

The 30th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

第30回 日本毒性病理学会 講演要旨集



2014年 1月30日(木)・31日(金) あわぎんホール

January 30 (Thu) – 31 (Fri), 2014 Awagin Hall



第30回日本毒性病理学会総会及び学術集会

The 30th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicological Pathology

テーマ

環境とがん：毒性病理学の役割

～ Environment and Cancer : The Role of Toxicological Pathology ～

年会長 泉 啓介 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部環境病理学分野)

会期 2014年1月30日(木)～31日(金)

会場 あわぎんホール(徳島県郷土文化会館)

〒770-0835 徳島県徳島市藍場町2丁目14番地

Tel : 088-622-8121

プログラム委員会(50音順)

委員長 田中 卓二 (東海細胞研究所)

委員 大石 裕司 (アステラス製薬・安全研)

渋谷 淳 (東京農工大学・院)

高橋 智 (名古屋市立大学・院)

山手 丈至 (大阪府立大学・院)

事務局 第30回日本毒性病理学会総会及び学術集会 事務局

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部環境病理学分野

[会期中の事務局]

あわぎんホール(徳島県郷土文化会館) 3階展示室6-7

Tel : 088-622-8121

[事務代行]

日本コンベンションサービス株式会社 関西支社内

Tel : 06-6221-5933 Fax : 06-6221-5938

E-mail : 30jstp@convention.co.jp

ホームページ : <http://square.umin.ac.jp/jstp30/>

第30回日本毒性病理学会総会及び学術集会

目次

| | |
|--------------|-----|
| 年会長挨拶 | 1 |
| 会場アクセス | 2 |
| 会場平面図 | 3 |
| 参加者へのご案内 | 5 |
| 座長の先生方へ | 7 |
| 発表者の先生方へ | 7 |
| 日程表 | 10 |
| 協賛法人・企業一覧 | 12 |
| 日本毒性病理学会のあゆみ | 13 |
| 座長一覧 | 14 |
| プログラム | 16 |
| 講演要旨 | |
| 特別講演 | 41 |
| 三十周年記念講演 | 42 |
| 教育講演 | 43 |
| シンポジウム | 45 |
| ワークショップ | 49 |
| 一般口演要旨 | 57 |
| ポスター要旨 | 65 |
| 著者索引 | 230 |

年会長挨拶

医学における病理学同様、環境中に溢れる化学物質のリスク評価に毒性病理学が重要な役割を担っていることは言うまでもありません。分子生物学が進歩し、多くの生物のゲノム情報が明らかにされてきたわけですが、今なお動物や細胞を用いた実験結果のヒトへの外挿は困難であります。新しい手法で得られた情報を形態学に取り入れて行くことが毒性病理学を志す者の大きい役割でもあります。今回の学術集会のメインテーマは「環境とがん：毒性病理学の役割」としています。最近の大きい社会問題として有機溶剤が原因とされる若年者の胆管がん多発の問題があり、毒性病理学者が役割を担う必要があります。学会発足から30年という節目に当たりますので日本毒性病理学会の歴史を振り返り、未来に向けての展望についても考えてみたいと思います。若い人の挑戦的な演題に期待しています。最後に、プログラム委員各位の努力と企業の財政的援助に感謝します。

第30回日本毒性病理学総会及び学術集会

年会長 泉 啓介

会場アクセス



●徳島へのアクセス

□鉄道ご利用の場合

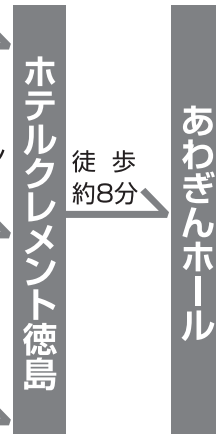
岡山駅 JR快速マリンライナー55分 \ 高松駅 高德線1時間5分 \ 徳島駅 徒歩0分 \

□飛行機ご利用の場合

東京(羽田空港) 約1時間15分 \ 徳島阿波おどり空港 空港リムジンバスで約30分 \ 福岡(福岡空港) 約1時間10分 \

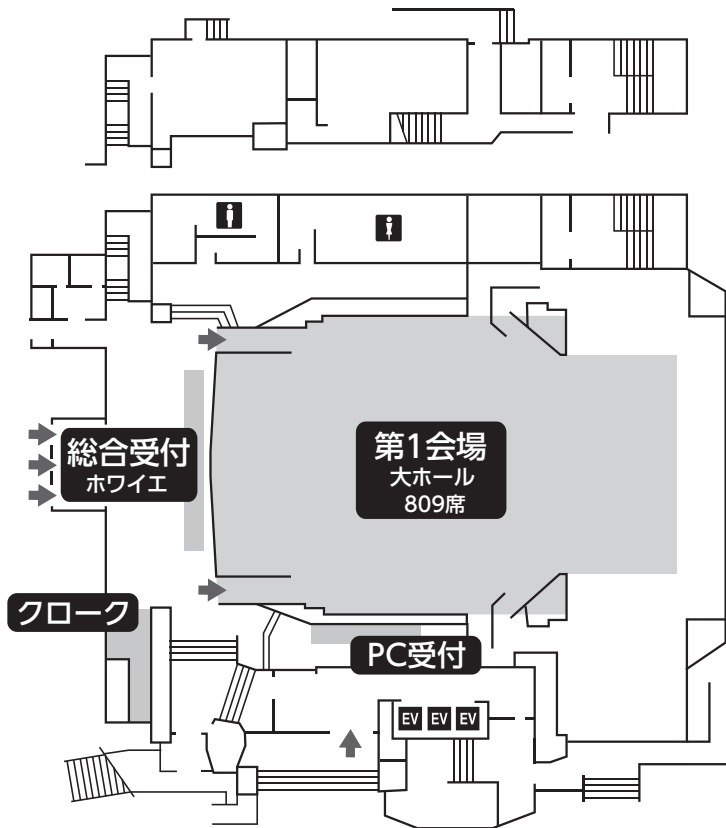
□バスご利用の場合

関西国際空港 約2時間45分 \ 徳島駅 徒歩0分 \ 大阪(阪急梅田) 約2時間30分 \

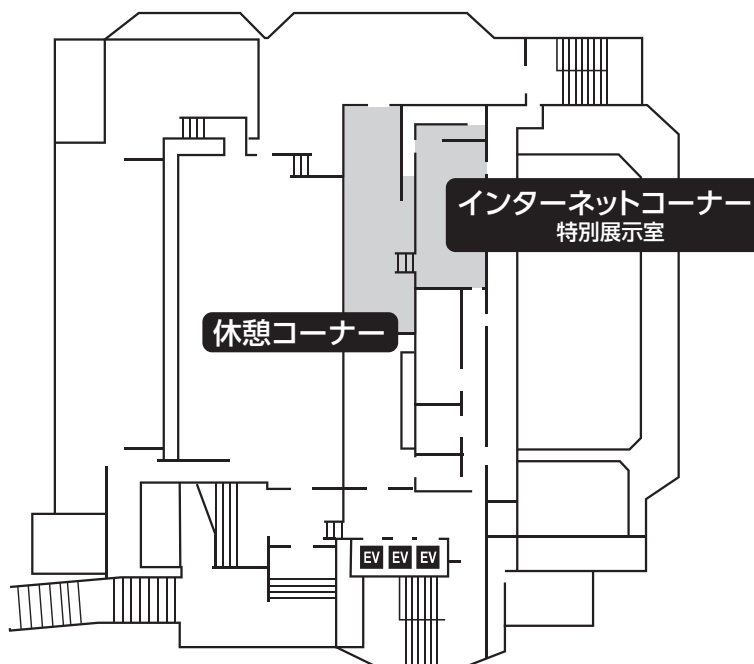


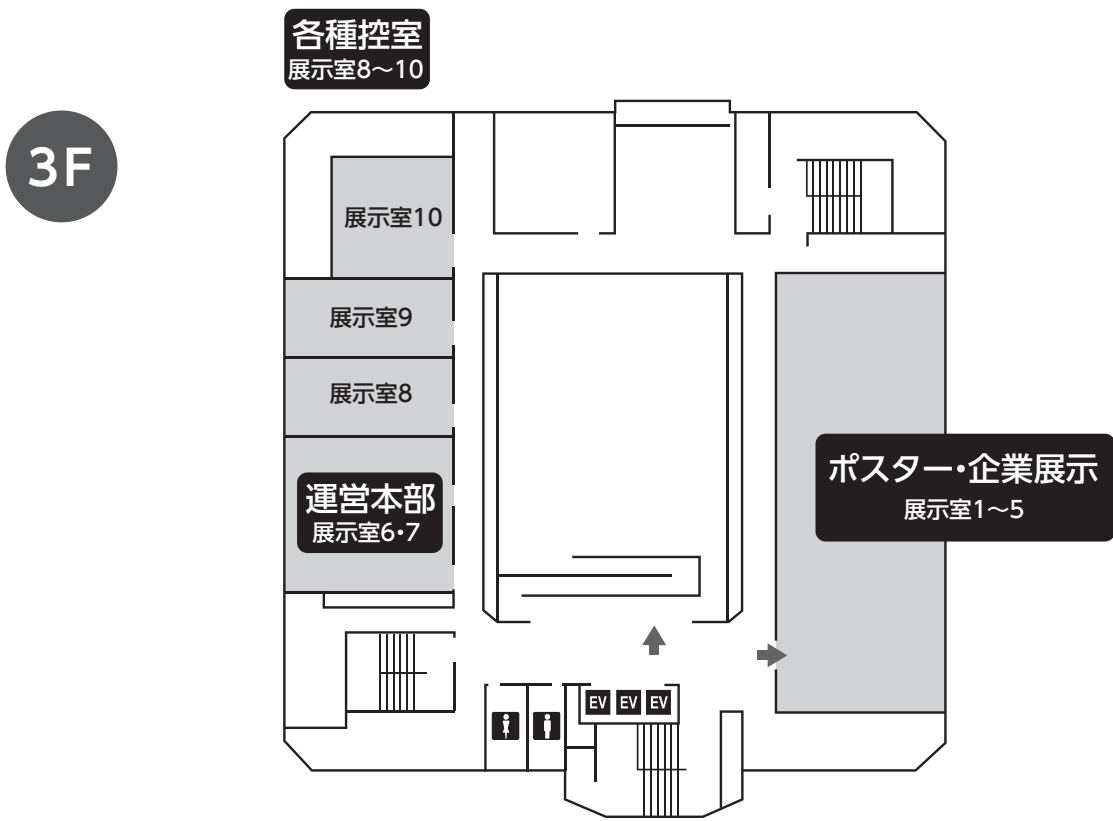
会場平面図

1F



2F





参加者へのご案内

□ 参加者の方へ

1. 総合受付は1月30日(木)・1月31日(金) 両日とも午前8:00からあわぎんホール1階ホワイエにて行います。
2. 事前登録者はあらかじめ送付された講演要旨集と参加証(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。
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:17,000円 ※講演要旨集 5,000円含む
名誉・功労会員の先生は無料でご参加頂けます。当日は招待者受付にお越しください。
4. 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. 場内はすべて禁煙です。
7. 会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. 昼食はランチョンセミナー、あるいは会場近辺のレストラン、軽食喫茶などをご利用ください。
9. クロークは1階総合受付の近くにございますので、ご利用ください。受付時間は下記のとおりです。
1月30日(木) 8:15～17:30
1月31日(金) 8:15～16:45
懇親会に参加される参加者はお荷物を懇親会会場へお持ち下さい。
10. 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。あわぎんホール1階ホワイエ総合受付近く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。
11. 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。

年会費支払い、新入会受付、勤務先・住所変更受付、評議員会及び総会委任状の出し忘れの方などの受付は、学会事務局デスク(あわぎんホール1階ホワイエ)までお越しください。

受付時間:1月30日(木) 9:00～17:00 1月31日(金) 8:00～15:00

□ 評議員会及び総会出席のお願い

日本毒性病理学会会員 各位

拝啓

時下益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

さて、徳島での第30回日本毒性病理学会では、前回同様に評議員会及び総会を合同で開催することに致しました。本学会の活動報告と次年度計画をご承認頂く重要な会議であり、会員の皆様には何卒御出席の程、お願い申し上げます。なお、評議員の皆様には、従前どおりご出欠を当日確認させていただきます。

敬具

日本毒性病理学会 理事長 今井田 克己

日時：平成26年1月31日(金) 15:15～16:30

会場：あわぎんホール1階大ホール

議題：平成25年度活動報告及び決算報告

平成26年度活動計画及び予算

名誉会員・功労会員・評議員推薦

その他

□ 懇親会のご案内

1. 懇親会は学会第1日目(1月30日)18:00からクレメントホテル徳島4階『クレメントホール』にて開催します。
2. 事前登録制ですが、当日総合受付にて懇親会費9,000円(学生7,000円)で申し受けます。定員に達した場合は締め切ることがございます。予めご了承ください。

□ ランチョンセミナーの御案内

1. 1月30日(木)・1月31日(金)両日ともに、以下のとおり、ランチョンセミナーを行います。

・ランチョンセミナー 1

平成26年1月30日(木)12:05～13:05

(あわぎんホール1階『大ホール』)

タイトル：「Background pathology and histology of the Göttingen Minipig」

演者：Dianne M Creasy (Huntingdon Life Sciences)

座長：高橋 道人(病理ピアレビューセンター)

協賛：ハンティンドン ライフサイエンス株式会社

・ランチョンセミナー 2

平成26年1月31日(金)12:10～12:50

(あわぎんホール1階『大ホール』)

タイトル：「OECD 病理ピアレビューガイダンス案について」

演者：小野寺 博志(独立行政法人医薬品総合機構)

「OECD 病理ピアレビューガイダンス案の概要」

演者：大石 裕司(アステラス製薬株式会社 安全性研究所)

「日本毒性病理学会の OECD 病理ピアレビューガイダンスへの対応」

座長：寺西 宗広(第一三共株式会社 安全性研究所)

主催：日本毒性病理学会

2. ランチョンセミナー1の整理券は、あわぎんホール1階『大ホール』の前にてセミナー開催日の8:05より配布します。無料で弁当が提供されます。
ランチョンセミナー2につきましては、日本毒性病理学会が開催する関係上、弁当代の一部(500円)を徴収させていただきます。300名限定でありチケットは当日8時過ぎから学会事務局デスクで販売します。

座長の先生方へ

1. 来館されましたら、総合受付（あわぎんホール1階ホワイエ）に必ずお越しくください。会長賞選考のための評価票をお渡しします。
2. 会長賞は40歳未満の筆頭演者（演題番号に*を表示）による一般口演、ポスターを対象に選考していただきます。抄録と口演発表もしくはポスター発表を評価していただき、1月31日（金）14:10までに評価票を総合受付にご提出ください。

□ 特別講演、シンポジウム、一般口演の座長の先生方へ

1. ご担当セッション開始時刻15分前までに、会場内の次座長席にご着席ください。

□ ポスター発表の座長の先生方へ

1. ご担当セッション開始の遅くとも15分前までには、ポスター発表座長受付（3階ポスター会場前）にお越しくください。指示棒（1本）、座長用リボン（赤色）をお渡しします。討論時には参加証（ネームカード）の他に、座長用のリボンを必ずご着用ください。セッション終了後指示棒は必ずご返却ください。

発表者の先生方へ

□ 利益相反について

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

| | |
|-------|--|
| サンプル1 | COI Disclosure Information Taro Dokusei I have no financial relationships to disclose. 本演題に関連して開示すべき利益相反はありません。 |
| サンプル2 | COI Disclosure Information Hanako Dokusei I have the following relationships to disclose. 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。 Research funding from: xxx Co. Advisory role for: xxx Co. Lecture fee from: xxx Co. |

□ 特別講演・教育セミナー・シンポジウム・一般口演の発表者の先生方へ

1. 発表スライド
PowerPointでの口演発表用スライド作成にあたっては外国人の参加を考慮して可能な限り、英語で作成ください。

2. データ・パソコン受付

メディア（USB フラッシュメモリ）持込みの方は発表の 60 分前までに PC センター（あわぎんホール 1 階ホワイエ）にご持参ください。パソコンを持込みの方は PC センターにて発表データ確認後、発表の 30 分前までに発表会場の左手前方のオペレーター席までパソコンをご持参ください。

3. 発表時間

| セッション名 | 講演時間 | 討論時間 | 予告ランプ |
|-----------------|------|------|--|
| 一般演題 (口演) | 8 分 | 4 分 | 発表時間 7 分経過で、黄色ランプ 発表時間 8 分経過で、赤色ランプ |
| ワークショップ (口演) | 12 分 | 4 分 | 発表時間 11 分経過で、黄色ランプ 発表時間 12 分経過で、赤色ランプ |

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. その他

演台上にはモニター、キーボード、マウスを用意いたします。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。

マウスのカーソル又はレーザーポインターをポインターとしてご使用ください。

【Windows】

- 1) USB フラッシュメモリ（以下メディア）、またはご自身の PC をお持込みください。
（インターフェイスのトラブルを避けるため、データ持込はメディアを推奨します。）
- 2) 会場では Windows7、アプリケーションは PowerPoint/2007/2010/2013 の PC をご用意しております。
- 3) フォントは文字化けを防ぐため下記のフォントで作成してください。
 - ①日本語 (MS ゴシック、MSP ゴシック、MS 明朝、MSP 明朝)
 - ②英 語 (Century、Century Gothic、Times New Roman、Arial)
- 4) USB フラッシュメモリは Windows で読み込み可能なもののみとさせていただきます。
- 5) データファイル名は「演題番号」「氏名」の順でつけてください。
【例】 O-160 山田太郎
- 6) お持込みのメディアの中には発表データ以外は入れないでください。
- 7) データ持込みの方は事務局にて、データを完全消去させていただきます。

【Macintosh】

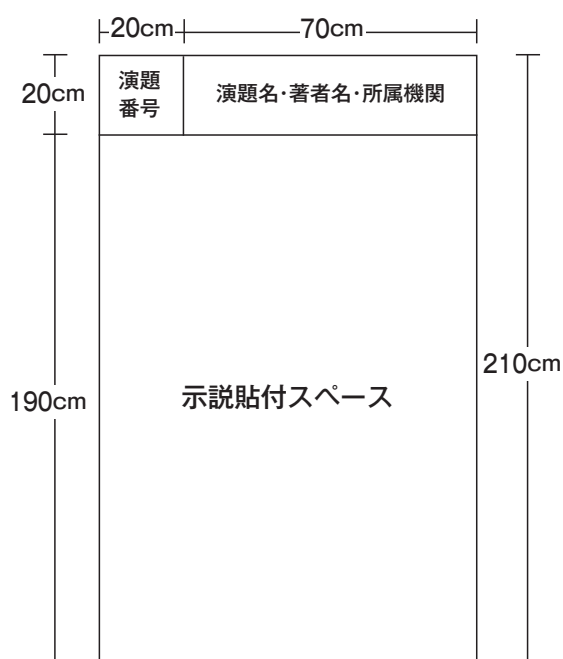
- 1) ご自身の PC をご持参ください。
- 2) メディアでのデータの持込みはできません。

WindowsPC および MacintoshPC をお持込みの際のご注意点

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

□ ポスター発表をされる先生方へ

1. ポスターパネルは縦 210cm、横 90cm です。図のようにパネル上部左の演題番号 (20cm × 20cm) は事務局で用意します。演題名・所属・氏名はポスター上部に適宜表示ください。掲示スペースは 190cm × 90cm ですが、上端から貼る場合は、演題番号表示スペースをとってポスターを作成してください。(ただし、下まで貼ると見えにくくなりますので配置の際は気を付けてください。) ポスターは日本語で問題ありません。
2. ポスターは 2 日間貼っておいて下さい。
3. 貼付の際は、あわぎんホール 3F ポスター会場受付へ到着の旨をお知らせください。
4. 各ポスターパネルに画びょうとポスター発表者用にリボンを用意してあります。質疑応答の時間帯は必ずご着用ください。
5. 発表者は座長の進行で進めてください。



各発表時間持ち時間は 8 分 (発表 5 分、質疑応答 3 分) です。時間厳守でお願いします。

| 発表日時 | 受付・貼付 | 発表・質疑応答 | 撤去 |
|--------------|------------------|-------------------|-------------------|
| 1 月 30 日 (木) | 8 : 30 ~ 10 : 00 | 16 : 20 ~ 17 : 20 | |
| 1 月 31 日 (金) | | 13 : 00 ~ 14 : 00 | 15 : 30 ~ 17 : 00 |

日程表

| 1月29日(水) | | 1月30日(木) | |
|---------------------|--------------------------|---|-----------|
| 1F 第1会場 | 3F 展示室 10 | 1F 第1会場 | 3F ポスター会場 |
| 8:00 | | | |
| | | 8:20 ~ 開会式 | |
| 9:00 | | 8:30 | 8:30 |
| | | 一般口演 I O-01 ~ O-08 | ポスター貼付 |
| 10:00 | | 10:15 | 10:00 |
| 10:00 | | 10:25 | |
| 試験問題解説 | | シンポジウム 神経発生毒性を捉える 新たなアプローチ 座長：渋谷 淳 田中卓二 | |
| 11:00 | | 12:00 | |
| 11:00 | | 12:05 | |
| 11:15 | | ランチョンセミナー1 | |
| 12:00 | 11:45 | 13:05 | |
| | 編集委員会 | 13:15 | |
| 13:00 | 13:15 | 一般口演 II O-09 ~ O-16 | ポスター閲覧 |
| | 13:30 | 15:00 | |
| | 教育委員会 | 15:10 | |
| 14:00 | 14:30 | 特別講演 演者：J. A. Swenberg 座長：泉 啓介 | |
| 第26回スライド カンファレンス | | 16:10 | |
| 15:00 | 15:00 | | 16:20 |
| | 理事会 | | ポスター発表 I |
| 16:00 | 17:00 | | 17:20 |
| 17:00 | | 18:00 | |
| 17:05 | | 懇親会 ホテルクレメント徳島 4F クレメントホール | |
| 17:30 | | 20:00 | |
| IATP レクチャー | | | |
| 19:00 | | | |
| | | | |
| 20:00 | | | |
| 21:00 | | | |
| 21:00 | | | |
| 22:00 | IFSTP 電話会議 ホテルサンルート徳島 | | |
| 23:00 | | | |

日程表

| 1月31日(金) | |
|---|--------------------|
| 1F 第1会場 | 3F ポスター会場 |
| 8:00 | |
| 8:20 ワークショップ I 座長：高橋 智 山手丈至 | ポスター閲覧 |
| 9:30 | |
| 9:35 | |
| 10:00 ワークショップ II 座長：今井田克己 鈴木 雅実 | |
| 11:05 | |
| 11:15 三十周年記念講演 演者：福島 昭治 座長：三森 国敏 | |
| 12:00 | |
| 12:10 ランチョンセミナー2 | |
| 12:50 | |
| | 13:00 ポスター発表 II |
| | 14:00 |
| 14:10 教育講演 INHAND フォローアップ：生殖器 座長：大石 裕司 | ポスター閲覧 |
| 15:10 | |
| 15:15 | |
| 16:00 評議員会・総会 表彰式・閉会式 | 15:30 ポスター撤去 |
| 16:30 | |
| | 17:00 |
| 17:00 | |
| 18:00 | |
| 19:00 | |
| 20:00 | |
| 21:00 | |
| 22:00 | |
| 23:00 | |

協賛法人・企業一覧

第30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30回日本毒性病理学会総会及び学術集会
年会長 泉 啓介

□ 協賛

| | |
|-----------------------|----------------|
| 旭化成ファーマ株式会社 | 住友化学株式会社 |
| アステラス製薬株式会社 | 第一三共株式会社安全性研究所 |
| エーザイ株式会社 | 大正製薬株式会社 |
| 株式会社大塚製薬工場 | 大日本住友製薬株式会社 |
| 小野薬品工業株式会社 | 大鵬薬品工業株式会社 |
| 杏林製薬株式会社 | 武田薬品工業株式会社 |
| 協和発酵キリン株式会社 | 田辺三菱製薬株式会社 |
| 株式会社札幌総合病理研究所 | 中外製薬株式会社 |
| 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 | 帝人ファーマ株式会社 |
| 参天製薬株式会社 | 株式会社DIMS医科学研究所 |
| 一般財団法人残留農薬研究所 | 日本たばこ産業株式会社 |
| 塩野義製薬株式会社 | バイエル薬品株式会社 |
| 公益財団法人食品農医薬品安全性評価センター | 三菱化学メディエンス株式会社 |
| 一般社団法人食品薬品安全センター | |

□ 共催セミナー

ハンティンドン ライフサイエンス株式会社

□ 企業展示

| | |
|--------------------|---------------------------|
| アジア器材株式会社 | 株式会社DIMS医科学研究所 |
| 株式会社アマネセル | 株式会社徳島分子病理研究所・株式会社アワジュニック |
| 株式会社エイチ・アンド・ティー | 日本エスエルシー株式会社 |
| 倉敷紡績株式会社 | ハーランラボラトリーズジャパン株式会社 |
| 株式会社ケー・エー・シー | 富士通株式会社 |
| サクラファインテックジャパン株式会社 | プライムテック株式会社 |
| 白井松器械株式会社 | PDS パソロジーデータシステムズ |
| 株式会社新組織科学研究所 | 株式会社 ボゾリサーチセンター |
| 株式会社新日本科学 | ライカマイクロシステムズ株式会社 |
| 株式会社スリーエス・ジャパン | |

□ 広告

| | |
|---------------------|---------------------|
| 株式会社アマネセル | 日新器械株式会社 |
| 株式会社ケー・エー・シー | 日本クレア株式会社 |
| 四国八洲薬品株式会社 | 日本バイオアッセイ研究センター |
| 株式会社シミックバイオリサーチセンター | ハーランラボラトリーズジャパン株式会社 |
| 株式会社大一器械 | 株式会社バイオ病理研究所 |

(50音順)

日本毒性病理学会のあゆみ

| 回 | 開催地 | 年会長（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） | 2006.1.26-27 | 1 | 15 | 109 |
| 23 | 東京 | 三森 国敏（東京農工大） | 2007.1.29-31 | 0 | 15 | 107 |
| 24 | 名古屋 | 白井 智之（名古屋市立大） | 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） | 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 |

*Joint international meeting of JSTP/IFSTP

座長一覽

| 日付 | 時間 | セッション名 | | 座長 | 所属 | 会場名 |
|--------|-------------|----------------------------|------------------------|-------|-----------------------------------|----------------|
| 1月30日 | 15:10~16:10 | 特別講演 | | 泉 啓介 | 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 環境病理学分野 | 第1会場 【大ホール】 |
| 1月31日 | 11:25~12:10 | 三十周年記念講演 | | 三森 国敏 | 内閣府 食品安全委員会 | |
| | 14:40~15:40 | 教育講演 | INHAND フォローアップ:生殖器 | 大石 裕司 | アステラス製薬株式会社 安全性研究所 | |
| 1月30日 | 10:25~12:00 | シンポジウム | 神経発生毒性を捉える 新たなアプローチ | 渋谷 淳 | 東京農工大学大学院 農学研究科動物生命科学部門 病態獣医学研究分野 | |
| | | | | 田中 卓二 | 株式会社 東海細胞研究所 | |
| 1月31日 | 8:20~9:30 | ワークショップI | 環境とがん 1 | 高橋 智 | 名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学 | |
| | | | | 山手 丈至 | 大阪府立大学 獣医病理学教室 | |
| | 9:35~11:05 | ワークショップII | 環境とがん 2 | 今井田克己 | 香川大学 医学部 腫瘍病理学 | |
| | | | | 鈴木 雅実 | 中外製薬株式会社 研究本部 | |
| 1月30日 | 8:30~10:15 | 一般口演 I | | 中江 大 | 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 | |
| | | | | 中山 裕之 | 東京大学 大学院農学生命科学研究科 獣医病理学研究室 | |
| | | | | 永井 博文 | 武田薬品工業株式会社 薬剤安全性研究所 | |
| | | | | 鰐淵 英機 | 大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学 分子病理学 | |
| | 13:15~15:00 | 一般口演 II | | 吉田 緑 | 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 | |
| | | | | 吉見 直己 | 琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学 | |
| | | | | 小川久美子 | 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 | |
| | | | | 寺西 宗広 | 第一三共株式会社 安全研究所 | |
| 1月30日 | 16:20~17:20 | ポスター発表I | 神経・感覚器 1 | 勝田 修 | 参天製薬(株) 眼科研究開発センター 安全性動態グループ | |
| | | | | 下井 明仁 | (株)イナリサーチ | |
| | | | 神経・感覚器 2 | 北浦 敬介 | 大塚製薬(株)安全性研究センター | |
| | | | | 義澤 克彦 | 関西医科大学 病理学第二講座 | |
| | | | 呼吸器 | 小野寺博志 | (独)医薬品医療機器総合機構 毒性領域 | |
| | | | | 古川 文夫 | (株)DIMS医科学研究所 | |
| | | | 呼吸器・血液 | 平田 暁大 | 岐阜大学生命科学総合研究支援センター 動物実験分野 | |
| | | | | 前田 博 | (株)新日本科学 安全性研究所 東京病理センター | |
| | | | 血液・循環器・消化管 | 細川 暁 | エーザイ(株) 安全性研究部 | |
| | | | | 横平 政直 | 香川大学 医学部 腫瘍病理学 | |
| | | | 口腔・消化管 | 今井 俊夫 | 国立がん研究センター 研究所 動物実験支援施設 | |
| | | | | 上原 久典 | 徳島大学 医学部 環境病理学分野 | |
| 消化管・肝臓 | 深町 勝巳 | 名古屋市立大学 大学院医学部研究科 分子毒性学分野 | | | | |
| | 星谷 達 | (株)ボゾリサーチセンター | | | | |
| 肝臓 | 相磯 成敏 | 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター | | | | |
| | 柿本 恒知 | 日本たばこ産業(株) 医学総合研究 安全性研究所 | | | | |

第1会場
【大ホール】

ポスター会場
【3階展示室】

| 日付 | 時間 | セッション名 | 座長 | 所属 | 会場名 | |
|------------|-------------|------------------|------------|-------|----------------------------------|-------------------|
| 1月31日 | 13:00~14:00 | ポスター発表Ⅱ | 肝臓 | 佐藤 順子 | 三菱化学メディエンス(株) | ポスター会場 【3階展示室】 |
| | | | | 塚本 徹哉 | 藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科 | |
| | | | 肝臓・膵臓・泌尿器 | 久野 壽也 | 名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学分野 | |
| | | | | 藤原 利久 | 田辺三菱製薬(株) 安全性研究所 | |
| | | | 泌尿器 | 杉江 茂幸 | 朝日大学 歯学部 村上記念病院 病理 | |
| | | | | 鳥井 幹則 | 塩野義製薬(株)創薬・開発研究所 安全性研究部門 | |
| | | | 泌尿器・乳腺・生殖器 | 岩田 聖 | ルナパス 毒性病理研究所 | |
| | | | | 魏 民 | 大阪市立大学大学院 医学研究所 分子病理室 | |
| | | | 生殖器・内分泌 | 串田 昌彦 | 住友化学(株) 生物環境科学研究所 生体科学グループ 病理チーム | |
| | | | | 澤本 修 | (株)大塚製薬工場 研究開発センター 鳴門研究所 創薬推進研究室 | |
| | | | 内分泌・皮膚・運動器 | 豊沢かおる | 大日本住友製薬(株) 前臨床研究所 | |
| | | | | 箱井加津男 | 大鵬薬品工業(株)徳島研究センター 研究管理室 | |
| | | | 免疫・毒性試験 | 尾崎 清和 | 摂南大学 薬学部 病理学研究室 | |
| | | | | 桑原 真紀 | (財)残留農薬研究所 毒性部 | |
| 毒性試験・基礎データ | 代田 欣二 | 麻布大学 獣医学部 病理学研究室 | | | | |
| | 林 新茂 | 三栄源エフ・エフ・アイ(株) | | | | |

プログラム

特別講演

第1日目 1月30日(木) 15:10～16:10

第1会場[大ホール]

座長：泉 啓介(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 環境病理学分野)

- SL Using Science to Understand Mode of Action and Improve Risk Assessment 41
○James A. Swenberg
Department of Environmental Sciences and Engineering, Gillings School of Global Public Health,
University of North Carolina

三十周年記念講演

第2日目 1月31日(金) 11:15～12:00

第1会場[大ホール]

座長：三森 国敏(内閣府 食品安全委員会)

- AL 日本毒性病理学会の歩み：ゲノムサイエンス時代に果たす毒性病理学の役割を考えると
ともに 42
○福島 昭治 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター

教育講演

第2日目 1月31日(金) 14:10～15:10

第1会場[大ホール]

座長：大石 裕司(アステラス製薬株式会社 安全性研究所)

INHAND フォローアップ：生殖器

- ES1 雌性生殖器に関する INHAND のトピックスと問題点について 43
○吉田 緑
国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- ES2 INHAND 解説：雄性生殖器系 44
○神鳥 仁志
武田薬品工業株式会社 薬剤安全性研究所

シンポジウム

第1日目 1月30日(木) 10:25 ~ 12:00

第1会場[大ホール]

座長：渋谷 淳(東京農工大学大学院 農学研究院動物生命科学部門 病態獣医学研究分野)
田中 卓二((株)東海細胞研究所)

神経発生毒性を捉える新たなアプローチ

- SY-1** OECD TG426 神経発生毒性試験ガイドライン 45
○江馬 眞
独立行政法人 産業技術総合研究所 安全科学研究部門
- SY-2** ニューロン新生- 神経発生毒性の新たな標的性 46
○渋谷 淳
東京農工大学大学院 農学研究院動物生命科学部門 病態獣医学研究分野
- SY-3** 神経作動性化学物質の早期暴露による遅発性の神経行動毒性発現 47
○種村 健太郎¹⁾、五十嵐 勝秀²⁾、菅野 純²⁾
¹⁾東北大学大学院 農学研究科・動物生殖科学分野、²⁾国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験センター・毒性部
- SY-4** 妊娠中のサリドマイドと自閉症 - 妊娠ラットへのサリドマイド投与による自閉症モデル動物... 48
○成田 正明、江藤 みちる、大河原 剛
三重大学大学院医学系研究科 発生再生医学

ワークショップ I

第2日目 1月31日(金) 8:20~9:30

第1会場[大ホール]

座長：高橋 智(名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学)
山手 丈至(大坂府立大学 獣医病理学研究室)

環境とがん 1

- WS1-1** 肝発がん物質エストラゴールの突然変異誘発過程における細胞増殖活性の影響 49
○石井 雄二¹⁾、高須 伸二¹⁾、黒田 顕¹⁾、松下 幸平¹⁾、横尾 諭¹⁾、木島 綾希¹⁾、
能美 健彦²⁾、小川 久美子¹⁾、梅村 隆志¹⁾
¹⁾国立衛研 病理部、²⁾国立衛研 安全性生物試験研究センター
- WS1-2** 高脂肪食により誘発されるレプチン抵抗性に対する臓器感受性差と乳腺発がん 49
○今井 俊夫¹⁾、打屋 尚章¹⁾、藤井 元²⁾、武藤 倫弘²⁾、高橋 真美¹⁾
¹⁾国立がん研究センター 研究所 動物実験支援施設、²⁾国立がん研究センター 研究所 がん予防研究分野
- WS1-3 *** p53欠損マウスにおけるオクラトキシン A の突然変異誘発機序 50
○黒田 顕¹⁾、日比 大介¹⁾、石井 雄二¹⁾、高須 伸二¹⁾、木島 綾希¹⁾、松下 幸平¹⁾、
増村 健一²⁾、児玉 幸夫³⁾、小川 久美子¹⁾、梅村 隆志¹⁾
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部、
³⁾国立医薬品食品衛生研究所 毒性部
- WS1-4** アスベスト曝露と悪性中皮腫の診断マーカーとして血清CCL3 (Mip1 α) の有用性の検討 50
○津田 洋幸¹⁾、徐 結苟¹⁾、David B. Alexander¹⁾、徳山 猛²⁾、宇佐美 郁治³⁾、林 嘉光⁴⁾、
小栗 鉄也⁵⁾、高橋 智⁶⁾、酒々井 真澄⁷⁾
¹⁾名古屋市立大学 津田特任教授研究室、²⁾中和病院内科、³⁾旭労災病院呼吸器科、⁴⁾名古屋市厚生院、
⁵⁾名市大院医腫瘍免疫内科、⁶⁾名市大院医実験病態病理、⁷⁾名市大院医分子毒性

ワークショップⅡ

第2日目 1月31日(金) 9:35 ~ 11:05

第1会場[大ホール]

座長：今井田 克己(香川大学 医学部 腫瘍病理学)
鈴木 雅実(中外製薬株式会社 研究本部)

環境とがん2

- WS2-1** 多層カーボンナノチューブの中皮腫発がん性をモデル標的としたナノマテリアル高度分散全身吸入 Taquann システムによるマウス吸入毒性病変評価 51
○菅野 純、高橋 祐次
国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・毒性部
- WS2-2** サイズおよび形状により胸膜において MWCNT の沈着と繊維化 51
○徐 結苟¹⁾、David B. Alexander¹⁾、二口 充²⁾、沼野 琢旬²⁾、深町 勝巳²⁾、酒々井 眞澄²⁾、津田 洋幸¹⁾
¹⁾名古屋市立大学津田特任教授研究室、²⁾名古屋市立大学医学研究科分子毒性学分野
- WS2-3** ラットにおいて多層カーボンナノチューブの経気管噴霧反復投与が及ぼす影響 52
○坂本 義光¹⁾、小縣 昭夫¹⁾、湯澤 勝弘¹⁾、久保 喜一¹⁾、安藤 弘¹⁾、長澤 明道^{1,3)}、高橋 博¹⁾、矢野 範男¹⁾、西村 哲治²⁾、広瀬 明彦³⁾、井上 義之⁴⁾、橋爪 直樹⁴⁾、猪又 明子¹⁾、中江 大^{1,5)}
¹⁾東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部、²⁾帝京平成大、³⁾国立衛研 総合評価研、⁴⁾(一財)化学物質評価研究機構、⁵⁾東京農業大
- WS2-4** カーボンナノチューブおよびカーボンブラックの肺内噴霧により誘発された肺胞過形成様病変... 52
○二口 充¹⁾、徐 結苟²⁾、井上 義之³⁾、高月 峰夫³⁾、津田 洋幸²⁾、酒々井 眞澄¹⁾
¹⁾名古屋市立大学医学研究科分子毒性学分野、²⁾名古屋市立大学 津田特任研究室、³⁾化学物質評価研究機構
- WS2-5** 環境とがん～先楽後憂から先憂後楽へ～ 53
○樋野 興夫
順天堂大学医学部 病理・腫瘍学 国際環境発がん制御研究センター

一般口演 I

第1日目 1月30日(木) 8:30 ~ 10:15

第1会場[大ホール]

座長：中江 大(東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部)
 中山 裕之(東京大学 大学院農学生命科学研究科 獣医病理学研究室)

- O-01 *** ラット非アルコール性脂肪肝炎における connexin 32 の役割と luteolin による予防効果 57
 ○内木 綾、加藤 寛之、久野 壽也、高橋 智
 名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学
- O-02 *** EHEN 誘発ラット腎発がんにおいて内因性 NADPH oxidase 阻害剤 apocynin は抑制作用を有する . . 57
 ○三島 胡桃、山野 荘太郎、藤岡 正喜、魏 民、北野 光昭、鰐淵 英機
 大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学
- O-03** テネイシンC抗体または α -マンゴスチンの単独投与ならびにそれらの複合投与によるマウス乳癌転移抑制 58
 ○柴田 雅朗¹⁾、日下部 守昭²⁾、柴田 映子³⁾、森本 純司⁴⁾、斯波 真理子³⁾、飯沼 宗和⁵⁾
¹⁾大阪保健医療大学大学院 解剖学・病理組織学研究室、²⁾東京大学大学院 食の安全研究センター、
³⁾国立循環器病研究センター研究所 病態代謝部、⁴⁾大阪医科大学 実験動物センター、
⁵⁾岐阜薬科大学大学院 生薬学研究室
- O-04** 葉酸代謝拮抗剤Methotrexate のラット新生児期曝露が小脳の発達に及ぼす影響 58
 ○杉山 晶彦^{1,2)}、孫 敬^{1,2)}、上田 剛太¹⁾、竹内 崇^{1,2)}、古川 賢³⁾
¹⁾鳥取大学 農学部 獣医学科、²⁾山口大学大学院 連合獣医学研究科、³⁾日産化学工業 生物科学研究所

座長：永井 博文(武田薬品工業株式会社 薬剤安全性研究所)
 鰐淵 英機(大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学 分子病理学)

- O-05 *** 腎障害に伴う浸透圧性腎症の病態増悪機序の解明 59
 ○松下 幸平¹⁾、高須 伸二¹⁾、石井 雄二¹⁾、黒田 顕¹⁾、木島 綾希¹⁾、北浦 敬介²⁾、
 佐藤 亮²⁾、松本 智志²⁾、小川 久美子¹⁾、梅村 隆志¹⁾、
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾大塚製薬(株) 安全性研究センター
- O-06** 多層カーボンナノチューブの肺内投与による中皮腫発生プロファイル 59
 ○酒々井 眞澄¹⁾、沼野 琢旬¹⁾、深町 勝巳¹⁾、二口 充¹⁾、津田 洋幸²⁾、
¹⁾名古屋市立大学 大学院医学研究科 分子毒性学分野、²⁾津田特任研究室
- O-07 *** ラット糸球体足細胞における optineurin 結合タンパク質の同定 60
 ○樫村 茜¹⁾、門脇 巧¹⁾、菅原 豪²⁾、安野 恭平²⁾、上家 潤一¹⁾、代田 欣二^{1,2)}
¹⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室、²⁾麻布大学 生物科学総合研究所
- O-08 *** 高脂肪食給餌カニクイザルにおける膵島の病理学的解析 60
 ○小林 亮介¹⁾、石井 宏幸²⁾、山田 直明¹⁾、爰島 洋子¹⁾、黒滝 哲郎¹⁾、土居 卓也¹⁾、
 佐藤 順子¹⁾、涌生 ゆみ¹⁾、土谷 稔¹⁾
¹⁾三菱化学メディエンス(株) 試験研究センター 病理研究部、
²⁾三菱化学メディエンス(株) 試験研究センター 安全性研究部

一般口演 II

第1日目 1月30日(木) 13:15 ~ 15:00

第1会場[大ホール]

座長：吉田 緑(国立医薬品食品衛生研究所 病理部)
吉見 直己(琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学)

- 09 マウス大腸発癌に及ぼすデオキシコロール酸の影響 61
○久野 壽也¹⁾、田中 卓二²⁾、内木 綾¹⁾、佐藤 慎哉¹⁾、鈴木 周五¹⁾、高橋 智¹⁾
¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学、²⁾東海細胞研究所
- 10 * *Apc*^{Min/+} マウスの大腸腫瘍性病変における腸管上皮幹細胞マーカー Lgr5発現細胞の機能解析 61
○平田 暁大¹⁾、久野 壽也^{2,3)}、高松 学²⁾、波多野 裕一郎²⁾、富田 弘之²⁾、原 明²⁾
¹⁾岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野、²⁾岐阜大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学分野、³⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学分野
- 11 * ラット膀胱におけるプロポリスの発がん促進作用及びその機序の検討 62
○藤岡 正喜、魏 民、山野 莊太郎、下村 衣里、三島 胡桃、福永 賢輝、鰐淵 英機
大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学
- 12 A/J マウス胸腔内投与による針状粒子TISMOの長期的影響 62
○横平 政直、岸 宗佑、中野 裕子、山川 けいこ、二宮 美美子、蟹江 尚平、今井田 克己
香川大学 医学部 腫瘍病理学

座長：小川 久美子(国立医薬品食品衛生研究所 病理部)
寺西 宗広(第一三共株式会社 安全性研究所)

- 13 ラット膵がんモデルにおける血清診断マーカー 63
○深町 勝巳¹⁾、二口 充¹⁾、津田 洋幸²⁾、酒々井 眞澄¹⁾
¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性学、²⁾名古屋市立大学 津田特任教授研究室
- 14 * 気管内投与手法およびラットの肺における投与剤の分布 63
○長谷川 也須子¹⁾、久保田 久代¹⁾、吉田 緑²⁾、宮川 宗之¹⁾
¹⁾(独)労働安全衛生総合研究所 健康障害予防研究グループ、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- 15 * ラットにおける前立腺発がん物質早期検出マーカーの確立 64
○鈴木 周五^{1,2)}、佐藤 慎哉^{1,3)}、内木 綾¹⁾、久野 壽也¹⁾、高橋 智¹⁾
¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学、²⁾名古屋市立東部医療センター 病理診断科、³⁾名古屋市立西部医療センター 病理診断科
- 16 * ラット肺障害モデルにおける肺障害マーカー SP-Dの経時的推移 64
○熊谷 和善¹⁾、高田 早苗¹⁾、根津 義和¹⁾、安野 恭平¹⁾、宮本 恵美^{1,2)}、高田 俊介¹⁾、矢部 光一¹⁾、谷 吉朗³⁾、土屋 由美¹⁾、高崎 渉¹⁾、
¹⁾第一三共(株)安全性研究所、²⁾第一三共(株)バイオ創薬研究所、³⁾第一三共インドLTD.

ポスター発表 I

第1日目 1月30日(木) 16:20 ~ 17:20

第2会場[展示室1~5]

神経・感覚器

座長：勝田 修(参天製薬(株) 眼科研究開発センター 安全性動態グループ)
下井 明仁((株)イナリサーチ)

- P-01** ラットにおける E2012 誘発白内障とバイオマーカー 65
○中野(伊藤) 今日子¹⁾、太田 恵津子¹⁾、猪又 晃¹⁾、武田 賢和¹⁾、後藤 彩¹⁾、関 由妃¹⁾、
早川 和宏²⁾、園田 二郎¹⁾、細川 暁¹⁾、青木 豊彦¹⁾、築館 一男¹⁾
¹⁾エーザイ(株) 安全性研究部、²⁾株式会社サンプラネット 安全性研究事業部
- P-02 *** ラットを用いた Paclitaxel 誘発末梢神経障害における後根神経節の変化 65
○林 仁美、市村 英資、瀧上 貴美子、奥田 祐司、横山 浩史、畔上 愛子、岡本 一也
日本化薬(株) 医薬研究所
- P-03** イミノジプロピオニトリル発達期暴露によるマウス海馬歯状回の神経発生に及ぼす影響 66
○Liyun Wang¹⁾、白木 彩子^{1,2)}、板橋 恵^{1,2)}、阿部 一^{1,2)}、村上 智亮³⁾、鈴木 和彦³⁾、
吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾
¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、³⁾東京農工大学 獣医毒性学研究室
- P-04 *** 6-propyl-2-thiouracil (PTU) のラット 28日間反復投与による甲状腺機能低下を介したニューロン・
グリア発達障害の検出 66
○白木 彩子^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、斎藤 文代³⁾、赤堀 有美³⁾、今田中 伸哉³⁾、板橋 恵^{1,2)}、
Liyun Wang¹⁾、村上 智亮⁴⁾、鈴木 和彦⁴⁾、吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾
¹⁾東京農工大 獣医病理、²⁾岐阜大・院・連合獣医、³⁾化学物質評価研究機構・安全性評価技術研究所、
⁴⁾東京農工大・獣医毒性
- P-05** イミノジプロピオニトリルのラットへの発達期暴露による海馬歯状回における離乳時ニューロン新
生に対する影響 67
○板橋 恵¹⁾、王 リユン¹⁾、白木 彩子^{1,2)}、盛田 怜子^{1,2)}、田中 猛^{1,2)}、村上 智亮³⁾、
鈴木 和彦³⁾、吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾
¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、³⁾東京農工大学 獣医毒性学研究室
- P-06 *** 抗アミロイドβ抗体を投与した Tg2576 マウスにおける脳内微小出血の病理組織学的検討 ... 67
○後藤 彩、猪又 晃、中野(伊藤) 今日子、園田 二郎、早川 和宏、太田 恵津子、
武田 賢和、関 由妃、細川 暁、築館 一男
エーザイ(株) バイオファーマシューティカル・アセスメント機能ユニット 筑波安全性研究部

神経・感覚器

座長：北浦 敬介(大塚製薬(株) 安全性研究センター)
義澤 克彦(関西医科大学 病理学第二講座)

- P-07 *** ミエリン異常ミュータントラットの病変進展における遺伝子発現動態 68
○下間 由佳子、田中 美有、井澤 武史、山手 丈至、桑村 充
大阪府立大学 獣医病理学研究室
- P-08** SOD1^{G93A} トランスジェニックマウスの脊髄病変に対する rotenone 投与の影響 68
○小川 瑞恵、野村 駿介、内田 和幸、中山 裕之
東京大学 大学院 農学生命科学研究科 獣医病理学研究室
- P-09 *** ミニブタに認められた全身転移を伴った形質細胞腫の2例 69
○田中 美有¹⁾、井澤 武史¹⁾、楠田 佳代²⁾、北村 憲彦³⁾、嶋田 照雅³⁾、山手 丈至¹⁾、
桑村 充¹⁾
¹⁾大阪府立大学 獣医病理、²⁾みさき公園、³⁾大阪府立大学 獣医臨床センター
- P-10** 牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法 (BCOP 法) における病理組織学的変化 - 被験物質の濃度および曝露時間の影響 - 69
○古川 正敏¹⁾、伊藤 浩太¹⁾、六川 潤美¹⁾、榊原 隆史¹⁾、佐々木 啓¹⁾、平賀 武夫²⁾、
小島 肇³⁾、松浦 正男¹⁾
¹⁾(株)化合物安全性研究所、²⁾酪農学園大学 獣医学群、³⁾国立医薬品食品衛生研究所
- P-11** 有機溶剤と高血糖が関与したと思われる多系統萎縮症の一部検例 70
○永井 由紗、藤石 琴、北澤 理子、北澤 莊平
愛媛大学 大学院 医学系研究科 分子病理学講座
- P-12 *** 若齢BriHan:WIST@Jcl (GALAS) ラットの腰部脊髄に自然発生した乏突起膠細胞腫の1例 70
○武田 周二、浅野 敬之、伊原 良、緒方 敬子、串田 昌彦
住友化学(株) 生物環境科学研究所 生体科学グループ 病理チーム
- P-13 *** ゲッチンゲンミニブタにみられた海馬錐体神経細胞の好酸性細胞質内封入体 71
○山田 直明、小林 亮介、隈部 志野、友成 由紀、土居 卓也、涌生 ゆみ、土谷 稔
三菱化学メディアエンス(株) 試験研究センター 病理研究部

呼吸器

座長：小野寺 博志((独)医薬品医療器機総合機構 毒性領域)
古川 文夫((株)DIMS 医科学研究所)

- P-14 *** C57BL6/J マウスおよびF344 ラットへの多層カーボンナノチューブの単回気管内投与による 52 週での慢性毒性検討 71
○岸 宗佑¹⁾、中野 裕子¹⁾、山川 けいこ¹⁾、横平 政直¹⁾、二宮 芙美子¹⁾、竿尾 光祐²⁾、
今井田 克己¹⁾
¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾苫小牧市立病院
- P-15** マウス肺腫瘍における Erk1/2 経路の活性化と Dusp6 の発現に関する検討 72
○山川 けいこ¹⁾、横平 政直¹⁾、岸 宗佑¹⁾、中野 裕子¹⁾、二宮 芙美子¹⁾、蟹江 尚平¹⁾、
竿尾 光祐^{1,2)}、今井田 克己¹⁾
¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾苫小牧市立病院
- P-16** n-ブチルグリシジルエーテルの 13 週間吸入暴露によるラットとマウスにおける鼻腔病変 72
○高信 健司¹⁾、片桐 卓¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、長野 嘉介²⁾、相磯 成敏¹⁾、
福島 昭治¹⁾
¹⁾中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター、²⁾長野毒性病理コンサルティング
- P-17** n-ブチルグリシジルエーテルの 104 週間吸入暴露によるラット・マウスの鼻腔における
発がん性 73
○片桐 卓¹⁾、高信 健司¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、長野 嘉介²⁾、相磯 成敏¹⁾、
福島 昭治¹⁾
¹⁾中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター、²⁾長野毒性病理コンサルティング
- P-18** アクリル酸の 13 週間及び 104 週間吸入暴露によるラットの鼻腔病変 73
○梅田 ゆみ¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、高信 健司¹⁾、片桐 卓¹⁾、相磯 成敏¹⁾、長野 嘉介²⁾、
福島 昭治¹⁾
¹⁾中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター、²⁾長野毒性病理コンサルティング
- P-19** N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) でイニシエートされたラットにおいて磁性ナノ粒子マグ
ネタイトの気管内スプレー投与が及ぼす影響 74
○多田 幸恵¹⁾、矢野 範男¹⁾、高橋 博¹⁾、湯澤 勝廣¹⁾、安藤 弘¹⁾、久保 喜一¹⁾、
長澤 明道¹⁾、海鋒 藤文¹⁾、北條 幹¹⁾、猪又 明子¹⁾、小縣 昭夫¹⁾、中江 大^{1,2)}
¹⁾東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 生体影響研究科、²⁾東京農業大学

呼吸器・血液

座長：平田 暁大(岐阜大学生命科学総合研究支援センター 動物実験分野)
前田 博((株)新日本科学 安全性研究所 東京病理センター)

- P-20 *** Quartz 粒子単回気管内投与による F344 ラットの肺への影響 74
○中野 裕子¹⁾、横平 政直¹⁾、山川 けいこ¹⁾、岸 宗佑¹⁾、二宮 芙美子¹⁾、蟹江 尚平¹⁾、
竿尾 光祐^{1,2)}、今井田 克己¹⁾、
¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾苫小牧市立病院
- P-21** マイクロミニブタの鼻腔の病理組織学的検査 75
○可徳 小四郎、川迫 一史、小林 梓、押方 孝文、満石 三喜男、菅野 剛、浜村 政夫
三菱化学メディエンス株式会社 試験研究センター 病理研究部
- P-22 *** カニクイザルの肺にみられた血管病変を伴う褐色色素沈着 75
○井手 鉄哉¹⁾、中原 豊¹⁾、見鳥 光¹⁾、仲辻 俊二¹⁾、大石 裕司²⁾、松本 正博¹⁾
¹⁾アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室、²⁾アステラス製薬(株) 安全性研究所
- P-23** モノクロタリン誘発ラット肺高血圧モデルにおける病態の進行と ET-1 発現の関連について ... 76
○美谷島 克宏、豊田 薫、柿本 恒知、安井 雄三、剣持 佑介、中村 明子、
谷合 枝里子、横山 英明、領家 克典、高橋 明美、正田 俊之、菅井 象一郎
日本たばこ産業(株) 医薬総合研究 安全性研究所
- P-24** 日本における実験用カニクイザルのマラリア症について 76
○太田 恵津子¹⁾、永山 裕子¹⁾、猪又 晃¹⁾、後藤 彩¹⁾、関 由妃¹⁾、武田 賢和¹⁾、
中野(伊藤) 今日子¹⁾、早川 和宏²⁾、園田 二郎¹⁾、細川 暁¹⁾、築館 一男¹⁾
¹⁾エーザイ株式会社 筑波安全性研究部、²⁾株式会社 サンプラネット 安全性研究事業部
- P-25 *** ウサギの脾臓に認められた好酸性物質に関する病理組織学的検索 77
○小林 梓、川迫 一史、押方 孝文、可徳 小四郎、満石 三喜男、菅野 剛、浜村 政夫
三菱化学メディエンス株式会社 試験研究センター 病理研究部

血液・循環器・消化管

座長：細川 暁(エーザイ(株) 安全性研究部)

横平 政直(香川大学 医学部 腫瘍病理学)

- P-26** 耳下腺原発DLBCLの治療中にMYD88遺伝子のL265P変異を生じた一症例 77
○藤石 琴、永井 由紗、北澤 理子、北澤 莊平
愛媛大学大学院 医学系研究科 分子病理学講座
- P-27 *** Sprague-Dawley ラットにみられた自然発生Atriocaval Mesotheliomaの1例 78
○中村 隆一、高田 志織、西村 友成、落合 忍仁、小笠原 裕之
アスピオファーマ(株) 代謝安全性ファカルティ
- P-28 *** ラットにおけるコルヒチンの心毒性に関する病態解析 78
○柄内 亮太¹⁾、鈴木 勝也¹⁾、永田 百合子¹⁾、安藤 稔¹⁾、畑 千恵¹⁾、鈴木 倫¹⁾、
内田 和美¹⁾、角 将一¹⁾、金子 公幸¹⁾、桑原 正貴²⁾
¹⁾(株)ヤクルト本社 中央研究所 安全性研究部、²⁾東京大学大学院 農学生命科学研究科 比較病態生理学教室
- P-29 *** アロキサン誘発糖尿病ラットの前胃扁平上皮癌におけるがん抑制遺伝子のメチル化とタンパク発現解析 79
○寺山 由依、佐野 智弥、松浦 哲郎、奈良間 功、尾崎 清和
摂南大学 薬学部 病理学研究室
- P-30 *** Benzo[a]pyrene (BP) と Dextran sulfate sodium (DSS) を用いたマウス大腸発がんモデルの研究：大腸腫瘍発生に及ぼすBP-DSS投与間隔の影響 79
○関 由妃¹⁾、園田 二郎¹⁾、羽倉 昌志¹⁾、小山 直己¹⁾、後藤 彩¹⁾、武田 賢和¹⁾、
太田 恵津子¹⁾、中野(伊藤) 今日子¹⁾、猪又 晃¹⁾、早川 和宏²⁾、細川 暁¹⁾、築館 一男¹⁾
¹⁾エーザイ(株)筑波安全性研究所、²⁾株式会社サンブレネット安全性研究事業部
- P-31** マウス炎症関連大腸発がんモデルにおけるAlkanninの修飾作用 80
○杉江 茂幸、田中 卓二
朝日大学 歯学部 村上記念病院 病理

口腔・消化管

座長：今井 俊夫(国立がん研究センター 研究所 動物実験支援施設)
上原 久典(徳島大学 医学部 環境病理学分野)

- P-32 *** 臭素酸カリウム誘発マウス小腸発がんに対する NRF2 の関与 80
○横尾 諭、木島 綾希、高須 伸二、石井 雄二、小川 久美子、梅村 隆志
国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- P-33 *** F344 及びコンジェニック F.Z-*lepr^{fa/fa}* ラットのアゾキシメタン誘発下部消化管発がんにおける
20% カロリー制限の効果 81
○梅本 ひとみ、泉 啓介
徳島大・院 ヘルスバイオサイエンス研究部 環境病理学分野
- P-34 *** NMBA 誘発ラット食道がんに対する MTBITC の化学予防作用の検討 81
○鈴木 勇^{1,2)}、Young-Man Cho¹⁾、豊田 武士¹⁾、赤木 純一¹⁾、西川 秋佳²⁾、小川 久美子¹⁾
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター
- P-35** コーヒーおよびその成分による AOM + DSS 誘発マウス大腸発癌抑制効果 82
○塚本 徹哉¹⁾、桐山 諭和¹⁾、田中 卓二²⁾
¹⁾藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科、²⁾東海細胞研究所
- P-36** KAD ラットの 4-NQO 誘発舌発癌感受性 82
○田中 卓二^{1,2)}、杉江 茂幸³⁾、久野 壽也⁴⁾
¹⁾東海細胞研究所、²⁾岐阜大学大学院 医学系研究科 腫瘍病理、
³⁾朝日大学 歯学部附属 村上記念病院 病理診断科、⁴⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理
- P-37 *** Alloxan 糖尿病ラットにおける唾液腺機能障害と齶蝕発生の関連性について 83
○西本 大輝¹⁾、兒玉 安史¹⁾、松浦 哲郎²⁾、尾崎 清和²⁾、谷口 良彦¹⁾
¹⁾広島国際大学大学院 薬学研究科 病態薬物治療学教室、²⁾摂南大学 薬学部 病理学研究室

消化管・肝臓

座長：深町 勝巳(名古屋市立大学 大学院医学研究科 分子毒性学分野)
星谷 達((株)ボゾリサーチセンター)

- P-38 *** Azoxymethane 投与により発生したラットの十二指腸腫瘍の由来細胞の検討 83
○菊地原 陽¹⁾、恩田 伸彦²⁾、加藤 瑞穂¹⁾、木村 真之¹⁾、村上 智亮³⁾、鈴木 和彦³⁾、
吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾
¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾オリンパス(株)、³⁾東京農工大学 獣医毒性学研究室
- P-39 *** 若齢ラットにおける嚢胞状腸管重複症の3例 84
○植田 芳英、坪井 優、久保田 舞、太田 泰史、高見 成昭、細井 理代、宮島 留美子、
長谷川 和成、志賀 敦史、奈良間 功
(公財)食品農医薬品安全性評価センター
- P-40** Detecting and Quantifying Liver Pathologies Using Compact, High-Resolution 3D MRI-Based Histology 84
○Yael S Schiffenbauer¹⁾, Catherine Tempel Bami¹⁾, Rinat Abramovitch²⁾, Tali Lanton²⁾,
Jonathan H Axelrod²⁾, Eitan Galun²⁾, Abraham Nyska³⁾, Robert Maronpot⁴⁾
¹⁾Aspect Imaging, Israel, ²⁾Hadassah Hebrew University Medical Center, Ein Karem, Jerusalem, Israel,
³⁾Consultant in Toxicologic Pathology, Timrat,&Tel Aviv University, Israel,
⁴⁾Maronpot Consulting, LLC, Raleigh, NC, USA
- P-41** 肝発がんにおける LC-MS/MS 及び *in vitro* 機能解析を用いた新規特異的候補分子の検討 85
○梯 アンナ、石井 真美、藤岡 正喜、魏 民、鰐淵 英機
大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学
- P-42 *** ラットの発がん物質投与初期に誘発される増殖活性亢進時における細胞周期制御異常の特異性に関する検討 85
○木村 真之^{1,2)}、盛田 怜子^{1,2)}、阿部 一^{1,2)}、田中 猛^{1,2)}、村上 智亮³⁾、鈴木 和彦³⁾、
吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾、
¹⁾東京農工大 獣医病理、²⁾岐阜大 院 連合獣医、³⁾東京農工大 獣医毒性
- P-43 *** 緑茶抽出物誘発のラット肝臓毒性の特徴 86
○榎本 祐子¹⁾、義澤 克彦¹⁾、木下 勇一¹⁾、冢 貴司¹⁾、吉川 豊²⁾、茶山 和敏³⁾、
螺良 愛郎¹⁾
¹⁾関西医科大学 病理学第二講座、²⁾神戸女子大学 健康福祉学部、³⁾静岡大学 農学部

肝臓・泌尿器

座長：相磯 成敏(中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター)
 柿本 恒知(日本たばこ産業(株) 医薬総合研究 安全性研究所)

- P-44 *** 高脂肪食給餌マウスの肝臓におけるチオアセタミド投与後の Calpain1 及び Calpastatine 発現についての検討 86
 ○白井 真人、牧野 俊彦、甲斐 清徳、寺西 宗広
 第一三共株式会社 安全性研究所
- P-45 *** イチョウ葉エキスにより誘発した肝肥大における CAR の関与について 87
 ○前田 潤¹⁾、井上 薫¹⁾、市村 亮平¹⁾、森川 朋美¹⁾、小川 祐布子²⁾、児玉 幸夫³⁾、
 吉田 緑¹⁾
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾麻布大学 比較毒性学研究室、³⁾国立医薬品食品衛生研究所 毒性部
- P-46 *** ラットのクマリン誘発性肝細胞傷害にはミトコンドリア機能が関連する 87
 ○田中 康浩^{1,2)}、藤居 互¹⁾、北川 義徳¹⁾、尾崎 清和²⁾
¹⁾サントリービジネスエキスパート(株)、²⁾摂南大学 薬学部 病理学研究室
- P-47 *** PPAR α 作動薬によるマウス肝肥大及び肝発がん過程における Constitutive androstane receptor (CAR) の関与について 88
 ○井上 薫¹⁾、鈴木 大節¹⁾、小川 祐布子²⁾、前田 潤¹⁾、市村 亮平¹⁾、高橋 美和¹⁾、
 児玉 幸夫³⁾、吉田 緑¹⁾
¹⁾国立衛研 病理部、²⁾麻布大学 比較毒性学研究室、³⁾国立衛研 毒性部
- P-48** シリアンハムスターにおける 1,2-dichloropropan の強制経口投与による肝毒性とその発現機序の検討 88
 ○魏 民、山野 莊太郎、藤岡 正喜、梯 アンナ、下村 衣里、神吉 将之、鰐淵 英機
 大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学
- P-49 *** Piperonyl butoxide の F344 ラットにおける 90日間反復投与性毒性試験 89
 ○木島 綾希、石井 雄二、高須 伸二、松下 幸平、黒田 顕、横尾 諭、梅村 隆志、
 小川 久美子
 国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- P-50 *** カニクイザルにみられた Malakoplakia を疑う肉芽腫性腎炎の1例 89
 ○武田 賢和¹⁾、猪又 晃¹⁾、園田 二郎¹⁾、早川 和宏²⁾、中野(伊藤) 今日子¹⁾、
 太田 恵津子¹⁾、関 由妃¹⁾、後藤 彩¹⁾、細川 暁¹⁾、
¹⁾エーザイ株式会社 筑波安全性研究部、²⁾株式会社サンプラネット 安全性研究事業部

ポスター発表Ⅱ

第2日目 1月31日(金) 13:00 ~ 14:00

第2会場[展示室1~5]

肝臓

座長：佐藤 順子(三菱化学メディエンス(株))
塚本 徹哉(藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科)

- P-51** トコトリエノールにより誘発される肝増殖性病変の早期変化に関する検討 90
○笠原 健一郎¹⁾、安藤 亮¹⁾、星谷 達¹⁾、田村 一利¹⁾、小川 久美子²⁾、西川 秋佳²⁾
¹⁾(株)ボゾリサーチセンター、²⁾国立医薬品食品衛生研究所
- P-52 *** マクロファージの枯渇はチオアセトアミド(TAA)誘発ラット肝線維化の形成を遅らせる 90
○Hossain M Golbar、Alexandra Bondoc、Kavindra Wijesundera、Anusha Tennakoon、
加藤(市川) 智彩、田中 美有、井澤 武史、桑村 充、山手 丈至
大阪府立大学 獣医病理
- P-53 *** 正常肝と肝硬変ラットにおける上皮-間葉転換の観点からの肝星細胞の特徴解析 91
○Anusha Tennakoon、井澤 武史、Kavindra Wijesundera、Hossain M. Golbar、田中 美有、
桑村 充、山手 丈至
大阪府立大学 獣医病理
- P-54 *** 食餌性脂肪肝モデルにおける炎症性変化：コリン欠乏・高脂肪食モデルの病理組織学的特徴 .. 91
○藤井 悦子、伊藤 恒夫、山崎 雅輝、加藤 淳彦、鈴木 雅実
中外製薬株式会社 研究本部
- P-55 *** 病理組織学的画像解析を用いたマウスにおける薬剤誘発性肝細胞肥大の評価 92
○浅岡 由次、井村 奈緒子、六鹿 麻由、三好 智也、富樫 裕子、宮本 庸平
東レ(株) 医薬研究所 安全性研究室
- P-56 *** F344系*gpt delta* ラットおよびF344系ラットにおけるDENの一般毒性および
肝発がん性の比較 92
○高須 伸二¹⁾、石井 雄二¹⁾、松下 幸平¹⁾、黒田 顕¹⁾、木島 綾希¹⁾、横尾 諭¹⁾、
能美 健彦²⁾、小川 久美子¹⁾、梅村 隆志¹⁾
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験センター

肝臓・膵臓・泌尿器

座長：久野 壽也(名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学分野)
藤原 利久(田辺三菱製薬(株) 安全性研究所)

- P-57** 食餌性鉄過剰・鉄欠乏によるラット肝臓の病理学的変化 93
○井澤 武史、宮城 伶奈、堀内 貴至、桑村 充、山手 丈至
大阪府立大学 獣医病理学教室
- P-58 *** EHEN 投与ラットの前腸由来臓器への分化多能性を示す肝芽腫の一例 93
○山野 莊太郎¹⁾、尾崎 清和²⁾、武田 周二³⁾、串田 昌彦³⁾、井澤 武史⁴⁾、山手 丈至⁴⁾、
平田 暁大⁵⁾、藤岡 正喜¹⁾、魏 民¹⁾、鰐淵 英機¹⁾
¹⁾大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学、²⁾摂南大学薬学部 病理学教室、
³⁾住友化学(株)生物環境科学研究所 生体科学グループ 病理チーム、⁴⁾大阪府立大学 獣医病理学教室、
⁵⁾岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野
- P-59 *** カニクイザルの膵臓腺房細胞にみられた空胞に関する検討 94
○三好 征司¹⁾、畠山 洋文¹⁾、武井 由弘¹⁾、巢山 志保¹⁾、稲垣 尋絵¹⁾、小泉 治子¹⁾、
梶村 哲世¹⁾、岩田 聖²⁾、下井 昭仁¹⁾、
¹⁾(株)イナリサーチ、²⁾ルナバス毒性病理研究所
- P-60 *** Omeprazole の混餌投与によるラット肝発がんプロモーション作用閾値の検索 94
○盛田 怜子^{1,2)}、木村 真之^{1,2)}、阿部 一^{1,2)}、板橋 恵^{1,2)}、白木 彩子^{1,2)}、村上 智亮³⁾、
鈴木 和彦³⁾、吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾、三森 国敏¹⁾、
¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、³⁾東京農工大学 獣医毒性学研究室
- P-61 *** DMA^V および iAs^{III} のラット膀胱、肝臓における変異原性の解析 95
○下村 衣里、藤岡 正喜、魏 民、山野 莊太郎、梯 アンナ、串田 昌彦、鰐淵 英機
大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学
- P-62 *** 化学物質投与ラット膀胱における DNA 二重鎖切断マーカー (γH2AX) 発現の
病理組織学的特徴 95
○豊田 武士¹⁾、Young-Man Cho¹⁾、赤木 純一^{1,2)}、水田 保子¹⁾、鈴木 勇¹⁾、小川 久美子¹⁾
¹⁾国立衛研 病理、²⁾国立衛研 薬理

泌尿器

座長：杉江 茂幸(朝日大学 歯学部 村上記念病院 病理)
鳥井 幹則(塩野義製薬 (株)創薬・開発研究所 安全性研究部門)

- P-63** ゲンタマイシン反復投与による幼若ラットの腎発達障害 96
○甲斐 清徳、大澤 徹也、藤田 勝巳、加藤 康子、本多 久美、佐藤 里子、新野 訓代、
伊藤 和美、寺西 宗広、高崎 渉
第一三共(株)、安全性研究所
- P-64** SHR/NDmcr-cp(cp/cp) ラットにおける腎臓病変の継時的検索 96
○豊田 薫¹⁾、柿本 恒知¹⁾、美谷島 克宏¹⁾、安井 雄三¹⁾、剣持 佑介¹⁾、中村 明子¹⁾、
谷合 枝里子¹⁾、高橋 明美¹⁾、正田 俊之¹⁾、稲垣 浩二²⁾、福井 健人²⁾、宮川 義史²⁾
¹⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究所、²⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 生物研究所
- P-65 *** 肥満2型糖尿病モデル SDT fatty ラットへの食塩負荷による腎病変増悪化の検討 97
○剣持 佑介¹⁾、勝田 佳明²⁾、楨 美実²⁾、太田 毅²⁾、豊田 薫¹⁾、美谷島 克宏¹⁾、
安井 雄三¹⁾、中村 明子¹⁾、谷合 枝里子¹⁾、高橋 明美¹⁾、柿本 恒知¹⁾、宮川 義史²⁾、
正田 俊之¹⁾、
¹⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究所、²⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 生物研究所
- P-66** テストステロンとエストラジオール投与により誘導されるマウス前立腺肥大 97
○藤本 成明¹⁾、菅野 純²⁾
¹⁾広島大学・原医研、²⁾国立医薬品食品衛生研究所・毒性部
- P-67 *** Wistar ラット・SD ラット腎糸球体の雌雄差に関する三次元形態学的解析 98
○木村 啓成¹⁾、猪股 智夫¹⁾、鷹橋 浩幸²⁾、武藤 朋子³⁾、大山 典子³⁾、池上 雅博²⁾
和久井 信⁴⁾
¹⁾麻布大学 獣医学部 実験動物学、²⁾東京慈恵会医科大学 病理学、³⁾(株)薬物安全性試験センター、
⁴⁾麻布大学 獣医学部 比較毒性学

泌尿器・乳腺・生殖器

座長：岩田 聖(ルナパス毒性病理研究所)
魏 民(大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学)

- P-68 *** コロナウイルス感染症のフェレットに認められた猫伝染性腹膜炎類似腎臓病変 98
○藤井 雄太、豊沢 かおる、松本 泉美、河内 眞美、栃谷 智秋、山田 徹、船橋 斉
大日本住友製薬(株) 前臨床研究所
- P-69** 炭酸水素ナトリウムのウラン体内除染効果に関する実験病理学的検討 99
○大町 康、今村 朋美、池田 瑞代、矢島 真理子、宍倉 恵理子、金 ウンジュ、
栗原 治、酒井 一夫
(独)放射線医学総合研究所 緊急被ばく医療研究センター 被ばく線量評価研究プログラム

- P-70** PhIP 誘発ラット乳腺腫瘍に対する豆乳および *Lactobacillus casei* Shirota 株の抑制効果 99
 ○角 将一¹⁾、加賀 千晶¹⁾、高木 陽光¹⁾、狩野 光芳¹⁾、加藤 幾雄¹⁾、宮崎 幸司¹⁾
 大橋 靖雄²⁾、戸井 雅和³⁾
¹⁾(株)ヤクルト本社 中央研究所 安全性研究部、²⁾東京大学 公共健康医学専攻 生物統計学、
³⁾京都大学 乳腺外科学
- P-71** EE の臨界期曝露による遅発影響が LH サージおよび kiss1 mRNA 発現に及ぼす影響 100
 ○市村 亮平¹⁾、高橋 美和¹⁾、森川 朋美¹⁾、Pramod Dhakal¹⁾、井上 薫¹⁾、前田 潤¹⁾、
 吉田 緑¹⁾、渡辺 元²⁾
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾東京農工大学 農学部 獣医学科 獣医生理学研究室
- P-72** 3-MCPD 脂肪酸エステルによる SD ラット乳腺腫瘍発生修飾作用の欠如 100
 ○Young-Man Cho¹⁾、水田 保子¹⁾、鈴木 勇¹⁾、豊田 武士¹⁾、赤木 純一¹⁾、西川 秋佳²⁾、
 小川 久美子¹⁾
¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター
- P-73 *** 高脂肪食投与によってヒトプロト型c-Ha-ras transgenic rat は乳癌発症を促進する 101
 ○曲木 美枝¹⁾、大西 隆仁¹⁾、津田 洋幸²⁾
¹⁾兵庫大学 健康科学部、²⁾名古屋市立大学

生殖器・内分泌

座長：串田 昌彦(住友化学(株) 生物環境科学研究所 生体科学グループ 病理チーム)
 澤本 修((株)大塚製薬工場 研究開発センター 鳴門研究所 創薬推進研究室)

- P-74** ラットにおける妊娠期間中の胎児/胎盤に関する背景データ 101
 ○古川 賢¹⁾、林 清吾¹⁾、阿部 正義¹⁾、萩尾 宗一郎¹⁾、入江 浩太¹⁾、黒田 雄介¹⁾
 小川 いづみ¹⁾、杉山 晶彦²⁾
¹⁾日産化学工業株式会社 生物科学研究所 安全性研究部、²⁾鳥取大学 農学部 獣医学科 獣医臨床検査学分野
- P-75** C57BL/6J マウスの精巣精細管内に認められたセルトリ細胞の凝集塊について 102
 ○中村 明子、柿本 恒知、美谷島 克宏、安井 雄三、剣持 佑介、豊田 薫、
 谷合 枝里子、高橋 明美、正田 俊之
 日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究所
- P-76** 特異な組織像を示したマウスの卵巣胚細胞腫瘍の2例 102
 ○細井 理代、太田 泰史、植田 芳英、高見 成昭、宮島 留美子、長谷川 和成、
 志賀 敦史、奈良間 功
 (公財)食品農医薬品安全評価センター 試験部 病理検査室
- P-77** マウス精巣上体における結節性病変の病理 103
 ○志賀 敦史、太田 泰史、植田 芳英、高見 成昭、細井 理代、宮島 留美子、
 長谷川 和成、奈良間 功
 (公財)食品農医薬品安全性評価センター 試験部 病理検査室

- P-78 *** 細胞障害性抗がん剤の短期間投与により誘発されたラット卵巣の形態学的特徴 103
 ○鈴木 倫¹⁾、大須賀 勇¹⁾、栃内 亮太¹⁾、永田 百合子¹⁾、畑 千恵¹⁾、安藤 稔¹⁾、
 内田 和美¹⁾、小林 稔秀¹⁾、吉田 緑²⁾、角 将一¹⁾、金子 公幸¹⁾、
¹⁾(株)ヤクルト本社 中央研究所 安全性研究部、
²⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 病理部
- P-79 *** ラット 膵臓島腫瘍の悪性指標としての被膜形成・被膜外浸潤の重要性について 104
 ○西原 香織¹⁾、山口 裕子¹⁾、高木 みづほ¹⁾、隈部 志野²⁾、今岡 尚子³⁾、吉田 緑⁴⁾、
 佐藤 順子²⁾
¹⁾(株)ボゾリサーチセンター、²⁾三菱化学メエディエンス(株) 試験研究センター、
³⁾第一三共(株) 葛西研究開発センター、⁴⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部

内分泌・皮膚・運動器

座長：豊沢 かおる(大日本住友製薬(株) 前臨床研究所)
 箱井 加津男(大鵬薬品工業(株) 徳島研究センター 研究管理室)

- P-80 *** ラット発生過程の膵とイヌの線維化膵における膵星細胞と筋線維芽細胞の
 免疫組織学的特性解析 104
 ○橋本 愛、井澤 武史、田中 美有、Hossain M. Golbar、Kavindra Wijesundera、桑村 充、
 山手 丈至
 大阪府立大学 獣医病理学教室
- P-81** Jic:CB6F1-Tg rasH2 マウスの大腿骨骨幹端の変化 105
 ○山口 裕子、斎藤 翼、中澤 朋美、高木 みづほ、永谷 真理子、田村 一利、星谷 達
 (株)ボゾリサーチセンター 病理部
- P-82 *** mdx マウスにおける骨格筋組織の経時変化及びグリコサミノグリカンに関する予備的検討 ... 105
 ○久保田 恵、二井 愛介、森田 大輔、渡邊 篤志、伊東 志野、南澤 由佳、
 北澤 郁恵、久保 孝利
 生化学工業(株)中央研究所 安全性代謝研究室
- P-83 *** 化学発がんにより形成されたマウス皮膚腫瘍に対する高圧酸素の影響 106
 ○堂口 裕士¹⁾、赤澤 幸則²⁾、高松 玲佳¹⁾、齊尾 征直¹⁾、吉見 直己¹⁾
¹⁾琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学、²⁾琉球大学大学院 医学研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科学
- P-84 *** rasH2 マウスを用いた超短期皮膚二段階発がん性評価法の開発—低用量DMBA の検討 106
 ○勝呂 繭子¹⁾、河部 真弓¹⁾、沼野 琢旬^{1,3)}、浦野 浩司²⁾、堤 秀樹²⁾、古川 文夫¹⁾
¹⁾(株)DIMS 医科学研究所、²⁾(公財)実験動物中央研究所、
³⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 分子毒性学分野
- P-85 *** 制限給餌条件下若齢ラットにおける大腿骨成長板の組織形態計測学的解析 107
 ○野口 ちひろ¹⁾、松江 健太¹⁾、中西 豊¹⁾、浅沼 富美子²⁾、宮田 裕人³⁾、佐々木 稔¹⁾、
 堤 俊輔¹⁾、佐藤 靖¹⁾、
¹⁾大正製薬(株) 安全性・動態研究所、²⁾大正製薬(株) 薬制部、³⁾大正製薬(株) 医薬安全管理部

免疫・毒性試験

座長：尾崎 清和(摂南大学 薬学部 病理学研究室)
 桑原 真紀((財)残留農薬研究所 毒性部)

- P-86 *** Jic:CB6F1-Tg rasH2 マウスにおける胸腺髄質領域にみられた過形成病変に関して…………… 107
 ○斎藤 翼、山口 裕子、松島 圭太、枝元 洋、山川 誠己、田村 一利、星谷 達
 (株)ボゾリサーチセンター
- P-87** Wistar Hannover ラットの胸腺腫 — 発現の特徴, 要因の検討 —…………… 108
 ○友成 由紀、隈部 志野、爰島 洋子、黒滝 哲郎、佐藤 順子、土居 卓也、涌生 ゆみ、
 土谷 稔
 三菱化学メディエンス(株) 創薬支援事業本部 試験研究センター 病理研究部
- P-88** Spontaneous Thymoma Observed in 52-Week Background Study of Sprague-Dawley rats . . . 108
 ○Myoung Jun Kim¹⁾, Mi Ju Lee¹⁾, Byeong Woo Ahn³⁾, Jae-Min Moon¹⁾, Sun Hee Park¹⁾,
 Yong-Hoon Lee¹⁾, Duyeol Kim¹⁾, Chang Geon Kim¹⁾, Ho-Song Jang¹⁾, Jin Seok Kang²⁾,
 Jongkoo Kang^{1,4)}
¹⁾Biototech. co. ltd, ²⁾Namseoul University, ³⁾Department of veterinary pathology, Chungbuk National University,
⁴⁾Department of Laboratory Animal medicine, Chungbuk National University
- P-89** カニクイザルの胸腺にみられた被膜下胸腺上皮過形成の1例…………… 109
 ○村上 雄一¹⁾、能登 貴久¹⁾、坪田 健次郎¹⁾、大石 裕司²⁾、仲辻 俊二¹⁾、松本 正博¹⁾
¹⁾アステラス製薬株式会社 安全性研究所 毒性病理研究室、²⁾アステラス製薬株式会社 安全性研究所
- P-90 *** CB6F1-TgrasH2 マウスの脾臓でみられた Mott cell の出現…………… 109
 ○佐野 智弥、穴山 久志、高井 有一、渡辺 武志、福田 良
 武田薬品工業株式会社 薬剤安全性研究所
- P-91** 90-day Repeated Dose Toxicity and Genotoxicity Tests of Evodia officinalis…………… 110
 ○Duyeol Kim¹⁾, Yong-Hoon Lee¹⁾, Sun Hee Park¹⁾, Mi Ju Lee¹⁾, Myoung Jun Kim¹⁾,
 Ho-Song Jang¹⁾, Hye-Yeong Lee¹⁾, Mi-Young Lee¹⁾, Beom Seok Han²⁾, Woo-Chan Son³⁾,
 Ji Hyeon Seok⁴⁾, Jong Kwon Lee⁴⁾, Jayoung Jeong⁴⁾, Jin Seok Kang⁵⁾, Jong-Koo Kang^{1,6)}
¹⁾ Biototech Co.Ltd., Department of pathology, ²⁾ Hoseo Toxicity Research Center, Hoseo University Biomedical
 Laboratory Science, ³⁾ Pathology Department, Asan Medical Center, ⁴⁾ Toxicological Research Divison, National
 Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration, ⁵⁾ Department of Biomedical
 Laboratory Science, Namseoul University, ⁶⁾ Department of Laboratory Animal medicine, College of Veterinary
 medicine, Chungbuk National University
- P-92 *** ラット中期多臓器発がんモデルを用いた DPAA(diphenyl arsenic acid) の発がん修飾作用の
 検討…………… 110
 ○奥村 真衣、藤岡 正喜、魏 民、山野 荘太郎、三島 胡桃、多胡 善幸、鰐淵 英機
 大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学

毒性試験・基礎データ

座長：代田 欣二(麻布大学 獣医学部 病理学研究室)
林 新茂(三栄源エフ・エフ・アイ(株))

- P-93 *** Single Dose and 13-Week Repeated Toxicity Studies of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* in F344 rats 111
○Mi Ju Lee¹⁾, Myoung Jun Kim¹⁾, Sun Hee Park¹⁾, Yong-Hoon Lee¹⁾, Duyeol Kim¹⁾,
Ho-Song Jang¹⁾, Chang Geon Kim¹⁾, Jung Min Lee¹⁾, Hye-Yeong Lee¹⁾, Jin Seok Kang²⁾,
Jong-koo Kang³⁾
¹⁾Biototech Co., Ltd., ²⁾Namseoul University, ³⁾Chungbuk National University
- P-94 *** F344 ラットにおける無色素性悪性メラノーマ由来の移植腫瘍株 (RMM) と細胞株 (RMM-C と RMM-A1) の確立と特徴 111
○Alexandra Bondoc、加藤(市川) 智彩、Hossain M Golbar、田中 美有、井澤 武史、
桑村 充、山手 丈至
大阪府立大学 獣医病理
- P-95** F344系およびSD系*gpt delta*ラットを用いた反復投与毒性・遺伝毒性併合試験法の標準化研究 112
○赤木 純一^{1,2)}、Young-Man Cho¹⁾、豊田 武士¹⁾、大波 冴子¹⁾、水田 保子¹⁾、鈴木 勇¹⁾、
能美 健彦^{3,4)}、西川 秋佳³⁾、小川 久美子¹⁾
¹⁾国立衛研・病理部、²⁾国立衛研・薬理部、³⁾国立衛研・安全性生物試験研究センター、⁴⁾医薬基盤研
- P-96** スtent留置血管の治癒における初期の組織反応 112
○寺尾 壽子¹⁾、早場 純子¹⁾、麻生 良平¹⁾、田崎 雅子¹⁾、磯部 厚志¹⁾、岩谷 鋼一¹⁾、
井上 知紀¹⁾、坂岡 篤¹⁾、白見 憲司²⁾、斉藤 義明²⁾、蟹澤 成好³⁾、萩原 仁美¹⁾
¹⁾テルモ(株) 研究開発本部 評価センター、²⁾(財)食品薬品安全センター 秦野研究所、³⁾横浜市立大学医学部
- P-97** Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) 説に基づいた新生児期栄養変化による生後発達への影響 113
○桑形 麻樹子¹⁾、瀬沼 美華¹⁾、熊谷 文明¹⁾、紫藤 淳子²⁾、Randeep Rackwal²⁾、
斉藤 義明¹⁾、丸茂 秀樹¹⁾、小川 哲郎³⁾、塩田 清二²⁾
¹⁾(一財)食品薬品安全センター秦野研究所毒性部、²⁾昭和大学医学部顕微解剖学、³⁾埼玉医科大学医学部生理学教室
- P-98 *** 6週齢のSDラットにみられた肺転移を伴う基底細胞癌の1例 113
○浦島 亜紗美、小林 欣滋、笹木 祐司、谷川 洋平、藤島 純子、森山 亜紀子、
岡崎 孝信、藪内 かおり、永岡 隆晴、山下 和正
(株)新日本科学 安全性研究所

ランチョンセミナー 1

第1日目 1月30日(木) 12:05 ~ 13:05

第1会場[大ホール]

座長：高橋 道人(病理ピアレビューセンター)

協賛：ハンティンドン ライフサイエンス株式会社

- LS1 Background pathology and histology of the Göttingen Minipig
○ Dianne M Creasy Huntingdon Life Sciences

ランチョンセミナー 2

第2日目 1月31日(金) 12:10 ~ 12:50

第1会場[大ホール]

座長：寺西 宗広(第一三共株式会社 安全性研究所)

主催：日本毒性病理学会

OECD 病理ピアレビューガイダンス案について

- LS2-1 OECD 病理ピアレビューガイダンス案の概要
○小野寺 博志
独立行政法人医薬品総合機構
- LS2-2 日本毒性病理学会の OECD 病理ピアレビューガイダンスへの対応
○大石 裕司
アステラス製薬株式会社 安全性研究所

講演要旨

特別講演・記念講演

教育講演

シンポジウム

ワークショップ

SL

Using Science to Understand Mode of Action and Improve Risk Assessment

○James A. Swenberg,
Department of Environmental Sciences and Engineering, Gillings School of Global Public Health, University of North Carolina



Our understanding of how and at what exposure environmental chemicals cause toxicity and carcinogenesis has improved greatly in the last 30 years. This is the result of better understanding biology and toxicology at the cellular and molecular level, and incredible improvements in scientific methods and instrumentation. In 1997, the first meeting of the IPCS on developing a Framework for Evaluating Mode of Action was held. This has been followed by years of application and improved approaches to bring forward human relevance. This approach has been accepted by regulatory agencies around the world, as it improves the transparency of how decisions are made. This Keynote Address will describe current knowledge on several environmental chemicals and how science can improve the scientific basis of risks. Several chemicals will be discussed, including butadiene, vinyl chloride, formaldehyde, acetaldehyde and PCBs. All of these have been shown to have carcinogenic potential. Likewise, all have direct or indirect genotoxicity. What has been of great interest is that all but butadiene have identical DNA lesions that are also formed in non-exposed cells and tissues. This can best be thought of as the *Endogenous Exposome*. When these endogenous DNA lesions are always present, they do impact the biology. They are one of the main causes of background mutations that are found in non-exposed cells *in vivo* and *in vitro*. Further differentiation is needed by employing *Biomarkers of Exposure* and *Biomarkers of Effect*. DNA adducts are considered Biomarkers of Exposure, while mutations represent *Biomarkers of Effect*. The proper use of this differentiation clearly impacts Science-based Risk Assessment.

AL

日本毒性病理学会の歩み:ゲノムサイエンス時代に毒性病理学の果たす役割を考えるとともに

○福島 昭治

中災防・日本バイオアッセイ研究センター



日本の毒性病理学はドイツ医学の流れをくむ実験病理学を出発点としており、その祖は山際・市川のコールタールによるうさぎ皮膚発がんに辿ることができる。実験病理学としての化学発がん研究はその後がん研究の主流となった。やがて、実験病理学の研究領域が拡がり、炎症、感染症、免疫異常、代謝障害、腫瘍発生機序等の研究に細分化、発展し、かつ病理診断等が加わり、かくて毒性病理学という学問的地位が確立されるに至った。

日本毒性病理学会は8名の発起人(石川栄世、板倉智敏、伊東信行、榎本眞、小西陽一、西山保一、林裕造、藤原公策)による発起人総会(1984年)を経て、1985年に日本毒性病理研究会として発足した(西山会長)。発足当時の会員数は約130名。ささやかな出発であった。その後、毒性病理研究者の増加、会員数の増加(2013年では、約1000名)に伴い1988年に日本毒性病理学会へと発展・改称し、今日に至っている。

この間、年1回の総会及び学術集会、機関紙の発行とその拡充、毒性病理学専門家認定制度の実施、及びスライドカンファレンスや教育セミナーを開催し、毒性病理研究の進歩と発展、さらに病理診断の向上に取り組んできている。国際的には国際毒性病理学会連合(IFSTP)や国際毒性病理専門家協会(IATP)と連携を取り、毒性病理の発展、向上に努めるとともに毒性病理用語・診断基準の国際的統一化事業(INHAND Project)に参画している。

化学物質と安全性というキーワードは毒性病理にとって双壁である。ヒトは化学物質の恩恵を受け、人生を楽しんでいる。また、化学物質との共存なしでは生きることができない。社会は漸次、進歩している。従って、我々には化学物質との科学的な共存が求められている。ここに毒性病理の果たす役割は大きく、また社会的な役割が益々高まるであろう。現在、科学的エビデンスを検証するためのツールとして、ゲノミクス解析が精力的に進められている。それは疾患解明のみならず、毒性、栄養、生理機能にまで及ぶ。化学物質による毒性機序解明とヒトへの外挿に努める毒性病理研究にとって、ゲノミクス解析を包含するという方向性が益々求められるであろう。

ヒトの健康に及ぼす化学物質の影響という大命題に毒性病理学面から取り組んで約45年。日本毒性病理学会に発足から加わった一会員として、日本毒性病理学会の過去、現在と未来について述べたい。

ES1

雌性生殖器に関するINHANDのトピックスと問題点について

○吉田 緑

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

雌性生殖器の INHAND は現在、goRENI 経由ですでに最終稿をみることができる。雌性生殖器の INHAND では、臓器毎の病変の記載に先立ち、卵巣、子宮および子宮頸部・膣の正常性周期での特徴的組織像について詳細な記載および約 30 の組織像が掲載されている点が特徴として挙げられる。4 あるいは 5 日の性周期でめまぐるしく変動するげっ歯類の正常性周期の形態を理解は、毒性検出のまず 1 歩であることから、INHAND におけるこれらの記載は大変有用なものと考えられる。

正常像の説明に引き続き、卵巣、子宮・卵管、子宮頸部・膣と 3 つの臓器ごとに非増殖性病変 nonproliferative lesions と非腫瘍性増殖性病変 non-neoplastic lesions および腫瘍性病変 Neoplastic lesion が記載されている。それぞれに使用されている写真は卵巣、子宮・卵管で約 100 枚、子宮頸部・膣で約 30 枚であり、正常像と合わせると 250 枚を越す。今回の INHAND の第二の特徴として、腫瘍の記載や写真が主であった従来の毒性病理学の成書と比べ、約半分の写真が毒性に関するものである点である。

詳細は INHAND がお手元に届いてからのお楽しみとしたいが、新しい用語が登場しているので、本講演ではそのいくつかの例を紹介したい。とくに小職が担当した卵巣については、破裂をしないで黄体化した卵胞について、黄体化卵胞 luteinized follicle という用語をあてはめた。また、老齢の F344 の卵巣で最も頻度の高かった Granulosa-theca cell tumor は tumor, sex cord stromal, mixed の同義語となった。

すでに最終化した雌性生殖器の INHAND であるが、すべての用語と組織写真が適切か、と言う点については、特に卵巣毒性に関する病変の定義と用語、組織写真を中心として、残念ながら問題点が残されているといわざるを得ない。INHAND の編集が限られた時間であること、適切な写真の収集ができなかった点もあるが、引き続き、病変の追加や適切な用語や写真に修正していくことで、INHAND の毒性試験に役立つ病理用語集としての責任が果たせると考えている。そのためには、INHAND が修正や追加を受け付ける予定であることは望ましい方向である。最後に、若い Toxicologic Pathologist の方々に、複雑だが重要な雌性生殖器の毒性変化、特に発展途上にある卵巣毒性病変について興味を持っていただき、新しい変化や機序を解明し、それらを公表していくことで、雌性生殖器の INHAND が改善・充実することを期待している。

ES2

INHAND解説:雄性生殖器系

○神鳥 仁志

武田薬品工業株式会社 薬剤安全性研究所

International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria (INHAND)におけるラット及びマウスの雄性生殖器病変の用語・診断基準はワーキンググループ作業が終了し、2012年に発刊された (Toxicologic Pathology, 40: 40S-121S, 2012)。特に精巣に関して従来の成書と比較し、定義が実務的に詳述されている点が特徴である。

精巣：精上皮変化及び壊死

障害を受けた細胞の種類あるいは精子形成ステージに特異性が認められるか否かにより用語を区別することが提唱された。特異性がみられない場合は、Degeneration (あるいは Atrophy), Tubular の用語を用いる。Degeneration は精細胞(germ cell)が部分的に脱落/減少した場合に、Atrophy は精細管内のほぼ全ての精細胞が脱落した場合にそれぞれ用いる。精巣一断面内に両変化が混在する場合には Degeneration/Atrophy, Tubular を用いる。なお、Atrophy, Tubular は精細管内にセルトリ細胞のみが残存する像であり、Sertoli cell-only tubules と同義と定義された。一方、変化がみられる精細胞の種類に特異性がみられる場合には、Degeneration (あるいは Depletion), Germ cell を用い、続けて spermatogonia, spermatocytes, round spermatids あるいは elongating spermatids を Modifier として付記する。精細胞の減数が明瞭でない場合には Degeneration とし、明瞭な場合には Depletion を用いるが、両変化が混在する場合には Degeneration/Depletion の使用も許容される。血中androgen濃度が低下した場合の初期変化(stage VII, VIII 精細管の円形精子細胞及びパキテン期精母細胞)や busulfan や bleomycin などの cytotoxic agent の投与(精祖細胞)は特定の精細胞に変化がみられる例として知られている。なお、障害特異性ありの場合の診断用語は化合物処置期間が28日以内の場合に、特異性がみられない場合の診断用語は、4週間以上の処置期間の場合に通常用いる。

壊死は、Necrosis, Tubular と Necrosis, Testis とに分けることが提唱された。Necrosis, Tubular では精細管構成細胞の全てに壊死がみられるが間質(Leydig cell、血管)は残存するのに対し、Necrosis, Testis では間質も含めて壊死がみられる。どちらも原因は虚血であり凝固壊死像を呈するが、虚血の程度がより強いあるいは経過時間が長い場合には Necrosis, Testis の組織像となる。なお、Necrosis, Tubular はセルトリ細胞にも壊死がみられることから Atrophy, Tubular (Sertoli cell-only tubules) とは区別する。

増殖性・腫瘍性病変

Seminoma は、従来の多くの成書では良性、悪性が区別されていなかったが、INHAND ではこれらの区別が提唱された。Seminoma, benign は比較的分化度が高く均一な精細胞起源の腫瘍細胞による精細管内に局限した増殖性病変であり、Seminoma, malignant はより未分化で核/細胞質比が高い腫瘍細胞による精細管基底膜を超える浸潤性増殖病変と定義された。げっ歯類の seminoma は希で、malignant の症例報告しかなかったことから、遭遇する変化は全て malignant と考えるべきとされた時期もあった。近年、精細管内に局限する seminoma が相次いで報告されたことを反映し、INHAND では良性/悪性の区別が提唱されている。

雄副生殖腺の上皮過形成については、炎症による上皮の反応性変化である Hyperplasia, Reactive、内分泌機序による臓器全体の肥大及び重量増加を伴う Hyperplasia, Functional 及び限局性で細胞や組織構築の異型を伴う Hyperplasia, Atypical の3つに用語を分けることが提唱された。

講演では、INHAND で提唱された雄性生殖器病変の用語・診断基準について上記などの注意していただきたい事項を中心に解説する予定である。

SY-1

OECD TG426 神経発生毒性試験ガイドライン

○江馬 眞

独立行政法人産業技術総合研究所 安全科学研究部門

神経発生毒性(Developmental Neurotoxicity)は、神経行動異常学(Neurobehavioral Teratology)、行動奇形学/行動先天異常学(Behavioral Teratology)とも呼ばれた。その訳語として、発達神経毒性や発生神経毒性なども使われている。神経発生毒性は、発生毒性学的見地から見た行動を含む神経系に対する毒性をいい、神経発生毒性試験とは化学物質の神経系の発生に及ぼす有害作用を調べる試験であり、具体的には生後の神経系の機能発達異常を検索する試験である。出生前及び出生後の化学物質の曝露が生後の児動物の行動機能に及ぼす影響を、主として児動物における行動観察を通じて検出する。神経発生毒性の特徴として、研究領域が心理学、病理学、生化学及び生理学を含む広範に渡ること、動物が外界に対して示す活動である行動を検出指標としていること、出生前及び出生後を含み感受期が長いこと、他の発生毒性の指標より低用量で発現することがあること、行動は繰り返しの長期間の観察・検査が可能なこと、胎児及び新生児期は中枢神経系及び血液-脳関門が未成熟であること、化学物質の曝露後長期間を経た後に異常が発現することがあること、生後の成育環境が児動物の行動機能に影響を及ぼすこと等が挙げられる。

神経発生毒性の検出法としては、ヒトでは胎児アルコール症候群のような臨床家による症例報告、米国で行われている National Children's Study や我が国の環境省によるエコチル調査のような大規模な疫学調査があり、動物実験では行動観察、神経病理学的検査、生化学的検査、神経生理学的検査等が行われる。

神経発生毒性物質を検出するための最初のテストガイドラインは米国環境保護局により1991年に神経発生毒性試験ガイドラインが制定された。OECDは1995年に神経発生毒性試験ガイドライン作成に着手し、何回かの改訂を経て2007年10月に確定版が公表された。本日は、OECDのテストガイドライン426 神経発生毒性試験ガイドラインについて概説する。

SY-2

ニューロン新生-神経発生毒性の新たな標的性

○渋谷 淳

東京農工大学大学院 農学研究院動物生命科学部門 病態獣医学研究分野

発達期の神経毒性は生後の脳の高次機能に対する不可逆的影響が懸念されるため、毒性評価のエンドポイントとして重要性が増している。しかし、現行の神経発生毒性試験は高次試験に属するものの、そのガイドラインでは毒性発現機序に関連した評価法が定まっていないため、試験実施に伴うコストのみならず評価の効率性・有効性の面で課題を残している。従って、一つの考え方として小規模スクリーニングに適う、病理発生解析を基盤とした評価手法の高度化が望まれる。

ほ乳類の脳には生後も続くニューロン新生を行う特有な構造が複数存在する。その内、学習や記憶の中枢である海馬歯状回の顆粒細胞層下帯(SGZ)では、顆粒細胞系譜の幹細胞の自己複製をはじめ、前駆細胞の増殖、移動、分化(神経突起伸長、シナプス新生等)、生存・維持等の過程の解析が可能である。更に、歯状回の門部に分布するGABA性介在ニューロンには複数のポピュレーションが存在して顆粒細胞の機能調節や移動、分化を制御することが知られており、介在ニューロンの分布異常はニューロン新生異常を示唆する。よって顆粒細胞系譜と介在ニューロンの分布の解析は化学物質によるニューロン新生障害の評価に適うと考えられる。

我々は、ニューロン新生に着目した神経発生毒性評価法の確立を目指して、ラットやマウスを用いた神経毒性物質の暴露実験を行い、ニューロン新生に対する標的性を検討してきた。これまでに、抗甲状腺剤のプロピルチオウラシル(PTU)とメチマゾール、弱い抗甲状腺作用のある臭素化難燃剤、軸索傷害物質のアクリルアミド(ACR)、ドパミン作動性ニューロン傷害性のマンガン(Mn)、コリンエステラーゼ阻害剤のクロルピリフォス、タバコ煙成分のニコチンの発達期暴露によって、海馬歯状回における顆粒細胞系譜の傷害性と介在ニューロンの反応性を見出したので、その結果の概略を紹介する。

以上の解析により得られた結果は、ニューロン新生部位には、成熟動物に現れる軸索末端傷害や脱髄といった神経毒性を誘発する物質に対する感受性のあることを示唆している。更に、ニューロン新生は生後も持続する現象であるため、成熟動物を用いてもニューロン新生部位に着目した発達神経毒性、更には“成熟”神経毒性を検出できる可能性がある。この仮説の元に、我々はPTUの他に、異なる神経傷害誘発性が知られているグリシドールについてラットを用いた28日間反復投与での反応性を検討し、ニューロン新生の傷害を誘発することを見出したので、その結果についても概説する。次に、エピジェネティックな遺伝子発現制御系であるゲノムのメチル化変化は、発生過程や発がん等の種々の病的過程に寄与することが知られている。メチル化変化は分裂後の子孫細胞に受け継がれるため、神経幹細胞で異常なメチル化変動が生じると、遺伝子発現プログラムに変調をきたし、細胞分化異常を生じて脳の高次機能に影響を与える可能性がある。特に過メチル化により下方制御される遺伝子群は不可逆的影響の責任遺伝子となる可能性がある。

そこで我々は、マウスを用いたMnによる海馬ニューロン新生障害の際の、ゲノムメチル化の網羅的解析を行い、介在ニューロン由来のparvalbuminやATP1a3の他、神経幹細胞の転写因子であるNr2f1、神経幹細胞に発現して正中の形態形成に関与するmidline 1(Mid1)の過メチル化による下方制御を見出した。このことは、既に神経幹細胞の段階でメチル化異常が生じ、後の分化段階で不可逆的影響を誘発する可能性を示唆している。興味深いことに、Mid1はSonic hedgehogと共に左右差を規定する分子であり、ニューロン新生障害に伴い、その左右差が消失することを見出したので、この結果も併せて紹介する。

SY-3

神経作動性化学物質の早期暴露による遅発性の神経行動毒性発現

○種村 健太郎¹⁾、五十嵐 勝秀²⁾、菅野 純²⁾

¹⁾東北大学大学院 農学研究科・動物生殖科学分野、²⁾国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験センター・毒性部

中枢神経系の発生-発達期は、その基本構造が遺伝情報を基に形成されると共に、適切な神経活動に依存して緻密な神経回路が形成される時期である。従って、外来性の神経作動性化学物質(neuroactive xenobiotics : NX)によるこの時期の中枢神経系の神経活動のかく乱は、正常な神経回路形成を妨げ、成熟後に情動-認知行動異常として顕在化する蓋然性がある。しかしながら、従来の神経毒性試験は成熟動物を主対象とした末梢神経影響評価が中心であり、そのような遅発性の情動-認知行動異常を検出し難い。

そこで、我々は、特に情動-認知行動について定量的に解析することを目的として、オープンフィールド試験、明暗往来試験、高架式十字迷路試験、条件付け学習記憶試験、プレパルス驚愕反応抑制試験の行動解析試験を組み合わせたバッテリー式の行動解析系を構築し、NXの周産期、または幼若期投与による成熟後の情動-認知行動への影響を評価するとともに、行動影響に対応する神経科学的な物証の収集により、遅発性中枢神経毒性の発現メカニズム解析と効率的な検出システムの構築を進めている。

本シンポジウムにおいては、被検化学物質として農薬アセフェートを用いた結果を中心に報告する。尚、アセフェートは有機リン系殺虫剤であり、アセチルコリンエステラーゼ阻害により殺虫活性を示す。

幼若期(2週齢)、あるいは成熟期(11週齢)の雄マウスにアセフェート(7、20、70mg/kg)を単回強制経口投与した。12-13週齢時に行動解析を実施した結果、幼若期20mg/kg投与群に不安関連行動逸脱と記憶異常が認められたが、成熟期20mg/kg投与群には顕著な行動逸脱は認められなかった。幼若期70mg/kg投与群には不安関連行動逸脱、記憶異常、情報処理能低下が認められた。成熟期70mg/kg投与群においても記憶異常が認められたが、幼若期投与群の示した異常とは質的に異なるものであった。尚、幼若期群、成熟群ともに7mg/kg投与による影響は認められなかった。70mg/kg投与群に対するPercellome遺伝子発現解析、及び免疫組織化学法による形態解析から、幼若期投与群の大脳皮質に神経細胞軸索機能異常、髄鞘形成不全が生じていることが示唆され、こうした異常は行動異常に対応する神経科学的物証の一側面であると考えられた。

SY-4

妊娠中のサリドマイドと自閉症

-妊娠ラットへのサリドマイド投与による自閉症モデル動物

○成田 正明、江藤 みちる、大河原 剛

三重大学大学院医学系研究科 発生再生医学

自閉症は、対人関係の障害、コミュニケーションの障害、こだわりなど、人との関わりを主症状とする、先天的な脳の機能障害に基づく発達障害である。しかし胎生期のどの時期に、どういうことが原因で(遺伝的因子、ウイルス感染、薬剤・化学物質)、どんな機能障害が脳のどの部分におきているか、はわかっていない。

これまで報告されている自閉症の原因としては、遺伝的因子、胎内感染症、化学物質(薬物・毒物)などがある。遺伝的因子の関与も強く指摘されているが、スペクトラムとしてヘテロな症候を持つ自閉症の病態を、単一の遺伝子異常で説明するのは本来困難である。先天性感染症も指摘されているが、これらもやはり妊娠中のどの時期の感染が critical なのか、virus 種に specific なのかは明らかでない。また妊婦の抗てんかん薬バルプロ酸などの薬物、アルコール、その他の化学物質の胎内ばく露も自閉症発症原因になり得るとされている。ここで化学物質の胎内ばく露を巡っては、有機水銀摂取なども懸念事項であり、妊婦の魚介類摂取許容量が見直されるなども関連しているといえる。

私たちはヒトでの疫学的事実、即ち妊娠のある特定の時期にサリドマイドを内服した母親から生まれた児から通常発症するよりもはるかに高率に自閉症を発症したことに着目し、妊娠ラットにサリドマイドやバルプロ酸を投与する方法で自閉症モデル動物を作成してきた。自閉症モデルラットでは、これまでにセロトニン神経系の初期発生の異常、行動異常などがあることを報告してきた。

今回の講演ではサリドマイドによる自閉症モデルラットについての知見のほか、有機水銀ばく露実験なども含め、最近の知見も含めて述べていきたい。

WS1-1

肝発がん物質エストラゴールの突然変異誘発過程における細胞増殖活性の影響

○石井 雄二¹⁾、高須 伸二¹⁾、黒田 顕¹⁾、松下 幸平¹⁾、横尾 諭¹⁾、木島 綾希¹⁾、能美 健彦²⁾、
小川 久美子¹⁾、梅村 隆志¹⁾

¹⁾国立衛研 病理部、²⁾国立衛研 安全性生物試験研究センター

【目的】肝発がん物質であるエストラゴール(ES)を *gpt delta* ラットに発がん用量(300 mg/kg/day)で投与すると、肝臓においてES 特異的DNA 付加体の形成と *gpt* 及び *Spi* 突然変異頻度(MF)の有意な上昇が生じる。しかし一方、ES を3又は30 mg/kg/day 投与した肝臓においては、一定量のDNA 付加体形成は認められるもののMFsの有意な上昇は観察されない。そこで本研究では、ESの特異的付加体形成から遺伝子突然変異へ進む過程に寄与する因子の探索を目的に、*in vivo* 変異原性試験を実施した個体の肝臓を用いて細胞増殖活性の検索とその分子メカニズムを検討した。

【方法】6週齢の雄性F344系 *gpt delta* ラット20匹を各群5匹に配し、ESを0、3、30または300 mg/kg/dayの用量で4週間強制経口投与した。イソフルラン麻酔下にて腹部大動脈より血液を採取し、血清生化学的検査を実施した。屠殺剖検後、肝臓を採取し、病理組織学的検索、肝細胞の核分裂像及びアポトーシスの発現頻度、PCNA陽性細胞率、細胞周期調節因子の遺伝子発現レベルならびにMAPK/Erk経路のリン酸化状態を検索した。

【結果】病理組織学的検索の結果、高用量群でのみoval cellの過形成が認められ、肝細胞の核分裂像及びアポトーシスの発現頻度の有意な上昇が認められた。血清AST及びALTの上昇は有意となったものの軽度であった。肝細胞のPCNA陽性細胞率ならびに細胞周期調節因子(cyclin E1、A2及びB1)の遺伝子発現レベルは高用量群で有意に上昇した。さらに、同群においてリン酸化Erk及びp38タンパク量の増加が認められた。

【考察】高用量群にのみ認められた *gpt* 及び *Spi* MFの顕著な増加は、ES特異的付加体形成に対して細胞増殖活性の亢進が付加的に作用した結果と考えられた。また、細胞増殖活性ならびにアポトーシスの亢進にはMAPK/Erk経路の活性化が寄与することが考えられた。一方、ESによる肝障害は軽度であったことから、MAPK/Erk経路の活性化機序については、細胞障害以外の活性化経路の可能性を考え、より詳細な検索を加えて考察する。

WS1-2

高脂肪食により誘発されるレプチン抵抗性に対する臓器感受性差と乳腺発がん

○今井 俊夫¹⁾、打屋 尚章¹⁾、藤井 元²⁾、武藤 倫弘²⁾、高橋 真美¹⁾

¹⁾国立がん研究センター 研究所 動物実験支援施設、²⁾国立がん研究センター 研究所 がん予防研究分野

【背景】生活習慣の欧米化により乳がんリスクが増加することが示されているが、その詳細な機序は明らかではない。米国に移住したアジア人女性に血中アディポカイン濃度の異常がみられるとの報告があることから、我々は高脂肪食を与えたラットにおける血中アディポカイン値とDMBA誘発乳腺発がんとの関連性について検討している。

【目的】高脂肪食により誘発される高レプチン血症が乳腺発がんを促進する機序を明らかにする。

【材料と方法】5週齢のF344雌ラットに基礎食、10%コーン油食及び牛脂食(Quick Fat、日本クレア)を2週間与えた後に安楽死させ、血清、乳腺及び肝臓を採取した。また、同様に高脂肪食を5週間与えたラットの7週齢時に50 mg/kg体重のDMBAを1回強制経口投与して33週齢時に安楽死させ、乳腺と乳がんを採取した。

【結果】基礎食群に比し高脂肪食を2週間与えたラットでは、血清レプチン値が上昇あるいは上昇傾向を示し、アディポネクチン値は低下した。乳腺組織においては牛脂食群でリン酸化STAT3:STAT3比の上昇がみられ、レプチンシグナルの活性化が示唆された。一方、レプチン抵抗性の指標としてSOCS3の遺伝子発現を検索した結果、乳腺では高脂肪食による変化はみられなかったが、肝臓では有意に上昇した($P < 0.01$)。DMBA誘発乳がんについては、高脂肪食群においてその発生頻度、数及び体積が増加した(第29回本学会にて報告)。基礎食群の乳がんと高脂肪食群の乳がんにおける発現遺伝子を比較した結果、レプチンシグナルに関連することが示唆されるものとしてPLK1の発現上昇が認められ、正常乳腺においても上昇傾向を示した。

【結論】レプチンの標的臓器である肝臓と異なり、乳腺ではレプチン抵抗性が起こりにくく、高レプチン血症下でレプチンシグナルが活性化しやすい可能性が示された。また、DMBA誘発乳腺発がんモデルにおける高脂肪食による発がんを促進に関して、高レプチン血症を介するPLK1遺伝子の発現上昇が関与することが示唆された。

WS1-3

p53欠損マウスにおけるオクラトキシンAの突然変異誘発機序

○黒田 颯¹⁾、日比 大介¹⁾、石井 雄二¹⁾、高須 伸二¹⁾、木島 綾希¹⁾、松下 幸平¹⁾、増村 健一²⁾、
児玉 幸夫³⁾、小川 久美子¹⁾、梅村 隆志¹⁾

¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部、

³⁾国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

【背景】腎発がん物質のオクラトキシン A (OTA) は *gpt delta* ラット腎臓において、DNA 二重鎖切断 (DSB) および *red/gam* 遺伝子上の突然変異 (Spi⁻) を誘発する。また、p53 ホモ欠損 (*p53*^{-/-}) *gpt delta* マウス腎臓の Spi⁻ 変異体頻度 (MF) を増加させるが、その野生型 (WT) には影響を与えない。そこで今回、p53 欠損マウスを用いて、OTA が誘発する DNA 傷害、DSB さらには遺伝子突然変異に至る過程への p53 関与の詳細について検討した。

【方法】雄10週齢の、*p53*^{-/-}マウスおよびその WT に OTA を 5 mg/kg で3日間強制経口投与し、comet assay を実施し、引き続き4週間投与した腎臓を用いて γ -H2AX の免疫組織化学的解析、cDNA microarray による網羅的遺伝子発現解析ならびに抽出遺伝子の mRNA/タンパク質レベルの半定量解析を実施した。また、*p53*^{-/-}とその WT の *gpt delta* マウスに OTA を同様に4週間投与し、腎臓の Spi⁻ assay ならびに Spi⁻ 変異体の *red/gam* 遺伝子の変異スペクトラム解析を行った。

【結果】OTA 投与群で comet assay 陽性となったが、遺伝子型間でその程度に差はなかった。尿管上皮細胞の γ -H2AX 陽性率は、WT と比較して *p53*^{-/-}マウスで有意に高かった。網羅的遺伝子発現解析では、遺伝子型間で細胞周期ならびに DNA 修復関連遺伝子群の発現変動に差が認められた。p21 の mRNA/タンパク質レベルは WT マウスで増加したが、*p53*^{-/-} マウスでは変動しなかった。*p53*^{-/-}マウスでは細胞周期促進 (*Ccne1*, *Ccnb1*) ならびに DSB 修復 (*Rad51*, *Rad54*) 関連遺伝子群の mRNA レベルの有意な増加が認められた。Spi⁻ assay の結果、*p53*^{-/-} *gpt delta* マウスで Spi⁻ MF が有意に増加し、その変異スペクトラムは一塩基の欠失/挿入/置換であった。

【考察】p53 は OTA が誘発する DNA 傷害には関与せず、DNA 傷害から DSB が形成される過程を抑制していると考えられ、その抑制作用には、p21系を介した G1/S 期停止作用が寄与している可能性が考えられた。p53 欠損マウスでは、細胞周期制御不能により DSB が増加した結果、一塩基の欠失/挿入/置換が生じたと考えられた。

WS1-4

アスベスト曝露と悪性中皮腫の診断マーカーとして血清CCL3(Mip1 α)の有用性の検討

○津田 洋幸¹⁾、徐 結荷¹⁾、David B. Alexander¹⁾、徳山 猛²⁾、宇佐美 郁治³⁾、林 嘉光⁴⁾、
小栗 鉄也⁵⁾、高橋 智⁶⁾、酒々井 真澄⁷⁾

¹⁾名古屋市立大学 津田特任教授研究室、²⁾中和病院内科、³⁾旭労災病院呼吸器科、⁴⁾名古屋市厚生院、

⁵⁾名市大院医腫瘍免疫内科、⁶⁾名市大院医実験病態病理、⁷⁾名市大院医分子毒性

アスベストによる悪性中皮腫死亡は曝露年余を経て年間1200人を越すに至っている。さらに、阪神淡路大震災、東日本大震災の瓦礫処理作業等従事者のアスベスト肺疾患が危惧されており、一定量以上の曝露によるアスベスト肺疾患(胸膜プラーク、良性胸水、アスベスト肺)、肺がん、および悪性中皮腫等(MM)のリスクがあり経過観察と診断が重要である。リスクの指標となる曝露レベルを客観的に評価する方法はない。当研究室において、ラットにクロシドライト(青石綿)を経気管肺内投与した場合に肺組織と血清に CCL3 (Mip1 α) レベルが増加することを見出した。これに基づき、ヒトアスベスト非曝露例(平均50.9歳)とアスベスト曝露例(石綿健康被害医療手帳被給付者)(平均69.1歳)、の血清CCL3値を測定した(ELISA、カットオフ7.8pg/ml)。

【結果】1) 検出感度：非曝露群93.4%、曝露群42.1 (29.4-90.0%)であった。2) CCL3値は、対照群1.7、曝露群12.9 (xp < 0.01)であった。曝露群内訳は、臨床所見のない(未発症)群 6.0、胸膜プラーク 7.8、良性胸水 7.5、アスベスト肺 9.1、肺がん 4.7、MM 379.7であり、非曝露群より有意の高値であった。また、MM群は、病変なし、プラーク、アスベスト肺、肺がん群と比べ有意の高値(xp < 0.001-0.05)であった。3) CCL3は値曝露年数、最終曝露からの経過年数、喫煙歴・喫煙本数とも相関は無かった。5) 免疫染色において、CCL3はMM細胞およびアスベスト貪食マクロファージに陽性であった。他の癌では明らかな陽性を示すものは無かった。

【考察・結論】血清CCL3はアスベスト曝露と発症診断に有用なマーカーとなり得る。CCL3はアスベスト貪食マクロファージとそれに加えMM例では腫瘍細胞から血中に入り、高値を示すと考えられた。検出レベルの高感度化によって、曝露モニタリング、肺疾患、MMの早期病変の解析が可能になると考える。

WS2-1

多層カーボンナノチューブの中皮腫発がん性をモデル標的としたナノマテリアル高度分散全身吸入 Taquannシステムによるマウス吸入毒性病変評価

○菅野 純、高橋 祐次

国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・毒性部

【背景】環境とがんの因果関係解明は、疫学と発癌研究の相互補完により進んだ。その過程で、我々が認知する「環境」が、太陽紫外線等の「自然環境」のみから、アスベスト等の人為的な「汚染環境」、パピローマウイルスやピロリ菌の様な「感染環境」等を含むものに拡大した。更に、それらのシグナルが細胞内分子メカニズムに直結し複雑に交錯する実態の解明が進んでいる。ここでの共通認識は、拡大環境の何れかの段階でこれらの発がんは「予防可能」であることである。

【目的】新素材ナノマテリアルは、工業製品への利用が拡大しているものの、環境をどこまで汚してよいものかを客観的に判断するデータが十分ではない。その中でアスベスト様の形状と大きさを有する多層カーボンナノチューブ (MWCNT) については、既存知識を活用し、中皮腫発がん性の検討を進めてきた (J Tox. Sci. (2008) 33:105-16, Cancer Sci. (2012) 103:1440-4)。このMWCNTをモデルに、より一般的な、吸入毒性試験法を開発し、その性能を確認する。

【材料と方法】新規分散法 (Taquann 法) により、ほぼ単離繊維のみからなる MWCNT を、新暴露方法 (J Tox. Sci. (2013) 38:619-28) によりマウスに吸入させた後、13週目の肺を観察する。

【結果】肉芽腫形成を認めず。肺胞に、マクロファージによる単離繊維貪食像及び肺胞慢性炎症細胞浸潤を認めた。横隔膜胸腔面に単離繊維貪食マクロファージを伴う小炎症巣を反応性中皮と共に認めた。

【結論】壁側胸膜に中皮腫発がんに関連する微小病変を確認した (先行実施した腹腔内投与実験と同様の所見)。本システムは、原理的に、ほぼあらゆるナノ粒子検体に適応可能であり、それらの安全な利用環境の確立に必要な毒性・用量作用情報の迅速な提供に向けて検討を進める。また、装置の安価普及を視野に改良を加えている (柴田科学 (株) と共同開発)。(厚生労働科学研究費補助金による)。

WS2-2

サイズおよび形状により胸膜においてMWCNTの沈着と繊維化

○徐 結荷¹⁾、David B. Alexander¹⁾、二口 充²⁾、沼野 琢旬²⁾、深町 勝巳²⁾、酒々井 眞澄²⁾、津田 洋幸¹⁾

¹⁾名古屋市立大学津田特任教授研究室、²⁾名古屋市立大学医学研究科分子毒性学分野

【背景】肺に二週間短期投与した MWCNT は胸腔内に移行し、胸腔の炎症反応および臓側中皮細胞の増殖病変を誘導することを報告した。然し、ヒト胸膜中皮腫最初発生の部位である壁側胸膜では、MWCNT は検出されなかった。その一つの理由は投与期間が短かったためと思われ、今回は、我々は投与期間を 24 週に伸ばし、サイズと形状の違う MWCNT を用いて検証した。

【材料と方法】二種類の MWCNT、大きく、針状の MWCNT (長さ 8 μ m、直径 150 nm、MWCNT-L) と小さく、cotton candy 様な凝集塊が形成する MWCNT (長さ 3 μ m、直径 15 nm、MWCNT-S) を用いた。両 MWCNT は 0.5% Pluronic F68 生食塩水に懸濁し、気管内噴霧で二週間一回、24 週までに肺に投与した。胸腔内への MWCNT の移行と炎症反応の観察のため、胸腔洗浄液の解析を行った。

【結果】1) MWCNT-L は胸腔へ移行し、壁側胸膜に沈着と繊維化を見られたが、MWCNT-S では、同じ現象を見られなかった。2) MWCNT-S より、MWCNT-L に強い胸腔内炎症反応 (炎症細胞の数、サイトカインのレベルなど) が誘導された。3) 肺においては、MWCNT-L より、MWCNT-S に強い炎症反応と 8-OHdG の産生が見られた。

【結論】胸腔及び胸膜に対する毒性は、大きいサイズで針状の MWCNT は強く、ヒトのアスベスト様な病変を引き起こす可能性は高いが、肺毒性は、小さいサイズで cotton candy 様な凝集塊を示す MWCNT は強い。以上のことからより、胸膜および肺に対する毒性は、MWCNT の種類によって異なることが明らかとなった。

WS2-3

ラットにおいて多層カーボンナノチューブの経気管噴霧反復投与が及ぼす影響

○坂本 義光¹⁾、小縣 昭夫¹⁾、湯澤 勝弘¹⁾、久保 喜一¹⁾、安藤 弘¹⁾、長澤 明道^{1,3)}、高橋 博¹⁾、
矢野 範男¹⁾、西村 哲治²⁾、広瀬 明彦³⁾、井上 義之⁴⁾、橋爪 直樹⁴⁾、猪又 明子¹⁾、中江 大^{1,5)}

¹⁾東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部、²⁾帝京平成大、³⁾国立衛研 総合評価研、

⁴⁾(一財)化学物質評価研究機構、⁵⁾東京農業大

【目的】多層カーボンナノチューブ(MWCNT)は陰嚢内/腹腔内投与によりラットに中皮腫を誘発するため、長期間ばく露によるアスベスト類似の呼吸器系への影響が懸念されている。本研究では、ヒトへのばく露条件を反映した経気管反復投与によるMWCNTのラット呼吸器系への影響を観察した。

【材料・方法】動物は、Han:WIST系、雄性ラット10週齢を用いた。MWCNTは、MWNT-7[長さ2 μ m、径75nm、Fe含有量0.344%]を分散液に懸濁し、0.01(L群)、0.05(M群)及び0.25mg/kg体重(H群)の用量で、各群20匹に、1回/4週間、44週間(計12回)、経気管噴霧投与した。動物は、投与後52週間を目処に飼育し、終了時生存例について、病理学的に検索した。

【結果・考察】投与期間中の途中死亡例、瀕死例の発現、終了時生存例の一般症状及び体重増加推移に投与と関連した異常は認められなかった。終了時生存例について、組織学的に、MWCNTの沈着は、主にマクロファージに貪食された状態で肺胞内、細気管支や血管壁周囲のリンパ組織内に認められた。最終投与終了後52週目のMWCNTの肺内沈着量は、H群で顕著に多かった。また肺の呼吸細気管支、肺胞管及び肺胞における、末梢性の増殖性病変が認められたが、これらの病変の性状や投与との関連の有無について現在検討中である。いずれの用量群においても、肺実質及び胸膜における腫瘍の発現は認められなかった。

WS2-4

カーボンナノチューブおよびカーボンブラックの肺内噴霧により誘発された肺胞過形成様病変

○二口 充¹⁾、徐 結荷²⁾、井上 義之³⁾、高月 峰夫³⁾、津田 洋幸²⁾、酒々井 眞澄¹⁾

¹⁾名古屋市立大学医学研究科分子毒性学分野、²⁾名古屋市立大学 津田特任研究室、³⁾化学物質評価研究機構

【背景と目的】我々はナノ材料の吸入曝露による発がんリスク評価に、肺発がん物質を用いた二段階発がんモデルを用いている。これまでに、三井製カーボンナノチューブ(CNT-M)およびカーボンブラック(CB)の二段階発がん性試験において、発がん物質により誘発された腫瘍性病変とは別の領域に肺胞過形成様病変が観察された。今回、この病変の病理組織学的検索を行った。

【材料と方法】6週齢の雄F344ラットにN-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine(DHPN)を2週間0.2%の用量で飲水投与した。2週の休業後より肺内噴霧を開始した。CNT-M噴霧試験では、250 μ g/mlの濃度で氷砂糖溶液に懸濁したCNT-Mを1回あたり0.5mlを週に1回の割合で44週まで肺内噴霧した。CB噴霧試験では、500 μ g/mlのCB/氷砂糖懸濁液を同様の方法で2週に1回の割合で24週まで肺内噴霧した。噴霧終了後、屠殺剖検し病理学的に肺腫瘍性病変の発生頻度・個数の定量解析を行った。

【結果】CNT-M噴霧試験では、肺にCNT-Mを貪食したマクロファージが集簇像が多数観察され、マクロファージを取り囲むように肺胞過形成様の病変が観察された。これらの病変とは別の部位にDHPNにより誘発された肺の腫瘍性病変(過形成、腺腫および腺癌)が観察され、その平均発生個数は溶媒対照群に比べ有意な差は見られなかった。CB噴霧試験においても同様に、CBを貪食したマクロファージの周囲に肺胞過形成様病変が観察された。

【結論】いずれの噴霧試験においても、肺胞過形成様病変の発生個数にDHPN誘発肺腫瘍性病変の発生個数を加えると、溶媒対照群に比べて有意に増加するため、肺マクロファージの周囲に発生した肺胞過形成様病変が腫瘍性病変であるかどうか、CNT-MおよびCBの肺内噴霧による肺発がん性の評価に重要であることが示唆された。現在、免疫組織学的な詳細な検討を加えている。

WS2-5

環境とがん～先楽後憂から先憂後楽へ～

○樋野興夫

順天堂大学医学部 病理・腫瘍学 国際環境発がん制御研究センター

日本国は「化学発がんの創始国」であり、山極勝三郎と吉田富三が築いた「癌化の源流」がある。山極勝三郎&吉田富三の命題は、「今日の命題でもあり、将来の命題でもある」。これが「山極勝三郎&吉田富三」の現代的意義であろう。

山極勝三郎の命題は、「慢性反復性刺激によって細胞と組織は秩序の乱れ、復旧の乱れを起こし、上皮は不規則となり、発育はついに勝手気ままになる」の作業仮説のもとに、「境遇の感化」をどう実験的につくっていくかであった。つまり、「外から刺激を与えて細胞の中の分子が反応し、その分子が核に刺激を与えて細胞が分裂する。がんは細胞分裂によって起こる」（形成的刺激）の実証であった。現在に置き換えて考えるに、これらのアスベスト・ナノ粒子暴露による中皮腫を、まさに「環境発がん」、すなわち、日常生活を営む環境中に含まれる因子に暴露されることに起因する発がん、としてしっかり認識し、未然に防ぎ、安全に安心して健康な生活をおくることのできる社会の構築に寄与していくことが、偉大なる先人の教えに学ぶべき姿勢であろう。

我々は、動物発がんモデルから発見した ERC 遺伝子がヒト中皮腫関連遺伝子のホモログであったことからこれに対する測定系を IBL と共同開発しヒトでの中皮腫マーカーとしての検討を進めてきた。環境発がんとしての中皮腫に対する、検診体制の確立は急務であり、国民の健康障害に関する重要課題解決型研究として、「アスベスト・中皮腫」の克服に向けた総合戦略は「目下の急務」である。実験モデルから得られるエビデンスをベースに、診断薬の開発、治療薬シーズの開発に向けた統合的な研究を目指すものである。

一般口演要旨

O-01~O-16

ポスター要旨

P-01~P-98

O-01

ラット非アルコール性脂肪肝炎におけるconnexin 32の役割とluteolinによる予防効果

○内木 綾、加藤 寛之、久野 壽也、高橋 智

名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学

【背景】非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis : NASH) は、近年の食生活変化に伴い発生率が増加しており、肝硬変や肝癌へ進展する危険性や、病態の進展に対する酸化ストレスの関与が指摘されている。我々はこれまでに、肝の主要なギャップ結合タンパクである connexin 32 (Cx32) の肝がん抑制作用を報告してきた。NASH に対する Cx32 の機能は不明であるが、最近Cx32の酸化ストレス抑制作用が明らかになりつつあり、NASH に対する Cx32 の抑制効果および抗酸化物質の摂取による予防効果が期待される。

【目的・方法】抗酸化物質luteolin および Cx32 の NASH に対する影響を検討するため、10週齢雄Cx32ドミナントネガティブトランスジェニック (Tg) ラットおよび野生型 (nTg) ラットに diethylnitrosamine (200 mg/kg,i.p.) を投与した2日後から methionine choline deficient diet (MCDD) を投与しNASHを惹起した。各々のラットに luteolin 混餌投与(100 ppm) 群を設け、2、12週間後に解剖を行い、肝NASH組織像の解析と、酸化ストレスおよびNASH関連サイトカイン(TNF α 、Tgf β 、IL-1 β) mRNA 発現の定量解析を行った。

【結果】Cx32の作用：nTgと比較し、Tgラットでは、肝炎症細胞浸潤、線維化の程度や、酸化ストレス、Tgf β 発現レベルの亢進を認めた。またNASHが誘導されたnTgの肝組織では、正常肝と比較して、Cx32タンパク発現の著明な低下を認めた。Luteolinの作用：Tg、nTgラットいずれにおいても脂肪変性、炎症、線維化および酸化ストレスが改善された。また、TNF α 、Tgf β 、IL-1 β 発現低下を認めた。Tgラットにおいて、GST-P陽性細胞巢の発生個数が減少した。

【結論】Cx32およびluteolinは、酸化ストレス制御を介してNASHの進展に対して抑制的に働くことが明らかとなり、新規予防法への応用の可能性が示唆された。

O-02

EHEN誘発ラット腎発がんにおいて内因性 NADPH oxidase 阻害剤 apocyninは抑制作用を有する

○三島 胡桃、山野 荘太郎、藤岡 正喜、魏 民、北野 光昭、鰐淵 英機

大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学

【目的】我々はこれまでに、N-Ethyl-N-Hydroxyethyl-Nitrosamine (EHEN) 誘発ラット腎腫瘍における網羅的蛋白発現解析によって腫瘍内における酸化ストレス関連蛋白群の異常発現を明らかにし、発がん機序に酸化ストレスが関与する可能性が示唆された。本研究ではEHEN誘発ラット腎発がんモデルを用い、内因性NADPH oxidase inhibitorであるApocynin (APN) 投与による腎発がん修飾作用について検討した。

【方法】雄性Crlj:Wistarラットを3群に分けG1には水道水を、G2、3には、EHEN 500 ppmの飲水投与を実験開始日から2週間行い、その後G1、2には生理食塩水、G3にはAPN 15 mg/kgの用量で週5回強制胃内投与を行い32週目で解剖した後、腎臓において各種解析を行った。

【結果】APN投与による体重増加抑制及び毒性所見は認められなかった。腎腫瘍 (RCT) において、APN投与により有意な腫瘍体積減少を認め、RCTのみならず異型尿細管 (ATH) においても発生頻度及び個数において抑制作用を認めた。これらの機序として、腫瘍における細胞増殖能、アポトーシス能及び微小血管密度を検討した結果、いずれもAPN投与による抑制を認めた。さらに、腫瘍内ROS発現量及び8-OHdG形成レベルを検討した結果、APN投与による有意な抑制が認められ、腫瘍周辺組織においても同様の結果を示した。以上よりEHENラット腎発がんにおいてAPNはATH発生からRCTの増殖における多段階において抑制作用を有する可能性が示唆された。我々は腫瘍形成後のAPN抑制作用の検討を行うため、EHEN誘発RCTより細胞株の樹立に成功し、いずれの株においても、APN投与においてWST-8を検討した結果、生存能力における抑制作用を示した。以上より、腫瘍形成後においてもAPNによる抑制作用が明らかとなった。

O-03

テネイシンC抗体または α -マンゴスチンの単独投与ならびにそれらの複合投与によるマウス乳癌転移抑制

○柴田 雅朗¹⁾、日下部 守昭²⁾、柴田 映子³⁾、森本 純司⁴⁾、斯波 真理子³⁾、飯沼 宗和⁵⁾

¹⁾大阪保健医療大学大学院 解剖学・病理組織学研究室、²⁾東京大学大学院 食の安全研究センター、

³⁾国立循環器病研究センター研究所 病態代謝部、⁴⁾大阪医科大学 実験動物センター、⁵⁾岐阜薬科大学大学院 生薬学研究室

【背景】抗体医薬が効果を示す腫瘍は限定的で、固形癌に対する抗腫瘍効果は十分ではない。その理由は固形癌では異常シグナル経路が複雑で、迂回路も存在するからである。

【目的】テネイシンC抗体とマンゴスチン果皮抽出物である低分子化合物の α -マンゴスチンとの複合治療を行い、2つの薬剤の複合により異なった癌の増殖・転移を担うシグナル伝達経路網を標的とするアプローチを試みた。

【方法】高転移性乳癌細胞株(BJMC3879Luc2)をマウスに移植し、2週間後にテネイシンC抗体(125 μ g、週1回、腹腔内投与)、 α -マンゴスチン(4000 ppm、混餌投与)と両者の組み合わせ投与を実施した。なお、対照群は生理食塩水のみを投与した。投与開始の6週経過後に実験を終了し、全生存動物を屠殺・剖検した。

【結果】テネイシンC抗体が腫瘍へ集積することを近赤外線プローブ(テネイシン抗体と近赤外線発光タンパクとの結合)を用いて確認した。体重では対照群と各群との間に明らかな差異は観察されなかった。経時的な腫瘍体積では対照群と比較して、全ての治療群で実験開始の1週より実験終了の6週まで抑制が観察された。屠殺時における生体イメージング解析では、対照群と比較して、治療群で転移の拡がりはいささか傾向にあった。病理組織学的検索では、リンパ節転移および肺転移を含む総ての転移の1匹当たりの数は、対照群と比較して、全ての治療群で有意な低下をもたらした。また、腫瘍内の血管密度ならびにリンパ管侵襲の数も全ての治療群で有意な低下を示した。

【結論】高転移性マウス乳癌モデルに対して、テネイシンC抗体あるいは α -マンゴスチンは腫瘍増殖の抑制作用と転移抑制作用を発揮したが、両者を複合することによる明らかな抗腫瘍作用の増強効果は示されなかった。

O-04

葉酸代謝拮抗剤Methotrexateのラット新生児期曝露が小脳の発達に及ぼす影響

○杉山 晶彦^{1,2)}、孫 敬^{1,2)}、上田 剛太¹⁾、竹内 崇^{1,2)}、古川 賢³⁾

¹⁾鳥取大学 農学部 獣医学科、²⁾山口大学大学院 連合獣医学研究科、³⁾日産化学工業 生物科学研究所

【背景】葉酸代謝拮抗剤Methotrexate (MTX)の胎生期曝露により胎児・新生児の中枢神経系において種々の発達障害が惹起されることが知られているが、MTXの新生児期曝露による小脳障害に関する詳細な病理組織学的研究はなされていない。今回、MTXのラット新生児期曝露が小脳の発達に及ぼす影響を病理組織学的に検討したのでその概要を報告する。

【方法】生後6日目のWistar系ラットにMTX 0.5mg/kgを皮下投与し、投与後1、2、3、4、8、15日目に小脳を摘出し病理組織学的に解析した。

【結果】MTX投与後3日目以降において小脳の正中径および左右径に有意な減少が認められた。小脳外顆粒層は投与後2、3日目においてcontrol群に比較し有意な非薄化を示したが、4、8、15日目には有意な増幅が認められた。分子層は投与後3日目以降において有意な非薄化を呈した。投与後1日目における外顆粒層では多数のpyknotic cellが出現し、投与後2、4、8日目においてpyknotic cellは有意な増数を示した。また、外顆粒層では投与後1、2、3日目においてmitotic cellの有意な減数が認められたが、4日目には有意な増数を示した。外顆粒層において誘発されたpyknotic cellはTUNEL染色および抗cleaved caspase-3抗体による免疫組織化学染色に陽性を示したことからapoptosisであることが示唆された。

【結論】本研究により、生後6日目におけるMTXの単回曝露は、ラット新生児の小脳の外顆粒層・分子層の非薄化および外顆粒層細胞におけるapoptosisや細胞増殖活性の低下を誘発することが明らかとなった。外顆粒層の非薄化は投与後4日目以降において回復し増幅に転じたが、分子層の非薄化は投与後15日目まで回復を認めなかった。今後、分子層非薄化の病理発生機序を明らかにするための免疫組織化学的検討を実施する予定である。

O-05

腎障害に伴う浸透圧性腎症の病態増悪機序の解明

○松下 幸平¹⁾、高須 伸二¹⁾、石井 雄二¹⁾、黒田 顕¹⁾、木島 綾希¹⁾、北浦 敬介²⁾、佐藤 亮²⁾、
松本 智志²⁾、小川 久美子¹⁾、梅村 隆志¹⁾

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

【目的】浸透圧性腎症は臨床的に dextran (Dx) 等の血漿増量剤や造影剤により誘発される。組織学的には近位尿細管が淡明化して腫大した clear tubule の形成を特徴とし、腎障害が先在する場合、病態は重篤化するが、その詳細な機序は不明である。そこで今回、ラットを用いて2種類の手法により腎障害を誘発し、浸透圧性腎症の病態増悪機序について検討した。

【方法】実験1：雄性6週齢SD ラットを3群に配し、1群には gentamicin (Gm) を6日間投与 (125 mg/kg, ip) 後、Dx (4000 mg/kg, iv) を14日間投与し、他の2群には Gm あるいは Dx のみを投与し、腎臓における clear tubule 生成を病理組織学的に観察した。また、一部については電顕観察も実施した。実験2：雌性10週齢F344 ラットを4群に配し、左腎臓に虚血再灌流処置を施し、3あるいは7日後に屠殺した。何れも屠殺1日前に Dx (4000 mg/kg, iv) あるいは溶媒を単回投与し、左腎について病理組織学的に観察した。

【結果】実験1：Gm投与により再生尿細管、Dx投与により近位尿細管の空胞化ならびに clear tubule が認められたが、GmとDxの併用投与で再生尿細管の出現頻度は減少し、clear tubule では上昇した。空胞化病変は、電顕的にDxを含む二次ライソゾームにより構成され、clear tubule では再生尿細管へのDxの過剰蓄積が観察された。実験2：観察された再生尿細管を形態学的にstage Iとstage IIに分類した。Dx非投与群では何れの時期においてもstage I及びIIが高頻度に認められた。Dx投与群では、3日目に clear tubule が多数形成され、7日目ではstage IIの空胞化がみられた。

【考察】GmとDxを併用した群でそれぞれの単独投与群に比して、再生尿細管の減少と clear tubule の増加が観察された。従って、clear tubule は再生尿細管において、より選択的に生じることが示唆され、電顕所見もこれを支持する結果となった。この事実は腎障害時の浸透圧性腎症増悪機序を説明しているものと考えられた。また、stage Iは clear tubule が形成されやすい細胞内環境であることが推察された。

O-06

多層カーボンナノチューブの肺内投与による中皮腫発生プロファイル

○酒々井 眞澄¹⁾、沼野 琢司¹⁾、深町 勝巳¹⁾、二口 充¹⁾、津田 洋幸²⁾

¹⁾名古屋市立大学 大学院医学研究科 分子毒性学分野、²⁾津田特任研究室

多層カーボンナノチューブ(MWCNT)のラット肺内投与に伴う長期経過後の中皮腫発生については報告がない。我々は長さの違いにより分画化されたMWCNTをラットに肺内スプレー法により投与する実験システムを用いて中皮腫発がんプロファイルを検討した。雄F344ラットに2週間で計8回(計1.0 mg)FT分画(平均長2.6 μm)、W分画(平均長4.2 μm)、R分画(高密度のため測定不可)を肺内スプレーし、最終投与後2週目、52週目で剖検、肺を組織学的に調べた。さらに96週目までの間に死亡あるいは瀕死解剖された個体について中皮腫発生頻度を調べた。2週目の肺組織では炎症細胞浸潤(5/5)および異物肉芽腫の形成を伴いマクロファージがMWCNTを貪食している像、上縦隔リンパ節へのMWCNTの沈着を認めた。炎症面積を調べた結果、FTが有意に増加していた。52週目の肺組織では炎症細胞浸潤(5/5)、focal fibrosis(5/5)、alveolar epithelial hyperplasia(3/5~5/5)、臓側胸膜の肥厚(4/5~5/5)を認めた。96週目までに死亡あるいは瀕死解剖された個体には中皮腫を発症しているものがあつた。縦隔、臓側胸膜、壁側胸膜、心外膜、肺組織などに腫瘍を認めた。ウエスタンブロットの結果、2週目および52週目の肺組織ではサイトカインCsf3、IL6、Ccl4、Cxcl2のタンパク発現がコントロール(分散剤PF68投与群)と比較して増加していた。これらの所見より、気管を通して肺内にスプレーされたMWCNTは長期間肺内にとどまり炎症、反応性の細胞増殖、fibrosis、hyperplasiaを引き起こす。MWCNTの発がん作用については、104週目での所見を詳細に検討する必要がある。

O-07

ラット糸球体足細胞におけるoptineurin結合タンパク質の同定

○櫻村 茜¹⁾、門脇 巧¹⁾、菅原 豪²⁾、安野 恭平²⁾、上家 潤一¹⁾、代田 欣二^{1,2)}

¹⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室、²⁾麻布大学 生物科学総合研究所

【目的】我々は、optineurin が糸球体足細胞に発現し、幼若足細胞および障害足細胞で高発現するという事を見出している。本研究では、ラット足細胞における optineurin 結合タンパク質を同定し、足細胞における optineurin の機能を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】F344 ラット(オス、10週齢)の単離糸球体から抽出したタンパク質を用いて、optineurin 特異抗体による免疫沈降を行い、得られたサンプル中のタンパク質を質量分析法により同定した。また、PAN 腎症群(puromycin aminonucleoside 接種後、4、7、10日目)を作成し、各群の凍結腎組織を用いて、optineurin 特異抗体、myosin9特異抗体による蛍光抗体法を行った。

【結果】成熟ラット単離糸球体において、optineurin に対する免疫沈降物中に、既知の結合タンパク質である huntingtin の他、myosin9等が同定された。うち、myosin9に由来するペプチドが最も多く検出された。optineurin と myosin9 の二重蛍光染色を行ったところ、足細胞細胞質に顆粒状に共局在が認められた。また、PAN 腎症においては、足細胞で myosin9 と共局在する optineurin は顕著に増加した。

【考察】PAN 腎症における optineurin と myosin9 の共局在の増加は、足細胞において optineurin が myosin9 と共に障害応答に関与していることを示している。神経細胞において optineurin は myosin と結合し、膜タンパク質輸送を担っていると考えられている。また、ヒトにおいて myosin9 をコードする MYH9 の変異は、糸球体硬化の最大のリスクファクターであることが報告されている。これらのことから、optineurin と myosin9 を介した膜タンパク質輸送が、足細胞での障害応答に関与していることが強く示唆された。

O-08

高脂肪食給餌カニクイザルにおける膵島の病理学的解析

○小林 亮介¹⁾、石井 宏幸²⁾、山田 直明¹⁾、爰島 洋子¹⁾、黒滝 哲郎¹⁾、土居 卓也¹⁾、佐藤 順子¹⁾、
涌生 ゆみ¹⁾、土谷 稔¹⁾

¹⁾三菱化学メディエンス(株) 試験研究センター 病理研究部、²⁾三菱化学メディエンス(株) 試験研究センター 安全性研究部

【背景】肥満や遺伝的背景を原因に発症するヒトの II 型糖尿病では、組織学的に膵島における島細胞の腫大やアミロイド沈着が観察され、病態のステージにより膵島の大きさや構成細胞の増減に一定の傾向がみられる。サルにおける食餌誘発性の肥満糖尿病モデルはヒトの II 型糖尿病を再現する有用なモデルと考えられるが、膵島の病理変化に関する報告は少ない。今回我々は、約1年間高脂肪食を給餌したカニクイザル(肥満ザル)における膵島変化を詳細に解析したので報告する。

【材料と方法】11例の肥満ザル(オス、6~7歳)のうち、3例は絶食時高血糖、脂質異常症および尿糖を示していた(高血糖群)。残り8例では血中トリグリセリドが軽度上昇し、1例では尿糖を呈していたが、いずれも絶食時高血糖はみられなかった(正常血糖群)。膵臓組織を10%中性ホルマリン液ならびにブアン液で固定し、HE染色、コンゴR染色、免疫染色(抗Insulin抗体・Glucagon抗体)を実施した。

【結果】高血糖群3例では、膵島において細胞の腫大、配列の乱れが観察され、一部では柵状あるいは上皮様配列を示しており、軽度の線維化もみられた。また、1例で膵島アミロイドーシスがみられた。免疫染色では、3例ともに顕著な Insulin 陽性細胞数および陽性領域の減少、染色性の低下が観察され、Glucagon 陽性領域の減少傾向もみられた。正常血糖群8例では、1例で膵島の大形化、2例で膵島アミロイドーシスが観察されたが、Insulin・Glucagon 陽性細胞数あるいは陽性領域の変化は明らかではなかった。

【まとめ】高血糖群では正常血糖群に比べ、糖尿病性の形態変化とともに Insulin、Glucagon いずれにおいても陽性領域の減少傾向がみられた。また、臨床検査結果および組織所見から、正常血糖群において pre-diabetic な状態にある個体が存在する可能性が示唆された。肥満ザルにおける膵島変化をより詳細に解析するためには、形態計測などの手法が必要と考えられる。

O-09

マウス大腸発癌に及ぼすデオキシコール酸の影響

○久野 壽也¹⁾、田中 卓二²⁾、内木 綾¹⁾、佐藤 慎哉¹⁾、鈴木 周五¹⁾、高橋 智¹⁾

¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学、²⁾東海細胞研究所

【背景】二次胆汁酸であるデオキシコール酸(DC)はアゾキシメタン(AOM)誘発大腸発癌に対するプロモーション作用の報告があるがイニシエーション作用に関しては不明である。最近DCの単独・長期投与でマウス近位大腸に腺癌が発生すること(Arch Toxicol. 2011)が報告された。

【目的】本研究では、この報告を検証するとともにAOM誘発マウス大腸発癌に及ぼすDCの影響を検討した。

【材料と方法】78匹の8週齢雄性C57BL6Jマウスに10 mg/kg bwのAOMを週1回、計4回腹腔内投与し(第1-4群)、対照群には生理食塩水を投与した(第5-8群)。第2-4群にはAOM投与1週間後から、5-7群には実験期間中0.04、0.2、0.5%のDC混合食を実験終了時まで投与した。8群は基礎食のみ与えた。実験開始24週後に、大腸の病理組織学的解析を行った。

【結果】中遠位大腸にはAOM投与群にのみ病変が発生し、平坦型の腺腫ないし腺癌であった。中遠位大腸病変の発生頻度(発生個数/マウス)はAOM単独60%(0.7±0.7)、AOM→0.04%DC80%(1.7±1.5)、AOM→0.2%DC70%(1.8±2.1)、AOM→0.5%DC100%(6.2±1.4)であり、AOM→0.5%DC群が全ての群に対して有意(p<0.01)に高かった。また、近位大腸腫瘍性病変は隆起性病変で、AOM投与の有無に関係なくDC投与(0.2、0.5%)群に観察され、腺腫ないし腺癌であった。近位大腸病変の発生頻度(発生個数/マウス)はAOM→0.2%DC90%(1.3±0.9)、AOM→0.5%DC100%(2.2±1.1)、0.2%DC単独80%(0.9±0.6)、0.5%DC単独50%(0.9±1.3)であった。

【結論】DCはAOM誘発遠位大腸病変に対して主としてプロモーション作用を、近位大腸に対してはプロモーションおよびイニシエーション作用を示すことが示唆された。

O-10

Apc^{Min/+}マウスの大腸腫瘍性病変における腸管上皮幹細胞マーカーLgr5発現細胞の機能解析

○平田 暁大¹⁾、久野 壽也^{2,3)}、高松 学²⁾、波多野 裕一郎²⁾、富田 弘之²⁾、原 明²⁾

¹⁾岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野、²⁾岐阜大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学分野、

³⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理学分野

【背景】腸管上皮細胞は、増殖、移動、脱落を繰り返し、常に新しい細胞へ更新されている。大腸においては腺管単位で上皮細胞が更新されており、腺管底部には腺管を形成する全ての細胞のもととなる大腸上皮幹細胞が存在する。近年、腸管上皮幹細胞マーカーであるLgr5が見出され、大腸腫瘍内にもLgr5発現細胞が存在することが明らかにされているが、その役割については解析されていない。

【目的】本研究では、Apc^{Min/+}マウスの大腸腫瘍性病変内においてLgr5発現細胞が細胞の供給源となり、幹細胞様の役割を果たしているかlineage tracing法にて検討した。

【材料と方法】大腸腫瘍を好発するApc^{Min/+}マウスとLgr5発現細胞に由来する細胞をLacZの発現により標識可能なLgr5-EGFP-IRES-creERT2; Rosa26-lacZ reporterマウスの交配により得られたApc^{Min/+}; Lgr5-EGFP-IRES-creERT2; Rosa26-lacZ reporterマウスを用いた。マウスは26週齢で実験に用い、タモキシフェン2.0mgを連続3日間腹腔内投与し、7日後に安楽殺した。大腸を摘出し、1時間4%パラホルムアルデヒド溶液で固定後、X-gal溶液に一晚浸漬し、ホルマリン固定した後、定法に従い、パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリンで対比染色を行った。

【結果および考察】X-gal染色により、非腫瘍部の正常大腸腺管において、青色に染色されるLacZ発現細胞を認め、正常腺管においてLgr5発現腫瘍細胞に由来する細胞が検出できていることを確認した。さらに、大腸の粘膜内微小病変(microadenoma)および腫瘍(macroscopic tumor)において、LacZ発現細胞すなわちLgr5発現細胞に由来する細胞の細胞塊が認められ、腫瘍性病変内においてもLgr5発現細胞が細胞の供給源として機能していることが示唆された。また、腫瘍においては、LacZ発現細胞の細胞塊が複数認められ、同時に複数のLgr5発現細胞から細胞が供給されていることが示唆された。

O-11

ラット膀胱におけるプロポリスの発がん促進作用及びその機序の検討

○藤岡 正喜、魏 民、山野 荘太郎、下村 衣里、三島 胡桃、福永 賢輝、鰐淵 英機

大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学

【背景】プロポリスはミツバチが樹脂成分や花粉と自身の唾液とを混ぜ合わせて作る物質で、巣の無菌状態を保つ働きがある。近年プロポリスはサプリメントなどの健康食品や化粧品の原料として広く使用されている。これまでに我々は、ブラジル産エタノール抽出グリーンプロポリス (GP) を用いたラット中期多臓器発がん試験において、膀胱発がんに対してプロポリスが促進作用を有することを明らかにした。しかし、その発生メカニズムやプロポリスの *in vivo* 変異原性などについては未だ明らかでない。

【目的】GP について、ラット膀胱発がん促進作用の有無を検討し、そのメカニズム解析をおこなった。

【材料と方法】実験1：発がん促進作用の検討として BBN 誘発ラット膀胱発がん試験を行った。動物は6週齢の雄性F344 ラット120匹を用い、デキストリンを1.5%の濃度で添加したMF 粉末飼料にGPを、0.125%、0.25%、0.5%、1%の用量で添加し試験に供した。実験開始後4週間、全群に膀胱発がん物質である BBN を0.05%の用量で飲水投与し、その後GP 添加飼料を32週間投与し、病理組織学的解析を行った。

実験2：ラット膀胱の *in vivo* 変異原性解析では、6週齢の雄性 *gpt delta* F344 ラットを用いた。GP をデキストリン添加MF 粉末飼料に2.5%の用量で添加し摂取させた。また、陽性対照として BBN を0.05%の用量で飲水投与した。陰性対照として Sodium ascorbate を5.0%の用量で飼料に添加し摂取させた。

実験3：GP が尿性状にどのような影響を与えるか検討するため、6週齢雄性F344 ラットに13週間1.0% GP を試料に添加し、4・8・12週時に採尿を行い SEM にて尿沈渣の観察を行った。

【結果】実験1の結果、GP は低容量(0.125%)から腫瘍の発生頻度、個数ともに濃度依存的に有意に増加した。また、実験2の結果、GP 投与による変異頻度の有意な変化がみられなかった。尿沈渣について検討を行った結果(実験3)、4週よりGP 投与群で尿沈渣の増大を確認した。

【結論】GP が膀胱発がん促進作用を有すること、および *in vivo* 変異原性を有さないことが明らかとなった。

O-12

A/Jマウス胸腔内投与による針状粒子TISMOの長期的影響

○横平 政直、岸 宗佑、中野 裕子、山川 けいこ、二宮 美美子、蟹江 尚平、今井田 克己

香川大学 医学部 腫瘍病理学

動物において腹膜での中皮腫発生モデルは多く存在するが、胸膜における中皮腫発生の報告例は少なく、疾患モデルも確立されていない。当教室ではこれまでに、悪性中皮腫の原因であるアスベストに形状や大きさの類似した針状粒子である、TISMO (potassium octatitanate, $K_2O \cdot nTiO_2$) に着目し実験を行ってきた。TISMO は自動車用摩擦材、プラスチックの補強材や精密フィルターなどに用いられている。以前、TISMO による胸膜悪性中皮腫発生を目的として、雌性A/Jマウスを用いた52週の実験を行ったが、胸膜の線維性肥厚は見られたものの、胸膜悪性中皮腫の発生は確認できなかった(2012年の日本毒性病理学会で報告)。

そこで今回は、さらに長期の実験を行った。実験開始時に3mgのTISMOを左胸腔内に開胸下に直接投与した。その後、可能な限り長期間の実験を予定していた。しかし、約1年経過した頃から死亡例が増加し、有効匹数の減少のために実験開始65週で終了した。病理組織学的には、肺の胸膜では線維性肥厚および異型を伴う中皮細胞が認められたものの、悪性病変(胸膜悪性中皮腫)の発生は確認できなかった。一方で、TISMO は胸腔に投与されたにも関わらず、肝臓や腎臓、脾臓、心臓、卵巣、骨髄という多くの臓器に粒子が確認された。

本研究から、針状粒子TISMOにより悪性中皮腫の発生を確認することはできなかったものの、針状粒子が胸膜から生体内へ侵入し全身の多数の臓器へ散布されることの危険性があらためて示唆された。現在、高感受性が推測される複数のマウス系統を用いた長期のTISMO投与実験が継続中である。

O-13

ラット膵がんモデルにおける血清診断マーカー

○深町 勝巳¹⁾、二口 充¹⁾、津田 洋幸²⁾、酒々井 眞澄¹⁾¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性学、²⁾名古屋市立大学 津田特任教授研究室

【目的】我々が確立した Cre/loxP システムを用いた活性型KrasV12トランスジェニックラットを用いて、Cre リコンビナーゼ発現アデノウイルスを膵管内に注入することによりヒトに類似した膵管がんを発生させることが可能である。これまでにラット膵管がんにおいて Erc/Mesothelin が高発現しており、Erc/Mesothelin の N 末タンパクである N-ERC の血清濃度が高くなっていることから N-ERC がラット膵がんの血清診断マーカーとなることを報告した。本研究においては、この血清診断マーカー N-ERC が治療効果の判定に有効か検討した。

【方法・結果】発生したラット膵管がんの大きさと血清N-ERC 濃度を測定すると、腫瘍重量と血清N-ERC 濃度がよく相関した。また、発生した膵管がんより樹立した膵がん細胞株を移植した NOD-SCID マウスにおいて、種々の大きさの腫瘍をもつ担瘤マウスにおける血清中N-ERC 濃度を測定したところ、移植腫瘍の大きさと血清N-ERC 濃度がよく相関した。膵がん細胞を移植した担瘤マウスに抗がん剤である Gemcitabine を投与するとコントロールに比べ腫瘍の大きさは小さかった。この際に腫瘍の大きさが小さくなったのに相関して血清N-ERC 濃度も低下した。

【結論】腫瘍の大きさと血清中N-ERC 濃度がよく相関したことから、血清中N-ERC 濃度が膵がんの大きさの指標として極めて有用である。また、血清N-ERC 濃度により簡便に腫瘍の大きさを推定し、治療効果を判定することが可能であることから膵がんの化学療法剤の開発に有用なモデルと考える。

O-14

気管内投与手法およびラットの肺における投与剤の分布

○長谷川 也須子¹⁾、久保田 久代¹⁾、吉田 緑²⁾、宮川 宗之¹⁾¹⁾(独)労働安全衛生総合研究所 健康障害予防研究グループ、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【背景・目的】気管内投与は、実験動物における呼吸器毒性試験の1種である吸入曝露試験の代替法として利用されている。しかしながら、その投与手法は多様であるため、異なる手法で得られた結果の比較を困難なものとしている。我々は投与手法の影響を検索し、気管内投与における最も適切な条件を見出すために、様々な条件下で気管内投与を実施し、肺内における被験物質の分布を比較した。

【材料と方法】8週齢の雄性Crl:CD(SD)ラットに以下の条件下で墨汁を投与した(各条件5匹、0.3 ml/匹);3段階の投与時の保定体位:0°(水平仰臥位)、45°(頭部高位)および90°(頭部高位、垂直位)、2段階の墨汁の注入速度:高速(40 ml/分)、低速(4 ml/分)、2種類の投与器具:経口投与器具(フチガミ製)、気管内投与専用器具(MicroSprayer®、PennCentury製)。投与後1時間で動物を安楽殺し、肺内の墨汁の分布について肉眼写真を用いて確認した。

【結果】保定体位が45°および90°では気管内投与により動物は死亡しなかったが、保定体位が0°の場合にはMicroSprayer®を用いた高速群以外で各群1-2匹の死亡例が確認された。肺内の墨汁の分布を比較したところ、保定体位が45°、MicroSprayer®を用いた条件で最も良い分布が認められた。

【考察】今回の実験で、適切な気管内投与を行うためには投与時の保定体位が最も重要な条件であることが確認された。保定体位が0°の条件下で気管内投与を行うことは動物を死亡させるため、不適切な条件であることが示された。一方、保定体位が45°の条件下では、注入速度や投与器具によらず良好な墨汁の肺内分布が得られたことから、この条件が気管内投与の保定体位として適切であると考えられた。MicroSprayer®は経口投与器具と比較して、気管内投与における被験物質の良好な肺内分布を実現するために有効な器具であることが確認された。

O-15

ラットにおける前立腺発がん物質早期検出マーカーの確立

○鈴木 周五^{1,2)}、佐藤 慎哉^{1,3)}、内木 綾¹⁾、久野 壽也¹⁾、高橋 智¹⁾¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学、²⁾名古屋市立東部医療センター 病理診断科、³⁾名古屋市立西部医療センター 病理診断科

【目的】前立腺癌は近年日本でも急増しており、前立腺癌の発症予防は重要課題の一つである。その発症予防には発がんおよび発がん促進因子を同定し、それらの摂取を極力抑える事が重要であると考えられ、環境中に存在するこれらの因子を同定するための短・中期発がんモデルが必要である。我々が樹立した前立腺発がんモデルは長期間を要するため、多数の被験物質をスクリーニングするには適していない。そこで、腫瘍性病変を代替する分子を抽出・同定し、これらを指標にした前立腺発がんモデルの樹立を試みた。

【対象および方法】前立腺に標的性を示す発がん物質 (PhIP、DMAB、MNU、BOP) および示さない発がん物質 (DMBA、MeIQx、DMH、DMN) を6週齢雄F344ラットにそれぞれ投与し、2日後に屠殺して、前立腺、肝、腎および大腸を採取した。リン酸化ヒストンH2AX (γ -H2AX)、high mobility group box 2 (HMGB2) およびKi67に対する抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、それぞれの抗体における核陽性率を算出し、対照群と比較検討した。

【結果】前立腺腹葉、側葉および背葉における γ -H2AX標識率は、PhIPでは腹葉のみ、DMABは全ての葉で有意な上昇を認め、MNU、BOPでは有意差はみられなかった。HMGB2標識率は、PhIPでは腹葉のみ、DMABおよびMNUは全ての葉で有意な上昇を観察したが、BOPでは全ての葉において対照群との差は見られなかった。Ki67標識率はPhIP、DMABでは腹葉、MNUでは背葉、BOPでは側葉および背葉において有意な上昇が観察された。一方、DMBA、MeIQx、DMHおよびDMNでは、 γ -H2AX、HMGB2およびKi67標識率は全ての葉で有意な上昇は見られなかった。対照群の前立腺上皮における標識率は、HMGB2で20~30%、Ki67で5%程度であったのに対し、 γ -H2AXで0.02~0.05%と極めて低い値を示した。

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

O-16

ラット肺障害モデルにおける肺障害マーカーSP-Dの経時的推移

○熊谷 和善¹⁾、高田 早苗¹⁾、根津 義和¹⁾、安野 恭平¹⁾、宮本 恵美^{1,2)}、高田 俊介¹⁾、矢部 光一¹⁾、谷 吉朗³⁾、土屋 由美¹⁾、高崎 渉¹⁾¹⁾第一三共(株)安全性研究所、²⁾第一三共(株)バイオ創薬研究所、³⁾第一三共インドLTD.

【目的】肺障害マーカー surfactant protein D (SP-D) の有用性を検討するため、ブレオマイシン (BLEO)、Silica、または α -naphthylthiourea (ANTU)を投与したラットの肺の組織変化、気管支肺胞洗浄液(BALF)の炎症細胞数、生化学値(LDH、TP、ALB、PL)、BALF及び血清SP-Dの推移を評価した。

【材料と方法】雄性F344ラットにBLEO、Silica (平均 ϕ 1.5 μ m)、またはANTUを投与し、各時点で剖検した(BLEO:0、0.2、0.6 mg/body、単回気管内投与4、8、15、22日後、Silica:0、10、50 mg/body、単回気管内投与2、7、14、28日後、ANTU:0、5 mg/kg、単回腹腔内投与4、8、24時間後、4日間反復腹腔内投与5日後)。

【結果】BLEO投与4、8、15日後に炎症細胞浸潤及びII型上皮細胞再生、投与8、15、22日後に線維化を認めた。投与4及び8日後にはBALFのリンパ球、LDH、PL、全時点でBALFの好中球が増加した。さらに、投与4及び8日後にBALF SP-D (対照群比1.9~2.5倍)、全時点で血清SP-D (対照群比1.4~2.2倍)が増加した。Silica投与7、14、28日後に異物肉芽腫、全時点で粒子貪食マクロファージを認めた。投与2、7、14日後にBALFのリンパ球及びLDH、全時点でBALFの好中球が増加した。さらに、全時点でBALF SP-D (対照群比1.4~2.7倍)、投与2、7、14日後に血清SP-D (対照群比1.3~2.0倍)が増加した。ANTU投与4、8、24時間後に肺胞水腫を認めた。投与4及び7時間後にBALFの好中球が増加した。さらに、投与24時間後にBALF SP-Dが増加(対照群比1.5倍)したが、血清SP-Dに変化はなかった。以上より、血清SP-Dは肺の炎症性変化または肺胞上皮障害に伴って増加することが示された。

P-01

ラットにおけるE2012誘発白内障とバイオマーカー

○中野(伊藤) 今日子¹⁾、太田 恵津子¹⁾、猪又 晃¹⁾、武田 賢和¹⁾、後藤 彩¹⁾、関 由妃¹⁾、早川 和宏²⁾
園田 二郎¹⁾、細川 暁¹⁾、青木 豊彦¹⁾、築館 一男¹⁾

¹⁾ユーザイ(株) 安全性研究部、²⁾株式会社サンプラネット 安全性研究事業部

【背景・目的】E2012はγセクレターゼモジュレーターであり、アミロイドを減少させるアルツハイマー病治療薬として開発された。本発表では、ラットにおける反復毒性試験で認められたE2012による白内障のメカニズムおよび予測バイオマーカーについて検討したので報告する。

【方法】E2012をSDラットに3-1000 mg/kgの用量で単回-13週間反復投与し、経時的(2週以降、投与終了時、回復期間中)に眼科検査、眼の組織検査を実施した。また、白内障の発生と脂質との関連が疑われたため、血漿、肝臓および眼球のコレステロール(Cho)およびその最終前駆体のデスモステロール(Des)含有量、E2012の組織中濃度についても経時的に測定した。さらにin vitroでHepG2細胞、ラット初代培養肝細胞、および初代培養水晶体におけるCho合成への影響について検索し、ラットミクロソームを用いてCho合成の最終酵素である3β-hydroxysterol Δ24-reductase(DHCR24)に対する作用を検討した。

【結果】白内障は投与10-11週に水晶体後極皮膜下に現れ、組織学的には水晶体線維の変性・膨化を特徴とした。脂質含有量の検討では、白内障に先立ち水晶体中のDes増加とCho減少が持続してみられた。E2012はDHCR24を阻害することで水晶体中のCho合成に影響することが判明した。病変が生じた用量の13週間投与では水晶体中のE2012濃度はDHCR24を阻害する濃度を超えていたが、Desが蓄積しない用量では病変は認められなかった。また、Des増加とCho減少は肝臓および血中でもみられ、水晶体の変化に先行してみられた。

【結論】E2012はラットにおいてCho合成の最終段階のDHCR24を阻害し、水晶体中のDes増加とCho減少が持続することにより白内障を生じることが示された。これらの変化に先立ち血中Des増加がみられ、E2012により誘発される白内障の予測バイオマーカーと考えられた。

P-02

ラットを用いたPaclitaxel誘発末梢神経障害における後根神経節の変化

○林 仁美、市村 英資、淵上 貴美子、奥田 祐司、横山 浩史、畔上 愛子、岡本 一也

日本化薬(株) 医薬研究所

【背景】抗悪性腫瘍薬Paclitaxel(PTX)は末梢神経障害(PN)を誘発し、用量制限因子として患者のQOLを著しく低下させる。PTX内包ミセルであるNK105は、現在開発中の新規DDS製剤であり、ラットでPNの軽減が確認されている。最近、PTXのPNにおける後根神経節(DRG)の関与が報告されており、今回、2剤投与後のDRGにおける形態変化の観察、蛍光標識薬剤のイメージング等を実施し、PTX誘発PNにおけるDRGの関与について検討した。

【方法】実験1：蛍光物質BODIPYで標識したNK105をラットに単回静脈内投与後、腰部横断面で凍結標本を作成し、腰椎DRGにおける薬剤分布を観察した。実験2：NK105及びPTXをq3d×2で静脈内投与後、坐骨神経及びDRGについて病理組織学的検査を行った。

【結果】実験1：投与4、24時間後に対照物質エバンスブルーアルブミン(EBA)はDRG内で蛍光が認められたが、高分子ミセルである蛍光標識NK105では殆ど認められなかった。実験2：投与4日後に、両薬剤群でDRGに神経節細胞の変性が認められ、投与8及び10日後にDRGに外套細胞の肥大が認められ、一部に外套細胞結節も認められた。また、投与8及び10日後に薬剤投与群で坐骨神経に有髄神経線維の変性が認められた。免疫組織学的検討において、投与4日後にATF-3及びneurofilament陽性神経節細胞の増加が認められ、ATF-3陽性神経節細胞数はPTX群に比較してNK105群で低かった。投与8及び10日後にATF-3、GFAP及びKi-67に対する陽性外套細胞の増加が認められた。

【結論】DRGではPTX内包高分子ミセルの分布はEBAに比べ明らかに低いこと及びPTXによる有髄神経線維の障害に先行してDRGにおける障害が認められることが明らかとなった。現在、DRGにおける電顕による超微形態学的な変化について追加検討中である。

P-03

イミノジプロピオニトリル発達期暴露によるマウス海馬歯状回の神経発生に及ぼす影響

○Liyun Wang¹⁾、白木 彩子^{1,2)}、板橋 恵^{1,2)}、阿部 一^{1,2)}、村上 智亮³⁾、鈴木 和彦³⁾、吉田 敏則¹⁾、
 渋谷 淳¹⁾、

¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、³⁾東京農工大学 獣医毒性学研究室

〈**Background**〉 3,3'-Iminodipropionitrile (IDPN) is a neurotoxic compound known to induce swellings in the proximal internodes of sensory and motor axons in the CNS. However, it remains unclear whether IDPN affects neurogenesis during the development in mammals. In the present study, we examined the effect and reversibility of developmental exposure to IDPN on neurogenesis of the hippocampal dentate gyrus in mice.

〈**Materials and methods**〉 Oral doses of IDPN (0, 600, or 1200 ppm in drinking water) were given to maternal mice from gestational day 6 until weaning on postnatal day (PND) 21, and the hippocampal dentate gyrus of male offspring were immunohistochemically examined at the end of exposure.

〈**Results**〉 Dose-related decreases of maternal food and water consumption were observed from 600 ppm during the gestational and lactational exposure periods. Dose-related decreases in the body weight in both dams and pups were observed from 600 ppm during the postnatal exposure period. The decreases of absolute brain weight and increases of relative brain weight were observed in both dams and pups at 1200 ppm on PND 21. Immunohistochemically, decrease in reelin+ or parvalbumin+ gamma-aminobutyric acid (GABA)ergic interneurons was observed in the dentate hilus at 1200 ppm on weaning. On the other hand, dose-related increase in NeuN+ postmitotic neurons was observed in the hilus from 600 ppm on weaning. Decrease in doublecortin (DCX)+ cells, suggestive of type 2b, 3 progenitor cells and immature granule cells, was observed in the dentate subgranular zone (SGZ) from 600 ppm on weaning. The number of SOX2+ cells, suggestive of type 1, 2a cells, and Tbr2+ cells, suggestive of type 2b, 3 cells was unchanged at PND 21 in both IDPN-dosed groups.

〈**Discussion**〉 These results suggest that IDPN at 600 ppm or more may directly target the immature granular cells to suppress axonogenesis in the SGZ and may also directly target GABAergic interneurons causing reduction of neurogenesis on PND 21.

P-04

6-propyl-2-thiouracil (PTU)のラット28日間反復投与による甲状腺機能低下を介したニューロン・グリア発達障害の検出

○白木 彩子^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、斎藤 文代³⁾、赤堀 有美³⁾、今田中 伸哉³⁾、板橋 恵^{1,2)}、Liyun Wang¹⁾、
 村上 智亮⁴⁾、鈴木 和彦⁴⁾、吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾

¹⁾東京農工大 獣医病理、²⁾岐阜大・院・連合獣医、³⁾化学物質評価研究機構・安全性評価技術研究所、⁴⁾東京農工大・獣医毒性

【**目的**】我々は、抗甲状腺剤である6-プロピル-2-チオウラシル (PTU)の発達期暴露により、海馬歯状回のニューロン新生障害及び異なる脳部位でのニューロンないしグリア発達に関連する遺伝子の発現変動プロファイルを見出した。本研究では、28日間の一般毒性試験の枠組みで発達神経毒性の検出の可能性を検討する目的で、以下の実験を行った。

【**材料と方法**】雄性SDラットを用い、生後5週齢から28日間、PTUを0、0.1、10 mg/kgの用量で強制経口投与し、海馬歯状回における顆粒細胞層の分化マーカー及び介在ニューロン指標の探索、並びに海馬歯状回、脳梁、帯状回、小脳皮質のマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。

【**結果**】網羅的遺伝子発現解析により、10 mg/kg群の脳の各部位で神経系の分化やシナプス伝達関連の遺伝子発現変動がみられた。特に海馬歯状回及び帯状回においては、*Epha4*、*EfnB3*、*Ret*等発達期と共通する変動遺伝子が見出された。歯状回では更に、*Mbp*、*Plp1*、*Aspa*、*Nkx6-2*等、ミエリン形成やグリア新生関連の変動遺伝子が見出された。一方、脳梁および小脳皮質では変動遺伝子は少なかった。歯状回の免疫組織学的解析の結果、10 mg/kg群で顆粒細胞層下帯のdoublecortin陽性細胞の減少及び歯状回門のreelin陽性細胞数の増加が認められた。0.1 mg/kg群ではいずれの項目にも著変はなかった。

【**結論**】PTUの28日間反復投与のラット脳の網羅的遺伝子発現解析によって、発達期甲状腺機能低下に類似した遺伝子発現変動が、特に海馬歯状回において検出された。また、免疫組織学的解析によってもニューロン新生障害及び介在ニューロンポピュレーションの変動が検出された。以上のことから、28日間の反復投与試験の枠組みでも発達神経毒性と同等の変化の検出が可能であり、海馬歯状回が評価部位として高感度である可能性が示された。

P-05

イミノジプロピオニトリルのラットへの発達期暴露による海馬歯状回における離乳時ニューロン新生に対する影響

○板橋 恵¹⁾、王 リユン¹⁾、白木 彩子^{1,2)}、盛田 怜子^{1,2)}、田中 猛^{1,2)}、村上 智亮³⁾、鈴木 和彦³⁾、
吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾

¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、³⁾東京農工大学 獣医毒性学研究室

【背景および目的】イミノジプロピオニトリル(IDPN)は、齧歯類への飲水投与により中枢や末梢神経に軸索傷害を誘発することが知られている。本研究ではIDPNのラットを用いた発達期暴露実験を行い、離乳児での海馬歯状回(DG)におけるニューロン新生への影響を検討した。

【方法】各群10匹の妊娠SDラットに、妊娠6日目からIDPNを0、67、200 ppmの濃度で離乳時まで飲水投与し、雌児動物を生後21日目に解剖し、その脳を用いてDGの顆粒細胞層下帯(SGZ)と顆粒細胞層におけるニューロン新生の各段階にある細胞数の変動及び歯状回門でのGABA性介在ニューロンの分布を免疫組織化学的に検討した。

【結果】母動物の摂餌量は妊娠18、21日目に高用量群で低値を示し、飲水量は低用量群と高用量群において妊娠14日目で、高用量群において18、21日目で低値を示した。児動物の体重は低用量群と高用量群において生後18日目で低値を、高用量群において生後21日目で低値を示した。母動物、児動物とも脳重量は変動しなかったが、児動物の歯状回門ではparvalbumin陽性細胞が高用量群で、reelinが低用量群と高用量群で減少していた。calbindin、calretinin、NeuN陽性細胞数は変動しなかった。SGZではSox2、Tbr2、doublecortin陽性細胞、PCNA陽性増殖細胞のいずれも変動しなかった。

【考察】IDPNの妊娠期・授乳期暴露による離乳時での影響はSGZでの神経幹細胞～未熟顆粒細胞には認められず、その標的は歯状回門のGABA性介在ニューロンであることが示唆された。

P-06

抗アミロイドβ抗体を投与したTg2576マウスにおける脳内微小出血の病理組織学的検討

○後藤 彩、猪又 晃、中野(伊藤) 今日子、園田 二郎、早川 和宏、太田 恵津子、武田 賢和、関 由妃、
細川 暁、築館 一男

エーザイ(株) バイオファーマシューティカル・アセスメント機能ユニット 筑波安全性研究部

【背景・目的】アルツハイマー病(AD)では脳アミロイド血管症(CAA)に関連した微小出血(MH)のリスクが高まることが知られており、ある抗アミロイドβ(Aβ)抗体の臨床試験では、血管性脳浮腫の報告がなされた。一方、ADモデルマウスへ抗Aβ抗体の投与により、脳内MHの増加が報告された。今回、我々は、Aβ減少を薬理作用とする化合物のMHリスク評価に用いる陽性対照物質を検索するため、抗Aβ抗体をTg2576マウスに投与し、脳内MHを病理組織学的に評価したので報告する。

【材料と方法】抗Aβ抗体(6E10、1C3)を20ヶ月齢のTg2576雌マウスに週一回、5週もしくは10週間腹腔内投与した。陰性対照としてIgG1およびPBSを同様に処置した。全生存動物は投与終了後安楽殺し、脳を4%パラホルムアルデヒド固定後パラフィン包埋した。MHの評価方法はThakkerらの方法を改良し行った[1]。即ち、組織標本は冠状断に10μmの厚さで、250μm毎に2枚ずつ作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色(HE)およびベルリンブルー染色(BB)を行った。1個体あたり約23枚作製された組織標本についてHEまたはBB陽性のMH巣を数え、その発生頻度と程度を評価した。

【結果】検索したすべての動物において脳実質へのアミロイド沈着およびCAAが認められた。MHは主に皮質および海馬領域に見られ、そのほとんどは軽度であったが中等度のMHも各群で散見された。6E10、1C3、IgG1およびPBS投与群間でMHの発生頻度および程度に有意差は認められなかった。

【結論】すべてのTg2576マウスの脳においてアミロイド沈着およびCAAが観察されたが、MHの発生頻度および程度に各群間で有意差は認められなかった。従って、Thakkerらの結果の再現性は認められず、抗Aβ抗体の6E10および1C3は陽性対照物質として適切ではなかった。

[1] Thakker DR, et al. PNAS. 2009;106:4501.

P-07

ミエリン異常ミュータントラットの病変進展における遺伝子発現動態

○下間 由佳子、田中 美有、井澤 武史、山手 丈至、桑村 充

大阪府立大学 獣医病理学研究室

【目的】ミエリンは神経細胞の軸索を取り巻く絶縁体として働き、神経伝達速度の維持を担っている。ミエリンの形成・維持は種々の機構により制御されているが、その詳細については未だ不明な点が多い。我々は、中枢神経系のミエリン病変を発症するミュータントラットを解析しており、7週齢頃より急速に脱髄病変が進行する dmy ラット、4-8週齢をピークとする軸索周囲の空胞形成がみられる VF ラット、ミエリン形成初期からのミエリン低形成を特徴とする mv ラットを調べてきた。本研究では、dmy ホモ型ラットにおいて顕著な発現増加を示すある遺伝子（遺伝子X）に着目し、その発現動態をそれぞれのミエリン形成異常の病態と比較検討することにより、ミエリン崩壊のメカニズムを解明することを目的としている。

【材料・方法】各ミュータントラットのホモ型ラット及び対照ラットの頸髄を採材し、Real-time PCR 法により遺伝子X の mRNA 発現量を測定した。mv ラット及び VF ラットは白質と灰白質を、dmy ラットは腹索、灰白質、背索を分けてサンプルを調製した。

【結果】dmy ホモ型ラットでは、対照ラットと比較して、全ての週齢、また、各部位において、遺伝子X の mRNA 発現の増加が認められた。特に、病変形成の著しい腹索における発現増加が顕著であった。また、その発現は病変の進行とともに経時的に増加していた。一方、mv ラットや VF ラットにおける遺伝子X の発現量は対照ラットと同程度であった。

【結論】mv ラットや VF ラットでは遺伝子X の発現増加がみられず、dmy ラットにおいてのみ顕著な発現増加がみられたことから、遺伝子X は dmy ラットにおけるミエリン崩壊に関与すると考えられた。dmy ラットはミトコンドリア異常によって発症する可能性が示唆されており、遺伝子X の発現増加もミトコンドリア異常と関連する可能性がある。

P-08

SOD1^{G93A} トランスジェニックマウスの脊髄病変に対する rotenone 投与の影響

○小川 瑞恵、野村 駿介、内田 和幸、中山 裕之

東京大学 大学院 農学生命科学研究科 獣医病理学研究室

【背景と目的】ALS モデルである SOD1^{G93A} トランスジェニック (Tg) マウスでは、ミトコンドリアの異常が発症～病態初期に重要と考えられている。よって、発症前のミトコンドリア障害の増大により、Tg マウスの病態が促進されると推測される。本研究では、ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の阻害作用を有する rotenone を Tg に発症前に投与し、運動機能および脊髄の病変の変化を検討した。

【材料・方法】Tg は Jackson Lab から購入・繁殖させ、実験には Tg と野生型マウス (Wt) のオスを用いた。溶媒の DMSO/PEG300 混合液または rotenone (3.0 mg/kg/日) を浸透圧ポンプに充填して背部皮下に埋め込み、42日齢から28日間連続投与した。体重測定、後肢伸展試験、金網ぶら下がり試験を毎週行った。DMSO/PEG300 投与(D/P) 群、Rotenone 投与(R) 群それぞれを Tg は 70、100、120日齢、Wt は 120日齢で解剖し、脊髄を病理組織学的に検索した。

【結果と考察】体重、運動機能には Tg、Wt とも D/P 群と R 群の間に差がなかった。Tg マウスでは腹角の NeuN 陽性ニューロンが 120日齢で D/P 群に比べ R 群で有意に少なかった。TUNEL 陽性細胞は全ての群でみられなかった。腹角の空胞変性は 70日齢で R 群、120日齢で Wt 群でより強い傾向がみられた。GFAP と Iba1 の陽性面積率は 120日齢で R 群が大きかった。Ubiquitin 陽性像は 120日齢で主にニューロン細胞体で認められ、陽性面積率は R 群で D/P 群に比べ有意に大きかった。Wt ではいずれの検索でも D/P 群と R 群とに差がなかった。以上のことから、Tg のでは rotenone 投与により病変が進行すること、即ちミトコンドリア障害が発症前～発症期の病理発生に重要であることが示唆された。

P-09

ミニブタに認められた全身転移を伴った形質細胞腫の2例

○田中 美有¹⁾、井澤 武史¹⁾、楠田 佳代²⁾、北村 憲彦³⁾、嶋田 照雅³⁾、山手 丈至¹⁾、桑村 充¹⁾

¹⁾大阪府立大学 獣医病理、²⁾みさき公園、³⁾大阪府立大学 獣医臨床センター

【背景】近年、ミニブタは実験動物や伴侶動物として飼育されるようになってきている。家畜のブタにおいては、造血器腫瘍としてB細胞性リンパ腫の報告が多いが、今回、ミニブタにおいて全身転移を伴った形質細胞腫を2例経験したため、報告する。

【症例】症例1：ミニブタ、雌、6歳齢。食欲不振を主訴に本学を来院。腹囲膨満と腹水貯留を認め、X線検査により腹部に腫瘤陰影を確認した。試験開腹を実施したところ、卵巣に直径15 cm大の腫瘤塊が認められ、脾臓や腹膜と一部癒着していた。子宮卵巣摘出術を実施し、術後経過良好であったが、7ヵ月半後、痙攣発作を呈し死亡したため、剖検を実施した。剖検では、下垂体に2 x 2 x 1 cm大の充実性腫瘤が、脳実質を圧排するように認められた。症例2：ミニブタ、雌、年齢不明(老齢)。呼吸困難と食欲低下を呈し、死亡。剖検時、肝臓、腎臓、肺、食道、脾臓、副腎において、直径1~7 cm大の多発性腫瘤が認められた。

【病理組織学的所見】症例1、2ともに、腫瘤は、小型円形核と好酸性細胞質を有する円形腫瘍細胞のびまん性増殖からなっていた。腫瘍細胞は中等度の核異型・細胞異型を示し、有糸分裂像も多数観察された。また、免疫染色により、大部分の腫瘍細胞が形質細胞マーカーであるIgG κ-鎖に陽性となり、単クローン性が示された。さらに、電子顕微鏡観察でも、腫瘍細胞は発達した粗面小胞体を有し、形質細胞の特徴が確認された。腫瘍細胞の増殖は、症例1では、卵巣、下垂体に加え、脾臓、腸間膜、視床下部および眼筋周囲においても認められた。なお、骨髄での腫瘍細胞増殖は認められなかった。

【考察】両例とも、原発部位は不明であるが、腫瘍性の形質細胞が全身諸臓器に転移、増殖しており、形質細胞腫と診断した。ブタにおける形質細胞腫の発生は稀であることに加え、特に症例1においては、卵巣や下垂体における腫瘍細胞の増殖が認められた点で非常に稀な症例と考えられた。

P-10

牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法(BCOP法)における病理組織学的変化

— 被験物質の濃度および曝露時間の影響 —

○古川 正敏¹⁾、伊藤 浩太¹⁾、六川 潤美¹⁾、榊原 隆史¹⁾、佐々木 啓¹⁾、平賀 武夫²⁾、小島 肇³⁾、
松浦 正男¹⁾

¹⁾(株)化合物安全性研究所、²⁾酪農学園大学 獣医学群、³⁾国立医薬品食品衛生研究所

【背景と目的】我々は第29回日本毒性病理学会学術集会において、牛摘出角膜を用いた眼刺激性試験代替法(BCOP法)で得られた我々のデータがウサギ眼刺激性試験法(Draize法)の試験結果を基にしたGHS分類と相関し、我々の系が眼腐食性や強度刺激性の検出に十分な精度を有することを報告した。今回、我々はジメチルホルムアミド(以下DMF)を段階希釈した場合の病理組織学的な変化、およびジメチルスルホキシド(以下DMSO)の曝露時間を変更した場合の病理組織学的な変化について比較検討した。

【方法】食用牛の眼球より摘出した角膜に被験物質を曝露し、被験物質曝露前後の角膜の混濁度の測定および曝露後のフルオレセインナトリウム溶液の角膜透過率を測定し、測定された混濁度および透過率から*in vitro*刺激性スコア(以下FIVIS)を算出した。測定終了後の角膜は10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従って、ヘマトキシリン・エオシン染色標本を作製して病理組織学的検査を実施した。

【結果と考察】DMFの濃度を変えた場合には、濃度が高くなるに従って、DMSOの曝露時間を変えた場合には、曝露時間を長くするに従って、FIVISが大きくなり、角膜の表層から深部へ病理組織学的な変化が拡大していくことが確認された。今後、さらに多くの物質について検証を続ける予定である。

P-11

有機溶剤と高血糖が関与したと思われる多系統萎縮症の一部検例

○永井 由紗、藤石 琴、北澤 理子、北澤 莊平

愛媛大学 大学院 医学系研究科 分子病理学講座

【背景】多系統萎縮症(multiple system atrophy, MSA)は、稀な進行性の神経変性疾患である。 α -シヌクレインの希突起細胞内蓄積(glial cytoplasmic inclusion, GCI)が、その本体と推測される。今回私どもは、慢性的な有機溶媒への曝露に加え、高血糖状態が関与したと思われるMSAの一部検例を経験した。

【症例】40代後半の塗装業男性。夕食を喉に詰まらせて倒れているのを発見され、救急搬送された。患者は、20年前からふらつきと言語不明瞭を呈し、6年前に糖尿病と診断された。搬送後、多臓器不全にて死亡した。身長167cm、体重67.8kg、BMI24.8で肥満体型であった。脳重量1300g、淡蒼球、黒質線条体、橋、延髄上部オリブ核、および仙髄を中心とした脊髓灰白質の中間質外側部で、著明な萎縮、神経細胞の喪失、グリオーシスを示した。下肢の廃用性筋萎縮、肉柱形成を伴う神経因性膀胱を呈した。重度の肺うっ血(左:390g、右:520g)に加え、気管気管支粘膜のびらん発赤、気道内食物残渣、および逆流性食道炎を認めた。さらに、2型糖尿病の長期罹患を反映して、脂肪肝(1815g)、脾腫大(105g)、大動脈粥状硬化症、内臓脂肪蓄積を認めた。直接死因は、誤嚥による窒息死であった。

【結果と考察】免疫組織化学的に、大脳皮質、中脳、延髄、脊髄を、ウサギ抗 α -シヌクレイン抗体、抗ペントシジン抗体を用いて検索した。大脳皮質、中脳、延髄、脊髄のオリゴデンドログリア内に α -シヌクレイン陽性のGCIを証明し、MSAと診断した。さらに、高度のペントシジンの沈着が残存した神経細胞中心に認められた。MSAの病因は、未だ不明であるが、環境上の有害物質への曝露は、MSA発症のリスクを増加させるという報告がある。本例では、持続的な高血糖状態と、有機溶媒への過度な曝露とが、 α -シヌクレイン凝集を促進して、MSAの発病および進展に寄与した可能性がある。また、糖化反応の産物であるペントシジンによる持続的酸化的ストレスが神経細胞障害に関与していた可能性がある。

P-12

若齢BrlHan:WIST@Jcl (GALAS) ラットの腰部脊髄に自然発生した乏突起膠細胞腫の1例

○武田 周二、浅野 敬之、伊原 良、緒方 敬子、串田 昌彦

住友化学(株) 生物環境科学研究所 生体科学グループ 病理チーム

【背景】乏突起膠細胞腫はグリア細胞由来の腫瘍であり、一般に高齢ラットの大脳半球、大脳基底部および脳梁で認められる。しかしながら、脊髄における自然発生の報告は少ない。今回、若齢ラットの腰部脊髄において乏突起膠細胞腫が認められたため、その病理組織学的特徴および免疫組織化学的検討の結果を報告する。

【症例】4週間混餌試験の対照群BrlHan:WIST@Jcl (GALAS) ラット(9週齢)の雌1例であり、該当動物に一般症状、血液・生化学検査および剖検において異常は認められなかった。

【病理組織学的特徴】腫瘍は腰部脊髄背側から背根にかけて存在し、小型で円形の核を有し、胞体が明るく抜けた腫瘍性細胞がびまん性に増殖し、honeycomb patternを形成していた。その他諸臓器に異常は認められなかった。

【免疫組織化学的検討】PCNA,GFAP,Iba1およびOlig2を用いて検討を行った。Olig2では、小型で円形の核を有する腫瘍性細胞において陽性像が認められた。また、PCNAでは、同細胞において強陽性像が認められた。GFAPおよびIba1では、これらの腫瘍細胞で陰性であったが、腫瘍細胞の間で散在的に存在する円形～楕円形の核を有する紡錘形～多角形の細胞が陽性であった。

【考察】腫瘍は組織学的形態および免疫染色の結果から乏突起膠細胞腫と診断された。乏突起膠細胞腫の脊髄における発生は稀であり、さらに若齢での報告はほとんどなく、本症例は非常に貴重な症例であると考えられた。

P-13

ゲッチングミニブタにみられた海馬錐体神経細胞の好酸性細胞質内封入体

○山田 直明、小林 亮介、隈部 志野、友成 由紀、土居 卓也、涌生 ゆみ、土谷 稔

三菱化学メディエンス(株) 試験研究センター 病理研究部

【はじめに】 脳神経細胞内の好酸性封入体には、Lewy 小体、Bunina 小体、平野小体、視床の神経細胞体内の eosin 好性小顆粒など様々なものが知られている。今回、我々はゲッチングミニブタ (Göttingen MinipigsTM) の海馬錐体神経細胞に好酸性細胞質内封入体を認めたので、その詳細を報告する。

【症例】 動物は、皮下投与背景データ集積試験に用いたゲッチングミニブタ (輸入元:エレガード社, デンマーク, 販売元:オリエンタル酵母工業株式会社), 8ヶ月齢の雌2例。一般状態に異常はなく、血液学的検査などその他の検査や剖検においても異常は認めなかった。

【結果】 HE 染色において、海馬の CA1 ~ CA2 領域の錐体神経細胞に、好酸性細胞質内封入体が認められた。封入体の多くは核周囲 ~ 樹状突起に位置していた。組織形態は、細い線状、あるいは微細顆粒状であった。封入体は、PTAH 染色で青紫色、マッソントリクローム染色で赤色を呈した。免疫染色では、actin に陽性、PHF-tau, ubiquitin C-terminal esterase L1, neurofilament, α -smooth muscle actin に陰性だった。超微形態的には、神経細胞質内に、約7 nm 径の暗線と約4 nm 径の明線が交互に直線状平行に配列する構造物として認められた。限界膜は認められなかった。

【考察】 特殊染色および免疫染色の結果から、封入体はアクチン蛋白質で構成されていることが示唆された。封入体の染色性や発生部位は、ヒトあるいはアルパカなどで報告されている平野小体と類似していた。封入体の超微形態は、ヒトの黒質や視床で報告されている神経細胞体内の eosin 好性小顆粒に類似していた。平野小体も eosin 好性小顆粒も加齢性に見られる変化とされているが、今回、好酸性細胞質内封入体の見られたミニブタは8ヶ月齢と若齢だった。ゲッチングミニブタにおける同封入体の年齢や性差による発生頻度の違いおよび意義や発生機序については今後の検討が必要である。

P-14

C57BL6/JマウスおよびF344ラットへの多層カーボンナノチューブの単回気管内投与による52週での慢性毒性検討

○岸 宗佑¹⁾、中野 裕子¹⁾、山川 けいこ¹⁾、横平 政直¹⁾、二宮 美美子¹⁾、竿尾 光祐²⁾、今井田 克己¹⁾

¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾苫小牧市立病院

【背景】多層カーボンナノチューブ(multi-wall carbon nanotube: MWCNT)は、単原子層の炭素シートを筒状に巻いたナノマテリアルであり、吸入しうる小さな針状物質である。MWCNT のラットへの腹腔内投与により、悪性中皮腫の発生が報告されている。その大きさや形状はアスベストに似ており、その毒性評価が重要である。

【目的】C57BL6/JマウスおよびF344ラットへのMWCNTの単回気管内投与による52週での慢性毒性評価を行った。

【材料と方法】MWCNTは凝集体を形成しやすく、ヒトへの暴露環境を考えると分散した材料での投与が必要である。今回、臨界乾燥の技術を応用した Taquann 法による高度に分散処理を行った MWCNT を実験に用いた。実験1として、12週齢の C57BL6/Jマウスを MWCNT 投与群とコントロール群の2群に分け、MWCNT 投与群は実験開始日にマウス1匹当たり10 μ g の MWCNT を1% Tween 80 の0.02mlの生理食塩水に混合し、気管内投与を行った。実験2として、6週齢の F344ラットを用い、実験1と同様に実験を行った。ラットの肺重量がマウスに比べて約6倍重いことから、ラットへの MWCNT の投与量はマウスに投与した6倍で行った。52週で実験を終了し、全ての動物を屠殺し、剖検を行い、肺を中心に病理組織学的な評価を行い、偏光顕微鏡による評価を行った。

【結果】実験1: 病理組織学的な評価では、MWCNT 投与群の肺で1本の MWCNT を偏光顕微鏡で確認できたが、その周囲では炎症性反応や腫瘍性変化は見られなかった。いずれの群においても腫瘍発生は見られず、炎症性スコアについても群間で有意差は見られなかった。実験2: MWCNT 投与群では6本の MWCNT が偏光顕微鏡にて確認できたが、その周囲では腫瘍性変化は見られなかった。いずれの群においても腫瘍の発生はなく、炎症性変化についても群間で差はなかった。

【結論】高度に分散処理した MWCNT の単回気管内投与後、52週においてマウスおよびラットの肺内で MWCNT が確認されたが、いずれにも肺の腫瘍性病変の発生は見られず、また炎症性変化に差はなかった。

P-15

マウス肺腫瘍におけるErk1/2経路の活性化とDusp6の発現に関する検討

○山川 けいこ¹⁾、横平 政直¹⁾、岸 宗佑¹⁾、中野 裕子¹⁾、二宮 美美子¹⁾、蟹江 尚平¹⁾、竿尾 光祐^{1,2)}、
今井田 克己¹⁾、

¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾苫小牧市立病院

【目的】 マウス肺発がん過程では、初期の段階から *Kras* の変異を高頻度に認め、*Kras* 変異が下流のシグナルを活性化し、細胞の増殖や分化を促進することが知られている。今回、我々は、*Ras* の下流である *Raf-Mek1/2-Erk1/2* 経路に注目し、4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone(NNK) 誘発マウス肺腫瘍における *Mek1/2* と *Erk1/2* の活性化、*Erk1/2* の活性化を抑制する dual-specificity phosphatase 6 (*Dusp6*) の発現について検討した。

【材料と方法】 7週令の雌性A/J マウス1匹あたり2mg NNKを1週目に単回腹腔内投与を行い、52週目に発生した肺腫瘍を対象とした。リン酸化型の *Mek1/2*(p*Mek1/2*) および *Erk1/2*(p*Erk1/2*) と *DUSP6* の免疫染色を行い、染色強度を0(negative)、1(weak)、2(moderate)、3(strong)とスコア化した。

【結果】 p*Mek1/2* と p*Erk1/2* の免疫二重染色の結果、Hyperplasiaの6/15例、Adenomaの29/36例で染色スコアがp*Mek1/2*で2以上、p*Erk1/2*で1以下であった。Hyperplasia、Adenomaでは、*Mek1/2*の活性化が腫瘍全体に認められるものの *Erk1/2*の活性化は局所的あるいは活性化していない症例が多数認められた。一方、Adenocarcinomaの12/13例でp*Mek1/2*、p*Erk1/2*とも染色スコアが2以上であった。*Dusp6*染色スコアはHyperplasia(23例:0.8)、Adenoma(47例:1.4)、Adenocarcinoma(15例:2.6)で、p*Erk1/2*と有意に正の相関関係が認められた。

【考察】 今回の症例では *Dusp6* による *Erk1/2* 活性化の抑制への関与は明らかではなかった。しかし、*Erk1/2* 活性化が肺発がん過程における malignant transformation に重要な役割を果たしていると思われ、今後は、*Erk1/2* の活性化に関する他の因子の検索を行う予定である。

P-16

n-ブチルグリシジルエーテルの13週間吸入暴露によるラットとマウスにおける鼻腔病変

○高信 健司¹⁾、片桐 卓¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、長野 嘉介²⁾、相磯 成敏¹⁾、福島 昭治¹⁾

¹⁾中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター、²⁾長野毒性病理コンサルティング

n-ブチルグリシジルエーテル(BGE)はエポキシ樹脂などの反応性希釈剤、含塩素化合物の安定剤及び化学物質の中間体等に広く用いられている。BGEは刺激性を有し、その暴露により皮膚炎や皮膚感作を起こす事例が報告されており、職業性暴露による健康影響が懸念されている。今回、我々はBGEをラットとマウスに13週間全身吸入暴露し、鼻腔にみられた病変について報告する。

【材料および方法】動物は6週齢のF344ラットとBDF1マウスの雌雄を各群10匹使用した。ラットとマウスそれぞれにBGEを0、12.5、25、50、100、200 ppm (v/v)の濃度で、1日6時間、週5日間、13週間の全身暴露を行った。鼻腔は10%中性緩衝ホルマリンで固定し、ギ酸ホルマリンで脱灰後、3横断面で切出しを行い、常法によりHE染色標本を作製し病理組織学的に検索した。

【結果】ラットでは呼吸部に呼吸上皮の過形成が雌雄の50ppm以上の群でみられた。また、好中球の浸潤を主体とする呼吸上皮の炎症が雌雄の100ppm以上の群に、壊死が雄の100ppm以上の群と雌の200ppm群でみられ、扁平上皮化生が雌雄の200ppm群に認められた。嗅部では嗅上皮の萎縮と壊死が雌雄の100ppm以上でみられ、呼吸上皮化生と炎症が雌雄の200ppm群でみられた。その他、鼻甲介の癒着が雌雄の200ppm群でみられた。マウスでは呼吸部に、呼吸上皮の壊死が雌雄の50ppm以上の群でみられ、扁平上皮化生が雌雄の200ppm群で認められた。嗅部では嗅上皮の呼吸上皮化生が雌雄の25ppm以上の群でみられ、萎縮が雌雄の50ppm以上の群で認められた。更に嗅上皮の壊死とポリープが雄で50ppm以上の群、雌で100ppm以上の群でみられた。

【まとめ】BGEの13週間暴露による鼻腔での変化は、ラットでは呼吸上皮の過形成として50ppmまで、マウスでは嗅上皮の呼吸上皮化生として25ppmまでそれぞれ認められた。なお、暴露による影響は、鼻腔のみにみられ、他の呼吸器では認められなかった。(本試験は厚生労働省の委託により実施したGLP試験である。)

P-17

n-ブチルグリシジルエーテルの104週間吸入暴露によるラット・マウスの鼻腔における発がん性

○片桐 卓¹⁾、高信 健司¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、長野 嘉介²⁾、相磯 成敏¹⁾、福島 昭治¹⁾

¹⁾中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター、²⁾長野毒性病理コンサルティング

n-ブチルグリシジルエーテル(BGE)はエポキシ樹脂などの反応性希釈剤、含塩素化合物の安定剤、及び化学物質の中間体等に広く用いられており、多くの労働者が作業現場でBGEに暴露されている。BGEは刺激性を有し、その暴露により、職業性皮膚炎及び皮膚感作を起こす事例が報告されているが、呼吸器系のがんに関する報告はない。今回、BGEの長期吸入暴露試験を行ったところ、ラットとマウスの鼻腔に発がん性が認められたので報告する。

【材料・方法】和光純薬(株)製(純度、99.7%以上)のBGEを用いた。試験には、雌雄各50匹/群のF344ラット(6週齢)及びBDF1マウス(6週齢)を用い、ラットには雌雄ともに0、10、30及び90 ppm(公比3)、マウスには雌雄ともに0、5、15及び45 ppm(公比3)の濃度で1日6時間、週5日間、104週間の全身暴露を行った。

【結果】ラットでは、雌雄とも90 ppm群で生存率と体重が低値を示した。主な死因は鼻腔の腫瘍であった。鼻腔腫瘍は病理組織学的に扁平上皮癌が主体で雌雄とも対照群、低・中用量群には、発生が全く認められなかったが、90 ppm群(雄:35/50、雌:28/50)で有意な発生増加が認められた。また、雄に扁平上皮乳頭腫、神経上皮腫、雌に腺扁平上皮癌、神経上皮腫及び肉腫の発生も認められた。さらに、30 ppm群では雌雄に鼻腔腺腫の発生(雄:5/50、雌:2/50)が認められた。マウスにおいては、45 ppm群では雌で生存率がやや低値であり、雌雄ともに体重が低値であった。腫瘍性病変として、鼻腔に雌雄とも血管腫の発生増加(0,5,15,45 ppm:雄では0/50, 2/49, 14/50, 8/49, 雌では0/50, 0/50, 2/50, 7/50)が認められた。また、45 ppm群の雌雄には扁平上皮癌の発生(雄:2/49、雌:1/50)が認められた。

【まとめ】ラットでは、雌雄とも鼻腔の扁平上皮癌の発生増加が認められ、ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠である。マウスでは、雌雄とも鼻腔の血管腫の発生が認められ、マウスに対するがん原性を示す証拠である。(本試験は厚生労働省の委託により実施したGLP試験である。)

P-18

アクリル酸の13週間及び104週間吸入暴露によるラットの鼻腔病変

○梅田 ゆみ¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、高信 健司¹⁾、片桐 卓¹⁾、相磯 成敏¹⁾、長野 嘉介²⁾、福島 昭治¹⁾

¹⁾中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター、²⁾長野毒性病理コンサルティング

アクリル酸の主な用途はポリマーやアクリル酸エステルの原料であり、アクリル酸やアクリル酸エステルのポリマーは、アクリル繊維、塗料、粘着剤、接着剤等に使用されている。本物質は常温で無色透明の液体であり、酢酸に似た刺激臭がある。今回我々は、アクリル酸の13週間および104週間吸入暴露によるラットの鼻腔への影響について報告する。

【材料・方法】13週間試験は、雌雄各10匹/群(6週齢)のF344ラットを用いて、投与群5群と対照群1群の構成で行われた。アクリル酸の投与は、雌雄とも10、24、60、150及び200 ppmの濃度で1日6時間、週5日間で、13週間全身暴露を行った。104週間試験は、雌雄各50匹/群のF344ラット(6週齢)を用いて、投与群3群と対照群1群の構成で行われ、被験物質の投与は雌雄とも10、40及び160 ppmの濃度で1日6時間、週5日間で、104週間全身暴露を行った。鼻腔は10%緩衝ホルマリン液で固定し、脱灰後3箇所切り出し、常法に従って光顕標本作製し病理組織学的に検索した。

【結果】13週間試験では、雌雄とも嗅上皮の萎縮が24 ppm以上の群、扁平上皮化生が150 ppm以上の群、呼吸上皮の扁平上皮化生が60 ppm以上の群にみられた。104週間試験では、鼻腔腫瘍の発生増加はみられなかった。非腫瘍性病変では、雌雄とも鼻腔に嗅上皮の萎縮が40 ppm以上の群、呼吸上皮化生及び扁平上皮化生が160 ppm群に、呼吸上皮の扁平上皮化生と固有層の腺の呼吸上皮化生が160 ppm群で発生の増加を示した。

【まとめ】アクリル酸の13週間吸入暴露により鼻腔の嗅上皮の萎縮や嗅上皮と呼吸上皮に扁平上皮化生がみられ、104週間吸入暴露では、鼻腔に腫瘍の発生は認められず、13週間試験と同様の鼻腔変化が認められた。したがって、アクリル酸の13週間吸入暴露によりみられた嗅上皮と呼吸上皮の扁平上皮化生は暴露期間を延長しても腫瘍への進展はみられなかった。(本試験は厚生労働省の委託により実施したGLP試験である)

P-19

N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN)でイネシエートされたラットにおいて磁性ナノ粒子マグネタイトの気管内スプレー投与が及ぼす影響

○多田 幸恵¹⁾、矢野 範男¹⁾、高橋 博¹⁾、湯澤 勝廣¹⁾、安藤 弘¹⁾、久保 喜一¹⁾、長澤 明道¹⁾、海銓 藤文¹⁾、北條 幹¹⁾、猪又 明子¹⁾、小縣 昭夫¹⁾、中江 大^{1,2)}

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

【背景・目的】磁性ナノ粒子マグネタイトは、化学的に安定で比較的大きな磁性を有することから、磁気記録媒体、磁性流体あるいは磁性トナーなど、様々な用途に広く利用される。しかしその安全性に関する情報は限られており、早急な安全性評価が求められる。我々は本学会において、マグネタイト気管内投与による急性及び慢性毒性、体内動態及び排泄について報告してきた。気管内反復投与によるマグネタイトの慢性毒性試験においては、肺で慢性炎症と共に肺胞上皮の過形成性変化を観察し、肺に対する発がん性を有する可能性が示唆された。マグネタイトの *in vitro* 試験において遺伝毒性が報告されていることから、その発がん性の評価は喫緊の課題である。本研究では、マグネタイトの肺発がんプロモータ活性の有無と背景機構を明らかにする目的で2段階肺発がんモデルを用いた検索を行った。

【方法】F344/DuCrIj ラットの雄100匹を6週齢で5群に分け、2群(I・II群)に細菌ろ過器を経由した水道水と基礎飼料(CE-2)を、残り3群(III・IV・V群)に0.1% DHPN水とCE-2を2週間自由に摂取させた。2週間の休薬期間後、10週齢でマグネタイトを0(I・III群)、5.0(II・IV群)及び1.0 mg/kg体重(V群)の投与用量、1 mL/kg体重の投与容量で、スプレー投与器(IA-1B, Penn-Century)を用いて気管内投与した。以後4週間毎に、同様に気管内投与を行い、DHPN投与開始から30週間後にインフルラン麻酔下で採血と殺し、血液・血清生化学的及び病理学的に検索する。

【結果】試験期間中の体重の推移は、対照群と比較しDHPN投与群で有意な低下が認められた。対照群(I群)とマグネタイト投与群(II群)、DHPN投与群(III群)とDHPN+マグネタイト投与群(IV・V群)間の比較では有意な差は認められなかった。本研究は抄録作成時点で動物実験がなお進行中である。学会においては、肺の病理学的検索結果を中心に報告する。

P-20

Quartz粒子単回気管内投与によるF344ラットの肺への影響

○中野 裕子¹⁾、横平 政直¹⁾、山川 けいこ¹⁾、岸 宗佑¹⁾、二宮 美美子¹⁾、蟹江 尚平¹⁾、竿尾 光祐^{1,2)}、今井田 克己¹⁾

¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾苫小牧市立病院

Quartz粒子の単回気管内投与により、ラットの肺に慢性炎症を誘発することや、Quartz粒子の長期的吸入曝露により、肺の腫瘍性病変や炎症が増加することも報告されている。しかし、単回の気管内投与による肺への影響を長期的に検討した報告は少ない。そこで今回、我々はQuartz粒子の単回気管内投与による影響として、肺での炎症反応と腫瘍性病変の発生の有無に着目して検討を行った。

8週齢の雄性F344ラットを用い、Group 1にはラット1匹あたり4 mg quartz/ 0.2 ml salineを、Group 2には対照群として0.2 ml salineを気管内投与した。その後、投与後1年でsacrificeを行い、肺、肝臓、腎臓を摘出し、臓器重量測定後、病理組織標本を作製し、病理形態学的に検討した。

その結果、体重、肺重量は2群間で有意差は見られなかったものの、Quartz投与群の相対肝重量は有意に減少し、相対腎重量は有意に増加していた。また、組織学的検討では、肺に強い炎症所見が観察された。そこで、この炎症所見の程度を相対的に比較検討できるように、次の7項目、すなわち気管支周囲のリンパ球浸潤、肺胞内または肺胞壁内の好中球浸潤、肺水腫、線維化、肺胞内への組織球浸潤、肉芽性変化についてスコアリング(0:ほとんどなし、1:軽度、2:中等度、3:高度)を行った。すると、Quartz投与群において、全ての項目で有意に高いスコアが得られ、特に気管支周囲のリンパ球浸潤と線維化が特に強かった。しかしながら、気管内投与後1年で、明らかな腫瘍性病変の発生は確認できなかった。

今回の実験結果より、Quartz粒子の単回気管内投与1年後の肺でも、慢性的な強い炎症像が持続していることが確認できた。また、腫瘍性病変の発生は確認できなかったが、強い炎症反応が持続していることから、現在、2年間での実験が進行中である。

P-21

マイクロミニブタの鼻腔の病理組織学的検査

○可徳 小四郎、川追 一史、小林 梓、押方 孝文、満石 三喜男、菅野 剛、浜村 政夫

三菱化学メディエンス株式会社 試験研究センター 病理研究部

【背景】動物愛護の観点から、ヨーロッパではイヌやサル代替動物としてミニブタが毒性試験に用いられている。しかし、日本ではミニブタやマイクロミニブタ (MMP) を用いた毒性試験は少なく、これらの背景データはほとんどないのが現状である。今後、日本においてこれらのブタの毒性試験を行なう上で、背景データの蓄積は重要である。

【目的】MMP の鼻腔に関する病理組織学的な背景データは見当たらない。そこで我々は、MMP の鼻腔の病理組織学的検査を行い、背景データ収集および標本作製の確立を行ったので報告する。

【材料と方法】2 から 17 カ月齢の MMP (n=6) の頭蓋部を採取し、10% リン酸緩衝ホルマリンで固定した。切歯、犬歯や臼歯を目印に鼻腔を横断(5断面)し、ギ酸ホルマリン液で脱灰後、定法に従い HE 染色標本を作製して鏡検した。

【結果】切歯部では、扁平上皮への炎症性細胞浸潤や痂皮が散見された。犬歯部では、移行上皮への炎症性細胞浸潤や腔内への炎症性細胞浸潤が散見された。また、鋤鼻器の炎症性細胞浸潤も認められた。前および後臼歯部では、呼吸および嗅上皮への炎症性細胞浸潤や腔内への炎症性細胞浸潤が認められ、篩骨甲介のリンパ濾胞の過形成も散見された。前臼歯部は、他の検査部位と比べ、炎症性細胞浸潤の発生頻度が最も高く、その多くが中鼻道に認められた。また、標本作製に関しては、歯の萌出の状況に個体差がみられたが、第1切歯、犬歯部、第4前臼歯および第1臼歯はすべての動物に認められたことから、これらの歯や犬歯部を目印に作製することによって、いずれの個体も同一の横断面を観察することが可能であった。

【結論】MMP の鼻腔では、粘膜上皮への炎症性細胞浸潤が高頻度に認められ、痂皮やリンパ濾胞の過形成も認められた。また、齧歯類やイヌと同様、MMP においても適切な部位を観察することで鼻腔の毒性評価は十分に可能であると考えられる。今後、さらに標本の追加作製および詳細な検討を加え、それらの結果を含め報告する予定である。

P-22

カニクイザルの肺にみられた血管病変を伴う褐色色素沈着

○井手 鉄哉¹⁾、中原 豊¹⁾、見鳥 光¹⁾、仲辻 俊二¹⁾、大石 裕司²⁾、松本 正博¹⁾

¹⁾アステラス製薬(株) 安全性研究所 毒性病理研究室、²⁾アステラス製薬(株) 安全性研究所

【背景】カニクイザルの肺における褐色色素貪食マクロファージの集簇(色素沈着)は、自然発生所見としてよく知られた病変の一つである。しかしながら、その色素の由来や成因について検討した報告は少なく、発生原因については不明な点が多い。

【材料と方法】2013年1月以降、弊社の毒性試験で使用されたカニクイザル44例(雌雄各22例)の諸臓器の病理組織学的検査において、肺に色素沈着が認められた症例に関して、その発生機序の手がかりを得るためにより詳細な検討を行った。

【結果】44例中4例の肺において軽度から高度の色素沈着が認められ(軽度2例、中等度1例、高度1例)、高度な例では肉眼的にも肺は褐色調を呈していた。いずれの症例も5歳2ヶ月~5ヶ月齢、性別は雄であった。組織学的に、色素の沈着部位は主として血管周囲であり、まれに肺胞腔内においても認められた。中等度~高度な例では色素は小~中型血管の周囲に多く、さらに、大型血管の周囲や肺胸膜下においても確認された。一方、軽度な例では小~中型血管の周囲でのみ観察された。いずれの例においても、動脈と静脈では沈着の程度に差はみられなかった。ベルリン青染色を実施したところ、色素は青染した。また、ビクトリア青染色にて血管の弾性板を確認したところ、4例ともに色素沈着が顕著な血管に弾性板の断裂や中膜平滑筋の傷害像が多く観察され、断裂は内弾性板よりも外弾性板に多い傾向が認められた。肺門部のリンパ節は肉眼的に著変がなく、病理組織学的にも一部のリンパ節の皮質において、限局性に同様の色素沈着が確認されるのみであった。なお、いずれの例においてもその他の臓器に色素沈着や出血などの関連病変は認められなかった。

【考察】肺の血管周囲を中心に認められた色素沈着はヘモジデリンを貪食したマクロファージの集簇であり、沈着が顕著な血管には弾性板の断裂や中膜平滑筋の傷害像が多く観察されたことから、色素沈着は血管傷害に伴う出血に起因すると考えられた。

P-23

モノクロタリン誘発ラット肺高血圧モデルにおける病態の進行とET-1発現の関連について

○美谷島 克宏、豊田 薫、柿本 恒知、安井 雄三、剣持 佑介、中村 明子、谷合 枝里子、横山 英明、
領家 克典、高橋 明美、正田 俊之、菅井 象一郎

日本たばこ産業(株) 医薬総合研究 安全性研究所

【背景・目的】エンドセリン-1 (ET-1) は、強力で持続的な血管収縮作用を有する物質であり、広く体内に発現する。肺組織での濃度が最も高く、強力な血管収縮作用と平滑筋の分裂促進作用を有することが知られている。肺動脈性肺高血圧症 (PAH) では、血漿中や肺組織で ET-1 の発現及び産生が亢進し、その程度と肺高血圧の重症度は相関すると報告されている。そこで我々は、モノクロタリン (MCT) 誘発ラット肺高血圧モデルを用いて病態の推移を病理組織学的に検索するとともに ET-1 の発現について検証した。

【材料・方法】6週齢の Crl:CD(SD) ラットに溶解した MCT を 60 mg/kg の用量で単回皮下投与し 2 及び 4 週間後に解剖し、肺の組織評価を行った。対照群には生理食塩水を皮下投与し同様に評価した。組織評価には HE, エラスティカワンギーソン, シリウスレッド等の特殊染色標本, ET-1 等の免疫組織化学染色標本を用いた。さらに、剖検時に採取した血漿を用いて ET-1 濃度を測定した。

【結果・考察】MCT 投与群の肺では、動脈壁の肥厚 (中膜の肥厚) と周囲組織の線維化を伴う肺炎病巣が認められ、病変は投与 4 週間後処置群でより顕著であった。ET-1 は、対照群を含め血管平滑筋、血管内皮及び一部の気管支上皮で陽性を示し、MCT 投与群ではさらに肺炎病変内の肺胞上皮ないし肺胞内マクロファージにおいても陽性を示した。血漿中 ET-1 濃度は、対照群に対し MCT 投与群で明らかに増加し、投与 2 週間後処置群に比較し 4 週間後処置群でより高値を示した。以上の結果から、MCT 誘発肺高血圧モデルにおいて動脈壁の肥厚及び肺炎病変の進行と ET-1 の発現は関連していることが示唆された。

P-24

日本における実験用カニクイザルのマラリア症について

○太田 恵津子¹⁾、永山 裕子¹⁾、猪又 晃¹⁾、後藤 彩¹⁾、関 由妃¹⁾、武田 賢和¹⁾、中野(伊藤) 今日子¹⁾、
早川 和宏²⁾、園田 二郎¹⁾、細川 暁¹⁾、築館 一男¹⁾

¹⁾エーザイ株式会社 筑波安全性研究部、²⁾株式会社 サンプラネット 安全性研究事業部

【背景・目的】マラリア症の原因である *Plasmodium spp* の原虫は人のみならずサル類を含む種々の動物に感染する。近年、米国において実験用サルでの免疫抑制等に伴うマラリア再燃の報告があったが、日本における実験用サルの *Plasmodium* 感染状況に関する報告は少ない。今回、我々は毒性試験に用いたカニクイザルでマラリアの発症を経験したので、その詳細について報告する。また、実験用カニクイザルにおける *Plasmodium* 感染状況を脾臓のマラリア色素 (ヘモゾイン) 沈着の有無を指として調査したので報告する。

【症例】中国産カニクイザルを用いた 13 週間毒性試験の高用量群の 1 例で可視粘膜蒼白、自発運動低下および重度の貧血 (RBC: $0.89 \times 10^6 / \mu\text{L}$, Ht: 9%) が認められた。血液塗抹標本で赤血球の菲薄化および赤血球内に *Plasmodium* 虫体が観察されたことからマラリア症と診断された。剖検時、脾臓および肝臓は著明に肥大し、黒色調を呈した。組織学的には脾臓のうっ血および赤脾髄のマクロファージや肝クッパー細胞にヘモゾイン沈着が見られた。

【*Plasmodium* 感染状況】過去 11 年間に毒性試験で使用したカンボジア、中国、インドネシア、ベトナム産の実験用カニクイザル (2-6 歳, 計 770 匹,) の脾臓 (10% 中性ホルマリン固定, パラフィン切片, H&E 染色) を通常光および偏光下で観察し、ヘモゾイン沈着の有無を精査した。その結果、約 50% の個体でヘモゾイン沈着が認められた。地域別に見ると、インドネシア産が約 80% で最も高く、カンボジア、中国、ベトナム産はいずれも約 40% であった。

【結論】今回の検討により、近年日本に輸入された実験用カニクイザルにおいても高頻度に *Plasmodium* が感染していることが示唆された。毒性試験においては被験物質の投与によって再燃する可能性があることから、輸入カニクイザルにおける *Plasmodium* 感染の可能性を十分に認識しておくことが重要であると考えられた。

P-25

ウサギの脾臓に認められた好酸性物質に関する病理組織学的検索

○小林 梓、川迫 一史、押方 孝文、可徳 小四郎、満石 三喜男、菅野 剛、浜村 政夫

三菱化学メディエンス株式会社 試験研究センター 病理研究部

【背景】正常なウサギの脾臓において好酸性物質が沈着することは知られているが、これまで本病変に関する詳細な報告はない。今回、この好酸性物質の組織学的性状および本病変の発現頻度を明らかにすることを目的として、病理組織学的ならびに超微形態学的に検索を行った。

【材料と方法】無処置のニュージーランドホワイト種ウサギ雌雄各15例（5-6ヶ月齢）の脾臓の10%リン酸緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋切片を用いて、HE、渡辺鍍銀、PAS、コンゴ赤、PAM、PTAHおよびMT染色を実施し、病理組織学的検索を行った。また、抗ヒトアルブミンおよび抗ウサギIgG抗体を用いた免疫組織化学的染色、ならびに透過型電子顕微鏡を用いた超微形態学的検索も実施した。

【結果】脾臓における好酸性物質の沈着は、脾頭から脾尾にわたる脾臓全体に多巣性にみられ、分布に偏りはみられなかった。また、発現例数は雄で7例(7/15)、雌で全例(15/15)であった。組織学的に、好酸性物質は、均質無構造でガラス様の外観を呈し、主にリンパ濾胞辺縁部または中心部の細胞間に沈着していた。また、PAS染色陽性、コンゴ赤およびPAM染色陰性で、PTAH染色で濃青色、MT染色で赤色を呈し、鍍銀染色では好銀線維との連続性は認められなかった。免疫染色では、抗アルブミンおよび抗IgG抗体に陰性であった。電顕的には、中等度の電子密度からなる均質な物質で、細線維構造は明らかでなかった。

【考察】今回、ウサギの脾臓の濾胞において、好酸性均質無構造物の沈着が自然発生性に高頻度に認められた。この好酸性物質は、組織学的または超微形態的にアミロイドやフィブリノイドの様な特徴的な染色態度や微細構造を呈するものではなかったこと、組織学的にガラス様の外観を呈していたことから、いわゆるヒアリンに相当するものと判断した。また、その発現頻度に雌雄差が認められたことから、本病変の発生には性差に起因した何らかの作用が関与するものと考えられる。

P-26

耳下腺原発DLBCLの治療中にMYD88遺伝子のL265P変異を生じた一症例

○藤石 琴、永井 由紗、北澤 理子、北澤 莊平

愛媛大学大学院 医学系研究科 分子病理学講座

【背景】びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma, NOS)は、ヘテロな集団を包括した疾患単位である。包括的なmRNA発現解析により、DLBCLはgerminal center B-cell-like (GCB)型とnon-GCB型に2大別される。一方、MYD88はNF κ B経路を活性化するアダプター蛋白であり、non-GCB型の中で、特にactivated B-cell-like (ABC)型でミスセンス変異(c.794T>C, p.L265P)が病初期より認められることが報告されている。今回私どもは、DLBCLの治療経過中に新たにMYD88のミスセンス変異が加わった症例を経験したので、分子病理学的な検討を加え報告する。

【症例】60代後半男性。9年前に耳下腺原発のリンパ腫と診断され、放射線・化学療法を受けた。経過中にB型肝炎の急性増悪を認め、ラミブジン(核酸アナログ逆転写酵素阻害剤)の投与を受けた。9年後にリンパ腫の再発により死亡した。病理解剖にて全身諸臓器に浸潤するDLBCLが確認された。剖検時と9年前の組織切片を用いて、比較検討した。

【結果】免疫グロブリンの超可変領域より、剖検時の腫瘍は9年前の腫瘍の再発であることが確認された。剖検時の腫瘍細胞はCD10(-), BCL6(+), MUM1(+)であり、遺伝子解析でMYD88遺伝子のミスセンス変異(c.794T>C, p.L265P)が認められた。一方、9年前の組織からは同部位の変異は検出されなかった。

【結論】剖検時のMYD88遺伝子の変異は、9年の経過中に顕在化あるいは新たに加わったと考えられる。このようなTからCへのDNA変異はB型肝炎そのものやサイミジンアナログ製剤が関与するという報告があり、本症例でもB型肝炎の背景そのもの、肝炎治療薬のラミブジンが、MYD88遺伝子の変異に関与した可能性があるかと推測する。

P-27

Sprague-Dawleyラットにみられた自然発生Atriocaval Mesotheliomaの1例

○中村 隆一、高田 志織、西村 友成、落合 忍仁、小笠原 裕之

アスピオファーマ(株) 代謝安全性ファカルティ

【目的】げっ歯類における心臓の腫瘍は稀であり、心臓原発の mesothelioma の報告例は少ない。我々は Atriocaval mesothelioma と考えられる自然発生腫瘍を有する Sprague-Dawley ラットの 1 例を認めたので、本症例の組織学的及び免疫組織化学的特徴について報告する。

【方法】当該ラットは背景データ採取のために無処置で飼育された 85 週齢の雄性 Crl:CD(SD) ラットで、死亡発見後に剖検された。一般状態では、死亡日に活動減少及び皮温低下がみられたが、体重推移を含め、その他に異常はみられなかった。剖検時にみられた右心耳の結節について、H&E 染色、アルシアンブルー (pH2.5)-PAS 重染色及び免疫組織化学的染色を実施した。

【結果】剖検では、心臓の右心耳に淡桃色結節(1×1×1 cm)、血性胸水(約 25 mL)及び赤褐色透明腹水(約 8 mL)が観察された。組織学的検査では、右心耳の結節に大小の腺管構造を形成して増殖する細胞領域が心筋を置換するようにみられた。腺管構造を形成する細胞は、立方状～円柱状を呈し、明瞭な 1 個の核小体を有するクロマチンに乏しい楕円形核と、淡好塩基性の細胞質を有していた。管腔には細胞残渣や赤血球を容れ、アルシアンブルー (pH2.5)-PAS 重染色で赤紫色に染色される分泌物も認められた。免疫組織化学的検討では、増殖細胞は cytokeratin に陽性、vimentin, desmin, S-100 及び CD34 に陰性を示し、中皮マーカーである mesothelin にも陰性を示した。増殖部位では壊死像や核分裂像が散見され、正常な心筋線維との境界は不明瞭であった。また、右心房内腔には腫瘍組織に接するように器質化した大型の血栓が認められた。

【考察】本症例は、右心耳に発生した cytokeratin 陽性の腺管構造を特徴とする自然発生腫瘍で、atriocaval mesothelioma と診断した。本症例の超微形態学的特徴と一般的な中皮腫との比較も併せて報告する。

P-28

ラットにおけるコルヒチンの心毒性に関する病態解析

○柄内 亮太¹⁾、鈴木 勝也¹⁾、永田 百合子¹⁾、安藤 稔¹⁾、畑 千恵¹⁾、鈴木 倫¹⁾、内田 和美¹⁾、角 将一¹⁾、金子 公幸¹⁾、桑原 正貴²⁾

¹⁾(株)ヤクルト本社 中央研究所 安全性研究部、²⁾東京大学大学院 農学生命科学研究科 比較病態生理学教室

【緒言】微小管重合阻害薬であるコルヒチン (COL) は、中毒作用として心筋傷害、心臓における刺激生成異常あるいは伝導異常を誘発する可能性が指摘されているが、詳細は不明である。このような背景の下、我々はラットに COL を投与した際に生じる心筋細胞の病理組織学的変化について報告してきた。今回、COL でラットに誘発される心毒性を心電学的、病理組織学的および血液化学的手法を用いて解析した。

【方法】5 週齢の雄性 Crl:CD(SD) ラットの背部皮下に心電図計測用テレメトリー送信機を埋入し、1 週間の回復期間を経た後に心尖-心底誘導の心電図を測定した。測定期間中に COL 1.25/mg/kg を 1 回/日、2 日間連続で尾静脈内に投与し、心電図解析および心拍変動解析を実施した。また、6 週齢の雄性 Crl:CD(SD) ラットに COL 1.25/mg/kg あるいは 5% グルコース水溶液を 1 回/日、2 日間連続で尾静脈内に投与した。投与終了翌日に心臓および血液を採取し、病理組織学的検査および血液化学的検査を実施した。

【結果】心電図波形解析の結果、RR 間隔、QRS 持続時間、PR 間隔および QT 間隔の延長が認められた。心拍変動解析の結果、副交感神経の活動指標である HF 成分の増加が認められた。病理組織学的検査の結果、COL の投与群において心筋細胞の好酸性顆粒状の変性および細胞質の空胞化、血管内皮細胞であると考えられる間質細胞および心内膜の内皮細胞における cleaved caspase-3 陽性細胞数の増加、核濃縮、核崩壊および分裂像が認められた。血液化学的検査の結果、COL 投与群において AST、LDH 1、LDH 2 および CK-MB の高値、cTnT 陽性および Ca の低値が認められた。

【考察】COL をラットに投与することによって、心筋細胞および間質細胞の形態変化に加え、刺激生成および伝導に変化が生じることが示唆された。RR 間隔および QT 間隔の延長には副交感神経系の亢進が関与している可能性が考えられた。一方、PR 間隔の延長は HF 成分の増加に先立って認められたことから、副交感神経系以外にも房室伝導障害の要因が存在することが推察された。

P-29

アロキサン誘発糖尿病ラットの胃腸扁平上皮癌におけるがん抑制遺伝子のメチル化とタンパク発現解析

○寺山 由依、佐野 智弥、松浦 哲郎、奈良間 功、尾崎 清和

摂南大学 薬学部 病理学研究室

【背景】非遺伝毒性物質であるアロキサンにより糖尿病を誘発したラットの舌、食道および前胃では、*Candida albicans* 感染を伴った慢性炎症と扁平上皮増殖性病変が形成され、その一部は前胃扁平上皮癌に進展することを我々は明らかにしてきた。今回、癌化に伴うエピジェネティックな遺伝子変化を調べるために、がん抑制遺伝子のメチル化状態およびタンパク発現について検討した。

【方法】アロキサン誘発糖尿病WBN/Kob ラットの胃腸から、1) 正常扁平上皮、2) 扁平上皮の過形成、3) 癌に連続する過形成ならびに4) 癌の4部位をレーザーマイクロダイセクション法により切り出した。過去に報告されている6種類の癌抑制遺伝子のメチル化状態およびタンパク発現をMSP法および免疫染色にて解析した。

【結果】p16のメチル化は、正常および過形成で0%、癌に連続する過形成で33%、癌で83%であった。タンパク発現は、基底部の核は陽性となり、過形成から癌で進行に伴って陽性率、強度ともに増強した。RAR-β2のメチル化は、正常で0%、過形成で27%、癌に連続する過形成で83%であったが、癌では0%に激減した。タンパク発現は、正常では核および細胞質が弱陽性で、過形成では強度を増し、特に核膜および核周囲の細胞質が強陽性となった。癌に連続する過形成および癌では核の強度がさらに増加したが、細胞質では低下した。RASSF1A、p15、DAPK1およびSOCS-3はいずれの段階でもメチル化されていなかった。

【結論】扁平上皮癌の発癌過程で、p16タンパクは過剰発現するが、DNAメチル化も進行することが明らかとなった。また、RAR-β2のDNAメチル化は、前癌段階まで進行するが、癌化に伴って消失し、タンパクは癌化に伴って強陽性部位が細胞質から核内に変化することを見いだした。以上から、扁平上皮癌では、この2つのがん抑制遺伝子のメチル化によりタンパク発現が抑制されないことが解った。

P-30

Benzo[a]pyrene (BP)とDextran sulfate sodium (DSS)を用いたマウス大腸発がんモデルの研究:大腸腫瘍発生に及ぼすBP-DSS投与間隔の影響

○関 由妃¹⁾、園田 二郎¹⁾、羽倉 昌志¹⁾、小山 直己¹⁾、後藤 彩¹⁾、武田 賢和¹⁾、太田 恵津子¹⁾、中野(伊藤) 今日子¹⁾、猪又 晃¹⁾、早川 和宏²⁾、細川 暁¹⁾、築館 一男¹⁾¹⁾エーザイ(株)筑波安全性研究所、²⁾株式会社サンプラネット安全性研究事業部

【背景と目的】我々はこれまで、BPを投与した1週間後にDSS処理することにより、大腸に短期間で高率に腫瘍が発現することを報告してきた(BP/DSSマウス大腸発がんモデル)。今回、本モデルを用いて、BP投与後からDSS処理までの期間を延長することによる腫瘍発生に及ぼす影響を調べたので報告する。

【材料と方法】6週齢のCD2F₁雄マウスにBP125 mg/kgを5日間経口投与後、1, 5, 11, 17週後に4% DSSの7日間飲水投与を1回実施した。さらに、BP投与後17週後にDSSの7日間飲水投与を2回(1回目:5%, 2回目:6%)実施した群を設定した。DSS投与終了から4週後に剖検、大腸を採材し病理組織学的検索を行った。

【結果と考察】投与間隔1週間の群では、DSS投与終了前後に顕著な体重減少、血便、軟便がみられ、腺癌(7/8例)、腺腫(8/8例)が認められた。5週間以上の群では、DSSによる症状は軽減し、腺癌は認められず、腺腫の発生頻度も減少(5W:6/8例, 11W:4/8例, 17W:4/8例)した。一方、投与間隔17週間で高濃度DSSを2回処理した群では、投与間隔1週間の群と同等の症状と腺癌(2/5例)及び腺腫(5/5例)が認められた。本モデルにおいて、BP-DSS投与間隔を延長しても腫瘍発生が認められた。BPは、非発がん標的臓器である大腸に高頻度の遺伝子変異を誘発し、その変異は長期間保持されることが知られている。一方、DSS単独では大腸腫瘍が生じないことから、本試験における大腸腫瘍の発生にはBPにより大腸に誘発され長期保持される変異の関与が示唆された。BP-DSS投与間隔の延長すなわち加齢に伴い、一般症状及び腫瘍発生が弱減がみられたが、高濃度DSS2回処理により一般症状及び腫瘍発生ともに増強したことから、DSSの大腸粘膜への影響(壊死、炎症等)が週齢に伴い減少したためと考えられた。また、DSSによる大腸への影響が本モデルの腫瘍発生に深く関与することが示唆された。

P-31

マウス炎症関連大腸発がんモデルにおけるAlkanninの修飾作用

○杉江 茂幸、田中 卓二

朝日大学 歯学部 村上記念病院 病理

Alkannin は、シコニンの光学異性体で、古来、和漢薬や染料に用いられてきた紫根、むらさきやフランス南部で自生するルリジサから抽出される天然色素である。現在も漢方、食品添加物や化粧品に使われる。オーストラリアでは食品用の赤茶色の着色料として使用されている。アルカンニンには抗酸化性と、抗菌性を有するほか、抗癌剤、抗血栓剤としての効果も知られている。今回、炎症関連マウス大腸発癌モデルを用いて、alkannin について検討したので報告する。6週齢雄ICRマウスを7群に分け、第1～4群に azoxymethane (AOM)10 mg/kg 体重を単回腹腔内投与し、第1～3, 5群に1週間後より1週間1.5%DSSを飲水投与した。Dextran sodium sulfate (DSS) 飲水投与終了1週間後より、第2群に50 ppm alkannin、第3, 6群に5 ppm alkannin を混餌投与し、実験開始20週後に実験終了した。腺腫、腺癌、全腫瘍の腫瘍発生個体数は、各々 AOM/DSS 処置群(陽性対照群): 60%、28%、64%、AOM/DSS + 50 ppm alkannin 処置群: 40%、20%、40%、AOM/DSS + 5 ppm alkannin 処置群: 30%、40%、40%であった。腺腫、腺癌、全腫瘍の腫瘍平均個体数は、各々 AOM/DSS 処置群(陽性対照群): 1.20 ± 1.41 、 0.72 ± 1.49 、 1.92 ± 2.48 、AOM/DSS + 50 ppm alkannin 処置群: 0.60 ± 0.97 、 0.40 ± 0.97 、 1.00 ± 1.89 、AOM/DSS + 5 ppm alkannin 処置群: 0.50 ± 0.97 、 0.50 ± 0.71 、 1.00 ± 1.41 であった。AOM/DSS + 50 ppm alkannin 投与群の腺癌、全腫瘍の腫瘍発生個体数、平均腫瘍数、5 ppm alkannin 投与群の全腫瘍の腫瘍発生個体数、平均腫瘍数に低下傾向を認めた。Alkannin は、炎症関連大腸発癌モデルにおける大腸発癌を低下させることが示唆された。

P-32

臭素酸カリウム誘発マウス小腸発がんに対するNRF2の関与

○横尾 諭、木島 綾希、高須 伸二、石井 雄二、小川 久美子、梅村 隆志

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【目的】臭素酸カリウム(KBrO_3)は、標的臓器DNA中の8-hydroxydeoxyguanosin (8-OHdG) レベルを上昇させることから、その発がん機序に酸化的DNA損傷の関与の可能性が示唆されている。事実、8-OHdG 修復酵素の一つ、MYHの欠損マウスでは、 KBrO_3 の投与により小腸に腺腫及び腺癌が高率に発生することが報告されている。そこで本研究では、 KBrO_3 が誘発するマウス小腸発がんに対する、抗酸化酵素群の転写因子であるNRF2の関与について、非発がん標的の腎臓と共に検討した。

【方法】雌6週齢のICR系Nrf2ホモ欠損マウス(Nrf2^{-/-})とその野生型マウス各群20～27匹に0、750、1500 ppmの濃度で KBrO_3 を13及び52週間飲水投与した。13週間の投与終了後、小腸ならびに腎臓よりDNAを抽出し、8-OHdG量をHPLC-ECDにより測定した。また、52週間の投与終了後、小腸ならびに腎臓の病理組織学的検査を実施した。

【結果】腎臓の8-OHdG量測定の結果、野生型では750及び1500 ppmで対照群に比して用量依存的に有意な高値が認められた。Nrf2^{-/-}でも同様に用量依存的な上昇が認められ、1500 ppmで対照群に比して有意な高値となった。病理組織学的検査の結果、腎臓では、野生型の1500 ppmで腺腫が1/20例に認められたが、Nrf2^{-/-}で変化は認められなかった。小腸では、Nrf2^{-/-}の対照群で小腸粘膜の異形成(4/21例)、750 ppmで異形成及び腺腫(3/21例及び1/21例)、1500 ppmではこれらに加えて腺癌(異形成: 1/23例、腺腫: 3/23例、腺癌: 1/23例)が認められ、腺腫の発現頻度はいずれも対照群に比して有意に高かった。一方、野生型ではいずれの用量においても変化は認められなかった。

【考察】 KBrO_3 はNrf2^{-/-}の小腸に腫瘍を誘発したが野生型では変化は認められず、 KBrO_3 による小腸発がんに対して、NRF2が予防的に関与している可能性が考えられた。一方、非発がん標的臓器の腎臓においては酸化的DNA損傷が用量依存的に増加したが、腫瘍の発生は認められなかった。今後、小腸粘膜の8-OHdG定量結果を加えて、考察する予定である。

P-33

F344及びコンジェニックF.Z-*lepr*^{fa/fa}ラットのアゾキシメタン誘発下部消化管発がんにおける20%カロリー制限の効果

○梅本 ひとみ、泉 啓介

徳島大・院 ヘルスバイオサイエンス研究部 環境病理学分野

【目的】肥満及び糖尿病はヒトがんの重要な危険因子と考えられている。F.Z-*lepr*^{fa/fa} ラットは Zucker 肥満ラットのレプチン受容体遺伝子を含む領域を F344 ラットに導入したコンジェニック系統である。F344 及び F.Z-*lepr*^{fa/fa} ラットを用いてアゾキシメタン(AOM)誘発下部消化管発がんにおける 20% カロリー制限(CR)の効果を検索した。

【方法】実験1:6週齢の雄F344ラット(n=18)及びF.Z-*lepr*^{fa/fa}ラット(n=14)にアゾキシメタン(15 mg/kg 体重)を3週間(週1回)皮下注射し、その後基礎食(自由摂取)もしくは20% CR食を36週齢まで与え、安楽死させた。実験2:15週齢の雄F344ラット(n=9)及びF.Z-*lepr*^{fa/fa}ラット(n=6)に基礎食もしくは20% CR食を20週齢まで与え、安楽死させた。

【結果】実験1:対照群、20% CR群の大腸癌の頻度はF344ラットでそれぞれ61%、41%、F.Z-*lepr*^{fa/fa}ラットでそれぞれ86%、71%であった(有意差なし)。一方、一匹当たり的大腸腫瘍の個数はF.Z-*lepr*^{fa/fa}ラットで20% CRによって有意に減少した(P<0.01)。20% CR群で血糖値、中性脂肪、インスリンの減少、総蛋白、アルブミン、遊離脂肪酸、AST、ALTの上昇が特にF.Z-*lepr*^{fa/fa}ラットで顕著であった。両系統ともレプチン値は20% CR食で変化しなかった。実験2:血清検査の傾向は実験1と類似していた。

【結論】20% CRによる発がん抑制効果は肥満・糖尿病を有するF.Z-*lepr*^{fa/fa}ラットでより顕著であった。20% CRによる発がん抑制に高血糖、高インスリン血症、高脂血症の改善が役割を果たしていると考えられた。

P-34

NMBA誘発ラット食道がんに対するMTBITCの化学予防作用の検討○鈴木 勇^{1,2)}、Young-Man Cho¹⁾、豊田 武士¹⁾、赤木 純一¹⁾、西川 秋佳²⁾、小川 久美子¹⁾¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター

【目的】アブラナ科の野菜に含まれるイソチオシアネート類は、発がん抑制作用が期待され、これまでに実験動物において様々な検討が為されている。一方、4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (MTBITC)は、本邦で多く摂取されている野菜の一つである大根に含まれるイソチオシアネートとして単離され、我々はハムスター膀胱がん抑制作用を示してきたが、他臓器への影響については十分に検討されていない。そこで今回、N-nitrosomethylbenzylamine (NMBA)誘発ラット食道がんに対するMTBITCの抑制作用の有無について検討を行った。

【材料と方法】NMBA誘発ラット食道がんに対するMTBITCの抑制効果を検討するため、6週齢の雄F344ラット(一群15匹)にNMBA(0.5 mg/kg body weight、週三回皮下投与、五週間)にてイニシエーション処置(1-4群)または媒体のDMSO投与を行った(5群)。イニシエーション期における影響を検討するため、NMBA投与一週間前から、MTBITCを80 ppmの用量で7週間混餌投与し、その後は基礎食にて飼育した(1群)。プロモーション期の影響を検討する群では、NMBA投与終了1週後から19週間、MTBITCを混餌投与した(2群)。その他、MTBITC混餌投与を全期間行う群(3群)、NMBA単独投与群(4群)、媒体対照群(5群)を設けた。試験期間はNMBAにて食道発がんが観察される25週間とした。試験期間終了後、安楽殺・剖検を行い、標的臓器の食道に加えて前胃、舌、肝臓および腎臓を採取した。食道に関しては、腫瘍のカウントを行った。

【結果】一般状態、体重、摂餌量に各群間で差は観察されなかった。食道の腫瘍形成の頻度は、87% (1群)、80% (2群)、80% (3群)、100% (4群)、0% (5群)であった。個体あたりの腫瘍発生数は、4群で4.53±1.77であったのに対して、1群で1.67±0.98、2群で1.73±1.10、3群で2.07±1.44と、いずれも有意に減少していた。今後、病理組織学的検索結果などを加えて報告する。

P-35

コーヒーおよびその成分によるAOM + DSS誘発マウス大腸発癌抑制効果

○塚本 徹哉¹⁾、桐山 諭和¹⁾、田中 卓二²⁾¹⁾藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科、²⁾東海細胞研究所

【背景】大腸癌は肺癌、胃癌について高い死亡率を示しており、その予防は喫緊の課題である。疫学的に、コーヒーによる大腸発癌予防効果に関していくつかの報告がなされている。コーヒーには多彩な成分が含まれており、抽出法によってもその成分が異なる。インスタントコーヒーを含めどのような抽出法でも chlorogenic acid 等の抗酸化物質が含まれているが、一方で、コーヒーオイルの成分である cafestol などはフレンチプレスコーヒーに多く含有されるが、これらの物質の効果には多くの不明な点が残されている。

【材料と方法】 azoxymethane (AOM)+ dextran sulfate sodium (DSS) 誘発大腸発癌に対するコーヒーおよびその主要な成分による抑制効果を検討した。C57BL/6J オスマウスに 10mg/kg 体重の AOM を腹腔内投与し、2% DSS を 5日間飲水投与した。その後、A 群 (対照群)、B 群 (インスタントコーヒー飲水投与)、C 群 (フレンチプレスコーヒー飲水投与)、D 群 (2500 ppm chlorogenic acid 混餌投与)、E 群 (72 ppm cafestol 混餌投与) の 5 群に分け、実験第 8 週および 12 週で屠殺した。

【結果】第 8 週では、A 群と比較して B-E 群いずれも 1 匹当たりの腫瘍発生個数が有意に減少した ($P < 0.05$)。C 群では腫瘍体積の有意な減少が観察された ($P < 0.05$)。大腸粘膜の real time RT-PCR では、A 群に比して E 群で TNF- α 、COX2、iNOS、IL-17A、FoxP3 の、C 群では FoxP3 の mRNA 発現量が有意に減少し ($P < 0.05$)、Th-17、Treg 経路の関与が示唆された。第 12 週では、腫瘍発生個数、腫瘍体積、炎症性サイトカインの発現量に有意な差は見られなかった。

【結論】本実験系の早期には、フレンチプレスコーヒーと cafestol が炎症の制御と大腸発癌抑制に有効である可能性が示唆された。

P-36

KADラットの4-NQO誘発舌発癌感受性

○田中 卓二^{1,2)}、杉江 茂幸³⁾、久野 壽也⁴⁾¹⁾東海細胞研究所、²⁾岐阜大学大学院 医学系研究科 腫瘍病理、³⁾朝日大学 歯学部附属 村上記念病院 病理診断科、⁴⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理

【背景】炎症が発癌に係ることは諸臓器で知られるが、口腔発癌での報告は乏しい。我々は、Apc 変異ラットの Kyoto Apc Delta (KAD) ラットは 炎症関連大腸発癌に高感受性 (Cancer Sci, 2009) であり、炎症性腸疾患の発症機構解析 (Am J Pathol, 2013) や大腸癌に対する抗癌剤スクリーニング (BMC Cancer, 2012) に有用であることを報告してきた。

【目的】本研究では、KAD ラットの 4-NQO 誘発舌発癌の感受性と炎症の口腔 (舌) 発癌への係りを解析する目的で動物実験を実施した。

【方法】29匹の KAD ラットと F344 ラット (いずれも雄 14、雌 15) に 4-NQO を 8 週間飲水投与 (20 ppm) 後、12 週間蒸留水を投与した。実験開始後 20 週で舌病変の病理組織学的・免疫組織化学的解析と 4-NQO 投与ラット (n=5) 舌における炎症性サイトカインの mRNA 発現解析を行った。

【結果】4-NQO 投与 KAD ラット、F344 ラットにのみ舌扁平上皮癌が発生し、その発生頻度 (発生個数/ラット) は、雄性 KAD ラット 86% (1.93 ± 0.92)、雌性 KAD ラット 85% (2.69 ± 1.49)、雄性 F344 ラット 57% (1.07 ± 1.21)、雌性 F344 ラット 67% (1.33 ± 1.29) であり、雌雄とも F344 に比べ KAD ラットで発生頻度が高かった。雌性 KAD ラットの舌扁平上皮癌発生個数 (/ラット) は雄性 KAD ラット ($p < 0.01$)、雌性 F344 ラット ($p < 0.05$) に比し有意に高値であった。また、炎症性細胞浸潤の程度や炎症性サイトカインの発現は概ね、雌性 KAD ラット > 雄性 KAD ラット > 雌性 F344 ラット > 雄性 F344 ラットであった。

【結論】今回の結果から、KAD ラット、特に雌性 KAD ラットは F344 ラットに比し 4-NQO 誘発舌発癌に高感受性であることと 4-NQO 投与後の炎症反応の舌発癌への関与が示唆された。(京都大学・庫本高志博士との共同研究)

P-37

Alloxan糖尿病ラットにおける唾液腺機能障害と齶蝕発生の関連性について

○西本 大輝¹⁾、兒玉 安史¹⁾、松浦 哲郎²⁾、尾崎 清和²⁾、谷口 良彦¹⁾¹⁾広島国際大学大学院 薬学研究科 病態薬物治療学教室、²⁾摂南大学 薬学部 病理学研究室

【背景・目的】最近の我々の糖尿病モデル動物研究から、糖尿病は齶蝕の誘発・増強因子であることが明らかとなっている。また、臨床研究から糖尿病患者には唾液分泌障害が潜在することが明確であり、糖尿病動物における齶蝕進行は食渣や齶蝕菌の洗浄作用を有する唾液腺の機能障害と関連している可能性は大きいと考えられる。しかし、糖尿病性の齶蝕と唾液腺の関連性についてはほとんど知られていない。本研究では齶蝕が進行する Alloxan 糖尿病ラットを用い、糖尿病が唾液腺に与える影響とともに、齶蝕発生との関連性についても検討した。

【方法】7週齢の雄Wistar ラットに Alloxan を投与し、尿糖を示した個体を Alx-DM 群(n=13)、示さなかった個体を Alx-Non DM 群(n=3)、Saline を投与した個体を Non DM 群(n=10) に各々振り分けた。Pilocarpine を用いた唾液分泌量の測定を、Alloxan 投与直前および投与後1,3,7週に行った。投与後7週に剖検を行い、齶蝕の評価および唾液腺の病理組織学的解析を行った。

【結果】Alx-DM 群の唾液分泌量は他群と比較して有意に減少し、糖尿病期間に依存してその差は広がる傾向を示した。投与後7週の平均唾液分泌量は、Alx-DM、Alx-Non DM、Non DM 群でそれぞれ 0.5 mL、1.1 mL、1.3 mL であった。組織学的解析では、Alx-DM 群の耳下腺(PG) および舌漿液腺(VEG) の腺房細胞には Oil red O 陽性の高度の空胞化(平均スコア PG:3.2, VEG:3.9) が認められ、Alx-Non DM 群(PG:0.8, VEG:0.8) および Non DM 群(PG:0.8, VEG:0.8) と比較して有意な高値を示した。さらに、Alx-Non DM 群および Non DM 群では全ての個体が正常臼歯を有していたが、Alx-DM 群では全ての個体の臼歯に齶蝕が検出された。

【結論】Alloxan 糖尿病ラットでは、唾液分泌量は糖尿病の進行に伴い顕著に減少し、耳下腺及び舌漿液腺の腺房細胞に脂質蓄積による空胞化が観察された。以上の事実から、糖尿病ラットでは持続的な高血糖状態により、形態変化を伴う唾液腺の機能障害が生じ、これが齶蝕を進行させる主要因の一つであることが示唆された。

P-38

Azoxymethane投与により発生したラットの十二指腸腫瘍の由来細胞の検討

○菊地原 陽¹⁾、恩田 伸彦²⁾、加藤 瑞穂¹⁾、木村 真之¹⁾、村上 智亮³⁾、鈴木 和彦³⁾、吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾オリンパス(株)、³⁾東京農工大学 獣医毒理学研究室

【はじめに】ラットに大腸腫瘍を誘発する azoxymethane (AOM) の投与によって、しばしば小腸にも腫瘍が発生することが知られている。ヒトでは、小腸腫瘍は大腸腫瘍に比べ、発生頻度がかなり低く、その中で、ファーター膨大部腫瘍は、組織発生が複数知られる。本研究では、AOM 投与ラットの十二指腸に発生した腫瘍の24例について、同じく AOM 投与により誘発された大腸腫瘍の10例を比較対照として病理組織学的に組織発生を検討した。

【方法】雄の27匹のF344ラットに、6週齢時にAOM (15 mg/kg) を週に1回、計3回皮下投与し、30週から50週後に剖検した。多くの症例で小腸および大腸に腫瘍の発生を認め、小腸腫瘍の発生頻度は55.6%で、平均個数は0.89個であった。小腸の腫瘍は全て十二指腸に認められた。

【結果】腫瘍は病理組織学的に、腺管腺癌であり、乳頭状に増殖する部分も認められた。また、種々の程度に杯細胞へ分化を認めた。PAS-Alcian Blue 染色の結果、腫瘍細胞中の粘液は大腸腫瘍と同様に、PAS および Alcian Blue 双方に陽性を示した。免疫染色の結果、十二指腸腫瘍は全例、Cytokeratin (CK)7 および Mucin (MUC)1 に陰性を示し、CK20 に陽性を示した。また、22例が MUC2 に陽性を示した。それに対して、大腸腫瘍でも同様に全例、CK7 および MUC1 に陰性を示し、CK20 に陽性を示した。また、8例が MUC2 に陽性を示した。十二指腸腫瘍で17例、大腸腫瘍で9例に β -catenin の核内移行が認められた。

【まとめ】十二指腸ファーター膨大部は腸上皮、膵管上皮および胆管上皮に由来する上皮で構成されているが、AOM 誘発十二指腸腫瘍では、膵・胆管上皮の指標である CK7 および MUC1 に陰性を示し、腸上皮の指標である CK20 および MUC2 に陽性を示した。また、PAS-Alcian Blue 陽性所見や β -catenin の核内集積性も大腸癌と同様な結果が得られ、以上の結果から小腸腫瘍細胞の由来は腸上皮であると判断された。

P-39

若齢ラットにおける嚢胞状腸管重複症の3例

○植田 芳英、坪井 優、久保田 舞、太田 泰史、高見 成昭、細井 理代、宮島 留美子、長谷川 和成、志賀 敦史、奈良間 功

(公財)食品農医薬品安全性評価センター

Spontaneous and congenital anomalies in the intestine are extremely rare in rodent used in routine toxicological or reproductive studies. We recently encountered three cases of cystic intestinal duplications (enterocysts) in young male rats of Sprague-Dawley (SD), Wistar, and Fischer 344 (F344) strains. In the present study, detailed histopathological characteristics of these cases were examined.

All the cysts were found in the mesenterium near the middle part of the small intestine, and the color was brownish or grayish white. The cyst from the Wistar rat was covered by white and multilocular lumps.

In all three cases, the cyst wall consisted of mucosal epithelium and thick circular layer of the smooth muscle bundle similar to intestinal tract. The lumen of the cysts was filled with mucous-like substance and cell debris. In the SD and Wistar rats, the outermost part of the cysts had contact with adjacent small intestine and was connected by a few longitudinal muscle fibers. The corresponding part of the F344's cyst was completely separated from the intestinal tissue. The lumps around the cyst of the Wistar rat were filled by mucous-like substance together with calcium deposition, and were surrounded by the fibrous capsule or necrotized smooth muscle bundles without mucosal epithelium.

From these characteristics, all the cysts were diagnosed as cystic intestinal duplication. As far as we know, these are the first report of the cystic intestinal duplication in rodent.

P-40

Detecting and Quantifying Liver Pathologies Using Compact, High-Resolution 3D MRI-Based Histology

○Yael S Schiffenbauer¹⁾, Catherine Tempel Brami¹⁾, Rinat Abramovitch²⁾, Tali Lanton²⁾, Jonathan H Axelrod²⁾, Eitan Galun²⁾, Abraham Nyska³⁾, Robert Maronpot⁴⁾

¹⁾Aspect Imaging, Israel, ²⁾Hadassah Hebrew University Medical Center, Ein Karem, Jerusalem, Israel,

³⁾Consultant in Toxicologic Pathology, Timrat, & Tel Aviv University, Israel,

⁴⁾Maronpot Consulting, LLC, Raleigh, NC, USA

MRI is widely used in pre-clinical research and provides a powerful method for in vivo assessment of phenotypes in small animal models of disease. MR Histology (MRH) of fixed tissue is gaining recognition as a technique to provide complimentary information to conventional histology, as numerous digital slices from any plane can be acquired in the intact sample, allowing specimens to be then sectioned for conventional histology.

The purpose of this study was to investigate the capabilities of a new compact, high-performance MRI platform (M2, Aspect Imaging) in detecting and quantifying liver pathologies manifested in *mdr2*(-/-) mice. These mice are unable to secrete phospholipids into bile causing chronic hepatic inflammation leading to the development of pre-neoplastic lesions which progress thereafter to hepatocellular carcinomas (HCC).

Mdr2 (-/-) mice were anesthetized and placed on the M2 MRI scanner equipped with a specially designed heated bed. Physiological parameters were monitored throughout the scan in order to assure animal wellbeing. Focal liver lesions were detected in vivo in all mice. Livers were then extracted and fixed and high-resolution ex-vivo MRH of the fixed organs was performed on the same compact MRI platform. Different types of focal lesions were detected and characterized by MRH and then confirmed by H&E histology as focal fatty changes (n=3) and cystic HCC (n=3).

We have demonstrated the utility of compact, high-performance MRI and 3D MR-based histology as valuable tools to complement conventional toxicological studies. MRH allows for rapid non-invasive acquisition of 3D data of the entire target organ, leading to a more comprehensive assessment of the toxicological effects and its extent.

While in vivo MRI can provide an invaluable tool for detection of onset and progression of disease by non-invasively imaging the same animals over time, non-destructive ex vivo MRH provides high throughput and high-resolution 3D digital data sets of intact organs, with exquisite morphological and quantitative information. With a high degree of correlation to conventional H&E, 3D MR-based histology can provide both additional insights into disease pathology as well as directing conventional histology to ensure key targets are fully assessed, considered and quantitated in toxicological work-ups.

P-41

肝発がんにおけるLC-Ms/Ms及び*in vitro*機能解析を用いた新規特異的候補分子の検討

○梯 アンナ、石井 真美、藤岡 正喜、魏 民、鰐淵 英機

大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病理学

【緒言】本研究では、マウス肝発がんにおけるプロテオミクスの視点から、肝臓組織より切り出した腫瘍性病変及び前がん病変による肝発がんに及ぼす要因を解明した。

【方法】動物は、C57BL/6J マウス (38匹) 及び B6C3F1 マウス (30匹) を用い、14日齢に肝発がん誘発剤である diethylnitrosamine (DEN; 10 mg/kg b.w.) の腹腔内投与を行い、27及び38週目(C57BL/6J)または18及び38週目(B6C3F1)に動物を屠殺し、プロテオーム解析、免疫染色、Ingenuity Pathway 解析ならびに肝癌細胞株(HepG2, Huh7)を用いた *in vitro* 機能解析を行った。

【結果】QSTAR Elite Ms/Msを用いた解析では、発現が有意に変化していた蛋白質の解析を行ったところ、神経突起の成長をコントロールする canopy 2 homolog (CNPY2) や cache domain containing 1 (CACHD1) の有意な過剰発現が認められた。マウス肝細胞がん、肝腺腫及び肝前がん病変において、CNPY2及び CACHD1蛋白質の発現上昇が免疫組織学的に確認された。Ingenuity Pathway 解析の結果からマウス HCC で見られた蛋白質の発現変化が上流調節因子 *c-myc*, NFE2L2 (Nrf2) 及び HNF-4 の活性活性化によると考えられた。細胞生存アッセイの結果では、CACHD1(CACHD1 kn) 及び CNPY2 (CNPY2 kn) をノックダウンした細胞増殖及び成長が negative siRNA コントロールの細胞に対して有意に減少していることが認められた。CNPY2 kn と CACHD1 kn 細胞のプロテオーム及び IPA 解析の結果から、transforming growth factor beta (TGF-beta) 伝達関連蛋白質の発現が誘導されていた。また、発現変化見られた蛋白質の上流調節因子 CEBPA, SP1, NFE2L2, HNF1A, FOXA2 (CNPY2kn と CACHD1kn) 及び *c-myc* と *N-Myc*(CACHD1knのみ) の活性の抑制が認められた。

【総括】今回の結果より、CNPY2及び CACHD1 はマウス肝発がんにおいて、新たなバイオマーカーの一つになる可能性が示された。さらに、肝発がんにおいて、大事な役割を持つ新たな分子である可能性が示された。

P-42

ラットの発がん物質投与初期に誘発される増殖活性亢進時における細胞周期制御異常の特異性に関する検討

○木村 真之^{1,2)}、盛田 怜子^{1,2)}、阿部 一^{1,2)}、田中 猛^{1,2)}、村上 智亮³⁾、鈴木 和彦³⁾、吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾

¹⁾東京農工大 獣医病理、²⁾岐阜大 院 連合獣医、³⁾東京農工大 獣医毒性

【背景】我々は既に、ラットに対する発がん物質の28日間反復投与により、標的臓器を問わず、細胞増殖活性の亢進と共に、G₂/M期を主とする細胞周期関連分子発現細胞とアポトーシスの増加を誘発することを見出した。更に、腎 (ochratoxin A) 及び肝発がん物質 (thioacetamide (TAA)) での検索で、それぞれの発がん標的細胞に対してM期進行に関わる Ubiquitin D (Ubd) のG₂期からの異常な発現を見出し、発がん物質投与早期でのG₂/M期移行時における細胞周期制御異常が示唆された。

【目的】本研究では、肝部分切除(PH)や非発がん肝毒性物質ないし発がん物質投与の初期に誘発される肝細胞増殖においても、発がん物質の28日間反復投与によって見出された細胞周期分子発現細胞の増加が生じるかどうかを検討した。

【材料と方法】F344ラットを用いて、無処置群、肝発がん物質 (TAA, methyleugenol) ないし非発がん肝毒性物質 (*a*-naphthyl isothiocyanate (ANIT), acetaminophen, promethazine hydrochloride) 投与群と、PH群を設定し、実験開始後3日及び7日目に肝臓を採取した。

【結果】実験開始後3日の時点で、PH群、TAA群、ANIT群において、増殖活性指標のKi-67、M期分子のp-Histone H3、G₂/M期に機能するTopoII *a* 及びUbd陽性細胞数の増加が認められた。また二重染色による解析で、無処置群と比較して、TAA群及びANIT群ではTopoII *a*陽性細胞のうちUbdを発現する割合が増加し、PH群ではp-Histone H3陽性細胞のうちUbdを発現する割合が減少した。

【考察】発がん性の有無に関わらず、処置の初期では検索したG₂/M期分子発現細胞が細胞増殖活性を反映して増加することが明らかとなった。増殖活性の亢進が認められた3群のうちPH群ではG₂期にUbdを発現する細胞は変動せず、M期にUbdを発現する細胞が減少したのに対して、TAAとANITはG₂期にUbdを発現する細胞が増加した。即ち、肝部分切除とは異なり、化学物質投与初期の細胞増殖亢進時においては、発がん性の有無に関わらずUbdのG₂期での異常発現の生じることが示唆された。

P-43

緑茶抽出物誘発のラット肝臓毒性の特徴

○榎本 祐子¹⁾、義澤 克彦¹⁾、木下 勇一¹⁾、塚 貴司¹⁾、吉川 豊²⁾、茶山 和敏³⁾、螺良 愛郎¹⁾

¹⁾関西医科大学 病理学第二講座、²⁾神戸女子大学 健康福祉学部、³⁾静岡大学 農学部

緑茶は健康によい成分が多く含まれ、抗酸化作用、体脂肪低下作用、癌予防作用など多様な効果が報告されている。一方、諸外国では緑茶カテキン摂取が原因と疑われる肝障害が報告され、欧州では医薬品として販売禁止措置がとられている。我々は緑茶抽出物のラット薬理実験において肝毒性を経験し、その病理学的研究を実施した。

【材料・方法】緑茶抽出物 (THEA-FLAN 90S; GTE) 200 mg/kg を6週齢雌雄IGS系ラットに単回腹腔内投与し、投与8, 24, 72時間、7日、1ヶ月後に解剖し、血液化学的検査、肝臓の病理学的検査、細胞死 (TUNEL 染色・活性化Caspase-3免疫染色)、増殖活性 (PCNA 免疫染色)、酸化障害 (脂質酸化マーカーとして血清・肝臓 malondialdehyde [MDA] 分析、MDA 免疫染色、DNA 酸化マーカーとして thymidine glycol [TG] 免疫染色) を解析した。さらに、週齢感受性をみるために、18週齢雌ラットに同様に投与し、6週齢投与群と毒性比較した。

【結果】6週齢投与では72時間以内に雄12%、雌50%が死亡し、雌で毒性の感受性が高かった。18週齢投与では88%が死亡し、高週齢で感受性が高かった。血液化学的にAST, ALT および T-BIL 増加が雌雄で8時間から観察された。組織学的に8時間から小葉周辺部の肝細胞単細胞壊死、TUNEL・Caspase-3陽性細胞の増加が観察され、時間とともに全域に波及し、肝細胞核肥大・ミトコンドリア増生・小葉構造の乱れがみられた。48時間ではPCNA陽性細胞が増加し、肝細胞の増殖活性増加が示唆された。8ないし24時間から血清・肝臓中のMDA値の増加傾向がみられ、免疫組織学的に48時間でMDAおよびTG陽性肝細胞の増加が観察された。現在、投与1ヶ月を検査中である。

【考察】GTEはラットに単回腹腔内投与により急激で重篤な肝臓障害を誘発し、肝細胞の脂質酸化ならびにDNA酸化が関与した可能性が示唆された。

P-44

高脂肪食給餌マウスの肝臓におけるチオアセタミド投与後のCalpain1及びCalpastatin発現についての検討

○白井 真人、牧野 俊彦、甲斐 清徳、寺西 宗広

第一三共株式会社 安全性研究所

【背景】これまで我々は、高脂肪含有飼料給餌マウス (HFD マウス) において肝毒性物質チオアセタミド (TA) 投与による肝細胞壊死が減弱することを報告した。この肝細胞壊死減弱の機序を検討するため、壊死に関連するプロテアーゼである Calpain1 の発現を免疫組織学的に検討した。

【方法】3週齢の C57BL/6J 雄マウスに 60 kcal% 脂肪含有高脂肪食 (HFD) あるいは標準げっ歯類用飼料 (ND) を8週間自由摂取させた後、TA (100 mg/kg) を単回腹腔内投与した。投与後3、8、24、48、72及び96時間後に解剖し、病理組織学的検査、ならびに Calpain1 及び Calpain の生体内阻害物質である Calpastatin の免疫組織染色を行った。

【結果】小葉中心性肝細胞壊死が ND 及び HFD マウスで投与8～96時間後で認められ、24～72時間後では HFD マウスで有意に軽度であった。免疫組織学的染色では、ND、HFD マウスともに生食投与群では Calpain1 が肝細胞の核に陽性を呈し、Calpastatin は陰性であった。ND マウスでは、TA 投与による Calpain1、Calpastatin の発現に変化がみられなかった。一方、HFD マウスでは肝細胞核の Calpain1 の発現が TA 投与8時間後に小葉辺縁域で消失し、投与24時間後には全葉性に発現が消失した。また、HFD マウスでは投与24時間後に肝細胞の核が Calpastatin に全葉性に陽性を呈した。

【考察】TA や四塩化炭素誘発肝細胞壊死が Calpain 阻害剤投与で減弱することが報告されており、本試験結果を考え合わせると、Calpain1 の発現減少と Calpastatin の発現増加が HFD マウスにおける TA 誘発肝細胞壊死の減弱に寄与している可能性が示唆された。

P-45

イチョウ葉エキスにより誘発した肝肥大におけるCARの関与について

○前田 潤¹⁾、井上 薫¹⁾、市村 亮平¹⁾、森川 朋美¹⁾、小川 祐布子²⁾、児玉 幸夫³⁾、吉田 緑¹⁾

¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾麻布大学 比較毒性学研究室、³⁾国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

【目的】イチョウ葉エキス (GBE) は、健康食品として使用されているが、NTP 毒性試験報告(TR578) では、マウスにおける明らかな肝肥大と肝発がん性が報告されている。GBE の遺伝毒性については、同NTP 報告において懸念が示されたが、我々の研究により *in vivo* 遺伝毒性は無いことを明らかにした (第42回日本環境変異原学会)。本研究では、GBE による肝肥大の機序を明らかにするため、核内受容体constitutive androstane receptor (CAR) ノックアウトマウスを用い、肝肥大と CAR の関与について調べた。

【方法】7週齢の雄性C3H マウス (Wild) および CAR ノックアウトマウス (CARKO) に GBE を 0, 100, 1,000, 10,000 ppm (平均薬物摂取量 Wild: 0, 18, 173, 1489 mg/kg/day, KO: 0, 18, 175, 1657 mg/kg/day) の用量で 28日間混餌投与し、肝重量、肝臓の病理組織学的変化および肝薬物代謝酵素の mRNA 発現量について検索した。また GBE を 0, 500, 1000, 2000mg/kg の用量で3日間経口投与した遺伝毒性試験および今回の試験で得られた肝臓を用いて、細胞増殖マーカーである抗PCNA 抗体を用いた免疫組織化学染色を実施した。

【結果】28日間投与の結果、Wild では相対肝臓重量が中間および高用量群で増加し、それに伴い小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。さらに全ての投与群で CAR の標的遺伝子である *Cyp2b10* の発現量が用量依存的かつ顕著に増加した。CARKO では高用量群でのみ同様の影響が認められたが、いずれも軽度な変化であった。また PCNA 染色の結果、Wild では3日間投与で肝肥大と共に、PCNA 陽性細胞数が高用量群で増加した。しかし、28日間投与後には対照群と比較し差は認められなかった。CARKO ではいずれの投与期間においても PCNA 陽性細胞数の増加は認められなかった。

【結論】GBE は主に CAR を介して、*Cyp2b10* 誘導を伴う肝肥大および一過性の細胞増殖を引き起こすことを明らかにした。

P-46

ラットのクマリン誘発性肝細胞傷害にはミトコンドリア機能が関連する

○田中 康浩¹⁾、藤居 互¹⁾、北川 義徳¹⁾、尾崎 清和²⁾

¹⁾サントリービジネスエキスパート(株)、²⁾摂南大学 薬学部 病理学研究室

【背景】クマリン(CM)は芳香族化合物で、シナモン等の香り成分として知られている。ラットに対しては、肝障害誘発作用があるが、代謝経路の種差によりヒトに対する肝障害性は極めて低いことがわかってきた。しかし、代謝の種差及び細胞傷害機序については未だ不明な点が多い。CM の関連が疑われる健康被害も報告されており、ヒトに対して重篤な肝障害を誘発する可能性は否定できてない。また、近年薬剤性肝障害にミトコンドリア (Mt) 機能異常が関係するとの報告が多く、特異体質性肝障害との関連が示唆されている。そこで本研究では、ヒトにおける CM の肝障害リスクを適正に評価するために、肝細胞障害が好発するラットを用い、CM 誘発性肝障害と Mt 機能との関連について検討を行った。

【方法】SD 雄性ラットに CM を 1 又は 4 日間反復経口投与し、投与後 4 及び 24 時間後に剖検した。血中肝酵素および肝臓の組織学的検査を実施し、さらに単離した Mt を用いて Mt の酸化ストレスマーカーであるアコニターゼ活性及び酸素消費量の測定を行った。

【結果】CM 投与動物では、各時点において、肝細胞障害を示唆する肝酵素値の有意な上昇が認められた。単回投与後 4 時間では、アコニターゼ活性が低下し、小葉中心性の肝細胞好酸性顆粒状変性及び肝細胞肥大が認められた。投与後 24 時間では、Mt 酸素消費量の低下や顕著な小葉中心性肝細胞壊死及び炎症性変化が認められた。なお、4 日間投与ではこれら変化はほぼ認められず、軽度の小葉中心性肝細胞変性が認められたのみであった。Mt マーカーである Prohibitin 染色を行った結果、小葉中心部の好酸性顆粒状変性を示した肝細胞に強陽性となった。これにより、肝細胞の好酸性顆粒は Mt であることが明らかとなった。また、CM の代謝に関与する CYP1A1/2 及び 2E1 への影響についても解析を行ったので、合わせて報告する。以上の結果から CM 誘発性肝障害の早期ターゲットとして、Mt 機能異常の関与が示唆された。

P-47

PPAR α 作動薬によるマウス肝肥大及び肝発がん過程におけるConstitutive androstane receptor (CAR)の関与について

○井上 薫¹⁾、鈴木 大節¹⁾、小川 祐布子²⁾、前田 潤¹⁾、市村 亮平¹⁾、高橋 美和¹⁾、児玉 幸夫³⁾、吉田 緑¹⁾

¹⁾国立衛研 病理部、²⁾麻布大学 比較毒性学研究室、³⁾国立衛研 毒性部

【背景】抗高脂血症剤として知られるフィブラート系薬剤は、PPAR α アゴニストであり、マウス肝臓に好酸性顆粒状変化を伴う肥大及び腫瘍を誘発する。近年の研究により、PPAR α アゴニストがPPARだけでなくCARも活性化することが報告されている。

【目的】フィブラート系3剤によるマウス肝肥大及び肝発がん過程へのCARの関与を明らかにする。

【材料と方法】肝肥大へのCARの関与を検索するため、6週齢の雄性C3H (Wild) およびCAR欠損(KO)マウスに、2,000 ppmクロフィブラート (Clo), 2,400 ppmフェノフィブラート (Feno) または5,000 ppmベザフィブラート (Beza) を4週間混餌投与した。また、肝発がん過程へのCARの関与を検索するため、6週齢の雄性WildおよびCARKOマウスにdiethylnitrosamineによるイニシエーション後、4週間投与と同用量のClo, FenoまたはBezaを27週間混餌投与した。

【結果】4週間の各剤投与により、WildマウスにおいてCloは小葉中心性、FenoとBezaはびまん性の肝細胞肥大を誘発した。CARKOマウスでは、FenoおよびBeza投与によりWildと同程度のび慢性肝細胞肥大が認められたが、Clo投与では肝細胞肥大は認められなかった。1群15匹の検索の結果、27週間投与により、Wildマウスの好塩基性変異肝細胞巣または肝細胞腺腫の発生個数がいずれの剤の投与によっても対照群に比し有意に増加した。一方CARKOマウスでは、いずれの群でも好塩基性変異肝細胞巣及び腺腫がWildマウスに比し有意に減少した。Wildマウスにおける好酸性変異肝細胞または腺腫の発生個数は、各剤の投与により対照群に比し有意に増加したが、CARKOマウスとの間に差はみられなかった。

【結論】マウスCARはCloによる肝細胞肥大と3剤による好塩基性変異肝細胞巣及び肝細胞腺腫の発生過程に関与することが示唆された。

P-48

シリアンハムスターにおける1,2-dichloropropanの強制経口投与による肝毒性とその発現機序の検討

○魏 民、山野 荘太郎、藤岡 正喜、梯 アンナ、下村 衣里、神吉 将之、鰐淵 英機

大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

【背景】近年、印刷労働者における肝内胆管がん多発事例が報告され、その発症と1,2-dichloropropan (1,2-DCP) の長期間にわたる高濃度ばく露との関連が指摘されている。一方、ラットとマウスを用いたがん原性試験において1,2-DCPの胆管発がん性は認められていないが、胆道系発がん高感受性であるハムスターを用いた一般毒性と発がん性の検討はまだなされていない。

【目的】1,2-DCPのハムスターにおける肝・胆道系および肝薬物代謝酵素発現に及ぼす影響を検討した。

【方法と結果】雄性シリアンハムスターに1,2-DCPを1日目は500 mg/kg BWで投与したが、1例の死亡例が認められたため、2、3日目は250 mg/kg BWの用量に変更した。合計3日間強制経口投与した結果、投与群の全例に広範囲な小葉中心性肝細胞壊死が認められたが、胆管上皮傷害は認められなかった。次に、1,2-DCPによる薬物代謝酵素の変動を検討するために、ハムスターに125および250 mg/kg BWの用量で5回/週、4週間強制経口投与した。1,2-DCPの125および250 mg/kg BW投与群で肝細胞のびまん性空胞変性が認められたが、胆管上皮では毒性変化は認められなかった。肝臓におけるCYP2E1とglutathione S transferase T1 (GSTT1)の発現を免疫組織学的に検討した結果、対照群でCYP2E1とGSTT1の両方ともに小葉中心性に肝細胞に発現が認められたが、CYP2E1の発現量が250 mg/kg BW投与群で対照群に比較して増加した。一方、GSTT1の発現量が125および250 mg/kg BW投与群で対照群に比較して低下した。また、胆管上皮では、1,2-DCPの投与によるCYP2E1及びGSTT1の発現変動は認められなかった。

【結論】本研究の条件下では、1,2-DCPがハムスターにおいて肝毒性を示すことが明らかとなった。一方で、胆管上皮における毒性を示さないことが明らかになった。さらに、CYP2E1とGSTT1が1,2-DCPの代謝及びその肝毒性の発現に関与することが示唆された。

P-49

Piperonyl butoxideのF344ラットにおける90日間反復投与性毒性試験

○木島 綾希、石井 雄二、高須 伸二、松下 幸平、黒田 顕、横尾 諭、梅村 隆志、小川 久美子

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【目的】殺虫剤の共力剤である piperonyl butoxide (PBO) は、げっ歯類に対し肝毒性及び肝発がん性を示すことが知られており、国内での農業登録は失効しているが、指定添加物として、現在も穀類防虫剤の目的で食品に使用されている。PBO の毒性については、食品添加物としての90日間反復投与毒性試験の報告は無い。そこで今回、指定添加物PBOの安全性評価に必要な知見を収集することを目的とし、F344ラットを用いた90日間反復投与毒性試験を行った。

【方法】雌雄6週齢のF344ラットに、PBOを0、0.03、0.1及び0.3%の濃度で13週間混餌投与した。投与期間中、毎日一般状態の観察をし、体重および摂餌量の測定を週に一回行った。剖検時に腹部大動脈より採血し、血液学及び血清生化学的検査を実施した。器官重量を測定した後、ホルマリン固定し全身諸器官・組織の病理組織学的検査を実施した。

【結果および考察】体重及び摂餌量は雌雄ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。臓器重量は雌雄ともに0.1%以上の投与群で肝重量が用量相関的に増加し、0.3%投与群では小葉周辺性肝細胞肥大が認められた。また、雄では0.3%群で、雌では0.1%以上の群でγ-GTPの高値が認められた。しかし、その他の血清中の肝機能障害の指標となる諸項目では明らかな上昇傾向を示す変化は認められなかった。以上の結果より、本試験におけるPBOの無毒性量を、雌雄0.03% (雄 18.0 mg/kg bw/day、雌 20.1 mg/kg bw/day)と結論した。また、今回認められた肝細胞肥大は、PBOが有する薬物代謝酵素誘導作用に起因していると考えられることから、CYP1A1/2およびCYP2B1蛋白発現量について免疫染色法を用いて検索し、その結果についても併せて報告する。

P-50

カニクイザルにみられたMalakoplakiaを疑う肉芽腫性腎炎の1例

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

¹⁾エーザイ株式会社 筑波安全性研究部、²⁾株式会社サンブラネット 安全性研究事業部

【背景】Malakoplakiaは、泌尿器や生殖器を中心に生じる稀な慢性の炎症性病変であり、大型で泡沫状のマクロファージを主体とする肉芽腫性炎症を特徴とする。これらのマクロファージ(von Hansemann細胞)は、PAS陽性を示す顆粒状の細胞質を有し、細胞質内や細胞間において、カルシウムや鉄の沈着を伴うMichaelis-Gutmann (MG)小体が観察される。また、細胞質内には多数のphagolysosomeが認められる。今回、サルにおいてMalakoplakiaと考えられた症例を経験したので報告する。

【症例】本症例は、13週間毒性試験に用いた4歳齢の雄カニクイザルの1例であり、計画剖検時に右腎臓の腫大および周辺臓器との癒着が認められた。当該部位は、豊富な好酸性の細胞質を有する細胞と、瀰漫性の炎症性細胞浸潤を主体とする病変で、既存の糸球体や尿細管を巻き込むように主に間質に分布していた。病変を構成する主な細胞は、大型で類円形・多角形を呈し、比較的均一な類円形の核と好酸性の顆粒状および泡沫状の細胞質を有していた。これらの細胞では、PAS陽性を示す顆粒状の細胞質および封入体が認められ、これらの封入体は鉄染色においても陽性を示した。免疫組織化学的染色により、これらの細胞はCD204およびIba1に陽性を示した。また、電子顕微鏡観察の結果、多くの細胞の細胞質内で、phagolysosomeと思われる境界膜を有する大小様々な構造物が観察された。

【診断結果・考察】以上の組織・形態学的特徴を踏まえ、本症例をMalakoplakiaを疑う肉芽腫性腎炎と診断した。本例では、明確なMG小体は認められなかったものの、PAS陽性を示す顆粒状の細胞質や鉄を含む好酸性小体、多数のphagolysosomeの存在など、組織・形態学的な特徴として該当する部分が多いことから、本診断名に至った。本症例は、サルの泌尿器におけるMalakoplakiaとして初の症例報告と思われる。

P-51

トコトリエノールにより誘発される肝増殖性病変の早期変化に関する検討

○笠原 健一郎¹⁾、安藤 亮¹⁾、星谷 達¹⁾、田村 一利¹⁾、小川 久美子²⁾、西川 秋佳²⁾

¹⁾(株)ボゾリサーチセンター、²⁾国立医薬品食品衛生研究所

【目的】トコトリエノールは、穀物類、ヤシ油、ラテックスなどに豊富に含まれ、その抗酸化作用から食品添加物または栄養補助食品として世界的に広く使用されている。本剤の毒性試験としては、過去に13週及び52週試験ならびに104週のがん原性試験が実施されており、13週試験では肝細胞肥大、52週試験では結節性肝細胞過形成及び肝海綿状変性、がん原性試験では結節性肝細胞過形成、肝細胞腺腫、肝海綿状変性及び血管拡張症が誘発されることが報告されている。今回、52週試験及びがん原性試験でみられた結節性肝細胞過形成の初期変化を検討する目的で13週試験の肝臓を病理組織学的に再検索した。

【材料と方法】トコトリエノールを0、0.19、0.75及び3%となるように基礎飼料(CRF-1)に混合し、各群雌雄10匹の6週齢F344/DuCrjラットに13週間自由摂取させた。病理組織学検査に供されたヘマトキシリン・エオジン染色標本から、雌雄全例の肝臓について病理組織学検査を実施した。

【結果】3%投与群の雄4/10例、雌6/10例に限局性の肝細胞過形成がみられた。肝細胞過形成巣は肝小葉程度の大きさであり、1匹あたり1～3個みられた。これらを構成する肝細胞は正常のものに比べやや大型で、軽度な肝細胞索の乱れや周囲組織の圧排がみられた。本変化以外に、軽微または軽度の小葉中心性肝細胞肥大がみられたが、肝海綿状変性や血管拡張症は観察されなかった。

【まとめ】今回、確認された限局性の肝細胞過形成は、その形態学的特徴から52週試験及びがん原性試験でみられた結節性肝細胞過形成の初期病変と考えられ、13週間という比較的短期間のうちに誘発されることが明らかとなった。本学術集会では、13週試験で観察された肝細胞過形成についてGST-P及びPCNAの免疫染色を実施し、長期試験でみられた結節性過形成及び長期飼育ラットで背景的に観察される非再生性肝細胞過形成と形態学的、免疫組織化学的な差異について報告する予定である。

P-52

マクロファージの枯渇はチオアセトアミド(TAA)誘発ラット肝線維化の形成を遅らせる

○Hossain M Golbar、Alexandra Bondoc、Kavindra Wijesundera、Anusha Tennakoon、加藤(市川) 智彩、
田中 美有、井澤 武史、桑村 充、山手 丈至

大阪府立大学 獣医病理

Factors produced by macrophages are crucial for the induction of myofibroblasts (MFs) in fibrosis. To clarify the roles of macrophages, we investigated their properties in hepatic fibrosis induced in male F344 rats by TAA injection (300 mg/kg BW, i.p., once) one day after macrophage depletion treatment by chlodronate (CLD; i.v., once). Hepatic injury/fibrosis developed in centrilobular areas in CLD-untreated controls with a peak on days 2-3, consisting of MFs immunoreactive for vimentin, desmin and α -smooth muscle actin (α -SMA), and the lesions then recovered until day 7. In CLD-treated rats, macrophages reacting to Iba-1 (chemotaxis), CD68 (phagocytosis), CD163 (pro-inflammatory cytokine production), MHC II (antigen presentation), Galectin-3 (MF activation) and CD204 (scavenger receptor A) significantly decreased almost throughout the experimental period, and appearance of MFs delayed. Interestingly, dystrophic calcification occurred in injured hepatocytes in CLD-treated rats. These findings suggest that depletion of macrophages (mainly, Kupffer cells) delays hepatic fibrosis, and results in altered debridement. Macrophage-producing factors underlying fibrosis and dystrophic calcification are under investigation.

P-53

正常肝と肝硬変ラットにおける上皮-間葉転換の観点からの肝星細胞の特徴解析

○Anusha Tennakoon、井澤 武史、Kavindra Wijesundera、Hossain M. Golbar、田中 美有、桑村 充、山手 丈至

大阪府立大学 獣医病理

HSCs, characterized by GFAP expression, are thought to be the major contributor in development of myofibroblasts (MFs) capable of producing collagens. MFs may be also formed by epithelial-mesenchymal transition (EMT) of pseudo-bile ducts in cirrhosis. In normal rat livers, there were GFAP-positive HSCs along the sinusoids, and interlobular bile ducts reacted clearly to CK19 (marker for biliary epithelial and liver precursor oval cells); interestingly, some (approximately 5%) biliary epithelial cells showed dual positive reactions to CK19 and GFAP. In cirrhotic livers induced by repeated injections of thioacetamide (TAA: 100 mg/kg BW, twice a week for 25 weeks), CK19-positive reaction was seen in pseudo-bile duct epithelial cells and some cells forming clusters without ducts, as well as single oval cell in fibrotic areas; these positive cells gradually increased with development of cirrhosis from week 15. GFAP-positive cells were also labeled variously by vimentin, desmin and α -SMA, indicating development of MFs in cirrhosis. More interestingly, there were cells reacting to both GFAP and CK19; these cells were arranged in ductules and clusters without lumen, or seen as a single cell. The greatest appearance of CK19- and GFAP-double positive cells was at week 15 when pseudo-lobules began to be seen. These findings suggest that HSCs expressing GFAP might participate in the phenomenon of EMT in cirrhosis. Further investigation is under way.

P-54

食餌性脂肪肝モデルにおける炎症性変化:コリン欠乏・高脂肪食モデルの病理組織学的特徴

○藤井 悦子、伊藤 恒夫、山崎 雅輝、加藤 淳彦、鈴木 雅実

中外製薬株式会社 研究本部

【背景】食餌性脂肪肝モデルとして高脂肪食(HFD)、コリン欠乏食(CDAA)モデルなどが広く用いられるが、いずれも肝脂肪蓄積が議論の中心となっている。一方近年、いわゆる metabolic disease の社会問題化に伴い、肝脂肪蓄積にともなう炎症性変化もその重要性が指摘されていることから、食餌性脂肪肝モデルにおける炎症性変化を検討する。

【目的】HFD、CDAAに加え、より高度な脂肪蓄積が報告されている両者の併用モデル(CDAHFD)について、その炎症性変化を中心に解析する。

【材料と方法】60kcal/%高脂肪餌、コリン欠乏0.1%メチオニン付加餌ならびに両者の併用餌を、各6例のマウス(C57BL/6J/japanSLC)に不断給餌し、うち3例を給餌後6週で、他の3例を12(CDAA)ないし14週(HFD, CDAHFD)で安楽殺後剖検し、HE染色標本作製した。

【結果】HFD/6週群では明確な脂肪空胞を示す肝細胞を認めず、14週群で小葉中心から中間帯の肝細胞に脂肪空胞が認められたが、炎症性細胞浸潤は認められなかった。CDAA/6週群では小葉辺縁の肝細胞に脂肪空胞を認め、炎症細胞浸潤もごくわずかに観察された。12週群では、全域の肝細胞に脂肪空胞は進展したものの炎症細胞浸潤の増悪は認められなかった。これらに対しCDAHFD/6週群では、全域の肝細胞に脂肪空胞が観察され、好中球や単核球を主体とした高度な細胞浸潤が認められた。またマクロファージ系細胞により構成される lipogranuloma と呼ばれる組織像も観察された。同様の変化が14週群では増悪して認められた。

【考察】食餌性脂肪肝モデルにおける炎症性変化を解析した結果、HFDならびにCDAAの併用によるCDAHFDモデルにおいて、明らかに高度な炎症が認められる事が明らかになった。CDAHFD群における炎症性細胞の詳細ならびに肝線維化の成績をあわせて報告する予定である。

P-55

病理組織学的画像解析を用いたマウスにおける薬剤誘発性肝細胞肥大の評価

○浅岡 由次、井村 奈緒子、六鹿 麻由、三好 智也、富樫 裕子、宮本 庸平

東レ(株) 医薬研究所 安全性研究室

【背景および目的】肝細胞肥大は薬物代謝酵素誘導などによって肝細胞容積が大きくなり、肝重量が増加する変化である。肝細胞肥大は一般的に病理組織学的に評価されるため、その精度や感度は観察者の技量によるところが大きい。本研究では、マウスの薬剤誘発性の肝細胞肥大における、病理組織標本の画像解析による肝細胞面積の定量評価法の有用性を検討した。

【材料と方法】7週齢の雄性CrIj:CD1(ICR)マウスに phenobarbital sodium (PB) 30, 60, 120 mg/kg/day を5日間、clofibrate (CL) 200, 400, 800 mg/kg/day を5, 14日間反復経口投与した。最終投与日の翌日に動物を安楽死させ、肝重量の測定、H.E. 染色標本の病理組織学的観察および画像解析を実施した。画像解析では、5枚/動物の組織画像(×200)中における個々の肝細胞を画像解析ソフト(Definiens Developer XD, Definiens AG)で自動認識させて、各動物の平均肝細胞面積を算出した。

【結果および結論】PBの120 mg/kg/dayの5日間投与、CLの400 mg/kg/day以上の5日間投与、CLの200 mg/kg/day以上の14日間投与の肝臓で、病理組織学的に肝細胞肥大がみられた。体重比肝重量および画像解析による平均肝細胞面積は、それぞれ溶媒投与群と比較して、PBの60 mg/kg/day以上の5日間投与で17-27%および14-23%、CLの400 mg/kg/day以上の5日間投与で23-36%および22-27%、CLの200 mg/kg/day以上の14日間投与で15-43%および13-29%増加した。また、すべての動物から算出した体重比肝重量と平均肝細胞面積の相関係数は0.70であり、両者間に正の相関がみられた。以上より、肝細胞面積の病理組織学的画像解析によってPBおよびCL誘発性肝細胞肥大が定量的に評価できることが示され、本画像解析法はマウスにおける薬剤誘発性の肝細胞肥大の評価に有用であると考えられる。

P-56

F344系gpt deltaラットおよびF344系ラットにおけるDENの一般毒性および肝発がん性の比較

○高須 伸二¹⁾、石井 雄二¹⁾、松下 幸平¹⁾、黒田 顕¹⁾、木島 綾希¹⁾、横尾 諭¹⁾、能美 健彦²⁾、
小川 久美子¹⁾、梅村 隆志¹⁾¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験センター

【背景】これまでに我々は、gpt delta ラットを用いて一般毒性、変異原性および発がん性を同一の動物で評価できる包括的試験法を提唱してきた。しかしながら、gpt delta ラットは遺伝子改変動物であることから、一般毒性検索を目的とした反復投与試験にgpt delta ラットを用いる妥当性を、その背景系統のラットと比較する必要があると考えられる。本研究では反復投与試験におけるgpt delta ラットの一般毒性検索系としての妥当性を検討するために、F344系gpt delta ラットとその背景系統であるF344系ラットを用いてdiethylnitrosamine (DEN)の反復投与毒性試験を実施し、一般毒性発現ならびに肝発がん感受性について遺伝子型間で比較した。

【材料と方法】6週齢の雄性F344系gpt delta ラットおよびF344系ラットにDENを0, 0.1, 1および10 ppmの濃度で13週間飲水投与した。投与終了後に麻酔下にて採血し、血液学的検査および血清生化学的検査を行った。さらに、主要臓器を摘出後、重量測定および病理組織学的検査を実施し、発がん性の評価のために肝臓におけるGST-P陽性細胞巢の定量的解析を行った。

【結果】F344系gpt delta ラットおよびF344系ラットともにDEN投与に起因する一般状態の変化は認められなかった。血液学的検査および血清生化学的検査においても、両遺伝子型ともにDEN投与に起因した毒性学的意義のある変化は認められなかった。GST-P陽性細胞巢の定量的解析の結果、両遺伝子型ともに10 ppm投与群において有意な高値を示したが、その程度は同程度であった。

【考察】F344系gpt delta ラットおよびF344系ラットにDENを13週間反復投与した結果、DENの毒性および発がん性に対する遺伝子型間の特異的な差異はないと考えられた。今後、病理組織学的解析を加えて総合評価する予定である。

P-57

食餌性鉄過剰・鉄欠乏によるラット肝臓の病理学的変化

○井澤 武史、宮城 伶奈、堀内 貴至、桑村 充、山手 丈至

大阪府立大学 獣医病理学教室

【目的】鉄は生体の生命維持に不可欠な必須元素である。一方で、ヒトの遺伝性ヘモクロマトーシスや、ウイルス性肝炎などの慢性肝疾患では、過剰鉄の蓄積により肝障害を引き起こすことが知られているが、その病理発生には不明点が多い。また、鉄欠乏による肝機能の変化はあまり報告されていない。本研究では、実験的鉄過剰・鉄欠乏によるラット肝臓の病理学的変化を調べた。

【方法】6週齢の雄F344/DuCrIjラットに鉄過剰食(Fe:0.5%)または鉄欠乏食を4週間給餌した後、正常食(Fe<0.03%)を2週間給餌した。対照群には正常食を給餌した。血清および肝臓を経時的に採取し、血液検査(AST,ALT,血清鉄)、病理組織学的検査(HE,免疫染色,鉄染色,dihydroethidium[DHE]),生化学的検査(肝臓鉄,malondialdehyde[MDA])を実施した。

【結果・まとめ】投与開始後2および4週目において、血清鉄は鉄過剰群で約2倍に増加し、鉄欠乏群で約1/3に減少した。肝臓鉄は4週目の鉄過剰群で約2倍に増加し、2および4週目の鉄欠乏群で約1/2に減少した。これらの鉄代謝異常は、正常食の2週間給餌により正常値まで回復した。鉄過剰・鉄欠乏による肝酵素(ALT,AST)の上昇および病理組織学的変化は認められなかった。鉄過剰ではグリソン鞘のマクロファージが増加し、鉄欠乏ではグリソン鞘および類洞のマクロファージが増加した。DHE(活性酸素種)およびMDA(過酸化脂質)の上昇は認められなかった。以上より、鉄過剰食・鉄欠乏食の4週間給餌では、肝障害は誘発されないことが示唆された。

P-58

EHEN投与ラットの前腸由来臓器への分化多能性を示す肝芽腫の一例

○山野 莊太郎¹⁾、尾崎 清和²⁾、武田 周二³⁾、串田 昌彦³⁾、井澤 武史⁴⁾、山手 丈至⁴⁾、平田 暁大⁵⁾、藤岡 正喜¹⁾、魏 民¹⁾、鰐淵 英機¹⁾¹⁾大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学、²⁾摂南大学薬学部 病理学教室、³⁾住友化学(株)生物環境科学研究所 生体科学グループ 病理チーム、⁴⁾大阪府立大学 獣医病理学教室、⁵⁾岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験分野

【はじめに】EHEN長期投与により誘発された肝芽腫において、一部の腫瘍細胞が胆管上皮、膵臓外分泌上皮、胃粘膜上皮及び腸上皮といった前腸由来臓器の大部分への分化を示す特徴を有する稀な症例である。

【症例】6週齢の雌性Wistar(Crlj:WI)ラットにEHEN 500 ppmを飲水投与16週目に腹囲膨満のため切迫殺した一例で、肝臓に直径約10 cmの赤色から白色の領域が入り混じった大型腫瘍が形成されていた。病理組織学的に3つの細胞構成領域(Hepatocellular component: H.C./Cholangiocellular component: C.C./Oval or Blastic cellular component: O.C.)からなり、互いに移行していた。最大の領域は、少数のC.C.領域を内在するO.C.領域(C.C./O.C.領域)であった。腹膜及び肺に多数の転移巣を認めた。免疫染色により、C.C./O.C.領域の主な腫瘍細胞はalbumin, Sox9両陽性であった。加えて、H.C.領域では、albumin, GSTP陽性の肝細胞分化が、C.C.領域においてはCK19, Sox9陽性の胆膵管系分化を示し、加えてCdx-2, villin陽性の腸上皮への分化及び僅かながらMuc5AC陽性の胃粘液細胞への分化も認められた。一方で、O.C.領域では、albumin, CK8/18, GSTP, amylase, Sox9に陽性を示しOval細胞及び膵外分泌細胞に分化していた。以上より、本腫瘍は様々な前腸由来臓器への分化を示すが、肝臓原発巣の多くを占めるC.C./O.C.領域内のalbumin陽性Sox9陽性細胞のOval細胞類似細胞が主体として考えられ、肝芽腫と診断した。

【考察】肝臓原発腫瘍で、広範囲な分化多能性を示した症例は極めて稀であり、腫瘍の退形成能がどこまで戻るかを議論する上で本症例は有用と考えられる。

P-59

カニクイザルの膵臓腺房細胞にみられた空胞に関する検討

○三好 征司¹⁾、畠山 洋文¹⁾、武井 由弘¹⁾、巢山 志保¹⁾、稲垣 尋絵¹⁾、小泉 治子¹⁾、梶村 哲世¹⁾、
岩田 聖²⁾、下井 昭仁¹⁾

¹⁾(株)イナリサーチ、²⁾ルナパス毒性病理研究所

【はじめに】細胞内にみられる空胞は病理組織学的にしばしば認められる所見であり、大きさも、その原因も様々である。今回我々はカニクイザルの膵臓腺房細胞において大型の空胞を多数認める症例を経験したので、その性状および原因について検討を行った。

【症例】本例はフィリピン産の3歳3ヶ月齢の雌で、4週間の毒性試験に用いられた対照群の1例である。臨床症状、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量などでいずれも異常はみられなかった。剖検時の肉眼的所見においても異常は認められなかったが、病理組織学的検査において膵臓の腺房細胞に大型の空胞が散見された。

【病理組織学的特徴】腺房細胞の細胞質にみられる空胞の大きさは様々で、空胞内は均質で無構造であった。空胞はわずかに好酸性に染色されたが、PAS染色およびOil red O染色では明らかな結果は得られなかった。これらの空胞は膵臓にびまん性にみられたが、膵臓のその他の構成組織に異常はみられなかった。また、他の器官においても同様の変化はなかった。

【まとめ】今回観察された変化はhydropic degenerationとしてカニクイザルの唾液腺、膵臓、甲状腺において稀にみられる自然発生性変化であることが知られているが、その詳細な機序および性状についての報告はなされていない。一方で、ラットとサル¹⁾の肝臓において動物の屠殺後の無酸素状態による空胞形成が報告されており、血漿成分の細胞内への流入が空胞形成の主な原因とも考えられている。これらの形態像は今回観察された変化に類似しており、同様な機序が膵臓においても起こっていることが推察される。今後、蓄積した物質の由来や超微形態的な特徴などについて更なる検討を行い、背景データからその発生頻度についても報告する。

P-60

Omeprazoleの混餌投与によるラット肝発がんプロモーション作用閾値の検索

○盛田 怜子^{1,2)}、木村 真之^{1,2)}、阿部 一^{1,2)}、板橋 恵^{1,2)}、白木 彩子^{1,2)}、村上 智亮³⁾、鈴木 和彦³⁾、
吉田 敏則¹⁾、渋谷 淳¹⁾、三森 国敏¹⁾

¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、³⁾東京農工大学 獣医毒性学研究室

【背景および目的】肝臓における代謝過程でCYP1Aを誘導する化学物質の中には、CYP1A誘導に伴ったラット肝発がんプロモーション作用を持つものがある。第27回本学会においてCYP1A誘導剤であるomeprazole (OPZ)を強制経口投与(276 mg/kg, 1回/日)した場合のラット肝発がんプロモーション作用機序について発表した(林ら, 2011)。本研究ではOPZの混餌投与を行い、ラット肝発がんプロモーション作用の発現およびその作用閾値を検索した。

【材料と方法】ラット肝2段階発がんモデルを用い、6週齢雄性F344ラットにdiethylnitrosamine (200 mg/kg)でイニシエーション処置を施し、2週間後からプロモーターとしてOPZ (625 ppm, 1250 ppm, 2500 ppm, 5000 ppm, 7500 ppm)の混餌投与を6週間行った。プロモーター投与開始から1週間後に2/3部分肝切除を施し、実験開始から8週間後に剖検した。肝臓を採材し、病理組織学的、免疫組織化学的および分子病理学的検索を行った。

【結果】1250 ppm以上のOPZ投与群において相対肝重量が用量依存的に有意に増加した。また、肝前がん病変のマーカーであるglutathione S-transferase placental formの陽性細胞巢の個数・面積および*Cyp1a1*のmRNA発現が1250 ppm以上のOPZ投与群において用量依存的に有意に増加した。また、Nrf2下流因子である*Yc2*のmRNA発現が2500 ppm以上のOPZ投与で用量依存的に有意に増加した。

【結論】CYP1A誘導剤であるOPZを混餌投与することにより、ラット肝発がんプロモーション作用が用量依存的に増加することが明らかとなり、その作用閾値は1250 ppmであると推察された。

P-61

DMA^VおよびiAs^{III}のラット膀胱、肝臓における変異原性の解析

○下村 衣里、藤岡 正喜、魏 民、山野 莊太郎、梯 アンナ、申田 昌彦、鰐淵 英機

大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学

【背景】ヒ素は自然中に広く分布する半金属元素であり、疫学的に膀胱がん、肝臓がん、皮膚がん、肺がんなどを発生させることが知られている。五価の有機ヒ素であるDMA^Vは膀胱発がん物質として広く知られているものの、その発がんメカニズムについては明らかとなっておらず、ヒ素の*in vivo*変異原性については未だ明らかとなっていない。また、ヒ素は体内に摂取されるといくつかの代謝を経て三価の無機ヒ素であるiAs^{III}として尿中に排泄されることが知られているが、その詳細なメカニズムは不明なままである。

【目的】DMA^VおよびiAs^{III}のラット膀胱、肝臓の*in vivo*変異原性の解析およびその代謝メカニズムの検討

【材料と方法】動物は雄性のgpt delta F344ラットおよびF344ラットを用い、それぞれ無処置群、92ppmDMA^V飲水投与群および87ppmiAs^{III}飲水投与群の3群に分け、10週齢時より13週間投与を行った。変異原性の解析にはgpt delta F344ラットを用い、ヒ素代謝メカニズム解析にはqRT-PCR法を用いてヒ素トランスポーターとして知られるABCトランスポーターの発現量解析を行った。

【結果】gpt deltaラットを用いた*in vivo*変異原性の解析の結果、膀胱粘膜および肝臓においてDMA^V、iAs^{III}ともに*in vivo*変異原性を有さないことが明らかとなった。またその変異スペクトラの解析においても、ヒ素特異的な変化は認められなかった。また、ヒ素トランスポーターの定量的発現量解析では、膀胱粘膜においてABC1トランスポーターのみがDMA^VおよびiAs^{III}ともに有意な発現上昇が認められた。

【結論】以上の結果から、DMA^VおよびiAs^{III}がラット膀胱粘膜および肝臓において、*in vivo*変異原性を有さないことが明らかとなった。また、膀胱粘膜においてABC1トランスポーターがヒ素代謝を担うことが示唆された。

P-62

化学物質投与ラット膀胱におけるDNA二重鎖切断マーカー(γH2AX)発現の病理組織学的特徴

○豊田 武士¹⁾、Young-Man Cho¹⁾、赤木 純一²⁾、水田 保子¹⁾、鈴木 勇¹⁾、小川 久美子¹⁾¹⁾国立衛研 病理、²⁾国立衛研 薬理

【背景】近年、発癌過程におけるDNA損傷・修復経路の重要性が明らかにされつつあり、特にDNA二重鎖切断はゲノム不安定性の原因となる深刻な傷害と認識されている。DNAに二重鎖切断が生じると、ヒストン構成タンパクの一種(H2AX)が速やかにリン酸化され、γH2AXを形成する。癌化におけるγH2AXの役割には不明な点が多く、中でも膀胱癌との関連についての研究は非常に少ない。今回、膀胱に増殖性病変を誘発する種々の化学物質をラットに投与し、膀胱上皮細胞におけるγH2AXの発現を病理組織学的に検討した。

【方法】6週齢の雄F344ラットに、0.05% N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN)、2% 2,2-bis (bromomethyl)-1,3-propanediol (BMP)、1.8% 2-nitroanisole (2-NA)、0.1% phenethyl isothiocyanate (PEITC)、3% メラミン、または3% ウラシルを4週間混餌(BBNのみ飲水)投与した。各群10匹を用い、投与終了時に5匹、2週間の休薬後に5匹を解剖した。膀胱を採材し、尿路上皮でのγH2AXの発現を免疫組織化学的に検索した。

【結果と考察】BBNおよび2-NA(膀胱発癌性/遺伝毒性あり)を4週間投与したラット膀胱上皮細胞には、γH2AXの発現が高頻度に認められた一方、対照群にはほとんど観察されなかった。γH2AXは上皮細胞の核内にドット状のfociとして観察され、陽性細胞は膀胱粘膜の基底側に多かった。BMP(過形成誘発、遺伝毒性±)投与ラットでは、γH2AX発現は粘膜表層の大型核を有する細胞において少数観察された。PEITC(過形成誘発、遺伝毒性±)、メラミンおよびウラシル(膀胱発癌性あり、遺伝毒性なし)を投与した膀胱には中等度から高度の過形成性病変が認められ、局所的にγH2AX発現を示す部位がみられた。2週間の休薬後、BBNおよび2-NA群ではγH2AX発現が残存したが、他の群では過形成の退縮とともに陽性細胞は稀となった。以上より、γH2AXは膀胱に対する遺伝毒性/発癌性の指標として利用し得る可能性が示唆された。今後、定量解析等のさらなる検討を加える予定である。

P-63

ゲンタマイシン反復投与による幼若ラットの腎発達障害

○甲斐 清徳、大澤 徹也、藤田 勝巳、加藤 康子、本多 久美、佐藤 里子、新野 訓代、伊藤 和美、
寺西 宗広、高崎 渉

第一三共(株)、安全性研究所

【背景】幼若ラットにおける腎臓の発達はヒトあるいは他の動物種とは著しく異なり、組織発達が生後約2週間まで持続する。医薬品の小児開発に最も汎用される動物種はラットであるが、薬剤によってはヒトと幼若ラットで毒性発現が大きく異なる可能性がある。今回、成熟ラットで近位尿細管傷害を誘発するゲンタマイシンを幼若ラットに反復投与し、腎組織発達への影響を検討した。

【方法】ゲンタマイシンの30および90 mg/kgをSD系雄ラットに出生翌日(Day 1)から3、7及び11日間反復皮下投与して、最終投与翌日に血液化学的検査、血中及び尿中アンギオテンシノーゲン測定、組織学的検査及びトキシコゲノミクス(TGx)解析を実施した。

【結果】Day 4では血液化学的検査値に異常はみられなかったが、ライソゾーム障害を示唆する近位尿細管上皮の好酸性顆粒の増加並びに近位尿細管上皮の空胞化が認められた。TGx解析ではchemokine ligand 1、chemokine ligand 9及びinterleukin 7などのケモカイン・サイトカイン関連遺伝子の発現が増加し、Angiotensinogenは遺伝子発現の増加と伴に尿中でも増加した。Day 8では近位尿細管上皮の壊死も観察され、血中UN及びCREの増加が90 mg/kg群で認められ、腎の組織発達に重要なgremlin、uroplakin、Wntなどの遺伝子発現の減少、並びにSTATの発現が増加し、Angiotensinogenの免疫組織学的染色で腎皮質での染色性が増強した。また、腎臓髄質では髄質外帯及び内帯の発達異常が観察された。Day 12ではDay 8で認められた組織傷害の程度が強まり、30 mg/kg群でも血中UN及びCREが増加し、90 mg/kg群では腎重量の増加も認められた。

【結論】近位尿細管傷害を示すゲンタマイシンを生後1日齢の幼若ラットに反復皮下投与したところ、ケモカイン・サイトカイン関連遺伝子の変動と伴にangiotensinogenの発現が誘導され、Day 8以降にgremlin、uroplakin、Wntなどの遺伝子発現の減少と伴に腎臓髄質の発達異常が認められ、成熟ラットには発現しない毒性がみられた。

P-64

SHR/NDmcr-cp(cp/cp)ラットにおける腎臓病変の継時的検索

○豊田 薫¹⁾、柿本 恒知¹⁾、美谷島 克宏¹⁾、安井 雄三¹⁾、剣持 佑介¹⁾、中村 明子¹⁾、谷合 枝里子¹⁾、
高橋 明美¹⁾、正田 俊之¹⁾、稲垣 浩二²⁾、福井 健人²⁾、宮川 義史²⁾

¹⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究所、²⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 生物研究所

【背景・目的】SHR/NDmcr-cp(cp/cp)ラットは高血圧自然発症ラット(SHR)にレプチン受容体の変異を導入したラットであり、レプチンシグナルが正常に機能しないため、過食による肥満、高血糖、高脂血症、高インスリン血症及びインスリン抵抗性といった代謝異常を示す。また尿中タンパク質排泄量の増加や糸球体マトリックスの増加及び間質領域の線維化といった組織学的変化が認められていることが知られており、自然発症2型糖尿病腎症モデルラットとして研究に用いられている。今回、本モデル動物における腎臓病変の継時的検索を行った。

【材料・方法】WKY/Izmラット、SHR/NDmcr-cp(cp/cp)ラット及び片腎摘出を行ったSHR/NDmcr-cp(cp/cp)ラットを12、16、25、32及び40週齢で解剖し、腎臓の組織評価を行った。組織評価にはHE、PAS、PAM及びシリウスレッド染色と腎臓傷害に関連する各種免疫染色標本を用いた。

【結果・考察】対照群のWKY/Izmラットと比較して、SHR/NDmcr-cp(cp/cp)ラット及び片腎摘出を行ったSHR/NDmcr-cp(cp/cp)ラットでは尿中タンパク質排泄量の増加が12週齢から認められ、それと同時に糸球体、尿管及び間質領域にも組織変化が認められた。これらの変化は週齢が上がるにつれ、増悪した。また片腎摘出ラットではより顕著に認められた。本検索により、腎臓病変の継時的推移が明らかとなり、今後本モデルを使用した研究に有効な示唆を与えることとなると思われた。

P-65

肥満2型糖尿病モデルSDT fattyラットへの食塩負荷による腎病変増悪化の検討

○剣持 佑介¹⁾、勝田 佳明²⁾、榎 美実²⁾、太田 毅²⁾、豊田 薫¹⁾、美谷島 克宏¹⁾、安井 雄三¹⁾、中村 明子¹⁾、
谷合 枝里子¹⁾、高橋 明美¹⁾、柿本 恒知¹⁾、宮川 義史²⁾、正田 俊之¹⁾

¹⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究所、²⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 生物研究所

【背景・目的】食塩は肥満や糖尿病患者の血圧調整において重要な役割を担うことが知られる。食塩負荷に対する感受性については既存の糖尿病モデルで各種の報告があるが、感受性及び血圧上昇の程度はモデル間で差が大きい。肥満2型糖尿病モデルであるSDT fatty ラットは、若齢から腎機能パラメータの変動を示し、約16週齢から腎臓の組織学的変化(糸球体硬化、間質の炎症細胞浸潤及び線維化等)が認められる。本検討では、SDT fatty ラットの食塩感受性高血圧の程度を検討するために、同ラットに一定期間の食塩負荷を施し血圧上昇及び腎病変の増悪化を指標とした検索を実施した。

【材料と方法】雌雄SDT fatty ラット(4週齢、各群5匹)に1%NaCl水を14週間飲水投与した。対照群には同ラットに蒸留水を与えた。収縮期血圧、心拍数、血液生化学(BUN, Creatinine, TG, TC, Glucose, Insulin)及び尿中Albumin, Creatinineの測定ならびに腎臓の病理組織学的検査(HE, PAS, PAM, Masson Trichrome)を実施した。

【結果】食塩負荷SDT fatty ラットでは、対照群に比較して、収縮期血圧及び心拍数が有意に高値を示し、尿中Albumin排泄の増加及びCreatinine clearanceの低下が認められた。組織学的には、腎臓の細動脈壁の肥厚、糸球体硬化ならびに間質の炎症細胞浸潤及び線維化が強く認められ、その程度は雄が雌より強かった。

【結論】食塩負荷したSDT fatty ラットにおいては、顕著な血圧上昇、腎臓の糸球体硬化及び尿細管間質病変の進行・増悪化が認められたことから、同ラットは食塩負荷に対する感受性が高いと推察された。またその程度は他の糖尿病モデルに比較して強く、SDT fatty ラットが糖脂質代謝異常と食塩感受性高血圧の関係を研究するための有用なモデルとなると考えられた。

P-66

テストステロンとエストラジオール投与により誘導されるマウス前立腺肥大

○藤本 成明¹⁾、菅野 純²⁾

¹⁾広島大学・原医研、²⁾国立医薬品食品衛生研究所・毒性部

【目的】ラットに高用量アンドロゲン+エストロゲンを投与することにより、前立腺肥大が誘導されることが知られるが、マウスにおいては弱い作用しかないとされてきた。本研究では、より高用量のホルモン投与により誘導されるマウス前立腺肥大について解析した。

【材料と方法】10週齢C57BL/J6雄マウスに、ペレット化したtestosterone (T, 30 mg)と17 β -estradiol (E2, 0.1mg)を皮下投与し、4~16週間後に前立腺の各葉を解剖学的に分別して保存した。組織からグアニジンチオシアネート法でRNAを抽出し、定量RT-PCRにより各種遺伝子発現を測定した。

【結果】1) 前立腺の腹葉、背側葉、前葉の重量は、T投与によりそれぞれ2.4、2.6および1.6倍、T+E2投与により3.0、3.8および1.7倍に増加した。2) 組織学的にはいずれも腺上皮細胞の過形成であった。3) T+E2群では、投与開始10週で、全例で尿道狭窄によると考えられる尿貯留が認められた。4) PSCA (Prostate stem cell antigen) mRNAの発現が、T投与群で顕著に上昇し、+E2により相乗的に増加した。

【考察】マウスにおいても高用量T投与によりラットと同様に前立腺肥大が誘導された。組織学的には専ら腺上皮の増生によるものであった。肥大化へのE2の相乗作用は背側葉で特に顕著であり、そのために尿道狭窄が引き起こされたと考えられた。PSCA遺伝子発現はTの直接制御を受けないが、肥大組織での上昇は顕著であり増生への関与が示唆された。

P-67

Wistarラット・SDラット腎糸球体の雌雄差に関する三次元形態学的解析

○木村 啓成¹⁾、猪股 智夫¹⁾、鷹橋 浩幸²⁾、武藤 朋子³⁾、大山 典子³⁾、池上 雅博²⁾、和久井 信⁴⁾

¹⁾麻布大学 獣医学部 実験動物学、²⁾東京慈恵会医科大学 病理学、³⁾(株)薬物安全性試験センター、

⁴⁾麻布大学 獣医学部 比較毒性学

【背景】腎臓毒性の理解において腎臓の基本構築を総括的に把握することは、重要な事項である。腎臓ネフロンは複雑な三次元形態を示すが、病理学的評価は二次元情報を基にするのが一般的である。過去、本学会において Sprague Dawley (SD) (slc) 系ラットの腎臓の組織構築に雌雄差があることを報告した。

【目的】本検討では、ラットの腎糸球体に認められた雌雄差がSD系ラットに固有な所見か否かを明らかにする一助として Wistar (slc) 系ラットを用いた三次元組織形態学的解析を行った。

【材料と方法】9週齢の健全な雌雄のSD (slc) 系ラットおよび Wistar (slc) 系ラットを供した。各腎臓から常法に従い10%中性緩衝ホルマリン固定後、600枚以上の連続組織切片を作製した。その後、各標本からそれぞれ標的領域の二次元画像を CCD 光学顕微鏡画像から抽出して XY-pictorial data に変換した。次に、各データを Register 2001 (Vey Tek, Inc., USA) を用いて位置情報を特定し Z-連続性の解析を行った。次いで、Voxblast3.1 (Vey Tek, Inc., USA) を用いて XYZ-pictorial data を基に三次元再構築・定量解析を行った。

【結果】両系統の雌雄において、腎臓相対重量の有意差は認められなかった。腎臓単位体積あたりの糸球体数は雌に比較して雄で有意に低値を示したが、系統差は認められなかった。腎糸球体体積は両系統とも雌に比較して雄で有意に高値を示し、SD系ラットに比較して Wistar 系ラットで有意に高値を示した。腎糸球体体積あたりの糸球体上皮細胞 (Podocyte) 数は両系統とも雄に比較して雌で有意に高値を示し、SD系ラットに比較して Wistar 系ラットで有意に高値を示した。これに対し、腎糸球体体積あたりのメサンギウム細胞数は雄に比較して雌で有意に高値を示したが、系統差は認められなかった。さらに、腎糸球体体積あたりの血管内皮細胞は、両系統とも雌雄差は認められなかった。

【結論】本検討から、SD系ラットと Wistar 系ラットの両系統ともに腎糸球体に有意な組織学的な雌雄差を示すことが明らかとなった。

P-68

コロナウイルス感染症のフェレットに認められた猫伝染性腹膜炎類似腎臓病変

○藤井 雄太、豊沢 かおる、松本 泉美、河内 眞美、栃谷 智秋、山田 徹、船橋 斉

大日本住友製薬(株) 前臨床研究所

【背景】近年、フェレットのコロナウイルス感染症において、猫伝染性腹膜炎 (FIP) に類似した病態が報告され、その病理学的特徴が明らかにされてきている。先に我々は、コロナウイルスに感染したフェレットの腸間膜に、FIP に類似する化膿性肉芽腫性炎を認め、その病理組織像について報告した。今回、別の個体において認められたコロナウイルス感染症の病理組織像、特に腎臓の組織学的変化について報告する。

【症例】フェレット、雄、18ヶ月齢。剖検では肝臓および脾臓の腫大ならびに腹腔内リンパ節の暗赤色腫大が認められた。

【結果】病理組織学的検査において、肝臓、脾臓および腹腔内リンパ節に多巣状の化膿性肉芽腫性炎が、腸間膜リンパ節および胸骨骨髄ではマクロファージの集簇が多発して認められた。抗コロナウイルス抗体を用いた免疫染色で、肉芽腫中心部のマクロファージの細胞質が陽性を示したことから、本例をコロナウイルス感染症と診断した。さらに腎臓では、間質性腎炎および糸球体腎炎が認められ、輸入細動脈壁の肥厚、変性/壊死および出血も認められた。腎臓の電子顕微鏡学的検査では、糸球体基底膜上皮細胞側に高電子密度物質の沈着が認められた。

【考察】一般的に猫の FIP では、免疫複合体の沈着を伴う糸球体腎炎を併発することが多い。しかし、フェレットのコロナウイルス感染症において糸球体腎炎が認められた例は報告されていない。本症例では、免疫複合体沈着による糸球体腎炎が生じている可能性が示唆されており、本症例の検討は、フェレットにおける FIP 様疾患の病理学的特徴をさらに明らかとするものであると考えられる。現在、腎糸球体病変の詳細な病理組織学的検査を追加実施中であり、その結果を併せて報告する。

P-69

炭酸水素ナトリウムのウラン体内除染効果に関する実験病理学的検討

○大町 康、今村 朋美、池田 瑞代、矢島 真理子、宍倉 恵理子、金 ウンジュ、栗原 治、酒井 一夫
(独)放射線医学総合研究所 緊急被ばく医療研究センター 被ばく線量評価研究プログラム

【目的】ウラン(以下、U)は体内摂取されると腎臓に沈着し急性腎障害を誘発する。Uの体内除染剤として、炭酸水素ナトリウムが推奨されているものの、ヒトの処方量である0.1g/kg程度の炭酸水素ナトリウムはラットでは除染効果を示さないことが報告されており、炭酸水素ナトリウムの除染効果は実験的に確かめられていない、あるいは除染効果は限定的であるとされている。一方、治療に際しては、尿pHを8以上に維持するように炭酸水素ナトリウムを投与することが付記されている。今回、尿アルカリ化を示す投与量の炭酸水素ナトリウムのU除染効果について、ラットを用いて実験病理学的に検討した。

【材料と方法】雄性8週齢CrI:CD(SD)ラットに硝酸ウラニル1mg/kgを単回筋肉内投与し、U投与20分後に炭酸水素ナトリウム(0.1、0.3、1g/kg)を経口投与した。U投与翌日まで経目的に自然排泄尿のpHを測定し、投与24時間に解剖し、腎臓・骨、血漿中のウラン濃度を測定した。また同様にラットにUならびに炭酸水素ナトリウム(0.1、1g/kg)を投与し、U投与1、3、7日後に解剖し臨床病理学的・病理組織学的に解析した。

【結果】1g/kgの炭酸水素ナトリウム投与が、有意な尿pH増加、尿中U排泄亢進、U腎沈着低減を、そして経目的解析結果から、腎障害を抑制することがわかった。0.1g/kgの炭酸水素ナトリウムではこのような作用は見られなかった。

【考察】今回の我々の検討により、炭酸水素ナトリウムは尿アルカリ化を示す用量を投与することによりU内部被ばくに対し明確な除染効果を示すことがラットにおいて実証された。尿アルカリ化剤はU除染治療の一つのアプローチである可能性が考えられ、同種薬効の医薬品についてもウラン除染効果が期待される。

P-70

PhIP誘発ラット乳腺腫瘍に対する豆乳および*Lactobacillus casei* Shirota株の抑制効果

○角 将一¹⁾、加賀 千晶¹⁾、高木 陽光¹⁾、狩野 光芳¹⁾、加藤 幾雄¹⁾、宮崎 幸司¹⁾、大橋 靖雄²⁾、
戸井 雅和³⁾

¹⁾(株)ヤクルト本社 中央研究所 安全性研究部、²⁾東京大学 公共健康医学専攻 生物統計学、³⁾京都大学 乳腺外科学

【緒言】豆乳では乳がん予防効果に関する疫学データが報告されている。一方、プロバイオティクス菌株である*Lactobacillus casei* Shirota株(LcS)では、表在性膀胱がんの再発抑制効果や大腸がんにおける発症リスク低減効果が知られている。本研究ではPhIP(2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine)を投与したSD系ラットに発生した乳腺腫瘍に対する大豆イソフラボンおよびLcSの抑制効果を検討した。

【方法】5週齢のラットを4群(各群42匹)に群分けした。その後、各群ラットには高脂肪飼料(対照群)、豆乳混餌飼料(イソフラボン335mg/飼料kg:豆乳群)、LcS混餌飼料(生菌数10¹¹+CFU/飼料kg:LcS群)および豆乳+LcS混餌飼料(豆乳+LcS群)を自由摂取させた。試験飼料を投与開始後1週間目(Week 1)に、PhIP 85mg/kgを1週間4回の割合で2週間経口投与した。Week 17に剖検を実施し、切除した乳腺腫瘍を病組織学的に検査した。

【結果】乳腺の病理組織学的検査の結果、腫瘍の97.5%が腺癌、それ以外の3例は線維腺腫であった。対照群と比較し、豆乳群および豆乳+LcS群においてラット1匹あたりの乳腺腫瘍数の減少が、またLcS群および豆乳+LcS群においては腫瘍径の減少が認められた。免疫組織染色の結果、豆乳+LcS群においてKi-67陽性細胞の減少が、またLcS群、豆乳群および豆乳+LcS群においてCD34陽性細胞の減少が認められた。

【結論】以上の結果から、PhIP誘発ラット乳腺腫瘍に対して豆乳には乳腺腫瘍数の低減効果が、一方、LcSには腫瘍発育の抑制効果があることが示唆された。さらに、豆乳とLcSを混合して投与することにより、豆乳とLcSに見られたそれぞれの抑制効果が認められた。

P-71

EEの臨界期曝露による遅発影響がLHサージおよびkiss1mRNA発現に及ぼす影響

○市村 亮平¹⁾、高橋 美和¹⁾、森川 朋美¹⁾、Pramod Dhakal¹⁾、井上 薫¹⁾、前田 潤¹⁾、吉田 緑¹⁾、渡辺 元²⁾

¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾東京農工大学 農学部 獣医学科 獣医生理学研究室

【目的】 エストロゲン物質の臨界期曝露により性周期異常が性成熟後に顕在化する遅発影響は、拡張型1世代繁殖毒性試験では検出不可能であり機序も不明のため、早期の機序解明が望まれている。近年、性周期の制御中枢として視床下部前腹側室周囲核 (AVPV) のキスペプチンニューロンが注目されているが、遅発影響と LH サージおよびキスペプチンの関連性は明らかになっていない。本研究では、遅発影響が LH サージおよび kiss1mRNA 発現に及ぼす影響を明らかにするため以下の実験を行った。

【方法】 生後0日齢の雌性Donryu ラットを用い、対照群には Sesami Oil を、投与群には Ethynyl Estradiol(EE) を非遅発影響用量の 0.02μg/kg、遅発影響用量の 0.2 および 20 μg/kg それぞれ単回皮下投与し、正常性周期を示す 10 週齢時に人工的に LH サージを誘発した。また、加齢性変化と比較するため、正常性周期を維持している 20 週齢 Middle age 群に同様の処置をした。各動物はサージ誘発日の 11:00-19:00 の各タイムポイントにおいて LH 濃度を測定し、AVPV における kiss1mRNA 発現を解析した。

【結果】 EE0.02μg/kg 投与群を除く全ての群で LH サージのピークレベルの低下傾向が認められ、対照群がピークを示した 16:00 では、EE0.2 および 20 μg/kg 投与群で用量依存的な、Middle age 群で顕著な LH 濃度の低下が認められた。kiss1mRNA は LH サージとほぼ同時刻の 16:00-17:00 にかけてピークが認められ、EE20 μg/kg 投与群および Middle age 群では 14:00 に有意な kiss1 発現の低下が、16:00 に kiss1 発現の低下傾向が認められた。

【考察】 遅発影響量を投与した群では、正常性周期を示す時期でも LH サージのピークレベルが低下しており、性周期異常の発現に先駆けて中枢性の影響が生ずると考えられた。さらに、EE20 μg/kg 投与群では kiss1mRNA の発現低下も認められ、遅発影響による性周期異常にキスペプチンニューロンの異常が関与している可能性が示唆された。

P-72

3-MCPD脂肪酸エステルによるSDラット乳腺腫瘍発生修飾作用の欠如

○Young-Man Cho¹⁾、水田 保子¹⁾、鈴木 勇¹⁾、豊田 武士¹⁾、赤木 純一¹⁾、西川 秋佳²⁾、小川 久美子¹⁾

¹⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター

〈Background〉 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) fatty acid esters (3-MCPDEs), trace contaminants in edible oils are possibly formed during refining processes. Although there is no toxicological data available yet on the 3-MCPDEs, the primary toxicological concern is based on the potential release of non-genotoxic carcinogen, 3-MCPD from the parent esters.

〈Aim〉 In the present study, we investigated the modifying effects of 3-MCPDEs on the mammary gland, one of the carcinogenic target organs of 3-MCPD.

〈Materials and Methods〉 7-week-old SD rats were pretreated with N-methyl-N-nitrosourea (50 mg/kg i.p.) and then gavaged daily with 40 mg/kg bw of 3-MCPD, or 220, 130 or 240 mg/kg bw of its palmitate diester (PD), palmitate monoester (PM) or oleate diester (OD), respectively, in olive oil, 5 days per week for 25 weeks to achieve equimolar doses of 3-MCPD. During the treatment period, general conditions were observed daily, and body weight, food intake and thoracic and abdominal mammary gland tumor appearance assessed by palpation were recorded weekly. After the treatment, all surviving rats were euthanized under anesthesia and necropsied.

〈Results〉 No significant changes were observed in survival rate, final body weight and food consumption among the groups, although in the 3-MCPD group decreases with or without statistical significance were observed in early stage compared to the olive oil group. With palpable mammary gland tumors, significant increase of the incidence in the 3-MCPD PM group was observed from weeks 18 to 21 compared to the olive oil group. Histopathological examination revealed that the incidences, multiplicities and volumes of MNU-induced mammary gland tumors in 3-MCPD and 3-MCPDEs groups were not changed compared to control or olive oil groups, regardless of the histological differentiation.

〈Conclusion〉 Our results provide evidence that 3-MCPDEs do not modify the carcinogenesis of mammary gland in the present model.

P-73

高脂肪食投与によってヒトプロト型c-Ha-ras transgenic ratは乳癌発症を促進する

○曲木 美枝¹⁾、大西 隆仁¹⁾、津田 洋幸²⁾¹⁾兵庫大学 健康科学部、²⁾名古屋市立大学

【背景】 我が国では乳癌発症の増加が注目されており、現在では女性の癌では罹患率は第1位、死亡率は第4位となっている。近年の急激な乳癌患者の増加から、現代の日本人の食生活が以前とは異なった食生活へと変化し、脂肪摂取の増量が要因ではないかと報告されている。特に欧米では高脂肪摂取と乳癌発症の相関関係の存在が示唆されている。

【目的】 高率に乳癌を発症することで知られているヒトプロト型c-Ha-ras 遺伝子を組み込んだ遺伝子改変ラット(Hras128 ラット)に対し、高脂肪食あるいは低脂肪食を与え乳癌発症との関連性を検討した。

【材料と方法】 雌の7週令のHras128 ラットと Wild type ラットに Benzo[a]pyrene (50mg/kg wt) を胃管を使って投与し、その1週間後から高脂肪食(45% カロリー)あるいは低脂肪食(10% カロリー)を12週間投与した。20週令目に解剖し乳腺腫瘍の発症について検討した。摘出した腫瘍を10% 緩衝ホルマリン液で固定後、HE 標本を作成し顕微鏡で観察した。解剖時に採血し血液中の transaminase や cholesterol 値と臓器重量を測定した。

【結果】 Hras128 ラットの高脂肪食投与群では、12匹中11匹、低脂肪食投与群では12匹中5匹に乳癌を認めた。1匹当たりの乳癌発症率を見ると、Hras128 ラットの高脂肪食投与群では1.7個、低脂肪食投与群では0.7個であった。いずれも両群間で有意差が認められた。Wild type ラットの高脂肪食群と低脂肪食群のいずれにも乳腺腫瘍は発症しなかった。

【結論】 Hras128 ラットに高脂肪食を投与すると、高率に乳癌が発生することから、高脂肪食摂取と乳癌の関連性が示唆された。

P-74

ラットにおける妊娠期間中の胎児/胎盤に関する背景データ

○古川 賢¹⁾、林 清吾¹⁾、阿部 正義¹⁾、萩尾 宗一郎¹⁾、入江 浩太¹⁾、黒田 雄介¹⁾、小川 いづみ¹⁾、
杉山 晶彦²⁾¹⁾日産化学工業株式会社 生物科学研究所 安全性研究部、²⁾鳥取大学 農学部 獣医学科 獣医臨床検査学分野

【目的】 妊娠ラットの胎児及び胎盤に関する生殖パラメーターの背景データについて、妊娠20あるいは21日については多数報告されているものの、妊娠期間中のデータについて報告はほとんどない。我々はすでに報告したラット胎児/胎盤毒性試験(10試験)の対照群データを集計し、Wistar Hannover GALAS ラット(WH ラット)を中心に妊娠期間中の胎児及び胎盤に関する生殖パラメーターについて経時的に検討した。さらに、WH ラットと Crl:CD(SD) ラット(CD ラット)の系統差についても、比較検討した。

【材料及び方法】 供試験動物は10-14週令のWH ラット128匹とCD ラット26匹で、妊娠11、13、15、16、17、19及び21日(CD ラットは妊娠13、15、17及び21日)に剖検し、胎児・胎盤を採取し、その重量を測定した。

【結果及び考察】 1) 母動物体重: WH ラットはCD ラットと比して妊娠期間を通して有意な低値を示した。一方、妊娠6日の体重を100%としたときの体重増加率については両系統で差は認められず、ほぼ同様の増殖曲線を示した。2) 胎児数: WH ラットは12匹で、CD ラット(14.5匹)と比して有意に少なかった。3) 胎児重量: WH ラットの胎児重量はCD ラットと比して妊娠21日でのみ低値を示した。器官形成期には差がなかったことから、この差は妊娠17日以降の胎児期の発育に起因したものと考えられた。4) 胎盤重量: 胎児重量が胎児期の間に急激に増加したのに対し、胎盤重量は妊娠19日まで増加し、以降プラトーとなった。胎盤重量について系統差は認められなかった。さらに、各採取時期において胎児重量と胎盤重量との間には相関性は認められなかった。5) 胎盤組織検査: 迷路層は妊娠の進行と共に発達し、胎盤の大部分を占めるようになり、基底層は妊娠15日をピークに、以降退縮した。母体由来の脱落膜は妊娠11日にはすでに退縮が始まっており、間膜腺は妊娠13日まで増加し、以降退縮は認められなかった。各層の厚さは迷路層においてWH ラットの方がCD ラットと比して妊娠期間を通して厚かった。

P-75

C57BL/6Jマウスの精巣精細管内に認められたセルトリ細胞の凝集塊について

○中村 明子、柿本 恒知、美谷島 克宏、安井 雄三、剣持 佑介、豊田 薫、谷合 枝里子、高橋 明美、
正田 俊之

日本たばこ産業 医薬総合研究所 安全性研究所

【背景】2週探索毒性試験に用いられたC57BL/6Jマウスの精巣精細管腔内に単一の細胞種からなると思われる細胞凝集塊が認められた。本所見は陰性対照群を含めすべての群の動物で認められ、発生頻度や程度に用量相関性は無く、自然発生性病変であると考えられた。病理組織学検査に加え、免疫組織化学的手法を用いて細胞凝集塊を形成する細胞の由来について検索をおこなったので報告する。

【材料と方法】症例はC57BL/6Jマウスを用いた2週間探索毒性試験の定期解剖時(9週齢時)に採取された精巣。試験は陰性対照群1群を含めた5群構成(6匹/群)で実施された。全例の精巣について、ダビッドソン液で固定後、常法に従いパラフィン切片を作製し、HE染色を施し鏡検した。また、パラフィン切片を用いて、抗OSP/Claudin-11抗体を用いた免疫組織化学的検索もおこなった。

【結果・結論】各群6例中1~3例の一側性の精巣において、約5~50個の細胞からなる細胞凝集塊が数箇所の精細管内に認められた。細胞凝集塊は、精細管腔内あるいは精上皮管腔側に位置していた。凝集細胞の細胞質は弱好酸性で稀に空胞化し、細胞境界は不明瞭であった。また、細胞の核は楕円形あるいは屈曲し、クロマチンは粗剛で、1個の明瞭な核小体を容れていた。細胞凝集塊に有糸分裂像は認められなかった。免疫組織化学検索において、凝集細胞はOSP/Claudin-11陽性を示し、セルトリ細胞由来であると考えられた。本所見以外に、精巣では軽微~軽度の精細管萎縮が認められた。精巣に認められた所見はいずれも発生頻度や程度に用量相関性は無く、自然発生性病変であると考えられた。

P-76

特異な組織像を示したマウスの卵巣胚細胞腫瘍の2例

○細井 理代、太田 泰史、植田 芳英、高見 成昭、宮島 留美子、長谷川 和成、志賀 敦史、奈良間 功
(公財)食品農医薬品安全評価センター 試験部 病理検査室

【目的】奇形腫以外の卵巣胚細胞腫瘍はヒトや家畜のみならず、ラット、マウスなどの実験動物においても稀であるが、マウスの特異な卵巣胚細胞腫瘍に遭遇したので、その病理組織学的特徴について報告する。

【症例】症例1：がん原性試験に用いられ、33週齢時に瀕死期解剖されたCD1(ICR)マウスで、剖検時に左卵巣の赤色腫瘍(30x25x20mm)、腎リンパ節の腫大(5x5x3mm)、大網の多発性白色結節(3x3x2mm)等が観察された。症例2：がん原性試験に用いられ、62週齢時に死後解剖されたB6C3F₁マウスで、剖検時に左卵巣の白色腫瘍(20x15x15mm)と脾臓の腫大が観察された。

【結果】病理組織学的検査において、症例1：卵巣腫瘍の大部分は出血・壊死に陥り、多数の角質嚢胞、毛胞様構造、単層円柱上皮に内張りされた嚢胞、成熟神経組織、骨組織、横紋筋線維および脂肪組織から構成され、良性奇形腫(成熟奇形腫)の形態を呈したが、辺縁部に小型好塩基性細胞または胚細胞に類似する大型核と好酸性細胞質を有する巨大細胞が増殖し、卵黄嚢瘍の形態を示した。腎リンパ節では成熟した気管粘膜、導管様構造、神経組織と大型核と好酸性細胞質の細胞が増殖し、大網では小型上皮様塩基性細胞の乳頭状増殖を伴う卵黄嚢瘍組織が見られた。症例2：卵巣の大部分は成熟した線毛上皮、粘液細胞あるいは円柱上皮が内張りする腺管、角質嚢胞、神経組織、筋組織、結合組織、メラノサイト集簇から構成されていたが、一部の組織は充実性の増殖を示し、一部で原始神経管様の構造を示す悪性奇形腫(未熟奇形腫)の形態を示した。また、一部では卵黄嚢瘍の形態を示す領域も含まれていた。

【考察】症例1および2は奇形腫に他の悪性胚細胞腫瘍の成分が混在する悪性混合胚細胞腫瘍であると考えられた。また、症例1では転移先においても成熟組織に分化していた。本腫瘍は各試験で1例だけの発生であり、被験物質投与と関連しない偶発病変と判定された。

P-77

マウス精巣上体における結節性病変の病理

○志賀 敦史、太田 泰史、植田 芳英、高見 成昭、細井 理代、宮島 留美子、長谷川 和成、奈良間 功
(公財)食品農医薬品安全性評価センター 試験部 病理検査室

【背景】マウス精巣上体の原発性腫瘍は稀だが、その多くは非上皮性腫瘍である。一方、非腫瘍性病変としては、主に精子肉芽腫あるいは慢性炎症のように組織球浸潤を主体としたものが多い。マウスの精巣上体にみられる慢性炎症には組織球様細胞の集簇巣がみられ、腫瘍性病変との鑑別が難しい症例が存在する。

【目的】マウス精巣上体に発生する様々な結節性病変について病理組織学的な特徴づけを行い、腫瘍性病変と非腫瘍性病変を鑑別する。

【材料と方法】1. マウスを用いたがん原性試験から得られた精巣上体の結節性病変(21例)の病理組織学的検査、2. 実験的な精子肉芽腫誘発の試み(4例)

【結果】精巣上体における慢性炎症は、尾部に発生し、組織学的にはコレステリン裂隙形成、リンパ球・組織球浸潤、多核巨細胞などから構成され、組織球様細胞や線維芽細胞様細胞の単調な増殖を伴っていた。一方、一部で同様の組織学的特徴を示す尾部原発の腫瘍性病変が存在した。この腫瘍性病変構成細胞は、組織球様の形態を示していたが、 α -平滑筋アクチンに陽性であり精巣上体管への浸潤を示した。これとは別に、誘発した精子肉芽腫の経時の変化を調べることを試みたが、例数が少なく、適切な結果を得ることが出来なかった。

【考察】マウス精巣上体における α -平滑筋アクチン陽性細胞で構成される腫瘍は筋線維芽細胞由来の腫瘍である可能性がある。マウスの精巣上体には、類似の形態を示す2種類の腫瘍、すなわち、原発性ないし転移性の組織球肉腫およびいわゆるfibrohistiocytic tumorの発生がみられる。したがって、マウス精巣上体に発生する組織球様細胞あるいは線維芽細胞様細胞の増殖性病変には慎重な鑑別診断が必要である。

P-78

細胞障害性抗がん剤の短期間投与により誘発されたラット卵巣の形態学的特徴

○鈴木 倫¹⁾、大須賀 勇¹⁾、栃内 亮太¹⁾、永田 百合子¹⁾、畑 千恵¹⁾、安藤 稔¹⁾、内田 和美¹⁾、
小林 稔秀¹⁾、吉田 緑²⁾、角 将一¹⁾、金子 公幸¹⁾

¹⁾(株)ヤクルト本社 中央研究所 安全性研究部、²⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 病理部

【背景】細胞障害性抗がん剤のシクロホスファミド(CPA)およびシスプラチン(CDDP)を雌性ラットに2週間または4週間投与する亜急性毒性試験では、アポトーシス主体の閉鎖卵胞の増加が認められることが報告されている。一方、これらの抗がん剤を短期間投与した際の卵巣の変化については、明らかにされていない。今回、抗がん剤の探索毒性の一環として、作用機序の異なる抗がん剤を短期間投与し、卵巣の形態学的特徴を解析したので報告する。

【方法】10週齢の雌性CrI:CD(SD)ラットに、CPA、CDDP、5-フルオロウラシル(5-FU)およびビンクリスチン(VCR)を4日間反復静脈内投与した。最終投与翌日に卵巣を摘出した後、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。常法に従ってパラフィン切片を作製し、HE染色の他、卵細胞を検出するためのPCNA染色(PCNA変法)およびアポトーシスを確認する目的でTUNEL染色を施して病理組織学的評価を行った。なお、卵胞の分類は、Pedersenらの分類(小型、中型および大型卵胞)に従って行った。

【結果】CPA、CDDPおよび5-FUでは、中型あるいは大型の閉鎖卵胞の増加が認められた。特に、CDDPおよび5-FUでは、アポトーシス主体の閉鎖卵胞とは異なり、顕著な顆粒膜細胞の壊死を示す中型あるいは大型の閉鎖卵胞が認められた。一方、VCRでは、中型卵胞および大型卵胞に明らかな影響は認められなかった。各薬剤とも小型卵胞については、数の減少およびアポトーシスなどの形態学的な変化は認められなかった。

【まとめ】抗がん剤の短期間投与により誘発される卵巣の組織学的変化は、中型および大型の卵胞に明瞭な変化が起こることが示唆された。また、卵胞に起こる変化は、亜急性毒性試験で認められる変化と質的に異なる可能性が推察された。

P-79

ラット 膵臓島腫瘍の悪性指標としての被膜形成・被膜外浸潤の重要性について

○西原 香織¹⁾、山口 裕子¹⁾、高木 みづほ¹⁾、隈部 志野²⁾、今岡 尚子³⁾、吉田 緑⁴⁾、佐藤 順子²⁾

¹⁾(株)ボゾリサーチセンター、²⁾三菱化学メエディエンス(株) 試験研究センター、

³⁾第一三共株式会社 葛西研究開発センター、⁴⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【目的】ラット膵島腫瘍の悪性化指標の一つとして被膜形成及び被膜外浸潤がある。しかしこの指標がはたして腫瘍の良悪と相関しているのか疑問が多い。今回我々は膵島腫瘍の被膜形成に焦点を絞り、形態的差異と免疫組織学染色結果との関連性を検討した。

【材料と方法】110週齢Crl:CD(SD)ラット53例(58腫瘍)、Fischr 344ラット10例(11腫瘍)計69腫瘍を用い、HE染色、MT染色、抗PCNA、抗Insulin抗体を用いた免疫組織学染色を実施し比較した。

【結果】被膜形成(MT染色で確認)は51/69腫瘍(73.9%)と高頻度に見られ、部分的/全周性、薄い/厚いなど様々であった。被膜形成を有する腫瘍の80.4%に被膜中/外に腫瘍細胞の小~大集簇がみられた。いずれの腫瘍も周囲組織との境界は明瞭で、境界部に管構造がしばしばみられた。増殖様式は胞巣状/リボン状/柵状配列、細胞質は正常より豊かで淡好酸性を呈した。核/細胞質比の増加あるいは軽度な核の大小不同や配列の乱れを示す例もいたが、強い細胞異型及び血管内浸潤や遠隔転移はみられなかった。いずれの腫瘍も核分裂像は無いかわずかであった。この様な腫瘍細胞の形態的差異と被膜形成の有無に関連性はなく、また被膜外の腫瘍細胞とも形態的差異はみられなかった。免疫組織学染色の結果、正常なラ氏島細胞はInsulinが顆粒状に濃染されるのに対し、腫瘍ではInsulinに100%陽性を示したものの薄く均質に染まる傾向がみられた。PCNA陽性率は低かった。PCNA陽性及びInsulinの染色性には、被膜形成の有無、被膜内外の腫瘍細胞及び細胞異型の有無による差異はみられなかった。【考察】検索した膵島腫瘍には高頻度に被膜形成がみられた。被膜形成の有無、厚さ及び被膜内/被膜外への浸潤に関わらず、形態学的異型性及び分裂像に乏しく且つ遠隔転移もなかったことより、これらは良性腫瘍と判断された。PCNA及びInsulinの染色性についても、いずれの場合も差はみられなかったことから、被膜形成および被膜内外への浸潤のみで悪性とみなすことはできないと判断される。

P-80

ラット発生過程の膵とイヌの線維化膵における膵星細胞と筋線維芽細胞の免疫組織学的特性解析

○橋本 愛、井澤 武史、田中 美有、Hossain M. Golbar、Kavindra Wijesundera、桑村 充、山手 丈至
大阪府立大学 獣医病理学教室

線維化は膵臓においてあらゆる病態の終末像であり、未だ有効な治療法が確立されていない。線維化には細胞外基質を産生する筋線維芽細胞(MF)が重要であり、膵MFは膵星細胞(PSC)に由来するとされる。そこで、今回、(1)ラットの膵発生過程におけるPSCの特性、特に細胞骨格について解析した。また、(2)イヌの線維化膵のMFの特徴についても同様に検討した。

【材料と方法】(1)F344ラットの胎子18, 20日と新生子1~21日、成体から膵を採材した。(2)12例の剖検材料から膵を採材し、HE染色及びアザン染色により線維化のグレード分けを行った。これら材料を用いて、vimentin、desmin、 α -SMA、GFAPに対する免疫染色を行った。

【成績】(1)PSCは発生期間を通じGFAPを発現する特徴があり、vimentin、 α -SMA、desminに対しても種々反応したが、vimentinに対する反応は発生が進むにつれて低下した。(2)正常な膵の外分泌腺周囲及びラ氏島においてvimentin、GFAP陽性間質細胞がみとめられたが、 α -SMA陽性間質細胞はほとんどみとめられなかった。これらの陽性細胞は、膵線維化のグレード増加に伴い増加した。なお、現在さらに二重蛍光免疫染色を行うなど、解析を加えている。

P-81

Jic:CB6F1-Tg rasH2マウスの大腿骨骨幹端の変化

○山口 裕子、斎藤 翼、中澤 朋美、高木 みづほ、永谷 真理子、田村 一利、星谷 達

(株)ボゾリサーチセンター 病理部

【緒言】Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl (rasH2) マウスは、短期発がん性評価を目的としてヒト由来のプロト型がん遺伝子 [c-Ha-ras] を導入した遺伝子組換え動物である。しかし、非腫瘍性病変及び過形成性病変の背景データは十分ではないのが現状である。今回我々は、大腿骨の骨幹端に自然発生する組織変化について報告する。

【材料と方法】背景データ収集用試験に供された rasH2 マウス、34 週齢、雌雄各 50 例の 4 試験 (別ロット)、計 400 例の右側大腿骨 (遠位端) を用いて病理組織学的検索を実施した。

【結果】病変は、骨幹端における軟骨の形成異常としてみられた。組織学的には、成長板の形的乱れ、限局性の肥厚あるいは成長板よりやや離れた骨髄内での軟骨形成を特徴とした病変であった。成長板は閉鎖している週齢でもあり、成長板以外の軟骨形成部位も軟骨性骨化、活性化した骨芽細胞及び破骨細胞などの骨形成はみられず、出血、炎症性変化もみられなかった。

発現頻度は 4 試験間でそれぞれ雄: 10%、14%、2%、0%、雌: 0%、36%、4%、0% で、全体では雄 6.5%、雌 10% であり、動物のロット間でばらつきがみられた。これらの変化がみられた個体のうち 7 例において膝関節部の形状異常がみられたが、骨幹端部の変化との関連性は不明であった。これらのいずれの動物も一般状態では歩行異常はみられず、飼育中に摂餌量の減少及び体重減少もみられなかった。

【考察】今回は、右側の大腿骨のみの観察であったため、本病変が両側性か否か、また他の長管骨も未観察のため全身における発生状況は不明であった。本病変は、部位特異性があり組織像が類似していることから遺伝的素因が一つの要因である可能性は否定できないものの詳細な原因は不明であった。本変化がみられた動物の体重を含めた一般状態や生存率などに正常動物との差はなく、本変化が動物に及ぼす悪影響は殆どないものと推察されるが、今後、より多くの症例を集積すると共に、全身の骨組織を検索し、その病態を明らかにする必要があるものと考えられる。

P-82

mdxマウスにおける骨格筋組織の経時変化及びグリコサミノグリカンに関する予備的検討

○久保田 恵、二井 愛介、森田 大輔、渡邊 篤志、伊東 志野、南澤 由佳、北澤 郁恵、久保 孝利

生化学工業(株)中央研究所 安全性代謝研究室

【背景と目的】 mdx マウスはデュシェンヌ型筋ジストロフィーの疾患モデルであり、生後約 3 週より骨格筋の壊死と活発な再生を繰り返す。この再生過程は筋芽細胞と細胞外マトリック (ECM) の相互作用により制御されており、ECM には成長因子の活性調整因子であるプロテオグリカン (PG) が豊富に含まれている。本研究では、mdx マウスの成長に伴う骨格筋の経時変化を病理組織学的に検討し、併せて骨格筋中に含まれるグリコサミノグリカン (GAG: PG の構成成分) についても予備的に分析した。

【材料と方法】 雄性 C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J (mdx) マウスを、2、4、7、13、18 及び 26 週齢の計 6 時点において 2 匹ずつ剖検し、大腿部、下腿部、腓腹筋及び横隔膜を採材した。対照として、雄性 C57BL/10ScSlc マウスを同様に設定した。大腿部、下腿部及び横隔膜はパラフィン包埋後スライド標本作製し、HE 染色、線維染色、GAG 染色 [アルシアンブルー (AB) 染色他] 及び GAG 関連組織化学染色を施した。腓腹筋は凍結標本作製し、ジストロフィン蛋白免疫染色を施した。また、下腿部骨格筋の一部は、含有 GAG を液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) で測定した。

【結果とまとめ】 HE 染色では、2 週齢の mdx マウスにおいていずれの骨格筋でも著変は認められなかった。4 から 18 週齢ではいずれの時点も筋線維の大小不同、変性、壊死及び再生を示す中心核がみられ、壊死部では細胞浸潤も散見された。これらの変化は下腿部の特定の部位に集中する傾向がみられた。ジストロフィン蛋白免疫染色では、2 週齢以降でいずれの時点もジストロフィン蛋白が筋線維全周性に欠損していた。AB 染色では、4 週齢以降で間質の AB 陽性領域が明らかに増加していた。即ち、4 から 26 週齢では骨格筋の部位により程度の異なる再生及び壊死が認められたが、週齢の違いによる明らかな差は認められなかった。GAG に関する予備的検討は、GAG 関連組織化学染色及び LC/MS/MS も含め、併せて報告する。

P-83

化学発がんにより形成されたマウス皮膚腫瘍に対する高圧酸素の影響

○堂口 裕士¹⁾、赤澤 幸則²⁾、高松 玲佳¹⁾、齊尾 征直¹⁾、吉見 直己¹⁾

¹⁾琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学、²⁾琉球大学大学院 医学研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科学

【目的】腫瘍の悪性化には低酸素状態が重要な役割を果たしている。高圧酸素(HBO)療法は、低酸素症を改善する手段の一つとして考えられている。高圧酸素療法は一酸化酸素中毒や創傷治癒、がん治療など広く臨床応用されているものの、未だそのメカニズムは明らかにされていない。我々は今回、7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン(DMBA)および12-O-テトラデカノイルホルボル 13-アセタート(TPA)二段階発がんによって皮膚がんを形成させたマウスを用いて高圧酸素療法の腫瘍に対する修飾効果を検討した。

【方法】6週齢のマウス(CD-1)50匹に25 nmol DMBAを毛刈りした背側面皮膚に塗布し、その2週間後から、8.5 nmol TPAの週2日処理を屠殺まで行った。腫瘍の大きさが直径2.0 mm以上になった個体からHBO群(n=24)と非HBO群(n=23)の2群に分けた。HBO群のマウスはHBO容器内にて2.2気圧、90分間の処置を行った。全群のマウスをHBO開始から16週目に解剖し、腫瘍の形態学および組織学的検討を行った。

【結果】腫瘍の体積、Multiplicity、また直径が3 mm以上に増加した腫瘍の数はHBO群の方が多く、HBO群が非HBO群より増加傾向にあり、HBOによる細胞増殖促進効果が示唆された。

【結論】HBOには腫瘍形成および腫瘍細胞増殖を促進する効果があることを示した。このことは、高圧酸素環境下での創傷治癒において血管新生および上皮形成が促進される状況と類似したものと考えられる。HBOによる細胞増殖促進効果が見られることから、HBO併用での放射線・化学療法の効果増強に関連していると考えられる。

P-84

rasH2マウスを用いた超短期皮膚二段階発がん性評価法の開発—低用量DMBAの検討

○勝呂 繭子¹⁾、河部 真弓¹⁾、沼野 琢旬^{1,3)}、浦野 浩司²⁾、堤 秀樹²⁾、古川 文夫¹⁾

¹⁾(株)DIMS医科学研究所、²⁾(公財)実験動物中央研究所、³⁾名古屋市立大学大学院 医学研究科 分子毒性学分野

【目的】rasH2マウスの皮膚を用いてより短期に発がん性の有無を評価できる「超短期皮膚二段階発がん性評価法」の開発を進めている。このモデルでは、イニシエーターとして7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA: 50 μ g/100 μ L)を用い、発生メカニズムが異なる既知の2種の皮膚発がんプロモーターである12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA)又はbenzoyl peroxide (BPO)の投与により、8週間で皮膚発がん性評価が可能である。しかし、DMBAイニシエーション後、溶媒又は非発がん物質の投与によって少数例ではあるが腫瘍発生が認められた。そこで今回は、DMBAの用量を12.5 μ g/100 μ Lに減じて検討した。

【方法】雌のrasH2又はNon-Tgマウス(7週齢、各群10匹)の背部にDMBA(12.5 μ g/100 μ L)又は溶媒のアセトンを1回経皮投与し、その1週間後よりTPA(8又は4 μ g/200 μ L)を週1回経皮投与した。皮膚腫瘍の外表観察を週1回行い、実験8週で剖検した。

【結果】rasH2マウスのDMBA投与群では、TPA 8 μ g処置群で実験4週時に、4 μ g処置群で実験5週時に皮膚腫瘍の発生が認められ、それぞれ6週及び7週時に発生率が100%に達した。剖検時の平均発生個数はそれぞれ20.5個及び10.9個であり、用量との関連が認められた。病理組織学的には、各投与群で発生した腫瘍は扁平上皮過形成又は扁平上皮乳頭腫であった。一方、rasH2マウスのDMBA非投与群及びNon-Tgマウスでは腫瘍の発生は認められなかった。

【まとめ】rasH2マウスの皮膚に12.5 μ g/100 μ L用量のDMBAでイニシエーション後、皮膚発がんプロモーターであるTPAの投与により十分な数の皮膚腫瘍の発生が認められ、その発生個数には用量との関連が認められた。また、発生時期について、過去の検討との差異はなかった。以上の結果、低用量のDMBAでも皮膚発がんプロモーション作用が8週間で検出可能であると考えられた。

P-85

制限給餌条件下若齢ラットにおける大腿骨成長板の組織形態計測学的解析

○野口 ちひろ¹⁾、松江 健太¹⁾、中西 豊¹⁾、浅沼 富美子²⁾、宮田 裕人³⁾、佐々木 稔¹⁾、堤 俊輔¹⁾、佐藤 靖¹⁾

1)大正製薬(株) 安全性・動態研究所、²⁾大正製薬(株) 薬制部、³⁾大正製薬(株) 医薬安全管理部

【目的】通常の病理組織学的評価では14日間給餌制限したラットの骨に著変が認められないことが知られている。今回我々は通常の病理組織学的評価に組織形態計測学的評価を加え、摂餌量減少が大腿骨成長板に及ぼす影響について検討したので報告する。

【方法】試験開始時6週齢の雄性Crl:CD(SD)ラットを用いた14日間の給餌制限実験(Miyata et al, *J Toxicol Pathol* 2009)における無処置群と給餌制限群(累積給餌制限量:25, 44及び53%, 対無処置群体重比:-20, -30及び-37%)の大腿骨HE染色標本を用い、大腿骨近位端の病理組織学的及び組織形態計測学的な評価を行い、成長板への影響について検討した。組織形態計測学的解析では成長板増殖帯及び肥大帯の幅、並びに各々の軟骨細胞数を計測した。

【結果】病理組織学的評価において無処置群と給餌制限群との間に明確な差は認められなかった。組織形態計測学的評価において、成長板増殖帯の幅及び軟骨細胞数は無処置群に比べ給餌制限全群で各々36~44%及び36~50%低値であった。成長板肥大帯幅、成長板肥大帯軟骨細胞数については無処置群と給餌制限群との間に明確な差は認められなかった。7日間の回復期間後においては、53%累積給餌制限群の成長板増殖帯幅のみが無処置群と比較し20%低値を示したが、その他の値に著変は認められなかった。

【結論】制限給餌したラットの大腿骨において成長板増殖帯幅及び軟骨細胞数が減少することが組織形態計測学的解析により明らかとなった。病理組織学的評価に加えて組織形態計測学的評価を実施することにより、摂餌量減少が大腿骨成長板に及ぼす影響を鋭敏に捉えることができる可能性があると考えられた。

P-86

Jic:CB6F1-Tg rasH2マウスにおける胸腺髄質領域にみられた過形成病変に関して

○斎藤 翼、山口 裕子、松島 圭太、枝元 洋、山川 誠己、田村 一利、星谷 達

(株)ボゾリサーチセンター

【緒言】Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl (rasH2)マウスは、短期発がん性評価を目的としてヒト由来のプロト型がん遺伝子[c-Ha-ras]を導入した遺伝子組換え動物である。しかし、非腫瘍性病変及び過形成性病変の背景データは十分ではない。そこで今回、胸腺髄質の過形成性変化について報告する。

【材料と方法】背景データ収集用試験に供された34週齢のrasH2マウス雌雄各50例の4試験、計400例の胸腺を用いて病理組織学的に検索した。ヘマトキシリン・エオジン染色以外に、抗PCNA、抗CD3、抗Pax5、抗ケラチン抗体を用いた免疫組織化学染色を実施した。

【結果】髄質領域におけるリンパ球性過形成の発生率は、雄では29% (24-40%)、雌では17% (10-28%)であった。その病理組織学的特徴を以下に記した。(1) 髄質領域内に皮質とほぼ同様の染色性を示す多数のリンパ球の集簇が顕著にみられた。その程度によっては髄質領域の狭小化のみならず、髄質全体を置換し、皮質領域を軽度に圧排する例もみられた。(2) 正常な皮質との境界は不明瞭であった。(3) 髄質内の増生したリンパ球は、大小のばらつきを有するものの、核の形態や染色性に正常リンパ球との明確な差異はみられなかった。(4) 肉眼的に胸腺の大型化や結節性病変はみられなかった。標本上で、顕著な胸腺面積の増大はみられなかった。(5) 病変と臓器重量の相関はみられなかった。(6) 免疫組織化学染色の結果、上記髄質領域内のリンパ球ではCD3及びPCNAに正常領域よりも明らかに高い陽性率を示した。一方、ケラチン及びPax5の染色性に差異はみられなかった。

【まとめ】胸腺髄質に増生している細胞はTリンパ球が主体であり、限局的に高い増殖活性を示したことから過形成病変であると推察された。34週齢の時点では全動物においてリンパ腫の発生はみられないものの、前がん病変であるか否かは不明である。今後も慎重な観察と、データの蓄積が必要と考えている。

P-87

Wistar Hannoverラットの胸腺腫 — 発現の特徴, 要因の検討 —

○友成 由紀、隈部 志野、爰島 洋子、黒滝 哲郎、佐藤 順子、土居 卓也、涌生 ゆみ、土谷 稔

三菱化学メディエンス(株) 創薬支援事業本部 試験研究センター 病理研究部

【背景】老齢の Wistar Hannover ラット (WH) では胸腺腫の発生が多く (Weber ら), hyperplastic lesion (HL) も見られる (岩田ら)。WH 背景病変を検討する中で, WH の胸腺が他系統と比べて加齢に伴い特徴的な形態像を示すことがわかった。今回, 胸腺腫好発の要因を病理形態的に検討した。

【材料】動物: 104週背景データ収集試験に供した WH 雌雄各200例, SD 雌雄各275例の胸腺。胸腺重量: 6-9, 10-12, 13-26, 27-38週齢時の各系統の背景データ値。

【結果】104週試験の最終解剖時, WH の胸腺は雌で顕著に若齢期の形状 (三角形) を保つ例が多く, 雄12例と雌31例に腫大または結節が認められた。組織学的に, SD では皮髄領域が不明瞭な退縮胸腺が殆どであったが, WH では皮髄が明瞭で葉構造を保つ例が多かった (雄26例, 雌56例)。胸腺腫は葉の辺縁が鈍な結節状で, 周囲への圧排が認められた。腫瘍は網目状に増殖した胸腺上皮と豊富なリンパ球から構成され, 皮髄構造を構築しつつ増殖する特徴的な像を示した。また, 周囲組織への圧排性が弱く, 正常の胸腺組織構築を乱して増殖する病巣HLも認められた。胸腺腫の発現は各系統で, WH: 雄10例(5%), 雌30例(15%), SD: 雄1例(0.4%), 雌3例(1.1%), HLの発現はWH: 雄2例(1%), 雌9例(4.5%), SD: 雄雌各0例(0%)であった。胸腺重量(対体重比($\times 10^{-3}$))は全期間でSDよりWH, 雄より雌で高値を示し, 27-38週齢の各系統ではWH: 雄58.97, 雌94.91, SD: 雄30.85, 雌51.95であった。【結論】WHラットの胸腺は, SDと比較して退縮が緩徐であること, 腫瘍との移行像と思われるHLがみられること, そして高い胸腺腫の発現率が特徴であった。この胸腺退縮が緩徐であることがWHの限局性過形成や胸腺腫の高い発現率に関与している可能性が考えられた。

P-88

Spontaneous Thymoma Observed in 52-Week Background Study of Sprague-Dawley rats

○Myoung Jun Kim¹, Mi Ju Lee¹, Byeong Woo Ahn³, Jae-Min Moon¹, Sun Hee Park¹, Yong-Hoon Lee¹, Duyeol Kim¹, Chang Geon Kim¹, Ho-Song Jang¹, Jin Seok Kang², Jongkoo Kang^{1,4}

¹Biototech. co. ltd, ²Namseoul University, ³Department of veterinary pathology, Chungbuk National University,

⁴Department of Laboratory Animal medicine, Chungbuk National University

The well-encapsulated mass in the anterior mediastinum was observed in one female 58-week-old Sprague-Dawley (SD) rat, following necropsy at termination of a 52-week background study. It was shown grossly as a single, solid, yellowish-white cut surface. Histologically, it was characterized by diffuse scattered small clusters or individual of tumor cells, small lymphocytes and eosinophils, and abundant fibrous tissue. Neoplastic epitheloid cells have round or polygonal shape nucleus with distinct nucleoli and fine vacuoles. Features of malignancy were observed as high mitotic rate, atypical mitoses, and various level of differentiation. As the epitheloid tumor cells were positive for immunostaining of cytokeratin and this tumor was diagnosed as malignant epithelial thymoma. The incidence of thymoma in Sprague-Dawley (SD) rat was quite rare, recorded between 0.3% and 0.6% and malignant thymoma was more unusual. This is rare case of thymoma occurring spontaneously in SD rat.

P-89

カニクイザルの胸腺にみられた被膜下胸腺上皮過形成の1例

○村上 雄¹⁾、能登 貴久¹⁾、坪田 健次郎¹⁾、大石 裕司²⁾、仲辻 俊二¹⁾、松本 正博¹⁾

¹⁾アステラス製薬株式会社 安全性研究所 毒性病理研究室、²⁾アステラス製薬株式会社 安全性研究所

毒性試験に用いたカニクイザルにおいて、被膜下胸腺上皮過形成を呈した症例に遭遇したので報告する。

【症例】ある化合物の毒性試験の低用量群に用いた雄カニクイザル(5歳0ヶ月齢, 中国産)で、投与期間中の一般状態、体重、摂餌量、血液学及び血液化学的検査に異常はなく、剖検において肺に多数の暗赤色巣がみられた以外に胸腺を含め肉眼的異常は認められなかった。全身諸臓器を10%中性緩衝ホルマリンで固定後、常法に従いHE染色を施し組織学的検査を行った。胸腺については免疫組織化学及び電子顕微鏡学的検索も加えた。

【結果】病理組織学的に胸腺は軽度の退縮を呈しており、胸腺被膜及び中隔に沿って、リンパ球よりやや大型で、類円形～楕円形の淡明核及び弱好酸性の乏しい細胞質を有する細胞が帯状、一部で巣状に増殖していた。核分裂像は殆ど認められなかった。増殖細胞は、免疫染色にて、Cytokeratin (CK) 7陽性、CK20陰性を示し、Ki-67に対して殆ど陽性反応を示さなかった。電子顕微鏡学的検査では、細胞質内のトノフィラメント及び細胞間接着装置(デスモゾーム)が認められた。その他の器官・組織では、剖検所見に一致して肺の多発巣状性出血が認められた他、特記すべき変化は認められなかった。

【まとめ】胸腺上皮細胞はケラチン発現パターンとその生理的役割より皮質型、被膜下型、髄質型、Hassall小体関連型に分類される。本症例の増殖細胞は、CK7陽性で被膜下に局在していたことから、被膜下型の胸腺上皮細胞と考えられた。胸腺の生理的退縮過程において、被膜下胸腺上皮細胞は中隔に沿って髄質に向かって増殖・進展し、髄質型へと分化して管状或いは嚢胞構造を呈するとされる。しかしながら、本症例でみられた被膜下胸腺上皮細胞の増殖は、通常の生理的退縮に伴う程度を逸脱していたことから、被膜下胸腺上皮過形成と診断した。カニクイザルでの被膜下胸腺上皮過形成に関する報告は見当たらず、極めて稀な症例と考えられた。

P-90

CB6F1-TgrasH2マウスの脾臓でみられたMott cellの出現

○佐野 智弥、穴山 久志、高井 有一、渡辺 武志、福田 良

武田薬品工業株式会社 薬剤安全性研究所

短期発がん性試験に使用されるCB6F1-TgrasH2マウス(以下、rasH2マウス)の脾臓において、好酸性球状物を含有する類円形細胞が多数出現する興味ある変化に遭遇したので、その形態学的及び免疫組織化学的特徴について報告する。

【症例】rasH2マウス、雌、33週齢。背景データ取得のために7週齢より0.5 w/v%メチルセルロース溶液を26週間強制経口投与した雌雄計100例中の1例である。飼育期間中の一般状態、血液学的検査及び剖検では、特記すべき所見は認められなかった。

【結果】HE染色では、脾臓の正常構造は保たれていた。しかし、細胞質内に大小のサイズの異なる好酸性球状物を多数含む類円形細胞が、赤脾髄領域を中心に一部のPALS領域を含めて、び漫性に多数認められた。多くの核は、充満した細胞質内の好酸性球状物によって変形または偏在していた。好酸性球状物はPAS染色陽性を示した。免疫組織化学的検索の結果、好酸性球状物は、抗IgG抗体及び抗Immunoglobulins (IgG, IgM, IgA complex)-FITC抗体に陽性を示した。また、B細胞のマーカーである抗CD45R/B220抗体には陰性であった。超微形態的には、これらの細胞の核は、辺縁を中心に凝集したヘテロクロマチンが豊富に認められ、低～中電子密度の均質な物質を容れて拡張した粗面小胞体(rER)が細胞質を占有していた。

【結論】以上の結果から、好酸性球状物は、拡張したrER内に多量の免疫グロブリンを容れたRussell小体であることが確認され、本変化はMott cell集簇の重度な変化であると判断した。

P-91

90-day Repeated Dose Toxicity and Genotoxicity Tests of *Evodia officinalis*

○Duyeol Kim¹⁾, Yong-Hoon Lee¹⁾, Sun Hee Park¹⁾, Mi Ju Lee¹⁾, Myoung Jun Kim¹⁾, Ho-Song Jang¹⁾,
Hye-Yeong Lee¹⁾, Mi-Young Lee¹⁾, Beom Seok Han²⁾, Woo-Chan Son³⁾, Ji Hyeon Seok⁴⁾, Jong Kwon Lee⁴⁾,
Jayoung Jeong⁴⁾, Jin Seok Kang⁵⁾, Jongkoo Kang^{1,6)}

¹⁾Biototech Co.Ltd., Department of pathology, ²⁾Hoseo Toxicity Research Center, Hoseo University Biomedical Laboratory Science, ³⁾Pathology Department, Asan Medical Center, ⁴⁾Toxicological Research Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration, ⁵⁾Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University, ⁶⁾Department of Laboratory Animal medicine, College of Veterinary medicine, Chungbuk National University

Evodia officinalis (EO) is natural product which has been used by oriental medicine and it has been known to have some pharmacologic effects such as testosterone secretion, catecholamine secretion, analgesic, anti-inflammatory, anti-obesity, vasodilatory, thermoregulatory and uterotonic effects. However, its toxicity has not been fully evaluated. In the present studies, we carried out a 90-day repeated dose toxicity study (orally five times per week at doses of 25, 74, 222, 667 and 2,000 mg/kg) using in F344 rats and genotoxicity studies (bacterial reverse mutation test in *Escherichia coli* WP2uvrA, *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 and TA1537, chromosome aberration test using Chinese Hamster Lung cell and micronucleus test using ICR mice) of EO. Increased liver weight in both sexes at 2,000 mg/kg ($P < 0.01$), decreased alanine aminotransferase in males at 222, 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.01$), in females at 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively), decreased total cholesterol in males at 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.01$), in females at 222, 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.01$, respectively), and decreased glucose in females at 222, 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively) were relevant. The changes were not associated with histopathological alterations. Thus, the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) of EO in F344 rats is considered to be greater than 2,000 mg/kg. For genotoxicity study, EO did not show the mutagenic potential, chromosome aberration and micronucleus formation.

P-92

ラット中期多臓器発がんモデルを用いたDPAA(diphenyl arsenic acid)の発がん修飾作用の検討

○奥村 真衣、藤岡 正喜、魏 民、山野 莊太郎、三島 胡桃、多胡 善幸、鰐淵 英機

大阪市立大学大学院 医学研究科 分子病理学

【背景】有機ヒ素化合物である DPAA はヒトに対して神経毒性を有することが知られているが、その発がん性については不明である。同じ有機ヒ素化合物である DMA^v が発がん性を有するため、DPAA の発がん性を評価することは急務となっている。これまでに我々はラット 1 年間慢性毒性試験および 2 年間発がん性試験を実施し、DPAA 単独ではラットの胆道系に毒性を示すが、発がん性を示さないことを明らかにしてきた。また、ラット中期肝発がん性試験法により、DPAA がラット肝発がん促進作用を有することが明らかとなったが、肝臓以外の諸臓器に対する DPAA の発がん修飾作用はまだ検討されていない。

【目的】本研究はラット多臓器発がん性試験モデルを用いて DPAA の発がん修飾作用を検討することを目的とした。

【方法】雌性 6 週齢の F344 ラットに、5 種類の発がん物質 (Diethylnitrosamine, N-methyl-N-nitrosourea, N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine, 1,2-dimethylhydrazine, N-bis(hydroxypropyl)nitrosamine) を 4 週間投与し、DMBDD 処置とした。1 週間の休薬後、DPAA を 0、5 および 20 ppm の用量で第 32 週目まで飲水投与し、投与期間終了後に剖検を行い、標的臓器を病理組織学および免疫組織化学的解析を行った。

【結果】肝臓において前がん病変マーカーである GST-P 陽性細胞巢の個数および面積が DMBDD 単独群と比較して 20 ppm DPAA 投与群において有意に増加し、胆管腫の発生頻度および数が DMBDD 単独群と比較して 20 ppm DPAA 投与群において有意に増加した。その他の臓器については腫瘍の発生頻度および数に有意な変化は認められなかった。

【結論】DPAA は肝臓および胆管に対して発がん促進作用を示すが、その他の臓器においては発がん促進作用を示さないことが明らかとなった。

P-93

Single Dose and 13-Week Repeated Toxicity Studies of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* in F344 rats

○Mi Ju Lee¹⁾, Myoung Jun Kim¹⁾, Sun Hee Park¹⁾, Yong-Hoon Lee¹⁾, Duyeol Kim¹⁾, Ho-Song Jang¹⁾,
Chang Geon Kim¹⁾, Jung Min Lee¹⁾, Hye-Yeong Lee¹⁾, Jin Seok Kang²⁾, Jongkoo Kang³⁾

¹⁾Biototech Co., Ltd., ²⁾Namseoul University, ³⁾Chungbuk National University

Acanthopanax divaricatus var. *albeofructus* (ADA) is one of traditional medical herb. The main component of this plant, chiisanoside, has been reported to have anti-hepatotoxic and antidiabetic activity, and so on. Although many pharmacological effects have been reported, toxicological information of ADA was limited. The present study was conducted to evaluate the toxicity of ADA in rats to determine the safe use of it. The toxicity of ADA was evaluated in single and 13-week repeated study in Fischer 344 rats. In the single dose study, ADA was administered to groups at dose levels of 0, 2,000 and 5,000 mg/kg by oral gavage. The toxicity was assessed by clinical sign, mortality, body weight, and necropsy. In the 13-week study, animals were treated with 0, 1,000, 1,500, 2,000, 2,500 and 3,000 mg/kg of ADA by gavage 5 days per week for 13 weeks. Clinical sign, body weight, hematology, clinical chemistry, sperm motility and deformity, estrus cycle, necropsy, organ weight, and histopathology were performed. Soft stool was observed in all dosing groups of both sexes from 4 to 8 hours from dosing in single dose study. It was considered to have little, if any, toxicological significance since it was temporary. There was no death during this study. In 13-week study, decreases in reticulocytes and MCHC, increases in the liver and kidney weights were noted as ADA-related changes. And salivation also noted during dosing period directly after dosing. However, these were not considered to be adverse based on their small magnitude, no morphological changes, and/or temporal changes. On the basis of these results, approximate lethal dose is over 5,000 mg/kg in single study. And no observed adverse effect level of ADA is determined to be over 3,000 mg/kg for rats in 13-week study. Toxicity of ADA was not defined in the present study, and it may be contribute to establish of safety profile to human.

P-94

F344ラットにおける無色素性悪性メラノーマ由来の移植腫瘍株(RMM)と細胞株(RMM-CとRMM-A1)の確立と特徴

○Alexandra Bondoc、加藤(市川) 智彩、Hossain M. Golbar、田中 美有、井澤 武史、桑村 充、山手 丈至
大阪府立大学 獣医病理

Amelanotic melanoma presents diagnostic difficulty as it lacks the usual melanin pigment. To investigate the cellular characteristics, a homotransplantable tumor line (RMM) was established from a spontaneous amelanotic melanoma developed in the pinna of an aged F344 rat. RMM tumors have been produced in syngeneic rats by serial subcutaneous implantation of tissue fragments. The original and RMM tumors consisted of spindle-shaped cells arranged in sheets or interlacing bundles. The mitotic activity was high. Immunohistochemically, neoplastic cells reacted to PNL-2 (for neoplastic melanocytes), nestin (for CNS stem cells), S-100 and vimentin. Electron microscopically, some neoplastic cells possessed few premelanosomes. Further, a cell line (RMM-C) was obtained from a RMM tumor, and then, a cloned cell line (RMM-A1) was isolated from RMM-C. RMM-C cells showed positive reactions to nestin, S-100 and vimentin and the tumors induced by RMM-C cells exhibited histologic and immunohistochemical findings similar to those of RMM tumors. The transplantable tumor line (RMM) and cell lines (RMM-C and RMM-A1) would become useful tools for studying the pathogenesis and therapeutic strategies for malignant melanoma. Further investigations are under way.

P-95

F344系およびSD系gpt deltaラットを用いた反復投与毒性・遺伝毒性併合試験法の標準化研究

○赤木 純一^{1,2)}、Young-Man Cho¹⁾、豊田 武士¹⁾、大波 冴子¹⁾、水田 保子¹⁾、鈴木 勇¹⁾、能美 健彦^{3,4)}、西川 秋佳³⁾、小川 久美子¹⁾

¹⁾国立衛研・病理部、²⁾国立衛研・薬理部、³⁾国立衛研・安全性生物試験研究センター、⁴⁾医薬基盤研

【背景】発がん性は化学物質の慢性曝露による影響の中で特に懸念すべきハザードであり、その機序に遺伝毒性が関与する場合は閾値がないとの前提でリスク評価がなされるため慢性曝露のリスクを考慮する上で遺伝毒性の有無を判定することは重要な意味を持つ。レポーター遺伝子を導入した遺伝子組換え動物を用いる試験法は臓器レベルで *in vivo* 遺伝毒性を解析することが可能であり、近年OECDにおいてもそのガイドラインが作成されている。

【目的と方法】本研究では点突然変異検出のための *gpt* 遺伝子と欠失変異検出のための *red/gam* 遺伝子をゲノムに組み込んだ *gpt delta* ラットを用いた反復投与毒性・遺伝毒性の包括的試験法の標準化を目的として、F344系統およびSD系統の野生型および *gpt delta* ラット雄に対して遺伝毒性肝発がん物質である diethylnitrosamine (DEN; 0, 0.1, 1 および 10 ppm 飲水)、非遺伝毒性肝発がん物質である di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP; 0, 0.012, 0.12 および 1.2 % 混餌) を 2, 4, 8 週間投与した。

【結果】DEN 投与群では臓器重量および血液生化学的解析において野生型、*gpt delta* ラットともに有意な変化は見られなかった。一方、DEHP 投与群では 1.2% 投与によりすべての投与期間で肝・腎重量の有意な増加と血清アルブミン濃度および A/G 比の有意な上昇がみられた。また DEN 投与群の肝臓において前がん病変である GST-P 陽性巣を定量したところ、10 ppm 投与群ではすべての投与期間で GST-P 陽性巣の数および面積の増加がみられた。これらのいずれの変化も、それぞれの系統の野生型と *gpt delta* ラットの間で有意な差はみられなかった。さらに DEN 投与 *gpt delta* ラットでは、すべての投与期間の 10 ppm 投与群の肝臓において *gpt* 遺伝子突然変異頻度の上昇がみられた。

【結論】以上の結果から両系統ともに *gpt delta* ラットは DEN および DEHP に対して野生型と同程度の一般毒性を示すと考えられ、*gpt delta* ラットを用いた短期包括的試験は一般毒性および遺伝毒性双方の検出に有用であることが示唆された。

P-96

ステント留置血管の治癒における初期の組織反応

○寺尾 壽子¹⁾、早場 純子¹⁾、麻生 良平¹⁾、田崎 雅子¹⁾、磯部 厚志¹⁾、岩谷 鋼一¹⁾、井上 知紀¹⁾、坂岡 篤¹⁾、白見 憲司²⁾、斉藤 義明²⁾、蟹澤 成好³⁾、萩原 仁美¹⁾

¹⁾テルモ(株) 研究開発本部 評価センター、²⁾(財)食品薬品安全センター 秦野研究所、³⁾横浜市立大学医学部

【目的】虚血性心疾患の治療法として冠動脈狭窄部をステントで拡張する手法がある。冠動脈にステントを留置すると新生内膜がステントを覆うように形成されるが、過剰に形成されると再狭窄が生じる。そのため近年、細胞増殖抑制剤を塗布した薬剤溶出ステントによる治療が主流だが、それにより血管内腔面の治癒に重要な内皮細胞の被覆が遅れると報告されている。今回、我々はステント留置初期の内皮細胞および新生内膜の形態に着目し、SEM、TEM、顕微鏡で観察したので報告する。

【方法】ブタ冠動脈に15mm長のステントを留置し、7日と10日後に剖検した。SEM 標本は心臓を2.5%グルタルアルデヒド灌流固定後、ステント留置血管を長軸方向に半割してオスミウム固定し、常法に従い作製した。顕微鏡標本は心臓を10%中性緩衝ホルマリンで灌流固定後、低粘度樹脂(Spurr)切片を作製し、H・E染色、エラスチカ・マッソン染色を実施した。TEM 標本は Spurr 切片を Quetol-812 混合樹脂にて倒立法で再包埋し、ブロック剥離後ストラット上の超薄切片を作製した。

【結果および考察】7日後の SEM では血管内腔面を内皮様細胞が敷石状に被覆していたが、ストラット上の一部には細胞の被覆を欠いていた。顕微鏡では血管腔が血栓に覆われ、その表面を部分的に内皮様細胞が被覆していた。TEM ではストラット上の内腔面に紡錘形細胞を認め、細胞間隙には少量のエラスチンが存在していた。10日後の SEM では血管内腔面全体を紡錘形の内皮様細胞が被覆し、顕微鏡でも血管内腔を内皮様細胞が内張りしていた。TEM ではストラット上の内腔面に微小線維を持った紡錘形細胞を認め、細胞間隙には顕著にエラスチンが存在していた。以上の結果、ステント留置7日から10日後にかけて内皮様細胞の被覆範囲が広がり、内皮様細胞も成熟し、新生内膜内にエラスチンの形成も進んでいることが確認された。ステント留置初期の血管において SEM、TEM、顕微鏡と視点を変えた観察と共に、顕微鏡と TEM で同一細胞や組織の観察は、詳細な組織評価を行う上で極めて有用な手法であった。

P-97

Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) 説に基づいた新生児期栄養変化による生後発達への影響

○桑形 麻樹子¹⁾、瀬沼 美華¹⁾、熊谷 文明¹⁾、紫藤 淳子²⁾、Randeep Rackwal²⁾、斉藤 義明¹⁾、丸茂 秀樹¹⁾、小川 哲郎³⁾、塩田 清二²⁾

¹⁾(一財)食品薬品安全センター秦野研究所毒性部、²⁾昭和大学医学部顕微解剖学、³⁾埼玉医科大学医学部生理学教室

DOHaD 説では胎生期栄養環境と生活習慣病との関連が論じられる。胎生期の栄養制限は生活習慣病の発症リスクを増加させ、新生児期の低栄養環境は生活習慣病の予防や長寿につながるものがげっ歯類で報告されている。すなわち、胎生期と生後では低栄養環境に対する反応は逆である。DOHaD 研究では、胎生期だけではなく新生児期の栄養環境の変化が発達に及ぼす影響も理解しておく必要がある。我々はこれまでに精神疾患や生活習慣病のリスクに関与する遺伝子の検索を進め、胎生期の低栄養環境が胎児免疫系の発達に影響を及ぼすことを明らかにしている。本実験では、C57BL マウスの生後1週間、50% 給餌制限(FR)あるいは高脂肪食給餌(HF)を母動物に与え、生後7日、離乳時(生後21日)及び成熟期(生後10週)に出生児の肝臓、脾臓、腎臓の組織学的観察を行い、新生児期の栄養環境によるこれら臓器の発生過程への影響を形態学的に検討した。その結果、FR 群の生後7及び21日の肝臓、脾臓での髄外造血像は、対照群(無処置)と比較して程度が強く、さらに21日では白脾臓の低形成が、腎臓では新生尿細管像が観察され、新生児期の低栄養により発達遅延が示唆された。HF 群では生後7日には著変がなかったが、離乳時では脾臓の髄外造血の顕著な亢進像が観察された。生後10週では、FR および HF 群のいずれの臓器にも形態学的変化に差は認められなかった。また、離乳時の脾臓重量がFR および HF 群ともに対照群と比較して増加した。得られた結果から、新生児期の栄養環境の変化により脾臓の発達に変化がみられたことから、免疫系の発達に影響を及ぼす可能性が示唆された。また、胎児期低栄養による腎ネフロン数の低下が高血圧に関与すると考えられているが、げっ歯類では新生児期にもネフロン新生が続き、さらに低栄養の影響を受けることが明らかになったことから、ヒトへの外挿には注意を要することが示唆された。

P-98

6週齢のSDラットにみられた肺転移を伴う基底細胞癌の1例

○浦島 亜紗美、小林 欣滋、笹木 祐司、谷川 洋平、藤島 純子、森山 亜紀子、岡崎 孝信、
数内 かおり、永岡 隆晴、山下 和正

(株)新日本科学 安全性研究所

【背景】若齢ラットにおける基底細胞癌の報告は極めて少なく、さらに転移を伴う症例に関しては、調べた限り報告はない。6週齢のSDラットにおいて肺転移を伴う基底細胞癌と診断した症例を報告する。

【症例】毒性試験に用いるため馴化中であったCrI:CD(SD)ラット(6週齢、雄)において、動物室に搬入後3日目に黒色便および呼吸音の異常がみられたため、安楽死させた。剖検時には左臼歯付近の硬口蓋表面に潰瘍を伴う直径5 mmの結節がみられ、左眼窩底部が隆起していた。肺では直径1 mmの複数の白色結節がみられた。その他、ガスと黒色内容物を伴った盲腸の拡張がみられた。

【結果および考察】病理組織学的検査の結果、硬口蓋および肺の結節には同質の増殖性変化が観察された。硬口蓋の増殖細胞は左上顎第1臼歯周囲の歯肉から左の鼻腔腹側を経て鼻頭頂に広がり、一部は歯髄内腔にもみられ、左側上顎の広い範囲に浸潤していた。これらの細胞は充実性で一部胞巣状に増殖しており、好塩基性の細胞質を有し細胞境界不明瞭で、間質には紡錘形細胞の増生を伴っていた。核は円形～長円形で1～数個の明瞭な核小体を有し、核分裂像が多数認められた。肺の結節では間質の紡錘形細胞を欠くものの、上顎の結節と組織学的にはほぼ同質の増殖細胞がみられたため、上顎の原発巣からの転移と考えられた。上顎の結節に対する免疫染色では、増殖細胞はcytokeratin, vimentin, PCNA, p63に陽性を、desmin, S-100, α -SMAに陰性を示した。間質の紡錘形細胞はcytokeratin 陰性、vimentin 陽性、PCNA 弱陽性であった。以上の結果から、増殖細胞が基底細胞由来であることが示され、本症例を基底細胞癌と診断した。若齢で発生し、転移を伴うラットの基底細胞癌は極めて稀な症例である。

The 30th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicological Pathology

Theme

~ Environment and Cancer : The Role of Toxicological Pathology ~

President Keisuke Izumi
(Dept. of Mol. and Environ. Pathol., Inst. of Health Biosciences,
The Univ. of Tokushima Grad. Sch.)

D a t e Jan 30 (Thu) and Jan 31 (Fri),2014

V e n u e Awagin Hall (Tokushima Arts Foundation For Culture)
2-14 Aiba-cho, Tokushima 770-0835, Japan
Tel: 088-622-8121

Program Committee (A-Z)

C h a i r Takuji Tanaka
(The Tohkai Cytopathology Ins.)

Committee Yuji Oishi
(Drug Safety Research Labs., Astellas Phama Inc.)
Makoto Shibutani
(Tokyo University of Agriculture and Technology Grad. Sch.)
Satoru Takahashi
(Nagoya City Univ. Grad. Sch. of Med. Sci.)
Jyoji Yamate
(Osaka Prefecture University Grad. Sch.)

Office The 30th Annual Meeting of the Japanese Society of
Toxicological Pathology Administration Office
Dept. of Mol. and Environ. Pathol., Inst. of Health
Biosciences, The Univ. of Tokushima Grad. Sch.

[Office During Conference]
Awagin Hall (Tokushima Arts Foundation For Culture) 3F
Exhibit Room 6-7
Tel: 088-622-8121

[Congress Secretariat]
Japan Convention Services, Inc. Kansai Office
Tel: 06-6221-5933 Fax: 06-6221-5938
E-mail: 30jstp@convention.co.jp
Homepage: <http://square.umin.ac.jp/jstp30/>

The 30th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicological Pathology
Table of Contents

| | |
|------------------------------------|-----|
| Greetings | 119 |
| Access to the Site | 120 |
| Floor Plan | 121 |
| General Information | 123 |
| To the Presenters | 125 |
| Timetable | 128 |
| Program | 130 |
| Abstract | |
| Keynote Address | 155 |
| 30th Anniversary Address | 156 |
| Educational Series | 157 |
| Symposium | 159 |
| Workshop | 163 |
| Oral Presentation | 171 |
| Poster Presentation | 179 |
| Information from IATP | 228 |
| Author's Index | 230 |

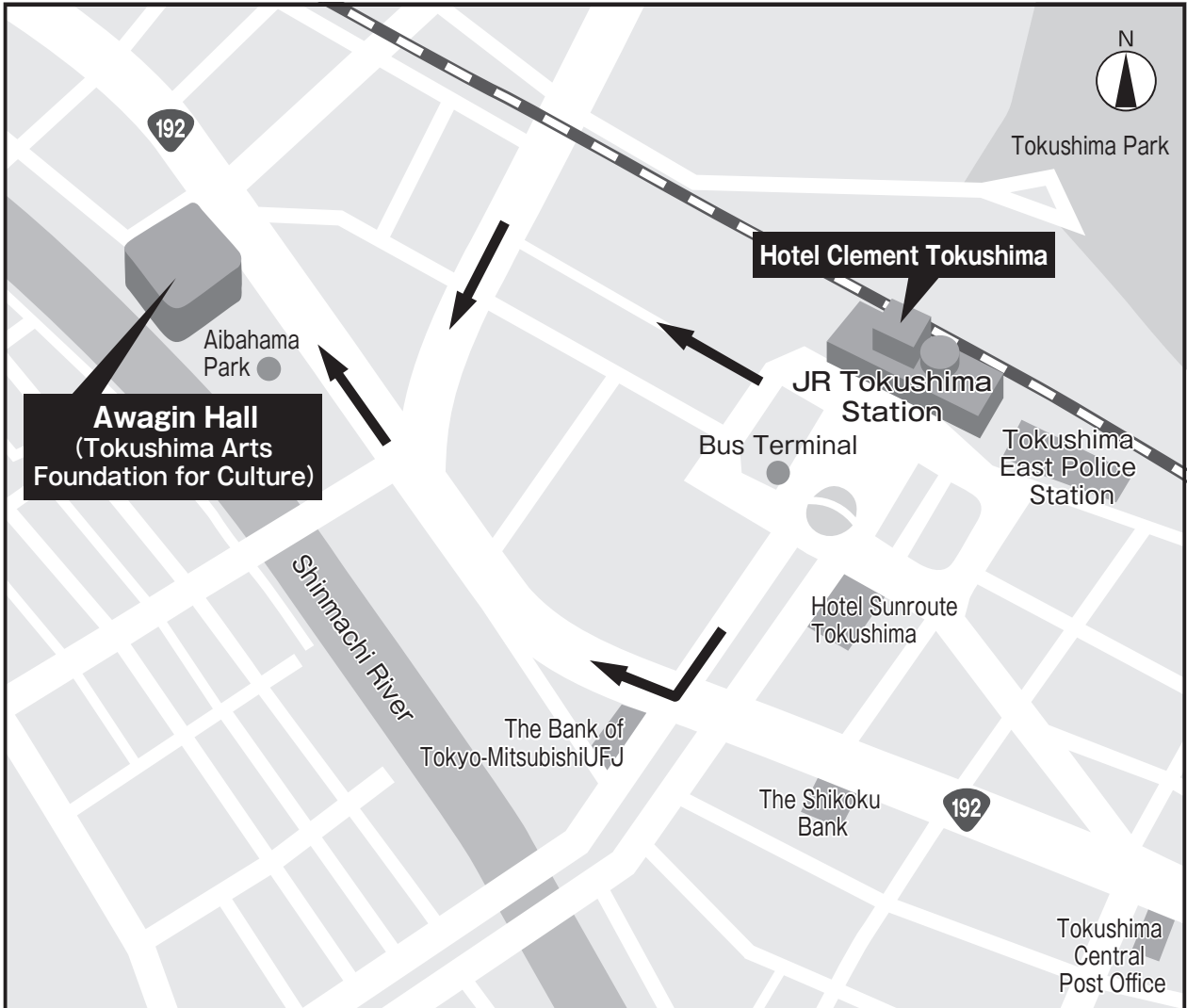
Greetings

Toxicologic pathology is known to play an important role in the risk assessment of environmental chemicals. Despite the extraordinary advances in molecular biology and genome information of various animals, it is still hard to extrapolate these findings to humans. It is the duty of toxicologic pathologists to translate the information obtained by new technologies into conventional morphology. The theme for this year's meeting is "Environment and Cancer: Role of Toxicologic Pathology". Recently, bile duct cancer in young workers who use organic solvents has become a serious social issue in Japan. Toxicologic pathologists must be involved in this problem. This year's meeting coincides with the 30th anniversary of the establishment of our society and we would like to reflect on the past and consider the future of the society. I am expecting challenging subjects from young investigators. Lastly, we would like to express our appreciation for the outstanding efforts of the program committee members and financial support from the corporations.

Keisuke Izumi, MD, PhD.

President of the 30th Annual Meeting of JSTP

Access to the Site

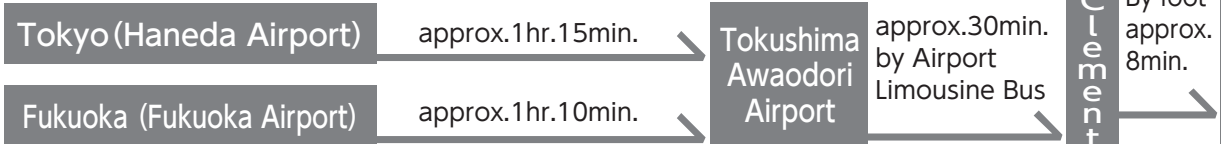


● Access to Tokushima

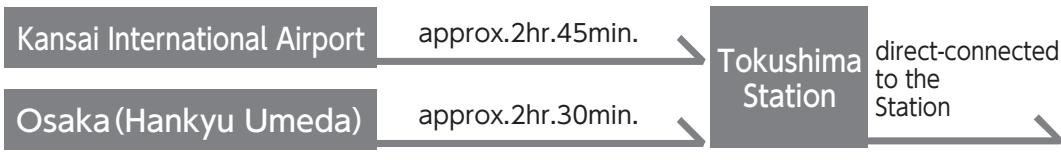
□ By Train



□ By Airplane

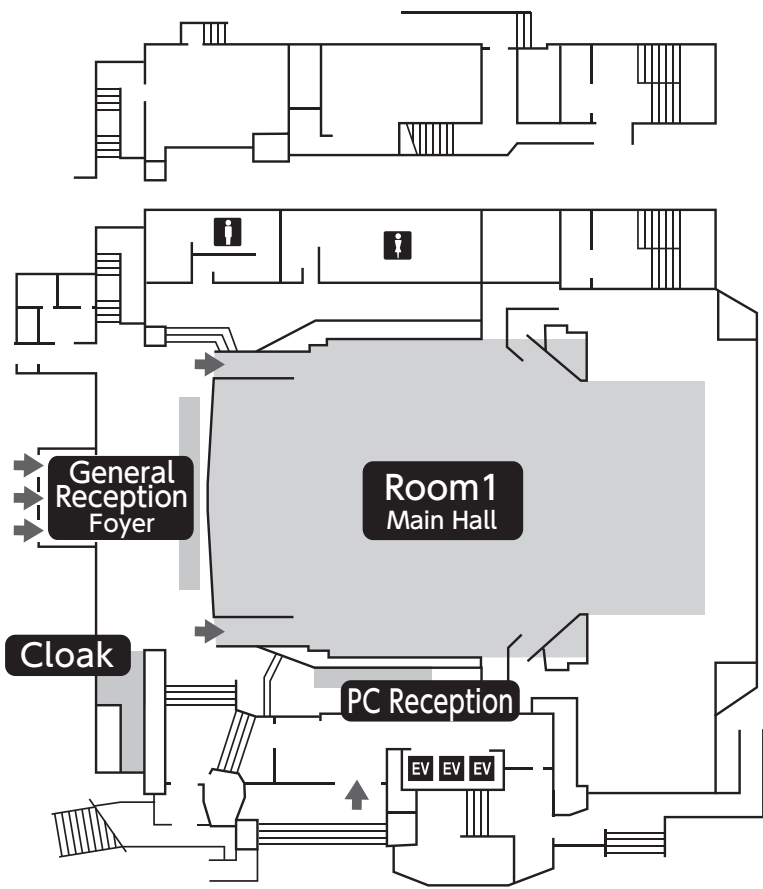


□ By Bus

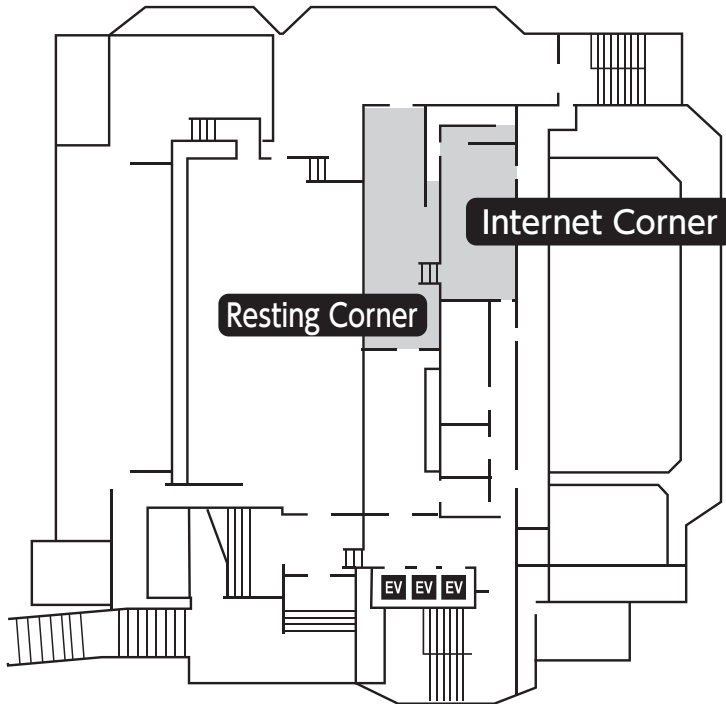


Floor Plan

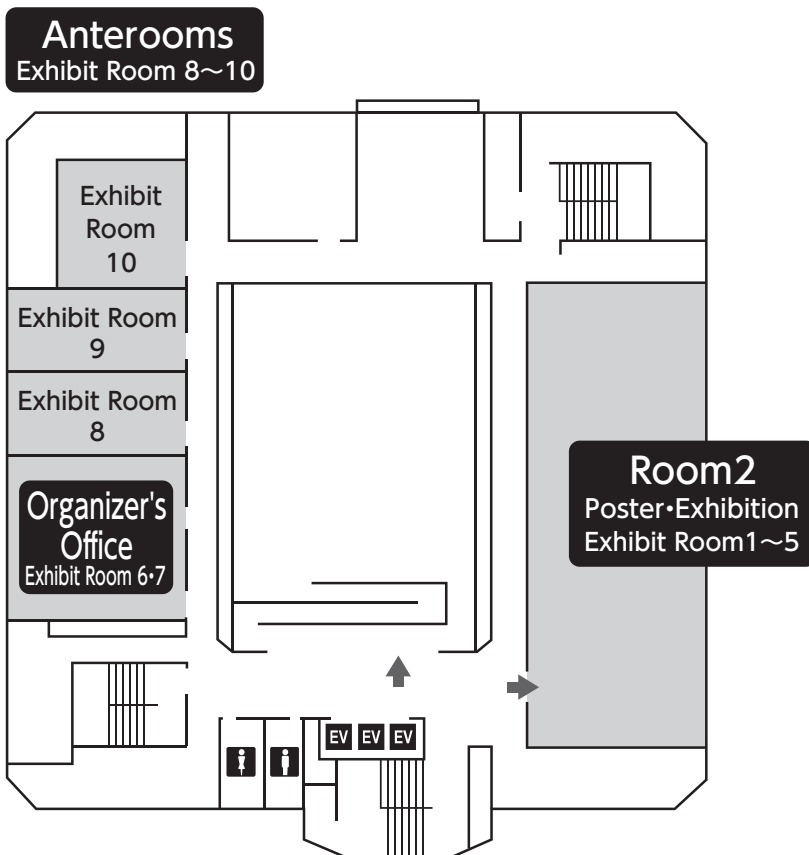
1F



2F



3F



General Information

□ To the Participant

1. General Reception will be open from 8:00 am on both Jan. 30 (Thu) and Jan. 31 (Fri), and it is located on the Foyer, the 1st floor of Awagin Hall.
2. Pre-registered participants are required to bring abstract books and name cards sent in advance, and wear the name cards throughout the congress.
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 : 17,000 yen

※Included abstract book fees (5,000 yen)

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

- 4 The abstract book will be mailed to the members in advance, so please bring it on the day. Extra copies of the abstract book will be available at 2,000 yen for members (5,000 yen for Non-members and 2,000 yen for Students) per issue.
5. For questions and discussions, please follow the chairman's instructions and state your name and affiliation first by using the provided microphone.
6. Smokings are not allowed inside the venue.
7. Please turn off your cell phones or set them to be silent mode inside the venue.
8. Lunch boxes will be provided during luncheon seminars. You can also use restaurants in the vicinity of the venue.
9. Cloakroom
Place: Foyer, the 1st floor of Awagin Hall
Dates and Time: Jan. 30 (Thu) 8:15 - 17:30, Jan. 31 (Fri) 8:15 - 16:45
The participants attending the fellowship banquet can use the cloakroom at the banquet venue (Hotel Clement Tokushima).
10. The paging service will not be available in the venue. Please use the message board located at the General Reception, Foyer, the 1st floor of Awagin Hall.
11. Photography and video or sound recording will not be allowed in the venue.

For the payment of annual membership fee, new member enrollment, and the alteration registration, please come to JSTP Secretariat desk(on the Foyer, the 1st floor of Awagin Hall).
Dates and Times: Jan. 30 (Thu) 9 : 00 - 17:00, Jan. 31 (Fri) 8 : 00 - 15:00

□ General Meeting and Board of Councilors

Place: Main Hall, the 1st floor of Awagin Hotel
Date and Time: Jan. 31 (Fri) 15:15 – 16:30
Agenda: Performance and annual review in 2013
Budget and planning for annual performance in 2014
Recommendation: Honorary members
Distinguished service members
Councilors

□ Fellowship Banquet

Place: Clement Hall, the 4th floor of Hotel Clement
Date and Time: Jan. 30 (Thu) 18:00 ~

* The Fellowship Banquet requires pre-registration, and on-site registration will be available at 9,000 yen (7,000 yen for students) at the general reception desk on Jan. 30 (Thu). First come, first served. Please note that we may close registration due to limited seating.

□ Luncheon Seminar

Luncheon Seminar 1

Place: Main Hall, the 1st floor of Awagin Hall
Date and Time: Jan. 30 (Thu) 12:05 ~ 13:05
Title: “Background pathology and histology of the Göttingen Minipig”
Speaker: Dianne M Creasy (Huntingdon Life Sciences)
Chairman: Michito Takahashi (Pathology Peer Review Center)
Co-sponsor: Huntingdon Life Sciences Ltd.

Luncheon Seminar 2

Place: Main Hall, the 1st floor of Awagin Hall
Date and Time: Jan. 31 (Fri) 12:10 ~ 12:50
Title: “Draft OECD pathology peer review guidance”
Speaker: Hiroshi Onodera (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency),
「Overview of the draft OECD pathology peer review guidance」
Speaker: Yuji Oishi (Astellas Pharma Inc. Drug Safety Res. Labs.)
「JSTP Correspondences to the draft OECD pathology peer review guidance」
Chairman: Teranishi Munehiro (Daiichi Sankyo Co., Ltd. Med. Safety Res. Labs.)
Organizer: Japanese Society of Toxicologic Pathology

The ticket for Luncheon Seminar will be distributed in front of Awagin Hall on the first floor at 8:05 a.m. during Jan. 30 ~ Jan. 31.

Free lunch will be available at Luncheon Seminar 1.

At Luncheon Seminar 2, lunch will cost 500 yen; Please pay 500 yen at JSTP Secretariat desk in exchange for the ticket.

To the Presenters

□ In regards to COI

Please disclose COI (Conflict of Interest) at your best knowledge. When you are corporate employees, please display COI tags to prevent from COI from other corporations. Presenters for Oral Presentation are required to show COI on the second slide (next to titles). Presenters for Poster Presentation are required to show COI on the last position.

| | |
|----------|---|
| Sample 1 | COI Disclosure Information |
| | Taro Dokusei |
| | I have no financial relationships to disclose. |
| Sample 2 | COI Disclosure Information |
| | Hanako Dokusei |
| | I have the following relationships to disclose. |
| | Research funding from: xxx Co. |
| | Advisory role for: xxx Co. |
| | Lecture fee from: xxx Co. |

□ Request to Special Lecture, Educational Series, Symposium and Oral Presenters

1. Data and PCs

Please bring your UBS memory sticks in 60 min. advance at the latest to the PC center (at the Foyer, the 1st floor of Awagin Hall). For PC users, please reconfirm your presentation data at a PC center, and bring your PC to the PC operator ahead on the left side of the venue at least 30 minutes before your session.

2. Presentation Time

| Session | Presentation | Q&A | Time indicator lamp |
|---------------------------|--------------|-------|---|
| General session (Oral) | 8 min | 4 min | Yellow light will turn on after 7 min. Red light will turn on after 8 min. |
| Workshop (Oral) | 12 min | 4 min | Yellow light will turn on after 11 min. Red light will turn on after 12 min. |

3. Available PC equipments for presenters are PC projectors ONLY. Please note the followings when you present your slide by using your own PC.

4. When the prior presenter starts his/her presentation, please sit in the next-presenter seat.

5. The monitor, key board and mouse will be provided on the rostrum.

Please operate your PC on the rostrum by yourself by looking at the screen and use the cursor of the mouse or a laser pointer as a pointer.

[Windows]

- 1) Please bring your USB memory stick or your own PC. (It is recommended to bring personal USB memory sticks or PCs to avoid any troubles that may be caused by differences in the user environment.)
- 2) Windows 7 based PCs with Microsoft Power Point 2003, 2007, and 2010 are available..

- 3) To avoid display problems, please use standard OS fonts such as Century, Century Gothic, Times New Roman, or Arial.
- 4) Please bring USB memory sticks acceptable for windows.
- 5) Please name your presentation file using your program No. and your name.
EX. O-160 Taro Yamada
- 6) Please do not store any other data other than your presentation in your USB memory stick.
- 7) An irrelevant data will be deleted completely by the congress secretariat.

[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) Movies and sound reproductions are not allowed.
- 5) Please bring your PC with you when you finish your presentation.

Request to Poster Presenters

- Poster Panel size: Height 210cm and Width 90cm

Poster number tags (20cm × 20cm) 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 190cm and Width 90cm. The space for the Poster number should be secured when you place your poster from the top edge. (Please be careful of the placement to avoid getting difficult to see if your poster would be placed to the bottom.)

Japanese language is acceptable.

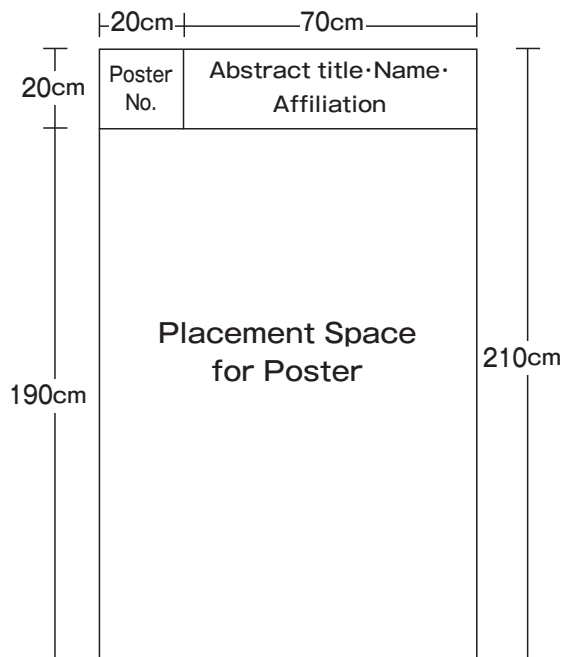
- Please come to the 3rd floor on Awagin Hall when displaying posters.

- Pushpins and presenter's ribbons are available for each poster panels. Please wear it during Q&A.

- Please proceed your presentations by chairman's instructions.

8 min.s are allowed for each presenters (5 min.s for presentation and 3 min.s for Q & As).

Please be strict to your presentation time.



| Date | Check-in and Prep. | Presentation and Q & A | Clearing |
|-------------------------|--------------------|------------------------|-------------------|
| January 30 (Thu) | 8 : 30 ~ 10 : 00 | 16 : 20 ~ 17 : 20 | |
| January 31 (Fri) | | 13 : 00 ~ 14 : 00 | 15 : 30 ~ 17 : 00 |

Timetable

| | Jan. 29 (Wed) | | Jan. 30 (Thu) | |
|-------|--|-----------------------|---|--------------------------------|
| | 1F Room 1 Main Hall | 3F Exhibit Room 10 | 1F Room 1 Main Hall | 3F Room 2 Poster Exhibition |
| 8:00 | | | | |
| | | | 8:20 ~ Opening ceremony | |
| 9:00 | | | 8:30 | 8:30 |
| | | | Oral session 1 O-01 ~ O-08 | Poster setup |
| 10:00 | 10:00 | | 10:15 | 10:00 |
| | Explanation of exam questions | | | |
| 11:00 | 11:00 | | 10:25 | |
| | | | Symposium Recent Advances in Approachs to Capture Developmental Neurotoxicity Chair : Makoto Shibutani Takuji Tanaka | |
| 12:00 | 11:15 | 11:45 | 12:00 | |
| | | Editorial committee | 12:05 | |
| 13:00 | | 13:15 | 13:05 | |
| | | | Luncheon seminar 1 | |
| 14:00 | 26th Slide conference | 13:30 | 13:15 | Poster viewing |
| | | Educational committee | Oral session 2 O-09 ~ O-16 | |
| 15:00 | | 14:30 | 15:00 | |
| | | | | |
| 16:00 | | 15:00 | 15:10 | |
| | | Board meeting | Keynote Address Speaker : James A. Swenberg Chair : Keisuke Izumi | |
| 17:00 | 17:05 | 17:00 | 16:10 | 16:20 |
| | | | | Poster presentation I |
| 18:00 | 17:30 | | | 17:20 |
| | IATP Lecture | | | |
| 19:00 | 19:00 | | 18:00 | |
| | | | Banquet Hotel Clement Tokushima 4F Clement Hall | |
| 20:00 | | | 20:00 | |
| 21:00 | | | | |
| 22:00 | 21:00 | | | |
| | IFSTP Teleconference Hotel Sunroute Tokushima | | | |
| 23:00 | 23:00 | | | |

Timetable

| Jan. 31 (Fri) | | | |
|----------------------|---|-------------------------------|-------|
| | 1F Room 1 Main Hall | 3F Room2 Poster Exhibition | |
| 8:00 | | | |
| 8:20 | Workshop 1 Chair : Satoru Takahashi Jyoji Yamate | Poster viewing | |
| 9:00 | | | |
| 9:30 | Workshop 2 Chair : Katsumi Imaida Masami Suzuki | | |
| 9:35 | | | |
| 10:00 | 30th Anniversary Address Speaker : Shoji Fukushima Chair : Kunitoshi Mitsumori | | |
| 11:00 | | | |
| 11:05 | Luncheon seminar 2 | | |
| 11:15 | | | |
| 12:00 | | | 13:00 |
| 12:10 | | | 13:00 |
| 12:50 | | 14:00 | |
| 13:00 | | 14:10 | |
| 14:00 | Educational series INHAND Follow-up: Reproductive System Chair : Yuji Oishi | 14:00 | |
| 15:00 | | 15:10 | |
| 15:10 | Board of Councilors The General Assembly Awards ceremony Closing ceremony | 15:30 | |
| 16:00 | | 16:30 | |
| 16:30 | | 17:00 | |
| 17:00 | | | |
| 18:00 | | | |
| 19:00 | | | |
| 20:00 | | | |
| 21:00 | | | |
| 22:00 | | | |
| 23:00 | | | |

Program

Keynote Address

January 30 (Thursday) 15 : 10 ~ 16 : 10 Room 1 [Main Hall]

Chair : Keisuke Izumi (Dept. of Mol. and Environ. Pathol., Inst. of Health Biosciences, The Univ. of Tokushima Grad. Sch.)

- SL Using Science to Understand Mode of Action and Improve Risk Assessment 155
○ James A. Swenberg
Department of Environmental Sciences and Engineering, Gillings School of Global Public Health,
University of North Carolina

30th Anniversary Address

January 31 (Friday) 11 : 15 ~ 12 : 00 Room 1 [Main Hall]

Chair : Kunitoshi Mitsumori (Food Safety Commission, Cabinet Office, Government of Japan)

- AL The Progress of the Japanese Society of Toxicologic Pathology: Thinking about the function of toxicologic pathology in genomic era 156
○ Shoji Fukushima Japan Bioassay Research Center, JISHA

Educational series

January 31 (Friday) 14 : 10 ~ 15 : 10 Room 1 [Main Hall]

Chair : Yuji Oishi (Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.)

INHAND Follow-up : Reproductive System

- ES1 INHAND of the female reproductive tract: topics and issues 157
○ Midori Yoshida
Division of Pathology, National Institute of Health Sciences
- ES2 INHAND nomenclature for male reproductive system 158
○ Hitoshi Kandori
Drug Safety Research Laboratories, Takeda Pharmaceutical Company Limited

Symposium

January 30 (Thursday) 10 : 25 ~ 12 : 00

Room 1 [Main Hall]

Chair : Makoto Shibutani (Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology)
 Takuji Tanaka (The Tohkai Cytopathology Institute, Cancer Research and Prevention)

Recent Advances in Approaches to Capture Developmental Neurotoxicity

- SY-1** **OECD Test Guideline 426 on developmental neurotoxicity study** 159
 ○Makoto Ema
 Research Institute of Science for Safety and Sustainability, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)
- SY-2** **Neurogenesis as a New Target of Developmental Neurotoxicity** 160
 ○Makoto Shibutani
 Tokyo University of Agriculture and Technology, Graduate School, Institute of Agricultural Science, Division of Animal Life Science
- SY-3** **Delayed neurobehavioral toxicity induced by early exposure of neuroactive xenobiotics** . . . 161
 ○Kentarō Tanemura¹⁾, Katsuhide Igarashi²⁾, Jun Kanno²⁾
¹⁾Laboratory of Animal Reproduction and Development, Tohoku University,
²⁾Division of Cellular & Molecular Toxicology, National Institute of Health Sciences
- SY-4** **Autism model animal induced by prenatal thalidomide** 162
 ○Masaaki Narita, Michiru Ida-Eto, Takeshi Ohkawara
 Department of Anatomy 2, Mie University Graduate School of Medicine

Workshop I

January 31 (Friday) 8 : 20 ~ 9 : 30

Room 1 [Main Hall]

Chair : Satoru Takahashi (Department of Experimental Pathology Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences)
Jyoji Yamate (Veterinary Pathology, Osaka prefecture University)

Environment & Cancer

- WS1-1** **Effects of cell proliferation on the mutagenicity of estragole, a hepatocarcinogen** 163
○Yuji Ishii¹, Shinji Takasu¹, Ken Kuroda¹, Kohei Matsushita¹, Yuh Yokoo¹, Aki Kijima¹,
Takehiko Nohmi², Kumiko Ogawa¹, Takashi Umemura¹
¹Division of Pathology, NIHS, ²Biological Safety Research Center, NIHS
- WS1-2** **Mammary carcinogenesis and organ-specific differences in the sensitivity to leptin resistance induced by high fat diet** 163
○Toshio Imai¹, Naoaki Uchiya¹, Gen Fujii², Michihiro Mutoh², Mami Takahashi¹
¹Central Animal Division, National Cancer Center Research Institute,
²Division of Cancar Prevention Research, National Cancer Center Research Institute
- WS1-3 *** **Molecular mechanisms underlying OTA-induced mutagenesis in p53-deficient mice** 164
○Ken Kuroda¹, Daisuke Hibi¹, Yuji Ishii¹, Shinji Takasu¹, Aki Kijima¹, Kohei Matsushita¹,
Kenichi Masumura², Yukio Kodama³, Kumiko Ogawa¹, Takashi Umemura¹
¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,
²Division of Genetics and Mutagenesis, National Institute of Health Sciences,
³Division of Toxicology, National Insitute of Health Sciences
- WS1-4** **CCL3 as a possible serum biomarker for asbestos exposure and malignant mesothelioma** . . 164
○Hiroyuki Tsuda¹, Jiegou Xu¹, David B. Alexander¹, Takeshi Tokuyama², Ikuji Usami³,
Yoshimitsu Hayashi⁴, Tetsuya Oguri⁵, Satoru Takahashi⁶, Masumi Suzui⁷
¹Nagoya City University, Nanotoxicology Project, ²Department of Internal Medicine, Saiseikai Chuwa Hospital,
³Department of Respiratory Medicine, Asahi Rosai Hospital,
⁴Department of Medicine, Nagoyashi Koseiin Medical Welfare Center,
⁵Department of Medical Oncology and Immunology, Nagoya City University Graduate School of 1 Medical Sciences,
⁶Department of Experimental Pathology Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,
⁷Department of Molecular Toxicology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Workshop II

January 31 (Friday) 9 : 35 ~ 11 : 05

Room 1 [Main Hall]

Chair : Katsumi Imaida (Oncopathology, Faculty of Medicine, Kagawa University)

Masami Suzuki (Research Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd)

Environment & Cancer

- WS2-1** Evaluation of pulmonary and mesothelial lesions of mice exposed to highly dispersed multiwall carbon nanotube by a newly developed Taquann inhalation system 165
 ○Jun Kanno, Yuhji Takahashi
 Division of Cellular and Molecular Toxicology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences
- WS2-2** Size- and shape-dependent pleural translocation, deposition and fibrogenesis by MWCNT dosed to the rat lung 165
 ○Jiegou Xu¹, David B. Alexander¹, Mitsuru Futakuchi², Takamasa Numano²,
 Katsumi Fukamachi², Masumi Suzui², Hiroyuki Tsuda¹
¹Laboratory of Nanotoxicology Nagoya City Univ.,
²Dept. of Molecular Toxicology Nagoya City Univ. Graduate School of Medical Sciences
- WS2-3** Effects of multi-wall carbon nanotube administered by repeated intratracheal spraying in rats 166
 ○Yoshimitsu Sakamoto¹, Akio Ogata¹, Katsuhiko Yuzawa¹, Yoshikazu Kubo¹, Hiroshi Ando¹,
 Akemichi Nagasawa^{1,3}, Hiroshi Takahashi¹, Norio Yano¹, Tetsuji Nishimura²,
 Akihiko Hirose³, Yoshiyuki Inoue⁴, Naoki Hashizume⁴, Akiko Inomata¹, Dai Nakae^{1,5}
¹Dept. Pharm. Environ. Sci. Tokyo, Metropol. Inst. Pub. Health, ²Teikyo Heisei Univ.,
³Div. Risk. Assessment, Natl. Inst. Health Sci., ⁴CERI, ⁵Tokyo Univ. Agricul.
- WS2-4** Alveolar hyperplasia like lesions induced by intra tracheal spray of carbon black particles . . 166
 ○Mitsuru Futakuchi¹, Jiegou Xu², Yoshiyuki Inoue³, Mineo Takatsuki³, Hiroyuki Tsuda²,
 Masumi Suzui¹
¹Dept. of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University,
²Laboratory of Nanotoxicology Project, Nagoya City University, ³Chemical Evaluation and Research Institute
- WS2-5** On Environmental Carcinogens : From an Era of Risk Evaluation to an Era of Risk Management 167
 ○Okio Hino
 Department of Pathology and Oncology, International Environmental Carcinogenesis Prevention Center, Juntendo University School of Medicine

Oral Presentation I

January 30 (Thursday) 8 : 30 ~ 10 : 15

Room 1 [Main Hall]

Chair : Dai Nakae (Department of Pharmaceutical and Environmental Sciences, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health)
Hiroyuki Nakayama (Department of Veterinary Pathology, the University of Tokyo)

- O-01 *** Luteolin inhibits non-alcoholic steatohepatitis and hepatocarcinogenesis in both normal and connexin 32 dominant negative transgenic rat 171
○Aya Naiki-ito, Hiroyuki Kato, Toshiya Kuno, Satoru Takahashi
Dept. Exp. Pathol.Tumor Biol., Nagoya City Univ.
- O-02 *** NADPH oxidase inhibitor apocynin has chemopreventive effect in EHEN-induced rat renal carcinogenesis 171
○Kurumi Mishima, Shotaro Yamano, Masaki Fujioka, Min Gi, Mitsuaki Kitano, Hideki Wanibuchi
Department of Pathology Osaka City University Graduate School of Medicine
- O-03** Treatment with tenascin-C antibody and/or alpha-magostin suppresses metastasis in xenograft model of metastatic mammary cancer 172
○Masa-Aki Shibata¹⁾, Moriaki Kusakabe²⁾, Eiko Shibata³⁾, Junji Morimoto⁴⁾,
Mariko Shiba-Harada³⁾, Munekazu Iinuma⁵⁾
¹⁾Lab of Anat and Histopathol, Gad Sch of Health Sci, Osaka Health Sci Univ,
²⁾Res Centr for Food Safety, Univ of Tokyo,
³⁾Dept Mol Innov in Lipidol, Natl Careb and Cardiovasc Centr Res Inst, ⁴⁾Lab Animal Cntr, Osaka Med Coll,
⁵⁾Lab of Pharmacognosy, Grad Sch of Pharmacol, Gifu Pharmaceutical University
- O-04** Effect of methotrexate on cerebellar development in infant rats 172
○Akihiko Sugiyama^{1,2)}, Jing Sun^{1,2)}, Gota Ueda¹⁾, Takashi Takeuchi^{1,2)}, Satoshi Furukawa³⁾
¹⁾Courses of Veterinary Laboratory Medicine, School of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori University,
²⁾United Graduate School of Veterinary Science, Yamaguchi University,
³⁾Toxicology and Environmental Science Department, Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, Ltd.

Chair : Hirofumi Nagai (Drug Safety Research Laboratories, Takeda Pharmaceutical Company Limited)
Hideki Wanibuchi (Department of pathology, Osaka City University Medical School)

- O-05 *** Possible mechanisms underlying exacerbation of osmotic nephrosis caused by preexisting kidney injury 173
○Kohei Matsushita¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Yuji Ishii¹⁾, Ken Kuroda¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Keisuke Kitaura²⁾,
Makoto Sato²⁾, Satoshi Matsumoto²⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura¹⁾
¹⁾Div. Path., Natl. Inst. Health Sci., ²⁾Sef. Res. Cent., Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.
- O-06** Profile of carcinogenicity by intrapulmonary instillation of multiwall carbon nanotubes . . . 173
○Masumi Suzui¹⁾, Takamasa Numano¹⁾, Katsumi Fukamachi¹⁾, Mitsuru Futakuchi¹⁾,
Hiroyuki Tsuda²⁾
¹⁾ Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences and Medical School, Nagoya City University, ²⁾Nanomaterial Toxicology Project, Nagoya City University

- O-07 *** Identification of optineurin-binding proteins in podocytes of rat glomeruli 174
 ○Akane Kashimura¹⁾, Ko Kadowaki¹⁾, Go Sugahara²⁾, Kyohei Yasuno²⁾, Junichi Kamiie¹⁾,
 Kinji Shirota^{1,2)}
¹⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Azabu University, ²⁾Research Institute of Biosciences, Azabu University
- O-08 *** Pathological analysis of islet in cynomolgus monkey fed high-fat diet 174
 ○Ryosuke Kobayashi¹⁾, Hiroyuki Ishii²⁾, Naoaki Yamada¹⁾, Hiroko Kokoshima¹⁾,
 Tetsuro Kurotaki¹⁾, Takuya Doi¹⁾, Junko Sato¹⁾, Yumi Wako¹⁾, Minoru Tsuchitani¹⁾
¹⁾Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation,
²⁾Safety Assessment Division, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation

Oral Presentation II

January 30 (Thursday) 13:15 ~ 15:00

Room 1 [Main Hall]

Chair : Midori Yoshida (National Institute of Health Sciences, Division of Pathology)
 Naoki Yoshimi (Department of Pathology and Oncology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus)

- O-09** Modulatory effects of deoxycholic acid on colon carcinogenesis in mice 175
 ○Toshiya Kuno¹⁾, Takuji Tanaka²⁾, Aya Naiki¹⁾, Shinya Sato¹⁾, Shugo Suzuki¹⁾,
 Satoru Takahashi¹⁾
¹⁾Dept. Exp. Pathol.Tumor Biol., Nagoya City Univ., ²⁾Tohkai Cytopathol. Inst., Cancer Res. Prev.
- O-10 *** Functional characterization of *Lgr5*-expressing cells in microadenomas and macroscopic tumors in the colon of *Apc^{Min/+}* mice 175
 ○Akihiro Hirata¹⁾, Toshiya Kuno^{2,3)}, Manabu Takamatsu²⁾, Yuichiro Hatano²⁾, Hiroyuki Tomita²⁾,
 Akira Hara²⁾
¹⁾Division of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu University,
²⁾Department of Tumor Pathology, Gifu University Graduate School of Medicine,
³⁾Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medicine
- O-11 *** Studies on the mechanism of bladder tumor promotion of propolis in rat bladder 176
 ○Masaki Fujioka, Min Gi, Shotaro Yamano, Eri Shimomura, Kurumi MISHIMA, Satoki Fukunaga,
 Hideki Wanibuchi
 Department of pathology Osaka city university graduate school of medicine
- O-12** The long-term study of potassium octatitanate fibers (TISMO) in the left thoracic cavity in A/J female mice 176
 ○Masanao Yokohira, Sosuke Kishi, Yuko Nakano, Keiko Yamakawa, Fumiko Ninomiya,
 Shohei Kanie, Katsumi Imaida
 Oncopathology, Faculty of Medicine, Kagawa University

Chair : Kumiko Ogawa (Division of Pathology, National Institute of Health Sciences)
Munehiro Teranishi (Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.)

- O-13** **A serum tumor marker for preclinical trials of pancreas cancer model 177**
○Katsumi Fukamachi¹⁾, Mitsuru Futakuchi¹⁾, Hiroyuki Tsuda²⁾, Masumi Suzui¹⁾
¹⁾Department of Molecular Toxicology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,
²⁾Nanotoxicology Project, Nagoya City University
- O-14 *** **Intratracheal instillation methods and the distribution of administered material in the lung
of the rat 177**
○Yasuko Hasegawa-Baba¹⁾, Hisayo Kubota¹⁾, Midori Yoshida²⁾, Muneyuki Miyagawa¹⁾
¹⁾National Institute of Occupational Safety and Health, Japan., Health Effects Research Group,
²⁾National Institute of Health Sciences, Division of Pathology
- O-15 *** **Elucidation of molecular markers for early detection of prostatic carcinogens in rats 178**
○Shugo Suzuki^{1,2)}, Shinya Sato^{1,3)}, Aya Naiki¹⁾, Toshiya Kuno¹⁾, Satoru Takahashi¹⁾
¹⁾Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ., ²⁾Pathol. Div., Nagoya City East Med. Ctr.,
³⁾Pathol. Div., Nagoya City West Med. Ctr.
- O-16 *** **Time-course changes of a pulmonary biomarker SP-D in rat lung injury models 178**
○Kazuyoshi Kumagai¹⁾, Sanae Takada¹⁾, Yoshikazu Nezu¹⁾, Kyohei Yasuno¹⁾,
Megumi Miyamoto^{1,2)}, Syunsuke Takada¹⁾, Koichi Yabe¹⁾, Yoshiro Tani³⁾, Yoshimi Tsuchiya¹⁾,
Wataru Takasaki¹⁾
¹⁾Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.,
²⁾Biologics Pharmacology Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd., ³⁾Daiichi Sankyo India Pharma Prv. Ltd.

Poster Presentation I

January 30 (Thursday) 16:20 ~ 17:20

Room 2 [Exhibit Room1~5]

Nerve • Sensory

Chair : Osamu Katsuta (Non-Clinical Research Group, Ophthalmic Research & Development Center, Santen Pharmaceutical Co., Ltd.)
Akihito Shimoi (Ina Research Inc.)

- P-01** E2012-induced cataract and its predictive biomarkers 179
○Kyoko Nakano-Ito¹, Etsuko Ohta¹, Akira Inomata¹, Yoshikazu Taketa¹, Aya Goto¹,
Yuki Seki¹, Kazuhiro Hayakawa², Jiro Sonoda¹, Satoru Hosokawa¹, Toyohiko Aoki¹,
Kazuo Tsukidate¹
¹Drug Safety, Eisai Co., Ltd., ²Preclinical Safety Research Laboratories, Sunplanet Co., Ltd.
- P-02 *** The disorder of dorsal root ganglion in paclitaxel-induced peripheral neuropathy in rats · · 179
○Hitomi Hayashi, Eiji Ichimura, Kimiko Fuchigami, Yuuji Okuda, Hirohumi Yokoyama,
Aiko Azegami, Kazuya Okamoto
Pharmaceutical Research Laboratories, Nippon Kayaku Co., Ltd.
- P-03** Effect of Developmental Exposure to Iminodipropionitrile on the Neurogenesis in the Hippocampal Dentate Gyrus in Mice 180
○Liyun Wang¹, Ayako Shiraki^{1,2}, Megu Itahashi^{1,2}, Hajime Abe^{1,2}, Tomoaki Murakami³,
Kazuhiko Suzuki³, Toshinori Yoshida¹, Makoto Shibutani¹
¹Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology,
²Pathogenetic Veterinary Science, United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University,
³Laboratory of Veterinary Toxicology, Tokyo University of Agriculture and Technology
- P-04 *** Detection of Aberration in Neuronal/Glial Development Induced by Repeated-oral Doses of 6-Propyl-2-thiouracil (PTU) in the Framework of 28-day Toxicity Study 180
○Ayako Shiraki^{1,2}, Hirotohi Akane¹, Fumiyo Saito³, Yumi Akahori³, Shinya Imatanaka³,
Megu Itahashi^{1,2}, Liyun Wang¹, Tomoaki Murakami⁴, Kazuhiko Suzuki⁴, Toshinori Yoshida¹,
Makoto Shibutani¹
¹Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., ²Pathogen. Vet. Sci., United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.,
³Chem. Eval. Res. Inst. Chem. Assess. Res. Centr., ⁴Lab. Vet. Toxicol., Tokyo Univ. Agricul. Technol.
- P-05** Effect of Iminodipropionitrile (IDPN) on Neurogenesis in the Hippocampal Dentate Gyrus in Rat Offspring 181
○Megu Itahashi¹, Liyun Wang¹, Ayako Shiraki^{1,2}, Reiko Morita^{1,2}, Takeshi Tanaka^{1,2},
Tomoaki Murakami³, Kazuhiko Suzuki³, Toshinori Yoshida¹, Makoto Shibutani¹
¹Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology,
²Pathogenetic Veterinary Science, United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University,
³Laboratory of Veterinary Toxicology, Tokyo University of Agriculture and Technology
- P-06 *** Histological evaluation of cerebral microhemorrhage in Tg2576 mice following treatment with specific anti-amyloid β antibodies 181
○Aya Goto, Akira Inomata, Kyoko Nakano-Ito, Jiro Sonoda, Kazuhiro Hayakawa, Etsuko Ohta,
Yoshikazu Taketa, Yuki Seki, Satoru Hosokawa, Kazuo Tsukidate
Tsukuba Drug Safety, Global Drug Safety, Biopharmaceutical Assessments Core Function Unit, Eisai Co., Ltd.

Nerve • Sensory

Chair : Keisuke Kitaura (Sef. Res. Cent., Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.)
Katsuhiko Yoshizawa (Pathology II, Kansai Medical University)

- P-07 *** Gene expression kinetics during development of myelin lesions in myelin mutant rats . . . 182
○Yukako Shimotsuna, Miyuu Tanaka, Takeshi Izawa, Jyoji Yamate, Mitsuru Kuwamura
Laboratory of Veterinary Pathology Osaka Prefecture University
- P-08** The effect of rotenone administration on the spinal cord pathology of SOD1^{G93A}
transgenic mice 182
○Mizue Ogawa, Shunsuke Nomura, Kazuyuki Uchida, Hiroyuki Nakayama
Dept. of Veterinary Pathology, the Univ. of Tokyo
- P-09 *** Plasmacytoma with systemic metastasis in two Miniature Pigs 183
○Miyuu Tanaka¹⁾, Takeshi Izawa¹⁾, Kayo Kusuda²⁾, Norihiko Kitamura³⁾, Terumasa Shimada³⁾,
Jyoji Yamate¹⁾, Mitsuru Kuwamura¹⁾
¹⁾Veterinary Pathology, Osaka prefecture University, ²⁾Misaki Park,
³⁾Veterinary Medical Center, Osaka Prefecture University
- P-10** Histopathological changes in the Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) assay:
Effects of the concentration and exposure time of the test substance 183
○Masatoshi Furukawa¹⁾, Kouta Itoh¹⁾, Masumi Rokukawa¹⁾, Takashi Sakakibara¹⁾,
Satoshi Sasaki¹⁾, Takeo Hiraga²⁾, Hajime Kojima³⁾, Masao Matsuura¹⁾
¹⁾Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd.,
²⁾Department of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ³⁾National Institute of Health Sciences
- P-11** Multiple system atrophy in long-term professional painter: a case report 184
○Yusa Nagai, Koto Fujiishi, Riko Kitazawa, Sohei Kitazawa
Department of Molecular Pathology, Ehime University Graduate School of Medicine
- P-12 *** A Spontaneous Oligodendroglioma at Lumbar Portion of the Spinal Cord in a Young
BrlHan:WIST@Jcl (GALAS) Rat 184
○Shuji Takeda, Hiroyuki Asano, Ryo Ihara, Keiko Ogata, Masahiko Kushida
Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chem Co., Ltd.
- P-13 *** Eosinophilic Cytoplasmic Inclusions of Hippocampus Pyramidal Neuron in Göttingen
Minipigs 185
○Naoaki Yamada, Ryosuke Kobayashi, Shino Kumabe, Yuki Tomonari, Takuya Doi,
Yumi Wako, Minoru Tsuchitani
Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation

Respiratory

Chair : Hiroshi Onodera (Pharmaceutical and Medical Devices Agency (PMDA))
Fumio Furukawa (DIMS Institute of Medical Science, Inc.)

- P-14 *** Toxicity of multi-wall carbon nanotube by single intratracheal instillation to C57BL6/J mice and F344 rats, 52 weeks study 185
○Sosuke Kishi¹⁾, Yuko Nakano¹⁾, Keiko Yamakawa¹⁾, Masanao Yokohira¹⁾, Fumiko Ninomiya¹⁾,
Kousuke Saoo²⁾, Katsumi Imaida¹⁾
¹⁾Onco-Pathol., Fac. Med., Kagawa Univ. , ²⁾Tomakomai city hospital
- P-15** Activation of Erk1/2 and Dusp6 expression on NNK-induced lung carcinogenesis in A/J mice 186
○Keiko Yamakawa¹⁾, Masanao Yokohira¹⁾, Sosuke Kishi¹⁾, Yuko Nakano¹⁾, Fumiko Ninomiya¹⁾,
Shohei Kanie¹⁾, Kosuke Saoo^{1,2)}, Katsumi Imaida¹⁾
¹⁾Onco-Pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University, ²⁾Tomakomai City Hospital
- P-16** Nasal Lesion in Rats and Mice Exposed to n-Butyl Glycidyl Ether by Inhalation for 13 Weeks 186
○Kenji Takanobu¹⁾, Taku Katagiri¹⁾, Yumi Umeda¹⁾, Hideki Senoh¹⁾, Kasuke Nagano²⁾,
Shigetoshi Aiso¹⁾, Shoji Fukushima¹⁾
¹⁾Japan Bioassay Research Center , Japan Industrial Safety and Health Association ,
²⁾Nagano Toxicologic-Pathologic Consulting
- P-17** NasalCavity Carcinogenicity in Rats and Mice Exposed to n-Butyl Glycidyl Eter by Inhalation for Two Years 187
○Taku Katagiri¹⁾, Kenji Takanobu¹⁾, Hideki Senoh¹⁾, Yumi Umeda¹⁾, Kasuke Nagano²⁾,
Shigetoshi Aiso¹⁾, Syouji Fukushima¹⁾
¹⁾Japan Industrial Safety & Health Association Japan Bioassay Research Center,
²⁾Nagano Toxicologic -Pathologic Consulting
- P-18** Nasal Lesion in Rats Exposed to Acrylic Acid for 13 Weeks and 104 Weeks 187
○Yumi Umeda¹⁾, Hideki Senoh¹⁾, Kenji Takanobu¹⁾, Taku Katagiri¹⁾, Shigetoshi Aiso¹⁾,
Kasuke Nagano²⁾, Shoji Fukushima¹⁾
¹⁾Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association,
²⁾Nagano Toxicologic-Pathologic Consulting
- P-19** Effects of Intratracheally Instilled Magnetite Nanoparticles in Fischer 344 Rats Initiated with N-Bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) 188
○Yukie Tada¹⁾, Norio Yano¹⁾, Hiroshi Takahashi¹⁾, Katsuhiko Yuzawa¹⁾, Hiroshi Ando¹⁾, Yoshikazu Kubo¹⁾,
Akemichi Nagasawa¹⁾, Fujifumi Kaihoko¹⁾, Motoki Houjou¹⁾, Akiko Inomata¹⁾, Akio Ogata¹⁾, Dai Nakae^{1,2)}
¹⁾Department of Pharmaceutical and Environmental Sciences, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
²⁾Tokyo University of Agiculture

Respiratory • Blood

Chair : Akihiro Hirata (Division of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu University)
Hiroshi Maeda (Drug Safety Research Laboratories, Tokyo Pathology Center)

- P-20 *** Chronic toxicopathological changes in lungs of F344 rats after single intratracheal instillation of quartz particle 188
○Yuko Nakano¹⁾, Masanao Yokohira¹⁾, Keiko Yamakawa¹⁾, Sosuke Kishi¹⁾, Fumiko Ninomiya¹⁾,
Shohei Kanie¹⁾, Kousuke Saoo^{1,2)}, Katsumi Imaida¹⁾
¹⁾Onco-pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University, ²⁾Tomakomai Hospital
- P-21** Histopathological Examination of Nasal Cavity in Microminipigs 189
○Koshirou Katoku, Kazufumi Kawasaki, Azusa Kobayashi, Takafumi Oshikata, Mikio Mitsuishi,
Takeshi Kanno, Masao Hamamura
Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation
- P-22 *** Accumulation of pigmented macrophages associated with vascular lesions in the lung of cynomolgus monkeys 189
○Tetsuya Ide¹⁾, Yutaka Nakahara¹⁾, Hikaru Mitori¹⁾, Shunji Nakatsuji¹⁾, Yuji Oishi²⁾,
Masahiro Matsumoto¹⁾
¹⁾Toxicologic Pathology, Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.,
²⁾Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.
- P-23** The Relationship between Endothelin-1 expression and progression of Pulmonary Hypertension in Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension in Rats 190
○Katsuhiko Miyajima, Kaoru Toyoda, Kochi Kakimoto, Yuzo Yasui, Yusuke Kenmochi,
Akiko Nakamura, Eriko Taniai, Hideaki Yokoyama, Katsunori Ryoke, Akemi Takahashi,
Toshiyuki Shoda, Shoichiro Sugai
JAPAN TOBACCO INC. Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical Research Institute
- P-24** Malaria in Cynomolgus Monkeys Used in Toxicity Studies in Japan 190
○Etsuko Ohta¹⁾, Yuko Nagayama¹⁾, Akira Inomata¹⁾, Aya Goto¹⁾, Yuki Seki¹⁾, Yoshikazu Taketa¹⁾,
Kyoko Nakano-Ito¹⁾, Kazuhiro Hayakawa²⁾, Jiro Sonoda¹⁾, Satoru Hosokawa¹⁾,
Kazuo Tsukidate¹⁾
¹⁾Tsukuba Drug Safety Eisai Co., Ltd., ²⁾Preclinical Safety Research Laboratories Sunplanet Co., Ltd.
- P-25 *** Histopathological Examination on Eosinophilic Substance in the Spleen of Rabbits 191
○Azusa Kobayashi, Kazufumi Kawasaki, Takafumi Oshikata, Koshirou Katoku,
Mikio Mitsuishi, Takeshi Kanno, Masao Hamamura
Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation

Blood • Circulation • Digestive tract

Chair : Satoru Hosokawa (Drug Safety, Eisai Co., Ltd.,)

Masanao Yokohira (Oncopathology, Faculty of Medicine, Kagawa University)

- P-26** Acquisition of MYD88 L265P mutation during treatment of diffuse large B-cell lymphoma of parotid gland 191
 ○Koto Fujiishi, Yusa Nagai, Riko Kitazawa, Sohei Kitazawa
 Department of Molecular Pathology, Ehime University Graduate School of Medicine
- P-27 *** A spontaneous atriocaval mesothelioma in a Sprague-Dawley rat 192
 ○Ryuichi Nakamura, Shiori Takata, Tomonari Nishimura, Taehito Ochiai, Hiroyuki Ogasawara
 Asubio Pharma Co., Ltd.
- P-28 *** Pathological analysis for cardiotoxicity in colchicine-treated rats 192
 ○Ryota Tochinai¹⁾, Katsuya Suzuki¹⁾, Yuriko Nagata¹⁾, Minoru Ando¹⁾, Chie Hata¹⁾,
 Tomo Suzuki¹⁾, Kazumi Uchida¹⁾, Shoichi Kado¹⁾, Kimiyuki Kaneko¹⁾, Masayoshi Kuwahara²⁾
¹⁾Yakult central institute for microbiological research, Safety research department,
²⁾Department of Comparative Pathophysiology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo
- P-29 *** DNA methylation and protein expression in tumor suppressor genes of squamous cell carcinoma of the forestomach in alloxan-induced diabetic rats 193
 ○Yui Terayama, Tomoya Sano, Tetsuro Matsuura, Isao Narama, Kiyokazu Ozaki
 Department of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University
- P-30 *** Mouse Colon Cancer Model Using BP and DSS:Effect of duration of the interval between BP and DSS treatments on colorectal carcinogenesis 193
 ○Yuki Seki¹⁾, Jiro Sonoda¹⁾, Atsushi Hakura¹⁾, Naoki Koyama¹⁾, Aya Goto¹⁾, Yoshikazu Taketa¹⁾,
 Etsuko Ohta¹⁾, Kyoko Nakano-Ito¹⁾, Akira Inomata¹⁾, Kazuhiro Hayakawa²⁾, Satoru Hosokawa¹⁾,
 Kazuo Tsukidate¹⁾
¹⁾Tsukuba Drug Safety Eisai Co., Ltd., ²⁾Preclinical Safety Research Laboratories Sunplanet Co., Ltd.
- P-31** Modifying effect of alkannin in AOM-DSS-induced inflammation related mice colon carcinogenesis 194
 ○Shigeyuki Sugie, Takuji Tanaka
 Dept. Pathol. Murakami Memorial Hosp. Asahi Univ. Sch. Dentistry

Oral and Maxillofacial • Digestive tract

Chair : Toshio Imai (Central Animal Division, National Cancer Center Research Institute)

Hisanori Uehara (Department of Molecular and Environmental Pathology Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima)

- P-32 *** Participation of NRF2 in KBrO₃-induced small intestinal carcinogenesis in mice 194
 ○Yuh Yokoo, Aki Kijima, Shinji Takasu, Yuji Ishii, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura
 Divisions of pathology, National Institute of Health Sciences

- P-33 *** Effect of 20% caloric restriction on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in F344 and congenic *F.Z-lepr^{fa/fa}* rats 195
 ○Hitomi Umemoto, Keisuke Izumi
 Dept. of Mol. and Environ. Pathol., Inst. of Health Biosciences, The Univ. of Tokushima Grad. Sch.
- P-34 *** Effects of dietary MTBITC on NMBA-induced esophageal carcinogenesis in rats 195
 ○Isamu Suzuki^{1,2)}, Young-Man Cho¹⁾, Takeshi Toyoda¹⁾, Jun-ichi Akagi¹⁾, Akiyoshi Nishikawa²⁾,
 Kumiko Ogawa¹⁾
¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,
²⁾Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences
- P-35** Suppression of AOM + DSS-induced mouse colon tumorigenesis with coffee and its ingredients 196
 ○Tetsuya Tsukamoto¹⁾, Yuka Kiriyama¹⁾, Takuji Tanaka²⁾
¹⁾Department of Diagnostic Pathology, Fujita Health University School of Medicine,
²⁾The Tohkai Cytopathology Institute, Cancer Research and Prevention
- P-36** KAD rats are susceptible to 4-NQO-induced tongue carcinogenesis 196
 ○Takuji Tanaka^{1,2)}, Shigeyuki Sugie³⁾, Toshiya Kuno⁴⁾
¹⁾Tohkai Cytopathol. Inst., ²⁾Dept. Tumor Pathol., Gifu Univ. Grad. Sch. Med.,
³⁾Dept. Pathology, Murakami Memorial Hosp., Asahi Univ.,
⁴⁾Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ., Sch. Med.
- P-37 *** The relationship between salivary gland dysfunction and dental caries development in alloxan-induced diabetic rats 197
 ○Taiki Nishimoto¹⁾, Yasushi Kodama¹⁾, Tetsuro Matsuura²⁾, Kiyokazu Ozaki²⁾,
 Yoshihiko Taniguchi¹⁾
¹⁾Laboratory of Clinicopathological Therapeutics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima International University ,
²⁾Department of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University

Digestive tract • Liver

Chair : Katsumi Fukamachi (Department of Molecular Toxicology Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences)
 Toru Hoshiya (BoZo Research Center Inc.)

- P-38 *** Analysis of histogenesis of duodenal carcinomas induced in rats after treatment with azoxymethane 197
 ○Yoh Kikuchihara¹⁾, Nobuhiko Onda²⁾, Mizuho Kato¹⁾, Masayuki Kimura¹⁾, Tomoaki Murakami³⁾,
 Kazuhiko Suzuki³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾
¹⁾Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol, ²⁾Olympus corporation,
³⁾Lab. Vet. Toxicol., Tokyo Univ. Agricul. Technol.
- P-39 *** Cystic Intestinal Duplications (Enterocysts) in Three Young Rats 198
 ○Yoshihide Ueda, Masaru Tsuboi, Mai Kubota, Yasufumi Ota, Shigeaki Takami, Masayo Hosoi,
 Rumiko Miyajima, Kazushige Hasegawa, Atsushi Shiga, Isao Narama
 Public Interest Incorporated Foundation BioSafety Research Center (BSRC)

- P-40** Detecting and Quantifying Liver Pathologies Using Compact, High-Resolution 3D MRI-Based Histology 198
 ○Yael S Schiffenbauer¹, Catherine Tempel Brami¹, Rinat Abramovitch², Tali Lanton², Jonathan H Axelrod², Eitan Galun², Abraham Nyska³, Robert Maronpot⁴
¹Aspect Imaging, Israel, ²Hadassah Hebrew University Medical Center, Ein Karem, Jerusalem, Israel,
³Consultant in Toxicologic Pathology, Timrat, & Tel Aviv University, Israel,
⁴Maronpot Consulting, LLC, Raleigh, NC, USA
- P-41** LC-MS/MS and *in vitro* functional analyses of potential molecular candidates as cancer biomarkers and novel molecular targets in hepatocarcinogenesis 199
 ○Anna Kakehashi, Naomi Ishii, Masaki Fujioka, Min Wei, Hideki Wanibuchi
 Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan
- P-42 *** Specificity Assessment of Aberrant Cell Cycle Regulation at the Initial Phase of Carcinogen Treatment Showing High Cell Proliferation Activity in Rats 199
 ○Masayuki Kimura^{1,2}, Reiko Morita^{1,2}, Hajime Abe^{1,2}, Takeshi Tanaka^{1,2}, Tomoaki Murakami³, Kazuhiko Suzuki³, Toshinori Yoshida¹, Makoto Shibutani¹
¹Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., ²Pathogen. Vet. Sci., United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.,
³Lab. Vet. Toxicol., Tokyo Univ. Agricul. Technol.
- P-43 *** Characterization of Green Tea Extract-induced Hepatotoxicity in Rats 200
 ○Yuko Emoto¹, Katsuhiko Yoshizawa¹, Yuichi Kinoshita¹, Takashi Yuri¹, Yutaka Yoshikawa², Kazutoshi Sayama³, Airo Tsubura¹
¹ Pathology II, Kansai Medical University, ² Kobe Women's University, ³ Faculty of Agriculture, Shizuoka University

Liver

Chair : Shigetoshi Aiso (Japan Bioassay Research Center , Japan Industrial Safety and Health Association)
 Kochi Kakimoto (JAPAN TOBACCO INC. Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical Research Institute)

- P-44 *** Analysis of Calpain1 and Calpastatin expression in the liver of mice fed high fat diet after thioacetamide administration 200
 ○Makoto Shirai, Toshihiko Makino, Kiyonori Kai, Munehiro Teranishi
 Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.
- P-45 *** Involvement of CAR in Liver Hypertrophy Induced by Gingko Biloba Extract 201
 ○Jun Maeda¹, Kaoru Inoue¹, Ryohei Ichimura¹, Tomomi Morikawa¹, Yuko Ogawa², Yukio Kodama³, Midori Yoshida¹
¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,
²Laboratory of Comparative Toxicology, School of Veterinary Medicine, Azabu University,
³Division of Toxicology, National Institute of Health Sciences
- P-46 *** Mitochondrial function contributes to the coumarin-induced hepatocellular damage of rat . . 201
 ○Yasuhiro Tanaka^{1,2}, Wataru Fujii¹, Yoshinori Kitagawa¹, Kiyokazu Ozaki²
¹Suntory Business Expert Limited, ²Department of Pathology, Setsunan University

- P-47 *** Involvement of CAR in the process of hepatocellular hypertrophy and hepatocarcinogenesis of PPAR alpha activators in mice 202
 ○Kaoru Inoue¹, Daisetsu Suzuki¹, Yuko Ogawa², Jun Maeda¹, Ryohei Ichimura¹,
 Miwa Takahashi¹, Yukio Kodama³, Midori Yoshida¹
¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,
²Laboratory of Comparative Toxicology, Azabu University,
³Division of Toxicology, National Institute of Health Sciences
- P-48** Hepatotoxicity and metabolism of 1,2-dichloropropane in male Syrian 202
 ○Min Gi, Shotaro Yamano, Masaki Fujioka, Anna Kakehashi, Eri Shimomura, Masayui Kanki,
 Hideki Wanibuchi
 Dept. Pathol., Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.
- P-49 *** A 90-Day Repeated Oral Dose Toxicity Study of Piperonyl Butoxide in F344 Rats 203
 ○Aki Kijima, Yuji Ishii, Shinji Takasu, Kouhei Matsushita, Ken Kuroda, Yuh Yokoo,
 Takashi Umemura, Kumiko Ogawa
 Division of Pathology, NIHS
- P-50 *** Granulomatous Nephritis Consistent with Malakoplakia in a Cynomolgus Monkey 203
 ○Yoshikazu Taketa¹, Akira Inomata¹, Jiro Sonoda¹, Kazuhiro Hayakawa²,
 Kyoko Nakano-Ito¹, Etsuko Ohta¹, Yuki Seki¹, Aya Goto¹, Satoru Hosokawa¹
¹Tsukuba Drug Safety, Eisai Co., Ltd., ²Preclinical Safety Research Laboratories, Sunplanet Co., Ltd.

Poster Presentation II

January 31 (Friday) 13 : 00 ~ 14 : 00

Room 2 [Exhibit Room1~5]

Liver

Chair : Junko Sato (Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation)

Tetsuya Tsukamoto (Department of Diagnostic Pathology, Fujita Health University School of Medicine)

- P-51** Histopathological examination of early change of liver proliferative lesions induced by tocotrienol in rats 204
 ○Kenichiro Kasahara¹, Ryo Ando¹, Toru Hoshiya¹, Kazutoshi Tamura¹, Kumiko Ogawa²,
 Akiyoshi Nishikawa²
¹BoZo Research Center Inc., ²National Institute of Health Science
- P-52 *** Macrophage depletion delays hepatic fibrosis induced in rats by thioacetamide (TAA) . . 204
 ○Hossain M Golbar, Alexandra Bondoc, Kavindra Wijesundera, Anusha Tennakoon,
 Chisa Katou-Ichikawa, Miyuu Tanaka, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate
 Osaka Prefecture University, Veterinary Pathology
- P-53 *** Characterization of hepatic stellate cells (HSCs) in terms of epithelial-mesenchymal transition in normal and cirrhotic rat livers 205
 ○Anusha Tennakoon, Takeshi Izawa, Kavindra Wijesundera, Hossain M. Golbar, Miyuu Tanaka,
 Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate
 Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

- P-54 *** Inflammatory changes in a diet-induced hepatosteatosis model: Histopathological characteristics of the CDAHFD hepatosteatosis model 205
 ○Etsuko Fujii, Tsuneo Ito, Masaki Yamazaki, Atsuhiko Kato, Masami Suzuki
 Research Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.
- P-55 *** Evaluation of drug-induced hepatocellular hypertrophy in mice using histopathological image analysis 206
 ○Yoshiji Asaoka, Naoko Imura, Mayu Mutsuga, Tomoya Miyoshi, Yuko Togashi,
 Yohei Miyamoto
 Toxicology and Pharmacokinetics Laboratories, Pharmaceutical Research Laboratories, Toray Industries, Inc.
- P-56 *** General toxicity and liver carcinogenicity in *gpt* delta rats treated with diethylnitrosamine compared to background strain 206
 ○Shinji Takasu¹, Yuji Ishii¹, Kohei Matsushita¹, Ken Kuroda¹, Aki Kijima¹, Yuh Yokoo¹,
 Takehiko Nohmi², Kumiko Ogawa¹, Takashi Umemura¹
¹Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²Biological Safety Res. Ctr., Natl. Inst. Health Sci.

Liver • Pancreas • Urinary

Chair : Toshiya Kuno (Department Exp.Pathol.Tumor Biol.,Nagoya City University)

Toshihisa Fujiwara (Safety Research Laboratories, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation)

- P-57** Pathological changes of the liver in rats with dietary iron overload/deficiency 207
 ○Takeshi Izawa, Rena Miyagi, Takashi Horiuchi, Mitsuru Kuwamura , Jyoji Yamate
 Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University
- P-58 *** EHEN-induced rat hepatoblastoma with multilineage differentiation potential for embryonic foregut driven organs 207
 ○Shotaro Yamano¹, Kiyokazu Ozaki², Shuji Takeda³, Masahiko Kushida³, Takeshi Izawa⁴,
 Jyoji Yamate⁴, Akihiro Hirata⁵, Masaki Fujioka¹, Min Gi¹, Hideki Wanibuchi¹
¹Department of pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine,
²Department of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University,
³Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chem Co., Ltd.,
⁴Department of Veterinary Pathology, College of Agriculture, Osaka Prefecture University,
⁵Division of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu University
- P-59 *** Study for the vacuolation found in the pancreatic acinar cells of a cynomolgus monkey. . 208
 ○Seiji Miyoshi¹, Hirofumi Hatakeyama¹, Yoshihiro Takei¹, Shiho Suyama¹, Hiroe Inagaki¹,
 Haruko Koizumi¹, Tetsuyo Kajimura¹, Hijiri Iwata², Akihito Shimo¹
¹Ina Research Inc., ²LunaPath LLC

- P-60 *** Threshold Dose of Rat Liver Tumor Promoting Effect of Omeprazole through Dietary Administration 208
 ○Reiko Morita^{1,2)}, Masayuki Kimura^{1,2)}, Hajime Abe^{1,2)}, Megu Itahashi^{1,2)}, Ayako Shiraki^{1,2)}, Tomoaki Murakami³⁾, Kazuhiko Suzuki³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾, Kunitoshi Mitsumori¹⁾
¹⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology,
²⁾United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University,
³⁾Laboratory of Veterinary Toxicology, Tokyo University of Agriculture and Technology
- P-61 *** Evaluation of *in vivo* mutagenicity of DMA^V and iAs^{III} in *gpt* delta rats 209
 ○Eri Shimomura, Masaki Fujioka, Min Gi, Shotaro Yamano, Anna Kakehashi, Masahiko Kushida, Hideki Wanibuchi
 Department of pathology, Osaka city university graduate school of medicine
- P-62 *** Expression pattern of γ H2AX, a biomarker for DNA double-strand breaks, in urinary bladders of chemical-treated rats 209
 ○Takeshi Toyoda¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, Jun-ichi Akagi^{1,2)}, Yasuko Mizuta¹⁾, Isamu Suzuki¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾
¹⁾Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²⁾Div. Pharmacol., Natl. Inst. Health Sci.

Urinary

Chair : Shigeyuki Sugie (Department Pathol. Murakami Memorial Hospital Asahi University Sch. Dentistry)
 Mikinori Torii (Drug Developmental Research Laboratories, Shionogi & Co., Led.)

- P-63** Renal developmental impairment induced by repeated administration of gentamicin in juvenile rats 210
 ○Kiyonori Kai, Testuya Ohsawa, Katsumi Fujita, Yasuko Kato, Kumi Honda, Satoko Sato, Noriyo Niino, Kazumi Ito, Munehiro Teranisi, Wataru Takasaki
 Daiichi Sankyo Co., Ltd., Medical Safety Research Laboratories
- P-64** Time-Sequence Study of Renal Lesions in SHR/NDmcr-cp(cp/cp) Rats 210
 ○Kaoru Toyoda¹⁾, Kochi Kakimoto¹⁾, Katsuhiko Miyajima¹⁾, Yuzo Yasui¹⁾, Yusuke Kenmochi¹⁾, Akiko Nakamura¹⁾, Eriko Taniai¹⁾, Akemi Takahashi¹⁾, Toshiyuki Shoda¹⁾, Koji Inagaki²⁾, Kenji Fukui²⁾, Yoshifumi Miyakawa²⁾
¹⁾Japan Tobacco Inc. Central Pharmaceutical Research Institute, Toxicology Research Laboratories,
²⁾Japan Tobacco Inc. Central Pharmaceutical Research Institute, Biological/Pharmacological Research Laboratories
- P-65 *** Salt intake deteriorates kidney lesions in Spontaneously Diabetic Torii-*Lep^{fa}* (SDT fatty) rat 211
 ○Yusuke Kenmochi¹⁾, Yoshiaki Katsuda²⁾, Mimi Maki²⁾, Takeshi Ohta²⁾, Kaoru Toyoda¹⁾, Katsuhiko Miyajima¹⁾, Yuzo Yasui¹⁾, Akiko Nakamura¹⁾, Eriko Taniai¹⁾, Akemi Takahashi¹⁾, Kochi Kakimoto¹⁾, Yoshifumi Miyakawa²⁾, Toshiyuki Shoda¹⁾
¹⁾Toxicology Reserch Laboratories, Japan Tobacco Inc., Central Pharmaceutical Research Institute,
²⁾Biological/Pharmacological Research Laboratories, Japan Tobacco Inc., Central Pharmaceutical Research Institute

- P-66** **Hormone induced prostatic hyperplasia in C57BL mice** 211
 ○Nariaki Fujimoto¹, Jun Kanno²
¹RIRBM, Hiroshima Univ, ²Div. Toxicology, NIHS
- P-67 *** **Morphometrical investigation on Gender Difference in Wistar and SD Rats Kidney Glomeruli: Especially strain difference study** 212
 ○Keisei Kimura¹, Tomoo Inomata¹, Hiroyuki Takahashi², Tomoko Muto³, Noriko Oyama³, Masahiro Ikegami², Shin Wakui⁴
¹Department of Laboratory Animal Science, Azabu University School of Veterinary Medicine, ²Department of Pathology, The Jikei University School of Medicine, ³Drug Safety Testing Center, ⁴Department of Toxicology, Azabu University School of Veterinary Medicine

Urinary • Mammary gland • Category

Chair : Hijiri Iwata (Laboratory of Toxicologic Pathology, LunaPath LLC)

Min Gi (Department of pathology, Osaka city university graduate school of medicine)

- P-68 *** **Feline Infectious Peritonitis-like Renal Lesion in a Ferret Infected with Coronavirus** 212
 ○Yuta Fujii, Kaoru Toyosawa, Izumi Matsumoto, Mami Kouchi, Tomoaki Tochtani, Toru Yamada, Hitoshi Funabashi
 Preclinical Research Laboratories, Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.
- P-69** **Experimental pathological study on uranium decorporation effect of sodium bicarbonate in rats** 213
 ○Yasushi Ohmachi, Tomomi Imamura, Mizuyo Ikeda, Mariko Yajima, Eriko Shishikura, Eunjo Kim, Osamu Kurihara, Kazuo Sakai
 Research Program for Radiation Dosimetry, Research Center for Radiation Emergency Medicine, National Institute of Radiological Sciences
- P-70** **Soy milk and *Lactobacillus casei* Shirota prevent the development of mammary tumor induced by PhIP in rats** 213
 ○Shoichi Kado¹, Chiaki Kaga¹, Akimitsu Takagi¹, Mitsuyoshi Kano¹, Ikuo Kato¹, Kouji Miyazaki¹, Yasuo Ohashi², Masakazu Toi³
¹Yakult central institute for microbiological research, Safety research department, ²Department of bioinformatics, School of Public Health Tokyo University, ³Department of Breast Surgery, Kyoto University
- P-71** **Influence of delayed effect on LH surge and kiss1 expression after neonatal exposure to EE** 214
 ○Ryohei Ichimura¹, Miwa Takahashi¹, Tomomi Morikawa¹, Pramod Dhakal¹, Kaoru Inoue¹, Jun Maeda¹, Midori Yoshida¹, Gen Watanabe²
¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²Laboratory of Veterinary Physiology, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

- P-72** **Lack of modifying effect of 3-MCPD fatty acid esters on mammary carcinogenesis in SD rats** 214
○Young-Man Cho¹, Yasuko Mizuta¹, Isamu Suzuki¹, Takeshi Toyoda¹, Junichi Akagi¹, Akiyoshi Nishikawa², Kumiko Ogawa¹
¹Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²Biol. Safety Res. Center, Natl. Inst. Health Sci.
- P-73 *** **Enhancement of mammary carcinoma induction by high fat diet in c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats** 215
○Mie Magaki¹, Takamasa Ohnishi¹, Hiroyuki Tsuda²
¹Hyogo University Faculty of Health Science, ²Nagoya City University

Category • Endocrine

Chair : Masahiko Kushida (nvironmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chem Co., Ltd.)
Osamu Sawamoto (Preclinical Research Laboratories, Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.)

- P-74** **Background data on developmental parameters during gestation period in rats** 215
○Satoshi Furukawa¹, Seigo Hayashi¹, Masayoshi Abe¹, Souichiro Hagio¹, Kota Irie¹, Yusuke Kuroda¹, Izumi Ogasa¹, Akihiko Sugiyama²
¹Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, Ltd.,
²Courses of Veterinary Laboratory Medicine, School of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori University
- P-75** **Sertoli cell aggregations observed in the seminiferous tubules of C57BL/6J mice** 216
○Akiko Nakamura, Kochi Kakimoto, Katsuhiko Miyajima, Yuzo Yasui, Yusuke Kenmochi, Kaoru Toyoda, Eriko Taniai, Akemi Takahashi, Toshiyuki Shoda
Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.
- P-76** **Ovarian Germ Cell Tumors with Unusual Histopathological Feature in Two Mice** 216
○Masayo Hosoi, Yasufumi Ota, Yoshihide Ueda, Shigeaki Takami, Rumiko Miyajima, Kazushige Hasegawa, Atushi Shiga, Isao Narama
Public interest incorporated foundation Biosafety Research Center (BSRC)
- P-77** **Pathology of Nodular Lesions in the Epididymis of Mice** 217
○Atsushi Shiga, Yasufumi Ota, Yoshihide Ueda, Shigeaki Takami, Masayo Hosoi, Rumiko Miyajima, Kazushige Hasegawa, Isao Narama
Public Interest Incorporated Foundation, Biosafety Research Center (BSRC)
- P-78 *** **Morphological features of rat ovary changes induced by short-term treatment with cytotoxic anticancer drugs** 217
○Tomo Suzuki¹, Isamu Oosuga¹, Ryota Tochinai¹, Yuriko Nagata¹, Chie Hata¹, Minoru Ando¹, Kazumi Uchida¹, Toshihide Kobayashi¹, Midori Yoshida², Shoichi Kado¹, Kimiyuki Kaneko¹
¹Safety Research Department, Yakult Central Institute for Microbiological Research,
²Division of Pathology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

- P-79 *** The importance of capsule formation/growth beyond the capsule as a malignancy diagnostic feature of Islet tumor in rats 218
 ○Kaori Nishihara¹, Yuko Yamaguchi¹, Mizuho Takagi¹, Shino Kumabe², Masako Imaoka³,
 Midori Yoshida⁴, Junko Sato²
¹BoZo Research Center, ²Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation,
³Kasai RD Center, Daiichi Sankyo Co., Ltd., ⁴Division of Pathology, National Institute of Health Science

Endocrine • Skin • Musculoskeletal

Chair : Kaoru Toyosawa (Preclinical Research Laboratories, Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.)
 Kazuo Hakoi (Tokushima Research Center, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.)

- P-80 *** Immunohistochemical analyses of pancreatic stellate cells (PSCs) and myofibroblasts (MFs) in developing rat pancreas and canine pancreatic fibrosis 218
 ○Ai Hashimoto, Takeshi Izawa, Miyuu Tanaka, Hossain M. Golbar, Kavindra Wijesundera,
 Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate
 Laboratory of Veterinary Pathology, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University
- P-81** Lesion in femoral metaphysis in Jcl:CB6F1-Tg rasH2 mice 219
 ○Yuko Yamaguchi, Tubasa Saito, Tomomi Nakazawa, Muzuho Takagi, Mariko Nagatani,
 Kazutoshi Tamura, Toru Hoshiya
 BoZo Research Center Inc.
- P-82 *** Age-related pathological changes of the skeletal muscles in the *mdx* mouse and exploratory analyses of glycosaminoglycans in these tissues 219
 ○Kei Kubota, Aisuke Nii, Daisuke Morita, Atsushi Watanabe, Shino Ito, Yuka Minamisawa,
 Ikue Kitazawa, Takatoshi Kubo
 Medicinal Safety & Pharmacokinetics Dept., Central Research Lab., Seikagaku Co.
- P-83 *** Effect of hyperbaric oxygen to mouse skin tumors that occurred by two-stage chemical carcinogenesis 220
 ○Hiroshi Doguchi¹, Yukinori Akazawa², Reika Takamatsu¹, Masanao Saio¹, Naoki Yoshimi¹
¹Department of Pathology and Oncology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus,
²Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus
- P-84 *** Development of two-Stage ultra-short-term carcinogenicity model using rasH2 mice—investigation of low-dose DMBA 220
 ○Mayuko Suguro¹, Mayumi Kawabe¹, Takamasa Numano^{1,3}, Kouji Urano², Hideki Tsutsumi²,
 Fumio Furukawa¹
¹DIMS Institute of Medical Science, Inc., ²Central Institute for Experimental Animals,
³Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences and Medical School, Nagoya City University

- P-85 *** The histomorphometric analysis of the femoral growth plate in dietary restricted young rats 221
○Chihiro Noguchi¹⁾, Kenta Matsue¹⁾, Yutaka Nakanishi¹⁾, Fumiko Asanuma²⁾, Hiroto Miyata³⁾, Minoru Sasaki¹⁾, Syunsuke Tsutsumi¹⁾, Yasushi Sato¹⁾
¹⁾Drug Safety and Pharmacokinetics Laboratories Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.,
²⁾Regulatory Affairs Division Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.,
³⁾Prescription Drug Pharmacovigilance Division Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.

Immunity • Toxicity test

Chair : Kiyokazu Ozaki (Department of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University)
Maki Kuwahara (The Institute of Environmental Toxicology)

- P-86 *** Hyperplastic Lesions in Thymic Medulla in Jic:CB6F1-Tg rasH2 Mice 221
○Tsubasa Saito, Yuko Yamaguchi, Keita Matsushima, Hiroshi Edamoto, Seiki Yamakawa, Kazutoshi Tamura, Toru Hoshiya
BoZo Research Center Inc.
- P-87** Thymoma in Wistar Hannover rat - characteristics and causes - 222
○Yuki Tomonari, Shino Kumabe, Hiroko Kokoshima, Tetsuro Kurotaki, Junko Sato, Takuya Doi, Yumi Wako, Minoru Tsuchitani
Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation
- P-88** Spontaneous Thymoma Observed in 52-Week Background Study of Sprague-Dawley rats 222
○Myoung Jun Kim¹⁾, Mi Ju Lee¹⁾, Byeong Woo Ahn³⁾, Jae-Min Moon¹⁾, Sun Hee Park¹⁾, Yong-Hoon Lee¹⁾, Duyeol Kim¹⁾, Chang Geon Kim¹⁾, Ho-Song Jang¹⁾, Jin Seok Kang²⁾, Jongkoo Kang^{1,4)}
¹⁾Biototech. co. ltd, ²⁾Namseoul University, ³⁾Department of veterinary pathology, Chungbuk National University,
⁴⁾Department of Laboratory Animal medicine, Chungbuk National University
- P-89** Hyperplasia of Subcapsular Thymic Epithelial Cell in the Thymus of a Cynomolgus Monkey 223
○Yuichi Murakami¹⁾, Takahisa Noto¹⁾, Kenjiro Tsubota¹⁾, Yuji Oishi²⁾, Shunji Nakatsuji¹⁾, Masahiro Matsumoto¹⁾
¹⁾Toxicologic Pathology, Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.,
²⁾Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.
- P-90 *** Accumulation of Mott cells in the spleen in a CB6F1-TgrasH2 mouse 223
○Tomoya Sano, Hisashi Anayama, Yuuichi Takai, Takeshi Watanabe, Ryo Fukuda
Takeda Pharmaceutical Company Limited, Drug Safety Research Laboratories

- P-91** 90-day Repeated Dose Toxicity and Genotoxicity Tests of *Evodia officinalis* 224
 ○Duyeol Kim¹, Yong-Hoon Lee¹, Sun Hee Park¹, Mi Ju Lee¹, Myoung Jun Kim¹,
 Ho-Song Jang¹, Hye-Yeong Lee¹, Mi-Young Lee¹, Beom Seok Han², Woo-Chan Son³,
 Ji Hyeon Seok⁴, Jong Kwon Lee⁴, Jayoung Jeong⁴, Jin Seok Kang⁵, Jongkoo Kang^{1,6}
¹Biototech Co.Ltd., Department of pathology,
²Hoseo Toxicity Research Center, Hoseo University Biomedical Laboratory Science,
³Pathology Department, Asan Medical Center,
⁴Toxicological Research Divison, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Korea Food and Drug
 Administration,
⁵Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University,
⁶Department of Laboratory Animal medicine, College of Veterinary medicine, Chungbuk National University
- P-92 *** Evaluation of carcinogenesity of DPAA in a rat medium-term multi-organ carcinogenicity
 bioassay 224
 ○Mai Okumura, Masaki Fujioka, Min Gi, Shotaro Yamano, Kurumi Mishima, Yoshiyuki Tago,
 Hideki Wanibuchi
 Department of Pathology, Osaka city university graduate school of Medicine

Toxicity test • Basic data

Chair : Kinji Shirota (Laboratory of Veterinary Pathology, Azabu University)
 Shin-mo Hayashi (Global Regulatory Affairs, San-Ei Gen F.F.I., Inc.)

- P-93 *** Single Dose and 13-Week Repeated Toxicity Studies of *Acanthopanax divaricatus* var.
albeofructus in F344 rats 225
 ○Mi Ju Lee¹, Myoung Jun Kim¹, Sun Hee Park¹, Yong-Hoon Lee¹, Duyeol Kim¹,
 Ho-Song Jang¹, Chang Geon Kim¹, Jung Min Lee¹, Hye-Yeong Lee¹, Jin Seok Kang²,
 Jongkoo Kang³
¹Biototech Co., Ltd., ²Namseoul University, ³Chungbuk National University
- P-94 *** Establishment and characterization of a transplantable tumor line (RMM) and cell lines
 (RMM-C and RMM-A1) from a malignant amelanotic melanoma in F344 rats 225
 ○Alexandra Bondoc, Chisa Katou-Ichikawa, Hossain M Golbar, Miyuu Tanaka , Takeshi Izawa,
 Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate
 Osaka Prefecture University Veterinary Pathology
- P-95** Confirmation study of the combined repeated-dose toxicity and genotoxicity assay using *gpt*
delta rats in F344 and SD strain 226
 ○Jun-ichi Akagi^{1,2}, Young-Man Cho¹, Takeshi Toyoda¹, Saeko Onami¹, Yasuko Mizuta¹,
 Isamu Suzuki¹, Takehiko Nohmi^{3,4}, Akiyoshi Nishikawa³, Kumiko Ogawa¹
¹Div. Pathology, Natl. Inst. Health Sci., ²Div. Pharmacology, Natl. Inst. Health Sci.,
³Biological Safety Res. Ctr, Natl. Inst. Health Sci., ⁴Natl. Inst. Biomedical Innovation

- P-96** **Early Tissue Response in the Healing Process of Stent Implanted Artery** 226
 ○Hisako Terao¹, Junko Souba¹, Ryouhei Asou¹, Masako Tasaki¹, Atsushi Isobe¹,
 Kouichi Iwatani¹, Tomoki Inoue¹, Atsushi Sakaoka¹, Kenji Usumi², Toshiaki Saito²,
 Masayoshi Kanisawa³, Hitomi Hagiwara¹
¹Evaluation Center, R&D Headquarters, TERUMO Corporation,
²Hatano Research Institute Food and Drug Center,
³Yokohama City University School of Medicine
- P-97** **Neonatal nutritional changes on offspring development examined in context of developmental origins of health and disease theory** 227
 ○Makiko Kuwagata¹, Mika Senuma¹, Fumiaki Kumagai¹, Junko Shibato², Randeep Rackwal²,
 Yoshiaki Saito¹, Hideki Marumo¹, Tetsuo Ogawa³, Seiji Shioda²
¹Toxicology Division, Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center,
²Anatomy I, Showa University, School of Medicine, ³Physiology, Saitama Medical University
- P-98 *** **A spontaneous basal cell carcinoma with lung metastasis in a 6-week-old SD rat** 227
 ○Asami Urashima, Kinji Kobayashi, Yuji Sasaki, Yohei Tanigawa, Junko Fujishima,
 Akiko Moriyama, Takanobu Okazaki, Kaori Yabuuchi, Takaharu Nagaoka,
 Kazumasa Yamashita
 Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd. Drug Safety Research Laboratories

Luncheon Seminar I

January 30 (Thursday) 12:05 ~ 13:05

Room 1 [Main Hall]

Chair : Michito Takahashi (Pathology Peer Review Center)

Co-sponsor : Hunting-Ton Life Science Inc.

- LS1** **Background pathology and histology of the Göttingen Minipig**

○Dianne M Creasy Huntingdon Life Sciences

Luncheon Seminar II

January 31 (Friday) 12:10 ~ 12:50

Room 1 [Main Hall]

Chair : Teranishi Munehiro (Daiichi Sankyo Co., Ltd. Med. Safety Res. Labs.)

Organizer : Japanese Society of Toxicologic Pathology

Draft OECD pathology peer review guidance

- LS2-1** **Overview of the draft OECD pathology peer review guidance**

○Hiroshi Onodera

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

- LS2-2** **JSTP Correspondences to the draft OECD pathology peer review guidance**

○Yuji Oishi

Astellas Pharma Inc. Drug Safety Res. Labs.

Abstracts

Keynote and Anniversary Address

Educational Series

Symposium

Workshop

SL

Using Science to Understand Mode of Action and Improve Risk Assessment

○James A. Swenberg

Department of Environmental Sciences and Engineering, Gillings School of Global Public Health, University of North Carolina



Our understanding of how and at what exposure environmental chemicals cause toxicity and carcinogenesis has improved greatly in the last 30 years. This is the result of better understanding biology and toxicology at the cellular and molecular level, and incredible improvements in scientific methods and instrumentation. In 1997, the first meeting of the IPCS on developing a Framework for Evaluating Mode of Action was held. This has been followed by years of application and improved approaches to bring forward human relevance. This approach has been accepted by regulatory agencies around the world, as it improves the transparency of how decisions are made. This Keynote Address will describe current knowledge on several environmental chemicals and how science can improve the scientific basis of risks. Several chemicals will be discussed, including butadiene, vinyl chloride, formaldehyde, acetaldehyde and PCBs. All of these have been shown to have carcinogenic potential. Likewise, all have direct or indirect genotoxicity. What has been of great interest is that all but butadiene have identical DNA lesions that are also formed in non-exposed cells and tissues. This can best be thought of as the *Endogenous Exposome*. When these endogenous DNA lesions are always present, they do impact the biology. They are one of the main causes of background mutations that are found in non-exposed cells *in vivo* and *in vitro*. Further differentiation is needed by employing *Biomarkers of Exposure* and *Biomarkers of Effect*. DNA adducts are considered Biomarkers of Exposure, while mutations represent *Biomarkers of Effect*. The proper use of this differentiation clearly impacts Science-based Risk Assessment.

AL

The Progress of the Japanese Society of Toxicologic Pathology: Thinking about the function of toxicologic pathology in genomic era

○Shoji Fukushima

Japan Bioassay Research Center, JISHA



Regarding the toxicologic pathology in Japan, experimental pathology from the German medical science is a starting point, was developed by Yamagiwa and Ichikawa who performed studies on coal tar rabbit skin carcinogenesis. Then chemical carcinogenesis studies in experimental pathology became the main stream of cancer research. Eventually, research areas of experimental pathology are expanded, and divided into studies regarding inflammation, infection, immune disorders, metabolic disorders, and mechanisms of tumor development. With making progress, the pathologic diagnosis was added, thus, academic status as toxicologic pathology was led to be established.

Japanese Society of Toxicologic Pathology (JSTP) went through the General Assembly in 1984 by the initiator founder of eight pathologists (Drs. E. Ishikawa, T. Itakura, N. Ito, M. Enomoto, Y. Konishi, Y. Nishiyama, Y. Hayashi, and K. Fujiwara), was established as Japanese Toxicologic Pathology Study Group in 1985 (Dr. Nishiyama as Chairman) with about 130 members. Although it was a modest start, the Society was developed and renamed as JSTP with the growing number of toxicologic pathology researchers as well as the number of its members (about 1000 members in 2013).

In the meantime, the Society is organizing an annual meeting and the General Assembly once a year, publishes the issue journals and promotes them, introduces toxicologic pathology specialist certification system to pathologists, and develops the toxicologic pathology research. Furthermore, it has been working on improvements of the pathological diagnosis. As internationally, the JSTP takes a cooperation with the International Federation of Societies of Toxicologic Pathology (IFSTP) and International Academy of Toxicologic Pathology (IATP), and endeavoring development and improvement of toxicologic pathology. The Society was involved the International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria (INHAND) Project.

The two greatest keywords in toxicologic pathology are “chemicals” and “safety” . Human reaps the benefits of chemicals, then enjoy their life, and cannot live without coexistence with chemicals any longer. Besides, the Society has been gradually improving. Consequently, scientific coexistence with chemicals is required for human. Toxicologic pathology plays a great scientific role while its social role is increasingly growing. At present, as a tool in order to validate the scientific evidence, genomics analysis has been promoted strenuously. It deals with not only analysis of mechanism of disease, but also toxicity, nutrition, and physiology. For toxicologic pathology research that strives to extrapolation to humans and toxic mechanism elucidation by chemicals, the course that includes genomics analysis will more and more be required.

About 45 years have passed since working on a proposition which is toxicologic pathology of the chemical effects on human health. As one of members who joined the JSTP since it was founded, I would like to state its past, present, and future.

ES1

INHAND of the female reproductive tract: topics and issues

○Midori Yoshida

Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

The final document of the International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria (INHAND) of the Female Reproductive Tract (FRT) is now available at the goRENI system. The first topic of INHAND FRT is a detailed explanation and images (about 30 figures) of the ovary, uterus, cervix, and vagina at each stage of the normal estrous cycle. The explanation and images are very useful for toxicologic pathologists, because they are the first step for detection and evaluation of toxic changes in the FRT and also provide an awareness of the normal morphological features, which change drastically over a 4 or 5 day interval in rodents.

The text of INHAND FRT is divided into three sections: the ovary, uterus/oviduct, and cervix/vagina. Each section includes information on nonproliferative, non-neoplastic proliferative, and neoplastic lesions. Each section also contains abundant images, with the number of images being approximately 100, 100, and 30 for the ovary, uterus/oviduct, and cervix/vagina, respectively. The second topic covered in INHAND FRT includes a more detailed source of information on nonproliferative lesions in each organ compared with other textbooks published in the toxicological pathology area.

Having the new issue to read is awaited and several new nomenclatures will be introduced in this lecture to improve your understanding. For example, luteinized follicle is defined as unruptured follicles accompanied by luteinized granulosa cells. In addition, a common ovarian tumor in aged F344 rats is classified into a synonym of tumor, sex cord stromal, mixed.

Unfortunately, there are still some concerns regarding inappropriate terminologies and images in INHAND FRT, especially in the section on the ovary. This may be related to the limited time for documentation and sourcing of the images, and it is considered crucial to improve appropriate terminologies and images and to add informative lesions consistently in INHAND so that it represents a guidebook of nomenclature for toxicity studies. The fact that the GESC has expressed a willingness to amend and add to all the INHAND issues is considered a good plan. Finally, I hope that young toxicologic pathologists will be interested in FRT, especially the section on ovarian toxicology, and that their publication of new scientific evidence will contribute to improvements and enrichment of INHAND FRT.

ES2

INHAND nomenclature for male reproductive system

○Hitoshi Kandori

Drug Safety Research Laboratories, Takeda Pharmaceutical Company Limited

“The standardized nomenclature for lesions in the male reproductive system of the rat and mouse” has been published (Toxicologic Pathology, 40: 40S-121S, 2012) as part of International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions in Rats and Mice (INHAND) project. The terminology for the non-proliferative lesions is incorporated. Toxicologic pathologists should be aware of the differences in usage of terminology between INHAND and the previous literature, especially for the testis.

Testis: Seminiferous tubular changes and necrosis

The INHAND nomenclature uses "Degeneration (or Atrophy), Tubular" and "Degeneration (or Depletion), <Germ cell>" according to the specific germ cell type and/or stage of the seminiferous tubules and the treatment period. "Degeneration, Tubular" is characterized by tubules with partial loss of germ cells and "Atrophy, Tubular" is defined as the presence of tubules in which most or all germ cells are depleted and lined by Sertoli cells. Thus, "Atrophy, Tubular" is synonymous with conventionally used "Sertoli cell-only tubules." "Degeneration/Atrophy, Tubular" is provided for the lesion consisting of both tubular atrophy and degeneration. In cases where the affected germ cell types and/or stages are specified, "Degeneration (or Depletion), <Germ cell>" is appropriate and modifiers indicating the affected cell types (e.g. spermatogonia, spermatocytes, etc) should follow. For example, the early changes featured in androgen deficiency in rats are degeneration of the round spermatids and pachytene spermatocytes in tubules at stage VII/VIII. Mitotically active spermatogonia are a common target cell type for cytotoxic agents such as busulfan and bleomycin. Singular or paired usage of "Degeneration", "Depletion" or "Degeneration/Depletion" is appropriate with regard to the prominence and proportion of degeneration (apoptosis) of germ cells and germ cell depletion. The term used without cell type/stage specificity is recommended for 4-week or longer studies, whereas diagnoses specifying the cell type or stage is provided for shorter-term (less than 4 weeks) studies. In addition, INHAND adopts "Necrosis, Tubular" and "Necrosis, Testis" as generally consequences of ischemia or hypoxia.

"Necrosis, Tubular" is applicable when the lesion is limited in the seminiferous epithelium without changes in the Leydig cells and other interstitial structures. "Necrosis, Testis" is appropriate for more severe necrotic changes which involve both intra- and extra-tubular components.

Proliferative lesions

"Seminoma, benign" is adopted in INHAND referencing the recent reports of benign seminoma in rodents. It is localized within a few tubules with no evidence of invasion and composed of well differentiated tumor cells resembling germ cells. "Seminoma, malignant" is composed of less uniform cells with higher nucleus to cytoplasm ratio showing invasion in the interstitium. For the male accessory reproductive glands, 3 terminologies for epithelial hyperplasia are defined: "Hyperplasia, Reactive" indicating a compensatory change of the epithelium in response to inflammation, "Hyperplasia, Functional" reflecting a response to hormonal stimulation with enlargement of the organ and "Hyperplasia, Atypical" showing a focal change composed of atypical epithelium with altered structure.

The lecture will cover the terminology and criteria of INHAND and the points for consideration will be discussed.

SY-1

OECD Test Guideline 426 on developmental neurotoxicity study

○Makoto Ema

Research Institute of Science for Safety and Sustainability, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

Developmental Neurotoxicology used to be known as Neurobehavioral Teratology or Behavioral Teratology. Developmental neurotoxicology is defined as any adverse effects of exposure to a toxic substance on the normal development of nervous system structures and/or functions. The adverse effects may manifest at any life stages and may be expressed mainly as functional deficits which can be detected as behavioral changes in offspring. The field of developmental neurotoxicology evolved from the disciplines of neurotoxicology, experimental and developmental psychology and developmental toxicology. The developmental neurotoxicity study is a specialized type of developmental toxicity study designed to screen for adverse effects of pre- and postnatal exposure on the development and function of the nervous system. The principles of developmental neurotoxicology are as follows. Area of investigation involves psychology, pathology, biochemistry and physiology. Behavioral changes which result from responses to external stimuli are main endpoints. Sensitive period is long and includes pre- and postnatal periods. Neurobehavioral dysfunction can be detected at lower dose than other endpoints of developmental toxicity. Behavior of offspring can be repeatedly determined. The central nervous system and blood-brain barrier are immature during fetal and neonatal periods. Delayed adverse effects can be manifested. Postnatal rearing environment can affect behavior of offspring.

Developmental neurotoxicant has been identified in humans by a clinical study such as discovery of the effects ethanol, i.e., the fetal alcohol syndrome, in the middle of the 1970s and can be identified by a large birth cohort study such as the National Children' s Study in the USA and Eco & Child Study in Japan. Developmental neurotoxicant has been identified in laboratory animals by behavioral, neuropathological, biochemical and neurophysiological studies.

The first guideline specially designed to evaluate developmental neurotoxicity was developed and implemented by the USEPA in 1991. The OECD initiated the development of a developmental neurotoxicity guideline in 1995. After multiple revisions, the final version of TG 426 Developmental Neurotoxicity Study was adopted by the OECD Council in 2007. An outline of the OECD TG 426 Developmental Neurotoxicity Study will be explained.

SY-2

Neurogenesis as a New Target of Developmental Neurotoxicity

○Makoto Shibutani

Tokyo University of Agriculture and Technology, Graduate School, Institute of Agricultural Science, Division of Animal Life Science

There is a concern regarding the possibility that developmental neurotoxicity (DNT) irreversibly affects higher brain functions, and therefore, there is an increasing need for building up a comprehensive evaluation system of DNT. However, current DNT studies are time-consuming, expensive, and involve the use of many animals. While current testing guideline includes morphometric analysis on brain tissues as well as conventional neuropathological analysis using rats, any efficient histopathological parameters based on the mechanism of DNT have remained optional. Therefore, it is reasonable to establish a rapid and sensitive screening system of DNT based on the detection of functional abnormalities of the brain cellular components in a small-scale animal study.

In mammalian brains, there are unique substructures that can continue neurogenesis during postnatal life. Among them, the hippocampal dentate gyrus, a center for learning and memory, produces granule cell lineages in the subgranular zone (SGZ), starting from self-renewal of stem cells, followed by proliferation, migration, neurite extension and synaptogenesis of progenitor cells. In the hilus of the dentate gyrus, there are several subpopulations of GABAergic interneurons that are known to control function, migration and differentiation of granule cells. Because distribution changes in interneurons may be the signature of aberrations in neurogenesis, it seems to be reasonable to analyze distribution changes of granule cell lineages and interneuron subpopulations.

To establish an evaluation system of developmental neurotoxicity focusing on neurogenesis, we performed a series of developmental exposure studies of neurotoxicants and examined their cellular targets in neurogenesis using rats and mice. Until recently, we have revealed the target cells and interneuron responses by developmental exposure to propylthiouracil (PTU) and methimazole as anti-thyroid agents, brominated flame retardants potentiating a weak anti-thyroid activity, acrylamide as an axon terminal toxicant, manganese (Mn) as a dopaminergic neuron toxicant, chlorpyrifos as a choline esterase inhibitor, nicotine as a tobacco-smoke ingredient.

Importantly, obtained results on developmental neurotoxicity of chemicals mentioned above suggest that there are common targets of neurotoxicants between the mature nervous system and the components consisting of neurogenesis. Moreover, because neurogenesis continues through the adult stage, we hypothesized that both of developmental and adult neurotoxicity can be detected by evaluation of adult neurogenesis using adult animals. Based on this hypothesis, we examined the cellular responses in relation with neurogenesis against exposure to glycidol, a neurotoxicant injuring axon terminals, in addition to PTU, and found the disruption of neurogenesis as seen in the developmental exposure study in a framework of 28-day toxicity study using rats.

Methylation changes of the genome causing alteration in epigenetic gene regulation play important roles in the processes of development and diseases such as carcinogenesis. Genomic methylation changes are heritable to daughter cells, and therefore, involvement of stem cells by this epigenetic modification may cause disruption of neuronal differentiation processes through alterations in gene regulation program and eventually affect higher brain functions. Especially, genes showing epigenetic downregulation may be those responsible for progression of disease conditions.

We recently examined the genome-wide methylation status in the hippocampal dentate gyrus of mice offspring affecting neurogenesis by maternal exposure to Mn using CpG island microarrays. As a result, we found *Pvalb*, *Mid1*, *Atp1a3* and *Nr2f1* as those showing promoter region hypermethylation, transcript downregulation and decreased immunoreactive cellular distribution, suggestive of continued disruption of neurogenesis by Mn exposure. Interestingly, *Mid1*⁺ cells showed right-side predominance and Mn exposure abolished it by promoter hypermethylation of this side, suggestive of the disruption of higher brain functions specialized in the left or right side of the brain. These findings point to epigenetic mechanisms as mediators, through which exogenously administered Mn modulates dentate gyrus neurogenesis with long-lasting and stable repercussions.

In this symposium, I will summarize the obtained results of above-mentioned studies.

SY-3

Delayed neurobehavioral toxicity induced by early exposure of neuroactive xenobiotics

○Kentaro Tanemura¹⁾, Katsuhide Igarashi²⁾, Jun Kanno²⁾

¹⁾Laboratory of Animal Reproduction and Development, Tohoku University,

²⁾Division of Cellular & Molecular Toxicology, National Institute of Health Sciences

Adequate neural activities are necessary for the maturation of neural networks during brain development. CNS (central nervous system) is formed under the genetic information and built finely by the proper neural signals at the each developmental phase. Therefore, the brain dysfunction or morphological defect associating with the behavioral aberration in the adult phase is caused by the disturbance of neural signals induced by NX (neuroactive xenobiotics) in the juvenile phase. Nevertheless, as the traditional neurotoxicity-tests have been performed by administration and inspection on adult animals, it was hard to detect the late-effect induced by early exposure as previously mentioned. Therefore we have been developing a screening system to assess the late-effect on CNS induced by early exposure of NX, using behavioral tests and neuro-scientific analyses.

Here, we show the late-effect on CNS of male mice induced by early exposure of organophosphate pesticide, acephate; an acetylcholine-esterase inhibitor. We prepared three dose levels of acephate solution (7, 20, 70 mg/kg), and administered orally to juvenile mice (2 weeks of age) and adult mice (11 weeks of age). As a control, 0.5% methylcellulose vehicle solution was given.

The neurobehavioral testing battery composed of open-field test, light-dark box test, elevated plus maze test, classical fear conditioning test and prepulse inhibition test was performed at the age of 12 to 13 weeks. We found the remarkable deviation of anxiety-related behavior with memory deficit in the mice administered of high dosage acephate solution (70 mg/kg) at juvenile period, compared with the control mice. And we also found the contextual memory deficit in the mice administered of high dosage acephate solution at adult period, compared with the control mice. Middle dose (20 mg/kg) of acephate also affected mice at juvenile period.

We performed the percellome gene expression analysis of the tested brain tissue (cerebral cortex, hippocampus, brainstem and cerebellum) of the mice given high dose acephate at juvenile or adult period, and found that gene expression pattern was seriously affected in cerebral cortex by juvenile phase exposure, and in hippocampus by adult phase exposure. These facts suggested that the status of adult brains were dependent on the developmental phase when the neural signals were disturbed by the NX. According to pathway analysis using Ingenuity Pathway Analysis, the dysfunction of myelin and the affected axonal function were suggested in cerebral cortex by juvenile phase exposure.

SY-4

Autism model animal induced by prenatal thalidomide

○Masaaki Narita, Michiru Ida-Eto, Takeshi Ohkawara

Department of Anatomy 2, Mie University Graduate School of Medicine

Autism is a behaviorally defined disorder characterized by impairment of socialization, abnormalities of communication, limited activity and curiosity, which is classified as a congenital developmental disorder.

Although genetic involvement has been strongly suggested, since prevalence of autism has steadily risen within these several decades, other congenital factors have been suspected such as viral infection, drugs, and chemical substances during pregnancy. Increased prevalence of autism cannot be readily explained by simply widening diagnostic criteria and increased public recognition or awareness. Because even trained clinicians hardly explain this issue to patients, molecular approach is an urgent necessity.

Specific factors related to these several decades including fetal environmental factors such as exposures to chemicals might be involved in this increase. Numerous efforts have been made to establish autism model rats, including viral infection, genetic engineering, and drug induced methods.

We have reported autism model rats using prenatal thalidomide administration based on epidemiologic survey. In this symposium, we will show our recent data including effect of mercury on brain monoaminergic development, which is linked with behavioral development.

WS1-1

Effects of cell proliferation on the mutagenicity of estragole, a hepatocarcinogen

○Yuji Ishii¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Ken Kuroda¹⁾, Kohei Matsushita¹⁾, Yuh Yokoo¹⁾, Aki Kijima¹⁾,
Takehiko Nohmi²⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura¹⁾

¹⁾Division of Pathology, NIHS, ²⁾Biological Safety Research Center, NIHS

⟨**Introduction**⟩ Estragole (ES), a hepatocarcinogen in rodents, induces the formation of ES-specific DNA adducts and gene mutations in the livers of *gpt* delta rats at a carcinogenic dose (300 mg/kg/day). However, ES at a dose of 3 or 30 mg/kg/day does not elevate the mutant frequencies in the liver, even though ES-specific DNA adducts are detected to some extent. To clarify the factors contributing to the progression from DNA modification to gene mutation, we examined various markers related to cell proliferation and the underlying molecular mechanisms in the livers of *gpt* delta rats treated with ES.

⟨**Methods**⟩ Six-week-old male F344 *gpt* delta rats were given ES at a dose of 0, 3, 30, or 300 mg/kg/day by gavage for 4 weeks. We then assessed the serum biochemistry, examined the histopathology of the liver, and determined the incidences of mitotic, apoptotic, and PCNA-positive hepatocytes. Semi-quantitative analyses of the mRNA expression of cell cycle-related genes and the phosphorylation of MAPK and Erk were also performed.

⟨**Results**⟩ In the high-dose group, oval cell proliferation and significant increased incidences of mitotic and apoptotic hepatocytes were observed. Serum AST and ALT levels did not remarkably increase in spite of the values being statistically significant. Increases in the incidence of PCNA-positive cells and in the expression of phosphorylated Erk and p38 and mRNAs for the cell cycle-related genes, *cyclin A2*, *B2*, and *E1* were found.

⟨**Discussion**⟩ The increases in the incidence of PCNA-positive cells and the expression of cell cycle-related genes in the high-dose group indicate involvement of cell proliferation in the progression from DNA modification to gene mutation. Activation of the MAPK/Erk signaling cascade in hepatocytes might regulate cell proliferation as well as apoptosis. The lack of severe hepatotoxicity suggests that other mechanisms exist to activate this pathway; these mechanisms will be examined and discussed.

WS1-2

Mammary carcinogenesis and organ-specific differences in the sensitivity to leptin resistance induced by high fat diet

○Toshio Imai¹⁾, Naoaki Uchiya¹⁾, Gen Fujii²⁾, Michihiro Mutoh²⁾, Mami Takahashi¹⁾

¹⁾Central Animal Division, National Cancer Center Research Institute,

²⁾Division of Cancer Prevention Research, National Cancer Center Research Institute

⟨**Background**⟩ Changes into Westernized lifestyles should increase the risk of breast cancer for Asian women. However, the detail mechanisms of cancer promotion have not yet been elucidated. We have conducted animal experiments to clarify the relationships and mechanisms between adipokine dysregulation and mammary carcinogenesis.

⟨**Aim**⟩ To clarify the mechanisms of promotion of DMBA-induced mammary carcinogenesis by high fat diet (HFD)-induced hyperleptinemia in rats.

⟨**Materials and Methods**⟩ Female F344 rats at 5 weeks of age were fed basal diet, 10% corn oil diet and a commercially available beef tallow diet (QF) for 2 weeks, and they were euthanized followed by sampling of serum, mammary gland and liver. In addition to similar feeding of HFD for 5 weeks, other females were gavaged DMBA and euthanized at 33 weeks of age followed by sampling of mammary gland and carcinoma tissues.

⟨**Results**⟩ Rats fed HFD for 2 weeks showed hyperleptinemia and hypoadiponectinemia compared to basal diet group rats. Phospho-STAT3 : STAT3 ratio was higher in QF group than that in basal diet group, indicating activation of leptin signaling by QF. SOCS3 gene expression, an indicator of leptin resistance, was not changed by QF in the mammary gland, but it elevated in the liver. For DMBA-induced carcinogenesis, incidence, multiplicity and volume of mammary carcinomas were increased by HFD. In comparison of gene expression profiles in carcinoma tissue between basal diet and HFD groups, elevation of PLK1 gene expression was found, suspected to the association with leptin signaling. Similar change was also in normal mammary tissue.

⟨**Conclusion**⟩ QF induced leptin resistance in the liver, but not in the mammary gland. The leptin signaling activated in the mammary gland under hyperleptinemia is likely to be associated with tumor promotion via PLK1 elevation.

WS1-3

Molecular mechanisms underlying OTA-induced mutagenesis in p53-deficient mice

○Ken Kuroda¹, Daisuke Hibi¹, Yuji Ishii¹, Shinji Takasu¹, Aki Kijima¹, Kohei Matsushita¹, Kenichi Masumura², Yukio Kodama³, Kumiko Ogawa¹, Takashi Umemura¹

¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

²Division of Genetics and Mutagenesis, National Institute of Health Sciences,

³Division of Toxicology, National Institute of Health Sciences

〈**Background**〉 Ochratoxin A (OTA), a renal carcinogen, induces DNA double-strand breaks (DSBs) followed by mutations in the *red/gam* gene (*Sp1*) in the kidney of *gpt* delta rats. OTA also increases *Sp1* mutant frequencies (MFs) in the kidney of *p53*-deficient (*p53*^{-/-}) *gpt* delta mice, but not in wild-type (WT) mice. In the present study, we used *p53*^{-/-} mice to conduct molecular investigations of the role of p53 in the processes leading from OTA-induced DNA damage to gene mutations via DSBs in the kidneys.

〈**Methods**〉 Male *p53*^{-/-} and WT mice (100-weeks-old) were treated with OTA at a dose of 5 mg/kg by gavage for 3 days for comet assays and for 4 weeks for analyses of γ -H2AX immunohistochemistry, global gene expression using cDNA microarray and semi-quantification of mRNA/protein levels of the corresponding genes. Male *p53*^{-/-} and WT *gpt* delta mice were treated with OTA at the same dose for 4 weeks for *Sp1* assays and mutation spectrum analyses of *Sp1* mutants.

〈**Results**〉 Despite positive comet assays with OTA-treated groups, there were no inter-genotypic differences. The frequencies of γ -H2AX-positive tubular epithelial cells in *p53*^{-/-} mice were significantly higher than those in WT mice. Global gene expression analysis showed that the strains differed in the changes of gene clusters related to the cell cycle and DNA repair. Expression levels of p21 mRNA/protein were increased in WT, but not in *p53*^{-/-} mice. In *p53*^{-/-} mice, mRNA levels of cell cycle progression and DSBs repair-related genes were significantly increased. OTA significantly increased frequencies of *Sp1* mutants harboring predominantly single base deletion/insertion/substitutions.

〈**Discussion**〉 It is likely that p53 inhibits the process leading from DNA damage to DSB formation, possibly through G1/S arrest mediated by p21s. In *p53*-deficient mice, failure to regulate the cell cycle might result in DSB formation followed by single base deletion/insertion/base substitutions.

WS1-4

CCL3 as a possible serum biomarker for asbestos exposure and malignant mesothelioma

○Hiroyuki Tsuda¹, Jiegou Xu¹, David B. Alexander¹, Takeshi Tokuyama², Ikuji Usami³, Yoshimitsu Hayashi⁴, Tetsuya Oguri⁵, Satoru Takahashi⁶, Masumi Suzuki⁷

¹Nagoya City University, Nanotoxicology Project, ²Department of Internal Medicine, Saiseikai Chuwa Hospital,

³Department of Respiratory Medicine, Asahi Rosai Hospital,

⁴Department of Medicine, Nagoyashi Koseiin Medical Welfare Center,

⁵Department of Medical Oncology and Immunology, Nagoya City University Graduate School of 1 Medical Sciences,

⁶Department of Experimental Pathology Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

⁷Department of Molecular Toxicology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Exposure to asbestos results in serious risk of developing lung and mesothelial diseases. The aim of present study was to determine whether serum levels of chemokine ligand 3 (CCL3) is elevated in asbestos exposed patients and in patients with malignant mesothelioma. Subjects not exposed to asbestos and subjects with certificates of asbestos exposure issued by the Japanese Ministry of Health Labour and Welfare were enrolled in the study. Exposed patients were diagnosed with no lesions, pleural plaque, benign hydrothorax, asbestosis, lung cancer, and malignant mesothelioma. The serum samples were analyzed by ELISA. Immunohistochemical localization of CCL3 was examined in mesothelioma patients. The detection rate of CCL3 in the serum was 6.6% for unexposed healthy patients, 30-40% for the asbestos-exposed groups without malignant mesothelioma, and 90% for patients with malignant mesothelioma. In addition, serum-CCL3 levels in the malignant mesothelioma patients were significantly higher than in the other asbestos-exposed groups. Malignant mesotheliomas were positive for CCL3, possibly explaining the higher levels of serum-CCL3. CCL3 is a promising asbestos exposure marker. Our data also suggests that CCL3 may be a serum and histological marker for malignant mesothelioma.

WS2-1

Evaluation of pulmonary and mesothelial lesions of mice exposed to highly dispersed multiwall carbon nanotube by a newly developed Taquann inhalation system

○Jun Kanno, Yuhji Takahashi

Division of Cellular and Molecular Toxicology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

〈**Background**〉 The causal relationship between Environment and Cancer has been analyzed by the mutual complementation of epidemiology and carcinogenesis studies. During its course, the range of environment has enlarged; to the *natural* environment such as UV radiation from the Sun, *contaminated* environment, e.g. by asbestos, and even *infectious* environment such as papilloma virus and H. pylori bacteria are added. Further, the signal crosstalks from those environments inside the cell are analyzed at molecular level. A common sense is that environmental carcinogenesis can be prevented at a certain level of the signaling cascades.

〈**Aim**〉 New nanomaterials are used widely than ever, and becoming popular in our environment. However, there is no sufficient toxicity data to assess their exposure limits. Among them, multi wall carbon nanotubes (MWCNT) of a size and length similar to asbestos are relatively well studied, including ours (J Tox. Sci. (2008) 33:105-16, Cancer Sci. (2012) 103:1440-4). Here, using this MWCNT as a model particle, a generalized method for whole body inhalation is developed and tested for its performance.

〈**Materials and Methods**〉 Mitsui MWNT-7 was dispersed to single fibers by Taquann method and exposed to C57BL/6 p53 +/- male mice using a new whole body inhalation system (J Tox. Sci. (2013) 38:619-28) and lungs and pleural surfaces were examined histologically 13w post exposure.

〈**Results**〉 In the alveolar region, macrophages with single fibers were found with mild thickening of alveolar walls. No granuloma was seen. Reactive mesothelium with underlying chronic inflammatory cells accompanying macrophages with single fiber is seen on the parietal pleura (similar to those seen in our previous intraperitoneal injection studies).

〈**Conclusion**〉 We consider that this system functioned well to MWCNT. It should be valid for various nanomaterials, and refinement of the equipment is on going (supported by the Health Sciences Research Grants of MHLW).

WS2-2

Size- and shape-dependent pleural translocation, deposition and fibrogenesis by MWCNT dosed to the rat lung

○Jiegou Xu¹, David B. Alexander¹, Mitsuru Futakuchi², Takamasa Numano², Katsumi Fukamachi², Masumi Suzui², Hiroyuki Tsuda¹

¹Laboratory of Nanotoxicology Nagoya City Univ.,

²Dept. of Molecular Toxicology Nagoya City Univ. Graduate School of Medical Sciences

〈**Background**〉 Prior studies have demonstrated that like asbestos, multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) administered to the lung penetrate the visceral pleura, induce inflammation in the pleural cavity and cause visceral mesothelial proliferation. MWCNT are not found in the parietal pleura, the initial site of development of asbestos-caused pleural diseases in humans, probably due to short exposure periods. In the present study, we extended the exposure period to 24 weeks to determine if the size and shape of inhaled MWCNT impact on deposition and associated lesion development in the lung and pleura.

〈**Materials and methods**〉 Two different MWCNT were chosen for this study: the larger sized needle-like MWCNT (MWCNT-L, l=8 μm, d=150 nm) and the smaller sized MWCNT (MWCNT-S, l=3 μm, d=15 nm), which forms cotton candy-like aggregates. MWCNT-L and MWCNT-S suspended in 0.5% Pluronic F68 were administered to the rat lung one time every two weeks for 24 weeks by intra-tracheal spraying. Pleural cavity lavage (PCL) was performed at sacrifice. Existence of the MWCNT fibers in the lung, parietal and visceral pleura, and pleural cavity was examined using scanning electronic microscope and polarized light microscope.

〈**Results**〉 MWCNT-L, but not MWCNT-S, was found to translocate into the pleural cavity, deposit and induce fibrosis in the parietal pleura. MWCNT-L also induced stronger inflammatory reactions, including increased inflammatory cell number and cytokine/chemokine levels, in the PCL than MWCNT-S. On the other hand, MWCNT-S was more potent in induction of inflammation and 8-OHdG than MWCNT-L in the lung. Conclusions Administration of MWCNT-L, but not MWCNT-S, resulted in translocation into the pleural cavity, deposition and fibrosis induction in the parietal pleura and led to stronger inflammation in the PCL, showing that MWCNT have more potential than MWCNT-S to develop asbestos-like pleural diseases. Thus, the type of MWCNT is essential in risk assessment of MWCNT.

WS2-3

Effects of multi-wall carbon nanotube administered by repeated intratracheal spraying in rats

○Yoshimitsu Sakamoto¹⁾, Akio Ogata¹⁾, Katsuhiko Yuzawa¹⁾, Yoshikazu Kubo¹⁾, Hiroshi Ando¹⁾, Akemichi Nagasawa^{1,3)}, Hiroshi Takahashi¹⁾, Norio Yano¹⁾, Tetsuji Nishimura²⁾, Akihiko Hirose³⁾, Yoshiyuki Inoue⁴⁾, Naoki Hashizume⁴⁾, Akiko Inomata¹⁾, Dai Nakae^{1,5)}

¹⁾Dept. Pharm. Environ. Sci. Tokyo, Metropol. Inst. Pub. Health, ²⁾Teikyo Heisei Univ.,

³⁾Div. Risk. Assessment, Natl. Inst. Health Sci., ⁴⁾CERI, ⁵⁾Tokyo Univ. Agricul.

〈**Introduction**〉 Multi-wall carbon nanotube (MWCNT) have the potential to induce mesothelioma by an intrascrotal or intraperitoneal administration in the rats. The present study assessed effects of intratracheally administered MWCNT in rats.

〈**Methods**〉 MWCNT from M-company (2 μm in mean length, 75 nm in mean diameter, Fe content 0.344%) was administered by an intratracheal spraying to male Han:WIST rats (20 rats per group) at the dose of 0 (control), 0.01, 0.05, 0.25 mg/kg body weight once/4 weeks for 44 weeks (12 times exposure). Rats were then kept for 52 weeks after the last administration examined histologically.

〈**Results and discussion**〉 Incidences of death or being moribund before termination, or the final body weights were not different among control groups. Histologically, MWCNT fiber deposition was observed, mainly in alveolar space, and also in the perivasicular or peribronchiolar regions including lymphatic tissue and pleural region in the exposed groups. The quantity of MWCNT remained in the lung was markedly higher in the 0.25 mg/kg group. Non-neoplastic proliferative lesions in lung were observed in peripheral region, possibly related to the MWCNT exposure. It is under examination about the quality of these pathological changes now. In this study, the tumor incidence related to exposed MWCNT in lung parenchyma and pleura were not observed.

WS2-4

Alveolar hyperplasia like lesions induced by intra tracheal spray of carbon black particles

○Mitsuru Futakuchi¹⁾, Jegou Xu²⁾, Yoshiyuki Inoue³⁾, Mineo Takatsuki³⁾, Hiroyuki Tsuda²⁾, Masumi Suzuki¹⁾

¹⁾Dept. of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University

²⁾Laboratory of Nanotoxicology Project, Nagoya City University, ³⁾Chemical Evaluation and Research Institute

〈**Introduction**〉 To evaluate the carcinogenic activity of multi-walled carbon nanotube (MWCNT) or carbon black particles (CB) by an intrapulmonary spraying (IPS) in a two-step initiation-promotion protocol, we performed histological analysis on the lung lesions associated with IPS of MWCNT or CB.

〈**Materials and methods**〉 Male F344 rats were treated with DHPN for 2 weeks. Then, MWCNT or CB suspended in rock candy solution was administered by IPS every week from week 4 to week 44 or every two week from week 4 to week 24, respectively.

〈**Results**〉 Clusters of macrophages with MWCNT were observed throughout the lung alveoli. Alveolar epithelium cells surrounding the clusters were swollen. These alveolar hyperplasia like lesions (AHLL) were observed in the rats treated with MWCNT regardless of DHPN treatment. These AHLL were located independently of DHPN-induced lesions such as alveolar hyperplasias, adenomas and adenocarcinomas. Similar AHLL was induced by IPS of CB. Although IPS of MWCNT or CB did not increased the multiplicity of DHPN- induced lesions, these IPS treatments increased the average number of the combined lesions (AHLL + DHPN-induced).

〈**Conclusion**〉 These results suggest that it is important for the evaluation of the carcinogenic activity of multi walled carbon nano tube or carbon black to determine whether the alveolar hyperplasia like lesions are preneoplastic or not.

WS2-5

On Environmental Carcinogens : From an Era of Risk Evaluation to an Era of Risk Management

○Okio Hino

Department of Pathology and Oncology, International Environmental Carcinogenesis Prevention Center, Juntendo University School of Medicine

'Environmental carcinogens' came to light in 1775 when the British Surgeon Percival Pott reported scrotal cancer associated with chimney sweeps in 'cancer stimulated by chimney soot.' One hundred years later, bladder cancer caused by aniline pigment factories, among others, were reported in Europe. Industrialization following the Industrial Revolution of the latter half of the 18th century witnessed the introduction of environmental pollutants. This introduction created the tragic reality of environmental carcinogens in which the public was forcefully exposed to these substances without their knowledge.

In 1915, Katsusaburo Yamagiwa (1863-1930) achieved a pioneering work in chemical (coal tar)-induced carcinogenesis by formative stimulation following the hypothesis of Virchow (1821-1902). Cancer is a heritable disorder of somatic cells. The environment and heredity both operate in the origin of human cancer. The accumulation of mutations, which are likely to occur during continuous cycles of cell division, may eventually transform some cells through a multi-stage process. These conditions may be designated as the 'hypercarcinogenic state'. This reminds us of the formative stimulation of Yamagiwa's carcinogenesis. Our goal, then, should be directed to thereversion of the 'hypercarcinogenic state' to the 'normo- or hypocarcinogenic state' so as to hopefully prevent or at least postpone the development of cancers. The point is 'From an era of making cancer to an era of intervening cancer'.

Recently, the media in Japan has taken up and reported on widescale 'mesothelioma caused by asbestos.' This is truly ironic as Japan was a pioneering Nation in chemical-induced carcinogenesis. How, then, should we approach such a critical problem? What lessons must we learn from these past mistakes in order that we do not make the same kind of mistakes in the future?

Concerning asbestos, our preventative measures and practical responses are decades behind, despite the fact that there has been pathological and epidemiological evidence pointing to 'risk.' 'Carcinogenic' research for the future must include risk evaluation along with risk management, as well as well-ventilated communication. In reality, the length and amount of exposure deemed 'dangerous' to cause cancer involves some degree of vagueness. The fact that carcinoma from exposure takes long periods of time to develop (20 -30 years) contributes to this vagueness. This will be an era in which the ability of professionals to predict the future will be challenged.

Health Organization's International Agency for Research on Cancer (IARC) pointed out the higher risk of lung cancer and mesothelioma for laborers in asbestos mines. In addition, in 1987 the IARC classified asbestos as a group I carcinogen, defined as 'exposure circumstance entails exposures that are carcinogenic' based on literature that found an increased risk of lung cancer for laborers working at asbestos product production factories.

Ironically, however, asbestos import reached its peak in Japan in 1974 and only in 1995 was the most carcinogenic blue asbestos banned for production and use.

By this time, however, many mesothelioma patients were already emerging. Japan's asbestos tragedy was multiplied by factors including the inadequacy of communicating the risks associated with asbestos production factories, the inadequacy of researchers to communicate relevant information to third parties, and the government's delayed management and organization.

In order to avoid these mistakes in the future, there must be an approach that includes exchange, evaluation and management of risk information.

For this, not only the government, but also the academy, industry and labor as well as consumer groups must be brought together to form a specified non-profit organization like the Chemical Biological Integrated Management Society.

We, in researching genetic kidney cancer in rats, found that the product of the gene *Erc*, which appears with high frequency in simultaneous progressive process cancer, is secreted in the bloodstream, thereby providing a possible method for blood diagnosis. Because the *Erc* gene exists in the mesothelium of the pleural and peritoneum, this could possibly be used to diagnose mesothelioma. Furthermore, we also reported that a diagnostic kit was being developed and researched. Indeed, this is a real-life example of translational research. In the workshop, I will present our recent data.

Oral Presentation

O-01~O-16

Poster Presentation

P-01~P-98

O-01

Luteolin inhibits non-alcoholic steatohepatitis and hepatocarcinogenesis in both normal and connexin 32 dominant negative transgenic rat

○Aya Naiki-ito, Hiroyuki Kato, Toshiya Kuno, Satoru Takahashi

Dept. Exp. Pathol.Tumor Biol., Nagoya City Univ.

〈**Background**〉 Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) have the potential leading to develop cirrhosis and hepatocellular carcinoma. It has been suggested that oxidative stress is implicated in the progression of NASH. Luteolin, a flavonoid extracted from seed of labiate such as perilla, is one of antioxidant. We previously demonstrated that transgenic rats (Tg) carrying a dominant negative mutant of connexin 32 (Cx32) have decreased function of gap junctional intercellular communication, and have high susceptibility to hepatocarcinogenesis. Recently, we also found that Cx32 have a protective effect on induction of oxidative stress.

〈**Aim and Methods**〉 In this study, we aimed to clarify a role of luteolin and Cx32 on the development of NASH and on the progression of hepatocarcinogenesis. Male Tg and wild-type (nTg) rats at 10-wk were fed a methionine-choline deficient diet (MCDD) or MCDD added to luteolin (100 ppm) 2 days after giving an intraperitoneal injection of diethylnitrosamine (200 mg/kg.i.p.). Each group consisted of 15 rats and they were all sacrificed at 2, 12 weeks after the treatment of diethylnitrosamine.

〈**Results**〉 Effect of Cx32: Inflammation, fibrosis, induction of oxidative stress, and expression of Tgf β mRNA in livers were severe in Tg compared to nTg rats. Effect of luteolin: Fatty change, inflammation, fibrosis, oxidative stress expression of TNF α , Tgf β , IL-1 β mRNA were suppressed in the liver of both Tg and nTg rats. The number of GST-P-positive foci was decreased in liver of Tg rats.

〈**Conclusion**〉 Luteolin and Cx32 potentiate to prevent the development of NASH and to suppress the progression of hepatocarcinogenesis through the regulation of oxidative stress level.

O-02

NADPH oxidase inhibitor apocynin has chemopreventive effect in EHEN-induced rat renal carcinogenesis

○Kurumi Mishima, Shotaro Yamano, Masaki Fujioka, Min Gi, Mitsuaki Kitano, Hideki Wanibuchi

Department of Pathology Osaka City University Graduate School of Medicine

Our previous studies that comparative proteome analysis using N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine (EHEN)-induced renal cell tumor (RCT) showed that accumulation of oxidative stress might be concerned in rat renal carcinogenesis. The aim of the present study was to access the chemopreventive effect of internal NADPH oxidase inhibitor apocynin for EHEN-induced rat renal carcinogenesis. Thirty-two male Wistar rats were divided in 3 groups. G2 and G3 were administered 500 ppm EHEN in the drinking water for the first 2 weeks, and after initiation treatment, G3 were treated 15 mg/kg BW apocynin 5 times a week for 30 weeks. All rats were sacrificed after 32 weeks and histopathological analysis and molecular analyses were carried out using the rat kidney samples. There were no inhibition of body weight increase and toxicity observation by administration of apocynin. Tumor volumes, incidences and multiplicities of not only RCT but also Atypical tubule hyperplasia were decreased in G3 compared to G2 with apocynin treatment, coincident with decrease the cell proliferative activity and micro vessel density in RCT. Furthermore, accumulation of ROS and 8-OHdG formation level were decreased in not only apocynin-treated RCT but also tumor-surronding tissue compared with G2, respectively. These results suggest that apocynin might have an inhibitory effect in the multistage renal carcinogenesis including ATH generation and growth of RCT. Additionally, we established four cell lines from EHEN-induced RCT in order to elucidate the inhibitory effect of RCT directly. Apocynin treatment for each cell lines were shown that decrease the cell viability assessed by using WST-8 in a dose-dependent manner. These date indicated that apocynin treatment might be effective to late stage of renal carcinogenesis, especially tumor formation. Further investigation has been ongoing in order to clarify the molecular mechanisms of inhibitory effect of apocynin in EHEN-induced rat renal carcinogenesis.

O-03

Treatment with tenascin-C antibody and/or alpha-mangostin suppresses metastasis in xenograft model of metastatic mammary cancer

○Masa-Aki Shibata¹⁾, Moriaki Kusakabe²⁾, Eiko Shibata³⁾, Junji Morimoto⁴⁾, Mariko Shiba-Harada³⁾, Munekazu Inuma⁵⁾

¹⁾Lab of Anat and Histopathol, Gad Sch of Health Sci, Osaka Health Sci Univ, ²⁾Res Centr for Food Safety, Univ of Tokyo,

³⁾Dept Mol Innov in Lipidol, Natl Careb and Cardiovasc Centr Res Inst, ⁴⁾Lab Animal Cntr, Osaka Med Coll,

⁵⁾Lab of Pharmacogenosy, Grad Sch of Pharmacol, Gifu Pharmaceutical University

〈**Background and Aim**〉 Antibody therapy for cancer has achieved considerable success in recent years. Cancer is an extremely complicate process driven by multiple signaling pathways. Therefore, in this study, combination strategy with antibody (Ab) targeting tenascin C (TNC) and drug (α -mangostin) that acts on different targets and/or mechanisms was applied on murine metastatic mammary cancer.

〈**Materials and Methods**〉 Mammary tumors, induced by inoculation of syngeneic BALB/c mice with BJMC3879Luc2 cells, were subsequently given TNC Ab (125 μ g, once a week, i.p. injection) and/or α -mangostin (0.4% in diet). Control mice were received i.p. injection of saline and basal diet. After 6 weeks of the treatment commencement, the study was terminated.

〈**Results**〉 Tumor accumulation of TNC monoclonal Ab by injection (i.p. and i.v.) was confirmed using far-red luminescence imaging. Tumor volume was significantly lower in the TNC Ab, α -mangostin (in diet) and their combination groups than the control group. In the end of the study, bioluminescence imaging showed that less metastatic expansion occurred in mice from all therapeutic groups as compared to control animals. Multiplicity of metastasis with all organs involving lymph nodes and lungs was significantly suppressed in all therapeutic groups. Tumoral blood microvessel density and number of lymphatic invasion were significantly decreased in all therapeutic groups.

〈**Conclusions**〉 Our data demonstrate that TNC Ab or α -mangostin can inhibit cancer metastasis but there were no apparent synergistic effects of anti-tumoral action in the combination group.

O-04

Effect of methotrexate on cerebellar development in infant rats

○Akihiko Sugiyama^{1,2)}, Jing Sun^{1,2)}, Gota Ueda¹⁾, Takashi Takeuchi^{1,2)}, Satoshi Furukawa³⁾

¹⁾Courses of Veterinary Laboratory Medicine, School of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori University,

²⁾United Graduate School of Veterinary Science, Yamaguchi University,

³⁾Toxicology and Environmental Science Department, Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, Ltd.

〈**Background**〉 The prenatal exposure of methotrexate (MTX), a folate antagonist, is known to induce various developmental anomalies in the central nervous system of fetuses and infants, however, postnatal MTX exposure-induced cerebellar damage has not been examined histopathologically in detail. In the present study, the effect of MTX on the cerebellar development has been examined histopathologically.

〈**Materials and Methods**〉 Six-day-old male rats were subcutaneously administered MTX 0.5 mg/kg, and they were sacrificed at 1, 2, 3, 4, 8 and 15 days after treatment (DAT). Their brains were collected from each animal for the histopathological examinations.

〈**Results**〉 The median and lateral diameter of the cerebella decreased significantly from 3 to 15 DAT in the MTX group, compared with the control group. In the MTX group, the external granular layer was thinner on 2 and 3 DAT, while the EGL was thicker on 4, 8 and 15 DAT. The molecular layer in the MTX group was thinner from 3 DAT onward, compared with the control group. In the EGL of the MTX group, many pyknotic cells appeared on 1 DAT and increased significantly on 2, 4 and 8 DAT. Mitotic cells in the external granular layer decreased significantly on 1, 2 and 3 DAT, while they increased significantly on 4 DAT. Pyknotic cells in the external granular layer induced by MTX were positive for TUNEL staining and anti-cleaved caspase-3 antibody.

〈**Conclusion**〉 In the present study, the single-dose administration of MTX 0.5 mg/kg on postnatal day 6 induced apoptosis and inhibited cell proliferation in the external granular layer of rat infants. The MTX treatment induced thinning of the external granular layer and the molecular layer. The thinning of the external granular layer recovered and thickened on and after 4 DAT, while, the change in the molecular layer did not recover by 15 DAT. After this, we intend to examine immunohistochemically to elucidate the pathogenesis of thinning of the molecular layer induced by MTX.

O-05

Possible mechanisms underlying exacerbation of osmotic nephrosis caused by preexisting kidney injury

○Kohei Matsushita¹⁾, Shinji Takasu¹⁾, Yuji Ishii¹⁾, Ken Kuroda¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Keisuke Kitaura²⁾, Makoto Sato²⁾, Satoshi Matsumoto²⁾, Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura¹⁾

¹⁾Div. Path., Natl. Inst. Health Sci., ²⁾Sef. Res. Cent., Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

⟨**Aim**⟩ Osmotic nephrosis occurs clinically after administration of plasma expanders such as dextran (Dx). Histologically, this condition is characterized by swollen and vacuolated proximal tubules, i.e. clear tubule (CL). Although preexisting kidney injury exacerbates this pathological condition, the underlying mechanisms remain unclear. This study investigated the progression of osmotic nephrosis in kidneys of rats damaged by two different methods.

⟨**Methods**⟩ Experiment I: Male SD rats (6-weeks-old) were treated with gentamicin (Gm) for 6 days (125 mg/kg, ip), followed by Dx treatment for 14 days (4000 mg/kg, iv). Two additional groups received treatment with Gm or Dx alone. Light and electron microscopic examinations of the kidneys were then performed. Experiment II: Female F344 rats (10-weeks-old) were subject to ischemia/reperfusion in the left kidney and sacrificed after 3 or 7 days. Dx (4000 mg/kg, iv) or saline were given one day before sacrifice, followed by histopathology of the left kidneys.

⟨**Results**⟩ Experiment I: Regenerative tubules (RT) were observed in rats given Gm and vacuolated proximal tubules and CL in rats given Dx. While the incidence of RT decreased, that of CL increased with co-treatment with Gm and Dx. Ultrastructurally, vacuolation consisted of secondary lysosomes containing Dx, while CL was caused by over-accumulation of Dx in RT. Experiment II: RT were classified morphologically into stages I and II. In saline-treated rats, stage I appeared predominantly at day 3, and stage II at day 7. Dx induced many CLs at day 3 and stage II vacuolation at day 7.

⟨**Discussion**⟩ Based on changes in the incidence of RT and CL observed in rats given Gm and Dx, it appears CL may be formed selectively in RT. This hypothesis was supported by ultrastructural findings and may provide an explanation for the exacerbation of osmotic nephrosis caused by preexisting kidney injury. The intracellular environment in stage I may be appropriate for the development of CL.

O-06

Profile of carcinogenicity by intrapulmonary instillation of multiwall carbon nanotubes

○Masumi Suzui¹⁾, Takamasa Numano¹⁾, Katsumi Fukamachi¹⁾, Mitsuru Futakuchi¹⁾, Hiroyuki Tsuda²⁾

¹⁾Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences and Medical School, Nagoya City University,

²⁾Nanomaterial Toxicology Project, Nagoya City University

There have been no reports that demonstrate mesotheliomagenicity long after intrapulmonary instillation of multiwall carbon nanotubes (MWCNT). We examined a profile of carcinogenicity by using a bioassay system in which MWCNT was instilled into rat lung by the spraying method. MWCNT was separated into 3 fractions; the remaining (R; not measurable due to tangled-up condition), flow through (FT; mean length 2.6 micrometers) and whole (W; mean length 4.2 micrometers). Each fraction (1 mg) was administered into the lung and the rats were sacrificed at 2 and 52 weeks after administration. Up to 95 weeks after administration, tumor incidence was also measured with found dead or moribund animals. In the lung tissue, histological examination displayed deposit of MWCNT, inflammation, granuloma formation, focal fibrosis, alveolar epithelial hyperplasia, thickened visceral pleura, and deposition of MWCNT in mediastinal lymph nodes. Rats that were found dead or euthanized because of moribund state developed mesothelioma up to 96-experimental week. Tumors were found in the mediastinal region, and invaded pulmonary visceral/parietal pleura, lung tissue, and pericardium. In lung tissue samples of each fraction, protein expression levels of Csf3, IL6, Ccl4, and Cxcl2 increased compared to those of the control. These results indicate that MWCNT that was instilled by the spray method cause inflammation, reactive cell proliferation, fibrosis, and alveolar cell hyperplasia. The histological findings of a 104-week study should be analyzed to verify carcinogenicity of MWCNT.

O-07

Identification of optineurin-binding proteins in podocytes of rat glomeruli

○Akane Kashimura¹⁾, Ko Kadowaki¹⁾, Go Sugahara²⁾, Kyohei Yasuno²⁾, Junichi Kamiie¹⁾, Kinji Shirota^{1,2)}

¹⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Azabu University, ²⁾Research Institute of Biosciences, Azabu University

⟨**Aim**⟩ This study aimed to identify optineurin-binding proteins and clarify the role of optineurin in podocytes from rat glomeruli because the function of optineurin in the podocyte has not been elucidated yet.

⟨**Materials and Methods**⟩ Optineurin-containing protein complexes were purified from the isolated glomeruli of a male F344 rat (10-weeks-old) by immunoprecipitation with an anti-optineurin antibody. The immunoprecipitated proteins were digested with trypsin and identified by mass spectrometry. Immunofluorescence analyses for myosin-9, an identified optineurin-binding protein, and optineurin expression were performed on frozen kidney tissues from puromycin aminonucleoside (PAN) nephrotic rats (4, 7, and 10 days after PAN injections).

⟨**Results**⟩ Myosin-9 was identified in mature rat glomerulus immunoprecipitates. Furthermore, huntingtin, a reported optineurin-binding protein, was also identified. Double-immunofluorescent staining revealed that optineurin colocalized with myosin-9 in the podocyte cytoplasm. In glomeruli of PAN nephrotic rats, colocalization of optineurin and myosin-9 markedly increased.

⟨**Discussion**⟩ The increase in optineurin and myosin-9 colocalization in PAN nephrosis suggested that optineurin interacts with myosin-9 in response to podocyte injury. Optineurin was involved in membrane trafficking by binding to myosin in the neurons. In addition, a mutation of MYH9, which encodes myosin-9, has been reported to be the strongest risk factor of glomerular sclerosis in humans. These facts strongly suggest that the membrane trafficking through the optineurin-myosin-9 complex is activated in response to podocyte injury.

O-08

Pathological analysis of islet in cynomolgus monkey fed high-fat diet

○Ryosuke Kobayashi¹⁾, Hiroyuki Ishii²⁾, Naoaki Yamada¹⁾, Hiroko Kokoshima¹⁾, Tetsuro Kurotaki¹⁾,
Takuya Doi¹⁾, Junko Sato¹⁾, Yumi Wako¹⁾, Minoru Tsuchitani¹⁾

¹⁾Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation,

²⁾Safety Assessment Division, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation

⟨**Background**⟩ Type II diabetes in humans is caused by genetic factors or obesity, and hypertrophy of cells and amyloid deposition are observed in islets. It is known that islet size and numbers of component cells are altered depending on the stage of disease. The diet-induced obese diabetic models in monkeys are recognized as useful animal model for type II diabetes in humans. However, pathological data concerning islet in this model are scarce. In the study, we analyze the pathological characterization of islet in obese-monkeys, which were fed a high-fat diet for 1 year.

⟨**Materials and Methods**⟩ In 11 obese-monkeys (male, 6 to 7-year-old), 3 cases showed fasting hyperglycemia, dyslipidemia and urinary sugar (HG group), in contrast to 8 cases that did not show hyperglycemia (NG group). The pancreases were fixed in 10% neutral formalin or bouin solution and the sections were stained with hematoxylin and eosin (HE) or Congo red. Immunohistochemical examination for insulin and glucagon were done.

⟨**Results**⟩ In 3 cases of the HG group, hypertrophy and disarrangement of cells which showed palisade or epithelioid array, and mild fibrosis were found in the islet. Islet amyloidosis was observed in one case. At immunohistochemistry, it was evidenced that there was a decrease in insulin-positive cells and positive area, and attenuated signals of insulin. The glucagon-positive area tended to decrease. In 8 cases of the NG group, enlargement of the islet (one case) and islet amyloidosis (2 cases) were observed, although the alterations on immunohistochemistry were not significant in either insulin or glucagon.

⟨**Discussion**⟩ In the islet of the HG group, the diabetic histology and a decrease in insulin and glucagon positive area were observed. Based on clinical examination and histopathology, it was possible that the case of pre-diabetic condition were existed in the NG group. To reveal detail of alterations, it is thought that morphometrical analyses in the islets are required.

O-09

Modulatory effects of deoxycholic acid on colon carcinogenesis in mice

○Toshiya Kuno¹⁾, Takuji Tanaka²⁾, Aya Naiki¹⁾, Shinya Sato¹⁾, Shugo Suzuki¹⁾, Satoru Takahashi¹⁾

¹⁾Dept. Exp. Pathol.Tumor Biol., Nagoya City Univ., ²⁾Tohkai Cytopathol. Inst., Cancer Res. Prev.

〈**BACKGROUND & AIM**〉 Recently, long-term administration with a second bile acid deoxycholic acid (DC) known to promote colorectal carcinogenesis has been reported to produce adenocarcinomas in the proximal colon of mice, suggesting its initiation property in colon carcinogenesis. The current study aimed to investigate the promotion and initiation ability of DC on azoxymethane (AOM)-induced colon carcinogenesis in mice to derive a better understanding on the role of DC.

〈**METHODS**〉 A total of 78 male C57BL6 mice aged 8 weeks were divided into eight groups. Groups 1-4 received 4 weekly i.p. injections of AOM (10 mg/kg bw) and groups 5-8 physiological saline. Starting 7 days after the AOM injection, groups 2-4 were fed the diets containing 0.04, 0.2, and 0.5% DC, respectively. Groups 5-7 were given the 0.04, 0.2, and 0.5% DC-containing diets alone, respectively, during the entire experimental period (24 weeks). At week 24, histopathological and immunohistochemical analyses of the colon were performed.

〈**RESULTS**〉 Flat type of proliferative lesions (adenoma or adenocarcinoma) developed in the middle and distal colon in groups 1 through 4, their incidences (multiplicities) of groups 1-4 were 60% (0.7+/-0.7), 80% (1.7+/-1.5), 70% (1.8+/-2.1), and 100% (6.2+/-1.4), respectively. The multiplicity of the lesions in group 4 was significantly greater than that of all other groups (p<0.01). In contrast, proximal proliferative polypoid lesions (adenoma or adenocarcinoma) developed in the mice fed 0.2 and 0.5% DC-containing diets, regardless AOM injections. The incidences (multiplicities) of proximal proliferative lesions in groups 3, 4, 6, and 7 were 90% (1.3+/-0.9) in group 3, were 100% (2.2+/-1.1), 80% (0.9+/-0.6), and 50% (0.9+/-1.3), respectively.

〈**CONCLUSION**〉 Our results indicate that DC exerted promotion effect on the middle and distal colon in AOM-induced mouse colon carcinogenesis, and possessed both promotion and initiation potential in the proximal colon.

O-10

Functional characterization of *Lgr5*-expressing cells in microadenomas and macroscopic tumors in the colon of *Apc*^{Min/+} mice

○Akihiro Hirata¹⁾, Toshiya Kuno^{2,3)}, Manabu Takamatsu²⁾, Yuichiro Hatano²⁾, Hiroyuki Tomita²⁾, Akira Hara²⁾

¹⁾Division of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu University,

²⁾Department of Tumor Pathology, Gifu University Graduate School of Medicine,

³⁾Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medicine

〈**Background**〉 The intestinal epithelium is characterized by rapid and continuous renewal throughout life. In the colon, intestinal stem cells reside at the crypt base and generate all the epithelial cell lineages. A recent study showed that intestinal stem cells can be identified in mice by the expression of *Lgr5*. Interestingly, *Lgr5*-expressing cells have also been detected in colon tumors, but their function in these tumors remains unclear.

〈**Aim**〉 In the present study, we examined whether *Lgr5*-expressing cells give rise to progeny cells within neoplastic lesions in the colon of *Apc*^{Min/+} mice

〈**Materials and Methods**〉 We performed lineage-tracing experiments in *Apc*^{Min/+} mice carrying the *Lgr5-EGFP-IRES-creERT2* and *Rosa26-lacZ* reporter alleles. At age of 26 weeks or older, mice were injected with 2.0 mg tamoxifen for 3 days and were killed 7 days later. Colons were excised and immediately incubated in 4% paraformaldehyde for 1 hour on ice. The colon tissues were stained overnight in an X-gal staining solution (X-gal 1 mg/ml), fixed in 10% buffered formalin, and proceeded routinely. Sections were counterstained with hematoxylin.

〈**Results and Discussion**〉 LacZ-labeled cells, i.e., progeny cells of the *Lgr5*-expressing cells, were successfully detected in the normal colonic crypts. In addition, X-gal staining revealed the presence of LacZ-labeled cells in colon microadenomas and macroscopic tumors. Multiple foci of LacZ-labeled cells were detected within the macroscopic tumors, suggesting that multiple *Lgr5*-expressing cells exist within the tumor and generate progeny cells at the same time.

〈**Conclusion**〉 Our results suggest that *Lgr5*-expressing cells perform cancer stem cell-like function by generating progeny in mouse colon tumors.

O-11

Studies on the mechanism of bladder tumor promotion of propolis in rat bladder

○Masaki Fujioka, Min Gi, Shotaro Yamano, Eri Shimomura, Kurumi Mishima, Satoki Fukunaga,
Hideki Wanibuchi

Department of pathology Osaka city university graduate school of medicine

〈**Background**〉 As for the propolis which is made because a bee mixes a resin component and pollen, saliva, there is work to preserve the aseptic condition of the nest. Propolis is used as raw materials of a health food and cosmetics widely. Previously, we determined that propolis had promotion effects for bladder carcinogenesis in rat medium-term multi organ carcinogenesis bioassay using the ethanol extraction Brazilian green propolis (GP). However, the pathogenesis and the *in vivo* mutagenicity are not yet clearly.

〈**Aim**〉 The purpose of this study examines the promotion effects for the rat bladder of the GP and is the mechanism analysis.

〈**Materials and Methods**〉 In two-step carcinogenicity study of bladder mucosa, 6 weeks old F344 rats were divided into 5 groups. First for 4 weeks, BBN treated to all groups in the drinking water and treated with 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0% GP for 32 weeks. In the mutation assay, male 6 weeks old *gpt* delta F344 rats were divided to 4 groups. Group 1-2 were treated 0, 1.0% GP, group 3 were treated BBN for positive control *in vivo* mutagenicity assay, and group 4 were treated sodium ascorbate for negative control. Analyses of point mutations and deletion mutations were detected by *gpt* assay. Furthermore, to examine GP how they affected the urine properties by SEM. F344 rats were treatment to 1.0% GP for 13 weeks and collected urine in 4, 8, 12 week.

〈**Results**〉 In two-step carcinogenicity study of bladder mucosa, tumor incidence and numbers were significantly increased in GP treatment groups of bladder mucosa. In the mutation assay, there was no significant difference in mutation frequency in GP treatment bladder mucosa.

〈**Conclusion**〉 These findings indicated that GP exerts promotion effect on bladder mucosa carcinogenesis but lack of *in vivo* mutagenicity in the bladder mucosa of rats.

O-12

The long-term study of potassium octatitanate fibers (TISMO) in the left thoracic cavity in A/J female mice

○Masanao Yokohira, Sosuke Kishi, Yuko Nakano, Keiko Yamakawa, Fumiko Ninomiya, Shohei Kanie,
Katsumi Imaida

Oncopathology, Faculty of Medicine, Kagawa University

The present study was performed to assess effects on mouse lung and thoracic cavity by potassium octatitanate fibers, trade name TISMO, which is often used for friction material of cars, precision filters or the others, and with the chemical formula $K_2O \cdot nTiO_2$. Previously (2012 JSTP meeting), we presented the 52 weeks experiment for TISMO with dimensions mostly less than 50 micrometer in length and more than 2 micrometer. Thoracotomy was performed to infuse test particles (1.5 mg in 0.2 ml saline/mouse) directly into the left thoracic cavity of A/J mice. After 52 weeks, severe pleural proliferation was observed but not malignant mesothelioma. In the present study, 65 weeks experiment was employed to examine long-term effects and possible tumorigenesis by 3mg fiber-shaped TISMO infused into the thoracic cavity of A/J mice. The experiment was terminated for the decreasing of the effective number of animals. This experiment showed numbers of TISMO fibers in the alveoli, indicating penetration through the visceral pleura. Atypical mesothelial cells were also observed with severe pleural proliferation, but no malignant mesothelioma was detected. The additional detection of TISMO fibers in the liver, spleen, kidneys, ovary, heart and bone marrow histopathologically indicated their movement outside of the thoracic cavity. In conclusion, the experiments demonstrated fiber-shaped TISMO infused into the thoracic cavity of A/J mice induced severe pleural proliferation but not malignant mesothelioma. Hazard risk should also take into account that asbestos-like fiber spread to the several organs from the thoracic cavity.

O-13

A serum tumor marker for preclinical trials of pancreas cancer model○Katsumi Fukamachi¹⁾, Mitsuru Futakuchi¹⁾, Hiroyuki Tsuda²⁾, Masumi Suzui¹⁾¹⁾Department of Molecular Toxicology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,²⁾Nanotoxicology Project, Nagoya City University

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is a highly lethal disease, which is usually diagnosed in an advanced stage. Animal PDA models which reflect the human condition are necessary as diagnostic tools and to explore new therapeutic approaches. We established transgenic rats carrying a mutated K-ras gene controlled by Cre/loxP activation. These animals develop PDA which are histopathologically similar to human cases. We utilized this model to identify biomarkers to detect early PDA. Expression levels of the Erc/Mesothelin gene in the pancreatic carcinomas are markedly higher than those in control pancreata. Serum levels of Erc/Mesothelin are also significantly higher in rats bearing PDAC than in controls. To determine whether serum levels of Erc/Mesothelin correlated with tumor size, we measured Erc/Mesothelin levels in rats bearing PDAC, and NOD-SCID mice transplanted with rat pancreatic cancer cells. An increase in serum level of Erc/Mesothelin correlated with an increase in tumor size. This result indicates a causal relationship between the serum level of Erc/Mesothelin and tumor size. We investigate whether serum N-ERC reflect chemotherapeutic effect on pancreas adenocarcinoma. The rat pancreatic cancer cells were implanted subcutaneously into the flank of NOD-SCID mice. After 1 week of implantation, the mice were administered gemcitabine. In the mice treated with gemcitabine, the serum level of N-ERC was significantly decreased compared to the control. Serum N-ERC measurements might be useful to monitor response to therapy.

O-14

Intratracheal instillation methods and the distribution of administered material in the lung of the rat○Yasuko Hasegawa-Baba¹⁾, Hisayo Kubota¹⁾, Midori Yoshida²⁾, Muneyuki Miyagawa¹⁾¹⁾National Institute of Occupational Safety and Health, Japan., Health Effects Research Group,²⁾National Institute of Health Sciences, Division of Pathology

〈**Background and Aims**〉 Intratracheal instillation has been applied for the study of respiratory toxicity in experimental animals as an alternative method of inhalation exposure. However, there are wide variations in the techniques used for the instillation, and thus it is difficult to compare the results obtained in different ways. To examine the influence of instillation methods and to find out the most appropriate condition, we compared the distribution of the test substance in the lungs after intratracheal instillations under various conditions.

〈**Materials and Methods**〉 Rats were received intratracheal instillation of Indian ink in different conditions as follows; 3 different angles of body retainment, 0° (supine horizontal), 45° (supine head up) and 90° (vertical head up); 2 instillation speeds, high (40 ml/min) and low (4 ml/min); 2 different devices, a standard bulb tipped gavage needle (Fuchigami Co., Ltd.) and Microsprayer® designed for intratracheal instillation (Penn-Century, Inc.). One hour after the treatment under these various conditions, rats were sacrificed and the local distribution of Indian ink in the lungs was observed.

〈**Results**〉 No animal retained in supine head up or vertical head up position died by the treatment, however, fatal cases were observed when rats were retained in supine horizontal position except for high speed dosing condition with Microsprayer®. Better distribution of Indian ink in lungs was observed in the rats retained in supine head up position after treatment with Microsprayer® when compared to other conditions.

〈**Discussion**〉 The angle of the retained body is very important factor for performing intratracheal instillation appropriately. Retaining the rat horizontally in the supine position seemed to be inappropriate while supine head up position achieved good results. Microsprayer® was supposed to be an effective device for achieving good distribution of the instilled material in the lung.

O-15

Elucidation of molecular markers for early detection of prostatic carcinogens in rats

○Shugo Suzuki^{1,2)}, Shinya Sato^{1,3)}, Aya Naiki¹⁾, Toshiya Kuno¹⁾, Satoru Takahashi¹⁾

¹⁾Dept. Exp. Pathol.Tumor Biol., Nagoya City Univ., ²⁾Pathol. Div., Nagoya City East Med. Ctr.,

³⁾Pathol. Div., Nagoya City West Med. Ctr.

〈**Aim**〉 It is time-consuming for screening prostatic carcinogens because it takes long time to induce preneoplastic and neoplastic lesions in prostate glands. To overcome these problems, we investigated alternative molecular markers for detection of prostatic carcinogens in a short period in rats.

〈**Materials and Methods**〉 6-week-old male F344 rats were treated with various carcinogens including prostate carcinogens (PhIP, DMAB, MNU, BOP, DMBA, MeIQx, DMH and DMN). At experimental day 2, animals were sacrificed and prostate, liver, kidneys and colon were removed. Labeling indices for phospho-H2AX (gamma-H2AX), high mobility group box 2 (HMGB2) and Ki67 were analyzed in each prostatic lobe.

〈**Results**〉 gamma-H2AX labeling indices were significantly increased in rats treated with PhIP (ventral lobe) and DMAB (all lobes), but not in rats treated with MNU or BOP. HMGB2 labeling indices were significantly increased in rats with PhIP (ventral lobe), DMAB (all lobes) and MNU (all lobes), but not with BOP. Ki67 labeling indices were significantly elevated in rats treated with PhIP (ventral lobe), DMAB (ventral lobe), MNU (lateral lobe) and BOP (dorsal lobe). Meanwhile, there were no differences in these 3 labeling indices in prostate of rats treated with non-prostatic carcinogens such as DMBA, MeIQx, DMH and DMN compared with respective controls. Labeling indices of gamma-H2AX, HMGB2 and Ki67 in control rats were 0.02 to 0.05, 20 to 30 and about 5% in each prostatic lobe, respectively.

〈**Conclusion**〉 HMGB2 and Ki67 are possible candidates of alternative molecular markers for detection of prostatic carcinogens in rats within a short period.

O-16

Time-course changes of a pulmonary biomarker SP-D in rat lung injury models

○Kazuyoshi Kumagai¹⁾, Sanae Takada¹⁾, Yoshikazu Nezu¹⁾, Kyohei Yasuno¹⁾, Megumi Miyamoto^{1,2)},
Syunsuke Takada¹⁾, Koichi Yabe¹⁾, Yoshiro Tani³⁾, Yoshimi Tsuchiya¹⁾, Wataru Takasaki¹⁾

¹⁾Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.,

²⁾Biologics Pharmacology Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd., ³⁾Daiichi Sankyo India Pharma Prv. Ltd.

Time-course changes of SP-D in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were evaluated in rats given bleomycin (BLEO), Silica, or α -naphthylthiourea (ANTU). Histopathology in lungs, inflammatory cell counts and chemical parameters (LDH, TP, ALB, and PL) in BALF were also evaluated. Male F344 rats given BLEO, Silica (mean ϕ 1.5 μ m), or ANTU were necropsied on each time point (BLEO: 0, 0.2, 0.6 mg/body, 4, 8, 15, or 22 days after a single i.t. dose, Silica: 0, 10, 50 mg/body, 2, 7, 14, or 28 days after a single i.t. dose, ANTU: 0 and 5 mg/kg, 4, 8, or 24 h after a single i.p. dose, the day after a 4-day repeated i.p. dose). In the rats given BLEO, cell infiltration and regeneration of alveolar type II epithelial cells were seen on Days 4, 8, and 15. Pulmonary fibrosis was observed on Days 8, 15, and 22. Increased lymphocytes, LDH, and PL in BALF were noted on Days 4 and 8. Increased neutrophils in BALF was noted at all time points. Increased SP-D in BALF (1.9 to 2.5 fold higher vs. vehicle control) and in serum (1.4 to 2.2 fold higher vs. vehicle control) were seen on Days 4 and 8 and at all time points, respectively. In the rats given Silica, foreign body granulomas and particle-laden macrophages were noted on Days 7, 14, and 28 and at all time points, respectively. Increased lymphocytes and LDH were seen on Days 2, 7, and 14. Increased neutrophils in BALF was noted at all time points. Increased SP-D in BALF (1.4 to 2.7 fold higher vs. control) and in serum (1.3 to 2.0 higher vs. control) were noted at all time points and on Days 2, 7, and 14, respectively. In the rats given ANTU, pulmonary edema was observed 4, 8, and 24 h after dosing. Increased neutrophils was seen 4 and 7 h after dosing. Increased SP-D in BALF was noted 24 h after dosing (1.5 fold higher vs. control). However, no changes in serum SP-D were seen at any points. In conclusion, the data suggest serum SP-D is a good marker for inflammation and injuries in alveolar epithelial cells in the lung.

P-01

E2012-induced cataract and its predictive biomarkers

○Kyoko Nakano-Ito¹⁾, Etsuko Ohta¹⁾, Akira Inomata¹⁾, Yoshikazu Taketa¹⁾, Aya Goto¹⁾, Yuki Seki¹⁾, Kazuhiro Hayakawa²⁾, Jiro Sonoda¹⁾, Satoru Hosokawa¹⁾, Toyohiko Aoki¹⁾, Kazuo Tsukidate¹⁾

¹⁾Drug Safety, Eisai Co., Ltd., ²⁾Preclinical Safety Research Laboratories, Sunplanet Co., Ltd.

⟨**Background**⟩ E2012, a γ -secretase modulator aimed at Alzheimer's disease by reduction of amyloid β -42, induced cataract following repeated doses in the rat. The objective of the present investigation was to gain a better understanding of the mechanisms involved in E2012-induced cataract in the rat.

⟨**Methods**⟩ Sprague-Dawley rats were given E2012 at 3-1000 mg/kg and for up to 13 weeks. Ophthalmologic exam and histology of the eyes were periodically undertaken (2 weeks and later, at the end of dosing and recovery). Because of suspected association of cataracts with cholesterol metabolism, plasma, liver and the eyes were collected for determination of time-course changes in cholesterol (Cho), its final precursor desmosterol (Des), and E2012 concentration. In vitro studies were undertaken to see Cho synthesis inhibition in HepG2 cells, rat primary hepatocytes and lens cultures, and inhibition of 3 β -hydroxysterol Δ 24-reductase (DHCR24) at the final step in the Cho biosynthesis in rat liver microsome.

⟨**Results**⟩ Cataract appeared first at week 10-11 of treatment in the posterior subcapsular area, characterized histologically as lenticular fiber degeneration and swelling. It was associated with prolonged and sustained elevation of lenticular Des and decreased Cho. In vitro studies demonstrated that E2012 decreases Cho synthesis by inhibiting DHCR24. In vivo lenticular concentration of E2012 after 13-week repeated-dose with cataract was well above those where inhibition was observed in vitro; there was no cataract formation when there was no lenticular Des accumulation. The elevated Des and decreased Cho were also seen in the liver and plasma, and preceded those in the lens.

⟨**Conclusion**⟩ E2012 induces cataract in the rat by inhibiting DHCR24 at the final step of Cho synthesis with associated elevation in lenticular Des and decreased Cho, preceded by increases in plasma Des which would serve as a predictive safety biomarker for lenticular opacity.

P-02

The disorder of dorsal root ganglion in paclitaxel-induced peripheral neuropathy in rats

○Hitomi Hayashi, Eiji Ichimura, Kimiko Fuchigami, Yuuji Okuda, Hirohumi Yokoyama, Aiko Azegami, Kazuya Okamoto

Pharmaceutical Research Laboratories, Nippon Kayaku Co., Ltd.

⟨**Background**⟩ Paclitaxel (PTX), an antitumor drug, induces peripheral neuropathy (PN), which is one of dose limiting factors and decreases the QOL of patients remarkably. NK105, PTX-incorporating polymeric micellar nanoparticle, is a new drug delivery system preparation under development. We have previously demonstrated that the NK105 decreased PN of PTX in rats. Recently, it was reported that dorsal root ganglion (DRG) was involved in the PN of PTX. In the present study, we investigated the PTX-induced neurotoxicity precisely in terms of carrier distribution and morphological changes in DRG.

⟨**Materials and Methods**⟩ Ex.1: The distributions in lumbar DRG in rats after a single intravenous administration of NK105 prepared with fluorescent-labeled polymers were investigated. Ex.2: The morphological changes in sciatic nerve and DRG in rats after intermittent (q3dx2) administration of NK105 or PTX were also investigated.

⟨**Results**⟩ Ex.1: NK105 was hardly distributed in DRG, but Evans-blue albumin (EBA), reference material, was distributed in DRG at 4 and 24 hr after a single administration of NK105 or EBA. Ex.2: The degeneration of DRG neurons was observed in treated groups on day 4. On day 8 and day 10, the hypertrophy of satellite cells was observed, and satellite cell nodules were observed in both groups. In addition, the degeneration of myelinated fibers was observed in sciatic nerve in treated groups on day 8 and day 10. In immunohistochemistry, neurons were positive for ATF-3 and neurofilament on day 4. The number of ATF-3-positive neurons in NK105 group was lower than that in PTX group. On day 8 and day 10, satellite cells were positive for ATF-3, GFAP and Ki-67.

⟨**Conclusion**⟩ It revealed that the localization of NK105 is significantly lower than that of EBA and the damage in DRG was observed prior to the degeneration of sciatic nerve in rats. The electron microscopic observation of DRG is under examination.

P-03

Effect of Developmental Exposure to Iminodipropionitrile on the Neurogenesis in the Hippocampal Dentate Gyrus in Mice

○Liyun Wang¹⁾, Ayako Shiraki^{1,2)}, Megu Itahashi^{1,2)}, Hajime Abe^{1,2)}, Tomoaki Murakami³⁾,
Kazuhiko Suzuki³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾

¹⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology,

²⁾Pathogenetic Veterinary Science, United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University,

³⁾Laboratory of Veterinary Toxicology, Tokyo University of Agriculture and Technology

⟨**Background**⟩ 3,3'-Iminodipropionitrile (IDPN) is a neurotoxic compound known to induce swellings in the proximal internodes of sensory and motor axons in the CNS. However, it remains unclear whether IDPN affects neurogenesis during the development in mammals. In the present study, we examined the effect and reversibility of developmental exposure to IDPN on neurogenesis of the hippocampal dentate gyrus in mice.

⟨**Materials and methods**⟩ Oral doses of IDPN (0, 600, or 1200 ppm in drinking water) were given to maternal mice from gestational day 6 until weaning on postnatal day (PND) 21, and the hippocampal dentate gyrus of male offspring were immunohistochemically examined at the end of exposure.

⟨**Results**⟩ Dose-related decreases of maternal food and water consumption were observed from 600 ppm during the gestational and lactational exposure periods. Dose-related decreases in the body weight in both dams and pups were observed from 600 ppm during the postnatal exposure period. The decreases of absolute brain weight and increases of relative brain weight were observed in both dams and pups at 1200 ppm on PND 21. Immunohistochemically, decrease in reelin⁺ or parvalbumin⁺ gamma-aminobutyric acid (GABA)ergic interneurons was observed in the dentate hilus at 1200 ppm on weaning. On the other hand, dose-related increase in NeuN⁺ postmitotic neurons was observed in the hilus from 600 ppm on weaning. Decrease in doublecortin (DCX)⁺ cells, suggestive of type 2b, 3 progenitor cells and immature granule cells, was observed in the dentate subgranular zone (SGZ) from 600 ppm on weaning. The number of SOX2⁺ cells, suggestive of type 1, 2a cells, and Tbr2⁺ cells, suggestive of type 2b, 3 cells was unchanged at PND 21 in both IDPN-dosed groups.

⟨**Discussion**⟩ These results suggest that IDPN at 600 ppm or more may directly target the immature granular cells to suppress axonogenesis in the SGZ and may also directly target GABAergic interneurons causing reduction of neurogenesis on PND 21.

P-04

Detection of Aberration in Neuronal/Glial Development Induced by Repeated-oral Doses of 6-Propyl-2-thiouracil (PTU) in the Framework of 28-day Toxicity Study

○Ayako Shiraki^{1,2)}, Hirotohi Akane¹⁾, Fumiyo Saito³⁾, Yumi Akahori³⁾, Shinya Imatanaka³⁾, Megu Itahashi^{1,2)},
Liyun Wang¹⁾, Tomoaki Murakami⁴⁾, Kazuhiko Suzuki⁴⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾

¹⁾Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., ²⁾Pathogen. Vet. Sci., United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.,

³⁾Chem. Eval. Res. Inst. Chem. Assess. Res. Centr., ⁴⁾Lab. Vet. Toxicol., Tokyo Univ. Agricul. Technol.

⟨**Background**⟩ We previously revealed aberration in neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus and identified gene expression profiles suggestive of aberration in neuronal/glial development in different brain regions by maternal exposure to PTU in rats.

⟨**Aim**⟩ This study was performed to examine whether developmental neurotoxicity can be detected in the framework of 28-day repeated dose oral toxicity study.

⟨**Methods**⟩ Male SD rats were treated with 0, 0.1, 10 mg/kg of PTU by oral gavage for 28 days from postnatal week 5. Brain samples from the hippocampal dentate gyrus, corpus callosum, cingulate gyrus and cerebellum were subjected to analysis with gene expression microarrays.

⟨**Results**⟩ Gene clusters of neuronal development and synaptic transmission showing altered expression were detected in all four brain regions. Characteristically, expression of genes, such as *Epha4*, *EfnB3* and *Ret*, were commonly fluctuated in the dentate gyrus and cingulate gyrus, as seen in the developmental exposure study. In the dentate gyrus, genes related to myelination and gliogenesis such as *Mbp*, *Plp1*, *Aspa* and *Nkx6-2* also fluctuated expression. In the corpus callosum and cerebellum, only few genes showed fluctuated expression. Immunohistochemistry on hippocampal dentate gyrus revealed decrease in doublecortin⁺ granule cells in the subgranular zone and increase in reelin⁺ cells in the hilus.

⟨**Discussion**⟩ By means of global gene expression analysis, 28-day repeated oral doses of PTU revealed similar gene expression profiles as in the developmental exposure study, especially in the hippocampal dentate gyrus. Aberration in neurogenesis accompanying changes in interneuron subpopulations was also detected immunohistochemically. Taken together, it is possible to detect developmental neurotoxicity in the framework of 28-day toxicity study, and the hippocampal dentate gyrus is the sensitive structure for evaluation.

P-05

Effect of Iminodipropionitrile (IDPN) on Neurogenesis in the Hippocampal Dentate Gyrus in Rat Offspring

○Megu Itahashi¹⁾, Liyun Wang¹⁾, Ayako Shiraki^{1,2)}, Reiko Morita^{1,2)}, Takeshi Tanaka^{1,2)}, Tomoaki Murakami³⁾, Kazuhiko Suzuki³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾

¹⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology,

²⁾Pathogenetic Veterinary Science, United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University,

³⁾Laboratory of Veterinary Toxicology, Tokyo University of Agriculture and Technology

⟨**Background**⟩ IDPN is known to cause proximal axonopathy in the nervous system of rodents.

⟨**Aim**⟩ The present study was performed to examine the effect of developmental exposure to IDPN on hippocampal neurogenesis of offspring during postnatal life.

⟨**Materials and Methods**⟩ Pregnant SD rats were randomly divided into 3 groups of 10 animals and each group was treated with IDPN at 0, 67 or 200 ppm in the drinking water from gestational day (GD) 6 to postnatal day (PND) 21. Dams and offspring were subjected to necropsy at PND 21. Immunohistochemistry was performed on the brain of female offspring with antibodies against Sox2, Tbr2, doublecortin (Dcx), NeuN, reelin, calbindin (Calb1), calretinin (Calb2), parvalbumin (Pvalb) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA).

⟨**Results**⟩ A significant decrease in food consumption was detected in dams on PND 18 and PND 20 at 200 ppm as compared with the 0 ppm controls. Significant decreases in water consumption were observed from PND 14 to PND 21 at 200 ppm and on PND 14 at 67 ppm as compared with the 0 ppm controls. Significant decreases in body weight of offspring were observed on PND 18 and PND 21 at 200 ppm and on PND 18 at 67 ppm as compared with the 0 ppm controls. There were no significant changes in brain weight of dams and offspring by IDPN-exposure. In the hilus of the DG, significant decreases in the number of reelin+ interneurons were observed at 67 and 200 ppm as compared with the 0 ppm controls, the higher dose group also showed decreases in the number of Pvalb+ interneurons. As for the number of Sox2+, Tbr2+, Dcx+, PCNA+ cells of granule cell lineages in the SGZ and Calb1+, Calb2+, NeuN+ cells in the hilus, there were no significant differences between the 0 ppm controls and IDPN groups.

⟨**Conclusion**⟩ Our results suggested that exposure to IDPN during gestational and lactational period targets subpopulations of GABAergic interneurons in the hilus of the DG, but not stem cells and early-stage progenitors in the SGZ.

P-06

Histological evaluation of cerebral microhemorrhage in Tg2576 mice following treatment with specific anti-amyloid β antibodies

○Aya Goto, Akira Inomata, Kyoko Nakano-Ito, Jiro Sonoda, Kazuhiro Hayakawa, Etsuko Ohta, Yoshikazu Taketa, Yuki Seki, Satoru Hosokawa, Kazuo Tsukidate

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

⟨**Introduction**⟩ Alzheimer's disease (AD) patients have higher risk of cerebral microhemorrhages (MHs) associated with cerebral amyloid angiopathy (CAA). Recently it was reported that administration of anti-amyloid β antibody increases MHs in AD mouse models. In order to identify a MH positive control substance in the AD mouse model against which to compare our novel β amyloid lowering agents, we conducted two in vivo studies in an aged Tg2576 mouse model of AD, and histologically evaluated the effects on cerebral MHs of administration of two commercially available anti-amyloid β antibodies (6E10 and 1C3).

⟨**Materials and Methods**⟩ 6E10 or 1C3 was administered intraperitoneally to 20-month-old female Tg2576 mice once a week for 5 or 10 weeks. An IgG1 isotype antibody and PBS were used as negative control and vehicle control, respectively. All the surviving animals were necropsied and the brains were fixed in 4% paraformaldehyde. Cerebral MHs were quantified by a refined method [1]. Two transverse sections at 10- μ m thickness each, equally spaced at 250- μ m intervals across the entire cerebrum, were stained with either Hematoxylin and eosin (HE) or Perl's Berlin blue (BB) stains. A total of 20 to 25 sections for HE or BB stain per animal were used for the analysis. MHs that were positive in HE and/or BB stain were counted, and the frequency and the severity of MHs were evaluated.

⟨**Results and Discussion**⟩ All examined mice exhibited significant deposition of amyloid in the cerebral parenchyma and CAA by HE stain, but there was no significant difference in incidence and severity of MHs among PBS, IgG1 isotype, 6E10, or 1C3-treated groups for 5 or 10 weeks. MHs were observed mainly in the cortex and hippocampus. Most MHs were slight, and moderate MHs were observed sporadically in each group. In these studies, we were unable to replicate the results as previously reported, and neither 6E10 nor 1C3 was appropriate as a positive control.

[1]PNAS. 2009;106:4501.

P-07

Gene expression kinetics during development of myelin lesions in myelin mutant rats

○Yukako Shimotsuma, Miyuu Tanaka, Takeshi Izawa, Jyoji Yamate, Mitsuru Kuwamura

Laboratory of Veterinary Pathology Osaka Prefecture University

〈**Background**〉 Myelin is responsible for axonal development and maintenance of nerve conduction velocity. The formation and maintenance of myelin are regulated by complex mechanisms. The details of these mechanisms are still unclear. We study three mutant rats that develop different myelin lesions in the central nervous system (CNS). The demyelination (dmy) rat exhibits hind limb ataxia and severe myelin breakdown in the CNS. The vacuole formation (VF) rat shows tremor behavior especially in the caudal body and has abnormal vacuoles and hypomyelination. The myelin vacuolation (mv) rat shows hypomyelination and vacuole formation in the myelin throughout the CNS. The purpose of this study is to clarify the mechanism of myelin destruction by focusing on a gene (gene X) that is remarkably up-regulated in the dmy rat.

〈**Materials and Methods**〉 Real-time RT-PCR analysis was performed to examine the expression levels of gene X in the different mutant rats. Cervical spinal cords of affected (homozygous) and control (heterozygous or wild type) rats were used for real-time RT PCR.

〈**Result**〉 In the dmy rats, the expression of gene X mRNA was increased at all examined age. Increased expression was found both in the gray and white matter of spinal cord. Gene expression kinetics was increased concurrently with the progression of the clinical and pathological conditions in the dmy rats. However, no increasing expression was found in the mv and VF rats.

〈**Conclusion**〉 These results indicated that gene X may play important roles in myelin destruction of the dmy rat. The dmy rat has a mutation in mitochondria-related gene. Therefore it is assumed that the increased expression of gene X is associated with abnormality of mitochondrial function.

P-08

The effect of rotenone administration on the spinal cord pathology of SOD1^{G93A} transgenic mice

○Mizue Ogawa, Shunsuke Nomura, Kazuyuki Uchida, Hiroyuki Nakayama

Dept. of Veterinary Pathology, the Univ. of Tokyo

〈**Background and Aim**〉 The mitochondrial dysfunction is an important event in the onset and early pathogenesis of SOD1^{G93A} transgenic mice (Tg), a model for amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Therefore, mitochondrial dysfunction in pre-symptomatic phase may accelerate the disease progression. Rotenone is known to inhibit mitochondrial respiratory complex I, resulting in mitochondrial dysfunction. In this study, we examined the effect of systemic rotenone administration on the motor function and spinal cord pathology in Tg mice.

〈**Materials and Methods**〉 Tg mice were purchased from Jackson Lab and bred in our laboratory. Male Tg and wild type mice (Wt) were used for the experiment. An osmotic pump filled with rotenone (R) dissolved in DMSO/PEG300 (D/P) or D/P alone was implanted subcutaneously at 42 days old, and the administration had been continued for 28 days. Measurement of body weight, and hind limb reflex and wire hang tests were performed weekly. Mice were euthanized and autopsied at 70, 100 and 120 days old for Tg, and at 120 days old for Wt. The spinal tissues were used for histopathological analysis.

〈**Results and Conclusions**〉 There were no significant differences between R and D/P in the body weight and motor function in both Wt and Tg. The number of NeuN-positive neurons in spinal ventral horn of Tg was significantly decreased in R compared with D/P. No TUNEL-positive cells were observed in both groups. Vacuolation of the ventral horn was more severe in R at 70 days old, whereas at 120 days old in D/P. GFAP- and Iba1-positive areas were larger in R than D/P at 120 days old. Ubiquitin-positive areas were significantly larger in R at 120 days old, and localized mostly in neuronal soma. No differences were observed between R and D/P in Wt mice. The acceleration of spinal pathology in Tg mice by rotenone administration indicates that the mitochondrial dysfunction have an etiological factor in early phase of the disease.

P-09

Plasmacytoma with systemic metastasis in two Miniature Pigs

○Miyuu Tanaka¹, Takeshi Izawa¹, Kayo Kusuda², Norihiko Kitamura³, Terumasa Shimada³, Jyoji Yamate¹, Mitsuru Kuwamura¹

¹Veterinary Pathology, Osaka prefecture University, ²Misaki Park, ³Veterinary Medical Center, Osaka Prefecture University

〈**Background**〉 Recently, miniature pigs have been housed as a laboratory animal or companion animal. B-cell lymphoma is the most frequently reported hematopoietic neoplasm in swine. However, extramedullary plasmacytomas are uncommon in swine. Here, we report two cases of plasmacytoma with systemic metastasis in miniature pigs.

〈**Case**〉 Case 1: A 6-year-old sow of the miniature pig strain with a history of loss of appetite. X-ray examination revealed a large abdominal mass. Then, exploratory surgery and hysterectomy was performed. The unilateral ovary was markedly enlarged (up to 15 cm in diameter), and partly adhered to the spleen and peritoneum. Seven and a half months after surgery, the sow died with a convulsive seizure. At necropsy, a solid mass (2 x 2 x 1 cm) was found at the pituitary gland and compressed the cerebral parenchyma. Case 2: A geriatric sow of the miniature pig strain with a history of breathing difficulty and loss of appetite. At necropsy, multiple masses (1-7 cm in diameter) were observed in the liver, kidneys, lungs, esophagus, pancreas and adrenal glands.

〈**Histopathological findings**〉 In both cases, diffuse neoplastic proliferation of round cells with small round nuclei and eosinophilic cytoplasm was observed. The neoplastic cells showed moderate cellular and nuclear atypia, and mitotic figures were frequently observed. Immunohistochemically, the neoplastic cells showed reactivity for κ -light chain. Ultrastructurally, neoplastic cells had developed rough endoplasmic reticulum, suggestive of plasmacytic origin of neoplastic cells. In case 1, similar neoplastic proliferation was also observed in the pancreas, mesenterium, hypothalamus, and around the ocular muscle. No neoplastic lesions were seen in the femoral bone marrow.

〈**Discussion**〉 Both cases were diagnosed as plasmacytoma of unknown primary site with systemic metastasis. Case 1 is very rare in that neoplastic proliferation of plasma cell was observed in the ovary and pituitary gland.

P-10

Histopathological changes in the Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) assay: Effects of the concentration and exposure time of the test substance

○Masatoshi Furukawa¹, Kouta Itoh¹, Masumi Rokukawa¹, Takashi Sakakibara¹, Satoshi Sasaki¹, Takeo Hiraga², Hajime Kojima³, Masao Matsuura¹

¹Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd.,

²Department of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ³National Institute of Health Sciences

〈**Background**〉 In the 29th annual meeting of the Japan society of toxicological pathology, we reported that our data obtained by the alternative method for the ocular irritation study using an isolated bovine cornea (BCOP) assay correlated with the GHS classification based on the results of the Draize eye irritation test, and our test system had adequate accuracy to identify ocular corrosives and severe irritants. This time, we evaluated histopathological changes by serially diluting dimethylformamide (DMF), and those by altering the exposure time of dimethylsulfoxide (DMSO).

〈**Methods**〉 The isolated bovine cornea was exposed to the test article, and corneal opacity before and after exposure to the test substance and permeability of fluorescent sodium solution after the exposure were measured, from which *in vitro* irritancy score (IVIS) was calculated. The cornea after the end of measurement was fixed in 10% neutral buffered formalin and stained with hematoxylin and eosin according to the ordinary method, and histopathologically examined.

〈**Results and discussion**〉 With alternative exposure times and concentrations, IVIS increased with increasing concentration of DMF and with increasing exposure time of DMSO respectively, and the histopathological changes extended from the surface to the depth of the cornea. We will continue further validation of many substances.

P-11

Multiple system atrophy in long-term professional painter: a case report

○Yusa Nagai, Koto Fujiishi, Riko Kitazawa, Sohei Kitazawa

Department of Molecular Pathology, Ehime University Graduate School of Medicine

〈**Background**〉 Multiple system atrophy (MSA) is a rare and severe sporadic progressive neurodegenerative disorder of adult onset and includes striatonigral degeneration, Shy-Drager syndrome, and sporadic olivopontocerebellar atrophy. Patients with MSA demonstrate a higher risk of disease onset associated with occupational exposure to organic solvents, plastic monomers and additives, pesticides, and metals.

〈**Case**〉 A 48-year-old Japanese man with a long occupational history of professional painter died of multiple organ failure. The patient had suffered tremors and inarticulateness at age 28, developed diabetes at 42 and was diagnosed with spinocerebellar degeneration at 46. A histopathological examination showed severe neuronal loss, gliosis and tissue rarefaction in the paleostriatum, striate body of the substantia nigra, the pons, and the olivary nucleus of the upper medulla oblongata, intermediolateral of the spinal gray matter.

〈**Results**〉 The anti- α -synuclein antibody immunostained the glial and neuronal inclusions extensively. While, gliosis and tissue rarefaction were observed in the midbrain, those in the locus coeruleus were relatively mild in the sections of the midbrain of the cerebellum level.

〈**Conclusion**〉 Although typical GCI was not observed in a routine histological examination, strong α -synuclein immunostaining in the nucleus confirmed the diagnosis of MSA. The apparent risk factors for neurological manifestations were heavy exposure to organic solvents. Interestingly, an in vitro experiment has revealed that α -synuclein, originally in an unfolded form, is rapidly folded with an enhanced propensity to fibrillate in organic solvents. Furthermore, by measuring hydrodynamic radii and adding glucose to solvents causes thorough collapse of α -synuclein. The prolonged and extensive exposure to organic solvents together with the hyperglycemic condition attributed to diabetes may have contributed to the onset and clinical course of the present case.

P-12

A Spontaneous Oligodendroglioma at Lumbar Portion of the Spinal Cord in a Young Br/Han:WIST@Jcl (GALAS) Rat

○Shuji Takeda, Hiroyuki Asano, Ryo Ihara, Keiko Ogata, Masahiko Kushida

Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chem Co., Ltd.

〈**Background**〉 Oligodendroglioma is a tumor originating from oligodendrocytes and commonly found in cerebrum of aged rats. Only few reports showed that spontaneous occasion of this tumor in the spinal cord or in young rats. We encountered a case of spontaneous oligodendroglioma at lumbar portion of the spinal cord in a young Br/Han:WIST@Jcl (GALAS) female rat at 9 week-old, we report the detailed histopathological and immunohistochemical characteristic of a case of young rat oligodendroglioma in the spinal cord.

〈**General observation**〉 No clinical signs, no gross lesions at necropsy and no specific changes at hematology and blood biochemistry were observed.

〈**Histopathology**〉 The tumor was located in dorsal region at lumbar portion of the spinal cord and diffusely infiltrated the dorsal-root nerve. The neoplastic cells showed diffuse growth pattern and had small round nuclei, clear cytoplasm and distinct cell borders resulted in a honeycomb pattern. No mitotic figures and no other histological lesions were observed.

〈**Immunohistochemistry**〉 The neoplastic cells were positively stained for Olig2 and PCNA, but were negative for GFAP or Iba1. On the other hand, non-neoplastic spindle or polygonal-shaped cells with round to oval nuclei were observed in this tumor and positively stained for GFAP and Iba1. The present case was considered to be an oligodendroglioma low grade type based on their histological and immunohistochemical features. To our knowledge, there have been few reports on spontaneous oligodendroglioma at spinal cord in rats, so our case was considered to be extremely rare and the first report in a young rat.

P-13

Eosinophilic Cytoplasmic Inclusions of Hippocampus Pyramidal Neuron in Göttingen Minipigs

○Naoaki Yamada, Ryosuke Kobayashi, Shino Kumabe, Yuki Tomonari, Takuya Doi, Yumi Wako,
Minoru Tsuchitani

Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation

〈**Introduction**〉 Various eosinophilic cytoplasmic inclusions, such as Hirano-body and intracytoplasmic neuronal inclusions in the thalamus are known in human neurons. This report describes eosinophilic cytoplasmic inclusions of hippocampus pyramidal neuron in normal Göttingen MinipigsTM.

〈**Animals**〉 Two female Göttingen MinipigsTM (Ellegaard Göttingen minipig A/S, Denmark) from a subcutaneous administration background data collection study were sacrificed at 8 months of age. No abnormalities were observed in either female.

〈**Results**〉 Eosinophilic cytoplasmic inclusions were observed in the pyramidal neurons of CA1 and CA2 in the HE staining. The inclusions were located at the dendrite, or around the nucleus of the neurons. The inclusions were of a fine linear or granular form. The inclusions were red with Masson's trichrome staining and positive for PTAH. Immunohistochemically, the inclusions were positive for actin (clone AC-40) but negative for PHF-tau (clone AT8), ubiquitin C-terminal esterase L1, neurofilament (clone 2F11), and α -smooth muscle actin (clone 1A4). Ultrastructurally, the inclusions were composed of aggregations of dark and light straight lines arranged in parallel. The dark lines were about 7 nm in diameter and the light lines were about 4 nm in diameter. The aggregations were not surrounded by a limiting membrane.

〈**Discussion**〉 According to the special staining and immunohistochemical staining, it was suggested that the inclusions were composed of actin. The location and feature of the inclusions were similar to Hirano-body as previously reported in humans and alpacas. The ultrastructural features of the inclusions were similar to intracytoplasmic neuronal inclusions in the human thalamus. Both of these are known as age-related change in humans; however, the inclusions in the Göttingen MinipigsTM were observed at 8 months of age. Therefore, it is necessary for additional examinations to ascertain the mechanism and frequency due to age and sex.

P-14

Toxicity of multi-wall carbon nanotube by single intratracheal instillation to C57BL6/J mice and F344 rats, 52 weeks study

○Sosuke Kishi¹⁾, Yuko Nakano¹⁾, Keiko Yamakawa¹⁾, Masanao Yokohira¹⁾, Fumiko Ninomiya¹⁾, Kousuke Sao²⁾,
Katsumi Imaida¹⁾

¹⁾Onco-Pathol., Fac. Med., Kagawa Univ., ²⁾Tomakomai city hospital

〈**Background**〉 A multi-wall carbon nanotube (MWCNT) is a respirable small fiber, and the size and shape of MWCNT are similar to those of asbestos. MWCNT was reported to induce malignant mesothelioma in rats after i.p. treatment. Therefore, the toxicity assessment of MWCNT by inhalation or intratracheal intubation was important.

〈**Aim**〉 In this 52 weeks study, the toxicity of MWCNT by single intratracheal instillation (i.t.) to C57BL6/J mice and F344 rats was examined.

〈**Materials and Methods**〉 In this study, highly dispersed MWCNT products by Taquann method were used. Experiment 1: 12 weeks old C57BL6/J mice were classified into 2 groups; (1)MWCNT group (MWCNT 10 μ g/0.02ml 1% Tween 80/mouse, i.t.), (2)Control group(0.02ml 1% Tween 80/mouse, i.t.). Experiment 2: 6 weeks old F344 rats were classified same as experiment 1. The dose of MWCNT for rats was 6 times amounts compared to mice, under consideration of the weights of rats lungs were about 6 times to those of mice. On week 52, all animals were sacrificed in both experiments.

〈**Results**〉 Experiment 1: In MWCNT group, 1 MWCNT fiber was observed under polarization microscope in a mouse lung, but there are no inflammatory or tumorigenic reactions around the MWCNT fiber. There were no lung tumors and no differences in any inflammation parameters of lungs between both groups. Experiment 2: 6 MWCNT fibers were observed in MWCNT group rat lungs, but there are no tumorigenic reactions around MWCNT fibers. There were no lung tumors and no lung inflammatory differences between both groups.

〈**Conclusion**〉 After 52 weeks later of single i.t. administration, the MWCNT fiber was observed in both mice and rats lungs. There were no lung tumors and no lung inflammatory differences between groups.

P-15

Activation of Erk1/2 and Dusp6 expression on NNK-induced lung carcinogenesis in A/J mice

○Keiko Yamakawa¹⁾, Masanao Yokohira¹⁾, Sosuke Kishi¹⁾, Yuko Nakano¹⁾, Fumiko Ninomiya¹⁾, Shohei Kanie¹⁾, Kosuke Saoo^{1,2)}, Katsumi Imaida¹⁾

¹⁾Onco-Pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University, ²⁾Tomakomai City Hospital

⟨**Aim**⟩ In mouse lung carcinogenesis model, mutations of Kras have been detected at high frequency. The activation of raf-Mek1/2-Erk1/2 cascade, a downstream pathway of Ras, plays a key role in the regulation of proliferation and differentiation. In this study, Mek1/2 and Erk1/2 activations and expression of dual-specificity phosphatase 6 (Dusp6), a negative regulator of Erk1/2 activation, in the NNK-induced mice lung tumors were examined immunohistochemically.

⟨**Materials and Methods**⟩ Female 7-week old A/J mice were administered a single dose of NNK (2 mg/0.1 ml saline/mouse, i.p.), then maintained without additional treatment until sacrifice at week 52. Relationship between phosphorylated forms of Mek1/2 (pMek1/2) and Erk1/2 (pErk1/2) expression in 15 hyperplasias, 36 adenomas, and 13 adenocarcinomas were examined by double immunohistochemical staining. The Dusp6 expression in 23 Hyperplasias, 47 Adenomas and 15 Adenocarcinomas was examined by single immunohistochemical staining. Staining intensity was classified with a scale of 0-3 (0, negative; 1, weak positive; 2, moderate positive; 3, strong positive).

⟨**Results**⟩ In the 6/15 hyperplasias and 29/36 adenomas, pErk1/2 expressed weakly (staining intensity score 1 or less), although pMek1/2 was up-regulated (more than staining intensity score 2). The expressions of both pMek1/2 and perk1/2 were increased in 12/13 Adenocarcinomas. Dusp6 staining intensity score were increased significantly (23 Hyperplasias; 0.8, 47 Adenomas; 1.4, 15 Adenocarcinomas; 2.6). The expression of Dusp6 correlated with Erk1/2 activation.

⟨**Conclusion**⟩ The inhibition of Erk1/2 activation by Dusp6 in these mice lung tumors was not clear. It is necessary to search the factors involved in activating Erk which plays a key role in malignant transformation during lung carcinogenesis.

P-16

Nasal Lesion in Rats and Mice Exposed to n-Butyl Glycidyl Ether by Inhalation for 13 Weeks

○Kenji Takanobu¹⁾, Taku Katagiri¹⁾, Yumi Umeda¹⁾, Hideki Senoh¹⁾, Kasuke Nagano²⁾, Shigetoshi Aiso¹⁾, Shoji Fukushima¹⁾

¹⁾Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association, ²⁾Nagano Toxicologic-Pathologic Consulting

n-Butyl glycidyl ether (BGE) is widely used as reactive diluents such as epoxy resins and intermediate in chemicals. In the present study, we report the lesions in the observed nasal cavity in BGE 13-week whole-body inhalation study using rats and mice.

⟨**Methods**⟩ Rats and Mice of each sex (n=10 for each group), the age of 6-week were employed and were exposed to BGE at concentrations of 0, 12.5, 25, 50, 100 and 200 ppm, 6 hours/day, 5 days/week, for 13 weeks. The nasal cavity was fixed with 10% buffered formalin and was cut into 3 cross sections. And then, the sections were embedded in paraffin and stained with H&E.

⟨**Results**⟩ In rats, hyperplasia was observed in the 50 ppm and over of both sexes at respiratory epithelium of nasal cavity. In addition, inflammation was observed in the 100 ppm and over of both sexes, and necrosis was found in the 200 ppm of females and in the 100 ppm and over of males as well as squamous cell metaplasia was shown in the 200 ppm of both sexes. At olfactory epithelium, necrosis and atrophy were observed in the 100ppm and over of both sexes, and inflammation and respiratory metaplasia were found in the 200 ppm of both sexes. Besides, synecia of nasoturbinates was observed in the 200 ppm of both sexes. In mice, necrosis was observed in the 50 ppm and over of both sexes, squamous cell metaplasia was found in the 200 ppm of both sexes at respiratory epithelium of nasal cavity. At olfactory epithelium, respiratory metaplasia was observed in the 25 ppm and over of both sexes, and atrophy was found in the 50 ppm and over of both sexes. Furthermore, necrosis and polyp were shown in the 50 ppm and over of males and in the 100 ppm and over of females.

⟨**Conclusion**⟩ Nasal cavity lesions were observed in the 50 ppm and over in rats, and in the 25ppm and over in mice. (This was a GLP study carried out on a commission from the Ministry of Health Labour and Welfare of Japan.)

P-17

Nasal Cavity Carcinogenicity in Rats and Mice Exposed to n-Butyl Glycidyl Ether by Inhalation for Two Years

○Taku Katagiri¹⁾, Kenji Takanobu¹⁾, Hideki Senoh¹⁾, Yumi Umeda¹⁾, Kasuke Nagano²⁾, Shigetoshi Aiso¹⁾,
Syoji Fukushima¹⁾

¹⁾Japan Industrial Safety & Health Association Japan Bioassay Research Center, ²⁾Nagano Toxicologic -Pathologic Consulting

n-Butyl glycidyl ether (BGE) is widely used. Although it has been exhibited that BGE is an irritant chemical, no respiratory cancers elicited by exposure of BGE were reported thus far. Moreover, BGE is genotoxic. Carcinogenicity of BGE was therefore, examined by long-term inhalation exposure of rats and mice.

⟨**Methods**⟩ Airflow containing BGE vapor was administered to groups of 50 male and 50 female F344 rats and BDF1 mice at a target concentration of 0,10, 30 or 90 ppm (v/v) in rats and 0,5, 15 or 45 ppm (v/v) in mice, respectively, for 6 hours/day, 5 days/week and 104 weeks (2-yr).

⟨**Results**⟩ In rats, survival rates and body weights of the 90 ppm group were low in both sexes. The main cause of death was a tumor in the nasal cavity. Nasal cavity tumors were primarily squamous cell carcinoma and not found in the control, low- and middle-dose groups of both sexes. However, significant increase in the incidences of nasal tumors was observed in the 90 ppm group of both sexes (male: 35/50, female: 28/50). Moreover, squamous cell papilloma and ethesioneuroepithelioma were observed in males, and adenosquamous cell carcinoma, ethesioneuroepithelioma and sarcoma NOS were observed in females. Adenoma was also observed in males and females of the 30 ppm group (male: 5/50, female: 2/50). In mice, females had a slightly decreased survival rate, and males and females had a decreased body weight in the 45 ppm group. The incidence of nasal cavity hemangiomas significantly increased in males and females (0, 5, 15, 45 ppm: 0/50, 2/49 14/50 8/49 in M, 0/50, 0/50, 2/50, 7/50 in F) and moreover, few incidences (male: 2/49, female: 1/50) of squamous cell carcinoma in the nasal cavity were observed in males and females of the 45ppm group.

⟨**Conclusion**⟩ This study demonstrated that 2-yr inhalation exposure to BGE vapor exerted nasal cavity carcinogenicity in both rats and mice.(This was a GLP study carried out on a commission from the Ministry of Health Labour and Welfare of Japan.)

P-18

Nasal Lesion in Rats Exposed to Acrylic Acid for 13 Weeks and 104 Weeks

○Yumi Umeda¹⁾, Hideki Senoh¹⁾, Kenji Takanobu¹⁾, Taku Katagiri¹⁾, Shigetoshi Aiso¹⁾,
Kasuke Nagano²⁾, Shoji Fukushima¹⁾

¹⁾Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association, ²⁾Nagano Toxicologic-Pathologic Consulting

The main use of acrylic acid is a raw material of polymer and acrylic acid ester. Acrylic acid is a colorless liquid at room temperature. There is an irritating odor like acetic acid. In the present study, the nasal influence of acrylic acid was examined by inhalation exposure of acrylic acid to male and female F344 rats for either 13 weeks or 104 weeks.

⟨**Methods**⟩ The 13-week study consisted of 5 exposed groups and one control group, each comprising of 10 rats (starting at an age of 6 weeks) of both sexes, and the acrylic acid concentrations used were 10, 24, 60, 150 or 200 ppm. The 104-week study consisted of 3 exposed groups and one control group, each comprising 50 rats of both sexes, and the acrylic acid concentrations used were 10, 40 or 160 ppm. The nasal cavity was fixed in 10% buffered formalin and was decalcified in formic acid-formalin solution. The nasal cavity was trimmed at three levels, and was embedded in paraffin. The sections were stained with H&E.

⟨**Results**⟩ In the 13-week study, atrophy and squamous cell metaplasia of the olfactory epithelium and squamous cell metaplasia of the respiratory epithelium in the nasal cavity of male and female rats were observed by exposure to acrylic acid. In the 104-week study, there was no increase of incidences of the nasal tumors. As non-neoplastic lesion, the incidences of atrophy, squamous cell metaplasia and respiratory metaplasia of the olfactory epithelium, and squamous cell metaplasia of the respiratory epithelium, and respiratory metaplasia of the gland in the nasal cavity were increased in both sexes.

⟨**Conclusion**⟩ There was no increase of incidences of the nasal tumors in the 104-week study. The squamous cell metaplasia in the olfactory and respiratory epithelium, which was found by 13-week inhalation exposure, was not progressed to the tumor by the prolonged exposure period. (This was a GLP study carried out on a commission from the Ministry of Health Labour and Welfare of Japan.)

P-19

Effects of Intratracheally Instilled Magnetite Nanoparticles in Fischer 344 Rats Initiated with N-Bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN)

○Yukie Tada¹⁾, Norio Yano¹⁾, Hiroshi Takahashi¹⁾, Katsuhiro Yuzawa¹⁾, Hiroshi Ando¹⁾, Yoshikazu Kubo¹⁾, Akemichi Nagasawa¹⁾, Fujifumi Kaihoko¹⁾, Motoki Houjou¹⁾, Akiko Inomata¹⁾, Akio Ogata¹⁾, Dai Nakae^{1,2)}

¹⁾Department of Pharmaceutical and Environmental Sciences, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,

²⁾Tokyo University of Agriculture

〈**Background and aim**〉 Ferric oxide nanoparticles (magnetite) are of considerable interest for the application in the nanotechnology-related fields, including an environmental catalysis, a target drug delivery and a hyperthermia. However, information about their potential risks is still limited. Indeed, iron oxide nanoparticles have been shown to affect the cell viability and DNA stability in vitro, while a micronucleus test and a comet assay have indicated the genotoxicity of magnetite. In our chronic study, on the other hand, intratracheally instilled magnetite have been shown to cause chronic inflammation, in association with the induction of alveolar hyperplasia in the high-dose group. In this context, the present study was conducted to assess effects of magnetite during the promotion stage of the DHPN-initiated 2-stage lung carcinogenesis in Fischer 344 rats.

〈**Method**〉 A total of 100, 6-week-old male Fischer 344 rats were randomly separated into 5 groups of 20 animals each, and given a basal diet and drinking water (I and II groups) or basal diet and 0.1% DHPN water (III, IV and V groups) for 2 weeks. Two weeks later, rats were exposed to 4 weekly intratracheal spray instillations of 0 (control, milli-Q water; group I and III), 5.0 (group II and IV) or 1.0 mg/kg body weight of magnetite (group V). The experiment was terminated 30 weeks after the start of the experiment, and hematological, serum biochemical and pathological consequences were investigated.

〈**Result**〉 There were no toxicologically significant, treatment-related changes in general appearance. Body weight was significantly decreased in DHPN treated groups (III, IV and V) compared with the control group (I). While the experiment is still going on at the time when this abstract is created, detailed effects of magnetite on the DHPN-initiated 2-stage lung carcinogenesis will be presented at the occasion of the annual meeting.

P-20

Chronic toxicopathological changes in lungs of F344 rats after single intratracheal instillation of quartz particle

○Yuko Nakano¹⁾, Masanao Yokohira¹⁾, Keiko Yamakawa¹⁾, Sosuke Kishi¹⁾, Fumiko Ninomiya¹⁾, Shohei Kanie¹⁾, Kousuke Saoo^{1,2)}, Katsumi Imaida¹⁾

¹⁾Onco-pathology, Faculty of Medicine, Kagawa University, ²⁾Tomakomai Hospital

It is well known that intratracheal instillation (i.t.) of fine particles of quartz induces severe chronic inflammation in the lung. Furthermore, it is reported that the long term inhalation of quartz caused increasing incidence of lung tumors and the lung inflammation in rats. However, there are few reports about the long term effects of single i.t. of quartz to the lungs. In the present study, we studied the effects of single quartz i.t. focusing inflammatory changes and tumorigenesis in the lung of F344 rats.

Male 16 F344 rats (Group 1: 10 rats and Group 2: 6 rats) were maintained in the Kagawa University Animal Facility according to the Institutional Regulations for Animal Experiments. Group 1 was treated by 4 mg quartz/ 0.2 ml saline/ rat, and Group 2 was by 0.2 ml saline/ rat i.t. as a control group. They were sacrificed after 1 year from the i.t. treatments. Their lungs, livers and kidneys were examined histopathologically.

Their body and lungs weights showed no significant differences but relative weights of livers of Group 1 significantly decreased and those of kidneys increased compared with those in Group 2. Histopathologically, lungs of Group 1 were observed severe chronic inflammation. The degree of lung inflammation was evaluated by scoring infiltration of peribronchial lymphocytes, neutrophils (in the walls or alveolar spaces), histiocytes, pulmonary edema, fibrosis and granuloma (0: few, 1: mild, 2: moderate, 3: severe). The inflammation scores of Group 1 showed significant high scores compared with Group 2, especially, infiltration of lymphocytes around bronchial tubes and pulmonary fibrosis. There were no lung tumorigenic lesions in all rats. Single i.t. of quartz continuously caused chronic lung inflammation and there are not clearly in tumorigenesis after 1 year. Since, in the longer experiment, there is possibility of inducing lung tumors by single i.t. of quartz, 2 years experiment is now in progress.

P-21

Histopathological Examination of Nasal Cavity in Microminipigs

○Koshirou Katoku, Kazufumi Kawasaki, Azusa Kobayashi, Takafumi Oshikata, Mikio Mitsuishi, Takeshi Kanno, Masao Hamamura

Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation

〈**Background**〉 From the viewpoint of animal welfare, miniature pigs are used for various toxicological tests in Europe. There are not many toxicological tests using miniature pigs or microminipigs (MMPs) in Japan, and background data are extremely limited. Collection of background data for these pigs is crucial to conduct toxicological tests in Japan.

〈**Aim**〉 There are no histopathological background data concerning the nasal cavity in MMPs. For this reason, we have carried out histopathological examination of the nasal cavity of MMPs in order to collect background data.

〈**Materials and Methods**〉 The heads of MMPs aged 2 to 17 months were fixed in formalin. The noses were cut transversely at the incisor, canine tooth and molars as markers, decalcified in formic acid, made into HE stained preparations and examined histopathologically.

〈**Results**〉 In the incisor section, inflammatory cell infiltration in squamous epithelium and crust were observed. In the canine tooth section, inflammatory cells infiltrated in transitional epithelium and in the vomeronasal organ. In the premolar and molar sections, inflammatory cell infiltration was observed in respiratory and olfactory mucosa. Also, lymphoid follicular hyperplasia in the ethmoturbinates was observed. The incidence of inflammatory cell infiltration was the highest in the premolar section, and found mostly in the middle meatus. Although the states of tooth eruption were varied individually, the first incisor, canine tooth, fourth premolar and first molar were found present in all pigs. As these teeth were used as markers for sectioning, the same tissue sections could be examined among all individuals.

〈**Conclusion**〉 In the nasal cavity of MMPs, inflammatory cell infiltration in mucosa, crust and lymphoid follicular hyperplasia were observed. Similar to rodents and canine, MMPs were considered applicable for toxicological evaluation of the nasal cavity by the use of appropriate tissue sections.

P-22

Accumulation of pigmented macrophages associated with vascular lesions in the lung of cynomolgus monkeys

○Tetsuya Ide¹⁾, Yutaka Nakahara¹⁾, Hikaru Mitori¹⁾, Shunji Nakatsuji¹⁾, Yuji Oishi²⁾, Masahiro Matsumoto¹⁾

¹⁾Toxicologic Pathology, Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc., ²⁾Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.

〈**Background**〉 In cynomolgus monkeys, accumulation of macrophages containing yellow-brown pigments in the lung is known as one of naturally occurring lesions. However, the underlying mechanism of the lesion has not been clearly described. In the present report, we therefore tried to have a clue for its pathogenesis.

〈**Materials and Methods**〉 Tissue samples were collected from 44 necropsy cases (22 males and 22 females) used in toxicity studies during the last one year, fixed in 10% neutral buffered formalin, processed routinely, and the paraffin sections were used for histologic investigations.

〈**Results**〉 The aggregates of pigmented macrophages in the lung were observed in 4 out of 44 cases, which included 2 mild, 1 moderate and 1 marked case. The affected animals were around 5 years of age and consisted entirely of males. Pigmented macrophages accumulated commonly in the perivascular interstitium and occasionally in the alveoli. In moderate to marked cases, these macrophages accumulated around various sized vessels, and diffusely distributed in subpleural areas of the lung. In mild cases, they were localized in surrounding areas of small to medium sized vessels. All of the pigmented macrophages were stained positive for berlin blue, indicating hemosiderin phagocytized by the macrophages. Victoria blue staining revealed ruptures of internal and external elastic laminae in some of small to medium sized vessels, most of which were noted at the external ones. The tunica media of these vessels was occasionally injured. Histological evaluation of the affected animals demonstrated no involvement of other organs except for the hilar lymph nodes, which exhibited a few of pigmented macrophages.

〈**Conclusion**〉 These findings indicate that, in the lung of cynomolgus monkeys, accumulation of the hemosiderin-laden macrophages in the perivascular interstitium is due to extravasation of blood, which might be caused by ruptures of the vascular elastic lamina and injury of the tunica media.

P-23

The Relationship between Endothelin-1 expression and progression of Pulmonary Hypertension in Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension in Rats

○Katsuhiro Miyajima, Kaoru Toyoda, Kochi Kakimoto, Yuzo Yasui, Yusuke Kenmochi, Akiko Nakamura, Eriko Taniai, Hideaki Yokoyama, Katsunori Ryoike, Akemi Takahashi, Toshiyuki Shoda, Shoichiro Sugai
JAPAN TOBACCO INC. Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical Research Institute

〈**Background**〉 Endothelin-1 (ET-1) is a potent endothelial-derived vasoconstrictor peptide that plays multiple roles in cardiovascular physiology and has been reported to increase expression of ET-1 in vascular endothelial cells in patients with pulmonary hypertension.

〈**Aim**〉 To determine the role of the local production of ET-1 in the lungs and the relevance between ET-1 expression and the progression of pulmonary hypertension by using monocrotaline (MCT)-induced pulmonary hypertension in rats.

〈**Materials and Methods**〉 MCT was injected subcutaneously once to male SD rats (6 weeks of age, 12 animals per group) at dose levels of 0 and 60 mg/kg. The animals in the control group (0 mg/kg) were given the saline in the same manner as the treated animals. In 2 or 4 weeks after MCT dosing, six animals in each group were necropsied, the lungs were sampled and fixed. For histopathological observation in the lungs, specimens were stained with HE, Elastica van Gieson, Sirius Red and ET-1 immunohistochemistry. Serum ET-1 concentration was measured using the blood samples collected at necropsy.

〈**Results**〉 In the lungs in MCT-treated animals, thickening of the artery wall and pneumonia with fibrosis in the surrounding tissue of artery were observed and pulmonary lesions were severe in the 4-week treatment group when compared with the 2-week treatment group. In immunohistochemistry, ET-1 positive reaction was shown in the vascular smooth muscle cells, vascular endothelium and in some bronchial epithelial cells in both the treatment and the control groups. ET-1 positive reaction was also detected in pneumonia lesions in the MCT-treated groups. In the MCT-treated groups, plasma ET-1 concentration was significantly higher than those in the control group and was obvious in the 4-week treated group when compared with that of the 2-week treated group.

〈**Conclusion**〉 The expression of ET-1 was considered to be related to the progression of lung lesions in the MCT-induced pulmonary hypertension.

P-24

Malaria in Cynomolgus Monkeys Used in Toxicity Studies in Japan

○Etsuko Ohta¹⁾, Yuko Nagayama¹⁾, Akira Inomata¹⁾, Aya Goto¹⁾, Yuki Seki¹⁾, Yoshikazu Taketa¹⁾,
Kyoko Nakano-Ito¹⁾, Kazuhiro Hayakawa²⁾, Jiro Sonoda¹⁾, Satoru Hosokawa¹⁾, Kazuo Tsukidate¹⁾

¹⁾Tsukuba Drug Safety Eisai Co., Ltd., ²⁾Preclinical Safety Research Laboratories Sunplanet Co., Ltd.

〈**Introduction**〉 *Plasmodium spp.* protozoa cause malaria and are known to infect human and a variety of animal species including macaque monkeys. Recently malaria recrudescence in monkeys in toxicity studies conducted in United States has been reported. On the other hand, information about status of plasmodium infection in Japan is scant. We will report our experience with malaria recrudescence in cynomolgus monkeys in a toxicity study, and a result of survey on plasmodium infection in cynomolgus monkeys imported to Japan for laboratory use.

〈**Case Report**〉 A cynomolgus monkey derived from China assigned in the high dose group in a 13-week toxicity study was diagnosed as symptomatic malaria due to pale discoloration of visible mucosa, decreased activity and severe anemia (RBC: $0.89 \times 10^6 / \mu\text{L}$, Ht: 9%), leptocytes and plasmodium protozoa in erythrocytes in thin blood smear. At necropsy, the spleen and liver were dark in color and markedly enlarged. Histopathologically, congestion and accumulation of hemozoin in macrophages in the red pulp of the spleen and hemozoin in the Kupffer cells in the liver were observed.

〈**Infestation Status of Plasmodium**〉 The H&E stained spleen sections from 770 cynomolgus monkeys aged 2 to 6 years used in toxicity studies between 2003 and 2013 were examined under normal and polarized light for hemozoin deposition (malaria pigment) as a marker of infection. The origin of the animals included Cambodia, China, Indonesia, and Vietnam. Hemozoin deposition was confirmed in approx. 50% of all examined monkeys. Monkeys from Indonesia showed a higher incidence of hemozoin deposition (approx. 80%), than monkeys from Cambodia, China, Vietnam (approx. 40%).

〈**Conclusion**〉 Our survey has revealed a high incidence of plasmodium infection in imported monkeys recently used in Japan. It is important to be aware of the possible infection and recrudescence of plasmodium in imported laboratory monkeys used in Japan.

P-25

Histopathological Examination on Eosinophilic Substance in the Spleen of Rabbits

○Azusa Kobayashi, Kazufumi Kawasaki, Takafumi Oshikata, Koshirou Katoku, Mikio Mitsuishi, Takeshi Kanno, Masao Hamamura

Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation

〈**Background**〉 Deposition of eosinophilic substances in the spleen has been observed in normal rabbits. However, there are no detailed reports of this lesion in rabbits. Therefore, we examined the substances histopathologically and ultrastructurally to clarify their histological properties and incidence.

〈**Material and method**〉 Formalin-fixed and paraffin-embedded sections of the spleen of untreated 15 male and 15 female 5 to 6 month-old rabbits (Kbl:NZW) were stained with HE and special stain. Then, immunohistochemical staining was performed. Furthermore, the spleen was examined ultrastructurally with a transmission electron microscope.

〈**Result**〉 Deposition of eosinophilic substances was observed multifocally although they showed no consistent location pattern over the spleen. The substances were seen in 7 cases of male and all cases of female. Histologically, the eosinophilic amorphous substances were located between cells at the peripheral or center of the lymph follicle. Furthermore, the substances showed positive, negative, and negative reaction, dark blue and red with PAS, Congo red, PAM, PTAH and MT stain, respectively. Moreover, there was no apparent continuity with the argyrophilic fibers according to silver staining. Immunohistochemically, the substances were negative for anti-albumin and anti-IgG antibody. Ultrastructurally, the substances were observed as moderately electron-dense homogeneous materials although fibril structure was not evident.

〈**Discussion**〉 In this study, deposition of the eosinophilic substances in the lymph follicle of the spleen was spontaneously and frequently observed in normal rabbits. The substances are considered to be hyaline, because it showed a glassy appearance histologically, although it did not have distinctive stainability or ultrastructure like amyloid or fibrinoid. In addition, there was a sex difference in their incidence. Therefore, it could be any mechanism associated with the sex difference in pathogenesis of this lesion.

P-26

Acquisition of MYD88 L265P mutation during treatment of diffuse large B-cell lymphoma of parotid gland

○Koto Fujiishi, Yusa Nagai, Riko Kitazawa, Sohei Kitazawa

Department of Molecular Pathology, Ehime University Graduate School of Medicine

〈**Background**〉 Highly oncogenic MYD88 L265P mutation has been detected in certain subtypes of B-cell malignancies, and is regarded as one of the target genes of the early stages of oncogenesis.

〈**Aim**〉 We aimed to prove an acquisition of MYD88 L265P mutation as a late event contributing to phenotypic transformation to aggressive type of DLBCL at recurrence.

〈**Case**〉 A 68-year-old Japanese man had a gradually growing mass in the left side of the neck. Pathological analysis revealed primary malignant lymphoma in the parotid gland. Although the combined therapy was effective at first, the patient suffered from exacerbation of preexisting chronic hepatitis B during the last course of chemotherapy. Anti-hepatitis B viral therapy with lamivudine was administered for six months. After being clinically recurrence-free of malignant lymphoma for eight years, the patient again developed a mass in the left side of the neck. Three courses of chemotherapy were ineffective, however, and the patient died of multiple organ failure. Autopsy revealed aggressive DLBCL infiltrating virtually all the organs, especially the liver and the spleen.

〈**Results**〉 B-cell monoclonality of DLBCL at the parotid gland nine years earlier and at autopsy was verified by the same rearranged sequencing pattern as that at the hypervariable region of the immunoglobulin heavy chain. While no mutation was displayed from the initial biopsy, a typical L265P mutation by transition from thymine to cytosine was noted from samples taken at autopsy.

〈**Conclusion**〉 Consistent with this late molecular event during the remission stage, lymphoma cells acquired a highly aggressive phenotype. Because the thymidine analogue has a transitional mutagenic potential, lamivudine, a thymidine analogue used in the anti-hepatitis B viral therapy during the remission phase, might be related to the mutation induced by the transition of thymine to cytosine and may have caused a typical L265P mutation in this case.

P-27**A spontaneous atriocaval mesothelioma in a Sprague-Dawley rat**

○Ryuichi Nakamura, Shiori Takata, Tomonari Nishimura, Taehito Ochiai, Hiroyuki Ogasawara

Asubio Pharma Co., Ltd.

Occurrences of cardiac tumors are rare in rodent, and few primary cardiac mesotheliomas were reported. The present case report describes histological and immunohistochemical characters of a spontaneous atriocaval mesothelioma observed in a male Sprague-Dawley rat.

An intact 85 weeks old male Crl:CD(SD) rat was found dead and then necropsied. On the date of death, decreased spontaneous activity and hypothermia were observed in general sign, but no abnormal findings, including body weight change, were observed on the other day. A nodule in the right auricle observed in necropsy was stained by H&E, alcian blue (pH2.5)-PAS reaction, and immunohistochemically, and examined microscopically.

Pale pink nodule (1 x 1 x 1 cm) in right auricle, bloody pleural effusion, and reddish brown clear ascites were observed at necropsy. In histopathology, proliferating cells characteristically forming small or large size of ductal structures were observed in the nodule, and cardiac muscles disappeared due to these cells. The proliferating cells had oval nucleus with a clear nucleolus and scant chromatin, and cuboidal or columnar basophilic cytoplasm. Cell debris, erythrocyte and secretion stained reddish purple by alcian blue (pH2.5)-PAS reaction were observed in the lumen of duct. In immunohistochemistry, the proliferating cells were positive for cytokeratin, and negative for vimentin, desmin, S-100, CD34, and mesothelin. Necrosis and mitosis were frequently observed in the proliferating cell region, and the border of tumor and normal cardiac tissues was unclear. In addition, a large size of organized thrombus was observed in the inner cavity of right atrium adjacently tumor tissue.

In this case, the spontaneous tumor was characterized ductal structure, positive for cytokeratin and developed in right auricle, and the tumor was diagnosed as atriocaval mesothelioma. We will also report ultrastructural findings and immunohistochemical characters compared with common mesothelioma.

P-28**Pathological analysis for cardiotoxicity in colchicine-treated rats**○Ryota Tochinnai¹⁾, Katsuya Suzuki¹⁾, Yuriko Nagata¹⁾, Minoru Ando¹⁾, Chie Hata¹⁾, Tomo Suzuki¹⁾, Kazumi Uchida¹⁾, Shoichi Kado¹⁾, Kimiyuki Kaneko¹⁾, Masayoshi Kuwahara²⁾¹⁾Yakult central institute for microbiological research, Safety research department,²⁾Department of Comparative Pathophysiology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

The microtubule inhibitor colchicine (COL) may induce myocardial disorders and, in the heart, impulse formation and conduction abnormalities as toxic effects, though details are unclear. Herein, we analyzed COL-treated rats for cardiotoxicity via an electrocardiographic (ECG), histopathological, and blood-chemistry approach. A telemetry transmitter was implanted under the dorsal skin of 5-week-old male Crl:CD(SD) rats. After a 1-week recovery period, base-apex lead ECG tracings were obtained. During the measurement period, 1.25 mg/kg of COL was injected into the caudal vein once daily for 2 consecutive days and ECG waveform and heart rate variability were analyzed. Furthermore, 1.25 mg/kg of COL or 5% glucose solution was injected into the caudal vein of 6-week-old male Crl:CD(SD) rats once daily for 2 consecutive days. One day after final dosing, heart and blood samples were taken for histopathological and blood-chemistry examination. ECG analysis revealed prolonged RR intervals, QRS durations, PR intervals, and QT intervals. Heart rate variability analysis showed an increase in HF components as an index of parasympathetic nerve activity. Histopathologically, the COL group had eosinophilic granular degeneration and cytoplasmic vacuolation in myocardial cells. Interstitial cells, regarded as vascular endothelial cells had more cleaved caspase-3 positive cells and a microscopic appearance consistent with pyknosis, karyorrhexis, and mitosis. As to blood chemistry, this group showed high AST, LDH 1, LDH 2, CK-MB, cTnT, and low Ca. Findings with COL use in rats suggested morphological changes in impulse formation and conduction as well as changes in myocardial and interstitial cells. Parasympathetic hyperactivity likely contributed to RR and QT interval prolongation. Prolonged PR intervals, however, occurred before an increase in HF components, suggesting a contributory factor to atrioventricular conduction disorders other than the parasympathetic nervous system.

P-29

DNA methylation and protein expression in tumor suppressor genes of squamous cell carcinoma of the forestomach in alloxan-induced diabetic rats

○Yui Terayama, Tomoya Sano, Tetsuro Matsuura, Isao Narama, Kiyokazu Ozaki

Department of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University

〈**Background**〉 We reported that alloxan-induced diabetic rats have proliferative lesion of the squamous epithelia with chronic inflammation and *Candida albicans* infection in the forestomach, and that some lesions progressed to squamous cell carcinoma(SCC). In the present study, we investigated the DNA methylation and protein expression in tumor suppressor genes to examine the epigenetic change.

〈**Materials and Methods**〉 By laser capture microdissection, the sites of squamous cells in 1) normal, 2) hyperplasia, 3) hyperplasia adjacent to SCC and 4) SCC were dissected in the forestomach of alloxan-induced diabetic WBN/Kob rats. The DNA methylation and protein expression in 6 tumor suppressor genes were analyzed by methylation specific PCR and immunohistochemical stain.

〈**Result**〉 p16 methylation was 0% in normal and hyperplasia, 33% in hyperplasia adjacent to SCC, and 83% in SCC. Immunohistochemically, p16 protein was positive in the nucleus of basal cell, and the incidence and intensity were enhanced with the progression to SCC from hyperplasia. RAR- β 2 methylation was 0% in normal, 27% in hyperplasia and 83% in hyperplasia adjacent to SCC, but that dramatically reduced to 0% in SCC. RAR- β 2 protein was weakly positive in the nucleus and cytoplasm in normal, whereas the intensity in hyperplasia was increased in the nuclear membrane and perinuclear cytoplasm. In hyperplasia adjacent to SCC and SCC, the intensity was further increased in the nucleus, but was decreased in the cytoplasm.

〈**Conclusion**〉 Our results show that p16 protein was overexpressed, but DNA methylation was also increased in the carcinogenic process of SCC. RAR- β 2 methylation was increased during precancerous stage, but disappeared accompanying by the malignant transformation. The strongly immuno-positive area was also moved to the nucleus from the cytoplasm. These data suggest that hypermethylation of these 2 tumor suppressor genes may be unable to inhibit protein expression in SCC of our model.

P-30

Mouse Colon Cancer Model Using BP and DSS:Effect of duration of the interval between BP and DSS treatments on colorectal carcinogenesis

○Yuki Seki¹⁾, Jiro Sonoda¹⁾, Atsushi Hakura¹⁾, Naoki Koyama¹⁾, Aya Goto¹⁾, Yoshikazu Taketa¹⁾, Etsuko Ohta¹⁾,
Kyoko Nakano-Ito¹⁾, Akira Inomata¹⁾, Kazuhiro Hayakawa²⁾, Satoru Hosokawa¹⁾, Kazuo Tsukidate¹⁾

¹⁾Tsukuba Drug Safety Eisai Co., Ltd., ²⁾Preclinical Safety Research Laboratories Sunplanet Co., Ltd.

〈**Introduction**〉 We previously reported that the high incidence of tumor can be induced in mice by BP treatment followed by 1-week (W) off-dose period and subsequent 1W DSS treatment. In the present study, we examined the effect of different duration of the off-dose period between BP and DSS treatments (BP-DSS interval) on the colorectal carcinogenesis in the BP/DSS model.

〈**Material and Methods**〉 Male CD2F₁ mice at 6W of age were orally treated with BP at 125 mg/kg for 5 days followed by 1, 5, 11, 17W of interval prior to subsequent 1W treatment of 4% DSS in drinking water. Additional mice were treated with 5-day BP, 17W interval, and twice 1W treatment periods with 5% followed by 6% DSS with 4W of off-dose periods in between. Mice were necropsied at 4W after the final DSS treatment and the colon was histologically examined.

〈**Result and Conclusion**〉 In the mice treated with DSS after 1W of BP, a marked body weight (BW) loss and bloody stool, and high incidence of colonic adenoma (8/8) and adenocarcinoma (7/8) were observed. In mice with a longer BP-DSS interval, there were milder clinical sign, no adenocarcinoma, and lower incidence of adenoma (5W:6/8,11W:4/8,17W:4/8). In mice with 17 W interval and twice DSS treatment, a marked BW loss, bloody stool and higher incidence of adenoma (5/5) and adenocarcinoma (2/5) were observed.

Neoplastic lesions were confirmed even in the groups with extended BP-DSS intervals. Since it is known that BP induces high incidence of lasting mutations but not carcinogenesis in the colon, the colorectal carcinogenesis in this study was considered to be related to the persistent mutation induced by BP. There were decreases in the incidence of tumors and severity of clinical signs in the 5 to 17W BP-DSS interval groups, but not in the group treated twice DSS with a 17W interval. This appears to suggest that sensitivity to DSS decreases with age and that DSS-induced effects on the colon play a major role in carcinogenesis in BP/DSS model.

P-31

Modifying effect of alkannin in AOM-DSS-induced inflammation related mice colon carcinogenesis

○Shigeyuki Sugie, Takuji Tanaka

Dept. Pathol. Murakami Memorial Hosp. Asahi Univ. Sch. Dentistry

A naphthoquinone derivative, alkannin, isolated from the borage family *Alkanna tinctoria* that are found in the south of France is used as a Japanese/Chinese medicine and a natural colorant for food coloring and cosmetics. In Australia, it is used as a red-brown food additive. Alkannin is an antioxidant and has an antimicrobial effect. It is also known to have wound healing, antitumor, and antithrombotic properties. In this study, the modifying effects of alkannin on inflammation related colon carcinogenesis were investigated using an azoxymethane (AOM)/dextran sodium sulfate (DSS) model. Male CD-1 (ICR) mice initiated with a single intraperitoneal injection of AOM (10 mg/kg body weight) were promoted by the addition of 1.5% (w/v) DSS to their drinking water for 7 days. They were then given a basal diet containing 2 dose levels (50 and 5 ppm) of alkannin for 16 weeks. Incidence of colon adenoma, adenocarcinoma and total neoplasms were 60%, 28% and, 64% in AOM/DSS group, 30%, 40% and, 40% in AOM/DSS + 50% alkannin group, and 40%, 40% and, 40% in AOM/DSS + 5% alkannin group. Multiplicity of colon adenoma, adenocarcinoma and total tumors were reduced by 50 ppm and 5 ppm alkannin treatment. Our findings indicate that alkannin is able to inhibit colitis-related colon carcinogenesis.

P-32

Participation of NRF2 in KBrO₃-induced small intestinal carcinogenesis in mice

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

Divisions of pathology, National Institute of Health Sciences

⟨**Purpose**⟩ KBrO₃ increases 8-hydroxydeoxyguanosin (8-OHdG) levels in carcinogenic target organs. It has been suggested that oxidative DNA damage may participate in KBrO₃-induced carcinogenesis. In fact, lack of one of the genes encoding 8-OHdG repair enzymes led to MYH-deficient mice being susceptible to KBrO₃-induced small intestinal carcinogenicity. In the present study, participation of NRF2, a transcription factor for anti-oxidative enzymes, in KBrO₃-induced small intestinal carcinogenesis was investigated along with examination of the kidneys, a non-carcinogenic target organ.

⟨**Methods**⟩ Groups of 20 to 27 *Nrf2*-deficient mice (*Nrf2*^{-/-}) and wild type mice (wild) (6-week-old females) were treated with KBrO₃ at concentrations of 0, 750, or 1500 ppm in the drinking water for 13 and 52 weeks. At 13 weeks, 8-OHdG levels in small intestine and kidney tissues were measured by the HPLC-ECD method. At 52 weeks, histopathological examinations of the intestine and kidneys were conducted.

⟨**Results**⟩ The 8-OHdG levels in the kidneys increased in a dose-related manner in treated mice of both genotypes, with statistical significance at the 750 and 1500 ppm dosages in wild mice and at the 1500 ppm dosage in *Nrf2*^{-/-} mice. In *Nrf2*^{-/-} mice, mucosal dysplasia was found in 4 of 21 control animals; mucosal dysplasia and adenoma were found in 3 and 1 of 21 animals dosed at 750 ppm, respectively; and mucosal dysplasia, adenoma, and adenocarcinoma were found in 1, 3, and 1 of 23 animals dosed at 1500 ppm, respectively. The incidence of adenomas in treated animals increased significantly. No intestinal tumors were found in wild mice.

⟨**Discussion**⟩ The data suggest that NRF2 might exert a preventive effect toward KBrO₃-induced small intestinal carcinogenesis. Although the amount of oxidative DNA damage in the kidneys increased in a dose dependent manner, no renal cell tumors were found. Further discussion based on the results of 8-OHdG measurements in the small intestinal mucosa will be presented.

P-33

Effect of 20% caloric restriction on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in F344 and congenic F.Z-lepr^{fa/fa} rats

○Hitomi Umemoto, Keisuke Izumi

Dept. of Mol. and Environ. Pathol., Inst. of Health Biosciences, The Univ. of Tokushima Grad. Sch.

⟨**Aim**⟩ Obesity and diabetes mellitus are known as important risk factors for several cancers in humans. F.Z-lepr^{fa/fa} rat is a congenic strain that leptin receptor mutation derived from Zucker Fatty rat was introgressed into the F344 rat background by back-cross mating. We examined the effect of 20% caloric restriction (CR) on azoxymethane (AOM)-induced intestinal carcinogenesis in control and obese rats.

⟨**Materials and Methods**⟩ Six-week old male F344 (n=18) and F.Z-lepr^{fa/fa} rats (n=14) were given s.c. injections of 15 mg/kg AOM once weekly for 3 weeks, then given basal diet ad libitum or 20% CR diet until euthanization at 36 weeks old (experiment 1). Next, 15-week-old male F344 (n=9) and F.Z-lepr^{fa/fa} rats (n=6) were given basal diet ad libitum or 20% CR diet for 5 weeks and euthanized at 20 weeks old (experiment 2).

⟨**Results**⟩ The incidences of colon cancer in control and 20% CR F344 rats were 61% and 41%, respectively, and those in control and 20% CR F.Z-lepr^{fa/fa} rats were 86% and 71%, respectively, differences being not significant. However, the number of colonic tumors per rat was reduced significantly by 20% CR in F.Z-lepr^{fa/fa} rats (P<0.01), but not in F344 rats. Blood glucose, serum triglyceride and insulin levels were reduced by 20% CR particularly in F.Z-lepr^{fa/fa} rats. In contrast, total protein, albumin, free fatty acid, AST and ALT levels increased by 20% CR particularly in F.Z-lepr^{fa/fa} rats. Leptin levels were not changed by 20% CR in both strains. These tendencies were similar in experiment 2.

⟨**Conclusion**⟩ Present data suggest that inhibitory effect of 20% CR on intestinal carcinogenesis is more distinguished in obese F.Z-lepr^{fa/fa} rats than in non-obese F344 rats, and improvement of hyperglycemia, hyperinsulinemia and hyperlipidemia, but not hyperleptinemia, exert important role in the inhibition of AOM-induced colon carcinogenesis by 20% CR in F.Z-lepr^{fa/fa} rats.

P-34

Effects of dietary MTBITC on NMBA-induced esophageal carcinogenesis in rats

○Isamu Suzuki^{1,2)}, Young-Man Cho¹⁾, Takeshi Toyoda¹⁾, Jun-ichi Akagi¹⁾, Akiyoshi Nishikawa²⁾,
Kumiko Ogawa¹⁾

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

²⁾Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

⟨**Aim**⟩ It has been reported that some food constituents such as isothiocyanates included in cruciferous vegetables exert chemopreventive effects in rodent chemical carcinogenesis models. On the other hand, 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (MTBITC), a constituent extracted from daikon (Japanese white radish), highly consumed vegetable in Japan, has not been sufficiently investigated. The present experiment was performed to elucidate the effects of MTBITC on N-nitrosomethylbenzyl amine (NMBA)-induced esophageal carcinogenesis in rats.

⟨**Materials and Methods**⟩ Male 6-week-old F344 rats (15/group) were given NMBA (groups 1-4) as the initiation treatment, or vehicle (group 5) subcutaneously three times a week for five weeks at a dose of 0.5 mg/kg body weight dissolved in DMSO. For the initiation-stage treatment, from 1 week before NMBA-treatment, 80 ppm MTBITC-diet was given for 7 weeks, and then fed a basal diet (group 1). For the promotion-stage treatment, starting 1 week after the end of NMBA-treatment, 80 ppm MTBITC-diet was given for 19 weeks (group 2). For all stage treatment, 80 ppm MTBITC-diet was given throughout the examination (group 3). Animals in Groups 4 and 5 were fed a basal diet throughout the experiment with NMBA initiation or vehicle, respectively. Rats were sacrificed at experimental week 25. At the sacrifice, forestomach, tongue, liver and kidney were removed in addition to esophagus (target organ). The esophagus was opened longitudinally, and the lesions were mapped, counted, and sized.

⟨**Results**⟩ No obvious clinical signs and changes of food consumption and body weight occurred in any groups. The incidences of esophageal mass were 87% (group 1), 80% (group 2), 80% (group 3), 100% (group 4) and 0% (group 5). The multiplicity in group 1 (1.67 ± 0.98), group 2 (1.73 ± 1.10) and group 3 (2.07 ± 1.44) were significantly decreased compared to that of group 4 (4.53 ± 1.77), respectively. Further investigation will be performed for histopathological analysis.

P-35

Suppression of AOM + DSS-induced mouse colon tumorigenesis with coffee and its ingredients

○Tetsuya Tsukamoto¹⁾, Yuka Kiriya¹⁾, Takuji Tanaka²⁾

¹⁾Department of Diagnostic Pathology, Fujita Health University School of Medicine,

²⁾The Tohkai Cytopathology Institute, Cancer Research and Prevention

〈**Background**〉 Coffee drinking has been epidemiologically reported to have a preventive effect on human colorectal cancers. Thus, we investigated the suppressive effect of coffee and its major components on azoxymethane (AOM) + dextran sulfate sodium (DSS)-induced colon carcinogenesis.

〈**Materials and Methods**〉 C57BL/6J male mice were subjected to administration of AOM and 2% DSS, divided into the following groups: groups A (control), B (instant coffee), C (French press coffee), D (2,500 ppm chlorogenic acid), and group E (72 ppm cafestol), and sacrificed at 8 and 12 experimental weeks.

〈**Results**〉 At 8 week, number of tumors per animal was significantly decreased in all B-E groups ($P < 0.05$) compared with group A. A significant decrease in tumor volume was observed in group C ($P < 0.05$). The real-time RT-PCR of the colon mucosa revealed decreased mRNA level of TNF- α , COX2, iNOS, IL-17A, and FoxP3 in the group E ($P < 0.05$) and FoxP3 in the group C ($P < 0.05$) compared with group A. At week 12, significant difference shown above was not observed.

〈**Conclusion**〉 Cafestol and French press coffee could be effective for prevention of inflammation and early colorectal tumorigenesis by alteration of Th17 and Treg pathways.

P-36

KAD rats are susceptible to 4-NQO-induced tongue carcinogenesis

○Takuji Tanaka^{1,2)}, Shigeyuki Sugie³⁾, Toshiya Kuno⁴⁾

¹⁾Tohkai Cytopathol. Inst., ²⁾Dept. Tumor Pathol., Gifu Univ. Grad. Sch. Med.,

³⁾Dept. Pathology, Murakami Memorial Hosp., Asahi Univ., ⁴⁾Dept. Exp. Pathol. Tumor Biol., Nagoya City Univ., Sch. Med.

〈**BACKGROUND**〉 Despite the widening interest in the possible association between infection/inflammation and cancer development, our knowledge in relation to oral cancer remains inadequate. The Apc-mutant rats, Kyoto Apc Delta (KAD) rats, are susceptible to inflammation-associated colorectal carcinogenesis.

〈**AIM**〉 We studied the susceptibility of KAD rats to 4-NQO-induced tongue carcinogenesis to derive a better understanding on the role of inflammation in the etiology of oral cancer.

〈**METHODS**〉 KAD (14 males and 15 females) and F344 rats (14 males and 15 females) received 4-NQO (20 ppm in the drinking water) for 8 weeks and the drinking water without 4-NQO for subsequent 12 weeks. Histopathological and immunohistochemical analyses of the tongue were performed at week 20. Additionally, mRNA expression of inflammatory cytokines of tongue mucosa was determined.

〈**RESULTS**〉 Tongue squamous cell carcinoma (SCC) developed in the KAD and F344 rats that received 4-NQO, but not in those treated without 4-NQO. The incidence (multiplicity) of tongue cancer was as follows: 86% (1.93 \pm 0.92) in male KAD rats, 85% (2.69 \pm 1.49) in female KAD rats, 57% (1.07 \pm 1.21) in male F344 rats and 67% (1.33 \pm 1.29) in female F344 rats. Regardless gender, the incidence and multiplicity of tongue cancer in KAD rats were larger than that of F344. The multiplicity of tongue SCC in the female KAD rats was significantly greater than that of male KAD rats and female F344 rats. Inflammation and mRNA expression of the tongue mucosa of 4-NQO-treated female KAD rats were the highest among the rats given 4-NQO.

〈**CONCLUSION**〉 Our results showed that KAD rats, especially females, are susceptible to 4-NQO-induced tongue carcinogenesis. Thus, KAD rats are useful for investigating pathobiology of oral (tongue) carcinogenesis that is associated with inflammation. (Collaboration work with Dr. Takashi Kuramoto, Kyoto Univ.)

P-37

The relationship between salivary gland dysfunction and dental caries development in alloxan-induced diabetic rats

○Taiki Nishimoto¹, Yasushi Kodama¹, Tetsuro Matsuura², Kiyokazu Ozaki², Yoshihiko Taniguchi¹

¹Laboratory of Clinicopathological Therapeutics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima International University ,

²Department of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University

〈**BACKGROUND**〉 We have indicated that diabetes is an enhancing factor for dental caries. Dysfunctional salivary secretion epidemiologically is well-known cause of dental caries, however the relationship between them remains unknown in diabetic animals. The aim of this study was to clarify the effect of diabetes on salivary gland, and the relationship between the salivary secretion function and dental caries development using alloxan-induced diabetic rats.

〈**MATERIALS AND METHODS**〉 Male Wistar rats aged 7 weeks were divided into 3 groups; alloxan-treated diabetic rats (Alx-DM group), alloxan-treated non-diabetic rats (Alx-Non DM group), and saline-treated rats (Non DM group). The saliva volume was measured by stimulation of pilocarpine at 0, 1, 3, and 7 weeks after alloxan treatment. All rats were sacrificed at 14 weeks of age for histopathological examination of salivary gland and for evaluation of dental caries.

〈**RESULTS**〉 The average saliva volume at 7 weeks after alloxan treatment in the Alx-DM group (0.5 mL) was significantly decreased, compared with Alx-Non DM group (1.1 mL) and Non DM group (1.3 mL), and the difference is pronounced with time. In the histopathological analysis, vacuolization of acinar cells which stained positive for Oil red-O, was observed in the parotid gland (PG) and von Ebner's gland (VEG) of Alx-DM group (mean score; PG:3.2, VEG:3.9), and that was significantly increased compared with Alx-Non DM group (PG:0.8, VEG:0.8) and Non DM group (PG:0.8, VEG:0.8). Various degrees of caries were observed in all rats of Alx-DM group, but no dental caries was detected in the other groups.

〈**CONCLUSION**〉 Our results suggest that dental caries may result from dysfunctional salivary secretion accompanying the morphological change of salivary gland in alloxan-treated rats with long-term hyperglycemia.

P-38

Analysis of histogenesis of duodenal carcinomas induced in rats after treatment with azoxymethane

○Yoh Kikuchihara¹, Nobuhiko Onda², Mizuho Kato¹, Masayuki Kimura¹, Tomoaki Murakami³,
Kazuhiko Suzuki³, Toshinori Yoshida¹, Makoto Shibutani¹

¹Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol, ²Olympus corporation, ³Lab. Vet. Toxicol., Tokyo Univ. Agricul. Technol.

〈**Introduction**〉 It is known that treatment with azoxymethane (AOM) can induce small-bowel tumors as well as colorectal tumors in rats. In humans, small-bowel tumors are rare and their histogenesis is different among tumors at the papilla of Vater. In this study, we examined the histogenesis of AOM-induced duodenal tumors applying histochemical and immunohistochemical approaches.

〈**Methods**〉 Six-week-old 27 male F344 rats were treated with AOM, once a week for 3 weeks at 15 mg/kg body weight. Thirty to fifty weeks later, a total of 24 tumors developed in the duodenum (incidence : 55.6% ; multiplicity : 0.89) were subjected to analysis. For comparison, 10 colorectal tumors developed simultaneously in these animals were also examined.

〈**Result**〉 Histologically, all duodenal tumors were tubular type adenocarcinomas accompanying papillary growth in some part as well as goblet cell differentiation of variable degrees. Goblet cells in all duodenal tumors were positive for both PAS and alcian blue, similarly to all colorectal tumors examined. Immunohistochemically, All duodenal tumors were negative for cytokeratin (CK) 7 and mucin (MUC) 1 but positive for CK20. Twenty tumors were also positive for MUC2. All of 10 colorectal tumors were also negative for CK7 and MUC1 but positive for CK20. Eight of them were positive for MUC2. In addition, nuclear translocation of β -catenin was found in 17 duodenal tumors and 9 colorectal tumors.

〈**Discussion**〉 All duodenal tumors were negative for pancreaticobiliary epithelial markers (CK7 and MUC1) and positive for intestinal marker (CK20), and were mostly positive for MUC2, another intestinal marker, similarly to colorectal tumors. Moreover, histochemical character of mucus (PAS+)/alcian blue(+) and molecular character suggestive of acquisition of malignant phenotype (nuclear accumulation of β -catenin) were similar between duodenal and colorectal tumors. These results suggest that AOM-induced duodenal tumors were derived from colon epithelium.

P-39

Cystic Intestinal Duplications (Enterocysts) in Three Young Rats

○Yoshihide Ueda, Masaru Tsuboi, Mai Kubota, Yasufumi Ota, Shigeaki Takami, Masayo Hosoi, Rumiko Miyajima, Kazushige Hasegawa, Atsushi Shiga, Isao Narama

Public Interest Incorporated Foundation BioSafety Research Center (BSRC)

Spontaneous and congenital anomalies in the intestine are extremely rare in rodent used in routine toxicological or reproductive studies. We recently encountered three cases of cystic intestinal duplications (enterocysts) in young male rats of Sprague-Dawley (SD), Wistar, and Fischer 344 (F344) strains. In the present study, detailed histopathological characteristics of these cases were examined.

All the cysts were found in the mesenterium near the middle part of the small intestine, and the color was brownish or grayish white. The cyst from the Wistar rat was covered by white and multilocular lumps.

In all three cases, the cyst wall consisted of mucosal epithelium and thick circular layer of the smooth muscle bundle similar to intestinal tract. The lumen of the cysts was filled with mucous-like substance and cell debris. In the SD and Wistar rats, the outermost part of the cysts had contact with adjacent small intestine and was connected by a few longitudinal muscle fibers. The corresponding part of the F344's cyst was completely separated from the intestinal tissue. The lumps around the cyst of the Wistar rat were filled by mucous-like substance together with calcium deposition, and were surrounded by the fibrous capsule or necrotized smooth muscle bundles without mucosal epithelium.

From these characteristics, all the cysts were diagnosed as cystic intestinal duplication. As far as we know, these are the first report of the cystic intestinal duplication in rodent.

P-40

Detecting and Quantifying Liver Pathologies Using Compact, High-Resolution 3D MRI-Based Histology

○Yael S Schiffenbauer¹⁾, Catherine Tempel Brami¹⁾, Rinat Abramovitch²⁾, Tali Lanton²⁾, Jonathan H Axelrod²⁾, Eitan Galun²⁾, Abraham Nyska³⁾, Robert Maronpot⁴⁾

¹⁾Aspect Imaging, Israel, ²⁾Hadassah Hebrew University Medical Center, Ein Karem, Jerusalem, Israel,

³⁾Consultant in Toxicologic Pathology, Timrat, & Tel Aviv University, Israel,

⁴⁾Maronpot Consulting, LLC, Raleigh, NC, USA

MRI is widely used in pre-clinical research and provides a powerful method for *in vivo* assessment of phenotypes in small animal models of disease. MR Histology (MRH) of fixed tissue is gaining recognition as a technique to provide complimentary information to conventional histology, as numerous digital slices from any plane can be acquired in the intact sample, allowing specimens to be then sectioned for conventional histology.

The purpose of this study was to investigate the capabilities of a new compact, high-performance MRI platform (M2, Aspect Imaging) in detecting and quantifying liver pathologies manifested in *mdr2*(-/-) mice. These mice are unable to secrete phospholipids into bile causing chronic hepatic inflammation leading to the development of pre-neoplastic lesions which progress thereafter to hepatocellular carcinomas (HCC).

Mdr2 (-/-) mice were anesthetized and placed on the M2 MRI scanner equipped with a specially designed heated bed. Physiological parameters were monitored throughout the scan in order to assure animal wellbeing. Focal liver lesions were detected *in vivo* in all mice. Livers were then extracted and fixed and high-resolution *ex-vivo* MRH of the fixed organs was performed on the same compact MRI platform. Different types of focal lesions were detected and characterized by MRH and then confirmed by H&E histology as focal fatty changes (n=3) and cystic HCC (n=3).

We have demonstrated the utility of compact, high-performance MRI and 3D MR-based histology as valuable tools to complement conventional toxicological studies. MRH allows for rapid non-invasive acquisition of 3D data of the entire target organ, leading to a more comprehensive assessment of the toxicological effects and its extent.

While *in vivo* MRI can provide an invaluable tool for detection of onset and progression of disease by non-invasively imaging the same animals over time, non-destructive *ex vivo* MRH provides high throughput and high-resolution 3D digital data sets of intact organs, with exquisite morphological and quantitative information. With a high degree of correlation to conventional H&E, 3D MR-based histology can provide both additional insights into disease pathology as well as directing conventional histology to ensure key targets are fully assessed, considered and quantitated in toxicological work-ups.

P-41

LC-MS/MS and *in vitro* functional analyses of potential molecular candidates as cancer biomarkers and novel molecular targets in hepatocarcinogenesis

○Anna Kakehashi, Naomi Ishii, Masaki Fujioka, Min Wei, Hideki Wanibuchi

Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

To search for reliable biomarkers of preneoplastic lesions arising early in mouse hepatocarcinogenesis and its mechanisms, the proteomes of microdissected carcinomas (HCCs) and normal-appearing liver of C57Bl/6J and B6C3F1 mice initiated with diethylnitrosamine (DEN) were analysed using coupled iTRAQ technology with QSTAR Elite LC-MS/MS and immunohistochemistry. Proteins displaying significant quantitative changes comparing with adjacent normal-appearing liver tissue identified in HCCs were related to transcription, protein folding, cytoskeleton filaments reorganization, cell cycle control, NRF2-mediated oxidative stress responses, lipid metabolism, and signal transduction. Furthermore, Ingenuity Pathway analysis revealed that expression changes of genes encoding proteins with altered expression detected in HCCs are likely to be controlled by *c-myc*, NFE2L2 (NRF2), and HNF-4 transcriptional factors. Knockdown of CNPY2 and CACHD1 in HepG2 and Huh7 cell lines significantly inhibited cell proliferation *in vitro* with more pronounced difference observed for CACHD1. Results of LC-MS/MS and prediction of altered up-stream regulators in knockdown cell lines by IPA have shown that knockdown of CACHD1 and CNPY2 resulted in decrease of expression of proteins downstream of NFE2L2, HNF1A, FOXA2, CEBPA and SP1 transcriptional factors and predicted activation of transforming growth factor beta. Furthermore, knockdown of CACHD1 caused inhibition of downstream of *c-myc* and *N-myc* oncogenes. Newly discovered coordinated overexpression of canopy 2 homolog (CNPY2), cache domain containing 1 (CACHD1), observed in the cytoplasm of the mice preneoplastic lesions, hepatocellular adenomas and carcinomas, during initiation and/or promotion stages of mice hepatocarcinogenesis, might be responsible for the neoplastic transformation of mouse liver preneoplastic lesions into tumors and imply that they might play important role in the onset of liver cancer.

P-42

Specificity Assessment of Aberrant Cell Cycle Regulation at the Initial Phase of Carcinogen Treatment Showing High Cell Proliferation Activity in Rats

○Masayuki Kimura^{1,2)}, Reiko Morita^{1,2)}, Hajime Abe^{1,2)}, Takeshi Tanaka^{1,2)}, Tomoaki Murakami³⁾, Kazuhiko Suzuki³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾

¹⁾Lab. Vet. Pathol., Tokyo Univ. Agricul. Technol., ²⁾Pathogen. Vet. Sci., United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.,

³⁾Lab. Vet. Toxicol., Tokyo Univ. Agricul. Technol.

⟨**Background**⟩ We have previously reported that carcinogens inducing high proliferation activity after 28-day treatment in rats increased cells expressing cell cycle-related molecules, especially of G₂/M phase, and facilitated apoptosis. Carcinogen-treatment also induced aberrant expression of Ubiquitin D (Ubd), a M-phase progression-related molecule, from G₂ phase, suggestive of cell cycle aberration at the G₂/M transition.

⟨**Aim**⟩ We examined specificity of cell cycle aberration of target cells induced by carcinogen-treatment in relation with induction of cell proliferation by analysis at the short time point after partial hepatectomy (PH), or treatment with non-carcinogenic hepatotoxicants or hepatocarcinogens.

⟨**Materials and Methods**⟩ F344 rats were divided into groups of untreated controls, PH, hepatocarcinogen-treatment (thioacetamide (TAA) and methyleugenol), and non-carcinogenic hepatotoxicant-treatment (*a* -naphtyl isothiocyanate (ANIT), acetaminophen and promethazine hydrochloride). Liver tissues were immunohistochemically examined at days 3 and 7 after the start of treatment.

⟨**Results**⟩ At day 3, PH, TAA and ANIT increased cells positive for Ki-67, a cell proliferation marker, p-Histone H3, a M phase molecule, TopoII *α*, a molecule acting at G₂/M phase, and Ubd. TAA and ANIT also increased the Ubd⁺ cells within TopoII *α*⁺ population cells and PH decreased the Ubd⁺ cells within p-Histone H3⁺ population cells as compared with untreated controls.

⟨**Discussion**⟩ The present study revealed that expression of G₂/M phase molecules was increased in relation with cell proliferation activity at the initial phase of treatment, irrespective of carcinogenic potential. It was also suggested that induction of aberrant expression of Ubd at G₂ phase occurs in relation with high proliferation activity at the initial phase of chemical treatment, irrespective of carcinogenic potential. This phenomenon does not occur during the cell regeneration after PH.

P-43

Characterization of Green Tea Extract-induced Hepatotoxicity in Rats

○Yuko Emoto¹⁾, Katsuhiko Yoshizawa¹⁾, Yuichi Kinoshita¹⁾, Takashi Yuri¹⁾, Yutaka Yoshikawa²⁾, Kazutoshi Sayama³⁾, Airo Tsubura¹⁾

¹⁾Pathology II, Kansai Medical University, ²⁾Kobe Women's University, ³⁾Faculty of Agriculture, Shizuoka University

Green tea is considered a healthy beverage which contains many ingredients. Important biological properties have been linked to green tea such as antioxidant and cancer protection. Hepatotoxicity associated with the consumption of green tea preparations has been reported. Here we will report the characterization and mechanism of hepatotoxicity in rats.

〈**Materials and Methods**〉 6-week-old male and female IGS rats received a single-intraperitoneal injection of 200 mg/kg green tea extract (THEA-FLAN 90S; GTE). At 8, 24 and 72 hrs, 7 days and 1 month after exposure, the rats were necropsied and liver damages were confirmed using blood-chemistry, histopathology, immunohistochemistry to detect cell death (TUNEL and caspase-3) and to detect proliferative activity (PCNA). Analyses of malondialdehyde (MDA) in serum and liver, and MDA and thymidine glycol (TG) immunohistochemistry, as oxidative stress markers, were done. To confirm the age difference of toxicity, 18-week-old female rats were once exposed to 200 mg/kg GTE.

〈**Results**〉 In 6-week-old rats, 12 % of males and 50 % of females died within 72 hrs. In 18-week-old rats, 88 % died. Blood-chemistry revealed increased levels of AST, ALT, and T-BIL in both genders from 8 hrs. Histopathologically, single-cell necrosis with positive trends of TUNEL and caspase-3 were seen in perilobular hepatocytes from 8 hrs, and thereafter in all area of hepatocytes. Nuclear hypertrophy and mitoses of hepatocytes, bile duct hyperplasia, and disarray of lobular structure were also seen. PCNA-positive hepatocytes increased at 48 hrs, suggesting high proliferative activity. MDA levels in serum and liver showed the trend of increase at 8 and/or 24 hrs, and MDA- and TG-positive hepatocytes were detected immunohistochemically at 48 hrs.

〈**Discussion**〉 A single intraperitoneal injection of GTE induced sudden and severe hepatotoxicity in rats. The changes might be associated to the lipid and DNA oxidative stress in hepatocytes.

P-44

Analysis of Calpain1 and Calpastatin expression in the liver of mice fed high fat diet after thioacetamide administration

○Makoto Shirai, Toshihiko Makino, Kiyonori Kai, Munehiro Teranishi

Medicinal Safety Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

〈**Background**〉 We previously reported that the mice fed a high fat diet (HFD) showed lessen hepatocellular necrosis after hepatotoxicant thioacetamide (TA) administration. To clarify the mechanism of this lessen hepatocellular necrosis, we investigated the expression of Calpain1, which is reported to relate to necrosis, by immunohistochemistry.

〈**Methods**〉 Three-week-old C57BL/6J male mice were obtained, and they were fed a high fat diet or normal rodent diet (ND) for 8 weeks. After feeding, TA was administrated to the mice. All of the mice were autopsied at 3, 8, 24, 48, 72 or 96 hours after TA administration, and histopathology and immunohistochemistry for Calpain1 and Calpastatin, which is an inhibitor of Calpain, were performed.

〈**Results**〉 Centrilobular hepatocellular necrosis was observed both in ND and HFD mice at 8 to 96 hours after TA administration, and the severity of the necrosis was significantly less in HFD mice. By immunohistochemistry, in the vehicle treated group, the nuclei of hepatocytes were positive for Calpain1, and the nuclei and cytoplasm of hepatocytes were negative for Calpastatin both in ND mice and HFD mice. In ND mice, the staining pattern of Calpain1 and Calpastatin did not change after TA administration. On the other hand, the nuclei of hepatocytes in periportal area in HFD mice turned to be negative for Calpain1 at 8 hours after TA administration. At 24 hours after TA administration, the nuclei of almost all of the hepatocytes in the liver of HFD mice showed negative for Calpain1. As for Calpastatin, the nuclei of almost all of the hepatocytes in HFD mice became positive at 24 hours after TA administration.

〈**Discussion**〉 In previous reports, it was showed that TA- or carbon tetrachloride-induced hepatocellular necrosis was lessen with calpain inhibitor treatment. Therefore, there is a possibility that decreased Calpain1 expression and increased Calpastatin expression were involved in the lessen TA-induced hepatocellular necrosis in HFD mice.

P-45

Involvement of CAR in Liver Hypertrophy Induced by Ginkgo Biloba Extract

○Jun Maeda¹⁾, Kaoru Inoue¹⁾, Ryohei Ichimura¹⁾, Tomomi Morikawa¹⁾, Yuko Ogawa²⁾, Yukio Kodama³⁾, Midori Yoshida¹⁾

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

²⁾Laboratory of Comparative Toxicology, School of Veterinary Medicine, Azabu University,

³⁾Division of Toxicology, National Institute of Health Sciences

⟨**Aim**⟩ Ginkgo biloba extract (GBE) has been used as an herbal supplement. A recent National Toxicology Program (NTP) study of GBE (TR578) reported clear evidence of liver hypertrophy and hepatocarcinogenicity in mice. Although the NTP study indicated concerns of genotoxicity, we recently reported that GBE was not genotoxic *in vivo* (42nd Annual Meeting of JEMS). To understand the mode of action for GBE induced liver hypertrophy, we investigated constitutive androstane receptor (CAR) involvement in liver hypertrophy and cell proliferation using wild-type and CAR knockout (CARKO) mice.

⟨**Materials and Methods**⟩ GBE was administered in dietary doses of 0, 100, 1,000 and 10,000 ppm (wild-type: 0, 18, 173, and 1489 mg/kg/day, CARKO: 0, 18, 175, and 1657 mg/kg/day) to 7-week-old C3H (wild-type) and CARKO male mice for 28 days. Effects of GBE on liver weight, histopathology, and mRNA of cytochrome P450s in the liver were analyzed. In addition, PCNA-positive hepatocytes were measured in this study and genetic toxicology study in which GBE administered for 3 days at doses of 0, 500, 1000 and 2000 mg/kg by gavage.

⟨**Results**⟩ The 28 day treatment of wild-type mice at the middle and highest doses resulted in increased relative liver weight accompanied by centrilobular hypertrophy of hepatocytes. Furthermore, *Cyp2b10* expression showed a marked and dose-dependent increase at all doses. In CARKO mice, only the highest dose induced the same alterations as seen with wild-type mice, but their severities were slight. In wild-type mice, the percentage of PCNA positive hepatocytes increased after treatment for 3 days, but returned to control levels after treatment for 28 days. In CARKO mice, no significant hepatocyte proliferation was observed for either dosing period.

⟨**Conclusion**⟩ These results indicate that GBE induces CAR-mediated liver hypertrophy and initial transient hepatocyte proliferation in mice.

P-46

Mitochondrial function contributes to the coumarin-induced hepatocellular damage of rat

○Yasuhiro Tanaka^{1,2)}, Wataru Fujii¹⁾, Yoshinori Kitagawa¹⁾, Kiyokazu Ozaki²⁾

¹⁾Suntory Business Expert Limited, ²⁾Department of Pathology, Setsunan University

⟨**Background**⟩ Coumarin (CM) which is aromatic compounds is known as a flavor component of cinnamon. CM induces serious liver injury of rats, but had no toxicity in human, because of the species difference of metabolism. However, metabolic species difference and mechanism of cell death are poorly understood. Recently, health hazard with suspected CM-induced liver injury was reported, and CM has the potential to induce liver injury in human. Mitochondrial (Mt) dysfunction is related to drug-induced liver injury, and causality of the idiosyncratic liver injury is suggested. Therefore, we evaluated the relationship of CM-induced liver injury and Mt function using the rat liver injury model.

⟨**Method**⟩ CM was administrated orally 1 or 4 times, and the animals were sacrificed 4 or 24 hours after final dosing. Measurement of the liver enzymes and the histopathological examination were performed. In addition, using isolated Mt, the aconitase activity and the oxygen consumption were measured.

⟨**Result**⟩ In CM-treated groups, the liver enzymes increased significantly at all period. At 4 hours after a single dosing, the aconitase activity decreased, and the centrilobular hepatocytes were hypertrophy with eosinophilic granular cytoplasm. At after 24 hours, the Mt oxygen consumption decreased, and the centrilobular hepatocellular necrosis with inflammatory change was observed. At 4-time dosing, the centrilobular hepatocytes were only slight degeneration. Prohibitin, mitochondrial marker, was strongly immuno-positive in granules of the centrilobular hepatocyte. So, eosinophilic granule of centrilobular hepatocyte was consistent with mitochondria. The immunohistochemical expression of CYP1A1/2 and 2E1 which were related to metabolize CM, has also been analyzed. In conclusion, it is suggested that Mt is the early target to the CM-induced liver injury of rat.

P-47

Involvement of CAR in the process of hepatocellular hypertrophy and hepatocarcinogenesis of PPAR alpha activators in mice

○Kaoru Inoue¹⁾, Daisetsu Suzuki¹⁾, Yuko Ogawa²⁾, Jun Maeda¹⁾, Ryohei Ichimura¹⁾, Miwa Takahashi¹⁾, Yukio Kodama³⁾, Midori Yoshida¹⁾

¹⁾Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²⁾Laboratory of Comparative Toxicology, Azabu University,

³⁾Division of Toxicology, National Institute of Health Sciences

〈**Background**〉 Fibrates are known as antihyperlipidemic agents and PPAR alpha activators, and they induce hepatocellular hypertrophy with eosinophilic granular change and liver tumor. Recent studies reported that fibrates can activate not only PPAR but also CAR.

〈**Aim**〉 To clarify the involvement of CAR in the process of hepatocellular hypertrophy and hepatocarcinogenesis induced by fibrates using CAR knockout (KO) mice.

〈**Materials & Methods**〉 To examine the CAR involvement in hepatocellular hypertrophy, 6-week-old male C3H (Wild) and CARKO mice were treated with 2,000 ppm clofibrate (Clo), 2,400 ppm fenofibrate (Feno) or 5,000 ppm bezafibrate (Beza) by feeding for four weeks. In addition, to examine the CAR involvement in hepatocarcinogenesis process, 6-week-old male C3H (Wild) and CARKO mice were treated with these fibrates at the same doses as 4-week treatment for 27 weeks after diethylnitrosamine initiation.

〈**Results**〉 In the 4-week treatment, centrilobular or diffuse eosinophilic hepatocellular hypertrophy was induced with Clo or Feno and Beza, respectively, in wild mice. In CARKO mice, Feno and Beza induced the diffuse hypertrophy at the same level as wild mice, while Clo did not induce hepatocellular hypertrophy. In the 27-week treatment, analysis using 15 animals per a group revealed that numbers of basophilic altered focus and adenoma of hepatocytes increased in wild mice treated with each fibrate, compared with controls. On the other hand, basophilic altered focus and adenoma decreased in CARKO mice treated with each fibrate, compared with each corresponding wild group. Eosinophilic altered focus and/or adenoma also increased with each fibrate in wild mice but CARKO did not affect their increases.

〈**Conclusion**〉 Mouse CAR involves in hepatocellular hypertrophy by Clo. CAR also plays an important role to induce basophilic altered focus and adenoma by three PPAR alpha activators.

P-48

Hepatotoxicity and metabolism of 1,2-dichloropropane in male Syrian

○Min Gi, Shotaro Yamano, Masaki Fujioka, Anna Kakehashi, Eri Shimomura, Masayui Kanki, Hideki Wanibuchi
Dept. Pathol., Osaka City Univ. Grad. Sch. Med.

〈**Background**〉 A recent epidemiological study indicated that occupational exposure to 1,2-dichloropropane (DCP) might be associated with increased risk of cholangiocarcinoma. DCP is not carcinogenic to biliary tract in mice and rats, but its toxic and carcinogenic effects have not yet been investigated in hamster, which is used as an experimental model for cholangiocarcinoma.

〈**Aim**〉 To determine the hepatobiliary toxicity and metabolism of DCP in male Syrian hamsters.

〈**Methodology and results**〉 In the 3-day experiment, hamsters were administered DCP in corn oil by gavage once daily for 3 consecutive days. As one hamster died after receiving the first dose of 500 mg/kg DCP, the remaining animals were treated with 1,2-DCP at dose of 250 mg/kg at days 2 and 3. Histopathologically, massive centrilobular hepatocyte necrosis was observed in all hamsters administered DCP. However, no toxic change was observed in bile duct epithelium. In the 4-week experiment, one hamster treated with 125 mg/kg DCP died at week 1 and three hamsters treated with 250 mg/kg DCP died at weeks 1, 3 and 4, respectively. Diffused cytoplasmic vacuolation of hepatocyte was noted in all hamsters treated with 125 mg/kg and 250 mg/kg DCP, while not alteration was observed in the biliary epithelium in hamsters treated with DCP compared to the controls. Immunohistochemistry analyses revealed that CYP2E1 and glutathione S transferase T1 (GSTT1) staining were localized in the cytoplasm of centrilobular hepatocytes. Expression of CYP2E1 was markedly increased in the hamsters treated with 250 mg/kg DCP compared to controls. On contrast, GSTT1 was markedly decreased in hamsters treated with 125 mg/kg or 250 mg/kg DCP. Furthermore, bile duct epithelial cells were negative for CYP2E1 and GSTT1 regardless of DCP treatment.

〈**Conclusion**〉 DCP exerts toxicity to hepatocytes but not biliary epithelial cells in hamsters. Altered expression of CYP2E1 and GSTT1 may be involved in the mechanism of DCP-induced hepatotoxicity.

P-49

A 90-Day Repeated Oral Dose Toxicity Study of Piperonyl Butoxide in F344 Rats

○Aki Kijima, Yuji Ishii, Shinji Takasu, Kouhei Matsushita, Ken Kuroda, Yuh Yokoo, Takashi Umemura, Kumiko Ogawa

Division of Pathology, NIHS

〈**Background**〉 The use of piperonyl butoxide (PBO), an insecticide synergist, is prohibited as an agrichemical; however, PBO is still approved as a designated additive for use as an insecticide with cereal grains. Until now, there have been no safety evaluations reported for PBO as a food additive. In the present study, we performed a 90-day repeated oral dose toxicity study of PBO graded as a designated additive in F344 rats.

〈**Methods**〉 Groups of 10 male and 10 female rats were administered 0, 0.03, 0.1 and 0.3% PBO in the basal diet for 90 days. The general physical condition and clinical parameters of the animals were examined once a day. Body weight and food consumption were measured once a week. At necropsy, animal blood samples were obtained via the abdominal aorta under isoflurane anesthesia for hematological and serum biochemical examinations. Major organs were weighed and then fixed in 10% buffered formalin for histopathological examination.

〈**Results and discussion**〉 In all PBO-treated groups, there were no differences in body weight and food consumption compared with the control group. Among the organ weights, the liver weight significantly increased in a dose-dependent manner from the 0.1% group for both males and females. Histopathologically, peripheral hepatocellular hypertrophy was observed in the 0.3% group. An increase in γ -GTP was observed in males dosed at 0.3% and in females dosed at 0.1% and higher, but there were no changes in other parameters to indicate liver dysfunction. Based on the overall results, the no-observed-adverse-effect-level (NOAEL) of PBO in this study was determined to be 0.03% in both male and female rats (male: 18.0 mg/kg bw/day, female: 20.1 mg/kg bw/day). In addition, the hepatocellular hypertrophy observed in this study may be due to induction of drug-metabolizing enzymes, such as CYP1A1/2 and CYP2B1, and immunohistochemical staining data for these enzymes will be presented.

P-50

Granulomatous Nephritis Consistent with Malakoplakia in a Cynomolgus Monkey

○Yoshikazu Taketa¹, Akira Inomata¹, Jiro Sonoda¹, Kazuhiro Hayakawa², Kyoko Nakano-Ito¹, Etsuko Ohta¹, Yuki Seki¹, Aya Goto¹, Satoru Hosokawa¹

¹Tsukuba Drug Safety, Eisai Co., Ltd., ²Preclinical Safety Research Laboratories, Sunplanet Co., Ltd.

〈**Background**〉 Malakoplakia is a rare form of chronic granulomatous inflammation in mammals, and commonly affects the urinary tract in humans. Histologically, the lesion is characterized by a diffuse sheet of histiocytic cells, known as von Hansemann cells, which are filled with periodic acid Schiff (PAS)-positive small granules. PAS-, calcium-, and iron-positive laminated bodies known as Michaelis-Gutmann (MG) bodies are found within and between histiocytes. We report a case of monkey which was considered to be malakoplakia.

〈**Case Report**〉 A 4-year-old male cynomolgus monkey in a 13-week toxicity study was discovered upon gross examination to have the kidney markedly enlarged and adhered to the surrounding organs. Histology showed diffuse interstitial infiltration of histiocytes with abundant foamy eosinophilic cytoplasm resembling von Hansemann cells, PAS-positive granular cytoplasm and occasional PAS- and iron-positive intracellular small inclusion bodies. Immunohistochemically, these cells were positive for macrophage markers CD204 and Iba1. Electron microscopy showed that, although no obvious MG bodies, these histiocytes contained abundant lysosomes and phagolysosomes.

〈**Diagnosis and Discussion**〉 A diagnosis of granulomatous nephritis consistent with malakoplakia was made. Although the present case did not have typical MG bodies with calcium deposits, the extensive infiltration of interstitial macrophages containing PAS- and iron-positive intracytoplasmic inclusion bodies consistent with von Hansemann cells supports diagnosis of malakoplakia. To our knowledge, this is the first report of malakoplakia in a monkey.

P-51

Histopathological examination of early change of liver proliferative lesions induced by tocotrienol in rats

○Kenichiro Kasahara¹⁾, Ryo Ando¹⁾, Toru Hoshiya¹⁾, Kazutoshi Tamura¹⁾, Kumiko Ogawa²⁾, Akiyoshi Nishikawa²⁾

¹⁾BoZo Research Center Inc., ²⁾National Institute of Health Science

⟨**Aim**⟩ Tocotrienol (TT) has antioxidant properties and is used as a food additive and health supplement. It was recently reported that a long-term exposure to TT in rats induced liver lesions such as nodular hepatocellular hyperplasia and spongiosis hepatitis in the 52-week study, nodular hepatocellular hyperplasia, hepatocellular adenoma, spongiosis hepatitis and angiectasis in the 104-week study, although the 13-week study showed only hepatocellular hypertrophy. To explore early changes of nodular hepatocellular hyperplasia observed in the long-term study, the liver of the 13-week study was histopathologically reviewed.

⟨**Material and methods**⟩ Groups of 10 rats of each sex were fed CRF-1 powder diet containing 0, 0.19, 0.75 and 3 % tocotrienol preparation ad libitum for 13 weeks. Histopathological examination for the liver stained with hematoxylin and eosin was carried out in all groups for both sexes.

⟨**Results**⟩ Focal hyperplasia of hepatocytes was observed in 4 males and 6 females in the 3 % group. The hepatocytes consisting hyperplasia were slightly larger than normal hepatocytes and hepatic cords were partly distorted. The lesions minimally compressed adjacent hepatic parenchyma. Although minimal to mild hypertrophy of hepatocytes was additionally observed in both sexes, neither spongiosis hepatitis nor angiectasis was observed in any animals.

⟨**Conclusion**⟩ The focal hyperplasia of hepatocytes observed in the present study was considered to be an early change of the nodular hepatocellular hyperplasia induced by TT in the long-term studies. The present examination revealed that TT can cause proliferative lesions earlier than 13 week treatment. In this meeting, the morphology and immunohistochemistry for GST-P and PCNA of focal hyperplasia of hepatocytes found in the 13-week study will be characterized in comparison with nodular hepatocellular hyperplasia detected in the 52-week study and spontaneous non-regenerative hepatocellular hyperplasia in a long-term study in rats.

P-52

Macrophage depletion delays hepatic fibrosis induced in rats by thioacetamide (TAA)

○Hossain M Golbar, Alexandra Bondoc, Kavindra Wijesundera, Anusha Tennakoon, Chisa Katou-Ichikawa, Miyuu Tanaka, Takeshi Izawa, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Osaka Prefecture university, Veterinary Pathology

Factors produced by macrophages are crucial for the induction of myofibroblasts (MFs) in fibrosis. To clarify the roles of macrophages, we investigated their properties in hepatic fibrosis induced in male F344 rats by TAA injection (300 mg/kg BW, i.p., once) one day after macrophage depletion treatment by clodronate (CLD; i.v., once). Hepatic injury/fibrosis developed in centrilobular areas in CLD-untreated controls with a peak on days 2-3, consisting of MFs immunoreactive for vimentin, desmin and α -smooth muscle actin (α -SMA), and the lesions then recovered until day 7. In CLD-treated rats, macrophages reacting to Iba-1 (chemotaxis), CD68 (phagocytosis), CD163 (pro-inflammatory cytokine production), MHC II (antigen presentation), Galectin-3 (MF activation) and CD204 (scavenger receptor A) significantly decreased almost throughout the experimental period, and appearance of MFs delayed. Interestingly, dystrophic calcification occurred in injured hepatocytes in CLD-treated rats. These findings suggest that depletion of macrophages (mainly, Kupffer cells) delays hepatic fibrosis, and results in altered debridement. Macrophage-producing factors underlying fibrosis and dystrophic calcification are under investigation.

P-53

Characterization of hepatic stellate cells (HSCs) in terms of epithelial-mesenchymal transition in normal and cirrhotic rat livers

○Anusha Tennakoon, Takeshi Izawa, Kavindra Wijesundera, Hossain M. Golbar, Miyuu Tanaka, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

HSCs, characterized by GFAP expression, are thought to be the major contributor in development of myofibroblasts (MFs) capable of producing collagens. MFs may be also formed by epithelial-mesenchymal transition (EMT) of pseudo-bile ducts in cirrhosis. In normal rat livers, there were GFAP-positive HSCs along the sinusoids, and interlobular bile ducts reacted clearly to CK19 (marker for biliary epithelial and liver precursor oval cells); interestingly, some (approximately 5%) biliary epithelial cells showed dual positive reactions to CK19 and GFAP. In cirrhotic livers induced by repeated injections of thioacetamide (TAA: 100 mg/kg BW, twice a week for 25 weeks), CK19-positive reaction was seen in pseudo-bile duct epithelial cells and some cells forming clusters without ducts, as well as single oval cell in fibrotic areas; these positive cells gradually increased with development of cirrhosis from week 15. GFAP-positive cells were also labeled variously by vimentin, desmin and α -SMA, indicating development of MFs in cirrhosis. More interestingly, there were cells reacting to both GFAP and CK19; these cells were arranged in ductules and clusters without lumen, or seen as a single cell. The greatest appearance of CK19- and GFAP-double positive cells was at week 15 when pseudo-lobules began to be seen. These findings suggest that HSCs expressing GFAP might participate in the phenomenon of EMT in cirrhosis. Further investigation is under way.

P-54

Inflammatory changes in a diet-induced hepatosteatosis model: Histopathological characteristics of the CDAHFD hepatosteatosis model

○Etsuko Fujii, Tsuneo Ito, Masaki Yamazaki, Atsuhiko Kato, Masami Suzuki

Research Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

⟨**Background**⟩ Discussions concerning the models for diet-induced hepatosteatosis have been focused on the accumulation of lipids in hepatocytes. But recently as the so-called "metabolic diseases" have become a social problem, the importance of the inflammatory changes associated with lipid accumulation has been pointed out. In the present study we have examined the inflammatory changes in diet-induced hepatosteatosis models.

⟨**Aim**⟩ The inflammatory changes of HFD, CDAA and the choline-deficient, L-amino acid-defined, high fat diet (CDAHFD) model were examined and compared.

⟨**Materials and Methods**⟩ A 60kcal/% high fat diet (HFD group), a choline deficient diet with 0.1% methionine added (CDAA group), and a combination of both diets (CDAHFD group) were fed continuously to 6 mice (C57BL/6J/japanSLC) per group. Three mice from each group were sacrificed at 6 weeks after start of feeding, and the remaining 3 mice at 12 (CDAA) or 14 (HFD, CDAHFD) weeks. The livers were examined histopathologically after necropsy.

⟨**Results**⟩ In the HFD group, there was no clear fatty vacuolation of hepatocytes at 6 weeks but the change was observed in the centrilobular to intermediate area of the hepatic lobules at 14 weeks with no inflammatory cell infiltration. In the CDAA group, fatty vacuolation was observed in the periportal area with very weak inflammatory cell infiltration at 6 weeks. At 12 weeks, vacuolation had spread to all areas with no exacerbation of inflammatory cell infiltration. In contrast, fatty vacuolation was observed in all areas with severe inflammatory cell infiltration consisting mainly of neutrophils and monocytes at 6 weeks in the CDAHFD group. Lipogranulomas consisting of macrophages were also seen. The findings were exacerbated at 14 weeks.

⟨**Discussion**⟩ We have found that the inflammation in the CDAHFD model was markedly severe compared to the HFD or CDAA models. We plan to report data concerning the characteristics of the inflammatory cells and also hepatic fibrosis.

P-55

Evaluation of drug-induced hepatocellular hypertrophy in mice using histopathological image analysis

○Yoshiji Asaoka, Naoko Imura, Mayu Mutsuga, Tomoya Miyoshi, Yuko Togashi, Yohei Miyamoto
Toxicology and Pharmacokinetics Laboratories, Pharmaceutical Research Laboratories, Toray Industries, Inc.

Hepatocellular hypertrophy, an increase in size of the hepatocytes caused by hepatic enzyme induction, is associated with an increase in liver weight. Generally, hepatocellular hypertrophy is evaluated histopathologically, but accuracy and sensitivity of the evaluation mostly depend on the knowledge and experience of a pathologist. In this study, we investigated the usefulness of histopathological image analysis as the evaluation of drug-induced hepatocellular hypertrophy in mice.

Crlj:CD1(ICR) male mice at 7 weeks old were administered phenobarbital sodium (PB; 30, 60, 120 mg/kg/day) for 5 days or clofibrate (CL; 200, 400, 800 mg/kg/day) for 5, 14 days. In the day after final dosing, a weight measurement, a routine histopathological examination and an image analysis using H.E. stain slides were performed with the livers. As for image analytical method, areas of individual hepatocytes in a histological image of liver at 200-fold magnification were automatically recognized by image analytical software (Definiens Developer XD, Definiens AG), and then, average hepatocellular area of an animal was calculated from 5 histological images.

Hepatocellular hypertrophy were histopathologically observed in mice administered PB at 120 mg/kg/day for 5 days, CL at more than 400 mg/kg/day for 5 days, and CL at more than 200 mg/kg/day for 14 days. Relative liver weight and hepatocellular area were increased by 17-27% and 14-23% in PB at more than 60 mg/kg/day for 5 days, by 23-36% and 22-27% in CL at more than 400 mg/kg/day for 5 days, and by 15-43% and 13-29% in CL at more than 200 mg/kg/day for 14 days compared to vehicle group, respectively. From these results, histopathological image analysis of hepatocellular area could detect PB and CL-induced hepatocellular hypertrophy quantitatively, suggesting it would be useful for the evaluation of drug-induced hepatocellular hypertrophy in mice.

P-56

General toxicity and liver carcinogenicity in *gpt* delta rats treated with diethylnitrosamine compared to background strain

○Shinji Takasu¹⁾, Yuji Ishii¹⁾, Kohei Matsushita¹⁾, Ken Kuroda¹⁾, Aki Kijima¹⁾, Yuh Yokoo¹⁾, Takehiko Nohmi²⁾,
Kumiko Ogawa¹⁾, Takashi Umemura¹⁾

¹⁾Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²⁾Biological Safety Res. Ctr., Natl. Inst. Health Sci.

〈**Background**〉 We have proposed a comprehensive toxicity study in which repeated dose toxicity, *in vivo* genotoxicity and quantitative analysis for preneoplastic changes suggestive of carcinogenicity using *gpt* delta rats are performed in a single study. However, given that the *gpt* delta rat is genetically modified, it is necessary to validate the chemical susceptibility of *gpt* delta rats. To confirm the identity of toxicological and carcinogenic chemical responses between the two genotypes of rats, we compared the toxicity and carcinogenicity in *gpt* delta rats given diethylnitrosamine (DEN) with those in their background strain, F344 rats.

〈**Materials and Methods**〉 Six-week-old male F344 *gpt* delta rats and F344 rats were given DEN at concentrations of 0, 0.1, 1 or 10 ppm in drinking water for 13 weeks. All rats were necropsied after blood sample collection for hematological and serum biochemical examination. Excised organs were weighed and histopathologically examined. As the data were indicative of carcinogenicity, quantitative analysis of GST-P positive foci in the liver was carried out.

〈**Results**〉 No treatment-related clinical signs were observed throughout the experimental period in either genotype. Furthermore, no treatment-related changes in hematological or serum biochemical parameters were observed in either genotype. Number and area of GST-P positive foci in the liver of both genotypes of rats treated with 10 ppm DEN were significantly increased compared with those in the relevant control. However, there were no inter-genotype differences.

〈**Discussion**〉 The present results indicate no observable inter-genotype differences in susceptibility to toxicity and carcinogenicity induced by DEN. In future research, histopathological examination will be performed and validity of the comprehensive study using *gpt* delta rats will be assessed.

P-57

Pathological changes of the liver in rats with dietary iron overload/deficiency

○ Takeshi Izawa, Rena Miyagi, Takashi Horiuchi, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Laboratory of Veterinary Pathology, Osaka Prefecture University

Iron is an essential element for living cells. In contrast, excessive accumulation of iron can cause hepatic disorders, although the pathogenesis is unclear. Additionally, the effect of iron deficiency on liver function is poorly understood. In this study, we investigated the pathological changes in rat liver caused by experimental iron overload and deficiency. Six-week-old male F344/DuCrjCrlj rats were fed on an iron overload (containing 0.5% iron) or iron deficient diet for 4 weeks, and then on a normal diet (less than 0.03% iron) for 2 weeks. Control rats were fed on a normal diet. Serum and liver were collected for blood chemical (AST, ALT, serum iron), histopathological (HE, immunohistochemistry, iron staining, dihydroethidium [DHE]), and biochemical (liver iron, malondialdehyde [MDA]) analyses. Serum iron levels doubled in iron overload rats, while decreased to one third in iron deficient rats at weeks 2 and 4. Liver iron content doubled in iron overload rats at week 4, while halved in iron deficient rats at weeks 2 and 4. These abnormalities recovered after feeding on normal diet for 2 weeks. There were no increases in ALT and AST levels and histopathological changes in iron overload or deficient rats. Macrophages in the Glisson's capsule increased in iron overload rats, while macrophages in the Glisson's capsule and sinusoid increased in iron deficient rats. DHE (reactive oxygen species) and MDA (lipid peroxide) levels did not change. This study indicated that dietary iron overload and deficient for 4 weeks could not induce any hepatic disorder.

P-58

EHEN-induced rat hepatoblastoma with multilineage differentiation potential for embryonic foregut driven organs

○ Shotaro Yamano¹⁾, Kiyokazu Ozaki²⁾, Shuji Takeda³⁾, Masahiko Kushida³⁾, Takeshi Izawa⁴⁾, Jyoji Yamate⁴⁾, Akihiro Hirata⁵⁾, Masaki Fujioka¹⁾, Min Gi¹⁾, Hideki Wanibuchi¹⁾

¹⁾Department of pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine,

²⁾Department of Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University,

³⁾Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chem Co., Ltd.,

⁴⁾Department of Veterinary Pathology, College of Agriculture, Osaka Prefecture university,

⁵⁾Division of Animal Experiment, Life Science Research Center, Gifu university

The present report describes a rare case of N-Ethyl-N-Hydroxyethyl-Nitrosamine (EHEN) induced hepatoblastoma with hepatocellular, cholangiocellular, pancreatic acinar, gastrointestinal cell differentiation which are generated from embryonic foregut in female Wistar (Crlj:WI) rat. A female Wistar (Crlj:WI) rat was administered 500 ppm EHEN in the drinking water for 16 weeks and the clinically confirmed mass rapidly developed in the liver with abdominal swelling when the animal was terminally sacrificed. At necropsy, a large mass (approximately 10 x 10 cm in size) with red or white discolored regions was found at the site of the liver. Microscopically, mass was constructed by three components (Hepatocellular component: H.C./Cholangiocellular component: C.O./Oval or Blastic cellular component: O.C.) and majority component was complicated regions mixed C.C. and O.C. (C.C./O.C.). Furthermore, lung metastasis and peritoneal dissemination were observed in this rat. Immunohistochemical examination showed that this tumor indicated that capacity of multi-lineage differentiation not only albuminpos Sox9pos oval and/or hepatoblastocytes, which are the majority tumor cell type of this tumor, but also albuminpos Sox9neg hepatocytes, Sox9pos CK19pos cholangiocellular or pancreatic ductal cells, Cdx-2pos villinpos intestinal cells and MAC5ACpos gastric cells differentiation. Therefore the tumor was diagnosed as hepatoblastoma with major component of albuminpos Sox9pos oval and/or hepatoblastocytes. This case is considered to be a valuable case for understanding the multilineage differentiation potential of hepatoblastoma.

P-59

Study for the Vacuolation Found in the Pancreatic Acinar Cells of a Cynomolgus Monkey

○Seiji Miyoshi¹⁾, Hirofumi Hatakeyama¹⁾, Yoshihiro Takei¹⁾, Shiho Suyama¹⁾, Hiroe Inagaki¹⁾, Haruko Koizumi¹⁾,
Tetsuyo Kajimura¹⁾, Hijiri Iwata²⁾, Akihito Shimo¹⁾

¹⁾Ina Research Inc., ²⁾LunaPath LLC

〈**Introduction**〉 Vacuoles in cytoplasm are often observed histopathologically and vary in sizes and mechanisms. We encountered a case of cynomolgus monkey with numerous large vacuoles in the cytoplasm of the pancreatic acinar cells and investigate the nature and mechanism of the vacuoles.

〈**Case**〉 The change was found in an untreated cynomolgus monkey, 3 year and 3 month old female imported from Philippines, assigned to the control group in 4-weeks toxicological study. No abnormalities were evident in the various examinations such as clinical observations, hematology, blood chemistry or organ weights. Although no gross lesions were observed in this animal, histopathology revealed numerous large vacuoles in the pancreatic acinar cells.

〈**Histopathological features**〉 The vacuoles observed in the cytoplasm of the acinar cells were various in sizes and showed a homogeneous appearance. The vacuoles showed slight eosinophilic stainability, but no appreciable staining reaction was seen in PAS- or Oil red O-staining. Although the vacuoles were diffusely-distributed in the pancreas, no pathological changes were noted in the other tissue components of the pancreas. In addition, there were no similar changes in any other organs.

〈**Discussion**〉 The vacuoles in the pancreas observed in this study have known as hydropic degeneration which spontaneously observed in the salivary glands, pancreas and thyroids of cynomolgus monkeys on rare occasions. However, their particular mechanisms or nature have not been reported. On the other hand, vacuolation occurred under anoxic postmortem condition has been reported in the livers of rats and monkeys, and influx of the plasma components into the cytoplasm was assumed to be the main cause of the vacuole formation. From the similarity of morphological appearance and stainability to the vacuoles reported in the liver, a similar mechanism is speculated to occur for the vacuoles in the pancreas. Further investigation will be performed to identify the origin of substances accumulated in and the ultra-structural changes, and the occurrence of vacuoles will also be reported from the historical data.

P-60

Threshold Dose of Rat Liver Tumor Promoting Effect of Omeprazole through Dietary Administration

○Reiko Morita^{1,2)}, Masayuki Kimura^{1,2)}, Hajime Abe^{1,2)}, Megu Itahashi^{1,2)}, Ayako Shiraki^{1,2)}, Tomoaki Murakami³⁾,
Kazuhiko Suzuki³⁾, Toshinori Yoshida¹⁾, Makoto Shibutani¹⁾, Kunitoshi Mitsumori¹⁾

¹⁾Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology,

²⁾United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University,

³⁾Laboratory of Veterinary Toxicology, Tokyo University of Agriculture and Technology

〈**Background and Aim**〉 Among the chemicals that can induce cytochrome P450 (CYP) 1A during metabolic process, there are liver tumor promoters in rats. In the 27th Annual Meeting of JSTP, we reported that omeprazole (OPZ), a CYP1A inducer, has a rat liver tumor promoting activity through administration by oral gavage (276 mg/kg, once a day) (Hayashi et al., 2011). In this study, we investigated the threshold level of liver tumor-promoting effects of OPZ through dietary administration.

〈**Materials and Methods**〉 Six-week old male rats were given a single intraperitoneal injection of N-diethylnitrosamine (DEN) at 200 mg/kg body weight and were treated with OPZ (0, 625, 1250, 2500, 5000 and 7500 ppm) mixed in basal diet for 6 weeks after DEN initiation accompanying two-thirds partial hepatectomy one week after the OPZ-administration.

〈**Results**〉 The relative liver weight showed a dose-dependent increase in the groups given 1250 ppm OPZ or more with a statistically significant difference as compared with the DEN-alone group. The number and area of glutathione S-transferase placental form-positive foci and mRNA levels of *Cyp1a1* showed significant dose-dependent increases in the groups given 1250 ppm OPZ or more compared with the DEN-alone group. Additionally, the mRNA levels of *Yc2*, a Nrf2 related gene, showed statistically significant and dose-dependent increases in the groups given 2500 ppm OPZ or more as compared with the DEN-alone group.

〈**Conclusion**〉 The results of the present study suggest that the administration of OPZ in diet has a dose-dependent liver tumor-promoting activity, and the 1250 ppm is the threshold dose of OPZ in diet.

P-61

Evaluation of *in vivo* mutagenicity of DMA^V and iAs^{III} in *gpt* delta rats

○Eri Shimomura, Masaki Fujioka, Min Gi, Shotaro Yamano, Anna Kakehashi, Masahiko Kushida, Hideki Wanibuchi

Department of pathology, Osaka city university graduate school of medicine

〈**Background**〉 Epidemiological studies have provided compelling evidence that inorganic arsenic is carcinogenic to humans. Chronic ingestion of arsenic is known to increase the population risk of developing skin, lung, urinary bladder, and liver cancers. Arsenic is a well-known bladder carcinogen, but its exact mechanism of its carcinogenicity remains unclear. Sodium arsenite (iAs^{III}) is negative in *in vitro* mutagenicity tests. In contrast, dimethylarsinic acid (DMA^V), a major urinary metabolite of iAs^{III}, was reported to induce structural and numerical changes of chromosome *in vitro*. However, *in vivo* mutagenicities of both of them has not been determined.

〈**Aim**〉 The purpose of present study is to evaluate the *in vivo* mutagenicities of iAs^{III} and DMA^V using *gpt* delta F344 rats and to clarify the mechanism of DMA^V or iAs^{III} induced toxicity in rat bladder and liver.

〈**Materials and Methods**〉 Ten weeks old *gpt* delta F344 and F344 rats were divided into 3 groups and treated with 0, 92ppm DMA^V, and 87ppm iAs^{III} (each 50ppm As) for 13 weeks in the drinking water. In the mutation assay, point mutations are detected by 6-thioguanine selection with the *gpt* gene (*gpt* assay) and deletion mutations are identified by Spi selection with the red/gam genes (Spi assay). These mutants are able to characterize mutation by sequence confirming. To clarify of mechanism, there were evaluated of expression level of ABC genes which are reported arsenic transporters with qRT-PCR.

〈**Results**〉 As a result of mutation assay, there were no significant differences in the mutation frequencies in bladder mucosa and liver. In the gene expression assay, there were significantly up-regulated ABCB1 gene in DMA^V and iAs^{III}.

〈**Conclusion**〉 These findings demonstrated for DMA^V and iAs^{III} did not show *in vivo* mutagenicity in bladder mucosa and liver. And ABCB1 play a role of arsenic intake in the rat bladder mucosa.

P-62

Expression pattern of γ H2AX, a biomarker for DNA double-strand breaks, in urinary bladders of chemical-treated rats

○Takeshi Toyoda¹⁾, Young-Man Cho¹⁾, Jun-ichi Akagi^{1,2)}, Yasuko Mizuta¹⁾, Isamu Suzuki¹⁾, Kumiko Ogawa¹⁾

¹⁾Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²⁾Div. Pharmacol., Natl. Inst. Health Sci.

〈**Background**〉 Recent studies have demonstrated the association of DNA repair and carcinogenesis, and DNA double-strand breaks are recognized to be a serious damage leading to genome instability and cancer development. The rapid phosphorylation of H2AX at Serine 139, to become γ H2AX, occurs in response to DNA double-strand breaks. The role of γ H2AX in carcinogenesis remains unclear, and there are few reports on the association with bladder cancer. To evaluate the potential role of DNA repair in bladder carcinogenesis, we performed an immunohistochemical analysis of expression pattern of γ H2AX in the urothelium of chemical-treated rats.

〈**Methods**〉 Six-week-old male F344 rats were treated with 0.05% *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine (BBN), 2% 2,2-bis (bromomethyl)-1,3-propanediol (BMP), 1.8% 2-nitroanisole (2-NA), 0.1% phenethyl isothiocyanate (PEITC), 3% melamine, or 3% uracil in drinking water (BBN) or diet for 4 weeks. Animals were sacrificed at 4th or 6th week of the experiment, and immunohistochemistry for γ H2AX in urinary bladders was performed.

〈**Results and Discussion**〉 Expression of γ H2AX was frequently observed in bladder epithelial cells of BBN- or 2-NA-treated rats, while there were few positive cells in the controls. γ H2AX was formed as dot-like foci in nuclei of epithelial cells, and the positive cells were mainly located near the basal layer of the mucosa. In BMP groups, γ H2AX expression was sometimes seen in epithelial cells with large nuclei at the surface of the mucosa. In PEITC, melamine or uracil groups, there were moderate to severe hyperplastic lesion of urothelium with focal expression of γ H2AX. At the 6th week of experiment, γ H2AX expression remained in BBN and 2-NA groups, while the number of positive cells were markedly reduced in other groups. Although further investigations are needed, these data indicate that γ H2AX has potential as a useful biomarker for early detection of genotoxicity and carcinogenicity in the rat urinary bladder.

P-63

Renal developmental impairment induced by repeated administration of gentamicin in juvenile rats

○Kiyonori Kai, Testuya Ohsawa, Katsumi Fujita, Yasuko Kato, Kumi Honda, Satoko Sato, Noriyo Niino,
Kazumi Ito, Munehiro Teranisi, Wataru Takasaki

Daiichi Sankyo Co., Ltd., Medical Safety Research Laboratories

〈**Background**〉 Rats are the first chosen species to evaluate juvenile toxicity to conduct pediatric development in human. The kidney development in rats is extremely differs from human and the other animal species and it extends to approximately 2 weeks after the delivery. In the present study, gentamicin is chosen as a compound that induces proximal tubular lesions and evaluated effects on the development of renal tissue in juvenile animals.

〈**Materials and methods**〉 Gentamicin was subcutaneously injected to Sprague-Dawley male rats from the day after the delivery (Day 1) to Days 3, 7 and 11, and blood biochemistry, measurement of angiotensinogen in serum and urine, histopathology and toxicogenomics (TGx) were performed.

〈**Results**〉 On Day 4, increased eosinophilic granules, indicating lysosome disorder, and vacuolation of proximal tubular epithelium were observed, but no changes in blood biochemistry were noted. In addition, expression of angiotensinogen and genes related to chemokine and cytokine in the kidney were elevated, and angiotensinogen in the urine were increased. On Day 8, necrosis of proximal tubular epithelium was observed, and increases in serum UN and CRE were additionally seen at 90 mg/kg. The gene expression related to renal development (i.e. gremlin, uroplakin, Wnt) was decreased and that of STAT was decreased. Staining intensity of angiotensinogen was noted in the cortex of the kidney, and development impairment was noted in inner and outer medulla of the kidney. On Day 12, the lesions seen on Day 8 were exacerbated, and increases in serum UN and CRE were additionally seen at 30 mg/kg.

〈**Conclusion**〉 Gentamicin induced increased gene expression in angiotensinogen and genes related to chemokine and cytokine, and decreased gene expression of gremlin, uroplakin and Wnt in juvenile rats. Moreover development impairment in medulla of the kidney were noted. These findings induced by gentamicin were unique in juvenile rats not reported in adult rats.

P-64

Time-Sequence Study of Renal Lesions in SHR/NDmcr-cp(cp/cp) Rats

○Kaoru Toyoda¹⁾, Kochi Kakimoto¹⁾, Katsuhiko Miyajima¹⁾, Yuza Yasui¹⁾, Yusuke Kenmochi¹⁾, Akiko Nakamura¹⁾,
Eriko Taniai¹⁾, Akemi Takahashi¹⁾, Toshiyuki Shoda¹⁾, Koji Inagaki²⁾, Kenji Fukui²⁾, Yoshifumi Miyakawa²⁾

¹⁾Japan Tobacco Inc. Central Pharmaceutical Research Institute, Toxicology Research Laboratories,

²⁾Japan Tobacco Inc. Central Pharmaceutical Research Institute, Biological/Pharmacological Research Laboratories

〈**Background and Aim**〉 SHR/NDmcr-cp(cp/cp) rats are substrain of the spontaneously hypertensive/NIH-corpulent (SHR/NIHcp) rats which carry a mutation of the leptin receptor gene and are therefore use as a model of type 2 diabetes. SHR/NDmcr-cp(cp/cp) rats develop hyperphagia, obesity, hyperglycemia, hyperlipidemia, hyperinsulinemia and increased insulin resistance. This animal model is known to spontaneously develop increased urinary protein level and renal lesions including increase of glomerular matrix and fibrosis of interstitial area. In this study, we investigated renal lesions in SHR/NDmcr-cp(cp/cp) rats sequentially.

〈**Materials and Methods**〉 Wistar-Kyoto (WYK/Izm) rats (WYK: normotensive and non-obese), SHR/NDmcr-cp(cp/cp) rats and unilateral nephrectomized SHR/NDmcr-cp(cp/cp) rats were necropsied at 12, 16, 25, 32 and 40 weeks old. Kidneys were collected from all the animals and prepared for hitopathological examinations. Hematoxylin and eosin (H&E), periodic acid Schiff (PAS), periodic acid methenamine silver (PAM), Sirius red and immunohistochemical staining of alpha-smooth muscle actin (SMA), desmin, vimentin, ED-1 and Ki-67 were performed and examined microscopically.

〈**Results and Conclusion**〉 In the SHR/NDmcr-cp(cp/cp) rats, increased urinary protein level and microscopic lesions in the glomeruli, tubules and interstitial area were observed from 12 weeks old. In the glomeruli, hypertrophy, mesangial expansion, thickening basement membrane and sclerosis were observed and SMA and desmin positive area were increased. In the tubules, hyaline cast and dilatation were observed. In the interstitial area, fibrosis was observed and ED-1 positive cells were increased. These changes were progressively worse as the animals aged and all the changes were more severe in the unilateral nephrectomized animals than the untreated animals. In this study, the time course changes of renal lesions in SHR/NDmcr-cp(cp/cp) rats were well-defined microscopically.

P-65

Salt intake deteriorates kidney lesions in Spontaneously Diabetic Torii-*Lepr^{fa}* (SDT fatty) rat

○Yusuke Kenmochi¹⁾, Yoshiaki Katsuda²⁾, Mimi Maki²⁾, Takeshi Ohta²⁾, Kaoru Toyoda¹⁾, Katsuhiko Miyajima¹⁾, Yuzo Yasui¹⁾, Akiko Nakamura¹⁾, Eriko Taniai¹⁾, Akemi Takahashi¹⁾, Kochi Kakimoto¹⁾, Yoshifumi Miyakawa²⁾, Toshiyuki Shoda¹⁾

¹⁾Toxicology Reserch Laboratories, Japan Tobacco Inc., Central Pharmaceutical Research Institute,

²⁾Biological/Pharmacological Research Laboratories, Japan Tobacco Inc., Central Pharmaceutical Research Institute

〈**Background**〉 Salt plays an important role in the control of blood pressure in obesity and diabetes mellitus. Spontaneously Diabetic Torii-*Lepr^{fa}* (SDT fatty) rat is an obese type 2 diabetes model and shows renal dysfunction with histopathological changes from 16-week-old. High salt sensitivity has also been reported in some other models but the degrees of increase in blood pressure vary greatly among the models. We investigated pathophysiological changes including blood pressure and renal histopathology in salt-loaded SDT fatty rats.

〈**Materials and Methods**〉 SDT fatty rats (4-week-old, five animals per group) were given 1% NaCl in drinking water for 14 weeks. The animals in the control group were given distilled water in the same manner as the treated animals. Systolic blood pressure (SBP), blood chemistry parameters (glucose, triglyceride, total cholesterol, blood urea nitrogen and creatinine levels) and urine analysis (urinary volume, urinary albumin excretion (UAE) and creatinine clearance (Ccr)) were examined. Histopathological examinations of the kidney were performed by using the specimens stained with HE, PAS, PAM and Masson trichrome.

〈**Results**〉 Salt-loaded SDT fatty rats showed significantly elevated SBP levels as compared with those in the control animals. Increased UAE and decreased Ccr were noted in the salt-loaded group as compared with those in the control group. Histopathologically, marked thickening of arterioles near the glomerulus was observed in the salt-loaded group. There were glomerulosclerosis, tubular lesions and interstitial fibrosis and inflammatory cell infiltration in the both groups but the severity of these findings was higher in the salt-loaded group than those in the control group.

〈**Conclusion**〉 SDT fatty rats showed salt-sensitive hypertension and deterioration of renal function and histology after salt loading. The SDT fatty rat is a useful model for investigating the mechanisms of high salt sensitivity in obesity and diabetes mellitus.

P-66

Hormone induced prostatic hyperplasia in C57BL mice

○Nariaki Fujimoto¹⁾, Jun Kanno²⁾

¹⁾RIRBM, Hiroshima Univ, ²⁾Div. Toxicology, NIHS

〈**Purpose**〉 Estradiol (E2) has been shown to act synergistically with testosterone (T) to induce prostatic hyperplasia in rats. In the present study, the effect of higher doses of T and E2 on the induction of prostatic hyperplasia was investigated in mice.

〈**Methods**〉 10 week-old male C57BL mice were treated with T (30 mg) and/or E2 (0.1 mg) for 4-16 weeks. Ventral, dorsolateral and anterior prostatic lobes (VP, DLP and AP) were dissected. RNAs were extracted and the expression of a series of prostatic genes, including hormone receptors, growth factors and prostatic secreted proteins, were measured by Q-RT-PCR.

〈**Results**〉 1) T increased VP, DLP and AP weights by 2.4, 2.6 and 1.6 time, respectively, while T+E2 increased them by 3.0, 3.8 and 1.7 times, respectively. 2) T and/or E2 administration appeared to induce glandular prostatic growth. 3) T+E2 caused urethral obstruction. 4) Expression in PSCA (Prostate stem cell antigen) mRNA was prominently increased in the enlarged prostate and +E2 synergistically enhanced it.

〈**Conclusions**〉 A high dose of T administration induced glandular prostatic hyperplasia in mice. E2 enhanced prostate growth especially in DLP, which probably caused urethral obstruction. The synergistic effect of E2 was evident on mRNA expressions in PSCA, suggesting that it may play a role in T+E2 induced prostatic growth.

P-67

Morphometrical investigation on Gender Difference in Wistar and SD Rats Kidney Glomeruli: Especially strain difference study

○Keisei Kimura¹⁾, Tomoo Inomata¹⁾, Hiroyuki Takahashi²⁾, Tomoko Muto³⁾, Noriko Oyama³⁾, Masahiro Ikegami²⁾, Shin Wakui⁴⁾

¹⁾Department of Laboratory Animal Science, Azabu University School of Veterinary Medicine,

²⁾Department of Pathology, The Jikei University School of Medicine,

³⁾Drug Safety Testing Center, ⁴⁾Department of Toxicology, Azabu University School of Veterinary Medicine

〈**Background**〉 Up today, in Japanese human beings, the overall frequency of primary glomerulonephritis (GN) was 77.8%, and the ratio of renal function decline and outcome favored women over men in GN. The gender difference concerning in GN of human beings has been unclear.

〈**Aim**〉 In the present study, to clarify the gender differences the normal adult rat kidney glomeruli concerning strain difference.

〈**Material and Methods**〉 we investigated the morphometrical characteristics of the kidney glomeruli of adult Wistar and SD rats by light microscopically observations with serial sections using three-dimensional morphostatistical analyses systems performed by Register 2001 and Vox Blast 3.1 (Vey Tek, Inc., USA).

〈**Results**〉 The morphological gender difference of Wistar and SD rats were similar each other, but the value of some parameters showed strain differences. The relative weight of each rat kidney was similar between males and females, and there were not strain difference in this parameter. The number of the renal glomeruli of female rats was significantly higher than that of male rats, and the volume of the renal glomeruli of male rats was significantly higher than that of female rats, and there were strain difference in this parameter as Wistar rat > SD rat. Moreover, the relative appearance ratio of podocytes in renal glomeruli of female rats was significantly higher that of male rats, and there were strain difference in this evidence as Wistar rat < SD rat.

〈**Conclusion**〉 The present study showed to globally-define that there were not rat stain differences, concerning, Wistar and SD rat, for the gender differences in kidney glomeruli on adult rats, but some parameters showed the value difference between two stains. These differences might be involved in the pathogenesis of GN. This study was supported by a research project grant awarded by the Azabu University Research Services Division, the Promotion and Mutual Aid Corporation for Private Schools of Japan.

P-68

Feline Infectious Peritonitis-like Renal Legion in a Ferret Infected with Coronavirus

○Yuta Fujii, Kaoru Toyosawa, Izumi Matsumoto, Mami Kouchi, Tomoaki Tochitani, Toru Yamada, Hitoshi Funabashi

Preclinical Research Laboratories, Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.

〈**Background**〉 Recently, novel disease similar to feline infectious peritonitis (FIP) was reported in coronavirus-infected ferrets and its pathologic features have been described. We previously reported the histopathological characteristics of suppurative granulomatous inflammation in the mesentery of a coronavirus-infected ferret which were similar to those observed in FIP. Here, we describe histopathological changes, especially in the kidney, in another ferret with coronavirus infection.

〈**Case**〉 A male ferret at 18 months of age. At necropsy, enlargement of the liver, spleen and interperitoneal lymph node was observed. The interperitoneal lymph node was dark-red.

〈**Results**〉 Histopathologically, multifocal suppurative granulomatous inflammation was observed in the liver, spleen and interperitoneal lymph node. Also, multifocal aggregation of macrophages was observed in the mesenteric lymph node and sternal bone marrow. Immunohistochemistry showed positive reaction for anti-coronavirus antibody in the cytoplasm of macrophages in the center of the granuloma. Thus, the animal was diagnosed as coronavirus infection. Interestingly, interstitial nephritis and glomerular nephritis were observed in the kidney of this animal. In the kidney, thickening, degeneration and necrosis of the afferent arteriolar wall and hemorrhage were also observed. Ultrastructural examination revealed electron dense deposits between the basement membrane and podocytes.

〈**Discussion**〉 In cats, FIP is often accompanied by glomerular nephritis with immune-complex deposition. In ferrets, however, glomerular nephritis related to coronavirus infection has never been reported. In our case, glomerular nephritis with immune-complex deposition related to coronavirus infection was suspected, suggesting that this case may be helpful to further characterize the pathologic features of FIP-like disease in ferrets. Now we are doing additional examination and we will report the results in the meeting.

P-69

Experimental pathological study on uranium decorporation effect of sodium bicarbonate in rats

○Yasushi Ohmachi, Tomomi Imamura, Mizuyo Ikeda, Mariko Yajima, Eriko Shishikura, Eunjoo Kim,
Osamu Kurihara, Kazuo Sakai

Research Program for Radiation Dosimetry, Research Center for Radiation Emergency Medicine, National Institute of Radiological Sciences

⟨**Purpose**⟩ In case of internal exposure of high dose of uranium, uranium deposits in the kidney and acute renal failure is induced. Sodium bicarbonate(SB) is reported to be a decorporation agents by IAEA and NCRP. However, it is said that the efficacy of SB has not been verified experimentally, so the agent is thought to have no or little effect for uranium decontamination. In fact, the efficacy of SB has not been demonstrated in rats treated with SB at dose level of about 0.1g/kg, same dosage for human therapy. Meanwhile, it is recommended to administer SB until the urine reaches a pH of 8-9 in the NCRP report. In this experiment, uranium-contaminated rat model was used to confirm uranium decorporation effect of SB at a dose showing urinary alkalization.

⟨**Materials and Methods**⟩ Male 8-week-old Crl: CD (SD) rats were intramuscularly administered with 1mg/kg of uranyl nitrate(U), 20 min after that, SB (0.1, 0.3, 1g/kg) was orally administered to the rats. The urine pH was measured until 23h after the uranium treatment. Another experiment was conducted to analyze uranium-induced renal toxicity and uranium contents in the tissues. The administration of SB and the U (0.1, 1 g/kg) to rats was conducted in a similar manner of the first experiment, and the animals were autopsied at 1, 3, 7 days after the U administration.

⟨**Result**⟩ High dose of SB showed significant increase of urine pH and urinary uranium excretion, and reduction of the renal uranium deposition. It also suppressed the uranium-induced renal toxicity. The low dose of SB did not show such effects.

⟨**Discussion**⟩ This study clearly demonstrated that SB showed significant decorporation effects at its dose showing urine alkalization in the uranium-treated rat model. Urine alkalization medicine is considered to be a useful decorporation agent for uranium- decontamination therapy.

P-70

Soy milk and *Lactobacillus casei* Shirota prevent the development of mammary tumor induced by PhIP in rats

○Shoichi Kado¹, Chiaki Kaga¹, Akimitsu Takagi¹, Mitsuyoshi Kano¹, Ikuo Kato¹, Kouji Miyazaki¹,
Yasuo Ohashi², Masakazu Toi³

¹Yakult central institute for microbiological research, Safety research department ,

²Department of bioinformatics, School of Public Health Tokyo University, ³Department of Breast Surgery, Kyoto University

⟨**Introduction**⟩ An epidemiological study demonstrated the breast cancer-preventing effects of soy milk(SM). On the other hand, *Lactobacillus casei* Shirota (LcS), a probiotic strain, prevented urinary bladder cancer in a prospective trial and suppressed the development of colorectal cancer in an epidemiological study. In this study, we examined the effects of SM and LcS on 2-Amino-1-methyl-6-phenylindazo [4,5-b] pyridine (PhIP)-induced mammary tumors in female rats.

⟨**Methods**⟩ The rats were randomized into 4 experimental groups of 42 animals each. Thereafter, each group of rats was fed a high-fat basal diet containing SM (soy isoflavones accounting for 335 mg/kg of the diet: SM group), LcS (2×10^{11} CFU/kg of diet: LcS group), both SM and LcS (SM+LcS group), or neither SM nor LcS (control group). One week after the start of the experimental feeding periods (Week 1), PhIP was administered through a gastric tube to rats at a dose of 85 mg/kg body weight 4 times per week for 2 weeks. At Week 17, all rats were sacrificed under anesthesia and resected mammary glands were histopathologically examined.

⟨**Results**⟩ In the histopathological examination of the mammary glands, 97.5% of the tumors were diagnosed as adenocarcinoma, the exceptions being three fibroadenomas. The tumor multiplicities were reduced in the SM and SM+LcS groups, as compared with the control group. Moreover, the tumor volumes in the LcS and SM+LcS groups were lower than that of the control group. Immunohistochemical staining revealed that, as compared with the control group, the ratio of Ki-67-positive cells was lower in the SM+LcS group. Furthermore, there were significantly fewer CD34-expressing vessels in all three intervention groups than in the control group.

⟨**Conclusion**⟩ These results suggest that SM prevents the development of mammary tumors and that LcS suppresses tumor growth. Furthermore, the administration of LcS in combination with SM exerted the preventive efficacies of both LcS and SM.

P-71

Influence of delayed effect on LH surge and kiss1 expression after neonatal exposure to EE

○Ryohei Ichimura¹, Miwa Takahashi¹, Tomomi Morikawa¹, Pramod Dhakal¹, Kaoru Inoue¹, Jun Maeda¹, Midori Yoshida¹, Gen Watanabe²

¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences,

²Laboratory of Veterinary Physiology, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

〈**Introduction**〉 Delayed effect is characterized as early onset of the age-related abnormal estrus cycle. It is a major concern for offspring toxicity because the mechanism is unknown, and the effect cannot be detected even by extended one-generation reproductive toxicity studies. Kisspeptin neurons in the anteroventral periventricular nucleus (AVPV) form the major control center of the estrus cycle. However, the relationship between delayed effect and kisspeptin neurons is not clarified. In this study, we investigated the influence of delayed effect on LH surge and kiss1 mRNA expression.

〈**Materials and methods**〉 Female Donryu rats at PND 0 were administered a single subcutaneous injection of sesame oil or ethynyl estradiol (EE) at doses of 0.02 (non-inducible dose), 0.2 and 20 µg/kg (inducible doses). At 10 weeks of age, all animals were artificially induced LH surge. Middle-aged (20 weeks) females with normal cycles were given the same treatment to compare delayed effect and age-related changes. All animals were decapitated at 11:00-19:00 on the day of the LH surge, and serum LH level and kiss1 mRNA expression in the AVPV were analyzed.

〈**Results**〉 LH surge peaks decreased in the treated and middle-age groups, with the exception of the EE 0.02µg/kg group. LH concentration in the EE 0.2 and 20µg/kg groups showed dose-dependent and middle-aged group showed marked decrease at 16:00 (the peak time of control group). Kiss1 mRNA levels in the control group peaked at 16:00-17:00, the same time as the LH surge. Kiss1 mRNA in the EE 20µg/kg and middle-aged groups showed a statistically significant decrease at 14:00.

〈**Conclusion**〉 Reduction of the LH surge suggests that effects on the central systems occur before commencement of an abnormal estrus cycle. The lower LH level was common to middle-aged rats. In addition, decreased kiss1 mRNA expression in the EE 20µg/kg group implies that aberration of kisspeptin neurons is involved in the abnormal estrus cycle of delayed effect.

P-72

Lack of modifying effect of 3-MCPD fatty acid esters on mammary carcinogenesis in SD rats

○Young-Man Cho¹, Yasuko Mizuta¹, Isamu Suzuki¹, Takeshi Toyoda¹, Junichi Akagi¹, Akiyoshi Nishikawa², Kumiko Ogawa¹

¹Div. Pathol., Natl. Inst. Health Sci., ²Biol. Safety Res. Center, Natl. Inst. Health Sci.

〈**Background**〉 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) fatty acid esters (3-MCPDEs), trace contaminants in edible oils are possibly formed during refining processes. Although there is no toxicological data available yet on the 3-MCPDEs, the primary toxicological concern is based on the potential release of non-genotoxic carcinogen, 3-MCPD from the parent esters.

〈**Aim**〉 In the present study, we investigated the modifying effects of 3-MCPDEs on the mammary gland, one of the carcinogenic target organs of 3-MCPD.

〈**Materials and Methods**〉 7-week-old SD rats were pretreated with N-methyl-N-nitrosourea (50 mg/kg i.p.) and then gavaged daily with 40 mg/kg bw of 3-MCPD, or 220, 130 or 240 mg/kg bw of its palmitate diester (PD), palmitate monoester (PM) or oleate diester (OD), respectively, in olive oil, 5 days per week for 25 weeks to achieve equimolar doses of 3-MCPD. During the treatment period, general conditions were observed daily, and body weight, food intake and thoracic and abdominal mammary gland tumor appearance assessed by palpation were recorded weekly. After the treatment, all surviving rats were euthanized under anesthesia and necropsied.

〈**Results**〉 No significant changes were observed in survival rate, final body weight and food consumption among the groups, although in the 3-MCPD group decreases with or without statistical significance were observed in early stage compared to the olive oil group. With palpable mammary gland tumors, significant increase of the incidence in the 3-MCPD PM group was observed from weeks 18 to 21 compared to the olive oil group. Histopathological examination revealed that the incidences, multiplicities and volumes of MNU-induced mammary gland tumors in 3-MCPD and 3-MCPDEs groups were not changed compared to control or olive oil groups, regardless of the histological differentiation.

〈**Conclusion**〉 Our results provide evidence that 3-MCPDEs do not modify the carcinogenesis of mammary gland in the present model.

P-73

Enhancement of mammary carcinoma induction by high fat diet in c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats

○Mie Magaki¹⁾, Takamasa Ohnishi¹⁾, Hiroyuki Tsuda²⁾

¹⁾Hyogo University Faculty of Health Science, ²⁾Nagoya City University

〈**Background**〉 The incidence of breast cancer has been increasing in Japan, with breast cancer becoming the most frequently occurring cancer in women and being associated with the fourth highest mortality rate. Studies suggest that this recent increase can be attributed to changes in the Japanese diet: in particular, the increased fat intake. Indeed, a correlation between the rate of breast cancer and high fat intake has been suggested in Western populations.

〈**Objective**〉 We examined the relationship between high-fat and low-fat diets and the incidence of breast cancer in transgenic rats (Hras128 rats) expressing the human prototype c-Ha-ras gene, associated with high rates of breast cancer.

〈**Materials and Methods**〉 We administered benzo[a]pyrene (50 mg/kg wt) to 7-week-old male Hras128 and wild-type rats using a gastric tube. One week later, we fed the rats a high-fat diet (45% calories) or a low-fat diet (10% calories) for 12 weeks. In the 20th week, we sacrificed the rats and determined the presence of breast cancer. The extracted tumors were fixed with 10% buffered formalin, and hematoxylin and eosin-stained specimens were prepared for microscopic observation. We also measured organ weight and transaminase and cholesterol levels in blood collected during the autopsy.

〈**Results**〉 Breast cancer was confirmed in 11 of 12 Hras128 rats fed a high-fat diet and in 5 of 12 rats fed a low-fat diet. The per-subject breast cancer incidence rate was 1.7 in Hras128 rats fed a high-fat diet and 0.7 in rats fed a low-fat diet; this difference was significantly different. Mammary tumors were not detected in wild-type rats fed either a high-fat diet or a low-fat diet.

〈**Conclusion**〉 Our finding that breast cancer occurs at high frequency in Hras128 rats fed a high-fat diet suggests a relationship between breast cancer incidence and high fat intake.

P-74

Background data on developmental parameters during gestation period in rats

○Satoshi Furukawa¹⁾, Seigo Hayashi¹⁾, Masayoshi Abe¹⁾, Souichiro Hagio¹⁾, Kota Irie¹⁾, Yusuke Kuroda¹⁾,
Izumi Ogasa¹⁾, Akihiko Sugiyama²⁾

¹⁾Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, Ltd.,

²⁾Courses of Veterinary Laboratory Medicine, School of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori University

〈**Background**〉 There have been many reports on background data on gestation day (GD) 21 in pregnant rats. However, there have been few reports on background data of cesarean section during the gestation period. Therefore, background data during the gestation period were obtained from the pregnant rats in the control groups in our previous 3 fetal toxicity studies and 7 placental toxicity studies.

〈**Materials and Methods**〉 These data were obtained from 128 Wistar Hannover GALAS and 26 Crl:CD(SD) pregnant rats that were the control animals in the above mentioned 10 toxicity studies and a few other toxicity studies. The dams were sampled on GDs 11, 13, 15, 16, 17, 19, and 21 in the Wistar GALAS Hannover rats and on GDs 13, 15, 17, and 21 in the Crl:CD(SD) rats.

〈**Results and Discussion**〉 The body weights of dams in the Wistar Hannover GALAS rats were significantly lower throughout the gestation period than those in the Crl:CD(SD) rats. In contrast, the time-dependent change in the body weight gain (%) of dams showed very similar trends in both strains. The mean number of live embryos/fetuses in the Wistar Hannover GALAS rats was 12.0, and was lower than that (14.5) in the Crl:CD(SD) rats. The placental weights gradually increased with pregnancy progression and reached a plateau on gestation day (GD) 19, although the embryo/fetal weights rapidly increased from GD 17 to GD 21. The embryo/fetal weights in the Wistar Hannover GALAS rats were significantly lower on only GD 21 than those in the Crl:CD(SD) rats. It is considered that this fetal weight difference between the strains develops during the fetal period, but not during the organogenesis period. In contrast, there were no differences in the placental weights between the two strains. Microscopically, the thickness of the labyrinth zone in the Wistar Hannover GALAS rats was thicker throughout the gestation period than that in the Crl:CD(SD) rats.

P-75

Sertoli cell aggregations observed in the seminiferous tubules of C57BL/6J mice

○Akiko Nakamura, Kochi Kakimoto, Katsuhiko Miyajima, Yuzo Yasui, Yusuke Kenmochi, Kaoru Toyoda, Eriko Taniai, Akemi Takahashi, Toshiyuki Shoda

Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc.

〈**Background**〉 Cell aggregations apparently composed of monomorphic cells were observed in the seminiferous tubules in C57BL/6J mice which were used in a two-week toxicity study. The finding was observed in animals of all dose groups including the vehicle control group without dose-correlation in its incidence and/or severity and was thought to be a spontaneous change. The origin of the aggregating cells was investigated by histological and immunohistochemical approach.

〈**Materials and Methods**〉 The testes were from 9-week-old C57BL/6J mice which were used in a two-week toxicity study and killed at the end of the dosing period. The study consisted of five groups including a vehicle (0.5%MC) control group (6 mice/ group). The testes from all animals were fixed in Davidson's fixative, embedded in paraffin, sectioned and stained with hematoxylin and eosin. Immunohistochemistry for OSP/Claudin-11 was also performed with paraffin-embedded sections.

〈**Results and Conclusion**〉 Cell aggregations each composed of about 5-50 cells were observed in a few seminiferous tubules in a unilateral testis of one to three out of six animals in each group. The cell aggregations were located in the lumen of the seminiferous tubules or on the apical portion of the seminiferous epithelium. The aggregating cells had a pale eosinophilic and rarely vacuolated cytoplasm with unclear cell boundary. The nucleus of the cells was oval or bent containing a prominent nucleolus and condensed chromatin. No mitotic figures were observed in the aggregating cells. By immunohistochemistry, the aggregating cells were positive for OSP/Claudin-11 and thought to be Sertoli cells. Except for the above finding, slight to mild atrophy of the seminiferous tubules was observed in the testes. All findings observed in the testes showed no dose-correlation in their incidence and/or severity and thought to be spontaneous.

P-76

Ovarian Germ Cell Tumors with Unusual Histopathological Feature in Two Mice

○Masayo Hosoi, Yasufumi Ota, Yoshihide Ueda, Shigeaki Takami, Rumiko Miyajima, Kazushige Hasegawa, Atushi Shiga, Isao Narama

Public interest incorporated foundation Biosafety Research Center (BSRC)

〈**Aim**〉 Ovarian germ cell tumors except for teratomas are rare in rats and mice. We report the histopathological features of unusual ovarian germ cell tumors in mice.

〈**Case**〉 Case 1: The affected animal was CD1 (ICR) mouse used in a carcinogenicity study and found moribund at 33-week-old. Necropsy revealed a red mass of left ovary sized 30x25x20 mm, enlargement of renal lymph node sized 5x5x3 mm along with multiple white nodules sized up to 3x3x2 mm in great omentum. Case 2 was B6C3F1 mouse used in a carcinogenicity study and found dead at 62-week-old. Necropsy revealed a white mass of left ovary sized 20x15x15 mm.

〈**Results**〉 Histopathologically, most part of ovarian mass was hemorrhagic and necrotic in Case 1. The tumor composed of a multiple keratinous cysts, hair follicle structures, cysts lining single layered columnar epithelium, mature nervous and bone tissue, striated muscle fibers, and adipose like those of benign teratoma (mature teratoma), but a peripheral part of mass contained small basophilic cells and huge cells having large nucleus and abundant eosinophilic cytoplasm similar to germ cells. Component of yolk sac carcinoma also mingled with these cells. A renal lymph node contained tumor component of mature teratoma along with yolk sac carcinoma. Omental nodules composed of yolk sac carcinoma tissue having papillary pattern with small epitheloid basophilic cells. In Case 2, most part of ovary composed of multiple cysts and mature tissue elements, with partly solid growth of immature tissue (malignant teratoma or immature teratoma) and contained primal neural tube like structures. Other area contained characteristic tissue of yolk sac carcinoma.

〈**Conclusion**〉 Case 1 and 2 were diagnosed as malignant mixed germ cell tumors that composed of teratoma and other malignant germ cell tumor. Tumor of case 1 contained well-differentiated mature tissue in metastatic mass. These tumors were thought to be spontaneous, because they were detected in only one case each.

P-77

Pathology of Nodular Lesions in the Epididymis of Mice

○Atsushi Shiga, Yasufumi Ota, Yoshihide Ueda, Shigeaki Takami, Masayo Hosoi, Rumiko Miyajima, Kazushige Hasegawa, Isao Narama

Public Interest Incorporated Foundation, Biosafety Research Center (BSRC)

〈**Background**〉 Primary tumors in the epididymis of mice are rare and most of which are non-epithelial tumors. As nonneoplastic lesions, accumulated histiocytes such as spermatic granuloma or chronic inflammation are frequently encountered in the mouse epididymis. It is difficult to differentiate the accumulated histiocytes from neoplastic cells in some cases.

〈**Object**〉 To clarify the histopathological characters of various nodular lesions and to differentiate neoplastic and nonneoplastic lesions in the epididymis of mice

〈**Materials and Methods**〉 1. Histopathological examinations of the epididymal nodular lesions in 21 mice from carcinogenicity studies, 2. Experimental trial to induce spermatic granuloma (4 mice)

〈**Results**〉 Chronic inflammatory changes were developed mainly in the cauda of the epididymis and were consisted of cholesterol cleft, infiltration of lymphocytes and/or histiocytes and multinuclear giant cells histopathologically. These lesions were accompanied partially with monotonous proliferation of histiocyte-like cells and/or fibroblast-like cells. Neoplastic lesions with partial similar histopathological features to the chronic inflammatory changes were also noted in the cauda of the epididymis. Tumor cells consisting of the neoplastic lesions were alpha-smooth muscle actin (ASMA)-positive in some cases and infiltrated into the epididymal duct. In addition, the time-course changes of induced sperm granuloma were examined, but did not provide appropriate results because of few materials.

〈**Discussion**〉 Tumors consisted of ASMA-positive cells suggested the myofibroblast origin in the chronic inflammatory lesions. In the epididymis of mice, there are two kinds of tumors with similar morphology, that is primary or metastatic histiocytic sarcoma (HS) and so-called fibro-histiocytic tumors. Therefore, it is need to differentiate carefully among proliferative lesions of histiocyte-like cells and/or fibroblast-like cells in the epididymis of mice.

P-78

Morphological features of rat ovary changes induced by short-term treatment with cytotoxic anticancer drugs

○Tomo Suzuki¹, Isamu Oosuga¹, Ryota Tochinai¹, Yuriko Nagata¹, Chie Hata¹, Minoru Ando¹, Kazumi Uchida¹, Toshihide Kobayashi¹, Midori Yoshida², Shoichi Kado¹, Kimiyuki Kaneko¹

¹Safety Research Department, Yakult Central Institute for Microbiological Research,

²Division of Pathology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

〈**Background**〉 Cyclophosphamide (CPA) or cisplatin (CDDP), cytotoxic anticancer agents, can induce increases in atretic follicles characterized by apoptotic granulosa cells in 2- or 4-week repeated-dose toxicity studies in rats. However, ovarian changes with short-term treatment of such drugs remain unclear. In this study, we report that morphological characterization of rat ovary changes induced by short-term treatment with cytotoxic anticancer agents.

〈**Materials & Methods**〉 CPA, CDDP, 5-fluorouracil (5-FU), or vincristine (VCR) were intravenously administered to 10-week-old female Crl:CD(SD) rats for 4 days. One day after final administration, the ovaries were removed, fixed in 10% neutral buffered formalin, and embedded in paraffin. Ovarian sections were stained with hematoxylin and eosin, and were performed PCNA immunostaining to detect oocytes and TUNEL staining to determine apoptosis. Ovarian follicles were classified into small, medium, and large referred to Pedersen's follicular classification in rodents.

〈**Results**〉 Increases in atresia of medium and/or large follicles were observed in rats treated with CPA, CDDP, or 5-FU. In CDDP and 5-FU treated rats, granulosa cells with marked necrosis were observed in medium and large follicles. In VCR treated rats, obvious changes did not observed in medium or large follicles. No animals showed significant changes in small follicles.

〈**Conclusions**〉 Ovarian morphological changes induced by short-term treatment with anticancer agents could mainly occur in medium and large follicles.

P-79

The importance of capsule formation/growth beyond the capsule as a malignancy diagnostic feature of Islet tumor in rats

○Kaori Nishihara¹, Yuko Yamaguchi¹, Mizuho Takagi¹, Shino Kumabe², Masako Imaoka³, Midori Yoshida⁴, Junko Sato²

¹BoZo Research Center, ²Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medience Corporation,

³Kasai RD Center, Daiichi Sankyo Co., Ltd., ⁴Division of Pathology, National Institute of Health Science

〈**Introduction**〉 Capsule formation and growth beyond the capsule are indices for malignancy of islet tumor. However, it is not clear whether these indices correlate to the malignancy of the tumor. We examined the relation between morphological difference and the results of immunohistological staining with a focus on capsular formation of islet tumors.

〈**Materials and Methods**〉 Using 53 CrI:CD(SD) rats (58 tumors) and 10 Fischer 344 rats (11 tumors) at 110 weeks of age, H&E and MT staining, immunohistological staining using anti-PCNA and anti-Insulin antibody were done, and compared.

〈**Results**〉 Capsular formation was observed in high incidence in 51/69 tumors (73.9%), but its occurrence was various: partial/encircling and thin/thick. Small to large accumulations of tumor cells outside of the capsules were observed in 80.4%. The growth patterns were nests/ribbon/palisade arrangement, and cytoplasm were richer than normal. There was neither marked cellular pleomorphism nor infiltration in blood vessels or distant metastases. Mitosis were uncommon. There was no morphological differences of the tumor cells caused by the presence/absence of capsular formation, inside and outside of the capsule. Insulin was stained deeply and granular in normal islet cells, while tumor cells were 100% positive to Insulin but tended to be pale and homogeneous. The PCNA positive index was low. In the PCNA and insulin stainability, there was no difference caused by the absence/presence of capsular formation, tumor cells inside or outside of capsules.

〈**Conclusion**〉 In the islet tumors examined, capsule formation was observed at high incidence. In spite of the presence/absence of capsular formation, thickness and infiltration out of capsules, they were judged to be benign tumor since morphological pleomorphism and mitosis were not prominent and there was no distant metastasis. It is judged not to be malignant since there were only capsular formation and infiltration into or out of the capsules.

P-80

Immunohistochemical analyses of pancreatic stellate cells (PSCs) and myofibroblasts (MFs) in developing rat pancreas and canine pancreatic fibrosis

○Ai Hashimoto, Takeshi Izawa, Miyuu Tanaka, Hossain M. Golbar, Kavindra Wijesundera, Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Laboratory of Veterinary Pathology, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University

Fibrosis is the terminal lesion caused by any disease in the pancreas and effective therapy has still not been established. MFs capable of producing extracellular matrix play important roles in fibrosis. Pancreatic MFs are considered to be derived from PSCs. In this study, by focusing on cytoskeleton expressions, we analyzed (1) the characteristics of PSCs in developing pancreas of rats, and (2) the characteristics of MFs in pancreatic fibrosis lesions of dogs.

〈**Materials and Methods**〉 (1) Pancreas samples were obtained from F344 rats on gestational days 18 and 20, on neonatal days 1-21, and in adulthood; (2) pancreatic fibrosis lesions obtained from 12 autopsy dogs were graded for fibrosis by HE and Azan stains. These samples were immunostained by anti-vimentin, desmin, α -SMA, and GFAP antibodies.

〈**Results**〉 (1) GFAP was expressed constantly in PSCs through the developing pancreas, and vimentin, α -SMA and desmin were also expressed in varying degrees, although vimentin expression decreased with the development. (2) In normal pancreas, vimentin- and GFAP-positive interstitial cells were seen around the exocrine acinars and in the islets of Langerhans, but α -SMA-positive interstitial cells were not seen. These positive cells increased along with the increasing grade of pancreatic fibrosis. Double immunofluorescence staining is under way for further characterization.

P-81**Lesion in femoral metaphysis in Jic:CB6F1-Tg rasH2 mice**

○Yuko Yamaguchi, Tubasa Saito, Tomomi Nakazawa, Muzuho Takagi, Mariko Nagatani, Kazutoshi Tamura, Toru Hoshiya

BoZo Research Center Inc.

〈**Introduction**〉 Jic:CB6F1-Tg rasH2 mice are genetically-modified animal to which proto-type oncogene [c-Ha-ras] has been carried for the purpose of evaluating short-term carcinogenicity. However, historical background data for non-neoplastic lesions are not sufficient. This time, spontaneous histological changes in femoral metaphysis are reported.

〈**Materials and Methods**〉 Histopathological examination was done for the right femur (distal end) of 400 animals that were collected from 4 studies of 50 male and 50 female rasH2 mice at 34 weeks of age for collection of background data.

〈**Results**〉 Lesions were observed as dystrophy of cartilage at metaphysis. Histologically, the lesions are characterized by disturbance in the form or focal thickening of growth plates, or chondrogenesis in bone marrow slightly distant from the growth plates. Since the animals were in the week age of closure of growth plates, the regions did not show bone formation such as cartilaginous ossification and activation of osteoblasts and osteoclasts, and there was no hemorrhage or inflammatory change.

The incidence of its occurrence in 4 studies was 10%, 14%, 2% and 0% in males and 0%, 36%, 4% and 0% in females. It was 6.5% in males and 10% in females in total, but there were variations in the animal lot. Among these animals that showed the change, 7 animals showed abnormal formation of knee joint, but its relation to the changes in the metaphysis was unclear. These animals did not show abnormal gait, and there were no changes in food consumption or body weight during the study period.

〈**Conclusion**〉 Since only the right femur was observed this time, it was not clear whether the changes were bilateral or not. Since the other long bones were not observed, its systemic incidence of occurrence unclear. This lesion showed site specificity and its histological feature similar, genetic predisposition might be one of the causes, but the details remained unknown.

P-82**Age-related pathological changes of the skeletal muscles in the *mdx* mouse and exploratory analyses of glycosaminoglycans in these tissues**

○Kei Kubota, Aisuke Nii, Daisuke Morita, Atsushi Watanabe, Shino Ito, Yuka Minamisawa, Ikue Kitazawa, Takatoshi Kubo

Medicinal Safety & Pharmacokinetics Dept., Central Research Lab., Seikagaku Co.,

The *mdx* mouse, an animal model of Duchenne's muscular dystrophy, shows repeated necrosis and regeneration of the skeletal muscle fibers after 3 weeks of age. The processes of the fiber regeneration are regulated by the interaction of myoblasts and extracellular matrices (ECM) which include abundant proteoglycans (PGs), activity modulators of a variety of growth factors. In this study, we examined age-related pathological changes of the skeletal muscles in the *mdx* mouse, and also conducted exploratory analyses of glycosaminoglycans (GAGs, components of PGs) included in the skeletal muscles.

Male C57BL/10ScSn-*Dmd*^{*mdx*}/J mice were sacrificed at a total of 6 time points (2, 4, 7, 13, 18, and 26 weeks of age), and the femoral and lower legs, gastrocnemius muscle (GC) and diaphragm were sampled. Male C57BL/10ScSlc mice were served as a control and treated in a similar manner. The muscle samples except for the GC were fixed, embedded in paraffin, and the sections were stained with H&E, special stainings for collagen fiber or GAG, and also with GAG-related histochemistry. The GC was frozen, and the sections were immunostained for dystrophin protein. A part of the muscles in the lower leg were analyzed for their contents of GAGs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS).

By H&E staining, in the *mdx* mice, no abnormalities were found in either muscle at 2 weeks of age. From 4 to 26 weeks of age, difference in size, degeneration and necrosis of the muscle fibers, and also regenerating fibers were observed in the femoral and lower legs and diaphragm at each time point. By dystrophin immunostaining, the *mdx* mice lacked the protein in the entire periphery of the sarcolemma after 2 weeks of age. From these results, there were no apparent age-related differences of the changes after 4 weeks of age. Preliminary results of GAG analyses including those of special stainings, histochemistry and LC/MS/MS will be shown in the presentation.

P-83

Effect of hyperbaric oxygen to mouse skin tumors that occurred by two-stage chemical carcinogenesis

○Hiroshi Doguchi¹⁾, Yukinori Akazawa²⁾, Reika Takamatsu¹⁾, Masanao Saio¹⁾, Naoki Yoshimi¹⁾

¹⁾Department of Pathology and Oncology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus,

²⁾Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus

Hypoxia within tumor tissues plays a significant role in the treatment of malignancy. Hyperbaric oxygen (HBO) therapy has been considered to cure the hypoxia and possibly improve treatment outcome. In this study, we examined the effects of HBO in a two-stage chemical carcinogenesis on mouse skin. After shaved the dorsal skin of the mice using surgical clipper, mice were applied 25 nmol 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) solution to the dorsal skin. Then, mice were applied 8.5 nmol 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) twice weekly. When the mice started to occur a skin tumor that it was more than 2 mm diameters, the mice were divided into two groups. Mice in HBO groups were applied HBO 2.2 ATA, 90 minutes, 5 days a week. All groups were sacrificed at 16 weeks from the start of the HBO. We have examined the tumor diameter, multiplicity and tumor volumes. In addition, it will be shown histopathological results. Between the two groups, HBO group may indicate that average volumes, multiplicity and tumor diameter were greater than non-HBO group. It might be shown that HBO enhanced the effects of tumor proliferations by TPA. And it suggested that this phenomenon was similar to the situation in which angiogenesis and epithelialization was promoted wound healing in an under hyperbaric oxygen environment.

P-84

Development of two-Stage ultra-short – term carcinogenicity model using rasH2 mice – investigation of low-dose DMBA

○Mayuko Suguro¹⁾, Mayumi Kawabe¹⁾, Takamasa Numano^{1,3)}, Kouji Urano²⁾, Hideki Tsutsumi²⁾,
Fumio Furukawa¹⁾

¹⁾DIMS Institute of Medical Science, Inc., ²⁾Central Institute for Experimental Animals,

³⁾Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences and Medical School, Nagoya City University

〈**Purpose**〉 To establish an ultra-short-term skin carcinogenicity model using rasH2 mice, we have investigated skin tumor promoting effect of various chemical compounds. We have found that a 7-week application of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) or benzoyl peroxide, known different types of skin-tumor promoters, promoted skin tumors after a single administration of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA: 50 μ g in 100 μ L acetone) as an initiator. Under this condition, however, several false positive reactions have been observed following treatment with a certain vehicle and some non-carcinogens. We, therefore, conducted investigation of low-dose DMBA (12.5 μ g).

〈**Methods**〉 Forty transgenic (Tg) and forty non-transgenic littermate (non-Tg) female rasH2 mice were divided into eight groups and administered DMBA (12.5 μ g in 100 μ L acetone) or vehicle (acetone) once percutaneously. TPA (8 or 4 μ g in 200 μ L acetone) was then applied once a week for seven weeks after one week of DMBA treatment. Eight weeks after DMBA treatment, a histopathological examination was conducted.

〈**Results**〉 In the Tg/DMBA-TPA 8 or 4 μ g treated groups, skin nodules were observed at four or five weeks after DMBA treatment and the incidences reached 100% at six or seven weeks after DMBA treatment, respectively. The average number of nodules in each group at necropsy was 20.5 or 10.9 per mouse, respectively. The skin nodules were diagnosed as squamous cell hyperplasia and squamous cell papilloma, histopathologically. No tumors were found in the Tg/Vehicle-TPA treated groups, non-Tg/DMBA-TPA treated groups and non-Tg/Vehicle-TPA treated groups.

〈**Conclusion**〉 These results show that DMBA at a dose of 12.5 μ g promoted dose-dependent carcinogenic reactions in rasH2 mice following treatment with the skin-tumor promoter TPA. Consequently, the skin tumor promoting action in chemical compounds can be detected only for eight weeks by low-dose DMBA.

P-85

The histomorphometric analysis of the femoral growth plate in dietary restricted young rats

○Chihiro Noguchi¹⁾, Kenta Matsue¹⁾, Yutaka Nakanishi¹⁾, Fumiko Asanuma²⁾, Hiroto Miyata³⁾, Minoru Sasaki¹⁾, Syunsuke Tsutsumi¹⁾, Yasushi Sato¹⁾

¹⁾Drug Safety and Pharmacokinetics Laboratories Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.,

²⁾Regulatory Affairs Division Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.,

³⁾Prescription Drug Pharmacovigilance Division Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.

In 14-day dietary restricted studies of rats, no osseous changes have been reported with routine analysis of histopathology. In the present study, we evaluated the effect of decreased food consumption on femoral growth plate with histomorphometric analysis in addition to histopathological examination. Hematoxylin and eosin stained sections of proximal end of femur were evaluated histopathologically and histomorphometrically, and these evaluations were carried out with the specimens of the nontreated and dietary restricted groups (dietary restriction rate: 25, 44 and 53%, body weight ratio vs. nontreated control: -20, -30 and -37%) in the previously reported 14-day dietary restricted study with 6-week-old-rat (Miyata et al, *J Toxicol Pathol* 2009). Histomorphometric analysis was conducted by measuring the widths and number of chondrocytes per column of proliferative and hypertrophic zones in growth plate. In routine histopathological analysis, obvious differences were not detected between the nontreated control and dietary restricted groups. In histomorphometric analysis, decreases in the widths and number of chondrocytes per column of proliferative zone were observed in the dietary restricted groups (-36 to -44% and -36 to -50%, compared to the values of nontreated control). Obvious differences were not observed in histomorphometric values of hypertrophic zone between the nontreated control and dietary restricted groups. In conclusion, the histomorphometric analysis revealed that 14-day dietary restriction caused biologically significant decreases in the widths and number of chondrocytes per column of proliferative zone. These results indicated that histomorphometric analysis in addition to routine histopathological examination of the bone would detect more detailed effects of decreased food consumption on femoral growth plate.

P-86

Hyperplastic Lesions in Thymic Medulla in Jic:CB6F1-Tg rasH2 Mice

○Tsubasa Saito, Yuko Yamaguchi, Keita Matsushima, Hiroshi Edamoto, Seiki Yamakawa, Kazutoshi Tamura, Toru Hoshiya

BoZo Research Center Inc.

〈**Introduction**〉 Jic:CB6F1-Tg rasH2 mice are transgenic animal to which the human proto-type oncogene [c-Ha-ras] has been carried for the purpose of evaluating short-term carcinogenicity. However, historical background data are insufficient. This time, hyperplastic changes in thymus medulla are reported.

〈**Materials and Methods**〉 Histopathological examination was done for the thymus of a total of 400 animals that were collected from 4 studies rasH2 mice at 34 weeks of age for collection of background data. In addition to HE staining, immunohistochemical staining (IHC) was done using anti- PCNA, CD3, Pax5 and keratine antibodies.

〈**Results**〉 The incidence of lymphocytic hyperplasia in medulla was 29% (24-40%) in males and 17% (10-28%) in females. Its histopathological characteristics are shown below. 1) Many accumulation foci of lymphocytes that showed stainability similar to that of the cortex were observed in medulla. Some animals showed not only reduction in the size of medulla, but also substitution in total medulla. 2) Boundary with the normal cortex was unclear. 3) The lymphocytes that were increased in medulla had variations in size, but they showed no clear differences from normal lymphocytes in the form of nucleus or stainability. 4) There was neither macroscopical enlargement of the thymus nor nodular lesion. 5) There was no correlation between the lesions and organ weight. 6) In the results of IHC, the positive rate of CD3 and PCNA in lymphocytes was clearly higher in medulla described above than in normal area. There was no difference in the stainability of keratine or Pax5.

〈**Conclusion**〉 The cells proliferated in medulla in the thymus were mainly T cells and they were estimated to have hyperplasia since they showed focally high proliferation activity. At the time when they were in 34 weeks of age, development of lymphoma was not observed in all animals, but it is not clear whether it is a preneoplastic lesion or not.

P-87

Thymoma in Wistar Hannover rat - characteristics and causes -

○Yuki Tomonari, Shino Kumabe, Hiroko Kokoshima, Tetsuro Kurotaki, Junko Sato, Takuya Doi, Yumi Wako, Minoru Tsuchitani

Pathology Department, Nonclinical Research Center, Mitsubishi Chemical Medicine Corporation

〈**Background**〉 Thymoma is frequently found in aged Wistar Hannover (WH) rats (Weber K et al.) as with hyperplastic lesions (HL) (Iwata H et al.). Histopathological findings were found in WH rats compared with other strains. Pathmorphologically, we investigated the thymoma frequency cause.

〈**Materials**〉 The thymus of 200 males (M) and 200 females (F) WH rats of a 104-week carcinogenicity background study, and 275 M and 275 F Sprague Dawley (SD) rats, as background data were compared. The organ weights from 6 to 38 week old WH rats were compared to SD rats.

〈**Results**〉 At the necropsy, triangular thymus resembling young rats was noted in particularly female WH rats. Moreover, enlargement or nodules at the thymus were found in 12 M and 31 F. Histopathologically, the structure of the cortex and medulla and lobular pattern remained intact in the WH rats (26 M, 56 F), while involution was found in almost all the SD rats. At the thymoma, nodules with a round lobular edge showed expansive growth. The tumors consisted of thymic epithelium with net-like growth and plentiful lymphocytes. This is a typical proliferation pattern accompanied by a corticomedullary structure. In the HL, none or slight expansive growth with disorganized thymic structure was found. The incidence of thymoma was 10 (5%) M and 30 (15%) F in WH rats, and 1 (0.4%) M and 3 (1.1%) F in SD rats. The incidence of HL was 2 (1%) M and 9 (4.5%) F in WH rats, and 0 (0%) for both sexes in SD rats. Over 6 to 38 weeks, the relative organ weight (ROW) of WH rats was higher than SD rats, and that of the female was higher than male. In 27-38 weeks old, ROW (x10-3%) was 58.97 M and 94.91 F in WH and 30.85 M and 51.95 F in SD.

〈**Conclusion**〉 The thymus features of aged WH rats were slow involution compared to SD rats, HL being preneoplastic lesion of thymoma, with a high incidence of thymoma. Slow involution in female WH rats is considered related to a high incidence of thymoma in female WH rats.

P-88

Spontaneous Thymoma Observed in 52-Week Background Study of Sprague-Dawley rats

○Myoung Jun Kim¹, Mi Ju Lee¹, Byeong Woo Ahn³, Jae-Min Moon¹, Sun Hee Park¹, Yong-Hoon Lee¹, Duyeol Kim¹, Chang Geon Kim¹, Ho-Song Jang¹, Jin Seok Kang², Jongkoo Kang^{1,4}

¹Biototech. co. ltd, ²Namseoul University, ³Department of veterinary pathology, Chungbuk National University,

⁴Department of Laboratory Animal medicine, Chungbuk National University

The well-encapsulated mass in the anterior mediastinum was observed in one female 58-week-old Sprague-Dawley (SD) rat, following necropsy at termination of a 52-week background study. It was shown grossly as a single, solid, yellowish-white cut surface. Histologically, it was characterized by diffuse scattered small clusters or individual of tumor cells, small lymphocytes and eosinophils, and abundant fibrous tissue. Neoplastic epitheloid cells have round or polygonal shape nucleus with distinct nucleoli and fine vacuoles. Features of malignancy were observed as high mitotic rate, atypical mitoses, and various level of differentiation. As the epitheloid tumor cells were positive for immunostaining of cytokeratin and this tumor was diagnosed as malignant epithelial thymoma. The incidence of thymoma in Sprague-Dawley (SD) rat was quite rare, recorded between 0.3% and 0.6% and malignant thymoma was more unusual. This is rare case of thymoma occurring spontaneously in SD rat.

P-89

Hyperplasia of Subcapsular Thymic Epithelial Cell in the Thymus of a Cynomolgus Monkey

○Yuichi Murakami¹⁾, Takahisa Noto¹⁾, Kenjiro Tsubota¹⁾, Yuji Oishi²⁾, Shunji Nakatsuji¹⁾, Masahiro Matsumoto¹⁾

¹⁾Toxicologic Pathology, Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.,

²⁾Drug Safety Research Labs., Astellas Pharma Inc.

⟨**Case**⟩ The animal was a 5-year-old male cynomolgus monkey allocated in the low-dose group of a toxicity study. There were no noteworthy findings in general condition, body weight, food consumption, hematology and blood chemistry during the study period. At necropsy, multiple dark-red foci were observed in the lung, while no abnormalities were noted in other organs including the thymus. Various organs were fixed in 10% neutral buffered formalin, and routinely stained with hematoxylin and eosin. For the thymus, immunohistochemical and electron microscopic examinations were conducted.

⟨**Results**⟩ Histopathology of the thymus revealed slight involution. The cells with oval pale nuclei and scanty weakly eosinophilic cytoplasm, which were slightly larger than lymphocyte, proliferated zonally or focally along the thymic capsule and septa. The mitoses were rarely observed. The proliferative cells were positive for cytokeratin (CK) 7, negative for CK 20 and showed no increase of Ki-67 labeling index. In electron microscopy, cytoplasmic tonofilaments and desmosomes were detected. No significant findings were observed in other organs except for multifocal hemorrhage of the lung.

⟨**Conclusion**⟩ Thymic epithelial cells (TECs) are classified into subcapsular, cortical, medullary, and Hassall corpuscle cell types based on CK expression patterns and their physiological functions. Since the proliferative cells in this case were located in the subcapsular area and positive for CK7, they were considered to be subcapsular TECs. In the process of thymic involution, it is well known that subcapsular TECs proliferate and extend to the medulla along the septa. However, in this case, the proliferation of subcapsular TECs deviated from the normal range in thymic involution process. Therefore, this case was diagnosed as hyperplasia of subcapsular thymic epithelial cell. No similar case has been reported previously and this case was considered to be an exceedingly rare entity.

P-90

Accumulation of Mott cells in the spleen in a CB6F1-TgrasH2 mouse

○Tomoya Sano, Hisashi Anayama, Yuuichi Takai, Takeshi Watanabe, Ryo Fukuda

Takeda Pharmaceutical Company Limited, Drug Safety Research Laboratories

This report describes the morphological and immunohistochemical characteristics of the appearance of Mott cells in the spleen of a female CB6F1-TgrasH2 mouse. The animal received a 0.5 w/v% methylcellulose solution via oral gavage for 26 weeks and was sacrificed at 33 weeks of age. There were no abnormalities in the clinical signs, necropsy findings, hematology or blood chemistry. Microscopically, a large number of round cells with abundant cytoplasm containing eosinophilic globules were distributed in the red pulp of the spleen. The nuclei of these cells were compressed by the intracytoplasmic globules and had polygonal shape and marginated heterochromatin on electron microscopy. The cytoplasmic eosinophilic globules were positively stained with immunohistochemistry using antibodies for mouse immunoglobulins (IgG or IgS complex) and were confirmed electronmicroscopically to be the accumulation of homogenous substances in the dilated rough endoplasmic reticulum; however, these cells were negative for CD45R/B220 which is one of the B cell markers. These aspects of the cells were similar to Mott cells. Mott cell formation is considered to be caused by a disorder of Ig degradation and/or secretion and is reported in various pathological conditions including autoimmune disease, reactive plasmacytosis and various hematolymphoid malignancies, whereas neither inflammatory changes nor hematopoietic tumors was observed in this case. On the basis of the histopathologic, immunohistochemical, and electron microscopic findings, the present lesion is thought to be an unusual appearance of Mott cells without any associated pathological conditions.

P-91

90-day Repeated Dose Toxicity and Genotoxicity Tests of *Evodia officinalis*

○Duyeol Kim¹, Yong-Hoon Lee¹, Sun Hee Park¹, Mi Ju Lee¹, Myoung Jun Kim¹, Ho-Song Jang¹,
Hye-Yeong Lee¹, Mi-Young Lee¹, Beom Seok Han², Woo-Chan Son³, Ji Hyeon Seok⁴, Jong Kwon Lee⁴,
Jayoung Jeong⁴, Jin Seok Kang⁵, JongKoo Kang^{1,6}

¹Biototech Co.Ltd., Department of pathology, ²Hoseo Toxicity Research Center, Hoseo University Biomedical Laboratory Science, ³Pathology Department, Asan Medical Center, ⁴Toxicological Research Divison, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration, ⁵Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University, ⁶Department of Laboratory Animal medicine, College of Veterinary medicine, Chungbuk National University

Evodia officinalis (EO) is natural product which has been used by oriental medicine and it has been known to have some pharmacologic effects such as testosterone secretion, catecholamine secretion, analgesic, anti-inflammatory, anti-obesity, vasodilatory, thermoregulatory and uterotonic effects. However, its toxicity has not been fully evaluated. In the present studies, we carried out a 90-day repeated dose toxicity study (orally five times per week at doses of 25, 74, 222, 667 and 2,000 mg/kg) using in F344 rats and genotoxicity studies (bacterial reverse mutation test in *Escherichia coli* WP2uvrA, *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 and TA1537, chromosome aberration test using Chinese Hamster Lung cell and micronucleus test using ICR mice) of EO. Increased liver weight in both sexes at 2,000 mg/kg ($P < 0.01$), decreased alanine aminotransferase in males at 222, 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.01$), in females at 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively), decreased total cholesterol in males at 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.01$), in females at 222, 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.01$, respectively), and decreased glucose in females at 222, 667 and 2,000 mg/kg ($P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively) were relevant. The changes were not associated with histopathological alterations. Thus, the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) of EO in F344 rats is considered to be greater than 2,000 mg/kg. For genotoxicity study, EO did not show the mutagenic potential, chromosome aberration and micronucleus formation.

P-92

Evaluation of carcinogenesis of DPAA in a rat medium-term multi-organ carcinogenicity bioassay

○Mai Okumura, Masaki Fujioka, Min Gi, Shotaro Yamano, Kurumi Mishima, Yoshiyuki Tago, Hideki Wanibuchi
Department of Pathology, Osaka city university graduate school of Medicine

〈**Background**〉 Diphenylarsinic acid (DPAA), an organic arsenical compound. Little was known about the health effects of chronic exposure to DPAA until neurotoxicities were reported in inhabitants exposed chronically to DPAA through drinking well water in Kamisu City, Japan; the origin of DPAA in Kamisu City well water is suspected to be illegally dumped DPAA that penetrated into the groundwater. We have previously demonstrated that DPAA is a promoter of hepatocarcinogenesis in a medium-term rat liver carcinogenesis assay, while no evidence of carcinogenicity of this chemical was observed in a 2-year rat carcinogenicity study. The modifying effects of DPAA on organs other than liver have not been determined. [Aim] The purpose of the present study is to fully evaluate modifying effects on carcinogenesis of DPAA using a rat multi-organ carcinogenesis model.

〈**Method**〉 Six week-old male F344 rats were given five carcinogens (Diethylnitrosamine, N-methyl-N-nitrosourea, 1,2-dimethylhydrazine, N-bis(hydroxypropyl)nitrosamine) to initiate multi-organ carcinogenesis during the first 4 weeks of experiment. From experimental week 5, rats were treated with DPAA at doses of 0, 5 and 20 ppm in the drinking water respectively. At the end of the experimental week 32, histopathological immunohistological analysis was conducted. [Result] The number and area of GST-P positive foci, a preneoplastic lesion in rats, was significantly increased in the 20 ppm DPAA group compared with control group. The number and incidence of cholangioma were significantly increased in the 20 ppm DPAA group. No promotion effects of DPAA were observed in other organs.

〈**Conclusion**〉 DPAA exerts promotion effects on hepatocellular and biliary carcinogenesis in rats.

P-93**Single Dose and 13-Week Repeated Toxicity Studies of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* in F344 rats**

○Mi Ju Lee¹, Myoung Jun Kim¹, Sun Hee Park¹, Yong-Hoon Lee¹, Duyeol Kim¹, Ho-Song Jang¹,
Chang Geon Kim¹, Jung Min Lee¹, Hye-Yeong Lee¹, Jin Seok Kang², Jongkoo Kang³

¹Biototech Co., Ltd., ²Namseoul University, ³Chungbuk National University

Acanthopanax divaricatus var. *albeofructus* (ADA) is one of traditional medical herb. The main component of this plant, chiisanoside, has been reported to have anti-hepatotoxic and antidiabetic activity, and so on. Although many pharmacological effects have been reported, toxicological information of ADA was limited. The present study was conducted to evaluate the toxicity of ADA in rats to determine the safe use of it. The toxicity of ADA was evaluated in single and 13-week repeated study in Fischer 344 rats. In the single dose study, ADA was administered to groups at dose levels of 0, 2,000 and 5,000 mg/kg by oral gavage. The toxicity was assessed by clinical sign, mortality, body weight, and necropsy. In the 13-week study, animals were treated with 0, 1,000, 1,500, 2,000, 2,500 and 3,000 mg/kg of ADA by gavage 5 days per week for 13 weeks. Clinical sign, body weight, hematology, clinical chemistry, sperm motility and deformity, estrus cycle, necropsy, organ weight, and histopathology were performed. Soft stool was observed in all dosing groups of both sexes from 4 to 8 hours from dosing in single dose study. It was considered to have little, if any, toxicological significance since it was temporary. There was no death during this study. In 13-week study, decreases in reticulocytes and MCHC, increases in the liver and kidney weights were noted as ADA-related changes. And salivation also noted during dosing period directly after dosing. However, these were not considered to be adverse based on their small magnitude, no morphological changes, and/or temporal changes. On the basis of these results, approximate lethal dose is over 5,000 mg/kg in single study. And no observed adverse effect level of ADA is determined to be over 3,000 mg/kg for rats in 13-week study. Toxicity of ADA was not defined in the present study, and it may be contribute to establish of safety profile to human.

P-94**Establishment and characterization of a transplantable tumor line (RMM) and cell lines (RMM-C and RMM-A1) from a malignant amelanotic melanoma in F344 rats**

○Alexandra Bondoc, Chisa Katou-Ichikawa, Hossain M Golbar, Miyuu Tanaka, Takeshi Izawa,
Mitsuru Kuwamura, Jyoji Yamate

Osaka Prefecture University Veterinary Pathology

Amelanotic melanoma presents diagnostic difficulty as it lacks the usual melanin pigment. To investigate the cellular characteristics, a homotransplantable tumor line (RMM) was established from a spontaneous amelanotic melanoma developed in the pinna of an aged F344 rat. RMM tumors have been produced in syngeneic rats by serial subcutaneous implantation of tissue fragments. The original and RMM tumors consisted of spindle-shaped cells arranged in sheets or interlacing bundles. The mitotic activity was high. Immunohistochemically, neoplastic cells reacted to PNL-2 (for neoplastic melanocytes), nestin (for CNS stem cells), S-100 and vimentin. Electron microscopically, some neoplastic cells possessed few premelanosomes. Further, a cell line (RMM-C) was obtained from a RMM tumor, and then, a cloned cell line (RMM-A1) was isolated from RMM-C. RMM-C cells showed positive reactions to nestin, S-100 and vimentin and the tumors induced by RMM-C cells exhibited histologic and immunohistochemical findings similar to those of RMM tumors. The transplantable tumor line (RMM) and cell lines (RMM-C and RMM-A1) would become useful tools for studying the pathogenesis and therapeutic strategies for malignant melanoma. Further investigations are under way.

P-95

Confirmation study of the combined repeated-dose toxicity and genotoxicity assay using *gpt* delta rats in F344 and SD strain

○Jun-ichi Akagi^{1,2)}, Young-Man Cho¹⁾, Takeshi Toyoda¹⁾, Saeko Onami¹⁾, Yasuko Mizuta¹⁾, Isamu Suzuki¹⁾,
Takehiko Nohmi^{3,4)}, Akiyoshi Nishikawa³⁾, Kumiko Ogawa¹⁾

¹⁾Div. Pathology, Natl. Inst. Health Sci., ²⁾Div. Pharmacology, Natl. Inst. Health Sci.,

³⁾Biological Safety Res. Ctr, Natl. Inst. Health Sci., ⁴⁾Natl. Inst. Biomedical Innovation

〈**Background**〉 Carcinogenicity is one of the most serious hazards due to chronic exposure of chemicals. Since genotoxicity is regarded not to exist the threshold, it is important to evaluate genotoxicity for risk assessment. Transgenic rodents carrying reporter genes to detect genetic alterations are useful to evaluate organ specific *in vivo* genotoxicity, so that OECD has established the guidelines for genotoxicity test using transgenic animals.

〈**Aim, Materials & Methods**〉 To standardize the short-term repeated dose toxicity and genotoxicity assay using *gpt* delta rats which carry *gpt* and *red/gam* transgenes, a genotoxic hepatic carcinogen, diethylnitrosamine (DEN) and a non-genotoxic hepatic carcinogen, di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) were administered to wild type (wt) or *gpt* delta of F344 and SD male rats for 2, 4 and 8 weeks.

〈**Results**〉 The DEN-administered groups showed no significant alteration with regard to organ weights and serum biochemistry. The DEHP-administered groups showed increases of liver and kidney weights, serum albumin and A/G ratio at a dose of 1.2% throughout experimental period. The quantitative analysis of precancerous GST-P+ foci in the DEN-administered liver revealed increase in number and area at a dose of 10 ppm throughout experimental period. In all these changes, there was no significant difference between wt and *gpt* delta rats. In addition, the mutation frequency of *gpt* transgene was elevated at a dose of 10 ppm DEN throughout experimental period.

〈**Conclusion**〉 These results indicate that the *gpt* delta rat in both F344 and SD strain shows comparable general toxicity to wt against DEN- and DEHP-treatment, therefore the validity of this assay to detect both general toxicity and genotoxicity simultaneously was supported.

P-96

Early Tissue Response in the Healing Process of Stent Implanted Artery

○Hisako Terao¹⁾, Junko Souba¹⁾, Ryouhei Asou¹⁾, Masako Tasaki¹⁾, Atsushi Isobe¹⁾, Kouichi Iwatani¹⁾,
Tomoki Inoue¹⁾, Atsushi Sakaoka¹⁾, Kenji Usami²⁾, Toshiaki Saito²⁾, Masayoshi Kanisawa³⁾,
Hitomi Hagiwara¹⁾

¹⁾Evaluation Center, R&D Headquarters, TERUMO Corporation, ²⁾Hatano Research Institute Food and Drug Center,

³⁾Yokohama City University School of Medicine

〈**Introduction**〉 Dilation of the coronary artery stenosis by stent is one of major treatments for ischemic heart disease. The treatment using cytostatic drug-eluting stent (DES) prevails recently in order to prevent restenosis induced by neointimal hyperplasia after stenting. However, DES is associated with the delay of endothelial cell coverage which is vital for arterial lumen healing. In this study, we aimed to observe the cell morphology of DES-implanted artery by SEM, TEM and light microscopy.

〈**Method**〉 DESs (15mm length) were implanted in porcine coronary arteries and harvested after 7 and 10 days. DES-implanted artery was longitudinally cut into halves, fixed and sectioned for SEM. The cross-sectioned artery was embedded in low-viscosity resin (Spurr) and stained for light microscopy. The Spurr sections were embedded in Quetol-812 mixture resin by resupinate method. After detaching the blocks, the specimens including struts were cut to ultrathin sections for TEM.

〈**Results and Discussion**〉 SEM image at 7 days showed that the arterial lumen was incompletely covered by cobblestone-shaped endothelial like cells (ELC). The arterial lumen was coated by thrombus of which surface was partly covered by ELC in light microscopy image. TEM image identified the spindle-shaped cells on the luminal side of strut and a small amount of elastin in the intercellular space. At 10 days, SEM and light microscopy images showed that the arterial lumen was completely covered by ELC. The spindle-shaped cell coverage was observed by SEM. TEM image identified the spindle-shaped cells containing microfilament on the luminal side of strut and plenty of elastin between cells. These results confirmed the extension of coverage area by ELC, the mature of ELC and the increase of elastin in neointima from 7 to 10 days post implantation. It would be valuable for the precise tissue evaluation to compare the early stage images of DES-implanted artery from SEM, TEM and light microscopy.

P-97

Neonatal nutritional changes on offspring development examined in context of developmental origins of health and disease theory

○Makiko Kuwagata¹, Mika Senuma¹, Fumiaki Kumagai¹, Junko Shibato², Randeep Rackwal², Yoshiaki Saito¹, Hideki Marumo¹, Tetsuo Ogawa³, Seiji Shioda²

¹Toxicology Division, Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center,

²Anatomy I, Showa University, School of Medicine, ³Physiology, Saitama Medical University

Previously, we have sought genes related to mental disorders and adult diseases after prenatal undernutrition in mice based on the developmental origins of health and disease (DOHaD) theory. Prenatal undernutrition was found to affect fetal immune system. In this study, maternal C57BL mice were exposed to 50% food deprivation (FD) or fed high fatty lipid chow (HF) during postnatal day (PD) 0 to 10. Histopathological observations of liver, spleen, and kidney of offspring were made on PD7, 21 (at weaning), and 10 weeks of age, to evaluate neonatal undernutrition-derived developmental changes therein. FD offspring showed developmental retardation of spleen and kidney at PD7 and 21. Extramedullary hematopoiesis was severer compared to the control. Hypoplasia of white pulp was observed at PD21. In the kidney, generation of renal tube was continuous. In the HF group, extramedullary hematopoiesis in the spleen was severer than that of the control at PD21. At PD21, spleen weight significantly increased in the FD and HF groups. However, no different histopathological or spleen weight changes were seen among the three groups at 10 weeks of age. Our results show that nutritional changes in neonatal period affect the development of spleen, indicating alterations in that immune system of the offspring. Several rodent models investigating maternal undernutrition during pregnancy showed a decrease in the number of nephron in fetus, triggering hypertension during adulthood. Considering retarded development of kidney after neonatal undernutrition in a rodent, we hope to focus extra attention to extrapolate data (gene) of kidney in the DOHaD study.

P-98

A spontaneous basal cell carcinoma with lung metastasis in a 6-week-old SD rat

○Asami Urashima, Kinji Kobayashi, Yuji Sasaki, Yohei Tanigawa, Junko Fujishima, Akiko Moriyama, Takano Okazaki, Kaori Yabuuchi, Takaharu Nagaoka, Kazumasa Yamashita

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd. Drug Safety Research Laboratories

〈**Introduction**〉 Basal cell carcinoma is very rare in young rats, in which it has possibly never have been reported with accompanying lung metastasis. Here, we report on a 6-week-old male SD rat in which it had metastasized into the lung.

〈**Animal**〉 This animal was euthanized after exhibiting abnormal respiratory sounds and black stool in the acclimation period of a toxicity study. The necropsy findings were as follows: a nodule accompanying hard palate surface ulceration around the left molar, left suborbital protrusion, white nodules in the lung and cecum dilatation with retention of gas and black material.

〈**Results and discussion**〉 Proliferation of tumor cells was histopathologically observed over a large region from the gum around the left maxillary first molar to the nasopharynx through the ventral side of the nasal cavity with widespread infiltration across the left maxilla, including into the dental pulp. These tumor cells showed solid growth, with partial alveolar proliferation pattern, possessed indistinct boundaries of cells, and basophilic cytoplasm and round to oval in shape with single or multiple nucleoli, indicated a large number of mitotic figures, and were accompanied by proliferation of stromal spindle cells. The lung nodules were shown to be histopathologically identical to the maxillary tumor except that they were not accompanied with proliferation of stromal spindle cells. Accordingly, they were considered to be metastasis from the primary maxillary tumor. Immunohistochemically, the tumor cells were cytokeratin, vimentin, PCNA, and p63 positive, and desmin, S-100, and aSMA negative, and the stromal spindle cells were vimentin positive, cytokeratin negative, and slightly PCNA positive. Accordingly, we diagnosed basal cell carcinoma. Basal cell carcinoma with lung metastasis in a young rat is very rare.

Information from IATP

International Academy of Toxicologic Pathology (IATP) Special Lecture Practical Application of 3-D MRI Histology in Toxicologic Pathology

IATP Lecture, JSTP, January 29, 2014

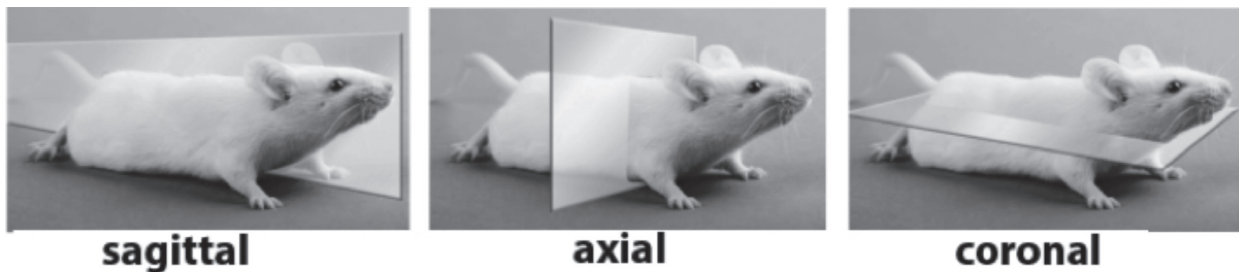
Presented by Dr. R. R. Maronpot (Maronpot Consulting, LLC, USA), Dr. Yael Schiffenbauer (Aspect Imaging, Inc. Israel), and Dr. Abraham Nyska (TelAviv University & Consultant in Toxicologic Pathology, Israel)

Isotropic 3-D *in vivo* MRI images of rats and mice as well as images of formalin-fixed whole tissue specimens are possible with novel compact MRI-based scanners that can now be safely used in an animal room, a histology laboratory, or a pathologist's office without the cost, infrastructure or imaging expertise previously required. Compact MRI *in vivo* imaging provides an opportunity for longitudinal evaluation of tissue changes and tumor development in experimental animal models. Such non-invasive imaging approaches of whole fixed tissue samples permits a thorough examination of multiple digital slices with subsequent volumetric measurement of 3-dimensional structures while leaving the specimen intact for subsequent conventional H&E histology. This session will provide examples of major organ system pathologies encountered in rodent toxicity and carcinogenicity studies with emphasis on how this novel compact MR imaging technology can serve as an important adjunct to conventional pathology evaluation. Whenever possible, the objective will be to use rodent animal models & show live animal images followed by images of the fixed specimens from the same animal model and comparison with conventional H&E-stained sections.

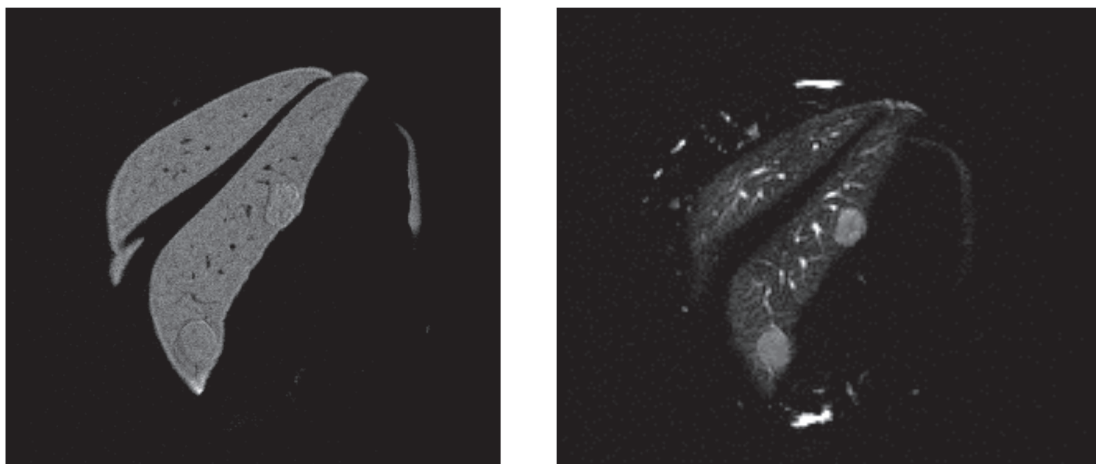
The following definitions will be helpful for the pathologist to understand some commonly used MRI terminology.

Isotropic – Refers to an image that has equal proportions in all 3-dimensional directions

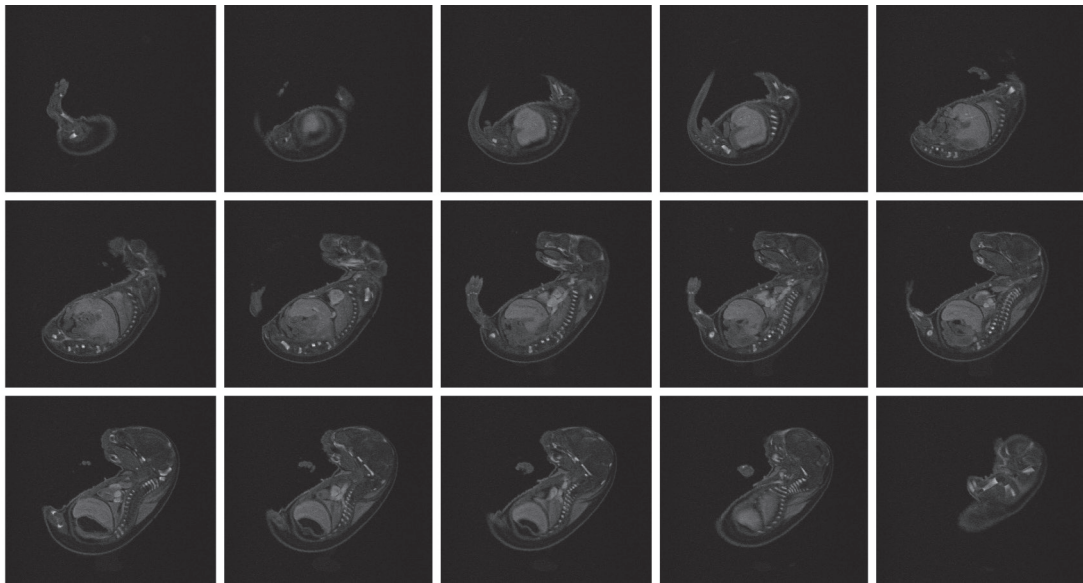
Orientation terminology



T1 and T2 – Different image acquisition settings that can be thought of as different “MRI stains”

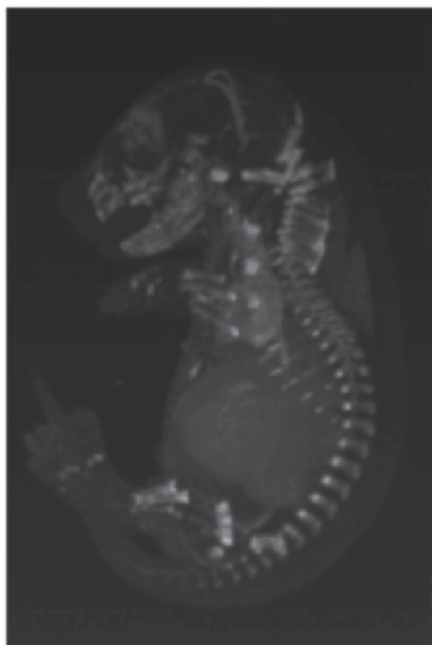


Slice Sequence – Display of all of the MRI slices through a specimen in a single collage

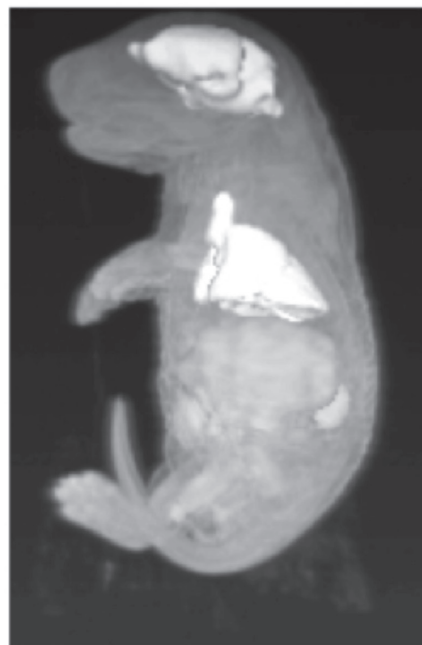


Rendering - making the specimen semi-transparent to permit visualization of internal structures

Segmentation - defining the 3-dimensional aspects of a structure to permit volumetric measurements to be made



Rendering



Segmentation

著者索引

- A**
 阿部 一 P-03、P-42、P-60
 阿部 正義 P-74
 Abramovitch Rinat P-40
 Ahn Byeong Woo P-88
 相磯 成敏 P-16、P-17、P-18
 赤木 純一 P-34、P-62、
 P-72、P-95
 赤堀 有美 P-04
 赤根 弘敏 P-04
 赤澤 幸則 P-83
 Alexander David B. WS1-4、
 WS2-2
 穴山 久志 P-90
 安藤 弘 WS2-3、P-19
 安藤 稔 P-28、P-78
 安藤 亮 P-51
 青木 豊彦 P-01
 浅野 敬之 P-12
 浅沼 富美子 P-85
 浅岡 由次 P-55
 麻生 良平 P-96
 畔上 愛子 P-02
 Axelrod Jonathan H P-40
- B**
 Bondoc Alexandra P-52、P-94
 Brami Catherine Tempel P-40
- C**
 Cho Young-Man P-34、P-62、
 P-72、P-95
- D**
 Dhakal Pramod P-71
 堂口 裕士 P-83
 土居 卓也 O-08、P-13、P-87
- E**
 枝元 洋 P-86
 江馬 眞 SY-1
- 榎本 祐子 P-43
 江藤 みちる SY-4
- F**
 舘上 貴美子 P-02
 藤井 悦子 P-54
 藤井 元 WS1-2
 藤居 互 P-46
 藤井 雄太 P-68
 藤石 琴 P-11、P-26
 福田 良 P-90
 藤本 成明 P-66
 藤岡 正喜 O-02、O-11、P-41、
 P-48、P-58、P-61、P-92
 藤島 純子 P-98
 藤田 勝巳 P-63
 深町 勝巳 WS2-2、O-06、O-13
 福井 健人 P-64
 福永 賢輝 O-11
 福島 昭治 AL、P-16、P-17、
 P-18
 船橋 斉 P-68
 古川 文夫 P-84
 古川 正敏 P-10
 古川 賢 O-04、P-74
 二口 充 WS2-2、WS2-4、
 O-06、O-13
- G**
 Galun Eitan P-40
 魏 民 O-02、O-11、P-41、P-48、
 P-58、P-61、P-92
 Golbar Hossain M. P-52、P-53、
 P-80、P-94
 後藤 彩 P-01、P-06、P-24、
 P-30、P-50
- H**
 萩尾 宗一郎 P-74
 萩原 仁美 P-96
 Han Beom Seok P-91
 羽倉 昌志 P-30
- 浜村 政夫 P-21、P-25
 原 明 O-10
 長谷川 和成 P-39、P-76、P-77
 長谷川 也須子 O-14
 橋本 愛 P-80
 橋爪 直樹 WS2-3
 畑 千恵 P-28、P-78
 畠山 洋文 P-59
 波多野 裕一郎 O-10
 早川 和宏 P-01、P-06、P-24、
 P-30、P-50
 林 仁美 P-02
 林 清吾 P-74
 林 嘉光 WS1-4
 日比 大介 WS1-3
 樋野 興夫 WS2-5
 平賀 武夫 P-10
 平田 曉大 O-10、P-58
 広瀬 明彦 WS2-3
 本多 久美 P-63
 堀内 貴至 P-57
 星谷 達 P-51、P-81、P-86
 細井 理代 P-39、P-76、P-77
 細川 暁 P-01、P-06、P-24、
 P-30、P-50
 北條 幹 P-19
- I**
 市村 英資 P-02
 市村 亮平 P-45、P-47、P-71
 五十嵐 勝秀 SY-3
 伊原 良 P-12
 飯沼 宗和 O-03
 池田 瑞代 P-69
 池上 雅博 P-67
 井手 鉄哉 P-22
 今井 俊夫 WS1-2
 今井田 克己 O-12、P-14、
 P-15、P-20
 今村 朋美 P-69
 今岡 尚子 P-79
 今田中 伸哉 P-04

| | | | | | |
|---------------|---|----------------|-------------------------------------|---------------|--|
| 井村 奈緒子 | P-55 | 金子 公幸 | P-28、P-78 | 小林 亮介 | O-08、P-13 |
| 稲垣 尋絵 | P-59 | Kang Jin Seok | P-88、P-91、P-93 | 小林 稔秀 | P-78 |
| 稲垣 浩二 | P-64 | Kang Jongkoo | P-88、P-91、P-93 | 兒玉 安史 | P-37 |
| 猪又 明子 | WS2-3、P-19 | 蟹江 尚平 | O-12、P-15、P-20 | 兒玉 幸夫 | WS1-3、P-45、P-47 |
| 猪又 晃 | P-01、P-06、P-24、 P-30、P-50 | 神吉 將之 | P-48 | 小泉 治子 | P-59 |
| 猪股 智夫 | P-67 | 蟹澤 成好 | P-96 | 小島 肇 | P-10 |
| 井上 薫 | P-45、P-47、P-71 | 菅野 純 | SY-3、WS2-1、P-66 | 爰島 洋子 | O-08、P-87 |
| 井上 知紀 | P-96 | 菅野 剛 | P-21、P-25 | 河内 眞美 | P-68 |
| 井上 義之 | WS2-3、WS2-4 | 狩野 光芳 | P-70 | 小山 直己 | P-30 |
| 入江 浩太 | P-74 | 笠原 健一郎 | P-51 | 久保 孝利 | P-82 |
| 石井 宏幸 | O-08 | 櫻村 茜 | O-07 | 久保 喜一 | WS2-3、P-19 |
| 石井 眞美 | P-41 | 片桐 卓 | P-16、P-17、P-18 | 久保田 久代 | O-14 |
| 石井 雄二 | WS1-1、WS1-3、 O-05、P-32、P-49、P-56 | 加藤 淳彦 | P-54 | 久保田 恵 | P-82 |
| 磯部 厚志 | P-96 | 加藤 寛之 | O-01 | 久保田 舞 | P-39 |
| 板橋 恵 | P-03、P-04、P-05、P-60 | 加藤 幾雄 | P-70 | 隈部 志野 | P-13、P-79、P-87 |
| 伊藤 和美 | P-63 | 加藤 瑞穂 | P-38 | 熊谷 和善 | O-16 |
| 伊東 志野 | P-82 | 加藤 康子 | P-63 | 熊谷 文明 | P-97 |
| 伊藤 恒夫 | P-54 | 可徳 小四郎 | P-21、P-25 | 久野 壽也 | O-01、O-09、O-10、 O-15、P-36 |
| 伊藤 浩太 | P-10 | 加藤 市川 智彩 | P-52、P-94 | 栗原 治 | P-69 |
| 岩田 聖 | P-59 | 勝田 佳明 | P-65 | 黒田 顕 | WS1-1、WS1-3、O-05、 P-49、P-56 |
| 岩谷 鋼一 | P-96 | 河部 真弓 | P-84 | 黒田 雄介 | P-74 |
| 井澤 武史 | P-07、P-09、P-52、 P-53、P-57、P-58、P-80、P-94 | 川追 一史 | P-21、P-25 | 黒滝 哲郎 | O-08、P-87 |
| 泉 啓介 | P-33 | 剣持 佑介 | P-23、P-64、 P-65、P-75 | 日下部 守昭 | O-03 |
| | | 木島 綾希 | WS1-1、WS1-3、 O-05、P-32、P-49、P-56 | 串田 昌彦 | P-12、P-58、P-61 |
| | | 菊地原 陽 | P-38 | 楠田 佳代 | P-09 |
| | | Kim Chang Geon | P-88、P-93 | 桑形 麻樹子 | P-97 |
| | | Kim Duyeol | P-88、P-91、P-93 | 桑原 正貴 | P-28 |
| | | Kim Myoung Jun | P-88、P-91、 P-93 | 桑村 充 | P-07、P-09、P-52、 P-53、P-57、P-80、P-94 |
| | | 金 ウンジュ | P-69 | | |
| | | 木村 啓成 | P-67 | L | |
| | | 木村 真之 | P-38、P-42、P-60 | Lanton Tali | P-40 |
| | | 木下 勇一 | P-43 | Lee Hye-Yeong | P-91、P-93 |
| | | 桐山 諭和 | P-35 | Lee Jong Kwon | P-91 |
| | | 岸 宗佑 | O-12、P-14、P-15、P-20 | Lee Jung Min | P-93 |
| | | 北川 義徳 | P-46 | Lee Mi Ju | P-88、P-91、P-93 |
| | | 北村 憲彦 | P-09 | Lee Mi-Young | P-91 |
| | | 北野 光昭 | O-02 | Lee Yong-Hoon | P-88、P-91、P-93 |
| | | 北浦 敬介 | O-05 | | |
| | | 北澤 郁恵 | P-82 | M | |
| | | 北澤 理子 | P-11、P-26 | 前田 潤 | P-45、P-47、P-71 |
| | | 北澤 荘平 | P-11、P-26 | 曲木 美枝 | P-73 |
| | | 小林 梓 | P-21、P-25 | 楨 美実 | P-65 |
| | | 小林 欣滋 | P-98 | | |
| J | | | | | |
| Jang Ho-Song | P-88、P-91、P-93 | | | | |
| Jeong Jayoung | P-91 | | | | |
| K | | | | | |
| 角 将一 | P-28、P-70、P-78 | | | | |
| 門脇 巧 | O-07 | | | | |
| 加賀 千晶 | P-70 | | | | |
| 甲斐 清徳 | P-44、P-63 | | | | |
| 海鋒 藤文 | P-19 | | | | |
| 梶村 哲世 | P-59 | | | | |
| 梯 アンナ | P-41、P-48、P-61 | | | | |
| 柿本 恒知 | P-23、P-64、 P-65、P-75 | | | | |
| 上家 潤一 | O-07 | | | | |
| 神鳥 仁志 | ES2 | | | | |

| | | | | | |
|-----------------|-----------------------------------|---------------|------------------------------|-----------------|--|
| 牧野 俊彦 | P-44 | N | | O | |
| Maronpot Robert | P-40 | 永井 由紗 | P-11、P-26 | 落合 忍仁 | P-27 |
| 丸茂 秀樹 | P-97 | 長野 嘉介 | P-16、P-17、P-18 | 小笠原 裕之 | P-27 |
| 松江 健太 | P-85 | 永岡 隆晴 | P-98 | 小縣 昭夫 | WS2-3、P-19 |
| 増村 健一 | WS1-3 | 長澤 明道 | WS2-3、P-19 | 緒方 敬子 | P-12 |
| 松本 泉美 | P-68 | 永田 百合子 | P-28、P-78 | 小川 いづみ | P-74 |
| 松本 正博 | P-22、P-89 | 永谷 真理子 | P-81 | 小川 久美子 | WS1-1、WS1-3、 O-05、P-32、P-34、P-49、 P-51、P-56、P-62、P-72、P-95 |
| 松本 智志 | O-05 | 永山 裕子 | P-24 | 小川 瑞恵 | P-08 |
| 松島 圭太 | P-86 | 内木 綾 | O-01、O-09、O-15 | 小川 哲郎 | P-97 |
| 松下 幸平 | WS1-1、WS1-3、 O-05、P-49、P-56 | 中江 大 | WS2-3、P-19 | 小川 祐布子 | P-45、P-47 |
| 松浦 正男 | P-10 | 中原 豊 | P-22 | 小栗 鉄也 | WS1-4 |
| 松浦 哲郎 | P-29、P-37 | 中村 明子 | P-23、P-64、P-65、 P-75 | 大橋 靖雄 | P-70 |
| 南澤 由佳 | P-82 | 中村 隆一 | P-27 | 大町 康 | P-69 |
| 三島 胡桃 | O-02、O-11、P-92 | 中西 豊 | P-85 | 大西 隆仁 | P-73 |
| 見鳥 光 | P-22 | 中野 裕子 | O-12、P-14、 P-15、P-20 | 大澤 徹也 | P-63 |
| 満石 三喜男 | P-21、P-25 | 中野 (伊藤) 今日子 | P-01、P-06、 P-24、P-30、P-50 | 太田 恵津子 | P-01、P-06、P-24、 P-30、P-50 |
| 三森 国敏 | P-60 | 仲辻 俊二 | P-22、P-89 | 太田 毅 | P-65 |
| 宮川 宗之 | O-14 | 中山 裕之 | P-08 | 大石 裕司 | P-22、P-89 |
| 宮城 伶奈 | P-57 | 中澤 朋美 | P-81 | 大河原 剛 | SY-4 |
| 美谷島 克宏 | P-23、P-64、 P-65、P-75 | 奈良間 功 | P-29、P-39、P-76、 P-77 | 岡本 一也 | P-02 |
| 宮島 留美子 | P-39、P-76、P-77 | 成田 正明 | SY-4 | 岡崎 孝信 | P-98 |
| 宮川 義史 | P-64、P-65 | 根津 義和 | O-16 | 奥田 祐司 | P-02 |
| 宮本 恵美 | O-16 | 二井 愛介 | P-82 | 奥村 真衣 | P-92 |
| 宮本 庸平 | P-55 | 新野 訓代 | P-63 | 大波 冴子 | P-95 |
| 宮田 裕人 | P-85 | 二宮 美美子 | O-12、P-14、 P-15、P-20 | 恩田 伸彦 | P-38 |
| 宮崎 幸司 | P-70 | 西原 香織 | P-79 | 大須賀 勇 | P-78 |
| 三好 征司 | P-59 | 西川 秋佳 | P-34、P-51、 P-72、P-95 | 押方 孝文 | P-21、P-25 |
| 三好 智也 | P-55 | 西本 大輝 | P-37 | 太田 泰史 | P-39、P-76、P-77 |
| 水田 保子 | P-62、P-72、P-95 | 西村 哲治 | WS2-3 | 大山 典子 | P-67 |
| Moon Jae-Min | P-88 | 西村 友成 | P-27 | 尾崎 清和 | P-29、P-37、 P-46、P-58 |
| 森川 朋美 | P-45、P-71 | 野口 ちひろ | P-85 | | |
| 森本 純司 | O-03 | 能美 健彦 | WS1-1、P-56、P-95 | P | |
| 森田 大輔 | P-82 | 野村 駿介 | P-08 | Park Sun Hee | P-88、P-91、P-93 |
| 盛田 怜子 | P-05、P-42、P-60 | 能登 貴久 | P-89 | | |
| 森山 亜紀子 | P-98 | 沼野 琢旬 | WS2-2、O-06、P-84 | R | |
| 村上 智亮 | P-03、P-04、P-05、 P-38、P-42、P-60 | Nyska Abraham | P-40 | Rackwal Randeep | P-97 |
| 村上 雄一 | P-89 | | | 六川 潤美 | P-10 |
| 武藤 朋子 | P-67 | | | 領家 克典 | P-23 |
| 武藤 倫弘 | WS1-2 | | | | |
| 六鹿 麻由 | P-55 | | | | |

| | | | | | |
|----------------------|--|-------------------|-----------------------------------|------------------|-------------------------------------|
| S | | | | | |
| 齊尾 征直 | P-83 | Son Woo-Chan | P-91 | 高崎 涉 | O-16、P-63 |
| 齋藤 文代 | P-04 | 園田 二郎 | P-01、P-06、P-24、 P-30、P-50 | 高須 伸二 | WS1-1、WS1-3、 O-05、P-32、P-49、P-56 |
| 齋藤 翼 | P-81、P-86 | 早場 純子 | P-96 | 高田 志織 | P-27 |
| 齋藤 義明 | P-96、P-97 | 菅原 豪 | O-07 | 高月 峰夫 | WS2-4 |
| 酒井 一夫 | P-69 | 菅井 象一郎 | P-23 | 武田 周二 | P-12、P-58 |
| 榊原 隆史 | P-10 | 杉江 茂幸 | P-31、P-36 | 武井 由弘 | P-59 |
| 坂本 義光 | WS2-3 | 杉山 晶彦 | O-04、P-74 | 武田 賢和 | P-01、P-06、P-24、 P-30、P-50 |
| 坂岡 篤 | P-96 | 勝呂 繭子 | P-84 | 竹内 崇 | O-04 |
| 佐野 智弥 | P-29、P-90 | 孫 敬 | O-04 | 田村 一利 | P-51、P-81、P-86 |
| 竿尾 光祐 | P-14、P-15、P-20 | 巢山 志保 | P-59 | 田中 美有 | P-07、P-09、P-52、 P-53、P-80、P-94 |
| 佐々木 啓 | P-10 | 酒々井 眞澄 | WS1-4、WS2-2、 WS2-4、O-06、O-13 | 田中 猛 | P-05、P-42 |
| 笹木 祐司 | P-98 | 鈴木 大節 | P-47 | 田中 卓二 | O-09、P-31、 P-35、P-36 |
| 佐々木 稔 | P-85 | 鈴木 勇 | P-34、P-62、 P-72、P-95 | 田中 康浩 | P-46 |
| 佐藤 順子 | O-08、P-79、P-87 | 鈴木 勝也 | P-28 | 種村 健太郎 | SY-3 |
| 佐藤 亮 | O-05 | 鈴木 和彦 | P-03、P-04、P-05、 P-38、P-42、P-60 | 谷 吉朗 | O-16 |
| 佐藤 里子 | P-63 | 鈴木 雅実 | P-54 | 谷合 枝里子 | P-23、P-64、 P-65、P-75 |
| 佐藤 慎哉 | O-09、O-15 | 鈴木 周五 | O-09、O-15 | 谷川 洋平 | P-98 |
| 佐藤 靖 | P-85 | 鈴木 倫 | P-28、P-78 | 谷口 良彦 | P-37 |
| 茶山 和敏 | P-43 | Swenberg James A. | SL | 田崎 雅子 | P-96 |
| Schiffenbauer Yael S | P-40 | | | Tennakoon Anusha | P-52、P-53 |
| 関 由妃 | P-01、P-06、P-24、 P-30、P-50 | | | 寺西 宗広 | P-44、P-63 |
| 妹尾 英樹 | P-16、P-17、P-18 | T | | 寺尾 壽子 | P-96 |
| 瀬沼 美華 | P-97 | 多田 幸恵 | P-19 | 寺山 由依 | P-29 |
| Seok Ji Hyeon | P-91 | 多胡 善幸 | P-92 | 栃内 亮太 | P-28、P-78 |
| 斯波 真理子 | O-03 | 高田 早苗 | O-16 | 栃谷 智秋 | P-68 |
| 柴田 映子 | O-03 | 高田 俊介 | O-16 | 富樫 裕子 | P-55 |
| 柴田 雅朗 | O-03 | 高木 陽光 | P-70 | 戸井 雅和 | P-70 |
| 紫藤 淳子 | P-97 | 高木 みづほ | P-79、P-81 | 徳山 猛 | WS1-4 |
| 渋谷 淳 | SY-2、P-03、P-04、 P-05、P-38、P-42、P-60 | 高橋 明美 | P-23、P-64、 P-65、P-75 | 富田 弘之 | O-10 |
| 志賀 敦史 | P-39、P-76、P-77 | 高橋 博 | WS2-3、P-19 | 友成 由紀 | P-13、P-87 |
| 嶋田 照雅 | P-09 | 鷹橋 浩幸 | P-67 | 豊田 薫 | P-23、P-64、 P-65、P-75 |
| 下井 昭仁 | P-59 | 高橋 真美 | WS1-2 | 豊田 武士 | P-34、P-62、 P-72、P-95 |
| 下村 衣里 | O-11、P-48、P-61 | 高橋 美和 | P-47、P-71 | 豊沢 かおる | P-68 |
| 下間 由佳子 | P-07 | 高橋 智 | WS1-4、O-01、 O-09、O-15 | 坪井 優 | P-39 |
| 塩田 清二 | P-97 | 高橋 祐次 | WS2-1 | 坪田 健次郎 | P-89 |
| 白井 真人 | P-44 | 高井 有一 | P-90 | 螺良 愛郎 | P-43 |
| 白木 彩子 | P-03、P-04、 P-05、P-60 | 高松 学 | O-10 | 土谷 稔 | O-08、P-13、P-87 |
| 代田 欣二 | O-07 | 高松 玲佳 | P-83 | 土屋 由美 | O-16 |
| 宍倉 恵理子 | P-69 | 高見 成昭 | P-39、P-76、P-77 | | |
| 正田 俊之 | P-23、P-64、 P-65、P-75 | 高信 健司 | P-16、P-17、P-18 | | |

津田 洋幸 WS1-4、WS2-2、
WS2-4、O-06、O-13、P-73
塚本 徹哉 P-35
築館 一男 P-01、P-06、
P-24、P-30
堤 秀樹 P-84
堤 俊輔 P-85

U

内田 和美 P-28、P-78
内田 和幸 P-08
打屋 尚章 WS1-2
上田 剛太 O-04
植田 芳英 P-39、P-76、P-77
梅田 ゆみ P-16、P-17、P-18
梅本 ひとみ P-33
梅村 隆志 WS1-1、WS1-3、O-05、
P-32、P-49、P-56
浦野 浩司 P-84
浦島 亜紗美 P-98
宇佐美 郁治 WS1-4
白見 憲司 P-96

W

涌生 ゆみ O-08、P-13、P-87
和久井 信 P-67
Wang Liyun P-03、P-04、P-05
鰐淵 英機 O-02、O-11、P-41、
P-48、P-58、P-61、P-92
渡邊 篤志 P-82
渡辺 元 P-71
渡辺 武志 P-90
Wijesundera Kavindra P-52、
P-53、P-80

X

徐 結苟 WS1-4、WS2-2、WS2-4

Y

矢部 光一 O-16
藪内 かおり P-98
矢島 真理子 P-69
山田 直明 O-08、P-13
山田 徹 P-68
山口 裕子 P-79、P-81、P-86
山川 けいこ O-12、P-14、
P-15、P-20
山川 誠己 P-86
山野 莊太郎 O-02、O-11、P-48、
P-58、P-61、P-92
山下 和正 P-98
山手 丈至 P-07、P-09、P-52、
P-53、P-57、P-58、P-80、P-94
山崎 雅輝 P-54
矢野 範男 WS2-3、P-19
安井 雄三 P-23、P-64、P-65、
P-75
安野 恭平 O-07、O-16
横平 政直 O-12、P-14、
P-15、P-20
横尾 諭 WS1-1、P-32、
P-49、P-56
横山 英明 P-23
横山 浩史 P-02
吉田 緑 ES1、O-14、P-45、
P-47、P-71、P-78、P-79
吉田 敏則 P-03、P-04、P-05、
P-38、P-42、P-60
吉川 豊 P-43
吉見 直己 P-83
義澤 克彦 P-43
圀 貴司 P-43
湯澤 勝弘 WS2-3、P-19

病理関連・受託サービス

弊社展示ブースにて、Web経由での閲覧デモが体験可能です！

バーチャルスライド作製

<http://www.e-byori.com>



- ・お預かりしたガラス標本を、ライカ社製の最新鋭スライドスキャナーにてデジタル化
- ・ビューワーソフト（無償）とともにDVDでのお渡し
- ・インターネット経由で観察できる便利なクラウド型サービスもございます

研究用（実験動物）組織標本作製

- ・細かなご希望に沿った切出しから標本作製および病理学的評価まで行います
- ・特殊染色、免疫染色も各種ご相談に応じます

お問い合わせ先

株式会社
アマネセル

〈R&Dセンター〉
〒063-8611 札幌市西区二十四軒1条7丁目35番
TEL:011-641-6500 FAX:011-641-6767
E-mail（標本作製）support@amanecer.co.jp
（バーチャルライド）vs-support@amanecer.co.jp

〈東京営業所〉
〒173-0014 東京都板橋区大山東町32-16-202

〈新横浜出張所〉
〒222-0033 横浜市港北区新横浜2-14-8オフィス新横浜

弊社実績：標本作製は年間15万枚以上の作製スキルとキャパを有し、ペット動物の病理検査を年間4万件以上実施しております。

バイオ研究のパートナー

株式会社ケー・エー・シー

実験動物の飼育管理

研究者・技術者派遣

各種実験受託

- ◇遺伝子改変動物維持繁殖
- ◇薬理試験
- ◇病理標本作製
- ◇細胞培養
- ◇抗体作製

試薬提供

ヒト・各種動物組織由来製品、
血液由来製品等



■ 本社
〒604-8423
京都市中京区西ノ京西月光町
40番地
TEL：075（801）9311
FAX：075（801）7688

■ 東京支社
〒110-0005
東京都台東区上野一丁目-4-4
藤井ビル3F
TEL：03（5807）7161
FAX：03（5807）7163

■ バイオサイエンス事業部
〒520-3001
滋賀県栗東市東坂91番地
TEL：077（558）3980
FAX：077（558）3982



株式会社 ケー・エー・シー

詳しくは弊社ホームページをご覧ください

<http://www.kacnet.co.jp>

地域の発展と豊かな環境を目指し、我々は進化します。

四国八洲薬品株式会社

www.shikoku-yashima.co.jp

本社 〒770-0873 徳島県徳島市東沖洲2丁目17番地
TEL (088)664-6321(代表)
高松営業所 〒761-0301 香川県高松市林町148-19
TEL (087)815-1111(代表)
松山営業所 〒791-1102 愛媛県松山市来住町1445番1
TEL (089)960-0260(代表)
新居浜営業所 〒792-0050 愛媛県新居浜市菘生545-3
TEL (0897)43-8001(代表)
高知営業所 〒780-0082 高知県高知市南川添21-13
TEL (088)884-8881(代表)

取扱品目

試験、研究用試薬
一般試薬、輸入試薬
体外診断薬
化成品及び工業薬品
医薬品及び動物薬品
試験研究用分析機器、器材
バイオ関連機器、器材
臨床検査用機器、器材
コンピューターのハードウェアとソフトウェア



ISO9001 品質マネジメントシステム認証取得



ISO14001 環境マネジメントシステム認証取得

<http://www.cmic.br.co.jp/>



顧客満足度No.1を
目指します!

メディカルライター募集中

詳しくは当社までお問い合わせください。

株式会社シミックバイオリサーチセンター

医薬品の安全性と有効性を
確認するために非臨床試験を実施。

特に循環器と呼吸器系に自信!

株式会社シミックバイオリサーチセンター

CMIC BIORESEARCH CENTER Co.,Ltd.

本社
〒408-0044 山梨県北杜市小淵沢町10221
TEL 0551-36-2455 FAX 0551-36-3895

お問い合わせ先
〒141-0031 東京都品川区西五反田2-8-1 五反田ファーストビル
TEL 03-5843-4015 FAX 03-3779-6113

主な受託試験

- 毒性試験
- 安全性薬理試験
- 薬効薬理試験:呼吸・循環器・炎症・
外科処置を伴うモデル作製・その他
- 薬物分析試験
- 病態モデル作製・販売
- コンサルティング
- メディカルライティング

その他の試験についてもお問い合わせください。

例えば、 「水」のような 存在でありたい。

“生命を支え、当たり前のように、そこにある存在へ。”

それが大一器械の理想です。

医療、科学という、生命に関わる事業に取り組み、

当たり前のようにそこにあって、でも、なくてはならない存在へ…。

私たちは、豊かさや安心、信頼にあふれた

社会の発展に寄与してまいります。



営業目

■ 医科器械

病院設備、臨床検査装置、手術器械、人工器械、放射線器械、MRI、リハビリテーション用器械、超音波診断装置、医療情報処理用器械、各種診断及び治療装置

■ 科学器械

環境試験器械、分析計測器機、科学器械、測定器械、汎用器械、教育用器械、バイオ関連器械、遺伝子 (DNA) 合成装置

■ 福祉機器

■ 実験用ガラス器具

業務内容

■ 医療部門

医療現場で日々使用される器械類の販売だけでなく、各メーカーからの様々な情報、業界の動向なども積極的に提示。医療器械におけるトータルアドバイザーとして努力を続けています。

■ 科学部門

官公庁の研究機関や大学、各種試験場、メーカーなどにおいて、研究者の有能なプレーンとして様々な研究活動を支援しています。

■ 福祉部門

福祉用具のレンタル、販売、住宅改修等の事業を展開しています。本社ショールームには多種多様な福祉用具を展示しています。

■ 製造・技術部門

特別なガラス器具、実験器具をオーダーメイドで作成。複雑な形状の製品にも熟練の技術者が対応します。また、経験豊かなスタッフ陣を揃え、自社でアフターサービスを展開しています。



医療・科学・福祉

株式会社 大一器械

- 本社 〒771-0185 徳島市川内町平石若宮340番地
医療機器営業部 Tel.088-656-8101 Fax.088-656-8109
科学機器営業部 Tel.088-656-8122 Fax.088-656-8108
ストーマ・福祉用具 Tel.088-656-8103 Fax.088-656-8151
□ 香川営業所 〒761-8071 高松市伏石町2128番地1
Tel.087-865-7233 Fax.087-865-3289
ホームページアドレス <http://www.daiichi-kikai.co.jp/>



よりよい地域医療のために

人と人を繋ぐ最先端へ



医科器械・理化学器械・病院設備・実験動物

日新器械株式会社

NISSHIN MEDICAL INSTRUMENT CO.,LTD.

本社 〒771-1156 徳島市応神町応神産業団地12番1
TEL 088-641-5111 FAX 088-641-5511

埼玉営業所 〒350-1205 埼玉県日高市原宿字中台309-7
TEL 0429-85-9061 FAX 0429-85-9063

豊富なラインナップにより創薬研究・開発を強力にサポート

タコニック社のノックアウトレポジトリー

タコニック社のノックアウトレポジトリーは、創薬研究と関連性の高い遺伝子に着目した4,000を超えるノックアウトマウスを短期間で研究者の皆様にご提供するサービスです。

全てのモデルは、こちらから検索が可能です → <http://www.taconic.com/wmspage.cfm?parm1=2522>

タコニックノックアウトレポジトリーが選ばれる理由!

スピード

受注後、**12~16週間** で出荷可能

パテント

特許ラインナップによるバックアップ

シンプル

複雑なライセンス契約が**不要**

データ

包括的な**フェノタイプデータ** を用意

ラインナップ

魅力的な**4,000モデル**

■問い合わせ・資料請求等は下記までお願い致します。



CLEA Japan, Inc.

<http://www.CLEA-Japan.com>



Smart Solutions To Improve Human Health
<http://www.taconic.com>

日本クレア株式会社 専用窓口

TEL : 03-5704-7063 FAX : 03-3792-5298

E-mail : ad-import@clea-japan.com 〒153-8533 東京都目黒区東山1-2-7

日本クレア株式会社は、トランスジェニックモデルのリーディングブリーダーであるTaconic Farms, Inc.と日本国内における独占供給契約を締結致しております。

世界に類を見ない大規模な吸入試験施設

安全性試験の内容

- 吸入毒性試験
- 経口毒性試験
- がん原性試験
- 生殖発生毒性試験

- 微生物変異原性試験
(ガス・揮発性物質 可)
- 培養細胞染色体異常試験
(ガス・揮発性物質 可)
- 培養細胞を用いる小核試験
- 哺乳動物を用いる小核試験

● その他被験物質の特性により、特殊な検査の追加や試験方法についてもご相談に応じます。

日本バイオアッセイ研究センター

【連絡先】 企画調整部 企画課

〒257-0015 神奈川県秦野市平沢2445

電話 0463-82-3911

FAX 0463-82-3860

E-mail : baio@jisha.or.jp

病理組織標本作製は

さらなる進化へ

「病理用切り出しフォルダー」好評発売中！
詳細はwebにて掲載しております。http://www.biopathology.jp

●組織標本作製

HE染色標本作製(医薬品, 化学物質, 農薬GLP:MSS対応, 非GLP対応など)
特殊染色標本作製(PAS, MT, Azan, LUNA, Bodian 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



Helping you do research better

Harlan Laboratories は世界 50 カ所、25 カ国に展開するグローバル CRO です
医薬品・農薬・化学品すべての安全性試験を行っています

一般毒性試験・環境毒性試験

Wistar Hannover ラットによる試験実績は世界トップクラス
充実した設備と経験豊富なスタッフによる高品質な試験
(がん原性、長期毒性、吸入毒性)



医薬品の環境リスクアセスメント (ERA) で求められるすべての試験を実施できます
医薬品 ERA の申請を完全サポート

(コンサルティングから申請資料・エキスパートレポートの作成、当局との折衝まで)

Harlan の実験動物・実験動物用飼料

世界で広く使用されている動物をグローバルな品質管理のもとでご提供

Wistar Hannover ラット (RccHan[®]:WIST)、Sprague Dawley[®]SD[®]ラット、
CBA/Ca マウス、SCID[®]マウスを販売しています (国内大手ブリーダーで生産)



Harlan Teklad Global Diet の販売

一般飼料、特殊飼料、カスタム飼料など幅広く取り扱っております

お問い合わせ



ハーランラボラトリーズジャパン株式会社

〒141-0021 東京都品川区上大崎 2-15-19

TEL: 03-5791-3771 FAX: 03-5791-3772

E-mail でのお問い合わせ crs.jp@harlan.com

<http://www.harlan-japan.com/>