津薬品検査技術プロジェクト 天津市薬品検験所 無菌試験専門家
1997年4月	国立医薬品食品衛生研究所医療機器部第一室 室長
2013年4月	早稲田大学 医療レギュラトリーサイエンス研究所 招聘研究員
2016年4月	国立医薬品食品衛生研究所医療機器部 部長
2016年6月	大阪大学大学院薬学研究科 招聘教授

## S1-2

## 医療機器の非臨床試験の現場から

○萩原 仁美

テルモ株式会社 評価センター

薬機法第2条第4項では、「医療機器」とは、人若しくは動物の疾病の診断、治療若しくは予防に使用されること、又は人若しくは動物の身体の構造若しくは機能に影響を及ぼすことが目的とされている機械器具等(再生医療等製品を除く。)であつて、政令で定めるものをいう。」と定義される。生体と接触する医療機器の薬事申請には、非臨床試験として生物学的安全性試験の実施が求められる。医療機器における生物学的安全性評価の枠組み及びその方法は、国際規格ISO10993に規定され、各国の規制に使用されている。わが国では、日本工業規格JIS T 0993-1が発行されるとともに、厚生労働省ガイダンス「医療機器の製造販売承認等に必要な生物学的安全性評価の基本的な考え方について」(平成24年薬食機発0301第20号)の発出により規制指針が示されている。なお、ISO10993シリーズは現在改定作業が進んでいる。医療機器は多種多様であり、人体への接触する部位や接触の仕方、接触時間、およびそのサイズに基づいて毒性学的リスク評価を行い、評価項目を選択する。生物学的安全性試験の中で、病理が関与する項目としては、抽出液による全身毒性試験と埋植試験がある。医療機器には硬材料を含むものもあり、生体との界面を観察する場合は、樹脂標本で評価する必要がある。医療機器のサイズによっては、臨床適用部位での評価に大動物での実験が必要となる場合もある。また、生分解性材料などの場合、特性を考慮した評価が必要となってくる。本発表では、薬物溶出ステント、人工血管、癒着防止剤等において、弊社における実施例を踏まえ、その評価方法について報告する。

## ■ 略歴

萩原 仁美  
テルモ株式会社 評価センター  
主任研究員  
東京大学 薬学部 卒業  
テルモ株式会社 入社：医療機器の安全性評価実施  
山梨医科大学 第一病理学講座 出向：血管病理の研究

## S1-3

## 医療機器の生体適合性評価における形態学的解析手法の有用性

○宮内 泰

株式会社鎌倉テクノサイエンス 生物試験業務部

医療機器の生物学的安全性評価において、薬食機発0310第20号あるいはISO10993等のガイドラインに従って病理学的検討が実施される試験は、生体への材料埋め込みによる埋植試験、コンタクトにおける眼装用試験および全身毒性試験等が知られている。また、医療機器の評価において重要なのは、その用途の特殊性から、機器の使用方法に応じた生体への適切なリスク評価をすることである。こうした安全性評価の中で、病理専門家は、毒性病理学的な異常変化をとらえるだけでなく、組織の再構築を含め、形態の面から生体適合性を総合的に考察することが重要になってくる。また一方で、医療機器の開発において、その機能性を検討する様々な試験の中で、形態学的解析の利点を生かした手法は、これらの医療機器の有効性を測るために重要な位置付けを持つ。こうした医療機器のリスク評価また機能性評価におけるHE染色のみならず各種病理組織染色法による解析、免疫組織化学的手法による形態からのアプローチ、透過型電子顕微鏡(TEM)および走査型電子顕微鏡(SEM)等の利点について、評価の際における経験を元にご紹介したい。その他、FIB-SEMを用いた3次元超微形態構造解析などの新規解析法も含め、医療機器の生体適合性評価における形態学的解析手法の有用性また将来的な可能性についても考察する。

## ■ 略歴

宮内 泰  
株式会社鎌倉テクノサイエンス 生物試験業務部  
主席研究員

1990年3月 東京大学農学部獣医学科 獣医病理学教室 卒業  
1990年4月 東レ株式会社入社。基礎研究所 薬理研究室にて医薬品開発における薬理研究。  
2000年4月 同 安全性研究室にて医薬品開発における安全性研究。  
2003年1月 株式会社鎌倉テクノサイエンス (東レグループ)  
試験受託事業の中において、医薬品、食品および化学物質等の安全性評価(毒性・病理)、医療機器の生体適合性評価(機能性・安全性)、リスク評価(医療機器および化学物質等)。

## S2-1

## Trends in regulation and animal substitution tests for cosmetic safety evaluation in Korea

○ Jae-Sik Hwang

Dt&amp;CRO

As the abolition of animal testing in the cosmetics market has expanded globally, the Cosmetics Act of Korea, which bans animal testing, has been implemented in 2016. In the world including Korea's KoCVAM, they have established a validation study center for alternative animal testing methods such as ECVAM, ICCVAM, JaCVAM and conducted validation study on the need for alternative animal testing methods. In the cosmetics alternative animal test method, the European Union has banned animal tests on cosmetics and cosmetic raw materials since 2013. Korea has banned animal tests on cosmetics and cosmetic raw materials since 2017. It is also mandatory to carry out the test methods set out in the OECD and FDA guidelines. Since 2017, alternative animal tests methods has been activated in Korea, and 19 test guidelines have been established. In Japan, JaCVAM was established in 2005 under the National Institute of Health Science (NIHS), which is responsible for research and development of alternative animal test methods. JaCVAM also contributes internationally through efforts to validate alternative test methods and establish guidelines. This study is a comparison of regulation and the current status of the alternative animal test methods for cosmetic permissions in Korea.

## ■ Biography

Jae-Sik Hwang, DVM, Ph.D.

## Employment History

• College of Veterinary Medicine, Yanbian University	1982–
Assistant Professor	1987–
Associate Professor	1994–
• Institute of Veterinary Medicine, Chungbuk University	1997–
Senior Researcher	1998–
• Biototech Co., LTD	2002–2018
Researcher of Toxicology Group	2002–2004
Study Director of Toxicology Group	2005–2018
• Dt&CRO Co., LTD	2019–
Senior Principal Researcher	Present

## Education

• Ph.D. in veterinary science (Chungbuk University)	2002
• MA in veterinary science (Chungbuk University)	1999
• BA in veterinary science (Yanbian University)	1982

## Number of paper

- Author: 15
- Co-author: 12

## S2-2

## 食品安全性評価の進化に向けたILSI Japanの取り組み

○田中 康浩<sup>1,2)</sup><sup>1)</sup> 特定非営利活動法人 国際生命科学研究機構 日本支部、<sup>2)</sup> サントリー MONOZUKURI エキスパート株式会社

ILSI Japanでは、食品の適切な安全性評価の推進を目的に、食品の安全性評価の際の要点を収載した「食品の安全性評価のポイント」をまとめるとともに、安全性評価に使用される新たな評価手法の理解促進に努めてきた。現在、食品の安全性評価が抱える課題の一つとして、動物実験代替法の考えに基づく新たな安全性評価手法の活用が挙げられる。食品添加物あるいは機能性を有する食品成分の安全性評価には、動物を用いた反復投与毒性試験が求められることがある。動物を使用しない評価法としては、既存の毒性情報やメカニズムに関する情報を活用した毒性予測法や、新たな*in vitro*毒性評価法など様々な研究が進められているが、公的に認められた代替法は存在しないのが現状である。これに対してILSI Japanでは、食品の安全性評価に活用可能な動物実験代替法に貢献することを目的に、食品安全領域の動物実験代替法の推進プロジェクトを立ち上げた。本プロジェクトには2019年9月現在、15の食品関連企業が参画し、アカデミアと連携しながら「最新技術の情報収集」、「代替化加速のための研究推進」、および「コンセンサス形成のための情報発信」を柱とした活動を行っている。具体的な活動の一つとして、既存の毒性試験情報を活用した食品成分の毒性予測を目的として、食品成分に関する毒性試験データベース構築を行っている。本講演では、食品の安全性評価の概要と、食品成分の毒性試験データベース構築に向けた活動など、プロジェクトでの現在の取り組みを紹介する共に、ILSI Japanからの本学会への期待についても述べる。

## ■ 略歴

田中 康浩

サントリー MONOZUKURI エキスパート株式会社 品質保証本部  
課長

2004年 鹿児島大学農学部生物資源科学科 卒業

2006年 鹿児島大学大学院農学研究科 修了

2006～2009年 株式会社新日本科学 安全性研究所

2009年～現在 サントリー MONOZUKURI エキスパート株式会社 品質保証本部 安全性科学センター

2009年～現在 ILSI Japan 食品リスク研究部会

2018年～現在 ILSI Japan 食品リスク研究部会 食品安全領域の動物実験代替法の推進プロジェクト

2019年～現在 ILSI Japan 食品安全領域の動物実験代替法の推進プロジェクト データベースワーキンググループ  
リーダー

## S2-3

## The fresh water snail as a specific model in environmental toxicity study and the histopathological changes under testing

○ Klaus Weber

AnaPath GmbH

There are three main issues that may be considered for testing on endocrine activity on aquatic organisms:

- product safety for humans
- product safety in environment
- economical considerations

Invertebrates play an important role in ecosystems as herbivores, carnivores, and destruent, thus contributing to the maintenance of energy flow and cycles of matter. With a number of approximately up to 130,000 living species, the diverse molluscan phylum can be found in almost all biotopes world-wide. Approximately 80% of the molluscs are gastropods (snails), and from these about 35,000 species populate terrestrial, freshwater or marine habitats.

The extent of possible effects of chemicals on molluscs came into public regard with the dramatic effects of tributyltin (TBT) compounds, which have broadly been used as antifouling agents for ships.

Strategies for the use of molluscs as multidisciplinary models in ecotoxicity studies are proposed, mainly due the fact that some metabolic pathways show homologies to vertebrates. Misinterpretation for endocrine effects in testing products on snails need to be elucidated by histopathology. Mainly irritative effects (inflammation, degeneration etc.) and parasitic infections may be primary causes of changed physiological parameters (e.g. fertility, fecundity).

### ■ Biography

Klaus Weber  
CEO  
AnaPath GmbH  
AnaPath Services GmbH

Klaus Weber was born in East Germany and became a veterinarian and a biologist. He was working in laboratories in East Germany and also, for several years in human pathology. Thereafter, he moved to Switzerland and became global head of pathology at RCC/Harlan Laboratories between 1991 and 2011. He founded the company AnaPath GmbH in Switzerland already in 2004, a holding covering up to ten independent pathologists. After termination of his contract with Harlan Laboratories, he founded in 2012 a new company in Switzerland, AnaPath Services GmbH, which is functionally active since spring 2013. The 41 individuals of this company cover all subjects in the field of toxicologic pathology including necropsy at client sites and histotechnology as well as a number of sophisticated methods within a large network between industry and universities. Meanwhile, a lab was established for material (medical device) and nanomaterial testing, as well as a lab for molecular pathology. Due to approximately 35 years of professional experience, Klaus Weber has experience in all laboratory species including fish and invertebrates. His area of work covers short and long term as well as oncogenicity studies with specialties in neuropathology, inhalation pathology, bone marrow differentiation and various other topics.



## S3-1

## 肝臓ヒト化モデルの毒性研究への応用

○末水 洋志

(公財) 実験動物中央研究所 実験動物研究部 バイオメディカル研究室

ヒトとヒト以外の動物種には薬の体内動態や代謝、毒性に隔たり(種差)があり、動物実験の結果がそのままヒトを反映しないことがある。我々はこのような種差克服のため、宿主マウスの肝細胞をヒト肝細胞で置き換えた“ヒト化肝臓マウス”を開発した。ヒト化肝臓は生化学的、分子生物学的、組織学的特徴が成熟したヒト肝臓によく似ており、また、薬物代謝プロフィール等の肝臓の機能もヒトに近いことが確認されている。本講演では“ヒト化肝臓マウス”の肝毒性評価への応用例やその場合の注意点を紹介する。Alanine Aminotransferase (ALT) は肝逸脱酵素として知られ、一般に肝障害の程度の指標とされている。ところがヒト化肝臓マウスにはマウス肝細胞が残存するため、種特異性のないALT活性でヒト肝細胞障害の程度を評価することはできない。そのため、我々は種特異性のある肝細胞障害検出方法として、1) Human/Mouse ALT ELISA、2) Human 可溶性ケラチン 18 ELISA、3) Human Aspartate Aminotransferase (AST) AlphaLISAを用いている。本講演ではアセトアミノフェンやチオアセトアミドなど、一般的な肝毒性物質を用いたヒト化肝臓傷害モデルを紹介する。

## ■ 略歴

末水 洋志  
 公益財団法人 実験動物中央研究所 実験動物研究部  
 部長

1986年3月 北里大学 衛生学部 産業衛生学科 卒業  
 1986年4月 株式会社 免疫生物研究所 (IBL) 研究員  
 1989年7月 東海大学 医学部 分子生命科学系 技術系職員  
 1995年11月 北里大学 大学院 学位取得 (保健学博士)  
 2000年1月 財団法人 実験動物中央研究所 研究員  
 2001年 National Institute on Aging, NIH Special Volunteer  
 2008-2012年 慶應義塾大学 医学部 非常勤講師  
 同 先端研究所 訪問准教授  
 2012年 公益財団法人 実験動物中央研究所 研究部門 副部門長  
 2014年10月～ 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 客員教授

## S3-2

## SLEモデルの病理評価上の留意点

○加藤 淳彦、村井 厚子

中外製薬(株) 研究本部

新たに承認される薬剤の多くが、分子標的薬となった現在、毒性病理学も単に on-target/off-target 毒性の評価にとどまることなく、薬剤標的分子の疾患における役割や、その修飾効果の検討など、さまざまな領域に進出する事が求められている。そこでこのセッションでは、毒性病理学が今後進出すべき一領域として、いわゆる Translational research 分野を取り上げ、その社会的要請や意義について、各種 SLE モデルの腎病理組織像とヒト SLE 腎病変(ループス腎炎)とを比較し考察する。ヒトループス腎炎の ISN/RPS 分類によると、腎臓標本上に見られる組織像に応じて、I～VI 型に分類され、これに基づいて治療方針が決定されている。一方、SLE の動物モデルは自然発症モデルとして、NZB/NZWF1、MRL/lpr、BXSB/MpJ-Yaa などが知られ、これらは発症までに数ヶ月を要するものの、自己抗体価の上昇を伴いながら、それぞれ特徴的な腎病変を呈する事が知られている。またこれに加え、近年、比較的短期に薬剤により誘発できるモデル(イミキモド誘発 SLE モデル)の報告も見られ、同モデルでも自己抗体価が上昇するとされるが、その病理像の解析となると十分とは言えない。以上から、これら動物モデルで見られる腎臓病変と、ヒトループス腎炎分類で見られる各組織像を比較し、その位置付けを含め、今後の Translational research 上の問題点を考察する。

## ■ 略歴

加藤 淳彦

中外製薬株式会社 創薬基盤研究部

主席研究員

1993年3月 東京農工大学 農学部 獣医学科 卒業

1993年4月 中外製薬株式会社 入社

2005年3月 東京大学大学院 農学生命科学研究科

獣医学専攻 博士課程 修了

## S3-3

## 三次元培養組織と毒性評価

○美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、服部 一夫<sup>2)</sup>、岩槻 健<sup>1,2,3)</sup>、煙山 紀子<sup>1)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科、<sup>2)</sup>東京農業大学 院 食品栄養学専攻、

<sup>3)</sup>東京農業大学 院 食品安全健康学専攻

オルガノイドは、複数細胞種からなる特定組織を *in vitro* にて3次元的に構築し、生体内の組織または臓器の特徴を保持する培養システムである。これにより幹細胞と分化した組織の機能が再現され、構成する細胞間、細胞及びマトリックスとの相互作用を観察することが可能とされている。また、オルガノイドは2D(2次元)細胞培養モデルと異なり、生体組織と同様の生理学的特徴を有し、物理的、分子生物学的及び生理学的にも器官・組織を模倣しており、生体組織の良いモデルとなっている。

我々は、腸管の幹細胞を単離し、ゲル中で増殖・分化させ三次元的に培養する腸管オルガノイドの培養法を用いて、腸管機能に対する食品成分をはじめとする各種化学物質の影響を検討することで、腸管研究におけるオルガノイド培養系の有用性を示してきた。本発表では、腸管オルガノイド培養系から得られた結果と、動物を用いた試験より得られた結果とを比較検討したので報告する。

具体的には、マウス腸管由来オルガノイドを用いて、カビ毒の一種であるデオキシニバレノール(DON)や粘膜障害作用を有するデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)などの化学物質が、粘膜防御機構や炎症ならびに粘膜修復に及ぼす影響について、オルガノイドの形態やその形成率、腸管幹細胞の性状、関連遺伝子の発現などに注目して評価した。さらに、マウスにDONならびにDSSを経口投与し、腸管粘膜への影響を、上皮の細胞間接着、細胞増殖、粘液分泌、粘膜における炎症反応ならびに関連遺伝子の発現などにより評価した。両者の結果を比較検討することで、オルガノイド評価系の妥当性・有用性を明確にし、動物実験代替法としての発展や、新たな腸管機能解析につながる *in vitro* 評価系の確立を視野に入れて検討を進めている。

## 略歴

美谷島 克宏

東京農業大学応用生物科学部 食品安全健康学科  
教授

1992年

北里大学獣医畜産学部獣医学科卒業

1992～1996年

東洋紡績(株) 医薬研究所 研究員

1995～1996年

財) 佐々木研究所 病理部 研修生

1996～2016年

日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究所

2001～2008年

東海大学 医学部 基盤診療学系 病理診断学 研究員

2016年

日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 退社

2016～2018年

東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科 准教授

2018年～

東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科 教授

現在に至る

## W-1

## Antibody-drug conjugatesの毒性病理

○白井 紀充

ファイザー 医薬安全性研究開発部門 病理

抗体薬物複合体(ADC: antibody-drug conjugate)は、有力な癌薬物療法の一つとして研究開発が盛んに進められてきた。強い細胞毒性を持つ薬物(ペイロード)と抗体とをリンカーで結合させたADCは、癌細胞に特異的に発現した分子を標的とした抗体によってペイロードをがん胞へ送達させ、その薬効を作用させるのが特徴である。癌細胞を選択的に死滅させる一方、正常な細胞には影響を与えないことを企図しており、抗癌作用と副作用の間の安全域の拡大が期待できる。しかし実際には標的外毒性(off-target toxicity)が生じてしまうのも事実で、ADCの用量制限毒性(dose-limiting toxicity)の多くはこのoff-target toxicityによることが知られている。ペイロード、リンカー及び抗体の各構成要素の特徴並びにペイロードと抗体との結合方法等が相互的にADCの薬効と毒性の発現に関与する。今回、ADCの毒性を評価する際に考慮すべき重要なポイントを論じ、併せて弊社の非臨床一般毒性試験において観察されたADC投与に関連した主な病理所見の実例を紹介する。

## ■ 略歴

白井 紀充  
ファイザー 医薬安全性研究開発部門 病理  
リサーチフェロー

1989年 ファイザー名古屋研究所入社。  
2008年 米国本部研究所に移転し、現在に至る。

## ■ 経歴

約30年間新規医薬品の非臨床安全性評価に従事。その他、愛知がんセンターにて発癌モデル動物、米国 Johns Hopkins 大学にて比較病理学を研究。  
岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士課程 修了。  
日本毒性病理学会認定毒性病理学専門家 (DJSTP)、日本獣医病理学専門家協会認定獣医病理学専門家 (DJCVP)、米国認定トキシコロジスト (DABT)。

## W-2

## 核酸医薬品の毒性試験でみられる病理組織変化

○仲辻 俊二

Altasciences Preclinical Seattle LLC

核酸医薬には、アンチセンス核酸、siRNA、およびアプタマーなどがあり、抗体医薬に続く次世代の分子標的薬として期待され、現在、がん、免疫疾患、神経筋疾患およびウイルス性疾患などを適応とした様々なタイプの開発候補化合物の臨床試験が行なわれている。また、多くの非臨床毒性試験も実施され、核酸医薬に共通してみられる特徴的な毒性変化が明らかになってきている。核酸医薬でみられる毒性変化は、大きく2つのグループに分けることができる。一つは、核酸医薬と生体内の核酸(RNA)が相補的に結合することで発現する変化で、標的分子に結合したときに起こる過剰な薬理作用によるもの(On-target effects)と標的以外の分子に結合したときに起こる副作用(Off-target effects)がある。もう一つのグループは、核酸との相補的結合に関連しない変化で、核酸医薬そのものの構造や物性に起因して発現し、化合物の蓄積、補体の活性化や免疫複合体を介した炎症免疫反応、肝毒性、腎毒性、血小板減少や血液凝固異常などがある。核酸医薬は、水溶性高分子で負電荷をもつことから細胞内への浸透性が悪く、生体内に存在する核酸分解酵素により速やかに分解されて消失するため、第一世代の化合物では大量投与に伴う蓄積に関連する毒性変化が主なものであった。このようなデメリットを改善するために様々な分子修飾が施され、細胞内への浸透がよく酵素による分解抵抗性が増した第二、第三世代の化合物が合成されてきているが、それに伴って発現する毒性も微妙に変化してきている。本ワークショップでは、核酸医薬のうちとくにアンチセンス核酸の毒性試験で共通してみられる特徴的な病理組織病変について、我々の経験を含めて文献的に知られている変化について紹介する。

## ■ 略歴

仲辻 俊二

Altasciences Preclinical Seattle LLC, Pathology Services  
Research Pathologist

1985年 神戸大学大学院農学研究科を卒業後、鐘紡株式会社に入社し、医薬品の毒性試験に従事。  
その後、日本オルガノン株式会社、藤沢薬品工業株式会社、アステラス製薬株式会社、および受託研究機関のSNBL USA, Ltd.などで30年以上にわたって医薬品の毒性病理評価を担当。

2018年から現職。

主な研究領域は薬剤誘発性の腎臓毒性の解析。

1999年大阪府立大学より農学博士を取得。

日本獣医病理学専門家(JCVP)および毒性病理学専門家(JSTP)。毒性病理用語・診断基準国際統一化推進委員会(INHAND)泌尿器ワーキンググループメンバー。

## W-3

## 神経細胞壊死を評価するために知っておきたいこと

○山田 直明

(株) LSI メディエンス 試験研究センター 病理研究部

神経細胞壊死は薬の安全性評価において非常に重篤な毒性変化である。しかし、剤によって毒性を発現する部位に特異性があるため、病理組織検査する部位(領域)を正確に選択しないとその変化を捉えられない。また、神経組織は採材時のアーティファクトが出やすいため、神経細胞の変化が真の変化であるかアーティファクトであるかを鑑別することがしばしば困難となる。さらに、被験物質による神経組織の変化が組織学的検査で捉えられるタイミングで剖検しないと、その変化を見逃す危険性もある。このように、神経毒性を評価する場合には考慮すべき点が多い。そこで今回は、1) 神経細胞壊死(necrosis, neuronal)とdark neuron artifactとの相違点、2) 神経症状と神経細胞壊死の経時的变化について、既知の神経毒性物質であるMK-801をラットに投与した結果を紹介しながら述べる。1) Dark neuron artifactはINHANDにおいてもコモンアーティファクトとして記述されており、神経細胞壊死と鑑別が必要なアーティファクトである。今回は、神経細胞の変化を検出する染色法であるFluoro-Jade染色を用いて、神経細胞壊死とdark neuron artifactを比較しながら、その識別方法を紹介する。2) いくつかの代表的な神経毒性物質は投与後数日で壊死のピークを迎え、1~2週間程度で神経細胞壊死が終息していくことが知られている。通常の4週間試験では、ターゲットとなった神経細胞が消失した像(cell loss, neuronal)を観察することになる。今回は、MK-801の脳皮質の神経細胞の経時的变化及び神経症状について紹介する。合わせて、免疫染色によるグリア細胞の反応も紹介したい。

## ■ 略歴

山田 直明  
株式会社 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  
2004年 北里大学獣医畜産学部卒業(獣医放射線学教室)  
2005年 株式会社アマネセル  
2007年 三菱化学安全科学研究所(現・株式会社 LSI メディエンス)  
賞罰  
2004年 北里賞  
2012年 第28回日本毒性病理学会総会および学術集会最優秀賞  
2018年 第34回日本毒性病理学会総会および学術集会優秀賞



## W-4

## 小型魚類による発がん性試験とメチルアゾキシメタノールによるメダカの肝発がん

○古川 賢、星川 優美子

日産化学(株) 生物科学研究所 安全性研究部

小型魚類による発がん性試験はDEN、DMBA、MNNG、アフラトキシン、多環芳香族炭化水素及びメチルアゾキシメタノール(MAM)などの肝発がん性物質について1980-90年代に多数実施されており、げっ歯類と同様に肝発がんすることが確認されている。本試験はげっ歯類の発がんモデルと比較して高感度、安価及び迅速であることから、げっ歯類発がん性試験の代替法及び環境汚染物質の発がん性を検出するための試験法としてその有用性が着目されていた。しかし、肝臓以外の臓器の発がん性物質については感受性が低く、その発がん性の検出力には限界があるとされている。一方、DEN、MNNG及びMAMなどの発がん物質では、極めて短期間曝露により数か月後に肝腫瘍を誘発することが知られており、小型魚類による発がん性試験は肝発がんポテンシャルの検索及び肝発がん機序解明には有用であると考えられる。今回、メダカにMAMを2 ppmの濃度にて24時間曝露し、3、7、10、14、28、60及び91日後に剖検し、肝臓を経時的に病理組織学検査を実施した。肝細胞の空胞変性及びアポトーシスがびまん性に認められ(3日後)、肝細胞は多発巣状性に壊死・脱落した(7及び10日後)。肝細胞の欠損部位は細胆管上皮細胞(肝幹細胞)の増殖及び海綿状変性により置換された(14日後)。残存した肝細胞は伊東細胞と思われる紡錘形細胞により取り囲まれて胞巣状に区画され、これらの間にメラノマクロファージ浸潤が認められた(28日後)。区画された肝細胞の一部は結節性に再生増殖し(60日及び91日)、肝腫瘍は60日後では5例中3例、91日後では3例中1例に認められた。本発表では小型魚類による発がん性試験の概要と、MAMによるメダカ肝臓の初期病変から肝発がんに至るまでの経時的な病理組織学的変化について解説する。

## ■ 略歴

- 古川 賢  
日産化学株式会社 生物科学研究所 安全性研究部  
理事副所長、安全性研究部長
- 1980年 鳥取大学 農学部 獣医学科入学  
1986年 丸紅飼料株式会社 技術センター入社(1989年 退職)  
1989年 日産化学工業株式会社 生物科学研究所入社  
2002年 岐阜大学連合大学院 獣医学博士号取得  
2017年 日産化学工業株式会社(現:日産化学株式会社) 理事副所長  
2017年 INHAND Fish Working Group Member



## Confounders of kidney carcinogenesis in rodent cancer bioassays

○ Gordon Hard

Private Consultant

In the long-term testing of chemicals for carcinogenicity, including chemicals added to foodstuffs and food ingredients, the toxicologist should be aware of a number of scenarios where renal tubule tumors, or their precursors, arise that are not due to a carcinogenic action of the test article. Situations producing such false positive results include exacerbation of chronic progressive nephropathy (CPN) in rats, confusion of atypical tubule hyperplasia (the obligate precursor renal tubule tumor) with CPN-related renal tubule cell proliferation, inclusion of spontaneous tumor entities such as the amphophilic vacuolar tumor in the total rat kidney tumor count, the possibility of a link between spontaneous forms of tubule dilatation and renal tubule tumor formation in mice, and the supposed predictivity of chemically-induced karyomegaly for renal carcinogenicity in both rats and mice. Examples of some of these aspects will be presented and discussed.

### ■ Biography

---

Dr. Gordon Hard  
Independent Toxicology Consultant

Dr. Hard spent most of his career in cancer research institutions studying renal carcinogenesis and assisting in institutional management. His most recent appointment was in the American Health Foundation from which he retired in 2001. Since then he has been working as a part-time consultant in kidney carcinogenesis, toxicology, and toxicologic pathology. During his career he was an Editor of "Food and Chemical Toxicology", "Toxicology In Vitro (for which he was a co-founder of the Journal), and "Toxicologic Pathology". Dr. Hard was awarded the Society of Toxicologic Pathology Lifetime Achievement Award in 2017.

#### The International Academy of Toxicologic Pathology (IATP)

The IATP was established in 1999 for the purpose of establishing standards of excellence in education, training and experience essential for competency in toxicologic pathology, to support the education of scientists and other members of society with evolving, relevant knowledge important to the health of society, to advise governmental policy leaders on issues of toxicology and pathology, and to develop expert opinions on issues relevant to product safety. The IATP is a nonprofit organization headquartered in New Jersey USA.

#### The International Academy of Toxicologic Pathology (IATP) Maronpot Guest Lecture Series

The second IATP Maronpot Guest Lecture will take place on February 13, 2020 at the JSTP annual meeting at Tokyo University of Agriculture. The IATP Maronpot Guest Lecture will be presented by Dr. Gordon Hard on Confounders for Kidney Carcinogenesis in Cancer Bioassays. The IATP Maronpot Guest Lecture series is supported by a grant from the Telikicherla Higher Education (THE) Foundation, a private family philanthropic foundation that provides scholarships, awards, and grants in support of higher education. THE headquarters is in Alexandria, Virginia USA.



# ポスター 要旨

※演題番号に\*の表記があるものは、筆頭演者が40歳未満の会長賞候補演題です。

P1 ~ P86



## P-1\*

## 亜硫化ニッケル( $\text{Ni}_3\text{S}_2$ )を単回硝子体内投与したラットの腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の病理組織学的解析

○山際 慶典<sup>1,2)</sup>、政次 美紀<sup>1)</sup>、田原 春菜<sup>1)</sup>、倉田 昌明<sup>1)</sup>、佐藤 洋<sup>2)</sup>

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

【緒言】亜硫化ニッケル( $\text{Ni}_3\text{S}_2$ )はラットへの硝子体内投与により眼球内腫瘍を誘発する。我々は第35回日本毒性病理学会学術集会にて、硝子体内投与医薬品の発がん評価確立検討の一環で $\text{Ni}_3\text{S}_2$ を単回硝子体内投与したF344ラットに眼球外眼窩内悪性神経鞘腫が発生したことを報告した。今回は他に認められた眼球内外の腫瘍性病変を中心に、非腫瘍性病変を含む $\text{Ni}_3\text{S}_2$ 投与眼の病理組織変化を報告する。【材料と方法】 $\text{Ni}_3\text{S}_2$ を用量0.5 mg/眼で右眼に単回硝子体内投与後、8～14ヵ月経過した雄性F344/DuCrIjラット10例、CrI:CD(SD)ラット15例、RccHan<sup>TM</sup>:WISTラット14例をセボフルラン吸入麻酔下で放血致死させた。眼球あるいは眼窩腫瘍を摘出後、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(IHC)・透過型電子顕微鏡検査(TEM)を実施した。【結果】RccHan<sup>TM</sup>:WISTに眼窩内腫瘍が1例、眼球内腫瘍が2例認められた。いずれも腫瘍細胞が周辺組織に浸潤し、悪性腫瘍の特徴を有していた。眼窩内腫瘍はTEMで腫瘍細胞に横紋筋線維を認めたことから横紋筋肉腫と診断した。眼球内腫瘍のうち1例はTEMで腫瘍細胞の周囲に基底膜様構造を誘発認めたことから悪性神経鞘腫と診断した。もう1例はHE、IHC、TEMで特徴づけられず、起源不明肉腫と診断した。非腫瘍性病変として、局所的な網膜萎縮・線維化・グリオシス、あるいは網膜穿孔が一部例に認められ、時折病変あるいはその周囲に被験物質様黒色顆粒状物が認められた。【考察】投与眼には異物反応に加え穿孔が認められた。 $\text{Ni}_3\text{S}_2$ は眼球内腫瘍を誘発するほか、腐食性により眼球後部の眼窩に移行して腫瘍を誘発すると推定された。

## P-2

## カニクイザルの1例にみられた限局性網膜病変

○神鳥 仁志、清水 文、植田 浩介、中村 小百合、福田 良、永井 博文

Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社

2週間反復投与毒性試験で用いたカニクイザル雄1例(3歳6ヵ月齢)の左眼球網膜病変を報告する。本例はメチルセルロース溶液を2週間経口投与後に剖検した対照群であり、被験物質投与歴はない。投与前及び剖検前の眼科学的検査では、黄斑から6時方向の眼底に不整形の退色部位が観察された。病理組織学的検査では、眼科学的検査異常部位に一致して限局性の網膜病変がみられた。弱拡大では網膜外顆粒層及び杆状体錐状体層の萎縮がみられ、萎縮した杆状体錐状体層の下部に褐色色素含有細胞の集簇がみられた。病変片端部では色素含有細胞はブルッフ膜内側の色素上皮細胞との連続性がうかがわれた。病変逆端部では正常部のブルッフ膜から連続する膜構造と脈絡膜との間に褐色色素含有細胞の集簇がみられた。ブルッフ膜の位置はこの部位では不明瞭であった。さらに、病変中央部では脈絡膜内にも同様の細胞が少数みられた。病変内には核が扁平な線維芽細胞様細胞の混在がみられたが血管新生はなかった。褐色色素含有細胞の起源は、色素上皮細胞あるいは色素貪食マクロファージと考えられたが、免疫染色を実施できなかったため同定できなかった。本病変は一部で色素上皮細胞からの連続性がみられたことから色素上皮細胞の限局性過形成である可能性が考えられた。一方、病変は網膜にとどまらず脈絡膜にもみられたことからマクロファージを主体とした炎症性の肉芽腫である可能性も否定できなかった。サルあるいはヒトでの自然発生性網膜病変として黄斑変性症、網膜色素変性症、サルコイドーシス等の報告があるが、本病変は黄斑とは離れた部位にみられ、組織学的に杆状体錐状体層下部の褐色色素含有細胞の集簇が特徴的であったことが、これら病変との鑑別点として重要と考えられた。

## P-3\*

## 三種混合麻酔薬のラットの角膜への影響

○神尾 恭平、守田 淳哉、石井 愛子、中西 豊、佐々木 稔

大正製薬(株) 安全性研究室

**【背景と目的】**三種混合麻酔薬(MMB)はメドミジン、ミダゾラム、ブトルファノールを混合した注射麻酔薬で、動物実験における麻酔薬として普及している。MMB以外の注射麻酔薬でラットの角膜の副作用報告があるが、MMBでラットの角膜に副作用報告はない。そこで、本研究ではMMBをラットに投与し、角膜への影響について検討した。また、MMBの構成成分の1つであるメドミジンに着目し、角膜病変とメドミジンの関連について検討した。**【材料と方法】**雄性SDラット(10匹/群)を用いて、対照群(生理食塩液)、MMB群(メドミジン:0.15 mg/kg、ミダゾラム:2 mg/kg、ブトルファノール:2.5 mg/kg)の他、メドミジンの関与を検討するためメドミジンの単独投与群、MMB中のメドミジンを2.5倍量に増量した群、MMB投与後にメドミジンの拮抗薬であるアチパメゾールを皮下投与した群を設定した。それぞれの群について、1回/週の頻度で4回腹腔内投与し、眼科学的検査及び病理組織学的検査を実施した。**【結果】**眼科学的検査において、MMB群で角膜実質における角膜混濁が認められた。当該変化は、メドミジン単独投与群でも認められ、MMB中のメドミジンを2.5倍量に増量した群では発現率の増加、程度の増強及び混濁領域の拡大を示した。メドミジンの拮抗薬であるアチパメゾールを投与した群では、角膜混濁の発現率の減少、程度の減弱及び混濁領域の縮小を示し、MMBによる角膜への影響が減弱した。メドミジンを2.5倍量に増量した群で、角膜混濁に一致して病理組織学的に角膜固有質における線維芽細胞の増生が認められた。**【結論】**MMB投与によりラットで角膜混濁が認められ、当該変化はメドミジンの関与が示唆された。

## P-4

## ラットの経皮投与毒性試験における眼球の組織学的変化

○押方 孝文、涌生 ゆみ、中原 豊、佐藤 順子、満石 三喜男、菅野 剛

(株) LSIメディエンス 創業支援事業本部 試験研究センター 病理研究部

**【背景】**医薬品(外用剤)の毒性評価として実施される経皮投与毒性試験では、通常、被験物質の経口暴露を防ぐために、動物にネックカラーを装着する。我々は、ネックカラーを装着したラットの経皮投与毒性試験において、眼球の組織変化が比較的多く認められることを認識しているが、ネックカラーの装着と眼球の病変との関連性についての報告は見当たらない。今回、弊社で過去に実施した反復経皮投与試験の眼球を用いて背景病変の調査を行ったので、報告する。

**【方法】**弊社で実施した8試験の反復経皮投与試験(動物種:CrI:CD(SD)ラット、投与期間:2, 4, 13および26週間)の偽処置対照群、媒体または基剤対照群の眼球(雄104例、雌103例)について病理組織学的に再評価を行った。また、すべての試験において除毛部位をリント布等で覆い、その周囲を伸縮性包帯で巻いて固定する閉塞投与を行っており、動物はネックカラーを常時装着していた。

**【結果】**検査したすべての試験で、角膜に異常所見が認められた。すなわち角膜上皮の剥離(雄27例、雌27例)、角膜上皮細胞の変性/壊死(雄8例、雌6例)、炎症性細胞浸潤(雄4例、雌4例)、鉍質沈着(雄16例、雌14例)が主な所見として認められた。角膜に何らかの異常所見が認められた動物の試験毎の発現率は、21%から55%であった。

**【考察】**経皮投与試験のネックカラーを装着したラットにおいて、眼球角膜の異常所見が比較的高い頻度で認められた。経口投与試験では、これほどの頻度で眼球角膜に異常所見は認められないことから、本報告で認められた眼球角膜の病変はネックカラー装着と何らかの関係があると考えられる。

## P-5

## Busulfan, Cisplatin, Kanamycin 投与によるラット新生子蝸牛への影響

○安藤 亮、江川 萌美、並木 啓汰、朴 天鎬、小山田 敏文

北里大学 獣医病理学研究室

【背景】 Busulfan はアルキル化抗がん剤であり、ラット胎子や新生子への暴露により、催奇形性や神経毒性を誘発することが知られている。新生子への影響を確認する予備実験の過程で、内耳への影響を疑う変化が確認された。薬剤による聴覚毒性は、Cisplatin や Kanamycin をはじめとする複数の剤で報告があるが、組織学的に未発達な幼若動物の聴覚への影響に関しては報告がほとんどなく、その影響の解明を目的とした。

【材料と方法】 6日齢のラット新生子に、生理食塩水(対照)、Busulfan (10 mg/kg)、Cisplatin (1 mg/kg)、Kanamycin (800 mg/kg) を4日間反復皮下投与し、投与開始後2, 4, 6, 8, 14日に蝸牛を採取した。

【結果】 Busulfan および Cisplatin 投与群では、体重増加抑制を示し、剖検では頸部脱毛、小脳の小型化が認められた。蝸牛の病理組織学的検索では、Busulfan で、コルチ器の外有毛細胞、らせん神経節の神経節細胞および蝸牛軸の神経線維に軽微な組織変化が観察された。Cisplatin では、同様の変化に加え、血管条の著明な萎縮が観察された。Kanamycin では、コルチ器の外有毛細胞に組織変化が認められた。

【考察】 Busulfan 投与により、ラット新生子にみられた蝸牛の組織変化は、全身組織への影響に比して乏しく、聴覚への影響はほとんどないと考えられた。Cisplatin および Kanamycin 投与により、新生子にみられた変化は成熟動物での過去の報告と同質で、同様の聴覚毒性を示すことが考えられた。また、Busulfan や Cisplatin 投与により、新生子の聴覚に影響する用量では、脳を含む全身組織での影響の方がより重度であることが考えられた。

## P-6

## SDT fatty ラットにおける片腎摘出術および食塩負荷が糖尿病網膜症進展に及ぼす影響

○篠原 雅巳<sup>1)</sup>、Francois Briand<sup>2)</sup>、Sophie Antoneli<sup>3)</sup>、Virginie Mauro<sup>3)</sup>、Nicolas Cimbolini<sup>3)</sup>、Emmanuel Brousseau<sup>2)</sup>、太田 毅<sup>4)</sup>、美谷島 克宏<sup>5)</sup>、影山 靖<sup>1)</sup>、Laurence Feraille<sup>3)</sup>、Thierry Sulpice<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 日本クレア株式会社、<sup>2)</sup> Physiogenex S.A.S.-Prologue Biotech、<sup>3)</sup> Iris Pharma、<sup>4)</sup> 京都大学大学院 農学研究科、

<sup>5)</sup> 東京農大・食品安全健康

【背景・目的】 臨床病態を反映した糖尿病合併症モデルの確立は、その病態解明と治療法を開発する上で必要不可欠である。片腎摘出および0.3%食塩水負荷を実施した肥満2型糖尿病モデルSDT fatty ラットは、17週齢で糸球体濾過量が50%以下に低下し顕著な腎障害を示すことが知られているが、同状況下においての糖尿病網膜症の病態発現については未だ明らかではない。

【材料・方法】 本研究では、片腎摘出及び食塩負荷がSDT fatty ラットの糖尿病網膜症にどのような影響を及ぼすか、網膜電図(ERG)、免疫染色、蛍光眼底造影検査について検討を行った。

【結果・考察】 片腎摘出雄性SDT fatty ラット群は対照雄性SD ラット群に比して、1) ERGのa波ならびにb波の振幅の顕著な減少、および出現時間の遅延が12週齢より認められた。2) 17週齢の網膜についての免疫組織化学染色では、ミュラー細胞のマーカーであるVIMENTIN陽性細胞の増加、グリア細胞のマーカーであるGFAP陽性細胞の増加が網膜全層に認められた。3) 17週齢の蛍光眼底造影検査では、血管の拡張、血管のねじれおよび軽度の蛍光漏出が認められた。片腎摘出および0.3%食塩水負荷を実施したSDT fatty ラットでは、糖尿病性腎症と共に糖尿病網膜症が進展することが明らかとなった。以上の結果より、SDT fatty ラットは17週齢という若齢において、糖尿病網膜症を評価出来る新たなモデルとしてその有用性が期待される。



## P-7

## ラット及びマウスに対するHPPD阻害剤の経口ばく露による眼球角膜および小脳分子層への影響

○永池 美香、宮本 沙也佳、橋本 元気、馬場 雄大、池田 瑛人、本郷 直子、岡田 亜希子、乾 公正

石原産業(株)

【目的】4-ヒドロキシピルビン酸ジオキシゲナーゼ(4-HPPD)を長期経口投与した際に認められる角膜及び小脳分子層への影響に関するラットとマウスの種差を検討した。【方法】4-HPPD阻害作用を有するNTBCを雌のWistar系ラット(1 ppm)及びICR系マウス(100 ppm)に52週間混餌投与し、眼球及び小脳の病理組織学的検査と血漿中チロシン濃度の測定を行った。投与用量は4-HPPD阻害剤の薬理作用として上昇する血漿中チロシン濃度がほぼプラトーに達する用量を選択した。【結果】NTBC投与動物の血中チロシン濃度は、ラットは1,603  $\mu\text{mol/L}$ 、マウスは963  $\mu\text{mol/L}$ であった。病理組織学検査の結果、NTBC投与ラットでは角膜炎及び小脳分子層空胞化が認められたが、マウスには影響は認められなかった。【考察】ラットはマウスと異なりチロシン代謝経路にバイパスを欠くため、4-HPPD阻害により上昇する血中チロシン濃度に種差が認められることが知られている。本試験においてラットで認められた角膜炎及び小脳分子層空胞化は、HPPD阻害により誘発された高チロシン血症の結果と考えられ、血漿中チロシン濃度の閾値に随伴する明確な種差が存在した。

## P-8\*

## N-methyl-N-nitrosoureaのラット発達期曝露による大脳皮質への影響

○岡野 拓<sup>1,2)</sup>、伊藤 優子<sup>1,3)</sup>、菊地 聡美<sup>1,2)</sup>、高橋 康德<sup>1,2)</sup>、高嶋 和巳<sup>1,2)</sup>、余 沁蔓<sup>1)</sup>、吉田 敏則<sup>1,2)</sup>、渋谷 淳<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京農工大・獣医病理、<sup>2)</sup> 東京農工大・院・共同獣医学専攻、<sup>3)</sup> 岐阜大・院・連合獣医

【背景】DNAアルキル化剤であるN-methyl-N-nitrosourea (MNU)の実験的発達期曝露は小頭症を誘発する。我々はMNUのラット発達期曝露は海馬での神経幹細胞のアポトーシスと前駆細胞の増加からなる神経新生障害を誘発し、介在ニューロン数には影響を与えないことを報告している。今回、大脳皮質への影響を検討した。【材料と方法】発達神経毒性試験ガイドライン(OECD TG426)に準じて、妊娠SDラットに妊娠6日から分娩後21日まで0、3、10、30 ppmの濃度でMNUを飲水投与した。雄児動物を生後21日と77日目に剖検し、大脳の後部帯状回皮質について免疫組織化学的に検索した。【結果】生後21日と77日の30 ppmで児動物の体重及び絶対脳重量が低値、10、30 ppmで後部帯状回皮質の面積が低値を示した。生後21日ではMNU投与によりNeuN<sup>+</sup>成熟ニューロンの密度は変化がなかったが、介在ニューロンのうちcalretinin (Calb2)<sup>+</sup>細胞が30 ppmで増数し、シナプス可塑性に関してはリン酸化ERK1/2<sup>+</sup>細胞が10、30 ppmで増数し、ARC<sup>+</sup>細胞が30 ppmで減数した。【考察】マウス脳形成期でのMNU短期間曝露後の胎児脳は神経芽細胞の過剰な細胞死や分化・移動異常を誘発することが知られている。本研究における持続的MNU曝露は成熟ニューロンの密度に影響を与えず小頭症を誘発したことから、曝露期間中に皮質に移動した神経芽細胞の減数が示唆された。Calb2は生後のニューロン移動や神経回路成熟に関与することから、曝露終了時のCalb2<sup>+</sup>細胞の増数は、MNU曝露による神経芽細胞の分化・移動異常に対する反応性変化と考えられ、反応は可逆的であった。生後21日でのARC<sup>+</sup>細胞の減数は神経芽細胞移動の持続に応じたシナプス可塑性の抑制を示唆し、増数したリン酸化ERK1/2<sup>+</sup>細胞は移動後のニューロンのシナプス可塑性亢進に機能した可能性が示唆された。

## P-9\*

## ラット発達期海馬神経新生障害時でのDNA過メチル化に着目した発達神経毒性標的遺伝子の網羅的探索

○菊地 聡美<sup>1,2)</sup>、伊藤 優子<sup>1,3)</sup>、岡野 拓<sup>1,2)</sup>、高橋 康德<sup>1,2)</sup>、高嶋 和巳<sup>1,2)</sup>、余 沁蔓<sup>1)</sup>、吉田 敏則<sup>1,2)</sup>、渋谷 淳<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京農工大・獣医病理、<sup>2)</sup> 東京農工大・院・共同獣医学専攻、<sup>3)</sup> 岐阜大・院・連合獣医

**【背景及び目的】**我々は、発達神経障害物質の発達期曝露による成熟後に及ぶ海馬神経新生の不可逆影響を見出している。本研究では、その中で抗甲状腺剤のプロピルチオウラシル(PTU)、HDAC阻害剤のバルプロ酸(VPA)、軸索末端傷害物質のグリシドール(GLY)のラット発達期曝露例で、不可逆影響の指標となりやすいDNA過メチル化に着目して、神経新生部位における過メチル化・下方制御遺伝子を網羅的に探索した。**【方法】**妊娠ラットにPTU、VPA、GLYを妊娠6日目から出産後21日目まで飲水投与し、生後21日目(PND 21)に児動物の海馬歯状回についてMethyl-Seq及びRNA-Seq解析を実施した。さらにPND 21、77にmRNA発現についてreal-time RT-PCRで検証解析した。**【結果及び考察】**プロモーター領域の過メチル化及びmRNA発現の減少を示した遺伝子のうち、PTU、VPA、GLYでそれぞれ247、81、181遺伝子、3物質に共通して24遺伝子が神経関連遺伝子であった。検証解析では、PTU、VPA、GLYで、PND 21に39、7、25遺伝子の下方制御が確認された。うち12、3、16遺伝子の下方制御がPND 77まで持続していた。PTU、GLYに共通して神経可塑性に関わるArc、海馬の電気生理学的調整に関わるMas1、ニューロン移動、軸索の形態の調整に関わるFgf13遺伝子が同定された。PTUで神経新生の神経幹細胞減少、GLYで神経新生分化後期細胞の減少および共通してGABA性介在ニューロンの増加が認められている。Arc、Mas1、Fgf13は、神経新生障害により影響を受けやすい指標であると考えられた。今回の試験で見出された過メチル化遺伝子は、発達神経毒性の不可逆的な指標となりうる。

## P-10

NOD/Shi-scid IL-2R  $\gamma$  null (NOG) マウスにみられた脳病変に関する病理組織学検討

○松島 圭太<sup>1)</sup>、福永 八千代<sup>1)</sup>、金光 弘幸<sup>2)</sup>、山川 誠己<sup>1)</sup>、永谷 真理子<sup>1)</sup>、笠原 健一郎<sup>1)</sup>、山口 裕子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> (株) ポゾリサーチセンター 病理部、<sup>2)</sup> (株) ポゾリサーチセンター 安全性・薬理研究部

**【背景】**雄NOGマウスの大脳にみられた形成異常疑う病変について、病理組織学検査を実施したので、その結果を報告する。**【材料及び方法】**本症例は、検疫期間中の6週齢より体重減少が認められ、7週齢で自発運動及び呼吸数の減少を示した後、死亡発見された。脳は摘出後、10%リン酸緩衝ホルマリンで固定、パラフィン包埋し、HE染色及びLFB染色を実施した。さらに、抗GFAP、抗Neurofilament、抗Iba-1及び抗PCNA抗体を用いた免疫組織化学染色を実施し、病理組織学的に検討した。**【結果】**剖検では、器官重量の増加を伴う左大脳半球の軽度の大型化が認められた。組織学的には、尾状核から大脳皮質外顆粒層にわたり、細胞質辺縁の好塩基性領域及び核周囲の好酸性領域を有する細胞質と、核小体明瞭な大型核を有する神経細胞様細胞、小膠細胞及び肥大星状膠細胞のびまん性増加がみられた。いずれも有糸分裂像は認められず、周囲組織との境界は不明瞭で圧排はみられなかった。LFB染色では、上記病変部のほぼ全域にわたり、反対側の正常領域より染色性が低下していた。神経細胞様細胞は抗Neurofilament染色に陽性を示し、抗GFAP及び抗Iba1染色より、星状膠細胞及び小膠細胞ともに増数が認められた。抗PCNA染色では、小膠細胞及び一部の神経細胞様細胞が陽性を示した。**【考察】**本変化は、神経細胞と考えられる細胞の異常な増殖及び髄鞘の形成不全を主な特徴としていた。増加した神経細胞には異型性はみられず、また周囲組織への圧排もみられないことから腫瘍性病変の可能性は低く、形成異常の可能性が推察された。肥大星状膠細胞及び小膠細胞の増加と神経細胞の増加又は髄鞘形成不全との関連性は現段階では不明であり、今後更なる検討が必要と考えられた。

## P-11

## てんかん様発作を呈した若齢マウスの片側巨脳症の一症例

○安井 雄三、剣持 佑介、中村 (穴川) 明子、豊田 薫、利谷 (谷合) 枝里子、島寄 大志、高橋 明美、宮川 義史、正田 俊之

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 横浜リサーチセンター 安全性研究所

**【背景】**若齢マウスにおける自然発生性のてんかん様発作は極めて稀であり、これら脳の病理組織学検索を行った報告は見当たらない。今回、動物入荷翌日にてんかん様発作を呈した雄性ICRマウスの脳について、病理組織学的検索を実施したので報告する。

**【材料及び方法】**毒性試験に用いるために入荷した6週齢、雄のCrI:CD1 (ICR)マウス1例の脳(大脳、小脳)及び脊髄を病理組織学的検査に供した。大脳は前頭葉～海馬を含む頭頂部までを横断で4断面、小脳は頭頂部を横断で1断面切り出し、常法に従って標本作製を行った。また、種々の免疫組織化学的染色を実施した。

**【結果】**剖検では、右大脳半球の軽度腫大が認められた。病理組織学的検査では、右大脳の前頭頭頂皮質～頭頂葉皮質において、び漫性に神経細胞の配列の乱れがみられ、上記の大脳皮質領域は異常な大型神経細胞(核は偏在し細胞質には豊富な好酸性物質を有する)と淡好酸性細胞質を有する腫大した細胞(以下、balloon cell:BC)で構成されていた。BCは大脳白質においても少数ながら認められた。免疫組織化学の結果、BCはGFAPに陽性、Neu Nに陰性を示したことから、アストロサイト由来の細胞であると考えられた。なお、小脳及び脊髄において異常所見は観察されなかった。その他、脳において外傷性病変、炎症性病変、腫瘍性病変なども認められなかった。

**【結論】**病理組織学検査の結果、本症例の脳病変はヒトのてんかん患者にみられる「片側巨脳症(Hemimegalencephaly)」あるいは「限局性皮質異形性(Focal cortical dysplasia)」と類似の病変と考えられた。現在、更なる免疫組織化学的染色を実施中で、これら染色結果も含めて報告、考察する。

## P-12\*

## C57BL/6Jマウスを用いた低温加熱型の加熱式たばこ6ヶ月間全身曝露試験における呼吸器の病理組織学的解析

○大波 冴子、平田 直、鈴木 啓明

日本たばこ産業株式会社 製品評価センター

**【背景・目的】**燃焼を伴わないことにより、健康への影響が懸念される物質の生成が、紙巻たばこと比べ低減された低温加熱型の加熱式たばこであるNTV (novel tobacco vapor product) について、慢性閉塞性肺疾患(COPD)リスクを評価するため、C57BL/6Jマウスに6ヶ月間全身曝露を行い、呼吸器に対する曝露影響を評価した。

**【材料と方法】**COPDマウスモデルを用いて、NTVのペーパー、試験用紙巻たばこ(3R4F)の主流煙(700 µg total particulate matter/L)、または空気を1日計4時間(2+2時間)、最大6ヶ月間全身曝露を実施した。紙巻たばこからNTVへの転換効果を評価するため、2ヶ月間の3R4F主流煙曝露後にNTVペーパーもしくは空気曝露に切り替える群も設けた。最大6ヶ月間曝露を実施した後、呼吸器に対する病理組織学的解析やStereologyを用いた肺の形態計測を行った。

**【結果】**病理組織学的解析の結果、3R4F群では、肺胞内色素貪食マクロファージの増加や肺胞上皮細胞の肥大等が認められたが、NTVへの転換により影響の程度の軽減が認められた。NTV群は空気曝露群と差は認められなかった。肺の形態計測の結果、3R4F群では、Destructive IndexとMean chord lengthなどの増加が認められたが、NTVへの転換により影響の程度は軽減した。NTV群では、空気曝露群と差は認められなかった。

**【結論】**以上の結果より、NTVペーパー6ヶ月間曝露によるマウスへのCOPDリスクは、3R4Fに比べ低く、その程度は空気曝露と同程度であることが示唆された。



## P-13\*

## 異なる投与器具を用いた多層カーボンナノチューブ(MWCNT)のラット気管内投与試験における肺毒性とクリアランスの比較

○前野 愛<sup>1)</sup>、坂本 義光<sup>1)</sup>、北條 幹<sup>1)</sup>、湯澤 勝廣<sup>1)</sup>、長谷川 悠子<sup>1)</sup>、長澤 明道<sup>1)</sup>、大貫 文<sup>1)</sup>、鈴木 俊也<sup>1)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>、守安 貴子<sup>1)</sup>、後藤 裕子<sup>2)</sup>、大西 誠<sup>2)</sup>、小林 憲弘<sup>3)</sup>、広瀬 明彦<sup>3)</sup>、中江 大<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup> 独立行政法人 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター、  
<sup>3)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所、<sup>4)</sup> 東京農業大学

【背景】気管内投与法は、吸入試験の代替手法の一つとして広く用いられているが、投与器具の違いが毒性試験に与える影響について調べた報告は少ない。本研究では、MWCNTの毒性評価において、異なる器具を用いて投与したラットの肺炎症の程度とクリアランスの変化を比較した。【方法】F344系の雄性ラットに、MWCNT (MWNT-7；三井) を経口ゾンデあるいはスプレー式ゾンデを用いて気管内投与した。まず、炎症反応を詳細に調べるため、反復投与実験を実施した。62.5 µg/ラット/回の用量で、1日おきに8回投与後、最終投与翌日に解剖し、病理組織学的に解析した。また、肺からのMWCNTのクリアランスを調べるため、125 µg/ラットの用量で単回投与後、0、1、28、54、84および112日目に解剖し、肺内のMWCNT含有量を測定した。【結果・考察】反復投与実験において、スプレー式ゾンデ群の動物の気管粘膜下にMWCNTを内包する大型の肉芽腫の存在が認められた。両群ともに肺実質ではMWCNTの沈着に関連した肉芽腫性炎症が広く認められた。小肉芽腫の個数と面積は、スプレー式ゾンデ群でやや大きいものの、両群間で有意な差は認められなかった。単回投与実験において、両群ともに、肺では、投与直後の急性炎症が終息した後に、貪食した肺胞マクロファージの集簇や小肉芽腫が増加した。MWCNTの肺負荷量は、両群ともに、投与日から投与後1日目にかけてほぼ半減したが、それ以降は投与後112日目まで顕著なクリアランスが起らないことがわかった。以上から、気管部分の沈着に明らかな違いはあるものの、投与器具の差異がMWCNTの肺毒性に与える影響は少ないものと考えられる。(厚生労働省科学研究費補助金(H30-化学-指定004)による)

## P-14\*

## 気相法炭素繊維VGCF®-Hの気管内投与によるF344ラットに対する肺有害性評価

○沼野 琢旬<sup>1)</sup>、樋口 仁美<sup>1)</sup>、杉山 大揮<sup>1)</sup>、宇田 一成<sup>1)</sup>、河部 真弓<sup>1)</sup>、米良 幸典<sup>1)</sup>、池田 和子<sup>2)</sup>、小川 良二<sup>2)</sup>、佐藤 敬<sup>2)</sup>、西岡 綾子<sup>2)</sup>、萩原 雄二<sup>2)</sup>、伴野 富美子<sup>2)</sup>、福井 浩子<sup>2)</sup>、米田 正<sup>2)</sup>、津田 洋幸<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> (株) DIMS医科学研究所、<sup>2)</sup> 昭和電工株式会社 レスポンスブルケア部 安全性試験センター、  
<sup>3)</sup> 名古屋市立大学 津田特任教授研究室

【背景・目的】気相法炭素繊維VGCF®-Hは、優れた物理化学特性を有することから、リチウムイオン電池素材等に使用されている。一方で、一部の針状・繊維状物質は肺に到達すると有害性を引き起こす可能性が懸念されており、MWNT-7については、ラットを用いた全身吸入暴露によるがん原性試験により肺腫瘍発生の増加が報告されている。気管内投与法は、全身吸入暴露法と比較し簡便且つ安価に実施が可能であり、肺を中心とする臓器の有害性評価に用いられている。そこで、本研究ではVGCF®-Hの肺毒性の評価のため、気管内投与法による13週間の毒性試験を実施して、VGCF®-Hの肺毒性をMWNT-7と比較した。【材料・方法】10週齢の雌雄F344/DuCrI CrIj系ラットに、Kolliphor®P188/saline媒体に分散させたVGCF®-H投与液またはMWNT-7投与液を、週に1回、合計8回気管内投与した。一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定を行い、投与開始13週経過後に剖検して、被験物質肺沈着量測定及び病理組織学的検査を行った。【結果・まとめ】肺における被験物質沈着量は、VGCF®-H投与群及びMWNT-7投与群ともに同等の値であった。病理組織学的検査では、両群ともに被験物質投与の影響と考えられる炎症細胞浸潤、肺胞壁・臓側胸膜の線維化及び肺胞上皮・中皮の増生が認められたが、その程度はMWNT-7投与群において顕著であった。以上のことからVGCF®-Hの肺毒性の程度はMWNT-7と比較して軽度であることが明らかとなった。

## P-15

## メタクリル酸ブチルのラット・マウスに対する発がん性と鼻腔病変

○妹尾 英樹、山野 荘太郎、高信 健司、梅田 ゆみ、相磯 成敏、菅野 純

(独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター

**【背景】**メタクリル酸ブチル (Butyl Methacrylate, CAS No. 97-88-1) は、気道に刺激性のある引火性の液体であり、アクリル樹脂などの塗料用樹脂の原料、感光性樹脂の原料、接着剤、繊維処理剤などの原料となる。今回、メタクリル酸ブチルのラット・マウスに対する長期吸入試験を行って認められた腫瘍性病変と非腫瘍性病変、特に鼻腔の非腫瘍性病変について報告する。

**【材料・方法】**試験は、雌雄各50匹/群のF344ラットおよびB6D2F1マウスに対しメタクリル酸ブチルを6時間/日、5日間/週の頻度で、104週間の全身吸入暴露を行った。暴露濃度はラットが0, 30, 125, 500 ppm、マウスが0, 8, 30, 125 ppmとした。

**【結果・ラット】**雄では単核球性白血病が傾向検定で有意な増加を示し、生存率が低下した。雌は腫瘍性病変の増加は示さなかった。非腫瘍性病変は、雌雄に鼻腔の呼吸上皮の扁平上皮化生と嗅上皮の萎縮、再生及び基底細胞の過形成、雄に骨髄の造血亢進が認められた。鼻腔に誘発された嗅上皮の基底細胞の過形成は、前腫瘍性変化と考えられる変化であるが鼻腔腫瘍の増加はみられなかった。

**【結果・マウス】**雄では肝細胞腺腫が傾向検定で有意な増加を示した。雌は増加傾向を示す腫瘍があったが通常自然発生する腫瘍の僅かな増加にとどまった。非腫瘍性病変は、雌雄に嗅上皮の萎縮、再生等がみられ、雌に脾臓の濾胞過形成、腺胃の過形成が認められた。

**【結論】**メタクリル酸ブチルは、全身吸入暴露により、雄ラットの単核球性白血病と雄マウスの肝細胞腺腫が増加を示し、ラット・マウスに対し some evidence of carcinogenic activity であると結論された。(本試験は厚生労働省の運営交付金事業として実施したGLP試験である)

## P-16

## 粉体吸入曝露におけるⅡ型肺胞上皮過形成について

○梅田 ゆみ、山野 荘太郎、高信 健司、妹尾 英樹、相磯 成敏、菅野 純

(独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター

**【背景】**当研究センターで粉体の全身曝露吸入試験を実施しており、これまで、粉体を貪食したマクロファージの集簇巣に接する肺胞壁のⅡ型肺胞上皮が増生する像を観察している。この変化の背景は粉体の性質により異なるが、Ⅱ型肺胞上皮の過形成としての局所の組織像には共通性が認められる。また、加齢性変化としてみられる細気管支-肺胞上皮過形成の組織像とは、構成する細胞の観点から異なるものであると判断される。しかしながら、毒性病理学的には、該当する診断名が定義されておらず、その生物学的意義について十分に議論されていない。本発表では、このⅡ型肺胞上皮の過形成性変化の形態学的特徴について報告する。**【材料と方法】**アナターゼ型ナノ酸化チタン(aNTiO<sub>2</sub>)、13週間全身吸入曝露したF344ラットのホルマリン固定肺組織を用いて、光学顕微鏡的に解析した。多層カーボンナノチューブ(MWCNT)の2年曝露標本、及びインジウムスズ酸化物(ITO)13週曝露標本を比較解析した。**【結果及び考察】**aNTiO<sub>2</sub>粒子を大量に貪食したマクロファージの肺胞内集簇巣を認め、この集簇巣に接する肺胞壁に上皮に円形～卵円形の核に淡明な核質及び泡沫状の胞体を有する立方状の細胞の増殖を認めた。この細胞はⅡ型肺胞上皮マーカーであるSP-C、TTF-1、ABCA3、ProSP-Cの免疫染色に陽性を示したことから、これはⅡ型肺胞上皮の過形成であり、この変化は貪食マクロファージ集簇巣に接した肺胞壁にのみ認められることから、反応性過形成であると考えた。この変化は背景病変は異なるもののMWCNTやITOの吸入曝露時にも認められることから、粉体曝露に特徴的な過形成と考えられた。これをⅡ型肺胞上皮反応性過形成(Reactive Alveolar Type II Hyperplasia)とすることを提案したい。

## P-17

## 多層カーボンナノチューブを反復気管内投与したラットにおける肺神経内分泌細胞(PNEC)の増生

○坂本 義光<sup>1)</sup>、北條 幹<sup>1)</sup>、前野 愛<sup>1)</sup>、鈴木 俊也<sup>1)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>、守安 貴子<sup>1)</sup>、広瀬 明彦<sup>2)</sup>、中江 大<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所、<sup>3)</sup> 東京農業大学

**【目的】**肺神経内分泌細胞(PNEC)は、呼吸器の各部に分布し、低酸素や高二酸化炭素の状態を感知する細胞として知られ、炎症や線維化に伴い過形成などの病変がみられるとの報告がある。本研究では、多層カーボンナノチューブ(MWCNT)がラットPNECに及ぼす慢性影響を検討した。**【方法】**実験は、各群20匹の10週齢のRccHan:WISTの雄ラットに、MWCNT(MWNT-7)を0・0.01・0.05・0.25 mg/kg体重の用量で4週間に1度、計12回、経気管投与した。動物は、最終投与の1年後に剖検し、肺の全葉について病理組織学的に検索した。**【結果・考察】**ラット肺においては、投与用量に依存してMWCNTを貪食したマクロファージの集簇、それに関連した軽度な炎症性変化、肺胞上皮過形成を認めた。一方、PNECは、顆粒状の核質と豊富な細胞質を有し、細気管支上皮および肺胞領域に分布する単細胞あるいは細胞集団(NEB)として観察され、免疫組織学的にPGP9.5およびCGRPが陽性であった。0.25 mg/kg体重の群においては、媒体投与群と比較し、PNECが20細胞以上に増生したNEBの数が有意に増加した。興味深いことに、このPNECの増生は、粒子状物質の呼吸器暴露で影響を受けやすい肺胞管領域の付近に限局していた。これらの結果は、MWCNT投与とPNECの増生病変の関連性を示唆する初めての報告であるが、結晶性シリカをラットに経気管投与した既報の結果と類似するものであった。(厚生労働省科学研究費補助金(H30-化学-指定004)による)

## P-18

## 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone(NNK)誘発A/J雌性マウス肺腫瘍モデルの経時的肺腫瘍発生数の検討

○横平 政直、山川 けいこ、成澤 裕子、松田 陽子、今井田 克己

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

**【背景】**マウス肺腫瘍モデルとして、肺腫瘍の好発系であるA/J雌性マウスを用い、タバコ由来の4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone(NNK)を腹腔内に投与する肺発癌モデルが確立されている。このモデルは簡便に多数の肺増殖性病変を評価することができる。しかし、経時的かつ長期的に肺増殖性病変の発生状況を検討した報告例はない。

**【目的】**当教室において、これまで行ったNNK誘発マウス肺腫瘍モデルを用いた実験結果をまとめ、肺増殖性病変の発生の経時的変化を明らかにする。

**【材料と方法】**当教室において、2003年以降に行った6つの実験を総合し、肺増殖性病変の発生状況を検討した。屠殺剖検時期は実験開始8週から78週であり、3つの実験はNNKを実験開始時に2 mg/mouseの用量で1回腹腔内投与を行い、残る3つの実験は実験開始時と7日目の2回、それぞれNNK(2 mg/mouse)を腹腔内投与した。

**【結果】**NNK投与後、比較的早期である8週目において、肺胞上皮過形成と肺腺腫の発生が認められた。マウス当たりの肺の増殖性病変の総数はNNK投与後から徐々に増加し、16週目に約15個に達した。その後は、増殖性病変の総数にほぼ変化はなかった。52週目から肺腺癌の発生が見られ、78週目には肺腺腫よりも肺腺癌が多く認められた。

**【結論】**NNK投与後、早期から肺胞上皮過形成と同時に肺腺腫が発生し、16週目でそれらの総数(肺増殖性病変数)は上限に達した。以上より、NNKで誘発されるマウス個体当たりの肺の増殖性病変数は一定であるが、肺腺癌の割合が増加することが示唆された。



## P-19

## ブレオマイシン及びシリカ口腔咽頭内投与肺線維症モデルマウスの病態解析

○石井 愛子<sup>1)</sup>、神尾 恭平<sup>1)</sup>、武田 卓也<sup>2)</sup>、小島 直季<sup>2)</sup>、中西 豊<sup>1)</sup>、佐々木 稔<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>大正製薬(株) 安全性研究室、<sup>2)</sup>大正製薬(株) 薬理第2研究室

**【背景・目的】**肺線維症の疾患モデルとしてブレオマイシン(BLM)及びシリカ誘発モデル動物が汎用されているが、投与量・経路・評価時期等により異なる病態を示す。本研究では、BLM或いはシリカを口腔咽頭内投与し誘発した肺の病態について病理組織学的解析を行い、肺線維症モデルとしての有用性について検討した。

**【材料・方法】**C57BL/6Nマウス(8週齢、雌)にBLM(1.0 U/kg)或いはシリカ(125、400 mg/kg)を口腔咽頭内投与し、2或いは4週間後に摘出した肺の5葉6箇所について、パラフィンブロック作製の後、ヘマトキシリン・エオジン、シリウスレッド(SR)、マッソントリクローム染色標本を作製した。正常対照としてSaline投与群を各々設定した。定性評価の他、半定量解析として、線維化スコアはAshcroftらの方法に基づき、炎症細胞浸潤スコアは定性解析結果に基づき評価を実施した。定量解析として、左葉近位のSR染色陽性領域及び肺胞腔面積の解析を実施した。

**【結果】**BLM群では、線維化及びマクロファージを主体とする炎症細胞浸潤、シリカ群では、シリカに対する多巣性の異物肉芽腫(線維増生含む)及びマクロファージを主体とする炎症細胞浸潤が認められた。半定量解析の結果、線維化及び炎症細胞浸潤スコアは、BLM、シリカ群とも明らかな高値を示し、各個体の中では左葉近位で最も高いスコアを示した。左葉近位のSR陽性領域の定量解析の結果、SR陽性面積率は正常対照群に対しBLM、シリカ群とも有意な高値を示し、一方で肺胞腔面積率は有意な低値を示した。

**【結論】**BLM及びシリカの口腔咽頭内投与による肺の病態は、特発性肺線維症に特徴的な蜂窩肺は示さなかったが、肺線維化モデル動物として有用であると考えられた。

## P-20\*

F344 ラットにおける *N*-ethyl-*N*-nitrosourea 誘発肺病変の病理組織学的検討

○井手 鉄哉<sup>1)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、水田 保子<sup>1)</sup>、大石 裕司<sup>2)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

**【背景】**妊娠後期のラットに*N*-ethyl-*N*-nitrosourea (ENU)を経胎盤投与し、出生直後よりマンガンを暴露することで脳腫瘍形成に対する影響を検討した試験(本学会の第27回学術集会にて報告)において肉眼的に観察されていた肺病変について、病理組織学的な検討を行った。

**【方法】**妊娠17日目の23匹のF344ラットにENUを20 mg/kg単回尾静脈内投与し、出産後マンガンを0(対照群)、0.002、0.01および0.05%の濃度で授乳中は母動物(各群5-6匹)へ、および離乳後は仔動物(各群18-26匹)に合計34週間混餌投与した。得られた仔動物計173匹(雄80匹、雌93匹)の肺に多数の結節性病変が認められたことから、仔動物の各群全例の肺の病理組織学的検討を行った。

**【結果・考察】**ENUの経胎盤暴露により、仔動物の45.7%(雄71.3%、雌23.7%)において、細気管支肺胞上皮の過形成、腺腫および癌が認められた。雄では過形成(発生率:25.0%、平均発生数:1.3)、腺腫(46.3%、1.8)および癌(37.5%、1.6)が認められた一方で、雌では過形成(15.1%、1.1)および腺腫(10.8%、1.3)のみが認められ、癌は観察されなかった。対照群とマンガンを投与群の間で仔動物の一般状態、体重、摂餌量および生存率に有意な変化はなく、肺の重量や病理検査で得られた肺の増殖性病変の発生率ないし発生数等に対する影響もみられなかった。同様の週齢のF344ラットに肺の自然発生性の増殖性病変は殆ど発生しないことから、肺の増殖性病変はENUの経胎盤暴露により誘発されたものと考えられた。以上の結果から、本条件下での新生児のマンガンを暴露(推定最大摂取量7.8-8.7 mg/kg 体重/日)は肺へ組織学的影響を与えず、ENUの経胎盤暴露により肺の増殖性病変が惹起され、それは細気管支・肺胞上皮を由来とし、その発生には雌雄差が存在することが示唆された。



## P-21\*

## 1,2-ジクロロエタン及び2,3-ジブromo-1-プロパノール経皮投与により誘発された肺腫瘍の形態学的特徴

○原 智美、土井 悠子、萩原 顕昭、今井 則夫、藤原 あかり、河部 真弓

(株) DIMS医科学研究所

【背景と目的】 1,2-ジクロロエタン(1,2-DCE)及び2,3-ジブromo-1-プロパノール(2,3-DBP)をrasH2マウスに26週間経皮投与したところ、標的臓器である肺に腫瘍が高率に発生し、経皮投与により発がん性の評価が可能であることを以前に報告した。今回、1,2-DCE及び2,3-DBPにより誘発された肺腫瘍の形態学的特徴及びその違いについて病理組織学的に検討した。【材料と方法】 rasH2マウス雌雄各50匹を用い、1,2-DCEを42及び126 mg/200 µLの用量で週3回、2,3-DBPを44及び88 mg/kg b.w.の用量で週5回、いずれも背部皮膚に経皮投与した。また、アセトン投与群も設けた。26週経過後、肺についてH.E染色を行い、発生した腺腫を充実性、乳頭状及びそれらの混合型タイプに分類した。また腺腫に付随してみられた炎症反応(マクロファージ、好中球、リンパ球及び多核巨細胞)の程度をスコア化して、評価した。【結果】 1,2-DCE及び2,3-DBPの経皮投与により発生した腺腫は、雌雄とも乳頭状のものが多くみられ、2,3-DBPでは混合型のものが少ない傾向がみられた。アセトン投与群にわずかに発生した腺腫は乳頭状であった。炎症反応のスコア評価では、マクロファージが雌雄ともに2,3-DBP群で有意な高値あるいは高値傾向を示し、好中球のスコアは雌の2,3-DBP群で有意な高値を示した。また、炎症反応スコアの合計値では雌雄ともに2,3-DBP群で有意な高値を示した。【結論】 投与する被験物質(発がん物質)により発生する肺腫瘍の増殖形態が異なる傾向がみられ、また、付随してみられる炎症反応の程度にも差があることが明らかとなった。

## P-22

## Three-dimensional analysis of lung metastatic tumors in mice

○Jin Soek Kang<sup>1)</sup>、Seyl Kim<sup>2)</sup>、Ha Neul Lee<sup>1)</sup>、Se Ryeong Jeong<sup>1)</sup>、Hyun Ji Won<sup>1)</sup>、Kibeom Park<sup>3)</sup>、Sooah Park<sup>4)</sup>、Woonggyu Jung<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Biomedical, Laboratory Science, Namseoul University, <sup>2)</sup>Ferramed Inc., National Nanofab Center, KAIST,

<sup>3)</sup>Department of Biomedical Engineering, Ulsan National Institute of Science and Technology,

<sup>4)</sup>In Vivo Research Center, UNIST Central Research Facilities, Ulsan National Institute of Science and Technology

[Background] Conventional histopathology is being largely grounded on light microscopy in two dimensions. However, the growing need in biomedical medical research highlights the importance of viewing three-dimensional (3D) structures. [Aim/Objective] The objective of this study was to develop reliable tools for quantifying the metastatic tumor and for visualization of tumor structure in the lung of mice using micro-computed tomography (micro-CT), optical coherence tomography (OCT) and field emission-scanning electron microscope (FT-SEM). [Materials and Method] Melanoma cells were intravenously injected into C57BL/6 mice and mice were euthanized at two or four weeks after injection. Lungs were fixed and scanned using micro-CT and total tumor volume was quantified. OCT and FT-SEM were performed for visualization inside tumor structure. [Results] Micro-CT analysis showed clear distinction between tumor and normal cells in surface lesions as well as inner ones, making 3D quantification of tumor volume. OCT illuminated a clear difference in tumor areas compared to normal ones, which was confirmed by histopathological observation. FT-SEM clearly showed round tumor cells were mainly located in alveolar wall and growing inside alveoli. [Conclusion] Whole-tumor 3D imaging was successfully applied to quantify the volume of metastatic tumor and to visualize tumor structures. This promising approach will provide a fast and label free 3D phenotyping of diverse tissue structure.

## P-23\*

## マウス正常組織由来オルガノイドの施設間輸送の最適条件の検討

○入澤 祐太<sup>1)</sup>、平田 暁大<sup>2)</sup>、酒井 洋樹<sup>1)</sup>、今井 俊夫<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 岐阜大学 獣医病理学研究室、<sup>2)</sup> 岐阜大学 科学研究基盤センター 動物実験分野、

<sup>3)</sup> 国立がん研究センター 研究所 動物実験部門

**【背景・目的】**オルガノイドは通常の培養細胞より生体内に近い実験系として注目され、化学物質の毒性評価への応用も期待されている。これまでに、マウスの正常組織から三次元培養法により作製したオルガノイドに化学発がん物質を *in vitro* で暴露した後、ヌードマウスに皮下移植すると腫瘍様組織が形成されることが明らかにしている。しかし、オルガノイドの樹立には高度な技術や経験が必要であり、オルガノイドを用いた評価系の普及を図る上で障害となることが予想される。本研究では、他施設で調製されたオルガノイドを用いて毒性評価が可能であるか検討するため、施設間での輸送方法を検討するとともに、輸送がオルガノイドへ及ぼす影響について基礎的なデータを収集した。**【材料と方法】**国立がん研究センターにて調製された rasH2 および non-Tg マウスの肺由来オルガノイドを継代2日後に岐阜大学に輸送した。オルガノイドはマトリゲル内に包埋された状態で、冷蔵または常温にて輸送し、輸送に要した時間はおよそ18時間であった。到着後、マトリゲル上に液体培地を添加し、その後の成長および継代の可否について検討した。**【結果】**常温で輸送されたオルガノイドは rasH2、non-Tg ともに正常に成長し、到着5日目に継代が可能であった。一方冷蔵で輸送されたオルガノイドは rasH2、non-Tg ともに到着時に形態的な変化は観察されなかったが、到着2日後にはほぼすべてのオルガノイドが崩壊してシート状を呈し、継代は不可能であった。**【考察】**冷蔵輸送は常温輸送と比較してより大きなストレスをマウス肺由来オルガノイドに与えることが示唆された。現在、輸送時の温度条件を実験的に再現し、温度変化がオルガノイドへ及ぼす影響および輸送に適する継代後のタイミングを検討しており、その結果もあわせて報告する。

## P-24

## 異なる物理学的性状のナノマテリアルを吸入曝露したマウスの肺と縦隔における肺胞マクロファージの挙動

○相磯 成敏、山野 荘太郎、梅田 ゆみ、近藤 ひとみ、齋藤 美佐江、高信 健司、妹尾 英樹、菅野 純

(独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター

**【背景と目的】**ナノマテリアル(NM)を貪食して frustrated phagocytosis に陥った肺胞マクロファージ(M $\phi$ )から放出(または漏出)される液性因子による炎症や肺疾患の誘発が危惧され、銀ナノワイヤーでは長さの違いによる frustrated phagocytosis の閾値が提唱されている(A. Schinwald, K. Donaldson, 2012)。M $\phi$ の胞体内での蓄積様式が異なるNMをマウスに吸入曝露し、生体内異物処理に係るM $\phi$ の肺と縦隔における挙動を形態学的に解析してNMのカテゴリー評価による安全性評価の可能性を探った。

**【材料と方法】** TiO<sub>2</sub> (AMT-600 テイカ)、MWCNT (MWNT-7 三井、MWCT-N 日機装)を Taquann 法処理で分散させた T-TiO<sub>2</sub>、T-CNT 7、T-CNTN を雄マウスに 2hr/day/week、5 週間の全身吸入曝露、対照群には清浄空気を同様に曝露した。曝露終了後 0、1、4、8 週に吸入麻酔下で気管支肺胞洗浄液(BALF)と病理解析材料を採取して詳細な形態学的解析を行った。病理解析には灌流固定した肺・縦隔と浸漬固定した BALF 採取後の肺を用いた。厚労科研補助金事業、吸入曝露は国衛研(毒性部 高橋室長)で実施。

**【結果】** 肺に炎症性変化は無く、T-CNT 7 曝露で検体を巻き込む軽度な肉芽腫と線維増生を、T-CNTN で検体の軽度な沈着を認める程度であった。BALF 塗抹で M $\phi$  による NM の貪食、M $\phi$  の集簇を認め、その様相は検体の種類により異なった。また、病理組織検査で、BALF 塗抹像に対応した肺の微細変化や縦隔部への移行を認めた。

**【結論】** NM の物理学的性状で M $\phi$  の処理方式が異なり、NM の安全性評価でカテゴリー評価によるスクリーニングが期待できる。

## P-25\*

## Duchenne 型筋ジストロフィーモデルラットにおける心臓の病態解析

○柄内 亮太<sup>1)</sup>、宮本 真緒<sup>1)</sup>、関澤 信一<sup>1)</sup>、水流 功春<sup>2)</sup>、桑原 正貴<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学 農学部 獣医衛生学教室、<sup>2)</sup> プライムテック株式会社 ライフサイエンス研究室

【背景と目的】 Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) はX染色体上のジストロフィン (*Dmd*) 遺伝子変異により筋細胞が進行性に変性する疾患である。モデル動物としてマウス (DMDM) やイヌモデルが作製され、最近ではラットモデル (DMDR) が開発された。DMDMは心臓の病態がヒトDMDよりも軽微なことが課題であったが、DMDRでは3か月齢で心臓の線維化が認められ、ヒトに近いモデルとして期待される。そこで本研究では、DMDRの心臓病態の病理学的及び病態生理学的特徴とその進行性を解析した。【材料と方法】 開発元の東京大学獣医生理学教室から *Dmd* ヘテロ欠損雌と野生型雄を入手し (Nakamura K, et al. Sci Rep. 2014;4:5635)、繁殖させて得られた雄 (*Dmd* 欠損型 (*W-Dmd*<sup>em1Kyk</sup>) 及び野生型) を用いた。1) 3、5及び10か月齢で心臓を採取し、HE染色標本並びにマッソントリクローム染色標本を作製して観察した。2) 3、5及び8か月齢で麻酔下心電図を解析した。3) 9か月齢で心エコー検査を実施した。【結果】 DMDRにおいて1) 心室壁の外層から中間層を主体とする心筋細胞の変性・壊死及び線維化が認められた。線維化は10か月齢でより顕著であった。2) R波増高及びPR間隔の低値が認められた。QT間隔は3か月齢では高値、8か月齢では低値を示した。8か月齢ではP波高の低値、洞性不整及び心室性期外収縮も認められた。3) 心筋重量及び収縮指標の低値が認められた。【考察】 DMDRにおいて心臓に病理学的及び病態生理学的変化が発現し、加齢性に進行することが示唆された。特に、DMDRは体重が低値であり、電気的抵抗の減少がR波増高の一因と推察されたが、P波高の低値はこれを超えて顕在化したものと考えられた。これらDMDRに認められた心臓の変化はヒトDMDとの共通点があり、DMDRはヒトの病態研究に有用であると考えられた。

## P-26\*

## 糖尿病マウスにおける胃のカンジダ感染は非感染部位である大腸の炎症性発癌を促進する

○出雲 友扶子、大嶋 成奈優、寺山 由依、松浦 哲郎、尾崎 清和

摂南大学 薬学部

【背景と目的】 *Candida albicans* (*C.albicans*) は糖尿病患者の口腔、食道および膣にカンジダ症を発症させる。実験的にも、Alloxan (AL) 誘発糖尿病マウスに *C.albicans* を経口投与すると、胃に慢性肥厚性カンジダ症が誘発される。最近、大腸に *C.albicans* を感染させたマウスで、感染部位と離れた肺で炎症が悪化することが報告された。そこで今回、糖尿および非糖尿病の胃カンジダ症マウスを用い、前胃と離れた大腸で薬物誘発炎症性発癌が促進されるか否かを検討した。【方法】 Azoxymethane+Dextran Sulfate Sodium (AOM+DSS) による大腸発癌処置を全例のマウスに施し、AOM+DSS処置のみのN群、*C.albicans* を経口投与したC群、ALにより糖尿病を誘発したD群、ならびに糖尿病に加え *C.albicans* を投与したDC群の計4群を設定した。いずれの群も大腸の病変を20および25週齢で比較検討した。【結果】 N群を除く3群の胃に慢性肥厚性カンジダ症が誘発され、病変は糖尿病のDおよびDCの2群で強度であったが、20週齢と25週齢間に差は認められなかった。大腸癌の中でも、20週齢のDC群の結腸癌発生率(47.1%)は、他の3群と比較し著しく増加したが、25週齢では4群間に差は認められなかった。直腸癌発生率は、20週齢で差は見られなかったが、25週齢ではD群の浸潤癌(47.1%)がN群(6.7%)と比較し有意に増加した。また、25週齢のDC群の直腸浸潤癌発生率(31.9%)もN群やC群(20.0%)と比べると増加傾向を示した。【結論】 糖尿病マウスにおける胃の *C.albicans* 感染は、結腸における炎症性発癌を促進し、さらに直腸における進行癌を誘発する可能性が示唆された。

## P-27

## コリンエステラーゼ阻害薬リバスチグミンは、アロキサン糖尿病ラットの脂質異常および唾液腺腺房細胞の脂肪蓄積を増悪する

○兒玉 安史<sup>1)</sup>、尾崎 清和<sup>2)</sup>、神垣 真由美<sup>1)</sup>、石原 熊寿<sup>1)</sup>、松浦 哲郎<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 広島国際大学 薬学部 病態薬理学研究室、<sup>2)</sup> 摂南大学 薬学部 病理学研究室

【背景・目的】我々はアロキサン誘発1型糖尿病ラットにおいて唾液分泌量の低下および唾液腺腺房細胞の脂肪蓄積による空胞化が生じることを明らかにした。糖尿病では、コリンエステラーゼ(ChE)の血中濃度が上昇することから、唾液腺の変化はアセチルコリンのムスカリン受容体刺激が減弱していることによると考えた。そこで、ChE阻害剤投与によりアセチルコリン分解の抑制を試みたが、唾液分泌能への影響はなかった。今回、ChE阻害剤投与による唾液腺ならびに膵臓および肝臓の変化を形態学的に解析した。【材料と方法】7週齢の雄性WistarラットをControl群、ChEI群、DM群、DM+ChEI群に群分けし、DM群およびDM+ChEIにはアロキサン(50 mg/kg)を尾静脈単回投与、ChEI群およびDM+ChEI群にはChE阻害薬リバスチグミン(5 mg/kg)を週5日、9週間経皮投与し、16週齢で剖検した。【結果】DM+ChEI群およびDM群の血中TG値は、Control群またはChEI群と比較して有意な高値を示し、DM+ChEI群ではDM群の約2倍となった。病理組織学的に、DM群およびDM+ChEI群の耳下腺、舌漿液腺および膵臓の腺房細胞に小脂肪滴の蓄積による空胞化が高頻度に認められ、DM+ChEI群で最も顕著であった。さらに、DM+ChEI群では、肝細胞の小脂肪滴蓄積が他群より高頻度に観察された。一方、ChEI群の唾液腺、膵臓および肝臓には著変はなかった。【結論】ChE阻害薬リバスチグミンは、アロキサン誘発糖尿病による脂質代謝異常を増悪し、耳下腺、舌漿液腺および膵臓の腺房細胞および肝細胞の脂肪滴蓄積による空胞化を増加させることが明らかとなった。

## P-28

## 同所移植モデルを用いたRhoA変異のDGC形態形成への影響検討

○藤井 悦子<sup>1)</sup>、中野 清孝<sup>1)</sup>、鈴木 雅実<sup>1,2)</sup><sup>1)</sup> 株式会社未来創薬研究所、<sup>2)</sup> 中外製薬株式会社

【背景および目的】胃腫瘍の同所移植モデルは皮下移植と比較して間質と腫瘍細胞の相互作用がより明確であり、腫瘍接着が乏しく間質が豊富なヒトDiffuse gastric cancer (DGC)の解析に適したモデルと考えられる。今回我々はDGCにおけるRHOA変異の形態形成への影響についてMKN74胃癌細胞株の同所移植モデルを用いて解析した。【材料及び方法】MKN74のRHOA変異株(Y42C、Y42S)、野生型RHOA導入株およびmock株をscidマウスの胃壁に移植後4週で剖検をし、腫瘍組織を採取した。腫瘍組織のRNA sequencingを行い、ヒト(腫瘍細胞)とマウス(間質)に分けて解析し、さらに、HE、Sirius red、免疫組織化学的染色(F4/80、CD31)標本を光学顕微鏡下で観察した。【結果】腫瘍細胞の遺伝子発現プロファイルは変異株と非変異株で明確に分けられた。また、ROCKシグナル抑制pathwayが変異株では優位にありRHOA変異の影響が示された。一方間質細胞では変異株と非変異株で明確な差が認められなかった。病理組織学的に変異株では非変異株と比較して小細胞巢主体の増殖パターンがみられ、腫瘍内の血管形成、マクロファージの浸潤も多いことが明らかとなり、RHOA変異が間質に影響していることが示された。さらに、変異株腫瘍の浸潤先端では腫瘍に対する組織反応が乏しく、粘膜内に非破壊性に浸潤増殖するRHOA変異DGCの特徴が反映されたと考えられた。【考察】以上より、遺伝子発現解析で大きな相違がみられない場合にも注意深く病理学的解析を加えることで正確な評価が可能となると考えられた。本解析法によりRHOA変異は機能的に変異DGCの形態形成に直接関与していることが明らかとなった。



## P-29

## Inhibition of tumor necrosis factor alpha and increased of interleukin 10 by lactobacillus to protect against TNBS-induced ulcerative colitis in chicks

○Long Jing<sup>1,2)</sup>, Zhiqiang Yu<sup>1)</sup>, Xueli Gao<sup>1)</sup>, Chaonan Liu<sup>1)</sup>, Xiaoping Lv<sup>1)</sup>, Shimin Zheng<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Northeast Agricultural University, <sup>2)</sup>CTI Biotechnology (Suzhou) Co., Ltd.

The objective of this study was to evaluate the effects and mechanism of Lactobacillus on TNBS-induced ulcerative colitis chicks. There are three groups in this study, control, Lactobacillus and ulcerative colitis groups. One-day-old chicks were fed with microcapsules containing Lactobacillus LA-5 daily for Lactobacillus group and clustered with TNBS to make the model of ulcerative colitis at 10-days-old. Chicks in control and ulcerative colitis groups were fed with empty microcapsules daily at 1-day-old and then chicks in ulcerative colitis group were induced by TNBS for preparation of ulcerative colitis model at 10-days-old. We detected the changes of mRNA and protein expression of TNF-alpha and IL-10 in the colon by Real-Time PCR and Western Blot. Histopathology evaluation on colon was conducted. Chicks pretreated with Lactobacillus had striking injury improvement compared with ulcerative colitis group in histopathology. Compared with ulcerative colitis group, down-regulation of TNF-alpha and up-regulation of IL-10 were observed in Lactobacillus group chicks. Therefore, Lactobacillus could improve the injury of intestinal mucosa and reduce inflammatory response by regulating mRNA and protein expression levels of TNF-alpha and IL-10, respectively. In conclusion, Lactobacillus could ameliorate the effects on chicks of TNBS-induced ulcerative colitis by reducing the inflammation and regulating the expression of TNF-alpha and IL-10, respectively.

## P-30\*

## マウスにおけるデオキシニバレノール誘発腸管傷害の毒性メカニズム解析

○宇野 絹子<sup>1)</sup>, 美谷島 克宏<sup>1,2)</sup>, 沼田 大智<sup>2)</sup>, 谷戸 亮太<sup>2)</sup>, 羽生 ひかる<sup>1)</sup>, 服部 一夫<sup>1)</sup>, 煙山 紀子<sup>2)</sup>, 中江 大<sup>1,2)</sup><sup>1)</sup>東京農大・院・食品栄養、<sup>2)</sup>東京農大・食品安全健康

【目的】Fusariumの代謝産物であるデオキシニバレノール(DON)は、カビ毒の一種であり、土壌や作物などに広く分布し食物汚染の観点からも問題とされている。DONは経口で体内に取り込まれることから、主要な毒性発現のターゲットは腸管とされている。DONの毒性試験では、主に嘔吐、摂餌量減少、体重増加抑制及び免疫系に及ぼす影響が報告されている。本研究ではDONをマウスに短期間反復経口投与することで、小腸に引き起こされる毒性学的変化を明らかにし、さらに、同マウスの小腸を用いてオルガノイドを作製し、新たな毒性評価系の構築へと展開するための検証を行った。【材料及び方法】雄性C57BL/6jマウスに、DONを2および25 mg/kgの用量で1週間反復経口投与した。解剖時に血液を採取し、血液検査及び血中サイトカインアッセイを行った。また、腸管、肝臓、及び脾臓を摘出し、重量測定後、凍結保存もしくは、4%パラホルムアルデヒドに固定し、遺伝子発現解析および病理組織学的解析を行った。【結果】25 mg/kgのDON投与により、小腸粘膜上皮のアポトーシス及び、細胞間接着の病理組織学的な増強が示された。また、血清中サイトカイン量は、IFN-gammaおよびTNF-alpha値が上昇傾向を示した。2 mg/kgのDON投与による明らかな影響は見られなかった。【考察】血清中サイトカイン測定により、炎症性サイトカインの上昇がみられたことから、DON投与によって炎症が惹起された可能性が示唆された。また、DON投与による小腸の病理組織学的な影響もみられた。本報告では、同マウスの小腸から作製したオルガノイドについても評価し、病理組織学的解析結果との比較検討を行う。

## P-31\*

## 猫の十二指腸腺腫の病理組織学的検討

○畠山 瑞穂、チェンバース ジェームズ、内田 和幸、中山 裕之

東京大学 獣医病理学研究室

【背景・目的】動物の十二指腸における腫瘍発生は稀であるが、猫の十二指腸起始部には、ヒト十二指腸の幽門腺型腺腫に類似した腺腫が好発する。同部には様々な腺上皮が存在するが、猫の十二指腸腺腫の由来組織は定かではない。そこで今回、ヒト腫瘍のモデルにすべく、猫の十二指腸腺腫について病理組織学的に検討し、その発生母地および発生機序を検討した。

【材料と方法】十二指腸腺腫と診断された猫6症例(雄:3例、雌:3例、年齢:7-13歳)の腫瘍組織にHE、アルシアン青(AB)-PAS、Concanavalin A paradox (ConA-P)染色およびCD10、サイトケラチン(CK)7、CK19、CK20、CDX2、 $\beta$ -catenin、Ki67、p53に対する免疫染色を実施し、正常な猫の十二指腸組織と比較した。

【結果と考察】特殊染色および免疫染色の結果、正常な猫の十二指腸組織に存在する上皮細胞は、吸収上皮、十二指腸腺上皮、膵胆道系上皮に加え、十二指腸腺上皮と膵胆道系上皮両方の特徴を有する混合型上皮の4種に分類することができた。腫瘍はいずれも単層の立方形から円柱形上皮細胞の乳頭状増殖を特徴とし、粘膜下組織への浸潤はみられなかった。腫瘍細胞は全ての症例でPAS、ConA-P、CK19に陽性、AB、CD10、CDX2に陰性であった。CK7は4/6症例、CK20は2/6症例で陽性であった。腫瘍細胞は混合型上皮と類似した染色性を示したことから、猫の十二指腸腺腫は混合型上皮に由来すると考えられた。また、正常な猫の十二指腸乳頭部には、周囲組織と比較して高いKi67陽性率を示す上皮細胞集団が認められ、これが同部における高い腫瘍発生率と関連する可能性が示唆された。一方、腫瘍組織における $\beta$ -catenin、p53の核陽性率は低く、猫の十二指腸腺腫の腫瘍発生におけるこれら分子の関与は小さいと考えられた。

## P-32

## 新規抗がん物質の効果および作用機序解析

○安藤 さえこ、吉本 恵里、松本 晴年、深町 勝巳、酒々井 眞澄

名古屋市立大学 大学院 医学研究科 神経毒性学分野

パルミトイルピペリジノピペリジン(PPI)は私たちの研究グループが独自に開発した新規抗がん物質である(特許第5597427号、2014年登録)。腫瘍選択性に必須の構造(ファルマコフォア)を突き止め腫瘍選択性と抗がん効果がPPIより高い物質(DPHおよびDPHE)の開発に成功した(特許第6532730号、2019年登録)。本研究ではDPH/DPHEのcytotoxicityを含む効果および作用機序を解析した。*In silico*解析にてDPH/DPHE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。ドッキングスコアはDPH>DPHE>PPI>STA21(SH2ドメイン特異的阻害物質)であった。ヒト大腸がん細胞株HT29が92%死滅した時のDPHの濃度は0.3  $\mu$ Mであり、この濃度における大腸正常上皮細胞株FHCの細胞生存率は92%であった。DPHEはヒト大腸がん細胞株SW837およびSW480に対してSTAT3の転写活性を抑制し、HT29細胞株に対してSTAT3の発現に影響を与えることなくpSTAT3の発現を抑制した。ヒト大腸がん細胞株へのcytotoxicityの強さはDPH>DPHE>PPI>Cryptotanshinone>5FUであった。FACS解析にてDPH/DPHEはsubG1 fractionを誘導した。DPHEはpro-PARP、Bcl-2、pro-caspase9のタンパク発現を減少させた。鶏卵漿尿膜(CAM)アッセイにおいてDPHは血管数を抑制した。新規物質DPH/DPHEは転写因子STAT3の転写活性を抑制することで効果を発揮していると考えられる。

## P-33

## ラット肝癌形成後期に対する Bear Bile Powder の修飾作用

○金美蘭、張梅、洪澤宣、邱欣雨、王劍、王自力、熊文、徐玉薇

西南大学 動物科術学院 獣医病理研究室

【背景】昨年の本大会で我々は天然薬 Bear Bile Powder (BBP) が肝癌形成早期に対して抑制作用を有していることを報告している。【目的】本実験ではラット二段階発がんモデルを用いて肝癌形成後期に対する BBP の修飾作用について検討し、その作用機序を探索することを目的とした。【方法】6週齢の雄SDラット46匹を3群(1群：対処群、2群：DEN+ NMOR、3群：DEN+NMOR+BBP)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、実験開始第1週及び第4~10週の間第2と3群には80 ppm N-nitrosomorpholine (NMOR) を引水投与し、第3週には40 ppm NMOR を引水投与した。そして第11週から実験終了までは第3群に200 mg/kg BBP を7週間経口投与した。投与終了後に体重や肝重量測定し、肝臓に対して病理組織学検査、Ki67とGST-P免疫染色、TUNEL染色および遺伝子発現解析を行った。【結果】その結果、NMOR投与群の相対肝重量は対処群に比べ有意に増加した。さらに、NMOR投与群において明らかな結節形成が見られた。しかし、DEN + NMOR群とBBP投与群の増殖性病変の発生率、GST-P陽性細胞巢の数と面積およびTUNEL陽性細胞数において両群の間に有意な差はなかった。ところが、BBP投与群のKi67陽性細胞率はDEN + NMOR群に比べ有意に減少した。遺伝子発現解析においても、DEN + NMOR群とBBP投与群の間に有意な差はなかった。【結論】これらの結果は、BBPはラット肝癌形成後期において細胞増殖活性は低下させるものの、肝癌の進展は抑制できないことを示唆した。

## P-34

## NASH肝臓発がんにおける新規マーカー候補分子の検討

○梯アンナ、石井直美、魏民、鈴木周五、鰐淵英機

大阪市立大学・院・医・分子病理学

本研究は、肝臓における非アルコール性脂肪肝炎(NASH)を背景とした肝細胞癌の発がんメカニズムの解明を行うとともに、早期発見のために新規前がん病変マーカーを検索した。動物は、NASHモデルSTAMマウス(10匹)を用いた。2日齢の動物に糖尿病誘発剤であるstreptozotocinを投与し、4週齢から高脂肪食を与えた。高脂肪食投与の14週間後、STAMマウスの肝臓ではCache domain containing 1陽性(CACHD1+)細胞巢の数と面積、または肝細胞腺腫及び肝細胞癌の頻度が有意に増加していた。また、CACHD1+細胞巢における細胞増殖マーカー(PCNA)の陽性細胞の数が上昇していることが認められた。臨床病理的解析の結果によりヒトのNASH由来HCCにおいてCACHD1が高い発現が見られた患者の生存率の減少に相関していることが認められた。その結果によりCACHD1はNASH由来の肝細胞癌の特異的な早期マーカーになりうる可能性が認められた。また、CACHD1の発現が高血糖及び高血脂肪により誘導され、遺伝子転写、分子伝達及び細胞増殖を支配していると思われる。



## P-35

## 異なる細胞動態を示す Furan 及び DEN 誘発 GST-P 陽性細胞巢における Sox9 の発現

○高須 伸二<sup>1)</sup>、中根 冴<sup>1,2)</sup>、石井 雄二<sup>1)</sup>、木島 綾希<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>、梅村 隆志<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup> 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、肝細胞を主な発がん標的とする遺伝毒性発がん物質の diethylnitrosamine により誘発される GST-P 陽性細胞巢は休薬後に増加する一方、肝細胞と胆管上皮細胞の両方を発がん標的とする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。さらに、それぞれの GST-P 陽性細胞巢の網羅的遺伝子発現解析を行った結果、furan 投与により誘発される GST-P 陽性細胞巢には、DEN 誘発 GST-P 陽性細胞巢とは異なる遺伝子発現を示す細胞群が存在することが示された。本研究では、網羅的遺伝子発現解析で発現変動が認められた因子のうち、Sox9 について発がん物質休薬前後の発現動態を比較検討した。**【材料と方法】**6週齢の雄性 F344 ラットに furan を 8 mg/kg 体重/日の用量で 1 日 1 回、週 5 日間の頻度で 13 週間強制経口投与、または DEN を 10 ppm の濃度で 13 週間飲水投与した。その後、7 週間の休薬期間を設けた。投与終了後及び休薬期間後に肝臓を摘出し、GST-P 並びに Sox9 の免疫組織化学的解析を実施した。**【結果】**発がん物質投与終了直後では、一部の furan 誘発 GST-P 陽性細胞巢で Sox9 の発現が認められた。一方、DEN 誘発 GST-P 陽性細胞巢では Sox9 の発現は認められなかった。休薬後では、furan 及び DEN 投与群の何れの GST-P 陽性細胞巢においても Sox9 の発現は認められなかった。**【考察】**Sox9 は furan 投与終了直後の GST-P 陽性細胞巢でのみ陽性を示し、休薬後にはその発現が認められなかったことから、Sox9 が furan 及び DEN 誘発 GST-P 陽性細胞巢の異なる動態を規定している可能性が考えられた。さらに、Sox9 は胆管上皮細胞への分化を制御する転写因子であることから、furan が肝細胞に加えて胆管上皮細胞を発がん標的とする原因に Sox9 の発現を誘導する脱分化機序が関与している可能性が考えられた。

## P-36\*

## gpt delta ラットを用いた acetamide のラット肝発がんメカニズムに関する検討

○中村 賢志<sup>1,2)</sup>、石井 雄二<sup>1)</sup>、木島 綾希<sup>1)</sup>、高須 伸二<sup>1)</sup>、能美 健彦<sup>1)</sup>、渋谷 淳<sup>2)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>

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

**【目的】**様々な食品やたばこ煙等に含まれる acetamide (AA) はラット肝臓に強い発がん性を有するが、その機序は明らかになっておらず、ヒトへの健康影響も懸念されている。また、Ames 試験をはじめとする種々の遺伝毒性試験の結果は陰性であるが、*in vivo* における変異原性の報告はこれまでにない。そこで本研究では、gpt delta ラットを用いて肝臓における AA の突然変異誘発性の評価と肝発がんメカニズムの探索を行った。

**【方法】**雄性 6 週齢の gpt delta ラット (各群 10 匹) に AA を 0.625、1.25 又は 2.5% の濃度で 90 日間混餌投与し、肝臓における gpt 及び Spi assay、血清中肝毒性パラメータの測定、病理組織学的及び免疫組織化学的検索を実施した。

**【結果】**gpt 変異体頻度は 1.25% 群から増加傾向を示したものの、対照群に比して有意な差は認められず、Spi<sup>-</sup>変異体頻度にも明らかな変化は認められなかった。一方、1.25% 以上の群では、血清 AST 及び ALT の有意な高値、肝細胞の空胞化、単細胞壊死、オーバルセル過形成、カリオメガリー並びに Ki67 陽性肝細胞の増加が認められた。また、同用量から肝細胞において好塩基性の細胞質内封入体が高頻度に認められ、これはフォイルゲン反応に陽性を示した。

**【考察】**発がん用量である 1.25% 以上で gpt 及び Spi<sup>-</sup>変異体頻度に有意な変化が認められなかったことから、AA のラット肝発がん過程における突然変異誘発性の関与は乏しいと考えられた。また、同用量で認められた組織傷害及び細胞増殖活性の亢進は、肝発がんに関与するものと考えられた。一方、細胞質内封入体は核成分に由来したことから、今後、染色体異常の有無についても検討し、その結果も併せて報告する。

## P-37\*

## Luteolinは相互依存関係にあるpSTAT3とDPDの発現抑制を介して膵発癌を抑制する

○加藤 寛之<sup>1)</sup>、内木 綾<sup>1)</sup>、鈴木 周五<sup>2)</sup>、高橋 智<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、<sup>2)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究 科分子病理学

**【背景】**我々は以前の本学会にてフラボノイドの一種であるLuteolin (Lut) が、N-nitrosobis(2-oxopropyl)amineと高脂肪食によって誘導されたハムスター膵癌の発生を抑制し、in vitroの解析においてpSTAT3の抑制が関与することを報告した。今回その詳細なメカニズムをin vitro, in vivo, ヒト膵癌検体を用いて検討した。**【方法・結果】**ヒト膵癌細胞にLut処置を行い、マイクロアレイ解析によりLut投与によって低下する遺伝子を抽出した。TCGAの膵癌データにおいて、発現差が予後と相関する遺伝子を選び、さらにpSTAT3阻害剤(Stattic)により発現が低下する遺伝子を選択した結果、5-FUの分解酵素であるdihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)をコードするDPYD遺伝子が抽出された。DPD発現とpSTAT3の関係を明らかにするために、in vitroで以下の3つの実験を行った。1) 種々のヒト膵癌細胞株においてpSTAT3とDPDのタンパク発現は強い正の相関を示した。2) DPD高発現膵癌細胞株に対しStattic処置を行うとDPDタンパク発現抑制が見られる一方、DPD低発現細胞株にIL6でSTAT3経路を活性化すると、DPDタンパク発現は亢進した。3) siDPYDでノックダウンするとpSTAT3タンパク発現が低下し、細胞増殖抑制が見られた。次に、ハムスターのPanIN病変を検討すると、pSTAT3、Ki67の陽性率、DPDの相対輝度はLut投与により有意な抑制が見られた。また、pSTAT3陽性率とDPDの相対輝度は弱い正の相関が見られた。最後にヒト膵癌のtissue arrayでDPD高発現群(n=23)、DPD低発現群(n=50)に分けた結果、DPD高発現群では低分化な膵癌が多く、有意に予後が悪かった。さらにDPDの発現はKi67陽性率と弱い正の相関を示した。**【結論】**LuteolinはpSTAT3とDPDの発現抑制を介して膵発癌抑制をし、pSTAT3とDPDの発現は相互依存関係にあることを解明した。

## P-38\*

## マウスにおけるコリン欠乏メチオニン低減アミノ酸高脂肪食による非アルコール性脂肪肝炎様病態に対するラカンカ抽出物の影響

○阿部 有加里<sup>1)</sup>、煙山 紀子<sup>2)</sup>、鈴木 紀宏<sup>2)</sup>、松島 亮太<sup>2)</sup>、本山 智之<sup>3)</sup>、宇野 絹子<sup>3)</sup>、結城 恵美<sup>2,5)</sup>、佐野 龍平<sup>3)</sup>、小川 秀治<sup>3)</sup>、渡邊 厚<sup>3)</sup>、小柳 美穂子<sup>4)</sup>、林 新茂<sup>6)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>東京農大・院・食品安全健康、<sup>2)</sup>東京農大・食品安全健康、<sup>3)</sup>東京農大・院・食品栄養、<sup>4)</sup>三栄源エフ・エフ・アイ株式会社・安全性科学部、<sup>5)</sup>株式会社新組織科学研究所 診断・鏡検グループ、<sup>6)</sup>東京農工大・獣医病理

**【目的】**本研究は、改変コリン欠乏メチオニン低減アミノ酸高脂肪(CDAA-HF-T(-))食をマウスに7カ月間負荷することにより誘発された非アルコール性脂肪肝炎(NASH)様病態に対する、ラカンカ抽出物の影響について検討した。

**【方法】**実験は、6週齢の雄性C57BL/6J系マウス(1群6匹)に、CDAA-HF-T(-)食(A16032902、Research Diets)または基礎食(CE-2、日本クレア(株))を7カ月間給餌し、同時期にラカンカ抽出物(ラカンカ)(三栄源エフ・エフ・アイ(株))を0・02・0.6・2.0%の濃度で純水に溶解し混水投与した。飼育期間中、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て重量を測定後、一部を凍結保存し、残りを10%中性緩衝ホルマリン液にて固定して、肝臓の病理組織学的、分子生物学的解析ならびに遺伝子発現解析を行った。

**【結果】**CDAA-HF-T(-)食群では、病理組織学的検査において肝臓の脂肪化、線維化および $\alpha$ -SMA陽性を示す肝星細胞の活性化を観察した。CDAA-HF-T(-)食+ラカンカ群では、CDAA-HF-T(-)食群と比較し、ラカンカ投与濃度に依存して、肝線維化および肝星細胞活性化の程度が減弱した。遺伝子発現検査においても、CDAA-HF-T(-)食群で上昇した肝線維化関連遺伝子発現が、ラカンカ投与により減弱した。一方、ラカンカは、肝臓の脂肪化に影響しなかった。

**【結論】**以上の結果より、ラカンカは、CDAA-HF-T(-)食によってマウスに引き起こされるNASH様病態に対し、肝脂肪化に影響することなく、肝線維化を抑制することが判明した。

## P-39

## ジフェニルアルシン酸のマウスにおける経胎盤発がん作用

○魏 民<sup>1)</sup>、鈴木 周五<sup>2)</sup>、梯 アンナ<sup>2)</sup>、山口 貴嗣<sup>2)</sup>、鰐淵 英機<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 大阪市立大学大学院医学研究科 環境リスク評価学、<sup>2)</sup> 大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

**【背景】**ジフェニルアルシン酸(Diphenylarsinic acid, 以下 DPAA) は化学兵器に使用された物質の原料物質で、有機ヒ素化合物である。戦後不法投棄された DPAA が、現在も地下水や土壌に残留していることが判明し、その環境汚染が問題となっている。2003 年に茨城県神栖町の飲用井戸水から高濃度の DPAA が検出され、周辺住民に神経毒性などの健康被害が発生していることが報告された。一方で、感受性の高い時期である胎児期の DPAA ばく露による有害性を検討した知見はない。**【目的】**マウスに対して DPAA を経胎盤ばく露後に、発生した腫瘍病変を検討し、胎仔期ばく露による発がんリスク評価を行った。**【方法】**妊娠期の雌 CD1 マウスに妊娠 8 日から妊娠 18 日まで DPAA を 0、6.25、12.5、25 ppm の濃度で飲水投与した。生まれた仔マウスは無処置で飼育および観察し、84 週齢で屠殺・解剖し、病理学的解析を行った。**【結果】**25 ppm ばく露群の雄仔マウスで肝腫瘍発生頻度の有意な増加が認められた。加えて 25 ppm ばく露群の 6 週齢雄仔マウスの肝臓において、細胞増殖亢進およびゲノムワイドな DNA 低メチル化状態が認められた。一方、胎仔期ばく露した雌マウスでは、肝腫瘍発生に影響は認められなかった。また、雌雄ともに他の諸臓器腫瘍発生に影響は認められなかった。いずれの群にも神経症状の出現はなかった。**【結論】** DPAA は経胎盤ばく露により CD-1 雄マウスに対して肝発がん性を示すことが明らかとなった。また、その肝発がん機序にはエピジェネティックな制御の関与が示唆された。

## P-40

## ヒト肝細胞キメラマウス(PXB マウス)を用いた Lipopolysaccharide 誘発肝障害に関する検討

○笹木 祐司<sup>1)</sup>、森山 亜紀子<sup>1)</sup>、木村 文子<sup>1)</sup>、松尾 純子<sup>1)</sup>、藤原 章雄<sup>2)</sup>、和泉 博之<sup>3)</sup>、小林 欣滋<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 株式会社新日本科学 安全性研究所、<sup>2)</sup> 熊本大学大学院 生命科学部 細胞病理学講座、

<sup>3)</sup> 株式会社新日本科学 前臨床カンパニー

**【目的】** PXB マウスは、肝臓の 70% 以上がヒト肝細胞に置換されたキメラマウスである。本研究では、PXB マウスに Lipopolysaccharide(LPS) を単回投与し、マウス肝臓内に移植されたヒト肝細胞に与える影響を検討した。

**【材料と方法】** 雄の PXB マウス(LPS 投与動物: 21 ~ 24 週齢、無処置動物: 18 ~ 33 週齢)を用いた。LPS ( $3 \times 10^6$  EU/mg) の 1 あるいは 1.5 mg/kg を腹腔内投与し、1 mg/kg 群は投与後 6 時間(1 例)及び 24 時間(4 例)に、1.5 mg/kg 群(1 例)では状態悪化のため投与後 5 時間に剖検し、肝臓を採取した。無処置群(9 例)についても同様に剖検し肝臓を採取した。肝臓は常法に従ってホルマリン固定し、HE 染色を、またヒト細胞とマウス細胞を染め分けるための抗ヒト COX IV 及び抗げっ歯類 COX IV 抗体による免疫組織化学的染色を行った。

**【結果】** 剖検では LPS 投与群及び無処置群の全例に肝臓の肉眼的異常はなかった。1 mg/kg 群の投与後 24 時間では 4 例中 3 例に明らかな肝細胞の単細胞壊死がみられたが、炎症細胞浸潤はなかった。1 mg/kg 群の投与後 6 時間、1.5 mg/kg 群(投与後 5 時間)及び無処置群では、肝臓に顕著な組織学的変化はみられなかった。免疫組織化学的染色の結果、1 mg/kg 群(投与後 24 時間)の 4 例では肝組織中のヒト肝細胞領域は 83.7 ~ 97.2% であった。また、壊死細胞の 80.0 ~ 87.5% がヒト肝細胞であった。**【まとめ】** PXB マウスに LPS を単回投与することにより、投与後 24 時間にヒト肝細胞に単細胞壊死を生じることが示された。



## P-41\*

## 雄性hL-FABP Tgマウスを用いた食餌性NASH様病態と背景メカニズムの解析

○龍 完次朗<sup>1)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、張 舜恵<sup>2)</sup>、山口 彩音<sup>1)</sup>、日高 佳穂<sup>3)</sup>、大畑 敬一<sup>4)</sup>、宇野 絹子<sup>2)</sup>、煙山 紀子<sup>1,3)</sup>、小川 秀治<sup>2)</sup>、渡邊 厚<sup>2)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup>

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

<sup>3)</sup> 東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科、<sup>4)</sup> シミックホールディングス(株) L-FABP事業部

**【目的】** 脂肪酸結合タンパク質(L-FABP)は、ヒト肝疾患患者において早期の慢性肝炎から肝細胞癌まで一貫して予後を評価できるバイオマーカーであることが報告されている。本研究では、雄性ヒトL-FABP染色体遺伝子導入マウス(hL-FABP Tgマウス)を用いて食餌誘発性NASH様病態の解析を行った。

**【材料及び方法】** 7週齢雄性hL-FABP Tgマウスおよび対照のC57BL/6マウスに、基礎飼料(CE-2)とコリン欠乏メチオニン低減高脂肪アミノ酸(CDAA-HF)食を自由摂取させた。給餌期間は2、13及び26週間とし、各期間終了時に採血及び肝臓を採取し、血液生化学的検査と病理組織学的検査及び遺伝子発現解析を実施した。

**【結果】** 血清中hL-FABP値は、CDAA-HF給餌Tgマウスにおいて、2週間給餌から増加した。また、血清中mL-FABP値も、CDAA-HF給餌Tg及び対照マウスにおいて、2週間給餌から増加した。血清中AST及びALT活性は、CDAA-HF給餌Tg及び対照マウスにおいて、2週間給餌から上昇したが、この変化は対照マウスと比較し、Tgマウスで弱かった。病理組織学的検査では、CDAA-HFを給餌したTg及び対照マウスにおいて、2週間給餌から顕著な脂肪化、軽度の肝細胞肥大、炎症、線維化が観察され、13及び26週間給餌ではその程度が増悪した。CDAA-HFの26週間給餌Tgマウスの5例中1例では、腫瘍形成が認められたが、それに一致して同個体の血清中hL-FABPは明らかな高値を示した。

**【結論】** 以上の結果より、hL-FABP Tgマウスを用いることにより、NASHの非侵襲性バイオマーカーとして、L-FABPがNASH病態の把握や治療法の基礎的検討につながる可能性が示唆された。

## P-42

## NASHモデルマウス(STHD-01およびCDAHFD供与マウス)の病理組織学的変化の比較(その2)－免疫組織化学的検討－

○富樫 裕子、青木 豊彦、斎藤 友希、江島 智子、山浦 唯、小田切 泰輝、松谷 尚美、倉重 誠一郎、安藤 綾俊、児玉 晃孝

EA ファーマ株式会社 創薬研究所

**【背景・目的】** 第46回日本毒性学会学術年会において、発現機序の異なる2つのマウス非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)モデル(STHD-01およびCDAHFD供与マウス)の病態変化の病理組織学的検討結果を報告した。今回、両モデルの異なる病理組織学的特徴を明らかにするために、免疫組織化学的検討を実施した。**【材料と方法】** 雄性C57BL/6Jマウスに当社が開発した高脂肪・高コレステロール飼料(STHD-01)および市販のコリン欠乏メチオニン減量・高脂肪飼料(CDAHFD)を6、9、12週間自由摂取させた後、肝臓について、HE、シリウスレッド染色の他、種々の肝組織・細胞のマーカーについて免疫組織学的染色を行い、病理組織学的に検索した。**【結果・結論】** STHD-01およびCDAHFD供与マウスにおいて、肝細胞内の脂肪滴の大きさは異なり、それぞれ大滴性および小滴性がメインであった。また、過剰な脂肪蓄積により細胞死に陥った肝細胞をマクロファージが取り囲んで貪食する像(hepatic crown-like structure: hCLS)がいずれのモデルでもみられたが、CDAHFD供与マウスでは脂肪肉芽腫も顕著であった。一方、肝細胞の壊死・変性や炎症細胞浸潤の程度には、大きな違いはみられなかった。hCLS及び脂肪肉芽腫はCD68陽性で、周囲の細胞は $\alpha$ -SMAあるいはdesmin陽性を示し、肝細胞間にコラーゲン線維の増加がみられたことから、これらがNASHにおける肝線維化の起点のひとつであることが示唆された。この所見は、他のNASHモデル(MC4R-KOマウス)で既に報告されているものと類似していた。加えて、本発表では、その他の免疫組織学的染色結果についても報告する。

## P-43\*

## SHRSP5/Dmcr系ラットを用いた食餌組成の違いによるNASHモデルの検討

○本山 智之<sup>1)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2)</sup>、宇野 絹子<sup>1)</sup>、煙山 紀子<sup>2)</sup>、政木 隆博<sup>4)</sup>、松浦 智和<sup>4)</sup>、中江 大<sup>1,2)</sup>、古庄 律<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科 食品栄養学専攻、<sup>2)</sup>東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科、  
<sup>3)</sup>東京農業大学 国際食料情報学部 国際食農科学科、<sup>4)</sup>東京慈恵会医科大学 臨床検査医学講座

【目的】本研究は、日本人の食生活に即した非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)モデルの開発を行い、当該モデルにおける組織学的・生化学的变化と、それらに対するビタミンA代謝の関与について解析することを目的として実施した。【材料と方法】実験は、SHRSP5/Dmcr系ラット(11週齢、雄性)15匹を対照の基礎食(CD)群・高果糖+高脂肪+高コレステロール食(HFC)群・高果糖+高脂肪+コリン無添加食(HFFNC)群の3群(各5匹)に分け、それぞれの食餌を8週間pair-feedingした後に解剖し、肝臓と血清を採取した。肝臓は、病理組織学的解析を行うと共に、炎症・線維化・ビタミンA代謝に関連する遺伝子のmRNA発現量を解析し、さらに、血清の脂質代謝・肝障害マーカーと、肝臓・血清のビタミンA量を測定した。【結果】HFC群では、肝臓の有意な絶対及び相対重量の増加および褪色が確認された。HFFNC群では、体重および腹膜周囲脂肪の絶対重量に有意な増加が見られた。肝臓の病理組織学的解析では、HFC群で肝細胞の大滴性脂肪滴・炎症性細胞浸潤・小葉中間帯を中心とした微細な線維化、HFFNC群で類洞拡張・中心静脈周囲の肝細胞の小滴性脂肪滴および微細な線維化が確認された。肝臓の炎症と線維化関連mRNA発現量はHFC群・HFFNC群共に上昇が確認されたが、血清ALT・AST活性はHFC群でのみ上昇した。肝臓のビタミンA量はHFC群・HFFNC群で有意に減少し、血清中レチノール濃度はHFFNC群で有意に増加した。【結論】HFC群では肝臓の脂肪化・肝細胞障害・炎症が発生していたが、HFFNC群では類洞の拡張・内臓脂肪の蓄積が発生しており、それらに伴いビタミンA代謝も変化していた。これらの食餌組成を組み合わせることでより良いNASHモデル動物の開発ができると考えられた。

## P-44

## NAFLDラットモデルにおけるLPS曝露の病態進展への影響

○新 真智、井澤 武史、水口 恵理、藤原 咲春、桑村 充、山手 文至

大阪府大 獣医病理

【背景・目的】非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)は世界人口の約25%が罹患する肝疾患で、脂肪性肝炎から肝硬変、肝癌へと進行する難治性疾患である。肝炎の進展因子の1つとして、LPSなどの腸管由来エンドトキシンの関与が考えられているが、その詳細には不明点が多い。本研究では、NAFLDモデル動物に非肝毒性量のLPSを反復投与し、LPSによる病態進展への関与を調べた。【材料と方法】6週齢の雄F344ラットを、Cont群、0.1 LPS群、0.5 LPS群、Western diet (WD)群、WD+0.1 LPS群、WD+0.5 LPS群の6群に分け、前3群に標準食(DC-8)と水道水、後3群にWD食(40% 脂質、43% 炭水化物)と糖水を20週間給餌した。加えて、各LPS実験群には、実験開始9週目からLPS(0.1あるいは0.5 mg/kg)を週2回反復腹腔内投与した。【結果】Cont群と比較して、WD群においてトリグリセリドが上昇し、グルコースや肝逸脱酵素には著変はみられなかった。WD群と比較して、WD+0.1 LPS群およびWD+0.5 LPS群では肝逸脱酵素の上昇傾向が認められた。WD群の肝臓において、小葉中心性の大滴性脂肪化が認められたが、炎症は軽度で、ヒトの単純性脂肪肝(NAFL)に相当する病変と考えられた。WD+0.1 LPS群およびWD+0.5 LPS群では、脂肪化に加えて、小葉中間帯に主座する多巣性壊死が認められたが、明らかな用量依存性は認められなかった。また、Cont群と比較して、0.1および0.5 LPS群では、肝逸脱酵素の上昇および組織学的異常はみられなかった。【結論】Western diet給餌に加えてLPSを反復投与することで、肝傷害が誘発されたものの、脂肪性肝炎の進展には至らなかった。今後、LPSの飲水ないし混餌投与モデルを検討し、ヒトNAFLDの進展因子と考えられている持続的なLPS血症を再現できるNAFLDモデルの作製・解析を試みる。

## P-45\*

## コリン欠乏メチオニン低減アミノ酸高脂肪食(CDAA-HT-T(-))によるマウスNASH合併肝発癌モデルの開発

○煙山 紀子<sup>1)</sup>、阿部 有加里<sup>2)</sup>、宇野 絹子<sup>3)</sup>、高 臨風<sup>2)</sup>、龍 完次朗<sup>2)</sup>、山口 彩音<sup>2)</sup>、結城 恵美<sup>1,4)</sup>、小川 秀治<sup>3)</sup>、佐野 龍平<sup>3)</sup>、渡邊 厚<sup>3)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京農大・応生・食品安全健康、<sup>2)</sup> 東京農大院・農学研究科・食品安全健康学専攻、<sup>3)</sup> 東京農大院・農学研究科・食品栄養学専攻、<sup>4)</sup> 株式会社新組織科学研究所 診断・鏡検グループ

【目的】非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は、肝硬変や肝細胞癌へと進展し得る進行性疾患であるが、その詳細は未だ不明である。我々はこれまでに、マウスにおいて改変CDAA食の開発を行い、トランス脂肪酸非含有ショートニングを脂質原料として用いた高脂肪食であるCDAA-HT-T(-)が腫瘍の形成を伴うNASHを誘導することが示されたため、その長期投与を行い、腫瘍の発生について検索を行った。

【方法】実験は、6週齢の雄性C57BL/6J系マウスに、普通食・CDAA-HF-T(-)(脂質45%；トランス脂肪酸非含有ショートニング、メチオニン0.1%)を、1年間または1年6ヶ月間投与する実験群を設定し、各種の検索を行った。

【結果】CDAA-HF-T(-)1年間投与群は、投与終了後に計画解剖を行った。1年6ヶ月間の投与群は、1年2ヶ月間経過時までには切迫状態の個体が多発したため、その時点で解剖した。1年間投与CDAA-HF-T(-)群の肝臓においては、肉眼的に巨大な腫瘍の多発の形成が全例で認められた。肝重量は、普通食群の250%以上に増加した。

【結論】以上の結果より、CDAA-HT-T(-)は、マウスに1年間投与すると、NASH様病態に加えて肝腫瘍をも誘発し得ることが示された。したがって、このモデルは、NASH合併肝発癌の解析に有用である。

## P-46\*

## Lipopolysaccharide誘発性エンドトキシン血症モデルラットにおける病態検索

○杉山 淳一、田中英樹、吉田 翔太、松原 健嗣、二宮 芙美子、山本 宏美、鈴木 智、別枝 和彦

大鵬薬品工業 研究本部

【目的】抗がん剤や免疫抑制剤の毒性試験では、敗血症による死亡例がみられる場合があり、その病態を把握しておくことは、化合物による真の毒性変化を判断する上で重要である。今回、ラットを用いて、Lipopolysaccharide (LPS) 誘発性エンドトキシン血症モデルにおける毒性変化を経時的に検索した。【材料・方法】CrI:CD(SD)ラットにLPS(Escherichia coli O111:B4)溶液を1 mg/kg(i.v., 1 mL/分)にて投与し、投与1及び24時間後採血群及び投与5及び24時間後採血群に分けた(各群5匹)。これらの動物を安楽死後、剖検し、病理組織学的検査に供した。また、採取血液サンプルを用いて炎症性サイトカインの多項目同時測定を行い、投与24時間後サンプルに関しては血液学的・血液化学的検査を実施した。【結果】サイトカイン測定では、TNF- $\alpha$ はLPS投与1時間後に、IL-6とIFN- $\gamma$ は5時間後にピークを迎え、その後回復した。血液学的検査では凝固線溶系の活性化を示唆する所見の他、炎症や出血、肝機能障害を示唆するパラメータ変動が得られた。また全例で肝臓の多葉性中間帯壊死、小葉周辺域類洞内の血栓様物質が認められ、フィブリン免疫染色にて陽性所見が確認された。【考察】血中サイトカイン測定、血液検査及び病理検査の結果は、既報のLPS誘発性エンドトキシン血症モデルにおける特徴的変化と概ね合致していたが、本研究で認められた肝細胞壊死の分布が小葉中間帯であるという報告は確認できなかった。小葉中間帯壊死の発生機序には低酸素血症、肝血流量の減少、門脈圧や肝動脈圧の低下等を指摘する報告があり、本例で認められた肝小葉中間帯壊死の発生には、小葉周辺域類洞内に形成されたフィブリン血栓の関与が示唆された。



## P-47\*

## 若齢ラットの肝臓に認められたび慢性肝紫斑症(peliosis hepatis)様病変の1例

○島崎 大志、安井 雄三、剣持 佑介、中村 明子、豊田 薫、利谷 枝里子、高橋 明美、宮川 義史、正田 俊之

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 横浜リサーチセンター 安全性研究所

**【背景と目的】**肝紫斑症はヒトでは1～10 mm大の種々の大きさの血管腔として肝実質内に認められ、肝表面近くで肉眼的に暗赤色、小斑状の病変として認められる。げっ歯類では偶発性の加齢性肝紫斑症が報告されているが、今回、若齢ラットにおいて肝全葉に及ぶ肝紫斑症様病変を経験したので報告する。

**【材料と方法】**本症例は2週間反復経口投与毒性試験の被験物質投与群として試験に供された7週齢の雄性CrI:CD(SD)ラットの1例であり、摂餌量及び体重減少により投与8日目に切迫解剖された。剖検では、肝臓の全葉にわたって直径1 mm大の暗赤色巣がび漫性に認められた。本病変のHE染色標本の作製及び免疫組織化学染色(CD34, SE-1)等を実施し、病理組織学的検索を行った。

**【結果】**HE染色標本において、漿膜下の肝実質を中心に、肝臓の類洞と類似した、内皮細胞で内張された血管腔の拡張・血液の貯留が多病巣性に認められた。しかし血管腔の拡張部周囲の肝細胞の変性等は認められなかった。また時折、初期～陳旧化した中・大型のフィブリン血栓形成が認められた。拡張した血管腔の内皮細胞はCD31及びCD34(血管内皮細胞マーカー)に陽性を示したが、SE-1(Anti-Sinusoidal Endothelial Cells:類洞内皮細胞マーカー)に陰性を示した。

**【結論】**ヒトや加齢性ラットの肝紫斑症では類洞の傷害が原因で、類洞拡張、血液貯留することが報告されているが、本症例では拡張している血管腔を構成している細胞はCD31及びCD34で陽性、SE-1で陰性であった。ヒトの新生児肝紫斑症では血管の形成不全によって中心静脈の瘤状拡張が生じ、静脈圧が亢進した結果、類洞の破綻が生じることが報告されている。本症例ではSE-1陰性であったため、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-48

肝発がん物質投与ラット肝臓における $\gamma$ -H2AX陽性細胞率の検討

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

国立衛研・病理

**【背景】**Ser139がリン酸化したヒストンH2AXは $\gamma$ -H2AXと呼ばれ、主にDNA二重鎖切断(DSB)により強く誘導されることからDSBマーカーとして広く用いられている。我々はラット膀胱粘膜上皮における $\gamma$ -H2AX陽性細胞の増加を指標として膀胱発がん物質を高感度かつ特異的に検出できることを見出している。一方で、肝発がん物質投与ラット肝臓では必ずしも $\gamma$ -H2AX陽性細胞の増加が見られない場合があることがわかってきた。

**【目的】**異なる遺伝毒性機序を示す肝発がん物質を反復投与したラット肝臓標本を用いて、 $\gamma$ -H2AX陽性細胞の増加を指標とした肝発がん物質検出法を検討し、その有用性と適用について検証する。

**【材料と方法】**発がん用量または最大耐量の2-Nitropropane(2-NP)、N-Bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine(DHPN)、*o*-Aminoazotoluene HCl(AAT)、*p*-Cresidine(*p*-Cre)、N-Nitrosomorpholine(NMOR)を4週間投与したF344/DuCrj雄性ラット肝臓標本を抗 $\gamma$ -H2AX抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、 $\gamma$ -H2AX陽性細胞率を計数した。

**【結果】**DHPN、染色体異常試験(CA)および肝小核試験(NM)陽性である2-NPおよびNMORでは肝臓において $\gamma$ -H2AX陽性率の有意な増加が見られた。NM、肝コメント陰性である*p*-Creでは $\gamma$ -H2AX陽性率の有意な増加は見られなかった。変異原性試験陽性、CA陰性であるAATでは $\gamma$ -H2AX陽性率の有意な減少が見られた。

**【結論】**今回評価した被験物質については、 $\gamma$ -H2AX陽性細胞の増加を指標とした肝発がん物質の検出感度は60%(3/5)であった。肝臓における $\gamma$ -H2AXの誘導は、被験物質の毒性機序と関連する可能性が示唆された。



## P-49

## 去勢抵抗性前立腺癌における androgen receptor splice variant の役割と microRNA による制御機構

○内木 綾<sup>1)</sup>、加藤 寛之<sup>1)</sup>、鈴木 周五<sup>2)</sup>、高橋 智<sup>1)</sup><sup>1)</sup>名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学、<sup>2)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

【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、前立腺癌や去勢抵抗性前立腺癌 (Castration-resistant prostate cancer; CRPC) を抑制することが明らかとなった。とくに CRPC においては、CRPC 治療薬 enzalutamide に対する治療耐性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 タンパク質発現が luteolin により著明に抑制されることにより細胞増殖抑制効果を発揮することが解明された。本研究では、22Rv1 (ヒト CRPC 細胞) を用いて、microRNA (miRNA) による AR-V7 タンパク質発現の調節機構を解析した。【方法】22Rv1 に luteolin (25 μM) を 48 時間投与し、無処置対照と比較して発現上昇する miRNA 群をマイクロアレイにより解析し、AR-V7 遺伝子に特異的な 3' 非翻訳領域に部分相同配列を有する miRNA を抽出した。22Rv1 に対して miRNA を導入し、AR-V7 発現および細胞増殖への影響を検討した。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 miRNA の影響を解析した。【結果】22Rv1 において luteolin 投与により 2 倍以上に発現上昇する miRNA を 95 個抽出した。その中で、AR-V7 遺伝子 3' 非翻訳領域に部分相同配列を有する miR-X を同定した。22Rv1 に miR-X を導入すると、AR-V7 タンパク質発現、アポトーシス誘導と細胞増殖の有意な抑制が見られた。また、その他の遺伝子発現変化として、小胞体ストレス反応関連遺伝子の変動した。22Rv1 移植腫瘍に対する enzalutamide の治療効果は、luteolin 併用投与による miR-X 誘導により、AR-V7 発現抑制を引き起こすことで有意に向上した。【結論】Luteolin は、miR-X 誘導により AR-V7 発現抑制や小胞体ストレス誘導を介して、CRPC に対する細胞増殖抑制効果や治療効果の向上作用を発揮することが明らかとなった。

## P-50

## ラット尿路上皮に対するコチニンの増殖性病変促進効果

○鈴木 周五<sup>1,2)</sup>、加藤 寛之<sup>2)</sup>、内木 綾<sup>2)</sup>、鰐淵 英機<sup>1)</sup>、高橋 智<sup>2)</sup><sup>1)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学、<sup>2)</sup>名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験病態病理学

【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。我々はニコチンが膀胱癌促進作用を有することを報告したが、その機序は解っていない部分が多い。そこで、ニコチンの主な代謝物で、尿中に排出されるコチニンに着目し、膀胱に対するコチニンの発がん促進効果について検討した。【材料と方法】6週齢雄 F344 ラットにコチニンを 0、13、40、120 ppm 濃度で、また陽性対照群としてニコチンを 40 ppm 相当濃度で、4週間飲水投与した。屠殺・剖検し、病理組織検討、免疫組織化学染色および走査電子顕微鏡による膀胱表層粘膜傷害解析を行った。【結果】コチニン投与群では体重、臓器重量、飲水量に対照群と差がみられなかった。一方、ニコチン投与群においては体重、肝重量および飲水量の低下を認めた。病理組織検討の結果、膀胱および腎盂尿路上皮の過形成病変が認められ、腎盂においてはコチニン濃度依存性に有意に増加した。膀胱および腎盂尿路上皮における Ki67 陽性率は、コチニン濃度依存性に有意に増加した。一方、TUNEL 陽性率は群間に差がみられなかった。同濃度のニコチン投与群と比較した結果、ニコチン群では膀胱尿路上皮細胞の傷害と TUNEL 陽性率を認め、単純性過形成病変の発生率および Ki67 陽性率もコチニン群よりも高値を示した。【結論】コチニンは膀胱癌促進作用を有し、ニコチンによる発がん促進作用に深く関与することが考えられた。

## P-51\*

## BBN誘発ラット膀胱発がん過程におけるHepatocyte growth factor(HGF)の関与

○山田 貴宣<sup>1,2)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、松下 幸平<sup>1)</sup>、森川 朋美<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup><sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup>東京農工大学大学院 獣医病理学研究室

【背景】我々はこれまでに、DNA損傷マーカーである $\gamma$ -H2AXやCD44等の膀胱がん幹細胞マーカー(CSMs)が膀胱発がん物質の早期検出指標として有用であること、BBN誘発ラット膀胱発がん過程において、BBN曝露後の正常様粘膜で長期間存続する $\gamma$ -H2AX及びCSMs陽性細胞が重要な役割を担う可能性を報告した。今回、正常様粘膜からの限局性増殖性病変の発生に関与する遺伝子群を探索し、 $\gamma$ -H2AX及びCSMsとの関連について検討した。【方法】6週齢の雄性F344ラットに500 ppm BBNを4週間飲水投与し、投与終了時又は2週間休薬後に膀胱粘膜を採材した。炎症・成長因子等に関連する約250遺伝子について、PCR arrayによる発現解析を実施し、Ingenuity pathway analysis (IPA)により相互関連性を探索した。また、BBN誘発ラット膀胱発がんモデルにおいて経時的に採材した膀胱サンプルを用いて、Hepatocyte growth factor (HGF)、 $\gamma$ -H2AX及びCSMsの免疫組織化学的解析を行った。【結果と考察】PCR arrayの結果、HGFを含む102遺伝子がBBN投与終了時及び休薬後に共通して有意な発現増加を示す遺伝子群として抽出された。免疫染色の結果、HGF発現は限局性増殖性病変のみならず、その周囲の正常様粘膜でも長期にわたって存続することが明らかとなった。また、正常様粘膜におけるHGF陽性細胞はしばしば $\gamma$ -H2AX及びCSMsと共発現を示した。PCR arrayで発現増加が見られた遺伝子を用いたIPAにより、HGFはCSMsの発現増加を直接的あるいはSTAT3又はMYCを介して間接的に誘導させること、発現増加が認められたSTAT3・MYC及びその下流因子(Ccnd1, Vegf, Ctnnb1等)が膀胱発がんに関与することが示唆された。以上より、BBN誘発膀胱腫瘍の発生過程には、 $\gamma$ -H2AX及びCSMsに加え、HGF発現からSTAT3及びMYCを介したpathwayが関与すると考えられた。

## P-52\*

## 急性腎障害から慢性腎臓病への進展を早期に予測する新規評価分子の探索

○松下 幸平<sup>1)</sup>、豊田 武士<sup>1)</sup>、山田 貴宣<sup>1,2)</sup>、森川 朋美<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup><sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所 病理部、<sup>2)</sup>東京農工大学 獣医病理学研究室

【背景】急性腎障害(AKI)が生じた際、尿細管の再生機構が破綻した場合には不可逆的な線維化が生じて慢性腎臓病(CKD)に進展する。本研究ではAKIからCKDへの進展を早期に予測する因子の同定を目的とし、AKI to CKDモデルラット腎臓の尿細管の形態変化を経時的に解析するとともに、再生機構の破綻した尿細管を採取して網羅的遺伝子発現解析を行い、線維化に先立って発現する因子を探索した。【方法】6週齢雄性SDラットの左腎臓を30または60分虚血し、再灌流後1、3、5、7、14及び28日目に解剖して病理学組織学的解析を実施した。60分群・28日目の線維化病変における尿細管をマイクログアイセクションにて回収し、cDNAマイクロアレイを行った。【結果】30及び60分群共に1日目に尿細管壊死がみられた。3~7日にかけて30分群では再生尿細管、60分群では拡張した尿細管が多数認められ、3日目の拡張尿細管は大型核を伴っていた。60分群では14日以降に間質の線維化が生じ、線維化病変内の尿細管は拡張または萎縮していた。また、60分群では免疫染色において3日目の拡張尿細管の大型核が細胞周期停止に関わるp21に陽性を示し、7日以降の尿細管は老化関連因子である $\beta$ -galactosidase染色に陽性を示した。マイクロアレイの結果、線維化病変内の拡張/萎縮尿細管では正常尿細管に比して836遺伝子の発現が上昇していた。約100倍の発現上昇を示したCD44について免疫染色を行った結果、3~7日目の拡張尿細管及び14日以降の線維化病変内の拡張/萎縮尿細管が陽性を示した。【考察】再生機構の破綻した尿細管は障害直後から大型核を伴って拡張し、一過性にp21を発現した後に細胞老化に至ることが示された。CD44は再生機構の破綻した尿細管に発現すると推察され、その発現は線維化に先立つことから腎線維化の予測指標として期待される。

## P-53\*

## ラットにおけるBBN誘発膀胱発がんに対するo-Acetoacetotoluidideの促進効果

○行松 直、魏 民、梯 アンナ、鈴木 周五、鰐淵 英機

大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

近年、日本の化学工場でお-toluidine (OTD) などの芳香族アミンを扱った従業員が膀胱がんを発症した。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。我々は、これまでに短期毒性試験でAAOTがラット膀胱に対して細胞増殖、DNA損傷を引き起こすことを明らかにした。AAOTのラット膀胱に対する発がん促進作用を評価するため、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) を4週間投与後、AAOTを31週間投与する2段階発がん試験を行った。AAOTのラット膀胱に対する発がんメカニズムを確かめるため、マイクロアレイ遺伝子発現解析を用いて発がん用量のAAOTを4週間投与したラット膀胱粘膜上皮における遺伝子発現差異解析を行った。2段階発がん試験では、用量依存性に雄、雌の0.5%、1.5% AAOT投与群で膀胱がんの発生率、発生数が有意に増加した。AAOTを投与されたラットの尿中OTD濃度はAAOT濃度より著明に高濃度であった。マイクロアレイ遺伝子発現解析では、雄のAAOT1.5%投与群においてJUNとその下流にある標的遺伝子の発現が亢進していた。AAOTは膀胱に対する発がん物質であり、AAOTから代謝されるOTDがAAOTの最終的な発がん物質であることがわかった。

## P-54\*

## Angiotensin IIを投与した5/6腎摘出マウスの腎臓における病理組織学的検索

○利谷 枝里子、沼田 康晴、安井 雄三、剣持 佑介、中村 明子、豊田 薫、島崎 大志、高橋 明美、宮川 義史、正田 俊之

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 横浜リサーチセンター

【背景・目的】C57BL/6マウスは、5/6腎摘出処置(5/6Nx)による慢性腎臓病誘発に抵抗性があることが知られている。一方、同マウスに対して、5/6Nx後数日以内にAngiotensin II (Ang II)を投与し、慢性腎臓病を誘発した報告もある。今回我々は、C57BL/6マウスに対し、5/6Nx後、一定の期間を無処置で飼育した後にAng IIを投与した場合、慢性腎臓病病変が誘発されるか否かについて、病理組織学的検索を行ったので報告する。【材料と方法】6-7週齢の雄性C57BL/6マウスに、5/6Nxないし腎摘出疑似処置(Sham)を行い、処置後10週間で一部の動物を解剖し、腎臓を採材した(実験1)。また、処置11週間後より、浸透圧ポンプを用いてAng II(0.75 µg/kg/min)ないし生理食塩水(Saline)を4週間持続的に皮下注入した。注入終了後に、動物を解剖し、腎臓を採材した(実験2)。【結果】実験1では、5/6Nx及びSham群のいずれも慢性腎臓病を示唆する変化は認められなかった。実験2では、5/6Nx-Ang II群において、糸球体メサンギウム基質の増加/硬化、糸球体上皮細胞の空胞化、尿管の硝子円柱、尿管上皮細胞の変性/再生、間質の炎症性細胞浸潤や線維化が軽微から中等度(軽微から軽度主体)に認められた。同様の所見は、Sham-Ang II群及び5/6Nx-Saline群にも軽微に認められた。Sham-Saline群には所見は認められなかった。【結論】C57BL/6マウスにおいて、5/6Nx 11週間後にAng IIを投与することによって、慢性腎臓病を示唆する変化が、5/6Nx単独や、Ang II単独に比してやや強く誘発された。以上より、5/6Nx後、一定の期間を無処置で飼育した後にAng IIを投与する実験条件においても、慢性腎臓病を示唆する腎病変が誘発されることが判明した。しかしながら、腎病変を顕著に増悪させる程の効果までには至らなかった。



## P-55

## 骨ミネラル代謝異常を伴った慢性腎障害ラットモデルの簡便な作製

○堀川 琢心、佐野 裕介、宇木 遥、渡邊 厚

旭化成メディカル(株) 医療製品開発本部 医療技術・材料研究所

【背景】慢性腎障害(CKD)患者では骨病変やミネラル代謝異常が出現し、死亡リスクの増大に関与していることが示されている。近年この様な病態がCKDに伴う骨ミネラル代謝異常(CKD-MBD)と提唱され、ミネラル代謝の管理も生命予後に重要であると位置づけられている。新たな治療法の開発に繋げる為に、CKDを発現した動物モデルは世界的に作製されているが、CKD-MBDを安定的に、そして簡便に作製する方法は報告されていない。そこで今回は以下の目的で実験を実施した。【目的】CKD-MBD動物モデルを安定的に作製可能な方法を確立することを目的とし、ラットを用いて検討を行った。【材料と方法】8週齢に右腎摘出手術を施したSD雄性ラット(10週齢)または正常ラットに、リン高含有飼料(2.1%、2.4%)と対照飼料(リン0.3%飼料)を8週間自由摂取させた。経時的に体重測定・採血を実施し、腎障害マーカーとリン(P)、カルシウム(Ca)の推移を観察した。さらに給与8週間後に解剖を実施し、血液検体と臓器を採取した。ミネラル調節因子(FGF-23とPTH)や各臓器障害マーカー、および病理組織学的検査にて全身の臓器の病態を評価した。【結果】片腎摘出しリン高含有飼料を給与した群(Nep-2.1%、Nep-2.4%)は給与2週目より有意に体重増加が抑制された。また、血中の腎障害マーカー(クレアチニンと尿素窒素)およびPが明らかに上昇し、一方でCaは低下を示した。血液学的検査の結果、赤血球系の明らかな低下を示した。臓器では腎臓での腫大や、副甲状腺の腫大、および大腿骨では骨芽細胞の活性化を認めた。【結論】雄性ラットに片腎摘出し8週間リン高含有飼料を与えることで、CKD-MBDモデルを安定的に作製できる事が明らかとなった。より詳細な解析を含め本学会にて報告する。対外文書管理番号2019.10-3116。

## P-56\*

## イミキモド誘発性ループス腎炎モデルの病理学的特徴

○村井 厚子<sup>1)</sup>、山崎 雅輝<sup>1)</sup>、西原 香織<sup>1)</sup>、鬼頭 亜姫<sup>2)</sup>、加藤 淳彦<sup>1)</sup><sup>1)</sup>中外製薬(株) 創薬基盤研究部 病理グループ、<sup>2)</sup>中外製薬(株) 創薬薬理研究部 フロンティア1グループ

【背景と目的】イミキモド(以下、IMQ)誘発性のSLEモデル(以下、IMQモデル)は、自然発症モデルに比較してループス腎炎様の病態が早期に発症するため、薬効評価の短縮が期待できる。一方、IMQモデルは比較的新しいモデルで、腎臓病変の詳細な報告は少ない。そこで本研究ではIMQモデルの腎臓病変を詳細に検索し、ヒトと比較した。【材料と方法】FVB/Nマウス(雌、8週齢)の耳介にIMQを週に3回塗布し、2から10週間後まで経時的に腎臓を採材した。その後、HE染色、特殊染色(PAS、PAM、マッソントリクローム)、免疫組織化学染色を実施した。【結果】IMQ塗布6週間後から尿中蛋白の上昇と血中アルブミン値の低下が認められた。病理組織学的に、IMQ塗布4週間後からメサンギウム領域の拡大と、同部位にIgGの沈着が認められた。糸球体における顕著な管内細胞増加は認められなかった。また、IMQ塗布6週間後からポドサイトの大型化や空胞化が認められ、空胞化を示す個体はポドサイトマーカーのp57陽性細胞数が減少していた。【考察】病理組織学的検査の結果から、IMQモデルの糸球体病変はヒトのループス腎炎のISN/RPS分類におけるII型に類似する可能性が示唆された。また、尿中蛋白及び血中アルブミン値の異常は、ポドサイト障害に関連する変化と考えられた。ヒトのループス腎炎におけるネフローゼ症候群は、通常III、IV型あるいはV型で認められる。一方、病変が軽度なI型やII型でもネフローゼ症候群を示す症例があり、Lupus podocytopathyと診断されている。現在、IMQモデルの詳細な検討を実施しており、当日はIMQモデルとLupus podocytopathyとの関連について述べたい。

## P-57

## C57BL/6 マウス幼若期に始まる腎盂尿管移行部の好酸球性炎症は将来、水腎症と慢性炎症性尿路上皮癌を誘発する

○尾崎 清和、松浦 哲郎

摂南大 薬学部 病理

我々は、C57BL/6(B6-H)系統に水腎症を多発するコロニーを見いだした。水腎症を発症した個体では加齢とともに腎盂尿管移行部に慢性炎症と尿路上皮過形成を伴うポリープが形成された。ポリープには、本系統の好酸性結晶肺炎で観察される好酸性結晶物を伴っていた。今回、B6-Hの腎盂尿管移行部を経時的に解析し、水腎症発症から腫瘍形成に至る病態の転帰と発生機序の解明を試みた。【方法】水腎症好発系マウスを母系統のC57BL/6を対照として、1,2,3, 5,8週齢時に剖検し、腎盂尿管移行部の尿路上皮、炎症細胞ならびにキチナーゼ様蛋白(Ym1 およびCHI311)発現の変化を経時的に解析した。さらに、60週齢B6-Hの水腎における腎盂尿管移行部の増殖性病変を解析した。【結果】B6-Hでは、肉眼的に5週齢まで腎臓は正常で、8週齢から水腎症を発症した。組織学的には、好酸球浸潤が、1週齢から尿管の粘膜下織/筋層および尿管周囲で増加し、3週齢から尿路上皮間にも認められた。5週齢以降、マクロファージ・リンパ球の浸潤は粘膜下織/筋層および尿管周囲で著しく増加し、尿路上皮も過形成を示した。Ym1は過形成を示した尿路上皮の細胞質全体で弱陽性であり、CHI311はUmbrella細胞で強陽性を示した。60週齢では、高度の水腎症となり、腎盂腔側にポリープが形成されていた。ポリープには好酸球を主体とする炎症細胞が浸潤するとともに、尿路上皮は増殖し、90%の個体で腺腫や癌を形成していた。マクロファージおよび尿路上皮にはYM1およびCHI311陽性の好酸性結晶物を多数認めた。【結論】B6-H系マウスでは、幼若期の好酸球浸潤から始まる炎症ならびにキチナーゼ様蛋白の発現が尿路上皮過形成を誘発して水腎症を発症させるとともに、炎症の慢性化は、尿路上皮を増殖し、癌にまで進行させることが明らかとなった。

## P-58\*

## SDT fatty ラットの死亡動物における腎臓および心臓の病理組織学的変化

○山口 彩音<sup>1)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2,3)</sup>、橋本 杏奈<sup>3)</sup>、煙山 紀子<sup>3)</sup>、篠原 雅巳<sup>4)</sup>、太田 毅<sup>5)</sup>、中江 大<sup>1,2,3)</sup><sup>1)</sup> 東京農業大学大学院 農学研究科 食品安全評価学研究室、<sup>2)</sup> 東京農業大学大学院 農学研究科 食品栄養学専攻、<sup>3)</sup> 東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科、<sup>4)</sup> 日本クレア株式会社 東京AD部、<sup>5)</sup> 京都大学大学院 農学研究科 応用生物科学専攻 生体機構学分野

【目的】腎臓と心臓は体液調節において密接な関係にあり、一方の臓器に障害が起こると、他方の臓器にも機能低下が及ぶことが知られており、近年、心腎連関としても注目されている。本研究では、肥満を伴うⅡ型糖尿病モデルであるSDT fatty ラットを用いて、長期飼育における死亡動物の腎臓ならびに心臓について病理組織学的に解析した。

【材料及び方法】本実験では、長期飼育期間中の32から87週齢で死亡した雄性SDT fatty ラット34匹、41から87週齢で死亡した雌性SDT fatty ラット22匹の計56匹について腎臓及び心臓の病理組織学的解析を実施し、両臓器間の関連性について検討した。

【結果及び考察】腎臓では、糸球体の大型化・メサンギウム増生・線維化、尿細管の尿円柱形成・拡張・変性、尿細管間質における炎症性細胞浸潤及び線維化が、雌雄共に全例において、種々の程度に観察された。これらの変化は、死亡時週齢の経過に伴い、その程度が増し、雄でより早期から顕著な変化を示す個体が見られた。心臓では、心筋の炎症・石灰沈着及び線維化が、雌雄共に数例に認められ、死亡時週齢の経過に伴い、その程度が増す傾向を示した。しかし、心臓の変化には明らかな雌雄差は見られなかった。両臓器の関連においては、雌雄共に心臓に顕著な変化を有する個体で、腎臓にも重度な変化が観察される傾向が見られた。さらに、臓器間の関連性について詳細な検討を進めている。

## P-59

腎発がん物質早期検出指標としての $\gamma$ -H2AXの応用可能性：至適評価時点の検討

○豊田 武士<sup>1)</sup>、山田 貴宣<sup>1,2)</sup>、松下 幸平<sup>1)</sup>、赤木 純一<sup>1)</sup>、Young-Man Cho<sup>1)</sup>、森川 朋美<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>1)</sup>

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

【背景と目的】長期発がん性試験の代替法が求められる中で、我々はDNA損傷マーカーである $\gamma$ -H2AXを指標とした発がん物質の早期検出法開発を目指している。本研究では、腎発がん性検出指標としての $\gamma$ -H2AXの有用性を評価するため、複数の腎発がん物質をラットに短期間経口投与する動物実験を実施し、腎臓における至適評価時点を検討した。

【方法】6週齢の雄F344ラットに、0.06% tris(2,3-dibromopropyl) phosphate (TBPP)、0.0125% *N*-nitrosomorpholine (NMOR)、0.06% potassium bromate (KBrO<sub>3</sub>)、2% trisodium nitrotriacetic acid monohydrate (NTA)、1200 mg/kg *d*-limonene (LIM) および90 mg/kg benzo[*a*]pyrene (BAP)を14日間混餌(TBPP, NTA)、飲水(NMOR, KBrO<sub>3</sub>)または強制経口(LIM, BAP)投与した。投与開始後1日、2日、7日および14日後に解剖し、腎尿管上皮細胞における $\gamma$ -H2AX形成を免疫組織化学的に解析した。

【結果と考察】TBPP投与群では投与2日以降、髄質外帯外層における $\gamma$ -H2AX陽性細胞数(14日時点:1000個あたり $57 \pm 13$ 個)が対照群( $1.3 \pm 2.1$ )と比較し有意に増加した。NMOR・KBrO<sub>3</sub>・LIM・BAP投与群では、皮質における $\gamma$ -H2AX陽性細胞数が投与14日目にそれぞれ $19 \pm 5.2$ 、 $26 \pm 12$ 、 $18 \pm 9.4$ および $14 \pm 8.7$ と有意に増加した。NTA投与群では、腎盂尿路上皮に多数の $\gamma$ -H2AX陽性細胞が認められた。各群での $\gamma$ -H2AX形成は、腎臓における発がん標的部位と概ね一致していた。以上の結果から、 $\gamma$ -H2AXは腎臓に対する発がん性の早期検出指標として有用であることが示唆された。いずれの群においても、 $\gamma$ -H2AX陽性細胞数は投与期間に応じて概ね増加する傾向が認められたことおよびこれまでの検討から、評価時点としては化学物質の反復投与毒性試験として汎用される28日間を用いることが適切と考えられた。

## P-60\*

複数の組織に異なる腫瘍及び非腫瘍性増殖性病変を認めたRccHan<sup>TM</sup>:WISTラットの1例

○早川 知里、木村 真之、黒田 雄介、林 清吾、竹内 和也、古川 賢

日産化学(株) 生物科学研究所

【背景】若齢ラットにおいて自然発生的に多数の増殖性病変を同一個体に認めることは非常に稀である。今回、1週間反復毒性試験(低用量群)に供試した7週齢雌性RccHan<sup>TM</sup>:WISTラットにおいて、複数の組織に異なる増殖性病変を認めたので報告する。【材料と方法】剖検時、腎臓では両側に乳白色斑が多発性に認められ、一部は結節を形成していた。更に大腿部皮下腫瘍(2カ所)、腹部皮下腫瘍(1カ所)及び肝臓に結節(1カ所)が認められた。これらの病変部位と中枢神経系について、常法に従い病理組織標本作製した。【結果及び考察】病理検査において、腎臓では、髄質外帯～皮質に紡錘形細胞が正常な尿細管間を浸潤性に増殖しているのが特徴であった。その他、線維芽細胞様細胞、粘液腫様細胞及び血管内皮様細胞等の多様な細胞成分や既存尿細管とは異なる上皮様腺管構造が混在していたことから、腎間葉系腫瘍と診断した。大腿部皮下腫瘍は、1つは線維性被膜で被包化され乳腺上皮細胞及び成熟脂肪細胞の2成分の増殖が特徴であったことから、乳腺の良性混合腫瘍(adenolipoma type)と診断し、他の大腿部皮下腫瘍及び腹部皮下腫瘍は、成熟脂肪細胞のみが増殖していたことから脂肪腫と診断した。肝臓の結節は、周囲境界部に軽微な圧排像が認められ、やや肥大した肝細胞が増殖しているものの変性を伴わず小葉構造は保たれていたことから、非再生性肝細胞過形成と診断した。その他、馬尾では一部の神経束が腫大し、肥大したシュワン細胞が軸索を取り囲むように増殖していたことから、髄内神経腫と診断した。本症例は7週齢と若齢であったことから、これらの病変の発生は、何らかの先天的な遺伝子異常に起因した可能性が考えられたものの、詳細は明らかにできなかった。



## P-61

## ウリプリスタル酢酸エステルの雌性ラット生殖器に対する影響

○福井 元子<sup>1)</sup>、大亀 吏江子<sup>2)</sup>、福井 規雄<sup>2)</sup>、柴田 誠司<sup>2)</sup>、磯部 充威<sup>2)</sup>、久田 茂<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> あすか製薬(株) 開発本部、<sup>2)</sup> あすか製薬(株) 創薬研究本部

**【目的】**ウリプリスタル酢酸エステル(UPA)は選択的プロゲステロン受容体調節剤であり、プロゲステロン受容体に対しアゴニスト・アンタゴニストの両者の作用を有し、海外では緊急避妊薬及び子宮筋腫治療薬として使用されている。我々はUPAによるラット雌性生殖器への影響を検討した。**【方法】**8週齢の雌性Wistar-ImamichiラットにUPAを1及び10 mg/kg/dayの用量で3ヵ月間反復経口投与し、性周期の評価、血漿中及び卵巣中のホルモン濃度の測定、並びに生殖器の病理学的検査を実施した。**【結果及び考察】**性周期は、発情期を示す個体の割合が用量依存的に増加した。1 mg/kg群で血漿中黄体形成ホルモン濃度の高値が、1及び10 mg/kg群で血漿中及び卵巣中エストラジオール(E2)濃度の高値傾向が、10 mg/kg群で卵巣中テストステロン(T)濃度の高値傾向がみられたが、E2及びT濃度の変化は概ね正常の性周期の範囲内であった。血漿中プロゲステロン及び黄体数は、10 mg/kg群で低下したが、排卵阻害に起因した変化と考えられた。子宮内膜の病理組織学的検査では、UPAにより被覆上皮細胞丈が伸長し、子宮腺上皮細胞の増殖活性も増加したが、正常性周期の範囲内であった。また、UPAは各発育段階の卵胞数に影響しなかった。**【結論】**雌性ラットにUPAを反復経口投与した結果、排卵抑制に伴うプロゲステロンの低下や黄体数の減少、発情期の増加、並びに子宮内膜における上皮丈の伸長や増殖活性の増加などがみられた。これらは、UPAのプロゲステロン受容体アンタゴニスト作用に基づく変化であると考えられた。

## P-62

## 遺伝子改変マウス(Tg rasH2)を用いた26週間がん原性試験でみられた精巣上体原発の扁平上皮癌

○池田 学、藤原 利久、藤島 純子、小林 欣滋

(株)新日本科学 安全性研究所 病理研究部

**【背景と目的】**Tg rasH2マウスを用いた26週間がん原性試験の背景データ収集において、精巣上体が原発と考えられる上皮性悪性腫瘍に遭遇した。マウスでは精巣上体に上皮性腫瘍の発生は非常に稀であり、病理組織学的に精査することで、その特徴を明らかにし、病理発生メカニズムについて考察した。**【材料と方法】**当該動物(Jic:CB6F1-TgrasH2@Jcl, 雄, 29週齢)は陽性対照群(N-methyl-N-nitrosourea投与)に生じた瀕死解剖例である。剖検では、左側精巣上体頭部に約12×15×7 mmの白色腫瘍がみられ、周囲組織との癒着はなかった。腫瘍および全身諸臓器は常法に従ってホルマリン固定・HE染色を施し、腫瘍については特殊染色および免疫組織学的染色を実施した。**【結果】**腫瘍は結節状を呈し、腫瘍内部では類円形～紡錘形と多型を示す上皮様細胞が多胞巣状または索状に増殖、正常の精巣上体管も散在していた。腫瘍細胞の多くは敷石状配列を示し、明瞭な細胞間橋を形成、一部の腫瘍細胞では角化が認められた。PAM染色では好銀線維が腫瘍胞巣や個々の腫瘍細胞を囲んでいた。腫瘍細胞は結節外への浸潤性増殖を示し、腸間膜リンパ節、鼠経リンパ節および膈リンパ節には転移病巣を認めた(免疫組織化学的性状は検討中)。その他諸臓器の検索では、前胃粘膜と陰囊表皮に扁平上皮乳頭腫が、肝臓、脾臓、腎臓および全身リンパ節には、胸腺リンパ腫の腫瘍細胞浸潤を認めた。**【結論】**以上の結果から、本精巣上体腫瘍を扁平上皮癌(SCC)と診断した。既存の構成組織を置換し周囲組織へ浸潤性に増殖する形態は、SCCの特徴とよく一致した。発生母地は上皮細胞である精巣上体管上皮を疑い免疫組織学的染色を実施中であり、その結果も交えて報告する。

## P-63

## 子宮体がんPDXの継代数増加による形質変化

○今井 俊夫<sup>1)</sup>、町田 雪乃<sup>1)</sup>、ピンピン テー アンジェリン<sup>1)</sup>、吉田 裕<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 国立がん研究センター 研究所 動物実験施設、<sup>2)</sup> 国立がん研究センター 中央病院 病理診断科

**【背景】**子宮体がんは近年罹患・死亡数が増加し、特に肥満と罹患率との関連性が高いことが知られている。当センターでは種々のがん種の患者由来異種移植(PDX)モデルを樹立し、新規抗がん剤の開発に資するバイオリソースとして構築しつつある。その使用に際しては、患者を遺伝子変異情報などで層別化した上で薬剤の奏効性との関連性を解析する必要がある。一方、PDXはその継代により元組織の形質が変化する可能性も指摘され、薬効評価モデルとしての精度管理のための基礎データの蓄積が必要である。**【目的】**子宮体がんPDXを継代した際の形質変化の有無を確認する目的で、移植後8回継代を行い、主に病理組織学的に検索を行った。**【材料と方法】**国立がん研究センター・中央病院・病理診断科から12症例の子宮体がんの手術検体(残余検体)の供与を受け、NOGマウスまたはNSGマウスの背部皮下に移植し、生着したものは長径が10 mmを超える時期を基準として別のマウスに継代した。継代時には凍結保存用の組織片とは別に10%中性ホルマリン液で固定し、常法に従いパラフィン包埋切片とH&E標本を作製した。**【結果】**12例中6例のPDXが樹立できた。各症例の病理組織学的な特徴は概ね8回継代後まで維持されていた。一方、6例中1例については肉腫成分が主体のPDX組織については継代が継続できたが、がん種成分が主体の組織については継代とともに上皮細胞が減少し、5回継代後に生着しなくなった。また、当該例と別の1例においては、8回継代後あるいは凍結・融解後の再移植により組織中に多核巨細胞が散見された。**【まとめ】**子宮体がんPDXについては、継代または凍結・融解により一部の症例において形質が変化する可能性が示唆された。

## P-64\*

## Crlj:CD-1 (ICR)マウスの卵巣における性索間質腫瘍の発現状況とその特徴

○青木 萌子、鈴木 勇、中澤 朋美、伊倉 佐織、枝元 洋、池崎 信一郎、山口 裕子

(株)ボゾリサーチセンター 病理部

**【目的】**卵巣腫瘍、さらに性索間質腫瘍の発現状況は動物種及び系統によって異なる。また、性索間質腫瘍の免疫染色による鑑別は困難な場合がある。本研究ではマウス及びラットの卵巣腫瘍の発現状況を調査すると共に、ICRマウスの性索間質腫瘍が形態的特徴のみで鑑別が可能か検討した。

**【材料及び方法】**長期試験に用いた日本チャールスリバー社のマウス(ICR、B6C3F1)及びラット[CD(SD)、F344/Du]における卵巣腫瘍及び性索間質腫瘍の発現状況を調査した。また、HE染色標本を用いてICRマウスの性索間質腫瘍の詳細な検討を実施した。

**【結果】**卵巣腫瘍の発現頻度は、ICRマウスが6.0%(58/960)、B6C3F1マウスが3.0%(30/995)、SDラットが1.2%(21/1795)、F344ラットが1.3%(7/435)であった。

ICRマウスでは卵巣腫瘍の53.4%が性索間質腫瘍であり、黄体腫が22.4%と最も高かった。ICRマウスにおける性索間質腫瘍の形態的特徴：(1)顆粒膜細胞腫は、乏しい胞体と類円形核を有する細胞の管状・胞巣状増殖巣で構成。黄体化細胞は1/9例でのみみられた。(2)黄体腫は、好酸性顆粒または微細空胞を有する細胞が混在し敷石状に増殖。(3)セルトリ細胞腫は、精細管様構造が腫瘍内に複数観察。(4)莢膜細胞腫は、紡錘形の細胞が錯綜あるいは渦巻状に密に増殖。(5)混合型性索間質腫瘍は、1/4例が顆粒膜細胞腫とセルトリ細胞腫の混合で、3/4例は明確な腫瘍構成細胞の分類が困難であった。

**【まとめ】**卵巣腫瘍の発現頻度は、ラットに比べマウスで高く、特にICRマウスで高かった。ICRマウスの性索間質腫瘍は、混合型性索間質腫瘍を除き殆どが単一の細胞で構成され、上記特徴から形態的に鑑別が可能と考えられた。

## P-65

マウス乳癌転移モデルにおけるリンパ節での転移前および転移後ニッチの *Vegfs* を標的とする microRNA 網羅的解析

○柴田 雅朗<sup>1)</sup>、谷口 高平<sup>2,3)</sup>、奥崎 大介<sup>4)</sup>、伊藤 裕子<sup>3)</sup>、白岡 千夏<sup>1)</sup>、生出 林太郎<sup>3)</sup>、近藤 洋一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>大阪医大・医・生命科学講座解剖学、<sup>2)</sup>大阪医大・医・一般消化器外科、

<sup>3)</sup>大阪医大・医・研究支援セ・トランスレーショナルリサーチ部門、<sup>4)</sup>大阪大・微研・遺伝子情報セ・ゲノム解析

【目的】癌転移の成立には、転移に先立って、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、転移前および転移後ニッチにおけるリンパ節と血中の循環型エクソソーム microRNA (miRNA) 発現を網羅的に解析した。【方法】マウス乳癌細胞株BJMC3879Luc2をBALB/cマウス雌に移植し、移植後4および7週に全採血により安楽死させ剖検した。また無処置対照群の動物も同様に処置した。血中エクソソームおよびリンパ節組織からRNAを抽出し、miRNAの網羅的解析ないしはReal-time PCR解析を行い、免疫組織染色並びに電顕的観察を行った。【結果】病理組織学的解析では、鼠径部非センチネルリンパ節についてLYVE-1の免疫組織染色を行った結果、転移前群ではリンパ洞の増生を示し、*Lyve1*、*Prox1*、*Vegfc*および*Vegfa*の著しい上昇が示されたが、微小転移を認めたリンパ節ではむしろそれらは低下を示した。電顕では転移前のリンパ節辺縁洞内にエクソソームが頻繁に観察されたが、無処置対照群のリンパ節では認められなかった。miRNAの網羅的解析においては、転移後では、転移前と比較して、血中エクソソームおよびリンパ節ともに、*Vegfs*を標的とするmiRNAが著しい上昇を示した。【考察】癌細胞が分泌するエクソソームmiRNAのうち、*Vegfs*を標的とするmiRNAが転移前から転移後におけるリンパ節の微小環境の形成に一役を担っている可能性が示唆された。

## P-66

成長遅延症(*grt*)マウス甲状腺の組織学的特徴

○小林 健一、久保田 久代、大谷 勝己

独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所

【背景】成長遅延症(*grt*)マウスは、授乳期から一過性の成長抑制を示すものの、その回復を特徴とする。これまで甲状腺刺激ホルモン(TSH)に対する不応答性、TSH受容体遺伝子の発現の低下、早期の甲状腺ホルモン補充による成長改善等を確認し、本マウスが原発性甲状腺機能低下症であることを明らかにしてきた。今回我々は、本マウス甲状腺の組織学的検討を試みた。

【材料と方法】DW/J系統の正常(*grt*)および変異(*grt*)マウス(3カ月齢)の雌雄個体を使用した。採血後に気管についたままの甲状腺を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、甲状腺を気管からはずし秤量した。パラフィン標本を作製の後、HEおよびPAS染色し、光学顕微鏡観察を行った。また、画像解析により濾胞腔の面積を算出した。血中チロキシン( $T_4$ )およびトリヨードチロニン( $T_3$ )濃度は、酵素免疫測定法を用いて測定した。

【結果と考察】*grt*マウスの体重は正常マウスと比べて低かった。また、*grt*マウスの甲状腺は正常マウスと比べて小型であり、軽量であった。光学顕微鏡観察では、正常マウスはよく発達した濾胞上皮細胞とその濾胞腔には十分なPAS染色陽性コロイドが認められた。一方、*grt*マウスでは濾胞上皮細胞は小型で、著しく狭小な濾胞腔内にPAS染色陽性コロイドが見られた。*grt*マウスの血中 $T_4$ 濃度は1/4~1/5程度、 $T_3$ 濃度は1/2~1/3程度と、正常マウスと比べて低値を示した。以上の所見から*grt*マウス甲状腺では、濾胞上皮細胞の発達が悪く、濾胞腔へのコロイドの蓄積は低下しており、濾胞の形態および機能の異常が示唆された。現在、透過型電子顕微鏡観察を行っており、得られた結果についてもあわせて考察する。



## P-67\*

## F344 ラットにおける脈管侵襲を伴う睪島細胞癌

○藤原 史織、斎藤 翼、高木 みづほ、橋口 収、神谷 有美子、柿本 恒知、星谷 達、山口 裕子

株式会社ボゾリサーチセンター 病理部

**【背景】**ラットにおける睪島細胞癌は限局性の浸潤や転移を示すといわれているが、その殆どは被膜形成とその破壊による偽浸潤である。今回、我々は脈管壁内及び内腔へ侵襲した症例に遭遇したので報告する。

**【症例】**本症例は背景データ収集用長期試験に供されたF344雄ラット(110週齢)の計画剖検例で、該当腫瘍は睪臓に単発性の結節性病変(3×2×2mm)としてみられた。その他の腫瘍性病変として副腎褐色細胞腫、肝細胞腺腫、精巣ライディッヒ細胞腫、陰嚢内中皮腫、前立腺腺腫がみられた。

**【結果】**組織学的に腫瘍は線維性被膜を形成し、血液を豊富に含む境界明瞭な腫瘍性病変であり、好酸性豊富な細胞質を有する細胞が細線維、毛細血管に区画され、胞巣状に増殖していた。また、腫瘍は大型の管状構造を取り囲み、その壁内及び内腔にも同様の細胞がみられた。これら細胞は抗Insulin抗体に陽性を示したことから、睪島細胞癌と診断した。一方、侵襲を受けた管状構造壁は平滑筋様細胞と好酸性均質な基質から構成されていた。しかし、内腔を内貼りする細胞が剥離している事に加え、上記のHE染色での管状構造壁の組織構築のみでは睪管と脈管との鑑別が困難であった。抗 $\alpha$ SMA抗体を用いた免疫染色の結果、管状構造壁を構成する過半数の細胞は陽性を示し、その細胞間を縫うようにマッソントリクローム染色陽性の膠原線維が豊富に認められた。この構築は既存の動静脈と類似しており、組織破壊により明確な弾性板は認められなかったものの、血管壁及び血管内への侵襲を伴う睪島細胞癌であると考えられた。

**【結論】**本症例は、血管壁、血管内侵襲を伴うという点で、非常に珍しいラットの睪島細胞癌であり、がん原性試験におけるF344ラットの背景病変として有用な知見となり得る。

## P-68\*

## ラット変形性膝関節症モデルの膝関節における病理変化の比較

○木嶋 恵、南澤 由佳、佐々木 大和、高田 秀平、山口 宏明、二井 愛介

生化学工業(株)

**【背景及び目的】**変形性膝関節症(OA)は関節軟骨の変性及び破壊、並びに骨の増殖性変化、二次的な滑膜炎を伴う疾患である。OAの病態検討及びOAに対する化合物の薬効評価を目的に、複数の動物モデルが確立されている。モデル動物において、標的部位である膝関節の組織学的特徴を把握することは、化合物の作用機序を考察する上で重要である。当検討ではラットを用い、薬物誘発性OAモデルの代表例であるモノヨード酢酸(MIA)投与モデル及び外科手術誘発性OAモデルの代表例である内側半月板切除(MMx)モデルの膝関節における経時的変化を、病理組織学的に比較した。

**【材料及び方法】**MIA投与モデル5週齢の雄性SDラットの片膝関節に1mgのMIAを単回投与し、投与後2、7、14及び21日の脛骨及び滑膜を病理組織学的に評価した。MMxモデル7週齢の雄性LEW/Crljラットの片膝関節内側半月板を外科的に切除し、処置後3、7、10及び15日の脛骨を病理組織学的に評価した。

**【結果及び考察】**いずれのモデルも関節軟骨の変性及び粗造化がみられ、時間経過と共に悪化した。MMxモデルの関節軟骨への影響は、MIA投与モデルより限局的であった。いずれのモデルも再生性変化である軟骨細胞のクラスター形成が、MIA投与モデルはパルス様組織がみられたが、関節軟骨構造は再生しなかった。MMxモデルは軟骨下骨を含む骨端の海綿骨の限局的な肥厚が、MIA投与モデルは同部位のリモデリングの亢進がみられ、骨端の骨への影響はMIA投与モデルの方が重度かつ広範囲であった。また、いずれのモデルも骨端部には骨の変化に伴う間葉系組織の増加がみられ、骨端の正常構造を示さなかった。発表では、前十字靭帯切除モデルも加えた3つのOAモデルを比較する。

## P-69

## 脊椎の湾曲がみられたカニクイザルの一例

○赤根 弘敏、江田 景、奥田 須美子、杉山 賢、市川 敦子、秋江 靖樹

シミックファーマサイエンス株式会社

【目的】胸部から腰部にかけて脊椎の重度の湾曲を生じたカニクイザルを経験したので、病理組織学的検索を行い報告する。  
【材料及び方法】本症例は8歳齢頃から進行性の脊椎の湾曲がみられた雄のカニクイザルで、11歳6ヶ月齢時に剖検した。胸椎及び腰椎をホルマリン固定後、X線撮影による検査及びHE染色を施して病理組織学的検査を実施した。【結果及び考察】肉眼的に、第7胸椎から第7腰椎にかけて、前後あるいは側方への著しい湾曲がみられた。また、第7から9胸椎と右側肋骨の接合部には約5mmの結節がみられた。X線検査では、第7から9胸椎の椎間板の狭窄が確認された。病理組織学的には、第7及び8胸椎間の椎間板の菲薄、髄核の消失及び線維輪の変性が認められ、その一部には、放射状肋骨頭靭帯の変性及び菲薄、髄核組織の線維輪からの脱出が認められた。また第7から9胸椎と肋骨の接合部の結節では、肋椎関節における関節軟骨の変性及び骨増生がみられた。これらのことから椎間板ヘルニアによる脊椎の湾曲が生じたものと考えられた。その他の湾曲部位も含めて精査し報告する。

## P-70

## 3Dヒト皮膚再構成系を用いた金属ナノマテリアルの経皮膚毒性評価

○小川 秀治<sup>1)</sup>、煙山 紀子<sup>2)</sup>、大西 未悠<sup>2)</sup>、橋口 ゆり<sup>2)</sup>、浦崎 涼子<sup>2)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2)</sup>、中江 大<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>東京農大・院・食品栄養、<sup>2)</sup>東京農大・食品安全健康

【目的】ナノマテリアルの経皮一般毒性・遺伝毒性の新しい*in vitro*スクリーニング評価モデルを開発するため、各種金属ナノマテリアルについて、3Dヒト皮膚再構成系を用いて表皮の細胞傷害性及び透過性を評価した。また、ケラチノサイト単層培養系を用いて細胞傷害性を検討し、3Dヒト皮膚再構成系における表皮傷害性の結果と比較した。さらに、3Dヒト皮膚再構成系を用いる遺伝毒性評価について、実施可能性を検討した。【方法】金属ナノマテリアルには金ナノ粒子・銀ナノ粒子・酸化鉄ナノ粒子(表面カルボン酸修飾及び非修飾マグネタイト)を、陽性対照物質には農薬であるホルベットを、それぞれ用いた。ヒト皮膚再構成系を用いた表皮の細胞傷害性及び透過性評価にはLabCyte EPI-MODEL(株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング)を用いた。単層培養系については、細胞傷害性評価には正常ヒト表皮角化細胞(NHEK)又はヒト肝癌由来細胞(HepG2)を、遺伝毒性評価にはNHEK又はチャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞(CHL/IU)を、それぞれ用いた。【結果】3Dヒト皮膚再構成系において、ホルベットが明らかな表皮傷害性を示したのに対し、いずれの金属ナノマテリアルも傷害を引き起こさなかった。しかし、金ナノ粒子・銀ナノ粒子・表面修飾マグネタイトは、表皮透過性を示した。表面非修飾マグネタイトは、表皮を透過しなかった。NHEK単層培養系においては表面修飾及び非修飾マグネタイトが細胞毒性を示し、その毒性は表面非修飾マグネタイトの方が強かった。遺伝毒性評価については、3Dヒト皮膚再構成系において小核試験を試みたが、評価可能な細胞数が得られなかった。【結論】3Dヒト皮膚再構成系は、*in vitro*経皮一般毒性評価系として有用である可能性が示された。一方、3Dヒト皮膚再構成系を用いた遺伝毒性評価については、細胞の増殖性の観点から更なる検討が必要であると考えられた。

## P-71\*

## 3Dヒト皮膚再構成系によるfolpetの経皮毒性評価法の検討

○政所 陽菜<sup>1)</sup>、煙山 紀子<sup>2)</sup>、小川 絢子<sup>2)</sup>、小川 秀治<sup>3)</sup>、阿部 有加里<sup>1)</sup>、高 臨風<sup>1)</sup>、山口 彩音<sup>1)</sup>、宇野 絹子<sup>1,3)</sup>、龍 次次朗<sup>1)</sup>、美谷島 克宏<sup>1,2)</sup>、中江 大<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科 食品安全健康学専攻、<sup>2)</sup>東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科、

<sup>3)</sup>東京農業大学大学院 農学研究科 食品栄養学専攻

【目的】本研究は、3Dヒト皮膚再構築系を利用して、経皮毒性の新しい *in vitro* スクリーニング評価モデルを開発することを目的とした。

【材料・方法】LabCyte EPIモデル(株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング)を用いた3Dヒト皮膚再構築系と、正常ヒトケラチノサイト(NHEK)およびヒト肝細胞癌由来のHepG2細胞を用いた単層培養系において、農薬であるfolpetの細胞生存試験と形態学的解析についての評価を行った。

【結果】3Dヒト皮膚再構築系において、folpetは、角質層成熟再構成系(13日培養品で、2,000 µg/mLで表皮傷害性を示した。一方、角質非成熟再構成系(6日培養品)では1,000 µg/mLから毒性がみられた。また、単層培養系においては、NHEKにおいて30 µg/mL、HepG2において60 µg/mLから強い細胞毒性を示した。病理組織学的解析では、角質層成熟再構成系において、2,000 µg/mL群のみで基底層細胞の配列の乱れと、有棘層・基底層細胞の肥大を観察した。

【考察】表皮の重層構造はfolpetのような化学物質の皮膚毒性に対する防御効果があり、成熟した角質層は当該防御効果を増強するものと判明した。したがって、皮膚一般毒性を *in vitro* で評価する目的に対して、単層培養系のみでは不十分であり、3Dヒト皮膚再構築系を用いることが有用である可能性が示された。

## P-72\*

## カニクイザル頭頸部及び胸部上皮系組織におけるサイトケラチン発現に関する免疫組織化学的検討

○吉田 翔太、田中 英樹、杉山 淳一、松原 健嗣、二宮 美美子、山本 宏美、鈴木 智、別枝 和彦

大鵬薬品工業株式会社 研究本部

【背景・目的】カニクイザルは医薬品の非臨床試験に汎用されているが、その組織学的特徴について体系的に検討した報告は少ない。生体内の多くの器官に存在する上皮系組織は種々の上皮細胞によって構成され、上皮細胞の細胞骨格を成す中間径フィラメントとしてサイトケラチン(CK)が存在し、このタンパク質には約20種類のサブタイプが知られている。各組織のCKサブタイプ発現の特徴を知ることは、上皮系組織における毒性学的変化や腫瘍性病変を理解する上で有意義な情報となる。今回、カニクイザルの頭頸部及び胸部器官におけるCKサブタイプ発現について免疫組織化学(IHC)的検討を実施した。

【材料及び方法】カニクイザルの雄4例、雌1例から採取した鼻腔粘膜、頸部背側皮膚、舌、顎下腺、耳下腺、気管、食道及び肺を10%中性緩衝ホルマリン液にて固定後、常法に従ってパラフィン包埋切片を作製し、IHC染色を施した。一次抗体には抗CK AE1/AE3、CK4、CK5/6、CK7、CK8、CK13、CK14、CK18及びCK19抗体を用いた。

【結果】カニクイザル組織におけるCKサブタイプのIHC陽性像は、概ねヒト組織で一般的に知られているものと合致していたが、CK5/6、CK7、CK8、CK18等の発現では一部差異が認められた。また、形態的には扁平上皮に類似する鼻腔粘膜の扁平上皮-呼吸上皮移行部の染色性はCK8/18のIHCでは、むしろ呼吸上皮に類似した結果を示した点や、舌において味蕾のみがCK18陽性を示した点等、興味深い結果が得られた。これらの詳細に加えて、現在検討中のCK 10、p63及びp40発現についても当日併せて報告する。今後も継続して、一般毒性試験の観察対象となる全身器官における検討も進める予定である。



## P-73\*

## SDラットにおけるCol17a1の一塩基重複による接合部型表皮水疱症(JEB)

○加藤 由隆、西岡 康、佐藤 旭、遠藤 直子、伊藤 強、小山 彩、高橋 尚史、志賀 敦史、青山 博昭、原田 孝則

(一財) 残留農薬研究所

【背景】XVII型コラーゲンは表皮基底膜を構成するタンパク質の1つであり、毛包および表皮幹細胞の維持に重要な役割を果たすことが知られている。今回本タンパクをコードする*Coll17a1*の変異によるJEB個体に遭遇したため、皮膚を含む全身臓器を病理組織学的に検索すると共に遺伝学的解析を実施した。【材料・方法】SDラットを用いた繁殖毒性試験において皮膚異常(皰, 水疱, びらん)を示す個体が1腹に複数例性差無く出現した。交配実験によって本異常は常染色体劣性の遺伝形質であることが確認されたため、ヘテロ同士の交配によって皮膚異常を示す個体を複数例作出した。それら皮膚異常個体(生後1日齢)および同日齢のWKY個体から採取した組織を光学および電子顕微鏡下で観察すると共に、mRNAを抽出してRNA-seq解析を実施した。さらに、コロニー中に潜在するヘテロキャリアの頻度も調査した。【結果・考察】肉眼的に皮膚異常を示す部位では、組織学的に表皮-真皮境界部に水疱が形成されていた。水疱は体表以外に舌および口蓋においてもみられた。超微形態学的には、hemidesmosomeのinner plaqueが消失し、その数も対照群と比較して顕著に減少していた。RNA-seq解析では*Coll17a1*の発現量の大幅な減少がみられると共に、本遺伝子のエクソン内に一塩基重複が検出された。抗Collagen XVII抗体を用いた免疫染色では、対照群では主に体表、舌、口蓋、食道および前胃の基底層細胞において陽性を示したのに対し、皮膚異常個体では全ての部位で陰性を示した。以上の結果から本皮膚異常は*Coll17a1*の一塩基重複によるJEBであると診断された。また、集団中のヘテロキャリアの頻度は約5%であった。計算上は400交配当たり1腹に本異常が出現する可能性があるため、本システムを用いて毒性試験を行う際にはこの点に留意する必要がある。

## P-74\*

## トリフルオロエタノール及びその代謝物を暴露させたメダカの精巣病変

○黒田 雄介、木村 真之、早川 知里、林 清吾、竹内 和也、古川 賢

日産化学(株)

【背景・目的】トリフルオロエタノール(TFE)及びその代謝産物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。一方でトリフルオロ酢酸(TFAA)に精巣毒性の報告はない。今回、メダカにTFE、TFALD及びTFAAを暴露させ、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】成熟雄メダカ(3~6か月齢)を一定量の被験物質を添加した2Lの試験液に止水式で飼育した。曝露期間は8日間とし、試験液は2日に1回交換した。群構成は5~6匹/群で対照群及び曝露群を設定した(TFEは62.5~500 mg/L、TFALDは15.625~250 mg/L、TFAAは15.625~125 mg/Lの曝露濃度の範囲、公比2で4又は5用量を設定)。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】死亡又は状態悪化による途中殺がTFE曝露群では125 mg/L群の1匹及び250 mg/L以上の群の全匹、TFALD曝露群では125 mg/L以上の群の全匹、TFAA群では62.5 mg/L以上の群の全匹で確認された。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。一方、TFAA曝露群(15.625及び31.25 mg/L)では精巣に異常は認められなかった。【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。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。一方でTFAAでは精巣毒性は認められなかったことから、魚類においても最終代謝産物に精巣影響はないと推察された。

## P-75\*

## MWCNT 誘発性のラット腹膜中皮腫発症過程における炎症および免疫関連因子に着目した病理組織学的解析

○北條 幹<sup>1)</sup>、坂本 義光<sup>1)</sup>、山本 行男<sup>1)</sup>、前野 愛<sup>1)</sup>、多田 幸恵<sup>1)</sup>、長谷川 悠子<sup>1)</sup>、湯澤 勝廣<sup>1)</sup>、長澤 明道<sup>1)</sup>、田中 和良<sup>1)</sup>、矢野 範男<sup>1)</sup>、鈴木 俊也<sup>1)</sup>、猪又 明子<sup>1)</sup>、守安 貴子<sup>1)</sup>、広瀬 明彦<sup>2)</sup>、中江 大<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京都健康安全研究センター、<sup>2)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所、<sup>3)</sup> 東京農業大学

【目的】多層カーボンナノチューブ(MWCNT)は、ラットに腹腔投与すると、持続的炎症の関与の下で中皮腫を誘発するものと指摘されている。本研究では、中皮腫の発症や進行に関与する免疫細胞や因子を調べるため、MWCNTを投与したラットを経時的に観察した。【方法】8週齢のF344系雄性ラットの腹腔内に1 mg/kg体重のMWNT-7(三井)またはその懸濁媒を単回投与した。投与8・16・24・32週間後に解剖したラットおよび更に1年程経過した瀕死期解剖動物について、主に腹膜に関する病理組織学的解析を行うと共に、腹腔洗浄液内の液性因子を測定した。【結果・考察】組織学的には、観察期間を通して、MWCNTを含む肉芽腫や、好酸球および肥満細胞の浸潤を腹膜全般に認めた。中皮腫は投与24週後に初めて観察され、その発生頻度は投与32週後には増加した。CD68陽性マクロファージが肉芽腫内に限局しているのに対し、CD163陽性単球やCD8陽性リンパ球は、投与8週から32週後にかけて中皮下組織に浸潤していた。しかし、投与32週後の腫瘍発現例の一部や瀕死例においては、腫瘍結節の中心や周囲の間質に、CD8陽性細胞はほとんど認められなくなったのに対し、CD163陽性細胞の集簇は顕著であった。腹腔洗浄液中の液性因子については、CCL-2、CINC-1、IL-12 および TGF- $\beta$  の濃度が観察期間を通じ、対照群に比べて高値であり、特に、TGF- $\beta$  は、投与32週後に顕著に高くなった。以上より、中皮腫発症時期まで、炎症の亢進と抑制に関連する両因子の増強が維持されること、また、M2型マクロファージが投与32週前後の中皮腫発症に関与し、さらにその後速やかに免疫抑制的な環境が形成されることが示唆された。(本研究の一部は厚生労働省科学研究費補助金(H30-化学-指定004)の支援による)

## P-76

## 医療用医薬品のトランスジェニックマウスを用いたがん原性試験に関する調査

○野中 瑞穂<sup>1)</sup>、西村 次平<sup>1)</sup>、直田 みさき<sup>1)</sup>、小川 久美子<sup>2)</sup>、西川 秋佳<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> (独) 医薬品医療機器総合機構、<sup>2)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所

米国研究製薬工業協会(PhRMA)から発表された182の化合物のラット2年間がん原性試験に関する回顧的解析結果(Toxicol. Pathol. 39, 716-744, 2011)を端緒に、2012年6月に医薬品規制調査国際会議(ICH)においてS1ガイドライン(医薬品のがん原性試験に関するガイドライン)改定のための専門家作業部会(EWG)が設置され、薬理作用、ラット6カ月反復投与毒性試験におけるがん関連病変、遺伝毒性、ホルモン作用等のWeight of evidence(WOE)に基づき、ラット2年間がん原性試験を予見できる可能性を検証するための前向き調査がすすめられている。一方、S1ガイドラインにおいては、ラットがん原性試験の他に、マウスがん原性試験も必要とされているが、長期のがん原性試験に代わりトランスジェニックマウス(Tgマウス)を用いた中期のがん原性試験も容認されており、近年では後者の実施件数が増加している。ICH S1の前向き調査の結果により、ラット2年間がん原性試験を省略できるとした場合、Tgマウスがん原性試験の重みが増すことになるため、回顧的に検討しておくことは想定されるS1ガイドライン改定においても有意義であると考えている。今回我々は、2007年以降本邦で承認された医療用医薬品のTgマウスを用いたがん原性試験(約40試験)について調査を実施した。本発表ではTgマウスを用いたがん原性試験の実施状況、rasH2マウスを用いたがん原性試験の最高用量における臨床曝露量比、腫瘍発生に関する解析結果を報告する予定である。

## P-77

## ヒト(自己)骨格筋由来細胞シートの非臨床評価における病理解析手法について

○早場 純子<sup>1)</sup>、寺尾 壽子<sup>1)</sup>、田崎 雅子<sup>1)</sup>、田中 直子<sup>1)</sup>、長野 嘉介<sup>2)</sup>、西田 仁<sup>1)</sup>、萩原 仁美<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>テルモ(株)、<sup>2)</sup>長野毒性病理コンサルティング

**【背景】**再生医療等製品は、開発経験が浅く、関連する経験や知見の蓄積が望まれる。我々は、重症心不全の患者を対象に、自己由来骨格筋芽細胞を用いた治療法を開発し、その過程において、重度免疫不全マウス(NOGマウス)を用いた、ヒト骨格筋芽細胞の生着、分化、生体内分布、腫瘍化リスク等の評価を実施してきた。本報告では、評価に有用であった病理解析手法の報告及び考察を行う。**【方法】**ヒト骨格筋由来細胞シート(HS)をマウス用のサイズに作製し、臨床適応部位の心臓表面に移植した。移植4週間後に剖検し、移植部位である局所の変化および全身への影響を病理組織学的に観察した。移植細胞の検出には抗ヒトビメンチン抗体を用いた。**【結果と考察】**一般状態や体重推移にHSの移植による動物の状態悪化を示す変化を認めなかった。病理組織学的検査では、移植細胞は、心臓表面と胸壁手術跡の癒着部にわずかに存在し、その細胞形態に増殖性変化や異形成は認められなかった。その他の全身組織に、移植細胞の移行や腫瘍化を示す変化は認められなかった。これらの結果から、HSの臨床使用時における生着期間、同細胞の分化、生体内分布、腫瘍化リスクに関する知見を得ることが出来た。本試験では、ヒト間葉系細胞を識別できる抗ヒトビメンチン抗体の単独使用により有用性を示せたが、移植細胞の形質転換や、宿主由来の増殖性変化が認められる場合には、複数の抗体による多重染色や、遺伝子レベルでの解析を組み合わせたことが有用と考えられる。本発表では、ヒト細胞同定に有用と考えられる抗体についても紹介する。

## P-78\*

## 短期化学発がんモデル、rasH2マウスの血管肉腫におけるPD-L1の発現—腫瘍微小環境下における抗腫瘍評価—

○萩原 顕昭、宮田 裕人、勝呂 繭子、杉山 大揮、米良 幸典

株式会社DIMS医科学研究所

**【背景と目的】**近年脚光をあびているがん免疫療法は、生体の免疫系を介して抗腫瘍効果を期待する治療法である。従ってこの作用を検出するためには腫瘍に対する免疫応答が保たれていることが重要であり、「短期化学発がんモデル」は、免疫不全動物を用いた「がん細胞移植系モデル」では得られない解析データの作出が期待できる。PD-L1は、T細胞を抑制させ自己への攻撃を抑制する役割を担っているが、一部の癌細胞ではPD-L1を発現する場合があります免疫による癌細胞への攻撃を回避させてしまうことが知られている。rasH2マウスを用いた「化学発がんモデル」において発現した腫瘍におけるPD-L1の発現を病理組織学的に解析し、薬効評価系としての有用性を検討した。

**【方法】**MNUをrasH2マウスへ単回投与した26週間発がん性試験において、脾臓を原発とした血管肉腫の症例を用い、常法に従いHE染色及びPD-L1免疫組織化学染色を行った。また、ヒト非小細胞肺癌(NSCLC)細胞株(H460)を用いてPD-L1免疫組織化学染色を検証した。

**【結果】**脾臓、肝臓、回腸、並びに腎臓において病理組織学的検査で血管肉腫が認められ、PD-L1の発現は原発巣である脾臓に散見され、肝臓における転移性腫瘍では強陽性を示していた。また、ヒトNSCLC細胞株:H460においてもPD-L1陽性腫瘍細胞が観察された。

**【考察】**本症例の血管肉腫において、転移巣でPD-L1の強い発現が認められたことは、がん免疫逃避機構を示唆する所見と考えられた。今回、rasH2マウスの血管肉腫においてPD-L1の発現が確認されたことから、「rasH2マウス短期化学発がんモデル」でのPD-L1の検出は、臨床がんに近い腫瘍微小環境における薬効評価へ応用が期待される。

## P-79

## ビーグル犬の心臓及び骨格筋の電子顕微鏡学的検査におけるアーティファクトについて

○剣持 佑介、安井 雄三、中村 (穴川) 明子、豊田 薫、利谷 (谷合) 枝里子、島寄 大志、高橋 明美、宮川 義史、正田 俊之

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 横浜リサーチセンター 安全性研究所

**【背景】**ホルマリン固定試料からの戻し電顕や中長期のグルタルアルデヒド(GA)固定試料から電顕標本作製する際には、発生しうるアーティファクト(AF)像を把握しておくことが超微形態像を観察する上で重要となるが、文献報告は限られる。そこでイヌ毒性試験の対照群の各種固定液保存試料から回顧的に透過型電顕標本作製してAFを検索した。また、イヌ試料採取の前固定時にイレギュラー条件を設定しAFを評価した。

**【方法】**検討1：イヌ毒性試験の対照群のビーグル犬51例の固定済の骨格筋・心筋(2.5% GAリン酸緩衝(PB)液, 1.25% GA-2% PFA-PB液(pH7.4)又は10%中性緩衝ホルマリン)について、標準的方法でオスミウム後固定, エタノール脱水, エポキシ樹脂包埋, 超薄及び電子染色をして超微形態観察した。検討2：イヌ毒性試験の対照群のビーグル犬1例の骨格筋・心筋を1.25% GA-2% PFA-PB液で前固定する際に、標準的方法として放血後約10分で前固定液に浸漬し細切(1mm角)した他、固定液浸漬までの時間(常温30分, 1及び2時間), 大型(5mm角)組織片, ピンセット等の挫滅操作, 水道水10分浸漬, 等の条件を設定した。後固定以降は検討1同様とした。

**【結果】**検討1：51例中15例で筋細胞内ミトコンドリアの空胞様構造, 6例で同心円状膜状構造(特にホルマリン固定試料)が認められた。検討2：各種イレギュラー条件では標準的方法に比較し種々の超微形態像が認められ, 特に長い固定前時間又は水浸漬条件で, 同心円状膜状構造, 筋原線維間空隙, ミトコンドリア空胞様構造などが多く認められた。

**【結論】**ミトコンドリア空胞様構造や同心円状膜状構造は, イヌ筋組織で好発するAFであり, 特に後者はホルマリン長期固定や乾燥・放置時間に関連して生じると考えられた。

## P-80

## Use of minipigs in juvenile toxicity studies

○Robert R. Maronpot<sup>1)</sup>、Abraham Nyska<sup>2)</sup>、Shim-mo Hayashi<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Maronpot Consulting, LLC, <sup>2)</sup>Tel Aviv University, <sup>3)</sup>Tokyo University of Agriculture and Technology

Minipigs are being used increasingly in juvenile toxicity studies, as they have several advantages over alternative non-rodent species. Studies typically begin on the second day after birth necessitating test agent administration in milk formulations. An important part of neonatal minipig studies is administration of injectable iron dextran for support of the developing hematopoietic system resulting in systemic deposition of iron in parenchymal tissues and especially in the liver. Other important procedures to consider in juvenile minipig study design and conduct include husbandry procedures, data recording, and documentation of tissue changes at study termination.



## P-81

## 発がん性試験におけるF344/DuCrIjラットの自然発生腫瘍と2年生存率

○高信 健司、山野 荘太郎、妹尾 英樹、梅田 ゆみ、相磯 成敏、菅野 純

(独) 労働者健康安全機構 日本バイオアッセイ研究センター

【背景】F344ラット(Fischer 344ラット)は国内外で広く発がん性試験に用いられている。今回、我々はSPF環境下におけるF344/DuCrIjラットの自然発生腫瘍の発生率と2年生存率を調査し、NTPで使用されていたF344/Nラットと比較したので報告する。

【材料と方法】調査対象動物は、安衛法GLP下に1999年から2012年の間にJBRCで実施した発がん性試験の対照群の動物、吸入曝露試験の雄14試験699匹、雌11試験550匹、経口投与試験の雄10試験500匹、雌10試験500匹とした。これらは日本チャールス・リバー厚木飼育センターから4週齢で搬入し2週間の検疫/馴化後、試験に供した対照群雌雄各50匹/試験の動物である。

【結果とまとめ】雌雄を通じて、最も高い発生率を示した腫瘍は精巣の間細胞腫の78.8%であった。以下、6%を超える発生率を示した腫瘍は、雌雄共通では、下垂体の前葉腺腫、脾臓の単核球性白血病(LGL白血病)および甲状腺C-細胞腺腫、更に雄では、皮下線維腫、副腎褐色細胞腫、睪島細胞腺腫、雌では、子宮内膜間質性ポリープ、乳腺線維腺腫であった。2年生存率は雌雄ともに77%前後を示し、F344/Nラットと比較すると本調査結果の方が高かった。その要因の一つとして、F344/DuCrIjラットはF344/Nラットと比較してLGL白血病の発生率が低いことが考えられた。今回の調査で高い発生率を示した腫瘍は、既報のF344/DuCrIjラットの報告とほぼ同様の結果であった。また、F344/DuCrIjラットの自然発生腫瘍の種類と発生率の経時的な変化(ドリフト現象)は調査期間13年間の間にはほとんどなく、吸入、経口および溶媒による差も明らかではなかった。

以上より、F344/DuCrIjラットは安全性試験に安定的に供試できることが確認された。

(本発表の調査対象試験は主に厚生労働省受託GLP試験である。)

## P-82\*

## 幼若期ラット/Crl:CD(SD)における肝臓及び脾臓の病理組織学的背景データ

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

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

【目的】幼若期ラットを用いた毒性試験の背景データの収集を目的に第33回及び34回本学会において幼若ラットの腎臓、眼球、大腿骨及び皮膚の正常組織について報告した。今回は、幼若ラットの肝臓及び脾臓について、正常組織像の特徴をまとめた。

【方法】Crl:CD(SD)ラット、4、7、14、21、28、35及び42日齢の雌雄各4匹を用いた。なお、動物は21日齢で離乳した。肝臓及び脾臓について、常法に従いホルマリン固定H.E染色標本を作製し、組織学的観察を行った。

【結果】肝臓：7日齢まで肝細胞索は明らかではなく、14日齢から整然とした並び方を示した。肝小葉構造は4日齢でグリソン鞘を形成していたが、各々の構成要素の細胞は未成熟で、肝細胞及び胆管上皮は好塩基性を示し、21日齢になると好酸性で成熟細胞となった。4日齢では髓外造血が顕著で日齢が進むにつれて減少した。4日齢及び7日齢では肝細胞内に脂肪滴様小型空胞がみられ、14日齢ではほぼみられなくなり、21日齢以降では肝細胞内にグリコーゲン様の空胞がみられた。

脾臓：7日齢までは白脾髄と赤脾髄の境界が不明瞭で、リンパ球の分布領域が狭かった。14日齢では、中心動脈周囲にリンパ球が分布し、PALS及び辺縁帯が形成された。PALS及び辺縁帯の境界は、21日齢以降でより明瞭となった。髓外造血は、4日齢で最も多く、日齢が進むにつれて減少するが、42日齢でもなお広範囲に認められた。

【まとめ】幼若期ラットの肝臓では肝細胞索の未発達、肝細胞及び胆管の好塩基化、肝細胞空胞化、髓外造血が観察され、日齢による違いが認められた。脾臓では日齢による白脾髄の発達の差異、髓外造血の程度の違いが認められた。

## P-83\*

Investigation for the contribution of BMP9 signaling on vascularization using *in vitro* tube formation assay○ Maya Kimura<sup>1)</sup>、Heather Estrella<sup>2)</sup>、Tadahiro Shinozawa<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Drug Safety Research and Evaluation, Research, Takeda Pharmaceutical Company Limited, <sup>2)</sup>Takeda California

[Background and Aim] Bone morphogenetic protein-9 (BMP9) is one of the important factors for vascularization. However, the contribution of BMP9 signaling has not been fully investigated. In this study, we investigated the contribution of BMP9 for angiogenesis using *in vitro* tube formation assay with human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). [Materials and Methods] HUVEC were seeded on pre-Matrigel-coated 96-well plate. 10 ng/ml BMP9 and anti-BMP9 mAb (0.1, 1 and 10 µg/ml) or control IgG were treated and morphological analysis on tube formation assay was conducted with gene expression analysis. After HUVEC were incubated for 24 hours, to visualize the tube formation, HUVEC were stained with Calcein-AM and the number of tubes, tube junction, tube junction area and tube length were calculated by high content imaging system (CV7000). The expression of ID1, SNAL1 and ACTA2 mRNA in HUVEC were determined by qPCR. [Results] The number of tube junction and tube length were decreased by anti-BMP9 mAb compared with control IgG. In contrast, tube junction area was increased by anti-BMP9 mAb and the gene expression level of SNAIL was lower at 0.1–10 µg/ml of anti-BMP9 mAb than IgG treated groups. No statistically significant difference was observed in ID1 and ACTA2 expressions between control IgG and BMP mAb treated groups. [Conclusion] We demonstrated that the contribution of BMP9 signaling on vascularization could be revealed morphologically with *in vitro* tube formation assay.

## P-84

## INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions - An Update - 2020

○ Shimmo Hayashi<sup>1)</sup>、CM Keenan<sup>2)</sup>、A Bradley<sup>3)</sup>、DG Goodman<sup>4)</sup>、Takanori Harada<sup>5)</sup>、R Herbert<sup>6)</sup>、Hijiri Iwata<sup>7)</sup>、M Jacobsen<sup>8)</sup>、R Kellner<sup>9)</sup>、B Mahler<sup>6)</sup>、E Meseck<sup>10)</sup>、T Nolte<sup>11)</sup>、S Rittinghausen<sup>9)</sup>、J Vahle<sup>12)</sup>、Katsuhiko Yoshizawa<sup>13)</sup><sup>1)</sup>Japanese Society of Toxicologic Pathology, <sup>2)</sup>CM Keenan ToxPath Consulting, <sup>3)</sup>Charles River, <sup>4)</sup>Independent Consultant,<sup>5)</sup>The Institute of Environmental Toxicology, <sup>6)</sup>NIEHS, <sup>7)</sup>LunaPath LLC, Laboratory of Toxicologic Pathology,<sup>8)</sup>AstraZeneca, <sup>9)</sup>Fraunhofer ITEM, <sup>10)</sup>Novartis Institute for Biomedical Research, <sup>11)</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG,<sup>12)</sup>Eli Lilly & Company, <sup>13)</sup>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 15 rodent organ systems published to date: Respiratory, Hepatobiliary, Urinary, Central/Peripheral Nervous Systems, Male Reproductive and Mammary, Zymbals, Clitoral and Preputial Glands and Hematolymphoid System 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](http://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 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-85

## パソロジストのSENDへの関わりの実例 —SENDIG 3.1におけるパソロジストが担う役割とは—

○畠山 洋文<sup>1)</sup>、小泉 治子<sup>1)</sup>、堀川 真一<sup>1)</sup>、飯野 好美<sup>1)</sup>、佐藤 伸一<sup>1)</sup>、安齋 享征<sup>2)</sup>、岩田 聖<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>株式会社イナリサーチ、<sup>2)</sup>昭和大学 医学部、<sup>3)</sup>ルナパス毒性病理研究所

米国FDAがSENDIG 3.1の適用を開始(NDA、ANDA and BLA：2019年3月15日/IND：2020年3月15日)し、SENDIG 3.1によるSENDデータパッケージの作成を経験したCROや製薬メーカーが増えSEND対応は必須になりつつある。また、欧米にならってPathology ReportのFinal Reportへの添付及びPeer Review実施の機会が増えつつあり、パソロジスト業務は増える傾向にある。本来の毒性病理学的評価に支障をきたすことを避ける意味においてもSENDをきちんと理解した上で鏡検を行うことが今求められている。SENDのMI (Microscopic Findings) ドメインにおけるSENDIG 3.1の大きな変更として、以下の3点を示した。・MISTRESC格納値変更：腫瘍性病変だけでなく非腫瘍性所見についてもNONNEO統制用語リスト(Controlled Terminology)より基礎所見を格納する・MICHRON変数追加：慢性度を格納する(統制用語リストより)・MIDISTR変数追加：分布パターンを格納する(統制用語リストより)上記変更に加えて、Controlled Terminologyに記載のない用語を使用した際のStudy Data Reviewer's Guideへの記載や用語解説、死亡との関連を示す組織所見の確認など、パソロジストがSENDチームと協業する範囲が拡大している。本発表では、パソロジストがSENDデータパッケージ作成の過程でこういった役割を担うのかを実例を用いて紹介したい。各社で使用するシステムやSEND体制に違いがあるが、SENDに関する情報の共有が今重要と考えられる。

## P-86

## 病理組織標本の長期保存性の検討

○下内 孝司、日比 大介、瀧本 憲史、柳澤 幸宏、柳 浩由紀、栗林 正伯

小野薬品工業(株)

**【背景・目的】**GLP試験では試験の再評価を担保することを目的に、作製した病理組織標本を一定期間保存することが義務付けられている。ただし、ホルマリン固定標本は、パラフィンブロックやプレパラート標本に比較して、その保存性は低いと考えられている。そこで我々は、長期間保存された病理標本を用いて、その保存性ならびに再評価が可能な保存形態とその期間を検証した。**【材料と方法】**1997年～2013年に資料保存施設での保存を開始した試験の中から7試験を選択し、その病理標本(ホルマリン固定標本ならびにパラフィンブロック)を用いて保存性の評価を行った。肝臓、腎臓、心臓、骨格筋、皮膚のヘマトキシリン・エオジン染色標本(HE標本)を常法に従って作製し、評価に用いた。なお、ホルマリン固定標本は、10%中性緩衝ホルマリン液中に保存されていた。パラフィンブロックは1試験を除いてパラフィンコーティングした状態で保存されていた。**【結果】**全ての試験において、ホルマリン固定標本から作製したHE標本では、肝臓で空胞化、あるいはひび割れ、すべての組織で染色性の低下など、長期保存が原因と考えられるアーティファクトが認められた。一方、パラフィンブロックから作製したHE標本は、ノンコーティングのパラフィンブロックから作製したHE標本で組織の一部が欠損していた以外には、特に問題は認められなかった。**【結論】**保存期間が6年以上のホルマリン固定標本ならびにパラフィンブロックの保存性を検討した。その結果、ホルマリン固定標本とノンコーティングのパラフィンブロックにみられた変化は再評価に影響し得ると考え、パラフィンコーティングされたパラフィンブロックのみが再評価可能な状態にあると判断した。



# The 36th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

Date **Feb 13** (Thu) and **Feb 14** (Fri), 2020

Venue **The Setagaya Campus of the Tokyo University of Agriculture**  
1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo, 156-8502, Japan  
Tel: +81-3-5477-2539

Chairperson **Dai Nakae**  
(Professor, Tokyo University of Agriculture, Japan)

## Program Committee

Chair Dr. Satoshi Furukawa (Nissan Chemical Corporation)  
Vice chair Dr. Kumiko Ogawa (National Institute of Health Sciences)  
Committee Dr. Hijiri Iwata (LunaPath LLC)  
Dr. Takeshi Kanno (LSI Medience Corporation)  
Dr. Min Gi (Osaka City University)  
Dr. Norimitsu Shirai (Pfizer Incorporated)  
Dr. Kyoko Nakano (Eisai Co., Ltd.)  
Dr. Shimmo Hayashi (Tokyo University of Agriculture and Technology)  
Dr. Toshihisa Fujiwara (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)  
Dr. Yuko Yamaguchi (BoZo Research Center Inc.)  
Dr. Katsuhiko Yoshizawa (Mukogawa Women's University)  
Dr. Takeshi Watanabe (Takeda Pharmaceutical Co. Ltd.)

## Office

Tokyo University of Agriculture  
The 36th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology  
Laboratory of Food Safety Assessment Science, Department of Nutritional Science  
and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture  
1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo, 156-8502, Japan  
E-mail: [jstp36@nodai.ac.jp](mailto:jstp36@nodai.ac.jp)

[Congress Secretariat]

IPEC, INCORPORATION  
1-24-12 Sugamo, Toshima-ku, Tokyo 170-0002  
Tel: +81-3-6822-9767  
E-mail: [jstp36ip@ipec-pub.co.jp](mailto:jstp36ip@ipec-pub.co.jp)

**<http://www.ipec-pub.co.jp/36jstp/>**

# The 36th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

## Table of Contents

Greetings .....	109
Access to the Site .....	110
Access to the Hotel Gajoen Tokyo .....	111
Floor Plan .....	112
Important Information to Participants, Session Chairpersons and Presenters ...	114
General Information .....	115
To Presenters .....	118
Timetable .....	120
Program	
Chairperson's Special Session .....	122
Special Session .....	122
Symposium .....	123
Workshop .....	124
IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture .....	124
Poster Presentation .....	125
Abstracts	
Chairperson's Special Session .....	141
Special Session .....	142
Symposium .....	146
Workshop .....	155
IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture .....	159
Poster Presentation .....	161
Author's Index .....	206

## Greetings

It is my great pleasure to tell you that we will hold the 36th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology (JSTP) on February 13 (Thursday) and 14 (Friday) at the Setagaya Campus of the Tokyo University of Agriculture (Setagaya, Japan), together with the 32nd Annual JSTP Slide Conference and the Commentary Session of the JSTP Diplomat Examination on February 12 (Wednesday), in 2020.

Toxicologic pathology is a field of science to assess risks to the human health of a variety of chemicals (pharmaceuticals, pesticides, food-related substances, general chemicals, cosmetic-related substances and et cetera), based on the morphological analysis in association with techniques of diverse adjacent scientific fields (toxicology, biochemistry, physiology, molecular biology and et cetera). JSTP was founded to progress toxicologic pathology and has been contributing to not only science but also to the world by producing enormous accomplishments. Recently, however, situations around JSTP and toxicologic pathology has been becoming hard, because of factors like the shift from small molecules to bio- and nucleic acid-related products in the development of pharmaceuticals, the increase of concerns about the animal welfare, and the introduction of in silico methods. Even under such a circumstance, the needs of toxicologic pathologists are still in demand, and JSTP should continue efforts to progress toxicologic pathology and educate toxicologic pathologists. For such a purpose, JSTP must spread its wings to unfamiliar chemical categories and technologies, and aggressively participate in the field of risk communication.

Under the theme of “Toward the new world; the future of toxicologic pathology and JSTP”, we hope that a large number of participants will come together to the 36th Annual Meeting of JSTP to interact and exchange opinions, and thereby discover future visions and purposes in the advancement of toxicologic pathology and JSTP. I am sincerely looking forward to welcoming you in Tokyo in the coming February.

*Join us and jump into the NEW WORLD OF  
TOXICOLOGIC PATHOLOGY!!*

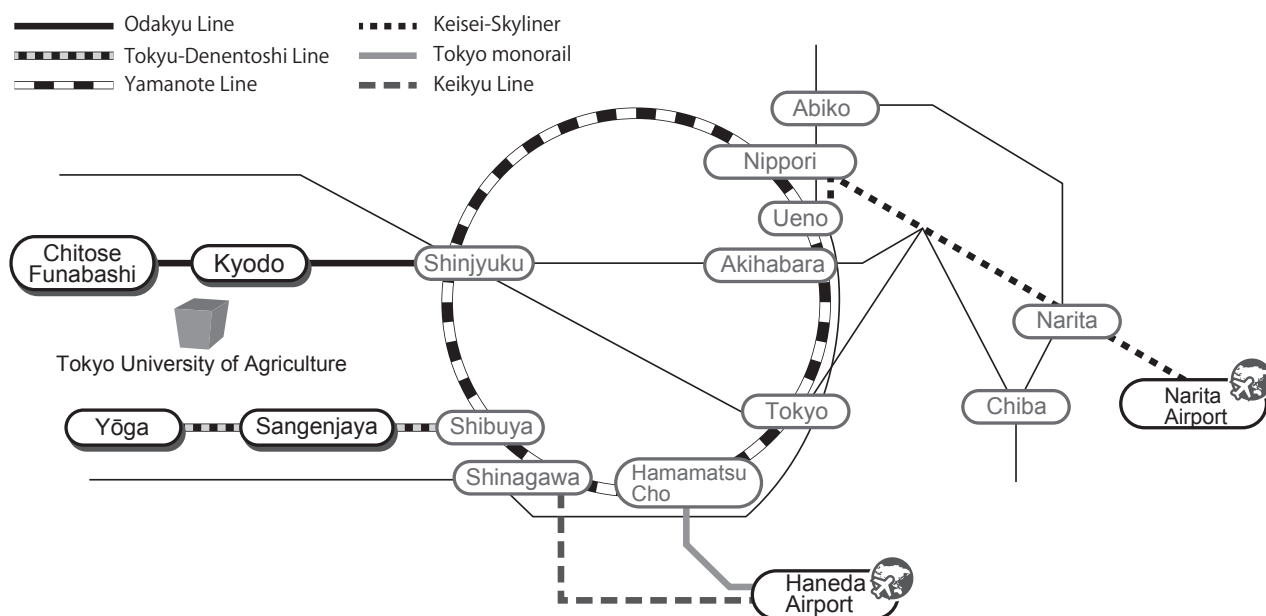
*Dai Nakae, M.D., D.M.Sc.*

Chairperson

The 36th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology  
(Professor, Tokyo University of Agriculture, Japan)



## Access to the Site



### By Train and Bus

#### [From Shinjuku Station]

Take “Odakyu line” bound for Hon-Atsugi to either Kyodo Station or Chitose Funabashi Station (Traveling time; 17 to 21 minutes). It is about 15 minutes walk to the venue from each station. From Chitose Funabashi Station take the Tokyu bus (Shibu 23 for Shibuya Eki or Yo 01 for Yoga Eki or To 11 for Todoroki Soshajo) to Nodai Mae (Traveling time by bus: 5 minutes).

#### [Taking bus From Shibuya Station (West exit)]

From Shibuya Station take Odakyu bus Shibu 24 for Seijo Gakuen Mae Eki Nishiguchi or Shibu 26 for Chofu Eki Minamiguchi to Nodai Mae. Take Tokyu bus Shibu 24 for Seijogakuen Mae Eki Nishiguchi or Shibu 23 for Soshigaya Okura Eki to Nodai Mae Station (Traveling time: 30 minutes).

#### [From Yoga Station]

From Yoga Station either walk for 20 minutes to the venue or take the Tokyu bus Yo 01 for Soshigaya Okura Eki or Shibu 22 for Shibuya Eki to Nodai Mae Station (Traveling time by bus: 10 minutes).

#### [From Sangenjaya Station]

From Sangenjaya Station take the Tokyu bus Shibu 23 for Soshigaya Okura Eki or Shibu 24 for Seijogakuen Mae Eki Nishiguchi or Shibu 22 for Yoga Eki to Nodai Mae Station (Traveling time: 15 minutes).

From Sangenjaya Station you can also take the Odakyu bus Shibu 24 for Seijo Gakuen Mae Eki Nishiguchi or Shibu 26 for Chofu Eki Minamiguchi to Nodai Mae Station.

### From the Airports

#### [From Haneda Airport (HND)]

Take either the Tokyo monorail to Hamamatsu Cho Station or the Keikyū Line to Shinagawa Station, transfer to Yamanote Line to Shibuya Station. From Shibuya Station refer to the access above.

#### [From Narita Airport (NRT)]

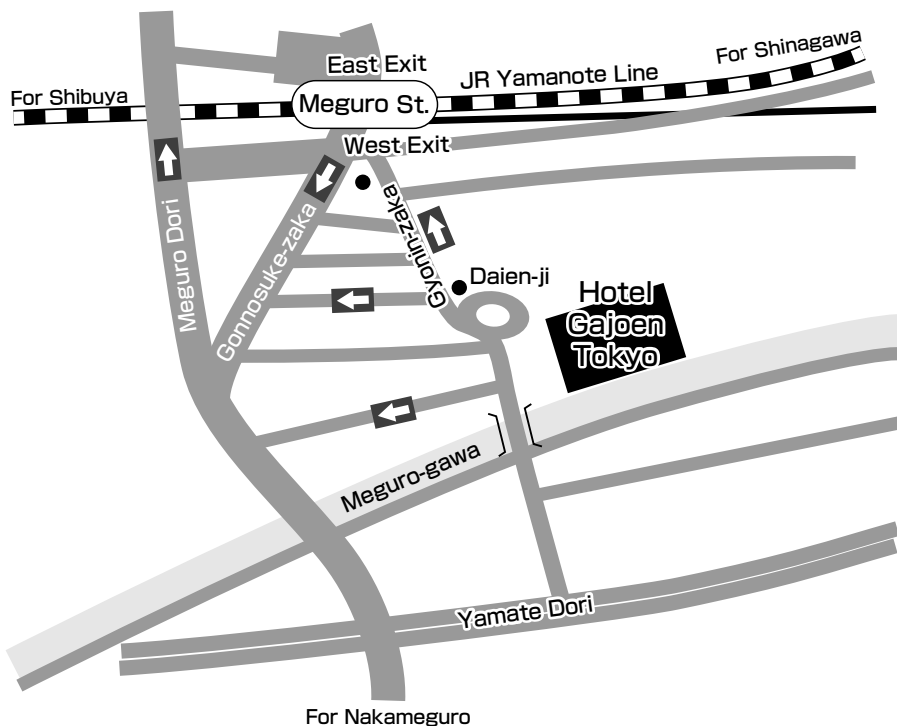
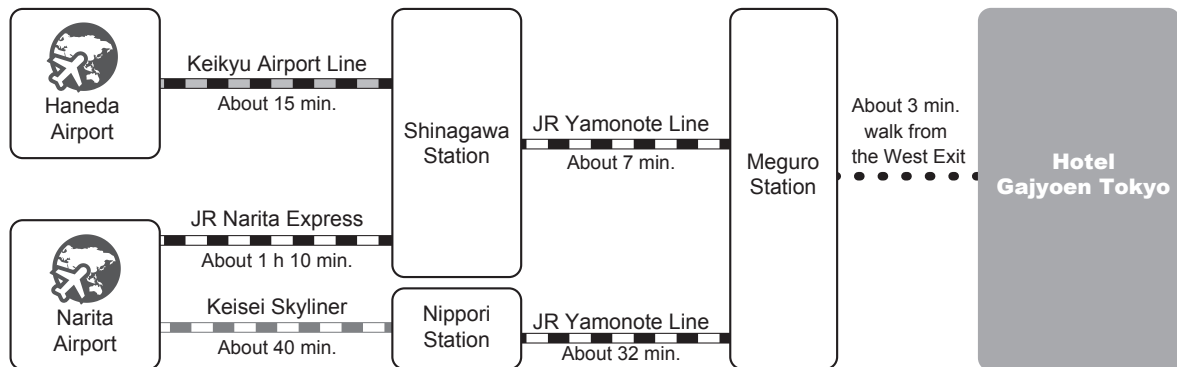
Take the Keisei-Skyliner to Nippori Station, transfer to Yamanote Line to either Shinjuku Station or Shibuya Station. From Shinjuku Station and Shibuya Station refer to the access above.

# Access to the Hotel Gajoen Tokyo

## For Hotel Gajoen Tokyo

### Free Shuttle Service from Tokyo University of Agriculture

Free shuttle bus to the hotel will depart from the parking lot located to the right side of the Science Port of Tokyo University of Agriculture Setagaya campus. First departure time is 17:30 and several other buses will follow.



## Access to the Hotel Gajoen Tokyo

Three minutes' walk from Meguro Station.

Go down Gyonin-zaka for 3 min. from Meguro Station (West Exit of JR Yamanote Line/Tokyu Meguro Line/Tokyo Metro Namboku Line or Mita Line). Go down Gonnosuke-zaka for 5 min.

Traveling time from the main stations to Meguro Station.

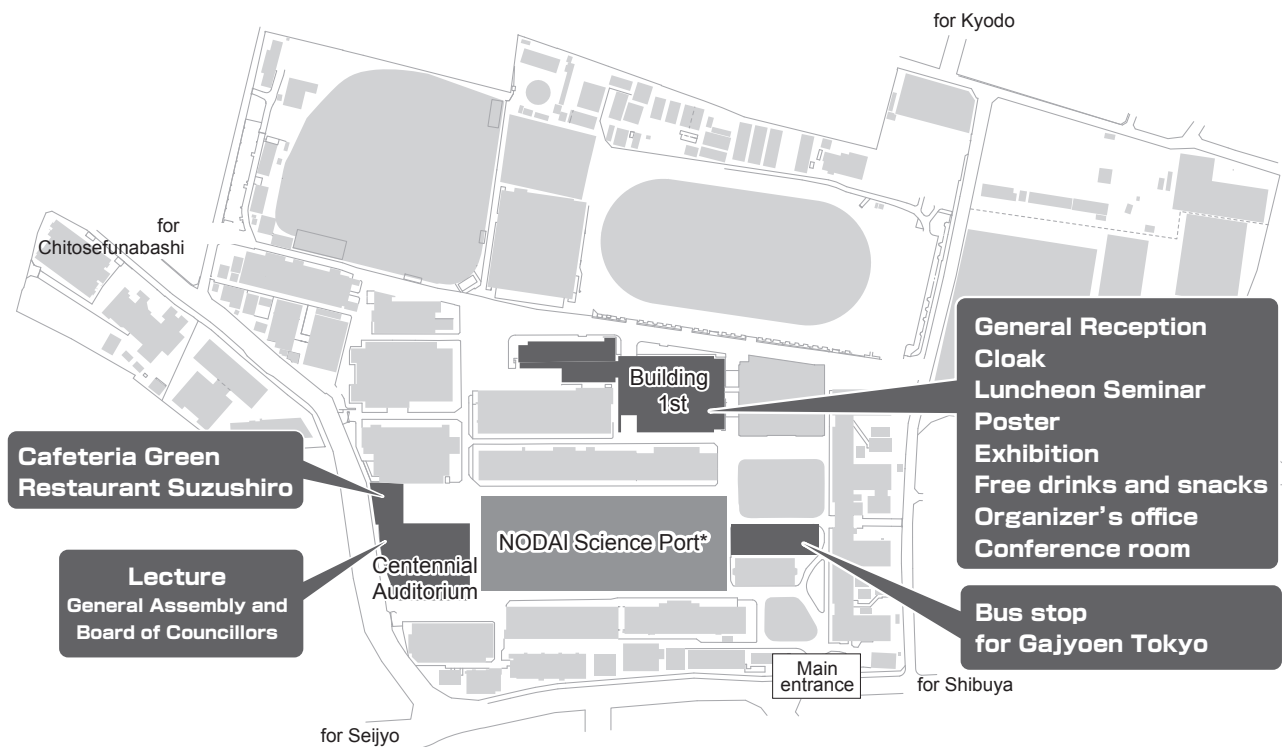
Yamanote Line Inner Tracks: 5 min. from Shibuya Station, 11 min. from Shinjuku Station, 20 min. from Ikebukuro Station

Yamanote Line Outer Tracks: 7 min. from Shinagawa Station, 12 min. from Hamamatsucho Station, 20 min. from Tokyo Station

### [Free Hotel Bus Information]

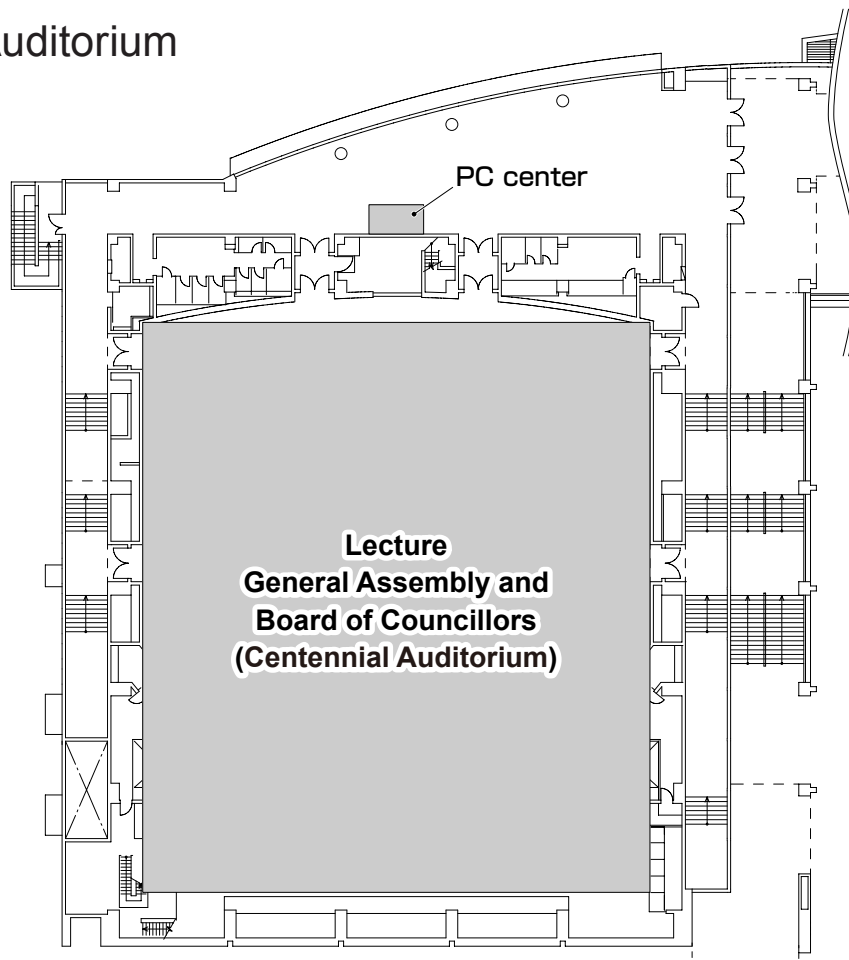
Free hotel shuttle bus is available from the East Exit of JR Meguro Station. There is no bus stop at the stop location. When the bus arrives please board the bus. The boarding location is beside the taxi stand, around the front area of the koban (mini police station).

# Floor Plan



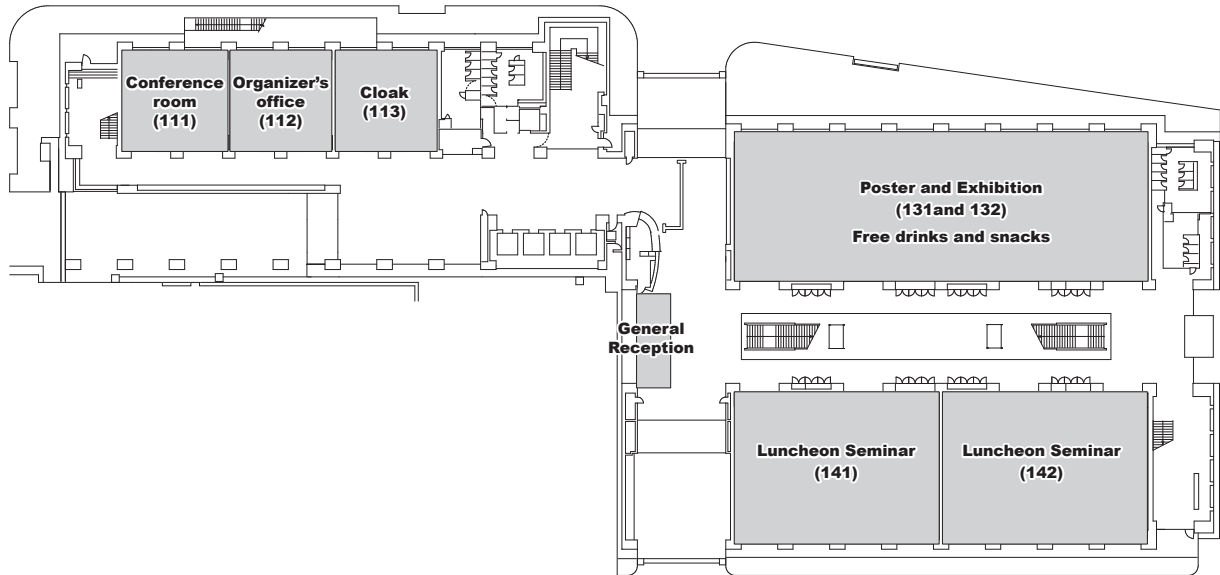
\*University people may be moving their official and personal belongings from old laboratories in various buildings to new laboratories in NODAI Science Port during the meeting period. We apologize for your possible inconvenience.

## Centennial Auditorium

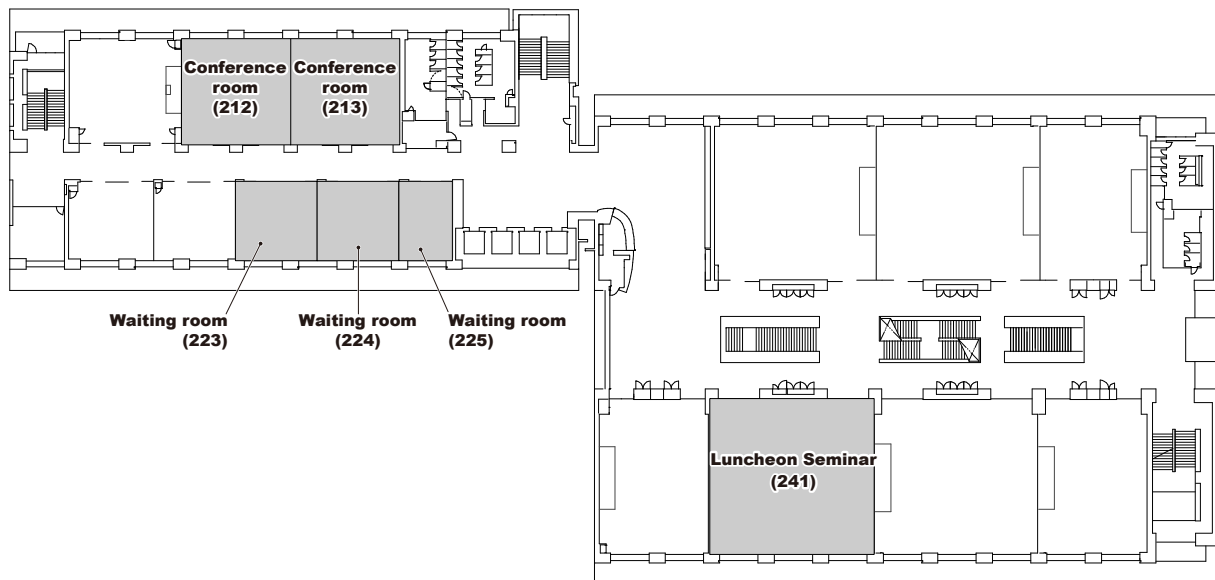


# Floor Plan

## Building 1st, Floor 1



## Building 1st, Floor 2



## **Important Information to Participants, Session Chairpersons and Presenters**

**Please be advised as a precaution that this meeting will be proceeded according to the following policies.**

1. [To participants, session chairpersons and presenters] All sessions (platforms and posters), and all presentations within platform sessions are programmed with buffer periods between them. It will be possible, therefore, that redundant periods occur between sessions or platform presentations. At such occasions, next sessions or next platform presentations will be front-loaded. Nevertheless, the inter-session intervals will be preserved, and the beginning times of the next sessions will be announced.
2. [To participants, session chairpersons and platform presenters] Bios of platform presenters will not be introduced by session chairpersons. Please find them in the handout.
3. [To participants, platform session chairpersons and platform presenters] A period of each platform presentation is set as a sum of presentation and Q&A times.
4. [To platform session chairpersons] Please understand the above policies, and control sessions accordingly. Be careful for the starting time of your session, because it may be front-loaded.
5. [To platform presenters] Please understand the above policies. As aforementioned, a period of each platform presentation is set as a sum of presentation and Q&A times. You can apportion them as you wish, but must obey the given period and provide a sufficient Q&A period. Be careful for the starting times of your session and presentation, because they may be front-loaded.



## General Information

### To Participants

1. General Reception will be open from 8:30 am to 6:00 pm on Feb. 13 (Thu) and from 8:00 am to 3:00 pm on Feb. 14 (Fri), and it is located on the Floor 1 of Building 1st.
2. Overseas participants who applied for the early registration are required to visit the Registration Counter, Floor 1 of Building 1st with the confirmation sheet which was sent by E-mail. We accept only cash, no credit card accepted.
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

\*Includes abstract book fee (5,000 yen)

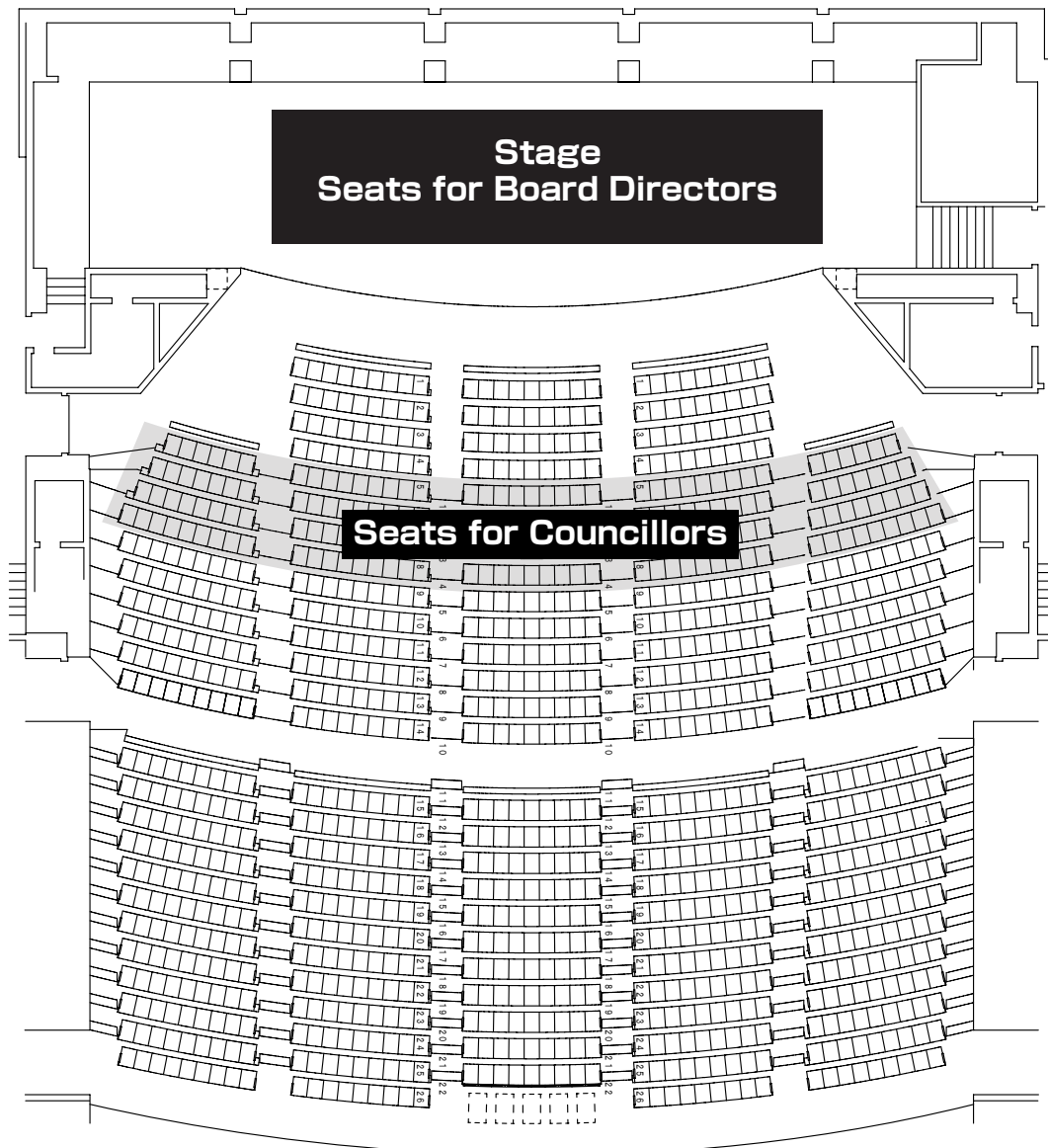
Honorary and meritorious members are free of charge. Please come to the General Reception desk on the meeting day.

4. The abstract book will be mailed to the members in advance, so please bring it on the meeting day. Extra copies of the abstract book will be available at 2,000 yen for Members, 5,000 yen for Non-Members and 2,000 yen for Students per issue.
5. For questions and discussions, please follow the chairperson's instructions and state your name and affiliation first by using the provided microphone.
6. Smokings are not allowed inside the venue.
7. Please turn off your cell phones or set them to silent mode inside the venue.
8. Free drinks, free snacks and free Wi-Fi service will be available on the Floor 1 (Building 1st), Poster-Exhibition Room.
9. Lunch boxes will be provided during luncheon seminars. You can also have your lunch at Cafeteria Green (11:30–14:30) or Restaurant Suzushiro (9:00–15:00), which are located on the first floor of the Centennial Auditorium.
10. Cloakroom  
Place: Room 113, Floor 1 of Building 1st  
Dates and Time: Feb. 13 (Thu) 8:30–18:15, Feb. 14 (Fri) 8:00–18:45
11. The paging service will not be available in the venue. Please use the message board located at the General Reception, on the Floor 1 of Building 1st.
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 (Floor 1 of Building 1st).  
Dates and Time: Feb. 13 (Thu) 9:00–17:00, Feb. 14 (Fri) 8:45–15:00

## General Assembly and Board of Councillors

Place: Centennial Auditorium  
Date and Time: Feb. 14 (Fri) 16:50–18:20  
Agenda: Performance and annual review in 2019  
Budget and planning for annual Performance in 2020  
Recommendation Meritorious Members and Councillors  
Election of president for 2022 annual meeting  
Others

### Centennial Auditorium



## Luncheon Seminars

### [Luncheon Seminar L1]

Place: Room 141  
Date and Time: Feb. 13 (Thu) 11:40–12:30  
Title : Gene-targeting drug development and Chimeric mice with humanized liver  
Speaker : Masakazu Kakuni, DVM, PhD (Study Service Department, PhoenixBio Co., Ltd.)  
Chairperson : Akiko Moriyama, DVM, PhD, JCVP (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)  
Co-sponsor : Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

### [Luncheon Seminar L2]

Place: Room 142  
Date and Time: Feb. 13 (Thu) 11:40–12:30  
Title : Pitfalls and issues in the interpretation of findings in environmental toxicity fish and frog studies  
Speaker : Laura Polledo Ruiz (Toxicologic Pathologist; AnaPath GmbH, AnaPath Services)  
Klaus Weber (CEO/Senior Pathologist; AnaPath GmbH)  
Chairperson : Satoshi Furukawa (Associated Executive Officer/Deputy Head of Biological Research Laboratories; Nissan Chemical Corporation)  
Co-sponsor : AnaPath GmbH; EPL, Inc.

### [Luncheon Seminar L3]

Place: Room 242  
Date and Time: Feb. 13 (Thu) 11:40–12:30  
Title : New developments in carcinogenicity testing with emphasis on the 6-month Tg.rasH2 assay  
Speaker : Aaron M. Sargeant, DVM, PhD, DACVP Scientific Director, Pathology (Charles River Spencerville)  
Co-sponsor : Charles River

### [Luncheon Seminar L4]

Place: Room 141  
Date and Time: Feb. 14 (Fri) 12:05–12:55  
Title : Recent historical control data and topics in various laboratory animals  
Speaker : Yuko Yamaguchi  
Chairperson : Kunitoshi Mitsumori, DVM, PhD (Professor Emeritus, Tokyo University of Agriculture and Technology)  
Co-sponsor : BoZo Research Center Inc.

### [Luncheon Seminar L5]

Place: Room 142  
Date and Time: Feb. 14 (Fri) 12:05–12:55  
Title : Research Activities on Health Effects of Bioelectromagnetic Environment in Japan  
Speaker : Chiyoji Ohkubo, PhD (Director, Japan EMF Information Center)  
Katsumi Imaida, MD, PhD (Trustee, Vice President, Kagawa University)  
Chairperson : Ministry of Internal Affairs and Communications  
Co-sponsor : Ministry of Internal Affairs and Communications

The ticket for Luncheon Seminar will be distributed at the General Reception (Building 1st., 1F), on the 1st floor at 8:30 am on Feb. 13 (Thu) and 8:00 am on Feb. 14 (Fri).

## Social gathering banquet

Place: Hotel Gajyoen Tokyo  
Date and Time: Feb. 13 (Thu) 19:30–

\* The Social gathering banquet requires an early registration, but on-site registration will be available at 9,000 yen (7,000 yen for students) at the General Reception desk on Feb. 31 (Thu) in a first come, first served basis. 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.

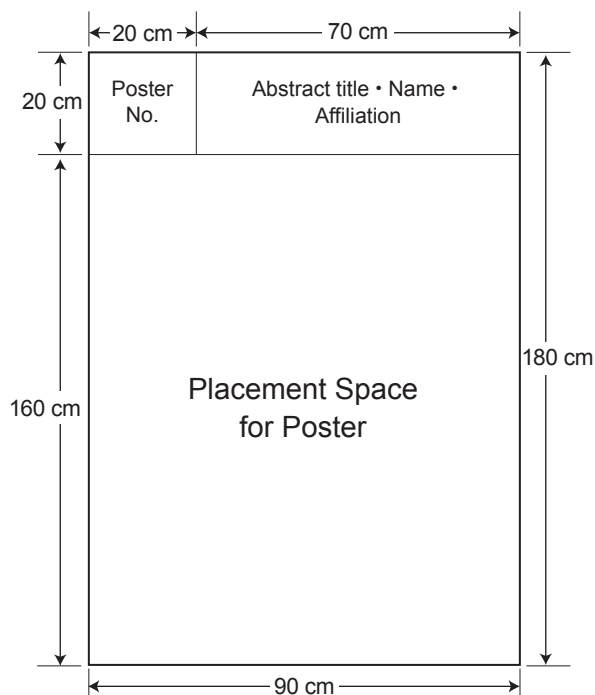
## Request to Poster Presenters

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.

	Date	Time
Poster presentation I	Feb. 13 (Thu)	16:55–17:45
Poster presentation II	Feb. 14 (Fri)	15:45–16:35

2. Please come to the 1st 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 chairperson's instructions.  
10 min are allowed for each presenters (5 min for presentation and 5 min for Q&As).  
Please keep your presentation within given time.





# Timetable

	<b>Feb. 12 (Wed)</b>		<b>Feb. 13 (Thu)</b>		
	Lecture	Meetings/ Banquet	Lecture	Poster/ Exhibition	Luncheon seminar/ Banquet
8:30					
9:00			<b>Open</b> 8:30-	<b>Poster setup</b> 9:00-10:00	
10:00		<b>Opening ceremony</b> 9:25-	<b>Poster viewing/ Exhibition</b>		
11:00		<b>Workshop</b> 9:35-11:15			
12:00		<b>Editorial committee</b> 12:00-13:30 (room 111)			<b>Luncheon seminar</b> 11:40-12:30
13:00	<b>32dSlide conference</b> 12:30-17:30		<b>Special Session</b> 12:45-14:05	<b>Poster viewing/ Exhibition</b>	
14:00		<b>Educational committee</b> 13:45-14:45 (room 213)			
15:00			<b>Symposium 1</b> 14:15-15:40		
16:00		<b>Board meeting</b> 15:00-18:00 (room 111)	<b>IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture</b> 15:50-16:40		
17:00				<b>Poster presentation I</b> 16:55-17:45	
18:00	<b>Explanation of exam questions</b> 18:00-19:00				
19:00		<b>Global president's meeting</b> 19:00-20:00			
20:00					<b>Social gathering banquet</b> 19:30-21:30
21:00					

# Timetable

<b>Feb. 14 (Fri)</b>				
	Lecture	Poster/ Exhibition	Luncheon seminar	Meeting
8:00	<b>Open</b> 8:00-			
9:00	<b>Symposium 2</b> 8:30-10:00	<b>Poster viewing/ Exhibition</b>		
10:00				
11:00	<b>Chairperson's Special Session</b> 10:10-11:40			
12:00			<b>Luncheon seminar</b> 12:05-12:55	<b>International Terminology Committee</b> 11:55-12:55 (room 111)
13:00				
14:00	<b>Special Session 2</b> 13:10-14:05			
15:00	<b>Symposium 3</b> 14:15-15:30			
16:00		<b>Poster presentation II</b> 15:45-16:35		
17:00	<b>Board of Councillors The General assembly Awards ceremony Closing ceremony</b> 16:50-18:20	<b>Poster removal</b> 16:35-17:35		
18:00				
19:00				
20:00				
21:00				

# Program

## Chairperson's Special Session Current problems on the risk communication

Day 2, February 14, Friday

10:10 - 11:40

Lecture (Centennial Auditorium)

Chair: Dai NAKAE (Tokyo University of Agriculture)

### ASL-1 Why risk communication with the general public is difficult

○Kazuya Nakayachi

Faculty of Psychology, Doshisha University

### ASL-2 Problems occurring in the crisis communication fields—Scientists just enough to be correct?

○Fumitaka Shibata

Tokyo University of Agriculture

## Special Session 1 Risk assessment of regenerative medicine

Day 1, February 13, Thursday

12:45 - 14:05

Lecture (Centennial Auditorium)

Chair: Takeshi WATANABE (Takeda Pharmaceutical Company Ltd.)

Katsuhiko YOSHIZAWA (Mukogawa Women's University)

### SL1-1 Relationship between gene instability in Pluripotent Stem Cells and incident of tumor

○Shin Kawamata

Foundation for Biomedical Research and Innovation

### SL1-2 Tumorigenic features of human iPS cell lines

○Satoshi Yasuda

Division of Cell-Based Therapeutic Products, National Institute of Health Sciences

## Special Session 2 Hepatotoxicity in the immunotherapy of cancer

Day 2, February 14, Friday

13:10 - 14:05

Lecture (Centennial Auditorium)

Chair: Norimitsu SHIRAI (Pfizer Inc. USA)

Kyoko NAKANO (Eisai Co., Ltd.)

### SL2 Pathology of immune-mediated drug-induced liver injury in immuno-oncology checkpoint inhibitor combination therapy

○Timothy Affolter, Heather Llewellyn, Changhua Ji

Global Pathology, Pfizer Drug Safety Research and Development

## Symposium 1 Risk assessment of medical devices

Day 1, February 13, Thursday 14:15 - 15:40

Lecture (Centennial Auditorium)

Chair: Kumiko OGAWA (National Institute of Health Sciences)

Yuko YAMAGUCHI (Pathology Department, BoZo ResearchCenter Inc.)

### S1-1 Current topics in biological safety assessment of medical devices

○Yuji Haishima

Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences

### S1-2 From the non-clinical study scene in medical device development

○Hitomi Hagiwara

Terumo Corporation Evaluation Center

### S1-3 Availability of the morphological analyses for biocompatibility evaluation of medical devices

○Yasushi Miyauchi

Department of Bio Research, Kamakura Techno-Science, Inc.

## Symposium 2 Spreading of the wings of JSTP

Day 2, February 14, Friday

08:30 - 10:00

Lecture (Centennial Auditorium)

Chair: Satoshi FURUKAWA (Nissan Chemical Industries, Ltd.)

Hijiri IWATA (LunaPath LLC)

### S2-1 Trends in regulation and animal substitution tests for cosmetic safety evaluation in Korea

○Jae-Sik Hwang

Dt&CRO

### S2-2 Effort of ILSI Japan to advance food safety assessment

○Yasuhiro Tanaka<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>ILSI Japan, <sup>2)</sup>SUNTORY MONOZUKURI EXPERT LIMITED

### S2-3 The fresh water snail as a specific model in environmental toxicity study and the histopathological changes under testing

○Klaus Weber

AnaPath GmbH

## Symposium 3 Modernization of toxicologic pathology

Day 2, February 14, Friday

14:15 - 15:30

Lecture (Centennial Auditorium)

Chair: Min GI (Osaka City University)

Katsuhiro MIYAJIMA (Tokyo University of Agriculture)

### S3-1 Application of a humanized liver model in toxicity studies

○Hiroshi Suemizu

Laboratory Animal Research Department, Biomedical Research Laboratory, Central Institute for Experimental Animals

**S3-2 Point to consider for histopathological evaluation of SLE models**

○Atsuhiko Kato, Atsuko Murai  
Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Research Div.

**S3-3 Three-dimensional culture organization and toxicity evaluation**

○Katsuhiko Miyajima<sup>1,2,3</sup>, Kazuo Hattori<sup>2</sup>, Ken Iwatsuki<sup>1,2,3</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>1</sup>, Dai Nakae<sup>1,2,3</sup>  
<sup>1</sup>)Department of Nutritional Science and Food Safety Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture,  
<sup>2</sup>)Department of Food and Nutritional Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,  
<sup>3</sup>)Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

**Workshop Forefront of toxicologic pathology**

Day 1, February 13, Thursday 09:35 - 11:15

Lecture (Centennial Auditorium)

Chair: Toshihisa FUJIWARA (Shin Nippon Biomedical Laboratories)  
Takeshi KANNO (LSI Medience Corporation)

**W-1 Toxicologic pathology of antibody-drug conjugates**

○Norimitsu Shirai  
Global Pathology, Pfizer Drug Safety Research and Development

**W-2 Spectrum of histopathologic lesions in oligonucleotide therapeutics**

○Shunji Nakatsuji  
Altasciences Preclinical Seattle LLC

**W-3 What you need to know to assess neuronal necrosis**

○Naoaki Yamada  
Pathology Department, Nonclinical Research Center, LSI Medience Corporation

**W-4 Small fish carcinogenicity models and methylazoxymethanol-induced hepatocarcinogenesis in medaka**

○Satoshi Furukawa, Yumiko Hoshikawa  
Toxicology & Environmental Science, Department Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Corporation

**IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture**

Day 1, February 13, Thursday 15:50 - 16:40

Lecture (Centennial Auditorium)

Chair: Shim-mo HAYASHI (Tokyo University of Agriculture and Technology)

**L-1 Confounders of kidney carcinogenesis in rodent cancer bioassays**

○Gordon Hard  
Private Consultant



An asterisk on a poster number indicates that its first author is younger than 40 years old, and a candidate of the meeting chairperson's award.

## Poster presentation 1 Sensory system 1

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Osamu SAWAMOTO (Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.)  
Mami KOUCHI (Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.)

- P-1\*** **Histopathological analyses of proliferative and non-proliferative lesions induced by single intravitreal injection of nickel subsulfide (Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub>) in rats**  
○Yoshinori Yamagiwa<sup>1,2)</sup>, Miki Masatsugu<sup>1)</sup>, Haruna Tahara<sup>1)</sup>, Masaaki Kurata<sup>1)</sup>, Hiroshi Satoh<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Central Research Laboratories, Senju Pharmaceutical Co., Ltd., <sup>2)</sup>Veterinary Pharmacology and Toxicology Laboratory, Graduate School of Veterinary Sciences, Iwate University
- P-2** **A case of focal retinopathy in a cynomolgus monkey**  
○Hitoshi Kandori, Fumi Shimizu, Kousuke Ueda, Sayuri Nakamura, Ryo Fukuda, Hirofumi Nagai  
Axcelead Drug Discovery Partners, Inc.
- P-3\*** **The effects of the anesthetic mixture of three drugs on the cornea in rats**  
○Kyohei Kamio, Junya Morita, Aiko Ishii, Yutaka Nakanishi, Minoru Sasaki  
Taisho Pharmaceutical Co., Ltd. Drug safety
- P-4** **Histopathological changes of the eye in repeated dose dermal toxicity studies in rats**  
○Takafumi Oshikata, Yumi Wako, Yutaka Nakahara, Junko Satou, Mikio Mitsuishi, Takeshi Kanno  
LSI Medience Corporation

## Poster presentation 2 Sensory system 2

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Anna KAKEHASHI (Osaka City University Graduate School of Medicine)  
Takahisa NOTO (Santen Pharmaceutical Co., Ltd.)

- P-5** **Effects of Busulfan, Cisplatin, Kanamycin on neonatal rat cochlea**  
○Ryo Ando, Moemi Egawa, Keita Namiki, Chun-Ho Park, Toshifumi Oyamada  
Laboratory of Veterinary Pathology, Kitasato University
- P-6** **The uni-nephrectomized and salt-loaded SDT fatty rat, a novel type 2 diabetic model of diabetic nephropathy, develops features of diabetic retinopathy**  
○Masami Shinohara<sup>1)</sup>, Francois Briand<sup>2)</sup>, Sophie Antoneli<sup>3)</sup>, Virginie Mauro<sup>3)</sup>, Nicolas Cimbolini<sup>3)</sup>, Emmanuel Brousseau<sup>2)</sup>, Takeshi Ohta<sup>4)</sup>, Katuhiro Miyajima<sup>5)</sup>, Yasushi Kageyama<sup>1)</sup>, Laurence Feraille<sup>3)</sup>, Thierry Sulpice<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>CLEA Japan, Inc., <sup>2)</sup>Physiogenex S.A.S.-Prologue Biotech, <sup>3)</sup>Iris Pharma, <sup>4)</sup>Kyoto University, <sup>5)</sup>Tokyo University of Agriculture
- P-7** **Effects of Chronic Oral Administration of NTBC on the cornea of Eye and Molecular Layer of Cerebellum in Rats and Mice**  
○Mika Nagaike, Sayaka Miyamoto, Genki Hashimoto, Yuta Baba, Eito Ikeda, Naoko Hongo, Akiko Okada, Kosei Inui  
Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.

## Poster presentation 3 Nervous system

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Yoshimasa OKAZAKI (AnaPath GmbH)

Masaharu TANAKA (Japan Bioindustry Association)

**P-8\*** Effects of *N*-methyl-*N*-nitrosourea on cerebral cortex after developmental exposure in rats

○Hiromu Okano<sup>1,2)</sup>, Yuko Ito<sup>1,3)</sup>, Satomi Kikuchi<sup>1,2)</sup>, Yasunori Takahashi<sup>1,2)</sup>, Kazumi Takashima<sup>1,2)</sup>,  
Qinman Yu<sup>1)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1,2)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>LVP, TUAT, <sup>2)</sup>CDVS, TUAT, <sup>3)</sup>UGSVS, Gifu Univ.

**P-9\*** Global analysis of gene targets of developmental neurotoxicity focusing on DNA hypermethylation involved in irreversible aberrations of hippocampal neurogenesis in rats

○Satomi Kikuchi<sup>1,2)</sup>, Yuko Ito<sup>1,3)</sup>, Hiromu Okano<sup>1,2)</sup>, Yasunori Takahashi<sup>1,2)</sup>, Kazumi Takashima<sup>1,2)</sup>,  
Qinman Yu<sup>1)</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1,2)</sup>, Makoto Shibutani<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>LVP, TUAT, <sup>2)</sup>CDVS, TUAT, <sup>3)</sup>UGSVS, Gifu Univ.

**P-10** Histopathological examination of brain lesion in NOD/Shi-scid IL-2R $\gamma$  null (NOG) mouse

○Keita Matsushima<sup>1)</sup>, Yachiyo Fukunaga<sup>1)</sup>, Hiroyuki Kanemitsu<sup>2)</sup>, Seiki Yamakawa<sup>1)</sup>, Mariko Nagatani<sup>1)</sup>,  
Kenichiro Kasahara<sup>1)</sup>, Yuko Yamaguchi<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Department of Pathology, BoZo Research Center Inc.,  
<sup>2)</sup>Department of Toxicology and Pharmacology, BoZo Research Center Inc.

**P-11** Case report: Hemimegalencephaly with epileptiform seizures in a young ICR mouse

○Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi, Akiko Anagawa-Nakamura, Kaoru Toyoda, Eriko Taniai-Riya,  
Taishi Shimazaki, Akemi Takahashi, Yoshifumi Miyakawa, Toshiyuki Shoda  
Toxicology Research Laboratories, Yokohama Research Center, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan  
Tobacco Inc.

## Poster presentation 4 Respiratory system 1

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Masanao YOKOHIRA (Faculty of Medicine, Kagawa University)

Junko SHINOZUKA (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.)

**P-12\*** Histopathological analysis of the respiratory system in C57BL/6J mice exposed to vapor from a novel tobacco vapor product for 6 months

○Saeko Onami, Tadashi Hirata, Hiroaki Suzuki  
Scientific Product Assessment Center, Japan Tobacco Inc.

**P-13\*** Comparisons of a pulmonary toxicity and a clearance of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) in the rats after intratracheal instillation using different two devices

○Ai Maeno<sup>1)</sup>, Yoshimitsu Sakamoto<sup>1)</sup>, Motoki Hojo<sup>1)</sup>, Katsuhiko Yuzawa<sup>1)</sup>, Yuko Hasegawa<sup>1)</sup>,  
Akemichi Nagasawa<sup>1)</sup>, Aya Onuki<sup>1)</sup>, Toshinari Suzuki<sup>1)</sup>, Akiko Inomata<sup>1)</sup>, Takako Moriyasu<sup>1)</sup>,  
Yuko Goto<sup>2)</sup>, Makoto Onishi<sup>2)</sup>, Norihiro Kobayashi<sup>3)</sup>, Akihiko Hirose<sup>3)</sup>, Dai Nakae<sup>4)</sup>  
<sup>1)</sup>Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, <sup>2)</sup>Japan Bioassay Research Center,  
<sup>3)</sup>National Institute of Health Sciences, <sup>4)</sup>Tokyo University of Agriculture

**P-14\* Evaluation of lung toxicity in F344 rat after intratracheal instillation of vapor grown carbon fiber VGCF®-H**

○Takamasa Numano<sup>1)</sup>, Hitomi Higuchi<sup>1)</sup>, Taiki Sugiyama<sup>1)</sup>, Kazunari Uda<sup>1)</sup>, Mayumi Kawabe<sup>1)</sup>, Yukinori Mera<sup>1)</sup>, Kazuko Ikeda<sup>2)</sup>, Ryoji Ogawa<sup>2)</sup>, Kei Sato<sup>2)</sup>, Ayako Nishioka<sup>2)</sup>, Yuji Hagiwara<sup>2)</sup>, Fumiko Banno<sup>2)</sup>, Hiroko Fukui<sup>2)</sup>, Tadashi Yoneda<sup>2)</sup>, Hiroyuki Tsuda<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>DIMS Institute of Medical Science, Inc., <sup>2)</sup>Safety Evaluation Center, Responsible Care Department, SHOWA DENKO K.K., <sup>3)</sup>Nanotoxicology Project, Nagoya City University

**P-15 Neoplastic and nasal non-neoplastic lesion induced by 104-week inhalation exposure to Butyl Methacrylate**

○Hideki Senoh, Shotaro Yamano, Kenji Takanobu, Yumi Umeda, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno  
Japan Bioassay Research Center, JOHAS

## Poster presentation 5 Respiratory system 2

Day 2, February 14, Friday

15:45 - 16:35

Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Mayumi KAWABE (DIMS Institute of Medical Science, Inc.)  
Hirofumi HATAKEYAMA (Ina Research Inc.)

**P-16 Reactive Alveolar Type II hyperplasia in particulate matter inhalation studies**

○Yumi Umeda, Shotaro Yamano, Kenji Takanobu, Hideki Senoh, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno  
Japan Bioassay Research Center, JOHAS

**P-17 Proliferation of pulmonary endocrine cell (PNEC) in rats repeatedly and intratracheally instilled with multi-wall carbon nanotube**

○Yoshimitsu Sakamoto<sup>1)</sup>, Motoki Hojo<sup>1)</sup>, Ai Maeno<sup>1)</sup>, Toshinari Suzuki<sup>1)</sup>, Akiko Inomata<sup>1)</sup>, Takako Moriyasu<sup>1)</sup>, Akihiko Hirose<sup>2)</sup>, Dai Nakae<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, <sup>2)</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agricul.

**P-18 Comprehensive evaluation for sequential and longitudinal incidence of the lung tumor induced by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in female A/J mouse**

○Masanao Yokohira, Keiko Yamakawa, Yuko Narusawa, Yoko Matsuda, Katsumi Imaida  
Oncology Pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University

**P-19 Histopathological analysis of mouse pulmonary fibrosis models induced by oropharyngeal administration of bleomycin or silica**

○Aiko Ishii<sup>1)</sup>, Kyohei Kamio<sup>1)</sup>, Takuya Takeda<sup>2)</sup>, Naoki Kojima<sup>2)</sup>, Yutaka Nakanishi<sup>1)</sup>, Minoru Sasaki<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Taisho Pharmaceutical Co., Ltd. Drug Safety, <sup>2)</sup>Taisho Pharmaceutical Co., Ltd. Pharmacology 2

## Poster presentation 6 Respiratory system 3

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Yumi UMEDA (Japan bioassay research center)  
Takeshi IZAWA (Osaka Prefecture University)

**P-20\*** Pathological studies of lung proliferative lesions induced by *N*-ethyl-*N*-nitrosourea in F344 offspring rats

○Tetsuya Ide<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1)</sup>, Yuji Oishi<sup>2)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

<sup>2)</sup>Molecular Pathology, Graduate School of Medicine, Osaka City University

**P-21\*** Morphological features of lung tumors induced by dermal administration of 1,2-dichloroethane and 2,3-dibromo-1-propanol

○Tomomi Hara, Yuko Doi, Teruaki Hagiwara, Norio Imai, Akari Fujiwara, Mayumi Kawabe

DIMS Institute of Medical Science, Inc.

**P-22** Three-dimensional analysis of lung metastatic tumors in mice

○Jin Soek Kang<sup>1)</sup>, Seyl Kim<sup>2)</sup>, Ha Neul Lee<sup>1)</sup>, Se Ryeong Jeong<sup>1)</sup>, Hyun Ji Won<sup>1)</sup>, Kibeom Park<sup>3)</sup>, Sooah Park<sup>4)</sup>, Woonggyu Jung<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Biomedical, Laboratory Science, Namseoul University, <sup>2)</sup>Ferramed Inc., National Nanofab Center, KAIST, <sup>3)</sup>Department of Biomedical Engineering, Ulsan National Institute of Science and Technology,

<sup>4)</sup>In Vivo Research Center, UNIST Central Research Facilities, Ulsan National Institute of Science and Technology

## Poster presentation 7 Respiratory system 4 and Cardiovascular system

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Hideshi KANEKO (TEIJIN PHARMA Ltd.)  
Tomoya SANO (Takeda Pharmaceutical Company Ltd.)

**P-23\*** Effect of transportation under different temperature conditions on organoids derived from murine normal tissue

○Yuta Irisawa<sup>1)</sup>, Akihiro Hirata<sup>2)</sup>, Hiroki Sakai<sup>1)</sup>, Toshio Imai<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Gifu University, <sup>2)</sup>Department of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu University, <sup>3)</sup>Department of Animal Experimentation, National Cancer Research Institute

**P-24** Intrapulmonary and mediastinal behavior of alveolar macrophages observed in mice exposed by inhalation with nanomaterials with different physical properties

○Shigetoshi Aiso, Shotaro Yamano, Yumi Umeda, Hitomi Kondo, Misae Saito, Kenji Takanobu, Hideki Senoh, Jun Kanno

Japan Bioassay Research Center, Japan Organization of Occupational Health and Safety

**P-25\*** Pathological and pathophysiological features of cardiac lesions in Duchenne muscular dystrophy model rats

○Ryota Tochintai<sup>1)</sup>, Mao Miyamoto<sup>1)</sup>, Shin-Ichi Sekizawa<sup>1)</sup>, Yoshiharu Tsuru<sup>2)</sup>, Masayoshi Kuwahara<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Dep. of Vet. Pathophysiol. and Anim. Health, The Univ. of Tokyo, <sup>2)</sup>Primetech Corp.

## Poster presentation 8 Oral cavity and GI tract 1

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Takashi UMEMURA (Yamazaki University of Animal Nursing)  
Daisuke HIBI (Ono Pharmaceutical Co., Ltd.)

- P-26\*** **C. albicans infection in the forestomach promotes inflammatory carcinogenesis in the non-infected colorectum in diabetic mice**  
○Yuko Izumo, Nanayu Osima, Yui Terayama, Tetsuro Matsuura, Kiyokazu Ozaki  
Setsunan University of Pharmacy
- P-27** **Cholinesterase inhibitor rivastigmine exacerbates dyslipidemia and lipid accumulation of salivary acinar cells in alloxan diabetic rats**  
○Yasushi Kodama<sup>1)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>2)</sup>, Mayumi Kamigaki<sup>1)</sup>, Kumatoshi Ishihara<sup>1)</sup>, Tetsuro Matsuura<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Lab. Pharmacol. and Pathophysiol., Hiroshima Int. Univ., <sup>2)</sup>Lab. Pathol., Setsunan Univ.
- P-28** **Utilization of an orthotopic transplantation model to study the effects of RHOA mutations on DGC morphology**  
○Etsuko Fujii<sup>1)</sup>, Kiyotaka Nakano<sup>1)</sup>, Masami Suzuki<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>Forerunner Pharma Research Co., Ltd., <sup>2)</sup>Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

## Poster presentation 9 Oral cavity and GI tract 2

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Shugo SUZUKI (Osaka City University Graduate School of Medicine)  
Masako IMAOKA (Daiichi Sankyo Co., Ltd.)

- P-29** **Inhibition of tumor necrosis factor alpha and increased of interleukin 10 by lactobacillus to protect against TNBS-induced ulcerative colitis in chicks**  
○Long Jing<sup>1,2)</sup>, Zhiqiang Yu<sup>1)</sup>, Xueli Gao<sup>1)</sup>, Chaonan Liu<sup>1)</sup>, Xiaoping Lv<sup>1)</sup>, Shimin Zheng<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Northeast Agricultural University, <sup>2)</sup>CTI Biotechnology (suzhou) Co., Ltd.
- P-30\*** **Analysis of the toxicity mechanisms on the intestinal injury induced by deoxynivalenol in mice**  
○Kinuko Uno<sup>1)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2)</sup>, Daichi Numata<sup>2)</sup>, Ryota Yato<sup>2)</sup>, Hikaru Hanyu<sup>1)</sup>, Kazuo Hattori<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch., Tokyo Univ. Agricul., <sup>2)</sup>Dept. Nutri. Sci. Food Safety, Tokyo Univ. Agricul.
- P-31\*** **Histopathological study on feline duodenal adenoma**  
○Mizuho Uneyama, James Chambers, Kazuyuki Uchida, Hiroyuki Nakayama  
Laboratory of Veterinary Pathology, The University of Tokyo
- P-32** **Effects and mechanism of action of new anticancer agents**  
○Saeko Ando, Eri Yoshimoto, Harutoshi Matsumoto, Katsumi Fukamachi, Masumi Suzui  
Department of Neurotoxicology, Graduate School of Medical Science and Medical School, Nagoya City University

## Poster presentation 10 Liver and Pancreas 1

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Satoshi SUZUKI (Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.)  
Takashi KOTERA (Nippon Shinyaku Co., Ltd.)

**P-33 Modification effects of Bear Bile Powder on the late period of hepatocarcinoma formation in SD rats**

○Meilan Jin, Mei Zhang, Zexuan Hong, Xinyu Zou, Jian Wang, Zili Wang, Wen Xiong, Yuwei Xu  
Laboratory of Veterinary Pathology, College of Animal Science and Technology, Southwest University

**P-34 Analysis of novel markers and molecular targets in NASH hepatocarcinogenesis**

○Anna Kakehashi, Naomi Ishii, Min Gi, Shugo Suzuki, Hideki Wanibuchi  
Dept Mol. Pathology, Osaka City University, Grad. Sch. Med., Osaka

**P-35 The expression of Sox9 in two different types of GST-P positive foci induced by furan or DEN in terms of their cell kinetics after cessation of carcinogen treatment**

○Shinji Takasu<sup>1)</sup>, Sae Nakane<sup>1,2)</sup>, Yuji Ishii<sup>1)</sup>, Aki Kijima<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>, Takashi Umemura<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,  
<sup>2)</sup>Faculty of Animal Health Technology, Yamazaki University of Animal Health Technology

**P-36\* Investigations of the mechanisms underlying acetamide-induced hepatocarcinogenesis using *gpt* delta rats**

○Kenji Nakamura<sup>1,2)</sup>, Yuji Ishii<sup>1)</sup>, Aki Kijima<sup>1)</sup>, Shinji Takasu<sup>1)</sup>, Takehiko Nohmi<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>2)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,  
<sup>2)</sup>Laboratory of Veterinary Medicine, Tokyo University of Agriculture and Technology

## Poster presentation 11 Liver and Pancreas 2

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Aya NAIKI (Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences)  
Naofumi TAKAHASHI (The Institute of Environmental Toxicology)

**P-37\* Luteolin suppresses pancreatic carcinogenesis by inhibition of pSTAT3 pathway and DPD expression**

○Hiroyuki Kato<sup>1)</sup>, Aya Naiki-Ito<sup>1)</sup>, Shugo Suzuki<sup>2)</sup>, Satoru Takahashi<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Department of Experimental Pathology and Tumor Biology Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, <sup>2)</sup>Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

**P-38\* Effect of *Siraitia Grosvenorii* extract on NASH-like lesions induced by a choline-deficient, methionine-lowered, L-amino acid-defined, high fat diet in mice**

○Akari Abe<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Toshihiro Suzuki<sup>2)</sup>, Ryouta Matsushima<sup>2)</sup>, Tomoyuki Motoyama<sup>3)</sup>, Kinuko Uno<sup>3)</sup>, Megumi Yuki<sup>2,5)</sup>, Ryuhei Sano<sup>3)</sup>, Shuji Ogawa<sup>3)</sup>, Atsushi Watanabe<sup>3)</sup>, Mihoko Koyanagi<sup>4)</sup>, Shim-mo Hayashi<sup>6)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2,3)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2,3)</sup>  
<sup>1)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,  
<sup>2)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture,  
<sup>3)</sup>Department of Food and Nutritional Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,  
<sup>4)</sup>Global Scientific and Regulatory Affairs, SAN-Ei Gen F.F.I., Inc., <sup>5)</sup>NEW HISTO SCIENCE LABORATORY CO., LTD., <sup>6)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Cooperative Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology



**P-39 Diphenylarsinic acid is a transplacental liver carcinogen in CD1 mice**

○Min Gi<sup>1)</sup>, Shugo Suzuki<sup>2)</sup>, Anna Kakehashi<sup>2)</sup>, Takashi Yamaguchi<sup>2)</sup>, Hideki Wanibuchi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Environmental Risk Assessment, Osaka City University Graduate School of Medicine,

<sup>2)</sup>Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

**P-40 Lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity in human hepatocyte chimeric mice (PXB mice)**

○Yuji Sasaki<sup>1)</sup>, Akiko Moriyama<sup>1)</sup>, Ayako Kimura<sup>1)</sup>, Junko Matsuo<sup>1)</sup>, Yukio Fujiwara<sup>2)</sup>, Hiroyuki Izumi<sup>3)</sup>, Kinji Kobayashi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., <sup>2)</sup>Department of Cell Pathology, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University, <sup>3)</sup>Preclinical Company, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

## Poster presentation 12 Liver and Pancreas 3

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Shinichiro IKEZAKI (Pathology Department, BoZo ResearchCenter Inc.)  
Kaoru INOUE (National Institute of Health Sciences)

**P-41\* Analysis of the background mechanism of NASH-like lesions in male hL-FABP Tg mice**

○Kanjiro Ryu<sup>1)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2,3)</sup>, Soon Hui Teoh<sup>2)</sup>, Ayane Yamaguchi<sup>1)</sup>, Kaho Hidaka<sup>3)</sup>, Keiichi Ohata<sup>4)</sup>, Kinuko Uno<sup>2)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>1,3)</sup>, Syuji Ogawa<sup>2)</sup>, Atsushi Watanabe<sup>2)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, <sup>2)</sup>Department of Food and Nutrition Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, <sup>3)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture, <sup>4)</sup>CMIC HOLDINGS Co., Ltd., L-FABP Business Department

**P-42 Comparative immunohistochemical features of the liver in the STHD-01 or CDAHFD-fed NASH model mice —Immunohistochemical examination—**

○Yuko Togashi, Toyohiko Aoki, Yuki Saito, Chieko Ejima, Yui Yamaura, Yasuteru Otagiri, Naomi Matsutani, Seiichiro Kurashige, Ayatoshi Ando, Terutaka Kodama  
Research Institute, EA Pharma Co, Ltd.

**P-43\* Establishment of a NASH animal model by modifying dietary composition in SHRSP5/Dmcr rats**

○Tomoyuki Motoyama<sup>1)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2)</sup>, Kinuko Uno<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Takahiro Masaki<sup>4)</sup>, Tomokazu Matsuura<sup>4)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2)</sup>, Ritsu Furusyo<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch., Tokyo Univ. Agricul., <sup>2)</sup>Dept. Nutri. Sci. Food Safety, Tokyo Univ. Agricul., <sup>3)</sup>Dept. Internat. Food and Agri Sci, Tokyo Univ. Agricul., <sup>4)</sup>Dept. Lab. Med, Jikei Univ. Med.

**P-44 Effect of LPS exposure on the disease progression in a rat NAFLD model**

○Machi Atarashi, Takeshi Izawa, Eri Mizuguchi, Sakura Fujiwara, Mitsuru Kuwamura, Jouji Yamate  
Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

## Poster presentation 13 Liver and Pancreas 4

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Miwa TAKAHASHI (Astellas Pharma Inc.)

Shinji TAKASU (National Institute of Health Sciences)

**P-45\*** A murine model for hepatocarcinogenesis with NASH by a choline-deficient, methionine-lowered, amino acid-defined, high fat diet (CDAA-HT-T (-))

○Noriko Kemuriyama<sup>1)</sup>, Akari Abe<sup>2)</sup>, Kinuko Uno<sup>3)</sup>, Linfeng Gao<sup>2)</sup>, Kanjiro Ryu<sup>2)</sup>, Ayane Yamaguchi<sup>2)</sup>, Megumi Yuki<sup>1,4)</sup>, Syuji Ogawa<sup>3)</sup>, Ryuhei Sano<sup>3)</sup>, Atsushi Watanabe<sup>3)</sup>, Katsuhiro Miyajima<sup>1,2,3)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Nutr. Sci. Food Safety, Facul. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agricul., <sup>2)</sup>Dept. Nutr. Sci. Food Safety, Grad. Sch. Agricul., Tokyo Univ. Agricul., <sup>3)</sup>Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. Agricul., Tokyo Univ. Agricul., <sup>4)</sup>NEW HISTO SCIENCE LABORATORY CO., LTD.

**P-46\*** Pathophysiology study of lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxemia model rats

○Junichi Sugiyama, Hideki Tanaka, Shota Yoshida, Kenji Matsubara, Fumiko Ninomiya, Hiromi Yamamoto, Satoshi Suzuki, Kazuhiko Besshi

Discovery and Preclinical Research Division, TAIHO Pharmaceutical Co., Ltd.

**P-47\*** A case of a peliosis hepatis-like lesion of the liver in a young Sprague-Dawley (SD) rat

○Taishi Shimazaki, Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi, Akiko Anagawa-Nakamura, Kaoru Toyoda, Eriko Taniai-Riya, Akemi Takahashi, Yoshifumi Miyakawa, Toshiyuki Shoda

Toxicology Research Laboratories, Yokohama Research Center, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.

**P-48** Analysis of  $\gamma$ -H2AX positive index in the hepatic carcinogen-administrated rat liver

○Jun-ichi Akagi, Young-Man Cho, Takeshi Toyoda, Yasuko Mizuta, Tetsuya Ide, Akiyoshi Nishikawa, Kumiko Ogawa

Div. Pathology, Natl. Inst. Health Sci.

## Poster presentation 14 Urinary system 1

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Shunji NAKATSUJI (Altasciences Preclinical Seattle LLC)

Saori MATSUO (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.)

**P-49** The regulatory mechanism of androgen receptor splice variant by microRNA in castration-resistant prostate cancer

○Aya Naiki-Ito<sup>1)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>1)</sup>, Shugo Suzuki<sup>2)</sup>, Satoru Takahashi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Experimental Pathology and Tumor Biology Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, <sup>2)</sup>Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

**P-50** Hyperplasia promoting effect of cotinine on rat urinary tract

○Shugo Suzuki<sup>1,2)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>2)</sup>, Aya Naiki-Ito<sup>2)</sup>, Hideki Wanibuchi<sup>1)</sup>, Satoru Takahashi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine, <sup>2)</sup>Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

**P-51\*** The possible role of hepatocyte growth factor (HGF) in tumor development induced by BBN in the rat urinary bladder

○Takanori Yamada<sup>1,2)</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Kohei Matsushita<sup>1)</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., <sup>2)</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agri. Tech.

**P-52\* Search for novel predictive markers for progression from acute kidney injury to chronic kidney disease**

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

<sup>1</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

<sup>2</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology

## Poster presentation 15 Urinary system 2

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Etsuko OHTA (Eisai Co., Ltd.)

Akihito SHIMOI (Ina Research Inc.)

**P-53\* Promotion effects of acetoaceto-o-toluidide on BBN-induced bladder carcinogenesis in rats**

○Nao Yukimatsu, Min Gi, Anna Kakehashi, Shugo Suzuki, Hideki Wanibuchi

Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

**P-54\* Histopathological examination of the kidney in 5/6 nephrectomized mice administered with Angiotensin II**

○Eriko Riya, Yasuharu Numata, Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi, Akiko Anagawa-Nakamura,

Kaoru Toyoda, Taishi Shimazaki, Akemi Takahashi, Yoshifumi Miyakawa, Toshiyuki Shoda

Yokohama Research Center, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.

**P-55 Method for producing of stable rat model of chronic kidney disease-mineral bone disorder**

○Takumi Horikawa, Yusuke Sano, Haruka Uki, Atsushi Watanabe

Medical Technology & Material Laboratory, Medical Products Development Division, Asahi Kasei Medical Co., Ltd.

**P-56\* Pathological features of imiquimod-induced lupus nephritis model**

○Atsuko Murai<sup>1</sup>, Masaki Yamazaki<sup>1</sup>, Kaori Nishihara<sup>1</sup>, Aki Kito<sup>2</sup>, Atsuhiko Kato<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pathology Group, Discovery Technology Dept., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.,

<sup>2</sup>Frontier 1G, Discovery Pharmacology Dept., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

## Poster presentation 16 Urinary system 3

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Atsushi WATANABE (Asahi Kasei Medical Co., Ltd.)

Noriko TSUCHIYA (Shionogi & Co., Ltd.)

**P-57 Juvenile eosinophilic inflammation at ureteropelvic junction induces hydronephrosis and chronic inflammation-related urothelial cancer in mutant mice derived from C57 BL/6 strain**

○Kiyokazu Ozaki, Tetsuro Matsuura

Lab. Pathol. Setsunan Univ.

**P-58\* Investigation of pathological changes in kidney and heart in dead SDT fatty rats**

○Ayane Yamaguchi<sup>1</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2,3</sup>, Anna Hashimoto<sup>3</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>3</sup>,

Masami Shinohara<sup>4</sup>, Takeshi Ohta<sup>5</sup>, Dai Nakae<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate school of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,

<sup>3</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture,

<sup>4</sup>Tokyo Animal & Diet Dept. CLEA japan, Inc.,

<sup>5</sup>Laboratory of Animal Physiology and Functional Anatomy, Graduate School of Agriculture, Kyoto University

**P-59 Early detection of renal carcinogens by immunohistochemistry for  $\gamma$ -H2AX: determination of appropriate time point for evaluation**

○Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Takanori Yamada<sup>1,2)</sup>, Kohei Matsushita<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

<sup>2)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology

**P-60\* A case of RccHan<sup>TM</sup>:WIST rat with multiple primary tumors and non-neoplastic proliferative lesions**

○Chisato Hayakawa, Masayuki Kimura, Yusuke Kuroda, Seigo Hayashi, Kazuya Takeuchi, Satoshi Furukawa

Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Corporation

## Poster presentation 17 Reproductive system and Mammary glands

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Hitoshi KANDORI (Axcelead Drug Discovery Partners, Inc.)  
Junko SATO (LSI Medience Corporation)

**P-61 Effects of ulipristal acetate on female reproductive system in rats**

○Motoko Fukui<sup>1)</sup>, Rieko Okame<sup>2)</sup>, Norio Fukui<sup>2)</sup>, Seiji Shibata<sup>2)</sup>, Mitsui Isobe<sup>2)</sup>, Shigeru Hisada<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Development division, ASKA Pharmaceutical Co., Ltd.,

<sup>2)</sup>Innovative Drug Discovery division, ASKA Pharmaceutical Co., Ltd.

**P-62 Squamous cell carcinoma originating from the epididymis in a transgenic mouse (Tg rasH2)**

○Manabu Ikeda, Toshihisa Fujiwara, Junko Fujishima, Kinji Kobayashi

Drug Safety Research Laboratories Pathology Department Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

**P-63 Phenotypic changes of patient-derived endometrial cancer xenograft by increased passages**

○Toshio Imai<sup>1)</sup>, Yukino Machida<sup>1)</sup>, Angeline Ping Ping Teh<sup>1)</sup>, Hiroshi Yoshida<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Central Animal Division, National Cancer Center Research Institute,

<sup>2)</sup>Department of Pathology, National Cancer Center Hospital

**P-64\* Incidence and characteristics of ovarian sex cord-stromal tumors in CrIj:CD-1(ICR) mice**

○Moeko Aoki, Isamu Suzuki, Tomomi Nakazawa, Saori Igura, Hiroshi Edamoto, Shinichiro Ikezaki, Yuko Yamaguchi

Pathology Department, Bozo Research Center Inc.

## Poster presentation 18 Endocrine system

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Akira INOMATA (FUJIFILM Corporation)  
Kosei INUI (Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.)

**P-65 Comprehensive analysis of microRNAs targeting *Vegfs* in pre-metastatic and post-metastatic niches in the lymph nodes of a mouse mammary cancer model**

○Masa-Aki Shibata<sup>1)</sup>, Kohei Taniguchi<sup>2,3)</sup>, Daisuke Okuzaki<sup>4)</sup>, Yuko Ito<sup>3)</sup>, Chinatsu Shiraoka<sup>1)</sup>, Rintaro Oide<sup>3)</sup>, Yoichi Kondo<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Anat. and Cell Biol., Div. of Life Sci., Osaka Medical College, <sup>2)</sup>Dept. General Gastroenterological Surg., Osaka Medical College, <sup>3)</sup>Transl. Res. Prog., Osaka Medical College, <sup>4)</sup>Genome Info. Ctr., Res. Inst. Microbial Diseases, Osaka University

**P-66 Histological characteristics of the thyroid gland in growth-retarded mice**

○Kenichi Kobayashi, Hisayo Kubota, Katsumi Ohtani  
National Institute of Occupational Safety and Health, Japan

**P-67\* Islet cell carcinoma with angiovasion in a F344 rat**

○Shiori Fujiwara, Tsubasa Saito, Mizuho Takagi, Osamu Hashiguchi, Yumiko Kamiya, Kochi Kakimoto,  
Toru Hoshiya, Yuko Yamaguchi  
Pathology Department, Bozo Research Center Inc.

## Poster presentation 19 Skin system and Locomotorium 1

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Norihiro SATO (Asahi Kasei Pharma Corporation)  
Chihiro NOGUCHI (Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.)

**P-68\* A Comparison of histopathology in the knee joint of osteoarthritis rat models**

○Kei Kijima, Yuka Minamisawa, Yamato Sasaki, Shuhei Takada, Hiroaki Yamaguchi, Aisuke Nii  
Central Research Lab., Seikagaku Co.

**P-69 A case of spinal curvature in a cynomolgus monkey**

○Hirotohi Akane, Hiro Eda, Sumiko Okuda, Masaru Sugiyama, Atsuko Ichikawa, Yasuki Akie  
CMIC Pharma Science Co., Ltd.

**P-70 Evaluation of the percutaneous toxicity of metal nanomaterials using a 3-dimensional reconstructed human epidermis model**

○Shuji Ogawa<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Miyu Onishi<sup>2)</sup>, Yuri Hashiguchi<sup>2)</sup>, Ryoko Urasaki<sup>2)</sup>,  
Katsuhiro Miyajima<sup>1,2)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. Tokyo Univ. Agricul., <sup>2)</sup>Tokyo Univ. Agricul.

## Poster presentation 20 Skin system and Locomotorium 2

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Kinji KOBAYASHI (Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.)  
Tomo SASAKI (Maruho Co., Ltd.)

**P-71\* Percutaneous toxicity evaluation of folpet by 3D human skin reconstruction system**

○Hina Mandokoro<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Ayako Ogawa<sup>2)</sup>, Shuji Ogawa<sup>3)</sup>, Akari Abe<sup>1)</sup>, Linfeng Gao<sup>1)</sup>,  
Ayane Yamaguchi<sup>1)</sup>, Kinuko Uno<sup>1,3)</sup>, Kanjiro Ryu<sup>1)</sup>, Katsuhiro Miyajima<sup>1,2)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of  
Agriculture, <sup>2)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University  
of Agriculture, <sup>3)</sup>Department of Food and Nutritional Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of  
Agriculture

**P-72\* Immunohistochemical characterizations of cytokeratin subtypes in the epithelial organs of head, neck and thoracic parts in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*)**

○Shota Yoshida, Hideki Tanaka, Junichi Sugiyama, Kenji Matsubara, Fumiko Ninomiya,  
Hiromi Yamamoto, Satoshi Suzuki, Kazuhiko Besshi  
Discovery and Preclinical Research Division, TAIHO Pharmaceutical Co., Ltd.

**P-73\* Junctional epidermolysis bullosa (JEB) caused by a single base duplication in Col17a1 in SD rats**

○Yoshitaka Katoh, Yasushi Nishioka, Akira Sato, Naoko Endo, Tsuyoshi Ito, Aya Koyama,  
Naofumi Takahashi, Atsushi Shiga, Hiroaki Aoyama, Takanori Harada  
The Institute of Environmental Toxicology

## Poster presentation 21 Miscellaneous 1

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Mari IIDA (University of Wisconsin-Madison)  
Tomo SUZUKI (Yakult Honsha Co., Ltd.)

**P-74\* Testicular lesions by exposure to trifluoroethanol and its metabolites in medaka**

○Yusuke Kuroda, Masayuki Kimura, Chisato Hayakawa, Seigo Hayashi, Kazuya Takeuchi,  
Satoshi Furukawa  
Nissan Chemical Corporation

**P-75\* Time course of histopathological changes in the rat peritoneal mesothelioma induced by MWCNT focusing on inflammatory and immune activities**

○Motoki Hojo<sup>1)</sup>, Yoshimitsu Sakamoto<sup>1)</sup>, Yukio Yamamoto<sup>1)</sup>, Ai Maeno<sup>1)</sup>, Yukie Tada<sup>1)</sup>, Yuko Hasegawa<sup>1)</sup>,  
Katsuhiro Yuzawa<sup>1)</sup>, Akemichi Nagasawa<sup>1)</sup>, Kazuyoshi Tanaka<sup>1)</sup>, Norio Yano<sup>1)</sup>, Toshinari Suzuki<sup>1)</sup>,  
Akiko Inomata<sup>1)</sup>, Takako Moriyasu<sup>1)</sup>, Akihiko Hirose<sup>2)</sup>, Dai Nakae<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup>Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, <sup>2)</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agricul.

**P-76 A retrospective survey on Transgenic mouse carcinogenicity studies for prescription drugs**

○Mizuho Nonaka<sup>1)</sup>, Jihei Nishimura<sup>1)</sup>, Misaki Naota<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>2)</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), <sup>2)</sup>National Institute of Health Sciences

**P-77 Pathological approach for non-clinical evaluation of human autologous skeletal myoblast sheets**

○Junko Soubu<sup>1)</sup>, Hisako Terao<sup>1)</sup>, Masako Tasaki<sup>1)</sup>, Naoko Tanaka<sup>1)</sup>, Kasuke Nagano<sup>2)</sup>, Hitoshi Nishida<sup>1)</sup>,  
Hitomi Hagiwara<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Terumo Corporation, <sup>2)</sup>Nagano Toxicologic-Pathology Consulting

## Poster presentation 22 Miscellaneous 2

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Toshio IMAI (National Cancer Center Research Institute)  
Ryo ANDO (School of Veterinary Medicine, Kitasato University)

**P-78\* PD-L1 expression in hemangiosarcomas (HSA) identified in the short-term carcinogenicity model using rash2 mice: anti-tumor evaluation under tumor microenvironment**

○Teruaki Hagiwara, Hiroto Miyata, Mayuko Suguro, Daiki Sugiyama, Yukinori Mera  
DIMS Institute of Medical Science, Inc.

**P-79 Ultrastructural artifacts of the skeletal muscle and heart in beagle dogs in electron microscopic examinations**

○Yusuke Kemmochi, Yuzo Yasui, Akiko Anagawa-Nakamura, Kaoru Toyoda, Eriko Taniai-Riya,  
Taishi Shimazaki, Akemi Takahashi, Yoshifumi Miyakawa, Toshiyuki Shoda  
Toxicology Research Laboratories, Yokohama Research Center, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.



**P-80 Use of minipigs in juvenile toxicity studies**

○Robert R. Maronpot<sup>1)</sup>, Abraham Nyska<sup>2)</sup>, Shim-mo Hayashi<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Maronpot Consulting, LLC, <sup>2)</sup>Tel Aviv University, <sup>3)</sup>Tokyo University of Agriculture and Technology

## Poster presentation 23 Miscellaneous 3

Day 2, February 14, Friday 15:45 - 16:35 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

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

Satomi NISHIKAWA (Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd.)

**P-81 Spontaneous tumors and 2-year survival rate in F344/DuCrIcrlj rat carcinogenicity studies**

○Kenji Takanobu, Shotaro Yamano, Hideki Senoh, Yumi Umeda, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno  
Japan Bioassay Research Center, JOHAS

**P-82\* Historical data for the histopathology on the liver and spleen in juvenile Crl:CD(SD) rats**

○Jun Watanabe<sup>1)</sup>, Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Yoshihiro Takei<sup>1)</sup>, Haruko Koizumi<sup>1)</sup>, Tetsuyo Kajimura<sup>1)</sup>,  
Akihito Shimoi<sup>1)</sup>, Shinichi Satou<sup>1)</sup>, Hijiri Iwata<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Ina Research Inc., <sup>2)</sup>LunaPath LLC.

**P-83\* Investigation for the contribution of BMP9 signaling on vascularization using *in vitro* tube formation assay**

○Maya Kimura<sup>1)</sup>, Heather Estrella<sup>2)</sup>, Tadahiro Shinozawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Drug Safety Research and Evaluation, Research, Takeda Pharmaceutical Company Limited, <sup>2)</sup>Takeda California

## Poster presentation 24 Miscellaneous 4

Day 1, February 13, Thursday 16:55 - 17:45 Poster and Exhibition (Building 1st, 1F room 131 & 132)

Chair: Toshiyuki SHODA (JAPAN TOBACCO INC.)

Toshiko KINOMOTO (ZERIA Pharmaceutical Co., Ltd.)

**P-84 INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions —an update— 2020**

○Shimmo Hayashi<sup>1)</sup>, CM Keenan<sup>2)</sup>, A Bradley<sup>3)</sup>, DG Goodman<sup>4)</sup>, Takanori Harada<sup>5)</sup>, R Herbert<sup>6)</sup>,  
Hijiri Iwata<sup>7)</sup>, M Jacobsen<sup>8)</sup>, R Kellner<sup>9)</sup>, B Mahler<sup>6)</sup>, E Meseck<sup>10)</sup>, T Nolte<sup>11)</sup>, S Rittinghausen<sup>9)</sup>,  
J Vahle<sup>12)</sup>, Katsuhiko Yoshizawa<sup>13)</sup>

<sup>1)</sup>Japanese Society of Toxicologic Pathology, <sup>2)</sup>CM Keenan ToxPath Consulting, <sup>3)</sup>Charles River,

<sup>4)</sup>Independent Consultant, <sup>5)</sup>The Institute of Environmental Toxicology, <sup>6)</sup>NIEHS, <sup>7)</sup>LunaPath LLC, Laboratory of  
Toxicologic Pathology, <sup>8)</sup>AstraZeneca, <sup>9)</sup>Fraunhofer ITEM, <sup>10)</sup>Novartis Institute for Biomedical Research,

<sup>11)</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, <sup>12)</sup>Eli Lilly & Company, <sup>13)</sup>Mukogawa Women's University

**P-85 Actual pathologist's involvement with SEND —The role of pathologists in SENDIG 3.1**

○Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Haruko Koizumi<sup>1)</sup>, Shin-ichi Horikawa<sup>1)</sup>, Konomi Iino<sup>1)</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1)</sup>,  
Takayuki Anzai<sup>2)</sup>, Hijiri Iwata<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Ina Research Inc., <sup>2)</sup>Showa University School of Medicine, <sup>3)</sup>LunaPath LLC

**P-86 Investigation of long-term preservability of histopathological specimens**

○Kouji Shimouchi, Daisuke Hibi, Norifumi Takimoto, Yukihiko Yanagizawa, Hiroyuki Yanagi,  
Masanori Kuribayashi

Ono Pharmaceutical Co., Ltd.





## **Abstracts**

Chairperson's Special Session

Special Session

Symposium

Workshop

IATP/JSTP Maronpot Guest Lecture



## ASL-1

## Why risk communication with the general public is difficult

○ Kazuya Nakayachi

Faculty of Psychology, Doshisha University

Toxicologists are likely to have experienced situations where their explanations regarding the adverse health effects of vaccinations or agricultural chemicals were not convincing to laypersons despite the absence of jargon and their ease of comprehension. Similarly, while people sometimes agree with expert advice, they do not implement the consequent behavioral changes. Why does this happen? In this presentation, these problems are discussed based on dual-process theories, which posit two modes of thinking: System 1 and System 2. System 1 is intuitive, affect-oriented, rapid, and requires low cognitive load. System 1 plays a direct and primary role in motivating behavior. System 2 is logical, reason-oriented, slow, and deliberative. System 2 goes beyond mere intuition and examines the tradeoff between risks and benefits. When experts prepare their messages, they are reliant on System 2's specialized knowledge, assuming that even among recipients it would be System 2 that would come into effect. However, even if System 2 helps recipients understand the messages, their behaviors do not change because System 1 is dominant in the determination of behavior. Based on dual-process theories, this presentation focuses on the difficulty in risk communication between experts and the general public, subsequently presenting an avenue to increase the efficacy of experts' messages.

---

### ■ Biography

Kazuya Nakayachi is a Professor in the Faculty of Psychology at Doshisha University. He received his PhD degree in psychology from Doshisha University in 2003. His research focuses on risk perception and trust in risk managers. He has published several papers in Risk Analysis as well as in the International Journal of Disaster Risk Reduction, and received the Best Paper Award of the Society for Risk Analysis in 2013.

## ASL-2

## Problems occurring in the crisis communication fields—Scientists just enough to be correct?

○ Fumitaka Shibata

Tokyo University of Agriculture

In recent years, in the event of an emergency such as a nuclear power plant accident caused by the Great East Japan Earthquake, communication problems between experts and the general public, the media and politicians have become a problem. The more sincere professionals try to communicate, think that their mission is to inform and understand scientifically correct facts and make use of technical terms and research data, to pass the knowledge on to the general public. However, for citizens with poor basic knowledge, the content is often esoteric, leading to repulsion that the narrative style of such experts is unilaterally pushing scientifically correct knowledge. In Greek, the dialogue is called dialogos. It consists of the meaning of a logo (truth) deer. In other words, talking was an act of sharing and understanding the truth of a certain thing. If specialists talk with citizens and try to understand important facts, even if academic rigor and accuracy may be slightly impaired, they should approach while measuring their understanding. And it is important not to break the attitude of approaching the facts that can be shared. To that end, steady activities are indispensable. While aiming to improve scientific literacy through civic lectures, it is also important to cultivate in the field what kind of explanation styles should not be misleading, and how they should interact with disaster prevention officers and politicians.

## ■ Biography

Fumitaka Shibata

Graduated from Meiji University, Faculty of Law in 1982 and joined Yomiuri Shimbun. Covered life science, nuclear policy, space development, etc. as a staff writer, Science News Department.

Editor, Science News Department (2008–12)

Deputy Managing Editor (2012), Senior Writer (2007–08, 2012–17).

Professor, Tokyo University of Agriculture (2017–).



## SL1-1

## Relationship between gene instability in Pluripotent Stem Cells and incident of tumor

○ Shin Kawamata

Foundation for Biomedical Research and Innovation

The most considerable risk in cell therapy using Pluripotent Stem Cells (PSCs) is a tumorigenic event from the transplanted cells. Tumorigenic events can be caused by 1. residual of differentiation-resistant-undifferentiated cells or intermediate cells, 2. genetic abnormality induced during culture due to gene instability, 3. overlooking the tumorigenic incidence because of inappropriate tumor detection test design. Unlike the basic research, the clinical practices always accompany the risks, therefore, we need to identify the foreseeable risks, evaluate the identified risks and explain why we accept such evaluated risks. In this seminar, we discuss the tumorigenesis caused by genetic abnormalities in cells. Unlike somatic stem cells, PSCs can be divided infinitely in an undifferentiated state in theory, therefore, the chance of mutations such as single nucleotide variants (SNVs), insertions and deletions (Indel), and copy number variants (CNVs) increases as the number of divisions increases. Among these mutations, CNVs can be assessed quantitatively with ease with DNA arrays, and the risk of tumorigenesis is high, if CNVs  $\geq 4$  is found with a Karyostat HD array (Thermo Fisher). If the CNVs below 4, we conduct *in vivo* tumorigenicity test to determine the tumorigenicity. However, “oncogene” listed in Cosmic census list or Shibata list may seldom (1/29 cases) generate tumor in NOG mouse after transplant.

## ■ Biography

Shin Kawamata, MD, PhD  
 Director, Research and Development Center for Cell Therapy  
 Foundation for Biomedical Research and Innovation (FBRI)

## Professional Experiences

1990 Medical Doctor, Kyoto University Hospital  
 1991 Medical Doctor, Japanese Red Cross Wakayama Medical Center  
 1999 Post doctoral fellow, SyStemix Inc.

## Post doctoral fellow, Stanford University

2002 Senior Research Scientist, FBRI  
 2015-present Director, Research & Development Center for Cell Therapy, FBRI

## Educational Background

1981 Bachelor of Science, Kyoto University  
 1990 Medical Doctor, Kobe University  
 1998 PhD of Pathology, Kyoto University

Shin Kawamata studied physics at Faculty of Science of Kyoto University, Japan and medicine at the medical school of Kobe University, Japan. He started his carrier as a medical doctor (hematology) and got his PhD degree from Kyoto University. He developed various human leukemia models in SCID mice in his post doctoral period at Systemix Co. and Stanford University, USA. He became the leader of Regenerative Medicine Research Unit and the general manager of Cell Processing Facility at FBRI and Director of R&D Center for Cell Therapy. His major research fields are cell biology of Pluripotent Stem Cell and hematopoietic cell differentiation.

## SL1-2

## Tumorigenic features of human iPS cell lines

○ Satoshi Yasuda

Division of Cell-Based Therapeutic Products, National Institute of Health Sciences

Human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) are expected as raw materials for human cell therapy products (CTPs), due to their pluripotency to differentiate into various types of cells and self-renewal capacity. Since hiPSCs have the intrinsic ability to form teratomas, the presence of undifferentiated iPS cells in CTPs is concerned as a potential risk of tumor formation after transplantation. Quantitative and qualitative issues can be indicated on tumorigenic risk of CTPs: 1) methods for detection and interpretation of slight undifferentiated/tumorigenic cells contained in  $10^4$  to  $10^9$  cells presumably used for treatment with CTPs, and 2) methods for prediction and management of the pathological characteristics of tumors derived from undifferentiated hiPSCs. Therefore, to manage tumorigenic risk of hiPSC-derived CTPs, it is necessary to understand not only the amount of residual undifferentiated cells but also the features related to tumorigenicity of the hiPSCs used as raw materials. In this session, features related to tumorigenic of hiPSC lines will be discussed with results obtained from in vivo tumorigenicity tests, pathological evaluation of formed tumors, comprehensive gene expression analysis, and exome analysis of hiPSC lines.

## ■ Biography

Satoshi Yasuda, PhD, is currently Chief at Division of Cell-Based Therapeutic Products, National Institute of Health Sciences (NIHS). He received his PhD in Pharmaceutical Sciences from Nagoya City University in 1999. In his research career, he worked on biochemistry and cell biology of lipids as a postdoctoral researcher at National Institute of Infectious Diseases and University of Tennessee Health Science Center. After continuing his area of interest as an instructor of Sapporo Medical University School of Medicine, he joined Division of Cellular and Gene Therapy Products at NIHS as Senior Researcher in 2009. Until now, he has been dedicated to development of testing methods evaluating quality of cell therapy products derived from human pluripotent stem cells, from the perspective of tumorigenicity and differentiation biases.

SL2

## Pathology of immune-mediated drug-induced liver injury in immuno-oncology checkpoint inhibitor combination therapy

○ Timothy Affolter, Heather Llewellyn, Changhua Ji

Global Pathology, Pfizer Drug Safety Research and Development

Immune checkpoint inhibitors (CPI) are the cornerstone drugs of immuno-oncology and generally act by promoting T cell activation with subsequent tumor cell killing. Current animal models under predict the incidence and severity of immune-related adverse events observed with CPI drug combinations in the clinic. We have developed a novel mouse model that closely recapitulates these immune-mediated adverse events in the setting of a combined checkpoint blockade. Co-administration of a CTLA4 blocking antibody and an IDO1 inhibitor to PD1 knockout mice drives inflammation and necrosis in the liver, and more sporadically in other tissues, with histopathologic phenotypes similar to what has been reported clinically. Immunophenotyping of the inflammation revealed an expanded oligoclonal population of CD8+ T cells, with elevated ICOS and CD44 expression. Several novel technologies including laser capture microscopy, digital image analysis, and single cell transcriptomic analysis were used to further characterize the expression of several activation and exhaustion markers in infiltrating CD8+ T cell population. Global depletion of CD8+ T cells attenuated CPI-induced liver injury.

### ■ Biography

Timothy W. Affolter  
Associate Research Fellow  
Global Pathology, Drug Safety Research and Development, Pfizer Inc.

Tim Affolter is a pathologist at Pfizer in La Jolla, California with 14 years of industry experience in discovery and toxicologic pathology with an emphasis in the therapeutic areas of oncology and immunology. Prior to his career at Pfizer, Tim completed a fellowship in zoo and wildlife pathology at the Zoological Society of San Diego, preceded by pathology residency and advanced training at the University of California (Davis). Tim is also an accomplished musician and songwriter, and in his spare time he enjoys playing ice hockey, travelling, and spending time with his four children.

## S1-1

## Current topics in biological safety assessment of medical devices

## ○ Yuji Haishima

Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences

To obtain regulatory approval of a medical device contacting with human bodies, it is necessary to conduct a biological safety test as a nonclinical test. The framework and procedure of biological safety assessment for medical devices is defined in the international standard ISO 10993 and used in national regulations. In Japan, JIS T 0993-1 is issued, and the regulatory policy is shown by Domestic guidance “Basic principles of biological safety evaluation required for application for approval to market medical devices”.

The ISO 10993-1 revised in August 2018 has drastically reviewed the endpoint of test packages required for the evaluation. In the 10993 series, the part of irritation and skin sensitization tests (10993-10) is greatly modified. In addition, since the citation standards of 10993-1 such as 10993-17 and 10993-18 are also in revision, biological safety evaluation method using chemical analysis according to TTC approach are becoming international standards.

With the issuance of ISO 10993-1: 2018, JIS T 0993-1 and domestic guidance are currently being revised, and the contents of irritation tests and blood compatibility tests in the domestic guidance are largely modified. In this presentation, the recent trends in the biological safety assessment of medical devices will be outlined such as the revise status of the ISO 10993 series and domestic standards, greatly modified-test methods, and the basic concept of assessment using chemical analysis.

### ■ Biography

Yuji Haishima

#### [Education]

1980.4–1984.3 School of Pharmaceutical Sciences, Josai University  
 1984.3–1986.3 Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Josai University  
 Master of Pharmaceutical Science  
 1986.4–1989.3 Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Josai University  
 PhD of Pharmaceutical Science

#### [Work Experience]

1989.4–1990.3 Postdoctoral Fellow, Department of Biochemistry, Borstel Institute (Germany)  
 1990.4–1996.3 Researcher, Division of Microbiology, National Institute of Health Sciences  
 1996.4–1997.3 Senior Researcher, Division of Microbiology, National Institute of Health Sciences  
 1997.4–2016.3 Section Chief, Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences  
 2016.4–Present Director, Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences  
 1996.7–1996.8 Sterility Testing Specialist, Tianjin Pharmaceutical Laboratory, JICA China Tianjin Pharmaceutical Inspection Technology Project  
 2013.4–Present Invited Researcher, Institute for Medical Regulatory Science, Waseda University  
 2019.4–Present Invited Professor, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

## S1-2

## From the non-clinical study scene in medical device development

○ Hitomi Hagiwara

Terumo Corporation Evaluation Center

Pharmaceutical and Medical Device Act defines that “The term “medical device” as used in this Act refers to appliances or instruments, etc. which are intended for use in the diagnosis, treatment or prevention of disease in humans or animals, or intended to affect the structure or functioning of the bodies of humans or animals (excluding regenerative medicine products), and which are specified by Cabinet Order”. Pharmaceutical application for medical devices that contact body requires non-clinical biological safety evaluation. The framework and methods of the evaluation is specified in ISO 10993, which is incorporated in local regulations. In Japan, MHLW Guidance (Yakushokuki-hatsu 0301 No. 20, 2012) was issued along with JIS T 0993-1. ISO 10993 series is currently being revised. There is wide range of medical devices; those toxicological risks should be assessed based on the nature, duration, and area of the body contact. Among those evaluation items, systemic toxicity tests with extract liquid and implantation tests are associated with pathology. Since some devices contain hard material, resin samples are required in evaluation of the interface to the body. Experiments with large animals are needed depending on the size of devices. In addition, its property should be considered for evaluation of biodegradable material. In this presentation, evaluation methods concerning drug-eluting stent, vascular graft, and adhesion barrier will be focused.

## ■ Biography

Hitomi Hagiwara

Graduated from University of Tokyo, Faculty of Pharmaceutical Sciences.

Joined Terumo Corporation to research and develop the safety evaluation of pharmaceuticals and medical devices.

Participated in research of vascular pathology at Yamanashi Medical University, Department of Pathology.

## S1-3

## Availability of the morphological analyses for biocompatibility evaluation of medical devices

○ Yasushi Miyauchi

Department of Bio Research, Kamakura Techno-Science, Inc.

As for tests that pathological examination is conducted in accordance with guidelines, Yakushokuki-hatsu 0301 No.20 or ISO 10993 and so on, for biological safety evaluation of medical devices, implantation test for implant materials to the human body, eye wearing test for contact lens and systemic toxicity test are known. The important point is that the evaluation is to be assessed the appropriate risk to the human body based on device usage. In process of safety evaluation, it is important for the pathologist not only to see the abnormal changes histologically but also to consider these lesions totally from the aspect of morphology, including tissue remodeling. On the other hand, in the development of medical devices, various methods utilizing advantage of the morphological analyses, are supporting the effectiveness of medical devices. The advantage of the various pathological tissue staining methods in addition to HE stain, immunohistochemical method, transmission electron microscopes (TEM) and scanning electron microscopes (SEM) will be introduced through my experiences on the occasion of medical device evaluations. Moreover, the availability and future potentiality of the morphological analyses for biocompatibility evaluation of medical devices will be referred, including the new morphological analysis by the 3-dimensional ultrastructure analysis using FIB-SEM.

---

### ■ Biography

Yasushi Miyauchi

#### Education

April 1987–March 1990; Laboratory of Veterinary Pathology, The University of Tokyo

#### Experience/Employment

April 1990–December 2002; Pharmaceutical Research Laboratories, Toray Industries, Inc.

• Pharmacological and toxicological research in the drug development process

January 2003–; Department of Bio Research, Kamakura Techno-Science, Inc. (Toray Group)

• Safety evaluation of drugs, foods and chemical materials

• Biological evaluation of medical devices

• Risk assessment of medical devices and chemical materials



## S2-1

## Trends in regulation and animal substitution tests for cosmetic safety evaluation in Korea

○ Jae-Sik Hwang

Dt&amp;CRO

As the abolition of animal testing in the cosmetics market has expanded globally, the Cosmetics Act of Korea, which bans animal testing, has been implemented in 2016. In the world including Korea's KoCVAM, they have established a validation study center for alternative animal testing methods such as ECVAM, ICCVAM, JaCVAM and conducted validation study on the need for alternative animal testing methods. In the cosmetics alternative animal test method, the European Union has banned animal tests on cosmetics and cosmetic raw materials since 2013. Korea has banned animal tests on cosmetics and cosmetic raw materials since 2017. It is also mandatory to carry out the test methods set out in the OECD and FDA guidelines. Since 2017, alternative animal tests methods has been activated in Korea, and 19 test guidelines have been established. In Japan, JaCVAM was established in 2005 under the National Institute of Health Science (NIHS), which is responsible for research and development of alternative animal test methods. JaCVAM also contributes internationally through efforts to validate alternative test methods and establish guidelines. This study is a comparison of regulation and the current status of the alternative animal test methods for cosmetic permissions in Korea.

## ■ Biography

Jae-Sik Hwang, DVM, Ph.D.

## Employment History

· College of Veterinary Medicine, Yanbian University	1982–
Assistant Professor	1987–
Associate Professor	1994–
· Institute of Veterinary Medicine, Chungbuk University	1997–
Senior Researcher	1998–
· Biototech Co., LTD	2002–2018
Researcher of Toxicology Group	2002–2004
Study Director of Toxicology Group	2005–2018
· Dt&CRO Co., LTD	2019–
Senior Principal Researcher	Present

## Education

· Ph.D. in veterinary science (Chungbuk University)	2002
· MA in veterinary science (Chungbuk University)	1999
· BA in veterinary science (Yanbian University)	1982

## Number of paper

- Author: 15
- Co-author: 12

## S2-2

## Effort of ILSI Japan to advance food safety assessment

○ Yasuhiro Tanaka<sup>1,2)</sup><sup>1)</sup>ILSI Japan, <sup>2)</sup>SUNTORY MONOZUKURI EXPERT LIMITED

For the purpose of promoting appropriate food safety assessment, ILSI Japan has compiled (Food Safety Assessment Points) that contain the main points of food safety assessment and encouraged understanding of new evaluation methods of safety assessments. Currently, one of the issues of food safety assessments is the use of new methods based on alternatives to animal testing. In order to evaluate the safety of food additives or functional food ingredients, repeated dose toxicity tests using animals may be required. Some animal-free methods include toxicity prediction methods using existing information and new *in vitro* toxicity methods. However, currently none are authorized by law. In this situation, ILSI Japan has launched a project to promote animal experiment alternatives in the field of food safety with the aim of contributing to alternatives to animal testing that can be used for food safety. As of September 2019, in total, 15 food-related companies are participating in this initiative by (gathering information on the latest technologies,) (promoting research to accelerate alternative approaches,) and (spreading information for the formation of consensus,) by collaborating with academia. As one example of specific activities, we are constructing a toxicity test database on food ingredients. In this symposium, I will be introducing the outlining methods of food safety assessment and the latest efforts in the project, as well as the expectations of ILSI Japan for JSTP.

## ■ Biography

Yasuhiro Tanaka  
Kagoshima University  
Bachelor of Department of Biochemical Science and Technology, Faculty of Agriculture, March 2004.  
Master of Agriculture, March 2006.

## Experience

Shin Nippon Biomedical Laboratories Ltd., April 2006.  
Suntory MONOZUKURI Expert Ltd., Quality Assurance Division, September 2009.  
ILSI Japan Risk Assessment Task Force, 2009.  
ILSI Japan Risk Assessment Task Force, Alternatives to Animal Testing Project in Food, 2018.  
ILSI Japan, Alternatives to Animal Testing Project in Food, Database Working Group, 2019

## S2-3

## The fresh water snail as a specific model in environmental toxicity study and the histopathological changes under testing

○ Klaus Weber

AnaPath GmbH

There are three main issues that may be considered for testing on endocrine activity on aquatic organisms:

- product safety for humans
- product safety in environment
- economical considerations

Invertebrates play an important role in ecosystems as herbivores, carnivores, and destruenters, thus contributing to the maintenance of energy flow and cycles of matter. With a number of approximately up to 130,000 living species, the diverse molluscan phylum can be found in almost all biotopes world-wide. Approximately 80% of the molluscs are gastropods (snails), and from these about 35,000 species populate terrestrial, freshwater or marine habitats.

The extent of possible effects of chemicals on molluscs came into public regard with the dramatic effects of tributyltin (TBT) compounds, which have broadly been used as antifouling agents for ships.

Strategies for the use of molluscs as multidisciplinary models in ecotoxicity studies are proposed, mainly due the fact that some metabolic pathways show homologies to vertebrates. Misinterpretation for endocrine effects in testing products on snails need to be elucidated by histopathology. Mainly irritative effects (inflammation, degeneration etc.) and parasitic infections may be primary causes of changed physiological parameters (e.g. fertility, fecundity).

### ■ Biography

Weber, Klaus  
CEO  
AnaPath GmbH  
AnaPath Services GmbH

Klaus Weber was born in East Germany and became a veterinarian and a biologist. He was working in laboratories in East Germany and also, for several years in human pathology. Thereafter, he moved to Switzerland and became global head of pathology at RCC/Harlan Laboratories between 1991 and 2011. He founded the company AnaPath GmbH in Switzerland already in 2004, a holding covering up to ten independent pathologists. After termination of his contract with Harlan Laboratories, he founded in 2012 a new company in Switzerland, AnaPath Services GmbH, which is functionally active since spring 2013. The 41 individuals of this company cover all subjects in the field of toxicologic pathology including necropsy at client sites and histotechnique as well as a number of sophisticated methods within a large network between industry and universities. Meanwhile, a lab was established for material (medical device) and nanomaterial testing, as well as a lab for molecular pathology. Due to approximately 35 years of professional experience, Klaus Weber has experience in all laboratory species including fish and invertebrates. His area of work covers short and long term as well as oncogenicity studies with specialties in neuropathology, inhalation pathology, bone marrow differentiation and various other topics.

## S3-1

## Application of a humanized liver model in toxicity studies

○ Hiroshi Suemizu

Laboratory Animal Research Department, Biomedical Research Laboratory, Central Institute for Experimental Animals

Differences in drug metabolism, pharmacokinetics, and toxicity exist between humans and nonhuman species, and the results of animal experiments may not directly be translated to humans. To overcome these species differences, we developed a “humanized liver mouse” in which hepatocytes in the host mouse were replaced with human hepatocytes. The biochemical, molecular, and histological characteristics of the humanized liver closely resembled those of mature human livers; moreover, it has been confirmed that liver functions, such as the drug metabolism profile, are also similar to those of humans. In this presentation, we will introduce an application of humanized liver mouse to hepatotoxicity evaluation and its drawbacks. Alanine aminotransferase (ALT) is a hepatic enzyme that is generally used as an indicator of the degree of liver damage. However, because mouse hepatocytes remain in humanized livers in mice, it is not possible to evaluate the degree of injury in human hepatocytes by ALT activity, which lacks species specificity. Therefore, we used human/mouse ALT ELISA, human soluble keratin 18 ELISA, and human aspartate aminotransferase AlphaLISA as a species-specific method for detecting hepatic injury. In this presentation, we will introduce a model of hepatic injury in humanized liver mice using common hepatotoxicants, such as acetaminophen and thioacetamide.

## ■ Biography

## Education and Professional career:

- Graduated from Faculty of Industrial Health, Kitasato University School of Health Sciences, Kanagawa, Japan in 1986.
- Obtained a license of medical technologist in 1986.
- Researcher, Immuno Biological Laboratory (IBL) Co. Fujioka, Japan, 1987–1989.
- Medical technologist, Department of Molecular Life Science, Tokai University School of Medicine, Isehara, Japan, 1989–1999.
- Obtained PhD (health science) from Kitasato University, Kanagawa, Japan in November 1995.
- In 2000 moved to Central Institute for Experimental Animals as PhD. Researcher of Biomedical Research Department, then became Chief scientist and Division Chief in 2008.
- In 2001, learned mouse cDNA array technologies at Developmental Genomics & Aging Section, Laboratory of Genetics, National Institute on Aging, NIH
- Visiting associate professor at Keio Advanced Research Centers (KARC), Keio University, 2008–2011
- Part-time assistant professor at Keio University School of Medicine (Department of Biochemistry), 2009–2011
- Visiting professor at Doctorial Course of the United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University, 2014–

## Membership:

- Japanese Cancer Association
- Japanese Association for Laboratory Animal Science
- International Society for Stem Cell Research
- International Society for the Study of Xenobiotics
- Society of Toxicology

## S3-2

## Point to consider for histopathological evaluation of SLE models

○ Atsuhiko Kato, Atsuko Murai

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Research Div.

Currently, since most newly approved drugs are “molecular targeted”, the role of a toxicologic pathologist is not confined to mere “on-target/off-target toxicity evaluation”, but has expanded to evaluate the role of the molecule within the diseased tissue and/or effects of its modulation. From this standing point, I have focused on the field of so-called “translational research”, and will present the histopathology of both SLE patients and model animals as a case study to discuss the emerging social needs and significance for toxicologic pathology. Based on the ISN/RPS classification, lupus nephritis is classified into I to VI which is categorized by the renal histopathology, and the patients are treated according to the classification. In terms of SLE model animals, it is well known that several spontaneous models including NZB/NZWf1, MRL/lpr, BXSB/MpJ-Yaa, each show characteristic renal histopathology and auto-antibody production at several months of age. In addition, a drug induced model (Imiquimod induced SLE model) was recently developed, and although auto-antibody production is reported in this model, renal histology is far from well described. Therefore, I will compare the renal histology of both lupus nephritis of patients and that of several animal models (including the positioning of each model), and discuss about the issues for translational research in this session.

---

**■ Biography**

Atsuhiko Kato

1993 Mar. Graduated from Department of Veterinary Sciences of Tokyo University of Agriculture and Technology.

1993 Apr. Joined Chugai Pharmaceutical Co. Ltd.

2005 Mar. Graduated from doctoral course of Department of Veterinary Medical Science, Faculty of Agriculture, the University of Tokyo.

## S3-3

## Three-dimensional culture organization and toxicity evaluation

○ Katsuhiro Miyajima<sup>1,2,3</sup>), Kazuo Hattori<sup>2</sup>), Ken Iwatsuki<sup>1,2,3</sup>), Noriko Kemuriyama<sup>1</sup>), Dai Nakae<sup>1,2,3</sup>)

<sup>1</sup>)Department of Nutritional Science and Food Safety Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture,

<sup>2</sup>)Department of Food and Nutritional Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,

<sup>3</sup>)Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

Organoid cultures are three-dimensional culture systems that maintain the features of tissues or organs *in vivo* by constructing specific tissues consisting of multiple cells *in vitro*. In organoid cultures, function of the stem cell and differentiated tissue is reproduced, and it is also possible to observe the interaction between the constituent cells, and the cells and extracellular matrix. Because incorporate many of the physiologically relevant characteristics as living tissues physically, molecularly and physiologically mimic organs or tissues, intestinal organoid culture is also a good model for evaluation *in vitro*.

Using intestinal organoid cultures that isolated from intestinal stem cells, grew and differentiated in gels, and cultured them three-dimensionally, we investigated the effects of various chemical substances including food ingredients on intestinal function, and the usefulness of organoid culture systems in intestinal research was also demonstrated.

Specifically, the effects of chemical substances such as deoxynivalenol (DON) and dextran sulfate sodium (DSS) on organoid cultures derived from the intestinal tract of mice were evaluated focused on the mucosal changes including their formation rate, intestinal stem cell properties, related gene expression. In addition, mice were orally administered such chemicals and their effects on the intestinal mucosa were also evaluated *in vivo* and we compared the results of both experimental systems.

#### Biography

Katsuhiro Miyajima  
DVM, PhD, DJSTP, DJCVP, DJSOT

##### Educations:

School of Veterinary Medicine,

Kitasato University, Kanagawa and Aomori, Japan 1986 Apr–1992 Mar

Division of Pathology, Sasaki Institute, Tokyo, Japan Apr. 1995–Mar. 1996

Pathology Division, School of Medicine of Tokai University, Kanagawa, Japan 2001–2010

##### Professional Experience:

Apr. 1996–Mar. 2016 Japan Tobacco Inc., Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical Research Institute, Researcher to Senior researcher.

Apr. 2016–Sept. 2018 Tokyo University of Agriculture, Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences  
Associate professor

Oct. 2018–Present Tokyo University of Agriculture, Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences  
Professor



W-1

## Toxicologic pathology of antibody-drug conjugates

○ Norimitsu Shirai

Global Pathology, Pfizer Drug Safety Research and Development

Antibody-drug conjugates (ADCs) have been one of the fastest growing fields in cancer therapy. ADCs are designed to deliver highly cytotoxic drugs (payload) to cancer cells via antibodies specific to target epitopes that are highly expressed on cancer cells. They are designed to selectively kill cancer cells whilst sparing normal cells, and ideally lower the minimum effective dose and raise the maximum tolerated dose, hence providing a wider therapeutic window than traditional chemotherapy. Although the concept is theoretically simple, off-target toxicity emerges in practice and is known to be a major cause of dose-limiting toxicity for most ADCs currently in clinical development. The antibody, linker, payload, as well as conjugation strategies for an ADC synergistically play an important role on the efficacy and toxicity of the conjugate. The presentation will highlight considerations for the nonclinical safety assessment of ADCs, and provide examples of ADC-related microscopic findings that have been observed in nonclinical general toxicity studies.

### ■ Biography

Dr. Shirai is a US-based Global Pathology Research Fellow in Pfizer Drug Safety R&D. He started his career as a toxicologic pathologist at Pfizer Nagoya Laboratories in 1989, then transferred to the Pfizer global pathology site in the United States in 2008. Over 30 years, he has been involved in nonclinical safety assessment of new drugs for a broad range of therapeutic indications. Dr. Shirai has a long-standing interest in comparative medicine that started in Aichi Cancer Center Research Institute where he studied carcinogenesis in animal models. He completed Residency in Comparative Medicine at Johns Hopkins University in the US and earned his Doctor of Philosophy at Gifu University United Graduate School of Veterinary Sciences. He holds diplomate of the Japanese Society of Toxicologic Pathology (D.J.S.T.P.), diplomate of the Japanese College of Veterinary Pathologists (D.J.C.V.P.), and American Board of Toxicology (D.A.B.T.).

## W-2

## Spectrum of histopathologic lesions in oligonucleotide therapeutics

○ Shunji Nakatsuji

Altasciences Preclinical Seattle LLC

Oligonucleotide therapeutics include antisense oligonucleotides, siRNA, and aptamers. They are expected to become the next-generation molecular targeted drugs following antibody drugs. Many clinical trials are ongoing with various types of oligonucleotide candidates that are indicated for cancer, immune diseases etc. Toxic changes resulting from oligonucleotide drugs can be broadly divided into two groups. Hybridization-dependent toxic changes include excessive pharmacologic effects due to binding to the target RNA (on-target toxicity) and unexpected effects due to binding to other than the target RNA (off-target toxicity). The other hybridization-independent toxic changes are due to the structure or physical properties of the oligonucleotide compounds and include drug accumulation, hepatotoxicity, nephrotoxicity, and inflammatory reactions by complement activation or immune complex formation. Oligonucleotide drugs have low affinity or poor penetration to the cells, and are rapidly degraded by exonucleases in the body. To address these disadvantages, various molecular modifications have been developed, and new compounds that have better cellular penetration, greater nuclease resistance, and increased binding affinity have been synthesized. In this workshop, we will introduce you histopathological lesions commonly seen in toxicity studies of oligonucleotide drugs, especially antisense oligonucleotides, to include our first-hand experience as well as a survey of the literature.

## ■ Biography

Shunji Nakatsuji (Altasciences Preclinical Seattle LLC, Pathology Services)

After graduating from Kobe University Graduate School of Agriculture in 1985, he joined Kanebo Co., Ltd. and was involved in preclinical safety evaluation of pharmaceuticals. Since then, he has been working as a toxicologic pathologist for over 30 years at several pharmaceutical companies and contract research organizations; Nippon Organon Co., Ltd., Fujisawa Pharmaceutical Co. Ltd., Astellas Pharma Inc., and SNBL USA, Ltd. Current position from 2017. His research area of special interest is analysis of drug-induced nephrotoxicity. He received PhD in agriculture from Osaka Prefecture University in 1999. Board certified pathologist for Japanese College of Veterinary Pathologists (JCVP) and Japanese Society of Toxicologic Pathology (JSTP). Urinary system working group member for International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria (INHAND).

## W-3

## What you need to know to assess neuronal necrosis

○ Naoaki Yamada

Pathology Department, Nonclinical Research Center, LSI Medience Corporation

Neuronal necrosis is a very serious toxicity change in drug safety assessments. Because the site affected by toxicity is specific to a test substance, the change cannot be evaluated unless the site (region) is selected correctly for histopathological examination. It is often difficult to discriminate whether the change in neurons is a true change or an artifact because neural tissue is prone to artifacts during sampling. There is a risk of missing neuronal changes if necropsy is not performed at a time when changes by a test substance can be detected. This workshop will focus on 1) differences between neuronal necrosis and dark neuron artifacts, and 2) changes in neurological symptoms and neuronal necrosis with time by introducing the results of administering a known neurotoxic substance, MK-801, to rats. 1) Dark neuron artifact is described as a common artifact in INHAND. In this workshop, points for distinguishing between neuronal necrosis and dark neuron artifact will be introduced by observing results with Fluoro-Jade staining. 2) For typical neurotoxic substances, neuronal necrosis is known to peak within a few days after administration and end within 1 to 2 weeks. Thus, the loss of target neuronal cells is observed in a 4-week study (cell loss, neuronal). In this workshop, changes of neuronal cells and neurological symptoms of MK-801 with time will be introduced. In addition, the reaction of glial cells with immunostaining will be introduced.

## ■ Biography

Naoaki Yamada

## Education

Kitasato University, Aomori, Japan  
BA in Veterinary Medicine 2004

## Work experience

2007–Present	LSI Medience Co., Ltd., Kamisu, Japan Pathology Department, Nonclinical Research Center, Drug Development Service Segment
2005–2007	Amanecer Co., Ltd., Sapporo, Japan Diagnostic Pathology Department

## W-4

## Small fish carcinogenicity models and methylazoxymethanol-induced hepatocarcinogenesis in medaka

○ Satoshi Furukawa, Yumiko Hoshikawa

Toxicology & Environmental Science Department, Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Corporation

Small fish carcinogenicity models have been performed in the 1980's and 1990's using powerful liver carcinogens such as DEN, DMBA, MNNG, aflatoxin, polycyclic aromatic hydrocarbons, and methylazoxymethanol (MAM) etc. The fish models have been confirmed the carcinogenicity, same as in rodent carcinogenicity studies. Since the fish models are highly sensitive, inexpensive, and rapid compared to the carcinogenic models in rodents, its usefulness had attracted attention as an alternative method for detecting environmental carcinogens. However, the fish models are less sensitive to carcinogens for organs other than livers, and there is a limit to the ability to detect carcinogenicity. On the other hand, carcinogens, such as DEN, MNNG, and MAM, have been reported to induce liver tumors in several months after very short exposed period. Therefore, the fish models might be useful for elucidating mechanisms and detecting the potential of hepatocarcinogens. We performed the Small fish carcinogenicity model using medaka. Medaka were exposed to MAM at a concentration of 2 ppm for 24 hours, and were necropsied after 3, 7, 10, 14, 28, 60, and 91 days. The histopathological examination of the liver was performed. Liver tumors were found 3 out of 5 cases on Day 60 and 1 of 3 cases on Day 91. In this presentation, we outline the small fish carcinogenicity models and show the histopathological changes from the initial lesion of medaka liver to liver carcinogenesis by MAM.

### ■ Biography

Satoshi Furukawa  
DVM, PhD, DJSTP, DJCVP, DJSOT

#### Employment History

–1989 Nissan Chemical Corporation  
–2017 Associated Executive Officer and Deputy Head of Biological Research Laboratory  
–2006 Head of Toxicology and Environmental Science Department  
2000–2006 Leader of Toxicology Group  
1989–2000 Researcher of Toxicology Group  
1986–1989 Marubeni Food Corporation, Ltd.

#### Education

2002 Ph D in veterinary science (Gifu University)  
1986 MA in veterinary science (Tottori University)  
1984 BA in veterinary science (Tottori University)

#### Honors and Prizes

JTP Incentive Award 2013  
JTP Incentive Award 2016

#### Number of papers

Author:37  
Co-author:31

## Confounders of kidney carcinogenesis in rodent cancer bioassays

○ Gordon Hard

Private Consultant

In the long-term testing of chemicals for carcinogenicity, including chemicals added to foodstuffs and food ingredients, the toxicologist should be aware of a number of scenarios where renal tubule tumors, or their precursors, arise that are not due to a carcinogenic action of the test article. Situations producing such false positive results include exacerbation of chronic progressive nephropathy (CPN) in rats, confusion of atypical tubule hyperplasia (the obligate precursor renal tubule tumor) with CPN-related renal tubule cell proliferation, inclusion of spontaneous tumor entities such as the amphophilic vacuolar tumor in the total rat kidney tumor count, the possibility of a link between spontaneous forms of tubule dilatation and renal tubule tumor formation in mice, and the supposed predictivity of chemically-induced karyomegaly for renal carcinogenicity in both rats and mice. Examples of some of these aspects will be presented and discussed.

### ■ Biography

Dr. Gordon Hard

Independent Toxicology Consultant

Dr. Hard spent most of his career in cancer research institutions studying renal carcinogenesis and assisting in institutional management. His most recent appointment was in the American Health Foundation from which he retired in 2001. Since then he has been working as a part-time consultant in kidney carcinogenesis, toxicology, and toxicologic pathology. During his career he was Editor of "Food and Chemical Toxicology", "Toxicology In Vitro (for which he was a co-founder of the Journal), and "Toxicologic Pathology". Dr. Hard was awarded the Society of Toxicologic Pathology Lifetime Achievement Award in 2017.

The International Academy of Toxicologic Pathology (IATP)

The IATP was established in 1999 for the purpose of establishing standards of excellence in education, training and experience essential for competency in toxicologic pathology, to support the education of scientists and other members of society with evolving, relevant knowledge important to the health of society, to advise governmental policy leaders on issues of toxicology and pathology, and to develop expert opinions on issues relevant to product safety. The IATP is a nonprofit organization headquartered in New Jersey USA.

The International Academy of Toxicologic Pathology (IATP) Maronpot Guest Lecture Series

The second IATP Maronpot Guest Lecture will take place on February 13, 2020 at the JSTP annual meeting at Tokyo University of Agriculture. The IATP Maronpot Guest Lecture will be presented by Dr. Gordon Hard on Confounders for Kidney Carcinogenesis in Cancer Bioassays. The IATP Maronpot Guest Lecture series is supported by a grant from the Telikicherla Higher Education (THE) Foundation, a private family philanthropic foundation that provides scholarships, awards, and grants in support of higher education. THE headquarters is in Alexandria, Virginia USA.







# Poster Presentation

An asterisk on a poster number indicates that its first author is younger than 40 years old, and a candidate of the meeting chairperson's award.

P-1 ~ P-86



## P-1\*

## Histopathological analyses of proliferative and non-proliferative lesions induced by single intravitreal injection of nickel subsulfide (Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub>) in rats

○Yoshinori Yamagiwa<sup>1,2</sup>, Miki Masatsugu<sup>1</sup>, Haruna Tahara<sup>1</sup>, Masaaki Kurata<sup>1</sup>, Hiroshi Satoh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Central Research Laboratories, Senju Pharmaceutical Co., Ltd.,

<sup>2</sup>Veterinary Pharmacology and Toxicology Laboratory, Graduate School of Veterinary Sciences, Iwate University

[Introduction] Intravitreal injection of nickel subsulfide (Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub>) is known to induce intraocular neoplasms in F344 rats. We previously reported an extraocular orbital malignant schwannoma in the Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub>-treated rat. In this report, we described orbital neoplastic and non-neoplastic lesions found 8–15 months after intravitreal injection of Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub> once in the right eyes at a dose of 0.5 mg/eye in male F344/DuCrI:CrIj (n=10), CrI:CD(SD) (n=15), and RccHan<sup>TM</sup>:WIST (n=14) rats. [Methods] The animals were euthanized by exsanguination under sevoflurane anesthesia. The eyes or orbital masses were enucleated, and examined histopathologically. Immunohistochemical and ultrastructural examinations of the masses were performed. [Results] An extraocular mass and 2 intraocular masses were found in RccHan<sup>TM</sup>:WIST rats. Ultrastructurally, myofibrils or basement membrane was observed in the extraocular mass and an intraocular mass, respectively. Thus the masses were diagnosed as extraocular orbital rhabdomyosarcoma and intraocular malignant schwannoma, respectively. Another intraocular mass was diagnosed as sarcoma NOS because no specific structures were found in any examination. As non-neoplastic lesions, focal retinal atrophy, fibrosis, gliosis, and retinal perforation were found. [Discussion] In the Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub>-treated eyes, regressive and foreign body responses were found. These results suggest that corrosiveness of Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub> is a key role for induction of nonneoplastic lesions and extraocular neoplasms.

## P-2

## A case of focal retinopathy in a cynomolgus monkey

○Hitoshi Kandori, Fumi Shimizu, Kousuke Ueda, Sayuri Nakamura, Ryo Fukuda, Hirofumi Nagai

Axcelead Drug Discovery Partners, Inc.

Focal retinopathy was observed in a left eye of a male cynomolgus monkey (3 years and 6 months old) in a 2-week toxicity study. This male was assigned to the control group and given methylcellulose solution. A pale irregular area was observed away from macula flava by funduscopy during the pretreatment period and before the necropsy. Upon histopathology, the outer granular layer and the layer of rods and cones were atrophied. Aggregation of brown pigmented cells (BPC) was observed beneath the atrophied layer of rods and cones. BPC seemed to be arranged in the same row with the retinal pigment epithelial cells (RPE) inside the Bruch's membrane (BM) at one side of the lesion. At another side, BPC were observed between the choroid and membranous structure which continued from the normal BM. A few BPC were observed in the choroid. Fibroblast like cells were observed in the lesion without neovascularization. Origin of the BPCs was supposed to be RPE or macrophage, but it couldn't be identified. The lesion might be focal hyperplasia of RPE because of the continuity between normal RPE and BPC in one side. However, because BPC also were observed in the choroid, it cannot be ruled out that the lesion was granuloma composed of macrophages. As spontaneous retinal lesions in monkeys or humans, macular degeneration, retinitis pigmentosa and sarcoidosis were reported. Differential diagnosis needs to be conducted considering the histopathological characteristics and histogenesis of BPC.

**P-3\***

## The effects of the anesthetic mixture of three drugs on the cornea in rats

○ Kyohei Kamio, Junya Morita, Aiko Ishii, Yutaka Nakanishi, Minoru Sasaki

Taisho Pharmaceutical Co., Ltd. Drug safety

[Background and Aim] An anesthetic mixture of medetomidine, midazolam and butorphanol (MMB) has been used as anesthetic agent for laboratory animal experiments. The adverse effects in rat cornea are known in some injectable anesthetics, but not in MMB. The purposes of this study were to evaluate the adverse effects of MMB on rat cornea and to examine the correlation between the corneal lesion and medetomidine (MED). [Materials and Methods] Male SD rats (10 animals/group) were set following groups: Control (Saline); MMB (MED 0.15 mg/kg, midazolam 2 mg/kg, butorphanol 2.5 mg/kg); MMB with 0.375 mg/kg MED; MMB+Atipamezole (MED antagonist); MED at 0.15 mg/kg; MED at 0.375 mg/kg. Test substances were injected intraperitoneally to rats 4 times (once a week in 4 weeks). Ophthalmic and histopathological examinations were performed. [Results] In MMB group, the corneal opacity was observed ophthalmologically. In MMB with 0.375 mg/kg MED group, the increased incidence, severity and size of the corneal opacity were observed. In MMB+Atipamezole group, the decreases in those of the corneal opacity were observed. The corneal opacity was also observed in MED groups at both doses. Histopathologically, the corneal opacity was characterized by the proliferation of the fibroblast in the corneal stroma in MMB with 0.375 mg/kg MED and MED at 0.375 mg/kg groups. [Conclusion] The corneal opacity was observed in rats injected MMB. The results suggested that the corneal opacity would be relevant to MED.

**P-4**

## Histopathological changes of the eye in repeated dose dermal toxicity studies in rats

○ Takafumi Oshikata, Yumi Wako, Yutaka Nakahara, Junko Satou, Mikio Mitsuishi, Takeshi Kanno

LSI Medience Corporation

[Aim] In the repeated dose dermal toxicity studies conducted to evaluate toxicity of pharmaceutical agents (external preparations), animals are usually fitted with neck collars in order to prevent oral exposure to the test substance. We recognize that histopathological changes in the eye are relatively high in the dermal toxicity studies using neck collars. In this study, we have reviewed the findings of the eye on the treated site in repeated dose dermal toxicity studies previously carried out at our laboratory.

[Methods] We reevaluated the HE histopathological specimens of control groups prepared in 8 repeated dose dermal toxicity studies in CrI:CD (SD) rats. Animals in all studies were fitted with a neck collar during the treatment period, and the clipping area was covered with cotton lint and fixed with elastic bandages.

[Results] Histopathology, desquamation of corneal epithelium (27 males, 27 females), degeneration/necrosis of corneal epithelial cell (8 males, 6 females), inflammatory cell infiltration in the cornea (4 males, 4 females), mineralization in the cornea (16 males, 14 females) were observed.

[Conclusion] Abnormal findings of the cornea were observed relatively frequently in rats fitted with a neck collar used in dermal administration. In oral administration, the incidence of abnormal ocular corneal findings was lower than that in dermal administration. Therefore, the ocular corneal lesions in this report are thought to have some relationship with neck collars.

## P-5

## Effects of Busulfan, Cisplatin, Kanamycin on neonatal rat cochlea

○ Ryo Ando, Moemi Egawa, Keita Namiki, Chun-Ho Park, Toshifumi Oyamada

Laboratory of Veterinary Pathology, Kitasato University

[Introduction] Busulfan (BUS) is known to induce developmental anomalies and neurotoxicity in fetal or neonatal rats. In a preliminary study to confirm the effects on the neonatal, histological findings, possibly affecting the cochlea, were observed. Drug-induced ototoxicity has been reported with several agents including Cisplatin (CIS) and Kanamycin (KAN). The aim was to elucidate ototoxicity of undeveloped neonatal rats.

[Materials and Methods] Six-day-old neonatal rats were treated subcutaneously with saline (control), BUS (10 mg/kg), CIS (1 mg/kg), KAN (800 mg/kg) repeated for 4 days. The cochlea was collected 2, 4, 6, 8, and 14 days after the start of administration.

[Results] Suppressed body weight, alopecia and cerebellar hypoplasia were observed in BUS and CIS. Slight histological changes of the cochlea were observed in outer hair cells, spiral ganglion and cochlear shaft in BUS. In addition, a marked atrophy of the stria vascularis was observed in CIS. Changes in the outer hair cells were found in KAN.

[Discussion] In BUS, histological changes in neonatal rat cochlear were considered to be slight compared to the systemic toxicological effects, and almost no effect on hearing. In CIS and KAN, the changes in neonates were almost same as previous reports in adult, and may have similar ototoxicity. Furthermore, in BUS and CIS, it was considered that the systemic adverse effects including the brain were more severe at the doses affecting neonatal ototoxicity.

## P-6

## The uni-nephrectomized and salt-loaded SDT fatty rat, a novel type 2 diabetic model of diabetic nephropathy, develops features of diabetic retinopathy

○ Masami Shinohara<sup>1)</sup>, Francois Briand<sup>2)</sup>, Sophie Antoneli<sup>3)</sup>, Virginie Mauro<sup>3)</sup>, Nicolas Cimbolini<sup>3)</sup>, Emmanuel Brousseau<sup>2)</sup>, Takeshi Ohta<sup>4)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>5)</sup>, Yasushi Kageyama<sup>1)</sup>, Laurence Feraille<sup>3)</sup>, Thierry Sulpice<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>CLEA Japan, Inc., <sup>2)</sup>Physiogenex S.A.S.-Prologue Biotech, <sup>3)</sup>Iris Pharma, <sup>4)</sup>Kyoto University, <sup>5)</sup>Tokyo University of Agriculture

The uni-nephrectomized and salt-loaded SDT fatty rat develops advanced renal glomerulosclerosis, inflammation and fibrosis. Here we investigated whether this rat model would also develop features of diabetic retinopathy.

Two groups of 6-week old, male, normal SD rats and SDT fatty rats (n=10 per group) underwent unilateral nephrectomy. After a 1-week recovery period, rats were fed for 10 weeks a chow diet with 0.3% salt in drinking water. Diabetic retinopathy was evaluated in terms of 1) retinal function by electroretinogram (ERG) and oscillatory potentials, 2) integrity of blood-retinal barrier by albumin-Evans blue complex leakage, 3) microscopy histopathologic studies by glial fibrillary acidic protein IHC.

Retinal neurologic dysfunction began at 12 weeks of age in SDT fatty rat, A- and B-wave amplitudes on ERG recording were significantly reduced, with significant peak delay in implicit times of oscillatory potentials. At 17 weeks of age, Muller cells activation (measured by GFAP immunostaining) was increased in SDT fatty rats as compared to SD rats, indicating reactive gliosis in retina. Evans blue retinal flat-mount of SDT fatty rat also showed vessel dilatation, tortuosity and evidence of retinal vascular permeability.

Uni-nephrectomized and salt-loaded SDT fatty rats develop features of diabetic retinopathy in parallel with diabetic nephropathy. Our data set suggests that this rat model is suitable to evaluate the effects of drugs on these type 2 diabetes co-morbidities.

## P-7

**Effects of chronic oral administration of NTBC on the cornea of eye and molecular layer of cerebellum in rats and mice**

○Mika Nagaike, Sayaka Miyamoto, Genki Hashimoto, Yuta Baba, Eito Ikeda, Naoko Hongo, Akiko Okada, Kosei Inui

Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.

[OBJECTIVE] The objective of the present study was to evaluate the species difference between rats and mice for the effects on the eye and cerebellum after chronic oral administration of a 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (4-HPPD) inhibitor. [MATERIALS AND METHODS] NTBC, one of 4-HPPD inhibitors, was administered for 52 weeks to female Wistar rats and female ICR mice via foods at 1 ppm for rats and 100 ppm for mice, respectively. These doses were selected so that the plasma tyrosine concentrations come to reach plateau pharmacologically for each species. After 52 weeks of treatment, plasma tyrosine concentration were measured, and histopathological examination were performed on the eyes and cerebellum. [RESULTS] Mean plasma tyrosine concentrations were 1,603  $\mu\text{mol/L}$  in treated rats and 963  $\mu\text{mol/L}$  in treated mice. Histopathologically, corneal keratitis in the eyes and vacuolation of molecular layer in the cerebellum was induced in rats but not in mice. [DISCUSSION AND CONCLUSION] Because rats lack the bi-pathway of tyrosine metabolism, species difference between rats and mice is generally known in susceptibility for hypertyrosinemia induced by HPPD inhibitors. Adverse effects on the eye and cerebellum in rats were considered to be results from hypertyrosinemia induced by 4-HPPD inhibition. Furthermore, there was a clear species difference in the ocular and brain effects associated with a threshold in plasma tyrosine level.

## P-8\*

**Effects of *N*-methyl-*N*-nitrosourea on cerebral cortex after developmental exposure in rats**

○Hiromu Okano<sup>1,2</sup>, Yuko Ito<sup>1,3</sup>, Satomi Kikuchi<sup>1,2</sup>, Yasunori Takahashi<sup>1,2</sup>, Kazumi Takashima<sup>1,2</sup>, Qinman Yu<sup>1</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1,2</sup>, Makoto Shibutani<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>LVP, TUAT, <sup>2</sup>CDVS, TUAT, <sup>3</sup>UGSVS, Gifu Univ.

[Background] Developmental exposure to *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU), an alkylating agent, induces microcephaly experimentally. The present study examined the effects of MNU on cerebral cortex development. [Materials and Methods] Pregnant SD rats were given MNU in drinking water at concentrations of 0, 3, 10 and 30 ppm from gestational day 6 to day 21 after delivery. Pups were necropsied on postnatal day (PND) 21 and 77. [Results] The body and absolute brain weights were reduced at 30 ppm and the posterior cingulate cortex area was reduced at 10 and 30 ppm on PNDs 21 and 77. On PND 21, NeuN<sup>+</sup> mature neuron density was unchanged, but calretinin (Calb2)<sup>+</sup> cells increased at 30 ppm among interneuron subpopulations. Synaptic plasticity-related p-ERK1/2<sup>+</sup> cells increased at 10 and 30 ppm and ARC<sup>+</sup> cells decreased at 30 ppm on PND 21. [Discussion] Continuous MNU exposure caused microcephaly without affecting neuronal density, suggesting a decrease of the total neuroblast population that were migrated to the cortex during the exposure. The increase in Calb2<sup>+</sup> cells on PND 21 suggested a compensatory response against aberrant differentiation and mismigration of neuroblasts by MNU because of Calb2 functions on neural migration and neural circuit maturation. Decreased ARC<sup>+</sup> cells on PND 21 suggested suppression of synaptic plasticity in response to sustained neuroblast migration. Increased p-ERK1/2<sup>+</sup> cells suggested the facilitation of synaptic plasticity of migrated neurons for maturation.



## P-9\*

## Global analysis of gene targets of developmental neurotoxicity focusing on DNA hypermethylation involved in irreversible aberrations of hippocampal neurogenesis in rats

○ Satomi Kikuchi<sup>1,2</sup>, Yuko Ito<sup>1,3</sup>, Hiromu Okano<sup>1,2</sup>, Yasunori Takahashi<sup>1,2</sup>, Kazumi Takashima<sup>1,2</sup>, Qinman Yu<sup>1</sup>, Toshinori Yoshida<sup>1,2</sup>, Makoto Shibutani<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>LVP, TUAT, <sup>2</sup>CDVS, TUAT, <sup>3</sup>UGSVS, Gifu Univ.

[Background and Aim] We have found irreversible effects on hippocampal neurogenesis by developmental exposure to some neurotoxicants in rats. In this study, we selected propylthiouracil (PTU), valproic acid (VPA), and glycidol (GLY) to identify molecular targets of irreversible disruption of neurogenesis. We focused on DNA hypermethylation for identification of irreversible markers and conducted a global analysis of genes showing hypermethylation and transcript downregulation in the hippocampal dentate gyrus. [Methods] Pregnant rats were exposed to PTU, VPA, or GLY in the drinking water from gestational day 6 to postnatal day (PND) 21. On PND 21, dissected dentate gyrus tissues of exposed offspring were subjected to Methyl-Seq and RNA-Seq analyses. Transcript expression changes were further analyzed by real-time RT-PCR on PND 21 and PND 77. [Results and Discussion] Genes showing promoter-region hypermethylation and sustained transcript downregulation were confirmed with 12, 3, and 16 genes by PTU, VPA, and GLY, respectively. Common to PTU and GLY, Arc related to synaptic plasticity, Mas1 related to hippocampal electrophysiological regulation, and Fgf13 related to neuronal migration, and regulation of axon morphology were identified. These genes were considered to be sensitive target of the aberrant neurogenesis. In conclusion, the hypermethylated genes detected in this study can be utilized as epigenetic markers for detection of irreversible developmental neurotoxicity.

## P-10

## Histopathological examination of brain lesion in NOD/Shi-scid IL-2R $\gamma$ null (NOG) mouse

○ Keita Matsushima<sup>1</sup>, Yachiyo Fukunaga<sup>1</sup>, Hiroyuki Kanemitsu<sup>2</sup>, Seiki Yamakawa<sup>1</sup>, Mariko Nagatani<sup>1</sup>, Kenichiro Kasahara<sup>1</sup>, Yuko Yamaguchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, BoZo Research Center Inc., <sup>2</sup>Department of Toxicology and Pharmacology, BoZo Research Center Inc.

[Background] The cerebrum lesion suspected of dysplasia was examined histopathologically in a male NOG mouse at 7 weeks of age. [Methods] The mouse showed decreases in body weight and spontaneous movement and bradypnea, and then died. The brain was fixed with 10% formalin and stained with HE and LFB. Moreover, it was stained immunohistochemically with some antibodies. [Result] Slight enlargement of left cerebral hemisphere was observed at necropsy. Histopathologically, diffuse proliferations of the neurocyte-like cell, hypertrophic astrocyte and microglia were observed from caudatus to outer granular layer of cortex. The neurocyte-like cell had cytoplasm having basophilic area along the cell membrane and eosinophilic area around the nucleus, and the nucleolus was prominent. Mitosis of each cell and compression to surrounding parenchyma were not observed, and the boundary with the normal area was unclear. Most area of above lesion was stained weakly for LFB compared with the normal area. Immunohistochemically, neurocyte-like cells were positive for neurofilament, and increased astrocytes and microglia observed by anti-GFAP and anti-Iba1 stain. Microglia and a few neurocyte-like cells were positive for PCNA. [Discussion] The lesion was characterized by abnormal proliferation of neurocyte and hypoplasia of myelin sheath. Since atypia of increased neurocytes and compression to surrounding parenchyma were not observed, the lesion was considered to be dysplasia, not neoplasia.

## P-11

## Case report: Hemimegalencephaly with epileptiform seizures in a young ICR mouse

○ Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi, Akiko Anagawa-Nakamura, Kaoru Toyoda, Eriko Taniai-Riya, Taishi Shimazaki, Akemi Takahashi, Yoshifumi Miyakawa, Toshiyuki Shoda

Toxicology Research Laboratories, Yokohama Research Center, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.

[Background] Spontaneous epileptiform seizures in the clinical signs are exceptionally rare in young mice. To the best of our knowledge, there have been no reports of spontaneous epileptogenic brain lesions in young mice. We report the histopathological and immunohistochemical characteristics of the brain lesion.

[Materials and Methods] The animal was a 6-week old male Crl:CD1(ICR) mouse selected for use in a toxicity study. Epileptiform seizures were observed in the clinical observations at the day after animal receipt. The animal was sacrificed in moribund condition on Day 3 of the quarantine/acclimation period. At necropsy, slight enlargement of the right brain was observed. The brain was examined histopathologically.

[Results] Histopathologically, diffuse disorganization of cortical architecture was observed in the frontoparietal cortex and temporal cortex of the right cerebrum. The brain lesion was composed of abnormally enlarged pyramidal cells with eccentric nuclei and resembling gemistocytic astrocytes (balloon cells: BCs) having pale eosinophilic cytoplasm and round nuclei with euchromatin. Immunohistochemically, BCs were positive for GFAP and negative for Neu N.

[Conclusion] Based on the results of the histopathological examinations, we made a diagnosis of hemimegalencephaly or focal cortical dysplasia (FCD) resembled human brain lesions in patients with epilepsy. We are going to report the present case with additional data from immunohistochemistry at the annual meeting.

## P-12\*

## Histopathological analysis of the respiratory system in C57BL/6J mice exposed to vapor from a novel tobacco vapor product for 6 months

○ Saeko Onami, Tadashi Hirata, Hiroaki Suzuki

Scientific Product Assessment Center, Japan Tobacco Inc.

Novel tobacco vapor product (NTV) is a product with low-temperature heating technology. The vapor from a NTV has been shown to yield distinctively fewer potentially harmful constituents than does mainstream cigarette smoke (MCS). In this study, we evaluated the risk of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) for NTV using a murine model of COPD.

C57BL/6J mice were exposed to vapor from NTV or MCS from the 3R4F reference cigarette (700 µg total particulate matter/L) or filtered air for 6 months (NTV, 3R4F or filtered air groups). A fourth “switching” group was exposed to 3R4F for 2 months, then vapor from NTV for 4 months. After 6 months, the histopathological and stereological morphometric analyses of respiratory tissues were conducted.

Histopathological analysis of the 3R4F group revealed several changes attributed to MCS exposure, including accumulation of pigmented macrophages in the alveoli and hypertrophy of the alveolar epithelium. These changes were attenuated in the switching group, and no significant changes were observed in the NTV group. The stereological morphometric analysis revealed an increased destructive index and mean chord length in the 3R4F group. These changes were attenuated in the switching group, and no significant changes were observed in the NTV group.

In conclusion, the effect of vapor from NTV was very similar to that of filtered air. Therefore, the risk of COPD attributable to vapor from NTV in mice is likely the same as that of filtered air.

## P-13\*

**Comparisons of a pulmonary toxicity and a clearance of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) in the rats after intratracheal instillation using different two devices**

○ Ai Maeno<sup>1)</sup>, Yoshimitsu Sakamoto<sup>1)</sup>, Motoki Hojo<sup>1)</sup>, Katsuhiko Yuzawa<sup>1)</sup>, Yuko Hasegawa<sup>1)</sup>, Akemichi Nagasawa<sup>1)</sup>, Aya Onuki<sup>1)</sup>, Toshinari Suzuki<sup>1)</sup>, Akiko Inomata<sup>1)</sup>, Takako Moriyasu<sup>1)</sup>, Yuko Goto<sup>2)</sup>, Makoto Onishi<sup>2)</sup>, Norihiro Kobayashi<sup>3)</sup>, Akihiko Hirose<sup>3)</sup>, Dai Nakae<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, <sup>2)</sup>Japan Bioassay Research Center, <sup>3)</sup>National Institute of Health Sciences,

<sup>4)</sup>Tokyo University of Agriculture

[Backgrounds] An intratracheal instillation (i.t.i) test is used as an alternative exposure method to the inhalation. Whether the difference of devices used in the test is related to toxicological outcomes has not been well addressed. This study aimed to compare the i.t.i devices in evaluations of pulmonary toxicity of multi-walled carbon nanotube (MWCNT). [Methods] Male F344 rats were administered with MWNT-7 using two types of i.t.i. tools, a feeding cannula or a sprayer. For a histological analysis, rats were repeatedly instilled at 62.5 µg/rat/day for 8 times every other day, and sacrificed at the day after the last i.t.i.. For an analysis of the clearance of MWCNT, a single i.t.i. was conducted at 125 µg/rat and then, MWCNT lung burdens were measured at days 0, 1, 28, 54, 84 and 112 after i.t.i. [Results & Discussion] There were no marked differences between the cannula- and sprayer-groups in the histological findings, except for a deposition of MWCNT in the tracheal epithelium of animals in the sprayer-group. Granulomatous inflammations were widely observed in the parenchyma, with slightly stronger in the sprayer-group. The clearances of MWCNT did not significantly differ between the two groups. In both groups, the lung burden was reduced by nearly half from Day 0 to 1, thereafter, the level was maintained until Day 112. These data suggest that the difference of device in an i.t.i. test has little effect on the pulmonary toxicity of MWCNT.

## P-14\*

**Evaluation of lung toxicity in F344 rat after intratracheal instillation of vapor grown carbon fiber VGCF<sup>®</sup>-H**

○ Takamasa Numano<sup>1)</sup>, Hitomi Higuchi<sup>1)</sup>, Taiki Sugiyama<sup>1)</sup>, Kazunari Uda<sup>1)</sup>, Mayumi Kawabe<sup>1)</sup>, Yukinori Mera<sup>1)</sup>, Kazuko Ikeda<sup>2)</sup>, Ryoji Ogawa<sup>2)</sup>, Kei Sato<sup>2)</sup>, Ayako Nishioka<sup>2)</sup>, Yuji Hagiwara<sup>2)</sup>, Fumiko Banno<sup>2)</sup>, Hiroko Fukui<sup>2)</sup>, Tadashi Yoneda<sup>2)</sup>, Hiroyuki Tsuda<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>DIMS Institute of Medical Science, Inc., <sup>2)</sup>Safety Evaluation Center, Responsible Care Department, SHOWA DENKO K.K.,

<sup>3)</sup>Nanotoxicology Project, Nagoya City University

[Background and aims] The vapor grown carbon fiber VGCF<sup>®</sup>-H has the excellent physicochemical properties, and is used for lithium ion batteries. On the other hand, there are concerns that some needle-like or fibrous substances may cause a lung toxicity. For example, in the carcinogenicity study on MWNT-7, the increase in lung tumor development was reported by rat whole-body inhalation exposure. As an evaluation method of a lung toxicity, the intratracheal instillation is known as simpler and less expensive than inhalation exposure. In this study, we conducted a 13-week toxicity study by intratracheal instillation using F344 rat to evaluate the lung toxicity of VGCF<sup>®</sup>-H and compared with that of MWNT-7. [Materials and Methods] Male and female of F344/DuCrIj rats aged 10 weeks were treated with VGCF<sup>®</sup>-H or MWNT-7 dispersed in Kolliphor<sup>®</sup>P188/saline vehicle once a week, 8 times totally. Animals were autopsied on the 13th week and the effects of test substances were examined by lungs burden and histopathology. [Results and Conclusion] The lungs burden of VGCF<sup>®</sup>-H and MWNT-7 was nearly equal. In histopathology, the inflammatory cell infiltration, the fibrosis of alveolar walls and visceral pleura, and the proliferation of alveolar epithelium and mesothelium were observed in both treated groups. Among these observations, the grade of MWNT-7 treated group was severe. Therefore, we clarified that the lung toxicity of VGCF<sup>®</sup>-H was milder than that of MWNT-7.

**P-15****Neoplastic and nasal non-neoplastic lesion induced by 104-week inhalation exposure to Butyl Methacrylate**

○Hideki Senoh, Shotaro Yamano, Kenji Takanobu, Yumi Umeda, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno

Japan Bioassay Research Center, JOHAS

[Background] Butyl Methacrylate (CAS No. 97-88-1) is irritating liquid. In this study, we report on neoplastic and non-neoplastic lesions (nasal lesions) observed in a long-term inhalation study of butyl methacrylate in rats and mice.

[Materials and Methods] F344 rats and B6D2F1 mice (50 males and 50 females/group) were exposed to butyl methacrylate at a frequency of 6 hours/day, 5 days/week for 104 weeks. The exposure concentrations were 0, 30, 125, 500 ppm for rats and 0, 8, 30, 125 ppm for mice.

[Results] Rats: Mononuclear leukemia tended to increase in males, but females did not. Non-neoplastic lesions were observed in the nasal cavity such as squamous metaplasia of the respiratory epithelium, atrophy, regeneration and basal cell hyperplasia in the olfactory epithelium in the males and females. Basal cell hyperplasia of the olfactory epithelium is considered to be a preneoplastic change, but no nasal tumors were observed in this experiment. Mouse: Hepatocellular adenoma tended to increase in males, but females did not. Non-neoplastic lesions were observed in nasal cavity such as olfactory epithelial atrophy and regeneration in males and females.

[Conclusion] Mononuclear cell leukemia in male rats and hepatocellular adenoma in male mice resulted in some evidence of carcinogenic activity of butyl methacrylate. (This study is a GLP study conducted as a subsidy project of the Ministry of Health, Labor and Welfare)

**P-16****Reactive Alveolar Type II hyperplasia in particulate matter inhalation studies**

○Yumi Umeda, Shotaro Yamano, Kenji Takanobu, Hideki Senoh, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno

Japan Bioassay Research Center, JOHAS

[Background] We have conducted whole body exposure inhalation studies of particulate matter at our research center, and have so far observed the proliferation of type II cells of the alveolar wall in contact with the aggregation of phagocytosed macrophages. Although, these histological features were different compared with that of the hyperplasia as an aging change, there is not enough biological discussion including terminology in toxicologic pathology. [Materials and Methods] The lung tissue of F344 rats exposed to whole body inhalation of nanosized anatase titanium dioxide (aTiO<sub>2</sub>) in 13-weeks was pathologically examined, and the multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) or indium tin oxide (ITO) exposed specimens were comparatively analyzed. [Results and discussion] The proliferative change of alveolar epithelium observed by aTiO<sub>2</sub> exposure was hyperplasia of alveolar type II cells from the results of morphological characteristics and immunostaining. This change was observed only in the alveolar wall in contact with the accumulation of aTiO<sub>2</sub>-phagocytosed macrophage. Therefore, it was considered to be reactive hyperplasia of alveolar type II cell. This change was also observed in rat exposed MWCNT and ITO, so it was considered a characteristic hyperplasia due to particulate matter exposure. We would like to propose this as Reactive Alveolar Type II Hyperplasia.

## P-17

**Proliferation of pulmonary endocrine cell (PNEC) in rats repeatedly and intratracheally instilled with multi-wall carbon nanotube**

○ Yoshimitsu Sakamoto<sup>1)</sup>, Motoki Hojo<sup>1)</sup>, Ai Maeno<sup>1)</sup>, Toshinari Suzuki<sup>1)</sup>, Akiko Inomata<sup>1)</sup>, Takako Moriyasu<sup>1)</sup>, Akihiko Hirose<sup>2)</sup>, Dai Nakae<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, <sup>2)</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agricul.

[Background] Pulmonary endocrine cell (PNEC), known as a sensor of hypoxia and hypercapnia, is scattered in the respiratory epithelium. PNEC hyperplasia is observed in association with chronic inflammation and fibrosis. The present study aimed to examine a chronic effect of multiwalled-carbon nanotube (MWCNT) on rat PNEC. [Methods] Ten-week-old male RccHan:WIST rats were intratracheally instilled with MWCNT (MWNT-7) 12 times every 4 weeks at doses of 0, 0.01, 0.05 or 0.25 mg/kg BW/day (20 animals per group). After another year, animals were necropsied, and all lobes of the lung were histopathologically analyzed. [Results and Discussion] MWCNT induced pulmonary epithelial damages such as macrophage-related inflammation and hyperplasia in a dose-dependent manner. PNECs were observed as single cells or clusters (neuroepithelial bodies; NEBs) with characteristic features of oval nuclei with stippled chromatin and scanty cytoplasm, and were immunohistochemically positive for PGP9.5 and CGRP. A number of enlarged NEBs, consisted of more than 20 cells, in the 0.25 mg/kg BW group was significantly more than that of the vehicle control group. Intriguingly, this PNEC proliferation occurred only in a region near the alveolar duct, which is highly susceptible to experimentally inhaled particles. Our results are the first indication of an association between MWCNT and PNEC lesions, and are similar to the results of a report of the intratracheal instillation of quartz to rats.

## P-18

**Comprehensive evaluation for sequential and longitudinal incidence of the lung tumor induced by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in female A/J mouse**

○ Masanao Yokohira, Keiko Yamakawa, Yuko Narusawa, Yoko Matsuda, Katsumi Imaida

Oncology Pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University

[Background] As an animal model for lung tumor, it is established employing intraperitoneal injection (i.p.) of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) to female A/J mouse, the strain with frequent occurrence of lung tumor. This model is used widely for concise procedure and harvest many tumors steadily. However, there is limit information for the tumor growth or incidence sequentially.

[Aim] The tumor incidences were examined sequentially with the results of the experiments used mouse model for lung tumor by NNK in our laboratory.

[Materials and Methods] Comprehensive evaluation was performed with 6 experiments since 2003 in our laboratory. 3 experiments employed single i.p. of 2 mg/mouse NNK, and remaining 3 experiments did twice i.p. of 2 mg/mouse NNK biweekly.

[Results] On week 8, both hyperplasias and adenomas in the lung were confirmed despite of an early stage after NNK i.p. The proliferative lesions in the lung were increased gradually after NNK i.p., they reached the incidence of 15 on week 16. Even after week 16, the incidence was remaining the almost same. On week 52, adenocarcinomas began to arise, and adenocarcinomas were induced more than adenomas on week 78.

[Conclusion] Both hyperplasia and adenoma are arising at an early stage after NNK i.p., and the total number of proliferative lesions reaches plateau with approximately 15 on week 16. On week 52, adenocarcinoma begins to arise, and adenocarcinomas are induced more than adenomas on week 78.

## P-19

## Histopathological analysis of mouse pulmonary fibrosis models induced by oropharyngeal administration of bleomycin or silica

○ Aiko Ishii<sup>1)</sup>, Kyohei Kamio<sup>1)</sup>, Takuya Takeda<sup>2)</sup>, Naoki Kojima<sup>2)</sup>, Yutaka Nakanishi<sup>1)</sup>, Minoru Sasaki<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Taisho Pharmaceutical Co., Ltd. Drug Safety, <sup>2)</sup>Taisho Pharmaceutical Co., Ltd. Pharmacology 2

[Aim] Bleomycin (BLM) or silica (Si)-induced pulmonary fibrosis (PF) models are widely used, and pathological features of these models varies by dosage, route and time. We evaluated the lungs of models histopathologically, and determined whether they can be useful as PF animal model for drug development.

[Methods] BLM (1.0 U/kg), Si (125, 400 mg/kg), or saline (control) were oropharyngeally administered to C57BL mice (8W, female). Necropsy was conducted 2 or 4 weeks after dosing. Lung tissue sections were stained with hematoxylin-eosin, sirius red (SR) and masson-trichrome. Histopathological evaluation, semi-quantitative analysis using fibrosis (F) and inflammatory cell infiltration (ICI) scores, and image analyses using SR-positive and alveolar space ratio of the proximal area of the left lobe were performed.

[Results] Fibrosis and inflammatory cell infiltration were observed in BLM group, and multifocal foreign body granuloma with fibrous proliferation and inflammatory cell infiltration were observed in Si group. F- and ICI-scores were high in BLM and Si groups compared to control groups. Especially the highest score were noted in the proximal area of the left lobe. SR-positive ratio were high and alveolar space ratio were low in BLM and Si groups compared to control groups.

[Conclusion] These BLM or Si-induced mouse models were considered to be useful for evaluating PF, though characteristic features of idiopathic PF (honeycomb lung) was not observed under this experimental design.

## P-20\*

## Pathological studies of lung proliferative lesions induced by *N*-ethyl-*N*-nitrosourea in F344 offspring rats

○ Tetsuya Ide<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Yasuko Mizuta<sup>1)</sup>, Yuji Oishi<sup>2)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, <sup>2)</sup>Molecular Pathology, Graduate School of Medicine, Osaka City University

[Background] We previously reported the results of the study examined effects of manganese on *N*-ethyl-*N*-nitrosourea (ENU)-induced tumorigenicity in the central nervous system in offspring rats. In that study, various proliferative lesions were frequently detected in the lung. The purpose of the present study was to reveal the pathological features of the lung proliferative lesions in offspring rats.

[Methods] ENU was injected intravenously to female F344 rats with a single dose at 20 mg/kg body weight on the 17th day of gestation. After spontaneous delivery, 80 male and 93 female offspring with administration of manganese at concentrations of 0 (control), 0.002, 0.01 and 0.05% were subjected to the evaluation. By 34 weeks of age, all offspring rats were euthanized for histopathology.

[Results and Discussion] The bronchiolo-alveolar proliferative lesions were observed in the lung in both the sexes (male, 71.3%; female, 23.7%). In the male offspring, hyperplasia, adenoma and carcinoma were detected in 25.0%, 46.3% and 37.5%, respectively. In the female offspring, hyperplasia and adenoma were detected in 15.1% and 10.8%, respectively, while carcinoma was not. There were no manganese treatment-related changes in any of the groups, indicating the lung proliferative lesions were due to the transplacental exposure to ENU. The results suggested the transplacental exposure of a single ENU dose induces bronchiolo-alveolar proliferative lesions with a male predominance in the incidence.



## P-21\*

## Morphological features of lung tumors induced by dermal administration of 1,2-dichloroethane and 2,3-dibromo-1-propanol

○ Tomomi Hara, Yuko Doi, Teruaki Hagiwara, Norio Imai, Akari Fujiwara, Mayumi Kawabe

DIMS Institute of Medical Science, Inc.

[Background and Aim] It was previously reported that tumorigenicity might be assessed by the dermal route base on the results of the 26-week dermal study on 1,2-dichloroethane: DCE and 2,3-dibromo-1-propanol: DBP those induced lung tumor as a target in rasH2 mice. In this study, we examined each morphology of lung tumors induced by DCE or DBP, and their pathological differences are discussed. [Materials and Methods] The back skins of 50 rasH2 mice of each sex were totally applied with DCE: 42 or 126 mg/200  $\mu$ L/mouse, 3 times/week and DBP: 44 or 88 mg/kg b.w., 5 times/week, and acetone (vehicle): 100  $\mu$ L/mouse, daily. At 26th week application, lungs were removed, fixed, stained with H.E, and observed microscopically. The adenomas found were typed: solid, papillary and mixed. Besides, the degree of inflammation (macrophages, neutrophils, etc.) associated with adenoma was scored and assessed. [Result] Adenomas caused by DCE and DBP were mostly papillary in both sexes, and the mixed type was less in DBP. A few adenoma in the acetone were papillary. In the score analysis of the inflammation vs vehicle, macrophages showed higher value or trend in DBP of both sexes, and neutrophils showed higher value in the female DBP. Also, the total value of the inflammation score was higher in DBP of both sexes. [Conclusion] It was clarified that growth morphology of lung tumors possibly differs depending on the test article: carcinogen given, and the degree of accompanied inflammation is also different.

## P-22

## Three-dimensional analysis of lung metastatic tumors in mice

○ Jin Soek Kang<sup>1)</sup>, Seyl Kim<sup>2)</sup>, Ha Neul Lee<sup>1)</sup>, Se Ryeong Jeong<sup>1)</sup>, Hyun Ji Won<sup>1)</sup>, Kibeom Park<sup>3)</sup>, Sooah Park<sup>4)</sup>, Woonggyu Jung<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Biomedical, Laboratory Science, Namseoul University, <sup>2)</sup>Ferramed Inc., National Nanofab Center, KAIST,

<sup>3)</sup>Department of Biomedical Engineering, Ulsan National Institute of Science and Technology,

<sup>4)</sup>In Vivo Research Center, UNIST Central Research Facilities, Ulsan National Institute of Science and Technology

[Background] Conventional histopathology is being largely grounded on light microscopy in two dimensions. However, the growing need in biomedical medical research highlights the importance of viewing three-dimensional (3D) structures. [Aim/Objective] The objective of this study was to develop reliable tools for quantifying the metastatic tumor and for visualization of tumor structure in the lung of mice using micro-computed tomography (micro-CT), optical coherence tomography (OCT) and field emission-scanning electron microscope (FT-SEM). [Materials and Method] Melanoma cells were intravenously injected into C57BL/6 mice and mice were euthanized at two or four weeks after injection. Lungs were fixed and scanned using micro-CT and total tumor volume was quantified. OCT and FT-SEM were performed for visualization inside tumor structure. [Results] Micro-CT analysis showed clear distinction between tumor and normal cells in surface lesions as well as inner ones, making 3D quantification of tumor volume. OCT illuminated a clear difference in tumor areas compared to normal ones, which was confirmed by histopathological observation. FT-SEM clearly showed round tumor cells were mainly located in alveolar wall and growing inside alveoli. [Conclusion] Whole-tumor 3D imaging was successfully applied to quantify the volume of metastatic tumor and to visualize tumor structures. This promising approach will provide a fast and label free 3D phenotyping of diverse tissue structure.

## P-23\*

## Effect of transportation under different temperature conditions on organoids derived from murine normal tissue

○ Yuta Irisawa<sup>1)</sup>, Akihiro Hirata<sup>2)</sup>, Hiroki Sakai<sup>1)</sup>, Toshio Imai<sup>3)</sup><sup>1)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Gifu University, <sup>2)</sup>Department of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu University,<sup>3)</sup>Department of Animal Experimentation, National Cancer Research Institute

[Introduction] It has been reported that the subcutaneous injection of organoids derived from murine normal tissues, exposed to chemical carcinogens *in vitro*, into nude mice generates tumor-like lesions, suggesting the potential applicability in carcinogenicity assessment of chemicals. However, advanced technical skills are required to prepare stable organoids from mouse organs. To overcome this obstacle, we investigated whether transporting organoids between institutions was a possibility and assessed the impact of transportation on the organoids. [Materials and Methods] Organoids derived from the lungs of rasH2-Tg and non-Tg mice were prepared at the National Cancer Center Research Institute and transferred to Gifu University under uncontrolled or refrigerated temperature via delivery services. The organoids embedded in Matrigel were transported two days after passage. On arrival, a liquid culture medium was added to the Matrigel. [Results and Discussion] After arrival, the organoids transported under uncontrolled temperature grew normally and were able to passage five days later, regardless of the genotypes rasH2-Tg or non-Tg. Conversely, almost all of the organoids transported under refrigerated temperature collapsed within two days after arrival and were unable to passage, although any morphological abnormalities were not observed on arrival. Next, we plan to investigate the optimum temperature and timing after passage to transport organoids in a laboratory setting.

## P-24

## Intrapulmonary and mediastinal behavior of alveolar macrophages observed in mice exposed by inhalation with nanomaterials with different physical properties

○ Shigetoshi Aiso, Shotaro Yamano, Yumi Umeda, Hitomi Kondo, Misae Saito, Kenji Takanobu, Hideki Senoh, Jun Kanno

Japan Bioassay Research Center, Japan Organization of Occupational Health and Safety

[Background and Objectives] It is feared that humoral factors released from alveolar macrophages (M $\phi$ ) phagocytosing nanomaterial (NM) and frustrated phagocytosis may cause inflammation and lung disease. A threshold for frustrated phagocytosis due to differences in length has been proposed (A. Schinwald, K. Donaldson, 2012). We investigated the behavior of alveolar macrophages in mice exposed by inhalation with three types of NM, which are presumed to have different frustrated phagocytosis states.

[Materials and methods] TiO<sub>2</sub> (AMT-600 TAYCA), MWCNT (MWNT-7 MITSUI), and another type of MWCNT (MWCT-N Nikkiso) were dispersed by Taquann method and exposed (T-TiO<sub>2</sub>, T-CNT 7, T-CNTN). Male mice were exposed these test NMs, or clean air for 2 hr/day/week for 5 weeks. Broncho alveolar lavage fluid (BALF), lung and mediastinum were collected under inhalation anesthesia at 0, 1, 4, and 8 weeks after the exposure.

[Results] Any inflammatory changes in the lungs. Mild granulomas and fibro genesis were observed with T-CNT 7 exposed animals, and mild specimen deposition was observed with T-CNTN exposed animals. In BALF smear, NM phagocytosis by M $\phi$  and M $\phi$  aggregation were different depending on the type of the NM. Histopathological examination revealed microscopic changes in the lungs corresponding to the BALF smear and transition to the mediastinum.

[Conclusion] The Foreign matter processing style by alveolar M $\phi$ s are differs depending on the physical properties of NMs.

P-25\*

## Pathological and pathophysiological features of cardiac lesions in Duchenne muscular dystrophy model rats

○ Ryota Tochinnai<sup>1)</sup>, Mao Miyamoto<sup>1)</sup>, Shin-Ichi Sekizawa<sup>1)</sup>, Yoshiharu Tsuru<sup>2)</sup>, Masayoshi Kuwahara<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Dep. of Vet. Pathophysiol. and Anim. Health, The Univ. of Tokyo, <sup>2)</sup>Primetech Corp.

[Background and Aim] Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a progressive muscular disorder caused by *Dmd* gene mutations on X chromosome. Recently, a rat model (DMDR) has been developed and expected to have cardiac lesions similar to those in humans. In this study, the pathological and pathophysiological features and its progression of the cardiac lesions in DMDR were investigated.

[Materials and Methods] *Dmd* heterozygous-deficient females and wild-type males (Nakamura K, et al. Sci Rep. 2014) were obtained from Department of Veterinary Physiology, the University of Tokyo, and the male offspring (*W-Dmd*<sup>em1Kykn</sup>) were used. 1) Hearts were collected at 3, 5 and 10 months of age, and HE- and Masson trichrome-stained specimens were observed. 2) ECG were analyzed at 3, 5 and 8 months of age. 3) Echocardiography was performed at 9 months of age.

[Results] In DMDR, 1) degeneration/necrosis and fibrosis of cardiomyocytes were observed. Fibrosis was more prominent at 10 months of age. 2) The lower P wave amplitude and higher R wave amplitude were detected. At 8 months, the lower P wave amplitude, sinus irregularity and premature ventricular contraction were observed. 3) Lower values of myocardial weight and cardiac contractility index were observed.

[Discussion] Pathological and pathophysiological changes occurred in heart of DMDR and progressed with the aging, which had some points of similarity to human, and thus DMDR can be a valuable model for studying cardiology of human DMD.

P-26\*

## C. albicans infection in the forestomach promotes inflammatory carcinogenesis in the non-infected colorectum in diabetic mice

○ Yuko Izumo, Nanayu Osima, Yui Terayama, Tetsuro Matsuura, Kiyokazu Ozaki

Setsunan University of Pharmacy

Forestomach candidiasis is developed in alloxan (AL)-induced diabetic mice treated with *Candida albicans* (*C. albicans*). *C. albicans* infection in the colorectum of mice reportedly deteriorates inflammation in the lung distant from the infected site. Thus, we investigated whether drug-induced inflammatory colorectal cancer is deteriorated using diabetic and non-diabetic mice with forestomach candidiasis. Colorectal cancer was induced by AOM+DSS in all mice, and the mice were divided into 4 groups, not treated (N), treated with *C. albicans* (C), treated with AL (D), and treated both with *C. albicans* and AL (DC). Forestomach candidiasis was induced in all the 3 groups except for N group, and the lesions were severe in D and DC groups. The incidence of colon carcinoma in DC group was significantly increased compared to the other groups at 20 weeks of age, but no difference was detected among groups at 25 weeks of age. The incidence of rectum carcinoma did not differ among groups at 20 weeks of age, but the development of invasive carcinoma in D group was significantly enhanced compared to N group at 25 weeks of age. The incidence of invasive carcinoma of the rectum in DC group showed tendency to increase compared to N and C groups at 25 weeks of age. These findings suggest that *C. albicans* infection of the forestomach in diabetic mice may promote the incidence of inflammatory carcinogenesis in the colon and induce advanced cancer in the rectum.

P-27

## Cholinesterase inhibitor rivastigmine exacerbates dyslipidemia and lipid accumulation of salivary acinar cells in alloxan diabetic rats

○ Yasushi Kodama<sup>1)</sup>, Kiyokazu Ozaki<sup>2)</sup>, Mayumi Kamigaki<sup>1)</sup>, Kumatoshi Ishihara<sup>1)</sup>, Tetsuro Matsuura<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Lab. Pharmacol. and Pathophysiol., Hiroshima Int. Univ., <sup>2)</sup>Lab. Pathol., Setsunan Univ.

We demonstrated that alloxan-induced diabetic rat was induced hyposalivation and vacuolization due to lipid accumulation of salivary acinar cells. Since blood cholinesterase (ChE) levels increase in diabetes, these changes of salivary gland may result from weakening of cholinergic function. Although we tried to inhibit ChE by rivastigmine, there was no effect on salivation. Here, we examined the morphological changes of the salivary gland, pancreas and liver with rivastigmine. Male Wistar rats aged 7 weeks were divided into 4 groups; Control, ChEI, DM, DM+ChEI. DM and DM+ChEI groups were given a single dose of alloxan, and ChEI and DM+ChEI groups were administered 5 mg/kg rivastigmine transdermally for five-day 9 weeks. These rats were sacrificed at 16 weeks of age. The blood TG levels in the DM+ChEI and DM groups were significantly higher than those in the other groups, and DM+ChEI group was approximately twice that in the DM group. Histopathologically, vacuolization of acinar cells was observed in parotid gland, tongue serous gland and pancreas of DM and DM+ChEI groups, and was most prominent in the DM+ChEI group. Furthermore, in the DM+ChEI group, small lipid droplets accumulation in hepatocytes was frequently observed. However, there were no significant change in the ChEI group. The present study revealed that rivastigmine exacerbates dyslipidemia and increases vacuolization of acinar cells in serous salivary gland and pancreas, and hepatocytes.

P-28

## Utilization of an orthotopic transplantation model to study the effects of *RHOA* mutations on DGC morphology

○ Etsuko Fujii<sup>1)</sup>, Kiyotaka Nakano<sup>1)</sup>, Masami Suzuki<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Forerunner Pharma Research Co., Ltd., <sup>2)</sup>Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

[Background and Aim] Orthotopic transplantation (OT) models have enhanced tumor-stromal interactions and are thought suitable for studying the biology of *RHOA*-mutated human diffuse gastric cancer (DGC). Here we have studied the effects of *RHOA* mutations on tumor morphology in an OT model of a human gastric cell line MKN74. [Materials & Methods] *RHOA*-mutated (Y42C, Y42S), and non-mutated (WT, mock) MKN74 cells were transplanted into the gastric wall of scid mice, and the tumor tissues sampled at 4 weeks after transplantation. RNA sequencing and analysis was performed for human (tumor) and mouse (stromal) cells. In addition, HE, Sirius red, and immunohistochemical (F4/80, CD31) stains were conducted. [Results] There was a distinct difference in gene expression profiles in tumor cells but not stromal cells between mutated and non-mutated tumors. The functionality of mutated *RHOA* was confirmed by enrichment of the ROCK signal inhibition pathway. The mutated tumors predominantly consisted of small nests, with a larger number of blood vessels and infiltration of macrophages. Furthermore, there was little anti-tumor reaction at the invasion front of the tumor, which was thought to reflect the morphological characteristics of *RHOA*-mutated DGC. [Discussion] Thus, we were able to accurately analyze an OT model by combining gene expression and histopathological analysis. By this method we were able to show that *RHOA* mutations functionally contribute to the morphology of mutated DGC.

## P-29

**Inhibition of tumor necrosis factor alpha and increased of interleukin 10 by lactobacillus to protect against TNBS-induced ulcerative colitis in chicks**

○ Long Jing<sup>1,2)</sup>, Zhiqiang Yu<sup>1)</sup>, Xueli Gao<sup>1)</sup>, Chaonan Liu<sup>1)</sup>, Xiaoping Lv<sup>1)</sup>, Shimin Zheng<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Northeast Agricultural University, <sup>2)</sup>CTI Biotechnology (Suzhou) Co., Ltd.

The objective of this study was to evaluate the effects and mechanism of Lactobacillus on TNBS-induced ulcerative colitis chicks. There are three groups in this study, control, Lactobacillus and ulcerative colitis groups. One-day-old chicks were fed with microcapsules containing Lactobacillus LA-5 daily for Lactobacillus group and clustered with TNBS to make the model of ulcerative colitis at 10-days-old. Chicks in control and ulcerative colitis groups were fed with empty microcapsules daily at 1-day-old and then chicks in ulcerative colitis group were induced by TNBS for preparation of ulcerative colitis model at 10-days-old. We detected the changes of mRNA and protein expression of TNF-alpha and IL-10 in the colon by Real-Time PCR and Western Blot. Histopathology evaluation on colon was conducted. Chicks pretreated with Lactobacillus had striking injury improvement compared with ulcerative colitis group in histopathology. Compared with ulcerative colitis group, down-regulation of TNF-alpha and up-regulation of IL-10 were observed in Lactobacillus group chicks. Therefore, Lactobacillus could improve the injury of intestinal mucosa and reduce inflammatory response by regulating mRNA and protein expression levels of TNF-alpha and IL-10, respectively. In conclusion, Lactobacillus could ameliorate the effects on chicks of TNBS-induced ulcerative colitis by reducing the inflammation and regulating the expression of TNF-alpha and IL-10, respectively.

## P-30\*

**Analysis of the toxicity mechanisms on the intestinal injury induced by deoxynivalenol in mice**

○ Kinuko Uno<sup>1)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2)</sup>, Daichi Numata<sup>2)</sup>, Ryota Yato<sup>2)</sup>, Hikaru Hanyu<sup>1)</sup>, Kazuo Hattori<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch., Tokyo Univ. Agricul., <sup>2)</sup>Dept. Nutri. Sci. Food Safety, Tokyo Univ. Agricul.

[Aim] Deoxynivalenol (DON) is one of the mycotoxin, had a wide distribution in soil, crops and so on. This study was revealed toxicity mechanisms in small intestine caused by repetitive oral administration of DON in mice. Moreover, it aimed at verifying the correlation with the evaluation by the organoid created from the small intestine of the mouse. [Materials and Methods] In male C57BL6/j mice, DON administrated repeatedly per oral, and fed a control diet, for a week. At necropsy, blood was collected to be used in measurement of blood cells and analysis by flow cytometer, and the intestine, liver and spleen was removed, weighed and stored as frozen tissue or fixed in 4% PFA, to be used in histopathological examination, gene expression analyses. [Results] In blood cells measurement, hematocrit percent and red blood cell count were reduced by DON. And as a result measuring cytokines levels in serum, IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$  were shown a tendency to increase. [Conclusion] The results of blood cell measurements suggested the effect of DON on the erythroid system. Furthermore, DON was shown the increase of inflammatory cytokines by assay of serum cytokines, therefore, the result indicated the possibility that DON induced inflammation. Histopathological analysis are proceeding, since previous reports demonstrated that DON had histopathological effects on the small intestine. In addition, we will verify and report the relationship with organoid evaluation.

P-31\*

## Histopathological study on feline duodenal adenoma

○ Mizuho Uneyama, James Chambers, Kazuyuki Uchida, Hiroyuki Nakayama

Laboratory of Veterinary Pathology, The University of Tokyo

[Background & Aim] Feline duodenal adenoma (FDA) commonly occurs in the duodenal bulb (DB), and the pathologic features resemble those of pyloric gland-type adenoma in the human duodenum. There are several types of epithelial cells in the DB, but the origin of FDA remains unknown. In this study, we histopathologically examined FDA to know the origin and pathogenesis.

[Materials & Methods] Tumor tissues of FDA from 6 cats (male: 3, female: 3, age: 7–13 years old) were examined with HE, Alcian blue (AB) -PAS or ConcanavalinA paradox (ConA-P) stain. Immunohistochemistry for CD10, Cytokeratin (CK) 7, CK19, CK20, CDX2,  $\beta$ -catenin, Ki67 and p53 was also performed.

[Results & Discussion] Accordingly, epithelial cells in normal feline DB were categorized into 1) absorptive-, 2) duodenal gland-, 3) pancreatobiliary- and 4) mixed- (both duodenal gland and pancreatobiliary features) types. Tumor cells in all 6 cases were positive for PAS, ConA-P and CK19, but negative for AB, CD10 and CDX2. Positive reactions of tumor cells for CK7 and CK20 were found in 4/6 and 2/6 cases, respectively. This staining profile was similar to that of mixed-type duodenal cells, therefore FDA may develop from the mixed-type cells. Furthermore, a cluster of epithelial cells in normal DB showed a higher positive ratio of Ki67, suggesting the predilection of FDA in this site. Since few tumor cells had a nuclear accumulation of  $\beta$ -catenin and p53, these molecules might be little involved in the pathogenesis of FDA.

P-32

## Effects and mechanism of action of new anticancer agents

○ Saeko Ando, Eri Yoshimoto, Harutoshi Matsumoto, Katsumi Fukamachi, Masumi Suzui

Department of Neurotoxicology, Graduate School of Medical Science and Medical School, Nagoya City University

An anticancer lead compound, palmitoyl piperidinopiperidine (PPI) was discovered by us (Patent No. 5597427, 2014). Based on the information of the chemical structure determining tumor specificity of PPI, we succeeded in developing new anticancer agents DPH and DPHE that exhibit higher cytotoxicity and tumor specificity. In a current study, we demonstrate the effects and mechanism of action of these two compounds. *In silico* docking calculation indicates that DPH/DPHE can bind to SH2 domain of transcription factor STAT3 (Discovery Studio 2017R2). Docking score of DPH/DPHE was DPH>DPHE>PPI>STA21 (a STAT3 specific inhibitor). When carcinoma cells were treated with 0.3  $\mu$ M DPH, 92% of these cells die but at the same concentration 92% of normal colon epithelial cells survived. DPHE inhibited transcriptional activation of STAT3 in carcinoma cells and decreased the expression levels of phosphorylated form of STAT3 without affecting that of STAT3. The level of cytotoxicity in carcinoma cells was DPH>DPHE>PPI>Cryptotanshinone (a STAT3 specific inhibitor) >5FU. In FACS analysis, DPH/DPHE induced subG1 fraction of HT29 and HCT116 cells. DPHE decreased the expression levels of pro-PARP, Bcl2, and pro-caspase9. DPH also decreased the number of blood vessels of chick chorioallantoic membrane (CAM). Taken together, DPH/DPHE may exert their effects by inhibiting transcriptional activity of STAT3.



**P-33****Modification effects of Bear Bile Powder on the late period of hepatocarcinoma formation in SD rats**

○ Meilan Jin, Mei Zhang, Zexuan Hong, Xinyu Zou, Jian Wang, Zili Wang, Wen Xiong, Yuwei Xu

Laboratory of Veterinary Pathology, College of Animal Science and Technology, Southwest University

Last year, we reported that natural drug Bear Bile Powder (BBP) has an inhibitory effect on early period of hepatocarcinogenesis. In the present study, to clarify the modification effects of the BBP on late period of hepatocarcinoma formation in SD rats, the animals were divided into the three groups and all animals were received an intraperitoneal (i.p.) injection of DEN at a dose of 200 mg/kg body weight. The animals of two groups were given drinking water containing 80 ppm NMOR for first week and fourth week to tenth week and drinking water 40 ppm NMOR at the third week. On other, the animals in the BBP-treated group were subjected oral administrations of 200 mg/kg BBP for 7 weeks after NMOR treated. As a result, the relative liver weights in the NMOR-treated groups were significantly increased compared to the control group. In addition, clearly nodule formation was observed in the NMOR-treated group. The incidence of proliferative lesions, the number and area of GST-P positive foci, the positive cells ratio on TUNEL assay and the expression levels of genes related to cell proliferation or apoptosis were no change between the DEN+NMOR group and DEN+NMOR+BBP group. However, the Ki67 positive ratio of the BBP-treated group was significantly decreased compared to the DEN+NMOR group. These results may suggest that the BBP on the late period of hepatocarcinoma formation in rats can inhibit the cell proliferation activity, but can't suppress the development of hepatocarcinoma.

**P-34****Analysis of novel markers and molecular targets in NASH hepatocarcinogenesis**

○ Anna Kakehashi, Naomi Ishii, Min Gi, Shugo Suzuki, Hideki Wanibuchi

Dept Mol. Pathology, Osaka City University, Grad. Sch. Med., Osaka

Potential molecular biomarker of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) hepatocarcinogenesis, cache domain containing 1 (CACHD1), was evaluated in NASH model STAM mice administered high fat diet (HFD) from 4 to 18 weeks of age and human NASH hepatocellular carcinomas (HCCs). In HFD-treated STAM mice livers number and area of CACHD1+ foci, hepatocellular adenomas (HCAs) and carcinomas (HCC) was significantly increased after the 14-week treatment as compared to control. Furthermore, CACHD1+ foci of non-basophilic or eosinophilic nature were observed in STAM mice livers. The CACHD1 was weakly stained in basophilic foci and HCAs but highly positive in eosinophilic, mixed-type foci and HCAs. The subcellular localization of CACHD1+ in foci and HCAs was bound to cytoplasm, either both cytoplasm and nuclei. PCNA+ cell number in CACHD1+ foci and surrounding liver was significantly increased in STAM mice compared to control animals. Clinicopathological analysis demonstrated that CACHD1 positivity in human NASH HCCs was correlated with low survival rate of patients. From these results, it could be concluded that CACHD1 might play important role in hepatocarcinogenesis and may become an early NASH-associated marker for liver preneoplastic lesions of STAM mice and a prognosis marker in NASH HCC patients. CACHD1 expression could be stimulated by hyperglycemia and hyperlipidemia, while its function might be related to molecular transport, transcription and cell proliferation.

## P-35

## The expression of Sox9 in two different types of GST-P positive foci induced by furan or DEN in terms of their cell kinetics after cessation of carcinogen treatment

○ Shinji Takasu<sup>1)</sup>, Sae Nakane<sup>1,2)</sup>, Yuji Ishii<sup>1)</sup>, Aki Kijima<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>, Takashi Umemura<sup>1,2)</sup><sup>1)</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,<sup>2)</sup>Faculty of Animal Health Technology, Yamazaki University of Animal Health Technology

[Introduction] We previously reported that glutathione S-transferase placental form positive (GST-P<sup>+</sup>) foci induced by diethylnitrosamine (DEN), a genotoxic hepatocarcinogen, were increased after cessation of the treatment, but those by furan, unclassified hepato- and biliary carcinogen, were decreased. In addition, comprehensive gene expression analysis showed the existence of GST-P<sup>+</sup> cells showing different gene expression in furan-induced GST-P<sup>+</sup> foci. In present study, we conducted immunohistochemical analysis for Sox9, one of the genes of which expression were specifically up-regulated in furan-induced GST-P<sup>+</sup> foci. [M&M] 6-week old male F344 rats were given 8 mg/kg/day (5 days/week) furan by gavage or 10 ppm DEN in the drinking water for 13 weeks. Immunohistochemical analysis for GST-P and Sox9 was performed just after the cessation of the treatment and 7 weeks later. [Results] In the furan-treated group, Sox9 expression was detected in part of GST-P<sup>+</sup> foci just after the cessation of the treatment. In contrast, no Sox9 expression was observed in DEN-induced GST-P<sup>+</sup> foci. After 7-week cessation, there were no Sox9<sup>+</sup> cells in both furan- and DEN-induced GST-P<sup>+</sup> foci. [Discussion] The results indicated that Sox9 might be associated with kinetics of furan-induced GST-P<sup>+</sup> foci. Furthermore, because Sox9 has been also reported to be related with differentiation potential to bile duct epithelial cell, the induction of Sox9 might be involved in biliary carcinogenesis of furan.

## P-36\*

Investigations of the mechanisms underlying acetamide-induced hepatocarcinogenesis using *gpt* delta rats○ Kenji Nakamura<sup>1,2)</sup>, Yuji Ishii<sup>1)</sup>, Aki Kijima<sup>1)</sup>, Shinji Takasu<sup>1)</sup>, Takehiko Nohmi<sup>1)</sup>, Makoto Shibutani<sup>2)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,<sup>2)</sup>Laboratory of Veterinary Medicine, Tokyo University of Agriculture and Technology

[Aim] Acetamide (AA), a contaminant in foods, is carcinogenic in liver of rats. However, the underlying mechanisms remain unknown. Although several genotoxicity tests showed negative results, *in vivo* mutagenicity has not been reported. In this study, we examined the reporter gene mutation in liver and the mechanisms underlying AA-induced hepatocarcinogenesis using *gpt* delta rats.

[Methods] Six-week-old male *gpt* delta rats were fed a diet containing 0.625, 1.25 and 2.5% AA for 90 days. Blood samples were collected for the examination of hepatotoxic parameters in serum. Livers were extirpated for the use of histopathological examination, *gpt* and Spi<sup>-</sup> assay.

[Results] *gpt* and Spi<sup>-</sup> mutant frequencies (MFs) did not show significant changes at any doses. The increases of serum AST and ALT, vacuolation of hepatocytes, oval cell hyperplasia, and Ki67-positive hepatocytes were observed from 1.25% group. Moreover, basophilic cytoplasmic inclusions, positive for Feulgen stain, were observed in many hepatocytes.

[Discussion] The MFs in liver did not change at the carcinogenic doses (i.e. 1.25 and 2.5%), suggesting the lack of mutagenic mechanism in AA-induced hepatocarcinogenesis in rats. The hepatic injuries and cell proliferation observed at the carcinogenic doses might contribute to its hepatocarcinogenesis. As the cytoplasmic inclusion of hepatocyte was derived from a nucleus, we will conduct further investigations on the possibility of chromosome aberration of AA.

## P-37\*

## Luteolin suppresses pancreatic carcinogenesis by inhibition of pSTAT3 pathway and DPD expression

○ Hiroyuki Kato<sup>1)</sup>, Aya Naiki-Ito<sup>1)</sup>, Shugo Suzuki<sup>2)</sup>, Satoru Takahashi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Experimental Pathology and Tumor Biology Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

<sup>2)</sup>Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

[Background] We previously reported in this meeting that Luteolin (100 ppm), one of flavonoids, intakes in diet suppressed incidence and multiplicity of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) in hamster pancreatic cancer model induced by N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine and quick fat diets. And multi-blot analysis using MiaPaCa revealed that Lut inhibited pSTAT3 expression. In this study, we focused on detail mechanisms of inhibiting pancreatic cancer growth. [Materials and Methods, and Results] Microarray analysis demonstrated Lut downregulated dihydropyrimidine dehydrogenase (*DPYD*) expression and *DPYD* expression related to poor prognosis in TCGA pancreatic cancer database. DPD encodes by *DPYD* expressions had positive relation to pSTAT3 expressions in several human pancreatic cancer cell lines. pSTAT3 inhibitor also inhibited DPD expression, on the other hand, IL6 (STAT3 stimulator) accelerated DPD expression. Furthermore, knockdown *DPYD* inhibited cell proliferation and pSTAT3 expression. In hamsters treated with Lut, DPD and pStat3 positivities were significantly decreased in PanINs and there was weak relation between DPD and pSTAT3 expression. In tissue array of human PDACs, we found that high expressions of DPD related to poor prognosis and there was weak relation between DPD and Ki67 expression. [Conclusion] Lut has potential as a chemopreventive agent for PDAC by inhibition of pStat3 signaling pathway, relating with DPD expression.

## P-38\*

## Effect of *Siraitia Grosvenorii* extract on NASH-like lesions induced by a choline-deficient, methionine-lowered, L-amino acid-defined, high fat diet in mice

○ Akari Abe<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Toshihiro Suzuki<sup>2)</sup>, Ryouta Matsushima<sup>2)</sup>, Tomoyuki Motoyama<sup>3)</sup>, Kinuko Uno<sup>3)</sup>, Megumi Yuki<sup>2,5)</sup>, Ryuhei Sano<sup>3)</sup>, Shuji Ogawa<sup>3)</sup>, Atsushi Watanabe<sup>3)</sup>, Mihoko Koyanagi<sup>4)</sup>, Shim-mo Hayashi<sup>6)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2,3)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, <sup>2)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture, <sup>3)</sup>Department of Food and Nutritional Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, <sup>4)</sup>Global Scientific and Regulatory Affairs, SAN-Ei Gen F.F.I., Inc., <sup>5)</sup>NEW HISTO SCIENCE LABORATORY CO., LTD., <sup>6)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Cooperative Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

[Aim] In this study, we investigated effects of *Siraitia Grosvenorii* extract (SG) on non-alcoholic steatohepatitis (NASH)-like pathosis induced by a choline-deficient, methionine-lowered, L-amino acid-defined, high fat diet (CDAA-HF(-T)) in mice for 7 months. [Methods] C57BL/6J mice (male, 6 weeks old) were fed a CDAA-HF(-T) or a basal diet for 7 months. During the same period, SG was dissolved in deionized water at a concentration of 0, 0.2, 0.6 and 2.0%, and administered in the drinking water. At necropsy, the liver was removed, weighed and stored as frozen, or fixed in 10%-buffered formalin. Histopathological examination and molecular biological analyses in the liver were then performed.

[Results] SG attenuated liver fibrosis, hepatic stellate cell activation and overexpression of liver fibrosis related genes by CDAA-HF-T (-) depending on the concentration of SG. On the other hand, SG did not affect hepatic steatosis.

[Conclusion] The above results indicate that SG suppresses liver fibrosis without affecting fatty liver in the NASH like pathosis caused in mice by CDAA-HF-T (-).

## P-39

## Diphenylarsinic acid is a transplacental liver carcinogen in CD1 mice

○ Min Gi<sup>1)</sup>, Shugo Suzuki<sup>2)</sup>, Anna Kakehashi<sup>2)</sup>, Takashi Yamaguchi<sup>2)</sup>, Hideki Wanibuchi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Environmental Risk Assessment, Osaka City University Graduate School of Medicine,

<sup>2)</sup>Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

[Background] Diphenylarsinic acid (DPAA), a neurotoxic organic arsenical, is present in the groundwater and soil in some regions of Japan due to illegal dumping. Exposure to chemicals during fetal development can increase the risk of mental retardation in childhood and cancers in adulthood. [Aim] To determine the carcinogenic effects of prenatal DPAA exposure in CD1 mice. [Materials and Methods] Pregnant CD1 mice were given 0, 6.25, 12.5 or 25 ppm DPAA in drinking water from gestation day 8 to 18. After gestation day 18 there was no further DPAA treatment. Male offspring were observed for up to 84 weeks of age. [Results] Incidence of hepatocellular tumor was significantly increased in the male offspring of mice transplacentally exposed to 25 ppm DPAA. There were not increases in the incidences of tumors in organs and tissues in the female offspring. LINE-1, a surrogate measure of global DNA methylation, was globally hypomethylated in livers of 6-week-old male offspring of mice transplacentally exposed to 25 ppm DPAA, but not in female offspring. Furthermore, microarray analysis revealed that multiple liver cancer-related genes are dysregulated in livers of 6-week-old male offspring of mice transplacentally exposed to 25 ppm DPAA. [Conclusion] DPAA is a transplacental liver carcinogen in mice. Aberrant genes expression associated with altered DNA methylation are involved in the process of hepatocarcinogenesis induced by transplacental exposure to DPAA.

## P-40

## Lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity in human hepatocyte chimeric mice (PXB mice)

○ Yuji Sasaki<sup>1)</sup>, Akiko Moriyama<sup>1)</sup>, Ayako Kimura<sup>1)</sup>, Junko Matsuo<sup>1)</sup>, Yukio Fujiwara<sup>2)</sup>, Hiroyuki Izumi<sup>3)</sup>, Kinji Kobayashi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., <sup>2)</sup>Department of Cell Pathology, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University, <sup>3)</sup>Preclinical Company, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Aim: PXB mice are chimeric mice with more than 70% of the liver replaced with human hepatocytes. We investigated the effect of a single dose of lipopolysaccharide (LPS) on the human hepatocytes in PXB mice.

Methods: Male PXB mice (LPS-injected mice: 21 to 24 weeks old, non-treated mice: 18 to 33 weeks old) were used in this study. LPS ( $3 \times 10^6$  EU/mg) was injected intraperitoneally at a dose of 1 or 1.5 mg/kg. At 1 mg/kg, mice were necropsied at 6 hours (n=1) or 24 hours (n=4) after injection. At 1.5 mg/kg (n=1), the mouse was sacrificed due to moribundity at 5 hours after injection. Livers from LPS-injected mice and non-treated mice (n=9) were examined microscopically. Additionally, immunohistochemical staining for human COX-IV and rodent COX-IV was performed to differentiate between human and murine cells.

Results: At 1 mg/kg, single cell necrosis was observed in 3 of 4 animals necropsied at 24 hours after injection. No inflammatory cell infiltration was observed in any animal. At 1 mg/kg (6 hours after injection), 1.5 mg/kg, and in non-treated animals, no histopathological changes were noted in the liver. Immunohistochemical staining revealed 83.7 to 97.2% of liver tissue and 80.0 to 87.5% of necrotic hepatocytes were positive for human COX-IV at 1 mg/kg (24 hours after injection).

Conclusion: Our results suggest that a single injection of LPS causes single cell necrosis in human hepatocytes at 24 hours after injection in PXB mice.

## P-41\*

## Analysis of the background mechanism of NASH-like lesions in male hL-FABP Tg mice

○ Kanjiro Ryu<sup>1)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2,3)</sup>, Soon Hui Teoh<sup>2)</sup>, Ayane Yamaguchi<sup>1)</sup>, Kaho Hidaka<sup>3)</sup>, Keiichi Ohata<sup>4)</sup>, Kinuko Uno<sup>2)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>1,3)</sup>, Syuji Ogawa<sup>2)</sup>, Atsushi Watanabe<sup>2)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,

<sup>2)</sup>Department of Food and Nutrition Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,

<sup>3)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture,

<sup>4)</sup>CMIC HOLDINGS Co., Ltd., L-FABP Business Department

[BACKGROUND] Liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) has been reported to be a biomarker that can consistently evaluate prognosis from early stage of chronic hepatitis to hepatocellular carcinoma in patients with liver disease. In this study, we analyzed diet-induced NASH-like lesion in human L-FABP chromosomal transgenic (hL-FABP Tg) mice.

[METHODS] Male hL-FABP Tg mice and C57/BL6 (WT) mice were fed basal diet and choline deficient methionine reduced high fat amino acid (CDAA-HF) diets *ad libitum* for 2, 13 and 26 weeks. After feeding periods, blood and liver were sampled and performed serum biochemical and histopathological analysis.

[RESULTS] Concentrations of the serum hL-FABP increased from 2 weeks of feeding with CDAA-HF in Tg mice. Activities of the serum AST and ALT increased from 2 weeks fed with CDAA-HF in Tg and WT mice and the levels of these changes were lowered in Tg mice compared to WT mice. In histopathology, severe fatty change of hepatocyte, slight inflammation and fibrosis were observed in Tg and WT mice from 2 weeks of CDAA-HF feeding, these findings were progressed at 13 and 26-week feeding of CDAA-HF. At 26 weeks of treatment with CDAA-HF, mass formation was observed macroscopically and serum level of hL-FABP prominently elevated consistent with in one-animal of Tg mice.

[DISCUSSION] hL-FABP Tg mice showed that L-FABP could be used as a non-invasive biomarker for NASH to identify NASH pathological conditions and to investigate therapeutic methods.

## P-42

## Comparative immunohistochemical features of the liver in the STHD-01 or CDAHFD-fed NASH model mice —Immunohistochemical examination—

○ Yuko Togashi, Toyohiko Aoki, Yuki Saito, Chieko Ejima, Yui Yamaura, Yasuteru Otagiri, Naomi Matsutani, Seiichiro Kurashige, Ayatoshi Ando, Terutaka Kodama

Research Institute, EA Pharma Co., Ltd.

[Background] The histopathological features of the liver in two NASH model mice induced by the different mechanisms, STHD-01 and CDAHFD-fed mice were reported in the 46th annual meeting of the Japanese society of toxicology. To reveal them further, the immunohistochemical examination were conducted. [Materials and Methods] Male C57BL/6J mice were fed with STHD-01 diet containing high fat and cholesterol we developed, and choline-deficient, L-amino acid-defined, high-fat diet (CDAHFD) for 6, 9 and 12 weeks *ad libitum*, and immunohistochemical examination of liver were conducted. [Results and Conclusion] In the STHD-01 and CDAHFD-fed mice, The lipids of hepatocytes were different in size, and they were mainly microvesicular and macrovesicular, respectively. The hepatic crown-like structures (hCLS) where macrophages aggregate to surround necrotizing hepatocytes with large lipid droplets, were observed in any model, but lipogranuloma were apparent in the CDAHFD-fed mice. Hepatic necrosis/degeneration and inflammatory cell infiltration were hardly different. The hCLS and lipogranuloma were positive for CD68, and they were surrounded by  $\alpha$ -SMA positive cells, and intracellular fibrosis occurs. From these results, hCLS were considered to be starting point of fibrosis in the STHD-01 and CDAHFD-fed mice. In addition, the results of the other immunohistostaining will be summarized.

**P-43\*****Establishment of a NASH animal model by modifying dietary composition in SHRSP5/Dmcr rats**

○ Tomoyuki Motoyama<sup>1)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2)</sup>, Kinuko Uno<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Takahiro Masaki<sup>4)</sup>, Tomokazu Matsuura<sup>4)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2)</sup>, Ritsu Furusyo<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch., Tokyo Univ. Agricul., <sup>2)</sup>Dept. Nutri. Sci. Food Safety, Tokyo Univ. Agricul., <sup>3)</sup>Dept. Internat. Food and Agri Sci, Tokyo Univ. Agricul., <sup>4)</sup>Dept. Lab. Med, Jikei Univ. Med.

**Aim:** We aim to establish an animal model of the non-alcoholic steatohepatitis (NASH) with regard to Japanese a dietary habits, and to analyze histological and biochemical characteristics and the involvement of vitamin A metabolism in such a model.

**Materials and Methods:** A total of 15 male, 11-week-old, SHRSP5/Dmcr rats were equally divided into 3 groups of CD, HFC, and HFFNC, in which the AIN76 basal diet, an AIN76-based high fructose, fat and cholesterol diet, and an AIN76-based high fructose and fat and choline-devoid diet were fed, respectively, for 8 weeks. Animals were then sacrificed to obtain livers and serum. The liver was histopathologically examined, and hepatic mRNA expression of genes relating to inflammation, fibrosis and vitamin A metabolism was assessed. In addition, the levels of serum markers for lipid metabolism and liver injury, and vitamin A in the liver and serum were measured.

**Result:** In HFC, the liver weight was increased. In HFFNC, the body weight and visceral fat tissue weight were increased. In the liver, large lipid droplets in hepatocytes and inflammatory cell infiltration were seen in HFC, while sinusoidal dilatation and small lipid droplets in centrilobular hepatocytes were observed in HFFNC. Fibrosis-relating genes were overexpressed in both HFC and HFFNC, but serum activities of ALT and AST were increased only in HFC. Hepatic level of vitamin A was decreased in HFC and HFFNC, whereas serum level of retinol was increased in HFFNC.

**Conclusion:** Steatosis, hepatocellular damage and inflammation were induced in HFC livers, but hepatocellular atrophy and the accumulation of lipid to visceral fat were occurred in HFFNC. The vitamin A metabolism changed accordingly in each group.

**P-44****Effect of LPS exposure on the disease progression in a rat NAFLD model**

○ Machi Atarashi, Takeshi Izawa, Eri Mizuguchi, Sakura Fujiwara, Mitsuru Kuwamura, Jouji Yamate

Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a liver disease with a global prevalence of 25%, and can progress to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Intestinal endotoxin, such as lipopolysaccharide (LPS), is considered to be a factor of disease progression, but its detailed role in NAFLD remains to be elucidated. Here we investigated the effect of LPS exposure in the progression of NAFLD. Six-week-old male F344 rats were divided into six groups; Cont, 0.1 LPS, 0.5 LPS, Western diet (WD), WD+0.1 LPS, and WD+0.5 LPS groups. Rats in the former three groups were fed a standard diet (DC-8), while those in the latter three were fed a WD (40% fat, 43% carbohydrate) and sugar water for 20 weeks. Additionally, rats were given an intraperitoneal injection of LPS (0.1 or 0.5 mg/kg) twice a week from week 9. Serum triglyceride increased in WD group, while glucose and hepatic enzymes did not increase in WD group. Hepatic enzymes tended to increase in WD+0.1LPS and WD+0.5LPS groups. Centrilobular, macrovesicular steatosis and mild lobular inflammation were seen in WD group, relevant to non-alcoholic fatty liver (NAFL) in humans. In WD+0.1LPS and WD+0.5LPS groups, multifocal necrosis in the mid zone was observed. WD feeding combined with LPS injection induced liver injury in fatty liver, without progression to steatohepatitis. We are planning a new experiment of WD feeding with dietary/drinking LPS exposure, to induce persistent endotoxemia in NAFLD model.



**P-45\*****A murine model for hepatocarcinogenesis with NASH by a choline-deficient, methionine-lowered, amino acid-defined, high fat diet (CDAA-HT-T (-))**

○ Noriko Kemuriyama<sup>1)</sup>, Akari Abe<sup>2)</sup>, Kinuko Uno<sup>3)</sup>, Linfeng Gao<sup>2)</sup>, Kanjiro Ryu<sup>2)</sup>, Ayane Yamaguchi<sup>2)</sup>, Megumi Yuki<sup>1,4)</sup>, Syuji Ogawa<sup>3)</sup>, Ryuhei Sano<sup>3)</sup>, Atsushi Watanabe<sup>3)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2,3)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Nutr. Sci. Food Safety, Facul. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agricul., <sup>2)</sup>Dept. Nutr. Sci. Food Safety, Grad. Sch. Agricul., Tokyo Univ. Agricul., <sup>3)</sup>Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. Agricul., Tokyo Univ. Agricul., <sup>4)</sup>New Histo Science Laboratory Co., Ltd.

Background: Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) is a progressive disease that can progress to cirrhosis and hepatocellular carcinoma, but its details are still unknown. We have so far developed a high fat CDAA diet, CDAA-HT-T (-), using trans fatty acid-free shortening as a lipid raw material. Feeding this to mice was shown to induce NASH with liver tumors.

Methods: Six-week-old male C57BL/6J mice were continuously fed a normal control diet or CDAA-HF-T (-) (lipid 45%; trans fatty acid-free shortening, methionine 0.1%) for 1 or 1.5 years

Results: The 1-year-fed groups were sacrificed on schedule, while 1.5-year-groups were killed at the end of month 14, because too many mice had died in CDAA-HF-T (-) group. The liver of the 1-year CDAA-HF-T (-) is group, the formation of a giant masses intraocularly was observed in all cases, and the liver weight increased to more than 250% of the normal diet group.

Conclusions: The present study indicates that CDAA-HF-T(-) can induce liver tumor in addition to NASH-like pathosis when administered for 1 year. This model will be useful to elucidate NASH-associated hepatocarcinogenesis.

**P-46\*****Pathophysiology study of lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxemia model rats**

○ Junichi Sugiyama, Hideki Tanaka, Shota Yoshida, Kenji Matsubara, Fumiko Ninomiya, Hiromi Yamamoto, Satoshi Suzuki, Kazuhiko Besshi

Discovery and Preclinical Research Division, TAIHO Pharmaceutical Co., Ltd.

[Aim] In the toxicity study of anticancer drug and immunosuppressor, animals may lapse into sepsis. Therefore, it is important to understand the pathological condition to evaluate the true toxicity of test articles. In the present study, we administered LPS to rats and investigated changes due to endotoxemia. [Methods] LPS solution was administered to SD rats at 1 mg/kg (i.v., 1 mL/min). They were divided into two groups composed of 5 rats per group. We conducted blood sampling for rats of each group 1 hour or 5 hours after administration, respectively, and again 24 hours after administration. These animals were analyzed pathologically. In addition, cytokine measurements and clinical tests were performed using sampled blood. [Results] In cytokine measurements, TNF- $\alpha$  peaked 1 hour after LPS administration. IL-6 and IFN- $\gamma$  peaked 5 hours after LPS administration. The results of clinical tests suggested the activation of coagulation and fibrinolytic system, inflammation, bleeding, and liver dysfunction. Histopathological examination revealed multifocal mid-zonal necrosis of the liver and thrombus-like substance, which were positive for fibrin immunostaining in the perilobular region in all animals. [Discussion] These study results basically coincided to characteristic changes already reported, but there were no reference of mid-zonal necrosis of the liver. In such cytokine release situation, hepatic lobule mid-zonal necrosis might be involved in the fibrin thrombus.

**P-47\*****A case of a peliosis hepatis-like lesion of the liver in a young Sprague-Dawley (SD) rat**

○ Taishi Shimazaki, Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi, Akiko Anagawa-Nakamura, Kaoru Toyoda, Eriko Tani-riya, Akemi Takahashi, Yoshifumi Miyakawa, Toshiyuki Shoda

Toxicology Research Laboratories, Yokohama Research Center, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.

[Introduction] Peliosis hepatis in the liver of humans is a rare lesion characterized by multiple cystic spaces (1 to 10 mm in diameter) filled with blood. In rodents, some cases of spontaneous peliosis hepatis in aging animals have been reported. We report a case of a peliosis hepatis like-lesion observed diffusely in the liver in a young SD rat.

[Materials and Methods] The animal, a 7-week old male SD rat in the treated group in a 2-week repeated dose toxicity study, was sacrificed in moribund condition at Day 8 of the dosing period. At necropsy, dark reddish cysts (1 mm in diameter) filled with blood were diffusely found in all the hepatic lobes.

[Results] Histopathologically, vascular cavities which looked like hepatic sinusoids were markedly dilated and filled with erythrocytes. In the dilated vascular cavities, fibrin thrombus formation at an early and/or late stage was also observed. Endothelial cells of the dilated vascular cavities were positive for CD31 and CD34, while negative for SE-1 (hepatic sinusoidal endothelial cells antibody).

[Conclusion] In peliosis hepatis of humans and aging rats, sinusoidal endothelial cell injury causes sinusoidal dilatation and 'blood lake' lesion. In peliosis hepatis of the newborn infants, it has been reported that an angioplasia causes aneurysmal dilatation of the central vein of the liver, then rupture of sinusoids occurs. Detailed morphological profiles of the present case will be discussed with further analysis.

**P-48****Analysis of  $\gamma$ -H2AX positive index in the hepatic carcinogen-administrated rat liver**

○ Jun-ichi Akagi, Young-Man Cho, Takeshi Toyoda, Yasuko Mizuta, Tetsuya Ide, Akiyoshi Nishikawa, Kumiko Ogawa

Div. Pathology, Natl. Inst. Health Sci.

[Background]  $\gamma$ -H2AX is strongly induced by DNA double strand breaks (DSB) and is widely used as a DSB marker. We have found that an increase of  $\gamma$ -H2AX-positive cells in rat urinary bladder epithelium could sensitively and specifically predict urinary bladder carcinogenicity. On the other hand,  $\gamma$ -H2AX-positive cells were not always increased in hepatic carcinogen-administered rat liver.

[Aim] To investigate possible application for detection of liver carcinogens by the increase of  $\gamma$ -H2AX-positive cell ratio as an index.

[M & M] Liver sections of male F344/DuCrj rats administered maximum tolerable or carcinogenic doses of 2-nitropropane (2-NP), *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN), *o*-aminoazotoluene HCl (AAT), *p*-cresidine (*p*-Cre), or *N*-nitrosomorpholine (NMOR) for 4 weeks were immunostained by using anti- $\gamma$ -H2AX antibody and then counted  $\gamma$ -H2AX-positive cell ratio.

[Results] Increases in  $\gamma$ -H2AX-positive indices were observed in the rat liver administered DHPN and 2-NP and NMOR (both are positive in chromosomal aberration test (CA) and liver micronucleus test (NM)). No increase in  $\gamma$ -H2AX-positive index was observed by *p*-Cre, which is negative in CA and liver comet assay. Decrease in  $\gamma$ -H2AX positive-indices was observed by AAT, which is positive in Ames test but negative in CA.

[Conclusion] Sensitivity of  $\gamma$ -H2AX indices for liver carcinogen used in this study was 60% (3/5). It is suggested that  $\gamma$ -H2AX induction in the liver is possibly associated with mode of action of chemicals.

**P-49****The regulatory mechanism of androgen receptor splice variant by microRNA in castration-resistant prostate cancer**○ Aya Naiki-Ito<sup>1)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>1)</sup>, Shugo Suzuki<sup>2)</sup>, Satoru Takahashi<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Experimental Pathology and Tumor Biology Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,<sup>2)</sup>Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

[Background] We recently reported that luteolin has chemotherapeutic effect on castration-resistant prostate cancer (CRPC). The inhibitory effect of luteolin was due to down-regulation of androgen receptor splice variant 7 (AR-V7), which contributes to cell proliferation and therapeutic resistance of CRPC. The present study focused on regulatory mechanisms of AR-V7 by microRNA (miRNA). [Methods] We chose miRNAs up-regulated more than 2-fold by luteolin in human CRPC cells, 22Rv1 by microarray. *in silico* analysis using a miRBase Sequence Database was performed to detect miRNAs that directly interact with AR-V7. A miRNA was transfected into 22Rv1 cells or induced by luteolin treatment in 22Rv1 xenograft tumor, and AR-V7 expression, cell proliferation and chemotherapeutic efficacy of enzalutamide were analyzed. [Results] Among miRNAs up-regulated by luteolin, miR-X was identified as a miRNA that is able to bind the 3'-untranslated region of AR-V7. Forced transfection of miR-X caused a decrease in AR-V7 and significantly suppressed cell proliferation by the induction of apoptosis. Enzalutamide-only treatment did not affect the tumor growth of 22Rv1. However, enzalutamide plus luteolin greatly inhibited tumor growth by miR-X induction. [Conclusion] MiR-X induced by luteolin has an important role in the reduction of AR-V7 protein, resulting in inhibiting tumorigenesis and the enzalutamide resistance of CRPC. Therefore, miR-X may be a novel therapeutic target for CRPC.

**P-50****Hyperplasia promoting effect of cotinine on rat urinary tract**○ Shugo Suzuki<sup>1,2)</sup>, Hiroyuki Kato<sup>2)</sup>, Aya Naiki-Ito<sup>2)</sup>, Hideki Wanibuchi<sup>1)</sup>, Satoru Takahashi<sup>2)</sup><sup>1)</sup>Department of Molecular Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine,<sup>2)</sup>Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

[Aim] Tobacco smoking is a major risk factor for human cancers including urinary bladder carcinoma. In previous study, a major component of tobacco smoke, nicotine, promoted urothelial carcinoma in N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)-induced urinary bladder carcinogenesis in rats. In the present study, we examined the tumor promoting activities of cotinine, a major metabolite of nicotine, on rat urinary tract. [Materials and Methods] Six-week-old rats were administered 13, 40 and 120 ppm cotinine or 40 ppm nicotine in drinking water for 4 weeks. Rats were sacrificed and urinary bladder and kidneys were removed. Histological, immunohistochemical and scanning electron microscope (SEM) analyses were performed. [Results] Cotinine induced simple hyperplasia, and cell proliferation in a dose dependent manner in urothelium of both urinary bladder and renal pelvis of rats. Meanwhile, the effects of same dose of nicotine were much higher than those of cotinine. Nicotine but not cotinine treatment induced cellular necrosis detected by SEM and apoptosis in urothelium of urinary bladder. There were none or less apoptosis on urothelium of renal pelvis of rats treated with cotinine or nicotine. [Conclusion] Cotinine could exerts to promote carcinogenesis on rat urinary tract including urinary bladder and renal pelvis, and effect of cotinine is considered to be a part of important effects of nicotine on urinary carcinogenesis.

**P-51\*****The possible role of hepatocyte growth factor (HGF) in tumor development induced by BBN in the rat urinary bladder**○ Takanori Yamada<sup>1,2</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1</sup>, Kohei Matsushita<sup>1</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1</sup><sup>1</sup>Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., <sup>2</sup>Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agri. Tech.

[Background] We reported that  $\gamma$ -H2AX, a biomarker of DNA damage, and bladder cancer stem cell markers (CSMs) are useful for early detection of bladder carcinogens, and that persistent formation of  $\gamma$ -H2AX and CSMs in the normal-like urothelium may be important in the BBN-induced bladder carcinogenesis of rats. Here, we explored the genes associated with the progression from normal-like urothelium to focal proliferative lesions, and examined its relationship with  $\gamma$ -H2AX and CSMs. [Methods] Six-week-old male F344 rats were given 500 ppm BBN in drinking water for 4 weeks, and necropsied at the end of administration or after 2 weeks as a recovery period. Gene expression analysis for about 250 genes related to inflammation and growth factors and the Ingenuity Pathway Analysis (IPA) were performed. Immunohistochemistry for hepatocyte growth factor (HGF),  $\gamma$ -H2AX, and CSMs was conducted using rat bladder samples of BBN-induced bladder tumor model. [Results and Discussion] A total of 102 genes including HGF showed significant increases at both timepoints. HGF-positive cells were persistently observed not only in proliferative lesions but in the normal-like urothelium, and often co-expressed with  $\gamma$ -H2AX and CSMs. IPA revealed that HGF increases CSMs directly or indirectly via STAT3/MYC, and that STAT3, MYC, and the downstream factors are associated with bladder carcinogenesis. These results suggested that HGF-triggered STAT3/MYC pathway was involved in BBN-induced bladder carcinogenesis.

**P-52\*****Search for novel predictive markers for progression from acute kidney injury to chronic kidney disease**○ Kohei Matsushita<sup>1</sup>, Takeshi Toyoda<sup>1</sup>, Takanori Yamada<sup>1,2</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1</sup><sup>1</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,<sup>2</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology

[Aim] Disrupted tubular regeneration after acute kidney injury (AKI) leads to chronic kidney disease (CKD). To identify novel predictive markers for CKD progression after AKI, we examined histological changes of renal tubules in AKI to CKD model rats and gene expression profile of disrupted tubules.

[Methods] Six-week-old male SD rats were subjected to 30 or 60 min ischemia/reperfusion in the left kidney and necropsied after 1, 3, 5, 7, 14, and 28 days for histopathological examination. Renal tubules in fibrotic area of 60 min group at day 28 were collected by microdissection and cDNA microarray analysis was performed.

[Results] Tubular necrosis was observed in both 30 and 60 min groups at day 1. From day 3 to 7, many regenerative tubules and dilated tubules were detected in 30 and 60 min group, respectively. Interstitial fibrosis with dilated or atrophic tubules was observed in the 60 min group after day 14. In 60 min group, dilated tubules at day 3 and tubules after day 7 were positive for p21 and  $\beta$ -galactosidase, respectively. Microarray revealed that 836 genes including CD44 with 100-fold increase were upregulated in tubules in fibrotic area. Dilated tubules from day 3 to 7 and tubules in fibrotic area were positive for CD44.

[Discussion] Disrupted tubules were dilated immediately after necrosis and transiently expressed p21 followed by cellular senescence. CD44 may express in disrupted tubules prior to fibrosis and thus is expected as a predictive marker for renal fibrosis.

**P-53\***

## Promotion effects of acetoaceto-o-toluidide on BBN-induced bladder carcinogenesis in rats

○ Nao Yukimatsu, Min Gi, Anna Kakehashi, Shugo Suzuki, Hideki Wanibuchi

Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

Recent years, employees who handled aromatic amines such as o-toluidine (OTD) at a chemical factory in Japan developed bladder cancer. 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. We have shown that AAOT causes cellular proliferation and DNA damage in urinary bladder of rats in short-term toxicity study. To evaluate the promoting effects of AAOT on urinary bladder in rats, we conducted two-stage carcinogenicity study in which AAOT was administered for 31 weeks after administration of N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) for 4 weeks. To ascertain the carcinogenic mechanism of AAOT on urinary bladder in rats, we used microarray gene expression analyses to investigate differential gene expression in the bladder urothelium of rats administered carcinogenic doses of AAOT for 4 weeks. In two-stage carcinogenicity study, the incidences and multiplicities of bladder tumors were significantly increased in the 0.5 and 1.5% groups of male and female rats in a dose-response manner. Urine level of OTD were extremely high compared to AAOT in the rats administered AAOT. In microarray gene expression analyses, expression of JUN and its downstream target genes were increased in the urothelium of male rats treated with 1.5% AAOT. It was found that AAOT is carcinogen to urinary bladder, and OTD metabolized from AAOT is the ultimate carcinogen of AAOT.

**P-54\***

## Histopathological examination of the kidney in 5/6 nephrectomized mice administered with Angiotensin II

○ Eriko Riya, Yasuharu Numata, Yuzo Yasui, Yusuke Kemmochi, Akiko Anagawa-Nakamura, Kaoru Toyoda, Taishi Shimazaki, Akemi Takahashi, Yoshifumi Miyakawa, Toshiyuki Shoda

Yokohama Research Center, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.

[Background and Aim] C57BL/6 mice has been known to be resistant to chronic kidney disease (CKD) by 5/6 nephrectomy (5/6Nx). A recent study showed that Angiotensin II (Ang II) infusion within a few days after 5/6Nx induced CKD in this mice. In this study, we investigated whether CKD lesions were induced in C57BL/6 mice treated with Ang II more than 2 months after 5/6Nx. [Materials and Methods] Experiment 1: 6–7 weeks old male C57BL/6 mice were treated with 5/6Nx or sham surgery (Sham). After 10 weeks of operation, kidneys of some animals were sampled. Experiment 2: Ang II (0.75 µg/kg/min) or saline was infused by subcutaneous osmotic pump for 4 weeks from 11 weeks after 5/6Nx. After injection, kidneys of all animals were sampled. [Results] Experiment 1: There were no CKD-related changes in any groups. Experiment 2: Increase of mesangial matrix/sclerosis of glomeruli, hyaline cast, degeneration/regeneration of renal tubul and inflammatory cell infiltration were observed as very slight to moderate (mainly very slight to slight) in the 5/6Nx-Ang II group. Similar findings were observed as very slight in Sham-Ang II and 5/6Nx-Saline groups. Sham-Saline group had no findings. [Conclusion] In the 5/6Nx-Ang II group, CKD-related changes were induced and were slightly more severe than those in the other groups. These results suggest that Ang II infusion more than 2 months after 5/6Nx induced CKD lesions in C57BL/6 mice, but these methods did not severely worsen CKD-related lesions.

**P-55****Method for producing of stable rat model of chronic kidney disease-mineral bone disorder**

○ Takumi Horikawa, Yusuke Sano, Haruka Uki, Atsushi Watanabe

Medical Technology &amp; Material Laboratory, Medical Products Development Division, Asahi Kasei Medical Co., Ltd.

[Background] Chronic kidney disease-mineral bone disorder (CKD-MBD) is associated with all -cause and cardiovascular morbidity and mortality in patients with CKD. Animal model of CKD-MBD is essential to develop of an appropriate treatment for CKD-MBD. In this study, we investigated the method for producing of stable rat model of CKD-MBD model. [Materials and Methods] Male Sprague-Dawley rats were used for this study. In this study, the high-phosphate (HP) diet contained 2.1% and 2.4% P, whereas the non-high-phosphate (NP) diet contained 0.3% P. We performed a right-side nephrectomy (Nep) on 8-week-old rats. After two weeks (10 weeks of age), the animals began the NP or HP diet. 8 weeks after the diet change, all animals were sacrificed and their blood, left kidney, parathyroid gland, femur, and so on were collected. [Results] At 2 weeks, Nep-2.1% and Nep-2.4% suppressed body weight gain. At 1 week, Nep-2.1% and Nep-2.4% significantly increased plasma creatinine, blood urea nitrogen and P, on the other hand Ca decreased at 4 weeks. In hematology test, red blood cells decreased at 8 weeks. [Conclusion] In this study, we established the methods for producing of stable rat model of CKD-MBD. Detail result will be announced at our presentation.

**P-56\*****Pathological features of imiquimod-induced lupus nephritis model**○ Atsuko Murai<sup>1)</sup>, Masaki Yamazaki<sup>1)</sup>, Kaori Nishihara<sup>1)</sup>, Aki Kito<sup>2)</sup>, Atsuhiko Kato<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Pathology Group, Discovery Technology Dept., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.,<sup>2)</sup>Frontier 1G, Discovery Pharmacology Dept., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

[Background and aim] Imiquimod (IMQ)-induced SLE model (IMQ model) develops lupus nephritis (LN)-like disease earlier than spontaneous models do with helping us shorten the period of drug efficacy test. IMQ model has recently been developed and there are a few reports describing detailed pathology of this model. We examined IMQ model histopathologically and compared it with human LN. [Materials and Methods] 8 week-old female FVB/N mice were treated with IMQ on the ear 3 times a week. The kidneys were collected 2 to 10 weeks after IMQ treatment. [Results] Six weeks after IMQ treatment, urine protein increased and serum albumin decreased. Histopathologically, increase of the mesangial region with IgG deposits without prominent endocapillary hypercellularity was observed in glomeruli after 4 weeks. After six weeks, enlargement and vacuolation of podocytes were observed. In glomeruli with podocyte vacuolation, the number of cells positive for p57, a podocyte marker, decreased. [Discussion] Based on the pathological findings, the glomerular lesion seems to be similar to that in LN class II in ISN/RPS classification. The clinical abnormality may be caused by podocyte injury. LN patients develop nephrotic syndrome usually with class III, IV, or V. On the other hand, a few LN patients with class I or II develop podocyte injury with nephrotic syndrome and are diagnosed as lupus podocytopathy. We will discuss about a relation of IMQ model and lupus podocytopathy.



**P-57****Juvenile eosinophilic inflammation at ureteropelvic junction induces hydronephrosis and chronic inflammation-related urothelial cancer in mutant mice derived from C57 BL/6 strain**

○ Kiyokazu Ozaki, Tetsuro Matsuura

Lab. Pathol. Setsunan Univ.

We have reported frequent incidence of hydronephrotic kidney with polyp accompanied by inflammation and uroepithelial hyperplasia at ureteropelvic junction in a colony of C57 BL/6 strain (B6-H). The aim of this study was to clarify the pathogenesis of transformation from hydronephrosis to tumorigenesis in B6-H strain. Method: Ureteropelvic junction of B6-H mice were histologically examined at 1, 2, 3, 5, and 8 weeks of age, and proliferative change was analyzed at 60 weeks of age. Result: The kidney of B6-H was grossly normal till 5 weeks of age, and hydronephrosis was detected after 8 weeks of age. At 1 week of age, eosinophil infiltration was observed at the submucosa and peri-ureter tissue, and extended to the epithelia at 5 weeks of age. After 5 weeks of age, macrophage and lymphocyte infiltrated the submucosa, and urothelial hyperplasia was also observed. Ym1 was expressed in hyperplastic urothelia, and umbrella cell was positive for CHI311. At 60 week of age, polyp at ureteropelvic junction of hydronephrotic kidney consisted of eosinophilic infiltration and urothelial hyperplasia, and urothelial adenoma and carcinoma were observed in approximately 90% of mice with hydronephrosis. Discussion: Our findings suggest that inflammation initiated by eosinophil infiltration and chitinase-like protein expression may induce urothelial hyperplasia leading to hydronephrosis in B6-H strain, and further chronic inflammation may induce urothelial proliferation and carcinogenesis.

**P-58\*****Investigation of pathological changes in kidney and heart in dead SDT fatty rats**○ Ayane Yamaguchi<sup>1)</sup>, Katsuhiro Miyajima<sup>1,2,3)</sup>, Anna Hashimoto<sup>3)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>3)</sup>, Masami Shinohara<sup>4)</sup>, Takeshi Ohta<sup>5)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate school of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, <sup>2)</sup>Department of Food and Nutrition Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, <sup>3)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture, <sup>4)</sup>Tokyo Animal & Diet Dept. CLEA japan, Inc., <sup>5)</sup>Laboratory of Animal Physiology and Functional Anatomy, Graduate School of Agriculture, Kyoto University

Recent studies suggest that there is a relationship between the kidneys and heart in terms of injury. In this study, we investigated the histopathological findings in the kidneys and hearts in dead SDT fatty rats in both sexes in order to understand cardio-renal linkage and find out the relationship between renal function and cardiac function. In this study, there were totally 56 samples each (fixed kidneys and heart), in 34 male SDT fatty rats that had died at 32 to 87 weeks old and 22 female SDT fatty rats that had died at 41 to 87 weeks old. In terms of histopathological changes, the followings were observed in kidneys: enlargement, increased mesangial matrix and fibrosis in glomeruli; hyaline cast, dilation and degeneration in renal tubule; and inflammatory cell infiltration and fibrosis in tubulointerstitium. Though all these findings were observed in both sexes, findings in males tended to be more severe and to appear earlier than in females. Infiltration of inflammatory cells, calcification in the myocardium and myocardial fibrosis in the heart were also observed in some animals, and the changes tended to increase in extent as aging progressed, however, there was no significant difference in cardiac findings between both sexes. Some animals with severe changes in the heart also tended to show severe changes in the kidney. Further analysis is needed to enable a more detailed understanding of the relationship between the kidneys and heart.

## P-59

## Early detection of renal carcinogens by immunohistochemistry for $\gamma$ -H2AX: determination of appropriate time point for evaluation

○ Takeshi Toyoda<sup>1)</sup>, Takanori Yamada<sup>1,2)</sup>, Kohei Matsushita<sup>1)</sup>, Jun-ichi Akagi<sup>1)</sup>, Young-Man Cho<sup>1)</sup>, Tomomi Morikawa<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

<sup>2)</sup>Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology

[Background] We aim to develop a novel method for early detection of renal carcinogens using  $\gamma$ -H2AX, a DNA damage marker. We examined  $\gamma$ -H2AX formation in the kidney of rats receiving renal carcinogens to determine the optimal timepoint for evaluation.

[Methods] Six-week-old male F344 rats were orally administered 0.06% tris (2,3-dibromopropyl) phosphate (TBPP), 0.0125% *N*-nitrosomorpholine (NMOR), 0.06% potassium bromate (KBrO<sub>3</sub>), 2% trisodium nitrilotriacetic acid monohydrate (NTA), 1,200 mg/kg *d*-limonene (LIM), and 90 mg/kg benzo[*a*]pyrene (BAP) for 14 days. The animals were necropsied at day 1, 2, 7, or 14, and immunohistochemistry for  $\gamma$ -H2AX in renal tubular epithelial cells was performed.

[Results and Discussion] In the TBPP group,  $\gamma$ -H2AX-positive cells in the outer stripe of the outer medulla ( $57 \pm 13$  cells/1,000 total cells at day 14) were significantly higher than the control group ( $1.3 \pm 2.1$ ) from day 2. In the NMOR/KBrO<sub>3</sub>/LIM/BAP groups,  $\gamma$ -H2AX-positive cells in the cortex were significantly increased to  $19 \pm 5.2$ ,  $26 \pm 12$ ,  $18 \pm 9.4$ , and  $14 \pm 8.7$ , respectively, at day 14. In the NTA group, many  $\gamma$ -H2AX-positive cells were found in the urothelium of renal pelvis. These results suggest that  $\gamma$ -H2AX is useful for early detection of renal carcinogens. Because  $\gamma$ -H2AX-positive cells tended to increase with the administration period in all groups, it was considered appropriate to evaluate the materials of 28-day study, which is widely used as a repeated dose toxicity test for chemicals.

## P-60\*

## A case of RccHan<sup>TM</sup>:WIST rat with multiple primary tumors and non-neoplastic proliferative lesions

○ Chisato Hayakawa, Masayuki Kimura, Yusuke Kuroda, Seigo Hayashi, Kazuya Takeuchi, Satoshi Furukawa

Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Corporation

[Background] The occurrence of multiple primary tumor or proliferative lesions is very rare in young aged rats spontaneously. We report a case that observed at 7-week-old female RccHan<sup>TM</sup>:WIST rat. [Materials and Method] There were multiple milky like white patches with partially nodule in bilateral kidneys, femoral subcutaneous masses (2 sites), abdominal subcutaneous mass, and hepatic nodule. These lesions and spinal cords were examined histopathologically. [Results and Discussion] The patches in the kidneys were diagnosed as renal mesenchymal tumor. Spindle cells were mainly proliferated around renal tubules, and were accompanied by the mixture of various cell components and epithelioid-like ductal structure. The one femoral subcutaneous mass was benign mixed tumor (adenolipoma type) consisted of mammary epithelial cells and mature adipocytes. The other femoral subcutaneous and the abdominal subcutaneous masses were diagnosed as lipoma. The liver nodule was diagnosed as non-regenerative hepatocellular hyperplasia characterized by proliferation of slightly hypertrophic hepatocytes associated with slight compression at peripheral border. There was no hepatocellular degeneration or lobular disarrangement in this nodule. In the cauda equina, enlarged Schwann cells grew around the axon, and this lesion was diagnosed as intramedullary neuroma. The etiology of these lesions is not clear, but there is one possibility related genetic abnormalities.

**P-61****Effects of ulipristal acetate on female reproductive system in rats**

○ Motoko Fukui<sup>1)</sup>, Rieko Okame<sup>2)</sup>, Norio Fukui<sup>2)</sup>, Seiji Shibata<sup>2)</sup>, Mitsui Isobe<sup>2)</sup>, Shigeru Hisada<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Development division, ASKA Pharmaceutical Co., Ltd., <sup>2)</sup>Innovative Drug Discovery division, ASKA Pharmaceutical Co., Ltd.

[Aim] Ulipristal acetate (UPA) is a selective progesterone receptor modulator which has both progesterone receptor (PR) agonistic and antagonistic effects. UPA is used for emergency contraception and uterine fibroids treatment, and has many effects on female reproductive system. We evaluated the effects of UPA on female reproductive system in rats. [Materials and Methods] 8-week female Wistar-Imamichi rats were orally treated with 0, 1 or 10 mg/kg of UPA for 3 months. Estrus cycle, ovarian and plasma hormone levels, and histopathology of reproductive organ were examined. [Results and conclusion] During the treatment period, rats showed estrus were dose dependently increased in the UPA-groups. At the sacrifice, plasma luteinizing hormone levels were increased in 1 mg/kg group. Plasma and ovarian estradiol (E2) levels were increased both 1 and 10 mg/kg groups, ovarian testosterone (T) levels were increased in 10 mg/kg group. However, these E2 and T changes were within physiological levels. Decreased in plasma progesterone levels and ovarian corpus luteum number in 10 mg/kg group were due to anovulation effects of UPA. Elongation of uterine surface epithelial cells and proliferation of uterine gland epithelial cells were observed in the UPA-groups, although these changes were within physiological changes. UPA had no effects on follicular number in each development stage. We suggest that these changes in the UPA-treated rats were caused by PR antagonistic effects of UPA.

**P-62****Squamous cell carcinoma originating from the epididymis in a transgenic mouse (Tg rasH2)**

○ Manabu Ikeda, Toshihisa Fujiwara, Junko Fujishima, Kinji Kobayashi

Drug Safety Research Laboratories, Pathology Department, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

[Introduction] Malignant epithelial tumors were observed in a Tg rasH2 mouse used in a 26-week carcinogenicity study. Because of the rarity of epithelial tumors originating from the epididymis, we examined the tumors histopathologically in order to understand the pathogenesis. [Materials and Methods] One animal (Jic:CB6F1-TgrasH2@Jcl, male, 29 weeks old) in the positive control group was necropsied after becoming moribund. At necropsy, a white mass (12×15×7 mm) was observed in the left caput epididymis. The mass was examined microscopically after H.E., histochemical and immunohistochemical staining. [Results] The mass was nodular and was occupied by pleomorphic tumor cells forming multiple nests and cords that were likely to be epithelial cell proliferation. These cells presented a cobblestone like appearance and formed intercellular bridges. Keratinization was infrequently observed. PAM staining revealed argyrophilic fibrous structures around the nests of tumor cells. The metastatic lesions were observed in the mesenteric, inguinal, and pancreatic lymph nodes. In other organs, squamous cell papilloma in the forestomach and the scrotum, and infiltration of thymic lymphoma in the liver, spleen, kidney and systemic lymph nodes were observed. [Conclusion] This animal was diagnosed with squamous cell carcinoma (SCC). The morphological characteristics noted in this animal closely resembled SCC. The origin of the SCC is suspected to be the epithelium of the ductus epididymis.

**P-63****Phenotypic changes of patient-derived endometrial cancer xenograft by increased passages**○ Toshio Imai<sup>1)</sup>, Yukino Machida<sup>1)</sup>, Angeline Ping Ping Teh<sup>1)</sup>, Hiroshi Yoshida<sup>2)</sup><sup>1)</sup>Central Animal Division, National Cancer Center Research Institute, <sup>2)</sup>Department of Pathology, National Cancer Center Hospital

[Introduction] Patient-derived tumor xenograft (PDX) models of various cancers have been established in National Cancer Center. It has been noted that the phenotypic changes of PDX by increased passages might be occurred. Therefore, accumulation of basic data for quality control of PDX is essential for their application as a drug efficacy model. [Aim] Phenotypic changes of PDX of endometrial cancer by increased up to 8 passages were evaluated. [Materials and Methods] Residual surgical specimens of 12 patients were subcutaneously implanted into NOG/NSG mice. When the tissues were engrafted and reached over 10 mm in the longest diameter, they were transplanted to another mouse. The residual pieces were cryopreserved and process to formalin-fixed, paraffin-embedded sections and stained with H&E. [Results] PDX models were established from 6 of 12 patients. Histopathological characteristics of each patient tissues were almost maintained from original cancer tissue to PDX of passage 8, except for one carcinosarcoma case, of which sarcomatous tumor cells were maintained but epithelial cancer cells were gradually lost and later ones were finally not engrafted at passage 5. In the case and another one, multinuclear giant cells were scattered at passage 8 and after frozen followed by re-transplantation, respectively. [Conclusion] It should be paid attention to phenotypic changes of endometrial cancer PDX by increased passages and/or freeze-thaw processes on a case by case basis.

**P-64\*****Incidence and characteristics of ovarian sex cord-stromal tumors in Crlj:CD-1(ICR) mice**

○ Moeko Aoki, Isamu Suzuki, Tomomi Nakazawa, Saori Igura, Hiroshi Edamoto, Shinichiro Ikezaki, Yuko Yamaguchi

Pathology Department, Bozo Research Center Inc.

[Introduction] The incidence of ovarian tumors (OTs) and sex cord-stromal tumors (SCTs) varies in different strains and species. Furthermore, SCTs are sometimes indistinctive in IHC. In this research, we examined the incidence of OTs in mice and rats, and classified the SCTs in ICR mice morphologically.

[Materials and Methods] The incidence of OTs and SCTs was examined in control ICR or B6C3F1 mice and CD (SD) or F344/Du rats (Charles River Laboratories Japan, Inc.) used in 2-year studies. In addition, SCTs in ICR mice were examined in detail using HE-specimens.

[Results] The incidence of OTs was 6.0% in ICR mice, 3.0% in B6C3F1 mice, 1.2% in SD rats and 1.3% in F344 rats.

In ICR mice, 53.4% of the OTs was SCTs, and the highest one was luteoma (22.4%). Granulosa cell tumors; tumor cells with scant cytoplasm and oval nuclei arranged in tubular/follicular patterns. Luteinization was observed only in 1/9 case. Luteoma; composed of round cells with eosinophilic granular/finely vacuolated cytoplasm in solid pattern. Sertoli cell tumors; some seminiferous tubule-like structures were observed. Thecoma; spindle cells arranged densely in interlacing bundles and whorled patterns. Mixed SCTs; 1/4 case consisted of granulosa and Sertoli cells, and the others were difficult to classify clearly.

[Discussion] The incidence of OTs in mice was higher than that in rats, especially in ICR mice. SCTs can be classified morphologically for the ICR mice since one cell type generally predominates.

## P-65

## Comprehensive analysis of microRNAs targeting *Vegfs* in pre-metastatic and post-metastatic niches in the lymph nodes of a mouse mammary cancer model

○ Masa-Aki Shibata<sup>1)</sup>, Kohei Taniguchi<sup>2,3)</sup>, Daisuke Okuzaki<sup>4)</sup>, Yuko Ito<sup>3)</sup>, Chinatsu Shiraoka<sup>1)</sup>, Rintaro Oide<sup>3)</sup>, Yoichi Kondo<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Anat. and Cell Biol., Div. of Life Sci., Osaka Medical College, <sup>2)</sup>Dept. General Gastroenterological Surg., Osaka Medical College,

<sup>3)</sup>Transl. Res. Prog., Osaka Medical College, <sup>4)</sup>Genome Info. Ctr., Res. Inst. Microbial Diseases, Osaka University

[Background] Accomplishment of cancer metastasis requires a suitable microenvironment in pre-metastatic niche. Comprehensive analyses of exosomal and nodal microRNAs (miRNAs) were conducted in pre-metastatic and post-metastatic phases of a mouse mammary cancer model. [Methods] BJMC3879Luc2 cells (metastatic mouse mammary cancer cell line) were subcutaneously inoculated into the mammary fat pad of female BALB/c mice, and they were euthanized at weeks 4 (pre-metastatic) and 7 (post-metastatic) post-implantation. Profiles of exosomal and lymph nodal miRNAs were analyzed in pre-metastatic and post-metastatic phases. [Results] Immunohistochemistry for LYVE-1 in non-sentinel LNs showed hyperplastic lymph sinus in the pre-metastatic phase as compared with the post-metastatic phase or untreated control mice. In real-time PCR analysis, relative expression of *Lyve1*, *Prox1*, *Vegfc* and *Vegfa* were markedly elevated in the pre-metastatic LNs. TEM observation showed some exosomes in marginal sinuses of the pre-metastatic LNs but not the control LNs. In comprehensive miRNA analyses, exosomal and nodal miRNAs targeting *Vegfs* were markedly elevated in the post-metastatic phase as compared with the pre-metastatic phase. [Conclusion] Exosomes derived from the primary tumors may modify the niche in distant LNs, where the circulating counterparts may preferentially metastasize there.

## P-66

## Histological characteristics of the thyroid gland in growth-retarded mice

○ Kenichi Kobayashi, Hisayo Kubota, Katsumi Ohtani

National Institute of Occupational Safety and Health, Japan

The gene responsible for the thyroid defects of the growth-retarded (*grt*) mouse was identified as tyrosylprotein sulfotransferase, which is indispensable for the activation of signaling mediated by thyroid-stimulating hormone (TSH). *grt* mice are unresponsive to TSH, the receptor for which is Tshr. Because *grt* mice exhibit congenital primary hypothyroidism, we carried out a microscopic evaluation of the thyroid gland to characterize all morphological defects. Three-month-old male and female mice were used. The body weight and thyroid weight of *grt* mice were significantly lower than the corresponding weights measured for phenotypically normal mice. Moreover, plasma concentrations of thyroxine and triiodothyronine in *grt* mice were significantly lower than the values for normal mice. The thyroid gland of *grt* mice was located in the normal position in the neck but was hypoplastic. Histologically, the *grt* mouse thyroid had a greater number of smaller follicles compared with normal mice. The colloid area in the *grt* mouse thyroid was significantly smaller than that of normal mice. These characteristics were observed in both sexes. These findings suggest that the *grt* thyroid gland is consistently maldeveloped and malfunctions as a consequence of a defect in TSH/Tshr signaling. Ultrastructural analyses of the thyroid gland of *grt* mice are in progress and will be discussed along with additional results at the meeting.

**P-67\***

## Islet cell carcinoma with angiovasion in a F344 rat

○ Shiori Fujiwara, Tsubasa Saito, Mizuho Takagi, Osamu Hashiguchi, Yumiko Kamiya, Kochi Kakimoto, Toru Hoshiya, Yuko Yamaguchi

Pathology Department, Bozo Research Center Inc.

[Background] Islet cell tumor has been described to occur focal invasion. Most of the changes are pseudoinvasion due to capsule destruction. We report histopathological features of islet cell carcinoma (ICC) accompanied by angioinvasion.

[Case] The animal was a male F344 rat (110-week-old) in the study for collection of background data. A nodule (3×2×2 mm) was noted in the pancreas. This animal had pheochromocytoma, hepatocellular adenoma, Leydig cell tumor and malignant mesothelioma.

[Result] It was an encapsulated well-defined mass containing eosinophilic neoplastic cells and blood. The tumor surrounded a large vascular or ductal (V/D) tissue. The neoplastic cells were found in the V/D wall/lumen, arranged in nests separated by fibrovascular tissue and positive for Insulin immunohistochemically (IHC). Hence, the tumor was diagnosed as ICC. The V/D wall was composed of smooth muscle-like cells and fibrous matrix. However, it was difficult to distinguish between the pancreatic ducts and the blood vessels due to destruction of the lined cells. Majority of the cells constituting the V/D wall were positive for  $\alpha$ SMA IHC, and Masson trichrome staining-positive fibers were observed among the  $\alpha$ SMA positive cells. These constructions were similar to the normal blood vessel.

[Conclusion] This is a very rare case of ICC accompanied by angioinvasion in rat. Our results provide helpful knowledge as spontaneous tumors in carcinogenicity studies using F344 rats.

**P-68\***

## A Comparison of histopathology in the knee joint of osteoarthritis rat models

○ Kei Kijima, Yuka Minamisawa, Yamato Sasaki, Shuhei Takada, Hiroaki Yamaguchi, Aisuke Nii

Central Research Lab., Seikagaku Co.

[Introduction] Osteoarthritis (OA) is a disease characterized by degeneration and loss of articular cartilage, sclerosis of the subchondral bone with osteophyte formation and secondary synovitis. Several animal models have been used to study the pathogenesis of OA and to evaluate the efficacy of candidate agents against OA. In this study, we compared the histopathology in the knee joint from a chemically induced monoiodoacetate (MIA) OA model with a surgically induced medial meniscectomy (MMx) OA model in the rat.

[Materials and Methods] MIA was injected once into the knee joint of SD rats at 1 mg/joint. The medial meniscus of LEW rats were transected from the knee joint. Histopathological changes over time (2 to 21 days after treatment) were examined.

[Results] Degeneration and fibrillation of the articular cartilage were observed in both models. These changes deteriorated over time. The effect to the articular cartilage in the MMx model was more localized than that in the MIA model. Although the findings indicating tissue regeneration such as chondrocyte cluster formation in both models and pannus-like tissue in the MIA model were observed, the structure of articular cartilage was not recovered. In the epiphysis, localized increased thickness of bone trabeculae in the MMx model and increased bone remodeling in the MIA model were observed. The effects to the epiphysis were more severe and diffuse in the MIA model.



P-69

## A case of spinal curvature in a cynomolgus monkey

○Hirotohi Akane, Hiro Eda, Sumiko Okuda, Masaru Sugiyama, Atsuko Ichikawa, Yasuki Akie

CMIC Pharma Science Co., Ltd.

[Purpose] We report the histopathological features of progressive spinal curvature in a male cynomolgus monkey. [Materials and Methods] A male cynomolgus monkey showing progressive spinal curvature since about 8 years of age was necropsied at 11 years and 6 months of age. X-ray and histopathological examinations were performed for the vertebral column after fixation with formalin. [Results and Discussion] Macroscopically, anteroposterior or lateral prominent curvature of the vertebral column was observed between the seventh thoracic and seventh lumbar vertebrae. At the joint region of the seventh to ninth thoracic vertebrae and the costal bone, some nodules (about 5 mm in diameter) were observed. In X-ray examination, narrowing of the intervertebral disk between the seventh and ninth thoracic vertebrae were detected. Microscopically, thinning of the intervertebral disk, disappearance of the nucleus pulposus and degeneration of the annulus fibrosus with degeneration and thinning of the radiate ligament of head of rib, and prolapse of nucleus pulposus from annulus fibrosus were found between the seventh and eighth thoracic vertebra. In the nodules, degeneration of articular cartilage and osteosis at the costovertebral joint were observed. We concluded that the spinal curvature was induced by hernia of intervertebral disk. Detailed results in additional analyses at other regions will be also presented.

P-70

## Evaluation of the percutaneous toxicity of metal nanomaterials using a 3-dimensional reconstructed human epidermis model

○Shuji Ogawa<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Miyu Onishi<sup>2)</sup>, Yuri Hashiguchi<sup>2)</sup>, Ryoko Urasaki<sup>2)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. Food Nutr. Sci., Grad. Sch. Tokyo Univ. Agricul., <sup>2)</sup>Tokyo Univ. Agricul.

[Background] In order to develop a new *in vitro* model to screen percutaneous general toxicity and genotoxicity of nanomaterials, we evaluated the cellular damage and permeability of the epidermis for various metal nanomaterials, using a 3-dimensional reconstructed human epidermis model (3-D model). Their cytotoxicity was also examined in the monolayer culture systems of keratinocytes. Furthermore, the feasibility of the 3-D model for the genotoxicity assays was examined.

[Materials and Methods] Metal nanomaterials used were gold, silver and iron oxide (surface-modified by carboxylic acids and unmodified) nanoparticles. Folpet, a pesticide, was used as a positive control. As a 3-D model, LabCyte EPI-MODEL (Japan Tissue Engineering Co., Ltd.) was used to evaluate cytotoxicity and permeability in the epidermis. As monolayer culture systems, normal human epidermal keratinocytes (NHEK) or human hepatocellular carcinoma cells (HepG2) were used for cytotoxicity assays, and NHEK or Chinese hamster lung fibroblasts (CHL/IU) were used for genotoxicity assays.

[Results] None of the used metal nanomaterials caused cellular injury in the 3-D model, whereas folpet showed obvious epidermal damage. Gold, silver and surface-modified iron oxide nanoparticles permeated, however, through the epidermis, but not surface-unmodified iron oxide. In the monolayer cultures, surface-modified and surface-unmodified iron oxide showed cytotoxicity in NHEK, where the toxicity was stronger in the surface-unmodified case. As a genotoxicity assay, the micronucleus test was attempted in the 3-D model, but sufficient cell numbers were not achieved for the evaluation.

[Conclusion] The 3-D model may be useful as an *in vitro* percutaneous general toxicity evaluation system.

## P-71\*

## Percutaneous toxicity evaluation of folpet by 3D human skin reconstruction system

○ Hina Mandokoro<sup>1)</sup>, Noriko Kemuriyama<sup>2)</sup>, Ayako Ogawa<sup>2)</sup>, Shuji Ogawa<sup>3)</sup>, Akari Abe<sup>1)</sup>, Linfeng Gao<sup>1)</sup>,  
Ayane Yamaguchi<sup>1)</sup>, Kinuko Uno<sup>1,3)</sup>, Kanjiro Ryu<sup>1)</sup>, Katsuhiko Miyajima<sup>1,2)</sup>, Dai Nakae<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,

<sup>2)</sup>Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture,

<sup>3)</sup>Department of Food and Nutritional Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

[Objective] The purpose of this study was to develop a new *in vitro* screening evaluation model for percutaneous toxicity by using a 3-dimensional reconstructed human epidermis model (3-D model).

[Materials and methods] As a 3-D model, LabCyte EPI-MODEL (Japan Tissue Engineering Co., Ltd.) was used. As monolayer culture systems, normal human epidermal keratinocytes (NHEK) or human hepatocellular carcinoma cells (HepG2) were used. Cytotoxicity assays and morphological analysis were performed by applying a pesticide, folpet.

[Results] In the stratum corneum maturation 3-D reconstruction system (13 days culture), folpet showed epidermal injury at 2,000 µg/mL. On the other hand, cytotoxicity was observed from 1,000 µg/mL in the non-mature reconstruction system (6 days culture). Further, in the monolayer culture systems of NHEK and HepG2 cells, folpet showed strong cytotoxicity from 30 and 60 µg/mL, respectively. Histopathological analysis revealed disturbance of the sequence of basal layer cells and hypertrophy of spinous and basal layer cells only in the 2000 µg/mL group in the stratum corneum maturation reconstruction system.

[Consideration] The layered structure of the epidermis has a protective effect against skin toxicity of chemicals such as folpet. Mature stratum corneum enhances the protective effect. It is thus suggested that monolayer culture system is insufficient to evaluate skin toxicity of chemicals *in vitro*, but that, 3D skin reconstruction system may be useful for such a purpose.

## P-72\*

Immunohistochemical characterizations of cytokeratin subtypes in the epithelial organs of head, neck and thoracic parts in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*)

○ Shota Yoshida, Hideki Tanaka, Junichi Sugiyama, Kenji Matsubara, Fumiko Ninomiya, Hiromi Yamamoto,  
Satoshi Suzuki, Kazuhiko Besshi

Discovery and Preclinical Research Division, TAIHO Pharmaceutical Co., Ltd.

[Background and Aim] Cynomolgus monkeys are widely used for non-clinical studies of medicines, whose histological features have not been fully researched. In many organs, epithelial tissues are composed of a lot kind of epithelial cells. Their intermediate filament cytoskeleton is cytokeratin (CK) including approximately 20 subtypes. To understand toxic changes and proliferative lesions of epithelial tissues, it is important information which subtypes of CK are expressed in them. We researched CK subtypes expressed in organs of head, neck and thoracic parts of cynomolgus using immunohistochemistry (IHC) method in the present study.

[Materials and Methods] Nasal tissues, skin of dorsal neck, tongue, submandibular and parotid glands, trachea, esophagus, and lung were obtained from four males and one female. The tissues were fixed with 10% neutral buffered formalin solution following our routine methods to prepare paraffin-embedded specimens, and were performed with IHC staining for CK AE1/AE3, CK4, CK5/6, CK7, CK8, CK13, CK14, CK18, and CK19.

[Results] The positive reactions for CK subtypes in the epithelial tissues of cynomolgus were generally corresponded to those of human although there were partially differences in the expressions of several subtypes. Some interested results were also observed, for example, in nasal epithelial tissues and tongue. The results, including expressions of CK10, p63 and p40 in evaluation now, will be showed in detail on the day.

**P-73\***

## Junctional epidermolysis bullosa (JEB) caused by a single base duplication in *Col17a1* in SD rats

○ Yoshitaka Katoh, Yasushi Nishioka, Akira Sato, Naoko Endo, Tsuyoshi Ito, Aya Koyama, Naofumi Takahashi, Atsushi Shiga, Hiroaki Aoyama, Takanori Harada

The Institute of Environmental Toxicology

[Background] Collagen XVII is one of the proteins that constitute epidermal basement membrane, and play an important role for maintenance of hair follicle and epidermal stem cell. We encountered JEB rats caused by a mutation of *Col17a1*, and examined all organs including skin. [Materials/Methods] Some newborn pups in a litter of SD rat showed skin abnormalities (wrinkle, blister, and erosion) without sex differences in a reproductive toxicity study. We suspected that this was caused by autosomal recessive inheritance, and examined crossing experiment with WKY rats, and obtained some pups with skin abnormality. They were euthanized on postnatal day 1, and examined histologically, ultrastructurally, and genetically. [Results/Discussion] Histologically, blister formation was noted in the boundary between epidermis and dermis in the skin lesion, and the blisters were also seen in the tongue and palate. Ultrastructurally, loss of inner plaque of hemidesmosome and prominent decrease in the number of hemidesmosomes were observed. Gene analysis of RNA-seq revealed markedly reduced expression of *Col17a1* and single base duplication within the gene exon. Immunohistochemistry demonstrated that basal layer cells of the skin, tongue, palate, esophagus, and forestomach of control rats were Collagen XVII-positive, while those of the animals with skin lesion were all negative. Based on these findings, the present case was diagnosed as JEB caused by a single base duplication in *Col17a1*.

**P-74\***

## Testicular lesions by exposure to trifluoroethanol and its metabolites in medaka

○ Yusuke Kuroda, Masayuki Kimura, Chisato Hayakawa, Seigo Hayashi, Kazuya Takeuchi, Satoshi Furukawa

Nissan Chemical Corporation

[Background] Trifluoroethanol (TFE) and its metabolite trifluoroacetaldehyde (TFALD) induced testicular lesions in rats. While there is no report of testicular toxicity induced by trifluoroacetic acid (TFAA). In this study, medaka exposed to TFE, TFALD or TFAA were histopathologically examined. [Materials and Methods] Male adult medaka were used. Medaka were bred in 2 L test solution using the static method. The exposure period was 8 days. Control group and treatment groups (5 or 6 males in each group) were treated at exposure level at 62.5-500 mg/L (TFE), 15.62-250 mg/L (TFALD) or 15.625-125 mg/L (TFAA). [Results] At 125 mg/L or more in the TFE group, 125 mg/L or more in the TFALD group and 62.5 mg/L or more in the TFAA group, animals died or were euthanized during the exposure period. In surviving animals, degeneration and necrosis of spermatocytes and spermatids were observed in the TFE and TFALD groups, and obvious reduction of spermatids was also observed at high concentrations. While no abnormalities were observed in the testis in the TFAA group. [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. While testicular toxicity was not observed in TFAA, Therefore it was considered that this metabolites also have no testicular effect in fish.

**P-75\*****Time course of histopathological changes in the rat peritoneal mesothelioma induced by MWCNT focusing on inflammatory and immune activities**

○ Motoki Hojo<sup>1)</sup>, Yoshimitsu Sakamoto<sup>1)</sup>, Yukio Yamamoto<sup>1)</sup>, Ai Maeno<sup>1)</sup>, Yukie Tada<sup>1)</sup>, Yuko Hasegawa<sup>1)</sup>, Katsuhiko Yuzawa<sup>1)</sup>, Akemichi Nagasawa<sup>1)</sup>, Kazuyoshi Tanaka<sup>1)</sup>, Norio Yano<sup>1)</sup>, Toshinari Suzuki<sup>1)</sup>, Akiko Inomata<sup>1)</sup>, Takako Moriyasu<sup>1)</sup>, Akihiko Hirose<sup>2)</sup>, Dai Nakae<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Tokyo Metropol. Inst. Pub. Health, <sup>2)</sup>Natl. Inst. Health Sci., <sup>3)</sup>Tokyo Univ. Agricul.

[Aim] Multi-wall carbon nanotube (MWCNT) induces peritoneal mesothelioma in rats under chronic inflammation. To understand what kind of cells and molecules are involved in the carcinogenesis, a time course study was performed. [Methods] Eight-week-old male F344 rats were dosed by a single i.p. injection with MWNT-7 at 1 mg/kgBW. A histopathological analysis of the peritoneum and a biochemical analysis of the peritoneal lavage fluid were conducted in the rats sacrificed at 8, 16, 24 and 32 weeks after injection as well as in the moribund rats at about 1 year thereafter. [Results and discussion] Granulomas containing MWCNTs and infiltrations of eosinophils and mast cells were observed in the peritoneum throughout the study. Mesothelioma was first found at week 24, and its incidence increased at week 32. CD68+ macrophages were localized in the granuloma, while CD163+ monocytes and CD8+ lymphocytes were infiltrated in submesothelia from week 8 to 32. In severe mesotheliomas, however, the CD8+ cells disappeared from stromal and peripheral areas of the tumor nodule. Levels of CCL-2, CINC-1, IL-12 and TGF- $\beta$  in the lavage fluid were constantly high, and the value of TGF- $\beta$  markedly increased at week 32. It is thus suggested that both pro- and anti-inflammatory factors were contentiously elevated and that the M2 macrophage may play a role in the beginning of tumorigenesis around week 32, just after which an immunosuppressive environment may be established.

**P-76****A retrospective survey on Transgenic mouse carcinogenicity studies for prescription drugs**

○ Mizuho Nonaka<sup>1)</sup>, Jihei Nishimura<sup>1)</sup>, Misaki Naota<sup>1)</sup>, Kumiko Ogawa<sup>2)</sup>, Akiyoshi Nishikawa<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), <sup>2)</sup>National Institute of Health Sciences

Based on a retrospective analysis regarding rat 2-year carcinogenicity studies of 182 compounds which was published by PhRMA (Toxicol. Pathol. 39, 716–744, 2011), ICH S1 (carcinogenicity study) Expert Working Group (EWG) was established in June 2012. Currently, a prospective study is underway to verify the possibility of predicting a 2-year carcinogenicity study in rats by integrative analysis of Weight-of-Evidence (WOE) factors such as pharmacological action, genotoxicity, tumor-related lesions in rat 6-month toxicity studies and hormonal perturbation. Meanwhile, in the ICH S1 guideline a mouse study is also required for carcinogenicity evaluations of pharmaceuticals in addition to the rat study. Based on the current S1 guideline, medium-term Transgenic (Tg) mouse studies have been used instead of the long-term mouse studies. As a result of the ICH S1 prospective study, in the case the rat 2-year study can be waived, the Tg mouse study will increase weight. So a survey on Tg mouse carcinogenicity studies should be important in the revised S1 guidelines. Here we conducted a retrospective survey of Tg mouse carcinogenicity studies (about 40 studies) for prescription drugs approved in Japan since 2007. In this presentation, the implementation status of carcinogenicity studies using Tg mice, the exposure margin of clinical dose at the highest dose of carcinogenicity studies using rasH2 mice, and the analysis results of the tumor outcomes will be presented.

**P-77****Pathological approach for non-clinical evaluation of human autologous skeletal myoblast sheets**

○ Junko Souba<sup>1)</sup>, Hisako Terao<sup>1)</sup>, Masako Tasaki<sup>1)</sup>, Naoko Tanaka<sup>1)</sup>, Kasuke Nagano<sup>2)</sup>, Hitoshi Nishida<sup>1)</sup>, Hitomi Hagiwara<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Terumo Corporation, <sup>2)</sup>Nagano Toxicologic-Pathology Consulting

[Background] We developed a treatment with human autologous skeletal myoblast cell sheets (HS) for severe heart failure. In the non-clinical evaluation, the engraftment, differentiation, distribution, and tumorigenesis risk of HS have been evaluated using NOG mice. We will introduce our pathological approach to safety evaluation of cell therapy products. [Methods] HS was prepared in the size for a mouse and transplanted onto the surface of heart. The application site and other tissues or organs were histopathologically observed at four weeks after the operation. Anti-human vimentin antibody was used for detection of human mesenchymal cells. [Results and discussion] There were no clinical signs or body weights indicating worsen conditions. In the histopathological analysis, human cells were slightly observed at the adhesion site between the heart surface and operation scar, and no proliferative change or dysplasia was shown. No migration or tumorigenesis of transplanted cells was noted in the other tissues or organs. These results suggest that there is no concern in the clinical use of HS. In addition, this study showed single use of anti-human vimentin antibody was useful for identification of HS. When transformation of transplanted cells or host-derived proliferative change is suggested, combination of staining by multiple antibody and gene level analysis would be useful. We will also introduce some antibodies which are useful to identify the human cells.

**P-78\*****PD-L1 expression in hemangiosarcomas (HSA) identified in the short-term carcinogenicity model using rash2 mice: anti-tumor evaluation under tumor microenvironment**

○ Teruaki Hagiwara, Hiroto Miyata, Mayuko Suguro, Daiki Sugiyama, Yukinori Mera

DIMS Institute of Medical Science, Inc.

[Background and Aim] Cancer immunotherapy due to the immune system of living body is recently focused. Analysis of immune response to the tumor is important in assessing the action. The response might be varied between the “chemical carcinogenesis model; CCM” and “transplant tumor model” using immune-deficient animals. PD-L1 plays an immune role, suppressing T cells and self-attacking, but some tumor cells express PD-L1 and prevent immunity for attacking cells. The histopathological analysis of PD-L1 expression in tumors in the CCM was executed, and its efficacy was assessed.

[Methods] HSA originating from the spleen of rash2 mice given MNU once in a 26-week carcinogenicity study were used. HE and PD-L1, immunohistochemical (IHC) staining, were routinely done. The staining of PD-L1 was validated using human non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line: H460, probe for PD-L1.

[Results] HSA were observed histopathologically in the spleen, ileum, liver and kidney. PD-L1 expression was found in the primary spleen HSA, but was strongly positive in metastatic lesions in liver. Also, PD-L1 positive cells were identified by the IHC staining of human H460 cell line.

[Discussion] In the HSA, the strong expression of PD-L1 in the metastatic lesion was considered to be a finding suggesting a mechanism of cancer immune escape. Now, the detection of PD-L1 in the CCM using rash2 mice is possibly applied to the evaluation of drug efficacy in a tumor microenvironment close to clinical cancer.

**P-79****Ultrastructural artifacts of the skeletal muscle and heart in beagle dogs in electron microscopic examinations**

○Yusuke Kemmochi, Yuzo Yasui, Akiko Anagawa-Nakamura, Kaoru Toyoda, Eriko Taniai-Riya, Taishi Shimazaki, Akemi Takahashi, Yoshifumi Miyakawa, Toshiyuki Shoda

Toxicology Research Laboratories, Yokohama Research Center, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.

We investigated retrospectively artifactual findings of the skeletal muscle and heart in the TEM observations in control male beagle dogs and also investigated artifacts caused by modified processing of TEM specimens.

In the first examination, the skeletal muscle and heart from normal 51 beagle dogs, which were used in previously conducted toxicity studies and were preserved in fixative solutions for TEM or in 10% neutral buffered formalin, were examined using the standard preparation protocol for TEM. Vacuole-like structures in the mitochondria and concentric structures in the cytoplasm were sometimes observed and were considered to be artifacts.

In the second examination, the skeletal muscle and heart were collected from a normal male beagle dog. TEM samples were prepared under the following modified conditions before pre-fixation (1.25% GA-2% PFA-0.1 mol/L PB): being left for 10 minutes at room temperature (standard procedure), being left for a longer time at room temperature namely 30, 60 and 120 minutes, being trimmed into a larger size tissue mass (5×5×5 mm), being physically stressed with tweezers and being immersed in water for 10 minutes. Concentric structures, vacuole-like structures in the mitochondria, swollen/giant mitochondria, cytoplasmic loss and accumulation of amorphous material were observed under the modified processing of specimens. These artifactual findings were considered to prevent accurate evaluation of the test article in the toxicity studies.

**P-80****Use of minipigs in juvenile toxicity studies**

○Robert R. Maronpot<sup>1)</sup>, Abraham Nyska<sup>2)</sup>, Shim-mo Hayashi<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Maronpot Consulting, LLC, <sup>2)</sup>Tel Aviv University, <sup>3)</sup>Tokyo University of Agriculture and Technology

Minipigs are being used increasingly in juvenile toxicity studies, as they have several advantages over alternative non-rodent species. Studies typically begin on the second day after birth necessitating test agent administration in milk formulations. An important part of neonatal minipig studies is administration of injectable iron dextran for support of the developing hematopoietic system resulting in systemic deposition of iron in parenchymal tissues and especially in the liver. Other important procedures to consider in juvenile minipig study design and conduct include husbandry procedures, data recording, and documentation of tissue changes at study termination.



**P-81**

## Spontaneous tumors and 2-year survival rate in F344/DuCrI CrIj rat carcinogenicity studies

○ Kenji Takanobu, Shotaro Yamano, Hideki Senoh, Yumi Umeda, Shigetoshi Aiso, Jun Kanno

Japan Bioassay Research Center, JOHAS

[Background] F344 rats (Fischer 344 rats) are used in carcinogenicity studies in Japan and overseas. In this study, we investigated the incidence of spontaneous tumors and 2-year survival rate of SPF F344/DuCrI CrIj rats, and compared them with the F344/N rats used in NTP.

[Materials & methods] The study to be investigated is a carcinogenicity study corresponding to the GLP of the Industrial Safety and Health Act from 1999 to 2012. That is, inhalation carcinogenicity study: male, 14 studies, female, 11 studies, oral administration carcinogenicity study: 10 males and 10 males each.

[Results & conclusion] The tumor with the highest incidence was 78.8% interstitial cell tumor of testis. Tumors with an incidence greater than 6% in both sexes were anterior lobe adenomas of pituitary gland, C-cell adenomas in thyroid gland and mononuclear leukemias of spleen, further more in males, fibromas of subcutaneous, pheochromocytomas of adrenal gland and islet cell adenomas of the pancreas, in females, endometrial stromal polyps and fibroadenoma of the mammary gland. The 2-year survival rate was higher than those reported for the F344/N rats of survival rate. One of the reasons was that the incidence of LGL leukemia was lower in F344/DuCrI CrIj rats than in F344/N rats.

From the above, it was confirmed that F344/DuCrI CrIj rats can be used stably in safety/toxicity studies.

(These data were mainly from the studies commissioned by MHLW.)

**P-82\***

## Historical data for the histopathology on the liver and spleen in juvenile CrI:CD(SD) rats

○ Jun Watanabe<sup>1)</sup>, Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Yoshihiro Takei<sup>1)</sup>, Haruko Koizumi<sup>1)</sup>, Tetsuyo Kajimura<sup>1)</sup>, Akihito Shimoi<sup>1)</sup>, Shinichi Satou<sup>1)</sup>, Hijiri Iwata<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Ina Research Inc., <sup>2)</sup>LunaPath LLC

[Purpose] We have previously reported on normal tissues of kidney, eye, femur and skin of juvenile rats. In this study, histopathological examinations were conducted on the liver and spleen of juvenile rats.

[Method] The liver and spleen from CrI:CD(SD) rats at 4, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days of age were routinely processed and fixed in formalin. From these, hematoxylin and eosin (HE) stained specimens were prepared for histological observations.

[Results] Liver: The hepatic lobule structure formed a Gleason sheath at 4 days of age, but the hepatic cords and the cells of each component were immature. Extramedullary hematopoiesis was noticeable at 4 days of age and decreased with age. Lipid droplet-like small vacuoles were found in hepatocytes at 4 and 7 days of age, almost disappeared at 14 days of age, and glycogen-like vacuoles were found in hepatocytes after 21 days of age. Spleen: Until 7 days of age, the boundary between the white and red pulp was unclear. At 14 days of age, PALS and marginal zone were formed. The boundary of PALS and marginal zone became clearer after 21 days of age. Extramedullary hematopoiesis was most common at 4 days of age and decreased with age, but was also observed at 42 days of age.

[Summary] Immature hepatic lobule, hepatocyte vacuolation, and extramedullary hematopoiesis were observed in the liver. In the spleen, there were differences in the development of the white pulp and the degree of extramedullary hematopoiesis due to age.

## P-83\*

Investigation for the contribution of BMP9 signaling on vascularization using *in vitro* tube formation assay○ Maya Kimura<sup>1)</sup>, Heather Estrella<sup>2)</sup>, Tadahiro Shinozawa<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Drug Safety Research and Evaluation, Research, Takeda Pharmaceutical Company Limited, <sup>2)</sup>Takeda California

[Background and Aim] Bone morphogenetic protein-9 (BMP9) is one of the important factors for vascularization. However, the contribution of BMP9 signaling has not been fully investigated. In this study, we investigated the contribution of BMP9 for angiogenesis using *in vitro* tube formation assay with human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). [Materials and Methods] HUVEC were seeded on pre-Matrigel-coated 96-well plate. 10 ng/ml BMP9 and anti-BMP9 mAb (0.1, 1 and 10 µg/ml) or control IgG were treated and morphological analysis on tube formation assay was conducted with gene expression analysis. After HUVEC were incubated for 24 hours, to visualize the tube formation, HUVEC were stained with Calcein-AM and the number of tubes, tube junction, tube junction area and tube length were calculated by high content imaging system (CV7000). The expression of ID1, SNAIL1 and ACTA2 mRNA in HUVEC were determined by qPCR. [Results] The number of tube junction and tube length were decreased by anti-BMP9 mAb compared with control IgG. In contrast, tube junction area was increased by anti-BMP9 mAb and the gene expression level of SNAIL1 was lower at 0.1–10 µg/ml of anti-BMP9 mAb than IgG treated groups. No statistically significant difference was observed in ID1 and ACTA2 expressions between control IgG and BMP mAb treated groups. [Conclusion] We demonstrated that the contribution of BMP9 signaling on vascularization could be revealed morphologically with *in vitro* tube formation assay.

## P-84

## INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions —an update— 2020

○ Shimmo Hayashi<sup>1)</sup>, CM Keenan<sup>2)</sup>, A Bradley<sup>3)</sup>, DG Goodman<sup>4)</sup>, Takanori Harada<sup>5)</sup>, R Herbert<sup>6)</sup>, Hijiri Iwata<sup>7)</sup>, M Jacobsen<sup>8)</sup>, R Kellner<sup>9)</sup>, B Mahler<sup>6)</sup>, E Meseck<sup>10)</sup>, T Nolte<sup>11)</sup>, S Rittinghausen<sup>9)</sup>, J Vahle<sup>12)</sup>, Katsuhiko Yoshizawa<sup>13)</sup><sup>1)</sup>Japanese Society of Toxicologic Pathology, <sup>2)</sup>CM Keenan ToxPath Consulting, <sup>3)</sup>Charles River, <sup>4)</sup>Independent Consultant,<sup>5)</sup>The Institute of Environmental Toxicology, <sup>6)</sup>NIEHS, <sup>7)</sup>LunaPath LLC, Laboratory of Toxicologic Pathology, <sup>8)</sup>AstraZeneca,<sup>9)</sup>Fraunhofer ITEM, <sup>10)</sup>Novartis Institute for Biomedical Research, <sup>11)</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG,<sup>12)</sup>Eli Lilly & Company, <sup>13)</sup>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 15 rodent organ systems published to date: Respiratory, Hepatobiliary, Urinary, Central/Peripheral Nervous Systems, Male Reproductive and Mammary, Zymbals, Clitoral and Preputial Glands and Hematolymphoid System 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](http://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 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-85****Actual pathologist's involvement with SEND —The role of pathologists in SENDIG 3.1**

○ Hirofumi Hatakeyama<sup>1)</sup>, Haruko Koizumi<sup>1)</sup>, Shin-ichi Horikawa<sup>1)</sup>, Konomi Iino<sup>1)</sup>, Shin-ichi Sato<sup>1)</sup>, Takayuki Anzai<sup>2)</sup>, Hijiri Iwata<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Ina Research Inc., <sup>2)</sup>Showa University School of Medicine, <sup>3)</sup>LunaPath LLC

FDA has started applying SENDIG 3.1 (NDA, ANDA and BLA: March 15, 2019/IND: March 15, 2020). More CROs and pharmaceutical manufacturers have experience creating SEND data packages with SENDIG 3.1, and SEND is becoming essential. In addition, the attachment of Pathology report to Final report and the implementation of Peer reviews are increasing, and the pathologists' work tends to increase. In order to avoid hindering toxic pathological evaluation, it is now required to perform a microscopic examination with a good understanding of SEND. The three major changes in SENDIG 3.1 in the MI domain are as follows: MISTRESC, MICHRON, MIDISTR. The necessity for collaboration between the pathologist and the SEND team is expanding, such as when creating a Study Data Reviewer's Guide using terms that are not in Controlled Terminology, and confirming findings that are related to death. In this presentation, I will introduce the role of pathologists in the process of creating SEND data packages using actual examples. There are differences in the systems and SEND systems used by each company, but sharing of information about SEND is more important than ever.

**P-86****Investigation of long-term preservability of histopathological specimens**

○ Kouji Shimouchi, Daisuke Hibi, Norifumi Takimoto, Yukihiro Yanagizawa, Hiroyuki Yanagi, Masanori Kuribayashi

Ono Pharmaceutical Co., Ltd.

[Background and Aim] In the GLP study, it is required to archive the generated pathological specimens for a certain period of time to ensure re-evaluation of the study. And formalin-fixed (FF) tissues are less preserved than paraffin-embedded (PE) blocks or preparations. Here we examined the storage form and the period to be re-evaluated using the pathological specimens stored for a long time. [Materials and Methods] Seven studies that began to be stored at the archive from 1997 to 2013 were selected, and their specimens (FF tissues and PE blocks) were used to evaluate the conservation. Hematoxylin and eosin (HE) stained slides were prepared using liver, kidney, heart, skeletal muscle, and skin in the conventional method. FF tissues were stored in a 10% neutral buffered formalin solution. PE blocks were stored with paraffin coating except for one study. [Results] In all studies, HE slides of FF tissues showed artifacts that could be attributed to long-term storage, such as vacuolation or cracking in the liver and weaker staining in all tissues. HE slides of PE blocks did not recognize the problem except that the part of the tissue was deficient in HE slides of PE blocks of non-coating. [Conclusion] We examined the preservability of FF tissues and PE blocks with a storage period of 6 years or more. As a result, it was considered that changes observed in FF tissues and non-coated PE blocks could affect the re-evaluation, and paraffin-coated PE blocks were in a re-evaluable state.

## 発表者索引

## A

阿部 有加里 P-38\*, P-45\*, P-71\*  
 Affolter, Timothy SL2  
 相磯 成敏 P-15, P-16, P-24, P-81  
 赤木 純一 P-20\*, P-48, P-59  
 赤根 弘敏 P-69  
 秋江 靖樹 P-69  
 中村(穴川) 明子  
 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
 安藤 綾俊 P-42  
 安藤 亮 P-5  
 安藤 さえこ P-32  
 Antoneli, Sophie P-6  
 安齋 享征 P-85  
 青木 萌子 P-64\*  
 青木 豊彦 P-42  
 青山 博昭 P-73\*  
 新 真智 P-44

## B

馬場 雄大 P-7  
 伴野 富美子 P-14\*  
 別枝 和彦 P-46\*, P-72\*  
 Bradley, A P-84  
 Briand, Francois P-6  
 Brousseau, Emmanuel P-6

## C

チェンバーズ ジェームズ P-31\*  
 Cho, Young-Man P-20\*, P-48, P-59  
 Chung, Yong Hyun S2-1  
 Cimbolini, Nicolas P-6

## D

土井 悠子 P-21\*

## E

江田 景 P-69  
 枝元 洋 P-64\*  
 江川 萌美 P-5  
 江島 智子 P-42  
 遠藤 直子 P-73\*  
 Estrella, Heather P-83\*

## F

Feraille, Laurence P-6  
 藤井 悦子 P-28  
 藤島 純子 P-62  
 藤原 あかり P-21\*  
 藤原 咲春 P-44  
 藤原 史織 P-67\*  
 藤原 利久 P-62  
 藤原 章雄 P-40  
 深町 勝巳 P-32  
 福田 良 P-2  
 福井 浩子 P-14\*  
 福井 元子 P-61  
 福井 規雄 P-61  
 福永 八千代 P-10  
 古川 賢 W-4, P-60\*, P-74\*  
 古庄 律 P-43\*

## G

高 臨風 P-45\*, P-71\*  
 Gao, Xueli P-29  
 魏 民 P-34, P-39, P-53\*  
 Goodman, DG P-84  
 後藤 裕子 P-13\*

## H

萩原 仁美 S1-2, P-77  
 萩原 顕昭 P-21\*, P-78\*  
 萩原 雄二 P-14\*  
 葩島 由二 S1-1  
 羽生 ひかる P-30\*  
 原 智美 P-21\*  
 原田 孝則 P-73\*, P-84  
 Hard, Gordon L-1  
 長谷川 悠子 P-13\*, P-75\*  
 橋口 収 P-67\*  
 橋口 ゆり P-70  
 橋本 杏奈 P-58\*  
 橋本 元気 P-7  
 畠山 洋文 P-82\*, P-85  
 服部 一夫 S3-3, P-30\*  
 早川 知里 P-60\*, P-74\*  
 林 清吾 P-60\*, P-74\*

林 新茂 P-38\*, P-80, P-84  
 Herbert, R P-84  
 日比 大介 P-86  
 日高 佳穂 P-41\*  
 樋口 仁美 P-14\*  
 平田 暁大 P-23\*  
 平田 直 P-12\*  
 広瀬 明彦 P-13\*, P-17, P-75\*  
 久田 茂 P-61  
 北條 幹 P-13\*, P-17, P-75\*  
 洪 澤宣 P-33  
 本郷 直子 P-7  
 堀川 真一 P-85  
 堀川 琢心 P-55  
 星川 優美子 W-4  
 星谷 達 P-67\*

## I

市川 敦子 P-69  
 井手 鉄哉 P-20\*, P-48  
 伊倉 佐織 P-64\*  
 飯野 好美 P-85  
 池田 瑛人 P-7  
 池田 和子 P-14\*  
 池田 学 P-62  
 池崎 信一郎 P-64\*  
 今井 則夫 P-21\*  
 今井 俊夫 P-23\*, P-63  
 今井田 克己 P-18  
 猪又 明子 P-13\*, P-17, P-75\*  
 乾 公正 P-7  
 入澤 祐太 P-23\*  
 石原 熊寿 P-27  
 石井 愛子 P-3\*, P-19  
 石井 直美 P-34  
 石井 雄二 P-35, P-36\*  
 磯部 充威 P-61  
 伊藤 強 P-73\*  
 伊藤 優子 P-8\*, P-9\*  
 伊藤 裕子 P-65  
 岩田 聖 P-82\*, P-84, P-85  
 岩槻 健 S3-3  
 井澤 武史 P-44

和泉 博之 P-40  
出雲 友扶子 P-26\*

**J**

Jacobsen, M P-84  
Jeong, Se Ryeong P-22  
Ji, Changhua SL2  
金 美蘭 P-33  
Jing, Long P-29  
Jung, Woonggyu P-22

**K**

影山 靖 P-6  
梶村 哲世 P-82\*  
梯 アンナ P-34, P-39, P-53\*  
柿本 恒知 P-67\*  
神垣 真由美 P-27  
神尾 恭平 P-3\*, P-19  
神谷 有美子 P-67\*  
神鳥 仁志 P-2  
金光 弘幸 P-10  
Kang, Jin Soek P-22  
菅野 純 P-15, P-16, P-24, P-81  
菅野 剛 P-4  
笠原 健一郎 P-10  
加藤 淳彦 S3-2, P-56\*  
加藤 寛之 P-37\*, P-49, P-50  
加藤 由隆 P-73\*  
河部 真弓 P-14\*, P-21\*  
川真田 伸 SL1-1  
Keenan, CM P-84  
Kellner, R P-84  
剣持 佑介 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
煙山 紀子 S3-3, P-30\*, P-38\*,  
P-41\*, P-43\*, P-45\*,  
P-58\*, P-70, P-71\*  
木島 綾希 P-35, P-36\*  
木嶋 恵 P-68\*  
菊地 聡美 P-8\*, P-9\*  
Kim, Seyl P-22  
木村 文子 P-40  
木村 真之 P-60\*, P-74\*  
Kimura, Maya P-83\*  
鬼頭 亜姫 P-56\*  
小林 健一 P-66  
小林 欣滋 P-40, P-62  
小林 憲弘 P-13\*

児玉 晃孝 P-42  
児玉 安史 P-27  
小泉 治子 P-82\*, P-85  
小島 直季 P-19  
近藤 ひとみ P-24  
近藤 洋一 P-65  
小山 彩 P-73\*  
小柳 美穂子 P-38\*  
久保田 久代 P-66  
倉重 誠一郎 P-42  
倉田 昌明 P-1\*  
栗林 正伯 P-86  
黒田 雄介 P-60\*, P-74\*  
桑原 正貴 P-25\*  
桑村 充 P-44

**L**

Lee, Ha Neul P-22  
Liu, Chaonan P-29  
Llewellyn, Heather SL2  
Lv, Xiaoping P-29

**M**

町田 雪乃 P-63  
前野 愛 P-13\*, P-17, P-75\*  
Mahler, B P-84  
政所 陽菜 P-71\*  
Maronpot, Robert R. P-80  
政木 隆博 P-43\*  
政次 美紀 P-1\*  
松原 健嗣 P-46\*, P-72\*  
松田 陽子 P-18  
松本 晴年 P-32  
松尾 純子 P-40  
松島 圭太 P-10  
松島 亮太 P-38\*  
松下 幸平 P-51\*, P-52\*, P-59  
松谷 尚美 P-42  
松浦 哲郎 P-26\*, P-27, P-57  
松浦 智和 P-43\*  
Mauro, Virginie P-6  
米良 幸典 P-14\*, P-78\*  
Meseck, E P-84  
南澤 由佳 P-68\*  
満石 三喜男 P-4  
美谷島 克宏 S3-3, P-6, P-30\*,  
P-38\*, P-41\*, P-43\*,  
P-45\*, P-58\*, P-70, P-71\*

宮川 義史 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
宮本 真緒 P-25\*  
宮本 沙也佳 P-7  
宮田 裕人 P-78\*  
宮内 泰 S1-3  
水口 恵理 P-44  
水田 保子 P-20\*, P-48  
森川 朋美 P-51\*, P-52\*, P-59  
守田 淳哉 P-3\*  
森山 亜紀子 P-40  
守安 貴子 P-13\*, P-17, P-75\*  
本山 智之 P-38\*, P-43\*  
村井 厚子 S3-2, P-56\*

**N**

永井 博文 P-2  
永池 美香 P-7  
長野 嘉介 P-77  
長澤 明道 P-13\*, P-75\*  
永谷 真理子 P-10  
内木 綾 P-37\*, P-49, P-50  
中江 大 S3-3, P-13\*, P-17, P-30\*,  
P-38\*, P-41\*, P-43\*, P-45\*,  
P-58\*, P-70, P-71\*, P-75\*  
中原 豊 P-4  
中村(穴川) 明子 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
中村 賢志 P-36\*  
中村 小百合 P-2  
中根 冴 P-35  
中西 豊 P-3\*, P-19  
中野 清孝 P-28  
仲辻 俊二 W-2  
中谷内 一也 ASL-1  
中山 裕之 P-31\*  
中澤 朋美 P-64\*  
並木 啓汰 P-5  
直田 みさき P-76  
成澤 裕子 P-18  
二井 愛介 P-68\*  
二宮 芙美子 P-46\*, P-72\*  
西田 仁 P-77  
西原 香織 P-56\*  
西川 秋佳 P-48, P-76  
西村 次平 P-76  
西岡 綾子 P-14\*  
西岡 康 P-73\*

能美 健彦 P-36\*  
 Nolte, T P-84  
 野中 瑞穂 P-76  
 沼野 琢旬 P-14\*  
 沼田 大智 P-30\*  
 沼田 康晴 P-54\*  
 Nyska, Abraham P-80

**O**

小川 絢子 P-71\*  
 小川 久美子 P-20\*, P-35, P-36\*,  
 P-48, P-51\*, P-52\*,  
 P-59, P-76  
 小川 良二 P-14\*  
 小川 秀治 P-38\*, P-41\*, P-45\*,  
 P-70, P-71\*  
 大畑 敬一 P-41\*  
 太田 毅 P-6, P-58\*  
 大谷 勝己 P-66  
 生出 林太郎 P-65  
 大石 裕司 P-20\*  
 岡田 亜希子 P-7  
 大亀 吏江子 P-61  
 岡野 拡 P-8\*, P-9\*  
 奥田 須美子 P-69  
 奥崎 大介 P-65  
 大波 冴子 P-12\*  
 大西 誠 P-13\*  
 大西 未悠 P-70  
 大貫 文 P-13\*  
 押方 孝文 P-4  
 大嶋 成奈優 P-26\*  
 小田切 泰輝 P-42  
 小山田 敏文 P-5  
 尾崎 清和 P-26\*, P-27, P-57

**P**

朴 天鎬 P-5  
 Park, Kibeom P-22  
 Park, Sooah P-22  
 ピンピン テー アンジェリン P-63

**R**

Rittinghausen, S P-84  
 利谷(谷合) 枝里子  
 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
 龍 完次郎 P-41\*, P-45\*, P-71\*

**S**

齋藤 美佐江 P-24  
 齋藤 翼 P-67\*  
 齋藤 友希 P-42  
 酒井 洋樹 P-23\*  
 坂本 義光 P-13\*, P-17, P-75\*  
 佐野 龍平 P-38\*, P-45\*  
 佐野 裕介 P-55  
 佐々木 稔 P-3\*, P-19  
 佐々木 大和 P-68\*  
 笹木 祐司 P-40  
 佐藤 旭 P-73\*  
 佐藤 洋 P-1\*  
 佐藤 順子 P-4  
 佐藤 敬 P-14\*  
 佐藤 伸一 P-82\*, P-85  
 関澤 信一 P-25\*  
 妹尾 英樹 P-15, P-16, P-24, P-81  
 柴田 文隆 ASL-2  
 柴田 雅朗 P-65  
 柴田 誠司 P-61  
 渋谷 淳 P-8\*, P-9\*, P-36\*  
 志賀 敦史 P-73\*  
 島壽 大志  
 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
 清水 文 P-2  
 下井 昭仁 P-82\*  
 下内 孝司 P-86  
 篠原 雅巳 P-6, P-58\*  
 Shinozawa, Tadahiro P-83\*  
 白井 紀充 W-1  
 白岡 千夏 P-65  
 正田 俊之  
 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
 早場 純子 P-77  
 末水 洋志 S3-1  
 杉山 大揮 P-14, P-78\*  
 杉山 淳一 P-46\*, P-72\*  
 杉山 賢 P-69  
 杉山 大揮 P-14\*  
 勝呂 繭子 P-78\*  
 酒々井 眞澄 P-32  
 Sulpice, Thierry P-6  
 鈴木 啓明 P-12\*  
 鈴木 勇 P-64\*  
 鈴木 雅実 P-28  
 鈴木 智 P-46\*, P-72\*

鈴木 周五 P-34, P-37\*, P-39,  
 P-49, P-50, P-53\*  
 鈴木 紀宏 P-38\*  
 鈴木 俊也 P-13\*, P-17, P-75\*

**T**

多田 幸恵 P-75\*  
 田原 春菜 P-1\*  
 高田 秀平 P-68\*  
 高木 みづほ P-67\*  
 高橋 明美  
 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
 高橋 尚史 P-73\*  
 高橋 智 P-37\*, P-49, P-50  
 高橋 康德 P-8\*, P-9\*  
 高信 健司 P-15, P-16, P-24, P-81  
 高嶋 和巳 P-8\*, P-9\*  
 高須 伸二 P-35, P-36\*  
 武田 卓也 P-19  
 武井 由弘 P-82\*  
 竹内 和也 P-60\*, P-74\*  
 瀧本 憲史 P-86  
 田中 英樹 P-46\*, P-72\*  
 田中 和良 P-75\*  
 田中 直子 P-77  
 田中 康浩 S2-2  
 利谷(谷合) 枝里子  
 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
 谷口 高平 P-65  
 田崎 雅子 P-77  
 張 舜恵 P-41\*  
 寺尾 壽子 P-77  
 寺山 由依 P-26\*  
 柄内 亮太 P-25\*  
 富樫 裕子 P-42  
 豊田 薫 P-11, P-47\*, P-54\*, P-79  
 豊田 武士  
 P-48, P-51\*, P-52\*, P-59  
 津田 洋幸 P-14\*  
 水流 功春 P-25\*

**U**

内田 和幸 P-31\*  
 宇田 一成 P-14\*  
 植田 浩介 P-2  
 宇木 遥 P-55  
 梅田 ゆみ P-15, P-16, P-24, P-81



梅村 隆志	P-35	徐 玉薇	P-33	矢野 範男	P-75*
畝山 瑞穂	P-31*			安田 智	SL1-2
宇野 絹子	P-38*, P-41*, P-43*, P-45*, P-71*, P-30*	<b>Y</b>		安井 雄三	P-11, P-47*, P-54*, P-79
浦崎 涼子	P-70	山田 直明	W-3	谷戸 亮太	P-30*
<b>V</b>		山田 貴宣	P-51*, P-52*, P-59	横平 政直	P-18
Vahle, J	P-84	山際 慶典	P-1*	米田 正	P-14*
<b>W</b>		山口 彩音	P-41*, P-45*, P-58*, P-71*	吉田 裕	P-63
涌生 ゆみ	P-4	山口 宏明	P-68*	吉田 翔太	P-46*, P-72*
王 剣	P-33	山口 貴嗣	P-39	吉田 敏則	P-8*, P-9*
王 自力	P-33	山口 裕子	P-10, P-64*, P-67*	吉本 恵里	P-32
鰐渕 英機	P-34, P-39, P-50, P-53*	山川 けいこ	P-18	Yoshizawa, Katsuhiko	P-84
渡邊 厚	P-38*, P-41*, P-45*, P-55	山川 誠己	P-10	余 沁蔓	P-8*, P-9*
渡辺 純	P-82*	山本 宏美	P-46*, P-72*	Yu, Zhiqiang	P-29
Weber, Klaus	S2-3	山本 行男	P-75*	結城 恵美	P-38*, P-45*
Won, Hyun Ji	P-22	山野 荘太郎	P-15, P-16, P-24, P-81	行松 直	P-53*
<b>X</b>		山手 丈至	P-44	湯澤 勝廣	P-13*, P-75*
熊 文	P-33	山浦 唯	P-42	<b>Z</b>	
		山崎 雅輝	P-56*	張 梅	P-33
		柳 浩由紀	P-86	Zheng, Shimin	P-29
		柳澤 幸宏	P-86	邱 欣雨	P-33

第36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36回日本毒性病理学会総会及び学術集会事務局  
東京農業大学 応用生物科学部  
食品安全健康学科 食品安全評価学研究室  
〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1  
責任者 中江 大

印刷・製本 株式会社アイバック



ifia JAPAN  
the 25th Anniversary

健康と  
おいしさの橋渡し

第25回 ifia JAPAN 2020  
International Food Ingredients & Additives Exhibition and Conference  
国際食品素材/添加物展・会議

第18回 HFE JAPAN 2020  
Health Food Exposition & Conference  
ヘルスフードエキスポ

2020年4月22日[水] - 24日[金]

10:00-17:00  
青海展示棟ホールA・B  
(東京ビッグサイト)

## 3月上旬よりお申込開始!

日時: 4/22(水) 10:00 ~ 16:50

会場: 青海展示棟 B棟 セミナールーム

3学会会員は特別料金にてご聴講いただけます。

日本食品微生物学会、日本食品衛生学会、日本食品化学学会の3学会共催  
“食の安全科学フォーラム第19回セミナー&国際シンポジウム”  
「穀物の輸出入拡大と衛生管理」を会場内で同時開催!!

2020年4月22日(水) 青海展示棟ホールA・B棟(東京ビッグサイト)

ほかにもさまざまな企画ゾーンを展開します!

### “おいしい”提案ゾーン

味と香りの提案コーナー/おいしさ評価コーナー/食の地域ブランド創生コーナー

特別企画① 出展社製品を使用して製造!  
ifia/HFE2020 オリジナル弁当の販売

特別企画② 試飲付きセッションを実施!  
出汁、ダシ、だしトリアル

### HFE 良食体健ゾーン

トータルビューティコーナー/腸内改善コーナー/脳機能活性化コーナー/  
機能性食品開発・分析・評価支援コーナー

特別企画 出展社の機能性素材を配合した ifia/HFE オリジナルのサンプル品を作ります!  
オリジナルドリンク/チョコレート/魚肉ソーセージを無料で配布

### 食と運動をつなぐ~スポーツニュートリションゾーン

運動能力と栄養機能コーナー/骨と関節強化コーナー

### 食の安全・科学ゾーン

工場管理コーナー/輸出対策コーナー

特別企画 日本食品衛生協会が監修! 手洗い体験ブースを設置  
HACCPに繋ぐ、一般的衛生管理の基本は手洗い!



来場者事前登録は2020年2月14日から開始! 公式WEBサイトをチェック!!

公式サイト <https://www.ifiajapan.com/> アイフィア 検索

問合せ先: ifia/HFE JAPAN 事務局(食品化学新聞社内) TEL:03-3238-7520

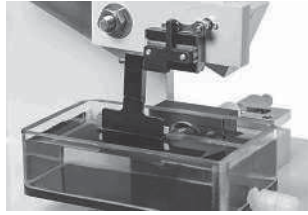
米国 Precisionary Instruments 社製ミクロトーム

既存のスライサーに満足できない方へ

平坦な表面 高い生細胞率 時間短縮

Z軸振動ほぼゼロ

パッチクランプ  
免疫組織化学  
に最適です

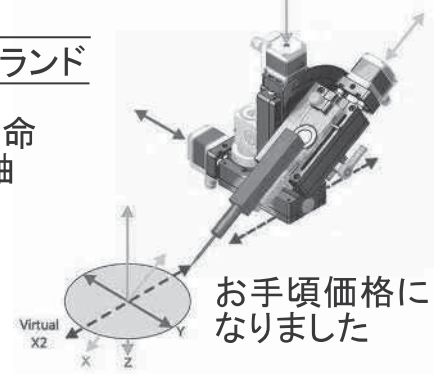


ドイツ Luigs & Neumann 社製マニピュレーター

あの安心のブランド

高性能で長寿命  
バーチャルX軸

価格改定



お手頃価格になりました

日本 Brainvision 社製高速イメージングシステム

新しい膜電位が見えてくる

MiCAM05-N256

256x256画素

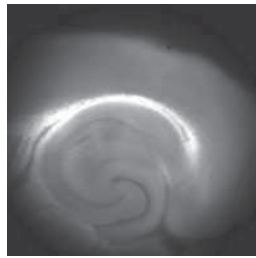
画素サイズ70x70 μm

可変飽和電子数

(3,000,000e<sup>-</sup> or 500,000e<sup>-</sup>)

256x256画素1,000fps

32x32画素25,000fps



イスラエル Optical Imaging 社製  
網膜機能イメージングシステム RFI-3005

すべて非侵襲で測定できる

眼底毛細血管造影

網膜血流速度  
酸素飽和度  
代謝機能  
光刺激応答



**KOSHIN**

お問い合わせは 高信化学株式会社 東京支店 担当:永島まで TEL: 03-5651-3040  
〒103-0011 東京都中央区日本橋大伝馬町14-17 大伝馬町千歳ビル1F



## 人を想う 食を支える

いつもの食卓、学食やお弁当、  
ひとときのティータイムでさえも。  
食べる時間を、もっと、幸せな時間にできないか。  
おいしい食べ物を口にしたときの心満たされる気持ち、  
ふとこぼれる笑顔や自然とはずむ会話。  
そんな食の幸せを、寄り添うようにお手伝いしたい。  
技術はもちろん、感性までも研ぎ、食品を豊かに。  
そして、安全を追求することで、本当に安心といえる、  
食の新たな価値の創造に努め続けること。

そう、味や香りをはじめ、色彩や食感、  
機能性や保存性の向上に至るまで。  
からだやおいしさに結びつく食品添加物により、  
食品の可能性を広げていくことが、私たちの使命です。  
ひとに、社会に、ひいては未来に、  
健やかなくらしと食の喜びを届けていく。  
食にできることを、そっと、今日も一つひとつ。

**三栄源エフ・エフ・アイ**

本社/〒561-8588 大阪府豊中市三和町1-1-11 Tel.06-6333-0521 Fax.06-6333-1219  
名古屋/Tel.052-588-7071 広島/Tel.082-241-0521 福岡/Tel.092-411-9137

東京/Tel.03-3241-2241 仙台/Tel.022-214-2241  
www.saneigenffi.jp

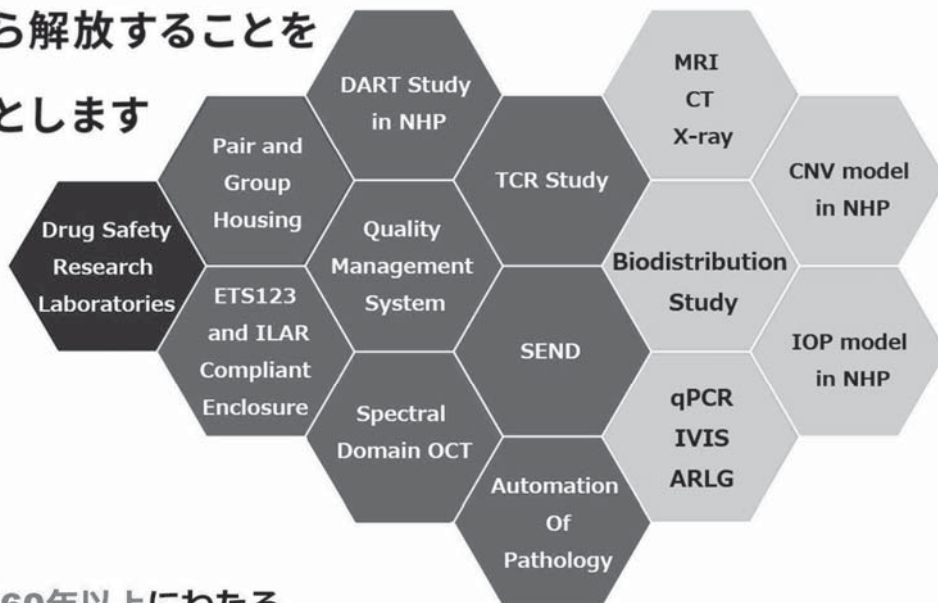


創薬と医療技術の向上を支援し、

人類を苦痛から解放することを

絶対的な使命とします

**SNBL**



(株) 新日本科学は60年以上にわたる

豊富な経験と実績に裏付けされた確かな技術力により

質の高いサービスとニーズに合わせたソリューションを提供します

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

<https://www.snbl.co.jp> mail: [info@snbl.co.jp](mailto:info@snbl.co.jp)



SUSTAINABLE  
DEVELOPMENT  
GOALS



# YASHIMA PURE CHEMICALS CO., LTD.

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



試験研究用試薬・機器・消耗品  
臨床診断薬・機器 化成品他

## 八洲薬品株式会社

本社 〒567-0085  
堺営業所 〒592-8333  
京阪奈営業所 〒574-0057  
神戸営業所 〒650-0047  
和歌山営業所 〒640-8303

茨木市彩都あさぎ 7-7-18  
E-Mail: [h-order@yashimachem.co.jp](mailto:h-order@yashimachem.co.jp)  
堺市西区浜寺石津町西 1-4-20  
E-Mail: [s-order@yashimachem.co.jp](mailto:s-order@yashimachem.co.jp)  
大東市新田西町 3-10  
E-Mail: [k-order@yashimachem.co.jp](mailto:k-order@yashimachem.co.jp)  
神戸市中央区港島南町 1-5-2  
E-Mail: [kb-order@yashimachem.co.jp](mailto:kb-order@yashimachem.co.jp)  
和歌山市鳴神 746-3  
E-Mail: [w-order@yashimachem.co.jp](mailto:w-order@yashimachem.co.jp)

Tel 072-640-1260  
Fax 072-640-1271  
Tel 072-244-1368  
Fax 072-244-4055  
Tel 072-870-2711  
Fax 072-870-2710  
Tel 078-306-1739  
Fax 078-306-1751  
Tel 073-473-5951  
Fax 073-474-0453

# 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

私たちの食生活に欠かせない

# 食品添加物の役割

をしっかりと認識しましょう。

食べものを長持ち  
させてムダにしない

食欲を高めて  
おいしく

食べものの  
形を作る



中高生用冊子



一般消費者・  
大学生用冊子

小冊子を  
無償提供



一般社団法人  
日本食品添加物協会

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町4-9  
小伝馬町新日本橋ビルディング6階  
TEL.03-3667-8311 FAX.03-3667-2860  
ホームページ <https://www.jafaa.or.jp>



# 確かな技術と実績の DSTC

## 安心、安全、未来へのパートナー

### 試験項目

- ▽ 各種安全性試験
- ▽ 安全性薬理試験
- ▽ 各種イオンチャネルに対する試験
- ▽ 遺伝毒性試験
- ▽ 薬効薬理試験
- ▽ 規格試験
- ▽ 実験動物代替法
- ▽ 対象動物安全性試験（動物薬）
- ▽ その他

**DSTC** 株式会社 薬物安全性試験センター  
Drug Safety Testing Center  
TEL: 0493-21-7160  
Email: [toiawase@dstc.jp](mailto:toiawase@dstc.jp)  
Web: [www.dstc.jp](http://www.dstc.jp)

**FUJIFILM**  
Value from Innovation

**Wako**

## 組織透明化試薬

日本発技術を用いて、対象組織・用途・解析に合わせて使用できる組織透明化試薬をシリーズ化しました。  
詳しくは、“透明化試薬 富士フイルム和光”にて検索！

脳科学に革新的なアプローチ

### SCALEVIEW-A2, SCALEVIEW-S

SCALEVIEW-S は抗体、蛍光色素を組み合わせることで、  
脳組織病変解析ツールとして使用可能！！

共焦点顕微鏡を用いたイメージングデータ例

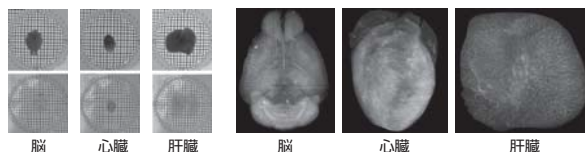


1細胞レベルでの解像度で解析を実現

### CUBIC

CUBIC は脳以外の組織も光シート顕微鏡（LSFM）や  
共焦点レーザー顕微鏡（CLSM）と組み合わせることで  
透明化技術のハイパフォーマンスを実現！！

LSFM を用いたイメージングデータ例



**富士フイルム 和光純薬株式会社**

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)  
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)

フリーダイヤル 0120-052-099

試薬 URL: <https://labchem-wako.fujifilm.com>

E-mail: [ffwk-labchem-tec@fujifilm.com](mailto:ffwk-labchem-tec@fujifilm.com)

営業所: 九州・中国・東海・横浜・筑波・東北・北海道

# 実験動物の病理組織学検査(適応基準対象外)を受託致します

- 疾患動物や遺伝子改変動物のモデルとしての特性解析
- 実験動物を用いた探索的な薬理/毒性試験

⇒ 病理機能がない  
⇒ 病理リソースが不足

是非ともお問合せください。

- ✓ 企業様からの受託実績有
- ✓ 納得できるコストパフォーマンス

動物病理の専門家が鏡検



## 合同会社スカイパソ

〒755-0002 山口県宇部市亀浦 5-2-11

担当者：高場克己

電話：0836-39-5578

E-mail: skypatho@mx52.tiki.ne.jp



**NEW** 次世代共焦点レーザー顕微鏡システム

# A1 HD25

# A1 R HD25

株式会社 **ニコン**

108-6290 東京都港区港南2-15-3 (品川インターシティ C棟)  
<http://www.nikon-instruments.jp/>

株式会社 **ニコンインステック**

[www.nikon-instruments.jp/](http://www.nikon-instruments.jp/)

本 社 108-6290 東京都港区港南2-15-3 (品川インターシティ C棟) 電話 (03) 6433-3982  
製品お問い合わせ (フリーダイヤル) 電話 0120-586-617



長年にわたる卵の研究が生み出した！  
卵由来の抗ウイルス成分

# ノロクリアプロテイン®



国際特許出願：  
W02016/017784

アルコールと組み合わせ、菌だけでなくウイルス対策にも！

- 食品添加物・エタノール製剤・日持ち向上剤  
※ノロクリアプロテイン配合

リゾパワーNV  
5L



- キッチン用アルコール除菌スプレー  
※ノロクリアプロテイン配合

ケイブランシュ  
K Blanche  
200mL



kewpie 

キユーピー株式会社 ファインケミカル本部 〒150-0002 東京都渋谷区渋谷1-4-13  
TEL.03-3486-3086 <https://www.kewpie.co.jp/finechemical/>

## SF SHINFACTORY

進化しつづける未来をその手に。  
私たちシンファクトリーは、あなた方のパートナーです。



餌の持ち出し、糞尿の混入でお困りではありませんか？

### Multi Feeder for Mouse

マウス用マルチフィーダー

マウスの一日の摂食量が正確に測定可能。

## 株式会社シンファクトリー

福岡市東区松崎2丁目10番14号  
URL <http://www.shin-t.co.jp>

TEL (092) 692-4130

FAX (092) 692-4131



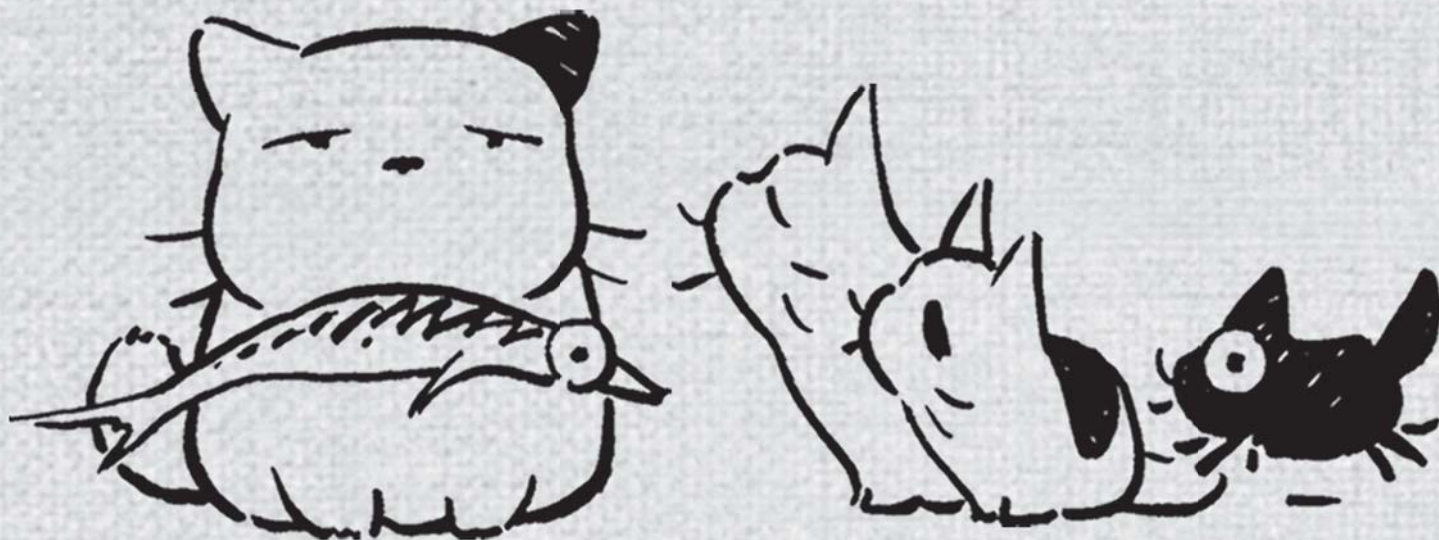
健康と信頼をお届けする



日清製粉グループ

日清製粉グループオリジナルキャラクター  
”ゴニヤラ“と”子ゴニヤラ“

おなが  
すいたね。



© 2015 Studio Ghibli



日清製粉グループ

<https://www.nisshin.com/>



